



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

AISLAMIENTO Y ELUCIDACION ESTRUCTURAL DE LOS ALCALOIDES PRESENTES EN Bocconia arborea (PAPAVERACEAE), UNA PLANTA EMPLEADA EN LA MEDICINA TRADICIONAL.

T E S I S QUE PARA OBTENER EL TITULO DE QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO PRESENTA JOSE ANIBAL JULIAN HERMENEGILDO

27/04/2000



MEXICO, D.F.



2000

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

JURADO ASIGNADO

Presidente	María Luisa García Padilla
Vocal	Guadalupe Mercado Ramírez
Secretario	Eduardo Guillermo Delgado Lamas
Primer suplente	María Elena Villatoro Méndez
Segundo suplente	Martha Yolanda González Quezada

Sitio donde se desarrolló el tema:

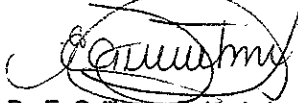
Laboratorio 1, Edificio C
Instituto de Química, UNAM

Sustentante:



José Anibal Julián Hermenegildo

Asesor:



Dr. E. Guillermo Delgado Lamas

Esta tesis fué realizada en el Laboratorio 1, edificio C, del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. Guillermo Delgado Lamas, y con el apoyo financiero de los proyectos: DGAPA- IN212195 (UNAM) y CONACYT 3669P- E9607

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios, por darme la oportunidad de conocer su obra, y permitirme compartir este momento con las personas que amo.

A mis tíos María Isabel Jacobo y Elfege Miguel, por darme la mejor herencia, mi profesión. El considerarme su hijo ha sido una gran bendición para mí, los amo. Nuestros sacrificios y desvelos no fueron en vano. Gracias a su gran visión, apoyo incondicional y alta calidad humana han sido piedra angular de una nueva generación.

A la UNAM, por su generosidad y darme la mas valiosa formación, pertenecer a ella es una gran satisfacción y un gran orgullo.

Al Dr. Guillermo Delgado, con todo respeto y afecto, por permitirme participar en sus proyectos de investigación, por la asesoría brindada en la realización de este trabajo y por el estímulo hacia la superación académica, profesional y humana en cada uno de sus alumnos.

Al personal Técnico-Académico del Instituto de Química de la UNAM:

a las M. en C. María Isabel Chávez y Beatriz Quiroz por el registro de los espectros de RMN,

a la Q. Rocio Patiño por el registro de los espectros de IR, UV y rotación óptica,

al Ing. Luis Velasco y al M. en C. Javier Pérez por el registro de los espectros de masas,

a la Lic. Cecilia Aguilar, y al personal de la Biblioteca "Jesús Romo Armería".

DEDICATORIAS

Dedico esta tesis a mi tía María Isabel Jacobo, por todo su amor y cuidados que siempre me ha dado, y por su gran ejemplo de lucha constante.

A mi tío Efigo Miguel D., por su apoyo total en todos mis proyectos, por haber hecho de mí un hombre de bien, gracias por su ejemplo de honestidad y trabajo.

A mis papás María Hermenegildo y Moisés Julián, por darme la vida.

A mis hermanos Emilio, Mirtha, Nicolás, Mónica, Rufino, Agustina, Hilario y Ana María, que aunque estamos físicamente lejanos, siempre elevo una oración para su cuidado, y los exhorto a que sigan trabajando y se superen cada día.

A mi hermano Marcos y Celi, por su afecto, y a mi sobrina Diana, por sus inquietudes y travesuras, siempre tiene algo que enseñamos.

A Esther, por todos los grandes momentos que hemos pasado juntos; por tu amor, comprensión, y confianza en mí, te amo.

A la familia Varela López, con cariño y respeto.

A mis amigos Clicerio y Enrique, por nuestra gran amistad.

A mis Maestras y Maestros, por su paciencia y enseñanza, ya que son parte de mi formación profesional.

A mis amigos del grupo 9: Norma, Olga, Paty H., Sandra, Valeria, Liz, Ale, Paty Ch., Eli, Adrián y Gabriel, por todas las inolvidables vivencias que hemos pasado juntos.

A mis amigos: Armando, Ana, Jorge, Alejandro P., Rafael, Alejandro M., así como a la Sra. Lili, a Guillermo y Omar, que aunque resulta difícil vernos siempre existe ese vínculo de afecto.

A mis supercompañeros del laboratorio 1: Julia, Emma, Ricardo, Liliana, Socorro, y en particular a María Luisa y Bernice por darle ese toque especial a este trabajo.

INDICE

Acrónimos y abreviaturas.	i
1. INTRODUCCIÓN.	1
2. OBJETIVOS.	3
3. ANTECEDENTES	4
3.1 Generalidades.	4
3.2 Perfil fitoquímico.	6
3.3 Importancia farmacológica de los alcaloides de tipo benzofenantridina.	10
4. DESARROLLO EXPERIMENTAL.	11
4.1 Recolección e identificación del material vegetal.	11
4.2 Preparación de los extractos orgánicos.	11
4.3 Material y equipo.	12
4.4 Cromatografía del extracto etanólico.	13
4.4.1 Fraccionamiento del extracto etanólico.	13
4.4.2 Fracciones A-F.	14
4.4.3 Aislamiento de 6-acetonildihidosanguinarina (10).	15
4.4.4 Aislamiento de 6-acetonildihidroqueleritrina (3).	16
4.4.5 Aislamiento de 6-metoxidihidroqueleritrina (4).	17
4.5 Cromatografía del extracto de diclorometano.	19
4.5.1 Fraccionamiento del extracto de diclorometano.	19
4.5.2 Fracciones 1-4.	20
4.5.3 Columna A-5.	20
4.5.4 Aislamiento de Sanguidimerina (11C).	21
4.5.5 Aislamiento de compuestos N1 (12) y N2 (13).	22
4.6 Resultados de bioactividad.	24
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	25
5.1 Elucidación estructural de los metabolitos secundarios aislados.	25
5.1.1 Caracterización de 6-acetonildihidosanguinarina (10).	25

5.1.2	Caracterización de 6-acetonildihidroqueleritrina (3).	33
5.1.3	Caracterización de 6-metoxidihidroqueleritrina (4).	34
5.1.4	Caracterización de Sanguidimerina (11C).	36
5.1.5	Caracterización de los compuestos N1 (12) y N2 (13).	40
5.1.6	Bioactividad.	52
6.	RESUMEN Y CONCLUSIONES.	53
7.	ESPECTROS.	54
Espectro 1.	IR (CHCl ₃) 6-acetonildihidrosanguinarina (10).	55
Espectro 2.	EM (IE, 70 eV) 6-acetonildihidrosanguinarina (10).	56
Espectro 3.	RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) 6-acetonildihidrosanguinarina (10).	57
Espectro 4.	RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) 6-acetonildihidrosanguinarina (10).	58
Espectro 5.	RMN ¹³ C DEPT (125 MHz) 6-acetonildihidrosanguinarina (10).	59
Espectro 6.	COSY (500 MHz, CDCl ₃) 6-acetonildihidrosanguinarina (10).	60
Espectro 7.	HMQC (125 MHz, CDCl ₃) 6-acetonildihidrosanguinarina (10).	61
Espectro 8.	HMBC (125 MHz, CDCl ₃) 6-acetonildihidrosanguinarina (10).	62
Espectro 9.	RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) 6-acetonildihidroqueleritrina (3).	63
Espectro 10.	RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) 6-metoxidihidroqueleritrina (4).	64
Espectro 11.	RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) Sanguidimerina (11C).	65
Espectro 12.	EM (IE, 70 eV) Sanguidimerina (11C).	66
Espectro 13.	RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) Compuesto N1 (12).	67
Espectro 14.	EM (IE, 70 eV) Compuesto N1 (12).	68
Espectro 15.	COSY (500 MHz, CDCl ₃) Compuesto N1 (12).	69
Espectro 16.	NOESY (500 MHz, CDCl ₃) Compuesto N1 (12).	71
Espectro 17.	RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) Compuesto N2 (13).	73
Espectro 18.	COSY (500 MHz, CDCl ₃) Compuesto N2 (13).	74
Espectro 19.	NOESY (500 MHz, CDCl ₃) Compuesto N2 (13).	75
Espectro 20.	EM (IE, 70 eV) Compuesto N2 (13).	78
8.	BIBLIOGRAFÍA.	79

Acrónimos y abreviaturas

AcOEt	Acetato de etilo
°C	Grado Celsius
CC	Cromatografía en columna
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CHCl ₃	Cloroformo
CL ₅₀	Concentración letal media
cm ⁻¹	Número de onda
CMi	Concentración mínima inhibitoria
COSY	Correlated spectroscopy
d	Doblete
dd	Doble de doble
δ	Desplazamiento químico
DEPT	Distortionless enhancement by polarization transfer
EM	Espectrometría de masas
eV	Electrón volt
g	Gramo
Hex	Hexano
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
Hz	Hertz
IE	Impacto electrónico
IMEPLAM	Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales.
IR	Espectroscopia de Infrarrojo
J	Constante de acoplamiento
L	Litro
M ⁺	Ion molecular
m	Multiplete
mL	Mililitro
m/z	Relación masa-carga

MeOH	Metanol
MHz	Megahertz
NE	No estudiado
nm	Nanómetro
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
Pf	Punto de fusión
PM	Peso molecular
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
RMN ¹³ C	Resonancia magnética Nuclear de Carbono 13
RO	Rotación óptica
s	Singlete
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta

1. Introducción.

Se estima que en el mundo existen unas 500 000 especies de plantas superiores, de éstas, sólo menos del 1 % han sido estudiadas exhaustivamente debido a su gran valor medicinal y composición química.¹⁻³

Dada la ubicación geográfica que tiene nuestro país, la diversidad vegetal se ve ampliamente favorecida, la cual se estima en cerca de 21 600 especies, y se refleja en la presencia de prácticamente todos los tipos de vegetación. Lo anterior se debe en gran medida a la conjugación de varios factores, como son los siguientes: a) la localización de nuestro país entre las dos zonas biogeográficas de América: la neoártica y la neotropical, b) la topografía más accidentada de la tierra, producto de la intensa actividad orogénica que ha repercutido en la presencia de grandes relieves; y c) la presencia de océanos, corrientes marinas, y vientos alisios. Estas características resultan en la existencia de toda la gama de climas y suelos.^{4,5} Así, México es considerado en el tercer lugar en cuanto a megadiversidad se refiere, después de Brasil y Colombia, seguido de Madagascar, Zaire e Indonesia.⁵

Las antiguas culturas prehispánicas han aprovechado esta riqueza vegetal supliendo necesidades de alimento, vivienda y vestido, así como también algunas plantas eran usadas para el mejoramiento de su salud. En esto último sienta sus bases la medicina tradicional.⁶ Esto es, el empleo de plantas en forma de extractos, tinturas, infusiones, etc., para el tratamiento de diversas enfermedades y cuyo conocimiento ha sido transmitido de generación en generación hasta nuestros tiempos.

En la actualidad, en México se encuentran 56 grupos étnicos distribuidos a lo largo y a lo ancho del territorio nacional, los cuales hacen uso de estos recursos naturales. Estudios realizados en nuestro país indican que existen aproximadamente unas 2 000 plantas medicinales en uso actual y que de éstas aproximadamente el 78% son empleadas en el tratamiento de enfermedades infecciosas de tipo digestivo, respiratorio y cutáneo. De esta manera, se observa también que ciertas comunidades recurren a esta práctica para suplir sus problemas de salud más básicos.⁷

Cabe mencionar que aproximadamente la cuarta parte de los fármacos empleados hoy en día en los países desarrollados proceden o se han modelado a partir de productos

vegetales.⁸ En las últimas décadas, en México, ha tenido gran auge esta línea de investigación, particularmente en plantas, con el propósito de conocer las características químicas de los metabolitos secundarios y su actividad biológica. Una estrategia para el descubrimiento de metabolitos secundarios no sólo con aplicación medicinal sino también con aplicación agrícola, ha sido la propuesta de la teoría de la defensa de las plantas, mediante la realización de estudios basados en observaciones de la interacción de éstas con el ecosistema.⁹

En un estudio químico-biológico de plantas suele tomarse como punto de partida el conocimiento etnomédico de ciertas comunidades, con el fin de dirigir el descubrimiento de posibles sustancias bioactivas.³ Es así como se aborda el presente estudio de *Bocconia arborea*, la cual es usada en la medicina tradicional en la región de Morelos para tratar diversas enfermedades infecciosas, y de esta forma aportar información científica sobre el uso de esta planta y conocer acerca de los constituyentes químicos de la misma.

2. Objetivos.

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo general, la generación de conocimiento sobre la estructura molecular de los metabolitos secundarios de la planta *Bocconia arborea*, conocida vulgarmente como "llora sangre", la cual es empleada en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas. Dada la importancia del empleo popular de esta planta y considerando la actividad antimicrobiana del extracto de la misma, detectada en un rastreo antimicrobiano aplicado a diversas plantas que son usadas en la medicina tradicional en Morelos, se establecieron los siguientes objetivos particulares:

1. Compilar la información etnobotánica, química y biológica de *B. arborea*.
2. Recolectar, seleccionar las partes de la planta y preparar los extractos orgánicos.
3. Aislar y purificar mediante diversos métodos de separación química, las sustancias constituyentes de la planta.
4. Realizar la elucidación estructural de las sustancias mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas.
5. Identificar las sustancias responsables de la actividad antimicrobiana.
6. Correlacionar los resultados obtenidos con el uso etnomédico del vegetal.
7. Ponderar el potencial de *Bocconia arborea* para el desarrollo de agentes antimicrobianos.

3. ANTECEDENTES.

3.1 Generalidades.

Bocconia arborea es un arbusto de 3 a 4 m de altura, de corteza tuberosa y agrietada; ramos jóvenes y base de las inflorescencias tomentosas. De hojas alternas, lanceoladas y pinnatifidas, cara inferior rubiginosa-tomentosa, inflorescencias en panojas terminales; flores muy pequeñas y fruto con una sola semilla comprimida. Florece de octubre a diciembre.¹⁰

Se localiza en la región de Mesoamérica. En México, se encuentra en los estados de Sinaloa, Durango, Nayarit, Jalisco, Michoacán, Morelos, Distrito Federal, Hidalgo, Puebla, Veracruz, Guerrero y Oaxaca. Habita entre los 1 800 y 2 000 metros sobre el nivel del mar. Se encuentra asociada frecuentemente a cultivos de riego y de temporal.¹⁰⁻¹²

Entre los diversos nombres comunes usados para esta planta podemos mencionar: Palmilla, palo del diablo (Sinaloa); árbol de judas, palo de judas, sauco, palo del diablo (Durango); chicalote, chicalote de árbol (Nayarit); cocoxihuitl (Jalisco, Michoacán); enguande, inguande, engüemba, llora sangre, palo amarillo (Michoacán); llora sangre, ahucachilli (Morelos); mano de león, llora sangre (Oaxaca).^{10, 11}

Bocconia arborea tiene diversas aplicaciones en la medicina tradicional. Maximino Martínez destaca las propiedades vermífugas y purgantes: "La leche que mana de las heridas practicadas en la corteza, tiene propiedades vermífugas y purgantes a la dosis de 12 a 14 gotas de una horchata. Las hojas cocidas y molidas se emplean como vulnerarias. Con el cocimiento concentrado se curan las úlceras de mal carácter y obra como deterativo poderoso".¹⁰

Por otra parte, el Padre Ximénez se refiere al llora sangre diciendo que "el aceite de la semilla es en extremo útil para resolver los tumores, apostemas o hinchazones y para sanar las llagas, las hojas sanan las heridas y llagas viejas y que machacadas y puestas encima de las verrugas las corroen y las quitan".¹⁰

La madera de *B. arborea* no es conocida por la mayoría de los artesanos, por lo tanto no tiene importancia comercial; en cuanto al uso medicinal de la planta, las hojas se utilizan como cataplasma para curar golpes e inflamaciones.



Figura 1. *Bocconia arborea* (Papaveraceae).

En las monografías científicas del IMEPLAM, se reportan una gran diversidad de usos del lloa sangre, por distintas comunidades: para tratar abscesos, anestésico, anestésico local, antiparasitario, antitérmico, antitumoral, astringente, atrofia mesentérica, carminativo, catarético, catártico, condilomas, detergente, empujante, gastritis, heridas, hidropesía, hipnótico, lunares espesos y crudos, ictericia, llagas, disuelve las nubes de los ojos, tetanizante, produce tumefacción, úlcera de mal carácter, verrugas, vulnerario y analgésico.¹³

En la región de Morelos, donde se recolectó la planta, Baytelman menciona que el lloa sangre se usa para problemas de la piel, en "jotes" o verrugas: "se muelen las hojas y se colocan sobre las verrugas amarrando con un trapo para que no se corran".¹⁴ "Sin embargo, el cocimiento de las hojas administrado por vía oral, se usa para la bilis, anemia y flogosis de cintura".¹⁵

3.2 Perfil fitoquímico.

El género *Bocconia*, perteneciente a la familia Papaveraceae, consta de nueve especies, endémicas de las áreas tropicales y subtropicales, desde México hasta Sudamérica. Se han reconocido las siguientes especies: *B. arborea*, *B. cordata*, *B. frutescens*, *B. integrifolia*, *B. latisejala*, *B. laurine*, *B. microcarpa*, *B. pearcei*, *B. vulcanica*.¹⁶⁻¹⁸

Se ha mencionado que el género *Bocconia* está estrechamente relacionado taxonómicamente con el género asiático *Macleaya*, pero no parecen contener alcaloides que sean significativos taxonómicamente.¹⁷ Otro autor ha determinado usar el género *Bocconia* como sinónimo del género *Macleaya*.¹⁹

Un estudio preliminar para la detección de alcaloides a diversos extractos de plantas, determinó que *B. arborea* contiene alcaloides terciarios y cuaternarios.²⁰

La importancia fitoquímica de este género se debe a la biosíntesis de protoberberina, protopina y alcaloides de tipo benzofenantridina,¹⁷ en particular, *B. arborea*, contiene alcaloides, tanto en su corteza como en sus partes aéreas. En diversos estudios realizados a esta especie, se han reportado alcaloides de tipo benzofenantridina: queleritrina (1), dihidroqueleritrina (2), 6-acetonildihidroqueleritrina (3), 6-metoxidihidroqueleritrina (4), dihidrosanguinarina (5), oxisanguinarina (6), 1,3-bis-(6-hidroqueleritrinil)-acetona (7). De

estos, los alcaloides 3 y 4 se han reportado como posibles artefactos; sin embargo, el alcaloide 7 se ha aislado, y también ha sido sintetizado. Así también se ha reportado la presencia de protopina (8) y alocriptopina (9).^{16, 21-23}

No se ha establecido un sistema de numeración definitivo para este tipo de estructura. En este trabajo se adoptará la numeración que algunos autores han utilizado, derivándose las estructuras del siguiente sistema tetracíclico:^{17, 24-26}

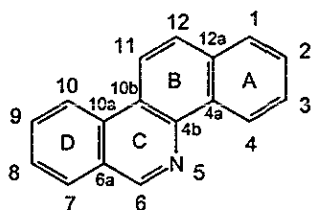
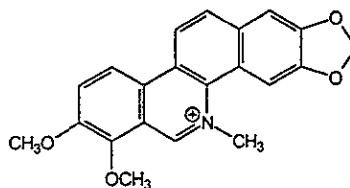


Figura 1. Sistema benzofenantridina

Substancia

Estructura

Queieritrina (1)¹⁶



Dihidroqueleritrina (2)²³

6-acetonildihidroqueleritrina (3).

(6-acetonildihidroqueleritrina)²¹

(8-acetonildihidroqueleritrina)¹⁷

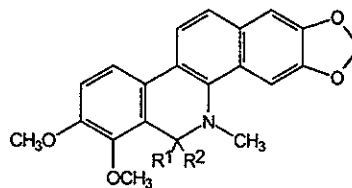
6-O-metildihidroqueleritrina (4).

(Angolina)¹⁷

(11-O-metildihidroqueleritrina)²¹

(9-metoxiqueleritrina)¹⁷

(8-metoxiqueleritrina)¹⁷

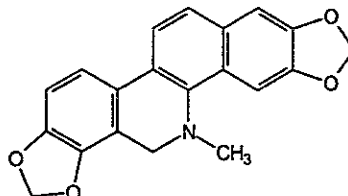


2 R¹ = R² = H

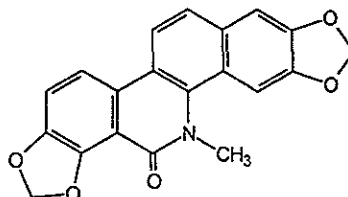
3 R¹ = H, R² = CH₂COCH₃

4 R¹ = H, R² = OCH₃

Dihidosanguinarina (5)^{21, 23}



Oxisanguinarina (6)²¹

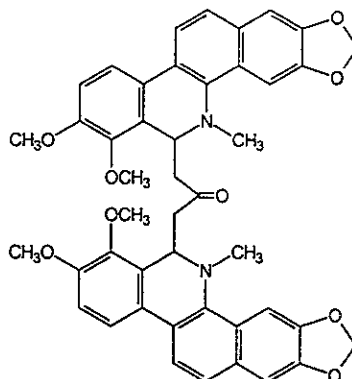


**1,3-bis-(6-hidroqueleritrinil)-
acetona (7).**

(Queleritridimerina)¹⁷

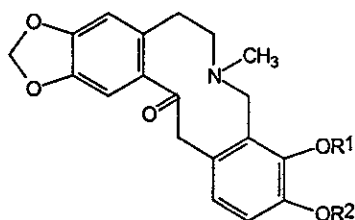
(1,3-bis(11-hidroqueleritrinil)-
acetona)²¹

(1,3-bis(8-hidroqueleritrinil)-
acetona)¹⁷



Protopina (8)¹⁶

Alocriptopina (9)¹⁶



8 R¹ + R² = CH₂

9 R¹ = R² = CH₃

3.3 Importancia farmacológica de los alcaloides de tipo benzofenantridina.

En cuanto a su actividad biológica, los alcaloides de tipo benzofenantridina han demostrado poseer actividad antimicrobiana,^{23, 27, 28} citotóxica,²⁹ antitumoral,²⁹⁻³³ antiinflamatoria,³⁴ y actividad antiviral.³⁵ Así también se ha observado que extractos que contienen alcaloides de tipo benzofenantridina muestran actividad contra bacterias que causan enfermedades periodontales, y que debido a su baja toxicidad son seguros en el uso clínico como agentes antiplaquetarios.³⁶

Por otro lado, en un rastreo antimicrobiano, el extracto metanólico de *B. arborea* demostró poseer actividad antimicrobiana frente a los microorganismos *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *C. albicans*.³⁷ Este último dato se toma como punto de partida para desarrollar el presente estudio.

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

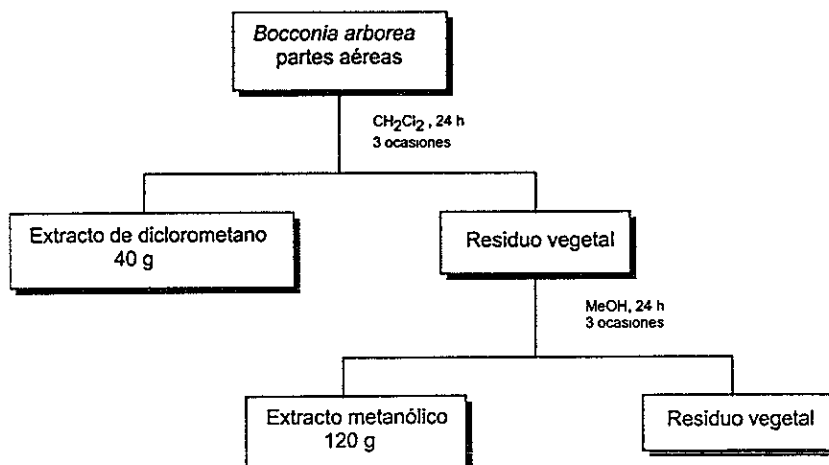
4.1 Recolección e identificación del material vegetal.

Bocconia arborea S. Watson (Papaveraceae), fué recolectada en octubre de 1996 en el municipio de Tepoztlán, en el estado de Morelos, México. Una muestra de la misma se encuentra depositada en el Herbario Nacional del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, con el registro MEXU 809 (J. Castillo).

4.2 Preparación de los extractos orgánicos.

Para el presente estudio se seleccionaron las partes aéreas (tallos y hojas) de dicha planta. La desecación del material vegetal se llevó a cabo a temperatura ambiente, a la sombra, y posteriormente fué molido, obteniéndose 1 kg de las partes aéreas. La extracción de las partes aéreas de la planta fué por maceración; cada extracción de 24 h, siendo en total tres para cada disolvente empleado, diclorometano y metanol, respectivamente (esquema 1). Los disolventes fueron eliminados a presión reducida en un rotaevaporador, obteniéndose 40 g de extracto de diclorometano y 120 g de extracto metanólico.

Esquema 1. Diagrama de extracción de las partes aéreas de *Bocconia arborea*.



Cada extracto obtenido se fraccionó en mezclas menos complejas, mediante cromatografía en columna. Las fracciones se analizaron por cromatografía en capa fina analítica, y se reunieron de acuerdo con sus características cromatográficas. Los diversos conjuntos de fracciones se resolvieron en sus componentes mediante cromatografías sucesivas en columna y/o en placa preparativa, y empleando técnicas de recristalización.

4.3 Material y equipo.

Para las cromatografías en columna se utilizó como fase estacionaria Silica-gel (SiO₂) marca Merk 60 GF de grado 254 y 70-230. Los disolventes utilizados como fase móvil fueron hexano (Hex), acetato de etilo (AcOEt), cloroformo (CHCl₃), metanol (MeOH), en distintas proporciones, manteniendo un orden creciente de polaridad.

El análisis por cromatografía en capa fina se efectuó en cromatofolios marca Macherey-Nagel Duren, tipo Alugram SilF/UV₂₅₄. Como reveladores se utilizaron una lámpara de rayos UV Spectroline, modelo ENF-240C (λ de 254 y 365 nm), una solución de sulfato cérico amoniacal ((NH₄)₄Ce(SO₄)₄) al 1% en ácido sulfúrico 2N, reactivo de Draggendorf (Munier y Macheboeuf)^{38,40} y reactivo de Mayer,^{39,40} éstos dos últimos para detección de alcaloides. La cromatografía en placa se realizó en placas preparativas Merck de 2 mm de grosor y una superficie de 20 x 20 cm.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos. Las lecturas de rotación óptica fueron determinadas en un polarímetro digital marca JASCO, modelo DIP-360.

