

00550  
12

**UNAM**  
**POSGRADO**



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO  
EN CIENCIAS QUÍMICAS

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE LOS  
METABOLITOS SECUNDARIOS DE *Acosmium*  
*panamense*, *Jatropha curcas* y *Tithonia diversifolia*

# T E S I S

PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS

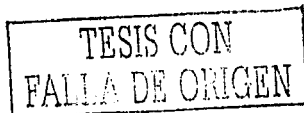
PRESENTA

QFB. EDGAR ABRAHAM GARCIA ZEPEDA



TUTOR: DR. GUILLERMO DELGADO LAMAS

MEXICO, D.F.



2003



Universidad Nacional  
Autónoma de México

**Biblioteca Central**

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM



**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.

## AGRADECIMIENTOS

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento otorgado (Beca-Crédito, No. Registro: 159457) durante mi formación académica en el programa de maestría.*

*Al Dr. Guillermo Delgado, por permitirme conocer de su experiencia profesional y por sus consejos a mi superación académica*

*Al personal Técnico-Académico y al personal de la Biblioteca "Jesús Romo Armeria" del Instituto de Química de la UNAM: M. en C. María Isabel Chávez, Q. Rocío Patiño, Ing. Luis Velasco y M. en C. Javier Pérez, M. en C. Ma. Teresa Ramírez, M. en C. Antonio Camacho, Lic. Cecilia Aguilar, y Lupita Anaya.*

la Dirección General de Biblioteca: •  
UNAM a difundir en formato electrónico e impre-  
contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Edgar Abraham  
Guillermo Delgado

FECHA: 04/03/2003

FIRMA: [Firma]



## **JURADO**

<b>Presidente:</b>	<b>Dr. Manuel Jiménez Estrada</b>
<b>Vocal:</b>	<b>Dra. María Luisa Villareal Ortega</b>
<b>Secretario:</b>	<b>Dr. Ricardo Reyes Chilpa</b>
<b>Primer suplente:</b>	<b>M. en C. Jorge Cárdenas Pérez</b>
<b>Segundo suplente:</b>	<b>Dra. Laura Patricia Álvarez Berber</b>

**Esta tesis fue realizada en el laboratorio 1, edificio C, del Instituto de Química  
de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del  
Dr. Guillermo Delgado Lamas.**

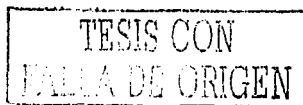
**Sustentante:**

**Tutor:**

**Q.F.B. Edgar Abraham García Zepeda**

**Dr. Guillermo Delgado Lamas**

**C**



Contenido	página
Acrónimos	I
Lista de espectros	II
Lista de tablas	IV
Lista de esquemas	IV
Lista de figuras	IV
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. HIPÓTESIS	4
4. OBJETIVO	4
5. METAS	4
6. ANTECEDENTES	5
6.1. Generalidades de la familia Fabaceae	5
6.1.1. Perfil químico	5
6.1.2. Actividad biológica	6
6.2. Generalidades de <i>Acosmium panamense</i>	7
6.2.1. Botánica y etnobotánica	7
6.2.2. Composición química	7
6.3. Generalidades de la familia Euphorbiaceae	8
6.3.1. Perfil químico	8
6.3.2. Biogénesis de diterpenos	14
6.4. Generalidades de <i>Jatropha curcas</i>	16
6.4.1. Botánica y etnobotánica	16
6.4.2. Usos	16
6.4.3. Actividad farmacológica	17
6.4.4. Toxicidad	17
6.4.5. Composición química	18

6.5. Generalidades de la familia Asteraceae	19
6.5.1. Perfil químico	19
6.6. Generalidades de <i>Tithonia diversifolia</i>	23
6.6.1 Botánica y etnobotánica	23
6.6.2. Composición química	24
6.6.3. Farmacología	24
6.6.4. Importancia farmacológica	24
6.7. Biogénesis de lactonas sesquiterpénicas	25
6.7.1. Biogénesis del germacradieno y del anillo lactónico	27
 7. DESARROLLO EXPERIMENTAL	 29
7.1. Material y Equipo	29
7.2. Análisis químico de <i>Acosmium panamense</i>	30
7.2.1. Extracción y cromatografía	
a) 6-( <i>p</i> -Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13)	31
b) 7-Hidroxi-4'-metoxi-isoflavona (94)	32
7.3. Análisis químico de <i>Jatropha curcas</i>	33
7.3.1. Extracción y cromatografía	33
a) Aislamiento de ácido graso insaturado (95)	34
b) Aislamiento de Triacilglicérido A (96)	35
c) Aislamiento de sacarosa (97)	35
d) Acetilación de sacarosa (98)	36
7.4. Análisis químico de <i>Tithonia diversifolia</i>	38
7.4.1. Extracción y cromatografía	
a) Aislamiento de $\beta$ - <i>trans</i> -caroteno (101)	40
b) Aislamiento de $\beta$ -sitosterol y estigmasterol (99 y 100)	41
c) Aislamiento de ácido graso (102)	42
d) Aislamiento de tagitinina F (59)	42
e) Aislamiento de tagitinina C (58)	43
f) Aislamiento de tagitinina A (55')	44
g) Acetilación de tagitinina A (55')	46

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

7.5. Bioensayo de toxicidad frente a <i>Artemia salina</i>	47
7.6. Bioensayo de la actividad anti-inflamatoria	48
8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	50
8.1. 6-( <i>p</i> -hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13)	50
8.2. 7-Hidroxi-4'-metoxi-isoflavona (94)	52
8.3. Ácido graso insaturado (95)	55
8.4. Triacilglicérido A (96)	56
8.5. $\beta$ - <i>trans</i> -caroteno (101)	57
8.6. Ácido graso (102)	58
8.7. Tagitinina A (55 <sup>*</sup> )	59
8.8. 1 $\beta$ -Acetiltagitinina A (60 <sup>*</sup> )	64
8.9. Comparación estructural de tagitinina A (55 <sup>*</sup> ) con 2 $\alpha$ -hidroxitirotundina (103)	66
9.0. Tagitinina C (59)	67
9.1. Tagitinina F (58)	70
9.2. Bioevaluaciones preliminares	72
10. CONCLUSIONES	73
11. ESPECTROS	75
12. ANEXO	108
12. REFERENCIAS	115

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Acrónimos

AcOEt	Acetato de etilo
°C	Grado Celsius
CC	Cromatografía en columna
CDCl <sub>3</sub>	Cloroformo deuterado
CD <sub>3</sub> COCD <sub>3</sub>	Acetona deuterada
CHCl <sub>3</sub>	Cloroformo
CL <sub>50</sub>	Concentración letal media
cm <sup>-1</sup>	Número de onda
COSY	Correlation Spectroscopy
d	Doblete
dd	Doble de doble
δ	Desplazamiento químico
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	Sulfóxido de dimetilo deuterado
EM	Espectrometría de Masas
eV	Electronvolts
g	Gramo
Hex	Hexano
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
Hz	Hertz
IE	Impacto Electrónico
IR	Espectroscopía de Infrarrojo
J	Constante de acoplamiento
L	Litro
M <sup>+</sup>	Ion Molecular
m	Multiplete
mL	Mililitro
<i>m/z</i>	Relación masa/carga
MeOH	Metanol
MHz	Megahertz
nm	Nanómetro
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
Pf	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN <sup>1</sup> H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno-1
RMN <sup>13</sup> C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono-13
s	Singlete
TMS	Tetrametilsilano
TPA	12- <i>O</i> -tetradecanoil-forbol-13-acetato
UV	Espectrometría en el Ultravioleta

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Espectro 1. Espectro en el UV (MeOH) de 6-( <i>p</i> -Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13)	76
Espectro 2. Espectro en el IR (KBr) de 6-( <i>p</i> -Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13)	77
Espectro 3. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO, 500 MHz) de 6-( <i>p</i> -Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13)	78
Espectro 4. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO, 125 MHz) de 6-( <i>p</i> -Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13)	79
Espectro 5. Espectro de masas (IE, 70 eV) de 6-( <i>p</i> -Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13)	80
Espectro 6. Espectro en el IR (KBr) de 7-hidroxi-4'metoxi-isoflavona (94)	81
Espectro 7. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO, 300 MHz) de 7-hidroxi-4'metoxi-isoflavona (94)	82
Espectro 8. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO, 75 MHz) de 7-hidroxi-4'metoxi-isoflavona (94)	83
Espectro 9. Espectro de masas (IE, 70 eV) de 7-hidroxi-4'metoxi-isoflavona (94)	84
Espectro 10. Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) de triacilglicérido A (95)	85
Espectro 11. Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 300 MHz) de sacarosa (97)	86
Espectro 12. Espectro de masas ( $\text{FAB}^+$ , 70 eV) de sacarosa (97)	87
Espectro 13. Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 300 MHz) de sacarosa peracetilada (98)	88
Espectro 14. Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) de $\beta$ - <i>trans</i> -caroteno (101)	89
Espectro 15. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) de $\beta$ - <i>trans</i> -caroteno (101)	90
Espectro 16. Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) de $\beta$ -sitosterol y estigmasterol (99 y 100)	91
Espectro 17. Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) de tagitina F (58)	92
Espectro 18. Espectro en el IR ( $\text{CHCl}_3$ ) de tagitina C (59)	93
Espectro 19. Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) de tagitina C (59)	94
Espectro 20. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) de tagitina C (59)	95
Espectro 21. Espectro de masas (IE, 70 eV) de tagitina C (59)	96
Espectro 22. Espectro en el IR ( $\text{CHCl}_3$ ) de tagitina A (55')	97

Espectro 23. Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) de tagitinina A ( $55^\circ$ )	98
Espectro 24. Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ , 300 MHz) de tagitinina A ( $55^\circ$ )	99
Espectro 25. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) de tagitinina A ( $55^\circ$ )	100
Espectro 26. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ , 75 MHz) de tagitinina A ( $55^\circ$ )	101
Espectro 27. Espectro de masas (IE, 70 eV) de tagitinina A ( $55^\circ$ )	102
Espectro 28. Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de acetiltagitinina A ( $60^\circ$ )	103
Espectro 29. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de acetiltagitinina A ( $60^\circ$ )	104
Espectro 30. Espectro HMQC (DMSO, 500 MHz) de 6-( <i>p</i> -Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13)	105
Espectro 31. Espectro HMBC (DMSO, 500 MHz) de 6-( <i>p</i> -Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13)	106
Espectro 32. Espectro NOESY ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) de 1 $\beta$ -acetiltagitinina A ( $60^\circ$ )	107

## Lista de tablas.

página

Tabla 1. Usos medicinales de <i>Jatropha curcas</i>	16
Tabla 2. Distribución botánica de la familia Compositae	19
Tabla 3. Datos del fraccionamiento del extracto hexánico	39
Tabla 4. Datos del fraccionamiento del extracto de diclorometano	40
Tabla 5. Toxicidad frente a <i>Artemia salina</i> del extracto de <i>Tithonia diversifolia</i> y la tagitinina C (59)	47
Tabla 6. Actividad Anti-inflamatoria del extracto de <i>Tithonia diversifolia</i> y las tagitininas A (55') y C (59)	49
Tabla 7. Datos de RMN <sup>1</sup> H para la tagitinina A (55')	61
Tabla 8. Datos de RMN para 1β-acetiltagitinina A (60')	65

## Lista de esquemas.

Esquema 1. Biogénesis de diterpenoides	15
Esquema 2. Biogénesis del anillo de lactona	27
Esquema 3. Extracción de los constituyentes de <i>Acosmium panamense</i>	31
Esquema 4. Fraccionamiento del extracto acetónico de las semillas de <i>J. curcas</i>	34
Esquema 5. Extracción de las partes aéreas de <i>T. diversifolia</i>	38
Esquema 6. Mecanismo de fragmentación por retro-Diels-Alder de la isoflavona (94)	54

## Lista de figuras.

Figura 1. Tipos estructurales de diterpenos aislados de la familia Euphorbiaceae	9
Figura 2. Relaciones biogenéticas y tipos estructurales de lactonas sesquiterpénicas derivados de germacranólidas	26
Figura 3. Biogénesis del anillo lactona	28

<b>Figura 4. Fragmento estructural de la 6-(<i>p</i>-Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13)</b>	<b>51</b>
<b>Figura 5. Fragmento estructural de la 6-(<i>p</i>-Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (94)</b>	<b>54</b>
<b>Figura 6. Fragmento estructural del triacilglicérido A (96)</b>	<b>56</b>
<b>Figura 7. Protones doblemente alílicos y <math>\alpha</math>- a carbonilo</b>	<b>57</b>
<b>Figura 8. Interacciones NOESY relevantes en 2<math>\alpha</math>-hidroxitirotundina (103)</b>	<b>66</b>
<b>Figura 9. Representación estructural de 2<math>\alpha</math>-hidroxitirotundina (103)</b>	<b>67</b>
<b>Figura 10. Fragmento estructural de la tagitinina C (59)</b>	<b>68</b>
<b>Figura 11. Fragmento estructural de la tagitinina C (59)</b>	<b>69</b>

## 1. RESUMEN

La generación de conocimiento referente a los constituyentes químicos de la flora empleada en la medicina tradicional, es un área de investigación que se cultiva en todo el mundo y en nuestro país es importante debido a su biodiversidad. Así, el objetivo del presente proyecto de investigación consistió en la realización del estudio químico de tres especies de importancia económica, las cuales son las siguientes: (a) *Acosmium panamense*, perteneciente a la familia Fabaceae, (b) *Jatropha curcas*, perteneciente a la familia Euphorbiaceae, ambas plantas colectadas en Veracruz, y (c) *Tithonia diversifolia*, de la familia Compositae, colectada en Nayarit.

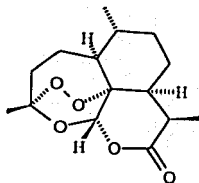
La corteza de *A. panamense* se usa tradicionalmente para el tratamiento de padecimientos gastrointestinales, y a partir de este material se aisló 7-metoxi-4'-hidroxi-isoflavona (94), y 6-(4-hidroxiestiril)-4-metoxi- $\alpha$ -pirona (13). Las semillas de *J. curcas* son empleadas para la obtención de aceite comestible y como biocombustible, y sometidas a cocción son empleadas como condimento. De los extractos de las semillas de este vegetal se aislaron e identificaron, un ácido graso insaturado (95), triacilglicérido A (96) y sacarosa (97). *T. diversifolia* tiene aprecio en la medicina tradicional por su empleo para el tratamiento de trastornos gastrointestinales y por sus atributos anti-inflamatorios. De las partes aéreas de esta especie fueron identificados  $\beta$ -trans-caroteno (101), la mezcla de  $\beta$ -sitosterol (99) y estigmasterol (100), un ácido graso saturado (102) y las lactonas sesquiterpénicas tagitinina A (55'), tagitinina C (59) y tagitinina F (58). El análisis espectroscópico permitió corregir la estructura de la tagitinina A (55'), debido a que la descrita posee el hidroxilo 1 $\alpha$  y se reformuló a 1 $\beta$ . Esta estructura fue confirmada mediante el análisis de sus datos cristalográficos. Los metabolitos secundarios tagitinina A (55') y tagitinina C (59) mostraron actividad anti-inflamatoria marginal (29% y 24%, respectivamente) al evaluarlas en un modelo *in vivo*.

# PAGINACIÓN DISCONTINUA

## 2. INTRODUCCIÓN

La diversidad de la flora en nuestro país es considerada como una de las más ricas del orbe, y de ésta, solo un pequeño porcentaje ha sido investigado en el ámbito químico [1]. Las plantas constituyen un acervo de gran importancia debido a que los grupos étnicos aprecian la flora regional por su empleo en la medicina tradicional, con la cual pueden resolver algunos problemas de salud [2]. Así, el conocimiento de las prácticas etnomédicas, los informes referentes al uso medicinal de las plantas en México, y las aproximaciones taxonómicas y sistemáticas, pueden considerarse como punto de partida para investigaciones tendientes al descubrimiento de sustancias con potencial farmacológico. Para lograr estos objetivos se requiere de la colaboración multidisciplinaria en ciencias y humanidades, es decir, la participación de antropólogos, botánicos, farmacognostas, farmacólogos, químicos, toxicólogos, entre otros profesionales [3].

Existen varias estrategias empleadas en la búsqueda de sustancias bioactivas a partir de plantas, de las cuales las aproximaciones etnobotánicas son las que han proporcionado los hallazgos más notables en el descubrimiento de compuestos de interés terapéutico [4]. En este contexto, la artemisinina (1) aislada de *Artemisia annua* (Asteraceae) fue responsable de las propiedades antimaláricas que se le atribuyen a esta especie en la medicina tradicional de China [5].



1

En la actualidad se reconocen cinco áreas de investigación sobre enfermedades, las cuales han alcanzado incidencias notables en muchas partes del mundo, tales como: 1) oncológicas, 2) infecciosas 3) cardiovasculares y metabólicas, 4) inmunológicas, inflamatorias y desórdenes relacionados, y 5) neurológicas. Durante más de tres décadas

algunos productos naturales farmacológicamente activos o sus derivados han sido parte de los recursos quimioterapéuticos usados contra ciertos padecimientos [6]. Es pertinente mencionar que aproximadamente el 25% de los fármacos expendidos al público en países desarrollados provienen de productos naturales [7, 8].

Con base en lo anterior, en el presente trabajo se generó información sobre la química de tres especies de plantas: *Acosmium panamense*, *Jatropha curcas* y *Tithonia diversifolia*, que son de interés económico. Adicionalmente, se reportan los resultados obtenidos de la evaluación de la actividad anti-inflamatoria y de toxicidad frente a *Artemia salina* del extracto de *T. diversifolia* y algunos de sus metabolitos secundarios, a fin de ponderar su actividad y correlación con su uso etnomédico.



### 3. HIPÓTESIS

Considerando el uso etnomédico de ciertas especies de plantas, estas pueden considerarse como una fuente de metabolitos secundarios bioactivos, los cuales pueden ser aislados mediante el análisis químico convencional, así como ponderar su actividad mediante las bioevaluaciones pertinentes.

### 4. OBJETIVO

Contribuir a la generación de conocimiento científico referente a las estructuras moleculares y a las actividades biológicas de los metabolitos secundarios de ciertas especies vegetales de interés medicinal (*Acosmium panamense*, *Jatropha curcas* y *Tithonia diversifolia*), en búsqueda de su eventual aprovechamiento racional.

### 5. METAS

1. Compilar la información bibliográfica referente a cada especie en estudio.
2. Colectar muestras vegetales de cada especie y preparar los extractos orgánicos correspondientes.
3. Aislar y purificar los metabolitos secundarios contenidos en los extractos, mediante el uso de diversos métodos cromatográficos y químicos.
4. Elucidar y caracterizar la estructura molecular de dichos metabolitos, mediante el análisis de sus propiedades físicas, espectroscópicas y espectrométricas.
5. Realizar las pruebas biológicas que permitan bioevaluar la actividad anti-inflamatoria y tóxica de algunas sustancias purificadas de *Tithonia diversifolia*.

## 6. ANTECEDENTES

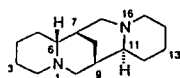
### 6.1. Generalidades de la familia Fabaceae

Una de las familias de plantas superiores más numerosas es la familia Fabaceae o Leguminosae, ubicada después de las familias Compositae y Orchidaceae. Está constituida por aproximadamente 650 géneros y 18,000 especies, divididos en tres subfamilias: Caesalpinoideae, Mimosoideae y Papilionoideae (Faboideae). Esta última se compone de 440 géneros y 12,000 especies, distribuidos en 32 tribus. *Acosmium panamense*, que es una de las especies analizadas en el presente trabajo, pertenece a la tribu Sophoreae de la subfamilia Papilionoideae [9].

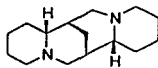
#### 6.1.1. Perfil químico

La mayoría de las especies que componen la subfamilia Papilionoideae se caracterizan por contener ciertos tipos de alcaloides quinolizidínicos [10-14]. El género *Acosmium* Sudamericano es el más primitivo de la familia Fabaceae y se caracteriza por biosintetizar alcaloides quinolizidínicos tetracíclicos, tales como la esparteína, lupanina, y alcaloides del tipo *Ormosia* [14]. Recientemente se reportó el aislamiento de un nuevo tipo de alcaloides a partir de las semillas de *Acosmium panamense*, los alcaloides con esqueleto de diazaadamantano y con un grupo inusual *N*-acetil enamina [15].

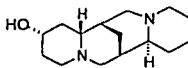
De la corteza de *Acosmium panamense* se han aislado alcaloides quinolizidínicos tetracíclicos del tipo lupanina/esparteína: esparteína (2), 11 $\beta$ -esparteína (3), 4 $\alpha$ -hidroxiesparteína (4), 5,6-deshidro-11 $\beta$ -esparteína (5) [12, 13]



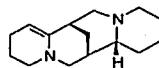
2



3

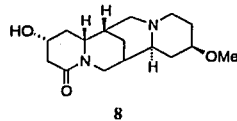
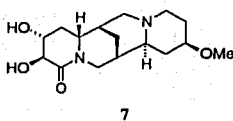
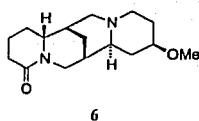


4

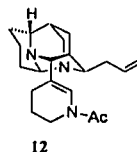
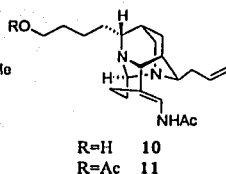
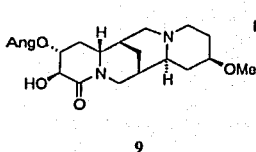


5

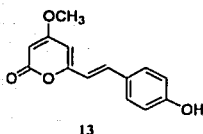
13β-metoxilupanina (6), 3β,4α-dihidroxi-13β-metoxilupanina (7) [16]; y 4α-hidroxi-13β-metoxilupanina (8) [17].



En otros estudios sobre las semillas de *A. panamense* se informa el aislamiento de alcaloides quinolizidínicos del tipo lupanina: 4α-angeloiloxi-3α-hidroxi-13β-metoxilupanina (9); y de alcaloides con el esqueleto de diaza-adamantano: acosmina (10), acetato de acosmina (11) y panacosmina (12) [15].



También se ha reportado el aislamiento de 4-metoxi-6-(*p*-hidroxiestiril)-2-pirona (13) a partir de la corteza de *A. subelegans* [18].



### 6.1.2. Actividad Biológica

Los alcaloides quinolizidínicos poseen propiedades tóxicas tanto en humanos como en animales, caracterizadas por la aparición de síntomas como nerviosismo, descoordinación motora, disnea, ataxia, convulsiones, coma y muerte por paro respiratorio [19].

Por otro lado, las evaluaciones de las propiedades farmacológicas de varios alcaloides quinolizidínicos, han mostrado que no poseen actividad analgésica, anti-inflamatoria, o neuroléptica [9].

Otra actividad importante de los alcaloides es su papel como sustancias de defensa química contra insectos y mamíferos herbívoros [20].

## 6.2 Generalidades de *Acosmium panamense*

### 6.2.1. Botánica y etnobotánica

*Acosmium panamense* (sinónimo: *Sweetia panamensis*) se conoce con el nombre vulgar de guayacán. Es un árbol que puede medir de 6 a 25 m de altura, posee corteza amarilla, hojas divididas en hojitas lustrosas en el anverso y pálidas en el reverso. Las flores se encuentran en forma de ramilletes y son de color amarillo o blanco, y los frutos tienen forma de vainas aplanadas. Es originaria de Panamá y se le encuentra en climas cálidos asociada a vegetación perturbada de bosque caducifolio y perenifolio [21].

La corteza se emplea tradicionalmente para el tratamiento de trastornos gastrointestinales, así como antipalúdico y antihemorrágico. Este último uso fue evidenciado en un estudio farmacológico con el extracto metanólico de la corteza de *A. panamense*, el cual mostró actividad significativa en la estabilización capilar o la inhibición de la permeabilidad capilar hemorrágica (antihemorrágico) [22]. La corteza seca y molida es usada tradicionalmente como un tónico amargo contra dolores estomacales y contra la malaria [23]. En Estados Unidos la corteza es conocida como cáscara amarga y se usa en el tratamiento de la sífilis, daños crónicos de la piel, anemia y resfriados [16].

### 6.2.2. Composición química

La química de esta especie está basada en los alcaloides quinolizidínicos tetracíclicos del tipo lupanina/esparteína [9] y del tipo diaza-adamantano [15] y los constituyentes principales se describen en las páginas 5-6.

### 6.3. Generalidades de la familia Euphorbiaceae

La familia Euphorbiaceae ocupa la cuarta posición en cuanto a número de especies en el reino de las plantas superiores después de la familia Leguminosae. Está constituida por aproximadamente 300 géneros y 7,500 especies ampliamente distribuidos a través de los dos hemisferios. Se divide en 4 subfamilias: Phyllanthoideae, Porantoideae, Ricinocarpoideae y Crotonoideae; esta última comprende las tribus Crotonae y Euphorbieae. A su vez, cada una de las cuatro subfamilias se dividen en tribus que están integradas principalmente por los siguientes géneros: *Euphorbia* (1,600 especies), *Croton* (700 especies), *Phyllanthus* (480 especies), *Acalypha* (430 especies), *Glochidion* (280 especies), *Macaranga* (240 especies), *Manihot* (160 especies), *Jatropha* (150 especies), *Tragia* (140 especies) [24].

#### 6.3.1. Perfil químico

De las especies de plantas que integran la familia Euphorbiaceae se han aislado diterpenos altamente tóxicos que promueven procesos de inflamación y formación de tumores (subfamilia Crotonoideae) [25], y otro tipo de diterpenos que no exhiben estas propiedades tóxicas y que han mostrado aplicaciones farmacológicas contra ciertos tumores [26, 27]. En los sesentas Hecker [24] reportó el aislamiento y la caracterización del primer diterpeno del tipo tigliano, el diéster del forbol, el cual mostró potentes actividades tóxicas. Las investigaciones subsecuentes sobre la química de esta familia han aportado una gran variedad estructural de diterpenos, es decir, diterpenos del tipo tigliano, dafnano e ingenano, algunos de los cuales han mostrado ser tóxicos [25].

Los diterpenos que han sido aislados de la familia Euphorbiaceae se clasifican en diterpenos macrocíclicos: los cuales comprenden el tipo casbano, jatrofano, latirano, jatrofolano, crotfolano y ramnofolano; diterpenos de tipo tigliano, dafnano e ingenano (véase figura 1) [24].

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

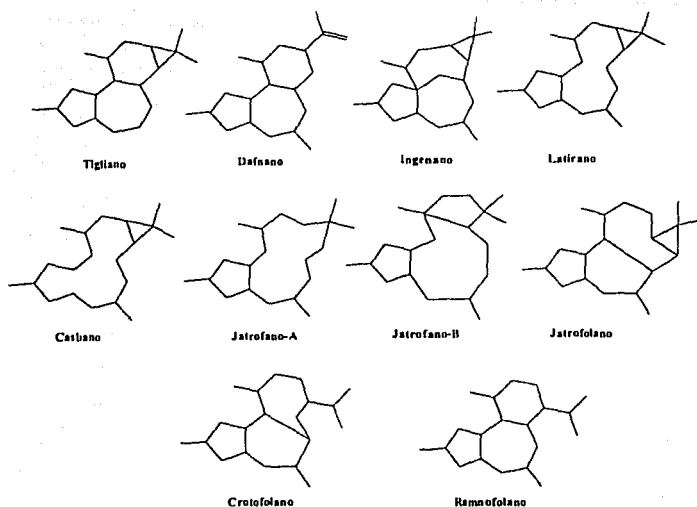
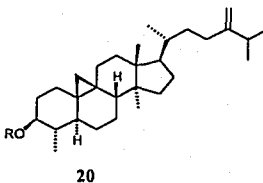
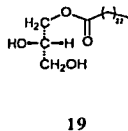
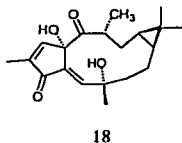
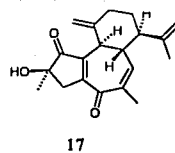
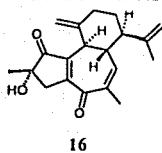
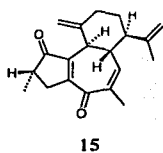
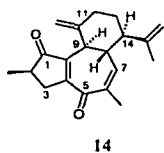


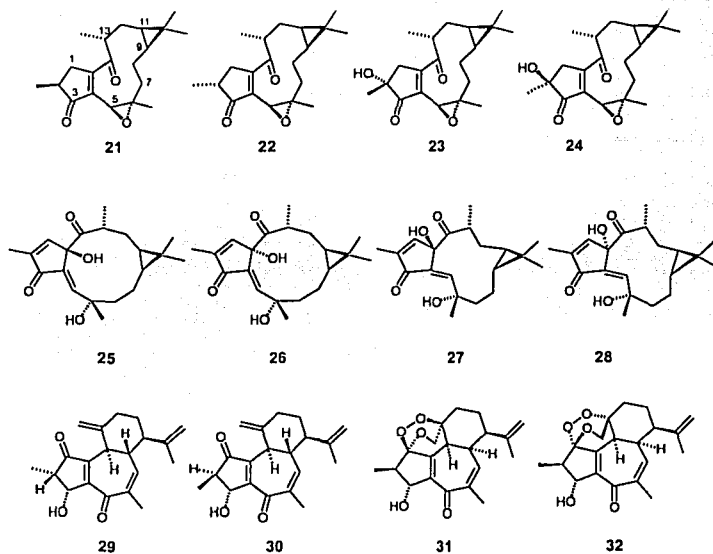
Figura 1. Tipos estructurales de diterpenos aislados de la familia Euphorbiaceae.

El género *Jatropha* biosintetiza principalmente diterpenos (jatrofinas, jatrofonas, jatrogrossidionas, etc), péptidos cíclicos (curcasinas, chevalierinas), triterpenos, lignanos, alcaloides, componentes fenólicos, etc. A continuación se describe una sinopsis de los constituyentes químicos de algunas especies del género *Jatropha*:

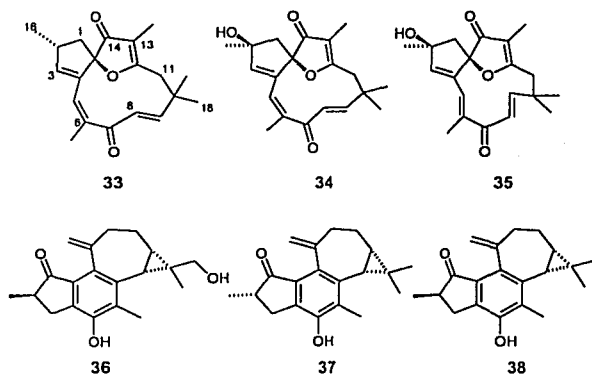
A partir de las raíces de *J. curcas* se han caracterizado diterpenos de tipo ramnofolano, curcusonas A (14), B (15), C (16), D (17) [28a]; diterpeno de tipo latirano, curculatirano A (18) [28b]; glicerol-tetracosanoato (19) [29]. De las partes aéreas se ha aislado el triterpeno jatrocúrina (20)[30].



De las raíces de *J. grossidentata* se han caracterizado diterpenos de tipo latirano, isojatrogrossidiona (21), 2-*epi*-isojatrogrossidiona (22), 2-hidroxi-isojatrogrossidiona (23), 2-*epi*-hidroxi-isojatrogrossidiona (24), jatrogrossidentadiona (25), (4-*E*)-jatrogrossidentadiona (26), (4-*E*)-15-*epi*-jatrogrossidentadiona (27), (4-*Z*)-jatrogrossidentadiona (28); diterpenos de tipo ramnofolano, jatrogrossidiona (29), 2-*epi*-jatrogrossidiona (30) [31]. De la corteza se han caracterizado diterpenos de tipo ramnofolano, caniojano (31) y 1, 11-bis-caniojano (32) [32].

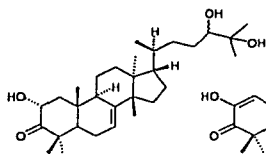


Por otro lado, a partir de las raíces de *J. gossypifolia* se han caracterizado diterpenos macrocíclicos como jatrofona (33), 2 $\beta$ -hidroxijatrofona (34), 2 $\beta$ -hidroxi-5,6-isojatrofona (35) [33], jatrolfona A (36) y B (37) y jatrolf (38) [34].

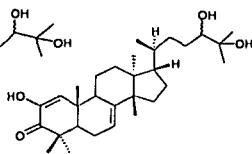




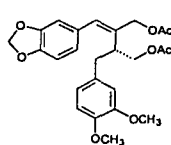
Por otra parte, de las partes aéreas de *J. gossypifolia* se han aislado triterpenos y lignanos: 2,24,25-trihidroxitirucal-7-en-3-ona (39), 2,24,25-trihidroxitirucal-1,7-dien-3-ona (40) [35], prasantalina (41), dihidroprasantalina (42) [36], sushilactona (43) [37], gossipifano (44) [38].



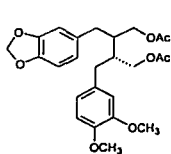
39



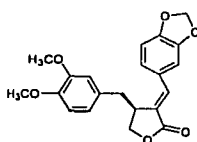
40



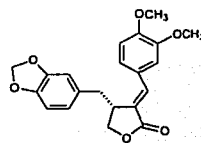
41



42

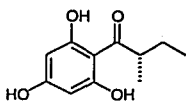


43

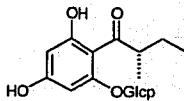


44

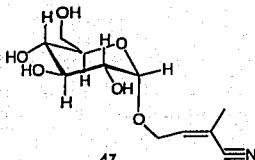
Del látex de *J. multifida* se han caracterizado multifidol (45), 2-O-β-glucopirano-multifidol (46), y labaditina (47) [39].



45

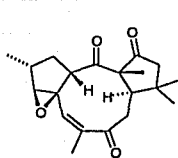


46

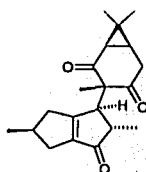


47

A partir de las raíces de *J. dioca* se aislaron citlalitriona (48), riolozatriona (49) [40].

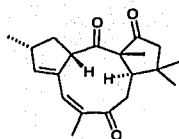


48

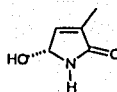


49

De las raíces de *J. macrorrhiza* se han obtenido el diterpeno macrocíclico jatrofatriona (50) y el alcaloide jatrofam (51) [41].

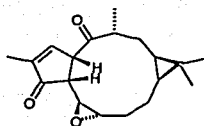


50



51

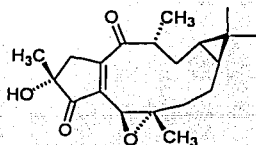
De las partes aéreas de *J. weddelliana* se aisló el diterpeno jatroweddiona (52) [42].



52

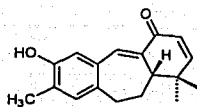
De la raíz de *J. podagrica* se aisló curculatirano A (18) [28b].

De las raíces de *J. aureus* se obtuvo el diterpeno curculatirano B (53) [28b].



53

La xochitlolona (54) fue aislada de las raíces *J. multiloba* [43].



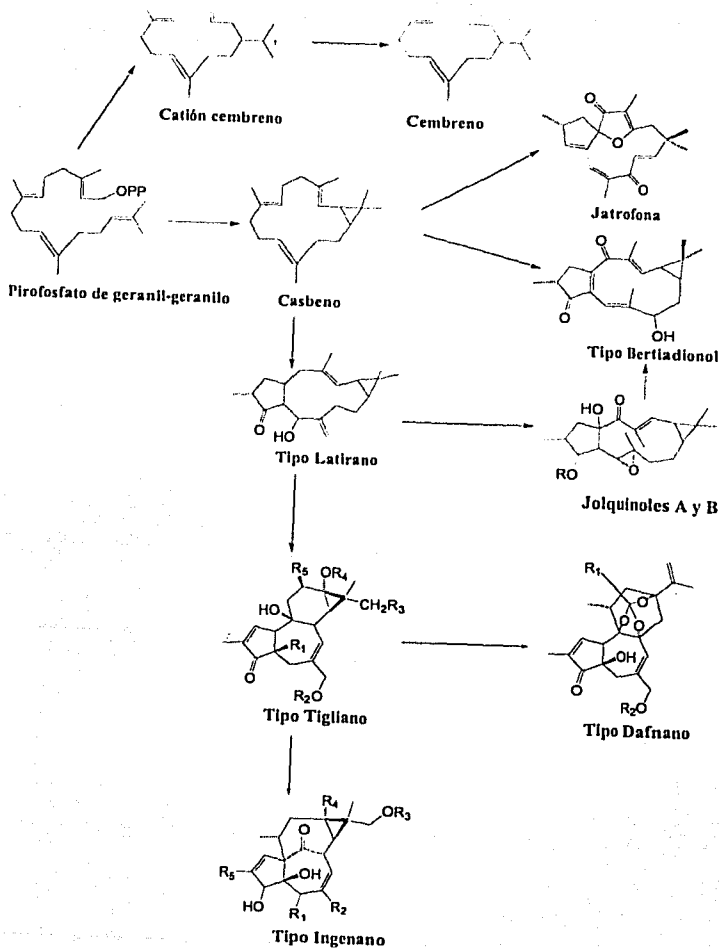
54

De las raíces de *J. zeyheri* se caracterizó el 2-*epi*-jatrogrossidiona (22) [31].

