



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"

ASLAMIENTO Y ELUCIDACION ESTRUCTURAL DE
METABOLITOS SECUNDARIOS DE *Perymentum hintonii*.

T E S I S

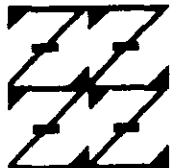
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

MARISELA BELLO VARGAS

U N A M
F E S
Z A R A G O Z A



LO VARMAS 1.25
DE MUESTRA DEFECCION

MEXICO, D. F.

1998

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

258351



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**El presente trabajo se llevó a cabo en el
Laboratorio 2-7 de Productos Naturales
del Instituto de Química de la UNAM
bajo la dirección de la
M. en C. Emma Maldonado Jiménez.**

JURADO ASIGNADO.

PRESIDENTE Q. FERNANDO CANTU GARZA

VOCAL M. en C. EMMA MALDONADO JIMENEZ

SECRETARIO Q.F.B. EVANGELINA MERCADO MARIN

SUPLENTE Q. FRANCISCO SILVA FLORES

SUPLENTE Q.F.B. MABEL CLARA FRAGOSO SERRANO

ASESOR:

M. en C. EMMA MALDONADO JIMENEZ



SUSTENTANTE:

MARISELA BELLO VARGAS



Febrero de 1998.

Agradecimientos.

A la M. en C. Emma Maldonado Jiménez por su increíble paciencia, disposición y apoyo incondicional. Nunca podré pagarle tan grande esmero. Gracias por enseñarme la magia de la química orgánica con una perspectiva especial.

Al Dr. Ortega por su genuina preocupación durante el desarrollo de este proyecto.

Al M. en C. Rubén Gaviño, del laboratorio de espectroscopía de RMN del Instituto de Química, por los espectros determinados con gran profesionalismo y que son parte medular de este trabajo.

A Javier Pérez y Luis Velasco del laboratorio de EM y a Rocío Patiño del laboratorio de espectroscopía de IR, porque los espectros elaborados también forman parte importante de esta tesis.

A cada uno de los sinodales, por su tiempo y gran disposición dedicada a la revisión de la presente tesis. Sus observaciones fueron de gran importancia para mejorar la calidad del proyecto.

A la Q. I. Hortensia Arriaga Mendoza, gracias por su confianza, su apoyo constante, sus consejos, su paciencia y sobre todo por sincera y franca amistad.

¡Mil Gracias! A todos los académicos que desde mi más tierna infancia me han enseñado a enfrentarme a la vida con conocimientos, tenacidad y alegría.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por ser mi segundo hogar desde los años de adolescente, por la confianza puesta en mí, dándome los medios materiales y morales necesarios para desarrollarme en el aspecto intelectual y personal. Para, entonces, poder emprender una profesión que nunca termina y que implica gran responsabilidad a la vez que satisfacción como ser humano.

Dedicatorias.

A Mi Padre Celestial, por saber que existes, por darme la vida y guiar mi camino en toda circunstancia, por darme pruebas que enfrentar que me ayudan a forjar mi carácter, por ayudarme a reconocer mis defectos y a corregirlos, por poner en mi camino todo lo necesario para ser feliz... porque sin ti... yo soy nada.

A mi grandiosa MADRE, porque cada día me sorprendes con algo nuevo, porque lo que soy y lo que seré te lo debo a ti; por tú amor, cariño, paciencia, preocupación, apoyo, amistad, confianza, compañía, comprensión, buen ejemplo... ¿y porqué no? también por los jalones de oreja... ¡porque eres mi mejor AMIGA! ¡TE ADORO!.

A mi mejor y única hermana, DIANIS, por comprenderme, escucharme y por siempre estar a mi lado compartiendo alegrías y tristezas.

A mis hermanos Miguel A., Luis A. y Fernando, por contar siempre con su apoyo y por la manera en que me han enseñado a ver la vida.

A la familia Madrigal, por saber que siempre puedo confiar en ustedes.

A quienes me enseñaron el profundo significado de la amistad; los profesores Paty Parra, Ramón Soto y a los compañeros de la Secretaría Técnica.

Este trabajo esta dedicado a ti que tuviste una palabra de aliento en mis aflicciones cuando más lo necesitaba, a ti que supiste escucharme, a ti que tuviste paciencia a mi impaciencia, a ti que te preocupaba la ausencia de una sonrisa y preguntabas ¿porqué?, a ti que reíste de mí y conmigo...

Ψ μου εν εσπεχια, α τι, ελ amor δε μι πιδα... πορ ελ φυτυρο εν θυε νυεστρο πασαδο σε φυνδα εν υνο σολο, ηαστα φορμαρ υν χρισταλ ετερναμεντε περφεχτο.

No es posible que los problemas del mundo
sean resueltos por escépticos o por
pesimistas, cuyos horizontes estén limitados
por las obvias realidades: Necesitamos
hombres que puedan soñar en cosas que nunca
hayan sucedido y que se pregunten:

¿ PORQUE NO?

Spencer W Kimball.

Abreviaturas empleadas.

AcOEt	acetato de etilo
APT	prueba de protones unidos a carbono (Attached Proton Test)
c	cuarteto
CC	cromatografía en columna
CCF	cromatografía en capa fina
CDCl ₃	cloroformo deuterado
CHCl ₃	cloroformo
C ₆ D ₆	benceno deuterado
COSY	correlación espectroscópica bidimensional (Correlated Spectroscopy)
d	doblete
da	doblete ancho
dd	doblete de doblete
ddd	doblete de doblete de doblete
ddda	doblete de doblete de doblete ancho
dt	doblete de triplete
dquint	doblete de quinteto
DEPT	distorsión reducida por una transferencia de polarización (Distortion less Enhancement by Polarization Transfer)
DMSO	dimetilsulfóxido
DMSO-d ₆	dimetilsulfóxido deuterado
D ₂ O	agua deuterada
EM IE	espectrometría de masas por impacto electrónico
EM IQ	espectrometría de masas por ionización química
EtOH	etanol
HETCOR	correlación heteronuclear (Heteronuclear Correlation)
H ₂ O	agua
Hz	hertz
IR	espectroscopía de infrarrojo
J	constante de acoplamiento

LR HETCOR	correlación heteronuclear a larga distancia (Long Range Heteronuclear Correlation)
m	multiplete
Me	metilo
MeOH	metanol
m/z	relación masa/carga
MHz	MegaHertz
NOE	Efecto nuclear de Overhauser (Nuclear Overhauser Effect)
NOESY	Espectroscopía del efecto nuclear de Overhauser (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy)
M ⁺	ión molecular
ppm	partes por millón
p.f.	punto de fusión
RMN ¹³ C	espectroscopía de resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN ¹ H	espectroscopía de resonancia magnética nuclear de hidrógeno
s	singlete
sa	singlete ancho
t	tripleto
ta	tripleto ancho
tc	tripleto de cuarteto
UV	espectroscopía de ultravioleta
TMS	tetrametilsilano
δ	desplazamiento químico
ν _{máx}	número de onda donde se observa un máximo de absorbancia
λ _{máx}	longitud de onda donde se observa un máximo de absorbancia

TABLA DE CONTENIDO.

I. INTRODUCCION.....	i
II. FUNDAMENTACION DEL TEMA.	
A. Generalidades sobre productos naturales.....	1
1. Flavonoides.....	3
2. Terpenos.....	8
3. Cumarinas.....	19
B. Antecedentes sobre la familia Compositae.....	20
C. Antecedentes sobre el género <i>Perymenium</i>	22
VIII. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	28
IV. OBJETIVOS.....	29
V. HIPOTESIS.....	30
VI. PARTE EXPERIMENTAL.	
A. Material, equipo y reactivos.....	31
B. Metodología.....	33
VII. DISCUSION Y RESULTADOS.....	42
VIII. CONCLUSIONES.....	64
IX. ESPECTROS.....	65
X. BIBLIOGRAFIA.....	87

I. INTRODUCCION.

La vida del hombre está íntimamente relacionada con su medio ambiente, en particular con los vegetales, los cuales le proporcionan alimento, vestido, materiales de construcción, perfumes, aceites esenciales, fármacos y venenos. A través de la historia las raíces, hojas, tallos, flores y/o frutos de las plantas se han utilizado como fármacos, basándose en experiencias empíricas que gracias al legado de muchas generaciones se han conservado hasta nuestros días. México cuenta con una flora muy extensa y rica en productos naturales, los cuales son recursos renovables de gran importancia científica y económica para el hombre.

Las propiedades curativas de las plantas han sido el principal objetivo de los estudios fitoquímicos. Aunado a esto y debido a que los metabolitos secundarios a diferencia de los primarios, tienen una distribución más específica en la naturaleza, se han utilizado exitosamente como marcadores quimiotaxónomicos. Estas razones entre otras, han motivado que en las últimas décadas, se haya dado mayor énfasis al estudio de la estructura y actividad biológica de los compuestos elaborados por las plantas. En la actualidad este tipo de estudios se han visto muy favorecidos, ya que ahora se cuenta con métodos espectroscópicos más sofisticados que ayudan a establecer rápidamente la estructura química de éste tipo de compuestos.

En las plantas de la familia de las Compuestas se han encontrado una gran diversidad de metabolitos secundarios. Dentro de esta familia se encuentra el género *Peymenium*, del cual sólo se han analizado unas cuantas especies. En ellas se han encontrado principalmente diterpenos y lactonas sesquiterpénicas. Debido a que la mayor parte de las especies de *Peymenium* están distribuidas en México, consideramos pertinente continuar con su estudio químico en aras de contribuir a establecer la quimiotaxonomía del género. Para ello se analizó la especie *P. hintonii*, recolectada en el estado de Michoacán. Los resultados de dicho estudio son discutidos en el presente trabajo.

II. FUNDAMENTACION DEL TEMA.

A. GENERALIDADES SOBRE PRODUCTOS NATURALES.

Desde tiempos prehistóricos, el hombre ha usado los extractos de plantas tanto para curar, como para producir la muerte, aunque en su mayoría éstos se han empleado para la curación de una gran variedad de enfermedades. En la actualidad existe la tendencia de comprobar estos conocimientos empíricos mediante el aislamiento, caracterización, identificación y ensayos de actividad biológica de los compuestos orgánicos constituyentes de las plantas, los cuales se denominan productos naturales (1). La química de los productos naturales (Fitoquímica) como es definida actualmente, está relacionada principalmente con la formación, estructura y propiedades de los metabolitos secundarios. Estos compuestos de estructura relativamente compleja (alcaloides, terpenoides, flavonoides, etc.); son característicos de un grupo biológico particular, tal como familia o género, debido a que son elaborados a través de rutas especializadas de síntesis a partir de metabolitos primarios, estos últimos en contraste con los primeros tienen una amplia distribución en todos los seres vivos, y están íntimamente involucrados en los procesos esenciales de la vida (2-5).

El patrón específico de los metabolitos secundarios constituyentes de ciertas especies, ha sido utilizado para determinaciones sistemáticas en lo que a taxonomía se refiere, llamándosele a este campo de investigación Quimiotaxonomía.

Los metabolitos secundarios son biosintetizados esencialmente a partir de una gran cantidad de metabolitos primarios como son; α -aminoácidos, acetil coenzima-A, ácido mevalónico e intermediarios de la ruta del ácido shikímico. En la figura 1 se muestra la estrecha relación que existe entre ambos tipos de metabolitos, además se señala que en esta serie de reacciones y transformaciones que se llevan a cabo participan enzimas como catalizadores orgánicos complejos y estereoselectivos (3, 5 y 6).

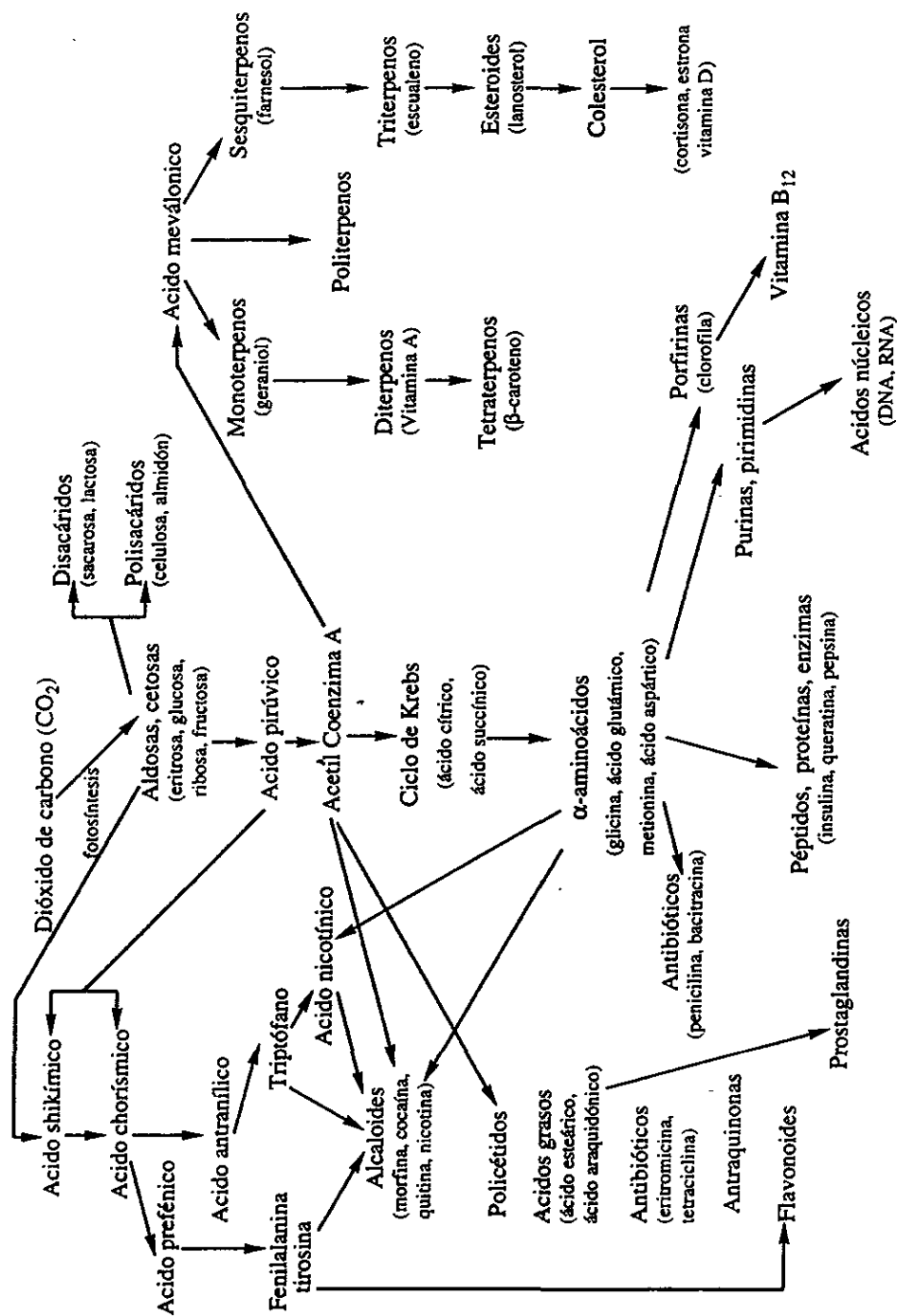


Figura 1. Esquema que presenta la estrecha relación que existe entre los metabolitos primarios y secundarios que constituyen a las plantas (algunos ejemplos de productos naturales se dan entre paréntesis)(3, 6).

Los productos naturales se pueden clasificar debido a su probable origen biogénico en :

a) derivados del ácido shikímico; son compuestos fenólicos, sustancias fácilmente reconocibles por su naturaleza hidrofílica y por su común origen a partir del ácido shikímico, entre ellos se encuentran los aminoácidos aromáticos, el ácido cinámico y ciertos polifenoles.

b) compuestos derivados del acetil coenzima-A; como ejemplos se tienen algunos aminoácidos (que posteriormente se emplean para producir alcaloides), péptidos, antibióticos, incluyendo las penicilinas y cefalosporinas.

Como mezclas de las rutas anteriores se tienen a los alcaloides, los ácidos grasos, los flavonoides, quinonas, etc.

c) isoprenoides (derivados del ácido mevalónico); en este grupo se encuentran agrupados los monoterpenos, diterpenos, sesquiterpenos, triterpenos, esteroides y carotenoides. Estos terpenoides tienen propiedades lipídicas y su origen biosintético se da a partir del pirofosfato de isopentilo (1-3, 5).

A continuación se mencionan las características más relevantes de algunos metabolitos secundarios pertenecientes a los grupos de la clasificación anterior.

1. FLAVONOIDES.

Los flavonoides son metabolitos secundarios que ocupan una posición prominente entre los fenoles de las plantas superiores. Hasta 1985 se conocían unos 900 flavonoides naturales, éstos se encuentran extensamente distribuidos entre las plantas, tanto en forma libre como formando glicósidos; estos últimos contribuyen a darle color a las flores, frutos y hojas. Los flavonoides son responsables de muchos de los sabores de los alimentos y bebidas de origen vegetal. Actualmente los estudios sobre síntesis, estereoquímica, actividad fisiológica y biosíntesis de este tipo de compuestos aportan nueva información a la aplicación que se le puede dar a este tipo de metabolitos secundarios.

Los flavonoides presentan una gran variedad de formas estructurales. Todos ellos están formados por 15 átomos de carbono en su núcleo base, estos arreglados de la forma $C_6-C_3-C_6$; donde se tienen dos anillos aromáticos enlazados por una cadena de 3 carbonos, la cual puede o no, formar un tercer anillo con un átomo de oxígeno. Por conveniencia los anillos son llamados A, B y C.

Los diferentes flavonoides están relacionados por una ruta biosintética común, en la cual incorporan precursores tanto de la ruta del ácido shikímico (intermediario fenilpropanoide), como del derivado de acetil-CoA, la malonil-CoA (proporcionando unidades de acetato); el flavonoide (chalcona) formado inicialmente en la biosíntesis es interconvertido en flavanona y el resto de los flavonoides derivan de ambos compuestos a partir de una variedad de rutas (fig. 2)(7, 8).

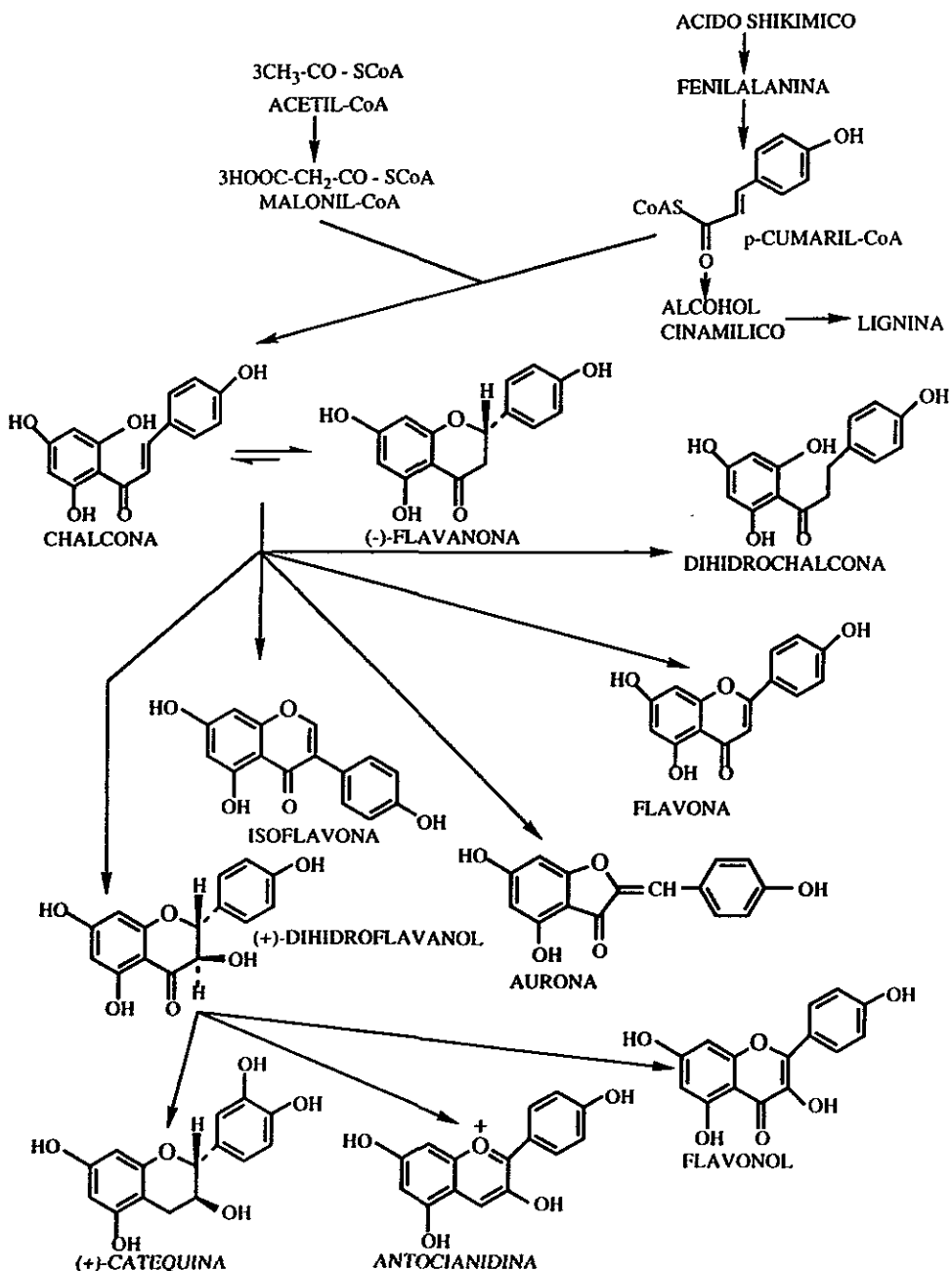


Figura 2. Diagrama que presenta la interrelación biosintética entre los diferentes tipos de flavonoides.

Dentro del grupo de los flavonoides se agrupan los compuestos denominados chalconas, los cuales son flavonoides de cadena abierta, en donde los dos anillos aromáticos están enlazados por 3 átomos de carbono, en un sistema carbonilo α,β -insaturado. En estos compuestos los anillos aromáticos se encuentran hidroxilados en mayor o menor grado (9).

Muchas flores amarillas son pigmentadas por compuestos de este tipo, además de los carotenos. Las chalconas tienen una distribución limitada en la naturaleza, presentándose principalmente en los pétalos de la familia Compositae, aunque también se han encontrado en el centro y la corteza de los troncos de árboles, hojas, frutas y raíces (10). Como ejemplos de chalconas simples, están las siguientes:

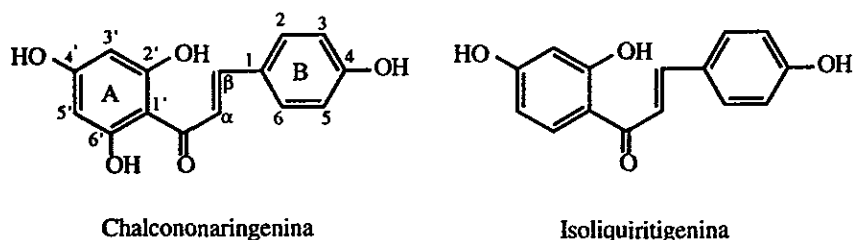


Figura 3. Ejemplos de chalconas simples, 4-hidroxichalconas.

La chalcononaringenina únicamente se encuentra en la naturaleza en una forma protegida con un glucósido o un grupo metilo.

Otras chalconas se encuentran metiladas, como por ejemplo la olivina, a la que se dió este nombre por ser aislada por primera vez de árboles de olivo. La buteína, 2',4',3,4-tetrahidroxichalcona, es un compuesto bien conocido y ampliamente distribuido en las plantas de la familia Compositae. Se le encuentra también en la forma 4'-glucósido, conocida como coreopsina (véase la figura 4)(10).

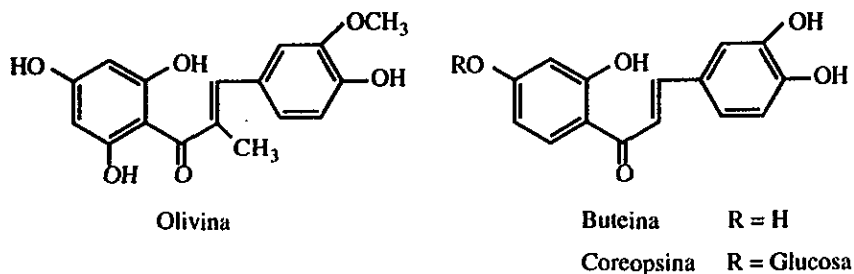


Figura 4. Ejemplos de chalconas metiladas e hidroxiladas.

Otro tipo de compuestos muy relacionados con las chalconas, son las flavanonas (fig. 2), los ejemplos más simples tienen un grupo hidroxilo en la posición 7; el sistema numérico del núcleo de las flavanonas es similar al de otras series flavonoides (flavonas).

Las flavanonas son compuestos incoloros, que se encuentran principalmente en la cáscara y el jugo de las frutas cítricas, y muy probablemente contribuyen al sabor amargo que caracteriza estos frutos.

Las chalconas y las flavanonas se interconvierten fácilmente cuando se encuentran en forma libre. Usualmente en medio ácido, el equilibrio chalcona $\rightleftharpoons$ flavanona tiende fuertemente en favor de la forma flavanona, en tanto que en medio alcalino se favorece a la chalcona. Aquí es donde juega un papel muy importante la presencia de un grupo hidroxilo en la posición 6' de la chalcona, o en la posición 5 de la flavanona, debido a que éste estabiliza a la flavanona, por lo que su correspondiente chalcona no puede ser aislada libre. Tal es el caso de naringenina y hesperetina. En cambio si el grupo hidroxilo está ausente, se produce una mezcla en equilibrio flavanona $\rightleftharpoons$ chalcona, por ejemplo butina $\rightleftharpoons$ buteína ó liquiritigenina $\rightleftharpoons$ isoliquiritigenina, tal como se presenta en la siguiente figura:

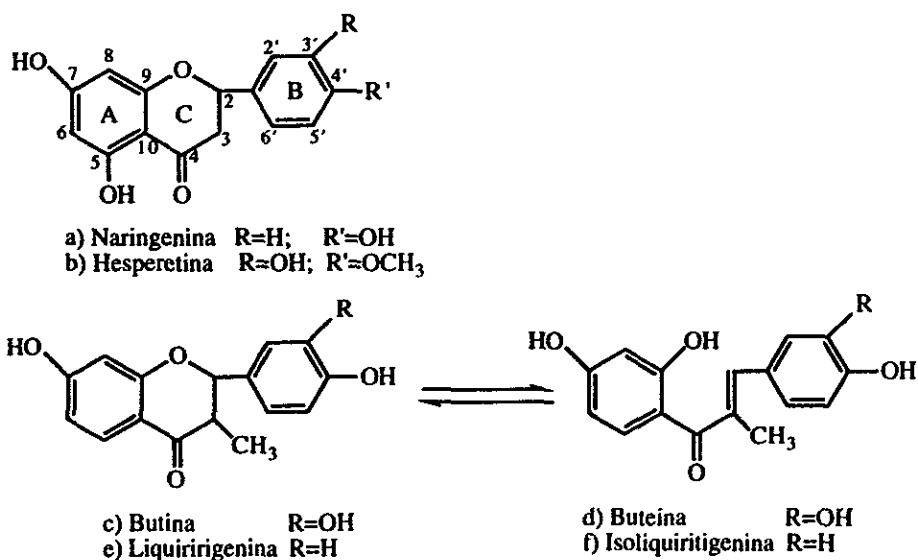


Figura 5. Ejemplos de la interconversión de chalconas y flavanonas.

La actividad óptica de las flavanonas se debe a la presencia de un átomo de carbono asimétrico en la posición 2 (9, 11).

2. TERPENOS.

Son compuestos ampliamente distribuidos en microorganismos, plantas y animales, su esqueleto hidrocarbonado está formado por la unidad básica denominada isopreno, identificada como un producto de descomposición térmica del hule. Las unidades de isopreno se unen enzimáticamente de una forma regular denominada cabeza-cola, como en el caso del geraniol, α -terpineol y γ -cadineno (fig. 6). La regla del isopreno, postula que los terpenos son compuestos formados por la combinación lineal de unidades de isopreno para formar geraniol (C_{10}), farnesol (C_{15}), geranylgeraniol (C_{20}), escualeno (C_{30}) y compuestos similares (1, 12).

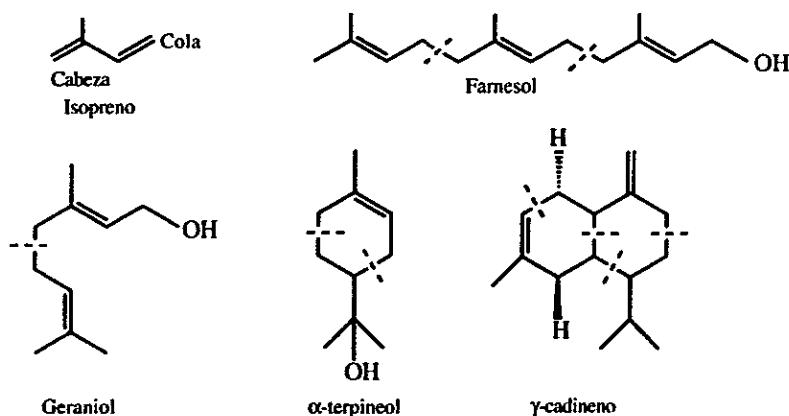


Figura 6. Ilustración de la unidad básica, isopreno, en diferentes tipos de terpenos.

Los terpenos no se forman a partir del isopreno como tal, sino de su derivado el pirofosfato de isopentenilo, el cual a su vez se origina del ácido mevalónico como se presenta en la figura 7.