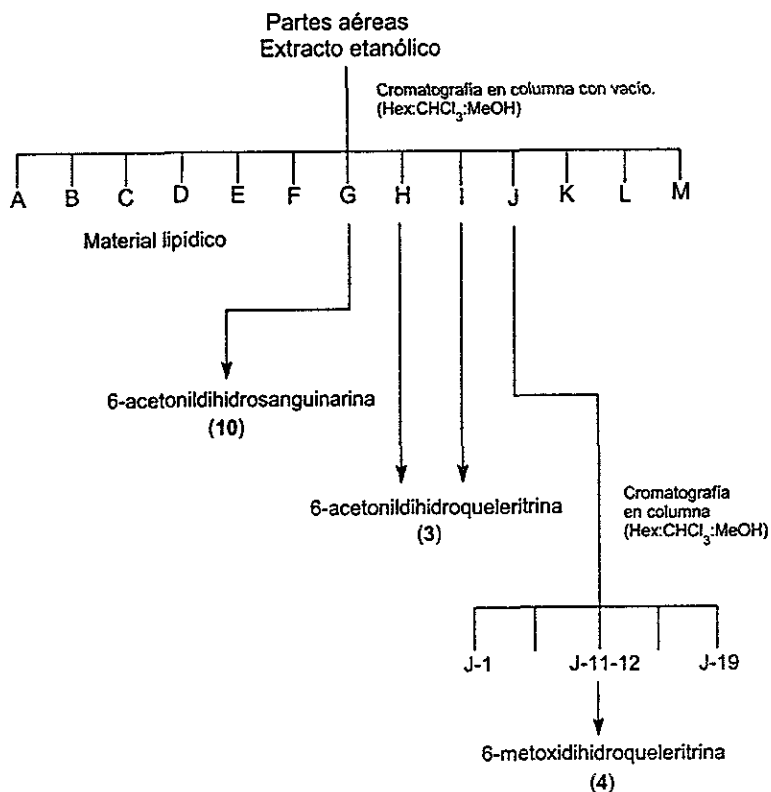
Los espectros de Ultravioleta se determinaron en un espectrofotómetro Shimadzu UV 160. Los espectros de Espectroscopía de Infrarrojo se obtuvieron en un equipo Perkin Elmer, modelo 283-B. Los espectros de Espectrometría de masas se obtuvieron en un espectrómetro marca JEOL, modelo JMS-AX505HA, utilizando la técnica de impacto electrónico con un potencial de ionización de 70 eV, y una corriente de ionización de 100 μ A y JEOL modelo JMX-SX102A.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C , se obtuvieron en espectrómetros analíticos Varian, modelo Gemini 200, Unity 300 y modelo Unity plus 500, a 200, 300 y 500 MHz respectivamente, empleando como disolvente CDCl_3 , D_2O y como estándar interno tetrametilsilano (TMS). En algunos casos se recurrió a experimentos en RMN ^{13}C con modalidad DEPT, HMQC, y en RMN ^1H COSY y NOESY.

4.4 Cromatografía del extracto etanólico.

4.4.1 Fraccionamiento del extracto etanólico.

Esquema 2. Cromatografía de extracto etanólico



El fraccionamiento primario del extracto etanólico de las partes aéreas de *B. arborea* se realizó por cromatografía en columna. El extracto etanólico (25.82 g) se adsorbió en gel de sílice 70-230 en proporción 1:1, se aplicó a una columna empacada con gel de sílice fina con una altura de 12 cm, y se desarrolló a presión reducida. La columna se eluyó con Hexano y mezclas de Hexano-CHCl₃ y CHCl₃-MeOH en orden creciente de polaridad, se obtuvieron 85 eluatos de 250 mL y que de acuerdo con su similitud cromatográfica fueron reunidos obteniéndose 13 fracciones, como se indica en la tabla 1:

Tabla 1. Fraccionamiento de extracto etanólico.

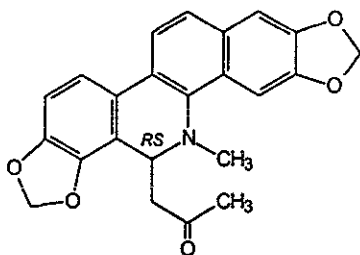
Eluato	Fase móvil	Proporción	Fracción
1-7	Hex-CHCl ₃	95:5	A
8-9	"	90:10	B
10-11	"	80:20	C
12-15	"	75:25	D
16:20	"	70:30	E
21-32	"	60:40	F
33-41	"	40:60	G
42-45	"	20:80	H
46-52	CHCl ₃	100	I
53-70	CHCl ₃ -MeOH	98:2	J
71-78	"	95:5	K
79-82	"	90:10	L
83-85	"	80:20	M

4.4.2 Fracciones A-F.

Las fracciones se analizaron en forma progresiva y se observó que para las primeras fracciones A-F, aún cuando se lograron obtener sustancias puras, éstas corresponden a material lipídico, no siendo metabolitos característicos de esta especie, por lo que no se llevó a cabo su análisis estructural detallado.

4.4.3 Aislamiento de 6-acetonildihidrosanguinarina (10).

De la fracción G se obtuvo por recristalizaciones sucesivas con CHCl_3 -MeOH, un polvo de color amarillo claro, cuyo peso obtenido es de 100 mg, fué caracterizado como 6-acetonildihidrosanguinarina (10);⁴⁴ dicha sustancia resultó ser mayoritaria de esta fracción, cuyas características físicas y espectroscópicas se presentan a continuación:



6-acetonildihidrosanguinarina (10)

$\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{NO}_5$ PM 389

Pf 190-191 °C

Rf 0.58 Hex- CHCl_3 -MeOH (1.5:1.5:0.05)

RO $[\alpha]_D = 0$ (CHCl_3)

IR ν_{max} (CHCl_3 , espectro 1): 870-1470, 1711 cm^{-1}

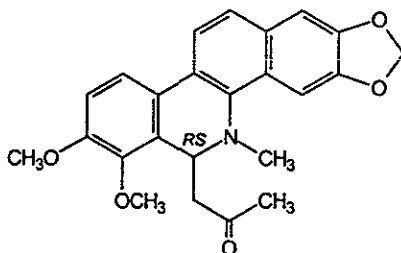
RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , espectro 3), δ , integración, multiplicidad, J, asignación: 7.70 (1H, d, 8.5, H-11), 7.53 (1H, s, H-4), 7.49 (1H, d, 8.5, H-12), 7.33 (1H, d, 8.0, H-10), 7.10 (1H, s, H-1), 6.86 (1H, d, 8.0, H-9), 6.03, 6.04 (2 x 2H, m, 2 x - OCH_2O -), 4.87 (1H, dd, 10.5, 4.0, H-6), 2.65 (3H, s, N- CH_3), 2.65 (1H, dd, 15.0, 10.5, H-13_B), 2.30 (1H, dd, 15.0, 4.0, H-13_A), 2.06 (3H, s, - COCH_3).

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 , espectro 4), δ , asignación: 31.20 (C-15), 43.02 (N- CH_3), 46.62 (C-13), 54.47 (C-6), 100.60 (C-4), 101.07 (- OCH_2O -, 2, 3), 101.53 (- OCH_2O -, 7, 8), 104.36 (C-1), 107.59 (C-9), 116.03 (C-10_B), 116.50 (C-10), 120.02 (C-11), 123.48 (C-6a), 124.06 (C-12), 125.71 (C-10a), 127.48 (C-4a), 131.05 (C-12a), 139.23 (C-4b), 144.30 (C-7), 147.21 (C-8), 147.65 (C-2), 148.27 (C-3), 207.15 (C-14).

EM (IE, espectro 2) m/z (int. rel.): 389 (M^+), 333 (24), 332 (100), 317 (5), 274 (3), 259 (2).

4.4.4 Aislamiento de 6-acetonildihidroqueleritrina (3).

En la fracción H se encontró un componente mayoritario, que es un polvo amarillo que fué obtenido por recristalizaciones sucesivas de CHCl_3 y MeOH, se obtuvo un peso de 310 mg, fué identificado como 6-acetonildihidroqueleritrina (3)²¹, con núcleo estructural muy semejante a la 6-acetonildihidosanguinarina (10). Esta sustancia también fue aislada de la fracción I, y presentó las siguientes características físicas y espectroscópicas:



6-acetonildihidroqueleritrina (3)

$\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{NO}_5$

PM 405

Pf 199-200 °C

Rf 0.53 Hex- CHCl_3 -MeOH (1.5:1.5:0.05)

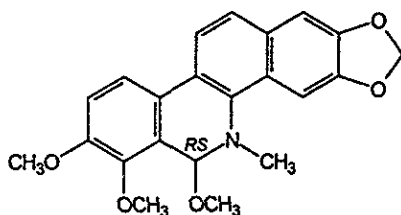
RO $[\alpha]_D = 0$ (CHCl_3)

IR ν_{max} (CHCl_3): 1712, 1604 cm^{-1}

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , espectro 9), δ , integración, multiplicidad, J, asignación: 7.71 (1H, d, 8.4, H-11), 7.54 (1H, d, 9, H-10), 7.51 (1H, s, H-4), 7.48 (1H, d, 8.4, H-12), 7.10 (1H, s, H-1), 6.95 (1H, d, 8.4, H-9), 6.04 (2H, dd, 2.1, 1.2, $-\text{OCH}_2\text{O}-$), 5.04 (1H, dd, 11.4, 3.6, H-6), 3.95 (3H, s, (C-7)- OCH_3), 3.92 (3H, s, (C-8)- OCH_3), 2.64 (3H, s, N- CH_3), 2.58 (1H, dd, 15.0, 11.4, H-13 $_{\beta}$), 2.25 (1H, dd, 15.0, 3.6, H-13 $_{\alpha}$), 2.06 (3H, s, $-\text{COCH}_3$).

4.4.5 Aislamiento de 6-metoxidihidroqueleritrina (4).

La cromatografía en columna, denominada J, desarrollada a presión normal, fué realizada con el residuo de la fracción J, el cual tuvo un peso de 3.14 g y se adsorbió en la misma cantidad de gel de sílice 70-230, se aplicó a una columna de vidrio empacada con gel de sílice fina, con una altura de 6 cm y 4.5 cm de diámetro, a presión reducida. La columna cromatográfica se comenzó a eluir con hexano al 100 %, aumentando gradualmente la polaridad con CHCl_3 . De esta cromatografía, se tomaron las subfracciones J-11 y J-12, cuyo peso es de 105.2 mg, con polaridad de Hex- CHCl_3 (4:6), en las cuales se observa, mediante cromatografía en capa fina, una mancha de color amarillo. Estas subfracciones se reunieron, y con este residuo se realizó una cromatografía en capa fina preparativa (de 2000 micrones y de 20 x 20 cm), eluyendo dicha placa con mezcla de disolvente Hex- CHCl_3 -MeOH (48.5:48.5:3.0). Se separó dicha substancia y posteriormente se recrystalizó, obteniéndose un polvo de color amarillo (52 mg), que al ser observado a la luz UV presenta un color amarillo, mismo que se observa cuando la placa es revelada con sulfato cérico, que corresponde a 6-metoxidihidroqueleritrina (4).^{21, 45}



6-metoxidihidroqueleritrina (4)

$\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{NO}_5$

PM 379

Pf 248-250 °C

Rf 0.43 CHCl_3 -MeOH (2.9:0.1)

RO $[\alpha]_D = 0$ (CHCl_3)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , espectro 10), δ , integración, multiplicidad, J, asignación: 7.78 (1H, d, 8.5, H-11), 7.70 (1H, s, H-4), 7.62 (1H, d, 9.0, H-10), 7.47 (1H, d, 8.5, H-12), 7.12 (1H, s, H-1), 7.04 (1H, d, 9.0, H-9), 6.05 (2H, s, $-\text{OCH}_2\text{O}-$), 5.55 (1H, s, H-6), 3.96 (3H, s, (C-7)- OCH_3), 3.93 (3H, s, (C-8)- OCH_3), 3.46 (3H, s, (C-6)- OCH_3), 2.76 (3H, s, N- CH_3).

4.5 Cromatografía del extracto de diclorometano.

4.5.1 Fraccionamiento del extracto de diclorometano.

El extracto de diclorometano (40 g), se adsorbió en gel de sílice 70-230 en la misma proporción, se aplicó a una columna empacada con gel de sílice fina y se desarrolló a presión reducida. La columna se eluyó con hexano y mezcla de Hex-AcOEt, aumentando gradualmente la polaridad. Se obtuvieron 108 eluatos, los cuales fueron reunidos de acuerdo con su similitud cromatográfica en 15 fracciones como se muestra en la tabla 2.

Esquema 3. Cromatografía de extracto de diclorometano.

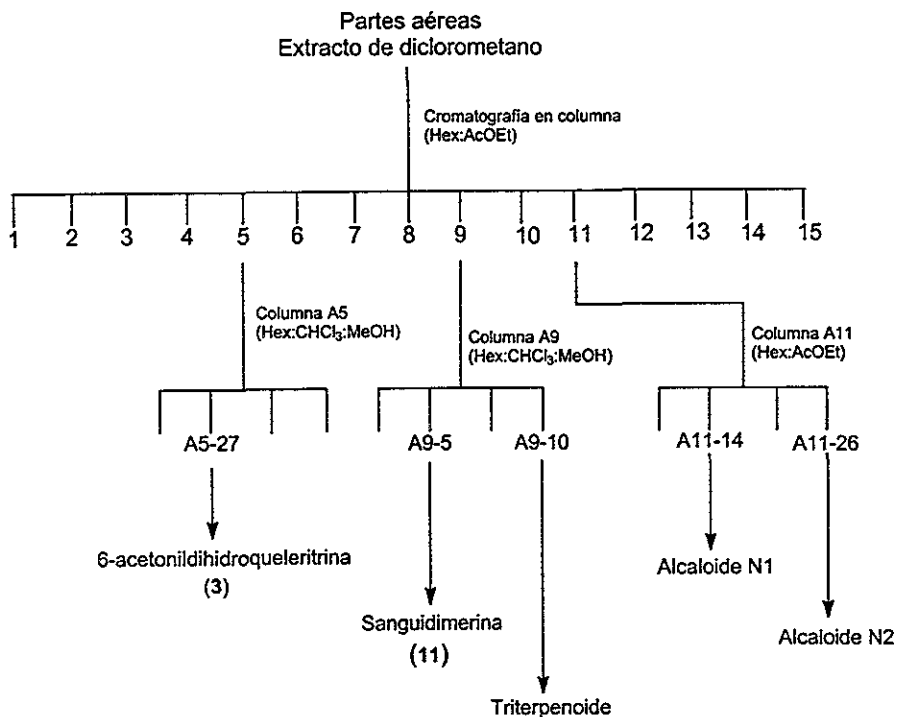


Tabla 2. Fraccionamiento del extracto de diclorometano.

Eluato	Fase móvil	Proporción	Fracción
1-18	Hex	100	1
19-24	"	98:2	2
25-31	Hex:AcOEt	95:5	3
32-37	"	"	4
38-39	"	90:10	5
40-48	"	"	6
49-53	"	"	7
54-60	"	"	8
61-63	"	"	9
64-70	"	80:20	10
71-87	"	"	11
88-93	"	70:30	12
94-96	"	"	13
97-104	"	"	14
105-108	"	60:40	15

4.5.2 Fracciones 1-4.

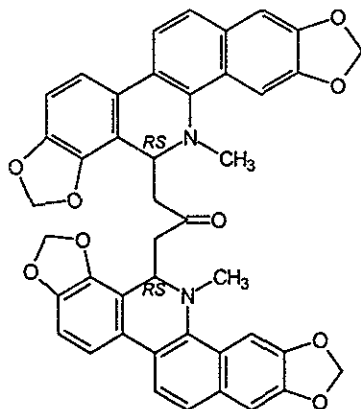
Estas fracciones, en su mayoría, están constituidas de material lipídico, sustancias semejantes a las presentadas en las fracciones poco polares del extracto etanólico. La consistencia de este residuo es cerosa, de color amarillo naranja. Estas sustancias no son características de esta especie.

4.5.3 Columna A-5.

La columna A-5 fue realizada con 1 g de residuo de la fracción 5, se adsorbió en sílice gruesa en proporción 1:1 y se aplicó a una columna cromatográfica (columna abierta), suspendida con gel de sílice 70-230 en relación de 1:30, con fase móvil Hex-CHCl₃ (1:1). Se colectaron eluatos de 50 mL, los eluatos se reunieron en subfracciones, de acuerdo con sus características cromatográficas. La subfracción A5-27 se recrystalizó de CHCl₃-MeOH y se obtuvo un polvo de color amarillo (30 mg), que correspondió a 6-acetonildihidroquelitrina (3), dicho compuesto ya se había aislado del extracto etanólico (véase la página 16).

4.5.4 Aislamiento de Sanguidimerina (11C).

La fracción 9 que comprende los eluatos 61-63 (0.94 g de residuo), fué recromatografiada en columna abierta, suspendida con 45 g de gel de sílice 70-230. La mezcla de elución fué constante y estuvo compuesta por Hex-CHCl₃-MeOH (1:1:0.1). De esta fracción se colectaron eluatos de 50 mL. Los eluatos con características cromatográficas similares se reunieron en subfracciones. De la subfracción A9-5 se aisló y purificó, mediante recristalización de CHCl₃-MeOH, un polvo de color café rojizo (40 mg), que al observarse con lámpara de UV₃₆₅ muestra un color azul violáceo. La sustancia es de tipo alcaloidea, y corresponde a la sanguidimerina (11C),⁴⁶⁻⁴⁸ obtenida como mezcla racémica.



Sanguidimerina (11C)

C₄₃H₃₂N₂O₉ PM 720

Pf 180 °C

Rf 0.56 Hex-CHCl₃-MeOH (1.5:1.5:0.05)

RO [α]_D = 0 (CHCl₃)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, espectro 11), δ, integración, multiplicidad, J, asignación: 7.64 (2H, d, 8.4, H-11, H-11'), 7.43 (2H, d, 8.4, H-12, H-12'), 7.43 (2H, s, H-4, H-4'), 7.28 (2H, d, 8.4, H-10, H-10'), 7.05 (2H, s, H-1, H-1'), 6.81 (2H, d, 8.4, H-9, H-9'), 6.04, 5.99 (4 x 2H, s, 4 x -OCH₂O-), 4.75 (2H, dd, 9.0, 5.0, H-6), 2.61 (2H, dd, 15.0, 9.0, H-13_B, H-15_B), 2.53 (3H, s, N-CH₃), 2.27 (2H, dd, 15.0, 5.0, H-13_A, H-15_A).

4.5.5 Aislamiento de los compuestos N1 (12) y N2 (13).

De la fracción 11 se realizó una recromatografía en columna abierta (columna A11), el peso del residuo es de 1.96 g, los cuales fueron adsorbidos en sílica gel gruesa. La columna de vidrio fué empacada con 80 g de sílica gel 70-230, suspendida en hexano. La columna se eluyó con hexano, aumentando gradualmente la polaridad con acetato de etilo. Se colectaron eluatos de 50 mL. De la subfracción A11-14 (172 mg), con polaridad Hex-AcOEt (8:2), se obtuvo un sólido de color amarillo claro (40 mg), el cual fué purificado mediante recristalización con CHCl₃-MeOH, al ser observado con lámpara de UV₃₆₅, en la cromatoplaaca analítica, presenta un color azul violáceo; se trata de un compuesto alcaloideo. No se encontró información en la literatura referente a este compuesto, al cual se le denominó **N1 (12)**, cuyas características espectroscópicas se mencionan a continuación:

C₄₄H₃₆N₂O₉

PM 736

Rf 0.43 Hex-CHCl₃-MeOH (1.5:1.5:0.05)

RO [α]_D = 0 (CHCl₃)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃, espectro 13), δ, integración, multiplicidad, J, asignación: 7.60 (1H, d, 8.5, H-11'), 7.57 (1H, d, 8.5, H-11), 7.47 (1H, d, 8.7, H-10'), 7.42, 7.41 (2 x 1H, s, H-4, H-4'), 7.38, 7.37 (2 x 1H, d, 8.5, H-12', H-12), 7.25 (1H, d, 8.0, H-10), 7.02 (1H, s, H-1), 7.00 (1H, s, H-1'), 6.91 (1H, d, 8.7, H-9'), 6.80 (1H, d, 8.0, H-9), 6.07 (2H, dd, 3.0, 1.5, -OCH₂O-), 5.99 (2H, dd, 5.0, 1.0, -OCH₂O-), 5.93 (2H, d, 1.0, -OCH₂O-), 5.09 (1H, dd, 11.5, 3.5, H-6'), 4.99 (1H, dd, 10.5, 4.0, H-6), 3.95 (3H, s, C(7')-OCH₃), 3.91 (3H, s, C(8')-OCH₃), 2.63 (3H, s, N-CH₃), 2.59 (3H, s, N-CH₃'), 2.46 (1H, dd, 15.5, 10.5, H-13_A), 2.40 (1H, dd, 15.0, 11.5, H-15_B), 2.30 (1H, dd, 10.5, 4.0, H-13_B), 2.23 (1H, dd, 15.0, 3.5, H-15_A)

En esta misma recromatografía, de la subfracción A11-26 con polaridad de Hex-AcOEt (4:6), se aisló y purificó, mediante recristalizaciones sucesivas, otro sólido, de color amarillo, denominado **N2 (13)**, cuyo peso obtenido es de 45 mg, el cual presentó características espectroscópicas de RMN ¹H muy similares a las presentadas en el espectro de RMN ¹H para el compuesto **N1 (12)**.

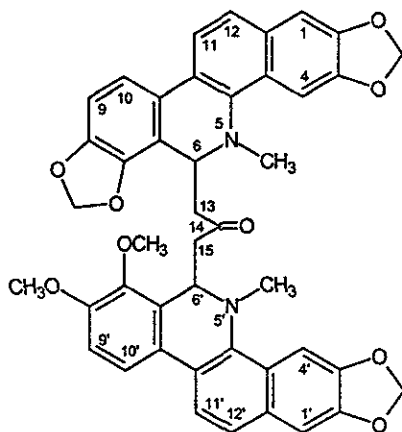
C₄₄H₃₆N₂O₉

PM 736

Rf 0.41 Hex-CHCl₃-MeOH (1.5:1.5:0.05)

RO [α]_D = 0 (CHCl₃)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃, espectro 17): δ, integración, multiplicidad, J, asignación: 7.67 (1H, d, 8.5, H-11), 7.66 (1H, d, 8.2, H-11'), 7.49 (1H, d, 8.7, H-10'), 7.44 (1H, d, 8.5, H-12), 7.43 (1H, d, 8.2, H-12'), 7.42 (1H, s, H-4'), 7.40 (1H, s, H-4), 7.30 (1H, d, 8.0, H-10), 7.06 (1H, s, H-1), 7.04 (1H, s, H-1'), 6.91 (1H, d, 8.7, H-9'), 6.83 (1H, d, 8.0, H-9), 6.03, 6.01, 5.99 (3 x 2H, dd, 1.5, 1.5, 2.5, 3 x -OCH₂O-), 4.88 (1H, dd, 11.0, 3.0, H-6'), 4.80 (1H, dd, 9.0, 5.0, H-6), 3.88 (3H, s, C(8')-OCH₃), 3.66 (3H, s, C(7')-OCH₃), 2.74 (1H, dd, 15.0, 11.0, H-15_B), 2.53 (3H, s, N-CH₃), 2.49 (1H, dd, 15.0, 9.0, H-13_B), 2.46 (3H, s, N-CH₃'), 2.35 (1H, dd, 15.0, 5.0, H-13_A), 2.17 (1H, dd, 15.0, 3.0, H-15_A).



Estructura de los compuestos **N1 (12)** y **N2 (13)**.

4.6 Resultados de bioactividad.

Se realizaron ensayos biológicos antibacterianos y antifúngicos de los metabolitos aislados, tales como los compuestos 10, 3, 4, y 11C. El ensayo biológico para la determinación de actividad antimicrobiana se realizó por método bioautográfico.⁴¹

Los resultados obtenidos, los cuales se muestran en la tabla 3, indican una buena actividad antimicrobiana del compuesto 4 (6-metoxidihidroqueleritrina) contra *S. aureus*, *S. faecalis* y *C. albicans* siendo la concentración mínima inhibitoria (CMI) de 25, 25 y 12 µg/mL, respectivamente. El compuesto 4 se aisló de la fracción J, dicha fracción también mostró actividad antimicrobiana contra los mismos microorganismos, siendo la MIC de 125, 250 y 500 µg/mL, respectivamente. El resto de las fracciones estudiadas aun cuando mostraron actividad antimicrobiana, ésta no fué considerable.

Tabla 3. Actividad antimicrobiana, concentración mínima inhibitoria (CMI, mg/mL).

Producto	<i>S. aureus</i>	<i>S. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>C. albicans</i>
Fracción 9	0.4	0.8	>0.8	>0.8	>0.8	>0.8	>0.8
Fracción 11	0.8	0.8	>0.8	>0.8	>0.8	>0.8	>0.8
Fracción G	0.5	0.5	>2	>2	>2	>2	>2
Fracción H	0.125	2	>2	>2	>2	>2	>2
Fracción I	0.125	2	>2	>2	>2	>2	>2
Fracción J	0.125	0.250	>2	1	1	>2	0.500
Fracción K	0.125	>2	>2	>2	>2	>2	>2
10	>0.4	>0.4	>0.4	>0.4	>0.4	>0.4	>0.4
3	>0.4	>0.4	>0.4	>0.4	>0.4	>0.4	>0.4
4	0.025	0.025	>0.4	>0.4	>0.4	>0.4	0.012
11C	>0.4	>0.4	>0.4	>0.4	>0.4	>0.4	>0.4
Gentamicina	0.0025	0.0025	0.005	0.005	0.005	0.005	NE
Nistatina	NE	NE	NE	NE	NE	NE	0.05

NE = No estudiado.

El bioensayo de toxicidad frente a *Artemia salina* del extracto etanólico es de 109 µg/mL y puede considerarse la presencia de sustancias bioactivas en esta prueba.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

5.1 Elucidación estructural de los metabolitos secundarios aislados.

La discusión de la determinación estructural se realizará de acuerdo al orden de polaridad creciente en que se obtuvieron los compuestos.

