



00551

PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO
EN CIENCIAS QUIMICAS

297351

"ESTUDIO FITOQUIMICO DE
Mimosa tenuiflora"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
P R E S E N T A
Q. LETICIA LEON GALEANA

TUTOR: DR. ALFREDO ORTEGA HERNANDEZ



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.

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO
EN CIENCIAS QUÍMICAS**

OF.CPCQ.324/01



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

BIÓL. FRANCISCO INCERA UGALDE
Jefe de la Unidad de Administración del Posgrado
Presente

Me es grato informarle que la alumna **LETICIA LEÓN GALEANA**, No. de cuenta 98815757 y expediente 5981125, presentará su examen para optar por el grado de Maestro en Ciencias Químicas (Química Orgánica), quien defenderá el proyecto de investigación titulado: "**Estudio fitoquímico de *Mimosa tenuiflora***", ante el siguiente jurado:

Presidente	Dr. Leovigildo Quijano	Instituto de Química, UNAM
Vocal	Dr. Manuel Jiménez Estrada	Instituto de Química, UNAM
Secretario	Dra. Rachel Mata Essayag	Facultad de Química, UNAM
Primer suplente	Dr. Eduardo Díaz Torres	Instituto de Química, UNAM
Segundo suplente	Dr. Rogelio Pereda Miranda	Facultad de Química, UNAM

Sin otro particular de momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente.
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a 22 de mayo de 2001.

DR. RAYMUNDO CEA OLIVARES
Coordinador del Programa

c.c.p. Integrantes del Jurado
Presidente del SAO
Departamento de Control Escolar
Interesado
Expediente

Dr. Raymundo Cea Olivares
Tel. 55-50-13-37 Fax 55 50 91 96
pcquimicas@dgep.posgrado.unam.mx

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Alfredo Ortega H. por darme la oportunidad de trabajar con él.

A la M. en C. Emma Maldonado por su invaluable ayuda durante el desarrollo del presente trabajo.

A los miembros del jurado por sus aportaciones y comentarios al presente manuscrito.

Al *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología* y al *Sistema Nacional de Investigadores* por el apoyo económico otorgado para la realización de los estudios de maestría.

Al Dr. Hector Barrios y a la M. en C. Carmen Márquez por su ayuda y orientación en el manejo del HPLC.

Al personal técnico del Instituto de Química de la UNAM en especial a: M. en C. Beatriz Quiroz, M. en C. Isabel Chávez, M. en C. Héctor Ríos y Q. Ma. de los Angeles Peña por la determinación de los espectros de RMN, IQ Luis Velásco y M. en C. Javier Pérez por la determinación de los espectros de masas y a la QFB Rocio Patiño por la determinación de los espectros de IR, UV y la determinación de la rotación óptica.

**Esta tesis se realizó en el laboratorio 2-7 del
Instituto de Química de la Universidad
Nacional Autónoma de México, bajo la
dirección del Dr. Alfredo Ortega H.**

INDICE

Indice	I
Abreviaturas	II
Resumen	III
Introducción	IV
1) Antecedentes	
1.1 <i>Mimosa tenuiflora</i>	1
1.2 Generalidades de Flavonoides	7
1.3 Generalidades de 2-Fenoxicromonas	11
1.4 Generalidades de Diterpenoides	15
2) Objetivos	22
3) Resultados y discusión	23
4) Conclusiones	46
5) Parte experimental	
5.1 Material y equipo	49
5.2 Material vegetal	50
5.3 Extracción y purificación	50
5.4 Datos espectroscópicos	52
6) Bibliografía	59
Apéndice I	
Espectroscopía	63

ABREVIATURAS

<i>c</i>	cuarteto
CC	cromatografía en columna
CCF	cromatografía en capa fina
COSY	Espectroscopía de Correlación Homonuclear
δ	desplazamiento químico
<i>d</i>	doblete
<i>dd</i>	doble de doble
<i>ddd</i>	doble de doble de doble
EM	Espectrometría de masas
HMQC	Correlación Cuántica Heteronuclear Múltiple ($^1J_{C-H}$)
HMBC	Correlación de Enlace Heteronuclear Múltiple ($^2J_{C-H}$, $^3J_{C-H}$)
HPLC	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
Hz	Hertz
IR	Espectroscopia de Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
M^+	Ión molecular
<i>m/z</i>	relación masa carga
<i>m</i>	multiplete
NOESY	Espectroscopía del Efecto Nuclear de Overhauser
ν	frecuencia
λ	longitud de onda
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
<i>s</i>	singulete
<i>t</i>	triplete

RESUMEN

La especie vegetal *Mimosa tenuiflora* pertenece a la familia de las leguminosas y se le conoce comunmente como "Tepezcohuite". Su corteza ha sido usada en la medicina folclórica mexicana para el tratamiento de diferentes lesiones de la piel.

En este trabajo se describe el estudio fitoquímico de las partes aéreas de *Mimosa tenuiflora*, las cuales fueron recolectadas cerca del municipio de Ocozocoautla, Estado de Chiapas. Como resultado de este estudio se aislaron e identificaron un total de once metabolitos secundarios, cuatro de ellos corresponden a flavonoides que se encuentran descritos en la literatura.

Además de los flavonoides, se aislaron e identificaron seis compuestos de naturaleza diterpenoide, los cuales fueron denominados ramnomimósidos A-F, y todos ellos constituyen una nueva aportación en el área de productos naturales, en virtud de que no se encuentran descritos en la literatura.

Otro metabolito secundario que se aisló de esta planta fué la 5,7-dihidroxi-2-(3'-hidroxi-4'-metoxifenoxi)-6-metoxicromona. Este compuesto pertenece al grupo de las 2-fenoxicromonas, del que solamente se conocen ocho compuestos.

En el presente trabajo se describen los procesos de aislamiento y se discuten los datos espectroscópicos que permitieron elucidar las estructuras de los siete nuevos metabolitos secundarios.

INTRODUCCION

El uso de las plantas con fines curativos es una práctica que se ha conservado en diversos países del mundo a través de los años. El estudio de las plantas medicinales a lo largo de la historia del hombre, ha revelado que constituyen una rica y variada reserva de nuevas sustancias poseedoras de un amplio espectro de actividad biológica. Lo anterior ha marcado la pauta para el desarrollo de nuevos fármacos.

A pesar de que nuestro país cuenta con una inmensa diversidad de especies vegetales, muchas de las cuales han sido incorporadas a la medicina tradicional mexicana, la mayoría de ellas no han sido evaluadas ni química ni farmacológicamente.

Existen dentro de la medicina tradicional de nuestro país plantas para tratar casi cualquier enfermedad. Así por ejemplo, el cedrón (*Aloysia triphylla*) y el epazote de zorrillo (*Teloxys graveolens*) son usados contra la diarrea, la hierba del aire (*Satureja brownei*) y la hierba de la golondrina (*Euphorbia prostrata*) se emplean en el tratamiento de padecimientos hepáticos, el muicle (*Jacobina spicigera*) se usa como agente antiinflamatorio, el tejocote (*Crataegus mexicana*) se emplea como diurético, la sábila (*Aloe vera*), el ahuehuete (*Taxodium mucronatum*) y el tepezcohuite (*Mimosa tenuiflora*) son usados para tratar diferentes lesiones de la piel. A pesar de las propiedades medicinales que se atribuyen a estas plantas y a que algunas de ellas han sido evaluadas farmacológicamente, su composición química ha sido escasamente estudiada. Tal es el caso de *Mimosa tenuiflora*, por lo que el propósito de este estudio es el de contribuir al conocimiento de sus constituyentes y en consecuencia a los de la flora mexicana.

1) ANTECEDENTES

1.1 *Mimosa tenuiflora*

Mimosa tenuiflora (Willd.) Poir popularmente conocida como “tepezcohuite”, es un árbol espinoso de aproximadamente 8 m de alto, con hojas alternas compuestas de 6 a 9 pares de pinas, flores blancas en espigas de 5 a 8 cm y vainas oblongas.¹ Especie vegetal nativa de México, habita en clima cálido entre los 50 y los 600 m snm, se encuentra ampliamente distribuida en los estados de Chiapas y Oaxaca. Forma parte de la familia de las leguminosas ó fabaceas; por la disposición de sus flores arregladas en espigas y el fruto dividido en artejos, fue ubicada en el género *Mimosa*.^{1,2}

Su corteza ha sido usada en la medicina folclórica mexicana para el tratamiento de diferentes lesiones de la piel. En los últimos años el uso del tepezcohuite para la curación de quemaduras, aplicando la corteza pulverizada directamente sobre el área lesionada, ha sido motivo de controversia.³

Las propiedades medicinales que se atribuyen a esta especie se publicitaron a partir de una serie de eventos catastróficos sucedidos en México en la década de los 80's (la erupción del volcán Chichonal en 1982, la explosión de gas en San Juan Ixhuatepec en 1984, el terremoto de la Ciudad de México en 1985 y el accidente aéreo en Toluca en 1986), ya que algunas de las víctimas recibieron tratamiento a base de la corteza pulverizada.⁴ Con esto se generó un gran interés por esta planta que desembocó en un enorme impacto comercial y social.

A pesar de la repercusión social que ha tenido el uso del tepezcohuite en México, aún no se han publicado los informes médicos sobre la evolución clínica que tuvieron los pacientes en los que hace algunos años se utilizó la corteza de este árbol para el tratamiento de quemaduras de la piel.^{5,6} Sin embargo, el uso de la corteza de esta planta ha adquirido desde entonces popularidad y en años recientes el producto ha sido promovido como un tratamiento para la úlcera estomacal.⁶

Por lo anterior, instituciones de carácter científico y académico, tanto mexicanas como extranjeras, han llevado a cabo diversas investigaciones enfocadas principalmente a los aspectos farmacológicos y citotóxicos de esta especie vegetal; así como al conocimiento de los constituyentes químicos de la planta. Los resultados obtenidos de las evaluaciones de la actividad biológica realizadas a los diferentes extractos de la corteza de *Mimosa tenuiflora* se resumen en el cuadro 1.

CUADRO 1
Actividad biológica de *Mimosa tenuiflora*

Extracto	Actividad
AcOEt ^{5,7}	Antimicrobiana <i>in vitro</i> contra: <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Candida albicans</i> . Citotóxica Inhibe la tasa de crecimiento celular de fibroblastos normales de humano (línea W138) y carcinoma nasofaríngeo humano (línea KB)
n-Butanol ^{5,7}	Aumenta las contracciones de músculo liso en preparaciones de órgano aislado (íleon, útero, fundus gástrico) de rata y de cobayo. Citotóxica inhibe la tasa de crecimiento celular de fibroblastos normales de humano (línea W138) y carcinoma nasofaríngeo humano (línea KB). Hemolítica <i>in vitro</i> en sangre heparinizada
MeOH ⁵	Hemolítica <i>in vitro</i> en sangre heparinizada
Eter de Petróleo ⁷	Mitogénica en células de fibroblastos normales de humano (línea W138) y carcinoma nasofaríngeo humano (línea KB)
EtOH ³	Antimicrobiana <i>in vitro</i> contra: <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Microsporium canis</i> y <i>Microsporium gypsum</i> .

De acuerdo con la información bibliográfica, se sabe que los extractos alcohólicos y acuosos de varias especies de Mimosas poseen actividad antimicrobiana *in vitro*.^{5,8,9} La capacidad que tienen estos extractos de inhibir el crecimiento de microorganismos explica el uso de algunas Mimosas en el tratamiento de infecciones de la piel y de las mucosas.^{5,8,9} Estudios etnobotánicos informan que las hojas de *Mimosa pudica*⁵ se emplean para curar heridas; el jugo de frutos de *Mimosa asperata*⁵ se aplica en los ojos para combatir infecciones; las raíces y hojas de *Mimosa rubicaulis*⁸ son usadas en el tratamiento de quemaduras y las hojas de *Mimosa hamata*⁹ se emplean para curar diversas afecciones de la piel.

1.1.1 Composición Química

En la corteza de *Mimosa tenuiflora* se han detectado compuestos de naturaleza fenólica tales como flavonoides y taninos, los cuáles se cree que son los responsables de la actividad antimicrobiana que se le atribuye a la corteza de la planta.⁵ La presencia de esta clase de compuestos en el extracto de AcOEt se estableció mediante pruebas de coloración.

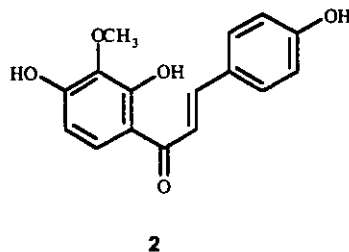
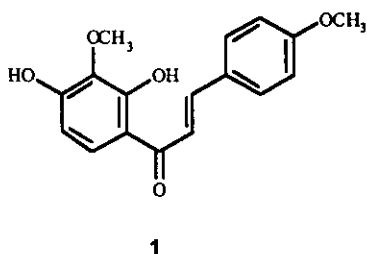
También se ha informado de la presencia de compuestos de naturaleza terpenoide en la planta, entre los que se han detectado ácidos triterpénicos y saponinas. La identificación de estas sustancias se llevo a cabo mediante comparación con sustancias de referencia.⁵

Con respecto a la presencia de alcaloides, de *Mimosa tenuiflora* se obtuvo una fracción constituida por N,N-dimetiltriptamina.^{6,10} Este compuesto derivado del triptofano pertenece a un grupo de alcaloides ampliamente distribuido en las plantas de la familia de las leguminosas, especialmente en los géneros *Acacia* y *Mimosa*.¹¹

En el género *Mimosa* se han identificado algunos de estos compuestos: triptamina y N-metiltriptamina en los tallos de *Mimosa somnians*;¹² N,N-dimetiltriptamina en las raíces

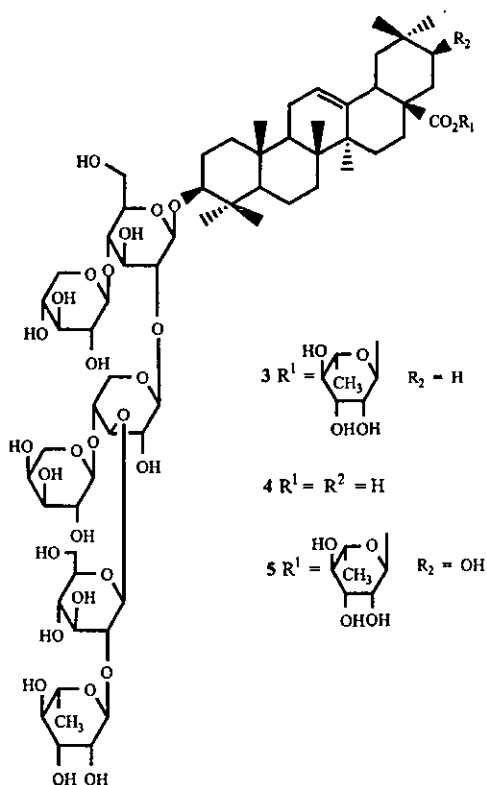
de *Mimosa hostilis* así como en la corteza de *Mimosa verrucosa*.¹¹ Estas dos últimas especies vegetales son usadas por diversas etnias en el este de Brasil en la preparación de una potente bebida alucinógena.¹²

Diferentes estudios químicos realizados sobre *Mimosa tenuiflora* han permitido el aislamiento e identificación de nuevas sustancias. Una investigación fitoquímica realizada a las ramas de esta planta condujo al aislamiento de dos nuevas chalconas a las que se les llamó kukulkanina A (2',4'-dihidroxi-3',4-dimetoxichalcona **1**) y kukulkanina B (2',4',4'-trihidroxi-3'-metoxichalcona **2**). Sin embargo, no se ha determinado si estos productos poseen actividad biológica.⁴

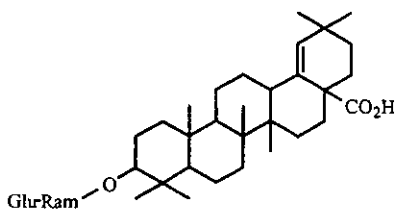


Posteriormente, como resultado de otro estudio químico realizado a la corteza de la planta, se aislaron del extracto metanólico tres nuevas saponinas triterpénicas denominadas mimonósidos A (**3**), B (**4**) y C (**5**);^{13,14} los cuales fueron objeto de pruebas biológicas *in vitro* usando cultivos celulares de fibroblastos de ratón.¹⁵ Los resultados obtenidos de estas pruebas indican que los mimonósidos A y B poseen propiedades citotrópicas. * Además de las saponinas triterpénicas, se aisló lupeol y una mezcla de tres glucósidos esteroidales: 3-O-β-D-glucopiranosido de campesterol, 3-O-β-D-glucopiranosido de estigmasterol y 3-O-β-D-glucopiranosido de β-sitosterol, junto con campesterol, estigmasterol y β-sitosterol.¹⁶

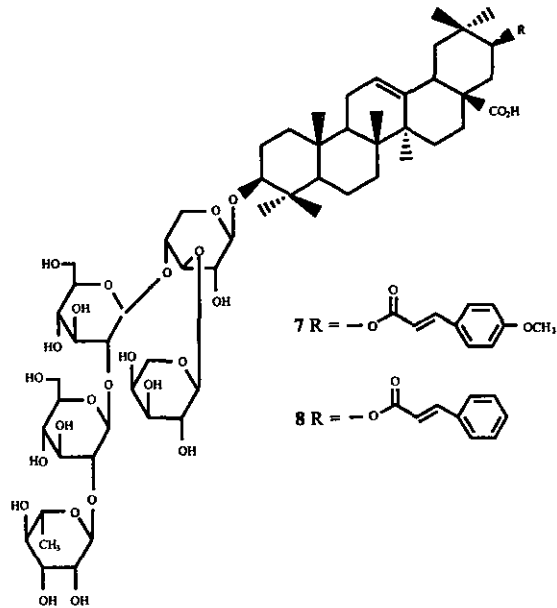
* Citotrópico: atracción específica de ciertas células por determinados virus, bacterias o sustancias químicas



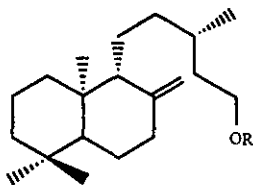
Estudios fitoquímicos realizados a diferentes especies de *Mimosa*, indican que de las raíces de *Mimosa hamata* también se han aislado los mimonósidos A (3), B (4) y C (5); así como una nueva saponina triterpénica denominada saponina A (6).¹⁷



De las partes aéreas de *Mimosa priga* se han aislado e identificado las saponinas triterpénicas 7 y 8.¹⁸

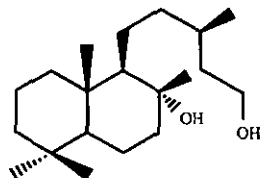


Además de las saponinas triterpénicas, del género *Mimosa* se han aislado compuestos de naturaleza diterpenoide del tipo labdano. Se ha descrito en la literatura que de las raíces de *Mimosa hostilis*, una planta medicinal nativa de Brasil, se aislaron los compuestos ent-labdenol (9), labdandiol (10) y un nuevo ramnósido de ent-labdenol (11).¹⁹



9 R = H

11 R = α -L-ramnopiranososa



10

1.2 Generalidades de Flavonoides

Los flavonoides constituyen uno de los grupos de metabolitos secundarios más extenso y estructuralmente diverso. Su esqueleto está formado por 15 átomos de carbono distribuidos en dos anillos fenilo unidos por una cadena de tres átomos de carbono, es decir son metabolitos de tipo $C_6C_3C_6$. Esta cadena, puede formar anillos de 5 ó 6-miembros a través de un átomo de oxígeno unido a uno de los anillos fenilo, lo que genera un sistema tricíclico. Lo anterior permite la formación de una amplia variedad de estructuras.^{20a} (Fig. 1)

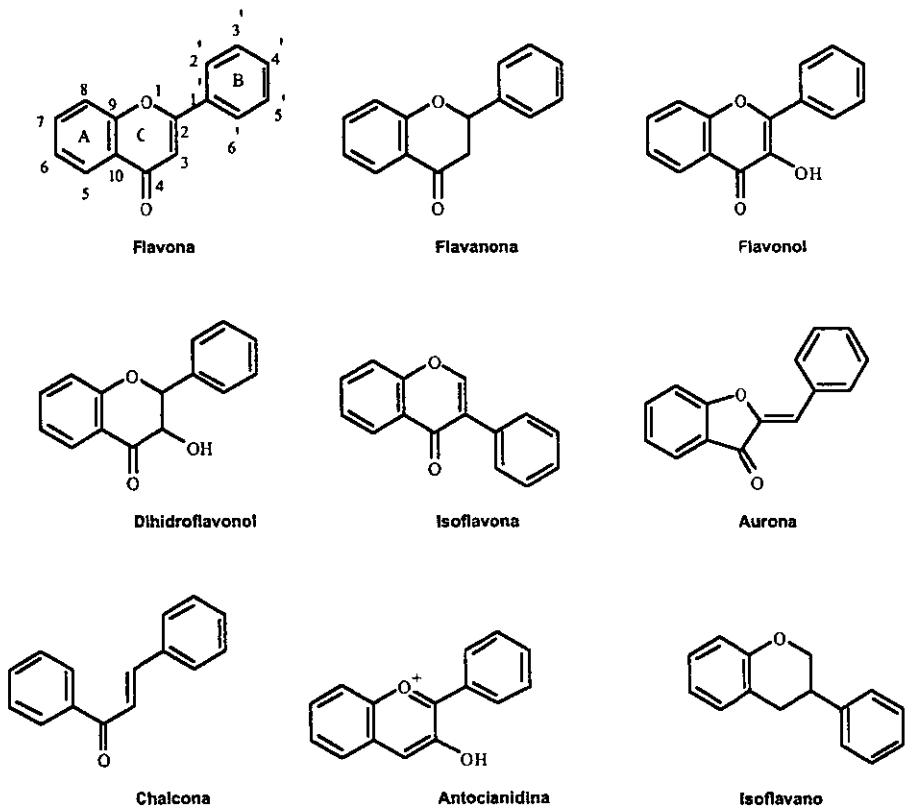
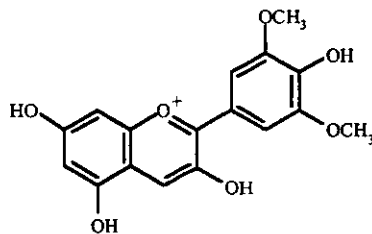


Fig. 1 Algunas estructuras de flavonoides

Los flavonoides se encuentran en la naturaleza en forma libre ó como glicósidos; un gran número de estos compuestos se han aislado como O-glicósidos y C-glicósidos.^{20a,21a} Los sustituyentes más comunes en los flavonoides son grupos oxhidrilo, metoxilo y en algunos casos isoprenilo. El número de combinaciones que generan estos sustituyentes al ocupar diferentes posiciones en la molécula, origina una gran variedad de sustancias muchas de las cuales han sido descritas en la literatura.^{21,22}

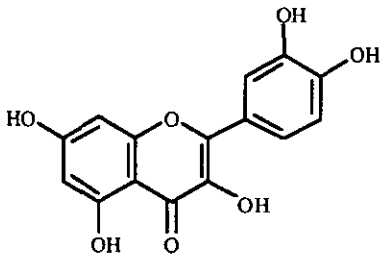
Los flavonoides se encuentran presentes en frutas, verduras, semillas, flores y tallos. Además, son importantes constituyentes de la dieta humana, por ello su uso en la manufactura de productos alimenticios es importante y radica en el hecho de que les confiere ciertas cualidades como color, olor y sabor.^{23a}

En las últimas décadas, se ha dado un incremento en el interés por el conocimiento acerca de la actividad biológica de los flavonoides. Se ha encontrado que estos compuestos poseen un amplio espectro de actividad biológica.^{22,23b} Un ejemplo de ello lo constituye la potente acción bactericida que posee la malvidina (**12**), una antocianidina presente en el vino.²⁴

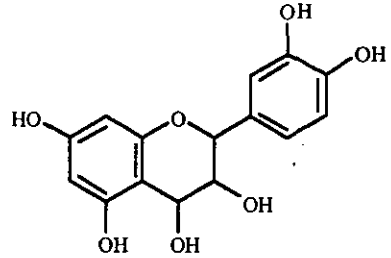


12

La quercetina (**13**) y la leucocianidina (**14**) constituyen otro ejemplo de flavonoides con actividad biológica, pues se ha encontrado que poseen actividad antiviral, la cual se cree que está asociada con su patrón de oxidación.^{23a}



13



14

1.2.1 Biosíntesis de Flavonoides

El anillo B y una parte del anillo C del esqueleto del flavonoide se originan a partir de una unidad estructural de *p*-cumaril-CoA. En tanto que el anillo A del flavonoide deriva de tres unidades de acetato vía la formación de malonil-CoA. Ambos precursores son derivados de carbohidratos. La malonil-CoA se forma a partir de acetil-CoA y CO₂, la reacción es catalizada por la enzima acetil-CoA carboxilasa. En el caso de *p*-cumaril-CoA, esta se origina del aminoácido aromático fenilalanina el cual se biosintetiza a través de la vía del ácido shikímico (Fig. 2)^{23c,25}

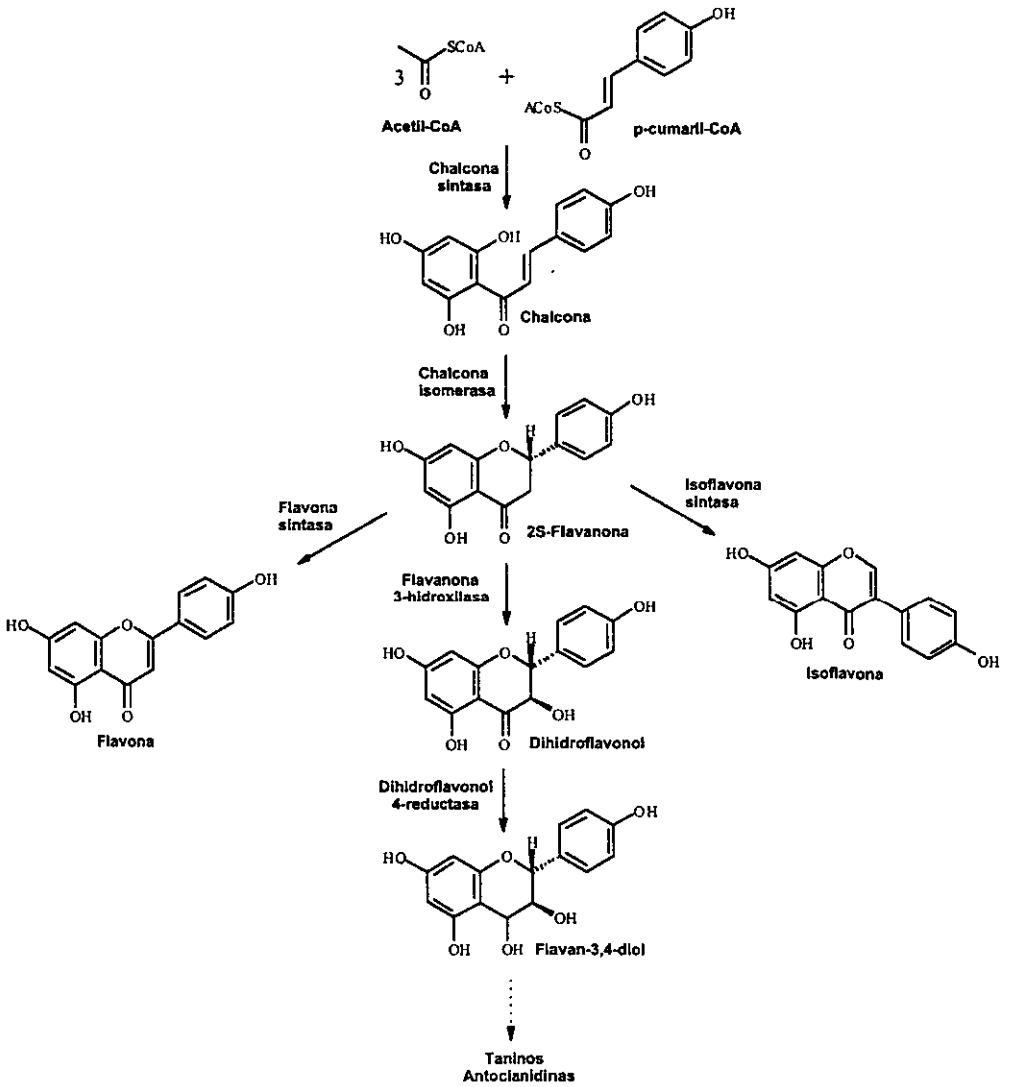


Fig. 2 Biosíntesis de flavonoides

1.3 Generalidades de 2-Fenoxicromonas

Las 2-fenoxicromonas constituyen una clase de compuestos estructuralmente relacionados con los flavonoides.²⁶ Aunque poseen un esqueleto semejante al de las flavonas, las 2-fenoxicromonas contienen en su molécula el sistema de anillos A y C que se une al anillo B a través de un átomo de oxígeno (Fig. 3).^{26,27}

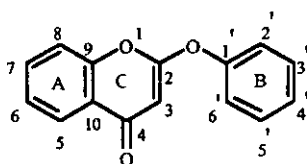
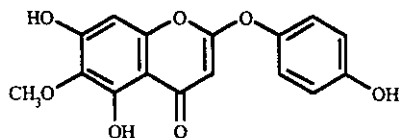
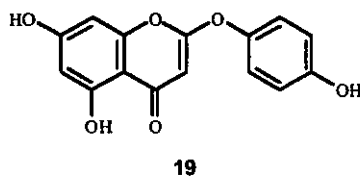
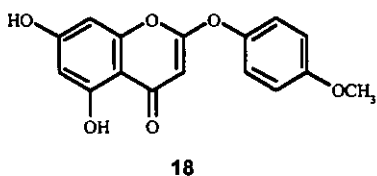
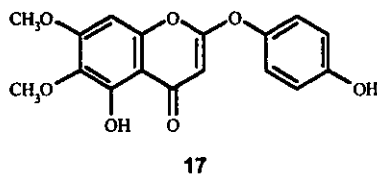
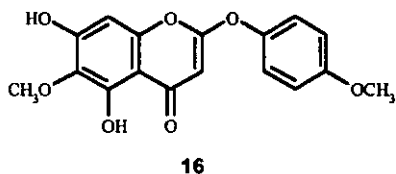


Fig.3 Esqueleto de 2-fenoxicromonas

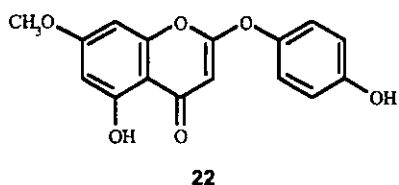
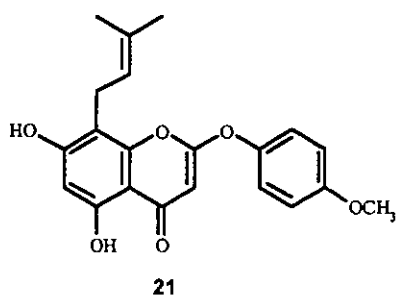
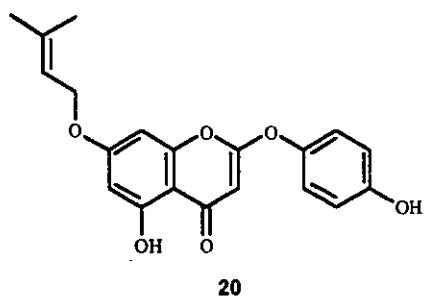
En 1975 se aisló la primera 2-fenoxicromona la cual fué llamada capilarisina (15).^{28, 29} Este compuesto se obtuvo del extracto metanólico de *Artemisia capillaris Herba* (Compositae), una especie vegetal nativa de Japón y conocida como "Inchinko". La evaluación farmacológica de capilarisina reveló que esta sustancia actúa como un agente estimulante del hígado, acción que facilita el flujo de la bilis hacia el intestino delgado.^{30,31}



Del mismo extracto del que se aisló la capilarisina también se aislaron las fenoxicromonas 16-19. Sus estructuras se establecieron a partir del análisis de sus datos espectroscópicos, así como de los de sus productos de degradación química.³²



Originalmente se pensó que las 2-fenoxicromonas constituían una clase de compuestos de distribución limitada a la familia de las Compuestas;^{26, 28} no obstante, en años recientes se informó que los compuestos 16 y 17 fueron aislados de las hojas de *Rosa rugosa*^{26,33} y *Rosa woodsii*.³⁴ Además, como resultado de un estudio químico realizado a las hojas de *Epimedium sagittatum*, una planta perteneciente a la familia de las Berberidáceas, se aislaron las 2-fenoxicromonas 20, 21 y 22, con las que se eleva a ocho el número de este tipo de compuestos.²⁷



1.3.1 Biogénesis de 2-fenoxicromonas

En relación a la biogénesis de 2-fenoxicromonas, se realizó un estudio acerca del metabolismo enzimático de la 4,4',6'-trihidroxichalcona en semillas de *Amorpha fruticosa*^{35,36} (Fig. 4). En este trabajo se observaron dos sistemas enzimáticos, el primero corresponde al de una flavanona-chalcona isomerasa que da lugar a la correspondiente 2S-flavanona. El segundo es una peroxidasa capaz de oxidar la chalcona a un compuesto identificado como calaurenol (Fig. 5).

