



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

**AISLAMIENTO, CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y EVALUACIÓN CITOTÓXICA
DE TERPENOIDES PRESENTES EN LAS ESPECIES VEGETALES *Croton niveus* y
Sapium lateriflorum (Euphorbiaceae)**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. CARMEN ILEANA REYES HERNÁNDEZ



TUTOR: Dr. E. Guillermo Delgado Lamas AÑO: 2011



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

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada (No. Becario 227090) para la realización de mis estudios de maestría.

A la Coordinación del Posgrado de Ciencias Químicas de la UNAM por el financiamiento otorgado para presentar el avance de este proyecto en el Congreso Mexicano de Química efectuado del 18 al 22 de Septiembre de 2010 en la Riviera Maya, Quintana Roo.

Al Dr. Guillermo Delgado Lamas por el apoyo y la asesoría brindada para la realización de esta investigación.

A cada unos de los miembros del Jurado por la cuidadosa revisión y las contribuciones realizadas a esta tesis.

Presidente: Dr. Rogelio Gregorio Pereda Miranda

Vocal: Dr. Carlos Martín Cerda García Rojas

Vocal: Dr. Ricardo Reyes Chilpa

Vocal: M. en C. Emma Maldonado Jiménez

Secretario: Dr. José Guillermo Penieres Carrillo

Al personal técnico académico del Instituto de Química de la UNAM, por su colaboración en el desarrollo experimental de la investigación realizada.

El presente proyecto de investigación se realizó en el Laboratorio 1 del edificio C del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Dedicatorias

A mis padres

Contenido

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	
2.1. Generalidades de la familia Euphorbiaceae	6
2.1.1. Perfil químico de la familia Euphorbiaceae	7
2.2. Características del género <i>Croton</i>	9
2.2.1. Composición química	10
2.3. Características del género <i>Sapium</i>	13
2.3.1. Composición química	14
3. OBJETIVOS	19
4. PARTE EXPERIMENTAL	
4.1. Material vegetal	20
4.2. Material y equipos	21
4.3. Preparación de los extractos crudos	21
4.4. Pruebas de citotoxicidad	22
4.5. Fraccionamiento primario de los extractos crudos de <i>S. lateriflorum</i>	
4.5.1. Extracto hexánico	22
4.5.2. Extracto de acetato de etilo	24
4.6. Fraccionamiento principal del extracto de <i>C. niveus</i>	27

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
5.1. Evaluación de la actividad citotóxica de extractos	30
5.2. Perfil químico de <i>S. lateriflorum</i>	
5.2.1. Caracterización de los componentes del extracto hexánico	31
5.2.2. Caracterización de los componentes del extracto de acetato de etilo	35
5.3. Perfil químico de <i>C. niveus</i>	
5.3.1. Elucidación estructural de diterpenos aislados de <i>C. niveus</i>	39
5.4. Evaluación de la actividad citotóxica de compuestos puros	55
6. CONCLUSIONES	57
7. PERSPECTIVAS.....	59
8. REFERENCIAS	60
ANEXO I. Espectros de compuestos aislados de <i>S. lateriflorum</i>	65
ANEXO II. Espectros de compuestos aislados de <i>C. niveus</i>	81

1. INTRODUCCIÓN

Por generaciones el ser humano ha seleccionado una amplia gama de plantas que son aprovechadas por sus cualidades, destacándose las alimenticias y las curativas. Actualmente se conocen alrededor de 250,000 a 300,000 especies de plantas superiores en la biósfera [1], de las cuales aproximadamente 10,000 especies poseen propiedades terapéuticas documentadas [2].

No fue sino hasta principios del siglo XIX que se comenzaron a aislar los principios activos a partir de las plantas medicinales con el propósito de obtener sustancias puras que interactuaran de manera específica con el organismo para atenuar, curar o aliviar los síntomas de diversos padecimientos. Investigaciones recientes señalan que cerca del 80 % de los medicamentos, existentes hasta finales del siglo XX, tienen un origen natural o han sido desarrollados basándose en la estructura de un producto natural. Asimismo, aproximadamente el 60 % de los compuestos anticancerígenos y el 75 % de los fármacos empleados para combatir enfermedades infecciosas proceden de fuentes naturales [3]. La búsqueda de nuevos agentes terapéuticos, a partir de metabolitos secundarios presentes en la naturaleza, ha permitido obtener hallazgos importantes sobre agentes anticancerígenos, antivirales y en fármacos para aumentar la fertilidad [4], entre otros.

La inclinación hacia el uso de los compuestos de origen natural como potenciales fármacos procede del hecho de que los productos naturales aislados a partir de las plantas, hongos, líquenes, animales, insectos y bacterias muestran una gran variabilidad química, con estructuras estereoquímicamente complejas y múltiples combinaciones de grupos funcionales relacionados con algún tipo de actividad biológica.

Además, se sabe que los compuestos bioactivos suelen formar parte de una familia de moléculas relacionadas, por lo que es posible aislar y sintetizar varios homólogos para obtener información referente a la dependencia entre la estructura molecular y la actividad biológica. La exploración en los productos naturales ha estimulado el desarrollo de tecnología destinada a la separación de compuestos, al análisis estructural y al descubrimiento de bioensayos.

Cabe mencionar que entre los criterios de selección de las especies vegetales para la investigación en el área de productos naturales, se encuentra el uso etnomédico (cuando la especie se usa con fines medicinales), el discernimiento ecológico (cuando hay observaciones de campo de interacciones entre organismos), el criterio taxonómico (cuando se analizan especies de plantas relacionadas taxonómicamente), entre otros [5].

México es un país notable por su gran biodiversidad y cuenta con una tradición centenaria en el uso de plantas pertenecientes a numerosas familias. En valoraciones recientes son reconocidas en la medicina popular cerca de 3,000 plantas superiores [6]. Algunas de las especies de nuestro país con antecedentes etnomédicos son *Artemisia absinthium* (hierba maestra, usada para el tratamiento de cólicos), *Flaveria trinervia* (hierba del sapo, empleada contra la disentería y gastritis) y *Heterotheca inuloides* (árnica mexicana, se aplica en lesiones externas como analgésico y antiinflamatorio), éstas pertenecen a la familia Asteraceae. De las euforbiáceas, son ejemplos *Acalypha hederacea* (hierba del pastor, empleada contra la inflamación), *Jatropha neopauciflora* (sangre grado o de dragón, para eliminar erupciones de la piel) y *Ricinus communis* (higuerilla, empleada para la indigestión y fiebre), además de *Psidium guajava* (guayabo, empleado contra la diarrea) de la familia Myrtaceae [7].

Debido al considerable número de especies y endemismos encontrados, la familia Euphorbiaceae se reconoce como un grupo importante de especies vegetales a nivel nacional. Asimismo, se considera la sexta más diversa entre las familias de plantas con flores [8]; se subdivide en 317 géneros siendo representativos *Ricinus*, *Euphorbia*, *Hura*, *Croton*, *Jatropha* y *Sebastiania* [9]. Algunas euforbiáceas son plantas medicinales, mientras que otras son comestibles, ornamentales o se destacan como fuentes de aceites y de biocombustibles [10].

Una característica particular de las euforbiáceas es la secreción de un látex incoloro o lechoso que puede ser irritante. Inclusive algunas especies de esta familia son consideradas como tóxicas, purgativas, irritantes de las mucosas y la piel [11]. En la medicina tradicional, se han empleado para el tratamiento de infecciones de la piel, para combatir parásitos intestinales, diarrea, indigestión, disentería, o como antiinflamatorios, antipiréticos y remedios para curar padecimientos del hígado [12].

A través del análisis químico y farmacológico de la familia Euphorbiaceae se han encontrado especies que biosintetizan agentes citotóxicos, antiinflamatorios y pro-inflamatorios [13]. La exploración dentro de este grupo de plantas mostró que el acetato de tetradecanoilforbol, aislado del aceite de las semillas de *Croton tiglium*, es un promotor de tumores [14]. En general, los productos naturales aislados y caracterizados entre las euforbiáceas son esencialmente terpenoides, flavonoides y alcaloides. En su mayoría, los terpenoides corresponden a diversas clases estructurales de diterpenos tales como los derivados de pimarano [15], labdano, tigliano, dafnano, ingenano [14], y triterpenos de tipo cicloartano [16], lupano [17], friedelano [18], y estigmastano, entre otros. Existe un amplio interés en la evaluación de la toxicidad y las propiedades terapéuticas que presentan los diterpenos de esta familia. Algunos diterpenos de euforbiáceas poseen actividad farmacológica aunque también son metabolitos tóxicos. A pesar de que estos

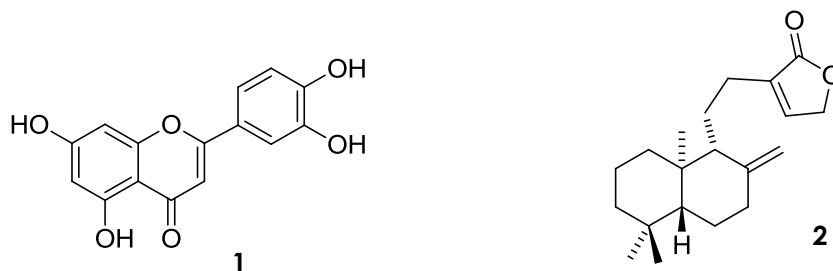
compuestos presentan actividad biológica opuesta, en ocasiones son estructuralmente muy semejantes.

Considerando la diversidad estructural de los metabolitos secundarios aislados de plantas de la familia Euphorbiaceae, y la actividad farmacológica que han presentado algunos de ellos, se ha estudiado la composición química de especies como *Jatropha neupaciflora* [19], *Croton glabellus* [20] y *Garcia parviflora* [21].

En continuación con la búsqueda de productos naturales de euforbiáceas bioactivos se aislaron y caracterizaron los compuestos presentes en dos especies selectas: *Croton niveus* y *Sapium lateriflorum*.

Croton niveus es popularmente conocida como Copalchi; es originaria de Venezuela pero también crece en otras regiones con climas cálido y semicálido. En Yucatán, esta planta se utiliza para curar heridas y hemorragias, mientras que en regiones céntricas del país se le atribuyen propiedades como hipoglucemiante y oftálmico, también se usa como antiséptico, sin embargo esta planta puede ser irritante [22].

En estudios químicos anteriores se han aislado y caracterizado quercetina (**1**) [23] y nivenólida (**2**), una lactona diterpénica presente en las hojas de *C. niveus* [24].



La segunda especie analizada en este trabajo es *Sapium lateriflorum* conocida popularmente como amate capulín, amate blanco o higuera. En Veracruz se emplea para combatir parásitos intestinales, para ello se mezclan el látex de esta planta y café [22].

En general, en la composición química de las especies de *Sapium* predominan los ésteres de forbol. Actualmente, solo existe información preliminar acerca de la composición de *S. lateriflorum* [44b].

Con este proyecto de investigación se pretende generar nuevo conocimiento científico referente a los principales metabolitos secundarios presentes en ambas euforbiáceas (*C. niveus* y *S. lateriflorum*), y así ampliar el conocimiento de la composición química de una familia de importancia nacional.

2. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades de la familia Euphorbiaceae

Son 317 géneros [9] y aproximadamente 8100 especies [25] las que conforman a la familia Euphorbiaceae, que se distribuyen por todo el mundo principalmente en las regiones tropicales y subtropicales. Es la sexta familia más diversa entre las angiospermas, después de Orchidaceae, Compositae, Leguminosae, Gramineae y Rubiaceae [8]. En esta familia se agrupan los géneros *Euphorbia*, *Hura*, *Croton*, *Jatropha*, *Sapium* y *Sebastiania* entre otros.

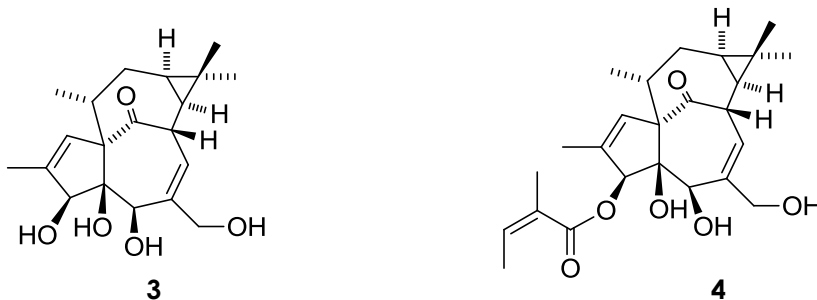
En México se encuentran alrededor de 50 géneros y 826 especies de euforbiáceas, considerando tanto a especies introducidas como las cultivadas. Esta cantidad corresponde al 10.19 % de las especies y el 15.77 % de los géneros del total de esta familia. De las euforbiáceas mexicanas el 55.52 % se consideran endémicas. Los géneros con mayor número de especies son *Euphorbia* (138 especies), *Croton* (126 especies), *Chamaesyce* (103 especies) y *Acalypha* (126 especies). Los estados en orden de importancia respecto a la diversidad de especies son Oaxaca, Veracruz, Chiapas, Jalisco, Guerrero, Michoacán, Sonora, Sinaloa, Puebla, Nayarit y Tamaulipas [26].

Las plantas de esta familia se pueden identificar por la secreción característica de un látex incoloro o lechoso que puede ser irritante. Algunas de las especies de euforbiáceas son tóxicas, con efectos purgantes o en ocasiones son alérgicas. Estas propiedades pueden dificultar la investigación química de las mismas, ya que se requieren medidas especiales para su manipulación. Sin embargo, dichas propiedades a su vez han despertado el interés en la exploración de metabolitos novedosos biosintetizados por especies de esta familia.

2.1.1. Perfil químico de la familia Euphorbiaceae

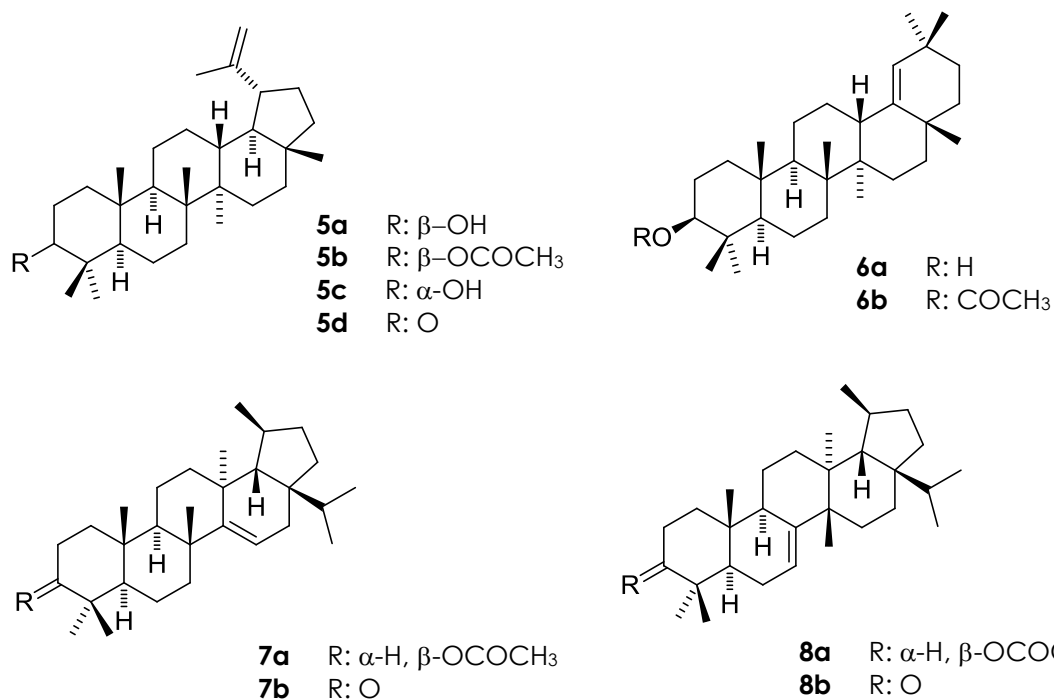
Un gran número de terpenoides se han aislado a partir de plantas de la familia Euphorbiaceae. De los cuales es notable que algunos de los compuestos destacados por sus propiedades terapéuticas o tóxicas, presenten estructuras de tipo diterpeno [27].

En estudios farmacológicos los diterpenos de euforbiáceas exhiben actividad biológica de diversos tipos, demostrando ser fármacos potenciales y también metabolitos tóxicos útiles para el estudio de padecimientos tales como los procesos de inflamación o la generación de tumores; en algunas ocasiones estos compuestos están relacionados biogénica o estructuralmente. Por ejemplo, el ingenol (**3**) y derivados producidos por *Euphorbia esula* pueden ser tóxicos para los herbívoros [28], mientras que el derivado 3-angelilo de ingenol (**4**) aislado de *Euphorbia peplus* demuestra actividad antileucémica y antitumoral; es importante señalar que este producto natural se encuentra en etapa de pruebas clínicas para el tratamiento de queratosis actínica (neoplasia precancerosa de la piel) [29].

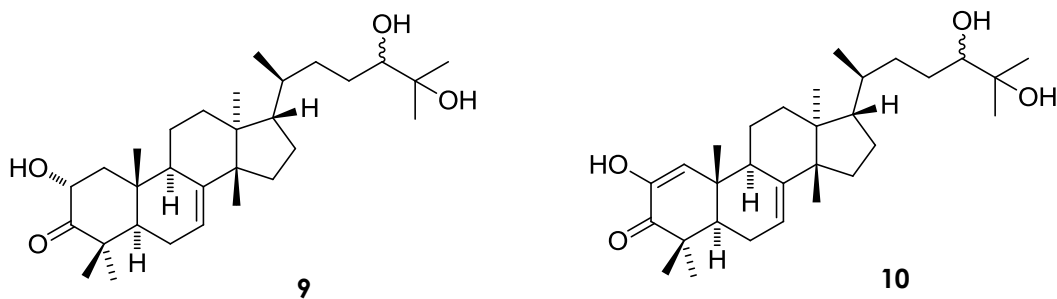


En cuanto a los triterpenos aislados de euforbiáceas, se han encontrado a partir del género *Cnidoscolus*: lupeol (**5a**), acetato de lupeílo (**5b**), germanicol (**6a**) y 3-acetato de germanilo (**6b**) [30]. Mientras que el acetato de madeiranilo (**7a**), el acetato de

isomadeiranol (**8a**), así como los derivados (**7b**) y (**8b**) fueron aislados de las hojas y corteza de *Euphorbia stygiana* [31].



También, se ha determinado la presencia de los productos naturales 2,24,25-trihidroxitirucal-7-en-3-ona (**9**) y 2,24,25-trihidroxitirucal-1,7-dien-3-ona (**10**) en las hojas de *Jatropha gossypifolia* [32].



Entre los componentes del látex de estas plantas se han encontrado otros triterpenos, por ejemplo de *Euphorbia pulcherrima* (nochebuena) se aislaron β -sitosterol (**52**), β -amirina

(43), acetato de β -amirina, germanicol (6a), 3- β -acetilgermanilo (6b) y cicloartenol (44a) [33]. En cambio, en otras especies del género *Euphorbia*, los principios activos del látex con efecto irritante y que muestran actividad cocarcinogénica en piel de ratón, son principalmente ésteres de forbol, ingenol y sus derivados [34].

Los ésteres de forbol son frecuentes en especies de la familia Euphorbiaceae, siendo característicos aquellos que contienen un átomo de nitrógeno en su estructura [35]. Se ha informado la presencia de forboles tóxicos en diversas especies como *Sapium indicum*, *S. japonicum*, *Euphorbia frankiana*, *E. cocrulescence*, *E. ticulli*, *Croton spareiflorus*, *C. tiglium*, *C. ciliatoglandulifer*, *Jatropha curcas*, *Excoecaria agallocha* y *Homalanthus nutans* [36].

2.2. Características del género *Croton*

El género *Croton* está representado por 800 especies distribuidas principalmente en las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Son árboles, arbustos o bejucos; sus tallos presentan un exudado coloreado. En Brasil, se encuentra la mayor diversidad de especies de este género [26].

En particular, *Croton niveus* es un arbusto o árbol con una altura de 1 a 15 m (figura 1), nativo de Venezuela. En México se encuentra en los estados de Campeche, Chiapas, Colima, Guerrero, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Querétaro, Quintana Roo, Sinaloa, San Luis Potosí, Sonora, Tamaulipas y Veracruz; también crece en Colombia y Costa Rica [9]. Es nombrada comúnmente como copalchi (Oaxaca), chul, chul che', kopal che', pomolche' (Yucatán) [22] y se emplea con fines terapéuticos en Curazao [37].



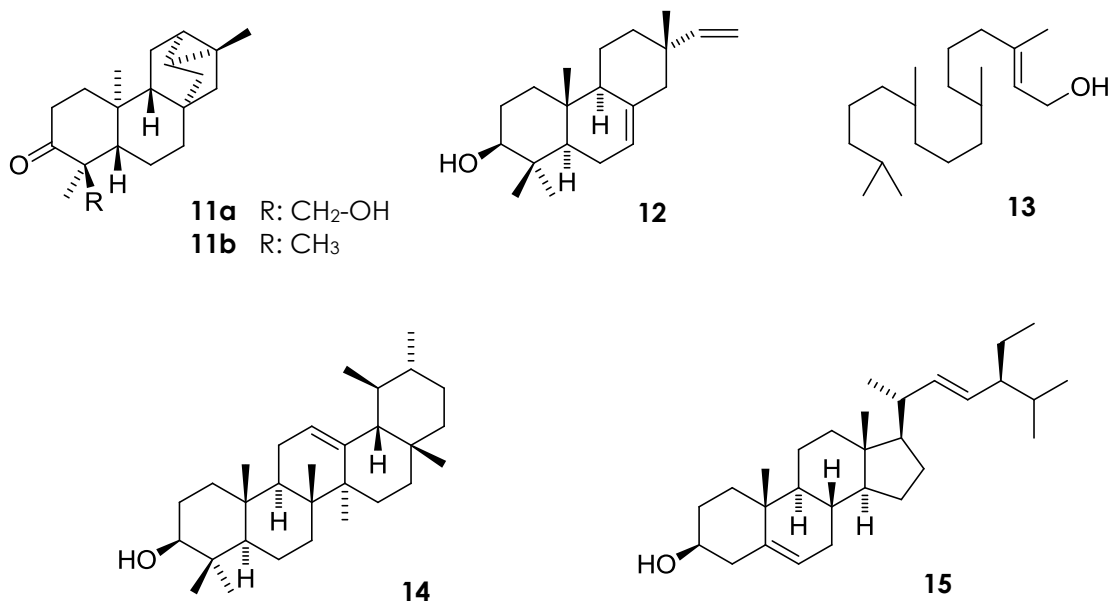
Figura 1. Aspecto de *Croton niveus*

En general, ciertas plantas del género *Croton* se han usado tradicionalmente en la medicina popular [8]. Los análisis químicos y farmacológicos de algunas especies han sido orientados por su uso en el tratamiento de diversos padecimientos, este es el caso de *Croton cajucara* y *C. lechleri* (sangre grado) [38]. Aunque otras especies también son conocidas por sus efectos irritantes y oncogénicos atribuidos principalmente a los ésteres de forbol que contienen.

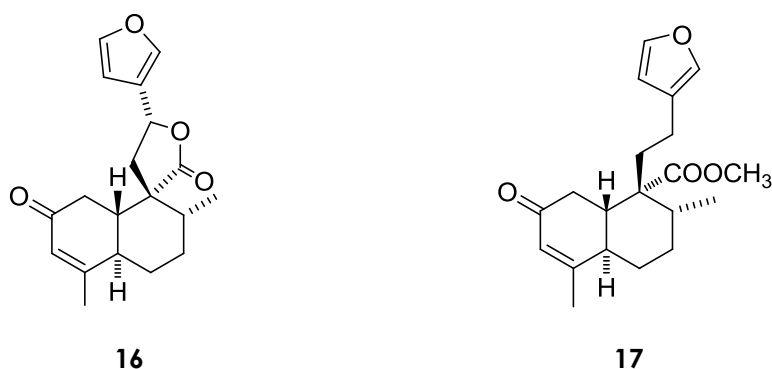
2.2.1. Composición química

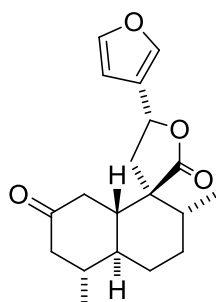
En investigaciones previas del género *Croton* se han aislado principalmente diterpenos con esqueletos de tipo pimarano, kaurano, labdano, clerodano, cembrano y ésteres de forbol [39].

Por ejemplo, en las hojas de *C. zambesicus* se biosintetizan dos traquilobanos: *ent*-18-hidroxi-traquiloban-3-ona (**11a**) y *ent*-traquiloban-3-ona (**11b**); el diterpeno isopimara-7,15-dien-3 β -ol (**12**), junto con *trans*-fitol (**13**), β -sitosterol, α -amirina (**14**) y estigmasterol (**15**) [40].

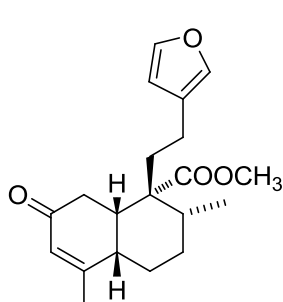


En las especies del género *Croton* frecuentemente se encuentran diterpenos con estructura tipo clerodano. Son ejemplos la *trans*-dehidrocrotonina (**16**), *trans*-cajucarina B (**17**), *trans*-crotonina (**18**), cajucarina B (**19**) y los epímeros de cajucarínólida (**20/21**), que fueron aislados de la corteza de *Croton cajucara* [41]. Asimismo, se han obtenido marrubiagenina (**22**), austroinulina (**23a**) y 6-O-acetilaustroinulina (**23b**) de un extracto moderadamente citotóxico preparado de las partes aéreas de *C. glabellus* [20].

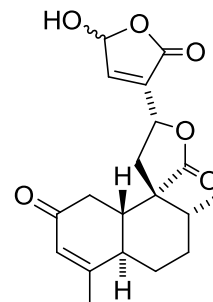




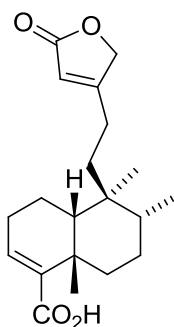
18



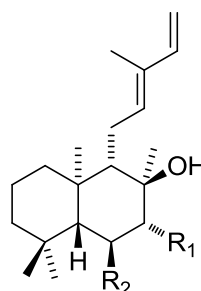
19



20/21

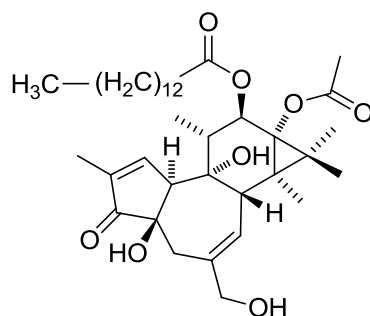


22



23

Por otro lado, una de las investigaciones con resultados sobresalientes se realizó partiendo del aceite de las semillas de *Croton tiglium*, de donde se aisló y caracterizó por primera vez el diterpeno 13-acetoxi-4β-12-O-tetradecanoilforbol (**24**), que presenta propiedades tóxicas y ha demostrado ser cocarcinogénico. La interacción del forbol con la proteína cinasa C afecta la actividad de diversas enzimas, la biosíntesis de proteína, ADN, poliaminas, los procesos de diferenciación celular y la expresión genética [35].



24

2.3. Características del género *Sapium*

Las especies del género *Sapium* son árboles o arbustos que presentan un exudado lechoso, con glándulas y flores características. Las especies englobadas en este género son alrededor de 100, distribuidas en Centroamérica, Asia y en México, donde se localizan tres especies: *S. macrocarpum*, *S. glandulosum* y *S. lateriflorum* (figura 2) [26].



Figura 2. *Sapium lateriflorum*

El centro de origen de *S. lateriflorum* se desconoce, pero su distribución en México se extiende a los estados de Oaxaca, Campeche, Chiapas, Guerrero, Puebla, Quintana Roo, Veracruz, Sinaloa y Tabasco [8].

Ancestralmente, en algunas regiones del mundo se ha aprovechado el látex de las plantas del género *Sapium* por su toxicidad, se aplica como veneno en las puntas de las flechas para pescar o cazar animales. Una especie de importancia económica es *S. sebiferum* por ser una fuente de aceite para la elaboración de jabones. Además, otras especies son recursos terapéuticos para el tratamiento de la indigestión, para eliminar

parásitos, como antisépticos y antiinflamatorios. En Veracruz el látex de *S. lateriflorum* se mezcla con café para preparar un remedio empleado para combatir parásitos intestinales [22]. Sin embargo, hasta la fecha no existen estudios farmacológicos que demuestren su efectividad fitoterapéutica. Otras plantas de este género pueden provocar irritación de la piel, son ejemplos *S. indicum*, *S. japonicum* y *S. insigne* [37]. Se ha comprobado que los extractos de *S. indicum* inducen eritema de la piel *in vivo* [42].

Respecto a estas plantas existe muy poca información referente a su perfil químico. Fundamentalmente se han aislado ésteres de forbol, de los cuales algunos son tóxicos o promotores de tumores, y triterpenos con actividad antimicrobiana o citotóxica [43]. La investigación del género *Sapium* se ha desarrollado partiendo del conocimiento sobre la toxicidad de los metabolitos secundarios que biosintetizan, aunque son pocas las especies estudiadas hasta el momento.

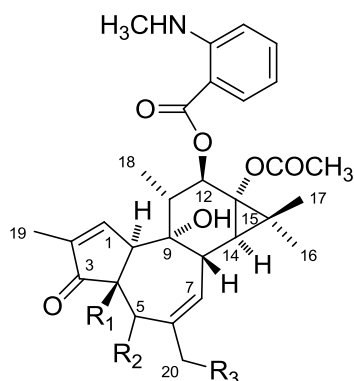
2.3.1. Composición química

Como se ha mencionado anteriormente, el conocimiento de la composición química del género *Sapium* es limitado. Previamente se ha informado de la presencia de ésteres de forbol, los cuales han sido aislados como constituyentes tóxicos de varios géneros de la familia Euphorbiaceae [44a]. Los ésteres de forbol son interesantes como herramientas farmacológicas para el análisis de los mecanismos de la promoción de estados carcinogénicos [45], así como en procesos de inflamación en mamíferos [46].

A partir de *S. indicum* se han aislado y caracterizado derivados tóxicos de forbol, que contienen un átomo de nitrógeno en su estructura. Estos productos naturales corresponden a los ésteres de 4-desoxiforbol y el éster de 4-desoxi-5-hidroxiforbol,

conocidos como sapintoxinas A (**25**), C (**26**), y B (**27**) respectivamente [47], así como la sapintoxina D (**28**) que induce eritema prominente de la piel en mamíferos y produce la agregación plaquetaria en sangre de conejo (figura 3a) [48]. En los frutos de esta especie se biosintetizan en menor cantidad tres ésteres alifáticos de diterpenos de tipo tigliano, denominados sapatoxinas A (**29**), B (**30**) y C (**31**) (figura 3b) [49].

a)

**25** R₁: H, R₂: H, R₃: OH**26** R₁: H, R₂: β-OH, R₃: H**27** R₁: H, R₂: β-OH, R₃: OH**28** R₁: OH, R₂: H, R₃: OH

b)

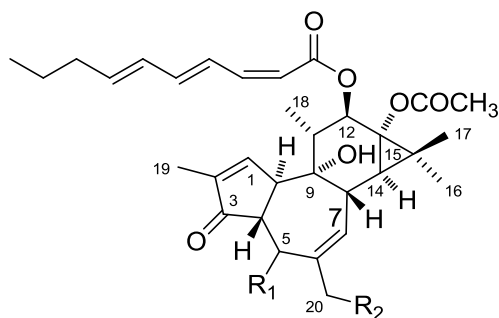
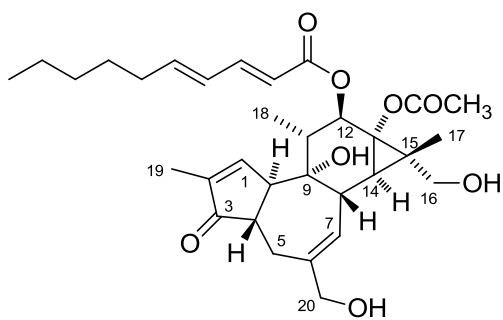
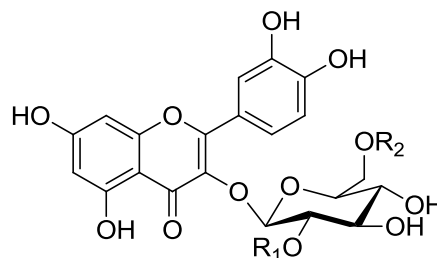
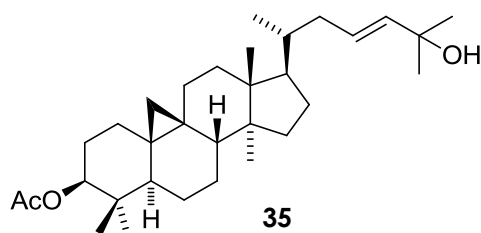
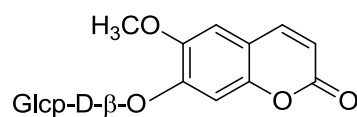
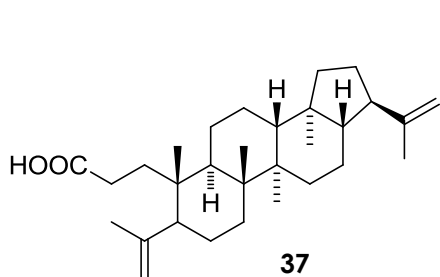
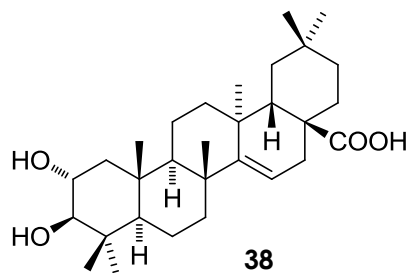
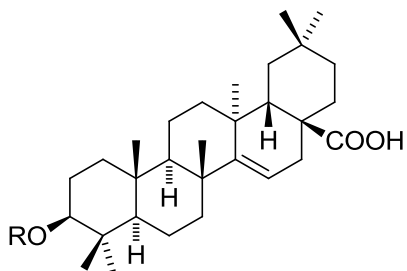
**29** R₁: H, R₂: OH**30** R₁: β-OH, R₂: OH**31** R₁: β-OH, R₂: H

Figura 3. Estructuras de a) sapintoxinas y b) sapatoxinas de *S. indicum*

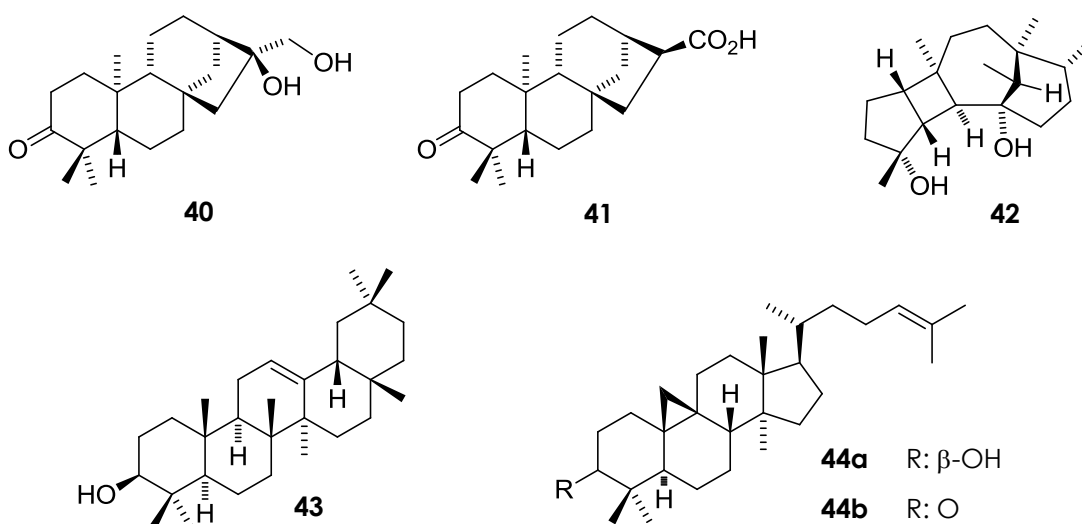
La especie *S. insigne* biosintetiza el éster de 4-desoxi-16-hidroxiforbol (**32**) con actividad proinflamatoria *in vivo*. Derivados de forbol con un grupo hidroxilo en la posición C-16 se han aislado también de *Croton flavens* pero son poco frecuentes entre las euforbiáceas. Asimismo, de las hojas se han aislado los flavonoides (**1**), rutina (**33**), 3-neohesperidósido de quercetina (**34**), 3-O-acetilcicloart-23-en-25-ol (**35**) y escopolina (**36**) [50].

**32****33** R₁: H, R₂: H**34** R₁: β-Ram, R₂: H**35****36**

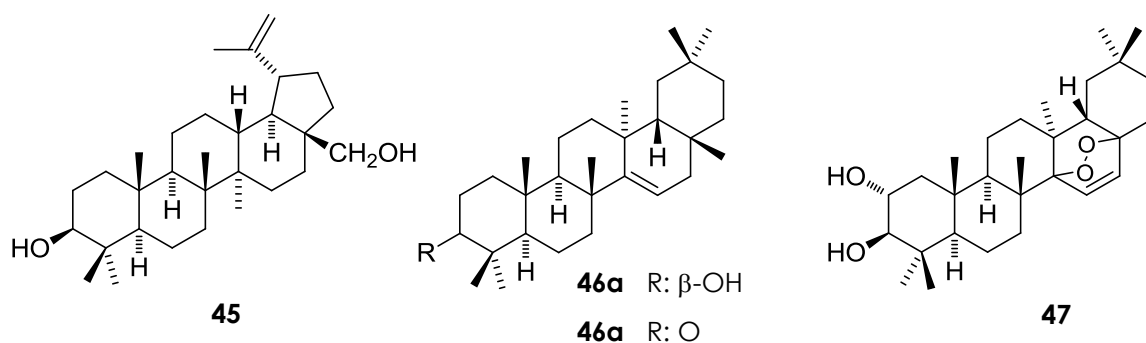
Por otra parte, de la corteza de *S. sebiferum* se han aislado los triterpenos ácido sebiférico (**37**), ácido sebiferénico (**38**) y ácido aleuritólico (**39a**) [51].

**37****38****39a** R: H**39b** R: COCH₃

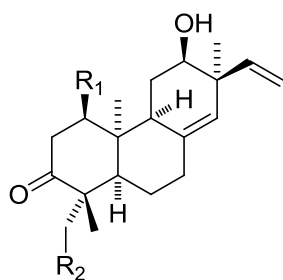
También se ha informado de la presencia de los diterpenos tipo kaurano (**40**) y (**41**), así como de la caracterización del diterpeno rigidol (**42**), aislados a partir de las ramas de *S. rigidifolium* y el ácido 3-acetilauritólico (**39b**), lupeol (**5a**) y lupenona (**5d**) de la corteza, mientras que en las hojas se encontraron 3-*epi*-lupeol (**5c**), β -sitosterol, β -amirina (**43**) y estigmasterol (**15**). De las hojas de *S. pachystachys* se han aislado cicloartenol (**44a**), cicloartenona (**44b**) y lupenona (**5d**) [52].



A partir de las hojas de *S. baccatum* se aislaron sus principales constituyentes: lupeol (**5a**), betulina (**45**), β -taraxerol (**46a**), taraxenona (**46b**), ácido 3-acetilauritólico (**39b**) y baccatina (**47**). En este estudio se evaluó la actividad citotóxica y antimicrobiana de algunos de los compuestos mencionados [53].

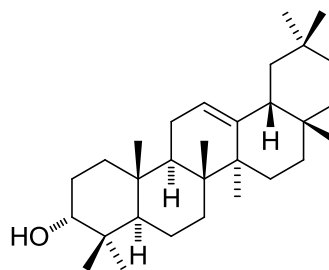


Finalmente, de las partes aéreas de *S. haematospermum* se han aislado dos diterpenos de tipo pimarano: lecheronol A (**48a**) y B (**48b**), además de 3 α -hidroxiolean-12-eno (**49**) y 3-O- β -lauroil cicloart-(23E)-en-25-ol (**50**) [54].

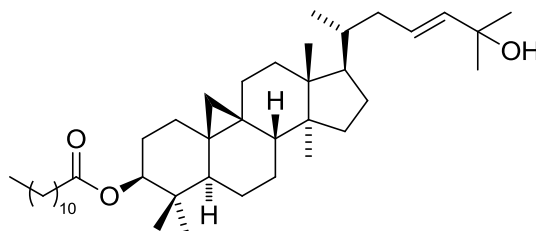


48a R₁: OH, R₂: H

48b R₁: H, R₂: OH



49



50

3. OBJETIVO GENERAL

Continuar la exploración de la composición química de *Croton niveus* y *Sapium lateriflorum* (Euphorbiaceae), realizando el aislamiento y la caracterización estructural de los metabolitos secundarios extraídos por maceración con disolventes orgánicos. Así como evaluar la actividad citotóxica de los extractos y los constituyentes puros obtenidos de las mismas.

3.1. Objetivos particulares

- ✓ Realizar ensayos preliminares de citotoxicidad de los extractos orgánicos de *Croton niveus* y *Sapium lateriflorum* frente a seis líneas celulares cancerosas humanas usando el método colorimétrico de la sulforrodamina B.
- ✓ Aislar, purificar y caracterizar la estructura de los principales metabolitos secundarios que se encuentran en las ramas de *Croton niveus* a partir de la extracción con diclorometano/metanol, y de los productos naturales presentes en los extractos de hexano y acetato de etilo de las partes aéreas de *Sapium lateriflorum*.
- ✓ Establecer la configuración absoluta de los compuestos aislados aplicando el método de dicroísmo circular.
- ✓ Realizar el bioensayo de citotoxicidad para ponderar la actividad de los compuestos purificados contra seis líneas celulares de cáncer, empleando el método de sulforrodamina B.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Material vegetal

En 2007 se recolectaron hojas y ramas de la especie *Sapium lateriflorum* en la región de San Juan Chancalaito, Chiapas. La especie fue identificada por el biólogo Esteban Manuel Martínez Salas del Instituto de Biología de la UNAM. Una muestra del material vegetal fue depositada en el Herbario Nacional del Instituto de Biología (MEXU) registrada con clave 1104451.

Datos taxonómicos

Familia: Euphorbiaceae
Subfamilia: Euphorbioideae
Género: *Sapium*
Especie: *Sapium lateriflorum*

La muestra de la planta *Croton niveus* (clave de herbario MEXU 1166943) se colectó en 2005 en la región de Los Tuxtlas, Veracruz. La identificación de esta especie fue realizada por la Dra. Martha Martínez Gordillo de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

Datos taxonómicos

Familia: Euphorbiaceae
Subfamilia: Crotonideae
Género: *Croton*
Especie: *Croton niveus*

En ambos casos el material vegetal fue secado a la sombra y a temperatura ambiente, y posteriormente se trituró.

4.2. Material y equipos

La separación de los compuestos se realizó por cromatografía en columna (CC) empleando sílica gel (SiO_2) 230-400 como fase estacionaria. Así como cromatografía en capa fina preparativa (CCFP) empleando cromatofolios TLC sílica gel 60 F_{254} (Merck) y cromatoplasacas de sílica gel 60 F_{254} de 20x20 cm y 2 mm de espesor (Merck).

El aparato empleado para determinar los puntos de fusión fue Fisher Johns y las mediciones no fueron corregidas. Los espectros de infrarrojo se obtuvieron en el espectrofotómetro Nicolet Magna FT-IR 750 en CHCl_3 . Para los espectros de UV-visible se empleó un espectrofotómetro Shimadzu-UV160. Los datos de dicroísmo circular se determinaron en un dicrógrafo Jasco-J720. Los experimentos de rotación óptica se realizaron en el polarímetro Perkin-Elmer 341. La caracterización estructural se realizó mediante técnicas de RMN de ^1H , ^{13}C , y en algunos casos con experimentos HMBC, HSQC, COSY y NOESY, para ello se utilizaron los espectrómetros Varian Unity 300 (300/75 MHz), Bruker Avance III (400/100MHz) y Varian Unity Plus (500/125 MHz); en éstos se adicionó trimetilsilano como referencia interna. En el análisis de difracción de rayos X se empleó el difractor automático Bruker Smart Apex CCD con radiación monocromada de grafito Mo. Los espectros de masas por IE y HR-FAB se obtuvieron en los espectrómetros Jeol-AX505HA y JMX-SX102A, respectivamente.

4.3. Preparación de los extractos crudos

En el caso de *S. lateriflorum* se obtuvo una cantidad en peso seco de 1.1 Kg de hojas y ramas secas; después de triturar el material se sometió a maceración con hexano por 24 h dos veces consecutivas. Del extracto recuperado por filtración se evaporó el disolvente a presión reducida y calentamiento suave. Después de eliminar el hexano se adicionó

acetato de etilo al residuo vegetal, repitiendo el procedimiento de filtración y concentrado. Finalmente, de cada extracto se obtuvieron 45.6 g y 17.34 g, respectivamente.

Para *Croton niveus* se obtuvo un peso seco de 1.89 Kg de ramas y se procedió a preparar el extracto crudo por maceración, con una mezcla de CH₂Cl₂/metanol en proporción 1:1, dejando reposar durante 24 h. El extracto se filtró y posteriormente se eliminó el disolvente a presión reducida con calentamiento suave. La maceración se repitió dos veces. La cantidad de extracto obtenida fue de 67.48 g.

4.4. Pruebas de citotoxicidad

Se realizaron pruebas preliminares de citotoxicidad con las muestras de los extractos crudos de *C. niveus* y *S. lateriflorum*, así como con los metabolitos aislados a partir de los mismos, empleando el método colorimétrico de la sulforrodamina B [55] aplicado a seis líneas celulares cancerosas humanas: glía de sistema nervioso central (U-251), próstata (PC-3), leucemia (K562), colon (HCT-15), mama (MCF-7) y pulmón (SKLU-1), proporcionadas por el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos de América. Para los compuestos que presentaron más del 50% de inhibición celular en la exploración preliminar, se determinaron las curvas de dosis respuesta empleando como referencia positiva el ácido ursólico [56].

4.5. Fraccionamiento primario de extractos crudos de *S. lateriflorum*

4.5.1. Extracto hexánico

Los componentes del extracto hexánico se separaron mediante cromatografía en columna, empleando 925 g (25 cm) de sílica como fase estacionaria, empacada en una

columna de vidrio de 9.5 cm de diámetro. Como fase móvil se utilizaron hexano, mezclas hex:AcOEt, AcOEt, mezcla de AcOEt:(CH₃)₂CO 1:1 y metanol, en orden creciente de polaridad. Se obtuvieron 12 fracciones principales (A-L) a partir de 100 eluatos iniciales (Diagrama 1).

Aislamiento y purificación de metabolitos

Mediante cromatografía en columna, en cromatoplasas de capa fina y técnicas de cristalizaciones sucesivas se lograron aislar y caracterizar tres compuestos a partir del extracto hexánico.

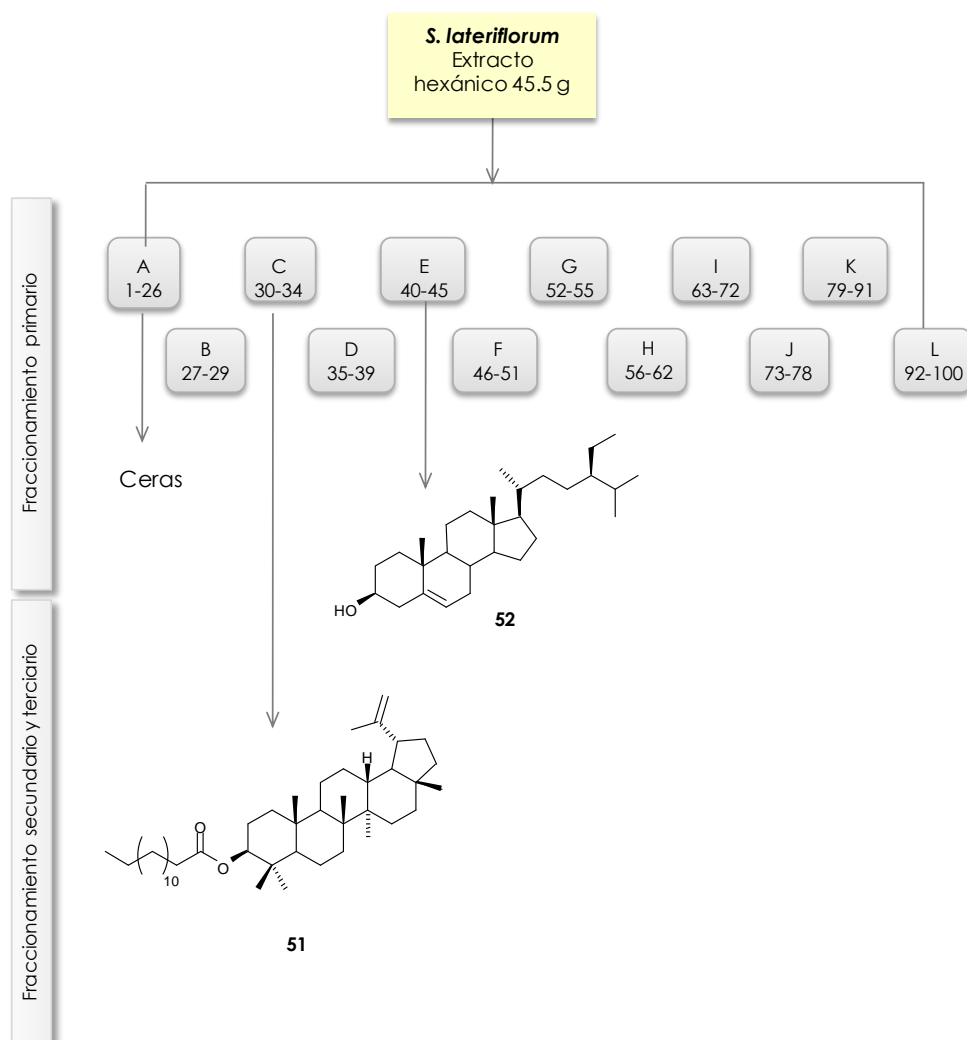


Diagrama 1. Fraccionamiento del extracto hexánico de *S. lateriflorum* por CC

Una muestra de 1.45 g de la serie de fracciones C (30-34,) eluidas con hex:AcOEt 9:1, se resolvieron con CC de sílica, de este proceso se obtuvieron 254 eluatos con hexano y mezclas de hexano/AcOEt (98:2→7:3) de polaridad creciente. De las subfracciones se analizó la serie 53-71 (532.3 mg, Cb) eluidas con mezcla hex:AcOEt 98:2, donde se encontró un sólido blanco amorfo insoluble en acetona el cual corresponde a una mezcla de ésteres de lupeílo (**51**).

Por otra parte, de la serie de eluatos 40-45 (E) obtenidos con hex:AcOEt 7:3, se aisló y purificó un sólido en forma de agujas por cristalización con el par de disolventes hexano/acetona. Este compuesto se identificó como β -sitosterol (**52**) con base en los datos espectroscópicos, cromatográficos y su punto de fusión. También se comparó por CCF con una muestra auténtica obtenida anteriormente en el laboratorio.

4.5.2. Extracto de acetato de etilo

Para la resolución por CC del extracto de acetato de etilo de *S. lateriflorum* se empacaron 476.8 g de sílica, la columna se eluyó con hexano, mezclas de hexano:AcOEt (95:5→3:7), AcOEt, mezcla de AcOEt:(CH₃)₂CO 1:1, AcOEt y metanol en orden de polaridad creciente. En este caso se obtuvieron 354 eluatos de los que finalmente se reunieron las de composición semejante en 24 series de fracciones (A-Y) (Diagrama 2).

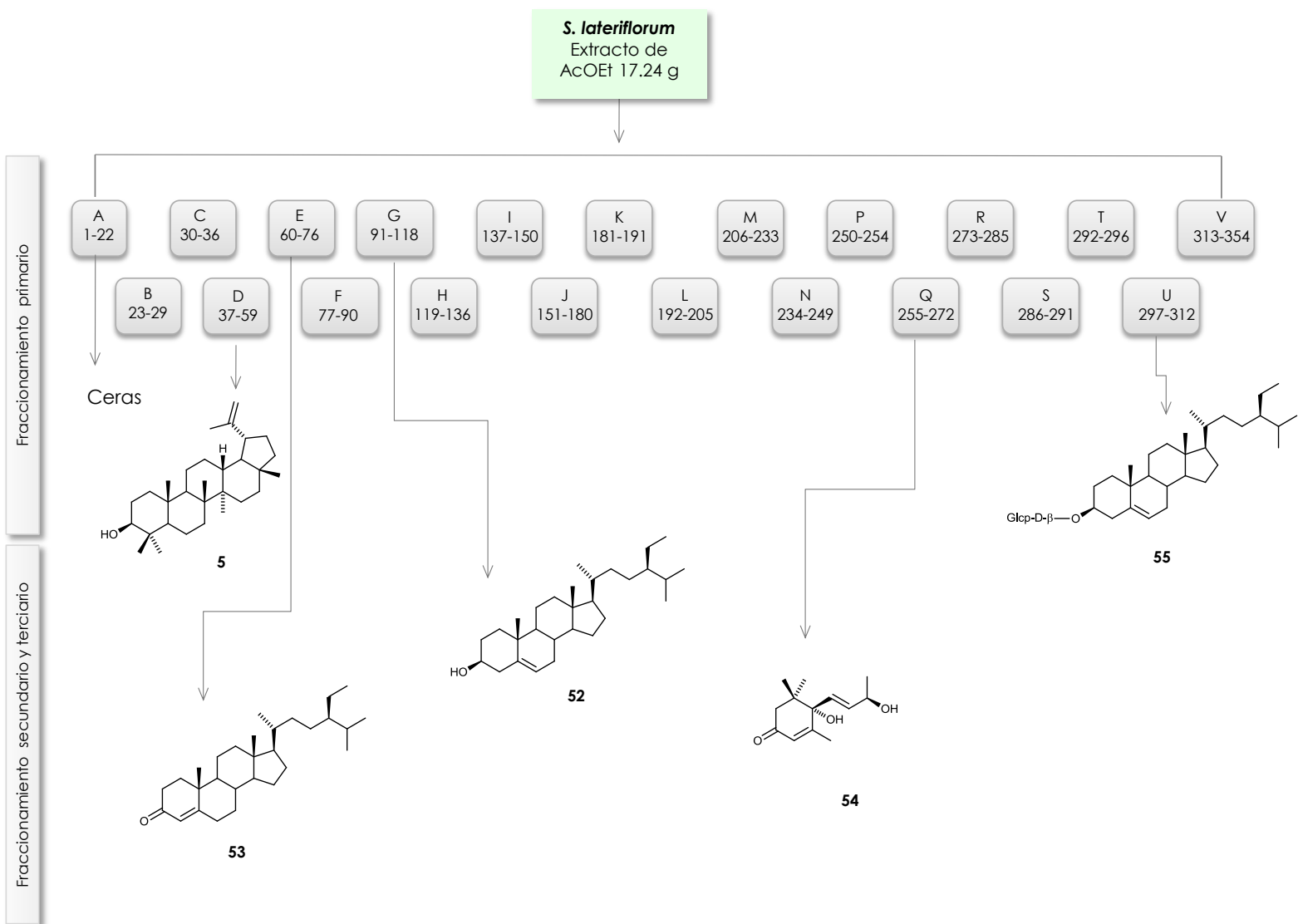
Aislamiento y purificación de compuestos

A partir del análisis en CCF se seleccionaron las fracciones que contenían compuestos aislables, los cuales se purificaron por diversas técnicas cromatográficas y por cristalización, como se describe a continuación:

Las fracciones 60-76 (serie E) eluidas con hex:AcOEt 95:5, se separaron por CC con sílica gel y como fase móvil mezclas hex/AcOEt (98:2→7:3) y como fase móvil se emplearon mezclas hex/AcOEt. Se obtuvieron 102 eluatos reuniendo los de perfil cromatográfico similar en 8 subfracciones (a-i). Posteriormente, de la serie de subfracciones (48-60) se aislaron dos compuestos por CCFA, la fase móvil consistió en una mezcla de hexano, diclorometano y metanol en proporción 80:15:5, respectivamente, además la placa se eluyó dos veces. El compuesto menos polar revela en UV a 254 nm en CCF, se aisló como un sólido blanco y con los datos espectroscópicos se identificó como sitostenona (**53**). Este compuesto también se aisló en las fracciones 77-90 (F). De la misma cromatoplaaca se recuperó otro sólido blanco amorfo el cual se comparó con una muestra auténtica de lupeol (**5**); su identidad se confirmó con el espectro de RMN de ¹H y su punto de fusión.

De las fracciones 91-118 (serie G) eluidas con hex:AcOEt 92:8, se obtuvo un sólido cristalino que se lavó con hexano frío para eliminar el pigmento, después de cristalizar se comparó por CCF contra una muestra auténtica de β-sitosterol (**52**), observando el mismo perfil cromatográfico; también se determinó su punto de fusión.

Con las fracciones 255-272 (serie Q) eluidas con hex:AcOEt 1:1, se procedió a realizar una CC con sílica gel que resultó en 17 subfracciones de 163 eluatos obtenidos con hexano y mezclas hex:AcOEt 9:1→2:3. La subfracción 13 (122-137) (370 mg) eluida con hex:AcOEt 6:4, se resolvió en una columna de Sephadex LH20, empleando como fase móvil una mezcla de CH₂Cl₂, acetona y metanol en relación 50:45:5; se empacó una columna de 20 cm (1.6 cm de diámetro) vía húmeda. De la cual se colectaron 30 eluatos (4mL). Después de evaporar el disolvente de las fracciones 14-24, se obtuvo un sólido cristalino que revela en CCF con luz UV de 254 nm. Este compuesto se caracterizó como (6*S*,9*R*)-(+)-vomifoliol. Se determinó su punto de fusión en 110-111 °C.