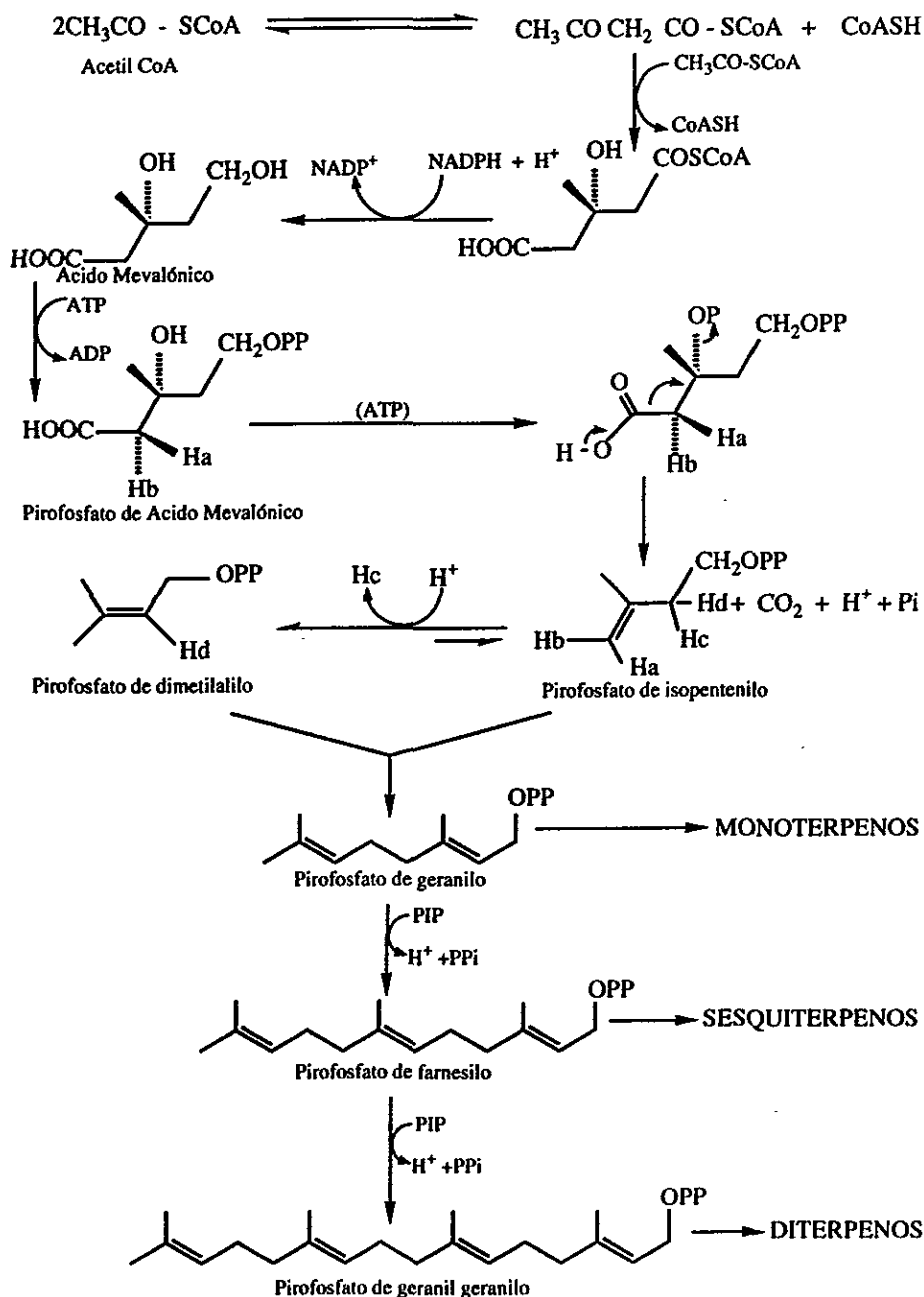


Figura 7. Esquema que presenta la ruta biogénica de los terpenos.

El pirofosfato de isopentenilo (PIP) se isomeriza a pirofosfato de dimetil alilo (PDA), y por un desplazamiento nucleofílico de este último, se forma el pirofosfato de geranilo (PG), precursor de los monoterpenos. Alternativamente la condensación de PG con otra molécula de PIP, forma el *cis* o *trans* pirofosfato de farnesilo (PF), el cual a su vez da origen al pirofosfato de geranilgeranilo, por la unión con otra molécula de PIP. Es entonces que a partir de estos compuestos se da lugar a los denominados sesquiterpenos, diterpenos y triterpenos, por rutas que involucran dimerizaciones, ciclizaciones y/o transposiciones estereoespecíficas (13-15).

Los terpenos se clasifican de acuerdo al número de unidades de isopreno (C_5) que contenga su molécula. Estos grupos se presentan en la siguiente tabla:

Tabla I. Clasificación de terpenoides con base en el número de unidades de isopreno que los constituyen.

No. de unidades de isopreno	GRUPO DE COMPUESTO.	Ejemplos representativos.
1 (C_5)	Hemiterpenos	Isoprenol.
2 (C_{10})	Monoterpenos	Constituyentes de aceites esenciales ejem. geraniol, mentol, timol; e iridoides como la loganina, o la secologanina.
3 (C_{15})	Sesquiterpenos	Constituyentes de aceites esenciales o de resinas, por ejem. farnesol, bisabolol y lactonas sesquiterpénicas como la matricina.
4 (C_{20})	Diterpenos	Constituyentes de resinas, ejem. ác. abiótico, giberelinas, fitol, vitamina A, etc.
5 (C_{25})	Sesterpenos	Constituyentes de extractos lípidicos, ejem. ircinina, variabilina y ofiobolina, etc.
6 (C_{30})	Triterpenos	Escualeno, esteroides, triterpenos pentacíclicos.
8 (C_{40})	Tetraterpenos	Carotenos, xantofilas.
>8 (C_n)	Politerpenos	Solanesol, ficaprenoles, etc.

Los sesquiterpenos, son productos naturales de quince átomos de carbono, formados por la unión de tres unidades de isopreno. El sesquiterpeno más sencillo y al que se considera precursor del resto de los sesquiterpenos es el farnesol, sustancia de olor agradable, que aunque se encuentra en numerosas plantas, siempre está en pequeñas cantidades. El farnesol y su acetato, así como muchos otros sesquiterpenos, tienen interesantes propiedades biológicas (14). Este tipo de metabolitos se forman a partir de pirofostato de farnesilo, que se cicliziza para formar los sesquiterpenos, ó se transforma en pirofosfato de geranil geranilo para generar los diterpenos (15). Los sesquiterpenos formados en este primer paso tienen en común un núcleo de ciclodeca-1,5-dieno, que sufre oxidaciones subsecuentes hasta transformarse en germacranólidas (16), las cuales pueden presentarse como cuatro diferentes tipos de isómeros según la geometría de los dobles enlaces. Esto se ilustra en la figura 8. En la tabla II se describe la geometría que pueden adoptar estos compuestos (17, 18).

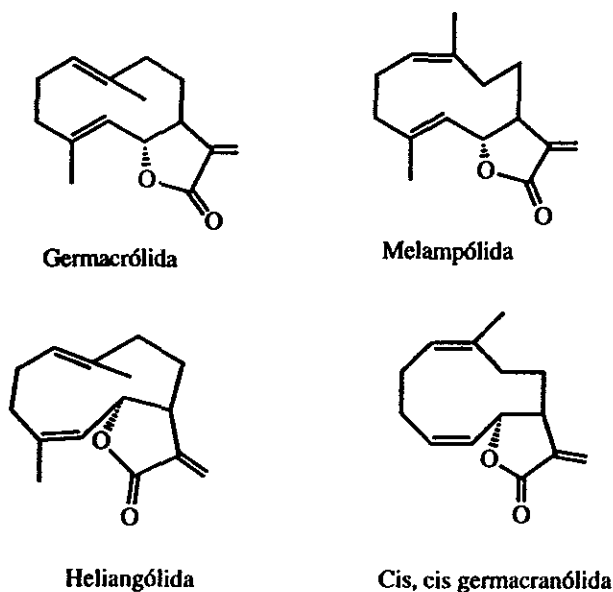


Figura 8. Se ilustran cuatro tipos diferentes de isómeros de germacranólidas.

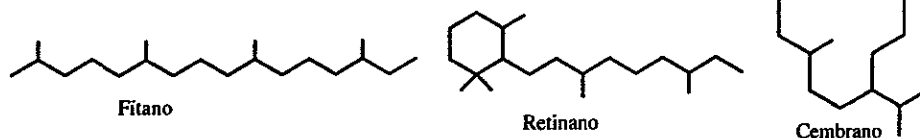
Tabla II. Geometría de los dobles enlaces en germacranólidas.

	1(10)	4
Germacrólidas	<i>trans</i>	<i>trans</i>
Melampólidas	<i>cis</i>	<i>trans</i>
Heliangólidas	<i>trans</i>	<i>cis</i>
<i>Cis, cis</i> germacranólidas	<i>cis</i>	<i>cis</i>

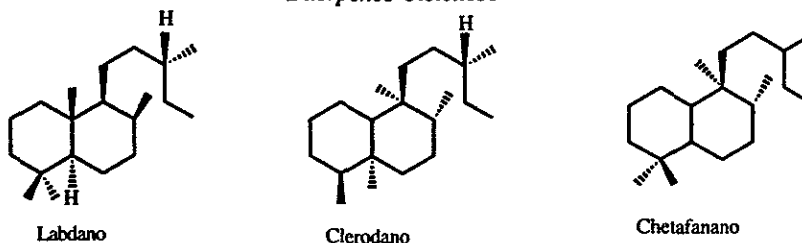
En la actualidad ya han sido aisladas germacranólidas de los cuatro tipos estructurales. Además de isomerizaciones, las germacranólidas pueden sufrir ciclizaciones transanulares para generar guaianólidas, xanthanolidas, ambrosanolidas, helenanolidas, crimoranólidas, cadinanolidas, eudesmanólidas, eremofilanolidas, bakenólidas y elemanólidas. Algunas de estas lactonas sesquiterpénicas pueden seguir biotransformándose para dar esqueletos más elaborados (16).

Los diterpenos (C_{20}), se distribuyen ampliamente en el reino vegetal y animal, en organismos tanto terrestres como marinos, incluso han sido aislados de restos fósiles. Las resinas de coníferas (Pinaceae, Araucariaceae, Taxodiaceae, Cupressaceae y Podocarpaceae) son fuentes especialmente ricas en diterpenos, al igual que algunas resinas de angiospermas de las familias Cistaceae, Leguminosae y Burseraceae. También han sido aislados de las familias Compositae, Labiatae y Euphorbiaceae. Este tipo de compuestos se clasifican con base en su estructura, en cíclicos y acíclicos. En la figura 9 se muestran los esqueletos de los principales tipos de diterpenos (12, 14 y 19).

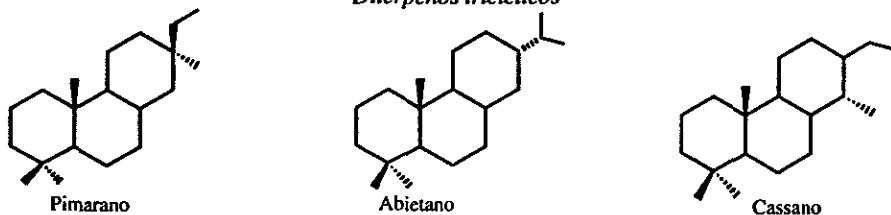
Diterpenos acíclicos y monocíclicos



Diterpenos bicíclicos



Diterpenos tricíclicos



Diterpenos tetracíclicos

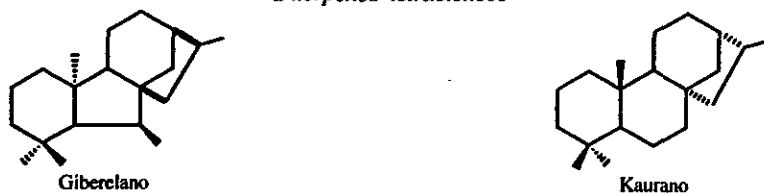


Figura 9. Ejemplos de diferentes tipos de diterpenos derivados del geranil geraniol.

Se ha observado que predominan los diterpenos cíclicos, mientras que de los diterpenos de cadena abierta se conocen muy pocos. Entre los diterpenos acíclicos predominan los diterpenos hidroxilados, con dobles enlaces con geometría *trans*. Ejemplos de este tipo de terpenos se presentan en la figura 10. El ácido centipédico, constituyente de *Centipeda orbicularis* (Compositae). El peicelinendiol, un componente minoritario de *Peucedanum oreoselinum* (Umbelliferae), es un diterpeno irregular formado por la unión

cabeza-cabeza de dos unidades de geraniol. De la planta mexicana *Montanoa tomentosa*, que ha sido utilizada en medicina tradicional como abortivo, se aislaron dos éteres cíclicos inusuales, que también son diterpenos, el zoapatanol y el montanol. De *Magydaris panacifolia* (Umbelliferae) se aisló un compuesto con esqueleto de α -ciclogeraniol, denominado magyardiendiol. El helicallen-16-ol y -16-al son constituyentes de *Helichrysum calliconum* (Compositae); y derivan de geraniol- α -terpineno. El 18- y el 19-hidroxigeraniol geraniol son un par de alcoholes derivados del geraniolgeraniol que se obtuvieron de especies de *Croton Kerri* (Euphorbiaceae). La epoxyelegantolona fue obtenida de *Bifurcaria bifurcata* (Cystoseiraceae). Otros ejemplos importantes son la vitamina A y el fitol, constituyente importante de la moléculas de clorofila y de las vitaminas E y K₁ (fig. 10).

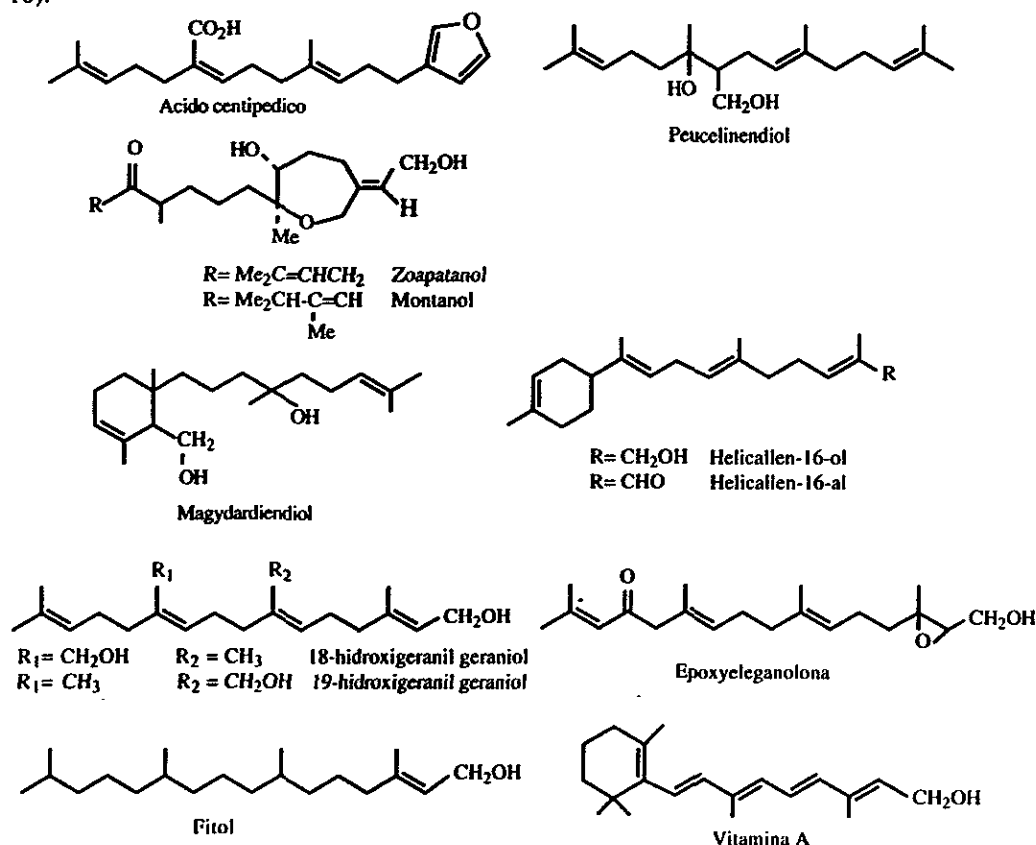


Figura 10. Compuestos característicos del grupo de diterpenos de cadena abierta.

Muchos diterpenos con estructuras muy diversas y particulares son de gran interés por su comportamiento químico, por su potencial para ser empleados como marcadores taxonómicos y sobre todo por las interesantes propiedades biológicas que presentan, entre las que destacan; la actividad reguladora del crecimiento vegetal que tienen las giberelinas, debido a que promueven la elongación celular, la formación de ARN, y la síntesis de proteínas. El fitol es parte integral de la clorofila, su cadena lipofílica es necesaria para la actividad biológica. El retinol como vitamina A, y sus compuestos relacionados, están involucrados en la función visual, tanto de los grandes mamíferos, como de los insectos e incluso de los peces. También se ha visto que algunos alcoholes diterpénicos aislados de especies de *Croton* presentan actividad inhibitoria contra las úlceras pépticas. Algunos otros diterpenos del tipo ent-kaurano tienen actividad antialimentaria para insectos. En cambio, otros diterpenos presentan propiedades altamente tóxicas que pueden ser aprovechadas como insecticidas (12-14, 19).

Dentro del grupo de los terpenos, los triterpenos son productos naturales cuya estructura consta de 30 átomos de carbono provenientes de seis unidades de isopreno. Estos se agrupan como triterpenos de cadena abierta, tricíclicos, tetracíclicos y pentacíclicos. Entre los primeros tenemos al escualeno (fig. 11), aislado por primera vez de aceite de hígado de tiburón. Su estructura se puede considerar formada por dos unidades de farnesol. Debido a esto se tiene en la parte central de la molécula una unión irregular de isoprenos. Este triterpeno es de gran importancia biológica por ser el precursor de los demás triterpenos y esteroides. El escualeno es transformado en lanosterol y cicloartenol vía ciclización de su epóxido terminal, tal como se muestra en la figura 11 (14).

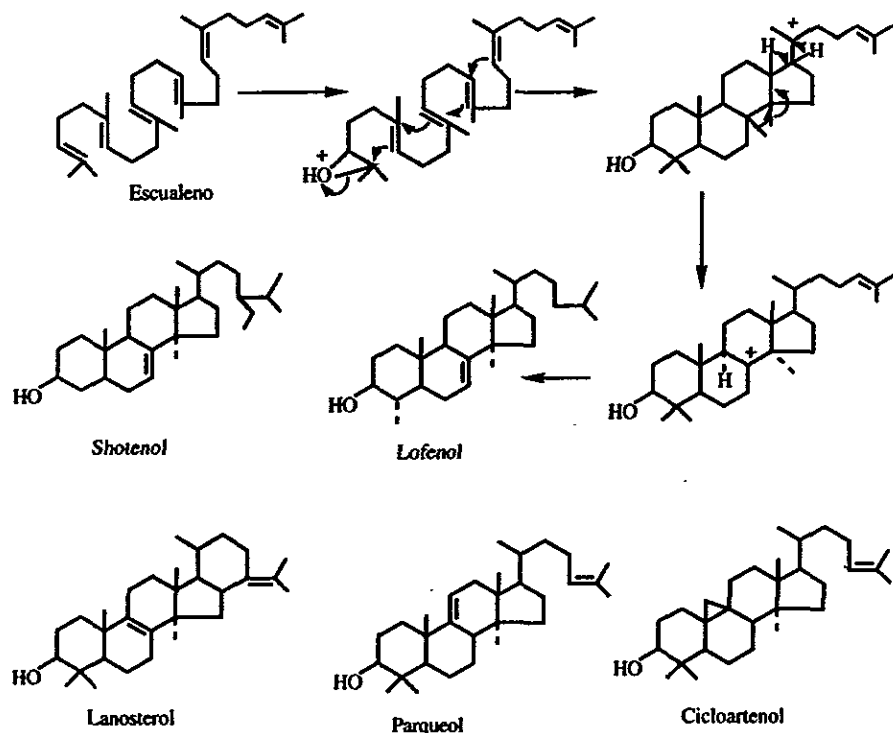


Figura 11. Ciclización del epóxido de escualeno para llevar a cabo la biosíntesis de triterpenos.

El epóxido de escualeno comienza a ciclarse al ser atacado por un protón dando un intermediario, cargado positivamente en C-20. Este intermediario inicia una serie de cambios, comenzando con una transferencia del protón de C-17 a C-20, sigue una migración del protón de C-13 a C-17. La posición C-13 que quedó vacante es ahora ocupada por el metilo que se encontraba en C-14, posición que inmediatamente es ocupada por el metilo que estaba en C-8. Después de esta serie de migraciones queda una carga positiva en C-8. Este catión se puede estabilizar de diferentes maneras dando lugar a distintos triterpenos o esteroides. Si elimina el protón de C-7 dará origen a los triterpenos o esteroides como el lofenol o el shotenol. Si el hidrógeno que se elimina es el de C-9, dará origen al lanosterol, pero si la carga positiva emigra a C-9 podrá dar lugar a la formación de los triterpenos con doble ligadura en C-9, como el parqueol. Esta carga también podrá

estabilizarse formando un anillo de ciclopropano con el metilo angular de C-10 y producirá triterpenos de tipo cicloartenol (12-14).

Estos cationes también pueden dar lugar a compuestos como alobetulina, germanicol, δ -amirina y β -amirina, taraxerol, multiflorenol, glutinol y friedelina (fig. 12).

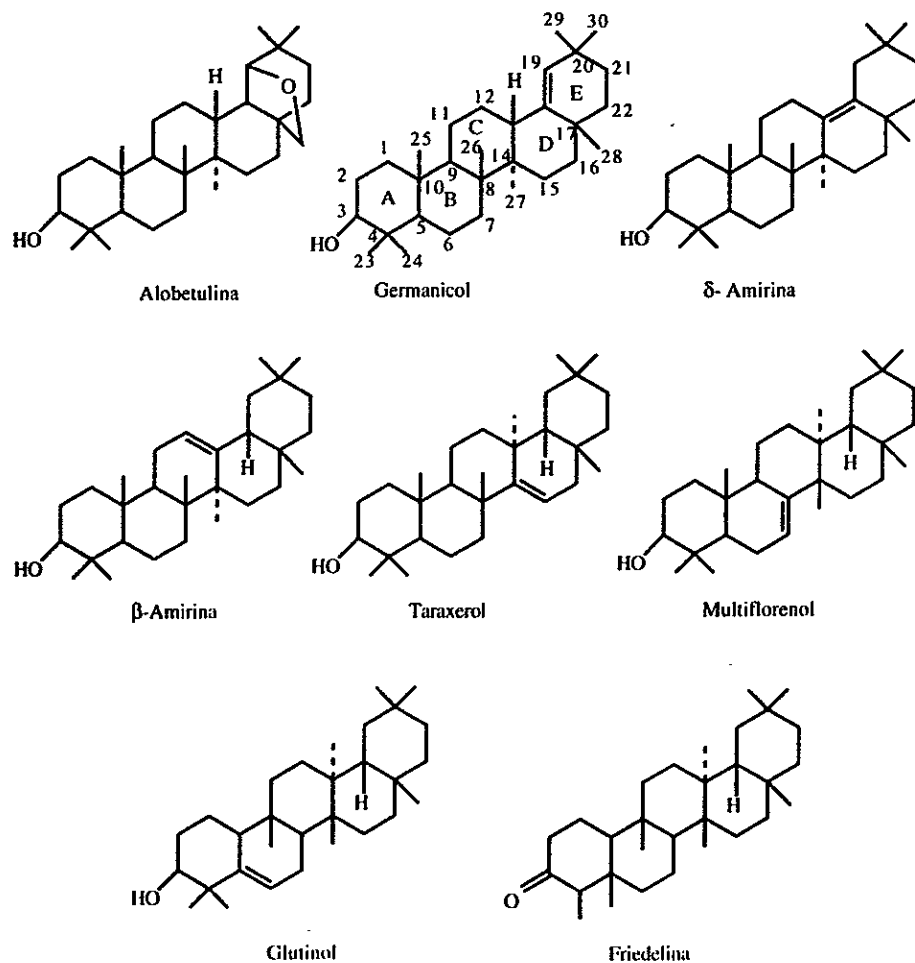


Figura 12. Algunos ejemplos de triterpenos derivados de la ciclización del escualeno.

Los triterpenos pentacíclicos se dividen a su vez en tres subgrupos principales, el del ursano (α -amirina), el del oleanano (β -amirina), y el del lupeol (fig. 13). En los dos

primeros subgrupos se encuentran sustancias con esqueleto formado por cinco anillos de seis miembros, mientras que las del subgrupo del lupeol, se caracterizan por poseer cuatro anillos de seis miembros y uno de cinco.

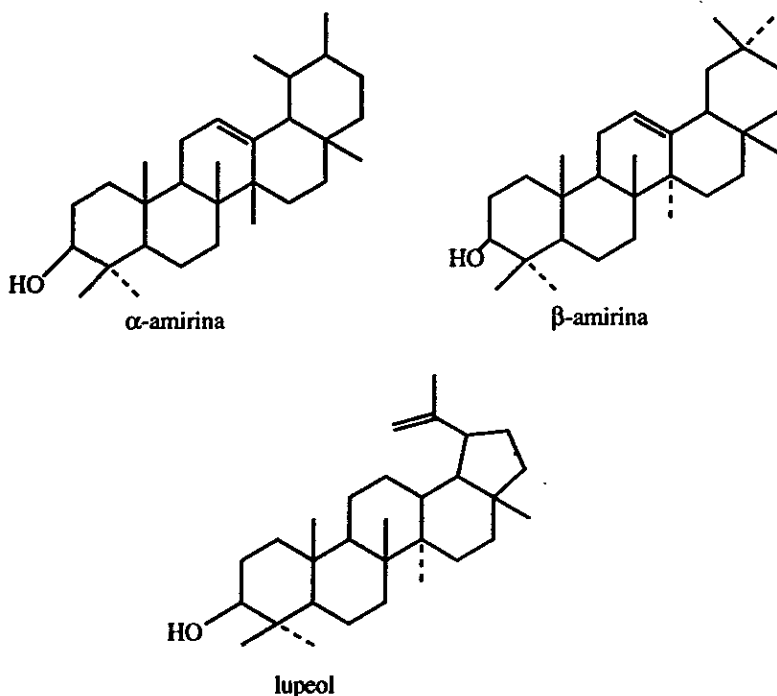


Figura 13. Clasificación de los triterpenos pentacíclicos según el número de carbonos que conforman cada anillo.

Los triterpenos se distribuyen ampliamente en la naturaleza, tanto en plantas como en animales. Se consideran como sustancias precursoras de esteroides, por ejemplo, el lanosterol da lugar al colesterol, un compuesto relevante en el metabolismo biológico. Entre otras funciones biológicas, se encuentran la de promover el crecimiento celular y formar parte de las membranas celulares, aunque existen otros triterpenos que muestran actividad citotóxica (1, 13, 19).

3. CUMARINAS.

Las cumarinas constituyen un grupo importante de compuestos naturales; se les considera derivados de la lactona del ácido *o*-hidroxicinámico, usualmente llamada cumarina (fig. 14).

La mayoría de las cumarinas conocidas se encuentran libres en las plantas; aunque también se han aislado como glicósidos. Las cumarinas se localizan con frecuencia en los extractos de plantas de las familias Orchidaceae, Rutaceae y Umbeliferae, y en cualquiera de los órganos vegetales, desde las raíces hasta flores y frutos. Las cumarinas son sustancias fluorescentes, comúnmente fotosensibles. Hay muchos de éstos compuestos con una o varias cadenas de isopreno, como la suberosina y colombianetina, o con un anillo furano (furanocumarinas) (1, 3).

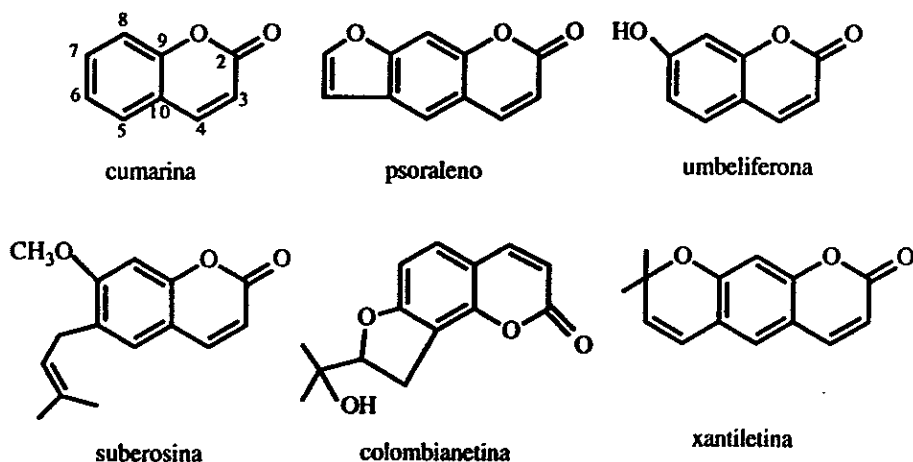


Figura 14. Se presentan ejemplos de algunos de los compuestos más representativos del grupo de las cumarinas.

Pese a su abundancia en la naturaleza y a su diversidad estructural, su papel fisiológico sólo se conoce parcialmente. Se ha encontrado que pueden ser anticoagulantes (cumarina y dicumarol), espasmolíticas e hipercolesterémicas o inhibidoras del crecimiento vegetal (1, 3).

B. ANTECEDENTES SOBRE LA FAMILIA COMPOSITAE.

La familia Compositae o Asteraceae comprende trece tribus, según lo presenta la siguiente tabla:

Tabla III. Tribus de la familia Compositae, según clasificación de Bentham (1823).*

1. Vernonieae (Vernoniaceae)
2. Eupatorieae (Eupatoriaceae)
3. Astereae (Asteroideae)
4. Inuleae (Inuloideae)
5. Heliantheae (Helianthoideae)
6. Helenieae (Helianthoideae)
7. Anthemideae
8. Senecioneae (Senecionideae)
9. Calenduleae (Calendulaceae)
10. Arctotideae
11. Cynareae (Cynaroideae)
12. Mutisieae (Mutisaceae)
13. Cichorieae (Cichoriaceae)

* Los nombres originales para las tribus se dan entre paréntesis (20).

La familia Compositae ha sido ampliamente estudiada desde el punto de vista químico, debido a que se caracteriza por las propiedades curativas de un gran número de sus especies, por ejemplo, la Manzanilla (*Matricaria recutita*) se emplea principalmente para trastornos de carácter digestivo como vómito, diarrea, cólicos, dolor de estómago, también se emplea en padecimientos ginecobstétricos. La Mercadela (*Calendula officinalis*) se emplea contra infección y dolor de garganta, y como desinfectante y desinflamante de heridas. El Pápalo (*Porophyllum ruderale*) principalmente se emplea como laxante, mientras que el Pericón (*Tagetes lucida*) se emplea en trastornos digestivos, la Mejorana (*Ageratum conyzoides*) se utiliza como un remedio para la gonorrea, etc.(4).