### 6.3.2. Biogénesis de diterpenos

Biogenéticamente se ha demostrado que el diterpeno macrocíclico, casbeno, es el precursor de los diterpenos polifuncionales y policíclicos como los de tipo tigliano, dafnano e ingenano. Así mismo, se incluyen diterpenos macrocíclicos de tipo jatrofano que pueden formarse mediante la apertura del anillo de ciclopropano del casbeno (véase esquema 1) [44].

Las relaciones biogenéticas en este grupo de compuestos son estrechas y se puede inferir que la formación de diterpenos de tipo dafnano, proviene de la apertura del anillo de ciclopropano del tigliano, seguida por la reducción de la cadena isoprenílica unida al anillo de seis carbonos (anillo C). De forma análoga se postula que la biosíntesis de diterpenos del tipo ingenano se deriva de los tiglianos (véase esquema 1) [45]. Se ha propuesto que las interconversiones biogenéticas de los diterpenoides en la familia Euphorbiaceae proceden como se muestra en el esquema 1.



Esquema 1. Biogénesis de diterpenoides.

## 6.4. Generalidades de *Jatropha curcas*

### 6.4.1. Botánica y Etnobotánica

*Jatropha curcas* (Euphorbiaceae) se encuentra frecuentemente como arbusto o árbol de 1 a 6 m de altura, en zonas geográficas de clima cálido e incluso seco. Posee hojas en forma de corazón, flores amarillo-verdosas y frutos en forma de cápsulas grandes con 1 semilla de 2 cm de largo en el interior. Es originaria de Centro y Sur América y posiblemente fue distribuida por los navegantes portugueses hacia África y Asia a través de las islas Cabo Verde y Guinea Bissau. *J. curcas* es una planta muy bien adaptada a las condiciones áridas y semiáridas, y a menudo es usada para el control de la erosión de suelos y para proteger cultivos [46].

### 6.4.2. Usos

Todas las partes de *J. curcas* han sido usadas tanto en la medicina tradicional como en veterinaria. En África las semillas son usadas como anti-helmíntico y como purgante, en tanto las hojas como hemostático. En Mali las hojas son conocidas como un tratamiento para la malaria; mientras que las hojas, las semillas y la corteza son hervidas y la infusión obtenida se usa como purgante. La cocción de hojas es aplicada externamente para el reumatismo y la inflamación. Por otro lado, la cocción de la raíz es bebida contra la neumonía, sífilis, abortivo, purgante y vermífugo. Al sur de Sudán, las semillas se usan como abortivo [47].

En México, el látex es usado para el tratamiento de las infecciones fúngicas de la boca y algunos problemas digestivos en los niños; mientras que las semillas se usan como purgante y como abortivo [21]. En la siguiente tabla (Tabla 1) se muestra un resumen de los usos medicinales que se le atribuyen a *J. curcas* en diferentes partes del mundo [47]:

Partes usadas de <i>J. curcas</i>	enfermedades	lugar de uso
Hojas	diarrea	Filipinas
Hojas, semillas	purgante	África, México
Hojas	heridas	Nigeria, Malaya, Camboya
Hojas, tallo y flor (decocción)	fiebre	Cabo Verde, Camerún
Hojas	reumatismo	Camerún

Tabla 1: Usos medicinales de *J. curcas*.

El aceite extraído de las semillas de *J. curcas* ha sido útil para producir comercialmente jabones y lámparas, en tanto que los forrajes de este arbusto son usados como fertilizantes en los sembradíos de papas. La cantidad de aceite en las semillas de *J. curcas* constituye aproximadamente un 50 % de su peso, por lo que es usado como aceite para cocinar, como una fuente de combustible alterna para generar luz o para sustituir el diesel. Además, se han implementado algunos procesos biotecnológicos que han permitido una mayor explotación de este recurso natural, por ejemplo, la extracción de aceite por medios enzimáticos y procesos de esterificación [48]. En los procesos biotecnológicos relacionados con la explotación de *J. curcas* se incluye el cultivo de tejidos, el control biológico de plagas, el mejoramiento de la extracción de aceite mediante enzimas (proteasas), la fermentación anaerobia de los forrajes y la producción de enzimas (curcaina) que sirvan como antisépticos en heridas [46].

#### 6.4.3. Actividad Farmacológica

Extractos metanólicos de las semillas de *J. curcas* han mostrado propiedades abortivas en ratas [45]. Extractos de semillas y hojas de *J. curcas* han mostrado propiedades insecticidas y fungicidas, donde los ésteres del forbol han sido sugeridos como los principios tóxicos [49]. El extracto etanólico de hojas y ramas han mostrado actividad *in vitro* contra células de leucemia linfocítica P-388 [24]. El extracto de acetato de etilo mostró propiedades anti-inflamatorias en un modelo *in vivo* induciendo edema en pata de ratas con carragenina [46].

#### 6.4.4. Toxicidad

Algunos reportes en México indican que la gaviota de alas blancas (*Zenaida asiatica*) se alimenta de las semillas de *J. curcas*. En algunos casos los pollos o puercos consumen las semillas, y en Veracruz, las semillas se usan como alimento para preparar platillos tradicionales [50]. Numerosos experimentos con animales de prueba han mostrado las consecuencias tóxicas de *J. curcas*, dentro de las cuales se destacan: inapetencia, dolor abdominal, diarrea, problemas respiratorios y desequilibrio. En tanto, los estudios histopatológicos demuestran inflamación gastrointestinal, necrosis del hígado, corazón y riñón, así como hemorragias en hígado [51]. Contrario a la toxicidad que presenta *J. curcas*

en otros países, en México se ha reportado un incremento del peso corporal en ratones que se alimentan de semillas de la especie mexicana, lo que sugiere poca toxicidad [52].

#### 6.4.5. Composición química

Los compuestos aislados de las hojas y ramas de *J. curcas* son: estigmasterol, estigmast-5-en-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diol, estigmast-5-en-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -diol, colest-5-en-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diol, colest-5-en-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -diol, campesterol,  $\beta$ -sitosterol, 7-ceto- $\beta$ -sitosterol,  $\beta$ -glucósido de  $\beta$ -sitosterol, apigenina, y flavonoides glicosidados (vitexina e isovitexina) [53].

De las partes aéreas y las raíces se ha informado sobre la presencia de varios ácidos orgánicos (ácido *o*- y *p*-cumárico, ácido *p*-metil y *p*-hidroxibenzoico, ácido protocatéquico, ácido resorsílico, y ácido metil-cinámico), así como iridoides, saponinas y taninos. El triterpeno tetracíclico jatrocúrina, y el éter metílico de escopoletina han sido aislados del tallo. Las raíces contienen  $\beta$ -sitosterol y su análogo  $\beta$ -glucosidado, marmesina, propacina, curculatiranos, curcosenos, así como los diterpenos: jatrolol (41) y jatroleno, la cumarina tomentina, el cumarinolignano jatrofina, y el taraxerol [46].

El látex generalmente se compone de péptidos cíclicos como la curcaciclina, un octapéptido cíclico, que mostró una inhibición moderada de las actividades complementarias y de proliferación de células T en el humano [54].

La composición química de las semillas es de glicéridos y ácidos grasos saturados e insaturados [46], sacarosa,  $\beta$ -D-glucósido del  $\beta$ -sitosterol, y un compuesto tóxico, la hemaglutinina llamada curcina, la cual es la responsable de las propiedades purgativas que se le atribuyen a las semillas [55]. Otro tipo de compuestos encontrados en *J. curcas* son los ésteres de forbol, los cuales activan la proteínaquinasa C (PKC una enzima clave en la traducción de señales y en los procesos de desarrollo de células y tejidos). La interacción prolongada de los ésteres de forbol con la PKC genera una respuesta mitogénica durante la tumorigénesis [56].

## 6.5. Generalidades de la Familia Asteraceae (Compositae)

La familia de plantas superiores más grande es la Compositae, constituida de aproximadamente 1,100 géneros y 20,000 especies. Se les puede encontrar como hierbas, arbustos, o en menor proporción como árboles. En México, esta familia se constituye de ca 300 géneros y 2600 especies (tabla 2) [57].

Tabla 2: Distribución botánica de la familia Compositae

Tribu	No. de géneros/especies	No. de géneros/especies con uso etnomédico.
Subfam. Asteroideae	262/2334	82/164
Anthemideae	8/19	2/5
Asteraceae	40/387	7/19
Eupatorieae	27/483	13/31
Heliantheae	112/914	38/61
Inuleae	15/88	5/12
Senecioneae	16/221	11/15
Tageteae	43/222	6/21
Subfam. Cichoriodeae	42/304	9/16
Cardueae	6/65	1/2
Lactuceae	23/57	2/2
Multisiccae	7/96	4/8
Vernonieae	6/86	2/4

La tribu Heliantheae, una de las más numerosas, comprende al género *Tithonia*, que a su vez se integra por 10 especies originarias de Centro América, presentes en climas cálidos y semicálidos, asociadas a vegetación perturbada de bosques tropicales subperennifolio y perennifolio [58].

### 6.5.1. Perfil químico

La constitución química de la familia Asteraceae se debe principalmente a un grupo muy diverso de lactonas sesquiterpénicas, las cuales han sido reportadas como constituyentes de



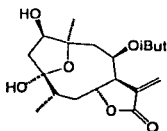
otras 10 familias de plantas superiores [59, 60]. También, a partir de las tribus *Eupatoriaee* y *Senecioneae* se han aislado alcaloides pirrolizidínicos, así como compuestos poliacetilénicos, flavonas, flavonoles, cumarinas, etc.

A continuación se describen sucintamente algunos constituyentes químicos aislados de ciertas especies que pertenecen al género *Tithonia*.

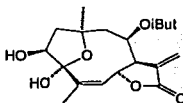
### *Tithonia diversifolia*

De las partes aéreas de esta especie se han aislado germacrólidas, guayanólidas y sesquiterpenos de tipo cadinano. Estas sustancias son las siguientes: tagitinina A (55\*), tagitinina B (56), 2-*O*-metiltagitinina B (57), tagitinina F (58), tagitinina C (59) [61], 1-acetiltagitinina A (60\*) [62].

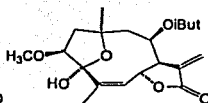
\*El grupo hidroxilo en C-1 de 55\* [61] y acetoxilo de 60\* [62] debe corregirse a la orientación  $\beta$ - de acuerdo a los resultados del presente trabajo.



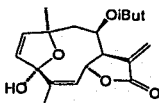
55\*



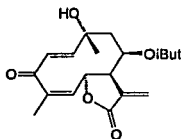
56



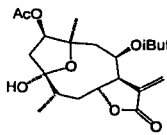
57



58



59



60\*

### *Tithonia rotundifolia*

Se han aislado de *T. rotundifolia* germacranólidas, heliangólidas, furanoheliangólidas y eudesmanólidas. Estas son las siguientes: tirotundifolina C (61), tirotundifolina D (62), tirotundifolina B (63), 1 $\alpha$ -hidroxi-8 $\alpha$ -(2,3-epoxi-2-metilbutanoil)-3,11(13)eudesdien-

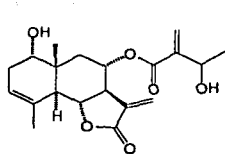
12,6-ólida (64), 18-metilesferocefalina (65), 15-hidroxi leptocarpina (66), 3 $\beta$ -acetil-15-hidroxi leptocarpina (67), 2 $\alpha$ -acetil-8 $\beta$ -angeloil-14-hidroxi-1(10),4,11(13)-germacratrien-12,6-ólida (68); 1 $\alpha$ -hidroxi-8 $\alpha$ -angeloil-3,11(13)eudesmadien-12,6-ólida (69); 1 $\beta$ -hidroxi-8 $\alpha$ -(2,3-epoxi-2-metilbutanoil)-4,11(13)eudesmadien-12,6-ólida (70); 1 $\beta$ -hidroxi-8 $\alpha$ -angeloil-4,11(13)eudesmadien-12,6-ólida (71); 1,10-epoxi-8 $\beta$ -angeloil-14-hidroxi-4,11(13)-germacradien-12,6-ólida (72) [63-64]. También, tirotundina (73) [65]. Tithonina (74), O-metiltithonina (75), 3,10-epoxi-O<sup>3</sup>-etil-3-hidroxi-8 $\beta$ -(2-metilpropanoil)-11(13)-germacren-12,6-ólida (76), 1,10-epoxi-8 $\beta$ -(2,3-epoxi-2-metilbutanoil)-14-acetil-4,11(13)-germacradien-12,6-ólida (77), 1,10-epoxi-8 $\alpha$ -(2,3-epoxi-2-metilbutanoil)-4,11(13)-germacradien-12,6-ólida (78) [66].

#### *Tithonia fruticosa*

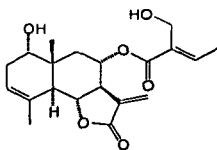
A partir de las partes aéreas se han aislado las lactonas sesquiterpénicas, deoxitifruticina (79) y tifruticina (80) [67].

#### *Tithonia pedunculata*

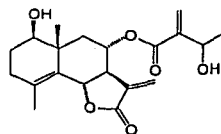
Se han aislado de las partes aéreas la lactona sesquiterpénica 15-hidroxi-3-dehidrotifruticina (81), y el compuesto 2,6,10-fitatrien-1,14,15,20-tetrol (82) [67].



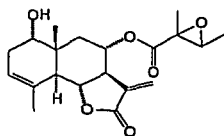
61



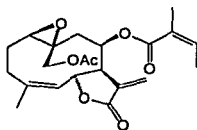
62



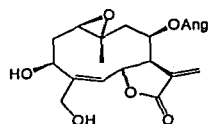
63



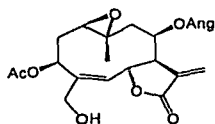
64



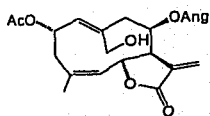
65



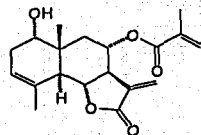
66



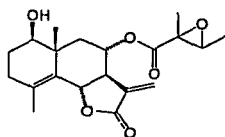
67



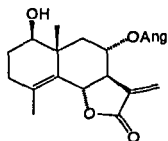
68



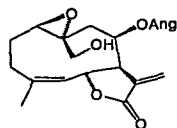
69



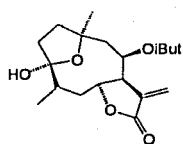
70



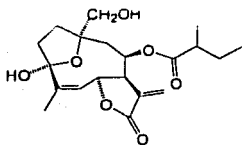
71



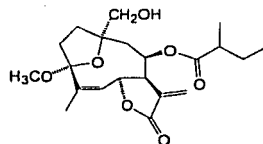
72



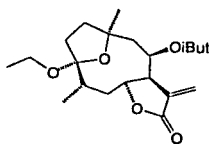
73



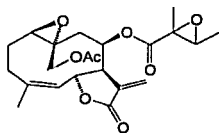
74



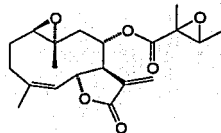
75



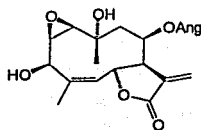
76



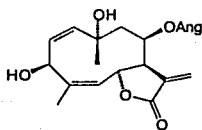
77



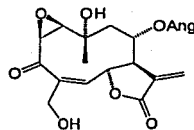
78



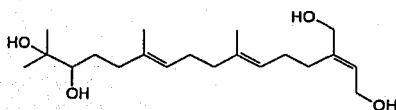
79



80



81



82

## 6.6. Generalidades de *T. diversifolia*

### 6.6.1. Botánica y Etnobotánica

La especie *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray Compositae es una planta semileñosa de 1.5 a 4.0 m de altura, con ramas subtomentosas o glabras, hojas alternas, pecioladas de 7

a 20 cm de largo y 4 a 20 cm de ancho. Presenta 3 a 5 lóbulos profundos cuneados hasta subtruncados en la base, bordes aserrados, pedúnculos de 4 a 20 cm de largo, lígulas amarillas y a veces naranjas de 3 a 6 cm de longitud y corolas amarillas de 8 mm de longitud [21-23].

Se conoce con los nombres comunes de amargoso, durazno, mirasol, ámica de la montaña, entre otros, y se usa en la medicina tradicional contra ciertos padecimientos de inflamación. Al sur de México se usa oralmente contra la malaria y otras formas de fiebre; tópicamente es útil para el tratamiento de hematomas, inflamaciones y calambres musculares [57].

#### 6.6.2. Composición química

Contiene principalmente lactonas sesquiterpénicas del tipo germacranólidas y heliangólidas, las cuales han sido descritas en la página 20; también han sido reportados flavonoides como la hispidulína.

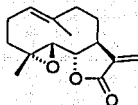
#### 6.6.3. Farmacología

El extracto acuoso de las hojas y tallos de *T. diversifolia* mostró un efecto anti-inflamatorio en un modelo *in vivo* de inflamación inducida con carragenina en la pata de rata [59]. Además, el extracto etanólico inhibió el factor de transcripción NFκB [60], un intermediario en los procesos inflamatorios. También presentó actividad contra el microorganismo *Plasmodium falciparum*, causante de la malaria [68].

#### 6.6.4. Importancia farmacológica

En 1995 se conocían más de 4,000 estructuras de lactonas sesquiterpénicas y la importancia farmacológica de algunos de estos compuestos se evidenció como una fuente potencial para el desarrollo de agentes quimioterapéuticos. Por ejemplo, la partenólida (83), aislada de *Tanacetum parthenium* ha sido comercializada debido a su actividad preventiva de la migraña [69]. La diversidad de actividades biológicas que han mostrado las lactonas sesquiterpénicas pueden ejemplificarse mencionando las actividades anti-inflamatoria [70],

antitumoral [71], citotóxica [72], fitotóxica [73], contra la migraña [74], antimicrobiana [75], antimalárica [76], entre otras.



83

### 6.7. Biogénesis de lactonas sesquiterpénicas

La teoría biogenética de los terpenoides fue propuesta por Ruzicka [77] y desarrollada posteriormente por Hendrickson [78], específicamente para sesquiterpenos. Los resultados obtenidos de los estudios biogenéticos, condujeron a aceptar la ruta del pirofosfato de farnesilo-mevalonato [79, 80]. El aislamiento de lactonas sesquiterpénicas hidroperoxidadas y epoxidadas indica que las secuencias biosintéticas proceden mediante oxidaciones alílicas y reacciones de ciclización, respectivamente. La mayoría de lactonas sesquiterpénicas pueden ser consideradas como derivados biogenéticos de las germacranólidas, donde se pueden encontrar compuestos con la funcionalidad del anillo lactónico fusionada tanto a los carbonos C7/C6 como a los carbonos C7/C8 (véase fig. 2).

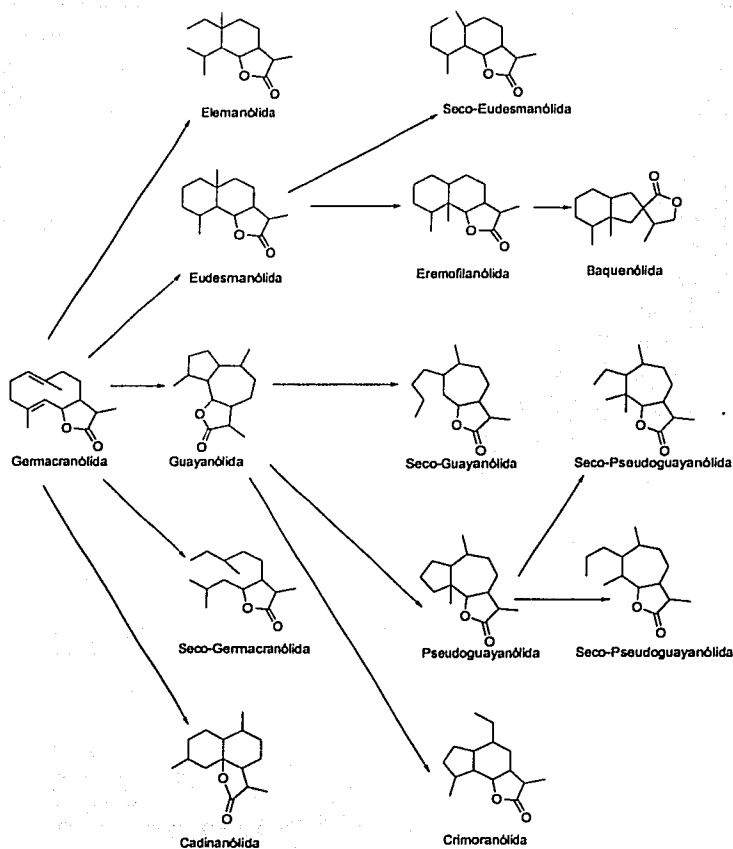
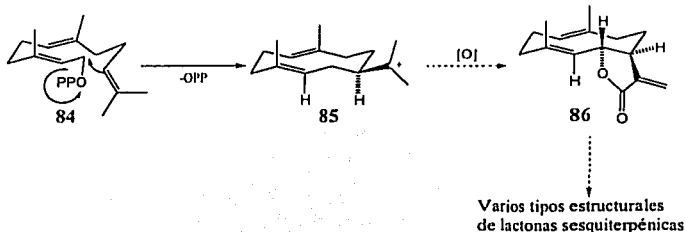


Fig. 2. Relaciones biogénicas y tipos de lactonas sesquiterpénicas derivadas de germacranólidas.

### 6.7.1. Biogénesis del germacradieno y del anillo lactónico [79, 80]

El *trans,trans*-germacradieno (86) proviene de la ruta del pirofosfato de farnesilo mediante la ciclización del *trans,trans*-pirofosfato de farnesilo (84) para generar el intermediario catiónico *trans, trans*-germacradieno (85), el cual mediante modificaciones oxidativas produce las germacranólidas, representadas por la costunólida (86) (véase esquema 2).



Esquema 2. Biogénesis del germacradieno

Para la formación del anillo lactónico se han sugerido 2 rutas biosintéticas, en las cuales se han involucrado varios pasos para la formación de la costunólida (93) e inunólida (94). Un intermediario hipotético es el catión (85) derivado de la ciclización del pirofosfato de farnesilo (84) el cual se convierte en el germacreno A (87). Este intermediario puede ser oxidado en el carbono C-12 para generar el hidropéroxido (88) y después el alcohol (89) con retención del doble enlace en C-11/C-13; o alternativamente formar el epóxido en C-11/C-13 (90), el cual puede generar un intermediario con doble enlace en C-11/C-12 (89). Posteriormente ocurren una serie de oxidaciones enzimáticas formando los intermediarios aldehído (91) y ácido carboxílico (92), o bien, suceden hidroxilaciones en los carbonos C-6 o C-8 para formar el anillo de lactona y así producir las lactonas sesquiterpénicas, costunólida (93) e inunólida (94), respectivamente (véase figura 3).



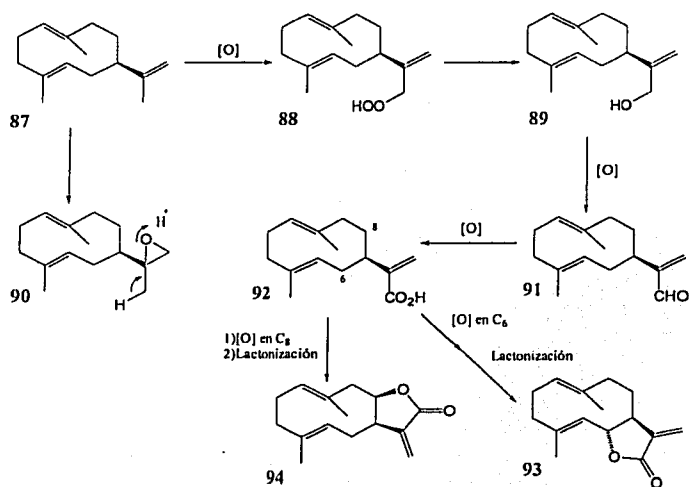
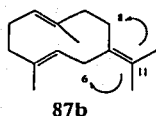


Figura 3. Biogénesis del anillo de lactona.

Sin embargo, no se descarta que la biosíntesis de lactonas sesquiterpénicas puede ocurrir por otra vía, es decir, a través del intermediario germacreno B (**87b**), con la fusión del anillo lactónico en las posiciones C-6 o C-8.



## 7. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 7.1. Material y equipo

Para la realización de las cromatografías en columna se utilizó como fase estacionaria sílica-gel ( $\text{SiO}_2$ ) marca Macherey-Nagel 60, malla 04-0.063/230-400 ASTM. Los disolventes utilizados como fase móvil fueron hexano, acetona, acetato de etilo, diclorometano y metanol, en diferentes proporciones. Las cromatografías fueron eluidas en fase normal, incrementando de forma gradual el gradiente de polaridad.

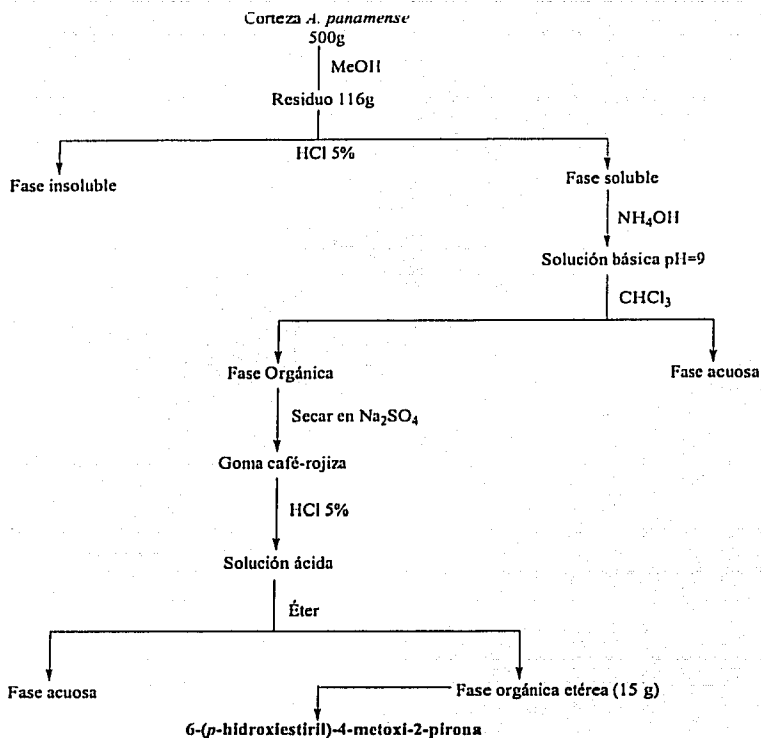
El análisis por cromatografía en capa fina se efectuó en cromatofolios marca Macherey-Nagel Duren, tipo Alugram SiIF/UV<sub>254</sub>. Como reveladores se utilizaron una lámpara de rayos UV Spectroline, modelo ENF-240C ( $\lambda$  de 254 y 365 nm), una solución de sulfato cérico amoniacoal  $((\text{NH}_4)_4\text{Ce}(\text{SO}_4)_4)$  al 1 % en ácido sulfúrico 2N. Las cromatografías en capa fina preparativas se realizaron en placas preparativas Merck de 2 mm de grosor y una superficie de 20 x 20 cm, y en algunos casos se emplearon cromatofolios Alugram SiIF/UV<sub>254</sub>.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no fueron corregidos. Los espectros de espectroscopia de infrarrojo se obtuvieron en un equipo FT-IR Nicolet Magna 750 en  $\text{CHCl}_3$ , o bien, en pastilla de KBr. Los espectros en el UV se determinaron en un espectrofotómetro Shimadzu en metanol (MeOH). La determinación de la rotación óptica se realizó en un polarímetro Jasco modelo 241. Los espectros de espectrometría de masas se obtuvieron en un espectrómetro marca JEOL, modelo JMS-AX505HA, utilizando la técnica de impacto electrónico con un potencial de ionización de 70 eV, y una corriente de ionización de 100  $\mu\text{A}$ , y JEOL modelo JMX-SX102A para la técnica de ionización por bombardeo rápido de átomos (FAB<sup>+</sup>). Los espectros de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , se obtuvieron en espectrómetros analíticos Varian, modelo Unity 300 y Unity plus 500, a 300 y 500 MHz, respectivamente. Se utilizó como disolvente  $\text{CDCl}_3$ , y en algunos casos se usó  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$  y  $\text{DMSO}-d_6$ , siendo el estándar interno tetrametilsilano (TMS) para todos los casos. Los valores de desplazamiento químico de los núcleos observados están registrados en ppm. En algunos casos se recurrió a experimentos bidimensionales de RMN como COSY, NOESY, DEPT, HMQC y HMBC para la asignación inambigua de las señales.

## 7.2. Análisis químico de *Acosmium panamense*

### 7.2.1. Extracción y cromatografía

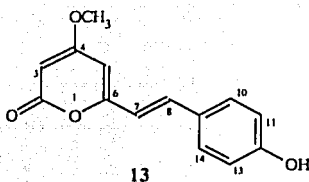
La corteza (500 g) de *A. panamense* fue sometida a maceración con metanol por 48 h en dos ocasiones consecutivas, obteniéndose un residuo resinoso (116 g). El residuo obtenido fue disuelto en una solución de ácido clorhídrico al 5% y luego se ajustó a pH de 9 mediante la adición de una solución de hidróxido de amonio. La solución básica fue extraída con cloroformo y secada sobre sulfato de sodio anhidro. La fase orgánica fue concentrada a presión reducida y nuevamente se aciduló con una solución de ácido clorhídrico al 5%. La solución ácida fue entonces extraída con éter, separada mediante particiones (éter-solución ácida) y concentrada al vacío para dar un residuo de 15 g como se ilustra en el esquema 3. Durante el proceso de evaporación a presión reducida se obtuvo un precipitado amarillo-limón identificado como 6-(*p*-Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13). Posteriormente, el residuo obtenido de la fase orgánica eterea se fraccionó mediante cromatografía en columna, tal como se describe en la página 32.



Esquema 3. Extracción de los constituyentes de *A. panamense*.

#### a) 6-(*p*-Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona

Cuando se evaporó al vacío el disolvente de la fase etérea, precipitó un sólido de color amarillo-fosforescente que fue filtrado y lavado con metanol frío aprovechando su insolubilidad en este disolvente. Este sólido fue identificado mediante el análisis de sus características espectroscópicas como 6-(*p*-hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13) [81, 82].



Sólido amarillo, pf: 267-272°C (lit [82] 270 °C), 110 mg

UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ), espectro 1: 219 (3.42), 282 (2.79), 360 (3.54) nm

IR, espectro 2, (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 3259, 1699, 1607, 1548, 1405, 1258, 1152, 958, 823  $\text{cm}^{-1}$

RMN  $^1\text{H}$  (DMSO, 500 MHz, espectro 3),  $\delta$ : 9.87 (1H, s, HO-C12), 7.47 (2H, d,  $J = 9.0$ , H-10 y H-14), 7.23 (1H, d,  $J = 16.0$ , H-8), 6.79 (2H, d,  $J = 9.0$ , H-11 y H-13), 6.74 (1H, dd,  $J = 2.0, 16.0$ , H-7), 6.20 (1H, t,  $J = 2.0$  H-5), 5.58 (1H, d,  $J = 2.0$ , H-3), 3.81 (3H, s, OCH<sub>3</sub>)

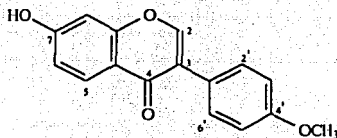
RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 125 MHz, espectro 4),  $\delta$ : 170.96 (C-4), 162.71 (C-2), 158.94 (C-12, C-6), 134.40 (C-8), 129.21 (C-10 y C-14), 126.19 (C-9), 116.14 (C-7), 115.75 (C-11 y C-13), 99.98 (C-5), 88.02 (C-3), 56.24 (CH<sub>3</sub>-O)

EM-IE, espectro 5,  $m/z$  (int. rel.): 244 [ $\text{M}^+$ ] (100), 243 (5), 216 (45), 173 (54), 91 (10), 69 (13), 65 (9), 39 (6), 15 (3).

#### b) 7-hidroxi-4'-metoxi-isoflavona

La fase etérea (15 g, véase el esquema 3) fue separada en sus constituyentes mediante cromatografía en columna empacada con gel de sílice HF<sub>254</sub> (120 g). La columna fue eluida con hexano y se incrementó la polaridad del sistema con mezclas de hexano:acetona. Se colectaron fracciones de 150 mL cada una. Las fracciones eluidas con la mezcla hexano:acetona 75:25 fueron reunidas (1.2 g) y resueltas en una columna cromatográfica (1.5 cm de diámetro) empacada con silica gel HF<sub>254</sub> (18 g) y eluida con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y mezclas de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH, colectando subfracciones de 25 mL cada una. Algunas subfracciones presentaron un precipitado blanco (205 mg) el cual fue reunido y recromatografiado mediante CCF preparativa, aplicando 30 mg y eluyendo con una mezcla CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH

(97:3) por tres ocasiones, lo que permitió la separación de un sólido blanco (10 mg) identificado como 7-hidroxi-4'-metoxi-isoflavona (94) [83].



94

Sólido blanco, pf: 263-8 °C (lit [83] 255-260 °C), 10 mg

IR, espectro 6, (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 3136, 2987, 2837, 1637, 1598, 1512, 1454, 1249, 1178, 1026, 807, 551  $\text{cm}^{-1}$

RMN  $^1\text{H}$  (DMSO, 300 MHz, espectro 7),  $\delta$ : 8.28 (1H, s, H-2), 7.98 (1H, d,  $J_{5,6} = 9.0$  Hz, H-5), 7.52 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-2' y H-6'), 6.98 (2H, dd,  $J = 2.1, 8.7$ , H-3' y H-5'), 6.94 (1H, dd,  $J = 2.4, 8.7$ , H-6), 6.86 (1H, d,  $J = 2.4$ , H-8), 3.80 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{O}-\text{C}-4'$ )

RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 75 MHz, espectro 8),  $\delta$ : 174.344 (C-4), 162.35 (C-7), 158.81 (C-4'), 157.24 (C-9), 152.66 (C-2), 129.76 (C-2' y C-6'), 126.98 (C-5), 124.10 (C-3), 123.02 (C-1'), 116.46 (C-10), 114.92 (C-6), 113.42 (C-3' y C-5'), 101.88 (C-8), 54.94 ( $\text{OCH}_3-\text{C}-4'$ )

EMIE, espectro 9,  $m/z$  (int. rel.): 268  $[\text{M}]^+$  (100), 256 (21), 236 (18), 132 (44), 97(42), 83 (45), 81 (44), 69 (85), 57 (72), 43 (68).

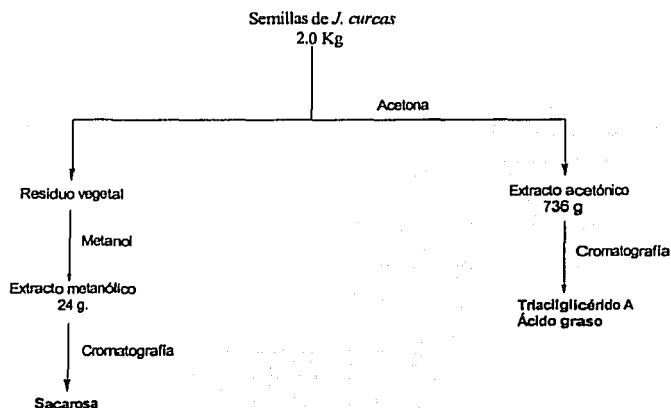
### 7.3 Análisis químico de *J. curcas*

#### 7.3.1. Extracción y cromatografía

Las semillas (2 Kg) de *J. curcas* colectadas en Misantla, Veracruz fueron secadas a temperatura ambiente, molidas y sometidas a maceración en acetona por 48 h en dos ocasiones. Posteriormente, el residuo vegetal separado se maceró en metanol por 48 h, repitiendo el proceso dos veces consecutivas. Cada extracto obtenido se fraccionó en mezclas menos complejas, mediante cromatografía en columna. Las fracciones se analizaron por cromatografía en capa fina analítica, y se reunieron de acuerdo a la similitud de sus características cromatográficas. Los diversos conjuntos de fracciones se resolvieron

en sus constituyentes mediante cromatografías sucesivas en columna a presión reducida y por gravedad.

Del extracto acetónico (736 g), un aceite de color amarillo-naranja, se tomó una alícuota de 50 g y se fraccionó usando cromatografía en columna (5 cm de diámetro) a presión reducida empacada con gel de sílice HF<sub>254</sub> (250 g). Se eluyó con hexano y posteriormente se aumentó el gradiente de polaridad con acetato de etilo, colectando fracciones de 500 mL cada una, tal como se ilustra en el esquema 4, identificándose el ácido graso insaturado (95), y el triacilglicérido A (96)



Esquema 4. Fraccionamiento del extracto acetónico de las semillas de *J. curcas*.

#### a) Aislamiento del ácido graso insaturado

De la parte alícuota del extracto acetónico (véase sección 7.3.1) se obtuvieron las fracciones 34-96 eluidas con mezcla de hexano:AcOEt (9:1), de las cuales se aisló un aceite amarillo (11 g) que por sus características espectroscópicas se identificó como un ácido graso insaturado (95) [84], del cual no se determinó la longitud de la cadena alifática ni el número de insaturaciones.



RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ: 5.35 (2H, m, H-a), 2.35 (2H, t, H-b), 2.02 (2H, m, H-c), 1.63 (2H, m, H-c), 1.26 (22H, d, H-d), 0.88 (3H, t, H-f)

De la columna cromatográfica del extracto acetónico (véase sección 7.3.1) se reunieron las fracciones 211-246 eluidas con mezcla hexano:AcOEt (3.2), de las cuales se obtuvo un aceite amarillo como constituyente mayoritario (23 g) identificado como el triacilglicérido A (96) [84], al cual no se le determinó la longitud de las cadenas hidrocarbonadas.

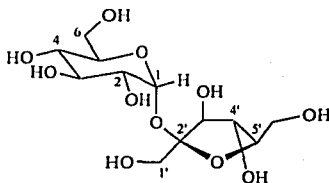


RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 10), δ: 5.36 (13H, m, H<sub>a</sub>, a'), 4.29 (2H, dd, J = 12.0, 6.0, H<sub>b</sub>), 4.14 (2H, dd, J = 12.0, 4.5, H<sub>c</sub>), 2.78 (6H, m, H<sub>d</sub>), 2.31 (6H, t, H<sub>e</sub>), 2.04 (6H, m, H<sub>f</sub>), 1.63 (6H, m, H<sub>g</sub>), 1.25 (44H, m, H<sub>h</sub>), 0.88 (9H, m, H<sub>i</sub>).

Se tomó una parte alícuota (1.41 g) del extracto metanólico (véase esquema 5) y se separó en sus constituyentes por cromatografía en columna a gravedad (1.5 cm de diámetro),



empacada con gel de sílice 70-230 (25 g). Se comenzó la elución con diclorometano y posteriormente se aumentó el gradiente de polaridad con mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :metanol, colectando eluatos de 50 mL. De las subfracciones 23-25 (3:2,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH) se obtuvo un aceite amarillo cristalizado de metanol (135 mg), cuyas características espectroscópicas permitieron identificarlo como sacarosa (97) [85, 86].



97

Sólido, pf: 179-182 °C (lit [86] 182-185 °C, 135 mg)

IR (película),  $\nu_{\text{max}}$ : 3382, 2921, 1647, 1417, 1145, 1049, 925  $\text{cm}^{-1}$

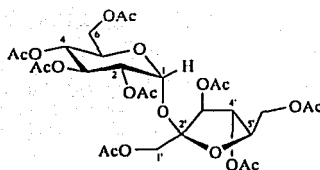
RMN  $^1\text{H}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , espectro 11),  $\delta$ : 5.38 (1H, d,  $J = 3.84$ ,  $\text{H}_1$ ), 4.07 (1H, d,  $J = 8.3$ ,  $\text{H}_3$ ), 4.01 (1H, t,  $\text{H}_4$ ), 3.82 (1H, m,  $\text{H}_5$ ), 3.80 (2H, m,  $\text{H}_6$ ), 3.75 (3H, m,  $\text{H}_{1'}$ ,  $\text{H}_5'$ ), 3.70 (1H, m,  $\text{H}_3$ ), 3.60 (2H, m,  $\text{H}_6$ ), 3.42 (1H, dd,  $J = 3.5$ ,  $9.5$ ,  $\text{H}_2$ ), 3.34 (1H, m,  $\text{H}_4$ )

RMN  $^{13}\text{C}$  (75MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$ : 105.32 (C-2'), 93.65 (C-1), 83.75 (C-5'), 79.36 (C-3'), 75.71 (C-4'), 74.61 (C-3), 74.38 (C-5), 73.19 (C-2), 71.34 (C-4), 64.03 (C-6'), 63.39 (C-1'), 62.219 (C-6)

EM-FAB $^+$ , espectro 12,  $m/z$  (int. rel.): 365 [ $\text{M}^+ + \text{Na}$ ] (6), 329 (30), 307 (34), 289 (13), 176 (42), 154 (100), 136 (61), 107 (12), 89 (11), 77 (10), 65 (4), 23 (4)

#### d) Acetilación de sacarosa

74.5 mg de sacarosa (97) fueron sometidos al proceso convencional de acetilación y el residuo acetilado (98, 36 mg) cristalizó de acetato de etilo.



98

Cristales incoloros, pf: 70-74 °C (lit [86] 70-72 °C, 36 mg)

RMN  $^1\text{H}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , espectro 13),  $\delta$ : 5.71 (1H, d,  $J = 3.5$ ,  $\text{H}_1$ ), 5.46 (d,  $J = 5.8$ ,  $\text{H}_3$ ), 5.40 (d,  $J = 7.0$ ,  $\text{H}_3$ ), 5.38 (t,  $J = 5.5$ ,  $\text{H}_4$ ), 5.05 (t,  $J = 9.5$ ,  $\text{H}_4$ ), 4.83 (dd,  $J = 3.5$ , 10.0,  $\text{H}_2$ ), 4.36-4.10 (m,  $\text{H}_5$ ,  $\text{H}_5$ ,  $\text{H}_6$ ,  $\text{H}_6$ ,  $\text{H}_1$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  (75MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$ : 172.40-171.20 (8C, C=O), 105.32 (C-2'), 91.31 (C-1), 80.48 (C-5'), 77.27 (C-3'), 76.47 (C-4') 71.74 (C-3), 70.93 (C-5), 69.94 (C-2), 69.76 (C-4), 64.87 (C-6'), 64.13 (C-1'), 63.26 (C-6), 20.62 (8C,  $\text{CH}_3\text{-C=O}$ )

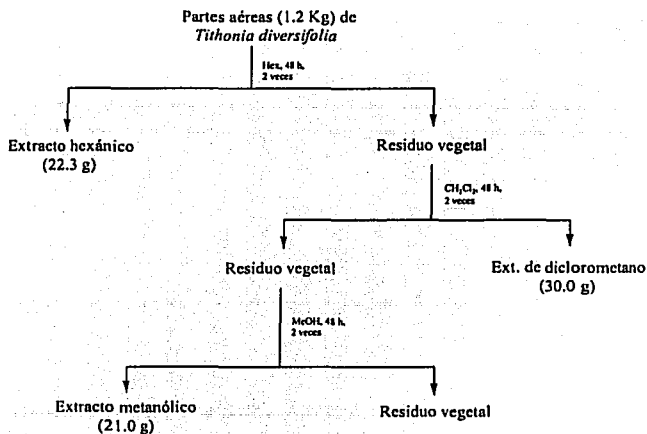
EM-FAB $^+$ ,  $m/z$  (int. rel.): 701 [ $\text{M}^+ + \text{Na}$ ] (8), 679 (1), 619 (1), 331 (100), 289 (5), 211 (41), 169 (52), 154 (15), 137 (17), 109 (25), 43 (31)

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### 7.4. Análisis químico de *Tithonia diversifolia*

##### 7.4.1. Extracción y cromatografía

*Tithonia diversifolia* (Hesmsl.) A. Gray (Asteraceae), fue colectada por el Dr. Guillermo Delgado (colecta 502) en diciembre del 2001, en el Cerro de la Contaduría, junto al Fuerte de San Blas, Nayarit. Una muestra de esta especie se encuentra depositada en el Herbario Nacional del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (registro 1014633, identificada por el Dr. José Luis Villaseñor). Es un arbusto de 2-3 m de altura encontrado en un hábitat pedregoso y de vegetación tropical. Las partes aéreas (hojas, tallos, flores) fueron secadas a la sombra y posteriormente se pulverizó el material obteniéndose 1.2 Kg. La extracción de los constituyentes químicos de este material vegetal se realizó mediante la maceración con hexano por 48 h. Posteriormente, el residuo vegetal fue macerado con diclorometano por 48 h y por último el residuo se maceró con metanol por el mismo tiempo (véase esquema 5). Cada extracción se realizó por dos ocasiones sucesivas, y los disolventes fueron eliminados a presión reducida, obteniéndose 22.3 g de extracto hexánico, 30 g de extracto diclorometánico y 21 g de extracto metanólico.



Esquema 5. Extracción de las partes aéreas de *T. diversifolia*.

Cada extracto obtenido se fraccionó en mezclas menos complejas, mediante cromatografía en columna y en algunos casos usando cromatografías preparativas, tal como se describe a continuación:

*Extracto hexánico:* Del extracto hexánico (22.3 g) se tomó una alícuota (6 g) y se realizó el fraccionamiento por cromatografía en columna. La alícuota fue adsorbida en gel de sílice 70-230 en proporción 1:1 y se aplicó en una columna de 3 cm de diámetro empacada con gel de sílice HF<sub>254</sub> (15 cm altura) a presión reducida. La columna se eluyó con hexano y mezclas de hexano:AcOEt en orden creciente de polaridad colectándose eluatos de 125 mL. Las fracciones se monitorearon por cromatografía analítica y se reunieron de acuerdo a su similitud cromatográfica. La tabla 3 muestra el fraccionamiento del extracto hexánico, el gradiente de polaridad del sistema de elución y el metabolito secundario identificado.

Tabla 3. Datos del fraccionamiento del extracto hexánico.

Eluato	Fase móvil	Proporción %	Fracción	Compuesto
1-38	Hexano	100	A	ceras
39-41	Hex:AcOEt	95:5	B	ceras
42-49	"	90:10	C	$\beta$ -sitosterol (99) y
50-55	"	85:15	D	Estigmasterol (100)
56-64	"	80:20	E	
65-69	"	75:25	F	
70-73	Metanol	70:30	G	

*Extracto de diclorometano:* El extracto (26 g) fue adsorbido en gel de sílice 70-230 en proporción 1:1 y se aplicó en una columna (7.5 cm diámetro) empacada con gel de sílice HF<sub>254</sub> (25 cm altura) a presión reducida. El proceso mediante el cual se fraccionó el extracto de diclorometano se detalla en la tabla 4, donde se muestra el gradiente de

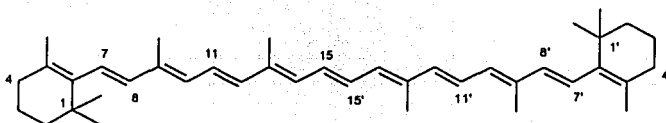
polaridad, el número de fracciones colectadas y el compuesto que se identificó de cada una de las fracciones.

Tabla 4. Datos del fraccionamiento del extracto de diclorometano.

Eluatos	Fase móvil	Proporción %	Fracción	Compuesto
2-9	Hexano	100	A	$\beta$ - <i>trans</i> -caroteno (101)
10-13, 21	Hex:AcOEt	95:5, 90:10	B, C	$\beta$ -sitosterol (99)/stigmasterol (100)
22-27	"	80:20	D	Ácido graso (102)
28-30	"	70:30	E	Tagitinina F (58)
31-34	"	60:40	F	Tagitinina C (59)
35-45	"	50:50	G	Tagitinina A (55')
46-50	metanol	100	H	Sal inorgánica

#### a) Aislamiento de $\beta$ -*trans*-caroteno

De la fracción A (0.740 g) se aisló un aceite de color rojo el cual se mostró puro por cromatografía analítica y fue identificado como  $\beta$ -*trans*-caroteno (101) [87-89].



101

Accite rojo (25 mg)

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 14),  $\delta$ : 6.66 (d,  $J = 14.0$ , H-7/H-7'), 6.34 (d,  $J = 15.0$ , H-8/H-8'), 6.66-6.03 (10H, H-10,10', H-11,11', H-12,12', H-14,14', H-15,15'), 2.02 (H-4/H-4'), 1.61 (H-3/H-3'), 1.46 (H-2/H-2'), 1.97 (s, H-19, H-20/H-19', H-20'), 1.72 (s, H-18/H-18'), 1.03 (H-16, H-17/H-16', H-17')

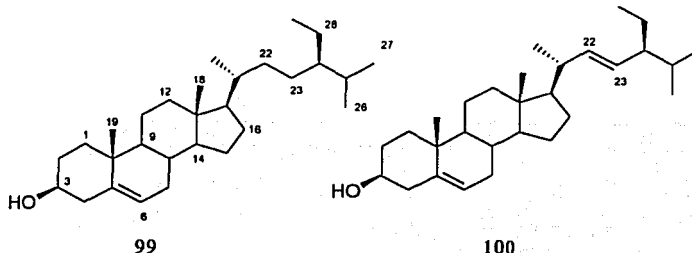
RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 15),  $\delta$ : 137.92 (C-6/C-6'), 137.77 (C-8/C-8'), 137.23 (C-12/C-12'), 136.47 (C-13/C-13'), 136.02 (C-9/C-9'), 132.37 (C-14/C-14'), 130.84 (C-10/C-10'), 129.99 (C-15/C-15'), 129.38 (C-5/C-5'), 126.65 (C-7/C-7'), 125.00 (C-11/C-11')

11'), 39.65 (C-2/C-2'), 33.11 (C-4/C-4'), 19.26 (C-3/C-3'), 28.97 (C-16, 16'/C-17, 17'), 21.75 (C-18/C-18'), 12.80 (C-19/C-19'), 12.75 (C-20/C-20')

#### b) Aislamiento de la mezcla $\beta$ -sitosterol y estigmasterol

En la fracción B (0.9969 g) se formó un precipitado el cual fue separado y lavado con hexano frío, obteniéndose agujas transparentes. Este sólido fue identificado como una mezcla de  $\beta$ -sitosterol (99) [90] y estigmasterol (100) [91] en proporción 2:1, respectivamente.

La fracción C (0.47 g) fue analizada en sus constituyentes mediante una cromatografía en columna al vacío (de 1.5 cm de diámetro) empacada con gel de sílice HF<sub>254</sub> (13 g). Se comenzó a eluir con hexano y luego se incrementó gradualmente la polaridad con acetato de etilo, colectando fracciones de 25 mL cada una. De las subfracciones 28-29 se separaron cristales en forma de agujas traslúcidas purificadas mediante cristalizaciones de acetato de etilo y lavados con hexano frío. Por sus características espectroscópicas se identificó como la mezcla de  $\beta$ -sitosterol (99) y estigmasterol (100) en proporción 2:1, respectivamente.



Cristales incoloros 99 y 100, pf: 171-174 °C, 105 mg

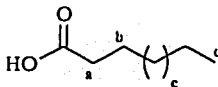
RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 16),  $\delta$ : 5.35 (1H, d, J = 5.0, H-6), 5.16 (1H, dd, J = 8.0, 15.0, H-22), 5.02 (1H, dd, J = 8.0, 15.0, H-23), 3.55 (1H, m, H-3), 1.02 (3H, s, H-19), 0.97 (3H, d, J = 6.4, H-21), 0.84 (3H, t, H-29), 0.83 (3H, d, J = 6.7, H-26), 0.81 (3H, d, H-27), 0.68 (3H, s, CH<sub>3</sub>-C-13), 0.68-1.3 (28H, m)

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ : 36.97 (C-1), 29.68 (C-2), 73.97 (C-3), 38.10 (C-4), 139.63 (C-5), 122.63 (C-6), 31.86 (C-7), 27.75 (C-8), 50.01 (C-9), 36.59 (C-10), 21.01 (C-11),

39.69 (C-12), 42.27 (C-13), 56.65 (C-14), 24.28 (C-15), 28.22 (C-16), 56.00 (C-17), 11.85 (C-18), 19.30 (C-19), 36.14 (C-20), 18.76 (C-21), 33.91 (C-22), 138.29 (C-22'), 26.04 (C-23) 129.26 (C-23'), 45.82 (C-24), 29.12 (C-25), 19.80 (C-26), 19.02 (27), 23.04 (C-28), 11.97 (C-29)

### c) Aislamiento del ácido graso

La fracción D (0.2180 g) fue adsorbida en gel de sílice 70-230 (1 g) y resuelta en sus constituyentes mediante cromatografía en columna (1.5 cm de diámetro) a presión reducida. La columna fue empacada con gel de sílice HF<sub>254</sub> (10 g) y eluida con hexano y posteriores aumentos en la polaridad del sistema de elución con acetato de etilo, obteniéndose fracciones de 50 mL cada una. A partir de las subfracciones 42-68 se separó un sólido blanco de consistencia cerosa. Las características espectroscópicas de esta sustancia fueron muy similares a los reportados para el ácido tetradecanoico (102) [92], lo que permite establecer un ácido graso saturado del cual no se estableció la longitud de la cadena hidrocarbonada.



102

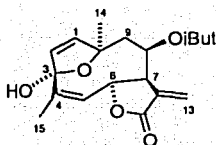
Sólido blanco, pf: 45 °C, 23 mg

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ: 2.35 (2H, m, H-a), 1.64 (2H, m, H-b), 1.26 (ca. 18H, s, CH<sub>2</sub>-c), 0.89 (3H, t, CH<sub>3</sub>-d)

### d) Aislamiento de tagitinina F

La fracción E (0.4462 g) se adsorbió en 1.5 g de sílica gel 60 y se aplicó en una columna de 1.0 cm de diámetro, empacada previamente con gel de sílice HF<sub>254</sub> (10 g) al vacío. El sistema de elución fue CHCl<sub>3</sub> y se incrementó la polaridad con mezclas de CHCl<sub>3</sub>:metanol, colectando eluatos de 25 mL. Las subfracciones 12-27 eluidas con una mezcla CHCl<sub>3</sub>:metanol 96:4 (473 mg), fueron recromatografiadas usando CCF preparativa bidimensional. Se aplicaron 35 mg de muestra en cada placa y se eluyeron con una mezcla de hexano-acetato de etilo (7:3) en 4 ocasiones consecutivas, lo que permitió la purificación

de un sólido blanco (3.9 mg) que por sus características espectroscópicas fue identificado como tagitinina F (58) [61].



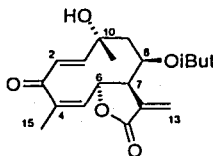
58

Sólido blanco, pf: 128-130 °C [61], 3.9 mg

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz, espectro 17),  $\delta$ : 6.33 (1H, d,  $J = 6.0$ , H-1), 6.31 (1H, d,  $J = 2.4$ , H-13a), 5.92 (1H, dc,  $J = 6.9$ , 1.5, H-5), 5.82 (1H, d,  $J = 6.0$ , H-2), 5.69 (1H, d,  $J = 2.1$ , H-13b), 5.68 (1H, dd,  $J = 1.5$ , 7.5, H-6), 5.08 (1H, t,  $J = 3.3$ , H-8), 3.43 (1H, m,  $J = 2.7$ , H-7), 2.51 (1H, sep, H-2'), 2.32 (1H, dd,  $J = 3.9$ , 12.9, H-9a), 2.30 (1H, dd,  $J = 12.3$ , H-9b), 1.94 (3H, d,  $J = 1.5$ ,  $\text{CH}_3$ -C4), 1.41 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -C10), 1.13 (3H, d,  $J = 6.9$ ,  $\text{CH}_3$ -C2'), 1.12 (3H, d,  $J = 6.9$ ,  $\text{CH}_3$ -C2')

#### e) Aislamiento de tagitinina C

La fracción F (0.4988 g) fue separada en sus constituyentes usando una columna cromatográfica de 1.5 cm de diámetro, la cual fue empacada con gel de sílice  $\text{HF}_{254}$  (15 g) a presión reducida. La columna fue eluida con hexano y mezclas de hexano:acetato de etilo con aumentos graduales de polaridad, colectando fracciones de 25 mL cada una. De las subfracciones 8-10 eluidas con una mezcla de hexano:acetato de etilo (7:3), se obtuvo un aceite amarillo que fue cristalizado de acetato de etilo como un sólido blanco, y que por sus características físicas y espectroscópicas fue identificado como tagitinina C (59).



59



Sólido blanco, pf: 150-2°C (lit [61] goma), 32 mg

IR espectro 18, (CHCl<sub>3</sub>)  $\nu_{max}$ : 3604, 3467, 2978, 2936, 1769 1732, 1657, 1469, 1279, 1152, 1118, 996 cm<sup>-1</sup>

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, espectro 19),  $\delta$ : 6.91 (1H, d, J = 17.0, H-1), 6.35 (1H, d, J = 1.7, H-13a), 6.24 (1H, d, J = 17.0, H-2), 5.86 (1H, dc, J = 9.0, 1.5, H-5), 5.80 (1H, d, J = 1.7, H-13b), 5.40 (1H, dd, J = 7.5, 9.1, H-6), 5.35 (1H, ddd, 3.4, 6.3, 9.8 H-8), 3.54 (1H, ddd, J = 1.8, 3.6, 6.9, H-7), 2.46 (1H, dd, J = 6.0, 14.0 H-9a), 2.26 (1H, m, H-2'), 2.01 (1H, dd, J = 4.0, 13.0 H-9b), 1.95 (3H, d, J = 1.5, CH<sub>3</sub>-C4), 1.53 (3H, s, CH<sub>3</sub>-C10), 1.07 (3H, d, J = 7.0, CH<sub>3</sub>-C2'), 1.05 (3H, d, J = 7.0, CH<sub>3</sub>-C2')

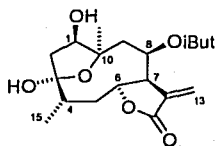
RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz, espectro 20),  $\delta$ : 196.69 (C-3), 176.17 (C-1'), 169.65 (C-12), 159.99 (C-1), 138.92 (C-4), 137.13 (C-5), 129.65 (C-11), 124.49 (C-13), 75.96 (C-6), 73.88 (C-8), 72.05 (C-10), 48.41 (C-9), 47.02 (C-7), 34.03 (C-2'), 29.03 (C-14), 19.66 (C-15), 18.78 (C-3'), 18.61 (C-4')

EMIE espectro 21,  $m/z$  (int. rel.): 349 [M<sup>+</sup> + H] (4), 331 (4), 305 (3), 277 (13), 261 (45), 217 (33), 149 (29), 95 (18), 71 (100), 43 (97), 27 (4)

#### g) Aislamiento de tagitinina A

La fracción G (4.2145 g) se adsorbió en gel de sílice 70-230 y se aplicó en varias columnas de 2 cm de diámetro empacadas con gel de sílice HF<sub>254</sub> (18 g). Se usó un sistema de elución constante de diclorometano-acetona (9:1), colectando fracciones de 50 mL. De las subfracciones 25-39 se obtuvo un sólido blanco, el cual fue recrystalizado de acetato de etilo-éter isopropílico, e identificado por sus características espectroscópicas como tagitinina A (55) [61], estructura corregida a tagitinina A (55'). Se observó que, después de algunas horas, la tagitinina A (55') disuelta en cloroformo (espectro 29), tiende a transformarse, identificándose la olefina  $\Delta^{3,4}$  como uno de los varios productos observables tanto por CCF como por RMN <sup>1</sup>H. La tagitinina A es estable en solución de acetona (espectro 30).

La tagitinina A (55') fue cristalizada de metanol, obteniéndose cristales que fueron analizados por difracción de Rayos X (anexo 1).



55\*

Sólido blanco, pf: 172-4°C (lit [61] 168-170 °C), 85 mg

IR espectro 22 (CHCl<sub>3</sub>)  $\nu_{\max}$ : 3606, 3495, 2930, 2856, 1756, 1663, 1598, 1447, 1384, 1145, 1090, 1049, 1011, 946 cm<sup>-1</sup>

RO:  $[\alpha]_D^{25}$  -124 ( $c$  2 x 10<sup>-3</sup> M, MeOH) (lit [61] -154)

DC: ( $c$  2 x 10<sup>-5</sup>, MeOH),  $[\Phi]_{252}$  -314,  $[\Phi]_{210}$  -3702

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ): 211 (4.06) nm

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, espectro 23),  $\delta$ : 6.27 (1H, d, J = 3.6, H-13a), 5.58 (1H, ddd, J = 2.7, 5.4, 8.4, H-8), 5.54 (1H, d, J = 3.3, H-13b), 4.57 (1H, ddd, J = 1.8, 6.6, 10.2, H-6), 4.25 (1H, dd, J = 7.5, 9.3, H-1), 4.08 (1H, ddd, J = 2.7, 6.6, 9.9, H-7), 2.44 (1H, m, H-2a), 2.44 (1H, m, H-2'), 2.08 (1H, m, H-4), 2.08 (1H, m, H-2b), 2.08 (1H, m, H-5b), 2.08 (1H, m, H-5a), 1.96 (1H, dd, J = 5.7, 14.0, H-9b), 1.82 (1H, m, 9.0, 12.9, H-9a), 1.44 (3H, s, CH<sub>3</sub>-C10), 1.11 (3H, d, J = 6.6, CH<sub>3</sub>-C4), 1.08 (3H, d, J = 6.9, CH<sub>3</sub>-C2'), 1.06 (3H, d, J = 6.9, CH<sub>3</sub>-C2')

RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, 300 MHz, espectro 24),  $\delta$ : 6.09 (1H, d, J = 3.3, H-13a) 5.61 (1H, m, J = 3.0, 5.7, 9.9, H-8), 5.60 (1H, d, J = 3.0, H-13b), 4.75 (1H, s, HO-C-3), 4.57 (1H, ddd, J = 1.5, 6.3, 10.2, H-6), 4.32 (1H, d, J = 4.8, HO-C-1), 4.18 (1H, ddd, J = 4.5, 7.8, 9.3, H-1), 4.05 (1H, m, J = 3.3, 6.3, H-7), 2.45 (1H, sep, H-2'), 2.37 (1H, dd, J = 9.0, 13.8, H-2a), 2.17 (1H, dd, J = 2.4, 8.7, H-4), 2.09 (1H, m, J = 8.4, 10.2, H-5a), 2.04 (1H, m, J = 6.3, 12.9, H-2b), 1.93 (1H, dd, J = 5.7, 14.4, H-9b), 1.83 (1H, dd, J = 11.1, 14.7, H-9a), 1.70 (1H, dd, J = 1.5, 12.9, H-5b), 1.39 (3H, s, CH<sub>3</sub>-C10), 1.06 (3H, d, J = 6.6, CH<sub>3</sub>-C4), 1.04 (3H, d, J = 6.9, CH<sub>3</sub>-C2'), 1.01 (3H, d, J = 6.9, CH<sub>3</sub>-C2')

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz, espectro 25),  $\delta$ : 176.34 (C-1'), 169.42 (C-12), 137.07 (C-11), 121.57 (C-13), 105.73 (C-3), 81.77 (C-6), 81.46 (C-10), 78.26 (C-1), 70.39 (C-8), 47.84

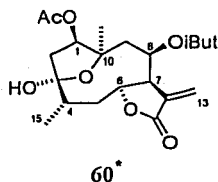
(C-7), 47.04 (C-2), 44.34 (C-4), 37.79 (C-5), 34.62 (C-9), 34.03 (C-2'), 24.99 (C-14), 19.18 (C-15), 18.72 (C-3'), 18.35 (C-4').

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ , 75 MHz, espectro 26),  $\delta$ : 176.15 (C-1'), 169.38 (C-12), 139.08 (C-11), 120.84 (C-13), 106.36 (C-3), 82.15 (C-6), 82.00 (C-10), 79.22 (C-1), 71.23 (C-8), 48.61 (C-7), 47.78 (C-2), 45.21 (C-4), 39.10 (C-5), 35.49 (C-9), 34.67 (C-2'), 25.23 (C-14), 19.47 (C-15), 19.01 (C-3'), 19.01 (C-4').

EM-IE espectro 27,  $m/z$  (int. rel.): 369 [ $\text{M}^+ + \text{H}$ ] (12), 351 (3), 33 (2), 280 (11), 262 (21), 211 (32), 121 (24), 97 (20), 71 (62), 43 (100), 27 (8), 18 (2), 15 (1)

#### h) Acetilación de tagitina A

15 mg de (55') fueron acetilados de acuerdo al procedimiento convencional, obteniéndose 12 mg de acetiltagitina A (60') [62] purificados mediante cristalizaciones sucesivas de acetato de etilo.



Agujas finas, pf: 214-6°C (lit [62] 181-2 °C), 12 mg

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz, espectro 28),  $\delta$ : 6.25 (1H, d,  $J$  = 3.5, H-13a), 5.60 (1H, m, H-8), 5.53 (1H, d,  $J$  = 2.5, H-13b), 5.06 (1H, dd,  $J$  = 6.5, 9.5, H-1), 4.56 (1H, dddd,  $J$  = 1.5, 2.0, 7.0, 11.0, H-6), 4.01 (1H, m,  $J$  = 3.0, 6.5, 9.5, H-7), 2.57 (1H, dd,  $J$  = 9.5, 14.5, H-2a), 2.46 (1H, sep, H-2'), 2.11 (1H, dd,  $J$  = 6.5, 14.5, H-5a), 2.11 (1H, dd,  $J$  = 6.5, 14.5, H-2b), 2.09 (1H, m, H-4), 2.08 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{-COO-C-1}$ ), 1.88 (1H, dd,  $J$  = 2.0, 13.5, H-5b), 1.85 (1H, dd,  $J$  = 8.5, 14.0, H-9a), 1.83 (1H, dd,  $J$  = 6.5, 14.0, H-9b), 1.48 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{-C-10}$ ), 1.12 (3H, d,  $J$  = 6.5,  $\text{CH}_3\text{-C-4}$ ), 1.09 (3H, d,  $J$  = 7.0,  $\text{CH}_3\text{-C-2'}$ ), 1.06 (3H, d,  $J$  = 7-0,  $\text{CH}_3\text{-C-2'}$ )

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz, espectro 29),  $\delta$ : 176.19 (C-1'), 170.14 (C-1''), 169.20 (C-12), 136.76 (C-11), 121.76 (C-13), 106.37 (C-3), 80.99 (C-6), 80.81 (C-10), 79.13 (C-1), 69.14 (C-8), 47.82 (C-7), 44.49 (C-2), 43.72 (C-4), 37.67 (C-5), 35.41 (C-9), 34.01 (C-2'), 25.43 (C-2''), 20.92 (C-14), 19.22 (C-15), 18.68 (C-3'), 18.37 (C-4').

## 7.5. Bioensayo de toxicidad frente a *Artemia salina* [93]

### Material:

1. *Artemia salina* (huevecillos)
2. Sal de mar y Pecera pequeña (5 L)
3. Jeringas; 5  $\mu$ L, 0.5  $\mu$ L, 100  $\mu$ L, 10 $\mu$ L
4. Viales (9 por muestra)

### Procedimiento:

- Preparar agua de mar de acuerdo a las instrucciones de la caja (ca. 38 g de sal de mar por litro de agua).
- Colocar el agua de mar en una pecera pequeña y adicionar huevecillos de *Artemia salina*. Colocar la luz de una lámpara encima de la pecera. Mantener la temperatura del agua a 28°C durante dos días para permitir la maduración adecuada de los huevecillos.
- Preparar viales para el análisis de cada fracción, analizar inicialmente a 1000, 100 y 10  $\mu$ g/mL; preparar tres viales a cada concentración para un total de nueve viales. Pesar 20 mg de muestra (compuestos a bioevaluar) y adicionar 2 mL de disolvente (20 mg/2mL), de esta solución transferir 500, 50 y 5  $\mu$ L a los viales correspondientes (1000, 100 y 10  $\mu$ L, respectivamente). Evaporar el disolvente con nitrógeno y después colocar a alto vacío por 30 minutos.
- Después de dos días (cuando la larva de *Artemia salina* ha emergido), adicionar 5 mL de agua a cada vial y agregar 10 individuos por vial (30 larvas por dilución).
- Transcurridas 24 h, contar y registrar el número de larvas sobrevivientes.
- Los resultados se analizan estadísticamente para determinar el valor de DL<sub>50</sub> a un intervalo de confianza de 95%.

Tabla 5. Toxicidad frente a *Artemia salina* del extracto de diclorometano (EDM) de las partes aéreas de *T. diversifolia* y tagitinina C (59).

Concentración, ppm (log)	EDM		Tagitinina C (59)	
	Mortalidad (%)	DL <sub>50</sub>	Mortalidad (%)	DL <sub>50</sub>
1000 (3.00)	60.60		95.30	

562.34	(2.75)	9.10	41.90
316.22	(2.50)	2.70	0.00
177.82	(2.25)	1.90	0.00
100	(2.00)	1.60	0.00

## 7.6. Bioensayo de la actividad anti-inflamatoria en edema inducido con TPA [94]

### Material:

1. Ratones machos (25-30 g)
2. Microjeringas
3. Balanza analítica
4. Anestésico (Pentobarbital sódico®)
5. TPA (13-acetato de 12-*O*-tetradecanoilforbol)
6. Etanol, Acetona
7. Indometacina® (fármaco de referencia)
8. Sacabocado
9. Muestras a bioevaluar

### Procedimiento:

- Usar grupos de tres ratones para cada muestra
- Aplicar anestésico vía intraperitoneal
- Aplicar en la superficie interna y externa de la oreja derecha de cada ratón con ayuda de una microjeringa, 2.5 µL de TPA disuelto en 10 µL de etanol. Aplicar 10µL de etanol en la oreja izquierda.
- 0.5 mg de cada muestra se disolvieron en 20 µL de acetona y se aplicaron tópicamente en la oreja derecha 10 min después de haber aplicado el TPA. En la oreja izquierda solo se aplican 20 mL de acetona.
- Se usa un grupo testigo de tres ratones a los que se les aplica indometacina® en la forma descrita para los grupos tratados.

- Se sacrifican los ratones 4 h después de haber transcurrido el experimento y posteriormente se obtienen 9 mm de diámetro de cada oreja usando un sacabocado. Luego se pesan en la balanza analítica.
- La diferencia de peso entre las orejas tratadas con las muestras y con la indometacina, y las orejas tratadas únicamente con el disolvente, se toma como una medida de la respuesta antiedematosa. El porcentaje de inhibición del edema se calculó usando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = [(Edema A - Edema B) / Edema A] \times 100$$

Edema A = Peso (mg) de la oreja tratada con TPA – Peso de la oreja sin tratamiento con TPA

Edema A = Edema del grupo control

Edema B = Edema del grupo tratado con las muestras

Tabla 6. Actividad anti-inflamatoria del extracto de *T. diversifolia* y algunos de sus metabolitos secundarios, en el edema inducido con TPA en oreja de ratón.

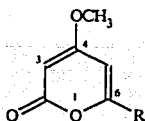
Muestras y Referencia	% de inhibición
Extracto de diclorometano	26.64
Tagitinina C (59)	24.18
Tagitinina A (55 <sup>*</sup> )	29.35
Indometacina (referencia)	66.95

## 8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### Estudio químico de *A. panamense*

#### 8.1. 6-(*p*-Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona

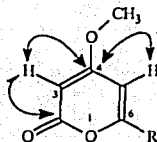
De la fase orgánica etérea precipitó un sólido amarillo-fosforescente de punto de fusión 267-272°C. Los datos del espectro de masas (IE, 70 eV, espectro 5) indican la fórmula molecular  $C_{14}H_{12}O_4$  ( $M^+ + H = 245$ ) y nueve grados de insaturación. En el espectro de UV (espectro 1) se observan tres bandas de absorción ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ,  $n \rightarrow \pi^*$ ) a  $\lambda_{max}$  218, 282 y 360 nm asignables a sistema aromático con extensión de la conjugación y a carbonilo conjugado. En el espectro de IR (espectro 2) se observa una banda ancha a  $3260\text{ cm}^{-1}$  debida a hidroxilo; una banda a  $1699\text{ cm}^{-1}$  para carbonilo y a  $1258\text{ cm}^{-1}$  para enlace C-O. También, son observables cuatro bandas a 1633, 1608, 1586 y  $1549\text{ cm}^{-1}$  para un sistema de ligaduras dobles carbono-carbono. Los datos espectroscópicos de UV e IR muestran similitud con los informados para la yangonina y compuestos análogos [96, 97], lo que sugiere la presencia de una  $\alpha$ -pirona con un sustituyente metoxilo. La señal del metoxilo se observa en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO, espectro 3) como una señal singulete en  $\delta$  3.81 que integra para tres hidrógenos, por lo que puede deducirse la estructura de una  $\alpha$ -pirona con un grupo metoxilo  $\beta$ - al carbonilo (véase estructura parcial A).



La presencia de la fórmula parcial A se confirma mediante el análisis de las correlaciones heteronucleares  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HMQC, espectro 30 y HMBC, espectro 31), de lo que se deduce que la señal en  $\delta_{\text{H}}$  3.81 (3H, s, metoxilo) corresponde a los hidrógenos del carbono que resuena en  $\delta_{\text{C}}$  56.24, y además correlaciona con el carbono cuaternario que resuena en  $\delta_{\text{C}}$  170.96, lo que permite asignar este último como C-4 en el fragmento estructural A. La señal asignada a C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  170.96) muestra correlaciones en el espectro HMBC con la señal doblete centrada en  $\delta_{\text{H}}$  5.57 ( $J = 2.0\text{ Hz}$ ) y con la señal triplete centrada en  $\delta_{\text{H}}$  6.20 ( $J = 2.0\text{ Hz}$ ), las cuales integran para un protón cada una. Estas correlaciones corresponden a los protones de las posiciones 3 y 5, respectivamente; ya

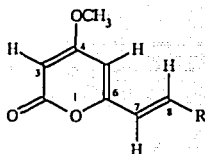
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

que H-3 ( $\delta_H$  5.57) correlaciona con el carbono del carbonilo que resuena en  $\delta_C$  162.75 (C-2), en tanto que H-5 ( $\delta_H$  6.20) no correlaciona con este carbono. En la figura 4 pueden observarse algunas correlaciones selectas para H-3 y H-5 del fragmento estructural A.



