



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

**CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS RESINAS
GLICOSÍDICAS DE TRES REMEDIOS HERBOLARIOS PURGANTES DEL
GÉNERO *IPOMOEA* (CONVOLVULACEAE)**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. C. EDGAR ESCALANTE SÁNCHEZ



TUTOR: 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 sólo ha sido posible gracias al apoyo de las siguientes instituciones y personas a las que deseo expresar mi más sincero reconocimiento:

- A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (IN208307) por el apoyo financiero para las evaluaciones del potencial citotóxico.
- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento para el estudio químico (proyecto: 4586IQ) y por la beca escolar para la realización de los estudios de posgrado.
- A la Dirección General de Estudios de Posgrado por la beca escolar.
- Al Dr. Robert Bye, investigador del Jardín Botánico del Instituto de Biología (UNAM), por la identificación de las muestra vegetales de *Ipomoea stans* (Tepeapulco, Hidalgo) e *Ipomoea batatas* (San Nicolás Salvatierra, Guanajuato).
- En el registro de los espectros de RMN, se agradece la ayuda y asistencia técnica del M. en C. Atilano Gutiérrez Carrillo (Universidad Autónoma Metropolitana) y de la M. en C. Rosa Isela del Villar de la Unidad de Servicios y Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química (UNAM).
- A la M. en C. Georgina Duarte Lisci y a la Q.F.B. Margarita Guzmán Villanueva de la USAI por el registro de los espectros de masas.
- Al Dr. Carlos Martín Cerda García-Rojas del Departamento de Química del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional por la asistencia brindada en la determinación de las rotaciones ópticas.
- A la Q.F.B. Marisela Gutiérrez de la USAI el registro de las rotaciones ópticas.

- A la Dra. Mabel Clara Fragoso Serrano del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química (UNAM) por la constante asistencia técnica en los procedimientos cromatográficos.
- A los miembros del jurado por las correcciones sugeridas para lograr el mejoramiento del manuscrito de tesis.
- A los miembros del comité tutorial, la Dra. Luz Elena Vera Avila y el Dr. Ricardo Reyes Chilpa por su ayuda constante y vigilancia crítica durante el desarrollo de la presente investigación.
- De manera especial, al Dr. Rogelio Pereda Miranda por la confianza brindada para desarrollar este proyecto de tesis y haberme permitido formar parte de su grupo de investigación.

JURADO ASIGNADO

Presidente	Dr. Alfonso Romo de Vivar Romo
Primer Vocal	Dra. Rachel Mata Essayag
Segundo Vocal	Dra. Luz Elena Vera Avila
Tercer Vocal	Dr. Marco Augusto Brito Arias
Secretario	Dra. María Isabel Aguilar Laurents
Primer Suplente	Dr. Alexandre Cardoso Taketa
Segundo Suplente	Dra. José Fausto Rivero Cruz

Sitio donde se desarrolló el tema:

Departamento de Farmacia, Laboratorio 123, conjunto E.

Facultad de Química.

Universidad Nacional Autónoma de México

Asesor	Dr. Rogelio Pereda Miranda
--------	----------------------------

Sustentante	M. C. Edgar Escalante Sánchez
-------------	-------------------------------

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
SÍMBOLOS Y ABREVIACIONES.....	vii
I. INTRODUCCIÓN.....	Error! Bookmark not defined.
II. ANTECEDENTES.....	Error! Bookmark not defined.
2.1 La familia Convolvulaceae y el género <i>Ipomoea</i>	Error! Bookmark not defined.
2.2 Las resinas glicosídicas de la familia Convolvulaceae	Error! Bookmark not defined.
2.3 Diversidad estructural de los glicolípidos de la familia Convolvulaceae	Error! Bookmark not defined.
2.3.1 Resinas pentasacáridas de <i>Merremia mammosa</i> ...	Error! Bookmark not defined.
2.3.2 Multifidinas I y II	Error! Bookmark not defined.
2.3.3 Pentasacárido de <i>Convolvulus microphyllus</i>	Error! Bookmark not defined.
2.3.4 Pentasacáridos de <i>Ipomoea tuberosa</i> y <i>Pharbitis nil</i>	Error! Bookmark not defined.
2.3.5 Componentes de <i>Cuscuta chinensis</i> y <i>Cuscuta australis</i>	Error! Bookmark not defined.
2.3.6 Resinas glicosídicas de <i>Ipomoea stolonifera</i>	Error! Bookmark not defined.
2.3.7 Resinas glicosídicas de <i>Ipomoea batatas</i>	Error! Bookmark not defined.
2.3.8 Resinas glicosídicas de <i>Ipomoea leptophylla</i>	Error! Bookmark not defined.
2.3.9 Resinas glicosídicas de <i>Ipomoea murucoides</i>	Error! Bookmark not defined.
2.3.10 Resinas glicosídicas de <i>Ipomoea arborescens</i>	Error! Bookmark not defined.
2.3.11 Resinas glicosídicas de <i>Ipomoea pes-caprae</i>	Error! Bookmark not defined.
2.4 Jalapas Mexicanas con actividad purgante.....	Error! Bookmark not defined.
2.5 Información general de tres miembros del complejo medicinal de las “jalapas mexicanas”	Error! Bookmark not defined.
2.5.1 La especie <i>Ipomoea orizabensis</i>	Error! Bookmark not defined.
2.5.2 La especie <i>Ipomoea stans</i>	Error! Bookmark not defined.
2.5.3 La especie <i>Ipomoea batatas</i>	Error! Bookmark not defined.

III. JUSTIFICACIÓN.....	Error! Bookmark not defined.
IV. OBJETIVOS	Error! Bookmark not defined.
V. PARTE EXPERIMENTAL.....	Error! Bookmark not defined.
5.1 Procedimientos generales.....	Error! Bookmark not defined.
5.1.1 Métodos cromatográficos	Error! Bookmark not defined.
5.1.2 Determinación de las constantes físicas	Error! Bookmark not defined.
5.2 Material vegetal de <i>Ipomoea stans</i>	Error! Bookmark not defined.
5.2.1 Preparación del extracto del material vegetal de <i>Ipomoea stans</i>	Error! Bookmark not defined.
5.2.2 Fraccionamiento primario del extracto clorofórmico	Error! Bookmark not defined.
5.2.3 Fraccionamiento del extracto metanólico.....	Error! Bookmark not defined.
5.2.4 Aislamiento de la fracción resinosa N6M7C.....	Error! Bookmark not defined.
5.2.6 Análisis del contenido oligosacárido en las resinas glicosídicas de la “tumbavaqueros”. Registro de perfiles cromatográficos y espectroscópicos	Error! Bookmark not defined.
5.2.7 Condiciones instrumentales para el análisis por CLAE de N6M7C	Error! Bookmark not defined.
5.2.8 Condiciones instrumentales en CLAE para la purificación del producto de hidrólisis de N6M7C	Error! Bookmark not defined.
5.3 Material vegetal de <i>Ipomoea batatas</i>	Error! Bookmark not defined.
5.3.1 Preparación del extracto del material vegetal de <i>Ipomoea batatas</i>	Error! Bookmark not defined.
5.3.2 Fraccionamiento primario del extracto hexánico ..	Error! Bookmark not defined.
5.3.3 Aislamiento y purificación de glicolípidos de la fracción primaria alfa de <i>Ipomoea batatas</i>	Error! Bookmark not defined.
5.3.4 Aislamiento y purificación de glicolípidos de la fracción primaria beta de <i>Ipomoea batatas</i>	Error! Bookmark not defined.
5.4 Condiciones cromatográficas.....	Error! Bookmark not defined.
5.4.1 Preparación de la fase móvil.....	Error! Bookmark not defined.
5.4.2 Preparación de las muestras.....	Error! Bookmark not defined.
5.4.3 Condiciones instrumentales: nivel analítico	Error! Bookmark not defined.
5.4.4 Condiciones instrumentales: nivel preparativo.....	Error! Bookmark not defined.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....Error! Bookmark not defined.

6.1 Identificación química de las resinas glicosídicas de tres miembros purgantes del género *Ipomoea* (Convolvulaceae)Error! Bookmark not defined.

6.2 Aislamiento y purificación de los glicolípidos 1 – 10 a partir de las fracciones hexánicas alfa (α) y beta (β) de *Ipomoea batatas*Error! Bookmark not defined.

6.2.1 Extracción y fraccionamiento.....**Error! Bookmark not defined.**

6.2.2 Análisis por CLAE de las fracciones alfa (α) y beta (β)**Error! Bookmark not defined.**

6.2.3 Aislamiento y purificación de los glicolípidos individuales**Error! Bookmark not defined.**

6.2.4 Separación de los glicolípidos 1 – 10**Error! Bookmark not defined.**

6.3 Elucidación estructural de los batatinósidos I – IVError! Bookmark not defined.

6.3.1 Identificación de monosacáridos y asignación de desplazamientos químicos en la RMN ^1H**Error! Bookmark not defined.**

6.3.2 Asignación de los desplazamientos químicos en la RMN ^{13}C **Error! Bookmark not defined.**

6.3.3 Determinación de las secuencias de glicosilación y posiciones de esterificación: Establecimiento de las propuestas estructurales**Error! Bookmark not defined.**

6.3.3.1 Identificación de los ácidos glicosídicos y establecimiento de la secuencia oligosacárida**Error! Bookmark not defined.**

6.3.3.2 Reconocimiento de las señales diagnósticas para los residuos de acilación.....**Error! Bookmark not defined.**

6.3.3.3 Las resinas glicosídicas y su estructura macrocíclica: Determinación de las posiciones de esterificación**Error! Bookmark not defined.**

6.3.3.4 Confirmación de la estructura química de los batatinósidos I – IV**Error! Bookmark not defined.**

6.3.4 Estructura de los batatinósidos I – IV. Interpretación general del análisis espectroscópico.....**Error! Bookmark not defined.**

6.4 Elucidación estructural de las batatinas I y II.....Error! Bookmark not defined.

6.4.1 Identificación de estructuras diméricas mediante RMN**Error! Bookmark not defined.**

6.4.2 Residuos de esterificación de las batatinas I y II. Determinación de las posiciones de acilación.....**Error! Bookmark not defined.**

6.4.3 Las batatinas I y II, isómeros estructurales.....**Error! Bookmark not defined.**

6.4.4 Las batatinas I y II, dímeros del batatinósido I. Identificación por espectrometría de masas.....**Error! Bookmark not defined.**

6.4.5 Simulación espectral.....**Error! Bookmark not defined.**

6.4.6 Estructura de las batatinas I y II**Error! Bookmark not defined.**

6.5 Elucidación estructural de las batatinas III y IV.....Error! Bookmark not defined.

6.5.1 Batatinas III y IV, dímeros del ácido operculínico **Error! Bookmark not defined.**

6.5.2 Diferenciación isomérica de las batatinas III y IV **Error! Bookmark not defined.**

6.5.3 Las batatinas III y IV y sus ésteres alquílicos. Identificación por espectrometría de masas..... **Error! Bookmark not defined.**

6.5.4 Estructura de las batatinas III y IV **Error! Bookmark not defined.**

6.6 Elucidación estructural de las batatinas V y VIError! Bookmark not defined.

6.6.1 Determinación de la composición química de las batatinas V y VI mediante espectrometría de masas **Error! Bookmark not defined.**

6.6.2 Empleo de la simulación espectral para el reconocimiento de las señales oligosacáridas complejas **Error! Bookmark not defined.**

6.6.3 Determinación de las posiciones de esterificación en las batatinas V y VI **Error! Bookmark not defined.**

6.6.4 Estructura de las batatinas V y VI **Error! Bookmark not defined.**

VII. CONCLUSIONESError! Bookmark not defined.

VIII. BIBLIOGRAFÍAError! Bookmark not defined.

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Principales productos de la degradación de las resinas glicosídicas de la familia Convolvulaceae.....	8
Cuadro 2.	Resumen del fraccionamiento preliminar mediante cromatografía en columna abierta del extracto clorofórmico de <i>Ipomoea stans</i>	61
Cuadro 3.	Resumen del fraccionamiento preliminar mediante cromatografía en columna abierta del extracto metanólico de <i>Ipomoea stans</i>	62
Cuadro 4.	Resumen del fraccionamiento mediante cromatografía en columna abierta de la fracción 6M7C	64
Cuadro 5.	Resumen del fraccionamiento preliminar mediante cromatografía en columna abierta del extracto hexánico de <i>Ipomoea batatas</i>	69
Cuadro 6.	Constantes espectroscópicas en la RMN ¹ H para de las batatinósidos I – IV (1 – 4).....	132
Cuadro 7.	Constantes espectroscópicas en la RMN ¹³ C para las batatinósidos I – IV (1 – 4).....	133
Cuadro 8.	Constantes espectroscópicas en la RMN ¹ H para de las batatinas I y II (5 - 6).....	151
Cuadro 9.	Constantes espectroscópicas en la RMN ¹³ C para las batatinas I y II (5 - 6).....	152
Cuadro 10.	Constantes espectroscópicas en la RMN ¹ H para las batatinas III y IV (7 - 8).....	167
Cuadro 11.	Constantes espectroscópicas en la RMN ¹³ C para las batatinas III y IV (7 - 8).....	168
Cuadro 12.	Constantes espectroscópicas en la RMN ¹ H para las batatinas V y VI (9 - 10).....	183
Cuadro 13.	Constantes espectroscópicas en la RMN ¹³ C para la región oligosacárida de las batatinas V y VI (9 – 10).....	184
Cuadro 14.	Constantes espectroscópicas en la RMN ¹³ C para las agliconas y los residuos ácidos de las batatinas V y VI (9 – 10).....	196

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Estructura de las orizabinas I – IV.....	10
Figura 2.	Estructura de las orizabinas V – VII y IX – XXI.....	12
Figura 3.	Estructura de la orizabina VIII.....	13
Figura 4.	Estructura de los ácidos operculínicos A, B y C.....	14
Figura 5.	Estructura de los ácidos simónicos A y B.....	15
Figura 6.	Estructura de los ácidos escamónico A y orizábico A.....	17
Figura 7.	Estructura de los merremósido h y merremósido g.....	19
Figura 8.	Estructura de los mamósido h ₁ y merremósido h ₂	19
Figura 9.	Estructura de los mamósidos H ₁ y H ₂	20
Figura 10.	Estructura de los ácidos multifidínicos A y B y quamoclínico de <i>Quamoclit pennata</i>	21
Figura 11.	Estructura del ácido microfílico obtenido de <i>Convolvulus microphyllus</i>	22
Figura 12.	Estructura del ácido farbítico C de <i>Pharbitis nil</i>	23
Figura 13.	Estructura del ácido woodrosínico A de <i>Ipomoea tuberosa</i>	24
Figura 14.	Estructura de las woodrosinas I y II.....	24
Figura 15.	Estructura de los ácidos cuscúticos A – D de <i>Cuscuta chinensis</i>	26
Figura 16.	Estructura del ácido cuscútico A ₁ y tricolorina G.....	27
Figura 17.	Estructura de la merremina dimérica aislada de <i>Merremia hungaiensis</i>	28
Figura 18.	Estructuras diméricas aisladas de <i>Ipomoea tricolor</i> ; tricolorinas H e I	29
Figura 19.	Estructura de las estoloniferinas I – IV	30
Figura 20.	Estructura de las estoloniferinas V – X	31
Figura 21.	Estructura de las estoloniferinas XI y XII.....	32
Figura 22.	Estructura de la simonina I.....	33
Figura 23.	Estructura de de las simoninas II – V.....	34
Figura 24.	Estructura de la leptofilina A.....	35
Figura 25.	Estructura de las murucinas 1 – 5.....	36
Figura 26.	Estructura de las murucoidinas I – III.....	37
Figura 27.	Estructura de las murucoidinas IV y V.....	38
Figura 28.	Estructuras de las arborescinas 1 – 6 y de las murucinas 6 – 9...	39
Figura 29.	Estructura de los pescaprósidos A y B.....	40
Figura 30.	Estructura de las pescapreínas I – IX.....	41
Figura 31.	Ilustración del manuscrito Badiano para <i>Ipomoea purga</i>	44
Figura 32.	Fotografía de las partes aéreas de <i>Ipomoea orizabensis</i>	45
Figura 33.	Fotografía de la raíz de escamonea (<i>Ipomoea orizabensis</i>).....	49
Figura 34.	Fotografía de <i>Ipomoea stans</i> en el altiplano mexicano (Tepeapulco, Hidalgo).....	50
Figura 35.	Fotografía de las flores de <i>Ipomoea stans</i>	51
Figura 36.	Fotografía de la raíz de la “tumbavaqueros” (<i>I. stans</i>).....	52

Figura 37.	Fotografía de la enredadera de “camote” en el estado de Michoacán.....	53
Figura 38.	Fotografía de las flores de <i>Ipomoea batatas</i>	54
Figura 39.	Cromatogramas en capa fina para el aislamiento del crudo resinoso de <i>Ipomoea stans</i>	63
Figura 40.	Análisis cromatográfico para el aislamiento del producto de hidrólisis alcalina de la fracción resinosa N6M7C de <i>Ipomoea stans</i>	66
Figura 41.	Perfiles cromatográficos en HPLC de los ácidos glicosídicos aislados de muestras auténticas y comerciales adquiridas con el nombre de “tumbavaqueros”.....	78
Figura 42.	Perfiles espectroscópicos en la RMN ¹³ C generados por los ácidos glicosídicos de <i>I. orizabensis</i> (ácido escamónico A) y de <i>I. stans</i> (ácido operculínico B).....	80
Figura 43.	Cromatograma en capa fina de las fracciones resinosas del extracto hexánico de <i>I. batatas</i>	83
Figura 44.	Cromatograma de líquidos en nivel analítico generado por la fracción α (detector UV).....	85
Figura 45.	Cromatograma de líquidos en nivel preparativo generado por la fracción α (detector IR).....	86
Figura 46.	Cromatograma de líquidos en nivel preparativo generado por la fracción β (detector IR).....	87
Figura 47.	Cromatograma de líquidos de la subfracción F1. Aplicación del reciclaje de la muestra para la purificación de la batatina I (detector UV).....	89
Figura 48.	Espectros de RMN ¹ H de los batatinósidos I (1) a IV(4).....	92
Figura 49.	Espectros de RMN ¹³ C de los batatinósidos I (1) a IV (4).....	93
Figura 50.	Sección del espectro COSY para la porción oligosacárida del batatinósido I (1).....	95
Figura 51.	Sección del espectro COSY para la porción oligosacárida del batatinósido IV (4).....	96
Figura 52.	Sección del espectro TOCSY para la porción oligosacárida del batatinósido II (2).....	98
Figura 53.	Sección del espectro TOCSY para la porción oligosacárida del batatinósido II (2).....	99
Figura 54.	Sección del espectro TOCSY de correlaciones de grupos metilo de 6-desoxihexosas con protones anoméricos del batatinósido I (1).....	100
Figura 55.	Sección del espectro HMQC del batatinósido III (3).....	102
Figura 56.	Sección del espectro HSQC para la región oligosacárida del batatinósido I (1).....	103
Figura 57.	Sección del espectro TOCSY-HSQC para la porción oligosacárida del batatinósido IV (4).....	105
Figura 58.	Sección del espectro TOCSY-HSQC del batatinósido IV (4).....	106
Figura 59.	Sección del espectro HMBC del batatinósido I (1).....	108

Figura 60.	Sección del espectro HMBC para la determinación de la secuencia oligosacárida del batatinósido IV (4).....	109
Figura 61.	Sección del espectro HMBC del batatinósido II (2) para la determinación de su secuencia glicosídica.....	110
Figura 62.	Sección del espectro HMBC de la batatina V (9). Asignación de señales de ^{13}C de grupos carbonilos para la aglicona y residuos ácidos.....	113
Figura 63.	Sección del espectro HMBC del batatinósido I (1). Asignación de señales de ^{13}C de grupos carbonilos para la aglicona y residuos ácidos.....	114
Figura 64.	Sección del espectro TOCSY de la batatina V (9). Correlaciones de H_2 y grupos metilo para los ésteres metilbútrico e isobútrico.....	115
Figura 65.	Sección del espectro HMBC del batatinósido I (1) para la determinación de las posiciones de esterificación.....	118
Figura 66.	Expansión del espectro de RMN ^1H del batatinósido II (3) en la región de desplazamiento químico correspondiente a protones anoméricos y señales de esterificación.....	120
Figura 67.	Sección del espectro HMBC del batatinósido II (2) para la determinación de las posiciones de esterificación.....	121
Figura 68.	Espectro de masas FAB modo negativo del batatinósido I (1)...	123
Figura 69.	Espectro de masas FAB modo negativo del batatinósido II (2)..	124
Figura 70.	Espectro de masas FAB modo negativo del batatinósido III (3).	125
Figura 71.	Espectro de masas FAB modo negativo del batatinósido IV (4)	126
Figura 72.	Estructura de los batatinósidos I a IV (1 – 4).....	131
Figura 73.	Espectros de RMN ^1H de las batatinas I (5) y II (6).....	135
Figura 74.	Espectros de RMN ^{13}C de los batatinas I (5) y II (6).....	136
Figura 75.	Sección del espectro HMQC del batatina I (5). Asignación de las resonancias de ^{13}C para la identificación de los carbonos anoméricos.....	137
Figura 76.	Comparación de los perfiles espectroscópicos en la RMN ^1H de los compuestos 1 y 5 en la zona de desplazamiento químico (ppm) correspondiente a protones anoméricos y señales de acilación.....	138
Figura 77.	Sección del espectro HMBC de la batatina I (5). Asignación de señales de ^{13}C de grupos carbonilos para la aglicona y residuos ácidos.....	140
Figura 78.	Sección del espectro HMBC de la batatina I (5) para la determinación de las posiciones de esterificación.....	141
Figura 79.	Sección del espectro TOCSY de la batatina I (5). Asignación de las señales de los azúcares Ram '' de las unidades A y B.....	143
Figura 80.	Espectro de masas ES modo negativo de la batatina II (6). Detección del aducto $[\text{M} + \text{I}]$	144
Figura 81.	Espectro de masas MS/MS ES del ión pseudomolecular $[\text{M} - \text{H}]$ la batatina I (5).....	145
Figura 82.	Simulación espectral para la ^1H RMN de la región oligosacárida para la Batatina I (5).....	147

Figura 83.	Estructura de las batatinas I (5) y II (6).....	150
Figura 84.	Espectros de RMN ¹ H de las batatinas III (7) y IV (8).....	154
Figura 85.	Espectros de RMN ¹³ C de los batatinas III (7) y IV (8).....	155
Figura 86.	Sección del espectro HMQC de la batatina IV (8). Asignación de las resonancias de ¹³ C para la identificación de los carbonos anoméricos.....	156
Figura 87.	Sección del espectro COSY para la porción oligosacárida de la batatina IV (8).....	157
Figura 88.	Sección del espectro HMBC de la batatina III (7) para la determinación de las posiciones de esterificación.....	159
Figura 89.	Sección del espectro HMBC de la batatina IV (8) para la determinación de las posiciones de esterificación.....	161
Figura 90.	Espectro de masas ES modo negativo de la batatina III (7). Detección del aducto [M + I].....	162
Figura 91.	Espectro de masas MS/MS ES del ión pseudomolecular [M – H] la batatina III (7).....	163
Figura 92.	Sección del espectro de masas FAB (iones negativos) de la batatina IV (8).....	164
Figura 93.	Estructura de los batatinas III (7) y IV (8).....	166
Figura 94.	Espectros de RMN ¹ H de las batatinas V (9) y VI (10).....	170
Figura 95.	Espectros de RMN ¹³ C de los batatinas V (9) y VI (10).....	171
Figura 96.	Sección del espectro HMQC del batatina VI (10). Asignación de las resonancias de ¹³ C para la identificación de los carbonos anoméricos.....	172
Figura 97.	Sección del espectro de masas FAB (iones negativos) de la batatina V (9).....	175
Figura 98.	Sección del espectro de masas FAB (iones negativos) de la batatina VI (10).....	176
Figura 99.	Sección del espectro COSY para la porción oligosacárida de la batatina VI (10)	178
Figura 100.	Simulación de la región oligosacárida para la Batatina V (9).....	180
Figura 101.	Simulación de la región oligosacárida para la Batatina VI (10)..	181
Figura 102.	Comparación de perfiles espectroscópicos experimental y simulado para la zona de 5.30 a 6.30 ppm en la RMN ¹ H de la batatina V (9).....	182
Figura 103.	Comparación de perfiles espectroscópicos experimental y simulado para la zona de 5.30 a 6.30 ppm en la RMN ¹ H de la batatina VI (10).....	183
Figura 104.	Sección del espectro HSQC para la región oligosacárida de la batatina VI (10).Asignación de las resonancias de ¹³ C.....	184
Figura 105.	Sección del espectro HMBC de la batatina VI (10). Asignación de señales de ¹³ C de grupos carbonilos para la aglicona y residuos ácidos.....	185
Figura 106.	Sección del espectro HMBC de la batatina V (9) para la determinación de las posiciones de esterificación.....	186

Figura 107.	Sección del espectro ROESY de la batatina V (9) para la localización de las correlaciones del residuo <i>n</i> -dodecanoílo y la señales de la unidad Ram'	188
Figura 108.	Sección del espectro HMBC de la batatina VI (10) para la determinación de las posiciones de esterificación.....	189
Figura 109.	Estructura de la batatina V (9).....	192
Figura 110.	Estructura de la batatina VI (10).....	193

SÍMBOLOS Y ABREVIACIONES

Término o Abreviación	Significado
α	Rotación óptica
J	Constante de acoplamiento
CH ₃ CN	Acetonitrilo
CH ₂ Cl ₂	Cloruro de metileno
CH ₃ Cl	Cloroformo
CLAE	Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia
cm	Centímetros
COSY	Correlación homonuclear
δ	Desplazamiento químico
d	Doblete
dd	Doble doblete
ddd	Doble de doble de doble
EM	Espectrometría de masas
ESI	Electrospray ionization
eV	Electrón volts
°C	Grados centígrados
FAB	Bombardeo de átomos acelerados
HMBC	Heteronuclear multiple bond coherence
HMQC	Heteronuclear multiple quantum coherence
Hz	Hertz
H ₂ O	Agua
I. R.	Índice de refracción
[M - H] ⁻	Ión pseudomolecular negativo
[M + H] ⁺	Ión pseudomolecular positivo
[M + I] ⁻	Ión negativo aducto con yodo
L	Litro
λ	Longitud de onda

SÍMBOLOS Y ABREVIACIONES

MeOH	Metanol
mg	Miligramos
min	Minutos
μL	Microlitros
μm	Micrómetros
nm	Nanómetros
p.f.	Punto de fusión
p.p.m.	Partes por millón
m/z	Relación de masa-carga
RMN	Resonancia magnética nuclear
RMN ^1H	Resonancia magnética Nuclear de protones
RMN ^{13}C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono 13
TOCSY	Total correlation spectroscopy
t	Triplete
T_R	Tiempo de retención

A B S T R A C T

Mexican Jalaps, a prehispanic medicinal plant complex (named “morning glories”), still considered to be a useful laxative, have important medicinal properties to treat several diseases such as intestinal parasites, pain fever and epilepsy, and can be found as an ingredient in some over-the-counter products sold by herbalists in contemporary Mexico. The drug is prepared from the dried roots of several morning glories, all of which have been identified as members of the genus *Ipomoea* (Convolvulaceae).

Analysis of several commercial samples was assessed getting the oligosaccharide constituents of the glycosidic acids obtained through saponification of the resin glycoside contents. The oligosaccharides chemical composition distinguishes the three Mexican jalaps currently in frequent use and can serve as analytical tools for the authentication and quality control of these purgative herbal drugs.

Ipomoea orizabensis identified as “mexican scammony” or “orizaba jalap” is a purgative root used to eliminate intestinal infections and parasites. The Mexican highlands, dry root of *Ipomoea stans* (“tumbavaquero”) with laxative qualities, was used in the treatment of kidney inflammation, bile disorders, and epileptic attacks, in combination with other medicinal plants, is employed for nervous disorders. *Ipomoea batatas*, colloquially called “camote” or “sweet potato” is a perennial morning-glory vine that has been cultivated for its edible tubers in Mexico. A decoction made from the leaf is used in folk remedies as gargles to treat mouth and throat tumors, fever, dysentery, stomach distress, gastro intestinal infection and parasites.

Previous to this investigation, studies of the resin glycosides of *I. orizabensis* describe the isolation and structural characterization of 21 glycolipids (orizabins I-XXI). Scammonic acid A, a tetrasaccharide composed of β -D-glucose, 6-deoxy- α -L--mannose (α -L-rhamnose), 6-deoxy β -D-glucose (β -D-quinovose) and jalapinic acid (11S-11-hydroxihexadecanoic acid), was identified as the glycolipid constituent in the orizabins structure.

Saponification of the “tumbavaqueros” (*Ipomoea stans*) crude resin glycoside mixture yielded a pentasaccharide as the major glycosidic acid component. β -D-glucose and α -L-rhamnose are the constituents of this glycolipid called operculinic acid B, previously isolated from the resinous mixture of *Ipomoea operculata*.

The hexane-soluble extract from the roots of “sweet potato” (*Ipomoea batatas*), through preparative-scale recycling HPLC, yielded 10 new lipophilic oligosaccharides of jalapinolic acid: batatinosides I – IV and batatines I – VI. High resolution NMR spectroscopy, FAB and ESI mass spectrometry and spectral simulation were used to characterize all new isolated compounds. The results of the structural characterization suggested that batatins I – VI are polymers. This complex glycolipids composed of β -D-6-deoxy-galactose (β -D-fucose) and α -L-rhamnose, are ester type dimmers oligosaccharides of simonic acid B and operculinic acid C, whereas the esterifying residues of this natural oligosaccharides are composed of five organic acids: *trans*-cinnamic, 2-methylpropanoic, 2-methylbutiric, *n*-decanoic and *n*-dodecanoic acids.

RESUMEN

El complejo medicinal de las “jalapas” está constituido por un conjunto de plantas medicinales nativas de México y una de las propiedades que las distingue de otros remedios medicinales es su actividad laxante, aunque también poseen varias propiedades adicionales, tales como antiparasitaria, antiinflamatoria y antiepiléptica.

Las raíces o tubérculos de estas plantas purgantes son utilizados como ingredientes primarios para la elaboración de diversos preparados herbolarios ampliamente comercializados en expendios y mercados de productos naturistas en la Ciudad de México. Partiendo de los extractos vegetales de tres especies de “jalapas”, seleccionadas con base en su importancia como un remedio ampliamente utilizado en la medicina tradicional de nuestro país, se aislaron los crudos resinosos respectivos, cuyas diferencias en composición fueron los marcadores químicos para la identificación inequívoca de cada una de estas especies.

Ipomoea orizabensis, es conocida como la “escamonea mexicana” y ha sido difundida ampliamente por poseer los efectos purgante y antiparasitario más efectivos dentro de los miembros del género, junto con *Ipomoea purga*. La “tumbavaqueros” o *Ipomoea stans*, cuyas propiedades medicinales más difundidas son la sedante y antiepiléptica, e *Ipomoea batatas*, mejor conocida como “patata dulce” o “camote”, que es un elemento muy común dentro de la dieta popular de los mexicanos, y que además también posee varias propiedades medicinales, tales como antipirética, antiinflamatoria y analgésica (preparados de hojas y flores).

Diversas publicaciones de la literatura primaria sobre química de productos naturales han descrito la composición de las glicorresinas de la “escamonea mexicana” (*I. orizabensis*), reportándose 21 glicolípidos diferentes aislados de los crudos resinosos de esta especie (Orizabinas I – XXI), cuyo esqueleto glicolipídico está constituido por un glicósido del ácido jalapínico (11*S*-11-hidroxihexadecanoico), conocido como el ácido escamónico A, compuesto por 6-deoxi- α -L-manosa (α -L-ramnosa), 6-deoxi- β -D-glucosa (β -D-quinovosa) y β -D-glucosa.

La saponificación de la mezcla cruda de resinas glicosídicas de la “tumbavaqueros” (*Ipomoea stans*) proporcionó un núcleo lipopentasaacárido del ácido jalapínico constituido por β -D-glucosa y α -L-ramnosa, aislado previamente de las glicorresinas de la especie *I. operculata* conocido como el ácido operculínico B.

A partir del extracto soluble hexánico proveniente de los tubérculos del “camote blanco” (*Ipomoea batatas*), a través de Cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE) a nivel preparativo mediante técnicas de reciclaje, se aislaron e identificaron 10 nuevos oligosacáridos lipofílicos del ácido jalapínico; los batatinósidos I – IV y las batatinas I – VI.

La elucidación estructural de estos glicolípidos indicó la presencia del ácido simónico B y del ácido operculínico C como sus núcleos oligosacáridos constitutivos respectivos. La caracterización estructural de las batatinas I – VI mediante técnicas mono y bidimensionales en la RMN junto con la espectrometría de masas FAB y ES, así como con el empleo de la simulación espectral, indicó que estas moléculas poseen estructuras poliméricas, constituidas por dímeros oligosacáridos acilados de ácido simónico B en el caso de las batatinas I, II, V y VI y de ácido operculínico C en el de las batatinas III y IV, ambos núcleos constituidos por unidades monoméricas de 6-desoxi- β -D-galactosa (β -D-fucosa) y α -L-ramnosa. Por último, se determinó que los residuos esterificantes de estos compuestos son los ácidos orgánicos *trans*-cinámico, 2-metilbutanoico, 2-metilpropanoico, *n*-decanoico y *n*-dodecanoico.

I. INTRODUCCIÓN

La población mexicana se ha visto fuertemente influenciada a lo largo de su historia por la práctica de la medicina herbolaria para el tratamiento de sus diversas enfermedades y trastornos de la salud, y en las últimas décadas las sustancias naturales no solamente han contribuido de manera significativa, sino que también constituyen hasta la fecha la base de los tratamientos médicos tradicionales en los países en vías de desarrollo.

Los antiguos curanderos mexicanos, compartían la creencia de que era posible alcanzar la purificación del “cuerpo” a través del consumo de sustancias purgantes, ya que de este modo se eliminaban del organismo las causas de diversos trastornos digestivos, renales e incluso de tipo nervioso. Los remedios herbolarios purgantes más utilizados en las épocas prehispánicas y coloniales incluían a varios miembros de la familia de las convolvulaceas, conocidos colectivamente con el nombre de “jalapas”, tales como la “raíz de Michoacán” (*Ipomoea purga*) y la “escamonea de México” (*Ipomoea orizabensis*) por mencionar algunos ejemplos.

Es bien conocido que los compuestos responsables de la actividad purgante de la familia Convolvulaceae son las resinas glicosídicas, un complejo de glicolípidos de alto peso molecular, constituidos por un núcleo oligosacárido hidrofílico y por una porción hidrofóbica que está compuesta por un ácido graso hidroxilado (ácido 11S-hidroxihexadecanoico). Estos compuestos glicolipídicos, junto con los alcaloides del ergot, son los principios biodinámicos de las especies de esta familia (Pereda-Miranda, 1995).

En la actualidad, continúan preparándose productos herbolarios con estas plantas medicinales en forma de extractos alcohólicos, polvos compuestos de raíces secas o simplemente las resinas puras en combinación con otros ingredientes para modificar o mejorar su efecto terapéutico, mismos que pueden adquirirse en tiendas comerciales de productos naturistas. De este modo, el desarrollo de técnicas analíticas para la purificación de los constituyentes oligosacáridos individuales de las resinas glicosídicas de estas plantas, proporcionaría posibles protocolos analíticos para la implementación de técnicas instrumentales para el control de calidad de los preparados herbolarios que contengan el material vegetal de estas especies purgantes.

El presente trabajo describe el análisis de las principales diferencias químicas entre las resinas glicosídicas de la raíz auténtica de *Ipomoea stans* ampliamente utilizada en la medicina tradicional mexicana por sus propiedades como sedante, anticonvulsiva y ansiolítica, y las glicorresinas de otras dos jalapas falsas o adulterantes *Ipomoea batatas* e *Ipomoea orizabensis* que se comercializan en el mercado de hierbas medicinales por sus propiedades purgantes y antiparasitarias.

El aislamiento de principios activos a partir de fuentes naturales, como los extractos de plantas, ha generado el surgimiento de medicamentos eficaces para el tratamiento de diferentes trastornos de la salud y se estima que aproximadamente el 60% de los agentes antiinfecciosos y antitumorales comerciales y en etapa de desarrollo clínico son de origen natural (Shu, 1998). Como ejemplo puede mencionarse que los alcaloides de la vincristina y la vinblastina obtenidos de los miembros vegetales del género *Catharanthus* son de los agentes quimioterapéuticos de mayor uso en el tratamiento del cáncer, seguidos del etopósido, y el tenipósido, derivados semisintéticos de la podofilotoxina, aislada de *Podophyllum peltatum* (Srivastava *et al.*, 2005).

Sin embargo, aunque estos métodos analíticos contribuyen a la investigación de muchos remedios herbolarios, las sustancias obtenidas de esta manera pueden o no reflejar las propiedades curativas del extracto crudo de una planta específica, tal como sucede en el caso de los glicolípidos biosintetizados por la familia Convolvulaceae, cuyas actividades biológicas no coinciden en muchos casos con las propiedades terapéuticas más destacadas de algunos de sus miembros, por ejemplo la especie purgante *Ipomoea stans*, que es más conocida por su actividad antiepiléptica. Además, también se conoce que las semillas y partes aéreas de algunas convolvulaceas, conocidas colectivamente con el nombre náhuatl “ololiuhqui” contienen sustancias psicoactivas entre las que destacan los alcaloides alucinógenos del ácido lisérgico, por lo que eran empleadas por los sacerdotes teotihuacanos en rituales religiosos (Chérigo y Pereda-Miranda, 2006).

Por lo tanto, aunque estos estudios fitoquímicos no siempre cumplen con el propósito de aislar sustancias con una actividad biológica específica, la obtención de compuestos que poseen estructuras novedosas como las de los glicolípidos de las convolvulaceas, contribuyen no solamente al campo de la química farmacéutica, sino también a otras áreas más específicas del conocimiento de los productos naturales, e.g. la quimiotaxonomía y la ecología (Pereda-Miranda y Bah, 2003).

II. ANTECEDENTES

2.1 La familia Convolvulaceae y el género *Ipomoea*

La familia de las convolvuláceas se encuentra ampliamente distribuida en el mundo, siendo especialmente abundante en las zonas tropicales de Asia y América, particularmente en regiones que presentan temporadas de estiaje.

En el mundo se estiman alrededor de 55 géneros y 1650 especies, los géneros más representativos son *Convolvulus* (250 especies), *Ipomoea* (500 especies) y *Cuscuta* (170 especies). Dentro de las angiospermas, la familia Convolvulaceae representa una de las más grandes y diversas de México, reportándose 15 géneros y aproximadamente 217 especies, siendo el género *Ipomoea* uno de los mayoritarios con un grado de endemismo aproximadamente del 65%, es decir, con 104 especies presentes en México de 160 especies en el género.

La distribución de estas especies en el país muestra que el endemismo de *Ipomoea* está concentrado en las regiones subtropicales de la costa del Pacífico, mientras que en el Golfo de México sólo hay dos especies endémicas, *Ipomoea eximia*, e *Ipomoea purga* en el estado de Veracruz, en contraste con un área de la misma dimensión de Jalisco a Oaxaca donde existen por lo menos 20 especies endémicas.

A nivel subgenérico existen complejos de especies que pueden ser caracterizadas por preferencias de hábitat. Por ejemplo, las especies de la serie *Tyrinthinae* están mejor representadas en las praderas y desiertos del Centro y Norte de México.

La mayoría de las plantas del género *Ipomoea* no presentan una variedad importante en su morfología, siendo que la mayoría de éstas son enredaderas con tallos enroscados que alcanzan de 1 a 5 metros. Existen unas cuantas especies como *I. phillomega* e *I. santillanii* que se presentan con lianas tropicales y alcanzan alturas de hasta 15 metros. Otras especies como *I. imperata* e *I. pes-caprae* crecen a iguales longitudes pero han perdido su capacidad de enroscarse creciendo de manera tendida para formar extensas cubiertas sobre arenas costeras. Otras especies de las zonas áridas (*I. stans*, *I. duranguensis* e *I. sescossiana*) forman arbustos perennes leñosos y herbáceos, que crecen hasta 1.0 metro. Las especies *Ipomoea arborescens* e *Ipomoea murocoides* crecen en forma de árboles de madera suave y alcanzan de 3 a 9 metros de altura.

Las flores del grupo son típicamente conocidas por su aspecto tubular y sus colores brillantes, generalmente con duración efímera, limitándose a las horas matinales. Este grupo de plantas representa uno de los elementos más conspicuos de la flora mexicana.

2.2 Las resinas glicosídicas de la familia Convolvulaceae

Los glicolípidos del género *Ipomoea* constituyen una serie de oligosacáridos que tienen la particularidad de ser moléculas anfipáticas por la presencia simultánea en su estructura de un oligosacárido hidrofílico y una porción hidrofóbica constituida por la aglicona. Debido a esta característica estructural, se ha postulado que estos glicolípidos desempeñan un papel importante en la química de la familia de las convolvuláceas (Bah, 1997), ya que un gran número de sus propiedades biológicas pueden explicarse como un resultado de su posible acción ionofórica, e.g. la citotoxicidad, misma que provocaría perturbaciones en las membranas celulares (Rencursori *et al.*, 2004).

Se ha descrito la existencia de actividad alucinógena conocida para los miembros del género *Ipomoea*, la cual se debe a la presencia de alcaloides, compuestos característicos de la familia (Stauffacher *et al.*, 1965; Chao y DerMaderosian 1973; Schimmng *et al.*, 1998; Botz *et al.*, 1990-1991; Janett-Siems *et al.*, 1993; 1994^a; 1994b; Henrici *et al.*, 1994). Ejemplos de la actividad biológica de los alcaloides presentes en las convolvuláceas son la intoxicación de ciertos animales con *I. parasitica* (Amor-Prats y Harnborne, 1993) o la actividad analgésica de *I. intrapilosa* (Osuna *et al.*, 1996). Se ha demostrado que esta familia de plantas también posee una importante actividad alelopática por ejemplo *I. tricolor* (Anaya *et al.*, 1995), donde se ha encontrado que los compuestos responsables de esta actividad biológica son las resinas glicosídicas presentes en las partes aéreas (Pereda-Miranda *et al.*, 1993; 1995). En *I. stans*, estas resinas han demostrado propiedades anticonvulsivas (Contreras *et al.*, 1996), citotóxicas (Reynolds *et al.*, 1995) y efectos vaso activos (Perusquía *et al.*, 1995).

Uno de los primeros estudios que mostró la relación entre los glicolípidos con cierta actividad biológica es el efectuado en las partes aéreas de *I. leari* donde se aisló un glicósido denominado "Ipolearósido". Este glicolípido demostró poseer actividad anticancerígena (Sarin *et al.*, 1973). Las glicorresinas de *Ipomoea bahiensis* mostraron actividad antimicrobiana en *Staphylococcus aureus*, *Neurospora crassa* y *Streptococcus faecalis* (Bieber *et al.*, 1986).

La naturaleza química y la complejidad estructural de las resinas glicosídicas ha constituido un obstáculo que ha dificultado durante mucho tiempo el aislamiento de sus constituyentes individuales y, por lo tanto, la caracterización de su estructura molecular.

Entre los métodos comunes de separación que se han empleado para tratar de resolver las mezclas complejas de oligosacáridos que conforman las resinas de las convolvuláceas se cuenta con los procedimientos de partición líquido-líquido y las técnicas cromatográficas en capa fina y columna. De las particiones, en principio sólo se obtuvieron dos categorías de resinas, la fracción poco polar y soluble en éter denominada “jalapina” y la insoluble en ese disolvente o “convolvulina”, de acuerdo a la clasificación de Mayer (Ono, 1989b).

Las resinas glicosídicas representan un complejo de glicolípidos de alto peso molecular. Por medio de la reacción de saponificación (hidrólisis alcalina) se ha logrado la separación de los ácidos orgánicos de cadena corta volátiles unidos por un enlace de tipo éster al núcleo oligosacárido; la subsecuente hidrólisis ácida libera ácidos grasos hidroxilados y una mezcla de monosacáridos. En el **cuadro 1** se enlistan algunos de los productos que con mayor frecuencia se obtienen de los procesos degradativos de las resinas glicosídicas de las convolvuláceas. Cabe destacar que al parecer el ácido jalapínico (ácido 11*S*-hidrohexadecanoico) representa la aglicona que con mayor frecuencia se presenta en las resinas glicosídicas del género *Ipomoea*.

Cuadro 1. Principales productos de la degradación de las resinas glicosídicas.

Acidos volátiles	Acidos grasos hidroxilados	Azúcares
Acido acético	7 - OH - C ₁₀	D-Glucosa
Acido propiónico	11 - OH - C ₁₄ (Ac. convolvulinólico)	L-Ramnososa
Acido isobutírico	11 - OH - C ₁₆ (Ac. jalapínico)	D-Fucosa
Acido α - metil - β - hidroxibutírico	3, 12 - di - OH - C ₁₆ (Ac. operculónico)	D-Quinovosa
Acido α -metilbutírico	3,11 - di - OH - C ₁₄ (Ac. ipurólico)	
Acido <i>n</i> -isovalérico	Tri - OH - C ₁₄ (Ac. brasiliólico)	
Acido tíglico		
Acido <i>trans</i> -cinámico		

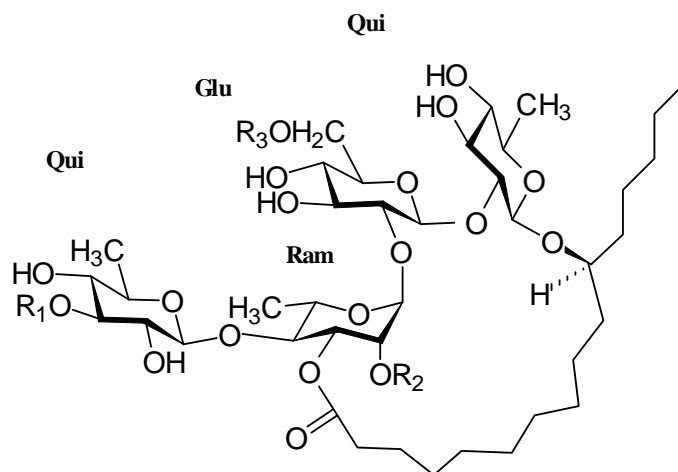
La determinación de la estructura de las resinas glicosídicas se ha realizado mediante el empleo de técnicas espectroscópicas y espectrométricas para la identificación de las dos porciones principales que se obtienen de la saponificación de los productos naturales: en primer lugar, la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas permite la cuantificación de cada uno de los residuos que esterifican al núcleo a través de los cromatogramas registrados, en tanto que los espectros generados por impacto electrónico permiten establecer el peso y facilitan la identificación de los ácidos grasos ligados a la porción oligosacárida (Bah, 1997). La secuencia de unión de los monosacáridos se ha determinado por permetilación e identificación de los azúcares metilados y de los acetatos derivados por hidrólisis ácida parcial de los polisacáridos (Okabe y Kawasaki, 1970). El empleo de la cromatografía de líquidos para la identificación de los azúcares generados mediante hidrólisis ácida de las resinas sólo permite establecer la naturaleza de éstos. Por lo tanto, se utiliza la resonancia magnética nuclear de los ácidos glicosídicos y sus derivados peracetilados para confirmar la secuencia de glicosilación (Bah y Pereda-Miranda, 1996).

2.3 Diversidad estructural de los glicolípidos de la familia Convolvulaceae

El aislamiento y la caracterización estructural de los glicolípidos en su forma natural se inició a partir de la utilización de las técnicas de cromatografía líquida de alta presión (CLAP), de los métodos espectrométricos (FAB – MS ó SIMS – MS) (Costello, 1997; Baldwin, 1995) y espectroscópicos (RMN) (Agrawal, 1992; Agrawal y Pathak, 1996) de alta resolución. Así, los primeros glicolípidos caracterizados íntegramente fueron las orizabinas I – IV (figura 1) por el grupo de Noda y colaboradores (1987) y se demostró que los constituyentes de las resinas glicosídicas son liposacáridos cuyas agliconas son ácidos hidroxilados (C14 o C16) derivados de la hidrólisis ácida. El núcleo oligosacárido se encuentra acilado en la mayoría de los casos y se combina con el grupo carboxilo de la aglicona para formar un éster macrocíclico. A partir de estas investigaciones, el empleo de la cromatografía líquida de alta presión como método de purificación se convirtió en una técnica esencial para el estudio químico de las resinas glicosídicas de las convolvuláceas. Durante estos estudios se han generado las definiciones de “jalapina” para describir la resina soluble en cloroformo o éter y “convolvulina” para describir la porción insoluble en estos disolventes lipofílicos.

El aislamiento y la elucidación estructural de las resinas de la familia Convolvulaceae ha constituido un tema de interés para varios grupos de investigación en la última década (Pereda-Miranda y Bah, 2003; León *et al.*, 2007) no sólo por el potencial en su actividad biológica e.g. agentes antimicrobianos (Pereda-Miranda *et al.*, 2006) y citotóxicos (Cao *et al.*, 2005), sino también por el interés quimiotaxonómico que permitirá relacionar la estructura química de los núcleos oligosacáridos con la clasificación botánica de las fuentes naturales.

Tal como lo describe Bah (1997), el estudio de los constituyentes de las resinas glicosídicas se ha incrementado y es posible iniciar una correlación de tipo quimiotaxonómico entre los núcleos oligosacáridos y la sistemática de la familia.

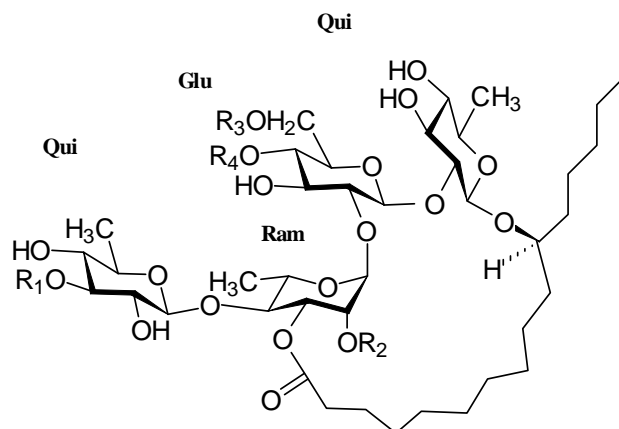


Orizabina	R ₁	R ₂	R ₃
I	H	tg	nl
II	lb	tg	nl
III	nl	tg	nl
IV	H	tg	nl

Figura 1. Orizabinas I – IV aisladas de *Ipomoea orizabensis*. Abreviaciones: nl: niloílo (3 – hidroxí – 2 – metilbutanoílo); lb: isobutanoílo (2 – metilpropanoílo); tg: tigoílo (2*E*-metilbutenoílo).

En otros estudios recientes de la especie mexicana *Ipomoea orizabensis* (Hernández-Carlos *et al.*, 1999; Pereda-Miranda y Hernández-Carlos, 2002), se pudo demostrar que el núcleo tetrasacárido constituyente de estos glicolípidos es el ácido escamónico A (Noda *et al.*, 1990) mediante el empleo de reacciones degradativas (saponificación del crudo resinoso) e implementación de técnicas mono y bidimensionales en la RMN.

En estas publicaciones se reportó el aislamiento de 17 glicolípidos novedosos designados colectivamente como las orizabinas V – XXI cuyas estructuras aparecen en la figura 2. El núcleo tetrasacárido del ácido escamónico A presente en estos glicolípidos se encuentra esterificado principalmente por los residuos de los ácidos tíglico, nílico, isobutírico y 2-metilbutanoico. Resulta interesante destacar que el último residuo de ácido nílico se encontraba en forma de una mezcla de ambos enantiómeros. i.e., (2*R*, 3*R*) y (2*S*, 3*S*) esterificando el núcleo oligosacárido (figura 2). De tal forma, que cada una de las orizabinas se encuentra en forma de un par diastereosiomérico cuya separación fue factible mediante la aplicación de la técnica de reciclaje en la cromatografía de líquidos (Pereda-Miranda y Hernández-Carlos, 2002).



Orizabina	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
V	nla-(-)	mba	H	H
VI	H	nla-(-)	mba	H
VII	H	mba	nla-(-)	H
IX	tga	mba	H	H
X	tga	nla-(-)	iba	H
XI	tga	nla-(+)	iba	nla-(-)
XII	tga	iba	nla-(-)	H
XIII	tga	iba	nla-(+)	H
XIV	tga	nla-(-)	mba	H
XV	tga	nla-(-)	mba	H
XVI	tga	mba	mha-(-)	H
XVII	tga	mba	nla-(+)	H
XVIII	mba	nla-(-)	mba	H
XIX	mba	nla-(+)	mba	H
XX	mba	mba	nla-(-)	H
XXI	mba	mba	nla-(+)	H

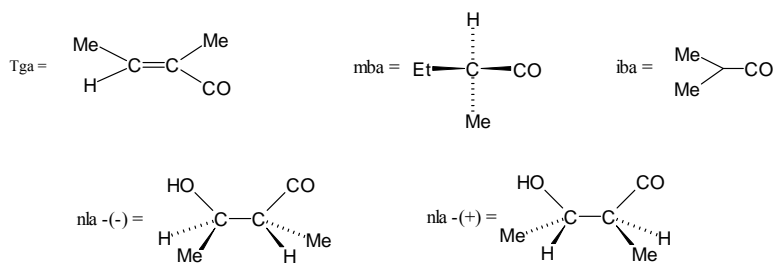


Figura 2. Estructura química de las orizabinas V – VII y IX – XXI.

La orizabina VIII tiene una característica estructural distintiva dentro de los compuestos que están constituidos por el núcleo tetrasacárido del ácido escamónico A, que radica en la posición de lactonización (Pereda-Miranda y Bah, 2003) ya que se establece a través de un enlace éster formado entre el grupo carboxilato de residuo del ácido jalapinólico y el radical hidroxilo de la posición 3 del segundo azúcar glucosa de la cadena oligosacárida del ácido escamónico A (figura 3).

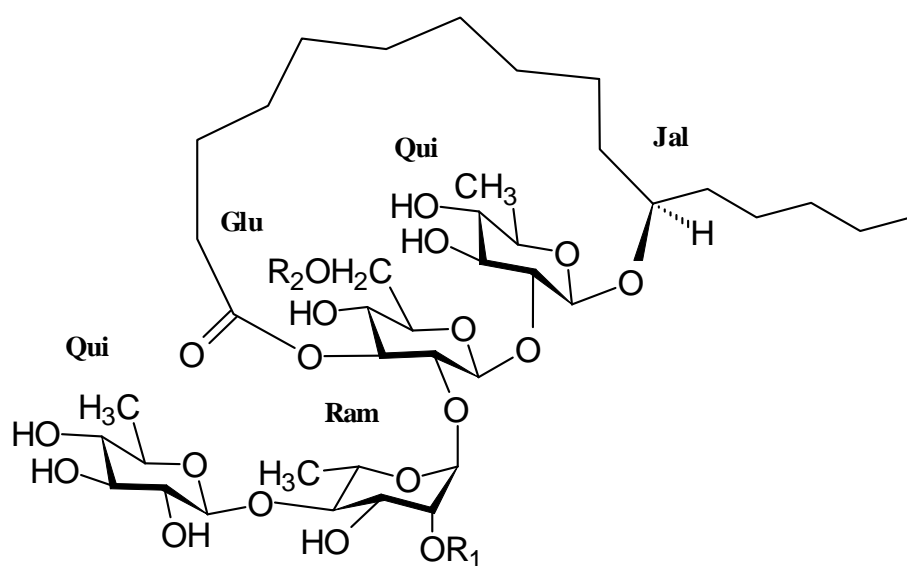
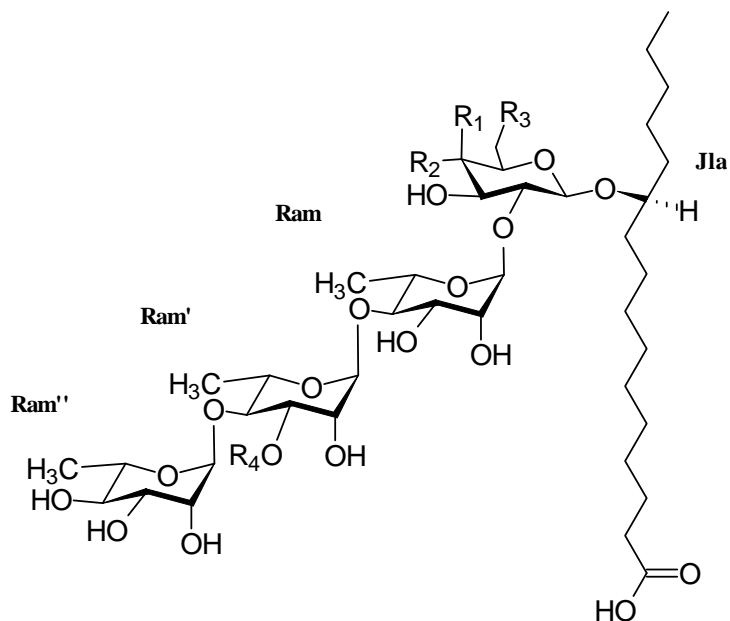


Figura 3. Estructura de la orizabina VIII ($R_1 = 2$ -metilbutanoilo y $R_2 = 2(E)$ -metilbutenoilo).

En la literatura se describen una gran cantidad de núcleos oligosacáridos en diversas especies de convolvuláceas. En *Ipomoea operculata* (Ono *et al.*, 1990a; 1991), los ácidos operculínicos A – G fueron generados como productos de hidrólisis básica de las operculinas I – XVIII. El ácido operculínico A (figura 4) se encuentra como constituyente oligosacárido de las resinas glicosídicas de las especies *Ipomoea stolonifera* (Noda *et al.*,

1994a), *Ipomoea quamoclit* (Ono *et al.*, 1992c), *Ipomoea intrapilosa* (Bah *et al.*, 2006) e *Ipomoea murucoides* (Chérigo y Pereda-Miranda, 2006). De la misma forma el ácido operculínico C también está presente en los glicolípidos de *I. batatas* (Noda *et al.*, 1992a) e *I. pes-caprae* (Escobedo-Martínez *et al.*, 2007).



	R₁	R₂	R₃	R₄
1	OH	H	H	Glu
2	H	OH	OH	Glu
3	OH	H	H	H

Figura 4. Ácidos operculínicos A (1), B (2) y C (3). Abreviaciones: Glu = glucosa, Ram = ramnosa, J1a = ácido 11 (*S*) – 11 - hidroxihexadecanoico.

Las glicorresinas de las especies *Ipomoea pes-caprae* (Pereda-Miranda *et al.*, 2005), *I. murucoides* (Chérigo y Pereda-Miranda 2006), *I. stolonifera* (Noda *et al.*, 1994a) e *Ipomoea batatas* (Noda *et al.*, 1992a) se encuentran estructuralmente relacionadas ya que también tienen en común la presencia de los núcleos pentasacáridos de los ácidos simónicos A y B, constituidos por α -L-6-desoximannosa (ramnosa), β -D-glucosa y β -D-6-desoxigalactosa (fucosa).

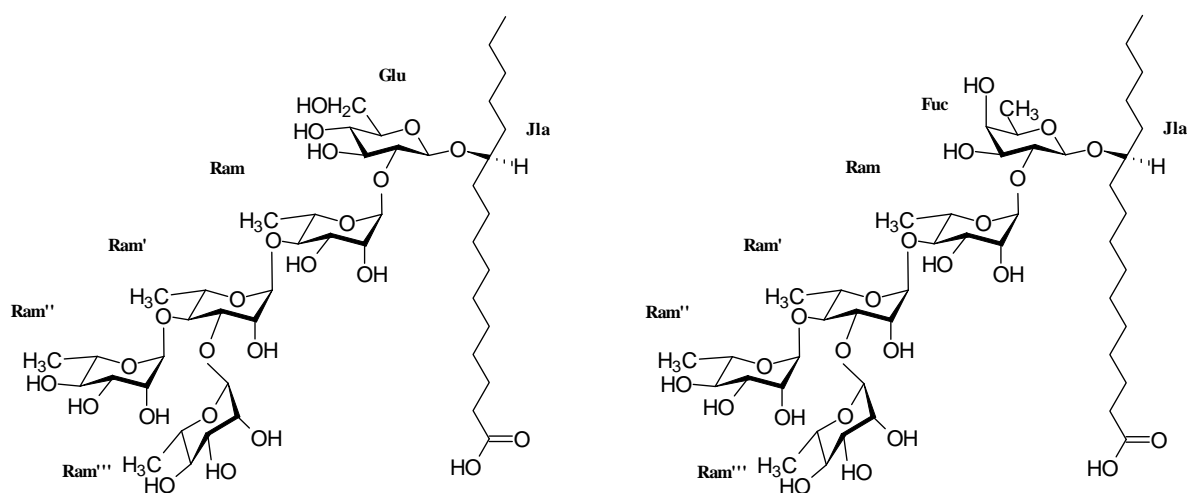


Figura 5. Ácidos simónicos A (izquierda) y B (derecha). Abreviaciones Fuc = fucosa, Glu = glucosa, Ram = ramnosa, J1a = ácido 11 (*S*)-hidroxihexadecanoico.

La diversidad en las estructuras de los glicolípidos de las diferentes especies de convulváceas hace que no sea posible establecer una correlación de tipo quimiosistemático. Sin embargo, al analizar los núcleos oligosacáridos principales (mayoritarios) en cada planta, se puede deducir lo siguiente: el ácido operculínico A caracteriza a *Ipomoea operculata* (Ono *et al.*, 1989a; 1989b; 1990a; 1990b) e *Ipomoea intrapilosa* (Bah y Pereda-Miranda, 2006), *Merremia hungaiensis* (Noda *et al.*, 1994b;

1995) y *Merremia mammosa* (Kitakawa *et al.*, 1989). Aún cuando *Merremia* es un género diferente a *Ipomoea*, existe una incertidumbre en la clasificación de las especies incluidas en estos géneros. Así por ejemplo, una de las especies estudiadas por el mismo grupo de investigadores, *Merrema tuberosa* (L.) Rendle (Ono *et al.*, 1993b), también se ha clasificado como *Ipomoea tuberosa* L.

Por lo tanto, es probable que en el caso de *Ipomoea operculata* existan diversas sinonimias. Otras especies estudiadas y que se han caracterizado por poseer núcleos oligosacáridos exclusivos son: *Pharbitis nil*, la cual probablemente corresponda a *Ipomoea nil* (L.) Roth, serie *Pharbitis* (ácido farbítico D) (Ono *et al.*, 1990b); *Ipomoea tricolor* Cav., sección *Tricolor* (ácido tricolórico A) (Pereda-Miranda *et al.*, 1993); *Ipomoea muricata* (L.) Jacq., sección *Calonyction* (ácido muricático A) (Noda *et al.*, 1988a; 1988b; 1988c). En el caso de las especies de *Ipomoea stans* e *Ipomoea orizabensis* que se encuentran en la misma serie *Tyrianthinae*, existe una diferencia entre sus núcleos oligosacáridos principales. Mientras que en la primera planta se describió el ácido escamónico A (Enríquez *et al.*, 1992; León-Rivera, 1998), en la segunda fue el ácido orizábico A (Noda *et al.*, 1990) (fig. 6).

Sin embargo en los estudios recientes de la especie mexicana de *Ipomoea orizabensis* (Sosa-Vásquez, 1994; Hernández-Carlos y Pereda-Miranda, 2000) se demostró que el núcleo oligosacárido principal es el ácido escamónico A como en el caso de *Ipomoea stans*. Lo anterior demuestra la necesidad de establecer de manera precisa la clasificación botánica de las especies sometidas a investigación química.

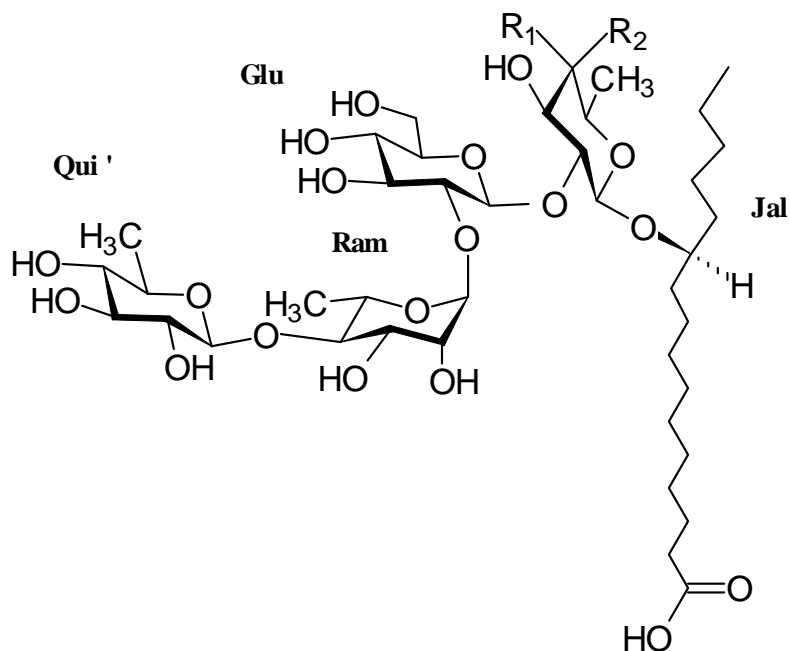


Figura 6. Estructura de los ácidos escamónico A ($R_1 = \text{OH}$ y $R_2 = \text{H}$) y orizábico A ($R_1 = \text{H}$ y $R_2 = \text{OH}$) obtenidos de *Ipomoea orizabensis* e *Ipomoea stans*, respectivamente.

Posterior a la revisión hecha por Bah (1997), que describió los glicolípidos aislados hasta esa fecha, se han caracterizado compuestos adicionales de esta naturaleza y como parte complementaria al proyecto principal de la presente investigación, a continuación se presentan algunos datos interesantes sobre estos compuestos.

2.3.1 Resinas pentasacáridas de *Merremia mammosa*

Se ha reportado la caracterización química de trece resinas glicosídicas obtenidas a partir del extracto clorofórmico del tubérculo fresco de *Merremia mammosa*.

Estos estudios se iniciaron desde hace algunos años por el grupo de Kitagawa (1988; 1989; 1996a; 1996b) cuando se aislaron los primeros nueve merremósidos. Así en las primeras publicaciones se menciona la interesante actividad ionofórica de los compuestos presentes en estas resinas y más recientemente la existencia de otras cuatro resinas de estructura novedosa; los mamósidos A, B, H₁ y H₂ (Kitagawa *et al.*, 1997).

Sin embargo, la elucidación estructural de estos compuestos se efectuó recientemente (Kitakawa *et al.*, 1997), a partir de lo cual se elucidó un núcleo pentasacárido novedoso presente en los merremósidos f, g (fig. 7), h₁ y h₂ (fig.8) mientras que los mamósidos H₁ y H₂ (figura 9) poseen el núcleo pentasacárido ya conocido que es el ácido operculínico B (también se elucidó un tetrasacárido nombrado mamósido I). Las técnicas de análisis principales que fueron aplicadas para la elucidación estructural de los glicolípidos incluyeron la espectrometría de masas FAB, su variante SIMS, el análisis de los productos y la síntesis de uno de los ácidos glicosídicos (mamósido I) a partir del (11S)-jalapinolato de metilo.

La secuencia de glicosidación en los compuestos se estableció a través de la metilación del ácido glicosídico respectivo seguida de la metanólisis para formar los monosacáridos metilados en las posiciones hidroxílicas libres. Es importante mencionar que aún cuando en la actualidad existe metodología en la RMN para lograr la elucidación estructural de estos glicolípidos, esta investigación se basó exclusivamente en los métodos degradativos tradicionales y de síntesis.

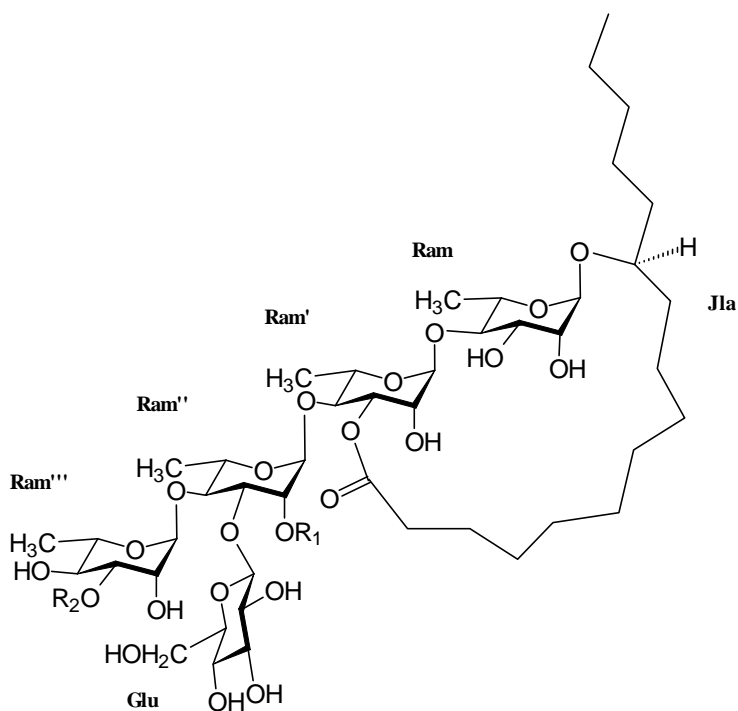


Figura 7. Merremósido f ($R_1 = (2S)$ - metilbutanoílo, $R_2 =$ isobutanoílo) y Merremósido g ($R_1 = R_2 =$ isobutanoílo).

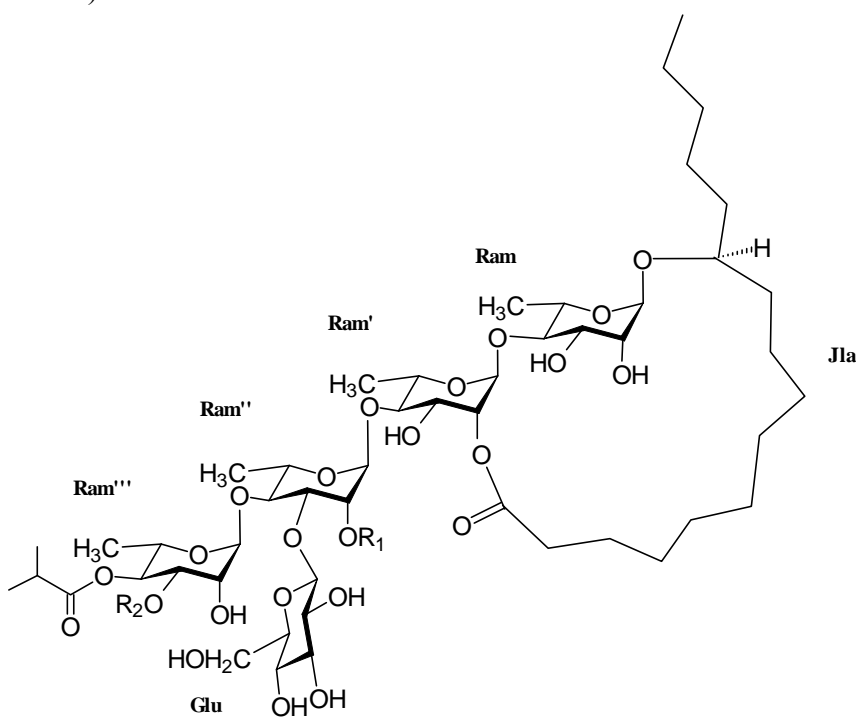


Figura 8. Mamósido h_1 : $R_1 = (2S)$ - metilbutanoílo, $R_2 =$ isobutanoílo y Merremósido h_2 ($R_1 = R_2 =$ isobutanoílo).

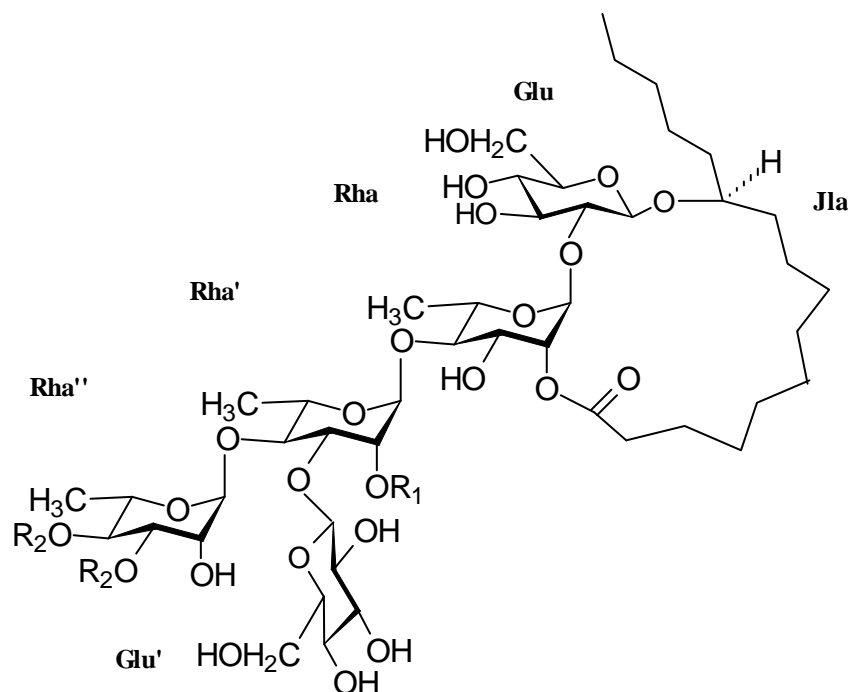


Figura 9. Mamósido H₁: R₁= (2S)-2- metilbutanoílo, R₂= isobutanoílo y Mamósido H₂ (R₁= R₂= isobutanoílo).

2.3.2 Multifidinas I y II

De la jalapina de las hojas de *Quamoclit x multifida*, planta decorativa que es un híbrido de *Quemoclit pennata* (L.) Bojer (*Ipomoea* (I.) *quamoclit* L.) y *Q. Coccinea* Moench (*I. hederifolia*), 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, entre los que se identificó un ácido glicosídico conocido como el ácido quamoclínico A (Noda *et al.*, 1994b; Ono *et al.*, 1992b). Los ácidos multifidínicos A y B se obtuvieron como pentasacáridos novedosos con las mismas unidades monosacáridas y secuencia de glicosidación (fig. 10), pero diferente aglicona; el ácido multifidínico A es un glicósido del ácido convolvulinólico mientras que el ácido multifidínico B es un glicósido del ácido

jalapínico. La elucidación estructural de estos compuestos se hizo empleando métodos químicos, y análisis tanto de RMN bidimensional como de espectrometría de masas mediante bombardeo con átomos acelerados (Ono *et al.*, 1997).

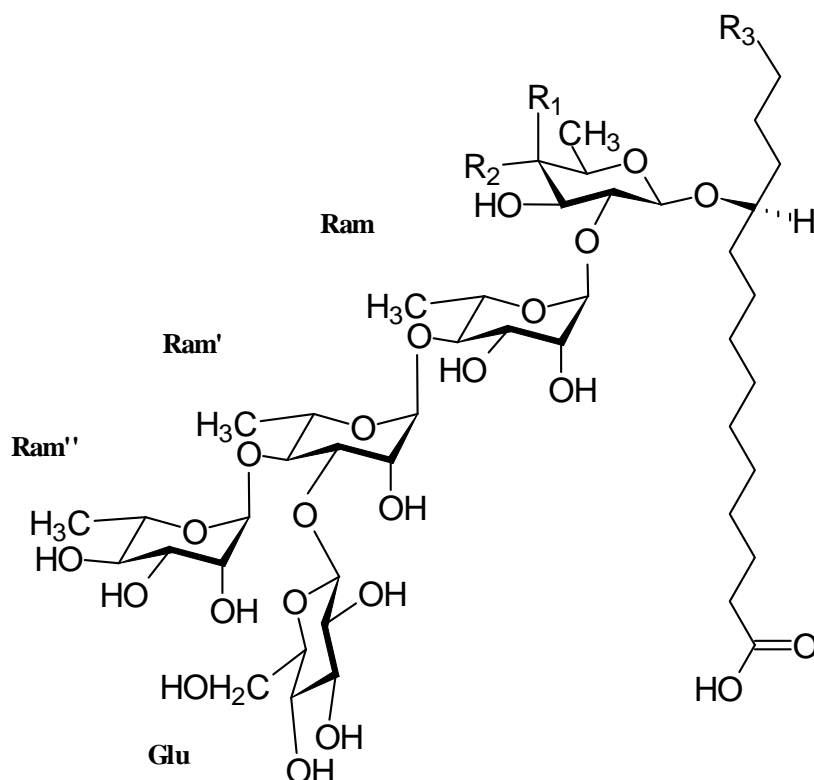


Figura 10. Ácidos multifidínicos: A ($R_1 = R_3 = H$, $R_2 = OH$) y B ($R_1 = H$, $R_2 = OH$, $R_3 = C_2H_5$). Ácido quamoclínico: $R_1 = OH$, $R_2 = H$, $R_3 = C_2H_5$.

2.3.3 Pentasacárido de *Convolvulus microphyllus*

Hildebert Wagner y Gerald Schwarting reportaron en 1997 la estructura de un nuevo pentasacárido (figura 11) obtenido a partir de la saponificación de la jalapina extraída de *Convolvulus microphyllus* por medio de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas de los azúcares derivados de la hidrólisis ácida del glicósido.

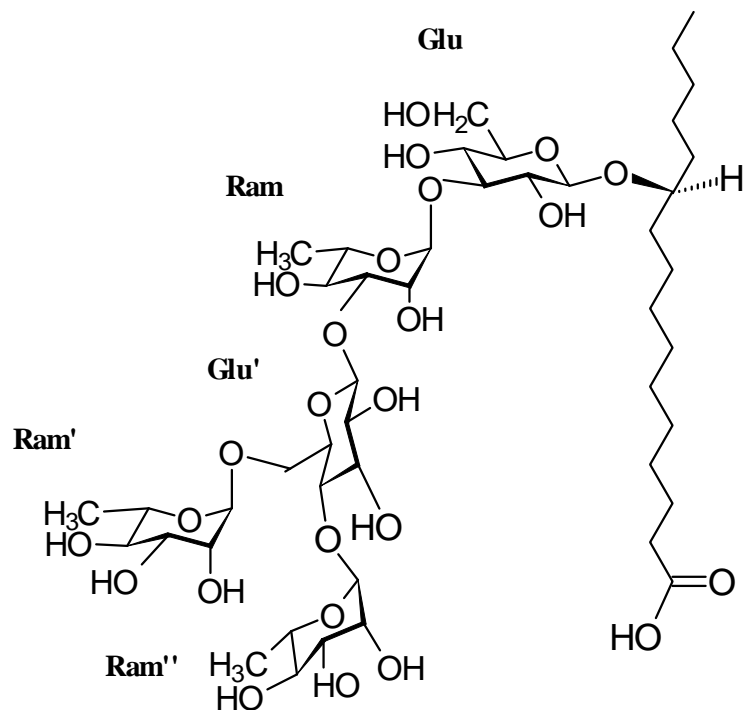


Figura 11. Estructura del ácido microfílico obtenido de la jalapina de *Convolvulus microphyllus*.

2.3.4 Pentasacáridos de *Ipomoea tuberosa* y *Pharbitis nil*

La hidrólisis alcalina de las resinas obtenidas a partir de la fracción insoluble en éter o “convolvulina” generó tres ácidos orgánicos; (2*S*)-2-metilbutanoico, (2*R*, 3*R*)-nílico, así como tíglico, y un nuevo glicósido nombrado como ácido farbítico B, junto con los dos ya conocidos ácidos farbíticos C y D. El ácido C es un núcleo pentasacárido.

Estos ácidos glicosídicos tienen como aglicona al ácido ipurólico que es el (3*S*, 11*S*)-3,11-dihidroxihexadecanoico. Su estructura se elucidó mediante el empleo de RMN y EM (Ono *et al.*, 1990).

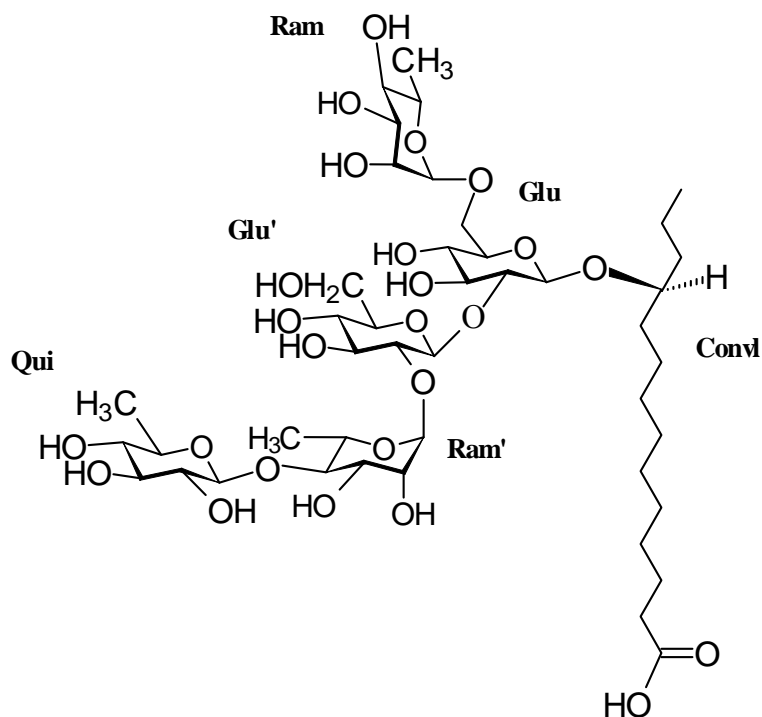


Figura 12. Estructura molecular del ácido farbítico C (Conv1 = ácido convolvulinólico).

Dos nuevas resinas glicosídicas llamadas woodrosinas I y II se aislaron de la fase insoluble en éter (convolvulina) extraída de los tallos de *Ipomoea tuberosa*. La hidrólisis alcalina de ambas woodrosinas proporcionó ácido (2*S*)-2-metilbutanoico y el glicósido pentasacárido nombrado como ácido woodrosinico A.

La hidrólisis ácida generó en una mezcla de ácido jalapinólico y de los azúcares ramnosa y glucosa. Sus estructuras también se determinaron a partir de la espectroscopía de RMN y espectrometría de masas.

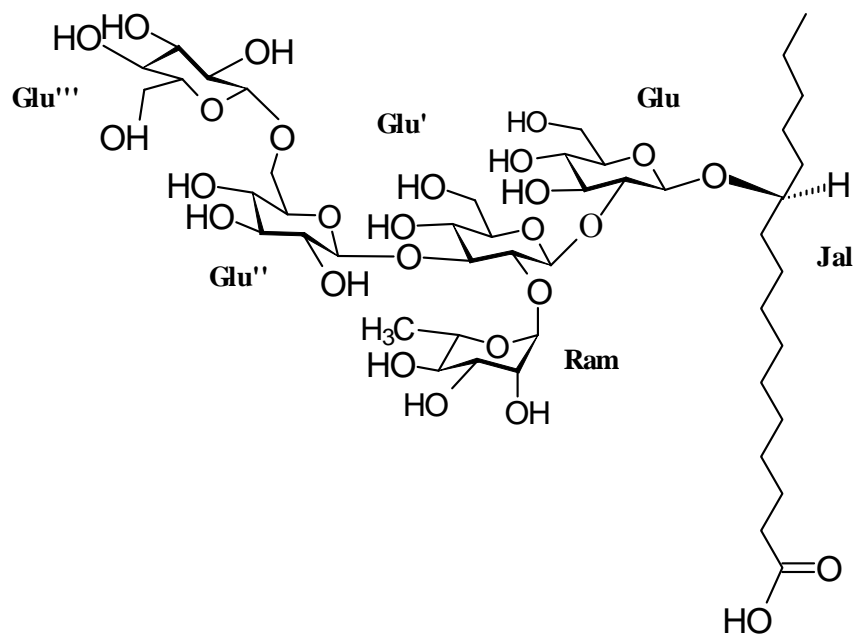


Figura 13. Estructura del ácido woodrosínico A.

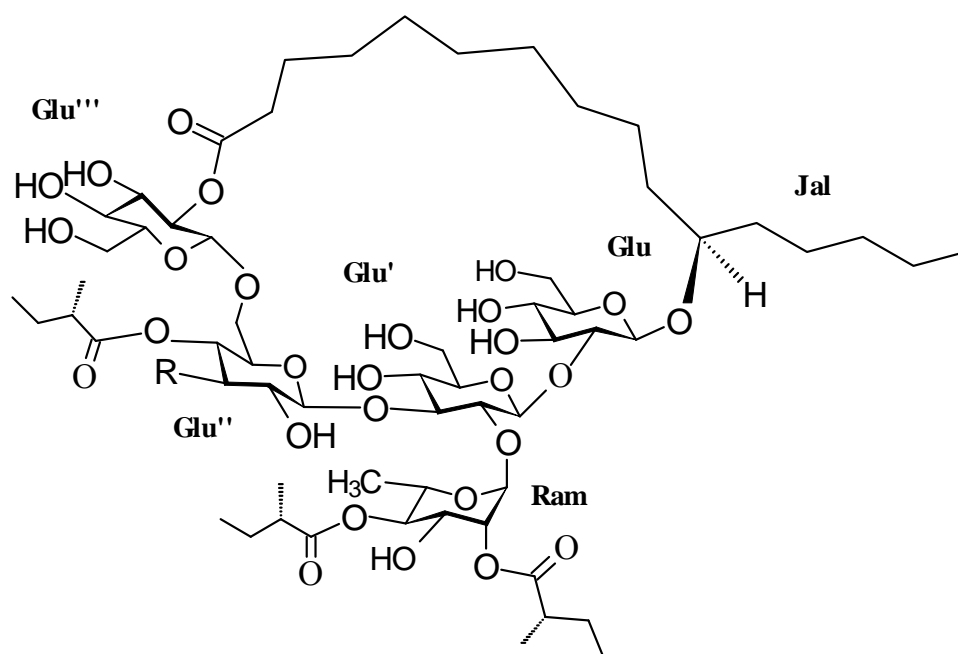
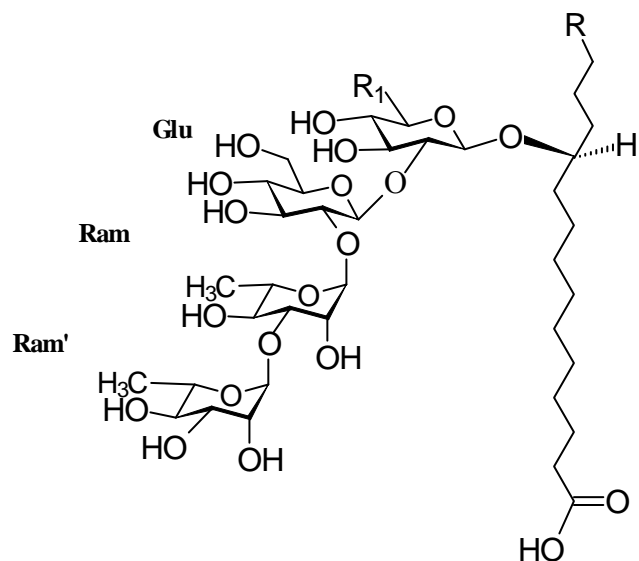


Figura 14. Estructura de las woodrosinas I (R = Mba) y II (R = Iba).

Es importante aclarar, que la diversidad en las estructuras de los glicolípidos en las diferentes especies hace que no sea posible establecer una correlación de tipo quimiosistemático. Así aún cuando el género *Merremia* es un género diferente a *Ipomoea*, existe una incertidumbre en la clasificación de las especies incluidas en estos géneros, por ejemplo, una de las especies estudiadas por el mismo grupo de investigadores, *Merremia tuberosa* (L.) Rendle (Ono *et al.*, 1993b), también se ha clasificado como *Ipomoea tuberosa*, así también, *Pharbitis nil*, probablemente corresponda a *Ipomoea nil* (L.) Roth, serie *Pharbitis* (ácido farbítico D) (Ono *et al.*, 1990b). Por lo tanto, es probable que de la misma forma también exista sinonimia para *Ipomoea operculata*.

2.3.5 Componentes de *Cuscuta chinensis* y *Cuscuta australis*

De las hojas de *Cuscuta chinensis* se describió el aislamiento de los glicósidos Cus-1 y Cus-2 a partir de la jalapina (Miyahara, *et al.*, 1996). Sin embargo, en el estudio de la convolvulina, sólo se lograron identificar los núcleos oligosacáridos como productos de degradación debido a las dificultades en la separación que presentaron estas mezclas complejas. Un indicio sobre la composición de las mismas se obtuvo a partir de los iones generados del espectro de masas MALDI – TOF (Costello *et al.*, 1997; Baldwin, 1995). Como productos de hidrólisis básica de la convolvulina de *Cuscuta chinensis*, se identificaron los ácidos cuscúticos A – D (figura 15) y los ácidos acético, (2*S*) – 2 – metilbutanoico, (2*R*, 3*R*) 3-hidroxi-2-metilbutanoico y el trisacárido O – 6 – desoxi - α - L – manopiranosil (1 \rightarrow 3) – O – 6 – desoxi - α - L – manopiranosil – (1 \rightarrow 2) – D – glucopiranosido.