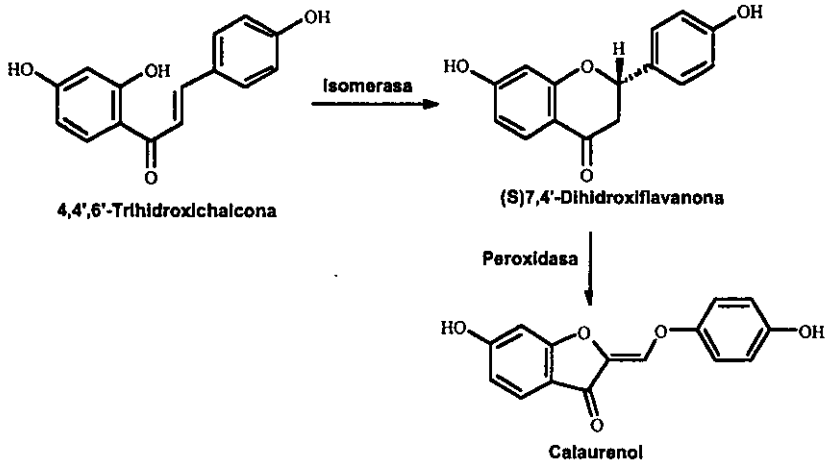


Fig. 4 Metabolismo enzimático de *Amorpha fruticosa*

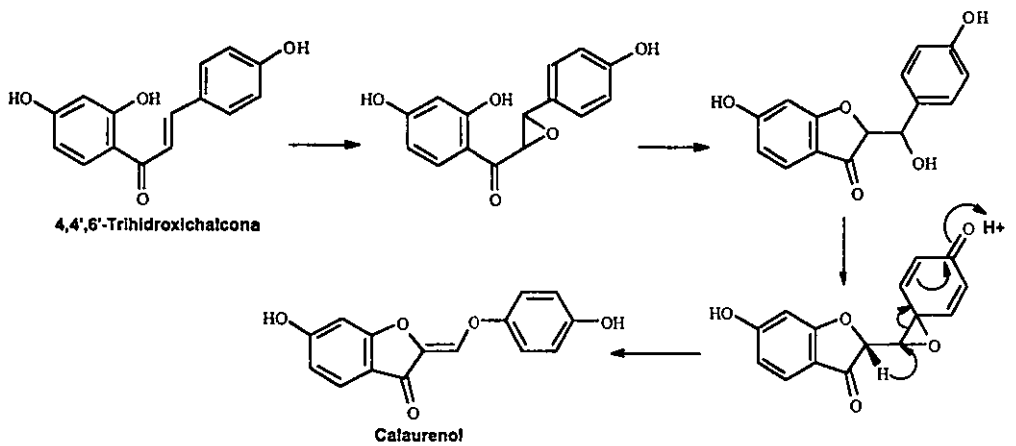


Fig. 5 Hipótesis del mecanismo de la formación de Calairenol

El resultado anterior ha permitido proponer una hipótesis para el mecanismo biogénico de la capilarisina y compuestos análogos. En éste se propone como posible precursor de las 2-fenoxicromonas al hidroperóxido de la flavanona correspondiente (Fig. 6). Sin embargo, aún no se cuenta con elementos suficientes que permitan establecer este mecanismo y se ha sugerido que la formación de la capilarisina debe seguir una vía similar a la propuesta para la formación de calaureno^{1, 35, 36, 37}

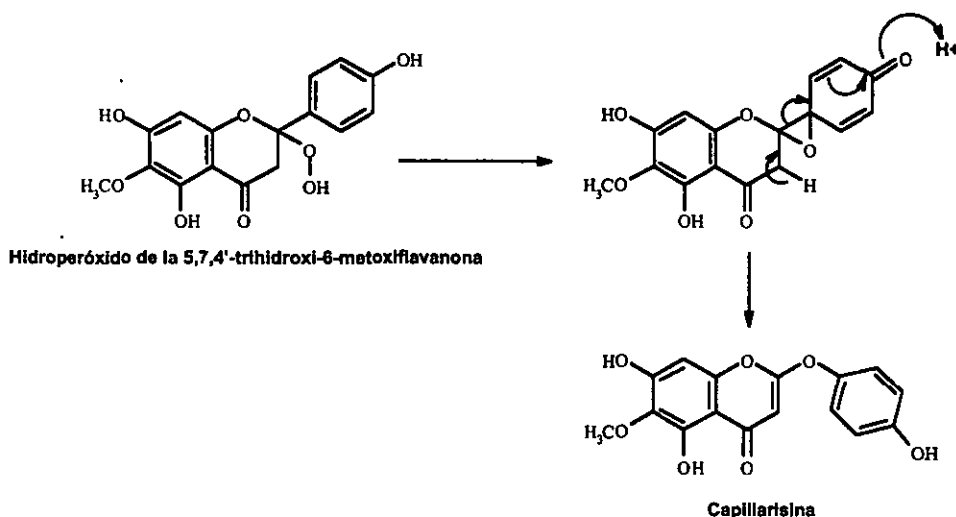


Fig. 6 Hipótesis del mecanismo biogénico de Capilarisina

1.4 Generalidades de Diterpenoides

El término terpenoide abarca un extenso número de productos naturales, todos ellos derivados biogénicamente del isopreno (C_5H_8). La clasificación sistemática de los terpenoides se basa en el número de unidades de isopreno que los constituyen. En esta clasificación se denomina hemiterpenoides a los compuestos cuyo esqueleto está constituido por una unidad de isopreno (C_5), los monoterpenoides por dos unidades (C_{10}), los sesquiterpenoides por tres unidades (C_{15}), los diterpenoides por cuatro unidades (C_{20}),

los sesteterpenoides por cinco unidades (C_{25}), los triterpenoides por seis unidades (C_{30}) y los tetraterpenoides por ocho unidades (C_{40}) y cada uno de ellos forma un grupo particular.^{21b, 38, 39}

Los compuestos que forman el grupo de los diterpenoides poseen estructuras muy diversas, las cuales son de gran interés tanto por su comportamiento químico como por las propiedades biológicas que poseen. Entre los esqueletos carbonados más comunes que forman parte de esta clase de compuestos están los siguientes (Fig. 7)³⁹

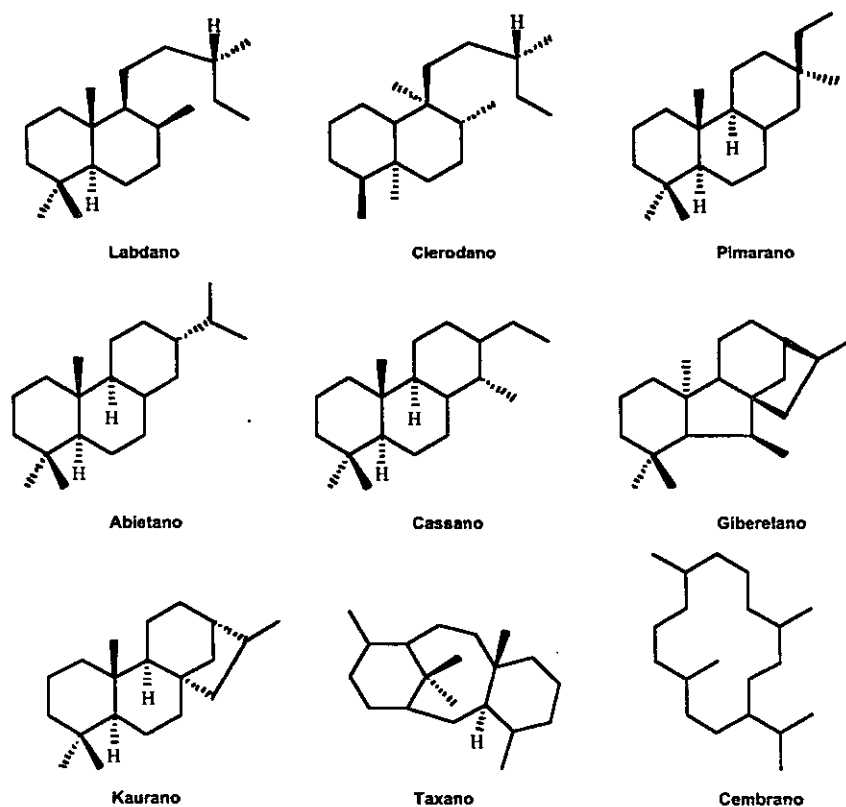
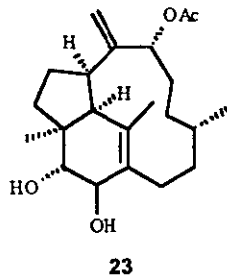
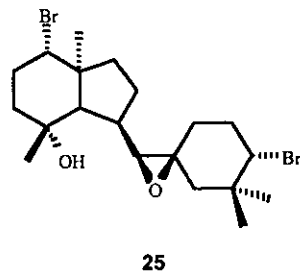
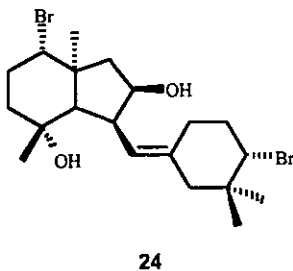


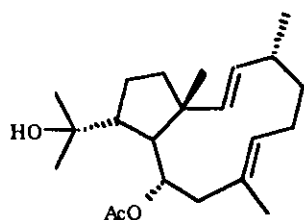
Fig.7 Principales esqueletos de diterpenos

Los diterpenoides se encuentran ampliamente distribuidos en plantas y animales. En el reino vegetal están presentes en varias familias de plantas superiores y los encontramos en las semillas, flores, hojas, raíces y corteza.^{21b,38,39} Con menor frecuencia también encontramos estos compuestos en el reino animal, ejemplo de ello es el 9-O-acetiltrinervi-2 β ,3 α ,9 α -triol (**23**) aislado de algunas especies de termitas como *Trinervitermes graciosus* y *Trinervitermes bettonianus*.^{40,41}

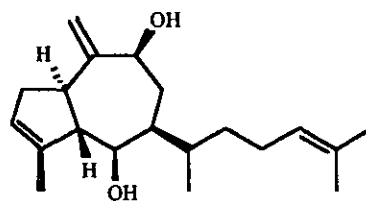


Además, en los océanos existe una extensa variedad de plantas y animales de los que en los últimos años se han aislado compuestos diterpenoides.³⁹ Por ejemplo iriediol (**24**) e irieol A (**25**) que son los constituyentes del alga marina *Laurencia iriei*.⁴² Mientras que dictiol B (**26**) y 10-acetoxi-18-hidroxi-2,7-dolabelladieno (**27**) son ejemplos de compuestos diterpenoides presentes en la fauna marina, encontrados en las especies *Aplysia depilans* y *Dolabella californica*.⁴²





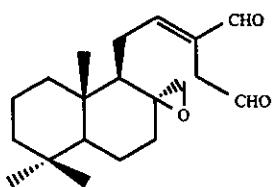
26



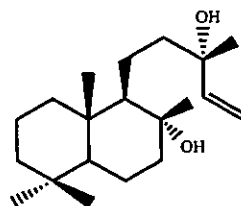
27

1.4.1 Actividad Biológica de Labdanos

Diferentes estudios farmacológicos realizados con labdanos han revelado que muchos de ellos poseen actividad biológica, principalmente antibacteriana⁴³ y antifúngica.^{44,45} En menor proporción se han encontrado labdanos que actúan como agentes citotóxicos.^{43,46} Ejemplo de ello son el 8 β -17-epoxi-12E-labdan-15,16-dial (28)⁴⁴ que fué aislado de *Aframomun danielli* (Zingiberaceae) una especie vegetal nativa de Camerún y el esclareol (29),⁴⁵ el cual se usa en la manufactura de perfumes. Ambos compuestos exhiben potentes propiedades antifúngicas.

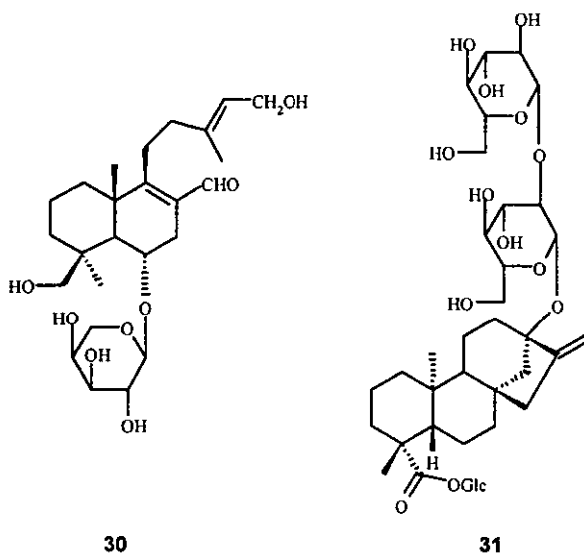


28



29

También se han descrito labdanos glicosidados con propiedades edulcorantes como el gaudichaudiósido A (**30**) que fué aislado de las partes aéreas de *Baccharis gaudichaudiana* popularmente denominada “chilca melosa”, una planta perteneciente a la familia de las Compuestas que ha sido usada tradicionalmente en Paraguay como agente antidiabético⁴⁷. El compuesto **30** no es el único diterpenoide con propiedades edulcorantes, existe también el esteviósido (**31**) un diterpenoide del tipo kaurano, que se aisló de las partes aéreas de *Stevia rebaudiana* y es ampliamente usado como sustituto del azúcar común.⁴⁶



1.4.2 Biogénesis de labdanos

De acuerdo con la información bibliográfica, se sabe que el isómero *3R* del ácido mevalónico es el precursor de todos los terpenoides.^{38,39,48} Además, los precursores para cada una de las diferentes clases de terpenoides son: los pirofosfatos de isopentenilo y 3,3-dimetilalilo para los hemiterpenoides (Fig. 8); el pirofosfato de geranilo genera los

monoterpenoides; el pirofosfato de 2*E*,6*E*-farnesilo los sesquiterpenoides y el pirofosfato de 2*E*,6*E*,10*E*-geranilgeranilo los diterpenoides.^{38,39,48}

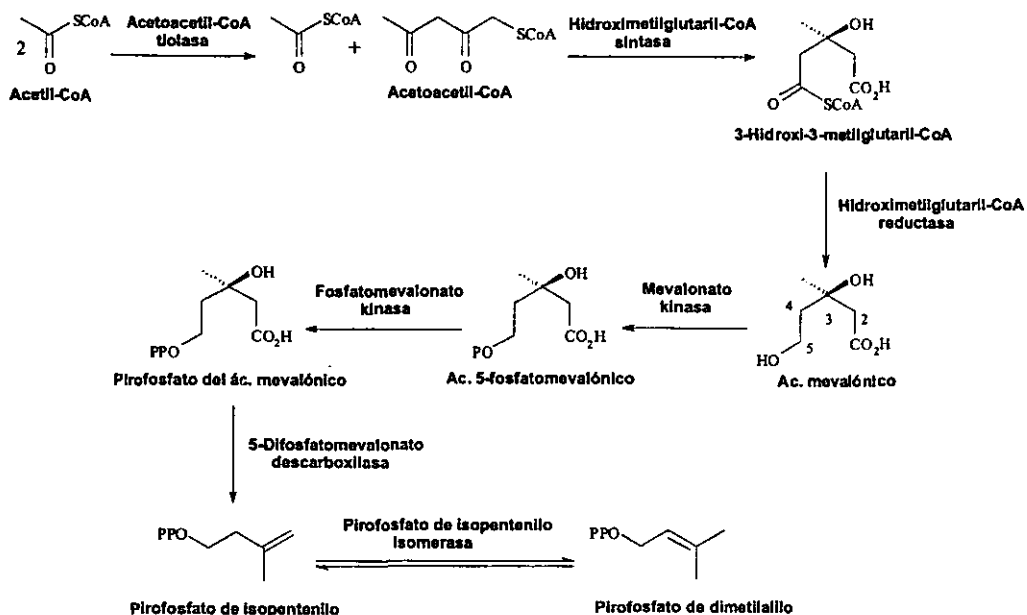


Fig.8 Biosíntesis de los Pirofosfatos de isopentenilo y dimetilalilo

Sin embargo, estudios posteriores han demostrado que componentes de monoterpenoides no son siempre biosintetizados vía el ácido mevalónico, pero pueden ser formados por otra ruta que comprende la condensación cabeza-cabeza de gliceraldehído 3-fosfato y acetaldehído generado a partir de piruvato.⁴⁹

Las herramientas para llegar a la elucidación de estas vías metabólicas son los precursores marcados isotópicamente. Su uso ha proporcionado información valiosa sobre la biosíntesis de terpenoides en plantas superiores.⁵⁰ Además, la localización de los átomos

marcados en experimentos *in vivo* empleando métodos degradativos ó métodos espectroscópicos ha dado lugar a propuestas que permiten explicar los posibles mecanismos de reacción para la formación de estos compuestos.

Se han descrito en la literatura una gran variedad de compuestos diterpénicos del tipo labdano con estereoquímica absoluta *normal*, sin embargo, los compuestos de la serie entantiomérica, *ent*-labdanos, son también conocidos y han sido frecuentemente aislados de diferentes especies vegetales.^{19,31} Por lo anterior, se ha propuesto que los labdanos con estereoquímica absoluta *normal* se originan a partir de la ciclización del pirofosfato de 2*E*,6*E*,10*E*-geranilgeranilo³² (Fig. 9), una conformación silla-silla de este compuesto genera la formación del carbocatión del pirofosfato de copalilo (I). En el caso de los labdanos de la serie *ent*, estos se forman a partir de una conformación silla-silla antipodal del pirofosfato de 2*E*,6*E*,10*E*-geranilgeranilo, lo que da lugar a la formación del carbocatión del pirofosfato de copalilo (II).³²

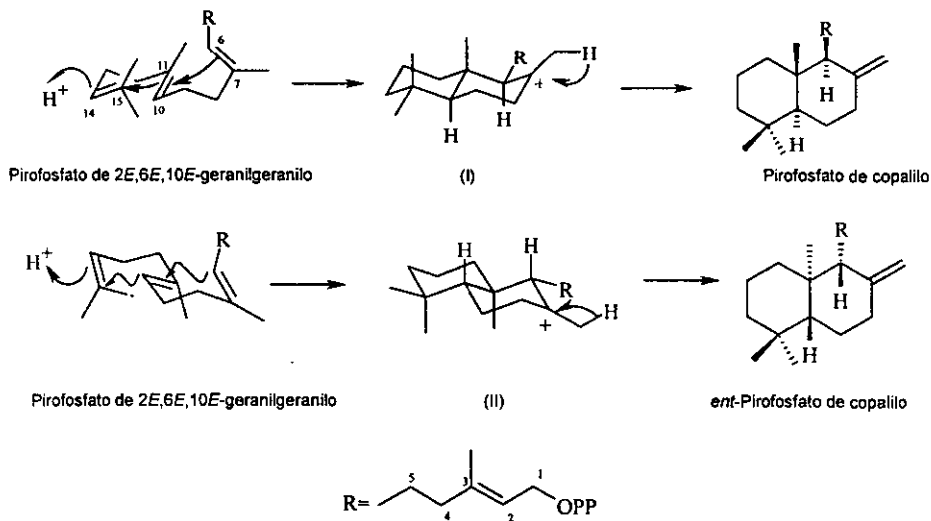


Fig. 9 Ciclización de 2*E*,6*E*,10*E*-geranilgeranilo

2) OBJETIVOS

General:

Realizar el estudio fitoquímico de las partes aéreas de *Mimosa tenuiflora* con el propósito de aislar e identificar los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en la planta.

Particular:

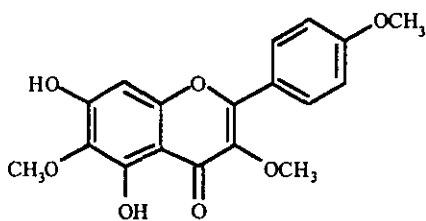
Aislar los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en los diferentes extractos hexánico, acetónico y metanólico de *Mimosa tenuiflora*, aplicando técnicas convencionales de separación y purificación.

Realizar la elucidación estructural de los metabolitos secundarios aislados.

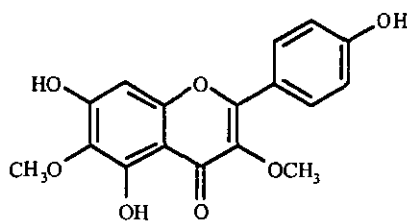
3) RESULTADOS Y DISCUSION

Como resultado del estudio químico realizado al extracto acetónico de las partes aéreas de *Mimosa tenuiflora* se aislaron e identificaron los flavonoides: 5,7-dihidroxi-3,6,4'-trimetoxiflavona (santina **32**),^{20b,53,55} 5,7,4'-trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona (**33**),^{20b,53,54} 5,7-dihidroxi-6,4'-dimetoxiflavona (pectolarigenina **34**)^{20b,56} y 5,7,4'-trihidroxi-6-metoxiflavanona (**35**),^{20b} todos ellos ya descritos en la literatura.

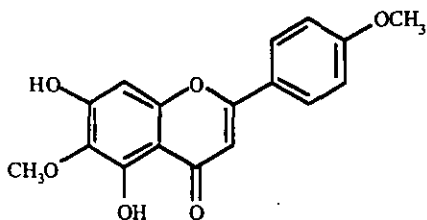
Las estructuras de los compuestos **32-35** se determinaron a partir de sus espectros de IR, UV, EM, RMN ¹H y ¹³C (ver parte experimental). Los datos físicos y espectroscópicos de cada uno estos compuestos son consistentes con los descritos en la literatura.



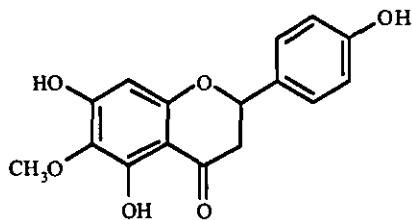
32



33



34



35

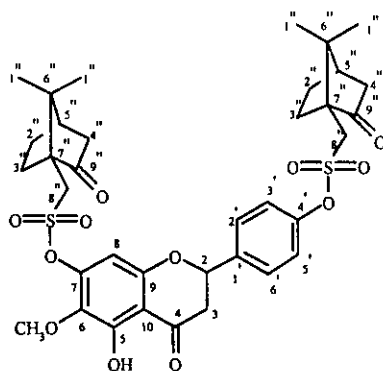
El compuesto **35** se aisló por primera vez de las raíces de *Scutellaria baicalensis*⁵⁷ en 1980, sin que se estableciera la configuración absoluta del centro estereogénico C-2; la cual hasta ahora no ha sido descrita. Sin embargo, existe una regla empírica que asocia el valor de la rotación óptica que poseen las flavanonas con su estereoquímica absoluta. De esta manera, las flavanonas levóginas presentan una configuración *S* sobre el centro estereogénico C-2, mientras que flavanonas dextróginas poseen una configuración *R* sobre dicho centro.^{58,59}

La 5,7,4'-trihidroxi-6-metoxiflavanona (**35**) se aisló como un sólido amorfo con p.f. 220-223 °C y $[\alpha]_D^{20} = +9.18$, el valor de la rotación óptica del compuesto **35** nos permite sugerir que el centro estereogénico de la flavanona posee una estereoquímica absoluta *R*. Con la finalidad de corroborar lo anterior, se decidió preparar un derivado del compuesto **35** y establecer inequívocamente la configuración del carbono C-2 mediante difracción de rayos X. Para ello se optó por tratar al compuesto **35** con el cloruro de (1*S*)-(+)-alcanfor sulfonilo. Aunque el derivado **35a** no sirvió para nuestros fines ya que resultó un aceite; sus datos espectroscópicos tanto de RMN ¹H como de ¹³C (tablas 1 y 2) permitieron corroborar la posición de los sustituyentes en el anillo A del compuesto **35**. De acuerdo con la literatura, la esterificación de grupos oxhidrilo fenólicos causa cambios significativos en los desplazamientos químicos de las señales de los carbonos del núcleo aromático, observándose un efecto de desprotección en los carbonos de las posiciones *orto* y *para* que provoca su desplazamiento químico a campo bajo. En el caso del carbono *ipso*, el efecto

que se observa es el de protección por lo que es desplazado a campo alto. En tanto que los carbonos de la posición *meta* sólo son ligeramente afectados y pueden desplazarse ya sea a campo alto ó bajo.^{20c}

En el espectro de RMN ¹³C (Espectro No. 2) del derivado **35a** se observan las señales asignadas a C-3', C-5', C-1', C-6, C-8 y C-10 desplazadas a campo bajo. Así mismo, se observa el desplazamiento a campo alto de los carbonos *ipso* C-4' y C-7.