Dada la similitud de las sustancias aisladas, se procederá a la descripción estructural detallada de la de menor polaridad, y los principales fragmentos estructurales serán tomados como referencia para las descripciones de los metabolitos secundarios adicionales.

5.1.1 Caracterización de 6-acetonildihidrosanguinarina (10).

De la fracción G se aisló y purificó un polvo, en cuyo espectro de IR (CHCl_3 , espectro 1), se observa la presencia de bandas de absorción de 870-1470 cm^{-1} debidas un derivado aromático. Se observa también una banda de absorción en 1711 cm^{-1} que manifiesta la presencia de un grupo carbonilo (presumiblemente de cetona), así como dos bandas intensas en 2895 y 2976 cm^{-1} asignables a grupos dioximetileno.

El espectro de EM (IE, 70 eV, espectro 2), presenta un ion molecular de m/z 389 (M^+), y se observa un pico base en m/z 332 debido a la eliminación de un radical $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}$.

El espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , espectro 3), permite determinar la presencia de un singulete en δ 2.06 ppm, con integración para tres hidrógenos correspondiente a un grupo metilo unido a un carbonilo ($-\text{COCH}_3$); un singulete en δ 2.65 que integra para tres protones, que corresponde a un metilo unido a nitrógeno (N-CH_3). Se observa un multiplete en δ 6.03 y un doblete en 6.04 debido a la presencia de dos grupos dioximetileno ($-\text{OCH}_2\text{O}-$).

Por otra parte, el espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 , espectro 4), presentó un total de 23 señales. Este dato conjuntamente con el número aproximado de hidrógenos determinados por RMN ^1H , y con el ion molecular observado (m/z 389), permiten deducir la fórmula molecular $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{NO}_5$.

Mediante el espectro de RMN ^{13}C (DEPT, espectro 5), fué posible establecer el grado de hidrogenación de los carbonos: dos son de metilo, tres de metileno alifático, uno de metino alifático, y seis de metinos aromáticos. Finalmente, por diferencia del espectro normal

de RMN ^{13}C y el espectro de RMN ^{13}C DEPT, se determinó la presencia de diez carbonos cuaternarios y un carbono de carbonilo. Este análisis permite definir los siguientes fragmentos estructurales, los cuales suman 23 carbonos:

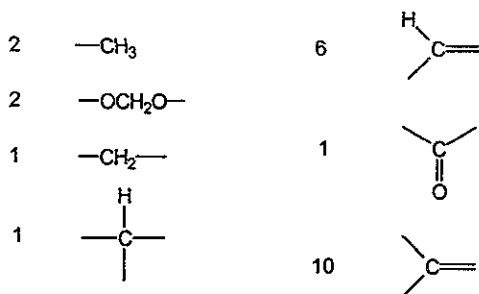


Figura 2. Fragmentos estructurales

En el espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , espectro 3), los seis metinos se encuentran desplazados a campo bajo (δ 6.5-8.0 ppm), por lo que son parte de anillos aromáticos unidos mediante carbonos de doble ligadura disustituídos. Cuatro metinos están conformando dos sistemas AB (cuatro dobletes); el primer sistema está centrado en δ 6.86 y 7.33 cuya constante de acoplamiento, J , es de 8.0 Hz; el segundo sistema AB se encuentra en δ 7.49 y 7.70 (J = 8.5 Hz). Por el valor de las constantes de acoplamiento se deduce que los protones en los anillos aromáticos se encuentran en posición *orto*, como se indica en la figura 3. Esta correlación de los protones de los sistemas AB se confirman mediante el espectro bidimensional COSY (500 MHz, CDCl_3 , espectro 6).

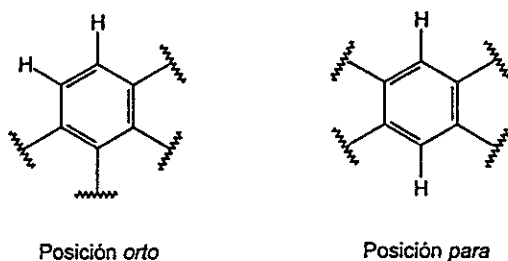


Figura 3. Sistema AB y AX de los Anillos aromáticos.

Se observan dos singuletes en δ 7.10 y 7.53, que corresponden a dos metinos localizados en la región de protones aromáticos. Al no presentar acoplamiento, puede deducirse que están en posición *para*, como se muestra en la figura 3.

En una ampliación del espectro de RMN ^1H (espectro 3), se observan las doce señales, tres doble de doble, correspondientes a un sistema ABX, el primer doble de doble está centrado en δ 2.30 ($J = 15.0, 4.0$ Hz), el segundo doble de doble se encuentra en δ 2.65 ($J = 15.0, 10.5$ Hz), y el tercer doble de doble en δ 4.87 ($J = 10.5, 4.0$ Hz), que establecen la presencia de un metileno unido a un metino, como se ilustra en la figura 4.

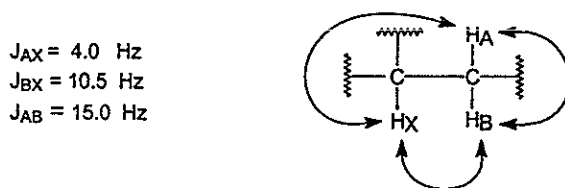


Figura 4. Sistema ABX.

La correlación entre los protones geminales y con el protón vecinal se confirma mediante el espectro bidimensional COSY (espectro 6), dicha correlación se representa en la figura 4.

Se observan dos grupos dioximetileno en el espectro de RMN ^1H , en forma de dos multipletes centrados en δ 6.03 y 6.04, y debido a su desplazamiento químico se considera que están unidos a anillos aromáticos, de acuerdo a la figura 5.



Figura 5. Dioximetilenos aromáticos.

Con base en lo anterior, se considera que un grupo metilo está unido al nitrógeno, y el segundo metilo corresponde al grupo $-\text{COCH}_3$. Este último grupo se encuentra unido al metileno (que contiene los protones geminales), y este a su vez se conecta al metino, para formar el sistema ABX, ver figura 6.

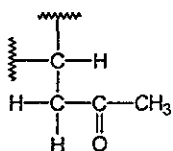
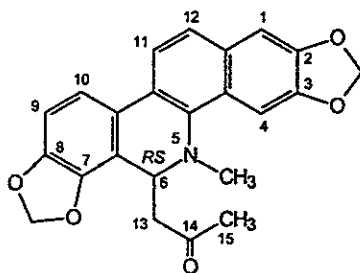


Figura 6. Fragmento de acetilo.

La integración de los fragmentos descritos permiten deducir que esta estructura pertenece a una benzofenantridina funcionalizada con un acetnilo en posición 6, dos dioximetilenos en posiciones 2,3 y 7,8. Así, fué posible asignar todas las señales observadas en el espectro de RMN ^1H (espectro 3).

Estos datos experimentales fueron comparados con los informados en la literatura, cuyos datos se encuentran en la tabla 4. De lo anterior se confirma la estructura para el alcaloide 6-acetonildihidrosanguinarina (10).⁴⁴



6-acetonildihidrosanguinarina (10)

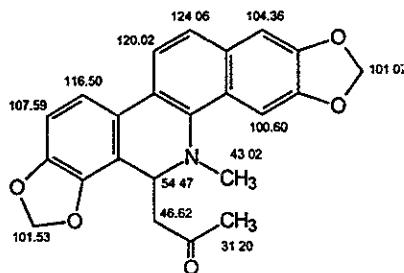
Tabla 4. Datos de RMN ¹H para 6-acetonildihidrosanguinarina (10).

Asignación	6-acetonildihidrosanguinarina *			6-acetonildihidrosanguinarina **		
	δ	m	J	δ	m	J
H-1	7.10	s	-	7.19	s	-
H-4	7.53	s	-	7.61	s	-
H-9	6.86	d	8.0	6.94	d	7.5
H-10	7.33	d	8.0	7.48	d	7.5
H-11	7.70	d	8.5	7.79	d	8.0
H-12	7.49	d	8.5	7.42	d	8.0
-OCH ₂ O-	6.04	m	-	6.12	s	-
-OCH ₂ O-	6.03	m	-	6.12	s	-
-COCH ₃	2.06	s	-	2.11	s	-
N-CH ₃	2.65	s	-	2.7	s	-
H-13 _A	2.30	dd	15.0, 4.0	-	-	-
H-13 _B	2.65	dd	15.0, 10.5	-	-	-
H-6	4.87	dd	10.5, 4.0	-	-	-

* Datos experimentales RMN ¹H 500 MHz, CDCl₃

** Información en literatura ⁴⁴, no reporta datos de la frecuencia del espectrómetro de RMN ¹H.

Mediante el experimento de HMQC (espectro 7), fué posible establecer las correlaciones carbono-hidrógeno a un enlace, lo que permitió determinar los desplazamientos de los carbonos protonados (figura 7). Este experimento confirmó la propuesta estructural para este compuesto. Las asignaciones deducidas se muestran en la tabla 5.



6-acetonildihidrosanguinarina (10)

Figura 7. Asignaciones de RMN ¹³C mediante los experimentos DEPT y HMQC.

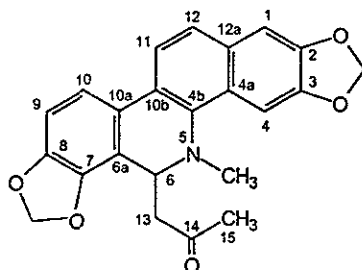


Figura 8. Numeración del sistema de benzofenantridina.

Tabla 5. Asignación de los desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C de 10 de acuerdo al análisis del espectro de HMQC.

Asignación	RMN ^{13}C	RMN ^1H
C-15	31.20	2.06
N-CH ₃	43.02	2.65
C-13	46.62	2.30, 2.65
C-6	54.47	4.87
C-4	100.60	7.53
-OCH ₂ O- *	101.07	6.03 *
-OCH ₂ O- *	101.53	6.04 *
C-1	104.36	7.10
C-9	107.59	6.86
C-10	116.50	7.33
C-11	120.02	7.70
C-12	124.06	7.49
C-10b	116.03	-
C-6a	123.48	-
C-10a	125.71	-
C-4a	127.48	-
C-12a	131.05	-
C-4b	139.23	-
C-7	144.30	-
C-8	147.21	-
C-2 **	147.65	-
C-3 **	148.27	-
C-14	207.15	-

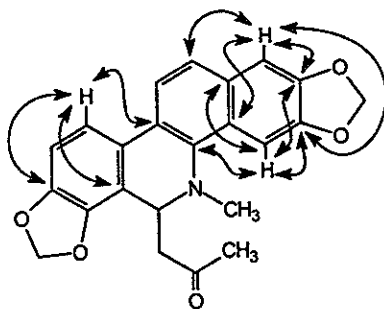
* La lectura del desplazamiento químico se hizo al centro de la señal.

** Las señales para estos carbonos pueden intercambiarse.

El análisis del experimento HMBC permite establecer las correlaciones hidrógeno-carbono a dos y tres enlaces. Este análisis permitió confirmar las asignaciones realizadas, las cuales se muestran en la tabla 6 y se ilustran en la figura 9.

Tabla 6. Correlaciones observadas mediante el experimento de HMBC.

H (δ)	C (δ)	Carbonos con los que correlaciona (δ)
H-1 (7.10)	C-1 (104.36)	C-2 (147.65), C-3 (148.27), C-4a (127.48), C-12 (124.06)
H-4 (7.53)	C-4 (100.60)	C-2 (147.65), C-3 (148.27), C-4b (139.23), C-12a (131.05)
H-9 (6.86)	C-9 (107.59)	C-7 (144.30), C-10a (125.71)
H-10 (7.33)	C-10 (116.50)	C-8 (147.21), C-6a (123.48), C-10b (116.03)
H-11 (7.70)	C-11 (120.02)	C-4b (139.23), C-12a (131.05), C-10a (125.71), C-12 (124.06)
H-12 (7.49)	C-12 (124.06)	C-4a (127.48), C-10b (116.03), C-1 (104.36)
H-6 (4.87)	C-6 (54.47)	C-4b (139.23), C-10a (125.71), C-13 (46.62)
H-13 _B (2.65)	C-13 (46.62)	C-6a (123.48), C-6 (54.47), C-15 (31.20), C-14 (207.15)
H-13 _A (2.30)	C-13 (46.62)	C-14 (207.15), C-6 (54.47)



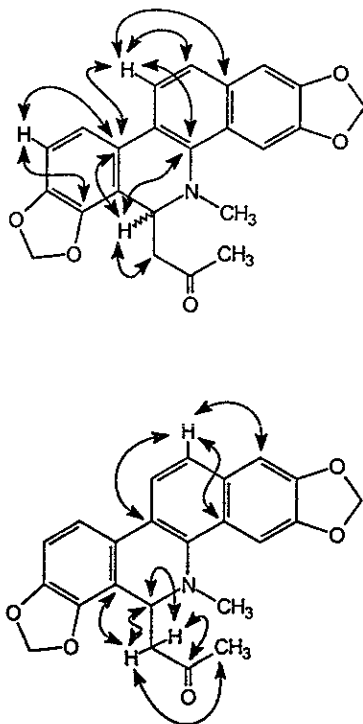
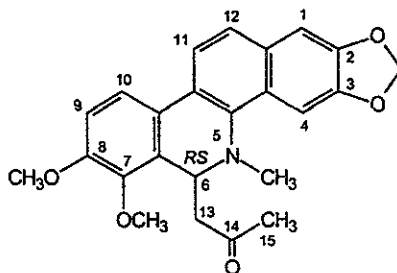


Figura 9. Correlaciones observadas en HMBC (espectro 7).

La rotación óptica de la molécula es de cero ($[\alpha]_D = 0$) por lo que se concluye que esta sustancia existe como mezcla racémica, es decir, se encuentran presentes los dos enantiómeros en iguales proporciones.

5.1.2 Caracterización de 6-acetonildihidroqueleritrina (3).

De la fracción H se obtuvo un sólido de color amarillo, el cual presentó en el espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , espectro 9) señales muy similares al núcleo del compuesto **10** (6-acetonildihidosanguinarina) anteriormente descrito, observándose principalmente las siguientes señales: un singulete en δ 2.06 que integra para tres protones que corresponde a un metilo unido a un carbonilo (que es parte del acetoniolo), un singulete en δ 2.64 con integración para tres hidrógenos correspondiente a un metilo unido a nitrógeno. Están presentes las doce señales para el sistema ABX, el primer doble de doble está centrado en δ 2.25 ($J = 15.0, 3.6$ Hz), correspondiente a H-13_A, el segundo doble de doble se localiza en δ 2.56 ($J = 15.0, 11.4$), que es asignado a H-13_B, y el tercer doble de doble en δ 5.04 ($J = 11.4, 3.6$), correspondiente a H-6. Dos sistemas AB: el primero está centrado en δ 6.95 ($J = 8.4$) y δ 7.54 ($J = 9.0$), asignados a los protones H-9 y H-10, respectivamente. El segundo sistema AB se localiza en δ 7.71 y 7.48 ($J = 8.4$), correspondientes a H-11 y H-12. La diferencia que se presenta en comparación con la molécula **10** es en las posiciones 7 y 8, siendo un grupo dioximetileno para **10** y dos grupos metoxilo para la molécula en discusión, por lo que finalmente se deduce una molécula tipo benzofenantridina funcionalizada con un acetoniolo en la posición 6, que al comparar los datos experimentales de RMN ^1H con los informados en la literatura (tabla 7) se dedujo la estructura 6-acetonildihidroqueleritrina (**3**).²¹



6-acetonildihidroqueleritrina (**3**)

Tabla 7. Datos de RMN ¹H para 6-acetonildihidroqueleritrina (3).

Asignación	6-acetonildihidroqueleritrina *			6-acetonildihidroqueleritrina **		
	δ	m	J	δ	m	J
H-1	7.10	s	-	7.09	s	-
H-4	7.51	s	-	7.5	s	-
H-9	6.95	d	8.4	6.94	d	8.3
H-10	7.54	d	9.0	7.52	d	8.3
H-11	7.71	d	8.4	7.70	d	8.6
H-12	7.48	d	8.4	7.47	d	8.6
-OCH ₂ O-	6.04	s	-	6.00	s	-
CH ₃ CO-	2.06	s	-	2.04	s	-
C(7)-OCH ₃	3.95	s	-	3.93	s	-
C(8)-OCH ₃	3.92	s	-	3.89	s	-
N-CH ₃	2.64	s	-	2.65	s	-
H-13 _A	2.25	dd	15.0, 3.6	2.23	dd	15.0, 4.0
H-13 _B	2.58	dd	15.0, 11.4	2.57	dd	15.0, 9.0
H-6	5.04	dd	11.4, 3.6	5.03	dd	9.0, 4.0

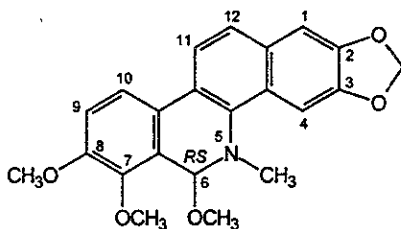
* Datos experimentales de RMN ¹H 300 MHz, CDCl₃

** Información en literatura,²¹ RMN ¹H 100 MHz, CDCl₃

5.1.3 Caracterización de 6-metoxidihidroqueleritrina (4).

De la fracción J se aisló y purificó un sólido de color amarillo, el cual presentó en el espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, espectro 10) señales correspondientes al tipo de benzofenantridina, similares al sistema anteriormente descrito, en el cual se observan las siguientes señales: un singulete en δ 2.76 que integra para tres protones que corresponden a un metilo unido a nitrógeno. Se presentan tres singuletes en δ 3.46, 3.93 y 3.96, en los cuales se observa una integración de tres hidrógenos para cada singulete, por la región donde se localizan se trata de grupos metoxilo. Dos de ellos se localizan en δ 3.93 y 3.96, están unidos a un anillo bencénico y son asignados a C(8)-OCH₃ y C(7)-OCH₃, respectivamente. Debido al efecto de inducción electrónica que ejercen tanto el metoxilo de

la posición 8 (vecinal), como el aminocetal de la posición 6 (a larga distancia), el metoxilo en posición 7 se desplaza a campo bajo. El tercer metoxilo, localizado en δ 3.46 debido a que no esta unido a anillo bencénico se desplaza a campo alto, por lo que se asigna en la posición 6. Es en esta posición donde se encuentra la diferencia respecto a la molécula anterior (compuesto 3). En δ 5.55 se observa un singulete con integración para un protón correspondiente a H-6. En la región de protones aromáticos se observan dos sistemas AB. El primer sistema AB (dos dobletes) se localizan en δ 7.04 y 7.62 ($J= 9.0$ Hz) correspondientes a H-9 y H-10. El segundo sistema AB está centrado en δ 7.78 y 7.47 ($J= 8.5$ Hz) son asignados a H-11 y H-12 respectivamente. En esta misma región se presentan dos singuletes en δ 7.12 y 7.70, con integración de un protón cada uno de ellos, los cuales corresponden a H-1 y H-4. Entonces se deduce que ésta molécula de tipo benzofenantridina funcionalizada con un grupo metoxilo en la posición 6, que al comparar con los datos de RMN ^1H obtenidos experimentalmente con los informados en la literatura (tabla 8), se deduce la estructura de 6-metoxidihidroqueleritrina (4).^{21,45}



6-metoxidihidroqueleritrina (4)

Tabla 8. Datos de RMN ¹H de 6-metoxidihidroqueleritrina (4).

Asignación	6-metoxidihidroqueleritrina *			6-metoxidihidroqueleritrina **		
	δ	m	J	δ	m	J
H-1	7.12	s	-	7.12	s	-
H-4	7.70	s	-	7.69	s	-
H-6	5.55	s	-	5.54	s	-
H-9	7.04	d	9.0	7.03	d	9.0
H-10	7.62	d	9.0	7.62	d	9.0
H-11	7.78	d	8.5	7.77	d	8.5
H-12	7.47	d	8.5	7.47	d	8.5
-OCH ₂ O-	6.05	s	-	6.00	s	-
(6)-OCH ₃	3.46	s	-	3.46	s	-
(7)-OCH ₃	3.96	s	-	3.96	s	-
(8)-OCH ₃	3.93	s	-	3.92	s	-
N-CH ₃	2.76	s	-	2.76	s	-

* Datos experimentales RMN ¹H 300 MHz, CDCl₃

** Información en literatura,^{21,45} RMN ¹H 100 MHz, CDCl₃

5.1.4 Caracterización de Sanguidimerina (11C).

Al estudiar la fracción 9 del extracto etanólico mediante el desarrollo de la columna A9 se obtuvo un sólido de color café rojizo, en cuyo espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, espectro 11), se observaron señales en desplazamientos químicos hacia las mismas regiones que en los anteriores espectros analizados, observándose: un singulete en δ 2.53 que tiene una integración para seis protones, la cual correspondería a un metilo unido a nitrógeno. Está presente un sistema ABX: un doble de doble, que está centrado en δ 2.27 (J= 15.0, 5.0 Hz); el segundo doble de doble se ubica en δ 2.61 (J= 15.0, 9.0 Hz); y el tercer doble de doble se localiza en δ 4.75 (J= 9.0, 5.0 Hz). También se observa un doble de doble centrado en δ 6.04 (J= 2.7, 1.2 Hz) con integración para cuatro protones, y es manifiesto un doblete en δ 5.99 (J= 1.5 Hz) que también integra para cuatro hidrógenos. Por la región en donde aparecen estas señales se trata de grupos dioximetileno. En la región de protones

aromáticos se observan dos sistemas AB, el primero de ellos está centrado en δ 6.81 y 7.28 ($J= 8.4$ Hz), y el segundo sistema AB se localiza en δ 7.64 y 7.43 ($J= 8.4$ Hz), con integración de dos protones para cada una de las señales. En la misma región, están presentes dos singuletes en δ 7.05 y 7.43 que integran para dos hidrógenos cada uno de ellos.

El espectro de masas (IE, 70 eV, espectro 12) presenta un ion molecular de m/z 720 (M^+). Debido a que presenta un peso molecular relativamente alto, se trató de proponer una doble asignación de núcleos de hidrógeno para cada una de las señales presentes en el espectro de RMN 1H . La absorción intensa en 1711 cm^{-1} en el IR, y la señal en δ 206.46 en es espectro de RMN ^{13}C proporcionan evidencia de la presencia de un grupo carbonilo.

Con los datos anteriores, se propone una fórmula molecular preliminar, la cual está constituida por las integraciones de las señales en el espectro de RMN 1H , y queda como $C_{21}H_{16}NO_4$, la cual requiere de un peso molecular de 346. Si se considera un múltiplo doble de la fórmula molecular deducida, se obtiene la fórmula $C_{42}H_{32}N_2O_8$, la cual tiene un peso molecular de 692. La diferencia con respecto al ion molecular registrado (m/z 720) son precisamente 28 uma, las cuales corresponden a un grupo carbonilo. De esta forma, se determina que dicha molécula tiene la siguiente fórmula molecular $C_{43}H_{32}N_2O_9$ y un PM de 720, la cual se trata de un dímero de benzofenantridina (**11**), y que éste debe ser simétrico, ya que presenta una misma señal para los núcleos de hidrógeno y de carbono que son equivalentes entre sí. Las asignaciones se muestran en la tabla 10.

Al revisar la información en la literatura se encontró que están reportados dos compuestos con esta misma fórmula estructural; se trata de quelidimerina⁴⁶ y de sanguidimerina.⁴⁷ La quelidimerina está propuesta como un compuesto *meso* (*meso*-1,3-bis-(11-hidrosanguinarinil)-acetona (**11A**)),⁴⁶ las características de RMN 1H se muestran en la tabla 10; cuyo análisis preliminar por rayos-X tiende a confirmar la estructura *meso*. La sanguidimerina está propuesta como el isómero (+)-1,3-bis-(11-hidrosanguinarinil)-acetona (**11B**),⁴⁷ sin embargo, no hay datos espectroscópicos reportados para éste último. Por lo tanto, la rotación óptica y el punto de fusión son las únicas diferencias,⁴⁶⁻⁴⁸ (tabla 9). En la tabla 10 se muestran los valores de RMN 1H experimentales y los reportados en la literatura.

Tabla 9. Algunas diferencias de los estereoisómeros de 11.

	isómero	Pf (°C)	RO
Quelidimerina (11A)	meso	258	0
Sanguidimerina (11B)	+	174	+ 21.2
Sanguidimerina * (11C)	±	180	0

* Obtenido experimentalmente de la fracción 9.

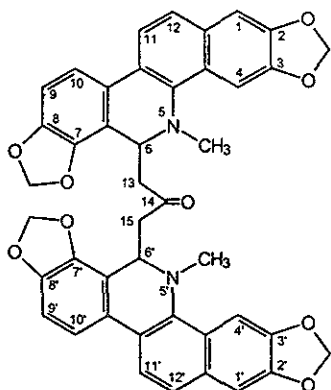
Tabla 10. Datos de RMN ¹H para los compuestos 11C y 11A.

	Sanguidimerina (11C) *			Quelidimerina(11A) **		
	δ	m	J	δ	m	J
H-1, H-1'	7.05	s	-	6.98	s	-
H-4, H-4'	7.43	s	-	7.42	s	-
H-9, H-9'	6.81	d	8.4	6.75	d	8.0
H-10, H-10'	7.28	d	8.4	7.58	d	8.0
H-11, H-11'	7.64	d	8.4	7.35	d	6.8
H-12, H-12'	7.43	d	8.4	7.23	d	6.8
N-CH ₃	2.53	s	-	2.60	s	-
-OCH ₂ O-	5.99	d	1.5	5.90	m	-
-OCH ₂ O-	6.04	dd	2.7, 1.2	6.10	m	-
H-6, H-6'	4.75	dd	9.0, 5.0	4.88	d	-
H-13 _A , H-15 _A	2.27	dd	15.0, 5.0	2.20	d	-
H-13 _B , H-15 _B	2.61	dd	15.0, 9.0	2.52	d	-

* Datos experimentales, RMN ¹H 300 MHz, CDCl₃

** Datos informados en la literatura⁴⁶. No realizaron asignación de núcleos, por lo que las indicadas son las inferidas.

Al comparar los datos de RMN ¹H del compuesto 11C, obtenido experimentalmente de la columna A9; con los datos de RMN ¹H para quelidimerina, se observa que algunos desplazamientos químicos no corresponden para los mismos núcleos de hidrógeno, por lo tanto, se establece que no corresponden a la quelidimerina (11A). Con base en esta diferencia y en las características físicas, se concluye que dicho compuesto 11C corresponde a sanguidimerina, que es un dímero que no presenta actividad óptica, lo cual sugiere que se encuentra como mezcla racémica. La posibilidad de que esta sustancia sea el compuesto *meso* se descarta ya que precisamente la quelidimerina (11A) ha sido propuesta como el compuesto con esta estereoquímica.