Diagrama 2. Fraccionamiento del extracto de AcOEt de *S. lateriflorum* por CC

Por último, de las fracciones 297-312 (serie U) eluidas con AcOEt y una mezcla de AcOEt:(CH₃)₂CO 1:1, se obtuvo un sólido amorfo insoluble en acetona y metanol. Una muestra se disolvió en piridina y se comparó su perfil cromatográfico con una muestra auténtica de 3-β-D-glucopiranosido de β-sitosterilo (**55**) obtenida y caracterizada anteriormente en el laboratorio.

4.6. Fraccionamiento principal del extracto de *Croton niveus*

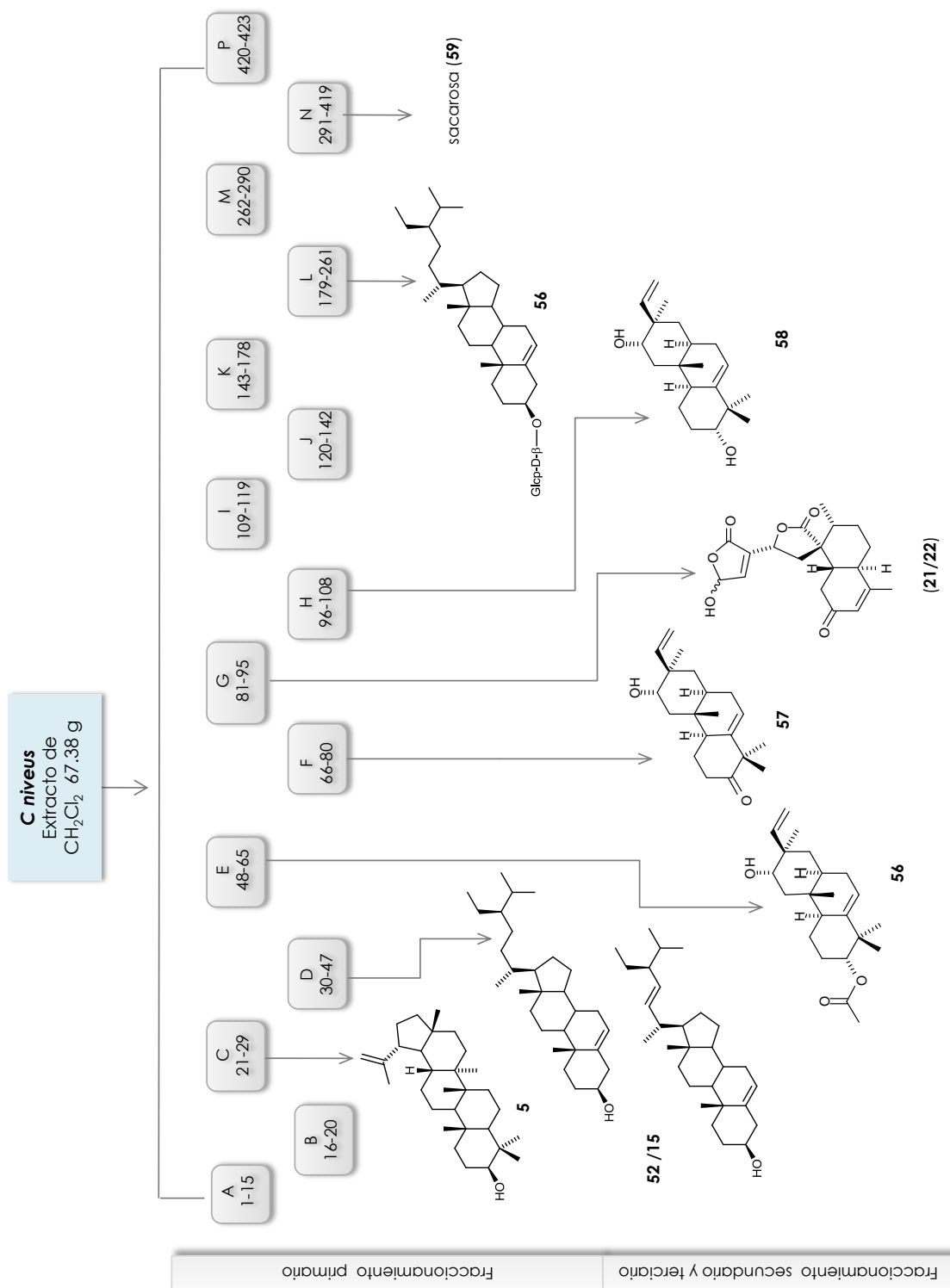
En el fraccionamiento principal del extracto de CH₂Cl₂/metanol (1:1) de *C. niveus* (previamente adsorbido en celita) se empleó una columna con 602 g de sílica gel (10 cm de diámetro) que se eluyó con hexano, mezclas de hex:AcOEt (9:1→3:7), AcOEt, mezclas AcOEt:(CH₃)₂CO (9:1→1:4), (CH₃)₂CO y CH₃OH en orden de polaridad creciente. En esta separación se obtuvieron 423 eluatos que se reunieron de acuerdo a su composición en 15 series. Anteriormente en el laboratorio se aislaron 98.3 mg de lupeol (**5**) a partir de las fracciones 21-29 eluidas con hex:AcOEt 9:1; de la serie de fracciones 30-47 eluidas con hex:AcOEt 9:1→85:15 se aislaron 33 mg de una mezcla de β-sitosterol (**52**) y estigmasterol (**15**); mientras que de las fracciones 81:95, eluidas con hex:AcOEt 8:2, se obtuvieron 41.8 mg de cajucarínólida (**21/22**).

En continuación con el trabajo de investigación de la composición de *C. niveus*, se aislaron y purificaron tres sustancias naturales con esqueleto tipo pimarano **56**, **57** y **58**. A partir de las fracciones 48-65 (hex:AcOEt 85:15) se realizó una CC de sílica gel, la elución se inició con hexano, posteriormente se aumentó la polaridad con mezclas de hex:AcOEt (95:5→6:4) y 100% de AcOEt. De esta separación se obtuvieron 11 series de subfracciones, y se aislaron 22 mg del sólido cristalino **56** de las fracciones 21-24 eluidas con hex:AcOEt 9:1.

Las fracciones 66-68 (hex:AcOEt 4:1) se realizó un fraccionamiento adicional por CC de sílica gel empleando como fase móvil hexano, mezclas hex:AcOEt 95:5→6:4 y AcOEt. De este fraccionamiento se obtuvieron 55 eluatos reunidos en base a su composición en 4 subfracciones. A partir de la serie 17-20 (hex:AcOEt 8:2) se purificó el compuesto **57** mediante CCFA empleando como fase móvil una mezcla de hex:CH₂Cl₂:ls₂O:CH₃OH en proporción 5:3:1:1, la cromatoplaca se eluyó 2 veces. De esta manera se recuperaron 6 mg del diterpeno novedoso.

De las fracciones 96-108 (hex:AcOEt 7:3) se obtuvo el compuesto **58** por cristalización con el par de disolventes acetato de etilo y hexano, obteniendo 58 mg. La caracterización de los compuestos **57**, **58** y **59** se realizó en base a la interpretación de los datos espectroscópicos y quirópticos (rotación óptica y dicroísmo circular).

Finalmente, por cristalización y filtración se obtuvieron 127 mg de 3-β-D-glucopiranosido de β-sitosterilo (**55**) y 446 mg de sacarosa (**69**), a partir de las series L (179-261 eluidas con 100% de AcOEt) y N (291-419 eluidas con mezclas AcOEt:(CH₃)₂CO 7:3→1:4 y acetona 100%), respectivamente (ver Diagrama 3).

Diagrama 3. Fraccionamiento del extracto de CH_2Cl_2 /metanol de *C. niveus* por CC

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Evaluación de la actividad citotóxica de extractos

Dado que los productos naturales han sido históricamente relevantes para el desarrollo de anticancerígenos, y que el cáncer en México constituye un problema de salud pública [57], en esta investigación se ponderó el potencial citotóxico de los extractos orgánicos preparados con el material vegetal de *Sapium lateriflorum* (hojas y ramas) y *Croton niveus* (ramas), aplicando el método colorimétrico con sulforrodamina B. Los porcentajes de inhibición de la proliferación de células cancerosas humanas se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Porcentaje de la inhibición de la proliferación celular por extractos crudos en líneas celulares humanas de cáncer (a 50 µg/mL). (s.a.= sin actividad)

Extractos	U-251 S. nervioso central	PC-3 Próstata	K562 Leucemia	HCT-15 Colon	MCF-7 Mama	SKLU-1 Pulmón
<i>Croton niveus</i> (ramas) diclorometano/metanol	s.a.	s.a.	s.a.	56.22	s.a.	s.a.
<i>Sapium lateriflorum</i> (hojas/ramas) hexano	33.38	11.96	55.13	13.89	19.36	24.89
<i>Sapium lateriflorum</i> (hojas/ramas) acetato de etilo	100	89.56	91.87	100	100	100

De acuerdo a los resultados mostrados, es evidente que los constituyentes de *S. lateriflorum* extraídos con acetato de etilo, presentan una alta actividad citotóxica contra todas las líneas celulares empleadas en el ensayo, lo cual sugiere poca selectividad. En el

caso de *C. niveus*, se observa únicamente una inhibición moderada contra células cancerosas de colon (HCT-15). Con estos resultados se procedió a aislar los componentes mayoritarios de cada extracto para determinar la actividad citotóxica de los mismos.

5.2. Perfil químico de *Sapium lateriflorum*

5.2.1. Caracterización de los componentes del extracto hexánico

El primer compuesto aislado de las fracciones 30-34 fue un sólido blanco con punto de fusión de 55-57° C. El espectro de IR muestra bandas de absorción en 3072, 1640 y 888 cm^{-1} correspondientes a un grupo vinílico terminal; este fragmento concuerda con lo observado en el espectro de RMN de ^1H , donde se presentan dos señales a campo bajo (δ 4.69, 4.57), las cuales integran para un hidrógeno cada una. Esta información es evidencia de la presencia de un grupo vinilo. Por otra parte, en el espectro de RMN de ^{13}C se observan 42 carbonos diferentes. De estas señales es posible asignar las correspondientes al grupo vinilo terminal en δ 151.0 (C) y 109.3 (CH_2).

En el espectro de RMN de ^1H , la serie de señales a campo alto se asocia a seis metilos alifáticos, mientras que en δ 2.28 aparece un triplete, que por su integración y desplazamiento químico puede asignarse a un metileno α a un grupo carbonilo. La presencia del grupo carbonilo se comprueba por la banda de absorción característica en IR a 1717 cm^{-1} . Asimismo, la señal en δ_c 173.7 pone de manifiesto la presencia de un carbonilo de tipo éster.

También, es evidente la presencia de un hidrógeno carbinólico en δ 4.47 (dd, $J = 6.0$ y 10.0 Hz). El carbono carbinólico resuena en δ 80.6. Las señales descritas sugieren que se trata de una sustancia de tipo triterpénico.

La señal intensa (la cual integra para al menos diez metilenos) en δ 1.25 sugiere la presencia de una cadena alifática de metilenos equivalentes. Con dicha información se deduce que el compuesto corresponde al éster de ácido graso de un triterpeno. En este caso, el perfil espectroscópico del grupo vinílico y el carbinol son característicos de triterpenos de tipo lupano. Por lo que se compararon los datos obtenidos por RMN con los informados previamente para lupeol y los ésteres del mismo (tabla 2) [58].

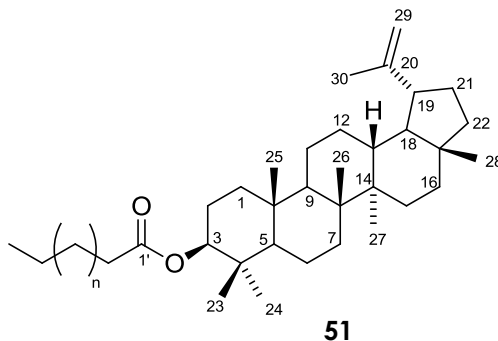
En cuanto a sus propiedades físicas es evidente el abatimiento del punto de fusión del sólido aislado respecto al miristato de lupeílo (102-103° C) el cual concuerda con los datos de RMN. Con esto se infiere que el sólido obtenido es una mezcla de ésteres de lupeílo. Consecuentemente se procedió a obtener el espectro de masas (IE y FAB+) para establecer la posible longitud de las cadenas alifáticas de los ésteres que componen **51**.

Tabla 2. Comparación de datos de RMN ^{13}C (75 MHz) para lupeol y ésteres de lupeílo.

Posición	δ_c (ppm)		
	Lupeol (5) ^a	Mezcla de ésteres ⁵⁸	51
1	38.7	38.37	38.4
2	27.4	23.74	23.8
3	79.0	80.6	80.6
4	38.9	37.83	37.9
20	151.0	159.97	151.0
23	28.0	27.96	28.0
24	16.0	16.56	16.6
25	16.0	16.16	16.2
26	15.4	15.96	16.0
27	14.6	14.51	14.5
28	18.0	17.99	18.0
29	109.3	109.34	109.3
30	19.3	19.28	19.3
1'	-	173.71	173.7
2'	-	34.86	34.9

a. Datos obtenidos de una muestra auténtica obtenida anteriormente en el laboratorio

En el espectro de EM-IE se observa un pico intenso en m/z 664 que corresponde al derivado $C_{46}H_{80}O_2$, el cual también se observa en el espectro EM-FAB+, por lo tanto se sugiere que este derivado es el componente mayoritario en la mezcla analizada. Sin embargo, se observan otros picos en m/z 552, 580, 608 y 692 que posiblemente corresponden a las fórmulas $C_{38}H_{64}O_2$, $C_{40}H_{68}O_2$, $C_{42}H_{72}O_2$ y $C_{48}H_{84}O_2$, respectivamente.



Características de **51**: Sólido blanco, amorfo. P.f.: 55-57° C

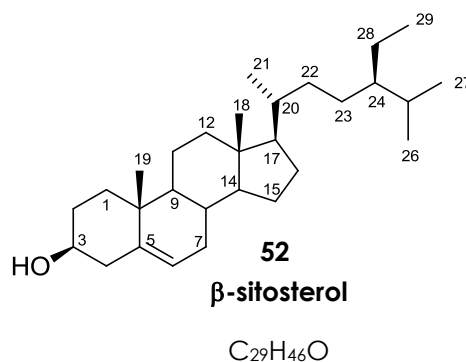
IR ($CHCl_3$; cm^{-1}): 3072, 2929, 2857, 1717, 1640, 1463, 1380, 1264, 1184, 1149, 1110, 1009, 978, 944, 888, 862.

RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$; ppm): 38.4 (C-1), 23.8 (C-2), 80.6 (C-3), 37.9 (C-4), 55.4 (C-5), 18.2 (C-6), 34.3 (C-7), 40.9 (C-8), 50.4 (C-9), 37.1 (C-10), 21.0 (C-11), 25.2 (C-12), 38.1 (C-13), 42.9 (C-14), 27.5 (C-15), 35.6 (C-16), 43.0 (C-17), 48.4 (C-18), 48.0 (C-19), 151.0 (C-20), 29.9 (C-21), 40.0 (C-22), 28.0 (C-23), 16.6 (C-24), 16.2 (C-25), 16.0 (C-26), 14.5 (C-27), 18.0 (C-28), 109.3 (C-29), 19.3 (C-30), 173.7 (C-1'), 34.9 (C-2'), 25.2 (C-3'), 29.2, 29.3, 29.4, 29.5, 29.6, 29.7 (C-4'-10'), 23.2 (C-11'), 32.0 (C-12'), 22.7 (C-13'), 14.4 (C-14').

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$; ppm): 4.69 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, Ha-29), 4.57 (1H, m, Hb-29), 4.47 (1H, dd, $J = 6.0, 10.0$ Hz, H-3), 2.37 (1H, td, $J = 5.7, 11$ Hz, H-19), 2.28 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2'), 1.68 (3H, s, H-30), 1.25 (20H, s, H-(3-12)'), 1.03 (3H, s, H-26), 0.94 (3H, s, H-27), 0.88 (3H, t, $J = 7$ Hz, H-14'), 0.86 (3H, s, H-25), 0.84 (6H, s, H-23, H-24), 0.79 (3H, s, H-28).

Por otra parte, a partir de las fracciones 40-45 se obtuvo un sólido cristalino (**52**) con punto de fusión de 133-135° C. Este compuesto se comparó por CCF con una muestra auténtica de β -sitosterol el cual presentó el mismo perfil. Para confirmar su identidad se compararon los datos de RMN de ^1H y ^{13}C , con los informados en la literatura [59,60]. En este último, se determinó una estructura con 29 carbonos; el par de señales ubicado en δ 121.7 y 140.8 corresponden al doble enlace endocíclico (C-5/C-6); mientras que el protón del metino vinílico resuena en el espectro de RMN de ^1H como un multiplete centrado en δ 5.35.

El carbono carbinólico resuena en δ_{C} 71.8 (C-3) y el hidrógeno resuena en δ_{H} 3.53 como un dddd con dos constantes de acoplamiento de 4.5 Hz y dos valores de 11.5 Hz asociados a las interacciones en ciclohexanos de tipo axial-ecuatorial y diaxial, respectivamente. También, se encuentran las señales correspondientes a los seis metilos, con la multiplicidad esperada para la sustitución de esta molécula, en δ 0.82, 0.84 (2 CH_3 , d, 7Hz, H-26,27), 0.85 (t, 7.5 Hz, H-29), 0.92 (d, 6.5 Hz, H-21), 0.68 (s, H-18) y 1.01 (s, H-19). La estereoquímica de C-24 se asignó con base en el desplazamiento de C-29 en δ_{C} 11.98, que corresponde al del epímero 24-(R) [59].



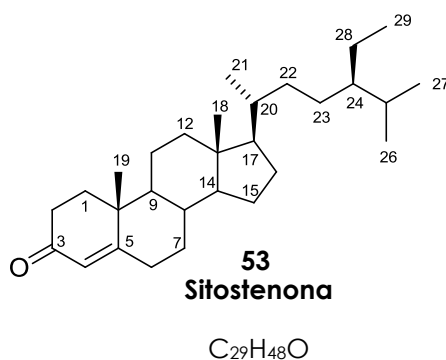
Características: Sólido cristalino en forma de agujas. P.f.: 133-135° C (130-134° C [59])

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 ; ppm): 37.3 (C-1), 31.7 (C-2), 71.8 (C-3), 42.3 (C-4,13), 140.8 (C-5), 121.7 (C-6), 31.9 (C-7, 8), 50.2 (C-9), 36.5 (C-10), 21.1 (C-11), 39.8 (C-12), 56.8 (C-14), 24.3 (C-15), 28.2 (C-16), 56.1 (C-17), 11.9 (C-18), 19.4 (C-19), 36.2 (C-20), 18.8 (C-21), 34.0 (C-22), 26.1 (C-23), 45.9 (C-24), 29.2 (C-25), 19.8 (C-26), 19.0 (C-27), 23.1 (C-28), 11.98 (C-29).

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 ; ppm): 5.35 (1H, m), 3.53 (1H, dddd, $J= 11.5, 11.5, 4.5, 4.5$ Hz, H-3), 1.01 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, $J= 6.5$ Hz, H-21), 0.85 (3H, t, $J= 7.5$ Hz, H-29), 0.84, 0.82 (2 CH_3 , d, $J= 7$ Hz, H-26, H-27), 0.68 (3H, s, H-18).

5.2.2. Caracterización de los componentes del extracto de acetato de etilo

A partir de las fracciones 60-76 (serie E) se obtuvo un sólido blanco con punto de fusión de $96-98^\circ\text{C}$, visible en CCF con luz UV de 254nm. En el espectro de RMN de ^{13}C se presentan 28 carbonos diferentes. A campo bajo, en δ_c 199.7, 123.7 y 171.7, se observan señales asociadas a una cetona α,β insaturada. Mediante el experimento DEPT se asignaron seis señales de metilos, once de metilenos y ocho correspondientes a metinos. En el espectro de RMN de ^1H aparece un singlete en δ 5.72 correspondiente al protón vinílico. También, se encuentran las señales de protón asociadas a los seis metilos que posee esta molécula en δ 1.18 (H-19, s), 0.92 (H-21, d), 0.85 (H-29, t), 0.84 (H-26, d), 0.81 (H-27, d) y 0.71 (H-18, s). Con este número de metilos y sus multiplicidades, y cantidad de carbonos totales, se propone una estructura de un esteroide similar al β -sitosterol. Por lo tanto, se compararon los espectros de los compuestos **52** y **53**. A diferencia del β -sitosterol, en el compuesto **53** la señal de C-3 aparece en δ 199.7. Además, los carbonos del doble enlace resuenan en δ 123.7 y 171.7, estos valores indican que se localizan en la posición C-4 y C-5 del esteroide. Los datos espectroscópicos y la comparación con los informados en la literatura [61], confirman la identidad de este compuesto como sitostenona (**53**).



Características de **53**: Sólido blanco amorfo. P.f.: 96-98° C (lit. 97-99° C)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃; ppm): 35.7 (C-1), 33.9 (C-2), 199.7 (C-3), 123.7 (C-4), 171.7 (C-5), 32.9 (C-6), 32.0 (C-7), 35.6 (C-8), 53.8 (C-9), 38.6 (C-10), 21.0 (C-11), 39.6 (C-12), 42.4 (C-13), 55.9 (C-14), 24.2 (C-15), 28.2 (C-16), 56.0 (C-17), 11.9 (C-18), 17.4 (C-19), 36.1 (C-20), 18.7 (C-21), 34.0 (C-22), 26.1 (C-23), 45.8 (C-24), 29.1 (C-25), 19.8 (C-26), 19.0 (C-27), 23.1 (C-28), 11.9 (C-29).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃; ppm): 5.72 (1H, s, H-4), 1.18 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-21), 0.85 (3H, t, *J* = 7.6 Hz, H-29), 0.84 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-26), 0.81 (3H, d, *J* = 7.2, H-27), 0.71 (3H, s, H-18).

De las series de fracciones D y E, también se aisló un sólido blanco con punto de fusión de 212-214° C. Debido a sus características físicas y cromatográficas, se comparó la sustancia obtenida por cromatografía en capa fina con una muestra auténtica de lupeol, la cual mostró el mismo R_f. Su identidad se confirmó como lupeol (**5**) por RMN de ¹H.

De las fracciones 255-272 derivadas del extracto de AcOEt se aisló un compuesto cristalino con punto de fusión de 110-111° C. En el espectro de RMN de ¹H se observan tres protones vinílicos. De estos protones los ubicados en δ 5.84 (dd, 16.0, 10.8 Hz) y 5.78 (d, 16.0 Hz) forman un sistema AB y la constante de acoplamiento de 16.0 Hz indican que se encuentran en posición *trans* (figura 4a). El tercer protón vinílico aparece como una señal múltiple centrada en δ 5.90 (dq), acoplándose con los protones de un metilo a cuatro enlaces de distancia (figura 4b). Por otra parte, se observa un protón carbinólico en δ 4.41 (m) con acoplamientos vecinales a un metilo, por lo tanto se deduce el fragmento estructural mostrado en la figura 4c.

Asimismo, se define un sistema AB de protones geminales diasterotópicos; cada protón se presenta como un doble de doble en 2.45 y 2.24 ppm, respectivamente. Por el desplazamiento químico es posible asociar estas señales a un metileno vecino a un grupo carbonilo (figura 4d). Además, se observa en δ 1.89 un doblete ($J = 1.5$ Hz) correspondiente al metilo vinílico de la figura 4b, así como las señales de dos metilos alifáticos (en δ 1.09 y 1.02). El metilo geminal al alcohol secundario se encuentra en δ 1.30 (d, $J = 6.3$ Hz, figura 4c). Por último, el espectro presenta una señal amplia en δ 1.67 que integra para dos hidrógenos los cuales se asocian a la presencia de dos protones hidroxílicos.

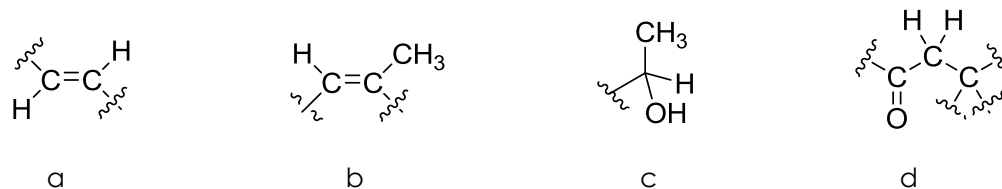


Figura 4. Asignación de fragmentos estructurales

Los fragmentos b y d mostrados en la figura 4 pueden ubicarse en una ciclohexenona conjugada, lo cual está de acuerdo con los grados de insaturación (4), y permite proponer las fórmulas (a y b) mostradas en la figura 5.

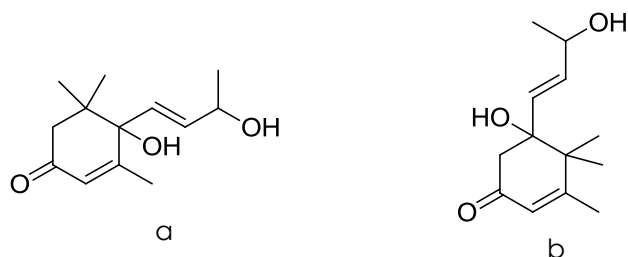
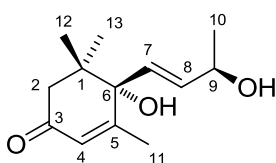
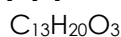


Figura 5. Fórmulas posibles del compuesto **54**

La comparación de los datos espectroscópicos del producto natural con los informados en la literatura permite establecer la estructura **a** de la figura 5. Esta estructura

corresponde a la de los vomifolios, los cuales son productos presumiblemente derivados de carotenoides [62].

La asignación de la configuración absoluta para este compuesto se realizó comparando los datos espectroscópicos y quirópticos informados en la literatura [63]. En principio se descartaron los diastereoisómeros (6*S*,9*S*)- y (6*R*,9*R*)- porque son compuestos líquidos, a diferencia del sólido cristalino aislado. Posteriormente, de acuerdo al valor experimental de rotación óptica de +241.18 en CHCl₃ (+233, c=1.0 [64]), se concluyó la stereoquímica como (6*S*,9*R*)-(+)-vomifoliol. Este compuesto ha sido anteriormente aislado de *Croton chilensis* [65].

**54****(6*S*,9*R*)-(+)-vomifoliol**

Características: Sólido cristalino. P.f.: 110-111° C. $[\alpha]_D^{25} +241.18$ (CHCl₃, c = 0.15)

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 41.2 (C-1), 49.7 (C-2), 197.8 (C-3), 129.0 (C-4), 162.5 (C-5), 79.0 (C-6), 135.7 (C-7), 127.0 (C-8), 68.0 (C-9), 18.9 (C-10), 24.1 (C-11), 22.9 (C-12), 23.8 (C-13).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): 5.90 (1H, dq, H-4), 5.84 (1H, dd, *J*= 16, 10.8 Hz, H-8), 5.78 (1H, d, *J*= 16 Hz, H-7), 4.41 (1H, m, H-9), 2.45 (1H, dd, *J*= 17, 1 Hz, H-2a), 2.24 (1H, dd, *J*= 17, 1 Hz, H-2b), 1.89 (3H, d, *J*= 1.5 Hz, H-11), 1.67 (sa, 2 OH) 1.30 (3H, d, *J*= 6.3 Hz H-10), 1.09 y 1.02 (cada una 3H, s, gem C-12,13).

5.3. Perfil químico de *Croton niveus*

Del extracto de CH₂Cl₂/CH₃OH de las ramas de *C. niveus*, se aislaron anteriormente en el laboratorio lupeol (**5**), una mezcla de β-sitosterol (**52**) y estigmasterol (**15**), la mezcla epimérica de cajucarínólida (**21/22**), β-D-glucopiranosido de β-sitosterilo (**55**) y sacarosa (**59**). Además, se realizó la purificación y caracterización de tres diterpenos novedosos, la cual se detalla en la siguiente sección.

5.3.1. Elucidación estructural de diterpenos aislados de *C. niveus*

De las fracciones 48-65 se aisló un sólido cristalino cuyo punto de fusión es de 158-160° C. La fórmula molecular de C₂₂H₃₄O₃ con seis grados de insaturación, se dedujo a partir del ión molecular de m/z 346.2521 (valor calculado m/z: 346.2508), obtenido en el espectro de masas (FAB+), y el análisis de los espectros de RMN de ¹H y ¹³C. El pico base en el EM-IE, m/z 286 [M⁺-60] se debe a la pérdida del fragmento CH₃COOH, que sugiere que se trata de un compuesto acetilado, mientras que en el espectro de IR se observa una banda en 3542 cm⁻¹, asociada a la presencia del grupo hidroxilo, así como bandas intensas en 1713 y 1257 cm⁻¹, debidas a las vibraciones del grupo acetato.

En su espectro de RMN de ¹³C se observan 22 carbonos. El análisis del espectro DEPT indica la presencia de cinco metilos, seis metilenos, seis metinos y cinco carbonos no protonados. La señal en δ 170.7 es consistente con un carbonilo de éster, que muestra correlación en el espectro HMBC con los protones del metilo en δ_H 2.06 (δ_C 21.3), que confirma la presencia del grupo acetato. Los datos descritos concuerdan con la estructura del derivado acetilado de un diterpeno.

También, se visualizan cuatro señales a campo bajo correspondientes a dos sistemas vinílicos, uno de los cuales es terminal (δ_c 113.1, 147.7); sus respectivos protones se observan en el espectro de RMN de ^1H a campo bajo en δ 5.11 y 5.12, como parte de un sistema ABX, con acoplamientos congruentes a las interacciones en posiciones *cis* y *trans* respecto al protón del metino, el cual aparece como una señal de doblete en δ 5.81 (H-15, $J= 17, 10.5$ Hz). Las interacciones vecinales entre dichos protones son evidentes en el espectro COSY.

Con el análisis anterior de los datos espectroscópicos, y considerando los grados de insaturación calculados a partir de la fórmula molecular, se propone la estructura del acetil derivado de un diterpeno tricíclico del tipo pimarano o similar (figura 6), ya que se incorpora la presencia característica del doble enlace terminal C(15)-C(16) [13].

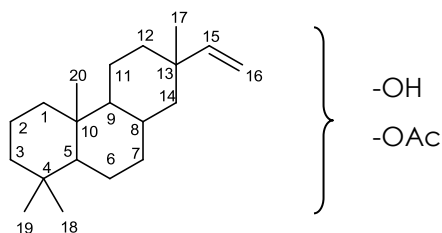


Figura 6. Estructura básica de pimaranos

En δ_c 78.6 y 71.4 se encuentran las señales, que por su desplazamiento químico, corresponden a dos carbonos unidos a oxígeno. De acuerdo al espectro DEPT estos carbonos son metinos. El carbono que resuena a campo más bajo, deberá tener sustituyentes cercanos con mayor efecto inductivo sobre él. Las señales que integran cada una para un protón en δ 4.49 (H-3) y 3.62 (H-12), corresponden a los hidrógenos de dichos metinos.

La asignación de los carbonos en el espectro de HSQC y el seguimiento de las interacciones por acoplamientos J_{C-H} observados en el espectro HMBC, permitieron establecer la conectividad de los fragmentos analizados considerando la estructura de un pimarano.

En primer lugar, se propone la unión del grupo acetato a C-3 y que el hidroxilo se ubica en C-12, como se corroborará a continuación. A partir del análisis del espectro HMBC, se determinó la correlación bidimensional H(3)→C(21) (δ_c 170.7) que define la ubicación de un grupo acetato en la posición C-3. Por otra parte, se estableció la conectividad H-C(15)-C(13)-C(12) por la correlación H(15)→C(12), así como al metilo que aparece en δ_c 14.3, H(15)→C(17). De la misma manera, se observan las correlaciones de H-15 con los carbonos en δ 42.7 y 39.5 (H-15→C(13), C(14)).

A δ 5.61 (H-6) se observa la señal del protón perteneciente al segundo sistema vinílico, el cual es trisustituido (deducido a partir del espectro de ^{13}C); donde el hidrógeno vinílico se encuentra acoplado con tres hidrógenos. En la figura 7 se muestran algunos fragmentos moleculares propuestos que concuerdan con las observaciones anteriores.

En el espectro de HMBC se observan las interacciones H-6→C(10), C(4), C(8), C(7) (δ_c 46.3, 40.4, 35.5 y 29.4, respectivamente). Además, se determinaron las correlaciones H(7)→C(5), C(6) (δ_c 143.9, 119.1, respectivamente) y H(18), H(19) (δ_H 1.04, 1.03)→C(5). Los metilos 18 y 19 muestran correlaciones J_{C-H} entre ellos. Por lo tanto, se dedujo que estos metilos son geminales.

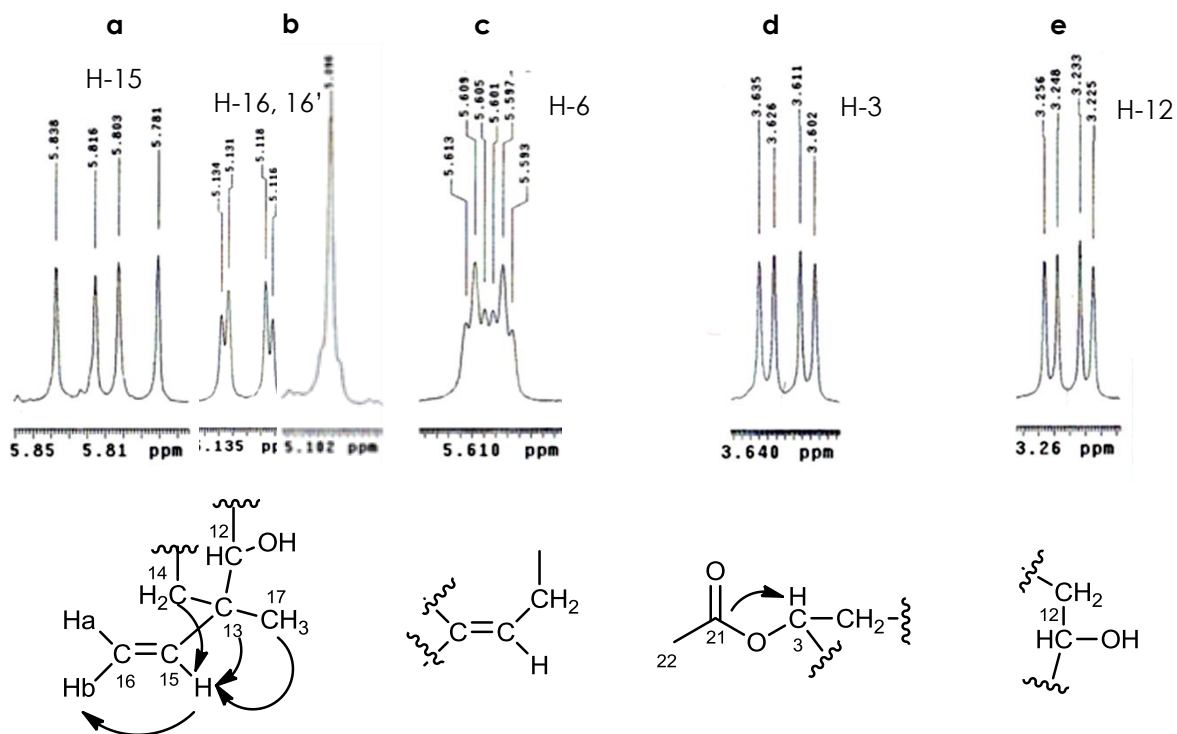


Figura 7. Asignación de fragmentos estructurales

Entre las principales correlaciones de HMBC se encuentran, las interacciones observadas de los metilos geminales H(18), H(19)→C(3) y C(4) (δ_C 78.573, 40.405, respectivamente). Por otra parte, en el espectro COSY se observa la correlación H(6)→H(7 $_{\alpha,\beta}$) y el acoplamiento a larga distancia de H(6) →H(10). La multiplicidad observada en el espectro de RMN de ^1H para H-6 es un doble de triples con acoplamientos de 5.5 y 2 Hz.

Con los espectros bidimensionales se estableció una diferencia relevante con la estructura de los pimaranos convencionales donde el metilo C-20 se encuentra unido a C-10 [66]. En este caso, considerando distintas combinaciones en las asignaciones de protones y carbonos, se llegó a una estructura donde CH₃-20 se ubica en la posición C-9, compatible con las correlaciones HMBC que presenta la señal de los hidrógenos del metilo δ_H 0.734 H(20)→C(9), C(8), C(11) y C(10). La interacción entre H-10 y H-1 que se observa en el

espectro COSY ratifica la unión entre C-10 y C-1, y por lo tanto la unión de C-9 con C-20. De esta manera se dedujo la estructura del pimarano modificado **56** (figura 8). Además, las correlaciones HMBC de H-(11)→C(12), C(13), C(9), C(8) y C(20), así como la de H(16)→C(13) y la interacción de H(1)→C-2, confirman la conectividad molecular para el rosadieno obtenido.

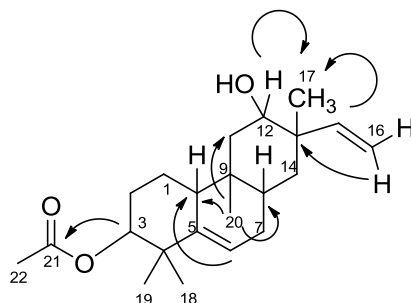


Figura 8. Algunas interacciones J_C - J_H observadas en el espectro HMBC de **56**.

La configuración relativa de los centros quirales de la estructura se estableció mediante el análisis del espectro bidimensional NOESY, como se describe a continuación. Los protones H-3 y H-12 se encuentran en el mismo plano del CH₃-20 y H-15, ya que se observan las correlaciones H(3 β)→H(2 β); H(2 β)→H(1 α); H(1 α)→H(20) y H(20)→H(12 β), H(14 β), representadas en la figura 9a. Por otro lado, H-17 y H-10 se ubican en el plano opuesto, ya que se observan las correlaciones H(17)→H(8 α), H(14 α); H(8 α)→H(10 α) (figura 9b).

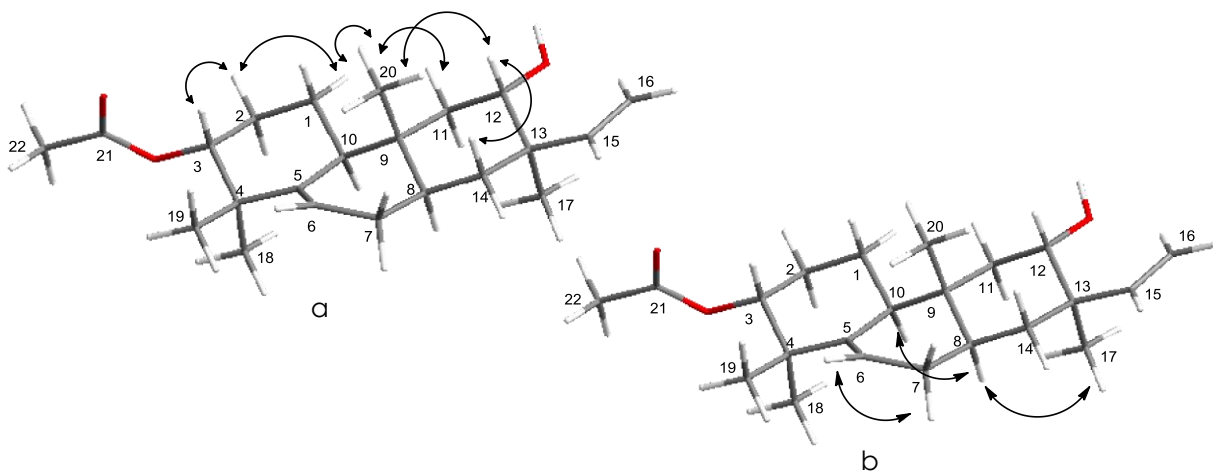


Figura 9. Algunas interacciones H-H espaciales observadas del espectro NOESY de **56**

Finalmente, de este compuesto se logró obtener un cristal adecuado para su análisis por rayos X. Así, fue posible confirmar la conectividad molecular y la configuración relativa de la sustancia analizada (figura 10). En este análisis también se observó la formación de puentes de hidrógeno intermoleculares $\text{—C(12)—O—H}\cdots\text{O=C(21)—}$.

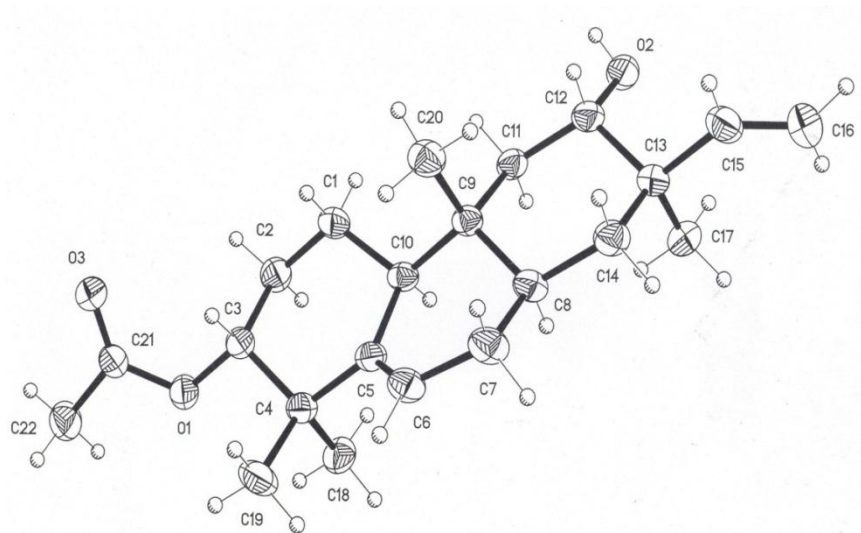


Figura 10. Estructura de rayos X de 3 α -acetoxi-12 α -hidroxi-5(6),15-rosadieno(**56**)

La estructura de pimarano transpuesto (donde el metilo C-20 se ubica en C-9) recibe el nombre de rosano. Por lo que el nombre de esta estructura es 3 α -acetoxi-12 α -hidroxi-5(6),15-rosadieno(**56**).

Las observaciones experimentales consistentes con la estructura **56**, y la revisión de la literatura permitieron reconocer a este compuesto como una nueva sustancia en la naturaleza, donde se ha encontrado solamente un reducido grupo de diterpenos de tipo rosano [67].

A partir de las fracciones 66-68 y 96-108 se obtuvieron los compuestos **57** y **58** con perfiles espectroscópicos muy similares al compuesto caracterizado anteriormente como 3 α -acetoxi-12 α -hidroxi-5(6),15-rosadieno(**56**).

Por espectrometría de masas (IE) se determinó el ión molecular de **57** en m/z 302, coherente con una composición elemental de $C_{20}H_{30}O_2$, con seis grados de insaturación. Las principales bandas de absorción en IR se observan en 3695, y 1708 cm^{-1} , correspondientes al grupo hidroxilo y a un carbonilo, respectivamente. Las bandas en 1603, 1210 y 852 cm^{-1} , corresponden a un doble enlace terminal.

Por otra parte, se contabilizaron 20 señales en su espectro de RMN de ^{13}C . De acuerdo al experimento DEPT se tienen cuatro metilos, seis metilenos, cinco metinos y cinco carbonos cuaternarios. Por desplazamiento químico, se determinó la presencia de una cetona (δ_c 214.7), y dos doble enlaces con carbonos que resuenan entre δ_c 147 y 112. Asimismo, la señal en δ 71.4 corresponde a un metino unido a oxígeno.

En su espectro de RMN de 1H se observan las señales características para el sistema vinílico ABX, donde el protón del metino resuena en δ 5.82 (H-15, $J= 17, 11$ Hz), y los protones del metileno terminal en δ 5.13 (H-16, $J= 17, 1$ Hz) y δ 5.126 (H-16', $J= 11, 1$ Hz). La posición del doble enlace terminal se confirmó en base a las correlaciones en el espectro HMBC de H(16) \rightarrow C(15); H(17) \rightarrow C(15); H(12) \rightarrow C(15), así como la interacción H(15) \rightarrow C(13), C(14). Esto concuerda con los datos espectroscópicos de la estructura básica de un pimarano.

A diferencia del compuesto **56**, la sustancia analizada solamente posee el carbinol de la posición C-12; la señal de dicho protón es un doble de doble centrado en δ 3.66 con acoplamientos de 12 y 4 Hz, que corresponden a sus interacciones con los protones axial y ecuatorial del metileno vecino (H $_{\alpha,\beta}$ -11).

Los singuletes de cada metilo aparecen en 1.26 (H-18), 1.24 (H-19), 1.05 (H-17) y 0.77 (H-20). La conectividad de los mismos, se estableció con base en las correlaciones observadas en

el espectro de HMBC (figura 11). Con esta información se estableció que el anillo A de este compuesto es una ciclohexanona, donde la posición C-3 se encuentra oxidada. Conjuntamente, se observan las interacciones J_C - J_H bidimensionales $H(20) \rightarrow C(10)$, $C(11)$ y $C(9)$, además $H(1) \rightarrow C(10)$; $H(2) \rightarrow C(10)$; $H(11) \rightarrow C(10)$ y del protón vinílico $H(6) \rightarrow C(10)$. Por lo tanto, el compuesto **57** también posee la unión entre C-20 y C-9, característica de los rosanos.

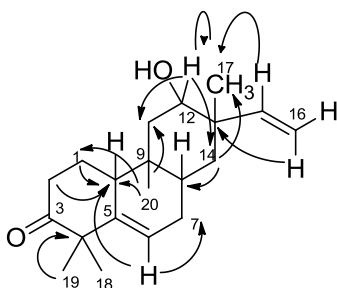


Figura 11. Correlaciones en HMBC de rosadien-3-ona (**57**)

Por último, se presentan las correlaciones $H(6) \rightarrow C(4)$, $C(8)$ y $C(7)$, así como, $H(18)$, $H(19) \rightarrow C(4)$, y $H(12) \rightarrow C(14)$, $C(17)$ y $C(11)$. Por lo que se establece la estructura 12-hidroxirosadien-3-ona. La configuración relativa de la misma se estableció en función de las interacciones observables en el espectro NOESY (figura 12), las cuales son análogas a las descritas para el compuesto **56**.

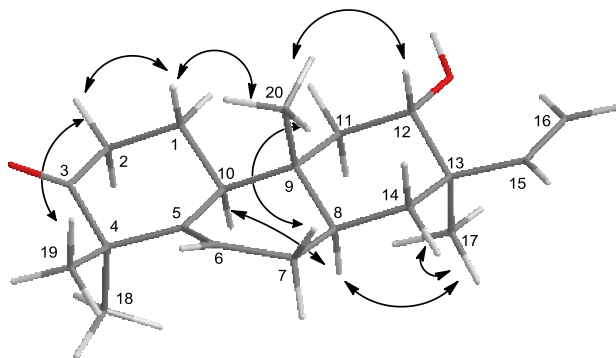


Figura 12. Interacciones H-H espaciales obtenidas del espectro NOESY de **57**

Dado que el derivado **57** presenta una estructura similar al compuesto acetilado **56**, y el mismo signo de rotación óptica, se aprovechó la presencia de cromóforos en la estructura para determinar la configuración absoluta de los rosadienos aislados, a partir de la curva experimental de dicroísmo circular de **57**, aplicando la regla de los octantes [69a] como se describe a continuación.

Determinación de la configuración absoluta por DC

Una molécula con actividad óptica que cuenta con un cromóforo o más en su estructura, muestra un comportamiento anómalo cuando se encuentra bajo excitación de una onda de luz. En el momento en que la luz es absorbida por un cromóforo, un electrón es excitado desde un orbital molecular ocupado a un orbital molecular de antienlace no ocupado, pero cuando estos orbitales moleculares son quirales (la molécula no posee elementos de simetría), entonces es posible observar máximos y mínimos en una curva de dicroísmo circular, denominados efectos Cotton. La presencia de cromóforos en moléculas orgánicas ha conducido al desarrollo de reglas que permiten relacionar los signos de sus efectos Cotton con la configuración absoluta de las mismas [68b].

Los compuestos carbonílicos saturados han sido estudiados en gran detalle. Estos absorben débilmente aproximadamente en 300 nm debido a una transición $n \rightarrow \pi^*$. La regla empírica de mayor aplicación en el estudio conformacional y configuracional de moléculas quirales es la regla de los octantes de cetonas cíclicas. Esta consiste en dividir el espacio de la molécula en octantes con tres superficies coincidentes con los orbitales del enlace $C=O$, y con origen en la parte media del mismo (figura 13a). Después, se observa la molécula desde el átomo de O hacia el átomo de C. De esta manera, los sustituyentes de la cetona se disponen en los distintos octantes. La premisa principal de esta regla es

que un átomo alrededor del grupo carbonilo tiene una contribución al efecto Cotton, y determinan su signo de acuerdo a su localización en los octantes formados por los planos, a los que se asocia el signo resultante del simple producto de sus coordenadas xyz (figura 13b).

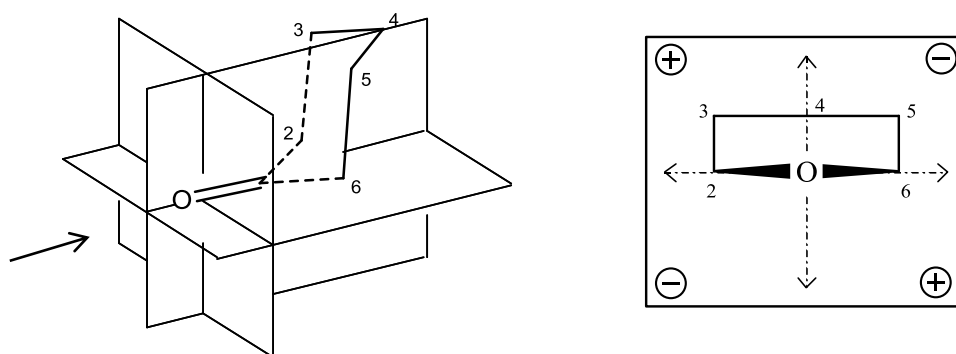


Figura 13. a) Estereoproyección del anillo de ciclohexanona en el diagrama de octantes; b) Proyección en el plano xy de los enlaces ubicados en los cuadrantes posteriores.

Aplicando la regla de los octantes a los enantiómeros del compuesto **57** se puede predecir el signo del efecto Cotton de la transición $n \rightarrow \pi^*$ de cada uno de ellos. En la figura 14 se muestra la proyección en el plano xy de la molécula ubicada en los cuadrantes posteriores. Los sustituyentes que contribuyen a la predicción del signo del efecto Cotton son: el metilo en C-4 localizado en un cuadrante inferior, los carbonos 6 y 7 en los cuadrantes superiores; el grupo OH en C-12 sugiere un mayor aporte al signo del efecto Cotton observado, por ser un grupo más electronegativo. Es importante precisar que aquellos átomos que tienen una equivalencia en un cuadrante de signo opuesto, así como los átomos ubicados sobre los ejes, no contribuyen al signo esperado.

La valoración de la contribución de cada uno de los sustituyentes señalados en ambos enantiómeros, demuestra que el efecto previsto del OH (C-12) y el metilo C-4, ubicados en octantes de signo positivo para la molécula A (figura 14) de configuración $8S, 9R, 10S, 12S$,

13R, concuerda con el signo del efecto Cotton observado en la curva de dicroísmo circular experimental del compuesto aislado (figura 15), el cual es positivo para la transición electrónica $n \rightarrow \pi^*$ del carbonilo en 297 nm.

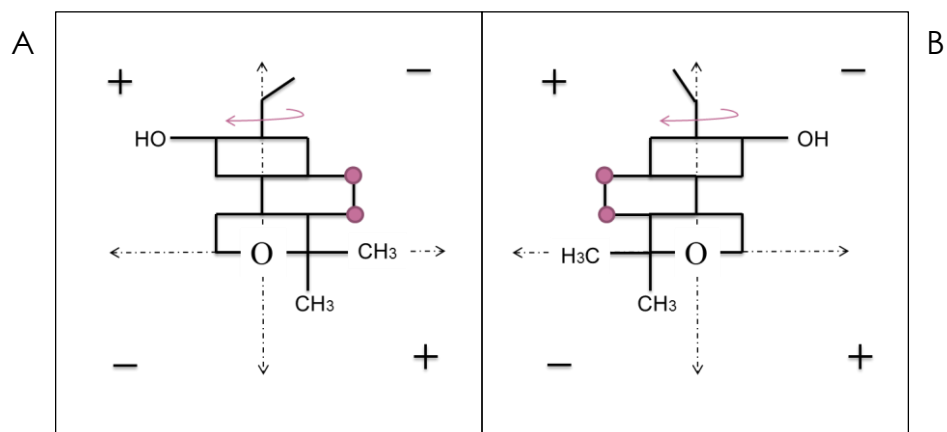


Figura 14. Representación de la regla de los octantes para los enantiómeros **A** y **B** de **57**.

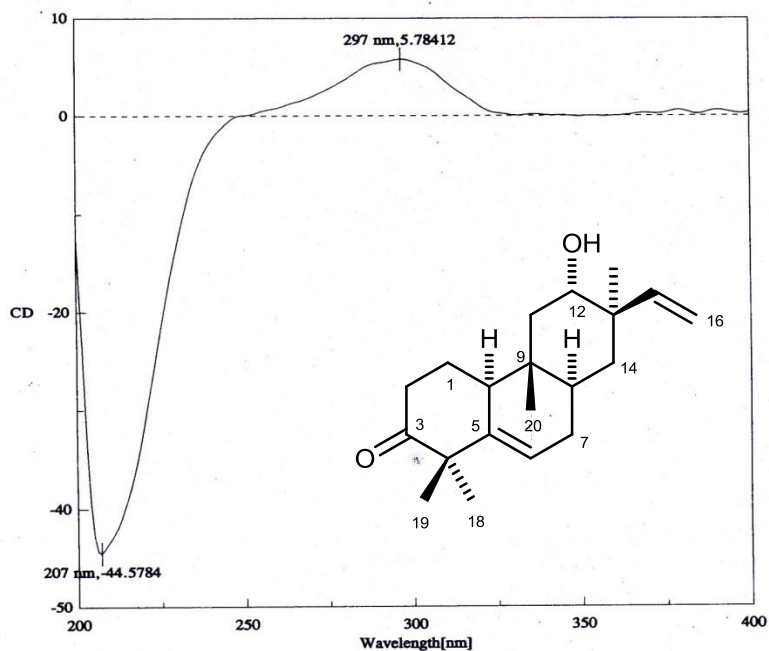


Figura 15. Curva de dicroísmo circular de **57**.

Es posible determinar la configuración absoluta de C-3 del compuesto **56** de acuerdo a la posición relativa del grupo acetilo con los sustituyentes de los demás centros quirales. Por lo tanto, el derivado 3 β -O-acetil-12 α -hidroxirosadieno tiene la configuración 3R.

Por último, el compuesto obtenido de las fracciones 96-108 se aisló como un sólido blanco de punto de fusión de 158-160° C, y mostró propiedades espectroscópicas análogas a los dos rosanos descritos previamente.

El ión molecular del compuesto **58**, determinado en el espectro de masas (FAB+), se encuentra en m/z 304.2403 (valor calculado m/z: 304.2402), que se adecúa a una fórmula molecular de C₂₀H₃₂O₂, con cinco grados de insaturación. En el espectro de IR se manifiesta la presencia del grupo hidroxilo por las bandas observadas entre 3693 y 3598 cm⁻¹.

En su espectro de RMN de ¹³C se observan 20 señales correspondientes a cuatro metilos, seis metilenos, seis metinos y cuatro carbonos cuaternarios, de acuerdo al análisis del espectro DEPT. Los carbonos en δ 71.50 y 76.75, se asocian cada una a un metino carbinólico, según su desplazamiento químico y la composición elemental propuesta por EM.

Se comparó la multiplicidad y el desplazamiento químico de las señales en el espectro de RMN de ¹H con las observadas para los derivados de rosano obtenidos en fracciones previas (tabla 3). La sustancia analizada también presenta dos sistemas vinílicos, el enlace terminal en 5.81 (H-15, J = 17.5, 11 Hz), 5.11 (H-16a, J = 17.5, 1 Hz) y 5.11 (H-16b, J = 10, 1 Hz), y el segundo en δ 5.60 (H-6) que correlaciona con el C-6 en δ_c 118.06 en el espectro HSQC.

Las señales en δ 3.64 ($J = 12, 4.5$ Hz) y 3.24 ($J = 11.5, 4$ Hz) corresponden a los metinos carbinólicos en C-12 y C-3, respectivamente. La elucidación estructural completa del compuesto **58** se realizó en base a las correlaciones bidimensionales en los espectros HSQC, HMBC (figura 16), COSY y NOESY. En esta estructura también se ubica C-20 unido a C-9, de acuerdo a las correlaciones HMBC de H(20)→C(10), C(11), C(9) y C(8). Además, se comprueba la posición del doble enlace entre C-5 y C-6 por la interacción H(6)→C(10), C(4), C(8) y C(7). Finalmente, fue posible determinar la identidad del compuesto como 3 α ,12 α -dihidroxi-5(6),15-rosadieno (**58**). Considerando que las plantas comúnmente biosintetizan compuestos de una sola serie enantiomérica, se estableció la configuración absoluta por comparación directa con los dos rosadienos analizados anteriormente, además los tres rosadienos presentan rotación óptica de signo negativo.

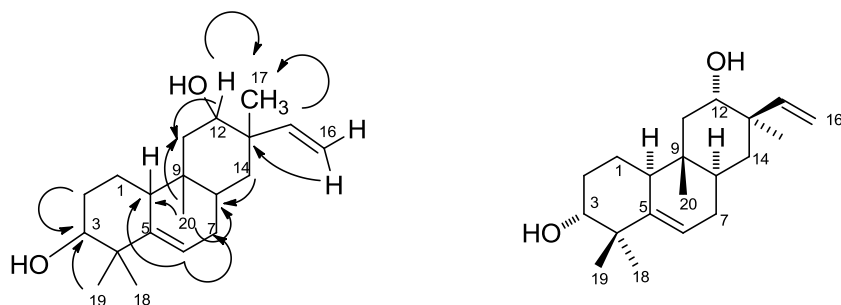
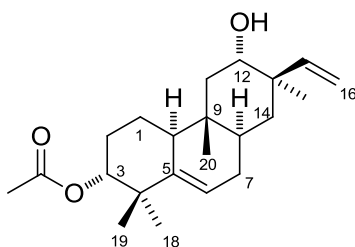


Figura 16. Principales interacciones J_C-H observadas en el espectro HMBC de **58** y su configuración absoluta

La revisión de la literatura permitió concluir que las estructuras de los tres rosadienos aislados de *C. niveus* son novedosas.

