



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

**ESTUDIO DE LAS RESINAS GLICOSÍDICAS
DE TRES VARIEDADES DEL CAMOTE
(*IPOMOEA BATATAS*)**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. EN C. DANIEL GENARO ROSAS RAMÍREZ



TUTOR: DR. ROGELIO PEREDA MIRANDA 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

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

- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento de esta investigación (proyecto número: 101380) y por la beca escolar (número de becario: 215012).
- A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (proyecto número: IN217310).
- Al Dr. Robert Bye, investigador del Jardín Botánico del Instituto de Biología (UNAM), por la identificación de las muestra vegetales de *Ipomoea batatas*.
- A la M. en C. Rosa Isela del Villar de la Unidad de Servicios y Apoyo a la Investigación (USAI), de la Facultad de Química (UNAM), por el registro de los espectros de RMN.
- A la M. en C. Georgina Duarte Lisci y a la Q.F.B. Margarita Guzmán Villanueva de la USAI, de la Facultad de Química (UNAM), por el registro de los espectros de masas.
- Al Dr. Carlos Martín Cerda García-Rojas del Departamento de Química del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional por la asistencia brindada en la determinación de las rotaciones ópticas.
- A los miembros del jurado por las correcciones sugeridas para lograr el mejoramiento del manuscrito de tesis.
- A los miembros del Comité Tutor, al Dr. Alexandre Cardoso Taketa y el Dr. Ricardo Reyes Chilpa por su ayuda constante y vigilancia crítica durante el desarrollo de la presente investigación.
- A la Dra. Mabel Clara Fragoso Serrano del Departamento de Farmacia, de la Facultad de Química (UNAM), por la constante asistencia técnica en los procedimientos cromatográficos.
- Al Dr. Rogelio Gregorio Pereda Miranda por todo el tiempo dedicado a mi formación académica, por su constante interés y apoyo brindado durante la realización de esta investigación.

JURADO ASIGNADO

Presidente	Dra. Rachel Mata Essayag
Vocal	Dr. Leovigildo Quijano
Vocal	Dr. José Federico del Río Portilla
Vocal	Dr. Alexandre Toshirrico Cardoso Taketa
Secretario	Dr. José Fausto Rivero Cruz

Sitio donde se desarrolló el tema:

Departamento de Farmacia, Laboratorio 123, conjunto E.
Facultad de Química.
Universidad Nacional Autónoma de México

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

Sustentante	M. en C. Daniel Genaro Rosas Ramírez
-------------	--------------------------------------

ABSTRACT

The present dissertation describes the isolation, purification and structural characterization of the oligosaccharides from the resin glycoside contents in the tuberous roots of three varieties of *Ipomoea batatas* (L.) Lam. var. batatas, which has edible roots with a higher nutritional value than potato (*Solanum tuberosum*), besides being a valuable source of fiber and antioxidants, rich in vitamins and minerals. This species is one of the oldest valuable traditional crop, native to Mexico, Central and South America, and widely cultivated for over 5000 years. Raw sweet potato can cause flatulence, diarrhea and even a moderate purge due to its resin glycoside content similar to those responsible for the purgative activity of the "jalap root" complex (*Ipomoea purga* and *Ipomoea orizabensis*, among others).

Purification of the individual constituents found in the hexane and chloroform soluble resin glycosides was performed by high-performance liquid chromatography, using the techniques of column overload, peak shaving, and recycling. Preparative-scale recycling HPLC allowed the collection of fourteen oligosaccharides derivatives of jalapinic acid, eleven of which are of novel structure, the **batatinosides VI-IX**, macrocyclic pentasaccharides, and the **batatins V-XI**, ester-type dimers.

The structural elucidation of these oligosaccharides was performed by spectroscopic (one and two-dimensional NMR) and spectrometric methods (FAB, MALDI and ESI-MS) which allowed the identification of three oligosaccharide cores: simonic acid B and operculinic acids A and C. The structural differences found the isolated compounds were: the number and nature of the monosaccharide units that constitute the oligosaccharide core, the number and position of the acylating residues, and the site of lactonization of the aglycone to form the macrocyclic structure. The structural characterization of the **batatins V-XI** indicated that these molecules possess polymeric structures consisting of two units of the operculinic acid C, in the case of **batatins V** and **VI**, and two units of the simonic acid B, in the case of the **batatins VII-XI**. The amphiphilic properties of these hydrophobic oligosaccharides exemplify the subtle solubility equilibrium between low-polarity solvents (i.e., hexane and chloroform) and polar organic solvents (methanol) that results from the fatty acid acylation of the glycosidic core.

RESUMEN

La presente disertación describe el aislamiento, la purificación y la caracterización estructural de los constituyentes oligosacáridos de las resinas glicosídicas presentes en las raíces tuberosas de tres variedades de la especie *Ipomoea batatas* (L.) Lam. var. batatas, la cual presenta raíces comestibles con un valor nutritivo mayor que la papa (*Solanum tuberosum*), además de ser una fuente valiosa de fibra y antioxidantes, rica en vitaminas y minerales. Esta especie es uno de los cultivos tradicionales más antiguo y valioso, sembrado en forma intensiva por más de 5,000 años en México, Centro y Sur América. El camote crudo puede producir flatulencia, diarreas e incluso una purgación moderada debido a su contenido de resinas glicosídicas similares a las encontradas en las “jalapas” (*Ipomoea purga* e *Ipomoea orizabensis*, entre otras).

La purificación de los constituyentes individuales presentes en las mezclas de resinas solubles en hexano y cloroformo se realizó utilizando las técnicas de sobrecarga de columna, corte y rasurado de núcleo, y reciclaje de picos en la cromatografía líquida de alta eficiencia que permitieron la obtención de catorce oligosacáridos del ácido jalapínico, de los cuales once corresponden a estructuras novedosas; los **batatinósidos VI-IX**, pentasacáridos macrocíclicos, y las **batatinas V-XI**, dímeros de tipo éster.

La elucidación estructural de los constituyentes purificados, utilizando métodos espectroscópicos (RMN mono y bidimensional) y espectrométricos (FAB, MALDI y ESI), permitió la identificación de tres núcleos oligosacáridos; el ácido simónico B y los ácidos operculínicos A y C. Las diferencias entre los compuestos aislados corresponden al número y la naturaleza de las unidades monosacáridas que constituyen el núcleo oligosacárido, el número y la posición de los residuos acilantes, y el sitio de lactonización de la aglicona. La caracterización estructural de las **batatinas V-XI** indicó que estas moléculas poseen estructuras poliméricas constituidas por dos unidades del ácido operculínico C, en el caso de las **batatinas V y VI**, y dos unidades del ácido simónico B, en el caso de las **batatinas VII-XI**. Las propiedades anfipáticas de estos oligosacáridos es resultado de la acilación de su núcleo glicosídico que permite un equilibrio de solubilidad entre disolventes de baja polaridad (e.g., hexano y cloroformo) y disolventes polares próticos (metanol).

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
2	ANTECEDENTES	3
2.1	FAMILIA DE LAS CONVULVULÁCEAS	4
2.1.1	CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO <i>Ipomoea</i>	4
2.1.2	PROPIEDADES BIODINÁMICAS DEL GÉNERO <i>Ipomoea</i>	6
2.1.3	CARACTERÍSTICA QUIMIOTAXONÓMICA DEL GÉNERO <i>Ipomoea</i>	8
2.2	<i>Ipomoea batatas</i>	15
2.3	RESINAS GLICOSÍDICAS DEL CAMOTE	20
3	JUSTIFICACIÓN	28
4	OBJETIVOS	28
5	PARTE EXPERIMENTAL	29
5.1	AISLAMIENTO DE LOS GLICOLÍPIDOS.	29
5.1.1	MATERIAL VEGETAL	29
5.1.2	FRACCIONAMIENTO PRIMARIO	29
5.2	PURIFICACIÓN DE LOS GLICOLÍPIDOS	31
5.2.1	MÉTODOS CROMATOGRAFÍCOS	31
5.2.2	FRACCIONES PRIMARIAS β Y $\delta\epsilon$ DEL EXTRACTO HEXÁNICO DE LA VARIEDAD DE CÁSCARA BLANCA. ..	32
5.2.3	FRACCIONES PRIMARIAS II Y IV DEL EXTRACTO SOLUBLE EN CLOROFORMO DE LA VARIEDAD DE CÁSCARA MORADA	35
5.2.4	FRACCIÓN PRIMARIA II DEL EXTRACTO CLOROFÓRMICO DE LA VARIEDAD DE CÁSCARA AMARILLA. ..	38
5.3	CONFIGURACIÓN ABSOLUTA DEL ÁCIDO (2S)-2-METILBUTÍRICO	41
5.4	DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES FÍSICAS Y ESPECTROMÉTRICAS DE LOS GLICOLÍPIDOS INDIVIDUALES	42
5.4.1	BATATINA VII (1)	43
5.4.2	BATATINA VIII (2)	43
5.4.3	PESCAPREÍNA I (3)	43
5.4.4	BATATINÓSIDO VI (4)	43
5.4.5	BATATINA V (5)	44
5.4.6	BATATINA VI (6)	44
5.4.7	BATATINA X (7)	44
5.4.8	BATATINA XI (8)	45

5.4.9	PESCAPREÍNA I (9).	45
5.4.10	BATATINÓSIDO VII (10).	45
5.4.11	BATATINÓSIDO VIII (11).	45
5.4.12	BATATINA IX (12).	46
5.4.13	BATATINÓSIDO IV (13).	46
5.4.14	BATATINÓSIDO IX (14)	46
6	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	47
6.1	AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE LOS GLICOLÍPIDOS 1-14.	47
6.2	ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE LOS GLICOLÍPIDOS 1-14.	47
6.3	RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR UNIDIMENSIONAL Y BIDIMENSIONAL DE LOS BATATINÓSIDOS IV, VII-IX Y PESCAPREÍNA I.	60
6.3.1	ESTRUCTURA DE LOS BATATINÓSIDOS IV,VI-IX Y LA PESCAPREÍNA I:	83
6.4	RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR UNIDIMENSIONAL Y BIDIMENSIONAL DE LAS BATATINAS V-XI.	88
6.4.1	BATATINAS III-VI.	88
6.4.2	ESTRUCTURAS PARA LAS BATATINAS III - VI	96
6.4.3	BATATINAS VII (1), VIII (2), IX (12), X (7) Y XI (8).	104
6.4.4	ESTRUCTURAS PARA LAS BATATINAS VII, VIII, IX, X Y XI.	121
7	CONCLUSIONES	128
8	BIBLIOGRAFÍA	131
9	APÉNDICE	141
9.1	PUBLICACIONES.	141
9.2	PRESENTACIONES EN CONGRESOS.	142

ABREVIATURAS

α	Rotación óptica observada en el polarímetro
δ	Desplazamiento químico
[M-H] ⁻	Ión pseudomolecular
CH ₃ CN	Acetonitrilo
CHCl ₃	Cloroformo
HPLC	Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia
COSY	Correlación espectroscópica homonuclear (¹ H- ¹ H)
ESI	Ionización por electrospray
FAB ⁻	Bombardeo rápido de átomos modalidad negativa
HMBC	Correlación heteronuclear a enlaces múltiples (¹³ C- ¹ H)
HSQC	Correlación espectroscópica heteronuclear a un solo enlace (¹³ C- ¹ H)
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
L	Litro
MALDI	Desorción/ionización láser asistida por matriz
MeOH	Metanol
MHz	Megahertz
mL	Mililitros
<i>m/z</i>	Relación masa-carga
p.f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN de ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN de ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear Protónica
TOCSY	Correlación espectroscópica total (¹ H- ¹ H)

1 INTRODUCCIÓN

El descubrimiento a través del aislamiento, la purificación y la caracterización estructural de los glicolípidos constitutivos de las resinas glicosídicas de las convolvuláceas como los principios fitotóxicos de las especies empleadas en la agricultura tradicional mexicana constituye una de las aportaciones de mayor relevancia generadas por la investigación química de este grupo de constituyentes de naturaleza oligosacárida.¹ Estos glicolípidos, también conocidos como lipopolisacáridos, están constituidos por un núcleo oligosacárido y la diversidad funcional de sus unidades monosacáridas constitutivas contribuye con la posibilidad de generar un sinnúmero de variaciones que abarcan desde disacáridos, trisacáridos, tetrasacáridos, pentasacáridos, hexasacáridos y heptasacáridos de metilpentosas (D-fucosa, D-quinovosa y L-ramnosa) y hexosas (D-glucosa), así como dímeros constituidos por dos unidades de oligosacáridos los cuales están unidos mediante el establecimiento de un enlace tipo éster con el grupo carboxilo terminal de una de las agliconas.² Estos núcleos pueden ser lineales o ramificados y la secuencia de glicosidación varía dependiendo de los monosacáridos que lo conforman. La mayoría de estos oligosacáridos son derivados glicosídicos de los ácidos (11*S*)-11-hidroxihexadecanoico (jalapινόlico) y el (11*S*)-11-hidroxitetradecanoico (convolvulinólico), los cuales se encuentran formando un éster macrocíclico a través de una lactonización (esterificación intramolecular) con el grupo carboxílico de la aglicona. La presencia de la estructura macrocíclica constituye un requisito esencial para la actividad biológica³ ya que estos glicolípidos han demostrado diversos efectos biológicos que incluyen efectos antimicrobiano y citotóxico de posible interés terapéutico para el desarrollo de nuevos fármacos moduladores de la resistencia desarrollada por los microorganismos y células tumorales a los agentes terapéuticos.⁴⁻⁶ También, estos metabolitos han presentado actividad antifúngica, antituberculosis y antiinflamatoria.⁷ Sin embargo, la naturaleza química y la complejidad estructural de las resinas glicosídicas ha constituido un obstáculo que ha dificultado el aislamiento de sus constituyentes individuales y, por lo tanto, la caracterización de su estructura molecular. El éxito en la purificación de los constituyentes individuales de las resinas glicosídicas ha dependido exclusivamente del empleo de la cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC).²

Uno de los rasgos anatómicos más sobresalientes del género *Ipomoea*, y de la mayoría de los miembros de la familia de las convolvuláceas, es la presencia de hileras de células secretoras de resinas glicosídicas en los tejidos foliares y en sus raíces.² Dentro de este contexto, tres variedades de la especie *Ipomoea batatas* (L.) Lam. var. batatas fueron seleccionadas para dar continuidad a la investigación química de la familia de las convolvuláceas, con el objetivo de ampliar el conocimiento sobre la diversidad estructural de las resinas glicosídicas. *Ipomoea batatas* es una planta rastrera con raíces tuberosas comestibles. Se ha descrito que sus hojas y raíces son efectivas para el tratamiento de la leucemia, la anemia, la hipertensión, la diabetes y las hemorragias.⁸ Esta especie se conoce en nuestro país como “camote” que proviene del náhuatl (“camotli”) palabra que servía para nombrar a toda raíz comestible. Es un miembro de la familia *Convolvulaceae* de suma importancia económica para el hombre ya que es uno de los cultivos tradicionales más antiguos y valiosos, sembrado ampliamente en los países en vías de desarrollo.⁹ Destaca por su rusticidad y su alta productividad por unidad de área y de tiempo y es un cultivo rico en vitaminas y minerales. En muchos países su principal uso está dado en la alimentación humana y como alimento para aves, conejos y ganado porcino y bovino. Se ha cultivado en forma intensiva por más de 5000 años en México, Centro y Sudamérica.¹⁰

La presente disertación describe los procedimientos instrumentales empleados en la cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC) que permitieron la purificación de los constituyentes mayoritarios presentes en los extractos solubles en hexano y cloroformo de la raíz de tres variedades del camote con el objetivo principal de establecer su estructura química intacta y, de esta manera, evitando el uso de reacciones químicas degradativas. Los resultados de los análisis químicos preliminares han demostrado que las resinas de esta especie están constituidas por tetrasacáridos, pentasacáridos y oligómeros tipo éster con un amplio espectro de polaridad que incluye constituyentes lipofílicos solubles en disolventes orgánicos apróticos (hexano, éter o cloroformo) hasta resinas polares solubles en disolventes polares próticos como el metanol.^{7-8,10-18} Se han aislado más de 40 glicolípidos a partir de las raíces tuberosas del camote; las **simoninas I-V**, **batataósidos I-II**, **batatinas I-IV**, dímeros de tipo éster, **batatinósidos I-V**, **batatósidos A-P**, **batatósidos III-V**, y los **ipomotaósidos A-D** de las hojas de *Ipomoea batatas*.^{7-8,10-20}

2 ANTECEDENTES

Las sociedades prehispánicas creadoras de grandes ciudades y centros ceremoniales, de una economía, una organización social y una religión compleja, desarrollaron una tecnología capaz de lograr la supervivencia y el crecimiento de la población. La enfermedad la concebían como consecuencia un desequilibrio en el cuerpo, producto de la acción de los seres que habitan los pisos celestes y el inframundo. En esta cosmovisión, las plantas medicinales se ocupaban de ayudar al enfermo a recuperar ese equilibrio que había perdido y utilizaron las plantas no sólo con el fin de sanar enfermedades menores, sino en la búsqueda de una identidad divina.²¹ Los chamanes de las sociedades prehispánicas compartían la creencia de que era posible alcanzar la purificación del “cuerpo” a través del consumo de remedios herbolarios purgantes.²²⁻²⁴

Los remedios herbolarios purgantes más utilizados en el México prehispánico y colonial incluían a varios miembros de la familia de las convolvuláceas, conocidos colectivamente con el nombre de “jalapas” (raíces tuberosas purgantes), tales como la “raíz de Michoacán” (*Ipomoea purga*, especie dominante de este complejo) y sus sucedáneos conocidos como las falsas jalapas: la escamonea de México (*Ipomoea orizabensis*), raíz de tumbavaquero (*Ipomoea stans*), la raíz de tampico (*Ipomoea simulans*) y el “camote” (*Ipomoea batatas*), el cual crudo puede producir diarreas e incluso una purgación moderada debido a su contenido de resinas glicosídicas, las cuales son responsables de la actividad purgante de la familia de las convolvuláceas,^{2,25} aunque el principal uso de *Ipomoea batatas* está dado en la alimentación. El empleo de las “jalapas” como remedio purgante fue conocido por los médicos herbolarios aztecas con el término de “*cacamótic tlanquiloni*” (Náhuatl, raíces tuberosas purgantes) según lo documentó el Dr. Francisco Hernández (1515–1587) en su obra Historia Natural de Nueva España (1570–1577) en donde describe las propiedades de estos remedios para purgar el estómago “con suavidad y seguridad admirables, sacando además de las venas las bilis y los demás humores”.^{4,26} Una de las ilustraciones del Códice de la Cruz-Badiano (1552) representa a una enredadera llamada “Uelicpahtli” (Náhuatl, *uelic* = de sabor agradable, *pahtli* = medicina) con las características anatómicas de una enredadera de flores rojas con una raíz tuberosa grande (**Figura 1**). La leyenda en latín que describe las propiedades terapéuticas de este remedio herbolario azteca dice “*purgativo ventris*”, y significa para purgar el estómago.