Se ha visto que varias clases de compuestos son característicos de esta familia, entre ellos se encuentran las lactonas sesquiterpénicas con base terpenoide, los poliacetilenos derivados de ácidos grasos y los fructanos polisacáridos, de hecho las compuestas son excepcionalmente ricas en metabolitos secundarios con gran número de estructuras complejas.

La distribución de las diferentes clases de constituyentes químicos a lo largo de las tribus que conforman esta familia se presentan en la tabla IV (20).

Tabla IV. Distribución de los constituyentes químicos en las tribus de la familia de las Compuestas.

TIPO DE COMPUESTO	LOCALIZACION Y/O ACTIVIDAD BIOLOGICA.
<i>A. Presentes en todas las tribus</i>	
1. Fructanos tipo inulina	En órganos de almacenamiento
2. Ácidos grasos característicos	En aceites de semillas
3. Lactonas sesquiterpénicas	Principalmente en hojas de sabor amargo
4. Alcoholes triterpénicos pentacíclicos	Como ésteres en el pericarpio de las frutas
5. Ésteres del ácido cafeico	En hojas, la cinarina es un diurético
6. Flavonoides metilados	En hojas y flores (con pigmentos amarillos)
<i>B. Presentes en muchas tribus</i>	
7. Compuestos acetilénicos	En raíces y hojas; tienen actividad antimicrobiana
8. Aceites esenciales, incluyendo monoterpenos fenólicos	En hojas y frutos
9. Ciclitoles	En hojas
10. Cumarinas	En hojas y flores
<i>C. Presentes en pocas tribus</i>	
11. Poliisopreno	En raíces
12. Alcaloides tipo pirrolizidina	En hojas, altamente tóxicos
13. Ácidos triterpénicos	Libres en flores o combinado con azúcares (como saponinas) en hojas
14. Diterpenos	En toda la planta
15. Glucósidos cianogénicos	En hojas y frutos, son tóxicos
16. Pigmentos antoclor	En flores amarillas
17. Cromenos	En hojas y raíces, insecticidas
18. Amidas de ácidos grasos	En raíces, insecticidas.

C. ANTECEDENTES DEL GENERO *Perymenium*.

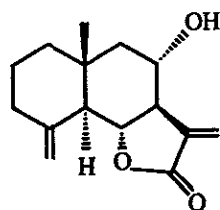
De las trece tribus que conforman la familia de las compuestas, la más abundante es la Inulae, seguida por la Heliantheae, la cual esta más diversificada, ya que la conforman aproximadamente 150 géneros y 2500 especies (21). Uno de estos géneros es *Perymenium*, que se agrupa dentro de la subtribu *Helianthinae*, subtribu que se distingue por sus pappus^(a) característicos y sus flores amarillas con cabezas radiadas fértiles (22).

El género *Perymenium* fue descrito por Schrader en 1830 con una sola especie; *Perymenium discolor*. En una publicación reciente (22) se hace una revisión botánica del género con las especies que se han encontrado distribuidas en México y América Central, en esta se reconocen 33 especies y 13 variedades (Tabla V). Este género, presenta una estrecha relación con los géneros; *Melanthera*, *Zexmenia*, *Lasianthaea*, *Wedelia*, *Aspilia* y *Steiractinia*, aún así existen importantes criterios históricos y morfológicos para mantener separados y caracterizados estos géneros. El hábitat que los rodea da lugar a una variación considerable en ciertos géneros, por ejemplo; en el caso de *Perymenium* algunas especies pueden ser árboles robustos (*P. grande* var. *grande*), arbustos pequeños (*P. grande* var. *nelsonii*), arbustos medio leñosos con tallos aéreos de vida corta (*P. globosum*), enredaderas leñosas con tallos aparentemente de vida larga (*P. gymnomoloides*) o hierbas con tallos de floración anual y un tronco leñoso persistente (*P. Jaliscence*) (22).

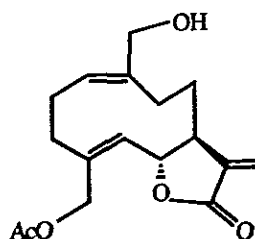
(a) (L. pappus, semilla o fruto lanoso o pelos de ciertas plantas). Escamas o pelos que representan un cáliz reducido en las flores de las compuestas, y que sirve como aparato de vuelo para la diseminación por medio del aire. Barbour G.M. Botánica. Limusa. 1985. México.

Tabla V. Distribución del Género *Perymenium* en México y América Central (22).

ESPECIE	DISTRIBUCION GEOGRAFICA	ALTITUD (m)	EPOCA DE FLORACION
<i>P. grande</i> var. <i>grande</i> H. (1979)	Guatemala, Honduras y El Salvador	900-3000	Sep-Abr
<i>P. grande</i> var. <i>nelsonii</i> R. & G. (1985)	Oaxaca, Chiapas, Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicaragua y Costa Rica.	250-2200	May-Dic
<i>P. nicaraguense</i> B. (1917)	Guatemala, Honduras y Nicaragua	---	---
<i>P. uxoris</i> M. (1970)	Nayarit y Centro América	Bajas	---
<i>P. jalapanum</i> S. (1939)	Guatemala	2000-2300	Dic-May
<i>P. gymnomoloides</i> L. (1961)	San Luis Potosí, Campeche, Puebla Veracruz, Bélice y Guatemala	100-1000	Dic-May
<i>P. episcopale</i> F. (1961)	Guerrero	1000	---
<i>P. reticulatum</i> F. (1935)	Edo. de México	1500-2500	Jun-Nov
<i>P. pringlei</i> var. <i>pringlei</i> R. & G. (1989)	Jalisco y Sinaloa	350-1400	Ago-Oct
<i>P. pringlei</i> var. <i>lanceifolium</i>	Sinaloa y Durango	1000-2000	Ago-Oct
<i>P. pringlei</i> var. <i>croceum</i> R. & G. (1987)	Chihuahua, Durango y Nayarit	---	Jun- Ago
<i>P. gracile</i> H. (1866)	Veracruz, Oaxaca y Guatemala	900-2400	Jul-Oct
<i>P. klattianum</i> F. (1905)	Veracruz y Chiapas	1200-1500	May-Dic
<i>P. discolor</i> S. (1830)	Oaxaca y Puebla	1500-2500	Jun-Sep
<i>P. stenophyllum</i> B. (1908)	Chihuahua, Sonora y Sinaloa	800-1600	Ago-Oct
<i>P. ovatum</i> B. (1908)	Puebla y Oaxaca	---	---
<i>P. ghiesbreghtii</i> R&G (1899)	Chiapas y Guatemala	650-3800	Mar-Jun
<i>P. pinetorum</i> B. (1924)	Chiapas	---	Jun-Jul
<i>P. chloroleucum</i> B. (1937)	Chiapas y Guatemala	1700-2500	Sep-Dic
<i>P. globosum</i> var. <i>globosum</i> R.	Jalisco, Edo. de México	1200-2200	Oct-Jun
<i>P. globosum</i> var. <i>rotundisquamum</i> F. (1924)	Guerrero y Oaxaca	250-1200	Sep-Nov
<i>P. macrocephalum</i> G. (1903)	Guerrero	800-1700	Jul-Sep
<i>P. alticola</i> M. (1972)	Jalisco y Michoacán	2000-2900	---
<i>P. berlandieri</i> DC. (1835)	D.F., Puebla, Morelos e Hidalgo	2000-3500	Ago-Ene
<i>P. hintonii</i> M. (1972)	Michoacán y Edo. de México	700-1000	Ago-Oct
<i>P. beckeri</i> F. (1974)	Sinaloa	---	Sep
<i>P. mendezii</i> var. <i>verbesinoides</i> (DC) F. (1836)	Guerrero, Edo. de México, Morelos y Puebla	750-2100	Jul-Oct



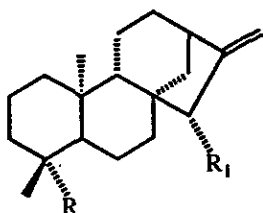
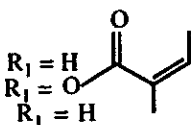
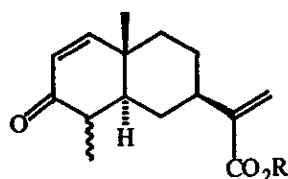
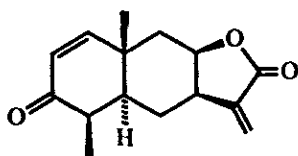
(VI)



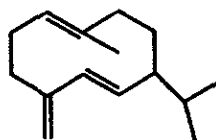
(VII)

Figura 16. Lactonas sesquiterpénicas obtenidas de *Perymenium mendezii*.

De la especie *featherstonei*, recolectada en Perú, se aislaron: ácido *ent*-kaurénico (VIII) y sus derivados 15 α -angeloiloxi (IX) y *ent*-kauren-19-ol (X), dos cetoácidos epiméricos derivados del eudesmano (XI) y (XIa), la eudesmanólida 4 α ,15-dihidroencelina (XII), además de germacreno D (XIII). Estas estructuras se presentan a continuación en la figura 17 (26).

(VIII) R= CO₂H(IX) R= CO₂H(X) R= CH₂OHR₁ = HR₁ = OR₁ = H(XI) R= H 4 α -H(XIa) R= H 4 β -H

(XII)



(XIII)

Figura 17. Metabolitos aislados a partir de *Perymenium featherstonei*.

A partir de *Perymenium discolor* Schrader, se aislaron tres derivados del kaurano y ácido peridiscólico, el cual es un sesquiterpeno para el que se propuso la estructura XIV (fig. 18). De *Perymenium ghiesbreghtii* Robins & Greenm, se aisló 7- hidroxí cumarina,

esta última también es conocida como hidrangina ó umbeliferona (estructura XV, fig. 18)(27, 28).

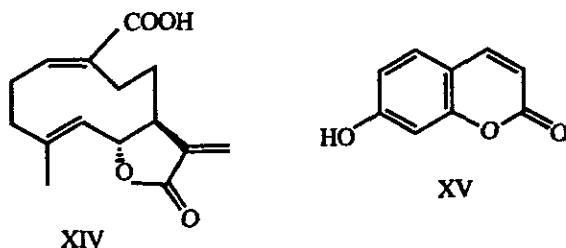


Figura 18. Melampólida aislada de *Perymenium discolor*; a la cual se le asignó el nombre de ácido peridiscólico (XIV). De *P. ghiesbreghtii* se aisló una cumarina ya conocida como 7-hidroxi cumarina (XV).

El último informe que se tiene es acerca de la planta recolectada en Morelos (México) *Perymenium berlandieri*. De las partes aéreas de esta planta se aislaron dos germacrólidas, las cuales se presentan a continuación en la figura 19 (29).

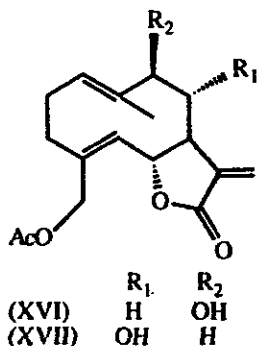


Figura 19. Germacrólidas aisladas de *Perymenium berlandieri*, 15-acetil estenofilólida, XVI y 15-acetoxi-8 α -hidroxicostunólida, XVII.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Desde épocas antiguas, el hombre ha recurrido a la utilización de los vegetales para satisfacer sus necesidades de alimentación, vestido, vivienda y medicinas. En este último aspecto ha aprendido a seleccionar a través del tiempo aquellas plantas que le son útiles para uno u otro padecimiento, y de esta manera la mayoría de las culturas han llegado a tener un conocimiento amplio de las plantas medicinales de su región, así como de su aplicación (1, 2). Sin embargo, no a todas las plantas se les conoce un uso medicinal, o de cualquier otro tipo, y no por ello su estudio, ya sea biológico, farmacológico o químico carece de importancia.

La familia Compositae o Asteracea ha sido ampliamente estudiada desde el punto de vista químico debido a las propiedades curativas que poseen un gran número de sus especies. De aquí se desprende la importancia de realizar estudios quimiotaxonómicos de los metabolitos secundarios en plantas de la familia Compositae, a la cual pertenece el género *Perymenium* (3, 4), cuyas especies no tienen ningún uso documentado, pero que son parte del patrimonio nacional, ya que la mayoría son endémicas de México. Es por esto que el presente estudio se encamina al análisis de la composición química de *Perymenium hintonii* Mc Vaugh, empleando métodos químicos y espectroscópicos para elucidar las estructuras de los compuestos aislados, y así contribuir al estudio quimiotaxonómico de la familia de las Compuestas.

IV. OBJETIVOS.

A. GENERAL.

Aislar los metabolitos secundarios de *Perymenium hintonii* Mc. Vaugh, una planta perteneciente a la familia Compositae, y elucidar su estructura molecular.

B. PARTICULARES.

Realizar una extracción de los compuestos químicos de la planta empleando disolventes orgánicos .

Aislar y purificar los compuestos orgánicos, empleando para ello diversas técnicas, tales como; diferentes tipos de cromatografía, cristalización, etc.

Elucidar la estructura molecular mediante técnicas modernas de análisis en química orgánica como son: Resonancia Magnética Nuclear, Espectrometría de masas y Espectrometría de Infrarrojo.

Comparar la composición química de esta especie, con las informadas en la bibliografía para otras especies de *Perymenium*.

V. HIPOTESIS.

Empleando técnicas modernas de aislamiento, caracterización e identificación de *productos naturales*, y con base en los antecedentes bibliográficos informados para el género *Perymenium*, se espera aislar y caracterizar compuestos diterpénicos derivados del kaurano, así como lactonas sesquiterpénicas con esqueleto de germacrano y eudesmano.

VI. PARTE EXPERIMENTAL.

A) MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.

A.1. MATERIAL.

1. Columna de vidrio de distintos diámetros.
2. Matraces Erlenmeyer de 10-500 ml (Pyrex).
3. Matraces Kitasato de 25-1000 ml (Pyrex).
4. Matraces bola de 50-1000 ml (Pyrex).
5. Vasos de precipitado de vidrio de 50-1000 ml (Pyrex)
6. Probetas de vidrio de 10-500 ml (Pyrex).
7. Pipetas graduadas de 5 y 10 ml (Pyrex).
8. Pipetas Pasteur con bulbo.
9. Cámaras de elución.
10. Viales de diferentes tamaños.
11. Embudo Hirsh.
12. Soporte Universal.
13. Pinzas de tres dedos con nuez.
14. Anillo de hierro.

A.2. EQUIPO.

1. Balanza semianalítica. Mettler PE 3600.
2. Balanza analítica. Mettler Toledo AG 104.
3. Molino. Pulvex 100.
4. Rotavapor. Yamato RE 50.
5. Baño de vapor. Yamato RE 50.
6. Recirculador de agua. Sargent Welch.
7. Parrilla de calentamiento. Osyma 17 v.
8. Fisher Johns. Hoffman 50-60 ciclos.
9. Fisher Joohns Mel-Temp II
10. Lámpara de UV 254/366 nm. Spectroline. Modelo CX-20.
11. Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear. FT-80 Varian y HA-300 Varian.
12. Espectrómetro de Masas. Hewlett-Packard 598513.
13. Espectrómetro de Infrarrojo. Perkin Elmer Mod. 337.

A.3. REACTIVOS.

1. Placas para cromatografía en capa fina. 20 x 20 cm Alugram sil G/UV 254, 0.25 mm.
2. Sílica Gel. Merck 60.
3. Celita.
4. Carbón activado. Sigma de México.
5. Disolventes: Metanol, acetona, acetato de etilo, cloroformo y hexano.
6. Sulfato cérico.
7. Acido sulfúrico.

B) RECOLECCION DE LA ESPECIE VEGETAL.

La planta fue recolectada en agosto de 1996 en el estado de Michoacán; 1.5 Km al sur de El Malacate y 4.5 Km al sur de Tuxpan, por la carretera a Zitácuaro. Fue identificada en el Instituto de Biología de la UNAM. Una muestra de esta especie se encuentra en el Herbario Nacional de la UNAM (MEXU 703747).

C) EXTRACCION.

Se partió de 1.21 Kg de partes aéreas (tallos, hojas y flores) secas y molidas, las cuales se extrajeron con acetona en columna de vidrio. El extracto se concentró a baja presión en un rotavapor. Se obtuvieron 50.72 g de extracto.

Se realizó una segunda extracción con metanol, que después de concentrar, dió un total de 74.2 g de extracto seco.

Se reunieron ambos extractos, debido a que al compararlos por CCF, se encontró que presentaban una composición química similar.

D) AISLAMIENTO Y PURIFICACION.

Al extracto se le realizó una partición disolviéndolo en una mezcla MeOH-H₂O (4:1) y extrayendo sucesivamente con porciones de hexano; obteniendo una fase polar y una no polar. Cada una fue concentrada a baja presión, hasta sequedad. Se obtuvieron 91.05 g de extracto polar y 34.27 g de extracto no polar (véase la figura 20).

El extracto hexánico se percoló a través de carbón activado empleando acetona como eluyente. El residuo libre de clorofilas se sometió a cromatografía en columna de sílica gel, usando como fase móvil hexano y mezclas de Hex-AcOEt, de polaridad creciente. De las fracciones obtenidas se aislaron y purificaron los siguientes compuestos químicos:

* *Obtención de friedelina (A)* (triterpeno). Las fracciones eluidas con hexano se recromatografiaron nuevamente en este disolvente. Después de cristalizar en cloroformo se obtuvieron 6.5 mg de cristales blancos con p. f. de 265-269°C (lit. 262-265°C)^(h)(30).

^(h) Los puntos de fusión no están corregidos.

IR $\nu_{\text{máx}}$ (CHCl_3): 2942, 2871, 1704, 1602, 1464 y 1390 cm^{-1} .

EMIE m/z (% int. rel.): 426 $[\text{M}]^+(\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}, 15)$, 411 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+(12)$, 341 $[\text{C}_{25}\text{H}_{41}]^+(8)$, 302 $[\text{C}_{21}\text{H}_{40}\text{O}]^+(24)$, 273 $[\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{O}]^+(34)$, 205 $[\text{C}_{15}\text{H}_{25}]^+(30)$, 125 $[\text{C}_9\text{H}_{17}]^+(52)$, 69 $[\text{C}_5\text{H}_9]^+(100)$.

*** Obtención de 3 β -friedelanol (B) (triterpeno)**

De fracciones de la columna anterior se aislaron unos cristales blancos, los cuales se lavaron con AcOEt caliente y se disolvieron en CHCl_3 caliente, cristalizando en frío. Se obtuvieron 34.2 mg de cristales blancos, nacarados, con punto de fusión de $278-280^\circ\text{C}$ (lit. $279-283^\circ\text{C}$)(31, 32).

IR $\nu_{\text{máx}}$ (CHCl_3): 3626, 2938, 2867, 1460 y 1389 cm^{-1} .

EMIE m/z (% int. rel.): 428 $[\text{M}]^+(\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}, 44)$, 413 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+(43)$, 304 $[\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{O}]^+(7)$, 275 $[\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{O}]^+(56)$, 165 $[\text{C}_{12}\text{H}_{21}]^+(100)$, 177 $[\text{C}_{13}\text{H}_{21}]^+(42)$ y 125 $[\text{C}_9\text{H}_{17}]^+(73)$.

**** Acetilación de 3 β -friedelanol (Ba).**

105.1 mg de aguas madres se acetilaron por el procedimiento usual empleando piridina/anhídrido acético, con un tiempo de reacción de 6 hrs sobre un baño de vapor. El producto final se purificó en una CC empleando como fase móvil hexano y una mezcla de Hex-AcOEt (19:1). El triterpeno acetilado se cristalizó en mezcla de estos disolventes. Se obtuvieron 18.7 mg de cristales blancos, el punto de fusión determinado en tubo capilar fue de $290-291.5^\circ\text{C}$ (lit. $280-290^\circ\text{C}$)(31-32).

*** Obtención de β -sitosterol (C) (esterol).**

De las fracciones eluidas con Hex-AcOEt 19:1 se purificaron por cristalización por par de disolventes (Hex-AcOEt) 2.37 g de cristales ligeramente amarillos, con punto de fusión de $139-142^\circ\text{C}$ (lit. 140°C)(33). El compuesto fue identificado por comparación en CCF con una muestra auténtica, con un $R_f=0.3$ (silica gel/ Hex-AcOEt 4:1/ sulfato cálcico).

Posteriormente se trabajó con el extracto polar, sometiéndolo a una cromatografía en columna, utilizando vacío para su desarrollo. Como adsorbente se utilizó sílica gel 60, y como eluyente mezclas de Hex-AcOEt de polaridad creciente. La separación cromatográfica fue seguida mediante cromatografía en capa fina (CCF).

Una vez reunidas las fracciones de acuerdo al aspecto de sus correspondientes CCF, se procedió a trabajar las mezclas obtenidas por separado. De esta manera se obtuvieron los siguientes productos:

*** Obtención de escopoletina (D) (cumarina).**

Las fracciones menos polares de la columna principal se sometieron a una CC con fase móvil CHCl_3 -AcOEt 95:5. Después de cristalizaciones sucesivas en Hex-AcOEt se obtuvieron 23.1 mg de escopoletina como un polvo amarillo pálido con p.f. de 208-211°C (lit. 204 °C)(33).

IR $\nu_{\text{máx}}$ (nujol): 3336, 1703, 1627, 1607 y 1564 cm^{-1} .

EMIE m/z(% int. rel.): 192 $[\text{M}]^+(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4, 100)$, 177 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+(60)$, 164 $[\text{M}-\text{CO}]^+(35)$ y 149 $[\text{M}-\text{CO}-\text{CH}_3]^+(55)$.

*** Obtención de 4-O-metil buteina (E) (3, 2',4'-trihidroxi-4-metoxichalcona).**

De la columna principal, en las fracciones eluidas con Hex-AcOEt 7:3 precipitaron cristales café oscuros, que después de varias recristalizaciones en mezclas de Hex-AcOEt, dan lugar a 128.1 mg de compuesto puro en forma de cristales amarillo mostaza que tienen un punto de fusión de 200-205°C (en la literatura no se describen sus propiedades físicas).

IR $\nu_{\text{máx}}$ (nujol): 3315, 1706, 1620, 1642, 1569, 1510 y 1462 cm^{-1} .

EMIE m/z(% int. rel.): 286 $[\text{M}]^+(\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_5, 100)$, 285 $[\text{M}-\text{H}]^+(35)$, 271 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+(10)$, 269 $[\text{M}-\text{OH}]^+(11)$, 257 $[\text{M}-\text{CHO}]^+(4)$, 243 $[\text{M}-\text{CH}_3\text{CO}]^+(5)$, 177 $[\text{C}_{10}\text{H}_9\text{O}_3]^+(4)$, 163 $[\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_3]^+(17)$, 150 $[\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_2]^+(27)$, 137 $[\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_3]^+(70)$ y 43 $[\text{CH}_3\text{CO}]^+(10)$.

**** Acetilación de 4-O-metil buteina (Ea).**

21 mg de compuesto se disolvieron en 0.5 ml de piridina, y se agregaron 0.5 ml de anhídrido acético. La reacción se siguió por CCF durante 94 hrs, después se evaporaron los reactivos aplicando aire directamente sobre la reacción, y se adicionó acetona para eliminar

por co-distilación cualquier resto de disolvente. El producto acetilado se purificó por CC con un sistema Hex-AcOEt 3:1. Se obtuvieron 22.9 mg de producto como un aceite amarillo claro (el compuesto no se encuentra descrito en la literatura).

EMIE m/z (% int. rel.): 412 $[M]^+(C_{22}H_{20}O_8, 37)$, 370 $[M-CH_2=CO]^+(56)$, 328 $[M-2(CH_2=CO)]^+(79)$, 286 $[M-3(CH_2=CO)]^+(59)$, 271 $[286-CH_3]^+(9)$, 269 $[286-OH]^+(12)$, 257 $[286-CHO]^+(12)$, 243 $[286-CH_3CO]^+(5)$, 177 $[C_{10}H_9O_3]^+(7)$, 163 $[C_9H_7O_3]^+(12)$, 150 $[C_9H_{10}O_2]^+(21)$, 137 $[C_7H_5O_3]^+(100)$ y 43 $[CH_3CO]^+(44)$.

*** Obtención de ($\pm$)7-O-metil eriodictyol (F) (5,3',4'-trihidroxi-7-metoxi flavanona).**

Las fracciones eluidas con mezclas de Hex-AcOEt 7:3 de la columna principal, contenían la flavanona 7-O-metil eriodictyol. Este compuesto se purificó por cristalizaciones sucesivas con mezclas de Hex-AcOEt. Se obtuvieron 20.8 mg de cristales ligeramente amarillos, con p. f. de 222-225°C (lit.222-223.5°C)(34).

UV (MeOH) $\lambda_{m\acute{a}x}$: 287 nm máximo y 330 nm inflexión (lit. 287 máximo y 340 inflexión).

IR $\nu_{m\acute{a}x}$ (nujol): 3384, 3188, 1637, 1578 y 1497 cm^{-1} .

$[\alpha]_D$ (MeOH): No presenta actividad óptica.

EMIE m/z (% int. rel.): 302 $[M]^+(C_{16}H_{14}O_6, 100)$, 301 $[M-H]^+(40)$, 285 $[M-OH]^+(8)$, 284 $[M-H_2O]^+(6)$, 259 $[M-CH_3CO]^+(6)$, 193 $[C_{10}H_9O_4]^+(30)$, 180 $[C_9H_8O_4]^+(17)$, 167 $[C_8H_7O_4]^+(92)$, 136 $[C_8H_8O_2]^+(35)$, 123 $[C_7H_7O_2]^+(12)$, 110 $[C_6H_6O_2]^+(15)$, 95 $[C_5H_3O_2]^+(24)$ y 43 $[CH_3CO]^+(30)$.

**** Acetilación de ($\pm$)7-O-metil eriodictyol (Fa).**

20.4 mg de aguas madres de ($\pm$)7-O-metil eriodictyol en 0.5 ml de piridina se dejaron reaccionar con 0.5 ml de anhídrido acético durante 64 hrs a temperatura ambiente. La reacción se trabajó de igual manera a la descrita para la chalcona. El producto se purificó por CC eluida con Hex-AcOEt 4:1, y por cristalización (Hex-AcOEt). Se obtuvieron 10.7 mg de 5,3',4'-triacetil-7-metoxiflavanona, con punto de fusión de 157-163°C (el compuesto no se encuentra descrito en la literatura).

EMIE m/z (% int. rel.): 428 $[M]^+(C_{22}H_{20}O_9, 5)$, 386 $[M-CH_2=CO]^+(77)$, 344 $[M-2(CH_2=CO)]^+(34)$, 302 $[M-3(CH_2=CO)]^+(100)$, 301 $[302-H]^+(28)$, 285 $[302-OH]^+(3)$, 284 $[302-H_2O]^+(3)$, 259 $[302-CH_3CO]^+(4)$, 193 $[C_{10}H_9O_4]^+(14)$, 180 $[C_9H_8O_4]^+(32)$, 167 $[C_8H_7O_4]^+(37)$, 136 $[C_8H_8O_2]^+(21)$, 123 $[C_7H_7O_2]^+(3)$, 110 $[C_6H_6O_2]^+(4)$, 95 $[C_5H_3O_2]^+(4)$ y 43 $[CH_3CO]^+(36)$.

*** Obtención de tuxpanólida (G1) (diterpeno acíclico).**

De las fracciones eluidas con Hex-AcOEt 1:1 se aisló un aceite amarillo muy viscoso, el cual se purificó en una columna cromatográfica (sílica gel 60) empleando como eluyente Hex-AcOEt 3:1. Las impurezas coloridas que aún conservaba, se eliminaron por percolación a través de carbón activado.

Una vez purificado, el compuesto es un aceite, ligeramente amarillo, que se descompone. Esto se observó por CCF y por la intensidad del color amarillo que fue adquiriendo la muestra al paso del tiempo. El proceso de descomposición se retarda notablemente almacenando la muestra en refrigeración y protegiéndola de la luz. Se obtuvieron 1.5 g de compuesto puro.

$[\alpha]_D = -120.9^\circ$ (0.153 g/100 ml en $CHCl_3$).

IR ($CHCl_3$) ν_{max} : 3354, 1751, 1682, 1603, 1444, 1379, 1319, 1115, 1033, 1021, 972, 926 y 868 cm^{-1} .

EMIQ m/z (% int. rel.): 351 $[M+H]^+(C_{20}H_{30}O_5+1, 4)$.

EMIE m/z (% int. rel.): 332 $[M-H_2O]^+(1)$, 315 $[332-HO]^+(2)$, 314 $[332-H_2O]^+(2)$, 297 $[315-H_2O]^+(3)$, 296 $[314-H_2O]^+(2)$, 248 $[314-C_5H_6]^+(6)$, 230 $[296-C_5H_6]^+(21)$, 215 $[230-CH_3]^+(8)$, 182 $[C_{11}H_{18}O_2]^+(60)$, 164 $[182-H_2O]^+(100)$, 149 $[164-CH_3]^+(37)$, 146 $[164-H_2O]^+(14)$, 139 $[C_9H_{15}O]^+(32)$, 135 $[149-CH_2]^+(32)$, 121 $[135-CH_2]^+(51)$, 107 $[121-CH_2]^+(23)$, 97 $[C_7H_{13}]^+(30)$, 93 $[107-CH_2]^+(61)$, 83 $[C_6H_{11}]^+(48)$, 69 $[C_5H_9]^+(33)$, 55 $[C_4H_7]^+(57)$ y 41 $[C_3H_5]^+(56)$.

*** Obtención de isotuxpanólida (G2) (diterpeno acéfico).**

De las fracciones más polares de la columna que se empleó para purificar el compuesto anterior (G), se obtuvo otro compuesto también líquido, el cual se purificó empleando carbón activado. La muestra se almacenó en refrigeración, protegida de la luz. El compuesto puro se obtuvo como un aceite muy viscoso ligeramente amarillo, con un rendimiento de 827.7 mg.

$[\alpha]_D = -188.5^\circ$ (0.160 g/100 ml en CHCl_3).

IR (CHCl_3) ν_{max} : 3406, 1750, 1676, 1603, 1447, 1380, 1122, 1033, 975, 925 y 850 cm^{-1} .