4

Por otra parte, H-5 muestra correlación en el espectro HMBC con un carbono de metino que resuena en  $\delta_C$  116.14 (C-7), el cual se encuentra unido a un protón que resuena en  $\delta_H$  6.75 como una señal doble de doble (1H,  $J = 2.0, 16.0$  Hz, H-7). En la modalidad COSY se observa que el hidrógeno en  $\delta_H$  6.75 (H-7) correlaciona con el protón que aparece como una señal doblete (1H,  $J = 16.0$  Hz) en  $\delta_H$  7.22 (H-8). El valor de la constante de acoplamiento ( $J = 16.0$  Hz) y el desplazamiento químico de las señales anteriores, establecen una orientación *trans* de protones vinílicos. Así, el fragmento estructural A puede extenderse a la estructura parcial B.

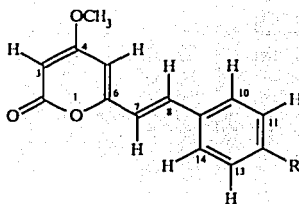


B

De las 11 señales que se observan en el espectro de RMN  $^{13}C$  (125 MHz, DMSO, espectro 4) y en el experimento DEPT (espectro 38), han sido asignados tres carbonos cuaternarios ( $\delta_C$  170.96 (C-4), 162.71 (C-2) y 158.94 (C-6)), cuatro carbonos de metinos ( $\delta_C$  134.40 (C-7), 116.14 (C-8), 99.98 (C-5) y 88.02 (C-3)) y un carbono de metilo ( $\delta_C$  56.24 (OCH<sub>3</sub>)); y aun no se han asignado las señales de los carbonos de metino que resuenan en  $\delta_C$  129.21 y 115.79 y del carbono cuaternario que resuena en  $\delta_C$  126.20.

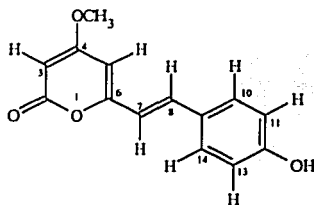


En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  de esta sustancia se observa un sistema AA'BB' en  $\delta$  7.47 y 6.79 que integran para cuatro hidrogenos y que pueden asignarse a un sistema de protones característicos de la presencia de un benceno 1,4-disustituido. Estos protones químicamente equivalentes correlacionan (en el espectro HMQC) con las señales de carbono que resuenan en  $\delta_{\text{C}}$  129.21 (C-10/C-14) y 115.79 (C-11/C-13). La integración de la información antes descrita permite extender la estructura parcial B al fragmento estructural C.



C

En la modalidad HMBC del espectro de resonancia se observan trazos de correlaciones entre H-10/H-14 y las señales de carbono que resuenan en  $\delta_{\text{C}}$  134.40 (C-8), 126.20 (C-9), 115.79 (C-11/C-13) y 158.94 (C-12). Adicionalmente, en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  se observa una señal singulete en  $\delta_{\text{H}}$  9.87 (1H, OH) que correlaciona en el espectro HMBC con los carbonos C-11/C-13 ( $\delta_{\text{C}}$  115.79), lo que establece la presencia de un grupo hidroxilo *para* en el benceno de la estructura parcial C, lo cual es consistente con la fórmula molecular y permite establecer la identidad de esta sustancia como 4-metoxi-6-(*p*-hidroxiestiril)-2-pirona (13) [81-82].



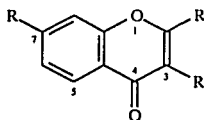
13

## 8.2. 7-Hidroxi-4'-metoxi-isoflavona

De la fase orgánica etérea se aisló un sólido blanco (véase parte experimental) que por espectrometría de masas (IE, 70 eV, espectro 9) se estableció que posee la fórmula

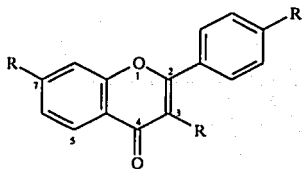
molecular  $C_{16}H_{12}O_4$  ( $M+1 = 269$ ), la cual indica 11 grados de insaturación. En el espectro de IR (espectro b) se observan bandas de absorción a  $3137\text{ cm}^{-1}$  para grupo hidroxilo; una banda a  $1638\text{ cm}^{-1}$  para carbonilo; dos bandas a  $1599$  y  $1512\text{ cm}^{-1}$  para dobles enlaces carbono-carbono. Los datos espectroscópicos de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO, espectro 7) y RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz, DMSO, espectro 8) muestran un perfil característico para una flavona o una isoflavona [98]. Esta propuesta presenta concordancia con las siete insaturaciones por dobles enlaces, una insaturación de carbonilo y tres insaturaciones por la presencia de tres anillos.

En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO) se observan: una señal doblete ( $J = 9.0\text{ Hz}$ ) en  $\delta\ 7.98$ , una señal doble de doble ( $J = 2.5, 9.0\text{ Hz}$ ) centrada en  $\delta\ 6.94$ , y una señal doblete ( $J = 2.5\text{ Hz}$ ) en  $\delta\ 6.86$ , que integran para un hidrógeno cada una, y que pueden asignarse a un sistema de protones ABX, sugiriendo la presencia de un benceno 1,2,5-trisustituido. Por otro lado, no se observan señales a campo bajo que pudieran ser asignables a un hidrógeno quelatado con el carbonilo de la  $\gamma$ -pirona. Considerando el fragmento del esqueleto de un flavonoide o isoflavonoide y con base en los datos espectroscópicos hasta ahora descritos, se puede deducir el fragmento estructural A.

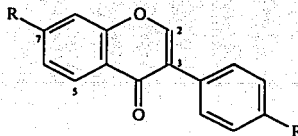


A

Por otra parte, en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  se observan dos señales doblete centradas en  $\delta\ 7.51$  ( $J = 9.0\text{ Hz}$ ) y en  $\delta\ 6.98$  ( $J = 2.0, 9.0\text{ Hz}$ ) que integran para dos protones cada una, y que pueden asignarse a un sistema de protones AA'BB' sugiriendo la presencia de un anillo aromático 1,4-disustituido. Integrando esta deducción con el fragmento estructural A, se pueden establecer las estructuras parciales B o B'.



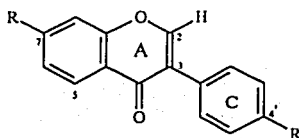
B



B'

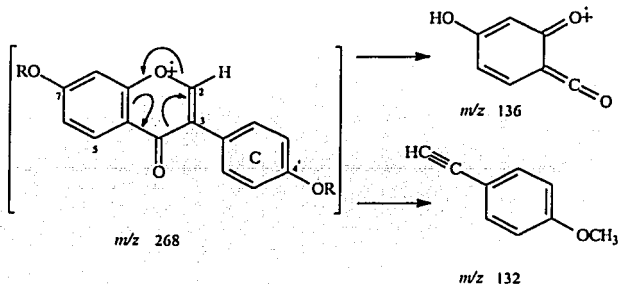
La diferenciación entre la estructura **B** (flavonoide) o **B'** (isoflavonoide) se lleva a cabo al comparar los desplazamientos químicos del hidrógeno del anillo A. Los átomos H-2 y C-2 de los isoflavonoides formononetina y aformosina presentan desplazamientos químicos a campo más bajo ( $\delta_H$  8.07,  $\delta_C$  153.1 y  $\delta_H$  8.32,  $\delta_C$  152.8, respectivamente) con respecto a los átomos H-3 y C-3 de los flavonoides 3',4',7-trihidroxi-flavona y tricina ( $\delta_H$  6.60,  $\delta_C$  105.0 y  $\delta_H$  6.98,  $\delta_C$  104.9, respectivamente) [99-101].

En el espectro de RMN  $^1H$  de la sustancia aislada de *A. panamense* se observa una señal singlete en  $\delta_H$  8.28 (integra para 1 protón) y en RMN  $^{13}C$  se observa una señal en  $\delta_C$  152.66 (carbono de metino), por lo que se establece un esqueleto estructural de tipo isoflavonoide (véase la figura 5).



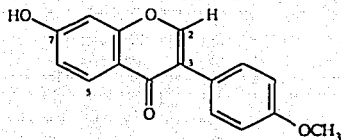
5

Adicionalmente, en el espectro de RMN  $^1H$  se observa una señal singlete en  $\delta$  3.80 que integra para tres protones y que por su desplazamiento químico debe ser un metilo unido a oxígeno. Para deducir la ubicación del metoxilo ( $\delta_H$  3.80) en C-7 (anillo B) o en C-4' (anillo C) del esqueleto de isoflavonoide, se recurrió al análisis del espectro de masas. Al considerar el metoxilo en C-4', el mecanismo de fragmentación por retro-Diels-Alder [102] generará un fragmento en  $m/z$  132 y otro fragmento en  $m/z$  136. Lo observable en el espectro de masas son esos fragmentos con abundancias relativas de 41% y 12%, respectivamente (véase esquema 6).



Esquema 6. Mecanismo de fragmentación por retro-Diels-Alder de 94.

Por lo anterior, se establece la estructura 7-hidroxi-4'-metoxi -isoflavona (94).



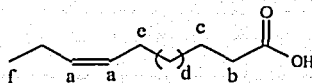
94

Este compuesto se ha aislado anteriormente de *Baptisia australis* (Leguminosae) y se denominó formononetina [83]. La comparación de las propiedades físicas y espectroscópicas con las informadas en la literatura establecen la identidad de ambas sustancias.

#### Estudio químico de *J. curcas*

#### 8.3. Ácido graso insaturado

Del extracto acetónico de las semillas de *J. curcas* (véase parte experimental) se aisló un aceite amarillo, el cual fue identificado como un ácido graso de cadena hidrocarbonada insaturada. En el espectro de IR se observan bandas de absorción a 3517  $\text{cm}^{-1}$  para grupo hidroxilo, a 2927 y 2855  $\text{cm}^{-1}$  para vibraciones carbono carbono de metinos y metilenos, y a 1708  $\text{cm}^{-1}$  para grupo carbonilo. En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) se observan: una señal múltiple centrada en  $\delta$  5.35 que integra para dos hidrógenos y que por su desplazamiento químico a campo bajo corresponde a protones vinílicos (H-a), una señal en  $\delta$  2.35 que integra para dos hidrógenos correspondientes a metileno  $\alpha$ - a grupo carbonilo (H-b), una señal multiplete centrada en  $\delta$  2.02 que integra para dos protones alílicos (H-c), una señal multiplete centrada en  $\delta$  1.63 correspondiente a dos protones de metileno  $\beta$ - a grupo carbonilo (H-c), una señal doblete centrada en  $\delta$  1.26 que integra para 22 hidrógenos que corresponden a los metilenos de la cadena alifática (H-d), y una señal triplete centrada en  $\delta$  0.88 que integra para tres hidrógenos y que corresponde al metilo terminal (H-f) de la cadena alifática. La información anterior permite establecer la estructura de un ácido graso insaturado (95), en el cual no se determinó la longitud de la cadena hidrocarbonada ni el número de insaturaciones [84].



95

#### 8.4. Triacilglicérido A

Del extracto acetónico de las semillas de *Jatropha curcas* se obtuvo un aceite amarillo como constituyente mayoritario (véase la parte experimental). El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 10) de este compuesto, muestra una señal múltiple en el intervalo de  $\delta$  5.37-5.32 con una integración para 12 hidrógenos, que por su desplazamiento pueden asignarse a protones vinílicos. Están presentes dos señales dobles de doble, centradas en  $\delta$  4.29 y 4.14 que integran para dos protones cada una, los cuales son geminales a oxígeno. Las constantes de acoplamiento para la señal en  $\delta$  4.29 (12.0 y 4.4 Hz), corresponden a un acoplamiento geminal entre los protones Hb y Hc, y a un acoplamiento de Hb con Ha, respectivamente (véase figura 4). Las constantes de acoplamiento para la señal doble de doble en  $\delta$  4.14 (12.6 y 6.0 Hz), están de acuerdo con el acoplamiento geminal entre Hb y Hc e indican un acoplamiento entre Hc y Ha, correspondientes a un fragmento de triacilglicérido como se muestra en la figura 6.

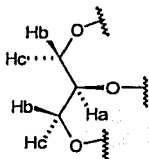


Figura 6.

Fragmento de triacilglicérido.

En  $\delta$  2.77 se observa una señal triple que integra para seis hidrógenos, asignables a protones doblemente alílicos. La señal doble de doble centrada en  $\delta$  2.04 que integra para doce hidrógenos se asigna a los protones alílicos del fragmento anterior. En  $\delta$  2.31 se encuentra una señal triple que integra para seis protones asignables, por su desplazamiento químico, a tres metilenos vecinos a carbonilo de éster. Lo descrito arriba, proporciona evidencia de la presencia del fragmento mostrado en la figura 7.

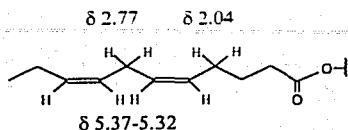
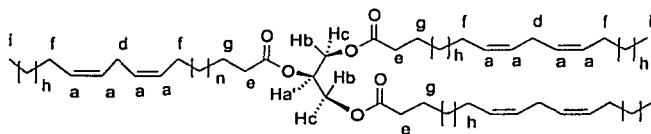


Figura 7.

Protones alílicos,  
doblemente alílicos y  
 $\alpha$ - a carbonilo

Adicionalmente, se observan: una señal múltiple en  $\delta$  1.61 que integra para seis protones correspondientes a hidrógenos en posición  $\beta$  al carbonilo, dos señales sencillas entre  $\delta$  1.10 y 1.30 que integran para 44 protones asignados a 22 metilenos de los residuos de ácidos grasos, y por último, una señal múltiple en  $\delta$  0.89 que integra para nueve protones que corresponden a tres metilos terminales de las cadenas de los residuos de ácidos grasos.

La integración de la información anteriormente descrita, permite deducir la estructura para el triacilglicérido A (96) [84] en donde la ubicación específica de las cadenas hidrocarbonadas insaturadas C-1, C-2 o C-3 no está definida.



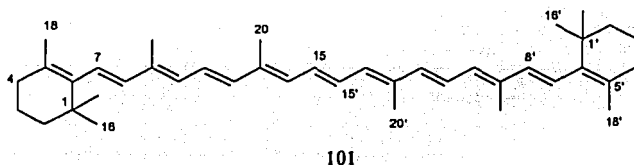
96

### Análisis químico de *T. diversifolia*

#### 8.5. $\beta$ -trans-caroteno

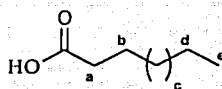
De la fracción A (véase parte experimental) del extracto de diclorometano de *T. diversifolia* se aisló un aceite rojo con olor característico a pino. En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 14, 300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) se observa el perfil de señales características de un carotenoide [87, 89]. En particular, se observan señales comprendidas entre  $\delta$  6.03 y  $\delta$  6.69 que integran para 14 hidrógenos, que por su desplazamiento químico corresponden a los protones vinílicos de la cadena del polieno. Se observa una señal doblete (2H,  $J = 14.0$ , H-7/H-7') centrada en  $\delta$  6.66 que correlaciona, en la modalidad COSY, con la señal doblete (2H,  $J = 15.0$ , H-8/H-8') centrada en  $\delta$  6.34 sugiriendo una orientación *trans* de estos protones vinílicos. También, se observan señales comprendidas entre  $\delta$  1.03 y 2.02 que corresponden a metilenos y metilos del carotenoide. En la modalidad COSY se observan las correlaciones entre los protones correspondientes a H-4/H-4'

(4H, m) en  $\delta$  2.02 con los protones H-3/H-3' (4H, m) en  $\delta$  1.61, y de esta última señal con la señal múltiple correspondiente a los protones H-2/H-2' (4H) en  $\delta$  1.46. En el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 15) y en el experimento DEPT se observan señales entre  $\delta$  125 y 138 ppm correspondientes a los carbonos metinos olefinicos, C-6 ( $\delta$  137.92), C-8 ( $\delta$  137.77), C-12 ( $\delta$  137.23), C-13 ( $\delta$  136.47), C-9 ( $\delta$  136.02), C-14 ( $\delta$  132.37), C-10 ( $\delta$  130.84), C-15 ( $\delta$  129.99), C-5 ( $\delta$  129.38), C-7 ( $\delta$  126.65), C-11 ( $\delta$  125.00). Por otro lado, a campo alto se observan 7 señales entre  $\delta$  12.00 y 40.00 ppm correspondientes a 3 metilenos: C-2 ( $\delta$  39.65), C-4 ( $\delta$  33.11), C-3 ( $\delta$  19.26); y a 5 metilos: C-16/C-17 ( $\delta$  28.97), C-18 ( $\delta$  21.75), C-19 ( $\delta$  12.80), C-20 ( $\delta$  12.75). La comparación de estos datos con los informados en la literatura [87] permiten confirmar que el aceite rojo posee la estructura del  $\beta$ -*trans*-caroteno (101), cuyas asignaciones de las señales del espectro de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del carotenoide fueron determinadas mediante las correlaciones heteronucleares  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  del carotenoide por Wernly y colaboradores [89], estableciéndose la orientación *trans* de la cadena de polieno.



### 8.6. Acido graso

De la fracción D del extracto de diclorometano de *T. diversifolia* (véase parte experimental) se aisló un sólido blanco de consistencia cerosa y punto de fusión 45 °C. El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) muestra una señal triplete en  $\delta$  2.35 que integra para dos hidrógenos  $\alpha$ - a un grupo carbonilo, una señal multiplete en  $\delta$  1.64 que integra para dos hidrógenos  $\beta$ - a carbonilo, una señal ancha en  $\delta$  1.26 correspondiente a los hidrógenos metilénicos (que integra para *ca.* 18 hidrógenos) y una señal triplete en  $\delta$  0.89 que integra para tres hidrógenos correspondientes al metilo final de la cadena alifática del ácido graso. La integración de los datos anteriores y la comparación con los datos informados para el ácido tetradecanoico y ácido láurico (44°C) [92] permiten establecer la estructura de un ácido graso saturado, en la cual no se determinó el número de carbonos de la cadena alifática (102).



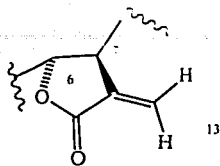
102

### 8.7. Tagitinina A

De la fracción G de la cromatografía del extracto de diclorometano de *T. diversifolia* (ver parte experimental) se obtuvo un sólido amorfo blanco de pf 172-174°C. La fórmula molecular  $C_{19}H_{28}O_7$  fue deducida del análisis del espectro de masas (IE, 70 eV, espectro 27), el cual muestra un ión molecular en  $m/z$  369 [ $M^+ + H$ ]. Los datos espectroscópicos de RMN  $^1H$  (espectro 23, 24) y RMN  $^{13}C$  (espectro 25, 26) fueron muy similares a los reportados para la tirotundina (73) aislada de *Tithonia rotundifolia* [67] y para la tagitinina A (55) aislada de *Tithonia diversifolia* [61]. En el espectro de IR (espectro 22) se observan bandas de absorción a 3606 y 3495  $cm^{-1}$ , lo que sugiere la presencia de uno o más hidroxilos. Además, se observan las señales características de una  $\gamma$ -lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada a 1756 y 1663  $cm^{-1}$ , y una señal a 1736  $cm^{-1}$  correspondiente a un carbonilo de éster. La presencia de un fragmento  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -lactona puede ser corroborada mediante el análisis de los datos espectroscópicos de RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ , espectro 23). Se observa un par de dobletes centrados en  $\delta$  6.27 ( $J = 3.6$  Hz) y en  $\delta$  5.54 ( $J = 3.3$  Hz), que corresponden a los protones del metileno exocíclico conjugado con la  $\gamma$ -lactona. Los datos espectroscópicos descritos permiten suponer la presencia de una lactona sesquiterpénica con 6 grados de insaturación, de los cuales tres se atribuyen a la presencia de una  $\gamma$ -lactona- $\alpha,\beta$ -insaturada.

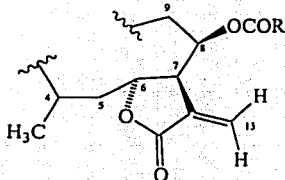
En el experimento COSY se observa que los protones  $\alpha$ -metilénicos correlacionan con la señal doble de doble de doble (1H,  $J = 2.7, 6.6, 9.9$  Hz) centrada en  $\delta$  4.08, asignable al protón alílico (H-7). Este hidrógeno correlaciona con una señal doble de doble de doble ( $J = 1.8, 6.6, 10.2$  Hz) centrada en  $\delta$  4.57 que integra para un hidrógeno, y que por su desplazamiento químico a campo bajo debe estar geminal al oxígeno etéreo de la  $\gamma$ -lactona (H-6). Con esta información se puede establecer el fragmento estructural A.





A

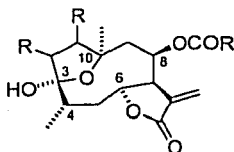
El protón alílico H-7 correlaciona (en la modalidad COSY) con una señal múltiple ( $J = 2.7, 5.4, 8.4$  Hz) centrada en  $\delta$  5.58 que integra para un hidrógeno (H-8) y que por su desplazamiento químico a campo bajo debe estar geminal a un grupo éster. La señal asignada a H-8 correlaciona con los hidrógenos diastereotópicos de un metileno, los cuales resuenan en  $\delta$  1.96 (1H, dd,  $J = 5.5, 13.5$ , H-9a) y en  $\delta$  1.82 (1H, dd,  $J = 9.0, 13.5$ , H-9b). Por otro lado, el hidrógeno H-6 correlaciona con una señal múltiple centrada en  $\delta$  2.08 (m, H-5a, H-5b) que integra para cuatro protones, dos de los cuales se asignan al metileno de la posición 5. Por las correlaciones observadas en la modalidad COSY del espectro de RMN  $^1\text{H}$  puede establecerse que uno de los dos protones no asignados de la señal múltiple en  $\delta$  2.08 correlaciona con una señal doblete (3H,  $J = 6.6$ ) centrada en  $\delta$  1.11 que integra para tres hidrógenos y puede ser asignada, por lo tanto, a un metilo geminal al protón (H-4), el cual es característico de lactonas sesquiterpénicas saturadas en el enlace C-4/C-5 como la tirotundina [67]. Lo anterior permite extender el fragmento estructural A a B.



B

Es pertinente considerar que el protón alílico (H-7) presenta un desplazamiento químico inusual a campo bajo ( $\delta$  4.07), lo cual es característico de germacranólidas con un éter entre los carbonos C-3 y C-10, ya que la cercanía de este oxígeno con H-7 provoca su desprotección como ocurre en la zexbrevina [103] y la woodhousina [104]. De acuerdo con esta observación, se establece que esta sustancia presente una estructura de tetrahidrofuranogermacranólida análoga a la tirotundina [67]. En el espectro de RMN

$^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) se observa una señal en  $\delta$  105.73 que es característica de un carbono unido a dos átomos de oxígeno (C-3) y una señal en  $\delta$  81.40 de un carbono unido a oxígeno (C-10), así como de una señal en  $\delta$  24.99 de un metilo ( $\delta_{\text{H}}$  1.44, 3H, s,  $\text{CH}_3$ -C-10) que por su desplazamiento químico debe estar geminal a oxígeno. La cercanía entre H-7 y el oxígeno puente C(3)-O-C(10) establece la extensión del fragmento estructural B a la estructura parcial C.



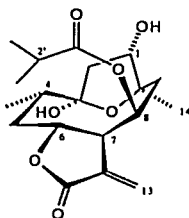
C

Adicionalmente, en el espectro de  $^1\text{H}$  se observa una señal doble de doble (1H,  $J = 7.5$ , 9.3, H-1) centrada en  $\delta$  4.25, que por su desplazamiento químico a campo bajo debe estar geminal a un grupo hidroxilo, similar a la estructura de la tagitinina A (55) [61]. La señal asignada a H-1 correlaciona, en la modalidad COSY, con una señal múltiple centrada en  $\delta$  2.08 (H-2b) y con otra señal múltiple en  $\delta$  2.44, la cual integra para dos hidrógenos, uno correspondiente a H-2a; mientras que el otro hidrógeno (asignable a H-2') correlaciona (en el experimento COSY) con las 2 señales doblete centradas en  $\delta$  1.08 ( $J_{2',3'} = 6.9$  Hz, H-3') y  $\delta$  1.06 y ( $J_{2',4'} = 6.9$  Hz, H-4'), las cuales integran para tres hidrógenos cada una. Estas señales son características de un fragmento estructural de isobutirato comprobable en el espectro de masas por la presencia de los picos  $m/z$  43, 71 y 88, atribuibles a los fragmentos:  $[\text{C}_4\text{H}_7\text{O}^{+}]$ ,  $[\text{C}_3\text{H}_7]^+$  y  $[\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2^{+}]$ , respectivamente. Los datos observados en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  para esta sustancia, presentan una notable similitud con los datos reportados para la tagitinina A (55) [61], la comparación de ambos se describen en la tabla 7.

Tabla 7. Datos de RMN  $^1\text{H}$  para 55.

Asignación	55*	55**	55*
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{H}}$
H-1 $\alpha$	4.25 dd (7.5, 9.3)	4.18 ddd (4.5, 7.8, 9.3)	4.23 m
H-2 $\alpha$	2.08 m	2.04 m (6.3, 12.9)	2.10 m
H-2 $\beta$	2.44 m	2.37 dd (9.0, 13.8)	2.44 m
H-4 $\beta$	2.08 m	2.17 dd (2.4, 8.7)	2.10 m
H-5 $\alpha$	2.08 m	2.09 m (8.4, 10.2)	2.10 m
H-5 $\beta$	2.08 m	1.70 dd (1.5, 12.9)	2.10 m
H-6 $\beta$	4.57 ddd (1.8, 6.6, 10.2)	4.57 ddd (1.5, 6.3, 10.2)	4.55 ddd (3.0, 7.0, 9.0)
H-7 $\alpha$	4.08 ddd (2.7, 6.6, 9.9)	4.05 m (3.3, 6.3)	3.99 m
H-8 $\alpha$	5.58 ddd (2.7, 5.4, 8.4)	5.61 m (3.0, 5.7, 9.9)	5.59 ddd (1.5, 5.0, 8.0)
H-9 $\alpha$	1.96 dd (5.7, 14.0)	1.93 dd (5.7, 14.4)	1.95 dd (5.0, 13.0)
H-9 $\beta$	1.82 m (9.0, 12.9)	1.83 dd (11.1, 14.7)	1.81 dd (8.0, 13.0)
H-13a	6.27 d (3.6)	6.09 d (3.3)	6.25 d (3.5)
H-13b	5.54 d (3.3)	5.60 d (3.0)	5.53 d (3.0)
H-14	1.44 s	1.39 s	1.43 s
H-15	1.11 d (6.6)	1.06 d (6.6)	1.11 d (6.5)
H-2'	2.44 m	2.45 sep	2.44 m
H-3'	1.08 d (6.9)	1.04 d (6.9)	1.07 d (7.0)
H-4'	1.06 d (6.9)	1.01 d (6.9)	1.04 d (7.0)

Datos experimentales, RMN  $^1\text{H}$ , 300 MHz,  $^*\text{CDCl}_3$  y  $^*\text{CD}_3\text{COCD}_3$ . \*Datos reportados, RMN  $^1\text{H}$ , 300 MHz,  $\text{CDCl}_3$  [61]. Multiplicidad: doblete (d), doble de doble (dd), doble de doble de doble (ddd), multiplete (m), septuplete (sep), singulete (s). Constantes de acoplamiento (Hz) en paréntesis. Desplazamientos químico en ppm relativo a  $\text{Me}_4\text{Si}$ . \*En  $\delta$  4.32 ( $\text{H-O-Cl}$ , d,  $J = 4.8$ ) y en  $\delta$  4.75 ( $\text{H-O-C3}$ , s)



55

La comparación de los datos espectroscópicos de la tabla 7 permite establecer la identidad de esta sustancia como tagitinina A (55), cuya stereoquímica relativa fue determinada por Sharma y colaboradores [61] como se describe a continuación.

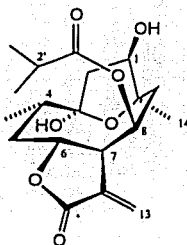
En la representación estructural 55 el enlace C(7)-C(11) posee la orientación  $\beta$ - en comparación con lactonas sesquiterpénicas de este tipo, a las cuales se les ha determinado la estereoquímica absoluta estableciéndose la misma configuración en C(7). La estereoquímica de la fusión de la  $\gamma$ -lactona se estableció considerando el valor de la constante de acoplamiento de los protones del metileno exocíclico con el protón alílico H-7, ya que  $J_{7,13}$  es mayor de 3 Hz y la  $J_{7,6}$  es *ca.* a 10 Hz, lo que sugiere que la orientación de H-6 es  $\beta$ -, de acuerdo a la regla de Samek [105, 106]. Por otro lado, la disposición estereoquímica *cis* de H-8 con respecto a H-7 fue deducida de la magnitud de la constante de acoplamiento ( $J_{8,7}=2.7$  Hz), que es pequeña, en comparación con furanogermacrólidas  $\alpha$ -esterificadas. Así, la configuración *R* de C(10) y C(3) se deduce porque el oxígeno puente C(3)-O-C(10) se orienta hacia la cara  $\alpha$ - del macrociclo quedando en cercanía espacial con H(7) y generando su desplazamiento químico inusual, tal como ocurre en la zexbrevina y la tirotundina [103, 67].

Por otro lado, la estereoquímica  $\alpha$  del metilo unido al C-4 (estereoquímica *S*) fue establecida mediante análisis cristalográfico del derivado deshidratado ( $\Delta^{1,10}$ ) de la tagitina A (55) [107].

La estereoquímica  $\alpha$ - del hidroxilo secundario en C-1 de la tagitina (55) fue propuesta de acuerdo al resultado de la aplicación del método empírico de Horeau [108, 109]; en el cual se lleva a cabo la formación (estereoespecífica) del éster con la mezcla racémica del anhídrido ( $\pm$ )- $\alpha$ -fenilbútrico. De esta reacción se obtuvo como ácido residual (-)-(*R*)- $\alpha$ -fenilbútrico (41.8 % de rendimiento óptico), de lo que se dedujo que el C(1) posee la estereoquímica *S*, es decir, el hidroxilo se orienta  $\alpha$ -. Sin embargo, esta deducción constituye una excepción a la regla de Horeau, como se describe a continuación.

En el presente trabajo se corrigió la estereoquímica relativa del C-1 de la tagitina A (55) después de haber analizado el experimento NOESY (espectro 32) del derivado acetilado 60 (véase detalles en la página 64). En este espectro el metilo 14 (con orientación  $\alpha$ -) interacciona con los hidrógenos de las posiciones  $8\alpha$ ,  $7\alpha$  y con H(1). Así, la interacción con el hidrógeno de la posición 1 solo es posible si este se encuentra en orientación  $\alpha$ - y si el equilibrio conformacional del tetrahidrofurano se mantiene por el arreglo conformacional del anillo medio de nueve miembros, en el que se observa interacción espacial del hidrógeno H-9 $\beta$  con H-6 $\beta$  (véase 55<sup>o</sup>). Consecuentemente la corrección estructural consistió en cambiar la orientación  $\alpha$ - del grupo hidroxilo

establecida por Sharma y colaboradores [61] a la configuración  $\beta$ -hidroxilo de la representación estructural (55<sup>\*</sup>).



55<sup>\*</sup>

La estereoquímica de la tagitinina A fue confirmada de manera inambigua mediante el análisis por difracción de rayos X de un prisma de esta sustancia (véase anexo 1). Estos resultados evidencian que el método empírico de Horeau [108] en la determinación de la estereoquímica relativa de alcoholes quirales tiene excepciones, y el caso de la tagitinina A constituye una de ellas

### 8.8. 1 $\beta$ -Acetiltagitinina A

La tagitinina A (55) fue acetilada mediante el procedimiento usual, obteniéndose el derivado correspondiente con características espectroscópicas muy similares a las informadas para la acetiltagitinina A (60), aislada como producto natural de *Tithonia diversifolia* [62]. Las asignaciones espectroscópicas se describen a continuación.

El espectro de RMN <sup>1</sup>H (espectro 34, 500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) muestra señales para un grupo metilo secundario (3H, d, J=6.5 Hz, H-15) y uno terciario (3H, s, H-14) en  $\delta$  1.12 y  $\delta$  1.48, respectivamente; para un metilo de grupo acetoxi (3H, s, H-2'') en  $\delta$  2.08; un grupo isobutirolilo en  $\delta$  1.06 (3H, d, J=7.0 Hz, H-3'),  $\delta$  1.09 (3H, d, J=7.0 Hz, H-4') y  $\delta$  2.46 (1H, sep, 2'); las señales características de  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -lactona mostrando dos dobletes en  $\delta$  5.53 y  $\delta$  6.25 con constantes de acoplamiento de 2.5 y 3.5 Hz, respectivamente; y el protón alílico H-7 en  $\delta$  4.06 como una señal doble de doble de doble (J = 3.0, 6.5, 9.5 Hz) que presenta el desplazamiento químico a campo bajo por el efecto de su cercanía con el oxígeno del tetrahidrofuran. Además se observan señales

para tres metinos unidos a oxígeno en  $\delta$  4.56 (ddd,  $J=2.0, 7.0, 11.0$ , H-6),  $\delta$  5.06 (dd,  $J=6.5, 9.5$ , H-1) y  $\delta$  5.60 (ddd, H-8,  $J=2.5, 5.5, 10.5$  Hz).

En el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 35) y en el experimento DEPT se observan señales que confirman la presencia de un metilo ( $\delta$  25.43,  $\text{CH}_3\text{-C=O}$ ) y de un carbono carbonilo ( $\delta$  170.14) del grupo acetoxi. Además se observan señales para cuatro metilos ( $\text{CH}_3\text{-C-10}$ ,  $\delta$  20.92; C-15,  $\delta$  19.22; C-3',  $\delta$  18.68; C-4',  $\delta$  18.37); seis metinos (C-6,  $\delta$  80.99; C-1,  $\delta$  79.13; C-8,  $\delta$  69.14; C-7,  $\delta$  47.82; C-4,  $\delta$  43.72; C-2',  $\delta$  34.01); cuatro metilenos, uno exocíclico conjugado con la  $\gamma$ -lactona; tres carbonos cuaternarios, dos que reafirman la presencia de la función hemiacetal (C-3,  $\delta$  106.37; C-10,  $\delta$  80.81) y C-11 ( $\delta$  136.76) del anillo de lactona; y dos carbonos de éster (C-12,  $\delta$  169.20; C-1',  $\delta$  176.19).

Los datos espectroscópicos que establecen la estereoquímica *trans* del anillo de lactona, la orientación  $\beta$ - del éster isobutiroloxi y la estereoquímica de los carbonos C-3 y C-10 de esta sustancia acetilada, están en acuerdo con lo descrito para la tagitina A (55).

El análisis de los datos observados en el experimento NOESY (espectro 39) permitió establecer la configuración relativa de este compuesto. En el espectro se observan las interacciones entre el metilo 14 (orientado en *alfa*) y los hidrógenos de las posiciones  $1\alpha$ ,  $8\alpha$  y  $7\alpha$ , lo cual indica que en la posición 1 se encuentra un grupo acetoxi orientado en  $\beta$ - y el hidrógeno en  $\alpha$ -. También, se observan las interacciones entre H- $6\beta$  y H- $9\beta$ , que son diagnósticas de una cercanía espacial entre ambos hidrógenos. Los datos observados en el experimento NOESY son detallados en la tabla 8.

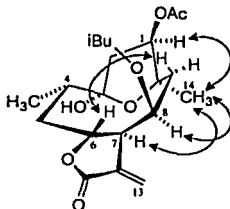
TESIS CON  
FALSA DE ORIGEN

Tabla 8. Datos de RMN para 60°.

Asignación	60°	
	$\delta_H$	NOESY
H-1 $\alpha$	5.06 dd (6.5, 9.5)	2 $\alpha$ , 14
H-2 $\alpha$	2.57 dd (9.5, 14.5)	1 $\alpha$ , 2 $\beta$
H-2 $\beta$	2.11 dd (6.5, 14.5)	2 $\alpha$
H-4 $\beta$	2.09 m	5 $\beta$ , 6 $\beta$ , 15
H-5 $\alpha$	2.11 dd (6.5, 14.5)	5 $\beta$ , 7 $\alpha$ , 15
H-5 $\beta$	1.88 dd (2.0, 13.5)	5 $\alpha$ , 6 $\beta$
H-6 $\beta$	4.56 ddd (2.0, 7.0, 11.0)	4 $\beta$ , 5 $\beta$ , 9 $\beta$
H-7 $\alpha$	4.01 m (3.0, 6.5, 9.5)	5 $\alpha$ , 6 $\beta$ , 8 $\alpha$ , 14
H-8 $\alpha$	5.60 m	7 $\alpha$ , 9 $\alpha$ , 14
H-9 $\alpha$	1.83 dd (6.5, 14.0)	8 $\alpha$
H-9 $\beta$	1.85 dd (8.5, 14.0)	6 $\beta$
H-13a	6.25 d (3.5)	13b
H-13b	5.53 d (2.5)	13a
H-14	1.48 s	1 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 8 $\alpha$
H-15	1.12 d (6.5)	5 $\alpha$
H-2'	2.46 sep	3', 4'
H-3'	1.09 d (7.0)	2'
H-4'	1.06 d (7.0)	2'
H2'' (AcO)	2.08 s	

Datos experimentales, RMN  $^1H$ , 500 MHz,  $CDCl_3$ . Constantes de acoplamiento (Hz) en parentesis. Desplazamientos químico en ppm relativo a  $Me_4Si$ .