Figura 1. Ilustración de la jalapa (*Ipomoea purga*), ingrediente principal en la medicina herbolaria pre-Hispánica conocida como “cacamotli tlanoquinoli” (patata purgante), del herbario novohispano Códice de la Cruz-Badiano (1552) (Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis, 1552. Folio 32 recto).

2.1 FAMILIA DE LAS CONVULVÁCEAS

2.1.1 CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO *IPOMOEA*.

El género *Ipomoea* pertenece a la familia *Convolvulaceae*, la cual está compuesta aproximadamente por 60 géneros y más de 1,650 especies. El nombre de la familia se deriva del latín *convolvere* que significa entrelazarse ya que un gran número de estas plantas son rastreras o enredaderas que se enroscan a un soporte. Esta familia representa una de las más grandes y diversas de México, ya que se ha reportado que existen quince géneros y aproximadamente 217 especies, siendo el género *Ipomoea* uno de los mayoritarios y teniendo alrededor de 60 especies endémicas. El género está concentrado en las regiones subtropicales de la costa del Pacífico, distribuido desde Baja California hasta Chiapas con un aproximado de 100 especies y, por lo menos, 38 especies endémicas.²⁷

La palabra *Ipomoea* procede del griego *ips* (*ipos*) que significa gusano y *homoios*, que significa semejante, aludiendo a la forma de crecimiento de estas plantas rastreras. La mayoría de las plantas del género *Ipomoea* no presentan una variedad importante en su morfología, siendo que la mayoría de estas plantas son enredaderas con tallos enroscados que alcanzan de 1 a 5 metros y flores con una corola acampanulada. Existen unas cuantas especies como *Ipomoea phillomega* e *Ipomoea santillanii* que son lianas tropicales las cuales alcanzan alturas de hasta 15 metros. Otras especies como *Ipomoea imperata* e *Ipomoea pes-caprae* crecen a iguales longitudes pero han perdido su capacidad de enroscarse, creciendo de manera tendida para formar extensas cubiertas sobre arenas costeras.²⁸ Algunas especies de las zonas áridas (*Ipomoea stans*, *Ipomoea duranguensis* e *Ipomoea sescossiana*) son arbustos perennes, leñosos y herbáceos, que crecen hasta 1 metro. La especie *Ipomoea carneae* existe como un arbusto leñoso tropical que alcanza de 2 a 4 metros de altura. Otras especies de *Ipomoea* de la serie arborescentes crecen en forma de árboles de madera suave y alcanzan de 3 a 9 metros de altura (e.g., *Ipomoea murucoides*).²⁹

Las flores de la familia *Convolvulaceae* son a menudo grandes y vistosas (**Figura 2**), aparecen en dicasios terminales o axilares, o solitarias en las axilas, rara vez en inflorescencias racemosas o paniculadas, generalmente sostenidas por un par de brácteas que a veces se agrandan para formar un involucro, hermafroditas o rara vez unisexuales (*Hildebrandtia*), pentámeras excepto en el gineceo (tetrámeras en *Hildebrandtia*). El perianto forma sépalos imbricados, a veces desiguales, generalmente libres o connados sólo en la base. Corola simpétala, comúnmente infundibuliforme, clara o débilmente lobada, actinomorfas (oblicuamente zigomorfa en *Humbertia*), generalmente induplicado-valvada y a menudo también convoluta en sentido horario, al menos en *Convolvulus* e *Ipomoea*. El androceo consta de estambres isómeros y alternos con los lóbulos de la corola, insertos en la base del tubo de la corola, filamentos a menudo desiguales. Disco nectarífero lobulado generalmente presente alrededor de la base del ovario. El gineceo es de 2 (3–5) carpelos unidos; ovario súpero, plurilocular, rara vez unilocular; estilo terminal, simple o a menudo más o menos profundamente dividido o con estilos libres; primordios seminales generalmente 2 por carpelo (numerosos en *Humbertia*) basales o basal-axilares. Presentan fruto en forma de una cápsula loculicida (dehiscencia en el fruto de tipo cápsula cuando se abren por los nervios medios de los carpelos), o a veces irregularmente dehiscente, o menos a menudo indehiscente y baciforme o nuciforme.^{27,30-31}



Figura 2. *Ipomoea tricolor* (*Ipomoea violacea*) es una enredadera herbácea de flores con el limbo de la corola celeste violáceo y produce semillas que aún se usan como un medio adivinatorio en las tradiciones indígenas de las zonas montañosas oaxaqueñas.

2.1.2 PROPIEDADES BIODINÁMICAS DEL GÉNERO *IPOMOEA*

Las especies del género *Ipomoea* tiene importancia económica por sus usos alimenticios (*Ipomoea batatas*),^{2,7-18} ornamentales² (*Ipomoea carneae* e *Ipomoea alba* entre otras) y medicinales^{2,4-7}, (*Ipomoea purga*, *Ipomoea orizabensis* e *Ipomoea stans*) (**Cuadro 1**). Entre los principales usos medicinales de este género destacan sus propiedades purgativas,^{2,32} siendo el principal exponente la raíz de jalapa, *Ipomoea purga*. En el centro de México, la raíz de *Ipomoea stans*¹⁶ se usa como catártico y junto con la falsa jalapa (*Ipomoea orizabensis*), constituye un adulterante de la verdadera raíz de jalapa. El género *Ipomoea* se ha estudiado desde varios aspectos. Numerosos estudios han descrito su naturaleza alelopática,^{33,34} también sus diversas propiedades herbicidas, antibacterianas y anticancerígenas,^{8,35} anticonvulsivas,^{36,37} carminativas,^{38,39} antihelmínticas,⁴⁰ diuréticas,⁴¹ antisépticas,⁴² antidiabéticas, antihemorrágicas, hipotensivas, antianémicas y antimicrobianas.^{43,44} A pesar de que el uso del género *Ipomoea* es muy antiguo y aunque comprende cerca de 500 en número, muy pocas especies han sido estudiadas desde el punto de vista farmacológico.

Cuadro 1. Usos de algunas especies de *Ipomoea*

Nombre científico	Nombre común	Parte de la planta que se utiliza	Usos	Referencia
<i>I. jalapa</i>	Raíz de Michoacán	Resina de la raíz	Purgante drástico y coleccionéticos	46, 41
<i>I. murucoides</i>	Palo de muertos	Hojas se cuecen en agua	Baños contra la parálisis y la hidropesía	41
<i>I. tyrianthina</i>	Jalapa de Orizaba	Resina	Sustituto de la jalapa, tiene los mismos usos	40
<i>I. bracteata</i>		Infusiones de las flores	Curar la tos	47
<i>I. batatas</i>	Camotes	Tubérculos y partes aéreas en forma de fomentos	Tratamiento de tumores y alimento	48
<i>I. purga</i>	Tolómpatl (azteca), la jalapa, raíz de jalapa mexicana o de Veracruz	Tubérculos desecados y extracto acuoso	Catártico, laxante, emético, antihelmíntico, emenagogo, para el tratamiento de la hidrocefalia, fiebres gastroneuríticas, enteromeningitis y disentería, diurético, curar llagas y úlceras cutáneas	40-42, 49,50
<i>I. violacea</i>	Tlitiltzin (aztecas), badoh negro (zapotecas y chatines)	Semillas	Analgesia y alucinógena	21,41
<i>I. purpurea</i>	Manto (Durango)	Resina de la raíz	Tratamiento de la diabetes, por sus propiedades antihistamínicas y diuréticas	46,51
<i>I. pes-caprae</i>	Riñonina	Infusiones	Afecciones renales, contra las visceralgias, contra dolores artríticos y tratamiento de tumores	41, 45, 52
<i>I. stans</i>	Tumba vaqueros (valle de México), soyoquilitil (Puebla), quiebra platos (Durango)	Resina de la raíz, hojas e infusiones de la raíz mezcladas con flores de limón, flor de la manita, flor de la tila, flores de magnolia y el palo de Brasil	Purgante drástico, coleccionéticos, malestares cardiacos, en tratamientos de desórdenes neurológicos (epilepsia e histeria), tratamiento en enfermedades de los riñones, trastornos biliares, insomnio, presión arterial irregular, para el tratamiento del mal de San Vito, se toma la infusión para la producción de leche durante la lactancia	41, 46, 51,53,54

2.1.3 CARACTERÍSTICA QUIMIOTAXONÓMICA DEL GÉNERO *IPOMOEA*

Las especies del género *Ipomoea* sintetizan alcaloides de grupos estructurales diversos, como pirrolizidínicos,⁵⁵⁻⁵⁷ alcaloides altamente tóxicos sin función terapéutica, tropánicos e indólicos.^{58,59} Los alcaloides del ergot son los responsables del uso de algunas especies de *Ipomoea* en los rituales autóctonos de América Central y del sur de México⁶⁰ y el alto contenido de este tipo de alcaloides en sus partes aéreas ha sido responsable de la intoxicación en ganado ovino y bovino^{58,61,62} o su empleo como antiespasmódicos en la medicina tradicional,⁶³ así como su utilización en rituales con carácter divino. Dentro de estas plantas destacan dos especies, *Ipomoea violacea* y *Rivea corymbosa* que constituyeron importantes agentes alucinógenos y medicinales en las culturas prehispánicas como los aztecas. La importancia de estas plantas resaltaba en muchas culturas, como lo demuestra uno de los murales de Teotihuacan en el que figura una Diosa madre Azteca y sus sacerdotes con una enredadera estilizada que se ha atribuido ser *Rivea corymbosa* (**Figura 3**).



Figura 3. Fragmento del Mural de Teotihuacan (500 D.C.) representando al Tlalocan (Paraíso de Tláloc, Dios de la Lluvia) mostrando a la Diosa Madre con dos de sus asistentes sacerdotisas y en la parte de atrás una representación estilizada de las enredaderas alucinógenas mexicanas, posiblemente *Rivea corymbosa*.

Las semillas de *Rivea corymbosa* fueron conocidas por las culturas prehispánicas como “ololiuhqui” (náhuatl, esférico) y las semillas de *Ipomoea violacea* como “tlitliltzin” (náhuatl; *tliltic*, negro más el sufijo *tzin* que indica reverencia). Actualmente se utilizan por los indígenas zapotecas y chatinos (kitse cha'tnio, en referencia a su lengua cha'cña) del estado de Oaxaca. Los compuestos alucinógenos del “ololiuhqui” y del “tlitliltzin” son alcaloides del ácido lisérgico, siendo las semillas de *Ipomoea violacea* seis veces más potentes que las de *Rivea corymbosa* (**Figura 4**).⁶⁰ Las semillas de *Ipomoea violacea* (**Figura 2**) se utilizaban en ritos Aztecas antes de iniciar una guerra contra otros pueblos.

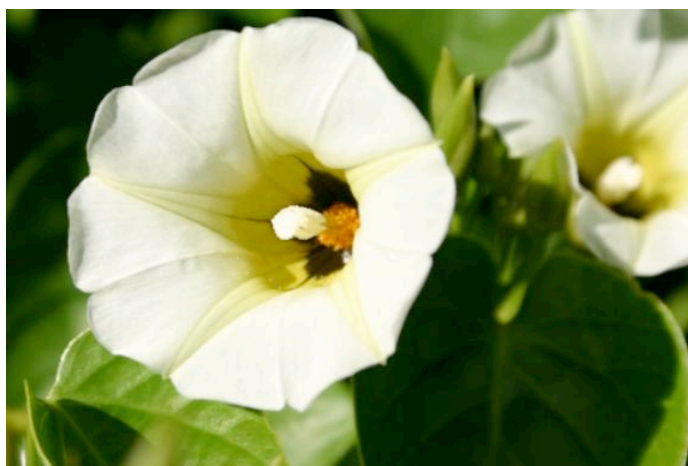


Figura 4. *Rivea corymbosa* es originaria del sureste mexicano y constituye uno de los principales alucinógenos sagrados de chinatecos, mixtecas, mazatecos, zapotecas y otros grupos indígenas de Oaxaca.

Los primeros alcaloides del ergot aislados en la familia de las convolvuláceas fueron la amida del ácido lisérgico, la amida del ácido isolisérgico y la chanoclavina.^{64,65} Un hallazgo muy importante fue la identificación en *Ipomoea argyrophylla* de alcaloides peptídicos, la ergosina (**Figura 5**) y la ergosinina,^{66,67} los cuales también constituyen los productos metabólicos de varias especies de hongos del género *Claviceps*.

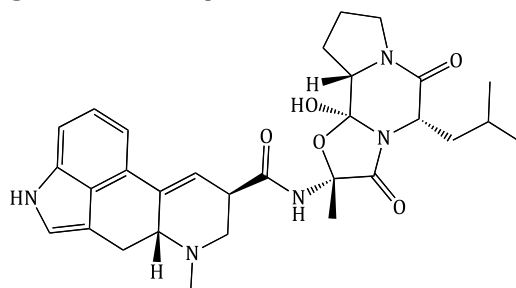


Figura 5. Estructura de la ergosina, identificada en *Ipomoea argyrophylla*

The diagram illustrates a branched oligosaccharide structure. It features a central core of three pyranose rings: a Fucosa unit at the top, a Ramnosa unit in the middle, and a Ramnosa' unit at the bottom. The Fucosa unit is linked to the Ramnosa unit via an $\alpha(1\rightarrow3)$ glycosidic bond. The Ramnosa unit is linked to the Ramnosa' unit via an $\alpha(1\rightarrow3)$ glycosidic bond. The Ramnosa' unit is further linked to a Ramnosa'' unit via an $\alpha(1\rightarrow3)$ glycosidic bond. A Jalapinic acid unit is attached to the Ramnosa unit via an $\alpha(1\rightarrow3)$ glycosidic bond. The Jalapinic acid unit is shown in red, with its carboxylic acid group forming an intramolecular ester bond with the C1 of the Ramnosa unit. The ester bond is labeled 'Esterificación intramolecular'. The Jalapinic acid unit is also labeled 'Ácido Jalapínico' and '16'.

Estudio de las resinas oligosídicas de tres variedades del camote (*Inomoea batatas*)

Estos núcleos oligosacáridos se presentan acilados formando ésteres con ácidos grasos volátiles y no volátiles. Los ácidos grasos volátiles identificados con mayor frecuencia son tíglico (tga), isobutírico (iba), metilbutírico (mba), nílico (nla) y cinámico (cna). Los ácidos grasos de alto peso molecular caracterizados en las especies del género *Ipomoea* incluyen a los ácidos hexanoico (hexa), octanoico (octa), decanoico (deca) y dodecanoico (dodeca).⁴ La determinación estructural de los ácidos glicosídicos se ha realizado mediante el empleo de técnicas espectroscópicas y espectrométricas partiendo de la identificación de las dos porciones principales que se obtienen de la saponificación de éstos (**Figura 7**).

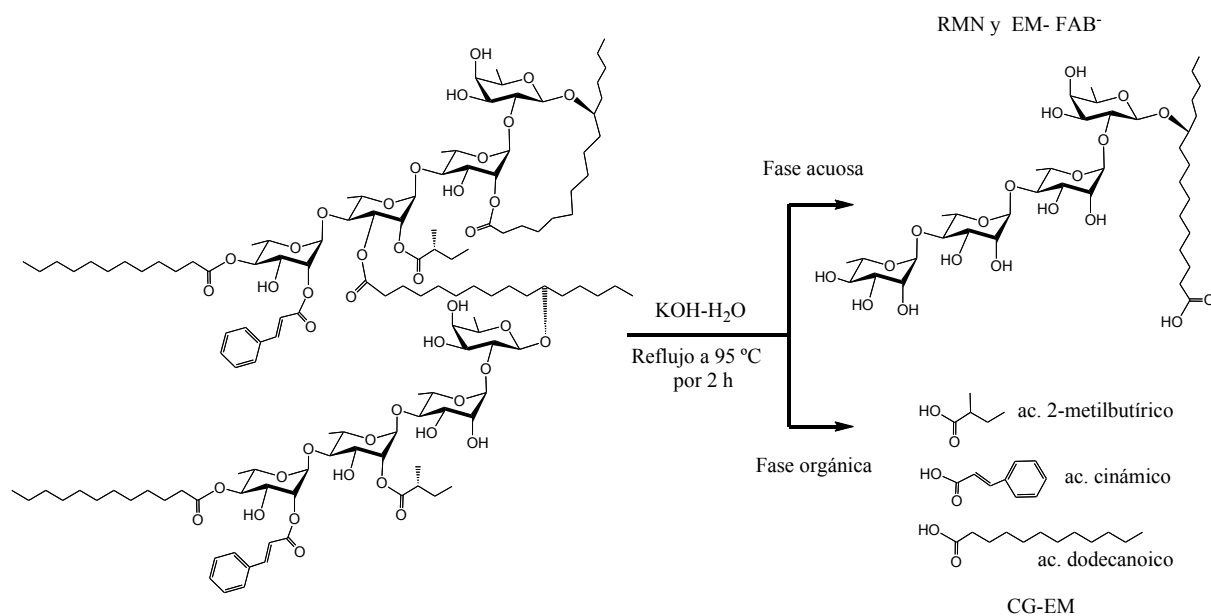


Figura 7. Saponificación para la obtención del ácido glicosídico hidrofílico y los ácidos orgánicos lipofílicos.

La cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas ha permitido la cuantificación de cada uno de los residuos que esterifican al núcleo oligosacárido, también permiten establecer el peso así como facilitan la identificación de los ácidos grasos ligados.⁶⁹ La secuencia de glicosidación se ha determinado por permetilación e identificación de las unidades monosacáridas metiladas derivados por hidrólisis ácida parcial de los polisacáridos. El empleo de la cromatografía de líquidos para la identificación de los azúcares generados mediante hidrólisis ácida de las resinas sólo permite establecer la naturaleza de éstos. Por lo tanto, se utiliza la resonancia magnética nuclear de los ácidos glicosídicos y sus derivados peracetilados para confirmar la secuencia de glicosilación.⁷¹ La diversidad estructural de estos compuestos depende

de las diferencias observadas en cuanto al tipo, al número de unidades monosacáridas que constituyen el núcleo oligosacáridos y si estos núcleos se encuentran unidos a otros núcleos oligosacáridos en forma de dímeros, en la secuencia de glicosilación, la posición de lactonización en el núcleo oligosacáridos, así como al tipo, el número y la posición de los ácidos grasos que se encuentran acilando al núcleo oligosacárido.