EMIE m/z (% int. rel.): 350 $[\text{M}]^+$ ($\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_5$, no observado), 332 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+(2)$, 314 $[332-\text{H}_2\text{O}]^+(5)$, 296 $[314-\text{H}_2\text{O}]^+(8)$, 285 $[314-\text{CHO}]^+(6)$, 251 $[\text{M}-\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}]^+(7)$, 249 $[314-\text{C}_5\text{H}_5]^+(7)$, 230 $[296-\text{C}_5\text{H}_6]^+(17)$, 215 $[230-\text{CH}_3]^+(8)$, 182 $[\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_2]^+(70)$, 164 $[182-\text{H}_2\text{O}]^+(100)$, 149 $[164-\text{CH}_3]^+(50)$, 146 $[164-\text{H}_2\text{O}]^+(20)$, 139 $[\text{C}_9\text{H}_{15}\text{O}]^+(48)$, 135 $[149-\text{CH}_2]^+(34)$, 121 $[135-\text{CH}_2]^+(73)$, 107 $[121-\text{CH}_2]^+(37)$, 93 $[107-\text{CH}_2]^+(88)$, 83 $[\text{C}_6\text{H}_{11}]^+(68)$, 69 $[\text{C}_5\text{H}_9]^+(56)$, 55 $[\text{C}_4\text{H}_7]^+(84)$ y 41 $[\text{C}_3\text{H}_5]^+(93)$.

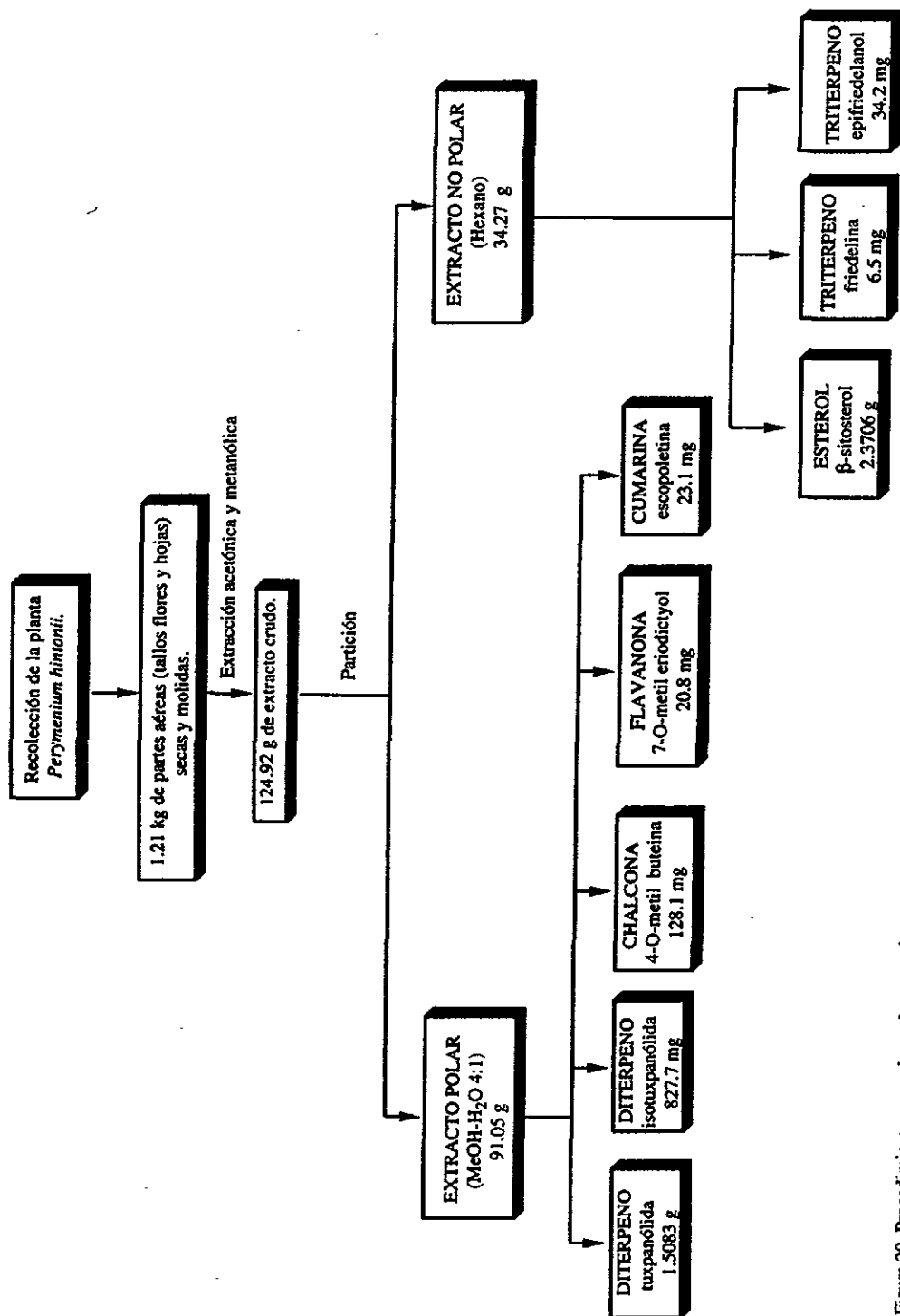


Figura 20. Procedimiento general para la extracción, aislamiento e identificación de los productos naturales de *Perymenium hintonii*.

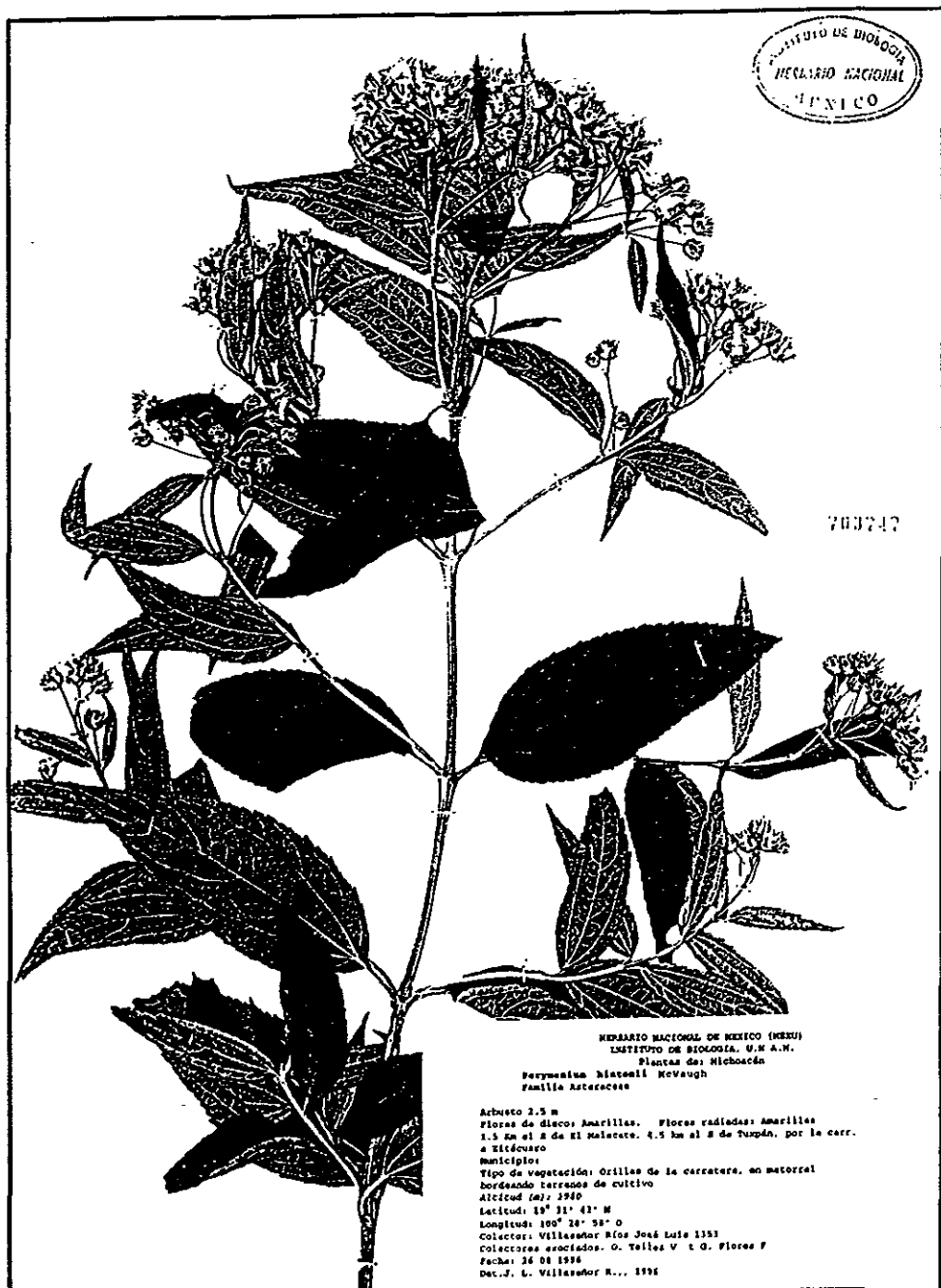


Figura 21. Muestra de las partes aéreas de *P. hintonii*, que se encuentra en el Herbario Nacional de la UNAM (MEXU 703747).

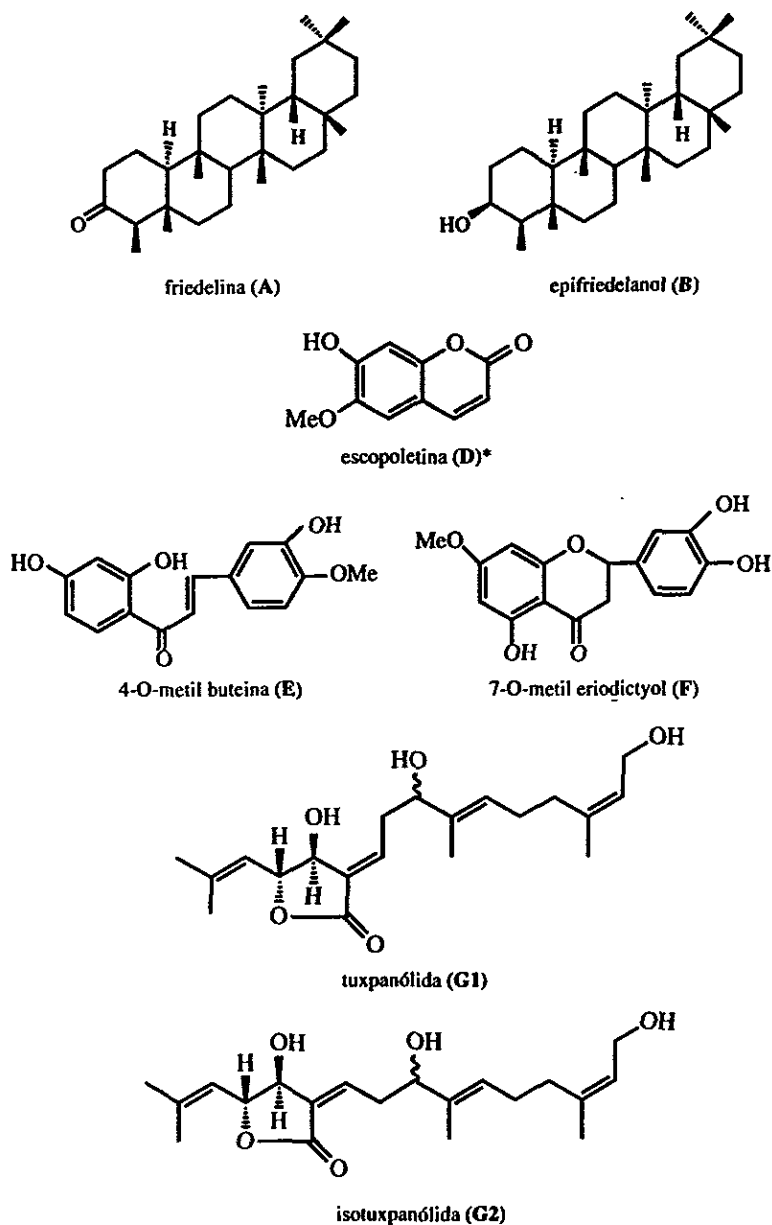


Figura 22. Compuestos aislados y purificados de *P. hintonii*. Los diterpenos tuxpanólida e isotuxpanólida no se han descrito en la bibliografía.

* El compuesto C es β -sitosterol.

VII. DISCUSION Y RESULTADOS.

De las fracciones poco polares del extracto hexánico se aisló β -sitosterol (D), un compuesto ampliamente distribuido en las plantas. Su identificación se llevó a cabo por comparación en CCF con una muestra auténtica, y por determinación del punto de fusión, que fue de 139-142°C (lit. p.f. β -sitosterol 140°C)(33).

Dos compuestos más se aislaron y purificaron de la fase hexánica; la friedelina (A) y el 3- β -friedelanol (B). El p.f. obtenido para la friedelina fue de 265-269°C (lit. 262-265°C)(30, 35). Presenta en IR^(c) una intensa banda en 2942 cm⁻¹ característica para carbonos alifáticos, una banda a 1720 cm⁻¹ debida a la presencia del grupo carbonilo, y señales en 1463 y 1390 cm⁻¹ que forman parte de los CH₂ y CH₃ que constituyen la estructura del triterpeno pentacíclico (36, 37).

Por EM se determinó un peso molecular de 426, el cual concuerda con la fórmula C₃₀H₅₀O. Los fragmentos m/z de 302 [C₂₁H₃₄O]⁺ y 273 [C₁₉H₂₉O]⁺ son característicos para ubicar al grupo carbonilo en el anillo A (37-39).

En su espectro de RMN¹H (tabla VI)^(d), se observa la presencia de ocho grupos metilo alrededor de 1 ppm, siete de ellos se presentan como singuletes, mientras que el metilo 23 da una señal doble, debido a la interacción con el hidrógeno H-4. A su vez este protón genera un cuarteto por la interacción con los protones equivalentes del metilo 23. Las señales para los metilos y metilenos de la molécula aparecen sobrepuestos en la región de 1.0 a 2.0 ppm. Estos datos se compararon con los descritos en la bibliografía (39, 40), y resultaron prácticamente idénticos.

De los resultados de RMN¹³C obtenidos para friedelina (tabla VII) se observa que la multiplicidad, que se obtiene del espectro DEPT, corresponde para el número de hidrógenos unidos a cada carbono. Ocho cuartetos corresponden con los ocho sustituyentes metilo. Los singuletes representan los carbonos no protonados, los dobletes a los carbonos con un H, mientras que los tripletes representan a los carbonos enlazados a dos H.

La posición de los carbonos dentro de la estructura, se asignó con base en su multiplicidad, y a la correlación que presentan los δ con los descritos en la bibliografía (40).

(c) No se incluyen los espectros de IR y EM.

(d) Los datos de la espectroscopías de RMN se mencionan en tablas. Los espectros que se consideraron más importantes se anexan al final del trabajo.

La friedelina se encuentra denominada en la literatura como D:A-friedooleanan-3-ona y friedelan-3-ona (33). Los datos experimentales mencionados anteriormente concuerdan con la estructura química de éste triterpeno pentacíclico (figura 23).

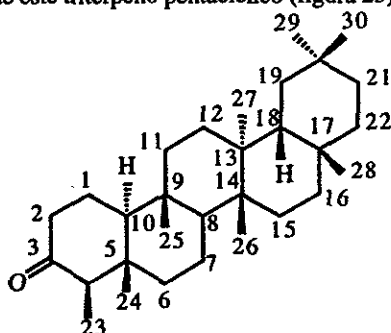


Figura 23. Estructura química de la friedelina ($C_{30}H_{50}O$).

Tabla VI. Datos de RMN¹ H para friedelina, obtenidos en $CDCl_3$ a 300 MHz.*

H	δ (ppm), multiplicidad / J (Hz)
23 (3H)	0.88 d / 6.33
24 (3H)	0.73 s
25 (3H)	0.87 s
26 (3H)	1.01 s
27 (3H)	1.05 s
28 (3H)	1.18 s
29 (3H)	1.00 s
30 (3H)	0.95 s
2 (2H)	2.36 m
4 (1H)	2.24 c
1 (1H)	1.96 m
6 (1H)	1.76 m
1 (1H)	1.68 m

Tabla VII. Datos de RMN¹³C asignados para friedelina. Espectro determinado en CDCl₃ a 75 MHz.

Carbono	δ (ppm) multiplicidad *	Carbono	δ (ppm), multiplicidad
1	22.2 <i>t</i>	16	36.0 <i>t</i>
2	41.5 <i>t</i>	17	30.0 <i>s</i>
3	213.0 <i>s</i>	18	42.8 <i>d</i>
4	58.2 <i>d</i>	19	35.3 <i>t</i>
5	42.1 <i>s</i>	20	28.1 <i>s</i>
6	41.3 <i>t</i>	21	32.8 <i>t</i>
7	18.2 <i>t</i>	22	39.2 <i>t</i>
8	53.1 <i>d</i>	23	6.8 <i>c</i>
9	37.4 <i>s</i>	24	14.6 <i>c</i>
10	59.5 <i>d</i>	25	17.9 <i>c</i>
11	35.6 <i>t</i>	26	18.6 <i>c</i>
12	30.5 <i>t</i>	27	20.2 <i>c</i>
13	39.7 <i>s</i>	28	32.1 <i>c</i>
14	38.3 <i>s</i>	29	31.7 <i>c</i>
15	32.4 <i>t</i>	30	35.0 <i>c</i>

* La multiplicidad se asignó según espectro DEPT.

El segundo terpeno aislado (**B**) muestra una señal en IR en 3626 cm⁻¹ para un grupo oxhidrilo, y dos señales en 1460 y 1389 cm⁻¹ que representan a los CH₂ y CH₃ de la estructura del triterpeno (36, 37). En EM presenta un ión molecular de m/z 428 que corresponde a la fórmula molecular de C₃₀H₅₂O. El fragmento de m/z 413 [M-CH₃]⁺ se presenta por la pérdida de un grupo metilo, y los fragmentos de m/z 304 [C₂₁H₃₆O]⁺ y 275 [C₁₉H₃₁O]⁺ corresponden a la presencia de un grupo alcohol en el anillo A (37-39). Los datos de RMN¹H (espectro No. 1) del compuesto **B** no se encuentran descritos en la bibliografía. Este espectro (tabla VIII) muestra 8 señales para grupos metilo entre 0.8 y 1.9 ppm y una señal en δ 3.73 asignada al protón del carbono unido al grupo oxhidrilo (H-3).

En el espectro de RMN^{13}C del triterpeno **B** se observa la presencia de los ocho sustituyentes metilos y un doblete para C-3 en δ 72.7 (espectro No. 2, tabla IX). La multiplicidad del resto de las señales concuerda con el grado de protonación de cada carbono.

Para corroborar la estructura del compuesto **B**, se acetilo al grupo alcohol, formando así el acetato de 3β -friedelanilo (**Ba**). En el espectro de RMN^1H de este derivado se observó el desplazamiento a campo bajo de la señal de H-3 (δ 4.89 m). En su espectro de RMN^{13}C se observa la señal de C-3 a δ 74.6 y las señales de los carbonos vecinos al sustituyente acetato (C-2 y C-4) desplazadas a campos más altos, debido al efecto de protección que ejerce este grupo funcional, en cambio las señales para C-1 y C-5 se observaron a campos más bajos.

Los datos obtenidos para el acetato son perfectamente congruentes con los descritos en la literatura (40, 41).

Tabla VIII. Datos comparativos de RMN^1H del 3β -friedelanol (**B**) y del acetato de 3β -friedelanilo (**Ba**). En CDCl_3 a 300 MHz (espectros No. 1 y 2).

H	δ (ppm), multiplicidad / J (Hz)	
	B	Ba
23 (3H)	0.93 d / 6.3	0.81 d / 6.9
24 (3H)	0.94 s	0.93 s
25 (3H)	0.86 s	0.86 s
26 (3H)	0.99 s	0.99 s
27 (3H)	1.00 s	1.00 s
28 (3H)	1.17 s	1.17 s
29 (3H)	0.99 s	0.99 s
30 (3H)	0.96 s	0.94 s
3 (1H)	3.73 m	4.89 m
OCOCH ₃ (3H)	----	2.04 s
(1H)	1.73 m	1.75 m
(1H)	1.90 m	1.90 m

Los puntos de fusión de 3β -friedelanol y su derivado fueron de 278-280 °C y de 290-291.5°C, respectivamente. Estos concuerdan con los descritos en la literatura (279-283°C y

288-290°C)(31, 32). Lo anteriormente mencionado corrobora la estructura (fig. 24) del triterpeno **B** como 3 β -hidroxi-D:A-friedooleanano.

Tabla IX. Tabla comparativa de las señales de RMN¹³C de 3 β -friedelanol (**B**)(espectro No. 2) y del acetato de 3 β -friedelanilo (**Ba**). Determinados en CDCl₃ a 75 MHz.

Carbono	δ (ppm), multiplicidad		Carbono	δ (ppm), multiplicidad	
	B	Ba		B	Ba [#]
1	15.8 <i>t</i>	16.4 <i>t</i>	16	36.1 <i>t</i>	36.0 <i>t</i>
2	35.3 <i>t</i>	32.2 <i>t</i>	17	30.3 <i>s</i>	30.0 <i>s</i>
3	72.7 <i>d</i>	74.6 <i>d</i>	18	42.8 <i>d</i>	42.8 <i>d</i>
4	49.2 <i>d</i>	48.0 <i>d</i>	19	35.2 <i>t</i>	35.4 <i>t</i>
5	37.8 <i>s</i>	37.9 <i>s</i>	20	28.2 <i>s</i>	28.2 <i>s</i>
6	41.7 <i>t</i>	41.7 <i>t</i>	21	32.8 <i>t</i>	32.8 <i>t</i>
7	17.5 <i>t</i>	17.7 <i>t</i>	22	39.3 <i>t</i>	39.3 <i>t</i>
8	53.2 <i>d</i>	53.2 <i>d</i>	23	11.6 <i>c</i>	11.3 <i>c</i>
9	37.1 <i>s</i>	37.1 <i>s</i>	24	16.3 <i>c</i>	15.8 <i>c</i>
10	61.4 <i>d</i>	61.0 <i>d</i>	25	18.2 <i>c</i>	18.2 <i>c</i>
11	35.5 <i>t</i>	35.6 <i>t</i>	26	18.6 <i>c</i>	18.6 <i>c</i>
12	30.6 <i>t</i>	30.6 <i>t</i>	27	20.1 <i>c</i>	20.1 <i>c</i>
13	39.7 <i>s</i>	39.7 <i>s</i>	28	32.1 <i>c</i>	32.1 <i>c</i>
14	38.4 <i>s</i>	38.4 <i>s</i>	29	31.8 <i>c</i>	31.8 <i>c</i>
15	32.3 <i>t</i>	32.3 <i>t</i>	30	35.0 <i>c</i>	35.0 <i>c</i>

[#] Carbonos del acetato: δ 170.9 (OCOCH)₃ y 21.4 (OCOCH)₃.

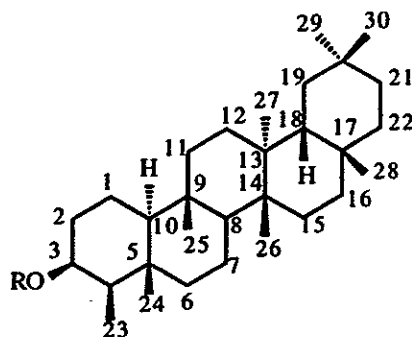


Figura 24. Estructura química del 3 β -friedelanol (epifriedelanol ó epifriedelinol) para R=H, y del acetato de 3 β -friedelanilo para R=Ac.

La friedelina, el 3 β y el 3 α -friedelanol se encuentran ampliamente difundidos en la naturaleza; tanto en plantas mayores, como en algas, musgos, etc., al epifriedelanol se le ha aislado incluso a partir de microorganismos. En lo que se refiere a su actividad biológica, la friedelina ha mostrado tener actividad antialimentaria contra algunos insectos (42).

Del extracto polar se obtuvo un sólido cristalino amarillo pálido, con punto de fusión de 208-211°C, que por sus propiedades espectroscópicas fue identificado como escopoletina (p.f. 204°C)(33). El espectro de masas presenta un ión molecular de m/z 192 que corresponde a la fórmula $C_{10}H_8O_4$. El espectro de IR presenta una banda ancha a 3336 cm^{-1} característica para un grupo oxhidrilo. En 1703 y 1627 cm^{-1} presenta bandas correspondientes a un carbonilo y un doble enlace conjugado. En 1607 y 1564 cm^{-1} se observan vibraciones originadas por un anillo aromático. En el espectro de RMN¹H se muestran dos dobletes formando un sistema AB, desplazados a 6.17 y 7.64 ppm ($J=9.48$ Hz) asignadas respectivamente a los protones α y β de un doble enlace conjugado con un carbonilo. Se observan además dos singuletes para protones aromáticos en δ 6.87 y 6.90. En δ 3.91 se presenta la señal correspondiente a un grupo metoxilo, y en δ 9.65 se presenta un singulete muy ancho como señal para el grupo oxhidrilo fenólico.

Por los datos anteriores se propone la estructura de la 7-hidroxi-6-metoxicumarina (escopoletina, fig. 25) para este compuesto. Los datos experimentales correspondieron con los expuestos en la bibliografía (43-45). Aún cuando las cumarinas se encuentran muy difundidas en la naturaleza, *P. hintonii* es la segunda especie del género de la que se aísla este

tipo de compuestos. En el campo de estudio de su actividad biológica, a la escopoletina se le atribuye tener una potente actividad estimulante de la germinación de semillas en concentraciones de 2-20 ppm. (46).

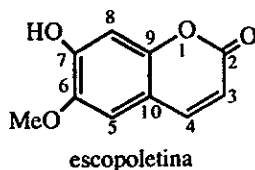


Figura 25. Cumarina aislada del extracto polar de *Perymenium hintonii*.

El segundo metabolito aislado del extracto polar presentó un punto de fusión de 200-205°C. Con base en los datos de las diferentes espectroscopías se propuso la estructura química de una chalcona con tres sustituyentes OH, y un grupo metoxilo (compuesto E)(fig. 26). Este compuesto ya es conocido, pero sus propiedades físicas no han sido descritas en la bibliografía, únicamente se informan datos de EM. Por esta falta de información, fué necesario formar un derivado, el triacetato (Ea), cuyos datos espectroscópicos auxiliaron en la elucidación estructural (fig. 26).

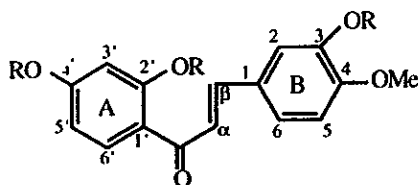


Figura 26. Estructura química de la chalcona trihidroxilada (R=H) y su producto de acetilación (R=Ac).

El espectro de IR para la chalcona sin acetilar (E) exhibe una banda ancha a 3315 cm^{-1} que corresponde a grupos oxhidrilos. En 1706 y 1620 cm^{-1} presenta vibraciones originadas por un carbonilo con un doble enlace conjugado. Además en 1642 y 1569; 1510 y 1462 cm^{-1} se observan bandas que corresponden a los anillos aromáticos.

El espectro de RMN¹³C del compuesto E (espectro No. 5, tabla X), establece la presencia de 16 átomos de carbono en la molécula. El grado de protonación de estos fue

determinado mediante un experimento DEPT, en donde se observó una señal cuarteto a δ 55.5 ppm que por su desplazamiento se asignó al metilo de un grupo metoxilo, también se observaron 8 dobletes entre 100 y 145 ppm; y 7 singuletes entre 110 y 192 ppm, incluyendo en estos últimos la señal característica de un grupo carbonilo cetónico conjugado con un doble enlace en δ 191.1.

Este mismo compuesto presenta en RMN¹H (espectro No. 3, tabla XI) señales correspondientes a tres protones aromáticos que constituyen un sistema ABC formado por una señal doble de doble a δ 6.43 ($J=9$ y 2 Hz) asignada a H-5' que está acoplado con la señal doble del protón H-3' que se observa en δ 6.40 ($J=2$ Hz) y con la de H-6' que aparece en δ 7.79 ($d, J=9$ Hz). Las constantes de acoplamiento establecen una relación *meta* entre H-3' y H-5' y *orto* entre H-5' y H-6'. Esto determina que se trata de un anillo aromático 1', 2', 4'-trisustituido (anillo A). En este mismo espectro, se observa un sistema semejante para los tres protones del anillo B; con una señal doble de doble en δ 7.13 ($J=8.3$ y 2.1 Hz) asignada al protón H-6, la cual muestra un acoplamiento *meta* con la señal doble de H-2 (δ 7.25, $J=2.1$ Hz) y *orto* con el doblete de H-5 (δ 6.88, $J=8.3$ Hz), lo que indica que se trata de un anillo 1,3,4 trisustituido. También se observan un par de protones como señales dobles formando un sistema AB, desplazados a 7.43 y 7.74 ppm con una constante de acoplamiento de 15.3 Hz, éstos se asignaron como H- α y H- β . El desplazamiento químico de estas señales es congruente con la presencia de un doble enlace conjugado con un carbonilo. Otras señales sobresalientes son la característica de un grupo metoxilo en δ 3.94 (s, OMe), y tres señales asignadas a protones fenólicos; dos singuletes anchos en δ 7.98 y δ 9.98 (3-OH y 4'-OH) y un singulete en δ 13.47 (2'-OH).

El espectro bidimensional COSY (espectro No. 6) presenta la interacción de tres pares de protones vicinales; 5'-6', 5-6 y α - β , que concuerdan con los sistemas antes observados.

El espectro de masas de la chalcona E da un ión molecular como pico base a m/z 286 que corresponde con una fórmula molecular de C₁₆H₁₄O₅. El fragmento de m/z 137 [C₇H₅O₃]⁺ corresponde al anillo A sustituido por dos grupos oxhidrilo, mientras que el fragmento de m/z 150 [C₉H₁₀O₂]⁺ corresponde al anillo B sustituido por un oxhidrilo y un metoxilo tal como se muestra en la figura 27.