Los resultados anteriores establecen que el hidrógeno en la posición 1 se encuentra orientado  $\alpha$ -, lo que permite cambiar la estereoquímica reportada para el compuesto 1 $\alpha$ -acetiltagitinina A [62] a la representación estructural 1 $\beta$ -acetiltagitinina A (60°), de acuerdo al análisis cristalográfico de tagitina A (55°).



Estructura corregida de acetiltagitinina A 60°

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### 8.9. Comparación de la representación estructural de tagitina A y 2 $\alpha$ -hidroxitirotundina

Recientemente se informó en la literatura [110] un compuesto, 2 $\alpha$ -hidroxitirolundina (103), con un peso molecular igual que el propuesto para el compuesto que se identificó como tagitinina A (50<sup>+</sup>) en la presente investigación. Cabe mencionar que la representación estructural informada (103) es ambigua, ya que no es consistente con la descripción del análisis del experimento NOESY, cuyas interacciones relevantes se muestran en la figura 8.

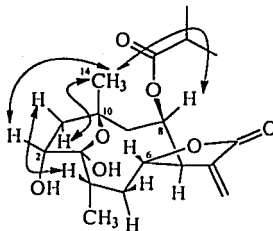


Fig 8. Interacciones NOESY relevantes de 103 informados en la literatura [110].

En dicha representación, el metilo 14 unido a C-10 se orienta hacia la cara  $\beta$  del macrociclo generando una estereoquímica *S* en C-10, lo cual permitiría observar interacciones con H-2 $\beta$  y con H-1 $\beta$ , pero no se podrían apreciar las interacciones del metilo 14 con H-8 $\alpha$ , H-7 $\alpha$  y con H-1 $\alpha$ , lo que resulta incongruente con los datos espectroscópicos reportados. Adicionalmente, se reporta una interacción de H-4 $\beta$  con H-1 $\beta$ , lo cual puede ser difícil de apreciar dada la distancia que existiría entre ambos protones, como consecuencia del arreglo conformacional del compuesto. Por lo tanto, se deduce que la estructura de la figura 8, requiere reformularse.

El análisis de los resultados informados para el compuesto 103 [110] permiten deducir la estructura representada en la figura 9, donde el metilo 14 se encuentra orientado en  $\alpha$ -generando la estereoquímica *R* de C-10. Este arreglo está de acuerdo con las interacciones observadas en el espectro NOESY de los hidrógenos del metilo 14 con los protones H-1 $\alpha$ , H-8 $\alpha$ , H-7 $\alpha$ . Además, el desplazamiento químico a campo bajo de H-7 ( $\delta$  4.19) es característico de su cercanía con el oxígeno del tetrahydrofurano (discutido para la tagitina A (55<sup>+</sup>), lo que confirma su orientación hacia la cara  $\alpha$  del macrociclo (véase la figura 9).



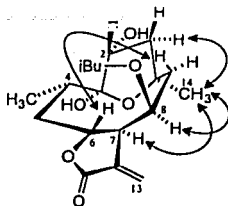


Figura 9. Representación estructural de 2 $\alpha$ -hidroxitirotundina 103

La representación estructural propuesta para 2 $\alpha$ -hidroxitirotundina (figura 9) tiene mayor concordancia con los resultados reportados [110] y por otro lado, la estereoquímica de esta sustancia está de acuerdo con la estereoquímica absoluta determinada por difracción de rayos X para furanoheliangólidas análogas como la zexbrevina y la tirotundina (73) [91-92].

## 9.0. Tagitinina C

De la fracción F se obtuvo un sólido blanco de punto de fusión 138-144 °C. El espectro de masas (IE, 70 eV, espectro 21) indica la fórmula molecular C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>O<sub>6</sub> con el ión molecular  $m/z$  349 [ $M^+ + H$ ]. Los datos espectrocópicos de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 19), de RMN <sup>13</sup>C (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 20) y los ocho grados de insaturación calculados para la fórmula molecular propuesta, presentan una notable similitud con los informados para la tagitinina C (59) aislada de *Tithonia diversifolia* [61]. El espectro de IR (espectro 18) muestra absorciones a 3604 y 3467 cm<sup>-1</sup> para grupo hidroxilo, a 1732 cm<sup>-1</sup> para carbonilo de éster y a 1769 y 1657 cm<sup>-1</sup> para  $\gamma$ -lactona- $\alpha,\beta$ -insaturada. En el espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 19) se puede confirmar el fragmento estructural  $\gamma$ -lactona- $\alpha,\beta$ -insaturada por la presencia de dos señales dobletes en  $\delta$  6.35 ( $J = 1.7$  Hz) y  $\delta$  5.80 ( $J = 1.7$  Hz) correspondientes a los hidrógenos del metileno exocíclico.

En el experimento COSY se observa que los protones vinílicos del metileno exocíclico correlacionan con la señal doble de doble de doble (1H,  $J = 1.8, 3.6, 6.9$  Hz) centrada en  $\delta$  3.54 del protón alílico (H-7) al doble enlace exocíclico. Por otro lado, el protón alílico (H-7) correlaciona con una señal doblete de doblete (1H,  $J = 2.3, 9.1$  Hz) centrada en  $\delta$  5.40 que integra para un hidrógeno (H-6) y que por su desplazamiento químico a campo

bajo debe estar en posición alílica a un doble enlace, así como geminal al oxígeno étereo de la  $\gamma$ -lactona. El hidrógeno H-6 correlaciona (en la modalidad COSY) con una señal doblete cuarteteado (1H,  $J = 9.0, 1.5$  Hz) centrada en  $\delta$  5.86, la cual corresponde al hidrógeno vinílico (H-5) acoplado ( $J = 1.5$  Hz) *cis* a una señal doblete (3H, H-15) en  $\delta$  1.95. Así, se establece la presencia de una olefina trisustituída, la cual se confirma por las señales correspondientes en el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  observadas en  $\delta$  138.92 (C-4),  $\delta$  137.13 (C-5) y  $\delta$  19.66 (C-15), estableciéndose el fragmento estructural de la figura 10.

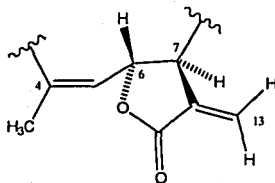


Figura 10. Fragmento estructural

Los valores de las constantes de acoplamiento entre H-5 y H-6, H-6 y H-7, H-7 y H-13a,b definen la estereoquímica mostrada en el fragmento de la figura 10, considerando una heliangólida ( $\Delta^{4,5}$ -*cis*) y la fusión *trans* de la lactona, de acuerdo a la regla de Samek [105] modificada por Herz [111].

Por otra parte, el protón alílico H-7 correlaciona con una señal doble de doble de doble centrada en  $\delta$  5.35 (1H,  $J = 3.4, 6.3, 9.8$  H-8) que por su desplazamiento químico a campo bajo debe estar geminal a un éster. Además, la señal asignada a H-8 correlaciona con dos señales dobletes de doblete centradas en  $\delta$  2.46 (1H,  $J = 6.0, 14.0$ , H-9a) y en  $\delta$  2.01 (1H,  $J = 4.0, 13.0$ , H-9b) lo que permite extender el fragmento estructural de la figura 10 a la estructura parcial de la figura 11. Los valores de las constantes de acoplamiento  $J_{7,8} \approx 3.0$  Hz y  $J_{8,9} = 6.0$  Hz son consistentes con la orientación  $\alpha$ - de H-8, similar a lo descrito para la tagitinina A ( $5S'$ ) obtenida en la presente investigación.

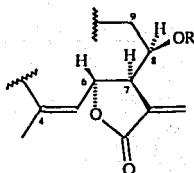
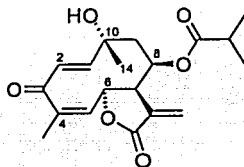


Figura 11. Estructura parcial

El fragmento de isobutirato unido a C-8 fue deducido por la presencia en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  de una señal septuplete centrada en  $\delta$  2.26 (H-2') que integra para un hidrógeno y que correlaciona (COSY) con dos señales dobletes centradas en  $\delta$  1.07 ( $J = 7.0$  Hz, H-3') y  $\delta$  1.05 ( $J = 7.0$  Hz, H-4'), las cuales integran para tres hidrógenos cada una. La presencia del isobutirato se confirma por la presencia de los fragmentos  $m/z$  71 (100%) [ $^+\text{OCCH}(\text{CH}_3)_2$ ] y 43 (98%) [ $^+\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ] en el espectro de masas.

En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  están presentes dos señales dobletes ( $\delta$  6.91 y  $\delta$  6.24) con una constante de acoplamiento de 17 Hz, característica de un sistema de hidrógenos vinílicos en disposición *trans*, correspondientes al doble enlace  $\Delta^{1,2}$ . Además se observa una señal singulete en  $\delta$  1.53 (H-14) que integra para tres hidrógenos y que por su desplazamiento químico corresponde a un metilo unido a un carbono unido a oxígeno. La comparación con los datos físicos y espectroscópicos informados para la tagitinina C (59) [61], permiten establecer su identidad.



59

### 9.1. Tagitinina F

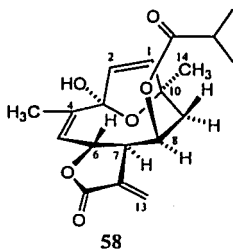
De la fracción E del extracto de diclorometano de *Tithonia diversifolia*, se obtuvo un sólido blanco (véase parte experimental) que presenta características espectroscópicas en RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 17) muy similares a las informadas para la tagitinina C (59) y la tagitinina F (58), aisladas de *Tithonia diversifolia* [61]. En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  se observan las dos señales dobletes en  $\delta$  6.31 (H-13a,  $J = 2.4$  Hz) y 5.69 (H-13b,  $J = 2.1$  Hz) correspondientes a los protones del metileno exocíclico conjugado con la  $\gamma$ -lactona. Por otra parte, se observan las señales correspondientes a la olefina trisustituída (figura 10), es decir, una señal doblete cuarteteada centrada en  $\delta$  5.92 ( $J = 8.4, 1.5$  Hz, H-5), un doblete centrado en  $\delta$  1.94 (d,  $J = 1.5$  Hz,  $\text{CH}_3$ -15) y un doble de doble (dd,  $J = 1.5, 7.5$  Hz, H-6) en  $\delta$  5.68. Los valores de las constantes de acoplamiento entre los protones del metileno exocíclico y el protón alílico H-7 ( $\delta$  3.43,

m.  $J = 2.7$  Hz) son menores de 3 Hz; lo anterior aunado a los valores de las constantes de acoplamiento  $J_{5,6} \approx 7.0$  Hz y  $J_{6,7} = 1.5$  Hz establecen que la estereoquímica relativa del anillo lactónico es *trans* y que el doble enlace  $\Delta^{4,5}$  tiene la disposición *cis*, en concordancia a lo descrito para la tagitinina C (59) en el presente trabajo.

Por otro lado, se observa un sistema AB en  $\delta$  6.33 ( $J = 6.0$  Hz, H-1) y en  $\delta$  5.82 ( $J = 6.0$  Hz, H-2) que corresponden a los hidrógenos vinílicos H-1 y H-2, con disposición *cis*. También, se observa la señal singulete en  $\delta$  1.41 del metilo (3H, s, (14) CH<sub>3</sub>) que está geminal al oxígeno puente C(3)-O-C(10) del anillo de dihidrofurano, el cual origina el desplazamiento químico inusual de H-7 ( $\delta$  3.43) de manera similar a lo descrito para la tagitinina A (55<sup>4</sup>).

La señal correspondiente al hidrógeno H-8 se observa en  $\delta$  5.08 (t,  $J = 3.3$  Hz) que por su desplazamiento químico se encuentra geminal al éster identificado como isobutirato, por la evidencia de la señal septuplete en  $\delta$  2.51 (H-2') que integra para un hidrógeno y dos señales dobletes centradas en  $\delta$  1.13 ( $J = 6.9$  Hz) y en 1.12 ( $J = 6.9$  Hz), las cuales integran para tres hidrógenos cada una. Se deduce que la orientación del isobutirato en el carbono C-8 es  $\beta$ -, porque no se observa la constante de acoplamiento  $J_{7,8}$ , lo cual indica un ángulo diedro H7-C7-C8-H8 de *ca.* 90°.

La comparación de estos datos de RMN <sup>1</sup>H con los informados para la tagitinina F (58) [61] confirman su identidad, cuya estereoquímica absoluta fue establecida por Chowdhury y colaboradores [112] mediante la conversión fotoquímica de la tagitinina C (59) en tagitinina F (58). Los resultados obtenidos les permitieron deducir que la isomerización del doble enlace *trans* (C-1/C-2) de la tagitinina C al doble enlace *cis* de la tagitinina F (inducida por la luz), ocasiona que el hidroxilo unido en C-10 tenga mayor cercanía al carbonilo en C-3, favoreciendo así, la formación del hemiacetal de la tagitinina F (58).



## 9.2. Bioevaluaciones preliminares

El extracto de diclorometano de las partes aéreas de *Tilhonía diversifolia* y sus metabolitos secundarios (la tagitinina A (55<sup>+</sup>) y la tagitinina C (59)) fueron evaluados en los siguientes bioensayos: (a) toxicidad frente a *Artemia salina* y (b) actividad anti-inflamatoria inducida con TPA en la oreja de ratones machos.

La prueba de toxicidad contra *A. salina* resulta de gran utilidad en el rastreo de sustancias bioactivas, por lo que ha sido tomada como una prueba preliminar para establecer si los compuestos bioactivos pueden ser evaluados en otros sistemas biológicos *in vitro*. Así, se considera que existe cierta correlación entre la actividad tóxica contra este crustáceo y la citotoxicidad frente a algunas líneas celulares de tumores sólidos de humano [93]. En el presente trabajo no se obtuvieron resultados definitivos en la prueba de toxicidad frente a *A. salina*, ya que a dosis altas (> 1000 ppm) mostraron cierta actividad larvicida (> 50%) y conforme se redujo la dosis (cuartos de logaritmo, 3.00, 2.75, 2.50,...), presentaron baja actividad tóxica (entre 9 y 0%). En consecuencia, los resultados no pueden someterse a análisis estadístico, ya que al menos se necesitan tres valores para graficar la curva dosis-respuesta que permitiría obtener el valor de la DL<sub>50</sub>, y no se tuvo material disponible para realizar las repeticiones del bioensayo. Sin embargo, puede inferirse preliminarmente que 55<sup>+</sup> y 59, así como el extracto, no muestran toxicidad sobresaliente frente a *A. salina*. No obstante, es deseable ponderar las actividades citotóxicas, ya que recientemente se informó en la literatura sobre la actividad citotóxica que presenta la tagitinina C (59) en las células de cáncer de colon humano (CI<sub>50</sub> = 0.7 µg/mL) [110].

Por otro lado, los resultados de la prueba anti-inflamatoria en el edema de oreja de ratón inducido con TPA, muestran que el extracto de diclorometano (26.64 %) y las tagitinininas A (55<sup>+</sup>) (29.35 %) y C (59) (24.18 %) poseen actividad anti-inflamatoria marginal en comparación con la indometacina (66.95 %) usada como fármaco de referencia. Se ha propuesto que el TPA induce la biosíntesis de eicosanoides (prostaglandinas, leucotrienos) y que la indometacina inhibe la actividad de la enzima prostaglandina sintasa encargada de la biosíntesis de prostaglandinas. Debido a que las lactonas evaluadas en este trabajo

presentaron actividad marginal, en comparación con la indometacina, no se puede inferir sobre el posible mecanismo de acción de éstas, pero si puede proponerse la evaluación *in vitro* de estos compuestos contra ciertas enzimas mediadoras del proceso de inflamación. De manera específica, puede considerarse la enzima  $\kappa\text{B}$  quinasa (IKK) encargada de fosforilar el inhibidor  $\kappa\text{B}$  ( $\text{I}\kappa\text{B}$ ) del Factor Nuclear  $\kappa\text{B}$  ( $\text{NF-}\kappa\text{B}$ ), éste último responsable de activar la expresión de varios genes involucrados en los procesos de inflamación [60].

En la literatura se ha informado sobre las actividades biológicas que han mostrado algunos de los compuestos aislados en el presente trabajo y de otros compuestos de estructura análoga. Por ejemplo, el isoflavonoide formononetina (94) aislado de *A. panamense*, mimetiza la actividad estrogénica del  $17\beta$ -estradiol, y tal vez es debido a esta actividad que disminuye la incidencia de cáncer de pecho en las mujeres que consumen alimentos que contienen isoflavonoides de este tipo. Por otro lado, se observó que 94 causó infertilidad en los borregos y estimuló la producción de prolactina en las glándulas mamarias de ratón [113a].

Por otra parte, se ha evidenciado la actividad antioxidante que presenta el  $\beta$ -*trans*-caroteno (101) tanto en las plantas como en los seres humanos. Es conocido que previene o minimiza los daños foto-oxidativos causados por la luz; y los daños producidos por las especies oxígeno reactivas, como el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno, el radical hidroxilo [113b].

También ha sido reportado que algunas  $\alpha$ -pironas como la yangonina, kavaina y metisticina, aisladas de *Piper metisticum* (Piperaceae) modulan la actividad inhibidora de la neurotransmisión ejercida por el ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) a nivel de tallo cerebral, ocasionando efectos sedantes, anticonvulsivantes, anti-espasmódicos, relajación muscular, estimulación del sueño, etc. Es probable que la estiril pirona 13 aislada de *A. panamense*, la cual presenta una estructura similar a la yangonina, module la actividad GABA-érgica; por lo que sería deseable obtener derivados semisintéticos de 13, evaluarlos en sistema nervioso central, y establecer su mecanismo de acción [114, 115].

## CONCLUSIONES

- De la corteza de *Acosmium panamense* se aislaron y caracterizaron dos compuestos: 7-hidroxi-4'-metoxi-iso flavona (94) y 6-(4-hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13). Este es el primer informe de la presencia de 94 en el género *Acosmium* y de 13 en *A. panamense* como producto natural, ya que previamente se había obtenido de la hidrólisis ácida de la panamina [116].
- El análisis químico de las semillas de *J. curcas* resultó en el aislamiento de triacilglicéridos saturados e insaturados, mezcla de ácidos grasos saturados e insaturados y sacarosa. La constitución química de las semillas de *J. curcas* correlaciona con el uso alimenticio que poseen. Recientemente se informó sobre la presencia de diésteres de forbol como los constituyentes minoritarios en el aceite de las semillas de *J. curcas* [117].
- A partir de las partes aéreas de *T. diversifolia* se aislaron:  $\beta$ -trans-caroteno (101),  $\beta$ -sitosterol (99), estigmasterol (100), ácido graso (102), las heliangólidas tagitinina A (55\*) y F (58), y la germacranólida tagitinina C (59). La presencia de estas tres lactonas sesquiterpénicas como los metabolitos secundarios de la misma especie fue informada previamente [61].
- En el presente trabajo, se corrigió la estereoquímica de la tagitinina A (55\*), es decir, la orientación  $\alpha$ - del hidroxilo de la posición 1 fue corregida a la orientación  $\beta$ -, confirmándose de manera inambigua mediante análisis cristalográfico. Por lo anterior, la estructura del producto natural 1 $\alpha$ -acetiltagitinina A (60) también debe corregirse.
- De la prueba de toxicidad frente a *Artemia salina* puede inferirse preliminarmente que los compuestos evaluados (55\*, 59) no son tóxicos. Adicionalmente, la evaluación de la actividad anti-inflamatoria muestra que el extracto de diclorometano de las partes aéreas de *T. diversifolia* y las lactonas sesquiterpénicas, tagitinina A (55\*) y tagitinina C (59), poseen actividad anti-inflamatoria marginal, lo cual correlaciona con algunos usos etnomédicos del vegetal [57] y con su denominación como árnica, que es uno de sus nombres vulgares, ya que se conoce que el árnica mexicana (*Heterotheca inuloides*) contiene sustancias que poseen propiedades anti-inflamatorias [118].

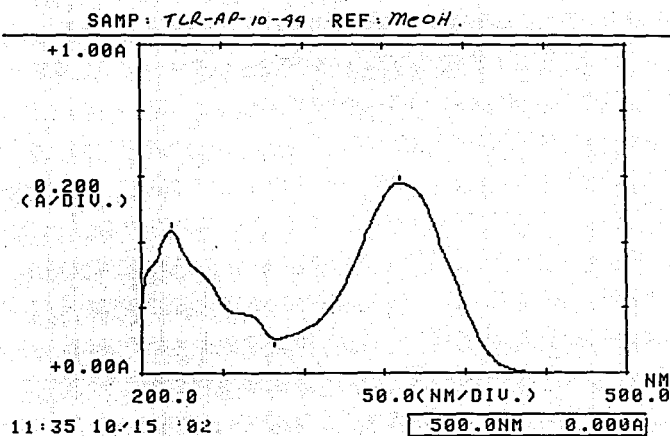
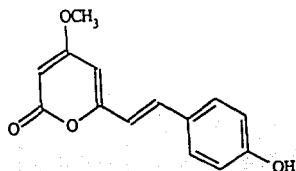
# *ESPECTROS*

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

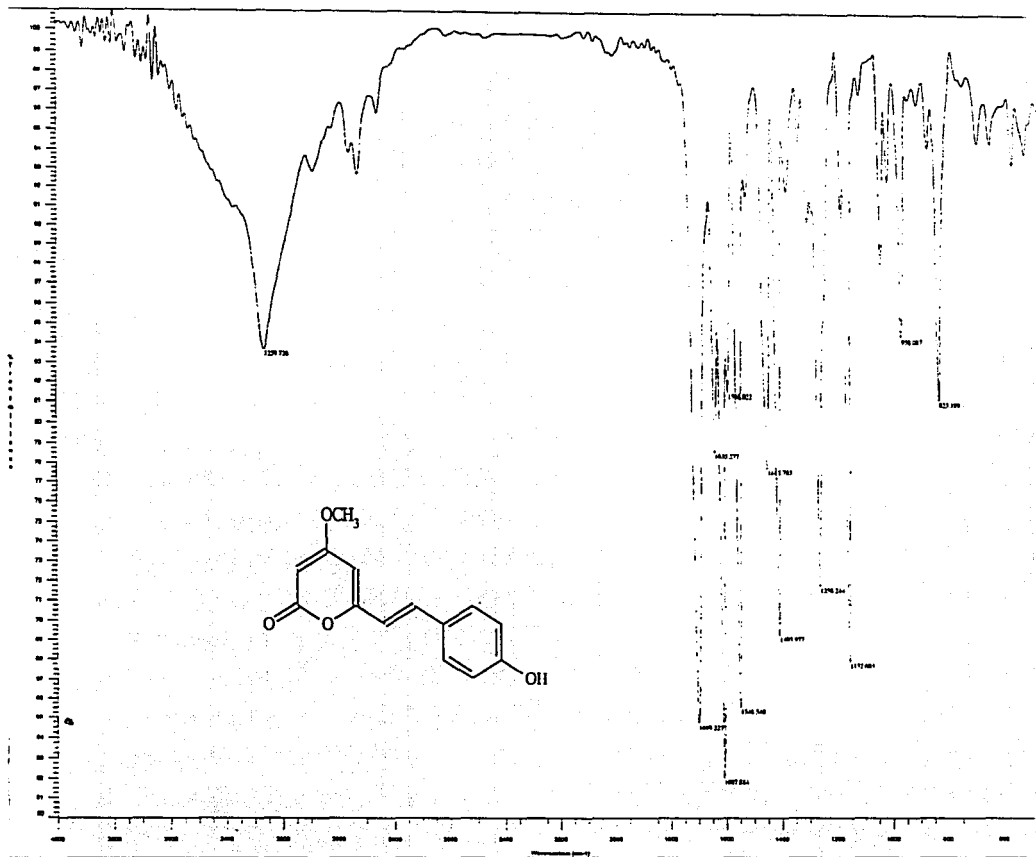


\*\*\* PEAK-PICK \*\*\*

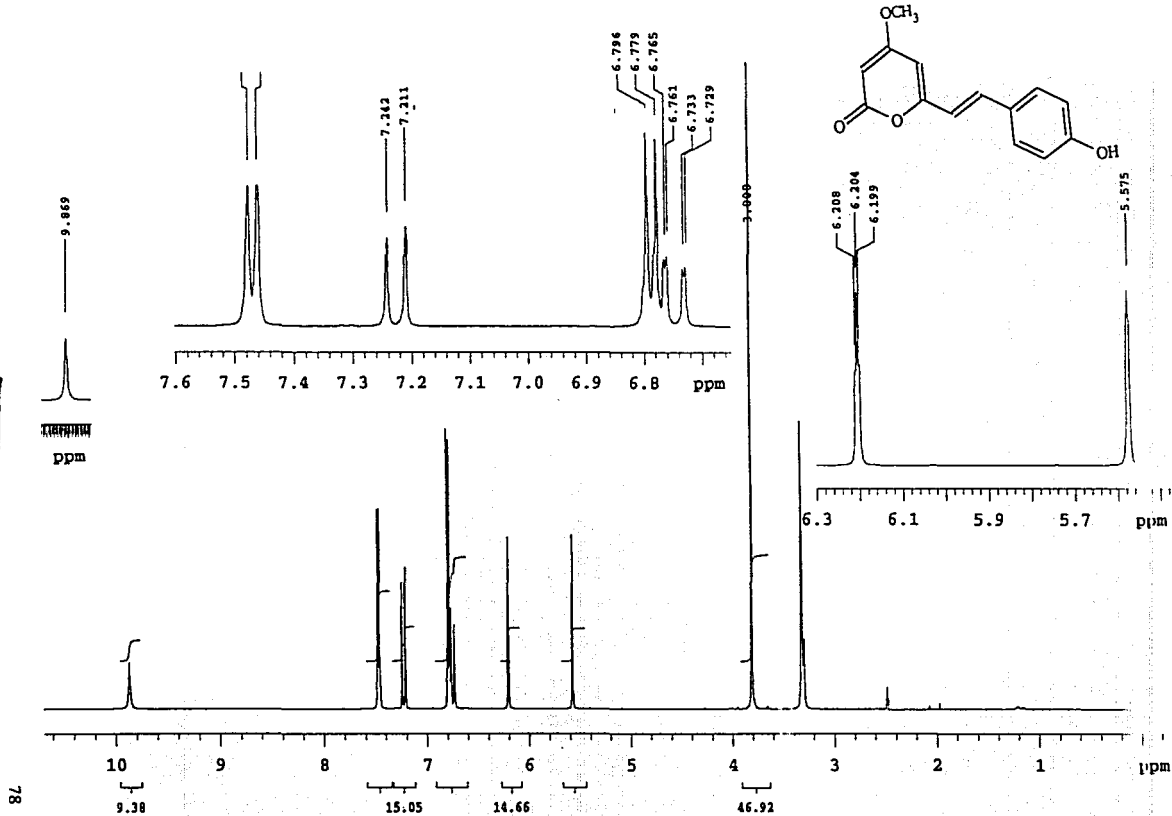
-- PEAK --		-- VALLEY --	
$\lambda$	ABS	$\lambda$	ABS
260.0	0.580	282.0	0.103
218.5	0.433		



Espectro 1. Espectro en el UV (MeOH) de 6-(*p*-Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13)

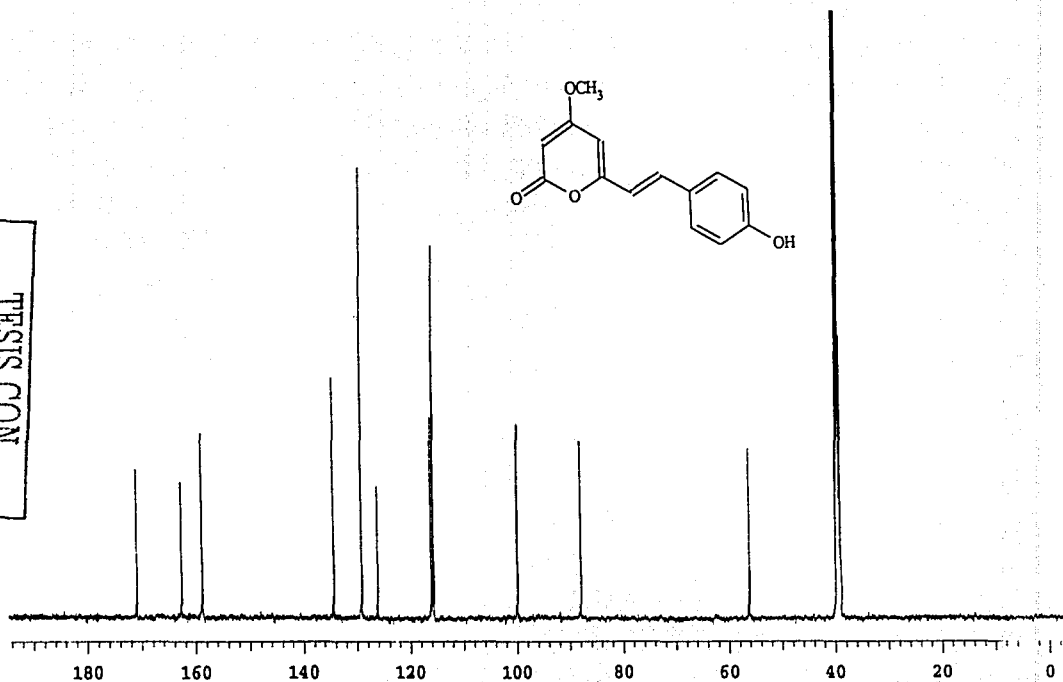


Espectro 2. Espectro en el IR (KBr) de 6-(*p*-Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13)

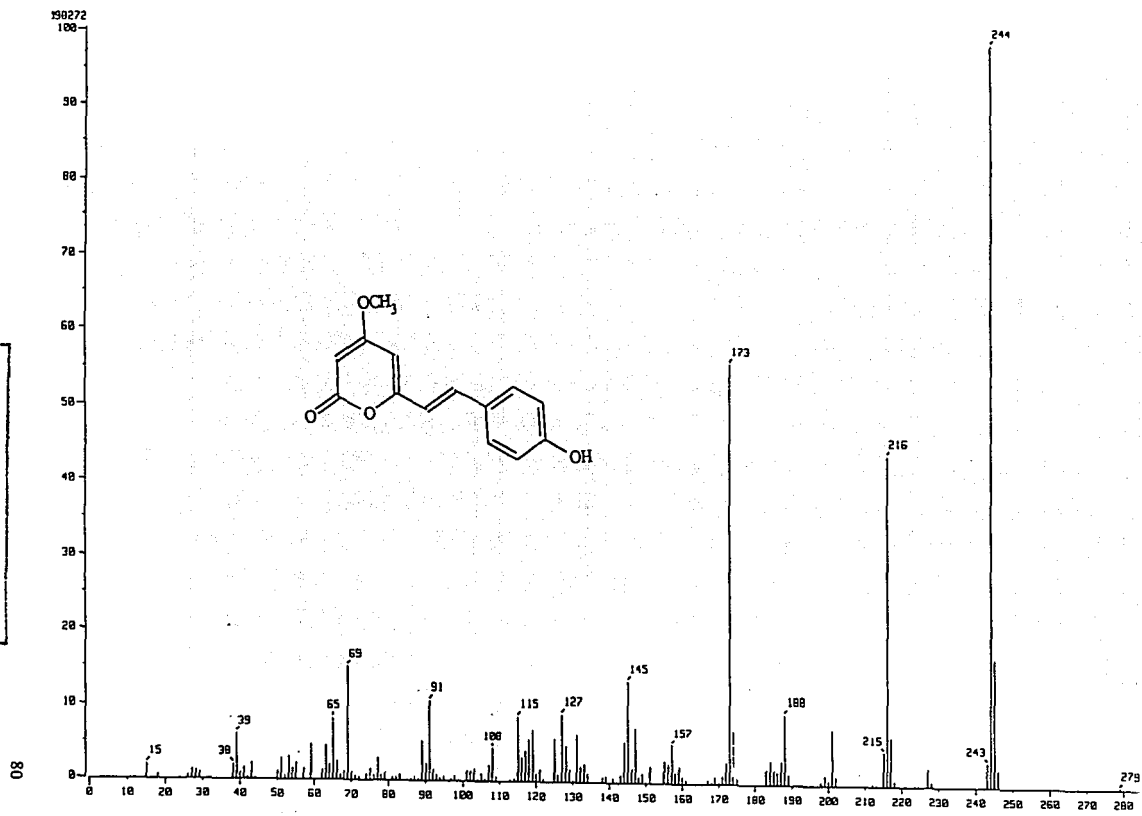


Espectro 3. Espectro de RMN <sup>1</sup>H (DMSO, 500 MHz) de 6-(*p*-Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13)

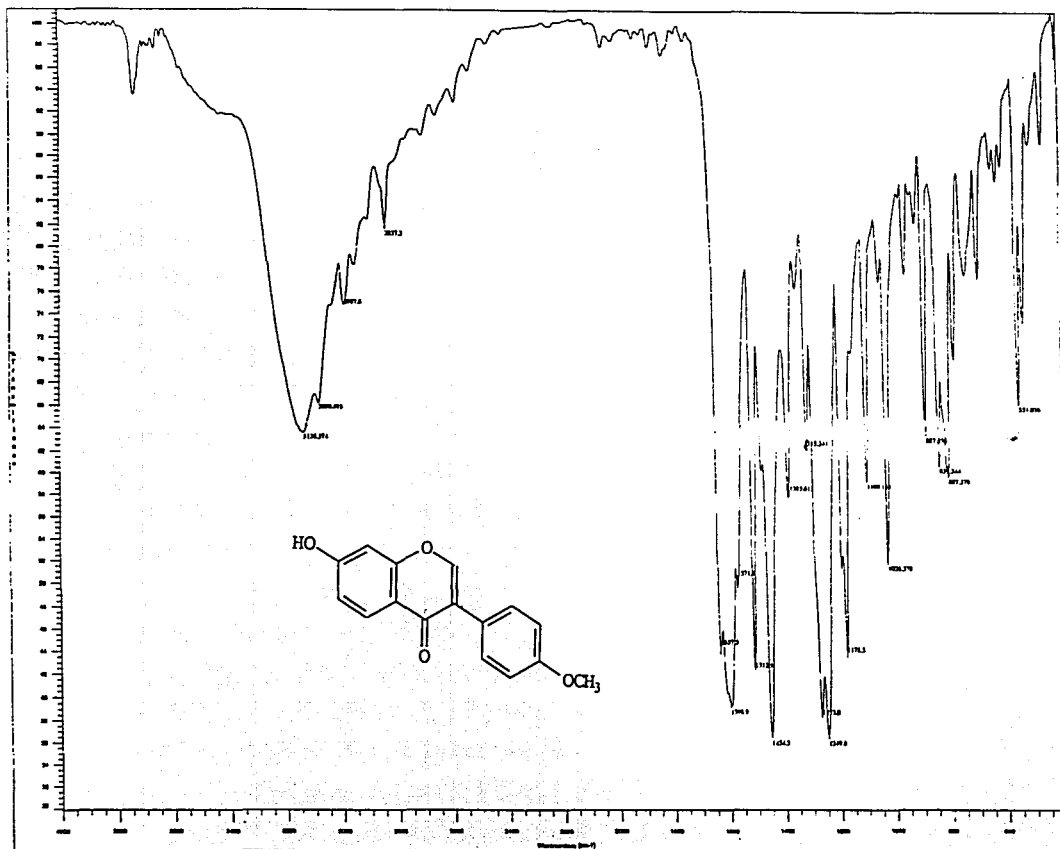
TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN



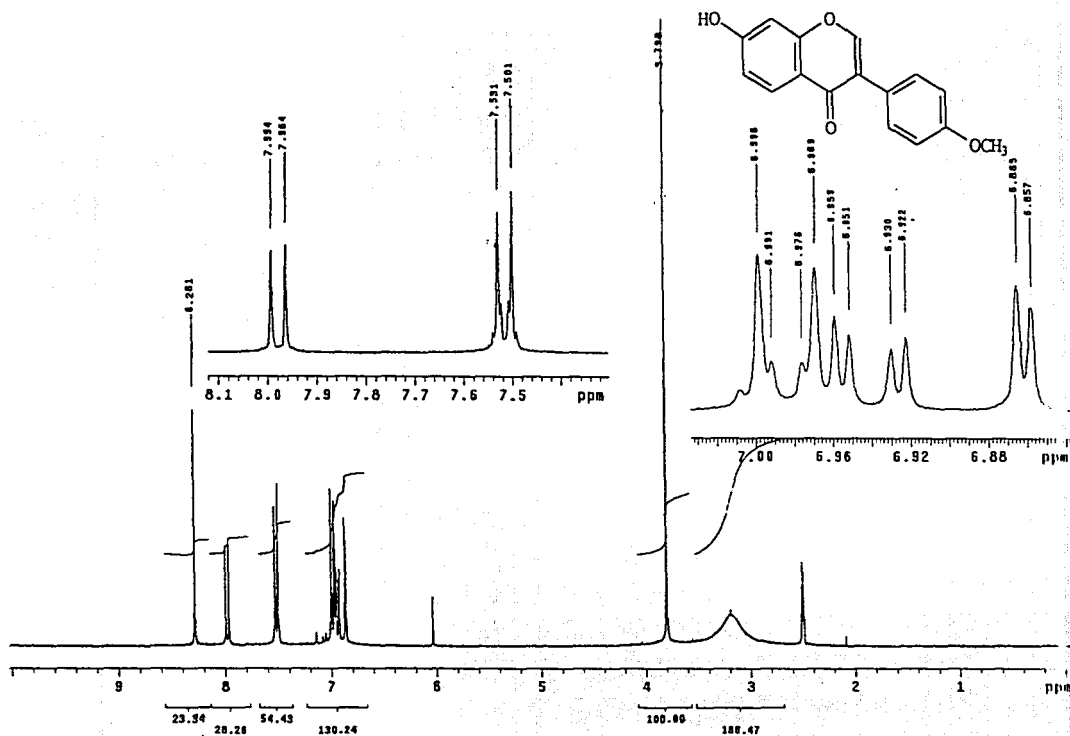
Espectro 4. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 125 MHz) de 6-(*p*-Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13)



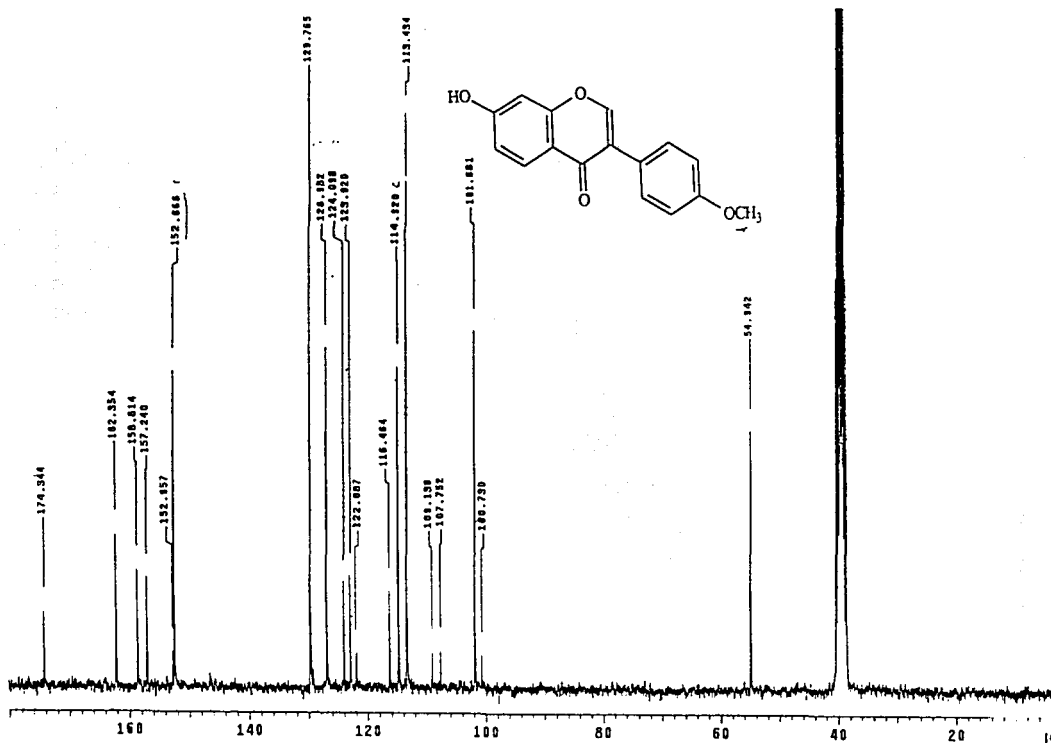
Espectro 5. Espectro de masas (IE, 70 eV) de 6-(*p*-Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13)



Espectro 6. Espectro en el IR (KBr) de 7-Hidroxi-4'-metoxi-isoflavona (94)

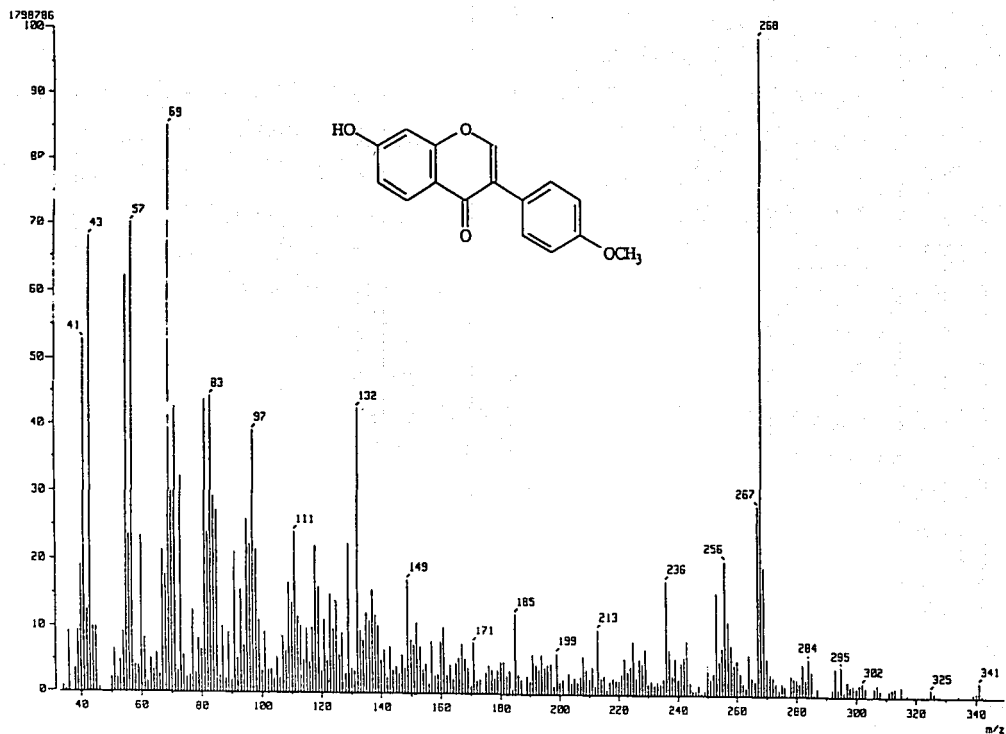


Espectro 7. Espectro de RMN <sup>1</sup>H (DMSO, 300 MHz) de 7-Hidroxi-4'-metoxi-isoflavona (94)



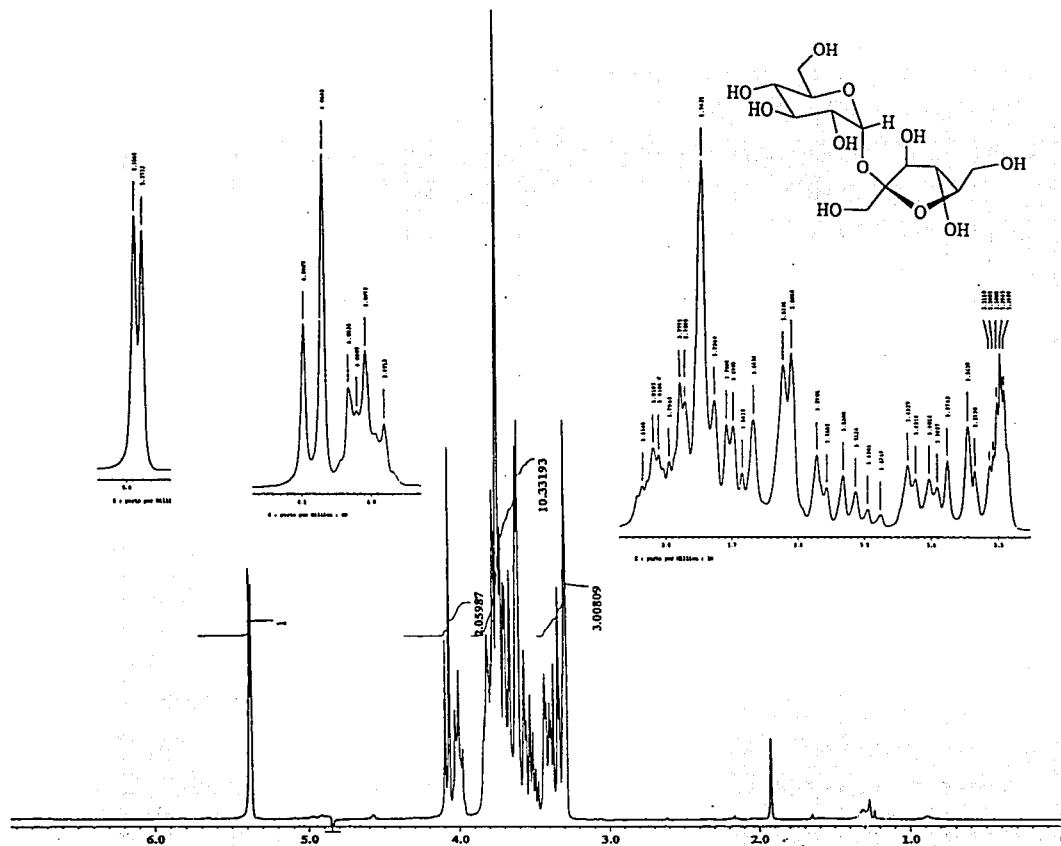
Espectro 8. Espectro de RMN <sup>13</sup>C (DMSO, 75 MHz) de 7-Hidroxi-4'-metoxi-isoflavona (94)



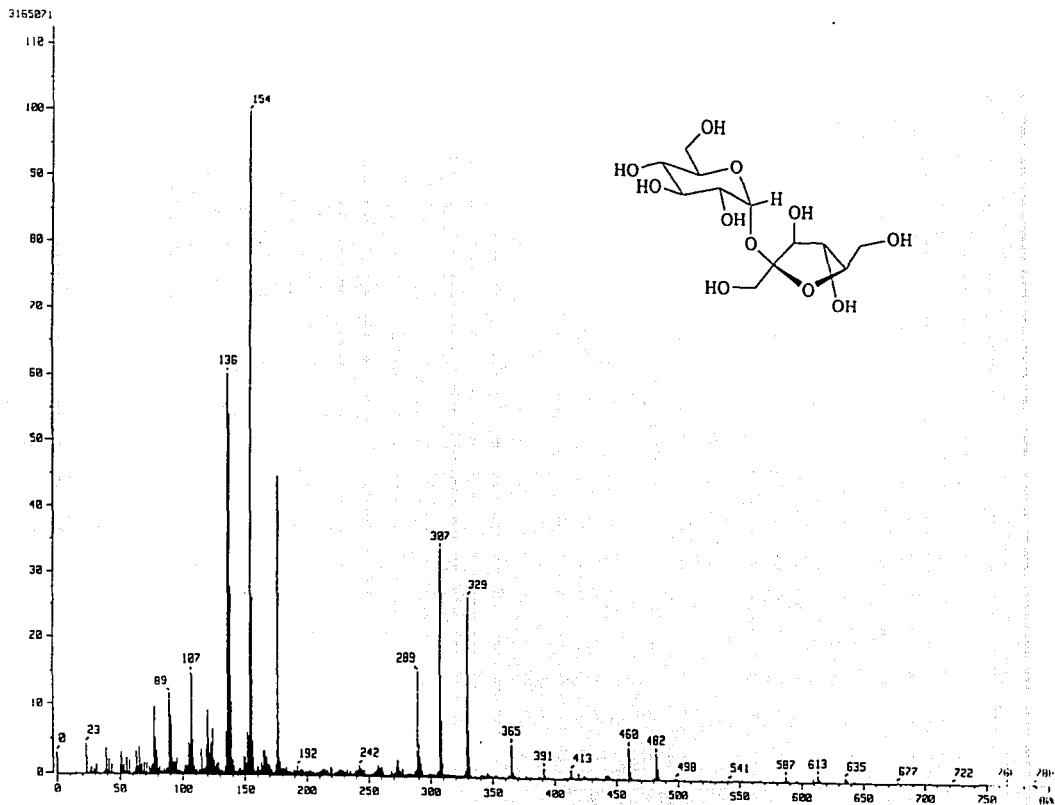


Espectro 9. Espectro de masas (IE, 70 eV) de 7-Hidroxi-4'-metoxi-isoflavona (94)

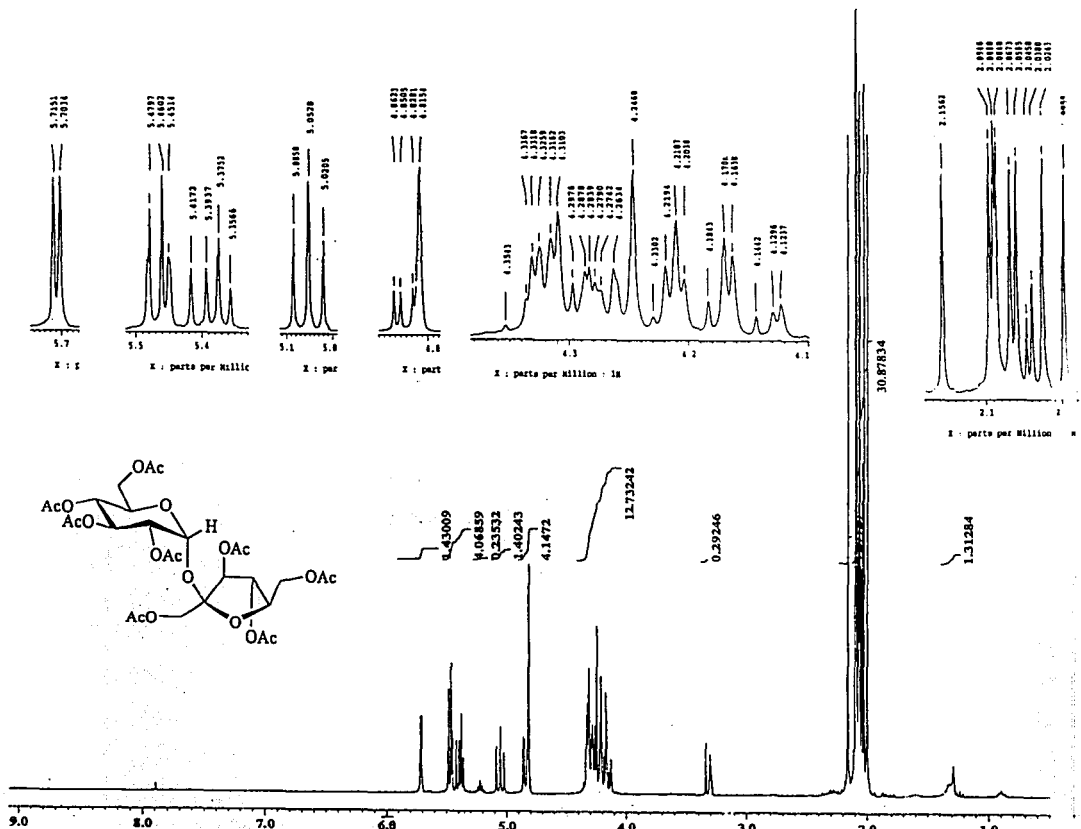
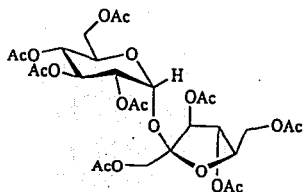




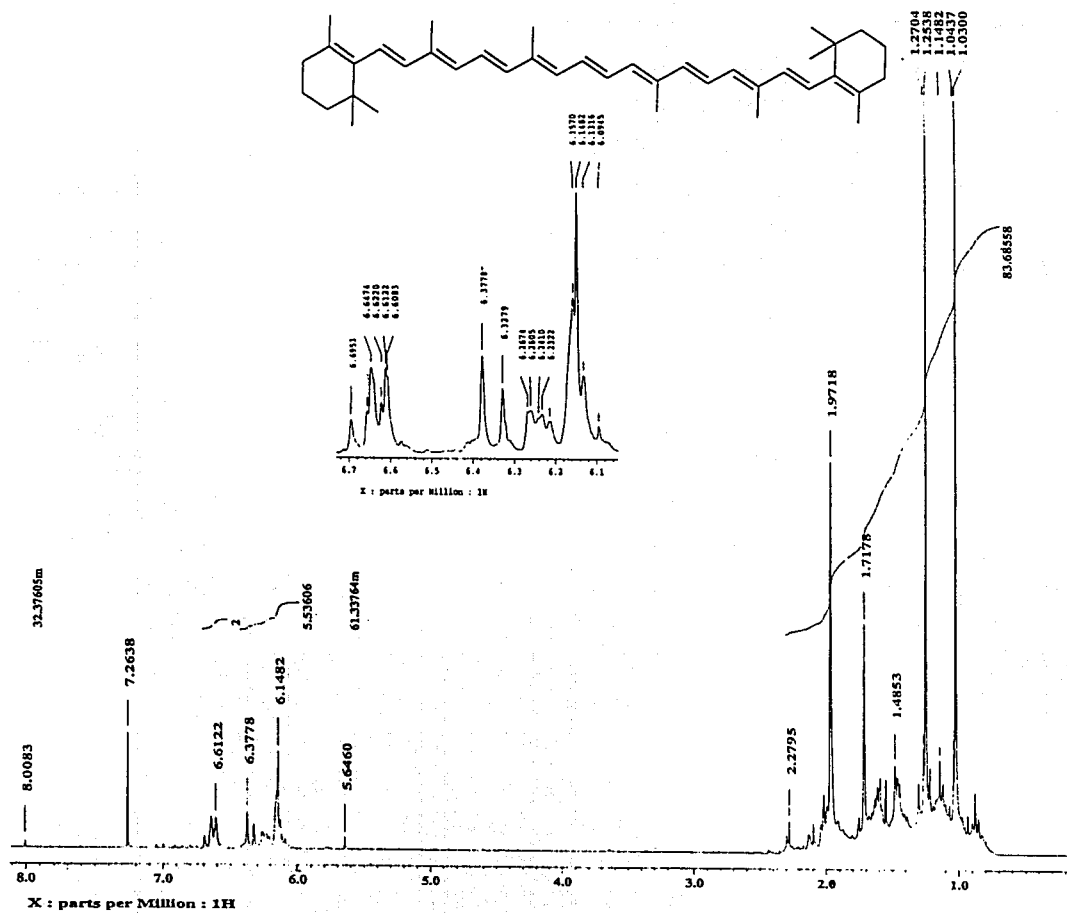
Espectro 11. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 300 MHz) de sacarosa (97)



Espectro 12. Espectro de masas (FAB<sup>+</sup>, 70 eV) de sacarosa (97)

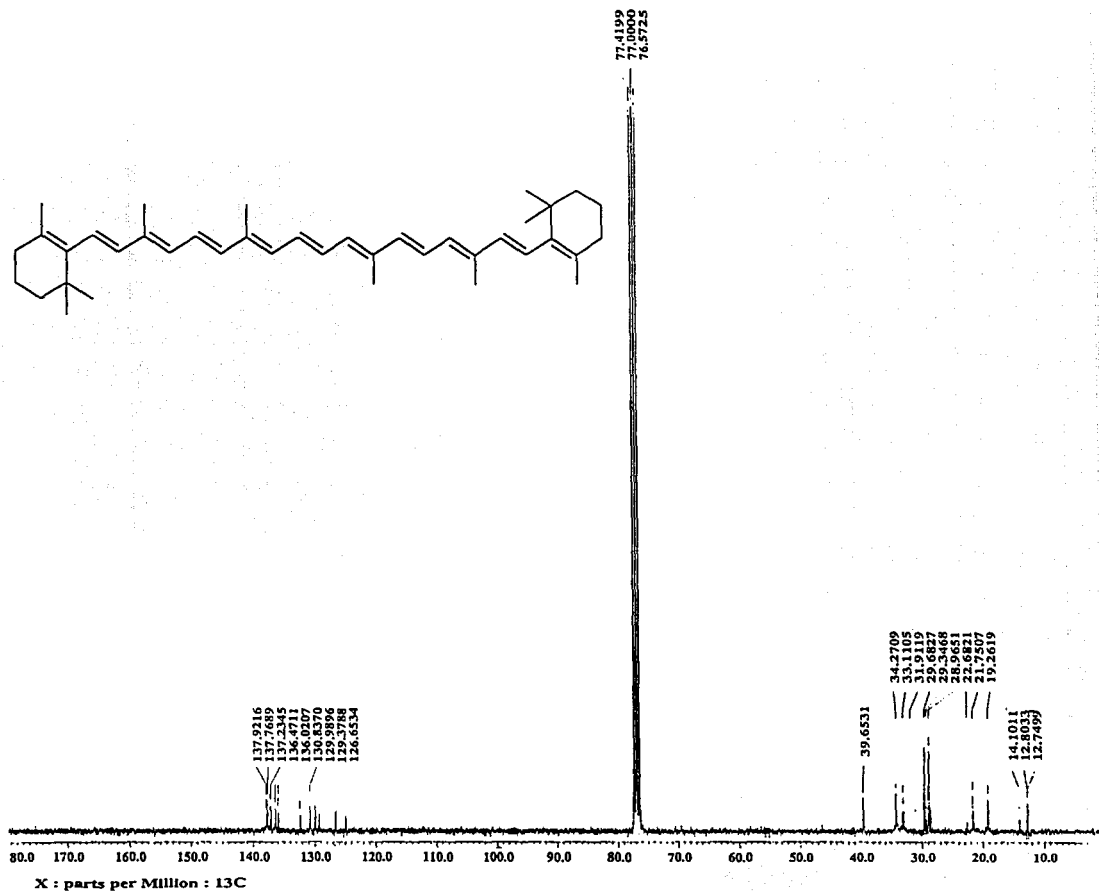


**Espectro 13. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 300 MHz) de sacarosa peracetilada (98)**

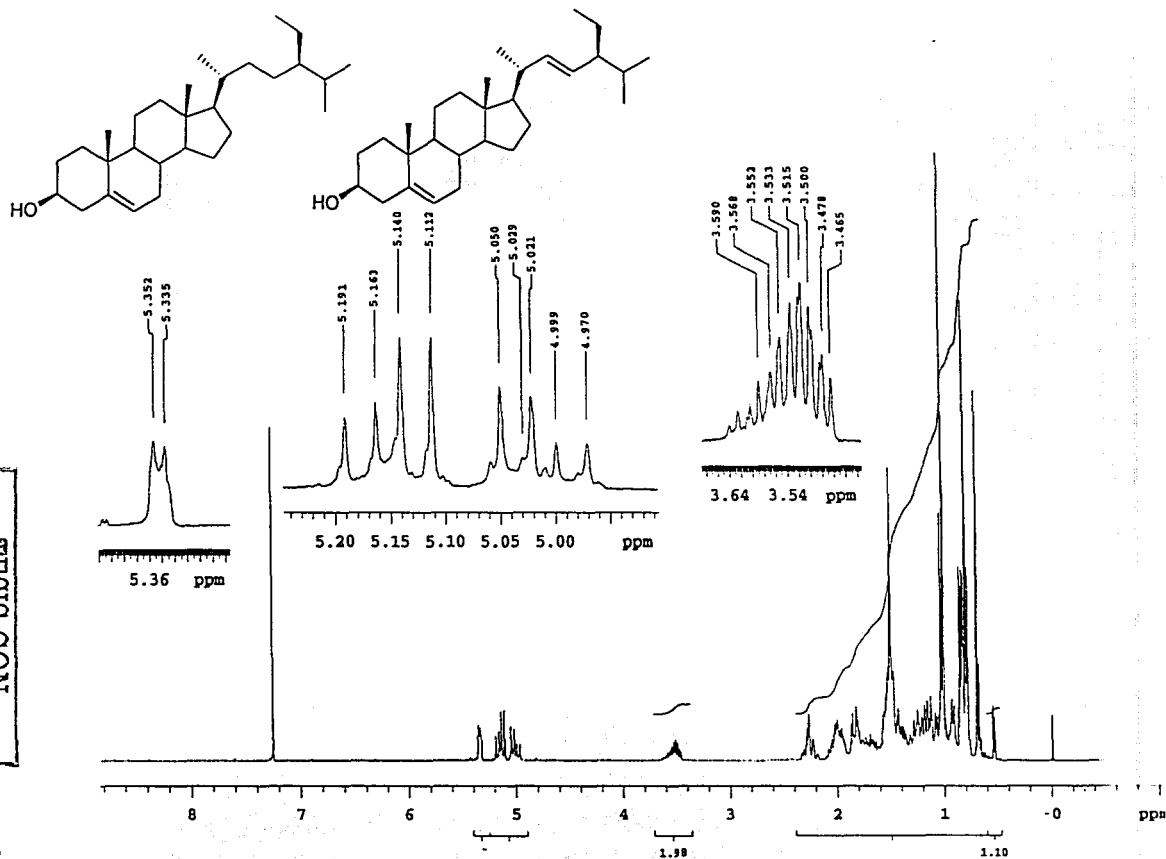


**Espectro 14. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) de  $\beta$ -*trans*-caroteno (101)**

TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN

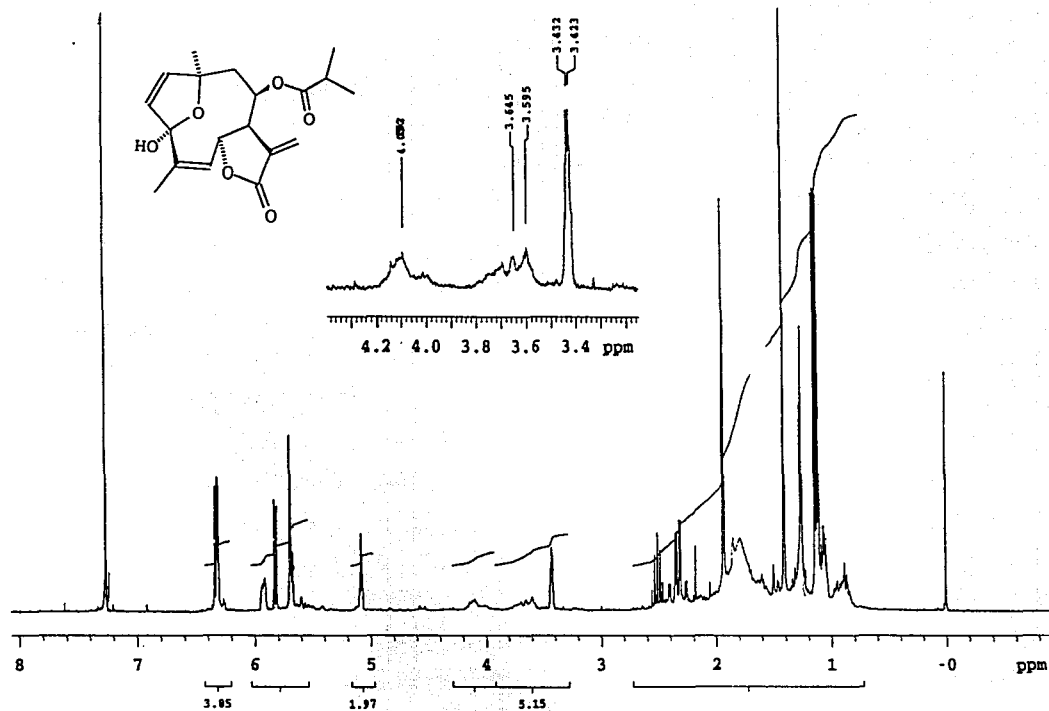


Espectro 15. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) de  $\beta$ -trans-caroteno (101)

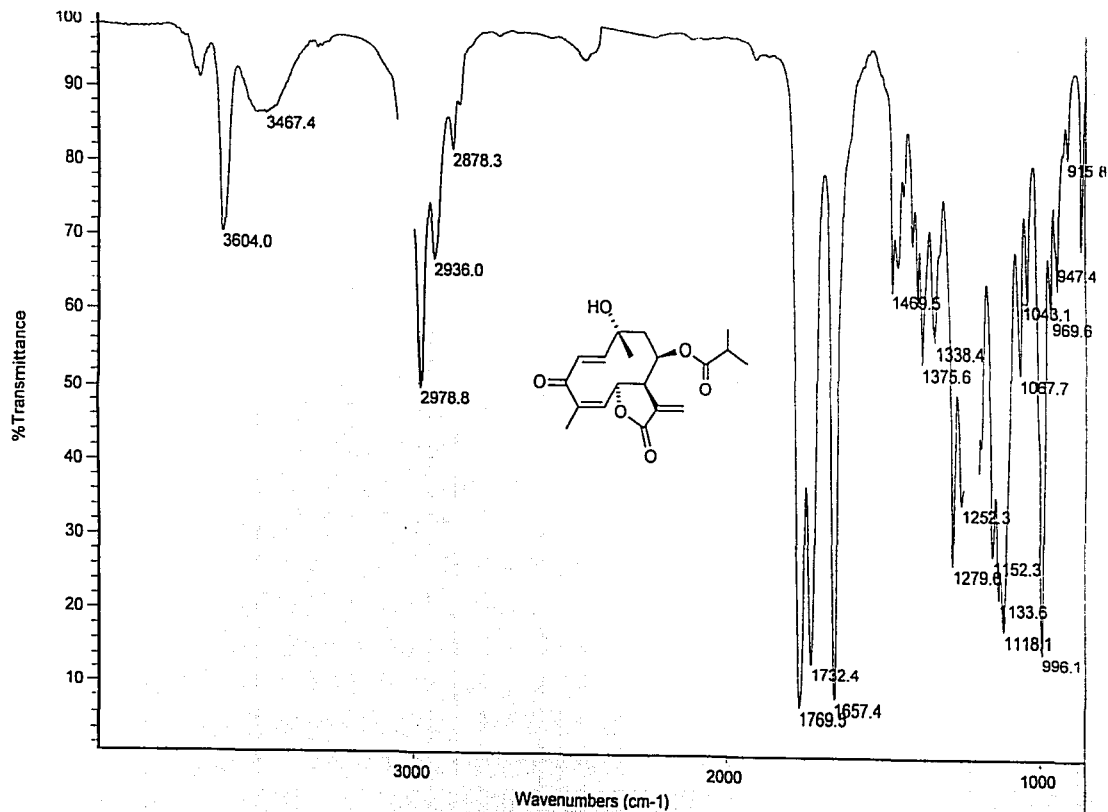


Espectro 16. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) de  $\beta$ -sitosterol/estigmasterol (99/100)



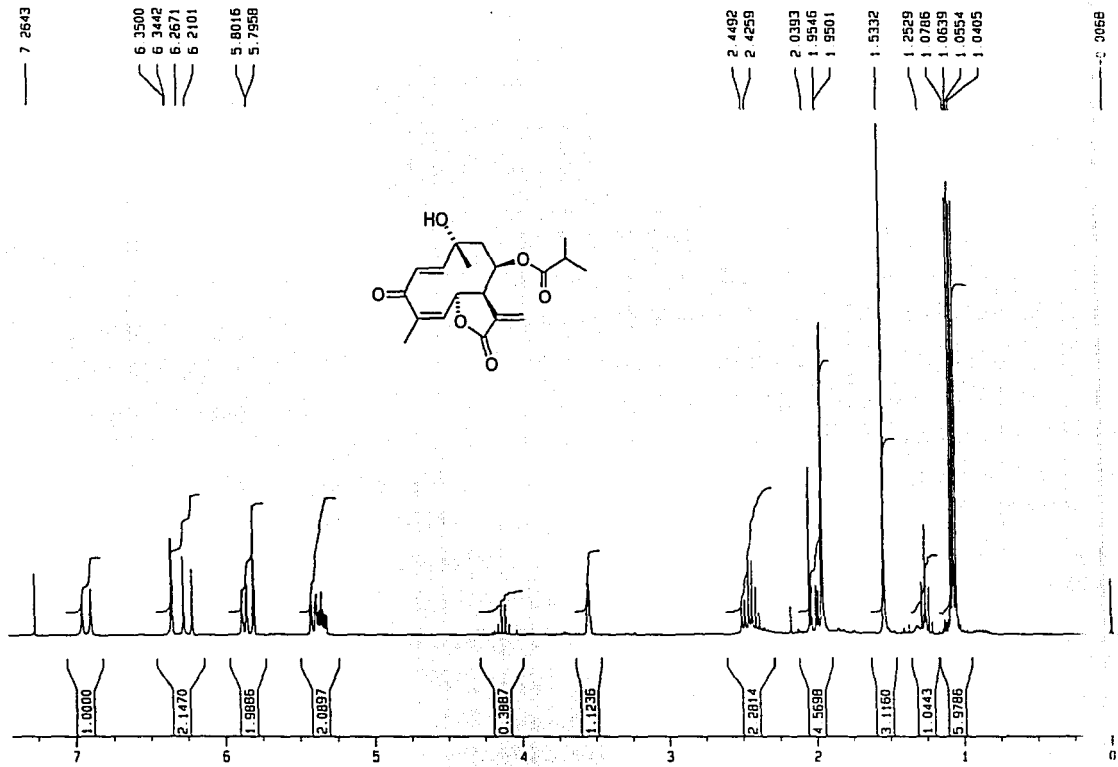


Espectro 17. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) de tagitinin F (58)

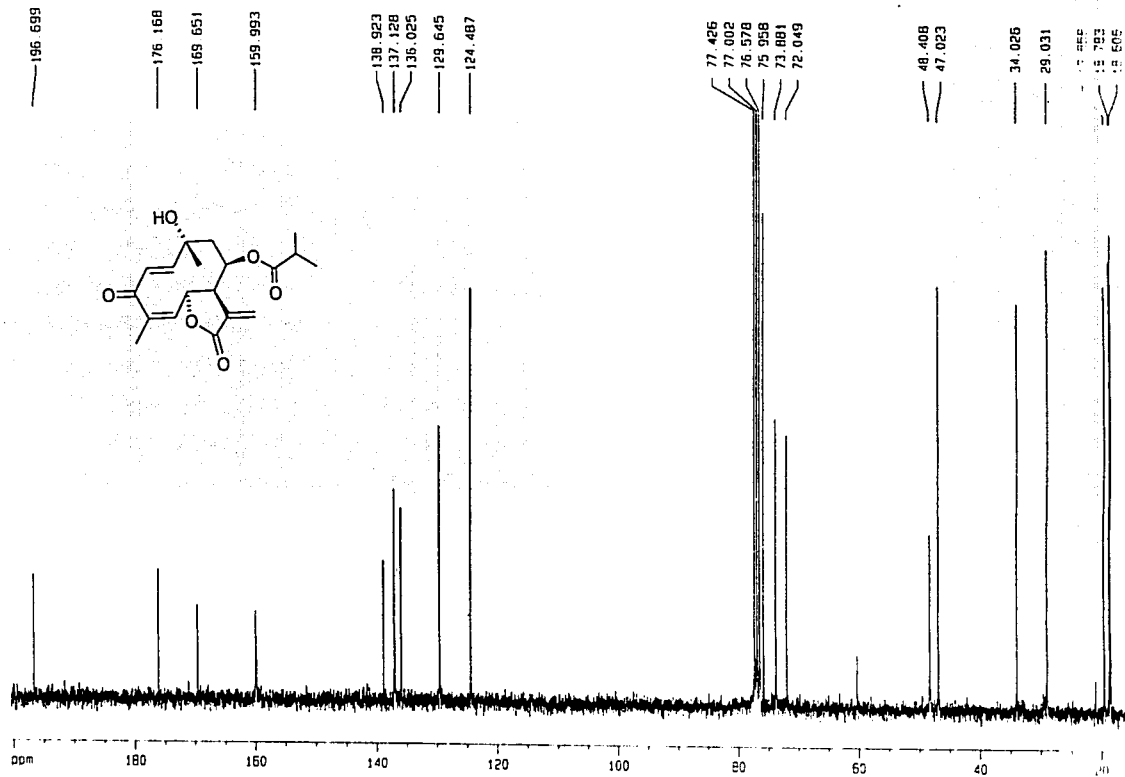


Espectro 18. Espectro en el IR (CHCl<sub>3</sub>) de tagitinina C (59)