Estos glicolípidos han demostrado diversos efectos biológicos que incluyen efectos antimicrobiano y citotóxico de posible interés terapéutico para el desarrollo de nuevos fármacos moduladores de la resistencia desarrollada por los microorganismos y células tumorales a los agentes terapéuticos.^{4-6,16} También, han presentado actividad antifúngica, antituberculosis,⁷² antidepresiva y antiinflamatoria.⁷ Las variaciones en la potencia de la actividad biológica dependen de su grado de lipofilicidad y del tamaño del macrociclo lactónico,^{5,73} presentando una mayor actividad antimicrobiana (*Staphylococcus aureus*, MIC ≤ 1 $\mu\text{g/mL}$) y citotóxica (KB, DE₅₀ < 4 $\mu\text{g/mL}$) aquellos oligosacáridos anfipáticos con un menor grado de lipofilicidad.^{4,5} Esta última propiedad fisicoquímica se encuentra asociada al número y tipo de ácidos grasos que esterifican al núcleo oligosacárido.

Se ha descrito el potencial inhibidor de tres oligosacáridos de la serie de las orizabinas sobre la proteína transmembranal NorA en *Staphylococcus aureus*, compuestos inactivos desde el punto de vista microbiológico y citotóxico, por lo que al combinar estos productos naturales con antibióticos comerciales (e.g., tetraciclina) se logró revertir la resistencia e incrementar la susceptibilidad del microorganismo a los agentes antimicrobianos.^{5,6,74-77} La actividad inhibidora demostrada por los oligosacáridos de las convolvuláceas sobre el fenómeno de la resistencia a fármacos (MDR) a través de la modulación de la proteína membranal NorA en cepas de *Staphylococcus aureus* permite suponer que las resinas glicosídicas, debido a sus características anfipáticas con un alto grado de lipofilicidad (hidrofóbicos) y una baja o nula citotoxicidad (CE₅₀ >20 $\mu\text{g/mL}$), constituyen un sustrato para la glicoproteína-P (Gp-P) y, por lo tanto, modulan el transporte transmembranal de los agentes antineoplásicos. De esta forma, la acción de los oligosacáridos evitará la liberación de los fármacos al espacio extracelular para revertir la resistencia que generan las células malignas en ensayos *in vitro* e incrementar la toxicidad (efectividad) de los agentes antineoplásicos de utilidad terapéutica al emplearse en combinación.

El desarrollo de potentes inhibidores de la Gp-P con baja toxicidad es una alternativa para superar la interferencia indeseable de esta familia de Gp-P presente en algunas células de mamíferos (resistencia celular intrínseca) y que se expresa en las células malignas bajo exposición a las quimioterapias (resistencia adquirida).

Debido a estas características estructurales y a la ambivalencia en su solubilidad, ya que la particularidad de los glicolípidos de ser moléculas anfipáticas por la presencia simultánea en su estructura de un núcleo oligosacárido hidrofílico y una porción hidrofóbica (**Figura 8**), se ha postulado que estos compuestos provocan perturbaciones en las membranas celulares mediante la formación de poros no selectivos y, por lo tanto, una alteración en el flujo de iones a través de la membrana celular.^{3,78} Sin embargo, los requerimientos estructurales y estereoquímicos para potenciar sus propiedades citotóxicas no se han determinado.

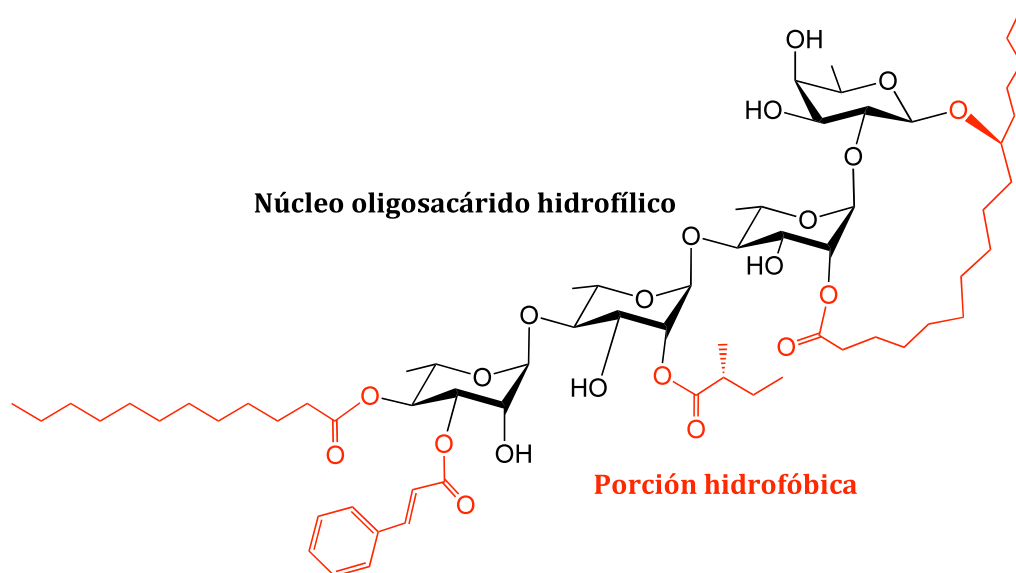


Figura 8. Características estructurales anfipáticas de los lipopolisacáridos.

Se ha especulado en la importancia que desempeña el tipo de agregación de estos principios para la formación de los poros y explicar su posible potencial ionofórico.³ El estudio cristalográfico de la tricolorina A (**Figura 9**) estableció el primer análisis cristalográfico de un lipotetrasacárido con una estructura oligosacárida relativamente poco flexible.

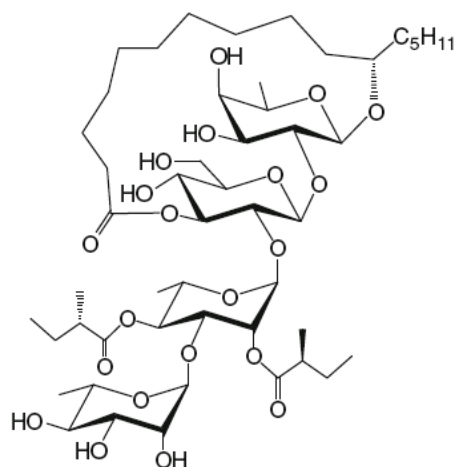


Figura 9. Estructura de la tricolorina A.

En el análisis cristalográfico se observó un reparto anisotrópico de las secciones hidrofóbicas e hidrofílicas ya que el agrupamiento de los grupos hidrofóbicos del primer par de moléculas sucede de cara a las porciones hidrofóbicas del segundo par de glicolípidos que forman cada celda unitaria (**Figura 10**).

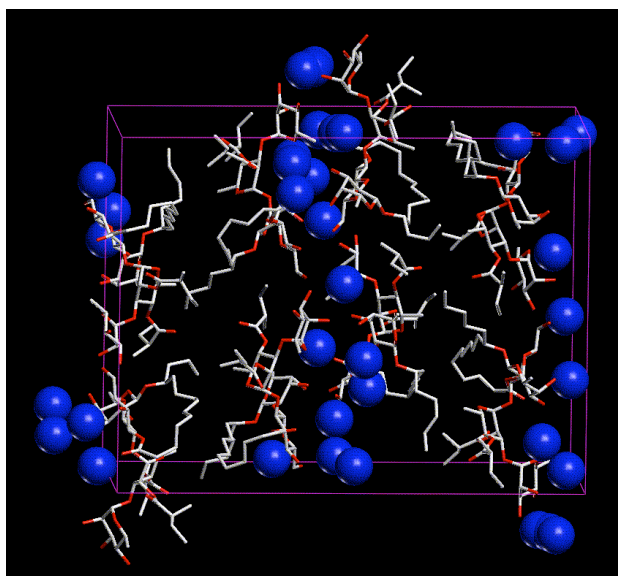


Figura 10. Celda unitaria con las 4 moléculas independientes de la tricolorina A y las 18 moléculas de agua.

Este arreglo dirige el empacamiento de tal manera que las caras hidrofílicas generan un canal que aglutina a las moléculas de agua. Este análisis cristalográfico sugirió que el tamaño de estos

canales hidrofílicos, en conjunto con el arreglo en paralelo de las unidades lipídicas de los oligosacáridos, es compatible con el tamaño de una membrana biológica y permite racionalizar una explicación para la actividad citotóxica de las resinas glicosídicas basada en una perturbación del flujo iónico a través de un modelo de inserción membranar de posibles agregados de alto peso molecular de la tricolorina A que ocasionan alteraciones en la permeabilidad en las membranas celulares debido a la formación de poros no selectivos.³ También, se ha postulado que el posible mecanismo de acción bioquímico para la toxicidad de las resinas glicosídicas puede ser el resultado de cambios conformacionales transmembranales en la organización y la actividad de los fosfolípidos de éstas, promovidos por la inserción de los agregados glicolipídicos y una concomitante formación de poros.⁷⁸

2.2 *IPOMOEA BATATAS*

Ipomoea batatas (L.) Lam. var. batatas es uno de los cultivos tradicionales más antiguos y valiosos, sembrado ampliamente en todo el mundo. En muchos países su principal uso está dado en la alimentación humana y como alimento para aves, conejos y ganado porcino y bovino. Es una planta rastrera con raíces adventicias, algunas de las cuales presentan tubérculos hinchados (**Figura 11**).



Figura 11. *Ipomoea batatas*

Ipomoea batatas destaca por su rusticidad y su alta productividad por unidad de área y de tiempo además de ser un cultivo rico en vitaminas y minerales. Su valor nutricional por cada 100 g de tubérculo comprende en mayor proporción: agua (74%), fibra (1.2%), lípidos (0.2%), proteínas (1.2%), grasas (0.6 g), carbohidratos (21.5 g), almidones (11.8 g), sodio (41 mg), potasio (385 mg), fósforo (55 mg), calcio (22 mg), hierro (1 mg); también, magnesio, cobre, zinc y cloro. Asimismo, el camote contiene vitamina C (25 mg); vitamina A (0.06 mg); vitamina B1 (0.1 mg); vitamina B2 (0.06 mg); vitamina B3 (52 mg).⁹ Se ha estudiado el valor nutricional del follaje y se ha encontrado que es muy parecido al del tubérculo. También, se ha reportado que sus hojas y raíces son efectivas para el tratamiento de la leucemia, la anemia, la hipertensión, la diabetes y las hemorragias.^{10,11,52} El camote crudo puede producir flatulencia, diarreas e incluso una purgación debido a su moderado contenido de resinas glicosídicas (ca. 1%), similares a las responsables de la actividad purgante drástica debido al alto contenido de estos principios (10-18%) de las especies del género *Ipomoea* que forman parte del complejo medicinal de las “jalapas” (*Ipomoea purga* e *Ipomoea orizabensis*, entre otras).^{3,32}



Figura 12. Flores de *Ipomoea batatas*.

Ipomoea batatas actualmente se siembra en todo el mundo, especialmente en los países en desarrollo debido a su fácil propagación y pocos requerimientos de insumos, agua, fertilizantes y a su habilidad de crecer bajo altas temperaturas. Son plantas perennes que bajo cultivo son manejadas como plantas anuales. A últimas fechas se ha intensificado su producción más en las

zonas templadas que en las tropicales. El camote se propaga por medio de fragmentos de guía de una longitud de 30 a 40 cm, de los cuales se entierran las dos terceras partes. En países con clima templado la propagación se hace por medio de brotes que se obtienen de camotes pequeños o medianos que previamente se han sembrado en almácigos. Se sabe que el camote florece libremente en zonas tropicales pero en zonas templadas la floración es reducida,⁷⁹ es un cultivo de zonas tropicales y subtropicales. Sus flores (**Figura 12**) se abren al alba o poco después y comienza a cerrarse al comenzar la noche, dependiendo de las condiciones ambientales. La corola puede marchitarse y caer en 24 horas, y el ovario no fertilizado puede caer a los 2 ó 3 días. El estigma es receptivo en las primeras horas de la mañana.⁸⁰ Es una planta herbácea, rastrera, en ocasiones con ápices volubles, glabra o pubescente, con raíces adventicias y tuberosas (**Figura 13**), se propaga vegetativamente por segmentos de tallos y raramente por las raíces tuberosas o por semillas.



Figura 13. Raíces tuberosas de *Ipomoea batatas*.

En México, se siembran las variedades con pulpa blanca, amarilla, naranja, rojiza o púrpura en dos ciclos agrícolas: el de primavera-verano y el de otoño-invierno. Se sabe que se planta prácticamente en todos los estados de la República Mexicana con una producción aproximada de 61,098 toneladas en 2,908 hectáreas, siendo los más productivos Guanajuato (27,328 toneladas) y Michoacán (10,756 toneladas). De 1990 a 2004, se ha descrito el incremento en extensión de

área cultivada en casi todos los estados con mayor producción de camote, a excepción de Guerrero, Yucatán y Michoacán, donde ha disminuido aunque su producción en toneladas va en aumento, tal vez debido a las mejores técnicas de cultivo. Lo que sorprende es el incremento en la producción de camote en los estados de “clima templado” (Chihuahua y Guanajuato), que ahora se promueve en otras condiciones y no sólo en áreas de temporal. Esto sin duda ha permitido aumentar su rendimiento en los últimos años como en el caso de los estados de Guanajuato, Aguascalientes, México, Nayarit, Yucatán, Jalisco y Chihuahua. Por otro lado, la superficie de cultivo en los estados con clima cálido-seco, donde tradicionalmente se cultivaba, ha reducido; tal es el caso de Guerrero, Michoacán y Yucatán.⁸¹

Cuadro 2. Clasificación botánica de *Ipomoea batatas*.

CLASIFICACIÓN BOTÁNICA	
Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Convolvaceae
Género	<i>Ipomoea</i>
Especie	<i>Ipomoea batatas</i>
Sinónimos	<i>Batatas edulis</i> ,
	<i>Convolvulus batatas</i> y <i>Ipomoea mammosa</i>

Ipomoea batatas (**Cuadro 2**) es un hexaploide a diferencia de la mayor parte de los miembros del género que son diploides o tetraploides. Posiblemente, se originó como un híbrido de las especies *Ipomoea trifida* (H.B.K.) G. Don e *Ipomoea tiliacea* (Willd.) Choisy.⁸² Se conoce con el nombre de camote, el cual proviene del náhuatl (“camotli”) palabra que servía para nombrar a toda raíz alargada comestible,⁸ también se conoce como batata, boniato, aje, haje, jage, moniato, batata azucarada, patata dulce, batata de Málaga, entre otros. Age (o aje) y batata son términos taíno de los pueblos amerindios de lengua arahuaco que habitaban las Antillas. Boniato, por su parte es un término también taíno, que se aplica a las variedades más dulces en Cuba.⁸³ Los nombres de cumara, kumara y sus derivados, provienen del quechua y se cree que se originaron a

partir de los vocablos polinesios de kumar y kumale incorporados a esta lengua andina unos 1,000 años A.C.⁸⁴ Apichu proviene del aimara, indígenas que habitan en la región del lago Titicaca, entre Perú y Bolivia.

La serie Batatas, subgénero *Eriospermum*, sección *Eriospermum*, contiene, además de *Ipomoea batatas*, 13 especies silvestres estrechamente relacionadas al camote. Todas estas especies, excepto *Ipomoea littoralis* (se encuentra en África, Asia, Australia y América),⁸⁵ son endémicas de América. Se considera que dos son de origen híbrido, *Ipomoea leucantha* se ha considerado ser el intermedio de los híbridos *Ipomoea cordatotriloba* e *Ipomoea lacunosa*. *Ipomoea grandifolia* se ha supuesto que incluya derivados de los híbridos *Ipomoea cordatotriloba* y de *Ipomoea batatas*.⁸⁶ Dos especies que eran consideradas dentro de este grupo son *Ipomoea peruviana* (de Perú y Ecuador, ahora se clasificó dentro de la sección *Eriospermum*, serie *Setosae*) e *Ipomoea gracilis* (de Australia, ahora se clasificó dentro de la sección *Erpipomoea*).

Las primeras noticias americanas sobre *Ipomoea batatas* corresponden a Colón en 1492 y también a Fernández de Oviedo, quien la describió en 1526, en la isla La Española.⁸³ Siendo los españoles quien la introdujeron a Europa y la dispersaron hacia China, Japón, Malasia y las islas Molucas. Los portugueses la llevaron a la India, Indonesia y África. Se ha considerado que el camote se originó en la región comprendida entre el sur de México, Guatemala, Honduras y Costa Rica.⁸⁷⁻⁸⁸ Se considera que el camote tiene su origen en algún lugar de Centro América o el noroeste de Sudamérica, como parte del desarrollo de la agricultura de las plantas con tubérculos comestibles en los bosques tropicales,⁸⁴ y que la edad estimada del camote data de 8,000 a 10,000 años, por lo cual se considera que el camote puede estar entre las primeras plantas domesticadas del mundo.⁸⁷⁻⁸⁹ Se considera que protochibchas, chibchas o poblaciones influenciadas por los chibchas, descubrieron el camote y lo llevaron a su cultivo. Los mayas y los incas habrían tomado la planta domesticada y produjeron nuevas líneas mejor adaptadas a sus condiciones locales. Actualmente, la mayor variabilidad del camote se presenta en el Perú (172 variedades), Guatemala (160 variedades) y Colombia (115 variedades).