A: $R = H$, $R_1 = CH_2OH$; B: $R = R_1 = H$, C: $R = H$, $R_1 = CH_3$ y D: $R = C_2H_5$, $R_1 = CH_2OH$
Figura 15. Ácidos cuscúuticos A – D.

Recientemente se discutió la dificultad para lograr la separación de los constituyentes individuales presentes en las mezclas de las resinas glicosídicas de la convolvulina de *Ipomoea lonchophylla* (MacLeod y Ward, 1997) y de *Cuscuta australis* (Du *et al.*, 1999). En la convolvulina de esta última planta, los iones pseudomoleculares obtenidos por MALDI TOF indicaron la presencia de compuestos con un peso molecular de hasta 5580 Daltons. Dentro de los componentes obtenidos como productos de degradación, además de los ácidos 2 – metilpropanoico, 2(*E*) – metilbutanoico, (2*S*) – 2 – metilbutanoico y (2*R*, 3*R*) – 3 – hidroxí – 2 – metilbutanoico, se identificaron los ácidos cuscúuticos A₁ – A₃, en donde el primero de ellos correspondió al ya descrito en la tricolorina G y H de *Ipomoea tricolor* (Du *et al.*, 1999) (fig. 16).

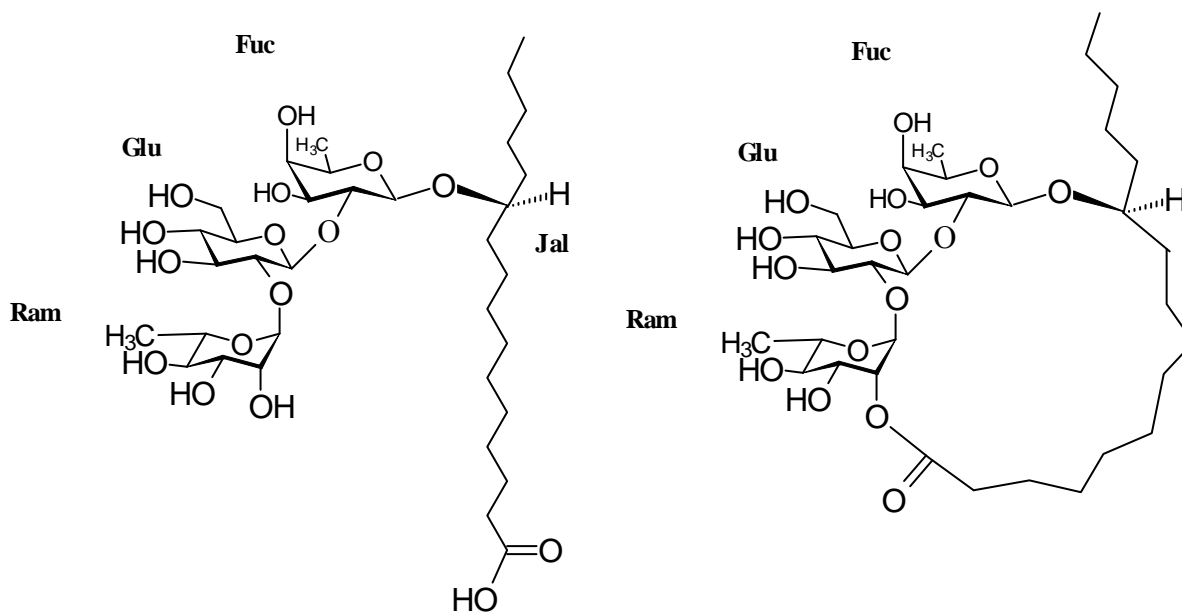


Figura 16. Estructura del ácido cuscutico A₁ (*Cuscuta australis*) y de la tricolorina G (*Ipomoea tricolor*).

La existencia de estos glicolípidos en forma de oligómeros fue una propuesta hecha inicialmente por Mannich y Schumman (1938), al considerar que las resinas glicosídicas de *Exogonium purga* (*Ipomoea. purga*) representaban mezclas complejas de oligómeros de un ácido glicosídico esencial. Los resultados obtenidos en estas especies del género *Cuscuta*, además de los dímeros merremina I (Noda *et al.*, 1995) (fig. 17) y las tricolorinas H – J (Bah y Pereda-Miranda, 1997) (fig. 18) representan ejemplos adicionales que permitieron apoyar esta postulación.

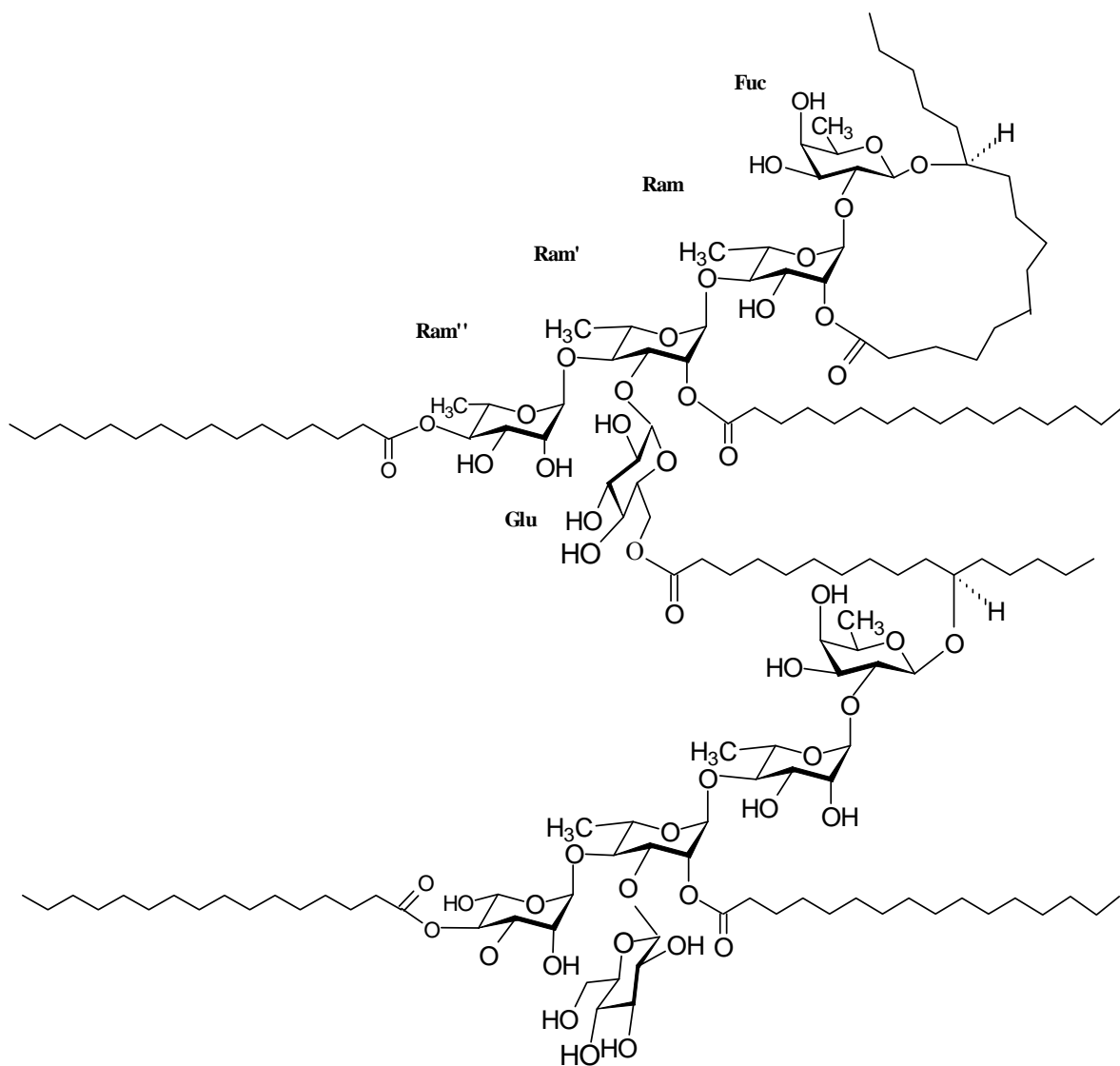
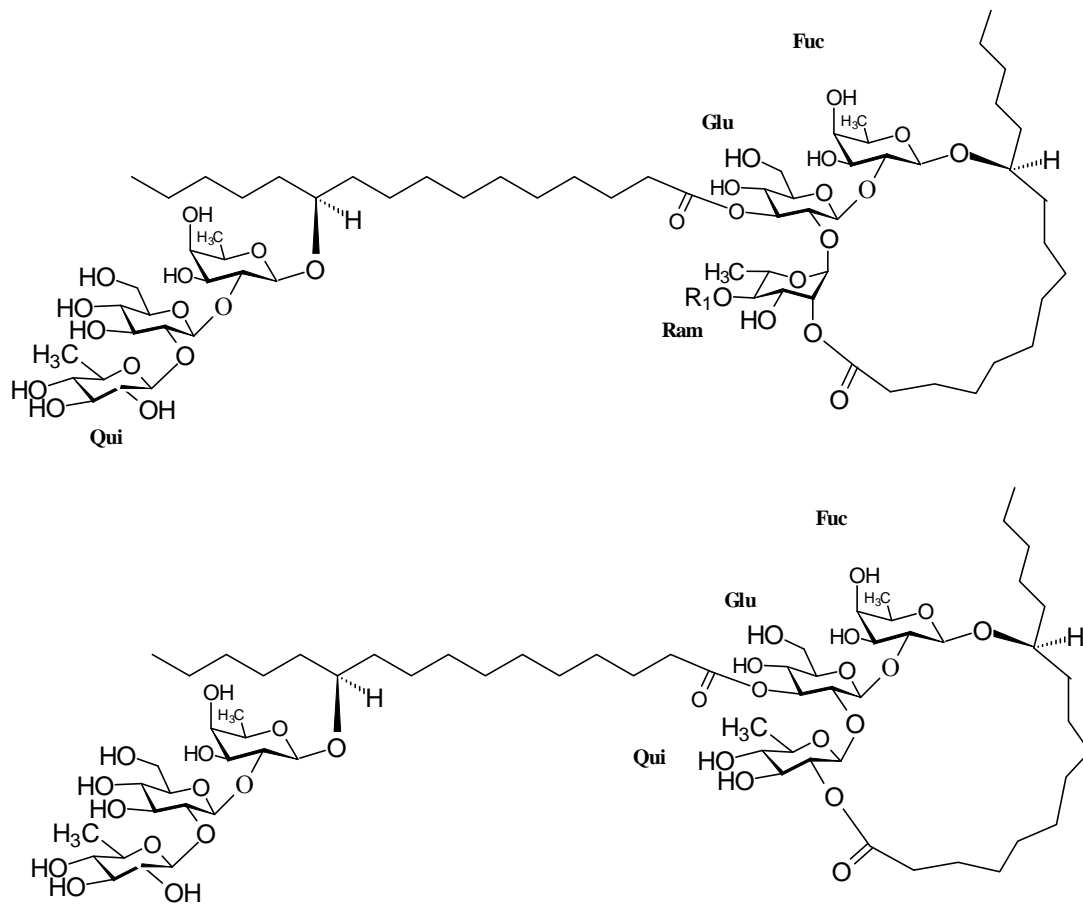


Figura 17. Estructura de la merremina I aislada de *Merremia hungaiensis*.



Donde R₁ = 2-metilbutanoílo.

Figura 18. Estructuras diméricas aisladas de *Ipomoea tricolor*; tricolorina – H (Superior) y tricolorina I (Inferior).

2.3.6 Resinas glicosídicas de *Ipomoea stolonifera*

De la planta rastrera *Ipomoea stolonifera*, una enredadera que crece en las dunas costeras, fueron aislados diez pentasacáridos, nombrados como las **estoloniferinas I a X** (figuras 19 y 20) cuyo núcleo oligosacárido mayoritario es el ácido simónico B. También se aislaron 2 tetrasacáridos, nombrados como las estoloniferinas XI y XII (figura 21) y la hidrólisis alcalina de estas resinas proporcionó al ácido operculínico C (Noda *et al.*, 1994a, 1998) como su constituyente oligosacárido principal.

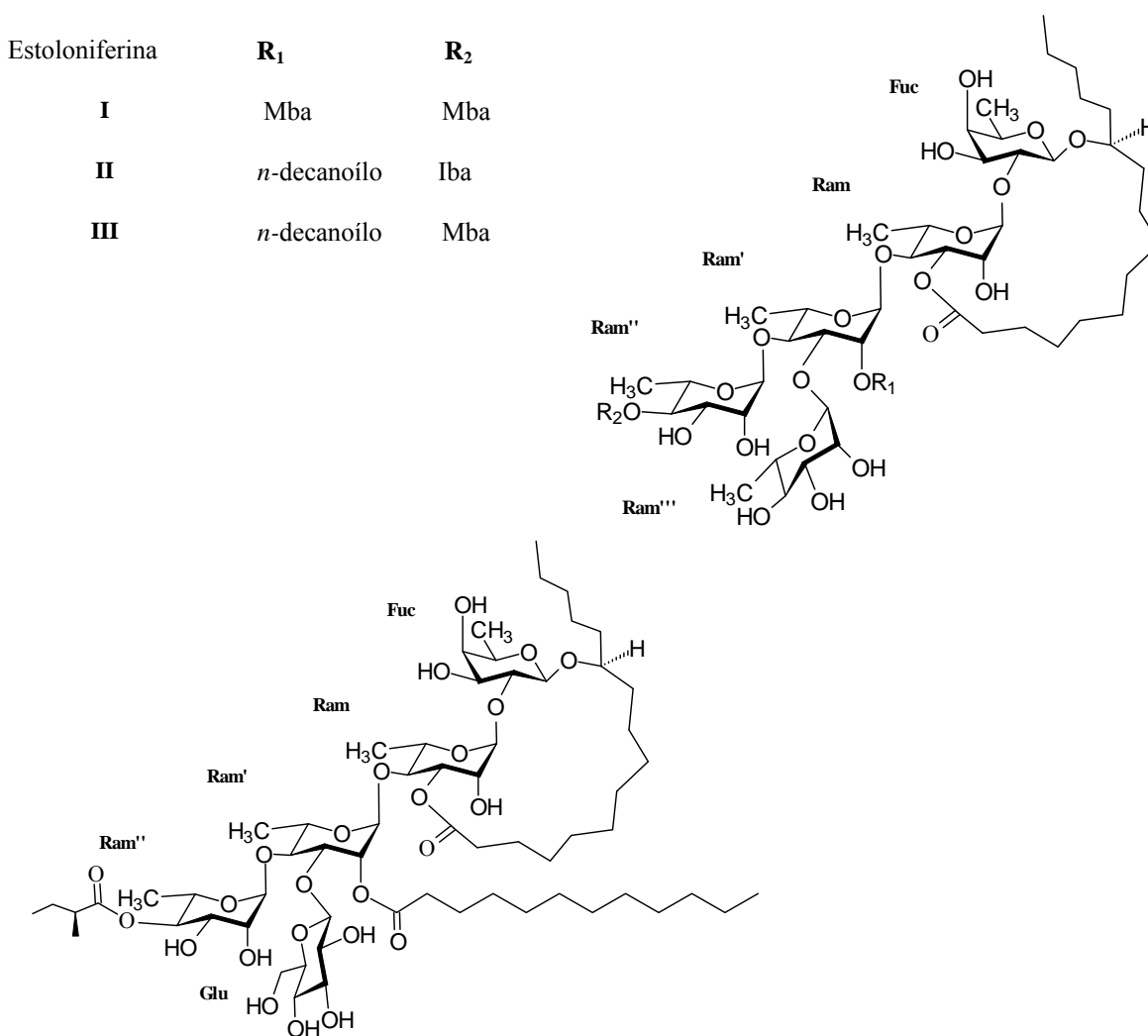


Figura 19. Estructura de las estoloniferinas I – III y IV. Abreviaciones: Mba = 2(*S*)-2-metiobutanoílo, Iba = 2-metilpropanoílo.

Estoloniferina

 R_1

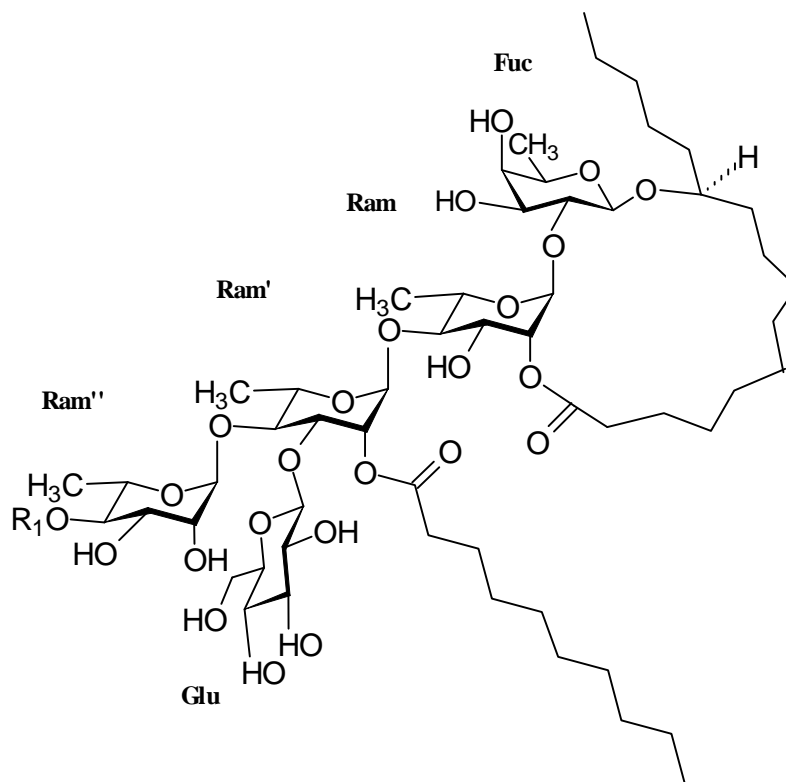
V

Mba

VI

n-hexanoílo

VII

n-octanoílo

Estoloniferina

 R_1

VIII

n-octanoílo

IX

n-decanoílo

X

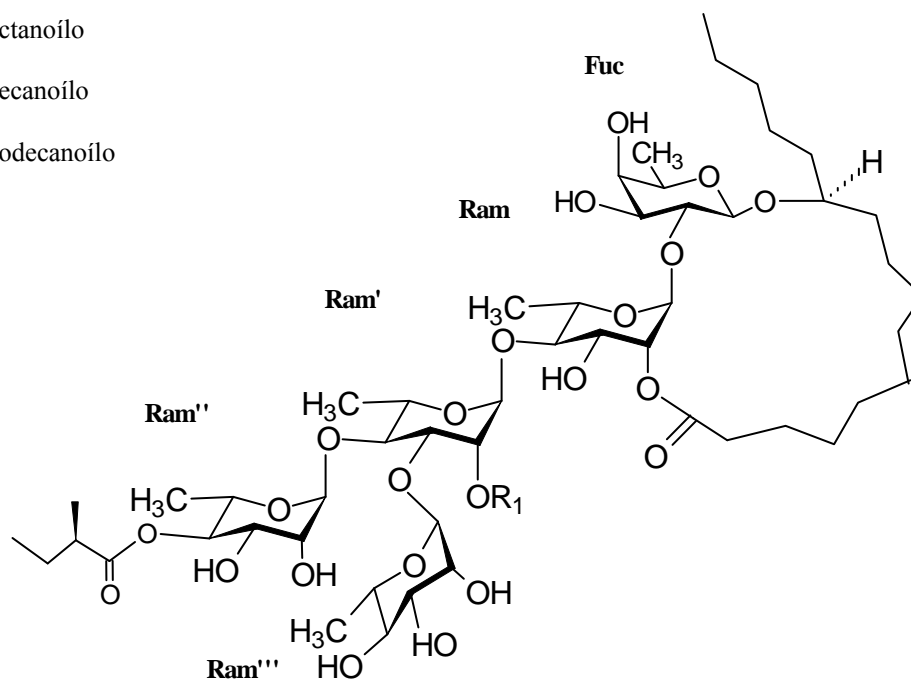
n-dodecanoílo

Figura 20. Estructura de las estoloniferinas V – X.

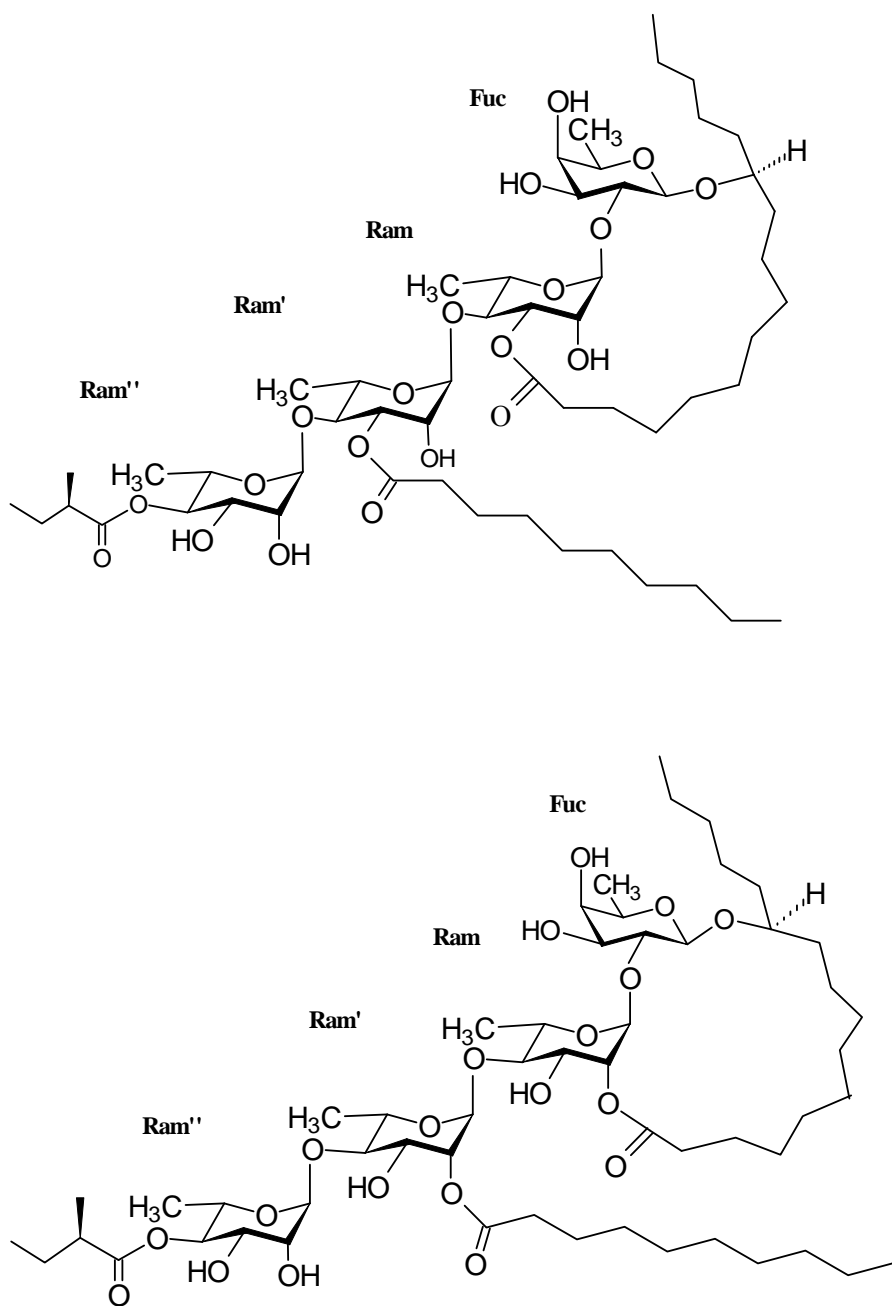


Figura 21. Estructura de las estoloniiferinas XI y XI.

2.3.7 Resinas glicosídicas de *Ipomoea batatas*

La especie *Ipomoea batatas* (“camote”) constituye un alimento tradicional de México y también forma de parte de su medicina herbolaria . El primer estudio sobre las resinas glicosídicas de esta especie que se conoce fue realizado en Japón en 1992, en el cual se describe el aislamiento a partir de la fracción resinosa soluble en éter (jalapina) de cinco glicolípidos; un tetrasacárido del ácido operculínico C y cuatro pentasacáridos del ácido simónico B, son las **Simoninas I – V** (figuras 22 y 23), representando la simonina I el primer glicolípido de esta naturaleza, sustituido con un ácido aromático, el ácido cinámico (Noda *et al.*, 1992a).

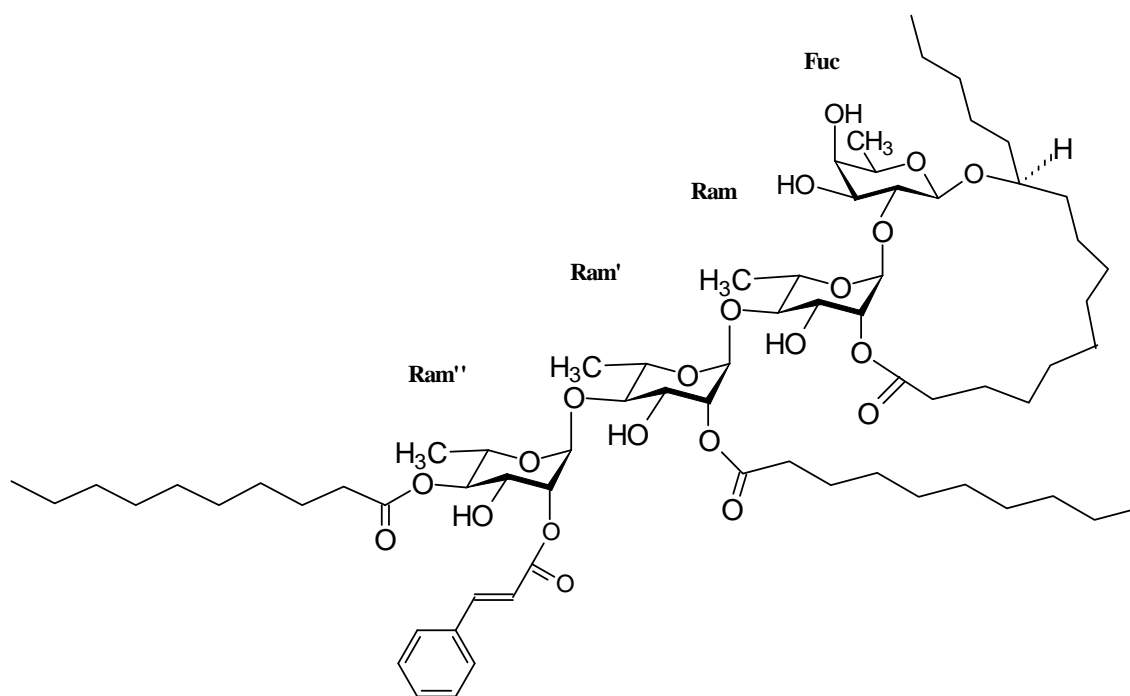
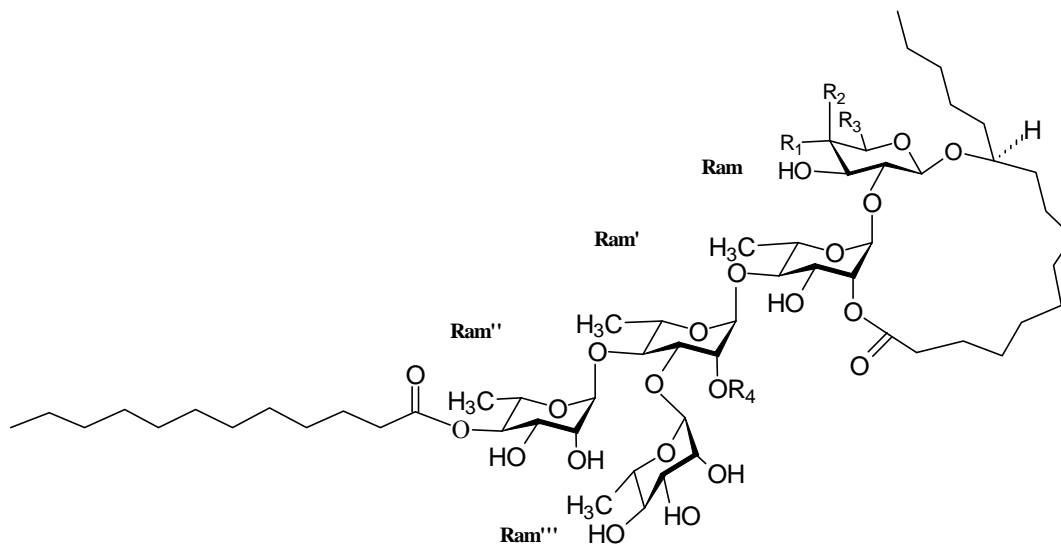


Figura 22. Estructura de la simonina I.



Simonina	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
II	OH	H	CH ₂ OH	mba
III	H	OH	CH ₃	mba
IV	H	OH	CH ₃	deca
V	H	OH	CH ₃	octa

Figura 23. Estructura de las simoninas II – V. Abreviaciones: mba = metilbutanoílo, octa = *n*-octanoílo, deca = *n*-decanoílo.

2.3.8 Resinas glicosídicas de *Ipomoea leptophylla*

El extracto soluble orgánico de la hojas de la planta *Ipomoea leptophylla* nativa de América del Norte (Canadá, Estados Unidos y México) mostró actividad *in vitro* contra *M. tuberculosis*. El fraccionamiento biodirigido del extracto metanólico-clorofórmico resultó en el aislamiento e identificación de dos nuevas resinas glicosídicas, llamadas **leptofilina A** y **B** (figura 24). La hidrólisis básica de estos glicolípidos permitió la generación del ácido operculínico A como el ácido glicosídico, así como la liberación de los residuos acilantes que correspondieron al ácido cinámico, propanoico y láurico. La elucidación de las estructuras completas se logró a través de derivatizaciones, espectroscopía unidimensional y bidimensional (TOCSY, ROESY, HSQC y HMBC) y experimentos de espectrometría de masas (Barnes *et al.*, 2003).

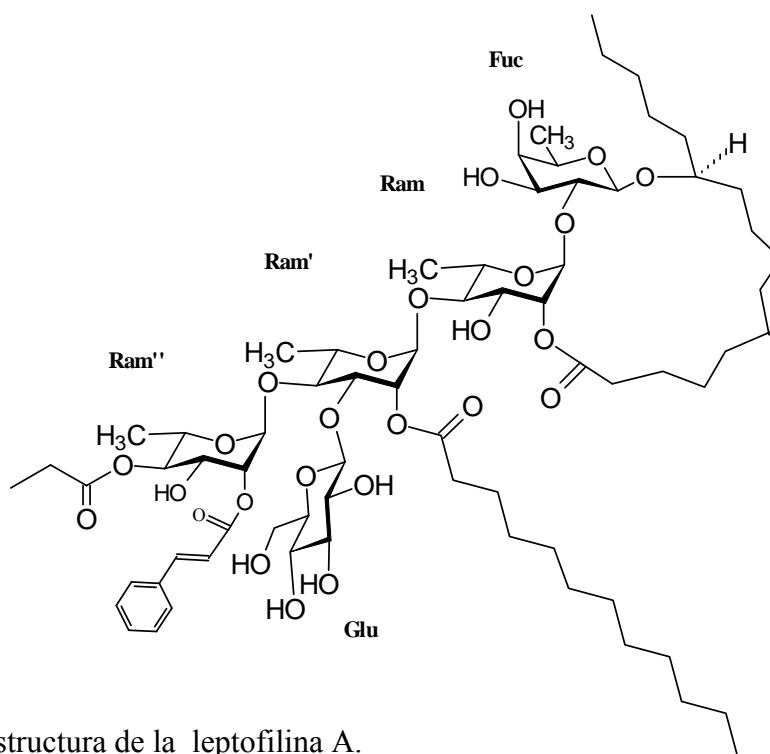


Figura 24. Estructura de la leptofilina A.

2.3.9 Resinas glicosídicas de *Ipomoea murucoides*

Ipomoea murucoides es un árbol de flores blancas que crece en el sureste y centro de México. Esta especie es conocida en varios estados de México como “cazahuate”. Algunas comunidades usan el humo de los árboles quemados como repelente contra mosquitos. Las infusiones acuosas de las hojas, corteza y flores son utilizadas como un antiinflamatorio y contra picaduras de alacranes. Pérez Amador y colaboradores (1992) ya habían detectado la presencia de resinas glicosídicas en las semillas y hojas. Estudios del contenido de las resinas glicosídicas presentes en las raíces dieron como resultado el aislamiento y la caracterización de cinco pentasacáridos del ácido jalapínico, llamados **murucinas 1 – 5** (figura 25) (León *et al.*, 2005).

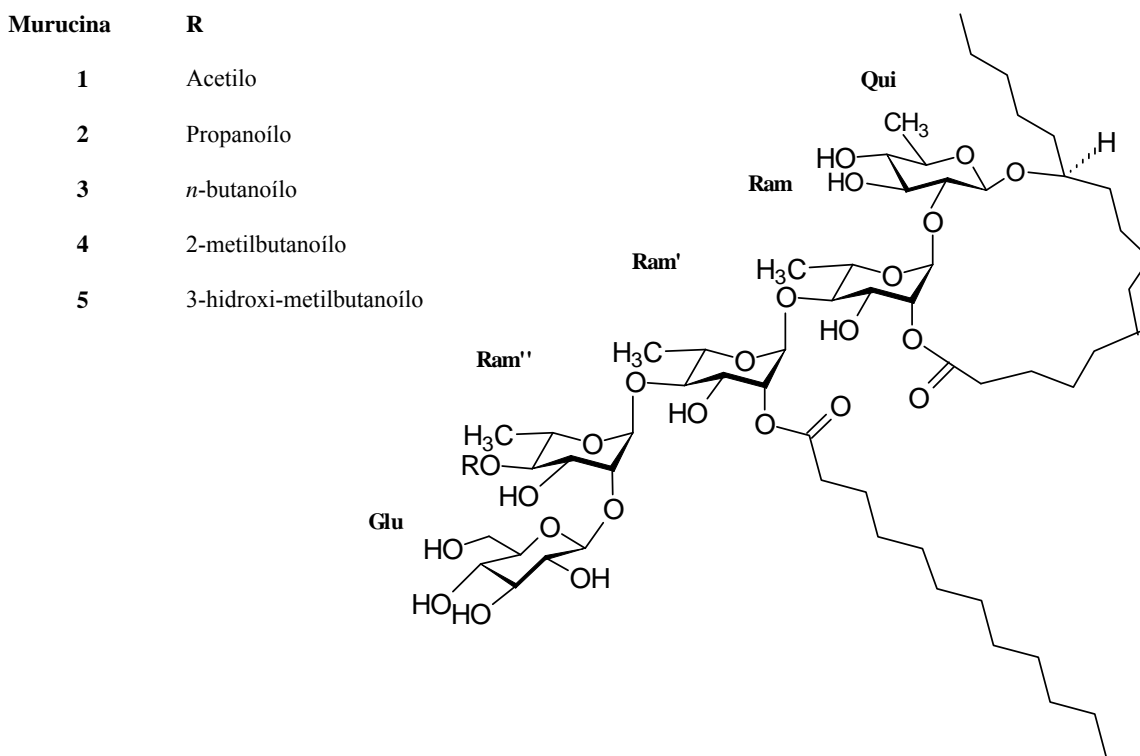


Figura 25. Estructura de las murucinas 1 – 5.

El estudio del extracto clorofórmico de las flores del cacahuete de Morelos (*Ipomoea murucoides*) a través de cromatografía líquida de alta eficacia proporcionó las **murucoidinas I – V** (figuras 26 y 27), pentasacáridos del ácido jalapínico. La saponificación del extracto proporcionó dos ácidos glicosídicos ya conocidos, los ácidos simónico B y el ácido operculínico A, sus residuos de esterificación estuvieron compuestos por ácidos grasos de cadena corta, como el ácido 2-metilpropanoico y el ácido 2(S)-metilbutanoico. Todos los compuestos fueron caracterizados a través de espectroscopía de resonancia magnética nuclear (Chérigo y Pereda-Miranda, 2006).

Murucoidina **R₁**

I H

II 2-metilpropanoilo

III 2(S)-2-metilbutanoilo

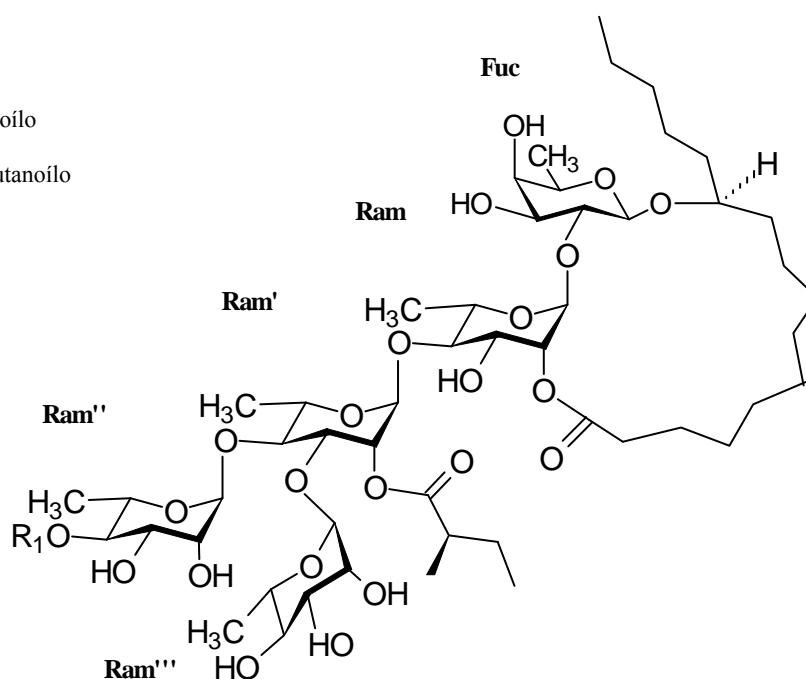


Figura 26. Estructura de las murucoidinas I – III.

2.3.11 Resinas glicosídicas de *Ipomoea pes-caprae*

Ipomoea pes-caprae, conocida en México como “riñonina”, se prescribe por los curanderos tradicionales para curar el “calor” en un riñón afectado. Se utiliza en forma de infusiones para afecciones urinarias, hipertensión, parasitosis intestinales e inflamación. A partir del extracto soluble hexánico de las partes aéreas de la planta y mediante el empleo de la CLAE se aislaron e identificaron 11 nuevos oligosacáridos lipofílicos del ácido jalapinólico: los **pescaprósidos A y B** y las **pescapreínas I – IX** (Pereda-Miranda *et al.*, 2005 y Escobedo-Martínez *et al.*, 2007). La saponificación de la mezcla cruda de resinas glicosídicas proporcionó el ácido simónico B como el ácido glicosídico mayoritario (ácido operculínico C en la **pescapreína V**) mientras que los residuos de esterificación de los oligosacáridos naturales estuvieron compuestos por cinco ácidos orgánicos: 2-metilpropanoico, 2-metilbutanoico, *n*-hexanoico, *n*-decanoico y *n*-dodecanoico.

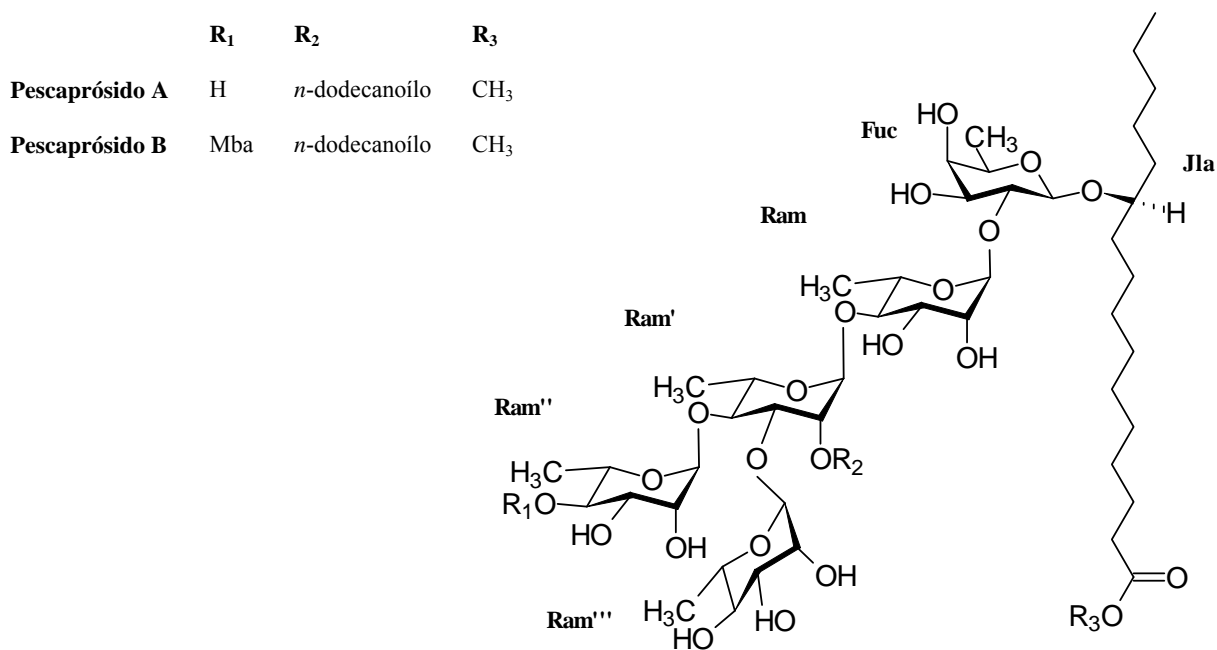
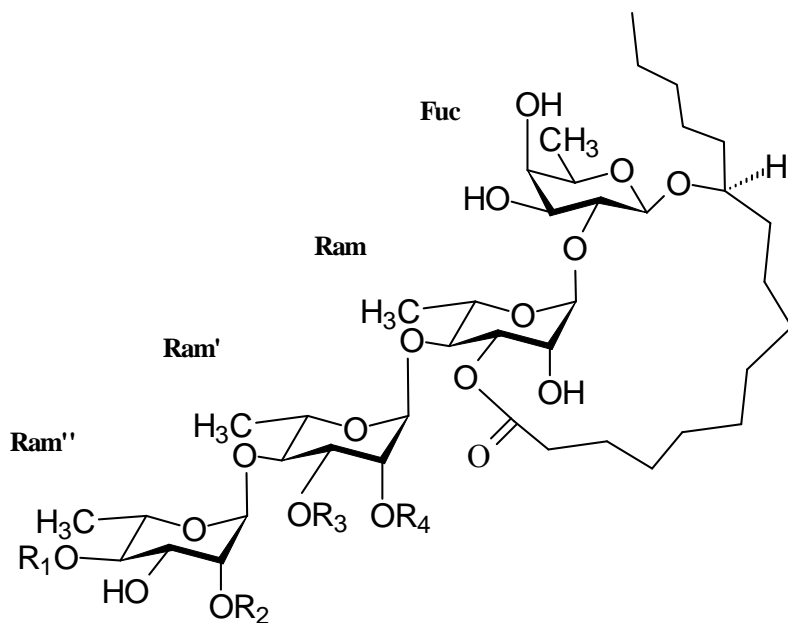


Figura 29. Estructura de los pescaprósidos A y B.



Pescapreína	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
I	H	H	Ram	<i>n</i> -dodecanoílo
II	iba	H	Ram	<i>n</i> -dodecanoílo
III	mba	H	Ram	<i>n</i> -dodecanoílo
IV	<i>n</i> -hexanoílo	H	Ram	<i>n</i> -dodecanoílo
V	mba	H	H	<i>n</i> -dodecanoílo
VI	H	<i>n</i> -dodecanoílo	mba	H
VII	H	H	Ram	<i>n</i> -decanoílo
VIII	<i>n</i> -dodecanoílo	H	Ram	iba
IX	<i>n</i> -hexanoílo	H	Ram	<i>n</i> -decanoílo

Figura 30. Estructura de los pescapreínas I - IX. Abreviaciones: mba = 2(*S*)-metilbutanoílo, iba = 2-metilpropanoílo y Ram = α -L-ramnosa.

2.4 Jalapas Mexicanas con actividad purgante

Desde la época colonial se ha reconocido que existe un conjunto numeroso de plantas medicinales mexicanas de la familia de las convolvuláceas, cuya efectividad ha hecho posible que estos remedios herbolarios sean ampliamente utilizados en la medicina alternativa de otros países. Su descripción etnobotánica se atribuye generalmente, a las observaciones efectuadas por los médicos galénicos y los sacerdotes evangelizadores que llegaron a México con los colonizadores españoles del siglo XVI, quienes se sintieron interesados por la fuerte actividad purgante, catártica y antiinflamatoria que estas plantas ejercían en quienes de diferentes maneras las consumían. Pronto sus propiedades medicinales fueron difundidas y relacionadas con las virtudes terapéuticas de la especie mediterránea *Convolvulus scammonia*, cuya actividad purgante y antiparasitaria ya había sido descrita en la literatura europea antigua (i.e. *De Materia Medica* 50-78 A.C.), misma que reúne información de otras especies de convolvuláceas nativas de Europa, tales como *C. arvensis*, *C. sepium* y *Callistegia soldanella*, cada una de las cuales también posee propiedades semejantes a las de las especies de México, lo cual favoreció rápidamente la introducción y el comercio de las convolvuláceas mexicanas en el viejo continente.

Los remedios purgantes utilizados por los aztecas en México, consistían principalmente en extractos vegetales obtenidos de los tubérculos o raíces de estas plantas que fueron nombradas colectivamente como “cacamótic tlanquiloni”, término que significa “raíces purgantes” según lo describe el médico español Dr. Francisco Hernández enviado por Felipe II a la Nueva España para registrar su historia natural (Hernández, 1959). En la literatura, los miembros de este complejo medicinal se han asignado taxonómicamente como pertenecientes al género *Ipomoea* de la familia *Convolvulaceae*, y

está constituido por las especies *Ipomoea purga* (Wender) Hayne, *Ipomoea orizabensis* (Pelletan), *Ipomoea stans* Cav., *Ipomoea jalapa* (L.) Pursh, *Ipomoea batatas* (L.) Lam, e *Ipomoea simulans* Hanbury, entre otras (Pereda-Miranda *et al.*, 2006).

Asimismo, el término “jalapa” fue utilizado por los colonizadores españoles para designar a las plantas con propiedades purgantes o laxantes que utilizaban los nativos de México para “purificar sus cuerpos” (Martínez, 1969). La identificación precisa de la raíz de jalapa auténtica, es decir, la especie dominante dentro de este complejo de plantas medicinales es un tema de discusión entre los etnobotánicos y los antropólogos contemporáneos. Sin embargo, se acepta que correspondió a la especie *Ipomoea purga* que crece en las regiones cercanas a la población de Xalapa, Veracruz. Una ilustración del Códice de la Cruz-Badiano (1552) representa una enredadera prescrita por los curanderos aztecas como purificador del cuerpo por sus propiedades purgantes y su descripción terapéutica es similar a la proporcionada por Hernández para el “cacamótic tlanquiloni” lo que sugiere su identificación como la raíz de jalapa (Emmart, 1940; Miranda y Valdés, 1964).

El manuscrito De la Cruz-Badiano de 1552 también conocido como “*El libro de las hierbas medicinales indias*” (*Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*), es el registro más antiguo sobre prácticas médicas de Mesoamérica que se conoce y representa un tratado de los remedios herbolarios aztecas, en el que se estima la descripción de 500 plantas medicinales mexicanas junto con sus propiedades terapéuticas respectivas, entre las que están incluidas las de 7 especies de convolvuláceas, ampliamente recomendadas en este tratado por sus propiedades catárticas, antipiréticas y antiepilépticas, para el tratamiento de los trastornos renales y cardíacos así como también para curar ciertos padecimientos tales

como la meningitis, la hidrocefalia, las infecciones gastrointestinales y parasitarias (Pereda-Miranda y Bah, 2003).



Figura 31. Ilustración del manuscrito badiano (1552) para la raíz de jalapa (*Ipomoea purga*), el principal remedio purgante de la medicina pehispánica (*Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*, 1552).

En el pasado, se distinguieron debido a su potencia y su localidad de origen numerosas especies de jalapa, pero sólo una de ellas, la “raíz de michoacán”, representó el sucedáneo americano más importante de la escamonea (*Convolvulus scammonia*) cuyo uso tradicional se encuentra documentado desde la época romana (ca 512 D. C.) en el manuscrito griego de Dioscórides (Pereda-Miranda y Bah, 2003).

Por esta razón, el ruibarbo de Indias, cuyos efectos purgantes son más moderados que los de la escamonea, fue fácilmente incorporado y aceptado en la *materia medica* europea del siglo XVI como una panacea (Monardes, 1990). Esta raíz se ha identificado como *Ipomoea jalapa*, aunque su distribución no corresponda a la costa del Golfo. Las otras especies, aunque también usadas con frecuencia como sustitutos de la original, han sido llamadas “falsas jalapas” (De Járegni, 1871; Velasco, 1887).

A continuación se mencionan las más usadas en la actualidad: jalapa de Tampico o jalapa hembra (*Ipomoea simulans*), jalapa macho, jalapa de Orizaba o escamonea mexicana (*Ipomoea tyrianrhina*, sinónimo de *Convolvulus orizabensis* y de *Ipomoea orizabensis*) (Martínez 1978) y la raíz de tumbavaqueros (*Ipomoea stans*) (Pereda-Miranda, 2006). La especie purgante *Ipomoea stans*, conocida con el nombre popular de “tumbavaqueros” y oriunda de las regiones de la meseta central, es muy utilizada también para el tratamiento de las inflamaciones renales, los cólicos biliares y los ataques epilépticos (Noriega, 1902; Herrera, 1921) aunque actualmente se prescribe en la medicina herbolaria para el tratamiento de padecimientos relacionados con el estrés y la ansiedad (Linares y Bye, 1999).

A principios del siglo XX, el complejo medicinal de las “jalapas” incluía a las especies conocidas como “jalapa hembra” *I. purga*, “jalapa macho”, *I. orizabensis* y “jalapa de tampico” (*I. simulans*) junto con otras especies. La droga cruda consistía en un preparado compuesto de la mezcla de las raíces de estas plantas, que era rico en glicorresinas (10 – 18%) y provocaba un aumento en los movimientos peristálticos del intestino delgado. Los remedios caseros se preparaban en forma de decocción de los tubérculos o raíces (~ 2 cm) para un litro de agua.

Actualmente, se preparan productos farmacéuticos con estas plantas medicinales en forma de extractos alcohólicos, polvos compuestos de raíces o simplemente las resinas puras en combinación con otros ingredientes para modificar o mejorar su efecto terapéutico, mismos que pueden adquirirse en tiendas comerciales de productos naturistas en México y Estados Unidos, aunque la demanda de productos herbolarios hechos a base de estos remedios purgantes ha disminuido, debido al surgimiento de nuevos productos laxantes derivados del *Plantago* ssp. y de las hojas de cassia (*Senna* ssp.), así como por la introducción en el mercado de “jalapas” cultivadas en Brasil (*Operculina tuberosa*) presentes en productos herbolarios manufacturados en Italia y Alemania.

2.5 Información general de tres miembros del complejo medicinal de las “jalapas mexicanas”

El presente trabajo se enfoca directamente a la descripción de la composición química de las resinas glicosídicas de tres remedios herbolarios del complejo de la jalapas mexicanas ampliamente utilizados en la medicina tradicional para el tratamiento de diversos padecimientos, estos son las especies *Ipomoea orizabensis*, *Ipomoea stans* e *Ipomoea batatas* y en los siguientes apartados se da una breve descripción de sus características morfológicas más importantes, su hábitat, modo de vida y algunas de sus más destacadas propiedades medicinales.

2.5.1 La especie *Ipomoea orizabensis*

Se conoce como manto de la virgen, quiebra plato, escamonea de México, purga macho y jalapa fusiforme (Martínez, 1979). Se encuentra distribuida en los estados de Chiapas, Coahuila, Colima, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Tamaulipas, Tlaxcala y Veracruz.

Ipomoea orizabensis es una planta perenne, extendida sobre el suelo, o trepadora de varios metros de altura. Posee hojas alternas, acorazonadas o bien ovadas, casi circulares o raramente de 3 lóbulos de 4 a 13 cm de largo, con el ápice puntiagudo y la base profundamente cordada, con 6 ó 7 pares de venas muy evidentes, pelos rígidos erectos de color blanco-amarillento y los pecíolos tan largos como la lámina de la hoja.

En las axilas de las hojas se ubican las flores solitarias o a veces en grupos, sostenidos por péndulos de 10 a 30 cm. de largo y cubiertos de pelos rígidos y erectos, cada flor sobre pedicelos de hasta 5 cm de largo, con el mismo tipo de pelos. El cáliz es de cinco sépalos, los exteriores con pelos rígidos y los interiores sin pelos y con el margen membranoso, seco y algo translúcido; la corola de color rosado-púrpura, en forma de embudo con el tubo blanco y posee 5 estambres insertos en su parte inferior además de filamentos con pelillos en la base. El estilo es más largo que los estambres y terminado en 2 estigmas globosos.

El fruto es seco y consiste en una cápsula globosa de hasta 7 mm de diámetro, que se abre a través de 4 valvas para liberar sus 4 semillas, éstas con dos caras planas y una convexa, de color café oscuro y cubiertas con abundantes pelillos.

La raíz es un tallo subterráneo (rizoma) muy engrosado de hasta 10 cm. de diámetro y se usa en la medicina tradicional mexicana como un purgante violento (induce diarrea acuosa fuerte) y su uso es de cuidado por lo que no debe de usarse sin el consejo de un médico tradicional o alópata competente. Por su fuerte actividad laxante puede eliminar parásitos intestinales.



Figura 32. *Ipomoea orizabensis* como planta trepadora.

El nombre de escamonea en México se debe a que contiene escamonina o jalapina, igual que la planta mediterránea de uso tradicional en la medicina europea, *Convolvulus scammonia* (apartado 2.4), que también se utiliza como purgante. Por la variabilidad en el contenido de sustancias efectivas, generalmente se utiliza la resina extraída de la raíz en la fitoterapia occidental y se exporta para productos farmacéuticos.

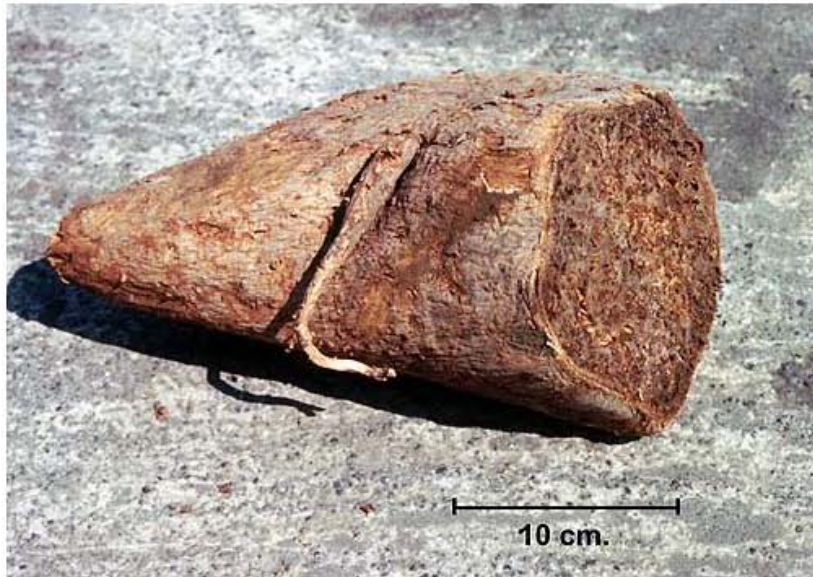


Figura 33. Raíz de escamonea (*Ipomoea orizabensis*).

2.5.2 La especie *Ipomoea stans*

Se conoce principalmente como tumbavaqueros, tripa de buey ó tab-kanil (Linares *et al.*, 1999) y en idioma indígena como “cacamotic” nombre con el que se describen varias del género *Ipomoea*. Se encuentra distribuida en los estados de Chiapas, Coahuila, Distrito Federal, Durango, Estado de México, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tlaxcala y Veracruz (Villaseñor y Espinosa, 1998).

Ipomoea stans es una planta herbácea perenne, erguida, con frecuencia muy ramificada y robusta (Rzedowski y Rzedowski, 2001). Sus hojas son alternas, oblongas a lanceoladas, de hasta 6 cm. de largo, con el ápice obtuso a truncado, con dientes irregulares en el margen y la base muy variable, con 4 o 6 pares de venas muy evidentes, con pelos rígidos y erectos de color blanco sobre las venas en la cara inferior, los pecíolos muy pequeños, de 5 mm de largo y poseen pelos blancos.

En las axilas de las hojas se ubican las flores solitarias o en pares sostenidos por pedúnculos de 4 a 10 cm de largo con el mismo tipo de pelos; las brácteas son delgadas y tienen consistencia del papel.



Figura 34. *Ipomoea stans* en los terrenos de cultivo de la comunidad de Tepeaculco, estado de Hidalgo.

El cáliz es de cinco sépalos, los exteriores presentan pelos rígidos y erectos, los inferiores ligeramente más largos, sin pelos y con el margen membranoso, seco y algo translúcido, corola de color púrpura, en forma de embudo con el tubo blanco, con pelillos en la parte superior, y cinco estambres insertos en la parte inferior de la corola, con las anteras flechadas. El estilo más largo que los estambres y terminado en dos estigmas globosos.



Figura 35. Flores de la tumbavaqueros (*Ipomoea stans*).

El fruto es seco con una cápsula ovoide de hasta 16 mm. de diámetro, oculta por los sépalos, se abre a través de cuatro valvas para librar sus 4 semillas, éstas con dos caras planas y una convexa, de color café oscuro y cubiertas con abundantes pelillos.

La raíz es un tallo subterráneo (rizoma) muy desarrollado, de hasta 60 cm de largo y 2 cm de ancho. Normalmente la planta crece en vegetación primaria o en terrenos de cultivo en el Valle de México hasta altitudes 2600 m sobre el nivel del mar.

El cocimiento del rizoma se usa contra enfermedades renales y biliares (Rzedowski y Rzedowski, 2001), también se utiliza contra el mal de San Vito y para el tratamiento de los ataques epilépticos, además de tener propiedades purgantes. Su empleo es peligroso en grandes dosis (Linares *et al.*, 1999). Su uso más generalizado es para aliviar los nervios, junto de la flor de azahar, flor de manira, salvia de bolita, palo de Brasil y tila (Linares, *et al.*, 1999).



Figura 36. Raíz de la tumbavaqueros (*Ipomoea stans*).

2.5.3 La especie *Ipomoea batatas*

Se conoce bajo los nombres de camote en español, camotl en náhuatl, iz en maya, y manta en totonaca. Se encuentra distribuida principalmente en los estados de Campeche, Chiapas, Guanajuato, Guerrero, Estado de México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, San Luis Potosí, Veracruz y Yucatán.

Es una enredadera de tallo algo succulento, algunas veces delgado y herbáceo, glabro o pubescente, con hojas cordadas a ovadas enteras, dentadas o profundamente lobadas, de 5 a 10 cm de largo, glabras o raramente pubescentes. Posee una cima de pocas flores con sépalos oblongos, los extremos acuminados y cuspidados de 10 a 15 mm de largo, pubescentes o ciliados.



Figura 37. Enredadera de camote (*Ipomoea batatas*) sobre vegetación silvestre en la comunidad de Emiliano Zapata en el estado de Michoacán.

Esta planta trepa sobre vegetación natural y secundaria, frecuentemente en orillas de caminos de la región de la cuenca del río Balsas (también como arvense), es una planta perenne que florece en el mes de Octubre.

La corola posee limbo color lavanda a púrpura-lavanda y garganta más oscura, blancura en algunas variedades de 4 a 7 cm de largo y el fruto es ovoide, glabro, con semillas grandes glabras (Woodson *et al.*, 1975).



Figura 38. Flores de *Ipomoea batatas*.

La forma domesticada es una planta comestible importante en los trópicos, también se cultiva como cobertura y ornamental. Existen tres variedades domésticas que son consumidas como alimento, los camotes blancos, camotes amarillos y camotes rojos, estos dos últimos son una buena fuente de carotenos (pro-vitamina A).

Mientras que los tubérculos del camote se consumen como alimento, la decocción de las partes aéreas de esta planta, lo mismo que las de otras especies del género *Ipomoea*, han sido empleadas para el tratamiento de diversos padecimientos, tales como tumores de garganta y úlceras bucales, fiebre, flatulencias, disentería e infecciones gastrointestinales y parasitarias.

III. JUSTIFICACIÓN

Las resinas glicosídicas biosintetizadas por los miembros vegetales de la familia Convolvulaceae, uno de sus principales marcadores quimiotaxonómicos, constituyen un conjunto de metabolitos secundarios de posible interés para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos por sus propiedades citotóxica (Cao *et al.*, 2005), antimicrobiana (Pereda-Miranda *et al.*, 2006a) y purgante (Pereda-Miranda y Bah, 2003).

Por lo tanto, las especies mexicanas del género *Ipomoea orizabensis*, *Ipomoea stans* e *Ipomoea batatas* designadas colectivamente junto con otras especies purgantes del genero *Ipomoea* como “jalapas”, fueron seleccionadas para dar continuidad a la investigación química de este género vegetal y ampliar el conocimiento sobre la diversidad estructural de las resinas glicosídicas de las convolvuláceas (Pereda-Miranda y Bah, 2003; Pereda-Miranda, 1995). Asimismo, las metodologías analíticas e instrumentales empleadas para el análisis de la composición química de estos metabolitos secundarios constituirán una herramienta analítica que podrá aplicarse para el control de calidad de los preparados herbolarios que se comercializan con estas drogas crudas en expendios de productos naturistas y mercados de plantas medicinales.

IV. OBJETIVOS

A partir del conocimiento de la composición química de las glicorresinas de *Ipomoea orizabensis* (Noda *et al.*, 1987; Hernández-Carlos, *et al.*, 1999), el objetivo general del presente proyecto es el establecimiento de las principales diferencias existentes en la composición química de las resinas glicosídicas de tres miembros del conjunto de las Jalapas mexicanas, las especies *Ipomoea orizabensis*, *Ipomoea stans*, e *Ipomoea batatas*.

Asimismo, el hallazgo de las diferencias químicas entre los constituyentes de naturaleza oligosacárida, permitirá la identificación inequívoca de cada una de estas drogas crudas, así como el desarrollo de metodologías analíticas (CLAE), de posible aplicación en el control de calidad de estas materias primas vegetales, las cuales son incluidas en una gran variedad de preparados herbolarios de uso medicinal.

El objetivo general del presente proyecto se llevará a cabo con el cumplimiento de los siguientes objetivos particulares:

4.1 Caracterización estructural del núcleo oligosacárido principal de las resinas glicosídicas de la especie *Ipomoea stans*.

- Realizar la extracción de las resinas glicosídicas del material vegetal de *Ipomoea stans*.
- Llevar a cabo el fraccionamiento del extracto resinoso obtenido vía cromatografía en columna abierta.
- Realizar reacciones degradativas para determinar la composición química del crudo resinoso.

- Llevar a cabo la purificación del ácido glicosídico constitutivo del material resinoso aislado, utilizando métodos cromatográficos de alta resolución (CLAE).
- Caracterizar la estructura del núcleo oligosacárido de las resinas glicosídicas de *Ipomoea stans* mediante análisis espectroscópico.

4.2 Purificación y caracterización estructural de glicolípidos individuales del crudo resinoso de *Ipomoea batatas*

- Realizar la extracción de las resinas glicosídicas solubles en hexano (la jalapina) a partir del material vegetal.
- Llevar a cabo el fraccionamiento de la jalapina vía cromatografía en columna abierta.
- Establecer las condiciones instrumentales a nivel analítico y preparativo en la cromatografía líquida de alta presión para aislar los constituyentes mayoritarios presentes en dos de las fracciones hexánicas.
- Establecer la estructura molecular de los constituyentes aislados mediante técnicas espectroscópicas (RMN) y espectrométricas (FAB y ES – EM).

V. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Procedimientos generales

5.1.1 Métodos cromatográficos

Los análisis cromatográficos en capa fina (CCF) se efectuaron de la manera convencional, empleando placas de aluminio, recubiertas con gel de sílice (sílica gel F₂₅₄, Merck) y diferentes sistemas de elución. Se utilizó la mezcla de H₂SO₄-sulfato cérico como agente cromógeno mediante calentamiento sobre una parrilla a 80 °C. Para las separaciones cromatográficas en columna abierta se empleó gel de sílice 60 Merck (0.063-200 μm) como fase estacionaria. La cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAP) se realizó en un cromatógrafo marca Waters (Millipore Corp., Waters Chromatography Division Milford, MA, USA) equipado con un sistema de entrega de disolventes 600E, un refractómetro 410 y una computadora Optiplex GX 280. El control del equipo, así como la adquisición y el procesamiento de la información se realizaron utilizando el programa Empower 2002 software (Waters).

5.1.2 Determinación de las constantes físicas

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) ¹H y ¹³C se obtuvieron en un aparato Varian XL-500 y en una unidad Bruker DMX-500, los cuales operaron a una frecuencia de 500 MHz para el registro de los espectros de RMN-¹H y a 125 MHz para los de ¹³C. El registro de los espectros de masas se realizó utilizando la técnica de ionización de bombardeo de átomos acelerados (FAB), empleando un espectrómetro de masas modelo JEOL SX – 102 A.

En algunos casos, cuando se trató de muestras con un peso molecular superior a los 2000 daltons, se utilizó la técnica de ionización electro spray (ESI), empleando un espectrómetro de masas de transformada de Fourier modelo Bruker-Daltonics APEX-II.

Las rotaciones ópticas se determinaron en un polarímetro Perkin Elmer 241 utilizando metanol como disolvente. Los puntos de fusión no están corregidos y fueron determinados en un aparato Fisher-Johns.

5.2 Material vegetal de *Ipomoea stans*

Para la obtención de las resinas glicosídicas de la “tumbavaqueros” se emplearon las raíces de *Ipomoea stans* que se recolectaron en el municipio de Tepeaculco, Estado de Hidalgo en el año 2003.

5.2.1 Preparación del extracto del material vegetal de *Ipomoea stans*

El material vegetal seco y pulverizado (3.5 kg) fue sometido a una maceración exhaustiva preliminar con hexano para obtener los constituyentes de baja polaridad. Se prepararon subsecuentemente los extractos clorofórmico y metanólico. Al término de cada una de las extracciones, se filtró y concentró a sequedad a presión reducida. De esta manera, se obtuvo el extracto hexánico con un peso de 15.6 g, el extracto clorofórmico con un peso de 27.3 g y el extracto metanólico de un peso de 114.7g.

5.2.2 Fraccionamiento primario del extracto clorofórmico

El fraccionamiento de los 27.3 g del extracto clorofórmico se llevó a cabo mediante cromatografía en columna abierta, la cual se empacó con 650 g de gel sílice. En primer lugar, se inició la elución con un sistema constituido por hexano y CHCl_3 en la misma proporción obteniéndose 14 fracciones de 100 mL cada una. Posteriormente, se incrementó gradualmente la polaridad con mezclas constituidas por hexano- CHCl_3 y CHCl_3 -MeOH.

Se colectaron 126 fracciones de 100 ml cada una. Cada fracción se analizó mediante cromatografía en capa fina y se reunieron todas aquellas que resultaron similares. De esta forma se generaron nueve fracciones numeradas como fracción IC a fracción IXC, de las cuales, sólo **VIIC** y **VIIIC** contienen las mezclas de glicolípidos. En el cuadro 2 se resume el fraccionamiento realizado mediante cromatografía en columna abierta del extracto clorofórmico.

Cuadro 2. Resumen del fraccionamiento preliminar mediante cromatografía en columna abierta del extracto clorofórmico.

Eluyente	Proporción	Fracciones	Fracciones reunidas	Clave	Peso(g)
hexano- CHCl_3	1:1	1-13	31-38	IC	0.140
hexano- CHCl_3	25:75	14-23	39-48	IIC	0.140
CHCl_3	100%	24-38	49-52	IIIC	1.350
CHCl_3 -MeOH	9:1	39-90	53-57	IVC	6.65
MeOH	100%	105-126	58-63	VC	0.610
			64-73	VIC	0.260
			74-80	VIIC	0.210
			81-90	VIIIC	
			105-114	VIIIC	0.610
			115-126	IXC	1.6

Las fracciones **VIIC** y **VIIIC** contienen la mezcla de glicolípidos.

5.2.3 Fraccionamiento del extracto metanólico

El fraccionamiento de los 114.8 g del extracto metanólico se llevó a cabo mediante cromatografía en columna abierta, la cual se empacó con 450 g de gel de sílice. Se inició la elución con CHCl_3 al 100% obteniéndose veinte fracciones de 100 mL cada una. Siguiendo la misma tendencia del fraccionamiento del extracto clorofórmico, se aumentó la polaridad con sistemas de elución constituidos por CHCl_3 -MeOH. Se colectaron 105 fracciones de 100 mL cada una. Cada fracción se analizó mediante cromatografía en capa fina y se reunieron todas aquellas que resultaron similares.

De esta forma se generaron doce fracciones (IM – XIIM) y sólo las fracciones **VIM** y **VIIM** contienen las mezclas de glicolípidos. El resumen del fraccionamiento mediante cromatografía en columna abierta del extracto metanólico aparece en el cuadro 3.

Cuadro 3. Resumen del fraccionamiento preliminar mediante cromatografía en columna abierta del extracto metanólico.

Eluyente	Proporción	Fracciones	Fracciones reunidas	Clave	Peso(g)
CHCl_3	100%	1-20	1-25	IM	0.360
CHCl_3 -MeOH	95:5	21-25	26-37	IIM	0.630
CHCl_3 -MeOH	9:1	26-60	38-39	IIIM	2.90
CHCl_3 -MeOH	1:1	61-80	40	IVM	0.320
MeOH	100%	81-105	41-47	VM	0.520
			48-60	VIM	1.03
			61-68	VIIM	0.060
			69-71	VIIIM	5.49
			72-80	IXM	41.23
			81-90	XM	33.77
			91-100	XIM	9.42
			101-105	XIIM	3.24

Las fracciones **VIM** y **VIIM** contienen la mezcla de glicolípidos.

5.2.4 Aislamiento de la fracción resinosa N6M7C

El análisis en cromatografía en capa fina permitió observar una similitud significativa entre las fracciones primarias **VIIC** (210 mg) y **VIM** (1.03 g), que aparentemente contenían la misma mezcla de glicolípidos y otros constituyentes. Por consiguiente, se procedió a reunir las para obtener una nueva fracción que se designó con la clave **6M7C**, la que fue sometida a un fraccionamiento ulterior por cromatografía en columna abierta empleando 30 g de gel de sílice como adsorbente con el fin de liberar el crudo de glicolípidos del resto de los constituyentes presentes en la mezcla (figura 39).

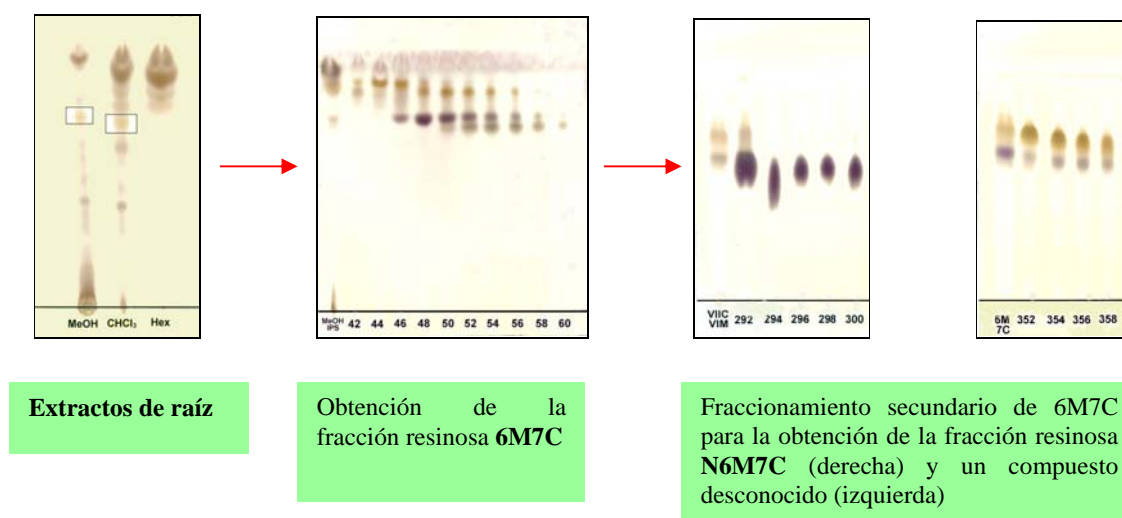


Figura 39. Cromatogramas en capa fina para el monitoreo del aislamiento del crudo resinoso de *Ipomoea stans* mediante cromatografía en columna (CH₃Cl-MeOH 75:25).

Se inició la elución con CHCl_3 al 100% obteniéndose diez fracciones de 5 mL cada una. Posteriormente, se incrementó gradualmente la polaridad con sistemas de elución constituidos por $\text{CHCl}_3\text{-Me}_2\text{CO}$, $\text{CHCl}_3\text{-Me}_2\text{CO-MeOH}$ y $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$.

Se colectaron 410 eluatos de 5 mL cada uno y por criterio cromatográfico se detectó la presencia de glicorresinas desde la fracción 344 hasta la fracción 390 (el proceso de fraccionamiento se resume en el cuadro 4) cuya reunión resultó en una nueva fracción que se designó como **N6M7C**. Al final del proceso se obtuvieron 417 mg de **N6M7C** (crudo total de glicolípidos).

Cuadro 4. Resumen del fraccionamiento mediante cromatografía en columna abierta de la fracción **6M7C**.

Eluyente	Porporción	Fracciones	Fracciones reunidas	Claves
CHCl_3	100%	1-10	1-27	A6M7C
$\text{CHCl}_3\text{-Me}_2\text{CO}$	95:5	11-70	28-31	B6M7C
$\text{CHCl}_3\text{-Me}_2\text{CO}$	9:1	71-100	32-70	C6M7C
$\text{CHCl}_3\text{-Me}_2\text{CO}$	85:15	101-130	71-100	D6M7C
$\text{CHCl}_3\text{-Me}_2\text{CO-MeOH}$	80:20:1	131-150	101-110	E6M7C
$\text{CHCl}_3\text{-Me}_2\text{CO-MeOH}$	80:20:2	151-170	111-130	F6M7C
$\text{CHCl}_3\text{-Me}_2\text{CO-MeOH}$	80:20:3	171-210	131-150	G6M7C
$\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$	98:2	211-230	151-170	H6M7C
$\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$	96:4	231-330	171-210	I6M7C
$\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$	9:1	331-370	211-230	J6M7C
$\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$	7:3	371-390	231-250	K6M7C
MeOH	100%	391-410	251-310	L6M7C
			311-342	M6M7C
			343-390	N6M7C
			391-410	O6M7C

La fracción **N6M7C** (417 mg) contiene el grupo de resinas glicosídicas.

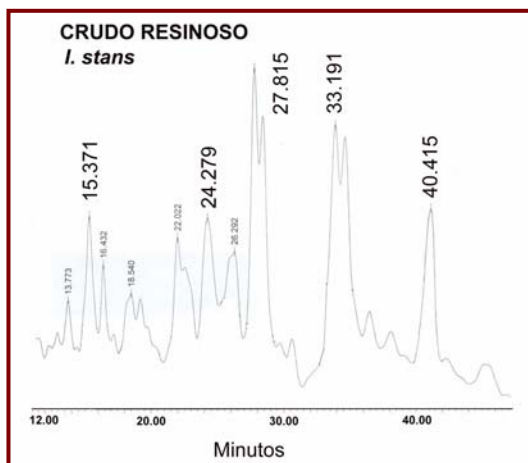
5.2.5 Hidrólisis alcalina del crudo resinoso de *Ipomoea stans*

La fracción resinosa **N6M7C** (417 mg) purificada se sometió a una hidrólisis alcalina. A 200 mg de la muestra problema se adicionaron 10 mL de KOH al 5 %, la mezcla de reacción se mantuvo a reflujo (95 °C) con agitación durante dos horas. Al término de este tiempo, se ajustó el pH a 4 con HCL 4N y, posteriormente, se extrajo con Et₂O (3×10 mL).

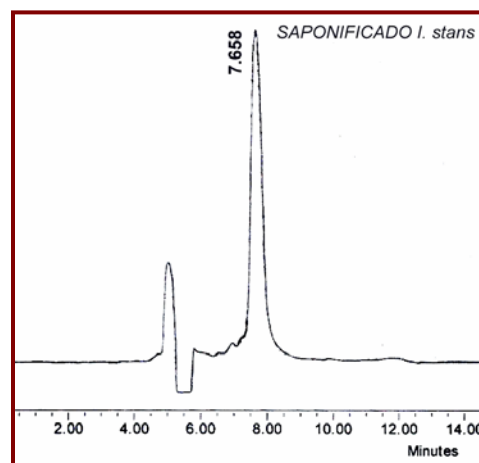
La fase acuosa se extrajo de nuevo con n-butanol (3×10 mL) y se concentró a presión reducida. Posteriormente el producto saponificado de la fracción **N6M7C** fue analizado mediante CLAE.

5.2.6 Análisis del contenido oligosacárido en las resinas glicosídicas de la “tumbavaqueros”. Registro de perfiles cromatográficos y espectroscópicos

Con el propósito de identificar la estructura principal del núcleo oligosacárido de las resinas glicosídicas de *Ipomoea stans*, se efectuó un proceso de purificación del ácido glicosídico mayoritario resultante del producto de saponificación de la fracción **N6M7C** (apartado 5.2.3.). Este proceso dio inicio con el registro del perfil cromatográfico en la cromatografía de líquidos (CLAE) en nivel analítico y posteriormente se hizo un escalamiento al nivel preparativo para lograr la purificación del derivado de hidrólisis alcalina. La estructura del ácido glicosídico puro fue identificada mediante la comparación de su perfil espectroscópico registrado en la RMN ¹³C, con el generado por uno de los derivados de hidrólisis alcalina de las resinas glicosídicas de *Ipomoea operculata* (Ono *et al.*, 1989).



Condiciones Instrumentales: columna Symmetry C₁₈ (4.6×250mm); fase móvil: CH₃CN-H₂O (88:12), flujo de elución: 0.7 mL/min.



Condiciones Instrumentales: columna Symmetry NH₂ (4.6×250mm); fase móvil: CH₃CN-H₂O (7:3), flujo de elución: 0.6 mL/min.

Figura 40. Análisis cromatográfico para el aislamiento del producto de hidrólisis alcalina de la fracción resinosa **N6M7C** de *Ipomoea stans*.

5.2.7 Condiciones instrumentales para el análisis por CLAE de N6M7C

Columna: Symetry C18, tamaño de partícula 5 μm; 4.6 mm de diámetro interno
× 250 mm de longitud (Waters)

Fase móvil: Acetonitrilo - H₂O (88:12)

Flujo: 0.7 mL/min

Detector: Índice de refracción (sensibilidad = 128 RIU)

Volumen de inyección: 20 μL

Concentración de la muestra de prueba: 15 mg/100μL

Tipo de elución: Isocrática

Objetivo: Análisis de las fracción resinosa **N6M7C**

5.2.8 Condiciones instrumentales en CLAE para la purificación del producto de hidrólisis de N6M7C

Columna: Symetry NH₂, tamaño de partícula 5 µm; 4.6 mm de diámetro interno × 250 mm de longitud (Waters)

Fase móvil: Acetonitrilo – H₂O (7:3)

Flujo: 0.7 mL/min

Detector: Índice de refracción (sensibilidad = 128 RIU)

Volumen de inyección: 20 µL

Concentración de la muestra de prueba: 15 mg/100µL

Tipo de elución: Isocrática

Objetivo: Análisis del artefacto de la hidrólisis alcalina de la fracción N6M7C y aislamiento del ácido glicosídico mayoritario de la tumbavaqueros (*Ipomoea stans*).

5.3 Material vegetal de *Ipomoea batatas*

Para la obtención de las resinas glicosídicas se emplearon los tubérculos del camote blanco (*Ipomoea batatas*) que se recolectaron en el municipio de Salvatierra, estado de Guanajuato en 1999.

5.3.1 Preparación del extracto del material vegetal de *Ipomoea batatas*

El material vegetal seco y pulverizado (2.6 Kg) fue sometido a una maceración exhaustiva con hexano. Al término de cada una de las extracciones, se filtró y concentró a sequedad a presión reducida. De esta manera se obtuvo el extracto hexánico con un peso de 13.1 g.

5.3.2 Fraccionamiento primario del extracto hexánico

El fraccionamiento de los 13.1g del extracto hexánico se llevó a cabo mediante cromatografía en columna abierta, la cual se empacó con 150 g de gel de sílice. Se inició la elución de la columna con hexano obteniéndose 9 eluatos de 150 mL. cada uno, posteriormente, se incrementó gradualmente la polaridad con los sistemas constituidos por hexano - CH₂Cl₂, CH₂Cl₂ - Me₂CO, y CH₂Cl₂ - Me₂CO - MeOH.

Se colectaron 95 eluatos de 200 mL. cada uno (con excepción de los 9 primeros), cada uno de ellos se analizó mediante cromatografía en capa fina y se reunieron todos aquellos que resultaron similares. De esta forma se generaron 10 fracciones diferentes, conteniendo 5 de éstas, las mezclas de glicolípidos y que fueron designadas con las letras del alfabeto griego α , β , γ , δ y ϵ respectivamente (cuadro 5).

Cuadro 5. Resumen del fraccionamiento preliminar mediante cromatografía en columna abierta del extracto hexánico.

Eluato	Solvente	Proporción	Reunión	Fracción	Peso (g)
1-3	hexano	100%	1-2	I	
3-9	hexano	100%	3-9	II	
10-14	hexano-CH ₂ Cl ₂	9:1			
15-19	hexano-CH ₂ Cl ₂	7:3			
20-34	hexano-CH ₂ Cl ₂	1:1			
35-44	CH ₂ Cl ₂	100%	10-44	III	
45-49	CH ₂ Cl ₂ - Me ₂ CO	9:1			
50-54	CH ₂ Cl ₂ - Me ₂ CO	7:3	45-54	IV	
55-58	CH ₂ Cl ₂ - Me ₂ CO	7:3	55-58	V	
59-64	CH ₂ Cl ₂ - Me ₂ CO	7:3	59-64	α	1.21
65-68	CH ₂ Cl ₂ - Me ₂ CO - MeOH	70:30:5	65-68	αβ	1.18
69-74	CH ₂ Cl ₂ - Me ₂ CO - MeOH	70:30:5	69-74	β	1.46
75-81	CH ₂ Cl ₂ - Me ₂ CO - MeOH	70:30:10	75-81	γ	1.12
82-84	CH ₂ Cl ₂ - Me ₂ CO - MeOH	70:30:10	82-84	δ	0.180
85-87	CH ₂ Cl ₂ - Me ₂ CO - MeOH	70:30:20	85-87	δε	0.590
88-94	CH ₂ Cl ₂ - Me ₂ CO - MeOH	70:30:20	88-94	ε	1.18
95	CH ₂ Cl ₂ - MeOH	1:1			

5.3.3 Aislamiento y purificación de glicolípidos de la fracción primaria alfa de *Ipomoea batatas*

Las pruebas preliminares para lograr la separación de los glicolípidos individuales se efectuaron en columnas analíticas de fase inversa (C₁₈) con sistemas de detección en el UV ($\lambda = 254$ nm) e índice de refracción y flujos de elución de 0.7 ml, empleando una fase móvil de CH₃CN-MeOH (9:1). Por medio de CLAE en nivel preparativo aplicando las técnicas de sobrecarga de columna y corte del núcleo (Bidlingmeyer, 1992; Hostettman, 1986), se agotó la fracción **α** primaria para reunir cantidades suficientes de las subfracciones:

A ($t_R = 8.1$ min.), **B** ($t_R = 9$ a 12.2 min.), **C** ($t_R = 12.2$ a 14.8 min.), **D** ($t_R = 14.9$ a 16.8 min.), **E** ($t_R = 16.8$ a 19.5 min.), **F1** ($t_R = 19.5$ min.), **G** ($t_R = 20.7$ min.), **H** ($t_R = 21.7$ min.), **I** ($t_R = 22.7$ min.), **J** ($t_R = 23$ a 28.6 min.), **K** ($t_R = 28.9$ min.), **L** ($t_R = 31.0$ min.), **M** ($t_R = 32.8$ a 38.7 min.), **N** ($t_R = 39.0$ min.), **O** ($t_R = 40.4$ a 46.9 min.), **P** ($t_R = 47.3$ min.) y **Q** ($t_R = 50$ a 55 min.).

Las subfracciones **F1**, **G** y **H** se reinyectaron en una columna C_{18} preparativa con un sistema de elución binario constituido por CH_3CN - $MeOH$ (9:1) y las subfracciones **K** y **L** con otro sistema constituido por CH_3CN - $MeOH$ (7:3) empleando la misma columna. Se aplicó la técnica de reciclaje de muestra (Kubo y Nakatsu, 1990), utilizándose de 10 a 20 ciclos para obtener la máxima separación de los constituyentes de estas subfracciones. Se obtuvieron 10.1 mg de la **batatina I** a partir de la subfracción **F**, 8.4 mg del **batatinósido I** a partir de la subfracción **G**, 6.7 mg de la **batatina II** a partir de la subfracción **H**, 4.5 mg de la **batatina III** a partir de la subfracción **K** y 12.1 mg de la **batatina IV** a partir de la subfracción **L**. Se realizó el análisis espectroscópico y espectrométrico de estos compuestos y se determinaron sus constantes físicas (punto de fusión y dispersión óptica rotatoria).

Batatina I (5): sólido amorfo blanco; p.f. $117 - 120$ °C; $[\alpha]_D -38$ (c. 1.0 $MeOH$); RMN 1H y ^{13}C (cuadros 8 y 9); ESI – MS (modo negativo) m/z : 2760.57 $[M - H]^-$, 1379.79 $[M/2 - H]^-$, 1249 $[M/2 - H - C_9H_6O]^-$, 1197 $[M/2 - H - C_{12}H_{22}O]^-$, 1067 $[1249 - C_{12}H_{22}O]^-$, 545, 417. HRESI – MS m/z 2760.5654 $[M - H]^-$; calculado para $C_{144}H_{231}O_{50}$ requiere 2760.5533.

Batatinósido I (1): sólido amorfo blanco; p.f. 126 – 130 °C; $[\alpha]_D$ -24 (c. 1.0 MeOH); RMN ^1H y ^{13}C (cuadros 6 y 7); FAB – MS (modo negativo) m/z : 1379 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 1249 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_9\text{H}_6\text{O}]^-$, 1033 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4 - \text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_2]^-$, 545, 417. HRESI – MS m/z 1381.7878 $[\text{M} + \text{H}]^+$; calculado para $\text{C}_{72}\text{H}_{117}\text{O}_{25}$ requiere 1381.7884.

Batatina II (6): sólido amorfo blanco; p.f. 124 – 130 °C; $[\alpha]_D$ -33 (c. 0.1 MeOH); RMN ^1H y ^{13}C (cuadros 8 y 9); ESI – MS (modo negativo) m/z : 2760.56 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 1379.79 $[\text{M}/2 - \text{H}]^-$, 1249 $[\text{M}/2 - \text{H} - \text{C}_9\text{H}_6\text{O}]^-$, 1197 $[\text{M}/2 - \text{H} - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, 1067 $[\text{M}/2 - \text{H} - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, 545, 417. HRESI – MS m/z 2760.5602 $[\text{M} - \text{H}]^-$; calculado para $\text{C}_{144}\text{H}_{231}\text{O}_{50}$ requiere 2760.5533.

Batatina III (7): sólido amorfo blanco; p.f. 94 °C; $[\alpha]_D$ -33 (c. 0.1 MeOH); RMN ^1H y ^{13}C (cuadros 10 y 11); ESI – MS (modo negativo) m/z : 2349.63 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 1173.78 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{52}\text{H}_{92}\text{O}_{19} - \text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}]^-$, 1019.63 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}]^-$, 991.63 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O} - \text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}]^-$, 527, 417. HRESI – MS m/z 2348.5378 $[\text{M} - \text{H}]^-$; calculado para $\text{C}_{125}\text{H}_{223}\text{O}_{39}$ requiere 2348.5467.