En el espectro de RMN ¹H (Espectro No. 1) de **35a** las señales de H-8, H-3' y H-5' aparecen desplazadas a campo bajo, mientras que las correspondientes a H-2' y H-6' sólo muestran un pequeño desplazamiento a campo bajo. En este mismo espectro se observa la señal del oxhidrilo fenólico de la posición C-5, lo que indica que esta posición no fue esterificada. Tanto los desplazamientos químicos de RMN ¹H como de ¹³C asignados a la porción del alcanfor sulfonato fueron congruentes con los descritos en la literatura.⁶⁰



35a

TABLA 1

Datos espectroscópicos de RMN ¹H de los compuestos 35 y 35a

H	35 ^a (δ, m, J)	35a ^a (δ, m, J)
2	5.22 <i>dd</i> 12.9 3.0	5.47 <i>dd</i> 12.9 3.1
3a	2.99 <i>dd</i> 12.9 17.1	3.09 <i>dd</i> 12.9 17.1
3b	2.63 <i>dd</i> 2.1 17.1	2.91 <i>dd</i> 17.1 3.1
8	5.93 <i>s</i>	6.58 <i>s</i>
2'	7.18 <i>d</i> 8.0	7.50 <i>d</i> 8.5
3'	6.76 <i>d</i> 8.0	7.38 <i>d</i> 8.5
5'	6.76 <i>d</i> 8.0	7.38 <i>d</i> 8.5
6'	7.18 <i>d</i> 8.0	7.50 <i>d</i> 8.5
5-OH	12.06 <i>s</i>	11.99 <i>s</i>
6-OCH ₃	3.71 <i>s</i>	3.94 <i>s</i>
1''	-	0.92 <i>s</i> , 1.16 <i>d</i> 6.6
2''	-	2.52 <i>ma</i> 1.75 <i>m</i>
3''	-	1.46 <i>ma</i> 2.07 <i>ma</i>
4''	-	1.97 <i>dd</i> 18.4 3.8 2.42 <i>dc</i> 18.4 3.8
5''	-	2.14 <i>c</i> 3.8
8a''	-	3.37 <i>d</i> 15 3.92 <i>d</i> 15
8b''	-	3.22 <i>d</i> 15 3.83 <i>d</i> 15

^a 300 MHz, CDCl₃, TMS como referencia interna

TABLA 2

Datos espectroscópicos de RMN ¹³C de los compuestos 35 y 35a

C	35 ^a (δ, m,)	35a ^a (δ, m)
2	78.4 <i>d</i>	78.5 <i>d</i>
3	42.3 <i>t</i>	43.6 <i>t</i>
4	195.9 <i>s</i>	197.3 <i>s</i>
5	154.8 <i>s</i>	156.1 <i>s</i>
6	128.7 <i>s</i>	134.7 <i>s</i>
7	159.1 <i>s</i>	149.1 <i>s</i>
8	94.8 <i>d</i>	102.8 <i>d</i>
9	157.4 <i>s</i>	156.5 <i>s</i>
10	101.7 <i>s</i>	107.4 <i>s</i>
1'	128.4 <i>s</i>	136.8 <i>s</i>
2'	127.2 <i>d</i>	127.7 <i>d</i>
3'	115.0 <i>d</i>	122.6 <i>d</i>
4'	157.8 <i>s</i>	149.4 <i>s</i>
5'	115.0 <i>d</i>	122.6 <i>d</i>
6'	127.2 <i>d</i>	127.7 <i>d</i>
6-OCH ₃	59.8 <i>c</i>	61.3 <i>c</i>
1''	-	19.7 <i>c</i> 19.8 <i>c</i>
2''	-	25.1 <i>t</i> , 25.2 <i>t</i>
3''	-	26.8 <i>t</i>
4''	-	42.4 <i>t</i>
5''	-	42.9 <i>d</i>
6''	-	47.9 <i>s</i>
7''	-	58.1 <i>s</i>
8''	-	47.9 <i>t</i> , 49.3 <i>t</i>
9''	-	213.6 <i>s</i> , 213.8 <i>s</i>

^a 75 MHz, CDCl₃, TMS como referencia interna

Además de los flavonoides ya descritos, de la fracción de acetato de etilo se aisló un sólido amorfo que se identificó como 5,7-dihidroxi-2-(3'-hidroxi-4'-metoxifenoxi)-6-metoxicromona (**36**). Este compuesto no se encuentra descrito en la literatura y se incorpora al grupo de 2-fenoxicromonas.^{28,29,61}

En el espectro de masas (IE) del compuesto **36** aparece el ión molecular de m/z 346 el cual es congruente con la fórmula molecular $C_{17}H_{14}O_8$. Su espectro en el IR presenta una banda en 3506 cm^{-1} debida a la presencia de grupos oxhidrilo, en 1660 y 1621 cm^{-1} aparecen las absorciones características de una γ -pirona; así como las bandas en 1575 y 1464 cm^{-1} asignadas a los anillos aromáticos.

Las señales de RMN ^1H y ^{13}C (tablas 3 y 4) se asignaron por medio de sus espectros COSY, DEPT, HMBC, HMQC y NOESY según lo siguiente.

Las señales del espectro de RMN ^{13}C (Espectro No. 4) del compuesto **36** establecen la presencia de 17 átomos de carbono que corresponden a 2 metilos, 5 metinos y 10 carbonos no protonados. El grado de protonación de cada uno de ellos se determinó con base en los experimentos DEPT.

Aunque a primera vista, los datos espectroscópicos del compuesto **36** parecían congruentes con la estructura de una flavona, tres de las señales de RMN no eran explicables con dicha estructura.

Fueron precisamente estas señales las que permitieron establecer que se trataba de una 2-fenoxicromona y se describen a continuación:

1) La señal simple en δ 5.27 observada en el espectro de RMN ^1H (Espectro No. 3) que se asignó a H-3 y se ha observado que en este tipo de compuestos, aparece entre δ 5.00-5.40^{27,62} en tanto que en las flavonas la señal de este protón se desplaza a campo bajo y aparece entre δ 6.20-6.70.³³

ii) La señal simple en δ 168.1 en el espectro de RMN ^{13}C que se asignó al carbono del cetal vinílico C-2 y también es indicativa de una 2-fenoxicromona.³¹

iii) La señal simple en δ 145.4 en el espectro de RMN ^{13}C , en este caso asignada a C-1' también difiere en su desplazamiento del observado en los flavonoides donde aparece en el intervalo de δ 130.5-131.8.^{31,206}

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **36** destacan las señales que confirman la existencia de dos grupos metilo en la molécula, ambas señales aparecen como señales simples y cada una integra para tres hidrógenos, sus desplazamientos químicos en δ 3.93 y δ 4.01 indican que se trata de metilos de metoxilos. Además, la determinación del espectro de RMN ^1H después de la adición de D_2O , permitió conocer la existencia de tres grupos oxhidrilo fenólicos.

La sustitución del anillo B se dedujo de las señales observadas en el espectro de RMN ^1H correspondientes a tres protones aromáticos que constituyen un sistema ABC. Las constantes de acoplamiento indican que se trata de un fenilo 1,3,4-trisustituido, donde H-5' (δ 6.87, *d*, $J=8.7$ Hz) guarda una relación *orto* con H-6' (δ 6.67, *dd*, $J=8.7$ y 2.7 Hz) y éste a su vez guarda una relación *meta* con H-2' (δ 6.77, *d*, $J=2.7$ Hz). Las correlaciones C-H que se observan en el espectro HMBC (Espectro No. 5, Fig. 11) del compuesto **36** entre el protón de uno de los grupos oxhidrilo fenólico (δ 5.84, *s*) y los carbonos de las posiciones C-2', C-3' y C-4' permitieron establecer que este grupo oxhidrilo se encuentra en la posición C-3' del anillo B. La presencia en C-4' de un grupo metoxilo se estableció a partir de las interacciones entre H-5' y el metoxilo en δ 3.93 (*s*) que se observan en el espectro NOESY (Espectro No. 6, Fig.10) del compuesto **36**.

La sustitución del anillo A se estableció de la siguiente manera: En el espectro de RMN ^1H aparece una señal en δ 13.00 (*s*), que indica que la posición C-5 se encuentra sustituida con un grupo oxhidrilo, en virtud de que en esta posición el protón del

oxhidrilo fenólico se encuentra quelatado con el carbonilo de la γ -pirona lo que provoca su desplazamiento químico a campo bajo. En este mismo espectro se observa una señal simple en δ 6.48 que se asignó a H-8 a partir de las correlaciones C-H entre H-8/C-7, C-9, C-6 y C-10 que se observan en el espectro HMBC de este compuesto. Las posiciones de los grupos oxhidrilo y metoxilo restantes se establecieron a partir de las correlaciones C-H que se observan en el espectro HMBC entre el protón del oxhidrilo fenólico en δ 6.47 (s) con los carbonos C-8, C-7 y C-6. De esta manera se logró establecer la estructura del compuesto **36** como se representa a continuación.

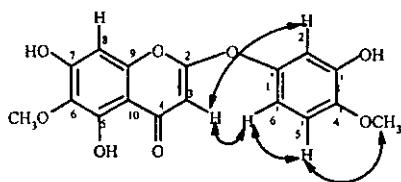
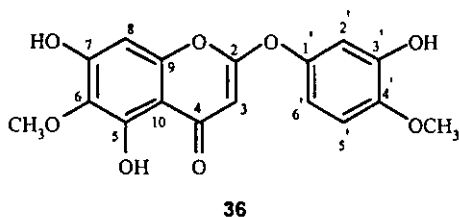


Fig. 10 Efecto Nuclear de Overhauser para los protones del compuesto **36** observados en el espectro NOESY.

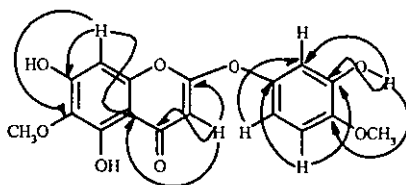


Fig. 11 Principales interacciones C-H observadas en el espectro HMBC del compuesto **36**

TABLA 3

Datos espectroscópicos de RMN ¹H de los compuestos 36 y 36a

H	36 ^a (δ, m, J)	36a ^b (δ, m, J)
3	5.27 <i>s</i>	5.41 <i>s</i>
8	6.48 <i>s</i>	6.95 <i>s</i>
2'	6.77 <i>d</i> 3.0	7.27 <i>d</i> 3.0
5'	6.87 <i>d</i> 9.0	7.06 <i>d</i> 9.2
6'	6.67 <i>dd</i> 9.0, 3.0	7.12 <i>dd</i> 9.2, 3.0
3'-OH	5.84 <i>s</i>	-
5-OH	13.00 <i>s</i>	13.02 <i>s</i>
7-OH	6.47 <i>s</i>	-
6-OCH ₃	4.01 <i>s</i>	4.00 <i>s</i>
4'-OCH ₃	3.93 <i>s</i>	3.95 <i>s</i>
1''	-	0.92 <i>s</i>
2''	-	1.16 <i>d</i> 6.6 1.74 <i>m</i>
3''	-	2.51 <i>da</i> 14.4 1.46 <i>ma</i> ; 2.06 <i>dc</i> 12.0 3.9
4''	-	1.97 <i>d</i> 18.6
5''	-	2.39 <i>m</i>
8''	-	3.33 <i>d</i> 15 3.96 <i>d</i> 15

^a 500 MHz, CDCl₃, TMS como referencia interna

^b 300 MHz, CDCl₃, TMS como referencia interna;

TABLA 4

Datos espectroscópicos de RMN ¹³C de los compuestos 36 y 36a

C	36 ^a (δ, m)	36a ^b (δ, m)
2	168.1 <i>s</i>	167.7 <i>s</i>
3	87.7 <i>d</i>	88.7 <i>d</i>
4	184.5 <i>s</i>	184.3 <i>s</i>
5	152.3 <i>s</i>	154.4 <i>s</i>
6	130.7 <i>s</i>	136.9 <i>s</i>
7	154.5 <i>s</i>	146.4 <i>s</i>
8	93.3 <i>d</i>	102.2 <i>d</i>
9	150.5 <i>s</i>	148.5 <i>s</i>
10	103.9 <i>s</i>	108.7 <i>s</i>
1'	*145.4 <i>s</i>	143.7 <i>s</i>
2'	107.8 <i>d</i>	117.8 <i>d</i>
3'	146.9 <i>s</i>	138.7 <i>s</i>
4'	*145.2 <i>s</i>	150.8 <i>s</i>
5'	111.1 <i>d</i>	113.5 <i>d</i>
6'	111.8 <i>d</i>	120.0 <i>d</i>
4'-OCH ₃	56.3 <i>c</i>	56.4 <i>c</i>
6-OCH ₃	60.8 <i>c</i>	61.2 <i>c</i>
1''	-	19.7 <i>c</i> , 19.8 <i>c</i>
2''	-	25.1 <i>t</i> , 25.2 <i>t</i>
3''	-	26.9 <i>t</i>
4''	-	42.4 <i>t</i>
5''	-	42.9 <i>d</i>
6''	-	47.8 <i>s</i> , 47.9 <i>s</i>
7''	-	58.1 <i>s</i> , 58.2 <i>s</i>
8''	-	49.0 <i>t</i> , 49.3 <i>t</i>
9''	-	213.5 <i>s</i> , 213.9 <i>s</i>

^a 125 MHz, CDCl₃, TMS como referencia interna

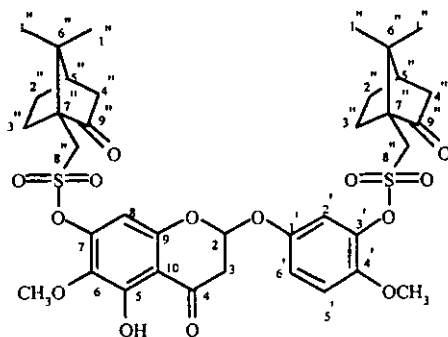
^b 75 MHz, CDCl₃, TMS como referencia interna

* Señales intercambiadas

Para corroborar la estructura del compuesto **36** y con el propósito de obtener cristales para su análisis por difracción de rayos X, se obtuvo el derivado **36a** mediante la reacción del compuesto **36** con cloruro de (1*S*)-(+)-alcanfor sulfonilo. Sin embargo el producto **36a** resultó un aceite. Su espectro de RMN ¹H (Espectro No. 7) muestra las señales debidas a los protones aromáticos H-2' (δ 7.27, *d*, J=3.0 Hz), H-5' (δ 7.06, *d*, J=9.2 Hz) y H-6' (δ 7.12, *dd*, J=9.2 y 3.0 Hz) del anillo B de la 2-fenoxicromona. En este mismo espectro, se observa la señal asignada al protón del oxhidrilo fenólico de la posición C-5 del anillo A (δ 13.02, *s*), lo anterior permite establecer que este grupo no fue esterificado debido a que el protón se encuentra quelatado con el carbonilo de la γ -pirona.

En el espectro de RMN ¹³C (Espectro No. 8) del compuesto **36a** se aprecian las señales asignadas a los carbonos C-2' (δ 117.8, *d*), C-4' (δ 150.8, *s*), C-6' (δ 120.2, *d*), C-6 (δ 136.9, *s*), C-8 (δ 102.2, *d*) y C-10 (δ 108.7, *s*), sus desplazamientos químicos a campo más bajo con respecto a los observados para **36** se deben al efecto de desprotección que ejerce el sulfonilo sobre los carbonos de las posiciones *orto* y *para*. En el caso de los carbonos C-3' (δ 138.7, *s*) y C-7 (δ 146.4, *s*) de **36a**, estos presentan un desplazamiento químico a campo alto, el cual es provocado por el efecto de protección que ejerce el sulfonilo sobre los carbonos *ipso*. Lo anterior permitió corroborar que el patrón de sustitución propuesto para el compuesto **36** es correcto.

En el espectro de RMN ¹³C de **36a** también se observan tres señales cuyos desplazamientos químicos (δ 184.3 *s*, δ 213.5 *s* y δ 213.9 *s*) corresponden a carbonilos de cetona. La primera corresponde a C-4 y las otras dos confirman la formación del derivado dialcanfor sulfonato de la 2-fenoxicromona (**36**). Los desplazamientos químicos de RMN tanto de ¹H como de ¹³C, asignados a la porción del alcanfor sulfonato fueron congruentes con los descritos en la literatura.⁶⁰



36a

Del extracto hexánico de las partes aéreas de la planta se aislaron seis nuevos diterpenos con esqueleto de labdano que fueron denominados ramnomimósidos A-F (37-42). La elucidación estructural de cada uno de ellos se describe a continuación.

Los ramnomimósidos A (37) y B (38) se aislaron como una mezcla que no se logró resolver totalmente. Sin embargo, mediante cromatografía de líquidos de alta resolución se obtuvieron dos fracciones cada una enriquecida en uno de los componentes. De la fracción más polar se obtuvieron los datos espectroscópicos del ramnomimósido A. En el caso del ramnomimósido B, la asignación estructural se realizó con los datos espectroscópicos obtenidos de la fracción menos polar.

El ramnomimósido A (37) presentó un ión molecular de m/z 436 (EMIE), el cual concuerda con la fórmula molecular $C_{26}H_{44}O_5$. En su espectro en el IR aparece una banda en 1647 cm^{-1} que indica la presencia de dobles enlaces en la molécula y la absorción de 3397 cm^{-1} debida a la existencia de grupos oxhidrilo.

Las señales de RMN ^1H y ^{13}C (tablas 5 y 6) se asignaron por medio de sus espectros COSY, DEPT, HMBC y HMQC.

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **37** (Espectro No. 10), se observan las señales para 26 átomos de carbonos que corresponden, de acuerdo con los datos obtenidos de los experimentos DEPT, a 5 metilos, 9 metilenos, 8 metinos y 4 carbonos no protonados.

En el espectro de RMN ^1H (Espectro No. 9) se aprecian las señales que confirman la existencia de los grupos metilo en la molécula, tres de ellas aparecen como señales simples y con desplazamientos químicos de δ 0.87, δ 0.80, y δ 0.68 que indican que corresponden a metilos unidos a carbonos no protonados. En δ 1.32 se observa un doblete ($J=6.3$ Hz) asignado a un grupo metilo unido a un metino. Por último, la señal simple ancha en δ 1.67 se atribuye a un metilo vinílico.

A partir de la fórmula molecular asignada al compuesto **37** se obtiene un grado de insaturación de cinco, el cual se explica de la manera siguiente: dos insaturaciones se deben a dos dobles enlaces, lo cual se confirma por la presencia de cuatro señales con desplazamientos químicos correspondientes a carbonos sp^2 en el espectro de RMN ^{13}C ; las tres insaturaciones restantes se deben a la existencia de tres ciclos en la molécula. En el espectro de masas (IE) se observa el fragmento de m/z 289, el cual se genera por la pérdida de 147 uma, que corresponde a un fragmento de $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_4$. Esta fragmentación y la presencia de seis señales en el espectro de RMN ^1H con desplazamientos químicos característicos de protones sobre carbonos bases de oxígeno, permiten proponer la presencia de una hexosa en la molécula.

Los otros dos ciclos se atribuyen, considerando el número de carbonos restantes a un compuesto de naturaleza diterpenoide. A partir de los experimentos de correlación heteronuclear a un enlace (HMQC) y a larga distancia (HMBC) se estableció un esqueleto del tipo labdano para este compuesto.

Las señales correspondientes a los anillos A y B del labdano se asignaron por comparación con los desplazamientos químicos descritos en la literatura.⁶³ El desplazamiento a campo bajo de C-15 (δ 63.6, *t*), indica que éste se encuentra unido a la hexosa.

El ramnomimósido A (37) presenta en su espectro de RMN ¹H señales con desplazamientos químicos característicos de protones vinílicos en δ 4.50 (*sa*, H-17a), δ 4.82 (*sa*, H-17b) y δ 5.29 (*m*, H-14). En el espectro de RMN ¹³C los desplazamientos químicos de las señales en δ 106.2 (*t*, C-17); δ 148.5 (*s*, C-8); δ 142.3 (*s*, C-13) y δ 119.1 (*d* C-14) confirman la existencia de dos dobles enlaces en el esqueleto de labdano. Las interacciones entre H-17a/H-9; H-17b/H-9 y H-14/H-16 observadas en el espectro ¹H-¹H-COSY nos permitieron conocer las posiciones de los dobles enlaces. El primero está ubicado entre los carbonos C-8/C-17 y el segundo se encuentra en los carbonos C-13/C-14.

La señal simple ancha que aparece en δ 4.81 integra para un hidrógeno y se atribuye al protón anomérico del azúcar. En el espectro ¹H-¹H-COSY se observa la interacción entre la señal de δ 3.69 (H-5', *dc*, *J*=9.3 y 6.3 Hz) y el metilo de δ 1.32 (H-6', *d*, *J*=6.3 Hz) lo que establece la presencia y la posición de un metilo secundario en el azúcar.

El resto de las señales asignadas al azúcar se observan en δ 3.91 (H-2', *sa*); δ 3.78 (H-3', *dd*, *J*=9.3 y 3.1 Hz) y δ 3.45 (H-4', *t*, *J*=9.3 Hz). Las interacciones observadas en el espectro ¹H-¹H-COSY están acordes con esta secuencia. Tanto las constantes de acoplamiento como los desplazamientos químicos de los protones asignados al azúcar son los característicos de una ramnosa.^{64,65} Se ha observado que en derivados piranosidos la relación 1,2-diecuatorial entre H-1 y H-2 da una constante de acoplamiento pequeña (*J*=1.5 Hz), cuando H-1 y H-2 presentan una relación 1,2-axial-ecuatorial el valor de la constante de acoplamiento es *J*=3.5 Hz y en el caso de una relación 1,2-diaxial entre H-1 y H-2, el valor para la constante de acoplamiento es grande (*J*=7-9 Hz).^{66, 67} De esta manera, fue posible proponer a partir de la constante de acoplamiento del protón anomérico (*J*_{1,2}= 1.8

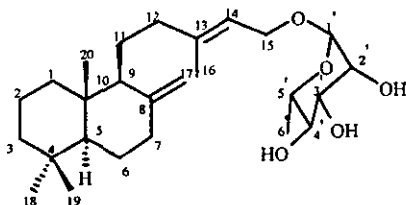
Hz), una configuración α para la ramnosa. La L-ramnosa se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza como constituyente de un gran número de glicósidos aislados de una gran variedad de especies vegetales.⁶⁸ En cambio la D-ramnosa sólo se ha encontrado como producto de la hidrólisis de lipopolisacáridos de algunas bacterias como *Citrobacter freundii* y *Pseudomonas syringae*.^{68,69} Además del género *Mimosa* se han aislado glicósidos que contienen en sus estructuras L-ramnosa.^{13,14,17,18,19} Lo anterior permite presumir que lo más probable es que el compuesto **37** tenga en su estructura una α -L-ramnosa.

Para compuestos diterpenoides que poseen en su esqueleto el grupo *gem*-dimetilo en la posición C-4 del anillo A, se asigna el número menor al metilo en posición α y el número consecutivo al metilo en posición β .^{69,70,71} De esta manera, se asignó C-18 al metilo con orientación α y C-19 al metilo con orientación β . El desplazamiento químico a campo alto que se observa en el espectro de RMN ¹³C del compuesto **37** de C-19 (δ 21.7, *c*), deriva de las interacciones 1,3 diaxiales que existen entre el metilo C-19 y los hidrógenos de las posiciones H-2, H-6 y CH₃-20.

La geometría del doble enlace de la cadena lateral del compuesto **37**, se estableció por comparación de sus datos espectroscópicos de RMN ¹³C con los descritos en la literatura. Para compuestos diterpenoides con esqueleto de labdano que presentan geometría *E* en el doble enlace de la cadena lateral, se observa un desplazamiento químico a campo alto del carbono C-16 (δ 16.00-18.00).^{73,74,75} En el caso de labdanos con geometría *Z* en el doble enlace, la señal de C-16 se presenta a campo más bajo (δ 25.00-26.00).^{73,76} En el espectro de RMN ¹³C del compuesto **37**, aparece la señal de C-16 en δ 16.5 (*c*). El desplazamiento químico a campo alto de esta señal deriva de las interacciones entre los carbonos C-16/C-15, lo cual establece la existencia de un labdano con geometría *E* en el doble enlace.

Las correlaciones C-H que se observan en el espectro HMBC (Fig. 12) entre C-13/H-15a, H-15b, H-16; C-20/H-5, H-9, H-1 α ; C-19/H-5; C-18/H-5; C-3/H-18, H-19, H-

1 β ; C-17/H-9; H-7 β permiten establecer la estructura del ramnomimósido A como se representa a continuación.



37

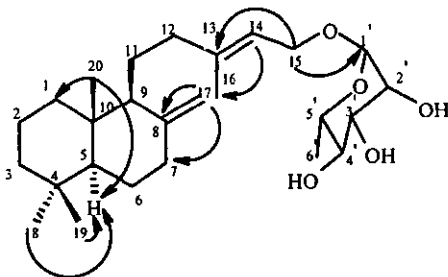


Fig. 12 Principales interacciones C-H observadas en el espectro HMBC del compuesto 37

TABLA 5
 Datos espectroscópicos de RMN ¹H de los compuestos 37 y 38

H	37 ^a (δ, m, J)	38 ^a (δ, m, J)
1α	0.99 m	0.98 m
1β	^c 1.76 ma	1.83 m
2α	1.46 m	1.47 m
2β	1.58 m	1.57 m
3α	1.17 <i>td</i> 12.6 4.2	1.15 m
3β	1.39 m	1.40 <i>dda</i> 10.8 2.7
5	1.08 <i>dd</i> 12.6 2.7	1.17 <i>dda</i> 11.8 5.2
6α	1.73 m	1.54 <i>dd</i>
6β	1.30 m	^c 0.85 s
7α	1.96 <i>td</i> 11.8 4.8	5.39 <i>sa</i>
7β	2.38 <i>ddd</i> 12.7 4.3 2.4	-
9	1.55 m	1.59 <i>ma</i>
11	^c 1.70 <i>ma</i>	^c 1.96 m
11'	^c 1.70 <i>ma</i>	1.90 m
12	2.13 m	2.24 m
12'	^c 1.76 <i>ma</i>	^c 1.96 m
14	5.29 m	5.30 m
15a	4.03 <i>dd</i> 11.6 7.6	4.02 <i>dd</i> 11.9 7.5
15b	4.14 <i>dd</i> 11.6 6.1	4.15 <i>dd</i> 11.9 6.1
16	1.67 <i>sa</i>	1.68 <i>sa</i>
17a	4.50 <i>sa</i>	1.68 <i>sa</i>
17b	4.82 <i>sa</i>	-
18	0.87 s	0.87 s
19	0.80 s	^c 0.85 s
20	0.68 s	0.75 s
1'	4.81 <i>sa</i>	4.81 <i>sa</i>
2'	3.91 <i>sa</i>	3.91 <i>sa</i>
3'	3.78 <i>dd</i> 9.2 3.1	3.77 <i>da</i>
4'	3.45 <i>t</i> 9.2	3.45 <i>t</i> 9.3
5'	3.69 <i>dc</i> 9.2 6.3	3.69 <i>dc</i> 9.3 6.2
6'	1.32 <i>d</i> 6.3	1.32 <i>d</i> 6.2

^a 300 MHz, CDCl₃, TMS como referencia interna;

^c Señales sobrepuestas

TABLA 6
 Datos espectroscópicos de RMN ¹³C de los compuestos 37 y 38

C	37 ^a (δ, m)	38 ^a (δ, m)
1	39.1 t	39.1 t
2	19.3 t	18.8 t
3	42.1 t	42.1 t
4	33.6 s	32.9 s
5	55.5 d	50.1 d
6	24.4 t	25.5 t
7	38.3 t	122.3 d
8	148.5 s	135.2 s
9	56.3 d	54.4 d
10	39.6 s	36.8 s
11	21.7 t	23.8 t
12	38.5 t	42.3 t
13	142.3 s	142.0 s
14	119.1 d	119.6 d
15	63.6 t	63.6 t
16	16.5 c	16.5 c
17	106.2 t	22.1 c
18	33.6 c	33.1 c
19	21.7 c	21.8 c
20	14.5 c	13.5 c
1'	98.4 d	98.5 d
2'	71.1 d	71.1 d
3'	71.8 d	71.8 d
4'	73.7 d	73.6 d
5'	67.6 d	67.7 d
6'	17.5 c	17.5 c

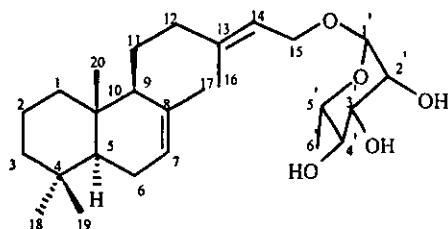
^a 75 MHz, CDCl₃, TMS como referencia interna

Al ramnomimósido B (**38**) se le asignó la fórmula molecular $C_{26}H_{44}O_5$, de acuerdo con su espectro de masas (IE) que presenta un ión molecular de m/z 436. En el espectro en el IR se observan las bandas en 1661 cm^{-1} y 3404 cm^{-1} debidas a la existencia de dobles enlaces y grupos oxhidrilo respectivamente.

Las señales de los espectros de RMN ^1H (Espectro No. 11) y ^{13}C (Espectro No. 12) del compuesto **38** son muy similares a las mostradas por el compuesto **37**, excepto para las señales atribuidas al anillo B del labdano que en el caso del compuesto **38** indican la presencia de un doble enlace endocíclico en el anillo. Lo anterior se infiere de la señal asignada a H-7 (δ 5.39, *sa*) en el espectro de RMN ^1H del ramnomimósido B y es confirmado por las señales en δ 122.3 (*d*, C-7) y δ 135.2(*s*, C-8) mostradas en su espectro de RMN ^{13}C .

Las interacciones en el espectro ^1H - ^1H -COSY entre el protón vinílico H-7 y el metilo H-17 establece la posición del doble enlace en el carbono C-7 del compuesto **38**. Así, la posición del doble enlace en el anillo B del labdano es la única diferencia entre los ramnomimósidos A y B.