2.3 RESINAS GLICOSÍDICAS DEL CAMOTE.

En *Ipomoea batatas* se han caracterizado cinco ácidos glicosídicos como constituyentes de los núcleos oligosacáridos; los ácidos operculínicos A, C y E, y los ácidos simónicos A y B. El ácido operculínico A ([O-6-deoxi- α -L-mannopiranosilo-(1 $\rightarrow$ 4)-O-[β -D-glucopiranosilo-(1 $\rightarrow$ 3)]-O-6-deoxi- α -L-mannopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O-6-deoxi- α -L-mannopiranosilo-(1 $\rightarrow$ 2)-6-deoxi- β -D-galactopiranosilo]oxi, del ácido (11*S*) hexadecanoico) es un heteropentasacárido ramificado del ácido jalapινόlico constituido por una unidad de fucosa, tres de L-ramnosa y una de D-glucosa (**Figura 14**),^{10,17} el cual también se ha aislado y caracterizado de *Ipomoea operculata* (Gomes) Mart.,⁹⁰ *Ipomoea quamoclit* L. (syn. *Quamoclit pennata* Bojer),⁹¹ *Ipomoea mammosa* Choisy (syn. *Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f.),⁹² *Merremia hungaiensis* Lingelish. et Borza,⁹³ *Ipomoea leptophylla* Torr.,⁹⁴ *Ipomoea intrapilosa* Rose,⁹⁵ *Ipomoea stolonifera* (Cyrill.) J. F. Gmel.,⁹⁶ *Ipomoea digitata* L.,⁹⁷ e *Ipomoea murucoides* (Roem. et Schult).^{6,29}

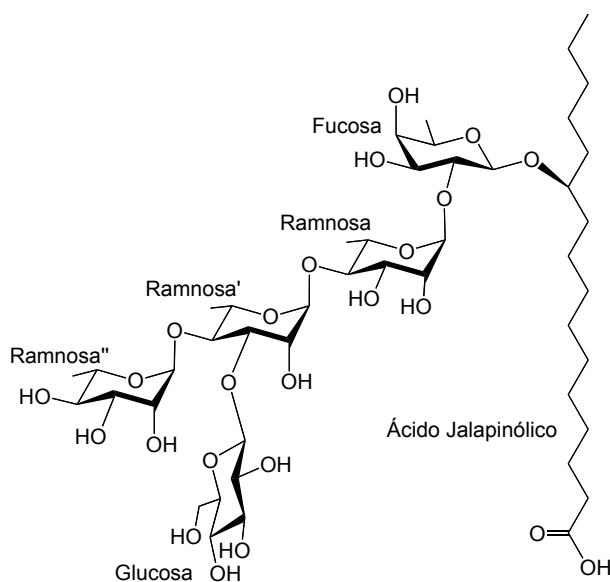


Figura 14. Estructura del ácido operculínico A

El ácido operculínico C ([O-6-deoxi- α -L-mannopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-O-6-deoxi- α -L-mannopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-O-6-deoxi- α -L-mannopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)-6-deoxi- β -D-galactopiranosil] oxi, del ácido (11*S*)-hexadecanoico) es un heterotetrasacárido lineal del ácido jalapινόlico compuesto por tres unidades de L-ramnosa y una de D-fucosa (**Figura 15**),^{8,10} el cual también se ha aislado y caracterizado de *Merremia mammosa*,⁹⁰ *Ipomoea operculata* Mart & Spix.

[syn. *Operculina macrocarpa* (L.) Urban],^{92,98} *Ipomoea stolonifera* (Cyrill) J.F.Gmel.,⁹⁹ *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br.,¹⁰⁰ e *Ipomoea murucoides* (Roem. et Schult).⁷⁵

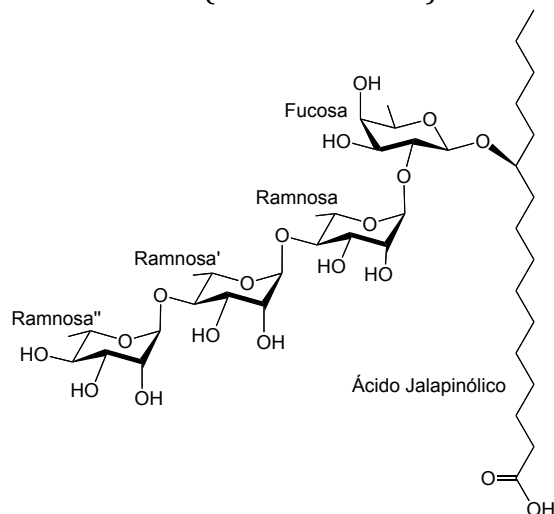


Figura 15. Estructura del ácido operculínico C

El ácido operculínico E ([*O*-6-deoxi- α -L-mannopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*-6-deoxi- α -L-mannopiranosil- (1 $\rightarrow$ 4) -*O*-6-deoxi- α -L-mannopiranosil- (1 $\rightarrow$ 2) - β -D-glucopiranosil]oxi, del ácido (11*S*)-hexadecanoico) es un heterotetrasacárido lineal del ácido jalapínico compuesto por tres unidades de L-ramnosa y una de D-glucosa (**Figura 16**),¹⁷ el cual fue aislado y caracterizado por primera vez de la hidrólisis alcalina del extracto soluble en éter de las raíces de *Ipomoea operculata* Mart & Spix. [syn. *Operculina macrocarpa* (L.) Urban].¹⁰¹ También, se ha aislado y caracterizado de *Ipomoea purpurea* (L.) Roth (syn. *Pharbitis purpurea* Voigt.),^{102,103} e *Ipomoea murucoides*.⁷⁵

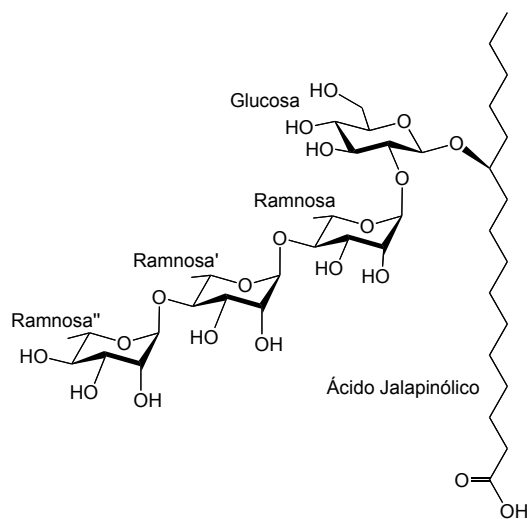


Figura 16. Estructura del ácido operculínico E.

El ácido simónico A ([O-6-deoxi- α -L-mannopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)-O-[6-deoxi- α -L-mannopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)]-O-6-deoxi- α -L-mannopiranosil- (1 $\rightarrow$ 4) -O-6-deoxi- α -L-mannopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopiranosil]oxi, del ácido (11S)-hexadecanoico) es un heteropentasacárido ramificado del ácido jalapínico constituido por una unidad de D-glucosa y cuatro de L-ramnosa (**Figura 17**),^{8,17} el cual también se ha asilado y caracterizado de *Ipomoea murucoides* (Roem. et Schult).⁶ El ácido simónico B ([O-6-deoxi- α -L-mannopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)-O-[6-deoxi- α -L-mannopiranosil- (1 $\rightarrow$ 4)]-O-6-deoxi- α -L-mannopiranosil- (1 $\rightarrow$ 4) -O-6-deoxi- α -L-mannopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopiranosil]oxi, del ácido (11S)-hexadecanoico) es un heteropentasacárido ramificado del ácido jalapínico constituido por una unidad de D-fucosa y cuatro de L-ramnosa (**Figura 18**),^{10-12,17} el cual también se ha asilado y caracterizado de *Ipomoea murucoides* (Roem. et Schult),^{6,29} *Ipomoea pes-caprae*,^{28,100,104} e *Ipomoea stolonifera*.⁹⁶

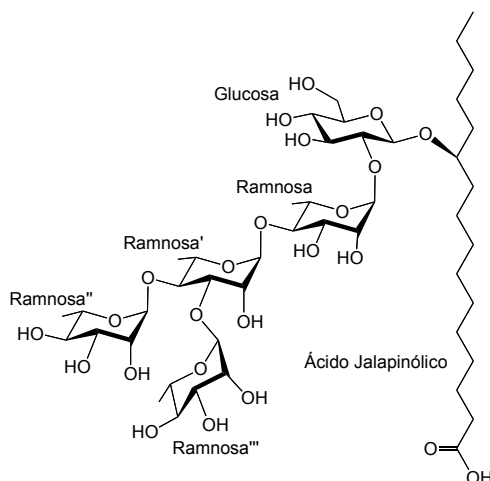


Figura 17. Estructura del ácido simónico A.

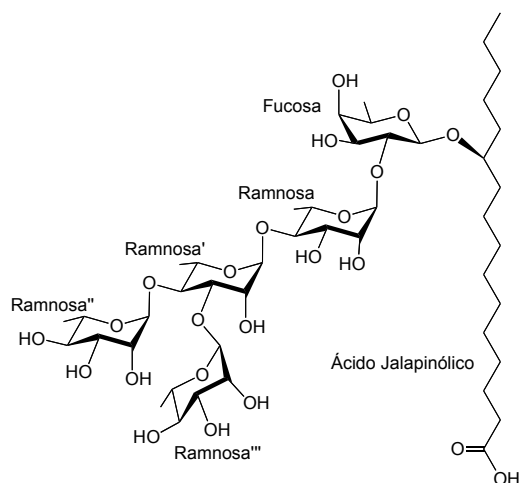
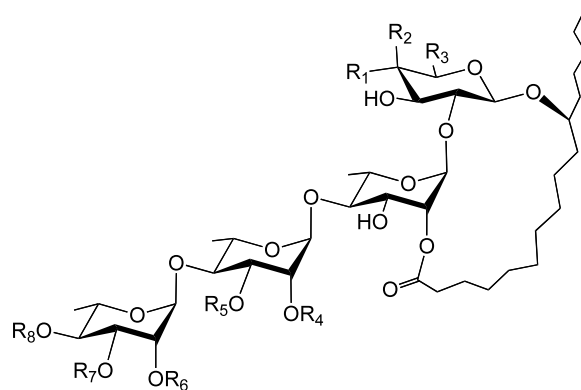


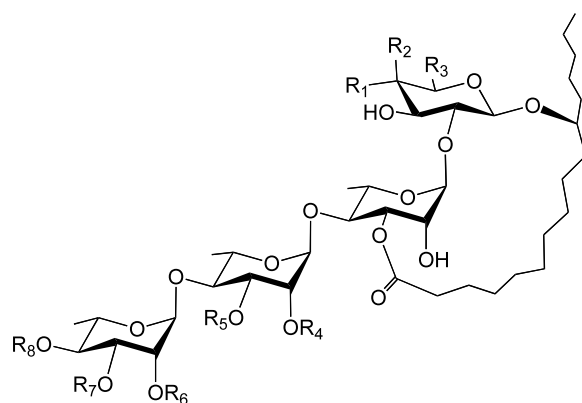
Figura 18. Estructura del ácido simónico B.



Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
Simonina I	H	OH	CH ₃	Deca	H	Cna	H	Deca
Simonina II	OH	H	CH ₂ OH	Mba	Ram	H	H	Dodeca
Simonina III	H	OH	CH ₃	Mba	Ram	H	H	Dodeca
Simonina IV	H	OH	CH ₃	Deca	Ram	H	H	Dodeca
Simonina V	H	OH	CH ₃	Octa	Ram	H	H	Dodeca
Batataósido II	H	OH	CH ₃	Mba	Ram	H	Cna	Iba
1	H	OH	CH ₃	Deca	H	H	H	Dodeca
2	H	OH	CH ₃	Mba	Ram	Cna	H	Iba
3	H	OH	CH ₃	Iba	Ram	Cna	H	Deca
4	H	OH	CH ₃	Mba	Ram	Cna	H	Dodeca
Batatósido III	H	OH	CH ₃	Mba	Ram	H	Cna	Mba
Batatósido D	H	OH	CH ₃	Mba	Ram	H	Cna	Dodeca
Batatósido E	H	OH	CH ₃	Mba	Ram	Cna	H	Dodeca
Batatósido F	H	OH	CH ₃	Mba	Ram	Cna	Dodeca	H
Batatósido G	H	OH	CH ₃	Dodeca	Ram	H	Cna	Aa
Batatósido H	H	OH	CH ₃	Mba	Glu	H	Cna	Dodeca
Batatósido I	H	OH	CH ₃	Mba	Glu	Cna	H	Dodeca
Batatósido J	OH	H	CH ₂ OH	Dodeca	H	Cna	H	Deca
Batatósido K	OH	H	CH ₂ OH	H	Mba	Cna	H	Dodeca
Batatósido L	OH	H	CH ₂ OH	Mba	H	Cna	H	Dodeca
Batatósido M	OH	H	CH ₂ OH	Dodeca	Ram	Cna	H	Mba
Batatósido N	OH	H	CH ₂ OH	Mba	Ram	H	Cna	Iba
Batatósido O	H	OH	CH ₃	Iba	Ram	Cna	H	Dodeca
Batatósido P	H	OH	CH ₃	Deca	Ram	Cna	H	Iba
Batatinósido V	H	OH	CH ₃	Deca	Ram	H	H	H
Ipomotaósido A	H	OH	CH ₃	H	Deca	Cna	H	Dodeca
Ipomotaósido B	H	OH	CH ₃	Dodeca	H	Cna	H	Dodeca

Figura 19. Estructuras con el éster intramolecular del núcleo oligosacárido por la aglicona en la posición C-2 de la segunda unidad monosacárida (Ram).

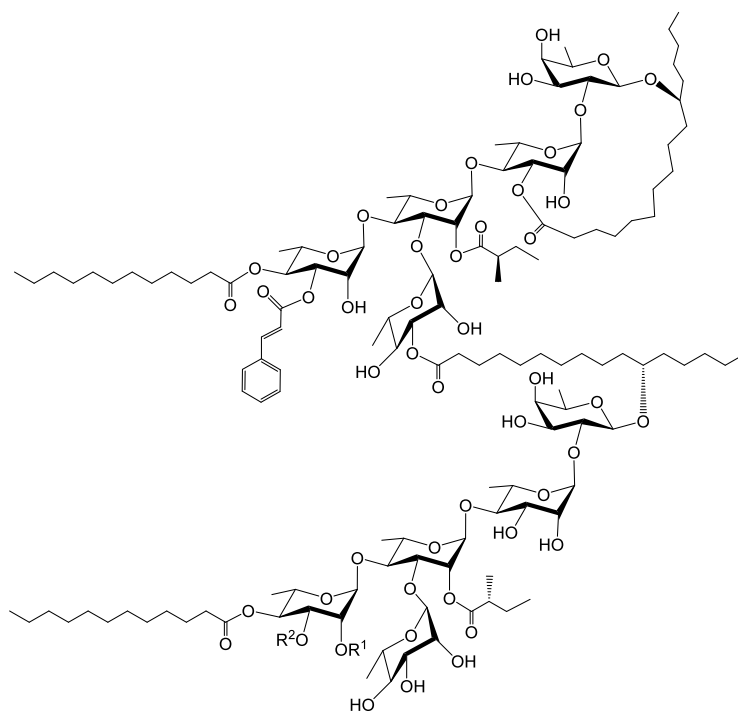
Se han aislado más de 30 glicolípidos intactos (**Figuras 19-22**) a partir de las resinas glicosídicas aisladas de las raíces tuberosas del camote; las **simoninas I-V**, **batataósidos I-II**, **batatinas I-IV**, dímeros de tipo éster, **batatinósidos I-V**, **batatósidos A-P**, **batatósidos III-V**, así como los 4 oligosacáridos que reportan Naoki Noda y Yoshinori Horiuchi, los cuales no se nombraron y sólo se describen como los compuestos **1-4**. De las hojas del camote, se han aislado los **ipomotaósidos A-D**.^{7-8,10-18} También, se han reportado las **pescapreínas I y VII** previamente aisladas de *Ipomoea pes-caprae*, así como la **murucoídina I** previamente aislada de *Ipomoea murucoides*.



Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
Batataósido I	H	OH	CH ₃	Mba	Ram	H	Cna	Iba
Batatinósido I	H	OH	CH ₃	Mba	Ram	H	Cna	Dodeca
Batatinósido II	H	OH	CH ₃	H	Deca	H	H	H
Batatinósido III	H	OH	CH ₃	H	H	H	H	Dodeca
Batatinósido IV	H	OH	CH ₃	Mba	Ram	H	H	Dodeca
Batatósido IV	H	OH	CH ₃	Mba	Ram	H	H	H
Batatósido V	H	OH	CH ₃	Dodeca	Ram	Cna	H	Deca
Batatósido A	H	OH	CH ₃	Mba	Ram	Cna	Iba	H
Batatósido B	H	OH	CH ₃	Ba	Ram	H	Cna	Iba
Batatósido C	H	OH	CH ₃	Mba	Ram	Cna	Dodeca	H
Ipomotaósido C	H	OH	CH ₃	Deca	H	Cna	H	Dodeca
Ipomotaósido D	H	OH	CH ₃	H	Deca	Cna	H	Dodeca

Figura 20. Estructuras con el éster intramolecular del núcleo oligosacárido por la aglicona en la posición C-3 de la segunda unidad monosacárida (Ram).

Para las resinas glicosídicas aisladas de *Ipomoea batatas* se han demostrado diversos efectos biológicos. Se ha descrito la actividad citotóxica de los batatósidos L y O en líneas celulares de carcinoma laríngeo (Hep-2),¹⁷ mostrando una actividad citotóxica significativa, con valores de CE₅₀ de 3.5 y 2.0 µg/mL, respectivamente. Estos valores de citotoxicidad son similares a los descritos para otras resinas glicosídicas lipofílicas, como la murucoidina IV (CE₅₀ = 4.0 µg/mL) contra la línea celular Hep-2. Las variaciones en la potencia de la actividad biológica dependen de su grado de lipofilicidad y del tamaño del macrociclo lactónico,^{5,73} presentando una mayor actividad citotóxica (KB, DE₅₀ < 4 µg/mL) aquellos oligosacáridos anfipáticos con un menor grado de lipofilicidad.^{4,5} Las resinas glicosídicas del camote también han presentado actividad antiinflamatoria, como el **ipomotaósido A**, para el cual se evaluó su potencial inhibidor de las enzimas COX-1 y COX-2. Éstas han sido utilizadas ampliamente como herramientas para el estudio de los efectos antiinflamatorios. El **ipomotaósido A** mostró una potencia equivalente contra la COX-1 y COX-2 a la desarrollada por la aspirina.⁷



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

Figura 21. Estructuras de las **batatinas I y II**.