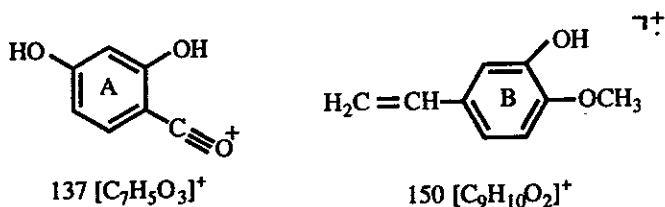


Figura 27. Fragmentos m/z que se observaron en el EMIE de la chalcona E.

Esta información da lugar a la estructura química de una chalcona trihidroxilada y monometoxilada. Los espectros bidimensionales COSY y HETCOR del compuesto E, aunados a la información anterior, confirman la sustitución del anillo A con dos grupos oxhidrilo en posición 2' y 4'. Mientras que el anillo B se muestra sustituido en las posiciones 3 y 4, dando por resultado la estructura parcial que ubica al tercer oxhidrilo y al metoxilo en posiciones 3 y 4 respectivamente, o a la inversa. Es mediante el espectro LR HETCOR de E, que se logra localizar al grupo metoxilo unido al carbono 4 del anillo B, ya que en el se observa que el protón unido a C-2 interacciona con los carbonos 3 (a 2 enlaces), 4 (3 enlaces), 6 (3 enlaces) y β (3 enlaces). Mientras que el protón unido a C-6 interacciona a 3 enlaces con los carbonos C-2 y C-4, este último carbono se correlaciona también a tres enlaces con los protones del metoxilo (C-O-CH₃).

Los datos espectroscópicos de la flavona acetilada Ea confirman esta aseveración, acerca de la ubicación del grupo metoxilo en el carbono 4. Ya que el derivado acetilado, muestra un ión molecular m/z 412, el cual corresponde con la fórmula molecular C₂₂H₂₀O₈; el incremento del peso molecular con respecto a E demuestra la acetilación de 3 oxhidrilos. Los fragmentos m/z , después de la pérdida de 3 unidades de acetato, fueron semejantes a los que se presentaron para el compuesto E.

Las datos más sobresalientes que corroboran la estructura planteada para la chalcona, fueron las diferencias observadas en los desplazamientos químicos de los carbonos en los espectros de RMN¹³C (tabla XI) de Ea con respecto a E. En estos espectros se observa que las señales de los carbonos en posición *orto* (C-2 y C-4) y *para* con respecto al carbono base del acetato (C-3), del compuesto Ea, se ven desplazadas hacia campo bajo con referencia a E, en tanto que este carbono, C-3, presenta su señal desplazada a campo alto. Estos datos son coherentes con las asignaciones dadas al anillo B, y confirman la estructura de la chalcona como 3,2',4'-trihidroxi-4-metoxichalcona, que también puede denominarse como

4-O-metil buteina, debido a que la buteina es una chalcona tetrahidroxilada en las posiciones 3,4,2' y 4'(47). Esta chalcona se describe por única vez en la literatura como componente de *Dahlia tenuicaulis*, planta de la familia de las Compuestas. Muy seguramente, este metabolito secundario forma parte de los compuestos que dan color a las flores amarillas de *P. hintonii* (48, 49).

Tabla X. Tabla comparativa de los desplazamientos químicos de RMN¹³C de los compuestos flavonoides E (espectro No. 5) y Ea[♦].

Carbono	δ (ppm), multiplicidad	
	E CDCl ₃ DMSO-d ₆ , 75 MHz	Ea CDCl ₃ , 75 MHz
1'	113.0 <i>s</i>	129.8 <i>s</i>
2'	165.9 <i>s</i>	149.6 <i>s</i>
3'	102.9 <i>d</i>	117.0 <i>d</i>
4'	164.6 <i>s</i>	153.3 <i>s</i>
5'	107.8 <i>d</i>	119.1 <i>d</i>
6'	131.2 <i>d</i>	130.6 <i>d</i>
C=O	191.1 <i>s</i>	190.2 <i>s</i>
α	117.8 <i>d</i>	123.8 <i>d</i>
β	143.6 <i>d</i>	144.3 <i>d</i>
1	127.6 <i>s</i>	127.6 <i>s</i>
2	113.7 <i>d</i>	122.2 <i>d</i>
3	146.2 <i>s</i>	140.2 <i>s</i>
4	149.5 <i>s</i>	153.4 <i>s</i>
5	110.8 <i>d</i>	112.5 <i>d</i>
6	121.6 <i>d</i>	128.2 <i>d</i>
4-OCH ₃	55.5 <i>c</i>	56.0 <i>c</i>
CH ₃ CO	----	20.5 <i>s</i>
CH ₃ CO	----	20.9 <i>s</i>
CH ₃ CO	----	21.0 <i>s</i>
CH ₃ CO	----	168.4 <i>c</i>
CH ₃ CO	----	168.7 <i>c</i>
CH ₃ CO	----	168.9 <i>c</i>

♦ Para ambos compuestos no se describen datos de RMN¹³C en la bibliografía.

Tabla XI. Asignación de señales para RMN¹H de E y su derivado acetilado Ea (veánse los espectros del 3 al 9)*.

H	δ (ppm), multiplicidad / J (Hz)	
	E CDCl ₃ DMSO-d ₆ , 300 MHz	Ea CDCl ₃ , 300 MHz
3' (1H)	6.40 <i>d</i> 2	7.00 <i>d</i> 2
5' (1H)	6.43 <i>dd</i> 9, 2	7.11 <i>dd</i> 8.4, 2
6' (1H)	7.79 <i>d</i> 9	7.70 <i>d</i> 8.4
α (1H)	7.43 <i>d</i> 15.3	7.01 <i>d</i> 16
β (1H)	7.74 <i>d</i> 15.3	7.51 <i>d</i> 16
2 (1H)	7.25 <i>d</i> 2.1	7.30 <i>d</i> 2.1
5 (1H)	6.88 <i>d</i> 8.3	6.97 <i>d</i> 8.4
6-H	7.13 <i>dd</i> 8.3, 2.1	7.41 <i>dd</i> 8.4, 2.1
2' (OH)	13.47 <i>s</i>	----
4' (OH)	9.98 <i>s</i>	----
3 (OH)	7.98 <i>s</i>	----
4 (OMe)	3.94 <i>s</i>	3.87 <i>s</i>
2' (OAc)	----	2.32 <i>s</i>
4' (OAc)	----	2.31 <i>s</i>
3 (OAc)	----	2.22 <i>s</i>

* En la literatura no se describen datos espectroscópicos para ambos flavonoides.

El siguiente compuesto aislado, **F**, presenta las siguientes características espectroscópicas.

En el espectro de IR, el flavonoide muestra bandas características de oxhidrilos en 3384 y 3188 cm^{-1} . En 1637 cm^{-1} se observa una banda perteneciente a una γ -pirona saturada. En 1578 y 1497 cm^{-1} se presentan bandas que corresponden a anillos aromáticos.

El EMIE de **F** presenta un ión molecular de m/z 302 que corresponde con la fórmula $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$.

El espectro de RMN^{13}C (espectro No. 12, tabla XII) da evidencia de una estructura constituida por 16 átomos de carbono, 12 de ellos aromáticos (5 dobles y 7 singletes), un metilo de metoxilo (δ 55.1 c), un carbonilo cetónico (δ 195.9 s) y 2 carbonos sp^3 , uno de ellos base de función oxigenada (δ 78.7 d) y el otro α a un carbonilo (δ 42.6 t). Estas 3 últimas señales son características para un anillo C de tipo dihidropirona y por lo tanto establece que el compuesto **F** es una flavanona. Lo anterior fue confirmado por el espectro de RMN^1H (espectro No. 10, tabla XIII) en el que se observaron las señales para los 2 protones de C-3, H_{3ax} y H_{3ec} como dos señales dobles de dobles con J de 17.2 y 3 Hz para el primero, y 17.2 y 12.9 Hz para el segundo; mientras que el hidrógeno de C-2 es también un doblete de doblete con J de 12.9 y 3 Hz. Este espectro muestra también las señales para dos protones aromáticos como dos dobles formando un sistema AB en δ 6.02 y δ 6.04, con J de 2.7 Hz que indica que estos guardan una relación *meta*. El singlete en δ 12.03 asignado a un oxhidrilo quelatado establece la existencia de un grupo OH en C-5.

Estos datos determinan que el anillo A es 5,7-disustituido, por lo que el sistema AB corresponde a H-6 y H-8. En este mismo espectro otro juego de protones se presentan como un sistema ABC en donde la señal asignada al protón H-6' da un doblete de dobles en 6.80 ppm, con J de 8.0 y 2.1 Hz, lo cual indica un acoplamiento en *orto* y *meta* con las señales asignadas a los protones H-5' (δ 6.89, J=8.0 Hz) y H-2' (δ 6.97, J=2.1 Hz) respectivamente. Esto determina que se trata de un anillo B 1',3',4'-trisustituido. Otras señales que se observan para el compuesto **F** son la de un grupo OMe que se presenta como un singlete intenso a δ 3.81 y un singlete ancho en δ 8.02 que integra para 2 protones de OH fenólico, localizados en los carbonos 3' y 4'.

Con base en la discusión anterior se establece la estructura de una flavanona tetrasustituida, con 2 de estos sustituyentes en cada uno de los anillos aromáticos.

Por los fragmentos que se observaron en EMIE se determinó la ubicación del grupo metoxilo en el anillo B de la molécula (figura 28). Así el fragmento de m/z 193 $[C_{10}H_9O_4]^+$ corresponde a los anillos A y C conteniendo a los grupos OMe y OH. El complemento de este fragmento es el ión de m/z 110 $[C_6H_6O_2]^+$ que corresponde al anillo B sustituido por dos grupos oxhidrilo. Otros fragmentos importantes son el ión de m/z 167 $[C_8H_7O_4]^+$ que corresponde únicamente al anillo A y el fragmento m/z 136 $[C_8H_8O_2]^+$ que representa al anillo B.

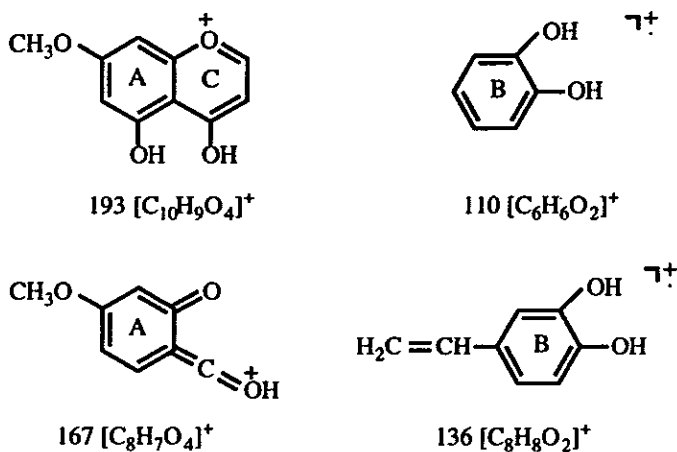


Figura 28. Fragmentos m/z que se presentaron en el EMIE de la flavanona F.

El compuesto acetilado **Fa** presenta un ión molecular de m/z 428, que corresponde con la fórmula $C_{22}H_{20}O_9$ y concuerda con el incremento en peso molecular correspondiente a 3 acetilos, con respecto a F.

En el espectro de $RMN^{13}C$ de **Fa** (tabla XII) los carbonos del anillo A en posición *orto* (C-6 y C-4) y *para* (C-8) con respecto al carbono base del acetato desplazan sus señales hacia campo bajo en comparación con los carbonos de F. El mismo tipo de desplazamiento sufren los carbonos del anillo B; C-1', C-2', C-5' y C-6', en tanto que los carbonos base de los acetatos de ambos anillos; C-5, C-3' y C-4' desplazan sus señales hacia campo alto. Este comportamiento está de acuerdo con la estructura establecida para la chalcona.

De acuerdo a la discusión anterior, y por comparación de las constantes físicas y espectroscópicas de esta sustancia con las descritas en la bibliografía, se establece la

estructura de la flavanona **F** como 5,3',4'-trihidroxi-7-metoxiflavanona (figura 29). El derivado acetilado se define entonces como 5,3',4'-triacetoxi-7-metoxi flavanona (**Fa**) (9, 50-52). Este flavonoide **F** también se encuentra denominado en la literatura como 7-O-metil eriodictyol (50) y sterbina (51). Su espectro de UV en MeOH presenta un máximo intenso a 287 nm y una inflexión a 330 nm que concuerda con los descritos en la literatura de 287 y 340 nm respectivamente (50). Por su parte el punto de fusión observado fue de 222-225 °C que corresponde con el informado en la bibliografía de 222-223.5°C (34).

La flavanona 7-O-metil eriodictyol no presenta actividad óptica, por lo tanto debe tratarse de la mezcla racémica.

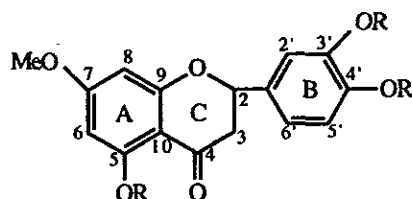


Figura 29. Estructura química de la flavanona trihidroxilada (R=H) y su producto de acetilación (R=Ac).

Esta flavanona también se ha aislado a partir de *Chromolaena meridensis* (50), *Eupatorium sternbergianum* (51), *Wyethia glabra* (52) y *Traversia baccharoides* (34).

Tabla XII. Desplazamientos químicos de RMN¹³C para 5,3',4'-trihidroxi-4-metoxi flavanona (F) y 5,3',4'-acetoxi-4-metoxi flavanona (Fa)*.

Carbono	δ (ppm), multiplicidad	
	F CDCl ₃ DMSO-d ₆ , 75 MHz	Fa CDCl ₃ , 75 MHz
2	78.7 <i>d</i>	78.5 <i>d</i>
3	42.6 <i>t</i>	45.0 <i>t</i>
4	195.9 <i>s</i>	188.2 <i>s</i>
5	163.5 <i>s</i>	151.9 <i>s</i>
6	94.4 <i>d</i>	104.9 <i>d</i>
7	167.4 <i>s</i>	165.6 <i>s</i>
8	93.6 <i>d</i>	99.6 <i>d</i>
9	162.5 <i>s</i>	163.9 <i>s</i>
10	102.6 <i>s</i>	108.0 <i>s</i>
1'	129.3 <i>s</i>	137.2 <i>s</i>
2'	113.2 <i>d</i>	123.8 <i>d</i>
3'	144.5 <i>s</i>	137.2 <i>s</i>
4'	144.9 <i>s</i>	142.4 <i>s</i>
5'	115.0 <i>d</i>	124.1 <i>d</i>
6'	117.8 <i>d</i>	121.4 <i>d</i>
7 (OCH ₃)	55.1 <i>c</i>	55.8 <i>c</i>
(COCH ₃)	---	169.4 <i>s</i>
(2COCH ₃)	---	168.02 <i>s</i>
(COCH ₃)	---	21.0 <i>c</i>
(2COCH ₃)	---	20.6 <i>c</i>

* Los datos para este compuesto en RMN¹³C no se encuentran descritos en la bibliografía.

Tabla XIII . Datos experimentales obtenidos para los espectros de RMN¹H de los flavonoides F^{*} y Fa. Con TMS como referencia interna.

H	δ (ppm), multiplicidad / J (Hz)	
	F CDCl ₃ DMSO-d ₆ , 300 MHz	Fa CDCl ₃ , 300 MHz
2 (1H)	5.29 <i>dd</i> 12.9, 3	5.44 <i>dd</i> 13.2, 3.0
3 (1H _{ax})	2.76 <i>dd</i> 17.1, 3	2.75 <i>dd</i> 16.8, 3.0
3 (1H _{ec})	3.09 <i>dd</i> 17.4, 12.9	2.96 <i>dd</i> 16.8, 13.2
6 (1H)	6.02 <i>d</i> 2.7	6.29 <i>d</i> 2.5
8 (1H)	6.04 <i>d</i> 2.7	6.43 <i>d</i> 2.5
2' (1H)	6.97 <i>d</i> 2.1	7.32 <i>sa</i>
5' (1H)	6.89 <i>d</i> 8.1	7.24 <i>d</i> 6.9
6' (1H)	6.8 <i>dd</i> 7.8, 2.1	7.30 <i>dd</i> 6.9, 2.2
7 (OCH ₃)	3.81 <i>s</i>	3.83 <i>s</i>
5 (OH)	12.03 <i>s</i>	---
3' y 4' (2OH)	8.02 <i>sa</i>	---
5 (COCH ₃)	---	2.38 <i>s</i>
3' y 4' (2COCH ₃)	---	2.30 <i>s</i>

^{*} En la literatura, sólo se describen datos para la flavanona sin acetilar.(49)

Dos nuevos compuestos (**G1** y **G2**) con características polares se aislaron del extracto acetónico-metanólico. A éstos compuestos se les dió por nombre tuxpanólida e isotuxpanólida, debido a que la planta *P. hintonii*, de la cual se aislaron, fue recolectada en Tuxpán, Michoacán.

Por sus características espectroscópicas se demostró que ambos son isómeros, ya que difieren en la estereoquímica de un doble enlace. El componente mayoritario, después del β -sitosterol, fue el diterpeno acíclico (**G1**). Los datos espectrales indican que se trata de un diterpeno derivado del fitol. Se estableció la presencia de grupos hidroxilo por bandas de absorción en el espectro de IR a 3354 cm^{-1} , también presentó bandas que corresponden a un carbonilo de lactona con doble enlace conjugado en 1751 y 1682 cm^{-1} .

El espectro de masas por ionización química muestra un pico m/z 351 $[M+H]^+$, el cual corresponde a una fórmula molecular $C_{20}H_{30}O_5$. El espectro de masas por impacto electrónico, presenta al fragmento m/z 332 $[M-H_2O]^+$.

En $RMN^{13}C$ (espectro No. 13), el compuesto presenta señales para 20 carbonos; 4 CH_3 , 4 CH_2 , 6 CH y 6 C . Ocho de éstas señales se dan entre 120 y 140 ppm indicando la presencia de 4 dobles enlaces. Los respectivos protones vinílicos, muestran señales entre 5 y 7 ppm en RMN^1H (espectros 14 y 15, tabla XIV).

Los espectros COSY (espectro No. 16) y HETCOR (espectro No. 17), indicaron que se trata de un diterpeno constituido por los fragmentos **A**, **B** y **C** (fig.30), según lo siguiente:

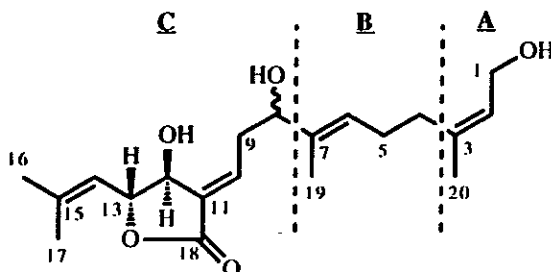


Figura 30. Estructura del compuesto **G1** denominado tuxpanólida.

El fragmento **A**, muestra en el espectro de RMN^1H un protón vinílico en δ 5.19 ppm (tc , $J=7.5, 1.5\text{ Hz}$, H-2; δ 124.8 d, C-2), que está acoplado con un grupo CH_2OH (211, δ

3.79 *d* $J=7.5$ Hz, H-1 y H-1'; δ 58.9 *t*, C-1), y aliflicamente, con un grupo metilo (3H, δ 1.53 *sa*, H-20; δ 22.8 *c*, C-20). El fragmento **B** mostró un triplete ancho para un protón vinílico a δ 5.26 ppm ($J=7$ Hz, H-6). Esta señal interacciona en el espectro COSY con el multiplete de dos metilenos parcialmente sobrepuestos en δ 1.94 (H-4) y 1.89 (H-5), y con el singlete ancho de un grupo metilo vinílico desplazado a δ 1.40 (H-19). En el tercer fragmento del compuesto **G1** (**C**) el espectro COSY mostró que la señal en δ 3.80 corresponde a un protón geminal a un grupo oxhidrilo (H-8; δ 73.7 *d*, C-8), que está acoplado con los protones no equivalentes de un metileno que aparecen a δ 2.32 y 2.10 ppm (H-9, H-9'), los cuales a su vez se correlacionan con la señal de un protón vinílico en δ 6.81 (H-10), que corresponde al protón β de una γ -lactona- α,β -no saturada. Esto fue apoyado por el espectro de RMN¹³C, ya que las señales de C-10, C-11 y C-18 se observaron a 142.0 *d*, 132.7 *s* y 169.7 *s* respectivamente. Este mismo protón H-10 correlaciona también con un singlete ancho en δ 4.38 (H-12; δ 70.9 *d*, C-12) asignado a un protón unido a un carbono con un grupo oxhidrilo secundario. Este último protón H-12, está acoplado con una señal doble de doble asignada para un protón del cierre del anillo lactónico (δ 4.99, H-13; δ 82.7 *d*, C-13), el cual se acopla con el doblete de quintuplete asignado a un protón olefínico que aparece en δ 4.89 (H-14; δ 121.1, C-14) y éste a su vez con los protones 16 (δ 1.47) y 17 (δ 1.52).

El acoplamiento a larga distancia ¹³C-¹H observado en el espectro LR HETCOR (espectros No. 18-19) del diterpeno tuxpanólida confirma las asignaciones de las estructuras parciales **A**, **B** y **C** y permite unirlos para establecer la estructura **G1** como se muestra en la figura 30. Este experimento fue importante para la asignación de los carbonos 3, 7, 11, 15 y 18 que se presentan como singletes en ¹³C, véase tabla No. XV.

Tabla XIV. Desplazamientos químicos y multiplicidad de los compuestos G1 y G2 en RMN¹H.

H	δ ppm, multiplicidad/ J (Hz)		
	G1 CDCl ₃ , 300 MHz	G1 CDCl ₃ -C ₆ D ₆ , 300 MHz	G2 CDCl ₃ , 300 MHz
1, 1'	4.04 <i>da</i> *	3.79 <i>d</i>	4.00 <i>da</i> *
	7.2	7.5	7
2	5.38 <i>tc</i>	5.19 <i>tc</i>	5.38 <i>ta</i>
	7.5, 1.5	7.5, 1.5	7.2
4	2.07 <i>sa</i>	1.94 <i>m</i>	2.11 <i>sa</i>
5	2.07 <i>sa</i>	1.89 <i>m</i>	2.11 <i>sa</i>
6	5.48 <i>ta</i>	5.26 <i>ta</i>	5.37 <i>ta</i>
	7	7	7
8	4.06 <i>dd</i> *	3.80 *	4.09 <i>dda</i> *
	10.5, 3		7.2, 3.9
9	2.54 <i>dt</i>	2.32 <i>dt</i>	2.71 <i>dt</i>
	13, 10.5	13, 10.6	13.5, 7.2
9'	2.42 <i>ddd</i>	2.10 <i>ddda</i>	3.09 <i>ddd</i>
	13, 6.6, 3	13, 6.6, 3	13.5, 8, 3.9
10	6.92 <i>ddd</i>	6.81 <i>ddd</i>	6.10 <i>ta</i>
	10.5, 6.6, 1.8	10.6, 6.6, 1.8	~7.5
12	4.57 <i>sa</i>	4.38 <i>sa</i>	4.38 <i>sa</i>
13	5.06 <i>sa</i>	4.99 <i>dd</i>	4.83 <i>dd</i>
		9.3, 2	9, 4.2
14	5.06 <i>sa</i>	4.89 <i>d quint</i>	5.09 <i>da</i>
		9.3, 1.2	9
16	1.79 <i>sa</i>	1.47 <i>sa</i>	1.72 <i>sa</i>
17	1.75 <i>sa</i>	1.52 <i>sa</i>	1.72 <i>sa</i>
19	1.63 <i>sa</i>	1.40 <i>sa</i>	1.57 <i>sa</i>
20	1.75 <i>sa</i>	1.53 <i>sa</i>	1.68 <i>sa</i>
OH	3.95 <i>sa</i>		3.95 <i>sa</i>

* Señales sobrepuestas.

Tabla XV. Datos de NMR ^{13}C (en CDCl_3 a 75 MHz), y de correlación heteronuclear ^{13}C - ^1H a larga distancia para los compuestos **G1** y **G2**.

<i>C mult *</i>	NMR ^{13}C δ (ppm)			Correlación ^{13}C - ^1H en LR HETCOR	
	G1	G1[□]	G2	G1[□]	G2
1 <i>t</i>	58.9	58.3	58.7	H2	
2 <i>d</i>	124.7	124.8	124.7	H1, H20	H1, H20
3 <i>s</i>	138.1	137.1	138.2	H4, H20	H1, H20
4 <i>t</i>	31.1	30.8	31.0	H2, H20	H20
5 <i>t</i>	24.9	24.7	24.8	H4, H6	
6 <i>d</i>	125.8	125.3	124.7	H8, H19	H19
7 <i>s</i>	137.4	137.1	136.7	H5, H8, H19	H5, H19
8 <i>d</i>	73.9	73.7	75.5	H6, H9, H19	H19
9 <i>t</i>	35.7	35.3	32.8	H8, H10	
10 <i>d</i>	142.0	142.0	143.3	H8, H9, H12	
11 <i>s</i>	133.3	132.7	130.9	H9, H10, H12, H13	
12 <i>d</i>	71.1	70.9	75.0	H10, H13, H14	H10, H13
13 <i>d</i>	82.9	82.7	81.9	H12, H17	H14
14 <i>d</i>	121.0	121.1	120.7	H12, H13, H16, H17	H16
15 <i>s</i>	140.1	139.4	141.2	H13, H16, H17	H16, H17
16 <i>c</i>	25.7	25.1	25.7	H14, H17	H14, H15
17 <i>c</i>	18.6	17.9	18.5	H14, H16	H14, H16
18 <i>s</i>	170.0	169.7	169.1	H10, H12, H13	H10
19 <i>c</i>	11.8	11.3	12.5	H6, H8	H6
20 <i>c</i>	23.3	22.8	23.0	H2, H4	H4

* La multiplicidad fue determinada por experimentos DEPT.

□ Determinado en CDCl_3 - C_6D_6 a 75 MHz.

El espectro NOESY (53, 54) del compuesto **G1** muestra la existencia de NOEs (fig. 32, espectro No. 20) entre H-1 y H-4 y entre H-2 y H-20, los cuales establecieron la configuración del doble enlace Δ^2 como Z. La configuración E del doble enlace Δ^6 se estableció con base en el NOE entre H-6 y H-8, y por el desplazamiento químico del grupo metilo unido al carbono 7 (δ 11.8 c, C-19) en RMN¹³C (55, 56). La configuración del doble enlace Δ^{10} fue establecida como E con base en el efecto NOE observado entre H-9 y H-12. Aunque las configuraciones absolutas de los carbonos quirales C-8, C-12 y C-13 no fueron determinadas, la magnitud de la constante de acoplamiento de $J_{12,13}=2$ Hz concuerda con un ángulo diedro entre 70 y 115°; el cual requiere una relación *trans* entre H-12 y H-13. Por ésto, la estructura de la tuxpanólida fue establecida como **G1**, un diterpeno acíclico tipo fitano o su enantiómero.

El segundo diterpeno, denominado isotuxpanólida (**G2**) es un isómero geométrico de **G1** tal como se presenta en la figura 31, ya que el doble enlace entre C-10 y C-11 presenta una geometría diferente.

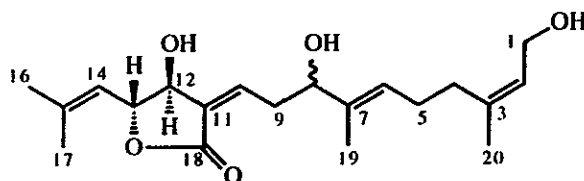


Figura 31. Estructura química de la isotuxpanólida (C₂₀H₃₀O₅).

Esto fue fundamentado en la similitud de su espectroscopía de IR, EM y RMN de 1 y 2 dimensiones (espectros No. 21 a 25). Las diferencias más significativas observadas en el espectro de RMN¹H para **G1** y **G2** fueron los desplazamientos químicos para H-9, H-9' y H-10. De hecho, los protones del carbono 9 de **G2**, fueron desplazados a campo bajo (δ 2.71 y 3.09) en comparación con los correspondientes protones de **G1** (δ 2.54 y 2.42), mientras que la señal de triplete ancho asignada para el protón oleofínico H-10 fue desplazada a campo alto (δ 6.10, $J=7.5$ Hz) en comparación con **G1** que se presentó a 6.92 ppm. Esto sugiere que **G2** es el isómero 10-Z de **G1**. Esta deducción fue confirmada por el efecto NOE observado entre H-10 y H-12. Los efectos NOE que presenta la estructura de la isotuxpanólida se presentan en la figura 32.

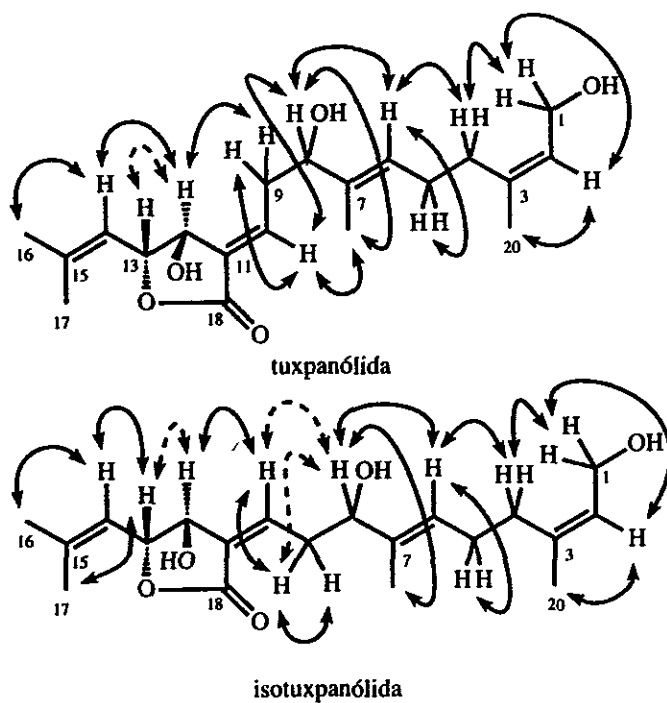


Figura 32. Efecto nuclear de Overhauser para los protones de la tuxpanólida y su isómero, observados en los respectivos espectros NOESY (espectros No. 20 y 25).