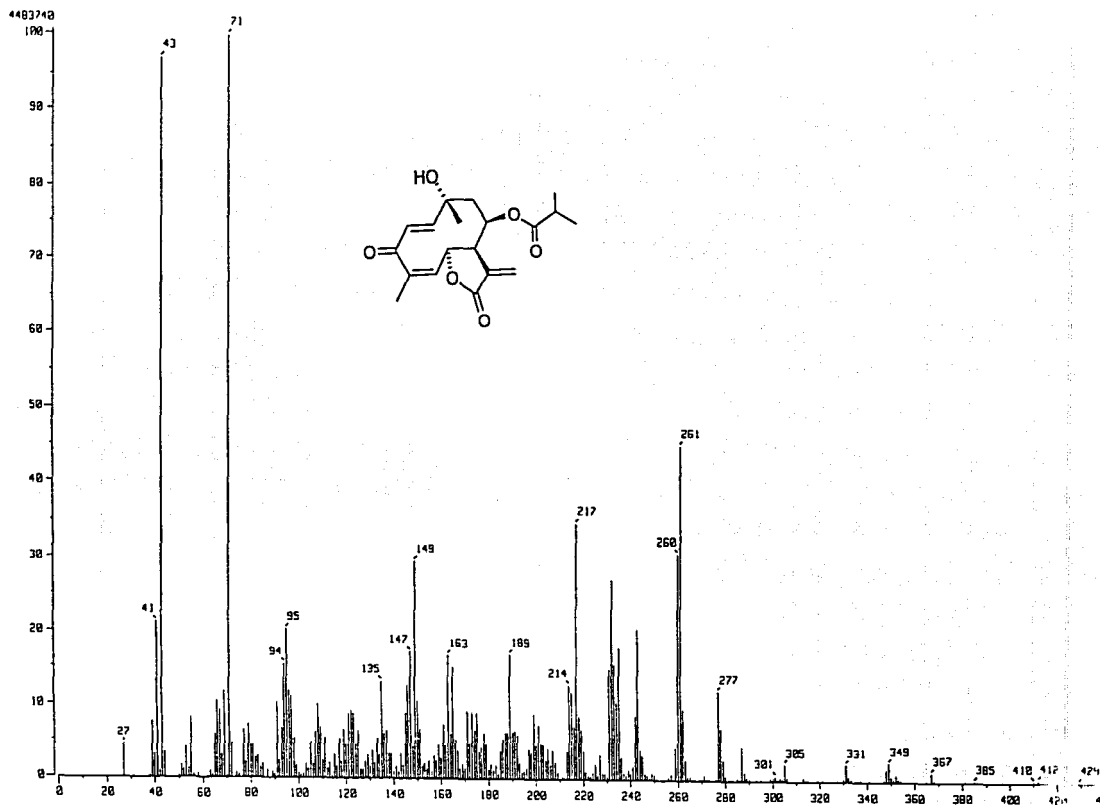
TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN



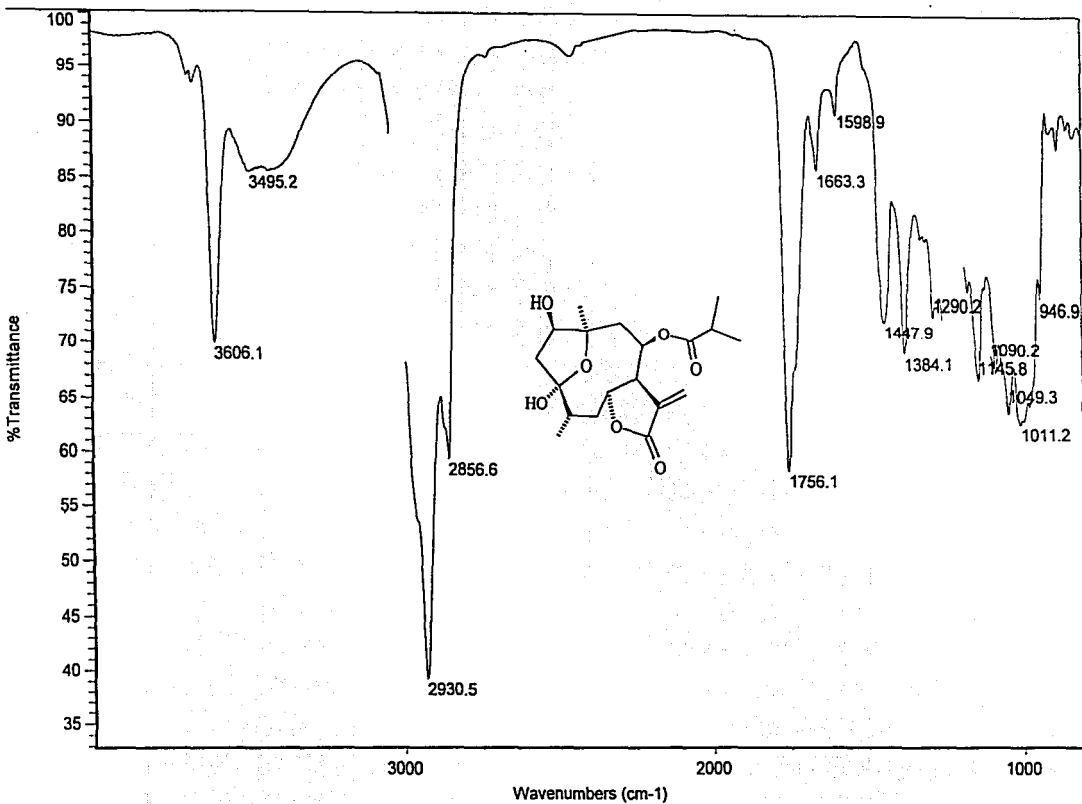
Espectro 19. Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) de tagitinina C (59)



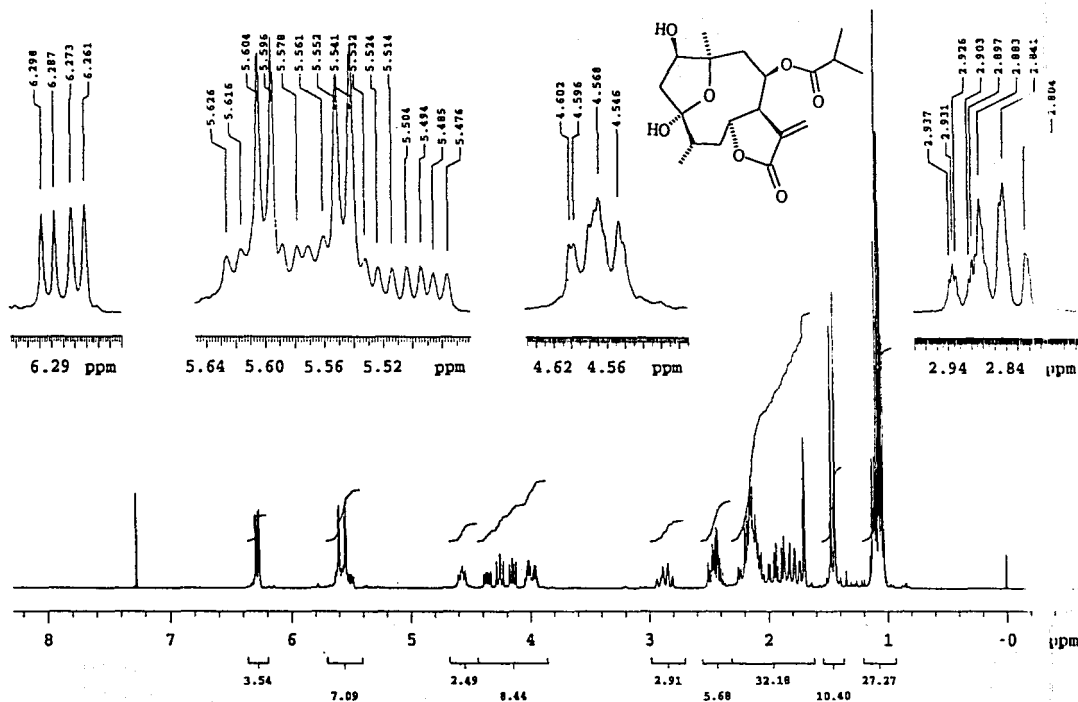
Espectro 20. Espectro de RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) de tagitina C (59)



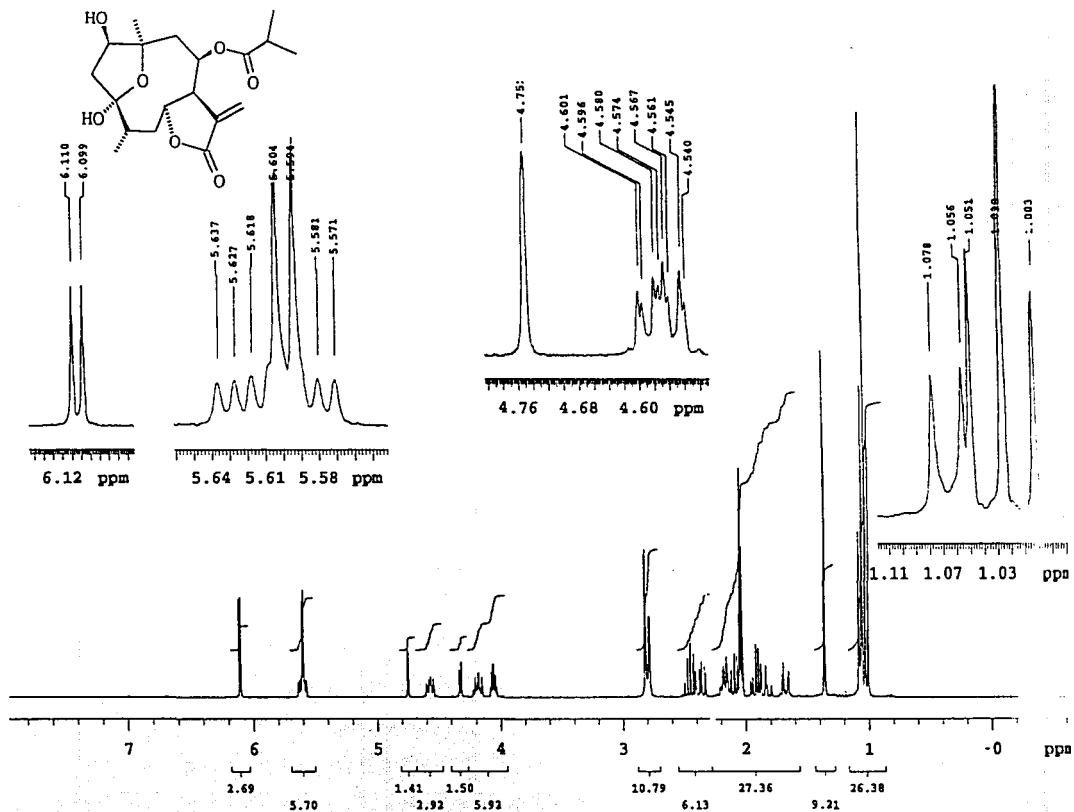
Espectro 21. Espectro de masas (IE, 70 eV) de tagitinina C (59)



Espectro 22. Espectro en el IR ( $\text{CHCl}_3$ ) de tagitinina A (55°)



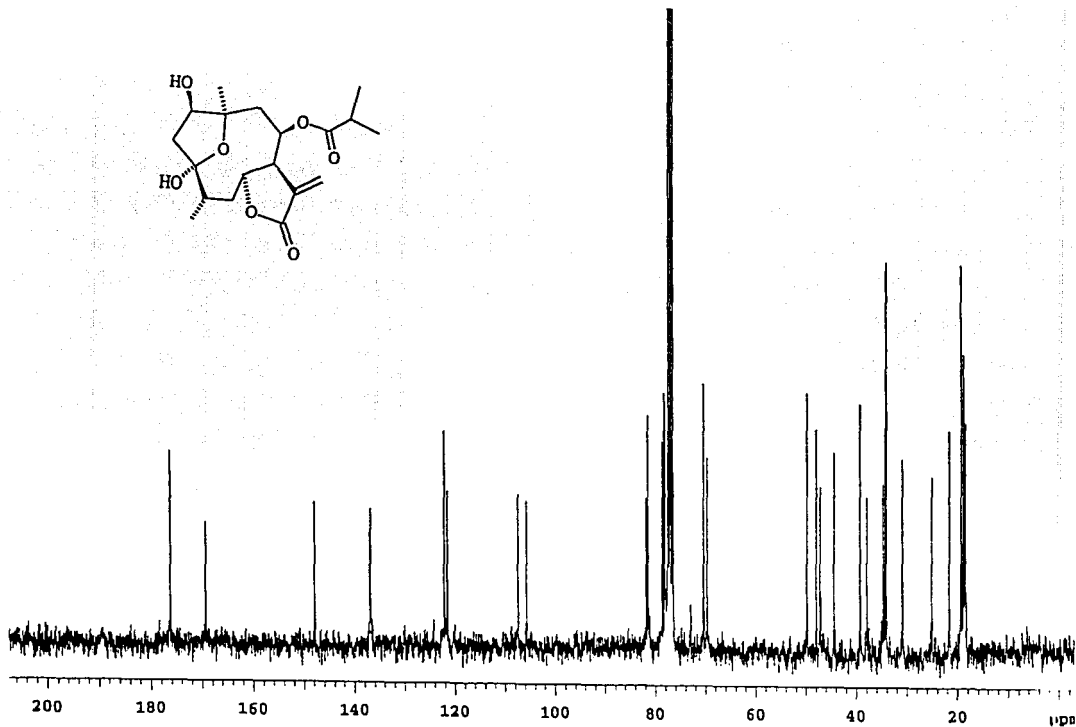
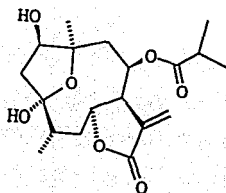
Spectro 23. Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) de tagitinin A (55°)



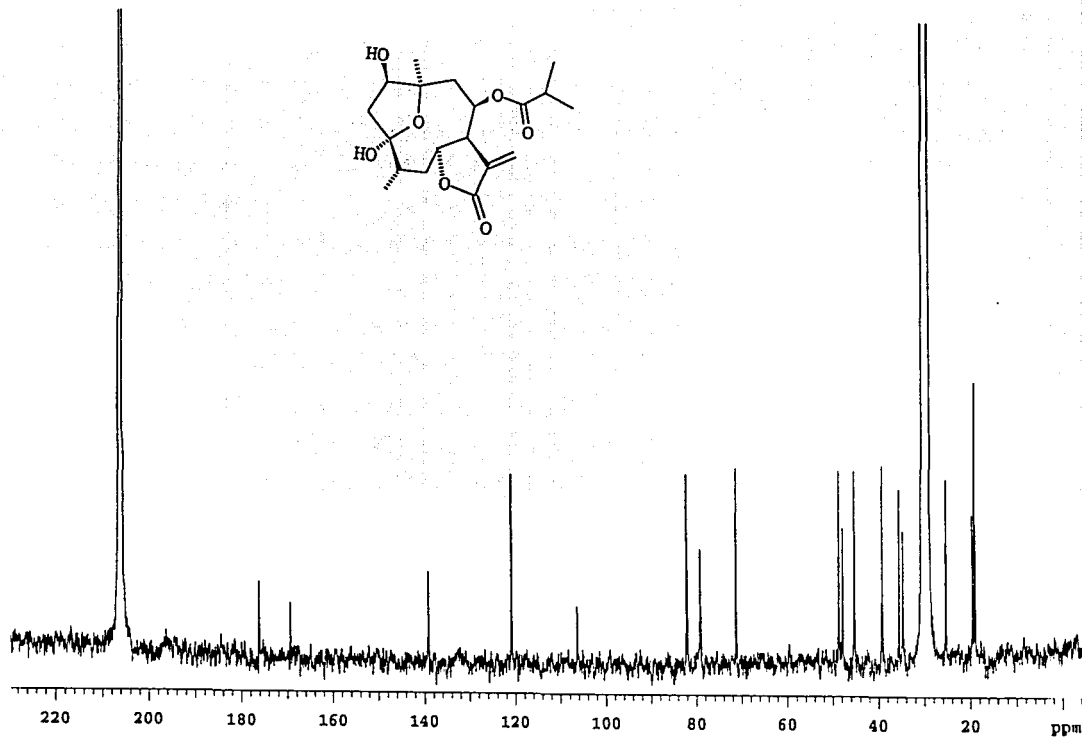
Espectro 24. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, 300 MHz) de tagitinina A (55°)



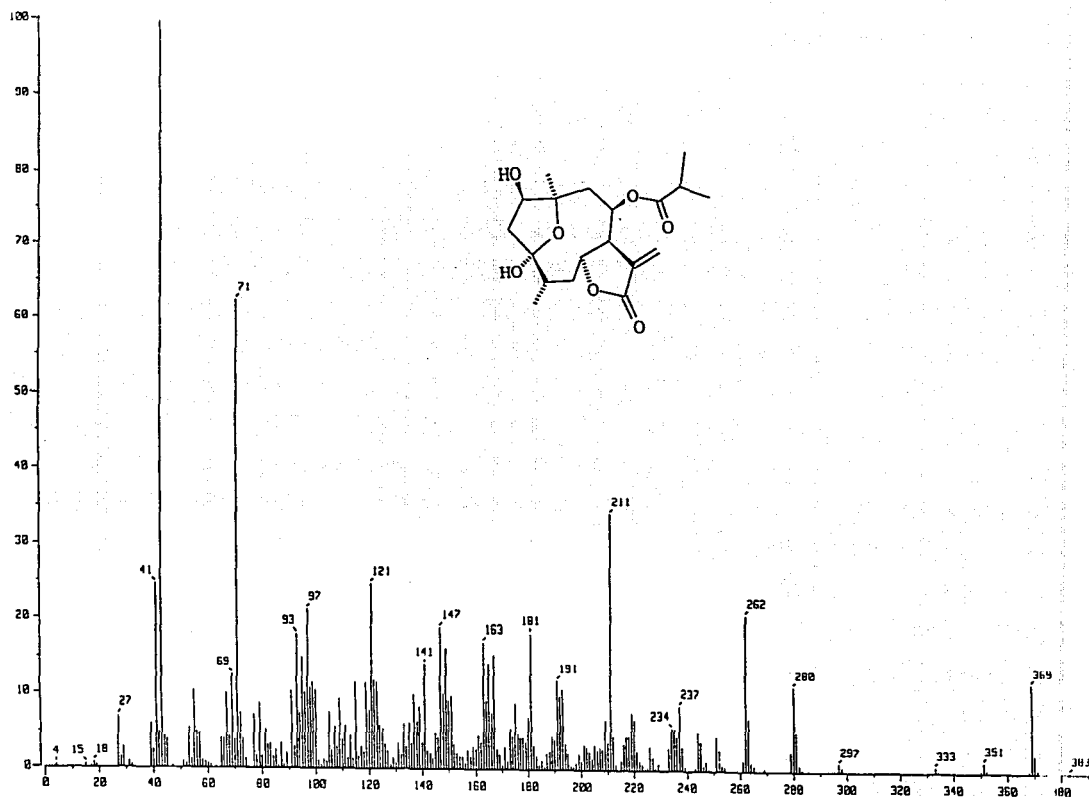
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



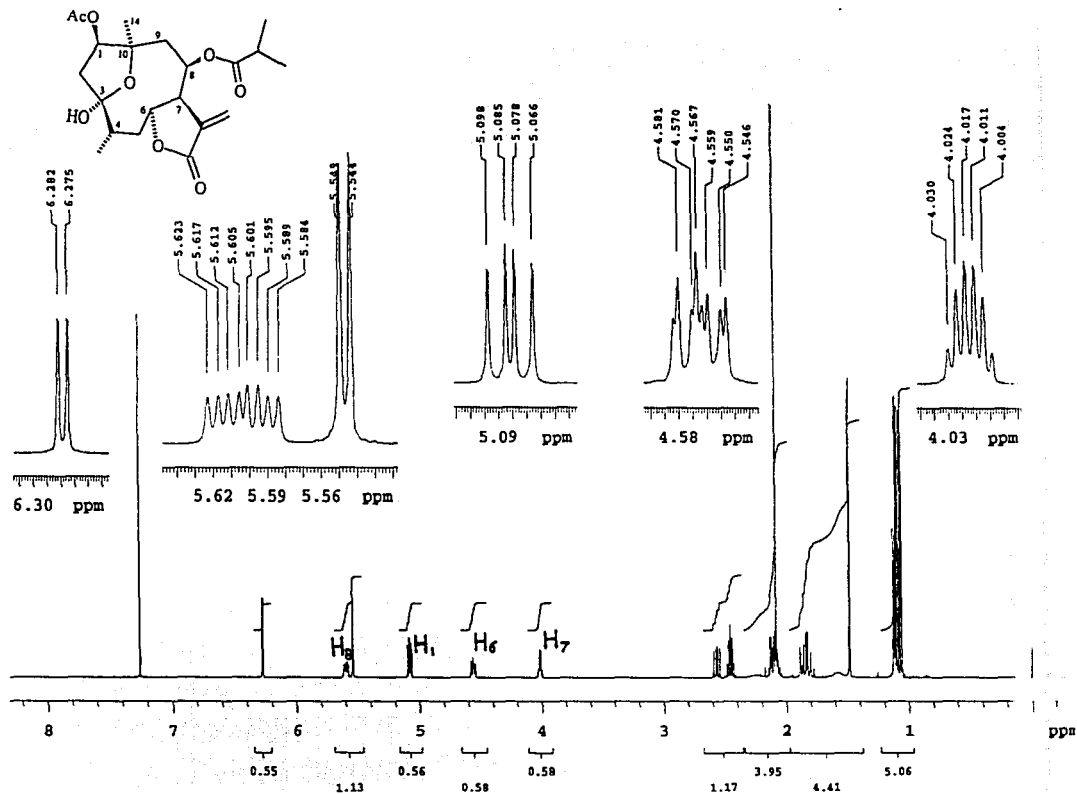
Espectro 25. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) de tagitinina A ( $55^\circ$ )



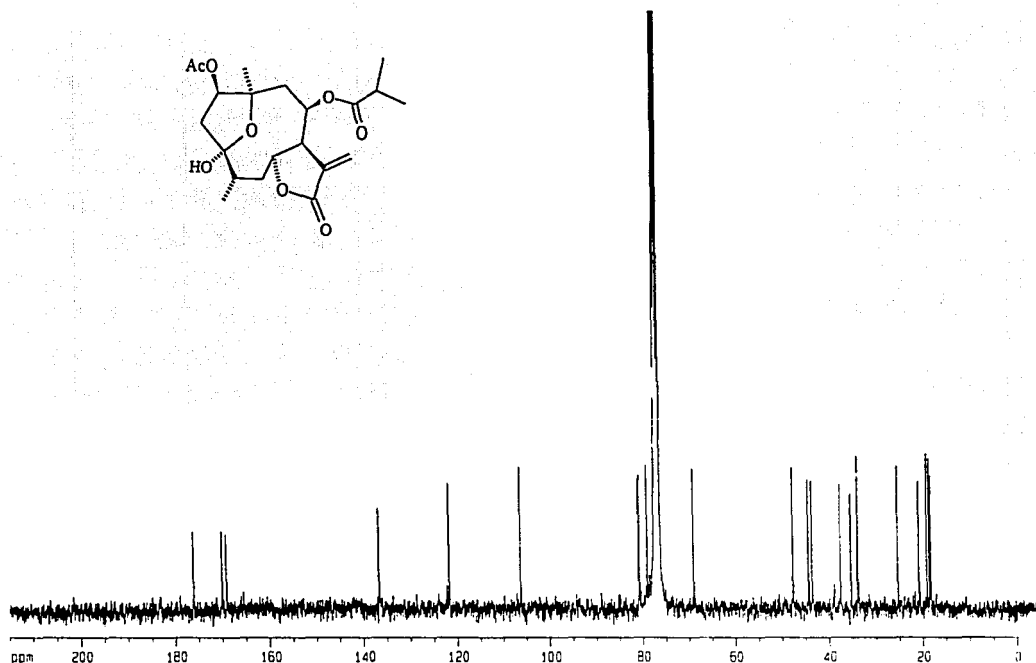
Espectro 26. Espectro de RMN <sup>13</sup>C (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, 75 MHz) de tagitinina A (55°)



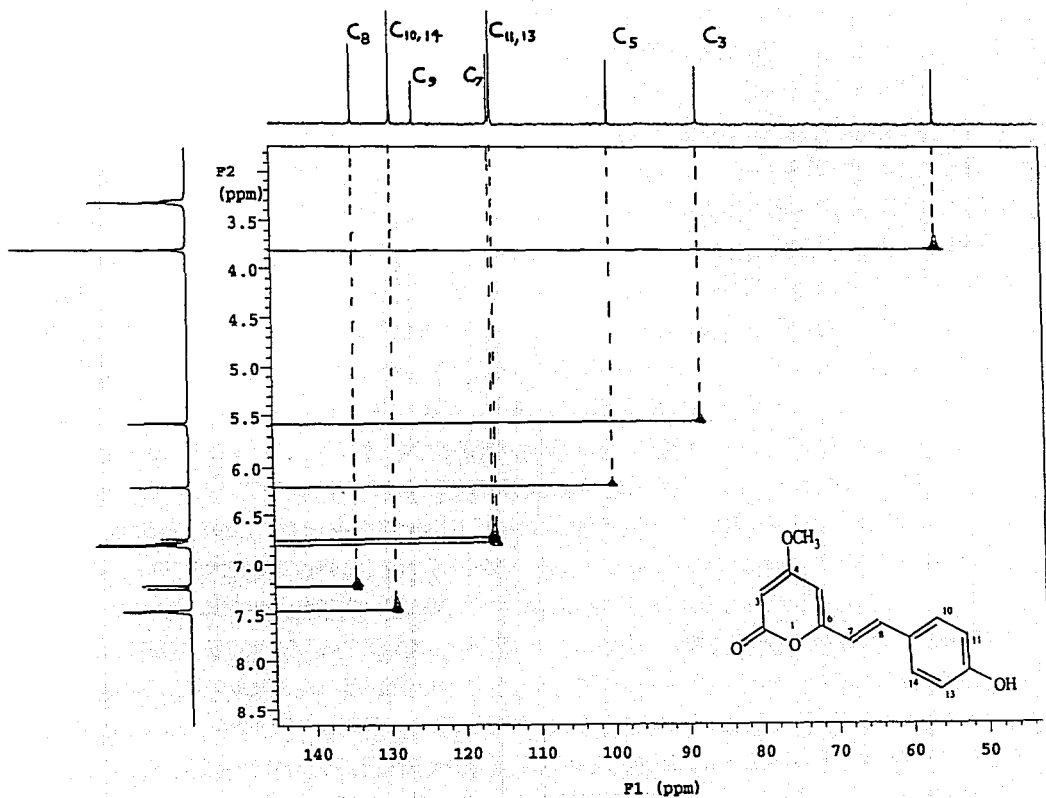
Espectro 27. Espectro de masas (IE, 70 eV) de tagitinina A (55°)



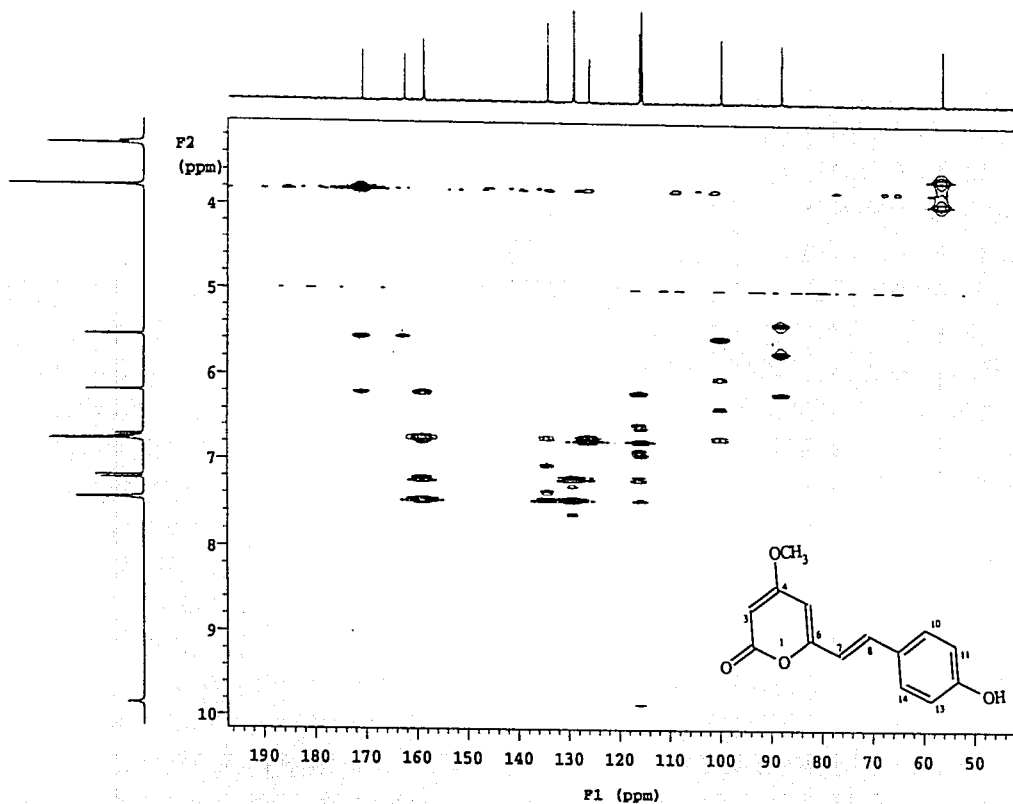
Espectro 28. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de 1β-acetiltagitinina A (60°)



Espectro 29. Espectro de RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) de 1β-acetyltagitinina A (60°)

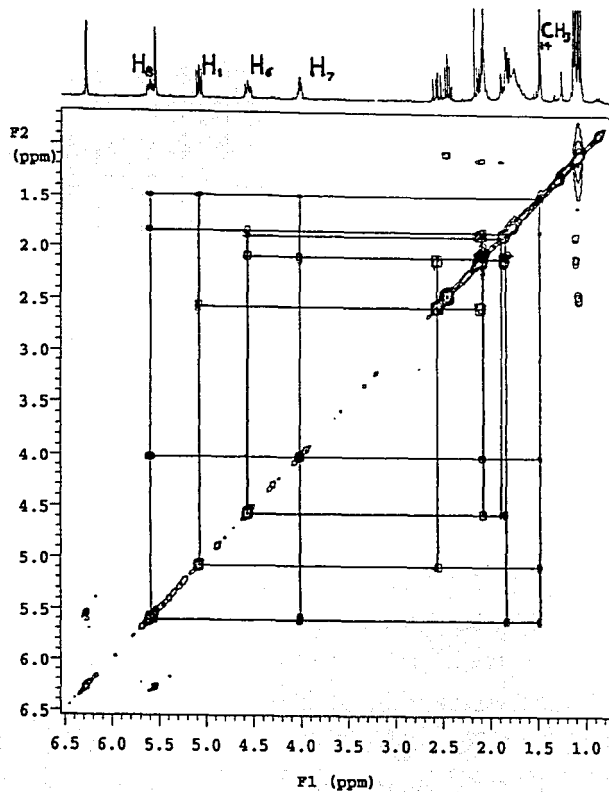
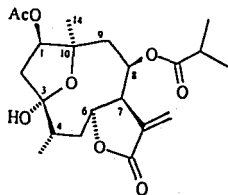


Espectro 30. Espectro HMQC (DMSO, 500 MHz) de 6-(*p*-Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13)



Espectro 31. Espectro HMBC (DMSO, 500 MHz) de 6-(*p*-Hidroxiestiril)-4-metoxi-2-pirona (13)

TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN



Espectro 32. Espectro NOESY ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) de  $1\beta$ -acetiltagitinin A ( $60^\circ$ )



## ANEXO 1.

Dibujo computarizado del análisis de rayos X de tagitina A (55<sup>o</sup>) y tablas de los datos cristalográficos.

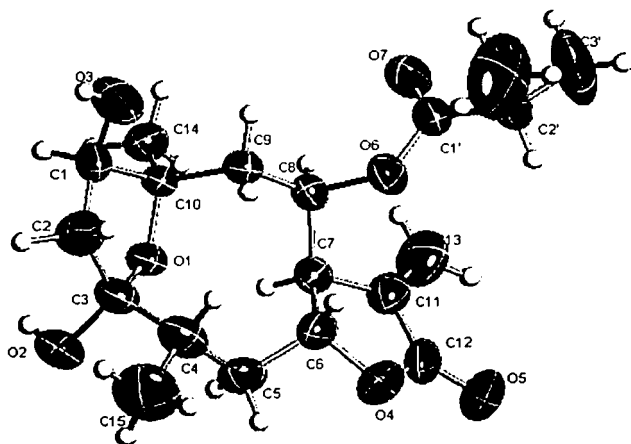


Table 1. Crystal data and structure refinement for AGFT.

Identification code	AGFT	
Record Code	RXDGAGFT	
Empirical formula	$C_{19}H_{28}O_7$	
Formula weight	368.41	
Temperature	291(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Orthorhombic	
Space group	$P2_12_1$	
Unit cell dimensions	$a = 9.6580(13)$ Å	$\alpha = 90^\circ$ .
	$b = 9.9775(13)$ Å	$\beta = 90^\circ$ .
	$c = 20.360(3)$ Å	$\gamma = 90^\circ$ .
Volume	$1961.9(5)$ Å <sup>3</sup>	
Z	4	
Density (calculated)	1.247 g/cm <sup>3</sup>	
Absorption coefficient	0.094 mm <sup>-1</sup>	
F(000)	792	
Crystal size / shape / color	0.40 x 0.20 x 0.18 mm / Prism/ Colorless	
Theta range for data collection	2.00 to 24.99°	
Diffractometer used /Scan Mode	Bruker Smart Apex CCD area detector/ omega scans	
Index ranges	$-11 \leq h \leq 11$ , $-11 \leq k \leq 11$ , $-24 \leq l \leq 24$	
Reflections collected	16084	
Independent reflections	3459 [R(int) = 0.1495]	
Completeness to theta = 24.99°	100.0 %	
Absorption correction	None	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	
Data / restraints / parameters	3459 / 0 / 245	
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	0.902	
Final R indices [I>2sigma(I)]	$R1 = 0.0523$ , $wR2 = 0.0990$	
R indices (all data)	$R1 = 0.0958$ , $wR2 = 0.1097$	
Absolute structure parameter	-1.4(16)	
Largest diff. peak and hole	0.149 and -0.130 e.Å <sup>-3</sup>	
Solved by	Simon Hernandez-Ortega	

Table 2. Atomic coordinates ( $\times 10^4$ ) and equivalent isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for  $\Delta\text{GFT}$ .  $U(\text{eq})$  is defined as one third of the trace of the orthogonalized  $U_{ij}$  tensor.

	x	y	z	$U(\text{eq})$
O(1)	8657(2)	1016(2)	-161(1)	51(1)
O(2)	10048(3)	-304(3)	-779(1)	73(1)
O(3)	5358(3)	1008(4)	-903(1)	105(1)
O(4)	9225(3)	-943(3)	1805(1)	84(1)
O(5)	9695(3)	-76(4)	2783(1)	117(1)
O(6)	5952(2)	958(2)	1507(1)	55(1)
O(7)	5071(3)	2999(3)	1683(1)	80(1)
C(1)	6806(3)	1078(4)	-884(2)	60(1)
C(2)	7532(4)	-244(4)	-972(2)	74(1)
C(3)	8729(4)	-251(4)	-486(2)	59(1)
C(4)	8663(4)	-1410(3)	0(2)	70(1)
C(5)	9418(4)	-1164(3)	643(2)	68(1)
C(6)	8553(4)	-579(3)	1193(2)	59(1)
C(7)	8339(3)	942(3)	1224(1)	50(1)
C(8)	6934(3)	1474(3)	1025(2)	49(1)
C(9)	6410(3)	1125(3)	354(1)	50(1)
C(10)	7300(3)	1585(3)	-213(2)	46(1)
C(11)	8680(4)	1264(4)	1928(2)	62(1)
C(12)	9258(4)	66(6)	2227(2)	81(1)
C(13)	8516(4)	2363(5)	2257(2)	93(1)
C(14)	7462(4)	3085(3)	-205(2)	65(1)
C(15)	9134(6)	-2728(4)	-318(2)	117(2)
C(1')	5109(4)	1827(5)	1812(2)	61(1)
C(2')	4251(4)	1147(4)	2315(2)	80(1)
C(3')	3735(7)	2077(6)	2817(2)	168(3)
C(4')	3121(7)	377(7)	1994(3)	171(3)

Table 3. Bond lengths [Å] and angles [°] for AGFT.