Las correlaciones C-H que se observan en el espectro HMBC entre C-13/H-15a, H-15b, H-16; C-8/H-17; C-7/H-17; C-14/H-16, H-15 establecen la estructura del ramnomimósido B como se muestra a continuación.



38

Los ramnomimósidos C (39) y D (40) son compuestos que guardan una relación de isómeros estructurales y se aislaron como una mezcla que no se logró separar totalmente. Así, al igual que para los ramnomimósidos A y B la asignación estructural de cada uno de ellos se realizó con los datos espectroscópicos de una mezcla enriquecida en uno de sus componentes.

Para los compuestos 39 y 40 se determinó la fórmula molecular $C_{28}H_{46}O_6$ con base en sus espectros de masas (IE). Ambos compuestos presentaron iones moleculares de m/z 478 y ambos muestran absorciones en el espectro de IR características de dobles enlaces no conjugados en 1644 cm^{-1} (39) y 1666 cm^{-1} (40); así como bandas en 3430 cm^{-1} (39) y 3435 cm^{-1} (40) debidas a grupos oxhidrilo. A diferencia de los ramnomimósidos A y B, en los espectros de IR de estos compuestos aparecen en 1741 cm^{-1} (39) y 1738 cm^{-1} (40) las bandas de absorción características de un ester saturado.

En las tablas 7 y 8 se indican los datos espectroscópicos de RMN 1H y ^{13}C de los compuestos C y D los cuales se obtuvieron a partir de sus espectros COSY, DEPT, HMBC y HMQC.

Los espectros de RMN 1H (Espectros No. 13 y 15) y ^{13}C (Espectros No. 14 y 16) del compuesto 39 son semejantes a los del compuesto 37, así como los del compuesto 40 son semejantes a los del compuesto 38. Ambos pares de compuesto (37/39 y 38/40) presentan similitud en las señales correspondientes al esqueleto del labdano pero los compuestos 39 y 40 presentan la señal de un protón desplazado a campo bajo (δ 5.07) en el espectro de RMN 1H que marca la diferencia con 37 y 38.

Los ramnomimósidos C y D presentan en sus espectros de RMN 1H una señal simple en δ 2.13 característica de un metilo de acetato y en RMN ^{13}C se observan las señales en δ 170.9 y 20.9 correspondientes al carbonilo y al metilo del ester respectivamente. En los espectros de RMN 1H de ambos compuestos se observa una señal doble de doble en δ 5.07 ($J=3.5$ y 1.5 Hz) que se atribuye al protón geminal a un grupo acetato. Los espectros 1H - 1H -

COSY de los compuestos **39** (Fig. 13) y **40** muestran las interacciones entre el protón anomérico H-1' y el protón en δ 5.07 (*dd*, $J=1.5$ y 3.5 Hz), por lo que este último se atribuye a H-2'.

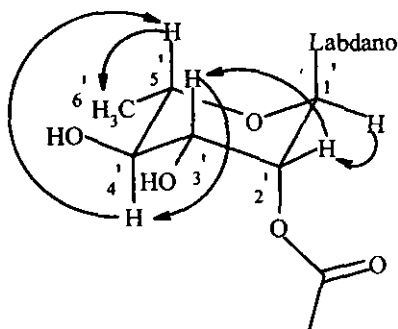


Fig 12 Correlaciones H-H observadas en los espectros COSY de la 2-acetilramnosa para los compuestos **39** y **40**

Por otra parte, las correlaciones C-H entre el carbonilo del ester y H-2' que se observan en el espectro HMBC del compuesto **39** confirman que este grupo se encuentra unido al C-2' de la ramnosa. A partir de estos resultados, se establecieron las estructuras de los ramnomimósidos C y D las cuales se representan como **39** y **40** respectivamente.

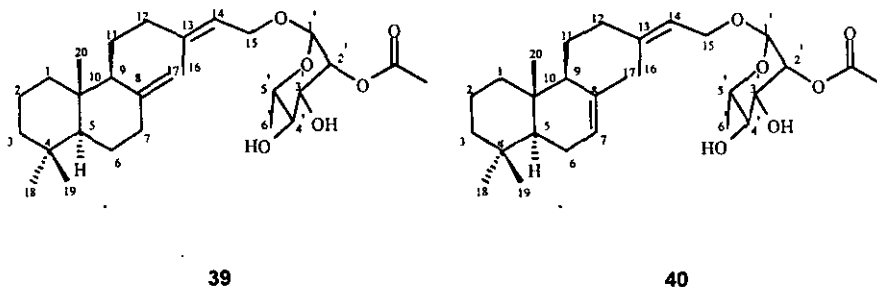


TABLA 7
 Datos espectroscópicos de RMN ¹H de los compuestos
 39 y 40

H	39 ^a	40 ^a
	(δ, m, J)	(δ, m, J)
1α	0.99 <i>td</i> 13.0 4.0	0.99 <i>m</i>
1β	^c 1.77 <i>ma</i>	1.85 <i>sa</i>
2α	1.48 <i>m</i>	1.45 <i>m</i>
2β	1.58 <i>ma</i>	1.55 <i>sa</i>
3α	1.17 <i>td</i> 11.7 3.6	1.16 <i>m</i>
3β	1.39 <i>dd</i> 11.7 3.2	1.40 <i>ma</i>
5	1.08 <i>dd</i> 12.6 2.7	1.18 <i>dda</i> 11.7 5.4
6α	1.72 <i>m</i>	1.51 <i>m</i>
6β	1.30 <i>d</i> 13.2 4.2	^c 0.85 <i>s</i>
7α	1.96 <i>td</i> 12.7 4.8	5.39 <i>sa</i>
7β	2.38 <i>ddd</i> 12.7 4.2 2.4	-
9	1.53 <i>sa</i>	1.59 <i>ma</i>
11	^c 1.72 <i>ma</i>	^c 1.98 <i>m</i>
11'	^c 1.72 <i>ma</i>	1.92 <i>m</i>
12	^c 2.13 <i>s</i>	2.24 <i>m</i>
12'	^c 1.77 <i>ma</i>	^c 1.98 <i>m</i>
14	5.27 <i>m</i>	5.29 <i>m</i>
15a	4.03 <i>dd</i> 11.6 7.6	4.03 <i>dd</i> 11.9 7.3
15b	4.14 <i>dd</i> 11.6 6.7	4.15 <i>dd</i> 11.9 6.6
16	1.66 <i>sa</i>	1.68 <i>sa</i>
17a	4.51 <i>sa</i>	1.68 <i>sa</i>
17b	4.82 <i>sa</i>	-
18	0.87 <i>s</i>	0.87 <i>s</i>
19	0.80 <i>s</i>	^c 0.85 <i>s</i>
20	0.68 <i>s</i>	0.76 <i>s</i>
1'	4.78 <i>sa</i>	4.78 <i>sa</i>
2'	5.07 <i>dd</i> 3.5 1.5	5.07 <i>dd</i> 3.5 1.5
3'	3.97 <i>dd</i> 9.4 3.5	3.97 <i>dd</i> 9.3 3.5
4'	3.46 <i>t</i> 9.4	3.46 <i>t</i> 9.3
5'	3.73 <i>dq</i> 9.4 6.3	3.72 <i>m</i>
6'	1.33 <i>d</i> 6.3	1.33 <i>d</i> 6.3
CH ₃ CO	^c 2.13 <i>s</i>	2.13 <i>s</i>

^a 300 MHz, CDCl₃, TMS como referencia interna; ^c Señales sobrepuestas

TABLA 8
 Datos espectroscópicos de RMN ¹³C de los compuestos
 39 y 40

C	39 ^a	40 ^a
	(δ, m)	(δ, m)
1	39.1 <i>t</i>	39.2 <i>t</i>
2	19.4 <i>t</i>	18.8 <i>t</i>
3	42.2 <i>t</i>	42.1 <i>t</i>
4	33.6 <i>s</i>	33.0 <i>s</i>
5	55.6 <i>d</i>	50.2 <i>d</i>
6	24.5 <i>t</i>	25.5 <i>t</i>
7	38.4 <i>t</i>	122.3 <i>d</i>
8	148.6 <i>s</i>	135.2 <i>s</i>
9	56.4 <i>d</i>	54.5 <i>d</i>
10	39.7 <i>s</i>	36.8 <i>s</i>
11	21.8 <i>t</i>	23.8 <i>t</i>
12	38.5 <i>t</i>	42.3 <i>t</i>
13	142.3 <i>s</i>	142.0 <i>s</i>
14	119.2 <i>d</i>	119.6 <i>d</i>
15	63.9 <i>t</i>	63.9 <i>t</i>
16	16.5 <i>c</i>	16.5 <i>c</i>
17	106.2 <i>t</i>	22.1 <i>c</i>
18	33.6 <i>c</i>	33.1 <i>c</i>
19	21.7 <i>c</i>	21.8 <i>c</i>
20	14.5 <i>c</i>	13.6 <i>c</i>
1'	96.6 <i>d</i>	96.6 <i>d</i>
2'	72.7 <i>d</i>	72.7 <i>d</i>
3'	70.6 <i>d</i>	70.5 <i>d</i>
4'	73.6 <i>d</i>	73.6 <i>d</i>
5'	67.8 <i>d</i>	67.9 <i>d</i>
6'	17.5 <i>c</i>	17.5 <i>c</i>
CH ₃ CO	170.9 <i>s</i>	170.9 <i>s</i>
CH ₃ CO	20.9 <i>c</i>	20.9 <i>c</i>

^a 75 MHz, CDCl₃, TMS como referencia interna

Los ramnomimósidos E (41) y F (42) corresponden a una mezcla similar a la que se obtuvo para los compuestos 39 y 40. Por lo que la identificación de los ramnomimósidos E y F nuevamente se estableció a partir de los datos espectroscópicos obtenidos de una mezcla enriquecida en uno de sus componentes.

Los ramnomimósidos E y F poseen características espectroscópicas similares a las de los ramnomimósidos C y D. Ambos compuestos presentan los iones moleculares de m/z 478 (EMIE) y están acordes con la fórmula molecular $C_{28}H_{46}O_6$, misma que se asignó a los compuestos C y D.

Los datos espectroscópicos de RMN 1H y ^{13}C de los compuestos E y F se presentan en las tablas 9 y 10. Estos se obtuvieron a partir de sus espectros COSY, DEPT, HMBC, HMQC ó HETCOR y NOESY

Las señales de los espectros de RMN 1H (Espectros No. 17 y 22) y ^{13}C (Espectros No. 18 y 23) de los ramnomimósidos E y F son parecidas a las observadas para los ramnomimósidos C y D. Los compuestos 41 y 42 también poseen un esqueleto de labdano, en el que la única diferencia es la posición del doble enlace en el anillo B del labdano. Así el compuesto 41 corresponde al isómero con el doble enlace exocíclico y el compuesto 42 corresponde al isómero con el doble enlace endocíclico. Con respecto a la porción del azúcar, los datos espectroscópicos de ambos compuestos revelan la presencia de una acetilramnosa. La diferencia con los ramnomimósidos C y D se encuentra en la posición que ocupa el ester en la ramnosa como se indica a continuación.

La existencia de un grupo acetato en los compuestos 41 y 42 está apoyada por la banda de absorción de ester saturado presente en sus espectros en el IR, así como por el desplazamiento químico de la señal en δ 2.16 (s) mostrada en los espectros de RMN 1H y que fué asignada al metilo del acetato.

TABLA 9
 Datos espectroscópicos de RMN ¹H de los
 compuestos 41 y 42

H	41 ^b	42 ^a
	(δ, m, J)	(δ, m, J)
1α	0.99 <i>td</i> 12.9 3.9	0.99 <i>ta</i>
1β	^c 1.78 <i>ma</i>	1.80 <i>ma</i>
2α	1.47 <i>m</i>	1.47 <i>m</i>
2β	1.59 <i>ma</i>	1.57 <i>sa</i>
3α	1.17 <i>td</i> 4.5 13.2	1.15 <i>m</i>
3β	1.41 <i>m</i>	1.40 <i>m</i>
5	1.08 <i>dd</i> 12.4 2.8	1.18 <i>dda</i> 11.4 5.1
6α	1.72 <i>m</i>	1.55 <i>m</i>
6β	1.29 <i>d</i> 4.2	^c 0.85 <i>s</i>
7α	1.97 <i>td</i> 12.8 4.8	5.39 <i>sa</i>
7β	2.38 <i>ddd</i> 12.8 4.2 2.4	-
9	1.55 <i>sa</i>	1.60 <i>ma</i>
11	^c 1.72 <i>ma</i>	^c 2.00 <i>ma</i>
11'	^c 1.72 <i>ma</i>	1.94 <i>m</i>
12	2.13 <i>sa</i>	2.24 <i>m</i>
12'	^c 1.78 <i>ma</i>	^c 2.00 <i>ma</i>
14	5.28 <i>m</i>	5.30 <i>m</i>
15a	4.05 <i>dd</i> 12.0 7.5	4.05 <i>dd</i> 12.0 7.8
15b	4.16 <i>dd</i> 12.0 6.0	4.16 <i>dd</i> 12.0 6.3
16	1.67 <i>s</i>	1.69 <i>s</i>
17a	4.51 <i>sa</i>	1.69 <i>s</i>
17b	4.82 <i>sa</i>	-
18	0.87 <i>s</i>	0.87 <i>s</i>
19	0.80 <i>s</i>	^c 0.85 <i>s</i>
20	0.68 <i>s</i>	0.76 <i>s</i>
1'	4.79 <i>d</i> 1.7	4.79 <i>d</i> 1.8
2'	3.99 <i>dd</i> 3.2 1.7	4.00 <i>dd</i> 3.3 1.8
3'	5.06 <i>dd</i> 9.4 3.2	5.05 <i>dd</i> 9.7 3.3
4'	3.61 <i>t</i> 9.4	3.61 <i>t</i> 9.7
5'	3.75 <i>dc</i> 9.4 6.2	3.75 <i>dc</i> 9.7 6.3
6'	1.34 <i>d</i> 6.2	1.34 <i>d</i> 6.3
CH ₃ CO	2.16 <i>s</i>	2.16 <i>s</i>

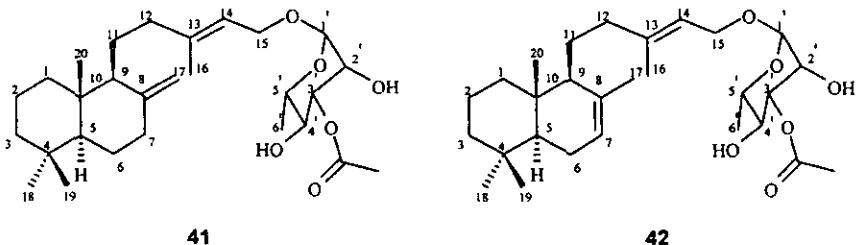
^a 300 MHz, CDCl₃, TMS como referencia interna; ^b 500 MHz, CDCl₃, TMS como referencia interna; ^c Señales sobrepuestas

TABLA 10
 Datos espectroscópicos de RMN ¹³C de los
 compuestos 41 y 42

C	41 ^b	42 ^a
	(δ, m)	(δ, m)
1	39.1 <i>t</i>	39.2 <i>t</i>
2	19.4 <i>t</i>	18.8 <i>t</i>
3	42.2 <i>t</i>	42.1 <i>t</i>
4	33.6 <i>s</i>	32.9 <i>s</i>
5	55.6 <i>d</i>	50.2 <i>d</i>
6	24.5 <i>t</i>	25.5 <i>t</i>
7	38.3 <i>t</i>	122.3 <i>d</i>
8	148.6 <i>s</i>	135.2 <i>s</i>
9	56.3 <i>d</i>	54.5 <i>d</i>
10	39.7 <i>s</i>	36.8 <i>s</i>
11	21.7 <i>t</i>	23.8 <i>t</i>
12	38.5 <i>t</i>	42.3 <i>t</i>
13	142.2 <i>s</i>	141.9 <i>s</i>
14	119.2 <i>d</i>	119.6 <i>d</i>
15	63.7 <i>t</i>	63.7 <i>t</i>
16	16.5 <i>c</i>	16.5 <i>c</i>
17	106.2 <i>t</i>	22.1 <i>c</i>
18	33.6 <i>c</i>	33.1 <i>c</i>
19	21.7 <i>c</i>	21.8 <i>c</i>
20	14.5 <i>c</i>	13.5 <i>c</i>
1'	98.1 <i>d</i>	98.3 <i>d</i>
2'	70.0 <i>d</i>	70.0 <i>d</i>
3'	75.2 <i>d</i>	75.1 <i>d</i>
4'	71.7 <i>d</i>	71.7 <i>d</i>
5'	68.5 <i>d</i>	68.6 <i>d</i>
6'	17.5 <i>c</i>	17.5 <i>c</i>
COCH ₃	171.6 <i>s</i>	171.6 <i>s</i>
CH ₃ CO	21.1 <i>c</i>	21.0 <i>c</i>

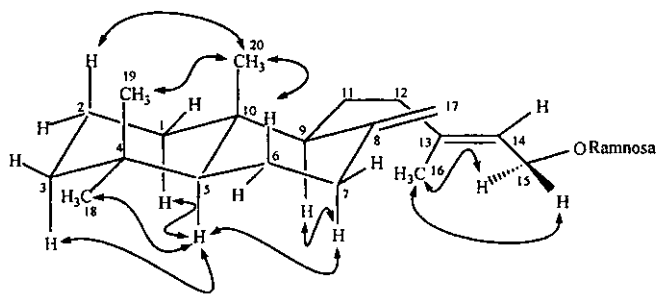
^a 75 MHz, CDCl₃, TMS como referencia interna
^b 125 MHz, CDCl₃, TMS como referencia interna

En los espectros ^1H - ^1H -COSY (Espectro No. 19) de ambos compuestos se aprecian las interacciones entre H-1'/H-2'. El desplazamiento químico de la señal de H-2' (δ 3.99, *dd*, $J=3.2$ y 1.7 Hz) observado en el espectro de RMN ^1H del compuesto **41** y el de la correspondiente señal del compuesto **42** (δ 4.00, *dd*, $J=3.3$ y 1.8 Hz), indican que la posición C-2' no se encuentra esterificada. En los mismos espectros, también se observan las interacciones entre H-2'/H-3', el desplazamiento a campo bajo de las señales del protón H-3' en los compuestos **41** (δ 5.06, *dd*, $J=9.4$ y 3.2 Hz) y **42** (δ 5.05, *dd*, $J=9.6$ y 3.3 Hz), permiten establecer la posición del acetato en el C-3 de la α -L-ramnosa. Las correlaciones C-H que se observan en el espectro HMBC del compuesto **41** (Espectro No. 20) entre H-3' y el carbonilo del ester confirman lo anterior. Así, una 3'-acetilramnosa se encuentra presente en los compuestos **41** y **42**.



A partir del espectro NOESY del compuesto **41** (Espectros No. 21 y 21a, Fig. 14), se logró establecer la estereoquímica relativa del ramnomimósido E. En este espectro se observan las interacciones entre CH_3 -19/ CH_3 -20 y CH_3 -18/H-5, lo cual nos indica que la fusión en los anillos A/B del labdano es *trans*. Además, se establece una orientación- β para el CH_3 -20 y una orientación- α para H-5. En este mismo espectro también se observa una interacción entre H-5/H-9, lo cual es un indicativo de la orientación- α para H-9.

En tablas 5-10 se muestran los datos espectroscópicos tanto de RMN ^1H como de ^{13}C de los ramnomimósidos A-F. Como se puede observar, los desplazamientos químicos asignados a los carbonos de las posiciones C-18, C-19 y C-20 son muy parecidos, por lo que asumimos que los ramnomimósidos A, B, C, D y F presentan una esteoquímica relativa igual a la establecida para el ramnomimósido E.



Ram = Ramnosa

Fig. 14 Principales interacciones del Efecto Nuclear de Overhauser para los protones del compuesto **41** en el espectro NOESY

Hasta este momento, no se cuenta con elementos suficientes para determinar a cual de las series (*normal* ó *ent*) pertenecen los compuestos **37-42**. Pues ambas series han sido frecuentemente aisladas de la misma especie vegetal, ejemplo de ello lo constituyen el labdandiol *normal* y el *ent*-labdenol los cuales fueron aislados de *Mimosa hostilis*.¹⁹

4) CONCLUSIONES

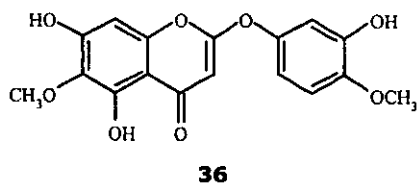
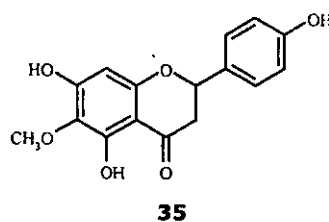
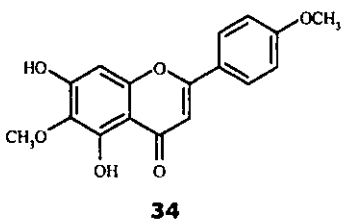
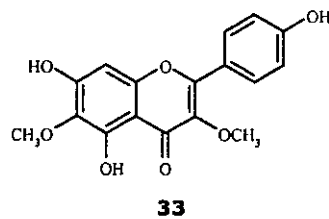
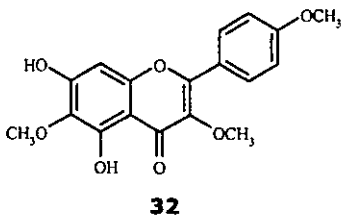
Como resultado del estudio químico realizado a los extractos hexánico, acetónico y metanólico de las partes aéreas de *Mimosa tenuiflora*, se encontró que contienen glicósidos diterpenoides y flavonoides.

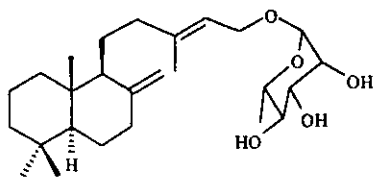
Se aislaron e identificaron un total de once metabolitos secundarios, cuatro de ellos corresponden a flavonoides que ya se encuentran descritos en la literatura. Estos son: santina (32), 5,7,4'-trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona (33), pectolinarigenina (34) y 5,7,4'-trihidroxi-6-metoxiflavanona (35). Otro metabolito secundario que se aisló de *Mimosa tenuiflora* fué el compuesto 36 (5,7-dihidroxi-2-(3-hidroxi-4-metoxifenoxi)-6-metoxicromona) que forma parte del grupo de 2-fenoxicromonas de las que solamente se conocen ocho. Los flavonoides citados, presentaron en sus estructuras un patrón de oxidación característico, donde se observa que las posiciones 5,6,7 y 4' se encuentran oxidadas.

Además de los flavonoides, se aislaron e identificaron seis compuestos de naturaleza diterpenoide cuyas estructuras derivan del esqueleto de labdano. Hasta este momento existe la posibilidad de que formen parte de la serie normal o de la serie enantiomérica. Estos compuestos fueron denominados ramnomimósidos A-F y todos ellos constituyen una nueva aportación, en virtud de que no se encuentran descritos en la literatura. Mediante el uso de métodos espectroscópicos se logró establecer la estereoquímica relativa del ramnomimósido E, la cual corresponde a una fusión trans en los anillos A/B del labdano. Para el caso de los ramnomimósidos A, B, C, D y F, la estereoquímica relativa se estableció por comparación de

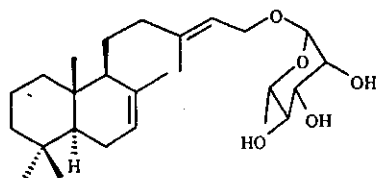
sus datos espectroscópicos con los obtenidos para el ramnomimósido E, lo anterior permitió asumir una fusión trans en los anillos A/B del labdano. Así mismo, se estableció una geometría E para el doble enlace de la posición C-13, en todos los casos.

Así, la composición química encontrada en las partes aéreas de *Mimosa tenuiflora* resultó diferente de la descrita en un estudio previo,⁴ en el cual se describe el aislamiento de las kukulkaninas A y B que no se aislaron en esta ocasión.

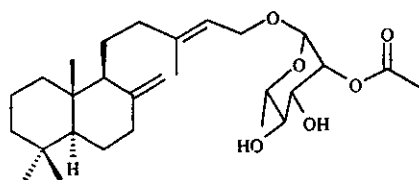




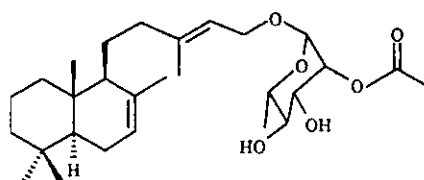
37



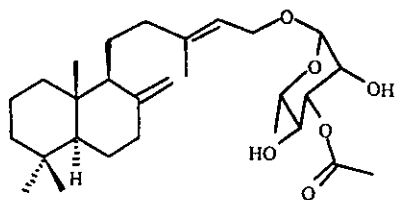
38



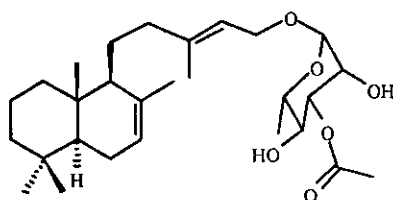
39



40



41



42

5) PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Material y Equipo

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

En las cromatografías en columna se utilizó como fase estacionaria sílica gel G.

Para cromatografía en capa fina se utilizaron cromatofolios Alugram Sil G/UV₂₅₄ de 0.25 mm. Se utilizó como revelador sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N y/o lámpara de UV Spectroline modelo CX-20 a 254 y 366 nm.

La cromatografía de líquidos de alta resolución se realizó en un cromatógrafo HPLC Varian 5000 con detector de UV a 210 nm, flujo de 1 ml/min y presión de 156 atm. Se usó columna analítica de fase inversa μ -Bondapak C-18, 125 Å, 10 μ m.

La cromatografía radial se realizó en un cromatotron modelo 7924T.

Los espectros en el UV se determinaron en un espectrofotómetro Shimadzu modelo 160 U. La rotación óptica se determinó en un Polarímetro Jasco modelo DIP-360.

Para los espectros en el IR, se usaron las técnicas de película ó pastilla de KBr, en un espectrofotómetro FT-IR Nicolet Magna 750.

Los espectros de masas se determinaron utilizando la técnica de impacto electrónico a 70 eV en un espectrómetros Jeol JMS-AX505HA.

Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C se determinaron en los espectrómetros Varian XR-300 (300 MHz) y Varian Unity Plus 500 (500 MHz), los desplazamientos químicos (δ) están dados en ppm referidos al tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

5.2 Material Vegetal

Las partes aéreas de *Mimosa tenuiflora* se recolectaron a las orillas de la carretera federal 190, en los alrededores del municipio de Ocozocoautla, Estado de Chiapas en octubre de 1997.

5.3 Extracción y Aislamiento

El material vegetal seco y molido (1900 g) se extrajo con hexano, acetona y metanol. Los diferentes extractos, después de que se les evaporó el disolvente, pesaron 135 g, 58.5 g y 475 g, respectivamente.

El extracto hexánico se fraccionó por CC usando como soporte sílica gel G y como eluyente mezclas de hexano-AcOEt de polaridad creciente.

Las fracciones eluidas con hexano-AcOEt 40:60 (CC del extracto hexánico) que contenían la mezcla de compuestos **37** y **38** se reunieron y se purificaron por CC (alúmina, hexano-AcOEt 60:40), obteniéndose la mezcla de los compuestos **37** y **38** libre de impurezas. Una porción (120 mg) de esta mezcla se separó por HPLC (columna de fase inversa μ -Bondapak C-18, 125 Å, 10 μm ; MeCN-H₂O 80:20). Se obtuvieron 11 mg (t_r 13.05 min.) de una mezcla enriquecida del compuesto **37** y 11 mg (t_r 15.06 min.) de una mezcla enriquecida

del compuesto **38**.

Las fracciones eluidas con hexano-AcOEt 50:50 y 60:40 (CC del extracto hexánico) contenían la mezcla de los compuestos **39**, **40**, **41** y **42**. Estas fracciones se recromatografiaron en columna de alúmina (hexano-AcOEt 60:40). Una porción (500 mg) de las fracciones que contenían la mezcla de **39**, **40**, **41** y **42** se sometieron a cromatografía radial (sílica gel, hexano-AcOEt 70:30) obteniéndose la mezcla de compuestos **39**, **40**, **41** y **42** libre de otras impurezas. Esta mezcla (250 mg) se separó por HPLC (columna de fase inversa μ -Bondapak C-18, 125 Å, 10 μ m; MeCN-H₂O 75:25) para dar cuatro fracciones enriquecidas en dos componentes (**39/40** y **41/42**), la mezcla más polar corresponde a los compuestos **39** (6 mg, t_r 21.02 min.) y **40** (8 mg, t_r 22.00 min.) y la menos polar corresponde los compuestos **41** (9.5 mg, t_r 24.48 min.) y **42** (24.7 mg, t_r 25.53 min.).

El extracto acetónico se fraccionó por CC usando como soporte sílica gel G y como eluyente mezclas de hexano-AcOEt de polaridad creciente.