VII. CONCLUSIONES.

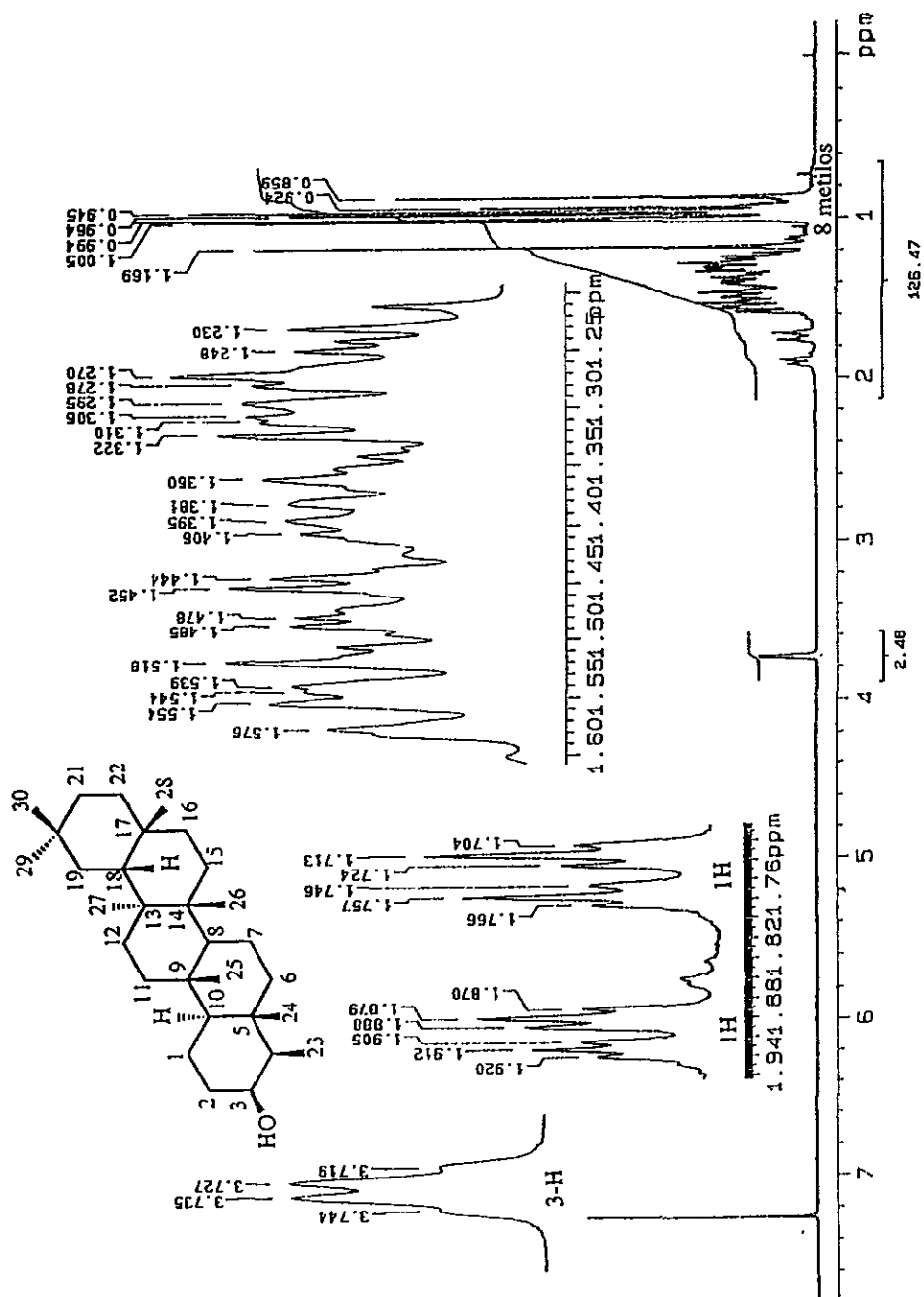
A partir del extracto hexánico de las partes aéreas de *Perymenium hintonii* se aislaron e identificaron tres metabolitos secundarios ya descritos en la bibliografía; la friedelina, el epifriedelanol y β -sitosterol, mientras que del extracto polar los compuestos ya conocidos fueron la escopoletina, 7-O-metil eriodictyol y 4-O-metil buteina. Para éstos dos últimos, así como para sus derivados triacetilados, se describen datos espectroscópicos de RMN¹H y ¹³C no informados previamente en la literatura.

Dos nuevos diterpenos tipo fitano se aislaron también del extracto polar: la tuxpanólida y la isotuxpanólida, su estructura química fue elucidada principalmente mediante técnicas uni y bidimensionales de RMN. Este tipo de diterpenos no habían sido descritos como constituyentes de *Perymenium*.

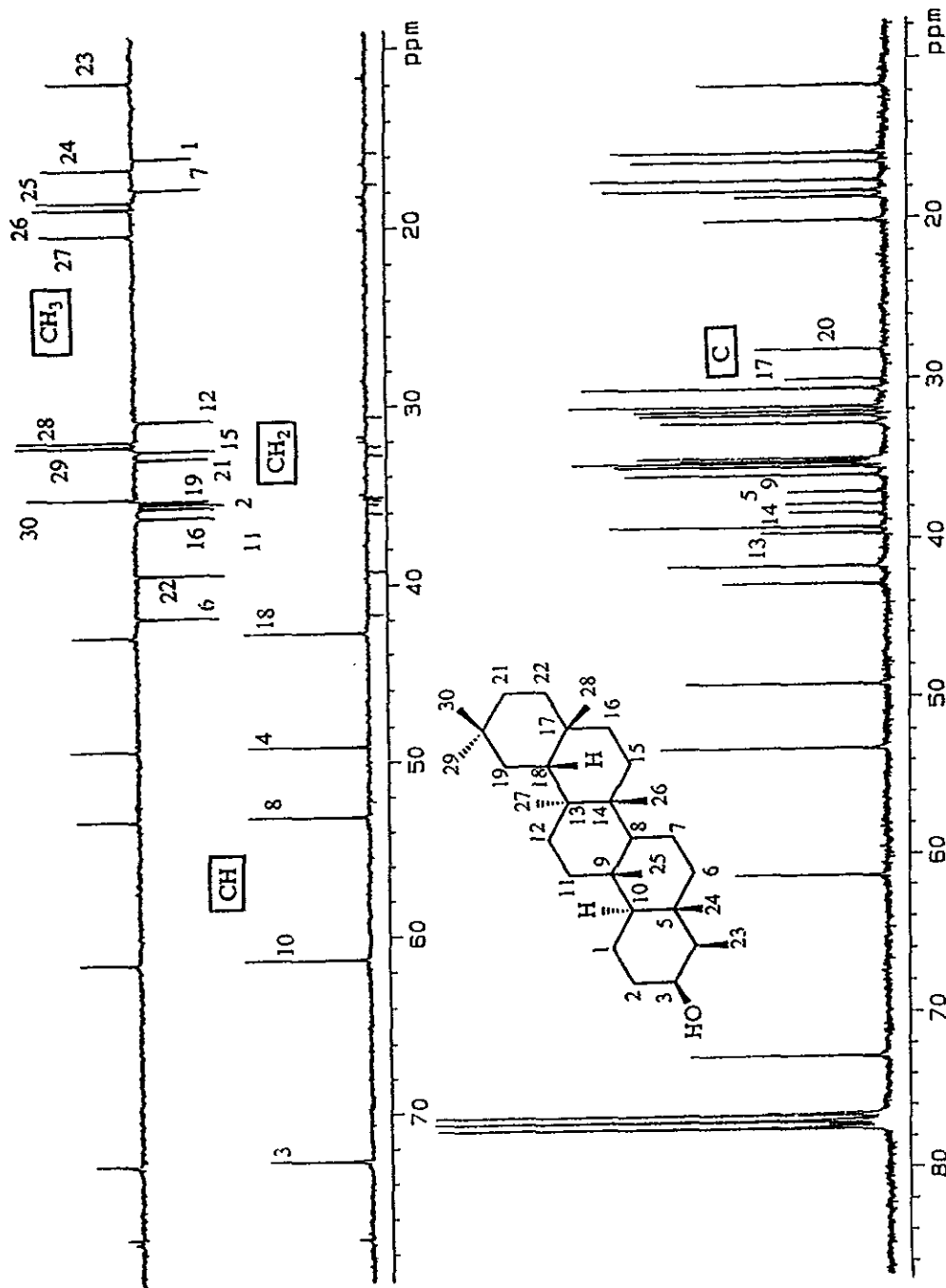
En general la composición química encontrada en *P. hintonii*, difiere de la descrita para las otras especies del género estudiadas hasta el momento, únicamente se informa de una cumarina aislada de *P. ghiesbreghtii*. Sin embargo, aún son pocas las especies estudiadas, por lo que es necesario continuar con el estudio del género *Perymenium* para establecer las semejanzas y diferencias que existen en la composición química de las diferentes especies.

El presente trabajo contribuye al conocimiento de los constituyentes químicos de *P. hintonii* y por ende al de la flora nacional.

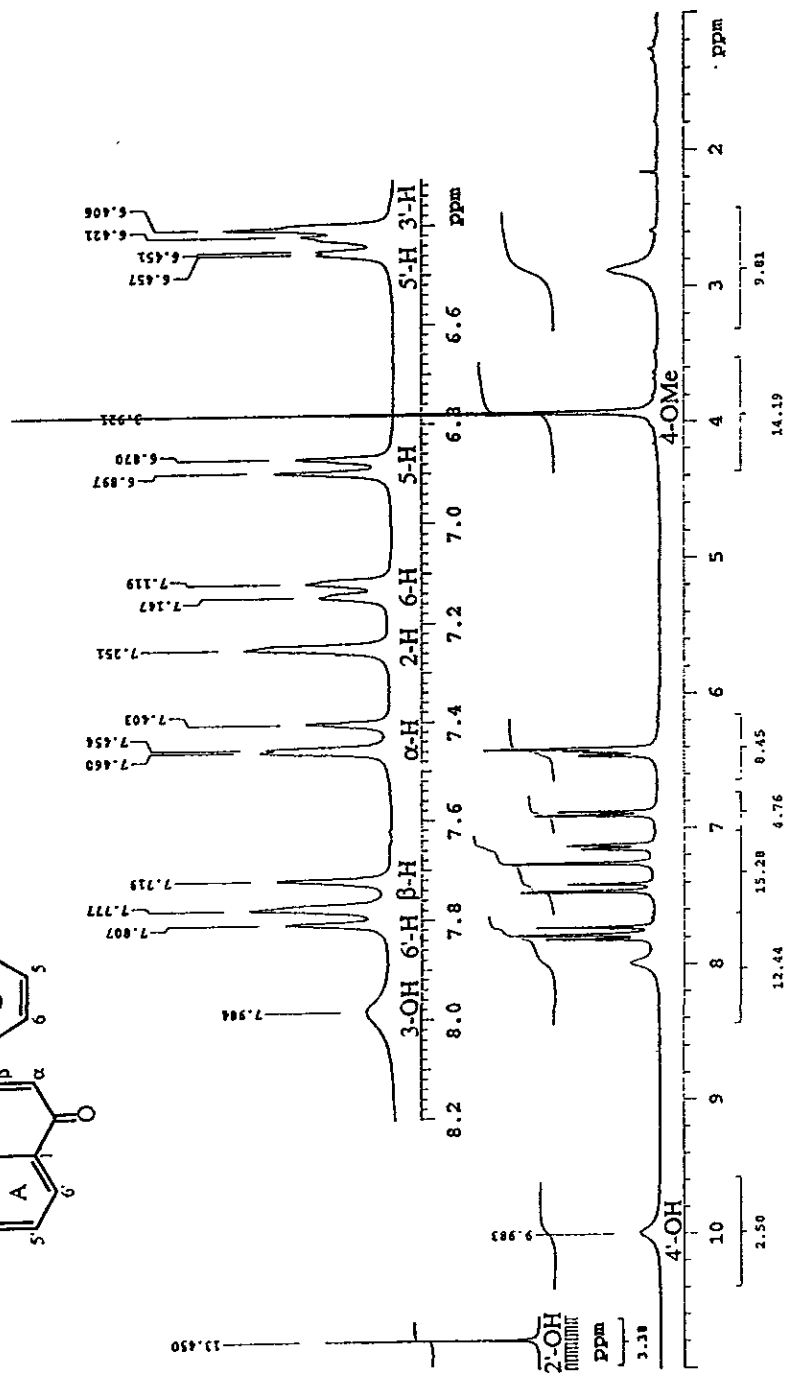
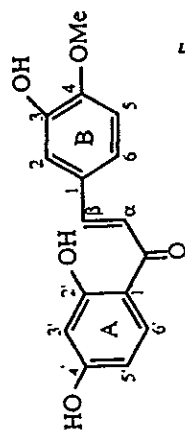
IX. ESPECTROS.



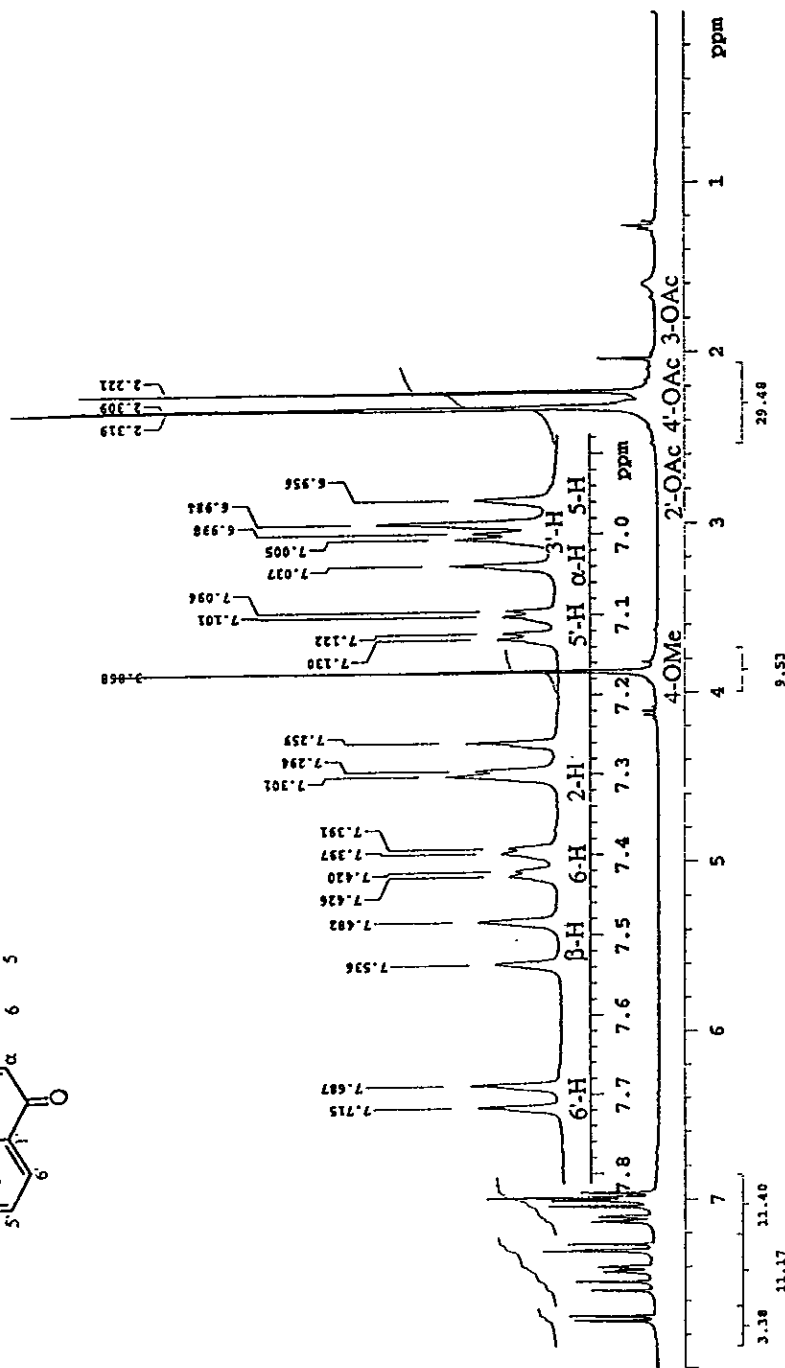
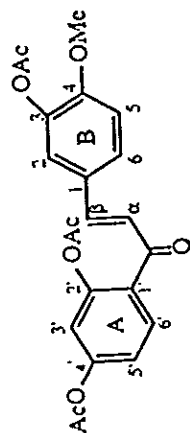
Espectro No. 1. Espectro de RMN¹H para 3β-fricdelanol, en CDCl₃, TMS a 300 MHz.



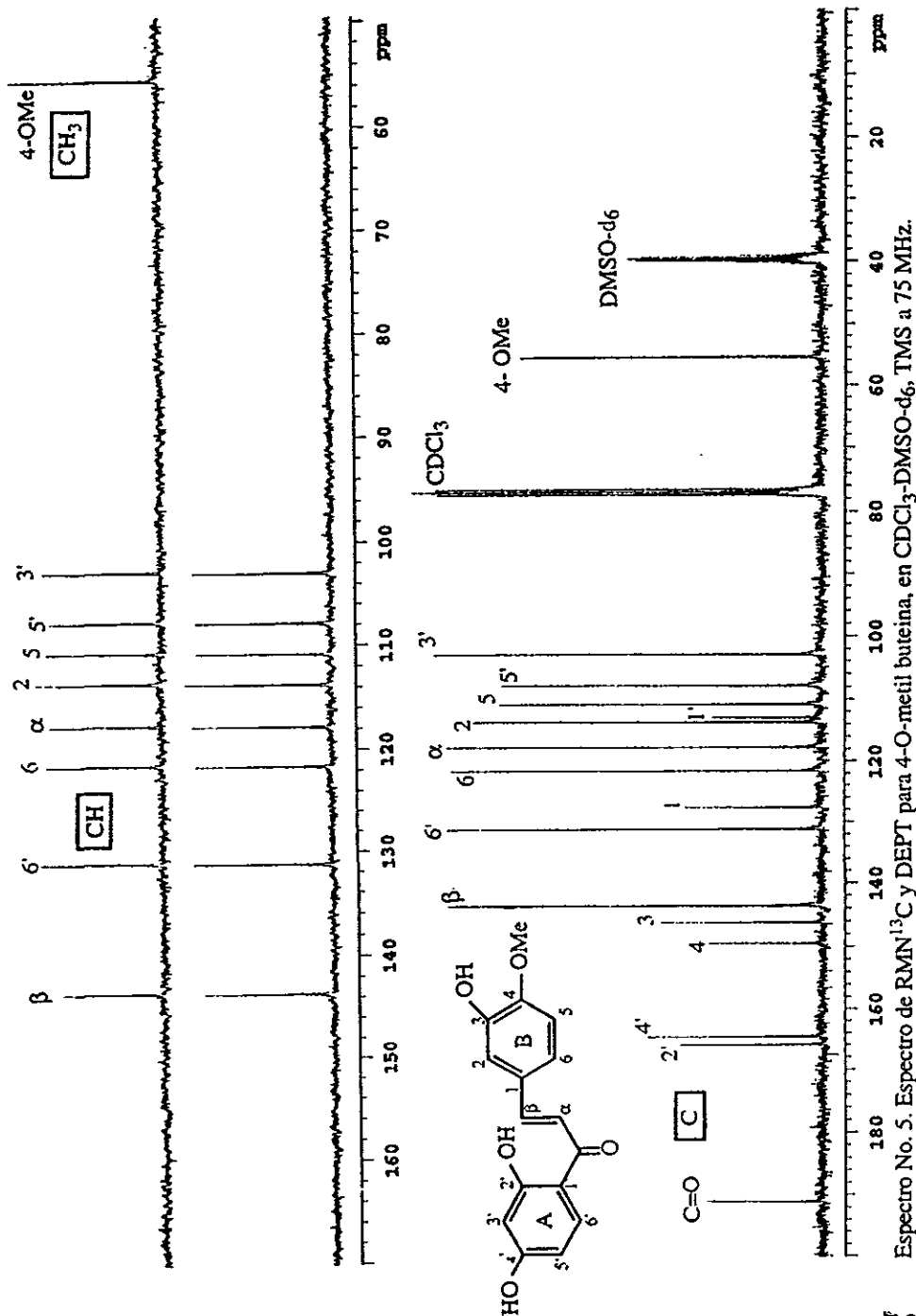
Espectro No. 2. Espectro de RMN¹³C y DEPT 3β-friedelanol, en CDCl₃, TMS a 75 MHz.

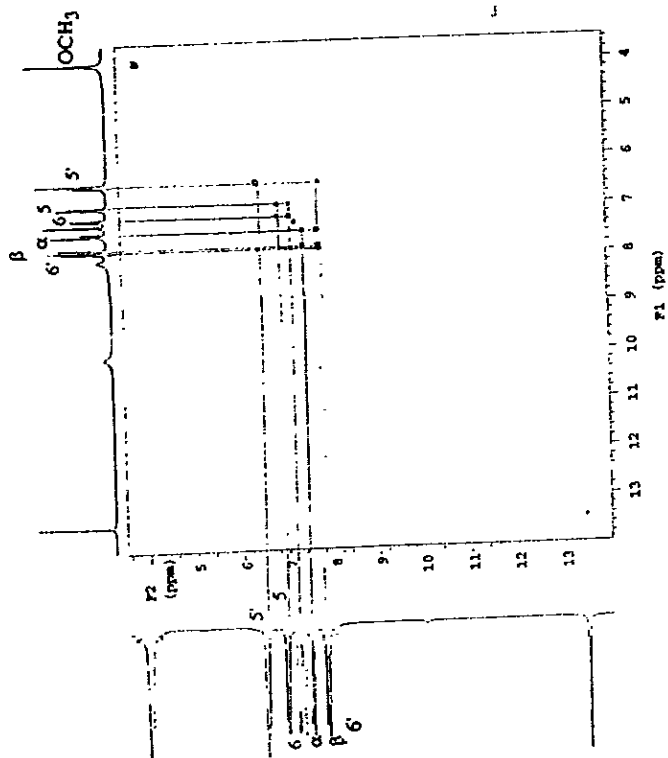


Espectro No. 3. Espectro de RMN¹H para 4-O-metil buteina, en CDCl₃-DMSO-d₆, TMS a 300 MHz.

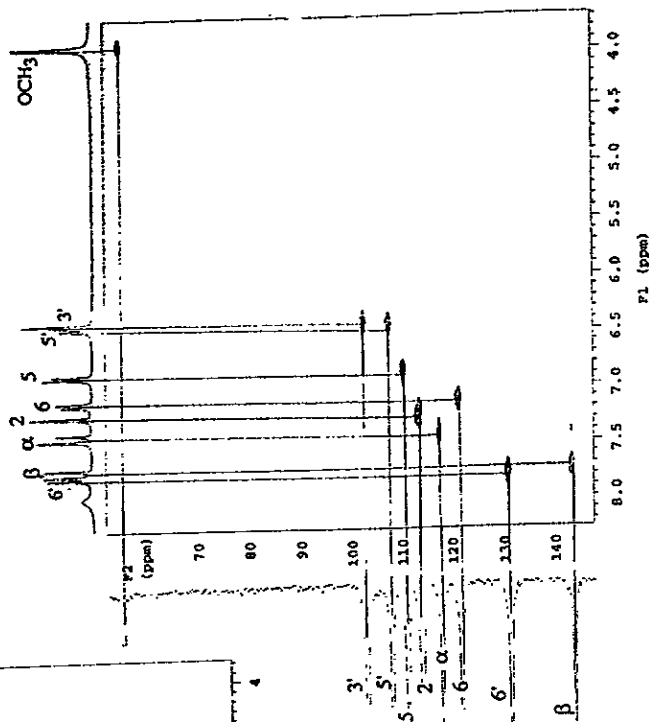


Espectro No. 4. Espectro de RMN¹H para 3,2',4'-triacetoxi-4-metoxi chalcona, en CDCl₃, TMS a 300 MHz.

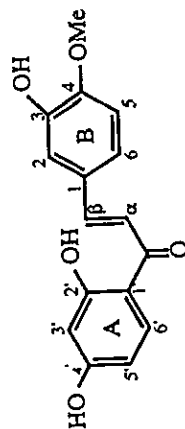


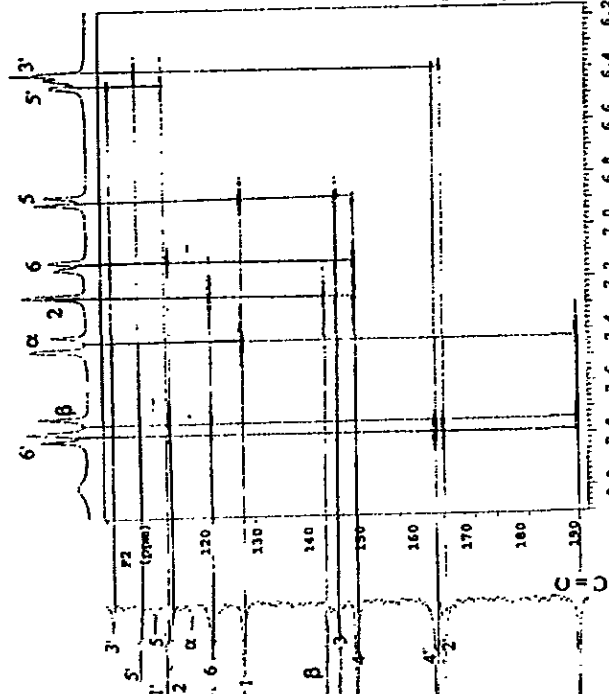


Espectro No. 7. Espectro bidimensional HETCOR para 4-O-metil buteína, en CDCl_3 -DMSO- d_6 , TMS a 300 MHz.

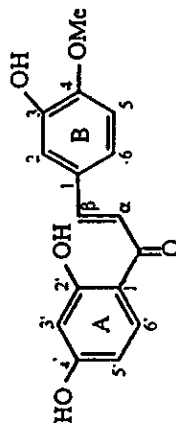


Espectro No. 6. Espectro bidimensional COSY para 4-O-metil buteína, en CDCl_3 -DMSO- d_6 , TMS a 300 MHz.

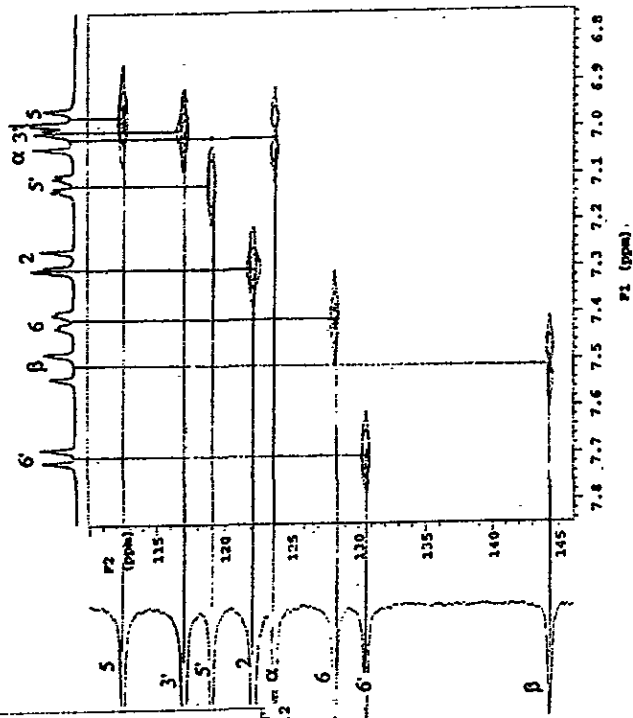
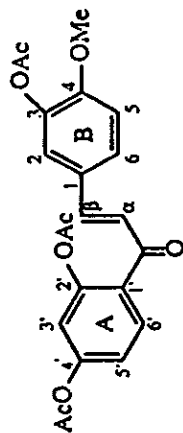


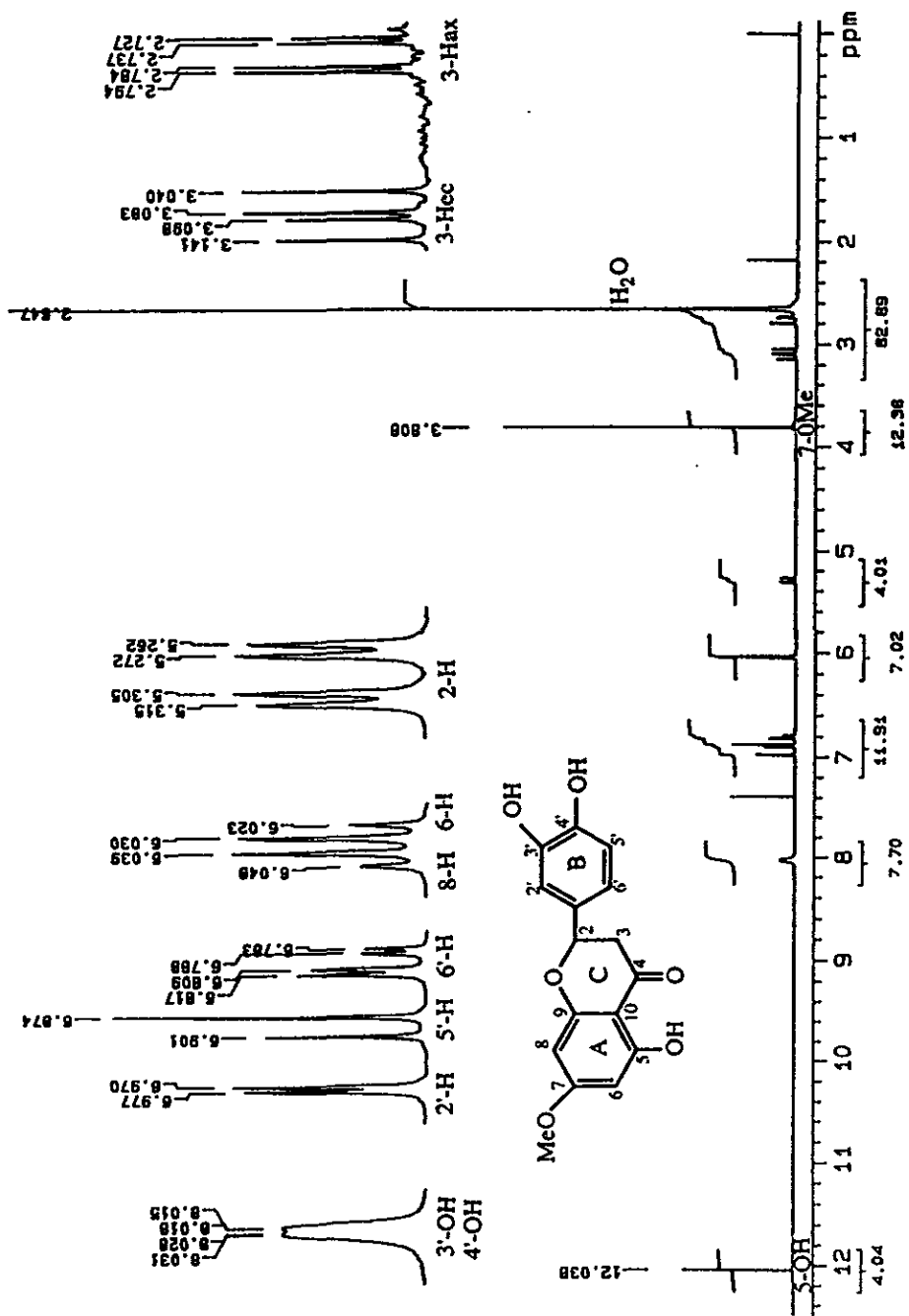


Espectro No. 8. Espectro bidimensional LR HETCOR para 4-O-metil buteina, en CDCl_3 - $\text{DMSO}-d_6$, TMS a 300 MHz.