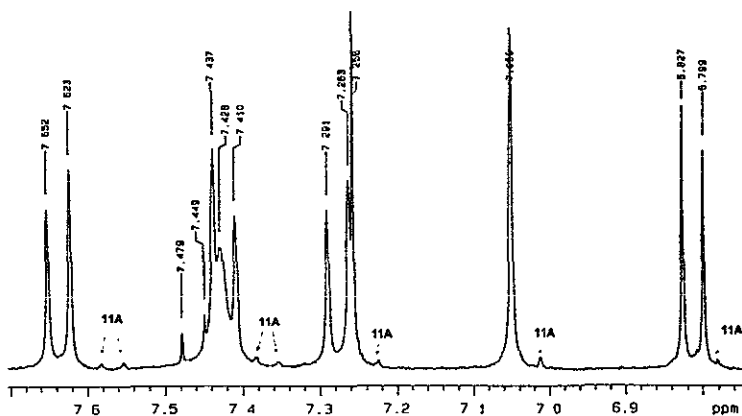


Quelidimerina (11A)
 (+)-Sanguidimerina (11B)
 (±)-Sanguidimerina (11C)

Dímero de benzofenantridina (11)

Como se indicó anteriormente, la (+)-sanguidimerina (11B) ha sido aislada previamente de *Chelidonium majus*,⁴⁶ sin embargo, no se informaron sus características espectroscópicas. En el presente trabajo se aisló (±)-sanguidimerina, 11C, (es decir, como mezcla racémica), y se reportan sus datos físicos y espectroscópicos. Cabe señalar que en las expansiones del espectro de RMN ¹H correspondiente a sanguidimerina (300 MHz, CDCl₃, espectro 11) son observables señales minoritarias (≈3%) que coinciden con las informadas para la quelidimerina, 11A, (*meso*-1, 3-*bis*-(hidrosanguinarinil)-acetona), en particular: señales que se observan en δ 6.80 y 7.23; en δ 7.37 y 7.57; y en δ 7.01 (Figura 9a). Por lo anterior, se concluye que quelidimerina (11A) es un constituyente minoritario de *Bocconia arborea*.

Figura 9a. Fragmento del espectro 11, muestra el compuesto 11A.



5.1.5 Caracterización de los compuestos N1 (12) y N2 (13).

De la columna A11 se obtuvieron dos compuestos: N1 y N2; los cuales presentaron señales de RMN ^1H muy similares entre sí, sólo con algunas diferencias, que hacen posible suponer que se trata de dos compuestos diastereoisoméricos.

Primeramente se obtuvo el compuesto N1, el cual presentó las siguientes señales de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , espectro 13): dos singuletes en δ 2.59 y 2.63 correspondientes a dos grupos N-CH_3 , dos singuletes, en δ 3.91 y 3.95 que corresponden a dos grupos metoxilos; un doblete en δ 5.93, y un doble de doble en 5.99 y 6.07 los cuales corresponden a grupos dioximetílenos. Cuatro sistemas AB: el primer sistema AB esta centrado en δ 6.80 y 7.25 ($J= 8.0$ Hz); el segundo sistema en δ 6.91 y 7.47 ($J= 8.7$ Hz); el tercero se localiza en δ 7.57 y en 7.37 ($J= 8.5$ Hz); y el cuarto sistema en δ 7.60 y 7.38 ($J= 8.5$ Hz). Están presentes dos sistemas ABX: el primero esta compuesto por tres doble de doble localizados en δ 4.99 ($J= 10.5, 4.0$ Hz), en δ 2.46 ($J= 15.5, 10.5$ Hz), y δ 2.30 (10.5, 3.5 Hz); el segundo sistema ABX: en δ 5.09 ($J= 11.5, 3.5$ Hz), δ 2.40 ($J= 15.0, 11.5$ Hz), y δ 2.23 ($J= 15.0, 3.5$ Hz). Con base en lo anterior se deduce que el compuesto N1 corresponde a una acetona disustituida por dos sistemas: derivado de tipo dihidrosanguinarina y otro de tipo dihidroqueletrina.

La estructura molecular es confirmada mediante el experimento bidimensional COSY (espectro 15), y el espectro del experimento NOESY (espectro 16), cuyas interacciones se muestran en la figura 10.

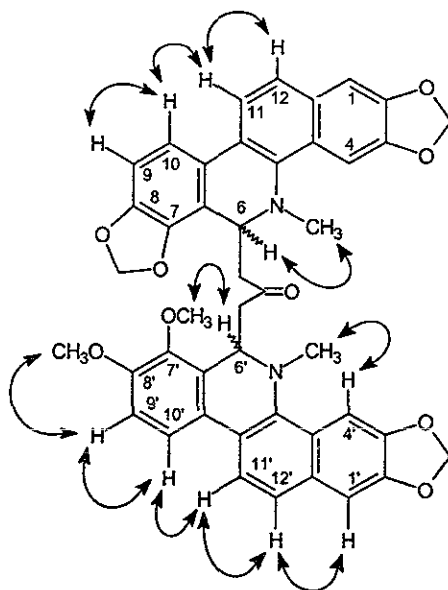


Figura 10. Interacciones selectas observadas en NOESY para N1 y N2.

En la misma fracción, pero de la subfracción A11-26, se purificó otro sólido, identificado como N2, el cual presenta señales en el espectro de RMN ^1H muy similares a las del compuesto N1, observándose las mismas señales características de N1, (tabla 11) sólo que con algunas diferencias, que son las siguientes: el metoxilo en posición 7', siendo de δ 3.95 para N1, y δ 3.66 para N2, los cuales tienen diferencias significativas. Por otro lado, se observa que los hidrógenos de un dioximetileno de N1 (centrado en δ 6.07) tienen una diferencia amplia en los desplazamientos químicos ($\Delta\delta = 0.173$ ppm), con respecto a los de N2 ($\Delta\delta = 0.045$ ppm, centrado en δ 6.03). Se propone que tales compuestos (N1 y N2) tienen la misma constitución y conectividad, pero guardan una relación espacial diferente (difieren en la estereoquímica).

Para la determinación de la estereoquímica de los productos naturales aislados, los cuales corresponden a dos pares de enantiómeros (*RR/SS*, *RS/SR*), se tomarán en cuenta los siguientes argumentos:

- a) Las diferencias en los desplazamientos químicos de los núcleos de hidrógeno

entre ambos estereoisómeros, los cuales, a su vez, se compararán con los desplazamientos químicos de los monómeros.

b) Las conformaciones preferidas de las estructuras, las cuales se propondrán con base a un análisis conformacional preliminar.

La tabla 10 muestra los desplazamientos químicos de ambos isómeros, a los cuales se les denomina trivialmente como N1 y N2. Es importante considerar que su relación estereoquímica es de diastereoisómeros.

Tabla 11. Datos de RMN ^1H para N1 y N2.

Asignación	N1 *			N2 *			$\Delta\delta$
	δ	m	J	δ	m	J	$\delta_{\text{N1}} - \delta_{\text{N2}}$
H-1'	7.00	s	-	7.04	s	-	- 0.04
H-1	7.02	s	-	7.06	s	-	- 0.04
H-4	7.41	s	-	7.40	s	-	+ 0.01
H-4'	7.42	s	-	7.42	s	-	0.00
H-9	6.80	d	8.0	6.83	d	8.0	- 0.03
H-9'	6.91	d	8.7	6.91	d	8.7	0.00
H-10	7.25	d	8.0	7.30	d	8.0	- 0.05
H-10'	7.47	d	8.7	7.49	d	8.7	- 0.02
H-11	7.57	d	8.5	7.67	d	8.5	- 0.10
H-11'	7.60	d	8.5	7.66	d	8.2	- 0.06
H-12	7.37	d	8.5	7.44	d	8.5	- 0.07
H-12'	7.38	d	8.5	7.43	d	8.2	- 0.05
(7')-OCH ₃	3.95	s	-	3.66	s	-	+ 0.29
(8')-OCH ₃	3.91	s	-	3.88	s	-	+ 0.03
-OCH ₂ O-	5.93	d	1.0	5.99	d	1.5	- 0.06
-OCH ₂ O-	5.99	dd	5.0, 1.0	6.01	d	1.5	- 0.02
-OCH ₂ O-	6.07	dd	3.0, 1.5	6.03	d	2.5	+ 0.04
N-CH ₃	2.63	s	-	2.53	s	-	+ 0.10
N-CH ₃ '	2.59	s	-	2.46	s	-	+ 0.13
H-6	4.99	dd	10.5, 4.0	4.80	dd	9.0, 5.0	+ 0.19
H-13 _A	2.46	dd	15.5, 10.5	2.35	dd	15.0, 5.0	+ 0.11
H-13 _B	2.30	dd	10.5, 4.0	2.49	dd	15.0, 9.0	- 0.19
H-6'	5.09	dd	11.5, 3.5	4.88	dd	11.0, 3.0	+ 0.21
H-15 _A	2.23	dd	15.0, 3.5	2.17	dd	15.0, 3.0	- 0.06
H-15 _B	2.40	dd	15.0, 11.5	2.74	dd	15.0, 11.0	- 0.34

* Datos experimentales, RMN ^1H , 500 MHz, CDCl₃

N1 en dioximetileno $\Delta\delta = 0.173$

N2 en dioximetileno $\Delta\delta = 0.045$

Resulta claro que existen variaciones notables en los desplazamientos químicos en la mayoría de los hidrógenos. Significativamente, los grupos metoxilos y en particular el C(7')-OCH₃ muestra una variación de $\Delta\delta$ 0.29, lo cual indica un notable efecto de protección que debe ser atribuido a que los metoxilos se localizan en el cono de protección de los sistemas bencénicos. De tal manera que, en la determinación de la estereoquímica, deben correlacionarse las siguientes observaciones:

para el isómero N1:

- i) diferencia amplia de desplazamientos químicos de los hidrógenos ($\Delta\delta= 0.173$) de los dioximetilenos.
- ii) metoxilos "desprotegidos".

para el isómero N2:

- i) poca diferencia en los desplazamientos químicos de los hidrógenos ($\Delta\delta= 0.045$) de los dioximetilenos.
- ii) metoxilos "protegidos".

Con respecto al análisis conformacional, se considerarán tres fragmentos principales de la estructura molecular de los dímeros, que son los siguientes:

- A) El fragmento de acetona disustituida.
- B) La orientación Ψ -axial ó Ψ -ecuatorial del grupo acetoniilo en la dihidropiridina.
- C) El arreglo topológico espacial de los núcleos de benzofenantridina.

A continuación se determinarán las preferencias correspondientes de cada uno de los incisos anteriores.

La acetona puede existir en cuatro conformaciones principales, las cuales se interconvierten por giros a lo largo de los enlaces sigma α al carbonilo, y pueden ser las siguientes: *endo/endo*, *endo/exo*, *Ψ -endo/ Ψ -exo*, y *exo/exo*. Estas conformaciones se ilustran en la figura 11.

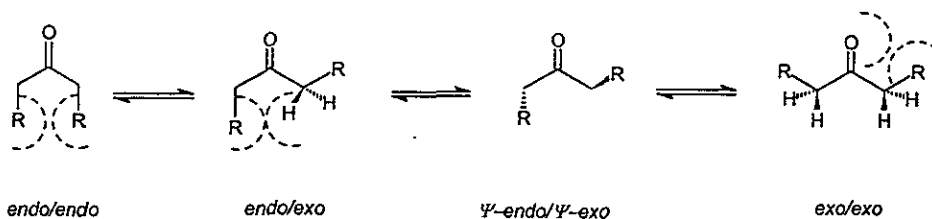


Figura 11. Conformaciones extremas de la acetona 1, 3-disustituida.

Se deduce que en la conformación Ψ -*endo*/ Ψ -*exo* existe una mejor distribución espacial de los sustituyentes y menor repulsión estérica relativa, por lo que se considera que ésta es la conformación preferida.

Con respecto al grupo acetonilo en la dihidropiridina, éste puede existir en el equilibrio Ψ -*axial* \rightleftharpoons Ψ -*ecuatorial*. El grupo metilo puede orientarse *axial* o *ecuatorial*, debido a la inversión del nitrógeno en la dihidropiridina, como se ilustra en la figura 12. Considerando el volumen del sustituyente y la planaridad del sistema de benzofenantridina, se concluye que la orientación Ψ -*axial* debe ser preferente, por la menor interacción estérica de los sustituyentes en el espacio, ya que el sustituyente Ψ -*ecuatorial* queda ubicado en el plano de un anillo bencénico sustituido.

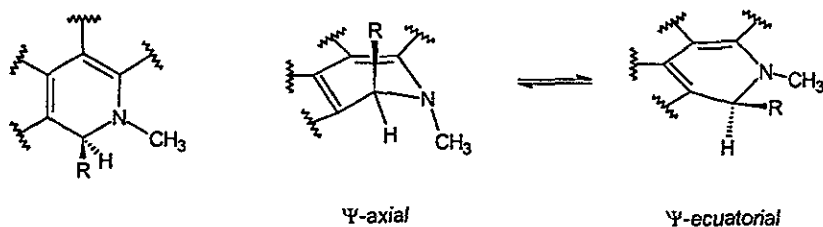


Figura 12. Equilibrio Ψ -*axial* \rightleftharpoons Ψ -*ecuatorial* en una dihidropiridina.

Finalmente, la topología relativa de los planos definidos por la benzofenantridina puede considerarse como *endo*, *ortogonal* y *exo*, en sus orientaciones extremas. Tales arreglos se muestran esquemáticamente en la figura 13, donde los rectángulos representan

los planos de las benzofenantridinas y la línea vertical representa la conectividad del acetoniilo.

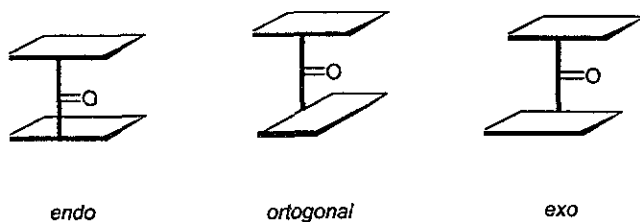


Figura 13. Topología relativa de los planos del dímero de benzofenantridina.

La comparación de los desplazamientos químicos de los hidrógenos de los dímeros con respecto a los monómeros, indica que hay un fenómeno de protección con los primeros.⁵¹

Tabla 11. $\Delta\delta$ de los hidrógenos de N1 y N2 con respecto a los de 10.

Asignación	$\delta(10)$	$\delta(N1)$	$\Delta\delta_1$	$\delta(N2)$	$\Delta\delta_2$
H-1	7.10	7.02	+0.08	7.06	+0.04
H-4	7.53	7.41	+0.12	7.40	+0.13
H-9	6.86	6.80	+0.06	6.83	+0.03
H-10	7.33	7.25	+0.08	7.30	+0.03
H-11	7.70	7.57	0.13	7.67	+0.03
H-12	7.49	7.37	+0.12	7.44	+0.05
N-CH ₃	2.65	2.63	+0.02	2.53	+0.12
H-13 _A	2.30	2.46	-0.16	2.35	-0.05
H-13 _B	2.65	2.30	+0.35	2.49	+0.16
H-6	4.87	4.99	-0.12	4.80	+0.07

$$\Delta\delta_1 = \delta_{10} - \delta_{N1}; \quad \Delta\delta_2 = \delta_{10} - \delta_{N2}.$$

Tabla 12. $\Delta\delta$ de los hidrógenos de N1 y N2 con respecto a los de 3.

Asignación	$\delta(10)$	$\delta(N1)$	$\Delta\delta_3$	$\delta(N2)$	$\Delta\delta_4$
H-1'	7.10	7.02	+0.08	7.04	+0.06
H-4'	7.51	7.42	+0.09	7.42	+0.09
H-9'	6.95	6.91	+0.04	6.91	+0.09
H-10'	7.54	7.47	+0.07	7.49	+0.05
H-11'	7.71	7.60	+0.11	7.66	+0.05
H-12'	7.48	7.38	+0.10	7.43	+0.05
C(7)-OCH ₃ '	3.95	3.95	0.0	3.66	+0.29
C(8)-OCH ₃ '	3.92	3.91	+0.01	3.88	+0.04
N-CH ₃ '	2.64	2.59	+0.05	2.46	+0.18
H-15 _A	2.25	2.23	+0.02	2.17	+0.08
H-15 _B	2.58	2.40	+0.18	2.74	-0.16
H-6'	5.04	5.09	-0.05	4.88	+0.16

$$\Delta\delta_3 = \delta_3 - \delta_{N1}; \Delta\delta_4 = \delta_3 - \delta_{N2}.$$

Para demostrar esta consistencia en el fenómeno de protección de los hidrógenos se recurrió a determinar la variación de desplazamiento ($\Delta\delta$) de éstos, mediante la fórmula:

$$\Delta\delta = \delta H_{\text{monómero}} - \delta H_{\text{dímero}}$$

Donde:

$\delta H_{\text{monómero}}$ y $\delta H_{\text{dímero}}$ son los desplazamientos de cada hidrógeno asignado en las estructuras monómero (3 y 10) y en las estructuras de los dímeros (N1 y N2), respectivamente. Por conveniencia, se asigna para un valor de $\Delta\delta$ positivo un fenómeno de protección ($\Delta\delta +$) y para un $\Delta\delta$ negativo, un fenómeno de desprotección ($\Delta\delta -$).

Específicamente, las tablas 11 y 12 muestran que aunque las diferencias son pequeñas, siempre son consistentes en cuanto al fenómeno de protección, lo cual está de acuerdo con el arreglo *endo*. El arreglo *ortogonal* o *exo* provocarían fenómenos simultáneos de protección y desprotección en el desplazamiento químico, los cuales no se observan. Puede así establecerse que la disposición *endo* es la que se prefiere en los dímeros.

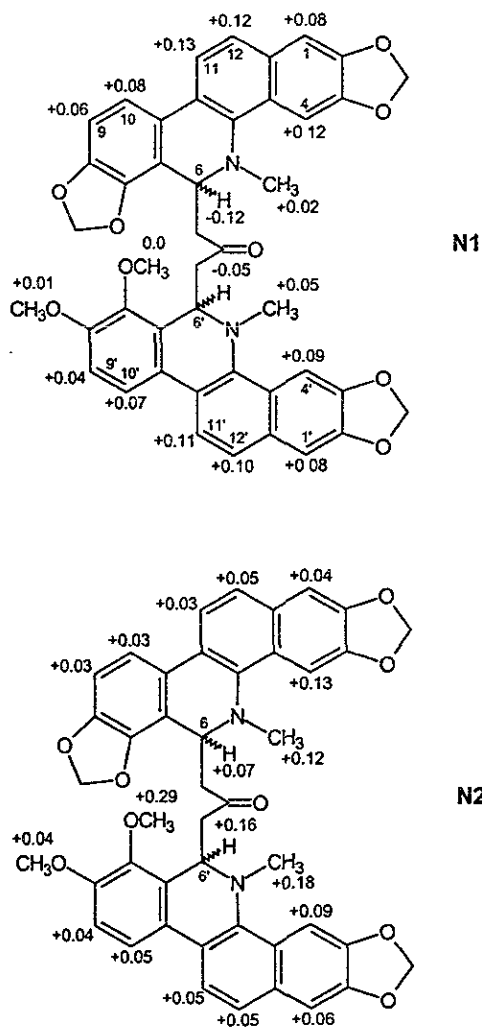
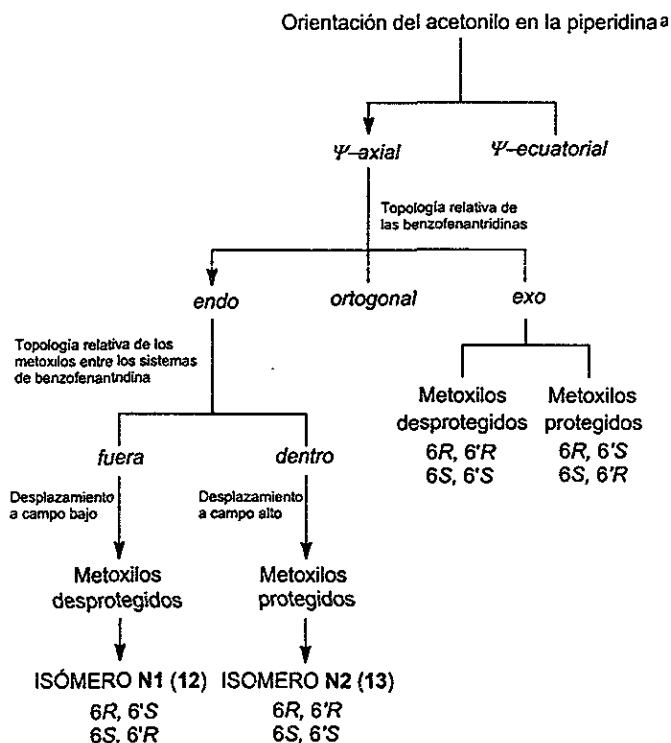


Figura 14. $\Delta\delta$ para cada hidrógeno de los dímeros con respecto a los monómeros.

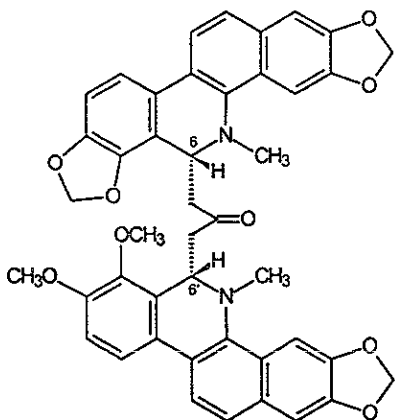
La determinación de la estereoquímica se argumenta en la correlación de la topología relativa de los metoxilos con el desplazamiento químico de los hidrógenos de los mismos grupos, tomando en cuenta al análisis comparativo de los modelos moleculares de cada diastereoisómero (dos pares de enantiómeros) por designar. Considerando el conformero *endo* (deducido anteriormente), existen diferencias en la ubicación de los metoxilos en ambos estereoisómeros (y por lo tanto, en sus desplazamientos químicos). Si los metoxilos se localizan *dentro* de los núcleos de las benzofenantridinas, el desplazamiento químico de estos grupos sufren variación diamagnética (es decir, se desplazan a campo alto). Por otro lado, si los metoxilos se ubican *fuera* de los núcleos de las benzofenantridinas, el desplazamiento químico de los hidrógenos sufre variación paramagnética (es decir, se desplazan a campo bajo). Este análisis permite concluir que el isómero N1 (metoxilos desprotegidos) corresponde al par de enantiómeros *RS/SR* y se le asigna la estructura 12, mientras que el isómero N2 (metoxilos protegidos) corresponde al par de enantiómeros *RR/SS*, y se le asigna la estructura 13.

La figura 16 muestra esquemáticamente las diferencias topológicas de ambos estereoisómeros y el diagrama de flujo del esquema 4 ilustra sucintamente la discriminación de las posibilidades conformacionales descritas y la preferencia conformacional final deducida. En la figura 15 se pueden observar los estereoisómeros posibles, correspondientes a N1 (12) y N2 (13). Debido a que ninguno de estos dos compuestos presentó actividad óptica, se concluye que se encuentran como mezclas racémicas.

Esquema 4. Deducción de las preferencias conformacionales de los dímeros de benzofenantridina

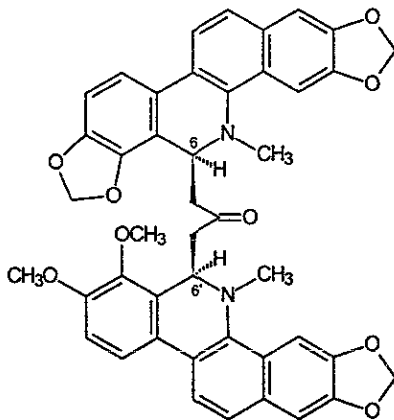


^a Se considera la conformación Ψ -endo/ Ψ -exo de la acetona (véase la página 44).

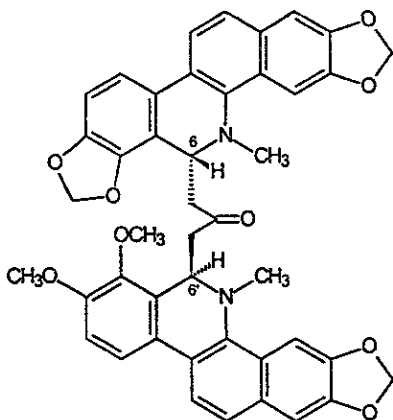


(6R, 6'S)

12
(N1)

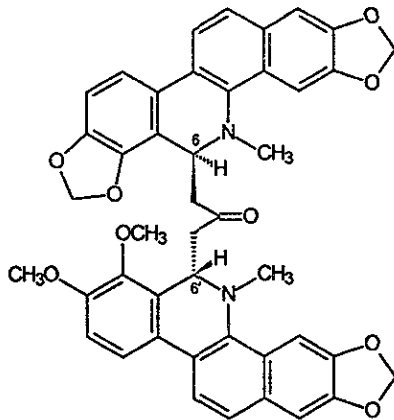


(6S, 6'R)



(6R, 6'R)

13
(N2)



(6S, 6'S)

Figura 15. Estructuras de 12 (N1) y 13 (N2).

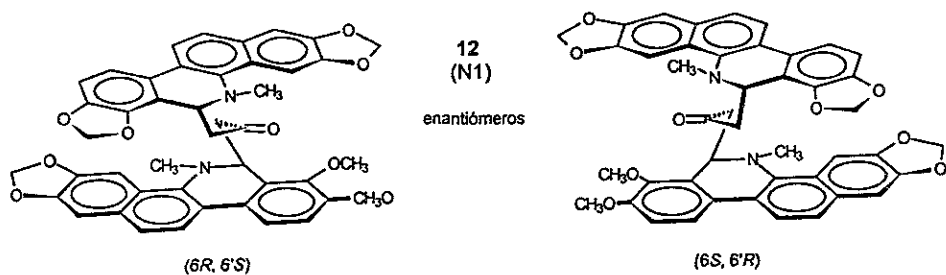


Figura 16. Topología de **12** (N1): 13-(6RS-dihidosanguinaril)-15-(6'SR-dihidroqueleiritrinil)-acetona.