Posición	56		57		58	
	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C
1 α	1.24 m	23.0	1.62 m	22.6	1.17 m	23.4
1 β	1.80 m		2.00 ddd (13.5, 10, 5)		1.80 m	
2 α	1.58 m	26.6	2.54 ddd (15.5, 12, 5.5)	37.8	1.56 m	30.1
2 β	1.83 m		2.41 dd (15.5, 5)		1.82 m	
3	4.49 dd (12, 4.5)	78.6	-	214.7	3.24 dd (11.5, 4)	76.7
4	-	40.4	-	50.4	-	41.7
5	-	143.9	-	143.1	-	144.7
6	5.61 dt (5.5, 2)	119.1	5.65 dt (6, 2)	120.1	5.60 dt (6, 2)	118.6
7 α	1.67 ddd (11.5, 4, 2)	29.4	1.70 ddd(11.5, 4, 2)	29.5	1.67 ddd (11.5, 4,2)	29.4
7 β	1.76 m		1.86 ddd (13, 5.5, 2)		1.77 m	
8	1.49 m	35.5	1.64 m	35.5	1.50 m	35.6
9	-	36.4	-	36.7	-	36.4
10	2.00 da (12.5)	46.3	2.30 da	47.2	1.97 da (11)	46.5
11 α	1.26 † (12.5)	41.4	1.32 † (12.5)	41.1	1.26 † (12)	41.5
11 β	1.89 dd (12.5, 4.5)		1.94 dd (13, 4.5)		1.89 dd (12, 4.5)	
12	3.62 dd (12.5, 4.5)	71.4	3.66 dd (12, 4)	71.4	3.64 dd (12, 4.5)	71.5
13	-	42.7	-	42.7	-	42.7
14 α	1.25 dd (13.5, 4)	39.5	1.30 dd (13.5, 4)	39.5	1.25 dd (13.5, 4.5)	39.6
14 β	1.35 † (13.5)		1.36 † (13)		1.35 † (13.5)	
15	5.81 dd (17, 10.5)	147.7	5.82 dd (17, 11)	147.5	5.81 dd (17.5, 11)	147.7
16a	5.12 dd (17, 1)	113.1	5.13 dd (17, 1)	113.3	5.11 dd (17.5, 1)	113.1
16b	5.11 dd (10.5, 1)		5.13 dd (11, 1)		5.11 dd (10, 1)	
17	1.03 s	14.3	1.05 s	14.3	1.03 s	14.3
18	1.04 s	24.3	1.26 s	29.0	1.15 s	21.7
19	1.03 s	23.1	1.24 s	23.7	0.87 s	24.3
20	0.73 s	13.8	0.77 s	13.1	0.73 s	13.9
21 C=O	-	170.7				
22 CH ₃	2.06 s	21.3				

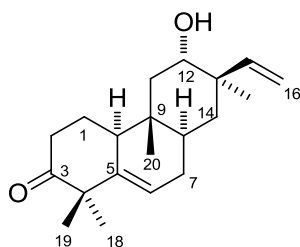
Características de rosadienos



3 α -acetoxi-12 α -hidroxi-5(6),15-rosadieno (**56**)

Sólido cristalino. Punto de fusión: 135-137° C. $[\alpha]_D^{25} = -20$ (CHCl₃, c 0.2 g/100mL)

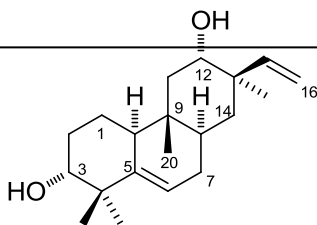
IR (KBr, cm⁻¹): 3542, 3081, 30423, 2973, 2908, 2879, 1713, 1640, 1468, 1445, 1378, 1257, 1174, 1150, 1100, 1070, 1040, 980, 907, 868, 822



12 α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (**57**)

Sólido blanco. Punto de fusión: 132-134° C. $[\alpha]_D^{25} = -9$ (CHCl₃, c 0.1 g/100mL)

UV (MeOH): 205.4 nm ($\epsilon=3735.5$); IR (CHCl₃): 3695, 2929, 2856, 1708, 1603, 1465, 1382, 1359, 1290, 1210, 1142, 1070, 1010, 921, 852



3 α ,12 α -dihidroxi-5(6),15-rosadieno (58)

Sólido blanco cristalino. P.f.: 158-160° C. $[\alpha]_D^{25} = -7$ (CHCl₃, c 0.1 g/100 mL)

IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3694-3599, 3021, 2939, 2871, 1731, 1636, 1603, 1468, 1382, 1362, 1314, 1267, 1222, 1045, 1013, 922

5.4. Evaluación de la actividad citotóxica de compuestos puros

Por último, se valoró el potencial citotóxico de los compuestos aislados, utilizando la misma técnica que en el caso de los extractos crudos. Los porcentajes de inhibición de la proliferación celular que mostraron cada uno de los compuestos frente a líneas celulares humanas cancerosas se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Porcentaje de inhibición de la proliferación celular de compuestos puros contra líneas celulares humanas cancerosas (α 50 μ g/mL); s.a. = sin actividad

Compuesto	U-251 SNC	PC-3 Próstata	K562 Leucemia	HCT-15 Colon	MCF-7 Mama	SKLU-1 Pulmón
β -Lupeol (5)	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
Vomifoliol (54)	8.59	5.92	-	5.44	s.a.	s.a.
Sitostenona (53)	8.89	26.56	27.91	6.19	11.37	6
56	34	91.05	-	83.46	73.16	28.98
58	27.8	77.68	-	52.11	49.17	21.51

Las evaluaciones biológicas de las sustancias puras indicaron que **56** y **58** muestran actividad frente a las líneas celulares cancerosas de próstata, colon y mama. De esta manera, en primer lugar es posible relacionar la presencia de los rosadienos con la actividad citotóxica del extracto de CH_2Cl_2 /metanol frente a las células de cáncer de colon. Sin embargo, la aparente selectividad de los compuestos puros se altera cuando se determina su actividad de manera aislada.

Por otra parte, la citotoxicidad de los extractos orgánicos de *S. lateriflorum* no está relacionada directamente con alguno de los compuestos aislados, dado que ninguno de ellos fue activo contra las líneas celulares de cáncer probadas. Aunque esto podría ser evidencia de un efecto sinérgico entre varios de los componentes extraídos durante la maceración del material vegetal.

Con la finalidad de establecer la potencia citotóxica de los compuestos puros que fueron activos en las pruebas preliminares, se realizaron curvas de dosis respuesta obteniendo así el valor de la concentración necesaria para inhibir al 50 % la proliferación de las células cancerosas (CI_{50}), únicamente para las líneas celulares cancerosas de próstata, colon y mama.

Los resultados mostrados en la tabla 5 indican que el derivado acetilado del rosadieno (**56**), presenta actividad citotóxica contra células de cáncer de próstata, similar a la del producto natural ácido ursólico que fue empleado como referencia. En el resto de líneas celulares la potencia citotóxica de ambos compuestos es baja.

Tabla 5. Valores de CI_{50} (μ M)

Compuesto	PC-3 próstata	HCT-15 colon	MCF-7 mama
56	34.76±2.3	41.93±0.06	77.08±2.7
58	55.68±0.3	-	-
Ácido ursólico	30.5±0.5	17.5±6.8	17.5±1.1
Adriamicina	0.19±0.01	0.23±0.02	0.14±0.01

Sin embargo, es importante notar que una actividad citotóxica significativa será cuando la sustancia analizada presente un valor de $CI_{50} < 1 \mu$ M, como en el caso de la adriamicina.

Es posible que el compuesto **56** muestre mayor actividad citotóxica, en comparación con el derivado dihidroxilado, debido a que es menos polar, lo que facilitaría su transporte a través de las membranas celulares. Sin embargo, el mecanismo de acción de estos compuestos se desconoce.

6. CONCLUSIONES

La actividad citotóxica que mostraron los extractos orgánicos de *Sapium lateriflorum* y *Croton niveus*, al inhibir la proliferación de células cancerosas de al menos una de las líneas probadas aplicando el método de la sulforrodamina B, motivó el análisis químico de los mismos.

El análisis químico permitió aislar de ambas especies las sustancias conocidas: β -sitosterol, β -lupeol y β -D-glucopiranosido de β -sitosterilo. Además, *S. lateriflorum* biosintetiza sitostenona, (6*S*,9*R*)-(+)-vomifoliol y ésteres de lupeól. Es importante señalar que ninguno de los compuestos mencionados se ha aislado anteriormente de *S. lateriflorum*.

A partir de las ramas de *C. niveus* se purificaron y caracterizaron estigmasterol, cajucarínolida, así como los compuestos novedosos 3 α ,12 α -dihidroxi-5(6),15-rosadieno, 3 α -acetoxi-12 α -hidroxi-5(6),15-rosadieno y 12 α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona. Este tipo de esqueleto estructural, donde un metilo (C-20) se encuentra en la posición C-9, se ha encontrado con poca frecuencia en otras plantas, por lo que este hallazgo puede considerarse como sobresaliente.

Las configuraciones relativas de los rosadienos fueron determinadas de acuerdo al análisis de las constantes de acoplamiento en RMN ¹H, por el análisis de los experimentos NOESY y por el análisis de rayos X del derivado acetilado. Las configuraciones absolutas fueron definidas de acuerdo al análisis quiróptico de 12 α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona.

Por otra parte, es posible establecer una relación entre la actividad citotóxica del extracto de diclorometano/metanol de *C. niveus*, con la presencia de los pimaranos modificados,

ya que éstos inhiben moderadamente la proliferación celular. El compuesto 3 α -acetoxi-12 α -hidroxi-5(6),15-rosadieno muestra una concentración inhibitoria media similar al ácido ursólico contra células de cáncer de próstata.

Por otro lado, no fue posible encontrar una relación similar entre el potencial citotóxico de los extractos orgánicos de *S. lateriflorum*, con la actividad de las sustancias puras obtenidas a partir de ellos. Por lo tanto, es plausible que los resultados observados para los extractos probablemente sean consecuencia de la actividad citotóxica de una combinación específica de varios compuestos que sintetiza esta planta.

Por último, el aislamiento, la caracterización y la bioevaluación de los compuestos mencionados, permite conocer la estructura molecular de los metabolitos secundarios presentes y conocer su bioactividad.

Es evidente la importancia de la generación de conocimiento básico sobre los recursos naturales renovables (en este caso, dos especies vegetales localizadas en México) que permita no sólo coadyuvar al entendimiento de los mecanismos químicos que operan en la naturaleza, sino que este conocimiento incida en su conservación y eventual aprovechamiento racional.

7. PERSPECTIVAS

De acuerdo a la información existente en la literatura acerca de los terpenoides encontrados en las plantas de los géneros *Sapium* y *Croton*, así como las propiedades biológicas que han mostrado estos productos naturales, se sugiere estimar el potencial de los rosanos novedosos como anti-inflamatorios, antiparasitarios y antioxidantes mediante los bioensayos correspondientes. Eventualmente es probable correlacionar esta información con los usos tradicionales de las plantas.

Asimismo, se propone realizar la transformación y determinación de la actividad citotóxica del derivado 3 α ,12 α -diacetoxi-5(6),15-rosadieno para completar la serie de derivados sustituidos en C-3 y C-12.

Continuar con el análisis de las fracciones primarias de la separación cromatográfica del extracto de hexano y de acetato de etilo de *S. lateriflorum* (previamente despigmentadas), con la finalidad de encontrar algún metabolito con actividad citotóxica que pudiera ser responsable de la citotoxicidad de los extractos.

Finalmente, se propone continuar con la búsqueda de metabolitos bioactivos a partir de otras especies de la familia Euphorbiaceae, dada la diversidad estructural que presentan los productos naturales aislados anteriormente.

8. REFERENCIAS

1. Pimm, S.L.; Russell, G.J.; Gittleman, J.L.; Brooks, T.M. The future of biodiversity. *Science* **1995**, *269*, 347-350
2. McChesney, J.D.; Venkataraman, S.K.; Henri, J.T. Plant natural products: Back to the future or into extinction?, *Phytochemistry* **2007**, *68*, 2015-2022
3. Newman, D.J.; Cragg, G.M.; Snader, K. M., Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1022-1037
4. Phillipson, D. J., Phytochemistry and medicinal plants, *Phytochemistry* **2001**, *56*, 237-243.
5. Espinosa-García, F.; Delgado, G. Relationship between ecology of plants defense and prospection of secondary metabolites with potential medicinal or agricultural application. *Rev. Latinoamer. Quím.* **1998**, *26*, 13-29
6. Linares, M. E; Bye, R.; Flores, B. Plantas Medicinales de México usos remedios y tradiciones. Instituto de Biología, UNAM **1999**. pp. 155.
7. Canalesa, M.; Hernández, T.; Caballero, J.; Romo de Vivar, A.; Ávila, G.; Duran, A.; Lira, R. *J. Ethnopharmacol.* **2005**, *97*, 429-439
8. Radcliffe-Smith, A. Flora of Tropical Africa. *Royal Bot. Gard.*, **1987**.
9. Webster, G. L. Classification of the Euphorbiaceae. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, **1994**, *81*, 3-32.
10. Ávila, L.; Pérez, M.; Sánchez-Duffhues, G.; Hernández-Galán, R.; Muñoz, E.; Cabezas, F.; Quiñónez, W.; Torres, F.; Echeverri, F. Effects of diterpenes from latex of *Euphorbia lactea* and *Euphorbia laurifolia* on human immunodeficiency virus type 1 reactivation. *Phytochemistry* **2010**, *71*, 243-248
11. a) Webster, G.L. Irritant plants in the spurge family. *Clinics in dermatology* **1986**, *4*, 36-45, b) Hohmann, J.; Vasas, A.; Günther, G.; Máthé, I.; Evanice, F.; Dombi, G.; Jerkovich, G., Macrocyclic Diterpene Polyesters of the Jatrophane Type from *Euphorbia esula*. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 331-335
12. a) Zhang, Y.J.; Abe, T.; Tanaka, T.; Yang, Ch.R.; Kouno, I., Two new acylated flavanone glycosides from leaves and branches of *Phyllanthus emblica*. *Chem. Pharm. Bull.* **2002**, *50*, 841-843; b) Houghton, P.J.; Woldemariam, T.Z.; O'Shea, S.; Thyagarajan, S.P. Two securinega-type alkaloids from *Phyllanthus amarus*. *Phytochemistry* **1996**, *43*, 715-717
13. Referencias en: Mulholland, D.A.; Langat, M.K.; Crouch, N.R.; Coley, H.M.; Mutambi, E. M.; Nuzillard, Jean-Marc. Cembranolides from the stem bark of the southern African medicinal plant, *Croton gratissimus* (Euphorbiaceae). *Phytochemistry* **2010**, *71*, 1381-1386
14. Evans, F.J.; Taylor. Pro-inflammatory Tumor-Promoting and Antitumor Diterpenes of Euphorbiaceae. *Prog. Ch. Org. Nat. Prod.*, **1983**, *44*, 1-99

-
15. Denton, R.W.; Harding, W.W.; Anderson, Ch.I.; Jacobs, H.; Stewart, M.; Reynolds, W.F.; New diterpenes from *Jatropha divaricata*. *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 829-831
16. Öksüz, S.; Gürek, F.; Gil, R.R.; Pengsuparp, T.; Pezzuto, J.M.; Cordell, G.A. Four diterpenes esters from *Euphorbia myrsinites*. *Phytochemistry* **1995**, *38*, 1457-1462
17. Caballero, P.; Fronczek, F.; Fischer, N.H.; Fernández, S.; Hernández, E., The isolation and molecular structure of lupeol β -phenylpropionate from *Cnidoscopus elasticus*. *J. Nat. Prod.* **1984**, *47*, 819
18. Lima, E.M.; Medeiros, J.M.; Davin, L.B., Pentacyclic triterpenes from *Euphorbia stygiana*. *Phytochemistry* **2003**, *63*, 421-425
19. García, A.; Delgado, G. Uncommon sesquiterpenoids and new triterpenoids from *Jatropha neopauciflora* (Euphorbiaceae). *Helv. Chim. Acta* **2006**, *89*, 16-29
20. García, A.; Ramírez-Apan, T.; Cogordan, J. A.; Delgado, G. Absolute configuration assignments by experimental and theoretical approaches of *ent*-labdane- and *cis-ent*-clerodane-type diterpenes isolated from *Croton glabellus*. *Can. J. Chem.* **2006**, *84*, 1593-1602
21. Reyes, B.M.; Ramírez-Apan, M.T.; Toscano, R.A.; Delgado, G. Triterpenes from *Garcia parviflora*. Cytotoxic evaluation of natural and semisynthetic friedelanones. *J. Nat. Prod.* **2010**, *73*, 1839-1845
22. Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana (última revisión 31 de marzo de 2011) <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/index.php>
23. Paris, R., Basetien, M. Apropos of the hypoglycemic action of 2 drugs named "copalchi": *Coutarea latiflora* (Rubiaceae) and *Croton niveus* (Euphorbiaceae). *Ann. Pharm. Franc.* **1960**, *18*, 205
24. Rojas, E. T.; Rodríguez-Hahn, L. Nivenolide, a diterpene lactone from *Croton niveus*. *Phytochemistry* **1978**, *17*, 574-575
25. Mabberley, D.J. *The plant-book*, 2a ed. Cambridge University Press, Cambridge **1998**, p. 858
26. Martínez, G.M.; Jiménez, R.J.; Cruz, D.R.; Juárez, A.E.; García R.; Cervantes, A.; Mejía, H.R. Los géneros de la familia Euphorbiaceae en México, *Anales del Instituto de Biología*, UNAM Serie Botánica **2002**, *73*, 155-281
27. Jassbi, A.R. Chemistry and biological activity of secondary metabolites in *Euphorbia* from Iran. *Phytochemistry* **2006**, *67*, 1977,1984
28. Halaweish, F.T.; Kronberg, S.; Hubert, M.B.; Rice, J.A. Toxic and aversive diterpenes of *Euphorbia esula*. *J. Chem. Ecol.* **2002**, *28*, 1599-1611
29. Kirby, J.; Nishimoto, M.; Park, J.G.; Withers, S.T.; Nowroozi, F.; Behrendt, D.; García, E.J.; Fortman, J.L.; Johnson, H.E.; Anderson, J.V.; Keasling, J.D. Cloning of casbene and
-

neocembrene synthases from Euphorbiaceae plants and expression in *Saccharomyces cerevisiae*. *Phytochemistry* **2010**, *71*, 1466-1473

30. a) Delgado, G.; Hernández, Y.M.; Aguilar, M.I. Pentacyclic triterpenes from *Cnidoscolus multifolius*. *Planta Med.* **1994**, *60*, 389-390; b) Yuan, W.; Li, S.; Ownby, S.; Zhang, Z.; Wang, P.; Zhang, W.; Beasley, R.S. Flavonoids, coumarins and terpenoids from aerial parts of *Cnidoscolus texanus*. *Planta Med.* **2007**, *73*, 1304-1308

31. Lima, E.M.C.; Medeiros, J.M.R.; Davin, L.B. Pentacyclic triterpenes from *Euphorbia stygiana*. *Phytochemistry* **2003**, *63*, 421-425

32. Tinto, W.F.; John, L.M.D. Triterpenoids of *Jatropha gossyifolia*. *J. Nat. Prod.* **1992**, *55*, 807-809

33. Biesboer, D.D.; D'Amour, P.; Wilson, S.R.; Mahlberg, P. Sterols and triterpenols in latex and cultured tissues of *Euphorbia pulcherrima*. *Phytochemistry* **1982**, *21*, 1115-1118

34. a) Roe, F.J.; Peirce, W.E.H. Tumor Promotion by Euphorbia Latices. *Cancer Research* **1961**, *338*; b) Hecker E. *Pharmacognosy and Phytochemistry*. Springer-Verlag, Berlin **1971**, p.147

35. Goel, G.; Makkar, H.P.S.; Francis, G.; Becker, K. Phorbol esters: structure, biological activity, and toxicity in animals. *Inter. J. Toxicol.* **2007**, *26*, 279-288

36. Beutler, J.A.; Ada, A.B.; McCloud, T.G.; Cragg, G.M. Distribution of phorbol ester bioactivity in the Euphorbiaceae. *Phytother. Res.* **1989**, *3*, 188-192

37. Farnsworth, N. R.; Blomster, R. N.; Persmod, G. J.; Wilkes, J. D. A phytochemical and biological review of the genus *Croton*. *Lloydia* **1969**, *32*, 1

38. a) Maciel, M.M.A; Pinto, C.A.; Arruda, A.C.; Pamplona, S.G.; Vanderlinde, F.A.; Iapa, A.J.; Echeverria, A.; Grynberg, N.F.; Côlus, I.M.S.; Farias, R.A.F.; Luna, C.A.M.; Rao, V.S.N. Ethnopharmacology, Phytochemistry and pharmacology: a successful combination in the study of *Croton cajucara*. *J. Ethnopharmac.* **2000**, *70*, 41-55; b)Gupta, D.; Bleakley, B.; Gupta, R.K. Dragon's blood: botany, chemistry and therapeutic uses. *J. Ethnopharmac.* **2008**, *115*, 361-380

39. Hecker, E.; Schmidt, R., Phorbol esters – the irritants and cocarcinogens of *Croton tiglium*. *Prog. Ch. Org. Nat. Prod.* **1974**, *31*, 377

40. Block, S., Baccelli, C., Tinant, B., Meervelt, L.C., Rozenberg, R., Jiwan, H.J., Llabres, G., Pauw-Gillet, D.M., Quetib-Leclercq, J., Diterpenes from the leaves of *Croton zambesicus*. *Phytochemistry* **2004**, *65*, 1165–1171

41. Maciel, M.A.; Pinto, A.C.; Bravo, S.N.; Da Sillva, M.N. Terpenoids from *Croton cajucara*. *Phytochemistry* **1998**, *49*, 823-828

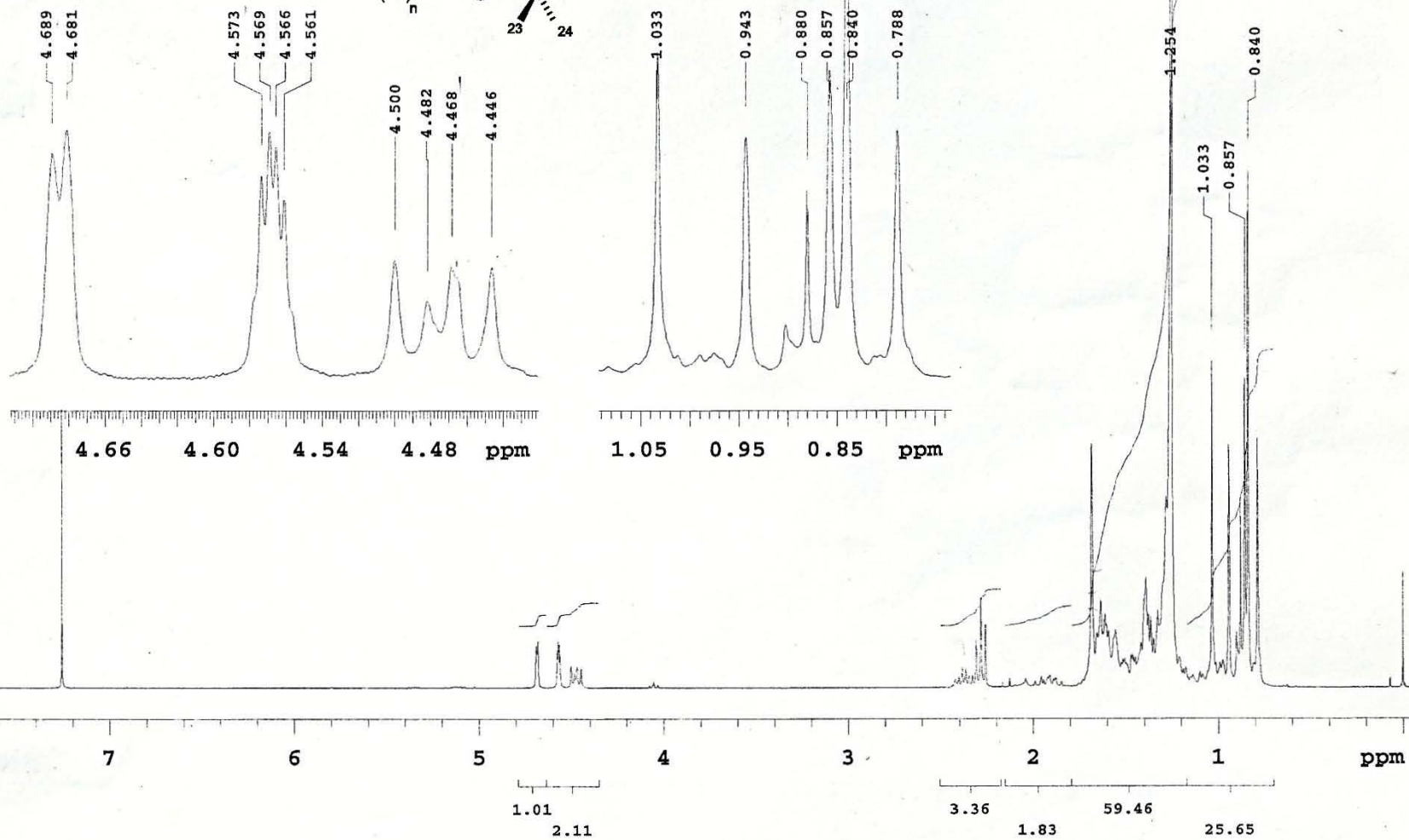
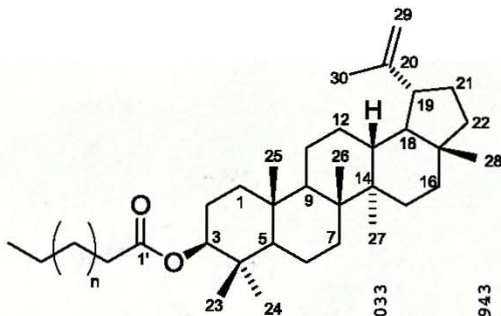
42. Evans, F.J.; Schmidt, R.J. An assay procedure for the comparative irritancy testing of esters in the tiglane and daphnane series. *Inflammation* **1979**, *3*, 215

-
43. Ahmed, Y.; Sohrab, H.; Al-Reza, S.M.; Tareq, F.S.; Hasan, C.M.; Sattar, M.A. Antimicrobial and cytotoxic constituents from leaves of *Sapium baccatum*, *Food Chem. Toxicol.* **2010**, *48*, 549-552
44. a) Evans, F.J.; Soper, C.J. The figliane, daphnane and ingenane diterpenes, their chemistry, distribution and biological activities. A review. *Lloydia* **1978**, *41*, 193; b) Reyes-López, J. A new diterpene from *Sapium lateriflorum* (Euphorbiaceae). *Rev. Soc. Quím. Méx.* **1982**, *26*, 242-244.
45. Hecker E. Phorbol esters from croton oil chemical nature and biological activities. *Naturwissenschaften* **1967**, *54*, 282
46. Williamson, E.M.; Evans, F.J. Skin irritant effects of esters of phorbol and related polyols. *Arch. Toxicol.* **1980**, *44*, 279
47. a) Taylor, S.E.; Gafur, M.A.; Choudhury, A.K.; Evans, F.J. Sapintoxin A, a new biologically active nitrogen containing phorbol ester. *Experientia* **1981**, *37*, 681; b) Taylor, S.E.; Gafur, M.A.; Choudhury, A.K.; Evans, F.J. Nitrogen-containing phorbol derivatives of *Sapium indicum*. *Phytochemistry* **1981**, *20*, 2749
48. Taylor S.E.; Evans F.J. Sapintoxin D, a new phorbol ester from *Sapium indicum*. *J. Nat. Prod.* **1981**, *44*, 729-731
49. Taylor, S.E.; Gafur, M.A.; Choundhury, A.K.; Evans, F.J., Sapatoxins, aliphatic ester tigliane diterpenos from *Sapium indicum*. *Phytochemistry* **1982**, *21*, 405-407
50. a) Taylor, S.E.; Williamson, E.M.; Evans, F.J. Phorbol derivatives from *Sapium insigne*. *Phytochemistry* **1983**, *22*, 1231-1233; b) Devkota, H. P.; Basnet, P.; Yahara, S. Diterpene esters and phenolic compounds from *Sapium insigne*. *Chem. Pharm. Bull.* **2009**, *57*, 1289-1291
51. Pradhan, B.P.; De, S.; Nath, A.; Shoolery, J.N. Triterpenoid acids from *Sapium sebiferum*. *Phytochemistry* **1984**, *23*, 2593-2595
52. Siems, K.; Jakupovic, J.; Castro, V.; Poveda, L. Rigidol, an unusual diterpene from *Sapium rigidifolium*. *Phytochemistry* **1993**, *33*, 1465-1468
53. Yunus, A.; Md. Hossain, S.; Sharif, M.A.; Faquir, S.T.; Choudhury, M.H.; Sattar, M.A. Antimicrobial and cytotoxic constituents from leaves of *Sapium baccatum*. *Food Chem. Toxicol.* **2010**, 549-552
54. Woldemichael, G.M; Gutierrez-Lugo, M.T.; Franzblau, S.G.; Wang, Y.; Suarez, E.; Timmermann, B.N. *Mycobacterium tuberculosis* growth inhibition by constituents of *Sapium haematospermum*. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 598-603
55. Vichai V.; Kirtikara K., Sulforhodamine B colorimetric assay fro cytotoxicity screening. *Nature Publishing Group* **2006**, *1*, 1112-1116
56. Oviedo, C.I.; Ramírez, A.T.; Martínez, M., Cytotoxic activity and effect on nitric oxide production of firucallane-type triterpenes, *J. Pharm. P.* **2005**, *57*, 1087-1091
-

-
57. <http://www.who.int/topics/cancer/en/> (última revisión 1 abril de 2011)
58. Tomosaka, H.; Koshino, H.; Tajika, T.; Omata, S., Lupeol esters from the twig bark of Japanese Pear (*Pyrus serotina* Rehd.) cv. Shinko. *Biosc. Biotechnol. Biochem.* **2001**, *65*, 1198-1201
59. McCarthy, F.O.; Chopra, J.; Ford, A.; Hogan, S.A.; Kerry, J.P.; O'Brien, N.M.; Ryan, E.; Maguire, A.R., Synthesis, isolation and characterisation of β -sitosterol and β -sitosterol oxide derivatives. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 3059-3065
60. De-Eknamkul, W.; Potduang, B., Biosynthesis of β -sitosterol and stigmasterol in *Croton sublyratus* proceeds via mixed origin of isoprene units. *Phytochemistry*, **2003**, *62*, 389-398
61. Prachayasittikul, S.; Suphamong, S.; Worachartcheewan, A.; Lawung, R.; Ruchirawat, S.; Prachayasittikul V., Bioactive metabolites from *Spilanthes acmella* Murr. *Molecules* **2009**, *14*, 850-867
62. Wahlberg I.; Eklund A.M. *Carotenoids Volume 3: Biosynthesis and Metabolism*, Cap. 4, ed. Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H., Birkhäuser Verlag, Basel **1998**, pp. 195-216
63. Yamano, Y.; Ito, M., Synthesis of optically active vomifoliol and roseoside stereoisomers. *Chem. Pharm. Bull.* **2005**, *53*, 541-546
64. Poussel, J.; Poisson, J., Vomifoliol: Alcool terpenique isole des feuilles du *rauwolfia vomitoria*, *Tetrahedron Lett.* **1969**, *10*, 1173-1174
65. Bittner, M.; Silva, M.; Aqueveque, P.; Kufer, J.; Jakupovic, J.; Murillo, R., Alkaloids and other constituents from *Croton chilensis*. *Bol. Soc. Chil. Quím.* **1997**, *42*, 223-228
66. Ngadjui, B.T.; Abegaz, B.M.; Keumedjio, F.; Folefoc, G.N.; Kapche, G.W.F. Diterpenoids from the stem bark of *Croton zambesicus*. *Phytochemistry* **2002**, *60*, 345-349
67. García-Alvarez, M.; Rodríguez, B.; Valverde, S.; Fraga, B.M.; González, A.G., Carbon-13 NMR spectra of some *ent*-rosane diterpenoids, *Phytochemistry* **1981**, *20*, 167-169
68. a) Harada, N.; Nakanishi, K., The Exciton Chirality Method and its Application to configurational and conformational studies of natural products. *Acc. Chem. Res.* **1972**, *5*, 257-263; b) Eliel, E.L., Stereochemistry of organic compounds. Cap. 13-4. Applications of optical dispersion and circular dichroism. p. 1007, **1994**, Wiley-Interscience.

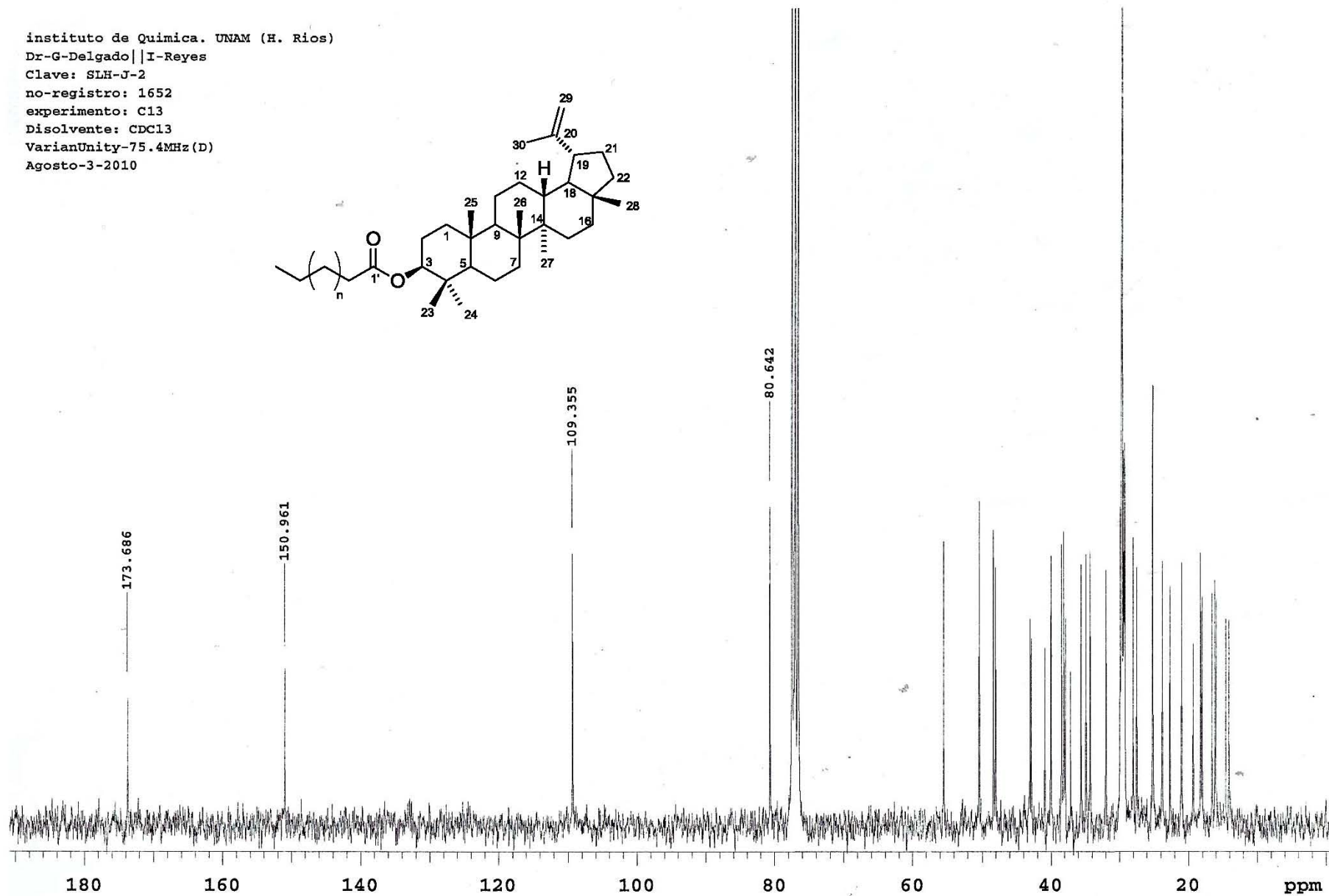
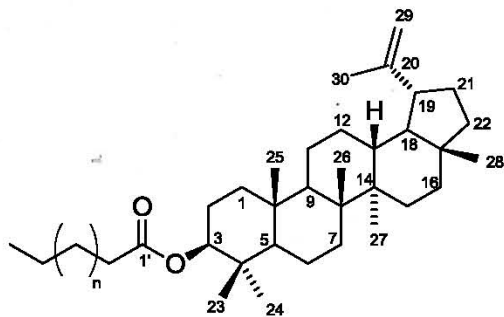
ANEXO I.
Espectros de compuestos aislados
de *S. lateriflorum*

Instituto de Quimica. UNAM (H.Rios)
 Dr-G-Delgado||I-Reyes
 Clave: SLH-J-2
 No-registro: 1652
 Experimento: Hidrogeno
 Disolvente: CDCl3
 VarianUnity300MHz (D)
 Agosto-3-2010

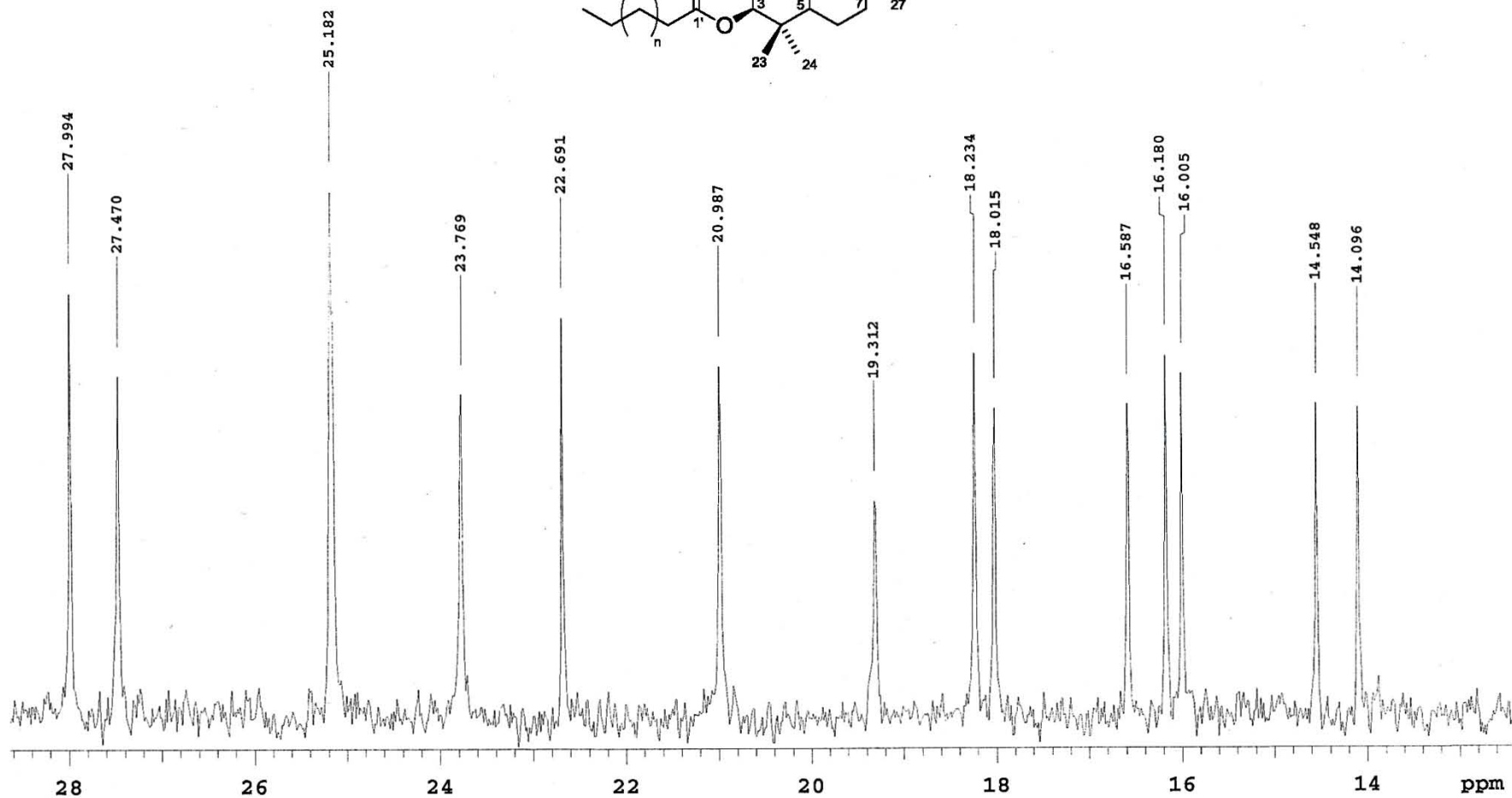
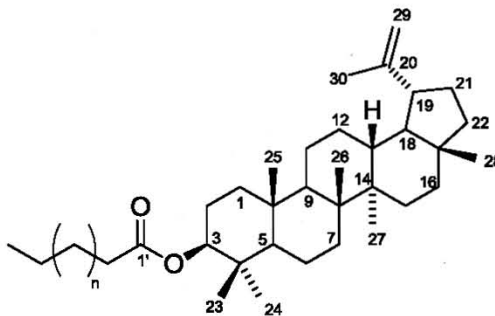


Espectro 1. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de mezcla de ésteres de lupeól (51)

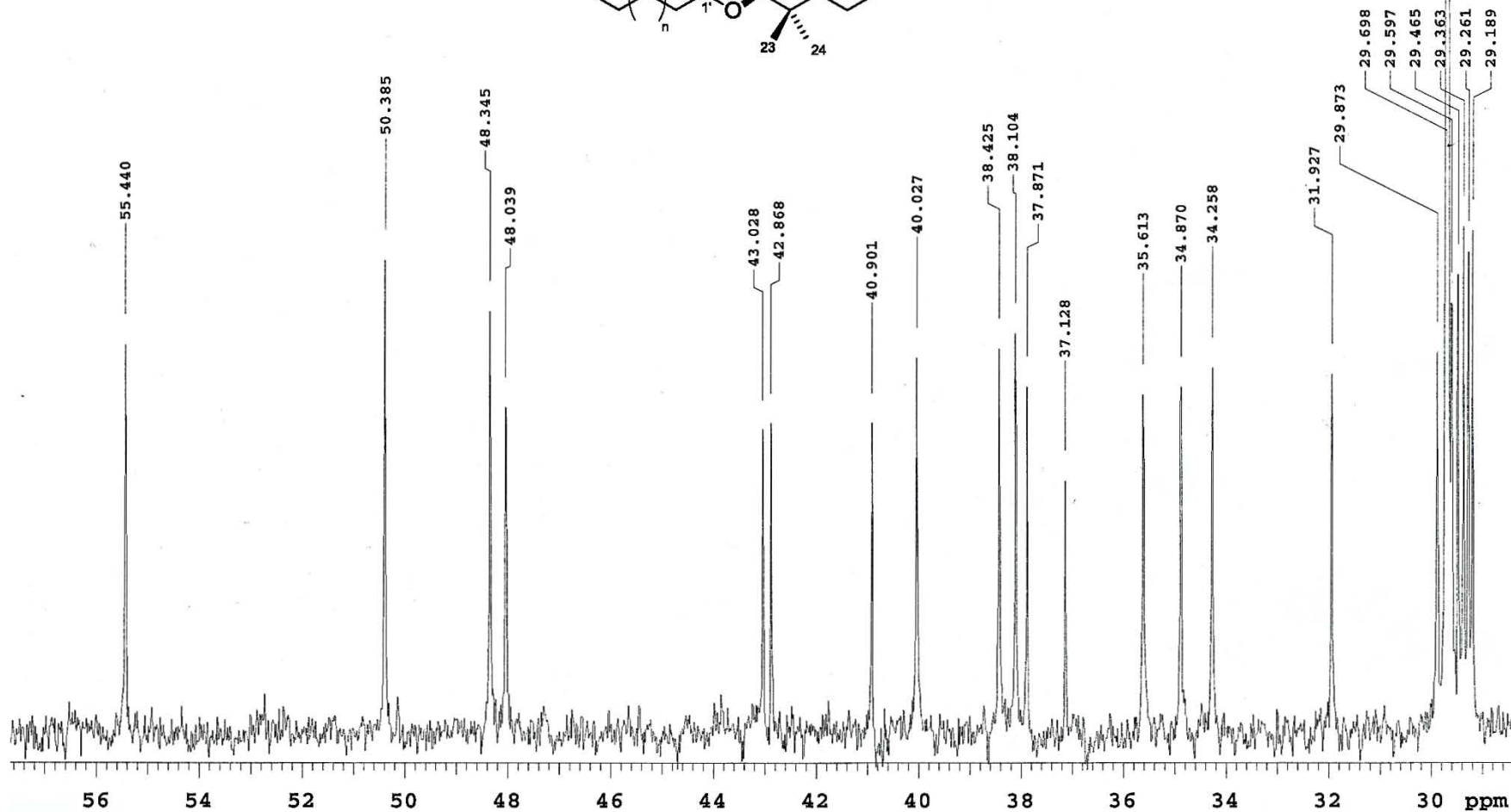
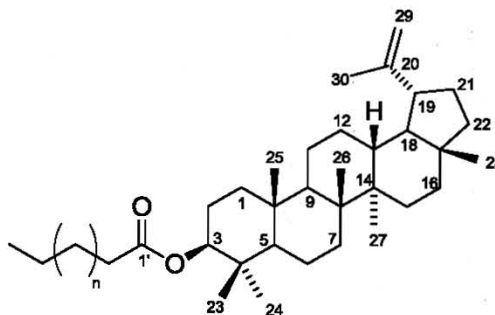
instituto de Quimica. UNAM (H. Rios)
Dr-G-Delgado||I-Reyes
Clave: SLH-J-2
no-registro: 1652
experimento: C13
Disolvente: CDCl3
VarianUnity-75.4MHz (D)
Agosto-3-2010



instituto de Quimica. UNAM (H. Rios)
Dr-G-Delgado | I-Reyes
Clave: SLH-J-2
no-registro: 1652
experimento: C13
Disolvente: CDCl3
VarianUnity-75.4MHz (D)
Agosto-3-2010



instituto de Quimica. UNAM (H. Rios)
Dr-G-Delgado||I-Reyes
Clave: SLH-J-2
no-registro: 1652
experimento: C13
Disolvente: CDCl3
VarianUnity-75.4MHz (D)
Agosto-3-2010



Espectro 4. RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de mezcla de ésteres de lupeólo (51)

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Delgado-Guillermo-022 Date : 18-Mar-2011 03:26

Sample: 610 SLH-J-2 IE2 JeolFX505HR

Note : -

Inlet : Direct Ion Mode : EI+

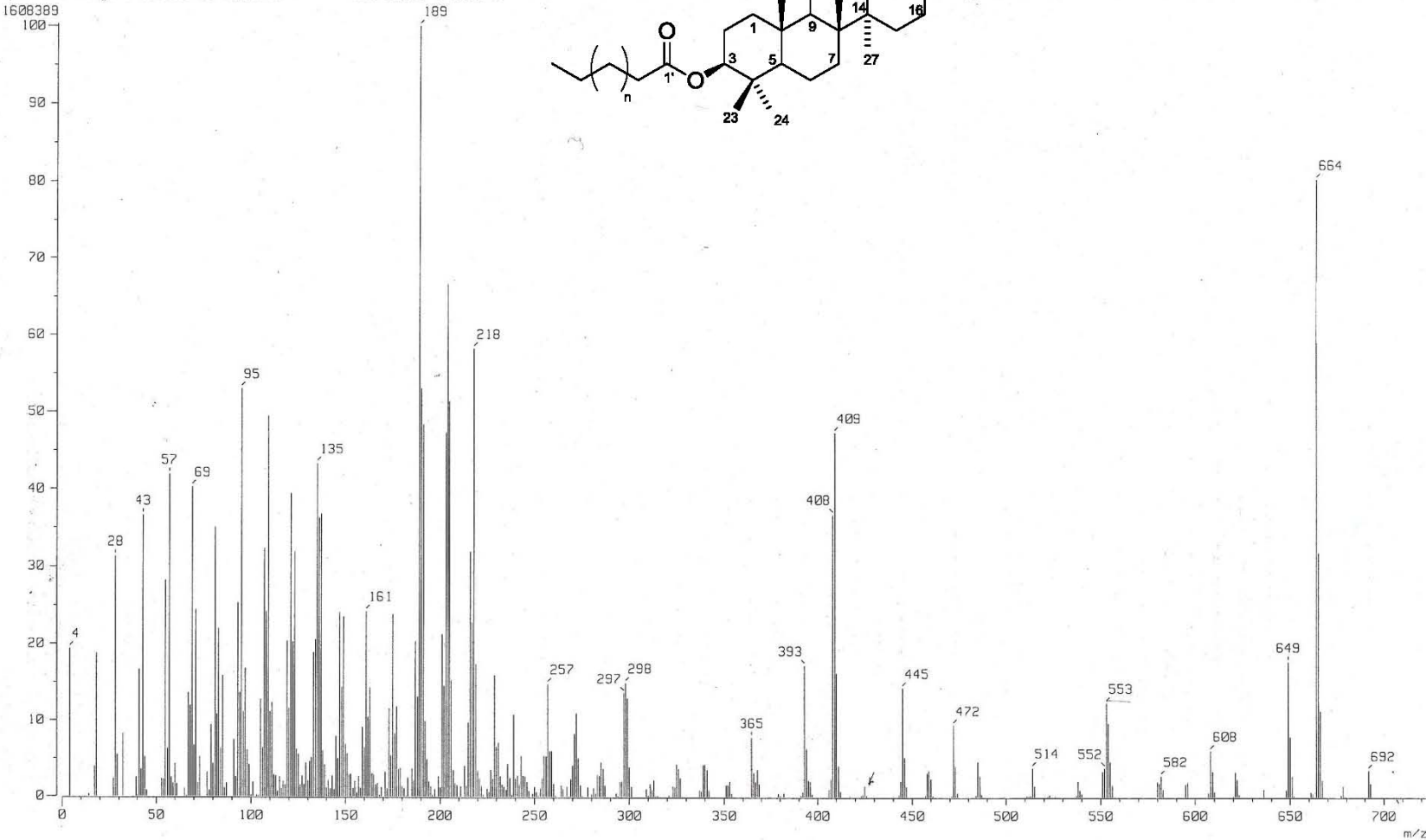
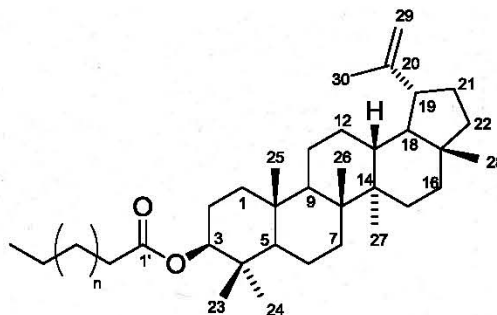
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

RT : 1.55 min Scan# : (42,63)

BP : m/z 189.0000 Int. : 152.95

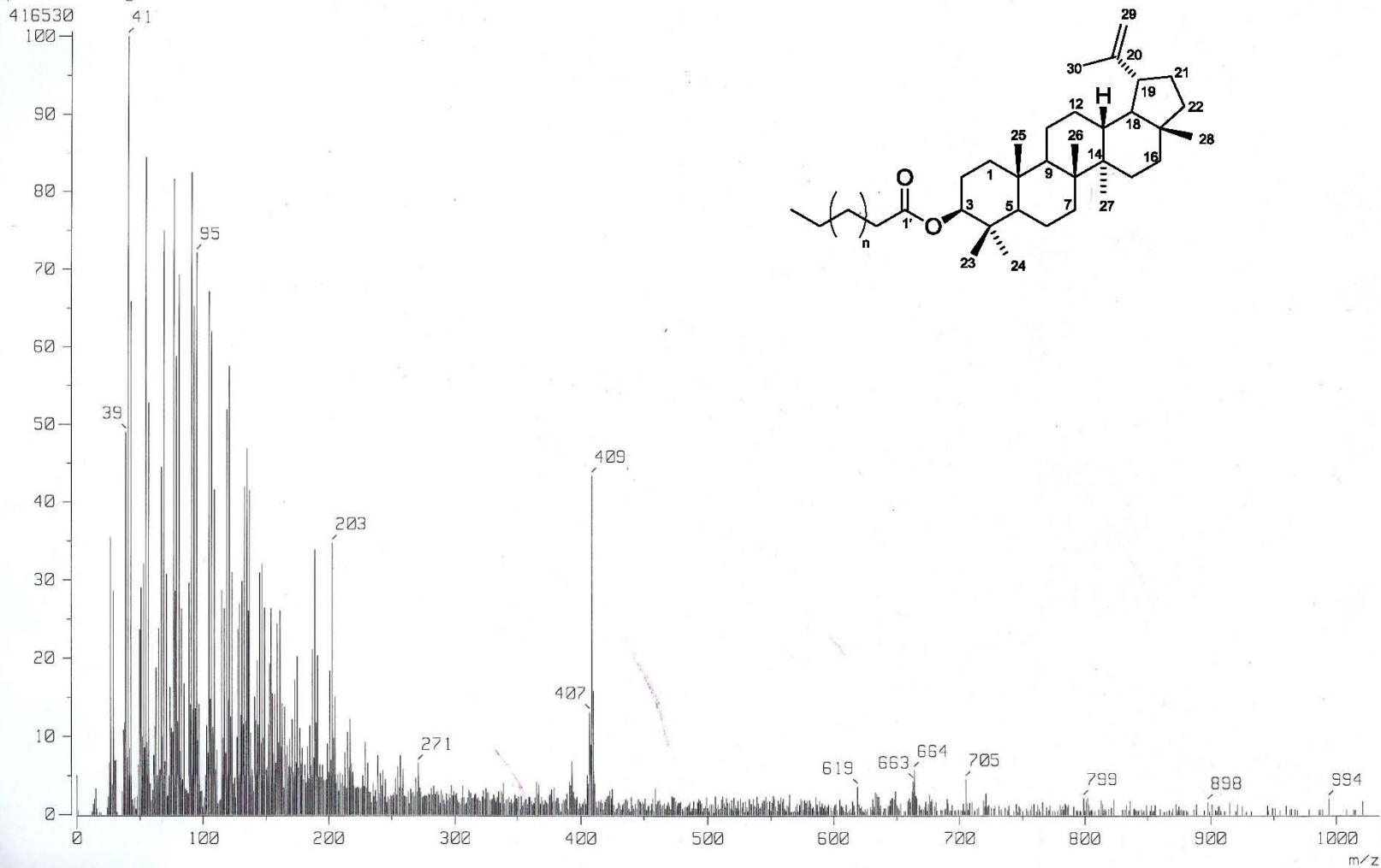
Output m/z range : 0.0000 to 722.8487

Cut Level : 0.00 %



Espectro 5. EM-IE (70 eV) de mezcla de ésteres de lupeól (51)

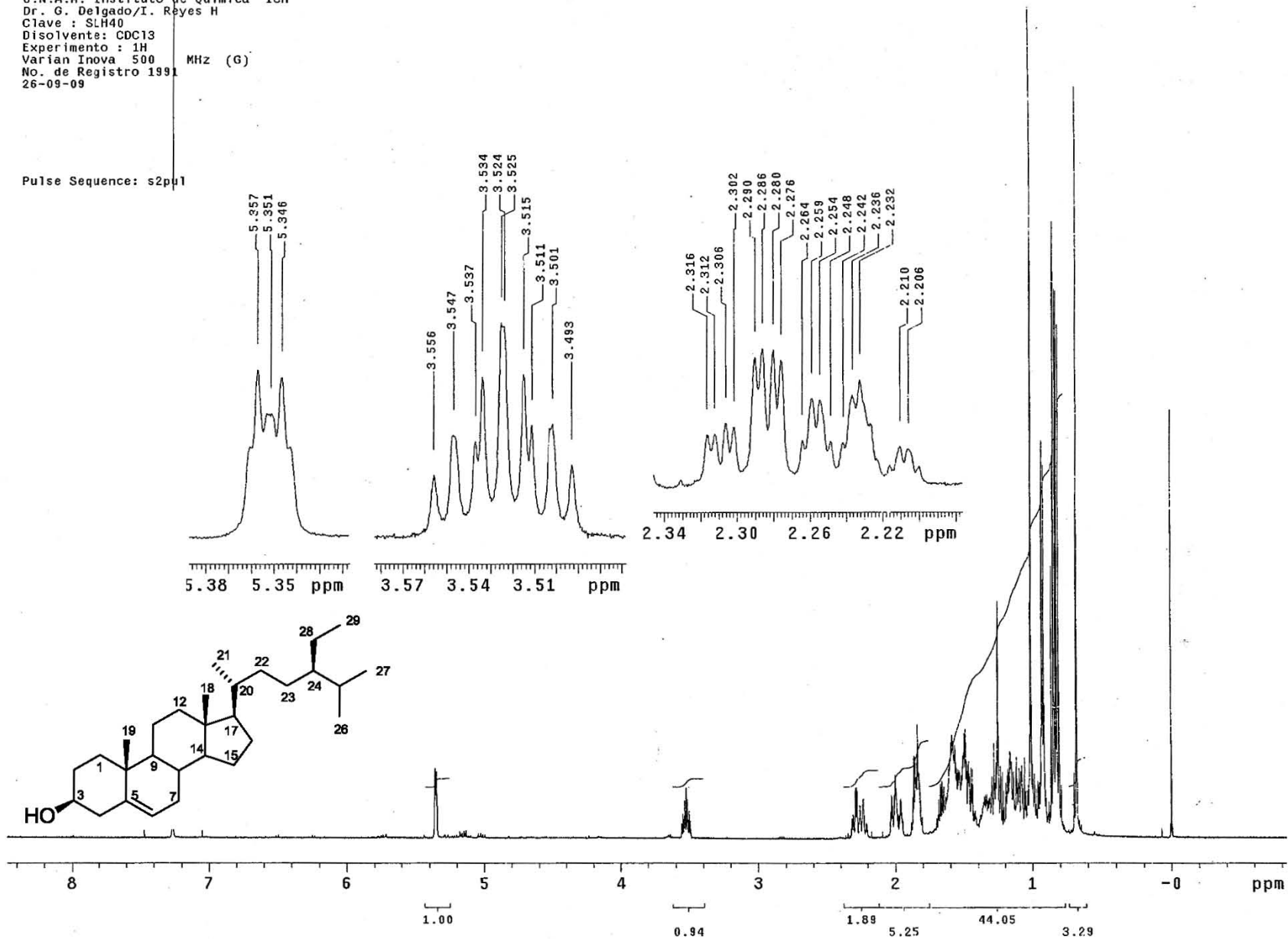
[Mass Spectrum]
Data : Dr-Guillermo-Delgado-123 . Date : 23-Mar-2011 16:10
Sample: 610 SLH-J-2
Note : Luis-Velasco
Inlet : Direct Ion Mode : FAB+
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 2.16 min Scan# : (7,10)
BP : m/z 41.0000 Int. : 39.50
Output m/z range : 0.0000 to 1033.9763 Cut Level : 0.00 %