Las fracciones eluidas con hexano-AcOEt 80:20 y 70:30 (CC del extracto acetónico) se recromatografiaron en columna de sílica gel G (hexano-AcOEt de polaridad creciente). Las fracciones eluidas con hexano-AcOEt 90:10 y 80:20 cristalizaron en acetona-hexano para dar el compuesto **33** (98 mg, 0.005 % rend. con respecto al peso de la planta seca). De ésta misma cromatografía se reunieron las fracciones eluidas con hexano:AcOEt 70:30 y 60:40. Estas se percolaron por C-activado y se sometieron a CC (sílica gel G, CH₂Cl₂-MeOH 99:1) obteniéndose los compuestos **34** (40 mg, 0.002 % rend. con respecto al peso de la planta seca) y **35** (70 mg, 0.003 % rend. con respecto al peso de la planta seca).

Las fracciones eluidas con hexano-AcOEt 60:40 y 50:50 (CC del extracto acetónico) se percolaron por C-activado. Después de eliminar el disolvente se obtuvo un residuo del que cristalizó (AcOEt-hexano) el compuesto **32** (220 mg, 0.011 % rend. con respecto al peso de la planta seca).

Al extracto metanólico se le realizó una partición con AcOEt-H₂O (1:1). La porción de AcOEt se evaporó a sequedad y se obtuvieron 91 g de residuo. Este residuo se fraccionó por CC (sílica gel G, hexano-AcOEt de polaridad creciente). Sucesivas CC (sílica gel G, hexano-AcOEt 85:15 y CH₂Cl₂-MeOH 99:1) de las fracciones eluidas con hexano-AcOEt 50:50 y posterior cristalización en acetona-hexano dieron el compuesto **36** (20 mg, 0.001 % rend. con respecto al peso de la planta seca).

5.4 Datos espectroscópicos

5,7-dihidroxi-3,6,4'-trimetoxiflavona [32] (Santina):

P.f.: 155-157 °C

UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (MeOH): 336, 271, 215.

IR $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹ (película): 3380, 2937, 1653, 1608, 1558, 1469, 1369, 1305, 1260, 1207, 1178, 1042, 995, 806.

EMIE 70 eV, *m/z* (% int. rel.): 344 [M⁺ C₁₈H₁₆O₇] (100); 329 [M⁺-CH₃] (43); 326 [M⁺-H₂O] (21); 301 [M⁺-CH₃CO] (29); 283 [M⁺-CH₃CO-H₂O] (15); 258 [M⁺-CH₃CO-CH₃CO] (9); 167 [A₁-CH₃] (4); 135 [B₂] (11).

RMN ¹H δ (300 MHz, CDCl₃ + DMSO-d₆): 8.04 (2H, d, J=9 Hz, H-2' y H-6'); 6.99 (2H, d, J=9 Hz, H-3' y H-5'); 6.52 (1H, s, H-8); 12.93 (1H, s, 5-OH); 6.48 (1H, s, 7-OH); 3.82 (3H, s, OCH₃); 3.87 (3H, s, OCH₃); 4.01 (3H, s, OCH₃).

RMN ¹³C δ (75 MHz, CDCl₃ + DMSO-d₆): 155.0 (C-2); 138.4 (C-3); 179.1 (C-4); 152.2 (C-5); 130.0 (C-6); 156.1 (C-7); 93.0 (C-8); 151.7 (C-9); 106.1 (C-10); 122.7 (C-1'); 130.1 (C-2' y C-6'); 114.0 (C-3' y C-5'); 161.7 (C-4'); 55.4 (OCH₃); 60.1 (OCH₃); 60.8 (OCH₃).

5,7,4'-trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona [33]:**P.f.:** 229-231 °C**UV** $\lambda_{\text{m\acute{a}x}}$ nm (MeOH): 339, 271, 214.**IR** $\nu_{\text{m\acute{a}x}}$ cm^{-1} (KBr/pastilla): 3513, 3111, 1659, 1605, 1566, 1477, 1437, 1368, 1276, 1224, 1176, 772.**EMIE** 70 eV, m/z (% int. rel.): 330 [M^+ $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_7$] (100); 315 [M^+ - CH_3] (44); 312 [M^+ - H_2O] (21); 287 [M^+ - CH_3CO] (29); 269 [M^+ - CH_3CO - H_2O] (13); 244 [M^+ - CH_3CO - CH_3CO] (8); 167 [A_1 - CH_3] (5); 121 [B_2] (13).**RMN** ^1H δ (300 MHz, CDCl_3 + DMSO-d_6): 7.96 (2H, d, $J=9$ Hz, H-2' y H-6'); 6.96 (2H, d, $J=9$ Hz, H-3' y H-5'); 6.50 (1H, s, H-8); 12.82 (1H, s, 5-OH); 9.40 (1H, s, 7-OH); 3.82 (3H, s, OCH_3); 3.87 (3H, s, OCH_3).**RMN** ^{13}C δ (75 MHz, CDCl_3 + DMSO-d_6): 155.7 (C-2); 137.2 (C-3); 178.2 (C-4); 152.1 (C-5); 130.6 (C-6); 156.3 (C-7); 93.3 (C-8); 151.8 (C-9); 104.9 (C-10); 120.7 (C-1'); 129.5 (C-2' y C-6'); 115.1 (C-3' y C-5'); 159.6 (C-4'); 59.9 (OCH_3); 59.3 (OCH_3).**5,7-dihidroxi-6,4'-dimetoxiflavona [34] (Pectolinarigenina):****P.f.:** 220-222 °C**UV** $\lambda_{\text{m\acute{a}x}}$ nm (MeOH): 331, 276, 216.**IR** $\nu_{\text{m\acute{a}x}}$ cm^{-1} (KBr/pastilla): 3457, 1662, 1626, 1586, 1510, 1466, 1422, 1377, 1301, 1268, 1234, 1170, 1105, 1030, 827, 771.**EMIE** 70 eV, m/z (% int. rel.): 314 [M^+ $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$] (100); 299 [M^+ - CH_3] (67); 296 [M^+ - H_2O] (53); 271 [M^+ - CH_3CO] (49); 167 [A_1 - CH_3] (10); 135 [B_2] (5).**RMN** ^1H δ (300 MHz, CDCl_3 + DMSO-d_6): 7.76 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2' y H-6'); 6.93 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3' y H-5'); 6.46 (2H, s, H-3, H-8); 12.86 (1H, s, 5-OH); 9.90 (1H, s, 7-OH); 3.80 (3H, s, OCH_3); 3.81 (3H, s, OCH_3).**RMN** ^{13}C δ (75 MHz, CDCl_3 + DMSO-d_6): 163.2 (C-2); 102.8 (C-3); 182.0 (C-4); 152.5 (C-5); 131.0 (C-6); 156.6 (C-7); 93.7 (C-8); 152.5 (C-9); 104.3 (C-10); 122.9 (C-1'); 127.4 (C-

2' y C-6'); 113.9 (C-3' y C-5'); 161.9 (C-4'); 59.8 (OCH₃); 54.9 (OCH₃).

5,7,4'-trihidroxi-6-metoxiflavanona [35]:

P.f.: 220-223 °C

$[\alpha]_D^{20} = +9.18$ (C, 0.185, MeOH)

UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (MeOH): 291, 212.

IR $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹ (KBr/pastilla): 3510, 3301, 2946, 1637, 1600, 1516, 1499, 1450, 1345, 1299, 1238, 1164, 1091, 998, 831, 771.

EMIE 70 eV, *m/z* (% int. rel.): 302 [M⁺ C₁₆H₁₄O₆] (100); 287 [M⁺-CH₃] (8); 182 [A₁] (80); 167 [A₁-CH₃] (70); 121 [B₂] (9).

RMN ¹H δ : Ver tabla 1

RMN ¹³C δ : Ver tabla 2

5,7-dihidroxi-2-(3-hidroxi-4-metoxifenoxi)-6-metoxicromona [36]:

P.f.: 185-187 °C

UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (MeOH): 291, 233, 205.

IR $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹ (CHCl₃): 3506, 2944, 2844, 1660, 1621, 1575, 1502, 1464, 1415, 1378, 1306, 1284, 1161, 1142, 1105, 977, 827.

EMIE 70 eV, *m/z* (% int. rel.): 346 [M⁺ C₁₇H₁₄O₈] (100); 331 [M⁺-CH₃] (43); 328 [M⁺-H₂O] (23); 303 [M⁺-CH₃CO] (32); 181 [A₁-H] (5); 153 [B₂-CH₃] (4).

RMN ¹H: Ver tabla 3

RMN ¹³C: Ver tabla 4

Ramnomimósido A [37]:

IR $\nu_{\text{máx}}$ cm^{-1} (película): 3397, 2930, 2871, 1647, 1621, 1454, 1384, 1220, 1130, 1055, 980.

EMIE 70 eV, m/z (% int. rel.): 436 [$\text{M}^+ \text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{O}_5$] (3); 289 [$\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{O}^+$] (100); 272 [$\text{C}_{20}\text{H}_{32}^+$] (73); 257 [$\text{C}_{19}\text{H}_{29}^+$] (42); 147 [$\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_4^+$] (37).

RMN ^1H : Ver tabla 5

RMN ^{13}C : Ver tabla 6

Ramnomimósido B [38]:

IR $\nu_{\text{máx}}$ cm^{-1} (CHCl_3): 3404, 2930, 2872, 1661, 1604, 1457, 1383, 1338, 1126, 1067, 1051, 981, 910.

EMIE 70 eV, m/z (% int. rel.): 436 [$\text{M}^+ \text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{O}_5$] (4); 289 [$\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{O}^+$] (15); 204 [$\text{C}_{15}\text{H}_{24}^+$] (100).

RMN ^1H : Ver tabla 5

RMN ^{13}C : Ver tabla 6

Ramnomimósido C [39]:

IR $\nu_{\text{máx}}$ cm^{-1} (película): 3430, 2928, 2868, 2849, 1741, 1644, 1454, 1373, 1238, 1131, 1058, 979, 887, 838, 804.

EMIE 70 eV, m/z (% int. rel.): 478 [$\text{M}^+ \text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_6$] (1); 289 [$\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{O}^+$] (24); 272 [$\text{C}_{20}\text{H}_{32}^+$] (27); 257 [$\text{C}_{19}\text{H}_{29}^+$] (22); 189 [$\text{C}_8\text{H}_{13}\text{O}_5^+$] (100); 171 [$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}_4^+$] (88); 43 [CH_3CO^+] (42).

RMN ^1H : Ver tabla 5

RMN ^{13}C : Ver tabla 6

Ramnomimósido D [40]:

IR $\nu_{\text{máx}}$ cm^{-1} (CHCl_3): 3586, 3435, 2930, 2871, 2850, 1738, 1666, 1604, 1456, 1375, 1128, 1056, 979, 909, 887..

EMIE 70 eV, m/z (% int. rel.): 478 [$\text{M}^+ \text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_6$] (1); 289 [$\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{O}^+$] (12); 204 [$\text{C}_{15}\text{H}_{24}^+$] (100); 43 [CH_3CO^+] (55).

RMN ^1H : Ver tabla 5

RMN ^{13}C : Ver tabla 6

Ramnomimósido E [41]:

IR $\nu_{\text{máx}}$ cm^{-1} (película): 3436, 2929, 2868, 2849, 1723, 1671, 1645, 1456, 1372, 1243, 1129, 1054, 983, 888, 756.

EMIE 70 eV, m/z (% int. rel.): 478 [$\text{M}^+ \text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_6$] (1); 289 [$\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{O}^+$] (34); 272 [$\text{C}_{20}\text{H}_{32}^+$] (34); 257 [$\text{C}_{19}\text{H}_{29}^+$] (24); 189 [$\text{C}_8\text{H}_{13}\text{O}_5^+$] (100); 171 [$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}_4^+$] (24); 43 [CH_3CO^+] (44).

RMN ^1H : Ver tabla 5

RMN ^{13}C : Ver tabla 6

Ramnomimósido F [42]:

IR $\nu_{\text{máx}}$ cm^{-1} (película): 3430, 2930, 2871, 1720, 1648, 1454, 1373, 1248, 1127, 1054, 982, 887, 838, 806, 756, 667..

EMIE 70 eV, m/z (% int. rel.): 436 [$\text{M}^+ \text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{O}_5$] (1); 289 [$\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{O}^+$] (13); 204 [$\text{C}_{15}\text{H}_{24}^+$] (100); 43 [CH_3CO^+] (65).

RMN ^1H : Ver tabla 5

RMN ^{13}C : Ver tabla 6

Alcanfor sulfonato de la 5,7,4'-trihidroxi-6-metoxiflavanona [35a]:

En un matr az de bola de 50 ml provisto de agitación se colocaron 25 mg (0.0827 mmol) del compuesto **35**, 62.08 mg (0.2483 mmol) del cloruro de (1S)-(+)-alcanforsulfonilo y 1 ml de piridina. Se dejó reaccionar por 1 hr. a temperatura ambiente, posteriormente se agregó hielo y se extrajo dos veces con AcOEt. La fase orgánica se lavó con HCl al 5%, después con agua para eliminar el exceso de  cido. Posteriormente se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ y nuevamente con agua para eliminar el exceso de base, se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad. Se obtuvieron 48 mg del dialcanforsulfonato **35a** (79.43 % rend.).

EMIE 70 eV, *m/z* (% int. rel.): 730 [M⁺ C₃₆H₄₀O₁₂S₂] (1); 515 [C₂₆H₂₇O₉S⁺] (10); 215 [C₁₀H₁₅O₃S⁺] (8), 136 [C₉H₁₂O⁺] (63).

RMN ¹H: Ver tabla 1

RMN ¹³C: Ver tabla 2

Alcanfor sulfonato de la 5,7-dihidroxi-2-(3-hidroxi-4-metoxifenoxi)-6-metoxicromona [36a]:

En un matr az de bola de 50 ml provisto de agitación se colocaron 15 mg (0.0433 mmol) del compuesto **36**, 32.51 mg (0.1300 mmol) del cloruro de (1S)-(+)-alcanforsulfonilo y 1 ml de piridina. Se dejó reaccionar por 1 hr. a temperatura ambiente, posteriormente se agregó hielo y se extrajo dos veces con AcOEt. La fase orgánica se lavó con HCl al 5%, después con agua para eliminar el exceso de  cido. Posteriormente se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ y nuevamente con agua para eliminar el exceso de base, se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad. Se obtuvieron 29 mg del compuesto **36a** como un aceite amarillo (86.42% rend.).

IR $\nu_{\text{máx}}$ cm^{-1} (película): 3345, 2958, 2921, 1746, 1647, 1620, 1572, 1504, 1454, 1417, 1369, 1287, 1264, 1232, 1216, 1178, 1150, 1107, 1066, 1020, 979.

EMIE 70 eV, m/z (% int. rel.): 774 [$\text{M}^+ \text{C}_{37}\text{H}_{42}\text{O}_{14}\text{S}_2$] (22); 560 [$\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{O}_{11}\text{S}^+$] (100); 346 [$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_8^+$] (62); 331 [$\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{O}_8^+$] (18); 215 [$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}_3\text{S}^+$] (76); 151 [$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}^+$] (89).

RMN ^1H : Ver tabla 3

RMN ^{13}C : Ver tabla 4

6) BIBLIOGRAFIA

- 1) *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana*, Instituto Nacional Indigenista, Vol. III, México, 1994, 1327-1328.
- 2) Lara, F. y Márquez, C.; *Plantas Medicinales de México*; UNAM, México, 1996, 99-101
- 3) Lozoya, X.; Navarro, V.; Arnason, J.T. and Kourany, E.; *Archiv. Invest. Méd. (Méx.)*, **20**, 1989, 87-93.
- 4) Domínguez, X.A. and García, S.; *J. Nat. Prod.*, **52**, 1989, 864-867.
- 5) Lozoya-Meckes, M.; Lozoya, X. and González, J.L.; *Archiv. Invest. Méd. (Méx.)*, **21**, 1990, 163-169.
- 6) Lozoya-Meckes, M.; Lozoya, X.; Marles, R.J. and Arnason, J.T.; *Archiv. Invest. Méd. (Méx.)*, **21**, 1990, 175-177.
- 7) Villarreal, M.L.; Nicasio, P. and Alonso-Cortés, D.; *Archiv. Invest. Méd. (Méx.)*, **22**, 1991, 163-169.
- 8) Mehta, B.K.; Sharma, S.K. and Dubey, A.; *Phytochemistry*, **27**, 1988, 3004-3005.
- 9) Hussain, N.; Modan, M.H.; Shabbir, S.G. and Zaidi, S.A.H.; *J. Nat. Prod.*, **42**, 1979, 525-227.
- 10) Lozoya-Meckes, M.; Lozoya, X.; González, J.L. and Martínez, M.; *Archiv. Invest. Méd. (Méx.)*, **21**, 1990, 171-174.
- 11) Smith, T.A.; *Phytochemistry*, **16**, 1977, 171-175.
- 12) Gupta, M.P. and Arias, T.D.; *J. Nat. Products*, **42**, 1979, 234-236
- 13) Jiang, Y.; Massiot, G.; Lavaud, C.; Teulon, J.M.; Guechot, C.; Haag-Berrurier, M. and Anton, R.; *Phytochemistry*, **30**, 1991, 2357-2360.
- 14) Jiang, Y.; Haag-Berrurier, M. and Anton, R.; *J. Nat. Prod.*, **54**, 1991, 1247-1253.
- 15) Jiang, Y.; Beck, J.P.; Italiano, L.; Haag, M. and Anton, R.; *Planta Med.*, **57**, Supplement Issue 2, 1991, A-38.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA.

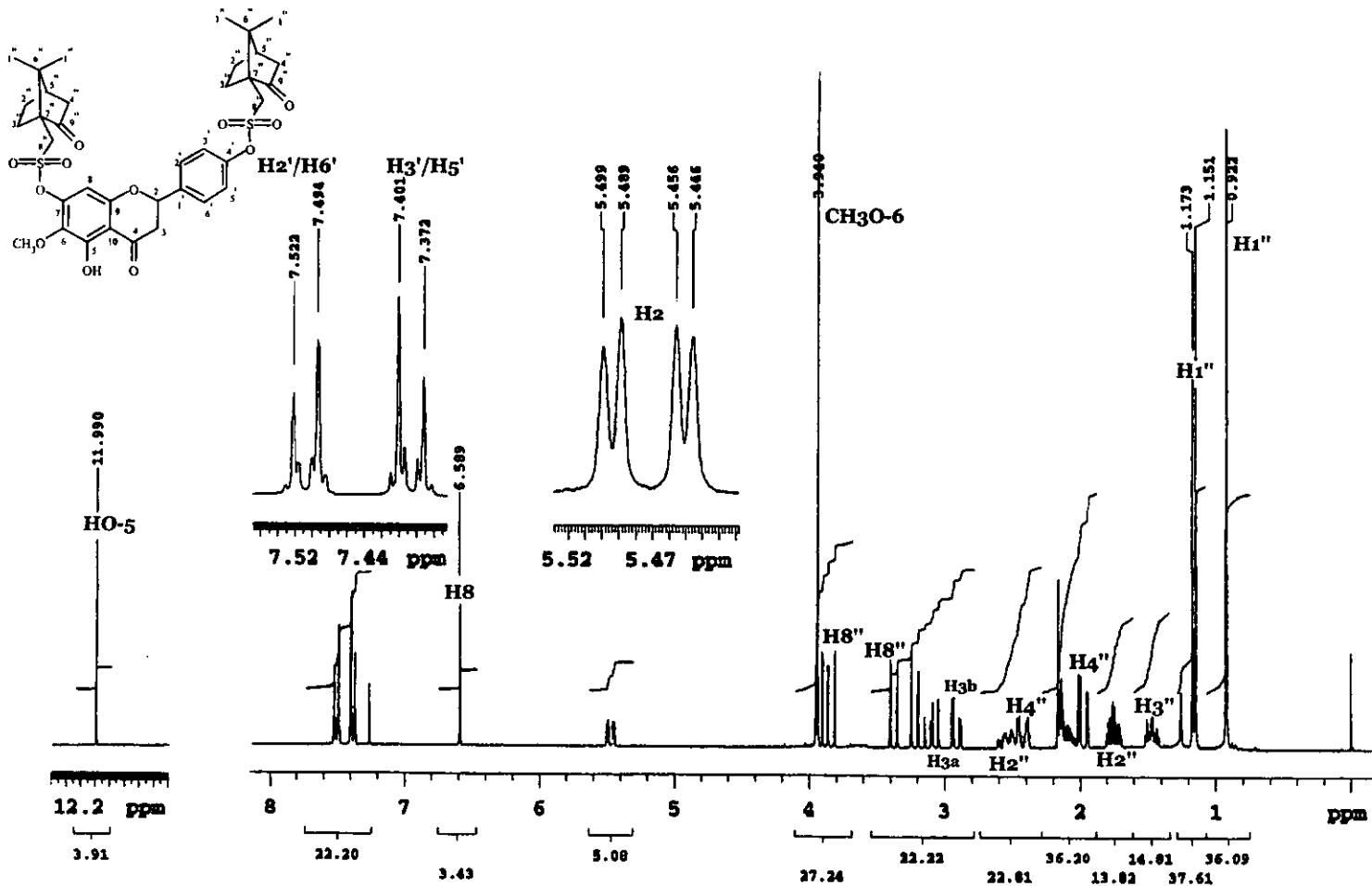
- 16) Jiang, Y.; Weniger, B.; Massiot, G.; Lavaud, C. and Anton, R.; *Planta Med.*, **57**, Supplement Issue 2, 1991, A-38/A-39.
- 17) Jain, R. and Arora, R.; *Ind. J. Chem.*; **36B**, 1997, 61-64.
- 18) Englert, J.; Weniger, B.; Lobstein, A. and Anton, R.; *J. Nat. Prod.*, **58**, 1995, 1265-1269.
- 19) Fukuyama, Y.; Yokoyama, R.; Ohsaki, A.; Takahashi, H. and Minami, H.; *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 1999, 454-455.
- 20) Agrawal, P. K.; *Carbon-13 NMR of flavonoids*, Elsevier, Amsterdam, 1989, a) 1-20, b) 105-166, c) 76-80.
- 21) Harbone, J.B.; Boulter, D. and Turner, B.L.; *Chemotaxonomy of the leguminosae*, Academic Press, London, 1971, a) 31-33; b) 263.
- 22) Hegnauer, R. and Grayer-Barkmeijer, R.J.; *Phytochemistry*, **34**, 1993, 3-16.
- 23) Harborne, J. B.; *The flavonoids advances in research sin 1986*, Chapman and Hall, London, 1994, a) 619-638; b) 330; c) 500-502
- 24) Geissman, T.A.; *The Chemistry of flavonoids compounds*; McMillan Company New York, 1962, 546-549.
- 25) Knaggs, A. R.; *Nat. Prod. Rep.*, **17**, 2000, 269-292.
- 26) Hashidoko, Y.; *Phytochemistry*, **43**, 1996, 535-549.
- 27) Huang, Y.; Ou, J. and Chen, C.; *J. Nat. Prod.*, **56**, 1993, 275-278.
- 28) Komiya, T.; Tsukui, M. and Oshio, H.; *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 1975, 1387-1388.
- 29) Komiya, T.; Tsukui, M. and Oshio, H.; *Chem. Abstr.*, **86**, 1977, 86:89536a.
- 30) Saengchantara, S. T. and Wallace, T. W.; *Nat. Prod. Rep.*, **3**, 1986, 465-475.
- 31) Okutani, T.; Kawakita, K.; Aki, O. and Morita, K.; *Heterocycles*, **10**, 1977, 1581-1586.
- 32) Komiya, T.; Naruse, Y. and Oshio, H.; *Chem. Abstr.*, **86**, 1977, 86:55239r.
- 33) Hashidoko, Y.; Tahara, S. and Mizutani, J.; *Phytochemistry*, **30**, 1991, 3837-3838.
- 34) Hashidoko, Y.; Tahara, S. and Mizutani, J.; *Phytochemistry*, **31**, 1992, 2148-2149.
- 35) Dewick, P. M.; *Nat. Prod. Rep.*, **2**, 1985, 503-504.
- 36) Begley, M.; Crombie, L.; London, M. A.; Savin, J. and Whiting, D. A.; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1987, 2775-2780.
- 37) Crombie, L.; *Nat. Prod. Rep.*, 1984, 3-19.

- 38) Mann, J.; Davidson, R. S.; Hobbs, J. B.; Banthorpe, D. V. and Harbone, J. B.; *Natural Products*, Longman, 1994, 289-330.
- 39) Dev, S. and Misra, R.; *Handbook of terpenoids*, Vol. II, C.R.C. Press, New York, 1985, 7-26.
- 40) Prestwich, D.G.; Tanis, S.P.; Springer, P.J. and Clardy, J.; *J. Am. Chem. Soc.*; **98**, 1976, 6061-6062.
- 41) Birch, A.J.; Brown, W.V.; Corrie, E.T. and Moore, B.P.; *J.C.S. Perkin I*; 1972, 2653-2657.
- 42) Sheuer, P.J.; *Marine Natural Products, Chemical and Biological Perspectives*, Vol.II, Academic Press, New York, 1978, 353-365.
- 43) Chinou, I.; Demetzos, C.; Harvala, C.; Roussakis, C. and Verbist, J. F.; *Planta Med.*, **60**, 1994, 34-36.
- 44) Kimbu, S. F.; Ngadjui, B. and Sondengam, L. B.; *J. Nat. Products*, **50**, 1987, 230-231.
- 45) Banthorpe, D.; Brown, J. T. and Morris, G. S.; *Phytochemistry*, **29**, 1990, 2145-2148
- 46) Singh, M.; Pal, M. and Sharma, P.; *Planta Med.*, **65**, 1999, 2-8.
- 47) Fullas, F.; Hussain, R. A.; Bordas, E. and Pezzuto, J. M.; *Tetrahedron*, **47**, 1991, 8515-8522.
- 48) Dewick, P. M.; *Nat. Prod. Rep.*, **14**, 1997, 111-143.
- 49) Grayson, D.H.; *Nat. Prod. Rep.*, **17**, 2000, 385-419.
- 50) Nabeta, K.; Ishikawa, T. and Okuyama, H.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1995, 3111-3115
- 51) Carman, R.M. and Dufield, A.R.; *Aust. J. Chem.*, **46**, 1993, 1105-1114.
- 52) Barton, B. and Nakanishi, K.; *Comprehensive Natural Products Chemistry*, Vol. II, Elsevier, 1999, 223-225.
- 53) Sachdev, K. and Kulshreshta, D. K.; *Phytochemistry*, **22**, 1983, 1253-1256.
- 54) Barberá, O.; Marco, J. A.; Sanz, J. F. and Sánchez-Parareda, J.; *Phytochemistry*, **25**, 1986, 2357-2360.
- 55) Rodríguez, J.; Tello, H.; Quijano, L.; Calderón, J.; Gómez, F.; Romo, J. y Rios, T.; *Rev. Latinoamer. Quím.*, **5**, 1974, 41-53.
- 56) Melek, F. R.; Ahmed, A. A. and Mabry, T. J.; *Rev. Latinoamer. Quím.*, **16**, 1985, 27.