Batatina IV (8): sólido amorfo blanco; p.f. 95 °C; $[\alpha]_D$ -33 (c. 0.1 MeOH); RMN ^1H y ^{13}C (cuadros 10 y 11); ESI – MS (modo negativo) m/z : 2349.63 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 1173.78 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{52}\text{H}_{92}\text{O}_{19} - \text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}]^-$, 1019.63 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}]^-$, 991.63 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O} - \text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}]^-$, 527, 417. HRESI – MS m/z 2348.5427 $[\text{M} - \text{H}]^-$; calculado para $\text{C}_{125}\text{H}_{223}\text{O}_{39}$ requiere 2348.5467.

5.3.4 Aislamiento y purificación de glicolípidos de la fracción primaria beta de *Ipomoea batatas*

En modo semejante a la fracción α se efectuaron pruebas preliminares para lograr la separación de principios oligosacáridos individuales en columnas analíticas de fase inversa (C_{18}) con un sistema de detección inicial en el UV ($\lambda = 240$ nm) y flujo de elución de 0.7 mL. El modo de detección se cambió al índice de refracción cuando se encontró un sistema cromatográfico adecuado que se constituyó de una columna C_{18} y una fase móvil de CH_3CN -MeOH (9:1). Aplicando nuevamente las técnicas de sobrecarga de columna y corte de núcleo (Bidlingmeyer, 1992; Hostettmann, 1986), se agotó la fracción β para reunir cantidades suficientes de las subfracciones:

A ($t_R = 6.1$ min.), **B** ($t_R = 8.4$ min.), **C** ($t_R = 9.6$ min.), **D** ($t_R = 11.7$ min.), **E** ($t_R = 13.4$ min.), **F2** ($t_R = 15.5$ min.), **G** ($t_R = 20.7$ a 28.2 min.), **H** ($t_R = 29.7$ min.), y **I** ($t_R = 31.6$ min.).

Las subfracciones **B**, **C**, **D** y **F2** se reinyectaron en una columna C_{18} preparativa con un sistema de elución binario constituido por CH_3CN -MeOH (9:1) y se aplicó la técnica de reciclaje de muestra (Kubo y Nakatsu, 1990). Se obtuvieron 4.0 mg del **batatinósido II** a partir de la subfracción **B**, 2.5 mg del **batatinósido III** de la subfracción **C**, 13 mg de la **batatina V** y 5.2 mg de la **batatina VI**, ambas de la subfracción **D** y 10 mg de la **batatinósido IV** a partir de la subfracción **F2**. Se realizó el análisis espectroscópico y espectrométrico de estos compuestos y se determinaron sus constantes físicas (punto de fusión y dispersión óptica rotatoria).

Batatinósido II (2): sólido amorfo blanco; p.f. 107 – 110 °C; $[\alpha]_D$ -89.2 (c. 1.3 MeOH); RMN ^1H y ^{13}C (cuadros 6 y 7); FAB – MS (modo negativo) m/z : 991 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 837 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}]^-$, 691, 545, 417. HRFAB – MS m/z 991.5826 $[\text{M} - \text{H}]^-$; calculado para $\text{C}_{50}\text{H}_{87}\text{O}_{19}$ requiere 991.5842.

Batatinósido III (3): sólido amorfo blanco; p.f. 88 – 90 °C; $[\alpha]_D$ -23 (c. 1.0 MeOH); RMN ^1H y ^{13}C (cuadros 6 y 7); FAB – MS (modo negativo) m/z : 1019 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 837 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, 691, 545, 417. HRFAB – MS m/z 1019.6178 $[\text{M} + \text{H}]^+$; calculado para $\text{C}_{52}\text{H}_{91}\text{O}_{19}$ requiere 1019.6155.

Batatina V (9): sólido amorfo blanco; p.f. 115 – 120 °C; $[\alpha]_D$ -19.1 (c. 1.1 MeOH); RMN ^1H y ^{13}C (cuadros 12, 13 y 14); FAB – MS (modo negativo) m/z : 1389 $[\text{M} - \text{H} - \text{CH}_2 - \text{C}_{69}\text{H}_{109}\text{O}_{25}]^-$, 1355 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{73}\text{H}_{126}\text{O}_{25} + \text{H}_2\text{O}]^-$, 1235 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}]^-$, 1067 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{69}\text{H}_{109}\text{O}_{25} - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O} - \text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}]^-$, 1053 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O} - \text{C}_9\text{H}_6\text{O}]^-$, 907 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 837 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_4\text{H}_6\text{O}]^-$, 691, 545, 417. HRESI – MS m/z 2741.6053 $[\text{M} - \text{H}]^-$; calculado para $\text{C}_{142}\text{H}_{236}\text{O}_{50}$ requiere 2741.5924.

Batatina VI (10): sólido amorfo blanco; p.f. 108 – 112 °C; $[\alpha]_D$ -40.6 (c. 1.6 MeOH); RMN ^1H y ^{13}C (cuadros 12, 13 y 14); FAB – MS (modo negativo) m/z : 1403 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{70}\text{H}_{111}\text{O}_{25}]^-$, 1369 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{73}\text{H}_{126}\text{O}_{25} + \text{H}_2\text{O}]^-$, 1249 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}]^-$, 1197 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{73}\text{H}_{126}\text{O}_{25} - \text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}]^-$, 1067 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, 1019 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_5\text{H}_8\text{O} - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 921 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 837 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}]^-$, 691, 545, 417. HRESI – MS m/z 2755.6190 $[\text{M} - \text{H}]^-$; calculado para $\text{C}_{143}\text{H}_{238}\text{O}_{50}$ requiere 2755.6081.

Batatinósido IV (4): sólido amorfo blanco; p.f. 123 – 125 °C; $[\alpha]_D$ -51.8 (c. 1.1 MeOH); RMN ^1H y ^{13}C (cuadros 6 y 7); FAB – MS (modo negativo) m/z : 1249 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 1067 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, 921 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 545, 417. HRFAB – MS m/z 1249.7282 $[\text{M} - \text{H}]^-$; calculado para $\text{C}_{63}\text{H}_{110}\text{O}_{24}$ requiere 1249.7309.

5.4 Condiciones cromatográficas

5.4.1 Preparación de la fase móvil

Cada fase móvil se liberó de impurezas sólidas a través de su paso por un filtro Millipore conectado al vacío, empleando una membrana de polipropileno hidrofílico de 0.45 μm . Posteriormente, la fase móvil fue degasificada por desplazamiento del aire mediante un sistema de helio a una velocidad de 10 mL/min durante 15 minutos.

5.4.2 Preparación de las muestras

Todas las muestras de prueba se disolvieron en MeOH para su posterior inyección en el equipo de cromatografía líquida de alta eficacia. En algunas ocasiones fue necesario filtrar la muestra mediante un filtro propio para jeringa llamado Acrodisco GHP, provisto de una membrana de polipropileno hidrofílico de 0.2 μm (PALL Gelman Laboratory).

5.4.3 Condiciones instrumentales: nivel analítico

Columna: Symetry C₁₈, tamaño de partícula 5 µm; 4.6 mm de diámetro interno
× 250 mm de longitud (Waters)

Fase móvil: Acetonitrilo-MeOH (9:1)

Flujo: 0.7 mL/min

Detector: Dual; UV ($\lambda = 254$ nm) – Índice de refracción (sensibilidad = 128 RIU)

Volumen de inyección: 20 µL

Concentración de la muestra de prueba: 15 mg/100µL

Tipo de elución: Isocrática

Objetivo: Análisis de las fracciones primarias α y β

5.4.4 Condiciones instrumentales: nivel preparativo

Columna: SymetryPrep C₁₈, tamaño de partícula 7 µm, 19 mm de diámetro interno × 300 mm de longitud (Waters)

Fase móvil: Acetonitrilo-MeOH (9:1) y Acetonitrilo-MeOH (7:3) para el reciclaje de las subfracciones K y L

Flujo: 9 mL/min

7 mL/min para el reciclaje de las subfracciones B y C

Detector: Índice de refracción (sensibilidad 128 RIU)

Detector UV ($\lambda = 254$ nm)

Volumen de inyección: 500 μ l

Sensibilidad: 256 RIU

Concentración de la muestra de prueba: 60 mg/mL

Tipo de elución: Isocrática

Objetivos: Fraccionamiento secundario de las fracciones α y β
Detector UV; reciclaje de las subfracciones F1, G y H
Índice de refracción; reciclaje de las subfracciones K, L, B, C, D y F2.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Identificación química de las resinas glicosídicas de tres miembros purgantes del género *Ipomoea* (Convolvulaceae)

Las resinas glicosídicas constituyen un conjunto de moléculas difíciles de aislar debido a que poseen características químicas diversas que complican su purificación, tales como isomería estructural, ésteres diferentes que varían por la longitud de sus cadenas hidrocarbonadas (y que establecen enlaces en diferentes sitios con los grupos hidroxilo de las unidades sacáridas de la molécula), y diferencias en la secuencia de glicosilación y composición de sus cadenas oligosacáridas. Además los altos pesos moleculares y las propiedades anfipáticas de estas moléculas también dificultan el aislamiento de compuestos puros mediante CLAE, necesarios como estándares cromatográficos para verificar la calidad de los productos comerciales (Pereda-Miranda *et al.*, 2006).

Una característica común de las resinas glicosídicas solubles en CHCl₃ (fracción de la “jalapina”) y en MeOH (fracción de la “convolvulina”), es la liberación de un ácido glicosídico mayoritario común, como un producto de su degradación hidrolítica.

La estructura química del producto de hidrólisis (ácido glicosídico) fue lo suficientemente diferente para lograr la identificación contundente por métodos cromatográficos y espectroscópicos de las mezclas resinosas de la “escamonea mexicana” (*Ipomoea orizabensis*) y la “tumbavaqueros” (*Ipomoea stans*).

Por consiguiente, se compararon los perfiles cromatográficos generados en CLAE por los productos saponificados de las especies autenticadas *Ipomoea orizabensis* e *Ipomoea stans* (Pereda-Miranda *et al.*, 2006) (fracción resinosa **N6M7C**, ver apartados 5.2.4 y 5.2.5), con los perfiles generados del saponificado obtenido de la preparación de

los extractos metanólico y clorofórmico de muestras de origen comercial adquiridas con el nombre de “tumbavaqueros” en el establecimiento, Las Plantas Medicinales de América S.A. de C.V., en la Ciudad de México (figura 41).

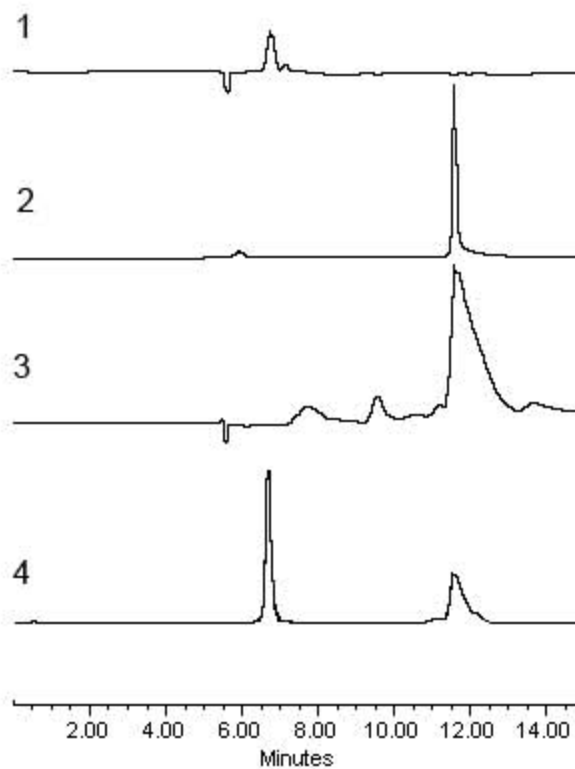


Figura 41. Perfiles cromatográficos de los ácidos glicosídicos obtenidos por saponificación de los extractos resinosos aislados de muestras auténticas de *Ipomoea orizabensis* (2) y de *Ipomoea stans* (1) y de muestras comercialmente adquiridas bajo el nombre de “tumbavaqueros” (3 y 4). Condiciones: columna con soporte de aminopropilsilano (3.9×300 mm, $10 \mu\text{m}$; Waters), fase móvil: $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$ (3 : 2), flujo: $0.5 \text{ mL}/\text{min}$, inyección de la muestra: $10 \mu\text{L}$ (concentración: $10 \text{ mg}/\text{mL}$); detector: IR.

Con los cromatogramas 3 y 4 de la figura 41, pudo demostrarse que los remedios herbolarios adquiridos comercialmente como “tumbavaqueros” están constituidos por una mezcla de dos ácidos glicosídicos, mientras que los residuos saponificados de las muestras autenticadas (cromatogramas 1 y 2) están constituidos por un ácido glicosídico principal.

De este modo, la cromatografía de líquidos de alta eficiencia, permitió alcanzar una diferenciación contundente de los remedios herbolarios comerciales con respecto a las muestras autenticadas como resultado de los diferentes tiempos de retención de los núcleos glicolipídicos mayoritarios presentes en cada una de las muestras analizadas.

Así, los residuos secos obtenidos de la fase acuosa de hidrólisis y purificados mediante CLAE se analizaron directamente por RMN¹³C con la finalidad de obtener datos espectroscópicos que permitieron generar patrones de reconocimiento para cada remedio herbolario analizado. De este modo, los perfiles cromatográficos de los productos puros de hidrólisis de las muestras autenticadas permitieron establecer (figura 41), que la mezcla de ácidos glicosídicos de los remedios herbolarios comerciales estuvieron constituidos por dos núcleos oligosacáridos diferentes.

La figura 42 ilustra las señales de la RMN ¹³C localizadas entre 95 y 110 ppm, que corresponden a los átomos de carbono anoméricos de las unidades de azúcar y que permitieron estimar inmediatamente el número de residuos monosacáridos que componen cada ácido glicosídico mayoritario, lo cual constituyó una herramienta espectroscópica diagnóstica para establecer una diferencia química contundente que permitió la identificación inequívoca de estas especies debido a que cada una de estas plantas biosintetiza un ácido glicosídico específico mayoritario.

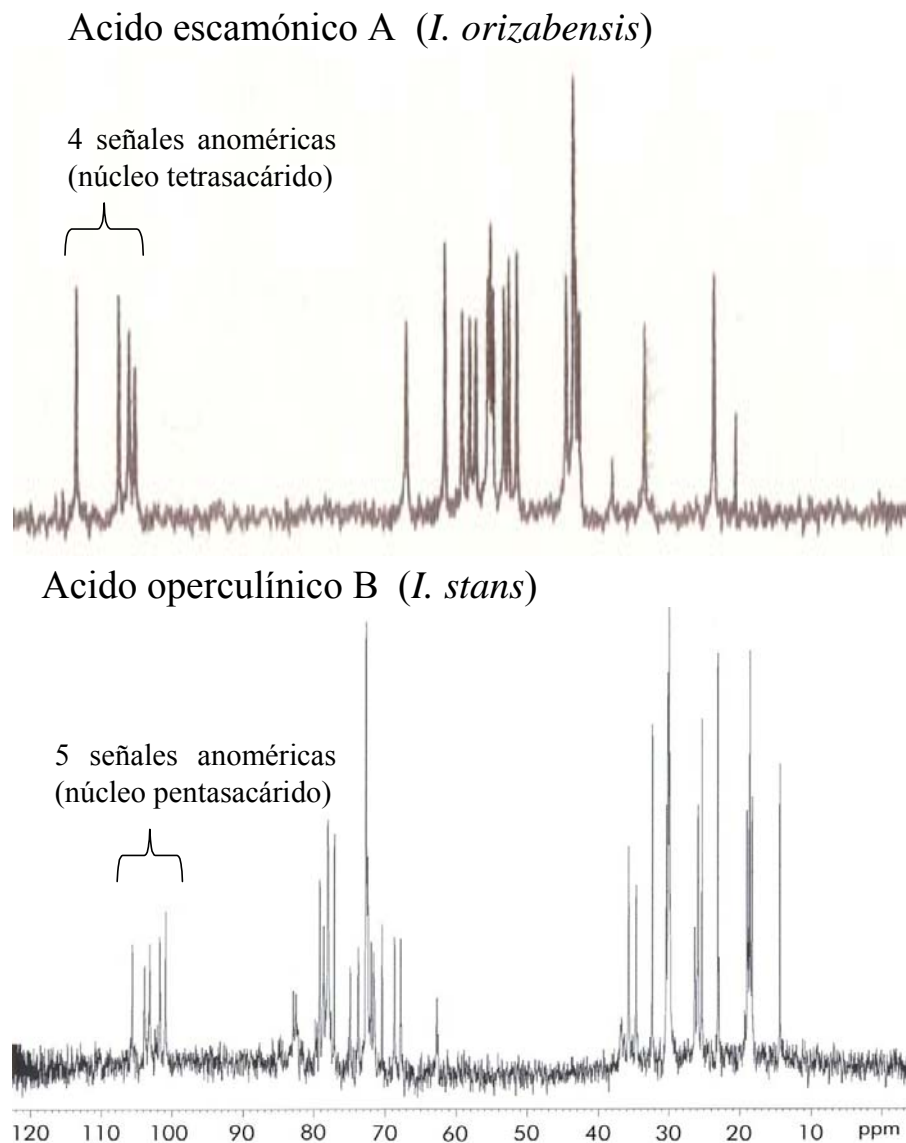


Figura 42. Perfiles espectroscópicos en la RMN ^{13}C generados por los ácidos glicosídicos de *Ipomoea orizabensis* (Acido escamónico A) e *Ipomea stans* (Acido operculínico B).

La gran similitud existente entre los desplazamientos químicos de las señales espectroscópicas generadas en la RMN ^{13}C por el ácido glicosídico mayoritario liberado de los remedios herbolarios adquiridos comercialmente con el nombre de “tumbavaqueros”, y las constantes de las resinas glicosídicas reportadas en la literatura de la especie purgante *Ipomoea orizabensis* (Ono *et al.*, 1987; Hernández-Carlos y Pereda-Miranda, 1999) junto

con las de las resinas de *Ipomoea stans* (Enríquez, *et al.*, 1992), indica que el ácido glicosídico mayoritario de estos productos naturistas es el tetrasacárido del ácido jalapínico conocido como ácido escamónico A, constituido por β -D-glucosa, α -L-ramnosa y 6-desoxi- β -D-glucosa (Véase apartado 2.3, figura 6).

Del mismo modo, los datos espectroscópicos en la RMN ^{13}C del ácido glicosídico generado por la hidrólisis del crudo resinoso de la auténtica “tumbavaqueros” (*Ipomoea stans*) lo identifican como un pentasacárido del ácido jalapínico, constituido por β -D-glucosa y α -L-ramnosa, conocido como ácido operculínico B aislado de las especies *Ipomoea operculata* y *Merremia mammosa* (Véase apartado 2.3, figura 4).

Así, la cromatografía líquida de alta eficacia hizo posible lograr una diferenciación para cada ácido glicosídico con los siguientes tiempos de retención (t_R): 5.6 minutos para el ácido glicosídico mayoritario de la especie *Ipomoea orizabensis*, el ácido escamónico A y 11.8 minutos para el ácido operculínico B de la especie *Ipomoea operculata*.

En consecuencia, los perfiles cromatográficos de la cromatografía de líquidos de alta eficiencia fueron las evidencias analíticas que demostraron claramente que la muestra adquirida en el establecimiento Las Plantas Medicinales de América S.A. de C.V. con el nombre de “tumbavaqueros” se encontraba adulterada en gran medida con la raíz de la “escamonea mexicana” (*Ipomoea orizabensis*), cuya propiedad purgante es empleada para eliminar parásitos intestinales, mientras que la “tumbavaqueros” (*Ipomoea stans*) se prescribe en medicina herbolaria para aliviar trastornos del sistema nervioso (apartado 2.5).

Como se describirá en apartados posteriores, el análisis de la composición química de las resinas glicosídicas de la planta purgante *Ipomoea batatas*, se logró a partir de la elucidación estructural de diez compuestos oligosacáridos inalterados químicamente

(compuestos **1 – 10**) y aislados de las mezclas resinosas solubles en hexano obtenidas de los tubérculos de la planta.

6.2 Aislamiento y purificación de los glicolípidos 1 – 10 a partir de las fracciones hexánicas alfa (α) y beta (β) de *Ipomoea batatas*

6.2.1 Extracción y fraccionamiento

El procedimiento de extracción realizado al material vegetal (tubérculos) de *Ipomoea batatas* permitió obtener 13.5 g de extracto hexánico. El extracto hexánico se fraccionó de manera preliminar mediante cromatografía en columna abierta sobre gel de sílice iniciando el sistema de elución con hexano-CH₂Cl₂, CH₂Cl₂-Me₂CO y CH₂Cl₂-Me₂CO-MeOH lo que permitió la obtención de cinco fracciones resinosas que fueron designadas con las letras del alfabeto griego alfa (α), beta (β), gamma (γ), delta (δ) y epsilon (ϵ) respectivamente (Véase apartado 5.3.2). En la figura 43 se ilustra el cromatograma generado mediante CCF de las fracciones primarias.

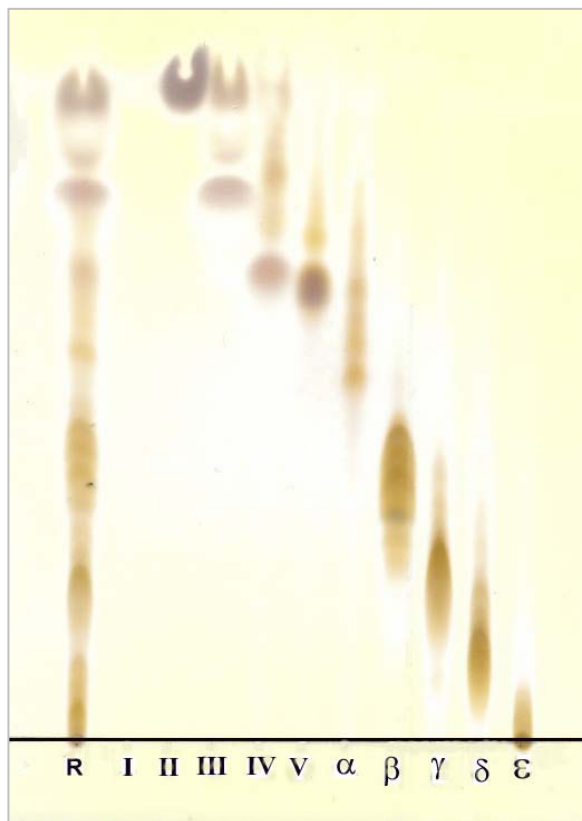


Figura 43. Cromatograma en capa fina de las fracciones resinosas alfa (α) a epsilon (ϵ) del extracto hexánico (sistema de elución CHCl_3 -MeOH, 86:14).

Las fracción alfa se sometió a una purificación inicial para la eliminación de pigmentos mediante cromatografía en columna abierta usando un soporte de fase normal, obteniéndose 985 mg de fracción resinosa parcialmente despigmentada, mientras que la fracción beta se sometió a un tratamiento de decoloración con carbón activado para la eliminación de sus pigmentos, obteniéndose 845 mg de fracción resinosa incolora.

6.2.2 Análisis por CLAE de las fracciones alfa (α) y beta (β)

Una vez efectuado el fraccionamiento primario y obtenidas las fracciones resinosas, se iniciaron las pruebas de purificación en cromatografía líquida de alta presión en fase inversa (C_{18}) con la fracción alfa.

La cromatografía en capa fina de esta fracción demostró la presencia de componentes visibles al UV y por esta razón, las primeras pruebas de separación en HPLC en nivel analítico se efectuaron con un detector UV-VIS. Estos análisis se realizaron hasta encontrar las condiciones de elución más adecuadas para conseguir la mejor resolución de esta compleja mezcla resinosa en sus componentes.

Las mejores condiciones consistieron en una fase móvil constituida por una mezcla de 9 partes de CH_3CN por una de $MeOH$. En la figura 44 se ilustra el cromatograma de líquidos generado por la fracción α empleando un detector con arreglo de fotodiodos y una longitud de onda de 254 nm bajo condiciones cromatográficas en nivel analítico, en donde puede claramente observarse la presencia de tres picos mayoritarios designados arbitrariamente como subfracciones **F1** ($t_R = 11.2$ min), **G** ($t_R = 12.6$ min) y **H** ($t_R = 14.7$ min).

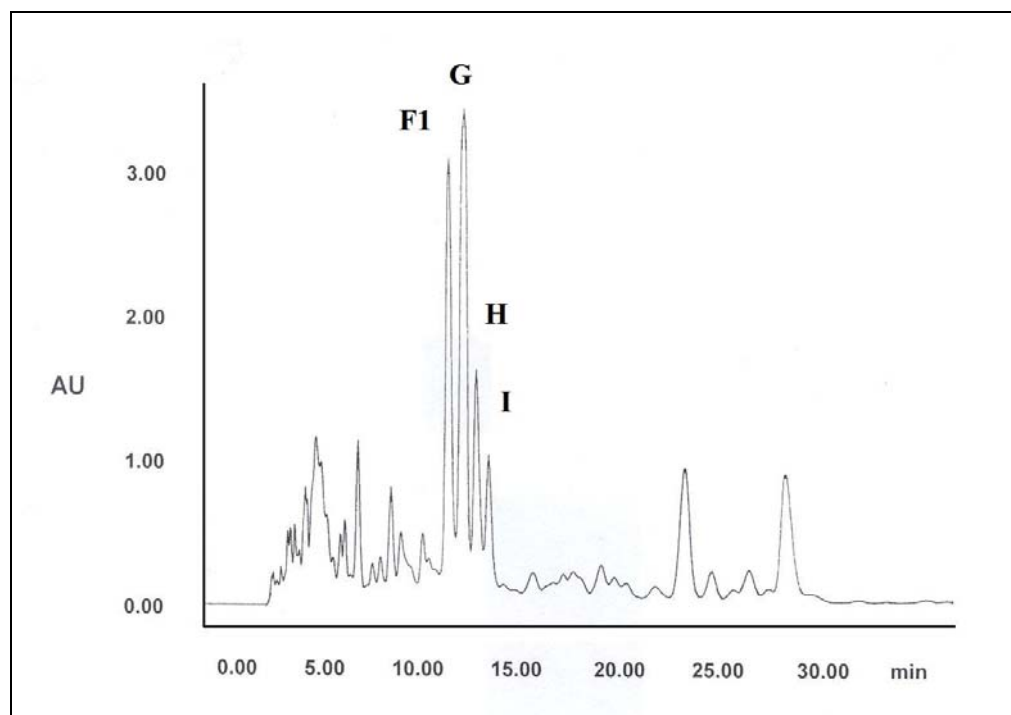


Figura 44. Cromatograma de líquidos en nivel analítico generado por la fracción alfa. Condiciones instrumentales: columna C_{18} (4.6×250 mm, $5 \mu\text{m}$); fase móvil: $\text{CH}_3\text{CN} - \text{MeOH}$ (9:1); flujo de elución: 0.7 mL/min ; volumen de inyección de la muestra $20 \mu\text{L}$ (3 mg/ml); detector: UV.

En la CLAE en nivel preparativo se registró en forma simultánea al registro del cromatograma UV de la fracción alfa, un nuevo cromatograma de separación utilizando un detector de índice de refracción (figura 45). En este último cromatograma se observó una importante coincidencia entre los picos mayoritarios **F1**, **G** y **H** observados previamente en el cromatograma UV y adicionalmente, se logró el hallazgo de otros dos picos mayoritarios designados como subfracciones **K** ($t_R = 28.9 \text{ min}$) y **L** ($t_R = 31.0 \text{ min}$), mismos que no fueron detectados por el equipo con arreglo de fotodiodos.

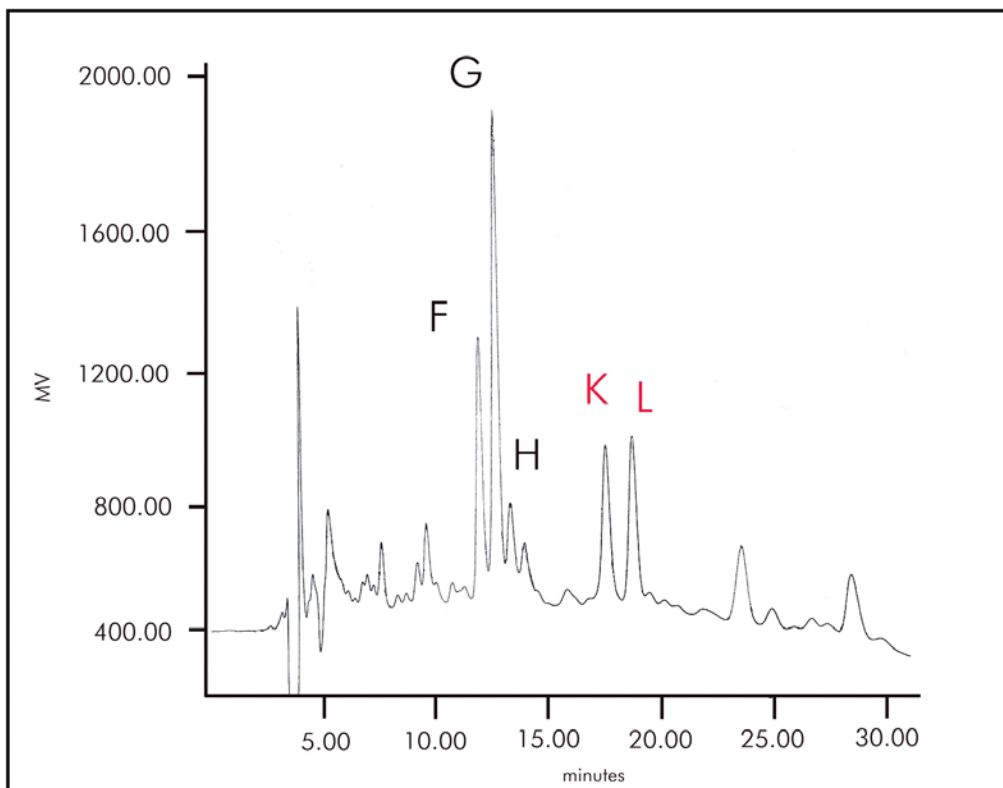


Figura 45. Cromatograma de líquidos a nivel preparativo generado por la fracción alfa. Condiciones instrumentales: columna C_{18} (19×300 mm, $7 \mu\text{m}$); fase móvil: $\text{CH}_3\text{CN} - \text{MeOH}$ (9:1); flujo de elución: 9 mL/min; volumen de inyección de 1 muestra $500 \mu\text{L}$ (40 mg/ml); detector: IR.

El análisis cromatográfico de la fracción beta fue desarrollado utilizando la misma metodología empleada para el análisis de la fracción alfa, iniciando con el desarrollo de las condiciones en nivel analítico necesarias para la resolución de esta mezcla resinosa en sus componentes mayoritarios.

En este caso no se observó una correspondencia considerable entre el patrón del cromatograma registrado con el detector UV y el registrado con el detector IR. Al haber una escasa correlación entre los dos cromatogramas, se presentó el problema de elegir el

método más confiable y por tanto se realizaron pruebas de colecta de subfracciones con ambos detectores.

En el método que utilizó luz UV (254 nm) hubo una relación muy pobre entre la intensidad de los picos y la cantidad de la subfracción colectada. Así, se descartó el uso de este último y se eligió el método cromatográfico con el detector de índice de refracción. En la figura 46 se ilustra el perfil cromatográfico a nivel preparativo empleando un detector de índice de refracción y la fase móvil compuesta por CH₃CN – MeOH (9:1).

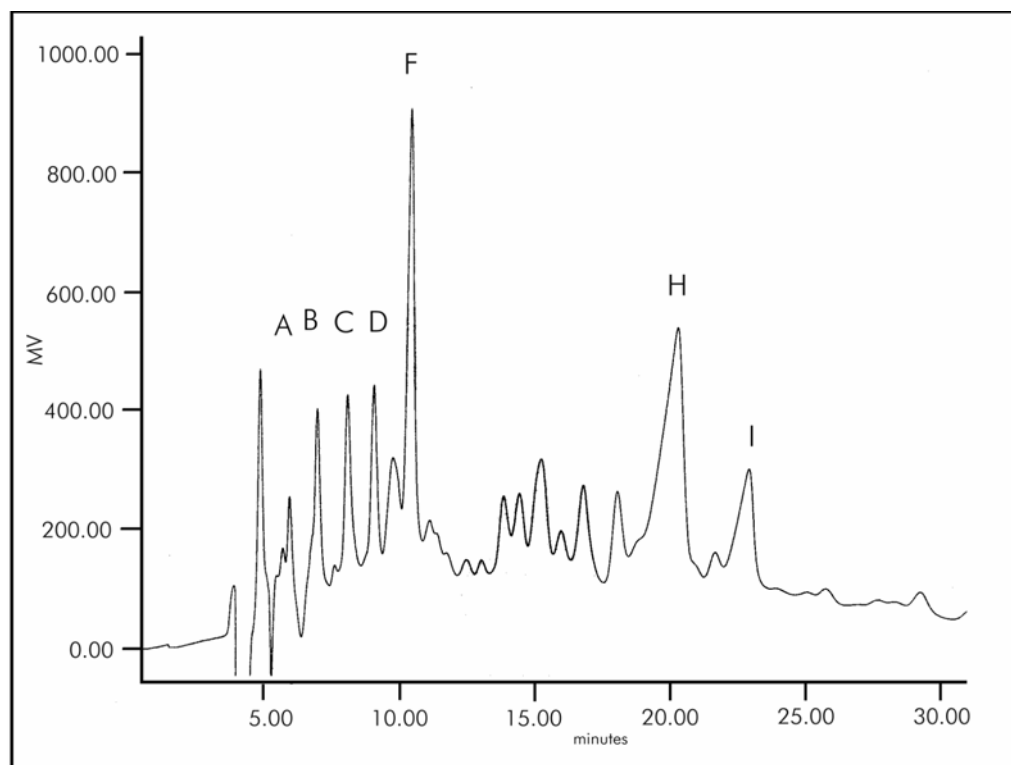


Figura 46. Cromatograma de líquidos a nivel preparativo generado por la fracción β . Condiciones instrumentales: columna C₁₈ (19 × 300 mm, 7 μ m); fase móvil: CH₃CN – MeOH (9:1); flujo de elución: 9 mL/min; volumen de inyección de l muestra 500 μ L (40 mg/ml); detector: IR.

El fraccionamiento por CLAE de los picos alfa y beta se realizó en una columna preparativa de fase inversa rellena con un soporte adsorbente lipofílico funcionalizado con dimetiloctadecilsilano (C_{18}) empleando la técnica de sobrecarga de columna y corte de núcleo hasta agotar ambas fracciones y reunir cantidades suficientes de las subfracciones **F1**, **G**, **H**, **K** y **L** de alfa, así como **B** ($t_R = 8.4$ min), **C** ($t_R = 9.6$ min), **D** ($t_R = 13.4$ min), **E** ($t_R = 13.4$ min) y **F2** ($t_R = 15.5$ min) de beta, mismas que fueron inyectadas de manera independiente para utilizar la técnica de reciclaje de muestra para poder separar y purificar sus constituyentes (Bah y Pereda-Miranda 1996; Kubo y Nakatsu, 1990).

6.2.3 Aislamiento y purificación de los glicolípidos individuales

Tomando en cuenta que se obtuvo una buena resolución en la separación de las subfracciones, se consideró que las condiciones anteriormente utilizadas para el nuevo fraccionamiento de alfa eran adecuadas para la separación de los glicolípidos presentes en cualquiera de estas subfracciones. El reciclaje de las muestras **F1**, **G**, **H**, **K** y **L** permitió la purificación de los compuestos **5**, **1**, **2**, **3** y **4** (figura 45).

Es importante mencionar que aunque las condiciones mencionadas eran adecuadas para la purificación de las subfracciones, se intentó disminuir el tiempo de retención de **K** y **L** con la finalidad de acortar el tiempo de reciclaje para cada muestra, adicionando más metanol a la fase móvil empleada en el reciclaje de ambas. La composición resultante de la fase fue de $CH_3CN - MeOH$ (7:3), con lo cual se logró disminuir el tiempo de retención de la subfracción **K** de 28.9 a 26.7 min. mientras que no se observó una disminución significativa del tiempo de retención para **L** empleando las mismas condiciones de elución.

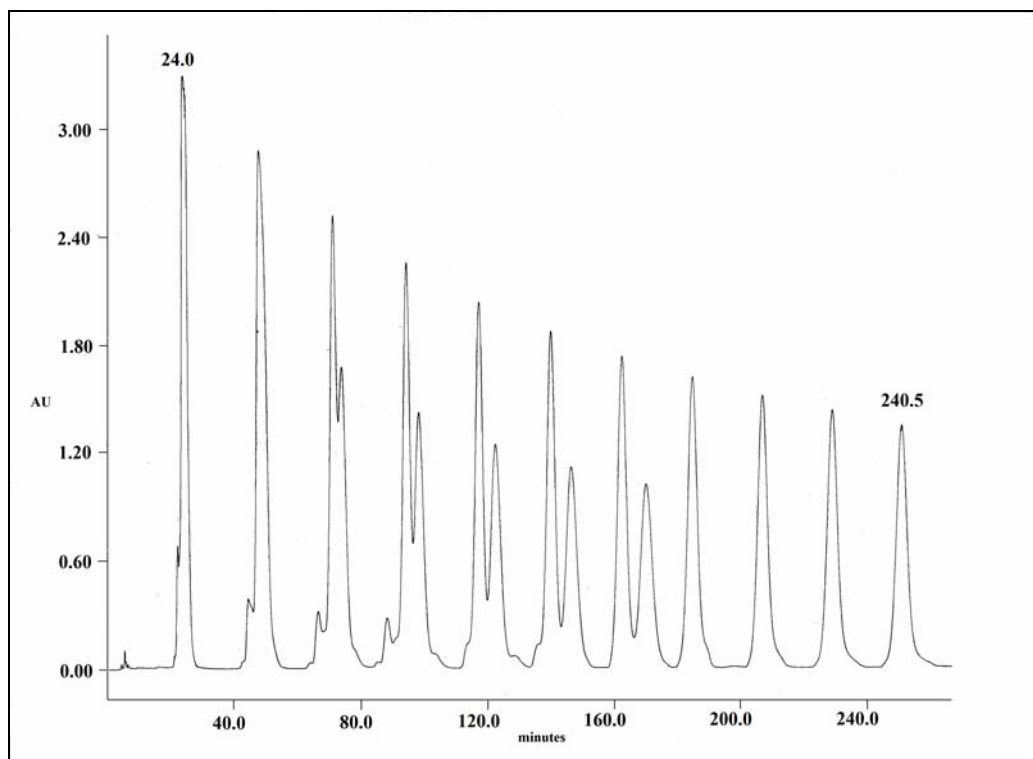


Figura 47. Cromatograma de líquidos de la subfracción **F1**. Aplicación del reciclaje de la muestra para la purificación de la batatina I (**6**). Condiciones instrumentales: columna: C₁₈ (19 × 300 mm, 7 μm); fase móvil: CH₃CN – MeOH (9:1); flujo de elución: 9 ml/min; volumen de inyección de la muestra; 500 μL (54 mg/mL).

Las subfracciones **B**, **C**, **D**, y **F2**, de la fracción primaria β también fueron reinyectadas de forma independiente para obtener sus constituyentes oligosacáridos mayoritarios, que en el caso de la subfracción **D**, por medio de la técnica de reciclaje se logró el aislamiento simultáneo de dos principios oligosacáridos distintos, las batatinas V y VI (compuestos **9** y **10**).

En el caso de las subfracciones **K** y **L** se intentó reducir el tiempo de retención de ambos analitos agregando más metanol a la fase móvil durante el reciclaje de ambas muestras. Por el contrario, para efectuar el reciclaje de las subfracciones **B** y **C**, se intentó prolongar su tiempo de retención disminuyendo la velocidad de flujo cromatográfico de 9 a 7 mL/min, logrando alargar el periodo de salida de las muestras de la columna de 8.4 a 12.6 minutos para la subfracción **B** y de 9.6 a 16.5 minutos para la subfracción **C**.

6.2.4 Separación de los glicolípidos 1 – 10

Como resultado de los reciclajes efectuados para cada una de las subfracciones mencionadas se logró el aislamiento de 10 compuestos distintos, designados como la serie de los batatinósidos (compuestos **1 – 4**) aislados de las subfracciones **B**, **C**, **F2** y **G** y la serie de las batatinas, los compuestos **5 a 10**, constituidos por un conjunto de compuestos oligosacáridos de estructura dimérica, aislados de las subfracciones **F1**, **H**, **K** y **L**, junto con otras estructuras aisladas simultáneamente en el reciclaje de la subfracción **D** de la fracción resinosa β .

6.3 Elucidación estructural de los batatinósidos I – IV

El registro de los espectros unidimensionales de RMN ^1H y ^{13}C (figuras 48 y 49) de los compuestos puros fue el primer paso para obtener información general acerca de su estructura. La primera observación importante fue el número de señales anoméricas observadas en la RMN ^{13}C de 95 a 103 ppm que indican directamente el número de unidades sacáridas constituyentes del núcleo estructural de estas moléculas lipooligosacáridas.

Otro punto importante para obtener información estructural es la búsqueda de señales diagnósticas o características determinadas por los patrones de acoplamiento generados por los protones de las moléculas de azúcar, tales como los típicos singuletes anchos generados por los protones anoméricos de las unidades de la 6-desoxi- α -L-manosa conocida como L-ramnosa o las señales generadas por los protones en la posición 4 ó 5 de la fucosa, cuyo patrón de acoplamiento es reconocible fácilmente en la RMN ^1H , por mencionar algunos ejemplos (Pereda-Miranda y Bah, 2003).

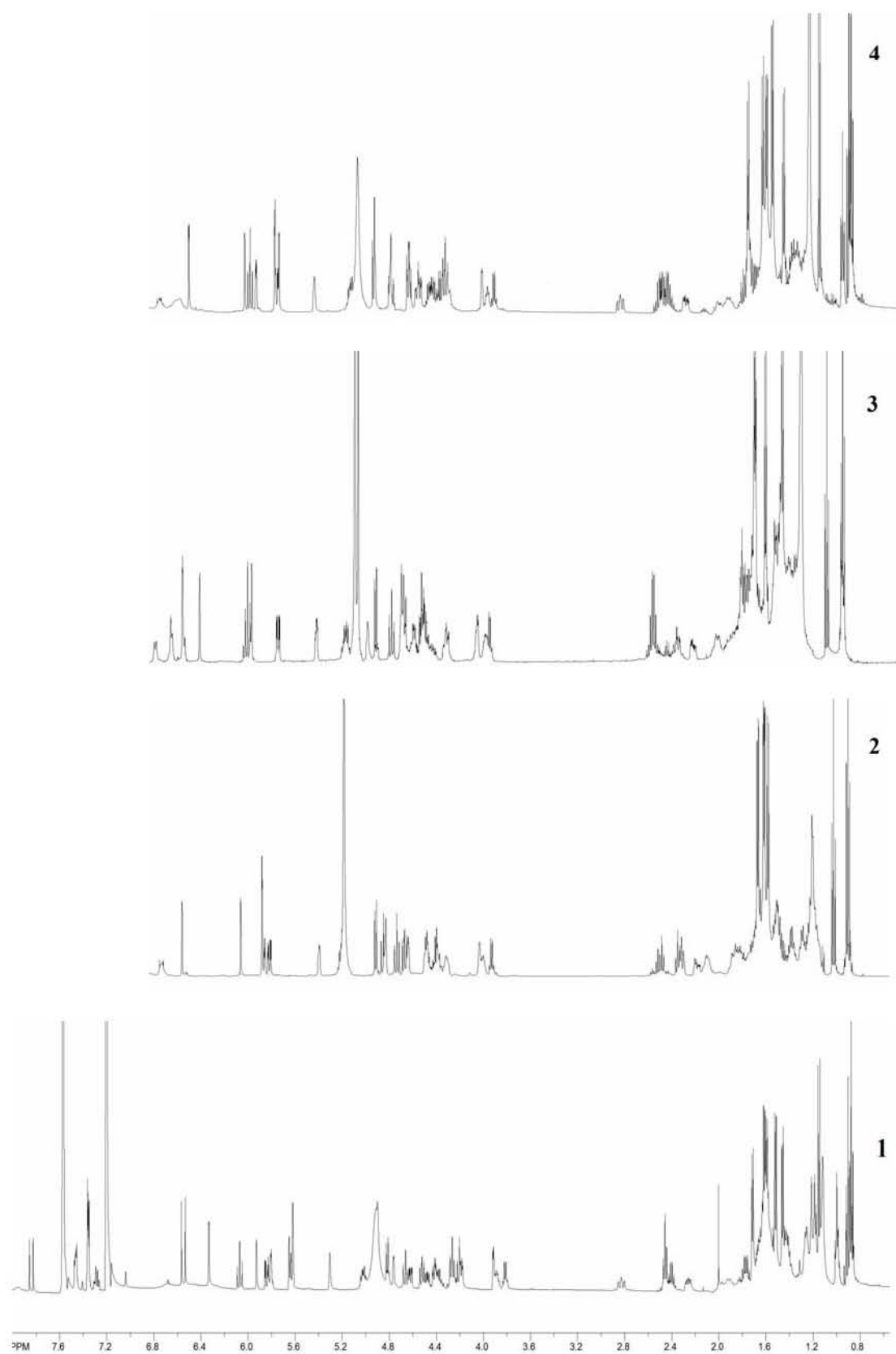


Figura 48. Espectros de RMN ^1H (500 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de los batatinósidos I (1) – IV(4).

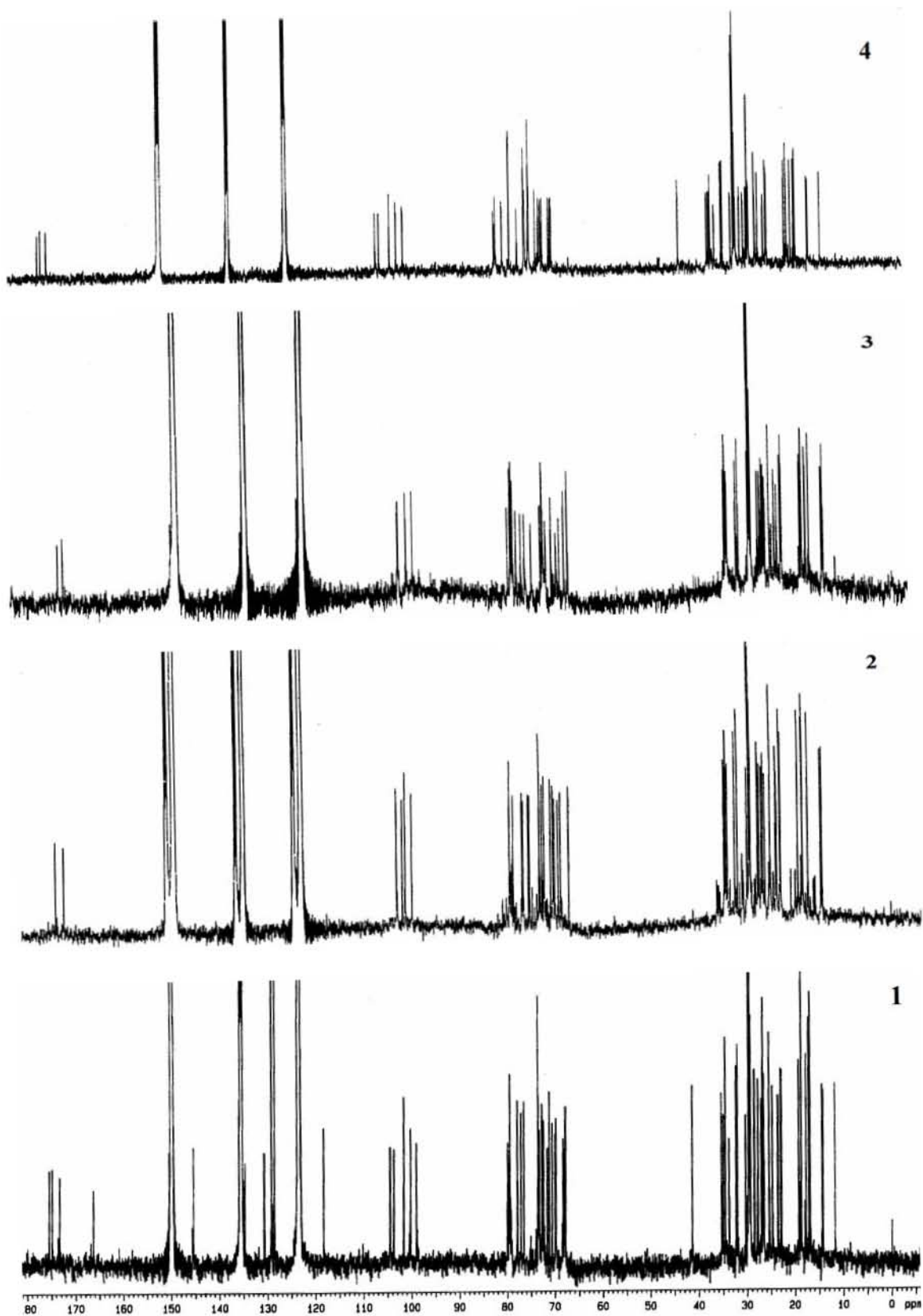


Figura 49. Espectros de RMN ^{13}C (125 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de los batatinósidos I (1) – IV(4).

6.3.1 Identificación de monosacáridos y asignación de desplazamientos químicos en la RMN ^1H

El primer paso para la identificación de carbohidratos en la RMN es la localización e identificación de las distintas señales diagnósticas generadas por los protones de las unidades de azúcar. En particular, en la RMN ^1H del batatinósido I (**1**) se observaron las siguientes señales características: cuatro señales generadas por protones anoméricos de unidades de ramnosa, la señal para una fucosa, de acuerdo con los valores de las constantes de acoplamiento observados para esta unidad sacárida (Pereda-Miranda y Bah, 2003), y cinco dobletes localizados entre 1.4 y 1.6 ppm, que indican la presencia de un número correspondiente de unidades metilpentosa en la estructura de este compuesto.

Con el auxilio de las técnicas bidimensionales en la RMN (COSY y TOCSY) y al considerar que el núcleo está compuesto de cinco metilpentosas, además de que éstas son en su mayoría ramnosa, se pudo resolver la asignación de las señales para los protones metinos centrados entre 4.0 – 6.4 ppm.

El procedimiento de asignación se inició localizando las señales mejor resueltas y diagnósticas; e.g. H₂ para la fucosa, así como las cinco señales anoméricas y H₄ para una de las unidades de ramnosa. Como segundo paso, se establecieron los cuadros de conectividades para estas señales en el experimento COSY, como se ilustra en la figura 50.

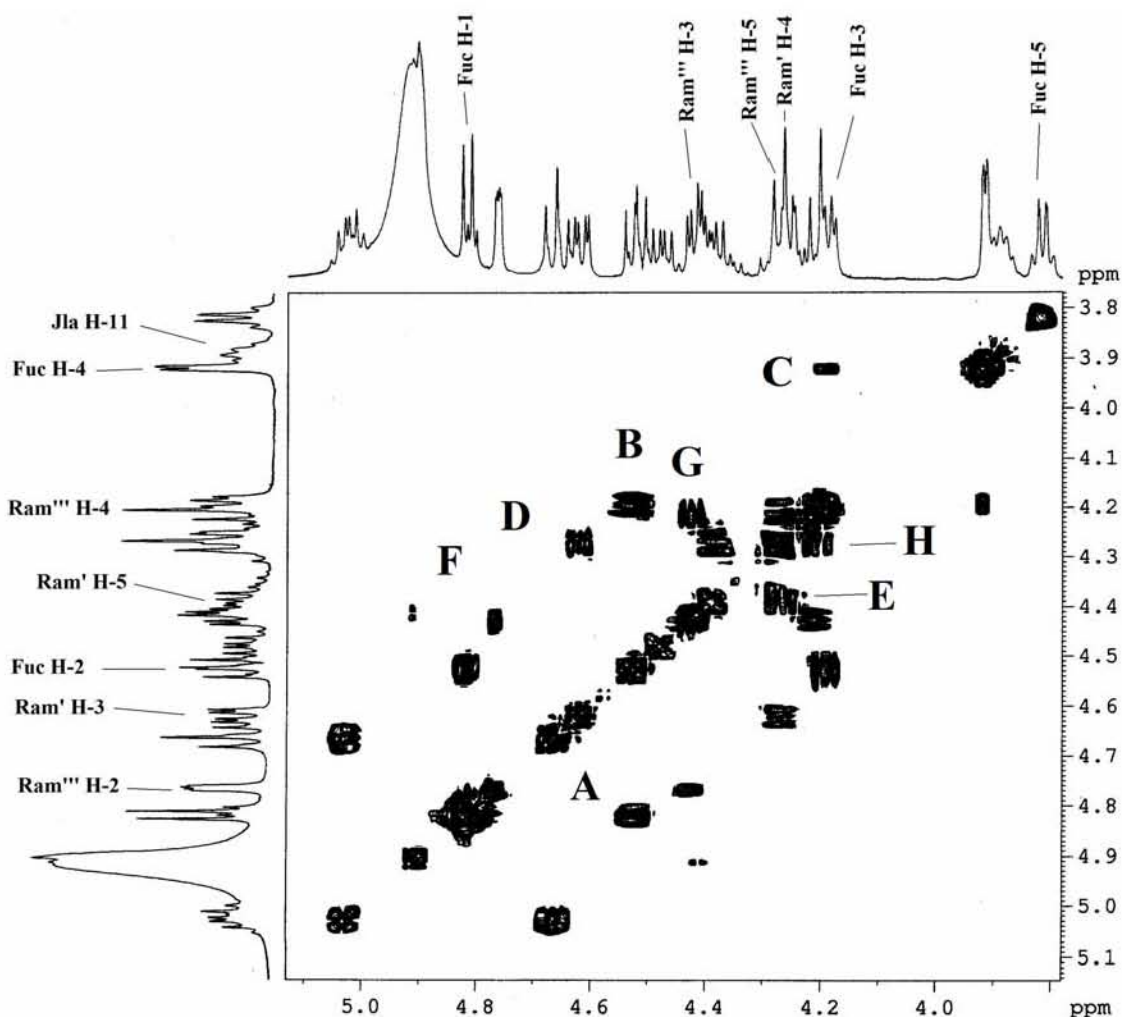


Figura 50. Sección del espectro COSY para la porción oligosacárida del batatinósido I (**1**). Correlaciones ($^3J_{H-H}$): **A**; Fuc H₁ – H₂, **B**; Fuc H₂ – H₃, **C**; Fuc H₃ – H₄, **D**; Fuc H₄ – H₅, **E**; Ram' H₃ – H₄, **F**; Ram' H₄ – H₅, **G**; Ram''' H₂ – H₃, **H**; Ram''' H₃ – H₄, **I**; Ram''' H₄ – H₅. Abreviaciones: Fuc = fucosa, Ram' = ramnosa interna inferior, Ram''' = ramnosa externa inferior.

Las correlaciones vecinales hidrógeno-hidrógeno también se establecieron directamente en las expansiones de los experimentos bidimensionales COSY sin necesidad de marcar antes los cuadros de conectividad, como se ilustra en la figura 51 para la RMN ^1H del batatinósido IV (**4**).

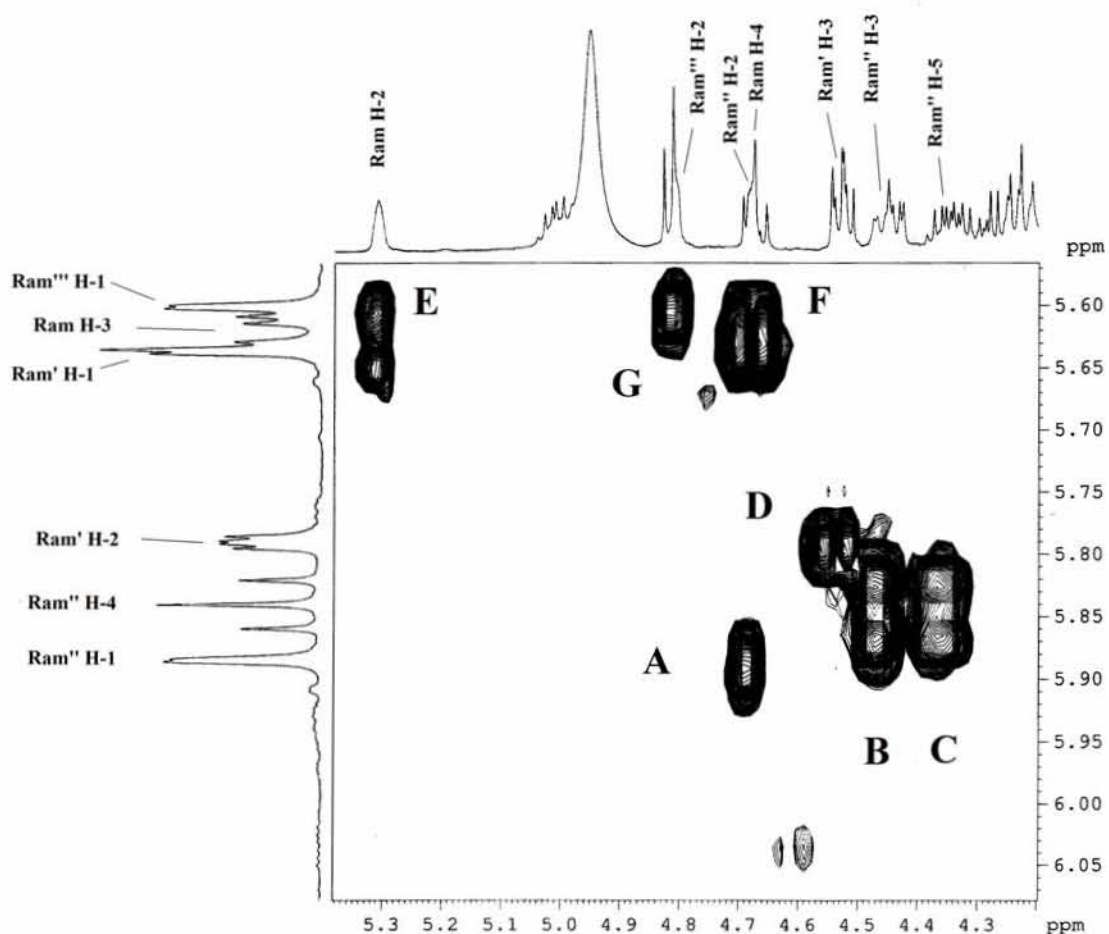


Figura 51. Sección del espectro COSY para la porción oligosacárida del batatinósido IV (4). Correlaciones ($^3J_{H-H}$): **A**; Ram'' H₁ – H₂, **B**; Ram'' H₃ – H₄, **C**; Ram'' H₄– H₅, **D**; Ram' H₂ – H₃, **E**; Ram H₂ – H₃, **F**; Ram H₃ – H₄, **G**; Ram''' H₁ – H₂. Abreviaciones: Ram = ramnosa interna superior, Ram' = ramnosa interna inferior, Ram'' = ramnosa externa superior, Ram''' = ramnosa externa inferior.

Siguiendo la misma tendencia se dio seguimiento a la asignación y secuencia de las señales vecinales oligosacáridas de los batatinósidos II (2) y III (3) en la RMN 1H , cuya elucidación estructural justificada en apartados posteriores, indican que sus moléculas están constituidas por un núcleo oligosacárido de cuatro azúcares, tres ramnosas y una fucosa.

Aunque el seguimiento de los cuadros de conectividad en el experimento COSY puede ser una herramienta espectroscópica que por sí misma resulta eficaz para lograr la localización y la asignación completa de las señales oligosacáridas en la RMN ^1H , en la elucidación estructural de las resinas glicosídicas se recurre también a otra técnica bidimensional homonuclear, el experimento TOCSY (Pereda-Miranda y Bah, 2003).

Este experimento permite localizar las interacciones vecinales, también pueden hallarse las correlaciones a larga distancia ^1H - ^1H entre los protones de una unidad monomérica completa, lo cual es de gran utilidad cuando existe sobreposición, como sucede en la mayor parte de los glicolípidos de las convolvuláceas, cuyas estructuras lipooligosacáridas generan espectros de RMN sumamente complejos, en especial para aquellos polímeros superiores a cuatro unidades sacáridas y para aquellos que se encuentran con un número bajo de grupos esterificantes.

La búsqueda de correlaciones a larga distancia ^1H - ^1H en el experimento TOCSY se inicia buscando nuevamente una señal oligosacárida diagnóstica y resuelta o no sobrepuesta en el espectro bidimensional, siguiendo en línea recta las señales o “manchas” transversales que indican las interacciones con los demás protones de la unidad sacárida completa en una tendencia vertical u horizontal. Complementando estas pistas espectroscópicas con las correlaciones vecinales del espectro COSY se puede lograr la localización inequívoca de las señales de una unidad sacárida específica en un espectro complejo. Este proceso se ilustra en la figura 52 para la localización de las señales de la fucosa del batatinósido II (2).

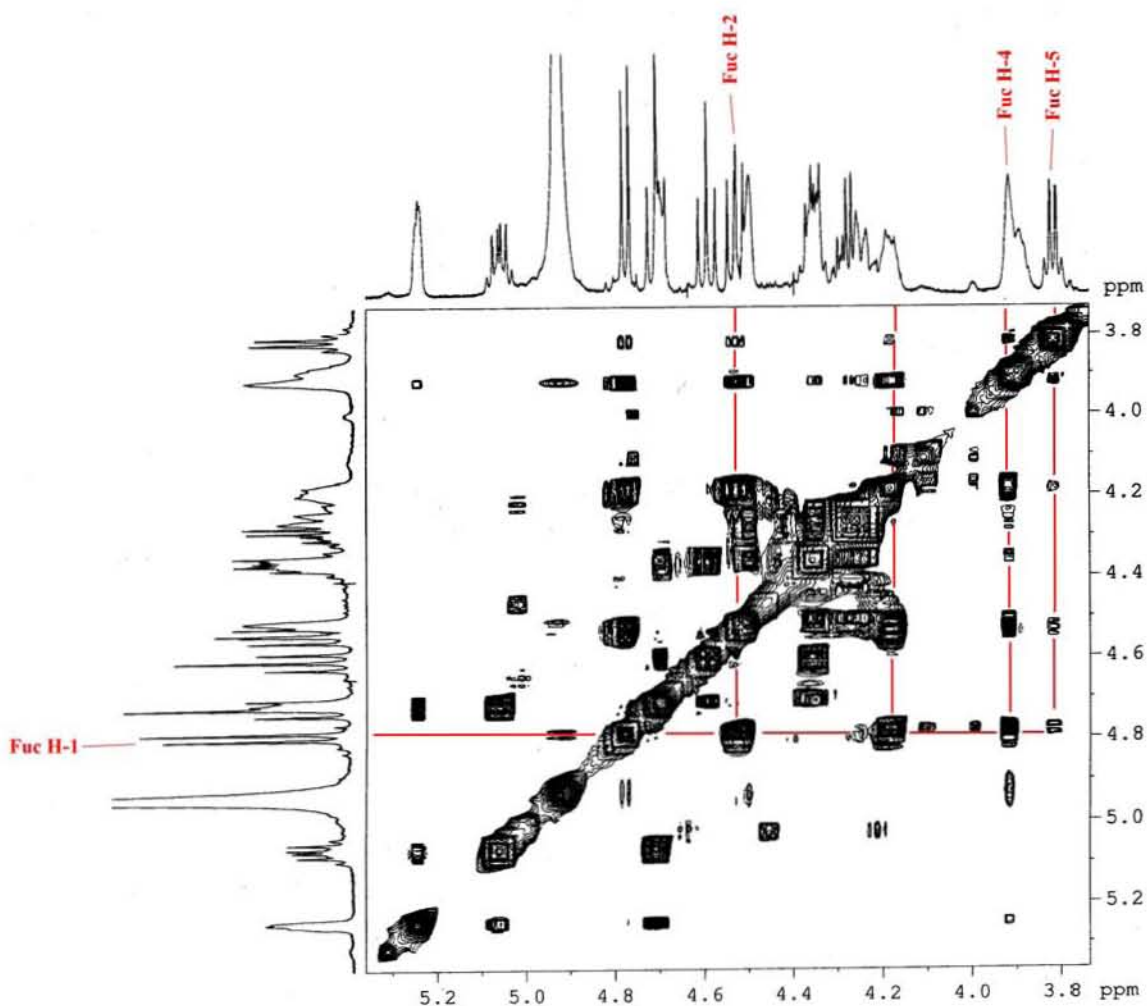


Figura 52. Sección del espectro TOCSY para la porción oligosacárida del glicolípido **2**. Abreviaciones: Fuc = fucosa.

En muchos casos, las señales de protones anoméricos suelen ser las mejores para dar seguimiento a las correlaciones del experimento TOCSY, aunque como repetidamente se ha mencionado, cualquier señal que se encuentre bien resuelta puede servir como punto de partida para localizar el resto de sus señales vecinas. La figura 53, ilustra la porción oligosacárida donde se observan las señales generadas por tres unidades de ramnosa distintas cuyos desplazamientos químicos están perfectamente diferenciados del resto del espectro, facilitando la asignación de cada una de las unidades sacáridas.

En este caso, aparte de utilizar dos señales anoméricas distintas como puntos de referencia, se puede hacer uso del doble de dobles generado por el protón H₃ de la unidad de ramnosa en la que se establece el enlace éster de la macrolactona característica de estos compuestos (Véase apartado 6.3.3).

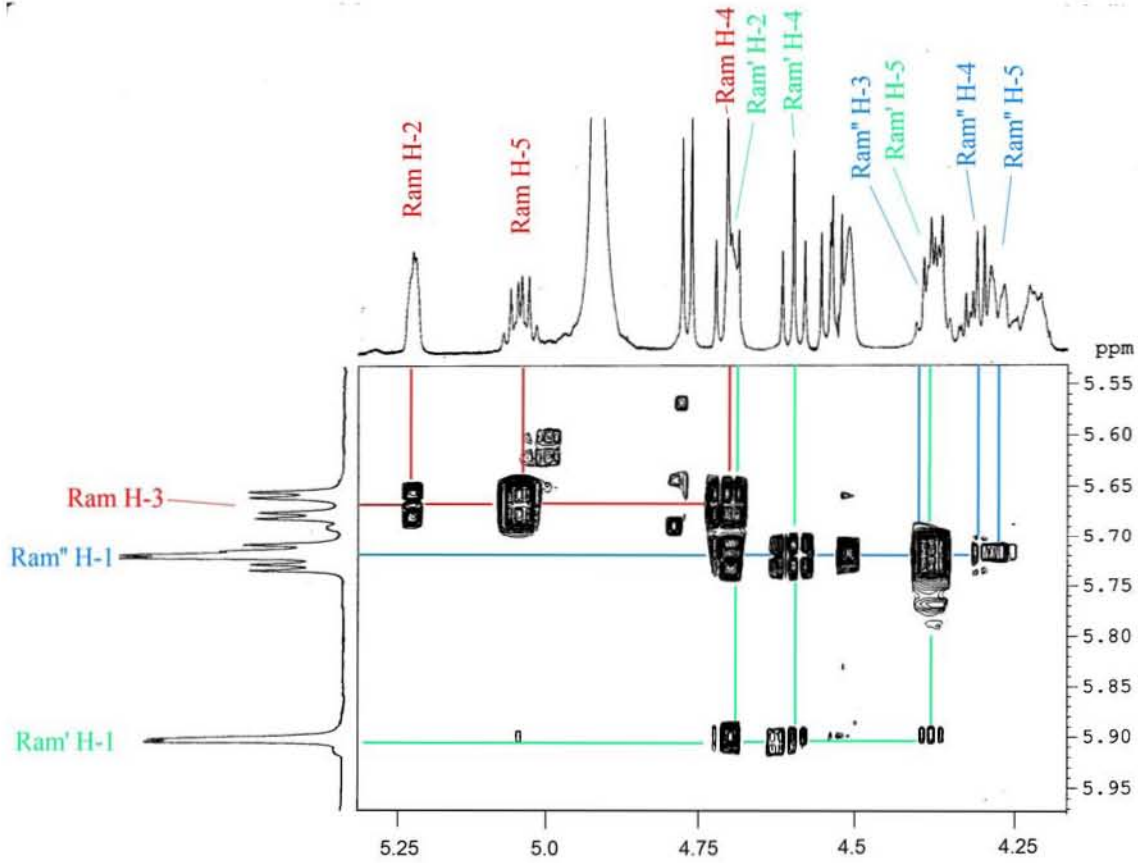


Figura 53. Sección del espectro TOCSY para la porción oligosacárida del batatinósido II (2). Abreviaciones: Ram = ramnosa interna superior, Ram' = ramnosa interna inferior, Ram'' = ramnosa externa.

La asignación del desplazamiento químico para cada una de las señales dobles correspondientes a los protones H₆ de metilpentosa también podría complicarse empleando

únicamente el experimento COSY, debido a que sus señales vecinas H_5 son en muchas ocasiones difíciles de identificar por la sobreposición observada.

Por consiguiente, el análisis de las correlaciones TOCSY entre los dobletes de 1.4 a 1.6 ppm con las señales de los protones anoméricos es de gran utilidad para la asignación de las resonancias correspondientes a los grupos metilo de las 6-desoxihexosas, como se ilustra en la figura 54.

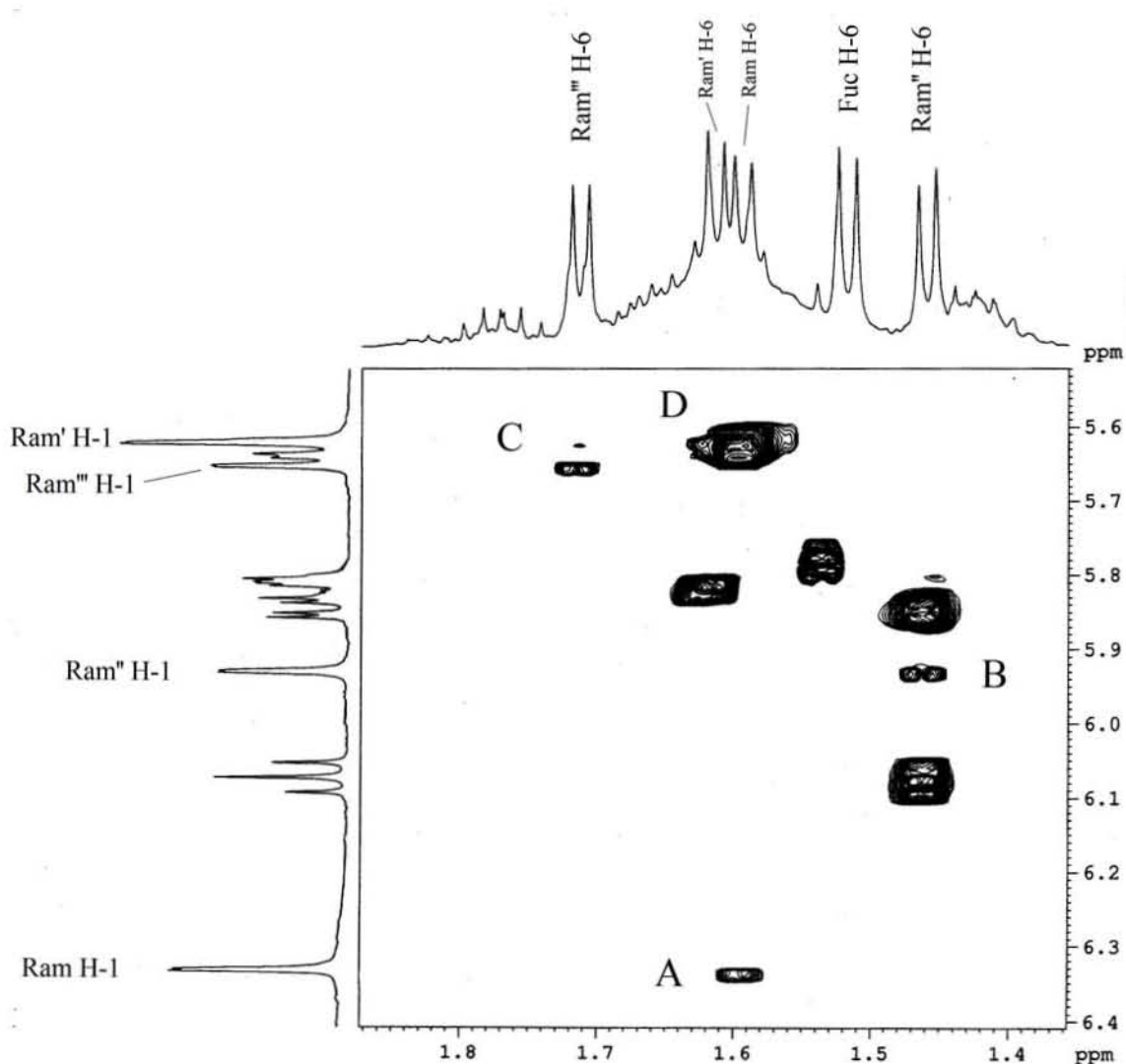


Figura 54. Sección del espectro TOCSY mostrando las correlaciones de los grupos metilo de 6-desoxihexosas con protones anoméricos del batatinósido I (**1**). Correlaciones: **A**; Ram H-1 – H₆, **B**; Ram'' H-1 – H₆, **C**; Ram''' H-1 – H₆, **D**; Ram' H-1 – H₆.

Los desplazamientos químicos en la RMN ^1H para todas las señales oligosacáridas de los batatinósidos I (1) a IV(4) se incluyen en el cuadro 6 (Véase apartado 6.4).

6.3.2 Asignación de los desplazamientos químicos en la RMN ^{13}C

Después de identificar y diferenciar las señales aportadas por todos los protones de las unidades sacáridas por medio de los experimentos COSY y TOCSY, se procedió con la asignación de sus desplazamientos químicos en la RMN ^{13}C . Con frecuencia se inicia con la identificación de las señales generadas por átomos de carbono anoméricos ubicadas entre 95 y 105 ppm aproximadamente, mediante el empleo del experimento bidimensional heteronuclear HMQC, en el cual se observan las correlaciones entre un átomo de carbono determinado y los protones directamente enlazados al mismo. Así, se ilustra en la figura 55 la identificación de los cuatro carbonos anoméricos del núcleo tetrasacárido del batatinósido III (3).

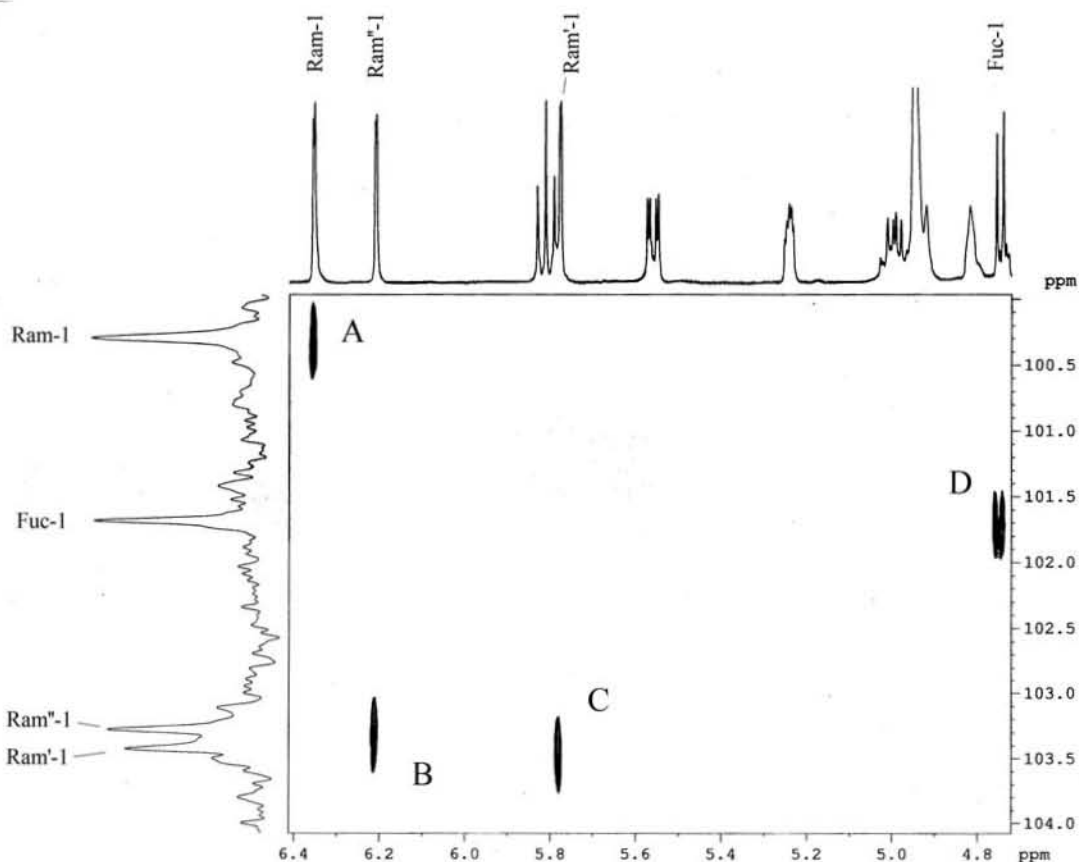


Figura 55. Sección del espectro HMQC del batatinósido III (**3**). Asignación de las resonancias de ^{13}C para la identificación de los carbonos anoméricos. Asignaciones: **A**; C_1Ram , **B**; $\text{C}_1\text{Ram}''$, **C**; $\text{C}_1\text{Ram}'$, **D**; C_1Fuc .

Para sustentar lo mencionado anteriormente es necesario señalar que como un complemento al conteo de las señales anoméricas en el espectro unidimensional de RMN ^{13}C , se identifican las correlaciones entre protones y carbonos anoméricos en el experimento bidimensional HSQC que indicarán inequívocamente el número de unidades monoméricas de azúcar que contienen los núcleos oligosacáridos. Posteriormente, se localizan y asignan del mismo modo los desplazamientos químicos correspondientes en la RMN ^{13}C para el resto de las señales como se ejemplifica en la figura 56, en la asignación de las señales oligosacáridas del batatinósido I (**1**).

Asimismo, el espectro HMQC permite relacionar directamente, cada una de estas señales de carbono anomérico a una unidad de azúcar específica en la estructura que se está elucidando, lo cual será necesario para abordar el establecimiento de la secuencia de glicosilación a través de la correlaciones a larga distancia observadas en los espectros bidimensionales HMBC, para determinar la posición en la que se establecen los enlaces glicosídicos característicos de las moléculas oligosacáridas (Pereda-Miranda y Bah, 2003).

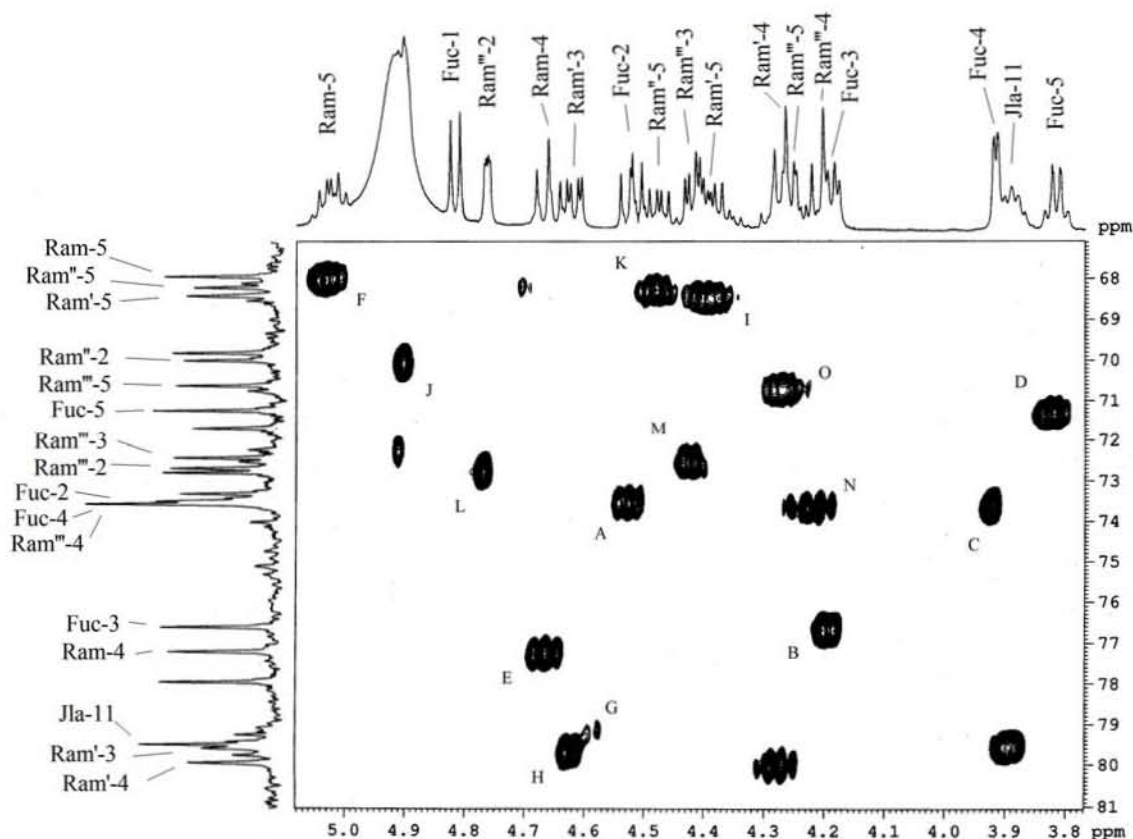


Figura 56. Sección del espectro HMQC para la región oligosacárida del batatinósido I (1). Asignación de las resonancias de ^{13}C ; **A**; C_2Fuc , **B**; C_3Fuc , **C**; C_3Fuc , **D**; C_4Fuc , **E**; C_5Fuc , **F**; C_4Ram , **G**; $\text{C}_3\text{Ram}'$, **H**; $\text{C}_4\text{Ram}'$, **I**; $\text{C}_5\text{Ram}'$, **J**; $\text{C}_2\text{Ram}''$, **K**; $\text{C}_5\text{Ram}''$, **L**; $\text{C}_2\text{Ram}'''$, **M**; $\text{C}_3\text{Ram}'''$, **N**; $\text{C}_4\text{Ram}'''$, **O**; $\text{C}_5\text{Ram}'''$.

De un modo muy semejante a la interpretación del experimento homonuclear TOCSY, mediante el experimento heteronuclear TOCSY-HSQC se puede dar seguimiento a todas las señales generadas por los átomos de hidrógeno de una unidad monomérica, localizando solamente una de sus señales en el espectro de RMN ^{13}C y observando posteriormente todas las correlaciones con sus átomos de hidrógeno en el bidimensional TOCSY-HSQC. También, es posible realizar el procedimiento inverso, localizando previamente una señal resuelta y diagnóstica en la RMN ^1H unidimensional y siguiendo después las correlaciones con los átomos de carbono en el espectro bidimensional.

En la figura 57 se ejemplifica la interpretación del espectro bidimensional HSQC-TOCSY, para el batatinósido IV (**4**). Se utilizaron las señales generadas por los átomos de carbono anoméricos con los que se pueden localizar fácilmente las señales de los átomos de hidrógeno de sus respectivas unidades monoméricas.

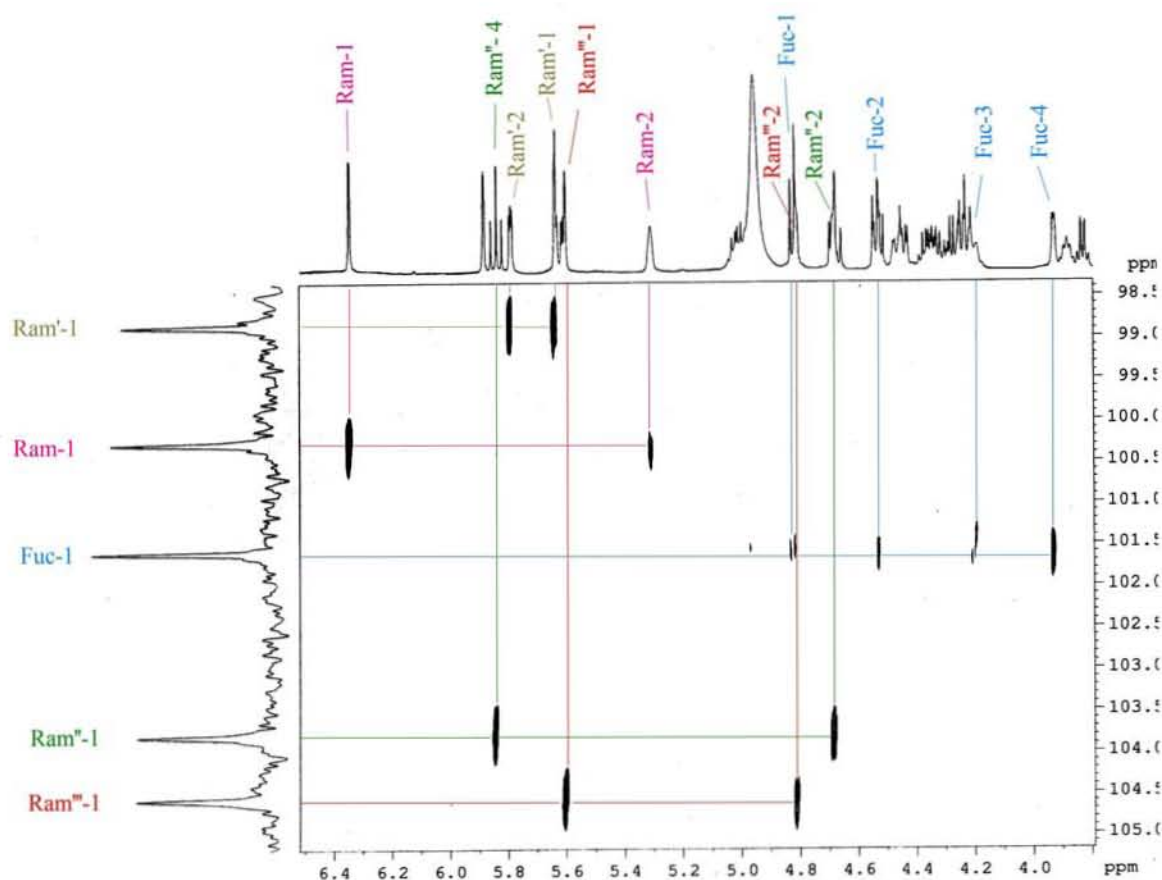


Figura 57. Sección del espectro TOCSY-HSQC para la porción oligosacárida del batatinósido IV (**4**). Abreviaciones: Fuc = fucosa, Ram = ramnosa interna superior, Ram' = ramnosa interna inferior, Ram'' = ramnosa externa superior, Ram''' = ramnosa externa inferior.

En el proceso inverso de identificación de las correlaciones entre una señal diagnóstica seleccionada de la RMN ^1H y los respectivos átomos de carbono de la unidad sacárida a la que pertenece, las señales dobles correspondientes a H_6 generadas por los sustituyentes metilo de fucosa y ramnosa constituyen un excelente punto de partida para la localización de estas correlaciones en el espectro TOCSY-HSQC, como se ilustra en la figura 58 para el compuesto **4**.