Espectro 6. EM-FAB+ de mezcla de ésteres de lupeólo (51)

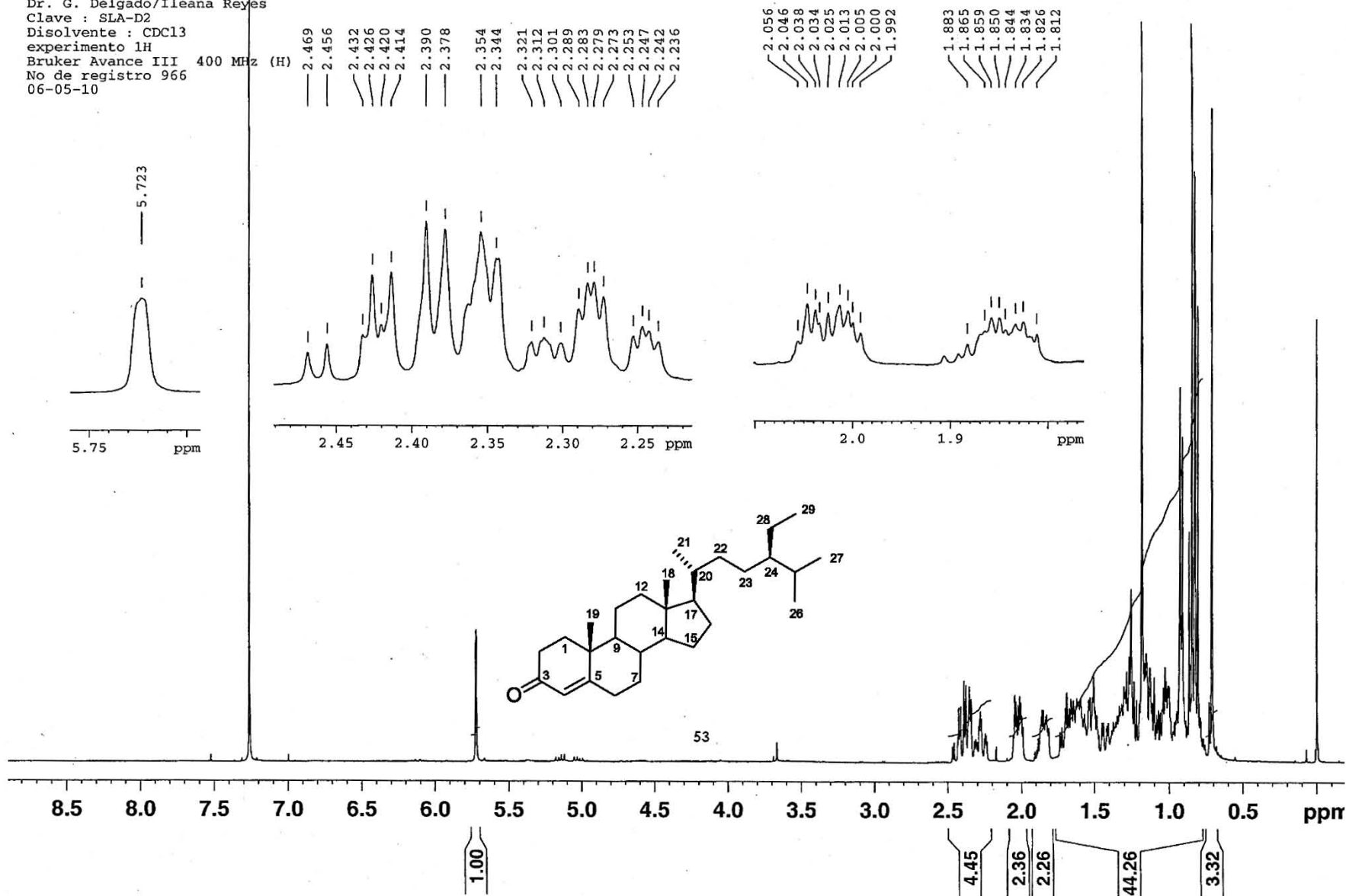
U.N.A.M. Instituto de Química ICH
 Dr. G. Delgado/I. Reyes H
 Clave : SLH40
 Disolvente: CDC13
 Experimento : 1H
 Varian Inova 500 MHz (G)
 No. de Registro 1991
 26-09-09

Pulse Sequence: s2pu1



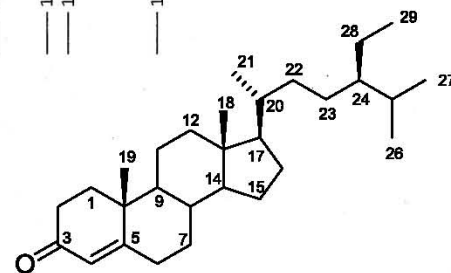
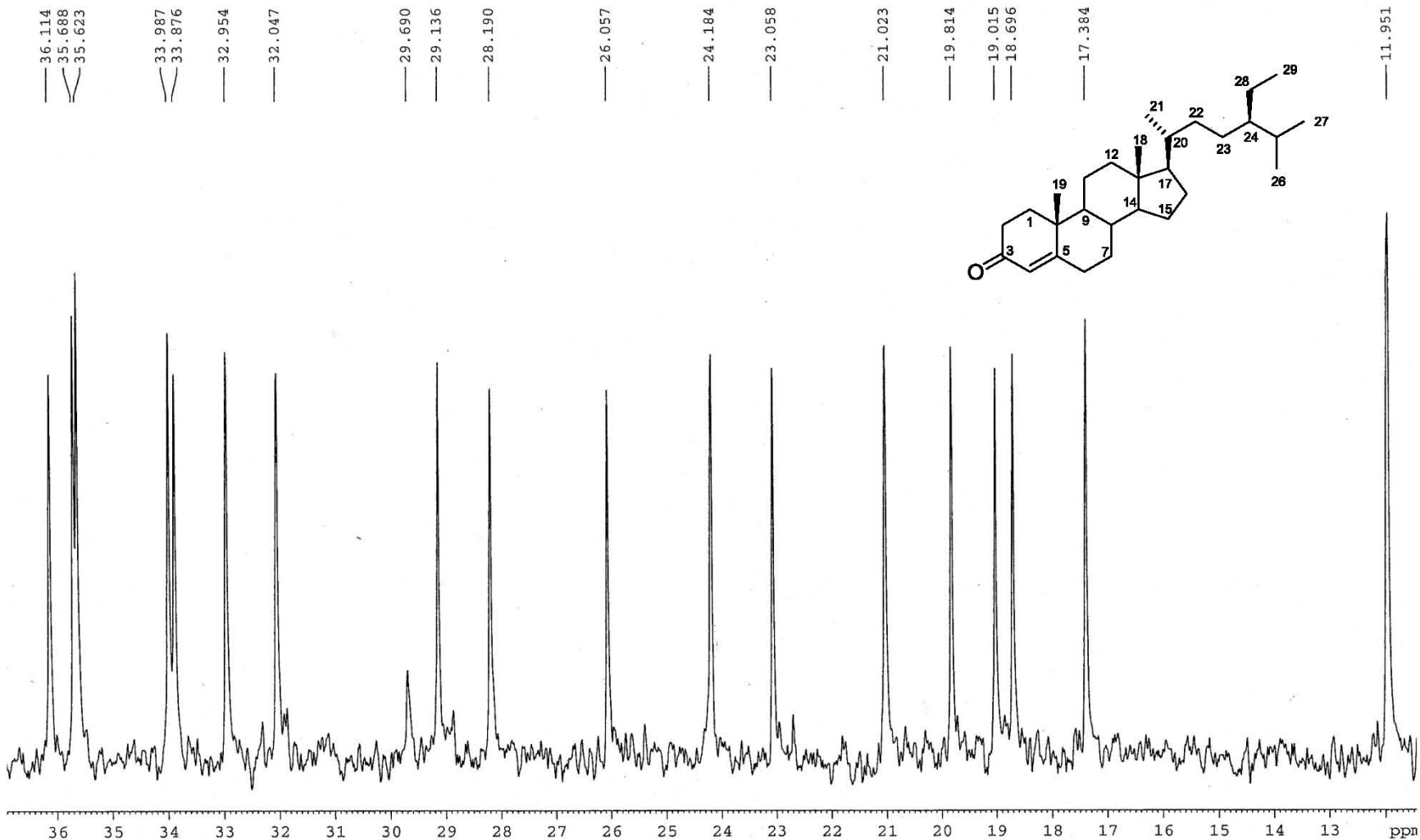
Espectro 7. RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de β -sitosterol (52)

Instituto de Quimica UNAM ICH
 Dr. G. Delgado/Ileana Reyes
 Clave : SLA-D2
 Disolvente : CDCl₃
 experimento 1H
 Bruker Avance III 400 MHz (H)
 No de registro 966
 06-05-10



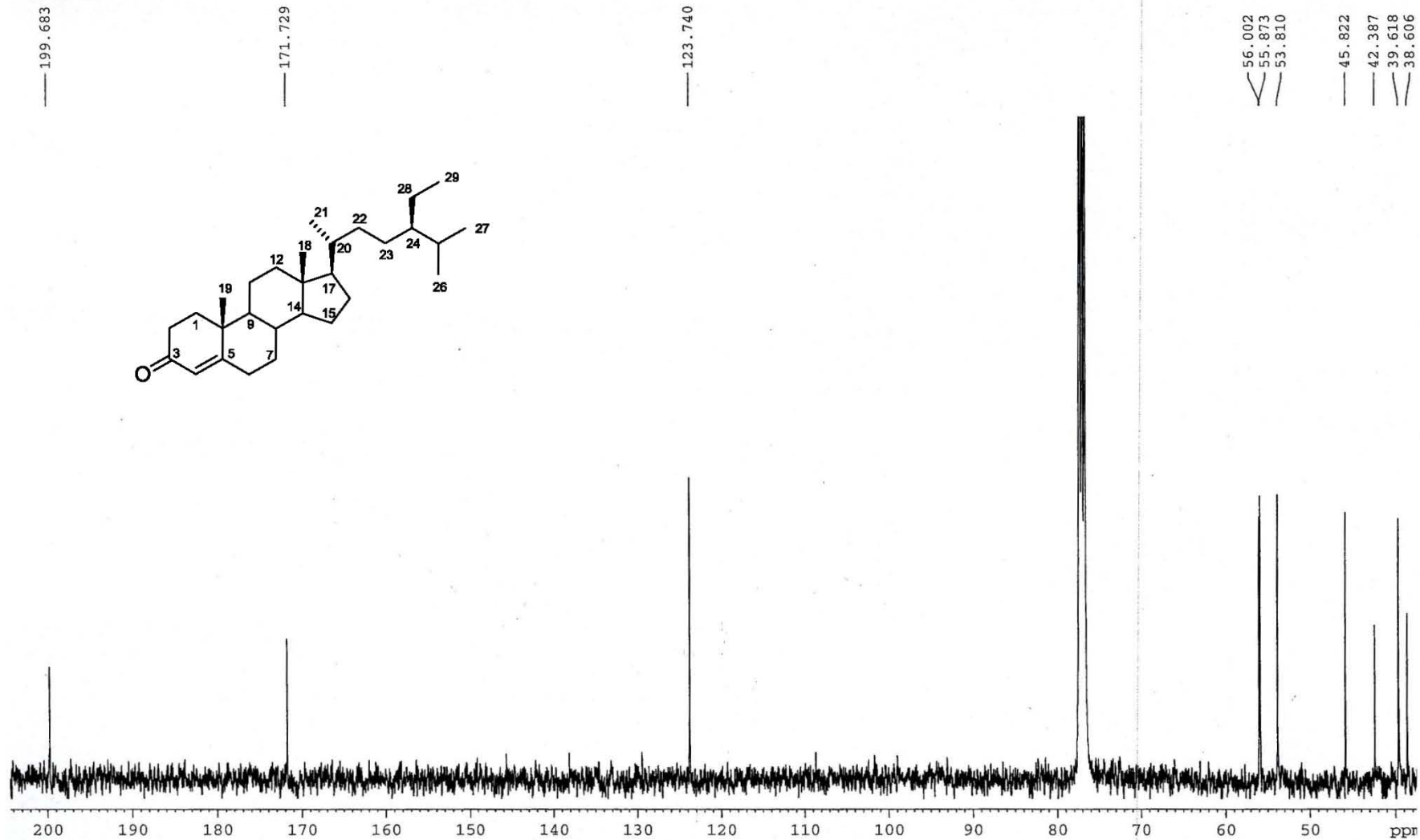
Espectro 8. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) de sitostenona (53)

UNAM Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ Ileana Reyes
Clave: SLA-D2
Disolvente: CDCl₃
Experimento 13C
Bruker Avance III 100 MHz (H)
No. de Registro 966
06-05-10



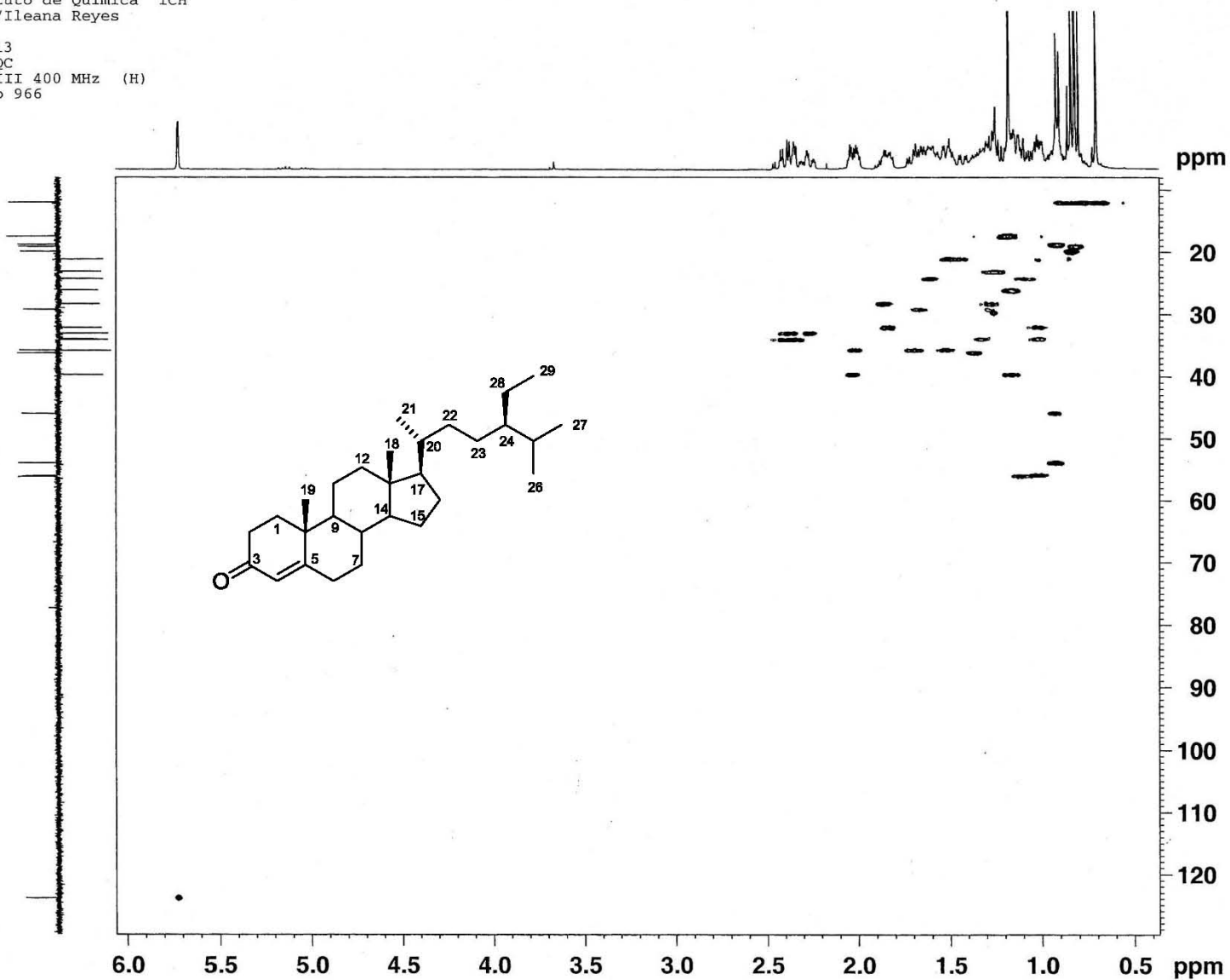
Espectro 9. RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) de la sitostenona (53)

UNAM Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/ Ileana Reyes
Clave: SLA-D2
Disolvente: CDCl₃
Experimento 13C
Bruker Avance III 100 MHz (H)
No. de Registro 966
06-05-10



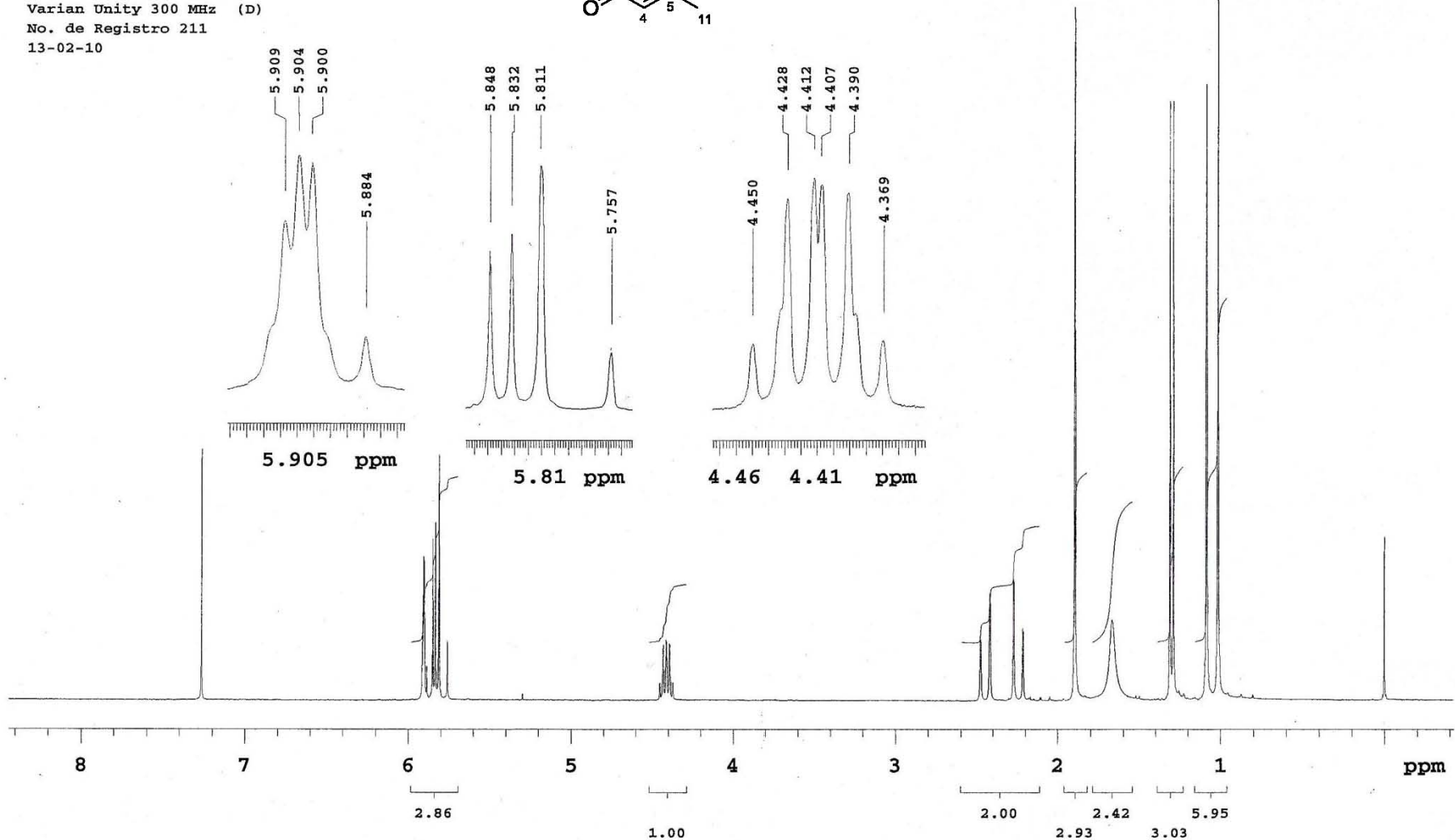
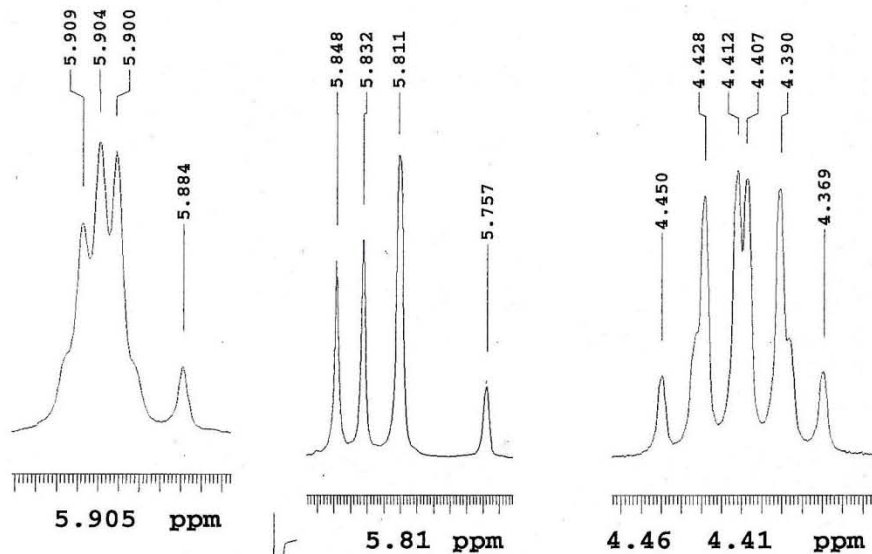
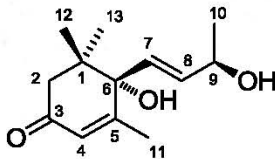
Espectro 10. RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) de la sitostenona (53)

U.N.A.M. Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/Ileana Reyes
Clave: SLA-D2
Disolvente:CDCl3
Experimento HSQC
Bruker Avance III 400 MHz (H)
No. de Registro 966
06-05-10



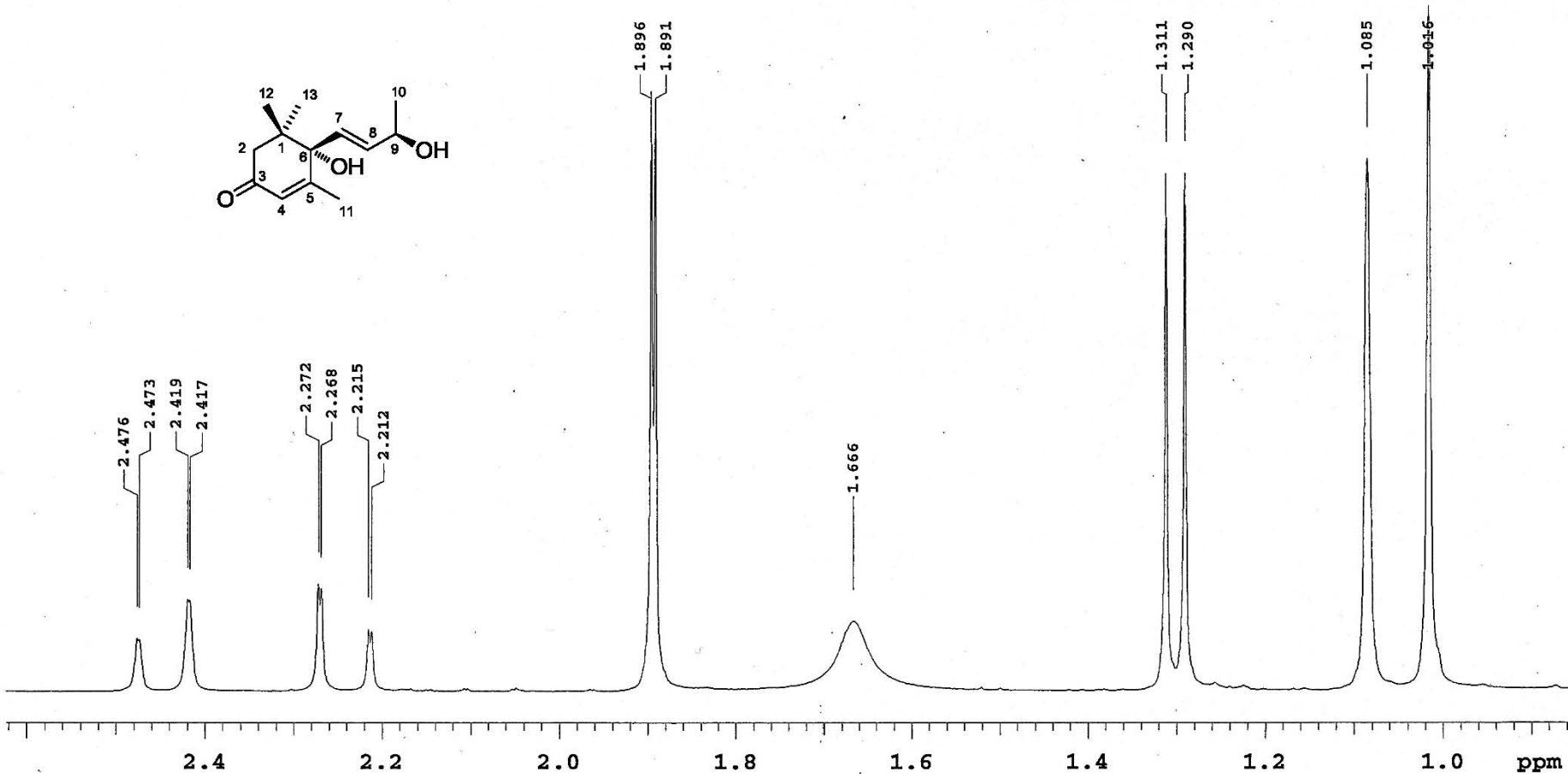
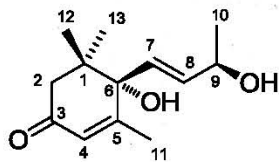
Espectro 11. Experimento HSQC (CDCl₃, 100 MHz) de la sitostenona (53)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
 Dr. G. Delgado/I. Reyes H.
 Clave:SLA1B-124-137-1
 Disolvente:CDCl₃
 Experimento 1H
 Varian Unity 300 MHz (D)
 No. de Registro 211
 13-02-10



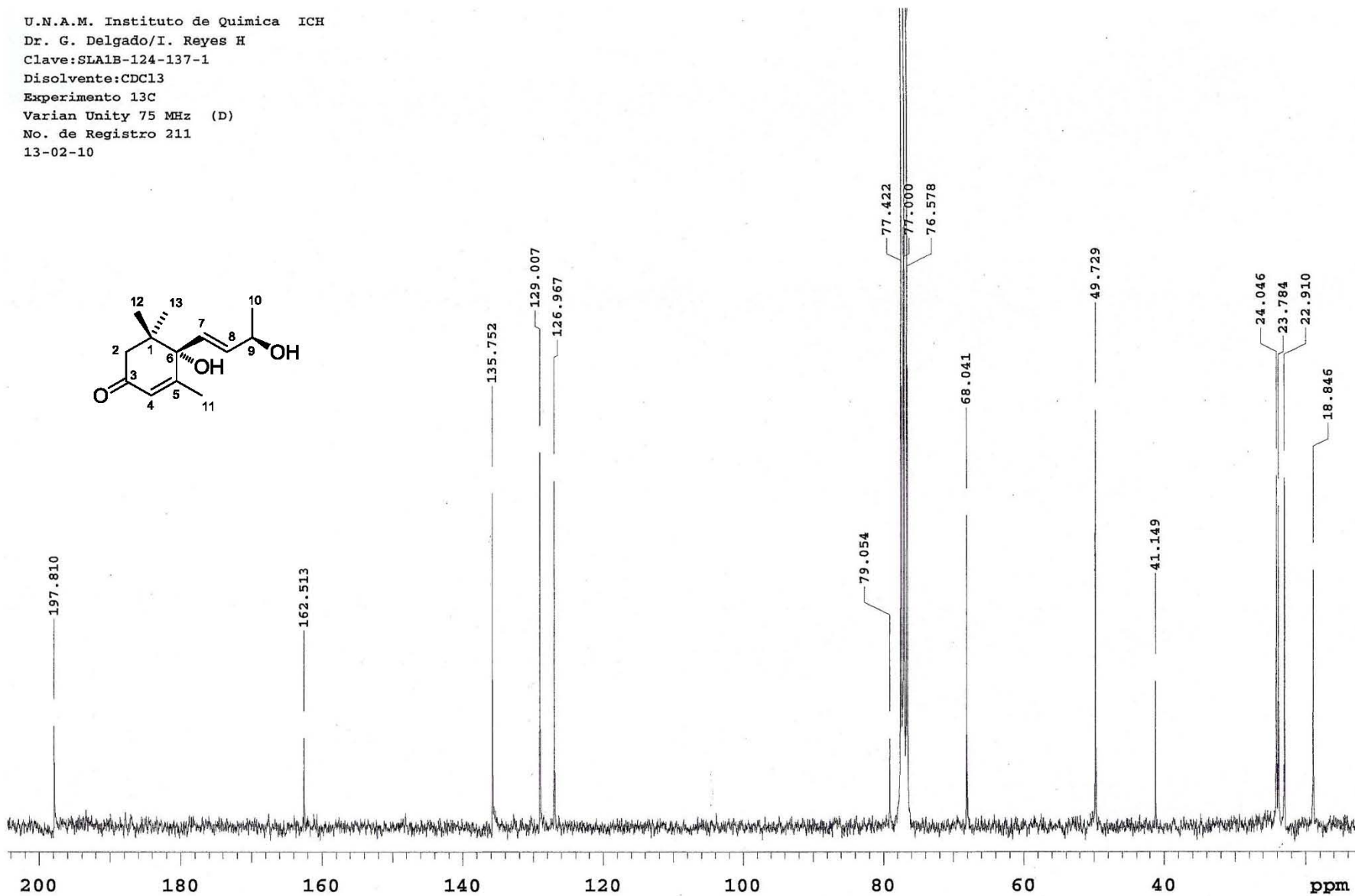
Espectro 12. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) del (6S,9R)-(+)-vomifoliol (**54**)

U.N.A.M. Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/I. Reyes H.
Clave:SLALB-124-137-1
Disolvente:CDCl₃
Experimento 1H
Varian Unity 300 MHz (D)
No. de Registro 211
13-02-10

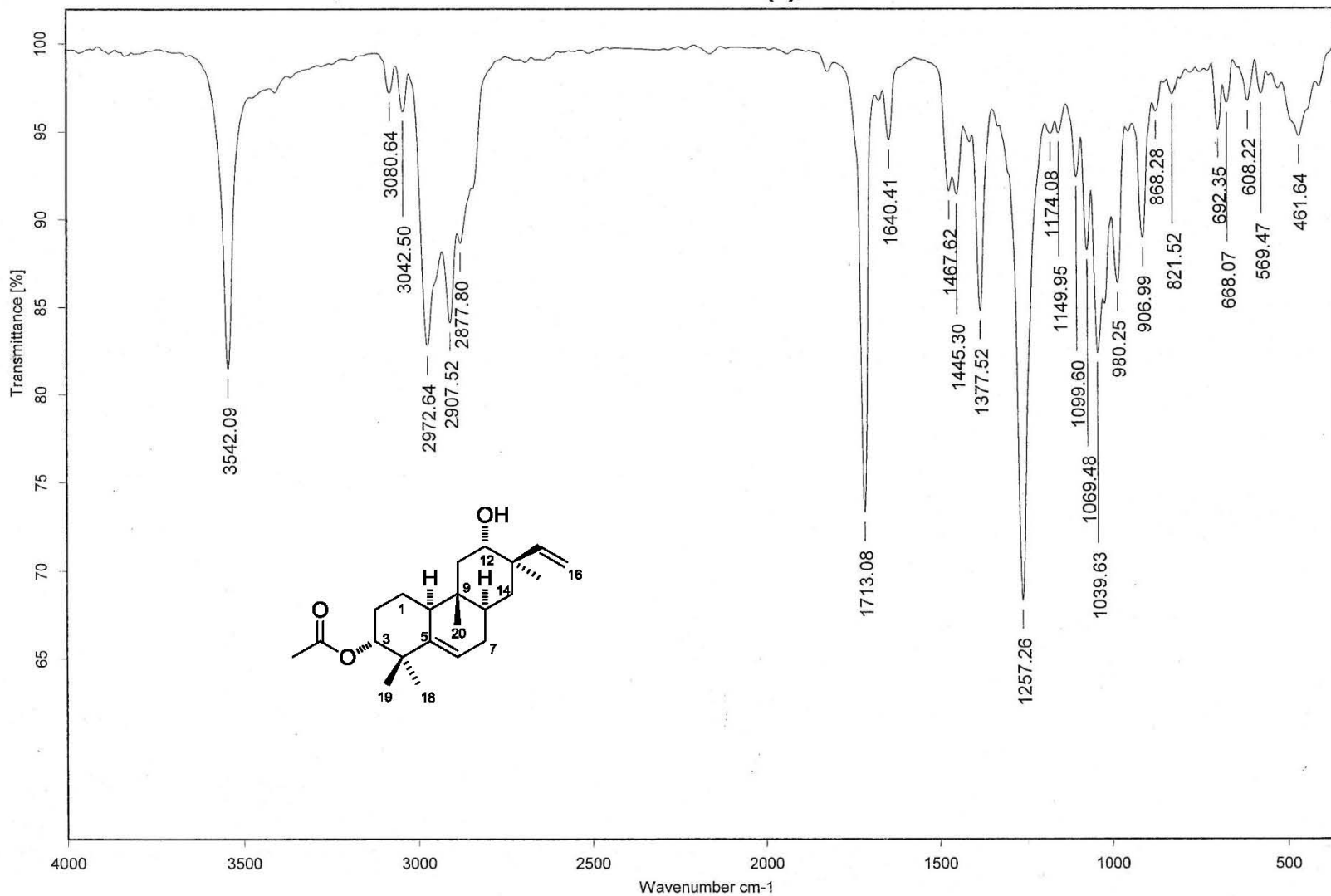


Espectro 13. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) del (6S,9R)-(+)-vomifoliol (54)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/I. Reyes H
Clave:SLA1B-124-137-1
Disolvente:CDCl₃
Experimento 13C
Varian Unity 75 MHz (D)
No. de Registro 211
13-02-10



ANEXO II.
Espectros de compuestos aislados
de *C. niveus*



Espectro 15. IR (KBr) de 3α-acetoxi-12α-hidroxi-5(6),15-rosadieno (56)

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Delgado-Guillermo-065 Date : 28-Sep-2010 16:23

Sample: 1603 PB-137 8E1 JeolAX505HA

Note : Javier-Perez

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

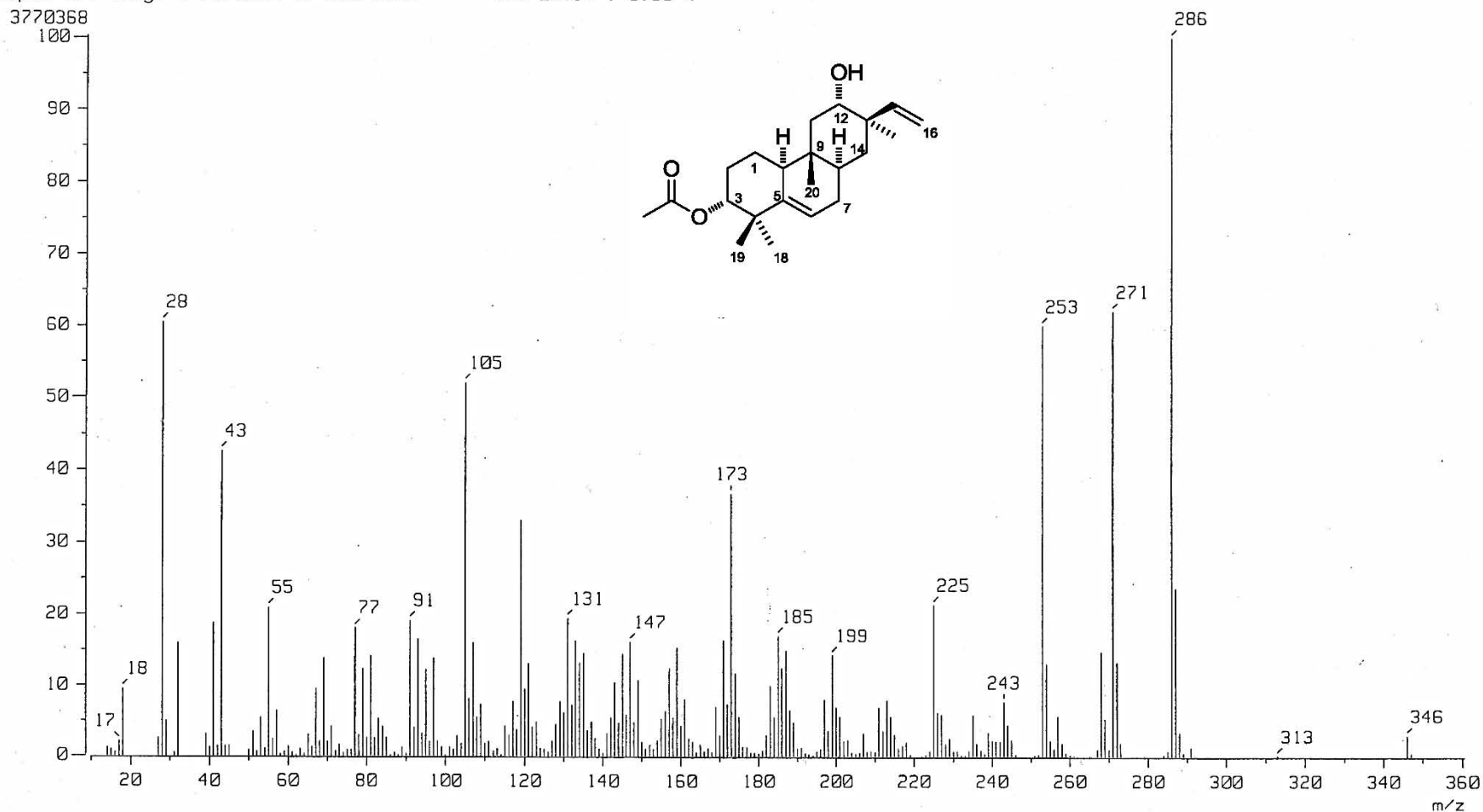
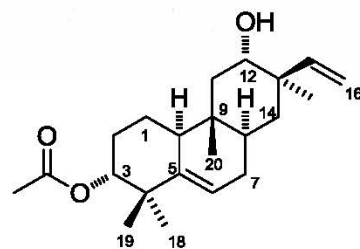
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

RT : 0.91 min Scan# : (14,35)

BP : m/z 286.0000 Int. : 358.53

Output m/z range : 10.0000 to 360.4599

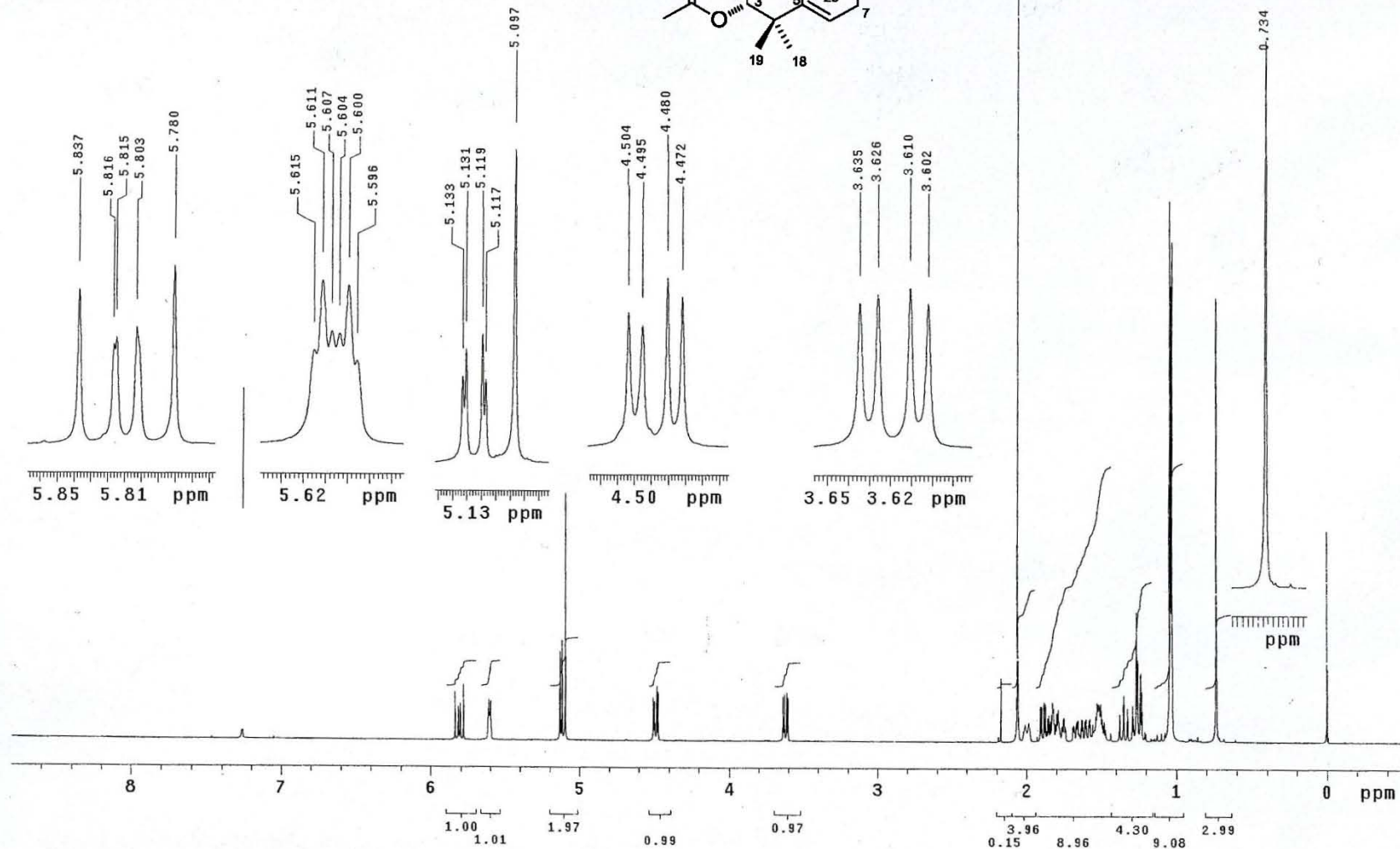
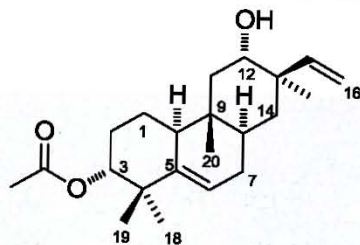
Cut Level : 0.00 %



Espectro 16. EM-IE (70 eV) de 3 α -acetoxi-12 α -hidroxi-5(6),15-rosadieno (**56**)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
 Dr. G. Delgado/ P. Bravo
 Clave: PB-137
 Disolvente: CDCl₃
 Experimento 1H
 Varian Inova 500 MHz (G)
 No. de registro 389
 03-03-10

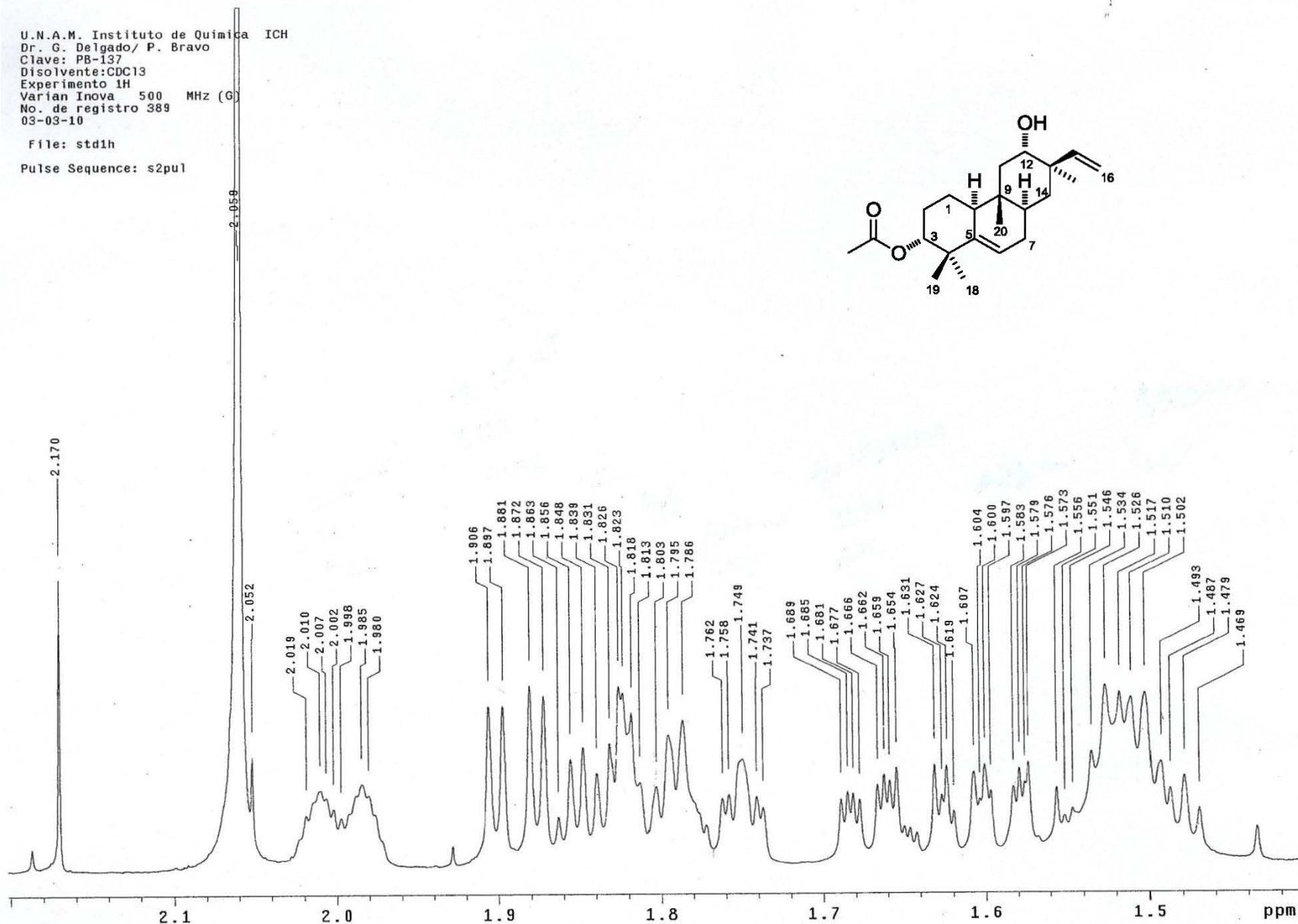
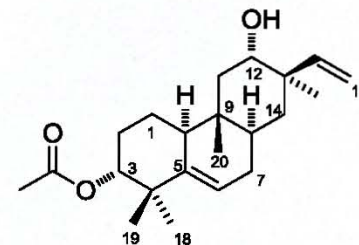
File: std1h
 Pulse Sequence: s2pu1



Espectro 17. RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) de 3α-acetoxi-12α-hidroxi-5(6),15-rosadieno (**56**)

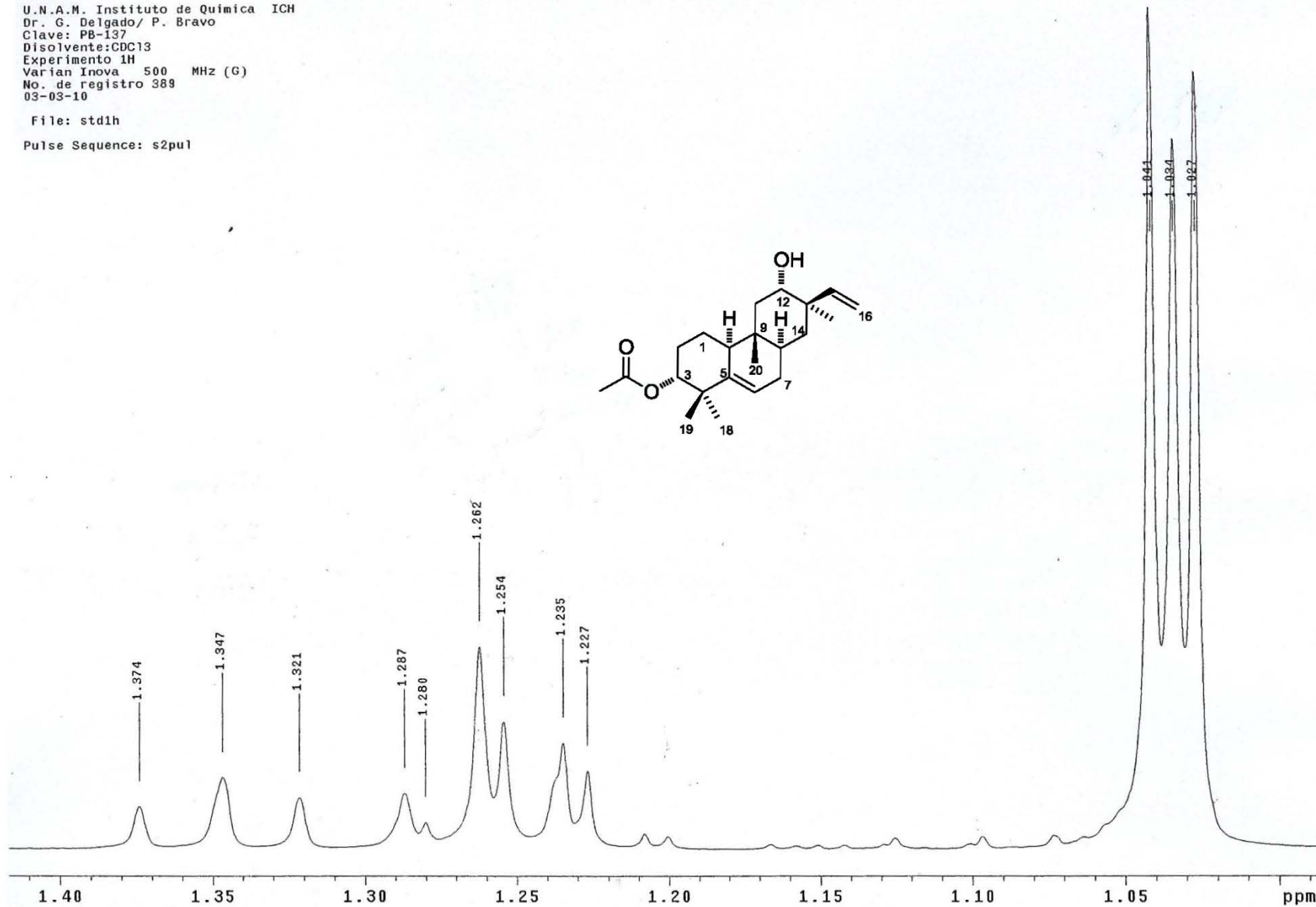
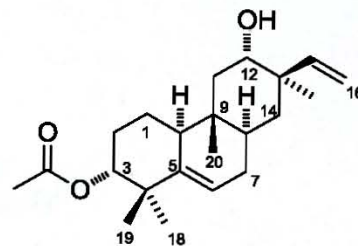
U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-137
Disolvente:CDCl₃
Experimento 1H
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 389
03-03-10

File: std1h
Pulse Sequence: s2pu1



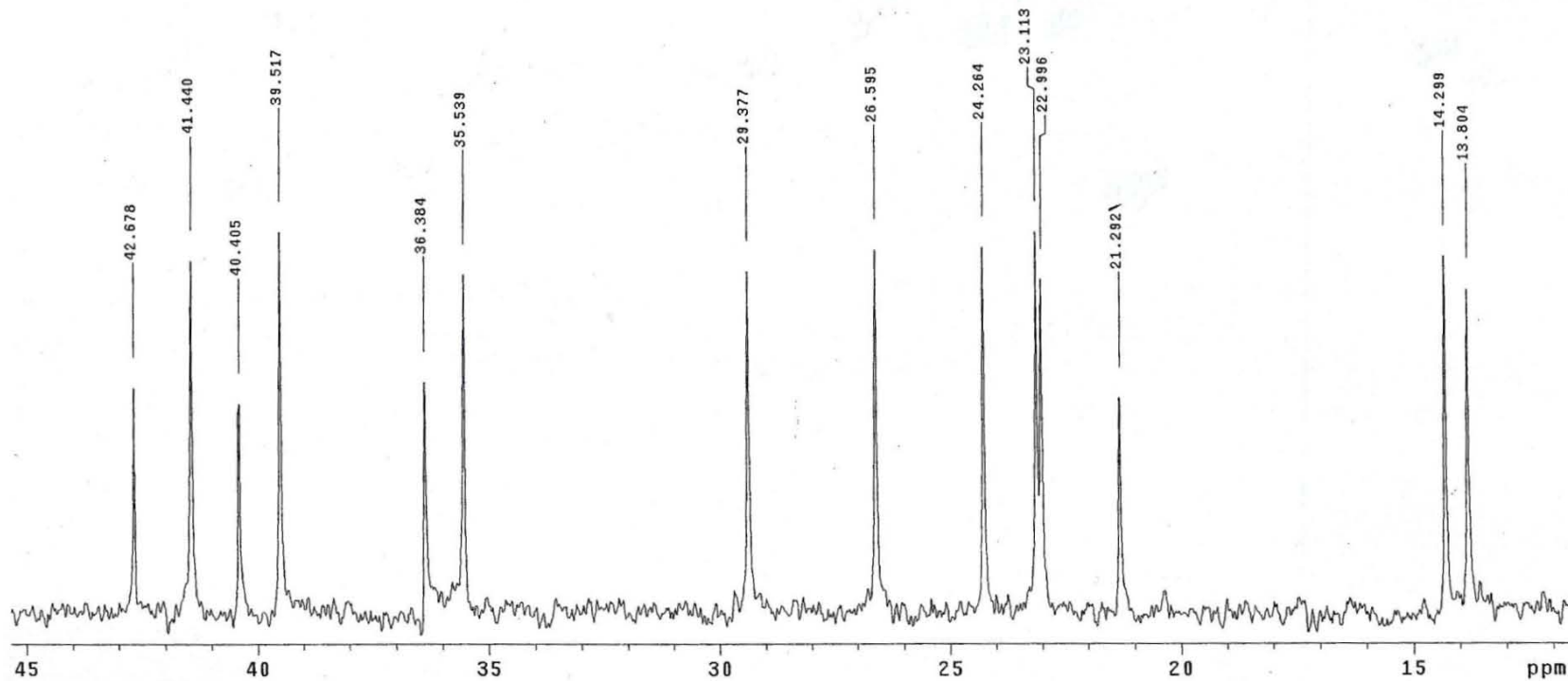
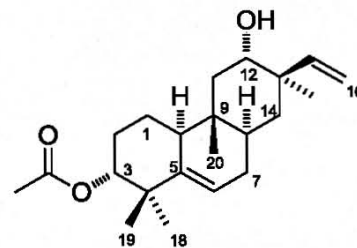
U.N.A.M. Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-137
Disolvente: CDCl₃
Experimento 1H
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 389
03-03-10

File: std1h
Pulse Sequence: s2pu1



U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave: PB-137
Disolvente: CDCl₃
Experimento 13C
Varian Unity 75 MHz (D)
No. de Registro 389
20-02-10