La caracterización estructural de las **batatinas I – IV** mediante técnicas de alta resolución en la RMN junto con la espectrometría de masas (FAB y ESI), así como con el empleo de la simulación espectral, demostró que estas moléculas presentan estructuras poliméricas, constituidas por dímeros oligosacáridos acilados del ácido simónico B (**Figura 18**), en el caso de las **batatinas I y II** (**Figura 21**), y del ácido operculínico C (**Figura 15**) en el de las **batatinas III y IV** (**Figura 22**).^{11,18}

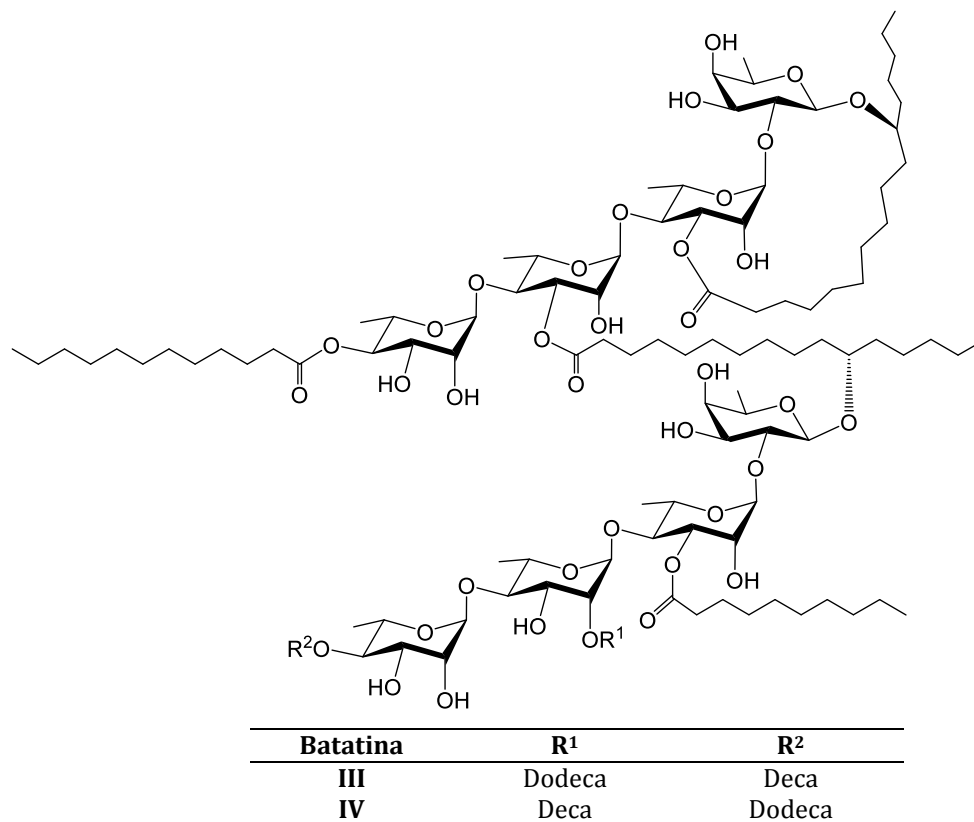


Figura 22. Estructuras de las **batatinas III y IV**.

Las **batatinas I-IV** mostraron cuatro residuos ácidos esterificando sus núcleos oligosacáridos. Estos residuos acilantes fueron identificados como el metilbutanoilo, *trans*-cinamoilo, *n*-decanoilo y *n*-dodecanoilo. El establecimiento del éster intramolecular del núcleo oligosacárido por la aglicona se localizó en la posición C-3 de la segunda unidad sacárida (Ram) para las **batatinas I y II**, mientras que la lactonización se estableció en la posición C-2 de la segunda unidad sacárida (Ram) en las **batatinas III y IV**. La unión entre las dos unidades aciladas del ácido simónico B de las **batatinas I y II** se estableció a través de un enlace éster entre el

grupo carboxilato de la aglicona de una de éstas dos unidades oligosacáridas (unidad B) y el grupo hidroxilo situado en la posición C-3 de la quinta unidad sacárida (Ram'') del núcleo restante (unidad A). La unión entre las dos unidades aciladas del ácido operculínico C de las **batatitas III y IV** se estableció a través de un enlace éster entre el grupo carboxilato de la aglicona de una de sus dos unidades de ácido operculínico C (unidad B) y el grupo hidroxilo situado en la posición C-3 de la tercera unidad sacárida (Ram') del núcleo restante de ácido operculínico C (unidad A).

Las **batatinas I-IV** representan un par de diastereoisómeros ya que comparten el mismo patrón de sustitución y las mismas posiciones de lactonización. La única diferencia estructural entre las **batatinas I y II** es la posición en la que se establece el éster con el ácido cinámico en la unidad oligosacárida B. En la **batatina I** se establece en la posición 2 de la unidad de ramnosa externa superior (Ram'') y en la **batatina II** en la posición 3 de esta misma unidad monomérica, mientras que las **batatinas III y IV** difieren en la posición en la que los ácidos *n*-decanoilo y *n*-dodecanoilo esterifican a la unidad B del ácido operculínico C, específicamente en sus unidades monosacáridas ramnosa externa superior (Ram') y ramnosa terminal (Ram'').

3 JUSTIFICACIÓN

Desde la época colonial se ha reconocido que diversos remedios tradicionales derivados de plantas mexicanas presentan una fuerte actividad purgante, catártica y antiinflamatoria. Los miembros de estos remedios se han asignado taxonómicamente como pertenecientes al género *Ipomoea* de la familia *Convolvulaceae* y uno de sus principales marcadores quimiotaxonómicos son sus complejas mezclas de resinas glicosídicas y que constituyen un conjunto de metabolitos secundarios de posible interés para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos.^{2,4-7,25,42}

De acuerdo a un criterio quimiotaxonómico, se eligió para la realización de un estudio químico a la especie mexicana *Ipomoea batatas* para el aislamiento de los constituyentes mayoritarios presentes en sus resinas glicosídicas. Así, el presente trabajo de investigación plantea la purificación de los glicolípidos constituyentes de los extractos solubles en hexano y cloroformo de las raíces tuberosas de tres variedades mexicanas de la especie en estudio y la determinación estructural de estos constituyentes.

4 OBJETIVOS

Implementar condiciones instrumentales en la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) para desarrollar una metodología analítica que permita la separación y la purificación de los constituyentes individuales de naturaleza oligosacárida a partir de las resinas glicosídicas presentes en los extractos lipofílicos de *Ipomoea batatas* (tres variedades, los camotes de cáscara blanca, morada y amarilla).

Determinar la estructura molecular de los constituyentes presentes en las resinas glicosídicas solubles en hexano y cloroformo de *Ipomoea batatas* mediante la aplicación de métodos espectroscópicos (resonancia magnética nuclear) y espectrométricos (EM-FAB, EM-ESI y EM-MALDI-TOF) con el propósito de ampliar el conocimiento relacionado con la diversidad estructural de estos metabolitos biodinámicos.

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 AISLAMIENTO DE LOS GLICOLÍPIDOS.

5.1.1 MATERIAL VEGETAL.

Para la obtención de las resinas glicosídicas se emplearon los tubérculos de tres variedades de *Ipomoea batatas*. Los tubérculos de la variedad de cáscara blanca (2.6 Kg) fueron recolectados en plantíos del municipio de Salvatierra, Guanajuato; los tubérculos de la variedad de cáscara morada (2.9 Kg) fueron recolectados en el municipio de Santa Rita, Maravatio, Guanajuato; y los tubérculos de cáscara amarilla (1.6 Kg) fueron recolectados en el municipio de Santa Rita, Maravatio, Guanajuato en 1999. El material vegetal seco y pulverizado fue sometido a una maceración exhaustiva preliminar con hexano, después con cloroformo y al final con metanol. Al término de cada una de las extracciones, las soluciones se filtraron y se concentraron a sequedad a presión reducida (**Cuadro 3**). Para la obtención de las resinas glicosídicas de la variedad blanca sólo se utilizó el extracto soluble en hexano y para la obtención de las resinas glicosídicas de la variedades morada y amarilla se utilizaron los extractos solubles en cloroformo.

Cuadro 3. Peso de los extractos obtenidos en las dos variedades

EXTRACTO	Var. blanca	Var. morada	Var. amarilla
Hexánico	13.1 g	39.19 g	8.29 g
Clorofórmico	–	38.74 g	7.15 g
Metanólico	–	50 g	19.3 g

5.1.2 FRACCIONAMIENTO PRIMARIO.

Se utilizó gel de sílice 60 Merck (70–230 mesh) para empacar las columnas y realizar el fraccionamiento primario de los extractos. El análisis de la homogeneidad de cada una de las fracciones obtenidas se realizó mediante la cromatografía en capa fina, utilizándose cromatoplasmas de gel de sílice 60 F54 sobre aluminio. Las cromatoplasmas después de eluidas se humedecieron con un agente cromógeno (mezcla H_2SO_4 – sulfato cérico) y se desarrolló el color por calentamiento sobre una parrilla a una temperatura de 60°C. Se inició el fraccionamiento primario con la elución con hexano y, posteriormente, se incrementó gradualmente la polaridad

con los sistemas de elución constituidos por hexano-CHCl₃, CHCl₃-Me₂CO, y CHCl₃-Me₂CO-MeOH. Para el extracto soluble en hexano de la variedad de cáscara blanca se generaron doce fracciones diferentes (**Cuadro 4**) conteniendo siete de éstas las mezclas de glicolípidos nombradas como fracciones α , $\alpha\beta$, β , γ , δ , $\delta\epsilon$ y ϵ , respectivamente. Para el extracto soluble en cloroformo de la variedad de cáscara morada se generaron trece fracciones diferentes (**Cuadro 5**) conteniendo cinco de éstas las mezclas de glicolípidos nombradas como fracciones **I**, **II**, **III**, **IV** y **V**, respectivamente.

Cuadro 4. Fraccionamiento realizado mediante cromatografía en columna abierta del extracto soluble en hexano.

Eluato	Solvente	Proporción	Reunión	Fracción	Peso (g)
1-3	<i>n</i> -hexano	100%	1-2	I	
3-9	<i>n</i> -hexano	100%	3-9	II	
10-14	<i>n</i> -hexano-CH ₂ Cl ₂	9:1			
15-19	<i>n</i> -hexano-CH ₂ Cl ₂	7:3			
20-34	<i>n</i> -hexano-CH ₂ Cl ₂	1:1			
35-44	CH ₂ Cl ₂	100%	10-44	III	
45-49	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO	9:1			
50-54	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO	7:3	45-54	IV	
55-58	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO	7:3	55-58	V	
59-64	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO	7:3	59-64	α	1.21
65-68	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO	7:3:0.5	65-68	$\alpha\beta$	1.18
69-74	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO -MeOH	7:3:0.5	69-74	β	1.46
75-81	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO -MeOH	7:3:1	75-81	γ	1.12
82-84	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO -MeOH	7:3:1	82-84	δ	0.18
85-87	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO -MeOH	7:3:2	85-87	$\delta\epsilon$	0.59
88-94	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO -MeOH	7:3:2	88-94	ϵ	1.18
95	CH ₂ Cl ₂ -MeOH	1:1			

Cuadro 5. Fraccionamiento realizado mediante cromatografía en columna abierta del extracto soluble en cloroformo.

Eluato	Solvente	Proporción	Reunión	Fracción	Peso (g)
0.5 Lt-1	<i>n</i> -hexano	100%	1-2	a	
2-15	<i>n</i> -hexano-CH ₂ Cl ₂	1:1	3-11	b	
16-30	<i>n</i> -hexano-CH ₂ Cl ₂	3:7	12-22	c	
31-40	CH ₂ Cl ₂	100%	23-38	d	
41-45	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO	9:1	39-47	e	
46-60	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO	7:3	48-53	f	
61-75	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO -MeOH	7:3:0.5	54-61	I	1.95
76-86	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO -MeOH	7:3:1	63-69	II	4.16
87-97	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO -MeOH	7:1:3	70-85	III	6.68
98-102	CH ₂ Cl ₂ -MeOH	1:1	86-100	IV	9.01
103-107	CH ₂ Cl ₂ -MeOH	3:7	101-107	V	1.50
108-115	MeOH	100%	108-115	g	

Para el extracto soluble en cloroformo de la variedad de cáscara amarilla se generaron diez fracciones diferentes (**Cuadro 6**) conteniendo cuatro de éstas las mezclas de glicolípidos nombradas como fracciones **I, II, III, y IV**, respectivamente.

Cuadro 6. Fraccionamiento realizado mediante cromatografía en columna abierta del extracto soluble en cloroformo.

Eluato	Solvente	Proporción	Reunión	Fracción	Peso (g)
0.5 Lt-1	<i>n</i> -hexano	100%	1-2	a	
2-14	<i>n</i> -hexano-CH ₂ Cl ₂	1:1	3-18	b	
15-24	<i>n</i> -hexano-CH ₂ Cl ₂	3:7	19-34	c	
25-34	CH ₂ Cl ₂	100%			
35-49	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO	7:3	35-51	d	
50-59	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO -MeOH	7:3:0.5	52-59	I	0.62
60-69	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO -MeOH	7:3:1	60-69	II	0.67
70-79	CH ₂ Cl ₂ -Me ₂ CO -MeOH	7:1:3	70-76	III	0.81
80-85	CH ₂ Cl ₂ -MeOH	1:1	77-87	IV	0.44
86-95	CH ₂ Cl ₂ -MeOH	3:7	88-100	V	0.46
96-115	MeOH	100%	101-115	e	

5.2 PURIFICACIÓN DE LOS GLICOLÍPIDOS.

5.2.1 MÉTODOS CROMATOGRAFÍCOS

Las separaciones que utilizaron la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) se realizaron empleando columnas de fase reversa C-18, las cuales han sido descritas en la literatura para la purificación de los glicolípidos constituyentes de las resinas glicosídicas.^{2,10-11}

- Columna analítica de fase reversa Symmetry C-18 (4.6 × 250mm, 5 µm).
- Columna preparativa de fase reversa Symmetry C-18 (19 × 300mm, 7 µm).

La instrumentación estuvo constituida por una bomba (Waters 600 controller, Millipore Corp., Waters Chromatography División, Milford, MA, USA) y un refractómetro diferencial Waters 410 integrados a un equipo de cómputo (OptiPlex GX280, Dell). El control del equipo, la adquisición de datos, el proceso y el manejo de la información cromatográfica se hicieron a través del software Empower v.2 (Waters). Una válvula de reciclaje de muestra se adaptó al sistema cromatográfico. Cada fase móvil se liberó de impurezas sólidas a través de su paso por un filtro

Millipore conectado al vacío, empleando una membrana de polipropileno hidrofílico de 0.45 μm . Posteriormente, la fase móvil fue desgasificada por desplazamiento del aire mediante un sistema de helio a una velocidad de 10 mL/min durante 15 minutos. Todas las muestras de prueba se disolvieron en MeOH para su posterior inyección en el equipo de HPLC. En algunas ocasiones fue necesario filtrar la muestra mediante un filtro propio para jeringa llamado Acrodisco GHP, provisto de una membrana de polipropileno hidrofílico de 0.2 μm (PALL Gelman Laboratory).

5.2.2 FRACCIONES PRIMARIAS β Y $\delta\epsilon$ DEL EXTRACTO HEXÁNICO DE LA VARIEDAD DE CASCARA BLANCA.

Se realizaron pruebas a nivel analítico, de las fracciones primarias β y $\delta\epsilon$ utilizando una columna fase reversa C-18 con dos sistemas de detección; en el UV ($\lambda = 240 \text{ nm}$) y en el índice de refracción. Se encontró un sistema cromatográfico adecuado constituido de una fase móvil con un sistema de elución binario constituido por CH_3CN -MeOH y en el detector de índice de refracción. El fraccionamiento por HPLC se realizó en una columna preparativa C-18 empleando la técnica de sobrecarga de columna y corte de núcleo hasta agotar las muestras problemas, β y $\delta\epsilon$, y reunir cantidades suficientes de sus constituyentes. Las condiciones instrumentales a nivel preparativo fueron las siguientes:

- Columna de fase reversa: C-18;
- Fase móvil: CH_3CN :MeOH (9:1);
- Flujo: 9 mL/min;
- Detector: índice de refracción (sensibilidad 256 RIU);
- Concentración de la muestra: 10 mg/mL;
- Volumen de inyección: 500 μL .

La muestra problema β se resolvió en nueve diferentes constituyentes, nombrados como β A-I (Cuadro 7, Figura 23). El eluato β -C se reinyectó con las mismas condiciones instrumentales a nivel preparativo antes descritas y se aplicó la técnica de reciclaje de muestra.¹⁹⁻

²⁰ Se obtuvieron 13 mg de la **batatina VII (1)** y 5.2 mg de la **batatina VIII (2)**. Se realizó el análisis espectroscópico y espectrométrico de estos compuestos y se determinaron sus constantes físicas (punto de fusión y dispersión óptica rotatoria). El resto de las fracciones fueron analizadas en investigaciones previas.¹⁰⁻¹¹

Cuadro 7. Tiempos de retención de los diferentes constituyentes de la muestra problema β .

Eluato	Tiempo de retención (t_R , min)	Peso muestra (mg)
A	8.4	10.7
B	9.6	20.4
C	11.7	18.2
D	13.4 – 15.9	26.5
E	19.7 – 20.7	22.1
F	22.5 – 23.7	15.6

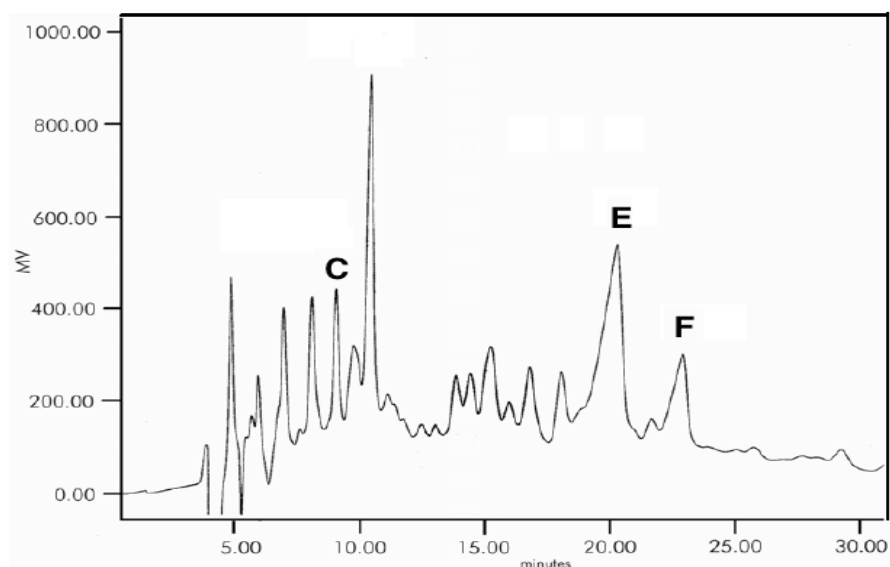


Figura 23. Cromatograma preparativo de la muestra problema β .