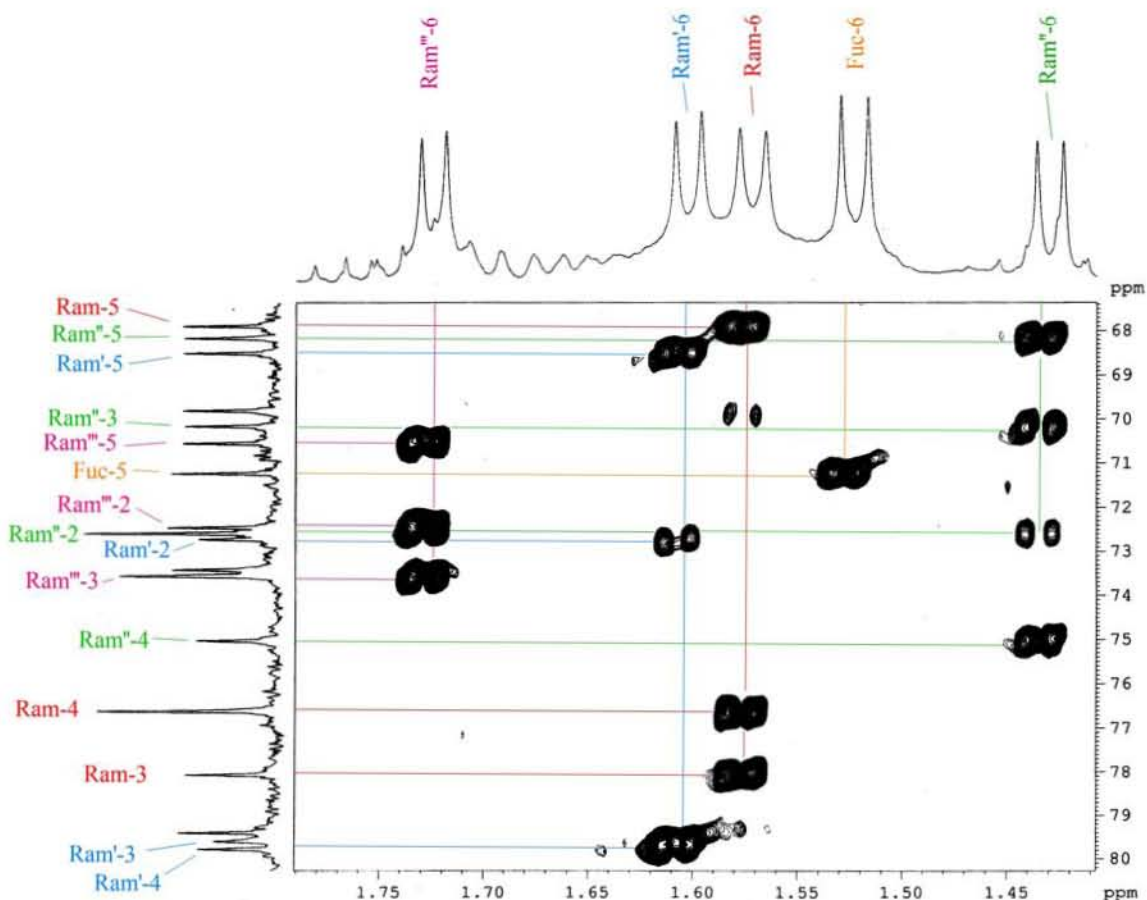


Figura 58. Sección del espectro TOCSY-HSQC para el batatinósido IV (4). Correlaciones H-C para H₆ de las metilpentosas.

6.3.3 Determinación de las secuencias de glicosilación y posiciones de esterificación: Establecimiento de las propuestas estructurales

En el apartado 6.3.2 se mencionó la importancia que tiene la localización de las señales que constituyen cada una de las unidades sacáridas específicas en los espectros unidimensionales para determinar en qué posiciones se establecen los enlaces glicosídicos a través de las correlaciones C-H a tres enlaces de distancia (${}^3J_{C-H}$) mediante los espectros bidimensionales HMBC. De esta forma, se obtendrá la propuesta estructural del núcleo oligosacárido constitutivo.

Sin embargo, para culminar la elucidación estructural también es necesario identificar la posición en la que se establece el enlace tipo éster para la formación de la macrolactona característica de este grupo de compuestos. También es necesario el reconocimiento de los diferentes residuos ácidos que forman enlaces tipo éster con algunos de los grupos oxidrilo de los monómeros sacáridos del núcleo oligosacárido y su posición de esterificación y, por último, mediante la espectrometría de masas, su peso molecular.

6.3.3.1 Identificación de los ácidos glicosídicos y establecimiento de la secuencia oligosacárida

El establecimiento de la secuencia oligosacárida de las resinas glicosídicas consiste esencialmente en determinar en qué orden se encuentran enlazadas sus unidades de azúcar y esto se logra identificando las conectividades C-H a tres enlaces (${}^3J_{C-H}$) entre los átomos de carbono anoméricos y los protones enlazados directamente a la posición donde se establece el enlace glicosídico entre dos moléculas de azúcar.

En particular, los batatinósidos I (**1**) y IV (**4**) poseen una estructura pentasacárida compuesta por una unidad de β -D-fucosa y cuatro de α -L-ramnosa, enlazadas en el orden en que se ilustra en la figura 59, en donde se ejemplifica el empleo del espectro HMBC para la identificación de los enlaces glicosídicos y se confirma la unión glicosídica entre la β -D-fucosa y la posición 11 del ácido jalapινόlico que forma la aglicona.

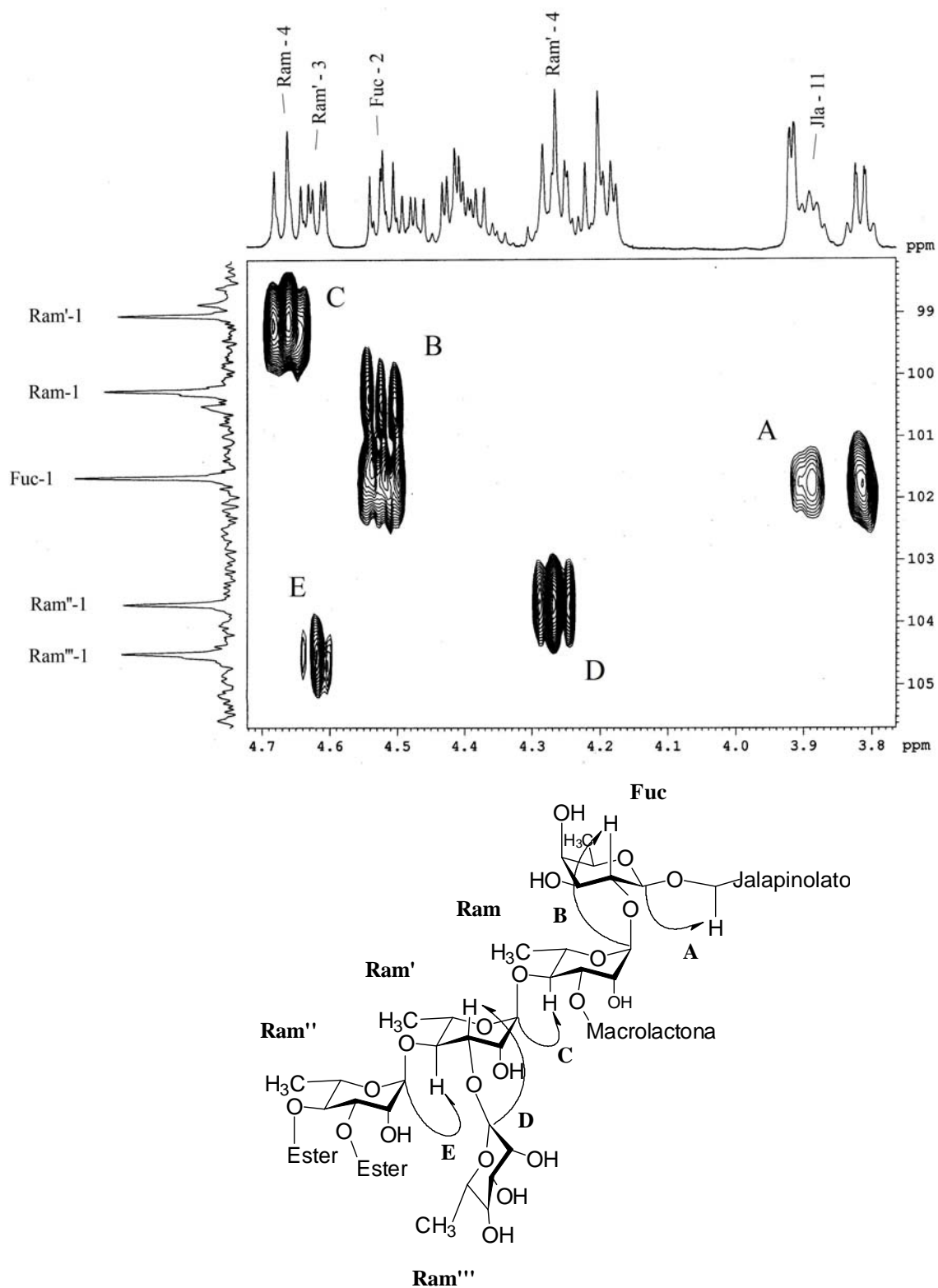


Figura 59. Sección del espectro HMBC del batatinósido I (**1**). Conectividades; **A**; $\text{C}_1\text{Fuc}-\text{H}_{11}\text{Jla}$, **B**; $\text{C}_1\text{Ram}-\text{H}_2\text{Fuc}$, **C**; $\text{C}_1\text{Ram}'-\text{H}_4\text{Ram}$, **D**; $\text{C}_1\text{Ram}''-\text{H}_4\text{Ram}'$, **E**; $\text{C}_1\text{Ram}'''-\text{H}_3\text{Ram}'$.

El constituyente pentasacárido del ácido simónico B, reportado previamente como constituyente de las resinas de *Ipomoea batatas* (Noda, *et al.*, 1992), *Ipomoea pes-caprae* (Pereda-Miranda, *et al.*, 2005), *Ipomoea murucoides* (Chérigo, *et al.*, 2006) e *Ipomoea stolonifera* (Noda *et al.*, 1994), también constituye el esqueleto molecular glicosídico de los batatinósidos I (**1**) y IV (**4**).

Las correlaciones glicosídicas entre dos azúcares pueden encontrarse en sentido inverso, es decir localizando las conectividades H-C entre las señales anoméricas de los átomos de hidrógeno y los respectivos átomos de carbono en los que se establece directamente un enlace glicosídico, la figura 60 ejemplifica la aplicación de esta metodología en la determinación de la secuencia oligosacárida del batatinósido IV (**4**).

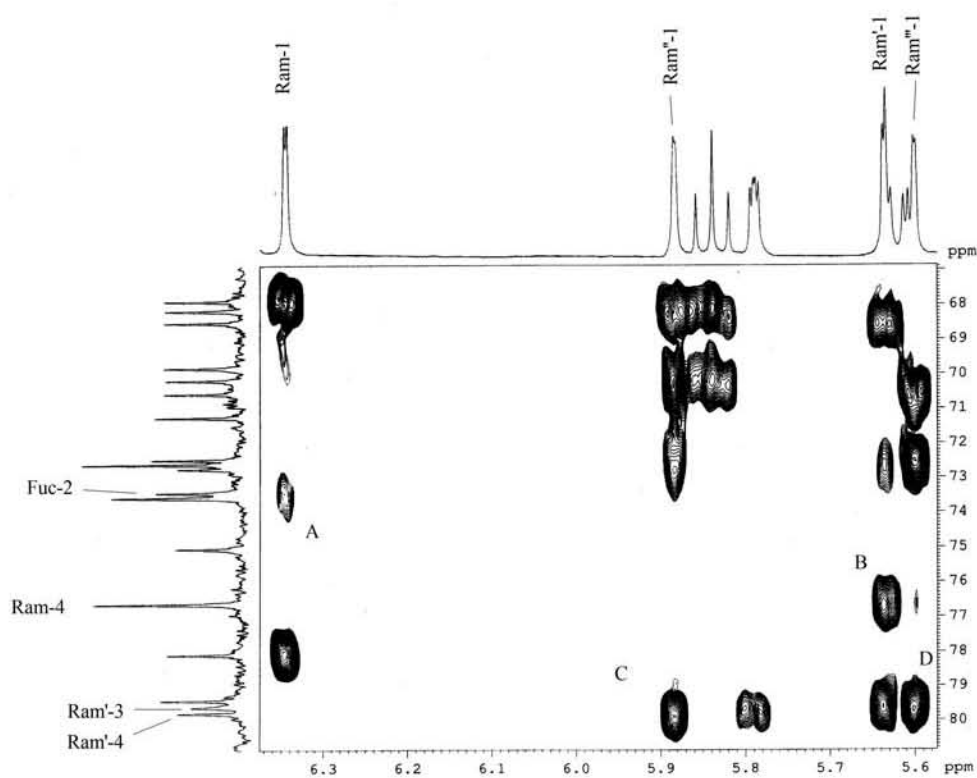


Figura 60. Sección del espectro HMBC para la determinación de la secuencia oligosacárida del batatinósido IV (**4**). Conectividades ($^3J_{H-C}$); **A**; H₁Ram-C₂Fuc, **B**; H₁Ram'-C₄Ram, **C**; H₁Ram''-C₄Ram', **D**; H₁Ram'''-C₃Ram'.

Con respecto a la estructura base de los batatinósidos II (**2**) y III (**3**) fue posible deducir en un principio por el análisis de los espectros COSY, TOCSY, HMQC que está constituida por un núcleo tetrasacárido compuesto por una unidad de β -D-fucosa y tres de α -L-ramnosa. Después de determinar la secuencia oligosacárida mediante el experimento HMBC (figura 61) se llegó a la conclusión de que se trata del ácido operculínico C y que también está presente como constituyente de las resinas glicosídicas de *I. operculata* (Noda *et al.*, 1992), *I. batatas* (Ono *et al.*, 1992) e *I. murucoides* (Chérigo, *et al.*, 2006).

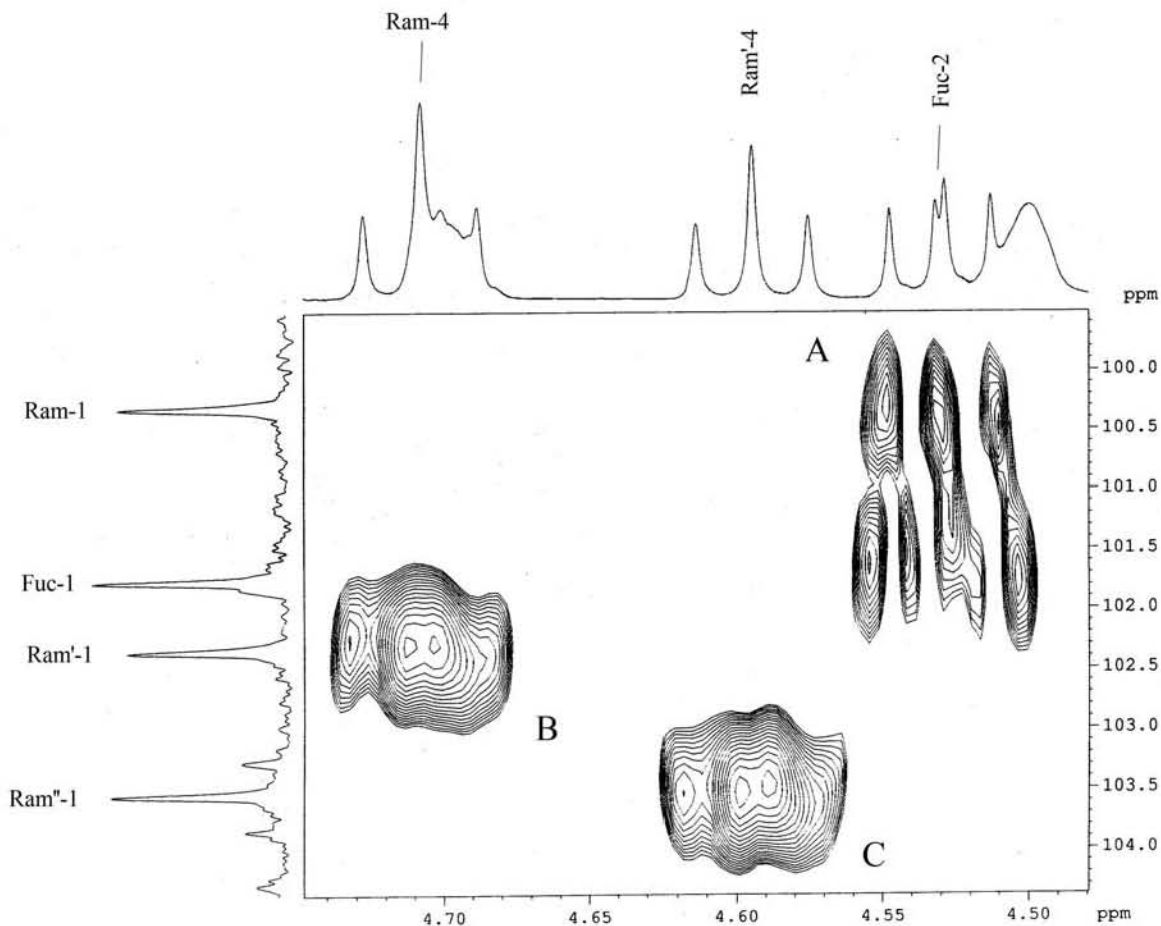
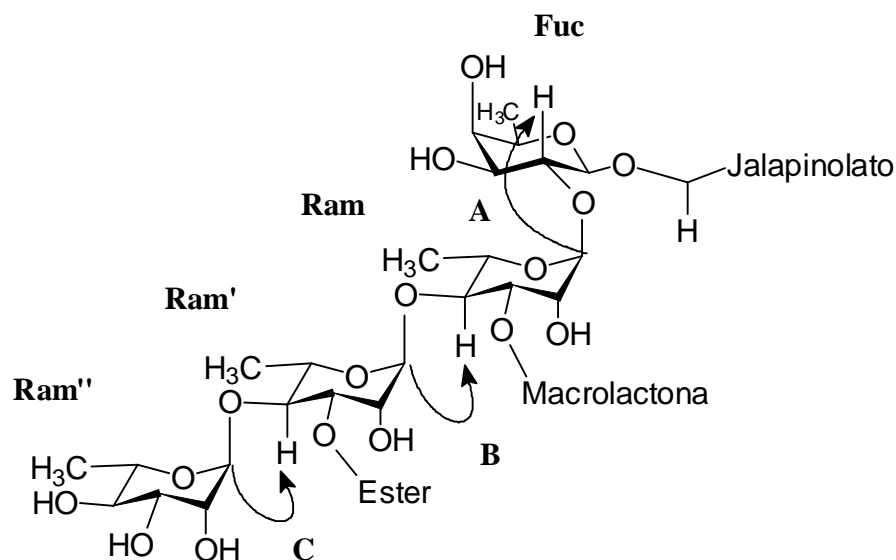


Figura 61. Sección del espectro HMBC del batatinósido II (**2**) para la determinación de su secuencia glicosídica. Conectividades; **A**; C₁Ram-H₂Fuc, **B**; C₁Ram'-H₄Ram, **C**; C₁Ram''-H₄Ram' (ver estructura en la página siguiente).



6.3.3.2 Reconocimiento de las señales diagnósticas para los residuos de acilación

Las resinas glicosídicas del género *Ipomoea* son compuestos lipooligosacáridos, y en su nombre está implícito que son estructuras esterificadas por residuos ácidos de cadena larga y corta, teniendo también en consideración que existe otra porción lipofílica aportada por la aglicona constituida en la mayoría de los casos por el ácido jalapínico. En particular, los batatinósidos y las batatinas poseen residuos de ácido *n*-dodecanoico, *n*-decanoico, 2(*S*)-2-metilbutanoico, isobutírico y *trans*-cinámico, cuyas señales diagnósticas son directamente reconocibles en los espectros unidimensionales de RMN ^1H .

Los metinos alfa a los grupos carbonilo de los ácidos 2-(*S*)-2-metilbutanoico e isobutanoico generan patrones de acoplamiento invariables y muy característicos en sus señales de RMN ^1H , un triple de cuartetos de ~ 6 y 7 Hz para el primero y un septuplete simétrico de ~ 7 Hz el último.

Los protones del grupo metileno alfa un grupo carbonilo de ácidos *n*-decanoico y *n*-dodecanoico generan una sola señal (2H) que aparece en la mayoría de los compuestos

como un triplete con una constante de acoplamiento cercana a los 7 Hz. En algunos casos donde evidentemente hay alguna restricción en la libertad conformacional para este residuo estas señales aparecen como señales no equivalentes magnéticamente, semejantes a un doble de doble de dobles cada una, difíciles de interpretar en muchos casos por una sobreposición debido a la similitud en su desplazamiento químico, cuyas constantes están comprendidas entre los 14, 10 y 7 Hz (Chérigo y Pereda-Miranda, 2006).

Para localizar las posiciones de esterificación en los oligosacáridos es de suma importancia realizar una asignación correcta de los núcleos de carbono correspondientes a cada uno de los grupos carbonilo. El grupo aportado por la aglicona que forma la macrolactona característica de estos compuestos, cuyos protones del grupo metileno alfa al carbonilo generan dos señales características localizadas respectivamente a ~2.5 y 2.3 ppm, presentan un patrón de acoplamiento reconocido como doble de doble de dobles de 15, 7 y 3 Hz aproximadamente. Para esta asignación, se realizó un análisis de las interacciones que se presentan entre el núcleo del carbono de los grupos carbonilo y los protones H₂ de los correspondientes ácidos y de la aglicona (interacciones C-H a dos enlaces o $^2J_{C-H}$) mediante el espectro HMBC (Pereda-Miranda y Bah, 2003). El espectro de la figura 62 ilustra esta asignación para los residuos que esterifican la porción oligosacárida de la batatina V (**9**).

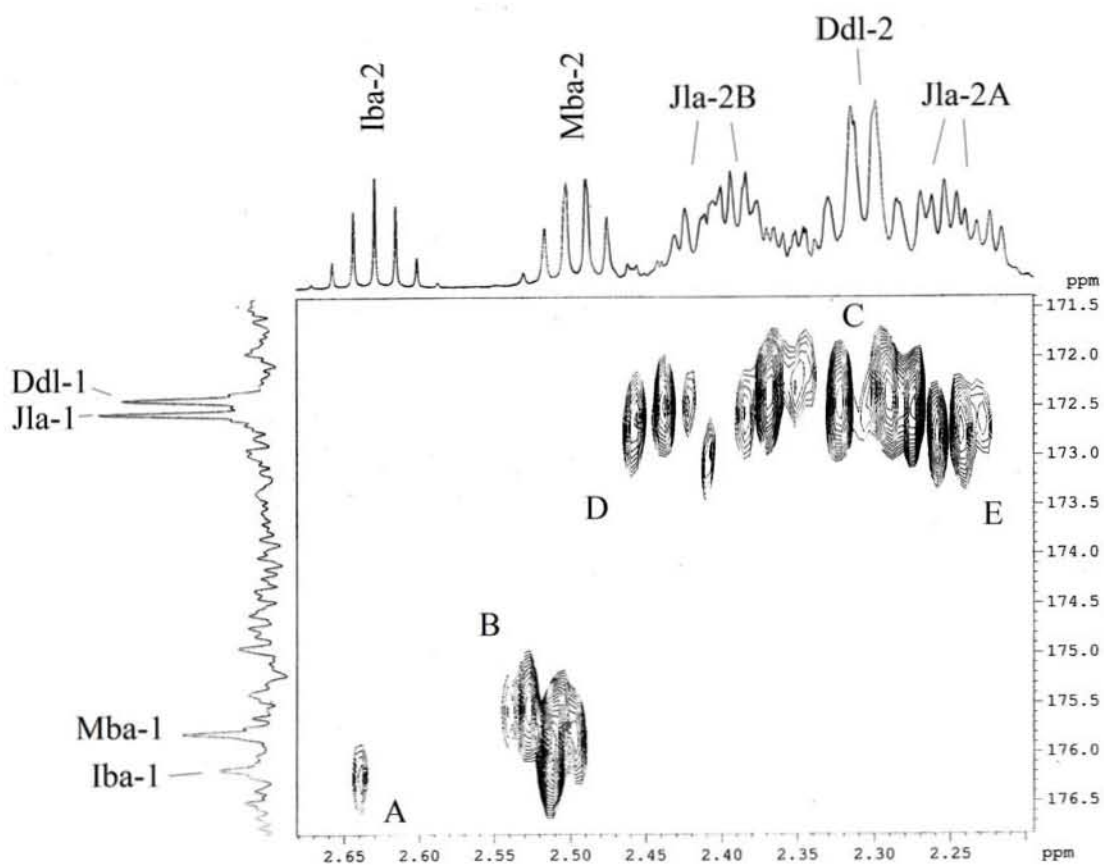


Figura 62. Sección del espectro HMBC de la batatina V (**9**). Asignación de señales de ^{13}C de grupos carbonilos para la aglicona y residuos ácidos. Conectividades ($^2J_{\text{C-H}}$); **A**; $\text{C}_1\text{-H}_2\text{Iba}$, **B**; $\text{C}_1\text{-H}_2\text{Mba}$, **C**; $\text{C}_1\text{-H}_2\text{Ddl}$, **D**; $\text{C}_1\text{-H}_{2\text{A}}\text{Jla}$, **E**; $\text{C}_1\text{-H}_{2\text{B}}\text{Jla}$. Abreviaciones: Mba = 2-(S)-2-metilbutanoílo, Iba = isobutanoílo, Ddl = dodecanoílo, Jla = 11-hidroxihexadecanoílo (éster del ácido jalapinólico).

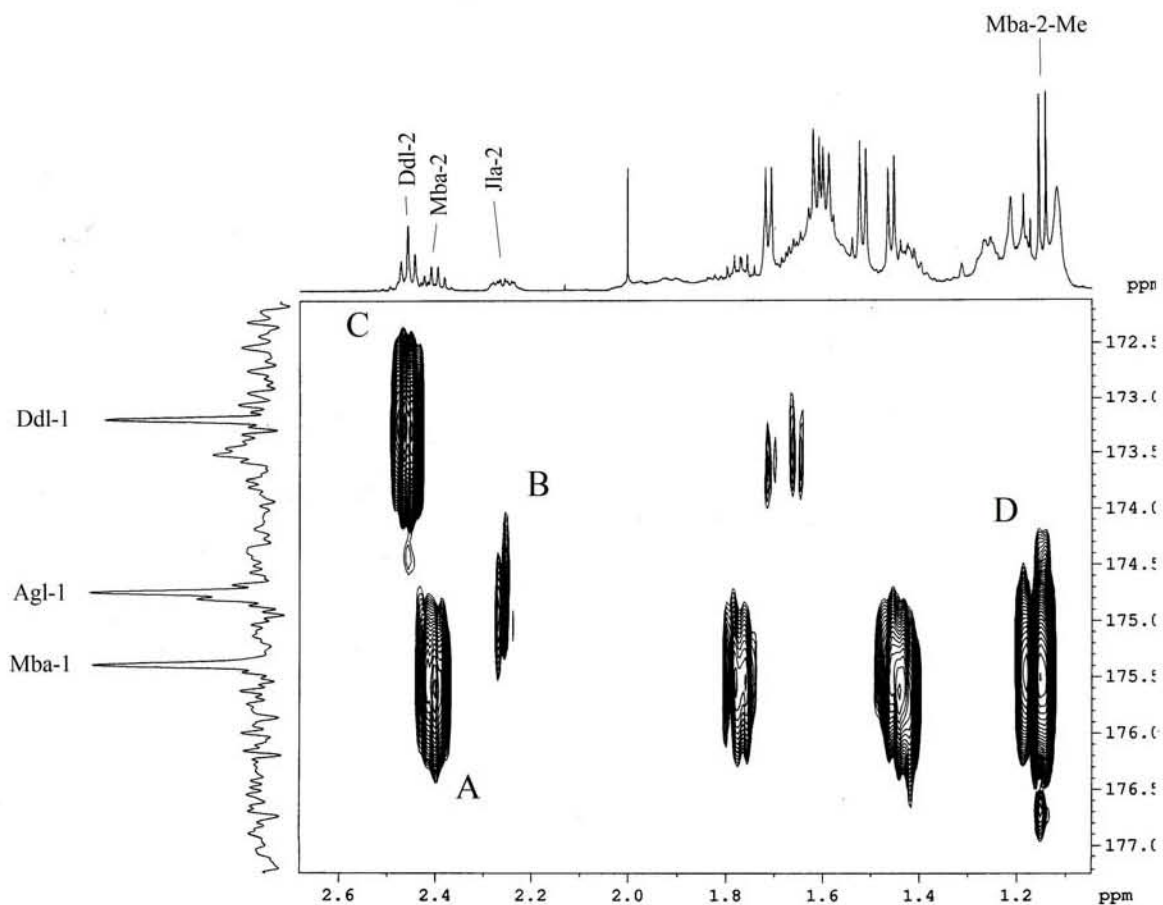


Figura 63. Sección del espectro HMBC del batatinósido I (**1**). Asignación de señales de ^{13}C de grupos carbonilos para la aglicona y residuos ácidos. Conectividades ($^2J_{\text{C-H}}$); **A**; $\text{C}_1\text{-H}_2\text{Mba}$, **B**; $\text{C}_1\text{-H}_2\text{Jla}$, **C**; $\text{C}_1\text{-H}_2\text{Ddl}$, y ($^3J_{\text{C-H}}$); **D**; $\text{C}_1\text{-H}_{2\text{Me}}\text{Mba}$. Abreviaciones: Mba = 2-(*S*)-2-metilbutanoílo, Ddl = dodecanoílo, Jla = 11-hidroxi-hexadecanoílo (éster del ácido jalapινόlico).

Otras señales diagnósticas para la identificación del residuo del ácido 2(*S*)-2-metilbutanoico en la RMN ^1H son el doblete localizado a 1.2 ppm generado por los protones del grupo metilo de la posición 2 (2-Me) y un triplete correspondiente a la señal del grupo metilo terminal (3-Me), asimismo el carbono 2 del éster metilbutírico genera una señal a ~ 40 ppm en la RMN ^{13}C (figura 49).

El éster isobutírico también puede reconocerse por los dos dobletes localizados entre 1.1 y 1.2 ppm (3-Me y 3'-Me), tal como se ilustra en el espectro TOCSY de la figura 64 en donde se correlacionan directamente todas las señales de los grupos metilo y los protones H₂ de los ésteres metilbutírico e isobutírico de la batatina V (9).

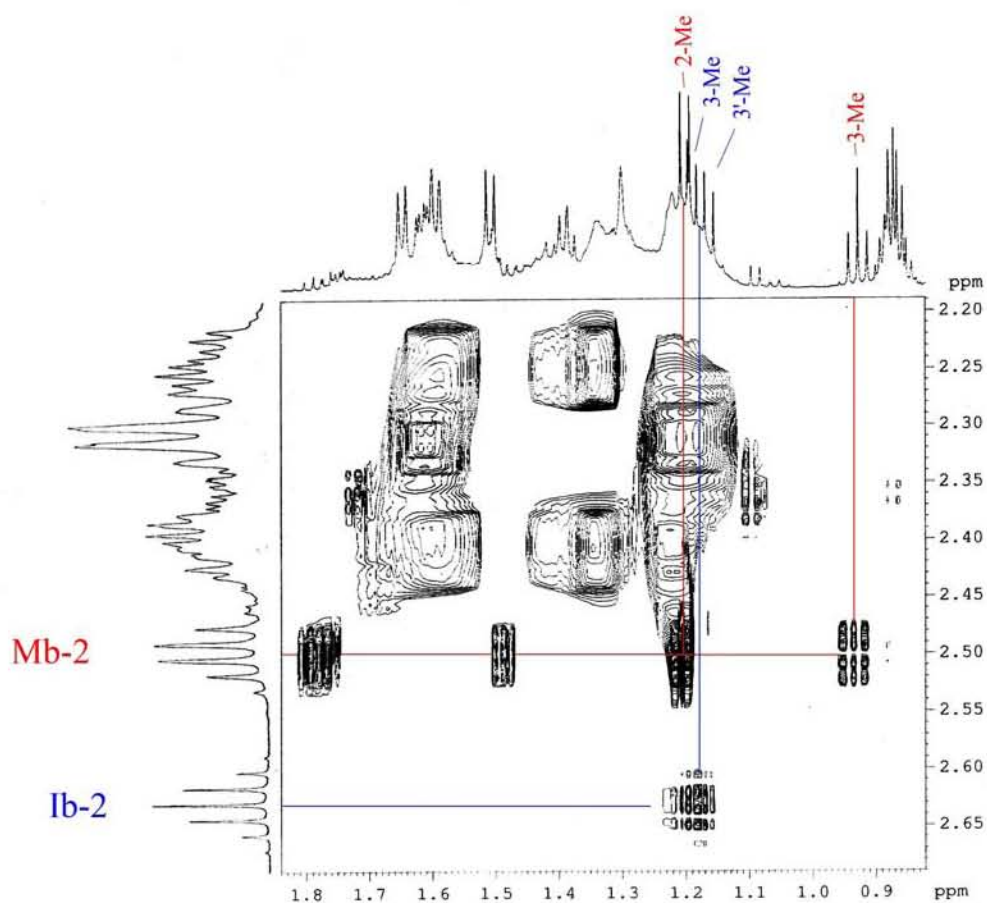


Figura 64. Sección del espectro TOCSY de la batatina V (9). Correlaciones de H₂ y grupos metilo para los ésteres metilbutírico e isobutírico. Abreviaciones: Mb = 2-metilbutanoílo, Ib = isobutanoílo.

El ácido *trans*-cinámico se reconoce por sus señales aromáticas localizadas alrededor de 7.3 ppm así como por los dos dobletes generados por sus protones vinílicos localizados a 6.5 y 7.5 ppm (figura 48, espectro 1). También, son diagnósticas sus señales en la RMN ^{13}C (las aromáticas localizadas entre 128 y 145 ppm, y dos olefinicas en 118 y 162 ppm aproximadamente; Véase figura 49, espectro 1).

6.3.3.3 Las resinas glicosídicas y su estructura macrocíclica: Determinación de las posiciones de esterificación

El ácido jalapινόlico, la aglicona de los ácidos simónico B y operculínico C de las resinas del género *Ipomoea*, establece casi invariablemente un enlace éster intramolecular (macrolactona) con el grupo oxidrilo de la segunda o tercera posición de una de las unidades de ramnosa de la cadena oligosacárida de estos compuestos, específicamente con la que está glicosilada con fucosa. Sin embargo, ya se han reportado en la literatura compuestos glicolipídicos (no degradados químicamente), con una estructura no macrocíclica tales como los pescaprósidos A y B aislados de la especie *Ipomoea pes-caprae* (Pereda-Miranda *et al.*, 2005, apartado 2.3.11).

La existencia de la macrolactona o éster intramolecular de los lipooligosacáridos se confirma directamente por las señales H_2 de los protones diasterotópicos alfa al carbonilo y por el análisis de las correlaciones C-H entre el carbonilo del ácido jalapινόlico y el protón situado en la posición exacta de la unidad sacárida donde se establece el enlace éster resultante.

En la figura 65 se ilustra como se determinó la posición de lactonización del batatinósido I (**1**) mediante las correlaciones heteronucleares a larga distancia ($^3J_{C-H}$) mediante el espectro HMBC, una vez que se ha relacionado cada uno de los grupos carbonilo de los ésteres del compuesto con un residuo ácido específico. Así, los ésteres de los ácidos jalapínico, 2(S)-metilbutanoico, *trans*-cinámico y *n*-dodecanoico (determinado por espectrometría de masas) constituyen junto con el ácido simónico B la estructura del batatinósido I (**1**).

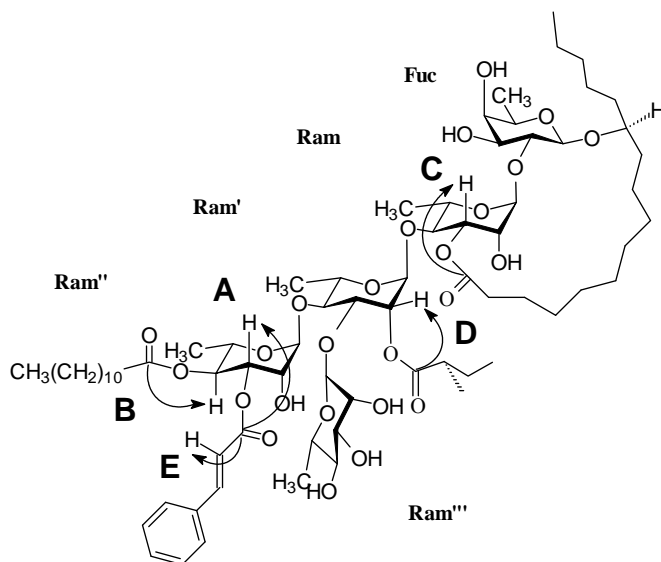
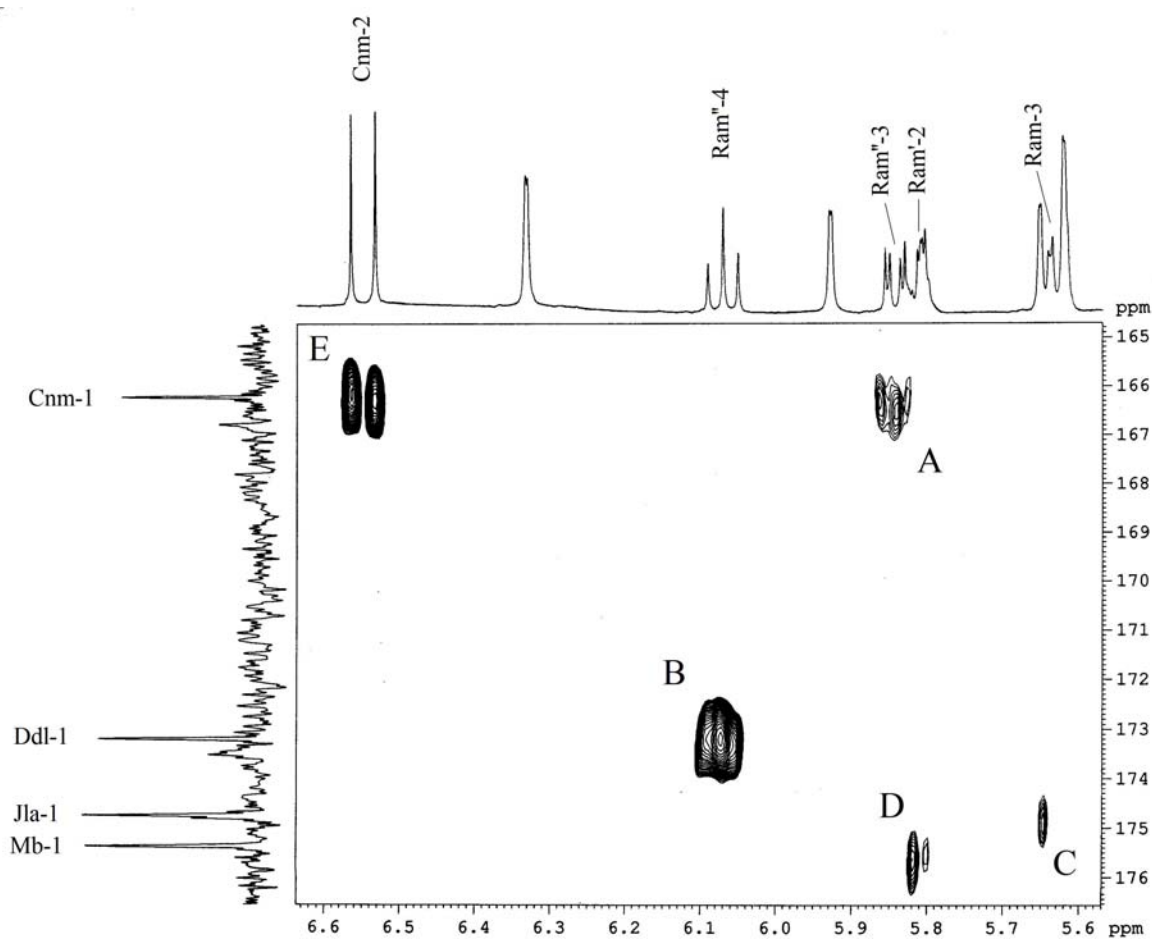


Figura 65. Sección del espectro HMBC del batatinosido I (**1**) para la determinación de las posiciones de esterificación. Conectividades ($^3J_{C-H}$): **A**; C_1Cnm-H_3Ram'' , **B**; C_1Ddl-H_4Ram'' , **C**; C_1Jla-H_3Ram , **D**; C_1Mb-H_2Ram' . Correlación para la identificación del éster *trans*-cinamoilo: **E** ($^2J_{C-H}$); C_1-H_2Cnm . Abreviaciones: Cnm = *trans* cinamoilo, Mb = 2-metilbutanoilo, Ddl = *n*-dodecanoilo Jla = 11-hidroxihexadecanoilo (lactona del ácido jalapínico).

El grupo carbonilo del éster *trans*-cinamoilo pudo identificarse fácilmente del resto de los otros ésteres, no sólo por su desplazamiento químico característico (ca. δ 118), también a través de la identificación de sus conectividades con los protones vinílicos (dobletes $J_{trans} = 16$ Hz en la RMN ^1H) de las posiciones 2 y 3 del ácido cinámico. De esta misma forma, se identificó la posición de lactonización del resto jalapinolato se asignó una posición específica de esterificación para cada uno de los residuos ácidos en la cadena oligosacárida del compuesto **1**.

Como resultado del análisis de los espectros HMBC de los batatinósidos II (**2**) y III (**3**), se determinó que están lactonizados en la posición 3 de la unidad de ramnosa interna superior (**Ram**) de su cadena oligosacárida. Sin embargo, los residuos que esterifican los compuestos **2** y **3** corresponden a unidades distintas y sus enlaces se establecen en diferentes posiciones del núcleo oligosacárido. Así, el núcleo tetrasacárido del batatinósido II (**2**) está esterificado por un resto de *n*-decanoilo (cuyo peso molecular se determinó por espectrometría de masas, apartado 6.3.4) en la posición 3 de la unidad de ramnosa interna inferior (**Ram'**), mientras que el del batatinósido III (**3**) por un resto *n*-dodecanoilo en la posición 4 de la unidad de ramnosa terminal (**Ram''**).

Por otra parte, las estructuras pentasacáridas ramificadas de los batatinósidos I (**1**) y IV (**4**) están esterificadas por el ácido *n*-dodecanoico y 2-(S)-metilbutanoico en las mismas posiciones de su cadena oligosacárida, con la excepción de que el compuesto **4** no posee en su estructura glicolípida el éster del ácido *trans*-cinámico del compuesto **1**.

Los batatinósidos II (**2**) y III (**3**) son compuestos novedosos, que poseen una estructura lipooligosacárida notablemente parecida a la de los glicolípidos aislados de la especie *Ipomoea stolonifera*. Las estoloniferinas XI y XII (Véanse apartado 2.3.6, figura 21) son glicolípidos macrocíclicos, cuyas estructuras tetrasacáridas lineales están

esterificadas por dos residuos de ácido *n*-dodecanoico y 2 metilbutanoico mientras que los batatinósidos II (**2**) y III (**3**) sólo poseen un grupo éster. En la expansión del espectro de RMN ^1H del compuesto **2** de la figura 66 se observan 4 señales anoméricas y únicamente dos señales adicionales de acilación, dos señales H_3 , una de la unidad sacárida de ramnosa adyacente a la fucosa (**Ram**) donde se establece el éster macrocíclico y la otra en donde se esterifica la cadena oligosacárida del compuesto **2** con el ácido *n*-decanoico (**Ram'**).

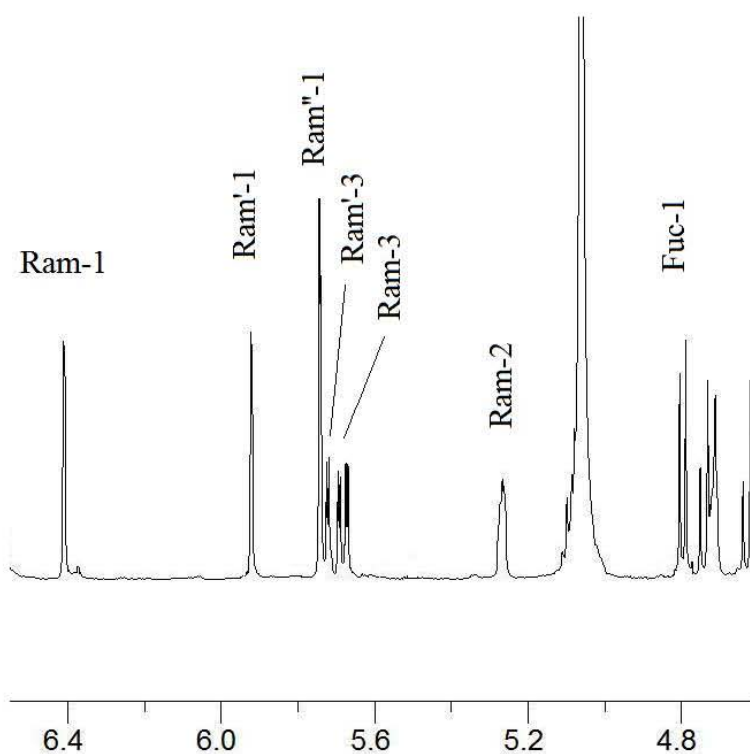


Figura 66. Expansión del espectro de RMN ^1H del batatinósido II (**3**) en la región de desplazamiento químico correspondiente a protones anoméricos y señales de esterificación.

La demostración de como se establecieron la posición de lactonización y la esterificación con el ácido *n*-decanoico en la estructura del batatinósido II (**2**) se ilustra en la figura 67, en donde la expansión de región para las señales reporteras anomérica permite identificar con claridad las dos señales desprotegidas H_3 para cada uno de los protones

geminales a los sustituyentes acilo en las unidades de ramnosa y ramnosa'. También, se ilustra a continuación las correlaciones a tres enlaces ($^3J_{CH}$) que se observan en la expansión del espectro HMBC.

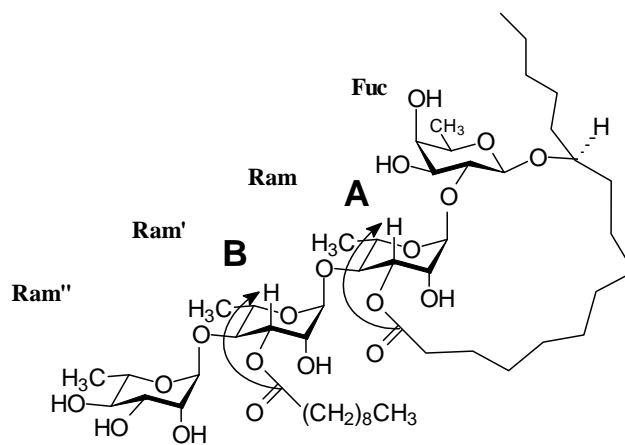
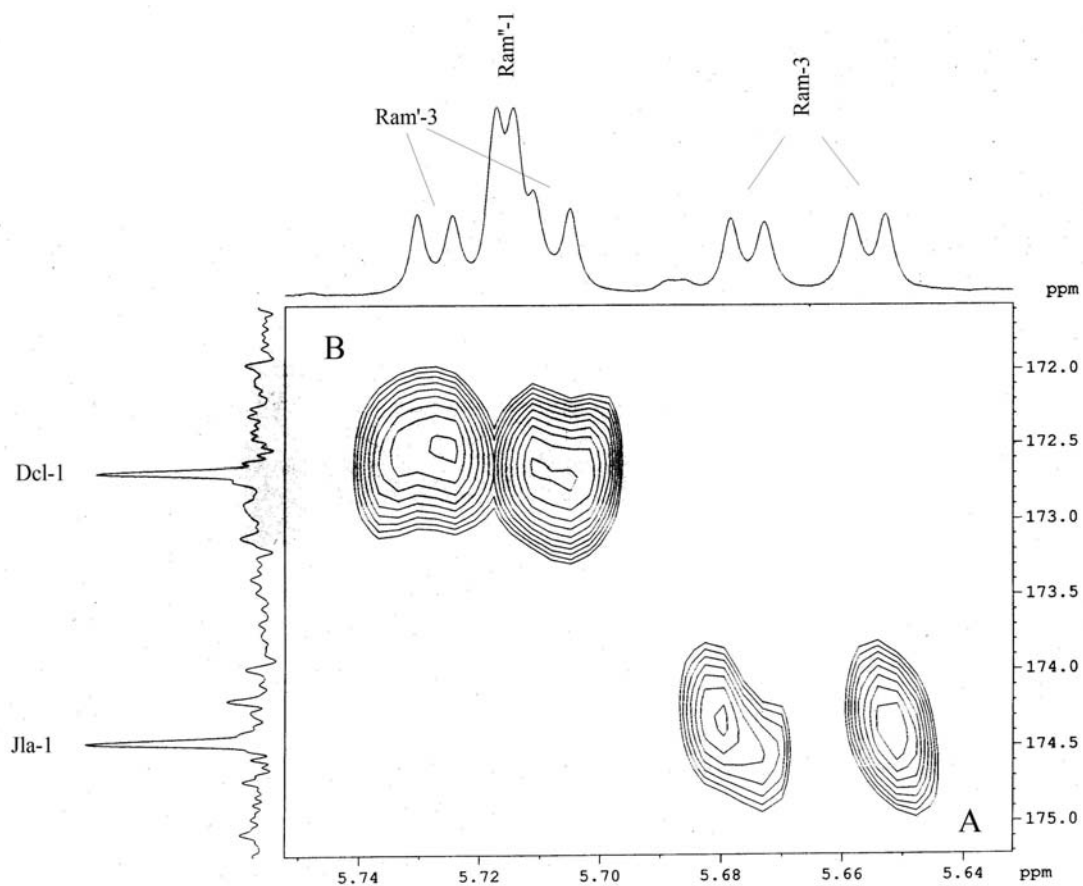


Figura 67. Sección del espectro HMBC del batatinósido II (**2**) para la determinación de las posiciones de esterificación. Conectividades: **A**; C₁Jal-H₃Ram, **B**; C₁Dcl-H₃Ram'.

6.3.3.4 Confirmación de la estructura química de los batatinósidos I – IV

Antes de hacer una propuesta estructural como resultado del análisis de la RMN para los batatinósidos, fue necesario registrar su peso molecular y su composición elemental mediante la espectrometría de masas de alta resolución. Los espectros de masas FAB (modo negativo) de los compuestos **1** a **4** (batatinósidos I – IV), permitieron calcular la fórmula molecular para cada uno de ellos (véase parte experimental, apartado 5.1.2).

En cada uno de los espectros se observaron los picos característicos generados por las fragmentación de los enlaces glicosídicos y que son similares a los observados en la espectrometría de masas de otras resinas del género *Ipomoea* como los fragmentos generados por las operculinas (Kubo *et al.*, 1989) o los de las pescapreínas (Pereda-Miranda *et al.*, 2005).

De acuerdo a los espectros de masas FAB (modo negativo), los cuatro compuestos muestran patrones de fragmentación semejantes ya que todos generan los iones de m/z 837, 545 y 417 (figuras 68 a 71). Sin embargo, para establecer las diferencias entre los cuatro glicolípidos fue útil analizar las diferencias de peso que hay entre sus respectivos iones pseudomoleculares $[M - 1]^-$ y los fragmentos resultantes de la pérdida de los residuos ácidos de esterificación y que representan la diferencia entre cada uno de los compuestos.

El análisis de los espectros de masas de los compuestos **1** – **4** se expone brevemente en las figuras 68 a 71.

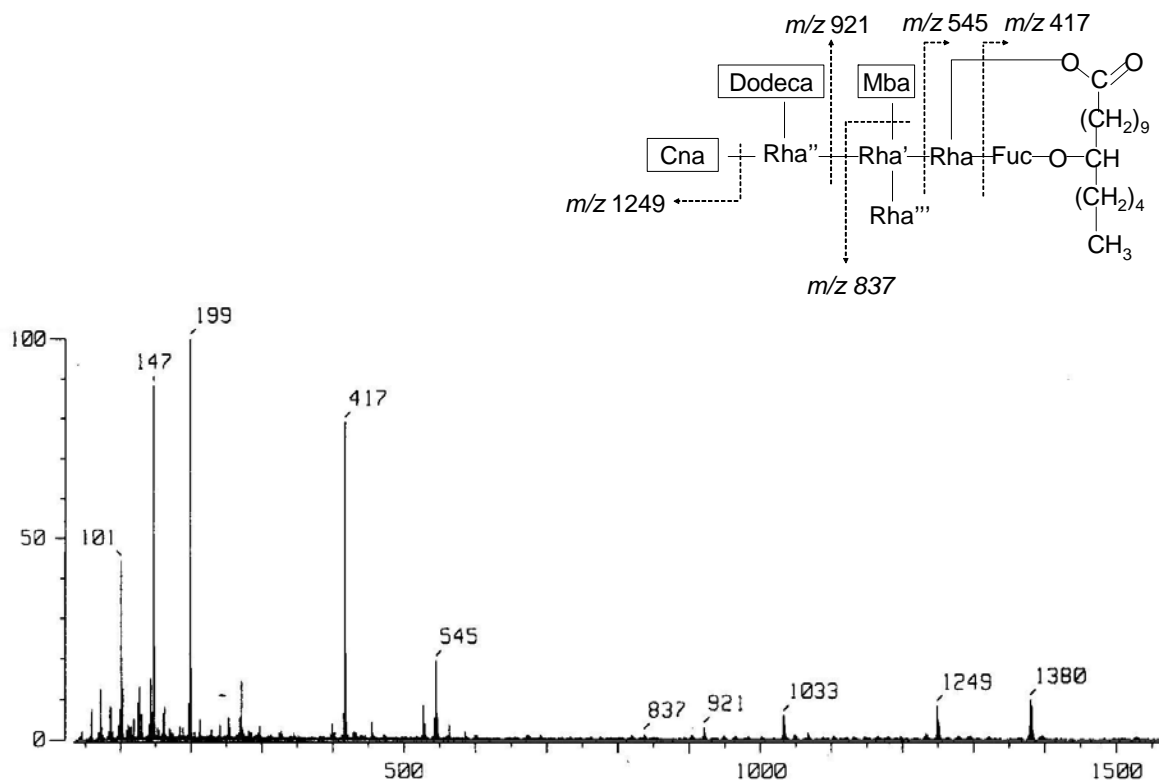


Figura 68. Espectro de masas FAB modo negativo del batatinósido I (**1**).

Para el batatinósido I (**1**), el fragmento m/z 1249 que corresponde a la pérdida del residuo *trans*-cinamoílo con una diferencia de 130 unidades con respecto al ion pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1379 unidades.

El fragmento m/z 1033 que corresponde a la pérdida de una unidad sacárida de metilpentosa ($C_6H_{10}O_4$, 146 u.m.a.) y otra de ácido *n*-dodecanoico ($C_{12}H_{24}O_2$, 200 u.m.a.) con una diferencia de 346 unidades con respecto al ion pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1379 unidades.

El fragmento m/z 921 que corresponde a las pérdidas sucesivas de una unidad sacárida de metilpentosa ($C_6H_{10}O_4$, 146 u.m.a.) y de los residuos de *trans*-cinamoílo (C_9H_6O , 130 u.m.a.) y *n*-dodecanoílo ($C_{12}H_{22}O$, 182 u.m.a.) con una diferencia de 458 unidades con respecto al ion pseudomolecular.

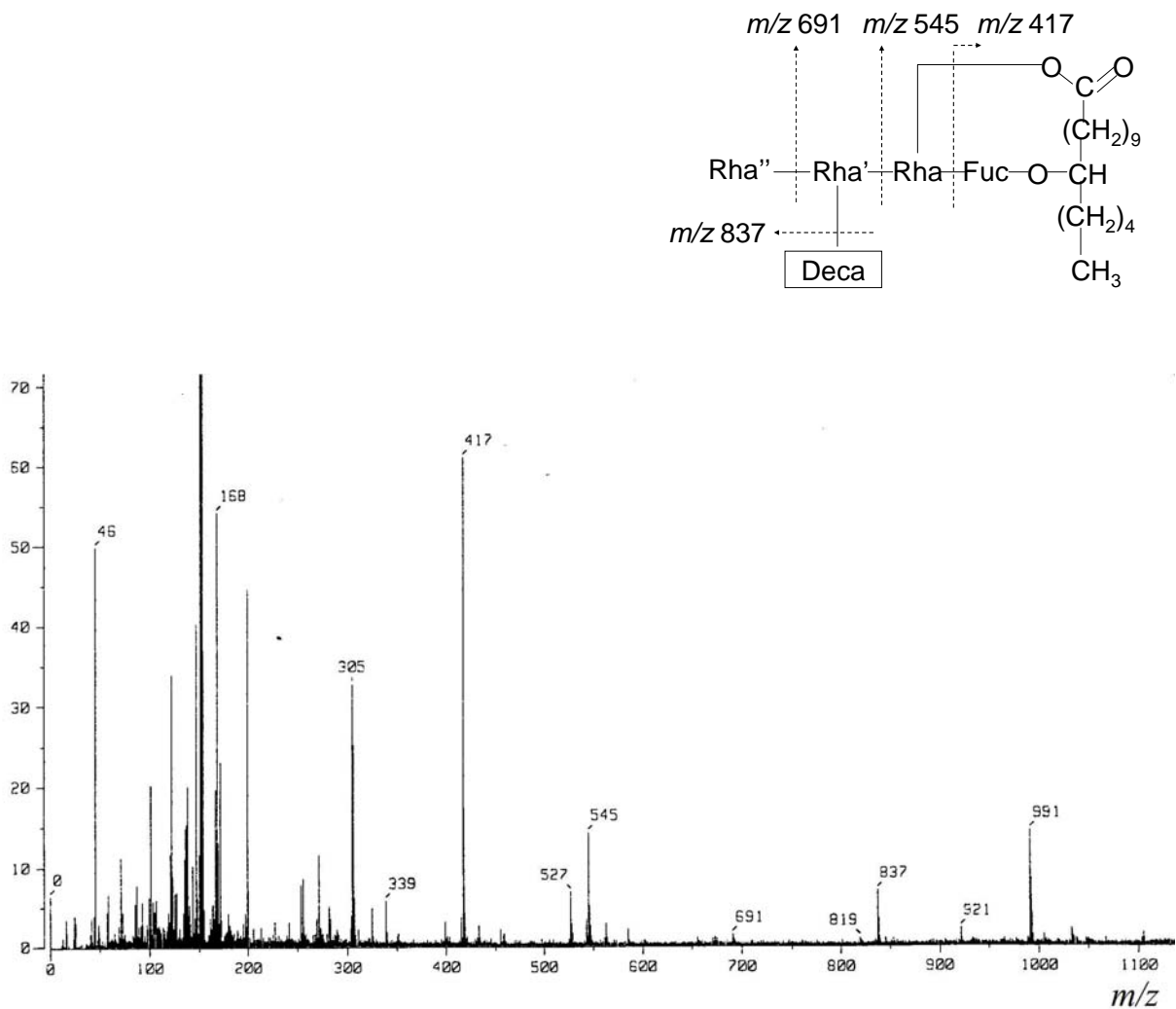


Figura 69. Espectro de masas FAB modo negativo del batatinósido II (2).

Para el batatinósido II (2), el fragmento m/z 837 que corresponde a la pérdida del residuo de *n*-decanoílo C₁₀H₁₈O con una diferencia de 154 unidades con respecto al ion pseudomolecular [M – H][–] de m/z 991 unidades.

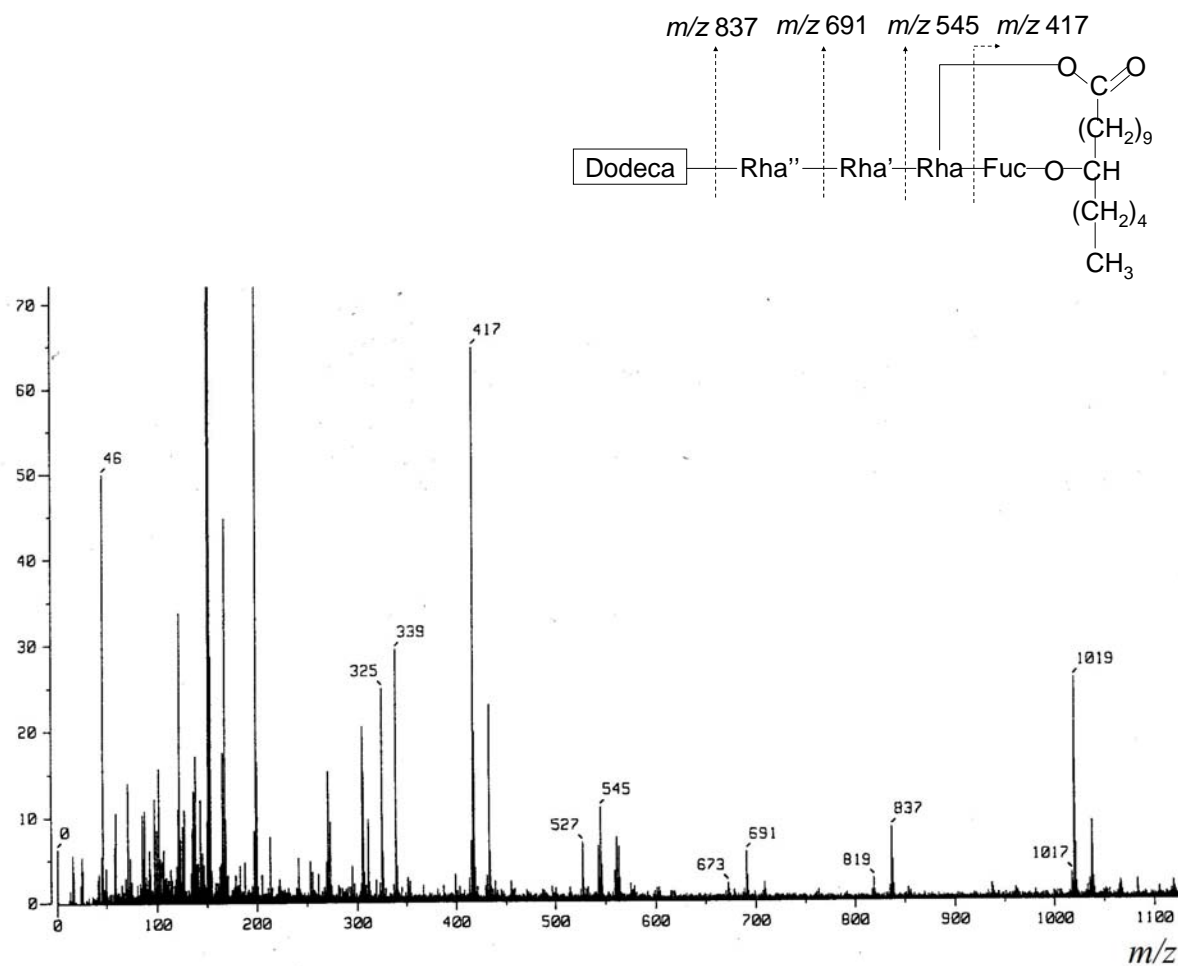


Figura 70. Espectro de masas FAB modo negativo del batatinósido III (3).

Para el batatinósido III (3) el fragmento m/z 837 que corresponde a la pérdida del residuo de *n*-dodecanoílo C₁₂H₂₂O con una diferencia de 182 unidades con respecto al ion pseudomolecular [M – H][–] de m/z 1019 unidades.

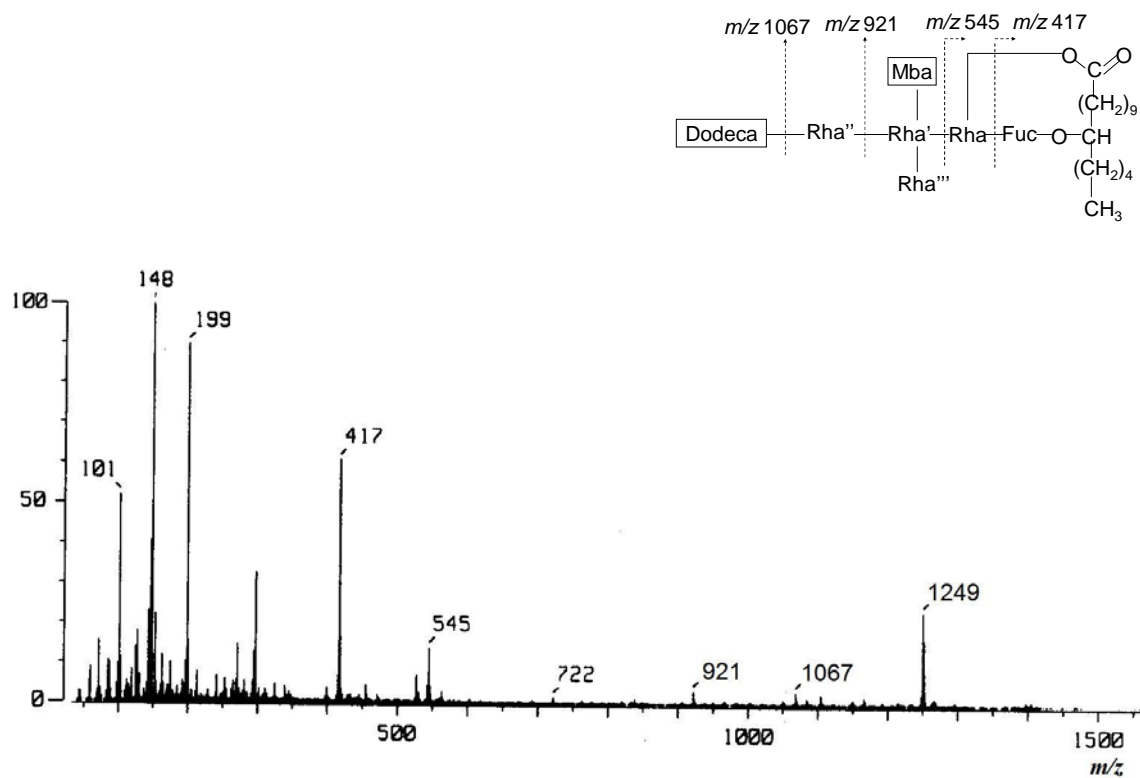


Figura 71. Espectro de masas FAB modo negativo del batatinósido IV (**4**).

Para el batatinósido IV (**4**) el fragmento m/z **1067** que corresponde a la pérdida del residuo de *n*-dodecanoílo con una diferencia de 182 unidades con respecto al ion pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1249 unidades.

Por último, el fragmento m/z **921** que corresponde a la pérdida de una unidad sacárida de metilpentosa ($C_6H_{10}O_4$, 146 u.m.a.) y a la pérdida del residuo de *n*-dodecanoílo ($C_{12}H_{22}O$, 182 u.m.a.) con una diferencia de 328 unidades con respecto al ion pseudomolecular.

6.3.4 Estructura de los batatinósidos I – IV. Interpretación general del análisis espectroscópico

A continuación se presentan los resultados generales del análisis de los espectros de RMN y de masas de los compuestos **1** – **4**:

Los batatinósidos I (**1**) y IV (**4**) están esterificados por los mismos residuos ácidos encontrados en la posición 2 de la ramnosa interna inferior (**Ram'**) y la posición 4 de la ramnosa externa superior (**Ram''**) del núcleo oligosacárido, aunque el batatinósido I (**1**) posee un éster de *trans*-cinamoílo en la posición 3 de esta última unidad. La posición 2 de la ramnosa interna inferior está esterificada con un residuo de ácido 2-(*S*)-2-metilbutanoico y la posición 4 de la ramnosa externa superior está esterificada con el ácido *n*-dodecanoico.

El batatinósido II (**2**) está esterificado por un residuo de ácido *n*-decanoico encontrado en la posición 3 de la ramnosa interna inferior (**Ram'**), mientras que el batatinósido III (**3**) por un residuo de ácido *n*-dodecanoico en la posición 4 de la unidad de ramnosa terminal (**Ram''**).

Después de haber verificado la secuencia de glicosilación de los espectros HMBC de los cuatro compuestos se confirmó que los batatinósidos I (**1**) y IV (**4**) están constituidos por el núcleo pentasacárido del ácido simónico B, presente en otras resinas glicosídicas ya reportadas como las estoloniferinas I-III de la jalapina de *Ipomoea stolonifera* (véase apartado 2.3.6), las pescapreínas III de la especie *Ipomoea pes-caprae* (véase apartado 2.3.11) y en las simoninas III-V de *Ipomoea batatas* (véase apartado 2.3.7), mientras que los batatinósidos II (**2**) y III (**3**) están constituidos por el núcleo tetrasacárido del ácido operculínico C, presente en las operculinas VI, XI y XII aisladas de la especie *Ipomoea operculata* (Noda *et al.*, 1993).

De acuerdo con toda la información espectroscópica y espectrométrica analizada anteriormente se propusieron las siguientes estructuras para los glicolípidos **1 – 4**:

Glicolípido 1: éster intramolecular 1, 3''-11 – O - α - L- ramnopiranosil-(1→3)- O – [3-O-(*trans*-cinamoil)4 – O – (*n*-dodecanoil)- α -L-ramnopiranosil-(1→4)]- O –(2 – O – (2*S*) – 2 metilbutiril)- α - L – ramnopiranosil – (1→4) – O- α -L-ramnopiranosil – (1→2) - β - D -fucopiranosido del ácido (11*S*) – 11 – hidroxihexadecanoico.

Glicolípido 2: éster intramolecular 1, 3''-11 – O - α - L – ramnpiranosil-(1→4)- O – (3-O-*n*-decanoil) - α – L – ramnopiranosil – (1→4) – O - α - L – ramnopiranosil – (1→2)- β -D-fucopiranosido del ácido (11*S*) – 11 – hidroxihexadecanoico.

Glicolípido 3: éster intramolecular 1, 3''-11 – O –(4-O-*n*-dodecanoil) - α - L – ramnpiranosil-(1→4)- O – α – L – ramnopiranosil – (1→4) – O - α - L – ramnopiranosil – (1→2)- β -D-fucopiranosido del ácido (11*S*) – 11 – hidroxihexadecanoico.

Glicolípido 4: éster intramolecular 1, 3''-11 – O - α - L- ramnopiranosil-(1→3)- O – [4 – O – (*n*-dodecanoil)- α -L-ramnopiranosil-(1→4)]- O –(2 – O – (2*S*) – 2 metilbutiril)- α - L – ramnopiranosil – (1→4) – O- α -L-ramnopiranosil – (1→2) - β - D -fucopiranosido del ácido (11*S*) – 11 – hidroxihexadecanoico.

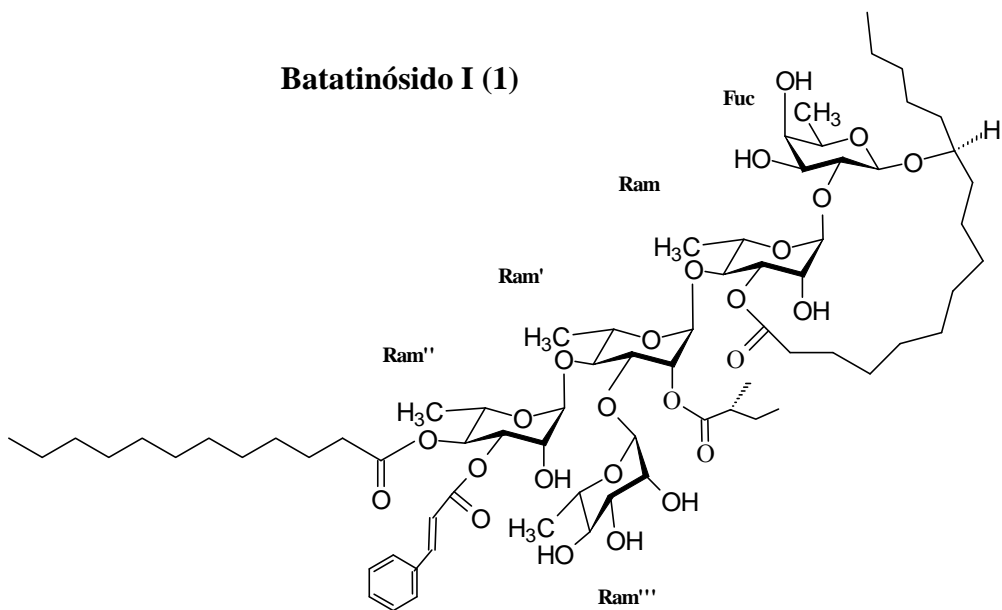
Después de haber comparado las estructuras de los cuatro glicolípidos obtenidos con las resinas correspondientes reportadas en la literatura se concluyó que ninguno de los batatinósidos ha sido descrito con anterioridad, ya que existen diferencias estructurales contundentes que lo confirman y se enumeran en los siguientes resultados:

1.- La principal diferencia estructural entre los compuestos **1** y **4** con respecto a las simoninas I, y III a V, aisladas también de *Ipomoea batatas* (véase apartado 2.3.7) es la posición para el establecimiento del éster intramolecular. En particular, el compuesto **4** y la simonina III constituyen un par de diastereoisómeros que se diferencian únicamente por la posición de lactonización (figura 23).

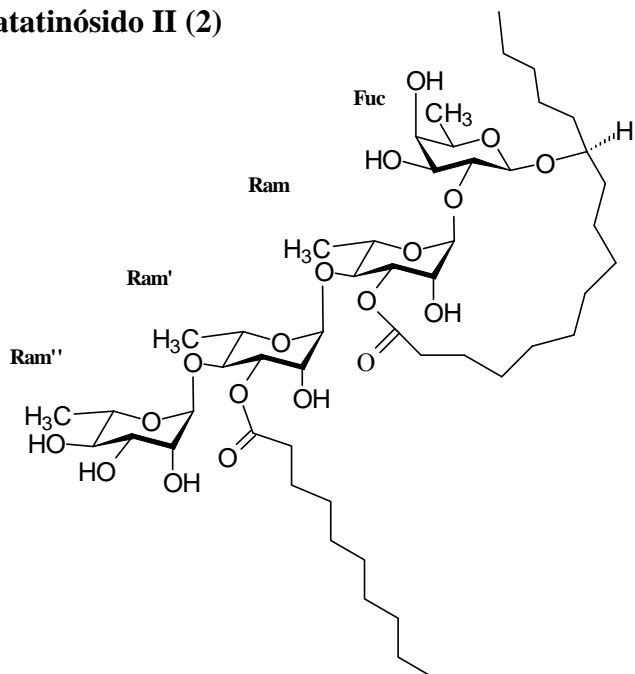
2.- Los lipooligosacáridos de las especies *Ipomoea pes-caprae* e *Ipomoea stolonifera* (véanse apartados 2.3.6 y 2.3.11) también poseen estructuras muy relacionadas con las de los batatinósidos I (**1**) y IV (**4**). El batatinósido IV (**4**) y la pescapreína III (figura 30) también constituyen un par de diastereoisómeros pero en esta ocasión esto se debe a que los ésteres del ácido 2(*S*)-2-metilbutanoico y *n*-dodecanoico se establecen en distintas posiciones en el núcleo del ácido simónico B.

3.- Las estructuras tetrasacáridas de los batatinósidos II (**2**) y III (**3**) también están relacionadas con otra familia de resinas glicosídicas ya reportadas en la literatura, las estoloniferinas XI y XII, aisladas de la especie *Ipomoea stolonifera* (véase apartado 2.3.6), cuyas estructuras corresponden a compuestos isoméricos tetrasacáridos, que están esterificados por ácido *n*-dodecanoico y 2-metilbutanoico (figura 21).

En la figura 72 se ilustran las estructuras moleculares propuestas para los compuestos **1** – **4** designados respectivamente con los nombres de batatinósidos I (**1**) a IV (**4**). Las tablas de desplazamientos en la RMN ^1H y ^{13}C para los compuestos **1** – **4** se incluyen en los cuadros 6 y 7.



Batatinósido II (2)



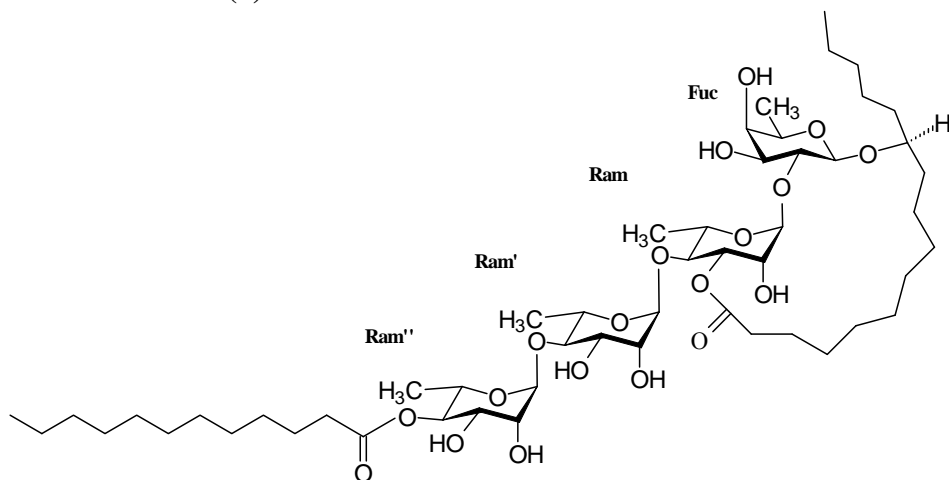
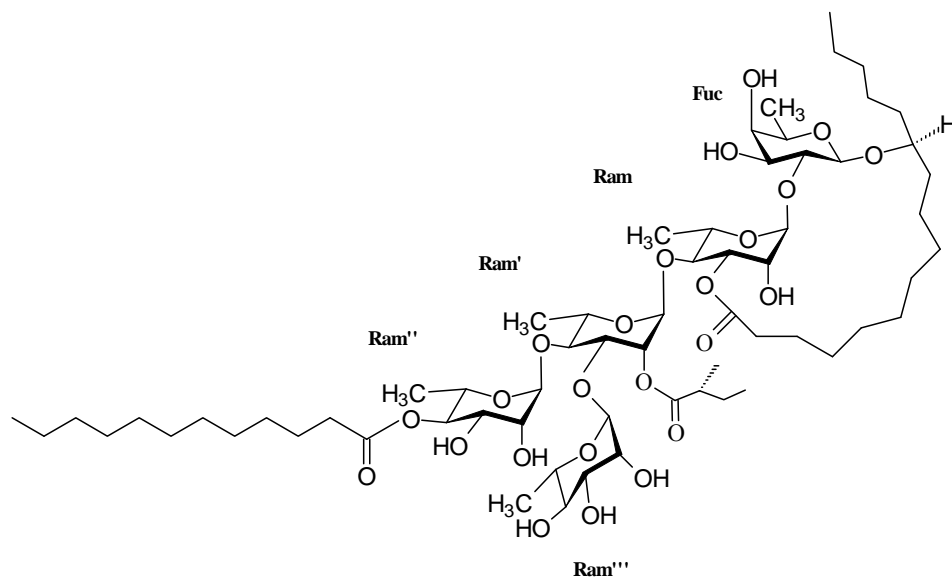
Batatinósido III (3)**Batatinósido IV (4)**

Figura 72. Estructura de los batatinósidos I a IV (1 – 4).

Cuadro 6. Constantes espectroscópicas en la RMN ^1H para de los batatinósidos I – IV (1 – 4)^a.

Proton ^b	Batatinósido I (1)	Batatinósido II (2)	Batatinósido III (3)	Batatinósido IV (4)
Fuc 1	4.82 d (7.8)	4.78 d (8.0)	4.75 dd (8.0)	4.82 d (7.5)
2	4.52 dd (9.5, 7.9)	4.56 dd (9.5, 7.5)	4.52 dd (9.5, 7.5)	4.53 dd (8.5, 7.5)
3	4.19 dd (9.6, 3.9)	4.21 dd (9.5, 2.0)	4.15 dd (9.5, 2.5)	4.20 dd (8.5, 3.0)
4	3.92 d (2.9)	3.93 d (2.0)	3.91 bs	3.93 d (3.0)
5	3.82 q (6.2)	3.83 d (2.0)	3.80 qd (6.5, 1.0)	3.82 qd (6.3, 1.0)
6	1.52 d (6.4)	1.53 d (6.5)	1.51 d (6.0)	1.52 d (6.3)
Ram 1	6.33 d (1.3)	6.41 d (2.0)	6.35 d (2.0)	6.35 d (1.5)
2	5.31 bs	5.27 dd (3.5, 2.0)	5.24 dd (3.0, 2.0)	5.31 bs
3	5.63 dd (9.8, 2.7)	5.68 dd (10.0, 3.0)	5.57 dd (10.0, 3.0)	5.62 dd (10.0, 2.8)
4	4.66 t (9.9)	4.73 t (10.0)	4.62 t (10.0)	4.68 t (10.0)
5	5.03 dq (9.6, 5.9)	5.09 dq (10.0, 6.0)	5.00 dq (10.0, 6.5)	5.01 dq (10.0, 6.5)
6	1.59 d (6.2)	1.563 d (6.0)	1.60 d (6.5)	1.57 d (6.5)
Ram'1	5.62 d (1.0)	5.92 d (1.5)	5.78 d (1.0)	5.64 d (1.5)
2	5.81 dd (2.9, 1.9)	4.73 bs	4.92 bs	5.79 dd (3.0, 1.5)
3	4.62 dd (9.2, 3.0)	5.72 dd (9.5, 3.0)	4.43 dd (9.5, 2.5)	4.53 dd (9.3, 3.0)
4	4.27 t (9.3)	4.62 t (9.5)	4.37 t (9.5)	4.28 t (9.3)
5	4.39 dq (9.3, 6.2)	4.36 dq (9.5, 6.0)	4.34 dq (9.5, 5.5)	4.33 dq (9.3, 6.5)
6	1.61 d (6.1)	1.560 d (6.0)	1.60 d (5.5)	1.60 d (6.5)
Ram''1	5.93 d (1.3)	5.74 d (1.5)	6.21 d (1.5)	5.88 d (1.0)
2	4.91*	4.53 bs	4.82 bs	4.68 dd (3.0, 1.0)
3	5.83 dd (10.0, 3.1)	4.38 dd (9.3, 3.0)	4.51 dd (9.5, 3.5)	4.46 dd (9.5, 3.0)
4	6.07 t (9.9)	4.29 t (9.3)	5.81 t (9.5)	5.84 t (9.5)
5	4.48 dq (9.7, 6.4)	4.26 dq (9.3, 6.0)	4.37 dq (9.5, 6.5)	4.36 dq (9.5, 6.5)
6	1.46 d (6.3)	1.61 d (6.0)	1.37 d (6.5)	1.43 d (6.5)
Ram'''1	5.65 d (1.1)			5.60 d (1.0)
2	4.76 dd (3.2, 1.3)			4.81 dd (3.5, 1.0)
3	4.42 dd (9.2, 3.4)			4.44 dd (9.3, 3.5)
4	4.20 t (9.4)			4.23 t (9.3)
5	4.25 dq (10.0, 5.8)			4.29 dq (9.3, 5.5)
6	1.71 d (6.0)			1.72 d (5.5)
Jal 2	2.26 ddd (14.8, 7.0, 3.7)	2.13 ddd (14.0, 7.0, 3.5)	2.11 ddd (14.0, 7.0, 3.5)	2.24 ddd (15.2, 7.0, 2.6)
	2.83 ddd (15.3, 10.9, 2.5)	2.26 ddd (13.5, 7.5, 2.5)	2.26 ddd (13.5, 10.5, 3.0)	2.78 ddd (14.5, 6.5, 2.5)
11	3.89 m	3.89 m	3.84 m	3.88 m
16	1.00 t (6.9)	0.97 t (7.0)	1.00 t (7.0)	0.94 t (7.0)
Mba 2	2.40 tq (7.0, 6.7)			2.39 tq (7.5, 7.0)
2 Me	1.15 d (7.0)			1.14 d (7.0)
3 Me	0.90 t (7.4)			0.89 t (7.0)
Cna 2	6.55 d (16.0)			
3	7.84 d (16.0)			
Deca 2		2.27 ddd (16.0, 7.5, 3.5)		
		2.43 ddd (16.0, 7.5, 2.5)		
10		0.86 t (7.0)		
Dodeca 2	2.46 t (7.2)		2.44 ddd (15.0, 7.0, 6.0)	2.43 ddd (14.5, 7.3, 3.0)
				2.46 ddd (15.5, 8.0, 3.0)
12	0.88 t (7.3)		0.87 t (7.0)	0.87 t (7.0)

^aDatos registrados a 500 MHz en $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$. Los desplazamientos químicos (δ) están en ppm en relación con TMS. Los acoplamientos (J) se encuentran en paréntesis y se expresan en Hz.

^bAbreviaciones; s = señal simple, d = doble, t = señal triple, q = señal cuádruple, m = señal múltiple.

Las asignaciones se basaron en los experimentos ^1H - ^1H COSY y TOCSY.

Fuc = fucosa, Ram = ramnosa. Jal = 11- hidroxhexadecanoilo, Mb = 2-metilbutanoilo, deca = *n*-decanoilo, dodeca = *n*-dodecanoilo, cna = *trans*-cinamoilo.

Cuadro 7. Constantes espectroscópicas en la RMN ^{13}C para los batatinósidos I – IV (1 – 4)^a.

carbono ^b	Batatinósido (1)	Batatinósido II (2)	Batatinósido III (3)	Batatinósido IV (4)
Fuc 1	101.6	101.7	101.7	101.6
2	73.5	73.0	72.9	73.4
3	76.6	76.9	76.8	76.6
4	73.6	73.6	73.5	73.6
5	71.3	71.2	71.2	71.2
6	17.2	17.3	17.2	17.2
Ram 1	100.2	100.3	100.3	100.3
2	69.8	69.7	69.6	69.8
3	78.0	79.1	78.6	78.1
4	77.2	77.2	77.6	76.6
5	67.9	67.4	67.7	67.9
6	19.2	19.4	19.4	19.2
Ram ^l 1	99.0	102.3	103.4	98.4
2	72.8	72.6	72.4	72.7
3	79.8	75.9	73.1	79.6
4	80.0	77.4	80.4	79.8
5	68.4	69.1	68.6	68.5
6	18.8	18.5	19.1	18.7
Ram ^m 1	103.7	103.5	103.3	103.8
2	70.0	70.4	72.9	72.6
3	73.3	72.6	70.2	70.2
4	71.7	73.6	75.5	75.0
5	68.2	70.7	67.8	68.2
6	17.8	18.3	18.0	17.9
Ram ⁿ 1	104.5			104.6
2	72.7			72.6
3	72.4			72.5
4	73.6			73.6
5	70.8			70.5
6	18.8			18.8
Jal 1	174.7	174.4	174.5	174.7
2	33.9	34.7	34.6	33.8
11	79.5	79.8	79.8	79.4
16	14.5	14.6	14.5	14.4
Mba 1	175.4			175.4
2	41.4			41.4
2-Me	16.9			16.9
3-Me	11.8			11.8
Cna-7	118.4			
8	166.2			
Deca 1		172.7		
2		34.4		
10		14.3		
Dodeca 1	173.2		173.5	173.5
2	34.6		34.7	32.1
12	14.3		14.3	14.3

^aDatos registrados a 125 MHz en $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$. Los desplazamientos químicos (δ) están en ppm en relación con TMS.

Las asignaciones se basaron en los experimentos HSQC.

Fuc = fucosa, Ram = ramnosa. Jal = 11- hidroxadecanoílo, Mb = 2-metilbutanoílo, deca = *n*-decanoílo, dodeca = *n*-dodecanoílo, cna = *trans*-cinamoílo

6.4 Elucidación estructural de las batatinas I y II

Las batatinas I (**5**) y II (**6**) en términos generales son dímeros lipooligosacáridos constituidos por dos unidades de ácido simónico B (designadas arbitrariamente como unidades A y B (se hará referencia con estos nombres en los siguientes apartados para facilitar su identificación). Sus dos cadenas oligosacáridas se hallan esterificadas en las mismas posiciones por tres residuos diferentes, en la posición 2 de la unidad de ramnosa interna inferior (**Ram'**) por el ácido 2(*S*)-metilbutanoico, y en las posiciones 3 y 4 de la unidad de ramnosa externa superior (**Ram''**) por los ácidos *trans*-cinámico y *n*-dodecanoico respectivamente. La elucidación se inició con el registro de los espectros unidimensionales de RMN ^1H y ^{13}C (figuras 73 y 74).

La elucidación de las estructuras y la asignación de los desplazamientos químicos, se llevó a cabo combinando diferentes técnicas espectroscópicas en la RMN mono y bidimensional y en la espectrometría de masas. Asimismo, con el empleo de la simulación espectral de estas complejas estructuras oligosacáridas se dedujeron los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamiento para las señales sobrepuestas de orden complejo en la RMN ^1H . Los valores experimentales registrados en la RMN del batatinósido I (**1**) se usaron como punto de partida para la simulación espectral de los compuestos **5** y **6** ya que ambos representan dímeros del compuesto **1**.