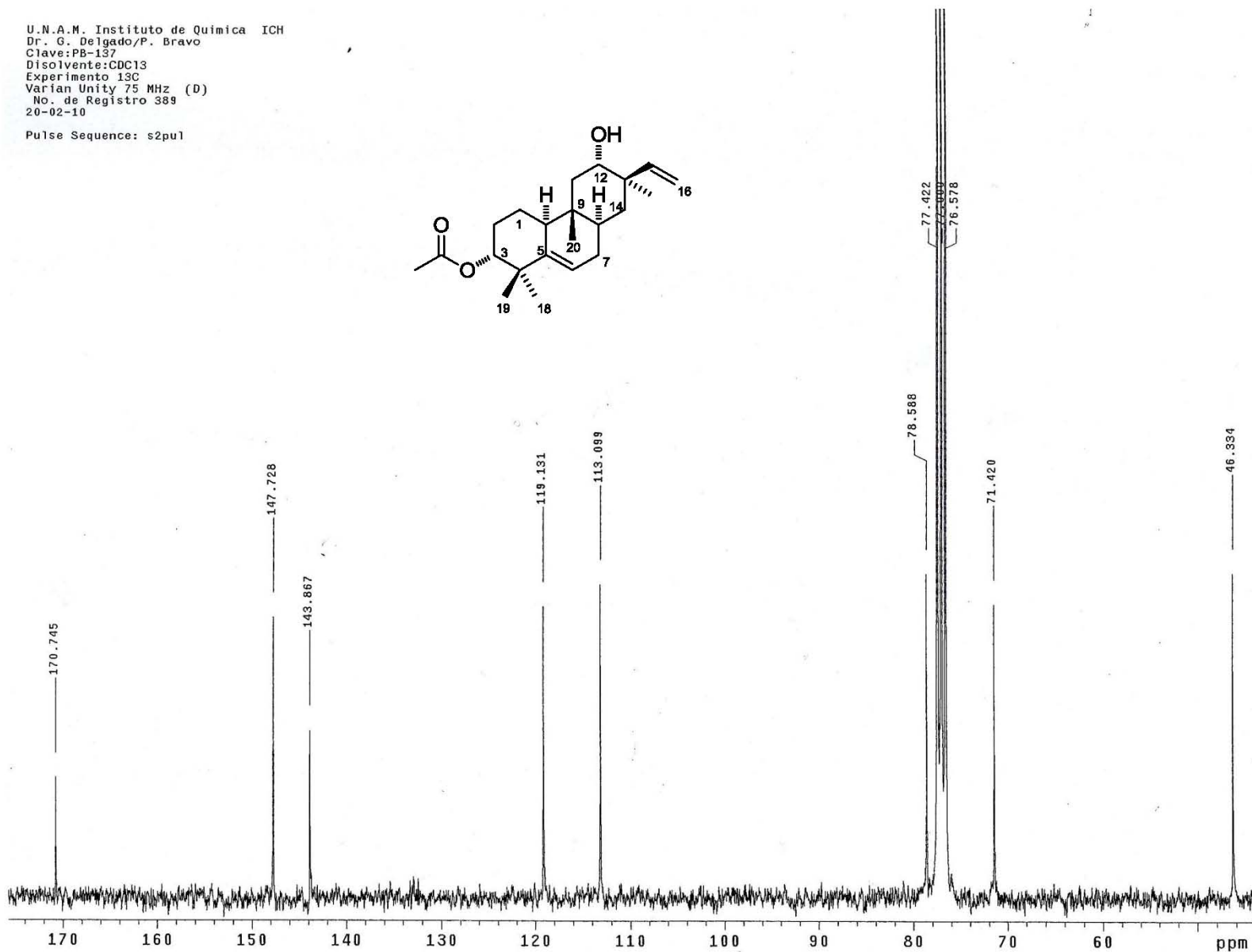
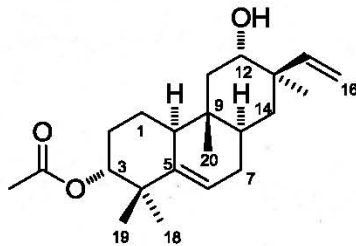
Pulse Sequence: s2pu1



Espectro 20. RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de 3α-acetoxi-12α-hidroxi-5(6),15-rosadieno (56)

U.N.A.M. Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave:PB-137
Disolvente:CDCl₃
Experimento 13C
Varian Unity 75 MHz (D)
No. de Registro 389
20-02-10

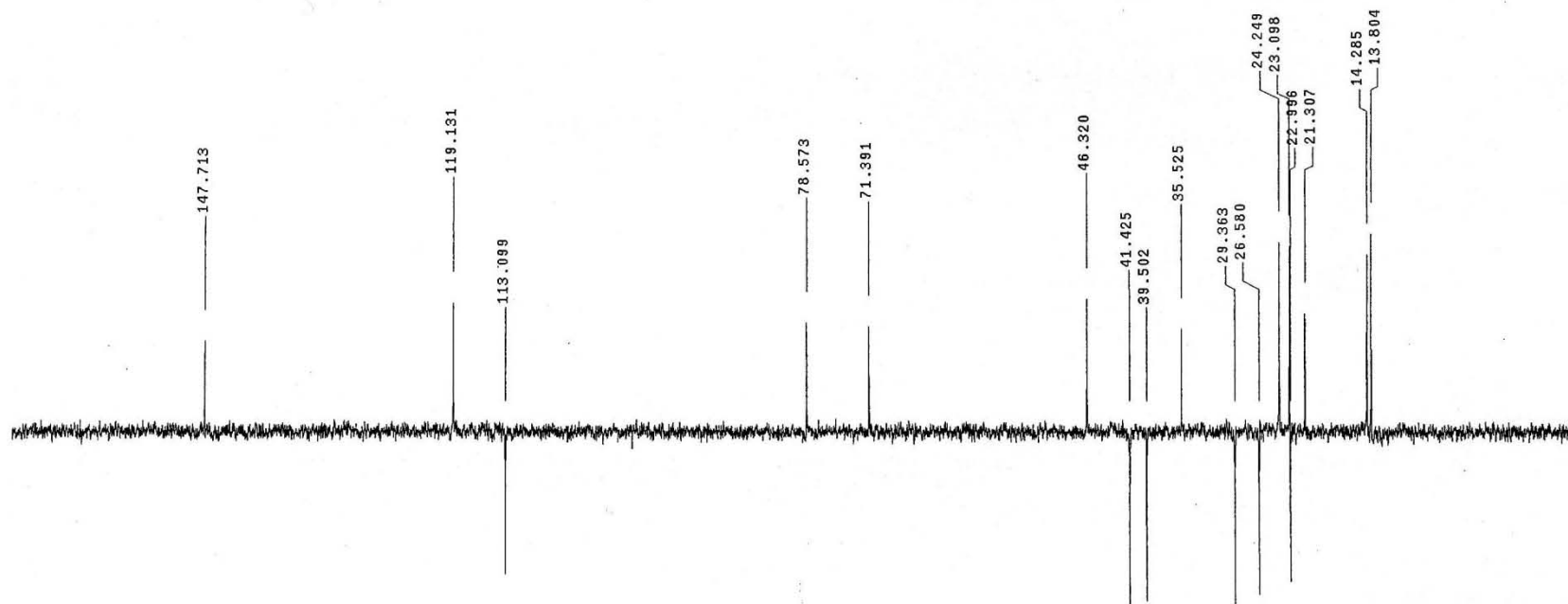
Pulse Sequence: s2pu1



Espectro 21. RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de 3α-acetoxi-12α-hidroxi-5(6),15-rosadieno (56)

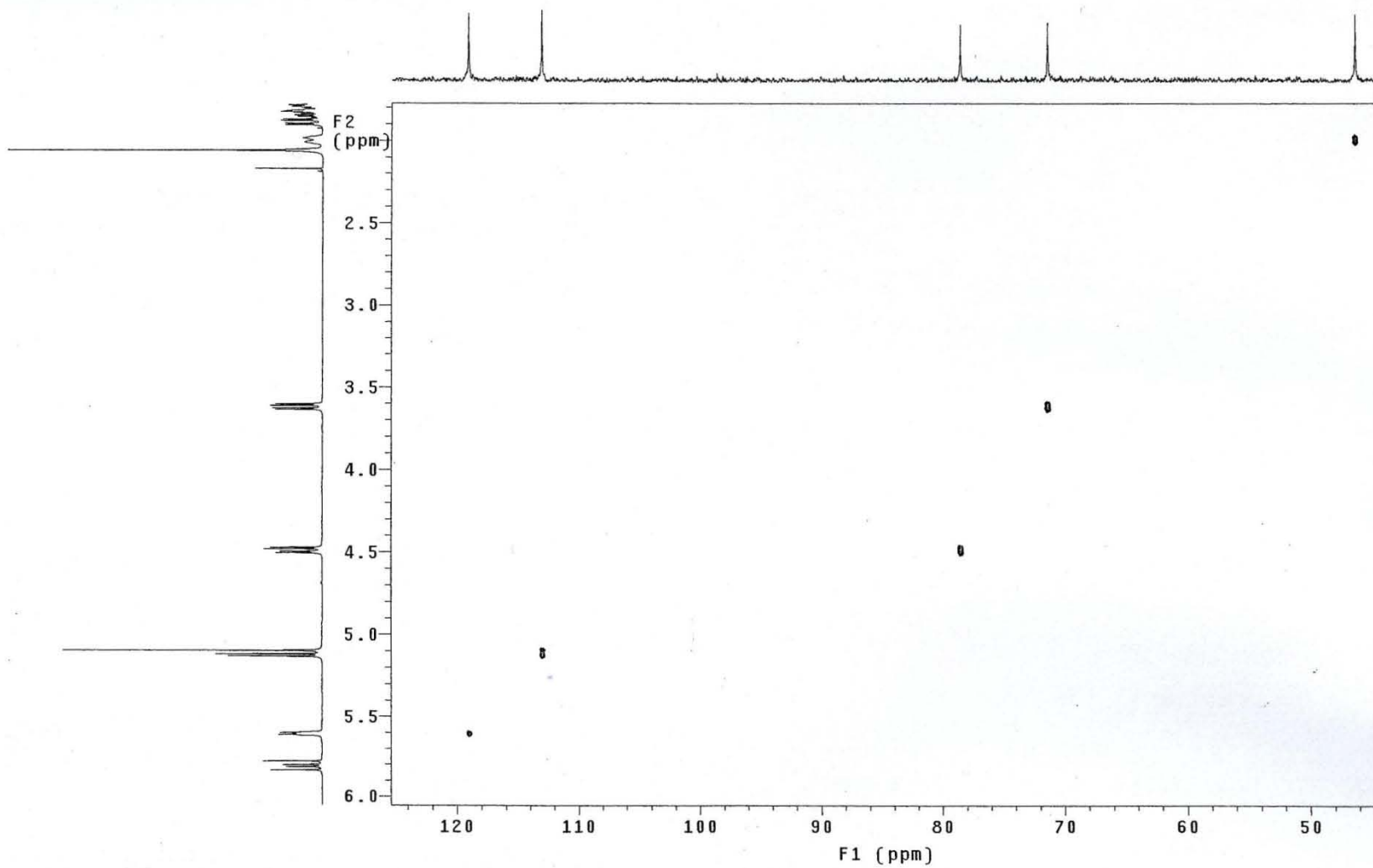
U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave:PB-137
Disolvente:CDCl₃
Experimento DEPT
Varian Unity 75 MHz (D)
No. de Registro 389
20-02-10

Pulse Sequence: dept



U.N.A.M. Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-137
Disolvente: CDCl₃
Experimento HSQC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 389
03-03-10

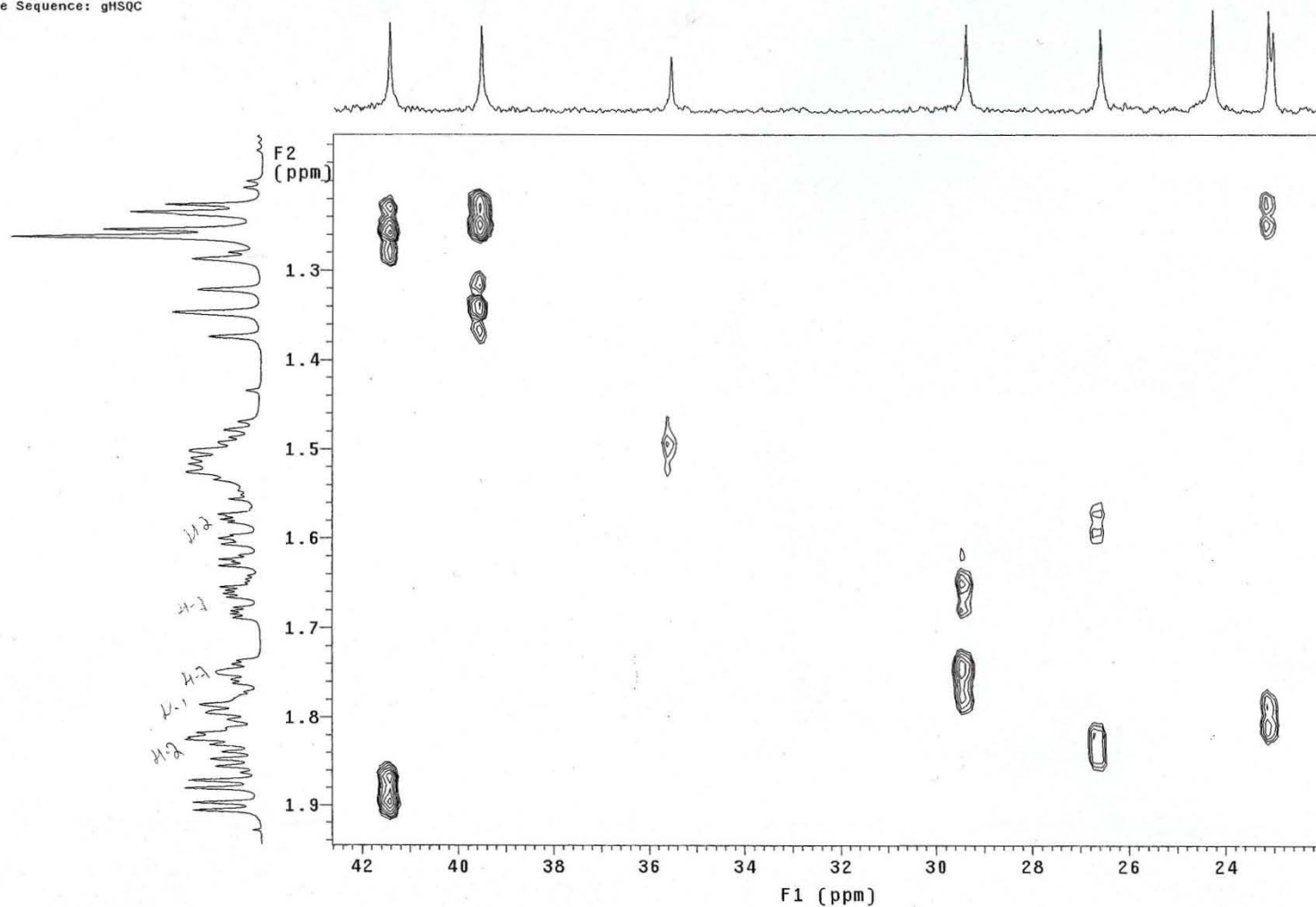
Pulse Sequence: gHSQC



Espectro 23. Experimento HSQC (CDCl₃, 500 MHz) de 3 α -acetoxi-12 α -hidroxi-5(6),15-rosadieno (**56**)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-137
Disolvente: CDCl₃
Experimento HSQC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 389
03-03-10

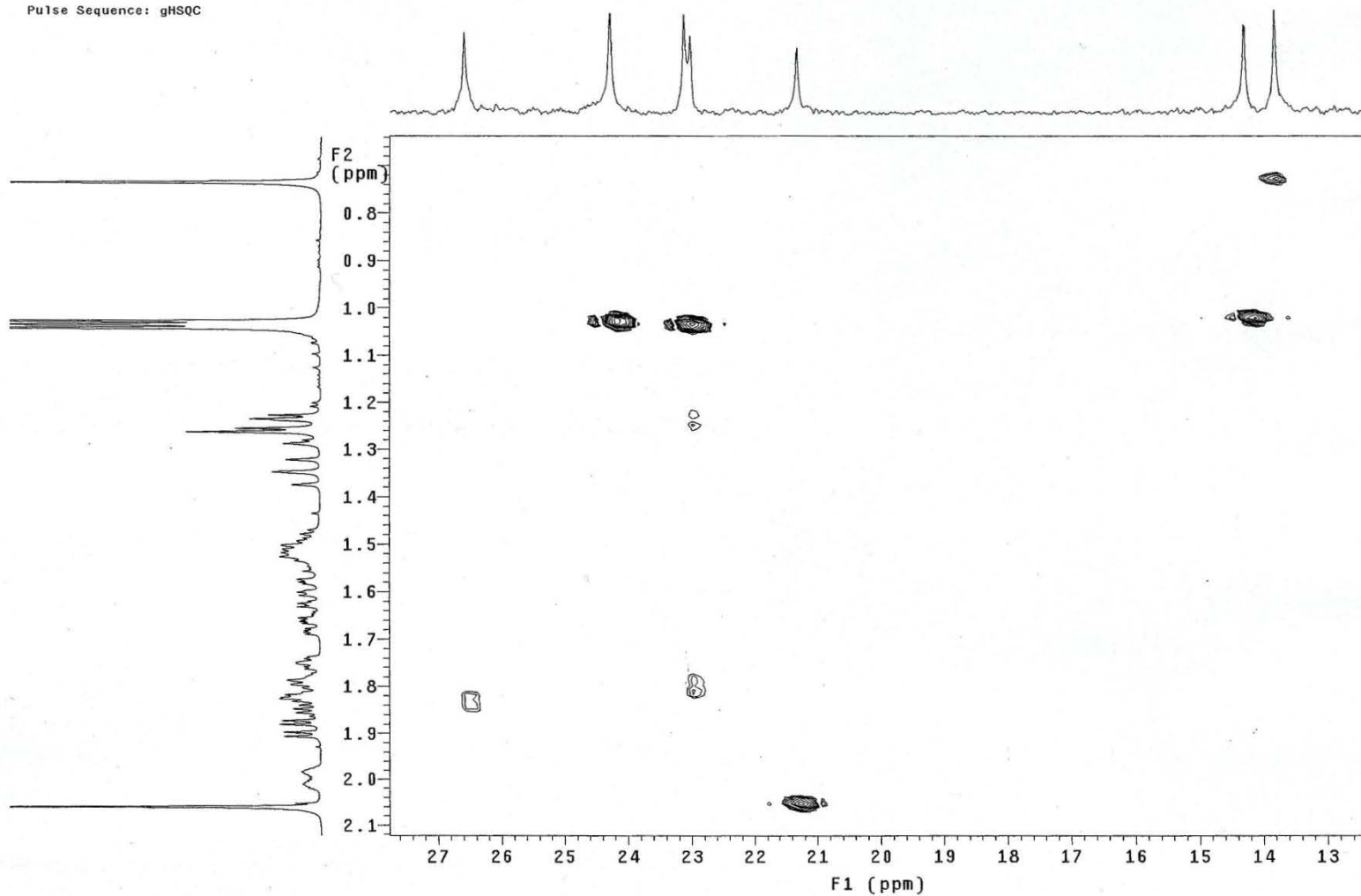
Pulse Sequence: gHSQC



Espectro 24. Experimento HSQC (CDCl₃, 500 MHz) de 3 α -acetoxi-12 α -hidroxi-5(6),15-rosadieno (**56**)

U.N.A.M. Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-137
Disolvente:CDCl3
Experimento HSQC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 389
03-03-10

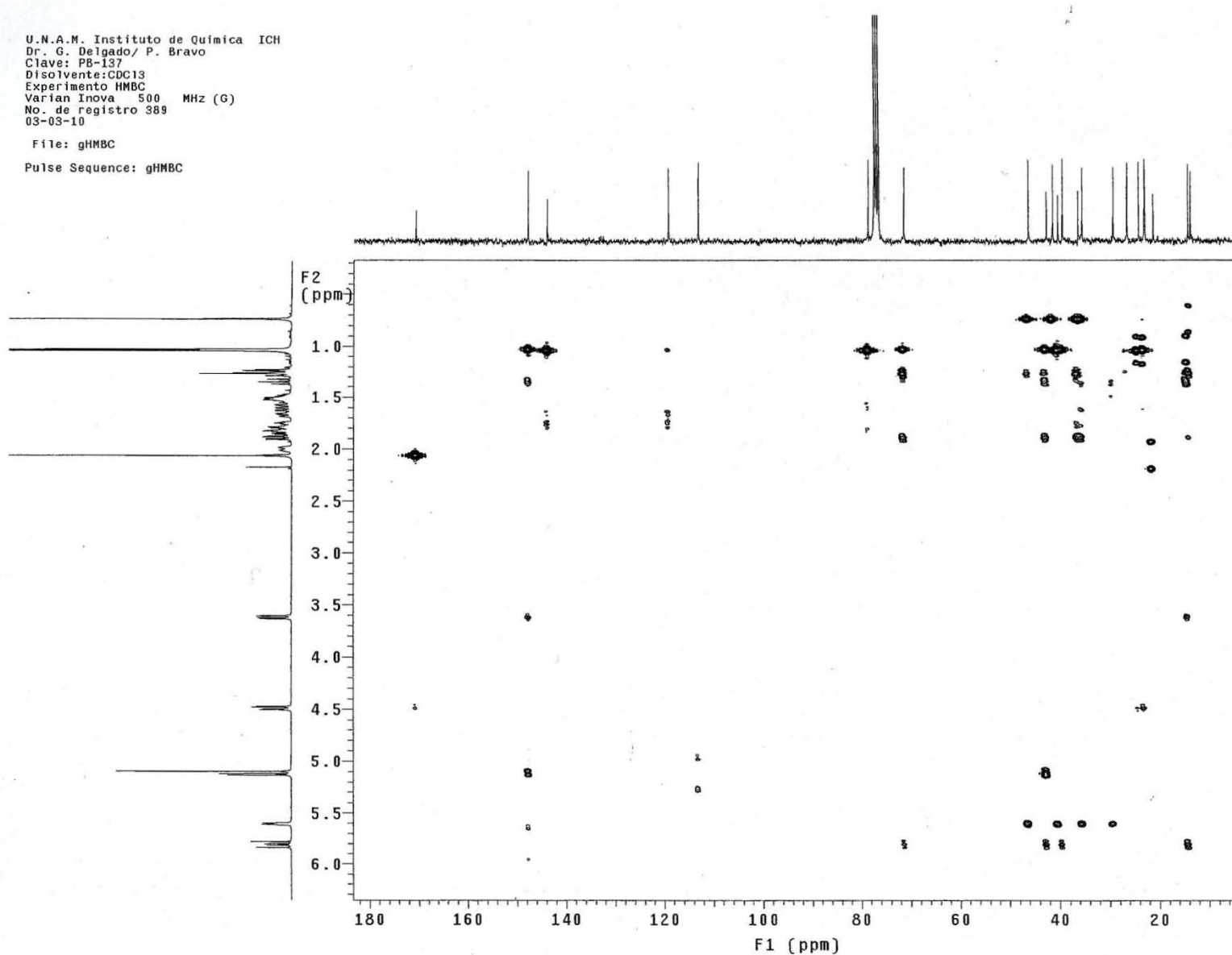
Pulse Sequence: gHSQC



U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-137
Disolvente: CDCl₃
Experimento: HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 389
03-03-10

File: gHMBC

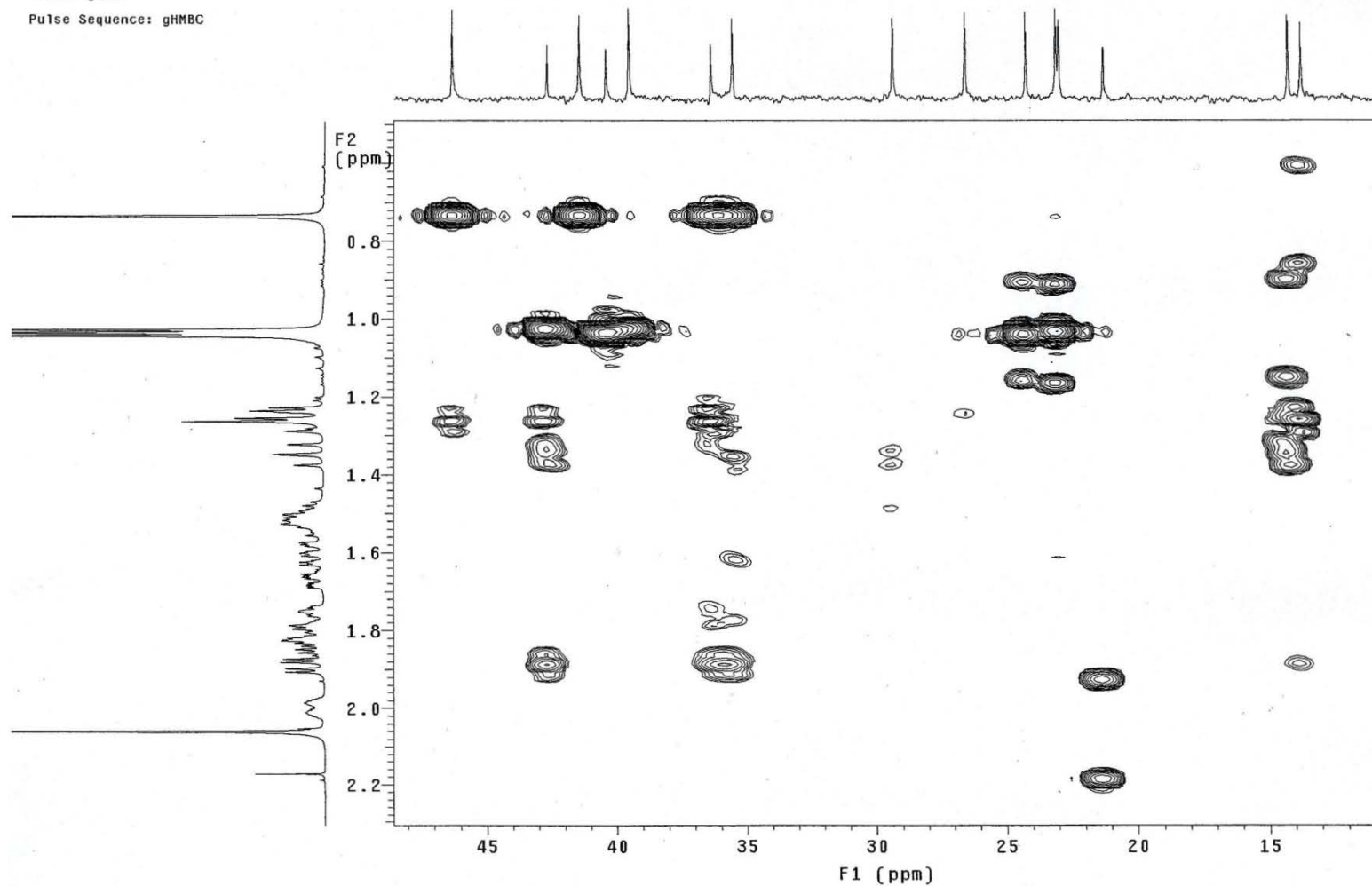
Pulse Sequence: gHMBC



U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-137
Disolvente: CDCl₃
Experimento HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 389
03-03-10

File: gHMBC

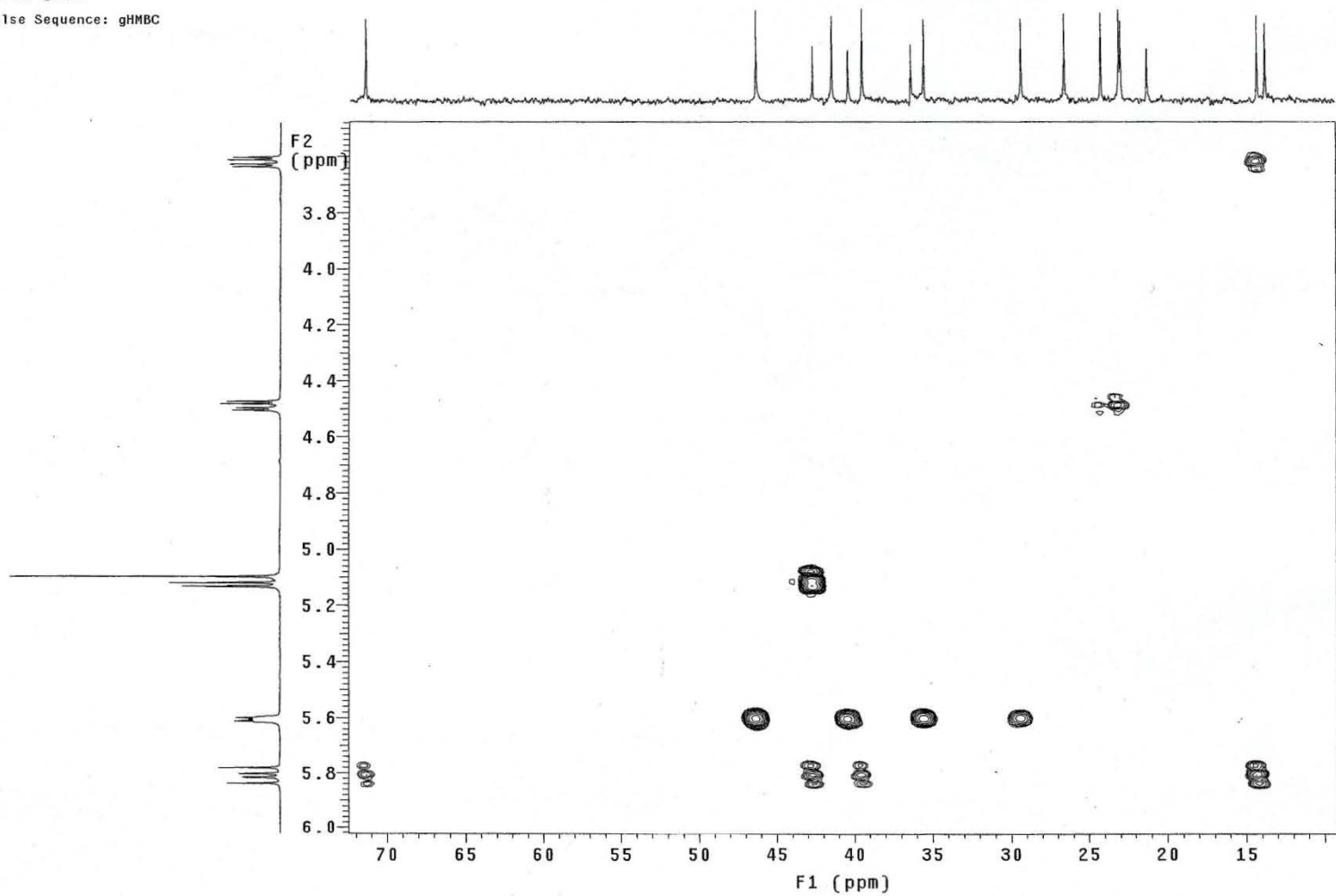
Pulse Sequence: gHMBC



U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-137
Disolvente: CDCl₃
Experimento: HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 389
03-03-10

File: gHMBC

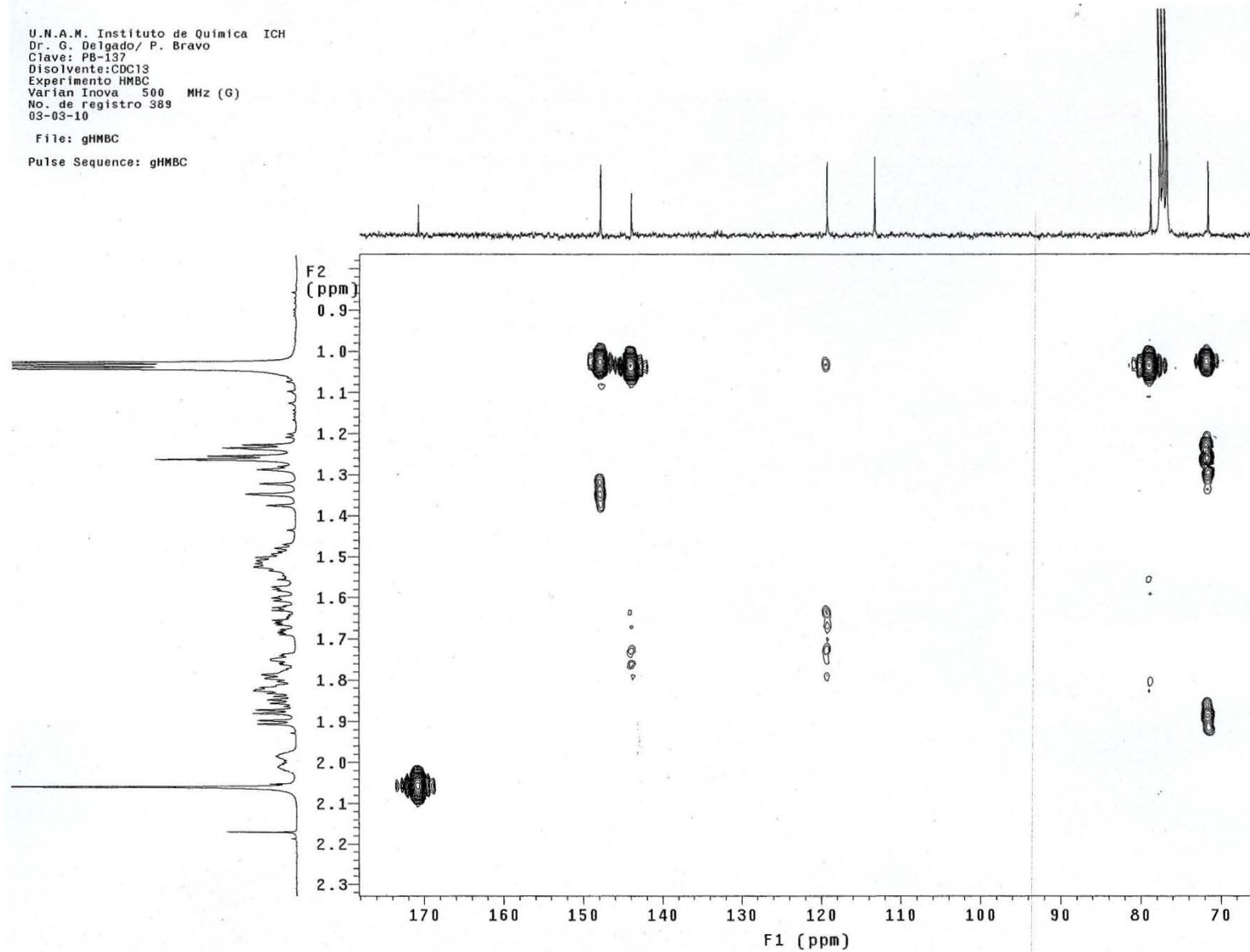
Pulse Sequence: gHMBC



U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-137
Disolvente: CDCl₃
Experimento HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 389
03-03-10

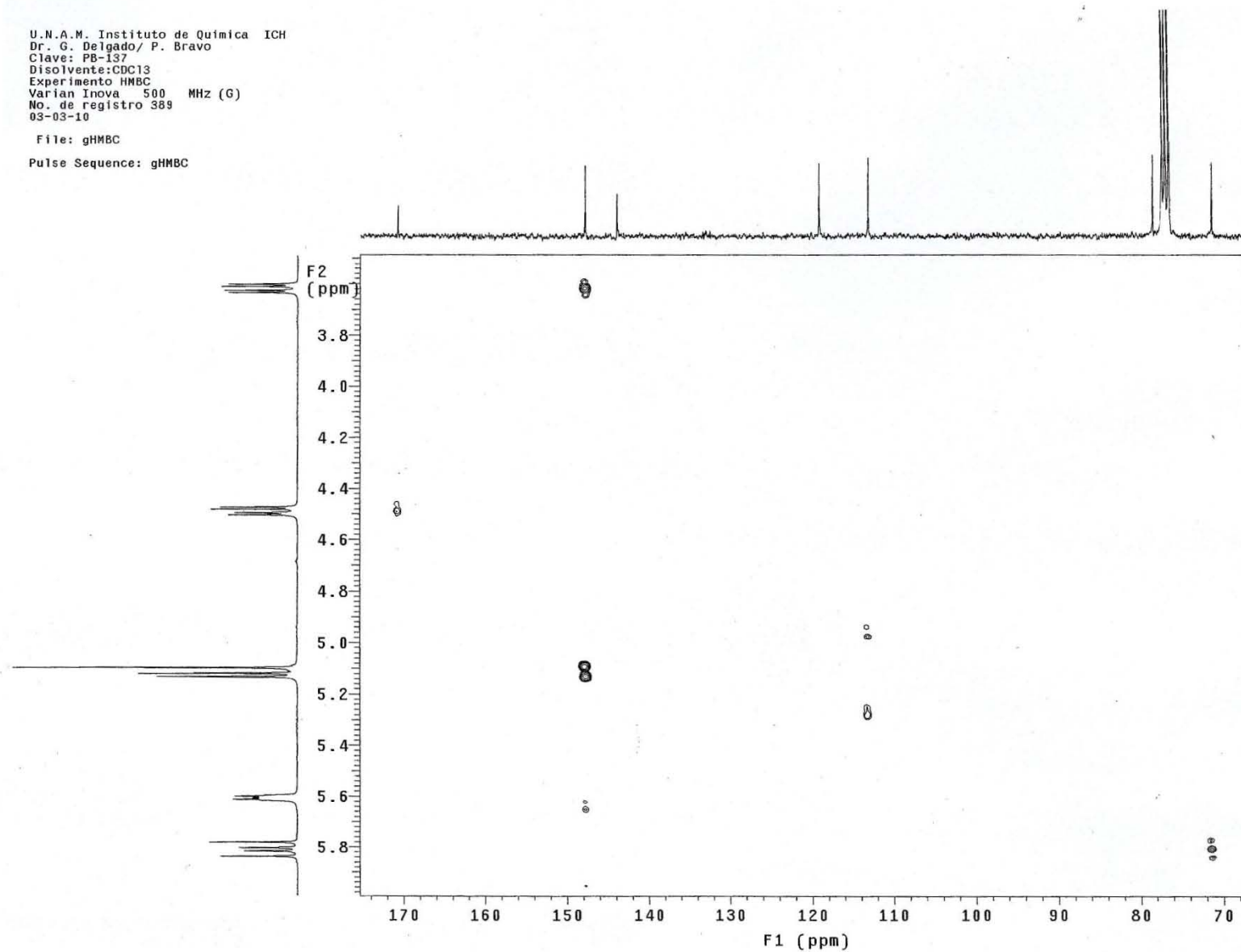
File: gHMBC

Pulse Sequence: gHMBC



U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-137
Disolvente: CDCl₃
Experimento: HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 389
03-03-10

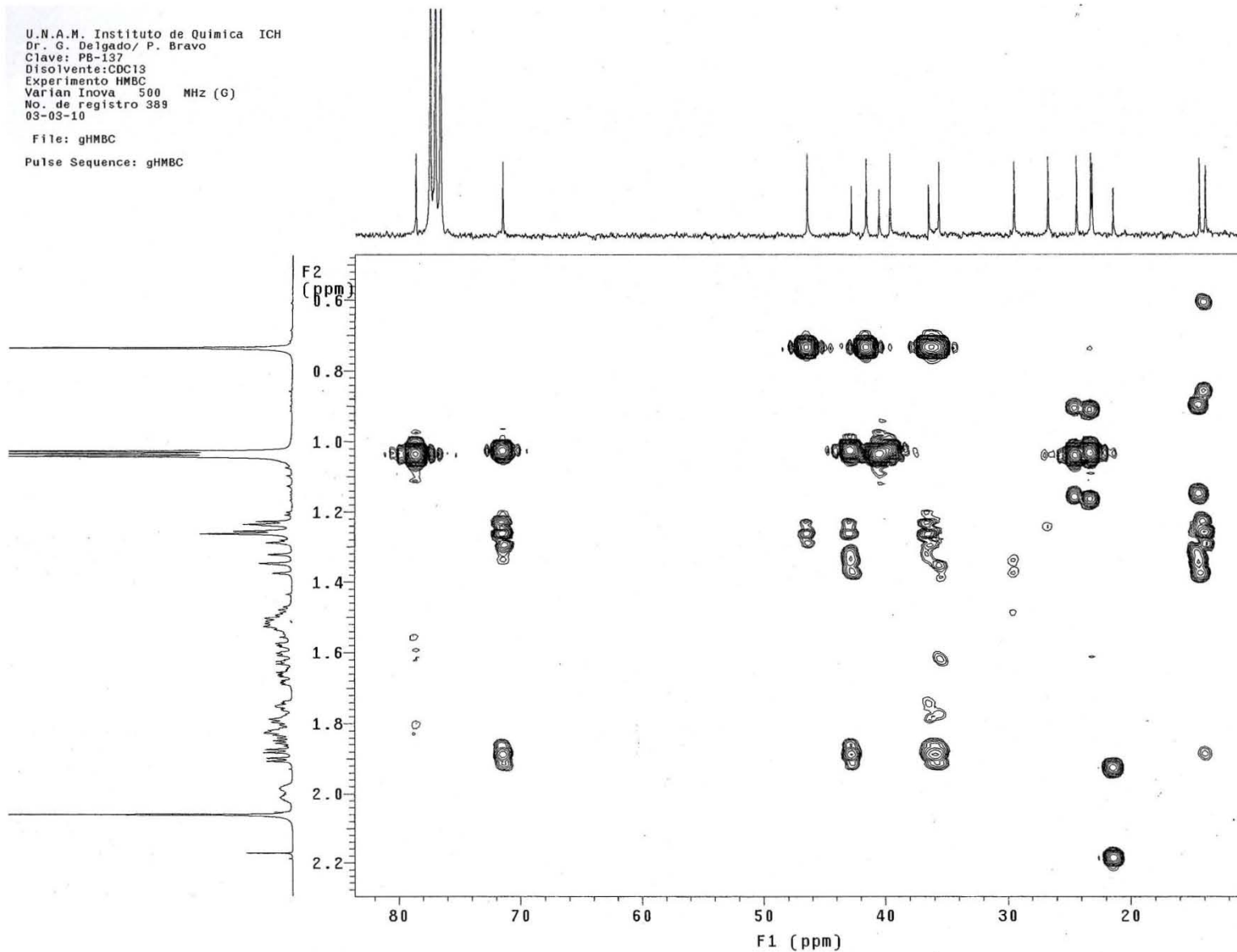
File: gHMBC
Pulse Sequence: gHMBC



U.N.A.M. Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-137
Disolvente: CDCl₃
Experimento HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 389
03-03-10

File: gHMBC

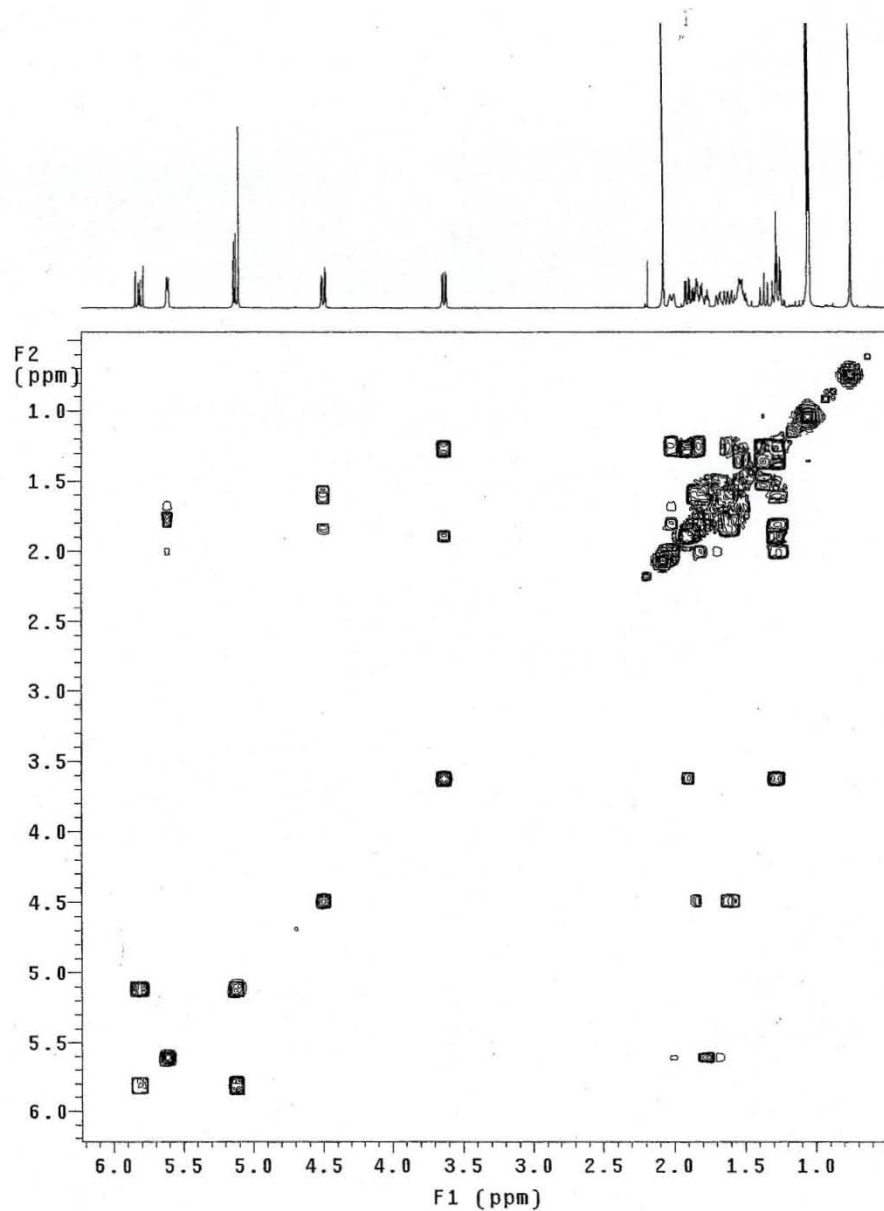
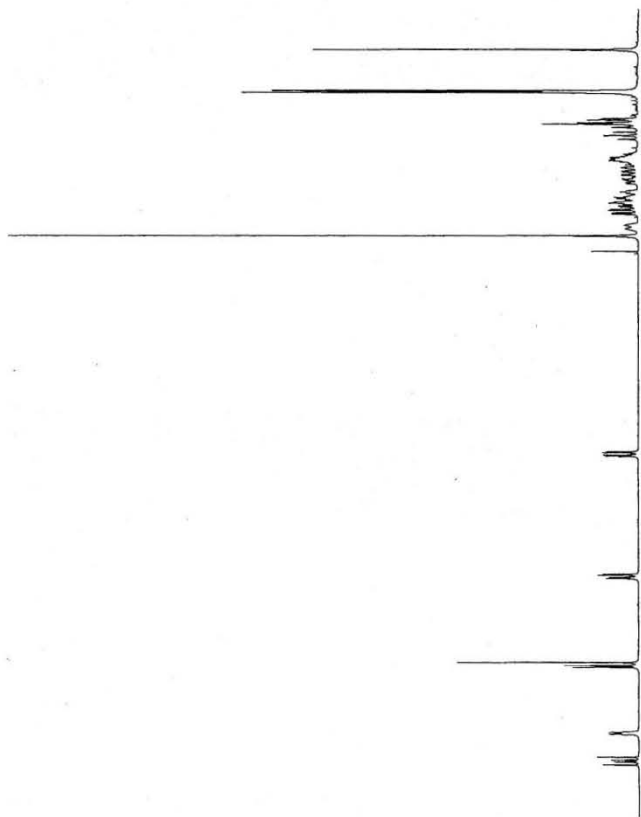
Pulse Sequence: gHMBC



U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-137
Disolvente: CDC13
Experimento COSY
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 389
03-03-10

File: gCOSY

Pulse Sequence: gCOSY

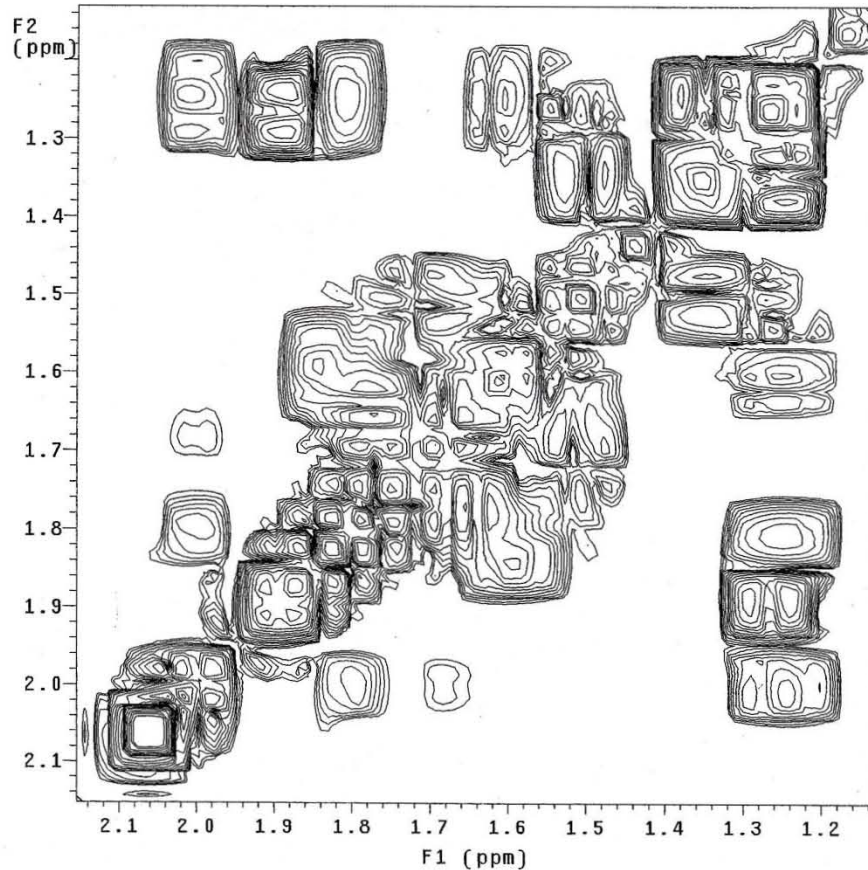
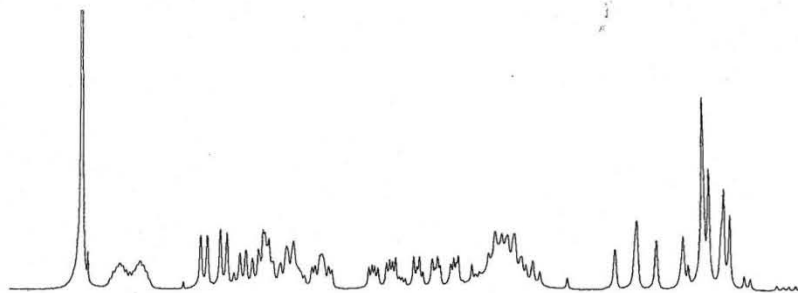


Espectro 32. Experimento COSY (CDCl₃, 500 MHz) de 3 α -acetoxi-12 α -hidroxi-5(6),15-rosadieno (**56**)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-137
Disolvente: CDC13
Experimento COSY
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 389
03-03-10

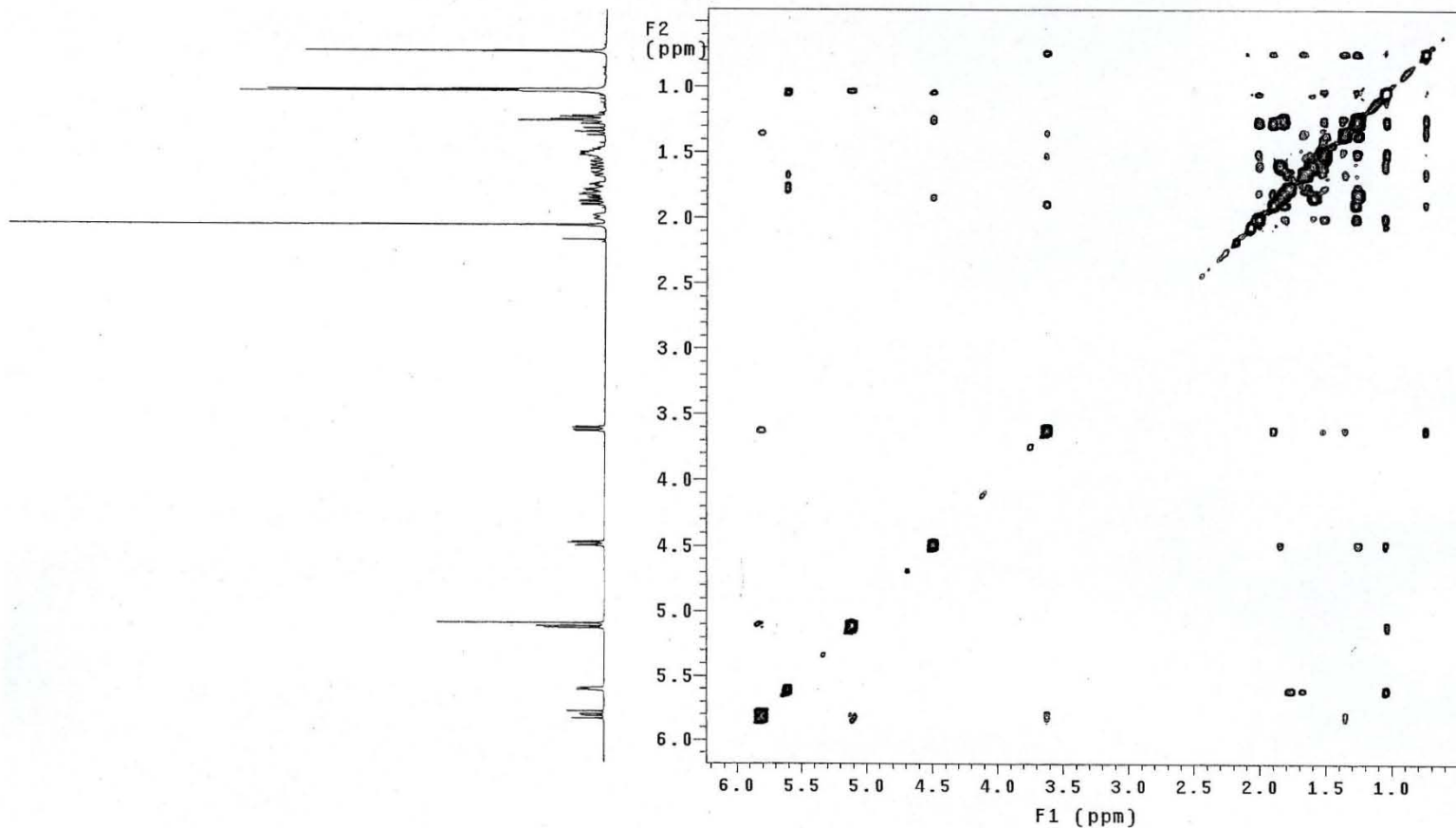
File: gCOSY

Pulse Sequence: gCOSY



U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-137
Disolvente: CDC13
Experimento NOESY
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 389
03-03-10

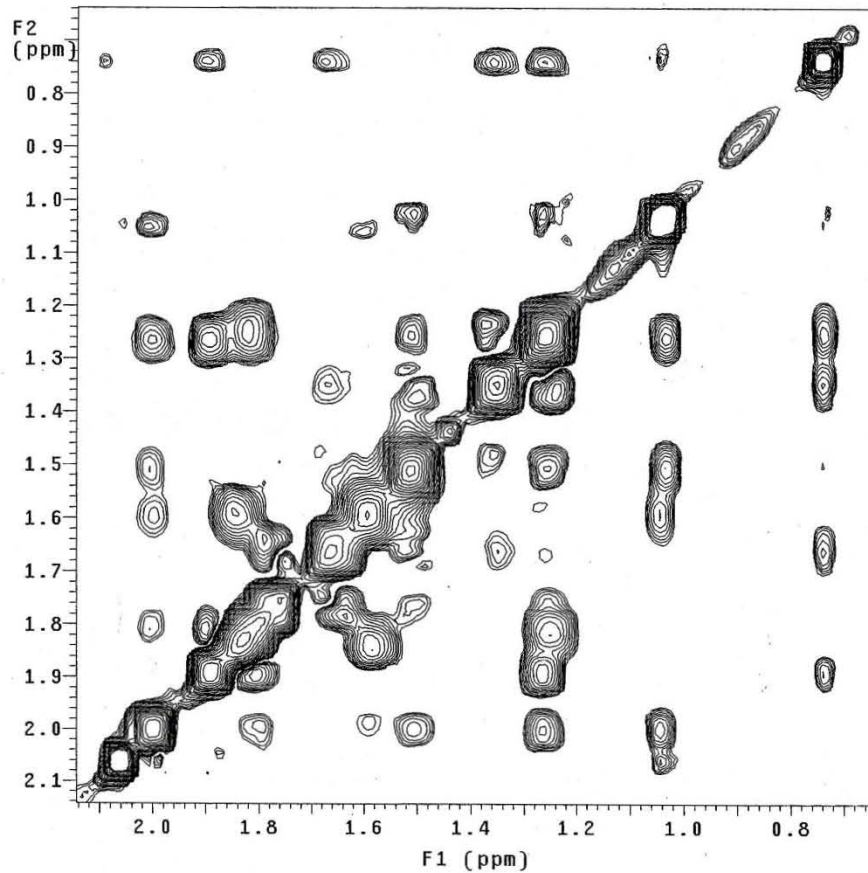
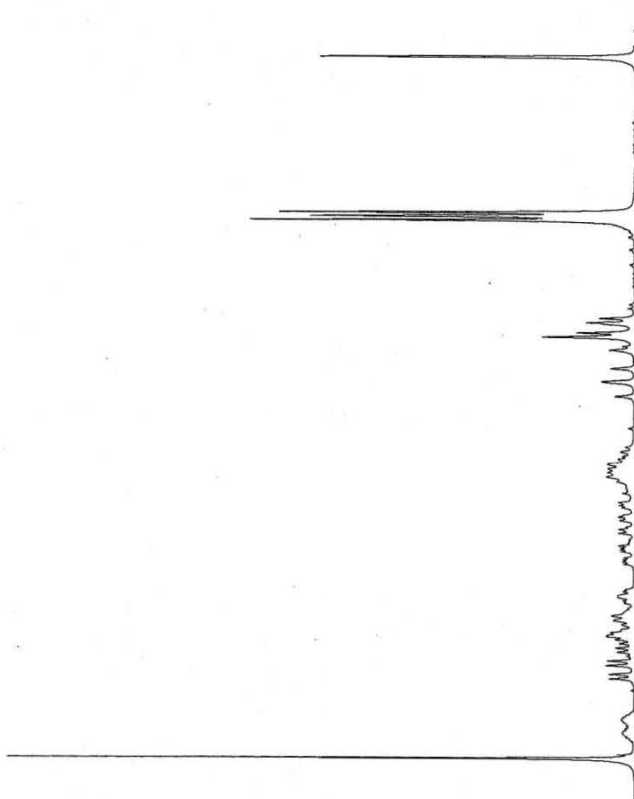
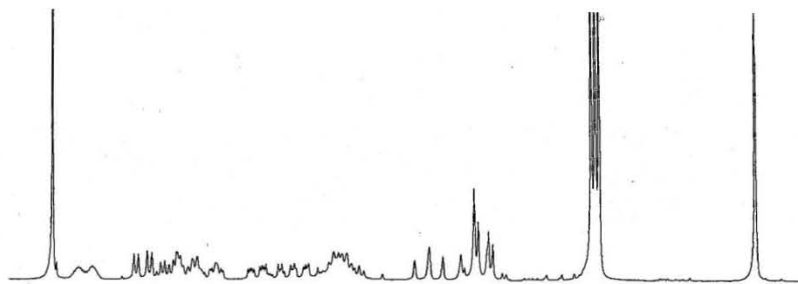
Pulse Sequence: noesy



Espectro 34. Experimento NOESY (CDCl₃, 500 MHz) de 3 α -acetoxi-12 α -hidroxi-5(6),15-rosadieno (**56**)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-137
Disolvente: CDCl₃
Experimento NOESY
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 389
03-03-10

Pulse Sequence: noesy



Datos de difracción de rayos X de 3 α -acetoxi-12 α -hidroxi-5(6),15-rosadieno (56)

Table 1. Crystal data and structure refinement for **PB-137**.

Identification code	097DLG10 (Solved by: R. A. Toscano)	
Project Title	PB-137	
Empirical formula	C ₂₂ H ₃₄ O ₃	
Formula weight	346.49	
Temperature	298(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Orthorhombic	
Space group	P 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	
Unit cell dimensions	$a = 10.331(2)$ Å	$\alpha = 90^\circ$
	$b = 12.397(2)$ Å	$\beta = 90^\circ$
	$c = 15.663(2)$ Å	$\gamma = 90^\circ$
Volume	2006.1(5) Å ³	
Z	4	
Density (calculated)	1.147 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.074 mm ⁻¹	
$F(000)$	760	
Crystal size / color / shape	0.308 x 0.264 x 0.166 mm / colorless / block	
Theta range for data collection	2.10 to 27.87°	
Index ranges	$-13 \leq h \leq 13$, $-16 \leq k \leq 16$, $-20 \leq l \leq 20$	
Reflections collected	20054	
Independent reflections	2708 [$R(\text{int}) = 0.0565$]	
Completeness to theta = 27.87°	100.0 %	
Measurement device	Bruker Smart Apex CCD diffractometer	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.9902 and 0.9797	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	2708 / 40 / 253	
Goodness-of-fit on F^2	1.092	
Final R indices [$I > 2\sigma(I)$]	$R1 = 0.0626$, $wR2 = 0.1322$	
R indices (all data)	$R1 = 0.0825$, $wR2 = 0.1418$	
Absolute structure parameter	? (Merged data)	
Largest diff. peak and hole	0.224 and -0.185 e.Å ⁻³	
Remarks	Main Residue Disorder 7%	

Table 2. Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for **PB-137**. $U(\text{eq})$ is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor.

	x	y	z	$U(\text{eq})$
O(1)	2646(2)	6571(2)	6388(1)	53(1)
O(2)	886(3)	9912(2)	1403(2)	67(1)
O(3)	3689(3)	7888(2)	7084(1)	73(1)
C(1)	2466(3)	8423(2)	4494(2)	50(1)
C(2)	2072(3)	7957(2)	5348(2)	55(1)
C(3)	2968(3)	7037(2)	5560(2)	46(1)
C(4)	2928(3)	6116(2)	4904(2)	46(1)
C(5)	3179(3)	6585(2)	4003(2)	42(1)
C(6)	3940(3)	6099(2)	3443(2)	52(1)
C(7)	4039(3)	6396(2)	2517(2)	59(1)
C(8)	2947(3)	7146(2)	2253(2)	47(1)
C(9)	2825(2)	8087(2)	2894(2)	41(1)
C(10)	2416(3)	7600(2)	3765(2)	41(1)
C(11)	1768(3)	8858(2)	2571(2)	45(1)
C(12)	1933(3)	9231(2)	1654(2)	51(1)
C(13)	2022(3)	8288(2)	1010(2)	51(1)
C(14)	3094(3)	7526(2)	1326(2)	54(1)
C(15)	2486(6)	8708(5)	149(3)	61(1)
C(16)	1923(7)	8615(4)	-588(3)	83(2)
C(15B)	1990(30)	8840(30)	144(11)	65(4)
C(16B)	2880(30)	8580(20)	-401(18)	67(5)
C(17)	718(3)	7703(2)	939(2)	61(1)
C(18)	1573(3)	5575(3)	4897(2)	61(1)
C(19)	3926(3)	5270(3)	5158(2)	67(1)
C(20)	4114(3)	8699(2)	2976(2)	56(1)
C(21)	3079(3)	7062(2)	7086(2)	53(1)
C(22)	2756(4)	6432(3)	7866(2)	70(1)

Table 3. Bond lengths [Å] and angles [°] for **PB-137**.

O(1)-C(21)	1.329(3)	C(8)-C(14)	1.534(4)
O(1)-C(3)	1.458(3)	C(8)-C(9)	1.545(4)
O(2)-C(12)	1.427(4)	C(9)-C(11)	1.536(4)
O(3)-C(21)	1.202(4)	C(9)-C(20)	1.538(4)
C(1)-C(2)	1.513(4)	C(9)-C(10)	1.551(4)
C(1)-C(10)	1.532(4)	C(11)-C(12)	1.520(4)
C(2)-C(3)	1.506(4)	C(12)-C(13)	1.548(4)
C(3)-C(4)	1.536(4)	C(13)-C(15B)	1.518(10)
C(4)-C(19)	1.524(4)	C(13)-C(15)	1.523(5)
C(4)-C(5)	1.548(4)	C(13)-C(17)	1.534(4)
C(4)-C(18)	1.552(4)	C(13)-C(14)	1.538(4)
C(5)-C(6)	1.324(4)	C(15)-C(16)	1.299(6)
C(5)-C(10)	1.531(3)	C(15B)-C(16B)	1.294(11)
C(6)-C(7)	1.499(4)	C(21)-C(22)	1.488(4)
C(7)-C(8)	1.520(4)		
C(21)-O(1)-C(3)	118.3(2)	C(7)-C(8)-C(9)	110.2(2)
C(2)-C(1)-C(10)	113.3(2)	C(14)-C(8)-C(9)	113.1(2)
C(3)-C(2)-C(1)	108.6(2)	C(11)-C(9)-C(20)	109.7(2)
O(1)-C(3)-C(2)	110.8(2)	C(11)-C(9)-C(8)	108.2(2)
O(1)-C(3)-C(4)	107.1(2)	C(20)-C(9)-C(8)	110.8(2)
C(2)-C(3)-C(4)	113.5(2)	C(11)-C(9)-C(10)	109.8(2)
C(19)-C(4)-C(3)	108.6(2)	C(20)-C(9)-C(10)	110.8(2)
C(19)-C(4)-C(5)	112.5(2)	C(8)-C(9)-C(10)	107.5(2)
C(3)-C(4)-C(5)	109.0(2)	C(5)-C(10)-C(1)	110.4(2)
C(19)-C(4)-C(18)	108.4(2)	C(5)-C(10)-C(9)	113.2(2)
C(3)-C(4)-C(18)	110.5(2)	C(1)-C(10)-C(9)	112.7(2)
C(5)-C(4)-C(18)	107.8(2)	C(12)-C(11)-C(9)	114.9(2)
C(6)-C(5)-C(10)	121.2(2)	O(2)-C(12)-C(11)	110.8(3)
C(6)-C(5)-C(4)	122.2(2)	O(2)-C(12)-C(13)	108.2(2)
C(10)-C(5)-C(4)	116.4(2)	C(11)-C(12)-C(13)	113.1(2)
C(5)-C(6)-C(7)	124.8(3)	C(15B)-C(13)-C(17)	97.5(15)
C(6)-C(7)-C(8)	111.3(2)	C(15)-C(13)-C(17)	112.0(3)
C(7)-C(8)-C(14)	111.9(2)	C(15B)-C(13)-C(14)	125.5(10)

C(15)-C(13)-C(14)	105.6(3)	C(8)-C(14)-C(13)	115.0(2)
C(17)-C(13)-C(14)	111.4(2)	C(16)-C(15)-C(13)	128.0(5)
C(15B)-C(13)-C(12)	103.9(13)	C(16B)-C(15B)-C(13)	117(2)
C(15)-C(13)-C(12)	109.7(3)	O(3)-C(21)-O(1)	124.3(3)
C(17)-C(13)-C(12)	110.6(3)	O(3)-C(21)-C(22)	124.5(3)
C(14)-C(13)-C(12)	107.3(2)	O(1)-C(21)-C(22)	111.1(3)

Table 4. Anisotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for **PB-137**. The anisotropic displacement factor exponent takes the form: $-2\pi^2 [h^2 a^{*2} U_{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U_{12}]$

	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{23}	U_{13}	U_{12}
O(1)	58(1)	55(1)	46(1)	5(1)	-6(1)	-12(1)
O(2)	90(2)	43(1)	67(2)	-2(1)	-29(1)	15(1)
O(3)	103(2)	56(1)	61(1)	8(1)	-24(1)	-23(1)
C(1)	58(2)	39(1)	52(2)	1(1)	-4(1)	8(1)
C(2)	65(2)	51(2)	50(2)	-6(1)	-2(1)	9(2)
C(3)	46(2)	45(1)	47(2)	4(1)	-6(1)	-7(1)
C(4)	48(2)	39(1)	51(2)	3(1)	-4(1)	-3(1)
C(5)	41(1)	35(1)	51(2)	1(1)	-5(1)	-1(1)
C(6)	51(2)	43(1)	62(2)	3(1)	1(2)	16(1)
C(7)	69(2)	47(2)	60(2)	2(2)	14(2)	19(2)
C(8)	50(2)	40(1)	51(2)	6(1)	6(1)	6(1)
C(9)	39(1)	36(1)	47(2)	0(1)	-2(1)	3(1)
C(10)	37(1)	36(1)	51(2)	2(1)	-2(1)	1(1)
C(11)	50(2)	36(1)	51(2)	-4(1)	-4(1)	4(1)
C(12)	58(2)	36(1)	58(2)	2(1)	-12(2)	2(1)
C(13)	64(2)	39(2)	49(2)	3(1)	-1(2)	-1(1)
C(14)	65(2)	45(2)	53(2)	-2(1)	11(2)	4(2)
C(15)	78(4)	49(2)	55(2)	9(2)	4(2)	7(3)
C(16)	121(5)	78(3)	51(2)	7(2)	2(3)	-13(4)
C(15B)	88(9)	50(8)	58(7)	5(7)	5(7)	6(8)
C(16B)	91(10)	56(9)	54(10)	2(8)	7(8)	0(9)
C(17)	74(2)	48(2)	60(2)	-9(2)	-4(2)	-2(2)
C(18)	68(2)	60(2)	54(2)	1(2)	1(2)	-24(2)
C(19)	84(2)	49(2)	66(2)	17(2)	-2(2)	13(2)
C(20)	47(2)	56(2)	65(2)	9(2)	-1(2)	-7(1)
C(21)	56(2)	51(2)	52(2)	9(2)	-10(2)	-2(2)
C(22)	81(2)	75(2)	55(2)	12(2)	-6(2)	-17(2)

Table 5. Hydrogen coordinates ($\times 10^4$) and isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for **PB-137**.

	x	y	z	U(eq)
H(2)	990(40)	10440(30)	1650(30)	100
H(1A)	3339	8704	4538	60
H(1B)	1896	9021	4357	60
H(2A)	2127	8508	5787	66
H(2B)	1186	7701	5323	66
H(3)	3855	7316	5586	55
H(6)	4451	5532	3637	62
H(7A)	4008	5746	2173	70
H(7B)	4863	6247	2414	70
H(8)	2141	6731	2285	57
H(10)	1509	7380	3707	49
H(11A)	936	8500	2623	55
H(11B)	1750	9487	2939	55
H(12)	2735	9650	1617	61
H(14A)	3114	6897	958	65
H(14B)	3920	7891	1269	65
H(15)	3269	9078	152	73
H(16A)	1136	8254	-632	100
H(16B)	2305	8909	-1073	100
H(15B)	1356	9345	11	78
H(16C)	3502	8071	-256	81
H(16D)	2890	8899	-938	81
H(17A)	74	8193	728	91
H(17B)	464	7444	1492	91
H(17C)	799	7104	554	91
H(18A)	1586	4965	4520	91
H(18B)	939	6085	4703	91
H(18C)	1357	5341	5463	91
H(19A)	4777	5578	5128	100
H(19B)	3871	4667	4776	100

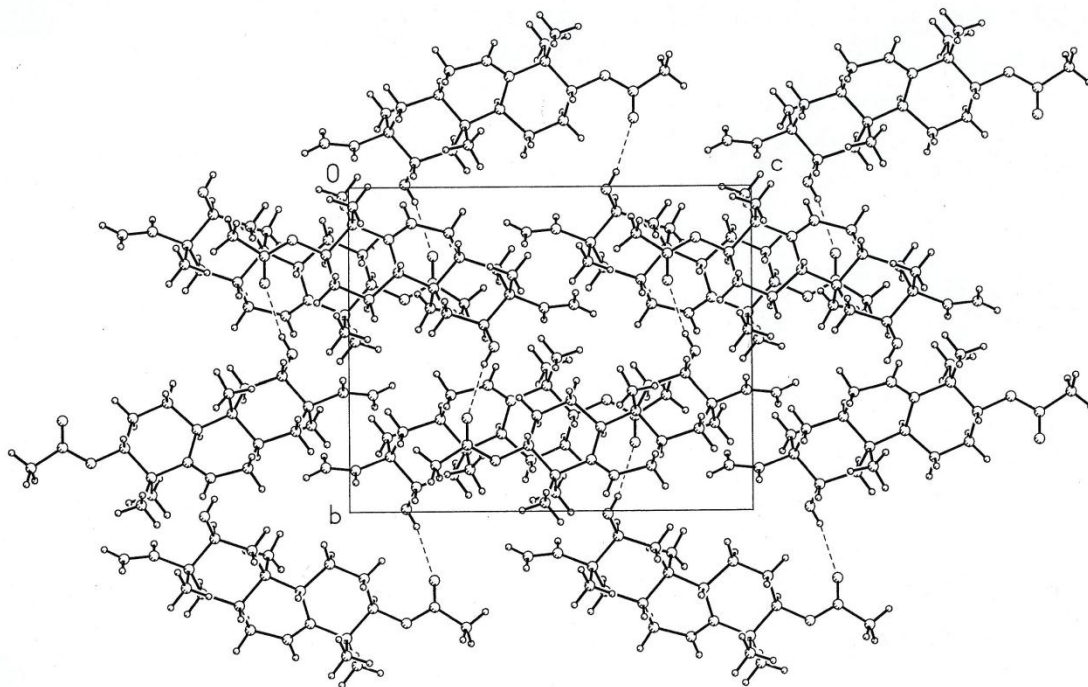
H(19C)	3759	5032	5731	100
H(20A)	3972	9367	3272	84
H(20B)	4453	8846	2417	84
H(20C)	4721	8268	3290	84
H(22A)	2661	6914	8341	105
H(22B)	3439	5927	7982	105
H(22C)	1961	6047	7777	105

Table 6. Hydrogen bonds for **PB-137** [Å and °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
O(2)-H(2)...O(3)#1	0.77(4)	2.20(4)	2.961(3)	168(4)

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms: #1 -x+1/2,-y+2,z-1/2

Figura 1. Puentes de hidrógeno intermoleculares de 3α -acetoxi- 12α -hidroxi-5(6),15-rosadieno (**56**)



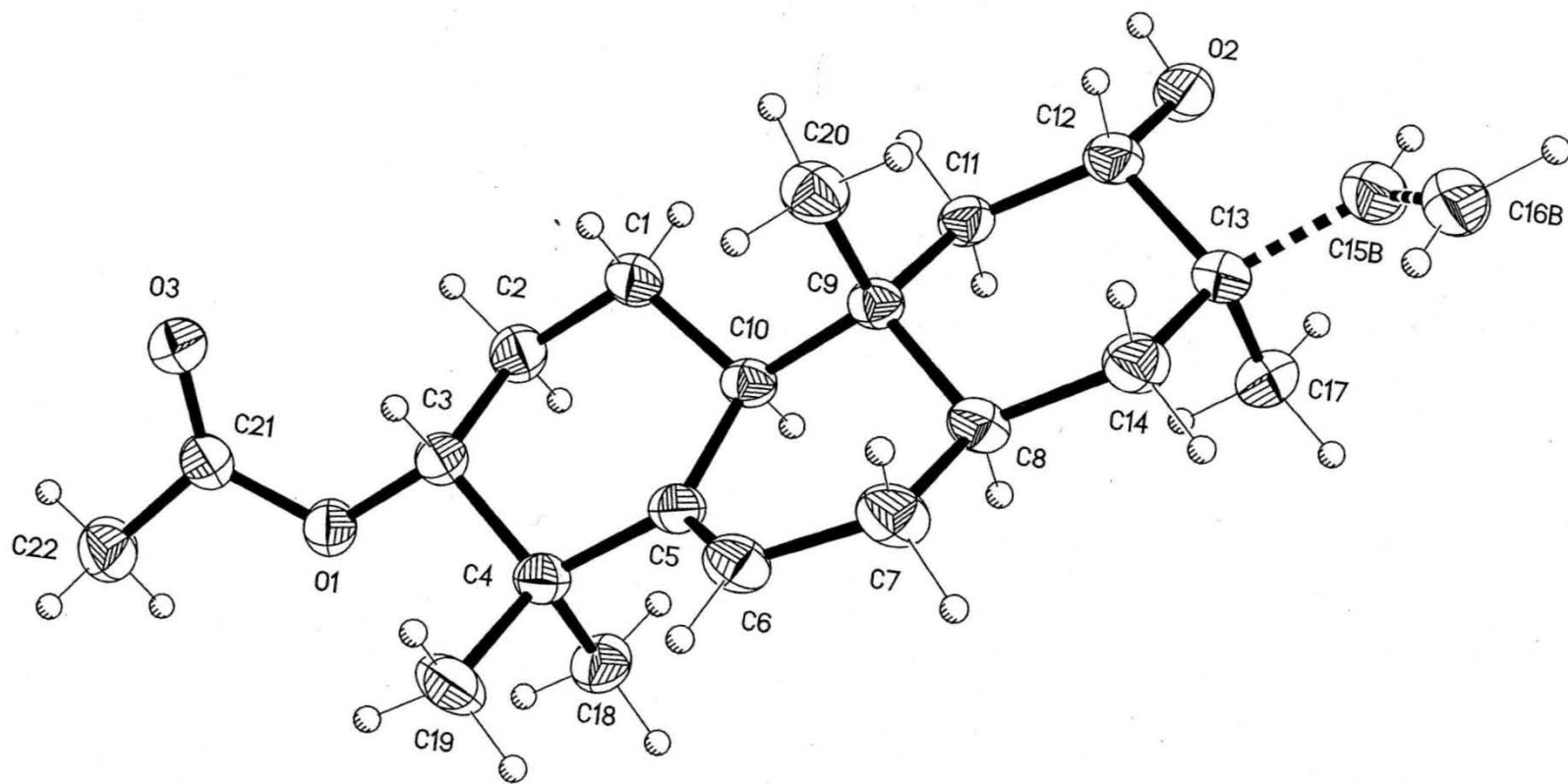
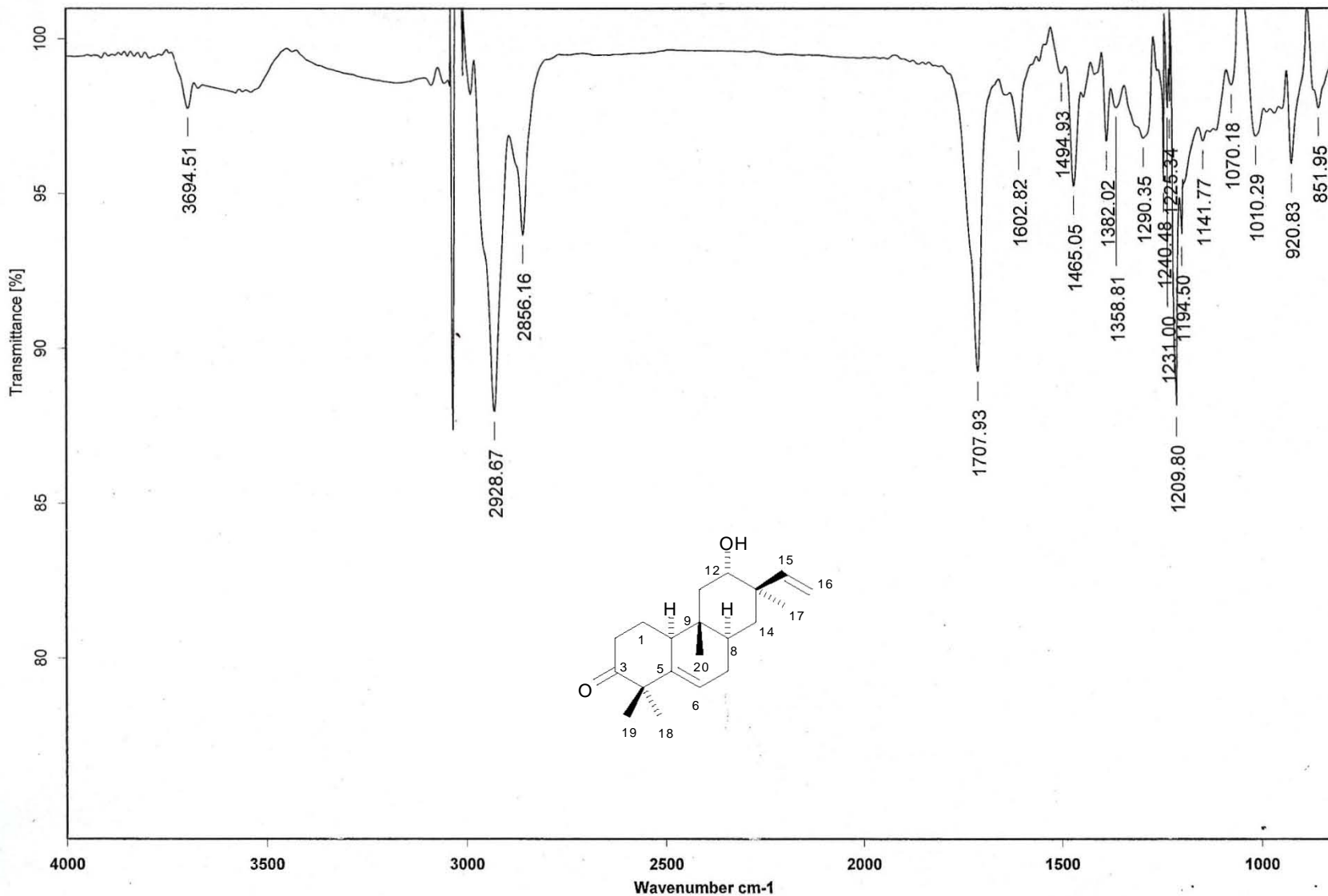


Figura 2. Estructura de 3 α -acetoxi-12 α -hidroxi-5(6),15-rosadieno (**56**) obtenida por rayos X



Espectro 36. IR (KBr) de 12 α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (**57**)

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Delgado-Guillermo-035 Date : 21-Oct-2010 13:46

Sample: 1925 PB-143 10IE JeolAX505HA

Note : Javier-Perez

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

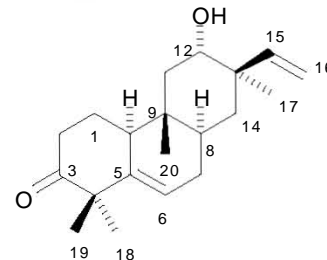
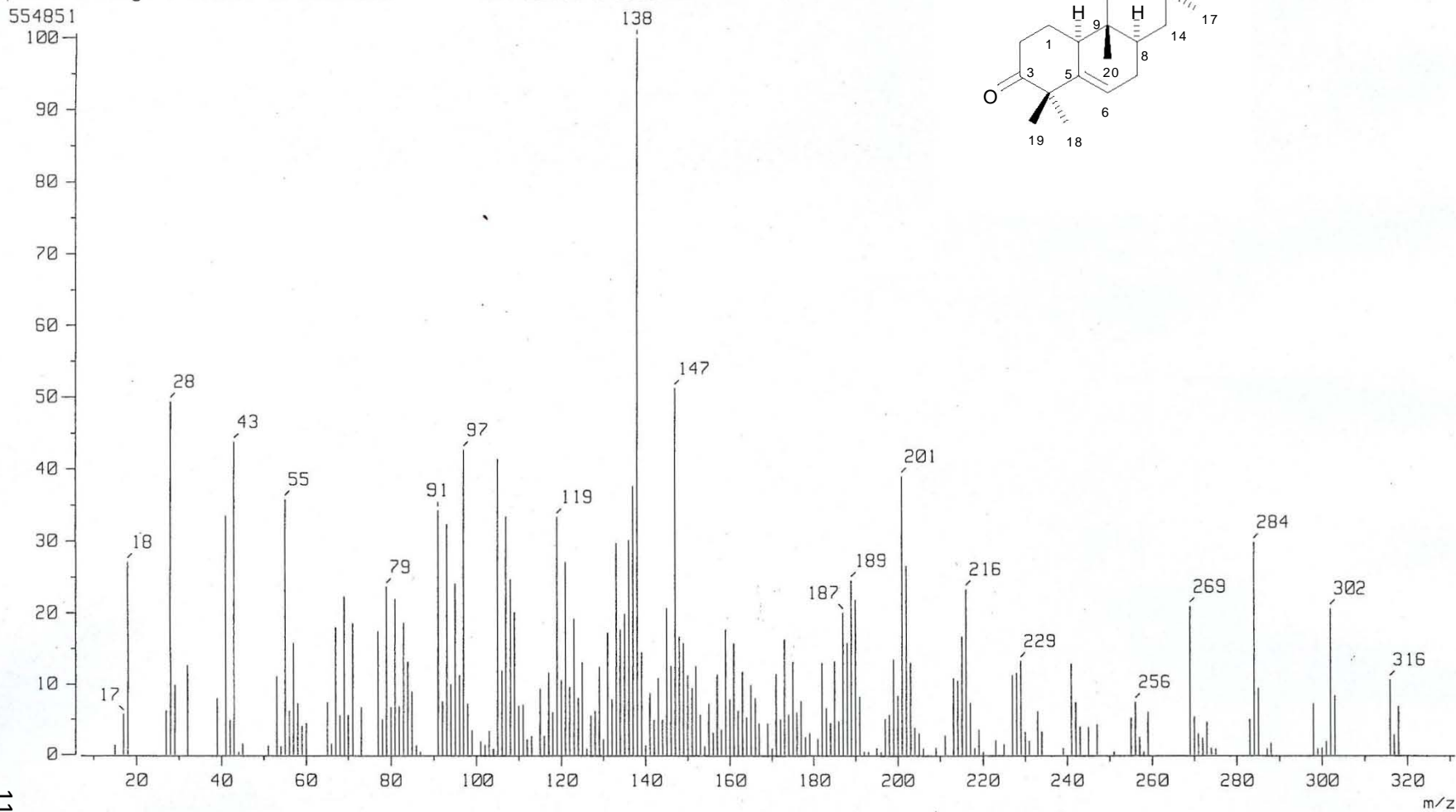
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

RT : 1.07 min Scan# : (22,29)

BP : m/z 138.0000 Int. : 52.61

Output m/z range : 7.1217 to 331.1573

Cut Level : 0.00 %

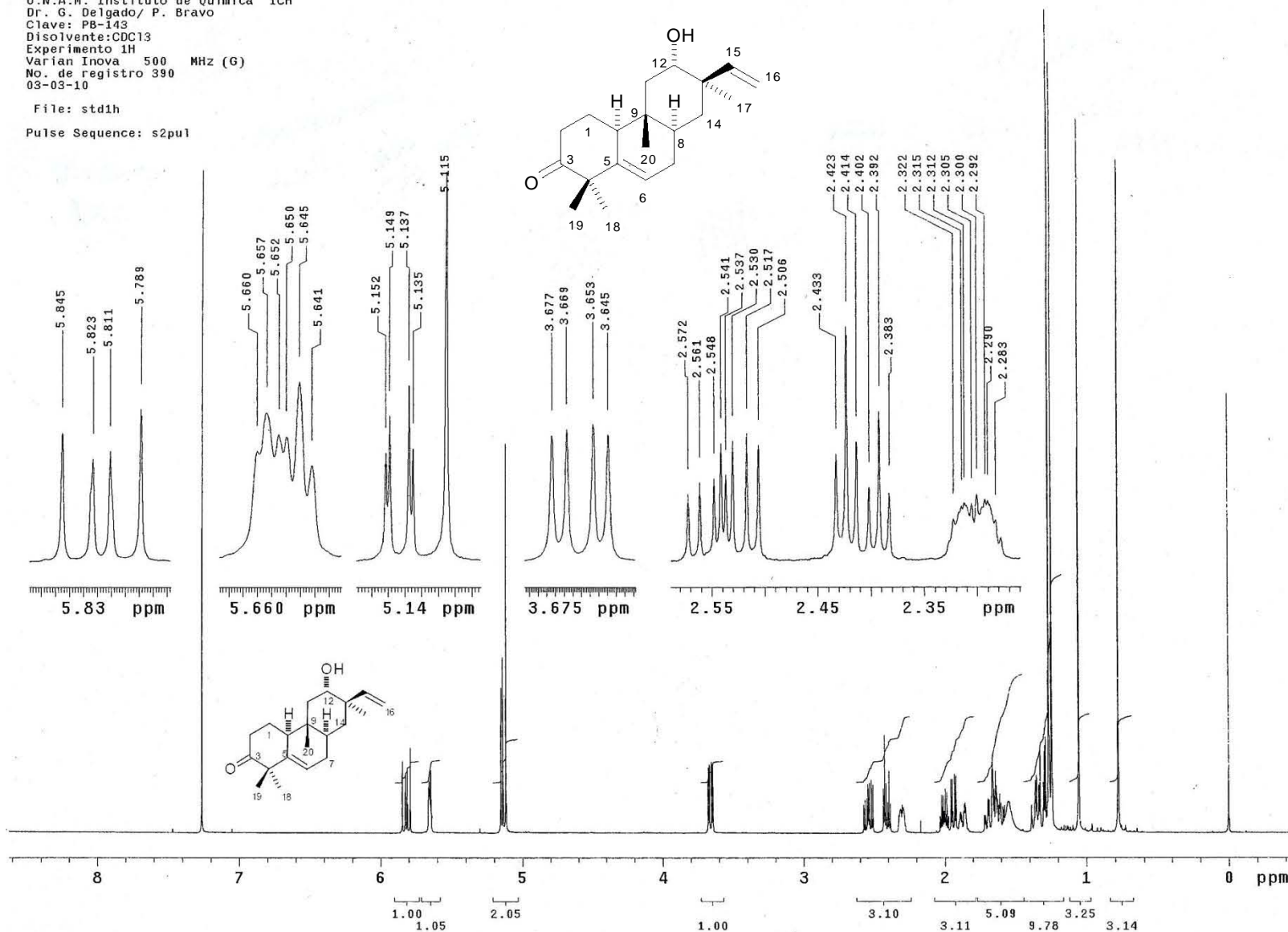
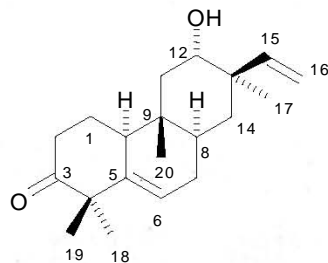


Espectro 37. EM-IE (70 eV) de 12 α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (57)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
 Dr. G. Delgado/ P. Bravo
 Clave: PB-143
 Disolvente: CDCl₃
 Experimento 1H
 Varian Inova 500 MHz (G)
 No. de registro 390
 03-03-10

File: std1h

Pulse Sequence: s2pu1

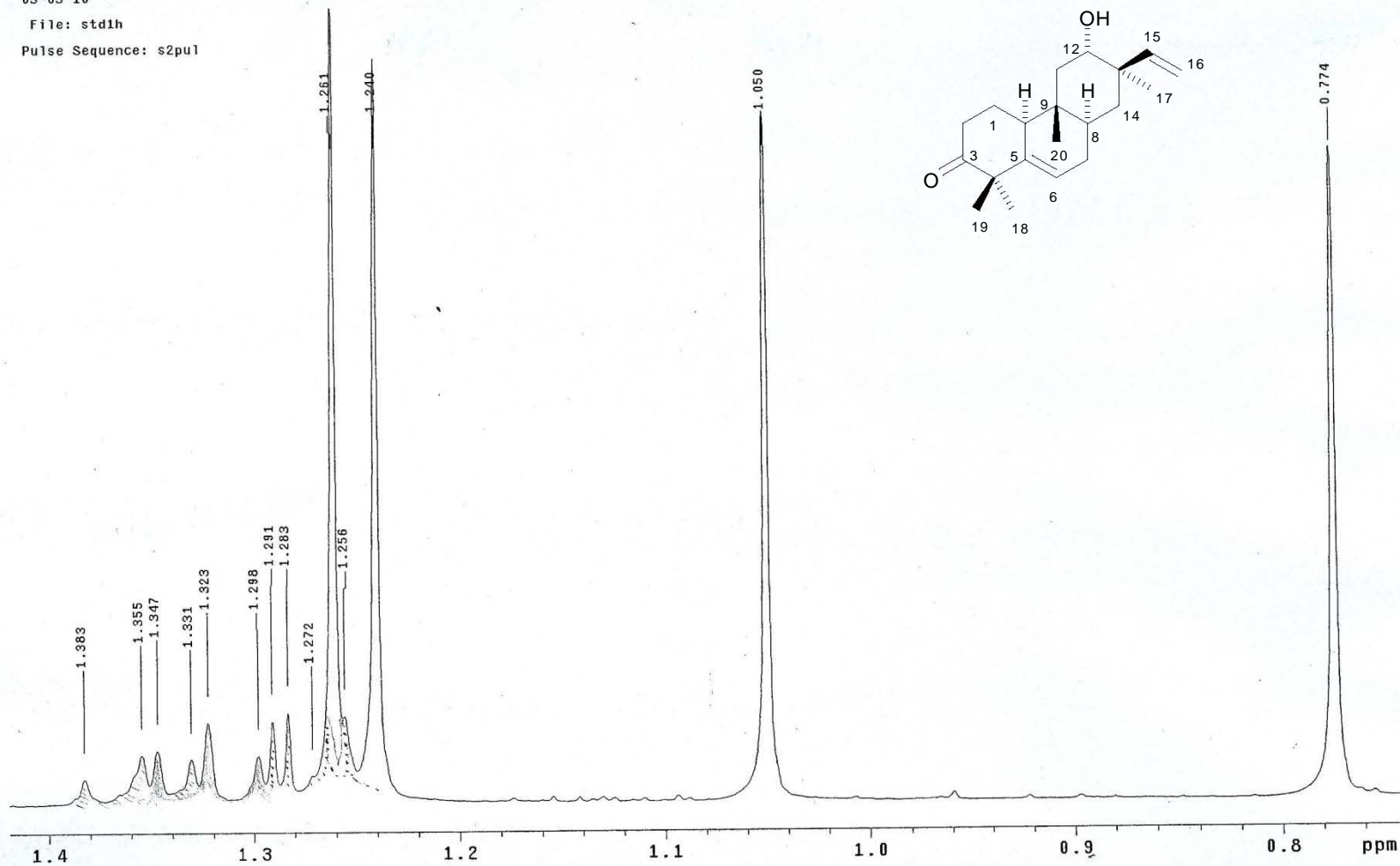


Espectro 38. RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) de 12α-hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (**57**)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-143
Disolvente: CDCl₃
Experimento 1H
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 390
03-03-10

File: std1h

Pulse Sequence: s2pu1

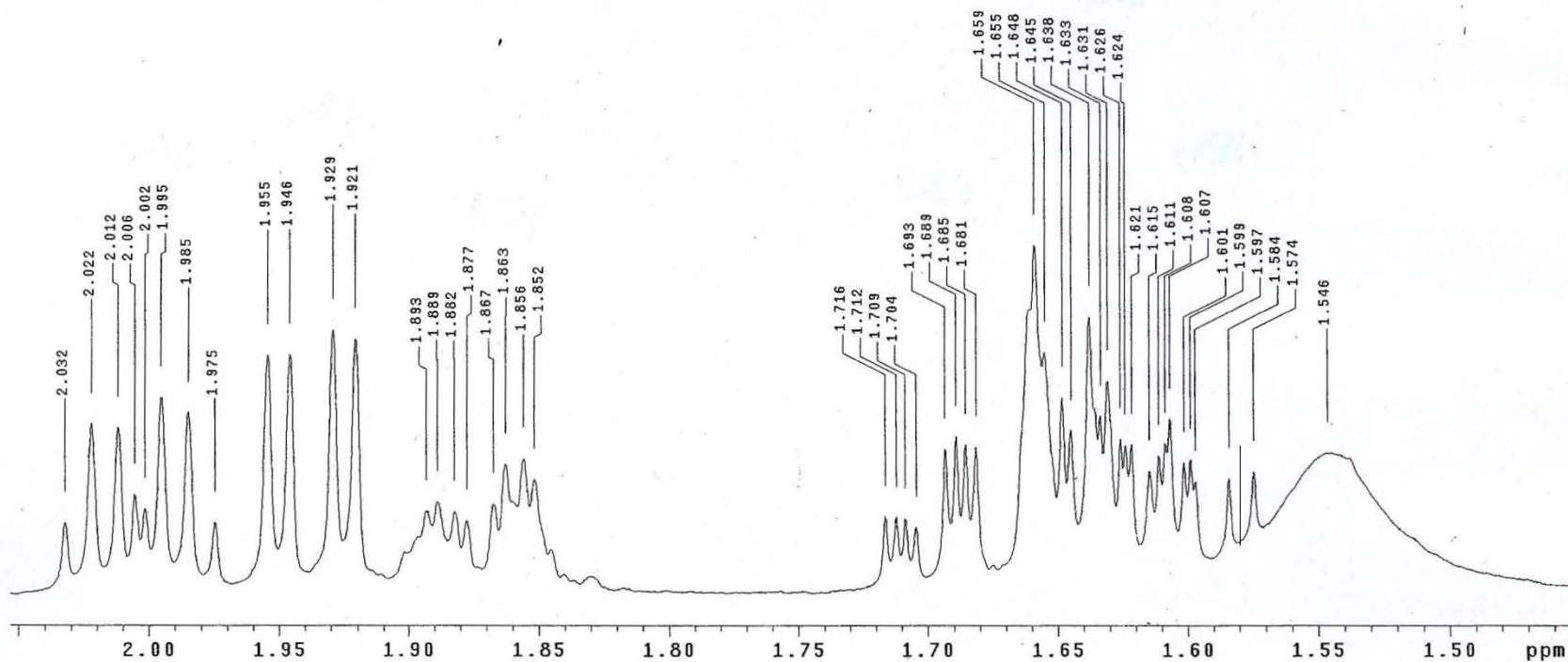
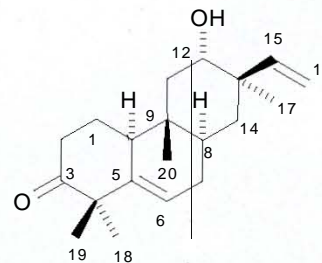


Espectro 39. RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) de 12α-hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (**57**)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-143
Disolvente: CDC13
Experimento 1H
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 390
03-03-10

File: std1h

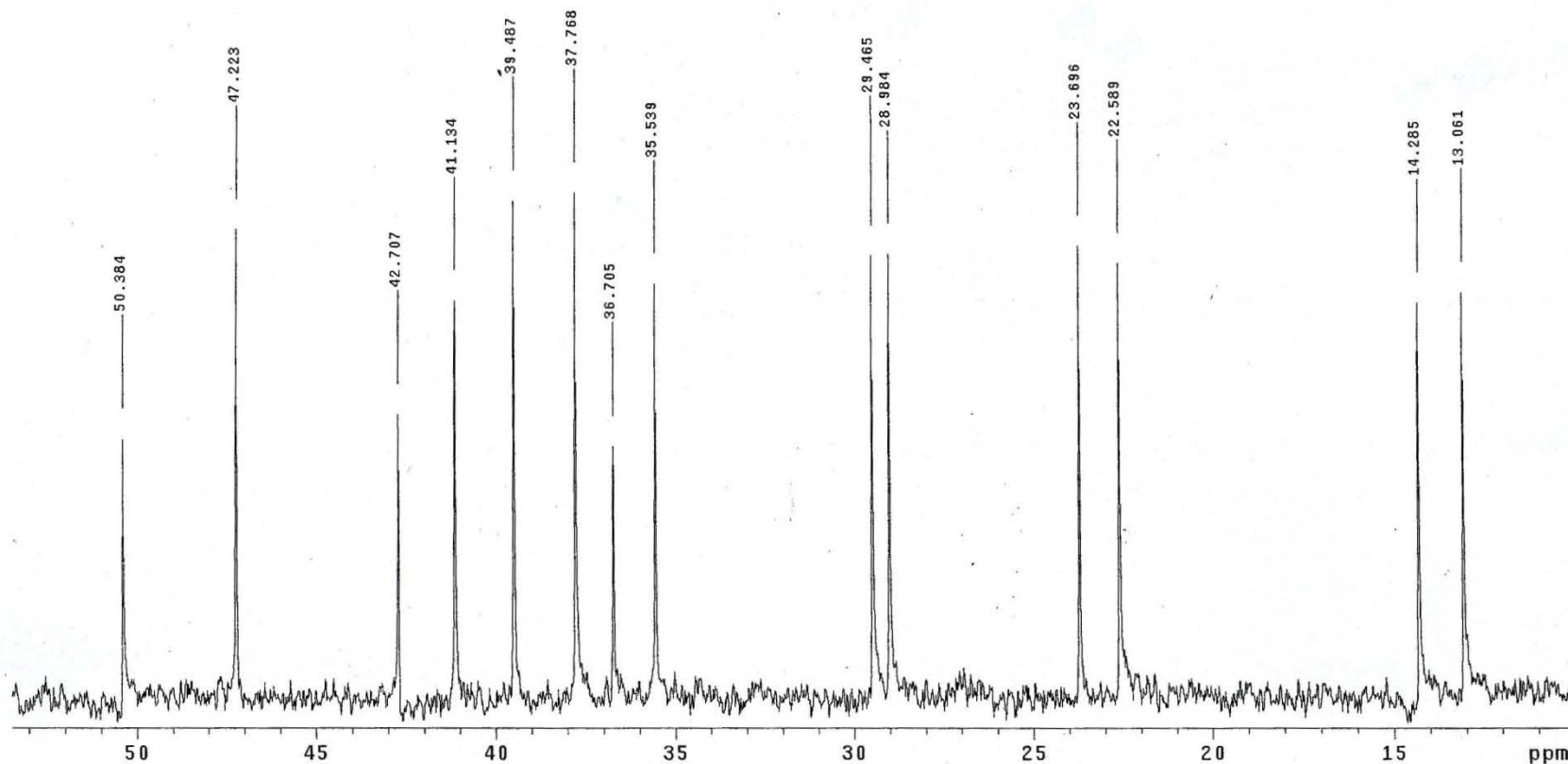
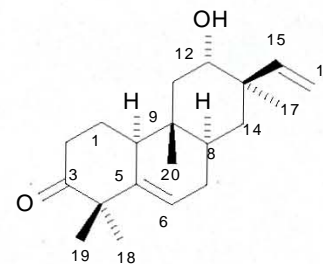
Pulse Sequence: s2pu1



Espectro 40. RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de 12 α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (**57**)

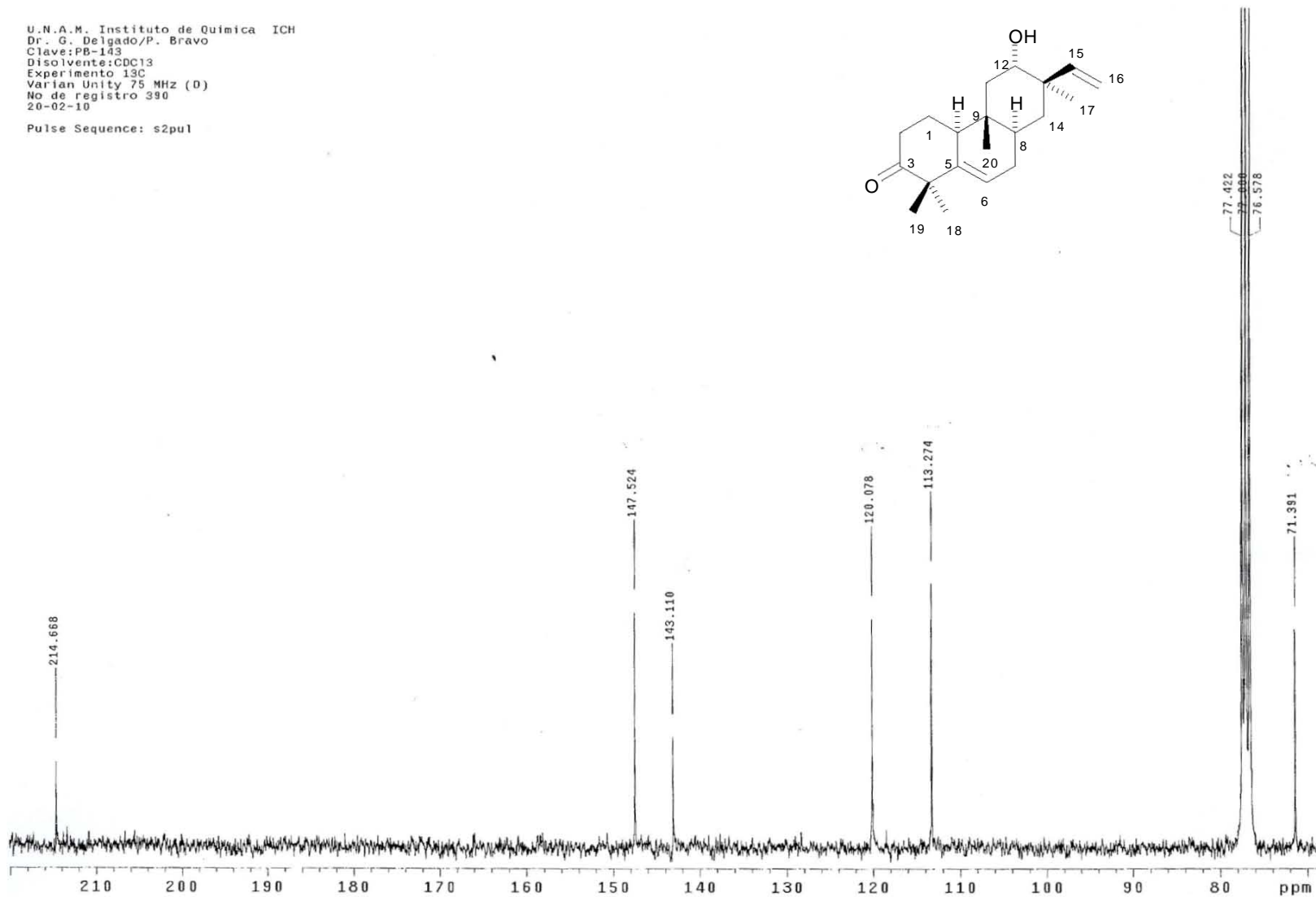
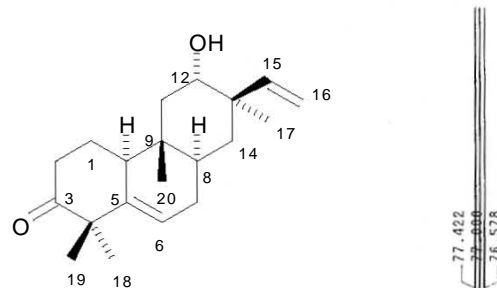
U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave:PB-143
Disolvente:CDCl₃
Experimento 13C
Varian Unity 75 MHz (D)
No de registro 390
20-02-10

Pulse Sequence: s2pu1



Espectro 41. RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de 12α-hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (**57**)

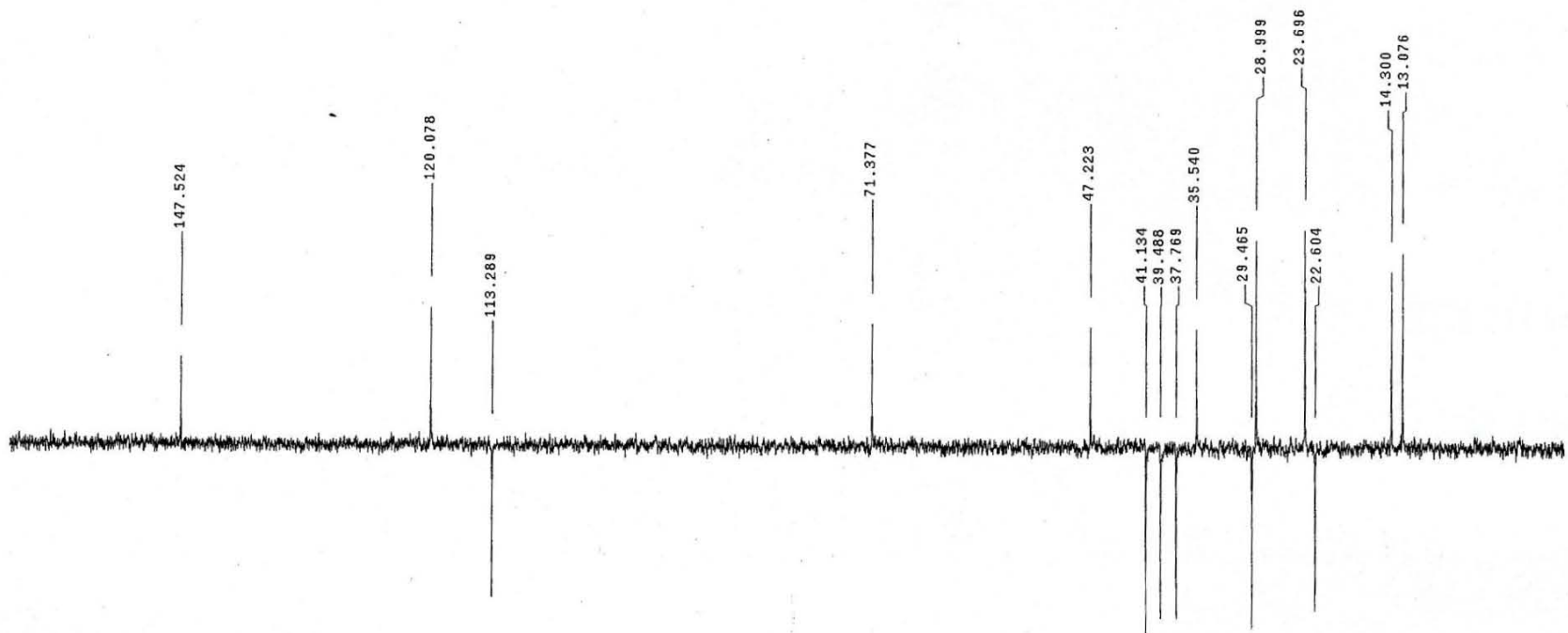
U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave:PB-143
Disolvente:CDCl₃
Experimento 13C
Varian Unity 75 MHz (D)
No de registro 390
20-02-10
Pulse Sequence: s2pul



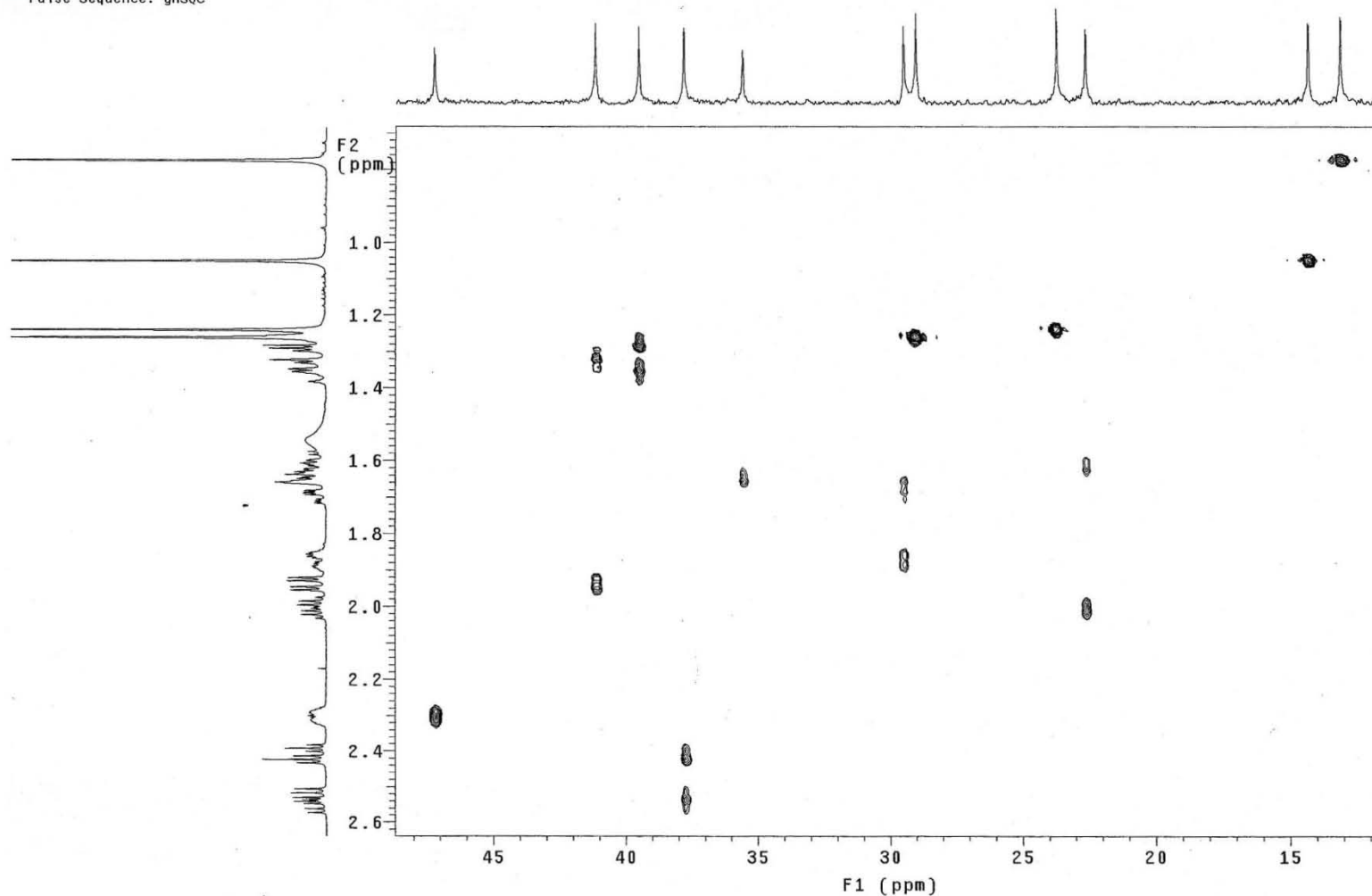
Espectro 42. RMN ¹³C(CDCl₃, 75MHz) de 12 α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (**57**)

U.N.A.M. Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave:PB-143
Disolvente:CDCl₃
Experimento DEPT
Varian Unity 75 MHz (D)
No de registro 390
20-02-10

Pulse Sequence: dept

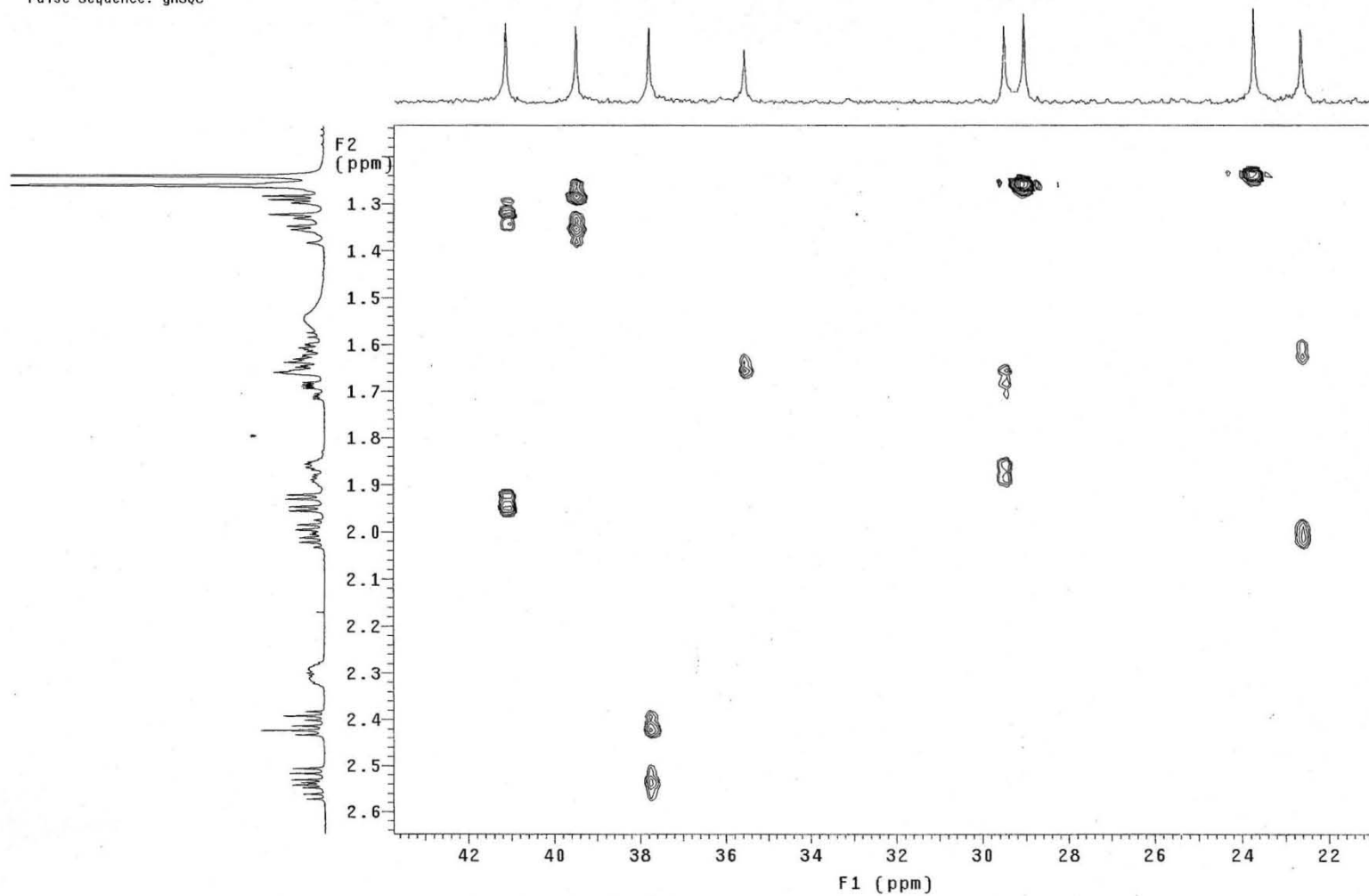


U.N.A.M. Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-143
Disolvente: CDC13
Experimento HSQC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 390
03-03-10
Pulse Sequence: gHSQC



Espectro 44. Experimento HSQC (CDCl₃, 500 MHz) de 12 α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (**57**)

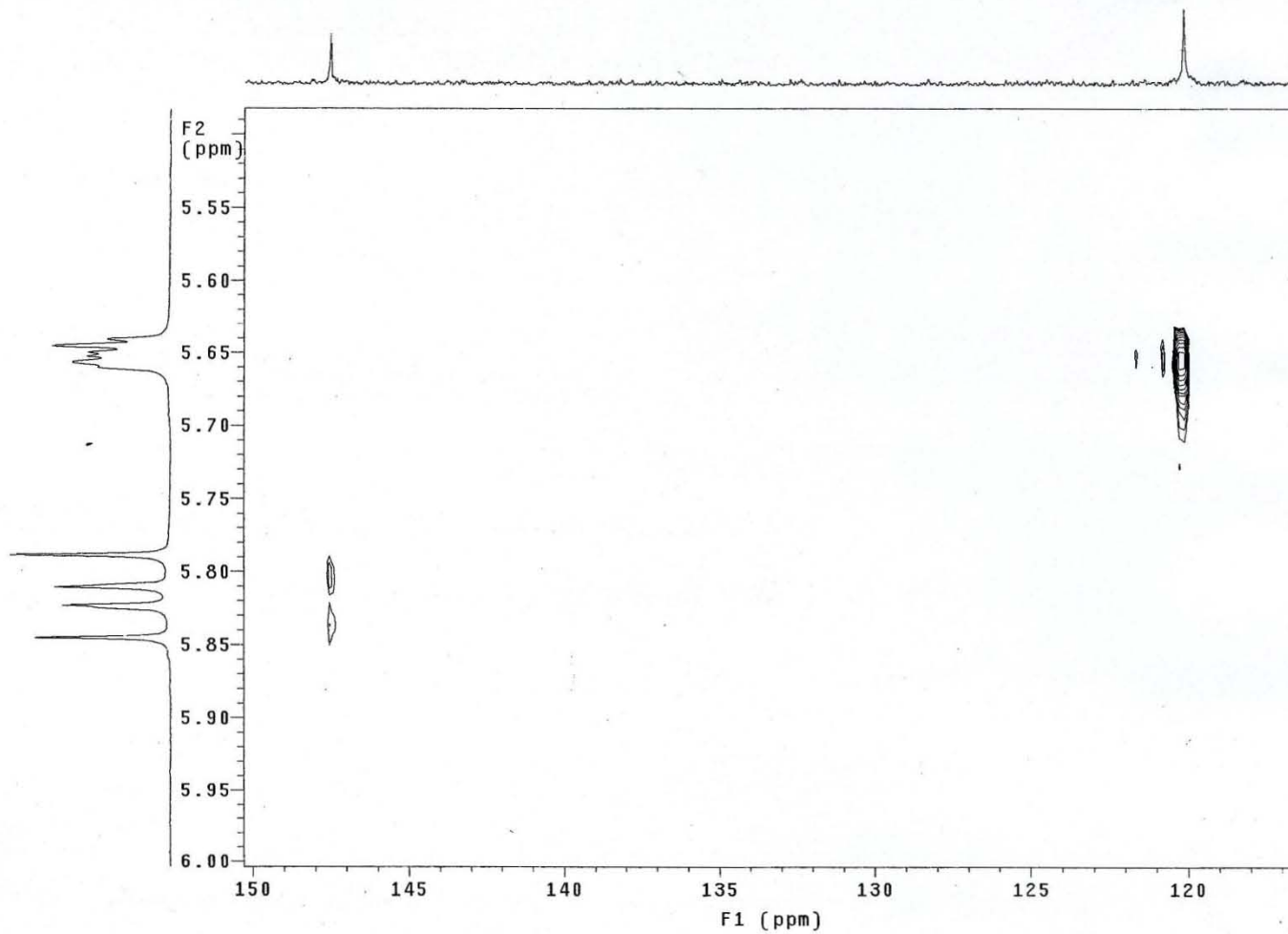
U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-143
Disolvente: CDCl₃
Experimento HSQC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 390
03-03-10
Pulse Sequence: gHSQC



Espectro 45. Experimento HSQC (CDCl₃, 500 MHz) de 12 α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (57)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-143
Disolvente: CDCl₃
Experimento HSQC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 390
03-03-10

Pulse Sequence: gHSQC

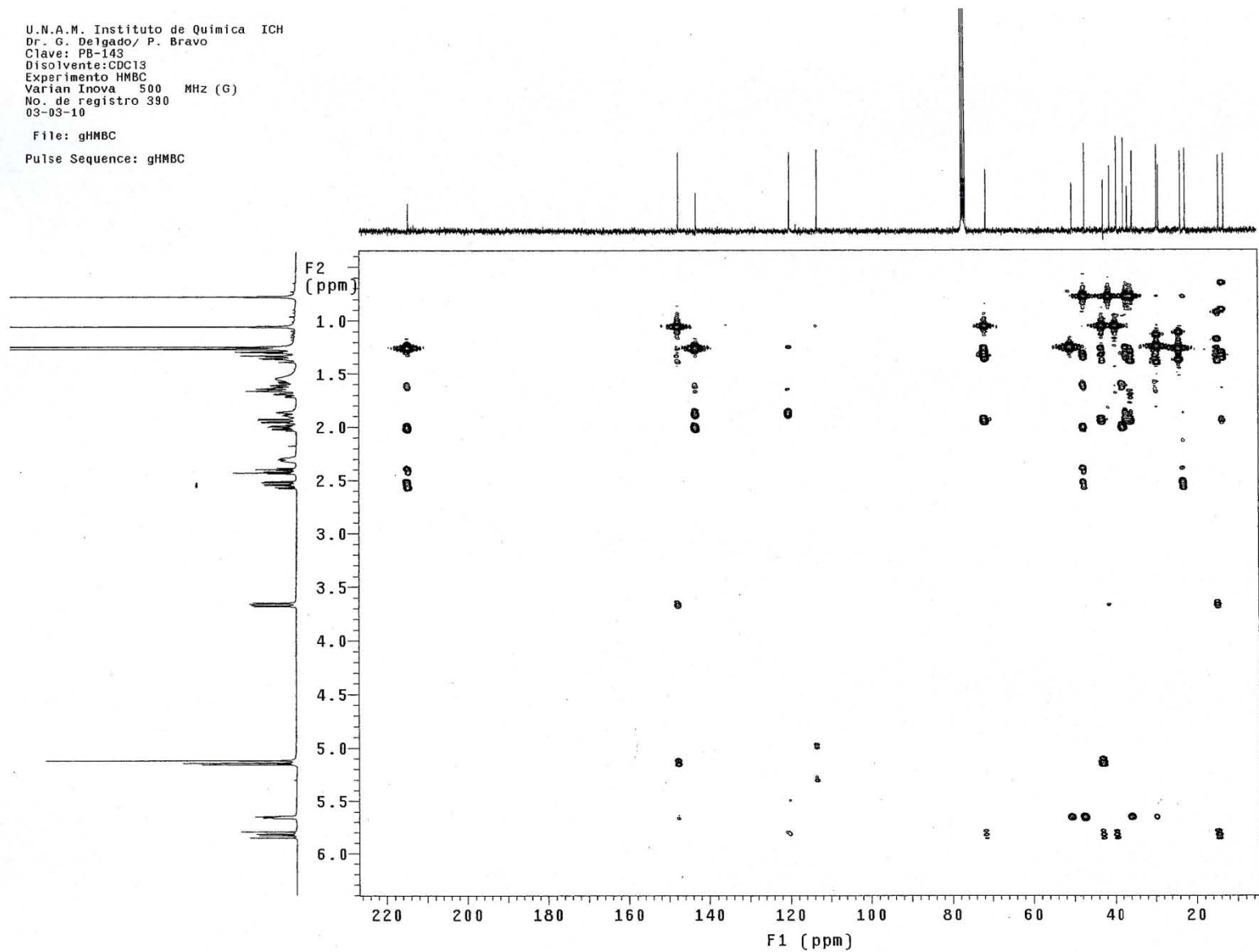


Espectro 46. Experimento HSQC (CDCl₃, 500 MHz) de 12 α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona **(57)**

U.N.A.M. Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-143
Disolvente: CDCl₃
Experimento HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 390
03-03-10

File: gHMBC

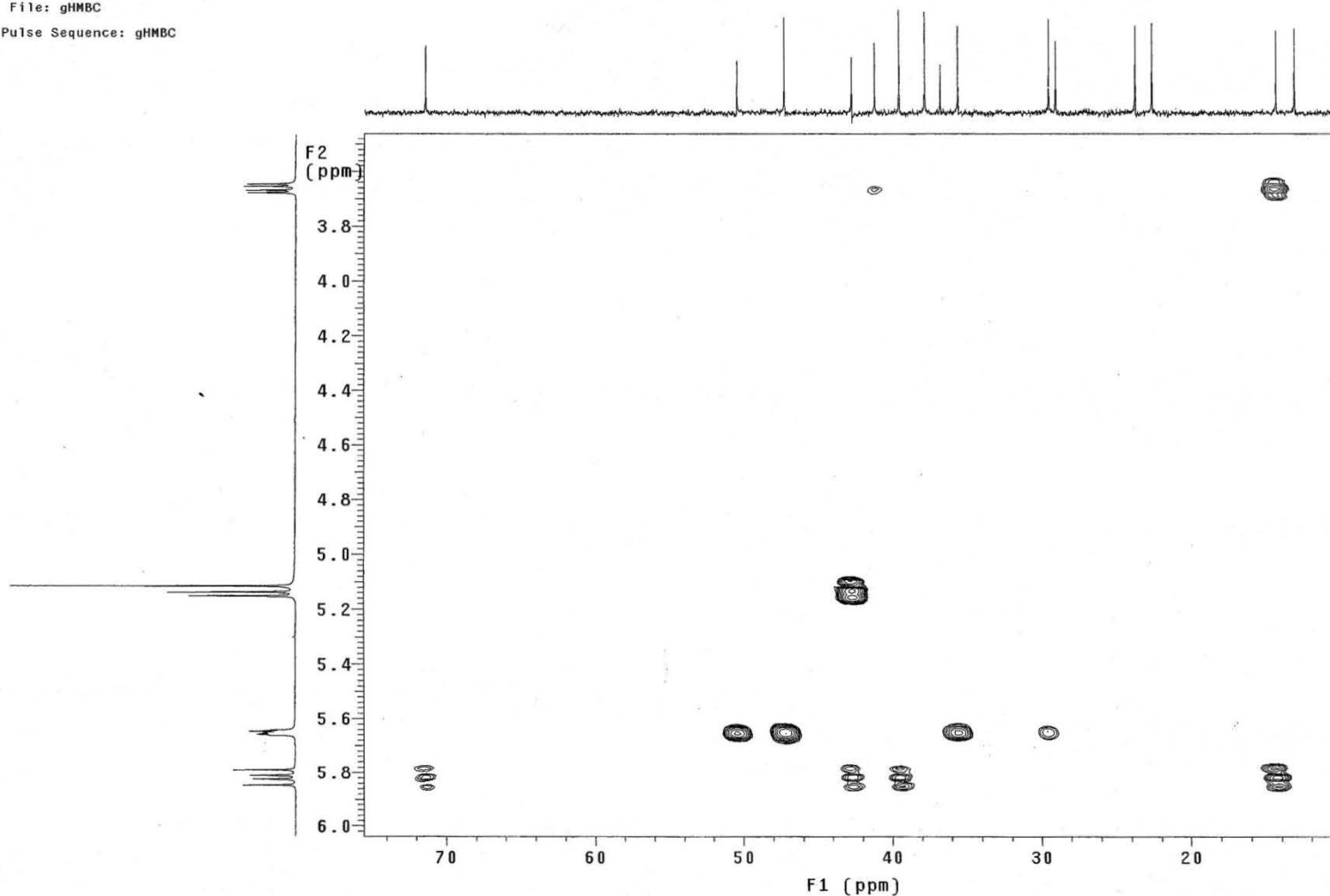
Pulse Sequence: gHMBC



Espectro 47. Experimento HMBC (CDCl₃, 500 MHz) de 12 α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (**57**)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-143
Disolvente: CDCl₃
Experimento HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 390
03-03-10

File: gHMBC
Pulse Sequence: gHMBC

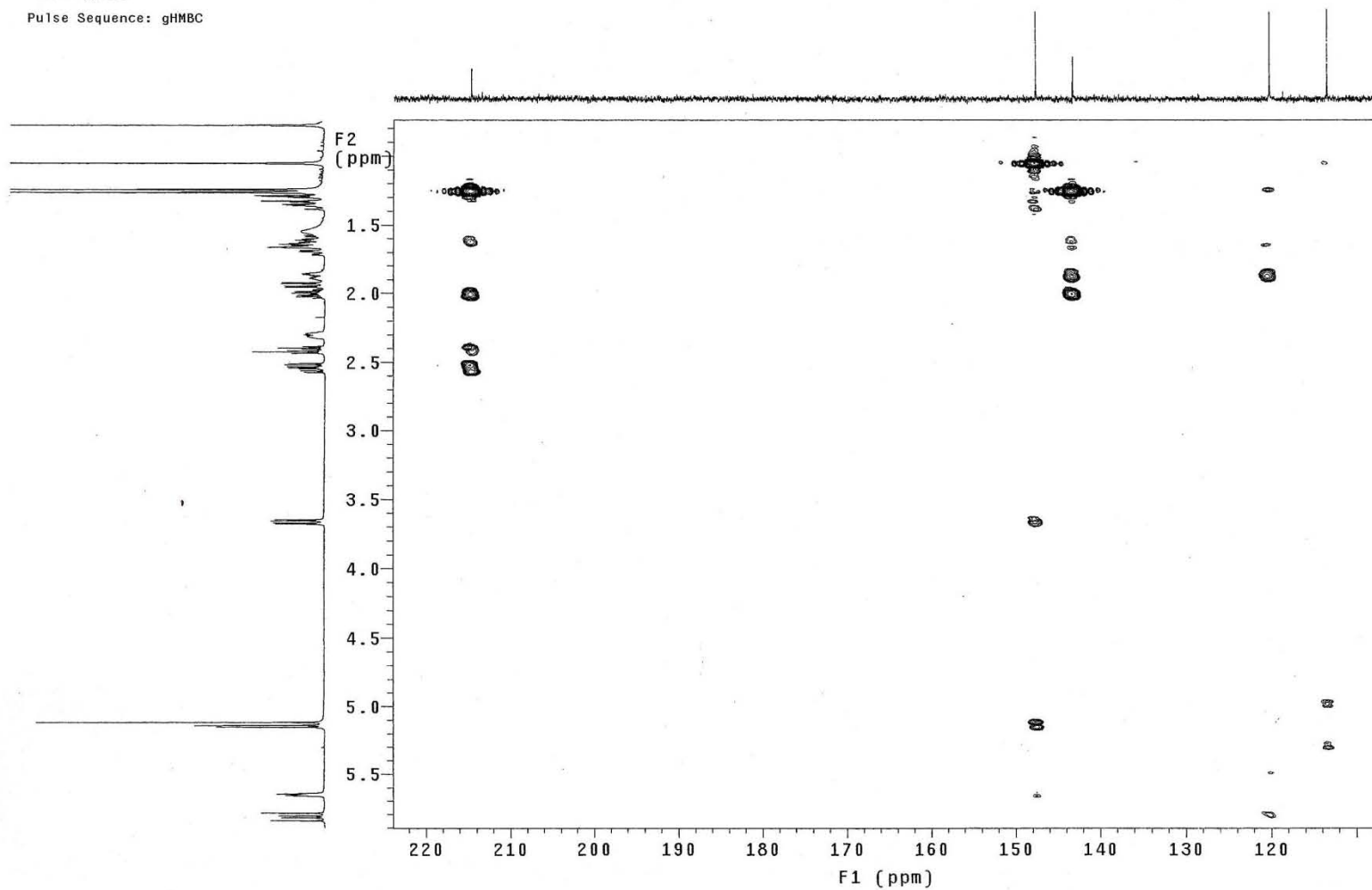


Espectro 48. Experimento HMBC (CDCl₃, 500 MHz) de 12 α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (**57**)

U.N.A.M. Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PG-143
Disolvente: CDC13
Experimento HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 390
03-03-10

File: gHMBC

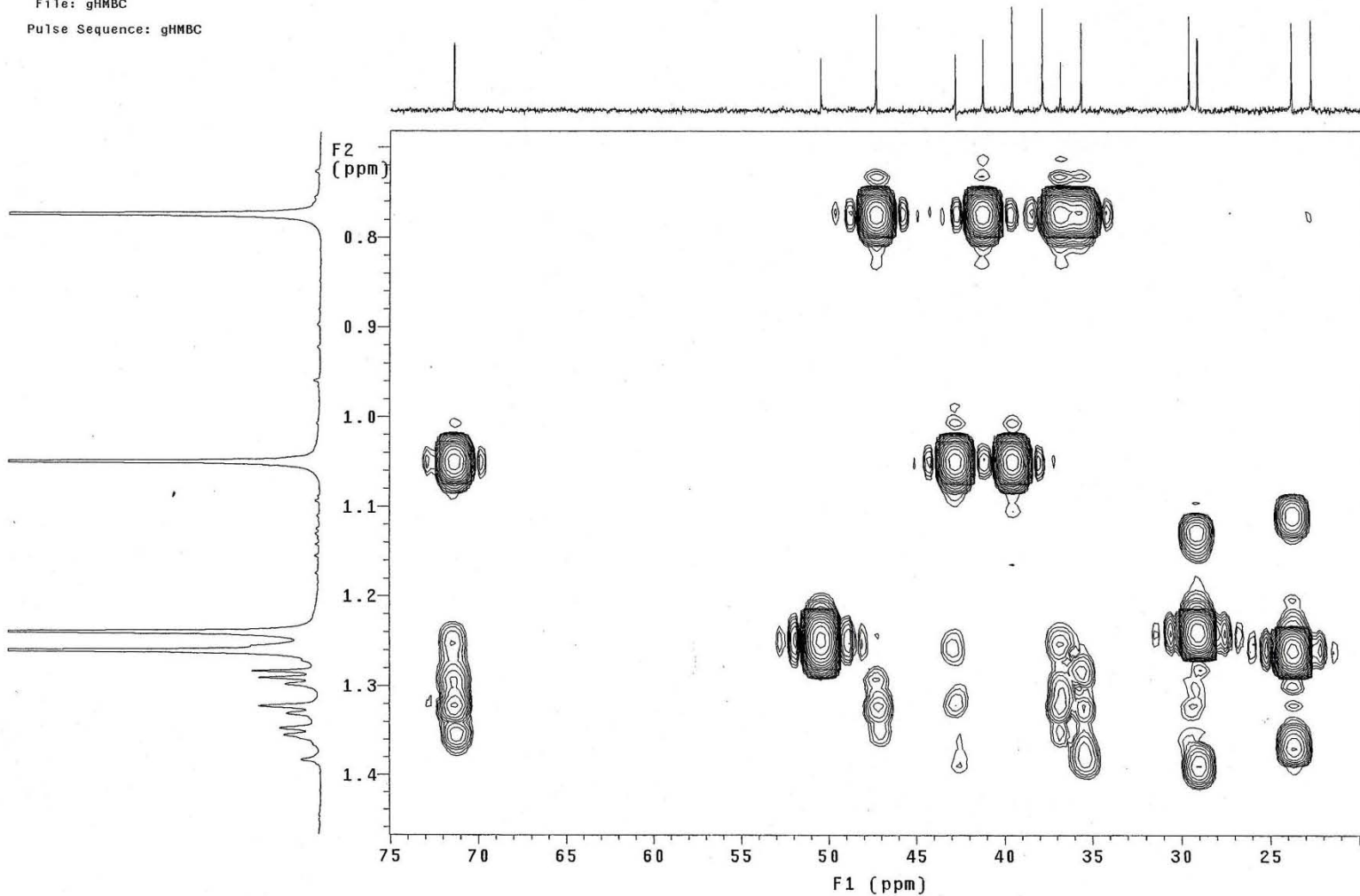
Pulse Sequence: gHMBC



Espectro 49. Experimento HMBC (CDCl₃, 500 MHz) de 12 α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (57)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-143
Disolvente: CDCl₃
Experimento HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 390
03-03-10

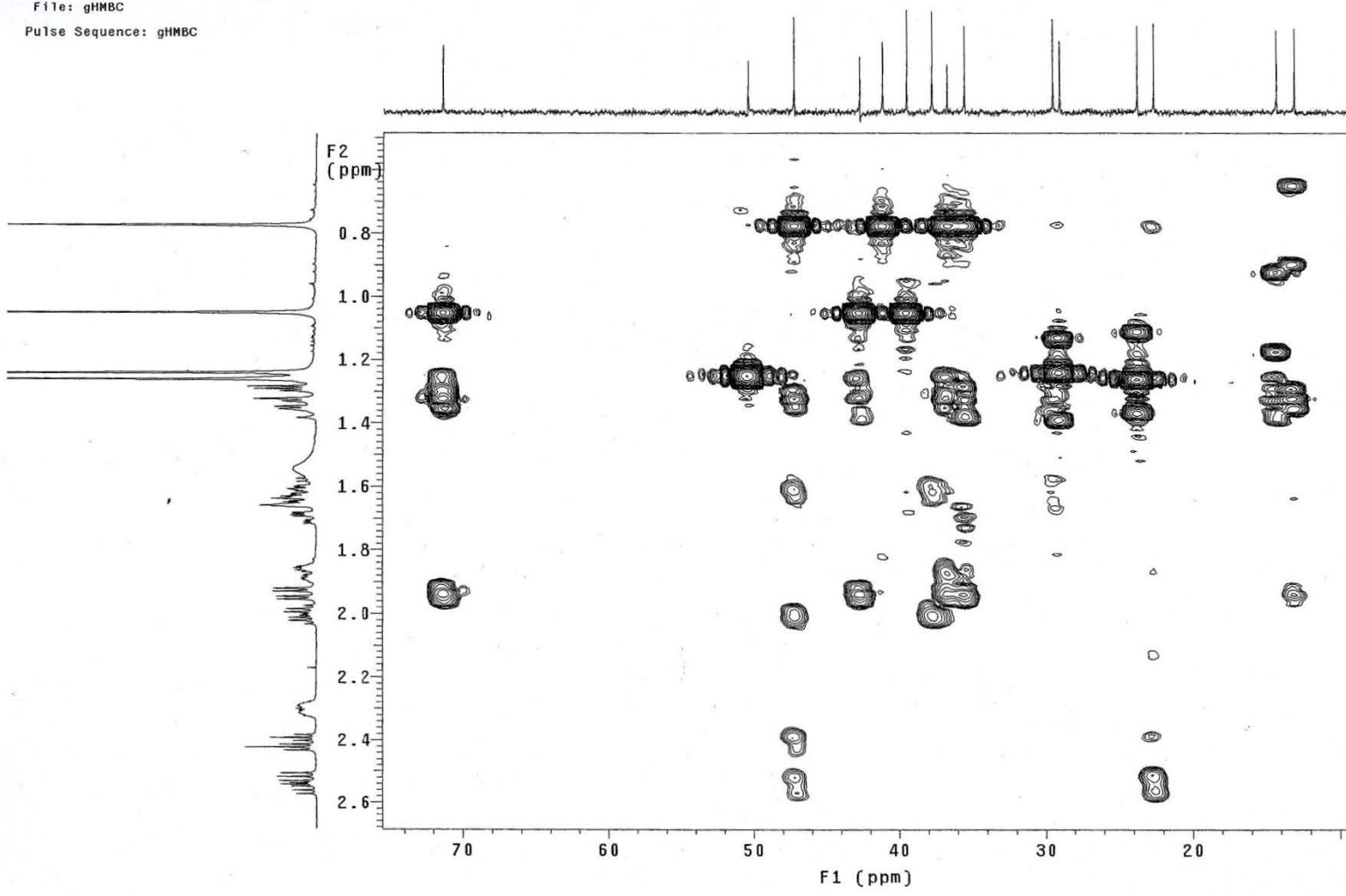
File: gHMBC
Pulse Sequence: gHMBC



Espectro 50. Experimento HMBC (CDCl₃, 500 MHz) de 12 α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (**57**)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-143
Disolvente: CDCl₃
Experimento HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 390
03-03-10

File: gHMBC
Pulse Sequence: gHMBC

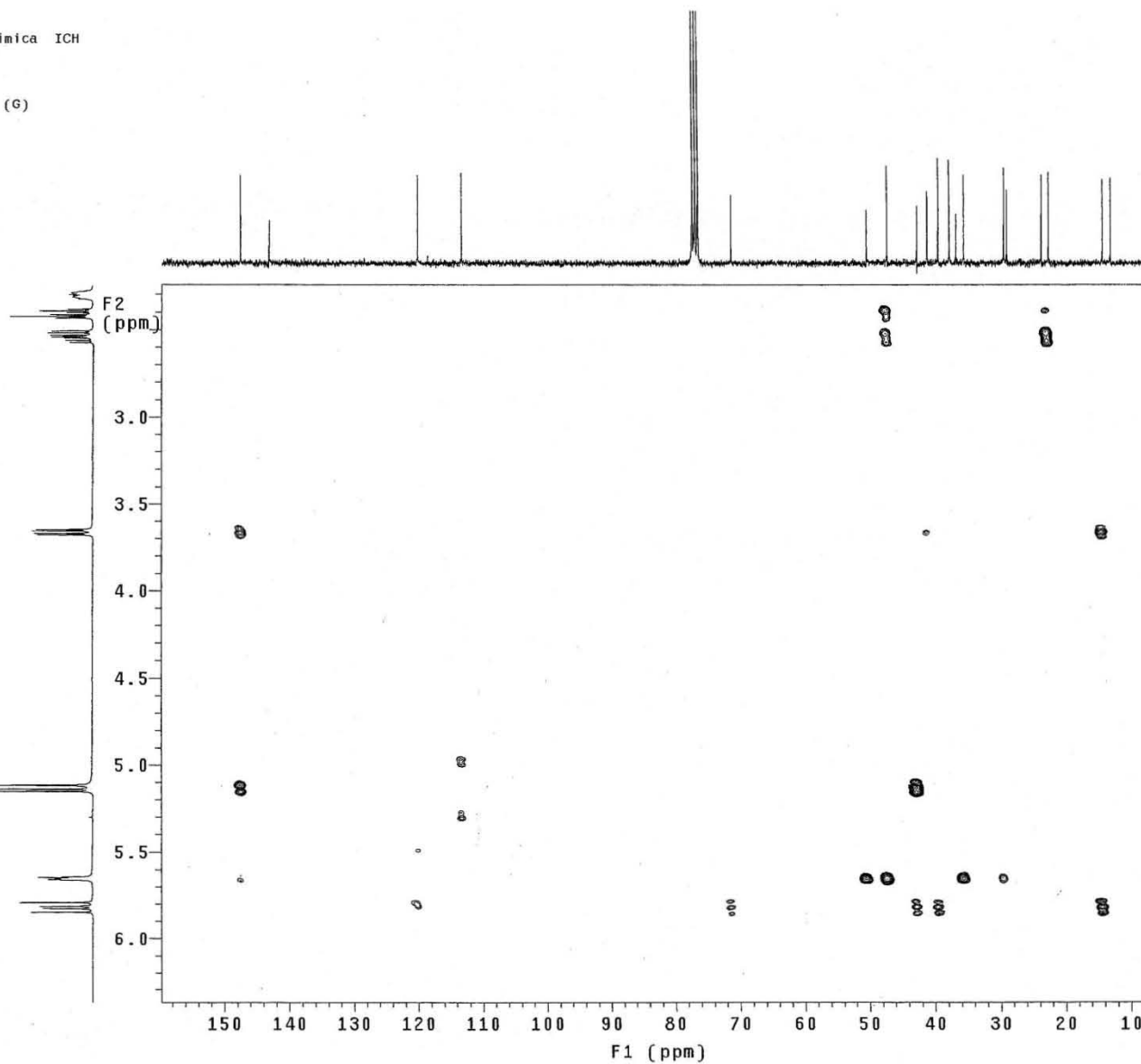


Espectro 51. Experimento HMBC (CDCl₃, 500 MHz) de 12 α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (57)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-143
Disolvente: CDCl₃
Experimento HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 390
03-03-10

File: gHMBC

Pulse Sequence: gHMBC

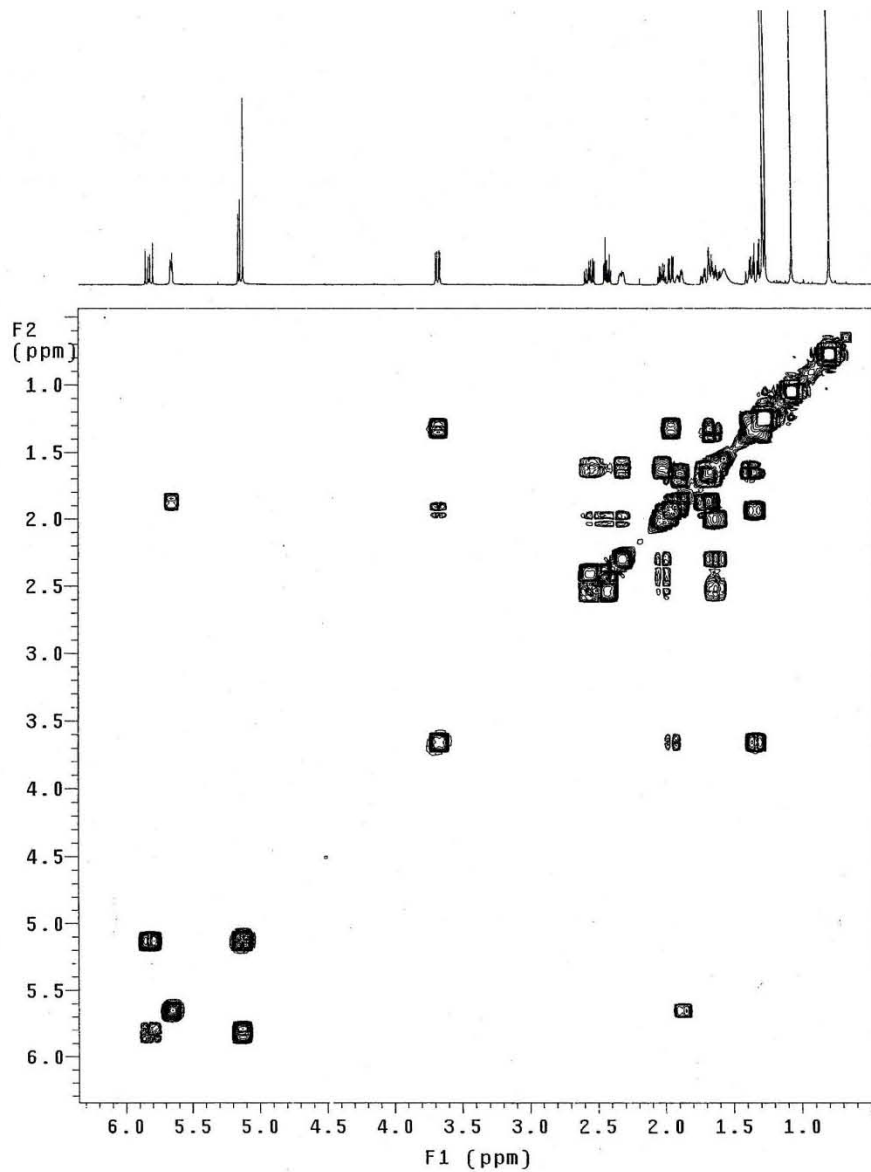
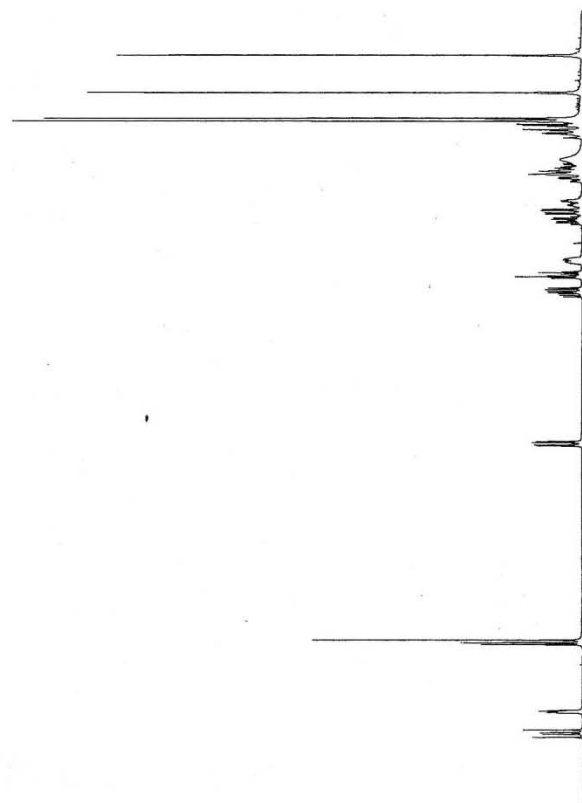


Espectro 52. Experimento HMBC (CDCl₃, 500 MHz) de 12 α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (**57**)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-143
Disolvente: CDC13
Experimento COSY
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 390
03-03-10

File: gCOSY

Pulse Sequence: gCOSY

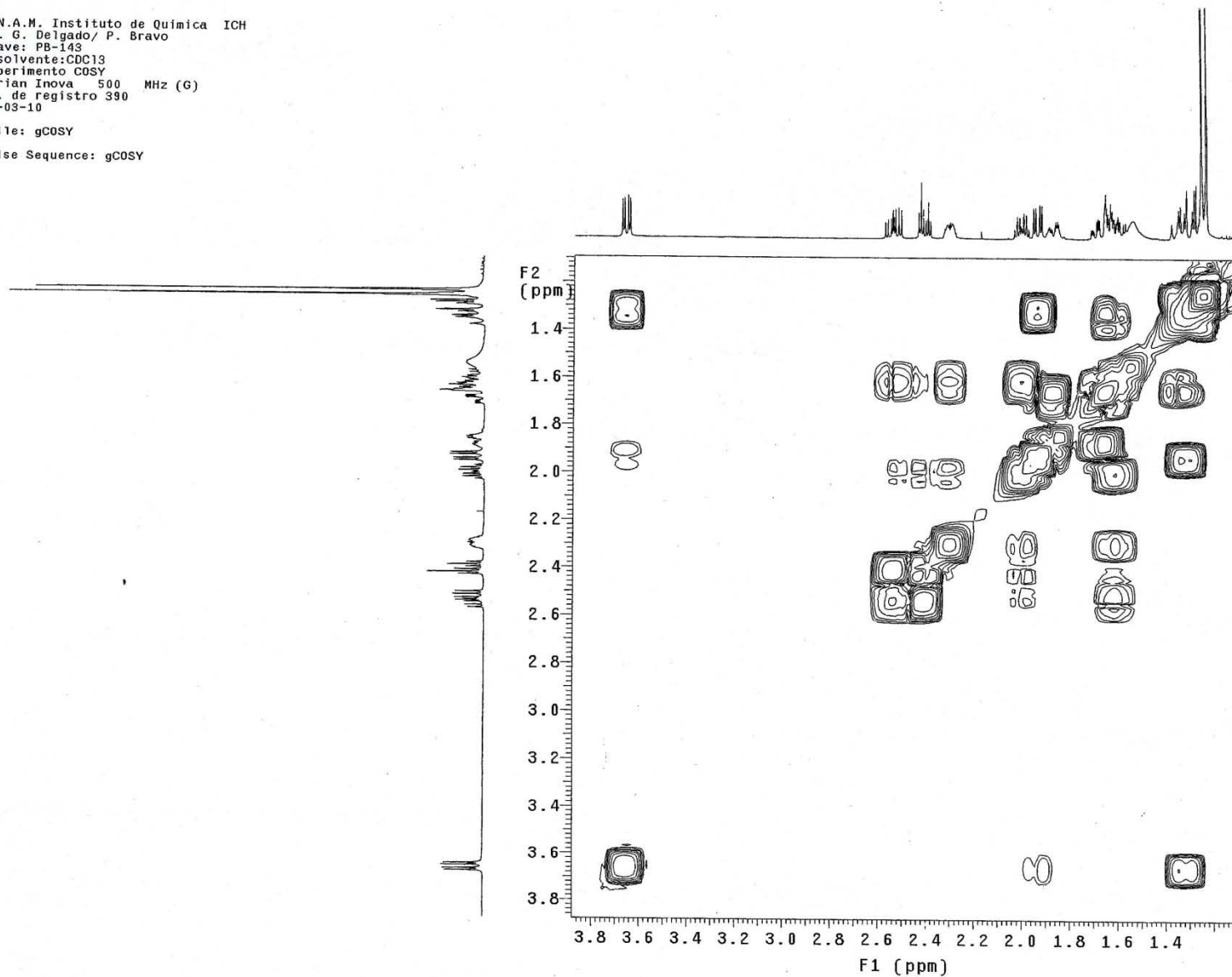


Espectro 53. Experimento COSY (CDCl_3 , 500 MHz) de 12α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (**57**)

U.N.A.M. Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-143
Disolvente: CDC13
Experimento COSY
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 390
03-03-10

File: gCOSY

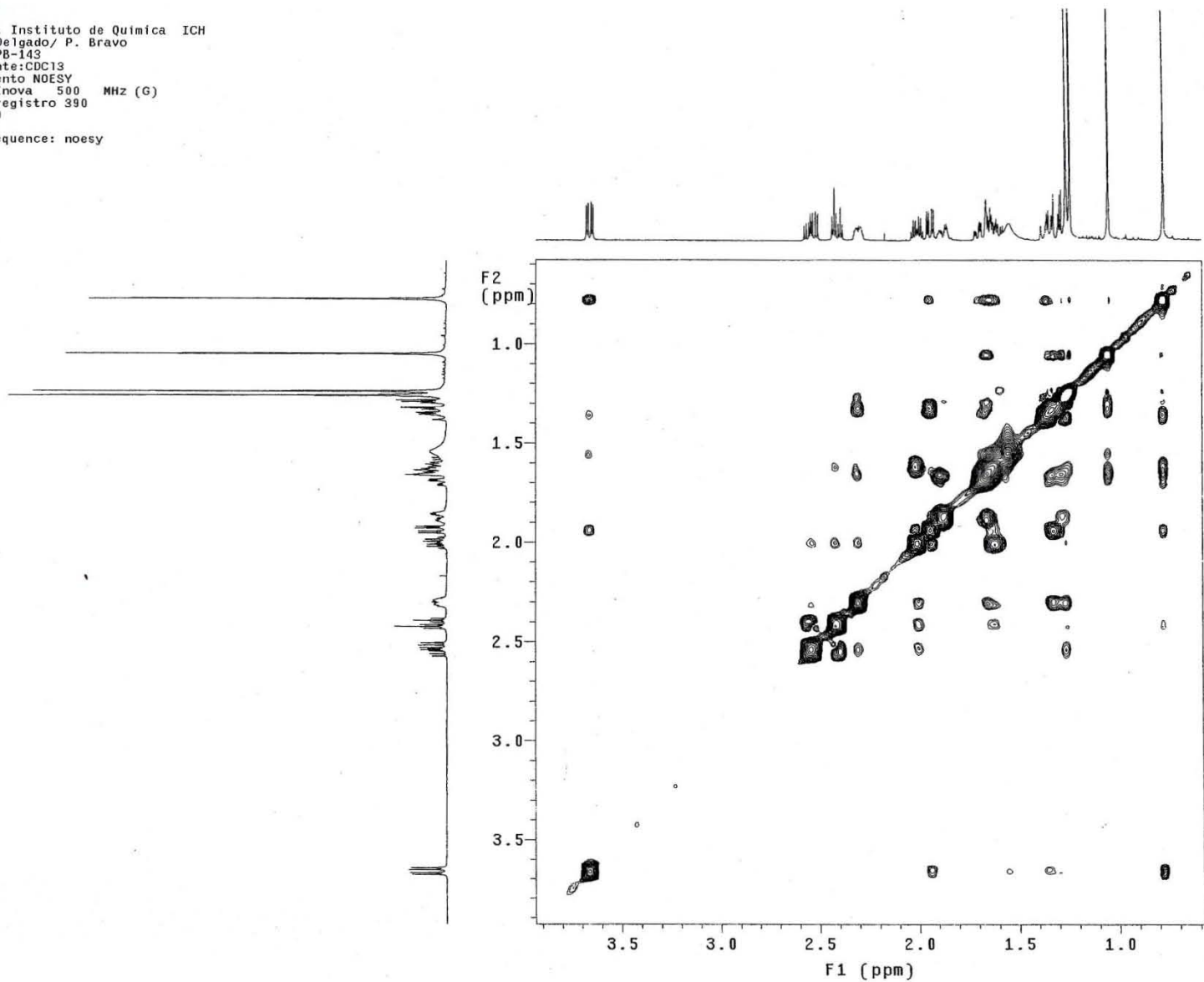
Pulse Sequence: gCOSY



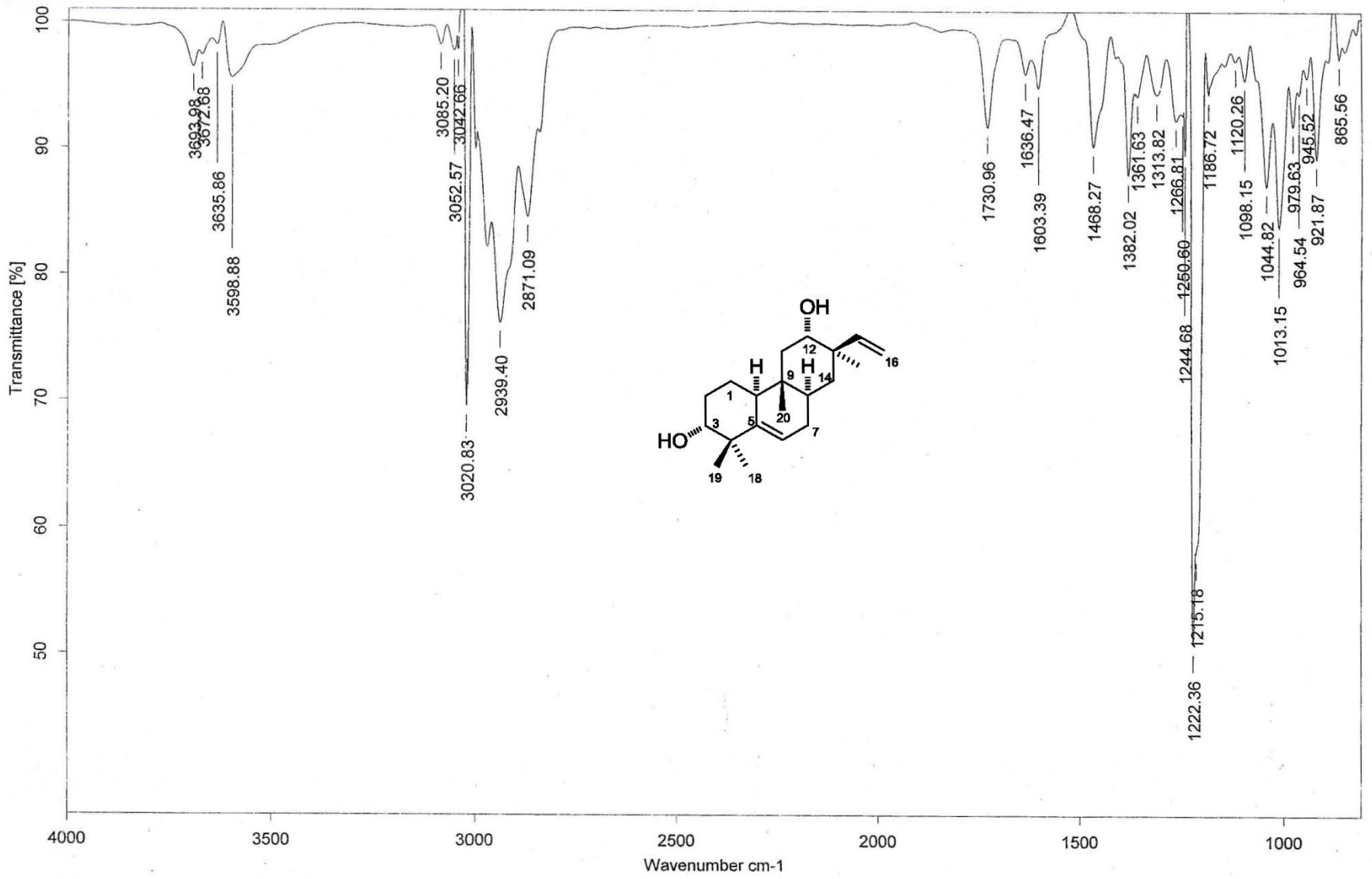
Espectro 54. Experimento COSY (CDCl_3 , 500 MHz) de 12α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (**57**)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/ P. Bravo
Clave: PB-143
Disolvente:CDCl₃
Experimento NOESY
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de registro 390
03-03-10

Pulse Sequence: noesy



Espectro 55. Experimento NOESY(CDCl₃, 500 MHz) de 12 α -hidroxi-5(6),15-rosadien-3-ona (**57**)



Espectro 56. IR (KBr) de 3α,12α-dihidroxi-5(6),15-rosadieno (58)

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Delgado-Guillermo-066 Date : 28-Sep-2010 16:30

Sample: 1602 PB-97 8E1 JeolAX505HA

Note : Javier-Perez

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

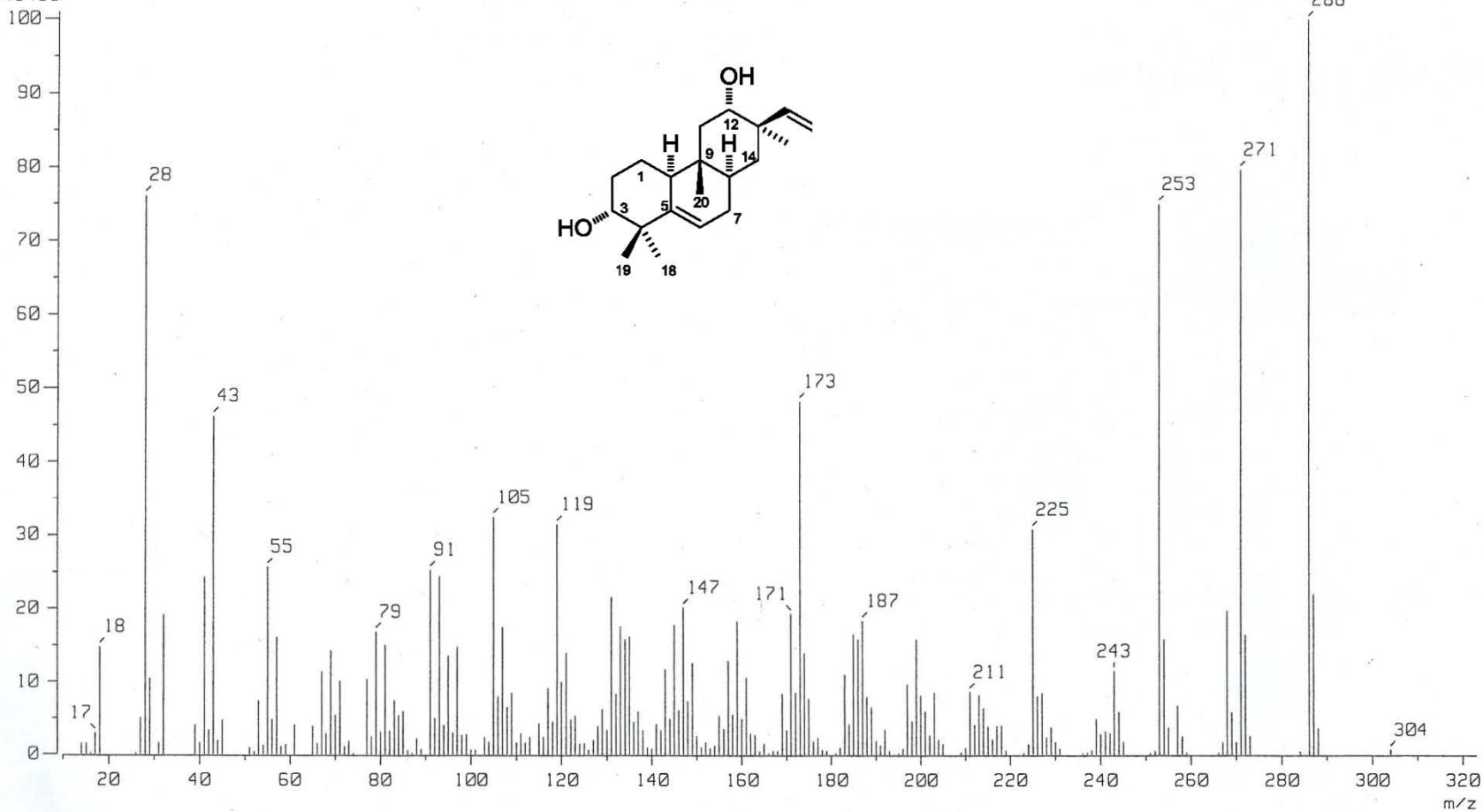
RT : 0.48 min Scan# : (12,15)

BP : m/z 286.0000 Int. : 231.02

Output m/z range : 10.0000 to 322.9525

Cut Level : 0.00 %

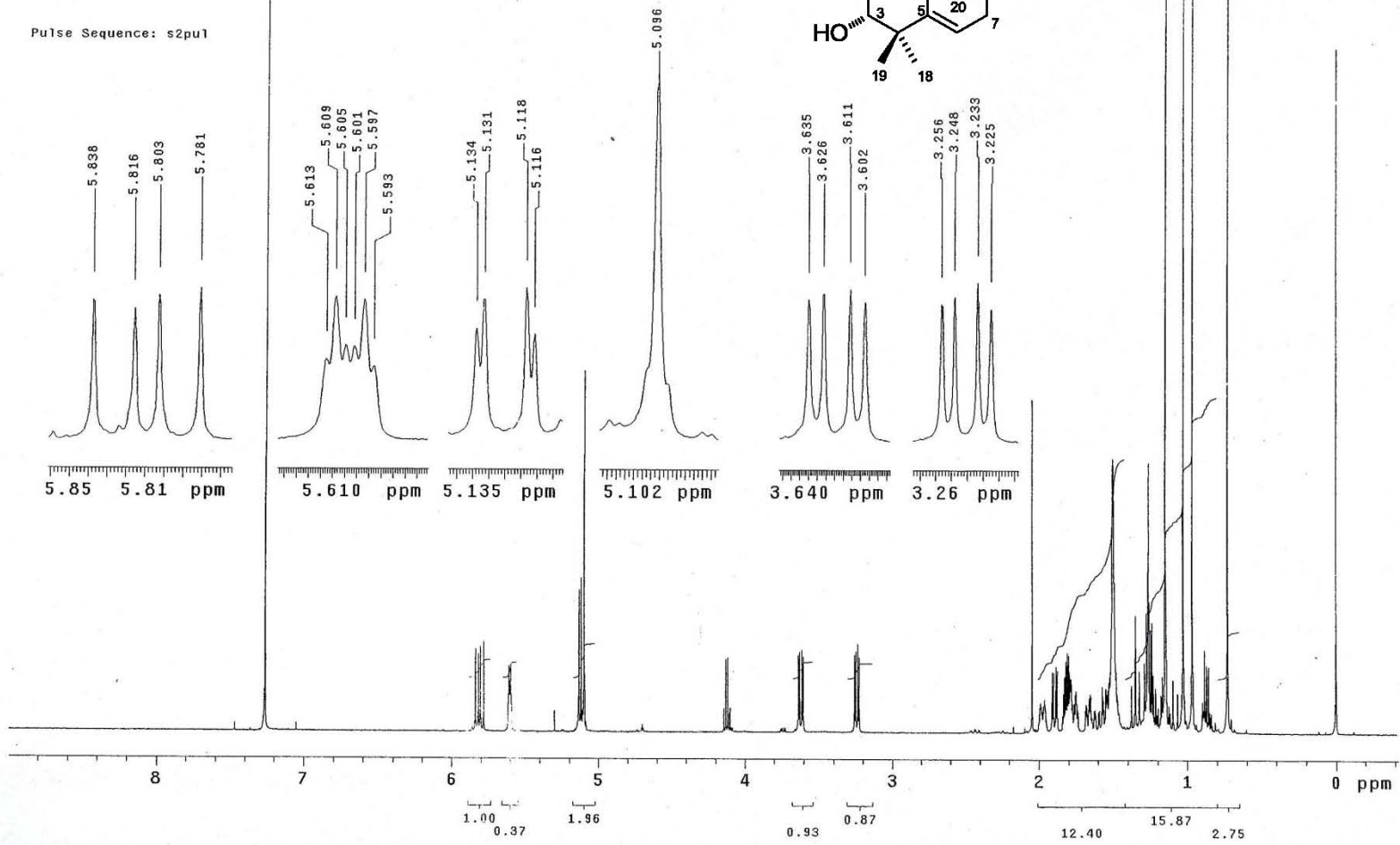
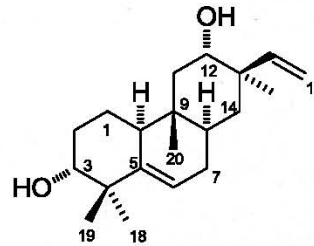
2443468



Espectro 57. EM-IE (70 eV) de 3α,12α-dihidroxi-5(6),15-rosadieno (58)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
 Dr. C. Delgado P. Bravo
 Clave: PB (97-102)A
 Disolvente: CDCl₃
 Experimento: HSQC
 Varian Inova 500 MHz (G)
 No. de Registro 2420
 20-11-09

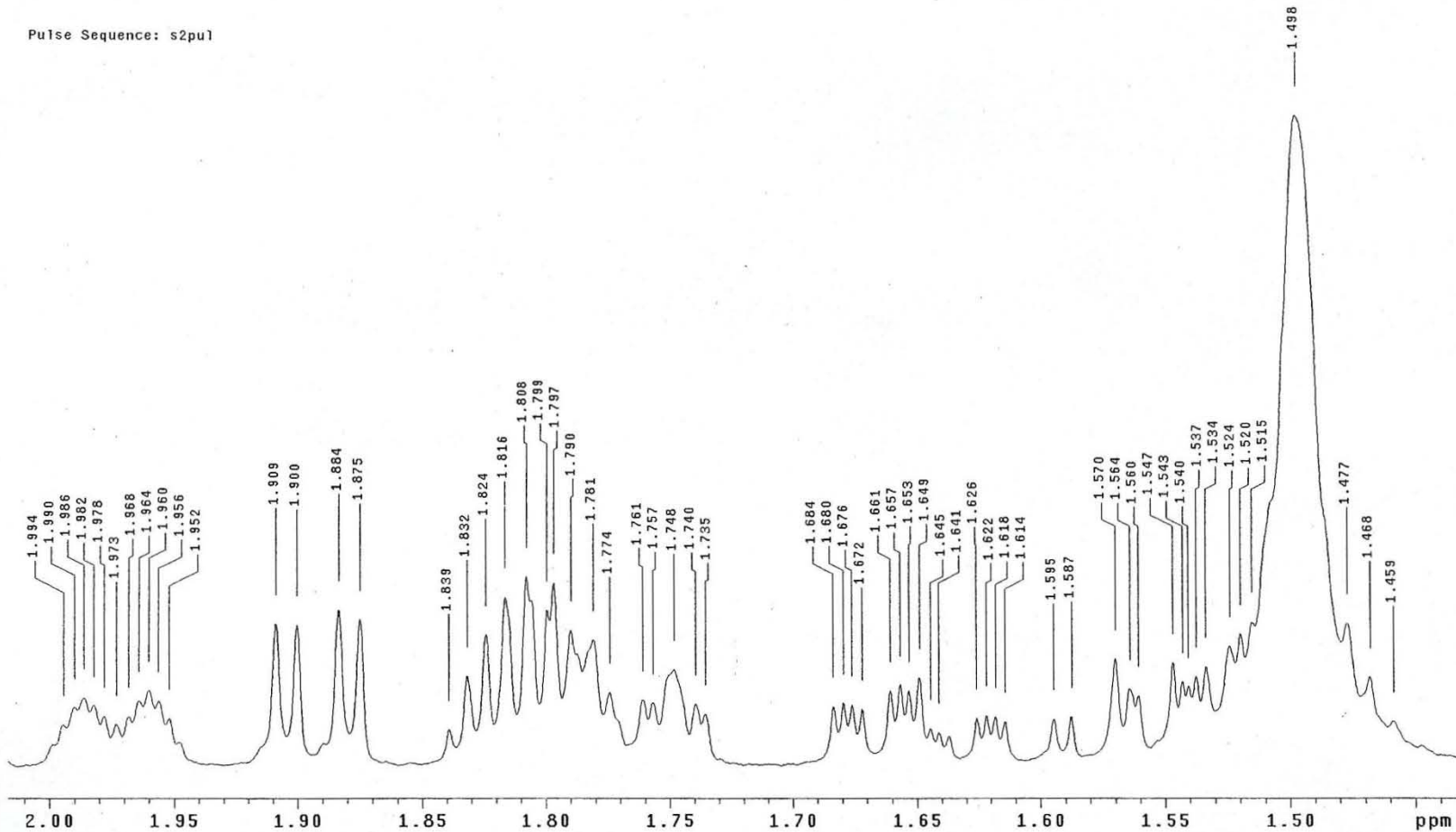
Pulse Sequence: s2pu1



Espectro 58. RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) de 3α,12α-dihidroxi-5(6),15-rosadieno (**58**)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave : PB (97-102)A
Disolvente: CDCl₃
Experimento : 1H
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de Registro 2420
20-11-09

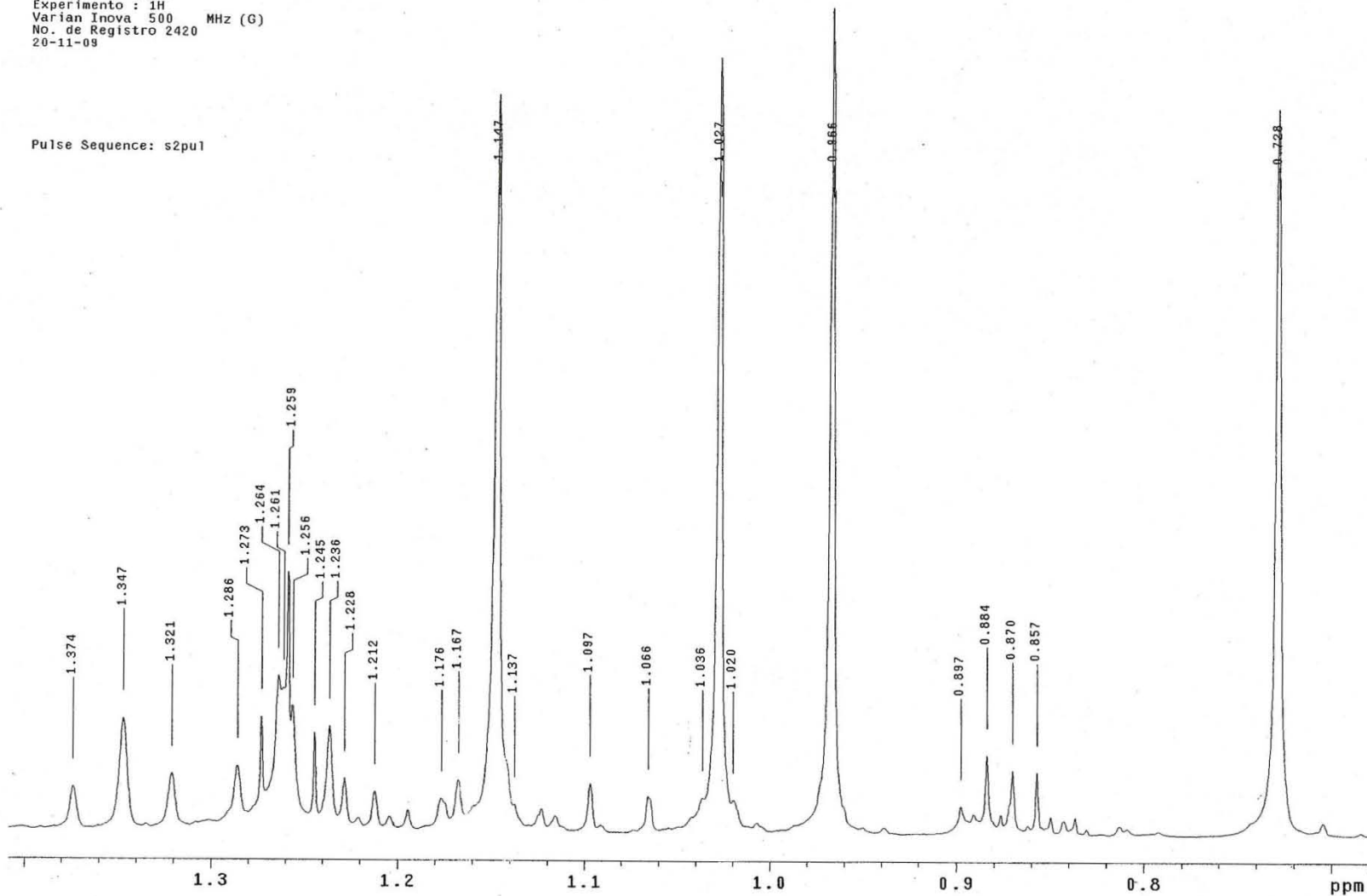
Pulse Sequence: s2pu1



Espectro 59. RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) de 3α,12α-dihidroxi-5(6),15-rosadieno (**58**)

U.N.A.M. Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave : PB (97-102)A
Disolvente: CDC13
Experimento : 1H
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de Registro 2420
20-11-09

Pulse Sequence: s2pu1

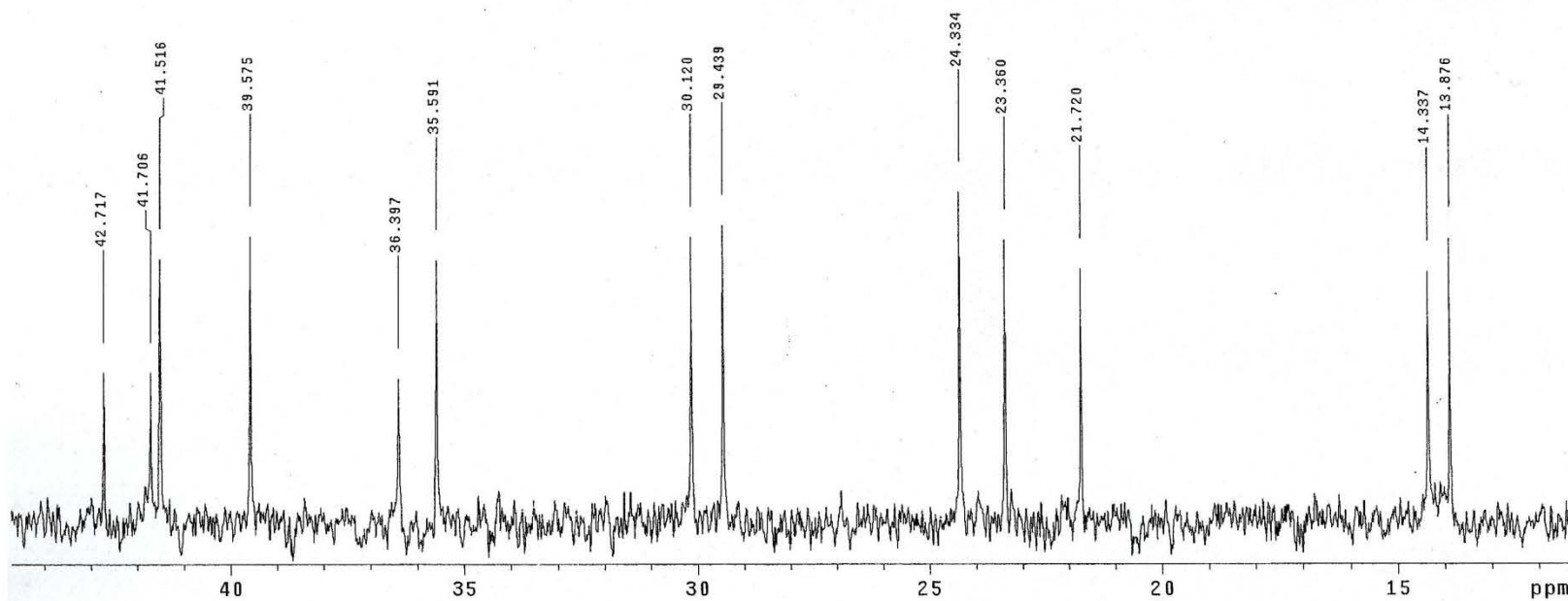


Espectro 60. RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de $3\alpha,12\alpha$ -dihidroxi-5(6),15-rosadieno (**58**)

U.N.A.M. Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave : PB (97-102)A
Disolvente: CDC13
Experimento : 13C
Varian Inova 125 MHz (G)
No. de Registro 2420
20-11-09

File: Carbon

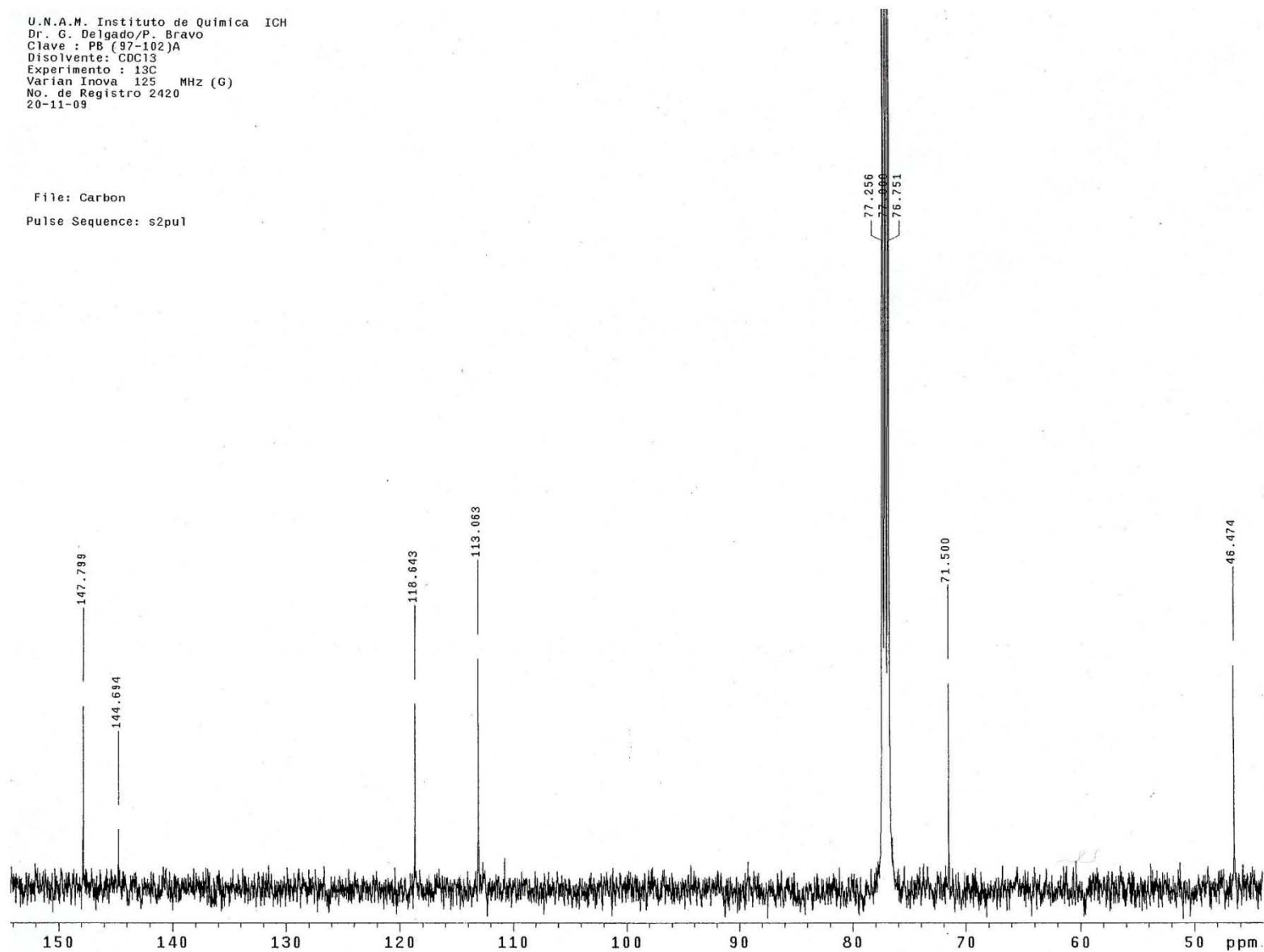
Pulse Sequence: s2pu1



Espectro 61. RMN ¹³C (CDCl₃, 500 MHz) de 3 α ,12 α -dihidroxi-5(6),15-rosadieno (**58**)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave : PB (97-102)A
Disolvente: CDCl₃
Experimento : 13C
Varian Inova 125 MHz (G)
No. de Registro 2420
20-11-09

File: Carbon
Pulse Sequence: s2pu1

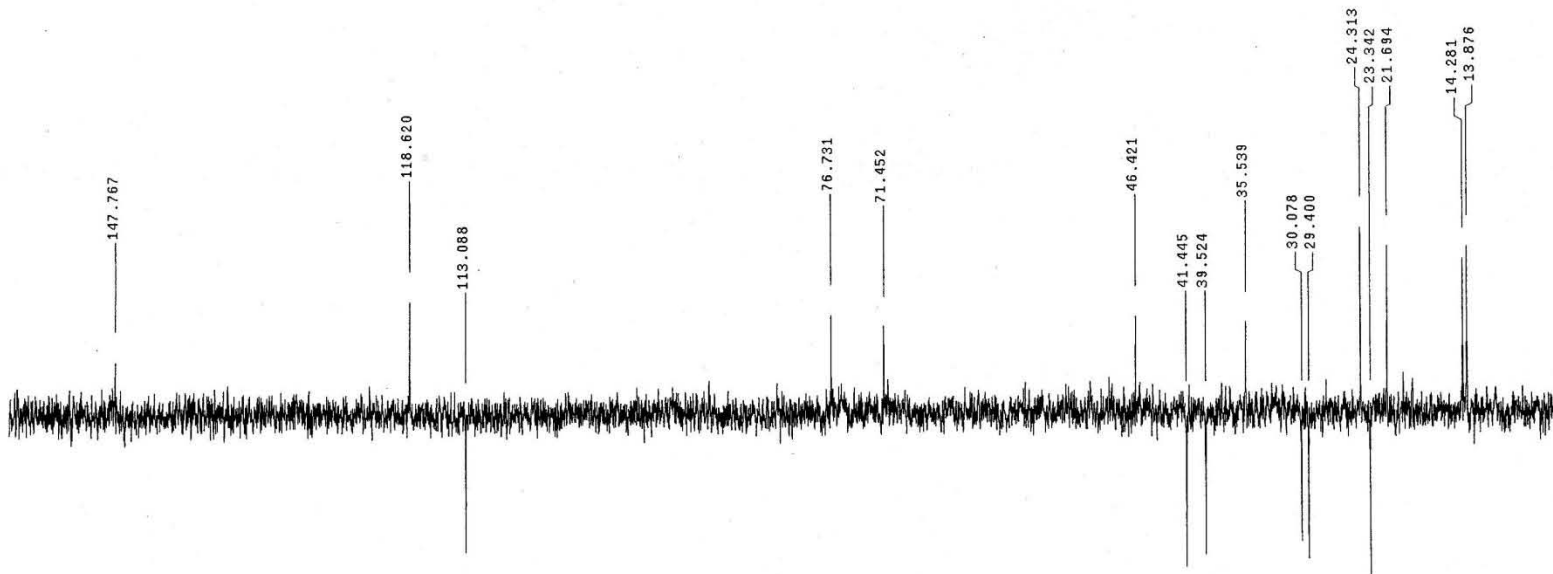


Espectro 62. RMN ¹³C (CDCl₃, 125 MHz) de 3α,12α-dihidroxi-5(6),15-rosadieno (**58**)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave: PB (97-102)A
Disolvente: CDCl₃
Experimento: DEPT
Varian Inova 125 MHz (G)
No. de Registro 2420
20-11-09

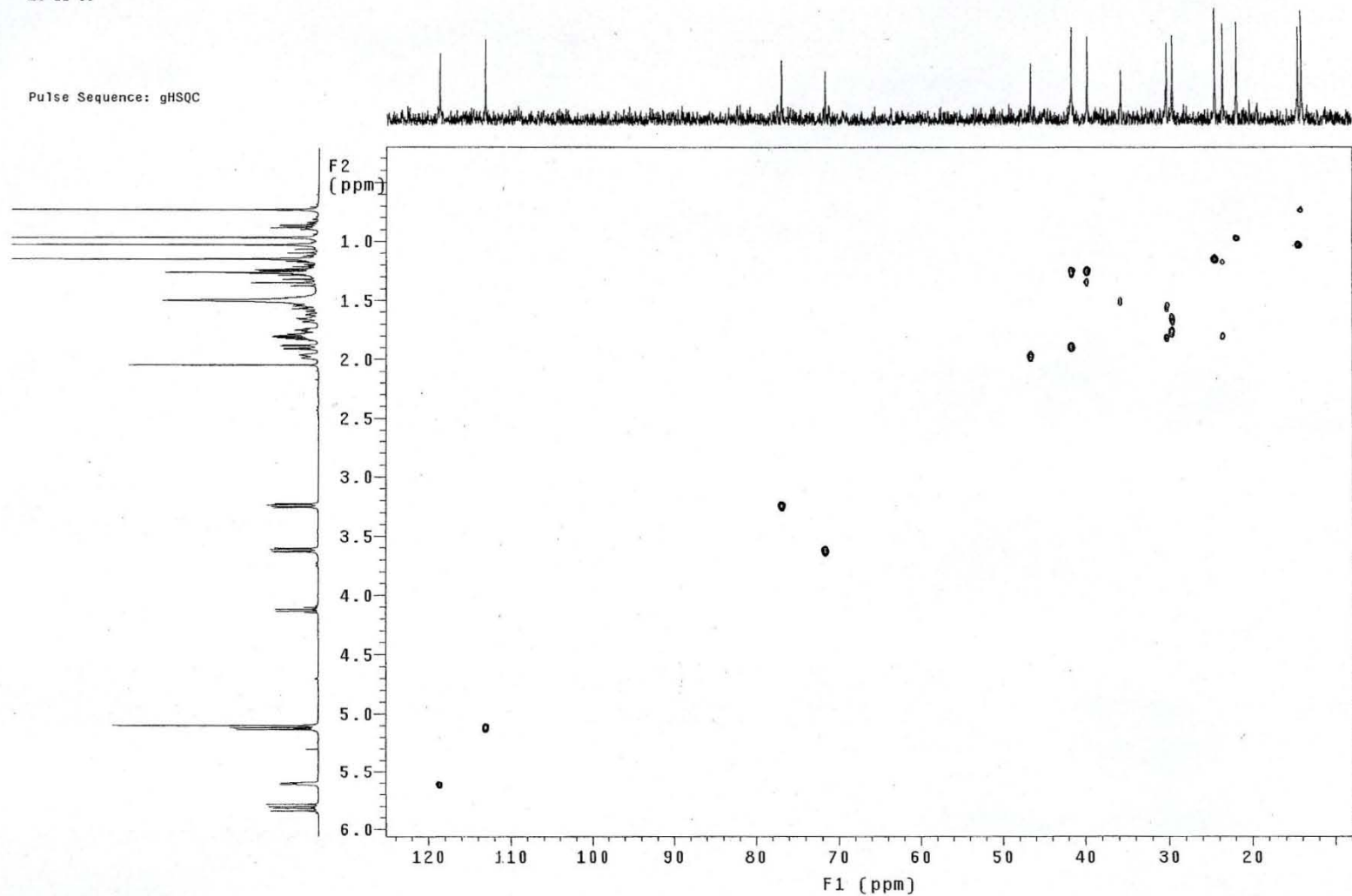
File: Dept

Pulse Sequence: DEPT



U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave : PB (97-102)A
Disolvente: CDCl₃
Experimento : HSQC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de Registro 2420
20-11-09

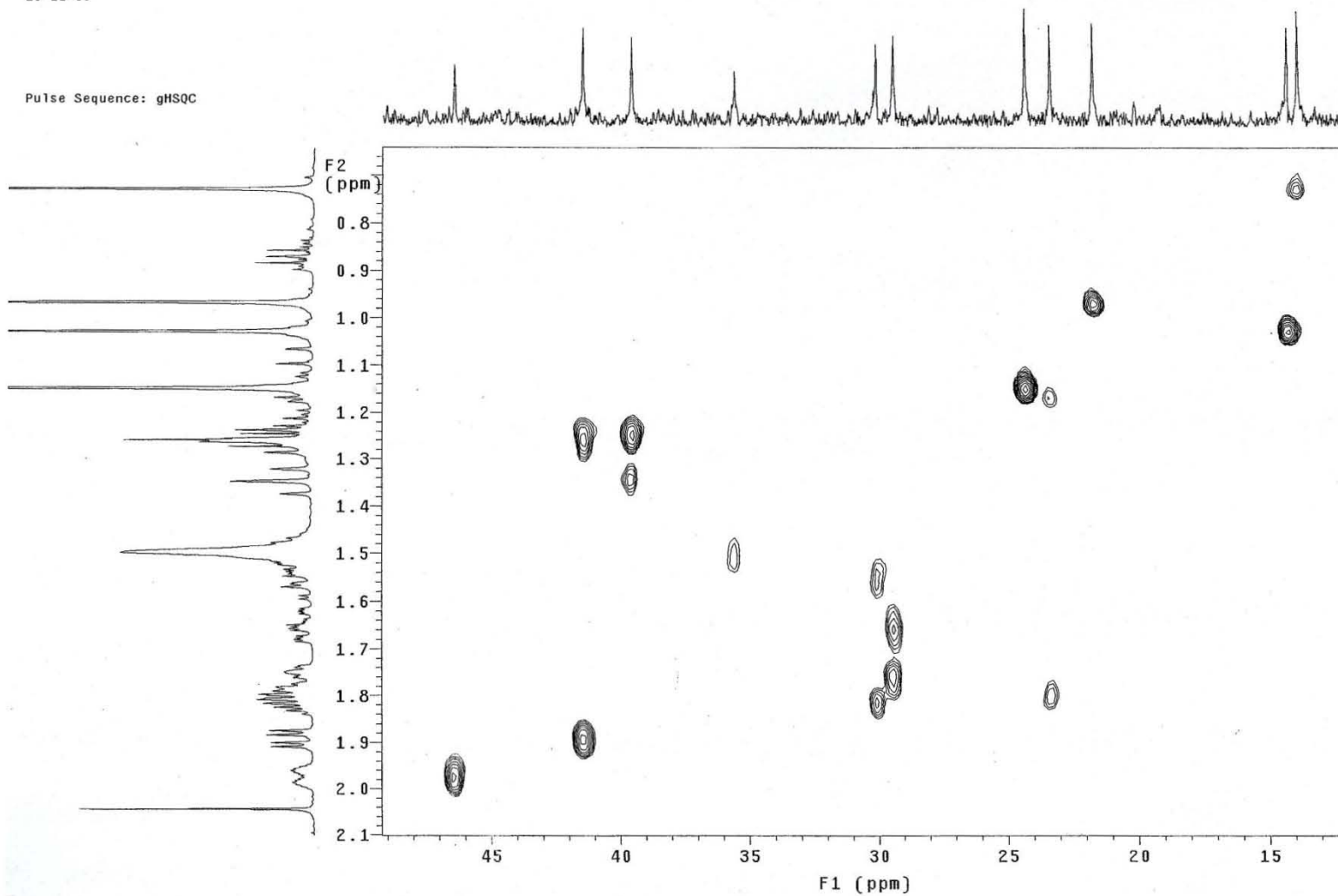
Pulse Sequence: gHSQC



Espectro 64. Experimento HSQC (CDCl₃, 500 MHz) de 3 α ,12 α -dihidroxi-5(6),15-rosadieno (58)

U.N.A.M. Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave : PB (97-102)A
Disolvente: CDCl₃
Experimento : HSQC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de Registro 2420
20-11-09

Pulse Sequence: gHSQC

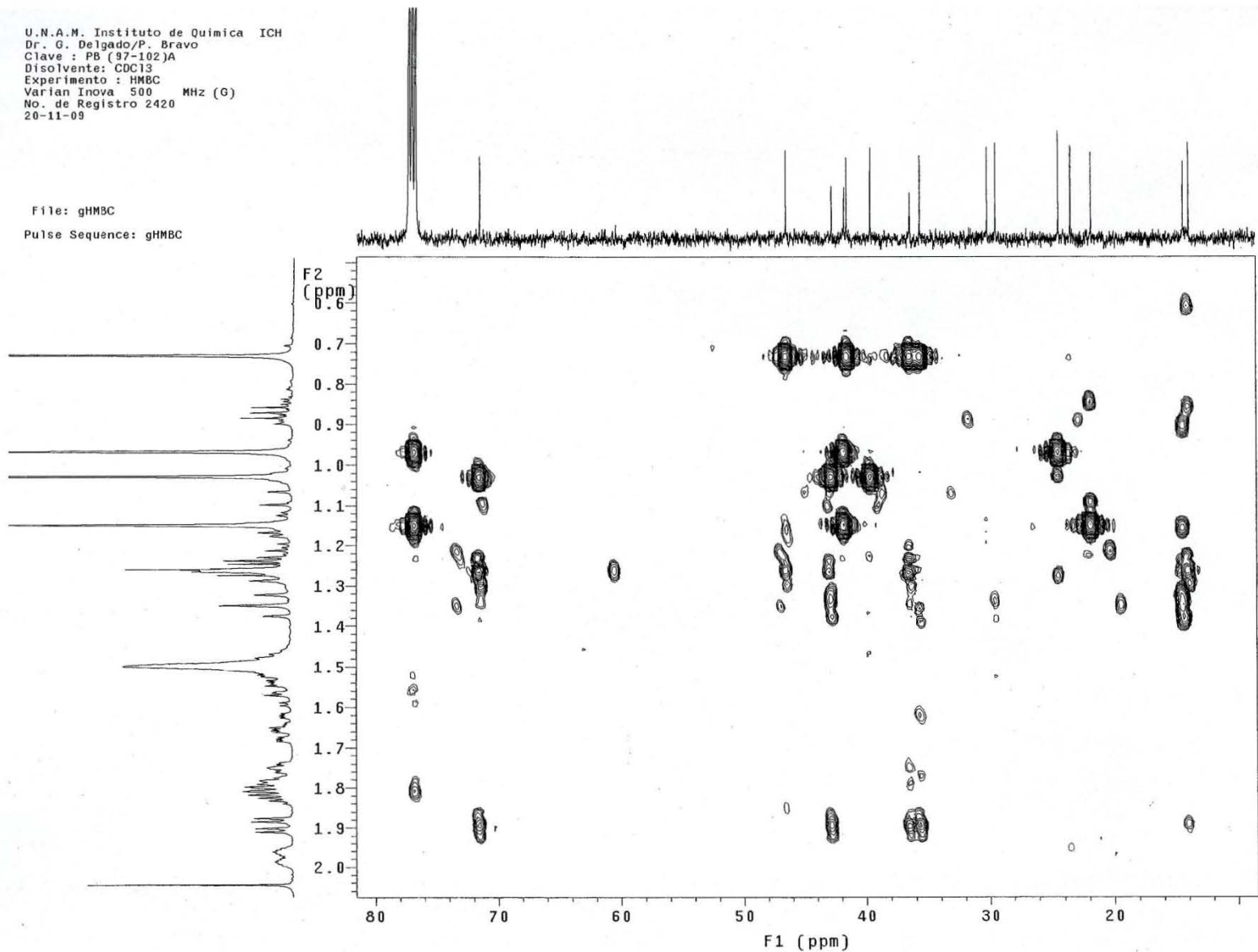


Espectro 65. Experimento HSQC (CDCl₃, 500 MHz) de 3 α ,12 α -dihidroxi-5(6),15-rosadieno (58)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave : PB (97-102)A
Disolvente: CDCl₃
Experimento : HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de Registro 2420
20-11-09

File: gHMBC

Pulse Sequence: gHMBC

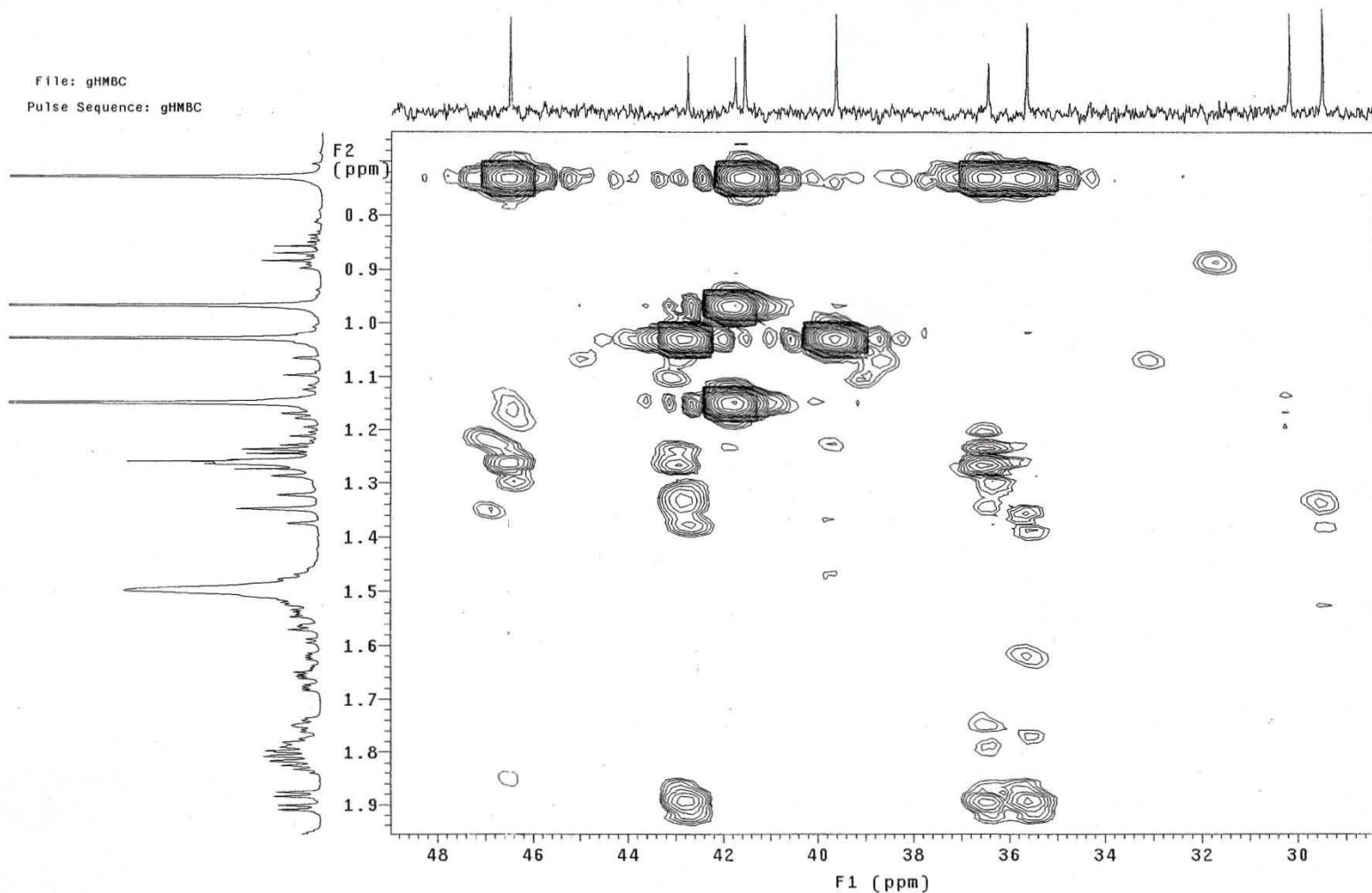


Espectro 66. Experimento HMBC (CDCl₃, 500 MHz) de 3 α ,12 α -dihidroxi-5(6),15-rosadieno (**58**)

U.N.A.M. Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave : PB (97-102)A
Disolvente: CDCl₃
Experimento : HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de Registro 2420
20-11-09

File: gHMBC

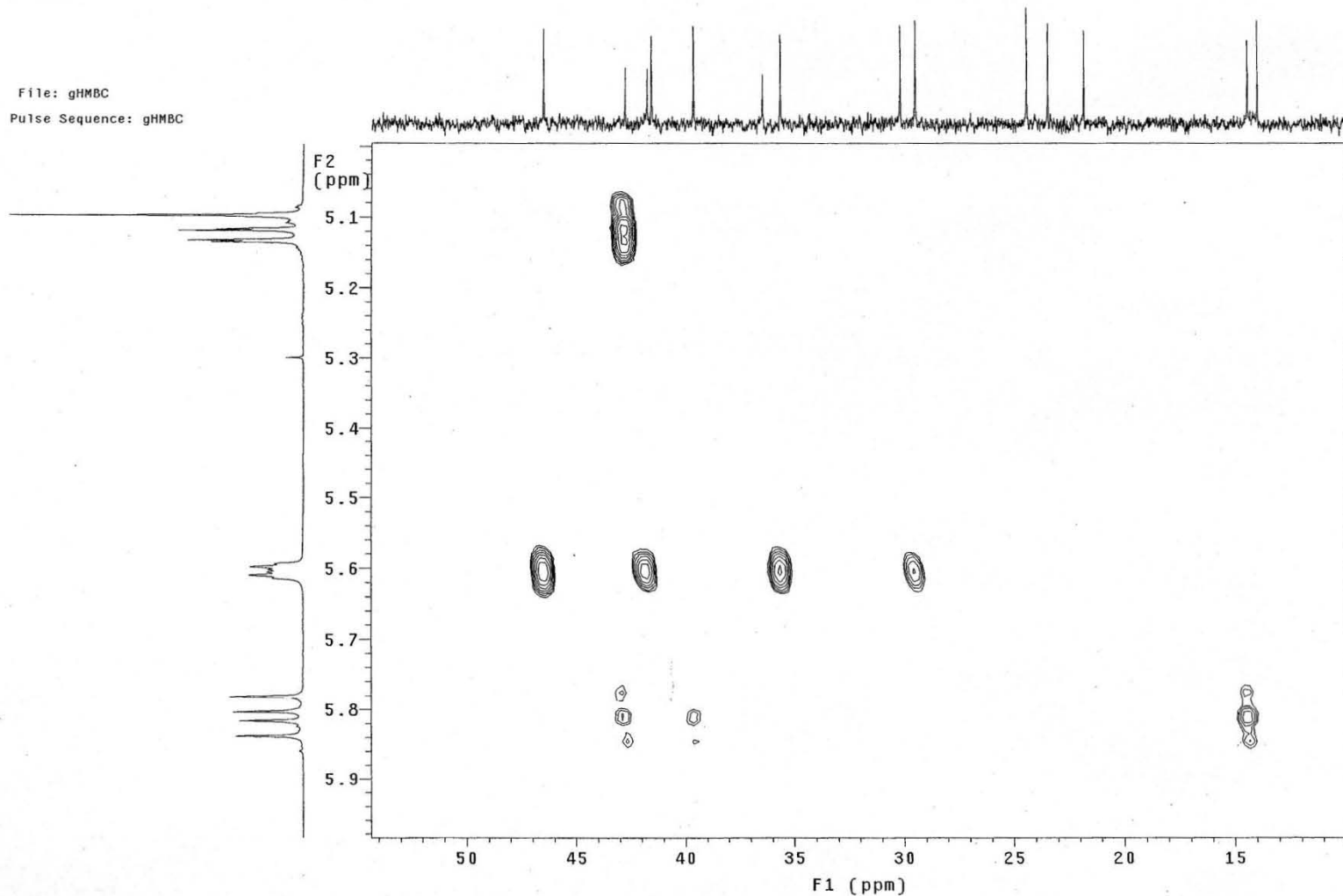
Pulse Sequence: gHMBC



Espectro 67. Experimento HMBC (CDCl₃, 500 MHz) de 3 α ,12 α -dihidroxi-5(6),15-rosadieno (58)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave : PB (97-102)A
Disolvente: CDCl₃
Experimento : HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de Registro 2420
20-11-09

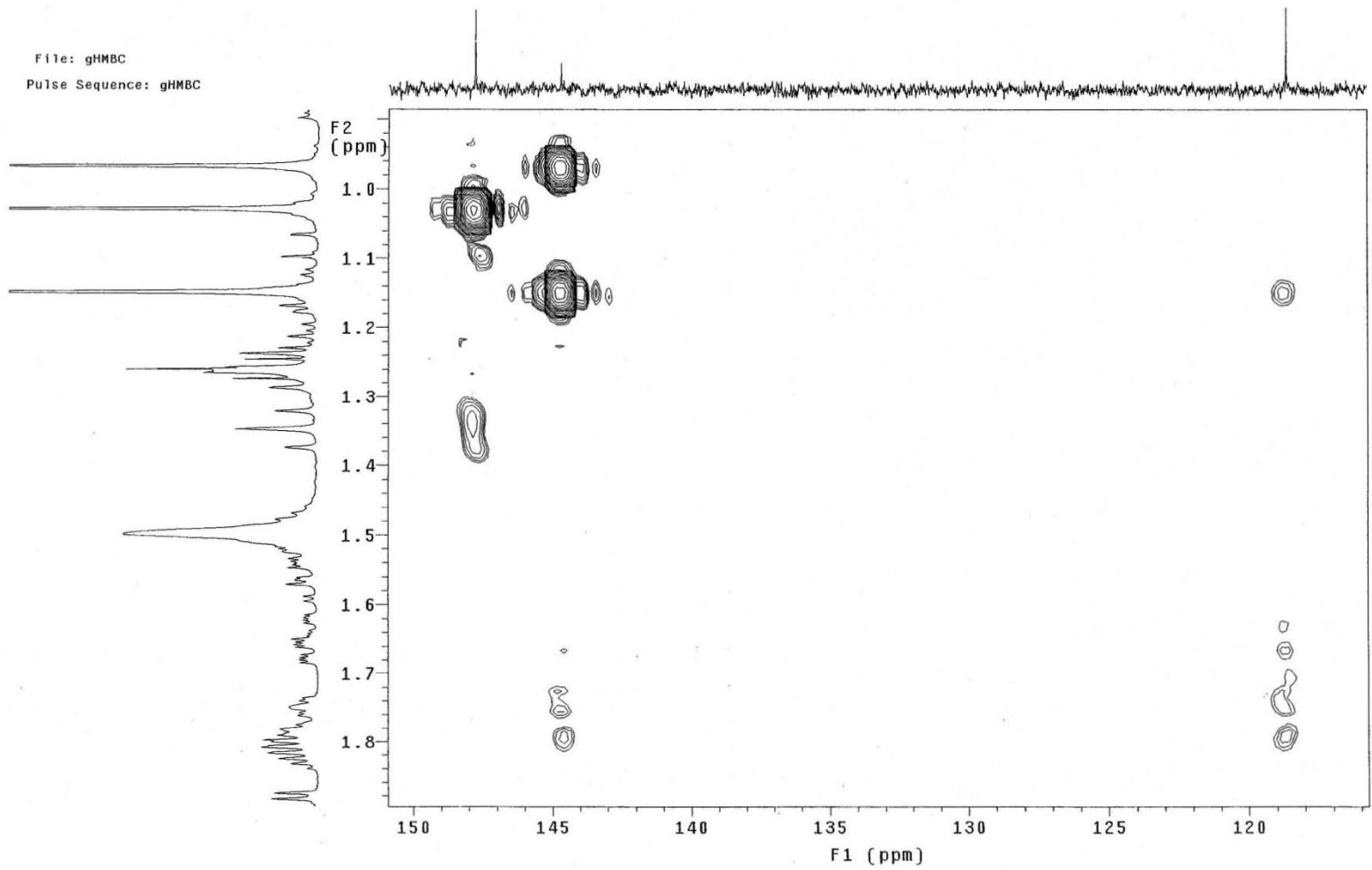
File: gHMBC
Pulse Sequence: gHMBC



Espectro 68. Experimento HMBC (CDCl₃, 500 MHz) de 3 α ,12 α -dihidroxi-5(6),15-rosadieno (58)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave : PB (97-102)A
Disolvente: CDCl₃
Experimento : HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de Registro 2420
20-11-09

File: gHMBC
Pulse Sequence: gHMBC

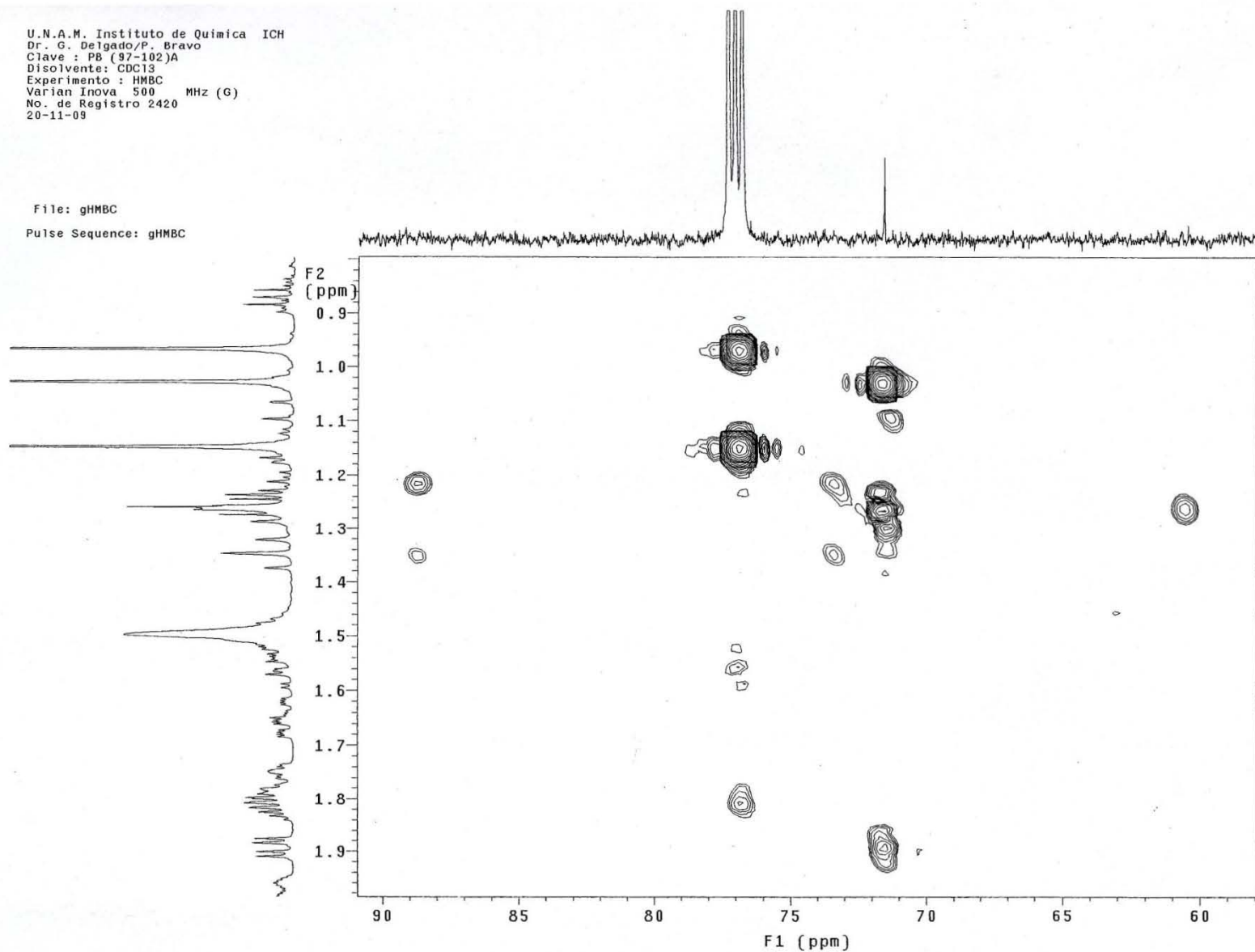


Espectro 69. Experimento HMBC (CDCl₃, 500 MHz) de 3 α ,12 α -dihidroxi-5(6),15-rosadieno (58)

U.N.A.M. Instituto de Quimica ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave : PB (97-102)A
Disolvente: CDCl₃
Experimento : HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de Registro 2420
20-11-09

File: gHMBC

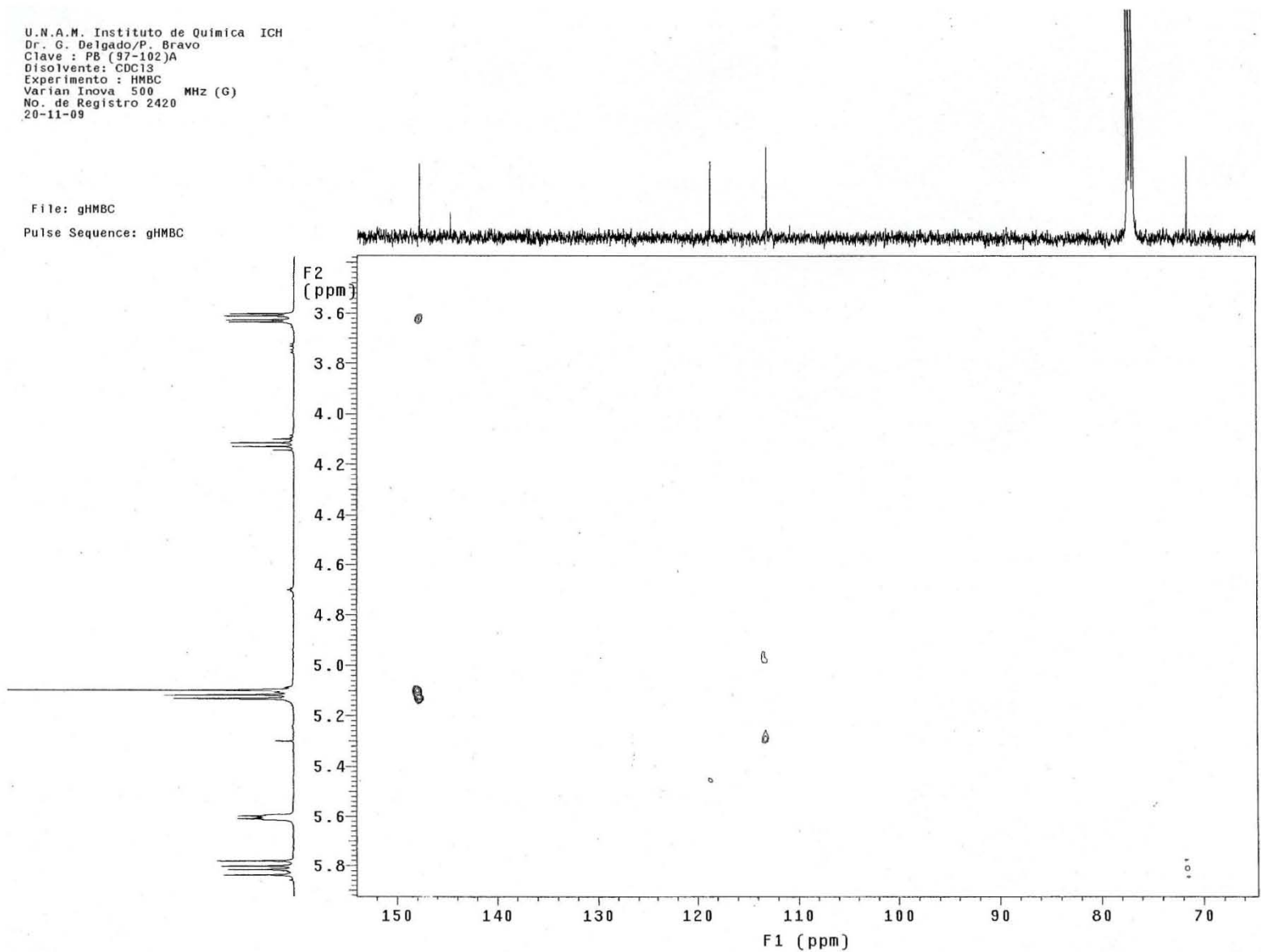
Pulse Sequence: gHMBC



Espectro 70. Experimento HMBC (CDCl₃, 500 MHz) de 3 α ,12 α -dihidroxi-5(6),15-rosadieno (**58**)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave : PB (97-102)A
Disolvente : CDCl₃
Experimento : HMBC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de Registro 2420
20-11-09

File: gHMBC
Pulse Sequence: gHMBC

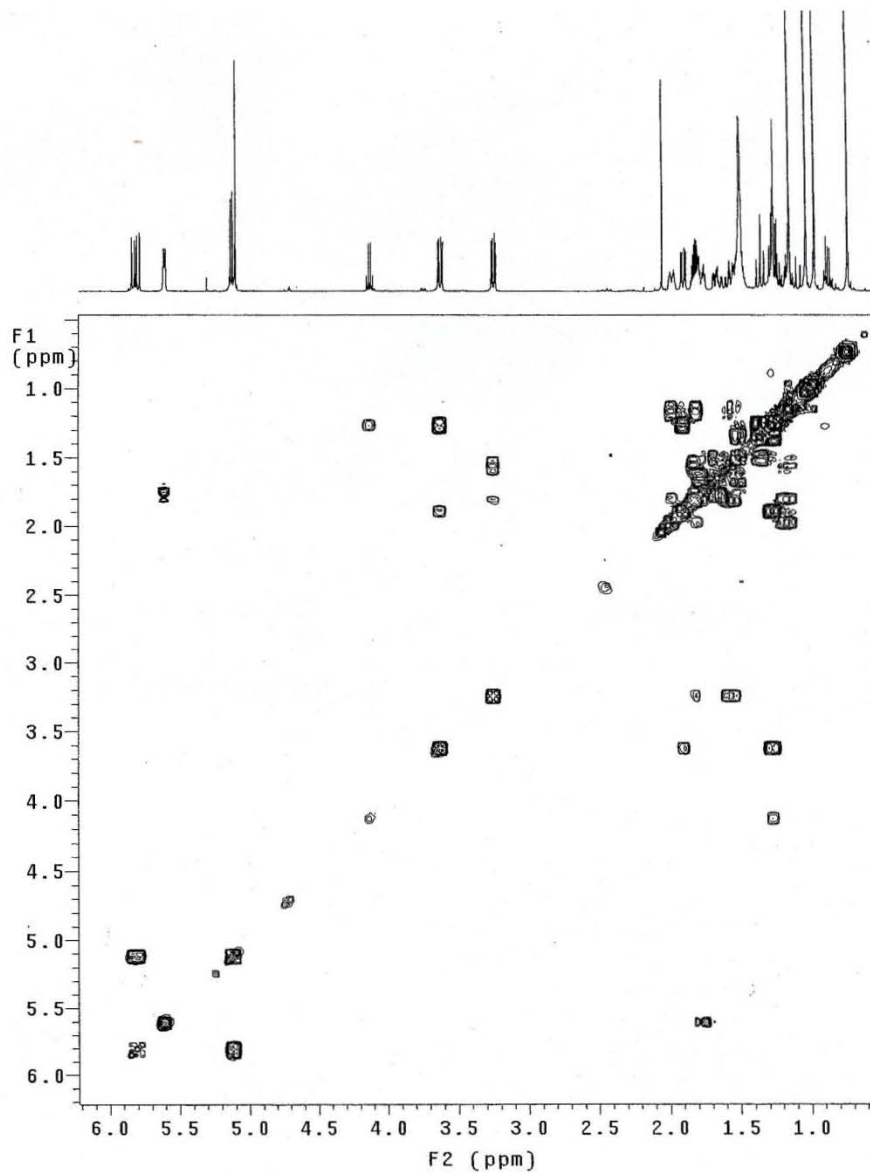
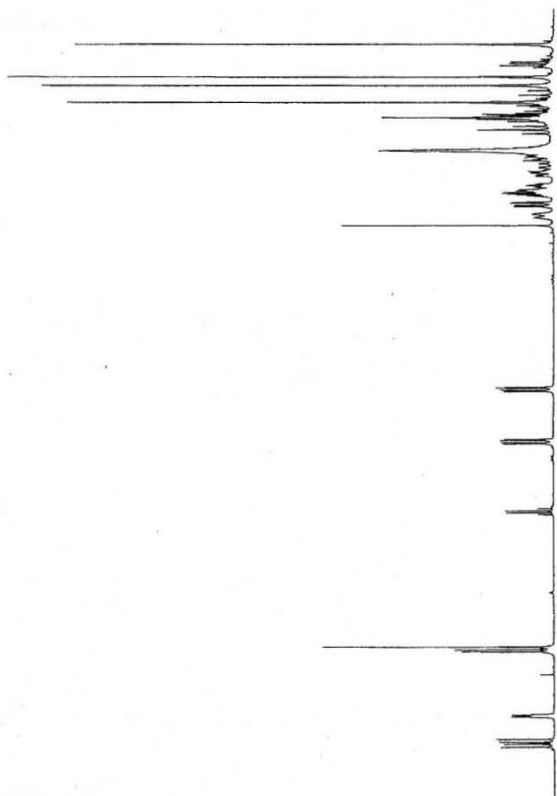


Espectro 71. Experimento HMBC (CDCl₃, 500 MHz) de 3 α ,12 α -dihidroxi-5(6),15-rosadieno (58)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave : PB (97-102)A
Disolvente: CDCl₃
Experimento : COSY
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de Registro 2420
20-11-09

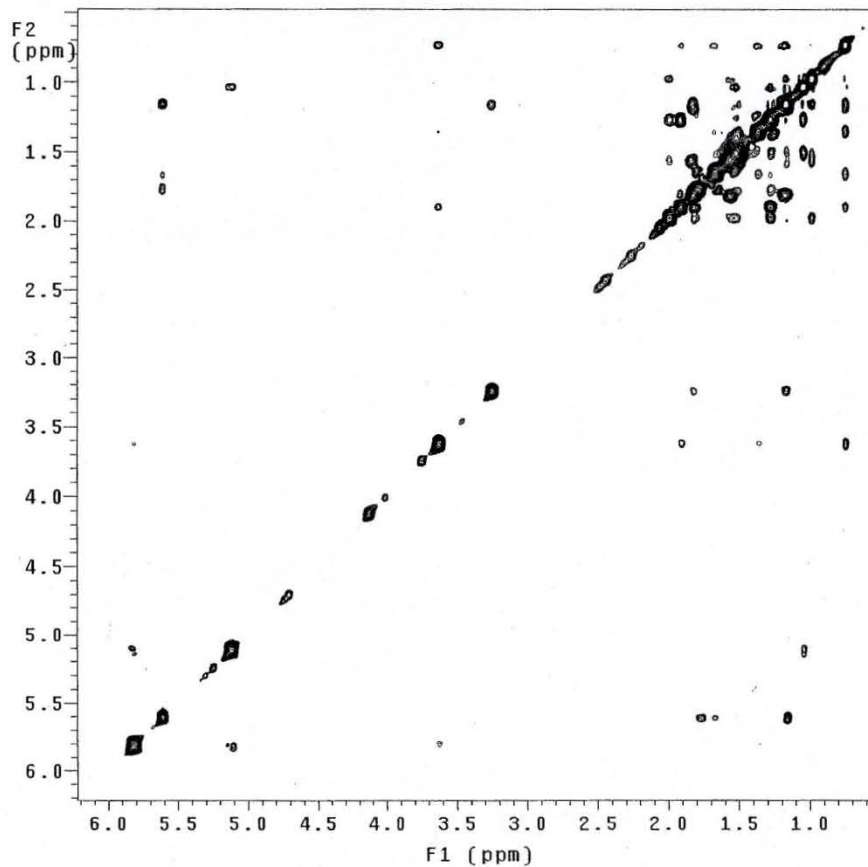
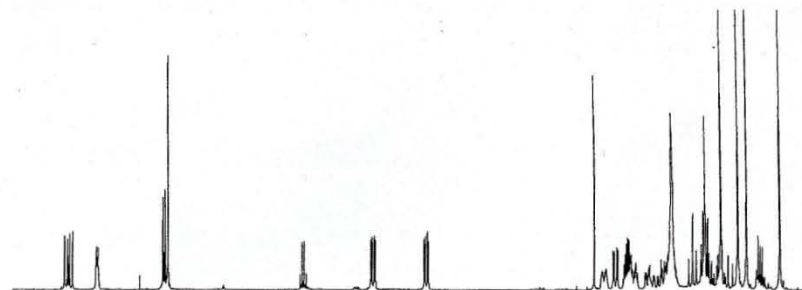
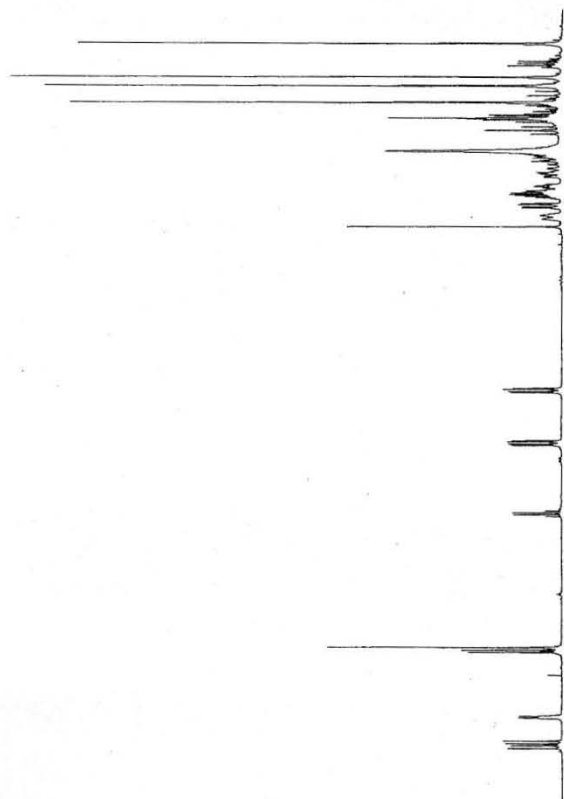
File: gCOSY

Pulse Sequence: gCOSY



U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave : PB (97-102)A
Disolvente: CDCl₃
Experimento : NOESY
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de Registro 2420
20-11-09

Pulse Sequence: noesy



Espectro 73. Experimento NOESY (CDCl₃, 500 MHz) de 3 α ,12 α -dihidroxi-5(6),15-rosadieno (58)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. G. Delgado/P. Bravo
Clave : PB (97-102)A
Disolvente: CDCl₃
Experimento : NOESY
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de Registro 2420
20-11-09

Pulse Sequence: noesy