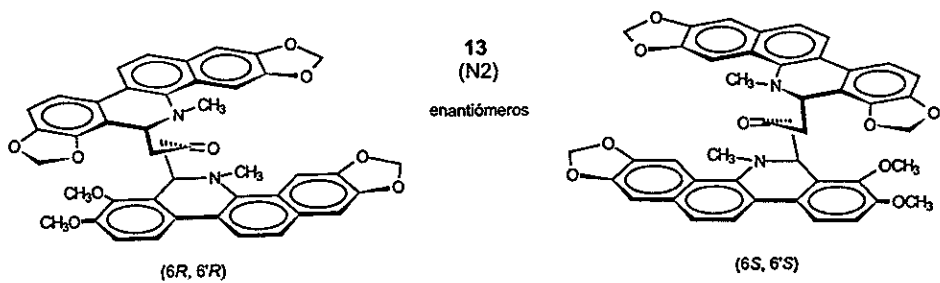


Figura 17. Topología de **13** (N2): 13-(6RS-dihidosanguinaril)-15-(6'RS-dihidroqueleiritrinil)-acetona.

5.1.6 Bioactividad.

Referente a la evaluación antimicrobiana, la cual fué realizada por el método autobiográfico (que es idóneo para el seguimiento de principios activos en el proceso de aislamiento cuando se estudian extractos íntegros de plantas), se encontró que el compuesto **4** (6-metoxidihidroqueleritrina), presentó buena actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, *S. faecalis*, y *C. albicans*, siendo la concentración mínima inhibitoria (CMI), de 25, 25, y 12 µg/mL respectivamente. El compuesto **4** fué obtenido de la fracción J, del extracto etanólico, la cual también presentó actividad antimicrobiana contra éstos mismos microorganismos, siendo la CMI de 125, 250, y 500 µg/mL, respectivamente.

Cabe mencionar que *S. aureus* es una especie patógena y altamente resistente, la cual es responsable de numerosas enfermedades en el humano, que van desde infecciones dermatológicas hasta endocarditis. *S. faecalis* es responsable de infecciones urinarias. *C. albicans* forma parte de la flora normal en el tracto respiratorio y gastrointestinal, y además en mujeres en el tracto genital, pero se caracteriza por ser oportunista en pacientes inmunodeprimidos y puede llegar a causar enfermedades en piel, tracto respiratorio y vaginal.^{42, 43}

De esta manera, en este estudio realizado, se justifica el uso popular de la planta para el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas en piel y gastrointestinales, debido que presenta un metabolito con potencial antimicrobiano.

La toxicidad frente a *Artemia salina*, que es una CL_{50} de 109 µg/mL para el extracto etanólico sugiere la continuación del estudio, con el fin de detectar metabolitos con potencial citotóxico, ya que se tienen antecedentes de que este tipo de estructura tienen cierta actividad citotóxica.

6. RESUMEN Y CONCLUSIONES.

Como resultado del presente estudio se aislaron, purificaron, y se caracterizaron estructuralmente, de las partes aéreas de *Bocconia arborea*, alcaloides de tipo benzofenantridina: 6-acetonildihidosaguinarina (10), 6-acetonildihidroqueleritrina (3), 6-metoxidihidroqueleritrina (4), el dímero de bezofenantridina: (\pm)-sanguidimerina (11C), y los compuestos 12 (N1) y 13 (N2), todos como mezclas racémicas.

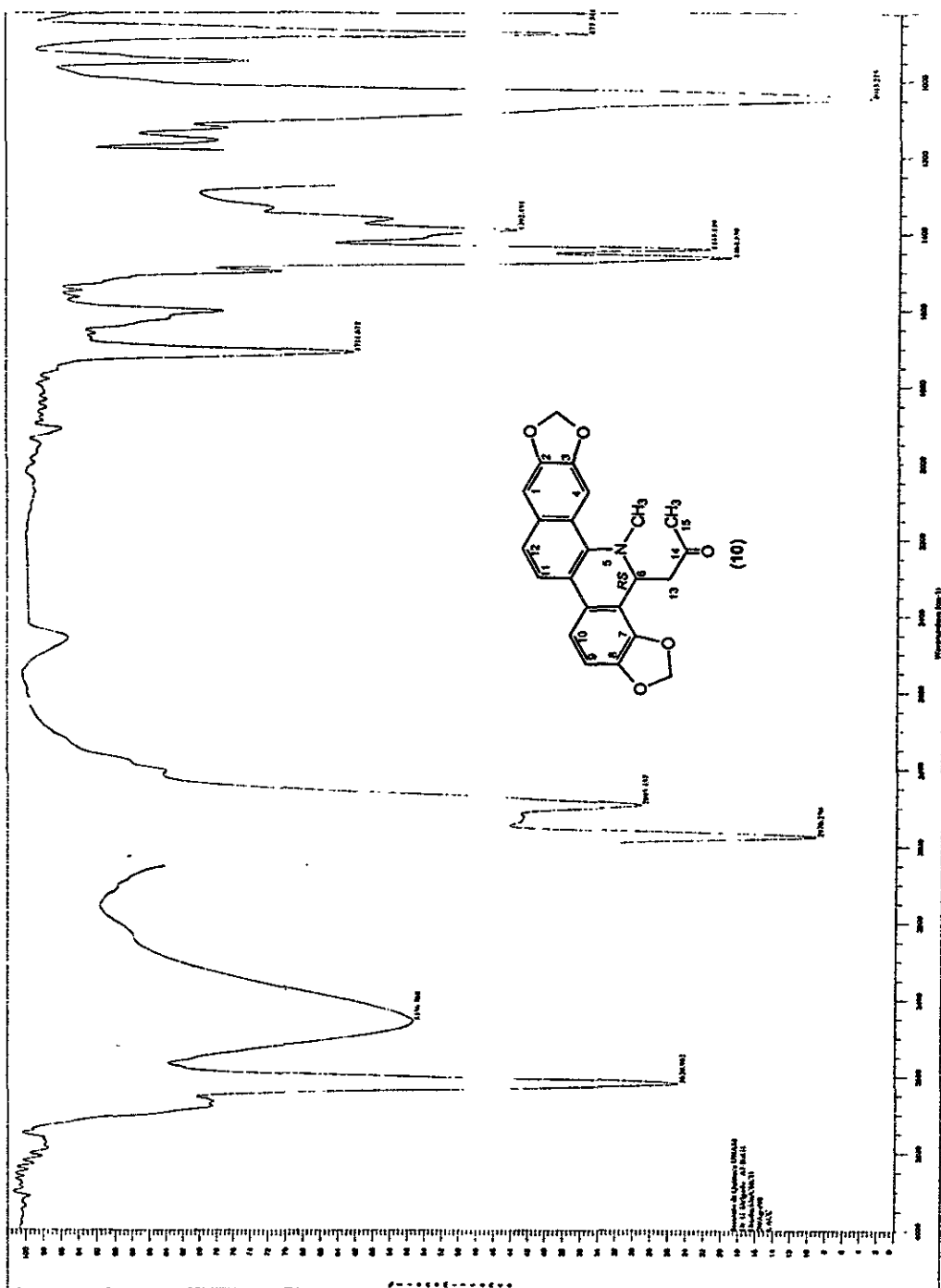
Los alcaloides 6-acetonildihidosanguinarina (10) y sanguidimerina (11) fueron aislados por primera vez en esta especie. Cabe señalar que es la primera ocasión que se informan los datos espectroscópicos de (\pm)-sanguidimerina (11C).

Los compuestos alcaloideos diastereoisoméricos 12 (N1) y 13 (N2) son de estructura novedosa y fueron aislados como mezclas racémicas. La estereoquímica de estos dímeros fué establecida mediante la correlación de las propiedades espectroscópicas y las preferencias conformacionales deducidas.

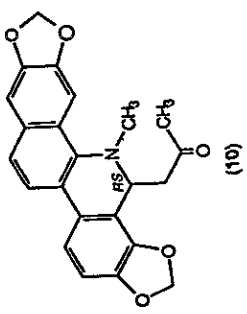
El alcaloide 6-metoxidihidroqueleritrina (4) tiene potencial antimicrobiano contra *S. aureus* (25 $\mu\text{g/mL}$), *S. faecalis* (25 $\mu\text{g/mL}$), y *C. albicans* (12 $\mu\text{g/mL}$).

Con base en los resultados de este estudio, el compuesto 4 confiere actividad antimicrobiana al extracto etanólico. Asimismo, se establece una cierta correlación con el uso etnomédico de la planta para el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas, debido a las propiedades antimicrobianas anteriormente mencionadas.

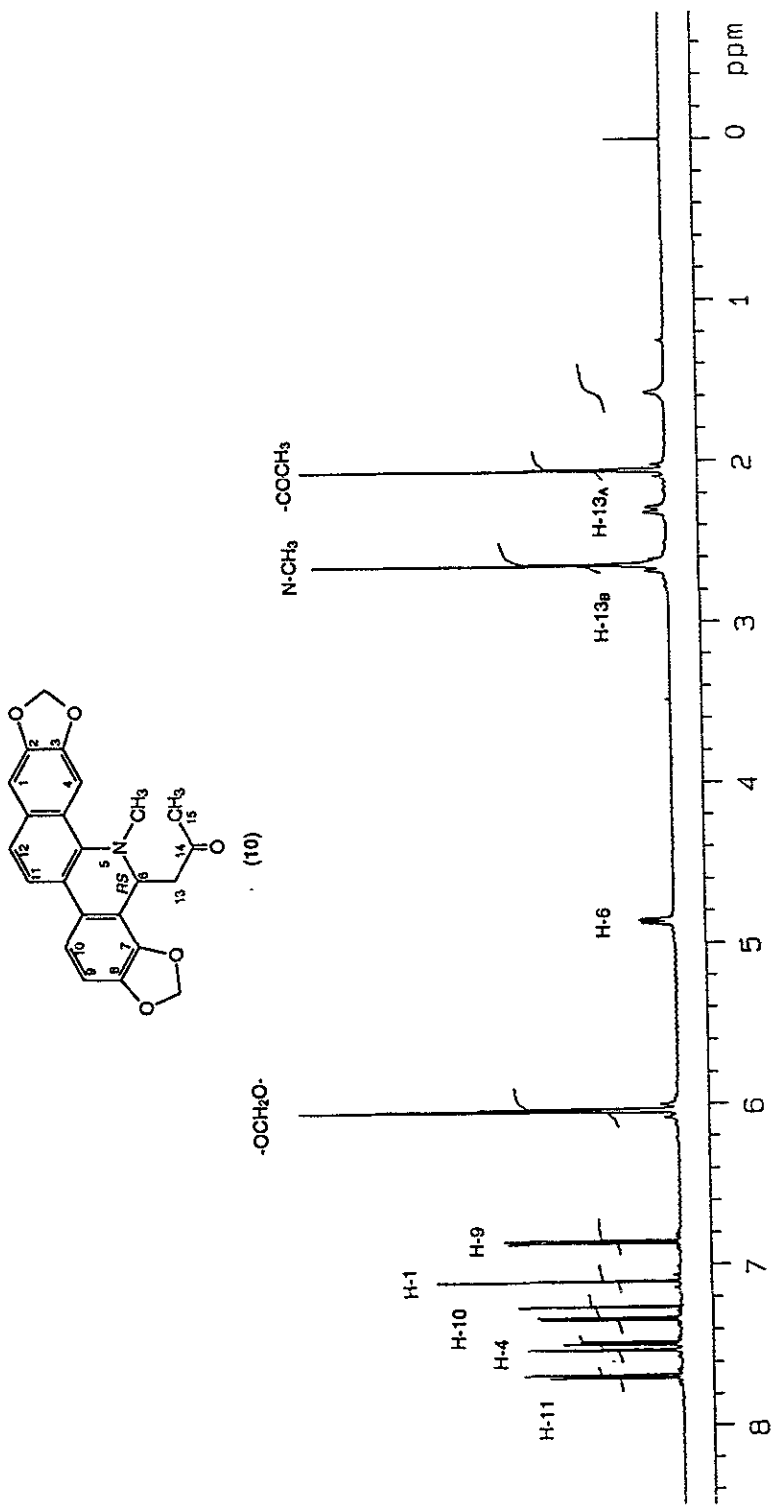
7. ESPECTROS



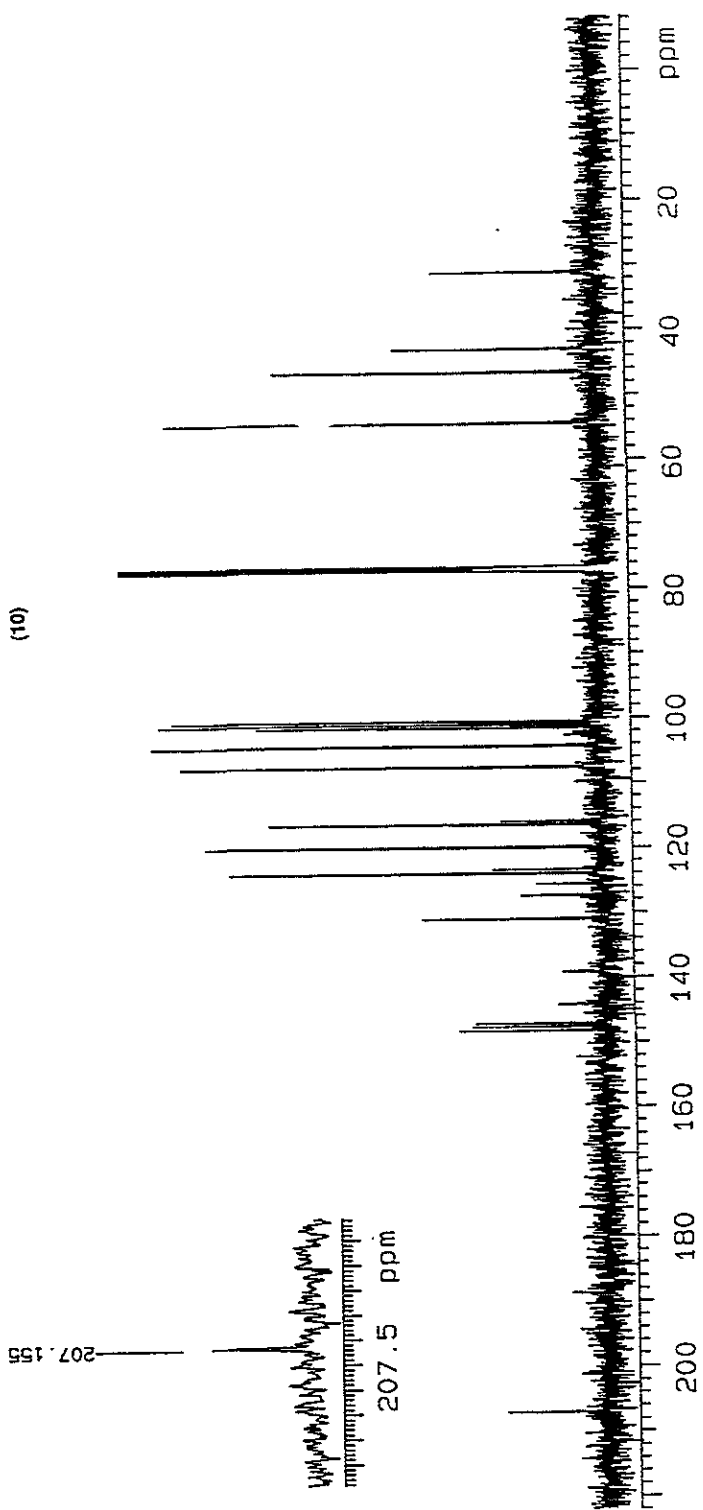
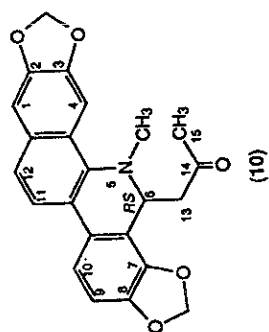
Espectro 1. IR (CHCl₃) 6-acetonidihidrosanguinarina (10).



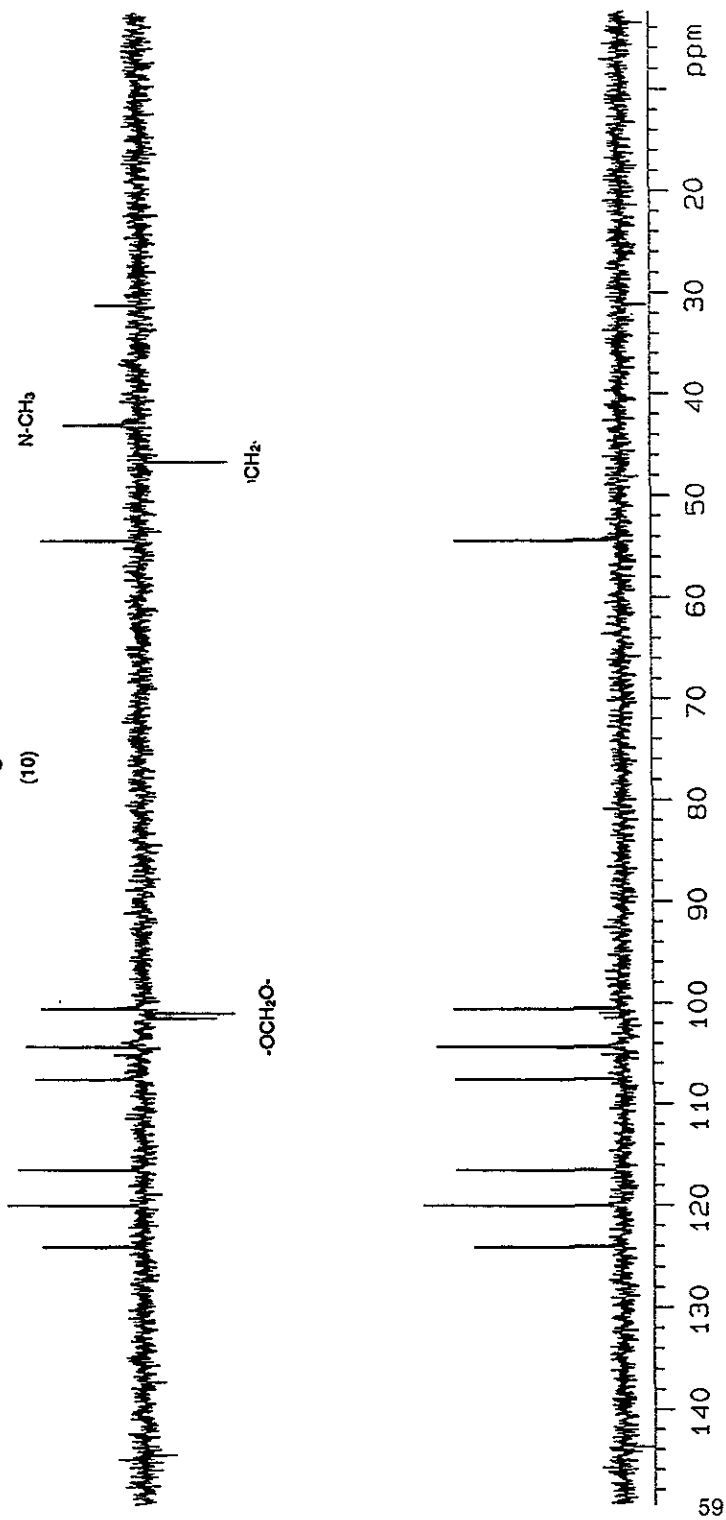
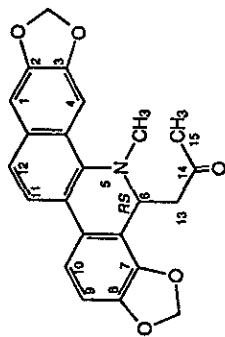
Espectro 2. EM (IE, 70 eV) 6-acetonilidihidrosanguinarina (10).



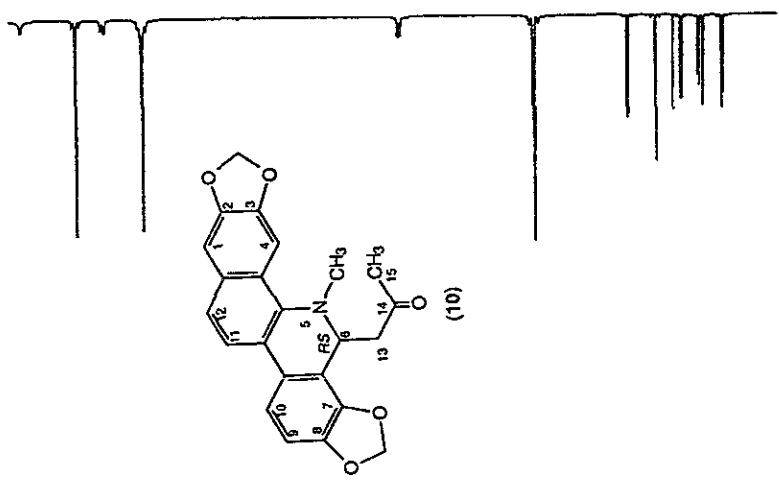
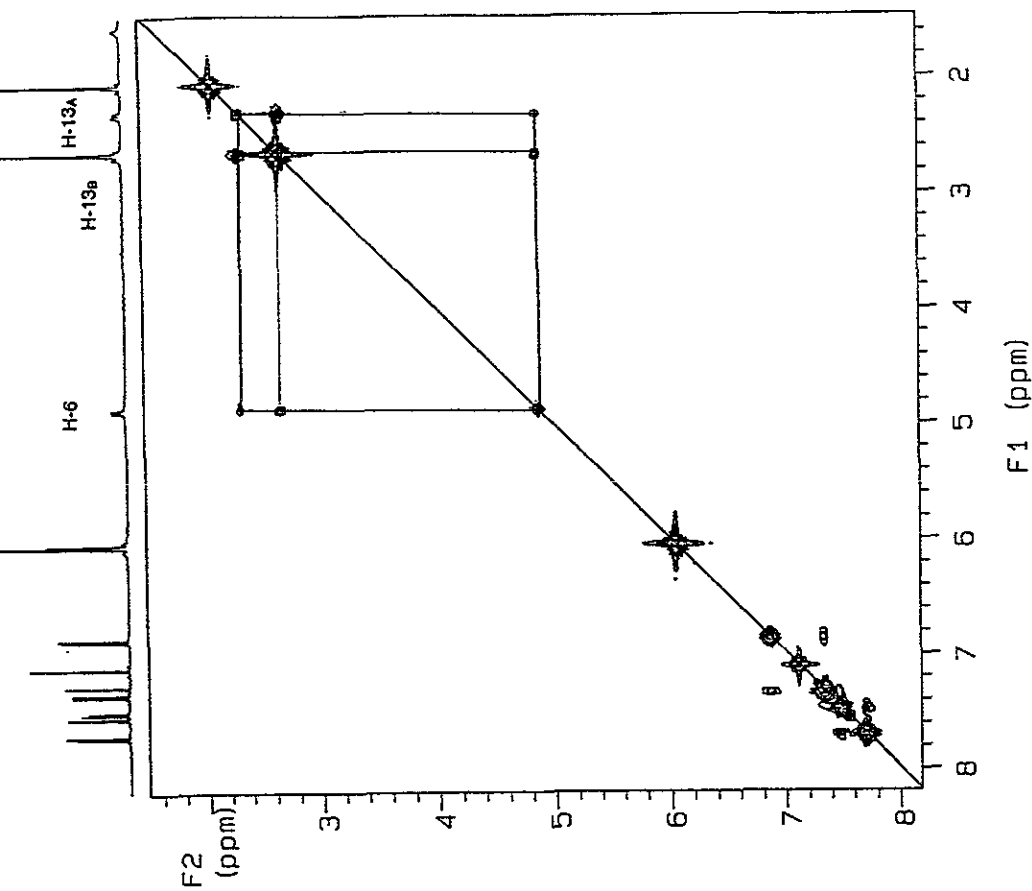
Espectro 3. RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) 6-acetonilidihidrosanguinarina (10).



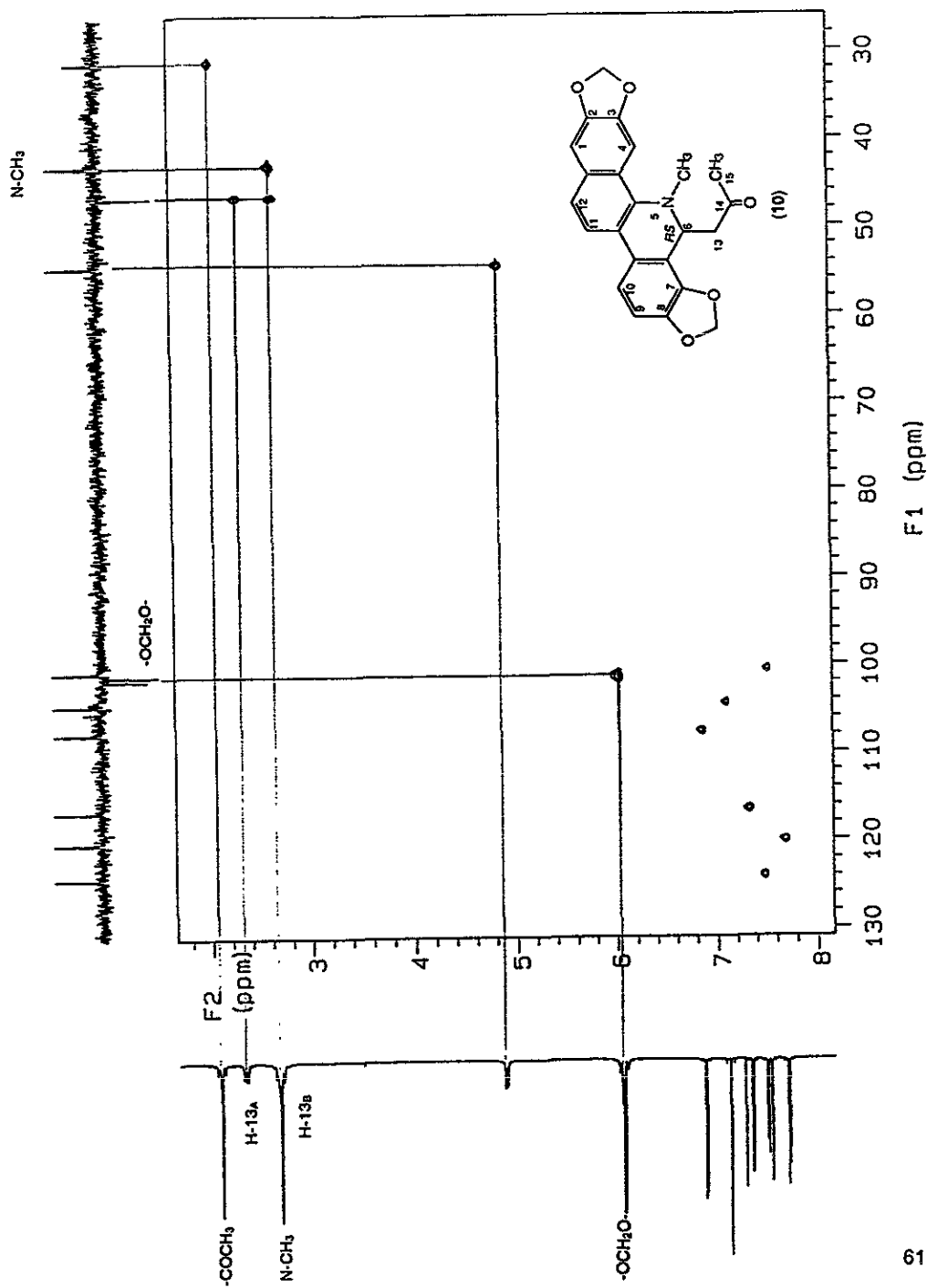
Espectro 4. RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) 6-acetonilidihidroanguarina (10).