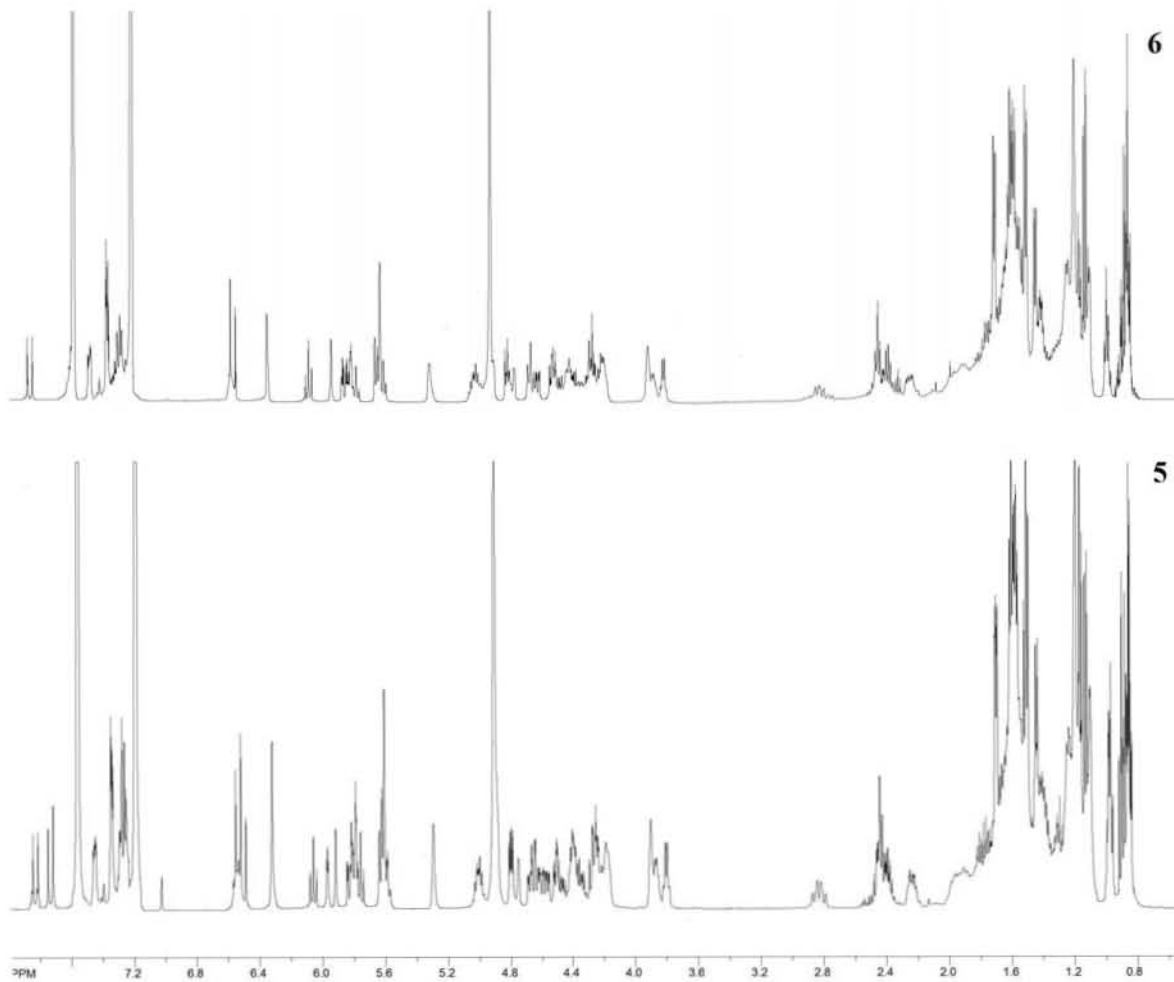


Figura 73. Espectros de RMN ^1H (500 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de las batatinas I (5) y II (6).

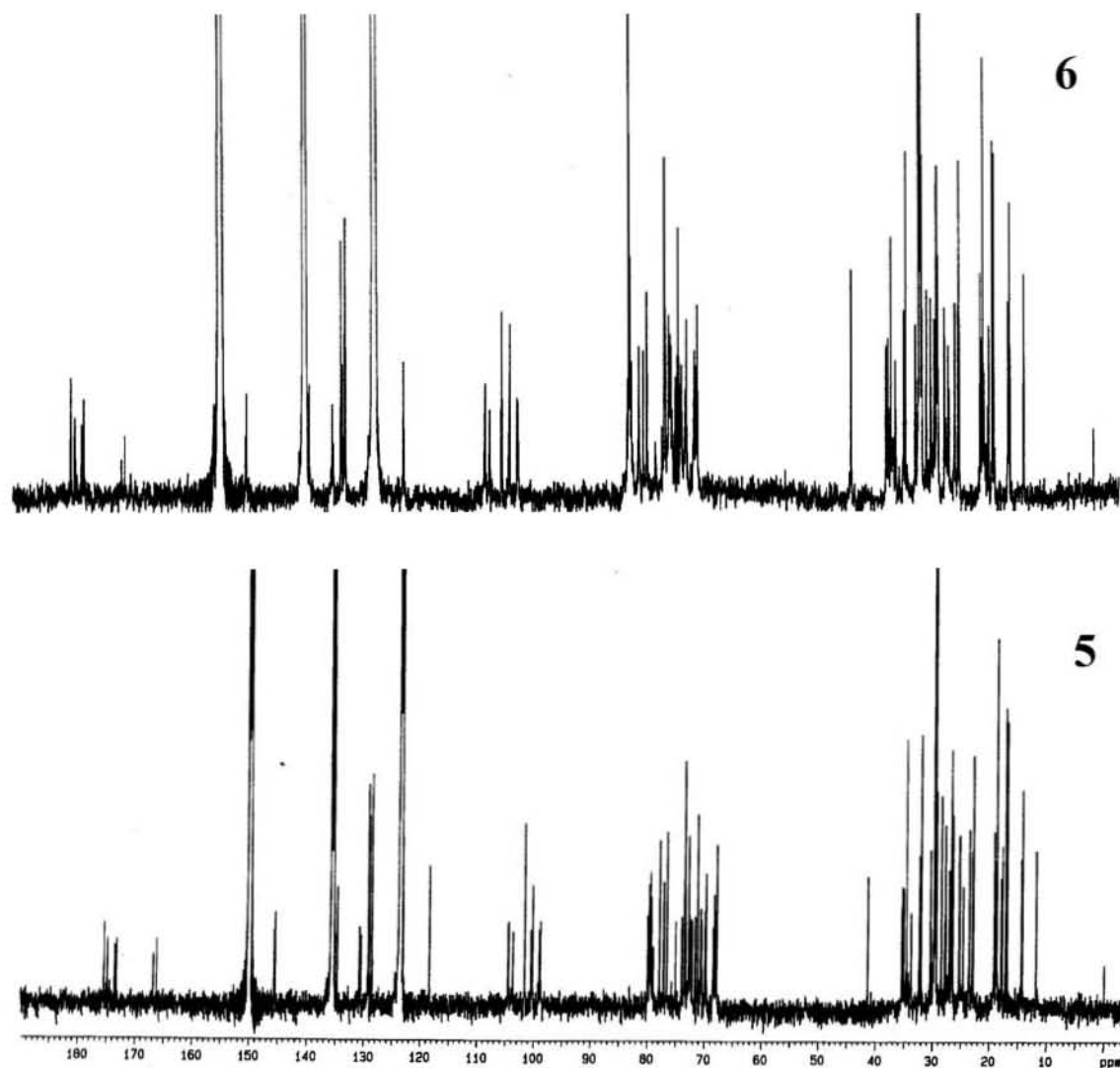


Figura 74. Espectros de RMN ^{13}C (125 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de los batatinas I (5) y II (6).

6.4.1 Identificación de estructuras diméricas mediante RMN

Una de las primeras evidencias espectroscópicas para confirmar que la batatinas I (5) y II (6) poseen una estructura polimérica, fue la identificación de nueve señales en la región de desplazamiento químico comprendida entre los 95 y 105 ppm en la RMN ^{13}C .

Posteriormente se demostró mediante el espectro HMQC que estas señales correlacionan con diez protones anoméricos en la RMN ^1H , ocho de ramnosa y dos de fucosa, tal cual se ilustra en la figura 75.

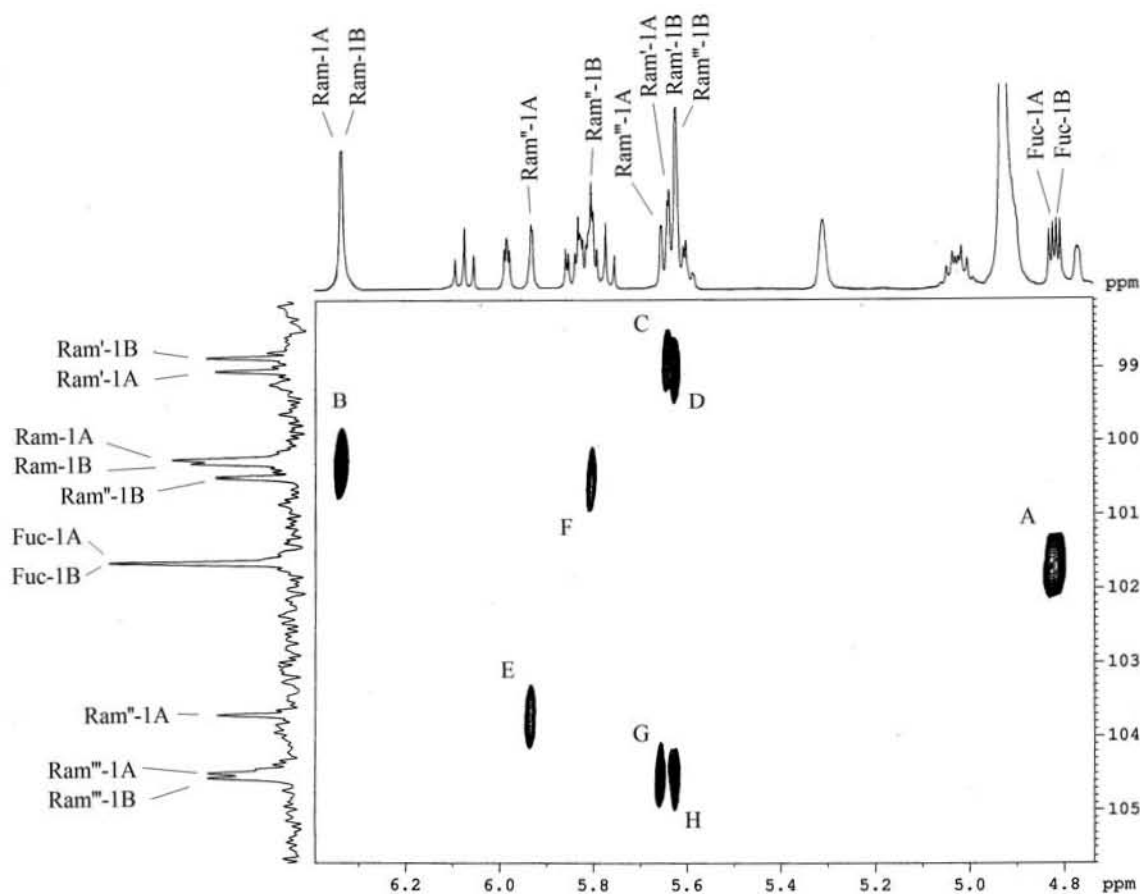


Figura 75. Sección del espectro HMQC del batatina I (**5**). Asignación de las resonancias de ^{13}C para la identificación de los carbonos anoméricos. Asignaciones: **A**; C_1FucA y C_1FucB , **B**; C_1RamA y C_1RamB , **C**; $\text{C}_1\text{Ram}'\text{B}$, **D**; $\text{C}_1\text{Ram}'\text{A}$, **E**; $\text{C}_1\text{Ram}''\text{A}$, **F**; $\text{C}_1\text{Ram}''\text{B}$, **G**; $\text{C}_1\text{Ram}'''\text{A}$, **H**; $\text{C}_1\text{Ram}'''\text{B}$.

Los compuestos **5** y **6** son dímeros del batatinósido I (**1**), por lo que se observa una similitud notable entre sus espectros de RMN ^1H y ^{13}C , con una clara complejidad para los compuestos **5** y **6** ya que se presentan una gran cantidad de señales adicionales sobrepuestas que no están presentes en los espectros del batatinósido I (**1**) (véase la figura 48).

Estas señales pueden apreciarse en la zona correspondiente a los desplazamientos químicos correspondientes a los grupos carbonilo en la RMN ^{13}C (véanse las figuras 49 y 74) y en la zona de desplazamiento correspondiente con las señales de esterificación localizadas por arriba de las 5.3 ppm en la RMN ^1H . En la figura 76, se comparan las resonancias de los compuestos **1** y **5**.

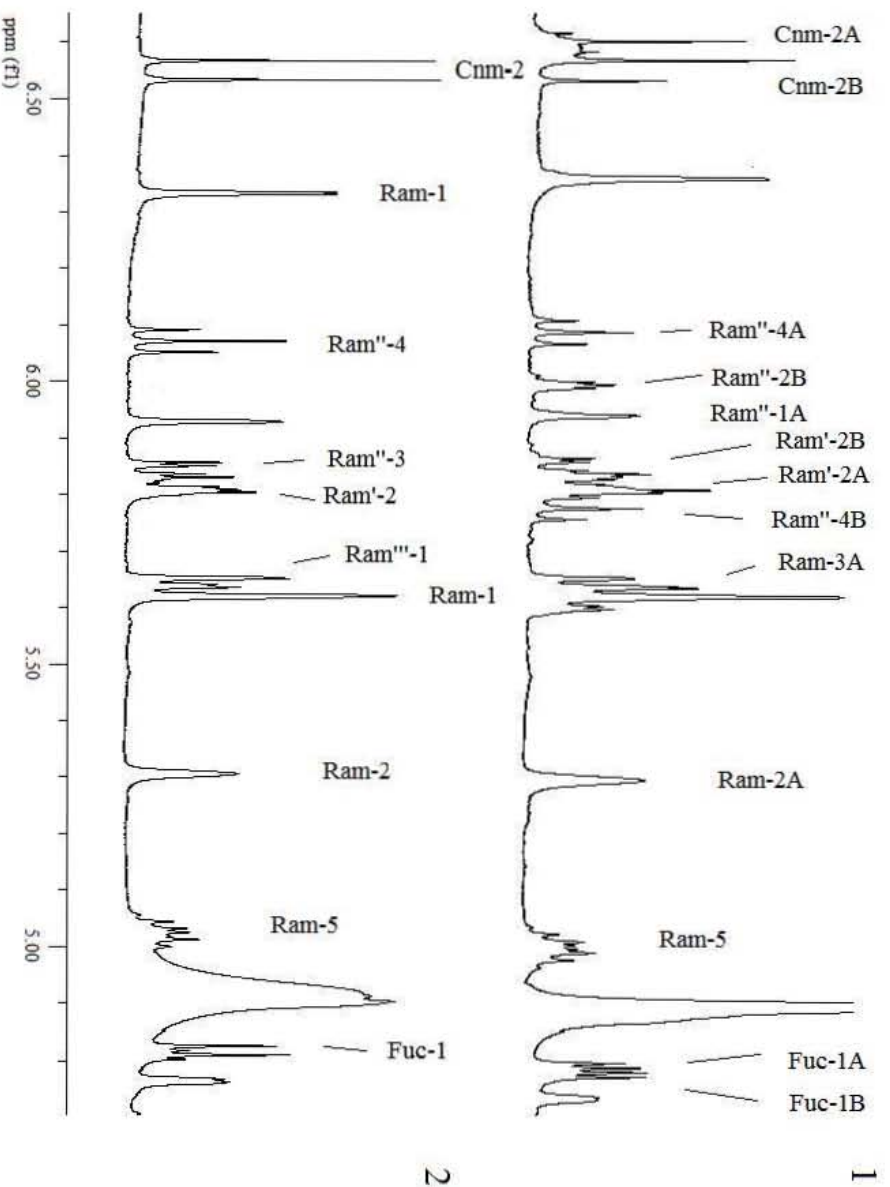


Figura 76. Comparación de los perfiles espectroscópicos en la RMN ^1H de los compuestos **5** (espectro 1) y **1** (espectro 2) en la zona de desplazamiento químico (ppm) correspondiente a protones anoméricos y señales de acilación. Abreviaciones : Ram A= ramnosa interna superior de la unidad A, Ram B = unidad de ramnosa de la unidad B, CnmA= residuo de *trans*-cinamoilo de la unidad A.

En el espectro de la batatina I (**5**) puede observarse la presencia de señales de acilación no presentes en el espectro del batatinósido I (**1**). Estas señales pudieron reconocerse con el empleo de los espectros bidimensionales COSY y TOCSY como H₂ y H₄ para una unidad de ramnosa **Ram''** y otra H₂ para la unidad de ramnosa **Ram'**, entre otras.

6.4.2 Residuos de esterificación de las batatinas I y II. Determinación de las posiciones de acilación

Los compuestos **5** y **6** poseen tres residuos esterificantes, el *n*-dodecanoílo, el 2(S)-2-metilbutanoílo y el *trans*-cinamoílo, que fueron identificados mediante la búsqueda de sus señales diagnósticas como se indicó en el apartado 6.3.3.2.

Después de localizar estas señales se llevó a cabo la diferenciación de los 7 carbonilos de los residuos ácidos que esterifican a las unidades A y B del ácido simónico B de las batatinas I (**5**) y II (**6**) mediante el análisis de los espectros HMBC.

La figura 77 es una sección del espectro HMBC de la batatina V (**9**) en el que se correlacionan las señales diagnósticas en la RMN ¹H de los residuos esterificantes y sus respectivos grupos carbonilo en la RMN ¹³C.

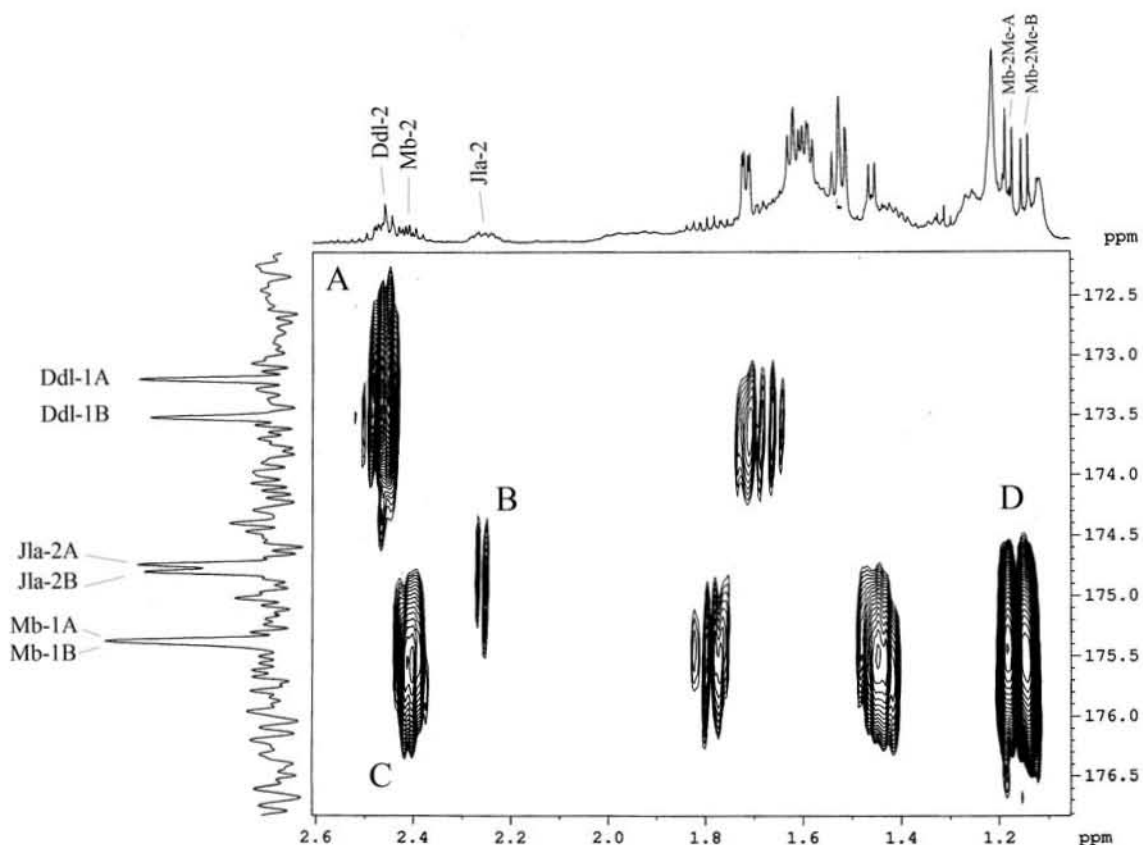


Figura 77. Sección del espectro HMBC de la batatina I (**5**). Asignación de señales de ^{13}C de grupos carbonilos para la aglicona y residuos ácidos. Conectividades ($^2J_{\text{C-H}}$); **A**; $\text{C}_1\text{-H}_2\text{Ddl}$, **B**; $\text{C}_1\text{-H}_2$ Jla, **C**; $\text{C}_1\text{-H}_2\text{Mb}$, y ($^3J_{\text{C-H}}$); **D**; $\text{C}_1\text{-H}_{2\text{Me}}$ Mba. Abreviaciones: Mba = 2-(S)-2-metilbutanoílo, Ddl = dodecanoílo, Jla = 11-hidroxi-hexadecanoílo (éster del ácido jalapínolico).

Una vez que se han identificado los grupos carbonilo se determinó la posición específica en la que estos residuos esterifican al ácido simónico B, nuevamente mediante el análisis de los espectros HMBC, aunque hay que mencionar que no pudieron observarse las correlaciones entre los grupos carbonilo de los residuos del ácido jalapínolico y los respectivos protones de azúcar en donde se establece el enlace éster intramolecular (figura 77).

Por lo tanto, la posición de lactonización propuesta para estas estructuras se dedujo por comparación entre los desplazamientos químicos en los que aparecen las señales generadas por los protones H₃ de la unidad de ramnosa (Ram) del batatinósido I (**1**) y los de los compuestos **5** y **6**.

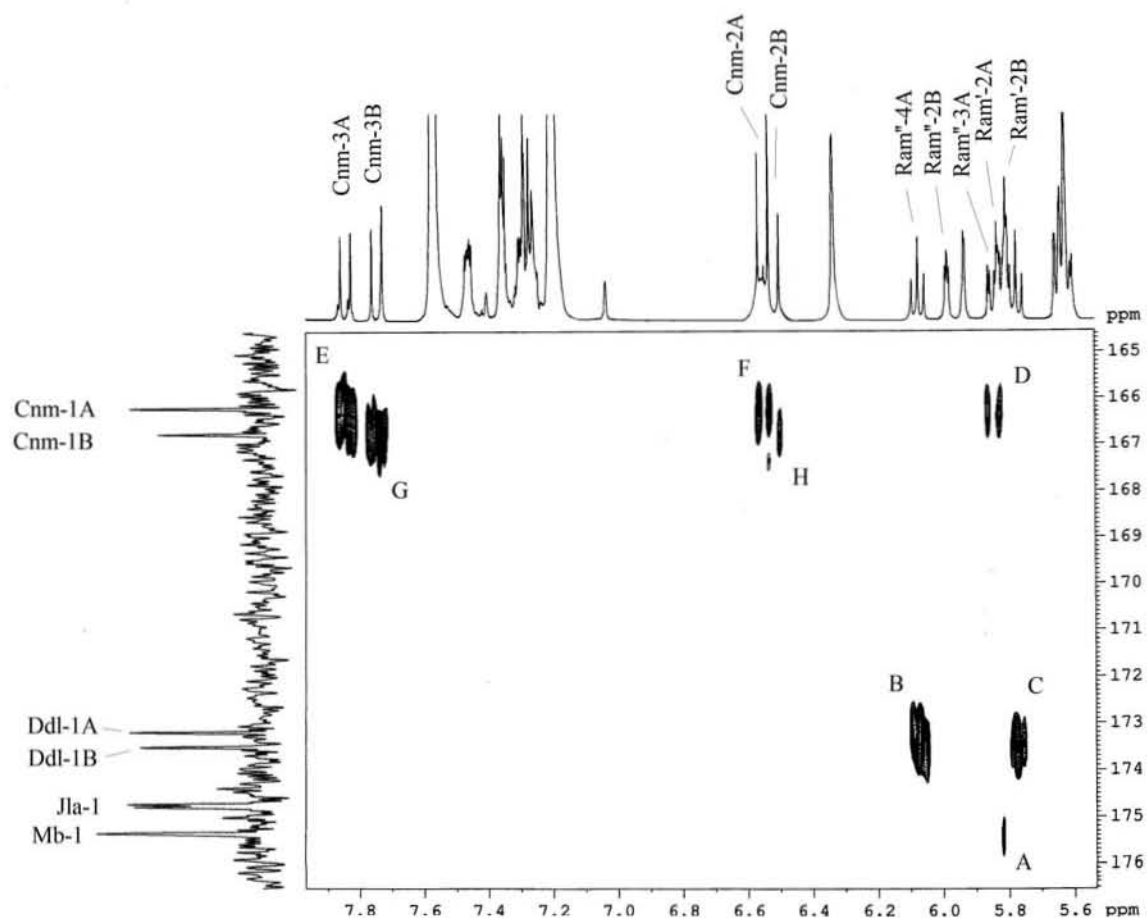


Figura 78. Sección del espectro HMBC de la batatina I (**5**) para la determinación de las posiciones de esterificación. Conectividades ($^3J_{C-H}$): **A**; C₁Mb-H₂Ram'A y C₁Mb-H₂Ram'B, **B**; C₁Ddl-H₄Ram''A, **C**; C₁Ddl-H₄Ram''B, **D**; C₁Cnm-H₃Ram'A, **E**; C₁Cnm-H₃CnmA, **G**; C₁Cnm-H₃CnmB. Correlaciones ($^2J_{C-H}$); **F**; C₁-H₂CnmA, **H**; C₁-H₂CnmB. Abreviaciones: Cnm = *trans*-cinamoilo, Mb = 2-metilbutanoilo, Ddl = n-dodecanoilo Jla = 11-hidroxihexadecanoilo (lactona del ácido jalapínico).

6.4.3 Las batatinas I y II, isómeros estructurales

La estructura química de los compuestos **5** y **6** es prácticamente idéntica y la única diferencia estructural existente entre ambos, es la posición en la que se establece el éster con el ácido cinámico en la unidad oligosacárida B (figura 83). En el compuesto **5** se establece en la posición 2 de la unidad de ramnosa externa superior (**Ram''**) y en el compuesto **6** en la posición 3 de esta misma unidad monomérica.

El hallazgo de esta diferencia estructural se logró establecer a partir de las correlaciones observadas para las señales generadas por los protones de la ramnosa externa superior (**Ram''**) de la unidad B del compuesto **5** (cuyo patrón espectroscópico es distinto y no aparece en los espectros de RMN ^1H de los compuestos **1** y **6** (espectros COSY y TOCSY). En la figura 79 se ilustra el seguimiento de las señales generadas por los protones de las unidades **Ram''** para la batatina I (**5**).

La posición de esterificación del ácido *trans*-cinámico en la batatina I (**5**) en el azúcar **Ram''** de la unidad B, no pudo deducirse directamente de los espectros HMBC, por lo tanto se tomó como parámetro su desplazamiento químico al compararse con el desplazamiento registrado para las señales del azúcar **Ram''** de la Simonina I (véase apartado 2.3.7), un compuesto monomérico acilado con ácido *trans*-cinámico (Noda *et al*, 1992). Esta asignación se confirmó nuevamente con la simulación espectral.

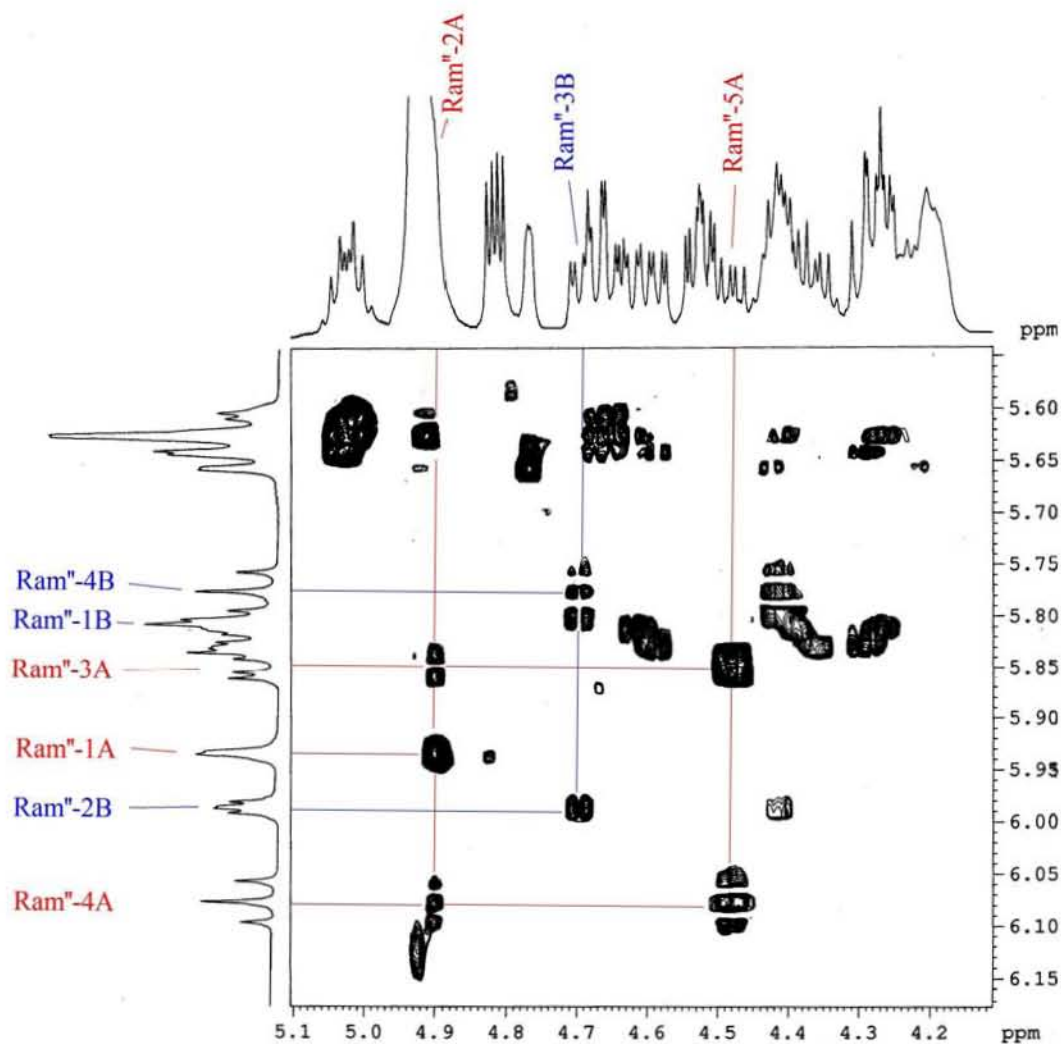


Figura 79. Sección del espectro TOCSY de la batatina I (5). Asignación de las señales de los azúcares **Ram''** de las unidades A y B.

6.4.4 Las batatinas I y II, dímeros del batatinósido I. Identificación por espectrometría de masas

El análisis espectrométrico de los compuestos **5** y **6** se llevó a cabo aplicando la espectrometría de masas con técnica de ionización electro spray y en modo para la detección de iones negativos (Véase apartado 5.1.2).

Las batatinas I (**5**) y II (**6**) generaron el aducto $[M + I]^-$, m/z 2889.47, (figura 80) que permitió el cálculo de la misma fórmula molecular para ambos compuestos ($C_{144}H_{232}O_{50}$). De este modo, se confirmó que estos dos glicolípidos representan un par diastereoisomérico.

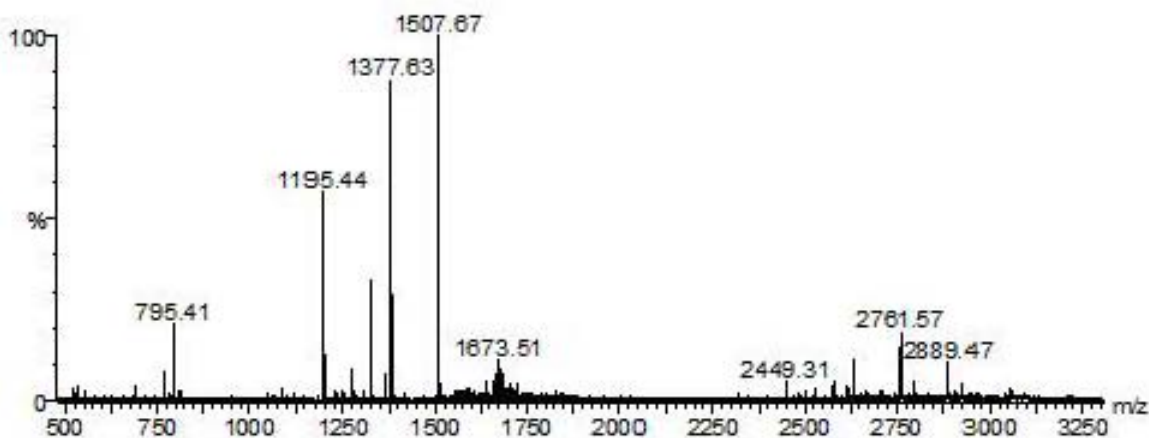


Figura 80. Espectro de masas ES modo negativo de la batatina II (**6**). Detección de los iones $[M + I]^-$, m/z 2889.47 y $[M/2 + I]^-$, m/z 1507.67.

Por medio del análisis MS/MS (figura 81) se obtuvo el espectro de masas del ión pseudomolecular $[M - H]^-$ m/z 2761.61 de fórmula $C_{144}H_{232}O_{50}$, con lo que se demostró que la fórmula molecular de estos compuestos equivale a dos unidades del batatinósido I (**1**), cuyo espectro de masas EI de iones positivos también fue registrado para la detección del ión pseudomolecular $[M + H]^+$, m/z 1381.78 para $C_{72}H_{117}O_{25}$.

Por otra parte, los compuestos **5** y **6** generaron el fragmento m/z 1379.79 $[M/2 - H]^-$ en su espectro MS/MS ES (Véase figura 81) que corresponde a la ruptura resultante de la unión éster que enlaza las dos unidades del batatinósido I (**1**) que constituyen estos compuestos poliméricos.

Otros fragmentos comunes en los espectros de masas de las batatinas I (**5**) y II (**6**) fueron: m/z 1249 [$M/2 - H - C_9H_6O$] $^-$, m/z 1197 [$M/2 - H - C_{12}H_{22}O$] $^-$ y m/z 1067 [$1249 - C_{12}H_{22}O$] $^-$. Cada fragmento representa la pérdida de los residuos *trans*-cinamoilo (130 uma) y *n*-dodecanoilo (182 uma), respectivamente.

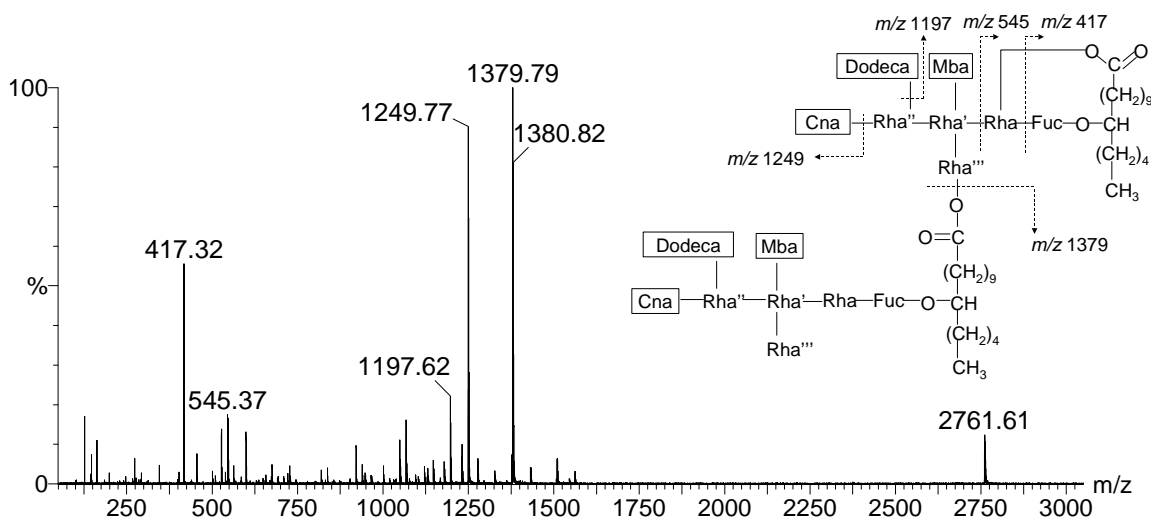


Figura 81. Espectro de masas MS/MS ES del ión pseudomolecular [$M - H$] $^-$ la batatina I (**5**).

6.4.5 Simulación espectral

Los valores espectroscópicos registrados para el batatinósido I (**1**) se utilizaron como punto de partida para proveer los desplazamientos químicos necesarios para realizar la simulación espectral. Así, para completar la asignación espectroscópica se simuló un espectro individual para cada una de las unidades monosacáridas de los compuestos **5** y **6**, lo cual permitió la asignación total de las resonancias para ambas unidades A y B.

De esta manera, la simulación espectral fue utilizada para duplicar los datos espectroscópicos registrados en la 1H RMN (500 MHz), permitiendo la asignación correcta

de los desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento para todas las señales sobrepuestas de los compuestos **5** y **6**.

Como primer paso se estimaron los desplazamientos químicos de los experimentos TOCSY, COSY y HMQC, y después se realizó la simulación espectral de cada monosacárido para obtener el desplazamiento químico correcto para sus señales. Así, todas las señales espectroscópicas del batatinósido I (**1**) lograron sobreponerse con aquellas registradas para los compuestos **5** y **6**, excepto con aquellas paramagnéticamente desplazadas generadas por los protones situados en azúcares con diferentes patrones de esterificación, en los espectros simulados. En aquellas señales resueltas y no sobrepuestas el desplazamiento y la constante de acoplamiento se obtuvieron directamente de los espectros RMN ^1H , como el triplete localizado a ~ 6.08 ppm (H_4) en el que el patrón de multiplicidad es evidente. En otros casos como el del cuarteto situado alrededor de 5.79 ppm, las dos señales dobles de dobles generadas por protones H_2 y un protón anomérico pueden resolverse observando detalladamente la composición de este aparente cuarteto.

Al utilizar los desplazamientos y las constantes de acoplamiento de ramnosa registrados del batatinósido I (**1**) en la simulación, se facilitó la interpretación espectral en aquellos casos donde la constantes de acoplamiento de las señales no pudieron calcularse directamente de los espectros experimentales debido a la alta complejidad de las generadas.

La simulación se realizó mediante el empleo del programa de simulación espectral MestRe-C variando progresivamente el desplazamiento y anchura de las señales (constantes de acoplamiento) hasta lograr un parecido ó semejanza máxima entre los espectros simulados y los experimentales (Véase la figura 82).

Batatina I (5) RMN ¹H

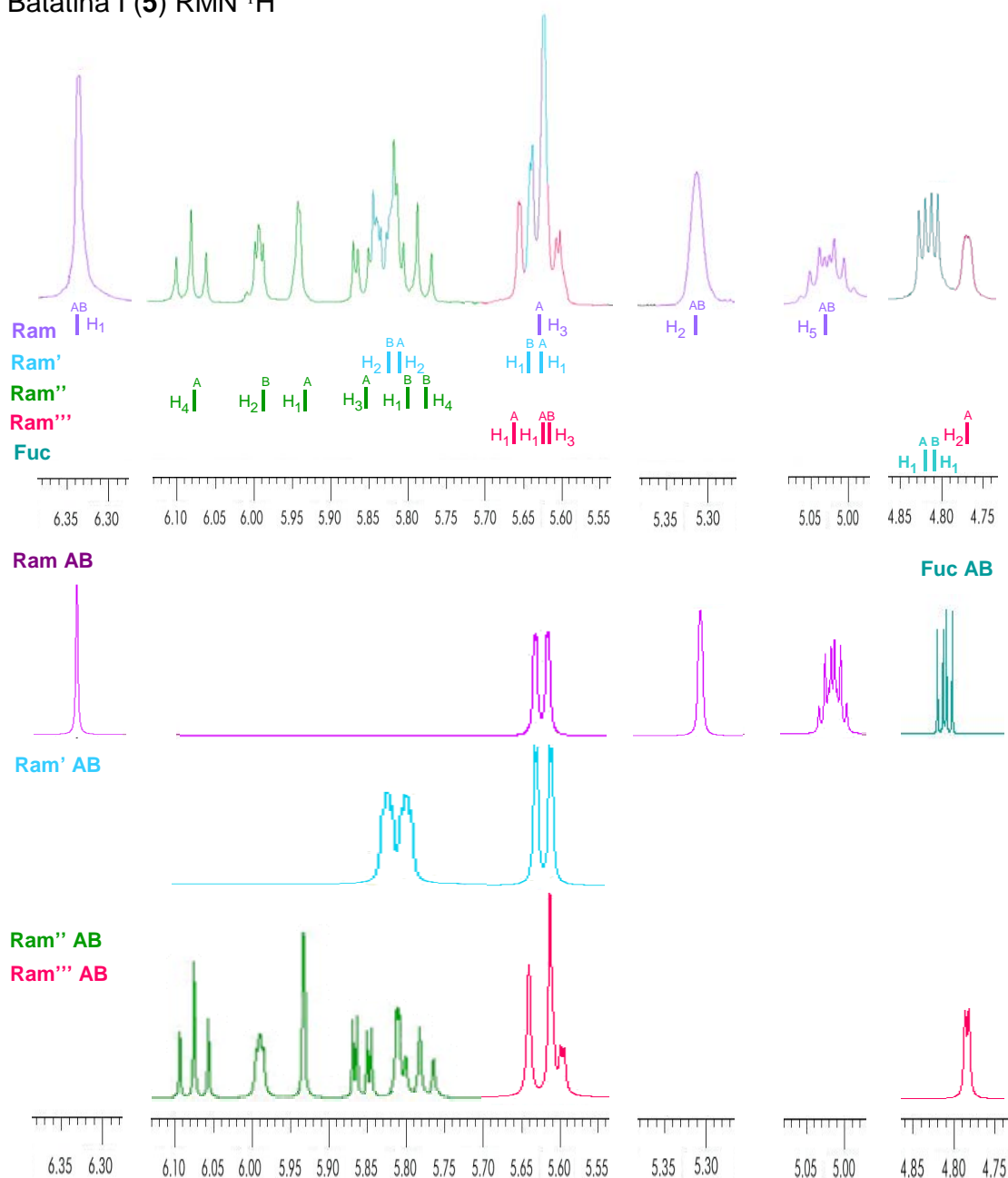


Figura 82. Simulación de la región oligosacárida para la Batatina I (5). La gráfica superior representa al espectro experimental de la batatina I. El color de las señales corresponde con el color asignado a cada unidad de azúcar. Los desplazamientos químicos exactos están señalados en la última gráfica de la figura y las demás gráficas corresponden a los espectros individuales simulados por iteración para cada una de las unidades de ramnosa y fucosa. Las letras A y B denotan la unidad monomérica en donde se localizan las respectivas unidades sacáridas y H_n denota las posiciones exactas en cada unidad de azúcar.

En la figura 82, se ilustra la simulación de un sistema de 24 núcleos para las señales localizadas entre 4.75 y 6.40 ppm para el compuesto **5**. La simulación espectral se aplicó en aquellos casos en los que fue imposible hacer un análisis visual en la RMN ^1H , como en el multiplete localizado entre 5.58 y 5.65 ppm en el que las señales anoméricas sobrepuestas en las unidades A y B del azúcar **Ram'** (en color azul), la señal doble de dobles de H_3 de **Ram** (lactonización, en morado) y las del azúcar **Ram''** (en color rojo).

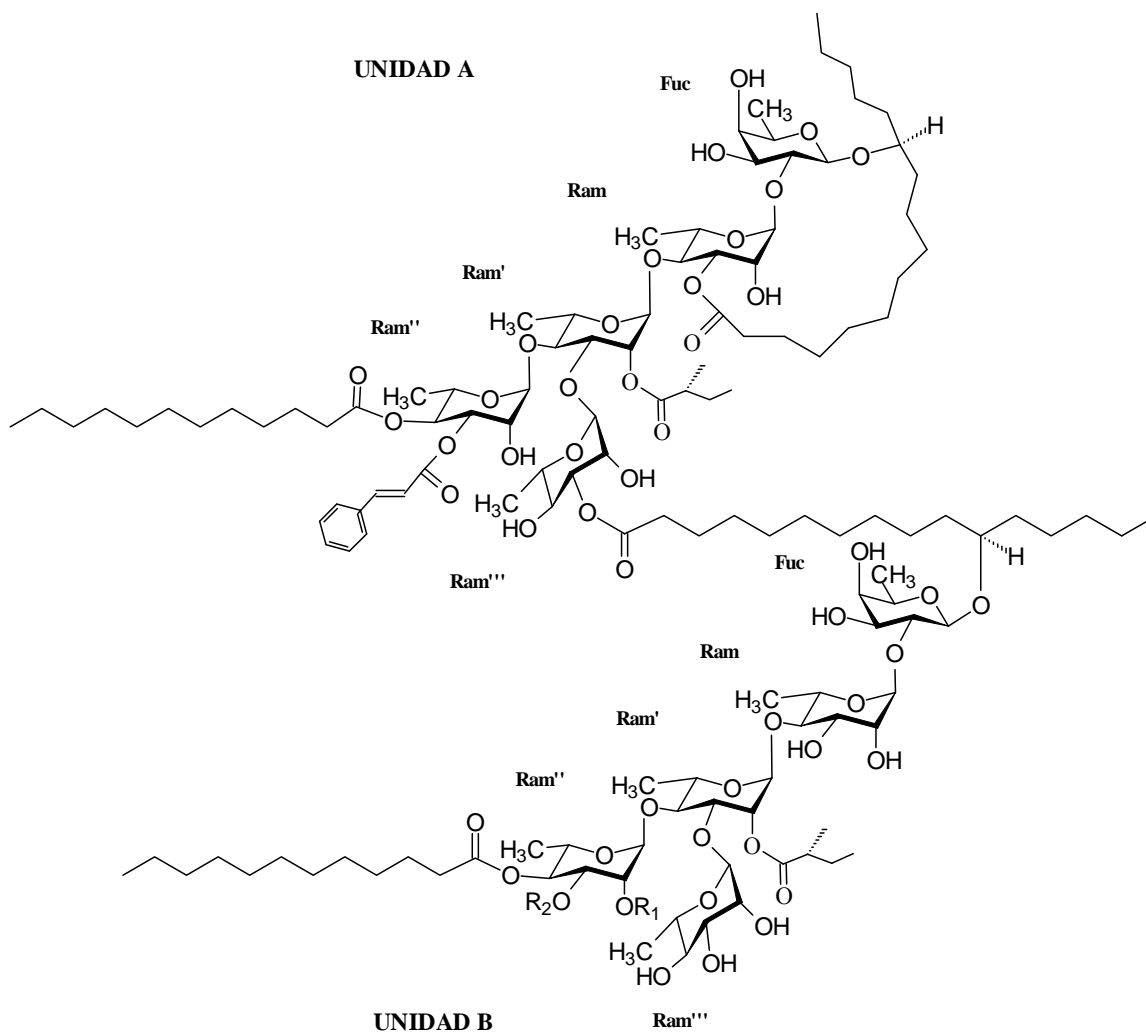
6.4.6 Estructura de las batatinas I y II

En la figura 83 se ilustran las estructuras propuestas para los compuestos **5** y **6** de la fracción primaria alfa (subfracciones **F1** y **H**, apartado 5.3.3) que fueron designados con los nombres de batatinas I y II. El cuadro 7 contiene los desplazamientos químicos y las constantes espectroscópicas obtenidos de los espectros auténticos y de la simulación espectral en la RMN ^1H y el cuadro 8 contiene los desplazamientos en la RMN ^{13}C para ambos dímeros.

De acuerdo con toda la información espectroscópica y espectrométrica analizada se propusieron la siguientes estructuras para las batatinas I (5) y II (6).

Glicolípido 5: Éster intramolecular 1 - 3'', 11 - O - α - L - [3 - O - (11S-hidroxihexadecanoil) - 11 - O - α - L - ramnopiranosil - {2 - O-(*trans*-cinamoil) - 4 - O -(*n*-dodecanoil)} - (1 \rightarrow 4) - O - α - L - {2-O-(2-*S*-metilbutanoil) (1 \rightarrow 3) - O - α - L - ramnopiranosil} ramnopiranosil - (1 \rightarrow 4) - O - α - L - ramnopiranosil - (1 \rightarrow 2) - O - β - D-fucopiranosido]ramnopiranosil-{3-O-(*trans*-cinamoil)-4-O-(*n*-dodecanoil)}-(1 \rightarrow 4)-O- α -L-{2-O-(2-*S*-metilbutanoil)-(1 \rightarrow 3)-O- α -L-ramnopiranosil}ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4) - O - α - L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)-O- β -D-fucopiranosido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.

Glicolípido 6: Éster intramolecular 1 - 3'', 11 - O - α - L - [3 - O - (11S-hidroxihexadecanoil) - 11 - O - α - L - ramnopiranosil - {3 - O(*trans*-cinamoil) - 4 - O -(*n*-dodecanoil)} - (1 \rightarrow 4) - O - α - L - {2-O-(2-*S*-metilbutanoil) (1 \rightarrow 3) - O - α - L - ramnopiranosil} ramnopiranosil - (1 \rightarrow 4) - O - α - L - ramnopiranosil - (1 \rightarrow 2) - O - β - D-fucopiranosido]ramnopiranosil-{3-O-(*trans*-cinamoil)-4-O-(*n*-dodecanoil)}-(1 \rightarrow 4)-O- α -L-{2-O-(2-*S*-metilbutanoil)-(1 \rightarrow 3)-O- α -L-ramnopiranosil}ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-O - α - L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)-O- β -D-fucopiranosido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.



Batatina	R ₁	R ₂
I	<i>trans</i> -cinamoilo	H
II	H	<i>trans</i> -cinamoilo

Figura 83. Estructura de las batatinas I (5) y II (6).

Cuadro 8. Constantes espectroscópicas en la RMN ¹H para las **batatinas I y II (5 - 6)^a**.

Protón ^b	Batatina I (5)		Batatina II (6)	
	UNIDAD A	UNIDAD B	UNIDAD A	UNIDAD B
Fuc 1	4.82 d (7.8)	4.81 d (7.8)	4.83 d (7.9)	4.83 d (7.9)
2	4.52 dd (9.5, 7.8)	4.53 dd (9.6, 7.9)	4.54 dd (9.5, 7.9)	4.54 dd (9.5, 7.9)
3	4.20 *	4.20 *	4.20*	4.20 *
4	3.92 bs	3.92 bs	3.92 d (1.9)	3.92 d (1.9)
5	3.82 q (6.3)	3.82 q (6.3)	3.82 q (6.5)	3.82 q (6.5)
6	1.52 d (6.5)	1.52 d (6.5)	1.52 d (6.4)	1.52 d (6.4)
Ram 1	6.34 bs	6.34 bs	6.35 d (1.5)	6.35 d (1.5)
2	5.31 bs	5.31 bs	5.32 bs	5.32 bs
3	5.63 dd (8.4, 1.6)	4.42 dd (9.2, 3.1)	5.64 dd (10.0, 2.4)	4.43 dd (9.3, 3.1)
4	4.66 t (9.8)	4.67 t (9.7)	4.67 t (9.7)	4.67 t (9.7)
5	5.02 dq (9.4, 6.4)	5.02 dq (9.4, 6.4)	5.04 dq (9.5, 6.3)	5.04 dq (9.5, 6.3)
6	1.59 d (6.1)	1.60 d (6.1)	1.60 d (6.2)	1.60 d (6.2)
Ram'1	5.62 d (0.9)	5.64 d (1.6)	5.63 bs	5.65 d (1.8)
2	5.81 dd (3.2, 1.8)	5.82 dd (3.0, 2.0)	5.82 dd (3.0, 1.8)	5.82 dd (3.0, 1.8)
3	4.62 dd (9.5, 3.1)	4.59 dd (9.1, 3.0)	4.63 dd (9.4, 3.0)	4.63 dd (9.4, 3.0)
4	4.27 t (9.5)	4.29 t (9.3)	4.27 t (9.4)	4.27 t (9.4)
5	4.40 dq (9.4, 6.1)	4.36 dq (9.5, 6.0)	4.40 dq (9.6, 5.9)	4.40 dq (9.6, 5.9)
6	1.61 d (5.9)	1.63 d (5.9)	1.62 d (6.1)	1.62 d (6.1)
Ram''1	5.93 d (1.2)	5.80 *	5.94 d (1.5)	5.94 d (1.5)
2	4.91*	5.99 dd (3.1, 2.2)	4.91*	4.91*
3	5.85 dd (10.1, 3.0)	4.70 dd (9.3, 3.3)	5.85 dd (10.0, 3.0)	5.84 dd (9.7, 3.2)
4	6.08 t (9.9)	5.77 t (9.3)	6.08 t (9.9)	5.78 t (9.5)
5	4.48 dq (9.7, 6.2)	4.41 *	4.48 dq (9.8, 6.3)	4.44 *
6	1.46 d (6.3)	1.53 d (6.9)	1.46 d (6.3)	1.46 d (6.3)
Ram'''1	5.66 d (1.0)	5.62 d (0.9)	5.66 d (1.1)	5.63 bs
2	4.92*	4.77 bs	4.75 bs	4.75 bs
3	5.62 dd (7.6, 2.7)	4.42 dd (9.2, 3.1)	5.62 dd (9.8, 2.4)	4.43 dd (9.3, 3.1)
4	4.23 *	4.20*	4.23*	4.20 *
5	4.27 dq (9.5, 6.1)	4.25 dq (9.1, 6.3)	4.27*	4.25*
6	1.72 d (5.9)	1.72 d (6.1)	1.72 d (6.0)	1.72 d (6.0)
Jal 2	2.25 ddd (14.9, 7.1, 2.8)	2.25 ddd (15.0, 6.6, 2.7)	2.33 - 2.43*	2.33 - 2.43*
	2.84 ddd (14.5, 11.2, 2.4)	2.86 ddd (14.7, 10.4, 1.7)	2.83 ddd (14.5, 11.0, 2.4)	
11	3.89 m	3.89 m	3.89 m	3.89 m
16	1.00 t (6.9)	1.00 t (7.0)	1.00 t (6.9)	1.00 t (6.9)
Mb 2	2.40 tq (7.0, 6.9)	2.42 tq (7.1, 6.8)	2.40 tq (7.1, 6.9)	2.40 tq (7.1, 6.9)
2 Me	1.15 d (7.0)	1.18 d (7.0)	1.15 d (7.1)	1.15 d (7.1)
3 Me	0.90 t (7.4)	0.92 t (7.4)	0.90 t (7.4)	0.90 t (7.4)
Cna 2	6.55 d (16.0)	6.52 d (16.5)	6.56 d (16.0)	6.56 d (16.0)
3	7.84 d (15.9)	7.75 d (15.9)	7.85 d (16.0)	7.85 d (16.0)
Dodeca 2	2.46 t (7.3)	2.46 t (7.3)	2.45 t (7.2)	2.45 t (7.2)
12	0.88 t (7.2)	0.87 t (7.1)	0.88 t (7.0)	0.88 t (7.0)

^aDatos registrados a 500 MHz en C₅D₅N. Los desplazamientos químicos (δ) están en ppm en relación con TMS. Los acoplamientos (*J*) se encuentran en paréntesis y se expresan en Hz.

^bAbreviaciones; s = señal simple, d = doble, t = señal triple, q = señal cuádruple, m = señal múltiple.

Las asignaciones se basaron en los experimentos ¹H-¹H COSY y TOCSY.

Fuc = fucosa, Ram = ramnosa. Jal = 11- hidroxihexadecanoílo, Mb = 2-metilbutanoílo, dodeca = *n*-dodecanoílo, cna = *trans*-cinamoílo.

Cuadro 9. Constantes espectroscópicas en la RMN ^{13}C para las **batatinas I y II (5 - 6)**^a.

carbono ^b	Batatina I (5)		Batatina II (6)	
	UNIDAD A	UNIDAD B	UNIDAD A	UNIDAD B
Fuc 1	101.6	101.6	101.6	101.6
2	73.4	73.4	73.4	73.4
3	76.6	76.6	76.6	76.6
4	73.6	73.6	73.6	73.6
5	71.3	71.3	71.2	71.2
6	17.2	17.2	17.2	17.2
Ram 1	100.2	100.3	100.3	100.3
2	69.8	69.8	69.8	69.8
3	78.0	72.5	78.0	72.5
4	77.2	77.2	77.2	77.2
5	67.9	67.9	67.9	67.9
6	19.2	19.3	19.3	19.3
Ram' 1	99.0	98.8	99.0	98.8
2	72.8	72.8	72.8	72.8
3	79.8	79.1	79.8	79.8
4	80.0	80.0	80.0	80.0
5	68.4	68.5	68.4	68.5
6	18.8	18.8	18.8	18.8
Ram"1	103.7	100.5	103.7	103.8
2	70.0	74.0	70.0	70.0
3	73.3	68.1	73.3	73.3
4	71.7	75.1	71.7	72.7
5	68.2	68.4	68.2	68.4
6	17.8	18.0	17.8	17.8
Ram"1	104.6	104.5	104.6	104.5
2	72.2	72.7	72.5	72.7
3	78.0	72.4	78.0	72.4
4	73.6	73.6	73.6	73.6
5	70.6	70.8	70.6	70.8
6	18.9	18.8	18.8	18.8
Jal 1	174.7	174.8	174.7	174.8
2	33.9	33.8	33.9	33.9
11	79.5	79.4	79.5	79.5
16	14.5	14.5	14.5	14.5
Mb 1	175.4	175.4	175.4	175.4
2	41.4	41.4	41.4	41.4
2-Me	16.9	16.9	16.9	16.9
3-Me	11.8	11.8	11.8	11.8
Cna-7	118.4	118.4	118.4	118.4
8	128.6	128.6	128.6	128.7
	129.2 (x 2)	129.0 (x 2)	129.2 (x 2)	129.2 (x 2)
	130.7 (x 2)	130.5 (x 2)	130.7 (x 2)	130.5 (x 2)
	134.7	134.7	134.7	134.7
	145.4	145.6	145.4	145.6
9	166.2	166.8	166.2	166.8
Dodeca-1	173.2	173.5	173.2	173.5
2	34.6	34.6	34.6	34.6
12	14.3	14.3	14.3	14.3

^aDatos registrados a 125 MHz en $\text{C}_3\text{D}_5\text{N}$. Los desplazamientos químicos (δ) están en ppm en relación con TMS.

Las asignaciones se basaron en los experimentos HSQC.

Fuc = fucosa, Ram = ramnosa. Jal = 11- hidrohxadecanoílo, Mb = 2-metilbutanoílo, dodeca = *n*-dodecanoílo, cna = *trans*-cinamoílo.

6.5 Elucidación estructural de las batatinas III y IV

Las batatinas III (7) y IV (8) son dímeros lipooligosacáridos constituidos por dos unidades tetrasacáridas de ácido operculínico C. La porción oligosacárida de estas moléculas se encuentra esterificada con dos residuos de ácido *n*-decanoico y dos de *n*-dodecanoico y al igual que en el caso de las batatinas I (5) y II (6), las diferencias químicas entre estos dos compuestos diméricos está determinada por su isomería estructural.

La elucidación de las estructuras y la asignación de los desplazamientos químicos de sus señales se llevó a cabo nuevamente combinando las técnicas espectroscópicas en la RMN mono y bidimensional y en la espectrometría de masas. La elucidación se inició como en casos anteriores con el registro de los espectros unidimensionales de RMN ^1H y ^{13}C (figuras 84 y 85) de los compuestos puros para obtener información general acerca de su estructura.

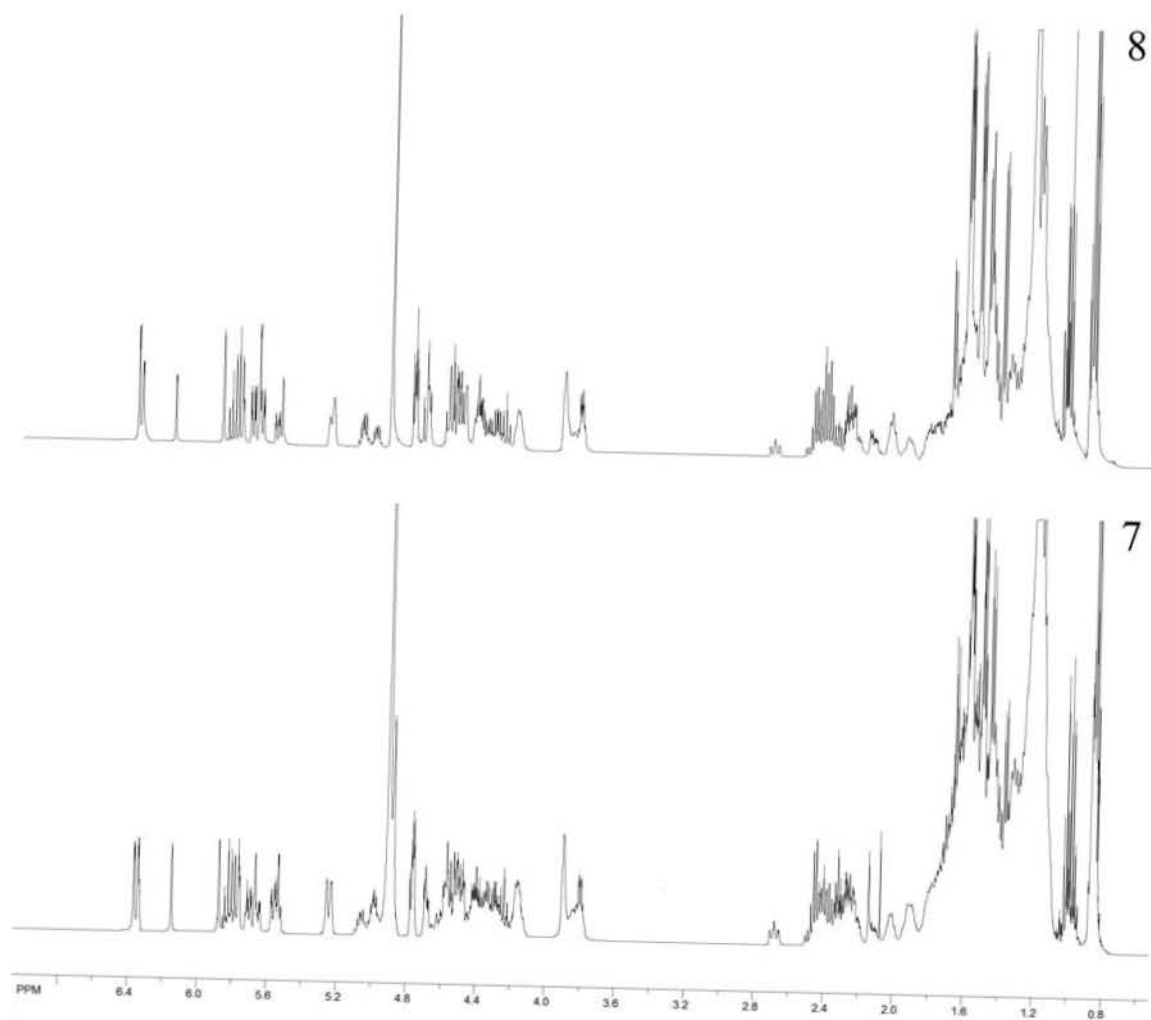


Figura 84. Espectros de RMN ^1H (500 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de las batatinas III (7) y IV (8).

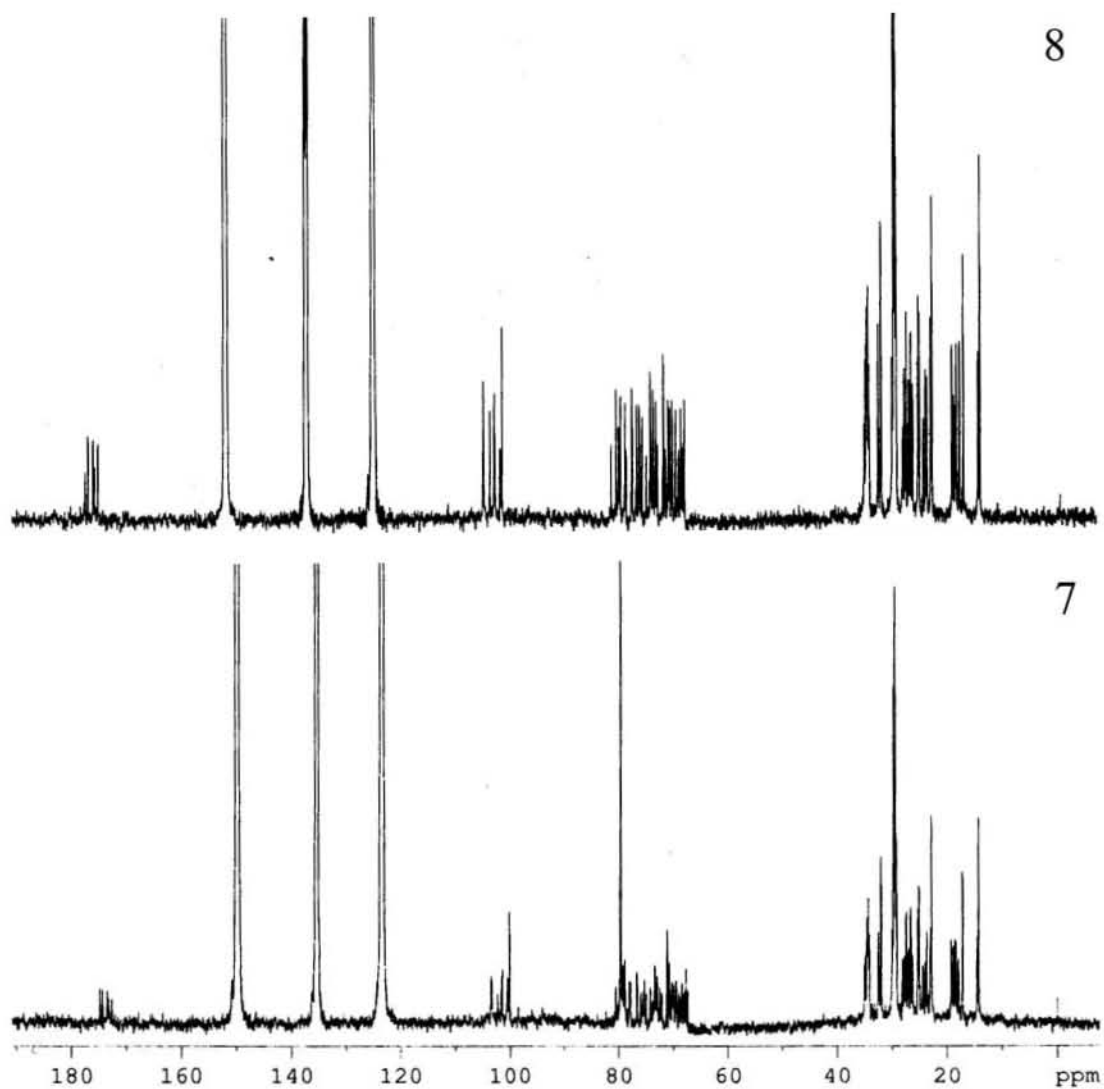


Figura 85. Espectros de RMN ^{13}C (125 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de las batatinas III (**7**) y IV (**8**).

6.5.1 Batatinas III y IV, dímeros del ácido operculínico C

La estructura oligosacárida de los compuestos **7** y **8**, al igual que la de los batatinósidos II (**2**) y III (**3**) se encuentra relacionada con la estructura de las estoloniferinas XI y XII, y constituida por dos unidades del núcleo tetrasacárido del ácido operculínico C. Esta propuesta pudo deducirse tras observar 7 señales anoméricas de carbono relacionadas con 8 protones anoméricos en el espectro HMQC (figura 86), 6 de ramnosa y 2 de fucosa (también se confirmó verificando las secuencias de glicosilación con los espectros HMBC).

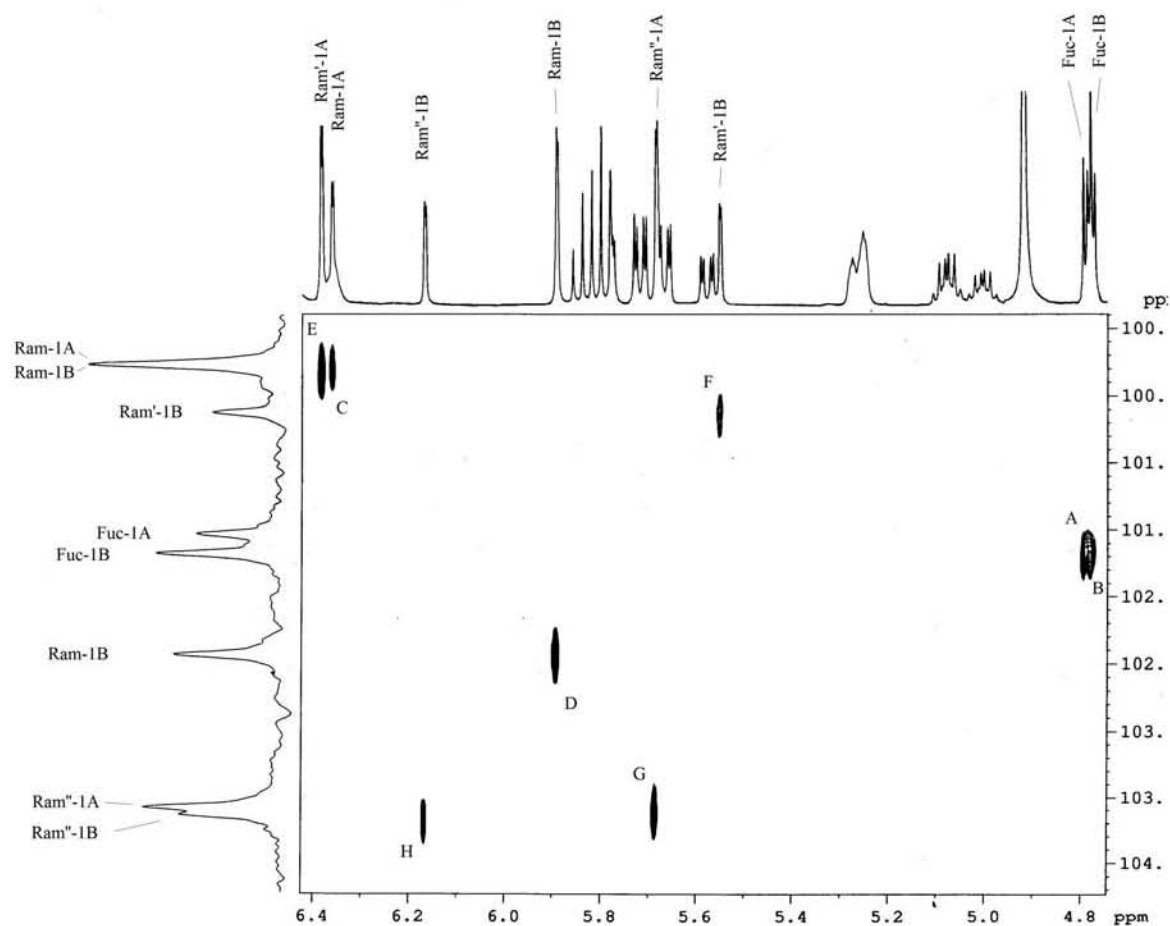


Figura 86. Sección del espectro HMQC de la batatina IV (**8**). Asignación de las resonancias de ^{13}C para la identificación de los carbonos anoméricos. Asignaciones: **A**; C_1FucA , **B**; C_1FucB , **C**; C_1RamA , **D**; C_1RamB , **E**; $\text{C}_1\text{Ram}'\text{A}$, **F**; $\text{C}_1\text{Ram}'\text{B}$, **G**; $\text{C}_1\text{Ram}''\text{A}$, **H**; $\text{C}_1\text{Ram}''\text{B}$.

Todas las unidades sacáridas de ramnosa de los compuestos **7** y **8** se encuentran aciladas, pues todas poseen una señal no anomérica paramagnéticamente desplazada a campo bajo de acuerdo con las conectividades registradas en la expansión del espectro COSY de la figura 87. Esta evidencia indicó que en la estructura de los compuestos **7** y **8** hay seis posiciones de esterificación, cuatro de las cuales están ocupadas por los residuos alquílicos de los ácidos *n*-decanoico y *n*-dodecanoico (confirmado por espectrometría de masas) y las dos restantes están ocupadas por el éster intramolecular (macrolactona) y la

unión éster entre las dos unidades lipooligosacáridas que constituyen la estructura dimérica de los compuestos **7** y **8**.

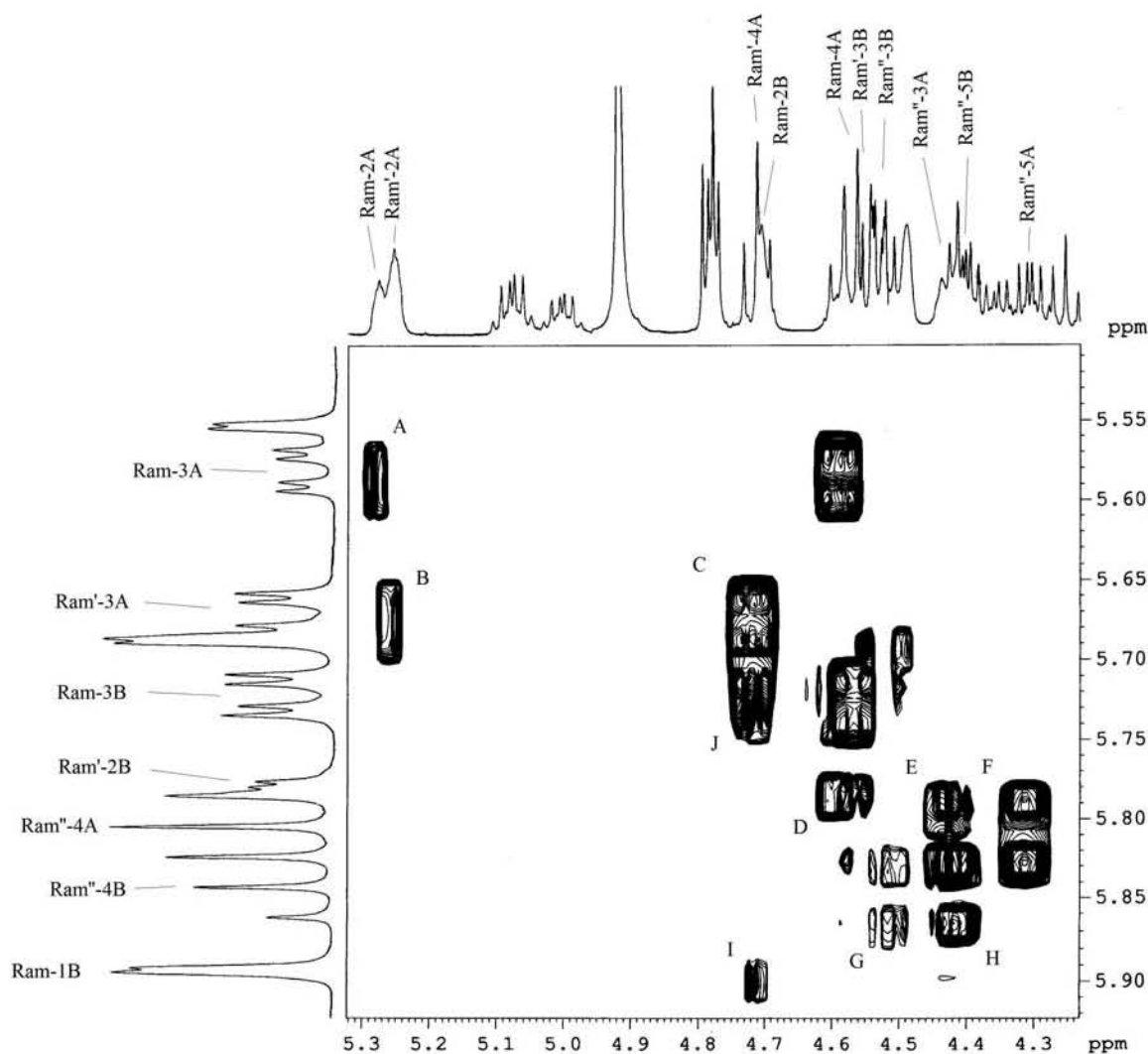


Figura 87. Sección del espectro COSY para la porción oligosacárida de la batatina IV (**8**). Correlaciones ($^3J_{H-H}$): **A**; RamA H₂ – H₃, **B**; Ram'A H₂ – H₃, **C**; Ram'A H₃– H₄, **D**; Ram'B H₂ – H₃, **E**; Ram''A H₃ – H₄, **F**; Ram''A H₄ – H₅, **G**; Ram''B H₃ – H₄, **H**; Ram''B H₄ – H₅, **I**; RamB H₁ – H₂, **J**; RamB H₂ – H₃. Abreviaciones: RamA = ramnosa interna superior de la unidad A, Ram'B= ramnosa interna inferior de la unidad B, Ram'' = ramnosa externa superior, Ram''' = ramnosa externa inferior.

6.5.2 Diferenciación isomérica de las batatinas III y IV

Como se discutirá detalladamente en el apartado 6.6.3, mediante la espectrometría de masas se demostró que los compuestos **7** y **8** poseen la misma fórmula molecular y con esta evidencia se dedujo que ambos representan un par de diastereoisómeros, en forma similar a lo que sucede en el caso de las batatinas I (**5**) y II (**6**).

Después de haber realizado la asignación de las señales y sus desplazamientos químicos mediante los espectros COSY, TOCSY y HMQC, se procedió con el establecimiento de la asignación de las 6 distintas posiciones de esterificación de estas moléculas por medio de los espectros HMBC, con lo que se concluyó que ambos comparten el mismo patrón de sustitución y las mismas posiciones de lactonización, con una sola diferencia entre ambos que consiste en la posición en la que los ácidos *n*-decanoico y *n*-dodecanoico esterifican a la unidad B del ácido operculínico C, específicamente en sus unidades sacáridas ramnosa interna inferior (**Ram'**) y ramnosa terminal (**Ram''**).

Un resto *n*-dodecanoílo se localiza en ambos compuestos en el azúcar **Ram''** de la unidad A de ácido operculínico C y un segundo residuo de ácido *n*-decanoico esterifica a la ramnosa interna superior **Ram**. Sin embargo, en el compuesto **7** el otro resto de ácido *n*-decanoico esterifica al azúcar **Ram'** y el restante de *n*-decanoico a la unidad **Ram''** (ambas en la unidad B), mientras que en el compuesto **8** las posiciones de estos dos residuos se hallan invertidas con respecto al compuesto **7** (figuras 88, 89 y 93).

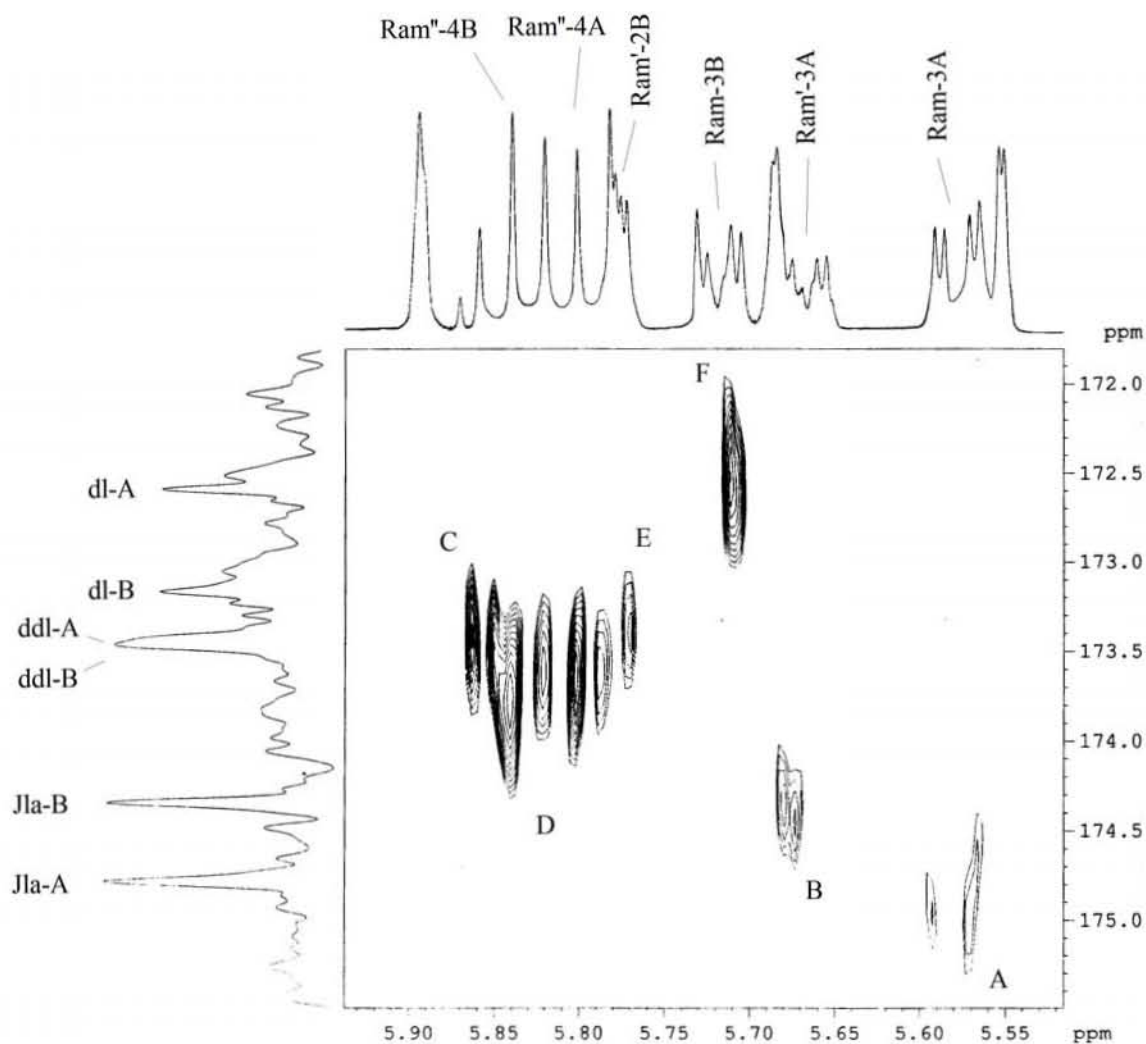


Figura 88. Sección del espectro HMBC de la batatina III (**7**) para la determinación de las posiciones de esterificación. Conectividades ($^3J_{C-H}$): **A**; $C_1JlaA - H_3RamA$, **B**; $C_1JlaB - H_3Ram'B$, **C**; $C_1dlB - H_4Ram''B$, **D**; $C_1ddlA - H_4Ram'A$, **E**; $C_1ddl - H_2Ram'A$, **F**; $C_1dlB - H_3RamB$. Abreviaciones; dl A= *n*-decanoílo unidad A, ddl B= *n*-dodecanoílo unidad B, Jla A = 11-hidroxi-hexadecanoílo (éster del ácido jalapínico) unidad A.

Es importante mencionar que toda la espectroscopía en la RMN de los compuestos **7** y **8** es prácticamente similar y no hay diferencias significativas en los desplazamientos químicos generados por las señales de estos compuestos, ya que ambos son isómeros. Sólo el análisis detallado de los espectros HMBC durante el establecimiento de las correlaciones

C-H de los grupos carbonilo con los protones de los azúcares situados en las posiciones donde se establecen los ésteres, se llegó al hallazgo de esta diferencia estructural entre ambos compuestos.

En el compuesto **7**, el ácido *n*-decanoico establece un éster con el azúcar **Ram''** en la posición 4 y el ácido *n*-dodecanoico con el azúcar **Ram'** en la posición 2. En el caso del compuesto **8** el ácido *n*-dodecanoico establece un enlace éster en la posición 4 del azúcar **Ram''**, y el *n*-decanoico en la posición 2 del azúcar **Ram'**, todos en la unidad tetrasacárida B. En los compuestos **7** y **8**, la posición del enlace éster en la que se establece la unión de las dos unidades tetrasacáridas (unidades A y B) mediante el ácido jalapινόico, se establece en la posición 3 del azúcar **Ram'** de la unidad oligosacárida A (figura 93).

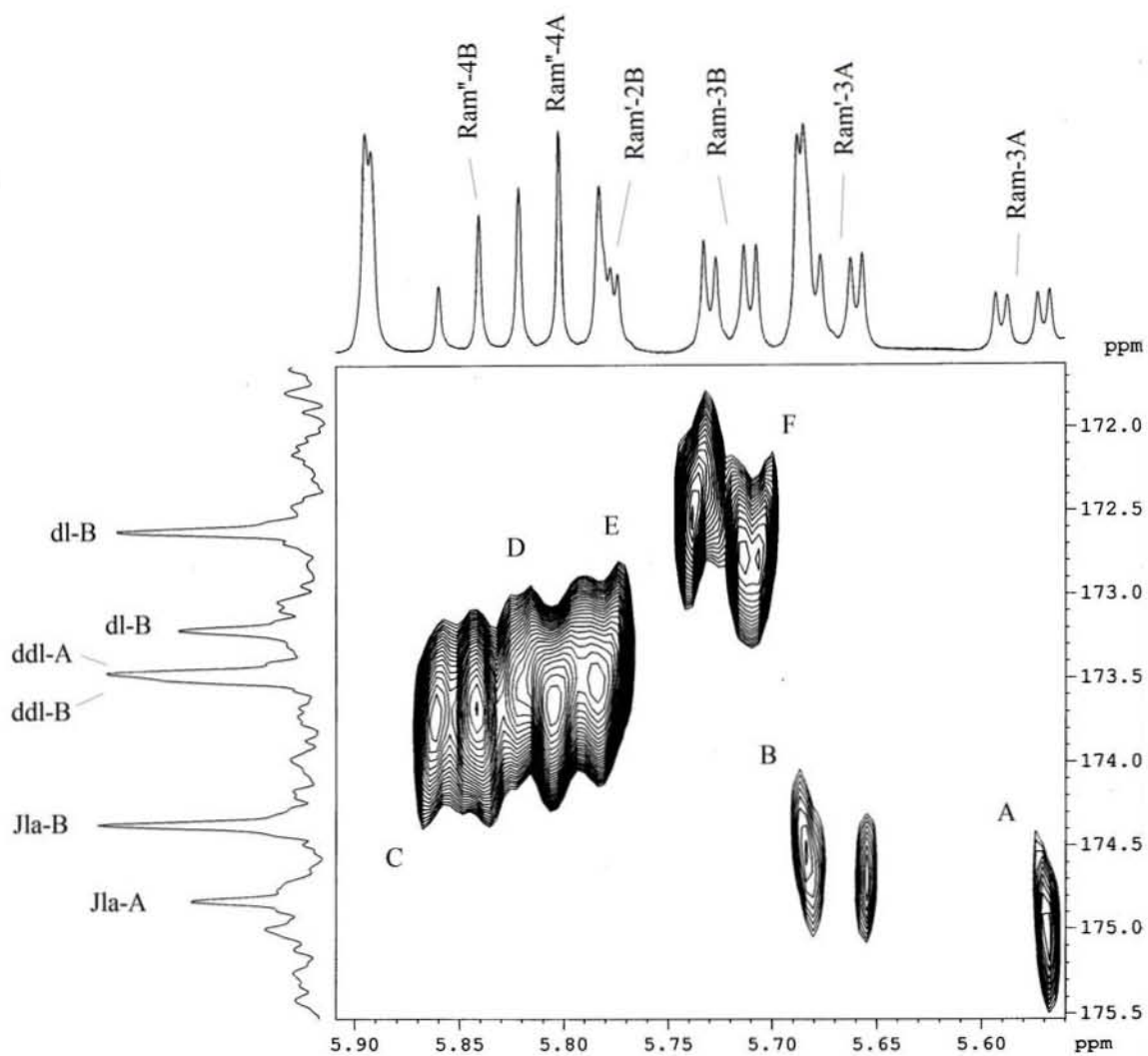


Figura 89. Sección del espectro HMBC de la batatina IV (**8**) para la determinación de las posiciones de esterificación. Conectividades ($^3J_{C-H}$): **A**; $C_1JlaA - H_3RamA$, **B**; $C_1JlaB - H_3Ram'B$, **C**; $C_1ddlB - H_4Ram''B$, **D**; $C_1ddlA - H_4Ram'A$, **E**; $C_1dl - H_2Ram'A$, **F**; $C_1dlB - H_3RamB$. Abreviaciones; dl A= *n*-decanoilo unidad A, ddl B= *n*-dodecanoilo unidad B, Jla A = 11-hidroxi-hexadecanoilo (éster del ácido jalapínico) unidad A.

6.5.3 Las batatinas III y IV y sus ésteres alquílicos. Identificación por espectrometría de masas

El análisis espectrométrico de los compuestos **7** y **8** se llevó a cabo aplicando la espectrometría de masas con dos técnicas de ionización; electro spray y FAB con detección de iones negativos, con la finalidad de obtener mayor información estructural a través del registro de los diferentes productos de fragmentación obtenidos en cada una de las técnicas (Pereda-Miranda y Bah, 2003). Los resultados de la EM ES demostraron que las batatinas III (**7**) y IV (**8**) formaron el mismo aducto con yodo a m/z 2477.53 $[M + I]^-$, (figura 90) con el que se calculó la misma fórmula molecular para ambos compuestos, $C_{125}H_{224}O_{29}$, y se confirmó que estos compuestos también representan un par de diastereoisómeros.