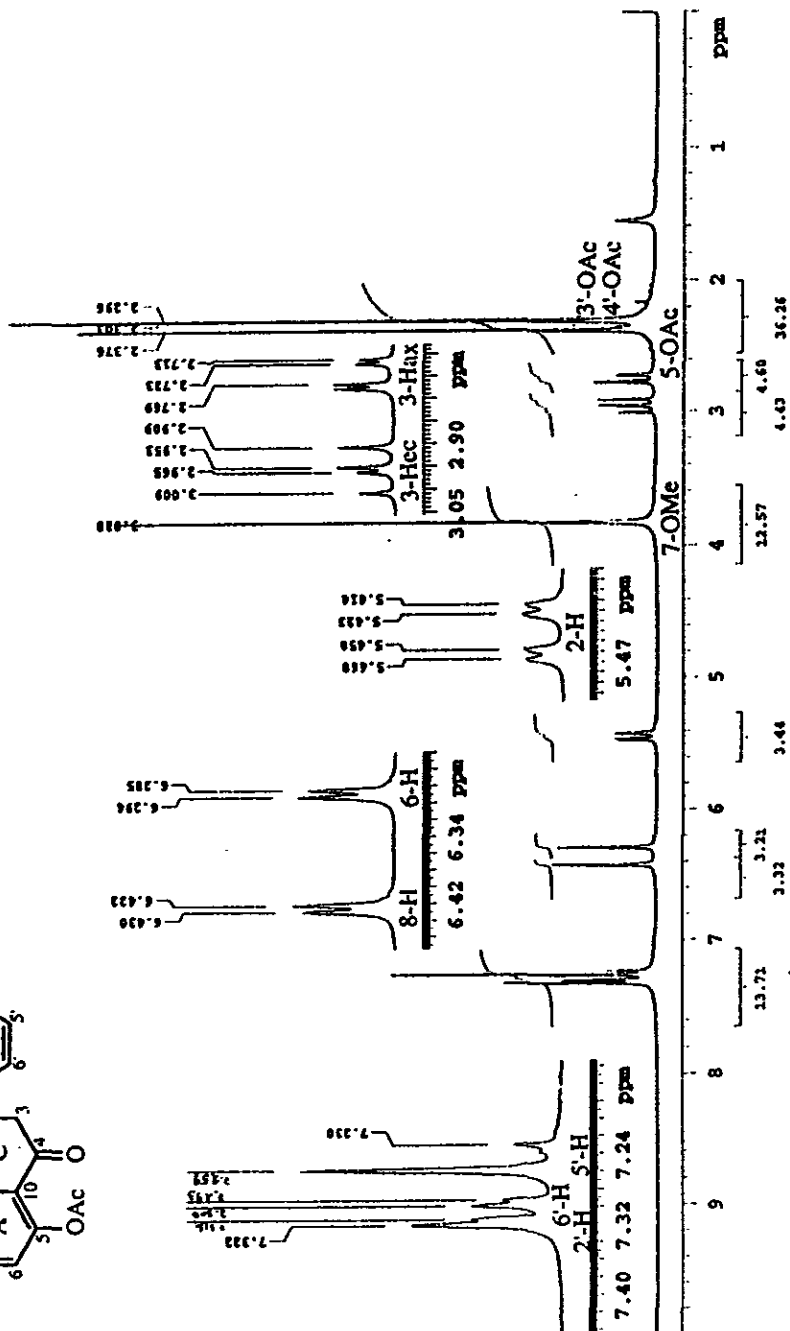
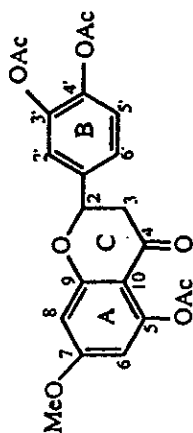


Espectro No. 9. Espectro bidimensional HETCOR para 3,2',4'-triacetoxi-4-metoxi chalcona, en CDCl_3 , TMS a 300 MHz.

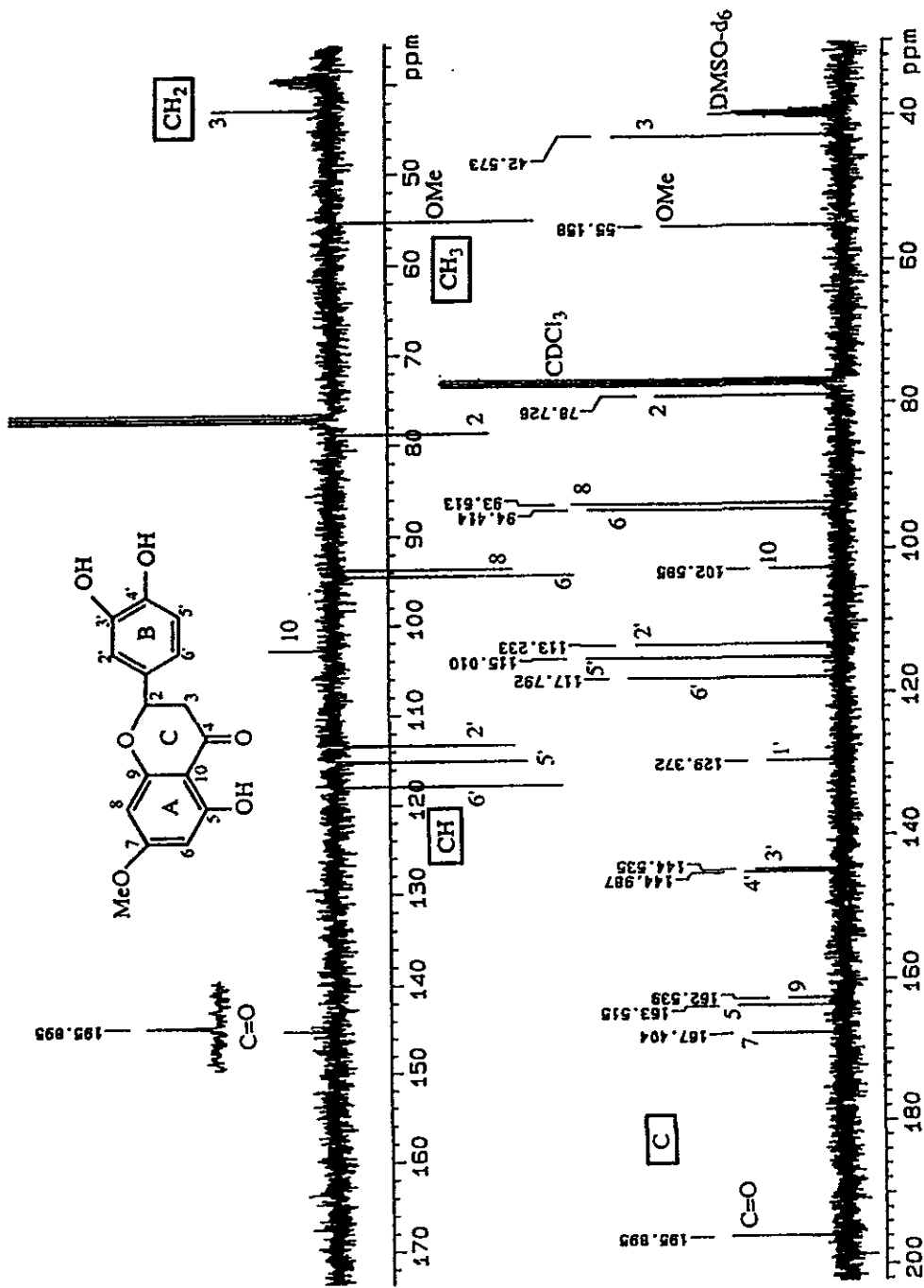




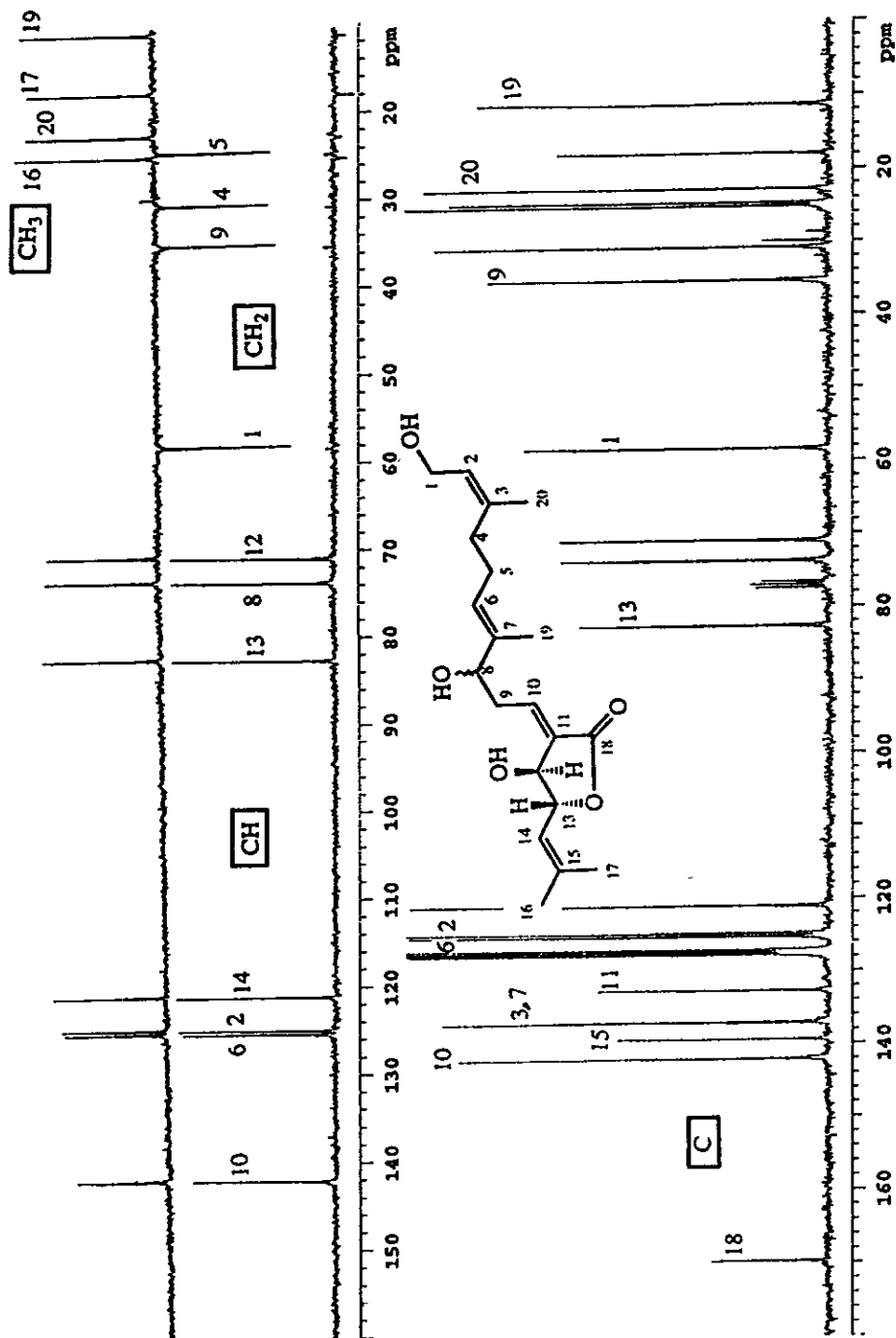
Espectro No. 10. Espectro de RMN¹H para 7-O-metil eriodictyol, en CDCl₃, TMS a 300 MHz.



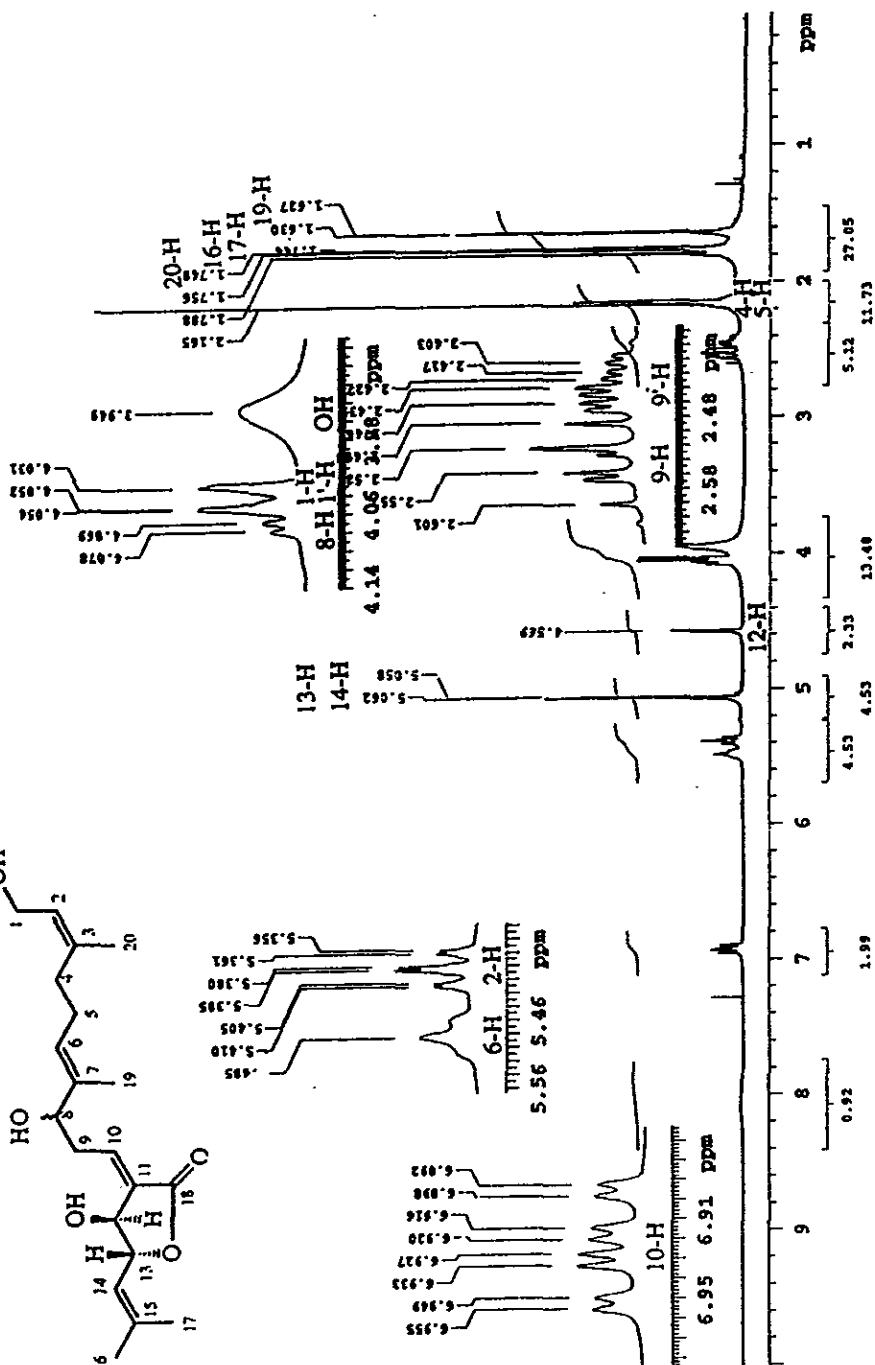
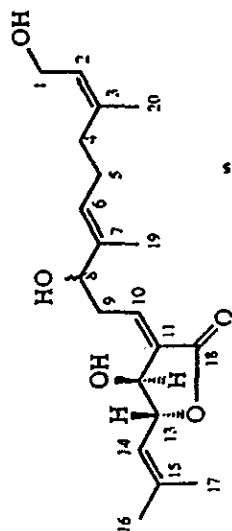
Espectro No. 11. Espectro de RMN¹H para 5,3',4'-triacetoxi-7-metoxi flavanona en CDCl₃, TMS a 300 MHz



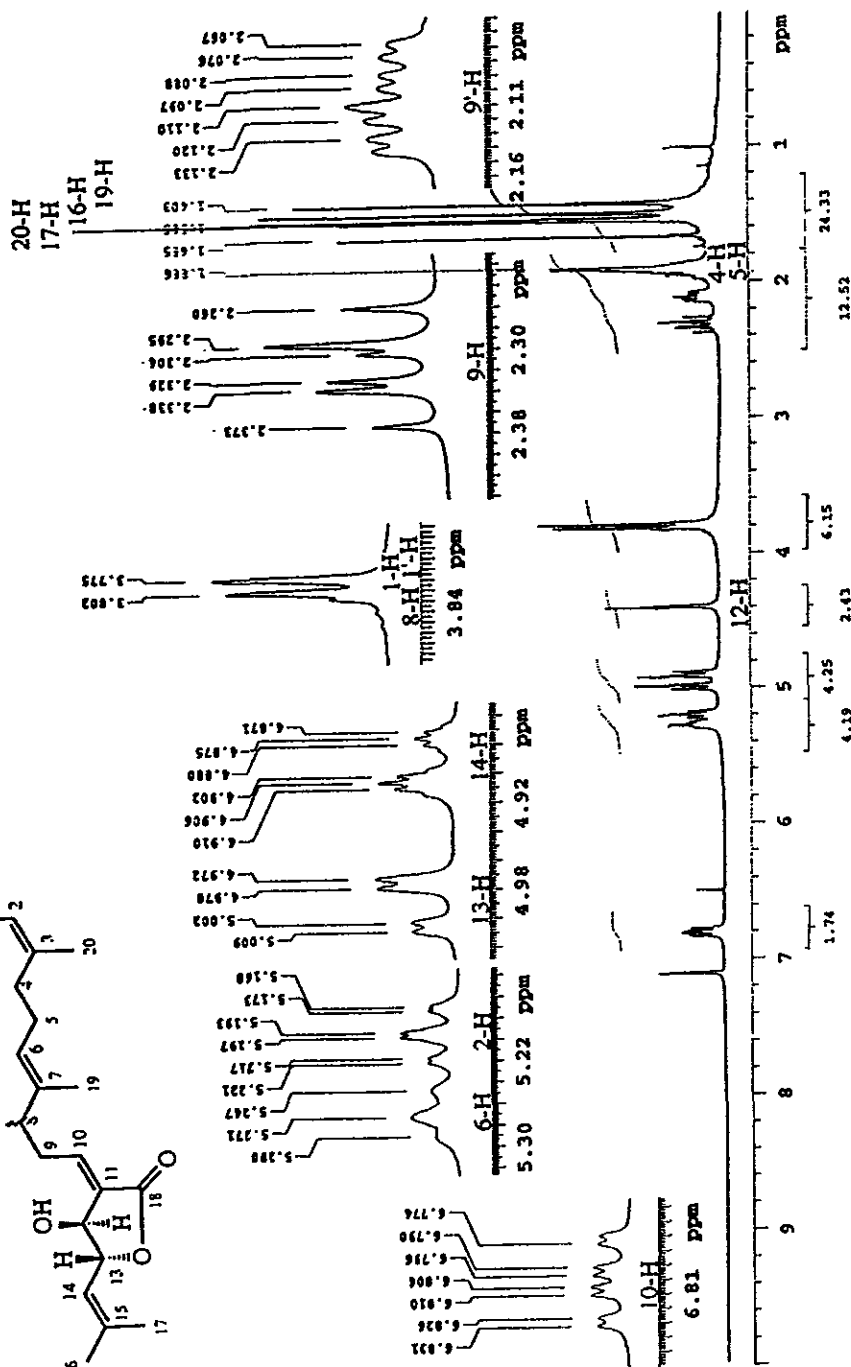
Espectro No. 12. Espectro de RMN¹³C y APT para 7-O-metil eriodictiol, en CDCl₃, TMS a 75 MHz.



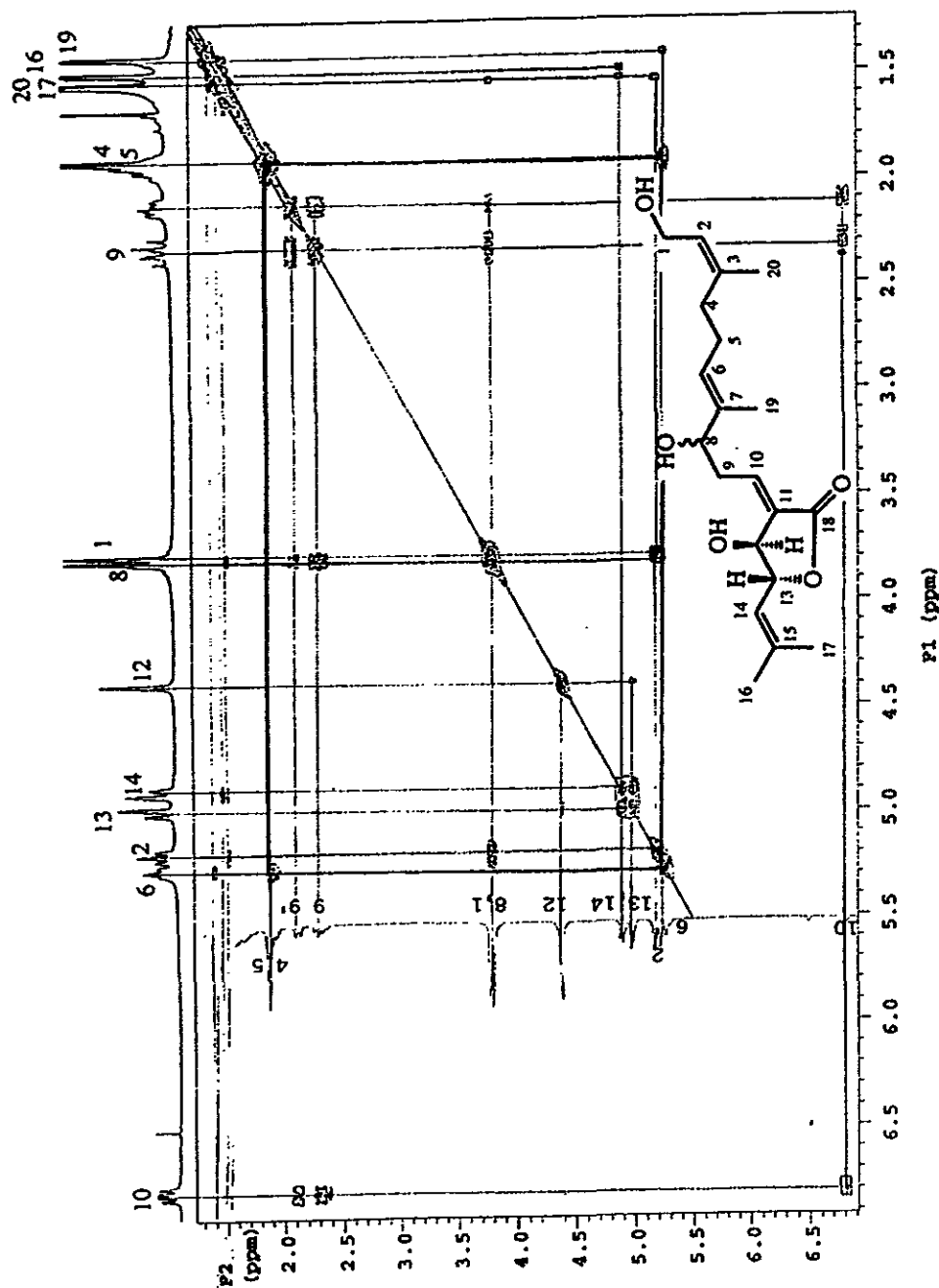
Espectro No. 13. Espectro de RMN¹³C de la tuxanónida en CDCl₃-C₆D₆, TMS a 75 MHz.



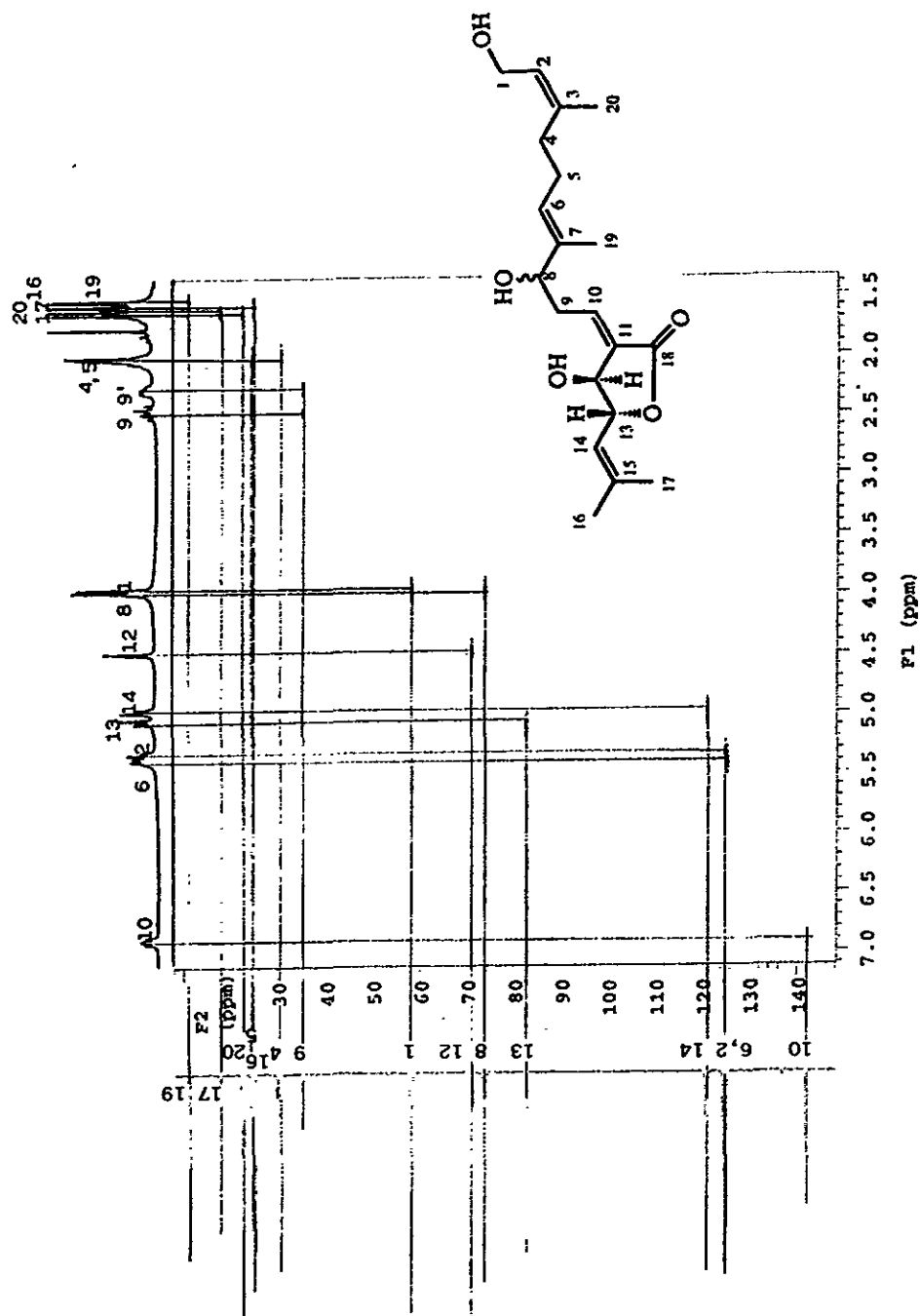
Espectro No. 14. Espectro de RMN¹H de la tuxpanólida en CDCl₃, TMS a 300 MHz



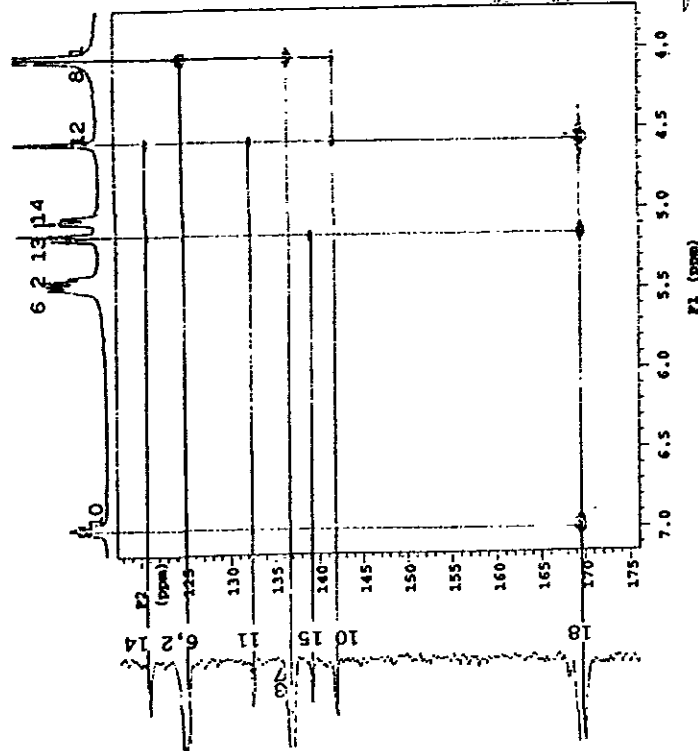
Espectro No. 15. Espectro de RMN¹H de la tuxpanóida en CDCl₃-C₆D₆, TMS a 300 MHz



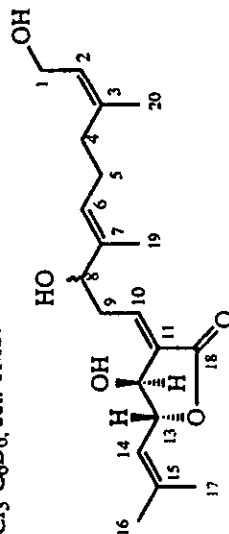
Espectro No. 16. Espectro bidimensional COSY de la tuxanolida en $\text{CDCl}_3\text{-C}_6\text{D}_6$, TMS a 300 MHz.