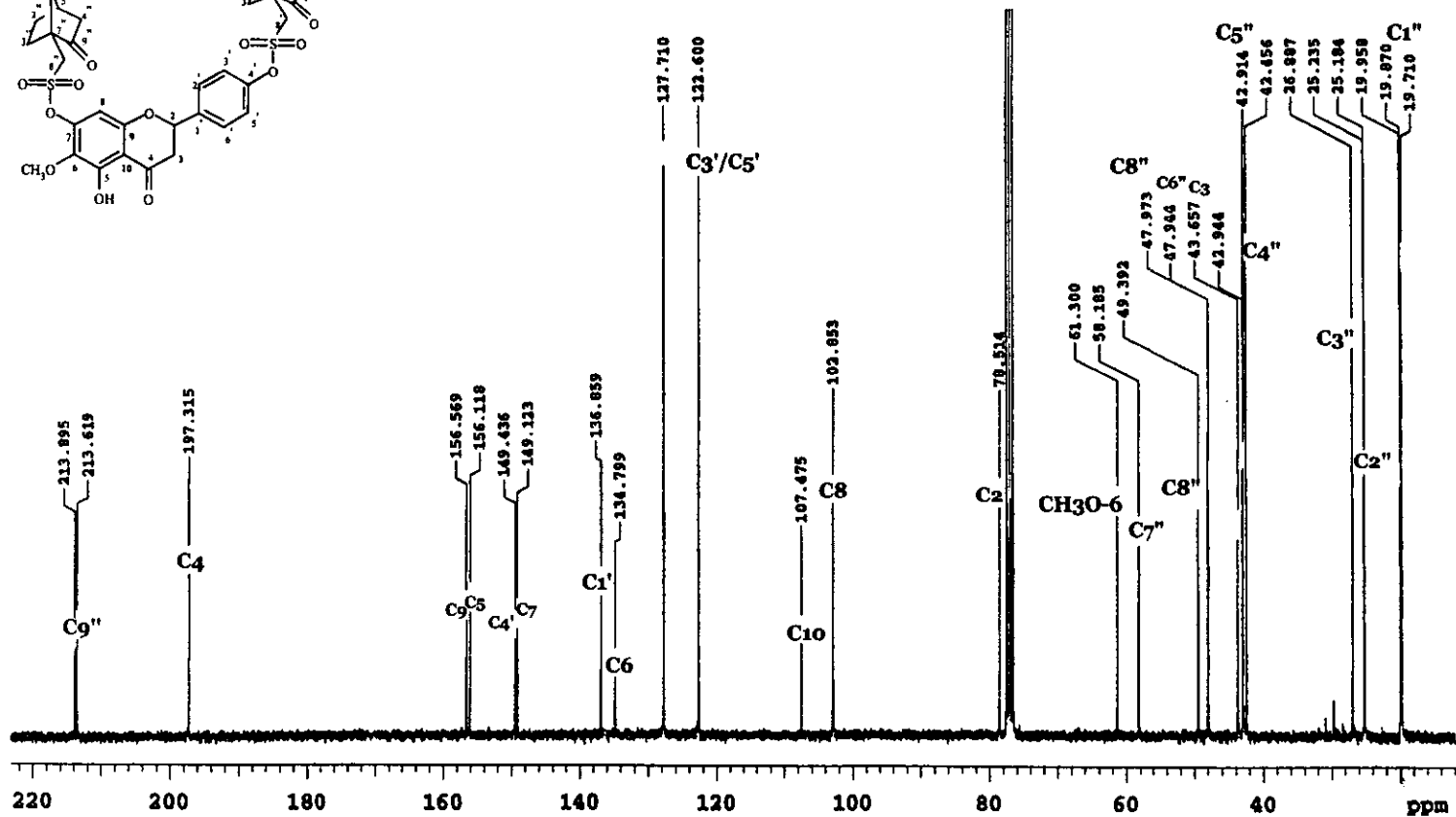
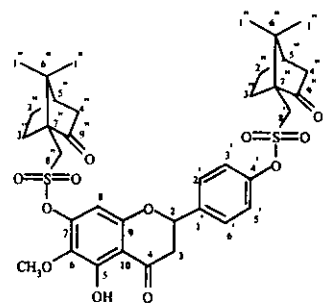
- 56) Melek, F. R.; Ahmed, A. A. and Mabry, T. J.; *Rev. Latinoamer. Quím.*, **16**, 1985, 27.
- 57) Takagi, S.; Yamaki, M. and Inoue, K.; *Chem. Abstr.*, **94**, 1981, 439, 136087g.
- 58) Markham, K.R., *Techniques of Flavonoid Identification*, Academic Press, London, 1982, 9-10.
- 59) Harborne, J.B.; Mabry, T.J. and Mabry, H.; *The flavonoids*, Chapman&Hall, London, 1975, 594-597.
- 60) Sadtler Spectra, *Carbon-13 NMR Spectra*, USA, 1990, 28386C.
- 61) Ohshio, H.; Komiya, T.; Tsukui, M. and Matsuoko, T.; *Chem. Abstr.*, **84**, 1976, 306, 184879g.
- 62) Hidekazu, T. and Masashi, H.; *JCS Chem. Comm.*, 1981, 474-475.
- 63) Atta-ur-Rahman and Viqar Uddin Ahmad; *¹³C-NMR of Natural Products*, Volume 2, Plenum Press, USA, 1992, 34-133.
- 64) De Bruyn A. and Anteunis, M.; *Carbohydr. Res.*, **47**, 1976, 158-163.
- 65) Gorin, P. A. and Mazurek, M.; *Can. J. Chem.*, **53**, 1975, 1212-1223.
- 66) Burger, I.; Burger, B.V.; Albrecht, C.F.; Spies, H.S.C. and Sándor, P.; *Phytochemistry*, **49**, 1998, 2087-2095.
- 67) Ahmad, V.U.; Bano, N.; Fatima, I. and Bano, S.; *Tetrahedron*, **44**, 1988, 247-252.
- 68) Dictionary of Organic Compounds, Fifth edition, Chapman and Hall, Volume five, 4908.
- 69) Kocharova, N.A.; Borisova, S.A.; Zatonsky, G.V.; Shashkov, A.S.; Kholodkova, E.V. and Staniskavsky, E.S.; *Carbohydr. Res.*, **306**, 1998, 331-333.
- 70) McCrindle, R. and Overton, K.H.; *Advan. Org. Chem.*, **5**, 1965, 47.
- 71) Allard, S. and Ourisson, G.; *Tetrahedron*, **1**, 1957, 277-283.
- 72) Definitive Rules for Steroides Nomenclature; *Pure Appl. Chem.*, **31**, 1972, 283-322.
- 73) Garbarino, J. A.; Chamy, M. C. and Gambaro, V.; *Phytochemistry*, **25**, 1986, 2833-2836.
- 74) Susuki, H.; Noma, M. and Kawashima, N.; *Phytochemistry*, **22**, 1983, 1294.
- 75) Imamura, P. M.; Marsaioli, A. J.; Barata, L. E. S. and Ruveda, E. A.; *Phytochemistry*, **16**, 1977, 1842.
- 76) San Feliciano, A.; Medarde, M.; López, J. L.; Del Corral, J. M. M.; Puebla, P. and Barrero, A. F.; *Phytochemistry*, **27**, 1988, 2241.

APENDICE I

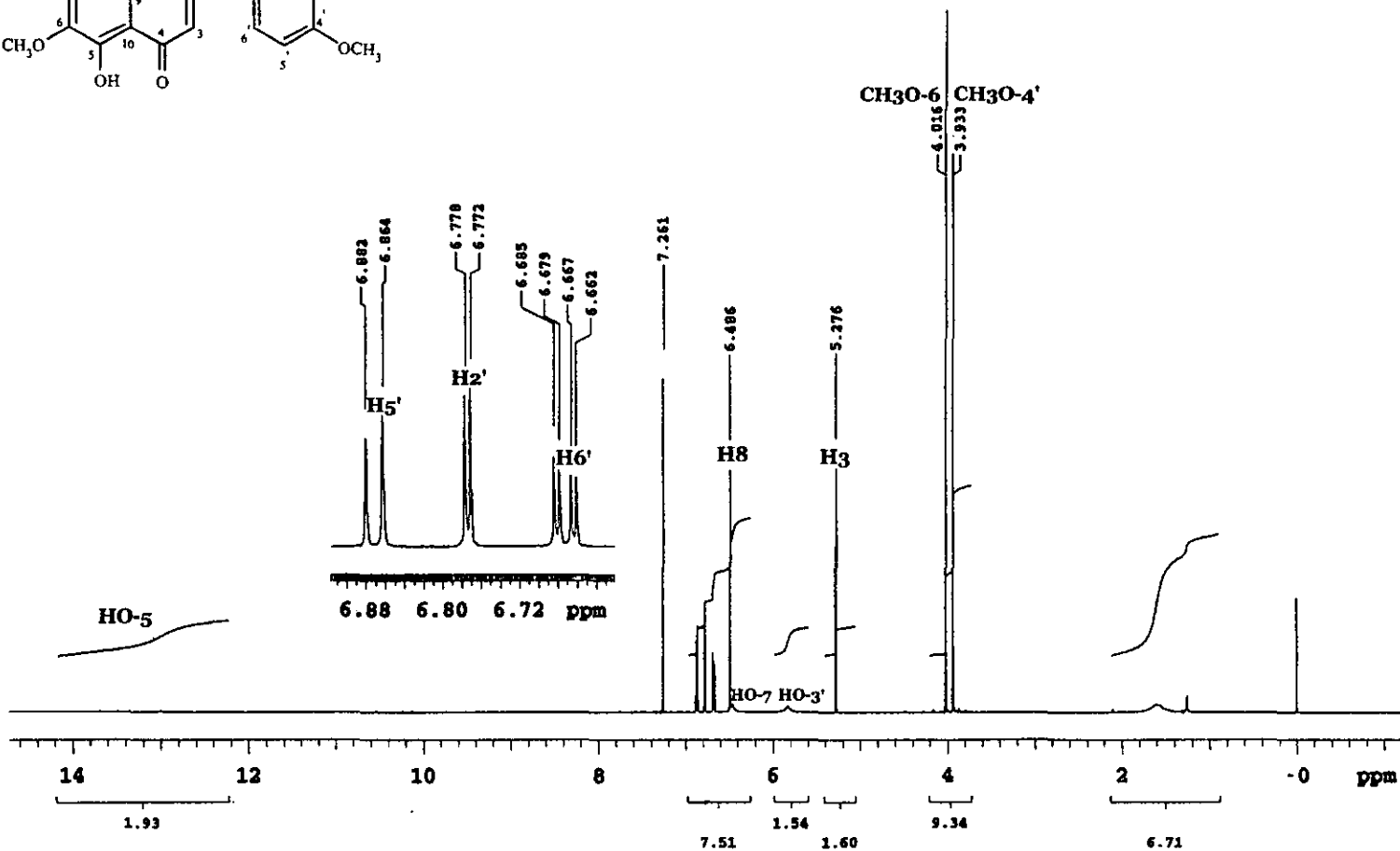
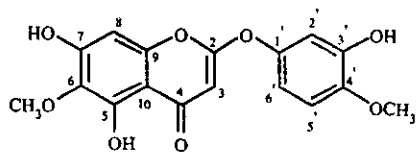
Espectroscopía



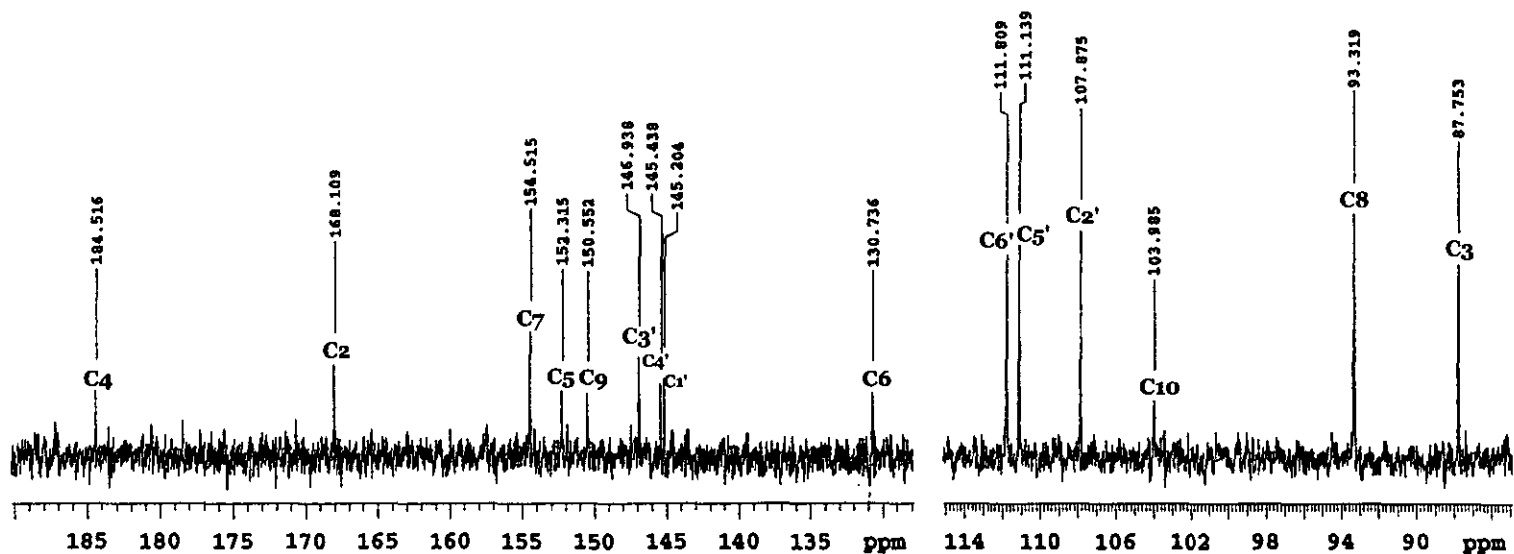
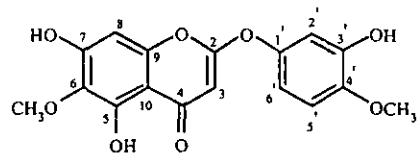
ESPECTRO No. 1 RMN ^1H del compuesto 35a



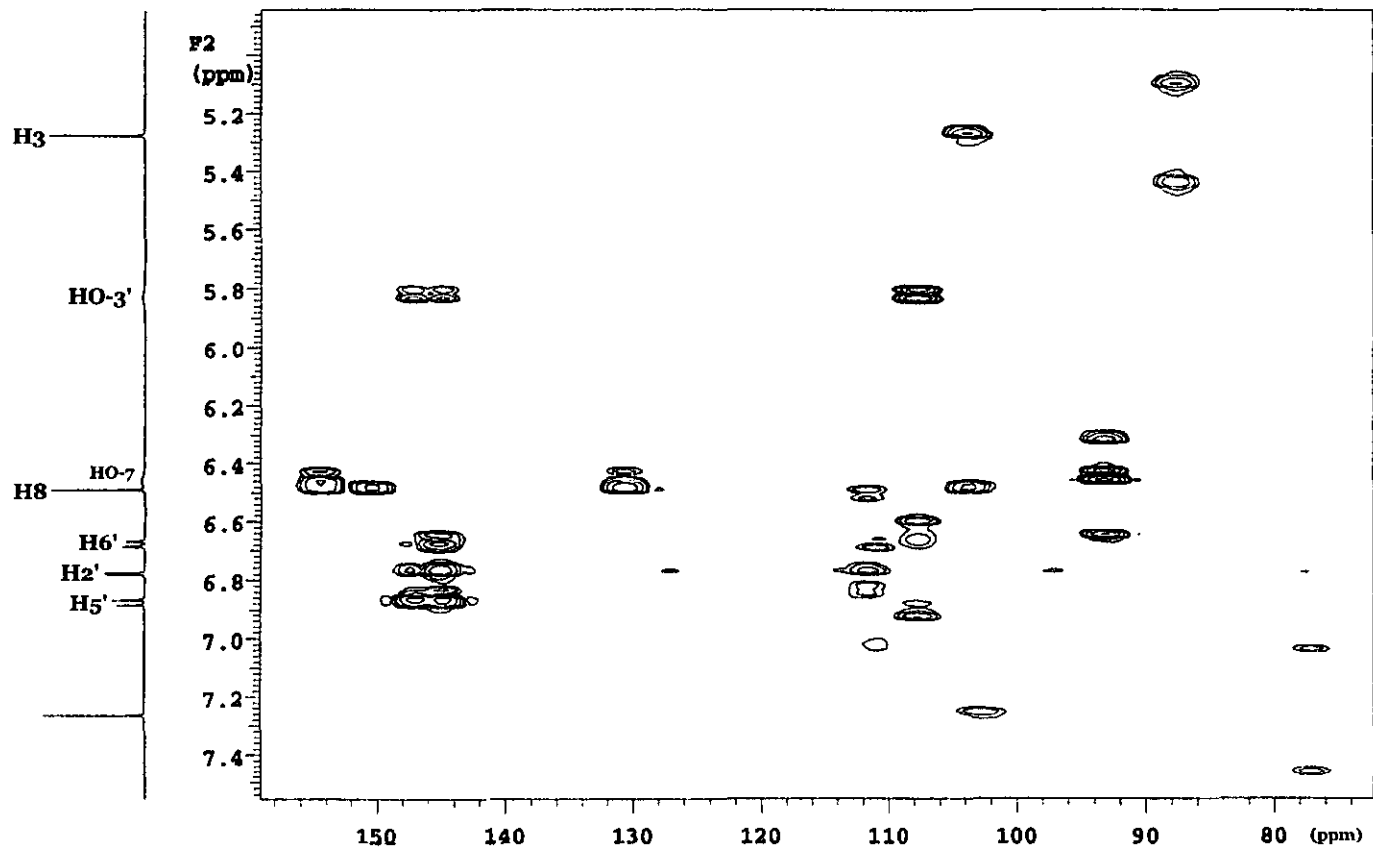
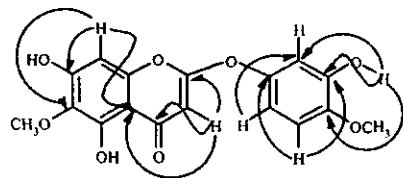
ESPECTRO No. 2 RMN ^{13}C del compuesto 35a



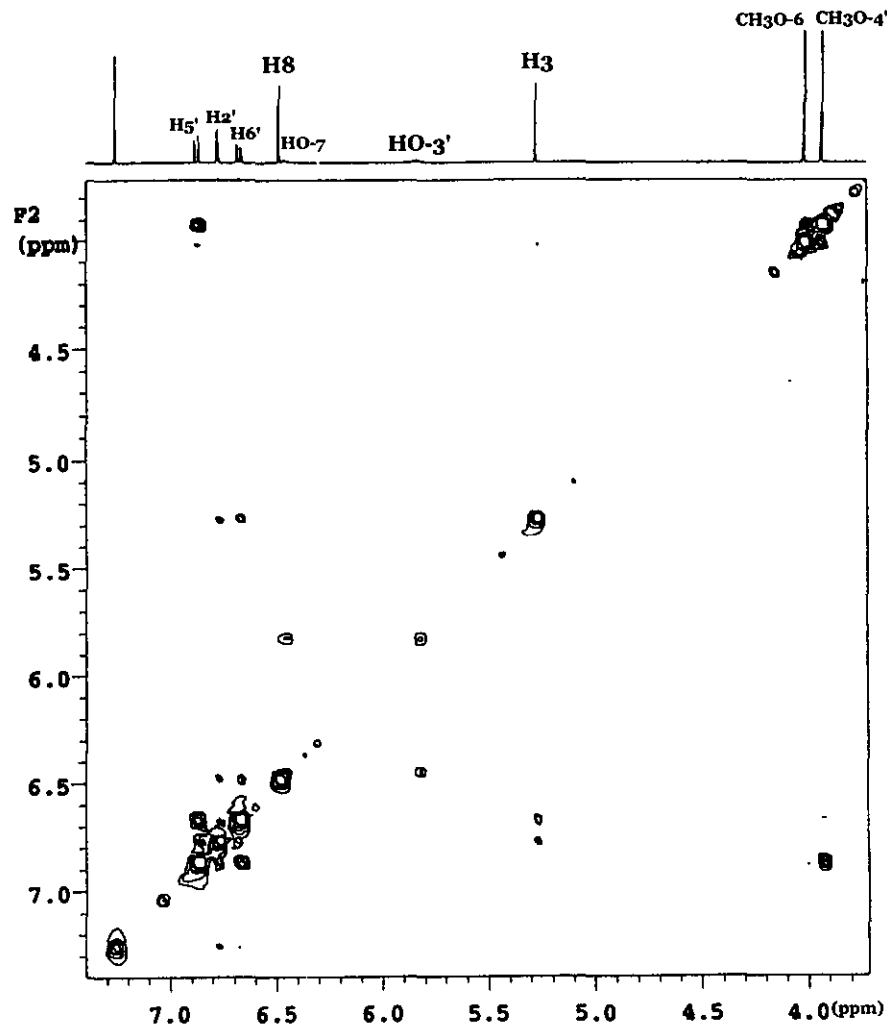
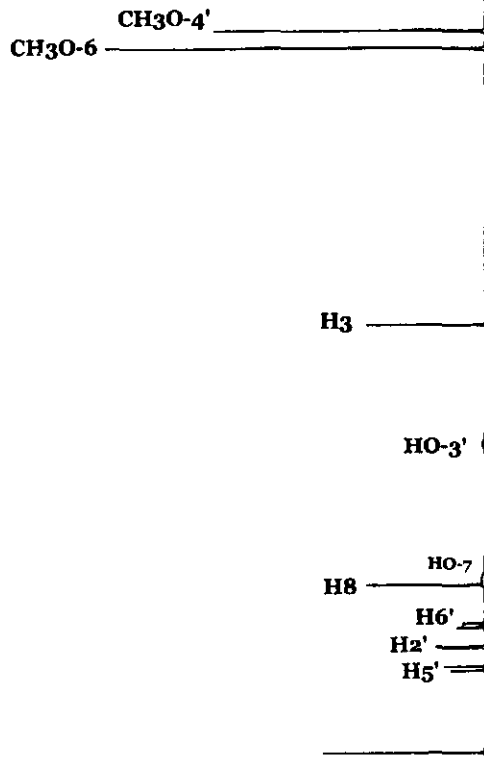
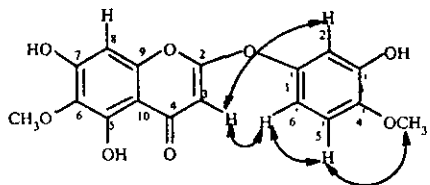
ESPECTRO No. 3 RMN ¹H del compuesto 36



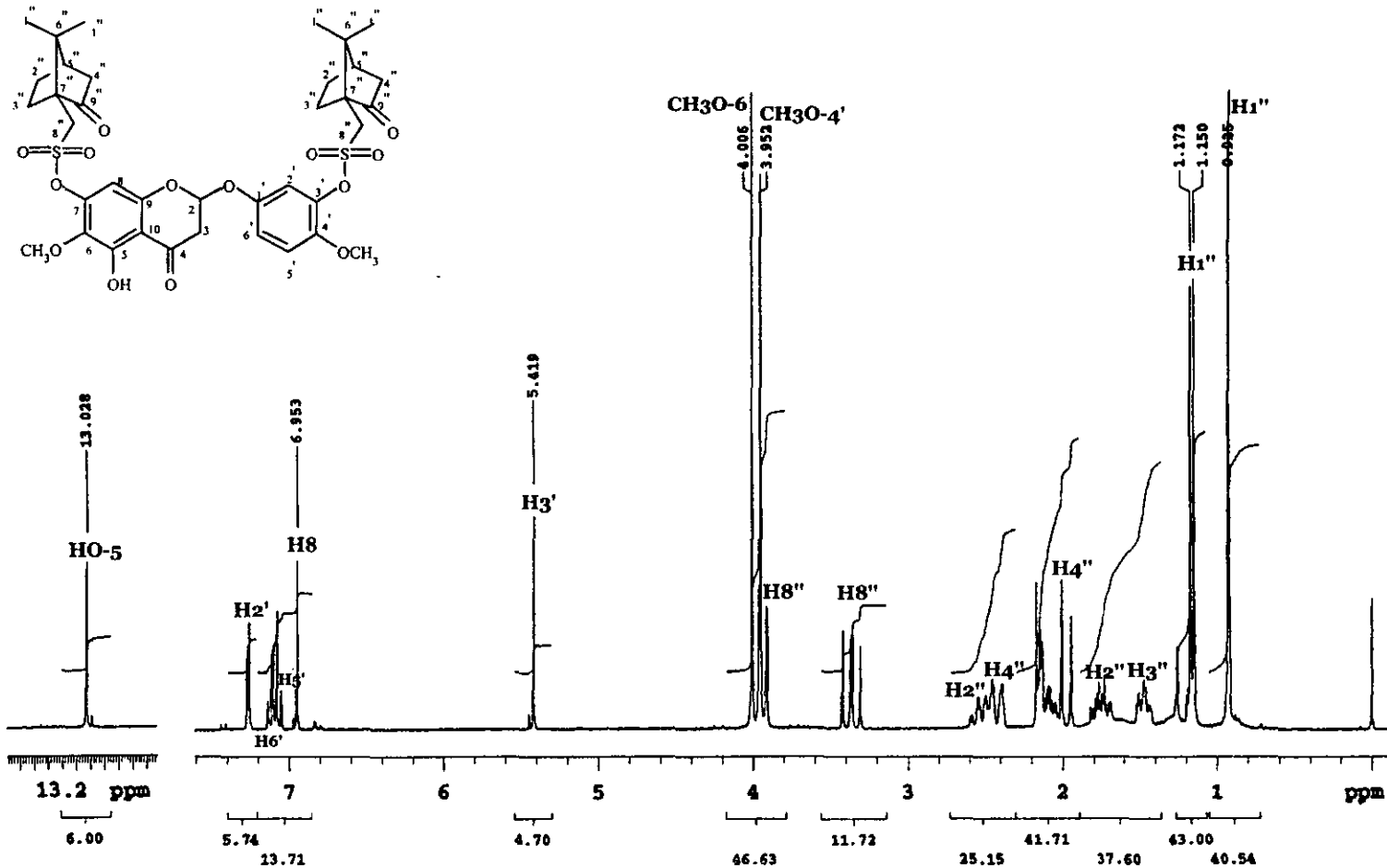
ESPECTRO No. 4 RMN ¹³C del compuesto 36



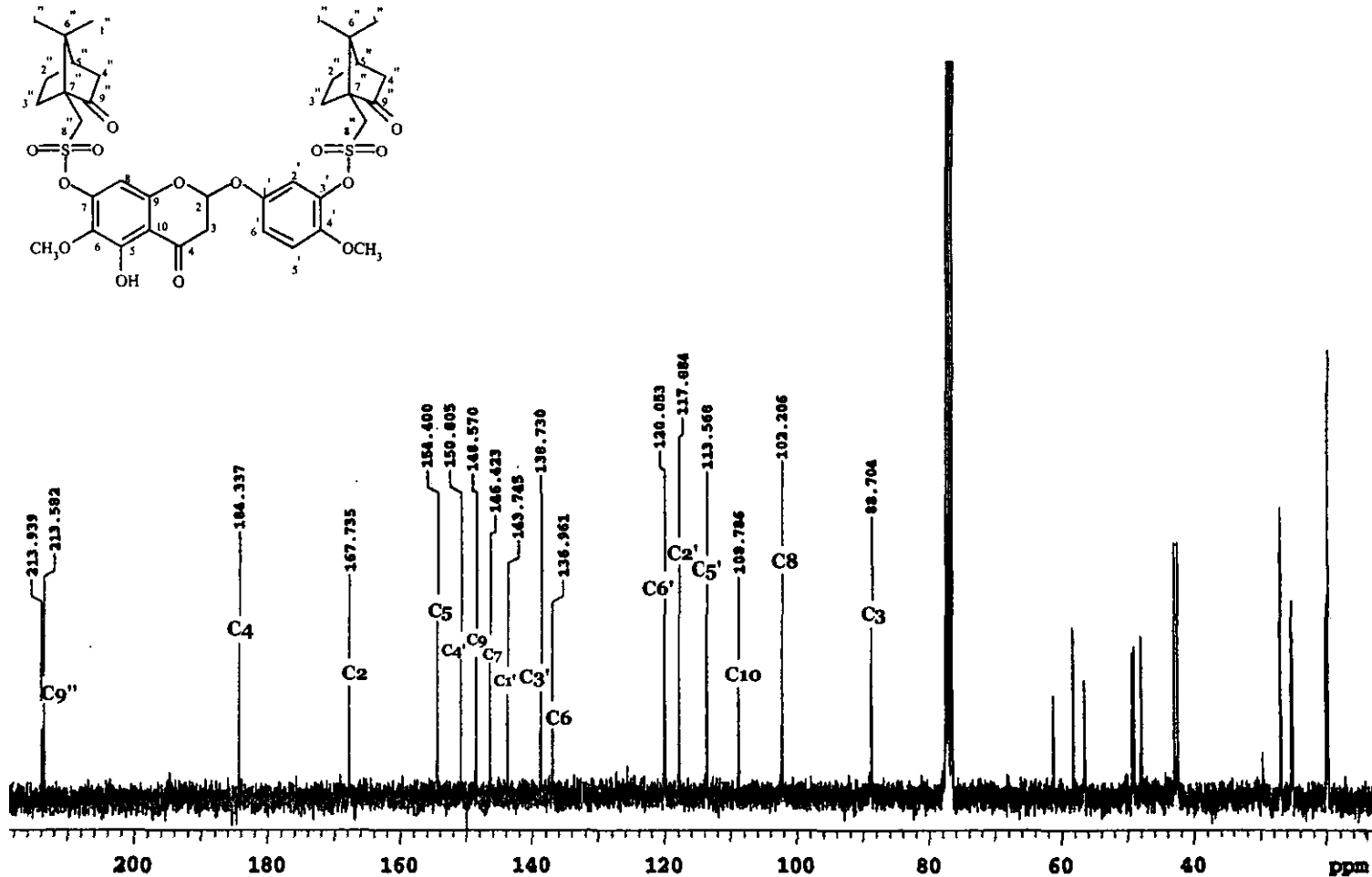
ESPECTRO No. 5 HMBC del compuesto 36



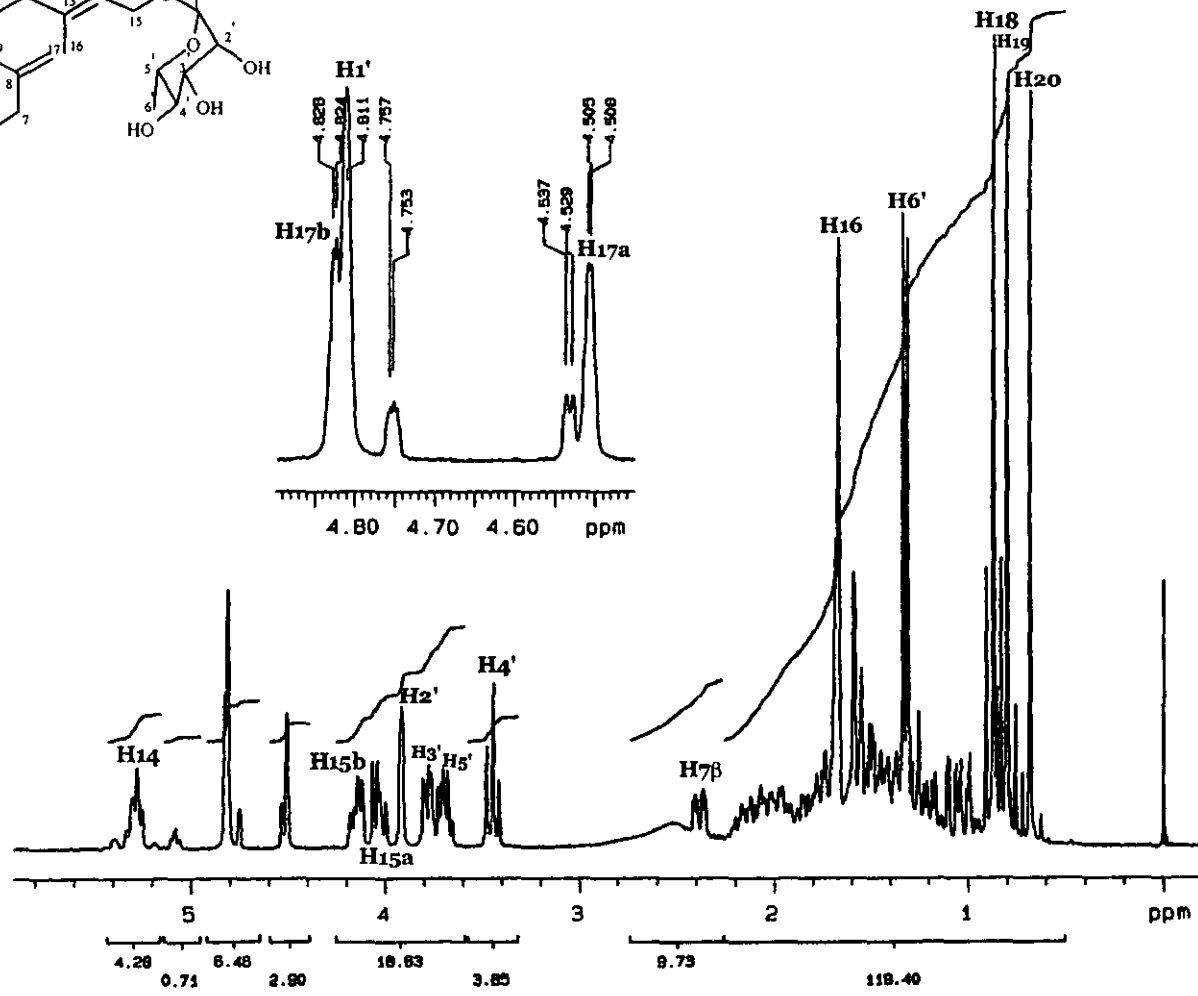
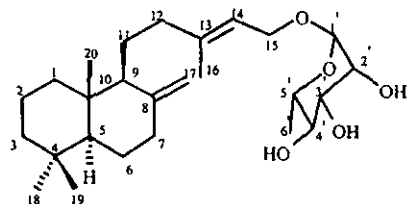
ESPECTRO No. 6 NOESY del compuesto 36