La muestra problema $\delta\epsilon$ se resolvió en seis diferentes constituyentes, nombrados como $\delta\epsilon$ **A-F (Figura 24, Cuadro 8)**. El eluato $\delta\epsilon$ -**B** se reinyectó en una columna preparativa de fase reversa C-18 con un sistema binario constituido con $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (95:5), para incrementar el tiempo de retención y mejorar la resolución. Se implemento la técnica de corte de núcleo y reciclaje de la muestra, utilizándose de 8 a 10 ciclos para obtener la máxima separación de los constituyentes (**Figura 25**).¹⁹ Esta técnica permitió obtener 2.5 mg de la **pescapreína I (3)** y 3 mg del **batatinósido VI (4)**. Se realizó el análisis espectroscópico y espectrométrico de estos

compuestos y se determinaron sus constantes físicas (punto de fusión y dispersión óptica rotatoria).

Cuadro 8. Tiempos de retención de los diferentes constituyentes de la muestra problema $\delta\epsilon$.

Eluato	Tiempo de retención (t_R , min)	Peso muestra (mg)
A	6.28	13.2
B	7.58	30.5
C	12.80	27.0
D	14.00–17.50	17.2
E	17.70–25.00	34.9
F	29.21	58.7

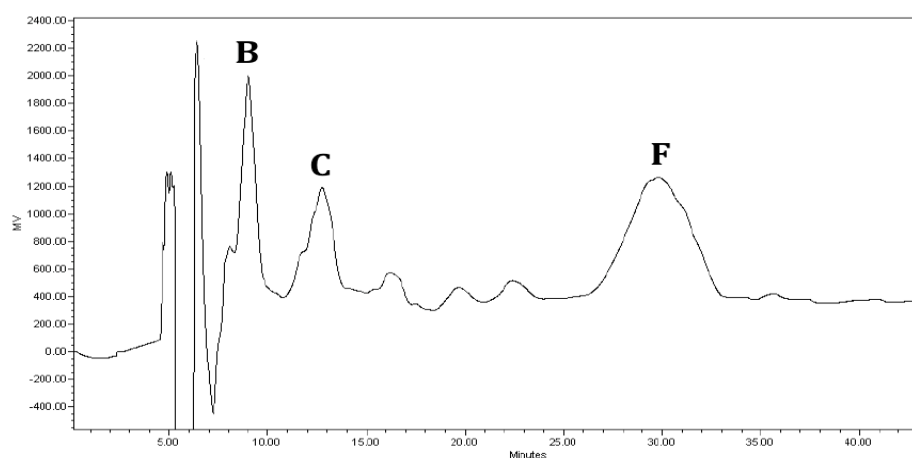


Figura 24. Cromatograma preparativo de la muestra problema $\delta\epsilon$.

En una previa investigación esta misma técnica permitió obtener 3 mg de la **murucoídina I** del eluato $\delta\epsilon$ -C, 6.1 mg de la **pescapreína VII** y 12.1 mg del **batatinósido V** el eluato $\delta\epsilon$ -F.¹⁰

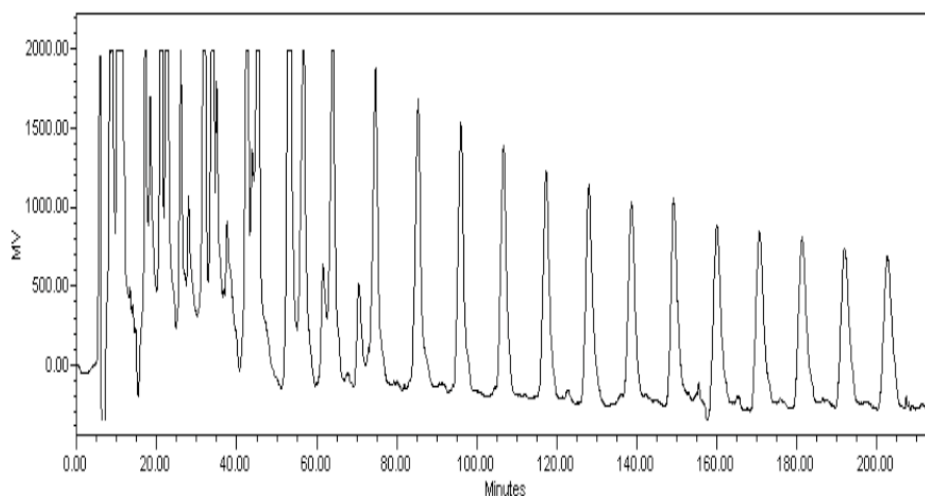


Figura 25. Cromatograma obtenido a nivel preparativo en modo de reciclaje del eluato $\delta\epsilon$ -B.

5.2.3 FRACCIONES PRIMARIAS II Y IV DEL EXTRACTO SOLUBLE EN CLOROFORMO DE LA VARIEDAD DE CÁSCARA MORADA.

Se realizó un fraccionamiento secundario de las fracciones primarias **II** y **IV**, utilizando gel de sílice 60 Merck (70–230 mesh) para empacar las columnas. Se inició el fraccionamiento secundario con la elución con hexano y, posteriormente, se incrementó gradualmente la polaridad con los sistemas de elución constituidos por CHCl_3 –MeOH. De las muestras problema **II** y **IV**, la elución con CH_2Cl_2 –MeOH (1:1) proporcionó 144 mg y 336 mg, respectivamente. Se le realizaron pruebas a nivel analítico utilizando una columna fase reversa C-18 y se observó la resolución total de los constituyentes presentes en las muestras al utilizar el sistema de elución binario constituido con CH_3CN :MeOH. Una vez encontrada las condiciones a nivel analítico se procedió a su extrapolación a un nivel preparativo empleando la técnica de sobrecarga de columna y corte de núcleo hasta agotar las muestras problemas y reunir cantidades suficientes de sus constituyentes. Para la muestra problema **II**, las condiciones instrumentales a nivel preparativo fueron las siguientes:

- Columna de fase reversa: C-18;
- Fase móvil: CH_3CN :MeOH (9:1);
- Flujo: 9 mL/min;
- Detector índice de refracción (sensibilidad 256 RIU);
- Concentración de la muestra: 10 mg/mL;
- Volumen de inyección: 500 μL .

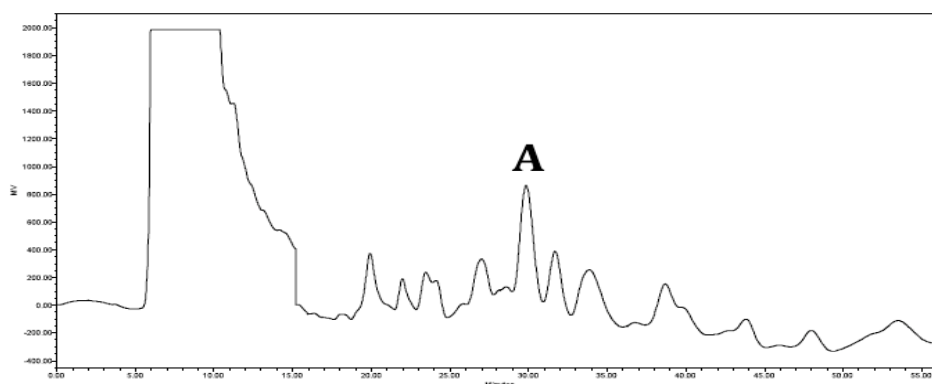


Figura 26. Cromatograma preparativo de la muestra problema **II**.

La muestra problema **II** se resolvió en diferentes constituyentes (**Figura 26**) y el eluato mayoritario (**A, Figura 27**) se reinyectó en una columna preparativa de fase reversa C18, utilizando un sistema binario constituido con CH₃CN:MeOH (3:2). Se utilizó la técnica de corte de núcleo y reciclaje de la muestra, completándose de 8 a 10 ciclos para obtener la máxima separación de sus constituyentes.¹⁹ Esta técnica permitió la obtención de 16.4 mg de la **batatina V (5)** y 12 mg de la **batatina VI (6)**.

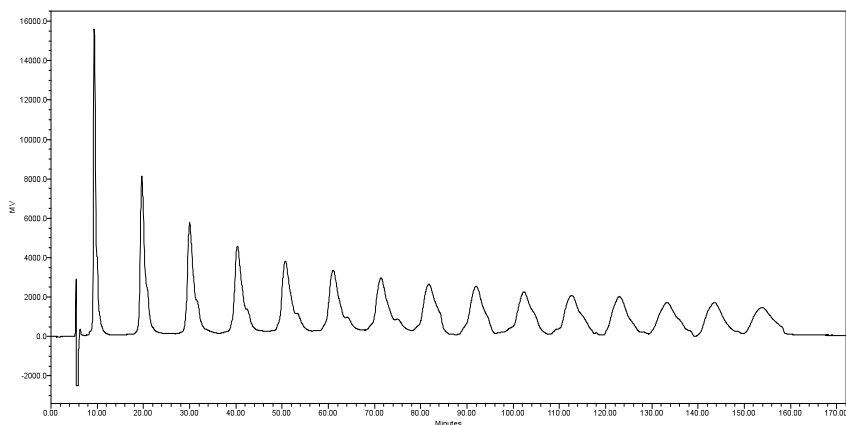


Figura 27. Cromatograma obtenido a nivel preparativo para la fracción primaria **II**.

La muestra problema **IV** se resolvió en siete diferentes constituyentes nombrados como **IV A-H (Figura 28, Cuadro 9)**.

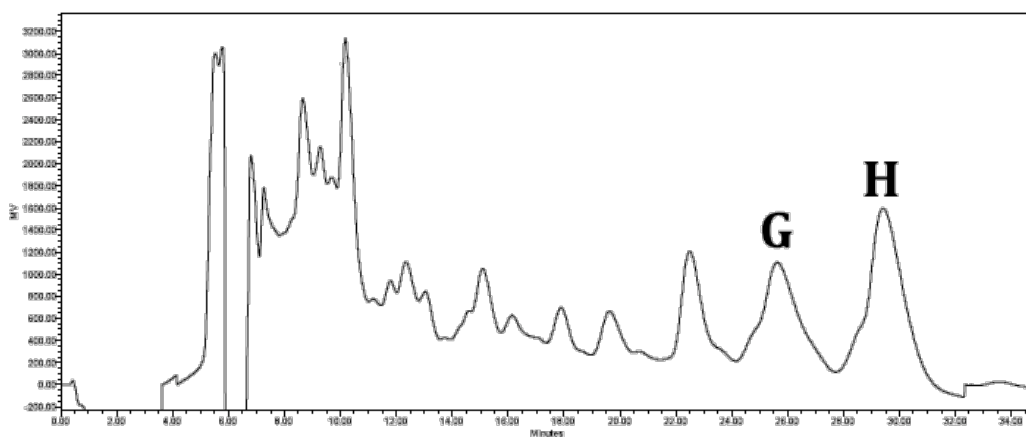


Figura 28. Cromatograma preparativo de la muestra problema **IV**.

Cuadro 9. Tiempos de retención de los diferentes constituyentes de la muestra problema **IV**.

Eluato	Tiempo de retención (t_R , min)	Peso muestra (mg)
A	8.5 – 11	109.2
B	11.5 – 13.5	40.0
C	14.0 – 17.0	41.0
D	18.0	15.0
E	19.7	17.9
F	22.7	35.1
G	25.7	42.1
H	29.5	56.8

Las condiciones instrumentales a nivel preparativo fueron las siguientes:

- Columna de fase reversa: C-18;
- Fase móvil: MeOH:CH₃CN (3:2);
- Flujo: 8.16 mL/min;
- Detector: índice de refracción (sensibilidad 256 RIU);
- Concentración de la muestra: 10 mg/mL;
- Volumen de inyección: 500 μ L.

Para acortar el tiempo de retención y mejorar la resolución de los eluatos **G** y **H**, se hicieron pruebas preliminares en una columna analítica de fase reversa C-18. El sistema cromatográfico adecuado consistió en una columna analítica C-18 (4.6 $\times$ 250mm, 5 μ m); flujo: 0.5 ml/min; fase móvil MeOH. Este análisis y la técnica de corte de núcleo y reciclaje de la muestra proporcionó 10.6 mg de la **batatina X (7)** del eluato **G** y 8.4 mg de la **batatina XI (8)** del eluato **H**. Se realizó el análisis espectroscópico y espectrométrico de los glicolípidos individuales de las fracciones primarias **II** y **IV**, así como se determinaron sus constantes físicas (punto de fusión y dispersión óptica rotatoria).

5.2.4 FRACCIÓN PRIMARIA II DEL EXTRACTO CLOROFÓRMICO DE LA VARIEDAD DE CÁSCARA AMARILLA.

Se realizaron pruebas a nivel analítico utilizando una columna C-18 y se encontró una resolución total de los constituyentes presentes en la muestra al utilizar el sistema de elución binario constituido con MeOH:CH₃CN (6:4). Una vez encontrada las condiciones a nivel analítico se procedió a extrapolarlas. El fraccionamiento por HPLC se realizó en una columna preparativa C-18 empleando la técnica de sobrecarga de columna y corte de núcleo hasta agotar las muestra problema y reunir cantidades suficientes de sus constituyentes. La muestra problema se resolvió en cinco diferentes constituyentes (**Figura 29, Cuadro 10**).

Cuadro 10. Tiempos de retención de los diferentes constituyentes de la muestra problema II.

Eluato	Tiempo de retención (t_R , min)	Peso muestra (mg)
A	8.9	153.4
B	9.6	19.1
C	10.3	26.1
D	10.9	74.0
E	21.2	84.2

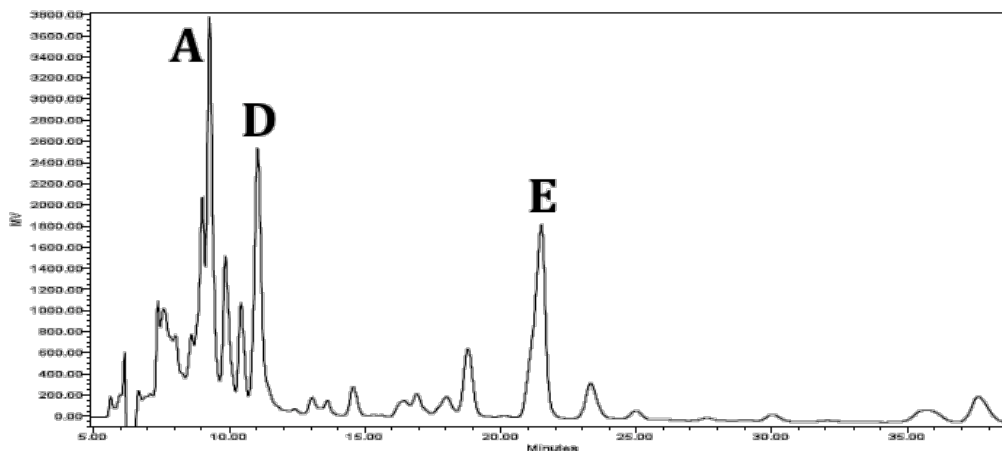


Figura 29. Cromatograma preparativo de la muestra problema II.

Las condiciones instrumentales a nivel preparativo fueron las siguientes:

- Columna de fase reversa: C-18;
- Fase móvil: MeOH:CH₃CN (3:2);
- Flujo: 8.16 mL/min;
- Detector índice de refracción (sensibilidad 256 RIU);
- Concentración de la muestra: 10 mg/mL;
- Volumen de inyección: 500 µL.

Todos los eluatos se reinyectaron en una columna preparativa de fase reversa C-18. Para incrementar el tiempo de retención y mejorar la resolución de los eluatos **A**, **B**, **C** y **D** se hicieron pruebas preliminares en una columna analítica de fase reversa C-18. El sistema cromatográfico adecuado consistió en una columna analítica C-18, con un flujo de 0.4 ml/min y una fase móvil MeOH:CH₃CN (1:1). Se realizó el escalamiento de estas condiciones instrumentales analíticas a un nivel preparativo. La **Figura 30** ilustra el cromatograma obtenido durante el reciclaje del eluato **A**, la cual se encuentra constituida por dos compuestos mayoritarios, **A1** ($t_R = 10.5$ min) y **A2** ($t_R = 82.5$ min), los cuales se cortaron y, posteriormente, se reciclaron mediante la técnica de sobrecarga de columna y corte del núcleo. Este análisis cromatográfico del eluato **A** proporcionó 16.3 mg de la **pescapreína I (9)** y 9.9 mg del **batatinósido VII (10)**.

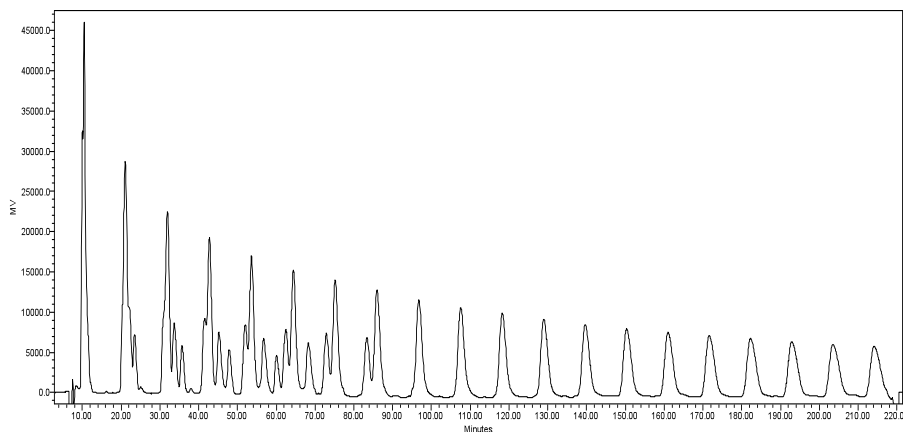


Figura 30. Cromatograma obtenido a nivel preparativo para el eluato **A**.

La **Figura 31** ilustra el cromatograma obtenido a nivel preparativo para el reciclaje del eluato **B**, el cual se encuentra constituido por un compuesto mayoritario **B1** ($t_R = 11.71$ min), el

cual se cortó y recicló mediante las técnicas descritas anteriormente. Este análisis del eluato **B** proporcionó 11.8 mg del **batatinósido VIII (11)**.