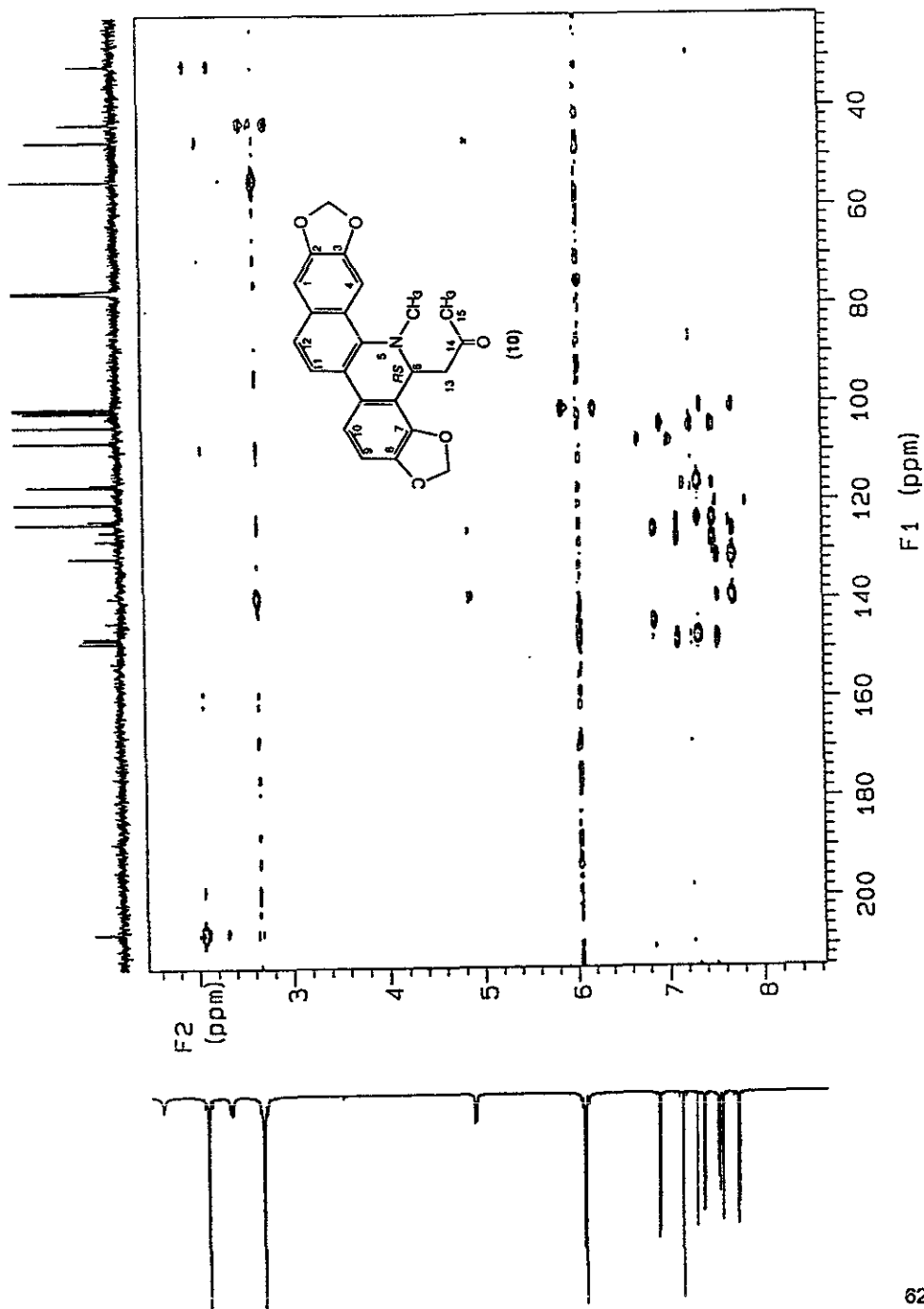
Espectro 5. RMN ¹³C DEPT (125 MHz, CDCl₃) 6-acetonilhidrosanguinarina (10).



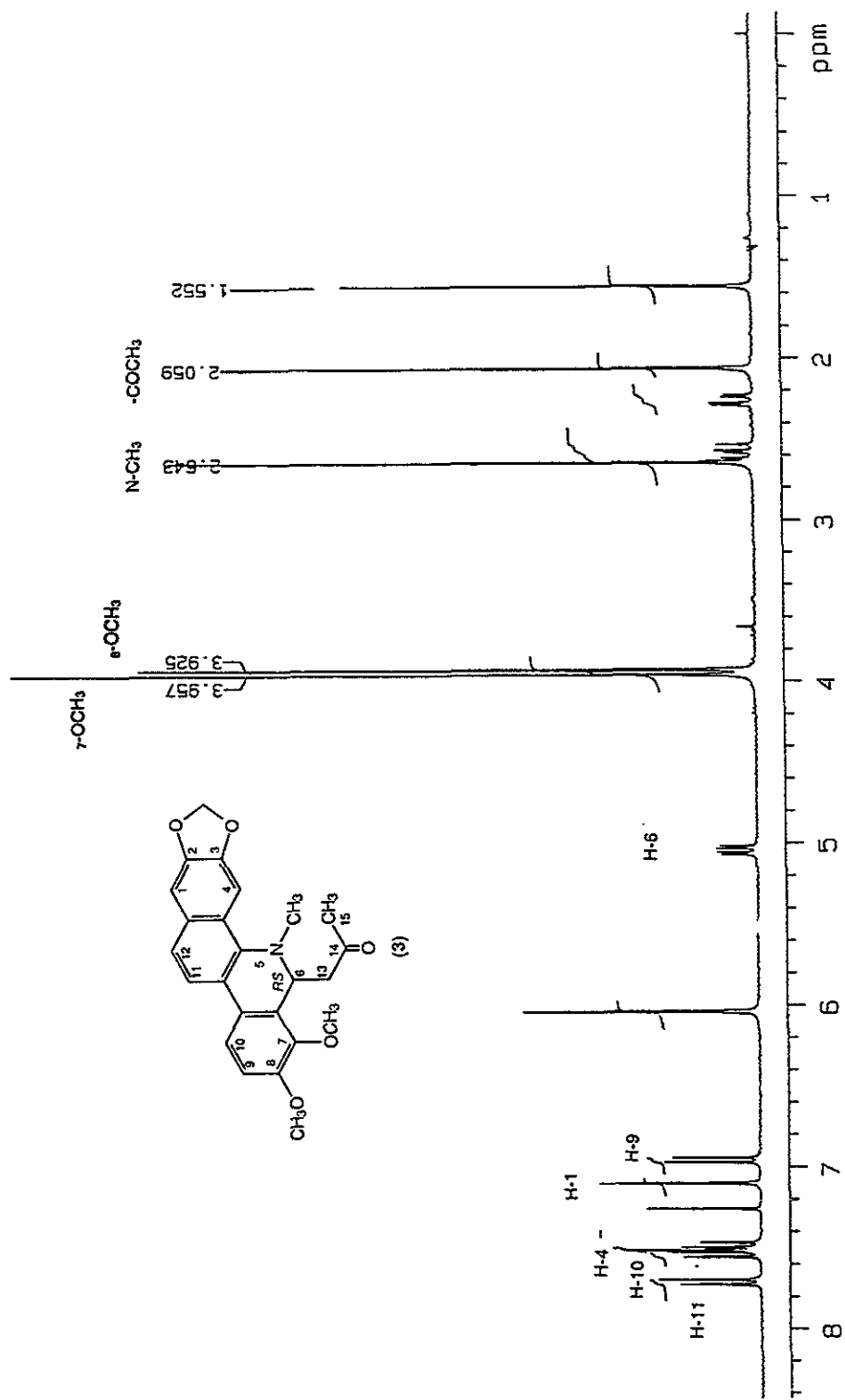
Espectro 6. COSY (500 MHz, CDCl_3) 6-acetonilhidrosanguinarina (10).



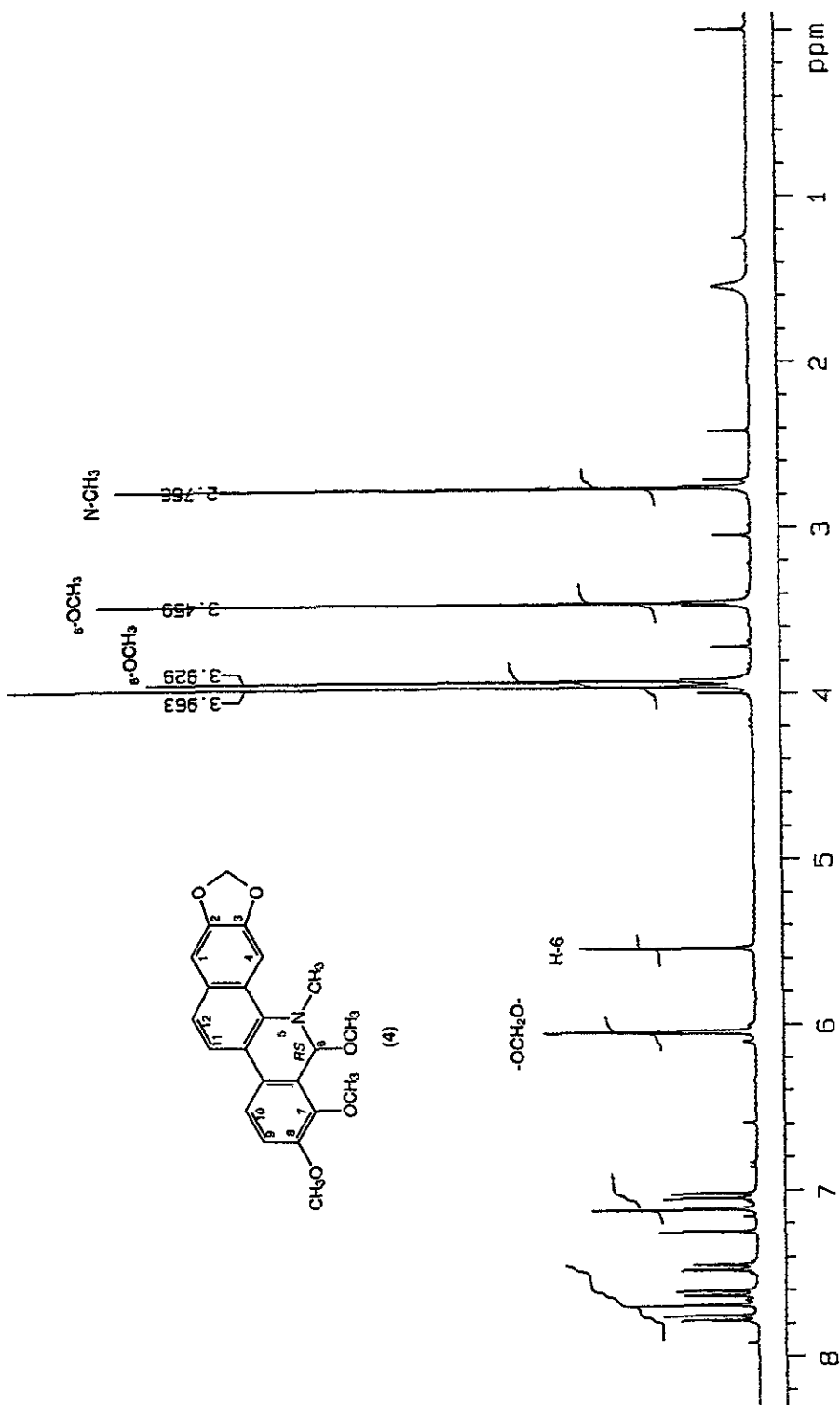
Espectro 7. HMQC (125 MHz, CDCl_3) 6-acetonilidihydroanguinarina (10).



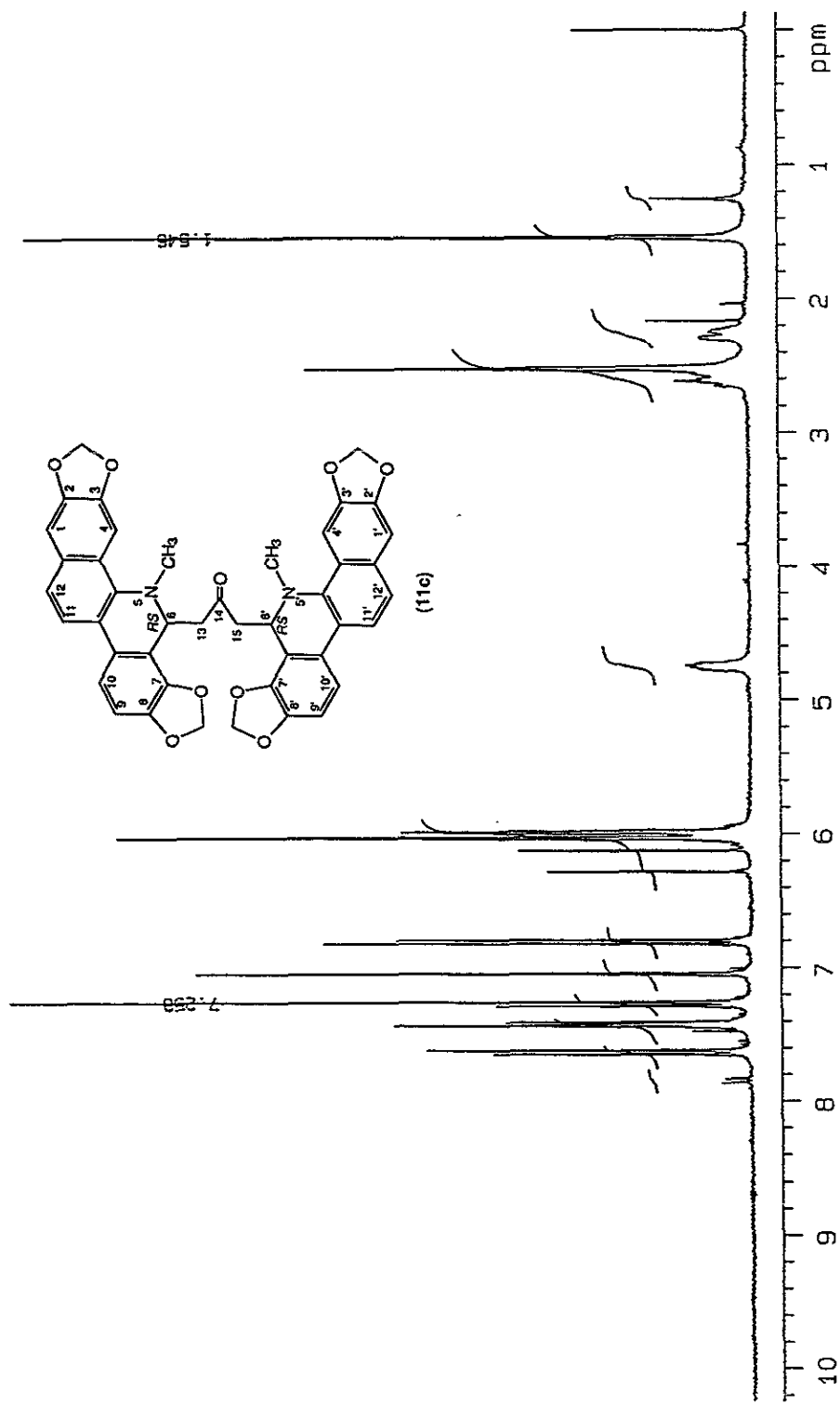
Espectro 8. HMBC (125 MHz, CDCl_3) 6-acetonilidihidosanguinarina (10).



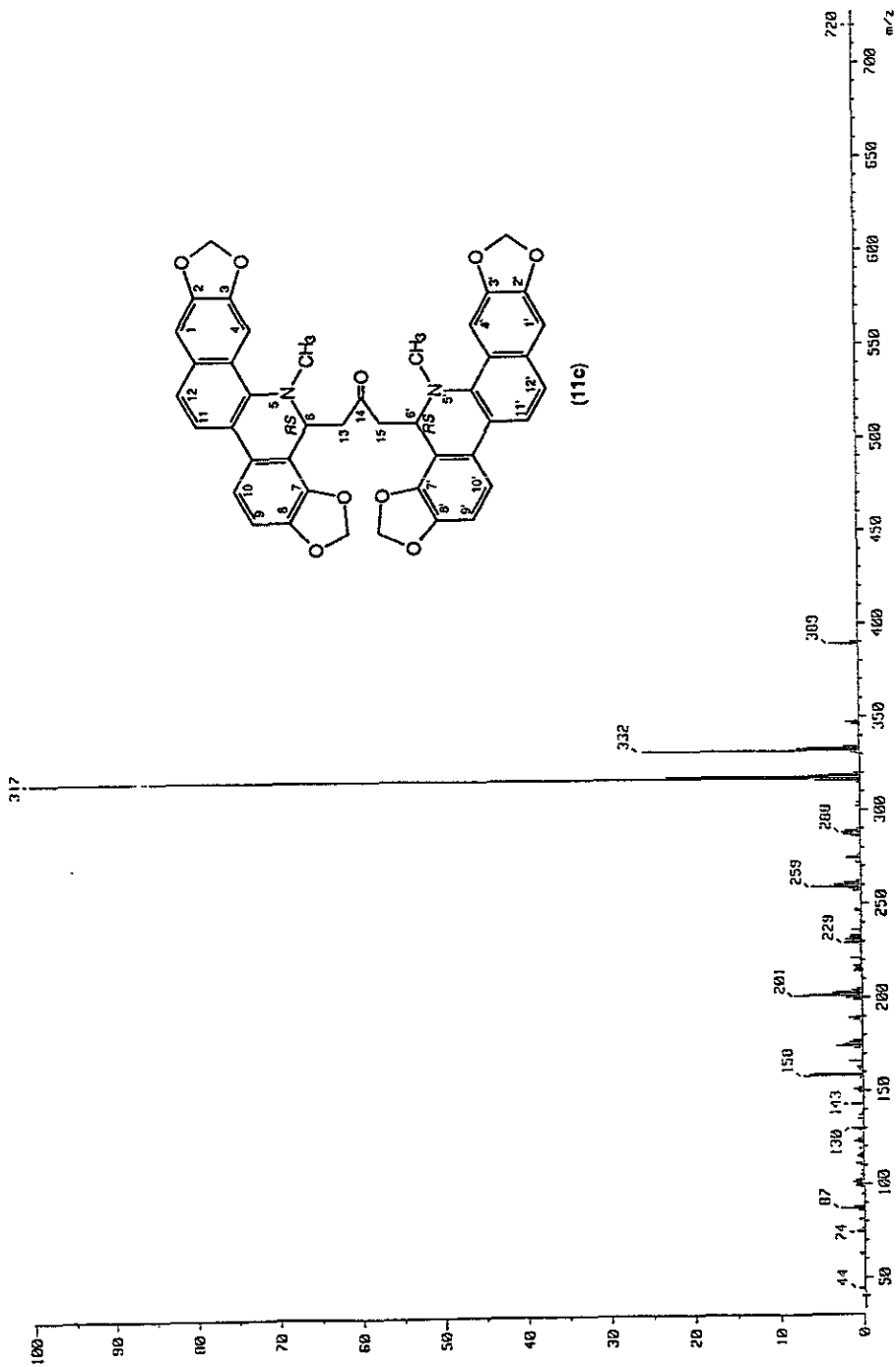
Espectro 9. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) 6-acetonidihidroqueleritina (3).



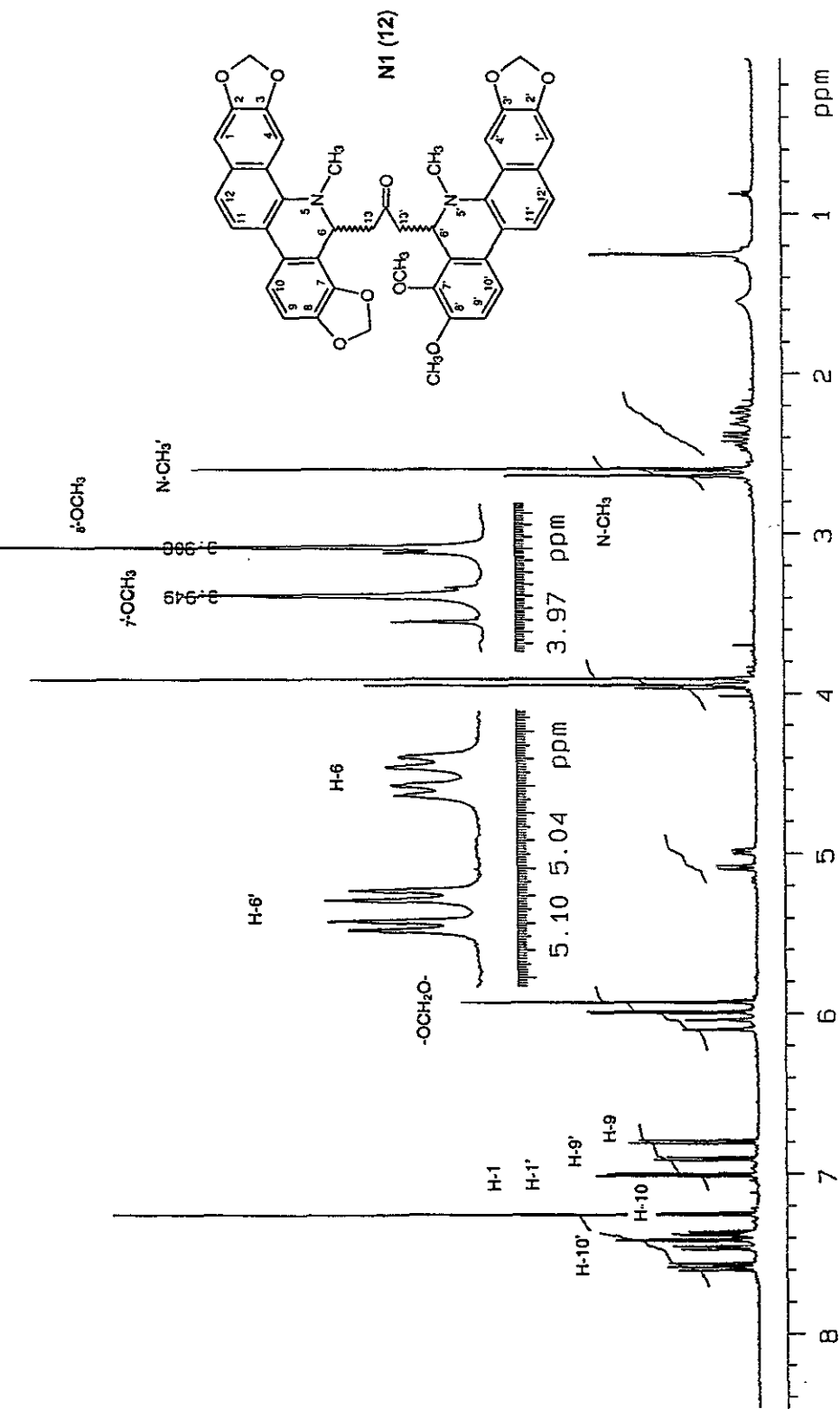
Espectro 10. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) 6-metoxidihidroqueltrina (4).