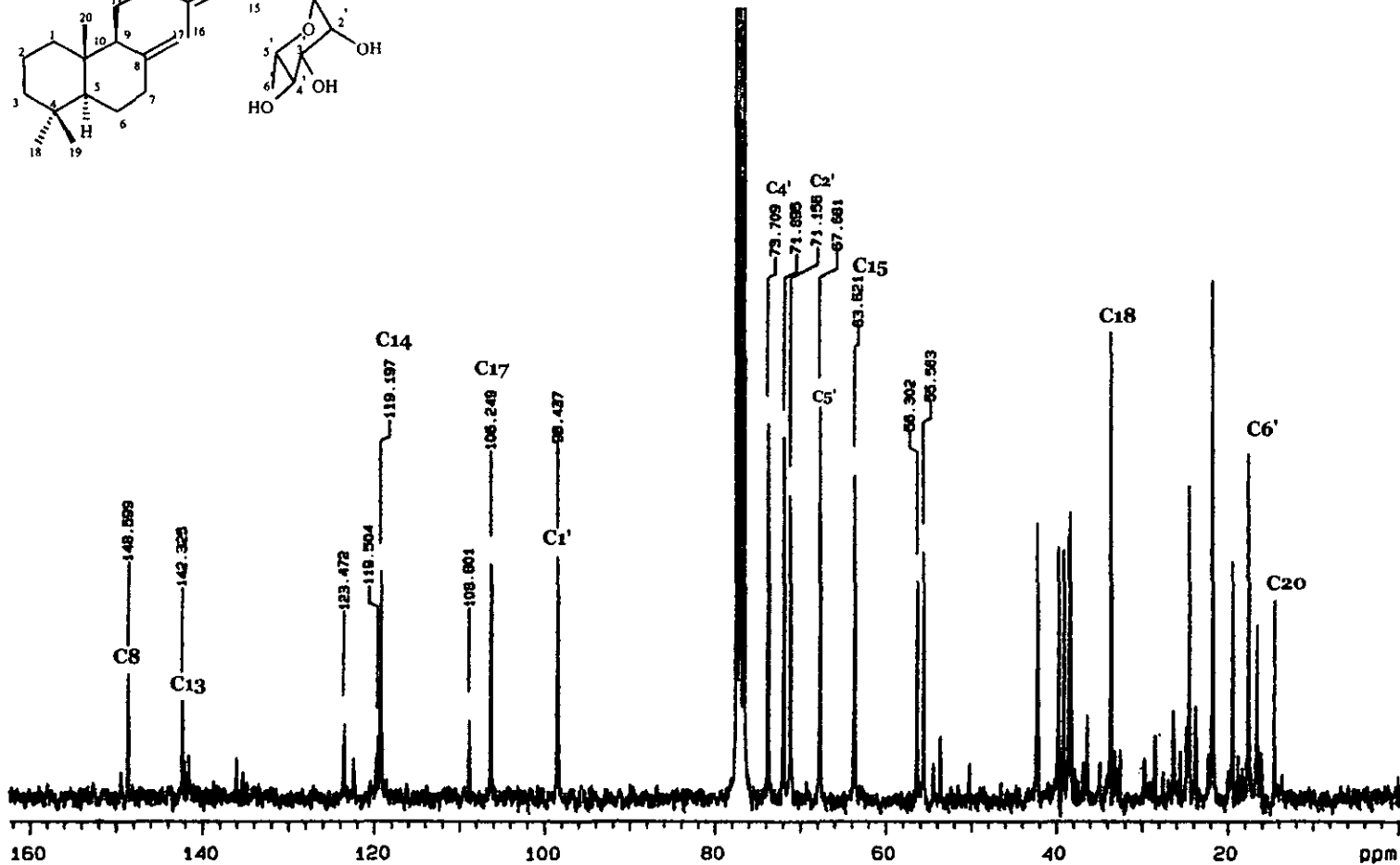
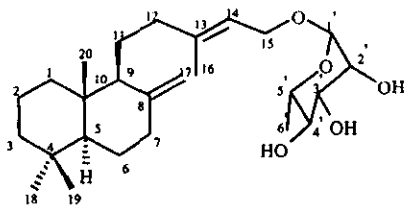
ESPECTRO No. 7 RMN ¹H del compuesto 36a



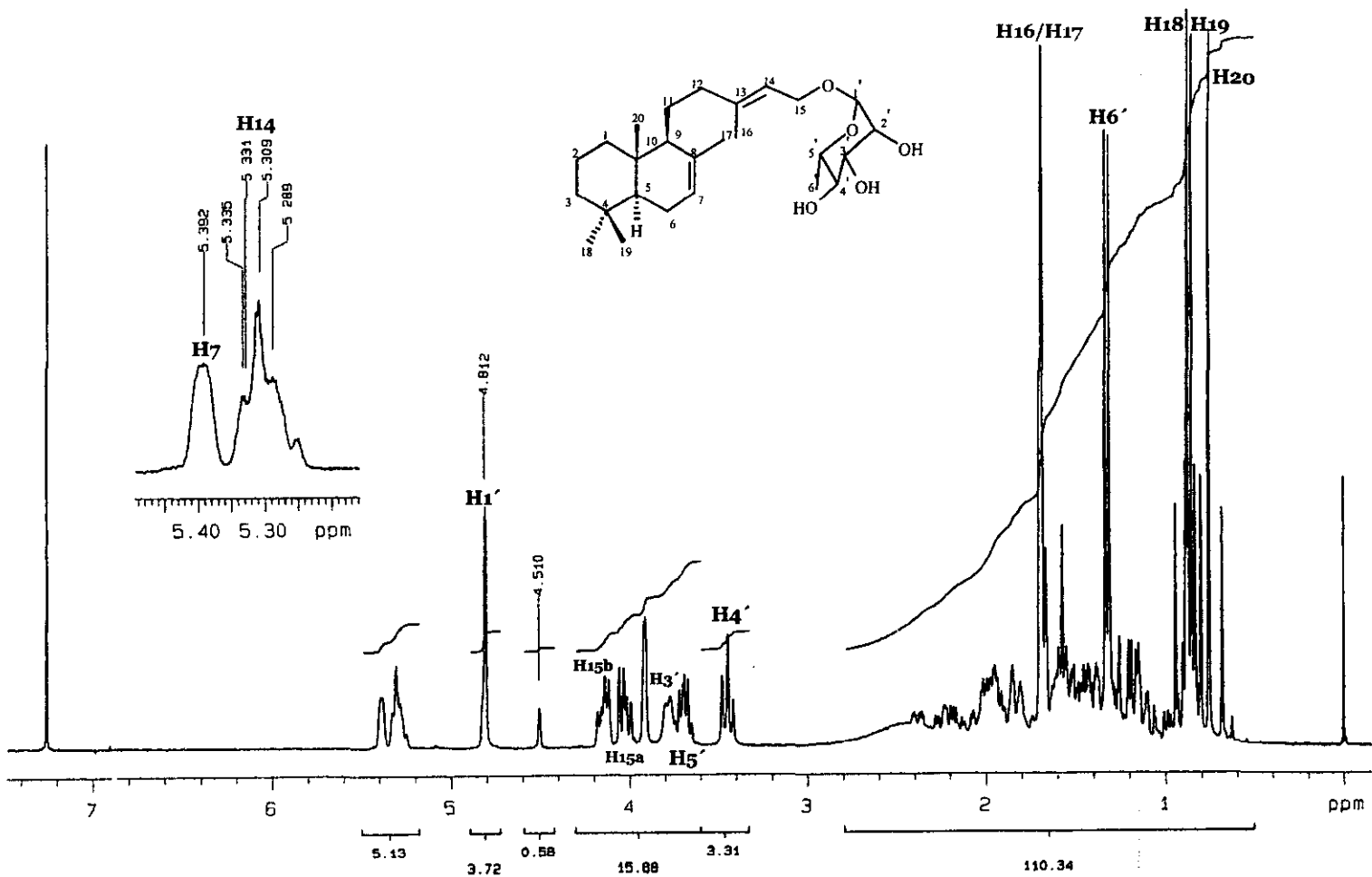
ESPECTRO No. 8 RMN ¹³C del compuesto 36a



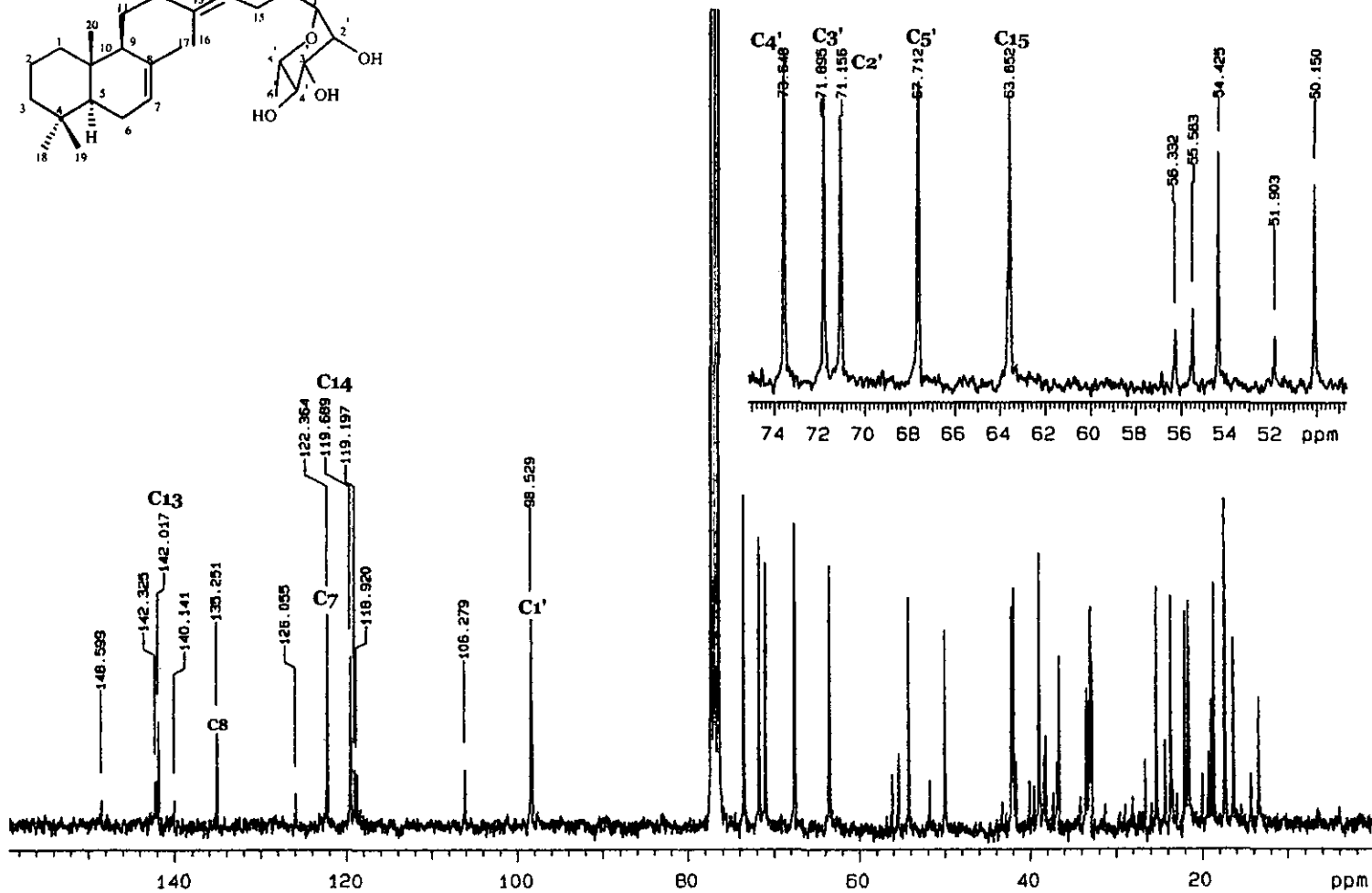
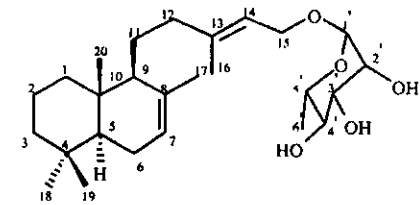
ESPECTRO No. 9 RMN ^1H del compuesto 37



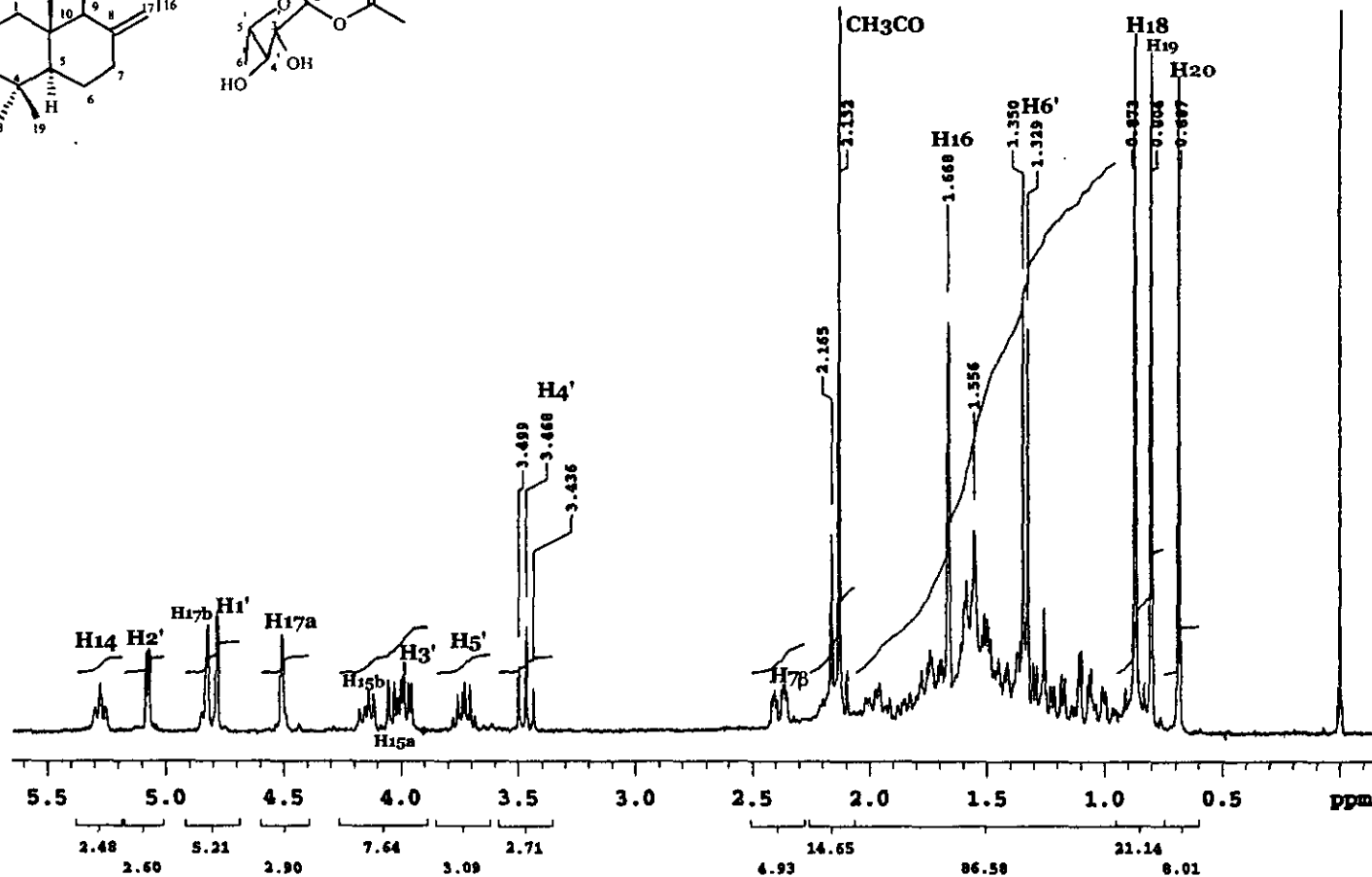
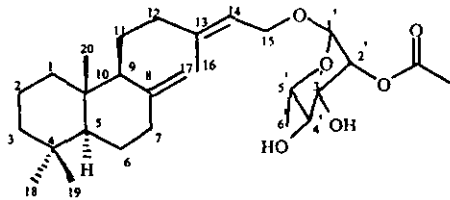
ESPECTRO No. 10 RMN ^{13}C del compuesto 37



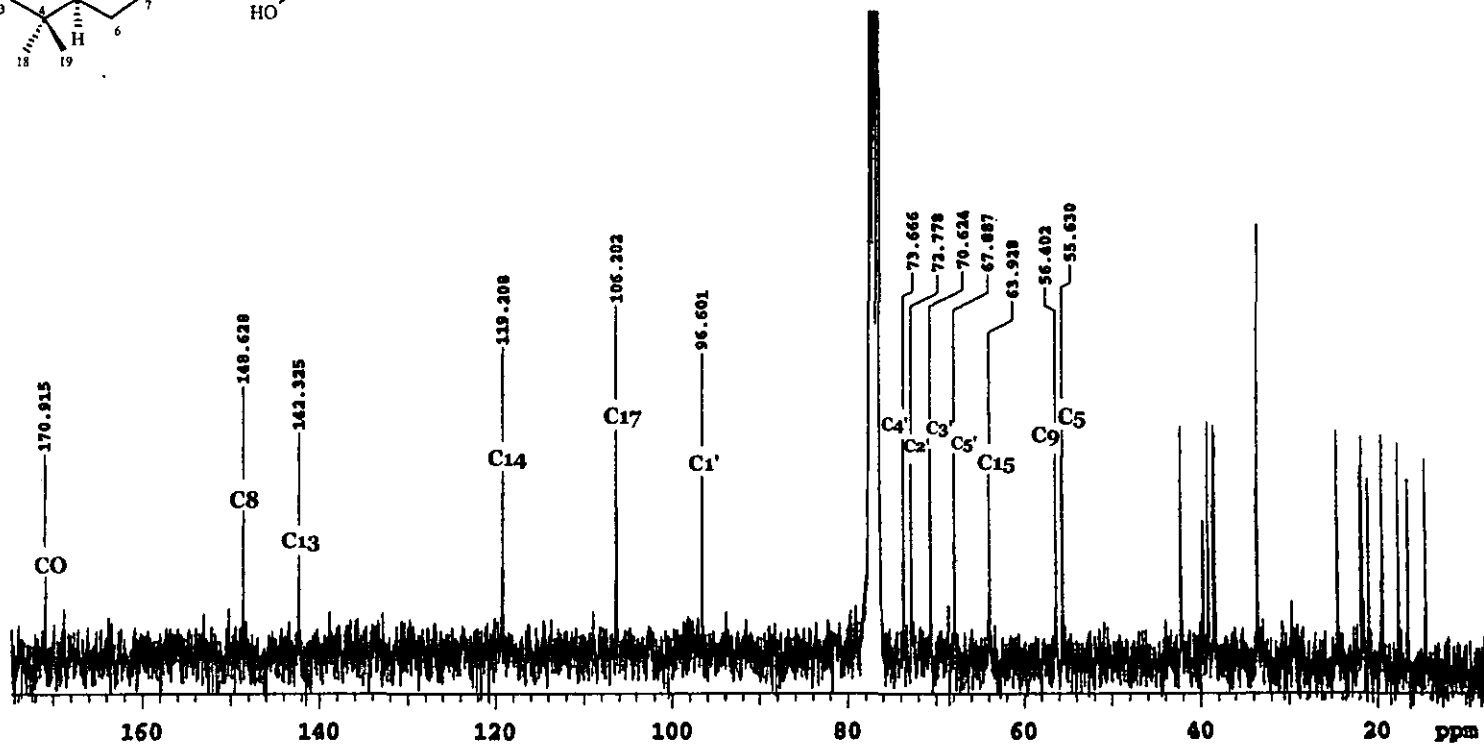
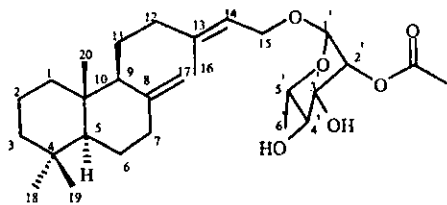
ESPECTRO No. 11 RMN ¹H del compuesto 38



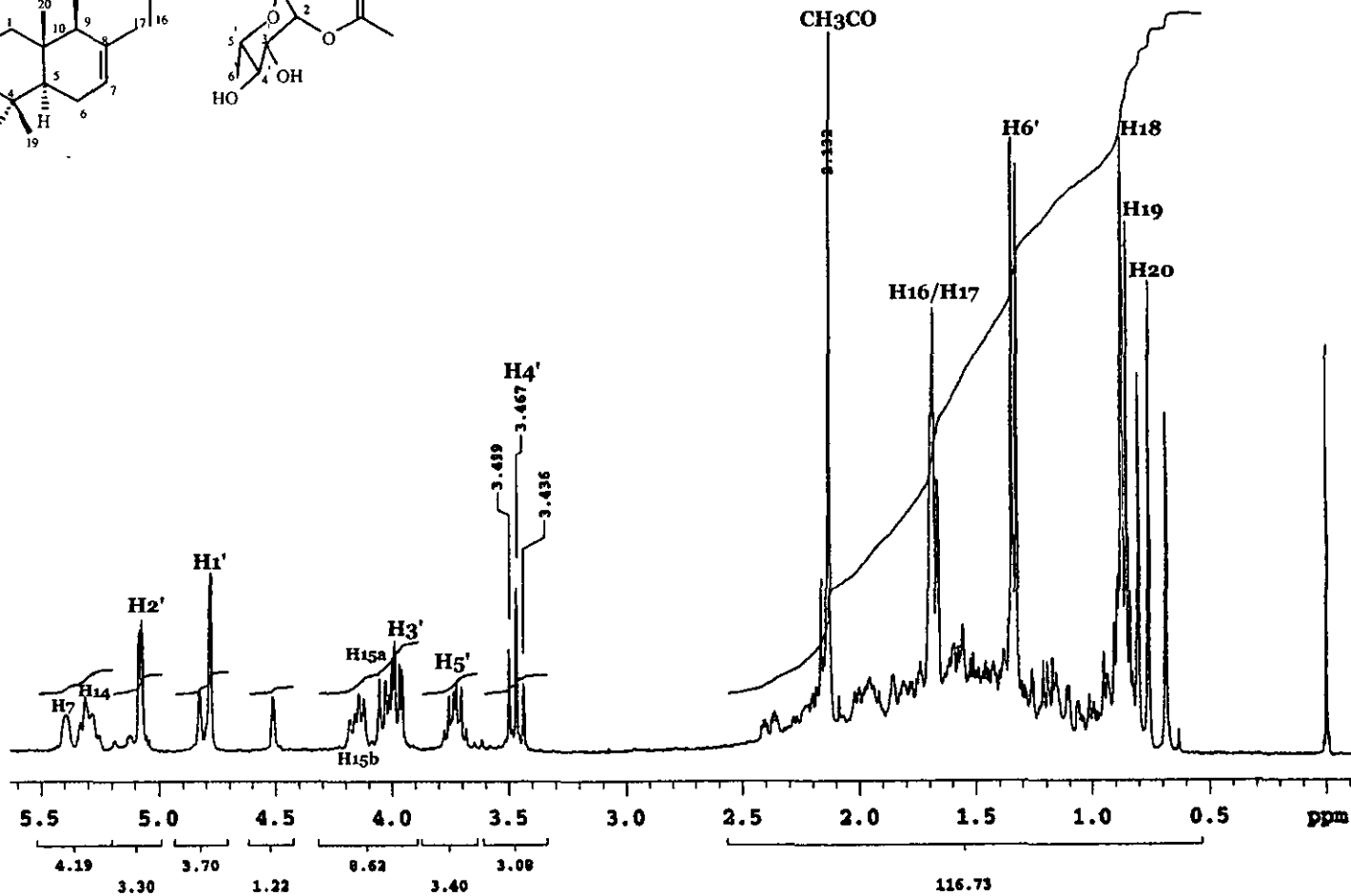
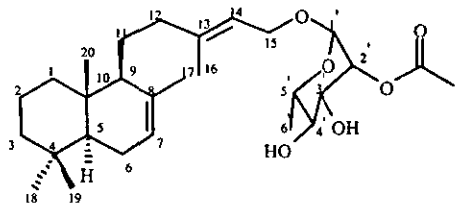
ESPECTRO No. 12 RMN ^{13}C del compuesto 38



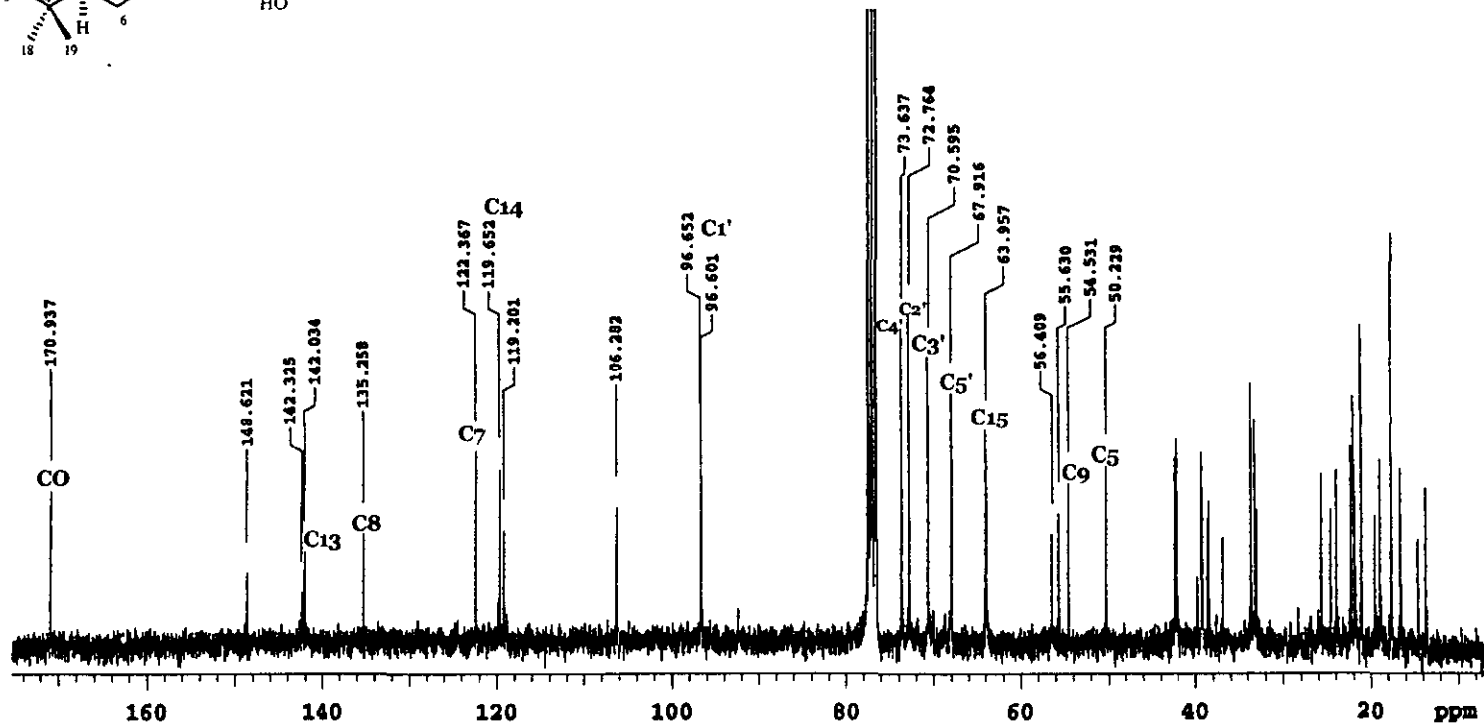
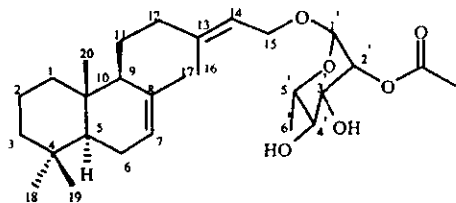
ESPECTRO No. 13 RMN ¹H del compuesto 39