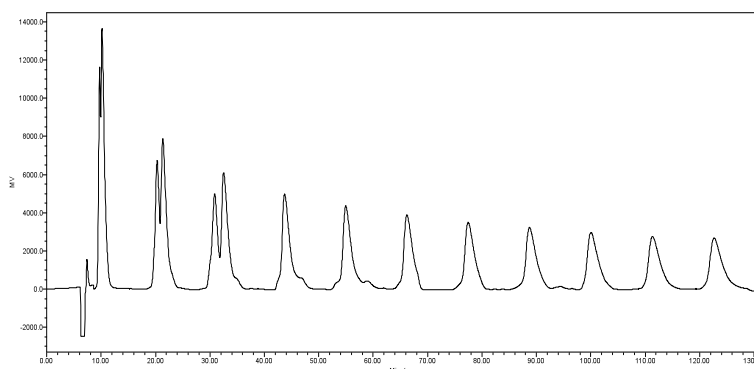


Figura 31. Cromatograma obtenido a nivel preparativo para el eluato **B**.

La **Figura 32** ilustra el cromatograma obtenido a nivel preparativo durante el reciclaje del eluato **C** y que permitió la purificación de un compuesto mayoritario **C1** ($t_R = 20.9$ min), el cual se cortó y posteriormente fue reciclado mediante las técnicas descritas anteriormente. Este análisis del eluato **C** proporcionó la **batatina IX (12)**.

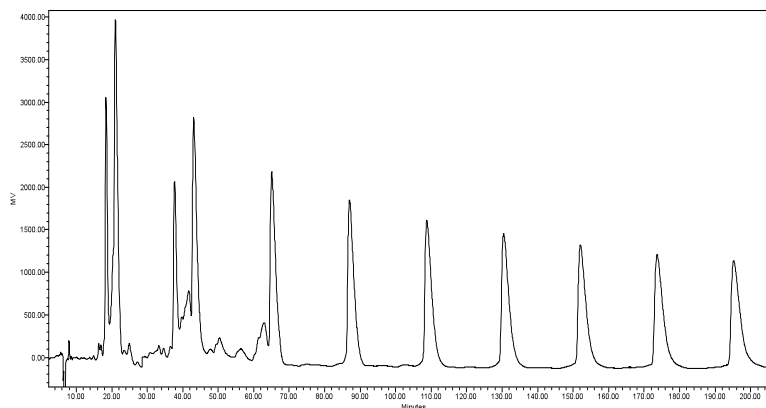


Figura 32. Cromatograma obtenido a nivel preparativo para el eluato **C**.

La **Figura 33** ilustra el cromatograma obtenido a nivel preparativo para el eluato **D**, el cual se encuentra constituido por un compuesto mayoritario **D1** ($t_R = 116.71$ min), el cual se cortó y, posteriormente, fue reciclado mediante las técnicas descritas anteriormente. Este análisis cromatográfico del eluato **D** proporcionó 38.5 mg del **batatinósido IV (13)**.

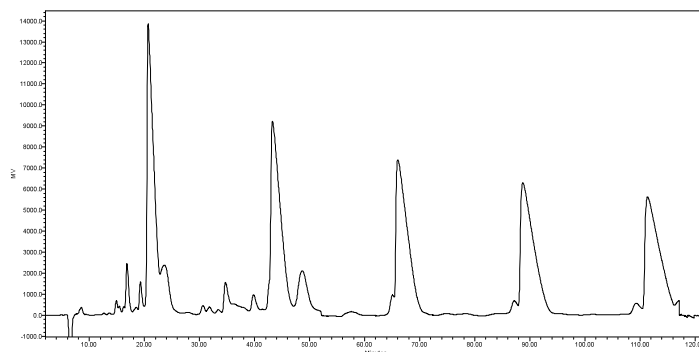


Figura 33. Cromatograma obtenido a nivel preparativo para el eluato **D**.

Para acortar el tiempo de retención y mejorar la resolución del eluato **E**, se hicieron pruebas preliminares en una columna analítica de fase reversa C-18. Para el eluato **E** se utilizó un sistema binario constituido con MeOH:CH₃CN (1:1) para acortar el tiempo de retención y mejorar la resolución. La **Figura 34** ilustra el cromatograma obtenido a nivel preparativo para el eluato **E**, el cual se encuentra constituido por un compuesto mayoritario **E1** ($t_R = 116.71$ min), el cual se cortó y fue reciclado mediante las técnicas descritas anteriormente. Este análisis del eluato **E** proporcionó 27.6 mg del **batatinósido IX (14)**.

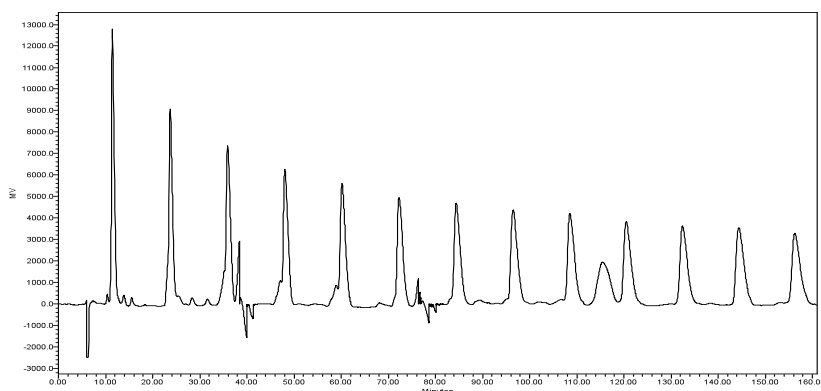


Figura 34. Cromatograma obtenido a nivel preparativo para el eluato **E**.

5.3 CONFIGURACIÓN ABSOLUTA DEL ÁCIDO (2*S*)-2-METILBUTIRICO.

Una solución individual de los **batatinósidos IV (13)** y **VIII (10)** y de las **batatinas V-XI** (5 mg) en 5 mL de KOH al 5% fue calentada (95°C) y se mantuvo en reflujo con agitación durante dos horas. Al término de este tiempo, se ajustó el pH a 4 con HCl 4N y, posteriormente, se extrajo con CHCl₃ (10 mL). La fase orgánica fue tratada con trietilamina (dos gotas) y con bromuro de 4-bromofenacilo (10 mg) en acetona anhidra (5 mL) y se calentó durante 2 horas. La mezcla de reacción se concentró en el rota-evaporador hasta sequedad total y, posteriormente, se diluyó la mezcla de reacción con 10 mL de H₂O y se extrajo con Et₂O (20 mL). La fase orgánica resultante fue independientemente concentrada a sequedad y el residuo fue fraccionado en HPLC con una columna ISCO de fase normal (150 x 19 mm, μ porasil, 10 μ m), usando una mezcla de hexano-AcOEt (92:8, flujo de 2.0 mL/min) lo cual permitió obtener el (2*S*)-2-metilbutirato de 4-bromofenacilo (t_R =13.4 min, pf 40–42°C, $[\alpha]_D$ +18.6 (c 0.1 MeOH)). Esté ácido graso fue identificado comparando sus constantes físicas y espectroscópicas con los valores publicados.

19,28-29,100,105-106

5.4 DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES FÍSICAS Y ESPECTROMÉTRICAS DE LOS GLICOLÍPIDOS INDIVIDUALES

Los espectros de RMN de ¹H y ¹³C, unidimensionales y bidimensionales se determinaron con un espectrómetro Bruker AMX (500 MHz) y Varian VXL (400 MHz). Se utilizó piridina deuterada como disolvente (C₅D₅N), los desplazamientos químicos están dados en ppm (δ), las constantes de acoplamiento (J) se reportan en Hertz (Hz) y se utilizó TMS como referencia. Los espectros de masas de baja resolución se determinaron en un equipo JEOL SX-102 A, como método de ionización se utilizó el bombardeo rápido de átomos (EM-LRFAB) en el modo negativo utilizando trietanolamina o glicerol como matriz. Los espectros de masas de alta resolución se determinaron en un equipo Bruker MicrOTOF-Q, utilizando como método de ionización electrospray (EM-HRESI) en el modo negativo, y en un equipo Water-Micromass MicroMX MALDI-TOF (EM-MALDI-TOF) equipado con un láser de nitrógeno 20Hz (337 nm, pulso 3 ns) y operando en modo reflectrón. La matriz para la desorción por láser fue el ácido α -ciano-4-hidroxicinámico con yoduro de sodio 0.001M en acetonitrilo-agua (1:1). Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos. Las rotaciones ópticas se determinaron en un polarímetro Perkin-Elmer 241 utilizando metanol como disolvente.

5.4.1 BATATINA VII (1).

Polvo banco amorfo; pf 115–120 °C; $[\alpha]_D$ 19.1 (c 1.1 MeOH); **RMN ^1H y ^{13}C** ver **Cuadros 16 y 17**; **EM-LRFAB** negativo m/z 1235 [unidad A, $\text{C}_{63}\text{H}_{109}\text{O}_{24}$] $^-$, 1067 [unidad B – $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}$] $^-$, 1053 [$1235 - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}$] $^-$, 907 [$1053 - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4$] $^-$, 837 [$907 - \text{C}_4\text{H}_8\text{O}$] $^-$, 691, 545, 417; **EM-HRESI** m/z 2487.3860 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calculado para $\text{C}_{125}\text{H}_{217}\text{O}_{48}$, 2487.4617).

5.4.2 BATATINA VIII (2).

Polvo banco amorfo; pf 108–112 °C; $[\alpha]_D$ 40.6 (c 1.6 MeOH); **RMN ^1H y ^{13}C** ver **Cuadros 16 y 17**; **EM-LRFAB** negativo m/z 1249 [unidad A, $\text{C}_{63}\text{H}_{109}\text{O}_{24}$] $^-$, 1103 [$1249 - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4$] $^-$; 1067 [unidad B – $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}$] $^-$, 1019 [$1249 - \text{C}_5\text{H}_8\text{O} - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4$] $^-$, 921 [$1067 - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4$] $^-$, 837 [$921 - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}$] $^-$, 691, 545, 417; **EM-HRESI** m/z 2449.3231 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calculado para $\text{C}_{123}\text{H}_{203}\text{O}_{48}$, 2449.3522).

5.4.3 PESCAPREÍNA I (3).

Polvo blanco amorfo; pf 131–133 °C; $[\alpha]_D$ –65 (c 0.1 MeOH); **RMN ^1H y ^{13}C** ver **Cuadro 12**; **EM-LRFAB** negativo m/z 1165 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 983 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, 837 [$983 - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4$] $^-$, 545, 417, 271.

5.4.4 BATATINÓSIDO VI (4).

Polvo banco amorfo; pf 142 °C; $[\alpha]_D$ –58 (c 0.1 MeOH); **RMN ^1H y ^{13}C** ver **cuadro 11**; **EM-LRFAB** negativo m/z 1153 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 999 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}]^-$, 837 [$999 - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$] $^-$, 545, 417, 271; **EM-HRFAB** m/z 1153.6370 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calculado para $\text{C}_{56}\text{H}_{97}\text{O}_{24}$, 1153.6369).

5.4.5 BATATINA V (5).

Polvo blanco amorfo; pf 114–115 °C; $[\alpha]_D -45$ (c 0.15 MeOH); RMN ^1H y ^{13}C ver Cuadros 14 y 15; **EM-LRFAB** negativo m/z 2469 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 2385 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}]^-$, 2367 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_5\text{H}_8\text{O} - \text{H}_2\text{O}]^-$, 2339 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_9\text{H}_6\text{O}]^-$, 2157 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_9\text{H}_6\text{O} - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, 1235 [unidad B, $\text{C}_{66}\text{H}_{107}\text{O}_{21}]^-$, 1133 $[1235 - \text{C}_5\text{H}_8\text{O} - \text{H}_2\text{O}]^-$, 1105 $[1235 - \text{C}_9\text{H}_6\text{O}]^-$, 1019 $[1105 - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}]^-$, 923 $[1105 - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, 837 $[1019 - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, 545, 417, 271; **EM-HRESI** negativo m/z 2504.3865 $[\text{M} + \text{Cl}]^-$ (calculado para $\text{C}_{132}\text{H}_{212}\text{O}_{42}\text{Cl}$, 2504.4141), 2468.4040 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calculado para $\text{C}_{132}\text{H}_{211}\text{O}_{42}$, 2468.4375).

5.4.6 BATATINA VI (6).

Polvo banco amorfo; pf 83–85 °C; $[\alpha]_D -31$ (c 0.17 MeOH); RMN ^1H y ^{13}C ver Cuadros 14 y 15; **EM-LRFAB** negativo m/z 2469 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 2367 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_5\text{H}_8\text{O} - \text{H}_2\text{O}]^-$, 2339 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_9\text{H}_6\text{O}]^-$, 1235 [unidad B, $\text{C}_{66}\text{H}_{107}\text{O}_{21}]^-$, 1133 $[1235 - \text{C}_5\text{H}_8\text{O} - \text{H}_2\text{O}]^-$, 1105 $[1235 - \text{C}_9\text{H}_6\text{O}]^-$, 1019 $[1105 - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}]^-$, 923 $[1105 - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, 837 $[1019 - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, 545, 417, 271; **EM-HRESI** negativo m/z 2504.4085 $[\text{M} + \text{Cl}]^-$ (calculado para $\text{C}_{132}\text{H}_{212}\text{O}_{42}\text{Cl}$ 2504.4141), 2468.4256 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calculado para $\text{C}_{132}\text{H}_{211}\text{O}_{42}$, 2468.4375).

5.4.7 BATATINA X (7).

Polvo banco amorfo; pf 125–126 °C; $[\alpha]_D -42.0$ (c 0.1 EtOH); RMN ^1H y ^{13}C ver Cuadros 19 y 20; **EM-LRFAB** negativo m/z 2445 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 1223 [unidad B, $\text{C}_{61}\text{H}_{107}\text{O}_{24}]^-$, 1221 [unidad A, $\text{C}_{61}\text{H}_{105}\text{O}_{24}]^-$, 1137 $[1221 - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}]^-$, 991 $[1137 - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 837 $[991 - \text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}]^-$, 545, 417, 271; **EM-HRESI** m/z 2445.4015 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calculado para $\text{C}_{122}\text{H}_{213}\text{O}_{48} - 5.43$ ppm 2445.4148).

5.4.8 BATATINA XI (8).

Polvo banco amorfo; pf 118-120 °C; $[\alpha]_D -56.7$ (c 0.12 EtOH); **RMN ^1H y ^{13}C** ver **Cuadros 19 y 20**; **EM-LRFAB** negativo m/z 2501 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 2417 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}]^-$, 1251 [unidad B, $\text{C}_{63}\text{H}_{111}\text{O}_{24}]^-$, 1249 [unidad A, $\text{C}_{63}\text{H}_{109}\text{O}_{24}]^-$, 1165 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}]^-$, 1067 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, 921 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 837 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}]^-$, 545, 417, 271; **EM-HRESI** m/z 2501.4543 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calculado para $\text{C}_{126}\text{H}_{219}\text{O}_{48} - 9.23$ ppm 2501.4774).

5.4.9 PESCAPREÍNA I (9).

Polvo blanco amorfo; pf 133-135 °C; $[\alpha]_D -65$ (c 0.1 EtOH); **RMN ^1H y ^{13}C** ver **Cuadro 12**; **EM-LRFAB** negativo m/z 1165 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 983 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, 837 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 545, 417, 271; **EM-MALDI-TOF** m/z 1189.7416 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (calculado para $\text{C}_{58}\text{H}_{102}\text{O}_{23}\text{Na}$, 1189.6709).

5.4.10 BATATINÓSIDO VII (10).

Polvo banco amorfo; pf 105-107 °C; $[\alpha]_D -53.1$ (c 0.16 EtOH); **RMN ^1H y ^{13}C** ver **Cuadros 11**; **EM-LRFAB** negativo m/z 1181 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 999 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, 837 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 545, 417, 271; **EM-MALDI-TOF** m/z 1205.7488 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (calculado para $\text{C}_{58}\text{H}_{102}\text{O}_{24}\text{Na}$, 1205.6658).

5.4.11 BATATINÓSIDO VIII (11).

Polvo banco amorfo; pf 118-120 °C; $[\alpha]_D -53.0$ (c 0.1 EtOH); **RMN ^1H y ^{13}C** ver **Cuadro 12**; **EM-LRFAB** negativo m/z 1249 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 1165 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}]^-$, 1067 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, 1019 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4 - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}]^-$, 983 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}]^-$, 837 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 545, 417, 271; **EM-MALDI-TOF** m/z 1273.7953 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (calculado para $\text{C}_{63}\text{H}_{110}\text{O}_{24}\text{Na}$, 1273.7284).

5.4.12 BATATINA IX (12).

Polvo banco amorfo; pf 124-125 °C; $[\alpha]_D -49.0$ (c 0.1 EtOH); **RMN ^1H y ^{13}C** ver **Cuadro 18**; **EM-LRFAB** negativo m/z 2501 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 2417 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}]^-$, 1251 [unidad B, $\text{C}_{63}\text{H}_{111}\text{O}_{24}]^-$, 1249 [unidad A, $\text{C}_{63}\text{H}_{109}\text{O}_{24}]^-$, 1165 $[1249 - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}]^-$, 1067 $[1249 - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$; **EM-MALDI-TOF** m/z 1273.7953 [unidad A, $\text{C}_{63}\text{H}_{109}\text{O}_{24} + \text{Na}]^+$ (calculado para $\text{C}_{63}\text{H}_{109}\text{O}_{24}\text{Na}$, 1273.5290). **EM-HRESI** m/z 2501.4556 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calculado para $\text{C}_{126}\text{H}_{219}\text{O}_{48} - 8.71$ ppm 2501.4774).

5.4.13 BATATINÓSIDO IV (13).

Polvo banco amorfo; pf 125-127 °C; $[\alpha]_D -71.1$ (c 0.18 EtOH); **RMN ^1H y ^{13}C** ver **Cuadro 12**; **EM-LRFAB** negativo m/z 1249 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 1165 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}]^-$, 1067 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, 983 $[1067 - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}]^-$, 921 $[1067 - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 837 $[1067 - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 545, 417, 271; **EM-MALDI-TOF** m/z 1273.7705 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (calculado para $\text{C}_{63}\text{H}_{110}\text{O}_{24}\text{Na}$, 1273.7284).

5.4.14 BATATINÓSIDO IX (14):

Polvo banco amorfo; pf 132-135 °C; $[\alpha]_D -74.6$ (c 0.11 EtOH); **RMN ^1H y ^{13}C** ver **Cuadro 11**; **EM-LRFAB** negativo m/z 1181 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 999 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}]^-$, 837 $[999 - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 545, 417, 271; **EM-MALDI-TOF** m/z 1205.7229 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (calculado para $\text{C}_{58}\text{H}_{102}\text{O}_{24}\text{Na}$, 1205.6658).

6 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE LOS GLICOLÍPIDOS 1-14.