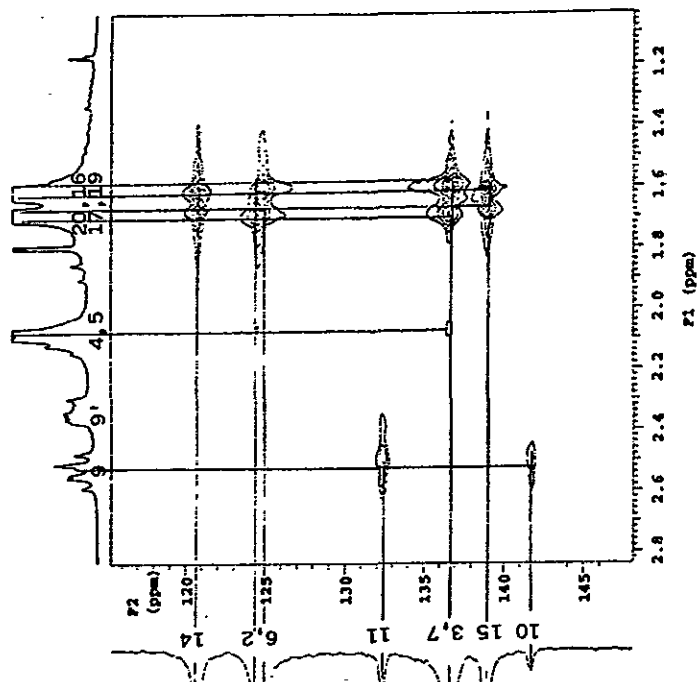
Espectro No. 17. Espectro bidimensional HETCOR de la tuxpanólida en $\text{CDCl}_3\text{-C}_6\text{D}_6$ con TMS.

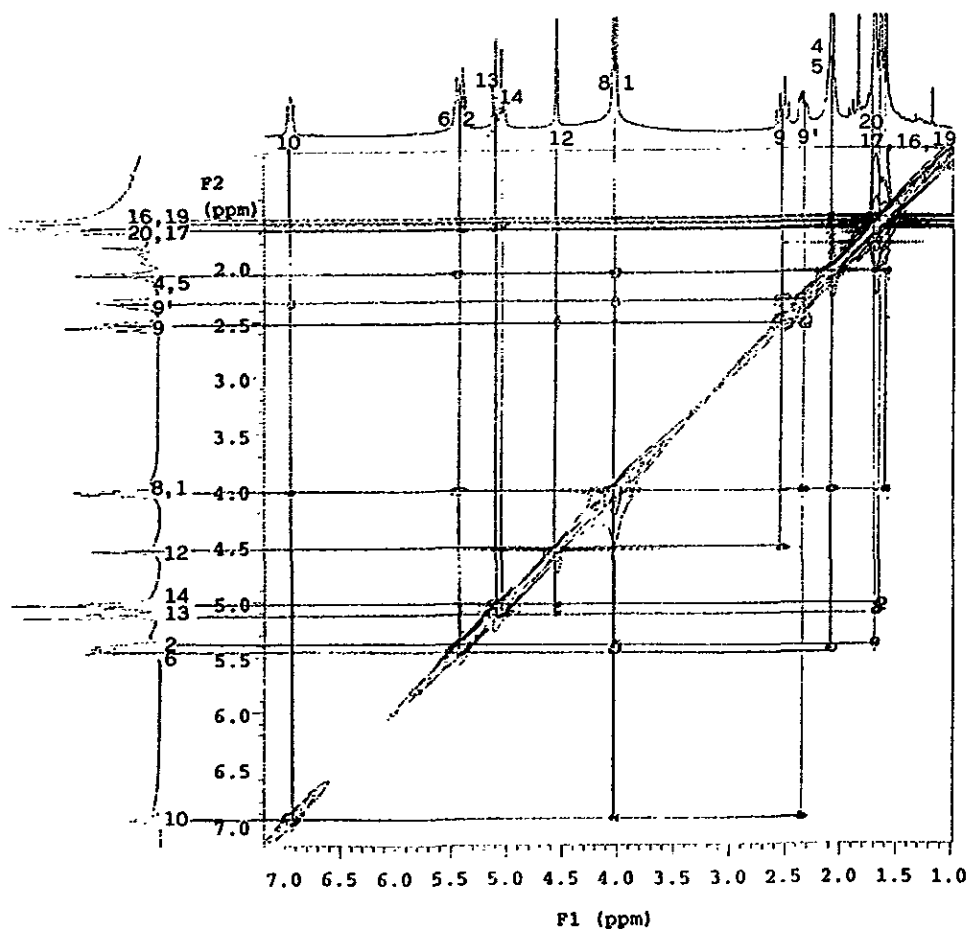
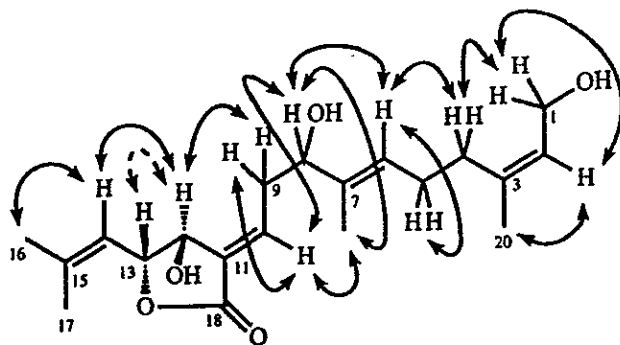


Espectro No. 18. Espectro bidimensional LR HETCOR de la tuxpanólida en $\text{CDCl}_3\text{-C}_6\text{D}_6$ con TMS.

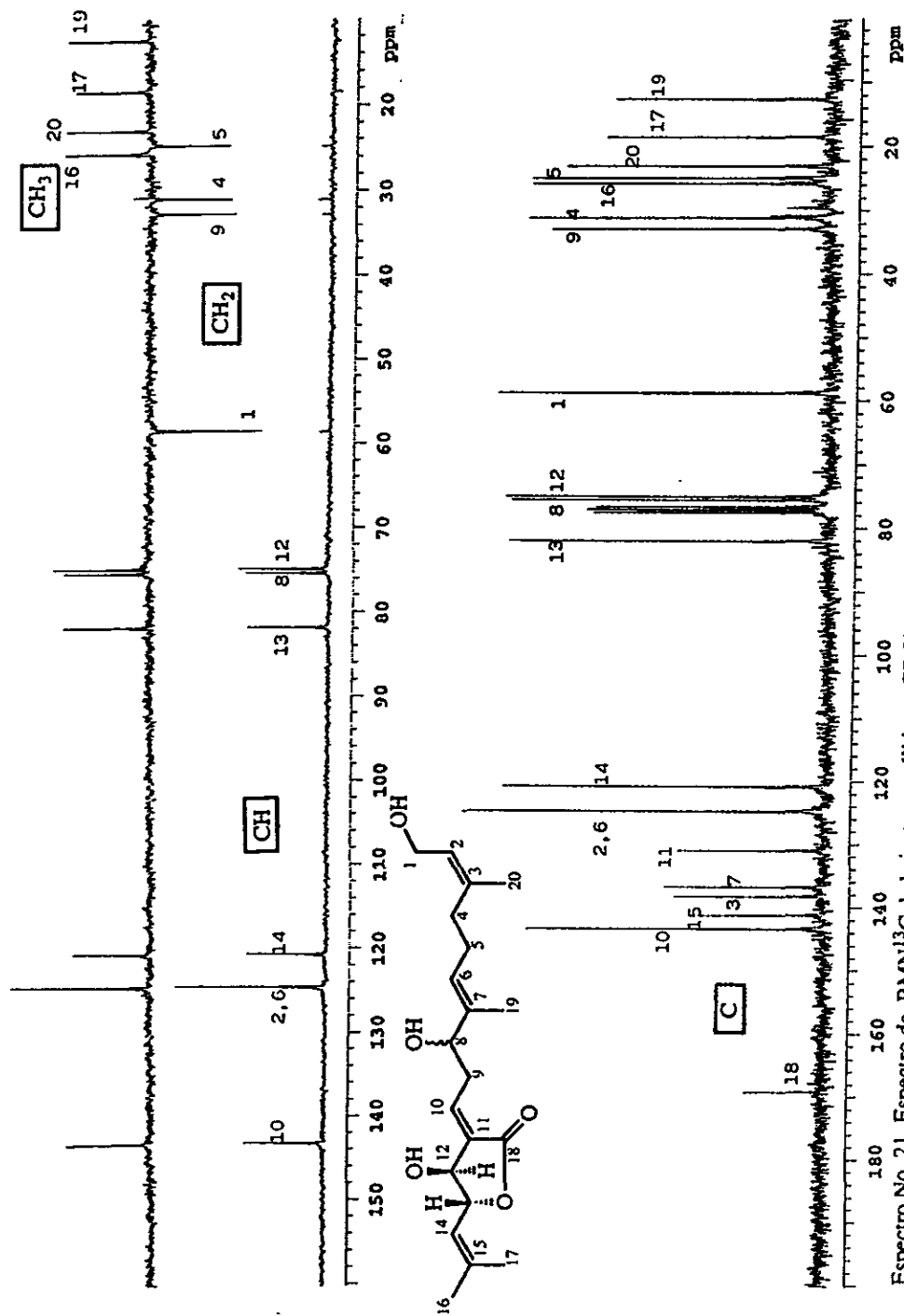


Espectro No. 19. Espectro bidimensional LR HETCOR de la tuxpanólida en $\text{CDCl}_3\text{-C}_6\text{D}_6$ con TMS.

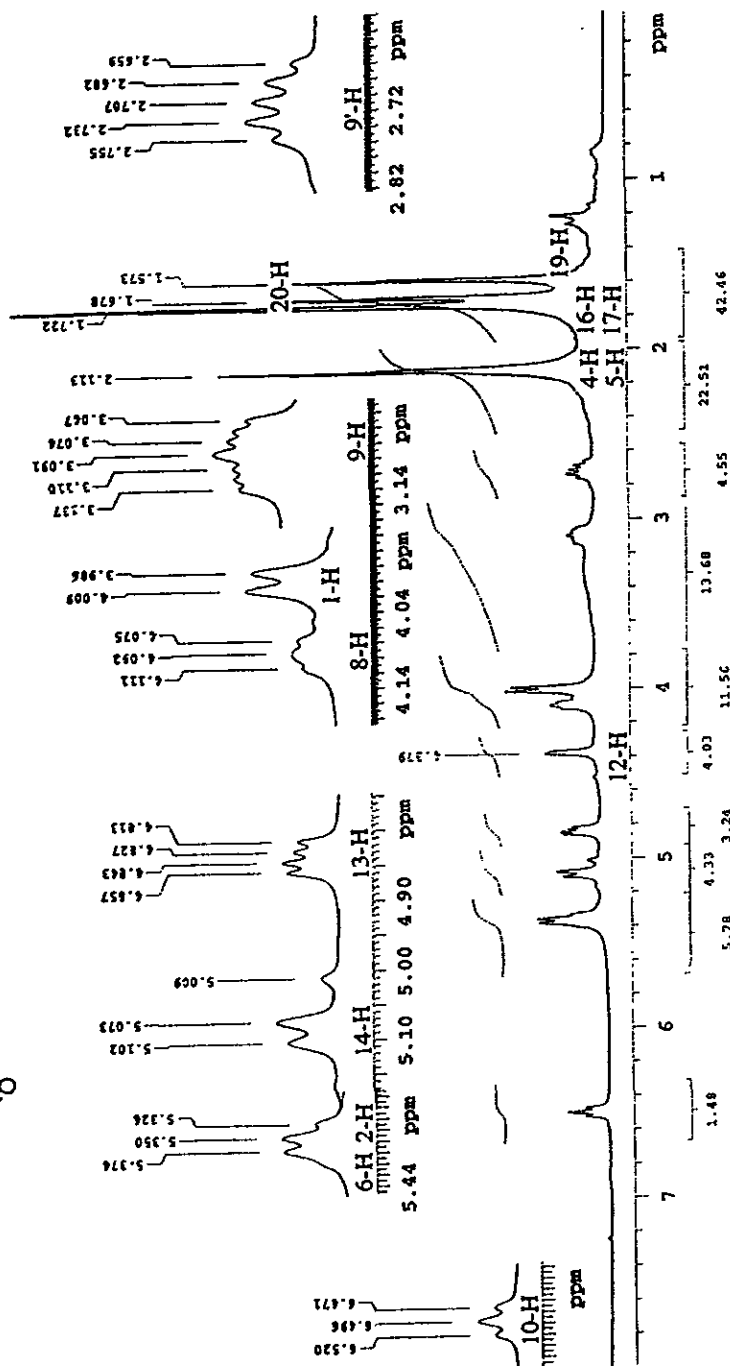
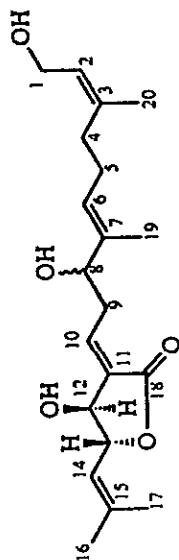




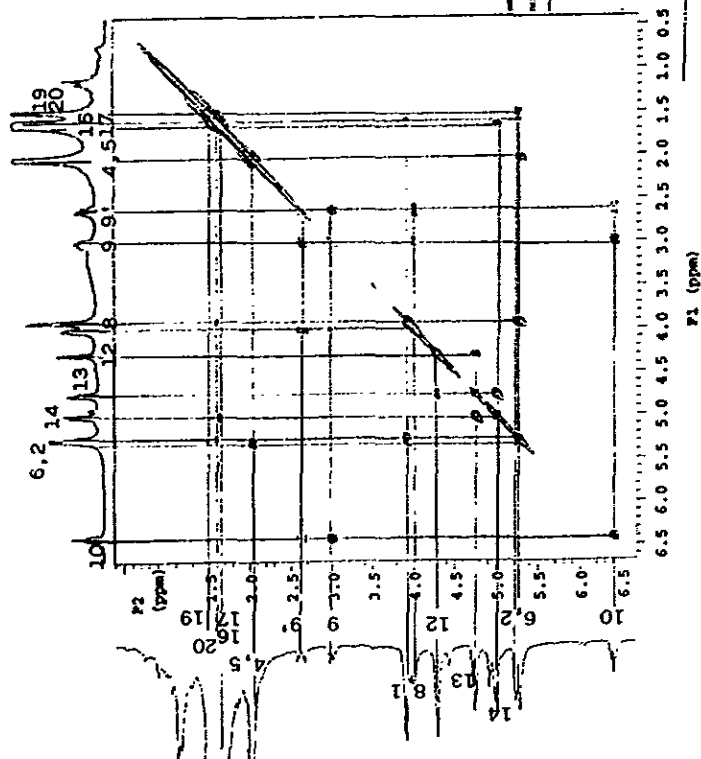
Espectro No. 20. Espectro bidimensional NOESY de la tuxpanólida en $\text{CDCl}_3\text{-C}_6\text{D}_6$ con TMS, a 300 MHz.



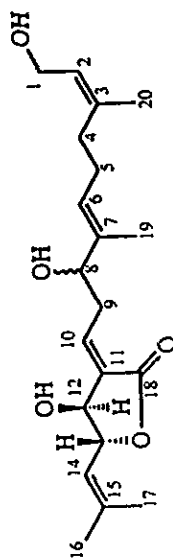
Espectro No. 21. Espectro de RMN ^{13}C de la isotuxpanólida en CDCl_3 , TMS a 75 MHz.



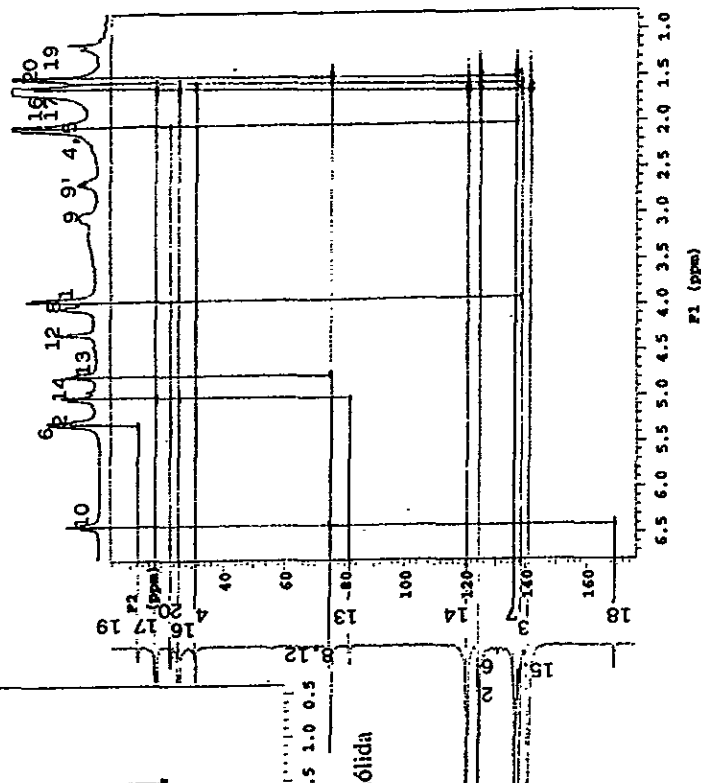
Espectro No. 22. Espectro de RMN¹H de la isotuxpanólida en CDCl₃, TMS a 300 MHz.

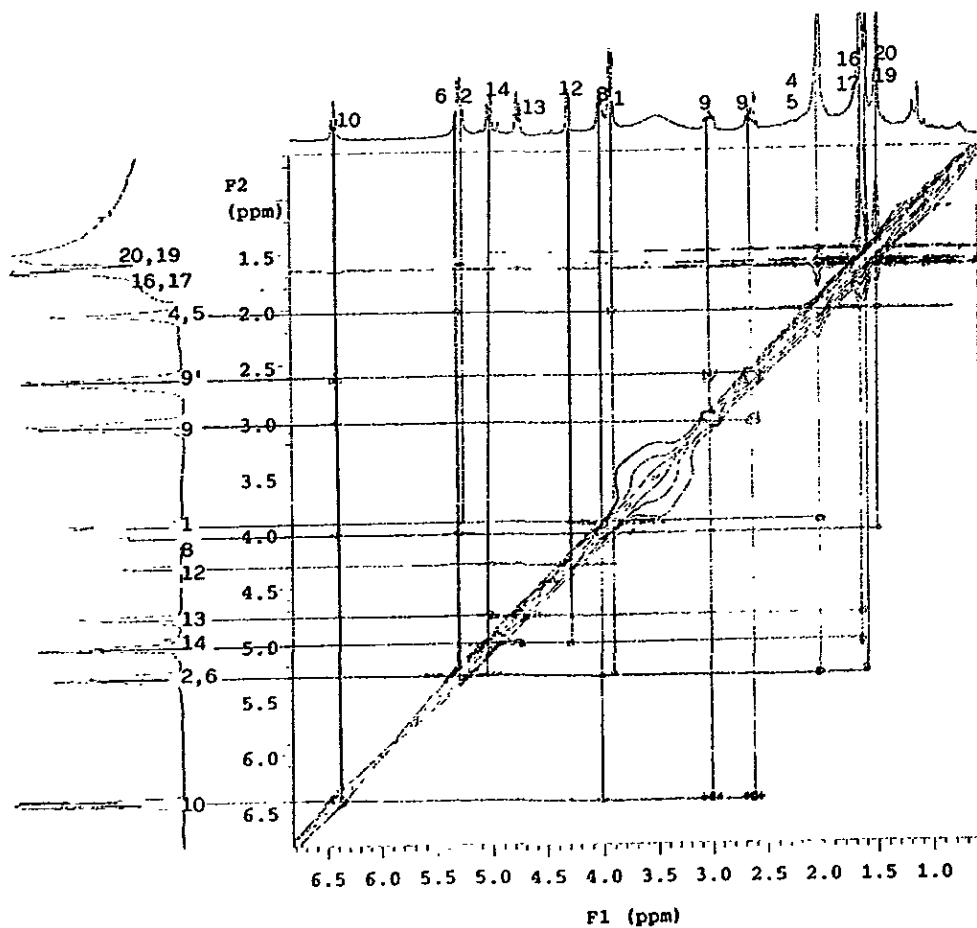
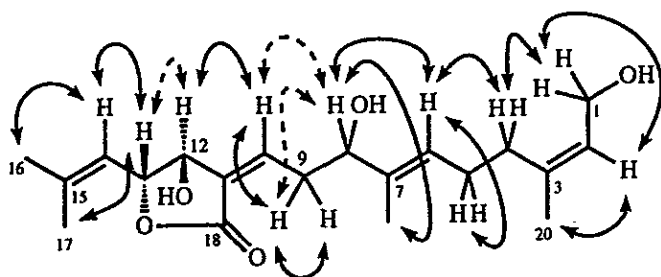


Espectro No. 23. Espectro bidimensional COSY de la isotuxpanólida en CDCl_3 , TMS a 300 MHz.



Espectro No. 24. Espectro bidimensional LR HETCOR de la isotuxpanólida en CDCl_3 , con TMS.





Espectro No. 25. Espectro bidimensional NOESY de la isotuxpanólida en CDCl_3 , con TMS, a 300 MHz.

X. BIBLIOGRAFIA.

1. Herbert R. B. (1989), The biosynthesis of secondary metabolites, 2a. ed., Ed. Chapman and Hall, New York, 1-7.
2. Harborne J. B. (1984), Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis, 2a. ed., Ed. Chapman and Hall LTD, New York, 1-26.
3. Domínguez A.X. (1985), Métodos de investigación fitoquímica, 3a. ed., Ed. Limusa, México, 9-117.
4. Argüeta V. A., Cano C.M. (1994), Atlas de la medicina tradicional mexicana, Instituto Nacional Indigenista, México.
5. Davis J. (1992), Secondary metabolites: their function and evolution, Ciba Foundation Symposium 171, Ed. John Wiley & Sons, London, 1-2, 64-68.
6. Domínguez A. X. (1990), Phytochemistry methods frontiers, *Rev. Latinoamer. Quím.* Special suplement, 37-42.
7. Stafford H. A. (1992), Phenolic metabolism in plants, Ed. Plenum Press, New York, 1-23.
8. Markham K. R. (1982), Techniques of flavonoids identification, Ed. Academic Press, New York, 1-5, 72-91.
9. Harborne J. B. (1980), The flavonoids, Ed. Chapman and Hall, New York, 329-387.
10. Harborne J. B. (1967), The flavonoids, Ed. Chapman and Hall, New York, 78-91.
11. Geissman (1962), The chemistry of flavonoid compounds, Ed. The Macmillan Company, New York, 158-159, 290.
12. Newman A. A. (1972), Chemistry of terpenes and terpenoids, Ed. Academic Press, New York, 155-223.
13. Sukh D. (1985), Handbook of terpenoids, Vol. I, Ed. CRC Press, New York.

14. Romo de Vivar (1985), Productos naturales de la flora mexicana, Ed. Limusa, México, 59-157.
15. Arigoni D. (1968), Some studies in the biosynthesis of terpenes and related compounds, *Pure and Applied Chemistry*, **17**, 333-338.
16. Herout V. (1971), Chemotaxonomic of the Famile Compositae. In Pharmacognosy and Phytochemistry, Ed. Springer Verlag, New York, 64-68.
17. Fisher N. H., Wiley R. A., y Perry D. (1976), *Rev. Latinoamer. Quím.*, **7** (87), 87-93.
18. Fisher N. H. Oliver E. J. and Fisher H. D. (1979), The biogenesis and chemistry of sesquiterpene lactones, Departament of Chemistry, Louisiana State University, 50-59.
19. Hanson J. R. (1981), Terpenoids and steroids, Ed. The Royal Society of Chemistry, Vol. 10, 11 y 12, London.
20. Heywood V. H., Harborne J. B. (1977), The biology and chemistry of compositae, Vol. I, Ed. Academic Press, New York, 1-19.
21. Heywood V. H., Harborne J. B. (1977), The biology and chemistry of compositae, Vol. II, Ed. Academic Press, New York, 621-697.
22. Fay J. (1978), Revision of *Perymenium* (Asteracea- Heliantheae) in Mexico and Central America, *Allertonia*, **1**, 232-296.
23. Yoshioka H., Mabry T. J., and Timmermann B. N. (1973), Sesquiterpene lactones, University of Tokyo Press, Tokyo.
24. Bohlmann F. , Zdero C. (1977), Eine neue diterpensäure aus *Perymenium ecuadoricum*. *Phytochemistry*, **16**, 786-787.
25. Maldonado E., Vaughan J., and Ortega A. (1984), A melampolide and an eudesmanolide from *Perymenium mendezii*. *Phytochemistry*, **23** (4), 813-815.

26. Bohlmann F., Zdero C., and Robinson H. (1984), 4a,15-Dihydroencelin and related sesquiterpene acid from *Perymenium featherstonei*, *Phytochemistry*, **23** (5), 1185-1187.
27. Mayorga C. L. (1986), Estudio químico de *Perymenium discolor* y *Perymenium ghiesbreghtii*, Tesis de Licenciatura. Instituto de Química. UNAM. México.
28. Maldonado E., Mayorga L., Ortega A. (1987), Perydiscolic acid, a germacranolide from *Perymenium* species, *Phytochemistry*, **26** (1), 205-207.
29. Maldonado E., Ortega A. (1995), Germacrolides from *Perymenium berlandieri*, *Phytochemistry*, **38** (5), 1265-1267.
30. Vierte Auflage, (1959), *Beilsteins Handbuch der Organischen Chemie*, **7** (II), 316d.
31. Brownlie G., Spring F.S., (1956), Triterpenoids Part LII. The constitution and stereochemistry of friedelin and cerin, *J. Chem. Soc.*, 2419-2427.
32. Corey E.J., Ursprung J. J., (1956), The structures of the triterpenes friedelin and cerin, *J. Amer. Chem. Soc.* **78**, 5041-5051
33. The Merck Index, (1996), 12a ed., Ed. Merck & Co. Inc., New Jersey.
34. Kulanthaivel P., (1986), A new truxillate and some flavonoid esters from the leaf gum of *Traversia baccharoides*, *Can. J. Chem.*, **64**, 514-519.
35. Ahmad V. U. , (1994), Handbook of Natural Products data, Vol. 2, Pentacyclic triterpenoids, Ed. Elsevier, Amsterdam, 563-569.
36. Merijanian A., Moushati J., (1983), Hexane extract constituents of *Daedalia confragosa* (Fungus), *Rev. Latinoamer. Quím.*, **14** (2), 73-75.
37. Yamaguchi K. (1970), Spectral data of natural products, Vol. I., Ed. Elsevier Publishing Company, Tokyo, 137-150.
38. Betancor C, Freire R., (1980) Three triterpenes an other terpenoids from *Catha cassinoides*, *Phytochemistry*, **19**, 1989-1993.

39. Anjaneyulu A.S., Narayana R., (1980), Elaeodendrol and elaeodendradiol, new nor-triterpenes from *Eleodendron glaucum*, *Phytochemistry*, **19**, 1163-1169.
40. Patra A., Chaudhuri S. K., (1990), Applications of two dimensional NMR in spectral assignments of some friedelanes and secofriedelanes, *Magn. Reson. Chem.*, **28**, 85-92.
41. Patra A., Chaudhuri S.K. (1987), Assignment of Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance spectra of some friedelanes, *Magn. Reson. Chem.*, **25**, 95-100.
42. Chandler R. F., Hooper N. S., (1979), Friedelin and associated triperpenoids, *Phytochemistry*, **18**, 711-724.
43. Shafizadeh F., Melnikoff B. A., (1970), Coumarins of *Artemisia tridentata* ssp. *Vaseyana*, *Phytochemistry*, **9**, 1311-1316.
44. Hiermann A., Schantl D., (1996), Coumarins from *Peucedanum ostruthium*, *Phytochemistry*, **43** (4), 881-883.
45. Ballantyne M. M. McCabe P. H., (1971), Claisen rearrangements II. Synthesis of six natural coumarins, *Tetrahedron*, **27**, 871-877.
46. Mann J. (1987), Secondary metabolism, 2a. ed., Ed. Claredon Press, Oxford, 178-181.
47. Lam. J. Wrang P., (1975), Flavonoids and polyacetylenes in *Dahlia tenuicaulis*, *Phytochemistry*, **14**, 1621-1623.
48. Dictionary of organic compounds, 5a. ed. Supplement 8, (1990), Ed. Chapman and Hall, New York.
49. De Almeida L. M., Braz F. R., (1979), Diaryl propanoids from *Iryanthera polyneura*, *Phytochemistry*, **18**, 1015-1016.
50. Amaro J. M. (1983), Estudio fitoquímico de la flora andina venezolana II, Flavonoides de la *Choromolaena meridensis*, *Rev. Latinoamer. Quím.*, **14** (2), 86-88.

51. González G. A. Fraga M. B., (1984), Sterbina, una nueva flavanona del *Eupatorium sternbergianum*, *Rev. Latinoamer. Quím.*, **14** (3), 115-117.
52. Mc Cormick S., Robson K., (1985), Flavonoids from *Wyethia glabra*, *Phytochemistry*, **24** (7), 1614-1616.
53. Bovey A. F. (1988), Nuclear magnetic resonance spectroscopy, 2a. ed., Ed. Academic Press, New York, 325-354.
54. Waugh J. (1990), Advance in magnetic resonance, Vol. 14, Ed. Academic Press, New York, 1-17.
55. Ravi B. N. and Faulkner D. J., (1979) Acyclic diterpenes from the marine sponge, *J. Org. Chem.*, **44**, 968.
56. Gören N., Kirmizigül S., and Zdero C. (1997), A farnesol derivative from *Tanacetum aucheranum*, *Phytochemistry*, **44**, 311.