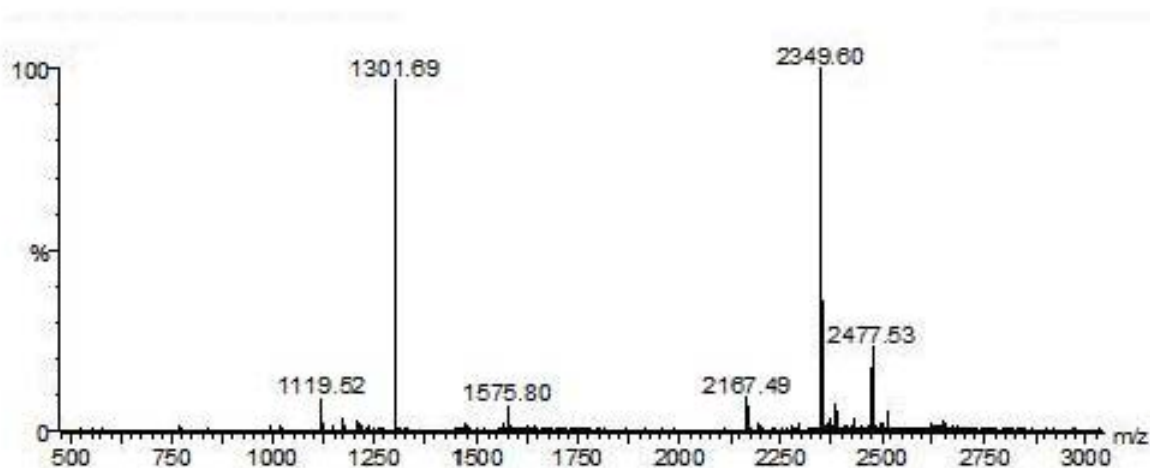


Figura 90. Espectro de masas ES modo negativo de la batatina III (**7**). Detección de los iones $[M + I]^-$, m/z 2477.53.

Por medio del análisis MS/MS (figura 53) se obtuvo el espectro de masas del ión pseudomolecular $[M - H]^-$ m/z 2349.56, detectándose la presencia de diferentes fragmentos que sirvieron como evidencias para sustentar la elucidación estructural de los compuestos **7** y **8**.

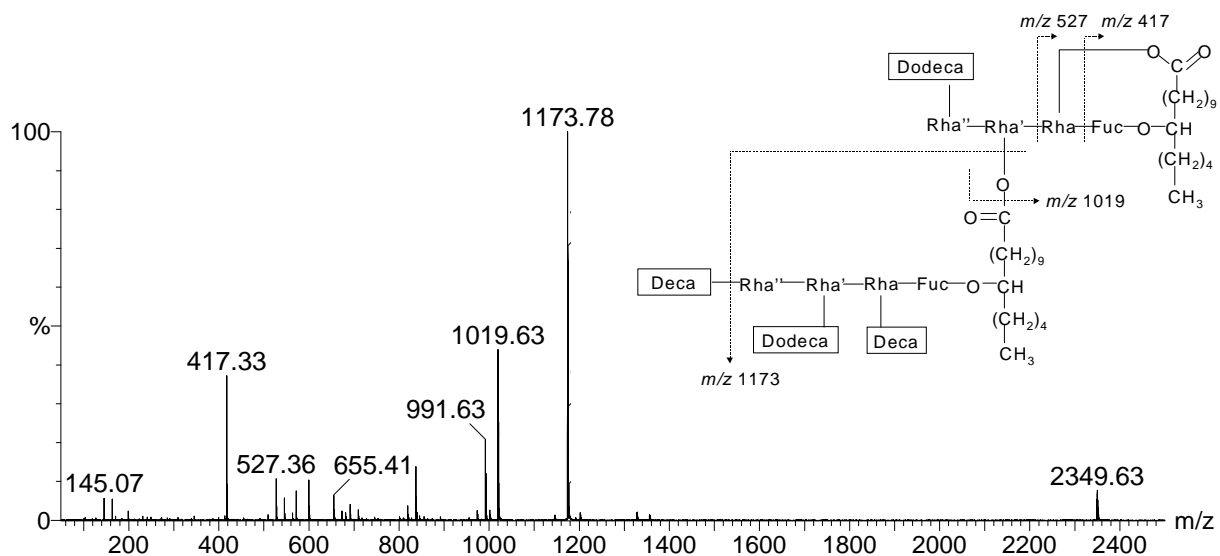


Figura 91. Espectro de masas MS/MS ES del ión pseudomolecular $[M - H]^-$ de la batatina III (**7**).

Los compuestos **7** y **8** generaron el mismo fragmento m/z 1173.78 en su espectro MS/MS, que corresponde a la fragmentación resultante de la ruptura de la unión éster que une las dos unidades monoméricas que constituyen estos compuestos dimericos más la pérdida de un residuo de *n*-decanoílo como se ilustra en el esquema de fragmentación de la figura 91.

Otros fragmentos comunes en el espectro de masas de las batatinas III (**7**) y IV (**8**) fueron producto de la eliminación de los ésteres, estos son; m/z 1019 $[1173 - C_{10}H_{18}O]^-$ y m/z 991 $[1173 - C_{12}H_{22}O]^-$. Cada fragmento representa la pérdida de los residuos de *n*-decanoílo (154 uma) y *n*-dodecanoílo (182 uma), respectivamente.

Empleando el método de ionización FAB pudieron detectarse los pesos moleculares de las unidades A y B de los dímeros **7** y **8** (figura 92) como producto de la fragmentación de estos compuestos en sus dos constituyentes lipooligosacáridos intactos, siendo esta

evidencia contundente para la culminación de la elucidación estructural de estos productos naturales.

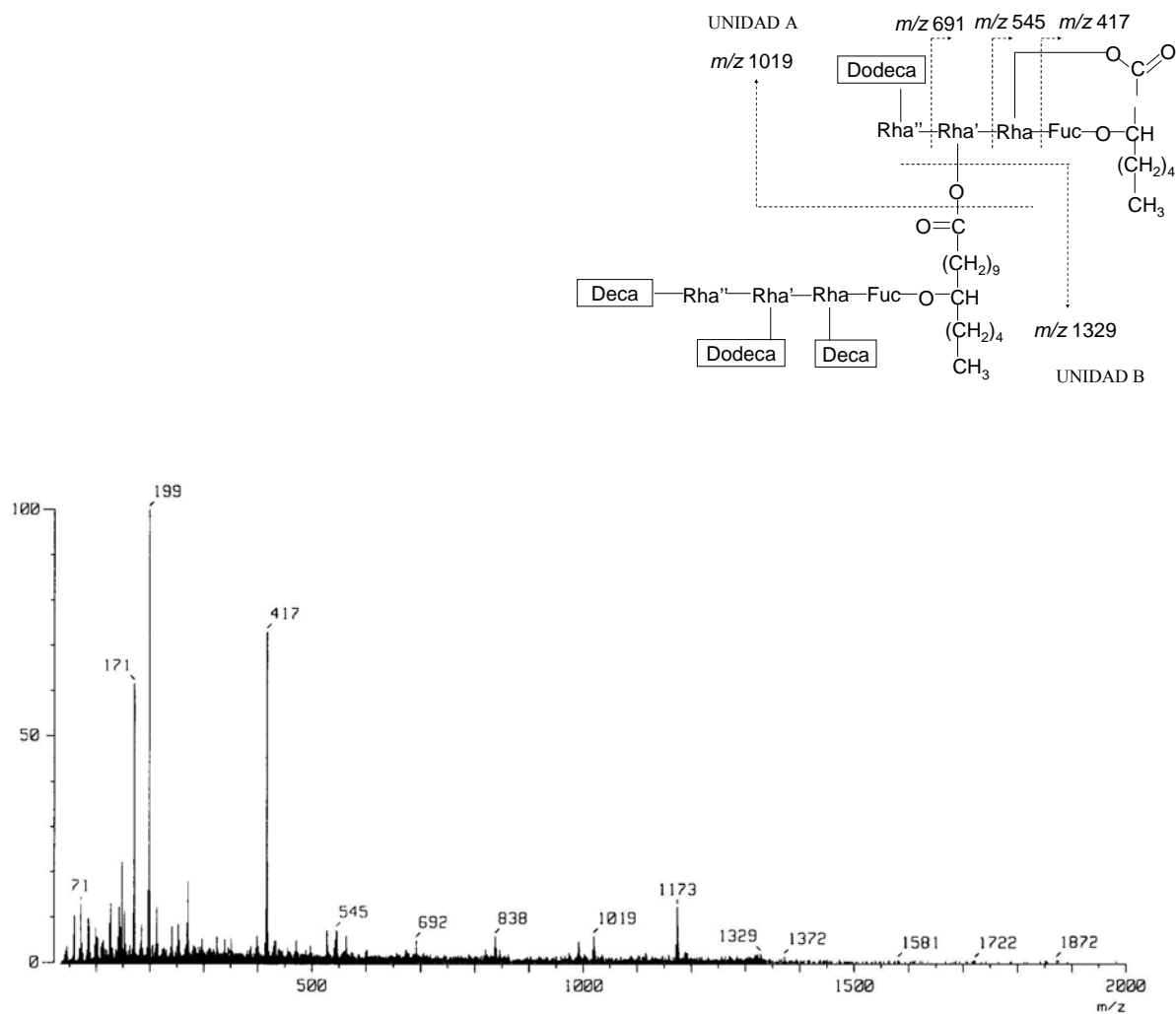


Figura 92. Espectro de masas FAB (iones negativos) de la batatina IV (**8**). Unidad A: fragmento m/z 1019 y Unidad B; fragmento m/z 1329.

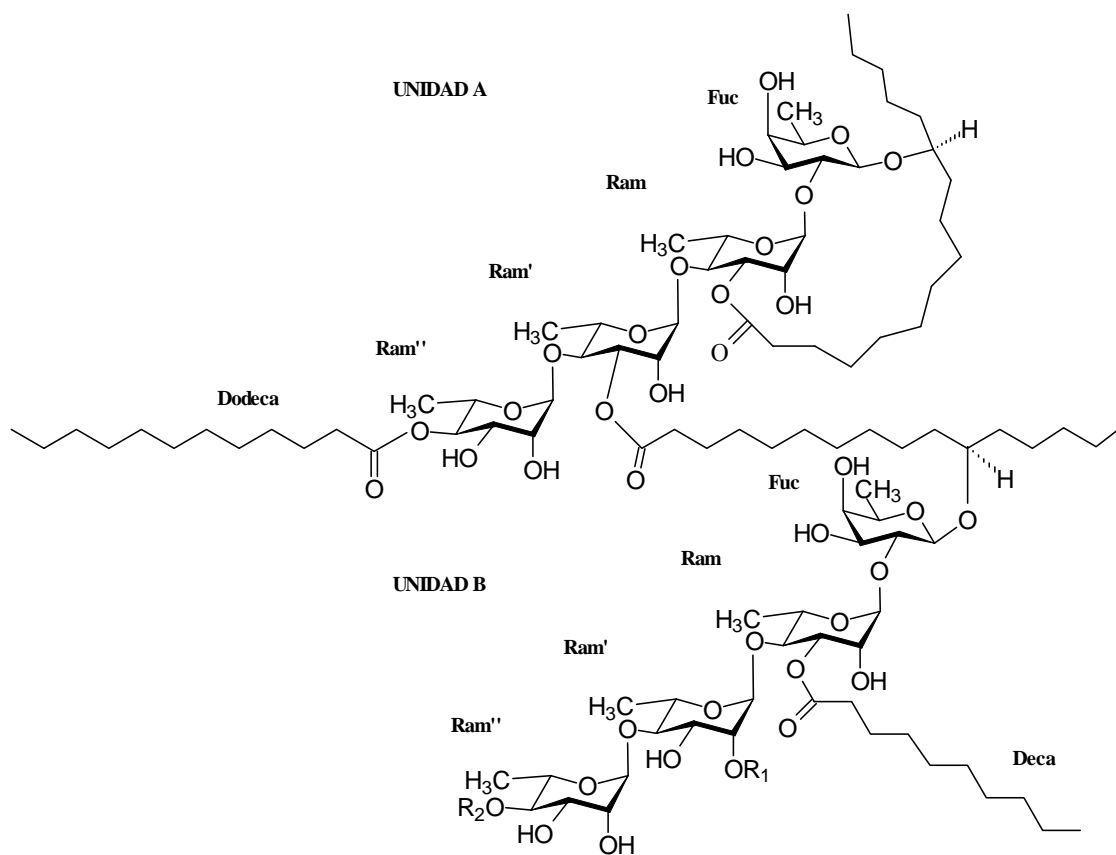
6.5.4 Estructura de las batatinas III y IV

En la figura 93 se ilustran las estructuras propuestas para los compuestos **7** y **8** de la fracción primaria alfa (subfracciones **K** y **L**, apartado 5.3.3) que fueron designados con los nombres de batatinas III y IV. Los cuadros 10 y 11 contienen los desplazamientos químicos y las constantes espectroscópicas en la RMN ^1H y ^{13}C para ambos dímeros.

De acuerdo con toda la información espectroscópica y espectrométrica analizada se propusieron la siguientes estructuras para las batatinas III (**7**) y IV (**8**).

Glicolípido 7: Ester intramolecular 1-3''- 11 - O - α - L - ramnopiranosil - {4 - O - (*n*-dodecanoil)} - (1→4) - O - α - L - [3 - O - (11*S*-hidrohexadecanoil) - 11 - O - α - L - ramnopiranosil - {4 - O - (*n*-decanoil)} - (1→4) - O - α - L - ramnopiranosil - {2 - O - (*n*-dodecanoil)} - (1→4) - O - α - L - ramnopiranosil - {3-O-(*n*-decanoil)} - (1→2) - O - β - D - fucopiranosido] ramnopiranosil - (1→4) - O - α - L - ramnopiranosil - (1→2) - O - β - D - fucopiranosido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.

Glicolípido 8: Ester intramolecular 1-3''- 11 - O - α - L - ramnopiranosil - {4 - O - (*n*-dodecanoil)} - (1→4) - O - α - L - [3 - O - (11*S*-hidrohexadecanoil) - 11 - O - α - L - ramnopiranosil - {4 - O - (*n*-dodecanoil)} - (1→4) - O - α - L - ramnopiranosil - {2 - O - (*n*-decanoil)} - (1→4) - O - α - L - ramnopiranosil - {3-O-(*n*-decanoil)} - (1→2) - O - β - D - fucopiranosido] ramnopiranosil - (1→4) - O - α - L - ramnopiranosil - (1→2) - O - β - D - fucopiranosido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.



Batatina	R ₁	R ₂
III	<i>n</i> -dodecanoílo	<i>n</i> -decanoílo
IV	<i>n</i> -decanoílo	<i>n</i> -dodecaoílo

Figura 93. Estructura de las batatinas III (7) y IV (8).

Cuadro 10. Constantes espectroscópicas en la RMN ¹H para las **batatinas III y IV (7 - 8)^a**.

Protón ^b	Batatina III (7)		Batatina IV (8)	
	UNIDAD A	UNIDAD B	UNIDAD A	UNIDAD B
Fuc 1	4.78 d (8.0)	4.79 d (7.5)	4.78 d (8.0)	4.79 d (7.8)
2	4.53 dd (9.5, 7.5)	4.54 dd (9.5, 7.5)	4.52 dd (9.5, 7.8)	4.54 dd (9.5, 8.0)
3	4.18 dd (9.5, 3.0)	4.18 dd (9.5, 3.0)	4.19 dd (9.5, 3.5)	4.19 dd (9.5, 3.5)
4	3.92 d (2.0)	3.92 d (2.0)	3.92 d (1.0)	3.92 d (1.0)
5	3.82 qd (6.0, 2.0)	3.82 qd (6.0, 2.0)	3.816 qd (6.5, 1.0)	3.821 qd (6.5, 1.0)
6	1.521 d (6.0)	1.518 d (6.0)	1.52 d (6.5)	1.515 d (6.0)
Ram 1	6.36 d (2.0)	5.89 d (1.5)	6.36 d (1.5)	5.89 d (1.5)
2	5.27 bs	4.71 bs	5.28 bs	4.71 bs
3	5.58 dd (10.0, 3.0)	5.72 dd (9.8, 3.3)	5.58 dd (9.8, 3.0)	5.72 dd (9.5, 2.5)
4	4.58 t (9.7)	4.56 t (9.8)	4.58 t (9.8)	4.56 t (9.5)
5	5.00 dq (9.7, 6.3)	4.40 dq (9.8, 6.0)	5.01 dq (9.8, 6.3)	4.40 dq (9.5, 6.0)
6	1.593 d (6.3)	1.586 d (6.0)	1.59 d (6.3)	1.58 d (6.0)
Ram'1	6.38 d (1.5)	5.55 d (1.3)	6.38 d (2.0)	5.55 d (1.5)
2	5.25 bs	5.78 dd (3.0, 1.3)	5.26 bs	5.78 dd (2.0, 1.5)
3	5.67 dd (9.8, 3.0)	4.59 dd (9.4, 3.0)	5.67 dd (9.5, 2.5)	4.59 dd (9.5, 2.0)
4	4.71 t (9.8)	4.25 t (9.4)	4.71 t (9.5)	4.26 t (9.5)
5	5.08 dq (9.8, 6.3)	4.35 dq (9.4, 6.0)	5.09 dq (9.5, 6.5)	4.36 dq (9.5, 6.5)
6	1.59 d (6.3)	1.67 d (6.0)	1.59 d (6.3)	1.67 d (6.5)
Ram"1	5.69 d (1.5)	6.17 d (1.5)	5.69 d (1.5)	6.17 d (1.0)
2	4.48 dd (3.0, 1.5)	4.78 *	4.49 bs	4.78 *
3	4.43 dd (9.5, 3.0)	4.53 dd (9.5, 3.0)	4.43 dd (9.5, 3.0)	4.53 dd (9.5, 3.2)
4	5.80 t (9.5)	5.84 t (9.5.0)	5.80 t (9.5)	5.84 t (9.5)
5	4.31 dq (9.5, 6.0)	4.41 dq (9.5, 6.0)	4.31 dq (9.5, 6.0)	4.41 dq (9.5, 6.0)
6	1.38 d (6.0)	1.47 d (6.0)	1.38 d (6.0)	1.47 d (6.0)
Jal 2	2.13 ddd (14.5, 6.5, 3.5)	2.23 ddd (15.0, 7.0, 2.5)	2.13 ddd (14.0, 7.0, 3.5)	2.23 ddd (15.2, 6.6, 2.8)
	2.27 ddd (16.0, 8.5, 3.0)	2.70 ddd (14.0, 7.0, 2.5)	2.27 ddd (14.0, 8.5, 3.5)	2.70 ddd (14.6, 7.0, 3.0)
11	3.84 - 3.86 *	3.84 - 3.86 *	3.84 - 3.86 *	3.84 - 3.86 *
16	1.00 t (7.5)	1.02 t (7.0)	1.00 t (7.5)	1.02 t (7.0)
Deca 2		2.29*		2.28 *
		2.40 ddd (16.0, 8.0 1.5)		2.40 ddd (16.0, 7.5, 2.0)
10		0.861 t (7.5)		0.862 t (7.5)
Deca 2		2.29*		2.28 *
		2.40 ddd (16.0, 8.0 1.5)		2.40 ddd (16.0, 7.5, 2.0)
10		0.859 t (7.0)		0.860 t (7.0)
Dodeca 2	2.47 ddd (15.5, 7.5, 6.0)		2.47 ddd (15.5, 7.5, 6.0)	
12	0.874 t (7.0)		0.873 t (7.0)	
Dodeca 2		2.33 t (7.5)		2.34 dd (8.5, 7.0)
12		0.876 t (7.0)		0.871 t (7.0)

^aDatos registrados a 500 MHz en C₅D₅N. Los desplazamientos químicos (δ) están en ppm en relación con TMS. Los acoplamientos (*J*) se encuentran en paréntesis y se expresan en Hz.

^bAbreviaciones; s = señal simple, d = doble, t = señal triple, q = señal cuádruple, m = señal múltiple.

Las asignaciones se basaron en los experimentos ¹H-¹H COSY y TOCSY.

Fuc = fucosa, Ram = ramnosa. Jal = 11-hidrohexadecanoilo, deca = *n*-decanoilo, dodeca = *n*-dodecanoilo.

Cuadro 11. Constantes espectroscópicas en la RMN ^{13}C para las **batatinas III y IV (7 - 8)**^a.

carbono ^b	Batatina III (7)		Batatina IV (8)	
	UNIDAD A	UNIDAD B	UNIDAD A	UNIDAD B
Fuc 1	101.7	101.5	101.7	101.5
2	73.0	73.1	73.0	73.2
3	76.7	76.6	76.9	76.8
4	73.4	73.4	73.6	73.6
5	71.2	71.2	71.2	71.2
6	17.2	17.2	17.2	17.2
Ram 1	100.2	102.4	100.3	102.4
2	69.4	70.3	69.6	70.4
3	77.9	75.5	77.9	75.6
4	79.1	78.1	79.1	78.1
5	67.7	69.0	67.7	69.0
6	18.9	18.5	19.0	18.5
Ram' 1	100.2	100.6	100.3	100.6
2	69.5	74.2	69.7	74.3
3	78.9	70.8	79.0	70.9
4	76.0	80.6	76.0	80.7
5	67.4	68.5	67.4	68.5
6	19.3	18.7	19.3	18.7
Ram"1	103.5	103.6	103.6	103.7
2	72.4	72.1	72.6	72.3
3	69.9	70.1	70.1	70.2
4	75.0	75.3	75.4	75.0
5	68.1	67.9	68.1	68.0
6	17.8	18.0	17.9	18.0
Jal 1	174.8	174.3	174.8	174.4
2	34.6	34.2	34.6	34.3
11	79.7	79.3	79.8	79.3
16	14.5	14.5	14.6	14.6
Deca-1		173.2		173.2
2		34.4		34.4
10		14.2		14.3
Deca-1		172.6		172.6
2		34.4		34.4
10		14.2		14.3
Dodeca-1		173.4		173.5
2		34.6		34.7
12		14.2		14.3
Dodeca-1	173.5		173.4	
2	34.6		34.7	
12	14.2		14.3	

^aDatos registrados a 125 MHz en $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$. Los desplazamientos químicos (δ) están en ppm en relación con TMS.

Las asignaciones se basaron en los experimentos HSQC.

Fuc = fucosa, Ram = ramnosa. Jal = 11- hidroxhexadecanoílo, deca = *n*-decanoílo, dodeca = *n*-dodecanoílo.

6.6 Elucidación estructural de las batatinas V y VI

Las batatinas V (**9**) y VI (**10**), son dímeros lipooligosacáridos constituidos por dos unidades del ácido simónico B y presentan una sóla diferencia en la composición de sus sustituyentes. Ambos compuestos poseen cinco residuos esterificantes en común, estos son; *n*-dodecanoílo, *n*-decanoílo y 2-metilbutanoílo en la unidad oligosacárida A, y *trans*-cinamoílo y *n*-decanoílo en la unidad B. La principal diferencia estructural entre los dos compuestos radica en que la unidad B del compuesto **9** está esterificada con el residuo 2 – metilpropanoílo en la posición 4 del azúcar **Ram**'', mientras que en la unidad oligosacárida B del compuesto **10** se establece un éster con el ácido 2-metilbutanoico también en la posición 4 de esta misma unidad sacárida. Por otra parte, la batatinas V (**9**) y VI (**10**) muestran diferencias en la posición en la que se establecen los ésteres con los residuos 2-metilbutanoílo y *n*-decanoilo en la unidad A y con el *trans*-cinamoílo en la unidad B (Véanse figuras 109 y 110).

La elucidación de los compuestos **9** y **10** se facilitó considerablemente mediante el empleo de la espectrometría de masas (apartado 6.6.1) que permitió el registro del peso molecular de los fragmentos lipooligosacáridos (unidades A y B) constituyentes de estos compuestos diméricos. Estas evidencias espectrométricas fueron el primer paso para sustentar directamente con base en el valor registrado para la relación carga-masa de los fragmentos, la presencia de los núcleos pentasacáridos del ácido simónico B y sus respectivos sustituyentes. Asimismo, estas evidencias se complementaron como en casos anteriores con la búsqueda de señales y correlaciones diagnósticas en los espectros unidimensionales de RMN ^1H y ^{13}C (figuras 94 y 95) y bidimensionales, así como con simulación espectral (apartado 6.6.3) para sustentar las propuestas estructurales.

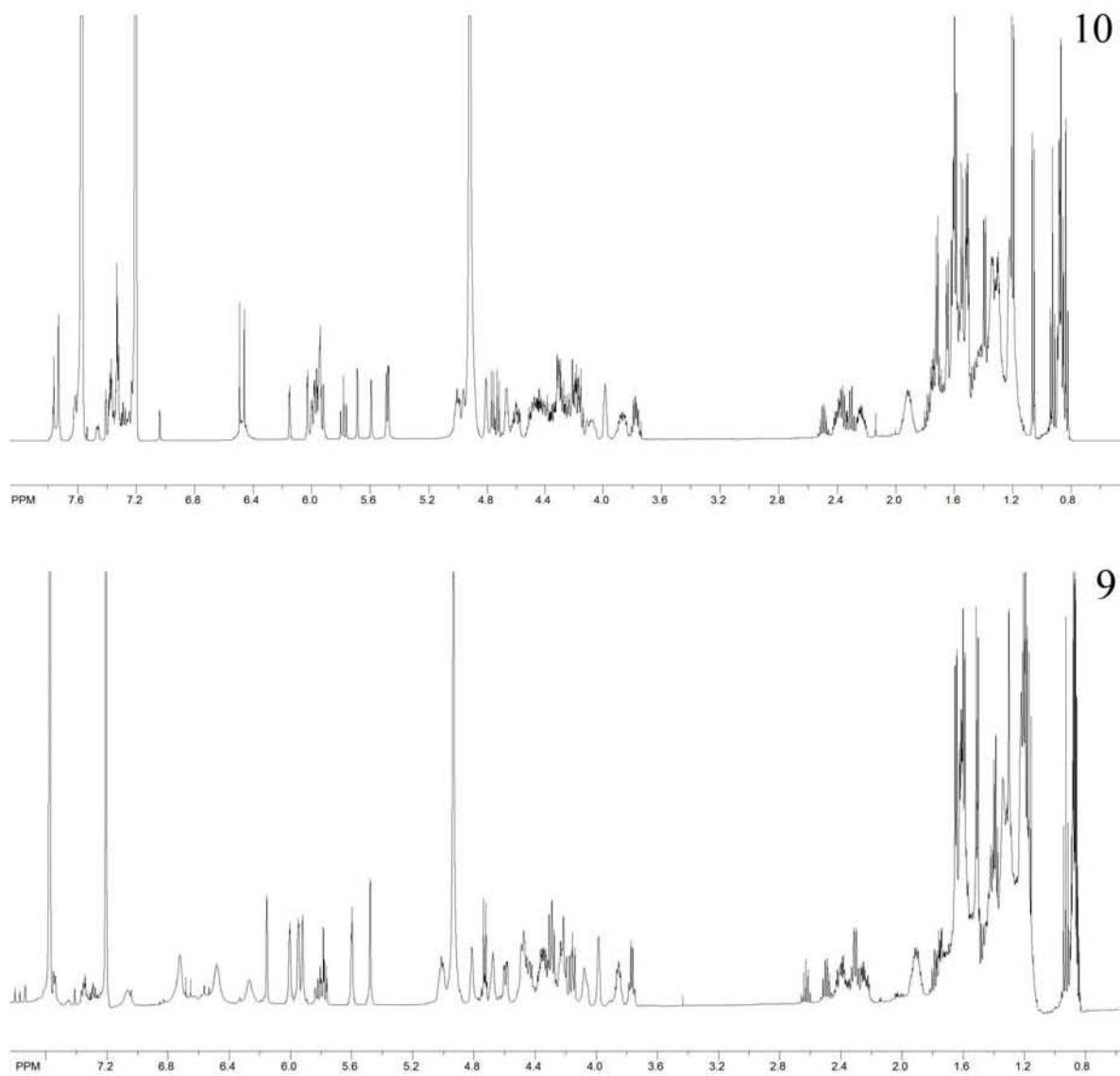


Figura 94. Espectros de RMN ^1H (500 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de las batatinas V (9) y VI (10).

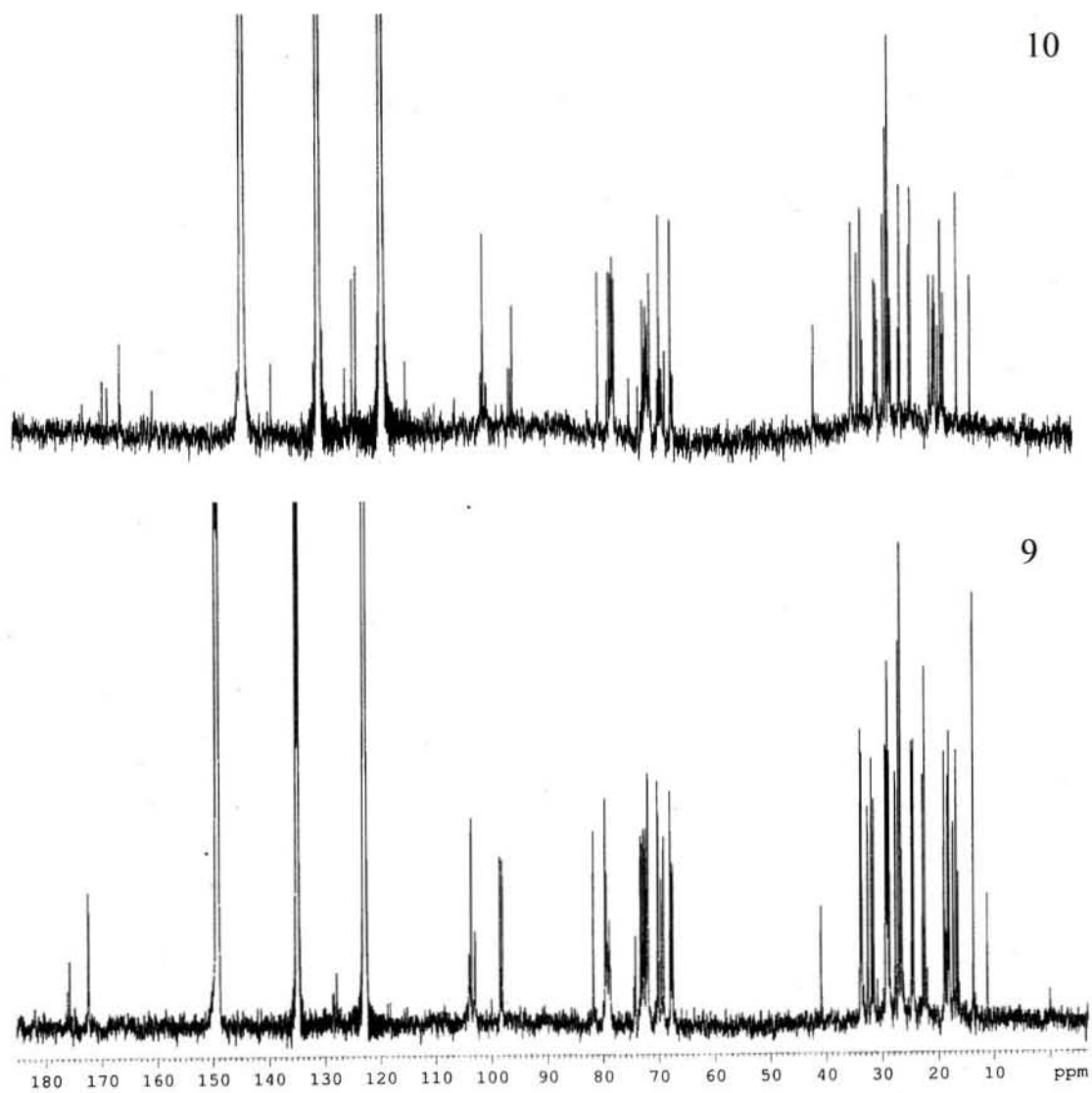


Figura 95. Espectros de RMN ^{13}C (125 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de las batatinas V (9) y VI (10).

La primera evidencia para confirmar que la batatinas I (5) y II (6) poseen una estructura polimérica fue la identificación de las señales en la región de desplazamiento químico comprendida entre los 95 y 105 ppm en la RMN ^{13}C . En la batatina VI (10) se demostró mediante el espectro HMQC que estas señales se correlacionan exactamente con diez protones anoméricos en la RMN ^1H , tal cual se ilustra en la figura 96.

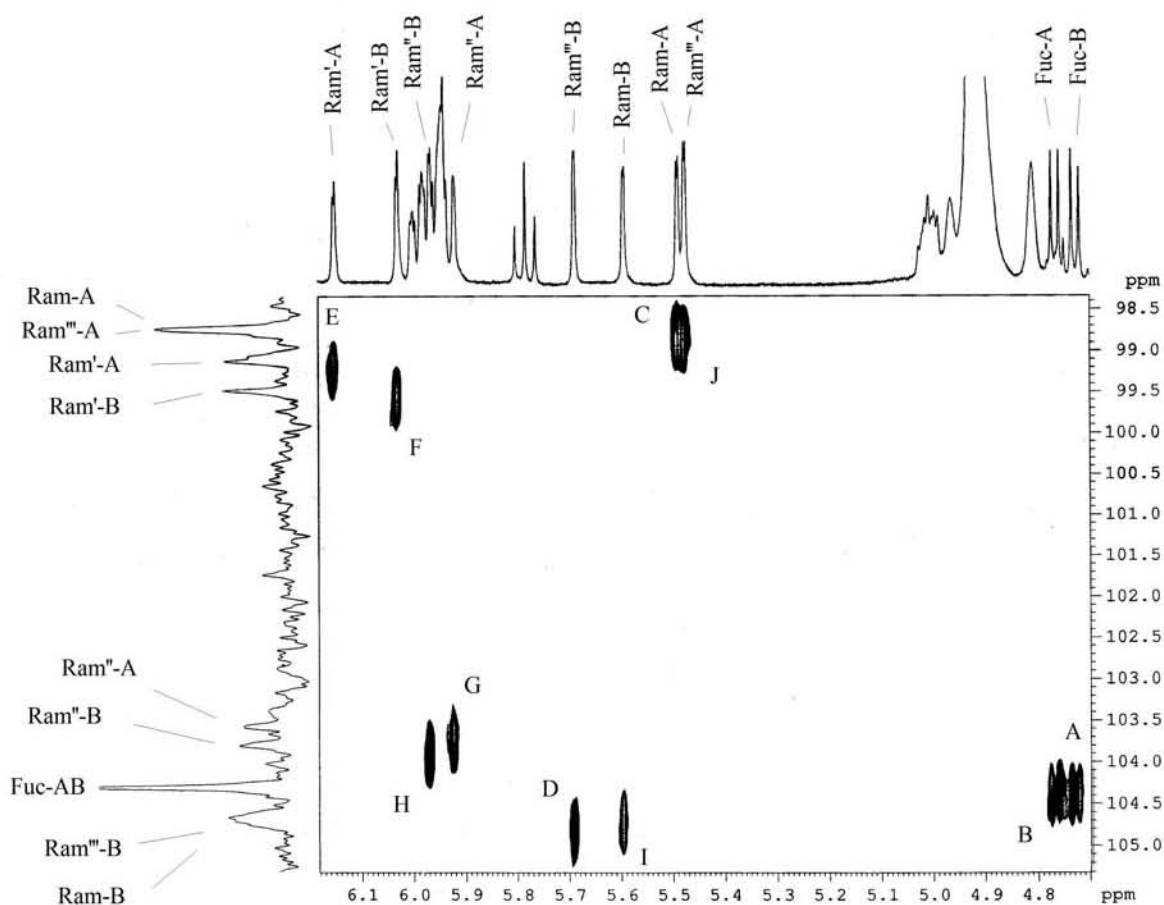


Figura 96. Sección del espectro HMQC del batatina VI (10). Asignación de las resonancias de ^{13}C para la identificación de los carbonos anoméricos. Asignaciones: **A**; C_1FucA , **B**; C_1FucB , **C**; C_1RamA , **D**; C_1RamB , **E**; $\text{C}_1\text{Ram}'\text{A}$, **F**; $\text{C}_1\text{Ram}'\text{B}$, **G**; $\text{C}_1\text{Ram}''\text{A}$, **H**; $\text{C}_1\text{Ram}''\text{B}$, **I**; $\text{C}_1\text{Ram}'''\text{B}$, **J**; C_1RamA .

6.6.1 Determinación de la composición química de las batatinas V y VI mediante espectrometría de masas

La elucidación estructural de los compuestos **9** y **10** se facilitó en gran medida con el empleo del análisis espectrométrico. Además de los fragmentos producidos por la ruptura de los enlaces glicosídicos, los espectros de masas FAB (detección de iones negativos) de los dímeros **9** y **10** indican la presencia de dos fragmentos diagnósticos que evidencian claramente la conexión entre dos unidades lipopentasacáridas y que fueron contundentes en el establecimiento de las propuestas estructurales de estos glicolípidos diméricos (Pereda-Miranda y Bah, 2003). La relación de masa-carga de estos dos fragmentos corresponde generalmente al peso molecular de la unidad lipooligosacárida A menos un radical hidrogeno, abreviada como $[A - H]^-$ y al peso de la unidad B menos un radical hidrógeno más el peso de una molécula de agua ó $[B - H + H_2O]^-$.

Los compuestos **9** y **10** poseen la misma composición estructural en la unidad A y por lo tanto, podría esperarse el registro del mismo fragmento $[A - H]^-$ m/z 1403 en sus espectros de masas. Sin embargo, los espectros FAB de iones negativos indican la presencia de los fragmentos m/z 1389 para el compuesto **9** y 1403 para el compuesto **10** (Véanse figuras 97 y 98). Hipotéticamente, la diferencia de 14 unidades observada entre el fragmento $[A - H]^-$ del compuesto **10** y el fragmento m/z 1389 del compuesto **9**, podría atribuirse a la pérdida adicional de un radical CH_2 de una metilpentosa en la unidad A de la batatina V (**9**) ó a la presencia del carbohidrato L-xilosa en su estructura.

Sin embargo, la presencia simultanea de los fragmentos m/z 1053 y 1067 en el espectro del compuesto **9** hacen improbable la presencia de la L-xilosa en la batatina V (**9**) ya que estos dos fragmentos corresponden cada uno a dos unidades del ácido simónico B esterificadas una con el ácido 2-metilbutanoico y la otra con el ácido isobutírico, con lo

cual se descarta la presencia de carbohidratos distintos a la fucosa y ramnosa en la estructura de este compuesto.

Así, el registro de los fragmentos producidos por la ruptura de la estructura dimérica de estos compuestos en sus constituyentes monoméricos, permitió deducir directamente la composición química de sus unidades A y B.

Compuesto 9: Este dímero está constituido por dos unidades del ácido simónico B ($C_{46}H_{80}O_{22}$), la unidad A cuyo fragmento $[A - H - CH_2]^-$ m/z 1389, corresponde a $C_{45}H_{73}O_{22} + 183 + 155 + 85$, e indica que se encuentra esterificada por los residuos de *n*-dodecanoílo ($C_{12}H_{23}O$, 183 uma), *n*-decanoílo ($C_{10}H_{19}O$, 155 uma) y 2-metilbutanoílo (C_5H_9O , 85 uma) y la unidad B cuyo fragmento $[B - H + H_2O]^-$ m/z 1355, corresponde a $C_{46}H_{76}O_{22} + 18 + 155 + 131 + 71$, e indica que está esterificada por los residuos de *n*-decanoílo ($C_{10}H_{19}O$, 155 uma), *trans*-cinamoílo (C_9H_7O , 131 uma) y 2-metilpropanoílo (C_4H_7O , 71 uma).

Compuesto 10: Este dímero está constituido por dos unidades del ácido simónico B ($C_{46}H_{80}O_{22}$), la unidad A cuyo fragmento $[A - H]^-$ m/z 1403, corresponde a $C_{46}H_{75}O_{22} + 183 + 155 + 85$, e indica que se encuentra esterificada por los residuos de *n*-dodecanoílo ($C_{12}H_{23}O$, 183 uma), *n*-decanoílo ($C_{10}H_{19}O$, 155 uma) y 2-metilbutanoílo (C_5H_9O , 85 uma) y la unidad B cuyo fragmento $[B - H + H_2O]^-$ m/z 1369, corresponde a $C_{46}H_{76}O_{22} + 18 + 155 + 131 + 85$, e indica que está esterificada por los residuos de *n*-decanoílo ($C_{10}H_{19}O$, 155 uma), *trans*-cinamoílo (C_9H_7O , 131 uma) y 2-metilbutanoílo (C_5H_9O , 85 uma).

Asimismo, el fragmento m/z 1235 observado en el espectro de masas del compuesto **9** se deriva de la pérdida de un residuo de *n*-decanoilo ($C_{10}H_{18}O$, 154 uma) del fragmento $[A - H - CH_2]^-$, m/z 1389.

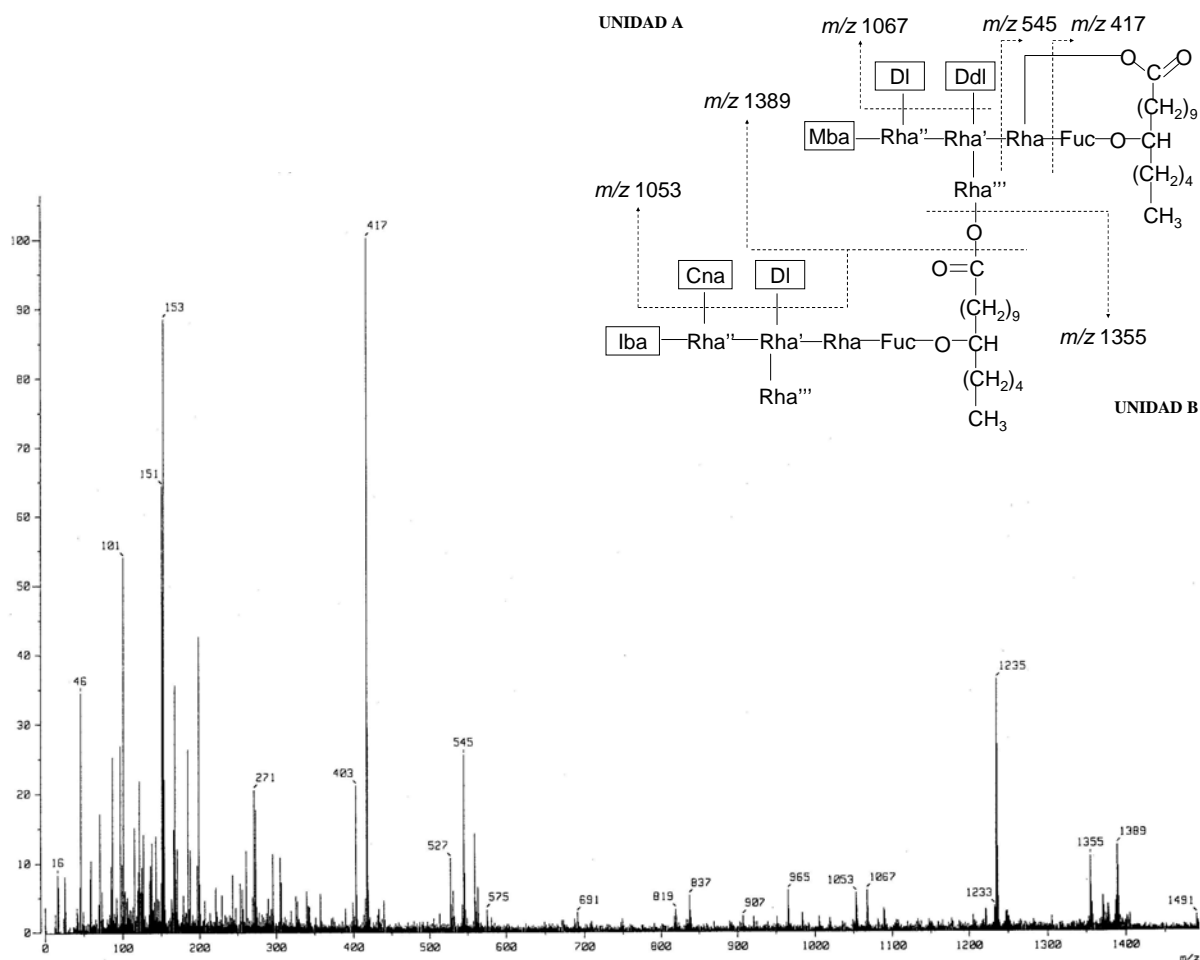


Figura 97. Espectro de masas FAB (iones negativos) de la batatina V (**9**). Unidad A: fragmentos $[A - H - CH_2]^-$, m/z 1389 y $[1389 - C_{10}H_{18}O]^-$, m/z 1235 y Unidad B: fragmento $[B - H + H_2O]^-$, m/z 1355.

En forma similar al fragmento m/z 1235 del espectro de masas del compuesto **9**, los fragmentos m/z 1249 y 1197 observados en el espectro EM-FAB (detección de iones negativos) del compuesto **10**, también se derivan de la pérdida de un residuo de *n*-decanoílo ($C_{10}H_{18}O$, 154 uma) del fragmento $[A - H]^-$, m/z 1403 y de la pérdida de un residuo de ácido decanoico del fragmento $[B - H + H_2O]^-$, m/z 1369.

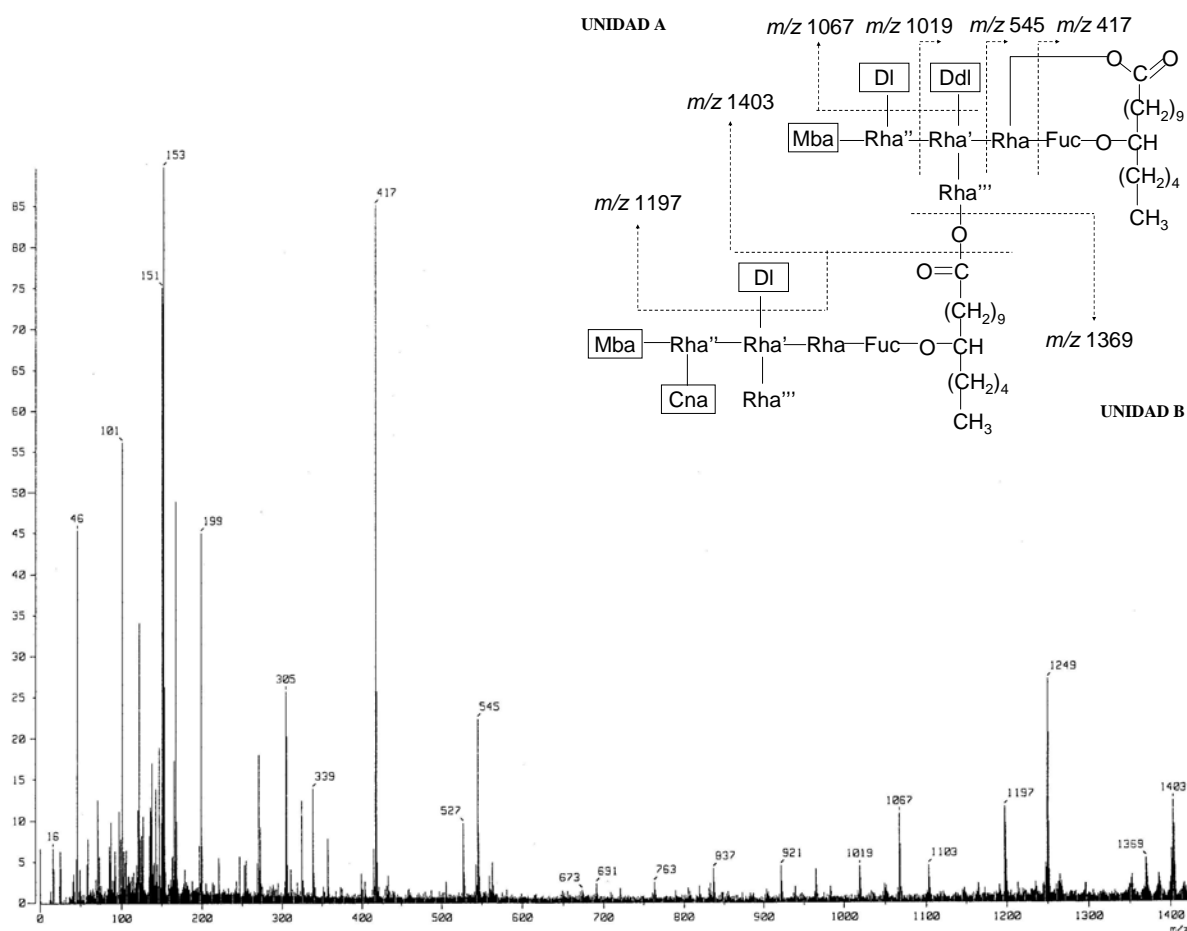


Figura 98. Espectro de masas FAB (iones negativos) de la batatina VI (**10**). Espectro de masas FAB (iones negativos) de la batatina VI (**10**). Unidad A: fragmentos $[A - H]^-$, m/z 1403 y $[1403 - C_{10}H_{18}O]^-$, m/z 1249 y Unidad B: fragmentos $[B - H + H_2O]^-$, m/z 1369 y $[1369 - C_{10}H_{20}O_2]^-$, m/z 1197.

6.6.2 Empleo de la simulación espectral para el reconocimiento de las señales oligosacáridas complejas

El alto grado de complejidad de las señales en la RMN ^1H de los compuestos **9** y **10** dificultó considerablemente el establecimiento de la posiciones de esterificación en las cadenas oligosacáridas de ambos dímeros. Por lo tanto, fue necesario el empleo simultáneo de los métodos convencionales de la RMN bidimensionales COSY y TOCSY y de la simulación espectral de aquellas señales paramagnéticamente desplazadas a campo bajo para confirmar el modo como se unen las dos unidades que constituyen los dímeros **9** y **10** y en qué posiciones se establecen los ésteres entre sus cadenas oligosacáridas y residuos acilantes.

En la sección del espectro COSY de la batatina VI (**10**) de la figura 99, se ilustra el seguimiento de las conectividades vecinales de los protones anoméricos y de aquellos situados en posiciones de esterificación de este compuesto, lo que constituyó el primer paso para la identificación y localización de señales diagnósticas en el establecimiento las propuestas estructurales.

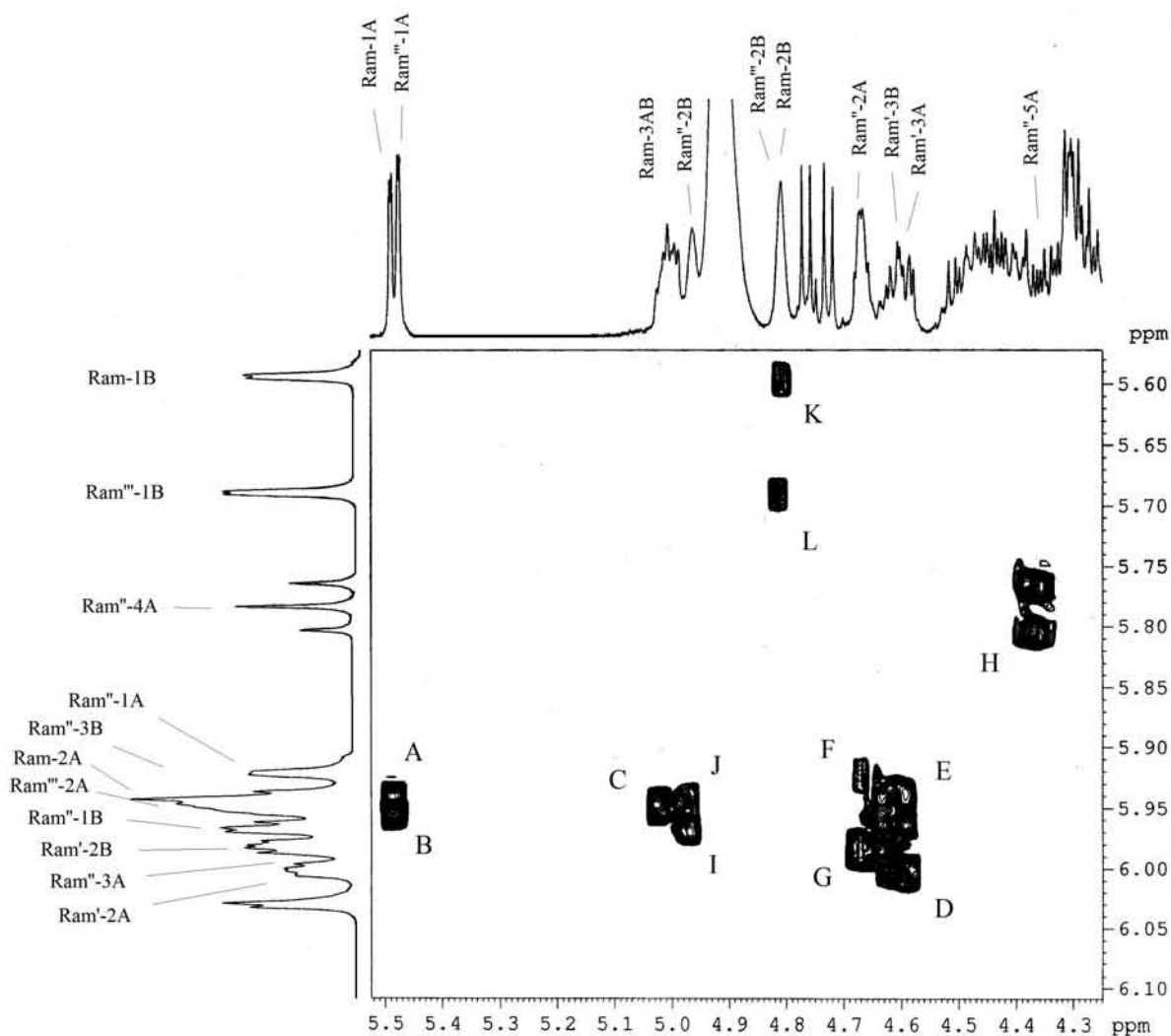


Figura 99. Sección del espectro COSY para la porción oligosacárida de la batatina VI (**10**). Correlaciones ($^3J_{H-H}$): **A**; RamA H₁ – H₂, **B**; Ram'''A H₁ – H₂, **C**; RamAB H₂– H₃, **D**; Ram'A H₂ – H₃, **E**; Ram''B H₂ – H₃, **F**; Ram''A H₁ – H₂, **G**; Ram''B H₂ – H₃, **H**; Ram''B H₄ – H₅, **I**; Ram''B H₁ – H₂, **J**; Ram''B H₂ – H₃, **K**; RamB H₁ – H₂, **L**; Ram'''B H₁ – H₂. Abreviaciones: RamA = ramnosa interna superior de la unidad A, Ram'B= ramnosa interna inferior de la unidad B, Ram'' = ramnosa externa superior, Ram''' = ramnosa externa inferior.

El análisis detallado de los espectros COSY y TOCSY hizo posible deducir la posición en la que se establecen los ésteres en las unidades sacáridas de los compuestos **9** y **10**, aunque la simulación espectral hizo posible la interpretación para las señales más

complejas así como la asignación de sus correspondientes desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento.

En modo semejante a la figura 82 donde se ilustra simulación espectral de la batatina I (5), en las figuras 100 y 101 se ilustran las simulaciones de las resonancias paragnéticamente desplazadas a campo bajo (δ 5.30 – 6.30 ppm) de los espectros de RMN ^1H de los compuestos **9** y **10** empleando el programa de simulación espectral MestRe-C. En estas figuras se desglosan individualmente cuatro gráficas de diferente color y en cada una se representan las señales simuladas y los desplazamientos químicos para los azúcares de ramnosa en las unidades del ácido simónico B que constituyen los dímeros **9** y **10**.

De este modo, se determinó que las resonancias generadas por los protones situados en posiciones de acilación de los azúcares **Ram**'' del compuesto **9** (Véase la figura 100, gráfica en color verde) corresponden a H_3 (señal doblete de dobletes en 5.77 ppm) y H_4 (señal triple en 5.83 ppm) en la unidad A y a H_2 (señal doblete de dobletes en 6.00 ppm) y H_4 (señal triple en 5.83 ppm) en la unidad B, así como a las posiciones H_3 (señales dobletes de dobletes en 5.95 y 5.99 ppm) y H_4 (señales triples en 5.78 y 5.96 ppm) en ambas unidades sacáridas **Ram**'' del compuesto **10** (figura 101).

Asimismo, las gráficas en color rojo y morado que representan las resonancias de unidades sacáridas **Ram** y **Ram**''' respectivamente, indican que las señales H_2 se localizan a alrededor de 5.95 ppm en ambos dímeros. Específicamente de acuerdo con los resultados de la simulación espectral, las señales H_2 donde se establecen los ésteres intramoleculares con el ácido jalapινόico (11S-11-hidroxihexadecanoico) se localizan en 5.945 ppm en el compuesto **9** y en 5.950 ppm en el compuesto **10** y las señales H_2 donde se establece la unión entre las unidades lipopentasacáridas A y B, se localizan en 5.949 ppm en el compuesto **9** y en 5.947 ppm en el compuesto **10**.

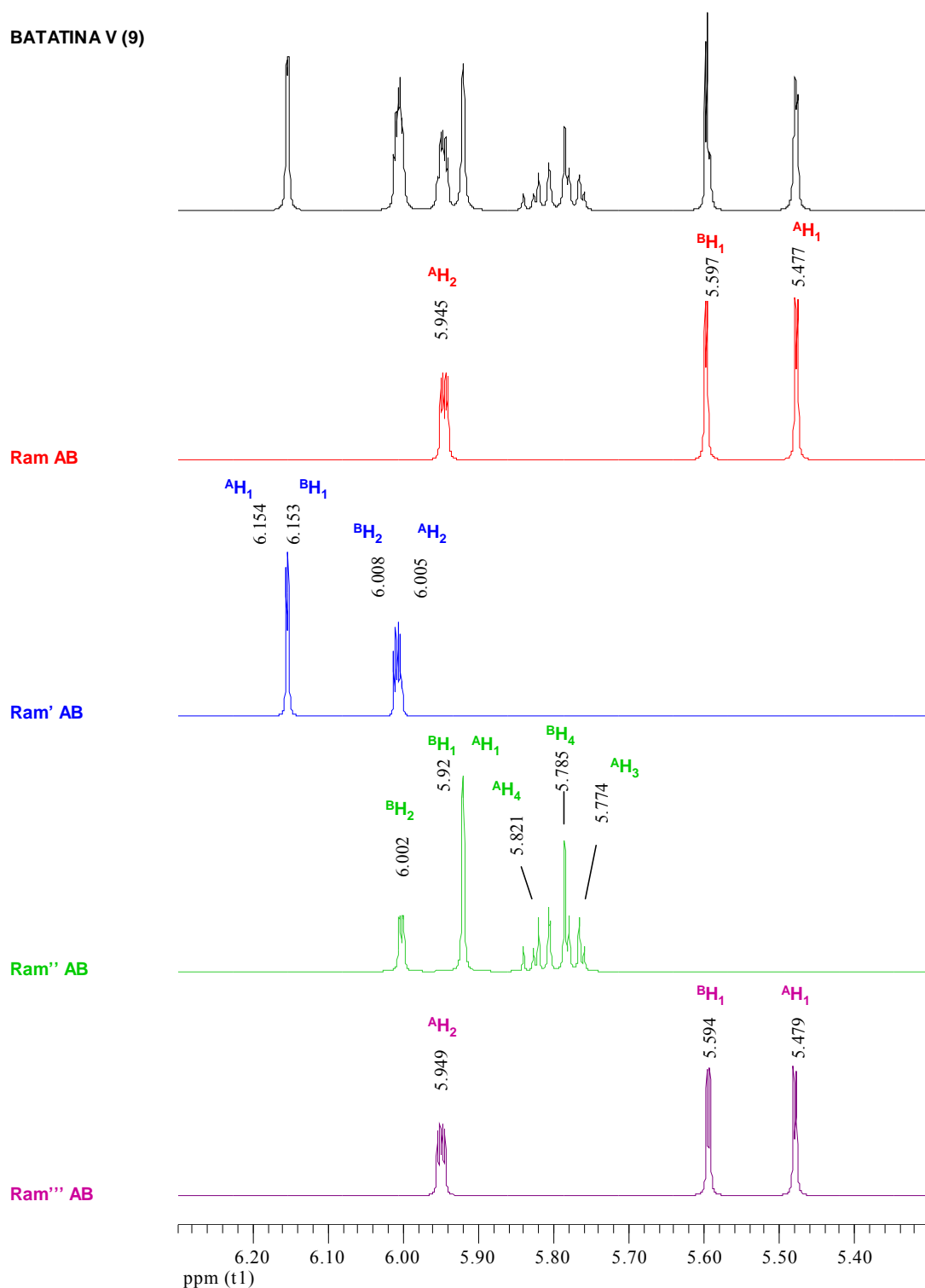


Figura 100. Simulación de la región oligosacárida para la batatina V (9). La gráfica superior representa la simulación espectral para la sección de 5.30 a 6.30 ppm del espectro de RMN ^1H . Las demás gráficas corresponden a los espectros individuales simulados por iteración para cada una de las unidades de ramosa y el color de las señales corresponde con el color asignado a cada unidad de azúcar. Las letras A y B denotan la unidad monomérica en donde se localizan las respectivas unidades sacáridas y H_n denota las posiciones exactas en cada unidad de azúcar.

BATATINA VI (10)

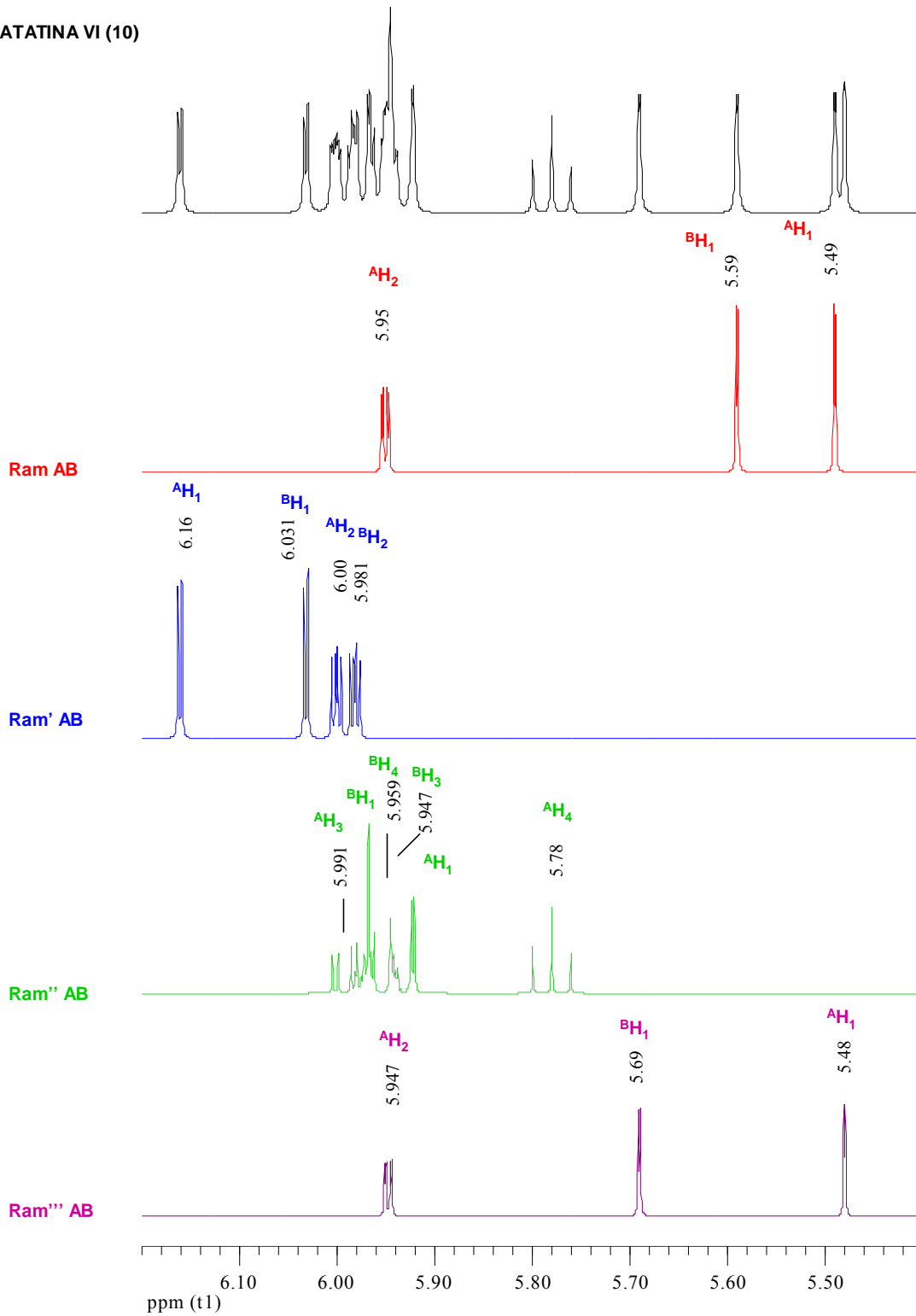


Figura 101. Simulación de la región oligosacárida para la Batatina VI (10). La gráfica superior representa la simulación espectral para la sección de 5.30 a 6.30 ppm del espectro de RMN 1H . Las demás gráficas corresponden a los espectros individuales simulados por iteración para cada una de las unidades de ramnosa y el color de las señales corresponde con el color asignado a cada unidad de azúcar. Las letras A y B denotan la unidad monomérica en donde se localizan las respectivas unidades sacáridas y H_n denota las posiciones exactas en cada unidad de azúcar.

Nuevamente, la simulación espectral fue utilizada para duplicar los datos espectroscópicos registrados en la ^1H RMN (500 MHz) y en las figuras 102 y 103 se ilustran las comparaciones entre los espectros de RMN ^1H simulados y los experimentales para la sección de desplazamiento comprendida entre 5.30 a 6.30 ppm.

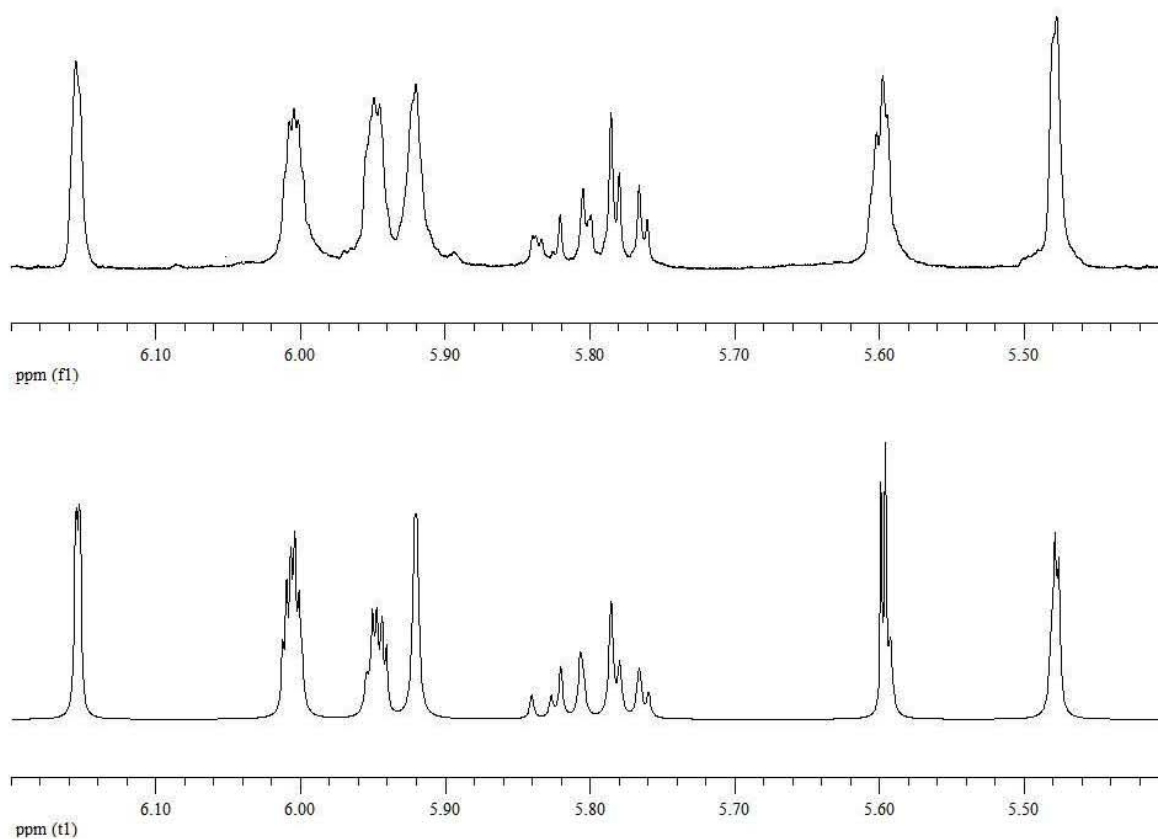


Figura 102. Comparación de perfiles espectroscópicos para la zona de 5.30 a 6.30 ppm en la RMN ^1H de la batatina V (**9**). Arriba: sección del espectro experimental (500 MHz). Abajo: sección del espectro simulado (MestRe-C).

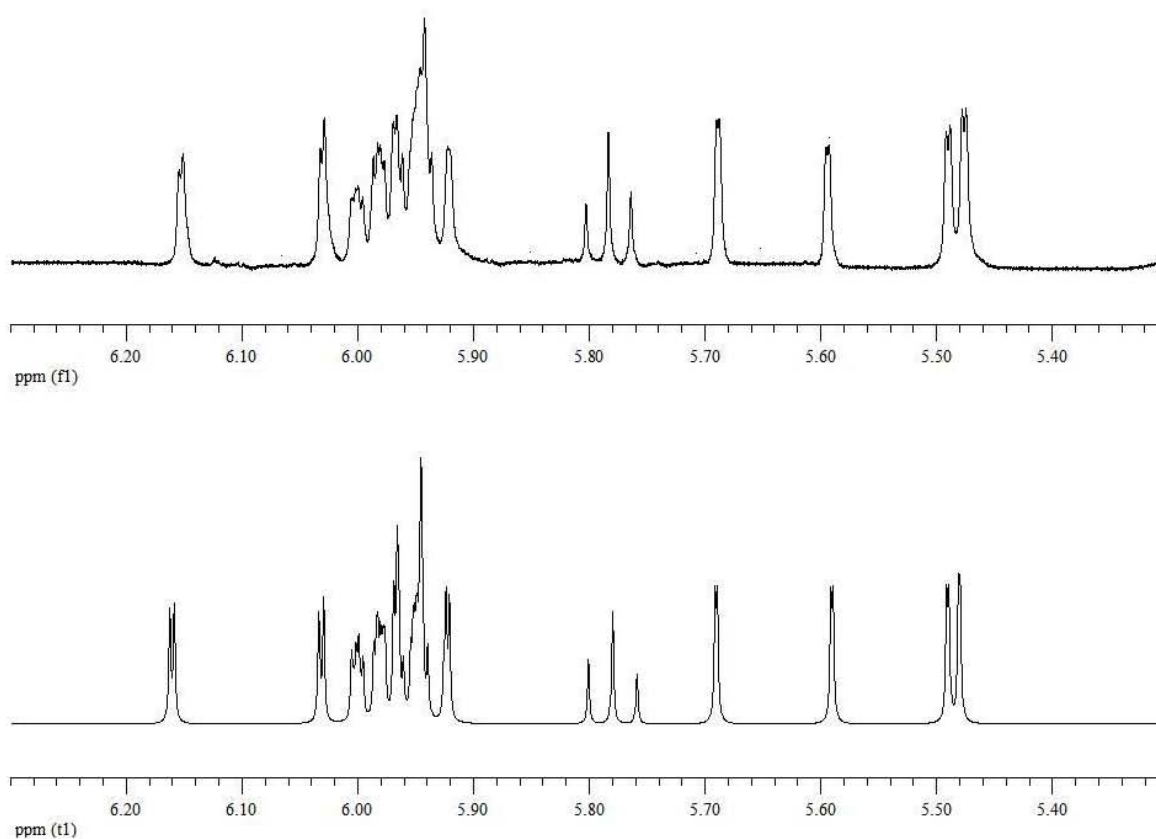


Figura 103. Comparación de perfiles espectroscópicos para la zona de 5.30 a 6.30 ppm en la RMN ^1H de la batatina VI (**10**). Arriba: sección del espectro experimental (500 MHz). Abajo: sección del espectro simulado (MestRe-C).

Después de determinar la disposición de las señales en la RMN ^1H mediante la simulación y los espectros COSY y TOCSY, se llevó a cabo la asignación de los desplazamientos químicos en la RMN ^{13}C mediante el análisis de las correlaciones HMQC. En la figura 104 para la asignación de los desplazamientos químicos en la RMN ^{13}C de las resonancias paramagnéticamente desplazadas a campo bajo del compuesto **10**.

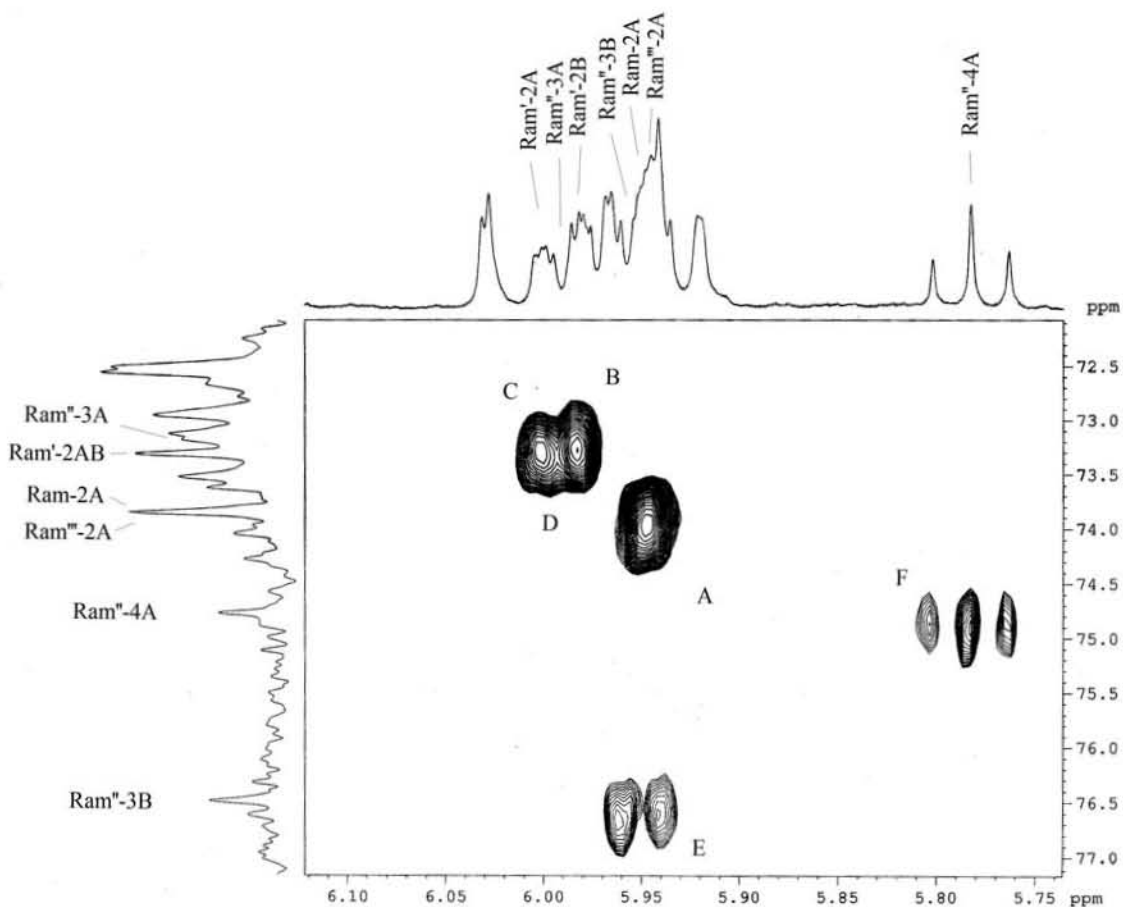


Figura 104. Sección del espectro HSQC para la región oligosacárida de la batatina VI (**10**) Asignación de las resonancias de ^{13}C ; **A**; C_2RamA y $\text{C}_2\text{Ram}''\text{A}$, **B**; $\text{C}_2\text{Ram}'\text{B}$, **C**; $\text{C}_2\text{Ram}'\text{A}$, **D**; $\text{C}_3\text{Ram}''\text{A}$, **E**; $\text{C}_3\text{Ram}''\text{B}$, **F**; $\text{C}_4\text{Ram}''\text{B}$.

6.6.3 Determinación de las posiciones de esterificación en las batatinas V y VI

Antes de localizar las posiciones de esterificación en los oligosacáridos, se realizó la asignación correcta de los núcleos de carbono correspondientes a cada uno de los grupos carbonilo mediante el análisis de las interacciones que se presentan entre el núcleo del carbono de los grupos carbonilo y los protones H_2 de los ácidos y de la aglicona (interacciones C-H a dos enlaces o $^2J_{\text{C-H}}$) mediante los espectros HMBC.

El espectro de la figura 62 (Véase el apartado 6.3.3.2) ilustra esta asignación para los residuos que esterifican la porción oligosacárida de la batatina V (**9**) y en la figura 105 la de los residuos de la batatina VI (**10**).

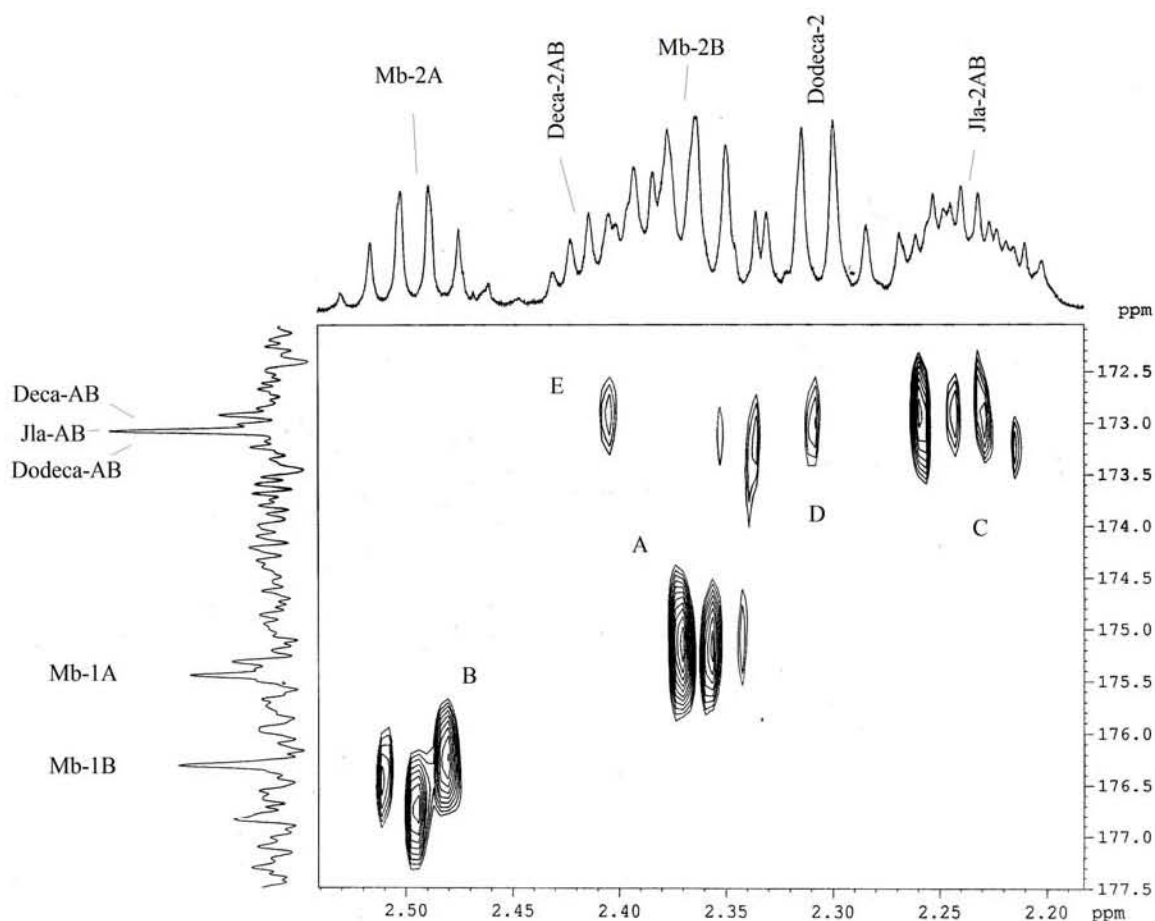


Figura 105. Sección del espectro HMBC de la batatina VI (**10**). Asignación de señales de ^{13}C de grupos carbonilo para la aglicona y residuos ácidos. Conectividades ($^2J_{\text{C-H}}$); **A**; $\text{C}_1\text{-H}_2\text{MbA}$, **B**; $\text{C}_1\text{-H}_2\text{MbC}$, **C**; $\text{C}_1\text{-H}_{2\text{A}}\text{Jla}$ y $\text{C}_1\text{-H}_{2\text{B}}\text{Jla}$, **D**; $\text{C}_1\text{-H}_2\text{Dodeca}$, **E**; $\text{C}_1\text{-H}_2\text{Deca}$. Abreviaciones: Mb = 2-(*S*)-2-metilbutanoílo, Ib = isobutanoílo, Dodeca = *n*-dodecanoílo, Jla = 11-hidroxi-hexadecanoílo (éster del ácido jalapinólico).

Después de haber realizado la asignación de las señales y sus desplazamientos químicos mediante los espectros COSY, TOCSY y HMQC, se procedió con el establecimiento de la asignación de las 8 distintas posiciones de esterificación de estas moléculas por medio de los espectros HMBC.

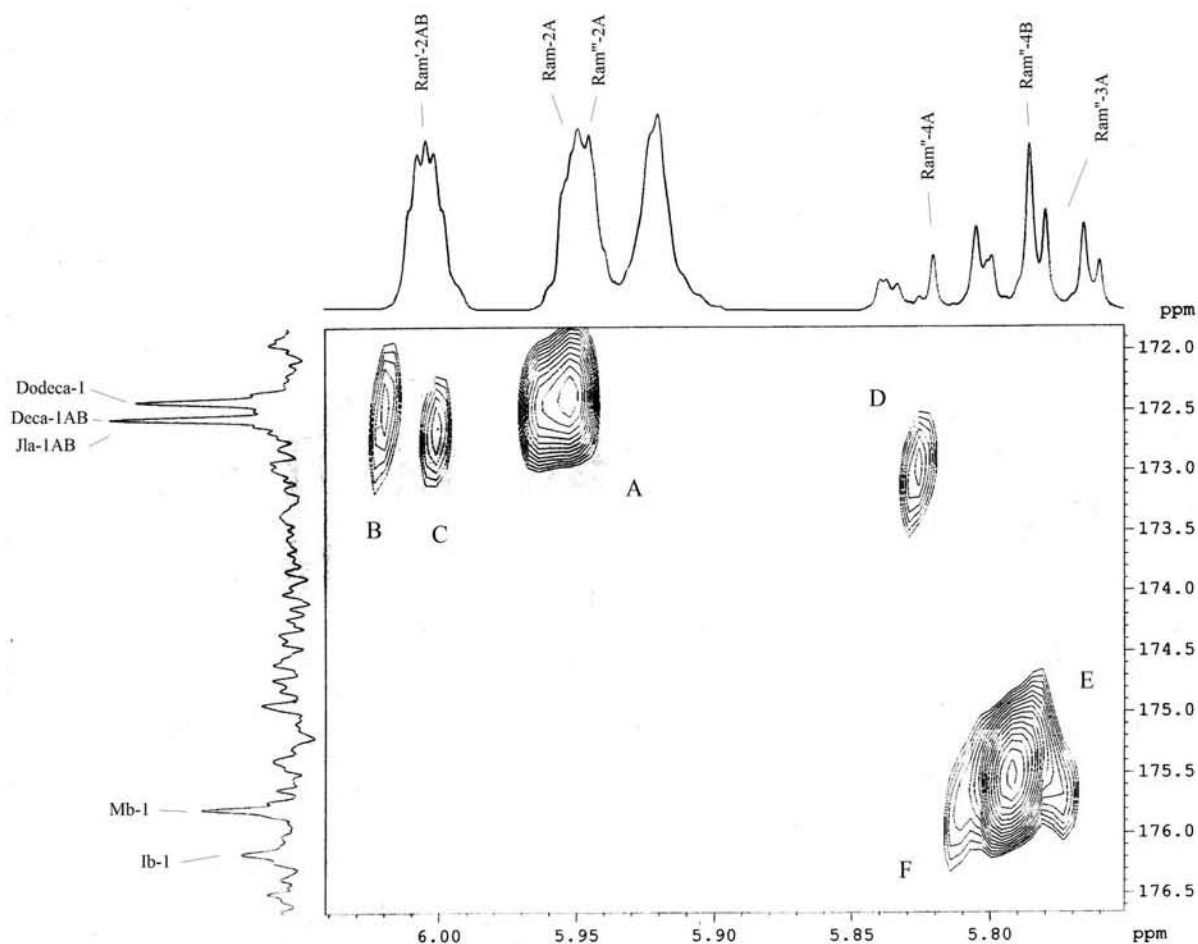


Figura 106. Sección del espectro HMBC de la batatina V (**9**) para la determinación de las posiciones de esterificación. Conectividades ($^3J_{C-H}$): **A**; $C_1J1aA - H_2RamA$ y $C_1J1aB - H_2Ram''''A$, **B**; $C_1Dodeca-H_2Ram'A$, **C**; $C_1Deca-H_2Ram'B$, **D**; $C_1Deca-H_4Ram''A$, **E**; $C_1Mb-H_3Ram''A$, **F**; $C_1Ib-H_4Ram''B$. Abreviaciones; Ib = 2-metilpropanoílo, Mb = 2(S)-metilbutanoílo, Deca = *n*-decanoílo Dodeca = *n*-dodecanoílo, J1a = 11-hidroxi-hexadecanoílo (éster del ácido jalapínico).

En la figura 106 se ilustra como se determinó la posición de lactonización y de unión entre las dos unidades glicolípídicas del compuesto **9** mediante las correlaciones heteronucleares a larga distancia ($^3J_{C-H}$) del espectro HMBC, así como las posiciones donde se establecen los ésteres entre las unidades sacáridas de este dímero y los ácidos *n*-decanoico, *n*-dodecanoico, 2-metilbutanoico y 2-metilpropanoico. Las correlaciones a larga distancia del espectro HMBC de la figura 106, indican que los residuos esterificantes de cadena alquílica del compuesto **9**, se encuentran en las posiciones 2 de los azúcares **Ram'**, y en las posiciones 3 y 4 de la metilpentosa **Ram''** en la unidad A, mientras que los residuos 2-metilbutanoilo y 2-metilpropanoilo se hallan respectivamente, en las posiciones 3 en la ramnosa externa superior (**Ram''**) de la unidad A y en la posición 4 en la de la unidad B.

En la figura 107, se ilustra la localización del residuo *n*-dodecanoilo en el compuesto **9** con el empleo del espectro bidimensional ROESY, en el que se observan las correlaciones entre los protones H₂ de este residuo acilante y los protones de la metilpentosa **Ram'** de la unidad A de la batatina V (**9**).