O(1)-C(3)	1.429(4)	C(4)-C(5)	1.517(5)
O(1)-C(10)	1.432(3)	C(4)-C(15)	1.535(5)
O(2)-C(3)	1.408(4)	C(5)-C(6)	1.515(4)
O(3)-C(1)	1.401(4)	C(6)-C(7)	1.533(4)
O(4)-C(12)	1.325(5)	C(7)-C(11)	1.505(4)
O(4)-C(6)	1.451(4)	C(7)-C(8)	1.513(4)
O(5)-C(12)	1.216(4)	C(8)-C(9)	1.496(4)
O(6)-C(1')	1.342(4)	C(9)-C(10)	1.510(4)
O(6)-C(8)	1.459(4)	C(10)-C(14)	1.505(4)
O(7)-C(1')	1.198(4)	C(11)-C(13)	1.294(5)
C(1)-C(2)	1.505(5)	C(11)-C(12)	1.453(5)
C(1)-C(10)	1.533(4)	C(1')-C(2')	1.482(5)
C(2)-C(3)	1.522(4)	C(2')-C(3')	1.467(6)
C(3)-C(4)	1.523(5)	C(2')-C(4')	1.486(6)
C(3)-O(1)-C(10)	111.2(2)	C(11)-C(7)-C(8)	112.2(3)
C(12)-O(4)-C(6)	112.2(3)	C(11)-C(7)-C(6)	102.8(3)
C(1')-O(6)-C(8)	118.6(3)	C(8)-C(7)-C(6)	117.2(3)
O(3)-C(1)-C(2)	114.7(3)	O(6)-C(8)-C(9)	108.2(2)
O(3)-C(1)-C(10)	110.6(3)	O(6)-C(8)-C(7)	106.2(2)
C(2)-C(1)-C(10)	104.5(3)	C(9)-C(8)-C(7)	117.8(3)
C(1)-C(2)-C(3)	106.3(3)	C(8)-C(9)-C(10)	115.7(3)
O(2)-C(3)-O(1)	105.9(3)	O(1)-C(10)-C(14)	107.4(3)
O(2)-C(3)-C(2)	114.3(3)	O(1)-C(10)-C(9)	110.1(2)
O(1)-C(3)-C(2)	105.1(3)	C(14)-C(10)-C(9)	110.7(3)
O(2)-C(3)-C(4)	106.6(3)	O(1)-C(10)-C(1)	102.7(2)
O(1)-C(3)-C(4)	111.7(3)	C(14)-C(10)-C(1)	111.7(3)
C(2)-C(3)-C(4)	113.2(3)	C(9)-C(10)-C(1)	113.8(3)
C(5)-C(4)-C(3)	114.7(3)	C(13)-C(11)-C(12)	121.8(4)
C(5)-C(4)-C(15)	111.1(3)	C(13)-C(11)-C(7)	130.3(4)
C(3)-C(4)-C(15)	111.4(3)	C(12)-C(11)-C(7)	107.9(4)
C(6)-C(5)-C(4)	115.8(3)	O(5)-C(12)-O(4)	121.6(4)
O(4)-C(6)-C(5)	107.0(3)	O(5)-C(12)-C(11)	128.3(5)
O(4)-C(6)-C(7)	105.8(3)	O(4)-C(12)-C(11)	110.1(4)
C(5)-C(6)-C(7)	119.1(3)	O(7)-C(1')-O(6)	123.2(3)

Table 4. Anisotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for AGFT. The anisotropic displacement factor exponent takes the form:  $-2\pi^2 [h^2 a^{*2} U_{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U_{12}]$

	$U_{11}$	$U_{22}$	$U_{33}$	$U_{23}$	$U_{13}$	$U_{12}$
O(1)	43(1)	57(1)	52(1)	-3(1)	2(1)	10(1)
O(2)	60(2)	84(2)	75(2)	1(2)	16(2)	18(2)
O(3)	54(2)	195(3)	67(2)	-41(2)	-13(2)	24(2)
O(4)	93(2)	93(2)	65(2)	26(2)	2(2)	24(2)
O(5)	111(2)	185(3)	55(2)	34(2)	2(2)	42(2)
O(6)	50(1)	60(1)	56(1)	3(1)	14(1)	-4(1)
O(7)	89(2)	71(2)	81(2)	9(2)	25(2)	26(2)
C(1)	51(2)	82(3)	46(2)	-2(2)	1(2)	9(2)
C(2)	81(3)	78(3)	64(3)	-21(2)	-18(2)	10(2)
C(3)	47(2)	68(2)	62(2)	-7(2)	5(2)	11(2)
C(4)	66(2)	57(2)	87(3)	-2(2)	17(2)	7(2)
C(5)	68(2)	56(2)	80(3)	16(2)	4(2)	19(2)
C(6)	54(2)	69(3)	55(2)	15(2)	4(2)	5(2)
C(7)	41(2)	57(2)	51(2)	5(2)	4(2)	-3(2)
C(8)	47(2)	53(2)	48(2)	2(2)	7(2)	3(2)
C(9)	43(2)	57(2)	49(2)	0(2)	-1(2)	8(2)
C(10)	40(2)	56(2)	43(2)	2(2)	4(2)	12(2)
C(11)	51(2)	82(3)	52(2)	7(2)	-2(2)	-3(2)
C(12)	62(3)	130(4)	50(3)	26(3)	14(2)	11(3)
C(13)	94(3)	119(4)	66(3)	-2(3)	-18(3)	-15(3)
C(14)	59(2)	71(3)	66(2)	14(2)	6(2)	9(2)
C(15)	150(5)	65(3)	135(4)	-14(3)	19(4)	23(3)
C(1')	56(2)	79(3)	46(2)	0(2)	5(2)	13(2)
C(2')	67(2)	106(3)	67(3)	24(2)	26(2)	20(3)
C(3')	235(7)	158(5)	109(4)	8(4)	106(5)	38(5)
C(4')	152(5)	221(7)	141(5)	61(5)	20(4)	-98(6)

Table 5. Hydrogen coordinates ( $\times 10^4$ ) and isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for AGFT.

	x	y	z	U(eq)
H(2)	10020(50)	320(40)	-1000(20)	88
H(3)	5140(50)	780(50)	-1240(20)	126
H(1A)	7125	1700	-1224	72
H(2A)	7874	-332	-1418	89
H(2B)	6904	-980	-882	89
H(4)	7684	-1527	112	84
H(5A)	9803	-2009	792	82
H(5B)	10187	-563	558	82
H(6)	7640	-1007	1182	71
H(7)	9039	1366	944	60
H(8)	6954	2452	1063	59
H(9A)	5495	1511	303	60
H(9B)	6312	159	328	60
H(13A)	8771	2400	2697	111
H(13B)	8144	3115	2053	111
H(14A)	7940	3367	-595	78
H(14B)	7984	3347	175	78
H(14C)	6565	3498	-191	78
H(15A)	8826	-3469	-55	140
H(15B)	10126	-2741	-347	140
H(15C)	8745	-2798	-750	140
H(2')	4848	498	2539	96
H(3'A)	3202	2771	2610	201
H(3'B)	4503	2469	3046	201
H(3'C)	3161	1599	3123	201
H(4'A)	3512	-248	1687	206
H(4'B)	2517	983	1766	206
H(4'C)	2604	-102	2321	206

Tabla 6. Torsion angles (deg): (right-hand rule, Klyne & Prelog, (1960),  
Experientia, 16, 521) (s.u. following Stanford & Waser, Acta Cryst. (1972) A28, 213)

				Angle	s.u.
C10	-O1	-C3	-O2	142.59	0.25
C10	-O1	-C3	-C2	21.30	0.33
C10	-O1	-C3	-C4	-101.80	0.30
C3	-O1	-C10	-C1	-32.31	0.30
C3	-O1	-C10	-C9	89.26	0.29
C3	-O1	-C10	-C14	-150.12	0.26
H2	-O2	-C3	-O1	-57.92	3.14
H2	-O2	-C3	-C2	57.23	3.15
H2	-O2	-C3	-C4	-176.93	3.14
C12	-O4	-C6	-C7	9.22	0.40
C12	-O4	-C6	-H6	-106.48	0.37
C1	-C2	-C3	-O1	-0.80	0.36
C1	-C2	-C3	-O2	-116.42	0.32
C1	-C2	-C3	-C4	121.29	0.32
C5	-C4	-C15	-H15B	-51.79	0.48
C5	-C4	-C15	-H15C	-171.78	0.36
H4	-C4	-C15	-H15A	-47.13	0.49
H4	-C4	-C15	-H15B	-167.14	0.37
H4	-C4	-C15	-H15C	72.86	0.47
C4	-C5	-C6	-O4	156.14	0.29
C4	-C5	-C6	-C7	-84.11	0.38
C4	-C5	-C6	-H6	39.85	0.42
C5	-C6	-C7	-C8	105.60	0.34
H6	-C6	-C7	-C8	-18.38	0.40
H6	-C6	-C7	-C11	105.10	0.32
H6	-C6	-C7	-H7	-140.72	0.29
C6	-C7	-C8	-O6	65.05	0.33
C6	-C7	-C8	-C9	-56.35	0.38
C6	-C7	-C8	-H8	-179.17	0.27
C11	-C7	-C8	-O6	-53.52	0.33
H7	-C7	-C8	-C9	65.99	0.36
H7	-C7	-C8	-H8	-56.83	0.35
C7	-C8	-C9	-H9B	62.10	0.36
H8	-C8	-C9	-C10	63.04	0.35
H8	-C8	-C9	-H9A	-58.83	0.35
C8	-C9	-C10	-C14	-59.41	0.35
H9B	-C9	-C10	-C14	178.72	0.27
C7	-C11	-C12	-O4	-3.79	0.46
C7	-C11	-C12	-O5	177.88	0.44
C13	-C11	-C12	-O4	175.48	0.39
C13	-C11	-C12	-O5	-2.85	0.74
C7	-C11	-C13	-H13A	179.10	0.38
C7	-C11	-C13	-H13B	-0.90	0.73
C12	-C11	-C13	-H13A	0.01	0.68
C12	-C11	-C13	-H13B	180.00	0.41
C4'	-C2'	-C3'	-H3'B	173.08	0.48
C4'	-C2'	-C3'	-H3'C	53.07	0.64

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## 12. REFERENCIAS

1. Estrada, E.; Linares, E.; Bye, R. Biological Diversity of Medicinal Plants in México, in: *Phytochemistry of Medicinal Plants*. Ed. J. T. Arnason, Plenum Press, New York. *Rec. Adv. Phyt.* 1995, 29, 65-82.
2. Camacho, J. R.; Aguilar, A.; Lozoya, X. Encuesta sobre el Uso Actual de Plantas en la Medicina Tradicional Mexicana. *Rev. Med. IMSS*. 1987, 25, 283-291.
3. Hamburger, M.; Hostettmann, K. Bioactivity in Plants: The Link Between Phytochemistry and Medicine. *Phytochemistry* 1991, 30, 3864-3874.
4. Cordell, G. A. Changing Strategies in Natural Products Chemistry. *Phytochemistry* 1995, 40, 1580-1585.
5. Trigg, P. I. Qinghaosu (Artemisinin) as a Antimalarial Drug. In: *Economic and Medicinal Plant Research*. Eds. Wagner, H.; Hikino, H.; Farnsworth, N. F. Academic Press. Vol 3, 1989, p 19.
6. Yue-Zhong, S. Recent Natural Products Based Drug Development: A Pharmaceutical Industry Perspective. *J. Nat. Prod.* 1998, 61, 1053-1071.
7. Houghton, P. J. Roots of Remedies: Plants, People and Pharmaceuticals. *Chemistry & Industry* 1999, 15-19.
8. Lozoya, X. Fármacos de Origen Vegetal de Ayer y Hoy. *Investigación y Ciencia*. 1997, 245, 4-10.
9. Kinghorn, A. D.; Balandrin, M. F. *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*. Vol. 2, Wiley-Intersciences, 1984, p. 105-140.
10. Murakoshi, I.; Torizuka, K.; Haginiwa, J.; Ohmiya, S.; Otomasu, H. ( $\pm$ )-5,17-Dehidromatrine N-Oxide, a New Alkaloid in *Euchresta japonica*. *Phytochemistry*. 1978, 17, 1817.
11. Santamaria, J.; Khoun-Huu, F. Alcaloides du *Camoensia maxima*. *Phytochemistry* 1975, 14, 2501-2504.
12. Balandrin, M. F.; Kinghorn, A. D. (-)-4 $\alpha$ -Hydroxysparteine, a New Natural Product from *Acosmium panamense*. *Heterocycles* 1982, 19, 1931-1934.
13. Balandrin, M. F.; Kinghorn, A. D. Caracterization of Sweetenine, a Constituent of *Sweetia elegans*, as the *Ormosia* Alkalid, ( $\pm$ )-6-epipodopetaline. *J. Nat. Prod.* 1981, 44, 619.



14. Murakoshi, I.; Toriizuka, K.; Haginiwa, J.; Ohmiya, S.; Otomasu, H. (±)-5,17-Dehidromatrine N-Oxide, a New Alkaloid in *Euchresta japonica*. *Phytochemistry* 1978, 17, 2021.
15. Nuzillard, J. M.; Connolly, J. D.; Delaude, C.; Richard, B.; Zèches-Hanrot, M.; Men-Olivier, L. Computer-assisted Structural Elucidation. Alkaloids with a Novel Diaza-adamantane Skeleton from the Seeds of *Acosmium panamense* (Fabaceae). *Tetrahedron* 1999, 55, 11511-11518.
16. Veitch, N. C.; Goodwin, B. L.; Kite, G. C.; Simmonds, M. S. J. Methoxylated Quinolizidine Alkaloids from *Acosmium panamense*. *Phytochemistry* 1997, 45, 847-850.
17. Fitzgerald, T. J.; La Pidus, J. B.; Beal, J. L. Sweetenine, an Alkaloid from *Sweetia panamensis*. *Lloydia*. 1964, 27, 107.
18. Paulino F, H. F.; Muradian, J.; Mors, W. B. Estudio Fitoquímico de la *Acosmium subelegans* (Mohlenb) Yakovl. Aislamiento y Síntesis del 4-Metoxi-6-(p-hidroxiestiril)-2-pirona. *Rev. Latinoamer. Quím.* 1977, 8, 79-81.
19. Clarke, E. C. G. *The Alkaloids, Chemistry and Physiology*. Manske, R. H. F. (Ed.). Academic Press, New York, vol. 12, 1970, p. 514.
20. Espinosa-García, F. J. La Diversidad de los Metabolitos Secundarios y la Teoría de la Defensa Vegetal. En: Relaciones Químicas entre Organismos: Aspectos Básicos y Perspectivas de su Aplicación. Anaya, A. L.; Espinosa-García, F. J.; Cruz-Ortega, R. (Eds.). Plaza y Valdés, S.A. de C.V., México, D.F. 2001, p. 231-250.
21. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, Tomo: II, Instituto Nacional Indigenista. 1994, 713 p
22. Bork, P. M.; Schmitz, M. L.; Kuhnt, M.; Escher, C.; Heinrich, M. Sesquiterpene Lactone Containing Mexican Indian Medicinal Plants and Pure Sesquiterpene Lactones as Potent Inhibitors of Transcription Factor NF-κB. *FEBS Letters* 1997, 402, 85-90.
23. Martínez, M. Las Plantas Medicinales de México. Ed. Botas. 4ª edición. México, D.F. 1959.
24. Evans, F. J.; Taylor, S. E. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*. Eds. Herz, W.; Grisebach, H.; Kirby, G. W. Wien-New York: Springer-Verlag. Vol 44, 1983, 1-100 pp.
25. Evans, F. J.; Soper, C. J. The Tiglane, Daphnane and Ingenane Diterpenes, Their Chemistry, Distribution and Biological Activities. *J. Nat. Prod.* 1978, 41, 193.

26. Kupchan, S. M.; Sigel, C. W.; Matz, M. J.; Renauld, J. A. S.; Haltiwanger, R. C.; Bryan, R. F. Jatrophone, a Novel Macrocyclic Diterpenoid Tumor Inhibitor from *Jatropha gossypifolia*. *J. Amer. Chem. Soc.* 1970, 92, 4476.
27. Kupchan, S. M.; Uchida, I.; Bransman, A. R.; Dailey, R. G.; Yefei, B. Antileukemic Principles Isolated from Euphorbiaceae Plants. *Science* 1976, 191, 571.
28. Naengchomong, W.; Thebtaranonth, Y.; Wiriyachitra, P.; Okamoto, K. T.; Clardy, J. Isolation and Structure Determination of Four Novel Diterpenoids from *Jatropha curcus*. *Tetrahedron Lett.* 1986, 27, 2439-42. (b) Isolation and Structure Determination of Two Novel Lathyrans from *Jatropha curcus*. *Tetrahedron Lett.* 1986, 27, 5675-5678.
29. Burgos, C. E.; Ayer, D. E.; Johnson, R. A. *J. Org. Chem.* A New Asymmetric Synthesis of Lipids and Phospholipids. 1987, 52, 4973-4977.
30. Talapatra, S. K. *J. Ind. Chem. Soc.* 1993, 70, 543.
31. Schmeda-Hirschmann, G.; Tschirtzis, F.; Jakupovic, J. Diterpenes and a Lignan from *Jatropha grossidentata*. *Phytochemistry* 1992, 31, 1731.
32. Jakupovic, J.; Grenz, M.; Schmeda-Hirschmann, G. Rhamnofolane Derivatives from *Jatropha grossidentata*. *Phytochemistry* 1988, 27, 2997.
33. Kupchan, S. M.; Sigel, C. W.; Matz, M. J.; Gilmore, C. J.; Bryan, R. F. Structure and Stereochemistry of Jatrophone, a Novel Macrocyclic Diterpenoid Tumor Inhibitor. *J. Amer. Chem. Soc.* 1976, 98, 2295.
34. Puroshothaman, K. K.; Chandrasekharan, S.; Maltz, A.; Rycroft, D. S. Jatropholones A and B, New Diterpenoids from the Roots of *Jatropha gossypifolia* (Euphorbiaceae). Crystal Structure Analysis of Jatropholone B. *Tetrahedron Lett.* 1979, 20, 979-980.
35. Tinto, W. F.; John, L. M. D. Triterpenoids of *Jatropha gossypifolia*. *J. Nat. Prod.* 1992, 55, 807-809.
36. Chatterje, A.; Das, B.; Chakrabarti, R.; Bose, P.; Banerji, J.; Banerji, A. Prasantaline: A New Lignan from *Jatropha gossypifolia* Linn. *Indian J. Chem. Sect. B.* 1988, 27, 740.
37. Ghosal, S.; Kumarswamy, C.; Chauchan, R. P. S.; Srivastava, R. S. Lactonic Lignans of *Polygala chinensis*. *Phytochemistry* 1973, 12, 2550.
38. Das, B.; Das, R. Gossypifan, a Lignan from *Jatropha gossypifolia*. *Phytochemistry* 1995, 40, 931.

39. Kosasi, S.; Van der Sluis, W. G.; Labadie, R. P. Multifidol and Multifidol Glucoside from the Latex of *Jatropha multifida*. *Phytochemistry* 1989, 28, 2439.
40. Domínguez, X. A.; Cano, G.; Villareal, A. M.; Franco, R.; Watson, W. H.; Zabel, V. Rioloatrione, a New Class of Diterpene from *Jatropha dioca* Variety Sessiliflora. *Phytochemistry* 1980, 19, 2478.
41. Villareal, A. M.; Domínguez, X. A. Citlaltione, a New Diterpene from *Jatropha dioca* Variety Sessiliflora. *J. Nat. Prod.* 1988, 51, 749.
42. Brum, R. L.; Honda, N. K.; Mazarin, S. M.; Hess, S. C.; Cavalheiro, A. J. Monache, F. D. Jatrowedione, a Lathyrane Diterpene from *Jatropha weddiana*. *Phytochemistry* 1998, 48, 1225-1227.
43. Domínguez, X. A.; Sánchez, V. H.; García, S. G.; Espinosa, G. B. Isolation and Identification of Xochitoldione and Isoxochitoldione from *Jatropha multiloba*. *J. Nat. Prod.* 1992, 55, 221.
44. Robinson, D. R.; West, C. A. Biosynthesis of Cyclic Diterpenes in Extracts from Seedlings of *Ricinus communis* L. I. Identification of Diterpene Hydrocarbons Formed from Mevalonate. *Biochemistry*. 1970, 9, 70.
45. Adolf, W.; Hecker, E. Diterpenoids Irritants and Co-carcinogens in Euphorbiaceae and Thymelaceae, Structural Relationships in View of Their Biogenesis. *Isr. J. Chem.* 1977, 16, 75.
46. Gübitz, G. M.; Mittelbach, M.; Trabi, M. Exploitation of the Tropical Oil Seed Plant *Jatropha curcas* L. *Bioresource Technology* 1999, 67, 73-82.
47. Staubmann, R.; Ncube, I.; Gübitz, G. M.; Steiner, W.; Read, J. S. Esterase and Lipase Activity in *Jatropha curcas* L. Seeds. *J. Biotech.* 1999, 75, 117-126.
48. Winkler, E.; Foidl, N.; Gübitz, G. M.; Staubmann, R.; Steiner, W. Enzyme Supported Oil Extraction from *Jatropha curcas* Seeds. *Appl. Biochem. Biotech.* 1997, 63, 449-456.
49. Al-Zanbagi, N. A.; Abdul-Elah, A. B.; Barret, J. Molluscicidal Activity of some Arabian Euphorbiae Against the Snail *Biomphalaria pfeifferi*. *J. Ethnopharmac.* 2000, 70, 119-125.
50. Rivera-Lorca, J. A.; Ku-Vera, J. C. Chemical Composition of Three Different Varieties of *Jatropha curcas* from México. In: Biofuels and Industrial Products from *J. curcas*. Gübitz, G. M.; Mittelbach, M.; Trabi, M. (Eds.). DBV Graz. 1997, p. 47-52.

51. Adam, E. I.; Magzoub, M. Toxic Effects of *Jatropha curcas* in mice. *Toxicology* 1974, 2, 67-76.
52. Panigrahi, S.; Francis, B. J.; Cano, L. M.; Burnage, M. B. Toxicity of *Jatropha curcas* Seeds from Mexico to Rats and Mice. *Nut. Rep. Int.* 1984, 29, 1089-1098.
53. Mampane, K. J.; Joubert, P. H.; Hay, I. T. *Jatropha curcas*: Use as a Traditional Tswana Medicine and its Role as a Cause of Acute Poisoning. *Phytother. Res.* 1987, 1, 50-51.
54. Vanderberg, J. J.; Horsten, A. J.; Kettenesvandenbosch, J. J.; Kroes, B. H.; Beukelmann, C. J.; Leeftang, B. R.; Labadie, R. P. Curcacycline A, a Novel Cyclic Octapeptide Isolated from the Latex of *J. curcas*. *FEBS Lett.* 1995, 358, 215-218.
55. Contreras, A. A.; Zolla, C. Plantas Tóxicas de México. Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F. 1982, pp. 124-125.
56. Kikkawa, U.; Nishizuka, Y. The Role of Protein Kinase in Transmembrane Signaling. *Ann. Rev. Cell. Biol.* 1986, 2, 149-178.
57. Heinrich, M. Ethnobotany of Mexican Compositae: an Analysis of Historical and Modern Sources. Hind, D. J. N. (Ed.). Royal Botanic Gardens, Kew. Vol. 2, 1996, 475-503 pp.
58. Heinrich, M.; Robles, M.; West, E. J.; Ortíz de Montellano, R. B.; Rodríguez, E. Ethnopharmacology of Mexican Asteraceae (Compositae). *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1998, 38, 539-565.
59. Herout, V. Chemotaxonomy of the Family Compositae (Asyteraceae). In: Pharmacognosy and Phytochemistry. Heywood, H.; Harborne, J. B.; Turner, B. L. (eds.). Berlin, 1971, pp. 93-110.
60. Bork, P. M.; Schmitz, M. L.; Weimann, C.; Kist, M.; Heinrich, M. Nahua Indian Medicinal Plants (México): Inhibitory Activity of NF $\kappa$ B as Anti-inflammatory Model and Antibacterial Effects. *Phytomedicine* 1996, 3, 263-269.
61. Baruah, N. C.; Sharma, R. P.; Madhusudanan, K. P.; Thyagarajan, G.; Herz, W.; Murari, R. Sesquiterpene Lactones of *Tithonia diversifolia*. Stereochemistry of the Tagitinins and Related Compounds. *J. Org. Chem.* 1979, 44, 1831.
62. Yueh-Hsiung, K.; Chia-Hsien, C. Sesquiterpenes from the Leaves of *Tithonia diversifolia*. *J. Nat. Prod.* 1998, 61, 827-828.
63. Bohlmann, F.; Ziesche, J.; Robinson, H.; King, R. M. Seven Germacranolides and Four Eudesmanolides from *Tithonia rotundifolia*. *Phytochemistry* 1981, 20, 267-270.

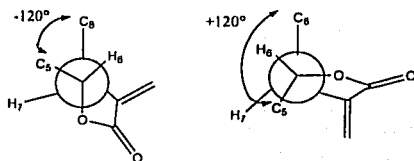
64. Bohlmann, F.; Ziesche, J.; Robinson, H.; King, R. M. New Germacranolides and Other Constituents from *Trichogoniopsis morii*. *Phytochemistry* 1982, 21, 2035-2040.
65. Herz, W.; Blount, J. F. Structure of Tirofuntin. *J. Org. Chem.* 1978, 43, 1268-1269.
66. Alonso-López, M.; Borges del Castillo, J.; Rodríguez-Ubis, J. C.; Vázquez-Bueno, P. Three New Heliangolides from *Tithonia rotundifolia*. *J. Chem. Soc. Perkin I* 1986, 2017-2019.
67. Herz, W.; Sharma, R. P. A *trans*-1,2-*cis*-4,5-germacradienolide and Other New Germacranolides from *Tithonia* Species. *J. Org. Chem.* 1975, 40, 3118-3123.
68. Madureira, M. C.; Martins, A. P.; Gomes, M.; Paiva, J.; da Cunha, A. P.; Rosário, do V. Antimalarial Activity of Medicinal Plants Used in Traditional Medicine in S. Tomé and Príncipe Islands. *J. Ethnopharmacol* 2002, 81, 23-29.
69. Marles, R.; Pazos-Sanov, L.; Compadre, C. *Recent Advances in Phytochemistry*. Plenum Press., New York-London. 1995, 29, 333-351.
70. Zafra-Polo, M. C.; Blazquez, M. A. Antiinflammatory Activity of Sesquiterpene Lactones from *Artemisia barrelieri* in Rats. *Phytother. Res.* 1991, 5, 91.
71. Lee, K. H.; Mar, E. C.; Stames, C. O. Sesquiterpene Antitumour Agents Inhibitors of Cellular Metabolism. *Science* 1977, 196, 533-536.
72. Grippo, A. A.; Hall, I. H.; Kijokawa, H.; Muraoka, O.; Shen, Y.; Lee, K. H. The Cytotoxicity of Helenalin, its Mono and Bifunctional Esters and Related Sesquiterpene Lactones in Murine and Human Tumor Cells. *Drug. Des. Discovery* 1992, 8, 191.
73. Baruah, N. C.; Sharma, J. C.; Sharma, R. P. Germination and Grow Inhibitory Sesquiterpene Lactones and a Flavone from *Tithonia diversifolia*. *Phytochemistry* 1994, 36, 29-36.
74. Barsby, R. W. J.; Salan, U.; Knight, D. W.; Hoult, J. R. S. Feverfew and Vascular Smooth Muscle: Extracts from Fresh and Dried Plants Show Opposing Pharmacological Profiles Dependent upon Sesquiterpene Lactones Content. *Planta Med.* 1993, 59, 20-25.
75. Goren, N.; Bozek-Johansson, C.; Jakupovic, J.; Lin, L. J.; Shieh, H. L.; Cordell, G. A.; Celik, N. Sesquiterpene Lactones with Antibacterial Activity from *Tanacetum partenium*. *Phytochemistry* 1992, 31, 101-104.
76. Lee, I. S.; Hufford, Ch. D. Metabolism of Antimalarial Sesquiterpene Lactones. *Pharmacol. Ther.* 1990, 48, 345.

77. Ruzicka, L. The Isoprene Rule and the Biogenesis of Terpenic Compounds. *Experientia* 1953, 9, 357-367.
78. Hendrickson, J. B. Stereochemical implications in the Sesquiterpene Biogenesis. *Tetrahedron*. 1959, 7, 82-89.
79. Geissman, T. A. The Biogenesis of Sesquiterpene Lactones in Compositae. *Rec. Adv. Phytochem.* 1973, 6, 65.
80. Fischer, N. H.; Oliver, E. J.; Fischer, H. D. The Biogenesis and Chemistry of Sesquiterpene Lactones. In: Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. Herz, W.; Grisebach, H.; Kirby, G. W. (Eds.). Wien/New York: Springer-Verlag. Vol 38, 1979, 47-390 p.
81. Romo, J.; Mundo, H.; Cariño, M. A. Aislamiento y Estructura de la Panamina, un Componente de la *Sweetia panamensis* Benth. *Rev. Latinoam. Quím.* 1972, 3, 46-49.
82. Paulino F, H. F.; Muradian, J.; Mors, W. B. Estudio Fitoquímico de la *Acosmium subelegans* (Mohlenb). Yakovlev. Aislamiento y Síntesis del 4-Metoxi-6-(*p*-hidroxiestiril)- $\alpha$ -pirona. *Rev Latinoam. Quím.* 1977, 8, 79-81.
83. Lebreton, P.; Markham, K. R.; Swift, W. T.; Oung-Boran; Mabry, T. J. Flavonoids of *Baptisia australis* (Leguminosae). *Phytochemistry* 1967, 6, 1675-1680.
84. Guerrero, B. El Perfil Estructural de Metabolitos Secundarios en las Semillas de Ciertas Plantas Arvenses y sus Implicaciones en la Supervivencia. 2000. Tesis de Maestría. Facultad de Química, UNAM.
85. Bruyn, A.; Alvarez, P. A. The Identification by  $^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -NMR Spectroscopy of Sucrose, Ketose and Neokestose in Mixtures Present in Plant Extracts. *Carbohydr. Res.* 1992, 235, 303-308.
86. Castro, T. N. N. Aislamiento y Determinación de la Estructura Molecular de los Constituyentes Químicos Mayoritarios Presentes en *Lopezia racemosa* (Onagraceae). 1995. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM.
87. Moss, G. P. Carbon-13 NMR Spectra of Carotenoids. *Pure & Appl. Chem.* 1976, 47, 97-102.
88. Aldrich Library of  $^{13}\text{C}$  y  $^1\text{H}$  FT NMR Spectra. 1993, 1, 71 C ( $\beta$ -*trans*-caroteno)
89. Wernly, J.; Lauterwein, J. Assignment of the Quaternary Olefinic Carbon Atoms of  $\beta$ -*trans*-caroteno by 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Chemical Shift Correlation via Long-range Couplings. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1985, 1221-1222.
90. Aldrich Library of  $^{13}\text{C}$  y  $^1\text{H}$  FT NMR Spectra. 1993, 3, 569 A ( $\beta$ -sitosterol).

91. Aldrich Library of  $^{13}\text{C}$  y  $^1\text{H}$  FT NMR Spectra. 1993, 3, 568 C (estigmasterol)
92. Aldrich Library of  $^{13}\text{C}$  y  $^1\text{H}$  FT NMR Spectra. 1993, 1, 755 C (ác. tetradecanoico)
93. McLaughlin, J. L. Crow Hall Tumors in Potato Disc and Brine Shrimp Lethality: Two Bioassay for Higher Plants Screening and Fractionation. In: Methods in Plant Biochemistry. Hostettman, K. (ed.), Academic Press. 1994, 61.
94. Young, L. M. Kheifets, J. B.; Ballaron, S. J.; Young, J. M. *Agents and Actions* 1989, 26, 335-341.
95. Bu'Lock, J. D.; Smith, H. G. Pyrones. Part I. Methyl Esters of Tautomeric Hydroxypyrones and Structure of Yangonin. *J. Chem. Soc.* 1960. 502-505.
96. Chmielewska, I.; Cieslak, J.; Gorczynska, K.; Kontnik, B.; Pitakowska, K. Structure de la Yangonine Étude Spectrographique dans L'Ultraviolet et L'Infrarouge. *Tetrahedron* 1958, 4, 36-42.
97. Beak, P.; Abelson, H. The Determination of the Styryl Geometry of the 6-Styryl-4-metoxi-2-pyrones by Proton Magnetic Resonance Spectroscopy. *J. Org. Chem.* 1962, 27, 3715.
98. Herath, H. M. T. B.; Dassanayake, R. S.; Priyadarshani, A. M. A.; Silva, S.; Wannigama, G. P.; Jamie, J. Isoflavonoids and a Pterocarpan from *Gliricidia sepium*. *Phytochemistry* 1998, 47, 117-119.
99. Livingston, A. L.; Bickoff, E. M. Identification of 3',4',7-Trihidroxyflavone in Ladino Clover. *Chem. Pharm. Sci.* 1964, 53, 1557.
100. Mabry, T. J.; Markham, K. R.; Thomas, M. B. The Systematic Identification of Flavonoids. Springer-Verlag, 1970, pp. 105.
101. Fukuyama, Y.; Sato, T.; Miura, Y.; Asakawa, Y.; Takemoto, T. Hydropiperoside, a Novel Coumaryl Glycoside from the Root of *Polygonum hydropiper*. *Phytochemistry* 1983, 22, 549-552.
102. Pelter, A.; Stainton, P.; Barber, M. The Mass Spectra of Oxygen Heterocycles. II. The Mass Spectra of Some Flavonoids. *J. Heterocyclic Chem.* 1965, 2, 262-271.
103. Romo de Vivar, A.; Guerrero, C.; Díaz, E.; Ortega, A. Structure and Stereochemistry of Zexbrevine, A 3(2H) Furanone Germacranolide. *Tetrahedron* 1970, 26, 1657-1664.
104. Herz, W.; Bhat, S. V. Woodhousin, A New Germacranolide from *Bahia woodhousei* (Gray) Gray. *J. Org. Chem.* 1972, 37, 906-912.
105. Samek, Z.; Harmatha, J. Use of Structural Changes for Stereochemical assignments of Natural  $\alpha$ -Exomethylene  $\gamma$ -Lactones of the Germacra-1(10),4-

dienolide Type on the Basis of Allylic and Vicinal Couplings of Bridgehead Protons. Hydrogenation of Endocyclic Double Bonds. *Coll. Czech. Chem. Commun.* 1978, 43, 2779-2799.

106. La regla empírica de Samek sugiere que cuando la constante de acoplamiento de los protones  $\alpha$ -metilénicos con el protón H-7 es mayor de 3 Hz, la fusión del anillo lactónico con el ciclodecano existe en forma *trans*. Esta regla empírica puede ser explicada mediante el análisis de los ángulos diedros entre C-8 y C-5, donde a un ángulo menor de  $120^\circ$ , H-7 y H-6 adoptan una orientación anti-periplanar con una constante de acoplamiento aproximada de 10 Hz y una  $J_{7,13}$  mayor de 3 Hz (véase figura 9).



Dependencia del acoplamiento alílico y los ángulos diedro.

107. Sharma, J. C.; Sharma, R. P.; Jong, R. Stam, C. H. Absolute Stereochemistry of Tagitinin A. *Phytochemistry* 1987, 26, 2406-2407.
108. Horeau, A. Principe et Applications D'Une Nouvelle Methode de Determination des Configurations Dite "Par Dedoublement Partiel". *Tetrahedron Lett.* 1961, 506-512.
109. Herz, W.; Kagan, H. B. Determination of the Absolute Configuration of Hydroxylated Sesquiterpene Lactones by Horeau's Method of Asymmetric Esterification. *J. Org. Chem.* 1967, 32, 216-218.
110. Jian-Qiao, G.; Gills, J. J.; Park, E. J.; Mata-Greenwood, E.; Hawthorne, M. E.; Axelrod, F.; Chavez, P. I.; Fong, H. H. S.; Mehta, R. G.; Pezzuto, J. M.; Kinghorn, A. D. Sesquiterpenoids from *Tithonia diversifolia* with Potential Cancer Chemopreventive Activity. *J. Nat. Prod.* 2002, 65, 532-536.
111. Herz, W.; Wahlberg, I. Punctatin, a New Germacradienolide from *Liatris punctata*. *Phytochemistry* 1973, 12, 1421-1426.
112. Chowdhury, P. K.; Sharma, R. P.; Barua, J. N. Absolute Stereochemistry of Tagitinin F. *Ind. J. Chem.* 1983, 22 B, 402.
113. a) Barton, S. D.; Nakamski, K.; Meth-Cohn, O. Isoflavonoids: Biochemistry, Molecular Biology and Biological Functions. Polyketides and Other Secondary



- Metabolites, Including Fatty Acids and Their Derivatives. In: Comprehensive Natural Products Chemistry. Elsevier Science Ltd., Oxford. Vol. I, 1999, pp 773-824. b) Barton, S. D.; Nakamski, K.; Meth-Cohn, O. Isoprenoids Including Carotenoids and Steroids. In: Comprehensive Natural Products Chemistry. Elsevier Science Ltd., Oxford. Vol. II, 1999, pp 321-352.
114. Dihn, L. G.; Simmen, U.; Beuter, K. B.; Beuter, B.; Lundstrom, K.; Schaffner, W. Interaction of Various *Pipper methysticum* Cultivars with CNS Receptors *in vitro*. *Planta Med.* 2001, 67, 306-311.
115. Yuan, C.-S.; Dey, L.; Wang, A.; Mehendale, S.; Xie, J.-T.; Aung, H. H.; Ang-Lee, M. K. Kavalactones and Dihydrokavain Modulate GABAergic Activity in Rat Gastric-Brainstem Preparation. *Planta Med.* 2002, 68, 1092-1096.
116. Romo, J.; Mundo, H.; Cariño, M. A. Aislamiento y Estructura de la Panamina, un Componente de la *Sweetia panamense* Benth. *Rev. Latinoamer. Quim.* 1972, 3, 46-49.
117. Hass, W.; Sterk, H.; Mittelbach, M. Novel 12-Deoxy-16-hydroxyphorbol Diesters Isolated from the Seed Oil of *Jatropha curcas*. *J. Nat. Prod.* 2002, in press.
118. Delgado, G.; Olivares, M. Del S.; Chávez, M. I.; Ramírez-Apan, T.; Linares, E.; Bye, R. Espinosa-García, F. J. Antiinflammatory Constituents from *Heterotheca inuloides*. *J. Nat. Prod.* 2001, 64, 861-864.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN