



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

**RESINAS GLICOSÍDICAS DE LAS FLORES DE
*IPOMOEA MURUCOIDES***

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. LILIA YANETH CHÉRIGO RODRÍGUEZ



TUTOR: DR. ROGELIO PEREDA MIRANDA

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



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

El logro de este trabajo de investigación sólo se ha alcanzado gracias al apoyo de las siguientes instituciones y personas a las que deseo expresar mi más sincero reconocimiento:

- ❖ A la Dirección General de Estudios de Posgrado (DGEP) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de doctorado.
- ❖ Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (45861-Q) por el financiamiento de esta investigación.
- ❖ A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico por el financiamiento parcial para la realización de los ensayos de citotoxicidad (IN 208307).
- ❖ A la Q.F.B. Marisela Gutiérrez (Unidad de Servicios y Apoyo a la Investigación, Facultad de Química, UNAM) por el registro de las rotaciones ópticas.
- ❖ A la M. en C. Georgina Duarte (USAI, Facultad de Química) por el registro de los espectros de masas.
- ❖ Al M. en C. Atilano Gutiérrez (Universidad Autónoma Metropolitana) por la determinación de los espectros de RMN.
- ❖ A los miembros del jurado por sus comentarios y observaciones que permitieron la corrección de este manuscrito de tesis.
- ❖ A los Drs. Manuel Jiménez Estrada y María Luisa Villarreal Ortega, miembros de mi comité tutelar por su continuo apoyo durante la realización de esta investigación.
- ❖ A la Dra. Mabel Fragoso Serrano por su apoyo y cooperación en la realización de esta investigación y, en especial, en el ensayo de citotoxicidad.
- ❖ Al Dr. Rogelio Pereda Miranda por todo el tiempo dedicado a mi formación académica, por su constante interés y apoyo brindado durante la realización de esta investigación.

ÍNDICE

	Página
Lista de cuadros	V
Lista de Figuras	VII
Lista de Abreviaturas	XV
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1 Características del género <i>Ipomoea</i> .	4
2.2 Resinas glicosídicas en la familia de las convolvuláceas	6
2.3 Núcleos tetrasacáridos en la familia de las convolvuláceas	8
2.3.1 Ácidos escamónico A y B	8
2.3.2 Merremósido i	9
2.3.3 Ácido muricático A	10
2.3.4 Ácidos operculínicos C (mamósido I), E y F	11
2.3.5 Ácido orizábico A	12
2.3.6 Ácidos tricolóricos A y B	13
2.4 Núcleos pentasacáridos en la familia de las convolvuláceas	14
2.4.1 Ácido farbítico C	14
2.4.2 Merremósido j	15
2.4.3 Ácido microfílico	15
2.4.4 Ácidos multifidínicos A y B	16
2.4.5 Ácidos operculínicos A y B	17
2.4.6 Ácidos simónicos A y B	18
2.4.7 Ácido woodrosínico A	19
2.5 Glicolípidos con los mismos núcleos oligosacáridos de las murucoidinas	20
2.5.1 Estoloniferinas	20
2.5.2 Leptofilinas	23
2.5.3 Mamósidos	24

ÍNDICE (continuación)

	Pág.
2.5.4 Marubajalapinas	25
2.5.5 Merremina	27
2.5.6 Operculinas	28
2.5.7 Pescapreinas	29
2.5.8 Quamoquinas	30
2.5.9 Simoninas	31
2.5.10 Tuguajalapinas	33
2.6 Estudios químicos de la especie <i>Ipomoea arborescens</i>	34
2.7 Aspectos botánicos y etnobotánicos de <i>Ipomoea murucoides</i>	36
2.7.1 Clasificación Taxonómica	36
2.7.2 Descripción botánica y distribución geográfica	36
2.7.3 Antecedentes etnobotánicos	40
3. JUSTIFICACIÓN	41
4. OBJETIVOS	41
4.1 Objetivo general	41
4.2 Objetivos específicos	41
5. PARTE EXPERIMENTAL	42
5.1 Determinación de las constantes físicas	42
5.2 Métodos cromatográficos	42
5.3 Material vegetal	43
5.4 Obtención de los extractos clorofómico y metanólico de las flores	44
5.5 Separación y purificación de los glicolípidos de la jalapina	44
5.5.1 Fraccionamiento de la fracción primaria XVIII	44
5.5.2 Fraccionamiento de la fracción primaria XIX	45
5.5.3 Fraccionamiento de la fracción primaria XX	45

ÍNDICE (continuación)

	Pág.
5.5.4 Fraccionamiento de la fracción primaria XXII	45
5.5.5 Fraccionamiento de la fracción primaria XXIV	45
5.6 Caracterización estructural	46
5.7 Preparación de derivados de la muruoidina X	46
5.7.1 Hidrólisis alcalina de la muruoidina X	46
5.7.2 Reacción de esterificación	46
5.7.2.1 Generación del diazometano	46
5.7.2.2 Esterificación	47
5.7.3 Reacción de sililación	47
5.8 Evaluación de la citotoxicidad de los glicolípidos	47
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
6.1 Estudio químico del extracto clorofórmico	49
6.2 Análisis mediante CLAE de las fracciones primarias XVIII-XXV	49
6.2.1 Fraccionamiento secundario de la fracción primaria XVIII	50
6.2.2 Fraccionamiento secundario de la fracción primaria XIX	62
6.2.3 Fraccionamiento secundario de la fracción primaria XX	70
6.2.4 Fraccionamiento secundario de la fracción primaria XXI	75
6.2.5 Fraccionamiento secundario de la fracción primaria XXII	75
6.2.6 Fraccionamiento secundario de la fracción primaria XXIII y XXIV	77
6.2.7 Fraccionamiento secundario de la fracción primaria XXV	82
6.3 Caracterización de los glicolípidos de la jalapina	83
6.3.1 Elucidación estructural de las muruoidinas VI (1), VII (2) y VIII (3)	83
6.3.2 Elucidación estructural de las muruoidinas XII (4) y XIII (5)	96
6.3.3 Elucidación estructural de las muruoidinas IV (6), V (7), XI (8), XVII (9) e intrapilosina I (10)	106
6.3.4 Elucidación estructural de las muruoidinas XIV (11), XV (12) y XVI (13)	116

ÍNDICE (continuación)

	Pág.
6.3.5 Elucidación estructural de las murucoidinas I–III (14-16), IX-X (17-18) y XVIII (19), estoloniferina I (20) y pescapreina III (21)	124
6.4 Diferenciación de los glicolípidos mediante espectrometría de masas	135
6.4.1 Espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo de las murucoidinas VI (1), VII (2) y VIII (3)	135
6.4.2 Espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo de las murucoidinas XII (4) y XIII (5)	139
6.4.3 Espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo de las murucoidinas IV (6), V (7), XI (8), XVII (9) e intrapilosina I (10)	140
6.4.4 Espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo de las murucoidinas XIV (11), XV (12) y XVI (13)	144
6.4.5 Espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo de las murucoidinas I–III (14-16), IX-X (17-18) y XVIII (19), estoloniferina I (20) y pescapreina III (21)	146
6.5 Análisis del residuo 8-hidroxidodecanoico	152
6.6 Estudio químico del extracto metanólico de las flores	153
6.6.1 Obtención de flavonoides	154
6.7 Evaluación de la citotoxicidad de los glicolípidos	158
7. CONCLUSIONES	160
8. BIBLIOGRAFÍA	165
9. APÉNDICE (Publicaciones y Presentaciones en Congresos)	174

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Contenido	Pág.
1	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina XVII (9)	53
2	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina XVIII (19)	54
3	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina XII (4)	55
4	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina XIII (5)	56
5	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina XIV (11)	57
6	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina XV (12)	58
7	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina XVI (13)	59
8	Constantes físicas y espectrométricas de la intrapilosina I (10)	61
9	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina V (7)	64
10	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina IX (17)	65
11	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina X (18)	66
12	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina XI (8)	67
13	Constantes físicas y espectrométricas de la pescapreina III (21)	68
14	Constantes físicas y espectrométricas de la estoloniferina I (20)	69
15	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina III (16)	72
16	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina IV (6)	73
17	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina VI (1)	74
18	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina II (15)	76
19	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina I (14)	79
20	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina VII (2)	80
21	Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina VIII (3)	81
22	Desplazamientos químicos para los metinos de la ramnosa externa (Ram") del compuesto 2	88
23	Desplazamientos químicos en la RMN ¹ H de las muruoidinas VI-VIII (1-3)	94

LISTA DE CUADROS (continuación)

Cuadro	Contenido	Pág.
24	Desplazamientos químicos en la RMN ^{13}C de las murucoidinas VI-VIII (1-3)	95
25	Desplazamientos químicos en la RMN ^1H de las murucoidinas XII-XIII (4-5)	102
26	Desplazamientos químicos en la RMN ^{13}C de las murucoidinas XII-XIII (4-5)	103
27	Desplazamientos químicos en la RMN ^1H de las murucoidinas IV-V (6-7), XI (8) y XVII (9)	112
28	Desplazamientos químicos en la RMN ^{13}C de las murucoidinas IV-V (6-7), XI (8) y XVII (9)	113
29	Desplazamientos químicos en la RMN ^1H de las murucoidinas XIV-XVI (11-13)	122
30	Desplazamientos químicos en la RMN ^{13}C de las murucoidinas XIV-XVI (11-13)	123
31	Desplazamientos químicos en la RMN ^1H de las murucoidinas I-III (14-16)	128
32	Desplazamientos químicos en la RMN ^1H de las murucoidinas IX-X (17-18) y XVIII (19)	129
33	Desplazamientos químicos en la RMN ^{13}C de las murucoidinas I-III (14-16), IX-X (17-18) y XVIII (19)	130

LISTA DE FIGURAS

Figura	Contenido	Pág.
1	Características estructurales generales de una resina glicosídica	2
2	Morfología general del género <i>Ipomoea</i>	5
3	Estructuras de algunos alcaloides aislados del género <i>Ipomoea</i>	6
4	Polímero propuesto para las resinas de <i>Ipomoea purga</i> (adaptado de Mannich y Schuman)	7
5	Estructuras de los ácidos escamónicos A y B	9
6	Estructura del merremósido i	10
7	Estructura del ácido muricático A	10
8	Estructura del ácido operculínico C (mamósido I)	11
9	Estructuras de los ácidos operculínicos E y F	12
10	Estructura del ácido orizábico A	12
11	Estructuras de los ácidos tricolóricos A y B	13
12	Estructura del ácido farbítico C de <i>Pharbitis nil</i>	14
13	Estructura del merremósido j	15
14	Estructura del ácido microfílico	16
15	Estructuras de los ácidos multifidínicos A y B	17
16	Estructuras de los ácidos operculínicos A y B de <i>Ipomoea operculata</i>	18
17	Estructuras de los ácidos simónicos A y B de <i>Ipomoea batatas</i>	19
18	Estructura del ácido woodrosínico A constituyente de las resinas de <i>Ipomoea tuberosa</i>	20
19	Estructuras de las estoloniferinas IV-VII	21
20	Estructuras de las estoloniferinas I-III y VIII-X, constituyentes de la jalapina de <i>Ipomoea stolonifera</i>	22

LISTA DE FIGURAS (Continuación)

Figura	Contenido	Pág.
21	Estructuras de las leptofilinas A y B, constituyentes de <i>Ipomoea leptophylla</i>	23
22	Estructuras de los mamósidos H ₁ y H ₂ , constituyentes de la jalapina de <i>Merremia mammosa</i>	24
23	Estructuras de los mamósido A y B	25
24	Estructuras de las marubajalapinas I-XI	26
25	Estructura de la merremina primer dímero descrito de tipo éster glicolípido	27
26	Estructuras de las operculinas con el núcleo del ácido operculínico A.	28
27	Estructuras de las pescapreinas I-IV y del pescaprosido A	29
28	Estructura de la quamoclina IV, constituyente de <i>Quamoclit pennata</i>	30
29	Estructura de la simonina I, constituyente de <i>Ipomoea batatas</i>	31
30	Estructuras de las simoninas II-V	32
31	Estructuras de las tuguajalapinas II, III, V-VIII y X	33
32	Estructuras de las tuguajalapinas I, IV y IX	34
33	Glicolípidos de la raíz de <i>Ipomoea arborescens</i>	35
34	<i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult	37
35	Dibujo acuarelado del árbol medicinal <i>Ipomoea murucoides</i>	38
36	Flores y semillas de <i>Ipomoea murucoides</i>	39
37	Flores del cazahuate, <i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult	40
38	Cromatoplasmas en capa fina de los eluatos obtenidos durante el fraccionamiento primario del extracto clorofórmico de las flores de <i>Ipomoea murucoides</i>	49

LISTA DE FIGURAS (Continuación)

Figura	Contenido	Pág.
39	Cromatograma generado mediante CLAE a nivel analítico de la fracción primaria XVIII	51
40	Cromatograma generado mediante la purificación con CLAE en donde se ilustra el empleo de la técnica de corte de núcleo y reciclaje de la muestra	52
41	Cromatograma generado mediante CLAE de la fracción secundaria L (fracción primaria XVIII)	60
42	Cromatograma generado mediante CLAE a nivel analítico de la fracción primaria XIX	62
43	Cromatograma generado mediante CLAE de la fracción secundaria A (fracción primaria XIX)	63
44	Cromatograma generado mediante CLAE a nivel analítico de la fracción primaria XX	70
45	Cromatograma generado mediante CLAE de la fracción secundaria A (fracción primaria XX)	71
46	Cromatograma generado mediante CLAE a nivel analítico de la fracción primaria XXI	75
47	Cromatograma generado mediante CLAE a nivel analítico de la fracción primaria XXII	76
48	Cromatograma generado mediante CLAE a nivel analítico de la fracción primaria XXIII	77
49	Cromatograma generado mediante CLAE a nivel analítico de la fracción primaria XXIV	78
50	Cromatograma generado mediante CLAE a nivel analítico de la fracción primaria XXV	82
51	Ilustración de los dobletes entre 1.35-1.65 ppm característicos de los grupos metilos de 6-desoxihexosas (compuesto 2)	84
52	Sección anomérica del espectro HSQC del compuesto 2	85

LISTA DE FIGURAS (Continuación)

Figura	Contenido	Pág.
53	Sección del espectro de RMN ^1H del compuesto 2 para los protones anoméricos	86
54	Sección del espectro COSY de la porción oligosacárida del compuesto 2	87
55	Sección de la porción oligosacárida del compuesto 2 en el espectro TOCSY	89
56	Sección de la región oligosacárida del compuesto 2 del espectro HMBC	90
57	Secuencia de glicosidación del compuesto 2	91
58	Sección del espectro HMBC del compuesto 2 donde se ilustran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de cada uno de los ésteres con los hidrógenos posición α al carbonilo	91
59	Sección del espectro HMBC del compuesto 2 donde se ilustran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de cada uno de los ésteres con las señales protónicas geminales a los grupos acilantes	92
60	Región anomérica del espectro de RMN ^1H para de los compuestos 1 (A) y 2 (B)	93
61	Sección anomérica del espectro HSQC del compuesto 4	97
62	Sección del espectro COSY correspondiente a la porción oligosacárida del compuesto 4 en donde se ilustran las conectividades para la ramnosa interna (Ram)	98
63	Sección de la región oligosacárida del espectro HMBC para el compuesto 4 en donde se ilustran las conectividades entre los carbonos anoméricos de dos unidades monosacáridas con el protón de la unidad sacárida que participa en el enlace glicosídico	99

LISTA DE FIGURAS (Continuación)

Figura	Contenido	Pág.
64	Sección del espectro HMBC del compuesto 4 donde se ilustran las correlaciones entre los carbonilos de cada uno de los ésteres con los hidrógenos α al carbonilo	100
65	Sección del espectro HMBC del compuesto 4 donde se ilustran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de dos de los ésteres con las señales protónicas geminales a estos grupos	101
66	Espectros de RMN ^1H de los compuestos 1-5	104
67	Espectros de RMN ^{13}C de los compuestos 1-5	105
68	Sección anomérica del espectro HSQC del compuesto 8	107
69	Sección de la porción oligosacárida del espectro COSY del compuesto 8 en donde se ilustran las conectividades para la ramnosa interna (Ram)	108
70	Sección del espectro HMBC para la región oligosacárida del compuesto 8 en donde se ilustran las conectividades entre los protones anoméricos de las tres ramnosas	109
71	Sección del espectro HMBC del compuesto 8 donde se ilustran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de cada uno de los ésteres con los hidrógenos del metileno α al carbonilo	110
72	Sección del espectro HMBC del compuesto 8 donde se ilustran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de cada uno de los ésteres con las señales protónicas geminales a estos grupos	111
73	Espectros de RMN ^1H de los compuestos 6-10	114
74	Espectros de RMN ^1H de los compuestos 6-10	115
75	Sección anomérica del espectro HSQC del compuesto 12	117

LISTA DE FIGURAS (Continuación)

Figura	Contenido	Pág.
76	Sección de la porción oligosacárida del espectro COSY del compuesto 12 en donde se ilustran las conectividades para la ramnosa externa (Ram')	118
77	Sección de la región oligosacárida del compuesto 12 del espectro HMBC en donde se ilustran las conectividades entre los protones anoméricos de tres monosacáridos con el carbono de la unidad que participa en el enlace glicosídico	119
78	Sección del espectro HMBC del compuesto 12 donde se ilustran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de cada uno de los ésteres con los hidrógenos del metileno α al carbonilo	120
79	Sección del espectro HMBC del compuesto 12 donde se ilustran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de cada uno de los ésteres con las señales protónicas geminales a estos grupos	121
80	Sección anomérica del espectro HSQC del compuesto 14	125
81	Sección de la región oligosacárida del compuesto 14 del espectro HMBC en donde se ilustran las conectividades entre los protones anoméricos de cuatro monosacáridos con el carbono de la unidad que participa en el enlace glicosídico	126
82	Sección del espectro HMBC del compuesto 14 donde se ilustran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de cada uno de los ésteres con las señales protónicas geminales a estos grupos	127
83	Espectros de RMN ^1H de los compuestos 11-15	131
84	Espectros de RMN ^1H de los compuestos 16-21	132
85	Espectros de RMN ^{13}C de los compuestos 11-15	133

LISTA DE FIGURAS (Continuación)

Figura	Contenido	Pág.
86	Espectros de RMN ¹³ C de los compuestos 16-21	134
87	Patrón de fragmentación de los glicolípidos 1-5	136
88	Espectro de masas modo FAB negativo para la muruoidina VI (1)	137
89	Espectro de masas modo FAB negativo para la muruoidina VII (2)	138
90	Espectro de masas modo FAB negativo para la muruoidina VIII (3)	139
91	Espectro de masas modo FAB negativo para la muruoidina XII (4)	140
92	Patrón de fragmentación de los glicolípidos 6-21	141
93	Espectro de masas modo FAB negativo para la muruoidina IV (6)	142
94	Espectro de masas modo FAB negativo para la muruoidina XI (8)	143
95	Espectro de masas modo FAB negativo para la muruoidina XVII (9)	143
96	Espectro de masas modo FAB negativo para la muruoidina XIV (11)	145
97	Espectro de masas modo FAB negativo para la muruoidina XV (12)	146
98	Espectro de masas modo FAB negativo para la muruoidina I (14)	147
99	Espectro de masas modo FAB negativo para la muruoidina II (15)	148
100	Espectro de masas modo FAB negativo para la muruoidina III (16)	149

LISTA DE FIGURAS (Continuación)

Figura	Contenido	Pág.
101	Espectro de masas modo FAB negativo para la murucoidina XVIII (19)	150
102	Espectro de masas modo FAB negativo para la murucoidina X (18)	151
103	Espectro de masas modo FAB negativo para la pescapreina III (21)	151
104	Espectro de masas para el derivado sigilado del ácido 8-hidroxidodecanoico	153
105	Cromatoplasas en capa fina de los eluatos obtenidos durante el fraccionamiento primario del extracto metanólico de las flores de <i>Ipomoea murucoides</i>	154
106	Cromatoplasca en capa fina de los eluatos obtenidos durante la separación de la mezcla de flavonoles	155
107	Espectros de ^1H de los flavonoles obtenidos del extracto metanólico de las flores de <i>Ipomoea murucoides</i>	156
108	Espectros de ^{13}C de los flavonoles obtenidos del extracto metanólico de las flores de <i>Ipomoea murucoides</i>	157

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
α	Rotación óptica observada en el polarímetro
δ	Desplazamiento químico
μL	Microlitros
$[\text{M-H}]^-$	Ion pseudomolecular
CG-EM	Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas
CH_3CN	Acetonitrilo
CHCl_3	Cloroformo
CLAE	Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia
COSY	Correlación espectroscópica homonuclear (^1H - ^1H)
FAB ⁻	Bombardeo rápido de átomos modalidad negativa
g	Gramo
HMBC	Correlación heteronuclear a enlaces múltiples (^{13}C - ^1H)
HSQC	Correlación espectroscópica heteronuclear a un solo enlace (^{13}C - ^1H)
Hz	Hertz
Int. Rel.	Intensidad relativa
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
Kg	Kilogramo
L	Litro
MeOH	Metanol
mg	Miligramo
MHz	Megahertz
min	Minutos
mL	Mililitros

LISTA DE ABREVIATURAS (continuación)

Abreviatura	Significado
<i>m/z</i>	Relación masa-carga
p.f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear Protónica
TOCSY	Correlación espectroscópica total (¹ H- ¹ H)

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales mexicanas se han utilizado de manera tradicional y constituyen una de las manifestaciones del acervo cultural del pueblo mexicano. En la mayoría de los casos la población emplea estos recursos de manera empírica. Cabe destacar que en México, el conocimiento y uso de las plantas medicinales proviene de la época prehispánica. La flora medicinal de las culturas mesoamericanas más importantes se conoce parcialmente mediante algunas fuentes autóctonas que se han preservado como: pictografías, códices, libros sagrados, pinturas murales, esculturas y figurillas de cerámica, así como una rica tradición oral de los diferentes grupos étnicos aún existentes. Las fuentes mencionadas representan una rica información etnomédica prehispánica para la preselección efectiva de plantas medicinales como fuentes potenciales para el descubrimiento de nuevos medicamentos.

Uno de los grupos vegetales que se encuentra mejor representado por sus propiedades medicinales, purgativas y alucinógenas (de uso en los rituales religiosos) es la familia de las convolvuláceas donde los géneros más significativos son *Ipomoea*, *Convolvulus*, *Exogonium* y *Operculina*.¹ Una de las características más notables de esta familia es la presencia de células secretoras de resinas glicosídicas en sus tejidos foliares y radiculares.² Desde el punto de vista químico, las resinas glicosídicas de las convolvuláceas son derivados glicosilados de ácidos grasos mono o dihidroxilados de 14 a 16 átomos de carbono, conocidos como glicolípidos o lipopolisacáridos. Los glicolípidos característicos del género *Ipomoea* constituyen una serie de oligosacáridos que tienen la particularidad de

ser moléculas anfipáticas por la presencia simultánea en su estructura molecular de un núcleo sacárido hidrofílico y una porción hidrofóbica constituida por la aglicona, la cual forma generalmente un éster intramolecular (una lactona macrocíclica) con la cadena oligosacárida (Figura 1).¹

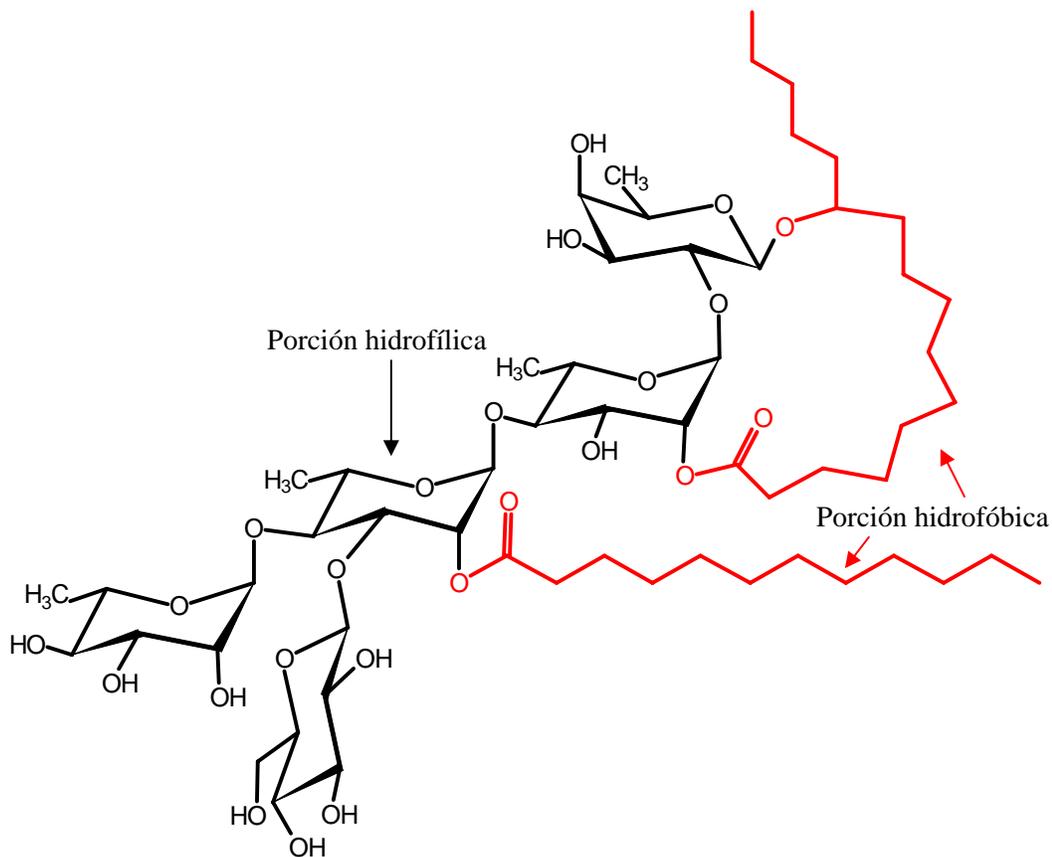


Figura 1. Características estructurales generales de una resina glicosídica.

En las resinas glicosídicas podemos encontrar ésteres de ácidos grasos volátiles, no volátiles y carbohidratos. Los ácidos grasos volátiles identificados con mayor frecuencia son tíglico, isobutírico, metilbutírico, nílico³ y cinámico. Los ácidos grasos de alto peso molecular caracterizados en las especies del género *Ipomoea* incluyen a los ácidos

hexanoico, octanoico, decanoico y dodecanoico. El ácido hexadecanoico hidroxilado en la posición C-11, conocido con el nombre de ácido jalapínico, representa la aglicona que con mayor frecuencia se presenta en las resinas del género *Ipomoea*. Por otra parte, los carbohidratos incluyen a la D-glucosa, la D-fucosa, la D-quinovosa y la L-ramnosa.⁴

Las propiedades biológicas de las resinas glicosídicas son diversas e incluyen principalmente las antimicrobianas (antisépticas),⁵ anticancerígenas⁶ y, en especial, purgantes.⁷

Existen varios criterios de selección para estudiar la composición química de una planta, uno de ellos es la quimiotaxonomía, la cual estudia los constituyentes de las plantas de acuerdo a su clasificación taxonómica fundamentada en evidencias anatómicas. Este criterio se aplicó para seleccionar las flores del cacahuate (*Ipomoea murucoides*) una especie arbórea, para la caracterización de su contenido de resinas glicosídicas. La presente investigación forma parte de un proyecto de investigación multidisciplinario que tiene como objetivo la exploración de la diversidad estructural⁸⁻¹⁰ de las resinas glicosídicas con actividad citotóxica⁸ y antimicrobiana¹¹ para posteriormente establecer sus mecanismos de acción.

2. ANTECEDENTES

2.1 Características del género *Ipomoea*

Ipomoea es uno de los 53 géneros que constituyen a la familia de las convolvuláceas y que se encuentra ampliamente distribuida a nivel mundial, en especial en las regiones tropicales, subtropicales y templadas de ambos hemisferios. El nombre de la familia deriva del latín *convolvere* que significa entrelazarse y se refiere en términos generales a su forma de crecimiento ya que los miembros más representativos son especies rastreras.

La mayoría de las plantas del género *Ipomoea* son enredaderas con tallos enroscados que alcanzan de 1 a 5 metros y flores con una corola acampanulada (Figura 2). Existen unas cuantas especies como *Ipomoea phillomega* e *Ipomoea santillanii* que son lianas tropicales y alcanzan alturas de hasta 15 metros. Otras especies como *Ipomoea imperata* e *Ipomoea pes-caprae* crecen a iguales longitudes pero han perdido su capacidad de enroscarse creciendo de manera tendida para formar extensas cubiertas sobre arenas costeras. Algunas especies de las zonas áridas (*Ipomoea stans*, *Ipomoea duranguensis* e *Ipomoea sescossiana*) son arbustos perennes, leñosos y herbáceos, que crecen hasta 1.0 metro. La especie *Ipomoea carneae* existe como un arbusto leñoso tropical que crece de 2 a 4 metros. Otras especies de *Ipomoea* de la serie arborescentes crecen en forma de árboles de madera suave y alcanzan de 3 a 9 metros de altura. Este género tiene importancia económica por sus usos alimenticios (*Ipomoea batatas*),¹² ornamentales (*Ipomoea carnea*, *Ipomoea alba*, entre otras) y medicinales (*Ipomoea purga* e *Ipomoea stans*). Entre los principales usos medicinales de este género destacan sus propiedades purgativas,^{13,14} siendo el principal exponente la raíz de jalapa, *Ipomoea purga*. En el centro de México, la raíz de *Ipomoea stans*¹⁵ se usa como catártico y junto con la jalapa ligera o falsa jalapa (*Ipomoea orizabensis*), constituye un adulterante de la verdadera raíz de jalapa.



Figura 2. Morfología general del género *Ipomoea*.

Dos grupos de metabolitos secundarios, los alcaloides de tipo ergolina y los glicolípidos, constituyen las características quimiotaxonómicas principales de las especies del género *Ipomoea*. En algunos casos, la actividad biológica descrita para este género se debe a la presencia de los alcaloides derivados del ácido lisérgico¹⁶⁻²³ (Figura 3), e.g., la actividad analgésica de las cataplasmas preparadas con las flores de *Ipomoea intrapilosa*,²⁴ las alucinaciones de uso ritual provocadas por las semillas del “ololiuqui” (*Ipomoea violacea*)²⁵ entre los pueblos mesoamericanos y las intoxicaciones provocadas en algunos animales debido a la ingesta de plantas forrajeras contaminadas con estas malezas (*Ipomoea lonchophylla*).²⁶ Sin embargo, los glicolípidos, segundo grupo quimiotaxonómico de este género, también ha demostrado poseer actividades biológicas en ensayos *in vitro* de posible aplicación terapéutica, e.g., actividad citotóxica^{6,27} y antibacteriana.^{5,28} En todos los casos la ausencia de la estructura macrocíclica provocó la pérdida total de las actividades biológicas.

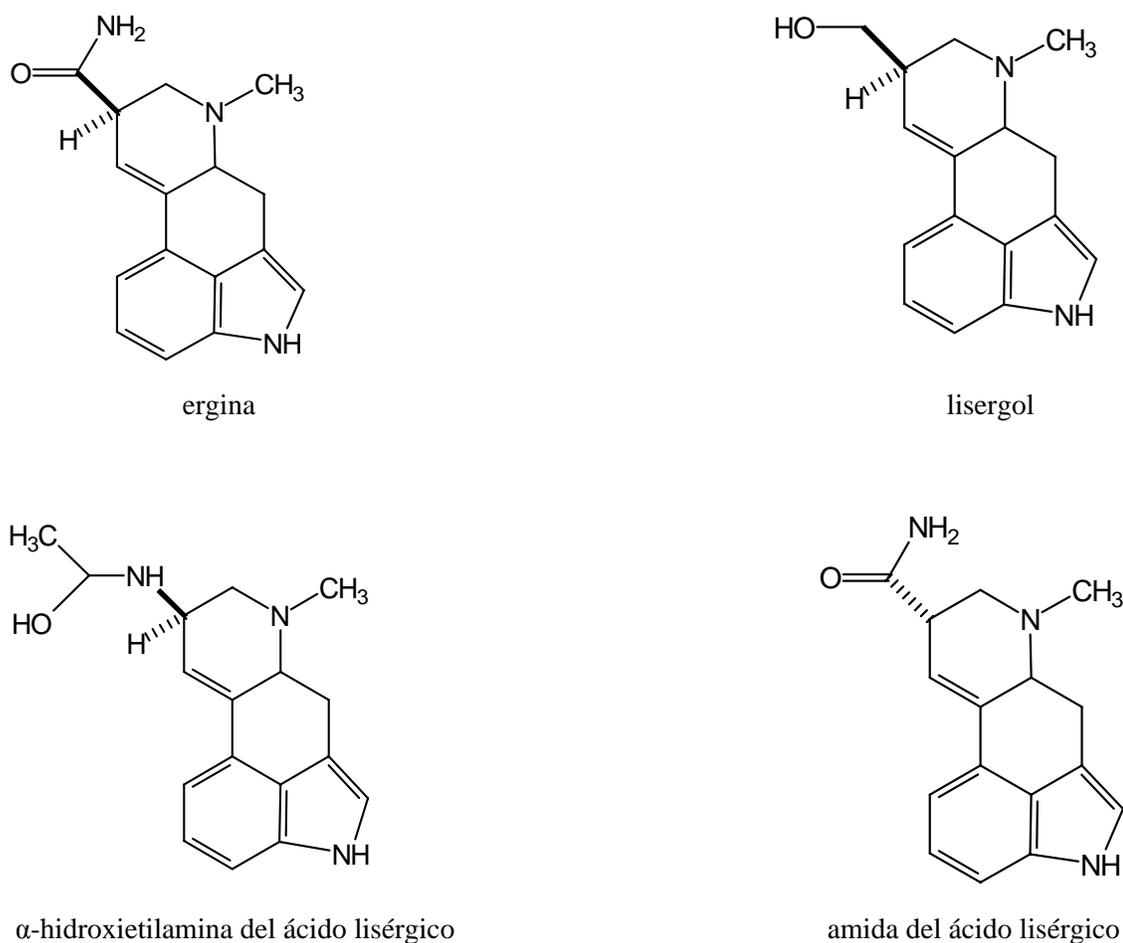


Figura 3. Estructuras de algunos alcaloides aislados del género *Ipomoea*.

2.2 Resinas glicosídicas en la familia de las convolvuláceas

La naturaleza química (moléculas anfipáticas) y la complejidad de las resinas glicosídicas constituyeron verdaderos obstáculos durante mucho tiempo para el aislamiento de los constituyentes individuales y su caracterización estructural. Ninguno de los métodos convencionales de separación ha podido resolver las mezclas de glicolípidos que conforman las resinas glicosídicas de las convolvuláceas. Durante muchas décadas no se conoció la estructura de estos glicolípidos, sólo se realizaron especulaciones con base en los resultados obtenidos a partir de reacciones químicas de degradación. Por lo que se propuso que eran polímeros de oligosacáridos (constituidos de tres a ocho unidades

monosacáridas) de alto peso molecular, unidos a una gran diversidad de ácidos volátiles y no volátiles (Figura 4).²⁹

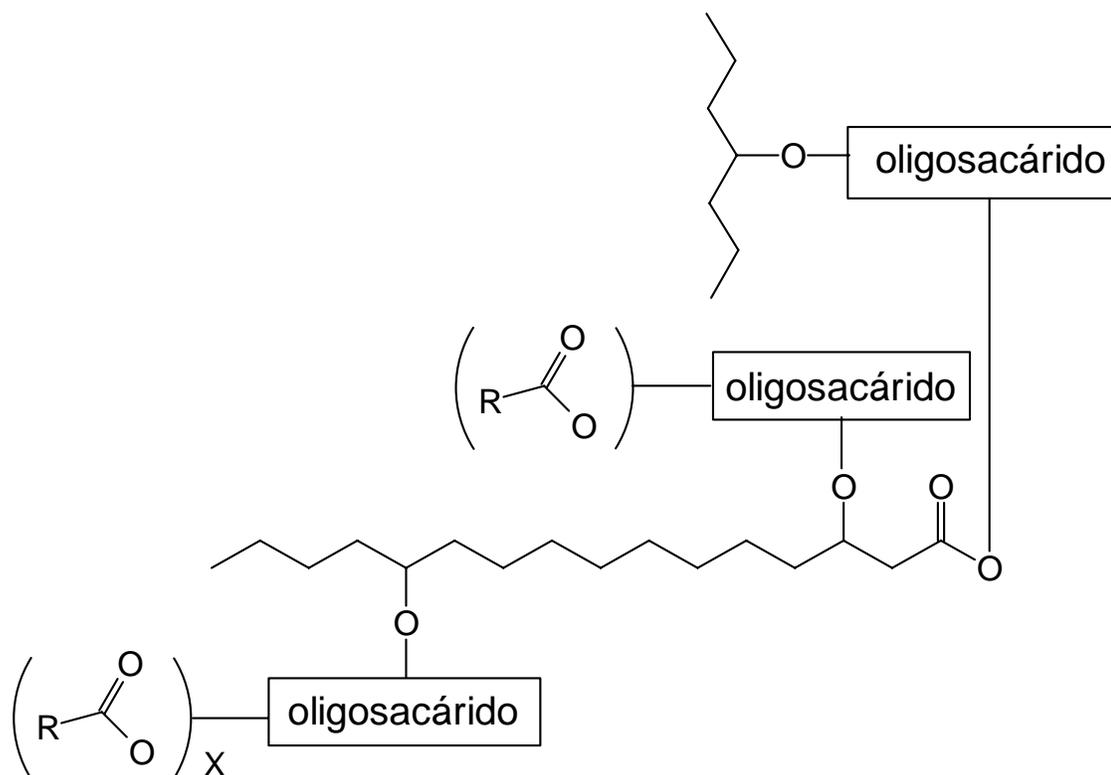


Figura 4. Polímero propuesto para las resinas de *Ipomoea purga* (adaptado de Mannich y Schuman).²⁹

La separación y purificación de los glicolípidos individuales han dependido en gran medida del desarrollo de los métodos analíticos de separación, en especial, de la cromatografía líquida de alta eficiencia. La característica estructural común que poseen los constituyentes individuales de las resinas glicosídicas encontradas en el género *Ipomoea* y en la familia de las convolvuláceas es el núcleo oligosacárido (acilado en la mayoría de los casos) combinado con el grupo carboxilo de la aglicona para formar un éster macrocíclico. La diversidad estructural de estos compuestos depende de las diferencias observadas en el tipo y número de unidades monosacáridas que constituyen el núcleo oligosacárido, en la

secuencia de glicosilación y en la posición de lactonización, así como en el tipo, número y posición de los ácidos que se encuentran acilando el núcleo. Los ácidos (11*S*)-11-hidroxihexadecanoico (ácido jalapínico) y el (11*S*)-11-hidroxitetradecanoico (ácido convolvulinico) representan las agliconas que con mayor frecuencia se encuentran en estos glicolípidos. Sin embargo, se han descrito otras agliconas como el ácido 3, 11-dihidroxitetradecanoico (ácido ipurónico), obtenido de las resinas glicosídicas de la semilla de *Pharbitis nil*, y el ácido (11*S*)-11-hidroxi-4-oxotetradecanoico obtenido del extracto de las hojas de la especie *Ipomoea squamosa*.³⁰

2.3 Núcleos tetrasacáridos en la familia de las convolvuláceas

2.3.1 Ácidos escamónicos A y B

La resina glicosídica de la raíz de *Convolvulus scammonia*³¹ se utiliza en la medicina tradicional europea como un agente purgante. El estudio fitoquímico de la fracción soluble en éter del ingrediente activo de este remedio, la jalapina, condujo al aislamiento de ocho glicolípidos, las escamoninas I-VIII. La saponificación de las escamoninas I-VI proporcionó el ácido escamónico A y la saponificación de la escamonina VIII proporcionó el ácido escamónico B (Figura 5). De la especie medicinal *Ipomoea stans*, de la cual se utilizan los tubérculos en México para el tratamiento de ataques epilépticos, se han aislado una serie de glicolípidos,^{6,32,33} cuyo ácido glicosídico común es el ácido escamónico A. Sin embargo, se demostró que este núcleo oligosacárido corresponde en realidad al presente en las resinas de la falsa jalapa (*Ipomoea orizabensis*), especie que también se comercializa ampliamente en nuestro país como purgante y para el tratamiento de fiebres, epilepsia y tumores.³⁴

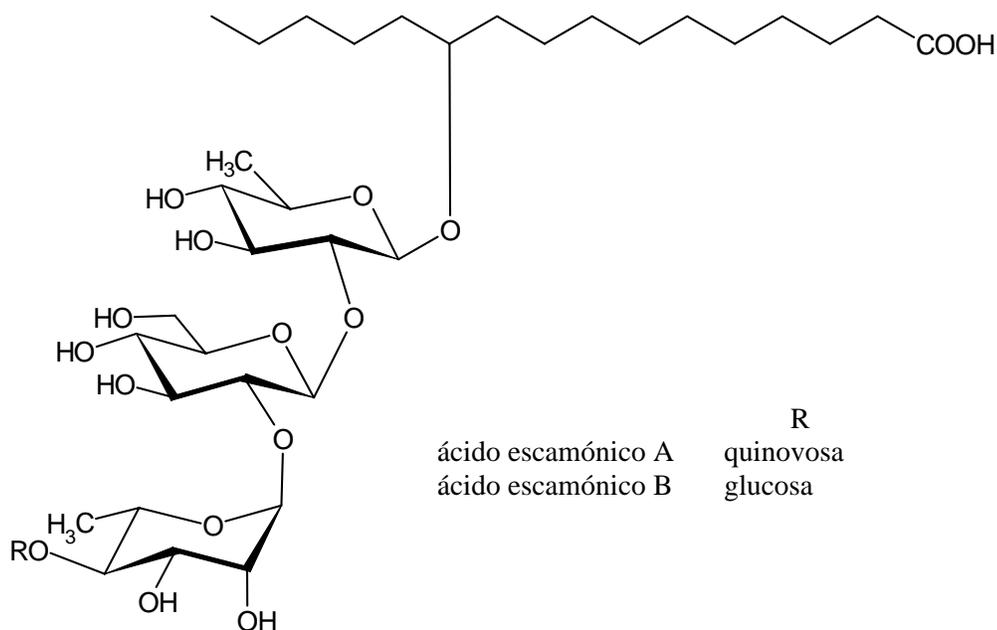


Figura 5. Estructuras de los ácidos escamónicos A y B.

2.3.2 Merremósido i

La investigación fitoquímica³⁵⁻³⁹ de los tubérculos de *Merremia mammosa* condujo al aislamiento de trece glicolípidos nombrados como merremósidos a-h₂, mamósidos A, B, H₁ y H₂. Estos glicolípidos aislados de la porción soluble en éter de la resina glicosídica difieren tanto por el número y la naturaleza de los grupos acilantes, y el número y tipo de monosacáridos que integran las cadenas oligosacáridas. La saponificación de los merremósidos a-e proporcionó al merremósido i (Figura 6) como ácido glicosídico.

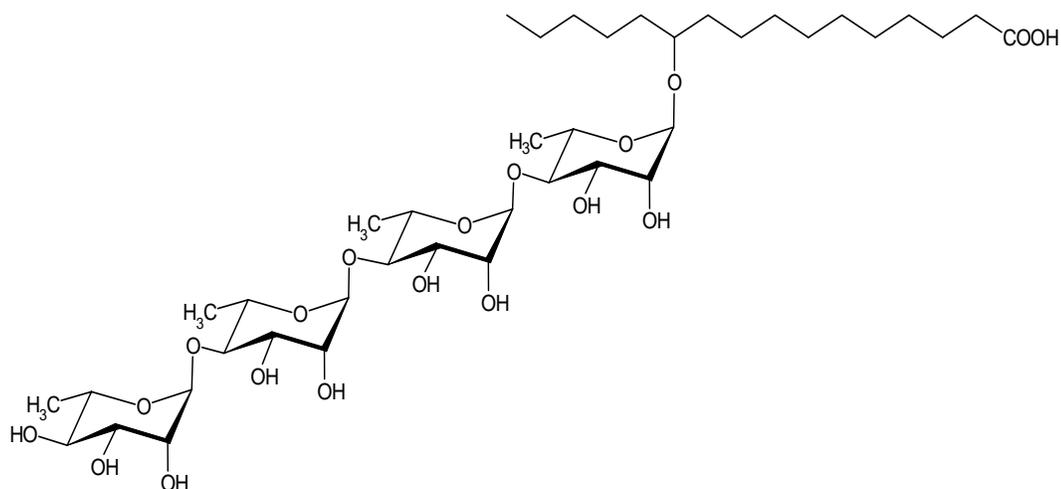


Figura 6. Estructura del merremósido i.

2.3.3 Ácido muricático A

De la especie *Ipomoea muricata*⁴⁰⁻⁴² se aislaron ocho glicolípidos, las muricatinas I-VIII. La saponificación de los mismos proporcionó como núcleo oligosacárido al ácido muricático A (Figura 7). Una herramienta básica para su elucidación estructural fue la utilización de la espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo.

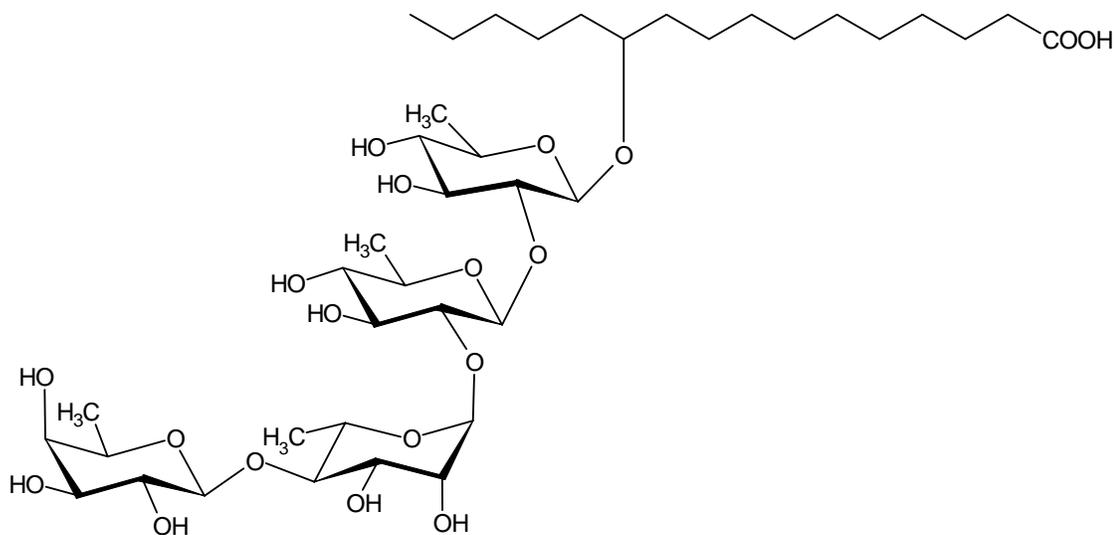


Figura 7. Estructura del ácido muricático A.

2.3.4 Ácidos operculínicos C (mamósido I), E y F

Las raíces de *Ipomoea operculata* son un laxante drástico y se han utilizado como substitutas de la raíz de jalapa (*Ipomoea purga*) en Europa.⁴⁴ En *Ipomoea operculata*⁴³⁻⁴⁸ los ácidos operculínicos A-G fueron generados como los productos de hidrólisis alcalina de las operculinas I-XVIII. El ácido operculínico C (Figura 8) constituido por una unidad de fucosa y tres de ramnosa fue reportado con dos nombres distintos, e.g., como el ácido operculínico C obtenido de la planta *Ipomoea operculata*⁴⁵ y como el mamósido I obtenido de la especie *Merremia mammosa*.³⁹

Otros núcleos tetrasacáridos de la especie son los ácidos operculínicos E y F (Figura 9). El ácido operculínico E⁴³ está constituido por una unidad de glucosa y tres de ramnosa, en tanto que el ácido operculínico F, uno de los núcleos minoritarios de las resinas de esta especie cultivada en Brasil, representa un oligosacárido constituido por una unidad de quinovosa y tres de ramnosa. Hasta la fecha no se ha logrado la purificación de los glicolípidos individuales de las resinas de *Ipomoea operculata* que contienen este último núcleo oligosacárido.

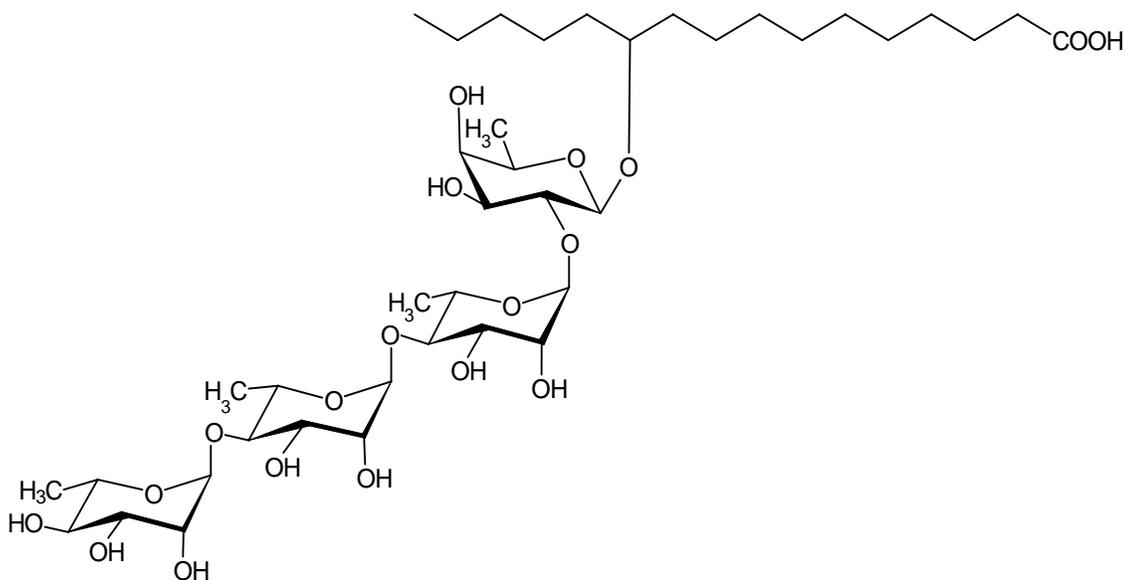


Figura 8. Estructura del ácido operculínico C (mamósido I).

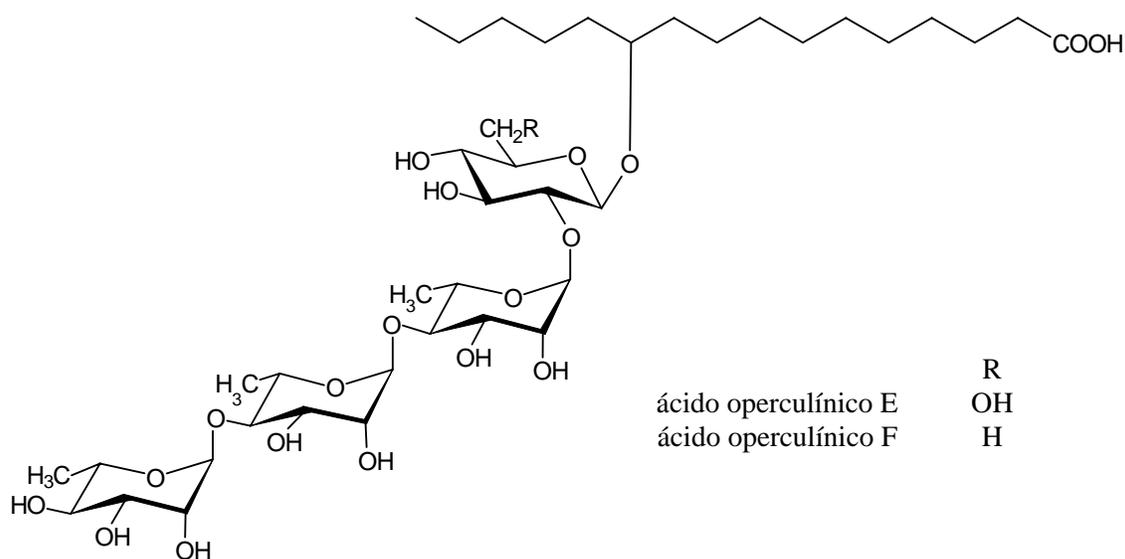


Figura 9. Estructuras de los ácidos operculínicos E y F.

2.3.5 Ácido orizábico A

Este núcleo oligosacárido (Figura 10) obtenido de las raíces de la especie medicinal *Ipomoea orizabensis*,⁴⁹ constituido por dos unidades de quinovosa, una de fucosa y una de ramnosa, también fue obtenido de la planta *Convolvulus scammonia*.⁵⁰

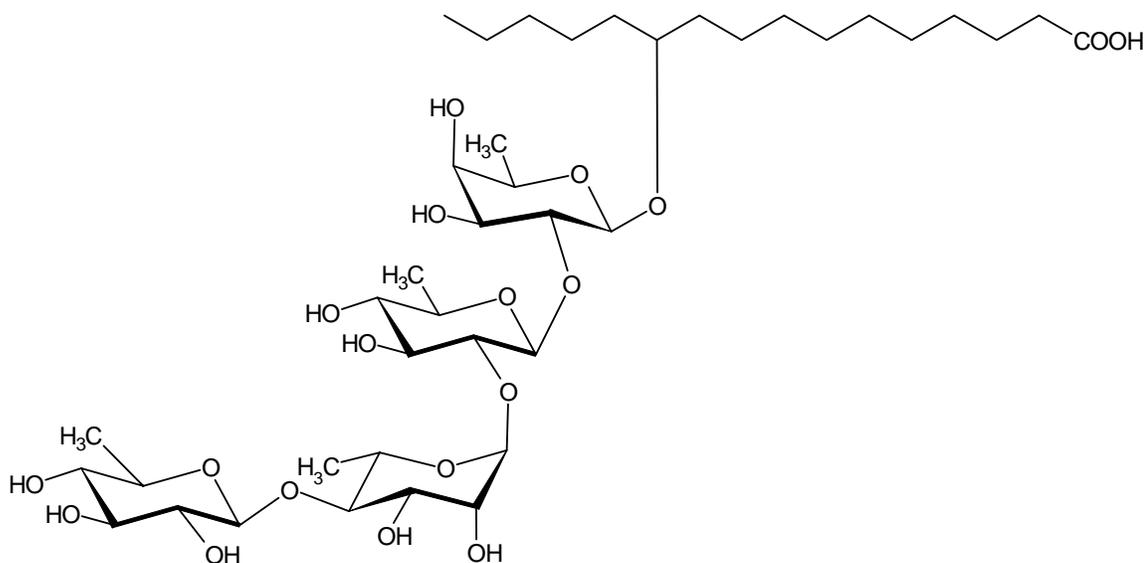


Figura 10. Estructura del ácido orizábico A.

2.3.6 Ácidos tricolóricos A y B

Ipomoea tricolor (*Ipomoea violacea*) se utiliza como cultivo de cobertura para el control de las malezas.⁵¹⁻⁵² El empleo de un fraccionamiento biodirigido, utilizando los ensayos de inhibición de la germinación de semillas y del crecimiento radicular, permitió demostrar que la actividad fitotóxica de esta especie se encontraba en el crudo de resinas glicosídicas. De esta especie se han aislado diez glicolípidos.⁵³⁻⁵⁴ De las tricolorinas A-D, constituyentes antimicrobianos¹¹ y citotóxicos, se obtuvo como núcleo oligosacárido el ácido tricolórico A (Figura 11) constituido por dos unidades de ramnosa, una de glucosa y una de fucosa. El ácido tricolórico B (Figura 11) presente en la tricolorina E difiere del A en que la unidad de fucosa es sustituida por una de quinovosa. Ambos presentan al ácido jalapínico como aglicona.

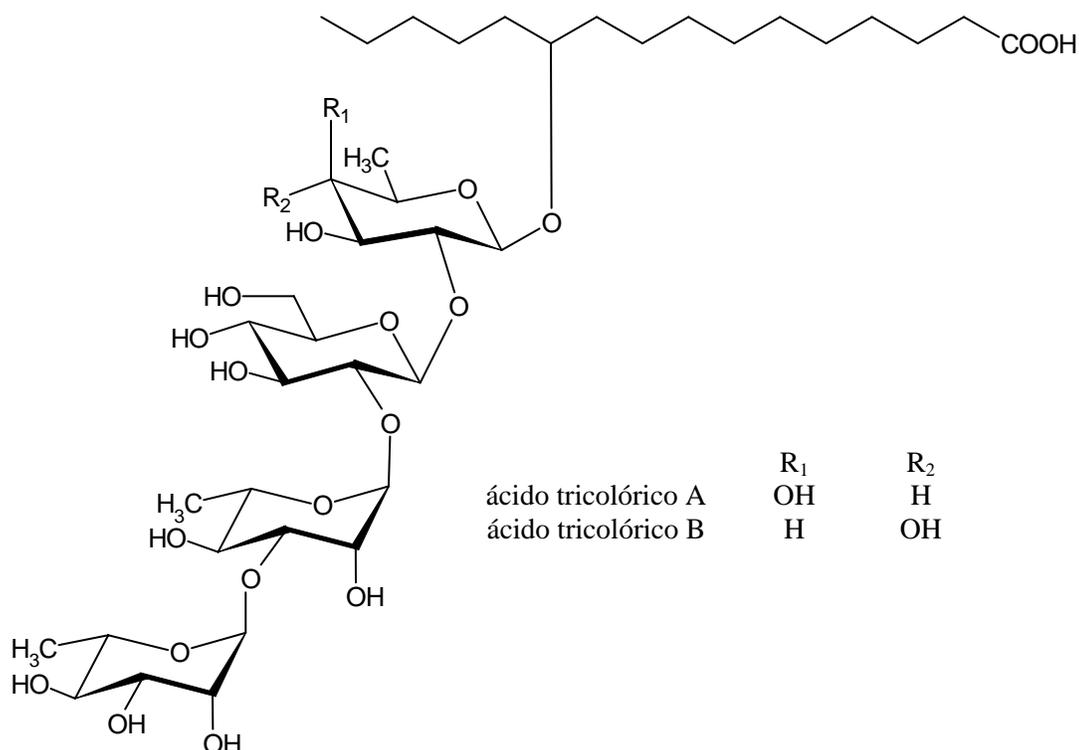


Figura 11. Estructuras de los ácidos tricolóricos A y B.

2.4 Núcleos pentasacáridos en la familia de las convolvuláceas

2.4.1 Ácido farbítico C

La saponificación de la farbitina, obtenida de las semillas de la especie *Pharbitis nil*,^{55,56} en un principio se pensaba que proporcionaba un sólo ácido glicosídico llamado “farbítico”. Sin embargo, a lo largo de varias décadas, se han reportado diferentes productos derivados de las reacciones de hidrólisis alcalina y ácida de la farbitina. Las estructuras completas de los ácidos farbíticos B, C y D producidos por la saponificación de la farbitina se establecieron de manera inequívoca con base en evidencias químicas y datos espectrométricos y espectroscópicos.^{57,58} Estos ácidos difieren en el número de monosacáridos y en el tamaño de la aglicona. En la Figura 12, sólo se muestra la estructura del ácido farbítico C, el cual corresponde a un pentasacárido.⁵⁷

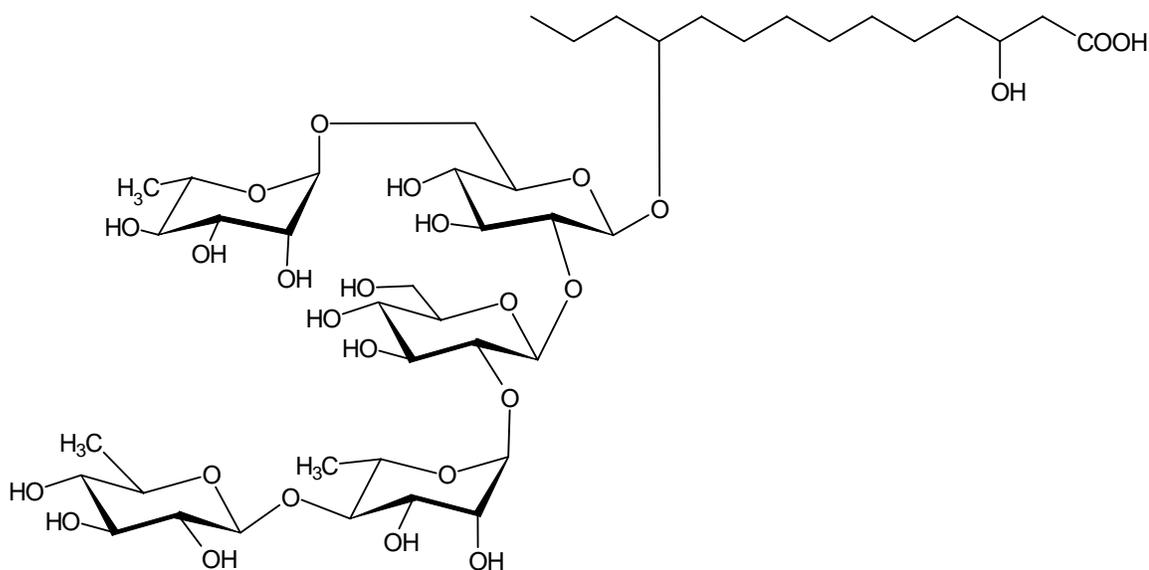


Figura 12. Estructura del ácido farbítico C de *Pharbitis nil*.

2.4.2 Merremósido j

De la jalapina de los tubérculos de *Merremia mammosa*,³⁸ se obtuvo el merremósido j, identificado como el 11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3-*O*- β -D-glucopiranosil)- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosido del ácido (11*S*)-11-hidroxihexadecanoico (Figura 13).

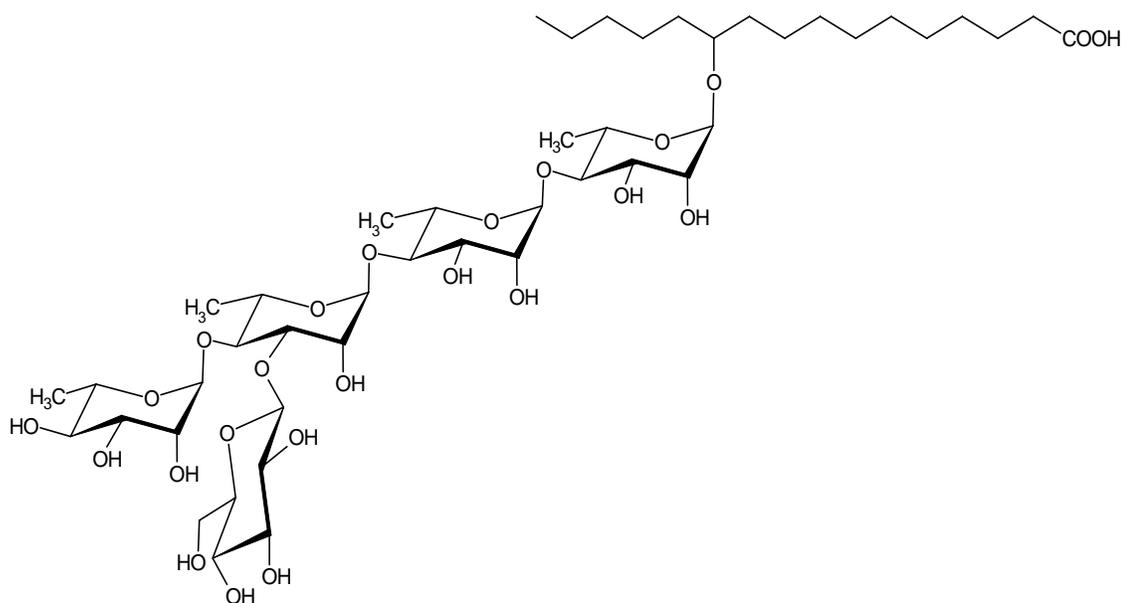


Figura 13. Estructura del merremósido j.

2.4.3 Ácido microfílico

De la resina soluble en éter de *Convolvulus microphyllus*, se aisló como núcleo oligosacárido mayoritario al ácido microfílico, identificado como el 11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)-[*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)]-*O*- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*- β -D-fucopiranosido del ácido 11-hidroxihexadecanoico (Figura 14).⁵⁹

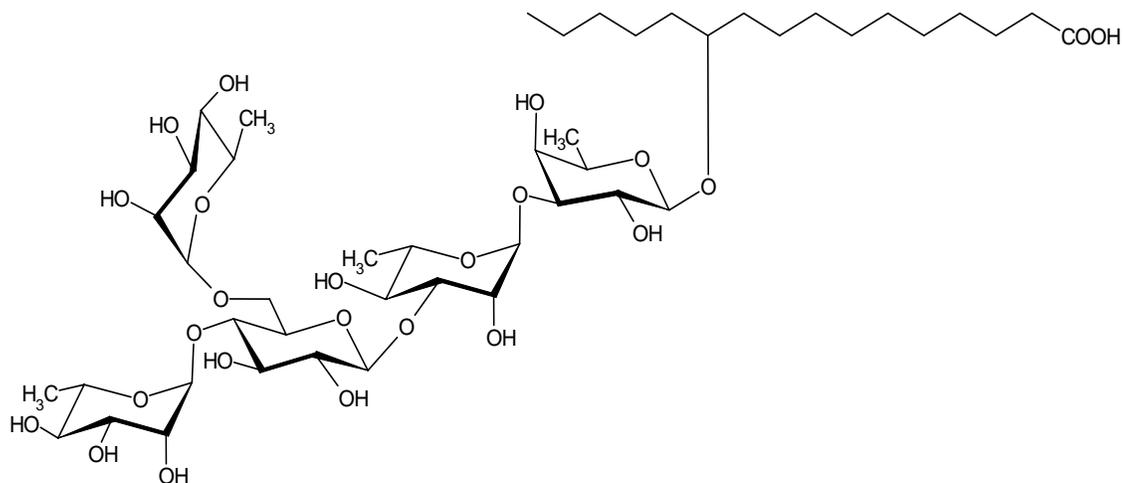


Figura 14. Estructura del ácido microfílico.

2.4.4 Ácidos multifidínicos A y B

De *Quamoclit multifida*, planta decorativa que es un híbrido de *Quamoclit pennata* (L.) Bojer (*Ipomoea quamoclit* L.) y *Quamoclit coccinea* Moench (*Ipomoea hederifolia* L.), se obtuvieron las multifidinas I y II junto con las quamoclinas I-IV. A partir de estos oligosacáridos se obtuvieron los productos de degradación básica, identificándose como ácidos glicosídicos novedosos: los ácidos multifidínicos A y B, pentasacáridos con las mismas unidades monosacáridas y secuencia de glicosidación, pero diferente aglicona. La elucidación estructural de estos compuestos se realizó a través del análisis de la RMN bidimensional y EM-FAB.⁶⁰ El ácido multifidínico A presenta al ácido jalapinólico como su aglicona, en tanto que el ácido multifidínico B posee el ácido convolvulinólico (Figura 15).

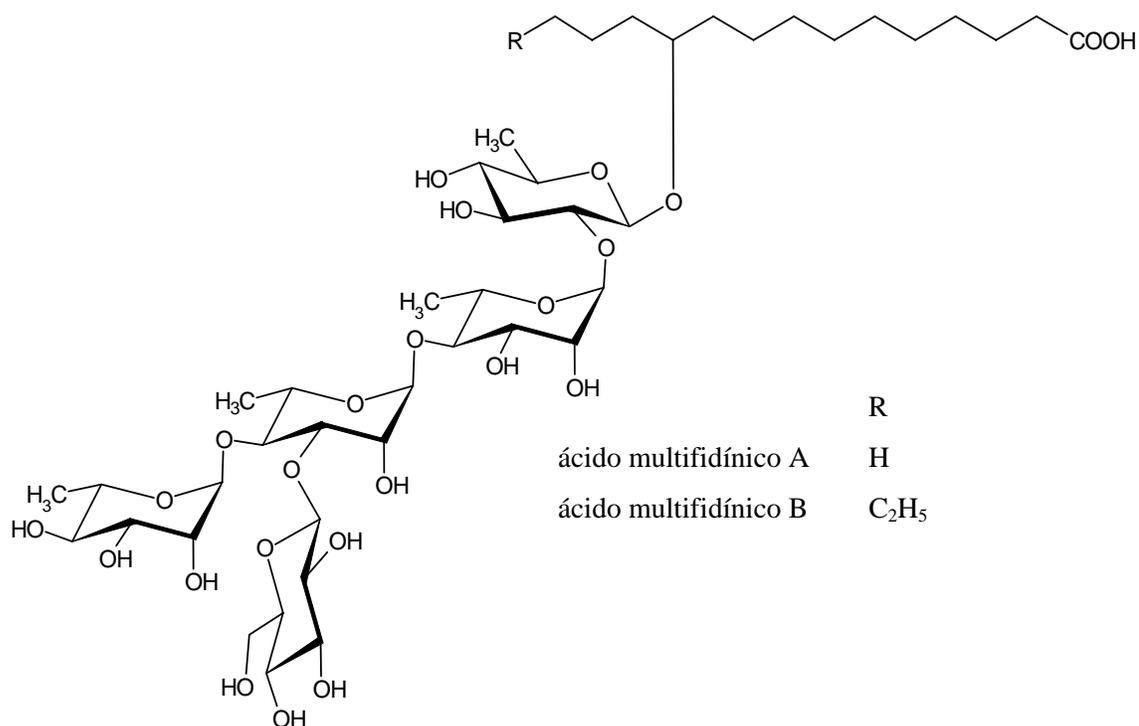


Figura 15. Estructuras de los ácidos multifidínicos A y B.

2.4.5 Ácidos operculínicos A y B

El ácido operculínico A es el núcleo oligosacárido que con mayor frecuencia se ha descrito en la resinas de las convolvuláceas ya que es constituyente de las especies *Ipomoea operculata*,⁴⁵ *Ipomoea intrapilosa*,⁸¹ *Ipomoea stolonifera*,⁶¹ *Ipomoea leptophylla*,⁶² *Quamoclit pennata*,⁶³ *Merremia hungaiensis*⁶⁴ y *Merremia mammosa*.³⁶⁻³⁸ El ácido operculínico B, otro de los núcleos pentasacáridos de *Ipomoea operculata*, identificado como el 11-*O*- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[*O*- β -D-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)]- β -D-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)-*O*- β -D-glucopiranosido del ácido (11*S*)-11-hidroxihexadecanoico, difiere del ácido operculínico A únicamente en una unidad monosacárido: la glucosa interna se sustituye por la fucosa (Figura 16).

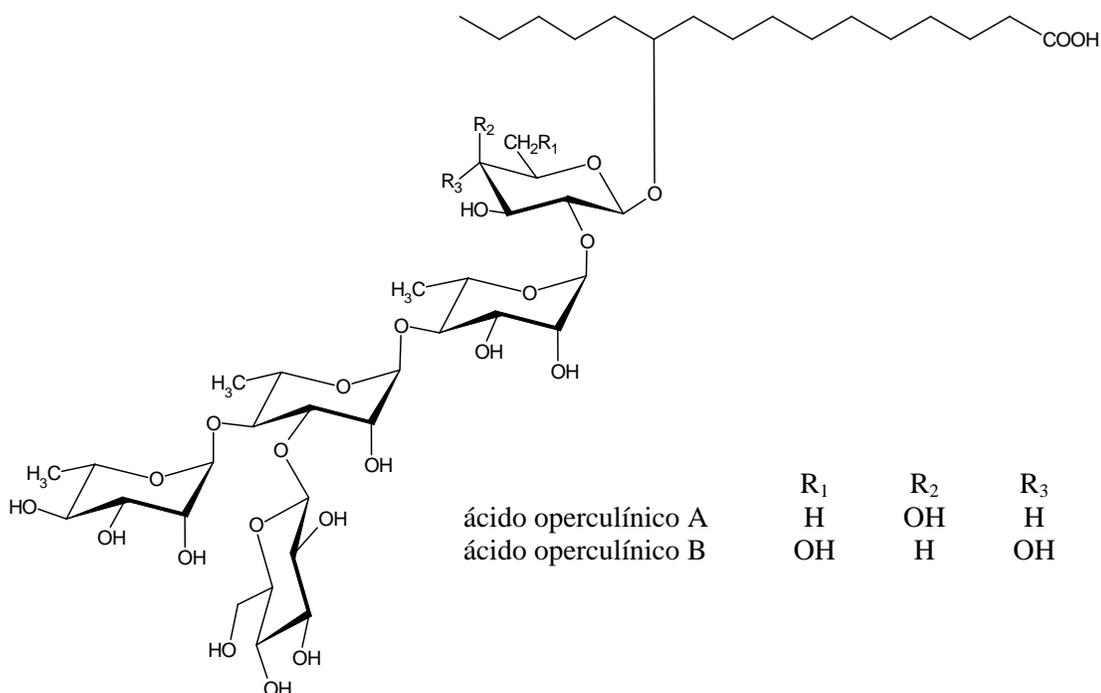


Figura 16. Estructuras de los ácidos operculínicos A y B de *Ipomoea operculata*.

2.4.6 Ácidos simónicos A y B

Los tubérculos de *Ipomoea batatas* se utilizan como alimento. Se ha reportado que sus hojas y raíces son efectivas para el tratamiento de la leucemia, la anemia, la hipertensión, la diabetes y las hemorragias.⁶⁵ En *Ipomoea batatas* están presentes los ácidos simónicos A, B y operculínico C.⁶⁵ Se han aislados cinco glicorresinas, las simoninas I-V de la jalapina de esta raíz. La simonina II (Figura 30) es el único compuesto que posee el núcleo del ácido simónico A, constituido por una unidad de glucosa y cuatro de ramnosa que al parecer no es muy común en la familia convolvulácea.

En el ácido simónico B, el monosacárido que realiza el enlace glicosídico con la aglicona es una unidad de fucosa en lugar de glucosa como en el ácido simónico A (Figura 17). Este núcleo también se encuentra en las resinas glicosídicas de *Ipomoea stolonifera*⁶¹ e *Ipomoea pes-caprae*.⁶⁶

El ácido woodrosínico A se identificó como el 11-*O*- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)]-*O*- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 2)-*O*- β -D-glucopiranosido del ácido jalapínico (Figura 18).⁶⁷

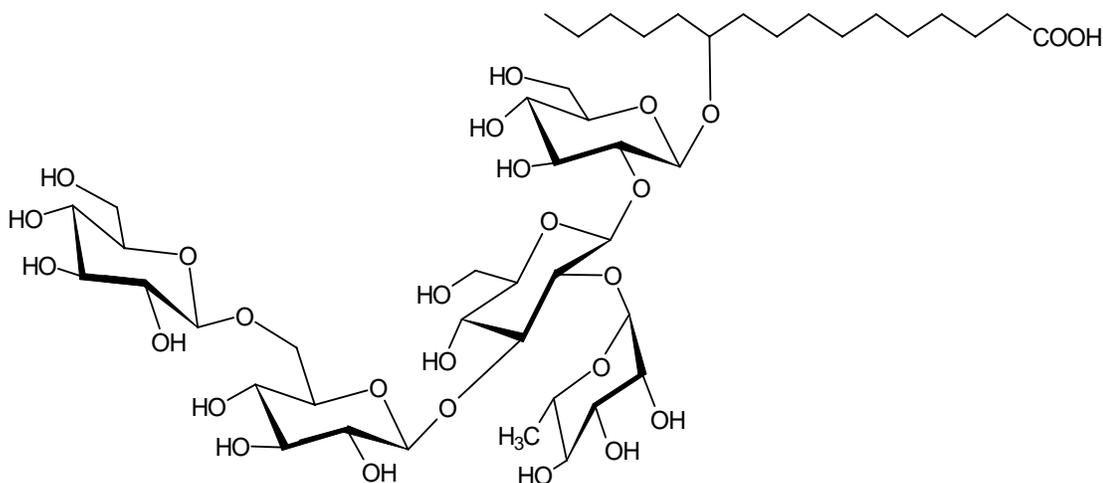


Figura 18. Estructura del ácido woodrosínico A constituyente de las resinas de *Ipomoea tuberosa*.

2.5 Glicolípidos con los mismos núcleos oligosacáridos que las murucoidinas

2.5.1 Estoloniferinas

De la jalapina que resultó del fraccionamiento del extracto metanólico de *Ipomoea stolonifera*, se aislaron doce constituyentes, las estoloniferinas I-XII.^{61,68} Las estoloniferinas con el núcleo del ácido operculínico A se diferencian en la posición de la esterificación intramolecular de la aglicona sobre la unidad de ramnosa interna superior (Ram). En el caso de las estoloniferinas V, VI y VII (Figura 19), la lactonización se establece en la posición C-2 para generar una estructura macrocíclica de 18 miembros. En el caso de la estoloniferina IV (Figura 19) se presenta un macrociclo de 19 miembros mediante la esterificación intramolecular por la aglicona en la posición C-3 de la unidad de ramnosa interna superior (Ram).

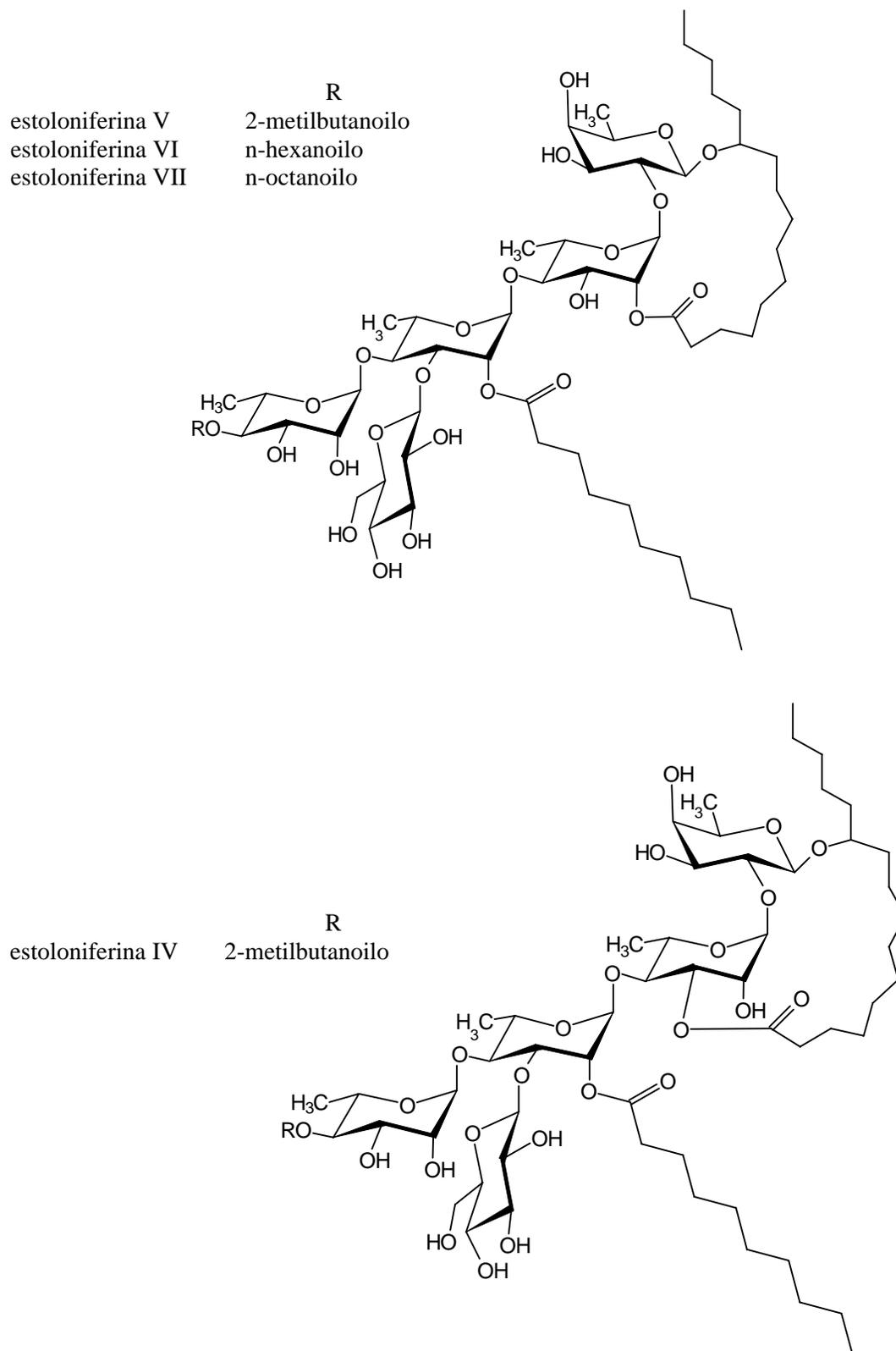


Figura 19. Estructura de la estoloniferina IV-VII.

Continuando con las estoloniferinas de *Ipomoea stolonifera*, entre los pentasacáridos de la jalapina de esta especie con el núcleo del ácido simónico B, se encuentran las estoloniferinas I-III y VIII-X. En las tres primeras, la lactonización se establece en la posición C-3 para generar una estructura macrocíclica de 19 miembros y las tres restantes presentan un macrociclo de 18 miembros mediante la esterificación intramolecular por la aglicona en la posición C-2 de la unidad de ramnosa interna superior (Figura 20).

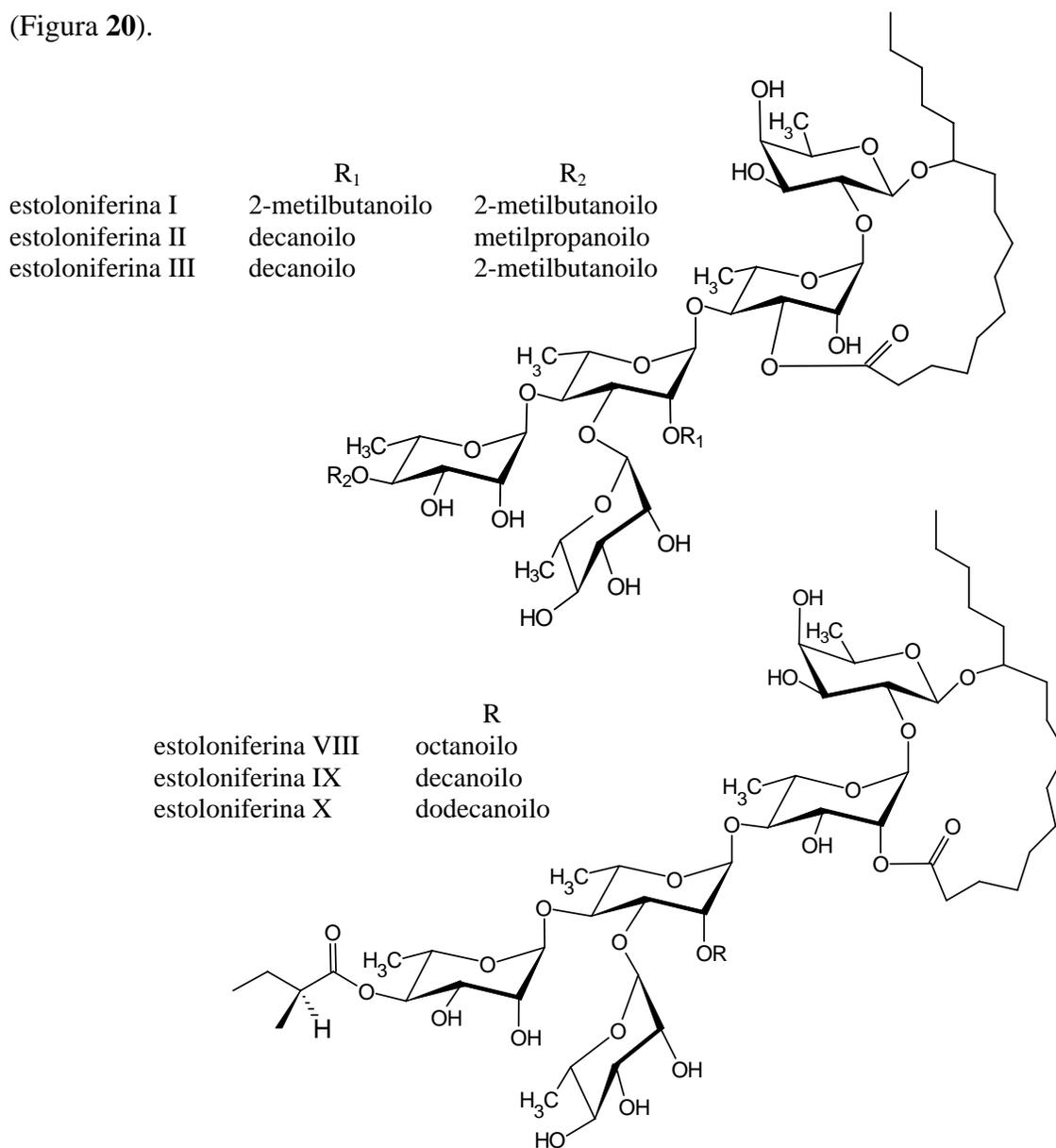


Figura 20. Estructuras de las estoloniferinas I-III y VIII-X, constituyentes de la jalapina de *Ipomoea stolonifera*.

2.5.3 Mamósidos

Los tubérculos de *Merremia mammosa* forman parte de los componentes de un remedio utilizado en Indonesia para el tratamiento de la diabetes y de trastornos del sistema respiratorio. La investigación fitoquímica de esta especie condujo al aislamiento de trece glicolípidos; en la Figura 22 se ilustran los glicolípidos individuales con el núcleo del ácido operculínico A (mamósidos H₁ y H₂).³⁶

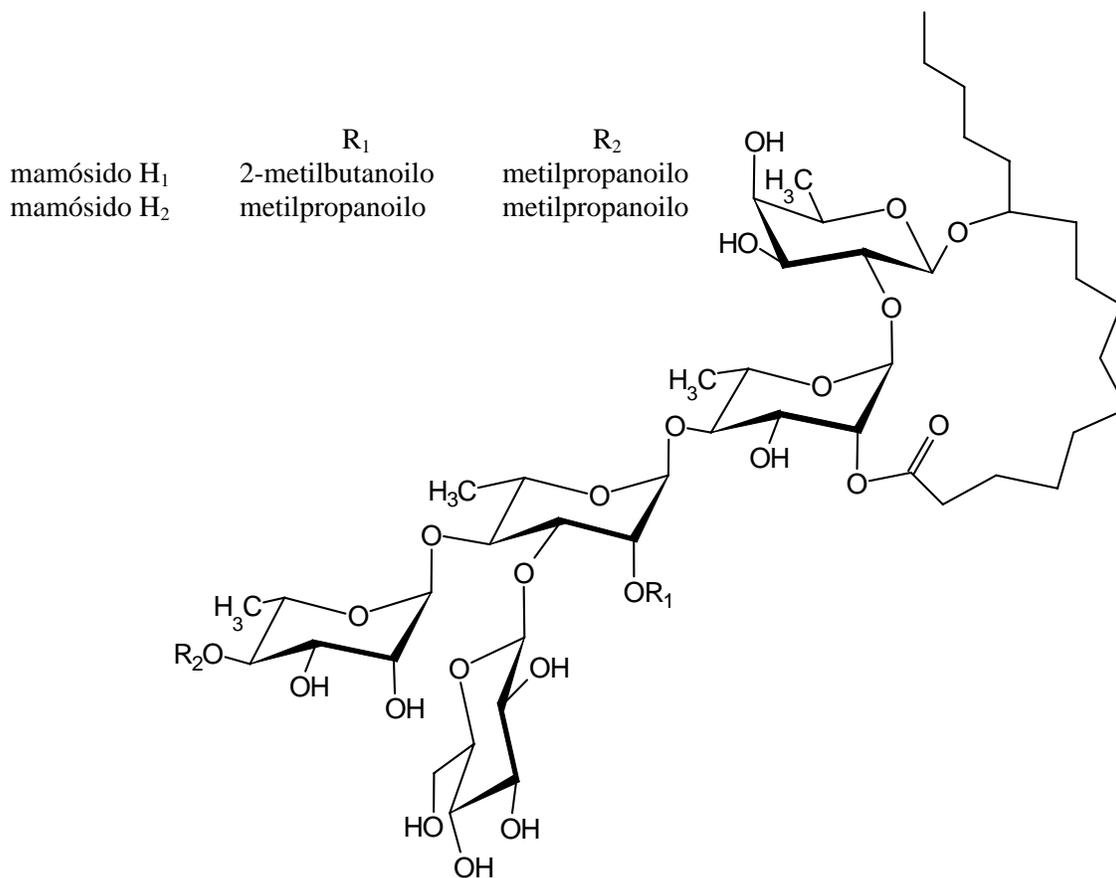


Figura 22. Estructuras de los mamósidos H₁ y H₂, constituyentes de la jalapina de *Merremia mammosa*.

La Figura 23 ilustra los mamósido A y B, obtenidos de la especie *Merremia mammosa*, que poseen el núcleo del ácido operculínico C (uno de los núcleos tetrasacáridos de la especie *Ipomoea operculata*).

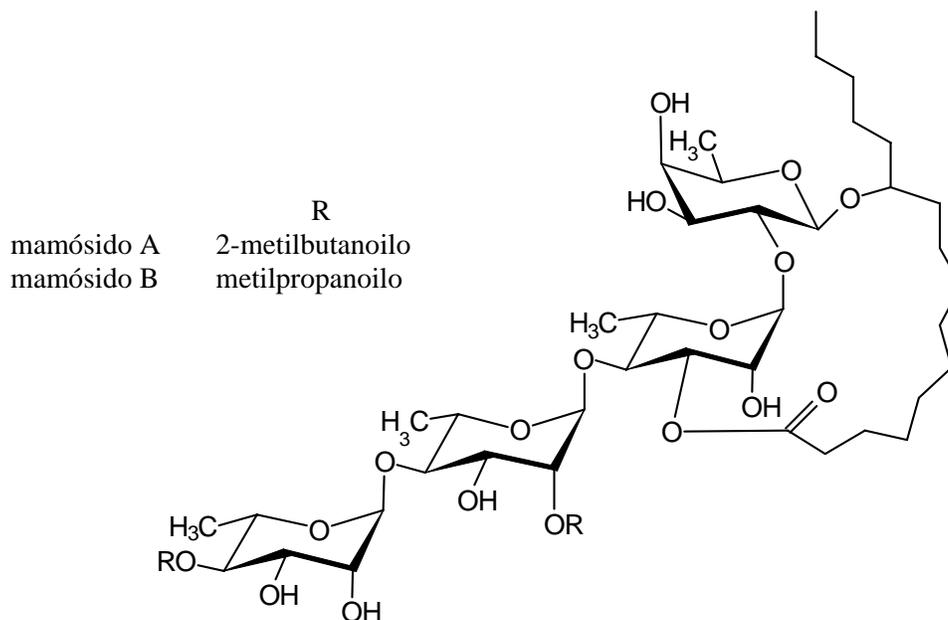
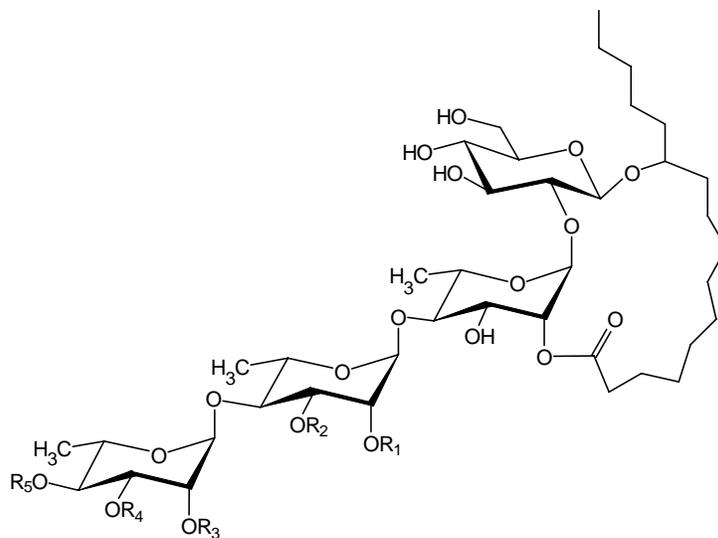


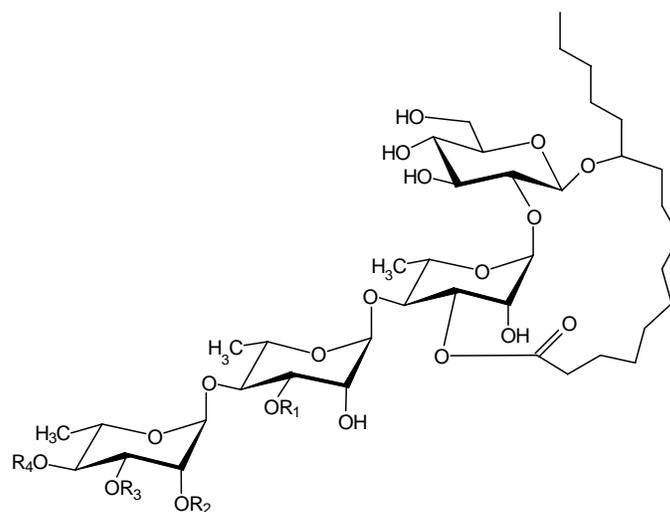
Figura 23. Estructuras de los mamósido A y B.

2.5.4 Marubajalpinas

El estudio químico de las partes aéreas de la especie *Pharbitis purpurea*⁶⁹ condujo al aislamiento y la caracterización de quince glicolípidos, las marubajalpinas I-XV (Figura 24). El ácido operculínico E se obtuvo a partir de la saponificación de la resina glicosídica como núcleo oligosacárido de estas marubajalpinas. El ácido operculínico E había sido previamente identificado en *Ipomoea operculata*⁴³ como uno de los núcleos minoritarios de esa especie.



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
marubajalapina I	octanoilo	H	H	H	octanoilo
marubajalapina II	H	octanoilo	H	H	octanoilo
marubajalapina III	octanoilo	H	H	H	decanoilo
marubajalapina IV	H	octanoilo	H	H	decanoilo
marubajalapina VI	H	decanoilo	H	H	decanoilo
marubajalapina VII	octanoilo	H	octanoilo	H	octanoilo
marubajalapina VIII	H	octanoilo	octanoilo	H	octanoilo
marubajalapina IX	H	octanoilo	H	octanoilo	octanoilo



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
marubajalapina V	octanoilo	H	H	decanoilo
marubajalapina X	octanoilo	octanoilo	H	octanoilo
marubajalapina XI	octanoilo	H	octanoilo	octanoilo

Figura 24. Estructuras de las marubajalapinas I-XI.

2.5.5 Merremina

Desde el punto de vista fitoquímico, la aportación más importante derivada del estudio de la resina de *Merremia hungaiensis*^{70,71} fue el aislamiento de la merremina (Figura 25) que representa el primer dímero descrito en las resinas glicosídicas. Mediante la hidrólisis básica se determinó que los monómeros que integran la estructura de este dímero corresponde al esqueleto básico del ácido operculínico A.

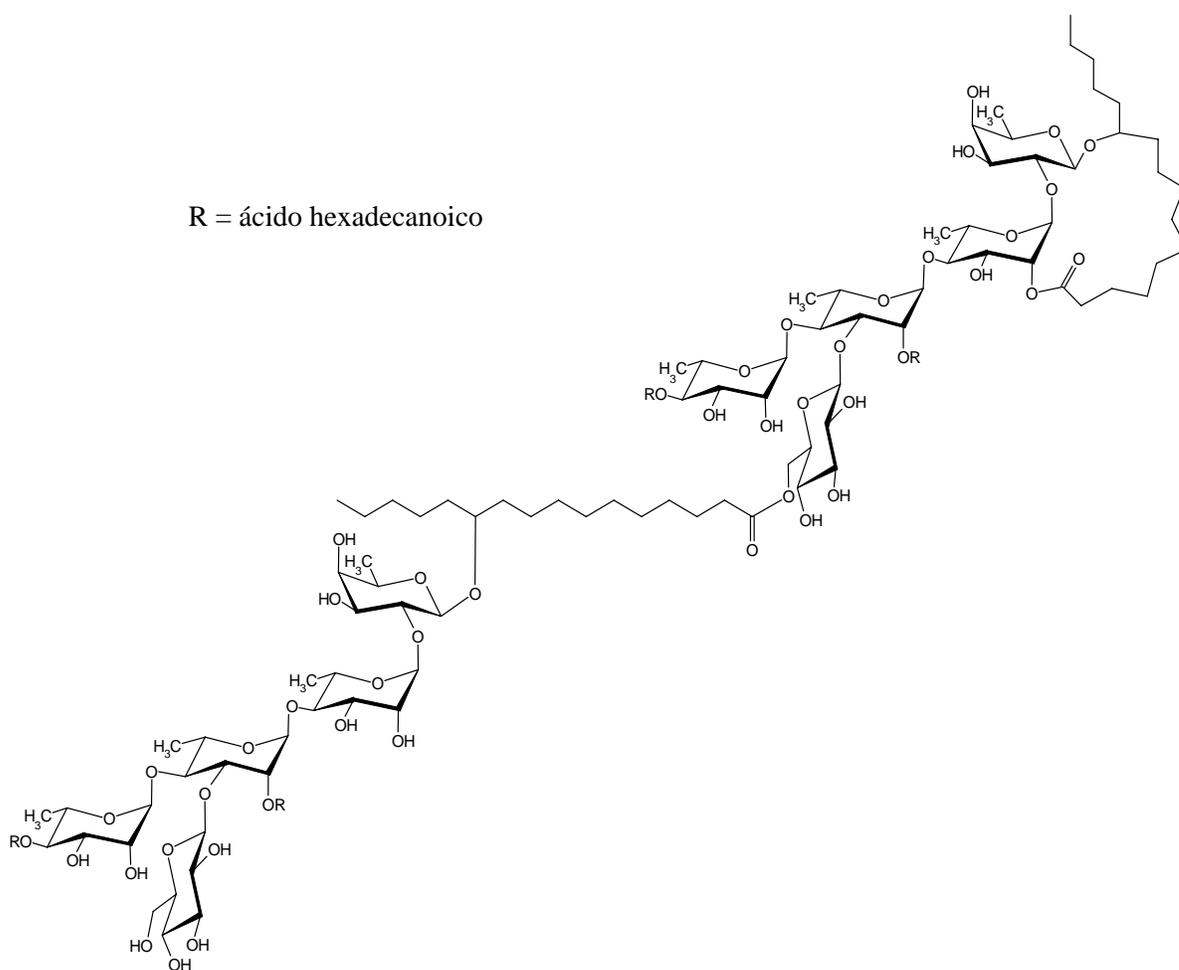


Figura 25. Estructura de la merremina, primer dímero descrito de tipo éster glicolípido.

2.5.6 Operculinas

De la porción jalapina de las resinas de *Ipomoea operculata* se han aislado las operculinas I-XVIII.⁴⁶⁻⁴⁸ A continuación se ilustran sólo las estructuras de las operculinas con el núcleo del ácido operculínico A (Figura 26). Donde los principales ácidos que se encuentran acilando a las unidades monosacáridas son los ácidos dodecanoico y decanoico, en las posiciones C-2 de la ramnosa interna y C-4 de la ramnosa externa. La mayoría de las operculinas que poseen el núcleo del ácido operculínico A se encuentran lactonizadas en la posición C-2 para generar una estructura macrocíclica de 18 miembros.

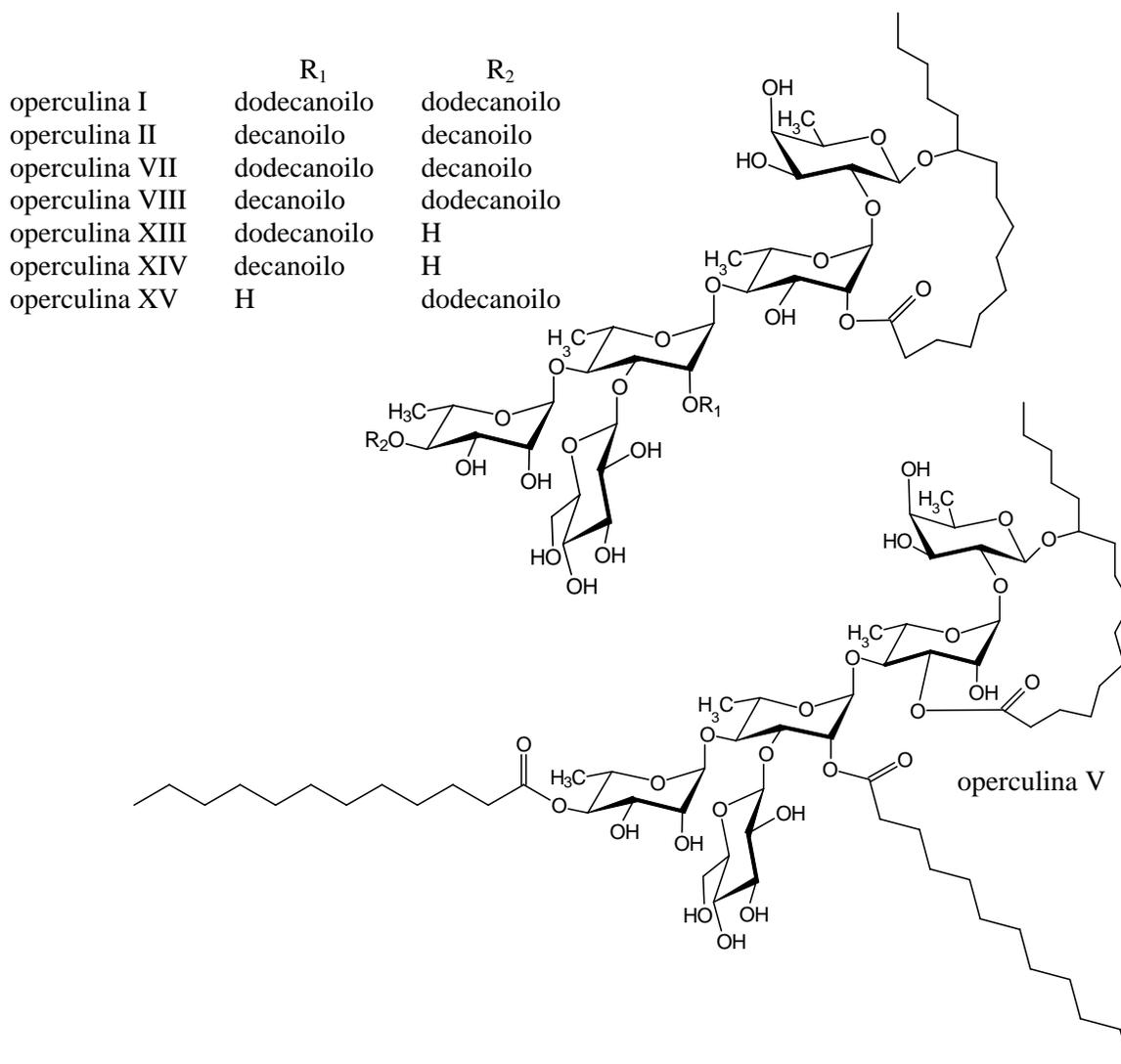


Figura 26. Estructuras de las operculinas con el núcleo del ácido operculínico A.

2.5.7 Pescapreinas

De las partes aéreas de la especie medicinal *Ipomoea pes-caprae* se han reportado cuatro glicolípidos con el núcleo del ácido simónico B y un glicolípido no macrocíclico nombrado pescaprosido A (Figura 27).⁶⁶ La riñonina como comúnmente se conoce a esta planta medicinal se utiliza para el trastorno digestivo e inflamación. En México, esta especie se comercializa ampliamente en los mercados y tiendas naturistas para su empleo contra el “mal de orín”.

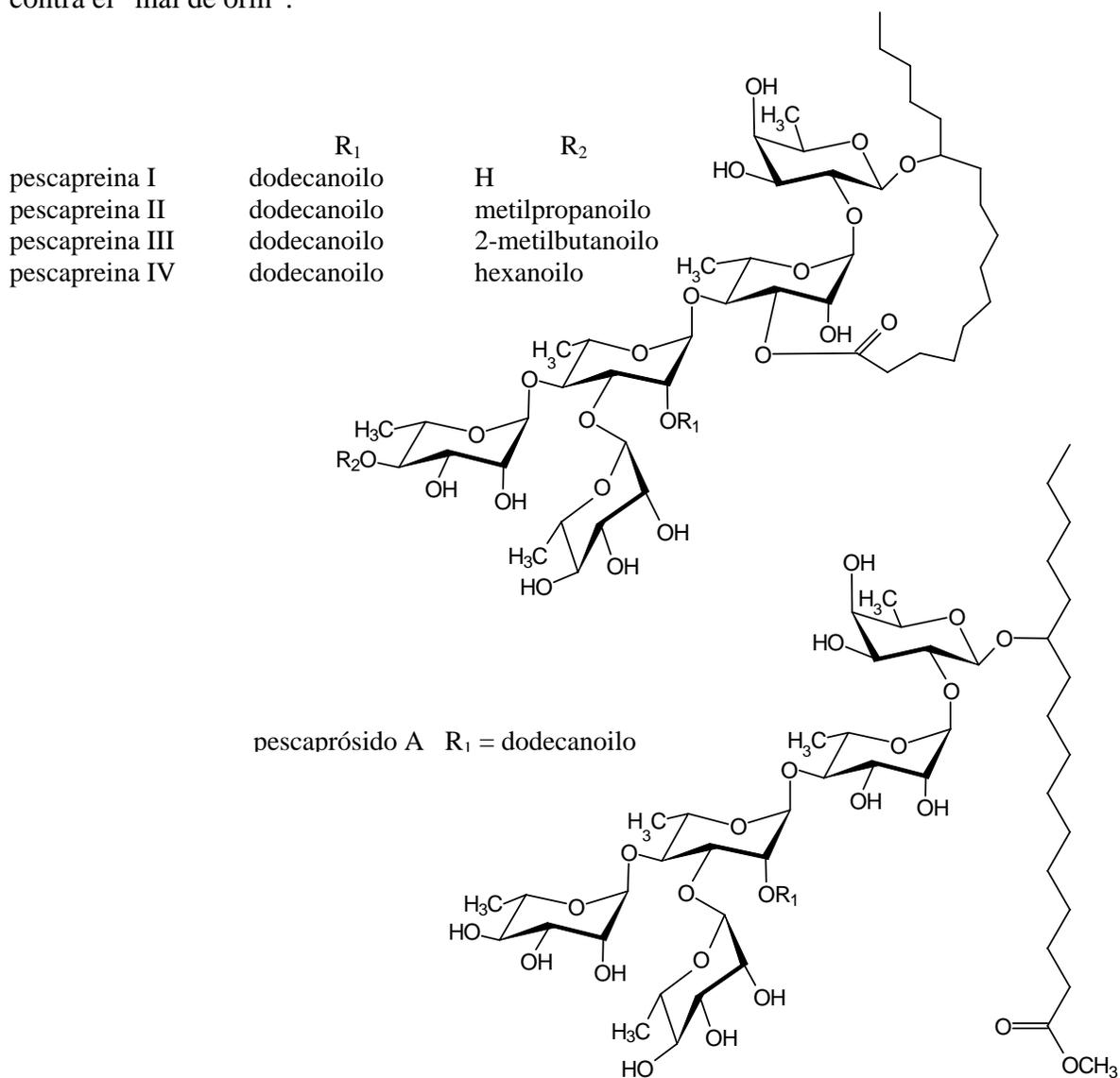


Figura 27. Estructuras de las pescapreinas I-IV y del pescaprosido A.

2.5.8 Quamoclinas

El estudio de la composición química de la jalapina de la especie *Quamoclit pennata*⁶³ condujo al aislamiento de las quamoclinas I-IV. Las quamoclinas I-IV están constituidas por una unidad monosacárida de fucosa, tres de ramnosa y una de glucosa con la misma secuencia de glicosidación del ácido operculínico A, pero las quamoclinas I-III corresponden a macrolactonas cuya aglicona fue identificada como el ácido 11-hidroxitetradecanoico (convolvulinólico). En el caso de la quamoclina IV, se identificó al ácido 11-hidroxihexadecanoico (jalapínólico) como la aglicona de esta molécula. Por lo tanto la quamoclina IV (Figura 28) es la única que posee el núcleo del ácido operculínico A, uno de los núcleos de las murucoidinas.

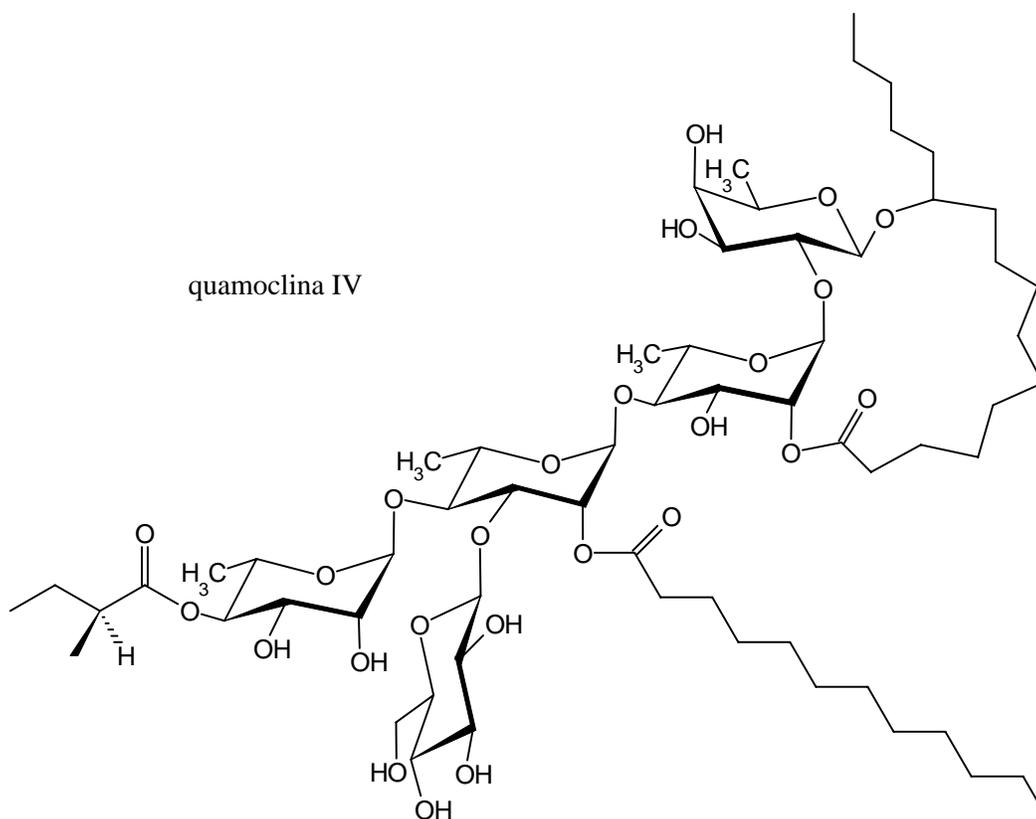


Figura 28. Estructura de la quamoclina IV, constituyente de *Quamoclit pennata*.

2.5.9 Simoninas

La simonina I (Figura 29) del camote, constituida por el núcleo oligosacárido del ácido operculínico C, es el primer ejemplo de un glicolípido esterificado en uno de los monosacáridos con el ácido *trans*-cinámico.

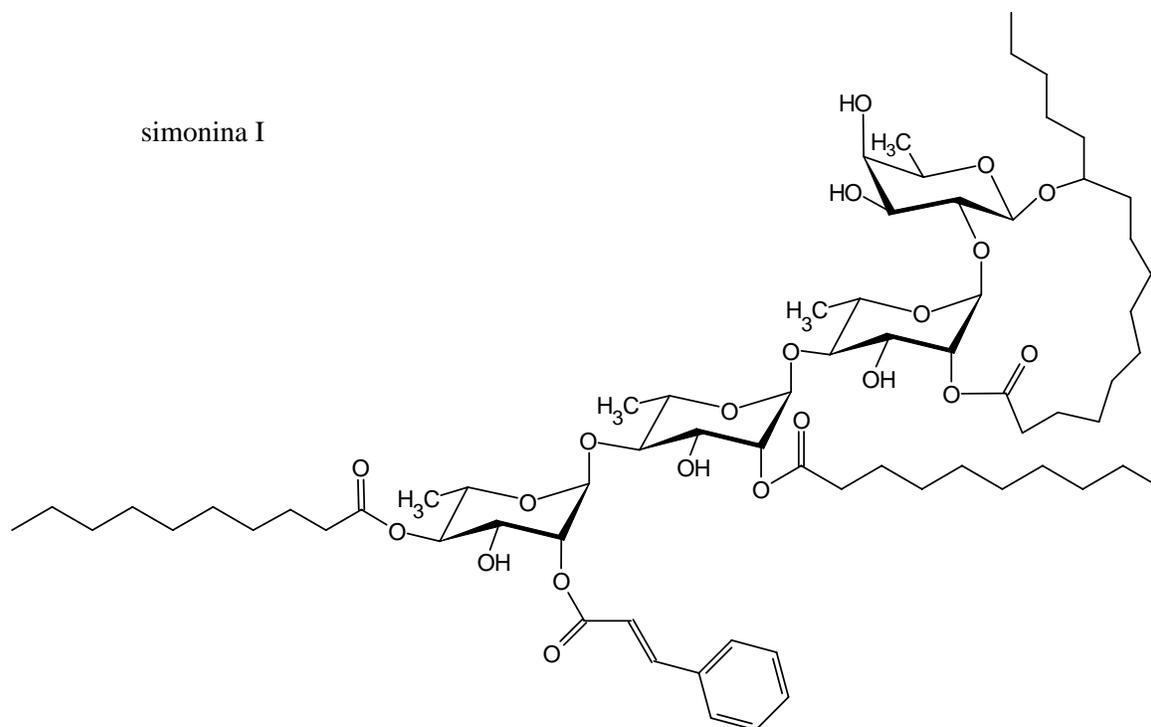
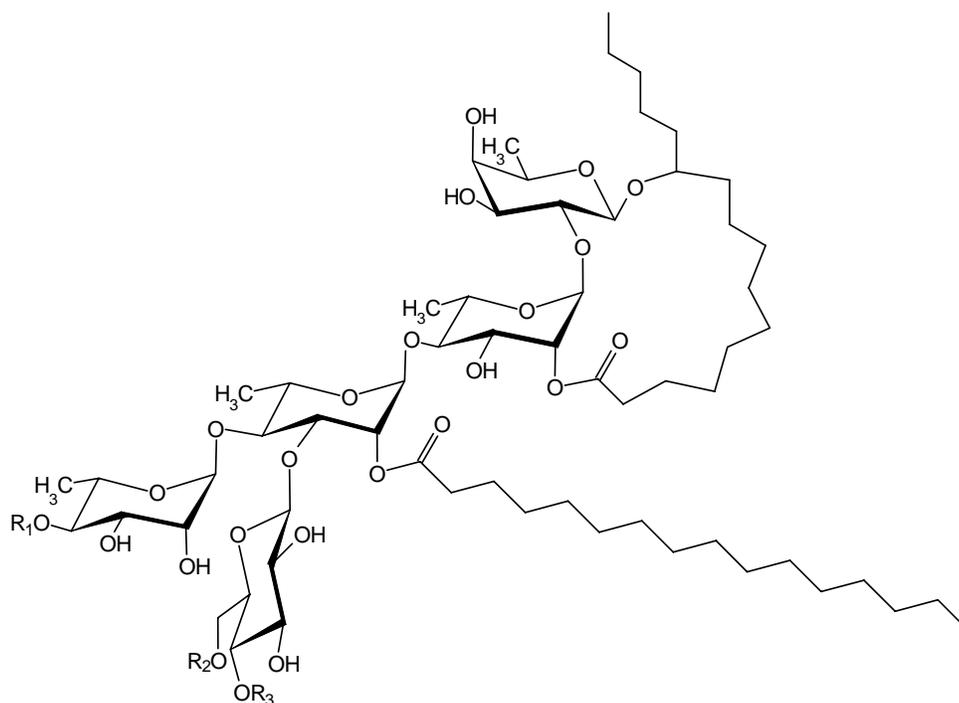


Figura 29. Estructura de la simonina I, constituyente de *Ipomoea batatas*.

La simonina II posee el núcleo oligosacárido del ácido simónico A constituido por una unidad de glucosa y cuatro ramnosas; este núcleo no es muy común y la simonina II es el único compuesto con este núcleo.⁶⁵ De los cinco glicolípidos reportados para el camote, tres poseen el núcleo del ácido simónico B, las simoninas III-V, constituido por una unidad de fucosa y cuatro de ramnosa. A continuación se ilustran las simoninas II-V (Figura 30) las cuales poseen el núcleo de los ácidos simónicos A o B.

2.5.10 Tuguajalapinas

De la raíz de *Merremia hungaiensis*⁶⁴ se hace un remedio tradicional chino conocido como “Tu Gua” utilizado en el tratamiento de la hepatitis crónica y hernia. El estudio químico de esta especie medicinal permitió aislar y caracterizar a diez glicolípidos, las tuguajalapinas I-X (Figuras 31 y 32) con el núcleo oligosacárido del ácido operculínico A. Las tuguajalapinas I, IV y IX son macrolactonas cuya esterificación intramolecular se localiza en la posición C-3 de la ramnosa interna. En tanto que para las restantes tuguajalapinas, la lactonización ocurre en la posición C-2 de la misma unidad de metilpentosa.



	R ₁	R ₂	R ₃
tuguajalapina II	palmitoilo	H	palmitoilo
tuguajalapina III	palmitoilo	palmitoilo	H
tuguajalapina V	palmitoilo	H	estereoilo
tuguajalapina VI	palmitoilo	estereoilo	H
tuguajalapina VII	palmitoilo	H	araquidoilo
tuguajalapina VIII	palmitoilo	araquidoilo	H
tuguajalapina X	palmitoilo	H	H

Figura 31. Estructuras de las tuguajalapinas II, III, V-VIII y X.

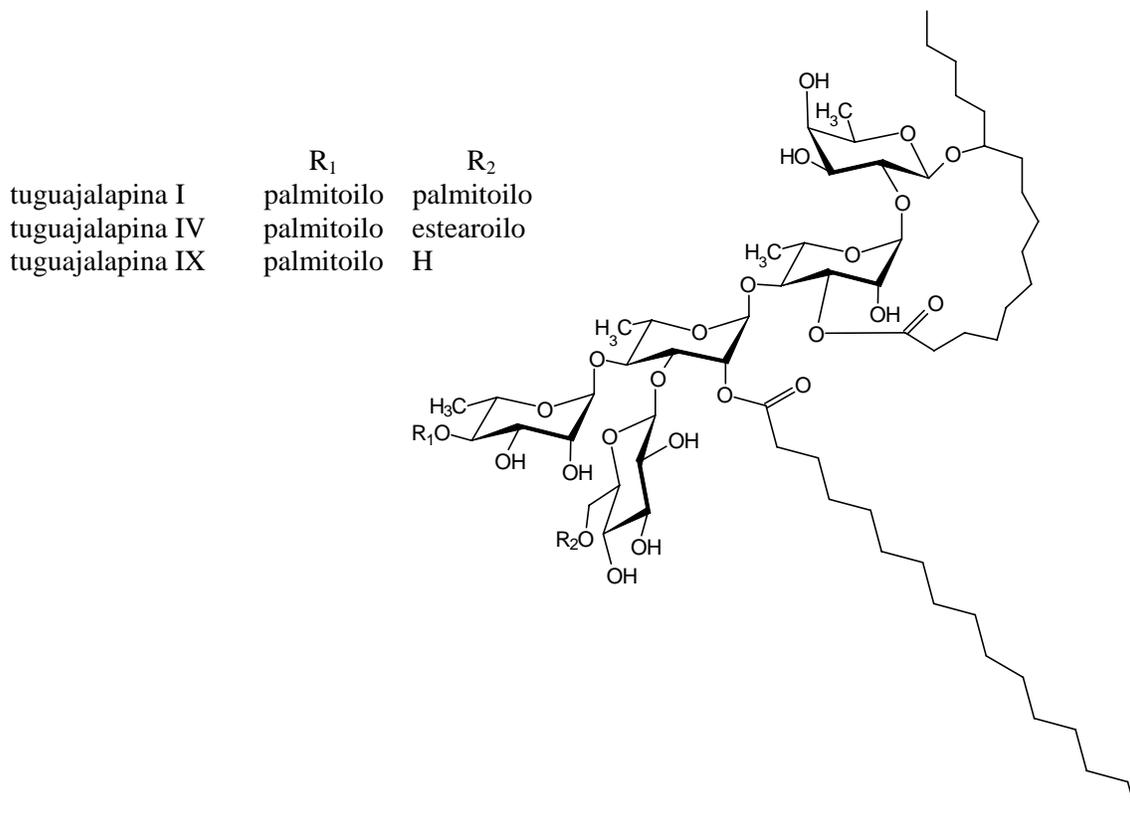


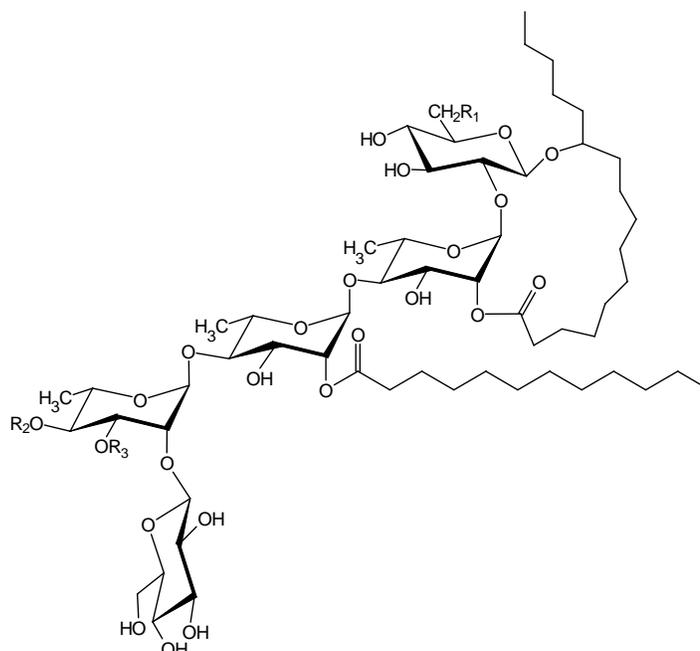
Figura 32. Estructuras de las tuguajalapis I, IV y IX.

2.6 Estudios químicos de la especie *Ipomoea arborescens*

Las especies arbóreas del género *Ipomoea* son consideradas mágicas desde la época precolombina en todo el altiplano mexicano. La floración en la época de sequías, según las creencias populares, anuncia las primeras lluvias; las flores⁷² se aplican sobre el cuerpo para tratar padecimientos “del agua y el frío”.

Estas especies se conocen como “cazahuate”; en la literatura un estudio de la composición química de las resinas glicosídicas de las raíces de la especie *Ipomoea arborescens*⁷³ (como su nombre lo indica una de las especies arbóreas del género *Ipomoea*) reporta diez novedosos pentasacáridos (Figura 33), las arboresinas 1-6, murucinas 6-9 y cinco glicolípidos conocidos: las murucinas 1-5. Las murucinas 1-5 fueron reportadas como constituyentes de las raíces de la especie *Ipomoea murucoides*.⁷⁴

Estos glicolípidos poseen dos núcleos novedosos, el ácido murucínico constituido por una unidad de quinovosa, una de glucosa y tres de ramnosa y el ácido arboresínico constituido por dos unidades de glucosa y tres de ramnosa. Estos compuestos fueron evaluados en un pequeño panel de líneas celulares (HCT-15, UIISO-SQC-1, OVCAR-5). Los compuestos **3-6**, **8-12** y **14-15** no mostraron actividad contra ninguna de las tres líneas celulares. Los compuestos **1**, **2**, **7** y **13** mostraron una baja actividad citotóxica ($EC_{50} = 5.0 \mu\text{g/mL}$) contra la línea celular OVCAR-5.



	R ₁	R ₂	R ₃
arboresinas 1 (1)	OH	H	niloilo
arboresinas 2 (2)	OH	acetilo	niloilo
arboresinas 3 (3)	OH	propanoilo	niloilo
arboresinas 4 (4)	OH	butanoilo	niloilo
arboresinas 5 (5)	OH	2-metilbutanoilo	niloilo
arboresinas 6 (6)	OH	tigloilo	niloilo
murucinas 1 (7)	H	acetilo	H
murucinas 2 (8)	H	propanoilo	H
murucinas 3 (9)	H	n-butanoilo	H
murucinas 4 (10)	H	2-metilbutanoilo	H
murucinas 5 (11)	H	3-hidroxi-2-metilbutanoilo	H
murucinas 6 (12)	H	acetilo	niloilo
murucinas 7 (13)	H	2-butenilo	niloilo
murucinas 8 (14)	H	tigloilo	niloilo
murucinas 9 (15)	H	H	H

Figura 33. Glicolípidos de la raíz de *Ipomoea arborescens*

2.7 Aspectos botánicos y etnobotánicos de *Ipomoea murucoides*

2.7.1 Clasificación Taxonómica

Reino	Vegetal
División	Anthophyta
Clase	Dicotyledoneae
Grupo	Sympetalae
Orden	Tubiflorae
Familia	Convolvulaceae
Género	<i>Ipomoea</i>
Especie	<i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult.

2.7.2 Descripción botánica y distribución geográfica

Ipomoea murucoides (Figura 34) es nativa de México y crece en las zonas tropicales,⁷⁵ formando parte de matorrales áridos abiertos, a menudo sobre pendientes rocosas o planas, frecuentemente en bosques de robles, entre 600 y 2000 m al nivel del mar. Entre los nombres comunes de *Ipomoea murucoides* encontramos: cazahuate, cazahuate negro, micaquáhuatl, ozote, pájaro bobo, árbol de venado, palo blanco, palo santo, siete camisas, siete pellejos, tonche, palo flojo, palo de muerto.⁷⁶ Esta especie se encuentra distribuida en Guerrero (Xalpatláhuac), Jalisco (San Martín Hidalgo), Michoacán (Zitácuaro, El Cerrito), Oaxaca (Huayapan, Santos Reyes Tepejillo), Estado de México (Nepantla de Sor Juana, Malinalco), Querétaro (Esperanza), Puebla (Valsequillo) y Morelos (Oaxtepec).

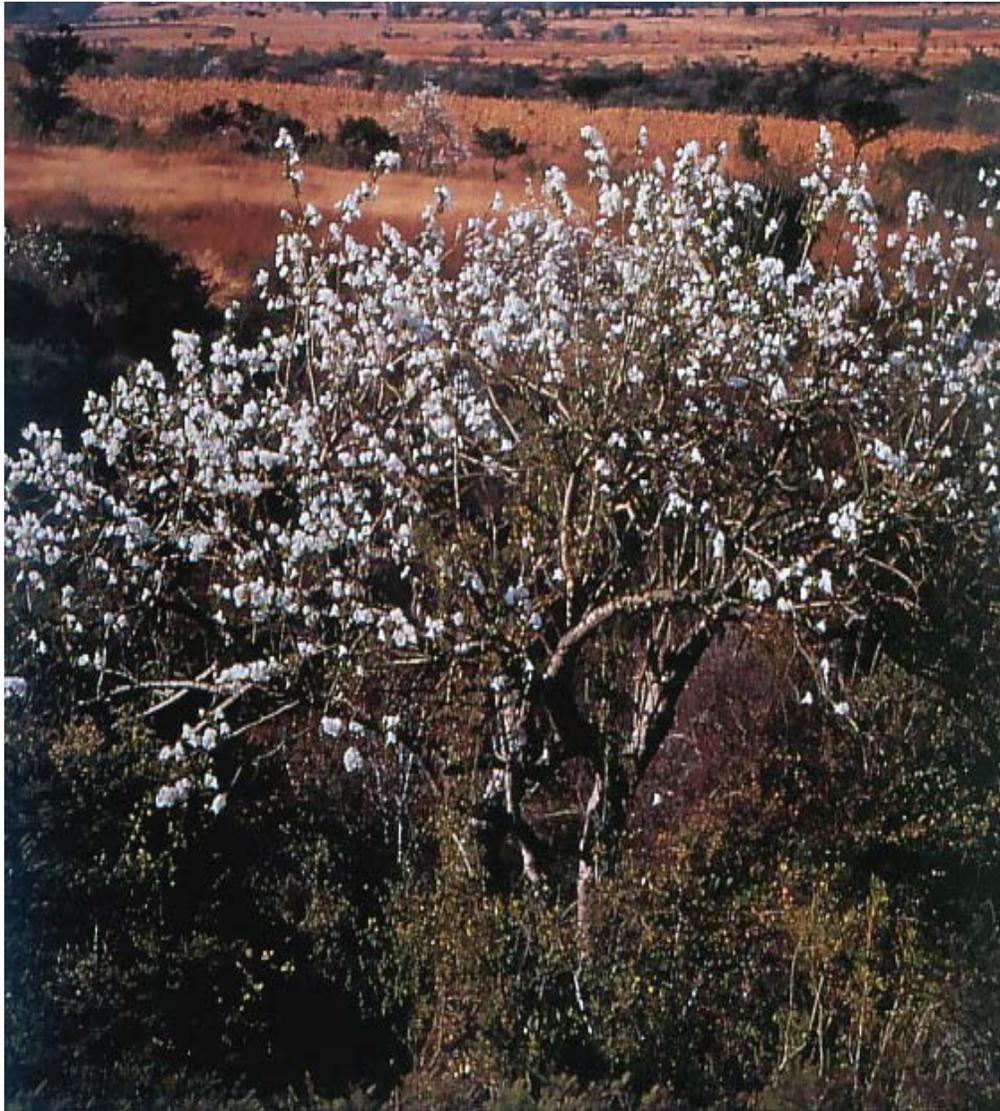


Figura 34. *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult.

La Figura 35 corresponde a una especie arbórea del género *Ipomoea* identificada con el nombre de *Convolvulus quahutzehuatl* y elaborada durante La Real Expedición Científica a Nueva España (siglo XVIII) comandada por los naturalistas José Mariano Mociño de origen mexicano y el español Martín Sessé. Se observa una segunda anotación identificandola como *Ipomoea multiflora*. Sin embargo, el nombre vernáculo “*Quauzehuatl*” (Quauh = árbol, zahuatl, çahuatl = roña, tiña) utilizado para su clasificación botánica corresponde a la variante del náhuatl contemporáneo de la palabra *cazahuátic*, que en el estado de Morelos derivó en cazahuate para nombrar a esta planta.



Figura 35. Dibujo acquarelado del árbol medicinal *Ipomoea murucoides*. [Véase R. McVaugh. Botanical Results of the Sessé & Mociño Expedition (1787-1803). Vol. VII. A Guide to Relevant Scientific Names of Plants. Hunt Institute for Botanical Documentation. Pittsburg, Carnegie Mellon University, 200: pp. 193-196. Turner Collection no. 1065]

Ipomoea murucoides es un árbol de 4 a 8 m de altura, de madera blanda pero resistente que produce látex, de tronco claro; con ramas floríferas de 5-6 mm de diámetro, flores solitarias, axilares o en panículas terminales. Sépalos desiguales; los exteriores de 20-25 mm de largo por 14-15 mm de ancho. Corola blanca, ampliamente acampanulada, pubescente por fuera, de 7-7.5 cm de diámetro; ovario cónico glabro. Semillas (Figura 36) de 11-12 mm de longitud, con largos pelos en la parte dorsal, superior y en los bordes, por lo demás, lisas, hojas oblongo-lanceoladas, 7-12 cm de largo, redondeadas a obtusas hacia la base, largamente acuminadas, pubescencia tomentosa en el envés, florece de octubre a abril y pierde las hojas de noviembre a diciembre.



Figura 36. Flores y semillas de *Ipomoea murucoides*.

2.7.3 Antecedentes etnobotánicos

La flor del cazahuate (Figura 37) se utiliza para detener las hemorragias. Su corteza se emplea como antídoto en la picadura de alacranes y mordedura de serpientes; su látex se aplica sobre heridas y llagas. Por otra parte la corteza del cazahuate se combina con otras plantas para tratar la inflamación. Además, el cazahuate se utiliza contra la parálisis y su cáscara hervida para evitar la caída del cabello refregándolo después de haberlo lavado.⁷⁶



Figura 37. Flores del cazahuate, *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult.

3. JUSTIFICACIÓN

El género *Ipomoea* posee múltiples actividades biológicas, destacándose sus propiedades citotóxicas de posible aplicación terapéutica. De acuerdo al criterio quimiotaxonómico, se eligió para la realización de un estudio químico a la especie medicinal mexicana *Ipomoea murucoides*. El aislamiento de los constituyentes de este género, las resinas glicosídicas, y la caracterización de su composición química permitirá ampliar el conocimiento relacionado con la diversidad estructural de estos metabolitos biodinámicos. Así, el presente trabajo de investigación plantea la obtención de los glicolípidos constituyentes de los extractos clorofórmico y metanólico de las flores de la especie en estudio y la determinación de su potencial citotóxico.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Ampliar la diversidad estructural relacionada con los glicolípidos de la familia Convolvulaceae mediante la obtención de los glicolípidos individuales que constituyen las complejas mezclas de las resinas glicosídicas presentes en el material vegetal de estudio, *Ipomoea murucoide*.

4.2 Objetivos específicos

4.2.1 Aislar y purificar mediante la aplicación de la cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAE) los glicolípidos individuales.

4.2.2 Caracterizar las estructuras de los constituyentes individuales mediante técnicas espectroscópicas (RMN) y espectrométricas (EM-FAB) de las resinas glicosídicas.

4.2.3 Evaluar el potencial citotóxico de los constituyentes individuales aislados de las resinas glicosídicas.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Determinación de las constantes físicas

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) de hidrógeno (^1H) y de carbono (^{13}C) se generaron en equipos Varian VXL-500 y Bruker DMX-500, operando a una frecuencia de 500 MHz en ^1H y 125 MHz en ^{13}C . Se utilizó piridina deuterada ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) y los desplazamientos químicos (δ) se expresaron en ppm utilizando como referencia interna el tetrametilsilano (TMS). Las rotaciones ópticas se determinaron en un polarímetro Perkin-Elmer 241 utilizando metanol y cloroformo como disolventes. Los espectros de masas fueron registrados en un aparato modelo JEOL SXIOA, utilizando como método de ionización el bombardeo con átomos acelerados (EM-FAB) en el modo negativo y a la trietanolamina como matriz. Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

5.2 Métodos cromatográficos

Los procedimientos cromatográficos involucrados para la realización del presente trabajo consistieron en la aplicación de la cromatografía en columna abierta para lograr el fraccionamiento primario de los extractos clorofórmico y metanólico. Se utilizó gel de sílice 60 Merck (70-230 mesh) para empacar las columnas; el cloroformo y el metanol se emplearon como fase móvil; la polaridad se incremento gradualmente (10% MeOH en eluatos de tres litros), iniciando la elución con cloroformo y terminado con metanol.

El análisis de la homogeneidad de las fracciones obtenidas en los fraccionamientos primarios se realizó mediante la cromatografía en capa fina, utilizándose cromatoplasmas de gel de sílice 60 F₂₅₄ sobre aluminio. Las cromatoplasmas después de eluidas se humedecieron con un agente cromógeno (mezcla H_2SO_4 -sulfato cérico) y se desarrolló el color por calentamiento sobre una parrilla a una temperatura de 80 °C.

La resolución de los constituyentes individuales de las resinas glicosídicas se realizó utilizando la cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAE). Los análisis llevados a cabo mediante esta técnica analítica permitió definir las condiciones óptimas para la separación y la purificación de cada uno de los constituyentes individuales de las resinas glicosídicas. Diversas fases estacionarias fueron probadas, siendo la fase inversa C-18 la que proporcionó el mejor perfil cromatográfico en términos de una mayor definición de los picos para cada uno de los constituyentes mayoritarios. Los disolventes utilizados fueron acetonitrilo, metanol y agua.

La instrumentación estuvo constituida por una bomba (modelo 600, Millipore Corp., Waters Chromatography Division, Milford, MA, USA) y un refractómetro diferencial (Waters 410), ambos integrados a un equipo de cómputo (OptiPlex 466/Le, Dell y Pentium 4). El control del equipo, la adquisición de datos, el proceso y el manejo de la información cromatográfica se hicieron a través de los software Millennium 2000 (Waters) y Empower 1 (Waters). Una válvula de reciclaje de muestra se adaptó al sistema cromatográfico para la purificación de los compuestos.

5.3 Material vegetal

La muestra analizada consistió en flores secas (426.8 g) de *Ipomoea murucoides*, recolectadas en la Ciudad Universitaria, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos en noviembre de 1996. La identificación del material fue hecha por el Biólogo Gustavo Soria Rocha; un voucher de la especie fue depositado en el herbario HUMO de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (voucher No 1520).

5.4 Obtención de los extractos clorofómico y metanólico de las flores

El material vegetal seco y pulverizado se sometió a una extracción con cloroformo y metanol mediante un proceso de maceración en periodos de tres días durante dos semanas para cada disolvente. Una vez concluido el tiempo de extracción, la solución se filtró y el disolvente se eliminó a presión reducida.

5.5 Separación y purificación de los glicolípidos de la jalpina

La separación de los glicolípidos individuales de la resina glicosídica de la jalpina de *Ipomoea murucoides* se realizó haciendo cortes de las fracciones primarias, utilizando la cromatografía líquida de alta eficiencia. El sistema adecuado consistió en una columna C-18 preparativa Symetry (19 × 300 mm, 7 μm); fase móvil: CH₃CN-MeOH (9:1); flujo: 9.0 mL/min; detector: índice de refracción; concentración de la muestra: 0.1 mg/μL y volumen de inyección: 500 μL. En todos los casos se aplicó la técnica de reciclaje de muestra.⁷⁷ Esta técnica consistió en hacer pasar la muestra problema por la misma columna preparativa (de 11 a 15 ciclos) para obtener la máxima separación y purificación (> 99%) de los constituyentes individuales en cada una de las fracciones secundarias.

5.5.1 Fraccionamiento de la fracción primaria XVIII

Se utilizaron 2.3 g de la fracción primaria XVIII obteniéndose aproximadamente doce picos (Figura 39; Resultados y Discusión, sección 6.2.1) en el sistema de elución binario seleccionado para realizar este fraccionamiento. En el caso de la fracción L ($t_R = 49.9$ min), se modificaron las condiciones en el sistema cromatográfico, utilizándose una columna C-18 preparativa Symetry (19 × 300 mm, 7 μm); fase móvil: MeOH; flujo: 7.0 mL/min; detector: índice de refracción.

5.5.2 Fraccionamiento de la fracción primaria XIX

De la fracción primaria **XIX** (1.0 g) se obtuvieron nueve picos (Figura **42** Resultados y Discusión, sección **6.2.2**) con el sistema de elución binario seleccionado para el fraccionamiento secundario de las fracciones primarias. Se modificó el sistema para la fracción A ($t_R = 7.9$ min), utilizándose como sistema de elución la mezcla CH₃CN–H₂O (7:3); flujo: 7.0 mL/min.

5.5.3 Fraccionamiento de la fracción primaria XX

Se utilizaron 3.0 g de la fracción primaria **XX**, obteniéndose ocho picos (Figura **44**; Resultados y Discusión, sección **6.2.3**) en el sistema de elución binario original. Se modificó el sistema cromatográfico para la fracción A ($t_R = 7.2$ min), utilizándose como sistema de elución CH₃CN–H₂O (7:3); flujo: 7.0 mL/min; columna: C–18 preparativa Symetry, (19 × 300 mm, 7 μm).

5.5.4 Fraccionamiento de la fracción primaria XXII

La fracción primaria **XXII** (0.3 g) proporcionó cinco picos (Figura **47**; Resultados y Discusión, sección **6.2.5**) en el sistema de elución binario original.

5.5.5 Fraccionamiento de la fracción primaria XXIV

Se analizaron 0.5 g de la fracción primaria **XXIV**, obteniéndose nueve picos en el sistema de elución previamente discutido (Figura **49**; Resultados y Discusión, sección **6.2.6**).

5.6 Caracterización estructural

La caracterización estructural de los glicolípidos individuales dependió en gran medida de la aplicación de diferentes técnicas en la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (500 MHz): COSY, TOCSY, HSQC y HMBC.^{25,78}

Por otro lado, la espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo constituye una técnica analítica esencial en la determinación estructural de los glicolípidos individuales.²⁵ Esta técnica permite el cálculo del peso molecular de los productos puros y la determinación de la naturaleza de los residuos ácidos, así como la posición de éstos en el núcleo glicosídico.

5.7 Preparación de derivados de la murucoidina X

5.7.1 Hidrólisis alcalina de la murucoidina X

La murucoidina X (6 mg) se sometió a una hidrólisis alcalina en medio acuoso (4 mL de KOH al 5%). La mezcla de reacción se sometió a un reflujo (95°C) con agitación constante durante tres horas. Al término de este tiempo, se ajustó el pH a 4 con HCl 4N y, posteriormente se extrajo con cloruro de metileno (3 × 6 mL). La fase orgánica proporcionó una mezcla de ácidos grasos.

5.7.2 Reacción de esterificación

5.7.2.1 Generación del diazometano

Para la generación del diazometano, a una solución de KOH (0.5 g en 2 mL de agua), 5 mL de EtOH y 6 mL de éter, se adicionaron 15 mL de una solución etérea de *N*-metil-*N*-nitroso-*O*-toluensulfonamida (10 g). La mezcla de reacción se mantuvo en

agitación continua en baño maría (58-60 °C). El CH₂N₂ se colectó mediante destilación en éter en baño de hielo.

5.7.2.2 Esterificación

A la mezcla de ácidos grasos disuelta en 3 mL de metanol se adicionó un exceso de la solución etérea de diazometano para llevar a cabo la reacción de esterificación. La adición del diazometano se realizó hasta que cesó el desprendimiento de N₂ en el medio de reacción.

5.7.3 Reacción de sililación

La mezcla de los ácidos grasos esterificados se hizo reaccionar con 0.2 mL del reactivo SIGMA SIL-A, una mezcla de trimetilclorosilano-hexametildisilano-piridina (1:3:9), a 70 °C durante 5 minutos para formar el derivado sililado. Estos ácidos fueron sometidos a un análisis mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-EM).

5.8 Evaluación de la citotoxicidad de los glicolípidos

Las líneas celulares derivadas de tumores humanos que fueron empleadas para estas evaluaciones son: carcinoma nasofaríngeo (KB), carcinoma laríngeo (Hep-2) y carcinoma cérvico (Hela). El estudio se realizó de acuerdo a las técnicas implementadas por el Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos.⁷⁹ Brevemente, los procedimientos metodológicos incluyen los siguiente pasos: las células se mantienen en medio RMPI 1640 (10X) suplementado con suero fetal bovino al 10%. Todas las líneas celulares se cultivan a 37 °C en una atmósfera al 5% de CO₂ en aire y 100% de humedad. Las células en fase log de su ciclo de crecimiento se sometieron por triplicado a diferentes concentraciones de las muestras a evaluar (0.16 a 20 µg/mL) y se incubaron durante 72 horas a 37 °C en una

atmósfera humificada al 5% de CO₂. Se usan microplacas de 96 cavidades con capacidad para 1.7 mL con 190 µL de suspensión celular (25,000 cel/mL) y 10µL de la muestra disuelta en DMSO en diferentes concentraciones (20, 4.0, 0.8 y 0.16 µg/mL). De la misma forma, se preparó un control con suspensión celular. La concentración celular se determinó mediante la cuantificación de las proteínas totales utilizando el método de tinción con la sulforodamina B.⁸⁰ Los resultados se expresaron como la concentración que inhibió el 50% del crecimiento del control después del periodo de incubación (CE₅₀). Los valores son estimados a partir de una gráfica semilogarítmica de la concentración del compuesto de prueba (µg/mL) contra el porcentaje de células viables. Se consideraron con actividad aquellos valores que presentaron una concentración efectiva media (CE₅₀) menor o igual a 4 µg/mL para los compuestos puros.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Estudio químico del extracto clorofórmico

La preparación del extracto clorofórmico de las flores de *Ipomoea murucoides* permitió la obtención de 59 g de jalapina, un rendimiento del 13.82%. El total de la jalapina se sometió a un fraccionamiento primario en columna abierta para lograr la separación preliminar de los constituyentes presentes en el extracto, obteniéndose 220 fracciones primarias que fueron reunidas de acuerdo a su homogeneidad cromatográfica. La elución se realizó con un sistema binario de CHCl_3 -MeOH mediante el incremento gradual de la polaridad, iniciando la elución con cloroformo y terminado con metanol. Al final, se obtuvieron veintiséis fracciones primarias (Figura 38) en orden creciente de polaridad (I-XXVI).

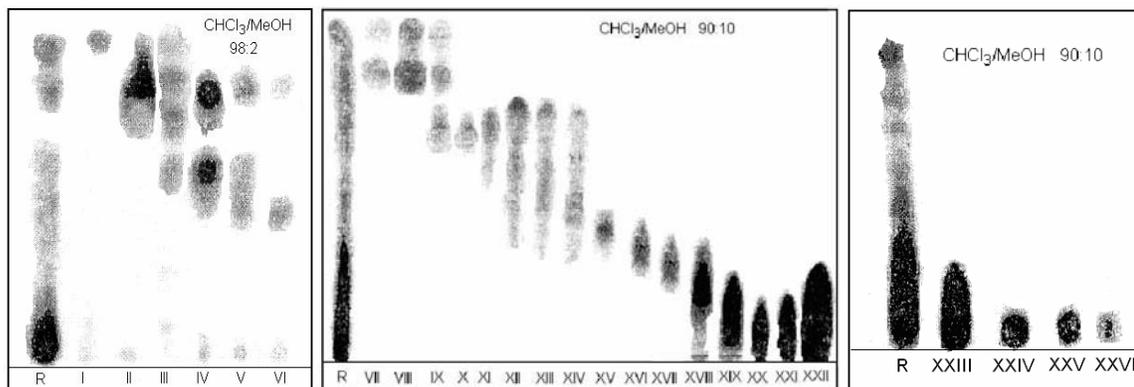


Figura 38. Cromatoplas en capa fina de los eluatos obtenidos durante el fraccionamiento primario del extracto clorofórmico de las flores de *Ipomoea murucoides*.

6.2 Análisis mediante CLAE de las fracciones primarias XVIII-XXV

Una vez efectuado el fraccionamiento primario, se inició la búsqueda de las condiciones de separación y purificación en cromatografía líquida de alta eficiencia de los

glicolípidos constituyentes de las fracciones primarias **XVIII-XXV**, las cuales mostraron la presencia de resinas glicosídicas mediante cromatografía en capa fina. Las cromatoplasmas de estas fracciones al ser reveladas con el reactivo cromógeno sulfato cérico-ácido sulfúrico desarrollaron el color amarillo parduzco característico de estos principios después de su calentamiento.

La búsqueda se inició utilizando columnas analíticas de fase reversa (C-18) y aminopropilmetilsilano (NH₂). El sistema cromatográfico adecuado consistió en una columna analítica C-18 (4.6 × 300 mm, 5 μm); flujo: 0.7 mL/min; fase móvil: CH₃CN-MeOH (9:1); con un detector de índice de refracción.

Una vez encontradas las condiciones a nivel analítico para la resolución de las muestras problemas, se procedió a extrapolar estas condiciones a nivel preparativo para lograr el aislamiento y la purificación de los constituyentes individuales presentes en cada una de las muestras. Las condiciones instrumentales a nivel preparativo se describen en la Parte Experimental, sección **5.5**.

6.2.1 Fraccionamiento secundario de la fracción primaria XVIII

En la Figura **39** se muestra el perfil cromatográfico de la fracción primaria **XVIII** en las condiciones ya descritas en la sección **6.2**. Considerando que se obtuvo una buena resolución en la separación de los picos que constituyen los glicolípidos individuales de esta fracción primaria, se procedió al fraccionamiento secundario mediante el empleo de las condiciones preparativas descritas anteriormente (Parte Experimental, sección **5.5.1**). Esta operación permitió la obtención de mezclas de menor complejidad que permitieron su total resolución y purificación.

Los eluatos que presentaron perfiles cromatográficos de menor complejidad y tiempo de retención adecuado para el reciclaje (i.e., entre 10-20 min), se sometieron a este proceso de purificación, de manera independiente. La aplicación de la técnica de

sobrecarga de columna, corte del núcleo y reciclaje del pico de interés⁷⁷ permitió la purificación de algunos glicolípidos individuales de la fracción primaria **XVIII**.

Los glicolípidos individuales novedosos se nombraron como murucoidinas I-XVIII, los números arábigos (**1-18**) se utilizaron para designar cada una de las estructuras que se agruparon en función de su núcleo oligosacárido y se describen en la sección **6.3**. Por lo tanto, los números arábigos no corresponden a la numeración romana.

Las fracciones B ($t_R = 9.2$ min, 60 mg), C ($t_R = 12.4$ min, 30 mg), D ($t_R = 13.6$ min, 35 mg), F ($t_R = 19.1$ min, 60 mg), G ($t_R = 22.8$ min, 70 mg) y H ($t_R = 30.4$ min, 100 mg) se sometieron a un proceso de purificación similar, permitiendo la obtención de las murucoidinas XVII (B-1, pico izquierdo), XVIII (B-2, pico derecho), XII (C), XIII (D), XIV (F), XV (G) y XVI (H). Las estructuras, así como las constantes físicas y espectrométricas para cada constituyente, se incluyen en los cuadros **1-7**.

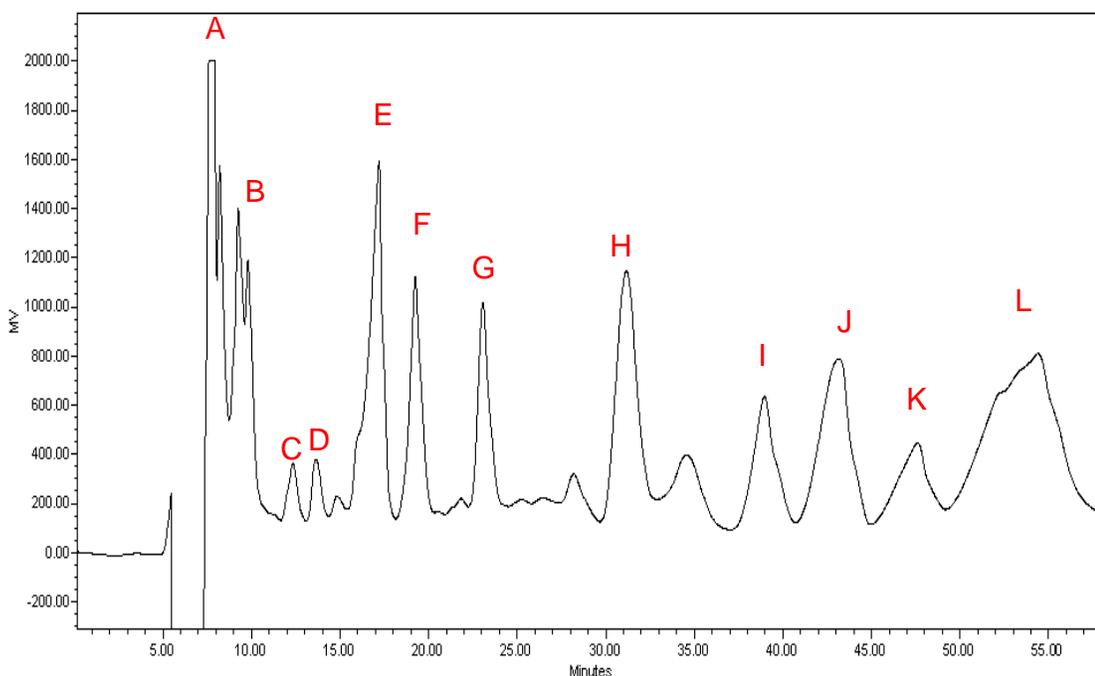


Figura 39. Cromatograma generado mediante CLAE a nivel analítico de la fracción primaria **XVIII**.

La Figura 40 ilustra el cromatograma obtenido al cabo de una secuencia de reciclamiento a través de la misma columna de la fracción secundaria C. A partir del octavo ciclo, se inició el desdoblamiento del pico en análisis; al término del decimoctavo ciclo se procedió al corte del pico minoritario con menor afinidad al soporte. Un total de 19 ciclos fueron suficientes para obtener la máxima pureza de la muestra problema.

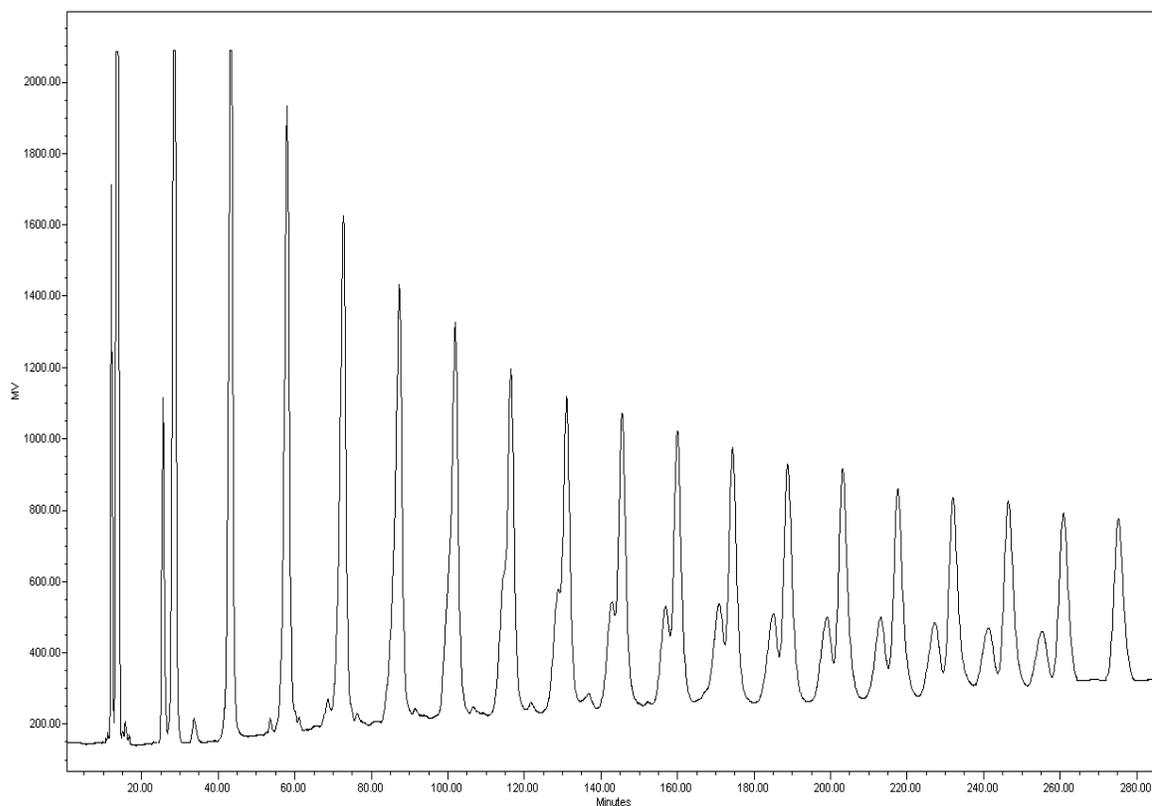
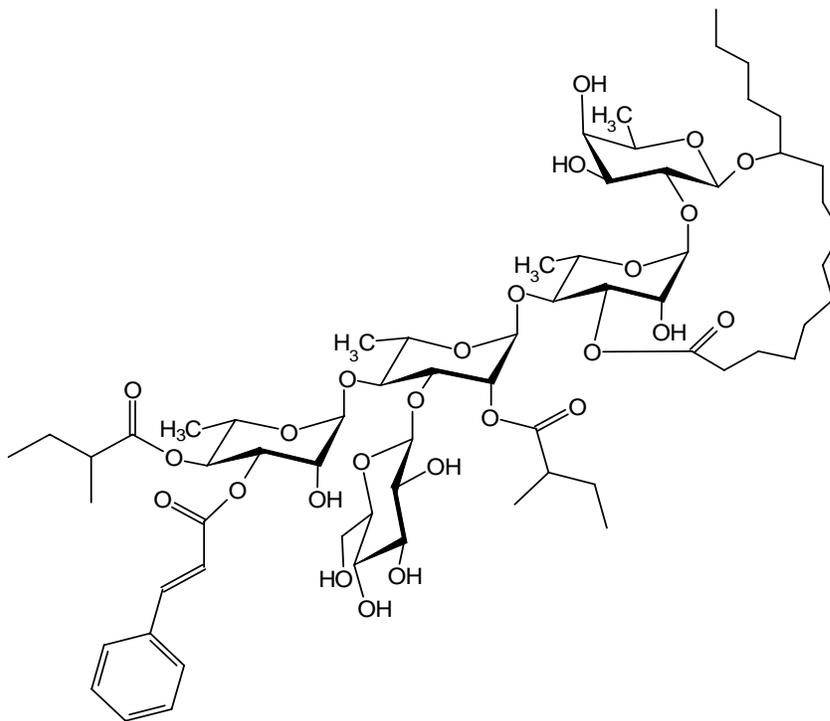
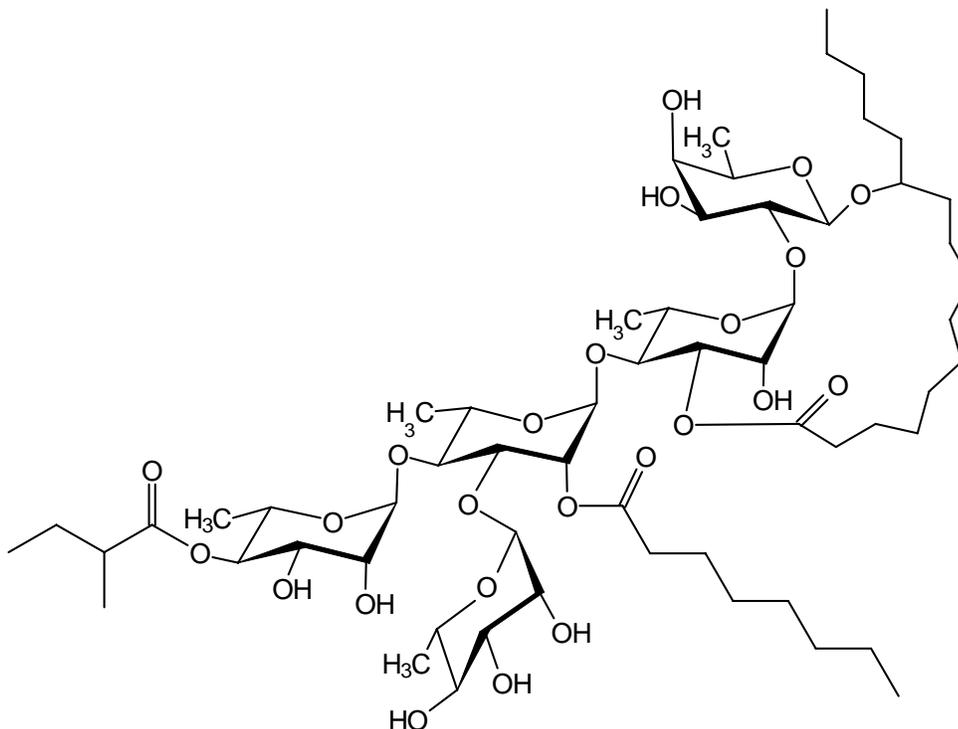


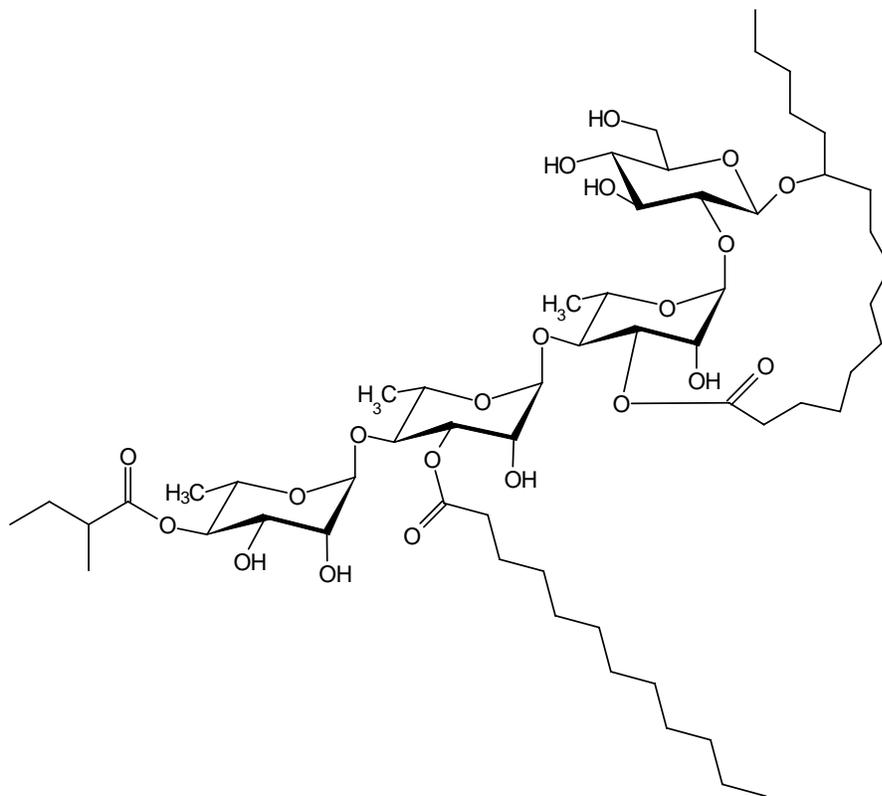
Figura 40. Cromatograma generado mediante la purificación con CLAE del pico minoritario C de la fracción primaria XVIII, en donde se ilustra el empleo de la técnica de corte de núcleo y reciclaje de la muestra.

Cuadro 1. Constantes físicas y espectrométricas de la muruoidina XVII (9).

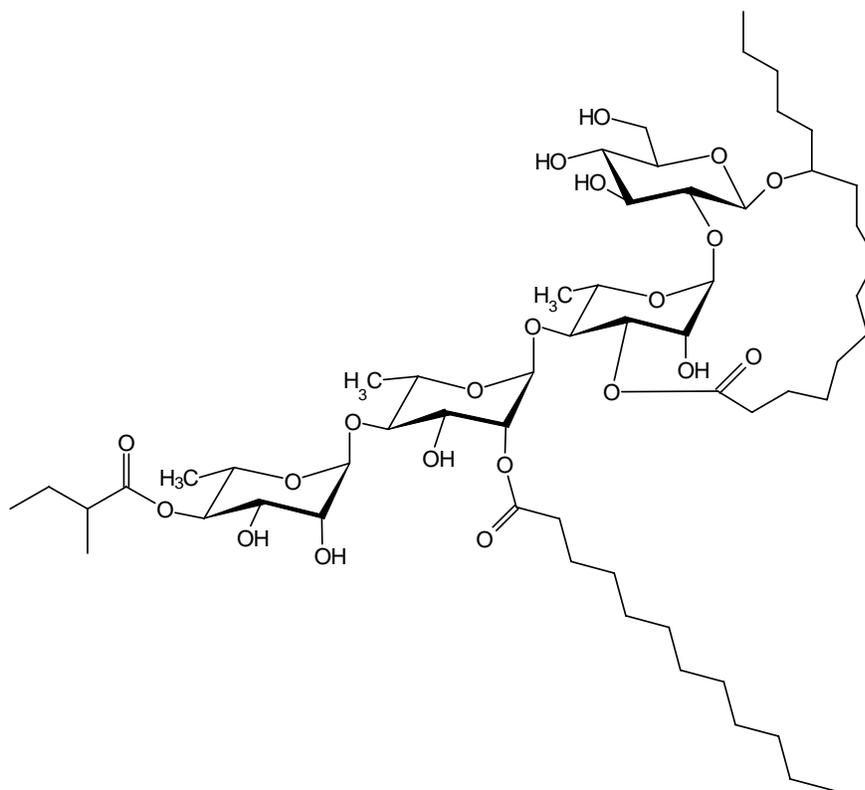
Muruoidina XVII (9): sólido blanco; **p.f.** 133-135 °C; $[\alpha]_D -98$ (*c* 0.20, MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) *m/z*: 1297 $[M - H]^-$ ($C_{65}H_{101}O_{26}$), 1167 $[M - H - C_9H_6O$ (cna - H)] $^-$, 1083 $[1167 - C_5H_8O$ (mba - H)] $^-$, 937 $[1083 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 545 $[937 - 146$ (metilpentosa) - 162 (hexosa) - 84 (C_5H_8O)] $^-$, 417 $[545 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[417 - 146$ (metilpentosa); ácido jalapínico - H] $^-$. **EM FAB-AR** *m/z*: 1297.6576 $[M - H]^-$ (calculado = 1297.6581).

Cuadro 2. Constantes físicas y espectrométricas de la murucoidina XVI (19).

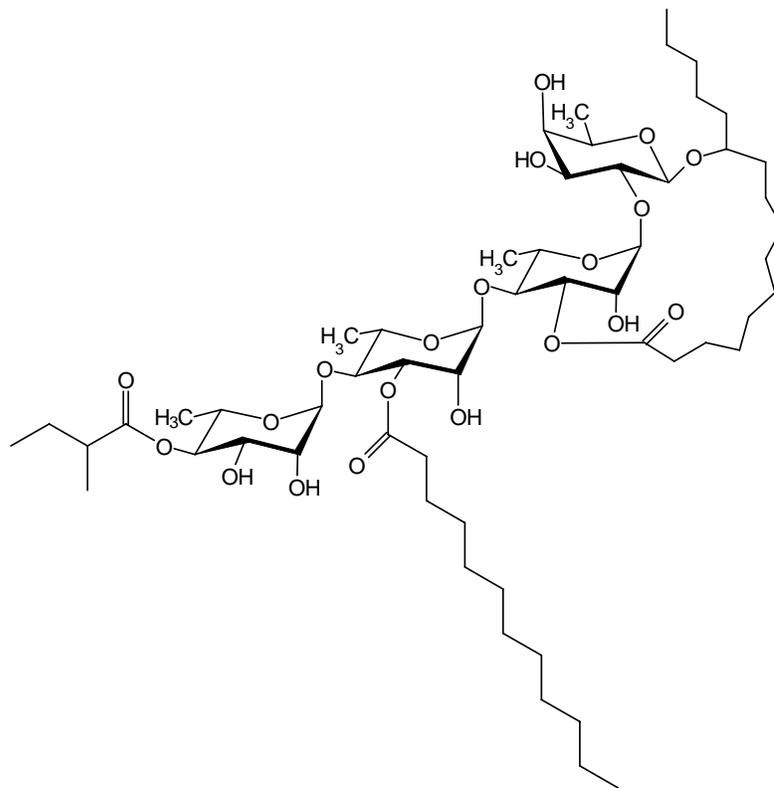
Murucoidina XVIII (19): sólido blanco; **p.f.** 123-126 °C; $[\alpha]_D -88$ (c 0.2, MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) m/z : 1193 $[M - H]^-$ ($C_{59}H_{101}O_{24}$), 1067 $[M - H - C_8H_{14}O$ (octa - H)] $^-$, 963 $[M - H - 146$ (metilpentosa) - C_5H_8O (mba - H)] $^-$, 837 $[963 - C_8H_{14}O]^-$, 545 $[837 - 2 \times 146$ (metilpentosa)] $^-$, 417 $[545 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[417 - 146$ (metilpentosa); ácido jalapínico - H] $^-$. **EM FAB-AR** m/z : 1193.6678 $[M - H]^-$ (calculado = 1193.6683).

Cuadro 3. Constantes físicas y espectrométricas de la murucoidina XII (4).

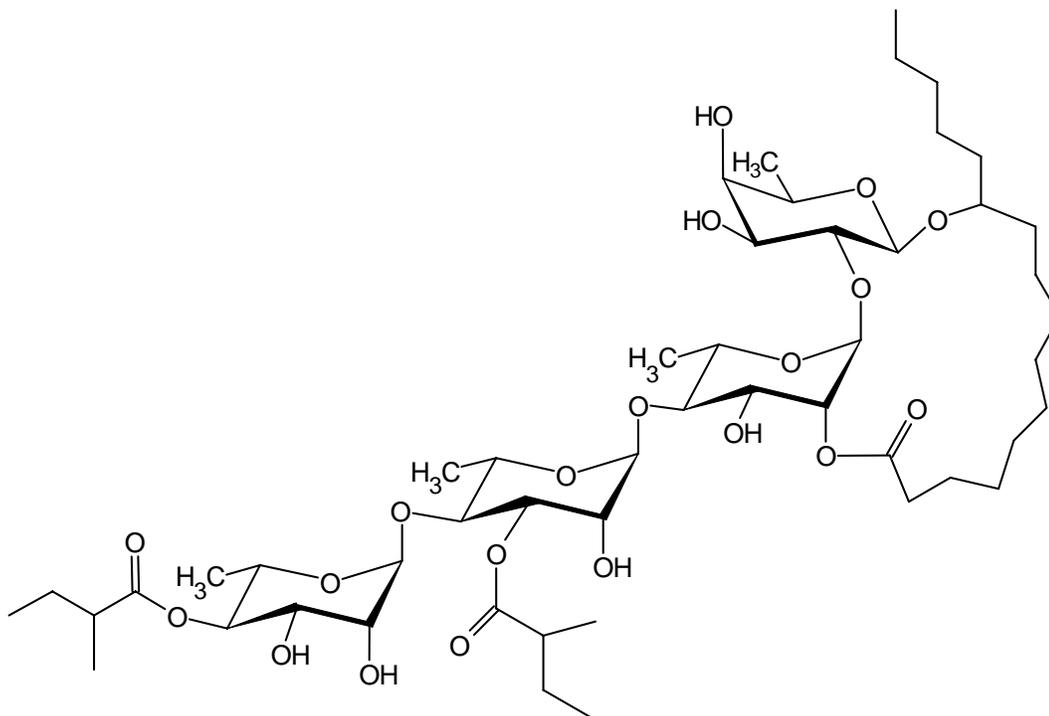
Murucoidina XII (4): sólido blanco; **p.f.** 96-98 °C; $[\alpha]_D -67.0$ (*c* 0.10, MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) *m/z*: 1119 $[M - H]^-$ ($C_{57}H_{99}O_{21}$), 937 $[M - H - C_{12}H_{22}O$ (dodeca - H)] $^-$, 853 $[937 - C_5H_8O]^-$, 707 $[853 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 561 $[707 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 433 $[561 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[433 - 162$ (hexosa); ácido jalapinólico - H] $^-$. **EM FAB-AR** *m/z*: 1119.6674 $[M - H]^-$ (calculado = 1119.6679).

Cuadro 4. Constantes físicas y espectrométricas de la murucoidina XIII (5).

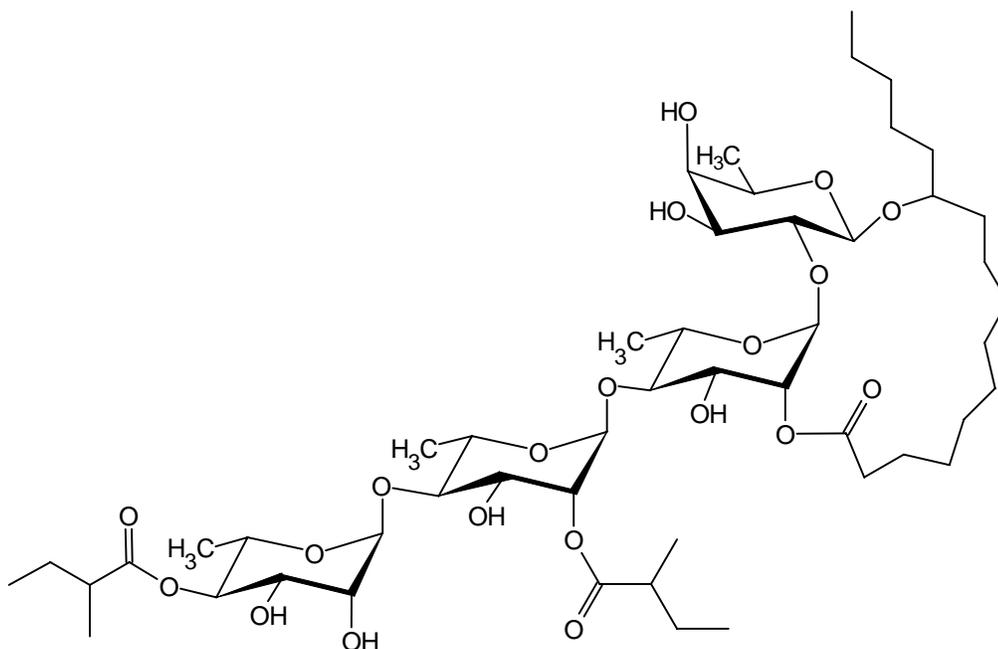
Murucoidina XIII (5): sólido blanco; **p.f.** 100-104 °C; $[\alpha]_D -78$ (c 0.20, MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) m/z : 1119 $[M - H]^-$ ($C_{57}H_{99}O_{21}$), 937 $[M - H - C_{12}H_{22}O$ (dodeca - H)] $^-$, 853 $[937 - C_5H_8O]^-$, 707 $[853 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 561 $[707 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 433 $[561 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[433 - 162$ (hexosa); ácido jalapινόlico - H] $^-$. **EM FAB-AR** m/z : 1119.6676 $[M - H]^-$ (calculado = 1119.6679).

Cuadro 5. Constantes físicas y espectrométricas de la mururoidina XIV (11).

Mururoidina XIV (11): sólido blanco; **p.f.** 125-127 °C; $[\alpha]_D^{20}$ -60 (*c* 0.47, MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) *m/z*: 1103 $[M - H]^-$ ($C_{57}H_{99}O_{20}$), 921 $[M - H - C_{12}H_{22}O$ (dodeca - H)] $^-$, 837 $[921 - C_5H_8O]^-$, 691 $[837 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 545 $[691 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 417 $[545 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[417 - 146$ (metilpentosa); ácido jalapínico - H] $^-$. **EM FAB-AR** *m/z*: 1103.6724 $[M - H]^-$ (calculado = 1103.6729).

Cuadro 6. Constantes físicas y espectrométricas de la murucoidina XV (12).

Murucoidina XV (12): sólido blanco; **p.f.** 125-127 °C; $[\alpha]_D -29$ (*c* 0.35, MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) *m/z*: 1005 $[M - H]^-$ ($C_{50}H_{85}O_{20}$), 921 $[M - H - C_5H_8O$ (mba - H)] $^-$, 691 $[921 - C_5H_8O - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 545 $[691 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 417 $[545 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[417 - 146$ (metilpentosa)]; ácido jalapinólico - H] $^-$. **EM FAB-AR** *m/z*: 1005.5629 $[M - H]^-$ (calculado = 1005.5634).

Cuadro 7. Constantes físicas y espectrométricas de la murucoidina XVI (13).

Murucoidina XVI (13): sólido blanco; **p.f.** 108-111 °C; $[\alpha]_D^{25}$ -66 (*c* 0.60, MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) *m/z*: 1005 $[M - H]^-$ ($C_{50}H_{85}O_{20}$), 921 $[M - H - C_5H_8O$ (mba - H)] $^-$, 837 $[921 - C_5H_8O]^-$, 775 $[921 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 691 $[775 - C_5H_8O]^-$, 545 $[691 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 417 $[545 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[417 - 146$ (metilpentosa); ácido jalapinólico - H] $^-$. **EM FAB-AR** *m/z*: 1005.5630 $[M - H]^-$ (calculado = 1005.5634).

Para optimizar el tiempo de retención de la fracción L ($t_R = 49.9$ min) fue necesario modificar el sistema de elución realizando pruebas preliminares en la columna analítica C-18 (4.6×300 mm, $5 \mu\text{m}$). Las siguientes condiciones instrumentales resultaron adecuadas: eluyente: metanol, flujo: 0.6 mL/min; detector: índice de refracción; las condiciones a nivel preparativo se describieron en la Parte Experimental, sección 5.5.1. El cromatograma generado en estas condiciones para la fracción L se ilustra en la Figura 41. La fracción L se encuentra constituida por un compuesto mayoritario (L-1; $t_R = 12.00$ min), el cual fue colectado mediante la técnica de corte de núcleo y, posteriormente, reciclado mediante la técnica de sobrecarga de columna. Este análisis de la fracción L proporcionó el compuesto intrapilosina I, previamente aislado de la especie medicinal *Ipomoea intrapilosa*.⁸¹ En el cuadro 8 se resumen sus constantes físicas y espectrométricas.

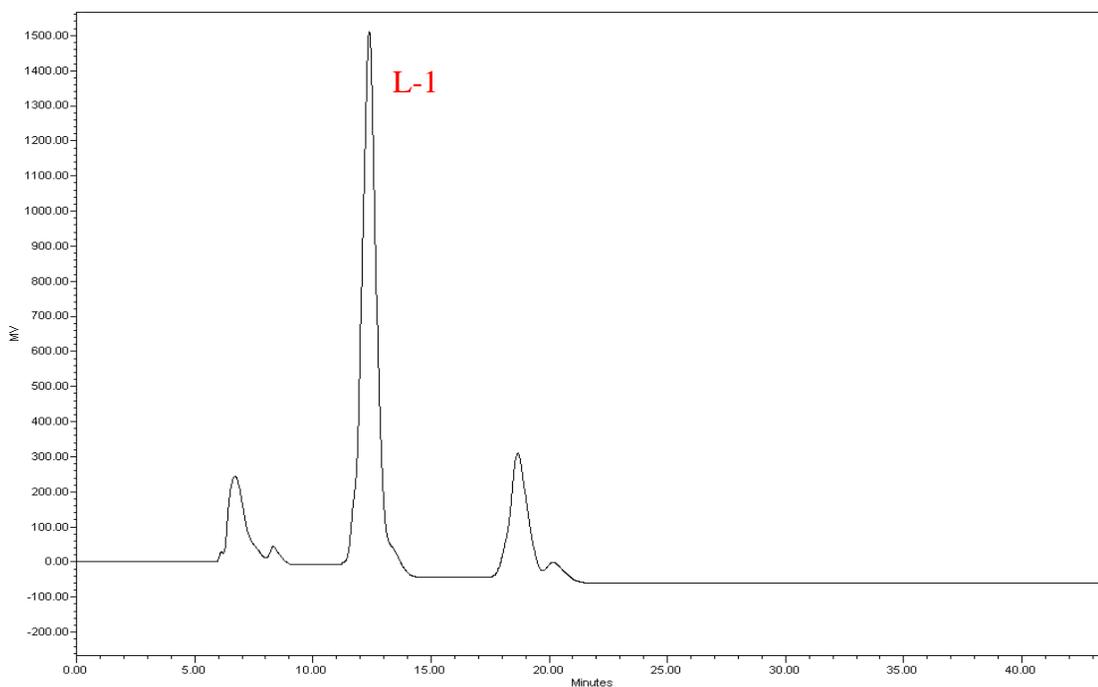
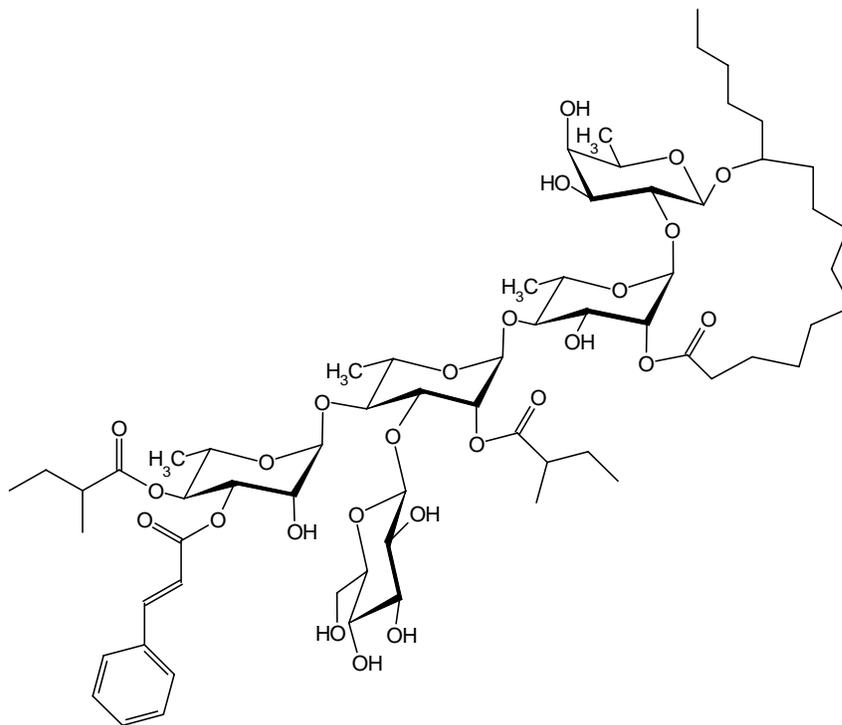


Figura 41. Cromatograma generado mediante CLAE de la fracción secundaria L (fracción primaria XVIII).

Cuadro 8. Constantes físicas y espectrométricas de la intrapilosina I (**10**).

Intrapilosina I (10): sólido blanco; **p.f.** 136-139 °C; $[\alpha]_D -24$ (*c* 0.16, MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) *m/z*: 1297 $[M - H]^-$ ($C_{65}H_{101}O_{26}$), 1167 $[M - H - C_9H_6O (cna)]^-$, 1083 $[1167 - C_5H_8O (mba - H)]^-$, 937 $[1083 - 146 (metilpentosa)]^-$, 545 $[937 - 146 (metilpentosa) - 162 (hexosa) - (C_5H_8O)]^-$, 417 $[545 + 18 (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)]^-$, 271 $[417 - 146 (metilpentosa); \text{ácido jalapινόlico} - H]^-$. **EM FAB-AR** *m/z*: 1297.6579 $[M - H]^-$ (calculado = 1297.6581).

6.2.2 Fraccionamiento de la fracción primaria XIX

En la Figura 42 se muestra el perfil cromatográfico de la fracción primaria XIX en las condiciones ya descritas en la Parte Experimental, sección 5.5. Al considerar la buena resolución de los picos que constituyen los glicolípidos individuales de esta fracción primaria, se procedió a su fraccionamiento secundario en una columna preparativa, obteniéndose mezclas de menor complejidad que pudieron ser resueltas y purificadas.

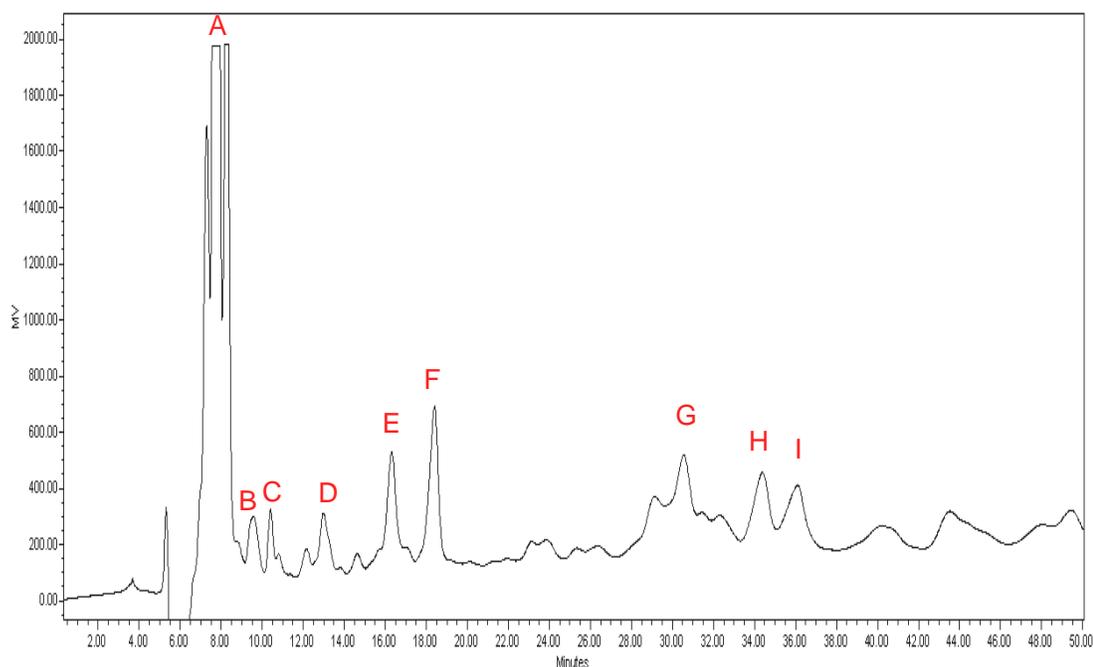


Figura 42. Cromatograma generado mediante CLAE a nivel analítico de la fracción primaria XIX.

La resolución obtenida en la separación de las fracciones B ($t_R = 9.6$ min, 17 mg), C ($t_R = 10.6$ min, 12 mg), D ($t_R = 13.5$ min, 15 mg), E ($t_R = 16.3$ min, 35 mg) y F ($t_R = 18.4$ min, 40 mg) permitió su posterior reciclaje. La aplicación de la técnica de sobrecarga de columna, corte del núcleo y reciclaje del pico permitió la purificación de la pescapreina III (E) y las murucoidinas X (B) y XI (F). Las fracciones C y D presentaron una mayor complejidad que impidió su caracterización mediante RMN, ya que las cantidades de los compuestos puros a obtener eran muy bajas.

Con el objetivo de incrementar el tiempo de retención y lograr una mejor resolución de la fracción secundaria A ($t_R = 7.9$ min, 250 mg), se hicieron pruebas preliminares en columnas analíticas de fase reversa (C-18) con un sistema de detección de índice de refracción y un flujo de 0.7 mL/min. El sistema cromatográfico adecuado consistió en una columna analítica C-18 (4.6×300 mm, $5 \mu\text{m}$); flujo: 0.7 mL/min; fase móvil: $\text{CH}_3\text{CN-H}_2\text{O}$ (7:3); se realizó el escalamiento de estas condiciones instrumentales analíticas a un nivel preparativo (Parte Experimental, sección 5.5.2). La Figura 43 ilustra el cromatograma obtenido a nivel preparativo para la fracción A, la cual se encuentra constituida por cuatro picos mayoritarios; cada uno de éstos picos se cortó y, posteriormente, fueron reciclados mediante la técnica de sobrecarga de columna. Este análisis permitió la purificación de las murucoidinas V (A-4; $t_R = 50$ min), IX (A-2; $t_R = 24$ min) y la estoloniferina I (A-3; $t_R = 32.5$ min). No se logró la resolución de la subfracción A-1 ($t_R = 23.5$ min).

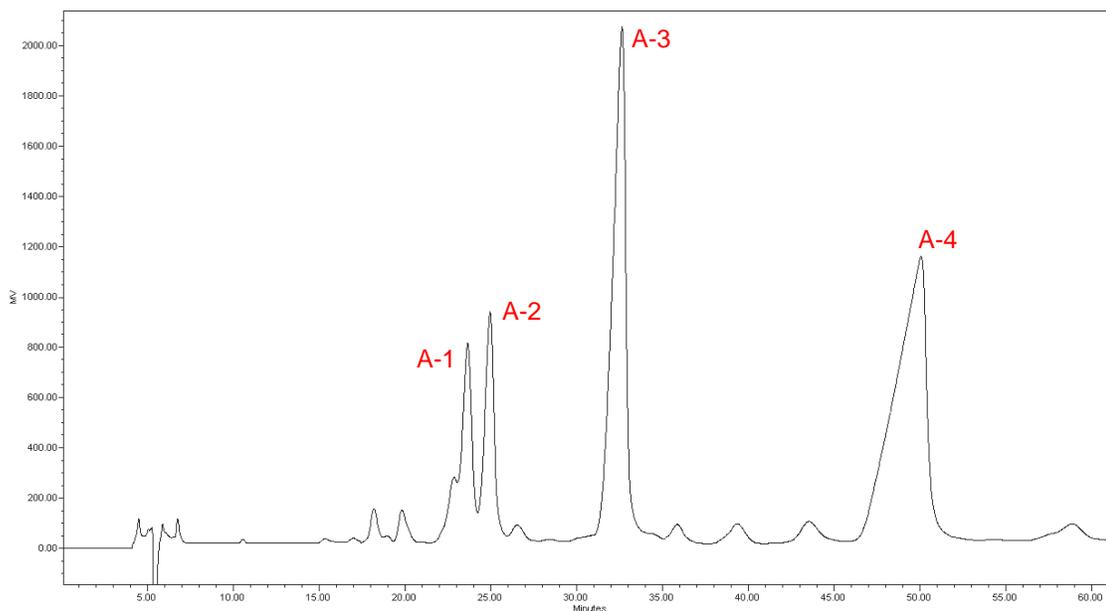
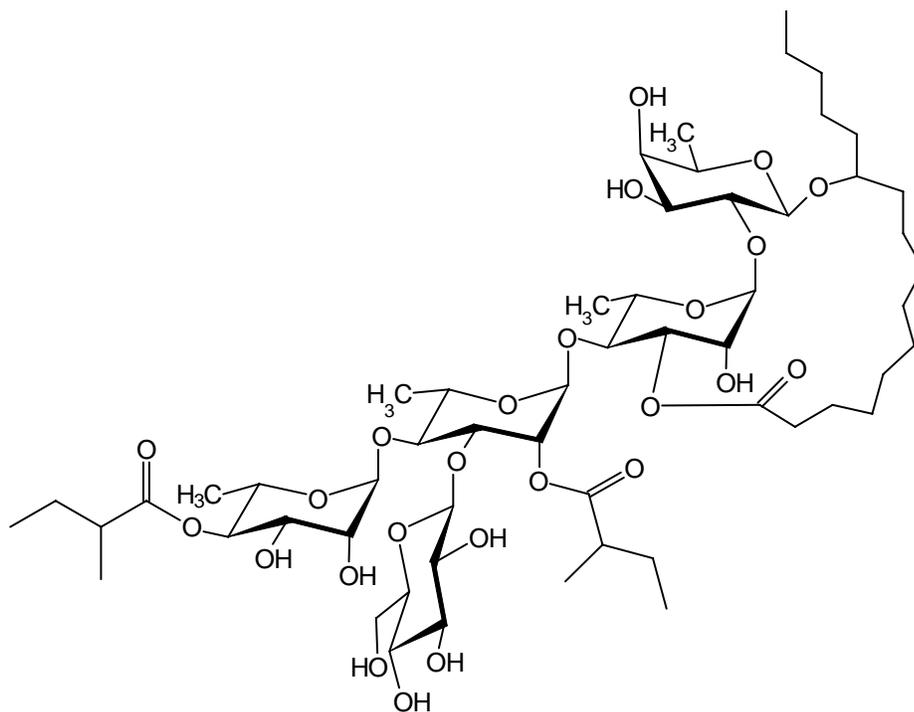
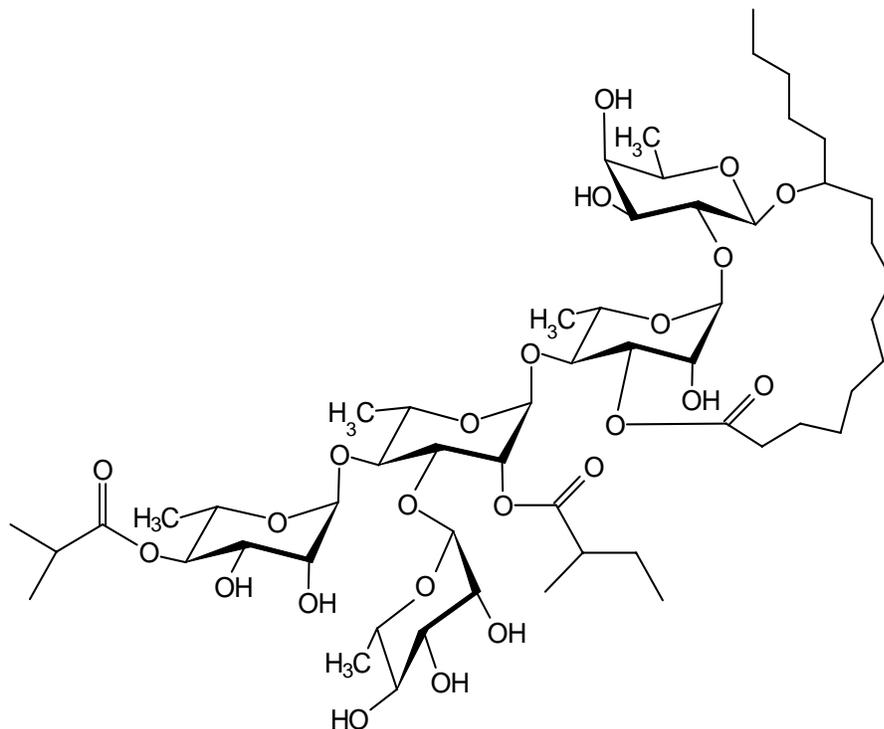


Figura 43. Cromatograma generado mediante CLAE de la fracción secundaria A (fracción primaria XIX).

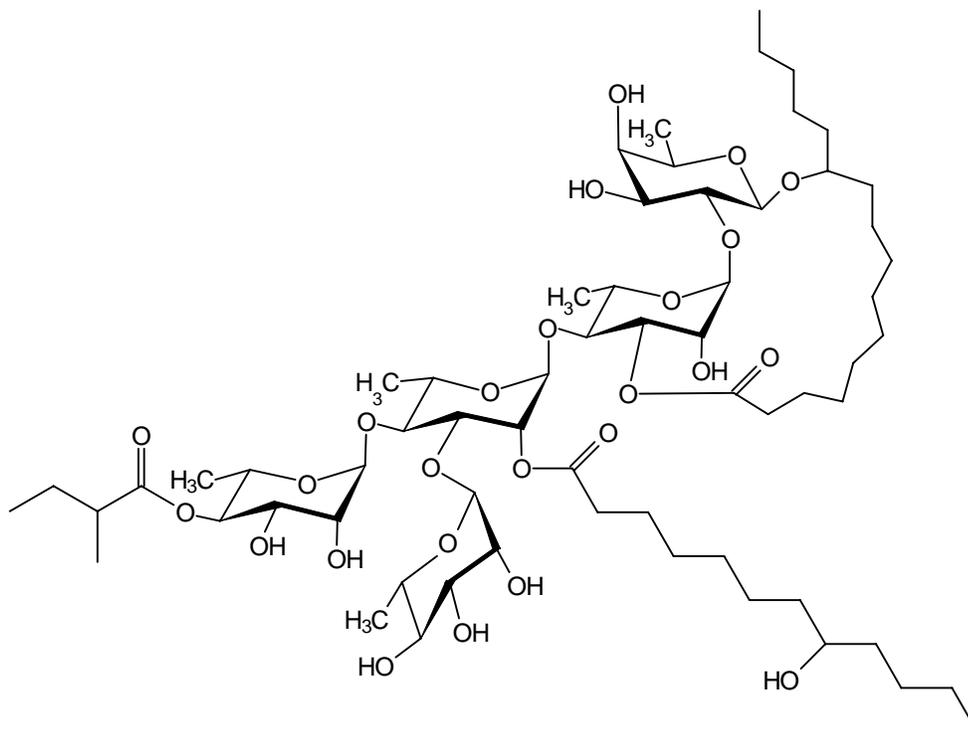
Los compuestos obtenidos de la fracción primaria XIX, sus constantes físicas y espectrométricas se incluyen en los cuadros 9-14.

Cuadro 9. Constantes físicas y espectrométricas de la murucoidina V (7).

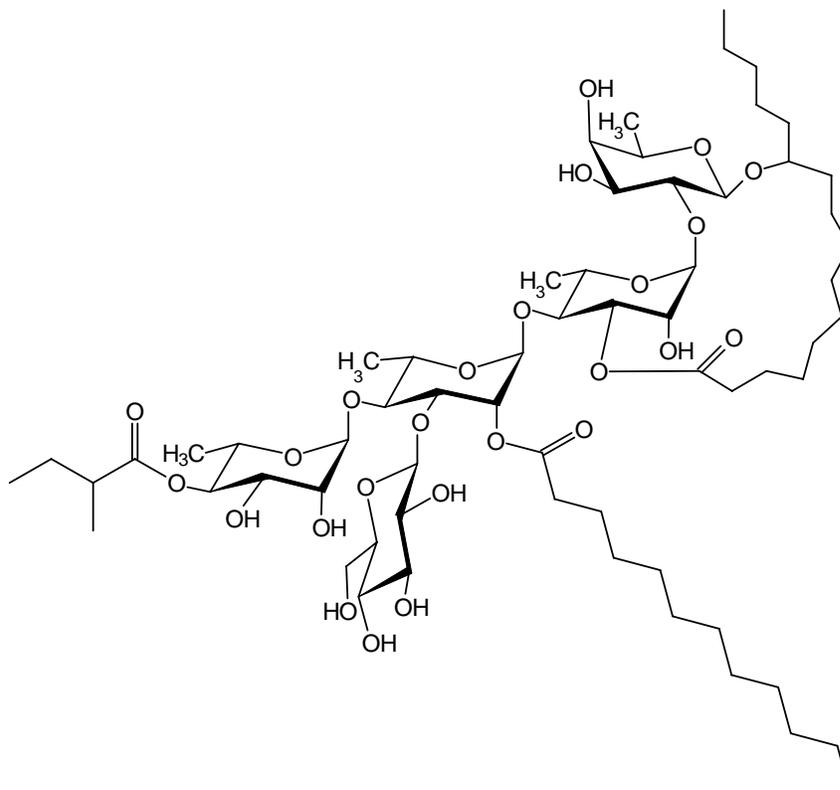
Murucoidina V (7): sólido blanco; **p.f.** 148-150 °C; $[\alpha]_D -29$ (*c* 0.14, MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) *m/z*: 1167 $[M - H]^-$ ($C_{56}H_{95}O_{25}$), 1083 $[M - H - C_5H_8O$ (mba - H)] $^-$, 937 $[1085 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 545 $[939 - 162$ (hexosa) - 146 (metilpentosa) - C_5H_9O] $^-$, 417 $[545 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[417 - 146$ (metilpentosa); ácido jalapinólico - H] $^-$. **EM FAB-AR** *m/z*: 1167.6162 $[M - H]^-$ (calculado = 1167.6162).

Cuadro 10. Constantes físicas y espectrométricas de la murucoidina IX (17).

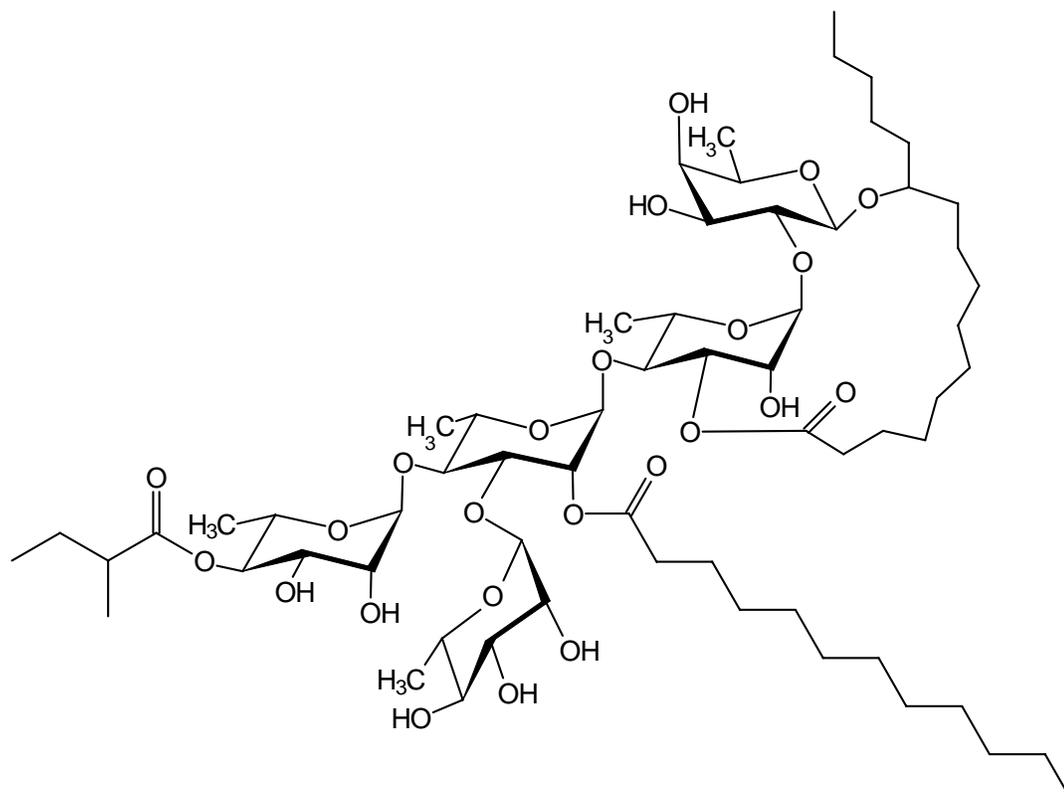
Murucoidina IX (17): sólido blanco; **p.f.** 156-158 °C; $[\alpha]_D^{25} -74$ (*c* 0.07 MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) *m/z*: 1137 $[M - H]^-$ ($C_{55}H_{93}O_{24}$), 1053 $[M - H - C_5H_8O$ (mba - H)] $^-$, 991 $[M - H - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 921 $[991 - C_4H_6O$ (iba - H)] $^-$, 837 $[921 - C_5H_8O]^-$, 545 $[837 - 2 \times 146$ (metilpentosa)] $^-$, 417 $[545 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[417 - 146$ (metilpentosa); ácido jalapínolico - H] $^-$. **EM FAB-AR** *m/z*: 1137.6051 $[M - H]^-$ (calculado = 1137.6057).

Cuadro 11. Constantes físicas y espectrométricas de la murucoidina X (**18**).

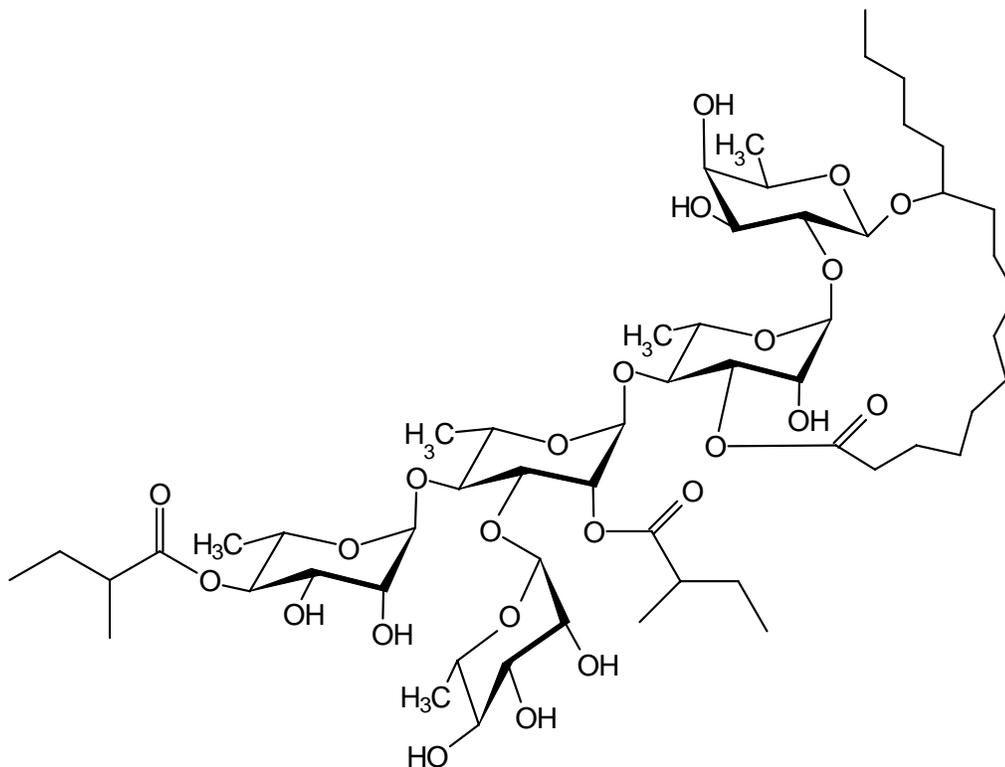
Murucoidina X (18): sólido blanco; p.f. 128-130 °C; $[\alpha]_D -53$ (*c* 0.15, MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) *m/z*: 1265 $[M - H]^-$ ($C_{63}H_{109}O_{25}$), 1067 $[M - H - C_{12}H_{22}O_2$ (8-hidroxidodeca)] $^-$, 691 $[1067 - 2 \times 146$ (metilpentosa) $- C_5H_8O]^-$, 545 $[691 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 417 $[545 + 18$ (hidrólisis de la lactona) $- 146$ (metilpentosa)] $^-$, 271 $[417 - 146$ (metilpentosa); ácido jalapinólico $- H]^-$. **EM FAB-AR** *m/z*: 1265.7254 $[M - H]^-$ (calculado = 1265.7258).

Cuadro 12. Constantes físicas y espectrométricas de la mururoidina XI (**8**).

Mururoidina XI (8): sólido blanco; **p.f.** 156-158 °C; $[\alpha]_D -50$ (*c* 0.32 MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) *m/z*: 1265 $[M - H]^-$ ($C_{63}H_{109}O_{25}$), 1181 $[M - H - C_5H_8O$ (mba - H)] $^-$, 1083 $[M - H - C_{12}H_{22}O]^-$, 921 $[1083 - 162$ (hexosa) $- C_5H_8O$ (mba - H)] $^-$, 545 $[921 - 2 \times 146$ (metilpentosa) $- C_5H_8O]^-$, 417 $[545 + 18$ (hidrólisis de la lactona) $- 146$ (metilpentosa)] $^-$, 271 $[417 - 146$ (metilpentosa); ácido jalapínico - H] $^-$. **EM FAB-AR** *m/z*: 1265.7253 $[M - H]^-$ (calculado = 1265.7258).

Cuadro 13. Constantes físicas y espectrométricas de la pescapreina III (21).

Pescapreina III (21): sólido blanco; **p.f.** 121-123 °C; $[\alpha]_D^{20}$ -70 (*c* 0.4, MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) *m/z*: 1249 $[M - H]^-$ ($C_{63}H_{109}O_{24}$), 1165 $[M - H - C_5H_8O$ (mba - H)] $^-$, 1067 $[M - H - C_{12}H_{22}O$ (dodeca - H)] $^-$, 837 $[1067 - C_5H_8O - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 545 $[837 - 2 \times 146$ (metilpentosa)] $^-$, 417 $[545 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[417 - 146$ (metilpentosa); ácido jalapínolico - H] $^-$. **EM FAB-AR** *m/z*: 1249.7224 $[M - H]^-$ (calculado = 1249.7309).

Cuadro 14. Constantes físicas y espectrométricas de la estoloniferina I (20).

Estoloniferina I (20): sólido blanco; **p.f.** 158-160 °C; $[\alpha]_D -78$ (*c* 0.1, MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) *m/z*: 1151 $[M - H]^-$ ($C_{56}H_{95}O_{24}$), 1067 $[M - H - C_5H_8O$ (mba - H)] $^-$, 921 $[1067 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 545 $[921 - 2 \times 146$ (metilpentosa) - $C_5H_8O]$ $^-$, 417 $[545 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[417 - 146$ (metilpentosa); ácido jalapinólico - H] $^-$. **EM FAB-AR** *m/z*: 1151.6215 $[M - H]^-$ (calculado = 1151.6213).

6.2.3 Fraccionamiento secundario de la fracción primaria XX

El perfil cromatográfico de la fracción primaria **XX**, en las condiciones ya descritas, se muestra en la Figura 44. Considerando que se obtuvo una buena resolución en la separación de los picos que constituyen esta fracción primaria, se procedió al fraccionamiento secundario en una columna preparativa en un sistema de cromatografía líquida de alta eficiencia, obteniéndose mezclas de menor complejidad. Las fracciones D ($t_R = 14.3$ min, 10 mg), F ($t_R = 24.4$ min, 60 mg) y G ($t_R = 30.1$ min, 50 mg) se reciclaron y la aplicación de la técnica de sobrecarga de columna y corte del núcleo permitió la purificación de las murucoidinas VI (D), III (F) y IV (G). Las fracciones B y C fueron mezclas muy complejas y de bajo rendimiento, por lo que no se logró la identificación de los glicolípidos constitutivos de estos picos.

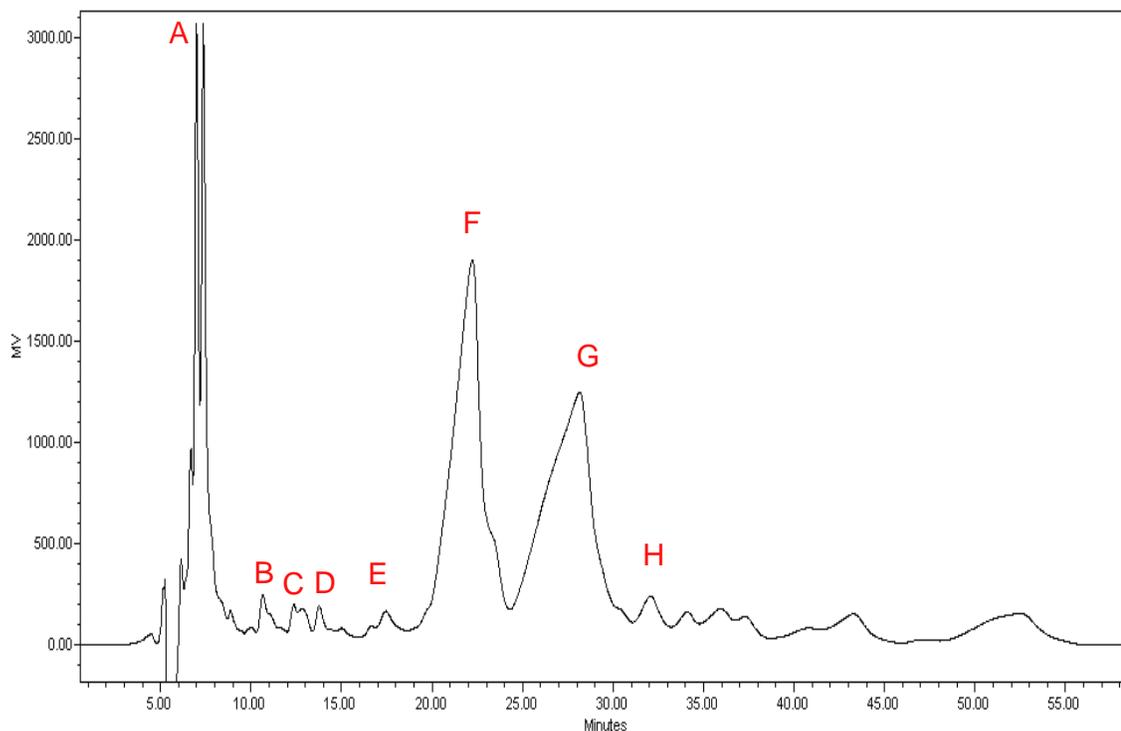


Figura 44. Cromatograma generado mediante CLAE a nivel analítico de la fracción primaria **XX**.

Para incrementar el tiempo de retención y mejorar la resolución de la fracción secundaria A ($t_R = 7.2$ min, 45 mg), se procedió a utilizar el mismo sistema de elución empleado para la fracción secundaria A obtenida de la fracción primaria XIX, que consistía en una columna C-18, con un flujo de 7.0 mL/min, y una fase móvil compuesta por CH₃CN-H₂O (7:3). El cromatograma obtenido para la fracción secundaria A se muestra en la Figura 45.

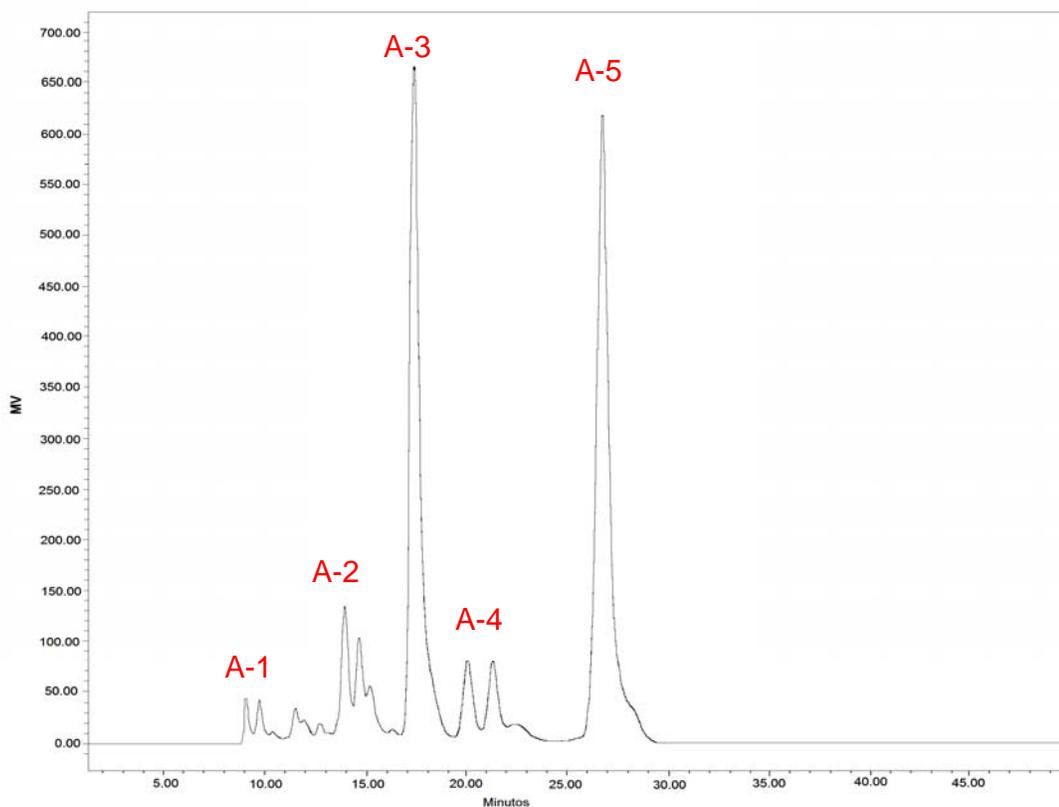
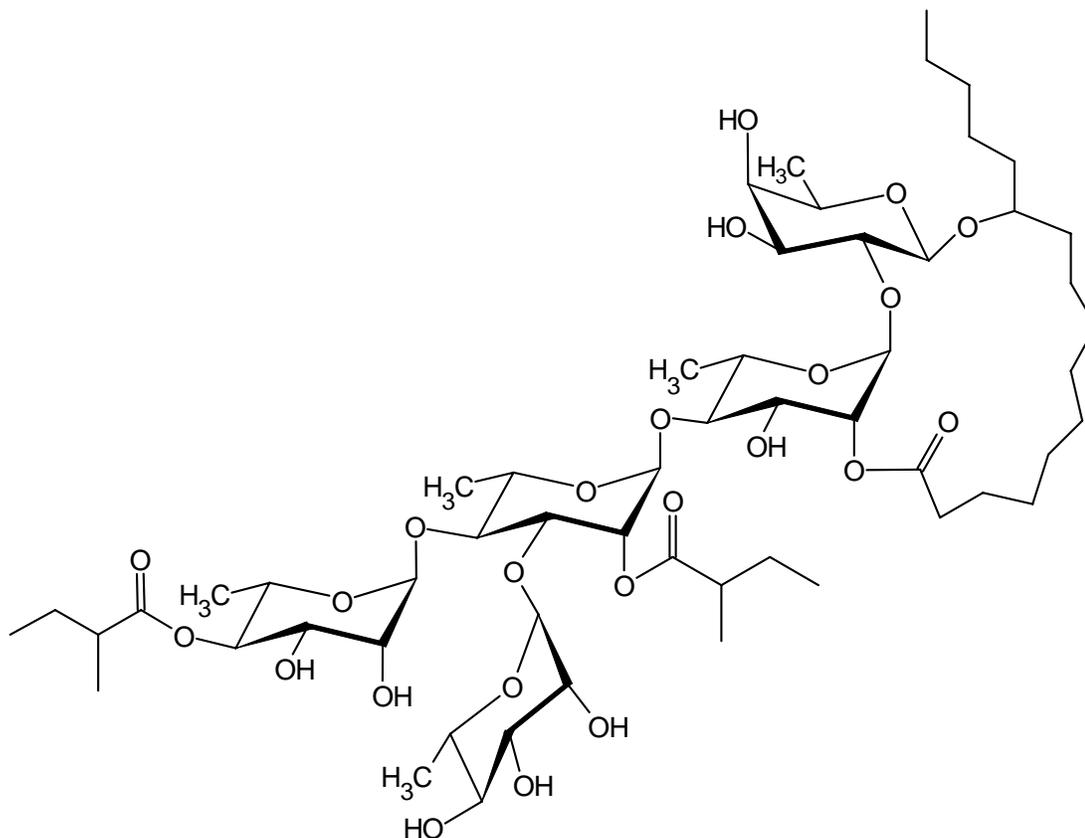
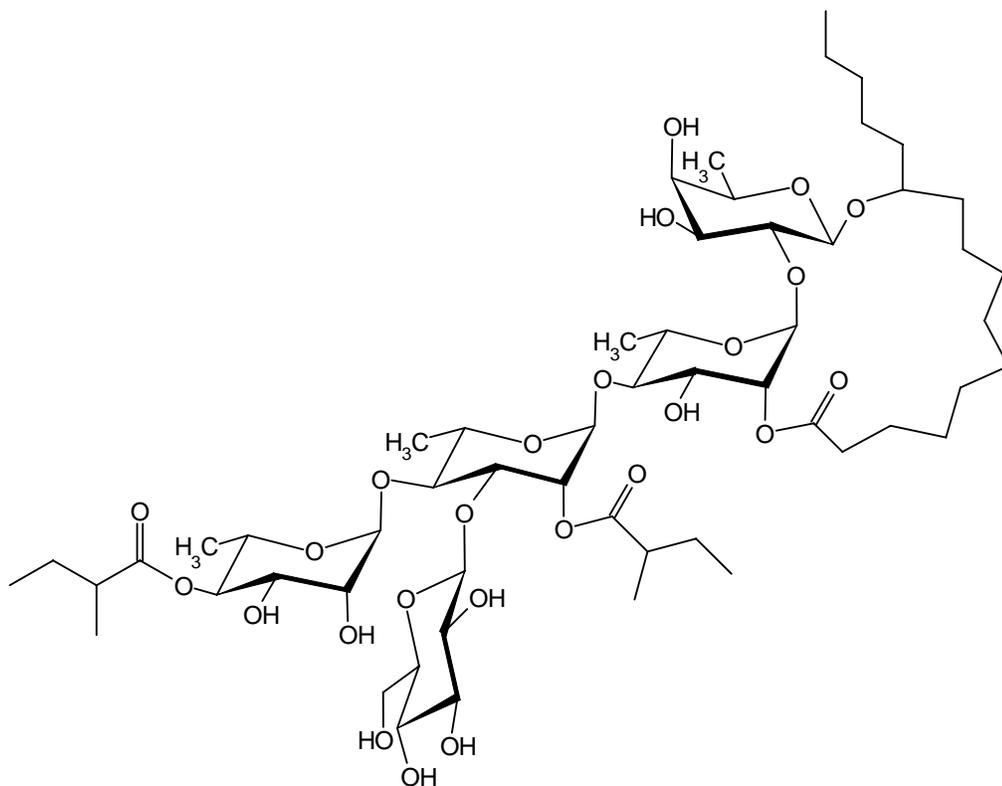


Figura 45. Cromatograma generado mediante CLAE de la fracción secundaria A (fracción primaria XX).

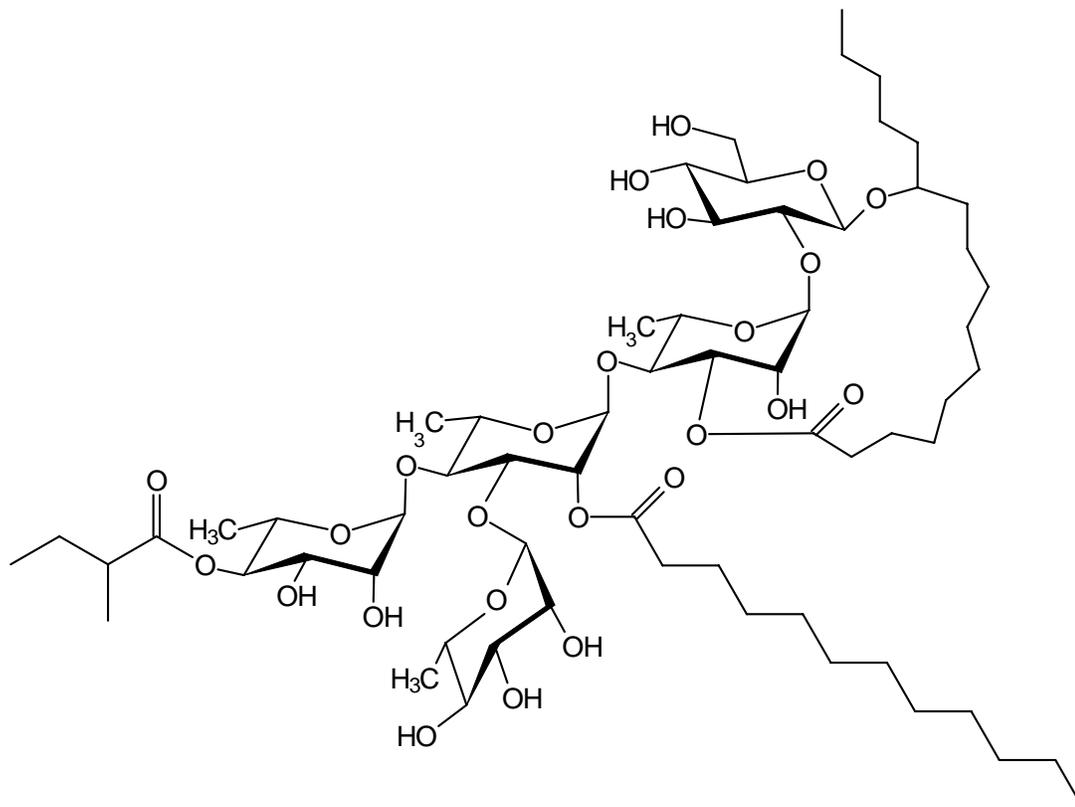
Este análisis de la fracción A proporcionó las murucoidinas V (A-5, $t_R = 26.3$ min) y la estoloniferina I (A-3; $t_R = 17.5$ min), las cuales se habían obtenido de la fracción primaria XIX. Al comparar el perfil cromatográfico de ambas fracciones secundarias se observa la similitud entre ellas. Los compuestos obtenidos en el estudio fitoquímico de esta fracción primaria se ilustran en los cuadros 15-17.

Cuadro 15. Constantes físicas y espectrométricas de la murucoidina III (**16**).

Murucoidina III (16): sólido blanco; **p.f.** 150-153 °C; $[\alpha]_D^{25}$ -42 (*c* 0.2, MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) *m/z*: 1151 $[M - H]^-$ ($C_{56}H_{95}O_{24}$), 1067 $[M - H - C_5H_8O$ (mba - H)] $^-$, 921 $[1067 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 545 $[921 - 2 \times 146$ (metilpentosa) - C_5H_9O] $^-$, 417 $[545 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[417 - 146$ (metilpentosa)]; ácido jalapinólico - H] $^-$. **EM FAB-AR** *m/z*: 1151.6214 $[M - H]^-$ (calculado = 1151.6213).

Cuadro 16. Constantes físicas y espectrométricas de la murucoidina IV (6).

Murucoidina IV (6): sólido blanco; **p.f.** 157-159 °C; $[\alpha]_D -28$ (*c* 0.15, MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) *m/z*: 1167 $[M - H]^-$ ($C_{56}H_{95}O_{25}$), 1083 $[M - H - C_5H_8O$ (mba - H)] $^-$, 937 $[1083 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 545 $[937 - 146$ (metilpentosa) - 162 (hexosa) - (C_5H_8O)] $^-$, 417 $[545 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[417 - 146$ (metilpentosa); ácido jalapinólico - H] $^-$. **EM FAB-AR** *m/z*: 1167.6162 $[M - H]^-$ (calculado = 1167.6167).

Cuadro 17. Constantes físicas y espectrométricas de la murucoidina VI (1).

Murucoidina VI (1): sólido blanco; **p.f.** 143-145 °C; $[\alpha]_D -38$ (c 0.1, MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) m/z : 1265 $[M - H]^-$ ($C_{63}H_{109}O_{25}$), 1181 $[M - H - C_5H_8O$ (mba - H)] $^-$, 1083 $[M - H - C_{12}H_{22}O$ (dodeca - H)] $^-$, 853 $[1083 - 146$ (metilpentosa) - $C_5H_8O]$ $^-$, 561 $[853 - 2 \times 146$ (metilpentosa)] $^-$, 433 $[561 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[433 - 162$ (hexosa); ácido jalapινόlico - H] $^-$. **EM FAB-AR** m/z : 1265.7256 $[M - H]^-$ (calculado = 1265.7258).

6.2.4 Fraccionamiento secundario de la fracción primaria XXI

El análisis del perfil cromatográfico de la fracción primaria **XXI** (Figura 46) permitió asumir que la fracción estaba constituida por los mismos glicolípidos individuales presentes en la fracción primaria **XX**. Considerando que la fracción primaria **XXI** es la que continuaba después de la fracción primaria **XX** y debido a la similitud de los cromatogramas obtenidos en las mismas condiciones experimentales, no se realizó su fraccionamiento secundario.

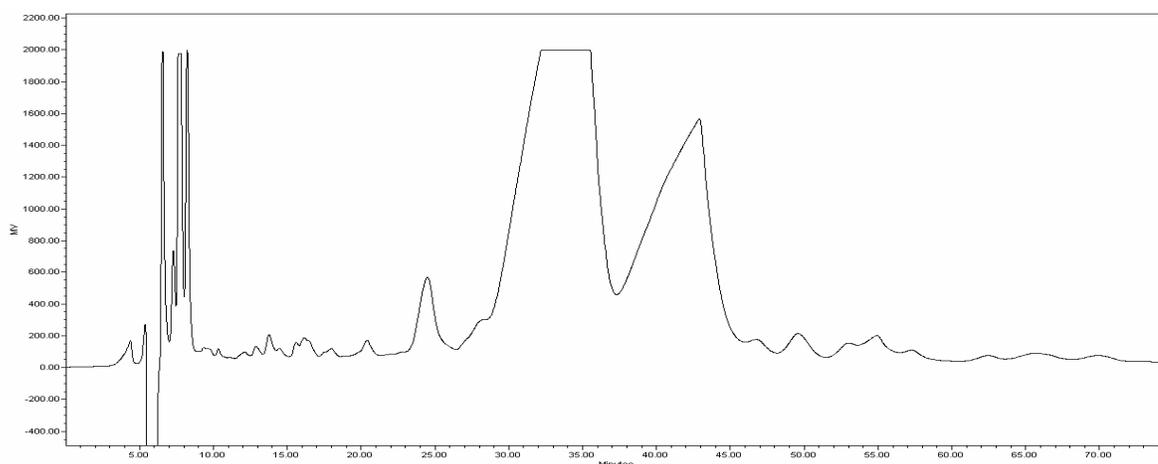


Figura 46. Cromatograma generado mediante CLAE a nivel analítico de la fracción primaria **XXI**.

6.2.5 Fraccionamiento secundario de la fracción primaria XXII

El perfil cromatográfico de la fracción primaria **XXII** (Figura 47) resultó parecido al de la fracción primaria **XX** y **XXI**, por lo que sólo se procedió a cortar el pico C ($t_R = 21.7$ min, 25 mg) que podría ser un glicolípido individual novedoso para la especie en estudio. El compuesto obtenido de este pico se ilustra en el cuadro 18.

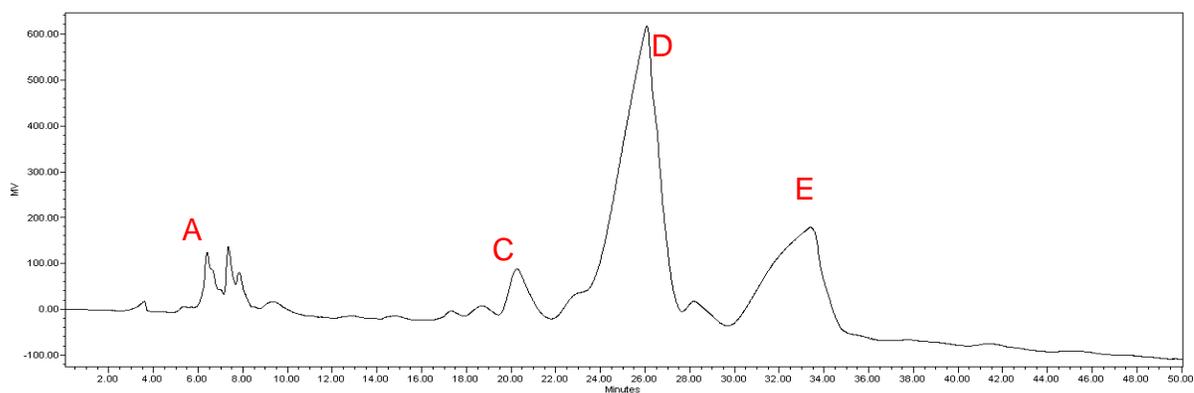
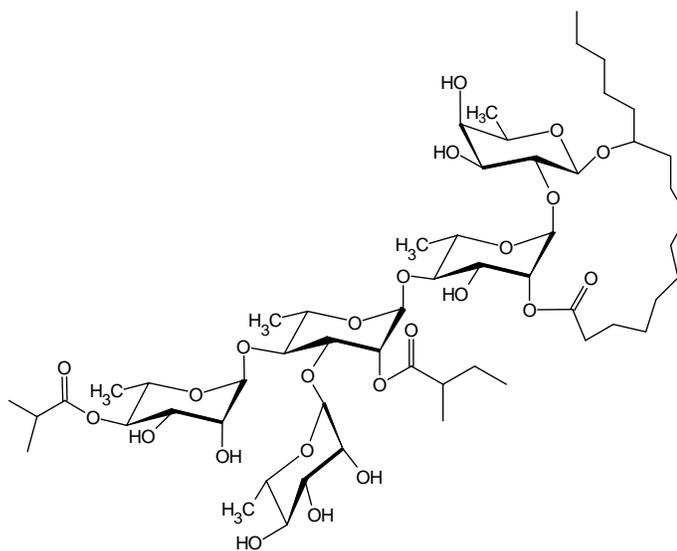


Figura 47. Cromatograma generado mediante CLAE a nivel analítico de la fracción primaria **XXII**.

Cuadro 18. Constantes físicas y espectrométricas de la murucoidina II (**15**).



Murucoidina II (15): sólido blanco; **p.f.** 155-157 °C; $[\alpha]_D -55$ (*c* 0.1 MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) *m/z*: 1137 $[M - H]^-$ ($C_{55}H_{93}O_{24}$), 1067 $[M - H - C_4H_6O$ (iba - H)] $^-$, 1053 $[M - H - C_5H_8O$ (mba - H)] $^-$, 991 $[M - H - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 921 $[991 - C_4H_6O$ (iba - H)] $^-$, 837 $[921 - C_5H_8O]^-$, 545 $[837 - 2 \times 146$ (metilpentosa)] $^-$, 417 $[545 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[417 - 146$ (metilpentosa)]; ácido jalapínico - H] $^-$. **EM FAB-AR** *m/z*: 1137.6056 $[M - H]^-$ (calculado = 1137.6058).

6.2.6 Fraccionamiento secundario de la fracción primaria XXIII y XXIV

La Figura 48 muestra el perfil cromatográfico de la fracción primaria XXIII y la Figura 49 el perfil cromatográfico de la fracción primaria XXIV, en las condiciones ya descritas en la Parte Experimental, sección 5.5. Considerando la similitud de las fracciones primarias más polares se analizaron los cromatogramas procurando no repetir la separación de los mismos constituyentes. El análisis de estas dos fracciones primarias condujo a tomar la decisión de resolver la fracción primaria XXIV, ya que poseía un número mayor de picos. De esta forma, se incrementó la posibilidad de obtener glicolípidos individuales novedosos. Una vez considerado el fraccionamiento secundario de esta fracción primaria, se procedió a la realización del mismo en una columna preparativa, en un sistema de cromatografía líquida de alta eficiencia.

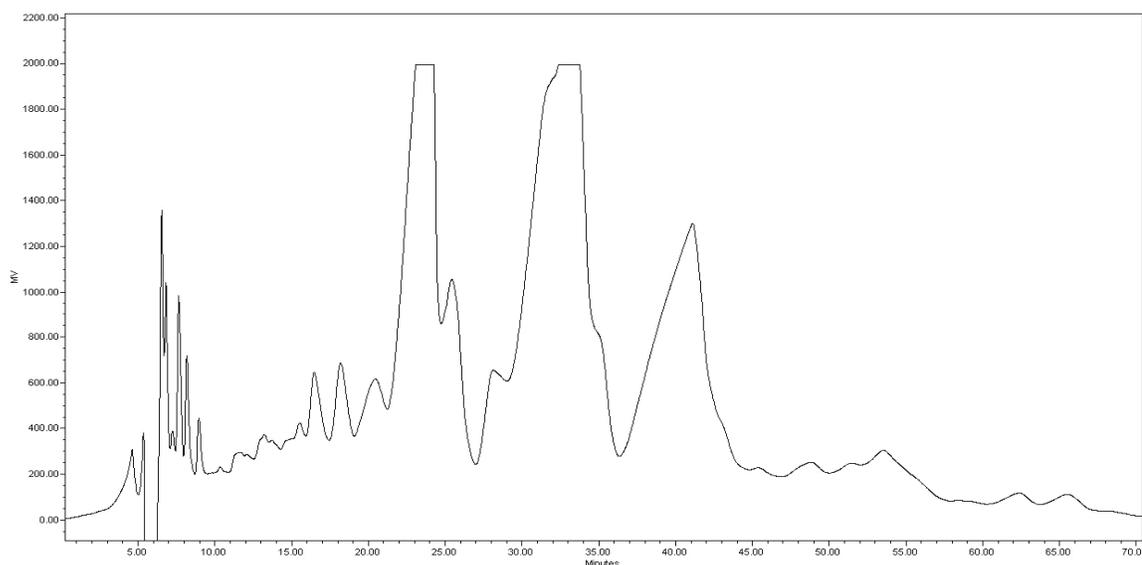


Figura 48. Cromatograma generado mediante CLAE a nivel analítico de la fracción primaria XXIII.

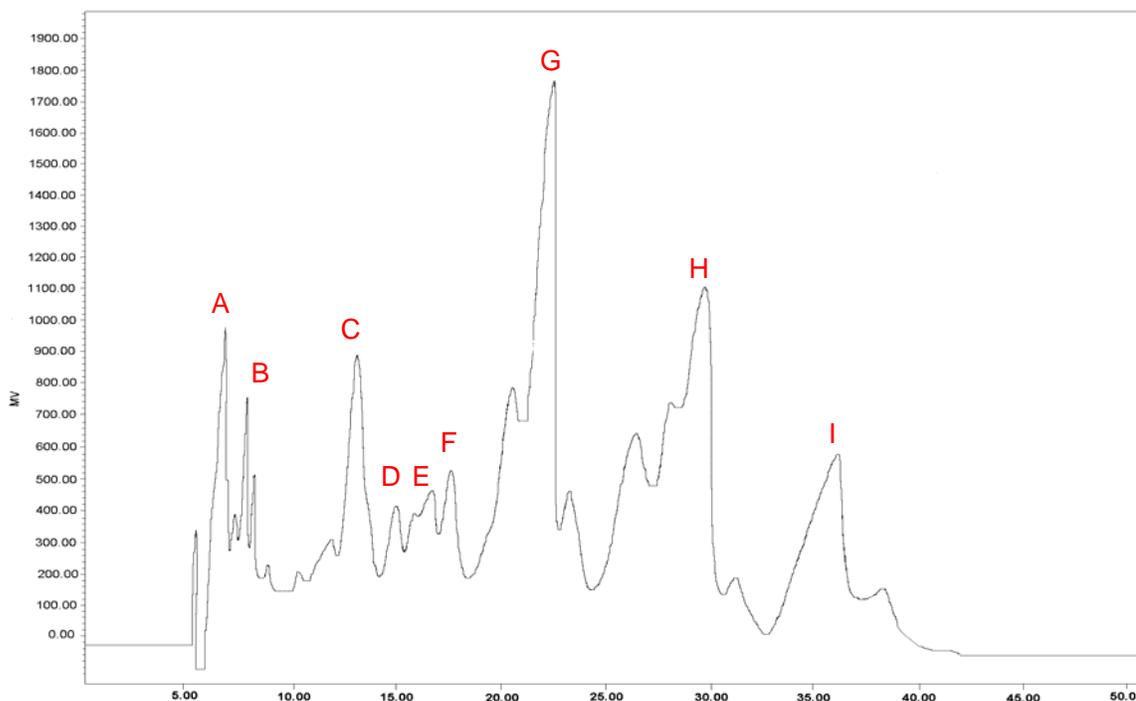
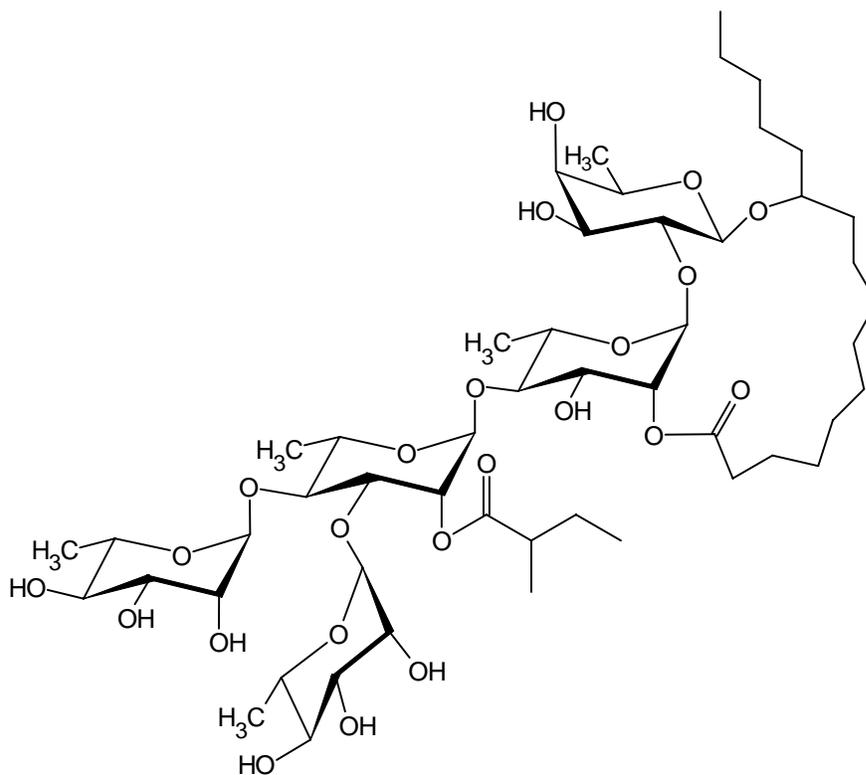
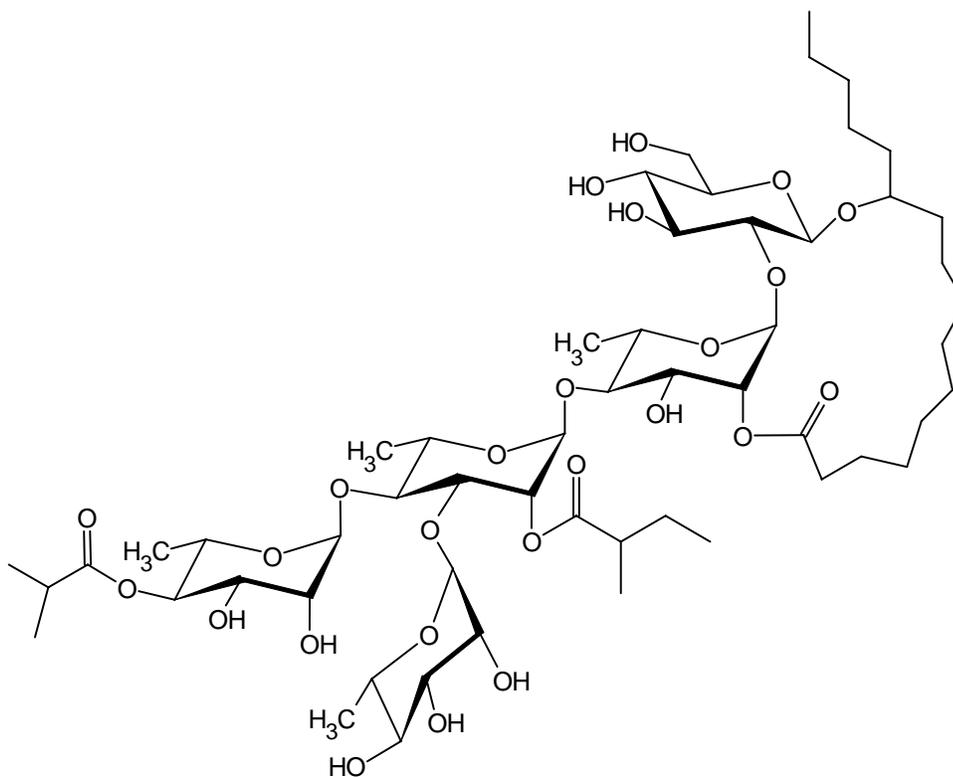


Figura 49. Cromatograma generado mediante CLAE a nivel analítico de la fracción primaria **XXIV**.

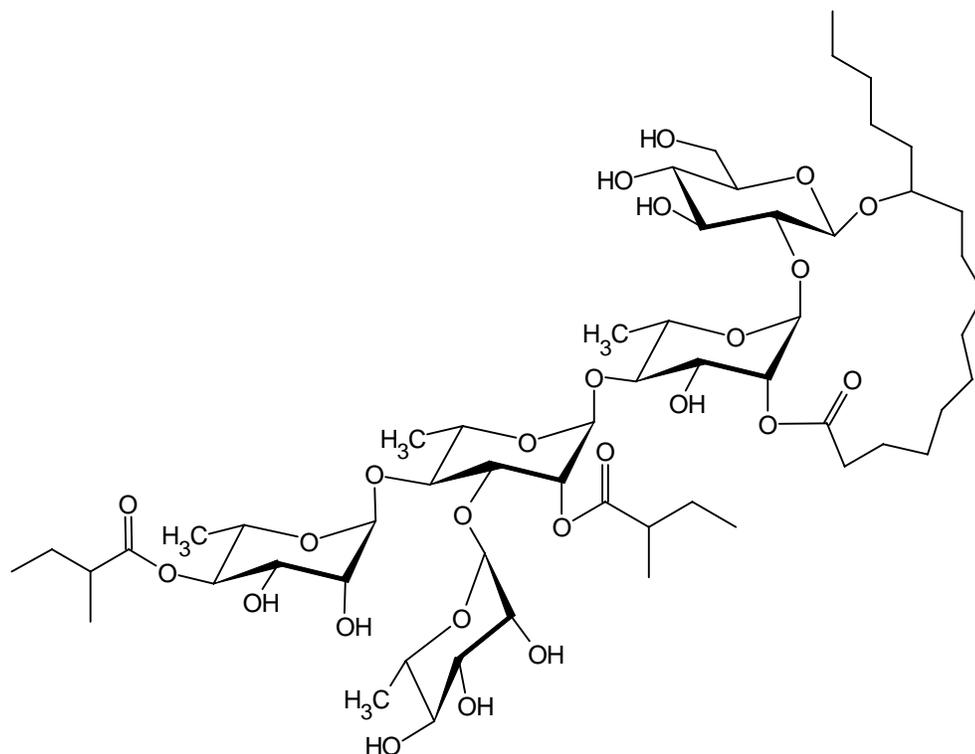
Las fracciones C ($t_R = 12.9$ min, 20 mg), F ($t_R = 17.9$ min, 15 mg), G ($t_R = 22.4$ min, 30 mg), H ($t_R = 29.5$ min, 45 mg) y I ($t_R = 36.3$ min, 33 mg) se reciclaron y mediante la aplicación de la técnica de sobrecarga de columna y corte del núcleo se logró la purificación de las murucoidinas I (C), VII (F), VIII (G), III (H) y IV (I). Las fracciones B, D y E fueron mezclas muy complejas y de bajo rendimiento, por lo que no se logró identificar a sus glicolípidos individuales constitutivos. Los cuadros **19-21** ilustran las murucoidinas obtenidas del estudio de esta fracción primaria.

Cuadro 19. Constantes físicas y espectrométricas de la murucoidina I (**14**).

Murucoidina I (14): sólido blanco; **p.f.** 154-156 °C; $[\alpha]_D -46$ (*c* 0.12 MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) *m/z*: 1067 $[M - H]^-$ ($C_{51}H_{87}O_{23}$), 983 $[M - H - C_5H_8O$ (mba - H)] $^-$, 921 $[M - H - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 837 $[921 - C_5H_8O$ (mba - H)] $^-$, 545 $[837 - 2 \times 146$ (metilpentosa)] $^-$, 417 $[545 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[417 - 146$ (metilpentosa); ácido jalapínico - H] $^-$. **EM FAB-AR** *m/z*: 1067.5638 $[M - H]^-$ (calculado = 1067.5645).

Cuadro 20. Constantes físicas y espectrométricas de la murucoidina VII (2).

Murucoidina VII (2): sólido blanco; **p.f.** 141-143 °C; $[\alpha]_D -39.0$ (c 0.11, MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) m/z : 1153 $[M - H]^-$ ($C_{55}H_{93}O_{25}$), 1083 $[M - H - C_4H_6O$ (iba - H)] $^-$, 937 $[1083 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 791 $[937 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 561 $[791 - 146$ (metilpentosa) - C_5H_8O (mba - H)] $^-$, 433 $[561 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[433 - 162$ (hexosa); ácido jalapinólico - H)] $^-$. **EM FAB-AR** m/z : 1153.6000 $[M - H]^-$ (calculado = 1153.6006).

Cuadro 21. Constantes físicas y espectrométricas de la murucoidina VIII (3).

Murucoidina VIII (3): sólido blanco; **p.f.** 150-152 °C; $[\alpha]_D -20$ (*c* 0.09 MeOH); **EM-FAB** (modo negativo) *m/z*: 1167 $[M - H]^-$ ($C_{55}H_{93}O_{24}$), 1083 $[M - H - C_5H_8O$ (mba - H)] $^-$, 937 $[1083 - 146$ (metilpentosa)] $^-$, 853 $[937 - C_5H_8O$ (mba - H)] $^-$, 561 $[853 - 2 \times 146$ (metilpentosa)] $^-$, 433 $[561 + 18$ (hidrólisis de la lactona) - 146 (metilpentosa)] $^-$, 271 $[433 - 162$ (hexosa); ácido jalapινόico - H] $^-$. **EM FAB-AR** *m/z*: 1167.6159 $[M - H]^-$ (calculado = 1167.6162).

6.2.7 Fraccionamiento de la fracción primaria XXV

En la Figura 50 se muestra el perfil cromatográfico de la fracción primaria XXV, la penúltima fracción primaria constituida por resinas glicosídicas. Considerando que se obtuvo una buena resolución en la separación de los picos que constituyen esta fracción primaria, se procedió al fraccionamiento secundario en un sistema de cromatografía líquida de alta eficiencia. Esta operación permitió la obtención de mezclas de menor complejidad, pero de rendimientos muy bajos para las fracciones secundarias de interés (los picos minoritarios). Por lo que no se sometieron a la técnica de reciclaje y, por lo tanto, no se logró la identificación de los glicolípidos constitutivos de estas fracciones. Las fracciones mayoritarias poseen el mismo perfil cromatográfico de las murucoidinas III y IV, aisladas en varias ocasiones, por lo que no se sometieron al procedimiento de purificación. Tampoco, se analizó la última fracción primaria ya que se obtuvo en muy bajo rendimiento.

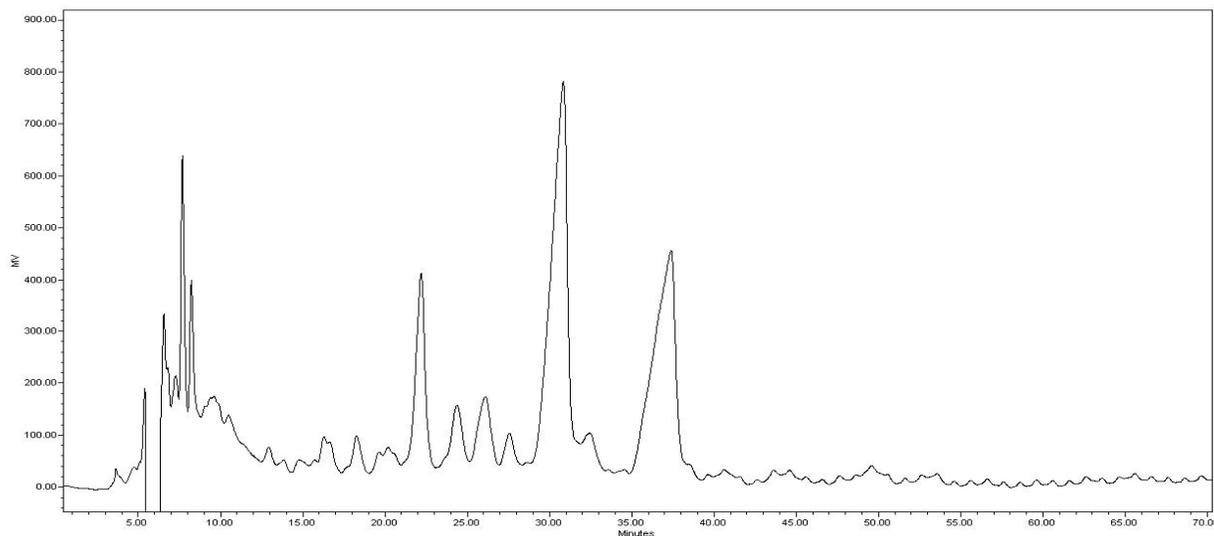


Figura 50. Cromatograma generado mediante CLAE a nivel analítico de la fracción primaria XXV.

6.3 Caracterización estructural de los glicolípidos de la jalapina

El análisis de los espectros unidimensionales de ^1H y ^{13}C fueron el primer paso para obtener una información general acerca de las estructuras de los glicolípidos individuales purificados. Los desplazamientos químicos alrededor de 98-106 ppm en el espectro de ^{13}C correspondientes a los carbonos anoméricos, asistido con el HSQC, permitieron establecer el número de unidades monosacáridas presentes en los compuestos. Con el análisis de las técnicas bidimensionales en la RMN (COSY y TOCSY)¹, se resolvieron las asignaciones de las señales para los metinos entre 4.0-5.7 ppm para cada monosacárido. Finalmente, la técnica espectroscópica de RMN bidimensional HMBC permitió la asignación de la secuencia de glicosidación y los sitios de acilación, mediante el estudio de los acoplamientos ^1H - ^{13}C a larga distancia ($^{2,3}J_{\text{C-H}}$).¹

6.3.1 Elucidación estructural de las murucoidinas VI (1), VII (2) y VIII (3).

La elucidación estructural de los glicolípidos se realizó mediante técnicas espectroscópicas unidimensionales (RMN ^1H y ^{13}C) y bidimensionales (RMN HSQC, COSY, TOCSY y HMBC), logrando identificar como núcleo oligosacárido de los compuestos **1-3** al ácido simónico A (Figura 17, sección 2.4.6 de los Antecedentes).⁶⁵ En el espectro de RMN ^1H de los compuesto **1-3** (Figura 66, pág. 104) aparece la señal característica (tq) del protón H-2 del ácido 2-metilbutanoico a 2.3 ó 2.5 ppm, demostrando su presencia en estos compuestos. En el caso del compuesto **1**, además de la señal del ácido 2-metilbutanoico, se observa un triplete a 2.4 ppm característico de los ácidos alifáticos de cadena larga; para el compuesto **2** se observa un septuplete a 2.6 ppm que es característico del ácido metilpropanoico y, por último, en el compuesto **3** se observó de manera duplicada la señal del ácido 2-metilbutanoico. Los dobletes entre 1.35–1.70 confirman la presencia de cuatro metilpentosas en los tres casos, ya que son característicos de grupos metilos de 6-desoxihexosas (Figura 51). Las señales entre 2.2–2.9 ppm corresponden a los dos protones no equivalentes del grupo metileno en posición alfa al grupo carbonilo de la aglicona. De esta manera, se evidenció la naturaleza macrolactónica para todos los compuestos.

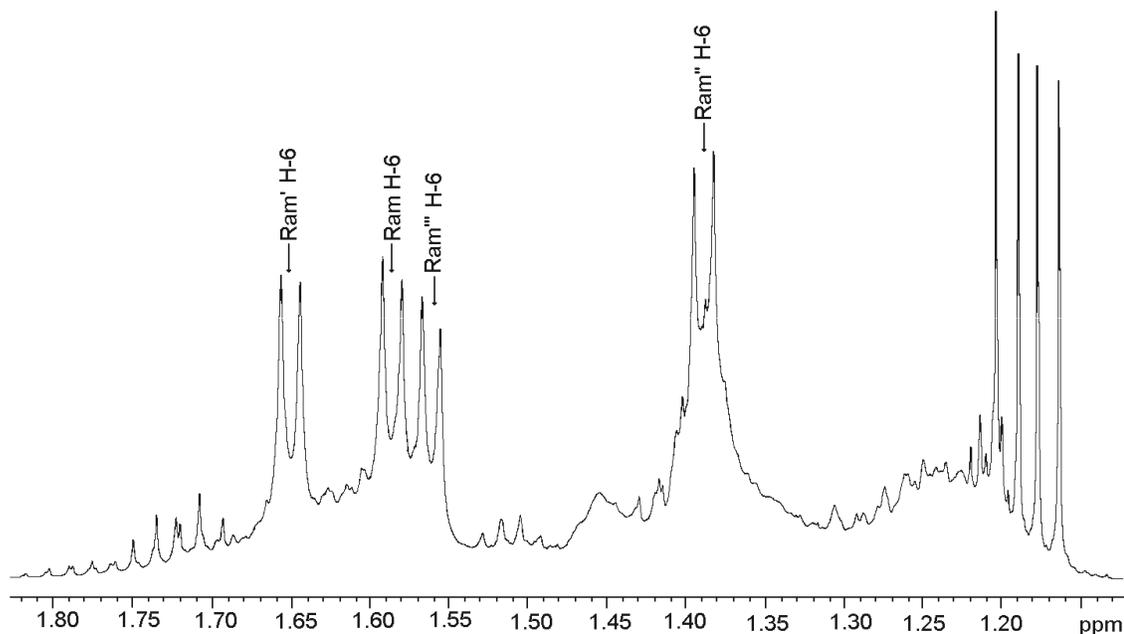


Figura 51. Ilustración de los dobletes entre 1.35-1.65 ppm característicos de los grupos metilos de 6-desoxihexosas (compuesto **2**).

En los espectros de RMN ^{13}C de los compuestos **1-3** (Figura **67**, pág. 105) aparece una señal a 62.8 ppm, la cual corresponde al carbono del grupo hidroximetileno de una hexosa y tres señales entre 175–176 ppm que corresponden a los dos carbonilos de los ácidos que se encuentran acilando el núcleo oligosacárido y al carbonilo de la lactona del macrociclo formado por la aglicona.

La asignación de las señales de RMN ^1H y ^{13}C (cuadros **23** y **24**) de los compuestos **1-3** se inició localizando en el espectro heteronuclear HSQC los carbonos anoméricos (desplazamientos químicos alrededor de 98-100 ppm) y sus correspondientes protones anoméricos. En la Figura **52** se ilustran las correlaciones anoméricas observadas para el compuesto **2**.

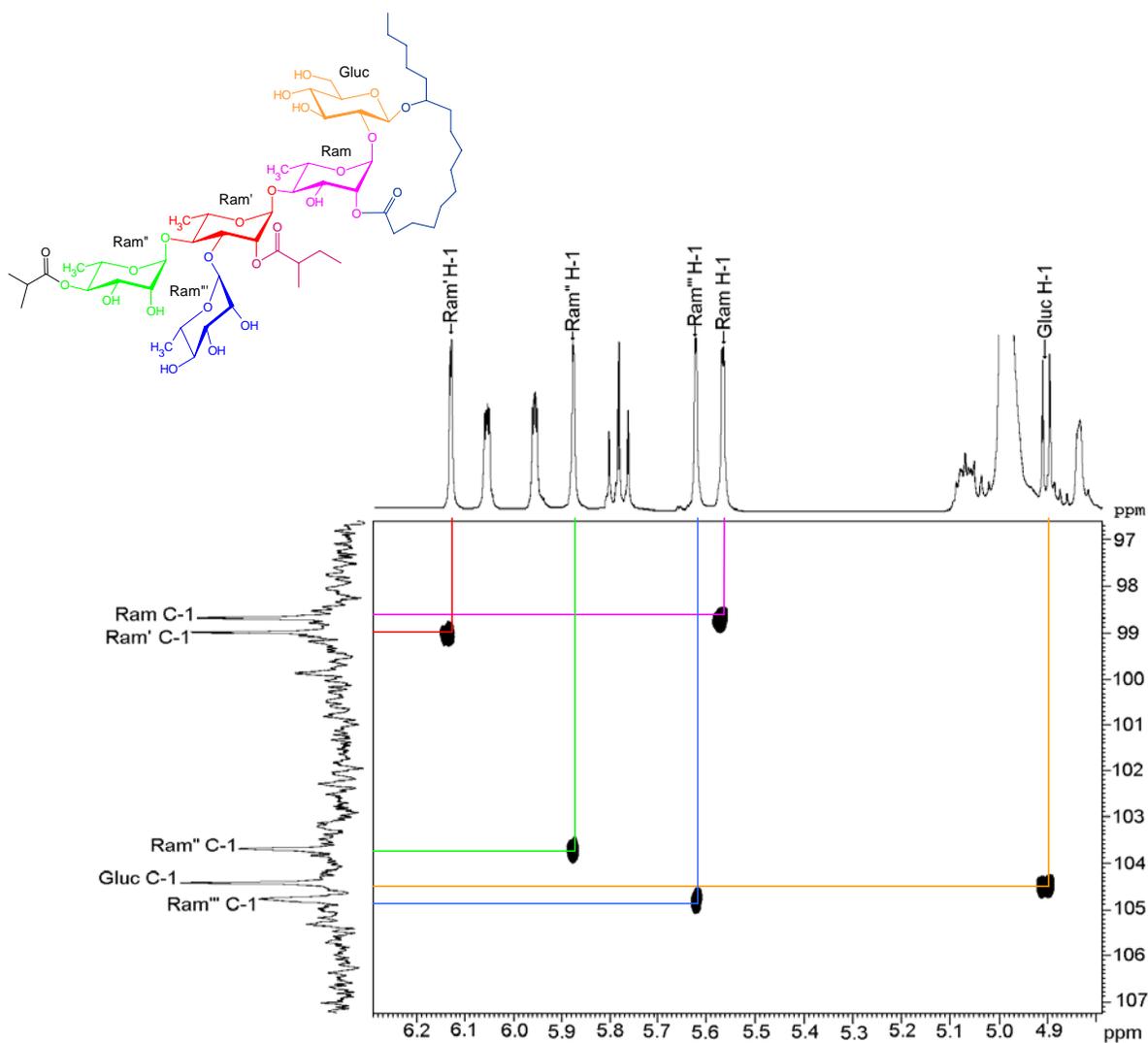


Figura 52. Sección anomérica del espectro HSQC del compuesto **2**.

Del análisis de la Figura **52** se logró obtener los protones anoméricos para el compuesto **2**, información que se resume a continuación:

Monosacárido	^1H -anoméricos (ppm)	^{13}C -anoméricos (ppm)
Glucosa	4.90	104.5
Ramnosa	5.57	98.8
Ramnosa'''	5.62	104.9
Ramnosa''	5.88	103.8
Ramnosa'	6.13	99.3

Al analizar las constantes de acoplamiento para los compuestos **1-3**, se determinó que los compuestos están constituidos por una unidad de glucosa y cuatro de ramnosa. Los dobletes de los protones anoméricos (Figura 53) registraron una constante de acoplamiento grande ($J = 7.5$ Hz) para la glucosa en su configuración anomérica β en la conformación 4C_1 y cuatro valores pequeños ($J = 1.5$ Hz) para la ramnosa. Este valor no permite asignar la configuración anomérica y, por lo tanto, ésta se dedujo de los experimentos de RMN ${}^{13}C$ totalmente acoplado a 1H (${}^1J_{C-H}$). La configuración anomérica α se estableció para las unidades de ramnosa debido a los valores registrados de ${}^1J_{C-H} = 170-172$ Hz para estas señales anoméricas en su conformación 4C_1 .¹

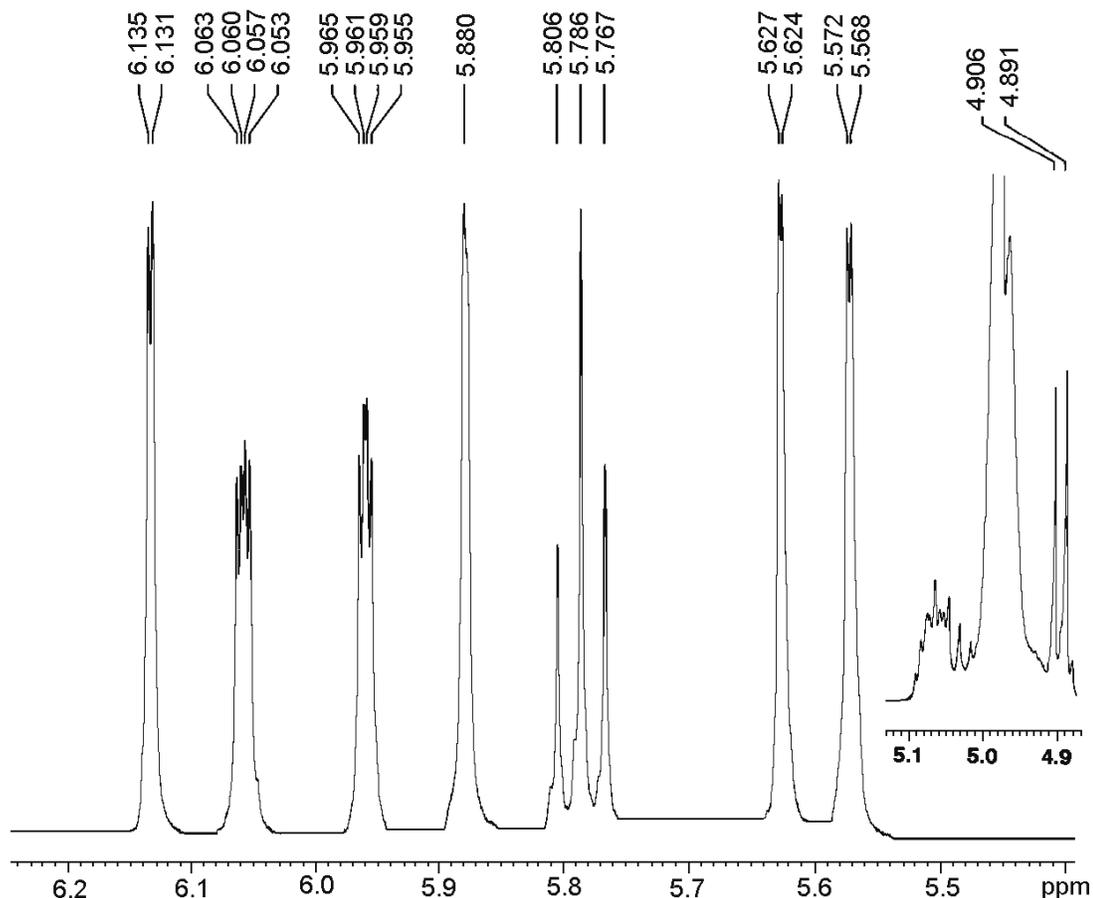


Figura 53. Sección del espectro de RMN 1H del compuesto **2** para los protones anoméricos.

Posteriormente, el análisis de los espectros homonucleares COSY y TOCSY, en forma simultánea, permitió la asignación de las señales correspondientes a los metinos de cada monosacárido del núcleo oligosacárido, estableciendo las conectividades registradas en estos experimentos bidimensionales. En la Figura 54 se ilustran los cuadros de conectividad para la secuencia de H-H de la ramnosa externa (Ram") del compuesto 2. Los cuadros de conectividad se inician con el protón H-1 (anomérico) de cada unidad sacárida y cuya asignación se obtiene a partir del análisis bidimensional HSQC. La Figura 54 muestra la secuencia de interacciones vecinales H-H de la ramnosa cuyo protón anomérico tiene un desplazamiento centrado en 5.88 ppm y a continuación se resume la información obtenida en el cuadro 22.

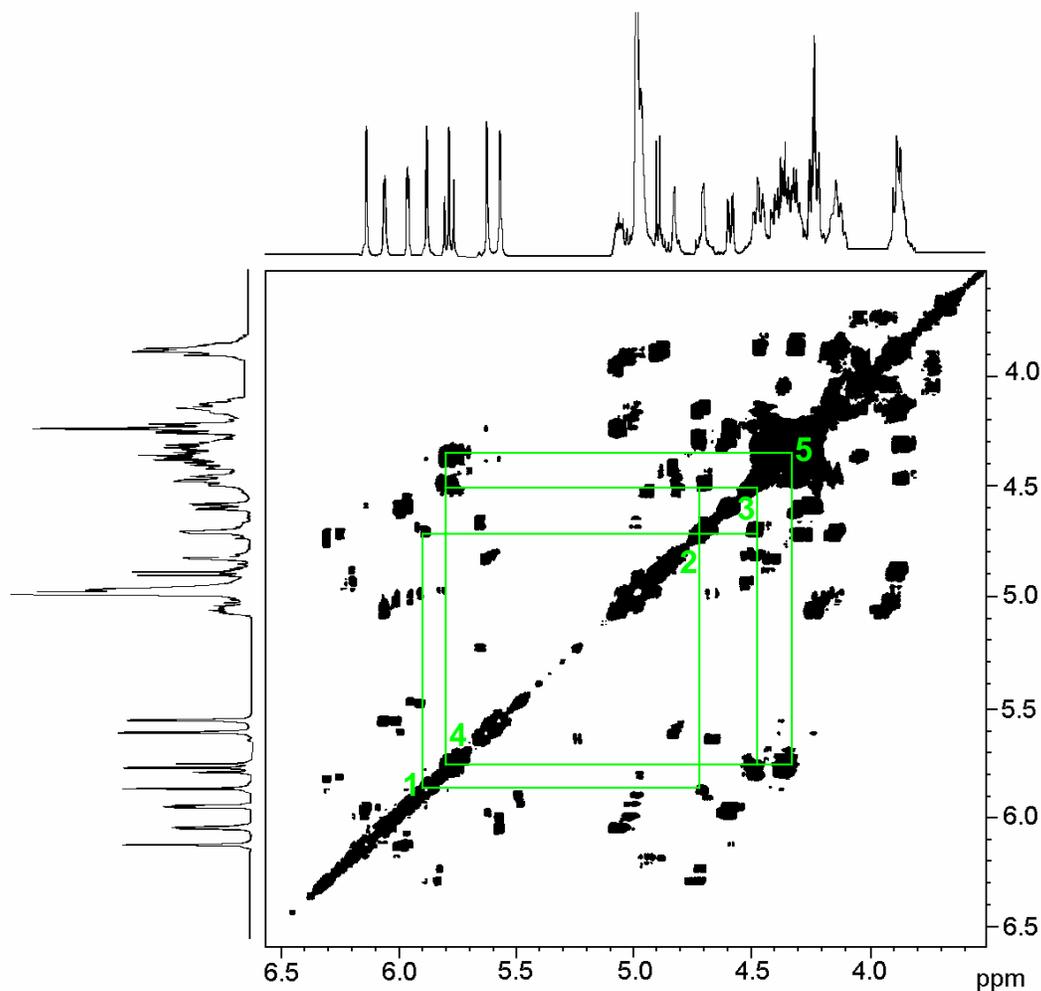


Figura 54. Sección del espectro COSY de la porción oligosacárida del compuesto 2.

Cuadro 22. Desplazamientos químicos para los metinos de la ramnosa externa (Ram'') del compuesto **2**.

Ram''	¹ H (ppm)
1	5.88
2	4.70
3	4.47
4	5.79
5	4.37

El espectro homonuclear TOCSY permitió verificar la secuencia de acoplamientos H–H para cada una de las unidades monosacáridas. En la Figura 55 se muestra la porción oligosacárida del compuesto **2** en el experimento TOCSY y se indican las señales correspondientes a la ramnosa externa (Ram''), las cuales coinciden con las obtenidas por medio del análisis del experimento COSY. Cabe mencionar que la secuencia de H–H puede interrumpirse en el espectro COSY, e.g. H₄-H₅ de la fucosa, impidiendo la identificación de la secuencia completa. La asistencia del experimento TOCSY permite el establecimiento de la secuencia total de las interacciones vecinales entre los hidrógenos de cada unidad sacárida. El análisis del experimento TOCSY se puede realizar de dos maneras: mediante los cuadros de conectividad para obtener la secuencia de acoplamientos para los metinos y trazando una línea horizontal o vertical a partir del protón anomérico para identificar los desplazamientos químicos de las resonancias de todos los metinos en cada unidad sacárida.

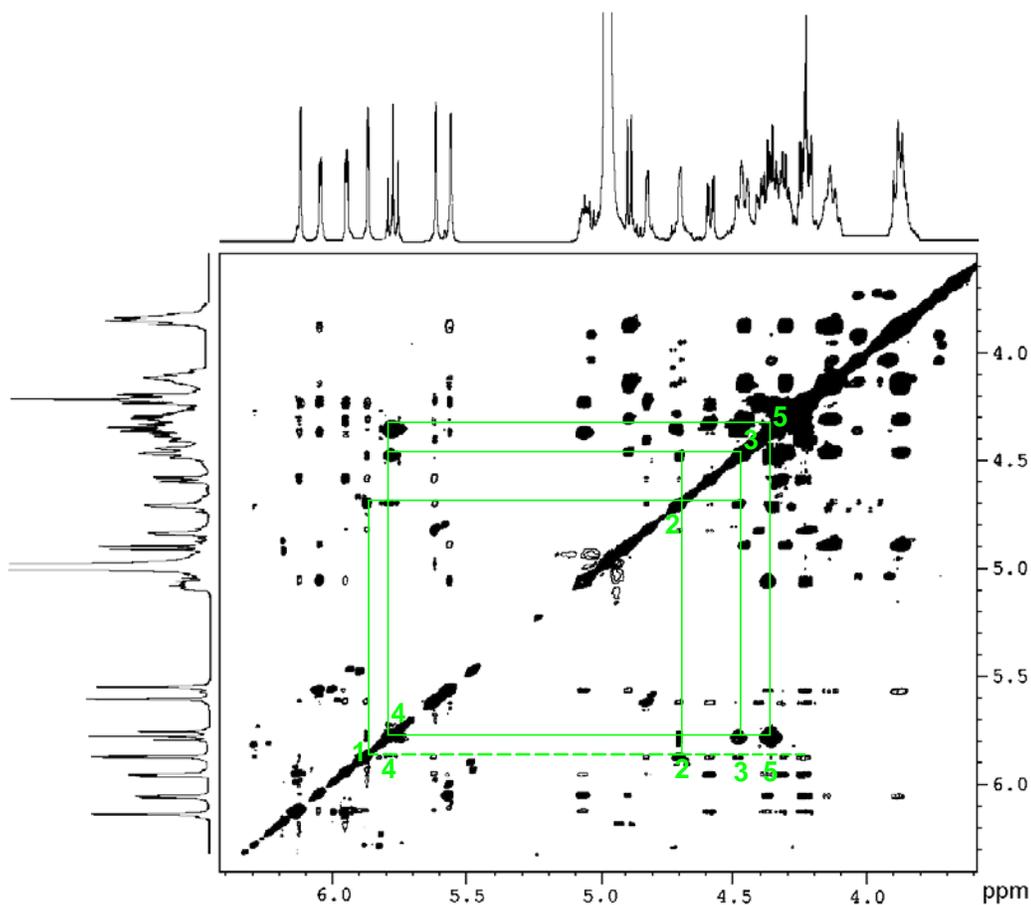


Figura 55. Sección de la porción oligosacárida del compuesto **2** en el espectro TOCSY.

Después de identificar y diferenciar las señales de los metinos para cada monosacárido, por medio de los experimentos COSY y TOCSY, se procedió con la asignación de los desplazamientos de ^{13}C mediante el análisis del experimento HSQC de la misma manera que en la Figura **52**. Posteriormente, se estableció la secuencia de glicosidación mediante las correlaciones ^1H - ^{13}C observadas en el espectro HMBC en la región oligosacárida, conectividades interglicosídicas entre los protones anómicos con los carbonos de las unidades sacáridas vecinales ($^3J_{\text{C-H}}$). La Figura **56** ilustra estas conectividades para el compuesto **2**, mostrando las correlaciones entre los siguientes monosacáridos:

^1H -anomérico	^{13}C - interglucosídico
5.57	82.0 (Gluc C-2)
5.62	79.8 (Ram' C-3)
5.88	80.1 (Ram' C-4)
6.13	79.8 (Ram C-4)

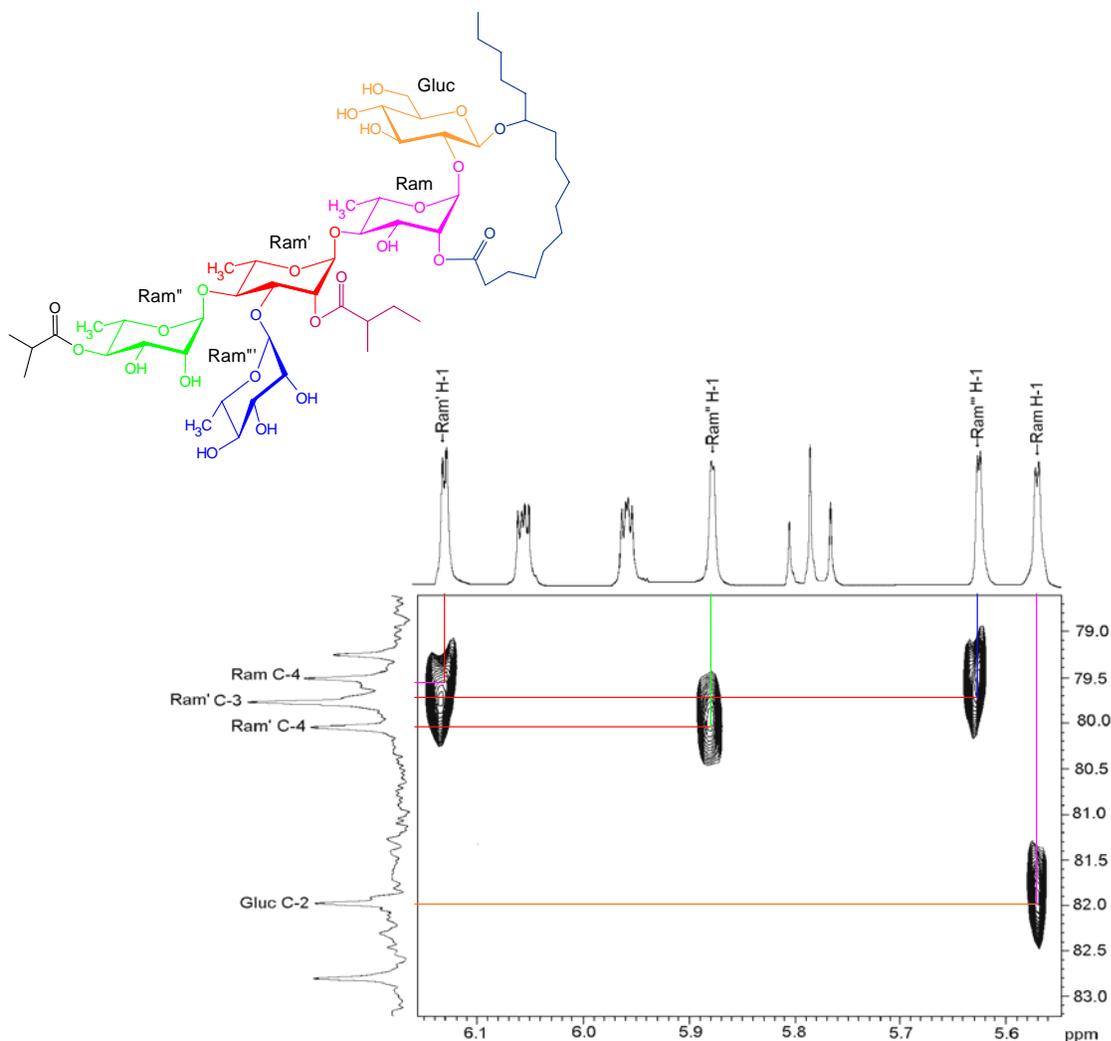


Figura 56. Sección de la región oligosacárida del compuesto **2** del espectro HMBC.

Los experimentos unidimensionales (^1H y ^{13}C) y bidimensionales (COSY, TOCSY y HMBC) discutidos hasta este momento permitieron deducir los tipos de monosacáridos, i.e., hexosa (glucosa) y/o metilpentosa (ramnosa) y la secuencia de glicosidación en el núcleo oligosacárido como se ilustra en la Figura 57.

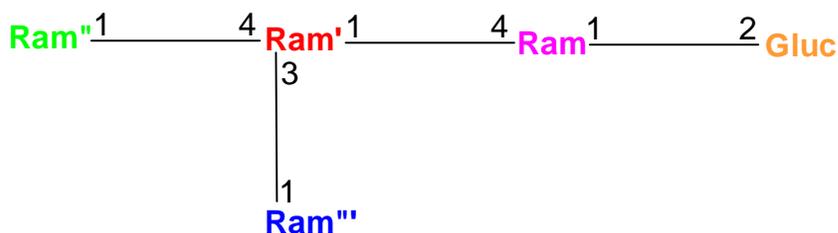


Figura 57. Secuencia de glicosidación del compuesto **2**.

Una vez que se estableció la secuencia de glicosidación, se procedió a la asignación de los carbonilos mediante la secuencia de pulsos HMBC a partir de sus acoplamientos con los hidrógenos alfa al carbonilo ($^2J_{C-H}$) de la aglicona (el grupo metileno H-2, 2.22 ppm) y los metinos H-2 de cada uno de los grupos acilantes (Figura 58). De este análisis se dedujo para el compuesto **2** que el carbono a 173.4 ppm (línea azul, Figura 58) pertenece al carbonilo de la aglicona (ácido jalapinólico), el de 175.5 ppm (línea morada) al ácido 2-metilbutanoico y el de 176.9 ppm (línea verde) al ácido metilpropanoico.

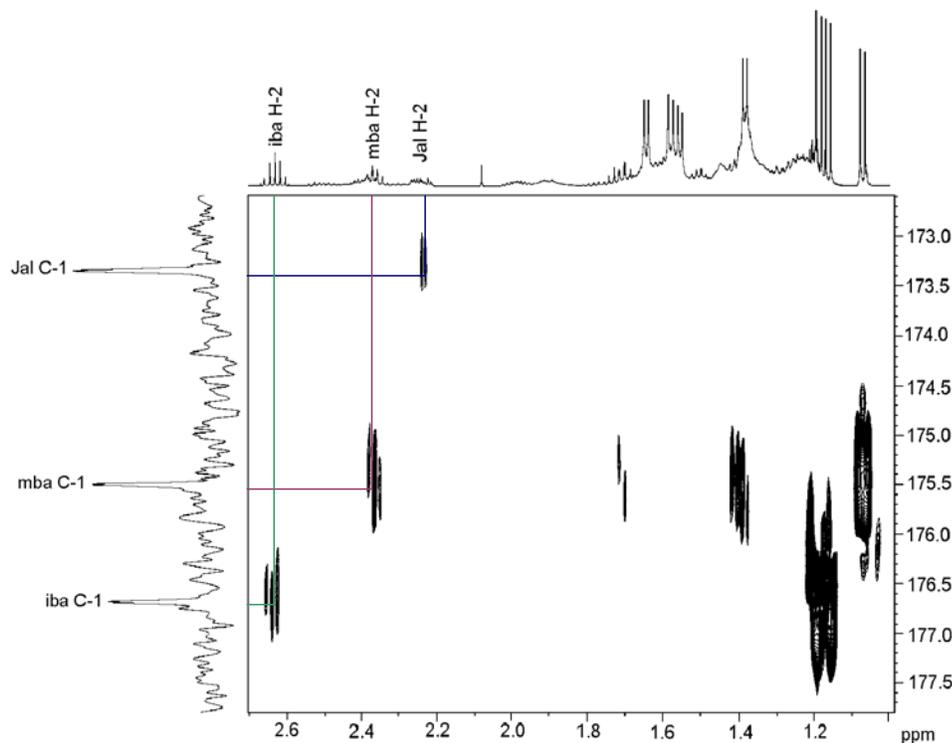


Figura 58. Sección del espectro HMBC del compuesto **2** donde se ilustran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de cada uno de los ésteres con los hidrógenos α al carbonilo.

Los sitios de acilación se dedujeron a partir de las correlaciones $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ ($^3J_{\text{C-H}}$) en el experimento HMBC, entre los carbonos del carbonilo de cada uno de los ácidos con las señales protónicas geminales a estos grupos acilantes. La Figura 59 ilustra estas conectividades para el compuesto **2** en donde la interacción entre el H-2 de la ramnosa interna (Ram, 6.06 ppm) con el C-1 de la aglicona (173.4 ppm) permitió identificar el sitio de lactonización. También, se pudieron observar las conectividades entre C-1 de los ácidos (175.5 y 176.9) con los metinos en las posiciones H-2 de la Ram' (5.96 ppm) y H-4 de la Ram'' (5.79 ppm), respectivamente.

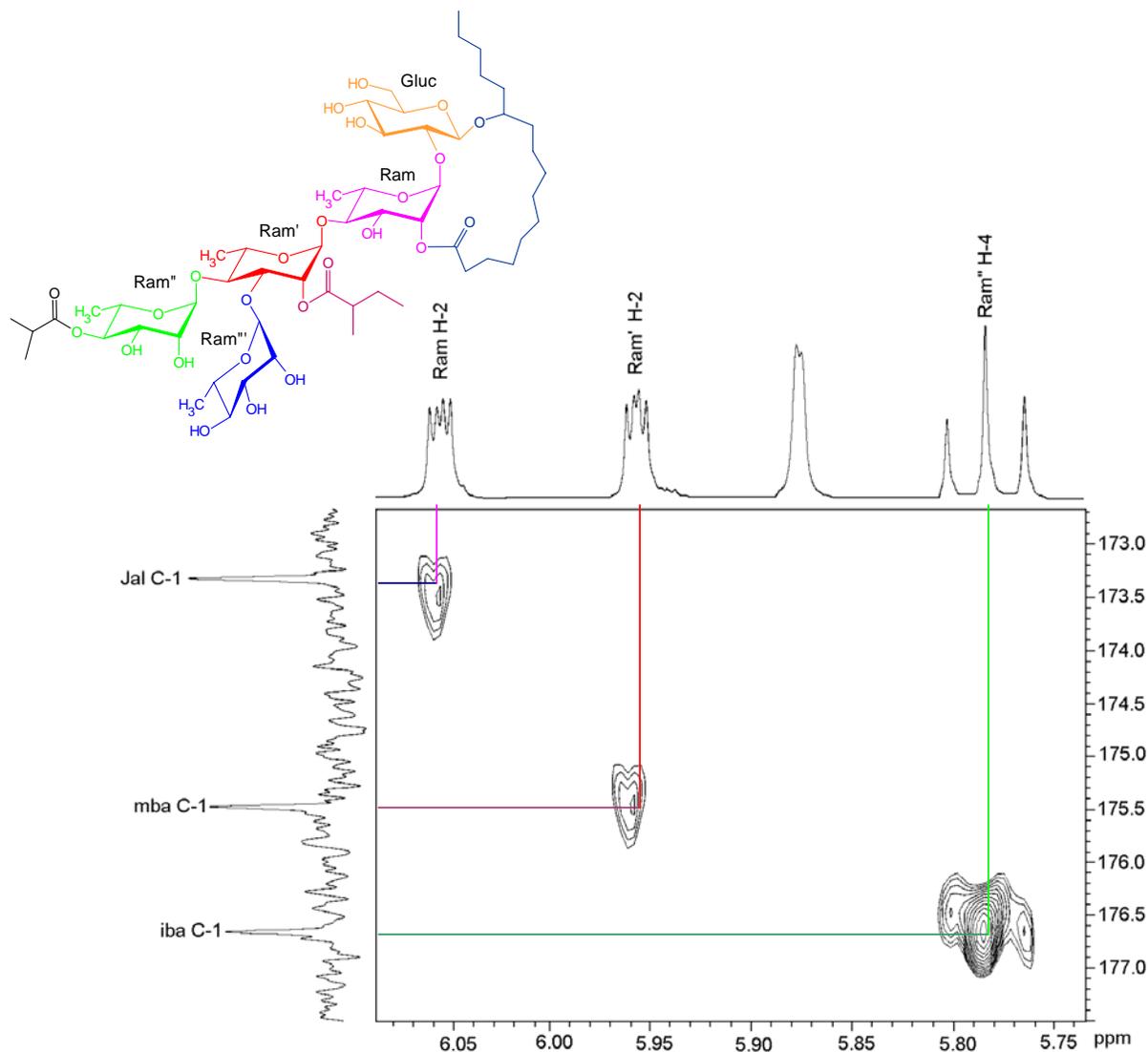


Figura 59. Sección del espectro HMBC del compuesto **2** donde se ilustran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de cada uno de los ésteres con las señales protónicas geminales a los grupos acilantes.

De este modo, se completó la elucidación estructural de los compuestos **1**, **2** y **3**. Cabe mencionar que la diferencia observada en los desplazamientos químicos de los metinos de la posición C-2 y C-3 de la unidad de ramnosa interna superior (Ram) en el compuesto **1** con respecto a los compuestos **2** y **3** se debe a la posición de lactonización ya que ésta ocurre en la posición C-3 en el compuesto **1** y en C-2 para los compuestos **2** y **3** (Figura 60).

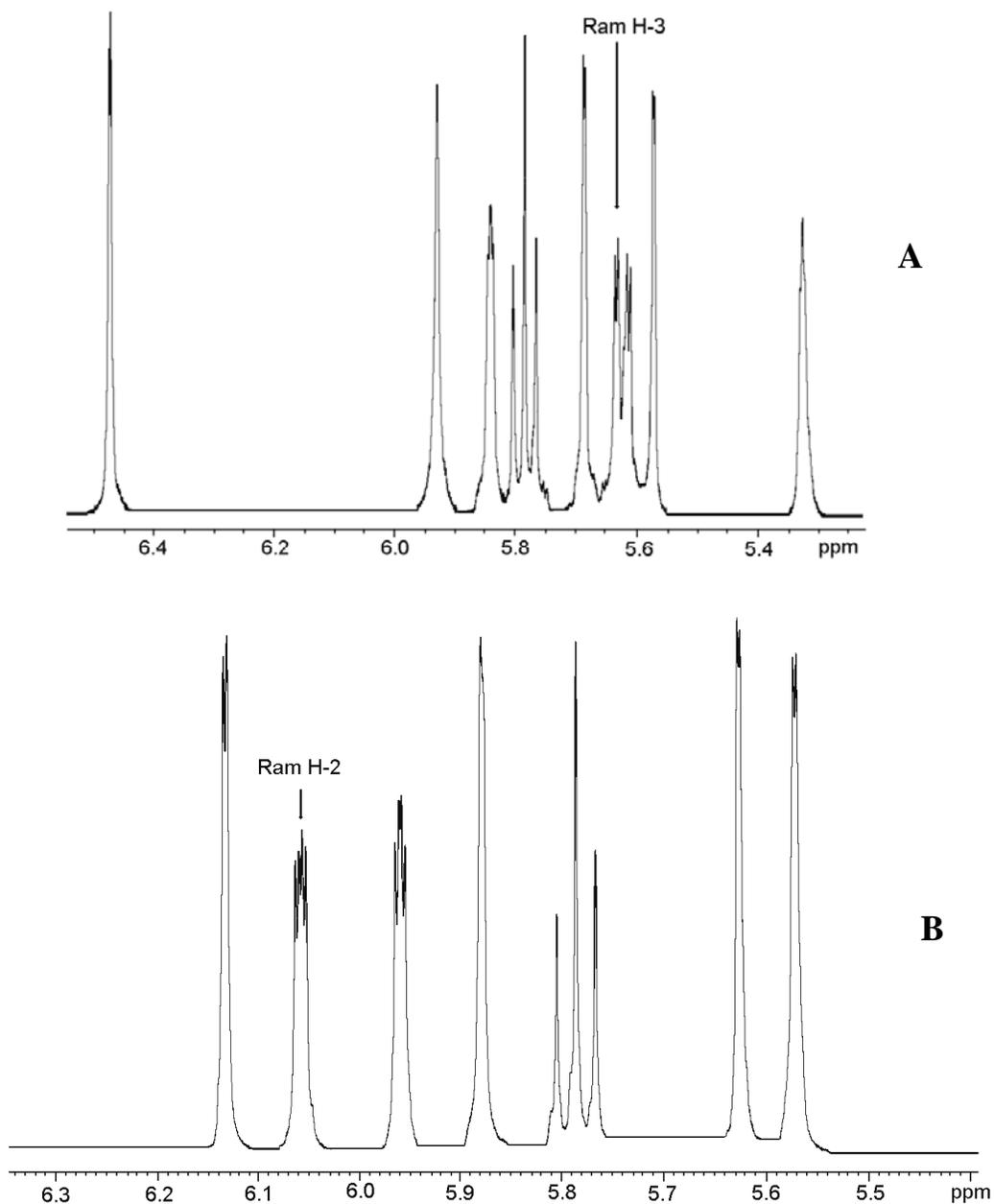


Figura 60. Región anomérica del espectro de RMN ¹H para los compuestos **1** (A) y **2** (B).

Cuadro 23. Desplazamientos químicos en la RMN ^1H de las murucoidinas VI-VIII (1-3).^a

Proton ^b	ácido simónico A ^c	1	2	3
Gluc-1	4.50 d (7.4)	5.03 d (7.5)	4.90 d (7.5)	4.91 d (7.5)
2	4.26 dd (7.4, 7.5)	4.28 dd (7.5, 8.0)	3.90 dd (7.5, 8.0)	3.90 dd (7.5, 8.0)
3	4.29 dd (7.5, 8.1)	4.30 dd (8.0, 8.0)	4.12* dd (9.0, 9.5)	4.16* dd (9.0, 9.0)
4	4.14 dd (8.1, 8.7)	4.15 t (9.0, 9.0)	4.12* dd (9.0, 9.5)	4.16* dd (9.0, 9.0)
5	3.89 ddd (2.8, 5.9, 8.7)	3.90 ddd (2.4, 5.0, 9.0)	3.88 m	3.88 ddd (2.5, 6.0, 9.0)
6a	4.33 dd (5.9, 11.6)	4.35 dd (5.5, 11.4)	4.33 dd (6.0, 12.5)	4.32 dd (6.0, 12.0)
6b	4.40 dd (2.7, 11.6)	4.53 dd (2.7, 11.4)	4.47 dd (3.0, 12.5)	4.48 dd (2.5, 12.0)
Ram-1	6.37 d (0.9)	6.46 d (1.6)	5.57 d (2.0)	5.59 d (1.5)
2	4.64 dd (0.9, 3.1)	5.32 sa	6.06 dd (2.0, 3.5)	6.07 dd (1.5, 3.5)
3	4.63 dd (3.1, 9.0)	5.62 dd (3.0, 9.8)	5.04 dd (3.5, 9.0)	5.09 dd (3.5, 9.0)
4	4.36 dd (8.8, 9.0)	4.69 t (9.8)	4.21 dd (9.0, 9.0)	4.24 dd (9.5, 9.5)
5	4.43 dq (5.8, 8.8)	5.10 dq (6.4, 9.8)	4.38 dq (6.0, 9.0)	4.38* dq (6.0, 9.5)
6	1.69 d (5.8)	1.72 d (6.4)	1.58 d (6.0)	1.58 d (6.0)
Ram'-1	6.19 d (1.6)	5.68 d (1.6)	6.13 d (2.0)	6.16 d (1.5)
2	4.98 dd (1.6, 3.5)	5.84 dd (1.6, 3.0)	5.96 dd (2.0, 3.0)	5.97 dd (1.5, 3.5)
3	4.55 dd (3.5, 9.1)	4.52 dd (3.0, 8.0)	4.59 dd (3.0, 9.0)	4.61 dd (3.5, 9.0)
4	4.49 dd (9.1, 9.4)	4.33 dd (9.0, 9.0)	4.25 dd (9.0, 9.5)	4.27 dd (9.0, 9.5)
5	4.31 dq (6.1, 9.4)	4.37 dq (6.0, 9.0)	4.32 dq (6.0, 9.5)	4.38* dq (6.0, 9.5)
6	1.58 d (6.1)	1.62 d (6.0)	1.64 d (6.0)	1.65 d (6.0)
Ram''-1	5.68 d (1.6)	5.93 sa	5.88 sa	5.91 d (1.0)
2	4.88 dd (1.6, 3.2)	4.63 dd (1.3, 3.3)	4.70 sa	4.71 dd (1.0, 3.0)
3	4.55 dd (3.2, 9.0)	4.42 dd (3.3, 9.8)	4.47 dd (3.0, 9.0)	4.47 dd (3.0, 9.0)
4	4.22 dd (9.0, 9.2)	5.78 t (9.7)	5.79 t (9.5)	5.82 t (9.5)
5	4.74 dq (6.0, 9.2)	4.34 dq (6.3, 9.7)	4.37 dq (6.0, 9.5)	4.34 dq (6.5, 9.5)
6	1.61 d (6.0)	1.40 d (6.3)	1.38 d (6.0)	1.40 d (6.5)
Ram'''-1	5.95 d (1.1)	5.57 d (1.3)	5.62 d (1.5)	5.65 d (1.0)
2	4.69 dd (1.1, 3.2)	4.79 dd (1.3, 3.1)	4.83 sa	4.84 dd (1.0, 3.5)
3	4.39 dd (3.2, 9.6)	4.50 dd (3.1, 9.0)	4.40 dd (3.0, 9.0)	4.41 dd (3.5, 9.0)
4	4.21 dd (9.6, 10.0)	4.23 t (9.4)	4.23 dd (9.0, 9.0)	4.25 dd (9.5, 9.5)
5	4.30 dq (5.6, 10.0)	4.27 dq (6.0, 9.4)	4.31 dq (6.0, 9.0)	4.38* dq (6.0, 9.5)
6	1.58 d (5.6)	1.71 d (6.0)	1.55 d (6.0)	1.57 d (6.0)
Jal-2a	2.32 t (7.3)	2.25 ddd (3.8, 7.2, 13.6)	2.25 ddd (3.5, 8.0, 12.0)	2.25 ddd (3.5, 8.0, 12.0)
2b		2.91 ddd (3.8, 7.2, 13.6)	2.40 ddd (3.5, 7.0, 12.0)	2.40 ddd (3.5, 8.0, 12.0)
11	4.06 sa	3.90 m	3.87 m	3.87 m
16	0.92 t (7.1)	0.93 t (7.0)	0.83 t (7.0)	0.83 t (7.0)
COOCH ₃	3.64 s			
mba-2		2.50 tq (7.0, 7.0)	2.36 tq (7.0, 7.0)	2.37 tq (7.0, 7.0)
2-Me		1.20 d (7.0)	1.07 d (7.0)	1.08 d (7.0)
3-Me		0.94 t (7.5)	0.85 t (7.5)	0.85 t (7.0)
mba'-2				2.50 tq (7.5, 7.5)
2-Me				1.20 d (7.0)
3-Me				0.93 t (7.5)
iba-2			2.63 sept (7.0, 7.0)	
3			1.19 d (7.0)	
3'			1.16 d (7.0)	
dodeca-2a		2.38 t (7.4)		
12		0.87 t (7.0)		

^aDatos registrados a 500 MHz en C₃D₈N. *Señales sobrepuestas. Entre paréntesis las constantes de acoplamiento en Hz. sa = singulete ancho, d = doblete, t = triplete, m = multiplete, dq = doblete cuarteteado, sept = septuplete. ^bAbreviaciones: Ram = ramnosa; Gluc = glucosa; Jal = ácido 11-hidroxihexadecanoico; mba = ácido 2-metilbutanoico; iba = ácido metilpropanoico; dodeca = ácido dodecanoico. ^cEster metílico⁶⁵.

Cuadro 24. Desplazamientos químicos en la RMN ^{13}C de las murucoidinas VI-VIII (1-3).^a

Carbono ^b	ácido simónico A ^c	1	2	3
Gluc-1	101.0	101.4	104.5	104.6
2	79.7	75.3	82.0	82.0
3	76.9	79.8	76.5	76.5
4	72.2	72.1	71.9	71.9
5	78.2	79.8	77.9	78.0
6a	62.9	62.8	62.8	62.8
Ram-1	101.3	100.3	98.8	98.8
2	73.2	69.7	73.7	73.7
3	72.2	77.8	69.9	70.0
4	80.5	78.1	79.8	79.8
5	67.3	68.0	68.7	68.5
6	19.2	19.4	19.3	19.4
Ram'-1	102.9	99.2	99.3	99.1
2	72.1	72.9	73.0	73.1
3	82.6	80.0	79.8	79.8
4	78.7	79.8	80.1	80.1
5	68.8	68.3	68.2	68.2
6	18.3	18.7	18.8	18.8
Ram''-1	104.5	103.7	103.8	103.8
2	72.7	72.6	72.7	72.8
3	72.7	70.2	70.2	70.2
4	73.7	74.8	74.9	74.8
5	70.1	68.1	68.5	68.7
6	18.6	17.9	17.8	17.9
Ram-1'''	103.4	104.3	104.9	104.9
2	72.7	72.6	72.5	72.5
3	72.8	72.5	72.5	72.5
4	74.0	73.7	73.5	73.5
5	70.4	70.8	68.7	68.7
6	18.9	18.7	18.6	18.6
Jal-1	174.0	174.9	173.4	173.3
2a		33.7	34.3	34.3
11	78.2	79.4	82.8	82.8
16	14.4	14.4	14.5	14.3
OCH ₃	51.3			
mba-1		176.3	175.5	175.5
2		41.6	41.5	41.5
2-Me		17.0	16.1	16.8
3-Me		11.8	11.8	11.7
mba'-1				176.3
2				41.5
2-Me				17.0
3-Me				11.7
iba-1			176.9	
2			34.5	
3			19.3	
3'			19.1	
dodeca-1		172.9		
2		34.4		
12		14.3		

^aDatos registrados a 125 MHz en C₅D₅N. ^bAbreviaciones: Ram = ramnosa; Gluc = glucosa; Jal = ácido 11-hidroxyhexadecanoico; mba = ácido 2-metilbutanoico; iba = metilpropanoico; dodeca = ácido dodecanoico. ^cEster metílico.⁶⁵

6.3.2 Elucidación estructural de las murucoidinas XII (4) y XIII (5).

La elucidación estructural de los compuestos **4** y **5** se realizó de la misma manera que en el caso de los compuestos **1–3**, lográndose identificar como el núcleo oligosacárido de estos compuestos al ácido operculínico E (Figura **8**, sección **2.3.4** de los Antecedentes). En el espectro de RMN ^1H de los compuestos **4** y **5** (Figura **66**, pág. 104) aparece la señal característica (tq) del protón H-2 del ácido 2-metilbutanoico a 2.48 ppm. A la vez se observaron dos conjuntos de mutlipletos (doblete de doblete de dobletes) centrados en 2.30 y 2.40 ppm, cuya multiplicidad inusual para los derivados acilos presentes en estos metabolitos no permitió inferir la naturaleza del ácido graso que se encontraba presente como un grupo esterificante del oligosacárido. Se observaron los dobletes entre 1.4–1.6 confirmando la presencia de tres metilpentosas y las señales entre 2.2–2.9 ppm correspondiente a los dos protones no equivalentes del grupo metileno en posición alfa al grupo carbonilo de la aglicona.

En el espectro de RMN ^{13}C (Figura **67**, pág. 105) de los compuestos **4** y **5** aparece una señal a 62.8 ppm, la cual corresponde al carbono del grupo hidroximetileno de una hexosa y tres señales entre 175-176 ppm, dos de los cuales corresponden a los carbonos de los grupos carbonilos de los ácidos que se encuentran acilando y uno al carbonilo del macrociclo lactónico de la aglicona. La asignación de las señales de RMN ^1H y ^{13}C (cuadros **25** y **26**) de los compuestos **4** y **5** se inició localizando en el espectro heteronuclear HSQC los carbonos anoméricos (desplazamientos químicos alrededor de 98-100 ppm) y sus correspondientes protones anoméricos. En la Figura **61** se ilustra las correlaciones anoméricas observadas para el compuesto **4**.

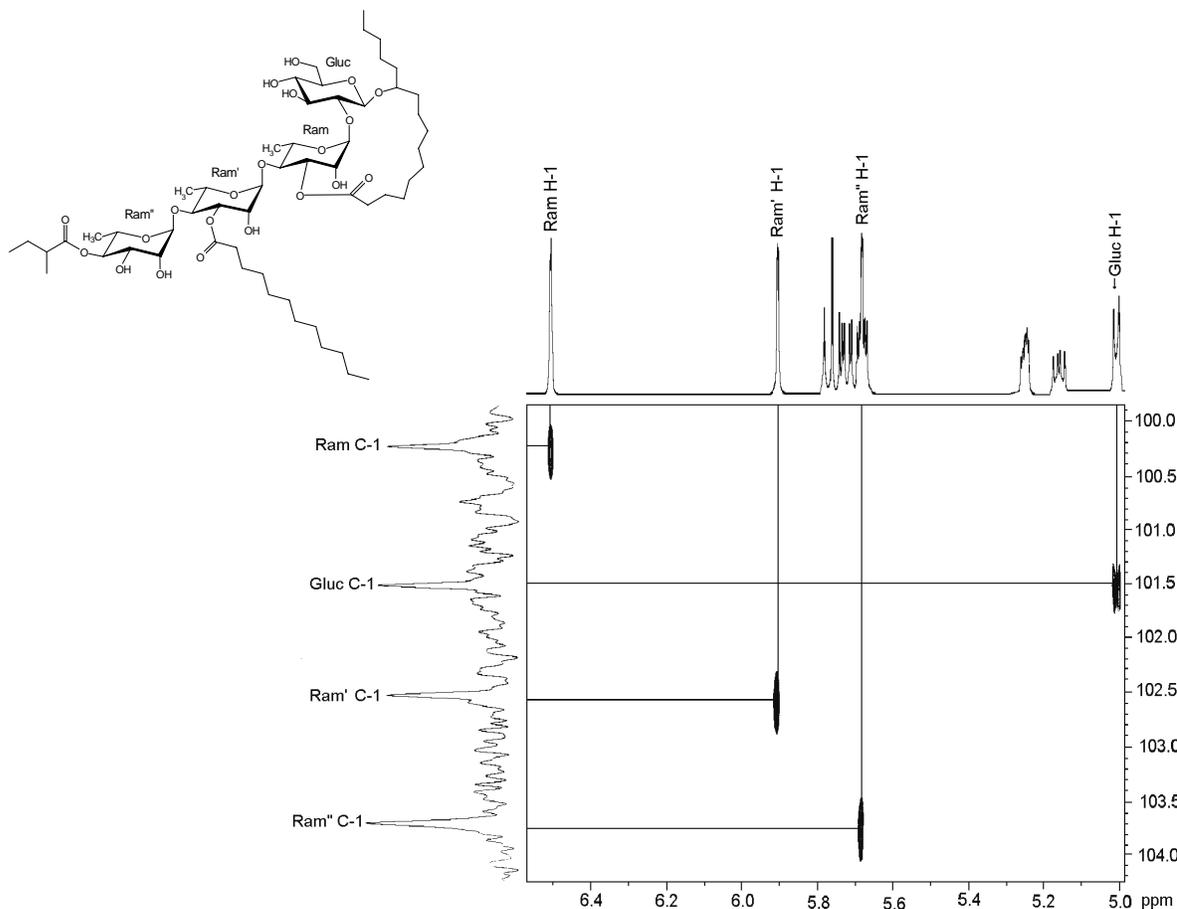


Figura 61. Sección anomérica del espectro HSQC del compuesto **4**.

Como se puede observar en la Figura **61** a diferencia de los compuestos **1-3**, los compuestos de esta serie (**4-5**) poseen cuatro protones anoméricos, tres con valores pequeños y no cuatro señales como en los compuestos **1-3**, y una constante de acoplamiento con valor grande en ambas series. Del análisis de la Figura **61** se logró obtener los protones anoméricos para el compuesto **4**, información que se resume a continuación:

Monosacárido	^1H -anomérico (ppm)	^{13}C -anomérico (ppm)
Glucosa	5.00	101.5
Ramnosa''	5.68	103.7
Ramnosa'	5.91	102.6
Ramnosa	6.51	100.3

En los compuestos **4** y **5**, como se ilustra en la Figura **62**, se presentó una mayor sobreposición de las señales de los metinos no anoméricos con un efecto paramagnético respecto a los metinos desprotegidos de los compuestos **1-3**. Posteriormente, con los espectros homonucleares COSY y TOCSY se asignaron las señales correspondientes a los metinos de cada monosacárido del núcleo oligosacárido, realizando los cuadros de conectividad en estos experimentos bidimensionales de RMN. En la Figura **62** se ilustran los cuadros de conectividad para la secuencia de H-H de la ramnosa interna (Ram) del compuesto **4**. Al analizar las constantes de acoplamiento para cada unidad sacárida, se determinó que el núcleo oligosacárido está constituido por una unidad de glucosa y tres de ramnosa. Los dobletes de los protones anoméricos registraron una constante de acoplamiento grande ($J = 7.5$ Hz) para la configuración β anomérica de la glucosa y tres pequeñas ($J = 1.5$ Hz) para la ramnosa.

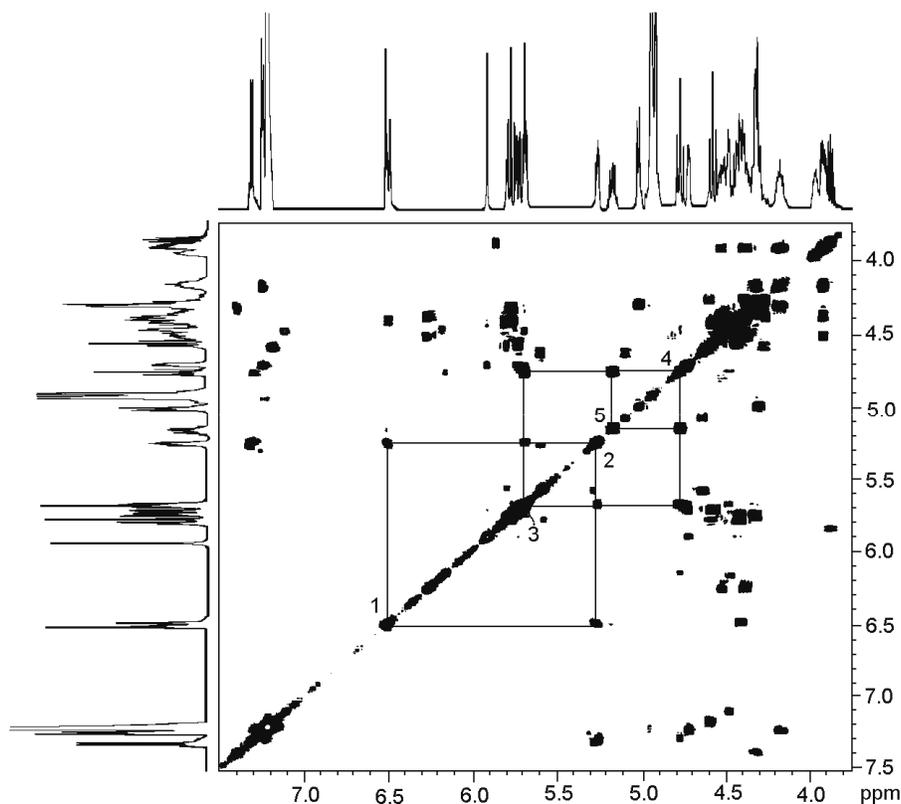


Figura 62. Sección del espectro COSY correspondiente a la porción oligosacárida del compuesto **4** en donde se ilustran las conectividades H-H para la ramnosa interna (Ram).

Después de identificar y diferenciar las señales de los metinos para cada monosacárido, por medio de los experimentos COSY y TOCSY, se procedió a realizar la asignación de las resonancias de ^{13}C mediante el análisis del experimento HSQC. Posteriormente, se estableció la secuencia de glicosidación mediante las correlaciones ^1H - ^{13}C observadas en el espectro HMBC en la región oligosacárida, entre los protones anoméricos con los carbonos de las unidades sacáridas vecinales donde suceden las conectividades interglicosídicas. La Figura 63 ilustra las conectividades para dos unidades monosacáridas de las cuatro que forman la cadena oligosacárida del compuesto 4, en donde el carbono anomérico a 102.6 ppm muestra una correlación con el protón a 4.76 ppm que corresponde al protón H-4 del sacárido cuyo protón anomérico es 6.51 ppm. A la vez la Figura 63 muestra la interacción del carbono a 103.7 ppm con el protón H-4 (4.57 ppm) del sacárido cuyo protón anomérico es 5.91 ppm. La asignación de los carbonilos se realizó mediante la secuencia de pulsos HMBC a partir de sus acoplamientos con los hidrógenos del metileno de la aglicona (H-2, 2.25 y 2.40) y los protones H-2 de cada uno de los ácidos (Figura 64).

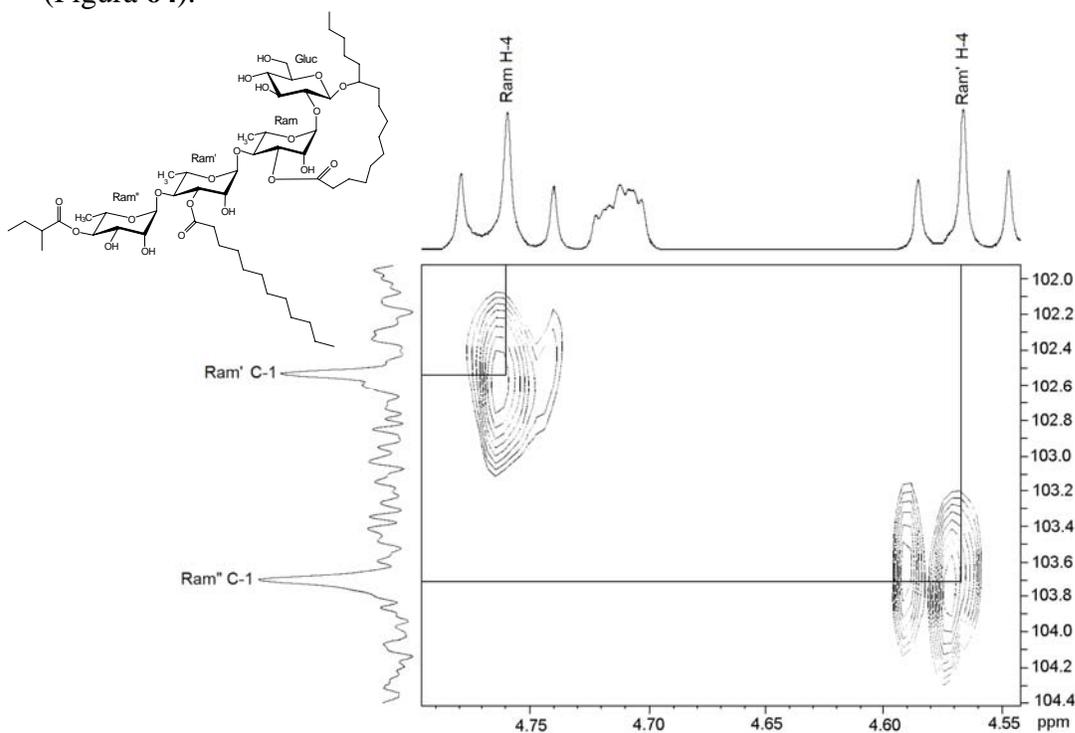


Figura 63. Sección de la región oligosacárida del espectro HMBC para el compuesto 4 en donde se ilustran las conectividades entre los carbonos anoméricos de dos unidades monosacáridas con el protón de la unidad sacárida que participa en el enlace glicosídico.

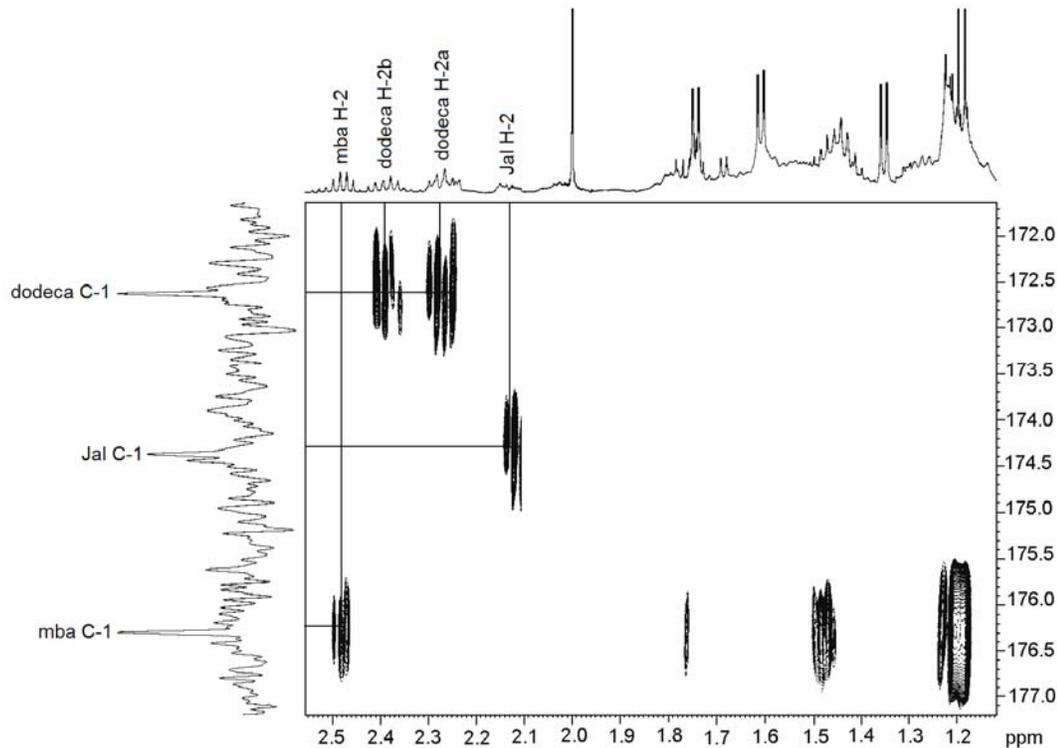


Figura 64. Sección del espectro HMBC del compuesto **4** donde se ilustran las correlaciones entre los carbonilos de cada uno de los ésteres con los hidrógenos α al carbonilo.

Los sitios de acilación se dedujeron a partir de las correlaciones ^1H - ^{13}C en el experimento HMBC, entre los carbonos del carbonilo de cada uno de los ácidos con las señales protónicas geminales a estos grupos. La Figura **65** ilustra estas conectividades para el compuesto **4** en donde la interacción entre el C-1 del ácido 2-metilbutanoico (176.3) con los hidrógenos del metino en la posición H-4 (5.76 ppm) de la ramnosa externa (Ram'') (Figura **65**) confirmó la sustitución en esa posición. En tanto que la conectividad entre el H-3 de la ramnosa interna media (Ram') con el carbonilo centrado en 172.5 ppm permitió ubicar al segundo residuo ácido.

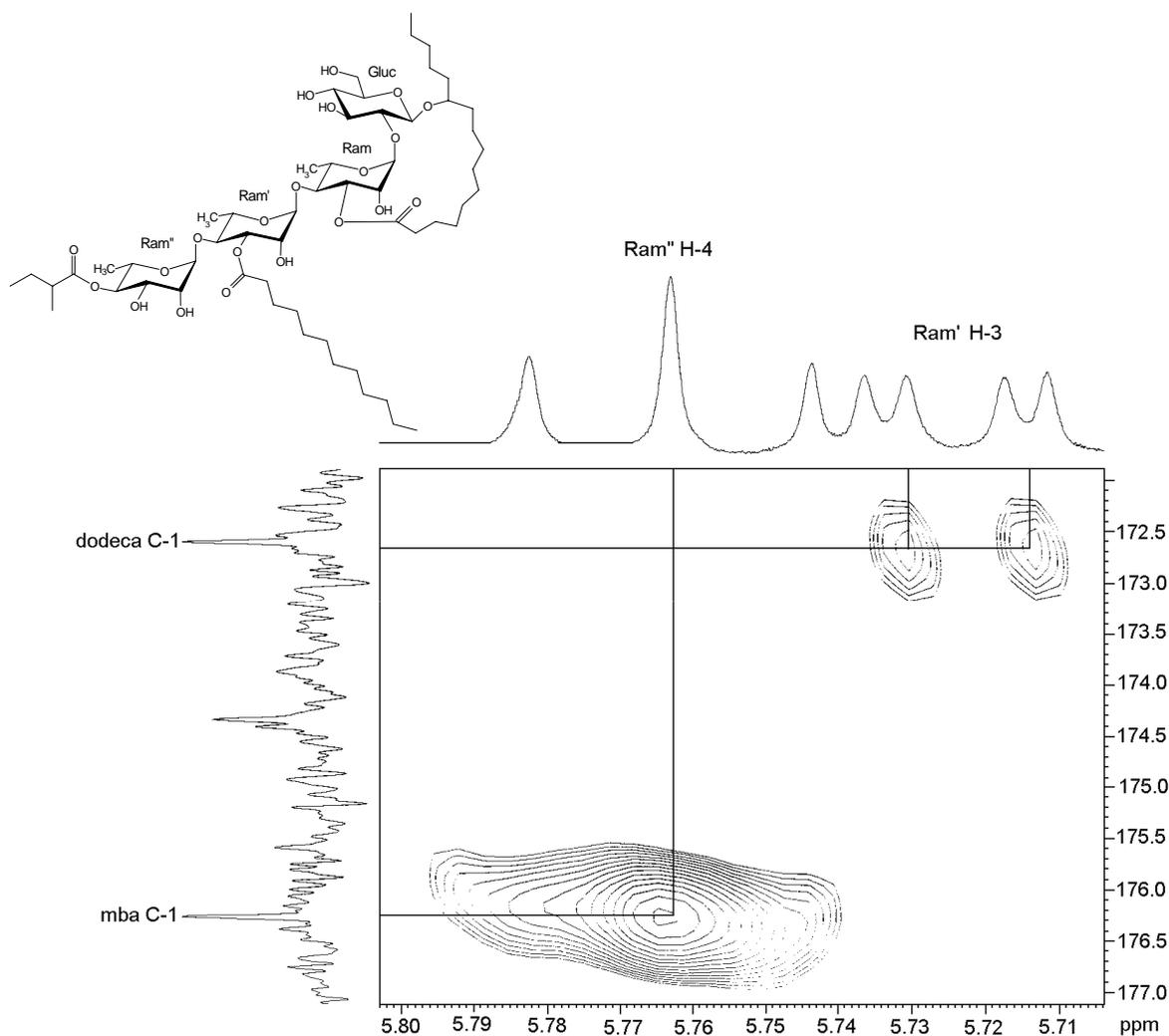


Figura 65. Sección del espectro HMBC del compuesto **4** donde se ilustran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de dos de los ésteres con las señales protónicas geminales a estos grupos.

Por otra parte, los desplazamientos de ¹H de los metinos de la posición H-3 y H-2 de la tercera unidad sacárida, la ramnosa interna (Ram'), son diferentes para el compuesto **5** con respecto al compuesto **4** ya que la acilación de este carbohidrato ocurre en la posición C-2 para el compuesto **5** y en C-3 para el compuesto **4** (ver cuadro 25).

Cuadro 25. Desplazamientos químicos en la RMN ¹H de las murucoidinas XII-XIII (4-5).^a

Proton ^b	ácido operculínico E ^c	4	5
Gluc-1	4.95 d (7.0)	5.00 d (8.0)	4.99 d (7.5)
2	4.22*	4.30* dd (8.0, 8.0)	4.30* dd (8.0, 8.0)
3	4.24*	4.30* dd (8.0, 8.0)	4.30* dd (8.0, 8.0)
4	4.13 dd (9.0, 9.0)	4.16 dd (9.0, 9.0)	4.17 dd (9.0, 9.0)
5	3.87 ddd (3.0, 5.0, 9.0)	3.90 ddd (2.0, 5.5, 9.0)	3.90*
6a	4.33 dd (5.0, 12.0)	4.40* m	4.38 dd (5.6, 12.0)
6b	4.49 dd (3.0, 12.0)	4.52 dd (3.0, 11.7)	4.52 dd (2.8, 12.0)
Ram-1	6.35 d (1.0)	6.51 d (1.5)	6.49 d (1.0)
2	4.64 dd (1.0, 3.5)	5.25 dd (1.5, 3.0)	5.28 dd (1.0, 3.0)
3	4.61 dd (3.5, 9.0)	5.69 dd (3.0, 9.5)	5.59 dd (3.0, 9.5)
4	4.35 dd (9.0, 9.0)	4.76 t (9.5, 9.5)	4.63 t (9.5)
5	4.89 dq (6.0, 9.0)	5.16 dq (6.5, 9.5)	5.08 dq (6.5, 9.5)
6	1.69 d (6.0)	1.75 d (6.5)	1.75 d (6.5)
Ram'-1	6.22 d (1.0)	5.91 d (1.5)	5.57 d (1.5)
2	4.76 dd (1.0, 3.5)	4.71 dd (1.5, 3.0)	5.78 dd (1.5, 3.5)
3	4.55 dd (3.5, 9.0)	5.72 dd (3.0, 9.5)	4.59 dd (3.5, 9.5)
4	4.42 dd (9.0, 9.0)	4.57 t (9.5, 9.5)	4.26 t (9.5, 9.5)
5	4.36*	4.43 dq (6.5, 9.5)	4.37 dq (6.0, 9.5)
6	1.59 d (6.0)	1.61 d (6.5)	1.69 d (6.0)
Ram''-1	6.29 d (1.0)	5.68 d (1.5)	6.16 d (1.5)
2	4.80 dd (1.0, 3.5)	4.47 dd (1.5, 3.0)	4.77 dd (1.5, 3.0)
3	4.45 dd (3.5, 9.0)	4.40* m	4.48 dd (3.0, 9.5)
4	4.25 dd (9.0, 9.0)	5.76 t (9.5)	5.80 t (9.5)
5	4.34*	4.32 dq (6.5, 9.5)	4.41 dq (6.0, 9.5)
6	1.59 d (6.0)	1.36 d (6.5)	1.44 d (6.0)
Jal-2a	2.31 t (7.4)	2.13 ddd (3.7, 7.8, 11.5)	2.24 ddd (3.0, 8.0, 11.7)
2b		2.25 ddd (3.7, 7.8, 11.5)	2.72 ddd (3.0, 8.0, 11.7)
11	4.00 m	3.96 m	3.90*
16	0.92 t (7.0)	0.99 t (7.0)	1.00 t (7.0)
COOCH ₃	3.62 s		
mba-2		2.48 tq (7.0, 7.0)	2.52 tq (7.0, 7.0)
2-Me		1.20 d (7.0)	1.22 d (7.0)
3-Me		0.92 t (7.5)	0.95 t (7.5)
dodeca-2a		2.30 ddd (7.5, 7.5, 15.0)	2.27 ddd (7.5, 7.5, 15.0)
2b		2.39 ddd (7.5, 7.5, 15.0)	2.35 ddd (7.5, 7.5, 15.0)
12		0.87 t (7.0)	0.87 t (7.5)

^aDatos registrados a 500 MHz en C₅D₅N. *Señales sobrepuestas. Entre paréntesis las constantes de acoplamiento en Hz. sa = singulete ancho, d = doblete, t = triplete, m = multiplete, dq = doblete cuarteteado, sept = septuplete. ^bAbreviaciones: Ram = ramnosa; Gluc = glucosa; Jal = ácido 11-hidroxyhexadecanoico; mba = ácido 2-metilbutanoico; dodeca = ácido dodecanoico. ^cEster metílico.⁴³

Cuadro 26. Desplazamientos químicos en la RMN ^{13}C de las murucoidinas XII-XIII (4-5).^a

Carbono ^b	ácido operculínico E ^c	4	5
Gluc-1	101.1	101.5	101.4
2	77.1	75.0	75.1
3	79.6	79.8	79.8
4	72.0	72.0	72.0
5	78.0	78.3	78.2
6a	62.8	62.8	62.8
Ram-1	101.3	100.3	100.2
2	72.6	69.6	69.5
3	73.1	78.9	77.9
4	80.8	76.2	79.3
5	67.2	67.6	67.9
6	19.1	19.5	19.2
Ram'-1	102.9	102.6	100.7
2	73.0	70.4	74.3
3	73.4	75.6	70.8
4	79.6	78.4	80.8
5	68.3	69.1	68.5
6	18.8	18.5	18.7
Ram''-1	102.9	103.7	103.7
2	72.4	72.7	72.3
3	72.7	70.1	70.2
4	73.9	74.8	75.1
5	70.2	68.2	68.0
6	18.4	17.9	17.9
Jal-1	174.0	174.4	174.9
2a		34.6	34.2
11	78.2	79.8	79.3
16	14.4	14.6	14.6
OCH ₃	51.3		
mba-1		176.3	176.3
2		41.5	41.6
2-Me		17.0	17.0
3-Me		11.8	11.8
dodeca-1		172.6	173.2
2		34.5	34.4
12		14.3	14.3

^aDatos registrados a 125 MHz en C₅D₅N. ^bAbreviaciones: Ram = ramnosa; Gluc = glucosa; Jal = ácido 11-hidroxyhexadecanoico; mba = ácido 2-metilbutanoilo; dodeca = ácido dodecanoico. ^cEster metílico⁴³

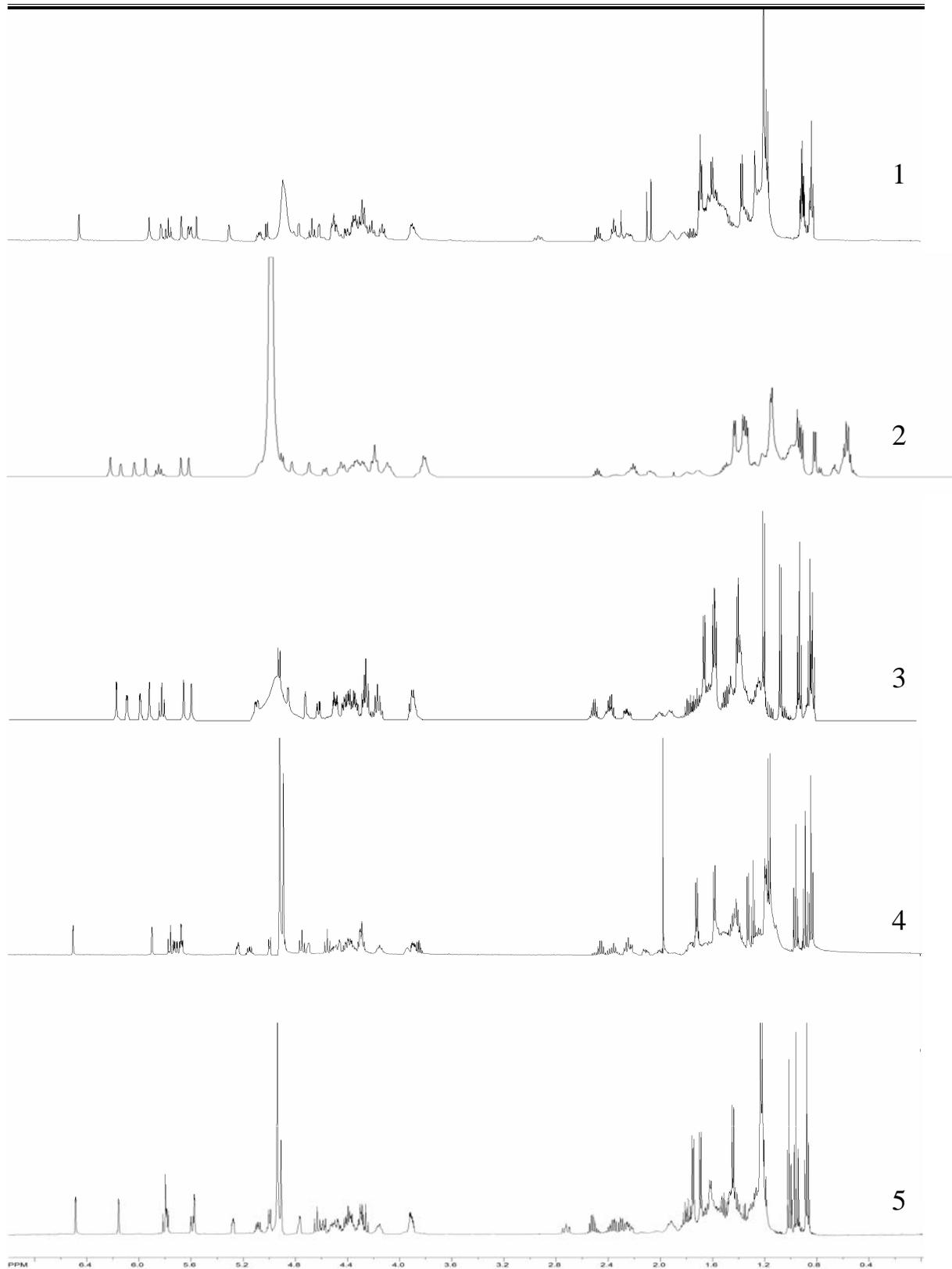


Figura 66. Espectros de RMN ^1H de los compuestos 1-5.

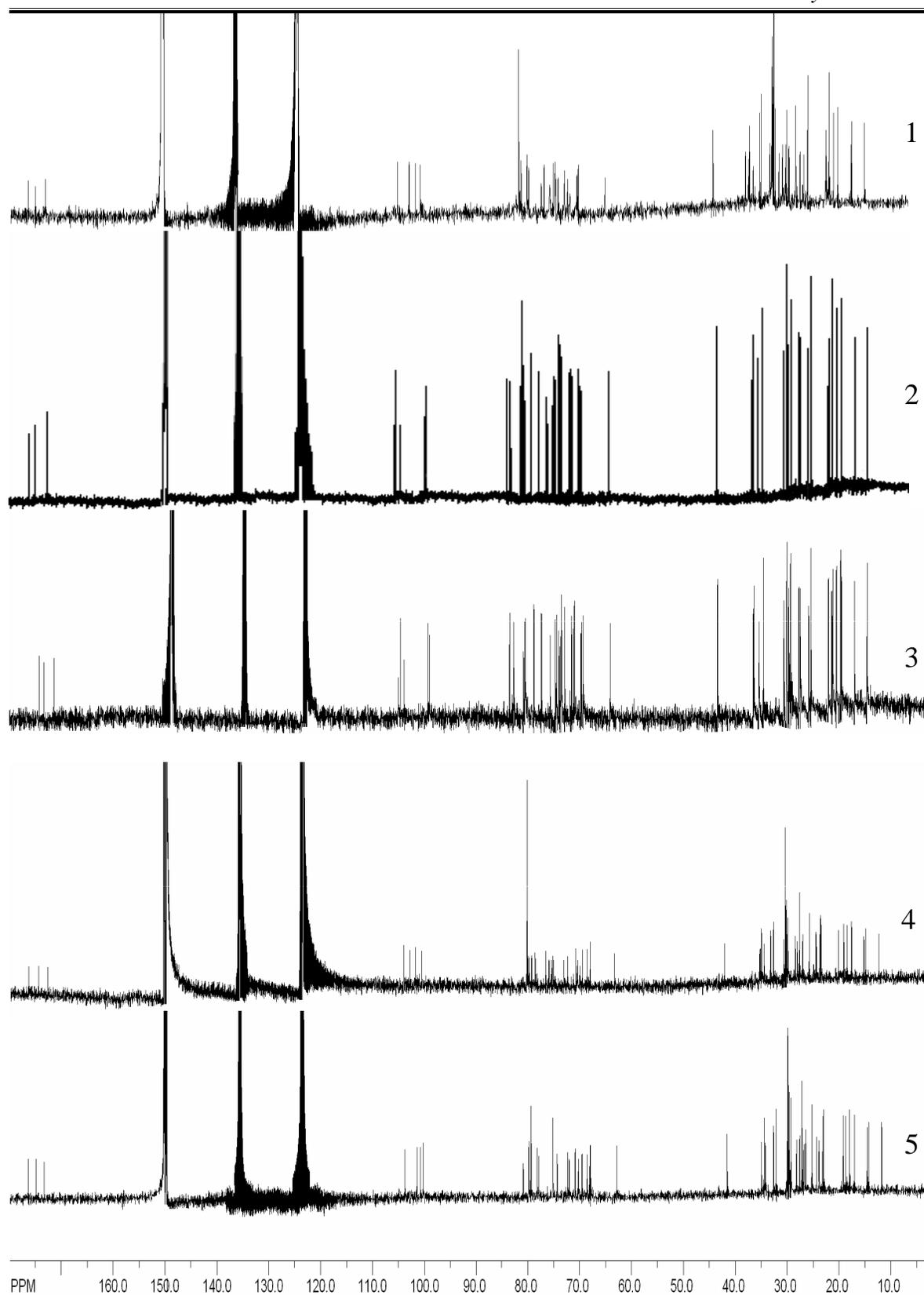


Figura 67. Espectros de RMN ^{13}C de los compuestos 1-5.

6.3.3 Elucidación estructural de las murucoidinas IV (6), V (7), XI (8), XVII (9) e intrapilosina I (10).

La elucidación estructural de los compuestos **6-10** se realizó de la misma manera que en el caso de los compuestos **1-5**, lográndose identificar como núcleo oligosacárido de los compuestos **6-10** al ácido operculínico A (Figura **16**, sección **2.4.5** de los Antecedentes). De la misma manera que para los compuestos anteriores, se pudo observar en el espectro de RMN ^1H de los compuesto **6-10** (Figura **73**, pág. 114) la señal característica (tq) para el protón H-2 del ácido 2-metilbutanoico centrado en 2.48 ppm. En el caso del compuesto **8**, además de la señal del ácido metilbutanoico, se observa un triplete en 2.42 ppm característico de los ácidos alifáticos de cadena larga; para los compuestos **9 y 10**, se observaron un par de dobletes centrados en 6.56 y 7.84 ppm y dos multipletes a 7.32 (2H) y 7.44 ppm señales características del ácido cinámico.

En los espectros de RMN ^{13}C de los compuestos **6-10** (Figura **74**, pág. 115) aparece una señal a 62.8 ppm, la cual corresponde al carbono del grupo hidroximetileno de una hexosa y tres señales entre 175–176 ppm para los compuestos **6-8**. En el caso de los compuestos **9 y 10**, además de las tres señales entre 175-176, aparece una señal a 166 ppm, estas señales corresponden a los carbonos de los grupos carbonilos de los ácidos que se encuentran acilando la porción glicosídica y al carbonilo de la lactona macrocíclica de la aglicona. La asignación de las señales de RMN ^1H y ^{13}C (cuadros **27 y 28**) de los compuestos **6-10** se inició localizando en el espectro heteronuclear HSQC los carbonos anoméricos y sus correspondientes protones. En la Figura **68** se ilustran las correlaciones anoméricas del compuesto **8**.

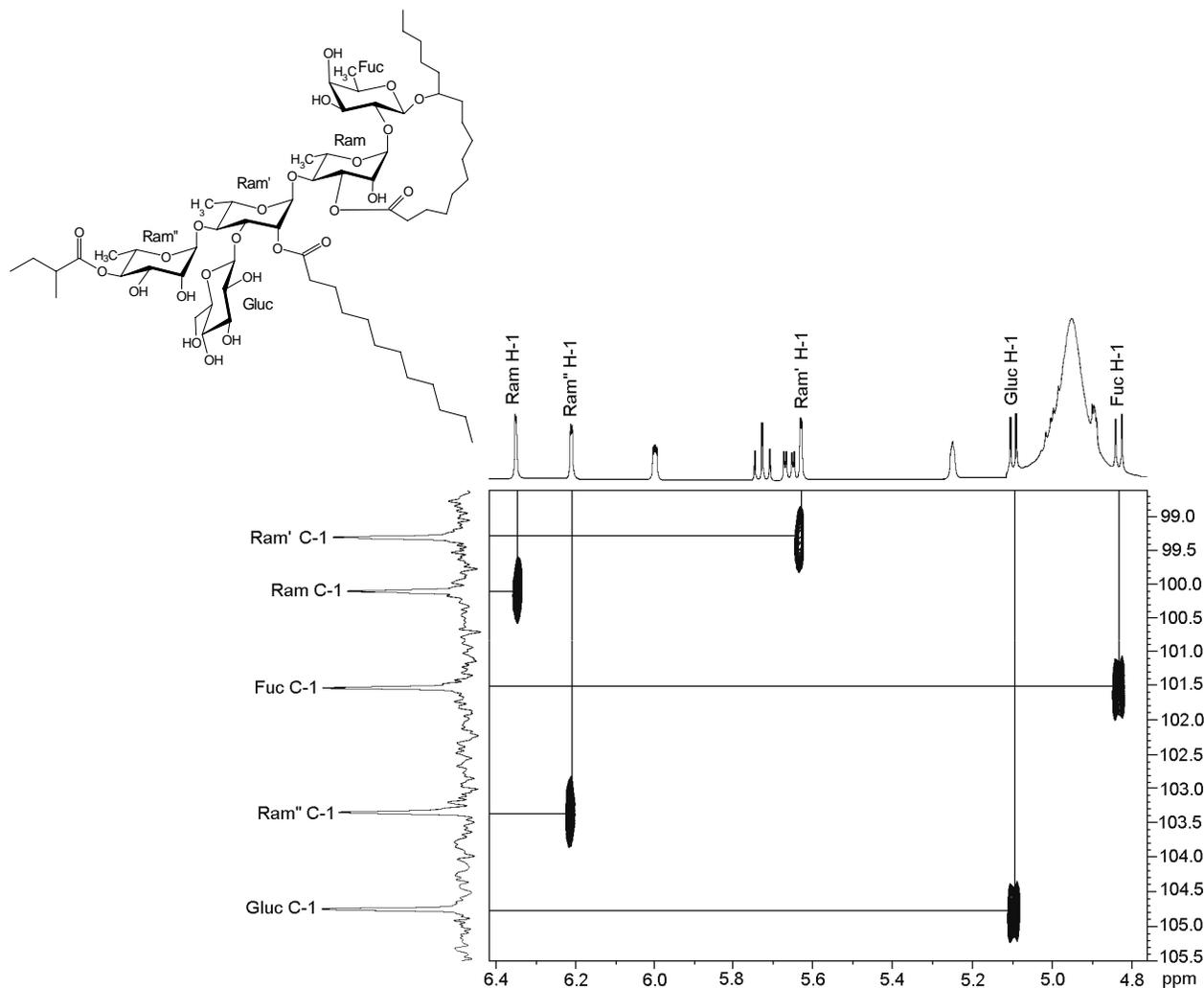


Figura 68. Sección anomérica del espectro HSQC del compuesto **8**.

Como se ilustra en la Figura **68**, los compuestos de esta serie (**6-10**) difieren de los compuestos descritos en las series anteriores en sus protones anoméricos ya que en esta serie se registraron dos constantes de acoplamiento grandes, a diferencia de los compuestos anteriores (**1-5**) que sólo registraron una constante de acoplamiento grande. Al analizar las constantes de acoplamiento para los compuestos **6-10**, se determinó que los compuestos están constituidos por una unidad de glucosa, una de fucosa y tres de ramnosa. Los dobletes de los protones anoméricos que registraron la constante de acoplamiento grande ($J = 7.5$ Hz) correspondieron a la presencia de una unidad de glucosa y una de fucosa; y los dobletes de los protones anoméricos que registraron la constante de

acoplamiento pequeña ($J = 1.5$ Hz) a las ramnosas. Con los experimentos bidimensionales COSY y TOCSY, se asignaron los metinos para cada unidad monosacárida (Figura 69, compuesto 8). La secuencia de glicosidación se asignó mediante las correlaciones ^1H - ^{13}C observadas en el espectro HMBC en la región oligosacárida, entre los protones anoméricos con los carbonos de las unidades sacáridas vecinales. La Figura 70 ilustra las conectividades en el compuesto 8, para tres unidades de monosacárido de las cinco que forman la cadena oligosacárida de este compuesto.

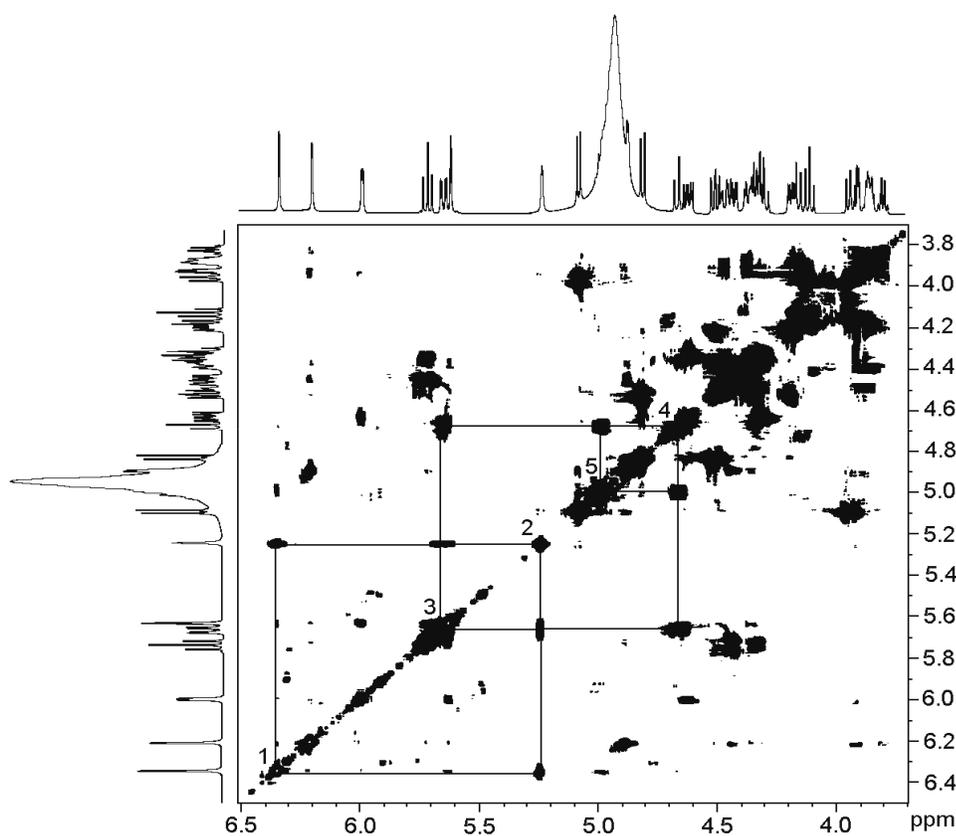


Figura 69. Sección de la porción oligosacárida del espectro COSY del compuesto 8 en donde se ilustran las conectividades para la ramnosa interna (Ram).

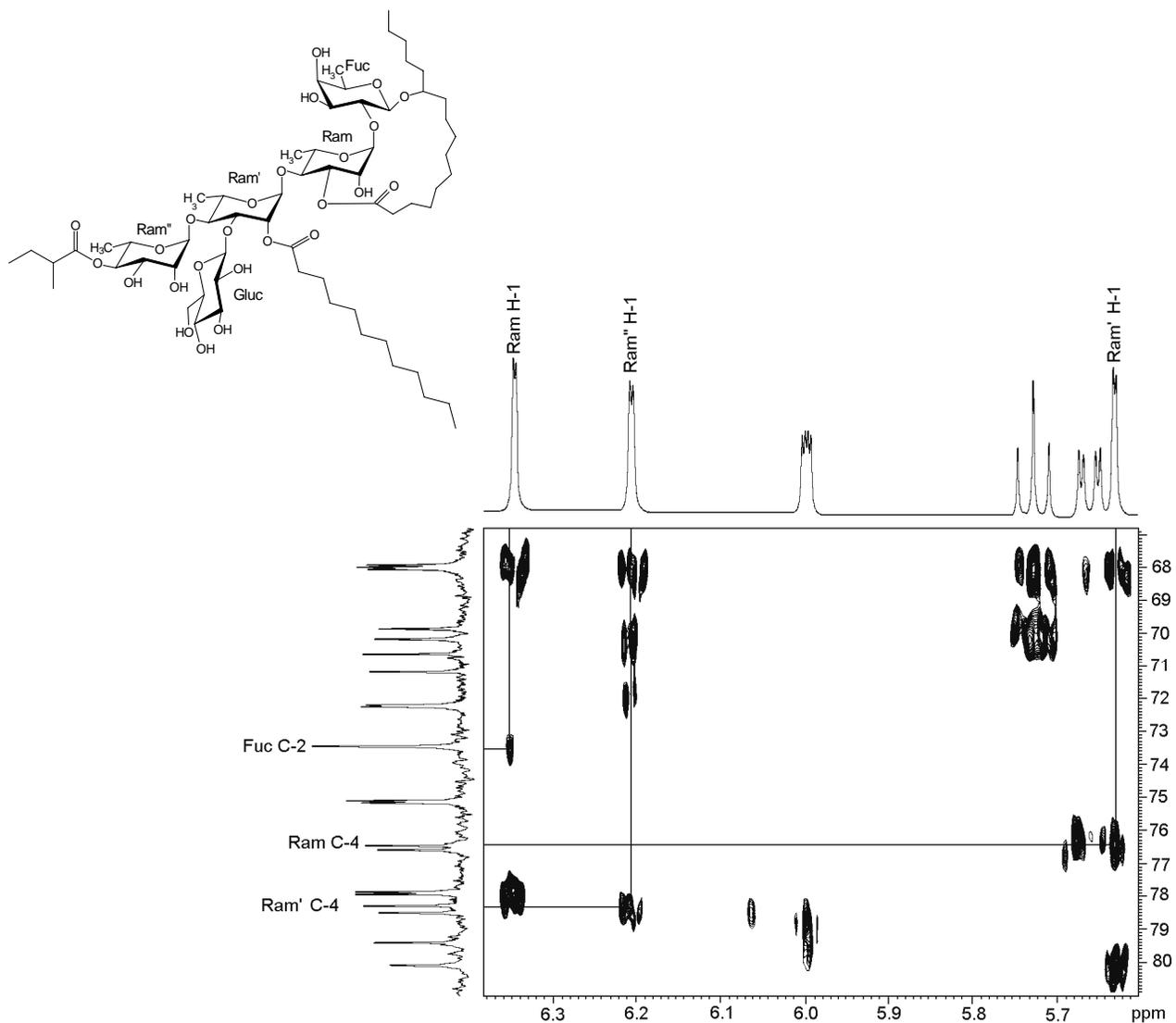


Figura 70. Sección del espectro HMBC para la región oligosacárida del compuesto **8** en donde se ilustran las conectividades entre los protones anoméricos de las tres ramnosas.

En la Figura **70** se ilustran las correlaciones entre el protón H-1 de la ramnosa centrada en 6.35 ppm con el C-2 de la fucosa a 73.5 ppm, la resonancia de la ramnosa en 6.21 ppm con el C-4 (78.6 ppm) de la ramnosa cuyo protón anomérico es 5.63 ppm y entre la ramnosa a 5.63 ppm con el C-4 (76.5 ppm) de la ramnosa cuyo protón anomérico es 6.35 ppm. Estas correlaciones ($^3J_{C-H}$) permitieron confirmar la secuencia de glicosidación.⁴⁵ Establecida la secuencia de glicosidación, se procedió a la asignación de los carbonilos mediante la correlación observada en el espectro HMBC a partir de sus acoplamientos con

los hidrógenos ($^2J_{C-H}$) del metileno de la aglicona (H-2, 2.28) y los protones H-2 de cada uno de los residuos acilos (Figura 71, compuesto 8). De este análisis pudimos deducir para el compuesto 8 que el carbono en 174.6 ppm pertenece al carbonilo de la aglicona (ácido jalapinólico), el de 176.3 ppm al ácido 2-metilbutanoico y el de 173.5 ppm al ácido de cadena alifática.

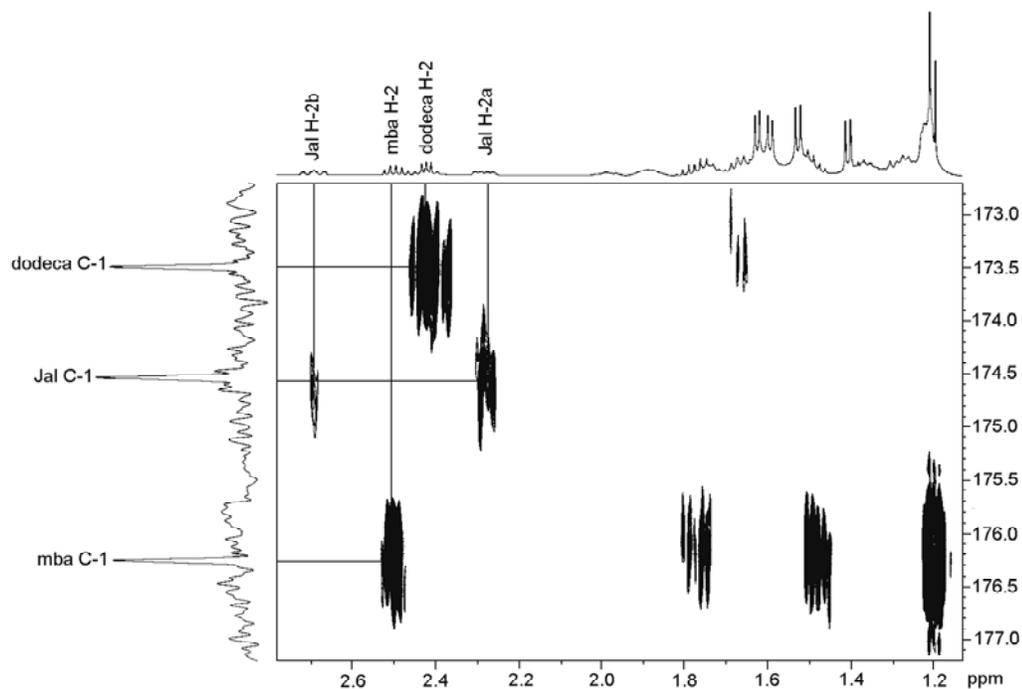


Figura 71. Sección del espectro HMBC del compuesto 8 donde se ilustran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de cada uno de los ésteres con los hidrógenos del metileno α al carbonilo.

Los sitios de acilación se dedujeron a partir de las correlaciones $^1H-^{13}C$ en el experimento HMBC, entre los carbonos del carbonilo de cada uno de los ácidos con las señales protónicas geminales a estos grupos ($^3J_{C-H}$). La Figura 72 ilustra estas conectividades para el compuesto 8 en donde la interacción entre el H-3 de la ramnosa interna (Ram, 5.66 ppm) con el C-1 de la aglicona (174.6 ppm) permitió identificar el sitio de lactonización. También, se observaron las conectividades entre los carbonos C-1 de los ácidos (173.5 y 176.3) con los hidrógenos de los metinos en las posiciones H-2 (Ram', 6.00 ppm) y H-4 (Ram'', 5.73 ppm), respectivamente.

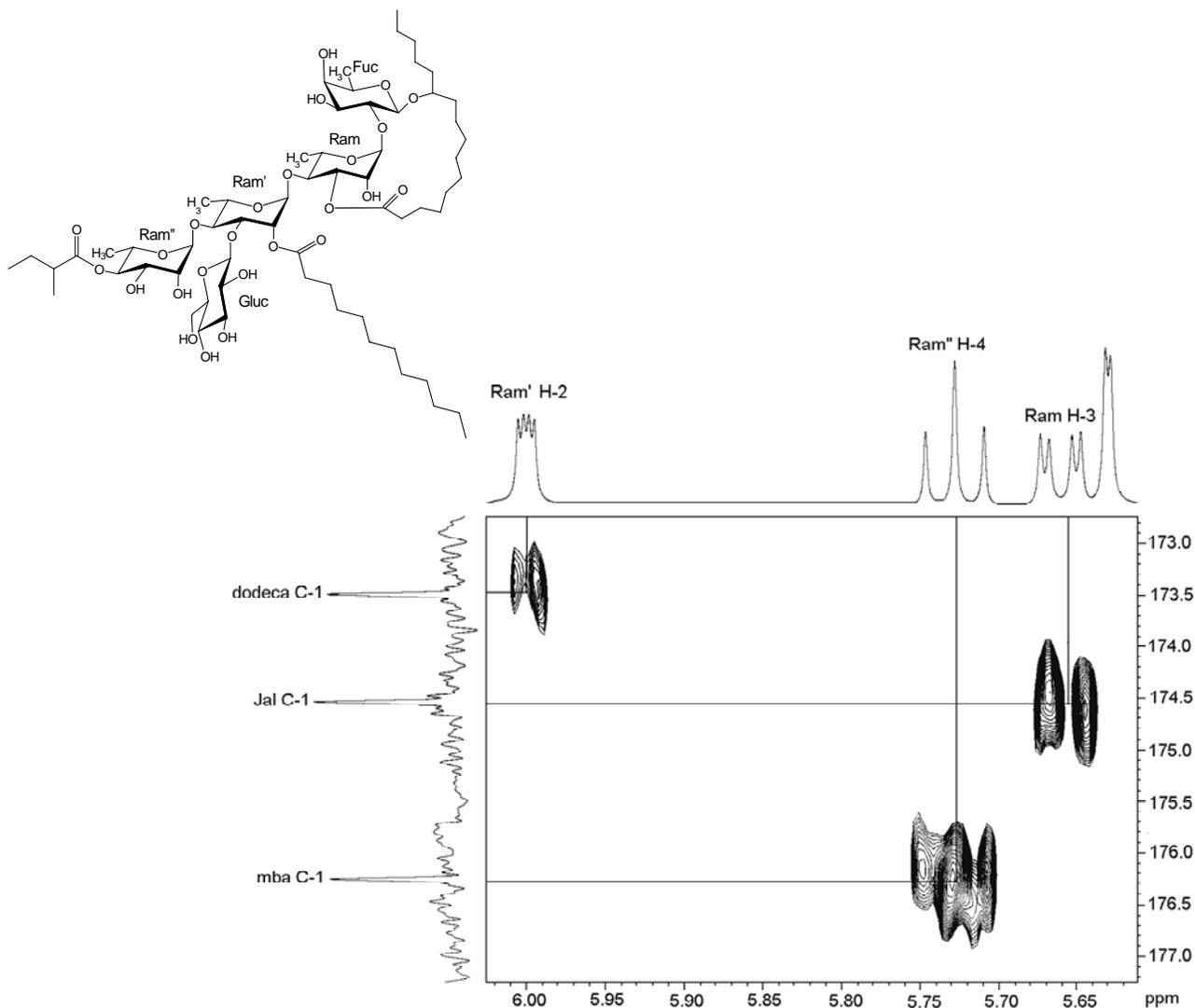


Figura 72. Sección del espectro HMBC del compuesto **8** donde se ilustran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de cada uno de los ésteres con las señales protónicas geminales a estos grupos.

De este modo se logró realizar la elucidación estructural de los compuestos **6-10**. Cabe mencionar que la diferencia de los desplazamientos de ^1H de los metinos de la posición H-3 y H-2 de la ramnosa interna superior (Ram) en los compuestos **7-9** con respecto a los compuestos **6** y **10**, se debe a la posición de lactonización que ocurre en la posición C-3 para los compuesto **7-9** y en C-2 para los compuestos **6** y **10**. Las constantes espectroscópicas del compuesto **10** coinciden con las reportadas en la literatura.⁸¹

Cuadro 27. Desplazamientos químicos en la RMN ¹H de las murucoidinas IV-V (6-7), XI (8) y XVII (9).^a

Proton ^b	ácido operculínico A ^c	6	7	8	9
Fuc-1	4.77 d (7.9)	4.68 d (7.5)	4.82 d (7.9)	4.82 d (8.0)	4.82 d (7.5)
2	4.47 dd (7.9, 9.5)	4.12 dd (7.5, 9.4)	4.50 dd (7.9, 9.4)	4.52 dd (8.0, 9.5)	4.50 dd (7.5, 9.5)
3	4.12 dd (3.4, 9.5)	4.00 dd (3.0, 9.4)	4.19 dd (2.9, 9.4)	4.19* dd (3.0, 9.5)	4.20 dd (2.5, 9.5)
4	3.93 d (3.4)	3.93 d (3.0)	3.90 *	3.90 m	3.90*
5	3.78 q (6.4)	3.72 dq (0.5, 6.3)	3.82 dq (0.5, 6.3)	3.83 q (6.5)	3.81 dq (1.0, 6.5)
6a	1.51 d (6.4)	1.48 d (6.3)	1.50 d (6.3)	1.52 d (6.5)	1.52 d (6.5)
Ram-1	6.20 d (1.5)	5.48 sa	6.34 d (1.3)	6.35 d (1.5)	6.32 d (1.0)
2	4.65 dd (1.5, 3.4)	5.90 dd (1.0, 2.5)	5.22 sa	5.25 sa	5.20 dd (1.0, 2.5)
3	4.59 dd (3.4, 9.2)	4.97 dd (2.5, 9.5)	5.64 dd (2.7, 9.8)	5.66 dd (3.0, 10.0)	5.66 dd (3.0, 10.0)
4	4.20 dd (9.2, 9.2)	4.14 dd (9.4, 9.5)	4.66 dd (9.7, 9.7)	4.68 t (10.0, 10.0)	4.67 t (9.5, 9.5)
5	4.84 dq (6.1, 9.2)	4.45 dq (6.0, 9.5)	4.88 sa	4.95 sa	4.99 dq (6.0, 9.5)
6	1.59 d (6.1)	1.62 d (6.0)	1.60 d (6.1)	1.59 d (6.0)	1.59 d (6.0)
Ram'-1	5.86 d (1.8)	5.82 d (1.0)	5.58 d (1.3)	5.63 d (1.5)	5.57 d (1.5)
2	5.14 dd (1.8, 3.0)	6.30 d (1.0, 3.0)	6.00 dd (1.6, 3.3)	6.00 dd (1.5, 3.5)	6.03 dd (1.5, 3.5)
3	4.70 dd (3.0, 9.1)	4.70 dd (3.0, 9.2)	4.56 dd (3.4, 9.0)	4.63 dd (3.5, 9.0)	4.63 dd (3.5, 9.0)
4	4.47 dd (9.1, 9.1)	4.27 dd (9.2, 9.4)	4.23 dd (9.2, 9.2)	4.35 dd (9.5, 9.5)	4.26 t (9.5, 9.5)
5	4.38 dq (9.1, 6.1)	4.36 dq (6.1, 9.4)	4.32 dq (6.2, 9.2)	4.31 dq (6.0, 9.5)	4.39 dq (6.0, 9.5)
6	1.58 d (6.1)	1.64 d (6.1)	1.56 d (6.2)	1.62 d (6.0)	1.62 d (6.0)
Ram''-1	6.17 d (1.5)	6.18 d (1.3)	6.16 d (1.7)	6.21 d (2.0)	6.20 d (1.5)
2	4.86 dd (1.5, 3.5)	4.92 sa	4.88 sa	4.89 dd (2.0, 3.0)	5.14 dd (1.5, 3.0)
3	4.40 dd (3.5, 9.2)	4.52 dd (3.3, 9.2)	4.43 dd (3.2, 9.5)	4.45 dd (3.0, 9.0)	5.88 dd (3.0, 9.5)
4	4.20 dd (9.2, 9.2)	5.74 dd (9.3, 9.4)	5.72 dd (9.3, 9.3)	5.73 t (9.0, 9.0)	6.02 t (9.5, 9.5)
5	4.28 dq (6.1, 9.2)	4.36 dq (6.5, 9.4)	4.32 dq (6.6, 9.0)	4.37 dq (6.0, 9.5)	4.45 dq (6.5, 9.5)
6	1.56 d (6.1)	1.40 d (6.5)	1.38 d (6.3)	1.40 d (6.0)	1.43 d (6.5)
Gluc-1	5.20 d (7.7)	5.02 d (7.7)	5.05 d (7.6)	5.09 d (7.5)	5.09 d (7.5)
2	3.98 dd (7.7, 8.8)	3.90 dd (8.0, 8.8)	3.90 *	3.96 t (7.5, 9.0)	3.87 dd (7.5, 8.8)
3	4.16 dd (8.8, 8.8)	4.00*	4.12 dd (8.8, 8.9)	4.14 *dd (9.0, 9.0)	4.12 dd (8.5, 9.0)
4	4.08 dd (8.8, 8.8)	4.00*	4.14 dd (8.8, 9.1)	4.14 * dd (9.0, 9.0)	4.14 dd (8.5, 9.0)
5	3.94*	3.73 ddd (2.4, 5.8, 8.4)	3.84 ddd (3.4, 6.0, 9.0)	3.88 ddd (3.0, 6.0, 9.0)	3.84 ddd (2.5, 5.5, 8.0)
6a	4.26 dd (6.1, 11.9)	4.02 dd (5.9, 12.0)	4.31dd (6.1, 12.3)	4.39 dd (5.5, 12.0)	4.35 dd (5.0, 11.0)
6b	4.51 dd (2.4, 11.9)	4.35 dd (2.4, 12.0)	4.44 dd (3.0, 12.0)	4.48 dd (3.0, 12.0)	4.46 dd (3.0, 12.5)
Jal-2a	2.33 t (7.4)	2.25 ddd (3.8, 7.9, 14.6)	2.23 ddd (2.8, 7.2, 14.6)	2.28 ddd (3.0, 7.8, 13.0)	2.26 ddd (2.8, 7.0, 15.0)
2b		2.42 dd (3.9, 14.6)	2.55 dd (3.2, 14.6)	2.70 dd (2.5, 13.0)	2.58 dd (2.8, 15.0)
11	3.97 m	3.81 m	3.88 m	3.87 m	3.90*
16	0.92 t (7.0)	0.85 t (7.0)	0.90 t (7.5)	0.94 t (7.0)	0.96 t (7.0)
OCH ₃	3.62 s				
mba-2		2.39 tq (6.9, 7.0)	2.44 tq (6.9, 7.0)	2.50 tq (7.0, 7.0)	2.45 tq (7.0, 7.0)
4		1.01 d (7.0)	1.10 d (6.9)	1.20 d (7.0)	1.13 d (7.0)
5		0.77 t (7.4)	0.83 t (7.4)	0.93 t (7.0)	0.84 t (7.5)
mba'-2		2.50 tq (6.9, 7.0)	2.48 tq (6.9, 7.0)		2.45 tq (7.0, 7.0)
4		1.19 d (7.0)	1.18 d (7.0)		1.11 d (7.0)
5		0.92 t (7.4)	0.92 t (7.4)		0.81 t (7.5)
dodeca-2a				2.42 t (7.5)	
12				0.87 t (7.5)	
cna-2					6.56 d (16.0)
3					7.84 d (16.0)
2'					7.32 m
3'					7.44 m
4'					7.32 m

^aDatos registrados a 500 MHz en C₃D₃N. *Señales sobrepuestas. Entre paréntesis las constantes de acoplamiento en Hz. sa = singulete ancho, d = doblete, t = triplete, m = multiplete, dq = doblete cuarteteado, sept = septuplete. ^bAbreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Gluc = glucosa; Jal = ácido 11-hidroxyhexadecanoico; mba = ácido 2-metilbutanoico; dodeca = ácido dodecanoico, cna = ácido cinámico. ^cEster metílico.⁴⁵

Cuadro 28. Desplazamientos químicos en la RMN ^{13}C de las murucoidinas IV-V (6-7), XI (8) y XVII (9).^a

Carbono ^b	ácido operculínico A ^c	6	7	8	9
Fuc-1	101.2	104.3	101.5	101.5	101.5
2	75.3	80.0	73.6	73.5	73.6
3	76.5	73.4	76.6	76.5	76.5
4	73.4	72.9	73.6	73.5	73.6
5	71.2	70.8	71.3	71.2	71.2
6	17.1	17.3	17.2	17.2	17.2
Ram-1	101.5	98.5	100.1	100.1	100.0
2	72.7	73.6	70.0	69.9	70.0
3	72.6	69.4	78.3	77.9	78.0
4	82.3	81.4	75.7	76.5	76.0
5	67.6	68.9	68.0	68.0	68.0
6	18.7	19.1	19.2	19.2	19.2
Ram'-1	103.3	100.0	99.1	99.3	99.2
2	71.9	73.0	72.2	72.3	72.3
3	82.7	80.2	80.2	80.2	80.1
4	78.6	78.9	78.8	78.6	79.1
5	68.5	68.2	68.1	67.9	68.1
6	18.9	18.9	18.7	18.7	18.8
Ram''-1	103.0	103.3	103.4	103.4	103.4
2	72.4	72.5	72.4	72.3	69.9
3	72.8	70.3	70.2	70.2	72.8
4	73.9	75.2	75.2	75.2	71.7
5	70.4	68.4	68.1	68.1	68.2
6	18.3	18.0	18.0	18.0	17.9
Gluc-1	105.4	105.5	105.1	104.8	105.1
2	75.0	75.2	75.2	75.2	75.2
3	78.4	78.5	78.1	78.5	78.2
4	71.6	71.5	70.8	70.7	70.8
5	78.4	78.0	77.8	79.5	77.7
6	62.9	62.9	62.6	62.5	62.5
Jal-1		173.1	174.4	174.6	174.4
2a		34.2	34.3	34.1	34.5
11		82.3	79.5	79.5	79.5
16		14.3	14.5	14.4	14.5
mba-1		176.3	176.1	176.3	175.9
2		41.2	41.3	41.5	41.3
2-Me		16.6	16.8	16.9	16.9
3-Me		11.4	11.6	11.7	11.8
mba'-1		176.3	176.3		176.1
2		41.5	41.5		41.5
2-Me		17.0	17.0		16.7
3-Me		11.8	11.7		11.6
dodeca-1				173.5	
2				34.5	
12				14.3	
cna-1					166.1
2					118.6
3					145.2
1'					134.7
2'					129.2
3'					128.5
4'					130.7

^aDatos registrados a 125 MHz en $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$. ^bAbreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Gluc = glucosa; Jal = ácido 11-hidroxihexadecanoico; mba = ácido 2-metilbutanoico; dodeca = ácido dodecanoico, cna = ácido cinámico. ^cEster metílico.⁴⁵

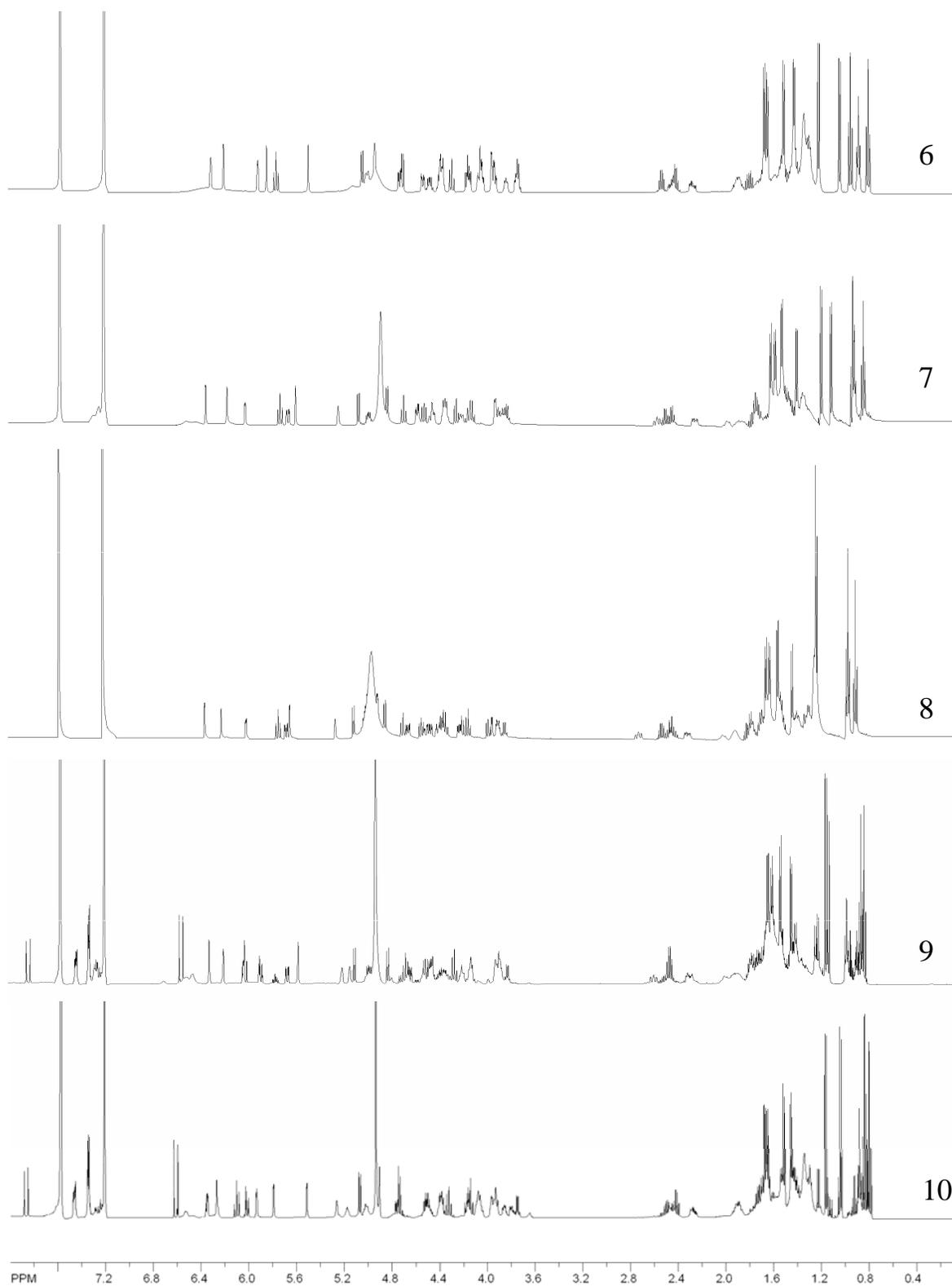


Figura 73. Espectros de RMN ^1H de los compuestos 6-10.

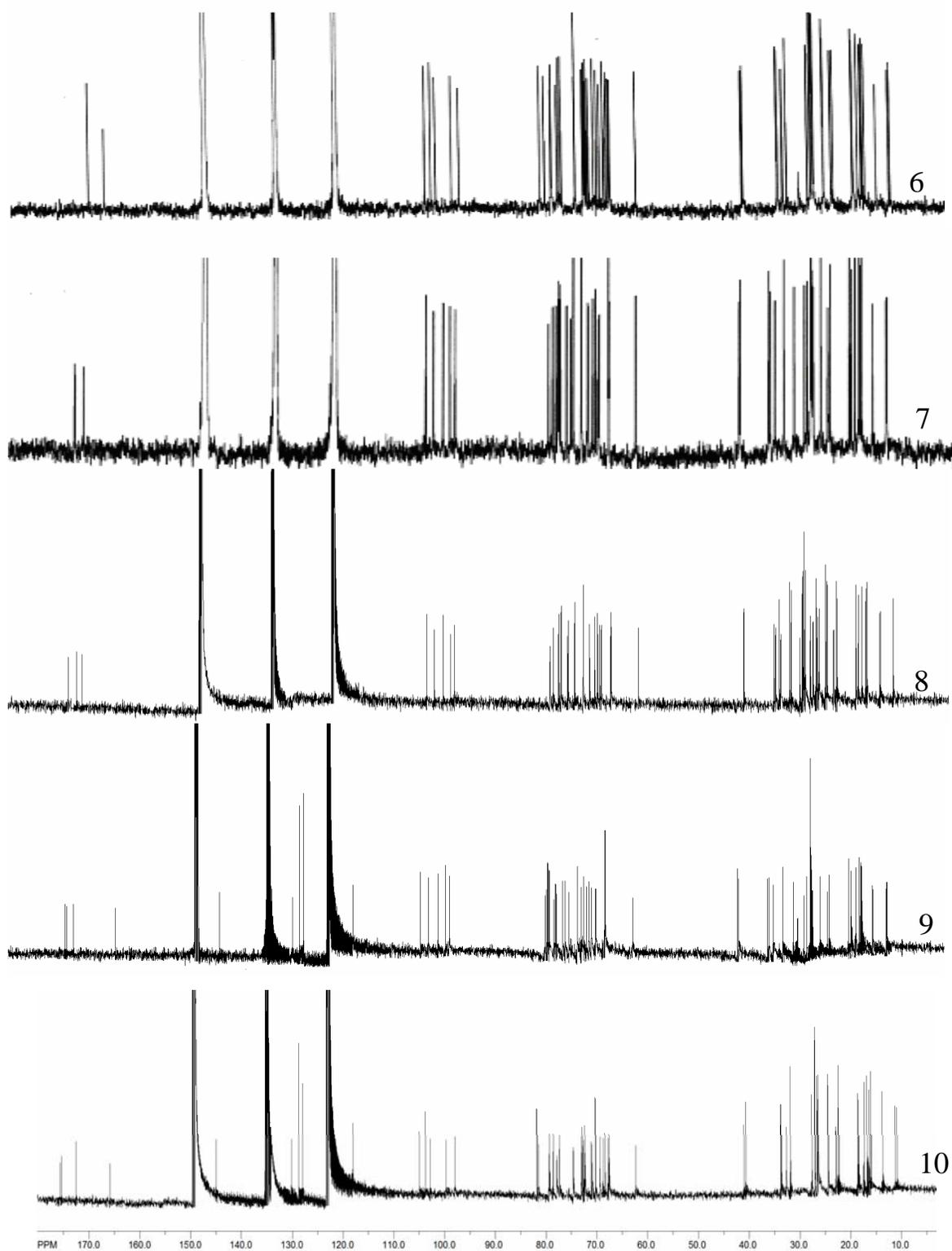


Figura 74. Espectros de RMN ^1H de los compuestos 6-10.

6.3.4 Elucidación estructural de las murucoidinas XIV (11), XV (12) y XVI (13).

La elucidación estructural de los compuestos **11-13**, permitió identificar como núcleo oligosacárido al ácido operculínico **C** (Figura **8**, sección **2.3.4** de los Antecedentes).⁴⁴ En los espectros de RMN ¹H de los compuestos **11-13** (Figura **83**, pág.131) aparece la señal característica (tq) del protón H-2 del ácido 2-metilbutanoico centrada aproximadamente en 2.44 ppm. En el compuesto **11**, a la vez se observó un par de multipletes en forma de doblete de doblete de dobletes entre 2.27 y 2.38 ppm de la misma manera que para los compuestos **4** y **5**, sección **6.3.2**. Se observaron cuatro dobletes entre 1.35–1.71 ppm confirmando la presencia de las metilpentosas y las señales entre 2.14–2.45 ppm correspondiente a los dos protones no equivalentes del grupo metileno en posición alfa al grupo carbonilo de la aglicona.

En el espectro de RMN ¹³C (Figura **85**, pág. 133) de los compuestos **11-13** aparecen tres señales entre 175-176 ppm que corresponden a los carbonos de los grupos carbonilos de los ácidos que se encuentran acilando y a la lactona que establece la aglicona. En los cuadros **29** y **30** se indican los desplazamientos de RMN ¹H y ¹³C de los compuestos **11-13**. La Figura **75** ilustra las correlaciones anoméricas del compuesto **12** y, como se puede observar, las señales de los protones anoméricos de esta serie de compuestos son muy parecidas a las señales de los compuestos **4** y **5**. Con tres dobletes anoméricos de constante de acoplamiento pequeña y un doblete anomérico de constante de acoplamiento grande. De tal manera que la diferencia de los compuestos **4** y **5**, con respecto a los compuestos **11-13**, se debe al intercambio de una unidad hexasacárida (glucosa) por una metilpentosa (fucosa), respectivamente. En el caso de los compuestos **4** y **5**, en el espectro de RMN ¹³C aparece una señal a 62.4 ppm para el hidroximetileno C-6 de una hexosa, señal que no se observa en los compuestos **11-13**.

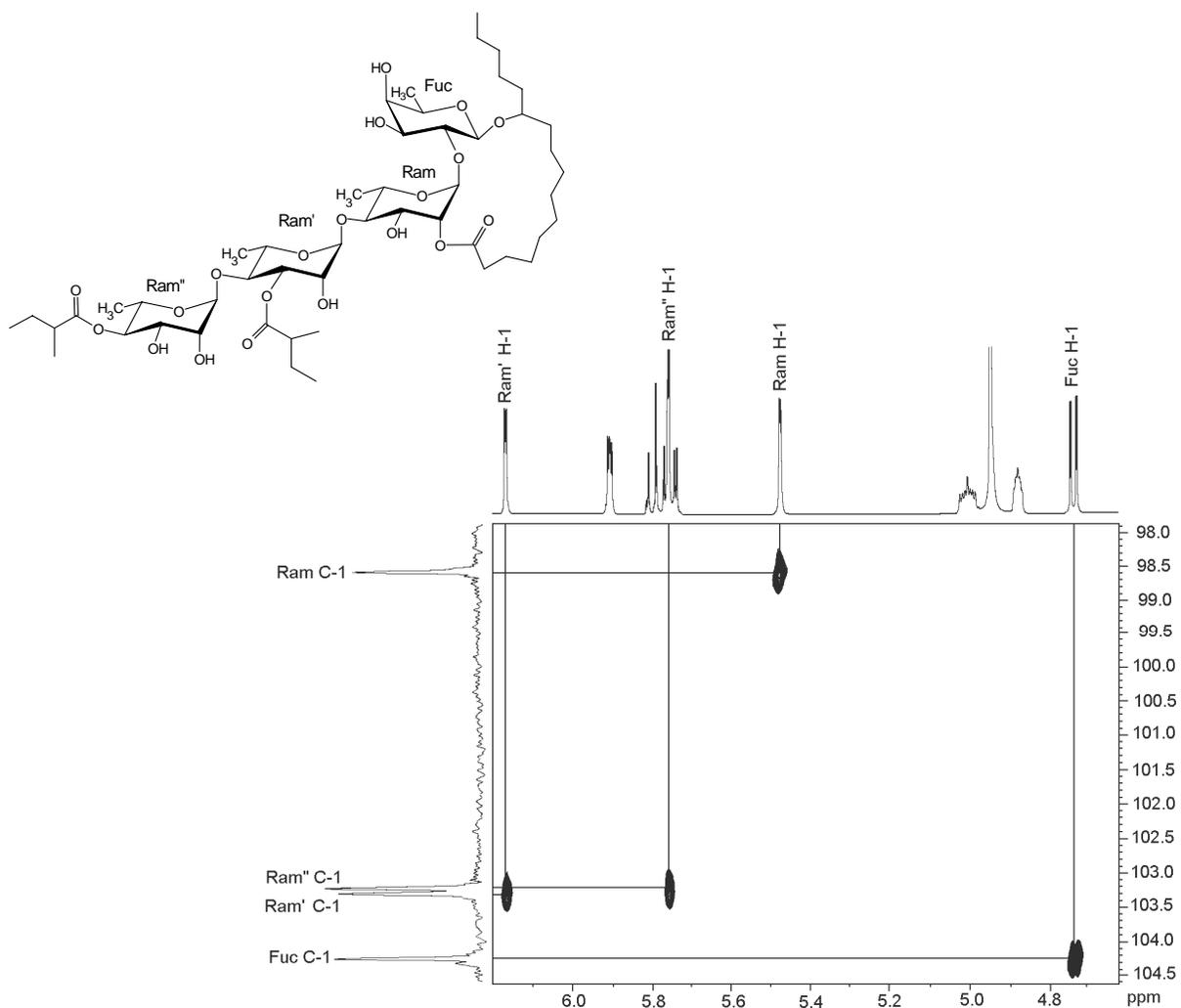


Figura 75. Sección anomérica del espectro HSQC del compuesto **12**.

Del análisis de la Figura 75 se logró obtener los protones anoméricos para el compuesto **12**, información que se resume a continuación:

Monosacárido	^1H -anomérico (ppm)	^{13}C -anomérico (ppm)
Fucosa	4.73	104.2
Ramnosa	5.47	98.5
Ramnosa''	5.75	103.2
Ramnosa'	6.16	103.3

En la Figura 76 se ilustran los cuadros de conectividad para la secuencia de H–H de la ramnosa interna inferior (Ram') del compuesto **12**, cuyo protón anomérico presenta un desplazamiento químico centrado en 6.16 ppm.

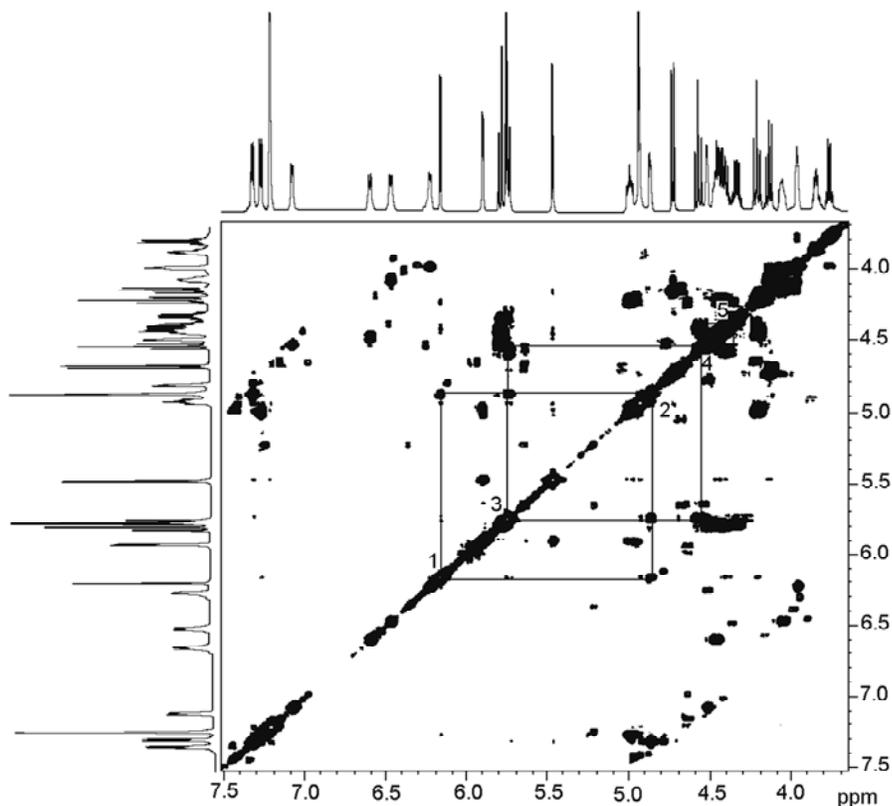


Figura 76. Sección de la porción oligosacárida del espectro COSY del compuesto **12** en donde se ilustran las conectividades para la ramnosa externa (Ram').

Los cuadros de conectividad se inician con los protones H-1 (anomérico) de cada unidad sacárida, que se obtienen del análisis bidimensional del experimento HSQC. La secuencia de glicosidación se estableció mediante las correlaciones ^1H - ^{13}C observadas en el espectro HMBC en la región oligosacárida, entre los protones anómicos con los carbonos de las unidades sacáridas vecinales. La Figura 77 ilustra estas conectividades para el compuesto **12**.

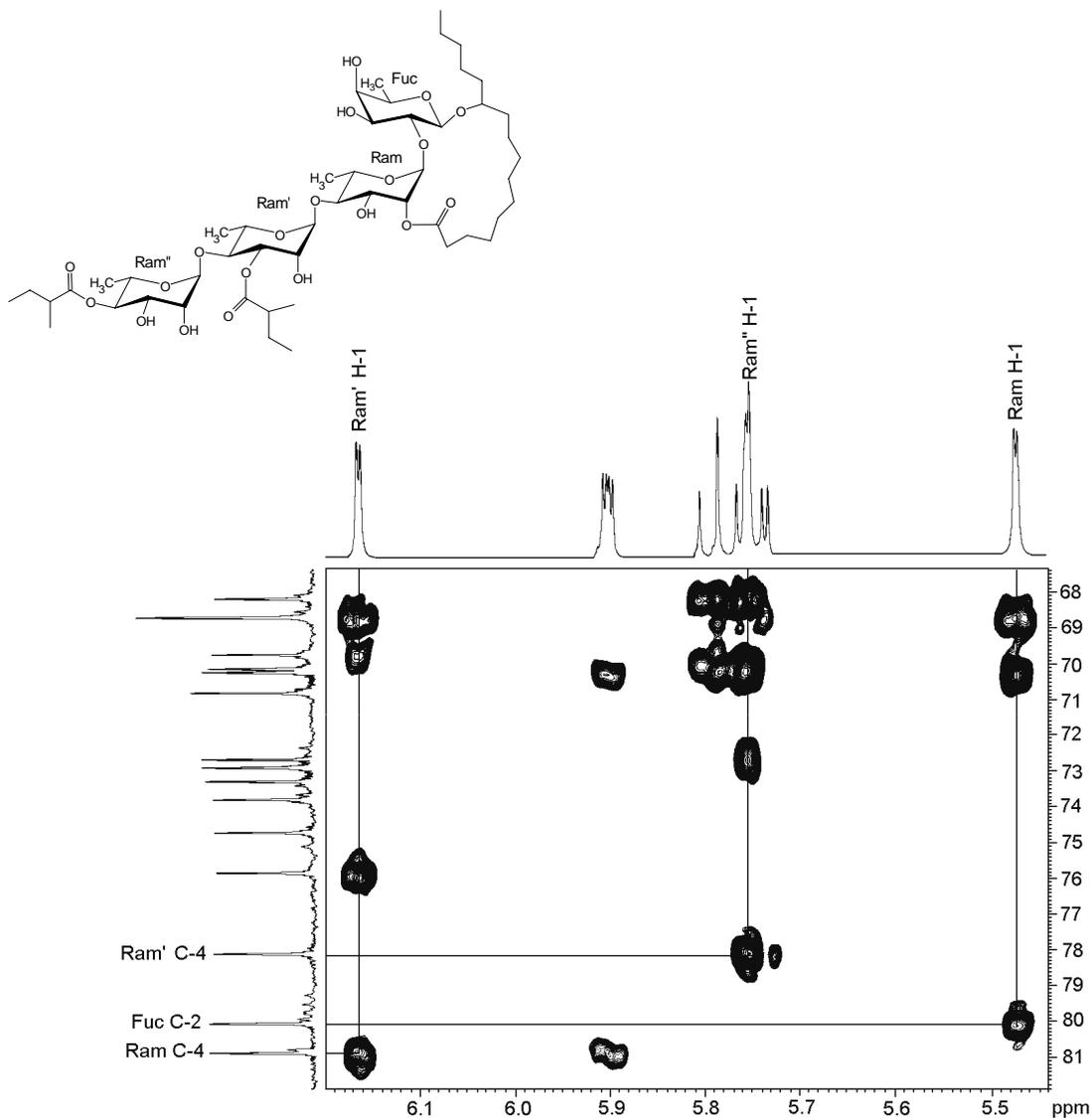


Figura 77. Sección de la región oligosacárida del compuesto **12** del espectro HMBC en donde se ilustran las conectividades entre los protones anoméricos de tres monosacáridos con el carbono de la unidad que participa en el enlace glicosídico.

La Figura 77 muestra las correlaciones entre el H-1 (5.47 ppm) de la ramnosa interna superior (Ram), el H-1 (5.75 ppm) de la ramnosa externa (Ram'') y H-1 (6.16 ppm) de la ramnosa interna inferior (Ram') con el C-2 (80.1 ppm) de la fucosa, C-4 (78.1) de la ramnosa' y C-4 (80.9 ppm) de la ramnosa, respectivamente. Establecida la secuencia de glicosidación, se procedió a la asignación de los carbonilos mediante el espectro HMBC (Figura 78, compuesto **12**).

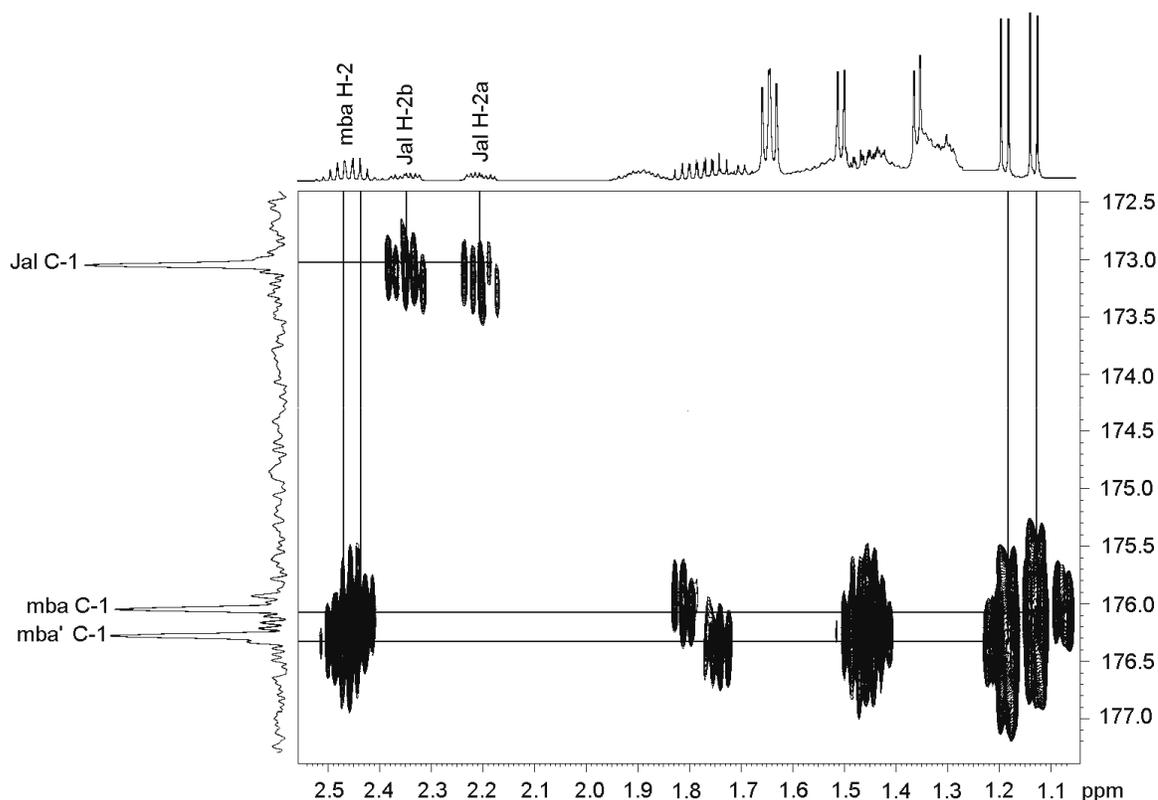


Figura 78. Sección del espectro HMBC del compuesto **12** donde se ilustran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de cada uno de los ésteres con los hidrógenos del metileno α al carbonilo.

De este análisis se pudo deducir para el compuesto **12** que el carbono a 173.0 ppm pertenece al carbonilo de la aglicona (ácido jalapínico) y los de 176.0 y 176.3 ppm a los dos residuos del ácido 2-metilbutanoico que esterifican al núcleo oligosacárido. Los sitios de acilación se dedujeron a partir de las correlaciones $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ en el experimento HMBC, entre los carbonos del carbonilo de cada uno de los ácidos con las señales protónicas geminales a estos grupos. La Figura **79** ilustra estas conectividades para el compuesto **12** en donde la interacción entre el H-2 de la ramnosa interna superior (Ram, 5.90 ppm) con el C-1 de la aglicona (173.0 ppm) permitió identificar el sitio de lactonización. Al mismo tiempo, se pudo observar las conectividades de los C-1 de los ácidos (176.3 y 176.0) con los hidrógenos de los metinos en las posiciones H-3 (Ram', 5.74 ppm) y H-4 (Ram'', 5.79 ppm), respectivamente. De este modo, se determinó la elucidación estructural de los compuestos **11-13**. Cabe mencionar que la diferencia de los desplazamientos de ^1H de los

metinos de la posición H-3 y H-2 de la ramnosa interna superior (Ram) en el compuesto **11** con respecto a los compuestos **12** y **13** se debe a la posición de lactonización que ocurre en la posición C-3 para el compuesto **11** y en C-2 para los compuestos **12** y **13**.

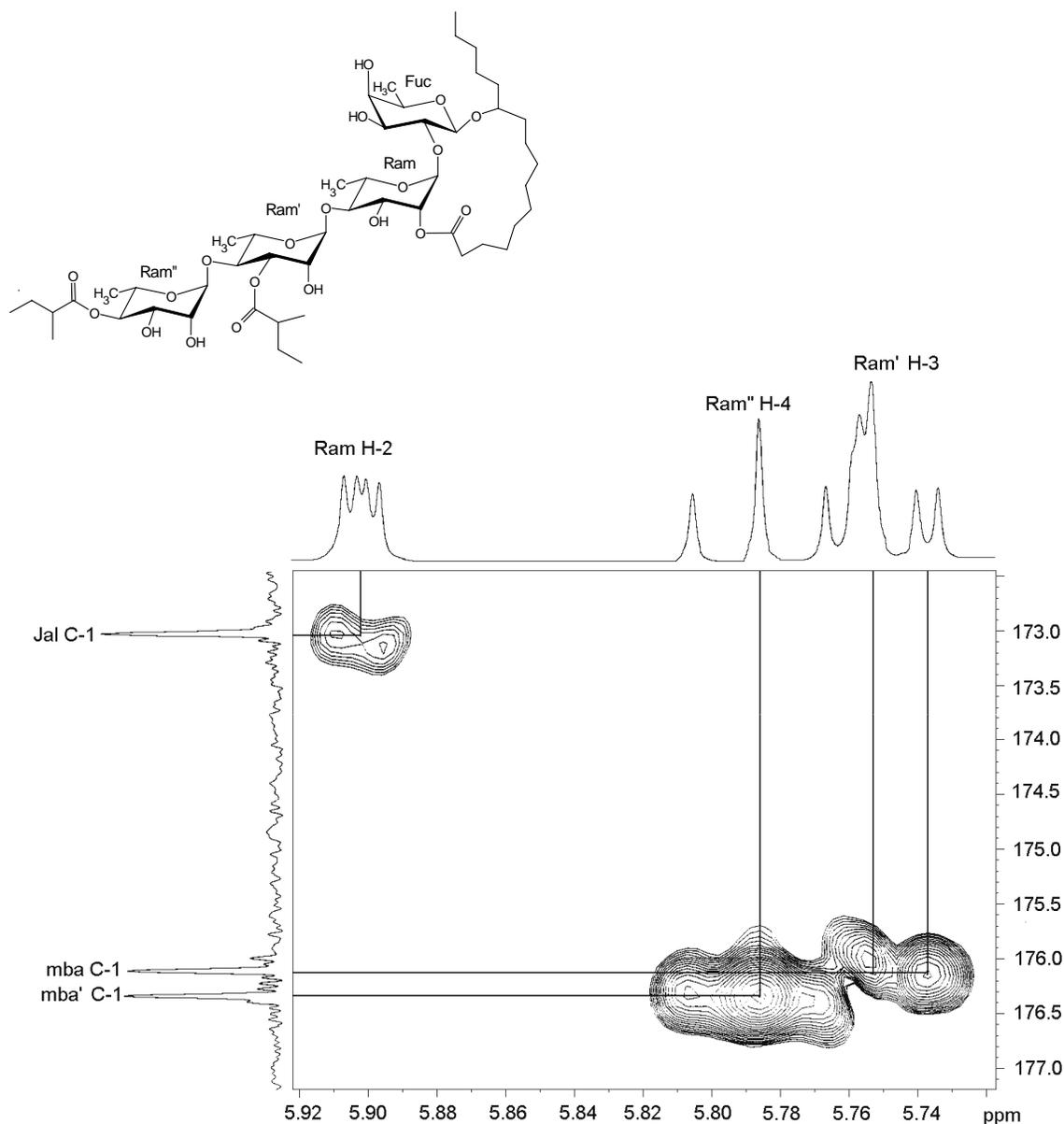


Figura 79. Sección del espectro HMBC del compuesto **12** donde se ilustran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de cada uno de los ésteres con las señales protónicas geminales a estos grupos.

Cuadro 29. Desplazamientos químicos en la RMN ¹H de las murucoidinas XIV-XVI (11-13).^a

Proton ^b	ácido operculínico C ^c	11	12	13
Fuc-1	4.74 d (7.9)	4.79 d (7.5)	4.73 d (7.5)	4.69 d (7.5)
2	4.46 dd (7.9, 9.4)	4.54dd (7.5, 9.5)	4.14 dd (7.5, 9.5)	4.14 dd (7.5, 9.5)
3	4.11 dd (3.4, 9.4)	4.19 dd (3.0, 9.4)	4.07 dd (3.0, 9.5)	4.00 dd (3.0, 9.5)
4	3.92 d (3.4)	3.92*	3.97 sa	3.97 m
5	3.76 q (6.4)	3.82 dq (1.0, 6.5)	3.77 dq (1.0, 6.5)	3.72 dq (1.0, 6.5)
6	1.50 d (6.4)	1.52 d (6.5)	1.50 d (6.5)	1.50 d (6.5)
Ram-1	6.21 d (1.2)	6.39 d (2.0)	5.47 d (2.0)	5.49 d (2.0)
2	4.63 dd (1.2, 3.4)	5.25 dd (2.0, 3.0)	5.90 dd (2.0, 3.5)	5.92 dd (2.0, 3.5)
3	4.58 dd (3.4, 9.1)	5.66 dd (2.5, 9.5)	5.00 dd (3.5, 9.5)	4.99 dd (3.5, 9.5)
4	4.28 dd (9.1, 9.1)	4.71 t (9.5)	4.22 t (9.5)	4.20 t (9.5)
5	4.82 dq (5.8, 9.1)	5.08 dq (6.0, 9.5)	4.45 dq (9.5, 6.5)	4.45 dq (6.5, 9.5)
6	1.56 d (5.8)	1.59 d (6.0)	1.63 d (6.5)	1.64 d (6.5)
Ram'-1	6.18 d (1.8)	5.89 d (1.5)	6.16 d (2.0)	6.01 d (2.0)
2	4.74 dd (1.8, 3.3)	4.70 dd (1.5, 3.0)	4.87 dd (2.0, 3.0)	5.95 dd (2.0, 3.5)
3	4.53 dd (3.3, 8.9)	5.71 dd (3.0, 9.5)	5.74 dd (3.0, 9.5)	4.66 dd (3.5, 9.5)
4	4.39 dd (8.9, 8.9)	4.56 t (9.5, 9.5)	4.58 t (9.5, 9.5)	4.24 t (9.5, 9.5)
5	4.32 dq (8.9, 6.1)	4.40 dq (6.0, 9.5)	4.42 dq (6.5, 9.5)	4.38 dq (6.5, 9.5)
6	1.56 d (6.1)	1.58 d (6.0)	1.65 d (6.5)	1.71 d (6.5)
Ram''-1	6.26 d (1.5)	5.68 d (1.5)	5.75 d (1.5)	6.13 d (1.5)
2	4.78 dd (1.5, 3.0)	4.46 dd (1.5, 3.5)	4.53 sa	4.81 sa
3	4.43 dd (3.0, 9.1)	4.38 dd (3.5, 9.5)	4.47 dd (3.0, 9.5)	4.55 dd (3.0, 9.5)
4	4.23 dd (9.1, 9.1)	5.75 t (9.5, 9.5)	5.79 t (9.5, 9.5)	5.83 t (9.5, 9.5)
5	4.32 dq (6.1, 9.1)	4.30 dq (6.0, 9.5)	4.34 dq (6.5, 9.5)	4.43 dq (6.5, 9.5)
6	1.58 d (6.1)	1.35 d (6.0)	1.35 d (6.5)	1.44 d (6.5)
Jal-2a	2.50t (7.3)	2.14 ddd (3.5, 7.0, 12.0)	2.21 ddd (3.7, 8.0, 11.5)	2.22 ddd (3.5, 7.0, 12.0)
2b		2.23 ddd (3.5, 7.0, 12.0)	2.35 ddd (3.7, 8.0, 11.5)	2.44 ddd (3.5, 7.0, 12.0)
11	3.92*	3.92*	3.85 m	3.84 m
16	0.92 t (6.8)	0.99 t (7.0)	0.88 t (7.5)	0.88 t (7.0)
mba-2		2.47 tq (7.0, 7.0)	2.45 tq (7.0, 7.0)	2.40 tq (7.0, 7.0)
2-Me		1.20 d (7.0)	1.19 d (7.0)	1.21 d (7.0)
3-Me		0.92 t (7.5)	0.91 t (7.5)	0.94 t (7.5)
mba'-2			2.45 tq (7.0, 7.0)	2.51 tq (7.0, 7.0)
2-Me			1.13 d (7.0)	1.08 d (7.0)
3-Me			0.86 t (7.5)	0.85 t (7.5)
dodeca-2a		2.27 ddd (7.0, 7.0, 15.0)		
2b		2.38 ddd (7.0, 7.0, 15.0)		
12		0.88 t (7.5)		

^aDatos registrados a 500 MHz en C₅D₅N. *Señales sobrepuestas. Entre paréntesis las constantes de acoplamiento en Hz. sa = singulete ancho, d = doblete, t = triplete, m = multiplete, dq = doblete cuarteteado, sept = septuplete. ^bAbreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Jal = ácido 11-hidroxyhexadecanoico; mba = ácido 2-metilbutanoico; dodeca = ácido dodecanoico. ^cEster metílico.⁴⁵

Cuadro 30. Desplazamientos químicos en la RMN ^{13}C de las murucoidinas XIV-XVI (11-13).^a

Carbono ^b	ácido operculínico C ^c	11	12	13
Fuc-1	101.5	101.7	104.2	104.4
2	75.1	73.1	80.1	79.9
3	76.6	76.9	73.4	73.5
4	73.4	73.6	72.9	72.9
5	71.2	71.2	70.8	70.9
6a	17.2	17.2	17.3	17.4
Ram-1	101.5	100.3	98.5	98.6
2	72.7	69.7	73.9	73.7
3	73.2	78.9	70.2	69.9
4	80.6	76.1	80.9	80.8
5	67.2	67.4	68.7	68.7
6	19.0	19.3	19.3	19.3
Ram'-1	102.9	102.5	103.3	100.2
2	73.1	70.4	69.8	73.9
3	73.4	75.5	75.8	70.7
4	79.6	78.3	78.1	80.8
5	68.3	69.0	68.7	68.6
6	18.8	18.5	18.8	18.9
Ram''-1	103.3	103.7	103.2	103.8
2	72.4	72.6	72.7	72.4
3	72.8	70.0	70.1	70.3
4	73.9	74.7	74.7	75.2
5	70.2	68.1	68.1	68.1
6	18.4	17.8	17.8	18.0
Jal-1		174.4	173.0	173.1
2a		34.6	34.2	34.3
11		79.8	82.4	82.4
16		14.6	14.3	14.3
mba-1		176.3	176.0	175.9
2		41.5	41.5	41.6
2-Me		17.0	16.9	16.7
3-Me		11.7	11.7	11.6
mba'-1			176.3	176.4
2			41.5	41.3
2-Me			16.8	17.1
3-Me			11.6	11.8
dodeca-1		172.6		
2		34.4		
12		14.3		

^aDatos registrados a 125 MHz en C₅D₅N. ^bAbreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Jal = ácido 11-hidroxyhexadecanoico; mba = ácido 2-metilbutanoico; dodeca = ácido dodecanoico. ^cEster metílico.⁴⁵

6.3.5 Elucidación estructural de las murucoidinas I–III (14-16), IX-X (17-18) y XVIII (19), estoloniferina I (20) y pescapreina III (21).

La elucidación estructural de los compuestos **14-21**, permitió identificar como núcleo oligosacárido al ácido simónico **B** (Figura **17**, sección **2.4.6** de los Antecedentes).⁶⁵ En el espectro de RMN ¹H de los compuestos **14-21** (Figuras **83** y **84**, pág. 131 y 132) aparece la señal característica (tq) del protón H-2 del ácido 2-metilbutanoico a 2.35 ó 2.50 ppm. En el caso de los compuestos **15** y **17**, además de la señal del ácido 2-metilbutanoico, se observa un septuplete a 2.63 ppm característico del ácido metilpropanoico. En tanto que para los compuesto **18** y **19**, se observó un triplete centrado en 2.34 ppm característico de los ácidos alifáticos de cadena larga.⁶⁶ Se observaron cinco dobletes entre 1.37–1.67 confirmando la presencia de cinco metilpentosas y las señales entre 2.22–240 ppm correspondiente a los dos protones no equivalentes del grupo metileno en posición alfa al grupo carbonilo de la aglicona.

En los espectros de RMN ¹³C (Figuras **85** y **86**, pág.133 y 134) de los compuestos **15-21** aparecen tres señales entre 173-176 ppm y dos señales entre 173-176 para el compuesto **14**, que corresponden a los carbonos de los grupos carbonilos de los ácidos que se encuentran acilando y al carbonilo de la lactona de la aglicona. En el caso del compuesto **18**, se observaron dos carbonos de tipo metileno centrados en 38.4 y 38.3 ppm. Estos desplazamientos no presentaban precedentes en la literatura para este tipo de compuestos, por lo que se trataba de un ácido novedoso presente como un grupo acilante del núcleo oligosacárido de esta resinas glicosídicas. La asignación de las señales de RMN ¹H y ¹³C (cuadros **31-33**) de los compuestos **14-21** se determinó mediante el análisis de los experimentos bidimensionales HSQC, COSY, TOCSY y HMBC. En la Figura **80** se ilustran las correlaciones anoméricas del compuesto **14**.

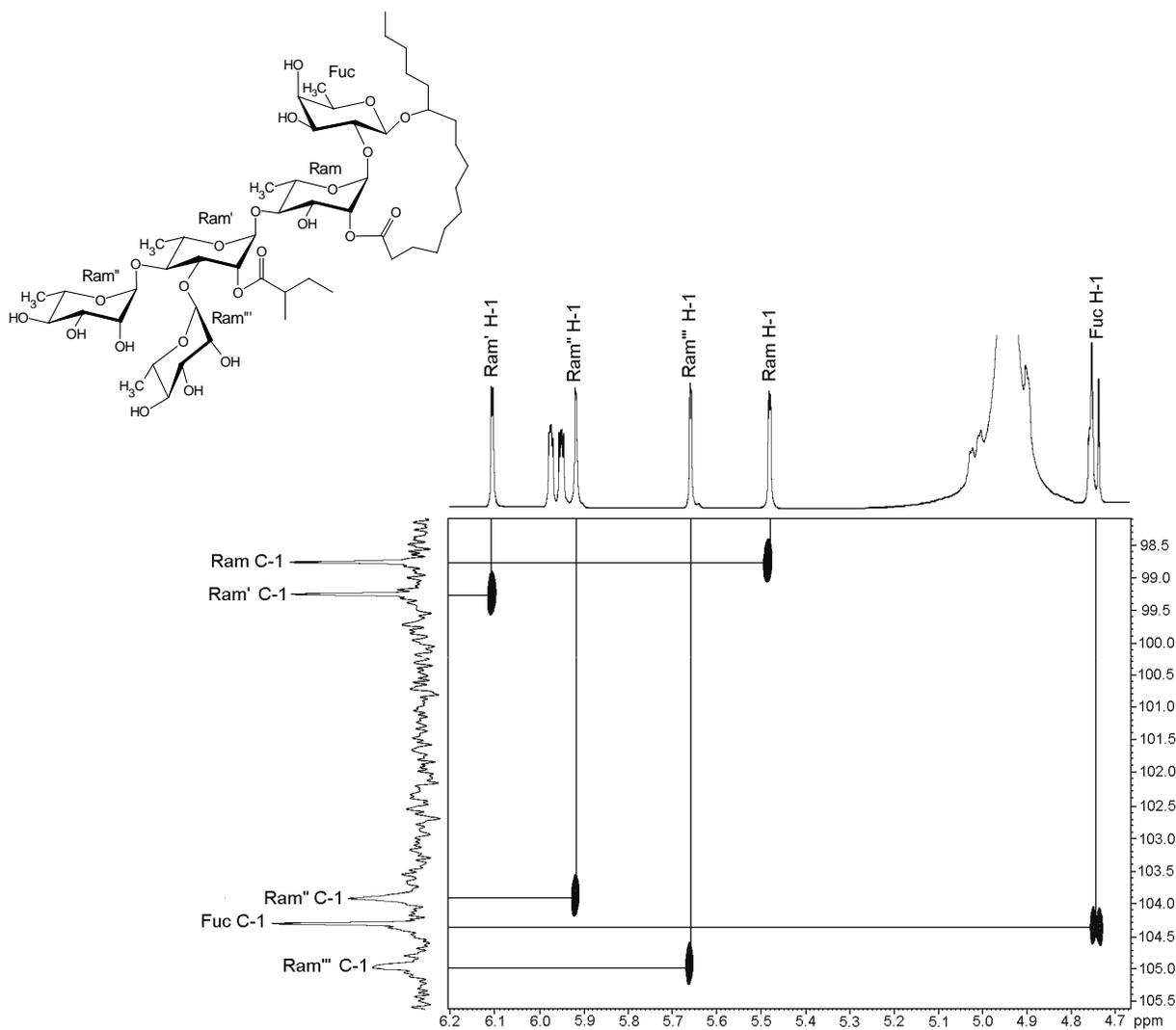


Figura 80. Sección anómérica del espectro HSQC del compuesto **14**.

Al analizar las constantes de acoplamiento para los compuestos **14-21**, se determinó que los compuestos estaban constituidos por una unidad de fucosa y cuatro de ramnosa. Los dobletes de los protones anoméricos registraron una constante de acoplamiento grande ($J = 7.5$ Hz) y cuatro pequeñas ($J = 1.5$ Hz), confirmando la naturaleza del núcleo glicosídico. La Figura **81** ilustra las correlaciones $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ que permitieron establecer la secuencia de glicosidación para el compuesto **14**.

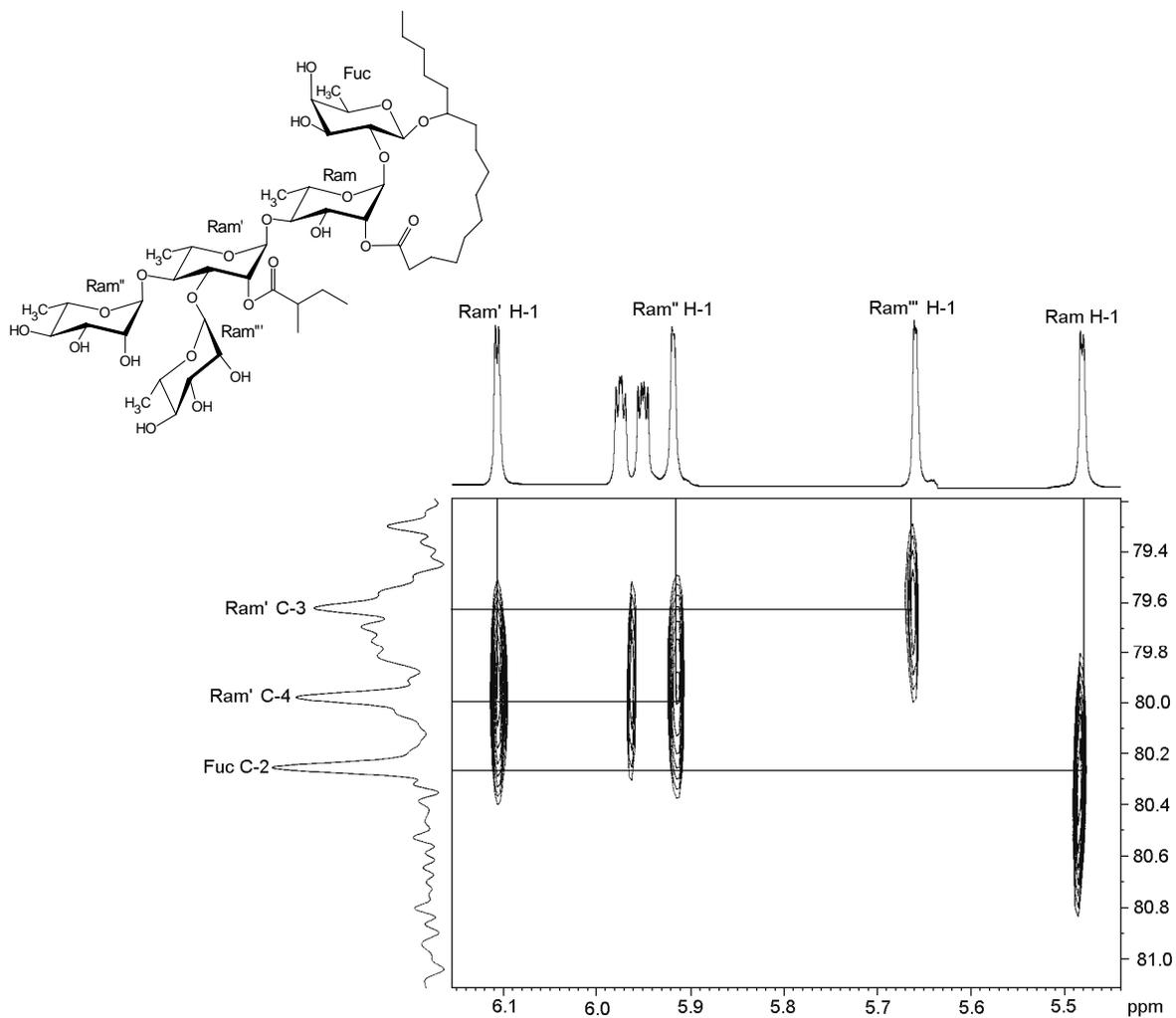


Figura 81. Sección de la región oligosacárida del compuesto **14** del espectro HMBC en donde se ilustran las conectividades entre los protones anoméricos de cuatro monosacáridos con el carbono de la unidad que participa en el enlace glicosídico.

Establecida la secuencia de glicosidación, se procedió a la asignación de los carbonilos mediante la secuencia de pulsos HMBC. De este análisis se logró deducir para el compuesto **14** que el carbono en 173.1 ppm pertenece al carbonilo de la aglicona (ácido jalapínico) y el de 175.5 ppm al ácido 2-metilbutanoico.

La Figura **82** ilustra las correlaciones ^1H - ^{13}C para el compuesto **14** en donde la interacción entre el H-2 de la ramnosa interna superior (Ram, 5.95 ppm) con el C-1 de la

aglicona (173.1 ppm) permitió identificar el sitio de lactonización. Al igual que se pudo observar la conectividad del C-1 del ácido 2-metilbutanoico (176.5 ppm) con el hidrógeno del metino en la posición H-2 (Ram', 5.97 ppm). De esta manera, se determinó la estructura de los compuestos **14-21**. Cabe mencionar que la diferencia en los desplazamientos de ^1H entre los metinos de la posición H-3 y H-2 de la ramnosa interna superior (Ram) en los compuestos **17, 18, 20 y 21** con respecto a los compuestos **14-16 y 19** se debe a la posición de lactonización ya que ésta ocurre en la posición C-3 para los compuestos **17, 18, 20 y 21** y en C-2 para los compuestos **14-16 y 19**. Las constantes espectroscópicas de los compuestos **20 y 21** concuerdan con las reportadas en la literatura.^{61,66}

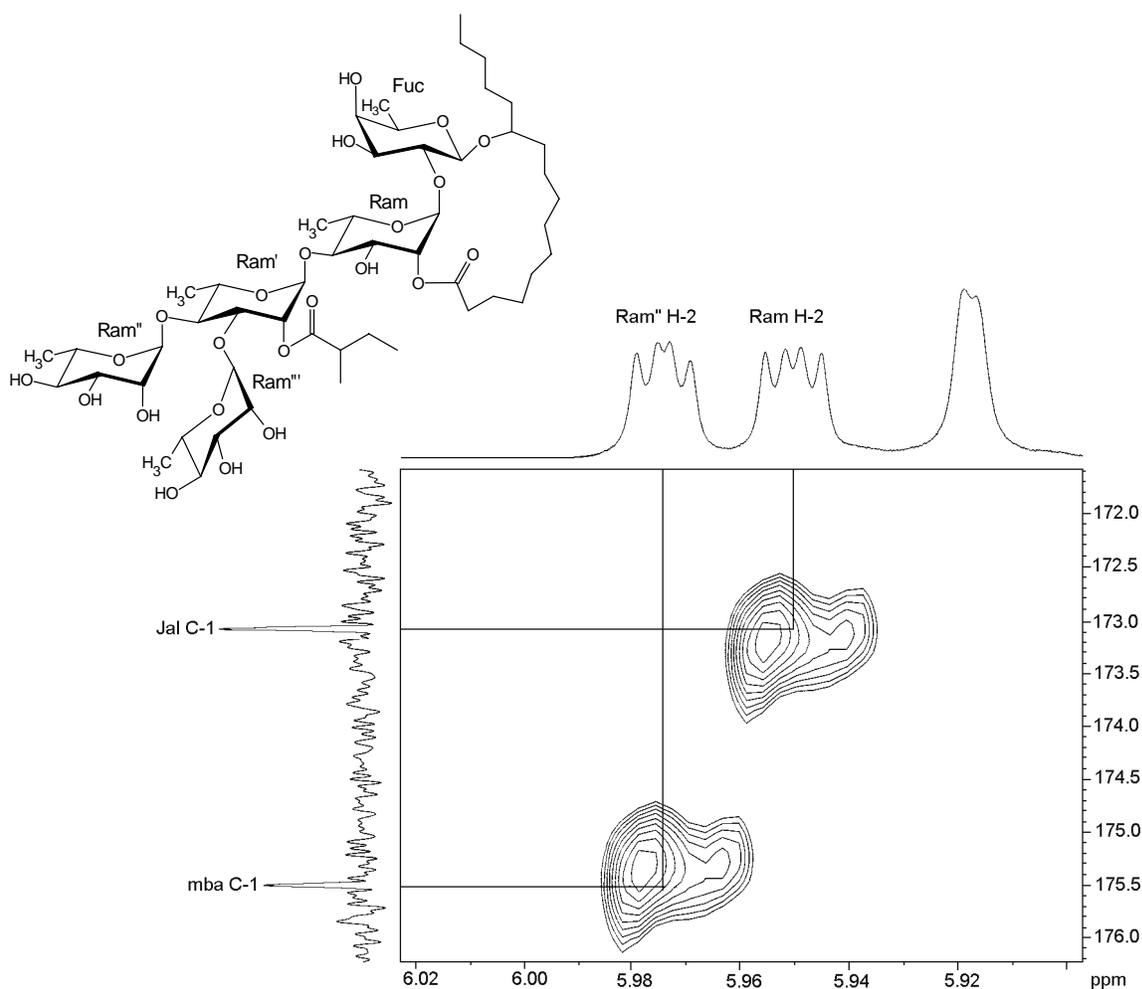


Figura 82. Sección del espectro HMBC del compuesto **14** donde se ilustran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de cada uno de los ésteres con las señales protónicas geminales a estos grupos.

Cuadro 31. Desplazamientos químicos en la RMN ¹H de las murucoidinas I-III (14-16).^a

Proton ^b	ácido simónico B ^c	14	15	16
Fuc-1	4.80 d (7.9)	4.74 d (7.5)	4.73 d (7.5)	4.70 d (7.4)
2	4.00 dd (7.9, 9.5)	4.16 dd (7.5, 9.0)	4.16 dd (7.5, 9.5)	4.14 dd (7.4, 9.5)
3	4.16 dd (9.5, 3.4)	4.08 dd (3.5, 9.5)	4.07 dd (3.0, 9.0)	4.04 dd (3.5, 9.5)
4	3.94 d (3.4)	4.00 d (3.5)	3.99 d (3.0)	3.96 d (3.5)
5	3.80 q sa(6.4)	3.78 dq (0.5, 6.5)	3.77 dq (1.0, 6.5)	3.74 dq (0.7, 6.2)
6	1.52 d (6.4)	1.52 d (6.0)	1.51 d (6.0)	1.48 d (6.2)
Ram-1	6.25 sa	5.48 d (1.5)	5.48 d (1.5)	5.45 d (1.6)
2	4.64*	5.95 dd (1.5, 3.0)	5.95 dd (1.5; 3.5)	5.92 dd (1.6, 3.3)
3	4.65 dd (3.4, 9.5)	5.01 dd (3.0, 9.5)	5.02 dd (3.5, 9.0)	4.98 dd (3.3, 9.5)
4	4.31 dd (9.5, 9.5)	4.22 dd (9.5, 9.5)	4.22 dd (9.0, 9.0)	4.18 dd (9.5, 9.5)
5	4.88 dq (6.1, 9.5)	4.44 dq (6.5, 9.5)	4.42 dq (6.5, 9.0)	4.40 dq (6.2, 9.5)
6	1.58 d (6.1)	1.58 d (6.5)	1.62 d (6.0)	1.58 d (6.2)
Ram'-1	6.19 d (1.5)	6.11 d (1.5)	6.12 d (1.5)	6.08 d (1.7)
2	4.88 dd (1.5, 2.0)	5.97 dd (1.5, 3.0)	5.97 dd (1.5, 3.0)	5.94 dd (1.7, 3.0)
3	4.56 dd (2.0, 8.9)	4.60 dd (3.0, 9.0)	4.61 dd (3.0, 9.0)	4.58 dd (3.0, 9.0)
4	4.48 dd (8.9, 8.9)	4.27 dd (9.0, 9.0)	4.25 dd (9.0, 9.0)	4.24 dd (9.0, 9.0)
5	4.33 dq (6.4, 8.9)	4.31 dq (6.0, 9.0)	4.38 dq (6.0, 9.5)	4.32 dq (6.0, 9.0)
6	1.56 d (6.4)	1.63 d (6.0)	1.66 d (6.0)	1.62 d (6.0)
Ram''-1	5.69 sa	5.92 d (1.0)	5.89 sa	5.86 d (1.0)
2	4.89 dd (1.0, 3.4)	4.75 dd (1.0, 4.0)	4.72 d (2.5)	4.68 dd (1.0; 3.0)
3	4.55 dd (3.4, 9.5)	4.46 dd (4.0, 9.0)	4.50 dd (2.5, 9.5)	4.45 dd (3.0, 9.6)
4	4.25 dd (9.5, 9.5)	4.30 dd (9.0, 9.0)	5.81 dd (9.5, 9.5)	5.78 dd (9.6, 9.6)
5	4.74 dq (6.1, 9.5)	4.37 dq (6.0, 9.0)	4.36 dq (6.0, 9.5)	4.35 dq (6.0, 9.6)
6	1.62 d (6.1)	1.66 d (6.0)	1.39 d (6.0)	1.37 d (6.0)
Ram'''-1	5.69 sa	5.66 d (1.5)	5.64 d (1.5)	5.60 d (1.5)
2	4.69 dd (1.0, 3.4)	4.89 dd (1.5, 2.5)	4.84 sa	4.80 dd (1.5, 2.5)
3	4.37 dd (3.4, 9.2)	4.42 dd (2.5, 9.0)	4.41 dd (2.5, 8.5)	4.38 dd (3.0, 8.9)
4	4.22 dd (9.2, 9.8)	4.26 dd (9.0, 9.0)	4.27 dd (8.5, 9.0)	4.21 dd (8.9, 9.4)
5	4.34 dq (6.4, 9.8)	4.31 dq (6.0, 9.0)	4.24 dq (6.0, 9.5)	4.19 dq (6.0, 9.4)
6	1.56 d (6.4)	1.56 d (6.0)	1.56 d (6.0)	1.53 d (6.0)
Jal-2a	2.50 t (7.3)	2.22 ddd (4.0, 8.0, 13.5)	2.23 ddd (4.0, 8.5, 12.5)	2.21 ddd (3.9, 8.2, 14.2)
2b		2.38 ddd (4.0, 8.0, 13.5)	2.37 ddd (4.0, 8.5, 12.5)	2.37 ddd (3.9, 8.2, 14.2)
11	4.00 sa	3.86 m	3.85 m	3.83 m
16	0.93 t (7.3)	0.88 t (7.0)	0.88 t (7.0)	0.85 t (7.0)
mba-2		2.35 tq (7.0, 7.0)	2.35 tq (7.0, 7.0)	2.32 tq (7.1, 7.0)
2-Me		1.06 d (7.0)	1.07 d (7.0)	1.04 d (7.0)
3-Me		0.84 t (7.5)	0.85 t (7.0)	0.82 t (7.4)
mba'-2				2.47 tq (7.0, 7.0)
2-Me				1.18 d (7.0)
3-Me				0.91 t (7.4)
iba-2			2.63 sept (7.0)	
3			1.19 d (7.0)	
3'			1.17 d (7.0)	

^aDatos registrados a 500 MHz en C₅D₅N. *Señales sobrepuestas. Entre paréntesis las constantes de acoplamiento en Hz. sa = singulete ancho, d = doblete, t = triplete, m = multiplete, dq = doblete cuarteteado, sept = septuplete. ^bAbreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Jal = ácido 11-hidroxyhexadecanoico; mba = ácido 2-metilbutanoico; iba = metilpropanoico; dodeca = ácido dodecanoico. ^cEster metílico.⁶⁵

Cuadro 32. Desplazamientos químicos en la RMN ¹H de las murucoidinas IX-X (17-18) y XVIII (19).^a

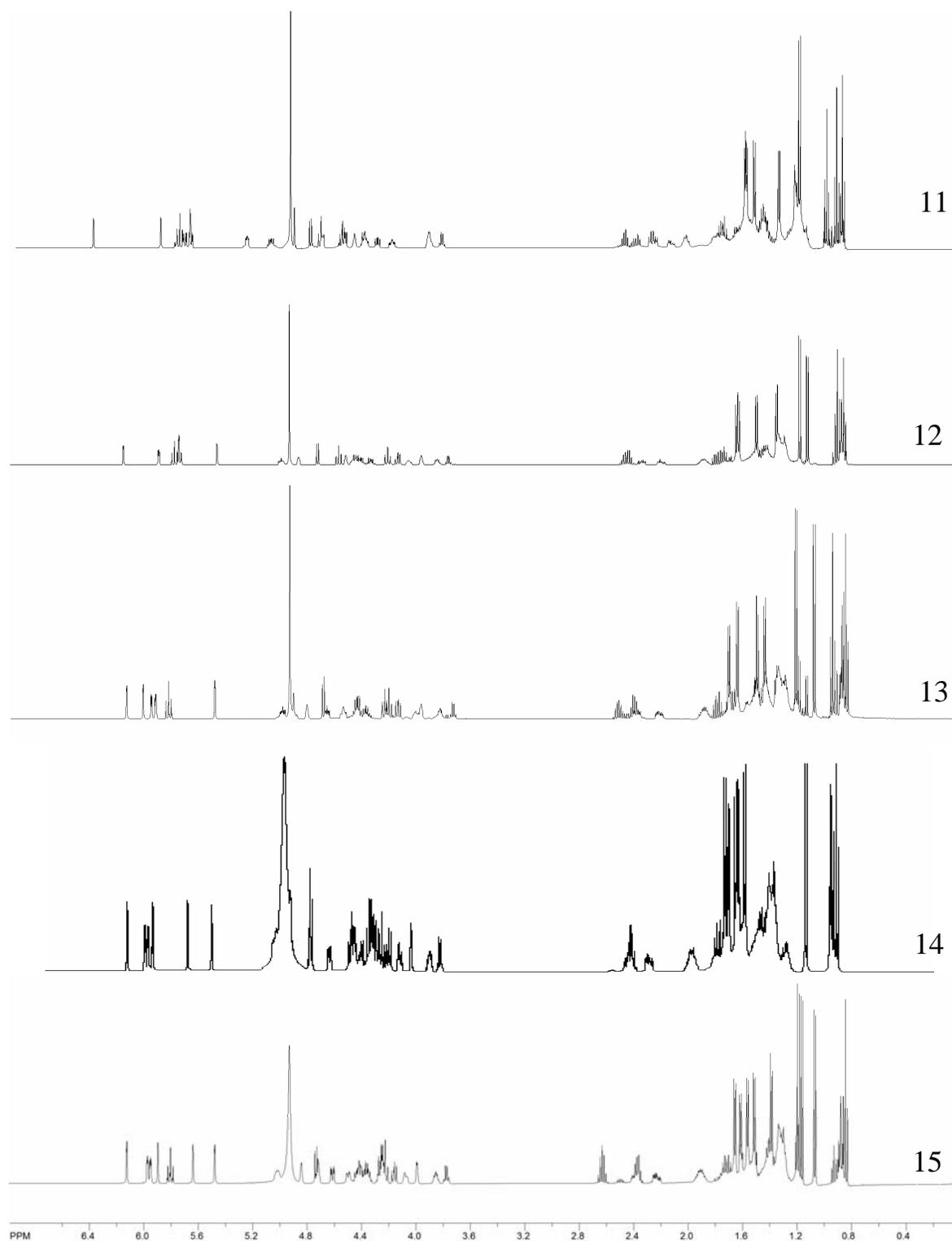
Proton ^b	17	18	19
Fuc-1	4.82 d (8.0)	4.82 d (7.5)	4.80 d (8.0)
2	4.53 dd (8.0, 9.5)	4.53 dd (7.5, 9.5)	4.51 dd (8.0, 9.5)
3	4.20 dd (4.0, 9.5)	4.20 dd (3.5, 9.5)	4.16 dd (3.0, 9.5)
4	3.92 sa	3.92 d (3.5)	3.91 sa
5	3.82 dq (0.5, 6.5)	3.82 dq (0.7, 6.5)	3.81 dq (1.0, 6.5)
6a	1.52 d (6.5)	1.53 d (6.5)	1.52 d (6.5)
Ram-1	6.35 d (1.5)	6.35 d (1.5)	6.32 d (1.5)
2	5.32 dd (1.5, 2.5)	5.32 dd (1.5, 3.0)	5.29 dd (1.5, 3.0)
3	5.60 dd (2.5, 9.8)	5.61 dd (3.0, 9.5)	5.59 dd (3.0, 9.5)
4	4.65 dd (9.8, 9.8)	4.64 dd (9.5, 9.5)	4.62 t (9.5)
5	5.00 dq (6.0, 9.8)	5.03 dq (6.0, 9.8)	4.99 dd (6.0, 9.5)
6	1.57 d (6.0)	1.58 d (6.0)	1.57 d (6.0)
Ram'-1	5.60 d (2.0)	5.66 d (1.5)	5.64 d (1.5)
2	5.78 dd (2.0, 3.0)	5.82 dd (1.5, 3.5)	5.81 dd (1.5, 3.0)
3	4.50 (3.0, 9.0)	4.52 dd (3.5, 9.5)	4.49 dd (3.0, 9.5)
4	4.23 dd (9.0, 9.5)	4.25 dd (9.5, 9.5)	4.21 dd (9.5, 9.5)
5	4.33 dq (6.0, 9.5)	4.34 dq (6.0, 9.5)	4.31 dq (6.5, 9.5)
6	1.59 d (6.0)	1.60 d (6.0)	1.59 d (6.5)
Ram''-1	5.88 d (1.5)	5.92 sa	5.89 sa
2	4.63 sa	4.63 dd (1.5, 3.5)	4.64 dd (1.5, 3.5)
3	4.42 dd (3.0, 9.5)	4.41 dd (3.5, 9.5)	4.41 sa
4	5.80 t (9.5)	5.78 t (9.5)	5.76 t (9.5)
5	4.36 dq (6.0, 9.5)	4.36 dq (6.0, 9.5)	4.33 dq (6.0, 9.5)
6	1.39 d (6.0)	1.39 d (6.0)	1.39 d (6.0)
Ram'''-1	5.57 d (1.5)	5.57 d (1.0)	5.55 d (1.5)
2	4.80 sa	4.79 dd (1.0, 3.0)	4.76 sa
3	4.46 dd (3.0, 9.5)	4.52 dd (3.5, 9.5)	4.38 dd (3.5, 9.5)
4	4.26* m	4.23 dd (9.5, 9.5)	4.25 dd (9.5, 9.5)
5	4.26* m	4.30 dq (6.0, 9.5)	4.28 dq (6.5, 9.5)
6	1.70 d (6.0)	1.71 d (6.0)	1.69 d (6.5)
Jal-2a	2.24 ddd (3.5, 7.9, 12.5)	2.27 ddd (2.8, 8.0, 11.5)	2.24 ddd (2.5, 6.5, 15.0)
2b	2.83 ddd (3.5, 7.9, 12.5)	2.92 ddd (2.8, 8.0, 11.5)	2.92 ddd (2.5, 6.5, 15.0)
11	3.88 m	3.87 m	3.87 m
16	0.93 t (7.0)	0.95 t (7.0)	0.84 t (7.0)
mba-2	2.48 tq (7.0, 7.0)	2.50 tq (7.0, 7.0)	2.50 tq (7.0)
2-Me	1.21 d (7.0)	1.21 d (7.0)	1.20 d (7.0)
3-Me	0.94 t (7.5)	0.94 t (7.5)	0.94 t (7.5)
iba-2	2.54 sept (7.0, 7.0)		
3	1.12 d (7.0)		
3'	1.17 d (7.0)		
octa-2			2.34 t (7.0)
8			0.95 t (7.0)
8-Hidroxidodeca-2a		2.35 t (7.5)	
12		0.84 t (7.0)	

^aDatos registrados a 500 MHz en C₅D₅N. *Señales sobrepuestas. Entre paréntesis las constantes de acoplamiento en Hz. sa = singulete ancho, d = doblete, t = triplete, m = multiplete, dq = doblete cuarteteado, sept = septuplete. ^bAbreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Jal = ácido 11-hidroxyhexadecanoico; mba = ácido 2-metilbutanoico; iba = metilpropanoico; octa = ácido octanoico; 8-hidroxidodeca = ácido 8-hidroxidodecanoico.

Cuadro 33. Desplazamientos químicos en la RMN ^{13}C de las murucoidinas I-III (14-16), IX-X (17-18) y XVIII (19).^a

carbono ^b	ácido simónico B ^c	14	15	16	17	18	19
Fuc-1	101.2	104.3	104.3	104.2	101.6	101.6	101.6
2	74.9	80.2	80.3	80.2	73.4	73.4	73.4
3	76.7	73.3	73.3	73.4	76.7	76.7	76.6
4	73.5	72.9	73.1	73.3	73.6	73.6	73.5
5	71.2	70.8	70.8	70.8	71.3	71.3	71.2
6a	17.2	17.4	17.4	17.3	17.2	17.2	17.2
Ram-1	101.4	98.8	98.8	98.7	100.3	100.3	100.2
2	73.2	73.9	73.9	73.9	69.8	69.8	69.7
3	72.7	69.9	69.9	69.9	77.9	77.8	77.8
4	80.2	79.9	79.9	79.9	77.4	78.0	77.9
5	67.1	68.6	68.6	68.6	67.9	67.9	67.9
6	18.9	19.4	19.5	19.4	19.2	19.2	19.2
Ram'-1	102.9	99.2	99.2	99.2	99.1	99.2	99.2
2	72.0	73.1	73.1	72.9	72.8	73.0	73.0
3	82.6	79.6	79.6	79.5	79.8	80.2	80.2
4	78.7	79.9	80.1	80.1	79.4	79.2	79.2
5	68.7	68.5	68.2	68.2	68.4	68.3	68.3
6	18.3	18.7	18.8	18.8	18.8	18.8	18.7
Ram''-1	103.3	103.9	103.8	103.8	103.9	103.7	103.6
2	72.7	72.8	72.7	72.7	72.6	72.6	72.6
3	72.8	72.7	70.2	70.2	70.2	70.2	70.2
4	74.0	73.9	74.9	74.7	74.8	74.8	74.8
5	70.4	70.8	68.5	68.5	68.2	68.2	68.1
6	18.6	18.3	17.8	17.8	17.9	17.9	17.9
Ram'''-1	104.5	104.9	104.9	104.8	104.4	104.3	104.3
2	72.7	72.5	72.5	72.5	72.6	72.7	72.5
3	72.8	72.6	72.6	72.6	72.6	72.5	72.6
4	73.7	73.5	73.5	73.4	73.6	73.7	73.7
5	70.1	68.7	70.5	70.5	70.7	70.8	70.8
6	18.6	18.5	18.5	18.5	18.8	18.8	18.8
Jal-1	174.1	173.1	173.7	173.1	174.8	174.9	174.9
2		34.2	34.3	34.3	33.8	33.7	33.7
11	78.0	82.3	82.3	82.3	79.4	79.3	79.3
16	14.4	14.3	14.3	14.3	14.4	14.4	14.4
OCH ₃	49.7						
mba-1		175.5	175.5	175.5	176.3	176.3	
2		41.5	41.5	41.4	41.6	41.6	
2-Me		16.8	16.8	16.8	17.0	17.0	
3-Me		11.8	11.8	11.7	11.8	11.8	
mba'-1				176.3			176.3
2				41.5			41.6
2-Me				16.9			17.0
3-Me				11.7			11.8
iba-1			176.7		176.0		
2			34.5		34.2		
3			19.3		19.1		
3'			19.1		19.1		
octa-1							172.9
2							34.4
8							14.2
8-Hidroxidodeca-1						172.9	
2						34.4	
12						14.3	
6						38.3	
7						38.4	

^aDatos registrados a 125 MHz en C₅D₅N. ^bAbreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Jal = ácido 11-hidroxyhexadecanoico; mba = ácido 2-metilbutanoico; iba = metilpropanoico; octa = ácido octanoico; 8-hidroxidodeca = ácido 8-hidroxidodecanoico. ^cEster metílico.⁶⁵



Figuro 83. Espectros de RMN ^1H de los compuestos 11-15.

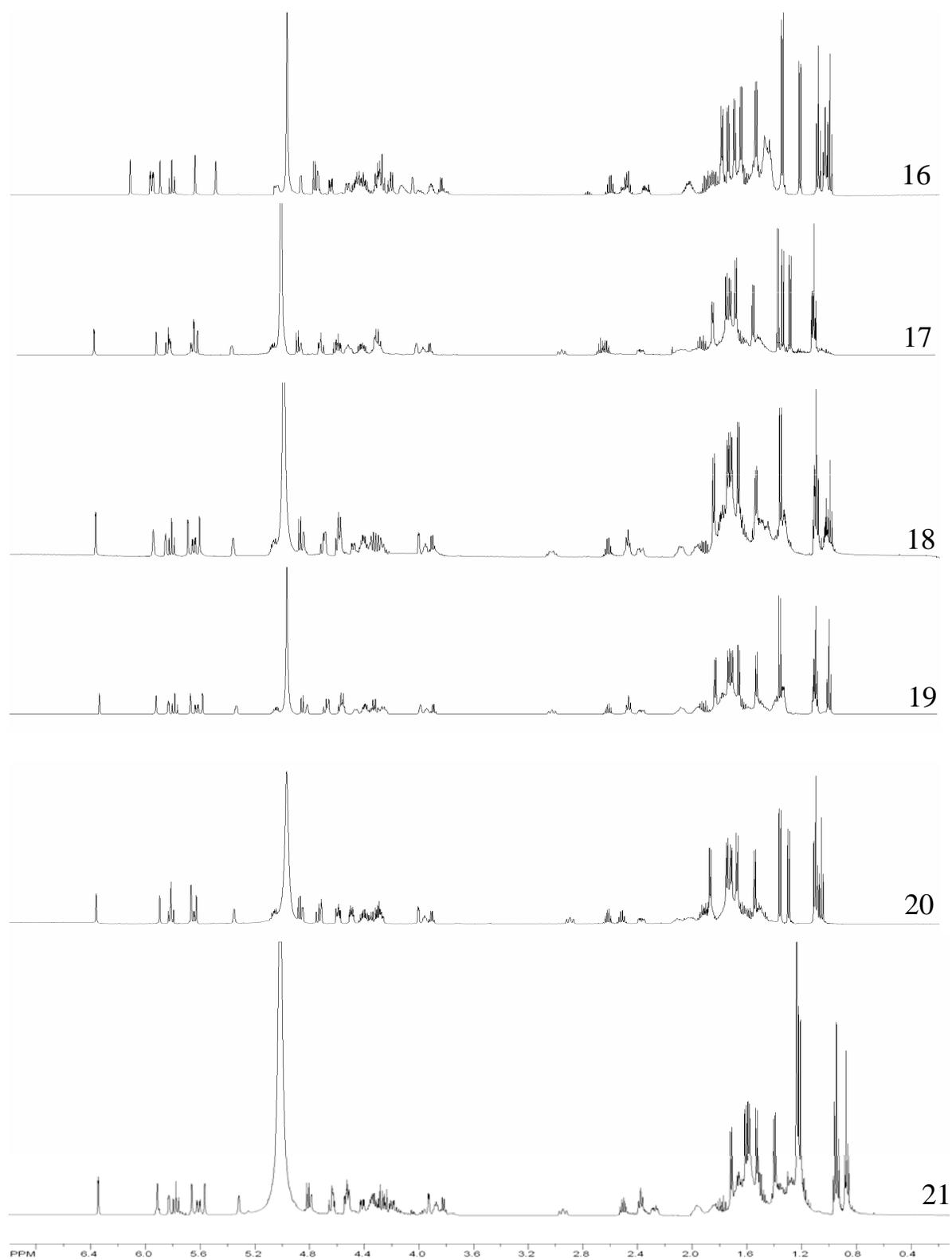


Figura 84. Espectros de RMN ^1H de los compuestos 16-21.

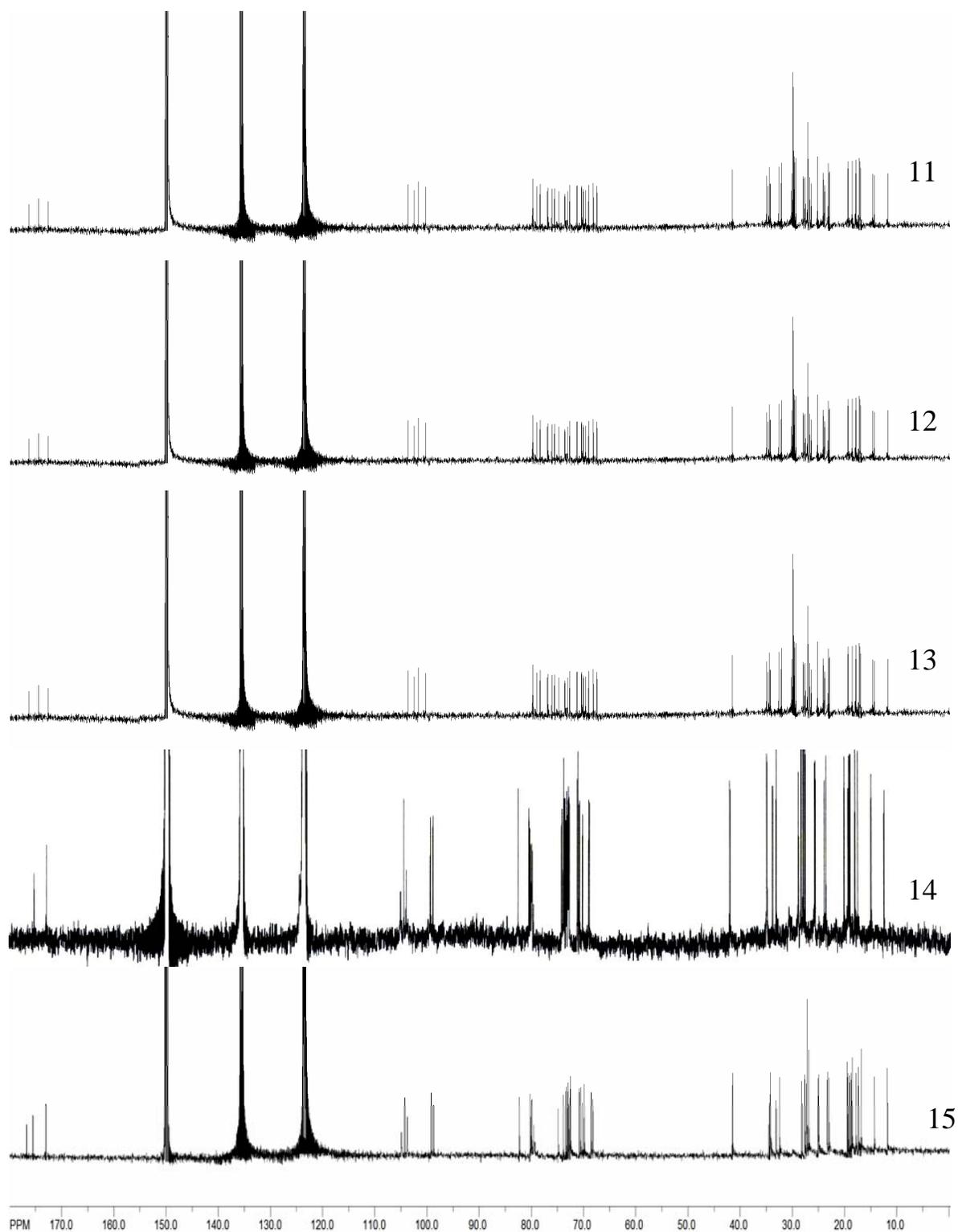


Figura 85. Espectros de RMN ^{13}C de los compuestos 11-15.

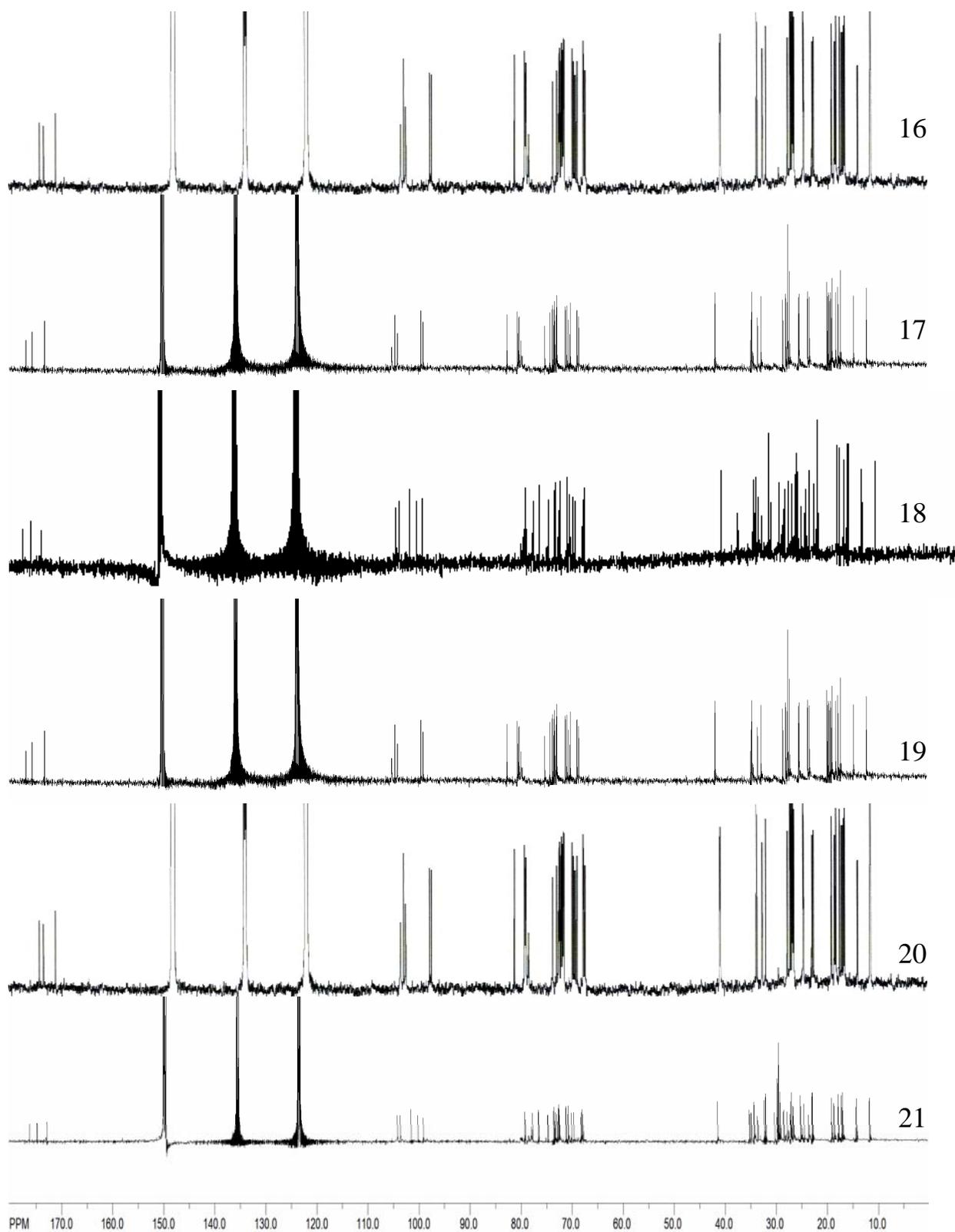


Figura 86. Espectros de RMN ¹³C de los compuestos 16-21.

6.4 Diferenciación de los glicolípidos mediante espectrometría de masas

La espectrometría de masas constituye una técnica esencial en la determinación estructural de los glicolípidos naturales. La técnica de bombardeo por átomos acelerados (EM-FAB) ha sido de una ayuda invaluable para el establecimiento de la estructura molecular de una gran variedad de polisacáridos al proporcionar los pesos moleculares a través de la detección de los iones quasi-moleculares $[M + H]^+$ o $[M - H]^-$ y los iones fragmentos que permiten establecer la secuencia de glicosidación.¹

La espectrometría de masas en la modalidad FAB (modo negativo) fue particularmente útil para determinar los pesos moleculares de los glicolípidos **1-21**. En cada uno de los espectros se observaron los picos comunes provocados por las rupturas glicosídicas. Al analizar las diferencias de peso que hay entre cada uno de los iones quasi-moleculares $[M - 1]$ y los fragmentos de mayor peso formados por las eliminaciones de los grupos acilos se establecieron las unidades sacáridas esterificadas y sus respectivos sustituyentes.⁶⁶

6.4.1 Espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo de las murucoidinas VI (1), VII (2) y VIII (3)

Estas murucoidinas poseen el núcleo del ácido simónico A, el cual está constituido por una unidad de glucosa y cuatro de ramnosa. La Figura **87** ilustra el patrón de fragmentación característico que sufren estos compuestos, i.e. los iones de m/z 271, 433 y 561. El fragmento de m/z 433 presenta una diferencia de 18 unidades de masa (H_2O) con respecto al ion quasi-molecular 451 del ácido glicosídico, indicando que la esterificación intramolecular por la aglicona se sitúa en la unidad de ramnosa interna superior (Ram).⁵³

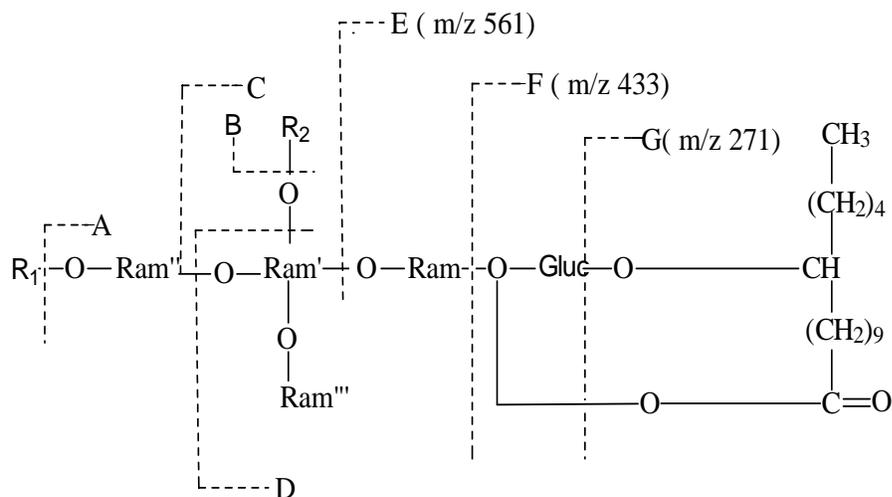


Figura 87. Patrón de fragmentación de los glicolípidos **1-5**.

La espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo de la murucoidina **VI** mostró un ion pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1265 (Figura **88**). Su fórmula molecular se estableció como $C_{63}H_{109}O_{25}$. Se observaron los picos comunes de fragmentación provocados por las rupturas de los enlaces glicosídicos (m/z 853, 561, 433 y 271) confirmando la ubicación de la esterificación intramolecular del núcleo oligosacárido en la unidad de ramnosa interna superior (Ram). La murucoidina **VI** (**1**) presentó dos residuos acilando al núcleo oligosacárido, los ácidos 2-metilbutanoico y dodecanoico. El fragmento A de m/z 1181 $[M - H - C_5H_8O]^-$ corresponde a la pérdida del residuo 2-metilbutanoico con una diferencia de 84 unidades con respecto al ion quasi-molecular $[M - 1]^-$ de m/z 1265. En tanto que el fragmento B de m/z 1083 $[M - H - C_{12}H_{22}O]^-$ corresponde a la pérdida del residuo dodecanoico con una diferencia de 182 unidades con respecto al ion quasi-molecular. El análisis del total de las fragmentaciones registradas para este compuesto se resume en la sección **6.2.3** (Cuadro **17**).

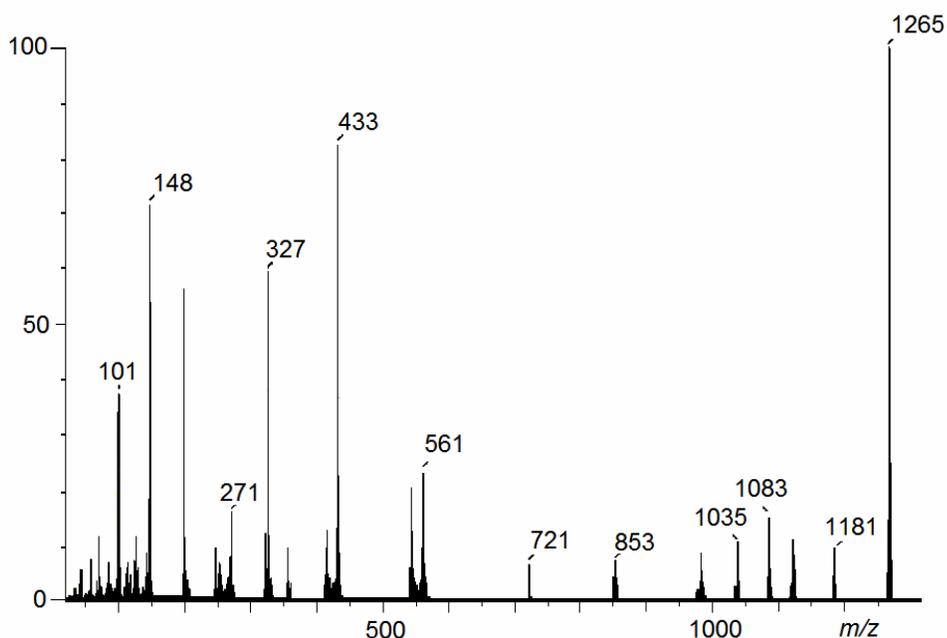


Figura 88. Espectro de masas modo FAB negativo para la murucoidina VI (1).

La espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo de la murucoidina VII (2) mostró un ion pseudomolecular de m/z 1153 $[M - H]^-$ (Figura 89). Su fórmula molecular se estableció como $C_{55}H_{93}O_{25}$. También, se observaron los picos comunes de fragmentación provocados por las rupturas de los enlaces glicosídicos (m/z 937, 791, 561, 433 y 271) confirmando la ubicación de la esterificación intramolecular en la unidad de ramnosa interna superior (Ram). En el caso de la murucoidina VII (2) están presente los ácidos 2-metilbutanoico y metilpropanoico acilando al núcleo oligosacárido por lo que el fragmento A de m/z 1083 $[M - H - C_4H_6O]^-$ corresponde a la pérdida del residuo metilpropanoico con una diferencia de 70 unidades con respecto al ion quasi-molecular de m/z 1153 $[M - 1]^-$ y el fragmento B de m/z 1069 $[M - H - C_5H_8O]^-$ corresponde a la pérdida del residuo 2-metilbutanoico con una diferencia de 84 unidades con respecto al ion quasi-molecular. El análisis de la fragmentación completa para este compuesto se resume en la sección 6.2.6 (Cuadro 20).

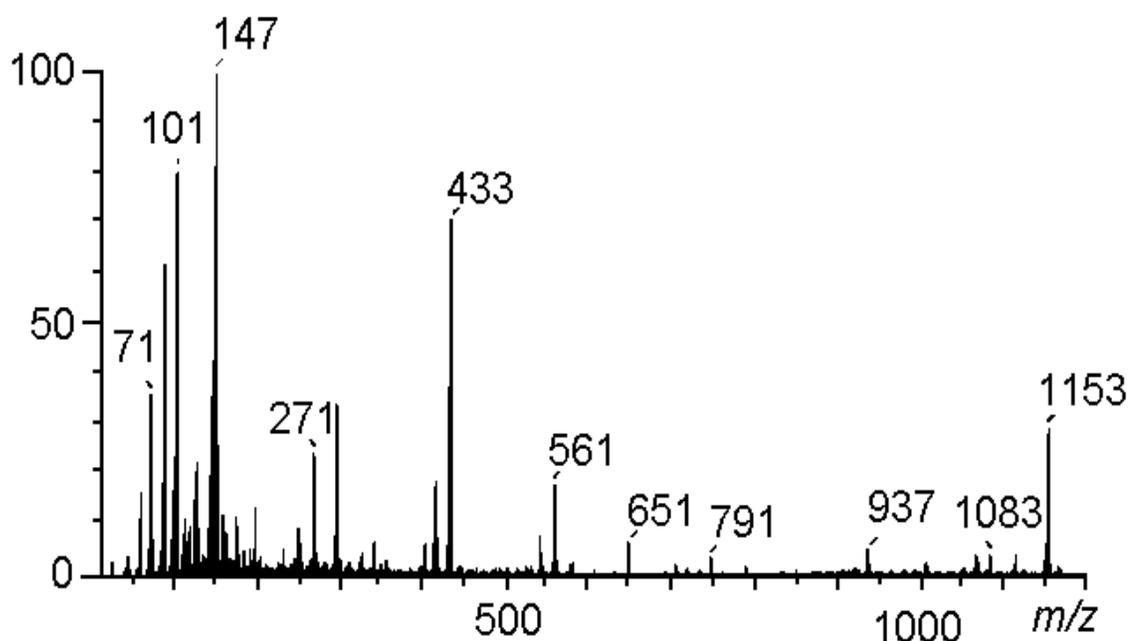


Figura 89. Espectro de masas modo FAB negativo para la murucoidina **VII** (2).

La murucoidina **VIII** (3) mostró un ion pseudomolecular de m/z 1167 $[M - H]^-$ (Figura 90). Su fórmula molecular se estableció como $C_{56}H_{95}O_{25}$. Se observaron los picos comunes de fragmentación provocados por las rupturas de los enlaces glicosídicos (m/z 937, 561, 433 y 271). En este caso, se observó la eliminación del ácido 2-metilbutanoico que esterifica al oligosacárido a través del fragmento A de m/z 1083 $[M - H - C_5H_8O]^-$ que corresponde a la pérdida de 84 unidades de masa atómica a partir del ion cuasi-molecular. El fragmento C m/z 853 corresponde a la pérdida del residuo 2-metilbutanoico (84 unidades) y de una metilpentosa (146 unidades) con respecto al ion m/z 1083. El análisis de la fragmentación registrada para este compuesto se presenta en la sección 6.2.6 (Cuadro 21).

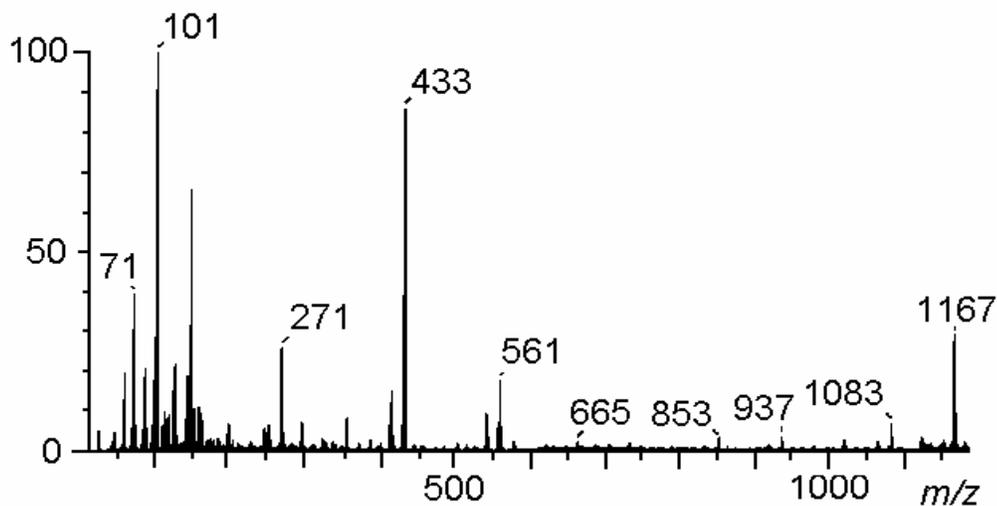


Figura 90. Espectro de masas modo FAB negativo para la murucoidina VIII (3).

6.4.2 Espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo de las murucoidinas XII (4) y XIII (5)

Estas murucoidinas poseen el núcleo del ácido operculínico E, el cual está constituido por una unidad de glucosa y tres de ramnosa.⁴³ Este núcleo muestra el mismo patrón de fragmentación para las rupturas glicosídicas que el registrado para los compuestos 1-3, i.e. los iones de m/z 271, 433 y 561. La espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo de la murucoidina XII (4) mostró un ion pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1119 (Figura 91). Su fórmula molecular se estableció como $C_{57}H_{99}O_{21}$. En este caso los compuestos 4-5 presentan como grupos acilos a los ácidos metilbutanoico y dodecanoico. Los fragmentos A de m/z 937 $[M - H - C_5H_8O]^-$ y B de m/z 853 $[M - H - [M - H - C_{12}H_{22}O]^-]$ corresponden a la pérdida del residuo dodecanoico con una diferencia de 182 unidades y la pérdida del residuo metilbutanoico con una diferencia de 84 unidades con respecto al ion quasi-molecular, respectivamente. La murucoidina XII (4) y XIII (5) presentaron un patrón de fragmentación análogo, de tal manera que las diferencias estructurales entre las murucoidina XII y murucoidina XIII corresponden a las posiciones

de acilación y su efecto sobre los desplazamientos químicos en la resonancia magnética nuclear se describieron previamente (ver sección 6.3.2, Resultados y Discusión).

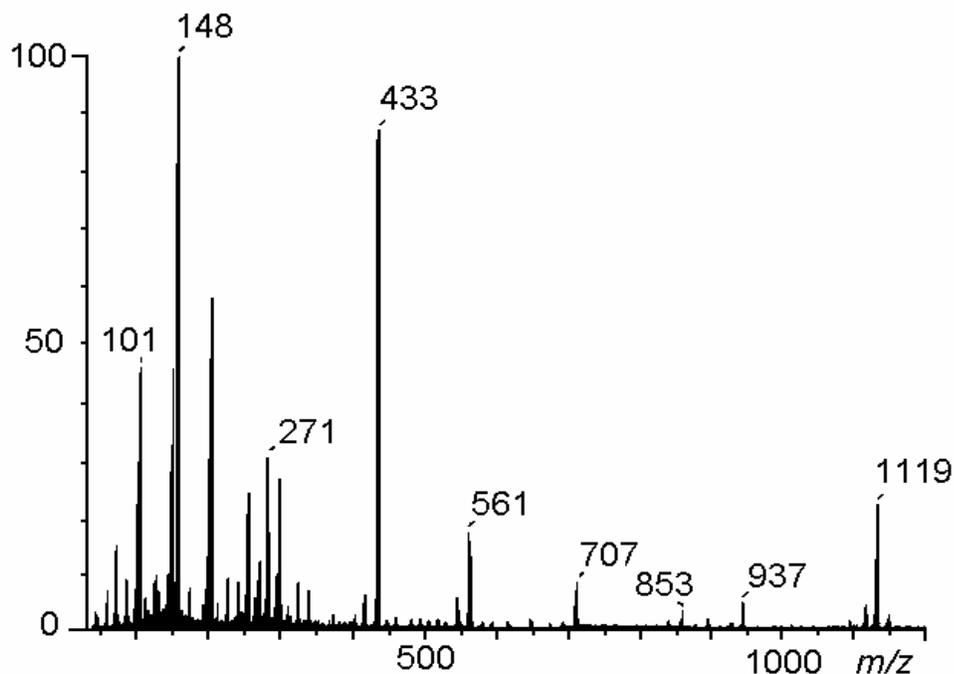


Figura 91. Espectro de masas modo FAB negativo para la murucoidina XII (4).

6.4.3 Espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo de las murucoidinas IV (6), V (7), XI (8), XVII (9) e intrapilosina I (10)

Las murucoidinas 6-10 poseen el núcleo del ácido operculínico A, el cual está constituido por una unidad de glucosa, una de fucosa y tres de ramnosa.⁴⁵ La Figura 92, ilustra el patrón de fragmentación característico que sufren estos compuestos, i.e. los iones de m/z 271, 417 y 545, este último fragmento que presenta una diferencia de 18 (H_2O) unidades de masa indica que la localización de la esterificación intramolecular en el núcleo oligosacárido se sitúa en la unidad de ramnosa interna superior (Ram).

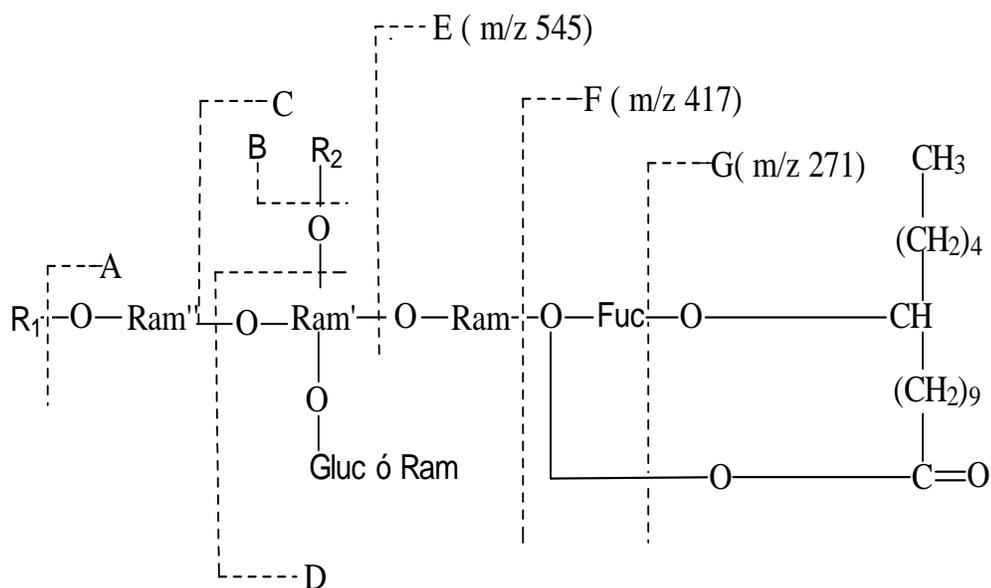


Figura 92. Patrón de fragmentación de los glicolípidos **6-21**.

La espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo de la murucoidina IV (**6**) mostró un ion pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1167 (Figura **93**). Su fórmula molecular se estableció como $C_{56}H_{95}O_{25}$. En este caso los compuestos **6** y **7** presentan al ácido 2-metilbutanoico esterificando al núcleo oligosacárido por lo que el fragmento A de m/z 1083 $[M - H - C_5H_8O]^-$ corresponde a la pérdida del residuo de 2-metilbutanoico con una diferencia de 84 unidades con respecto al ion quasi-molecular. La murucoidina IV (**6**) y V (**7**) presentaron un patrón de fragmentación análogo, de tal manera que la diferencia estructural entre las murucoidina IV y murucoidina V corresponden a la posición de acilación de la aglicona (ver sección **6.3.3**, Resultados y Discusión).

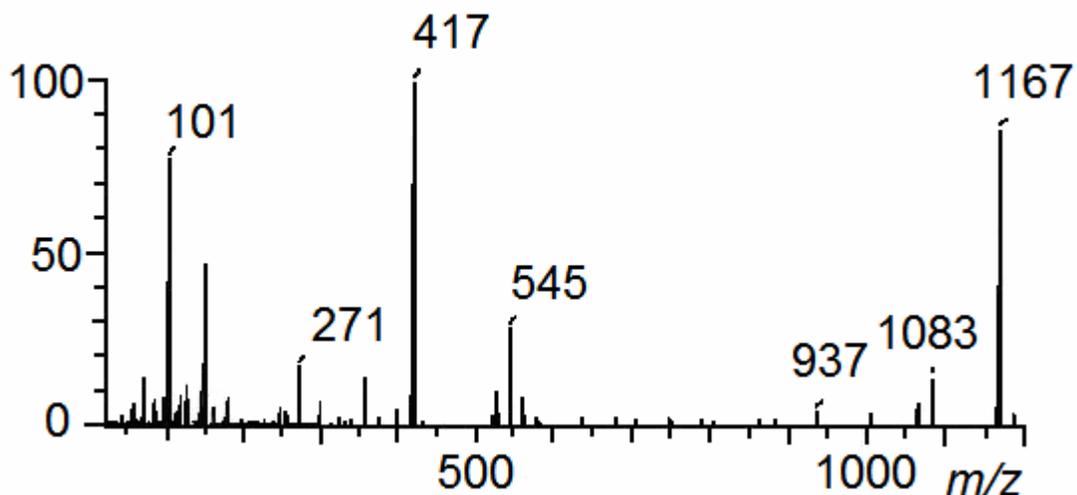


Figura 93. Espectro de masas modo FAB negativo para la murucoidina **IV** (**6**).

En el caso de la murucoidina **XI** (**8**) la espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo mostró un ion pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1265 (Figura **94**). Su fórmula molecular se estableció como $C_{63}H_{109}O_{25}$. La murucoidina **XI** (**8**) presenta los ácidos 2-metilbutanoico y dodecanoico acilando el oligosacárido por lo que el fragmento A de m/z 1181 corresponde a la pérdida del residuo de 2-metilbutanoico con una diferencia de 84 unidades con respecto al ion quasi-molecular $[M - 1]$ de m/z 1265 y el fragmento B de m/z 1083 corresponde a la pérdida del residuo del dodecanoico con una diferencia de 182 unidades con respecto al ion quasi-molecular, el análisis de la fragmentación completa de este compuesto se puede ver en la sección **6.2.2** (Cuadro **12**).

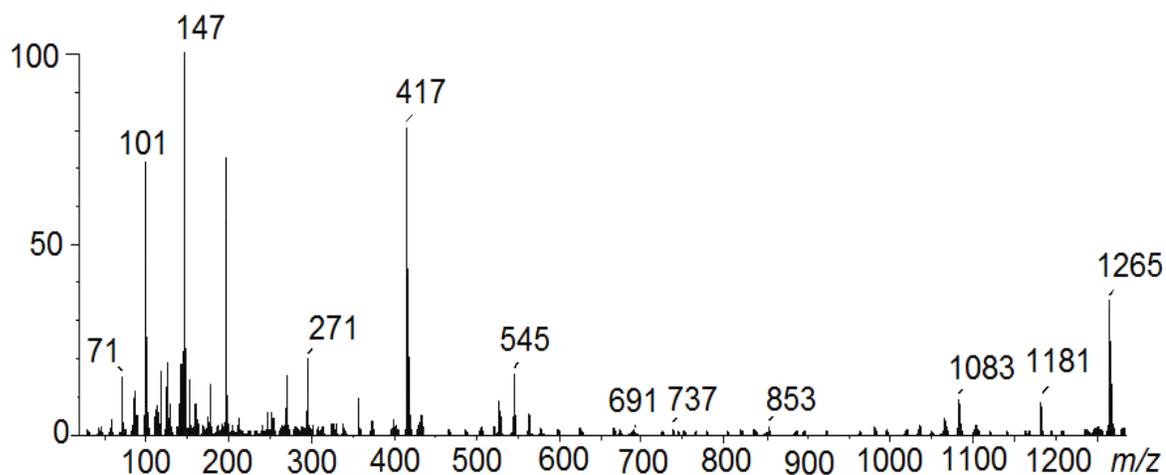


Figura 94. Espectro de masas modo FAB negativo para la murucoidina **XI (8)**.

Para la murucoidina XVII (9) la espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo mostró un ion pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1297 (Figura 95). Su fórmula molecular se estableció como $C_{65}H_{101}O_{26}$.

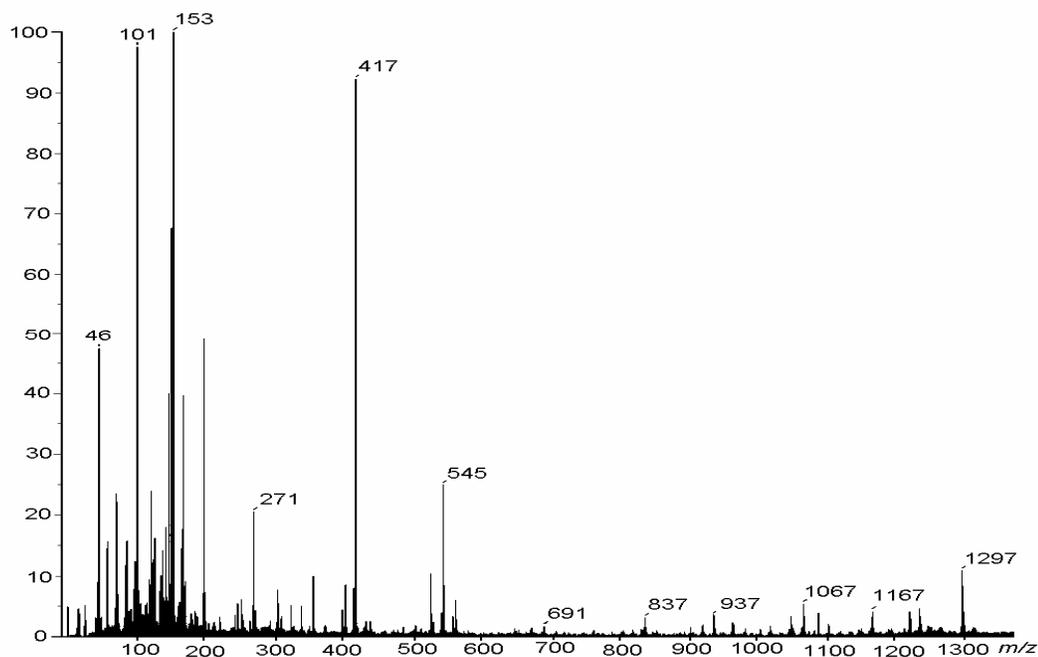


Figura 95. Espectro de masas modo FAB negativo para la murucoidina **XVII (9)**.

La murucoidina XVII (**9**) presenta los ácidos 2-metilbutanoico y cinámico acilando el oligosacárido por lo que el fragmento A de m/z 1167 corresponde a la pérdida del residuo cinamoilo con una diferencia de 130 unidades con respecto al ion quasi-molecular $[M - 1]$ de m/z 1297 y el fragmento B de m/z 1083 corresponde a la pérdida del residuo del metilbutanoilo con una diferencia de 84 unidades con respecto al ion quasi-molecular de m/z 1167, el análisis de la fragmentación completa de este compuesto se puede ver en la sección **6.2.1** (Cuadro 1).

La murucoidina XVII (**9**) e intrapilosina I (**10**) presentaron un patrón de fragmentación análogo, de tal manera que la diferencia estructural entre la murucoidina XVII e intrapilosina I corresponde a la posición de acilación de la aglicona y su efecto sobre los desplazamientos químicos en la resonancia magnética nuclear se describieron previamente (ver sección **6.3.3**, Resultados y Discusión).

6.4.4 Espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo de las murucoidinas XIV (11), XV (12) y XVI (13)

Estas murucoidinas poseen el núcleo del ácido operculínico C, el cual está constituido por una unidad de fucosa y tres de ramnosa. Este núcleo muestra el mismo patrón de fragmentación de los compuestos **6-10**, i.e. los iones de m/z 271, 417 y 545.

La espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo de la murucoidina XIV (**11**) mostró un ion pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1103 (Figura **96**). Su fórmula molecular se estableció como $C_{57}H_{99}O_{20}$. El compuesto **11** presenta el ácido 2-metilbutanoico y el dodecanoico esterificando el oligosacárido por lo que el fragmento A de m/z 921 corresponden a la pérdida del residuo dodecanoilo con una diferencia de 182 unidades con respecto al ion quasi-molecular $[M - 1]$ de m/z 1103 y el fragmento B de m/z 837 corresponden a la pérdida del residuo metilbutanoilo con una diferencia de 84 unidades con respecto al ion quasi-molecular de m/z 921.

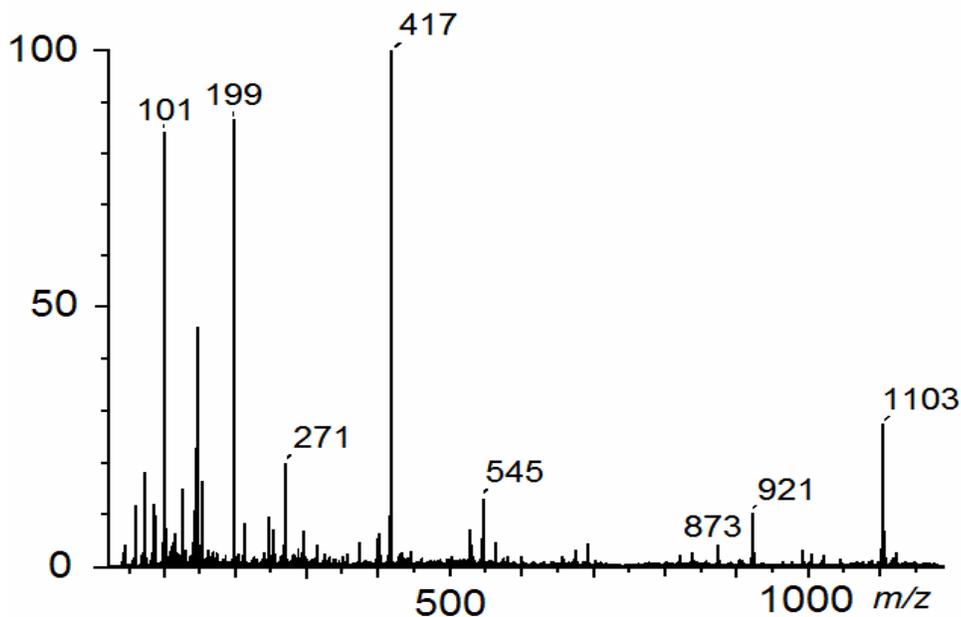


Figura 96. Espectro de masas modo FAB negativo para la murucoidina **XIV (11)**.

La murucoidina **XV (12)** en la espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo mostró un ion pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1005 (Figura 97). Su fórmula molecular se estableció como $C_{57}H_{99}O_{20}$. El análisis de la diferencia de iones permitió observar el fragmento A de m/z 921 que corresponde a la pérdida del residuo metilbutanoilo con una diferencia de 84 unidades con respecto al ion quasi-moleculares $[M - 1]$ de m/z 1005.

Las murucoidinas **XV (12)** y **XVI (13)** presentaron un patrón de fragmentación análogo, de tal manera que las diferencias estructurales entre la murucoidina **XV** y murucoidina **XVI** corresponden a las posiciones de acilación y su efecto sobre los desplazamientos químicos en la resonancia magnética nuclear se describieron previamente (ver sección 6.3.4, Resultados y Discusión).

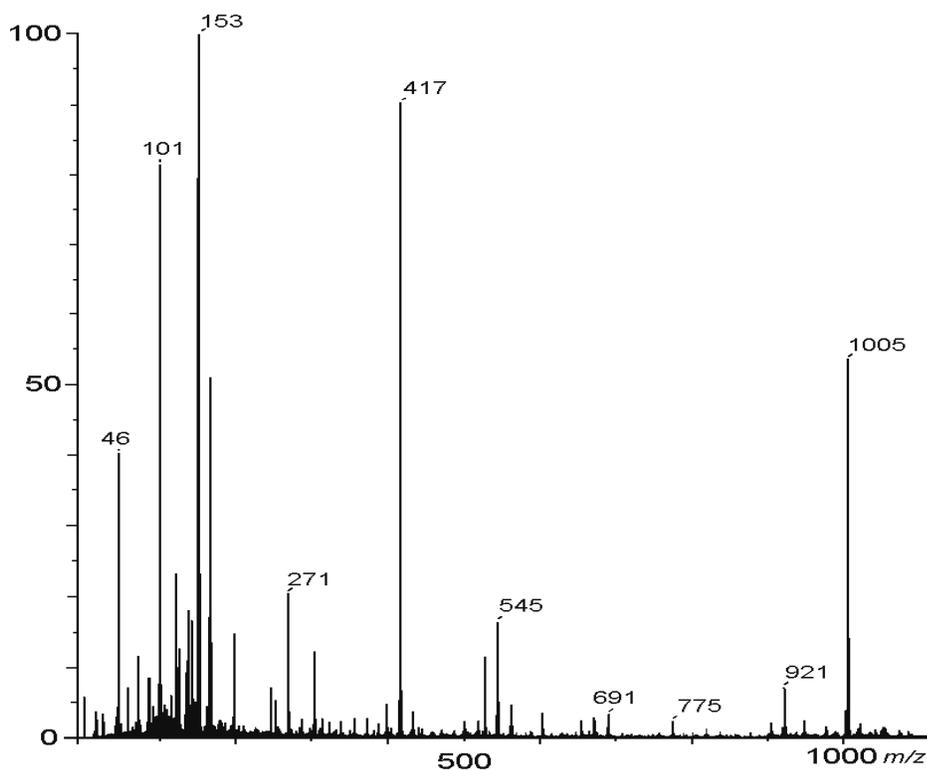


Figura 97. Espectro de masas modo FAB negativo para la murucoidina XV (12).

6.4.5 Espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo de las murucoidinas I–III (14-16), IX-X (17-18) y XVIII (19), estoloniferina I (20) y pescapreina III (21)

Estas murucoidinas poseen el núcleo del ácido simónico B, el cual está constituido por una unidad de fucosa y cuatro de ramnosa. Este núcleo muestra el mismo patrón de fragmentación de los compuestos **6-13**, i.e. los iones de m/z 271, 417 y 545. En el caso de la murucoidina I (**14**) la espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo mostró un ion pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1067 (Figura 98). Su fórmula molecular se estableció como $C_{51}H_{87}O_{23}$. Este compuesto presenta el ácido 2-metilbutanoico acilando el oligosacárido por lo que el fragmento A de m/z 983 corresponde a la pérdida del residuo 2-metilbutanoico con una diferencia de 84 unidades con respecto al ion quasi-molecular $[M - 1]$ de m/z 1067. El análisis de la fragmentación completa de este compuesto se puede ver en la sección 6.2.6 (Cuadro 19).

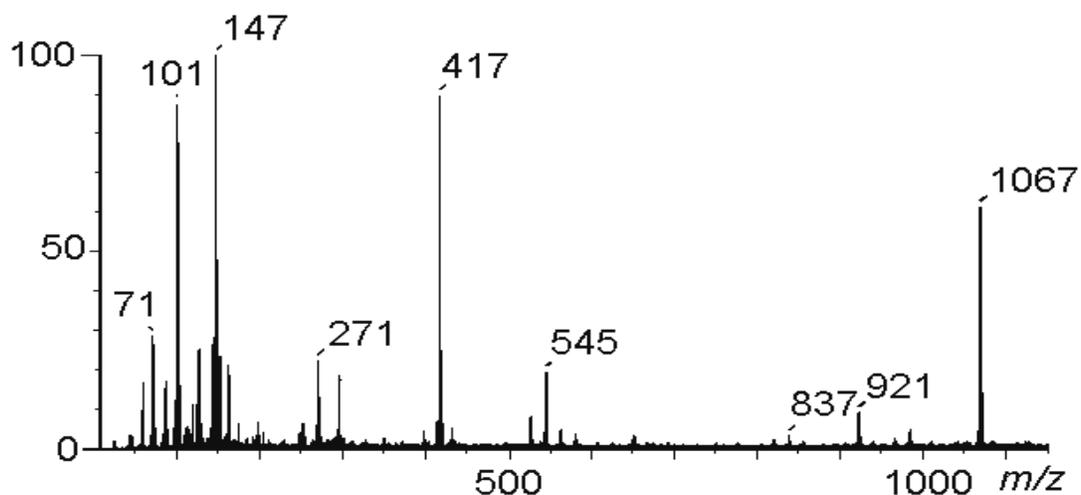


Figura 98. Espectro de masas modo FAB negativo para la murucoidina **I** (**14**).

En el caso de la murucoidina II (**15**) la espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo mostró un ion pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1137 (Figura **99**). Su fórmula molecular se estableció como $C_{55}H_{93}O_{24}$. La murucoidina II (**15**) presenta los ácidos 2-metilbutanoico y metilpropanoico acilando el oligosacárido por lo que el fragmento A de m/z 1067 corresponde a la pérdida del residuo metilpropanoilo con una diferencia de 70 unidades con respecto al ion quasi-molecular $[M - 1]$ de m/z 1137 y el fragmento B de m/z 1053 corresponde a la pérdida del residuo metilbutanoilo con una diferencia de 84 unidades con respecto al ion quasi-molecular, el análisis de la fragmentación completa de este compuesto se puede ver en la sección **6.2.5** (Cuadro **18**).

Las murucoidinas II (**15**) y IX (**17**) presentaron un patrón de fragmentación análogo, de tal manera que la diferencia estructural entre la murucoidina II y murucoidina IX corresponde a la posición de acilación de la aglicona y su efecto sobre los desplazamientos químicos en la resonancia magnética nuclear se describieron previamente (ver sección **6.3.5**, Resultados y Discusión).

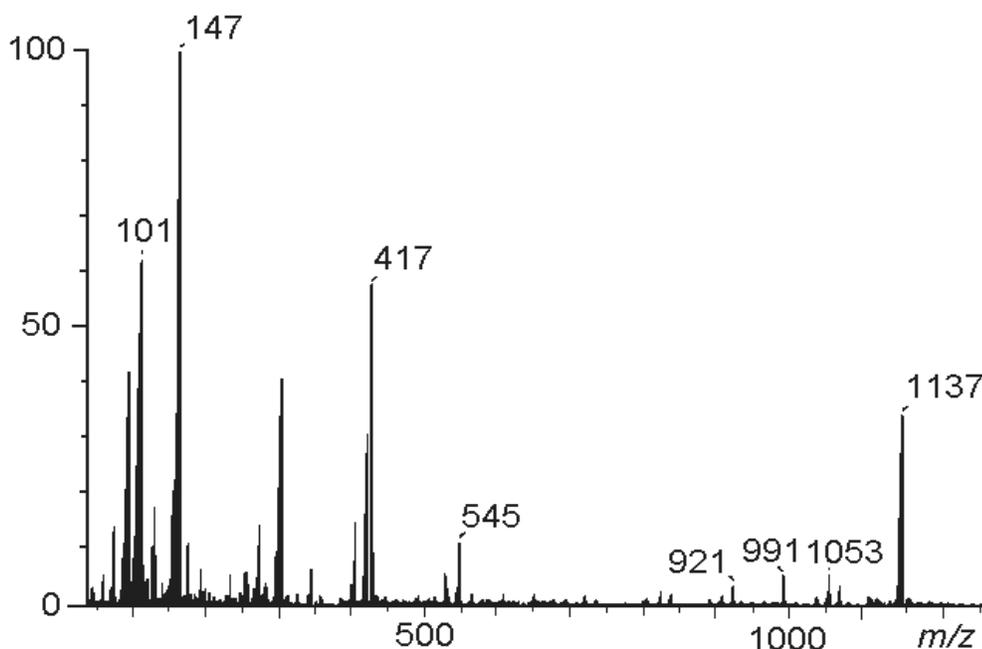


Figura 99. Espectro de masas modo FAB negativo para la murucoidina **II** (**15**).

La murucoidina III (**16**) en la espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo mostró un ion pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1151 (Figura **100**). Su fórmula molecular se estableció como $C_{56}H_{95}O_{24}$. Este compuesto **16** presenta el ácido 2-metilbutanoico acilando el oligosacárido por lo que el fragmento A de m/z 1067 corresponde a la pérdida del residuo metilbutanoilo con una diferencia de 84 unidades con respecto al ion quasi-molecular $[M - 1]$ de m/z 1151, el análisis de la fragmentación completa de este compuesto se puede ver en la sección **6.2.3** (Cuadro **15**).

La murucoidina III (**16**) y estoloniferina I (**20**) presentaron un patrón de fragmentación análogo, de tal manera que la diferencia estructural entre la murucoidina III y estoloniferina I corresponde a la posición de acilación de la aglicona (sección **6.3.5**, Resultados y Discusión).

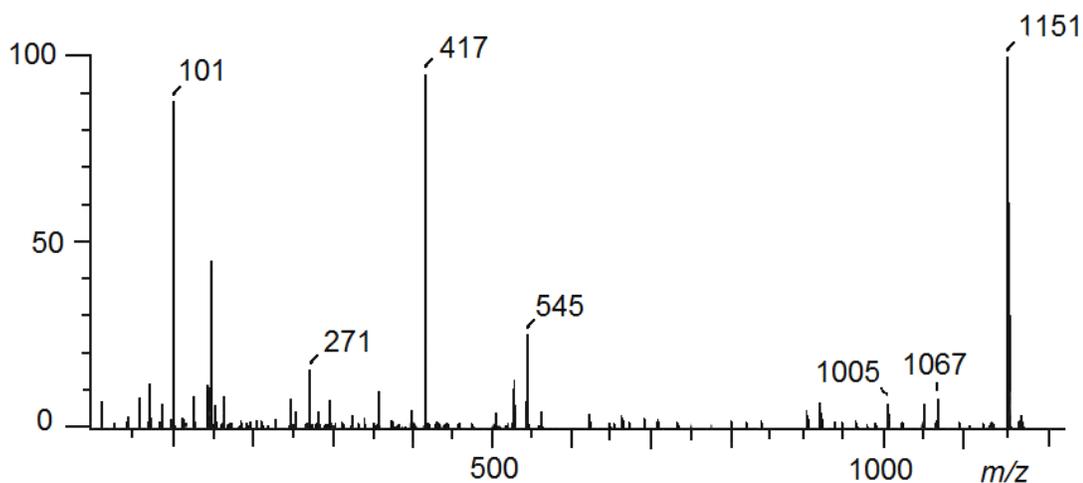


Figura 100. Espectro de masas modo FAB negativo para la murucoidina **III** (**16**).

La murucoidina XVIII (**19**) en la espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo mostró un ion pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1193 (Figura **101**). Su fórmula molecular se estableció como $C_{59}H_{102}O_{24}$. Este compuesto **19** presenta los ácidos 2-metilbutanoico y octanoico acilando el oligosacárido por lo que el fragmento A de m/z 1067 corresponde a la pérdida del residuo octanoílo con una diferencia de 126 unidades con respecto al ion quasi-molecular $[M - 1]$ de m/z 1193 y el fragmento C de m/z 963 corresponde a la pérdida del residuo metilbutanoilo (84 unidades) y de una metilpentosa (146 unidades) con respecto al ion quasi-molecular $[M - 1]$ de m/z 1193, el análisis de la fragmentación completa de este compuesto se puede ver en la sección **6.2.1** (Cuadro **2**).

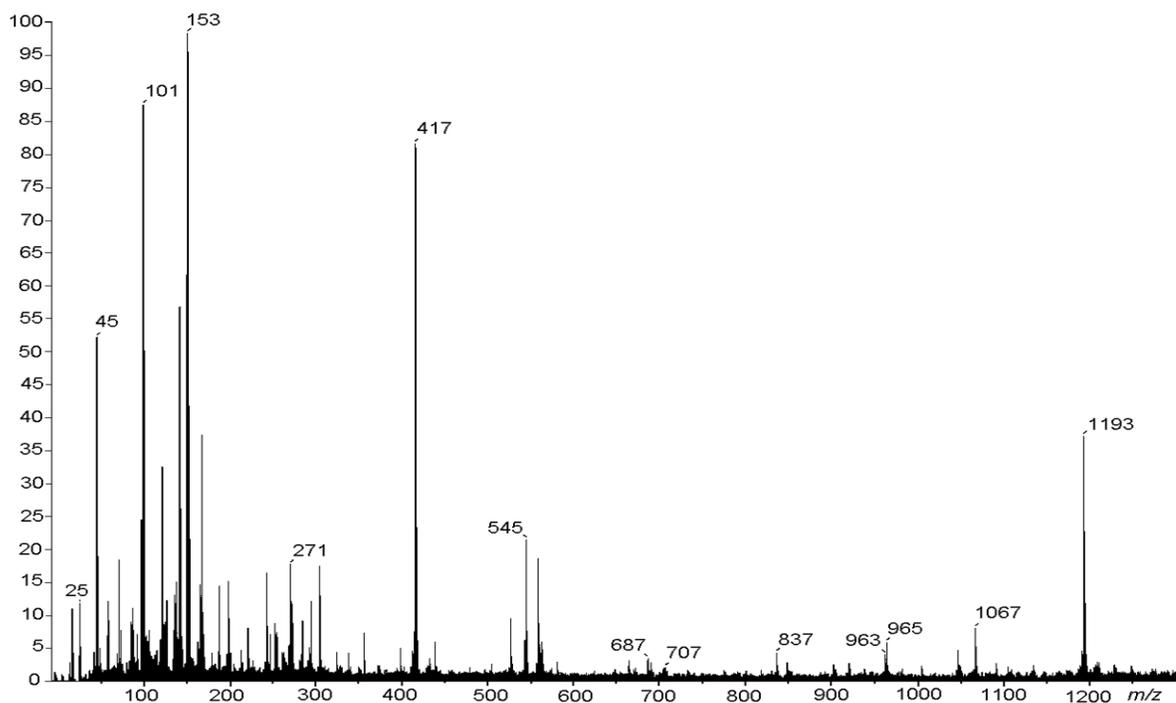


Figura 101. Espectro de masas modo FAB negativo para la muruoidina XVIII (19).

La muruoidina X (18) en la espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo mostró un ion pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1265 (Figura 102). Su fórmula molecular se estableció como $C_{63}H_{109}O_{25}$. Este compuesto 18 presenta los ácidos 2-metilbutanoico y 8-hidroxidodecanoico acilando el oligosacárido por lo que el fragmento A de m/z 1067 corresponde a la pérdida del residuo 8-hidroxidodecanoico con una diferencia de 198 unidades con respecto al ion quasi-molecular $[M - 1]$ de m/z 1265 y el fragmento D de m/z 691 corresponde a la pérdida del residuo metilbutanoilo (84 unidades) y de dos metilpentosa (146 unidades) con respecto al ion quasi-molecular $[M - 1]$ de m/z 1067, el análisis de la fragmentación completa de este compuesto se puede ver en la sección 6.2.2 (Cuadro 11).

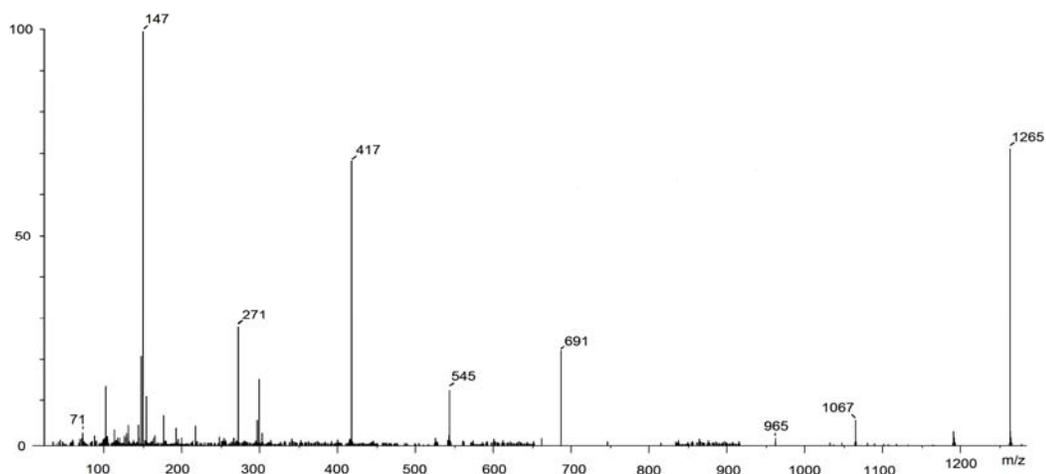


Figura 102. Espectro de masas modo FAB negativo para la murucoidina **X** (**18**).

En el caso de la pescapreina III (**21**), la espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo mostró un ion pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1249 (Figura **103**). Su fórmula molecular se estableció como $C_{63}H_{109}O_{24}$. El compuesto **21** presenta los ácidos 2-metilbutanoico y dodecanoico acilando el oligosacárido por lo que el fragmento A de m/z 1165 corresponde a la pérdida del residuo metilbutanoilo con una diferencia de 84 unidades con respecto al ion quasi-molecular $[M - 1]$ de m/z 1137 y el fragmento B de m/z 1067 corresponde a la pérdida del residuo dodecanoilo con una diferencia de 182 unidades con respecto al ion quasi-molecular $[M - 1]$ de m/z 1137, (sección **6.2.5**, Resultados y Discusión). Estos datos espectrométricos concuerdan con los descritos en la literatura.⁶⁶

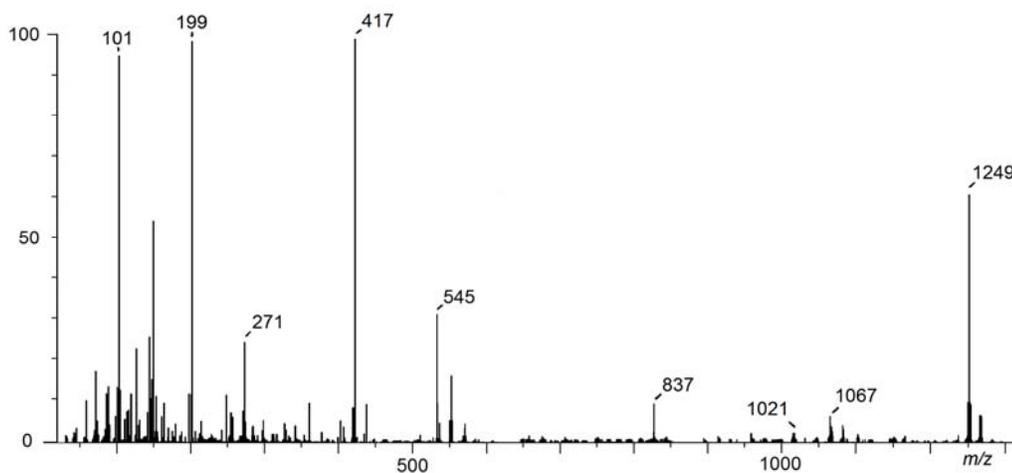


Figura 103. Espectro de masas modo FAB negativo para la pescapreina **III** (**21**).

6.5 Análisis del residuo 8-hidroxicododecanoico

En el caso del compuesto **18**, se observaron dos carbonos de tipo metileno centrados en 38.4 y 38.3 ppm. Estos desplazamientos no presentaban precedentes en la literatura para este tipo de compuestos, por lo que se trataba de un ácido novedoso. Mediante su análisis espectrométrico se infirió que se trataba de un residuo hidroxilado del ácido dodecanoico, por lo que se procedió a la degradación y derivatización de la murucoidina X.

El tratamiento de la murucoidina X (**18**) con una solución de KOH al 5% bajo reflujo liberó los ácidos orgánicos presentes. La mezcla de los ácidos orgánicos se transformó en su respectivo éster metílico mediante la alquilación con CH_2N_2 . Posteriormente, se sometió a una reacción de sililación para su análisis mediante cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (CG-EM). Se obtuvo un rendimiento de 0.4 mg de la mezcla de derivados, los resultados del análisis por espectrometría de masas de cada uno de los picos, nos permitió identificar al pico con tiempo de retención de 5.1 min como el 8-hidroxicododecanoico. El ion molecular no se detectó, sin embargo, se puso de manifiesto un pico de m/z 159 (61%) y el ion de m/z 245 (23%) que fueron generados por las rupturas alfa al grupo OTMS (Figura **104**), de manera que el primer ion $[\text{C}_5\text{H}_{10}\text{OTMS}]^+$ se generó por la ruptura homolítica del enlace $\text{C}_7\text{-C}_8$ y el fragmento de m/z 245 $[\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_3\text{TMS}]^+$ correspondió al producto de la ruptura del enlace $\text{C}_8\text{-C}_9$. Por lo tanto, estos fragmentos demostraron que el grupo hidroxilo se encuentra en la posición 8 del ácido hidroxicododecanoico.

Con el objetivo de establecer la configuración absoluta del ácido 8-hidroxicododecanoico aislado de las resinas del cacahuate, se utilizó la correlación descrita en la literatura entre la rotación óptica y la configuración del centro quiral de la cadena alifática para los ácidos (*11S*)-11-hidroxihexadecanoico³⁷ y (*8S*)-8-hidroxihexadecanoico,^{82,83} que poseen una configuración *S*. Esta se estableció mediante la síntesis en forma pura de cada uno de los enantiómeros y la aplicación del método de Mosher,^{37,44} encontrándose que el enantiómero *S* posee una rotación óptica dextrógira (+) y

el enantiómero *R* una rotación óptica levógira (-). Todas las agliconas que han sido caracterizadas en la familia de las convolvuláceas corresponden a ácidos grasos hidroxilados dextrógiros y en todos los casos la configuración absoluta para el centro quiral se ha establecido como *S*. De esta manera, se infirió que la configuración absoluta para el residuo acilante de la murucoidina **X**, el ácido 8-hidroxdodecanoico, corresponde al enantiómero *R* ya que presentó una rotación óptica negativa y, por lo tanto, constituye el primer ejemplo de un ácido graso hidroxilado levógiro en la familia de las convolvuláceas.

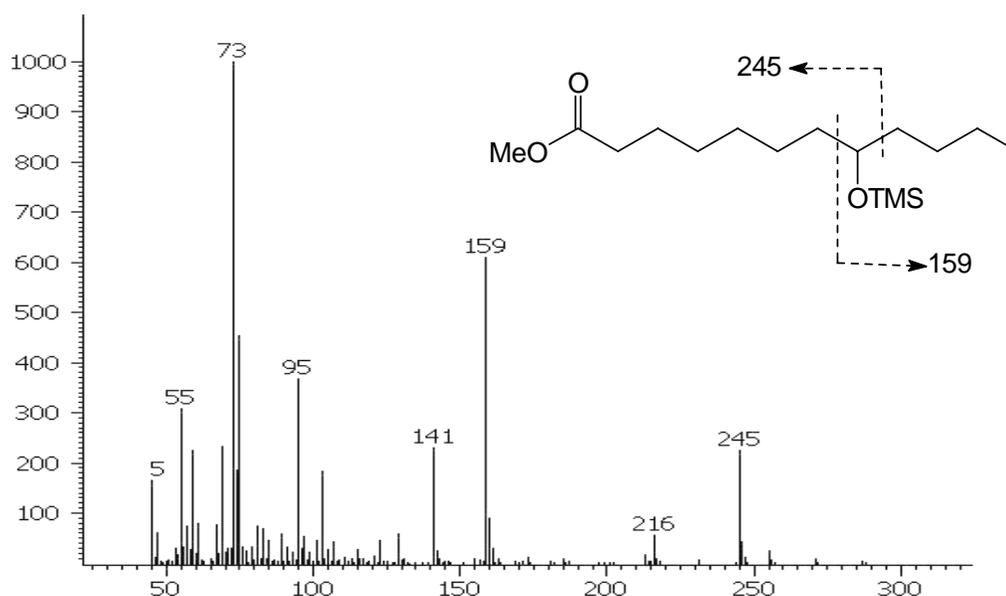


Figura 104. Espectro de masas para el derivado sililado del ácido 8-hidroxdodecanoico.

6.6 Estudio químico del extracto metanólico de las flores

La preparación del extracto metanólico de las flores de *Ipomoea murucoides* permitió la obtención de 55 g de residuo. Se obtuvo un rendimiento del 13.25%. El análisis cromatográfico en CCF del extracto metanólico presentó una zona con $R_f = 0.6$ que revelaba con un color muy parecido al desarrollado por las resinas glicosídicas

características de las convolvuláceas cuando se utilizó el reactivo cromógeno sulfato cérico-ácido sulfúrico, por lo que se procedió al fraccionamiento primario.

El fraccionamiento primario del extracto metanólico se realizó mediante cromatografía en columna abierta sobre gel de sílice usando un sistema de elución constituido por la mezcla de CHCl_3 -MeOH, incrementándose gradualmente la polaridad (10% MeOH en eluatos de 1 litro), iniciando la elución con cloroformo y terminado con metanol. Así, se obtuvieron 17 fracciones primarias. En la Figura 105 se presenta las cromatoplasmas en capa fina de estas fracciones.

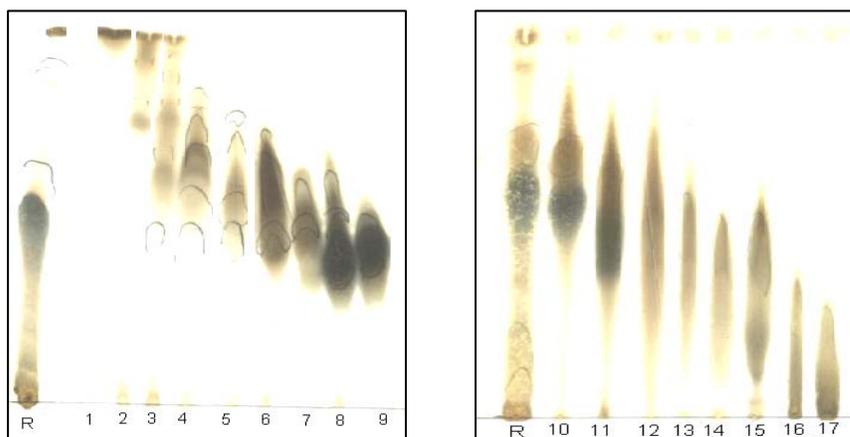


Figura 105. Cromatoplasmas en capa fina de los eluatos obtenidos durante el fraccionamiento primario del extracto metanólico de las flores de *Ipomoea murucoides*.

6.6.1 Obtención de flavonoides

De la fracción primaria 10 precipitaron una mezcla de flavonoles, los cuales se separaron mediante una cromatografía en columna abierta sobre sephadex LH20, utilizando como sistema de elución metanol, se obtuvieron 12 fracciones de un volumen de 150 mL. En la Figura 106 se presenta la cromatoplasma en capa fina de estas fracciones.

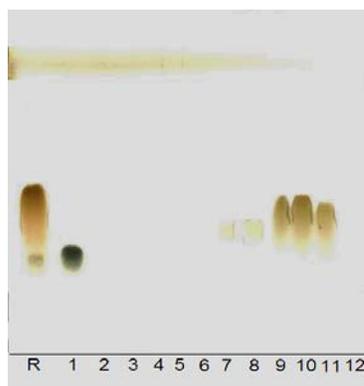


Figura 106. Cromatoplaqa en capa fina de los eluatos obtenidos durante la separación de la mezcla de flavonoles.

De la columna en sephadex, se obtuvieron cristales de coloración amarilla (en diferentes grados), éstos se analizaron mediante resonancia magnética nuclear (^1H , ^{13}C , DEPT, HSQC, COSY y HMBC), lográndose determinar que se trataban del 7-*O*-glucósido del caemferol y 5-*O*-glucósido del caemferol, compuestos ampliamente reportados en la literatura.⁸⁴⁻⁹⁰

Los espectros UV de los flavonoles mostraron las bandas de absorción características entre 250–270 y 340–350 nm, las cuales concuerdan con las descritas en la literatura.⁹⁰ Los espectros de masas en la modalidad FAB negativo mostraron un ion pseudomolecular $[\text{M} - \text{H}]^-$ de m/z 447, para ambos compuestos. Que nos permitió establecer sus fórmulas moleculares como $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{O}_{11}$. En sus espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C (Figura 107 y 108), se observó el perfil típico de los flavonoles. Las señales más importantes son: los dobletes en la región aromática a 8.47 ó 8.44 ($J = 8.8$ Hz), 6.73 ó 6.76 ($J = 1.0$ Hz) ppm y el singulete a 7.20 ppm, correspondientes a los anillos A, B y C de los flavonoles. En el espectro de RMN ^1H , a la vez se observó un doblete de un monosacárido con constante de acoplamiento grande a 6.39 ó 6.29 ($J = 7.4$ Hz) ppm. En el caso del 7-*O*-glucósido del caemferol se observan las señales de dos OH a 12.4 y 13.6 ppm, estas señales no se observan en el 5-*O*-glucósido del caemferol, por lo que

la diferencia entre ellos es la posición del monosacárido. En los espectros de ^{13}C se pueden observar los carbonos en la región aromática confirmando la presencia de los anillos aromáticos del núcleo de flavonol, un carbono a 179.2 ppm para el grupo carbonilo de C-4 del anillo B y un carbono a 62.9 ppm que es característico del grupo hidroximetileno de la glucosa.

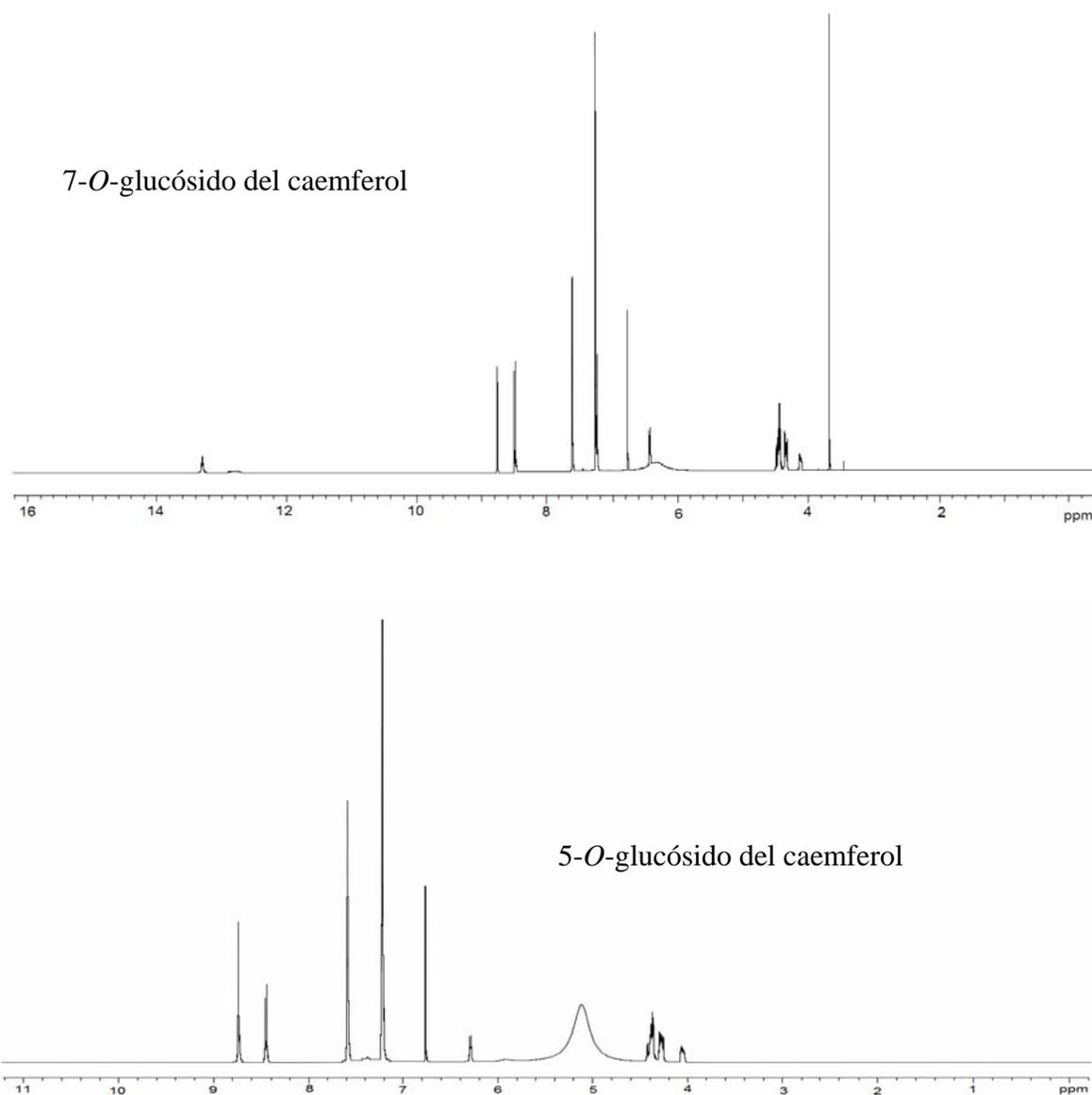


Figura 107. Espectros de ^1H de los flavonoles obtenidos del extracto metanólico de las flores de *Ipomoea murucoides*.

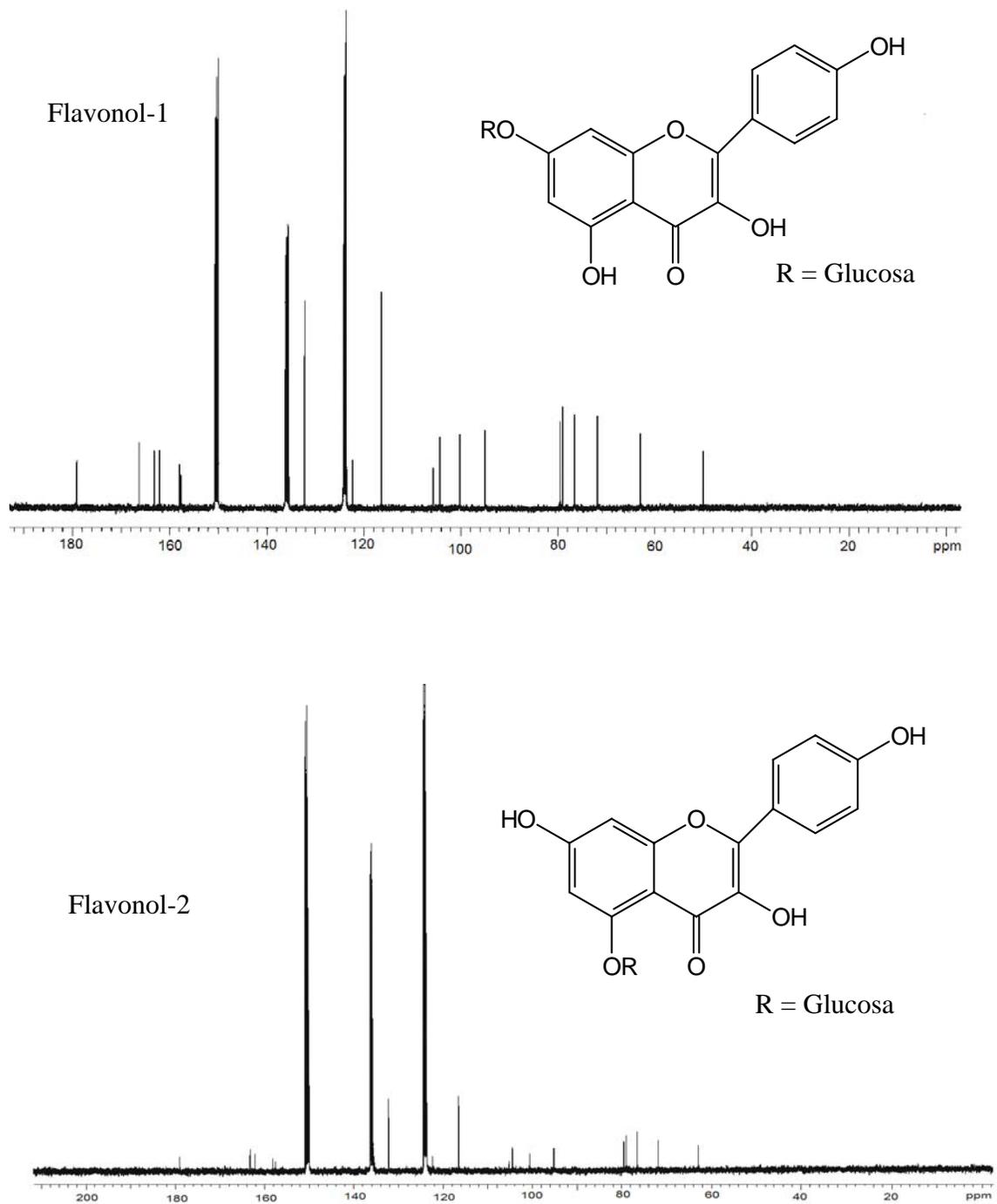


Figura 108. Espectros de ^{13}C de los flavonoles obtenidos del extracto metanólico de las flores de *Ipomoea murucoides*.

6.7 Evaluación de la citotoxicidad de los glicolípidos

Todos los glicolípidos aislados y purificados de la resina de las flores de *Ipomoea murucoides* se sometieron a un ensayo de citotoxicidad en un pequeño panel de líneas celulares: carcinoma nasofaríngeo (KB), carcinoma laríngeo (Hep-2) y carcinoma cérvico (Hela). Los valores son estimados a partir de una gráfica semilogarítmica de la concentración del glicolípido ($\mu\text{g/mL}$) contra el porcentaje de células viables. Se consideran con actividad aquellos extractos y compuestos que presenten una concentración efectiva media (CE_{50}) menor de 20 $\mu\text{g/mL}$ y 4 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. El extracto clorofórmico de las flores mostró una CE_{50} de 19 $\mu\text{g/mL}$ en las líneas KB y Hela. La murucoidina IV fue el único glicolípido que exhibió una actividad citotóxica en la línea celular Hep-2 ($\text{CE}_{50} = 4 \mu\text{g/ml}$). El resto de los compuestos mostraron una actividad de 13 $\mu\text{g/mL}$ o mayor a 20 $\mu\text{g/mL}$, por lo tanto, se consideran inactivos.

Las resinas glicosídicas constituyen una serie de principios mayoritarios en el metabolismo secundario de la familia de las convolvuláceas que han demostrado diversas actividades biológicas de interés terapéutico como una moderada citotoxicidad contra células P388 (neoplasma linfóide de ratón) y células humanas de cáncer mamario (MCF-7), además de una actividad antibacteriana selectiva contra cepas de *Staphylococcus aureus*¹¹ y *Mycobacterium tuberculosis*.⁹¹ Recientemente, se describió el potencial inhibidor de tres oligosacáridos de la serie de las orizabinas sobre la proteína membranal MDR NorA en *S. aureus*, compuestos inactivos desde el punto de vista microbiológico y citotóxico, por lo que al combinar estos productos naturales con antibióticos comerciales (e.g. tetraciclina) se logró revertir la resistencia e incrementar la susceptibilidad del microorganismo a los agentes antimicrobianos.¹¹ La actividad inhibidora demostrada por los oligosacáridos de las convolvuláceas sobre el fenómeno de la MDR a través de la modulación de la proteína membranal NorA en cepas de *Staphylococcus aureus* permite suponer que las murucoidinas debido a sus características anfipáticas con un alto grado de lipofilidad (hidrofóbicos) y una baja o nula citotoxicidad ($\text{CI}_{50} >20 \mu\text{g/ml}$), constituyen un sustrato para la glicoproteína-P (Gp-P) y, por lo tanto, modulan el transporte transmembranal de los agentes

antineoplásicos. De esta forma, la acción de los oligosacáridos evitará la liberación de los fármacos al espacio extracelular para revertir la resistencia que generan las células malignas en ensayos *in vitro* e incrementar la toxicidad (efectividad) de los agentes antineoplásicos de utilidad terapéutica al emplearse en combinación (e.g. mururoidina *n*/taxol). El desarrollo de potentes inhibidores de la Gp-P con baja toxicidad es una alternativa para superar la interferencia indeseable de esta familia de Gp-P presente en algunas células de mamíferos (resistencia celular intrínseca) y que se sobre expresa en las células malignas bajo exposición a las quimioterapias (resistencia adquirida).

Debido a estas características estructurales y a la ambivalencia en su solubilidad, se ha postulado que estos glicolípidos provocan perturbaciones en las membranas celulares mediante la formación de poros no selectivos y, por lo tanto, provocan una alteración en el flujo de iones a través de la membrana celular.⁹² Un aspecto importante que debe destacarse es la presencia de la macrolactona como uno de los requisitos necesarios para observar cualquiera de las actividades biológicas asociadas a estos glicolípidos. Sin embargo, los requerimientos estructurales y estereoquímicos para potenciar sus propiedades citotóxicas no se han determinado.

7. CONCLUSIONES

a) Se comprobó que *Ipomoea murucoides* contiene resinas glicosídicas con una posible aplicación terapéutica como ya ha sido reportado para otros miembros de la familia de las convolvuláceas.

b) La cromatografía líquida de alta eficacia desempeñó un papel importante en el aislamiento de estos compuestos ya que en sus fuentes naturales siempre se presentan en forma de mezclas diastereoisoméricas complejas, dificultando su purificación mediante el empleo de las técnicas cromatográficas convencionales.

c) La resonancia magnética nuclear (500 MHz), en conjunto con la espectrometría de masas FAB, constituye la herramienta esencial para la elucidación de sus estructuras con pesos moleculares entre 1000-1300 daltons. Estas técnicas instrumentales de alta resolución permitieron la identificación de una diversidad estructural que incluyó tetrasacáridos y pentasacáridos poliacilados.

d) Se logró el aislamiento y la identificación de dos núcleos tetrasacáridos y tres pentasacáridos constitutivos de las resinas glicosídicas de esta especie arbórea, los cuales se caracterizaron como los ácidos operculínico A y simónicos A y B (pentasacáridos), así como los ácidos operculínicos C y E (tetrasacáridos).

e) De la jalapina de *Ipomoea murucoides* se obtuvieron veintiun glicolípidos de los cuales dieciocho son novedosos, las murucoidinas I-XVIII. La diferencia entre ellos radica en el tamaño del oligosacárido, la secuencia de glicosilación y el tipo de unidades sacáridas constitutivas, así como en la posición de macrolactonización intermolecular por la aglicona y el número y tipo de residuos acilantes. Todos los constituyentes individuales de las resinas glicosídicas de las flores del cazahuate presentan la particularidad de ser moléculas anfipáticas solubles en CHCl_3 . La aglicona establece un éster cíclico intramolecular mediante la formación de una lactona entre su grupo carboxílico y uno de los grupos hidroxilo en C-2 o C-3 de la segunda unidad sacárida.

f) Las murucoidinas, metabolitos con una estructura novedosa y compleja, constituyen un magnífico ejemplo de como la naturaleza utiliza unidades sencillas, producto del metabolismo primario, en este caso azúcares (epímeros de hexosas y pentosas) y ácidos grasos, para lograr la diversidad estructural en el metabolismo secundario observado para el cacahuete y los otros miembros de la familia de las convolvuláceas descritos en la literatura.

g) Se comprobó que a pesar de la similitud estructural de las murucoidinas con las tricolorinas citotóxicas, éstas no resultaron activas en el bioensayo de citotoxicidad. La característica anfipática de las murucoidinas confiere un balance en sus propiedades de solubilidad entre fases acuosas y lipofílicas. Así, su solubilidad en disolventes no polares depende del alto grado de esterificación observado para el núcleo oligosacárido macrocíclico.

h) Se encontró que el extracto metanólico no contiene resinas glicosídicas del tipo convolvulina (resinas solubles en disolventes polares), en su lugar, se aislaron flavonoides glicosídicos del tipo caemferol.

i) Se identificó mediante el empleo de técnicas degradativas (saponificación del glicolípido individual, e.g., murucoidina X) y derivatizaciones (sililación, metilación) al ácido 8-hidroxidodecanoico como un residuo acilante novedoso. Este descubrimiento constituye una aportación importante al conocimiento de la diversidad estructural de los glicolípidos de las convolvuláceas.

j) El estudio detallado de los datos espectroscópicos y espectrométricos permitió establecer las estructuras de los constituyentes individuales de la serie de las murucoidinas como:

Murucoïdina I (14): éster intramolecular 1,2''-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[2-*O*-(2*S*)-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido jalapínico.

Murucoïdina II (15): éster intramolecular 1,2''-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[4-*O*-metilpropanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[2-*O*-(2*S*)-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido jalapínico.

Murucoïdina III (16): éster intramolecular 1,2''-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[4-*O*-(2*S*)-2-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[2-*O*-(2*S*)-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido jalapínico.

Murucoïdina IV (6): éster intramolecular 1,2''-11-*O*- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[4-*O*-(2*S*)-2-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[2-*O*-(2*S*)-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido jalapínico.

Murucoïdina V (7): éster intramolecular 1,3''-11-*O*- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[4-*O*-(2*S*)-2-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[2-*O*-(2*S*)-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido jalapínico.

Murucoïdina VI (1): éster intramolecular 1,3''-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[4-*O*-(2*S*)-2-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[2-*O*-dodecanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosido del ácido jalapínico.

Murucoïdina VII (2): éster intramolecular 1,2''-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[4-*O*-metilpropanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[2-*O*-(2*S*)-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosido del ácido jalapínico.

Murucoïdina VIII (3): éster intramolecular 1,2''-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[4-*O*-(2*S*)-2-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[2-*O*-(2*S*)-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosido del ácido jalapínico.

Murucoïdina IX (17): éster intramolecular 1,3''-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[4-*O*-metilpropanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[2-*O*-(2*S*)-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido jalapínico.

Murucoïdina X (18): éster intramolecular 1,3''-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[4-*O*-(2*S*)-2-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[2-*O*-8-hidroxidodecanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido jalapínico.

Murucoïdina XI (8): éster intramolecular 1,3''-11-*O*- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[4-*O*-(2*S*)-2-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[2-*O*-dodecanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido jalapínico.

Murucoïdina XII (4): éster intramolecular 1,3''-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[4-*O*-(2*S*)-2-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[3-*O*-dodecanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosido del ácido jalapínico.

Murucoïdina XIII (5): éster intramolecular 1,3''-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[4-*O*-(2*S*)-2-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[2-*O*-dodecanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosido del ácido jalapínico.

Murucoïdina XIV (11): éster intramolecular 1,3''-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[4-*O*-(2*S*)-2-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[3-*O*-dodecanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido jalapínolico.

Murucoïdina XV (12): éster intramolecular 1,2''-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[4-*O*-(2*S*)-2-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[3-*O*-(2*S*)-2-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido jalapínolico.

Murucoïdina XVI (13): éster intramolecular 1,2''-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[4-*O*-(2*S*)-2-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[2-*O*-(2*S*)-2-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido jalapínolico.

Murucoïdina XVII (9): éster intramolecular 1,3''-11-*O*- α -L-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[4-*O*-(2*S*)-2-metilbutanoil,3-*O*-cinamil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[2-*O*-(2*S*)-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido jalapínolico.

Murucoïdina XVIII (19): éster intramolecular 1,2''-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[4-*O*-(2*S*)-2-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-[2-*O*-octanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido jalapínolico

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Pereda-Miranda, R., Bah, M. (2003) Biodynamic Constituents in the Mexican Morning Glories: Purgative Remedies Transcending Boundaries. *Curr. Top. Med. Chem.* **3**, 111-131.
2. Bruneton, J. (1993) *Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes Medicinales*, Technique et documentation-Lavoisier, Paris, pp. 156-157.
3. Hernández-Carlos, B., Bye, R., Pereda-Miranda, R. (1999) Orizabins V –VIII, tetrasaccharide glycolipids from the Mexican scammony root (*Ipomoea orizabensis*). *J. Nat. Prod.* **62**, 1096-1100.
4. Fürstner, A., Müller, T. (1999) Efficient total syntheses of resin glycosides and analogues by ring-closing olefin metathesis. *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 7814-7821.
5. Díaz, J. L. (1977) *Uso de las Plantas Medicinales de México*. Instituto Mexicano para el Estudio de las plantas Medicinales, A.C., México, pp. 66.
6. Reynolds, F.W., Yu, M., Enríquez, R.G., González, H., León, I., Magos, G., Villareal, M.L. (1995) Isolation and characterization of cytotoxic and antibacterial tetrasaccharide glycosides from *Ipomoea stans*. *J. Nat. Prod.* **58**, 1730-1734.
7. Martínez, M. (1959) *Plantas Útiles de la Flora Mexicana*. Botas-México, pp. 276-279.
8. Bah, M. (1997) Aplicación de la resonancia magnética nuclear y la espectrometría de masas (FAB) de alta resolución en la elucidación estructural de las tricolorinas A-J, oligosacáridos aislados de las resinas de *Ipomoea tricolor* (Convolvulaceae). Tesis Doctoral, Facultad de Química, UNAM, México.
9. Hernández-Carlos, B. (2000) Caracterización de la composición química de las glicosídicas de dos miembros representativos del complejo mexicano de jalapas, especies de Convolvuláceas con propiedades purgantes, como una evidencia para distinguir entre la auténtica raíz de jalapa y sus adulterantes. Tesis Doctoral, Facultad de Química, UNAM, México.
10. Escalante Sánchez, E. (2004) Aislamiento y caracterización estructural de cuatro lipopentasacáridos de *Ipomoea pes-caprae*. Tesis de Maestría, Facultad de Química, UNAM, México.

11. Pereda-Miranda, R., Kaatz, G.W., Gibbons, S., (2006) Polyacylated Oligosaccharides from Medicinal Mexican Morning Glory Species as Antibacterials and Inhibitors of Multidrug Resistance in *Staphylococcus aureus*. *J. Nat. Prod.* **69**, 406-409.
12. Martínez, M. (1987) *Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas*. Fondo de Cultura Económica. México.
13. Pereda-Miranda, R. (1995) Bioactive Natural Products from traditionally used Mexican Plants. En J.T.Arnason (Ed). *Phytochemistry of Medicinal Plants*. Plenum press, New York, pp. 83-112.
14. Trease, G.E., Evans, W.C. (2002) *Pharmacognosy*. 15a. ed. WB Saunders, Edinburgo, p. 288.
15. Argueta, A. (1994) *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana*. Instituto Nacional Indigenista. Biblioteca de la Medicina Tradicional Mexicana. México, p. 659.
16. Stauffacher, D., Tschertter H., Hofmann, S. (1965) Isolierung von Ergosin and Ergosinin neben Agroclavin aus den Samen von *Ipomoea argyrophylla* Vatke (Convolvulaceae). *Hel. Chim. Acta* **48**, 1379-1380.
17. Chao, J-M., DerMarderosian, A.H. (1973) Identification of the ergoline alkaloids in the genus *Argyreia* and related genera and their chemotaxonomic implications in the Convolvulaceae. *Phytochemistry* **12**, 2435-2440.
18. Schimming, T., Tofern, B., Mann, P., Richter, A., Jenett-Siems, K., Dräger, B., Asano, N., Gupta, P., Correa, D.M., Eich, E. (1998) Distribution and Taxonomic significance of Calysregines in the Convolvulaceae. *Phytochemistry* **49**, 1989-1995.
19. Botz, L., Hahn, E., Szabo, L.G. (1991) Botanical identification of *Ipomoea tricolor* Cav. Seed samples from Hungary and layer chromatography examination of their hallucinogen ergot alkaloids. *Acta Bot. Hung.* **36**, 229-243.
20. Jenett-Siems, K., Kaloga, M., Eich, E. (1993) Ipangulines, the first pyrrolizidine alkaloids from the Convolvulaceae. *Phytochemistry* **34**, 437-440.
21. Jenett-Siems, K., Kaloga, M., Eich, E. (1994) Ergobalansine/ergobalansinine, a proline free peptide-type alkaloid of the fungal genus *Balansia* is a constituent of *Ipomoea piurensis*. *J. Nat. Prod.* **57**, 1304-1306.
22. Jenett-Siems, K., Kaloga, M., Eich, E. (1994) Hygrines and tropanes, alkaloids of considerable importance for the chemotaxonomy of the Convolvulaceae. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2**, 122.

-
23. Henrici, A., Kaloga, M., Eich, E. (1994) Jacpaniculines, the firsts lignanamide alkaloids from the Convolvulaceae. *Phytochemistry* **37**, 1637.
 24. Osuna, L., Ponce-Monter, H., Campos, G.M., Rojas, J., Meckes, M. (1996). Effect of *Ipomoea intrapilosa* methanol extract on the serotonergic response in rat uterus. *Phytotherapy Research*. **10**, 257-259.
 25. Pereda-Miranda, R., Cardoso Taketa, A., Villatoro-Vera, R. (2003) *Farmacognosia da Planta ao Medicamento*. Alucinógenos Naturais: Etnobotânica e Psicofarmacologia, editora UFRGS, Porto Alegre, Brazil, pp. 919-958.
 26. MacLeod, J. K., Ward, A., Oerlrichs, P. B. (1997) Structural investigation of resin glycosides from *Ipomoea lonchophylla*. *J. Nat. Prod.* **60**, 467-471.
 27. Sarin, J.P.S., Hari, G.S., Nandu, K.M., Dhar, M.M. (1973) Ipolearósíde: A new glycoside from *Ipomoea leari*, with anti-cancer activity. *Phytochemistry* **12**, 2461-2468.
 28. Bieber, L.W., Da Silva Filho, A. A., Correa-Lima, R.M.O., De Andrade-Chiappeta, A., Carnero Do Nascimento, S., De Souza, I. A., De Mélo, J. F., Jürgen-Veith, H. (1986) Anticancer and Antimicrobial Glycosides from *Ipomoea bahiensis*. *Phytochemistry* **25**, 1077-1081.
 29. Mannich, C., Schumann, P. (1938) Jalap resin and its principal constituents. *Archiv der Pharmazie* **276**, 211-226.
 30. Cao, S., Guza, R. C., Wise, J. H., Miller, J. S., Evans, R., Kingston, D. G. I. (2005) Ipomoeassins A-E, cytotoxic macrocyclic glycoresins from the leaves of *Ipomoea squamosa* from the Suriname Rainforest. *J. Nat. Prod.* **68**, 487-492.
 31. Noda, N., Kogetsu, H., Kawasaki, T., Miyahara, K. (1990) Scamonins I and II, the resin glycosides of radix scammoniae from *Convolvulus scammonia*. *Phytochemistry* **29**, 3565-3569.
 32. Enríquez, R. G., León, I., Pérez, F., Walls, F., Carpenter, K. A., Puzuolli, F., Reynolds, W. F. (1992) Characterization by two-dimensional NMR spectroscopy of a complex tetrasaccharide glycoside isolated from *Ipomoea stans*. *Can. J. Chem.* **70**, 1000-1008.
 33. León, I., Enríquez, R. G., Gnecco, D., Villarreal, M. L., Cortés, D. A., Reynolds, W. F., Yu, M. (2004) Isolation and characterization of five new tetrasaccharide glycosides from the roots of *Ipomoea stans* and their cytotoxic activity. *J. Nat. Prod.* **67**, 1552-1556.

-
34. Pereda-Miranda, R., Frago-Serrano, M., Escalante-Sánchez, E., Hernández-Carlos, B., Linares, E., Bye, R. (2006) Profiling of the resin glycoside content of mexican jalap roots with purgative activity. *J. Nat. Prod.* **69**, 1460-1466.
35. Kitagawa, I., Shibuya, H., Yokodawa, Y., Baek, N. I., Ohashi, K., Yoshikawa, M., Nitta, A., Wiriadinta, H. (1989) Structures of merremosides B and D, new antiserotonic resin-glycosides from the tuber of *Merremia mammosa*, an Indonesian folk medicine. *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 1618-1621.
36. Kitagawa, Y., Baek, N.I., Ohashi, K., Sakagami, M., Yoshikawa, M., Shibuya, H. (1989) Mammosides B and H1, new ionophoric resin-glycosides from the tuber of *Merremia mammosa*, an Indonesian folk medicine. *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 1131-1133.
37. Kitagawa, Y., Baek, N.I., Kawashima, K., Yokokawa, Y., Yoshikawa, M., Ohashi, K., Shibuya, H. (1996) Indonesian medicinal plants. XV. Chemical structures of five new resin-glycosides, merremosides a,b,c,d and e, from the tuber of *Merremia mammosa* (Convolvulaceae). *Chem. Pharm. Bull.* **44**, 1680-1692.
38. Kitagawa, Y., Baek, N.I., Yokokawa, Y., Yoshikawa, M., Ohashi, K., Shibuya, H. (1996) Indonesian medicinal plants. XVI. Chemical structures of four new resin-glycosides, merremosides f, g, h₁ and h₂, from the tuber of *Merremia mammosa* (Convolvulaceae). *Chem. Pharm. Bull.* **44**, 1693-1699.
39. Kitagawa, I., Ohashi, K., Baek, N. I., Sakagami, M., Yoshikawa, M., Shibuya, H. (1997) *Indonesian medicinal Plants. XIX*: Chemical structures of four additional resin-glycosides, mammosides A, B, H₁ and H₂, from the tuber of *Merremia mammosa* (Convolvulaceae). *Chem. Pharm. Bull.* **45**, 786-794.
40. Noda, N., Kobayashi, H., Miyahara, K., Kawasaki, T., (1988) Resin glycosides. II. Identification and characterization of the component organic and glycosidic acids of the crude resin glycoside from the seeds of *Ipomoea muricata*. *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 627-633.
41. Noda, N., Kobayashi, H., Miyahara, K., Kawasaki, T., (1988) Resin glycosides III. Isolation and structural study of the genuine resin glycosides, muricatins I-VI, from the seeds of *Ipomoea muricata*. *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 920-929.
42. Noda, N., Nishi, M., Miyahara, K., Kawasaki, T., (1988) Resin glycosides. IV. Two new resin glycosides, muricatins VII and VIII, from the seeds of *Ipomoea muricata*. *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 1707-1713.

43. Ono, M., Fukunaga, T., Kawasaki, T., Miyahara, K. (1990) Resin glycosides VIII. Four new glycosidic acids D, E, F, and G, of the ether-soluble crude resin glycosides ("jalapin") from *rhizoma jalapae braziliensis* (roots of *Ipomoea operculata*). *Chem. Pharm. Bull.* **38**, 2650-2655.
44. Ono, M., Kubo, K., Miyahara, K., Kawasaki, T. (1989) Operculin I and II, new ether soluble resin glycosides ("jalapin") with fatty acid ester groups from *Rhizoma jalapae braziliensis* (roots of *Ipomoea operculata*). *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 241-244.
45. Ono, M., Kawasaki, T., Miyahara, K. (1989) Resin Glycosides V. Identification and characterization of the component organic and glycoside acids of the ether-soluble crude resin glycosides ("jalapin") from *Rhizoma Jalapae Braziliensis* (Roots of *Ipomoea operculata*). *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 3209-3213.
46. Ono, M., Nishi, M., Kawasaki, T., Miyahara, K. (1990) Resin Glycosides. IX. Operculins I, II, V, VII and VIII, new ether-soluble resin glycosides of *Rhizoma Jalapae Braziliensis* (the Rotos of *Ipomoea operculata*). *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 2986-2991.
47. Ono, M., Kawasaki, T., Miyahara, K. (1991) Resin glycosides. XI. Operculins III, IV, IX, X, XVI, XVII y XVIII, new ether-soluble resin glycosides of *Rhizoma Jalapae Braziliensis* (root of *Ipomoea operculata*). *Chem. Pharm. Bull.* **39**, 2534-2539.
48. Ono, M., Fujimoto, K., Kawata, M., Fukunaga, T., Kawasaki, T., Miyahara, K. (1992) Resin glycosides XIII. Operculins VI, XI, XII, XIV and XV, the ether-soluble resin glycosides (Jalapin) from *Rhizoma Jalapae Braziliensis* (root of *Ipomoea operculata*). *Chem. Pharm. Bull.* **40**, 1400-1403.
49. Noda, N., Ono, M., Miyahara, K., Kawasaki, T., Okabe, M. (1987) Resin glycosides I. Isolation and structure elucidation of orizabin I, II, III and IV, genuine resin glycosides from the root of *Ipomoea orizabensis*. *Tetrahedron* **43**, 3889-3902.
50. Noda, N., Kogetsu, H., Kawasaki, T., Miyahara, K. (1990) Scammonins I and II, the resin glycosides of radix scammoniae from *Convolvulus scammonia*. *Phytochemistry* **29**, 3565-3569.
51. Pereda-Miranda, R., Mata, R., Anaya, A. L., Winckramaratne, D. B.M., Pezuto, J. M., Kinhorn, A. D. (1993) Tricolorin A, major phytogrown inhibitor from *Ipomoea tricolor*. *J. Nat. Prod.* **56**, 571-582.
52. Achnine, L., Pereda-Miranda, R., Iglesias-Prieto, R., Moreno-Sanchez, R., Lotina-Hennsen, B. (1999) Tricolorin A, a potent natural uncoupler and inhibitor of photosystem II acceptor side of spinach chloroplasts. *Physiol. Plantarum* **106**, 246-252.

-
53. Bah, M., Pereda-Miranda, R. (1996) Detailed FAB-Mass spectrometry and high resolution NMR investigations of tricolorins A-E, individual oligosaccharides from the resins of *Ipomoea tricolor* (Convolvaceae). *Tetrahedron* **52**, 13063-13080.
54. Bah, M., Pereda-Miranda, R. (1997) Isolation and structural characterization of new glycolipid ester type dimers from the resin of *Ipomoea tricolor* (Convolvaceae). *Tetrahedron* **53**, 9007-9022.
55. Kawasaki, T., Okabe, H., Nakatsu, Y. (1971) Studies on resin glycosides. I. Reinvestigation of the components of pharbitin, a resin glycoside of the seeds of *Pharbitis nil* Choisy. *Chem. Pharm. Bull.* **19**, 1144-1149.
56. Okabe, H., Koshito, N., Tanaka, K., Kawasaki, T. (1971) Studies on resin glycosides. II. Unhomogeneity of "pharbitic acid" and partial structures of pharbitic acids C and D, the major constituents of "pharbitic acid". *Chem. Pharm. Bull.* **19**, 2394-2403.
57. Okabe, H., Kawasaki, T. (1972) Studies on resin glycosides. III. Complete structures of pharbitic acids C and D. *Chem. Pharm. Bull.* **20**, 514-520.
58. Ono, M., Noda, N., Kawasaki, T., Miyahara, K. (1990) Resin glycosides VII. Reinvestigation of the component organic and glycosidic acids of pharbitin, the crude ether-insoluble resin glycoside ("Convolvulin") of *Pharbitis semen* (seeds of *Pharbitis nil*). *Chem. Pharm. Bull.* **38**, 1892-1897.
59. Wagner, H., Schwarting, G. (1977) Struktur der microphyllinsäure aus dem harz von *Convolvulus microphyllus*. *Phytochemistry* **16**, 715-717.
60. Ono, M., Honda, F., Karahashi, A., Kawasaki, T., Miyahara, K. (1997) Resin glycosides. XXV. Multifidins I and II, new jalapins from the seed of *Quamoclit x multifida*. *Chem. Pharm. Bull.* **45**, 1955-1960.
61. Noda, N., Takahashi, T., Kawasaki, T., Miyahara, K., Yang, C.R. (1994) Stoloniferins I- VII, Resin glycosides from *Ipomoea stolonifera*. *Phytochemistry* **36**, 365-371.
62. Barnes, C. C., Smalley, M. K., Manfredi, K. P., Kindscher, K., Loring, H., Sheeley, D. M. (2003) Characterization of an anti-tuberculosis resin glycoside from the prairie medicinal plant *Ipomoea leptophylla*. *J. Nat. Prod.* **66**, 1457-1462.
63. Ono, M., Kuwabata, K., Kawasaki, T., Miyahara, K. (1992) Resin Glycosides XVI. Quamoclins I-IV, new ether-soluble resin glycosides (Jalapin) from the seeds of *Quamoclit pennata*. *Chem. Pharm. Bull.* **40**, 2674-2680.

-
64. Noda, N., Tsuji, K., Miyahara, K., Yang, C-R. (1994) Resin Glycosides XXI. Tuguajalapins I-X, the resin glycosides having long-chain fatty acid groups from the root of *Merremia hungaiensis*. *Chem. Pharm. Bull.* **42**, 2011-2016.
65. Noda, N., Yoda, S., Kawasaki, T., Miyahara, K. (1992) Resin glycosides XV. Simonins I-V, ether-soluble resin glycosides (Jalapins) from the roots of *Ipomoea batatas* (cv. Simon). *Chem. Pharm. Bull.* **40**, 3163-3168.
66. Pereda-Miranda, R., Escalante-Sánchez, E., Escobedo-Martínez, C. (2005) Characterization of lipophilic pentasaccharides from beach morning glory (*Ipomoea pes-caprae*). *J. Nat. Prod.* **68**, 226-230.
67. Ono, M., Nakagawa, K., Kawasaki, T., Miyahara, K. (1993) Resin glycosides. XIX. Woodrosins I and II, ether-insoluble resin glycosides from the stems of *Ipomoea tuberosa*. *Chem. Pharm. Bull.* **41**, 1925-1932.
68. Noda, N., Takahashi, N., Miyahara, K., Yang, C.-R. (1998) Stoloniferins VIII-XII, resin glycosides from *Ipomoea stolonifera*. *Phytochemistry* **48**, 837-841.
69. Ono, M., Ueguchi, T., Murata, H., Kawasaki, T., Miyahara, K. (1992) Resin glycosides. XVI. Marubajalapins I-VII, new ether-soluble resin glycosides from *Pharbitis purpurea*. *Chem. Pharm. Bull.* **40**, 3169-3173.
70. Noda, N., Tsuji, K., Kawasaki, T., Miyahara, K., Kanazono, H., Yang, C. R. (1995) A novel resin glycoside, merrmin (tuguajalapin X dimer), from *Merremia hungaiensis*. *Chem. Pharm. Bull.* **43**, 1061-1063.
71. Noda, N., Tsuji, K., Kawasaki, T., Miyahara, K., Kanazono, H., Yang, C. R. (1994) Resin glycosides. XXI. Tuguajalapins I-X, the resin glycosides having long-chain fatty acid groups from the root of *Merremia hungaiensis*. *Chem. Pharm. Bull.* **42**, 2011-2016.
72. Lozaya, X. (1999) Un paraíso de plantas medicinales. *Arqueología Mexicana* **39**, 14-21.
73. León, I., Mirón, G., Alonso, D. (2006) Characterization of pentasaccharide glycosides from the roots of *Ipomoea arborescens*. *J. Nat. Prod.* **69**, 896-902.
74. León, I., Enríquez, R. G., Nieto, D. A., Alonso, D., Reynolds, W. F., Aranda, E., Villa, J. (2005) Pentasaccharide glycosides from the roots of *Ipomoea murucoides*. *J. Nat. Prod.* **68**, 1141-1146.
75. Bernabéu, S., Fernández de Caleyá, P. B., Burdel, H. M., Sanpedro, E. C., Engstrand, I. H., García, E. (2000) *El Aguila y El Nopal. La Expedición De Sessé y Mociño A Nueva España*. Editores Lunwerg, Madrid, p. 35.

-
76. Monroy-Ortíz, C, Castillo España, P. (2000) *Plantas Medicinales Utilizadas en el Estado de Morelos*, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México, 104-105.
77. Pereda-Miranda, R., Hernández-Carlos, B. (2002) HPLC Isolation and structural elucidation of diastereoisomeric niloyl ester tetrasaccharides from the mexican scammony root. *Tetrahedron* 58, 3145-3154.
78. Duus, J. O., Gotfredsen, C. H., Bock, K. (2000) Carbohydrate structural determination by NMR spectroscopy: modern methods and limitations. *Chem Rev.* **100**, 4589-4614.
79. Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J., Bokesch, H., Kenney, S., Boyd, M. R. (1990) New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.* **82**, 1107-1112.
80. Fragoso-Serrano, M., González-Chimeo, E. y Pereda-Miranda, R. (1999). Novel labdane diterpenes from the insecticidal plant *Hyptis spicigera*. *J. Nat. Prod.* **62**, 45-50.
81. Bah, M., Cherigo, L., Cardoso-Taketa, A.T., Fragoso-Serrano, M., Hammond, G.B., Pereda-Miranda, R. (2007). Intrapilosins I-VII, Pentasaccharides from Seeds of *Ipomoea intrapilosa*. *J. Nat. Prod.* **70**, en prensa.
82. Masaoka, Y., Sakakibara, M., Mori, K. (1982). Synthesis and absolute configuration of (+)-8-hydroxyhexadecanoic acid, an endogenous inhibitor for spore germination in *Lygodium japonicum*. *Agric. Biol. Chem.* **46**, 2319-2324.
83. Sugai, T., Mori, K. (1984). Both enantiomers of 8-hydroxyhexadecanoic acid inhibit the spore germination of *Lygodium japonicum*. *Agric. Biol. Chem.* **48**, 2155-2156.
84. March, R. E., Lewars, E.G., Stadey, C.J., Miao, X.S., Zhao, X., Metcalfe, C.D. (2006). A comparison of flavonoid glycosides by electrospray tandem mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry* **248**, 61-85.
85. Binutu, O.A., Cordell, G.A. (2001). Constituents of *Azelia bella* stem bark. *Phytochemistry* **56**, 827-830.
86. Kurioka, A., Yamazaki, M. (2002). Purification and Identification of flavonoids from the yellow green Cocoon Shell (Sasamayu) of the Silkworm, *Bombyx mori*. *Biosci. Biotechnol. Biochem* **66**, 1396-1399.

-
87. Gao, H., Wu, L., Kuroyanagi, M., Harada, K., Kawahara, N., Nekane, T., Umehara, K., Hirasawa, A., Nakamura, Y. (2003). Antitumor-Promoting constituents from *Chaenomeles sinensis* Koehne and their activities in JB6 mouse epidermal. *Chem. Pharm. Bull.* **51**, 1318-1321.
 88. Markham, K.R., Ternai, B., Stanley, R., Geiger, H., Mabry, J. T. (1978) Carbon-13 NMR studies of flavonoids-III. Naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives. *Tetrahedron* **34**, 1389-1397.
 89. Glennie, C., Harborne, J. B. (1971). Comparative biochemistry of the flavonoids. Xv. Flavone and flavonol 5-glucosides. *Phytochemistry* **10**, 1325-1329.
 90. Wang, X., Cheng, C., Sun, Q., Li, F., Liu, J., Zheng, C. (2005). Isolation and purification of four flavonoid constituents from the flowers of *Paeonia suffruticosa* by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A* **1075**, 127-131.
 91. Rivero-Cruz, I., Acevedo, L., Guerrero, J. A., Martínez, S., Bye, R., Pereda-Miranda, R., Franzblau, S., Timmermann, B. N., Mata, R. (2005). Antimycobacterial agents from selected Mexican medicinal plants. *J. P. P.* **57**, 1117-1126.
 92. Rencurosi, A., Mitchell, E. P., Cioci, G., Pérez, S., Pereda-Miranda, R., Invertí, A. (2004). Crystal structure of Tricolorin A: molecular rationale for the biological properties of resin glycosides found in some Mexican herbal remedies. *Angew. Chem. Int.* **43**, 5918-5922.

9. APÉNDICE

1) Publicaciones:

- **Chérigo, L.**, Pereda-Miranda, R. (2006) Resin glycosides from the flowers of *Ipomoea murucoides*. *J. Nat. Prod.* **69**, 595-599.
- Bah, M., **Chérigo, L.**, Cardoso-Taketa, A. T., Fragoso-Serrano, M., Hammond, G.B., Pereda-Miranda, R. (2007). Intrapilosins I-VII, pentasaccharides from seeds of *Ipomoea intrapilosa*. *J. Nat. Prod.* **70**, en prensa.
- **Chérigo, L.**, Pereda-Miranda, R. (2007). (8*R*)-(-)-8-Hydroxydodecanoic Acid, a new acylating agent in the morning glory family (Convolvulaceae). *J. Nat. Prod.*, en preparación.
- **Chérigo, L.**, Pereda-Miranda, R. (2008). Murucoidins XII-XVIII, tetrasaccharides and pentasaccharides from *Ipomoea murucoides*. *Phytochemistry*, en preparación.

2) Presentaciones en Congresos:

- **Chérigo, L.**, Pereda-Miranda, R. Tercera Reunión Nacional de Química de Productos Naturales “Primera Reunión Nacional de Investigación en Productos Naturales”, **Cartel**: Resinas glicosídicas de las flores de *Ipomoea murucoides*. Querétaro, México. 16 al 19 de mayo del 2006.
- **Chérigo, L.**, Pereda-Miranda, R. Reunión Anual de la Sociedad Americana de Farmacognosia, **Cartel**: Resin glycosides from the flowers of *Ipomoea murucoides*. Washington, D.C. EE.UU. 5 al 9 de agosto del 2006.
- **Chérigo, L.**, Pereda-Miranda, R. Reunión Anual de la Sociedad Americana de Farmacognosia, **Cartel**: (R)-(-)-8-hydroxydodecanoic acid, a new acylating residue of the resin glycosides from *Ipomoea murucoides*. Portland, Maine, EE.UU. 18 de julio del 2007.
- Bah, M., **Chérigo, L.**, Cardoso-Taketa, A. T., Fragoso-Serrano, M., Hammond, G. B., Pereda-Miranda, R. Reunión Anual de la Sociedad Americana de Farmacognosia, **Cartel**: The Intrapilosin series, new pentasaccharides from seeds of *Ipomoea intrapilosa*. Portland, Maine, EE.UU. 14 al 18 de julio del 2007.