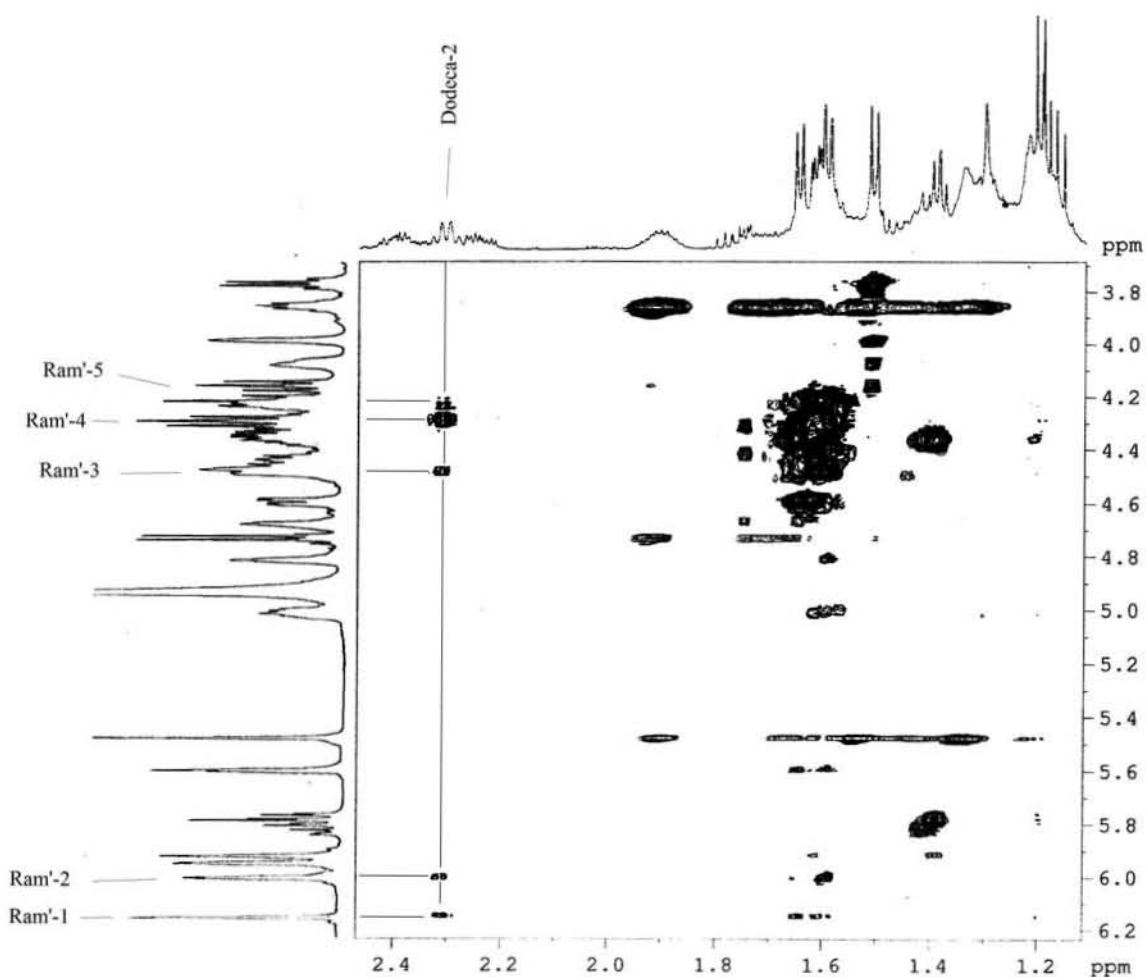


Figura 107. Sección del espectro ROESY de la batatina V (**9**) para la localización de las correlaciones del residuo *n*-dodecanoilo y las señales de la unidad ramnosa interna inferior (**Ram'**).

En la sección del espectro HMBC de la figura 108 se observan las correlaciones C_1 del residuo *trans*-cinamoilo con H_3 del azúcar **Ram''** de la unidad B, C_1 del residuo 2-metilbutanoilo con H_4 del azúcar **Ram''** de la unidad A y C_1 del 11*S*-hexadecanoilo con las dos señales sobrepuestas H_2 de los azúcares **Ram** y **Ram'''** ambos de la unidad A, justo donde se establecen respectivamente el éster macrocíclico y la unión entre las unidades lipopentacáridas A y B del compuesto **10** para formar su estructura dimérica.

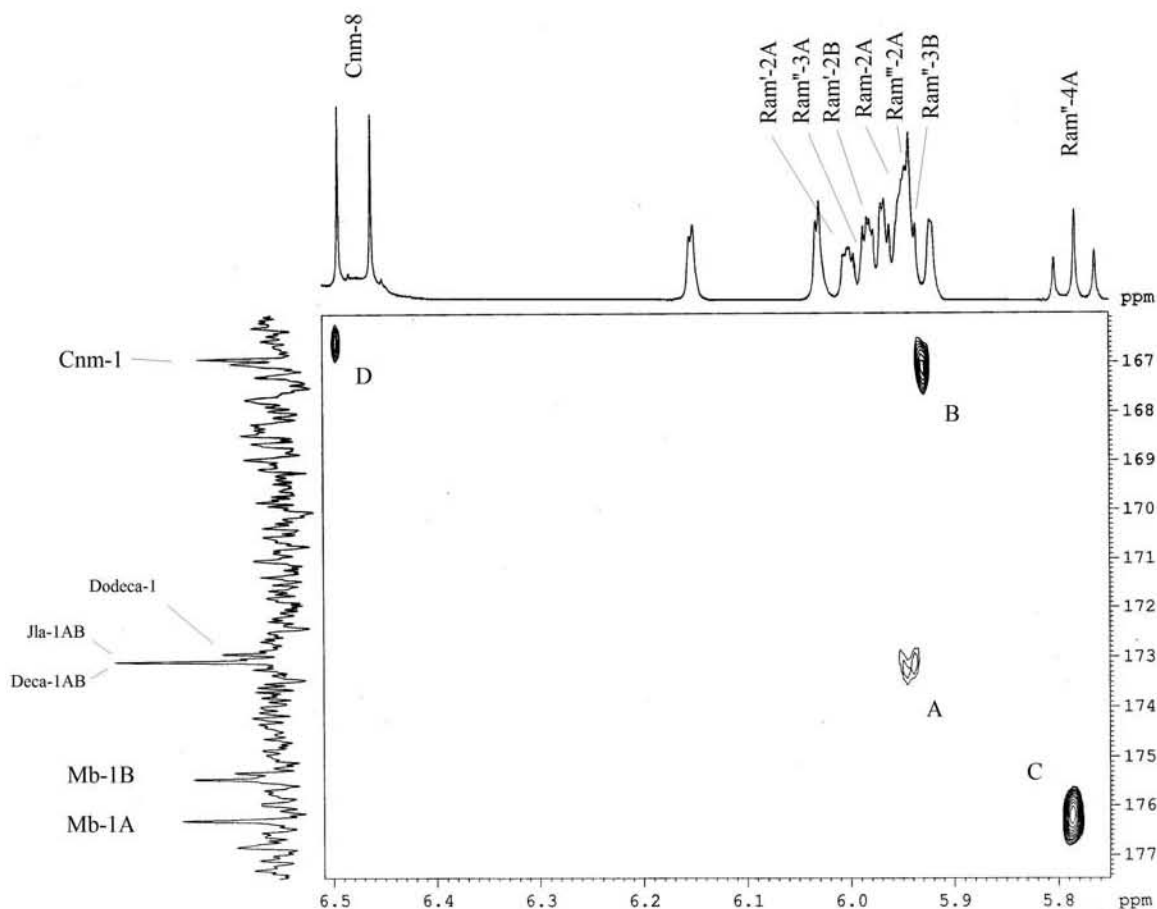


Figura 108. Sección del espectro HMBC de la batatina VI (**10**) para la determinación de las posiciones de esterificación. Conectividades ($^3J_{C-H}$): **A**; $C_1JlaA - H_2RamA$ y $C_1JlaB - H_2Ram''A$, **B**; $C_1Cnm - H_3Ram''B$, **C**; $C_1MbA - H_4Ram''A$, **D**; $C_1Cnm - H_8Cnm$. Abreviaciones; ddl = *n*-dodecanoilo, Mb = 2(S)-metilbutanoilo, Cnm = *trans*-cinamoilo, Jla A = 11-hidroxi-hexadecanoilo (éster del ácido jalapínico) unidad A.

Las señales del grupo carbonilo de los ésteres *n*-decanoilo se encuentran sobrepuestas junto con las señales de los grupos C_1 de los dos residuos del ácido jalapínico y las dos señales H_2 de los azúcares **Ram'** de las unidades A y B no exhiben ninguna correlación aparente en el espectro de la figura 108, aunque teniendo en consideración los fragmentos m/z 1403 $[A - H]^-$ y 1369 $[B - H + H_2O]^-$ del espectro de masas del compuesto **10** y las correlaciones del espectro HMBC de la figura 108, se puede

asociar la señal H₂ del azúcar **Ram'** de la unidad A con el éster del ácido *n*-dodecanoico y la de la unidad B con otro éster del ácido *n*-decanoico, así como la señal H₃ de la metilpentosa **Ram''** de la unidad A con el otro residuo de *n*-decanoilo y la señal H₄ de este azúcar con el de 2-metilbutanoilo.

Asimismo, en el espectro de la figura 108 también se observa la correlación a larga distancia C-H entre el protón H₃ de la unidad sacárida **Ram''** de la unidad B y el grupo carbonilo del residuo de *trans*-cinamoilo.

Aplicando un razonamiento similar, se llegó al establecimiento de las posiciones de lactonización y esterificación del compuesto **9**, en donde se concluyó que el enlace del éster macrocíclico y la unión de las unidades lipooligosacáridas se establecen del mismo modo que sucede en el compuesto **10**, en las posiciones 2 de los azúcares **Ram** y **Ram'''**, ambas de la unidad A. En tanto que el ácido 2-metilpropanoico esterifica la posición 4 del azúcar **Ram''**, en la unidad B y el *n*-dodecanoico a la posición 2 del azúcar **Ram'** (sección del espectro ROESY de la figura 107), formando parte de la unidad A, mientras que el ácido *trans*-cinámico esterifica a la posición 2 de la metilpenosa **Ram''** y el 2-metilpropanoico a la posición 4 de este mismo azúcar en la unidad B.

6.6.4 Estructura de las batatinas V y VI

En la figuras 109 y 110 se ilustran las estructuras propuestas para los compuestos **9** y **10** de la fracción primaria β (subfracción **D**, apartado 5.3.4) y que se designaron con los nombres de batatinas V y VI. El cuadro 12 contiene los desplazamientos químicos y las constantes espectroscópicas obtenidos de los espectros auténticos y de la simulación espectral en la RMN ^1H y los cuadros 13 y 14 contienen los desplazamientos en la RMN ^{13}C para ambos dímeros.

De acuerdo con toda la información espectroscópica y espectrométrica analizada se propusieron las siguientes estructuras para los glicolípidos **9** y **10**:

Glicolípido 9: Éster intramolecular 1 - 2'', 11 - O - α - L - [2 - O - (11*S*-hidroxihexadecanoil) - 11 - O - α - L - ramnopiranosil - {2 - O - (*trans*-cinamoil) - 4 - O - (2 - metilpropanoil)} - (1→4) - O - α - L - {2 - O - (*n*-decanoil) (1→3) - O - α - L - ramnopiranosil} ramnopiranosil - (1→4) - O - α - L - ramnopiranosil - (1→2) - O - β - D-fucopiranosido]ramnopiranosil - {3 - O - (2- *S*- metilbutanoil)- 4-O-(*n*-decanoil)} - (1→4) - O - α - L - {2-O-(*n*-dodecanoil)-(1→3)-O- α -L-ramnopiranosil}ramnopiranosil-(1→4)-O- α -L-ramnopiranosil-(1→2)-O- β -D- fucopiranosido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.

Glicolípido 10: Éster intramolecular 1 - 2'', 11 - O - α - L - [2 - O - (11*S*-hidroxihexadecanoil) - 11 - O - α - L - ramnopiranosil - {3 - O-(*trans*-cinamoil)- 4 - O - (2 - *S* - metilbutanoil)} - (1→4) - O - α - L - {2-O-(*n*-decanoil) (1→3) - O - α - L - ramnopiranosil} ramnopiranosil - (1→4) - O - α - L - ramnopiranosil - (1→2) - O - β - D-fucopiranosido]ramnopiranosil - {3 - O - (*n*- decanoil) - 4-O-(2-*S*-metilbutanoil)}-(1→4)- O - α - L - {2-O-(*n*-dodecanoil)-(1→3)-O- α -L-ramnopiranosil}ramnopiranosil-(1→4)-O- α -L-ramnopiranosil-(1→2) - O - β - D-fucopiranosido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.

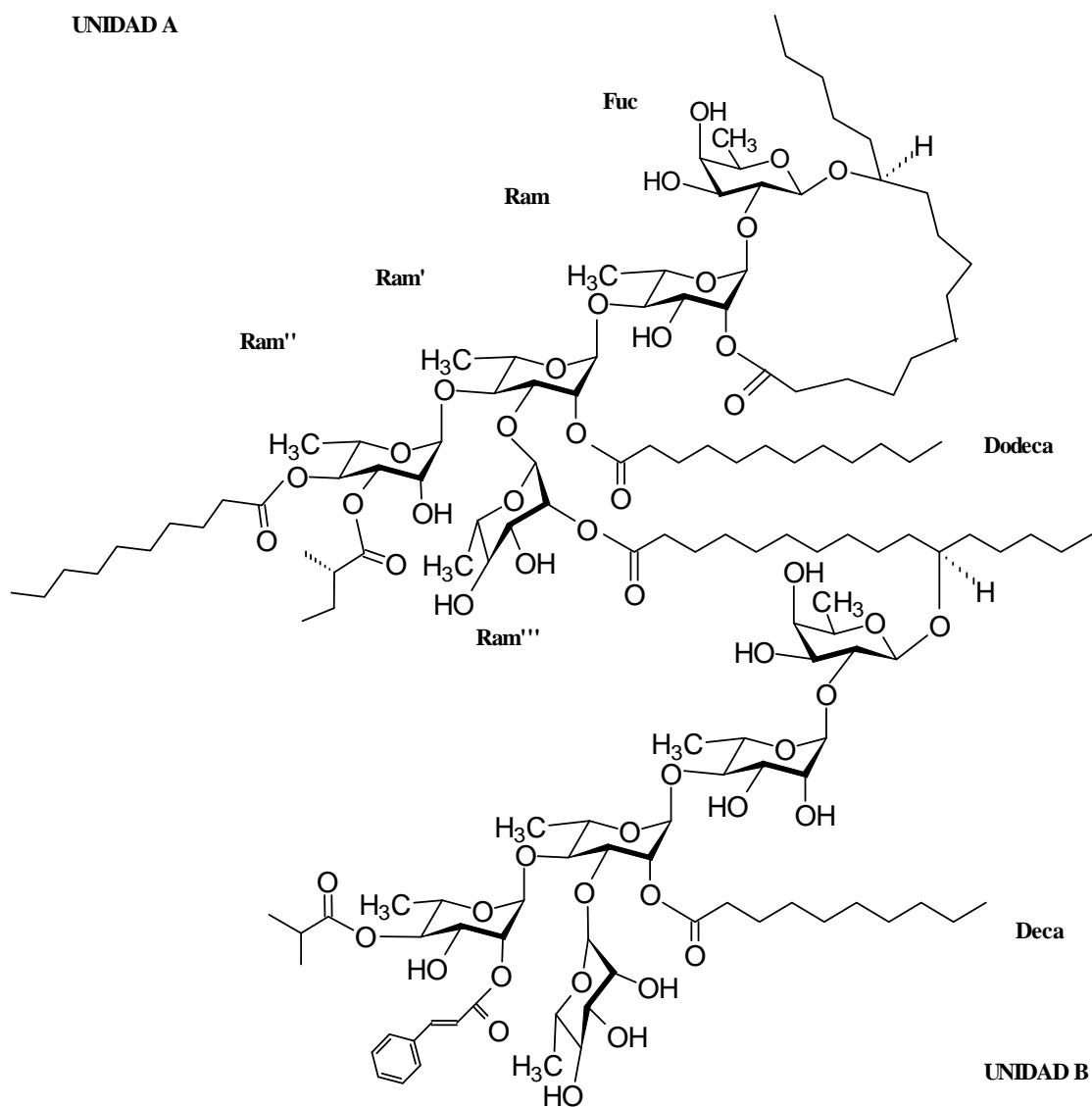
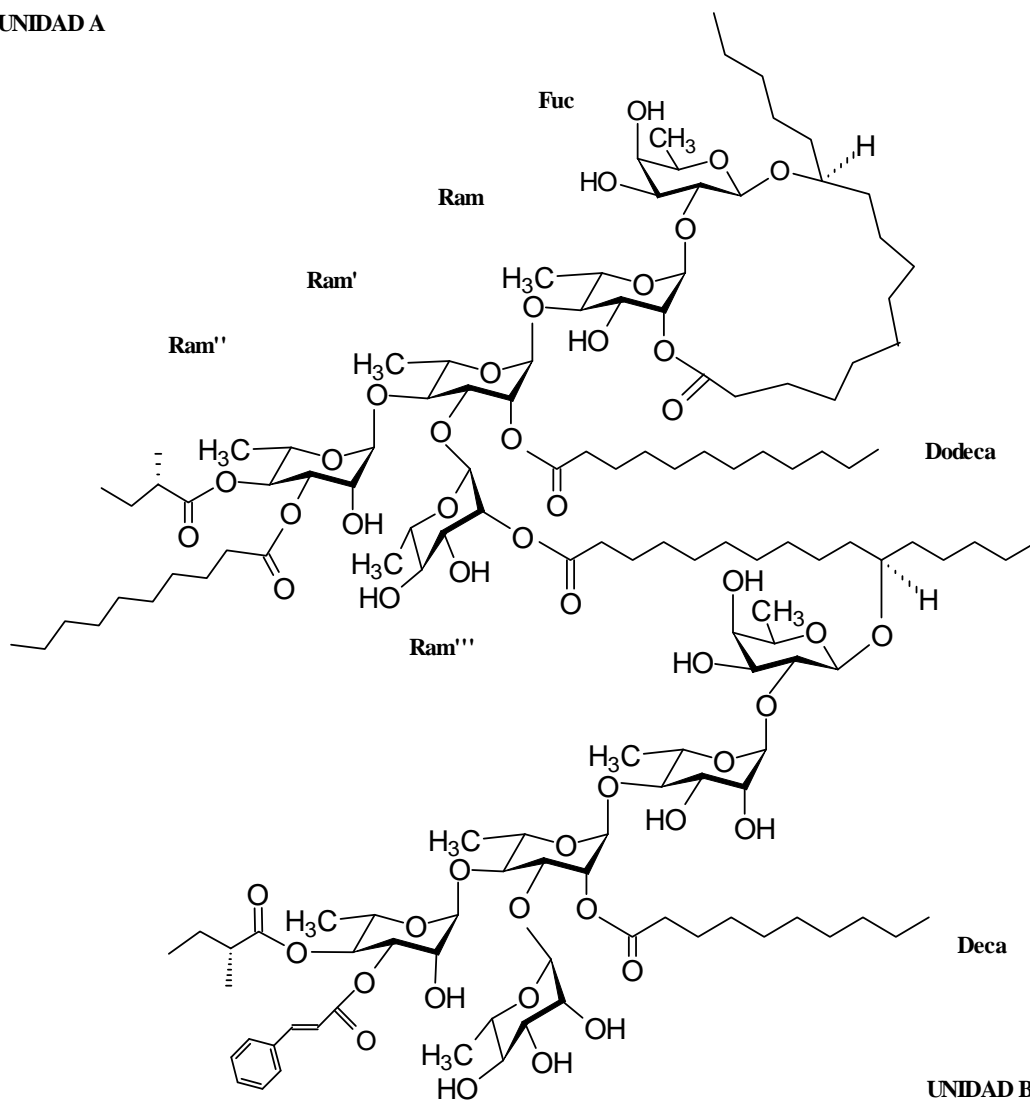


Figura 109. Estructura de la batatina V (9).

UNIDAD A



UNIDAD B

Figura 110. Estructura de la batatina VI (10).

Cuadro 12. Constantes espectroscópicas en la RMN ¹H para las **batatinas V y VI (9 - 10)^a**.

Protón ^b	Batatina V (9)		Batatina VI (10)	
	UNIDAD A	UNIDAD B	UNIDAD A	UNIDAD B
Fuc 1	4.73 d (7.5)	4.73 d (7.5)	4.77 d (7.5)	4.73 d (7.5)
2	4.156 dd (9.5, 7.7)	4.155 dd (9.5, 7.5)	4.156 dd (8.5, 7.5)	4.153 dd (8.0, 7.5)
3	4.07dd (9.5, 3.3)	4.08 dd (9.5, 3.7)	4.06 dd (8.5, 2.5)	4.10 dd (8.0, 2.5)
4	3.99 bs	3.99 bs	3.99 d (1.0)	3.99 d (1.0)
5	3.769 q (6.5)	3.767 q (6.5)	3.77 dq (6.5, 2.0)	3.79 dq (6.5, 1.0)
6	1.51 d (6.5)	1.51 d (6.5)	1.52 d (6.5)	1.51 d (6.5)
Ram 1	5.477 bs	5.597 d (1.5)	5.49 d (2.0)	5.59 d (1.0)
2	5.945 dd (3.3, 1.5)	4.81 dd (2.9, 1.5)	5.95 dd (3.0, 2.0)	4.81 bs
3	5.01 dd (9.3, 3.5)	4.48 dd (9.5, 3.0)	4.99 dd (9.4, 3.0)	4.49 dd (9.9, 3.2)
4	4.22 t (9.3)	4.22 t (9.5)	4.18 t (9.4)	4.21 t (9.9)
5	4.44 dq (9.3, 6.0)	4.44 dq (9.5, 6.0)	4.43 dq (9.4, 6.0)	4.18 dq (9.9, 6.5)
6	1.61 d (6.0)	1.62 d (6.0)	1.61 d (6.0)	1.59 d (6.5)
Ram ^l 1	6.153 d (1.3)	6.145 d (1.3)	6.16 d (2.0)	6.03 d (2.0)
2	6.005 dd (2.9, 1.3)	6.008 dd (2.8, 1.3)	6.00 dd (3.0, 2.0)	5.98 dd (3.0, 2.0)
3	4.59 dd (9.0, 3.0)	4.59 dd (9.5, 2.8)	4.59 dd (9.0, 3.0)	4.61 dd (9.5, 3.0)
4	4.29 t (9.0)	4.29 t (9.5)	4.29 t (9.0)	4.30 t (9.5)
5	4.32 dq (9.0, 5.5)	4.33 dq (9.5, 5.5)	4.33 dq (9.0, 6.0)	4.31 dq (9.5, 6.0)
6	1.65 d (5.5)	1.65 d (5.5)	1.65 d (6.0)	1.60 d (6.0)
Ram ^m 1	5.92 d (1.1)	5.92 d (1.0)	5.92 d (1.0)	5.97 d (1.2)
2	4.68 dd (3.0, 1.1)	6.002 dd (2.5, 1.0)	4.67 dd (3.0, 1.0)	4.97 dd (3.0, 1.2)
3	5.77 dd (9.7, 3.0)	4.48 dd (9.6, 2.5)	5.99 dd (9.7, 3.0)	5.93 dd (9.5, 3.0)
4	5.82 t (9.7)	5.785 t (9.6)	5.78 t (9.7)	5.96 t (9.5)
5	4.37 dq (9.7, 6.5)	4.35 (dq 9.6, 6.5)	4.36 dq (9.8, 6.5)	4.51 dq (9.5, 6.5)
6	1.39 d (6.5)	1.39 d (6.5)	1.39 d (6.5)	1.72 d (6.5)
Ram ^m 1	5.48 d (1.8)	5.594 d (2.0)	5.48 d (1.0)	5.69 d (1.0)
2	5.949 (dd 3.3, 1.8)	4.81 bs	5.947 dd (3.0, 1.0)	4.81 bs
3	5.01 dd (9.3, 3.5)	4.48 dd (9.2, 3.1)	5.00 dd (9.3, 3.0)	4.38 dd (9.5, 3.0)
4	4.24 t (9.3)	4.21 t (9.5)	4.18 t (9.3)	4.19 t (9.5)
5	4.29 dq (9.3, 6.0)	4.44 dq (9.5, 6.5)	4.45 dq (9.3, 6.0)	4.21 dq (9.5, 6.0)
6	1.60 d (6.0)	1.61 d (6.5)	1.61 d (6.0)	1.55 d (6.0)
Jal 2	2.24 ddd (15.0, 8.0, 3.5)	2.24 ddd (15.0, 8.0, 3.5)	2.22 ddd (12.0, 8.0, 3.5)	2.25*
	2.39 ddd (15.0, 8.0, 3.5)	2.39 ddd (15.0, 8.0, 3.5)	2.38 ddd (12.0, 8.0, 3.5)	2.41*
11	3.85 m	3.85 m	3.85 m	3.89 m
16	0.88 t (7.0)	0.89 t (7.5)	0.88 t (7.0)	0.88 t (7.0)
Mba 2	2.50 tq (7.5, 7.0)		2.37 tq (7.0, 7.0)	2.50 tq (7.0, 7.0)
2 Me	1.20 d (7.0)		1.06 d (7.0)	1.20 d (7.0)
3 Me	0.93 t (7.5)		0.84 t (7.5)	0.93 t (7.5)
Iba 2		2.63 sept (7.0)		
3		1.19 d (7.0)		
3'		1.16 d (7.0)		
Cna 2		6.67 d (15.9)		6.48 d (16.1)
3		7.79 d (15.7)		7.75 d (15.8)
Deca 2	2.25 - 2.40*	2.25 - 2.40*	2.25 - 2.40*	2.25 - 2.40*
10	0.87 t (7.0)	0.87 t (7.0)	0.87 t (7.0)	0.87 t (7.0)
Dodeca 2	2.31 dd (16.0, 7.5)		2.31 dd (15.5, 8.5)	
12	0.86 t (7.0)		0.88 t (7.0)	

^aDatos registrados a 500 MHz en C₅D₅N. Los desplazamientos químicos (δ) están en ppm en relación con TMS. Los acoplamientos (*J*) se encuentran en paréntesis y se expresan en Hz.

^bAbreviaciones; s = señal simple, d = señal doble, t = señal triple, q = señal cuádruple, m = señal múltiple. Las asignaciones se basaron en los experimentos ¹H-¹H COSY y TOCSY.

Fuc = fucosa, Ram = ramnosa. Jal = 11- hidrohexadecanoilo, Mba = 2-metilbutanoilo, Iba = 2-metilpropanoilo, Dodeca = *n*-dodecanoilo, Cna = *trans*-cinamoilo.

Cuadro 13. Constantes espectroscópicas en la RMN ^{13}C para la región oligosacárida de las **batatinas V y VI (9 - 10)^a**.

carbono ^b	Batatina V (9)		Batatina VI (10)	
	UNIDAD A	UNIDAD B	UNIDAD A	UNIDAD B
Fuc 1	103.8	103.8	104.3	104.3
2	79.7	79.7	80.2	80.2
3	72.8	72.8	73.3	73.3
4	72.4	72.4	72.9	72.9
5	70.3	70.3	70.8	70.8
6	16.8	16.8	17.4	17.4
Ram 1	98.2	104.1	98.7	104.6
2	73.3	72.0	73.8	72.5
3	69.3	72.1	69.7	72.6
4	79.5	79.5	80.0	80.6
5	68.1	68.1	68.6	68.6
6	19.0	19.0	19.4	18.6
Ram' 1	98.6	98.6	99.1	99.5
2	72.7	72.7	73.3	73.3
3	79.3	79.3	79.8	79.8
4	78.9	78.8	79.3	79.5
5	67.9	67.9	68.4	70.8
6	18.3	18.3	18.8	18.7
Ram"1	103.1	103.1	103.6	103.8
2	72.2	72.8	72.7	70.5
3	74.4	72.0	73.6	76.5
4	74.6	74.3	74.8	74.0
5	67.7	67.7	68.2	71.0
6	17.4	17.4	17.9	18.4
Ram"1	98.2	104.1	98.7	104.6
2	73.3	72.0	73.8	72.5
3	69.3	72.1	69.7	72.6
4	73.1	73.1	73.6	73.5
5	68.5	70.2	70.7	70.7
6	19.0	18.1	19.4	18.5

^aDatos registrados a 125 MHz en $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$. Los desplazamientos químicos (δ) están en ppm en relación con TMS.

Las asignaciones se basaron en los experimentos HSQC.

^bAbreviaciones: Fuc = fucosa, Ram = ramosa. Jal = 11- hidroxidodecanoilo, Mba = 2-metilbutanoilo, Iba = 2-metilpropanoilo, dodeca = *n*-dodecanoilo, cna = *trans*-cinamoilo.

Cuadro 14. Constantes espectroscópicas en la RMN ^{13}C para las agliconas y los residuos ácidos de las batatinas V y VI (9 – 10)^a.

carbono ^b	Batatina V (9)		Batatina VI (10)	
	UNIDAD A	UNIDAD B	UNIDAD A	UNIDAD B
Jal 1	172.4	172.4	172.9	173.1
2	33.7	33.7	34.2	34.3
11	81.8	81.8	82.3	82.3
16	13.8	13.8	14.3	14.3
Mba 1	175.8		175.4	176.3
2	41.0		41.4	41.5
2-Me	16.5		16.8	17.0
3-Me	11.3		11.8	11.8
Iba 1		176.2		
2		33.9		
3		18.5		
3'		18.8		
Cna-7		128 - 140 *		119.1
8				128.4
				129.2 (x 2)
				130.5 (x 2)
				134.7
				144.6
9				166.9
Deca-1	172.6	172.6	173.1	173.1
2	33.8	33.8	34.2	34.2
10	13.8	13.8	14.3	14.3
Dodeca-1	172.6		172.9	
2	33.9		34.5	
12	13.8		14.3	

^{a y b} Ver cuadro 13

VII. CONCLUSIONES

- 7.1 Los perfiles cromatográficos generados en CLAE junto con la espectroscopía de RMN pueden constituir una herramienta valiosa para identificar las diferencias en la composición química de las resinas glicosídicas de los miembros de la familia Convolvulaceae
- 7.2 Las técnicas analíticas desarrolladas para la purificación de los constituyentes oligosacáridos individuales de las resinas glicosídicas de las plantas medicinales *Ipomoea orizabensis*, *Ipomoea stans* e *Ipomoea batatas*, podrán ser utilizadas como protocolos analíticos para el desarrollo de técnicas instrumentales para el control de calidad de los preparados herbolarios que contengan el material vegetal de estas especies purgantes.
- 7.3 El núcleo oligosacárido mayoritario constituyente de las resinas glicosídicas de la “tumbavaqueros”, la especie purgante *Ipomoea stans*, fue caracterizado como el 11 – O - β - D – glucopiranosil – (1→3) – O – [O - α - L – ramnopiranosil – (1→4)] – O - α - L – ramnopiranosil – (1→4) – O - α - L – ramnopiranosil – (1→2) – O - β - D – glucopiranosido del ácido (11S) – 11 – hidroxihexadecanoico, que también es un núcleo constituyente del contenido resinoso de las plantas *Ipomoea operculata* y *Merremia mammosa*, conocido como el ácido opeculínico B.

- 7.4 El núcleo oligosacárido mayoritario constituyente de las resinas glicosídicas de la “escamonea mexicana”, la especie purgante *Ipomoea orizabensis*, está descrito como el 11 - O - 6- deoxi - β - D - glucopiranosil - (1 \rightarrow 4) - O - α - L - ramnopiranosil - (1 \rightarrow 2) - O - 6 -deoxi - β - D - glucopiranosil - (1 \rightarrow 2) - O - 6 - deoxi - β - D - glucopiranosido del ácido (11*S*) - 11 - hidroxihexadecanoico, reportado con anterioridad como constituyente mayoritario de las resinas glicosídicas de la especie *Convolvulus scammonia* con el nombre de ácido escamónico A.
- 7.5 Los dos núcleos oligosacáridos mayoritarios constituyentes de las resinas glicosídicas del “camote blanco”, una de las tres variedades de la especie purgante *Ipomoea batatas*, también han sido descritos en la literatura como constituyentes de las resinas glicosídicas de otras especies de convolvuláceas. El primero es el 11 - O - α - L - ramnopiranosil - (1 \rightarrow 3) - O - [O - α - L - ramnopiranosil - (1 \rightarrow 4)] - O - α - L - ramnopiranosil - (1 \rightarrow 4) - O - α - L - ramnopiranosil - (1 \rightarrow 2) - O - β - D - fucopiranosido del ácido (11*S*) - 11 - hidroxihexadecanoico, núcleo pentasacárido conocido como ácido simónico B, reportado como constituyente del contenido resinoso de las especies medicinales *Ipomoea stolonifera*, *Ipomoea pes-caprae* e *Ipomoea murucoides*, y el segundo es el 11 - O - α - L - ramnopiranosil - O - (1 \rightarrow 4) - O - α - L - ramnopiranosil - (1 \rightarrow 4) - O - α - L - ramnopiranosil - (1 \rightarrow 2) - O - β - D - fucopiranosido del ácido (11*S*) - 11 - hidroxihexadecanoico, núcleo tetrasacárido reportado previamente como el ácido operculínico C, aislado de la especie *Ipomoea operculata*.

- 7.6 Utilizando técnicas de cromatografía líquida de alta eficacia se obtuvieron diez glicolípidos novedosos, los batatinósidos I (**1**) – IV (**4**) y las batatinas I (**6**) – VI (**10**); todos ellos provenientes de las resinas glicosídicas solubles en hexano de *Ipomoea batatas*.
- 7.7 La cromatografía de líquidos permitió la resolución de la compleja mezcla de oligosacáridos, cuatro de ellos (batatinas I-IV) representando formas diastereoisoméricas que hacen imposible su separación mediante el empleo de las técnicas cromatográficas de baja resolución como la cromatografía en columna o en capa fina.
- 7.8 El empleo de las técnicas de alta resolución en la resonancia magnética nuclear (500 MHz) junto con la espectrometría de masas FAB y ES permitieron la caracterización estructural de estos compuestos, e identificaron una amplia diversidad en la composición de las resinas glicosídicas del camote blanco. Además, mediante el desarrollo de la simulación espectral de algunos de estos compuestos se hizo posible resolver la enorme complejidad de sus señales espectroscópicas en la RMN ^1H , haciendo posible la asignación de sus desplazamientos químicos.
- 7.9 Los batatinósidos I (**1**) y IV (**4**) representan estructuras monoméricas constituidas por el núcleo pentasacárido del ácido simónico B, mientras que los batatinósidos II (**2**) y III (**3**) representan estructuras monoméricas constituidas por el núcleo tetrasacárido del ácido operculínico C.

- 7.10 Las batatinas I (**5**) y II (**6**) y las batatinas V (**9**) y VI (**10**) representan estructuras poliméricas constituidas por dos unidades lipopentasacáridas del ácido simónico B, mientras que las batatinas III (**7**) y IV (**8**) representan estructuras poliméricas constituidas por dos unidades tetrasacáridas de ácido operculínico C.
- 7.11 Los glicolípidos aislados de la especie purgante *Ipomoea batatas* mostraron cinco residuos ácidos esterificando sus núcleos oligosacáridos. Estos residuos acilantes fueron identificados como el metilbutanoílo, isotutanoílo, *trans*-cinamoílo, *n*-decanoílo y *n*-dodecanoílo.
- 7.12 El establecimiento del éster intramolecular del núcleo oligosacárido por la aglicona se localizó en la posición C-3 para toda la serie de los batatinósidos y para las batatinas I (**5**) – IV (**8**), mientras que el sitio de lactonización se estableció en la posición C-2 en las batatinas V (**9**) y VI (**10**).
- 7.13 La unión entre las dos unidades aciladas del ácido simónico B de las batatinas I (**5**) y II (**6**) se estableció a través de un enlace éster entre el grupo carboxilato de la aglicona de una de sus dos unidades de ácido simónico B (unidad B) y el grupo hidroxilo situado en la posición C-3 de la quinta unidad sacárida (**Ram''**) del núcleo restante de ácido simónico B (unidad A).

- 7.14 La unión entre las dos unidades aciladas del ácido simónico B de las batatinas V (9) y VI (10) se estableció a través de un enlace éster entre el grupo carboxilato de la aglicona de una de sus dos unidades de ácido simónico B (unidad B) y el grupo hidroxilo situado en la posición C-2 de la quinta unidad sacárida (**Ram''**) del núcleo restante de ácido simónico B (unidad A).
- 7.15 La unión entre las dos unidades aciladas del ácido operculínico C de las batatinas III (7) y IV (8) se estableció a través de un enlace éster entre el grupo carboxilato de la aglicona de una de sus dos unidades de ácido operculínico C (unidad B) y el grupo hidroxilo situado en la posición C-3 de la tercera unidad sacárida (**Ram'**) del núcleo restante de ácido operculínico C (unidad A).
- 7.16 Ninguno de los compuestos de la serie de los batatinósidos ha sido descrito en la literatura, y la principal diferencia estructural del batatinósido IV (4) con respecto a la pescapreína III es de tipo isomérico ya que la diferencia está determinada por la posición en la que sus dos residuos acilantes esterifican al ácido simónico B. Los batatinósidos II (2) y III (3) se encuentran relacionados estructuralmente con la serie de las estructuras tetrasacáridas de las estoloniferinas XI y XII. Sin embargo, cada una de estas últimas está acilada por dos residuos ácidos aparte de la macrolactona, mientras que los batatinósidos sólo poseen un éster aparte del intramolecular en su estructura.

- 7.17 Las estructuras diméricas de toda la serie de las batatinas es novedosa, ya que no han sido descritas con anterioridad otras estructuras poliméricas semejantes para la familia de las convolvuláceas con excepción de la merremina I, una estructura dimérica compuesta por dos unidades del núcleo del ácido operculínico A y acilada por cuatro residuos de ácido palmítico, aislada de la especie *Merremia hungaiensis* y de la tricolorina H compuesta por dos unidades del ácido cuscústico A₁, aislada de la especie *Ipomoea tricolor*.

APÉNDICE

Artículos generados por la presente investigación:

1. Edgar Escalante-Sánchez and Rogelio Pereda-Miranda.
Batatins I and II, Ester –Type Dimers of Acylated Pentasaccharides from the Resin Glycosides of Sweet Potato.
J. Nat. Prod. **70**, 1029-1034 (2007)
2. Rogelio Pereda-Miranda, Mabel Fragoso-Serrano, Edgar Escalante-Sánchez, Beatriz Hernández-Carlos, Edelmira Linares and Robert Bye.
Profiling of the Resin Glycoside Content of Mexican Jalap Roots with Purgative Activity.
J. Nat. Prod. **69**, 1460-1466 (2006)
3. Edgar Escalante-Sánchez, Daniel Rosas-Ramírez and Rogelio Pereda-Miranda.
Batatinosides II-VI, resin glycosides from Sweet Potato.
En preparación
4. Edgar Escalante-Sánchez and Rogelio Pereda-Miranda.
Batatins III-VI, new dimeric oligosaccharides from the Resin Glycoside Content of *Ipomoea batatas*.
En preparación

Trabajos presentados en congresos:

- 25 al 28 de mayo de 2005, participación en la Segunda Reunión Nacional de Química de Productos Naturales, con el trabajo libre en modalidad cartel titulado: **La tumbavaqueros, *Ipomoea stans*: análisis cromatográficos para distinguir entre la auténtica droga cruda y sus adulterantes**, celebrado en Cocoyoc, Morelos. México.
- 16 al 19 de mayo de 2006, participación en la Tercera Reunión Nacional de Química de Productos naturales, con el trabajo libre en modalidad cartel titulado: **Aislamiento y elucidación estructural de principios lipooligosacaridos del Camote blanco (*Ipomoea Batatas*)**, celebrado en Querétaro, Qro. México.
- 5 al 9 de agosto de 2006, participación en el 47nd Annual Meeting of the American Society of Pharmacognosy, con el trabajo libre en modalidad cartel titulado: **Dimeric oligosaccharides from Sweet Potato (*Ipomoea batatas*)**, celebrado en la Ciudad de Washington, D.C. EE.UU.
- 15 al 19 de julio de 2007, participación en el 48nd Annual Meeting of the American Society of Pharmacognosy, con el trabajo libre en modalidad cartel titulado: **Batatin III, a new ester-type dimer of acylated pentasaccharides from the resin glycosides of Sweet Potato**, celebrado en la Ciudad de Portland Maine. EE.UU.

Batatins I and II, Ester-Type Dimers of Acylated Pentasaccharides from the Resin Glycosides of Sweet Potato[†]

Edgar Escalante-Sánchez and Rogelio Pereda-Miranda*

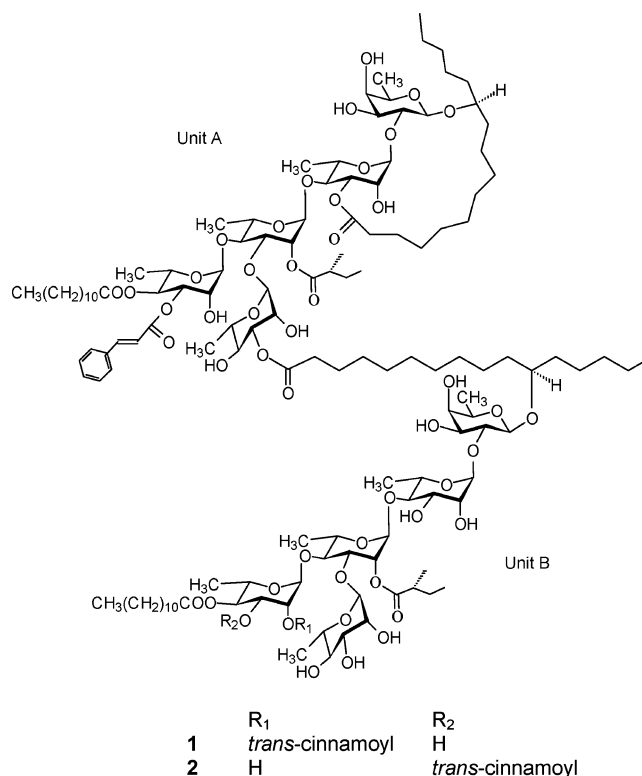
Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Mexico City 04510 DF, Mexico

Received March 3, 2007

Batatins I (**1**) and II (**2**), two ester-type dimers of acylated pentasaccharides, have been isolated by recycling HPLC from the hexane-soluble extract of sweet potato (*Ipomoea batatas* var. *batatas*). The structures were elucidated by a combination of high-resolution NMR spectroscopy and mass spectrometry. Complete analysis and unambiguous assignments of the ¹H and ¹³C NMR spectra of **1** and **2** were achieved by 2D shift correlation measurements. The glycosidic acid forming each branched pentasaccharide monomeric unit was confirmed as simonic acid B. Three different fatty acids esterify this core at the same positions in both batatins: C-2 on the second rhamnose unit and C-4 and C-2 (or C-3) on the third rhamnose moiety. The acylating residues were identified as (+)-(2*S*)-methylbutanoic, dodecanoic (lauric), and cinnamic acids. The site of lactonization by the aglycon in unit A was placed at C-3 of the second saccharide. The position for the ester linkage for monomeric unit B on the macrocyclic unit A was identified as C-3 of the terminal rhamnose. Through spectroscopic simulation of these complex oligosaccharides, the chemical shifts and coupling constants were deduced for the overlapped proton resonances with a non-first-order resolution. The experimental NMR spectroscopic values registered for batatinoside I (**3**), a new polyacylated macrocyclic pentasaccharide also isolated from this plant, were used as the starting point for spectral simulation of **1** and **2**. Both polymers **1** and **2** represent dimers of compound **3**.

Native to tropical America, *Ipomoea batatas* (L.) Lam. var. *batatas* (sweet potato, colloquially called “camote”¹) is a perennial morning-glory vine that has been cultivated for over 2000 years for its edible tubers in Mexico, Central and lowland South America, and the West Indies. It is thought that the cultivated varieties originated in Mexico² from a naturally occurring hybridization event involving *I. trifida* (H.B.K.) G. Don and *I. tiliacea* (Willd.) Choisy, which have similar lobed leaves and growth habits but are not tuberous. Columbus introduced sweet potatoes to Europe, and immediately after the 16th Century Spanish Conquest, they were not just imported but cultivated in Spain and Portugal, where they became staples long before the 18th century popularization of the common potato (*Solanum tuberosum* L.) in the rest of Europe.³ Outside of the Spanish Empire the sweet potato was known only as a herbal remedy or as an exotic garden curiosity during the 16th and 17th centuries, whereas today it is a popular root vegetable that is grown in gardens and as a commercial food crop throughout the world.⁴ The People’s Republic of China, Indonesia, and Japan lead in the production of sweet potatoes, and this tuber is now a common vegetable throughout the Orient.⁵ In addition, some cultivars are propagated as ornamental plants and some are used as ground cover in traditional agriculture in Mexico.⁶

A decoction made from the leaves of this herbal drug is used in folk remedies as gargles to treat mouth and throat tumors. Poultices are prepared for inflammatory tumors.⁷ In Mexico, traditional healers have long used leaf decoctions, considered to be of “cold-nature”,⁸ to reduce excessive body heat,¹ contemporarily defined as such illnesses as fever, heart disease, dysentery, diarrhea, stomach distress, gastrointestinal infection, and parasites. Previous to this investigation, the only known study of the resin glycosides of sweet potato was conducted in Japan using the roots of a locally grown Brazilian cultivar (cv. Simon), from which the structures of one tetrasaccharide and four pentasaccharides (the simonin series)⁹ were elucidated.



Results and Discussion

The present investigation describes the isolation of two ester-type dimers, to which the names batatins I (**1**) and II (**2**) have been given, and they were obtained from the hexane-soluble resin glycosides of the high-starch content, white-fleshed, and white-skinned staple-type cultivar “Picadito”. The new polyacylated pentasaccharide batatinoside I (**3**), which was also isolated from this mixture, forms the monomeric units described for both batatins. A combination of high-resolution ESIMS, FABMS, and NMR methods¹⁰ was used to elucidate the complex chemical nature of these polymers. The registered values for compound **3** were used

[†] This work was taken in part from the Ph.D. thesis of E. Escalante-Sánchez.

* To whom correspondence should be addressed. Tel: +52-55-5622-5288. Fax: +52-55-5622-5329. E-mail: pereda@servidor.unam.mx.

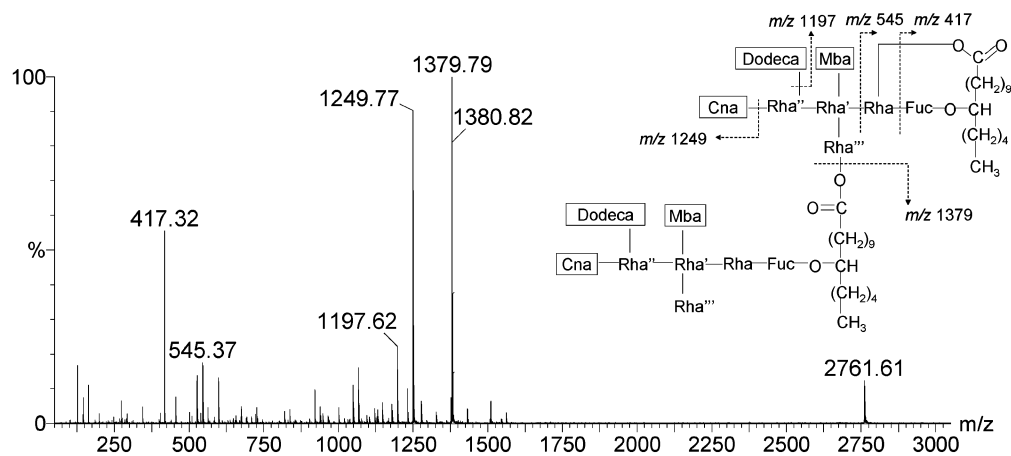
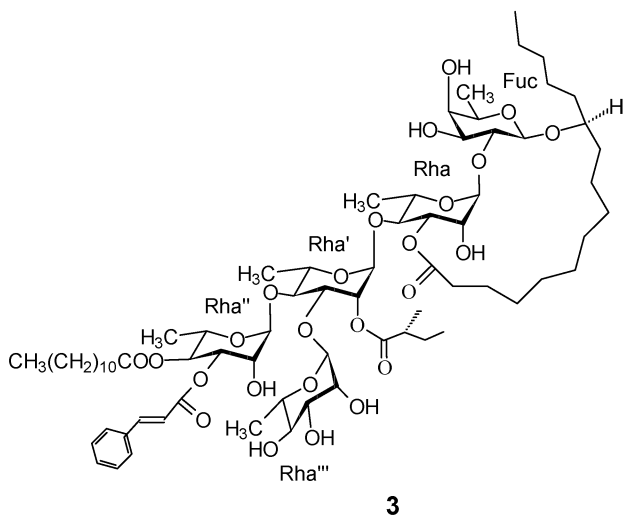


Figure 1. Negative-ion MS/MS ESI-mass spectrum of batatin I (**1**). This technique provides an easily detectable $[M - H]^-$ peak (m/z 2761.61). All the characteristic ions resulting from glycosidic cleavage are clearly observed. The high-mass ion $[M/2 - H]^-$ (m/z 1379.79) corresponds to the ester cleavage of the dimeric structure.

as the starting point to compare this macrocyclic pentasaccharide with the two dimeric units of batatins I (**1**) and II (**2**), as well as providing the chemical shifts and coupling constant values for the ^1H NMR simulation work¹¹ presented here.



Pure compounds **1**–**3** were submitted to saponification and yielded a water-soluble glycosidic acid and an organic solvent-soluble acidic fraction. The glycosidic acid was characterized as a branched pentasaccharide and identified as simonic acid B: (11S)-jalapinic acid 11-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-*O*-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopyranoside, which has been previously identified in the resin glycosides of *I. batatas*,⁹ *I. stolonifera*,¹² *I. murucoides*,¹³ and *I. pes-caprae*.¹⁴ The liberated fatty acids were identified as 2*S*-methylbutanoic, *n*-dodecanoic, and cinnamic acids.

In the negative ESIMS, batatins I (**1**) and II (**2**) showed the same iodine adduct at m/z 2889.47 $[M + I]^-$, which permitted the calculation of the molecular formula $\text{C}_{144}\text{H}_{232}\text{O}_{50}$, indicating that these natural products represent a pair of diastereoisomers. A quasimolecular ion was detected for both batatins at m/z 2761.61 $[M - H]^-$ and revealed that the molecular formula for these compounds corresponds to two monomeric units of batatinoside I (**3**, $\text{C}_{72}\text{H}_{117}\text{O}_{25}$ $[M + H]^+$, m/z 1381.78). To facilitate discussion, each monomer was arbitrarily named unit A (macrocyclic moiety) and unit B. Both compounds **1** and **2** shared the same peak at m/z 1379.79 $[M/2 - H]^-$ in their ESIMS (Figure 1), representing a fragmentation pathway resulting from the cleavage of an ester-type dimer linkage¹⁵ to form the high-mass fragment ion for the two monomeric units.¹⁶ Other shared fragments were produced by the

elimination of the lipophilic esters¹⁴ and observed at m/z 1249 $[M/2 - H - \text{C}_9\text{H}_6\text{O}]^-$, m/z 1197 $[M/2 - H - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, and m/z 1067 $[1249 - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$. Each fragment represents the loss of cinnamoyl (130 amu) and dodecanoyl (182 amu) residues, respectively. A second major fragmentation for compounds **1** and **2** was produced by glycosidic cleavage^{14,17} of the sugar moieties, yielding the shared peaks at m/z 921 $[1067 - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4$ (methylpentose)] $^-$, m/z 837 $[921 - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}$ (Mba) - $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}$ (methylpentose)] $^-$, m/z 691 $[837 - 146$ (methylpentose)] $^-$, m/z 545 $[691 - 146$ (methylpentose)] $^-$, and m/z 417 $[545 - 128$ ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_3$)] $^-$.

A combination of ^1H NMR spectra (Table 1) and 2D homonuclear techniques (DQF-COSY and TOCSY)¹⁰ allowed all C-bonded protons to be sequentially assigned within each ring system (Table 1). The use of the ^1H -detected $\{^1\text{H}, ^{13}\text{C}\}$ one-bond correlation experiment (HMQC)¹⁸ assigned all of the resonances in the ^{13}C NMR spectra (Table 2), where nine diagnostic signals in the anomeric region (ca. 98 to 105 ppm) were registered. All the signals assignable to the fatty acid groups, as well as those for the fucose anomeric carbons of units A and B, plus those for the 2-methylbutanoate carbonyl carbons, were overlapped in both **1** and **2**, giving, respectively, only one signal each in the ^{13}C NMR spectra. The diagnostic resonances observed in the downfield region δ 4.80–6.40 (Table 1) were assigned to the anomeric protons because their multiplicity for each signal is a doublet. A group of paramagnetically shifted nonanomeric protons reflected the presence of eight sites of esterification. The remaining region, where the majority of the methine resonances for the oligosaccharide core were found, was difficult to assign due to partial spectroscopic overlap. However, expansion of the TOCSY spectrum for the region δ 3.4–5.9 showed that at least one proton signal for each monosaccharide unit was completely resolved. Therefore, edited ^1H NMR subspectra^{10,15} for each individual monosaccharide moiety were obtained and permitted the assignment of all resonances in both monomeric units A and B. All NMR spectral data for compound **3** were entirely superimposed with those registered for compounds **1** and **2** except for those downfield shifted resonances where there was a difference in the pattern of esterification in the oligosaccharide cores.

The HMBC technique¹⁸ was used to locate the ester residues on each monomeric unit, the position of lactonization on unit A, and the position for the ester linkage forming the dimer-type structure. The shielded carbonyl resonance at δ 174.7 was clearly assignable to the lactone functionality because of its observed 2J -coupling with the C-2 diastereotopic methylene protons of the aglycon unit A at δ_{H} 2.25 and 2.84. The site of lactonization was corroborated at C-3 of the second monosaccharide unit (Rha) by the observed 3J -coupling between this lactone carbon and its geminal proton (δ_{H}

Table 1. ^1H NMR Data of Compounds **1–3** (500 MHz)^a

proton ^b	1		2		3
	unit A	unit B	unit A	unit B	
Fuc-1	4.82 d (7.8)	4.81 d (7.9)	4.83 d (7.9)	4.83 d (7.9)	4.82 d (7.8)
2	4.52 dd (9.5, 7.8)	4.53 dd (9.6, 7.9)	4.54 dd (9.5, 7.9)	4.54 dd (9.5, 7.9)	4.52 dd (9.5, 7.8)
3	4.20*	4.20*	4.20*	4.20*	4.19 dd (9.5, 3.4)
4	3.92 d (2.5)	3.92 d (2.0)	3.92 d (2.5)	3.92 d (2.5)	3.92 d (3.4)
5	3.82 q (6.4)	3.82 q (6.4)	3.82 q (6.4)	3.82 q (6.5)	3.82 q (6.3)
6	1.52 d (6.4)	1.52 d (6.4)	1.52 d (6.4)	1.52 d (6.4)	1.52 d (6.3)
Rha-1	6.34 bs	6.34 bs	6.35 d (1.5)	6.35 d (1.5)	6.33 d (1.3)
2	5.31 bs	5.31 bs	5.32 bs	5.32 bs	5.31 bs
3	5.63 dd (9.2, 1.6)	4.42 dd (9.5, 3.1)	5.64 dd (9.7, 2.4)	4.43 dd (9.5, 3.1)	5.63 dd (9.9, 2.7)
4	4.66 dd (9.2, 9.2)	4.67 dd (9.5, 9.5)	4.67 dd (9.7, 9.5)	4.67 dd (9.5, 9.5)	4.66 dd (9.9, 9.9)
5	5.02 dq (9.2, 6.3)	5.02 dq (9.5, 6.3)	5.04 dq (9.5, 6.3)	5.04 dq (9.5, 6.2)	5.03 dq (9.9, 6.1)
6	1.59 d (6.3)	1.60 d (6.3)	1.60 d (6.2)	1.60 d (6.2)	1.59 d (6.1)
Rha'-1	5.62 d (1.5)	5.64 d (1.8)	5.63 bs	5.65 d (1.8)	5.62 d (1.5)
2	5.81 dd (3.2, 1.5)	5.82 dd (3.0, 1.8)	5.82 dd (3.0, 1.8)	5.82 dd (3.0, 1.8)	5.81 dd (3.0, 1.5)
3	4.62 dd (9.5, 3.2)	4.59 dd (9.2, 3.0)	4.63 dd (9.4, 3.0)	4.63 dd (9.4, 3.0)	4.62 dd (9.3, 3.0)
4	4.27 dd (9.5, 9.5)	4.29 dd (9.2, 9.2)	4.27 dd (9.6, 9.4)	4.27 dd (9.6, 9.4)	4.27 dd (9.3, 9.3)
5	4.40 dq (9.5, 6.0)	4.36 dq (9.2, 6.0)	4.40 dq (9.6, 5.9)	4.40 dq (9.6, 6.0)	4.39 dq (9.3, 6.1)
6	1.61 d (6.0)	1.63 d (6.0)	1.62 d (5.9)	1.62 d (6.0)	1.61 d (6.1)
Rha''-1	5.93 d (1.2)	5.80*	5.94 d (1.5)	5.94 d (1.5)	5.93 d (1.3)
2	4.91*	5.99 dd (3.2, 2.2)	4.91*	4.91*	4.91*
3	5.85 dd (9.9, 3.0)	4.70 dd (9.3, 3.2)	5.85 dd (9.9, 3.0)	5.84 dd (9.6, 3.2)	5.83 dd (9.9, 3.1)
4	6.08 dd (9.9, 9.9)	5.77 dd (9.3, 9.3)	6.08 dd (9.9, 9.9)	5.78 dd (9.6, 9.6)	6.07 dd (9.9, 9.9)
5	4.48 dq (9.9, 6.3)	4.41*	4.48 dq (9.9, 6.3)	4.44*	4.48 dq (9.9, 6.3)
6	1.46 d (6.3)	1.53 d (6.9)	1.46 d (6.3)	1.46 d (6.3)	1.46 d (6.3)
Rha'''-1	5.66 d (1.0)	5.62 d (0.9)	5.66 d (1.1)	5.63 bs	5.65 d (1.2)
2	4.92*	4.77 bs	4.75 bs	4.75 bs	4.76 dd (3.3, 1.2)
3	5.62 dd (7.6, 2.7)	4.42 dd (9.2, 3.1)	5.62 dd (9.8, 2.4)	4.43 dd (9.3, 3.1)	4.42 dd (9.5, 3.3)
4	4.23*	4.20*	4.23*	4.20*	4.20 dd (9.5, 9.5)
5	4.27 dq (9.5, 6.0)	4.25 dq (9.2, 6.2)	4.27*	4.25*	4.25 dq (9.5, 5.9)
6	1.72 d (6.0)	1.72 d (6.2)	1.72 d (6.0)	1.72 d (6.0)	1.71 d (5.9)
Jal-2	2.25 ddd (14.7, 7.1, 2.7)	2.25 ddd (14.9, 6.6, 2.8)	2.33–2.43*	2.33–2.48*	2.26 ddd (15.1, 7.0, 3.7)
	2.84 ddd (14.7, 11.2, 2.4)	2.86 ddd (14.9, 10.4, 1.7)	2.83 ddd (14.5, 11.0, 2.4)	2.83–2.48*	2.83 ddd (15.1, 10.9, 2.5)
11	3.89 m	3.89 m	3.89 m	3.89 m	3.89 m
16	1.00 t (6.9)	1.00 t (7.0)	1.00 t (6.9)	1.00 t (6.9)	1.00 t (6.9)
Mba-2	2.40 tq (7.0, 6.9)	2.42 tq (7.0, 6.8)	2.40 tq (7.1, 6.9)	2.40 tq (7.1, 6.9)	2.40 tq (7.0, 6.7)
2 Me	1.15 d (7.0)	1.18 d (7.0)	1.15 d (7.1)	1.15 d (7.1)	1.15 d (7.0)
3 Me	0.90 t (7.4)	0.92 t (7.4)	0.90 t (7.4)	0.90 t (7.4)	0.90 t (7.4)
Cna-2	6.55 d (16.0)	6.52 d (16.2)	6.56 d (16.0)	6.56 d (16.0)	6.55 d (16.0)
3	7.84 d (16.0)	7.75 d (16.2)	7.85 d (16.0)	7.85 d (16.0)	7.84 d (16.0)
Dodeca-2	2.46 t (7.3)	2.46 t (7.3)	2.45 t (7.2)	2.45 t (7.2)	2.46 t (7.3)
12	0.88 t (7.2)	0.87 t (7.1)	0.88 t (7.0)	0.88 t (7.0)	0.88 t (7.3)

^a Data recorded in $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$. Chemical shifts (δ) are in ppm relative to TMS. The spin coupling (J) is given in parentheses (Hz). Chemical shifts marked with an asterisk (*) indicate overlapped signals. Spin-coupled patterns are designated as follows: s = singlet, d = doublet, t = triplet, m = multiplet, q = quartet, sept = septet. All assignments are based on ^1H – ^1H COSY and TOCSY experiments. ^b Abbreviations: Fuc = fucose; Rha = rhamnose; Jal = 11-hydroxyhexadecanoyl; Mba = 2-methylbutanoyl; Dodeca = dodecanoyl; Cna = *trans*-cinnamoyl.

5.63) in the pyranose ring.¹⁰ Esterification of macrocyclic unit A by the acyclic unit B was identified by the observable 3J connectivity between the carbonyl group for the ester at δ 174.8 and the proton at C-3 of the terminal rhamnose (Rha'', δ_{H} 5.62).

In batatin I (**1**), a nonanomeric proton signal (doublet of doublets, Rha'' H-2) paramagnetically shifted to δ_{H} 5.99 indicated the presence of esterification at a different site than that observed in compounds **2** and **3**, as well as the ^{13}C – ^1H long-range connectivity ($^3J_{\text{CH}}$) between the carbonyl carbon (δ_{C} 166.8) of the *trans*-cinnamoyl residue with this proton resonance in unit B. In batatin II (**2**), ^1H NMR signals of units A and B were almost superimposable, indicating that the esterification sites in monomers A and B are the same, so the conclusion was made that a *trans*-cinnamoyl residue is located in the same Rha'' position of both monomeric units. Batatin II (**2**) represents a homodimer of the new batatino-side I (**3**).

Spectroscopic simulation was used to duplicate definitively the registered ^1H NMR (500 MHz) data and thus permit the correct assignment for the chemical shifts and coupling constants of all superimposed protons in **1** and **2**. Chemical shifts were estimated from TOCSY, COSY, and HMQC experiments. ^1H NMR simulation for each monosaccharide unit provided the correct chemical shift and coupling constant values for the tightly coupled protons.¹⁰ In the case of the nonsuperimposed protons, as many of the coupling

constants as possible were estimated from the ^1H NMR spectrum. In some cases, such as the triplet at ca. 6.08 ppm, the multiplicity pattern was evident by visual inspection. In other cases, such as the four-line pattern centered at ca. 5.81 ppm, an anomeric rhamnose and two overlapping H-2 doublets of doublets for rhamnose signals were uncovered by careful analysis. Where coupling constants could not be estimated directly from the spectrum, rhamnose chemical shifts and coupling constants from compound **3** were used as initial estimates for the second-order analysis. The parameters were varied until an optimal agreement between measured and calculated spectra was achieved, as shown in Figure 2 for compound **1**. This methodology employed the MestRe-C program. A system of 24 nuclei was simulated for the proton signals located in the downfield region between δ 4.75 to 6.40 for compound **1**. NMR simulation was applied where a visual NMR analysis was impossible, as in the example of the multiple signal centered at δ 5.58–5.65. Here the anomeric protons in both units A and B of Rha' (blue) and Rha''' (red) as well as the doublet of doublets for unit A proton H-3 in Rha (purple) and Rha''' (red) moieties overlapped and produced a non-first-order resolution. The superposition of the simulated patterns for each monosaccharide unit duplicated this complex signal in the measured ^1H NMR spectrum (Figure 2). The chemical shifts and coupling constants used to calculate the final dimeric oligosaccharide spectra are summarized in Table 1.

Table 2. ^{13}C NMR Data of Compounds 1–3 (125.7 MHz)^a

carbon ^b	1		2		3
	unit A	unit B	unit A	unit B	
Fuc-1	101.6	101.6	101.6	101.6	101.6
2	73.4	73.4	73.4	73.4	73.5
3	76.6	76.6	76.6	76.6	76.6
4	73.6	73.6	73.6	73.6	73.6
5	71.3	71.3	71.2	71.2	71.3
6	17.2	17.2	17.2	17.2	17.2
Rha-1	100.2	100.3	100.3	100.3	100.2
2	69.8	69.8	69.8	69.8	69.8
3	78.0	72.5	78.0	72.5	78.0
4	77.2	77.2	77.2	77.2	77.2
5	67.9	67.9	67.9	67.9	67.9
6	19.2	19.3	19.3	19.3	19.2
Rha'-1	99.0	98.8	99.0	98.8	99.0
2	72.8	72.8	72.8	72.8	72.8
3	79.8	79.1	79.8	79.8	79.8
4	80.0	80.0	80.0	80.0	80.0
5	68.4	68.5	68.4	68.5	68.4
6	18.8	18.8	18.8	18.8	18.8
Rha''-1	103.7	100.5	103.7	103.8	103.7
2	70.0	74.0	70.0	70.0	70.0
3	73.3	68.1	73.3	73.3	73.3
4	71.7	75.1	71.7	72.7	71.7
5	68.2	68.4	68.2	68.4	68.2
6	17.8	18.0	17.8	17.8	17.8
Rha'''-1	104.6	104.5	104.6	104.5	104.5
2	72.2	72.7	72.5	72.7	72.7
3	78.0	72.4	78.0	72.4	72.4
4	73.6	73.6	73.6	73.6	73.6
5	70.6	70.8	70.6	70.8	70.8
6	18.9	18.8	18.8	18.8	18.8
Jal-1	174.7	174.8	174.7	174.8	174.7
2	33.9	33.8	33.9	33.9	33.9
11	79.5	79.4	79.5	79.5	79.5
16	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5
Mba-1	175.4	175.4	175.4	175.4	175.4
2	41.4	41.4	41.4	41.4	41.4
2-Me	16.9	16.9	16.9	16.9	16.9
3-Me	11.8	11.8	11.8	11.8	11.8
Cna-7	118.4	118.4	118.4	118.4	118.4
8	128.6	128.6	128.6	128.7	128.6
	129.2 (× 2)	129.0 (× 2)	129.2 (× 2)	129.2 (× 2)	129.2 (× 2)
	130.7 (× 2)	130.5 (× 2)	130.7 (× 2)	130.5 (× 2)	130.7 (× 2)
	134.7	134.7	134.7	134.7	134.7
	145.4	145.6	145.4	145.6	145.4
9	166.2	166.8	166.2	166.8	166.2
Dodeca-1	173.2	173.5	173.2	173.5	173.2
2	34.6	34.6	34.6	34.6	34.6
12	14.3	14.3	14.3	14.3	14.3

^aData recorded in $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$. Chemical shifts (δ) are in ppm relative to TMS. All assignments are based on HMQC and HMBC experiments.

^bAbbreviations: Fuc = fucose; Rha = rhamnose; Jal = 11-hydroxyhexadecanoyl; Mba = 2-methylbutanoyl; Dodeca = dodecanoyl; Cna = *trans*-cinnamoyl.

The glycolipid ester-type dimeric structure assigned for batatin I (1) was (11*S*)-hydroxyhexadecanoic acid 11-*O*- α -L-[3-*O*-(11*S*-hydroxyhexadecanoyl)-11-*O*- α -L-rhamnopyranosyl]-{2-*O*-(*trans*-cinnamoyl)-4-*O*-(*n*-dodecanoyl)}-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-{2-*O*-(2-*S*-methylbutanoyl) (1 \rightarrow 3)-*O*- α -L-rhamnopyranosyl}rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-*O*- β -D-fucopyranoside]-rhamnopyranosyl-{3-*O*-(*trans*-cinnamoyl)-4-*O*-(*n*-dodecanoyl)}-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-{2-*O*-(2*S*-methylbutanoyl)-(1 \rightarrow 3)-*O*- α -L-rhamnopyranosyl}rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-*O*- β -D-fucopyranoside-(1,3''-lactone). The structure established for its isomer batatin II (2) was (11*S*)-hydroxyhexadecanoic acid 11-*O*- α -L-[3-*O*-(11*S*-hydroxyhexadecanoyl)-11-*O*- α -L-rhamnopyranosyl]-{3-*O*-(*trans*-cinnamoyl)-4-*O*-(*n*-dodecanoyl)}-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-{2-*O*-(2-*S*-methylbutanoyl)(1 \rightarrow 3)-*O*- α -L-rhamnopyranosyl}-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-*O*- β -D-fucopyranoside]-rhamnopyranosyl-{3-*O*-(*trans*-cinnamoyl)-4-*O*-(*n*-dodecanoyl)}-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-{2-*O*-(2*S*-methylbutanoyl)-(1 \rightarrow 3)-*O*- α -L-rhamnopyranosyl}rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-*O*- β -D-fucopyranoside-(1,3''-lactone). This type of dimeric

resin glycosides has been identified in only two other morning-glory species. The first of these yielded merremine, isolated from the roots of *Merremia hungaiensis*,¹⁶ a Chinese medicinal plant. The second yielded tricolorins H–J from the aerial parts of *I. tricolor*, a species used as a cover crop in traditional agriculture in the tropical zones of Mexico.¹⁵

It has been hypothesized that, in actuality, the resin glycosides of *Ipomoea* species could form large, high molecular weight polar polymers.^{16,19} Difficulties in their investigation have arisen from their poor solubility in less polar organic solvents, which makes isolation and purification problematic, except for more highly acylated lipophilic resin glycosides such as the batatins. It is also possible that these polymers aggregate in aqueous solutions and form micelles, which could perturb cell membranes through an ion-driven efflux provoking surface interactions with target cells. A clue to this possibility is found in the example of the crystalline state of tricolorin A.²⁰

Experimental Section

General Experimental Procedures. All melting points were determined on a Fisher-Johns apparatus and are uncorrected. Optical rotations were measured with a Perkin-Elmer model 241 polarimeter. ^1H (500 MHz) and ^{13}C (125.7 MHz) NMR experiments were conducted on a Bruker DMX-500 instrument. The NMR techniques were performed according to previously described methodology.¹⁵ The instrumentation used for HPLC analysis consisted of a Waters (Millipore Corp., Waters Chromatography Division, Milford, MA) 600E multi-solvent delivery system equipped with a photodiode UV detector (Waters 996) at 254 nm. Positive-ion LRFABMS were recorded using a matrix of triethanolamine on a JEOL SX102A spectrometer. Negative- and positive-ion ESIMS experiments were performed on a VG Quattro triple quadrupole instrument (Micromass, Beverly, MA). Nitrogen was used as both nebulizing and drying gas. Mass spectra were acquired over a range of 100–3000 Da in 5 s/scan using electrospray ionization with cone voltage set to 30 V. The sample was dissolved in 1:1 MeOH–H₂O with 0.1% formic acid and infused via syringe. High-resolution FTMS data were acquired using a Bruker-Daltonics APEX II Fourier transform mass spectrometer, equipped with a 9.4 T passively shielded superconducting magnet and an external ESI ion source. GC-MS was performed on a Hewlett-Packard 5890-II instrument coupled to a JEOL SX-102A spectrometer. GC conditions: HP-5MS (5% phenyl)-methylpolysiloxane column (30 m \times 0.25 mm, film thickness 0.25 μm); He, linear velocity, 30 cm/s; 50 $^\circ\text{C}$ isothermal for 3 min, linear gradient to 300 $^\circ\text{C}$ at 20 $^\circ\text{C}/\text{min}$; final temperature hold, 10 min. MS conditions: ionization energy, 70 eV; ion source temperature, 280 $^\circ\text{C}$; interface temperature, 300 $^\circ\text{C}$; scan speed, 2 scans s^{-1} ; mass range, 33–880 amu. NMR spectroscopic simulation was carried out with the MestRe-C 4.0 program (Mestrelab Research, Santiago de Compostela, Spain).

Plant Material. The roots of *I. batatas* var. *batatas* (cv. Picadito) were collected in plantations in Salvatierra, Guanajuato, Mexico, in 1999. The plant material was identified by Dr. Robert Bye. A voucher specimen (R. Bye FB 1314) was deposited in the Ethnobotanical Collection of the National Herbarium (MEXU), Instituto de Biología, UNAM.

Extraction and Isolation. The powdered dry roots (2.6 kg) of *I. batatas* var. *batatas* were extracted by maceration at room temperature with hexane to give, after removal of the solvent, a dark orange syrup (13.1 g). The crude extract prepared from the herbal drug was subjected to column chromatography over silica gel (150 g) using gradients of CH_2Cl_2 in hexane and Me_2CO in CH_2Cl_2 . A total of 185 fractions (200 mL each) were collected and combined to give several pools containing mixtures of resin glycosides. The most lipophilic fractions (59–64), eluted with CH_2Cl_2 – Me_2CO (7:3) and rich in resin glycosides, were pooled and subjected to column chromatography over silica gel (30 g) using a gradient of MeOH in CHCl_3 to eliminate the pigmented residues. The process was monitored by TLC, and a total of 20 fractions (20 mL each) were collected and combined, yielding from the fraction eluted with CHCl_3 –MeOH (9:1) a mixture of lipophilic oligosaccharides (945 mg).

Recycling HPLC Separation. The analytical HPLC separations were done on a Symmetry C₁₈ column (Waters; 5 mm, 4.6 \times 250 mm)

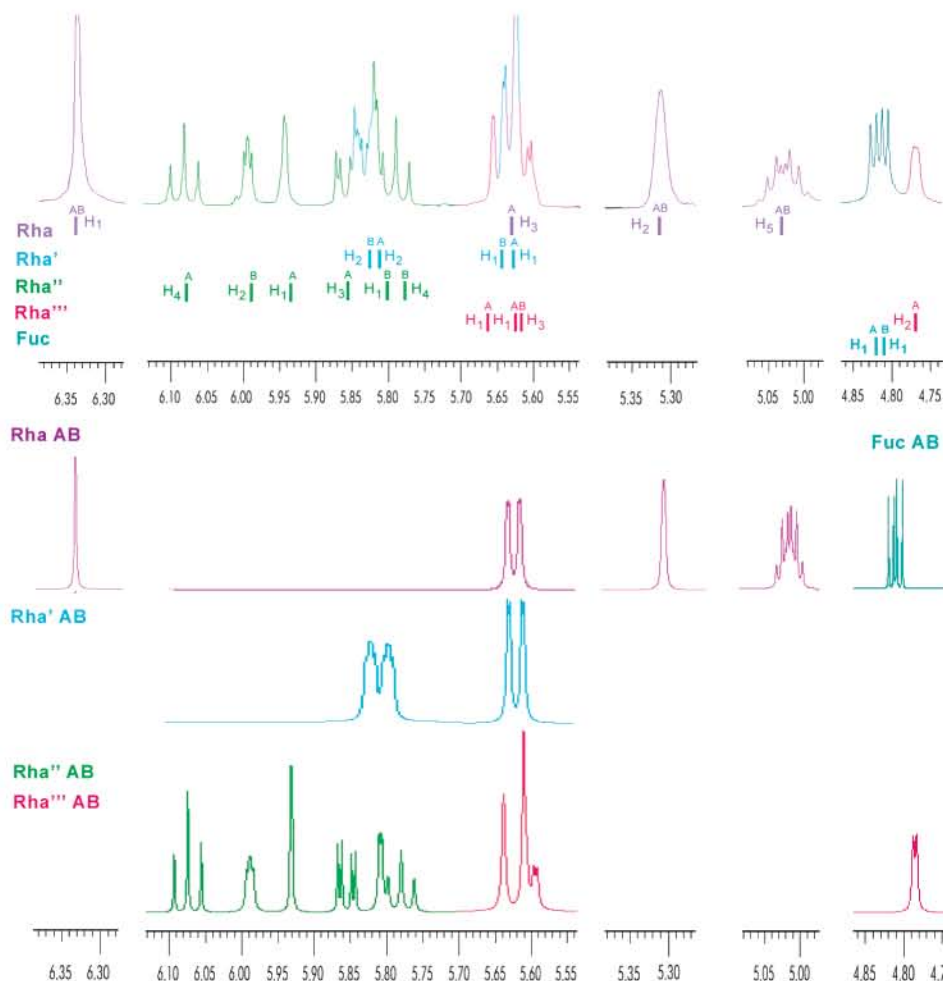


Figure 2. Simulation of the anomeric region of the ^1H NMR spectrum of batatin I (**1**). The top trace is the measured 500 MHz spectrum, resolution enhanced. Peaks are color coded for each rhamnose and fucose monomers of units A and B. Actual chemical shifts are depicted along the bottom of the top plots. Below are the simulated spectra for each of the units. The H_n descriptors denote a specific position for each sugar unit.

with an isocratic elution of CH_3CN – MeOH (9:1), a flow rate of 0.7 mL/min, and a sample injection of 20 mL (3 mg/mL). The crude fraction was subjected to preparative HPLC on a reversed-phase C_{18} column (7 mm, 19×300 mm). The elution was isocratic with CH_3CN – MeOH (9:1) using a flow rate of 9 mL/min. Eluates across the peaks with t_R of 20.2 min (peak I), 21.6 min (peak II), and 22.9 min (peak III) were collected by the technique of heart cutting and independently reinjected in the apparatus operated in the recycle mode²¹ to achieve total homogeneity after 10–20 consecutive cycles employing the same isocratic elution. These techniques afforded pure compounds **1** (17.3 mg) from peak II; **2** (14.6 mg) from peak I, and **3** (6.7 mg) from peak III.

Batatin I (1): white powder; mp 117–120 °C; $[\alpha]_D -38$ (c 1.0, MeOH); ^1H and ^{13}C NMR, see Tables 1 and 2; negative HRESIMS m/z 2760.5654 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{144}\text{H}_{231}\text{O}_{50} + 4.40$ ppm).

Batatin II (2): white powder; mp 124–130 °C; $[\alpha]_D -33$ (c 0.1, MeOH); ^1H and ^{13}C NMR, see Tables 1 and 2; negative HRESIMS m/z 2760.5602 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{144}\text{H}_{231}\text{O}_{50} + 2.50$ ppm).

Batatinoside I (3): white powder; mp 126–130 °C; $[\alpha]_D -24$ (c 1.0, MeOH); ^1H and ^{13}C NMR, see Tables 1 and 2; negative FABMS m/z 1379 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 1249 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_9\text{H}_6\text{O}]^-$, 921, 837, 545, 417; positive HRESIMS m/z 1381.7878 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{72}\text{H}_{117}\text{O}_{25} + 1.72$ ppm).

Alkaline Hydrolysis of Compounds 1–3. Individual solutions of compounds **1–3** (10 mg) in 5% KOH – H_2O (3 mL) were refluxed at 95 °C for 2 h. The reaction mixtures were acidified to pH 4.0 and extracted with CHCl_3 (10 mL). The organic layers were washed with H_2O , dried over anhydrous Na_2SO_4 , and evaporated under reduced pressure. Each residue was directly analyzed by GC-MS, and three peaks were detected: 2-methylbutanoic acid (t_R 7.2 min), m/z $[\text{M}]^+$ 102 (3), 87 (33), 74 (100), 57 (50), 41 (28), 39 (8); cinnamic acid (t_R

16.5 min), m/z $[\text{M}]^+$ 148 (100), 147 (96), 131 (25), 103 (40), 102 (20), 77 (25), 74 (8), 51 (20), 50 (8), 39 (5), 38 (4); and *n*-dodecanoic acid (t_R 17.8 min), m/z $[\text{M}]^+$ 200 (15), 183 (2), 171 (18), 157 (40), 143 (10), 129 (48), 115 (20), 101 (15), 85 (33), 73 (100), 60 (80), 57 (30), 55 (47), 43 (30). The preparation and identification of 4-bromophenacyl (2*S*)-2-methylbutyrate²¹ from compounds **1–3** were performed according to previously reported²² procedures: mp 40–42 °C; $[\alpha]_D +18$ (c 1.0, MeOH); GC-MS (t_R 4.75 min) m/z $[\text{M} + 2]^+$ 272 (6.8), $[\text{M}]^+$ 270 (7.3), 254 (3.8), 252 (3.8), 186 (2.1), 172 (8.6), 171 (100), 70 (9.7), 169 (88.7), 90 (13.9), 89 (23.4), 85 (11.5), 63 (5.3), 57 (19), 51 (2.3), 50 (2.9), 41 (8.5), 39 (9.4). The aqueous phase from each reaction was extracted with *n*-BuOH (5 mL) and concentrated to give a colorless solid. The residue was methylated with CH_2N_2 to yield simonic acid B methyl ester. The physical and spectroscopic constants (^1H and ^{13}C NMR) registered for this derivative⁹ were identical in all aspects to those previously reported: white powder; mp 113–115 °C; $[\alpha]_D -82.5$ (c 1.0, MeOH); HRFABMS m/z 1015.5322 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{47}\text{H}_{83}\text{O}_{23}$ requires 1015.5325).

Acknowledgment. This research was partially supported by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT: 45861-Q). E.E.-S. is grateful to CONACyT for a graduate student scholarship. Thanks are due to T. Gibson (University of Reading, UK), G. Duarte, and M. Guzmán (“Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación”, Facultad de Química, UNAM) for the recording of mass spectra. We are grateful to Dr. C. M. Cerda-García-Rojas (CINVESTAV, Instituto Politécnico Nacional) for his advice during the NMR simulation studies. We also wish to thank Dr. M. Frago-so-Serrano (Facultad de Química, UNAM) for technical assistance.

References and Notes

- (1) The sweet potato is called “camote” in Mexico, the word deriving from the Nahuatl “camohtli” and referring to an edible root or potato of the family Convolvulaceae. In the Aztec treasury of herbal remedies “De la Cruz-Badianus Manuscript” (1552) or “Little Book of Indian Medicinal Herbs” (*Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*) seven species of morning-glories were included with their therapeutic descriptions in Latin. One of these illustrates (Folio 28 verso) a bindweed called “*Tlacacamohltli*” (Nahuatl, noble edible root, “*tlaca*”, “*tlacatl*” = noble) prescribed to cure heat in the heart (*contra cordis calorem*) and also to reduce excessive heat of the body. The illustration represents a tuberous rooted red-flowered *Ipomoea* species, the sweet potato, as its indigenous name indicates. See: Emmart, E. W. *The Badianus Manuscript (Codex Barberini, Latin 241). An Aztec Herbal of 1552*; The Johns Hopkins Press: Baltimore, 1940; pp 252–253.
- (2) Dr. Francisco Hernández (1515–1587), King Phillip II’s chief medical officer in the Spanish colonies in the New World (1570–1577), was the first trained scientist to gather ethnobotanical information directly from Aztec healers and to assess the medicinal usefulness of the natural resources found in the central area of Mexico. He described the nutritious properties and the manner of cultivation of “*cacamotli*” and mentioned four varieties named long ago on the basis of their skin and flesh colors: “The root is sometimes red on the outside and white inside, and is called “*acamotli*”. If the outer skin is purple and the inner part white, it is called “*ihaicamotli*”. If the outside is white and the inside yellow with a reddish tinge, it is called “*xochicamotli*”. There are times when both the inside and the outside are red or completely white, and then it is called “*camocpalcamotli*” or “*poxcauhcamotli*”: names bestowed many centuries ago according to the variety of the colors.” In contemporary Mexico and Brazil, there are four cultivated varieties recognized by their different skin colors: white, yellow, red, and purple. See: Hernández, F. *The Mexican Treasury: The Writings of Dr. Francisco Hernández*; Varey, S., Ed.; Stanford University Press: Stanford, 2000; p 184.
- (3) The awareness of the role played by the sweet potato in Europe was not properly appreciated until recently due partially to a linguistic confusion perpetuated by herbals. Whereas the native word “*batata*” and “*patata*” were used in Spanish to indicate the sweet potato and the common one, respectively, in English they were joined together under the word “*potato*”, which was used to indicate both species. Perhaps, the best known reference reinforcing this confusion comes from John Gerard’s *General History of Plants* (1597), where he asserted an Andean origin to the sweet potato (*Sisarum peruvianum*) while claiming that the ordinary potato originated in the English colony of Virginia (*Battata virginiana*). The potato that William Shakespeare mentions in the *Merry Wives of Windsor* is the sweet potato. See: Gerard, J. *The Herbal or General History of Plants*; Dover: New York, 1975; pp 925–928.
- (4) In the United States, two varieties are common: the dry, mealy, “yellow sweet potato”, and the watery, orange “yam”, which in reality is not a true yam (*Dioscorea* spp.). This root crop is generally eaten boiled, baked, fried, or dried, and ground into syrup or flour to make biscuits, bread, pastries, and candy. Tubers are also dehydrated into “chips”, cooked, frozen, creamed, and used as pie fillings in the same manner as pumpkins. The foliage and the tuber are also valued as feed for farm animals. The yellow and orange pigments in the pulp of the tuber are carotenoids and therefore a rich source of vitamin A. Over one-fourth is carbohydrates, mostly starch, but the sweet taste indicates that sucrose is also present, especially in the watery yams (3–6% w/w).
- (5) Sweet potatoes are currently believed to have been brought to Polynesia by sea from South America around 1000 B.C. Historical records indicate that sweet potatoes were introduced into India, Malaysia, Indonesia, and the Philippines in the 16th century, reaching Fujian, mainland China in 1584. They first reached Japan at Miyakojima Island, in 1597. Asia accounts for 90% of the world production of 130 million tons, with China alone producing 86%.
- (6) Mata, R.; Pereda-Miranda, R.; Lotina-Hennsen, B. In *Secondary Metabolites from Mexican Plants: Chemistry and Biological Properties*; Rodríguez-Hann, L., Pandalai, S. G., Eds.; Research Signpost: Trivandrum, India, 1996; pp 59–68.
- (7) Hartwell, J. L. *Lloydia* **1968**, *31*, 71–170.
- (8) In Mexico, traditional healers classify illnesses and herbal remedies as “hot” or “cold”. A hot–cold imbalance must be redressed by the ingestion of contrary elements. For the hot–cold dichotomy, see: (a) López Austin, A. *The Human Body and Ideology. Concepts of the Ancient Nahuas*; University of Utah Press: Salt Lake City, 1988; pp 270–282. (b) Ortiz de Montellano, B. R. *Aztec Medicine, Health, and Nutrition*; Rutgers University Press: New Brunswick, NJ, 1990; pp 213–235.
- (9) Noda, N.; Yoda, S.; Kawasaki, T.; Miyahara, K. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*, 3163–3168.
- (10) Pereda-Miranda, R.; Bah, M. *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, *3*, 111–131.
- (11) (a) Podányi, B.; Reid, R. S.; Kocsis, A.; Szabó, L. *J. Nat. Prod.* **1989**, *52*, 135–142. (b) Allerding, E.; Ralph, J.; Schatz, P. F.; Gniechwitz, D.; Steinhart, H.; Bunzel, M. *Phytochemistry* **2005**, *66*, 113–124.
- (12) (a) Noda, N.; Takahashi, N.; Kawasaki, T.; Miyahara, K.; Yang, C.-R. *Phytochemistry* **1994**, *36*, 365–371. (b) Noda, N.; Takahashi, N.; Miyahara, K.; Yang, C.-R. *Phytochemistry* **1998**, *48*, 837–841.
- (13) Chérido, L.; Pereda-Miranda, R. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 595–599.
- (14) Pereda-Miranda, R.; Escalante-Sánchez, E.; Escobedo-Martínez, C. *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 226–230.
- (15) Bah, M.; Pereda-Miranda, R. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 9007–9022.
- (16) Noda, N.; Tsuji, K.; Kawasaki, T.; Miyahara, K.; Hanazono, H.; Yang, C.-R. *Chem. Pharm. Bull.* **1995**, *43*, 1061–1063.
- (17) Lee, J.-B.; Hayashi, T.; Hayashi, K.; Sankawa, U. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 136–138.
- (18) Duus, J. Ø.; Gotfredsen, H.; Block, K. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4589–4614.
- (19) MacLeod, J. K.; Ward, A. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 467–471.
- (20) Rencurosi, A.; Mitchell, E. P.; Cioci, G.; Pérez, S.; Pereda-Miranda, R.; Imbert, A. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 5918–5922.
- (21) Pereda-Miranda, R.; Hernández-Carlos, B. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 3145–3154.
- (22) Miyahara, K.; Du, X.-M.; Watanabe, M.; Sugimura, C.; Yahara, S.; Nohara, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1996**, *44*, 481–485.

NP070093Z

Profiling of the Resin Glycoside Content of Mexican Jalap Roots with Purgative Activity[†]

Rogelio Pereda-Miranda,^{*,‡} Mabel Fragoso-Serrano,[‡] Edgar Escalante-Sánchez,[‡] Beatriz Hernández-Carlos,[‡] Edelmira Linares,[§] and Robert Bye[§]

Departamento de Farmacia, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Mexico City 04510 DF, Mexico, and Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Mexico City 04510 DF, Mexico

Received June 24, 2006

Mexican Jalap roots, a prehispanic medicinal plant complex still considered to be a useful laxative, can be found as an ingredient in some over-the-counter products sold by herbalists in contemporary Mexico. The drug is prepared from the dried roots of several morning glories, all of which have been identified as members of the genus *Ipomoea*. Analysis of several commercial samples was assessed by generating HPLC and ¹³C NMR spectroscopic profiles of the glycosidic acids obtained through saponification of the resin glycoside contents. These profiles distinguish the three Mexican jalaps currently in frequent use and can serve as analytical tools for the authentication and quality control of these purgative herbal drugs. *Ipomoea purga*, the authentic “jalap root”, yielded two new hexasaccharides of convolvulinic and jalapinolic acids, purgic acids A (**1**) and B (**2**), respectively. Scammonic acid A (**3**), a tetrasaccharide, was produced from *Ipomoea orizabensis*, the Mexican scammony or false jalap. Operculinic acid B (**4**), a pentasaccharide, was identified in *Ipomoea stans*. Semipreparative HPLC was performed to obtain pure samples of new compounds **1** and **2** in sufficient quantity to elucidate their structure by high-field NMR spectroscopy. Purgic acid A (**1**) was identified as (11*S*)-hydroxytetradecanoic acid 11-*O*-β-*D*-quinovopyranosyl-(1→2)-*O*-β-*D*-glucopyranosyl-(1→3)-*O*-[β-*D*-fucopyranosyl-(1→4)]-*O*-α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→2)-*O*-β-*D*-glucopyranosyl-(1→2)-*O*-β-*D*-quinovopyranoside, while purgic acid B (**2**) was characterized with (11*S*)-hydroxyhexadecanoic acid as its aglycon but having the same glycosidation sequence in the oligosaccharide core.