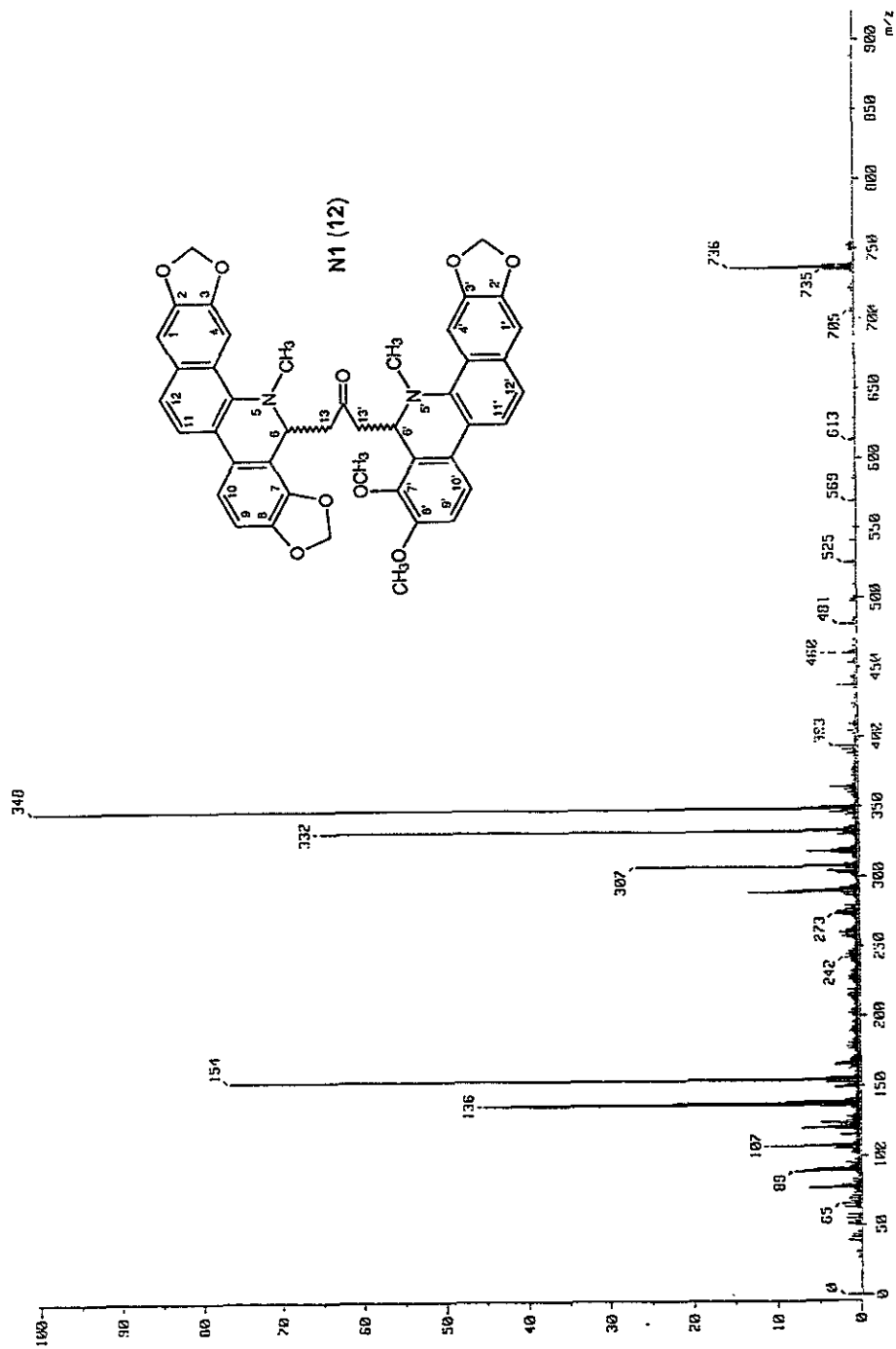
Espectro 11. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) Sanguidimerina (11C).



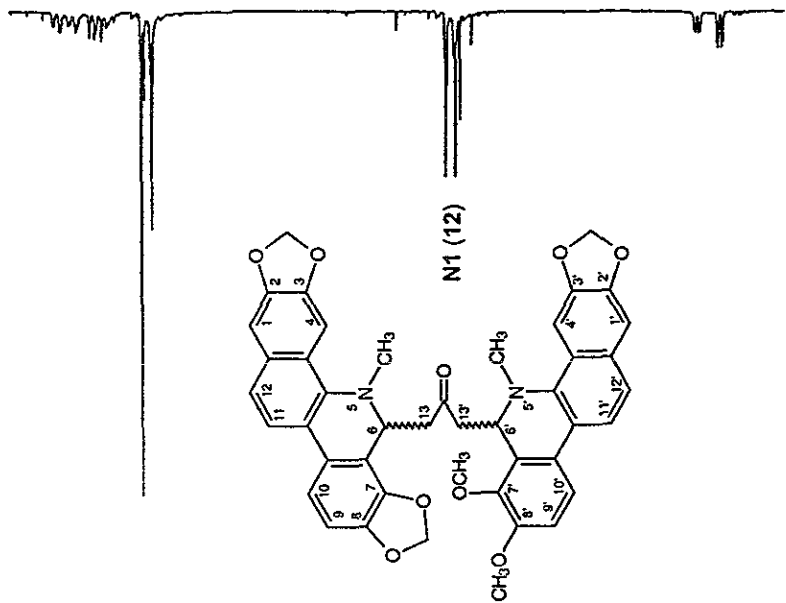
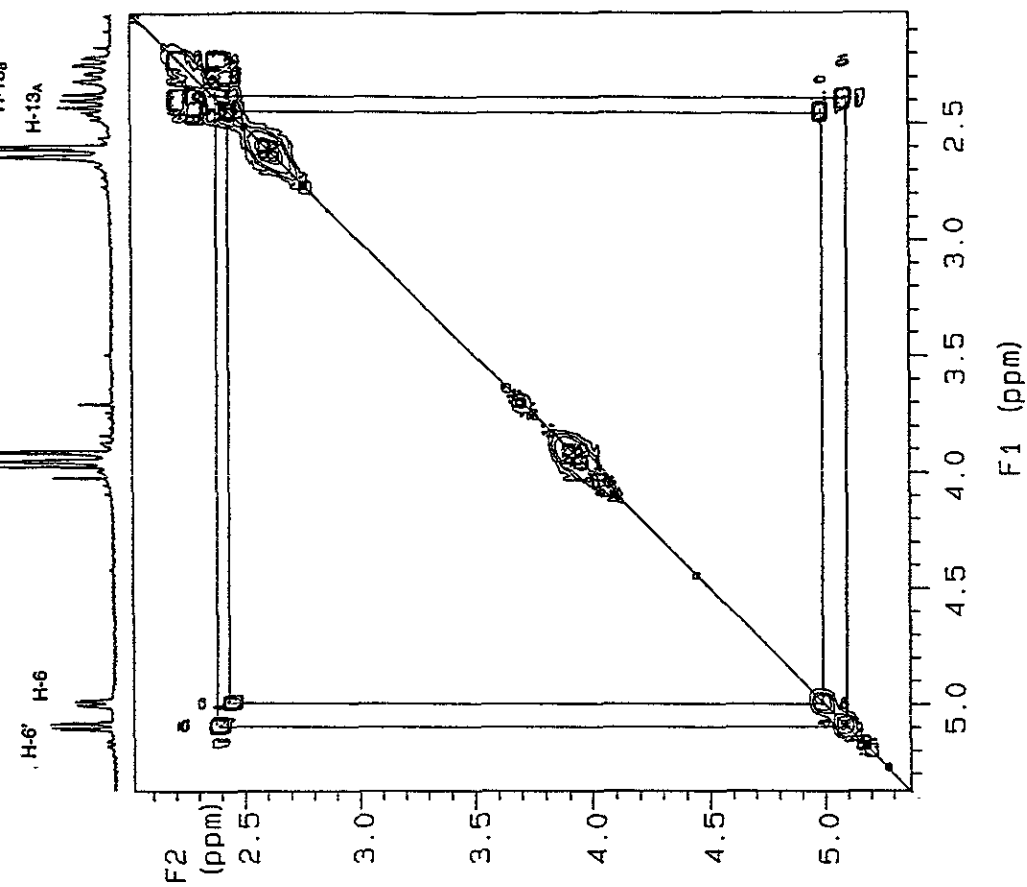
Espectro 12. EM (IE, 70 eV) Sanguidimerina (11C).



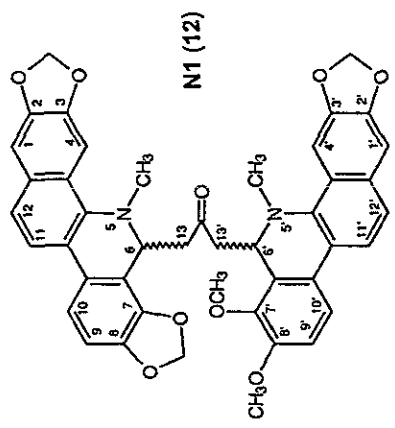
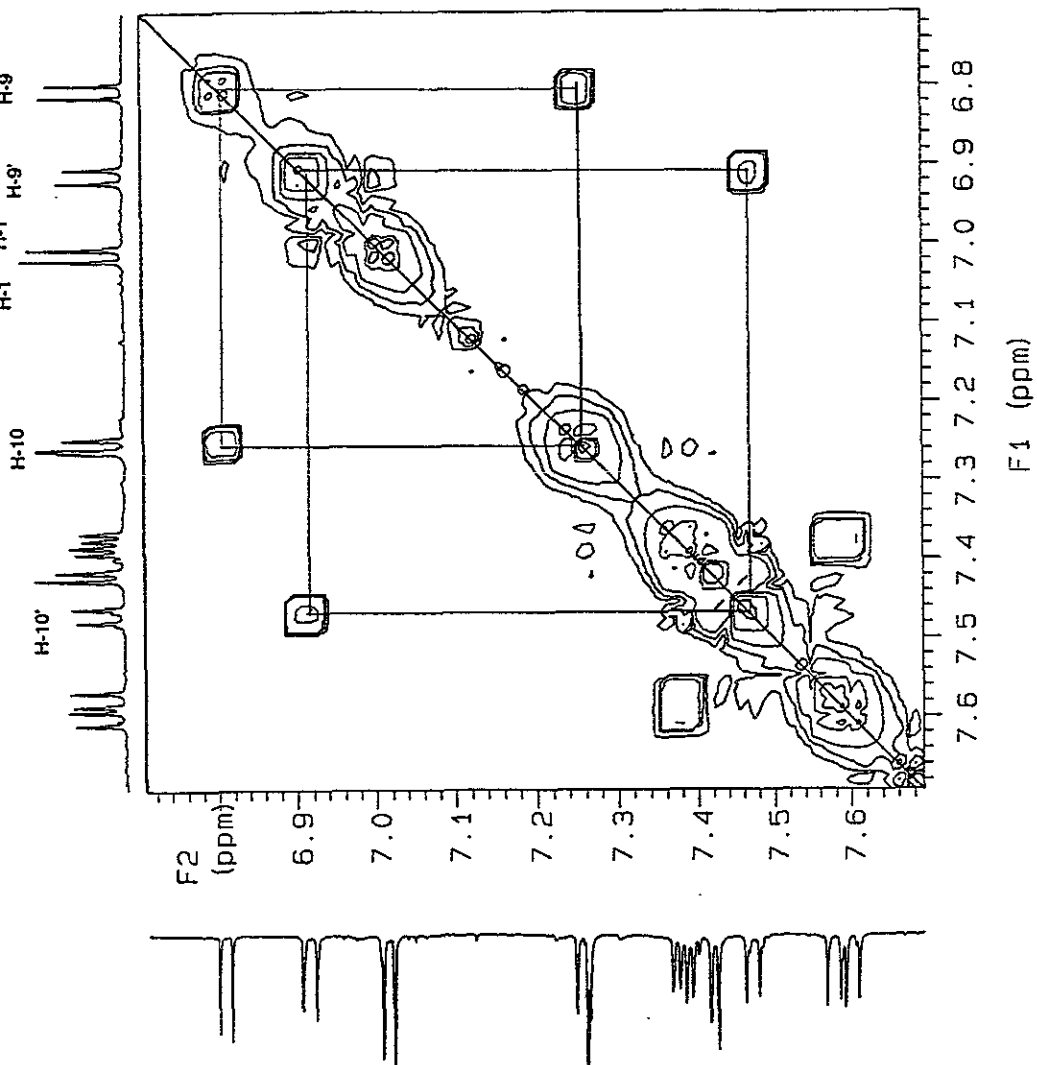
Espectro 13. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) Compuesto N1 (12).



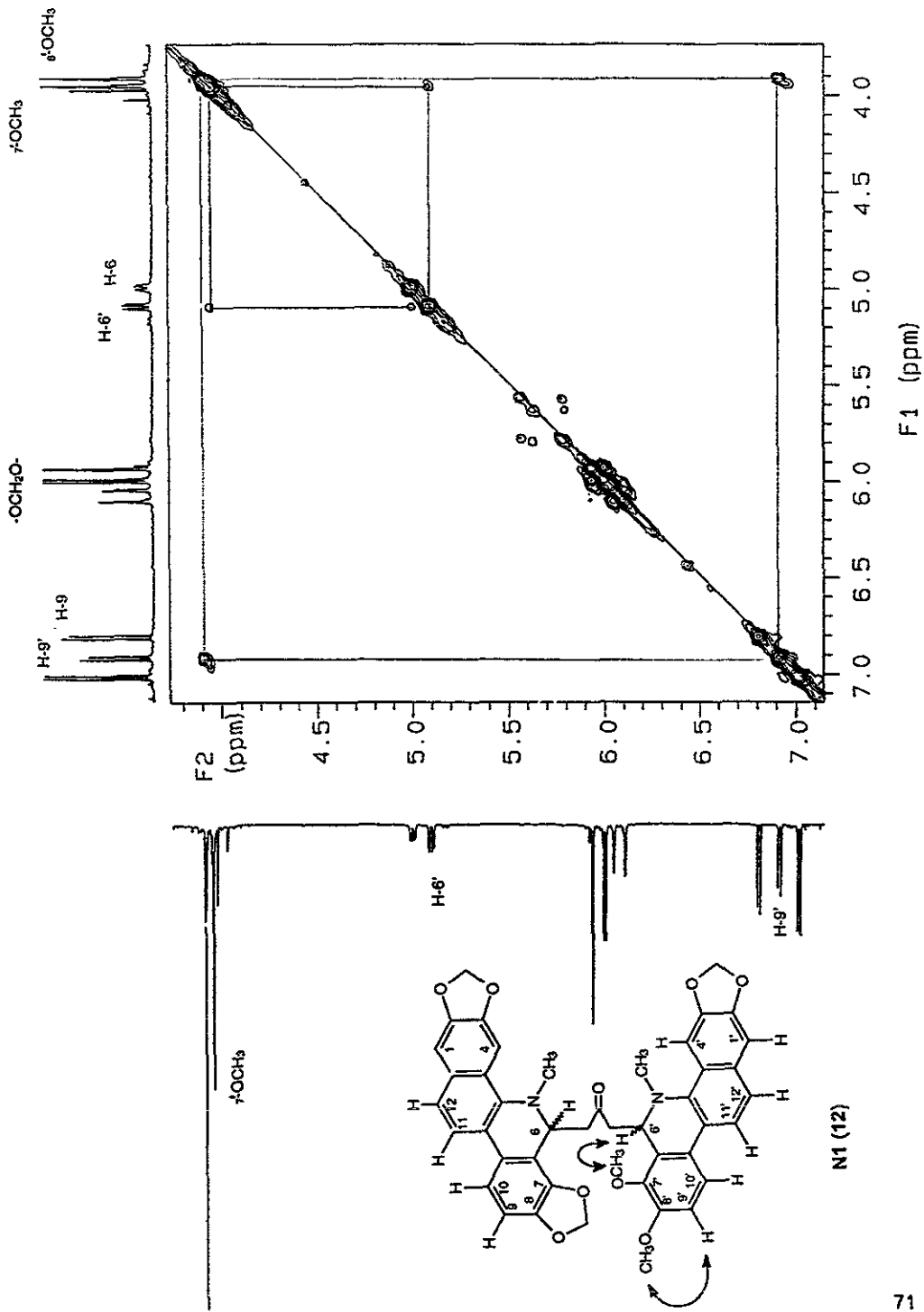
Espectro 14. EM (IE, 70 eV) Compuesto N1 (12).



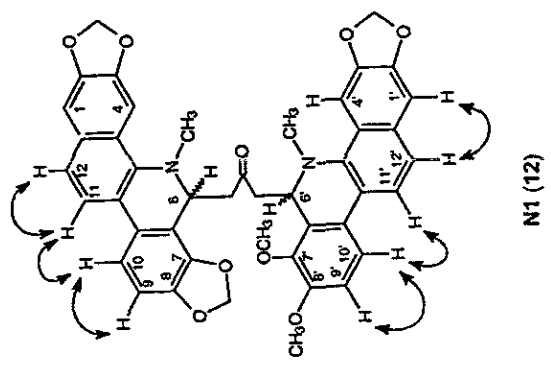
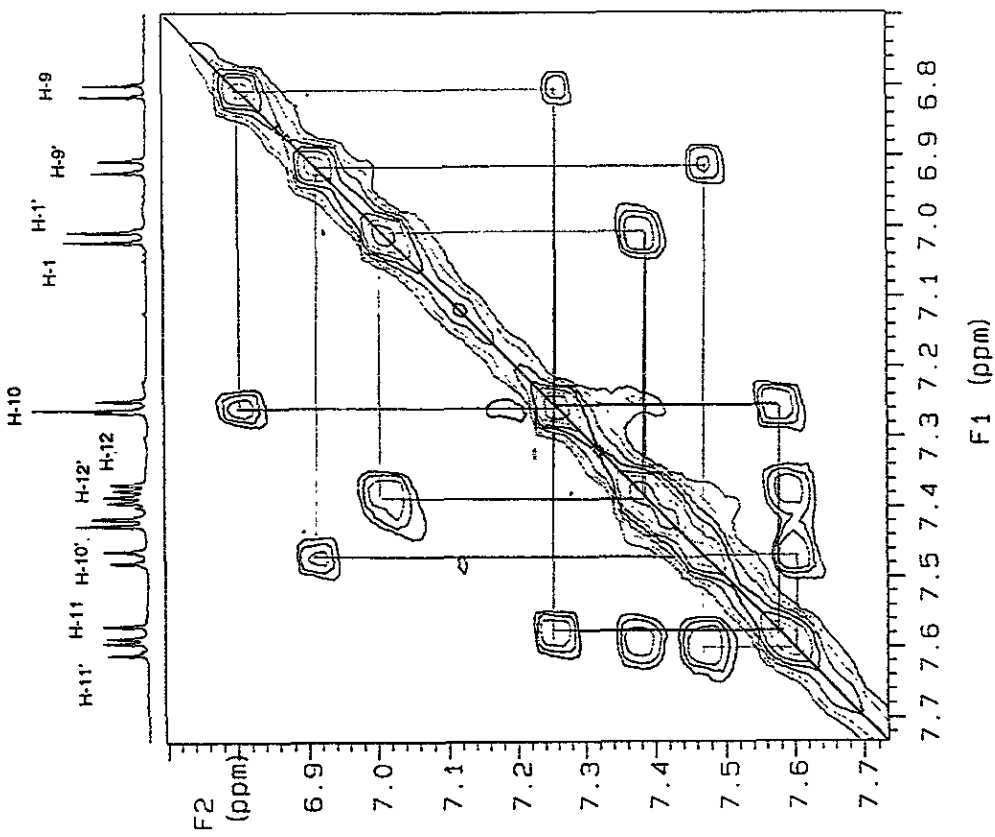
Espectro 15. COSY (500 MHz, CDCl₃) Compuesto N1 (12).



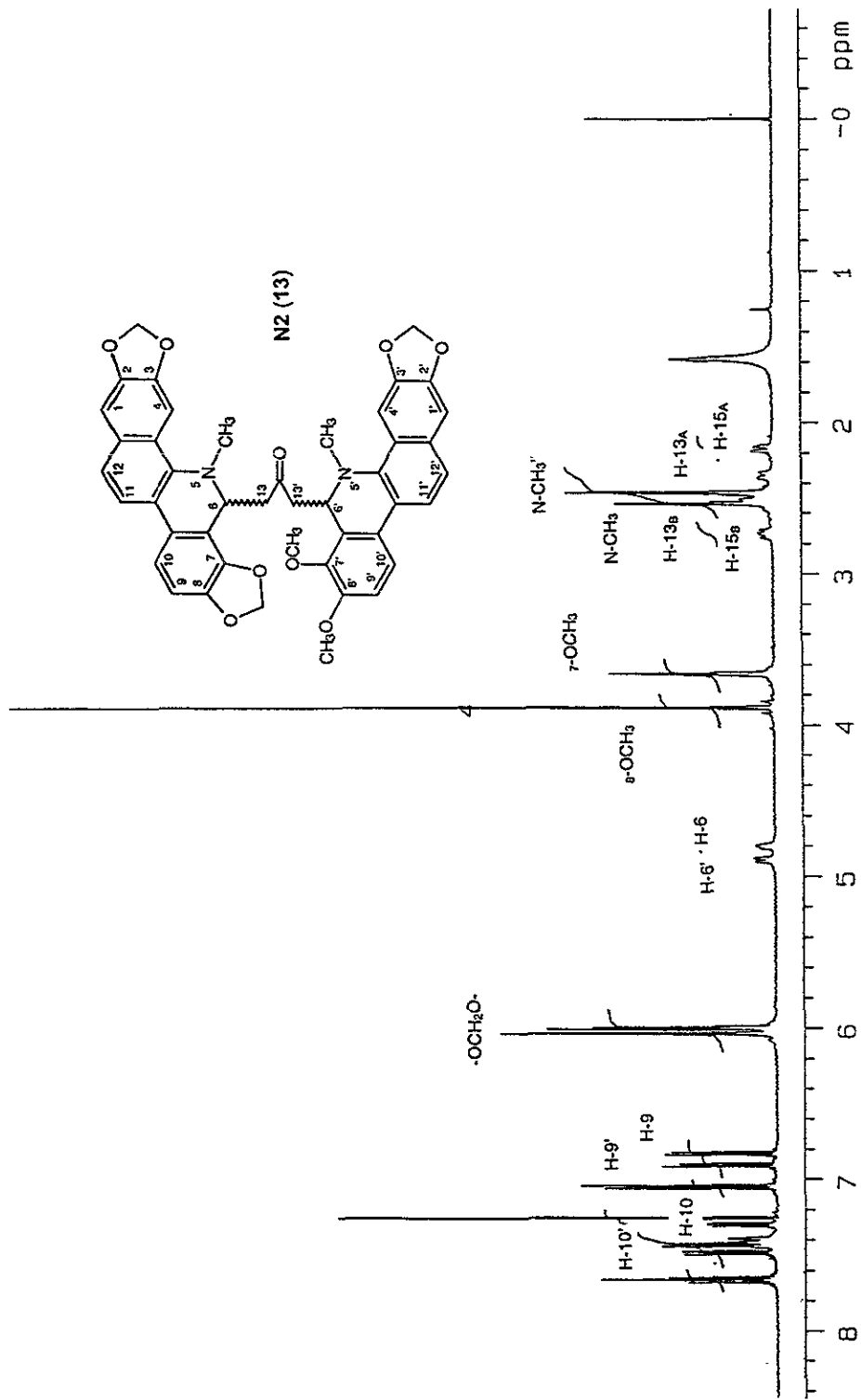
Espectro 15. COSY (500 MHz, CDCl₃) Compuesto N1 (12).



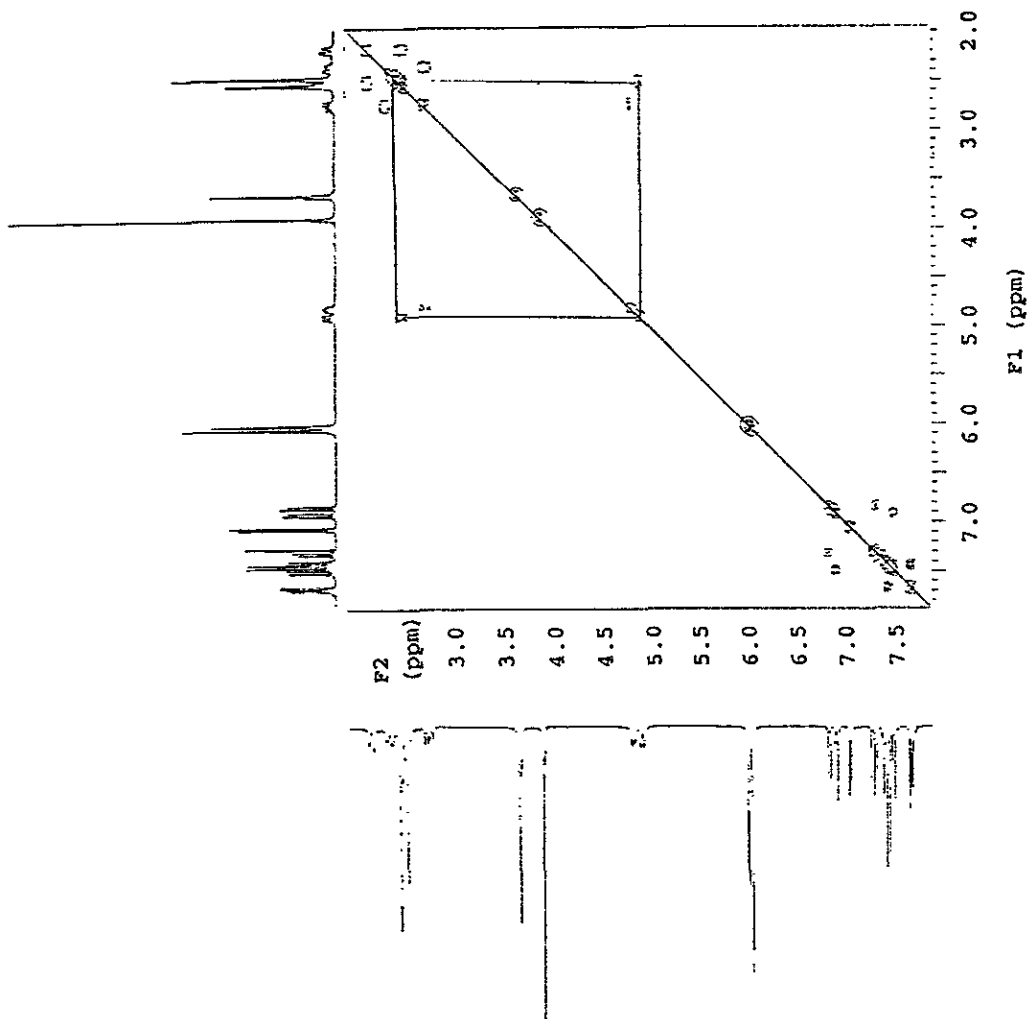
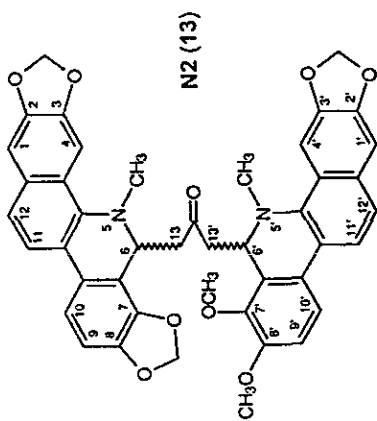
Espectro 16. NOESY (500 MHz, CDCl₃) Compuesto N1 (12).



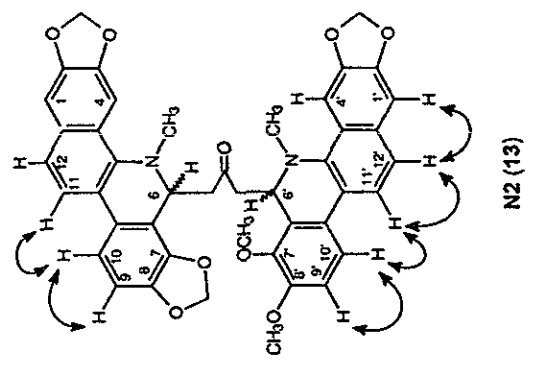
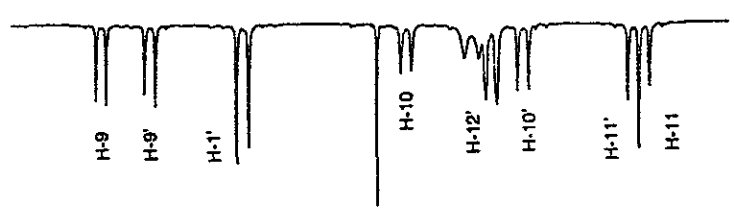
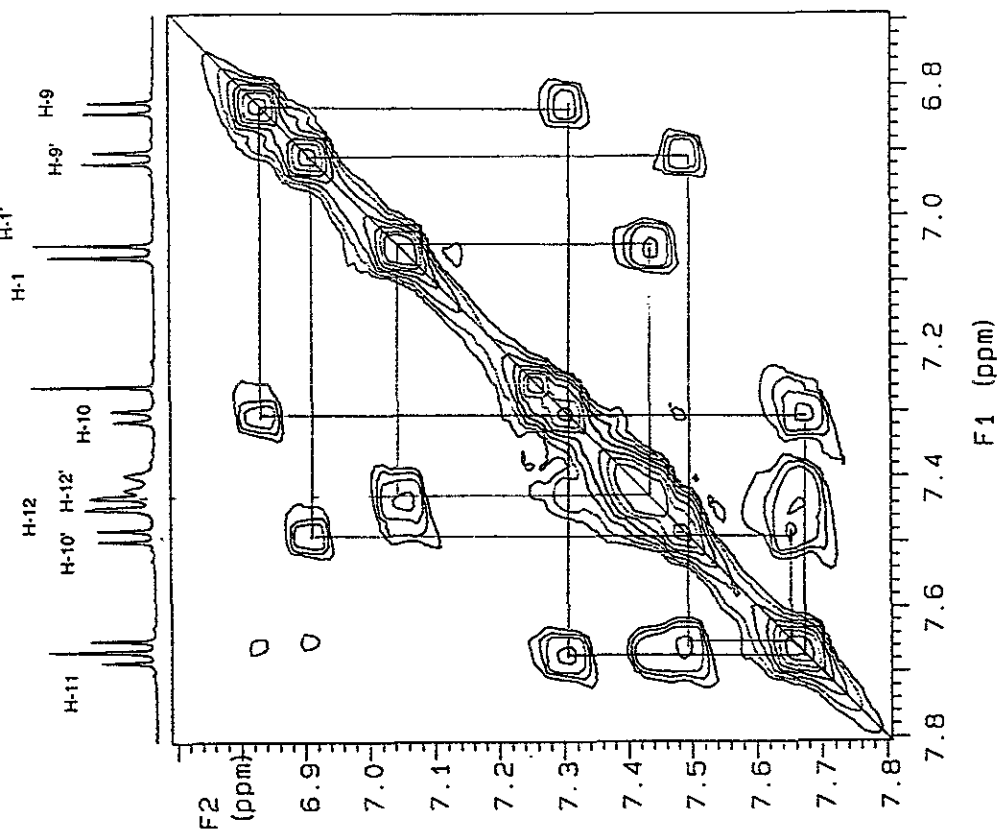
Espectro. 16. NOESY (500 MHz, CDCl₃) Compuesto N1 (12).



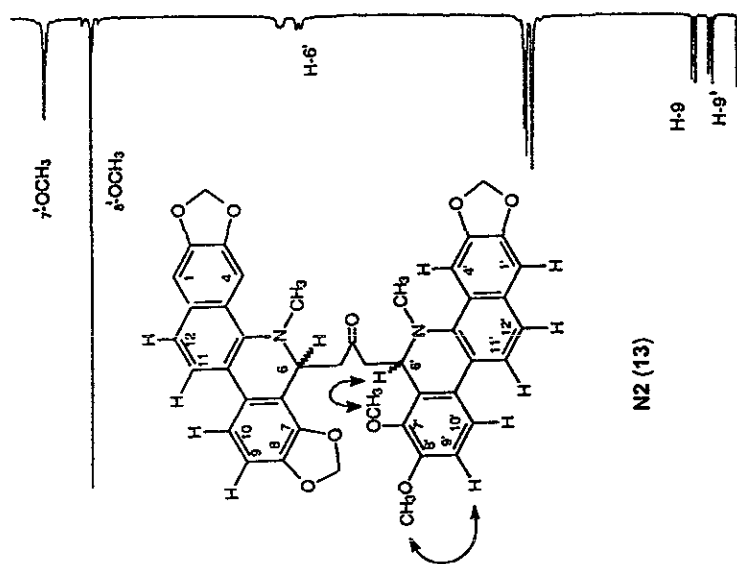
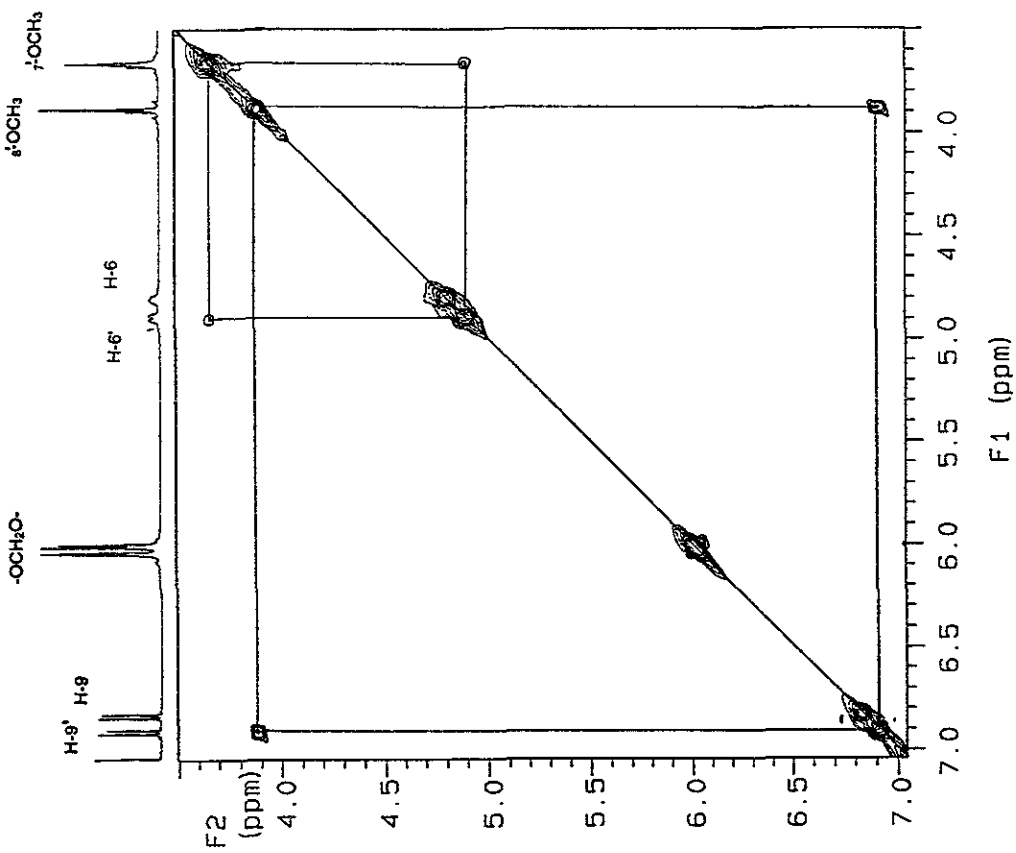
Espectro 17. RMN 1H (500 MHz, CDCl₃) Compuesto **N2 (13)**.



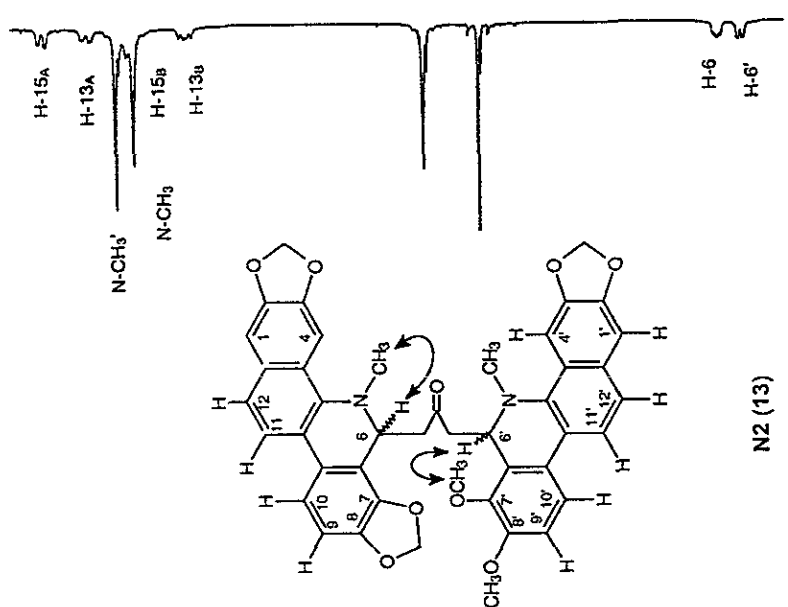
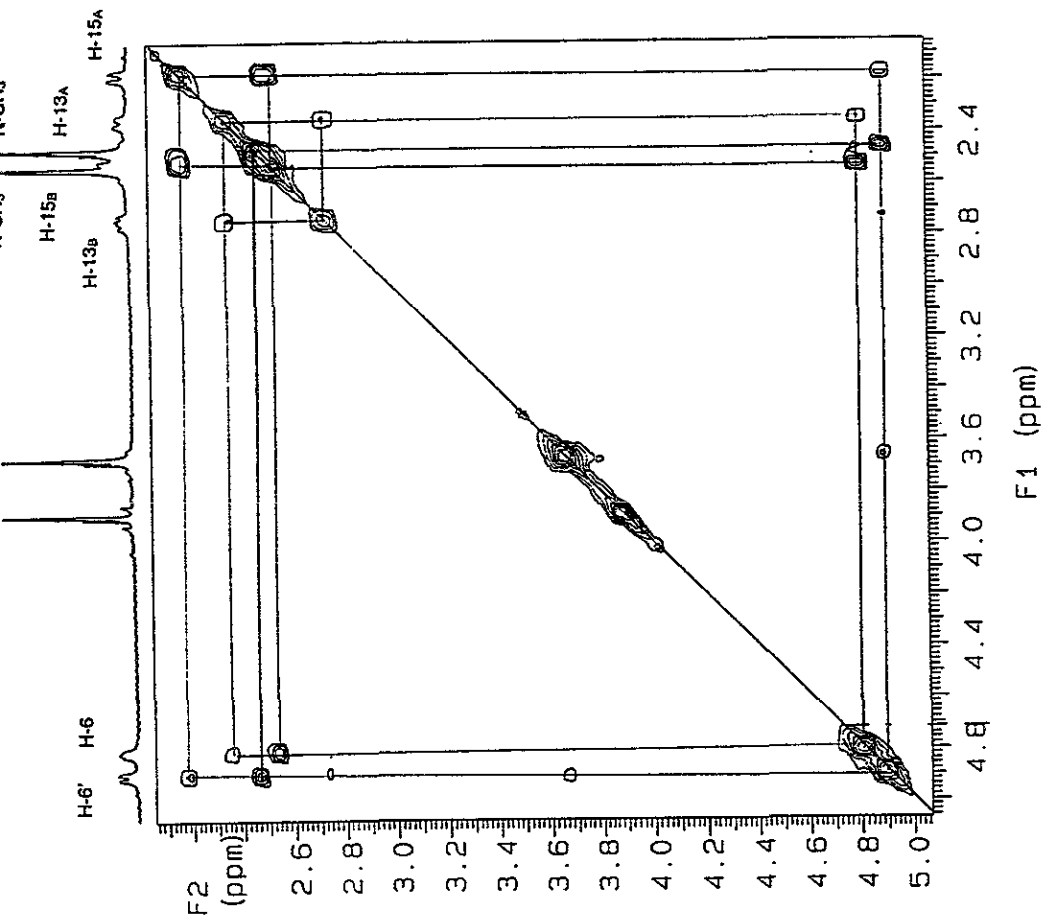
Espectro 18. COSY (500 MHz, CDCl_3) Compuesto N2 (13).



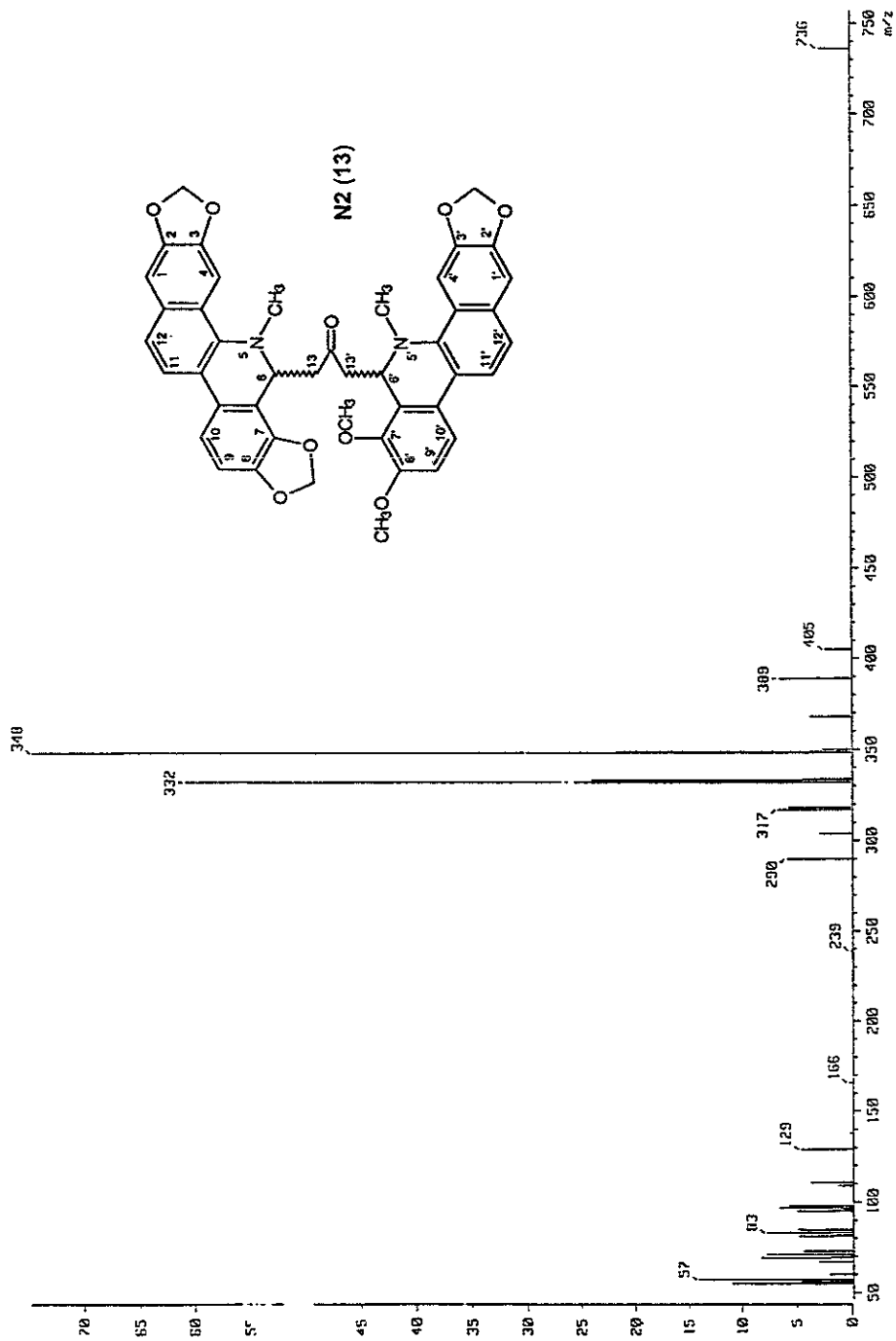
Espectro 19. NOESY (500 MHz, CDCl₃) Compuesto N2 (13).



Espectro 19. NOESY (500 MHz, CDCl₃) Compuesto N2 (13).



Espectro 19. NOESY (500 MHz, CDCl₃) Compuesto N2 (13).



Espectro 20. EM (IE, 70 eV) Compuesto N2 (13)

8. BIBLIOGRAFÍA.

1. Hamburguer, M., Hostettmann, K. Bioactivity in Plants: The Link Between Phytochemistry and Medicine. *Phytochemistry* 1991, 30, 3864-3874.
2. Pettit, G. R. Marine Animal and Terrestrial Plant Anticancer Constituents. *Pure and Appl. Chem.* 1994, 66, 2271-2281.
3. Cox, A. P., Balick, J. M. The Ethnobotanical Approach to Drug Discovery. *Scientific American* 1994, 6, 82-87.
4. Estrada, E. Jardín Botánico de Plantas Medicinales "Maximino Martínez". Universidad Autónoma de Chapingo. 1985, 41 pp.
5. Estrada, E., Linares, E., Bye, R. Biological Diversity of Medicinal Plants in Mexico, in *Phytochemistry of Medicinal Plants*. Ed. J. T. Arnason, Plenum Press, New York. *Rec. Adv. Phyt.* 1995, 29, 65-82.
6. Mata, R. Chemical Studies and Biological Aspects of Some Mexican Plants Used in Traditional Medicine, in *Phytochemical Potential of Tropical Plants*. Ed. K. R. Downum, Plenum Press, New York. *Rec. Adv. Phyt.* 1993, 27, 41-64.
7. Camacho, J. R., Aguilar, A., Lozoya, X. Encuesta sobre el Uso Actual de Plantas en la Medicina Tradicional Mexicana, *Rev. Med. IMSS.* 1987, 25, 283-291.
8. Lozoya, X. Fármacos de Origen Vegetal de Ayer y de Hoy. *Invest. y Cienc.* 1997, 245, 4-10.
9. Espinosa-García, F., Delgado, G. Relationship Between Ecology of Plant Defense and The Prospection of Secondary Metabolites with Potential Medicinal or Agricultural Application. *Rev. Latinoam. Quím.* 1998, 26, 13-29.
10. Martínez, M. Las plantas Medicinales de México. Ed. Botas. 3ra. edición. México, D.F. 165-172.
11. Pérez, C. Anatomía de la Madera de Ocho Especies con Importancia en las Artesanías del Estado de Michoacán. *Act. Bot. Mex.* 1993, 23, 103-106.
12. Consulta en el Herbario Nacional de México. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México.
13. Díaz, J. L. Usos de las Plantas Medicinales de México. Monografías Científicas II, IMEPLAM. México, A. C. 1977, 329 p.
14. Baytelman, B. Acerca de Plantas y Curanderos. Instituto Nacional de Antropología e

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Historia. México, D. F. 1983, 452 pp.

15. Rodarte, M., Cano, L., Argueta, A. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, Tomo I. Instituto Nacional Indigenista, México, D. F. 1994, 919 pp.
16. Manske, R. H. F. The Alkaloids of Papaveraceous Plants. *Bocconia arborea* Wats. *Can. J. Res.* 1943, 21, 140-143.
17. Preiniger, V. The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology. Ed. A. Brossi, Academic Press, New York. 1986, 29, 1-98.
18. Carlquist, S., Zona, S. Wood Anatomy of Papaveraceae with Comments on Vessel Restriction Patterns. *IAWA Bulletin.* 1988, 9, 253-267.
19. Krane, B. D., Fagbule, M. O., Shamma, M. The Benzophenanthridine Alkaloids. *J. Nat. Prod.* 1984, 47, 1-49.
20. Fong, H. H. S., Trojankova, M., Trojáněk, J., Farnsworth, N. R. Alkaloids Screening. *Lloydia* 1972, 35, 117-149.
21. MacLean, D. B., Gracey, D. E. F., Saunders, J. K., Rodrigo, R., Manske, R. H. F. Some Benzophenanthridine Alkaloids from *Bocconia arborea*. *Can. J. Chem.* 1969, 47, 1951-1956.
22. Oeschlin, S. M., König, G. M., Oeschlin-Merkel, K., A., Wright, D., Kinghorn, A. D., Sticher, O. An NMR Study of Four Benzophenanthridine Alkaloids. *J. Nat. Prod.* 1991, 54, 519-524.
23. Navarro, V., Delgado, G. Two Antimicrobial Alkaloids from *Bocconia arborea*. *J. Ethnopharmacol.* 1998,
24. Suffness, M., Cordell, G. A. The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology. Ed. A. Brossi, Accademic Press. 1985, 25, 178-188.
25. Simánek, V. The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology. Ed. A. Brossi, Accademic Press. 1985, 26, 185-240.
26. Slavík, J., Dolejš, L., Hanuš, V., Cross, A.D. Alkaloids of Papaveraceae. *Coll. Czech. Chem. Commun.* 1968, 33, 1619-1623.
27. Sofora, E. A., Odebiyi, O. O. Antimicrobial Alkaloids from Nigerian Chewing Stick (*Fagara zanthoxyloides*), *Planta Med.* 1979, 36, 204-207.
28. Clark, G. W., Clark, D., Park, Y. H., Mitscher, L: A. Antimicrobial Agents from Higher Plants. *Lloydia* 1978, 41, 145-150.
29. Cordell, G.A., Farnsworth, N. R. A Review of Selected Potential Anticancer Plant

- Principles. *Heterocycles* 1976, 4, 393-427.
30. Cheng, C. C., Zee-Cheng, R. K. Y. Preparation and Antileukemic Activity of Some Alkoxybenzo[c]phenanthridinium Salts and Corresponding Dihydro Derivates. *J. Med. Chem.* 1975, 18, 66-71.
 31. Stermitz, F. R., Gillespie, J. P., Amoros, L. G., Romero, R., Stermitz, T. A. Syntesis and Biological Activity of Some Antitumor Benzophenanthridinum Salts. *J. Med. Chem.* 1975, 18, 66-71.
 32. Tin-wa, M., Bell, C.L., Bevelle, C., Fong, H. H. S., Farnsworth, N. R. Potential Anticancer Agents I: Confirming Evidence for the Structure of Fagaronine. *J. Pharm. Sci.* 1974, 63, 1476-1477.
 33. Nakanishi, T., Susuki, M., Mashiba, A., Ishikawa, K., Yokotsuka, T. Syntesis of NK109, an Anticancer Benzo[c]phenanthridine Alkaloid. *J. Org. Chem.* 1998, 63, 4235-4239.
 34. Lenfeld, J., Kroutil, M., Maršálek, E., Slavík, J., Preininger, V., Šimánek, V. Antiinflammatory Activity of Quaternary Benzophenanthridine Alkaloids from *Chelidonium majus*. *Planta Med.* 1981, 43, 161-165.
 35. Seth, M. Inhibition of Reverse Transcriptase Activity by Benzophenanthridine Alkaloids. *J. Nat. Prod.* 1979, 42, 187-197.
 36. Godowsky, K. C. Antimicrobial Activity of Benzophenanthridine Alkaloids from *Bocconia integrifolia*. *J. Clin. Dentistry* 1989, 1, 96-99.
 37. Navarro, V., Villareal, M. L., Rojas, G., Lozoya, X. Antimicrobial Evaluation of Some Plants Used in Mexican Traditional Medicine for the Treatment of Infectious Diseases. *J. Ethnopharmacol.* 1996, 53, 143-147.
 38. Verpoorte, R., Baerheim, A. Chromatograhly of Alkaloids. *J. Chromatography Library.* 1983, 23-A, 760 pp.
 39. Domínguez, X. A. Métodos de Investigación Fitoquímica. Ed. Limusa. México D.F. 1973, 450 pp.
 40. Maldoni, B. Alkaloids: Isolation and Purification. *J. Chem. Educ.* 1991, 68, 700-703.
 41. Navarro, V., Rojas, G., Delgado, G., Lozoya, X. Antimicrobial Compounds Detected in *Bocconia arborea* Extracts by a Direct Bioautographic Method. *Árch. Med. Res.* 1998, 29, 191-194.
 42. Kingsburg, T., Wagner, G. E., Segal, G. P. Microbiología Médica. Ed. Limusa, México D. F., 1989.

43. Murray, P. R., Lawrence, D. W., Kobayashi, G. S., Thompson, J. H. *Microbiología Médica*. Ed. C.V. Mosby Co. Madrid, 1993.
44. Furuya, T., Ikuta, A., Syōno, K. Alkaloids from Callus Tissue of *Papaver somniferum*. *Phytochemistry* 1972, 11, 3041-3044.
45. Hanooka, M., Motonishi, T., Mukai, C. Chemical Transformation of Protoberberines. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I* 1986, 2253-2256.
46. Tin-wa, M., Kim, H. K., Fong, H. H. S., Farnsworth, N. R. The Structure of Chelidimerine, a New Alkaloid from *Chelidonium majus*. *Lloydia* 1972, 35, 87-89.
47. Tin-wa, M., Fong, H. H. S., Abraham, D. J., Trojanek, J., Farnsworth, N. R. Structure of Sanguidimerine, a New Major Alkaloid from *Sanguinaria canadensis*. *J. Pharm. Sci.* 1972, 61, 1846-1847.
48. Tin-wa, M., Farnsworth, N. R., Fong, H. H. S., Trojanek, J. Biological and Phytochemical Evaluation of Plants. *Lloydia* 1970, 33, 267-269.
49. Kang, J., Hilmersson, G., Santamaría, J., Rebek, J. Diels-Alder Reactions through Reversible Encapsulation. *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120, 3650-3656.
50. Eliel, E. L., Wilen, S. H. *Stereochemistry of Organic Compounds*. John Wiley & Sons. New York, 1994, 101-124.
51. Dale, J. A., Mosher, H. Nuclear Magnetic Resonance Enantiomer Reagents. *J. Am. Chem. Soc.* 1973, 95, 512-519.