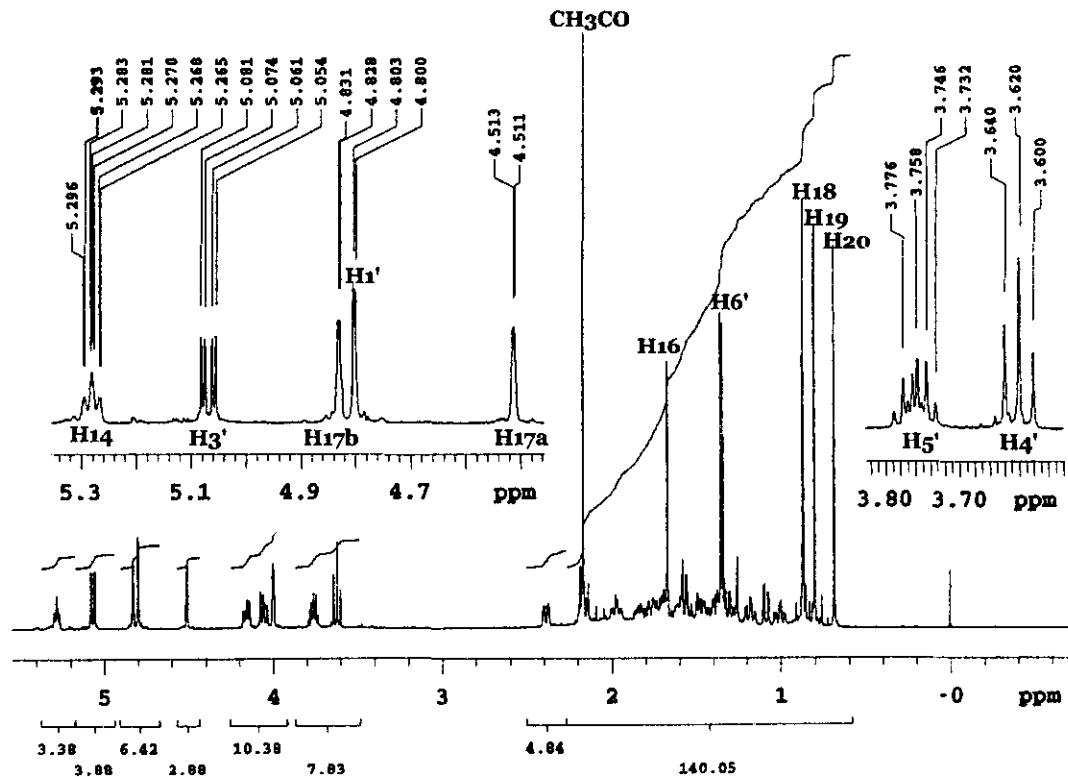
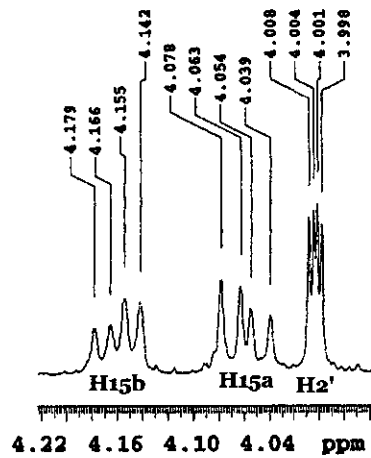
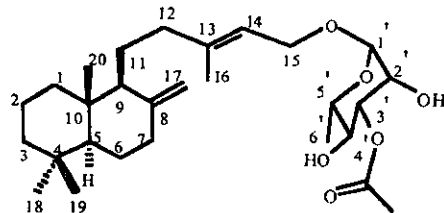
ESPECTRO No. 14 RMN ^{13}C del compuesto 39



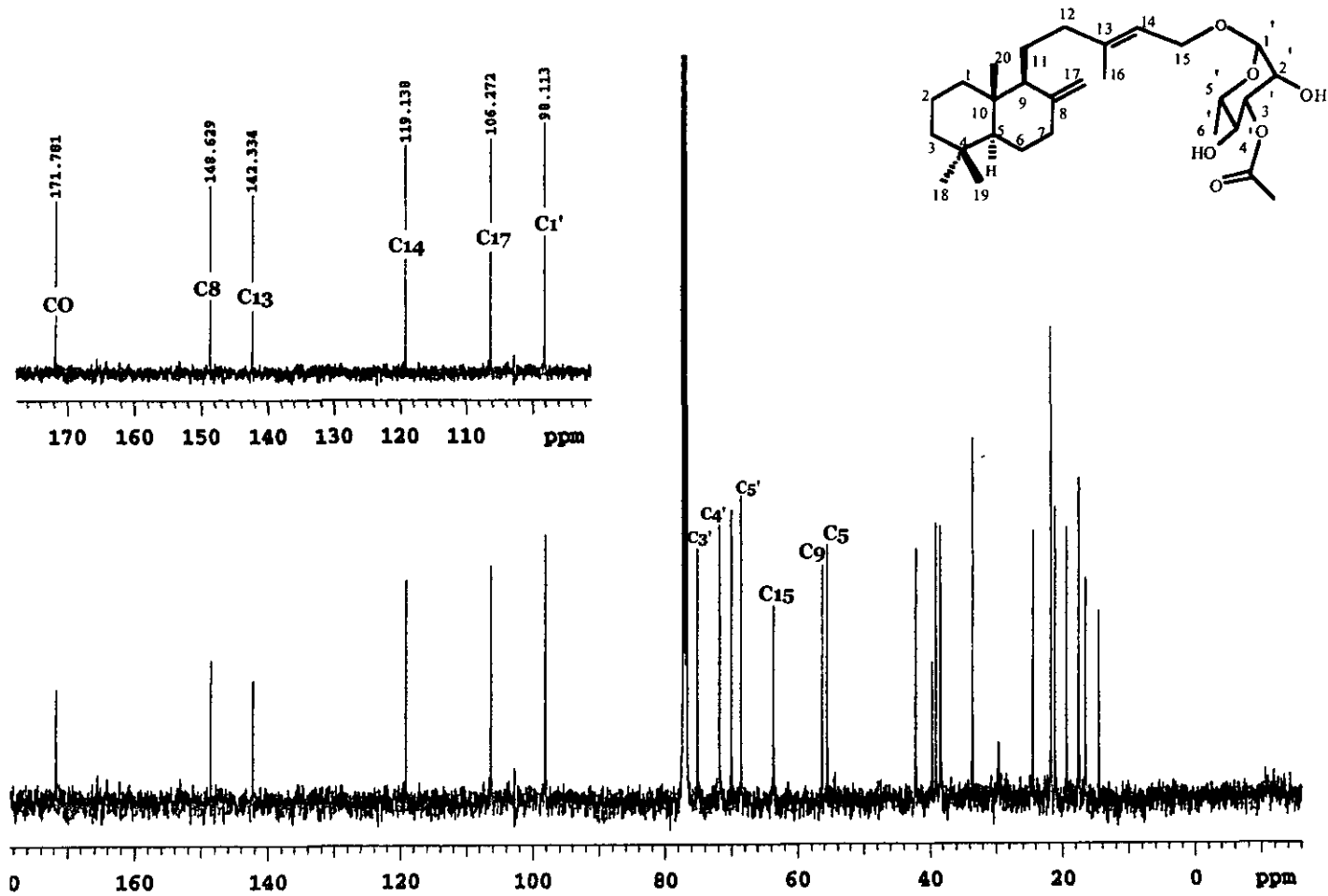
ESPECTRO No. 15 RMN ^1H del compuesto 40



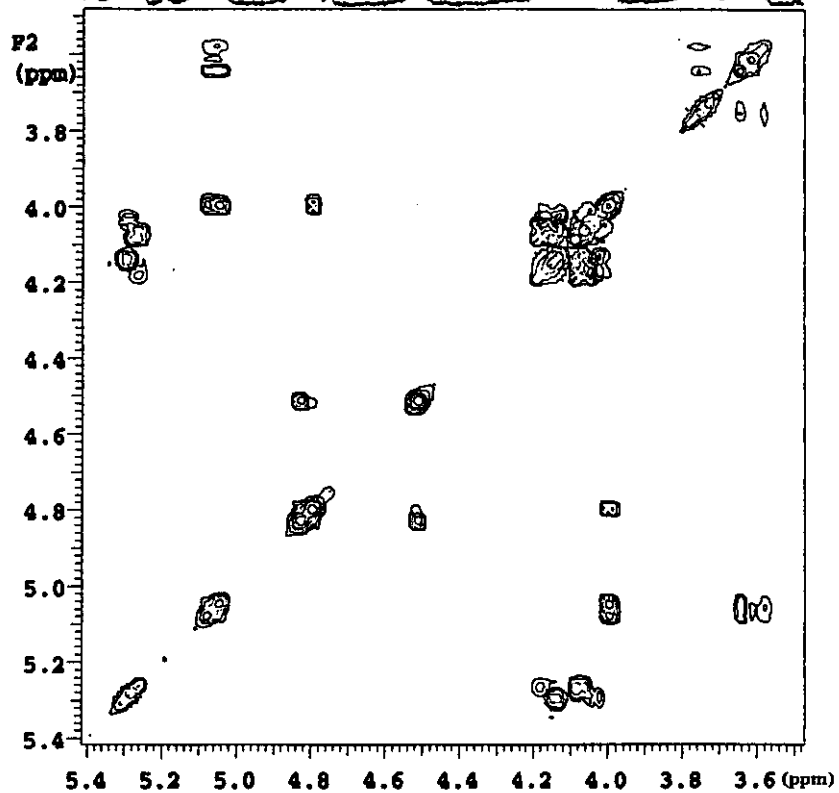
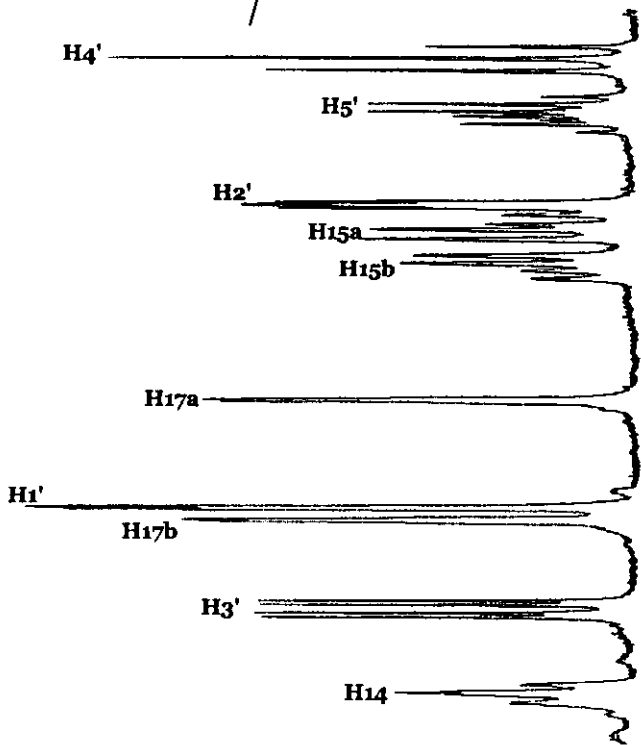
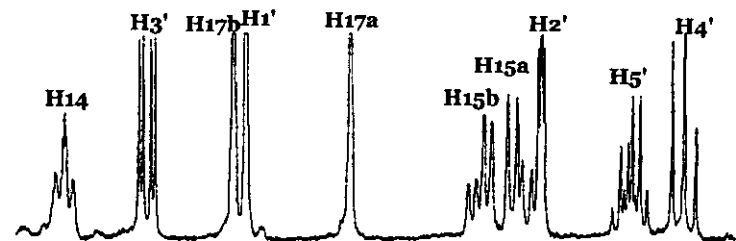
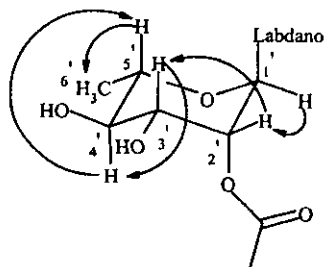
ESPECTRO No. 16 RMN ¹³C del compuesto 40



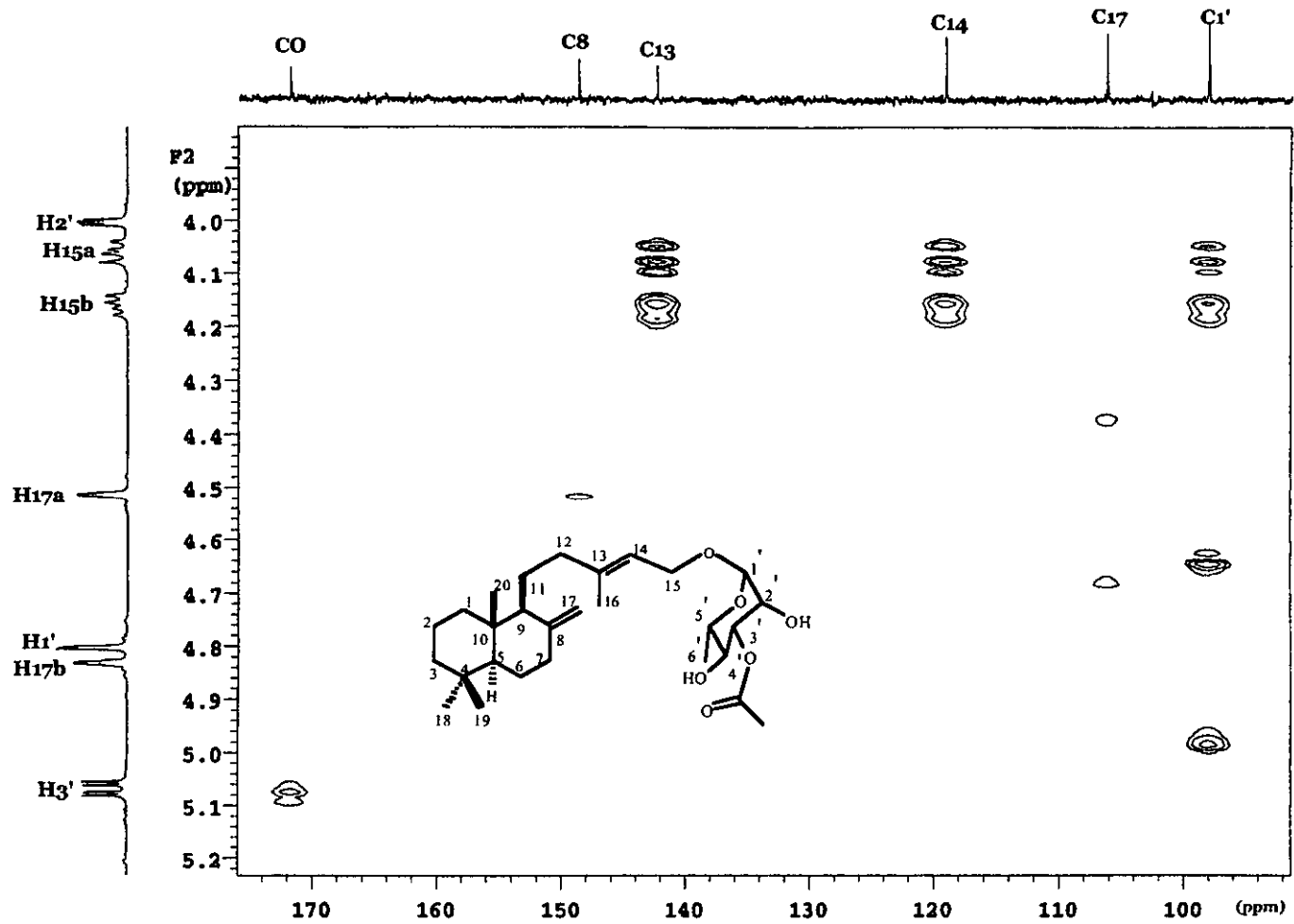
ESPECTRO No. 17 RMN ¹H del compuesto 41

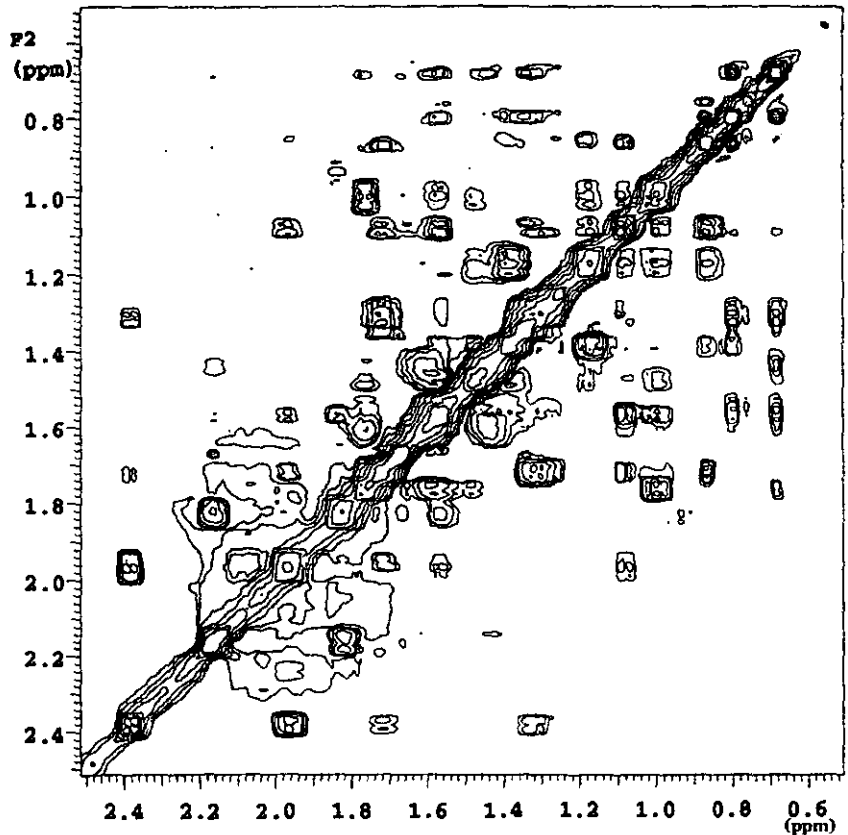
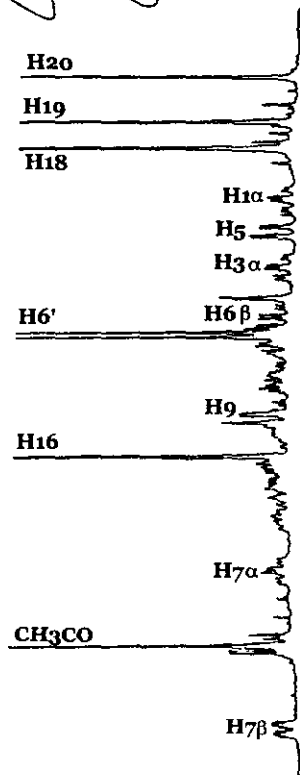
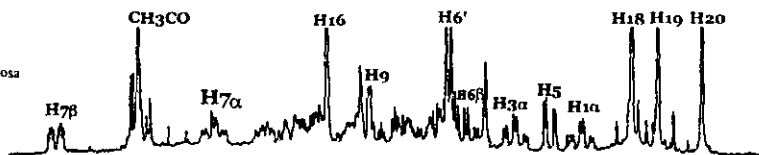
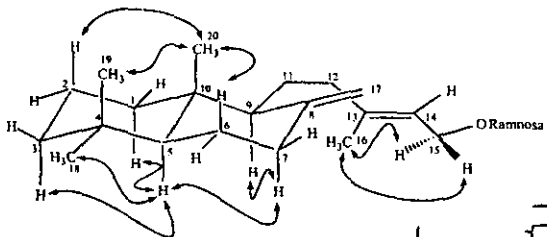


ESPECTRO No. 18 RMN ¹³C del compuesto 41

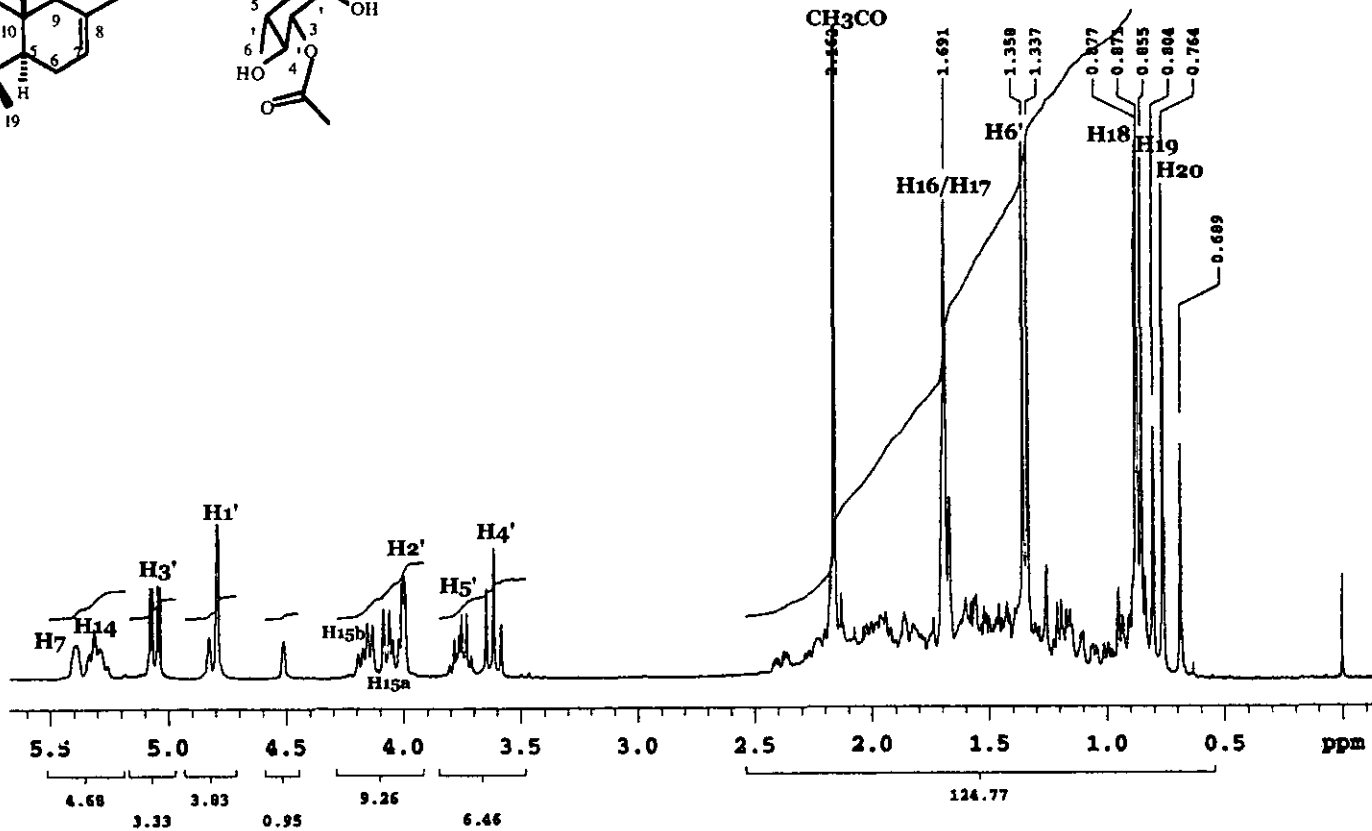
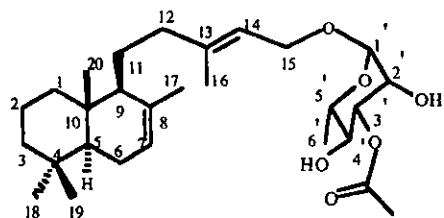


ESPECTRO No. 19 COSY del compuesto 41

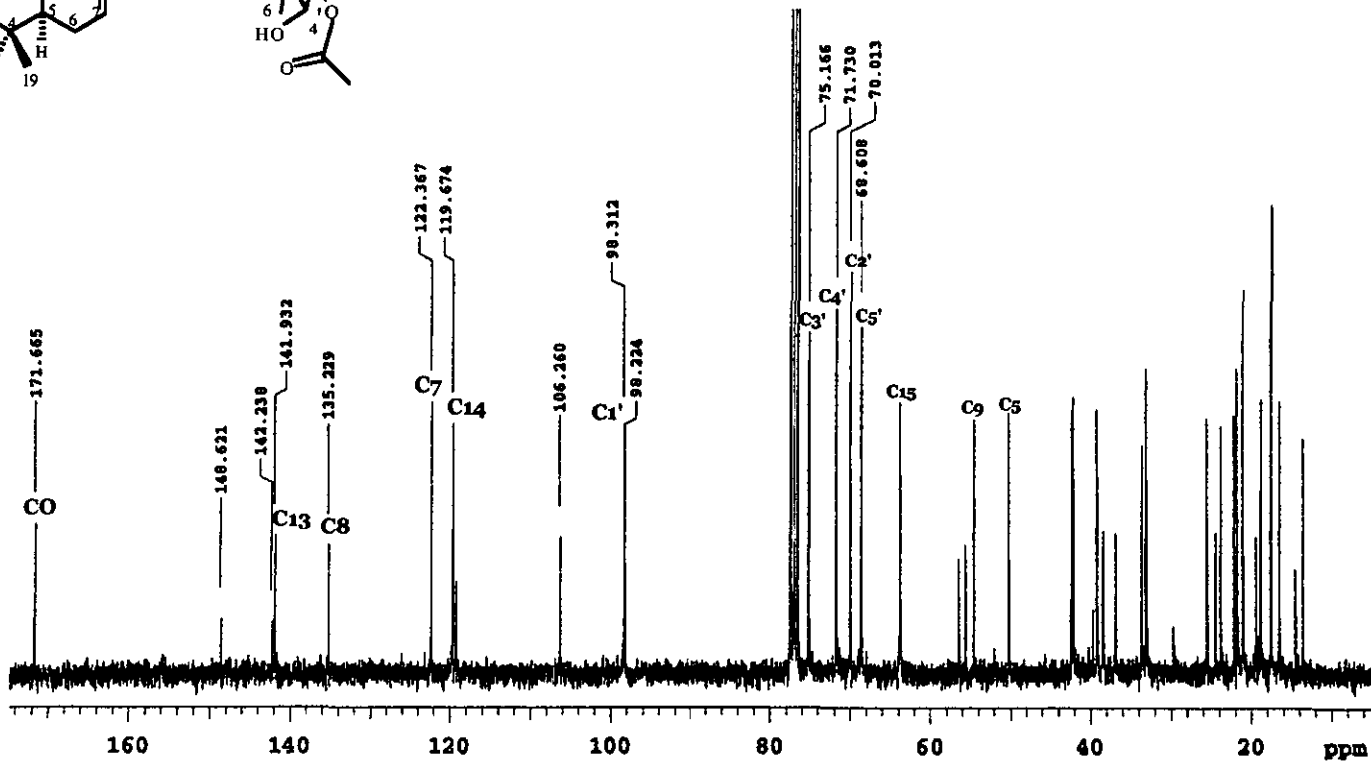
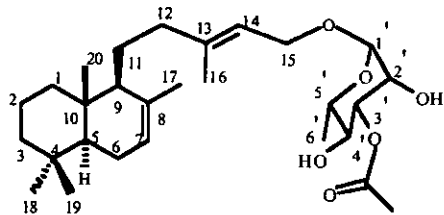




ESPECTRO No. 21a NOESY del compuesto 41



ESPECTRO No. 22 RMN ¹H del compuesto 42



ESPECTRO No. 23 RMN ^{13}C del compuesto 42