“*Cacamótic tlanouiloni*”,¹ the Aztec term for purgative remedies that consisted of diverse kinds of tuber-shaped roots, including “*tlalantlacacuitlapilli*” (“purgative root of Michoacán”),² varied in morphological characteristics, habitat, and potency of their physiological effects. In the literature, the plant members of this medicinal plant complex (MPC)³ have been identified as belonging to the genus *Ipomoea* (Convolvulaceae) and are currently recognized as *I. purga* (Wender) Hayne, *I. orizabensis* (Pelletan) Lebed. ex Steud., *I. stans* Cav., *I. jalapa* (L.) Pursh, *I. batatas* (L.) Lam., and *I. simulans* Hanbury, along with others less often used.⁴ These perennial, herbaceous bindweeds with cathartic, acrid-tasting, and resin-producing roots attracted the attention of the Spanish colonists, since their purgative properties were important to 16th century European galenic medicine.⁵

The MPC of Mexican purgative roots was readily accepted as a New World succedaneum of the scammonia or scammony⁶ MPC that had been used since pre-Christian times (e.g., Syrian or purging bindweed in 17th century England).⁷ The most important of these remedies was the “root of Michoacán” known in English herbals as Indian Rhubarb, which was illustrated in the *Codex de la Cruz-Badiano* (an Aztec herbal of 1552) and prescribed by Aztec healers for purgative purposes.⁸ The precise identification of this root was much disputed, although it is now agreed that it is *I. purga*.⁹ In recognition of its important benefits, the colonists bestowed the vernacular name “Jalapá” on this signature species (“official jalap” or “Rhizoma Jalapa”), which they found in abundance in the tropical region of Xalapa, in the state of Veracruz. A second purgative root likewise restricted to the tropical areas in the Gulf of Mexico, “Orizaba jalap”, identified as *I. orizabensis*, is often referred to as “false jalap”, “light jalap”, or “Mexican scammony” and used as a

substitute for jalap root. A third morning glory with laxative qualities, but from the Mexican highlands, is now known to be the dry root of *I. stans* (“tumbavaquero” roots); it was used in the treatment of kidney inflammation, bile disorders, and epileptic attacks¹⁰ and currently, in combination with other medicinal plants, is employed for nervous disorders.¹¹ In addition to their use as purgatives, the MPC of Mexican jalaps has been employed as an antihelmintic and galactagogue and in the treatment of abdominal fever, dysentery, epilepsy, hydrocephaly, skin spots, meningitis, and tumors.¹² A decoction of the root of *I. purga* is normally prepared using a 2 cm section of root to a liter of water. The usual recommendation is to drink one cup of the cold decoction, before bedtime.¹³ Contemporary data on commercialization of jalap root are scarce.¹⁴ Today, the three species are easily found in the numerous Mexican herbal markets or as an ingredient in over-the-counter products sold in health food stores in Mexico and the United States.¹⁵ Most of the ethnobotanical, anatomical, and chemical descriptions of these purgative roots found in the literature are confusing and not scientifically traceable. There is an obvious question as to whether much of the exportation from Mexico during more than 450 years was actually jalap root or a mixture of the roots of different species of *Ipomoea* (closely related to *I. purga* or not).¹⁶

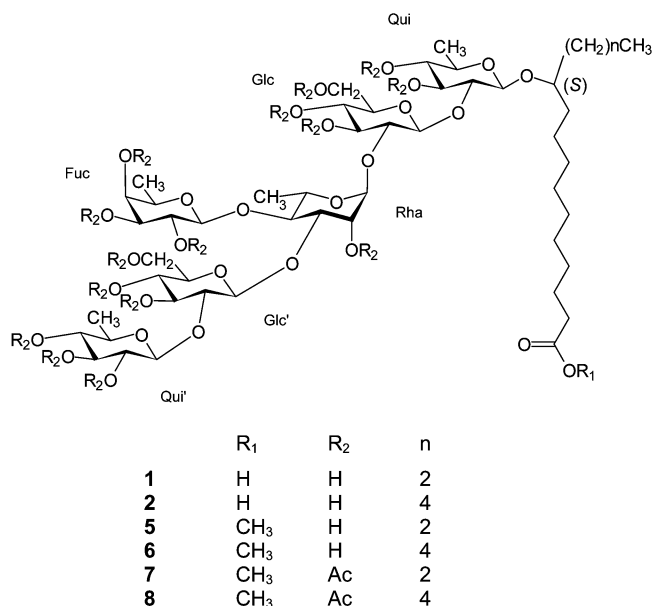
As part of a continuing effort to elucidate the structural diversity found in the convolvulaceous resin glycosides,¹⁷ the present study focuses on the chemical differences found among the Mexican jalap roots, *I. purga* (Figure S1, Supporting Information), the authentic jalap root, and the substitute species, *I. orizabensis*¹⁸ (Figure S2, Supporting Information) and *I. stans* (Figure S3, Supporting Information). This research involved the generation of HPLC and ¹³C NMR spectroscopic profiles of their respective glycosidic acid components, which are the saponification derivatives of the resin glycosides. In the case of the new purgic acids A (**1**) and B (**2**), multiple semipreparative HPLC collections were performed to obtain pure samples in sufficient quantities to elucidate their structures.

[†] This work was taken in part from the Ph.D. theses of E. Escalante-Sánchez and B. Hernández-Carlos.

* To whom correspondence should be addressed. Tel: +52-55-5622-5288. Fax: +52-55-5622-5329. E-mail: pereda@servidor.unam.mx.

[‡] Facultad de Química.

[§] Jardín Botánico, Instituto de Biología.



Results and Discussion

Convolvulaceous resin glycosides are a challenging group of molecules to separate and purify. Difficulties encountered during the purification of these intact molecules are caused by the presence of isomeric structures with differing esters, determining the sites and extent of esterification, as well as variations in the sequence of glycosylation of the oligosaccharide cores.¹⁷ In many cases their high molecular weights and amphiphilic properties have prevented the HPLC isolation of pure samples needed as chromatographic standards to assess the quality of some commercial products.¹⁹ A common feature of all resin glycosides, either CHCl₃-soluble (“jalapin” or nonpolar fraction) or MeOH-soluble (“convolvulin” or polar fraction) residues,¹⁷ is the liberation of a major glycosidic acid upon hydrolysis. The same H₂O-soluble product is yielded from both fractions.²⁰ The structure of this product is distinctive enough for chromatographic and spectroscopic differentiation of the resin glycoside mixture in each species of *Ipomoea*. For the identification of these polar glycosidic acids in the three Mexican jalaps analyzed, CHCl₃ and MeOH extracts were prepared from authenticated samples and then subsequently submitted to saponification. The dried neutral aqueous phases from this hydrolysis were directly analyzed by ¹³C NMR spectroscopy (Figure 1) to generate data to be used as fingerprint tools for the pattern recognition of each jalap. The characteristic anomeric signals were easily distinguishable in the spectra and constituted a good starting point for structure elucidation. These resonances around δ 95–110, outside the bulk region (δ 60–80), permitted an immediate estimation of the number of different monosaccharide residues in each glycosidic acid and were used as structural “reporter” signals for each resin: a tetrasaccharide (3) for *I. orizabensis*, a pentasaccharide (4) for *I. stans*, and a hexasaccharide for *I. purga*. Each concentrate from these mixtures was analyzed by negative FABMS to identify the pseudomolecular ion [M – H][–].¹⁷

A carbohydrate HPLC separation (Figure 2) was performed by application of hydrophilic-interaction chromatography using an aminopropyl silane-base column,²¹ which, under isocratic conditions (CH₃CN–H₂O, 3:2), resolved the major oligosaccharide present in each analyzed commercial sample.²² This method allowed the efficient differentiation of each glycosidic acid with the following retention times (*t_R*): 6.6 min for purgic acid A (1) from authenticated jalap root (*I. purga*, sample code IP); 5.6 min for scammonic acid (3) from the “Mexican scammony” (*I. orizabensis*, sample code IO); and 11.8 min for operculinic acid B (4) from *I. stans* (sample code IS). These profiles were compared with those generated from commercial samples (Figures S4 and S5, Supporting Information).

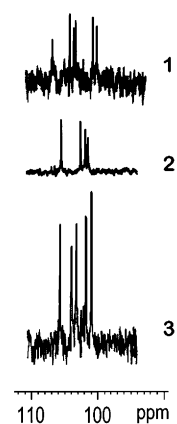


Figure 1. Expansion at 90–110 ppm of ¹³C NMR spectra of saponified crude extracts from authenticated Mexican jalap root samples: **1**, *Ipomoea purga* (“Rhizoma Jalapae”); **2**, *Ipomoea orizabensis* (“Mexican scammony”); **3**, *Ipomoea stans* (“tumbavaquero” root, a substitute or false jalap).

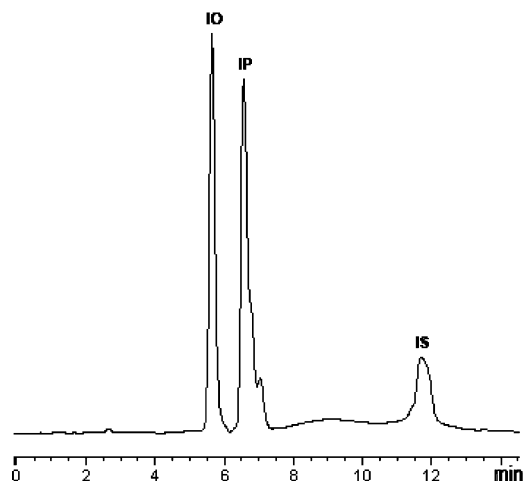
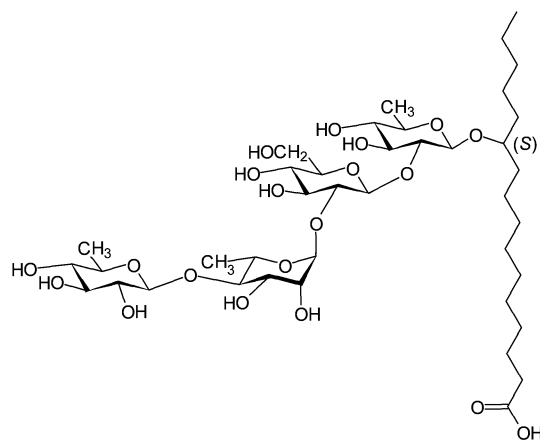
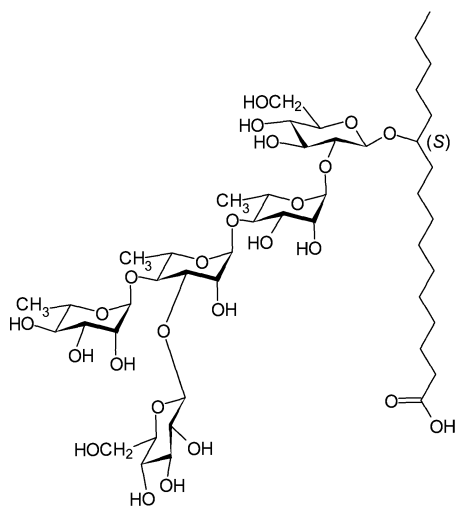


Figure 2. HPLC coelution profile of saponified crude MeOH extracts from authenticated Mexican jalap root samples. Instrumental conditions: stationary phase, standard column for carbohydrate analysis (3.9 × 300 mm, 10 μm; Waters); mobile phase, CH₃CN–H₂O (3:2); flow rate, 0.5 mL/min; injection volume, 20 μL (sample concentration: IP = 0.25 mg; IO = 0.125 mg; IS = 0.15 mg); detection: refractive index. Abbreviations used: IP, *Ipomoea purga*; IO, *Ipomoea orizabensis*; and IS, *Ipomoea stans*.

I. purga and *I. orizabensis* samples were also submitted to methylation (CH₂N₂ treatment) in order to reduce the polarity of the analytes and decrease the amount of water in the mobile phase (CH₃CN–H₂O, 4:1) in the HPLC analysis. Chromatograms exhibited no substantial difference in composition (Figure S4, Supporting Information) for the commercial powder (sample code IP-3), the two commercial root samples (codes IP-1 and IP-2), and the collected wild sample of the jalap root (code IP). Neither was there a significant difference displayed between the powdered commercial sample of false jalap (code IO-1) with that of the “Mexican scammony” crude resin (Figure S4, Supporting Information). However, the chromatogram for the commercial roots of “tumbavaquero” (*I. stans*, sample code IS-2) indicated adulteration with “Mexican scammony” (Figure S5, Supporting Information). Although “Mexican scammony” and “tumbavaquero” roots are so similar in appearance to the non-professionally trained eye as to be indistinguishable when cut into small sections (Figure S3, Supporting Information), our results proved that there is a significantly greater yield of resin glycosides in the “Mexican scammony” (Figure S6, Supporting Information).²³ The previous chemical



3



4

studies on *I. stans*²⁴ are consistent with our results for *I. orizabensis*,¹⁸ raising the question as to whether the previously analyzed samples were correctly identified or were in reality “Mexican scammony” or an adulterated sample.²⁵

Semipreparative HPLC was performed to obtain pure compounds from each saponified sample. Scammonic acid A (**3**)²⁶ and operculinic acid B (**4**)²⁷ were identified by comparison of NMR data with published values. New glycosidic acids **1** and **2** from *I. purga* were obtained in sufficient quantity to elucidate their structure (Figure S7, Supporting Information). The main approaches involved were the use of degradative chemical reactions to break up the large oligosaccharides and obtain smaller, more manageable molecules, together with the use of a combination of high-field NMR spectroscopy and high-resolution FABMS applied directly to the glycosidic acids as well as to their methylated and peracetylated derivatives. Compounds **1** and **2** were hydrolyzed in acid, and their Et₂O-soluble extract was methylated and then silylated. GC-MS analysis of the aglycon of **1** showed that the mass spectrum corresponded to that of the trimethylsilyl derivative of methyl 11-hydroxytetradecanoate because of the diagnostic α -cleavage ions at m/z 287 and 145. Compound **2** yielded methyl 11-hydroxyhexadecanoate (m/z 287 and 173) as the aglycon. The HPLC analysis of the aqueous phase of the acid hydrolyzate led to the identification of rhamnose, quinovose, fucose, and glucose in the approximate ratio 1:2:1:2. Coelution experiments with authentic samples confirmed these assignments and ratios.

High-resolution negative FABMS of compound **1** showed the $[M - H]^-$ ion at m/z 1151.5338, indicating a molecular formula of C₅₀H₈₇O₂₉ and accounting for the presence of a 11-hydroxytetradecanoic acid moiety glycosidically linked to a hexasaccharide

consisting of four deoxyhexose units (2 \times quinovose, 1 \times rhamnose, and 1 \times fucose) and two hexoses (glucose), with these results confirmed by HPLC of the acid hydrolysis mixture. The peak at m/z 1005 represented a mass difference of 146 (methylpentose unit) from the $[M - H]^-$ ion, indicating the loss of a terminal deoxyhexose. Cleavage at the next monosaccharide unit corresponded to the loss of glucose, affording the peak at m/z 843 $[1005 - 162$ (hexose unit)]⁻. The next intense peak at m/z 551 was 292 mass units lower and represented the loss of two methylpentose units, which indicated that the oligosaccharide core is branched at one of these two deoxyhexoses.²⁸ This was confirmed by additional minor peaks at m/z 859 $[M - H - 146 \times 2$ (two methylpentose units)]⁻ and 697 $[843 - 146$ (methylpentose unit)]⁻. The fragment ion at m/z 389 represented the loss of a glucose unit from the peak at m/z 551. The further loss of a methylpentose unit gave a peak at m/z 243, corresponding to the aglycon anion, 11-hydroxytetradecanoic acid (convolvulinic acid). Negative-ion FABMS of compound **2** was performed and provided an intense pseudo-molecular $[M - H]^-$ ion at m/z 1179. The difference of 28 mass units (two methylene groups) between compounds **1** and **2** as well as the production of the same general fragmentation pattern by glycosidic cleavage of each sugar moiety at m/z 1033, 887, 871, 725, 579, 417, and 271 confirmed the similar branched hexasaccharide core in both acids and the presence of 11-hydroxyhexadecanoic acid (jalapinic acid) as the aglycon for **2**.

The ¹H (Figure S8, Supporting Information) and ¹³C NMR data (Table 1) of the methyl ester derivatives **5** and **6** showed features generally similar to those of the known convolvulaceous resin glycosides,^{17,20} especially the hexasaccharide from cowvine (*I. lonchophylla*).²⁸ In the low-field region of the HMQC NMR spectrum, six anomeric signals were confirmed at δ 4.7 (1H, d, qui-1; δ_C 102.2); 5.7 (1H, d, glc-1; δ_C 102.4); 6.4 (1H, brs, 1.5, rha-1; δ_C 100.1); 6.2 (1H, d, glc'-1; δ_C 100.6); 5.1 (1H, d, qui'-1; δ_C 102); and 5.8 (1H, d, fuc-1; δ_C 102.9). Therefore, six separate spin systems for sugar skeletons were readily distinguished in the ¹H–¹H COSY and TOCSY spectra. This allowed for the assignment of chemical shift values for C-bonded protons in the six individual monosaccharide moieties, permitting the identification of each sugar unit. Carbon signals of each fragment were assigned by HMQC experiments. The inter-glycosidic connectivities were established on the basis of detailed long-range heteronuclear coupling correlations (³J_{CH}) by HMBC studies.¹⁷ For example, the following key correlations were observed in compounds **5** and **6**: (a) a connectivity between H-1 on the internal quinovose (δ 4.78) and C-11 of the fatty acid (δ 80.1); (b) H-1 on glucose (δ 5.7) with C-2 on the inner quinovose (δ 80.9); (c) H-1 on the external quinovose (δ 5.09) with C-2 on the external glucose' (δ 100.6). A significant signal overlap in the proton region δ 3.7–4.6 hampered complete assignments for the glycosidation sequence. To enhance signal dispersion, it was decided to prepare their peracetylated derivatives **7** and **8** (Figure S9, Supporting Information). COSY (Figure S10, Supporting Information), TOCSY, and HMQC (Figure S11, Supporting Information) were used to assign the important ¹H and ¹³C chemical shifts of each sugar unit. ROESY (Figure S12, Supporting Information) and HMBC correlations completed the linkage within the hexasaccharide core. The anomeric configuration in each sugar unit was deduced from a 2D ¹J_{CH} NMR experiment.¹⁷ For D-sugars in the ⁴C₁ conformation, the α -anomeric configuration (β -equatorial C–H bond) has a ¹J_{CH} value of 170 Hz, which is 10 Hz higher than that (ca. 160 Hz) for the β -anomer (α -axial C–H bond).²⁹ From the completely resolved multiplets for the six anomeric signals in the ¹³C NMR spectra of derivatives **5** and **6**, the ¹J_{CH} values for qui = 157 Hz, glc = 156 Hz, glc' = 162 Hz, fuc = 159, and qui' = 162 Hz supported their β -anomeric configurations, with the assumption made that all monosaccharides were in their naturally occurring forms, i.e., as D-sugars. The α -configuration was deduced for the L-rhamnopyranosyl unit (¹J_{CH} = 171 Hz).¹⁷ Therefore, the

Table 1. Assignments of ^1H and ^{13}C NMR Signals for Compounds **5** and **6** in $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}^a$

position ^b	5		6	
	δ H	δ C	δ H	δ C
qui-1	4.78 d (7.5)	102.4	4.76 d (7.5)	102.4
2	4.18–4.12*	80.9	4.18–4.12*	80.9
3	4.63 dd (9.0, 9.0)	78.5	4.62 dd (8.0, 8.0)	78.5
4	3.52 dd (9.0, 9.0)	77.1	3.52 dd (8.5, 8.5)	77.1
5	3.70 dq (9.0, 6.5)	72.1	3.68 dq (9.0, 6.0)	72.2
6	1.45 d (6.5)	18.3	1.44 d (6.0)	18.3
glu-1	5.75 d (8.0)	102.3	5.74 d (7.5)	102.3
2	4.35–4.23*	77.8	4.32–4.24*	77.8
3	4.35–4.23*	76.4	4.32–4.24*	76.4
4	4.05–3.97*	72.5	4.04–3.97*	72.5
5	3.80–3.74*	77.5	3.80–3.74*	77.5
6a	4.44 dd (11.0, 3.0)	62.8	4.43 dd (12.0, 2.5)	62.8
6b	4.25 dd (11.0, 6.0)		4.24 dd (12.0, 5.5)	
rha-1	6.45 d (1.5)	100.1	6.44 d (2.0)	100.1
2	4.85 dd (1.5, 3.0)	71.7	4.85**	71.8
3	5.30 dd (9.5, 3.0)	78.2	5.30 dd (9.5, 3.0)	78.2
4	4.81 dd (10.0, 9.5)	78.9	4.88 dd (9.5, 9.5)	78.9
5	5.20 dq (10.0, 6.0)	67.7	5.19 dq (9.5, 6.0)	67.7
6	1.95 d (6.0)	19.0	1.94 d (6.0)	19.0
glu'-1	6.23 d (7.5)	100.6	6.23 d (7.5)	100.6
2	4.09–3.97*	84.7	4.04–3.97*	84.8
3	4.52 dd (9.0, 9.0)	76.8	4.53 dd (8.5, 8.5)	76.7
4	4.05–3.97*	72.2	4.04–3.97*	72.3
5	4.18–4.12*	79.5	4.18–4.12*	79.5
6a	4.56–4.50*	63.3	4.55–4.50*	63.3
6b	4.18–4.12*		4.18–4.12*	
qui'-1	5.09 d (8.0)	104.8	5.09 d (8.0)	104.8
2	4.06 dd (9.0, 8.0)	76.1	4.06 dd (9.0, 8.0)	76.1
3	4.04–3.97*	77.5	4.04–4.00*	77.4
4	3.61 dd (9.5, 9.5)	76.8	3.62 dd (9.5, 9.0)	76.8
5	3.74 dq (9.5, 6.5)	73.6	3.74 dq (9.5, 6.0)	73.7
6	1.66 d (6.5)	18.6	1.66 d (6.0)	18.6
fuc-1	5.78 d (7.5)	102.9	5.77 d (7.5)	102.9
2	4.35–4.23*	73.4	4.32 dd (9.0, 7.5)	73.5
3	4.35–4.23*	74.9	4.32–4.24*	75.0
4	4.04–3.97*	72.8	4.04–3.97*	72.9
5	4.18–4.12*	71.0	4.18–4.12*	71.1
6	1.54 d (6.0)	16.9	1.53 d (6.5)	17.0
con-1		174.0		
2	2.32 t (7.0)	34.1		
11	3.81 m	80.1		
14	0.86 t (7.0)	14.3		
jal-1				174.0
2			2.32 t (8.0)	34.1
11			3.80 m	80.5
16			0.91 t (7.0)	14.2
MeO	3.40 s	51.2	3.63 s	51.6

^a 500 MHz for ^1H and 125.7 MHz for ^{13}C NMR. Chemical shifts (δ) are in ppm relative to TMS. The spin coupling (J) is given in parentheses (Hz). Chemical shifts marked with an asterisk (*) indicate overlapped signals. Spin-coupled patterns are designated as follows: s = singlet, d = doublet, t = triplet, m = multiplet, dq = doublet quartet. All assignments are based on ^1H – ^1H COSY, TOCSY, HMQC, and HMBC experiments. ^bAbbreviations: qui = quinovose; glu = glucose; rha = rhamnose; fuc = fucose; jal = 11-hydroxyhexadecanoyl; con = 11-hydroxytetradecanoyl.

structure of purgic acid A (**1**) was characterized as (11S)-hydroxytetradecanoic acid 11-*O*- β -D-quinovopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-*O*- β -D-fucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-*O*- β -D-quinovopyranoside, while purgic acid B (**2**) was found to possess (11S)-hydroxyhexadecanoic acid as its aglycon but having the same glycosidation sequence as **1** for the oligosaccharide core.

The identification of the active principles found to be effective in local herbal drugs through the use of HPLC and/or NMR profiling facilitates the prediction for therapeutic alternatives when signature species are not available. The verification of both signature species and substitutes is important to validate and standardize “genuine” herbal drugs in pharmacopoeias.

Experimental Section

General Experimental Procedures. All melting points were determined on a Fisher-Johns apparatus and are uncorrected. Optical rotations were measured with a Perkin-Elmer model 241 polarimeter. ^1H (500 MHz) and ^{13}C (125.7 MHz) NMR experiments were conducted on a Bruker DMX-500 instrument. Negative-ion LRFABMS and HRFABMS were recorded using a matrix of triethanolamine on a JEOL SX-102A spectrometer. The instrumentation used for HPLC analysis consisted of a Waters 600E multisolvent delivery system equipped with a Waters 410 differential refractometer detector (Waters Corporation, Milford, MA). Control of the equipment, data acquisition, processing, and management of chromatographic information were performed by the Millennium 32 software program (Waters). GC-MS was performed on a Hewlett-Packard 5890-II instrument coupled to a JEOL SX-102A spectrometer. GC conditions: HP-5MS (5%-phenyl)-methylpolysiloxane column (30 m \times 0.25 mm, film thickness 0.25 μm); He, linear velocity 30 cm/s; 50 $^\circ\text{C}$ isothermal for 3 min, linear gradient to 300 $^\circ\text{C}$ at 20 $^\circ\text{C}/\text{min}$; final temperature hold, 10 min. MS conditions: ionization energy, 70 eV; ion source temperature, 280 $^\circ\text{C}$; interface temperature, 300 $^\circ\text{C}$; scan speed, 2 scans s^{-1} ; mass range, 33–880 amu.

Plant Material. Roots of *Ipomoea purga* were collected in abandoned plantations in Coxmatla near Xico, Veracruz, Mexico, in November 1996. The plant material was identified by the botanist Alberto Linajes and then compared with previously deposited vouchers housed in the Herbarium of the Instituto de Ecología, A.C. (Ortega 380, 408, 475 XAL; Martínez-Vázquez 563, 613, 661, XAL). A voucher specimen was archived at the Departamento de Farmacia, Facultad de Química, UNAM (sample code IP). Two samples of the herbal drug “raíz de jalapa” (jalap root) and two of “tumbavaquero” (*I. stans*) were purchased in March 2002 and June 2004 at “Las Plantas Medicinales de América, S.A. de C.V.,” a herbal shop in Mexico City. A small sample of each drug (150 g) was visually examined and archived at the Departamento de Farmacia, Facultad de Química, UNAM. Voucher specimens (R. Pereda 01–02; sample codes IP-1, IP-2, IS-1, and IS-2, respectively) were deposited in the Ethnobotanical Collection of the National Herbarium (MEXU), Instituto de Biología, UNAM. Powdered, commercial samples of *I. purga* (R. Bye 26909; sample code IP-3, January 1999) and *I. orizabensis* (R. Bye 17761; sample code IO, March 1990; 26909; sample code IO-1, January 1999) were obtained from Laboratorios Mixim, S.A. de C.V. Mexico, manufacturers of botanical extracts, as was a crude commercial sample of “Mexican scammony” resin (R. Pereda 06; sample code IO-2), July 1997. The root of *I. stans* was collected in Tepeaculco, Hidalgo, Mexico, in February 2003. The plant was identified by two of the authors, R.B. and E.L. A voucher specimen (Bye & Linares 28184; sample code IS) was deposited at the Ethnobotanical Collection of the National Herbarium (MEXU), Instituto de Biología, UNAM.

Generation of HPLC Profiles. Samples for HPLC analysis were prepared as follows. In brief, each commercial herbal drug (20 g) was first extracted with CHCl_3 (500 mL) and then with MeOH (500 mL) for 24 h. The maceration was performed twice, and the solvents were removed at reduced pressure. A solution of each extract (200 mg) in 5% KOH– H_2O (5 mL) was refluxed at 95 $^\circ\text{C}$ for 2 h. The reaction mixture was acidified and extracted with CHCl_3 (20 mL) followed by EtOAc (20 mL). The aqueous phase was extracted with *n*-BuOH (10 mL), concentrated to dryness, filtered over Whatmann No. 1 paper after charcoal addition, and subsequently analyzed by HPLC.

The HPLC glycosidic acid profile for each saponified total extract or resin glycoside fraction was generated on a Waters standard column for carbohydrate analysis (aminopropylmethylsilyl-bonded amorphous silica; 3.9 \times 300 mm, 10 μm) with an isocratic elution of CH_3CN – H_2O (3:2), a flow rate of 0.5 mL/min, and a filtered (syringe filter with nylon membrane; 13 mm, 0.45 μm) sample injection of 10 μL (sample concentration: 10 mg/mL). Coelution experiments with the test samples afforded the corresponding HPLC profiles (Figure 2): t_R 5.6 min (IO: compound **3**), 6.6 min (IP: compound **1**), and 11.8 min (IS: compound **4**). In order to decrease the polarity of the analytes, the crude saponification mixtures of *I. purga* and *I. orizabensis* (100 mg) were treated with CH_2N_2 and directly analyzed by HPLC: elution, CH_3CN – H_2O (4:1); a flow rate of 0.5 mL/min, and an injection volume

of 10 μ L (sample concentration: 10 mg/mL): t_R 8.2 min (IO: compound **3** as a methyl ester) and 10.5 min (IP: compound **2** as a methyl ester).

Generation of ^{13}C NMR Profiles. The spectra were recorded on a Bruker DMX-500 spectrometer equipped with a multinuclear inverse detection probe with z-gradient, operating at 125.8 MHz. The spectra were measured at 298 K using $\text{C}_6\text{D}_5\text{N}$ solutions (sample concentration: 200 mg/mL) in 5 mm NMR tubes and referencing to TMS. The spectra were acquired using the zgdc pulse sequence in 32K files, a 10.0 μ s pulse (56 deg), and a relaxation delay of 800 ms. Typically, samples were measured using a spectral width of 31 500 Hz, an acquisition time of 160 ms, and a total of 82 000 scans.

Extraction and Isolation of Resin Glycoside Fractions. *Ipomoea purga* (IP): roots (1 kg) were powdered and defatted by maceration at room temperature with hexane. The residual material was extracted exhaustively with CHCl_3 and MeOH and after removal of the solvent afforded, in turn, a brownish extract (540 mg) and a dark brown syrup (170 g). The crude MeOH extract was subjected to column chromatography over silica gel (1 kg) in a gravity column using a mixture of MeOH- CHCl_3 - Me_2CO (5:12:3). A total of 100 fractions (150 mL each) was collected, and these were partially recombined to give several pools containing resin glycosides (165 g). *Ipomoea orizabensis* (IO): powdered commercial roots (1 kg) were defatted with hexane and extracted exhaustively with CHCl_3 by maceration at room temperature to give, after removal of the solvent, a brown syrup (160 g). Then, the plant material was extracted with MeOH to yield a dark brown syrup (659 mg), which was rich in simple carbohydrates. The crude CHCl_3 resinous extract was subjected to column chromatography over silica gel (500 g) using a gradient of MeOH and CHCl_3 . Eluates containing resin glycosides (R_f 0.58; TLC: silica gel 60 F₂₅₄ sheets; CHCl_3 -MeOH, 43:7) were combined (132 g). *Ipomoea stans* (IS): roots (3.5 kg) were powdered and defatted with hexane at room temperature. Then, the material was extracted with CHCl_3 -MeOH to give, after removal of solvents, a brownish, oily residue (142 g). The crude extract was subjected to column chromatography over silica gel (500 g) using CHCl_3 in hexane followed by a CHCl_3 -MeOH gradient. Elution with CHCl_3 -MeOH (9:1) afforded fractions (1.1 g) containing resin glycosides (R_f 0.61).

Alkaline Hydrolysis of Resin Glycoside Fractions. A solution of each crude resin glycoside fractions (200 mg) in 5% KOH- H_2O (5 mL) was refluxed at 95 $^\circ\text{C}$ for 3 h. Each reaction mixture was acidified to pH 4.0 and extracted with CHCl_3 (30 mL) followed by EtOAc (30 mL). The organic layers were combined, washed with H_2O , dried over anhydrous Na_2SO_4 , and evaporated under reduced pressure. The aqueous phase was extracted with *n*-BuOH (30 mL), concentrated to dryness, and analyzed by HPLC as described above. The residue from the organic phase was directly analyzed by GC-MS. *I. purga* afforded three peaks: 2-methylbutyric acid (t_R 5.06 min): m/z $[\text{M}]^+$ 102 (3), 87 (33), 74 (100), 57 (50), 41 (28), 39 (8); *n*-decanoic acid (t_R 9.65 min): m/z $[\text{M}]^+$ 172 (2), 155 (3), 143 (12), 129 (62), 115 (15), 112 (12), 87 (20), 73 (100), 60 (90), 57 (40), 55 (45), 43 (30), 41 (35), 39 (6); and *n*-dodecanoic acid (t_R 10.93 min): m/z $[\text{M}]^+$ 200 (15), 183 (2), 171 (18), 157 (40), 143 (10), 129 (48), 115 (20), 101 (15), 85 (33), 73 (100), 60 (80), 57 (30), 55 (47), 43 (44), 41 (30). *I. orizabensis* afforded three peaks: 2-methylbutyric acid (t_R 5.12 min); tiglic acid (t_R 6.95 min): m/z $[\text{M}]^+$ 100 (100), 85 (25), 55 (85), 39 (38); and 3-hydroxy-2-methylbutyric acid (t_R 7.95 min): m/z $[\text{M}]^+$ 118 (0.5), 103 (5.0), 100 (95), 83 (12), 73 (15), 58 (30), 55 (43), 45 (38), 44 (30), 43 (48), 41 (30), 39 (25), 31 (15), 29 (18), 27 (30). The analysis of the volatile acids from the resin glycoside fraction of *I. stans* resulted in the identification of three major peaks: *n*-octanoic acid (t_R 8.22 min): m/z $[\text{M}]^+$ 144 (3), 127 (1), 115 (15), 101 (30), 85 (10), 73 (85), 60 (100), 55 (20), 43 (25), 43 (28), 41 (18), 39 (6); *n*-decanoic acid (t_R 9.63 min); and *n*-hexadecanoic acid (t_R 13.11 min): m/z $[\text{M}]^+$ 256 (15), 227 (4), 213 (8), 185 (2), 171 (5), 157 (4), 143 (1), 129 (18), 115 (9), 101 (2), 97 (10), 85 (18), 73 (90), 60 (80), 57 (30), 55 (23), 43 (100), 41 (50).

Semipreparative HPLC Separation of Glycosidic Acids. The analytical separation was scaled up and modified to semipreparative HPLC for the isolation of individual glycosidic acids. Each saponification mixture was subjected to preparative HPLC on a Waters μ Bondapak NH_2 column (7.8 \times 300 mm; 10 μ m). The elution was isocratic with CH_3CN - H_2O (4:1), using a flow rate of 3 mL/min and a sample injection of 500 μ L (20–100 mg/mL). For *I. purga*, the crude saponification residue (20 mg) was purified to give compounds **1** (17.4

mg, t_R = 13.9 min) and **2** (2 mg, t_R = 6.6 min). For *I. orizabensis*, the saponification residue (100 mg) afforded compound **3** (87.2 mg, t_R = 5.7 min). Compound **4** (38.6 mg, t_R = 13.4 min) was obtained from the saponification mixture of resin glycosides (50 mg) of *I. stans*.

Purgic acid A (1): white powder; mp 162–164 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_D$ -20 (c 0.2, MeOH); negative FABMS m/z 1151 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 1005 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)] $^-$, 859 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)] $^-$, 843 $[\text{M} - \text{H} - 162$ (hexose unit)] $^-$, 697 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)] $^-$, 551 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)] $^-$, 389 $[\text{M} - \text{H} - 162$ (hexose unit)] $^-$, 243 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)]; convolvulinic acid methyl ester - $\text{H}]^-$; HRFABMS m/z 1151.5338 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{50}\text{H}_{87}\text{O}_{29}$ requires 1151.5333).

Purgic acid B (2): white powder; mp 132–134 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_D$ -14 (c 0.14, MeOH); negative FABMS m/z 1179 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 1033 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)] $^-$, 887 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)] $^-$, 871 $[\text{M} - \text{H} - 162$ (hexose unit)] $^-$, 725 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)] $^-$, 579 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)] $^-$, 417 $[\text{M} - \text{H} - 162$ (hexose unit)] $^-$, 271 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)]; convolvulinic acid methyl ester - $\text{H}]^-$; HRFABMS m/z 1179.5650 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{52}\text{H}_{91}\text{O}_{29}$ requires 1179.5646).

Scammonic acid A (3): white powder; mp 154–157 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_D$ -51 (c 1.0, MeOH); negative FABMS m/z 871 $[\text{M} - \text{H}]^-$; ^{13}C NMR anomeric signals 104.9, 102.1, 101.5, 101.1; identified by comparison of NMR data with published values.²⁶

Operculinic acid B (4): white powder; mp 170–171 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_D$ -80 (c 1.0, MeOH); HRFABMS m/z 1033.5066 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{46}\text{H}_{81}\text{O}_{25}$ requires 1033.5067); ^{13}C NMR anomeric signals 101.0, 101.5, 102.8, 103.5, 105.4; identified by comparison of spectral data with published values.²⁷

Derivatization of 1 and 2. A sample of the saponification mixture of *I. purga* (150 mg) was methylated with CH_2N_2 to further perform the separations by HPLC of the methyl ester derivatives **5** (138 mg, t_R = 25.7 min) and **6** (12 mg, t_R = 23.4 min), using an isocratic elution with CH_3CN - H_2O (3:2) and a flow rate of 4 mL/min. Each residue (10 mg) was acetylated (Ac_2O - $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$, 2:1) and subjected to preparative HPLC on a silica gel column (ISCO, 21.2 \times 250 mm, 10 μ m). The elution was isocratic with CHCl_3 - Me_2CO (9:1) using a flow rate of 6 mL/min to afford peracetylated derivatives **7** (8.7 mg, t_R = 17.6 min) and **8** (8.3 mg, t_R = 29.8 min).

Purgic acid A methyl ester (5): white powder; mp 152–154 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_D$ -77 (c 1.0, MeOH); ^1H and ^{13}C NMR, see Table 1; negative FABMS m/z 1165 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 1019 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)] $^-$, 873 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)] $^-$, 857 $[\text{M} - \text{H} - 162$ (hexose unit)] $^-$, 711 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)] $^-$, 565 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)] $^-$, 403 $[\text{M} - \text{H} - 162$ (hexose unit)] $^-$, 257 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)]; convolvulinic acid methyl ester - $\text{H}]^-$; HRFABMS m/z 1165.5485 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{51}\text{H}_{89}\text{O}_{29}$ requires 1165.5490).

Purgic acid B methyl ester (6): white powder; mp 146–148 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_D$ -29 (c 1.0, MeOH); ^1H and ^{13}C NMR, see Table 1; negative FABMS m/z 1193 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 1047 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)] $^-$, 901 $[\text{M} - \text{H} - 146 \times 2$ (two methylpentose units)] $^-$, 885 $[\text{M} - \text{H} - 162$ (hexose unit)] $^-$, 739 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)] $^-$, 593 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)] $^-$, 431 $[\text{M} - \text{H} - 162$ (hexose unit)] $^-$, 285 $[\text{M} - \text{H} - 146$ (methylpentose unit)]; jalapinic acid methyl ester - $\text{H}]^-$; HRFABMS m/z 1193.5810 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{53}\text{H}_{93}\text{O}_{29}$ requires 1193.5802).

Spectroscopic Characterization of 7: mp 98–100 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_D$ -50 (c 1.0, CHCl_3); negative FABMS m/z 1795 $[\text{M} - \text{H}]^-$; ^1H NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) δ 4.71 (1H, d, J = 7.5 Hz, Qui-1), 4.22 (1H, dd, J = 9.5, 7.5 Hz, Qui-2), 5.78 (1H, dd, J = 9.5, 9.5 Hz, Qui-3), 5.07 (1H, dd, J = 9.5, 9.5 Hz, Qui-4), 4.13 (1H, dq, J = 9.5, 6.0 Hz, Qui-5), 1.34 (3H, d, J = 6.0 Hz, Qui-6), 5.12 (1H, d, J = 8.0 Hz, Glc-1), 4.22 (1H, dd, J = 9.5, 8.0 Hz, Glc-2), 5.67 (1H, dd, J = 10.0, 9.5 Hz, Glc-3), 5.33 (1H, dd, J = 10.0, 10.0 Hz, Glc-4), 4.09 (1H, ddd, J = 10.0, 5.0, 3.0 Hz, Glc-5); 4.64–4.58 (1H, m, Glc-6a), 4.35–4.26 (1H, m, Glc-6b), 5.45 (1H, d, J = 1.5 Hz, Rha-1), 5.66 (1H, m, Rha-2), 4.60 (1H, dd, J = 9.0, 3.4 Hz, Rha-3), 4.35–4.26 (1H, m, Rha-4), 4.55–4.50 (1H, m, Rha-5), 1.85 (3H, d, J = 6.5 Hz, Rha-6), 5.45 (1H, m, Glc'-1), 4.24 (1H, dd, J = 8.5, 7.5 Hz, Glc'-2), 5.57 (1H, dd, J = 9.0, 8.5 Hz, Glc'-3), 5.29 (1H, dd, J = 9.0, 9.0 Hz, Glc'-4), 4.35–4.26 (1H, m, Glc'-5), 4.55–4.50 (1H, m, Glc'-6a), 4.39 (1H, dd, J = 11.7, 2.0 Hz, Glc'-6b), 5.24 (1H, d, J = 8.3 Hz, Qui'-1), 5.50 (1H, dd, J = 9.0, 8.3 Hz, Qui'-2), 5.66 (1H, dd, J = 10.0, 9.0 Hz, Qui'-3), 5.46 (1H, dd, J = 10.0, 9.5 Hz, Qui'-4), 3.96 (1H, dq, J = 9.5, 6.0 Hz, Qui'-5),

1.44 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, Qui'-6), 5.59 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, Fuc-1), 5.80 (1H, dd, $J = 10.0, 8.0$ Hz, Fuc-2), 5.59 (1H, dd, $J = 10.0, 3.0$ Hz, Fuc-3), 5.90 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, Fuc-4), 4.35–4.26 (1H, m, Fuc-5), 1.33 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, Fuc-6), 2.34 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, Con-2), 3.65 (1H, m, Con-11), 0.89 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, Con-14), 3.56 (3H, s, OCH₃); ¹³C NMR (125 MHz, C₅D₅N) δ 100.9 (CH, Qui-1), 77.1 (CH, Qui-2), 75.8 (CH, Qui-3), 74.5 (CH, Qui-4), 69.4 (CH, Qui-5), 18.0 (CH₃, Qui-6), 101.3 (CH, Glc-1), 72.7 (CH, Glc-2), 76.2 (CH, Glc-3), 70.0 (CH, Glc-4), 72.4 (CH, Glc-5), 63.4 (CH₂, Glc-6), 97.4 (CH, Rha-1), 73.9 (CH, Rha-2), 78.6 (CH, Rha-3), 77.1 (CH, Rha-4), 67.8 (CH, Rha-5), 19.2 (CH₃, Rha-6), 102.5 (CH, Glc'-1), 78.4 (CH, Glc'-2), 75.8 (CH, Glc'-3), 70.0 (CH, Glc'-4), 69.6 (CH, Glc'-5), 62.8 (CH₂, Glc'-6), 101.7 (CH, Qui'-1), 72.2 (CH, Qui'-2), 74.0 (CH, Qui'-3), 74.2 (CH, Qui'-4), 71.2 (CH, Qui'-5), 18.2 (CH₃, Qui'-6), 101.1 (CH, Fuc-1), 69.6 (CH, Fuc-2), 72.7 (CH, Fuc-3), 71.2 (CH, Fuc-4), 71.7 (CH, Fuc-5), 16.3 (CH₃, Fuc-6), 174.0 (CO, Con-1), 34.3 (CH₂, Con-2), 80.8 (CH, Con-11), 14.7 (CH₃, Con-14), 51.4 (OCH₃).

Spectroscopic Characterization of 8: mp 88–90 °C; [α]_D –9 (c 0.1, CHCl₃); ¹H NMR δ 4.65 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, Qui-1), 4.14 (1H, dd, $J = 8.0, 8.0$ Hz, Qui-2), 5.54 (1H, dd, $J = 9.0, 9.0$ Hz, Qui-3), 5.02 (1H, dd, $J = 9.5, 9.5$ Hz, Qui-4), 4.01 (1H, dq, $J = 9.4, 6.0$ Hz, Qui-5), 1.27 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, Qui-6), 5.06 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, Glc-1), 4.14 (1H, dd, $J = 8.0, 8.0$ Hz, Glc-2), 5.62 (1H, dd, $J = 9.0, 9.0$ Hz, Glc-3), 5.28 (1H, dd, $J = 9.8, 9.8$ Hz, Glc-4), 4.00 (1H, ddd, $J = 10.0, 6.0, 3.0$ Hz, Glc-5); 4.60–4.55 (1H, m, Glc-6a), 4.25–4.21 (1H, m, Glc-6b), 5.40 (1H, brs, Rha-1), 5.61 (1H, m, Rha-2), 4.60–4.55 (1H, m, Rha-3), 4.30–4.21 (1H, m, Rha-4), 4.50–4.45 (1H, m, Rha-5), 1.78 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, Rha-6), 5.41–5.40 (1H, m, Glc'-1), 4.17 (1H, dd, $J = 8.3, 8.3$ Hz, Glc'-2), 5.52 (1H, dd, $J = 8.6, 8.6$ Hz, Glc'-3), 5.24 (1H, dd, $J = 9.5, 9.5$ Hz, Glc'-4), 4.30–4.21 (1H, m, Glc'-5), 4.50–4.45 (1H, m, Glc'-6a), 4.34 (1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz, Glc'-6b), 5.18 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, Qui'-1), 5.48 (1H, dd, $J = 9.0, 9.0$ Hz, Qui'-2), 5.61 (1H, dd, $J = 9.5, 9.5$ Hz, Qui'-3), 5.42 (1H, dd, $J = 9.4, 9.4$ Hz, Qui'-4), 3.91 (1H, dq, $J = 9.5, 6.0$ Hz, Qui'-5), 1.38 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, Qui'-6), 5.53 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, Fuc-1), 5.73 (1H, dd, $J = 10.0, 8.0$ Hz, Fuc-2), 5.54 (1H, dd, $J = 10.0, 3.3$ Hz, Fuc-3), 5.83 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, Fuc-4), 4.30–4.21 (1H, m, Fuc-5), 1.33 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, Fuc-6), 2.24 (1H, t, $J = 7.4$ Hz, Jal-2), 3.62 (1H, m, Jal-11), 0.90 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, Jal-16), 3.56 (3H, s, OCH₃); ¹³C NMR (125 MHz, C₅D₅N) δ 100.9 (CH, Qui-1), 76.9 (CH, Qui-2), 76.0 (CH, Qui-3), 74.2 (CH, Qui-4), 69.2 (CH, Qui-5), 17.7 (CH₃, Qui-6), 101.1 (CH, Glc-1), 72.6 (CH, Glc-2), 76.0 (CH, Glc-3), 69.8 (CH, Glc-4), 72.2 (CH, Glc-5), 63.2 (CH₃, Glc-6), 97.3 (CH, Rha-1), 73.8 (CH, Rha-2), 78.4 (CH, Rha-3), 76.9 (CH, Rha-4), 67.6 (CH, Rha-5), 19.0 (CH₃, Rha-6), 102.3 (CH, Glc'-1), 78.2 (CH, Glc'-2), 75.6 (CH, Glc'-3), 69.8 (CH, Glc'-4), 69.7 (CH, Glc'-5), 62.6 (CH₃, Glc'-6), 101.5 (CH, Qui'-1), 72.1 (CH, Qui'-2), 73.7 (CH, Qui'-3), 74.0 (CH, Qui'-4), 71.0 (CH, Qui'-5), 17.9 (CH₃, Qui'-6), 101.0 (CH, Fuc-1), 69.4 (CH, Fuc-2), 72.5 (CH, Fuc-3), 71.0 (CH, Fuc-4), 69.4 (CH, Fuc-5), 16.1 (CH₃, Fuc-6), 173.4 (CO, Jal-1), 34.1 (CH₂, Jal-2), 81.0 (CH, Jal-11), 14.2 (CH₃, Jal-16), 51.2 (OCH₃).

Sugar Analysis. Compound 1 (40 mg) in 4 N HCl (10 mL) was heated at 90 °C for 2 h. The reaction mixture was diluted with H₂O (5 mL) and extracted with Et₂O (30 mL). The organic layer was evaporated to dryness, dissolved in CHCl₃ (5 mL), and treated with CH₂N₂. The aqueous phase was neutralized with 1 N KOH, extracted with *n*-BuOH (30 mL), and concentrated to give a colorless solid. The residue was dissolved in CH₃CN–H₂O and directly analyzed by HPLC: Waters standard column for carbohydrate analysis (3.9 × 300 mm, 10 μ m), using an isocratic elution of CH₃CN–H₂O (17:3), a flow rate of 1 mL/min, and a sample injection of 20 μ L (sample concentration: 5 mg/mL). Coelution experiments with standard carbohydrate samples allowed the identification of L-rhamnose ($t_R = 6.9$ min), D-quinovose ($t_R = 7.3$ min), D-fucose ($t_R = 8.3$ min), and D-glucose ($t_R = 13.6$ min).

Identification of Aglycons. The organic layer residue obtained during the acid-catalyzed hydrolysis of purgic acid A (1) was submitted to normal-phase HPLC (ISCO, 21.2 × 250 mm, 10 μ m), using an isocratic elution of *n*-hexane–CHCl₃–Me₂CO (6:3:1) and a flow rate of 6 mL/min to give 7.3 mg of methyl (11*S*)-hydroxytetradecanoate (convolvulinic acid methyl ester):³⁰ t_R 18.6 min; mp 27–29 °C; [α]_D +1.5 (c 2, CHCl₃); ¹³C NMR 174.4, 71.7, 51.5, 39.6, 37.5, 34.1, 29.6, 29.5, 29.3, 29.2, 29.1, 25.6, 24.9, 18.8, 14.1. An aliquot of this pure sample (3 mg) was derivatized with Sigma Sil-A for 5 min at 70 °C.

GC-MS analysis gave one peak (t_R 7 min): m/z [M]⁺ 330 (0.3), 315 (3.5), 287 (66.8), 145 (100), 73 (35.4).

Acid hydrolysis of compound 2 (15 mg) as described above yielded 2 mg of methyl (11*S*)-hydroxyhexadecanoate³⁰ (jalapinic acid methyl ester): t_R 16.4 min; mp 42–44 °C; [α]_D +7.3 (c 2, CHCl₃); ¹³C NMR 174.4, 72.0, 51.4, 37.5, 37.4, 34.1, 31.9, 29.6, 29.5, 29.4, 29.2, 29.1, 25.6, 25.3, 24.9, 22.6, 14.1. This aglycon (1 mg) was derivatized by treatment with Sigma Sil-A and analyzed by GC-MS analysis (t_R 12.8 min): m/z [M]⁺ 358 (0.3), 343 (0.5), 311 (10.5), 287 (59.7), 173 (100), 73 (46.3).

Acknowledgment. This research was partially supported by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT: 45861-Q). E.E.-S. and B.H.-C. are grateful to CONACyT for graduate student scholarships. The sequence of chemical degradations used for characterization of purgic acids was performed by H. Cruz and O. Yañez as part of their B.Sc. theses. Thanks are due to G. Duarte, M. Guzmán, and M. Gutierrez (USAI, Facultad de Química) for the recording of mass spectra and optical rotations. M. Trejo assisted in the study of herbarium specimens. J. Ebrard (General Director, Laboratorios Mixim, Mexico) kindly provided samples of "Mexican scammony" and its resin, as well as shared information on commercialization of jalaps.

Supporting Information Available: Photographs of herbal drugs: "Rhizoma Jalapae" (Figure S1), "Mexican scammony" (Figure S2), and "tumbavaquero" (Figure S3). HPLC profiles of crude drug MeOH extracts from commercial Mexican jalap samples (Figures S4 and S5). Extraction of resin glycosides (Figure S6). HPLC purification of purgic acids 1 and 2 (Figure S7). ¹H NMR spectra of compounds 5–8 (Figures S8 and S9). COSY, HMQC, and ROESY spectra of peracetylated derivatives (Figures S10–S12). This information is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

References and Notes

- Dr. Francisco Hernández (1515–1587), King Phillip II's chief medical officer in the Spanish colonies in the New World (1570–1577), was the first trained scientist to gather ethnobotanical information directly from Aztec healers and to assess the medicinal usefulness of the natural resources found in the highland central area of Mexico. He described the properties of the "cacamótic *tlanoquiloni*" or purgative potatoes (Mexican jalap roots) as being "benign remedies" to purge the stomach "with wonderful gentleness and safety, and furthermore they remove bilious and other humors from the veins". Selective sections in English from his *The Natural History of New Spain* can be found in: Hernández, F. *The Mexican Treasury: the Writings of Dr. Francisco Hernández*; Varey, S., Ed.; Stanford University Press: Stanford, CA, 2000; pp 117–156.
- Hernández, F. *Historia Natural de Nueva España*; Universidad Nacional Autónoma de México: Mexico City, 1959; Vol. II, pp 133–135.
- A medicinal plant complex consists of an assemblage of herbal drugs that are taxonomically different at the specific, generic, and/or familial level but that share (a) one or more key morphological features; (b) a common name; (c) certain organoleptic characteristics; and (d) at least one therapeutic application. Within the complex, usually one species (called dominant or signature) is considered to have the most effective properties and is widely employed and distributed beyond its natural geographic range. Subordinate species are those considered to be of lesser quality and usually applied when the dominant species is not available, but they are not necessarily adulterants. For some examples in Mexico and the adjacent United States, see: Linares, E.; Bye, R. J. *Ethnopharmacol.* **1987**, *19*, 153–183.
- Valdés, J.; Flores, H. In *Francisco Hernández. Obras Completas*; Universidad Nacional Autónoma de México: Mexico City, 1985; Vol. VII, pp 9–222.
- Purgatives along with diaphoretic, diuretic, and emetic were basic attributes of prehispanic herbal remedies since the Aztecs viewed diseases as being caused by phlegm that needed to be discharged. For Aztec medicinal concepts and practices, see: Ortiz de Montellano, B. R. *Aztec Medicine, Health, and Nutrition*; Rutgers University Press: New Brunswick, NJ, 1990; pp 189–192.
- (a) Gunther, R. T. *The Greek Herbal of Dioscorides*; Hafner: New York, 1968; p 571. (b) von Bingen, H. *Hildegard's Healing Plants: from her Medieval Classic Physica*; Beacon: Boston, 2001; p 177.
- Gerard, J. *The Herbal or General History of Plants*; Dover: New York, 1975; pp 866–869.
- Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis (Little Book of Indian Medicinal Herbs)* is a treasury of Aztec herbal remedies and the first medical text known to have been written in the New World. The author of this valuable document was Martín de la Cruz, an Aztec

- physician, who originally dictated it in Nahuatl, the language of the Aztecs, and which was later translated into Latin by the Aztec nobleman Juan Badiano in 1552. One illustration in this herbal (Folio 32 recto) represents a bindweed called “*Uelicpahli*” (Nahuatl language, *uelic* = savory, *pahli* = medicine). It appears as a red-flowered *Ipomoea* with a large tuberous root. The legend accompanying this miniature reads “*purgatio ventris*” (purging the abdomen). Its therapeutical descriptions is similar to that given by Dr. Francisco Hernández for the “cacamótic tlanquiloni”, suggesting it is the jalap root (*I. purga*). For transcription, translation, and contemporary botanical interpretations of this centuries-old Aztec remedy, see: (a) Emmart, E. W. *The Badianus Manuscript (Codex Barberini, Latin 241). An Aztec Herbal of 1552*; The Johns Hopkins Press: Baltimore, 1940; p 260. (b) Gates, W. *An Aztec Herbal. The Classic Codex of 1552*; Dover: New York, 2000; p 55. (c) Miranda, F.; Valdés, J. In *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*; Instituto Mexicano del Seguro Social: Mexico City, 1964; pp 243–282.
- (9) (a) Williams, L. O. *Econ. Bot.* **1970**, *24*, 399–401. (b) Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. *Extrafarmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos*; Secretaría de Salud: Mexico City, 2001; pp 18–19.
- (10) (a) Noriega, J. M. *Curso de Historia de Drogas*; Instituto Médico Nacional: Mexico City, 1902; pp 372–373. (b) Herrera, A. L. *Farmacopea Latino-Americana*; Herrero Hermanos: Mexico City, 1921; pp 658–659.
- (11) The root of “tumbavaquero”, a Spanish composite word that literally means “knock the cowboy over” or “cowboy stunner”, is used in combination with orange flowers (*Citrus sinensis*), “*flor de manita*” (hand flower, *Chiranthodendron pectadactylon*), heart flower (*Talauma mexicana*), “palo brasil” (logwood, *Haematoxylum brasiletto*), “*salvia de bolita*” (butterfly bush, *Buddleja perfoliata*), and tila flower (*Temstroemia* spp.); one cup of the infusion to be drunk in the morning and at night. For origin and description of this herbal drug, see: Linares, E.; Bye, R.; Flores, B. *Medicinal Plants of Mexico: Traditional Uses and Remedies*; Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México: Mexico City, 1999; pp 118–119.
- (12) Martínez, M. *Las Plantas Medicinales de México*; Ediciones Botas: Mexico City, 1989; pp 276–279.
- (13) The recommended dosages of jalap root (to a liter of water) are 1–3 g if a powder, 0.2–0.4 g if an extract, 0.1–0.6 g if a resin, and 10 to 20 drops every 4 h if a tincture; if given in sugar or jelly, this remedy is a safe purge for children. A teaspoon of the root, cut small or granulated, to a cup of boiling water. For preparation of home remedies, see: <http://electrocomm.tripod.com/jalapa-jalapa.html>.
- (14) In the 1940s, the Xico region in Veracruz cultivated and exported about 40 tons of dried jalap root (*I. purga*) to the United States per year, maintaining this level up to the 1990s, after which it dwindled to nearly zero. However, the use of wild *I. orizabensis* as a substitute for cultivated jalap root has never been documented, so no official trade records exist, although in pharmaceutical commerce it is currently available as liquid alcoholic extracts and resin. The commercial demand for jalap roots has declined in Mexico due to the use of other laxatives derived from psyllium fruits (*Plantago* spp.) and cassia leaves (*Senna* spp.) as well as the domination of the world market by Italian and German herbal drug traders who import resins of the Brazilian jalap (*I. operculata*). For the traditional production system of jalap root, see: Linajes, A.; Rico-Gray, V.; Carrión, G. *Econ. Bot.* **1994**, *48*, 84–89.
- (15) Davidow, J. *Infusions of Healing. A Treasury of Mexican-American Herbal Remedies*; Fireside: New York, 1999; pp 134–135.
- (16) The attempts of taxonomists to classify the diversity of Mexican jalaps has resulted in considerable confusion in both the commercial names and the scientific nomenclature. In addition, other plants were used as “jalap” and employed as substitutes or adulterants; they included *Phytolacca octandra* L. and *Mirabilis jalapa* L., species totally unrelated taxonomically to *Ipomoea*.
- (17) Pereda-Miranda, R.; Bah, M. *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, *3*, 111–131.
- (18) (a) Hernández-Carlos, B.; Bye, R.; Pereda-Miranda, R. *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 1096–1100. (b) Pereda-Miranda, R.; Hernández-Carlos, B. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 3145–3154.
- (19) High-purity oligosaccharides are required for structure elucidation by NMR or MS and for use as substrates to determine their biological activity. For an example of the biological activities of oligosaccharides, see: Pereda-Miranda, R.; Kaatz, G. W.; Gibbons, S. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 406–409.
- (20) A mixture of minor glycosidic acids, differing from the major saponification product in having a substitution or elimination of one sugar unit in the oligosaccharide core, has also been obtained. For examples, see: (a) Bah, M.; Pereda-Miranda, R. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 13063–13080. (b) Bah, M.; Pereda-Miranda, R. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 9007–9022. (c) Pereda-Miranda, R.; Escalante-Sánchez, E.; Escobedo-Martínez, C. *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 226–230. (d) Chérigo, L.; Pereda-Miranda, R. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 595–599.
- (21) Neue, U. D. *HPLC Columns. Theory, Technology, and Practice*; Wiley-VCH: New York, 1997; pp 217–223.
- (22) The chromatographic mode is partition, and retention time increases with the polarity of the analyte and decreases with the polarity of the mobile phase.
- (23) *I. orizabensis* yields 10–18% of resin glycosides; root of “tumbavaquero” (*I. stans*) < 1%.
- (24) (a) Reynolds, W. F.; Yu, M.; Enríquez, R. G.; González, H.; León, I.; Magos, G.; Villarreal, M. L. *J. Nat. Prod.* **1995**, *58*, 1730–1734. (b) León, I.; Enríquez, R. G.; Gnecco, D.; Villarreal, M. L.; Cortés, D. A.; Reynolds, W. F.; Yu, M. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1552–1556.
- (25) The voucher cited identifies the specimen used for chemical investigations as *Ipomoea stans* Cav. (IMSSM voucher 2691). This material was collected on June 18, 1982, from Km 93 on the Puebla-Orizaba Highway, Mexico. Confusion arises because it is not clear whether the authors collected the plant material and saved it until the early 1990s to work on or they re-collected plant material from the same location and merely used the 1982 voucher herbarium for purposes of plant identification.
- (26) (a) Noda, N.; Kogetsu, H.; Kawasaki, T.; Miyahara, K. *Phytochemistry* **1990**, *29*, 3565–3569. (b) Kogetsu, H.; Noda, N.; Kawasaki, T.; Miyahara, K. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 957–963.
- (27) Ono, M.; Kawasaki, T.; Miyahara, K. *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 3209–3213.
- (28) MacLeod, J. K.; Ward, A. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 467–471.
- (29) Duus, J. Ø.; Gotfredsen, H.; Block, K. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4589–4614.
- (30) Ono, M.; Yamada, F.; Noda, N.; Kawasaki, T.; Miyahara, K. *Chem. Pharm. Bull.* **1993**, *41*, 1023–1026.

NP060295F

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- **Achnine, L., Pereda-Miranda, R., Iglesias-Prieto, R., Moreno-Sánchez, R., Lotina-Hennsen, B.** (1999) Tricolorina A, a Potent Natural Uncoupler and Inhibitor of Photosystem II Acceptor Side of Spinach Chloroplasts. **Physiologia Plantarum** 106, 246-252.
- **Agrawal, P.K.** (1992) NMR Spectroscopy in the structural elucidation of Oligosaccharides. **Phytochemistry** 31, 3307-3330.
- **Agrawal, P.K. y Pathak, K.A.** (1996) Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy Approach for the Determination of Interglycosidic Linkage and Sequence in Oligosaccharides. **Phytochemical Analysis** 7, 113-130.
- **Alexandrova R., Alexandrov I., Velcheva M. and Varandinova, T.** (2000) Phytoproducts and Cancer. **Experimental Pathology and Parasitology**. Bulgarian Academy of Sciences, 15-26.
- **Allerdings, E., Ralph, J., Schatz, P. F., Gniechwitz D., Steinhart H. y Bunzel, M.** (2005) Isolation and structural identification of di-arabinosyl 8-O-4-dehydroferulate from maize bran insoluble fibre. **Phytochemistry** 66, 113-124.
- **Amor.Prats, D. y Harbones, J. B.** (1993) Allelochemical effects on ergoline alkaloids from *Ipomoea parasitica* on *Heliothis virescens*. **Chemoecology**, 4, 55-61.
- **Anaya, A. L., Calera, M. R., Mata, R. y Pereda-Miranda, R.** (1990) Allelopathic potencial of compounds isolated from *Ipomoea tricolor* Cav (Convolvulacea). **Journal of Chemical Ecology**, 16, 2145-2152.
- **Argueta, A.** (1994). Atlas de Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Instituto Nacional Indigenista. Bibliotecta de la Medicina Tradicional Mexicana. México.
- **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, 292 pp.
- **Bah, M.; Chérigo, L.; Cardoso, A. T.; Fragoso-Serrano, M.; Hammond, G. B. y Pereda-Miranda** (2007) Intrapilosins I-VII, pentasaccharides from the Seeds of *Ipomoea intrapilosa*. **J. Nat. Prod.**, en prensa.
- **Bah, M. y 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*. **Tethraedron** 52, 13063-13080.

- **Bah, M. y Pereda-Miranda, R.** (1997) Isolation and structural characterization of new glycolipid ester type dimers from the resin of *Ipomoea tricolor* (Convolvulaceae). **Tetrahedron** 53, 9007-9022
- **Baldwin, M. A.** (1995) Modern Mass Spectrometry in Biorganic Analysis. **Natural Products Reports**, 34-44.
- **Barnes, C.C., Smalley, M. K., Manfredi, K. P. Kindscher, K., Loring H. y Sheeley, D. M.** (2003) Characterization of an Anti-tuberculosis Resin Glycoside from the Prairie Medicinal Plant *Ipomoea leptophylla*. **J. Nat. Prod.** 66, 1457-1462.
- **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. y Jürgen-Veith, H.** (1986) Anticancer and Antimicrobial Glycosides from *Ipomoea bahiensis*. **Phytochemistry**, 25, 1077-1081.
- **Bidlingermyer, B. A.** (1992) Practical HPLC Methodology and applications. John Wiley, Nueva York, 269-283.
- **Blanken, W. M., Bergh, M. L., Koppen, P. L. Y Eijnden, D. H.** (1985) High-pressure liquid chromatography of neutral oligosaccharides: effects of structural parameters. **Analytical Biochemistry**, 145, 322-330.
- **Boersma, A., Lamblin, G., Degand, P y Roussel, P.** (1981) Separation of a complex mixture of oligosaccharides by HPLC on bonded-primary amine packing using a linear gradient solvent system. **Carbohydrate Research**, 94, C7-C9.
- **Botz, I. Hahn, E. y Szabo, L. G.** (1990-1991) Botanical identification of *Ipomoea tricolor* Cav. Seed samples from Hungary and layer chromatographic examination of their hallucinogen ergot alkaloids. **Acta Bot Hung**, 36, 229-243.
- **Castelli, M. V., Cortés, J. C. G., Escalante, A. M., Bah, M., Pereda-Miranda, R., Ribas, J. C., Zacchino, S. A.** (2002) *In vitro* Inhibition of (1,3)- β -Glucan Synthase by Glycoresins from Convolvulaceous Plants. **Planta Médica** 68, 739-742 (2002).
- **Chaplin, M. F. y Kennedy, J. F.** (1986) Carbohydrate Analysis. A practical Approach. IRL Press limited. **Oxford**, 1-53.
- **Contreras C. M., Chacón, L. y Enríquez, R. G.** (1996) Anticonvulsant properties of *Ipomoea stans*. **Phytomedicine** 3, 41-44.
- **Costello, C.E.** (1997) Time, life...and mass spectrometry. New techniques to adress biological questions. **Biophysical Chemistry**, 68, 173-188.
- **Chao, J-M. y DerMarderosian, A. H.** (1973) Identification of the ergoline alkaloids in the genus *Argyreia* and related genera and their chemotaxonomic implication in the Convolvulacea. **Phytochemistry**, 12, 2435-2440.

- **Chaplin, M. F. y Kennedy, J. F.** (1986) Carbohydrate Analysis. A practical Approach. IRL Press Limited. **Oxford**, 1-53.
- **Chérigo, L. y Pereda-Miranda, R.** (2006) Resin Glycosides from the Flowers of *Ipomoea muricoides*. **J. Nat. Prod.**, 69, 595-599.
- **De Souza, M. M., Madeira, A., Berti, C., Krogh, R., Yunes, R. A., y Cechinel-Filho, V.** (2000). Anticonceptive properties of the methanolic extract obtained from *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br., **Journal of Ethnopharmacology** 69, 85-90.
- **Devall, M. S.** (1992). The biological flora of coastal dunes and wetlands.2 *Ipomoea pes-caprae* (L) Roth., **Journal of Coastal Research** 8, (2) 442-456.
- **Díaz, J. L.** (1976) Índice y Sinonimia de las Plantas Medicinales de México. Monografías Científicas I. Instituto Mexicano para el estudio de las plantas medicinales A.C.IME PLAM. México.
- **Díaz, J. L.** (1976) Usos de las Plantas Medicinales de México. Monografías Científicas II. Instituto Mexicano Para el Estudio de las Plantas Medicinales A.C. IME PLAM. México.
- **Du, X., Kohinata, K., Kawasaki, T., Guo, Y.-T. y Miyahara, K.** (1998). Components of ether-insoluble resin glycosidelike fraction from *Cuscuta Chinensis*. **Phytochemistry**. 48, 843-850.
- **Duus, J., Gotfredsen, CH. H. y Bock, K.** (2000) Carbohydrate Structural Determination by NMR Spectroscopy: Modern Methods and Limitations. **Chem. Rev.** 100, 4589-4614.
- **Emmart, E. W.** *The Badianus Manuscript (Codex Barberini, Latin 241)*. An Aztec Herbal of 1552. The Johns Hopkins Press: Baltimore, 1940, pp. 68-69.
- **Enríquez, R. G.; León, I.; Pérez, F., Carpenter, K. A.; Puzzuoli, F. V. y Reynolds, W. L.** (1992). Characterization by two-dimensional NMR spectroscopy of a complex tetrasaccharide glycoside isolated from *Ipomoea stans*. **Canadian Journal of Chemistry**, 70, 1000-1008.
- **Escobedo-Martínez, C. y Pereda-Miranda, R.** (2007). Resin Glycosides from *Ipomoea pes-caprae*. **J. Nat. Prod.**, 70, 974-978.
- **FONT QUER.** (1973) Diccionario de Botánica. Editorial Labor. España.
- **Henric, A., Kaloga, M. y Eich, E.** (1994) Jacpaniculines, the first lignanamidea alkaloids from the Convolvulacea. **Phytochemistry**, 37, 1637.

- **Hernández-Carlos, B. Bye, R. y Pereda-Miranda, R.** (1999) Orizabins V-VIII, Tetrassaccharides Glycolipds from the Mexican Sacammony Root (*Ipomoea orizabensis*). **J. Nat. Prod.**, 62, 1096-1100.
- **Hernández, F.** Obras completas. Historia Natural de Nueva Espana I. Universidad Nacional Autónoma de México ; México, 1959, Vol. II, pp. 34, 173-76.
- **Herrera, A. L.** *Farmacopea Latino-Americana*, Herrero Hermanos : Mexico City, 1921 ; pp 658-659.
- **Hostettmann, K. Hostettmann, M. y Marson, A.** (1986). Preparative Chromatography techniques. Applications in Natural Products Isolation. Springer-Verlag, Berlin, 36-40.
- **Hueza, I. M., Fonseca, E. S. M., Paulino, C.A., Haraguchi, M. y Górnaiak, S. L.** (2003). Evaluation of immunomodulatory activity of *Ipomoea carnea* on peritoneal cell of rats. **Journal of Ethnopharmacology** 87, 181-186.
- **Jenett-Siems, K., Kaloga, M. y Eich, E.** (1993) Ipangulines, the firts pyrrolizidine alkaloids from the Convolvulacea .**Phytochemistry**, 34, 437-440.
- **Jenett-Siems, K., Kaloga, M. y Eich, E.** (1994a) Ergobalansine/ergobalansine, a proline free peptyde-type alkaloid of the fungal genus balansia is a constituent of *Ipomoea piurensis*. **J. Nat. Prod.**, 57, 1304-1306.
- **Jenett-Siems, K., Kaloga, M. y Eich, E.** (1994b) Hygrines and tropanes, alkaloids of considerable importance for the chemotaxonomy of the Convolvulacea. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2, 122.
- **Khan, M . M., Ahmad, F., Rasgogi, A. K. Kidwai, J. R.** (1994). Insulinogenic and hypoglycemic activities of *Ipomoea pes-caprae*. **Fitoterapia**, 65, 231-234.
- **Kitagawa, I., In Baek, N., Ohashi, K., Sakagami, M., Yoshikawa, M. y Shibuya, H.** (1988). 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.
- **Kitagawa, I., In Baek, N., Ohashi, K., Sakagami, M., Yoshikawa, M. y Shibuya, H.** (1989). Merremosides B and H, New Ionophoric Resin-Glycosides from the tuber of *Merremia mammosa*, an indonesian folk medicine. **Chem. Pharm. Bull.**, 37, 1131-1133.
- **Kitagawa, I., In Baek, N., Kawashima, K., Ykokawa, Y., Yoshikawa, M., Ohashi, K. y Shibuya, H.** (1996a). Indonesian Medicinal Plants. XV. Chemical Structures of five New Resin-Glycosides, Merremosides a, b,c, d, and e, from the tuber of *Merremia mammosa* (Convolvulacea). **Chem. Pharm. Bull.**, 44, (9) 1680-1692.

- **Kitagawa, I., In Baek, N., Ykokawa, Y. y Yoshikawa, M.** (1996b). Chemical Structures of Four New Resin-Glycosides, Meremosides f, g, h₁, and h₂, from the Tuber of *Merremia mammosa* (Convolvulaceae). **Chem. Pharm. Bull.**, 44, (9) 1693-1699.
- **Kitagawa, I., Ohashi, K., In Baek, N., Sakagami, M., Yoshikawa, M. y Shibuya, H.** (1997). Indonesian Medinal 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.
- **Kubo, I. y Nakatsu, T.** (1990). Recent examples of preparative-scale recycling high performance liquid chromatography in natural products chemistry. **LC-CG**, 8, 933-939.
- **Lara, F. y Márquez, C.** (1996) Plantas Medicinales de México. Composición, usos y actividad biológica. UNAM. México.
- **Lara, F. y Márquez, C., Esquivel, B. y Mata, R.** (1999). Plantas Medicinales de México II. UNAM. México.
- **León, I. Enríquez, R. G., Dino, G., Villarreal, N. L., Alonso, D., Reynolds, W. F. y 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.
- **León, I. Enríquez, R.G., Nieto, D. A., Alonso, D., Reynolds, W. F., Aranda E. Y Villa J.** (2005). Pentasaccharide Glycosides from the Roots of *Ipomoea murucoides*. **J. Nat. Prod.**, 68, 1141-1146.
- **León, I. Mirón, G. y Alonso, D.** (2006) Characterization of pentasaccharide Glycosides from the Roots of *Ipomoea arborescens*. **J. Nat. Prod.**, 69, 896-902.
- **Linares, E., Bye, R. y Flores, B.** (1999) Plantas Medicinales de México. Usos y remedios tradicionales. Insituto Nacional de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México D. F.
- **Mannich, C. y Schumann, P.** (1938) Jalap Resins and its principal constituent, convolvulin. **Archiv der Pharmazie** 276, 211-226.
- **Matuda, E.** (1963) El género *Ipomoea* en México. **An. Inst. Biol. México**. Vol 34:85-145.
- **Matuda, E.** (1964) El género *Ipomoea* en México. **An. Inst. Biol. México**. Vol 35:85-76.
- **Matuda, E.** (1965) El género *Ipomoea* en México. **An. Inst. Biol. México**. Vol 36:85-106.

- **Martínez, M.** (1987). Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México.
- **Martínez, M.** (1989) Las plantas medicinales de México. Ediciones Botas. México.
- **MacLeod, J. K., Ward, A. y Oelrichs, P. B.** (1997) Structural investigation of resin glycosides from *Ipomoea lonchophylla*. **J. Nat. Prod.**, 60, 467-471.
- **McDonnald, A.** (1991) Origin and Diversity of Mexican Convolvulaceae. **Anales Inst. Bio.** Univ. Nac. Autón. México. Sec. Bot. 62 (1):65-82.
- **Miranda, F., Valdés, J.** *In Libellus Medicinalibus Indorum Herbis*; Instituto Mexicano del Seguro Social: Mexico City, 1964; pp 243-282.
- **Miyahara, K., Du, X.-M., Watanabe, M., Sugimura, CH., Yahara, SH. y Nohara, T.** (1996). Resin glycosides XXIII. Two Novel Acylated Trisaccharides Related to Resin Glycosides from the Seeds of *Cuscuta chinensis*. **Chem. Pharm. Bull.** , 44, (3) 481-485.
- **Monardes, N.** Herbolaria de Indias. Historia Natural del Nuevo Mundo. Insituto Mexicano del Seguro Social, 1999, pp. 96-118.
- **Nikolov, Z. L., Meagher, M. M. y Reilly, P. J.** (1985) High performance liquid chromatography of disaccharides on amine-bonded silica columns. **Journal of chromatography**, 319, 51-57.
- **Noda, N., Ono, M., Miyahara, K. y Kawasaki, T.** (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.
- **Noda, N., Kogetsu, H., Kawasaki, T. y Miyahara, K.** (1990). Scammonins I y II, the resin glycosides of radix scammoniae from *Convolvulus scammonia*. **Phytochemistry**, 29, (11) 3565-3569.
- **Noda, N., Yoda, S., Kawasaki, T. y Miyahara, K.** (1992a). 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.
- **Noda, N., Takahashi, T., Kawasaki, T., Miyahara, K. y Yang, CR.** (1994a). Stoloniferins I-VII, Resin glycosides from *Ipomoea stolonifera*. **Phytochemistry**, 36, 365-371.
- **Noda, N., Tsuji, K., Miyahara, K. y Yang, CR.** (1994b). Resin Glycosides XXI. Tuguajalpíns I-X, the resin glycosides having long-chain fatty acid groupus from the root of *Merremia hungaiensis*. **Chem. Pharm. Bull.**, 42, 2011-2016.

- **Noda, N., Takahashi, N., Miyahara, K. y Yang, CR.** (1998). Stoloniferins VII-XII, Resin Glycosides, from *Ipomoea stolonifera*. **Phytochemistry**, 48, 837-841.
- **Noriega, J. M.** *Curso de Historia de Drogas*; Instituto Médico Nacional: Mexico City, 1902; pp 372-373.
- **Ono, M., Kubo, K., Miyahara, K. y Kawasaki, T.** (1989a). 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.
- **Ono, M., Kawasaki, T. y Miyahara, K.** (1989b). Resin Glycosides V. Identification and Characterization of the Component Organic and Glycosidic Acids of the Ether-Soluble Crude Resin Glycosides (“Jalapin”) from Rhizoma Jalapae Braziliensis (Roots of *Ipomoea operculata*). **Chem. Pharm. Bull.**, 37, 3209-3213.
- **Ono, M., Fukunaga, T., Kawasaki, T. y Miyahara, K.** (1990a). Four New Glycosides Acids, Operculinic Acids D, E, F y G, of the Ether-Soluble Crude Resin Glycosides (“Jalapin”) from Rhizoma Jalapae Braziliensis (Roots of *Ipomoea operculata*). **Chem. Pharm. Bull.**, 38, (10) 2650-2655.
- **Ono, M., Noda, N., Kawasaki, T. y Miyahara, K.** (1990b). 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, (7) 1892-2897.
- **Ono, M., Nishi, M., Kawasaki, T. y Miyahara, K.** (1990c). Resin Glycosides IX. Operculins I, II, V, VII and VIII. New Ether-Soluble resin Glycosides of rhizoma Jalapae Braziliensis (Root of *Ipomoea operculata*). **Chem. Pharm. Bull.**, 38, 2986-2991.
- **Ono, M., Kawasaki, T. y Miyahara, K.** (1991). Resin glycosides XI. Operculins II, IV, IX, X, XVI, XVII and XVIII. New ether-soluble resin Glycosides of rhizoma Jalapae Braziliensis (Root of *Ipomoea operculata*). **Chem. Pharm. Bull.**, 39, 2534-2539.
- **Ono, M., Fujimoto, K., Kawata, T., Fukunawa, T., Kawasaki, T. y Miyahara, K.** (1992a). Resin Glycosides XII. Operculins VI, XI, XII, XIII, XIV and XV, Ether-Soluble Resin Glycosides (Jalapin) from Rhizoma *Jalapae Braziliensis* (Roots of *Ipomoea operculata*). **Chem. Pharm. Bull.**, 40, 1400-1403.
- **Ono, M., Kuwabata, K., Kawasaki, T. y Miyahara, K.** (1992b). Resin Glycosides XVI. Quamoclins I-IV, new ether-soluble Resin Glycosides (Jalapin) from the seeds of *Quamoclit pennata*. **Chem. Pharm. Bull.**, 40, 2674-2680.
- **Ono, M., Nakagawa, T., Kawasaki, T. y Miyahara, K.** (1993b). Woodrosins I and II, Ether-Insoluble resin Glycosides from the stems of *Ipomoea tuberosa*. **Chem. Pharm. Bull.**, 41, 1925-1932.

- **Ono, M., Honda, F., Karahashi, A., Kawasaki, T. y Miyahara, K.** (1997). Resin Glycosides XXV. Multifidins I and II, New Jalapins, from the seed of *Quemoclit x multifida*. **Chem. Pharm. Bull.**, 45, 1955-1960.
- **Osuna, L., Ponces-Monter, H., Campos, G. M., Rojas, J. y Meckes, M.** (1996) Effect of *Ipomoea intrapilosa* methanol extract on the serotonergic response in rat uterus. **Phytotherapy Research**. 10, 257-259.
- **Pereda-Miranda, R., Mata, R., Anaya, A. L., Winckramaratne, D. B. M., Pezuto, J. M. y Kinhorn, A. D.** (1993). Tricolorin A, mayor phyto-growth inhibitor from *Ipomoea tricolor*. **J. Nat. Prod.**, 56, 571-582.
- **Pereda-Miranda, R.** (1994). Bioactive Natural Products from traditionally used Mexican Plants. En J. T. Arnason (Ed). *Phytochemistry of Medicinal Plants*. Plenum Press. New York, pp. 83-112.
- **Pereda-Miranda, R.** (1995). Estructura de la tricolorina A, un glicolípido modulador de la actividad enzimática de la proteína cinasa C y pincipal agente alelopático de *Ipomoea tricolor* Cav (Convolvulacea). Tesis doctoral. Facultad de Química, UNAM, México.
- **Pereda-Miranda, R. y Bah, M.** (2003). Biodynamic Constituents in the Mexican Morning Glories: Purgative Remedies Transcending Boundaries. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, 3, 1-20.
- **Pereda-Miranda, R. y Hernández-Carlos, B.** (2002) HPLC isolation and structural elucidation of diastereomeric niloyl ester tetrasacharides from mexican scammony root. **Tetrahedron**, 58, 3145-3154.
- **Pereda-Miranda, Kaatz, G. W., Gibbons, S .** (2006a) Polyacilated Oligosaccharides from Medicinal Mexican morning glory Species as Antibacterials and Inhibitors of Multidrug Resistance in *Staphylococcus aureus*. **J. Nat. Prod.**, 69, 1460-1466.
- **Pereda-Miranda, R., Fragoso-Serrano M., Escalante-Sánchez, E., Hernández-Carlos, B., Linares, E. y Bye R.** (2006b). Progiling of the Resin Glycoside Content of Mexican Jalap Roots with Purgative Activity. **J. Nat. Prod.**, 69, 1460-1466.
- **Pereda-Miranda, R., Mata, R., Anaya, A. L., Winckramarantne, D. B. M., Pezuto, J. M. y Kinhorn, A. D.** (1993). Tricolorin A, mayor phyto-growth inhibitor from *Ipomoea tricolor*, **J. Nat. Prod.** 56, 571-582.
- **Pérez-Amador, N. C., amor, D., Murguía, G.** (1992). **Phyton**, 53, 1-4.
- **Perusquía, M., Mendoza, S., Bye. R., Linares, E. y Mata, R.** (1995). Vasoactive effects of aqueous extract from five Mexican medicinal plants on isolated rat aorta. **Journal of Ethnopharmacology**, 46, 63-69.

- **Pongprayoon, U., Bohlin, L. Sandberg, F.** (1989). Inhibitory effect of extract of *Ipomoea pes-caprae* on guinea-pig ileum smooth muscle. **Acta Pharm. Nordica**, *1*, 41-44.
- **Pongprayoon, U., Baeckström, P., Jacobsson, U., Lindström, M., Bohlin L.** (1992b). Inhibition of ethil phenyl-propiolate-induced rat ear oedema by compounds isolated from *Ipomoea pes-caprae*. **Phytother. Res.**, *6*, 104-107.
- **Rencurosi, A., Mitchell, E.P., Cioci, G., Pérez, S., Pereda-Miranda, R., Imberty, A.** (2004) Crystal structure of tricolorin A: Molecular rationale for the biological properties of resin glycosides found in some Mexican herbal remedies. **Angewandte Chemie International Edition** *43*, 5918-5922.
- **Reynolds, W. F. y Enriquez, R. G.** (1995). Isolation and characterization of citotoxic and antimicrobial glycosides from *Ipomoea stans*. **J. Nat. Prod.**, *58*, 1730-1734.
- **Reynolds, F. W., Yu, M., Enríquez, R. G. Gónzalez, H., León, I., Magos, G. y Villarreal, M. L.** (1995). Isolation and Charatecrization of Cytotoxic and Antibacterial Tetrasaccharide Glycosides from *Ipomoea stans*. **J. Nat. Prod.**, *58*, 1730-1734.
- **Roig y Mesa, J. T.** (1974). Plantas medicinales aromáticas venenosas de Cuba. En Instituto del libro (Ed.). La Habana, pp. 223-124.
- **Rzedowski, G. C., Rzedowski J. y colaboradores.** (2001). Flora fanerogámica del Valle de México, 2a. Ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán, México.
- **Sarin, J. P. S., Hari, G. S., Nandu, K. M. y Dhar, M. M.** (1973) Ipolearoside : A new glycoside from *Ipomoea leari*, with anti-cancer activity. **Phytochemistry**, *12*, 2461-2468.
- **Schimming, T., Tofern, B., Mann, P., Richter, A., Jenett-Siems, K., Dräger, B., Asno, N., Gupta, P., Correa, D. M. y Eich, E.** (1998) Distribution and Taxonomix significance of Calystegines in the Convolvulacea. **Phytochemistry**, *49*, 1989-1995.
- **Shu, Y.Z.** (1998). Recent Natural Products Based Drug Development: A Pharmaceutical Industry Perspective. **J. Nat. Prod.**, *61*, 1053-1071.
- **Shugeng Cao, Rebecca C. Guza, Jan H. Wisse, James S. Miller, Randy evans, and David G. I. Kingston** (2005) Ipomoessins A-E, Cytotoxic Macrocylic Glycoresins from the Leaves of *Ipomoea squamosa* from the Suriname Rainforest. **J. Nat. Prod.**, *68*, 487-492.
- **Srivastava, R. y Kassum, S.** (1991). Structure of pescaproside E, a fatty acid glycoside from *Ipomoea pes-caprae*. **Carbohydrate Research**, *212*, 169-176.

- **Srivastava V., Singh Negi A., Kumar, J.K., Gupta, M. M. and Khanuja P.S.** (2005) Plant-based anticancer molecules: A chemical and biological profile of some important leads. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, *13*, 5892-5908.
- **Stauffacher, D., Tschertter, H. y Hofmann.** (1965). Isolierung von Ergosin und Ergosinin neben Agroclavin aus den Samen von *Ipomoea argyrophylla* VATKE (Convolvulaceae). **Hel. Chim Acta**, *48*, 1379-1380.
- **Sugandhika, T., Nalinie, S.M.D. y Jansz E.R.** (2000). Oral hypoglycaemic activity of *Ipomoea aquatica*. **Journal of Ethnopharmacology** *72*, 293-298.
- **Sugandhika, T., Nalinie, S. M. D. y Jansz, E. R.** (2000). Oral hypoglycaemic activity of *Ipomoea aquatica*. **Journal of Ethnopharmacology**, *72*, 293-298.
- **Trease, G. E. y Evans, W. C.** (2002). Pharmacognosy. 15th ed. WB Saunders, USA.
- **Villaseñor, J. L., y Espinosa F. J.** (1998). Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario y Fondo de Cultura Económica, México D.F.
- **Wagner, H. y Schwarting, G.** (1997), Struktur der microphyllinsäure aus dem harz von *Convolvulus Microphyllus*. **Phytochemistry**, *16*, 715-717.
- **Wagner, H.** (1973), The chemistry of resin glycosides of the convolvulaceae family: **Nobel Symposium**, *25*, 235-240.
- **Wolfender, J.L, Maillard, M., Marston, A. y Hostettmann, K.** (1992) Mass Spectrometry of Underivatized Naturally Occurring Glycosides. **Phytochemical Analysis**, *3*, 193-214.
- **Woodson, R. E., Schery, R. W. y Austin, D. F.** (1975). Flora de Panamá. Part IX. Family 164. Convolvulaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, *62*, 157-224.
- **Yang, M. T., Milligan, L. P. Y Mathison, G. W.** (1981) Improved sugar separation by high performance liquid chromatography using porous microparticle carbohydrate columns. **Journal of Chromatography**, *209*, 316-322.