El procedimiento de extracción realizado a la raíz tuberosa de *Ipomoea batatas* permitió obtener 13.1 g de extracto soluble en hexano de la variedad de cáscara blanca, del cual se generaron doce fracciones diferentes conteniendo siete de éstas las mezclas de glicolípidos nombradas como fracciones α , $\alpha\beta$, β , γ , δ , $\delta\epsilon$ y ϵ , 38.7 g de extracto soluble en cloroformo de la variedad de cáscara morada, del cual se generaron trece fracciones diferentes conteniendo cinco de éstas las mezclas de glicolípidos nombradas como fracciones **I**, **II**, **III**, **IV** y **V**, y 7.15 g del extracto soluble en cloroformo de la variedad de cáscara amarilla, del cual se generaron diez fracciones diferentes conteniendo cuatro de éstas las mezclas de glicolípidos nombradas como fracciones **I**, **II**, **III**, y **IV**. La partición de las fracciones ricas en mezclas de glicolípidos en una columna C18 a nivel preparativo, mediante la sobrecarga de columna y el corte de núcleo, se efectuó para reunir cantidades suficientes de las mezclas de menor complejidad que pudieran ser resueltas con mayor facilidad. Estas mezclas de menor complejidad se inyectaron utilizando la técnica de reciclaje de muestra para poder separar y purificar sus constituyentes. Las **batatinas VII (1)** y **VIII (2)**, la **pescapreína I (3)** y el **batatinósidos VI (4)**, fueron aislados del extracto soluble en hexano de la variedad de cáscara blanca del camote, mientras que las **batatinas V (5)**, **VI (6)**, **X (7)** y **XI (8)** fueron obtenidas del extracto soluble en cloroformo de la variedad de cáscara morada. La serie de los **batatinósidos IV (13)**, **VII (10)**, **VIII (11)** y **IX (14)**, así como el heterodímero la **batatina IX (12)** y la **pescapreína I (9)** fueron aislados del extracto soluble en cloroformo de la variedad de cáscara amarilla.

6.2 ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE LOS GLICOLÍPIDOS 1-14.

La espectrometría de masas (EM) constituye una técnica esencial en la determinación estructural de los glicolípidos naturales. La técnica de bombardeo por átomos acelerados (EM-FAB) ha sido de una ayuda invaluable para el establecimiento de la estructura molecular de una gran variedad de polisacáridos al proporcionar los pesos moleculares a través de la detección de

los iones pseudomoleculares $[M + H]^+$ o $[M - H]^-$ y los iones fragmentos. Los espectros de masas FAB en modo negativo (EM-FAB $^-$) permitieron determinar los pesos moleculares y con ello la fórmula molecular. En cada uno de los espectros se observaron los picos comunes provocados por las rupturas de los enlaces glicosídicos.^{1-2,4-8,10-19,25,28-29,32,38-39,44,68-76,90-104} Al analizar las diferencias de peso que hay entre cada uno de los iones pseudomoleculares $[M - 1]$ y los fragmentos de mayor peso formados por las eliminaciones de los grupos acilos se establecieron las unidades monosacáridas esterificadas y sus respectivos sustituyentes, y se determinaron sus patrones de fragmentación (**Figura 35**). Se conoce que pérdidas con una diferencia de 162 unidades de masa ($C_6H_{10}O_5$) corresponden al peso de una hexosa y pérdidas con una diferencia de 146 unidades ($C_6H_{10}O_4$) corresponden al peso de una metilpentosa. También, las pérdidas de los diferentes grupos acilos se identifican en función de las eliminaciones asociadas a cada uno como: la pérdida del residuo de dodecanoilo con una diferencia de 182 unidades de masa ($C_{12}H_{22}O$); la pérdida con una diferencia de 154 unidades ($C_{10}H_{18}O$) que corresponde a la pérdida del residuo de ácido *n*-decanoilo; la pérdida del residuo de 2-metilbutanoilo con una diferencia de 84 unidades (C_5H_8O); la pérdida del residuo de *trans*-cinamoilo con una diferencia de 130 unidades (C_9H_6O); así como la pérdida del residuo de isobutanoilo con una diferencia de 70 unidades (C_4H_6O).^{1-2,4-8,10-19,25,28-29,32,38-39,44,68-76,90-104}

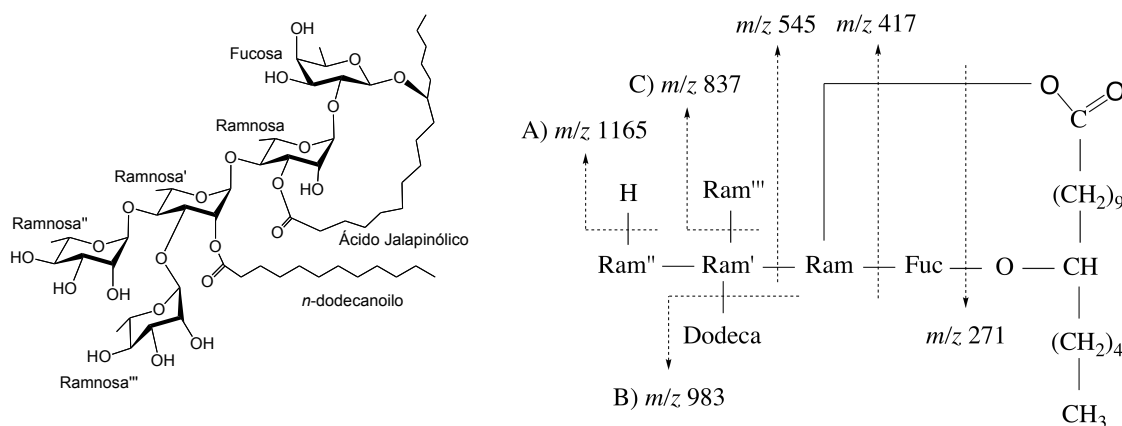


Figura 35. Patrón de fragmentación de la **pescapreína I**.

A) ión pseudomolecular $[M - H]^-$; B) pérdida del residuo de dodecanoilo con una diferencia de 182 unidades con respecto al ión $[M - H]^-$; C) pérdida de una metilpentosa con una diferencia de 146 unidades con respecto al peso del ión de m/z 983.

La EM-FAB $^-$ del **batatinósido VI** (**4**) indicó una fórmula molecular $C_{56}H_{98}O_{24}$ con base en el ión pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1153. El patrón de fragmentación se determinó con los

picos observados de m/z a 271, 417, 545, 837 y 999; el fragmento observado de m/z 999 [1153 – $C_{10}H_{18}O$] $^-$ corresponde a la pérdida del residuo de ácido *n*-decanoilo con una diferencia de 154 unidades con respecto al peso del ión pseudomolecular y el fragmento de m/z 837 corresponde a la pérdida de una hexosa (glucosa) con una diferencia de 162 unidades con respecto al peso del ión a m/z 999. La EM-FAB $^-$ de los **batatinósidos VII (10)** y **IX (14)** presentaron un pico de m/z 1181 (**Figura 36**), lo que indicó una fórmula molecular de $C_{58}H_{102}O_{24}$ con base en el ión pseudomolecular $[M + Na]^+$ m/z de 1205.7468 y m/z de 1205.7229 (calculado para $C_{58}H_{102}O_{24}Na$, 1205.6658) determinado en la modalidad MALDI-TOF. Así, se determinó que estos compuestos representan un par de diastereoisómeros. El patrón de fragmentación se determinó con los picos observados de m/z a 271, 417, 545, 837 y 999 que son comunes a las resinas glicosídicas; el fragmento de m/z 999 corresponde a la pérdida del residuo de dodecanoilo con una diferencia de 182 unidades con respecto al peso del ión pseudomolecular y el fragmento de m/z 837 corresponde a la pérdida de una hexosa (glucosa) con una diferencia de 164 unidades con respecto al peso del ión de m/z 999.

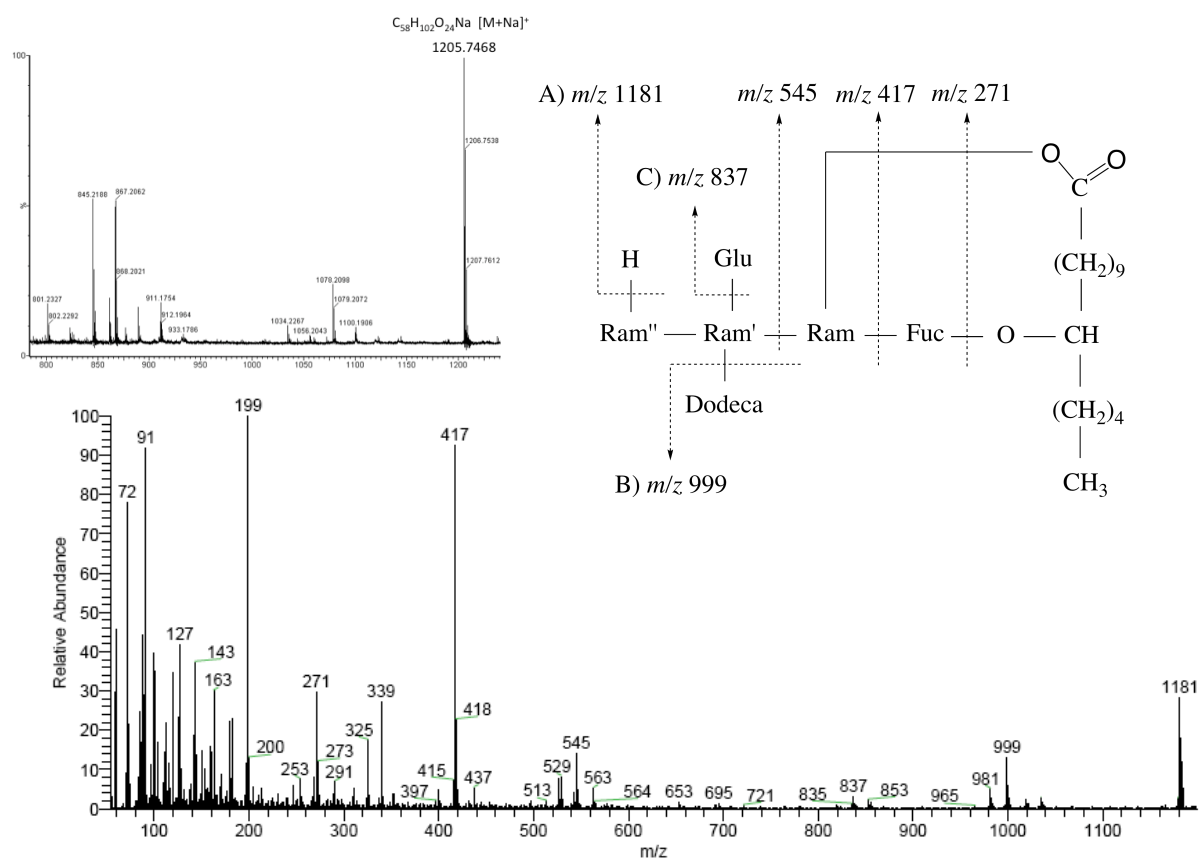


Figura 36. Espectros de EM-MALDI-TOF y EM-FAB (negativo) del **batatinósido VII (10)**.

Este análisis espectrométrico permitió determinar que los **batatinósidos VI (4)**, **VII (10)** y **IX (14)** contienen al ácido operculínico A (**Figura 14**), pentasacárido conformado por una unidad de fucosa (Fuc), una glucosa (Glu) y tres de ramnosa (Ram, Ram', Ram''), y como aglicona al ácido jalapínico (Jal), debido a los picos observados de m/z 271, 417, 545, 837 y 999 (**Figura 37**).^{2,6,10,17,29,90-97} La elucidación estructural de los **batatinósidos VII (10)** y **IX (14)** se confirmó con la modalidad MALDI-TOF. Estos espectros de masas permitieron confirmar los pesos moleculares y con ello la fórmula molecular $C_{58}H_{102}O_{24}$, con base en el ión pseudomolecular $[M + Na]^+$ m/z de 1205.7468 (calculado para $C_{58}H_{102}O_{24}Na$, 1205.6658) y m/z de 1205.7229 (calculado para $C_{58}H_{102}O_{24}Na$, 1205.6658), respectivamente.

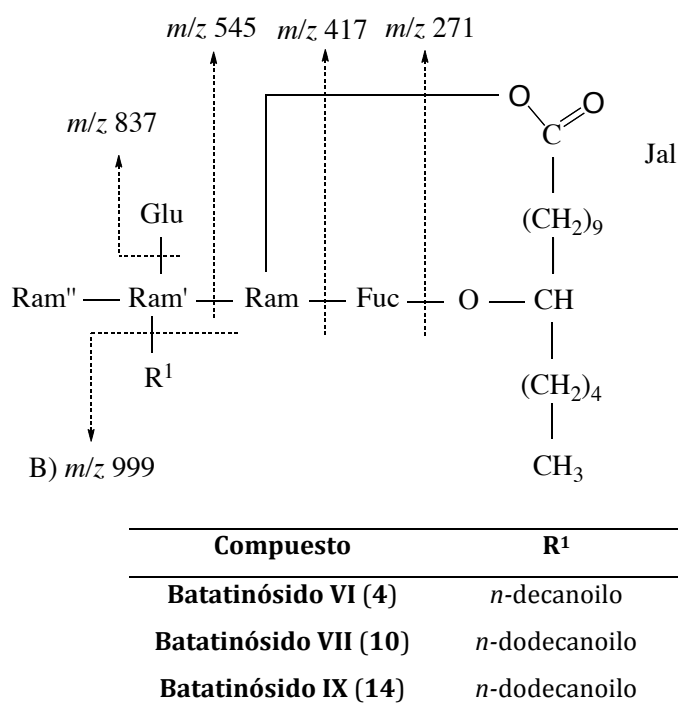


Figura 37. Patrón de fragmentación de los **batatinósidos VI (4)**, **VII (10)** y **IX (14)**.

Los **batatinósidos IV (13)** y **VIII (11)** presentaron un pico de m/z 1249 que indicó una fórmula molecular de $C_{63}H_{110}O_{24}$, indicando que estos compuestos también representan un par de diastereoisómeros. El patrón de fragmentación se determinó con los picos observados de m/z a 271, 417, 545, 837 y 983. Otros fragmentos compartidos fueron los producidos por las

eliminaciones características de los grupos esterificantes, los cuales se observaron a una m/z de 1165 $[1249 - C_5H_8O_2]^-$ que corresponde a la pérdida del residuo de 2-metilbutanoilo y de m/z 1067 $[1249 - C_{12}H_{22}O]^-$ corresponde a la pérdida del residuo de *n*-dodecanoilo, así como el fragmento de m/z 837 corresponde a la pérdida de una metilpentosa (ramnosa) con una diferencia de 146 unidades con respecto al peso del ión de m/z 983. Con respecto a la **pescapreína I (3 y 9)**, la espectrometría de masas indicó una fórmula molecular $C_{58}H_{102}O_{24}$, con base en el ión pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1165. El fragmento de m/z 983 $[1165 - C_{12}H_{22}O]^-$ corresponde a la pérdida del residuo de *n*-dodecanoilo. Este análisis permitió determinar que los **batatinósidos IV (13)**, **VIII (11)** y la **pescapreína I (3 y 9)** contienen al ácido simónico B (**Figura 18**), pentasacárido conformado por una unidad de fucosa (Fuc) y cuatro de ramnosa (Ram, Ram', Ram'' y Ram'''), y como aglicona al ácido jalapínolico (Jal), mediante los picos observados de m/z 271, 417, 545, 837 y 983 (**Figura 38**).^{2,6,10-12,17,28-29,96,100-104}

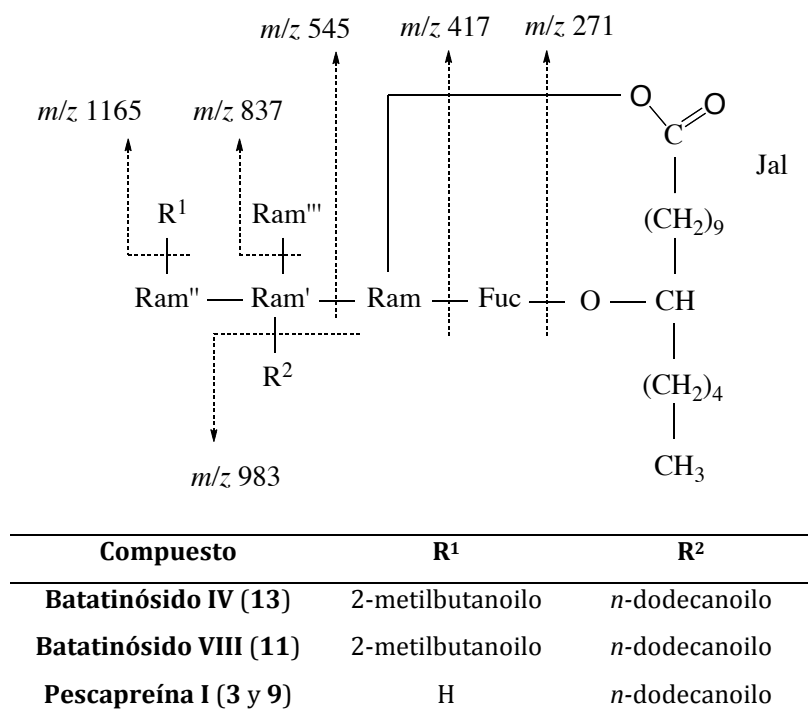


Figura 38. Patrón de fragmentación de los **batatinósidos IV (13)**, **VIII (11)** y la **pescapreína I (3 y 9)**.

La elucidación estructural de los **batatinósidos IV (13)** y **VIII (11)**, así como de la **pescapreína I (9)**, también se confirmó con los espectros MALDI-TOF. Para la **pescapreína I (9)**,

se confirmó una fórmula molecular $C_{58}H_{102}O_{23}$ con base en el ión pseudomolecular $[M + Na]^+$ de m/z 1189.7416 (calculado para $C_{58}H_{102}O_{23}Na$, 1189.6709). Para los **batatinósidos IV (13)** y **VIII (11)**, los espectros MALDI-TOF (**Figura 39**) indicaron una fórmula molecular $C_{63}H_{110}O_{24}$ con base en el ión pseudomolecular $[M + Na]^+$ de m/z 1273.7705 y de m/z 1273.7953 (calculado para $C_{63}H_{110}O_{24}Na$, 1273.7284), respectivamente. En la modalidad FAB se observó el ión pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 1249 y el patrón de fragmentación observado fue el común para todos los oligosacáridos de las convolvuláceas como se ilustra en la **Figura 39**.

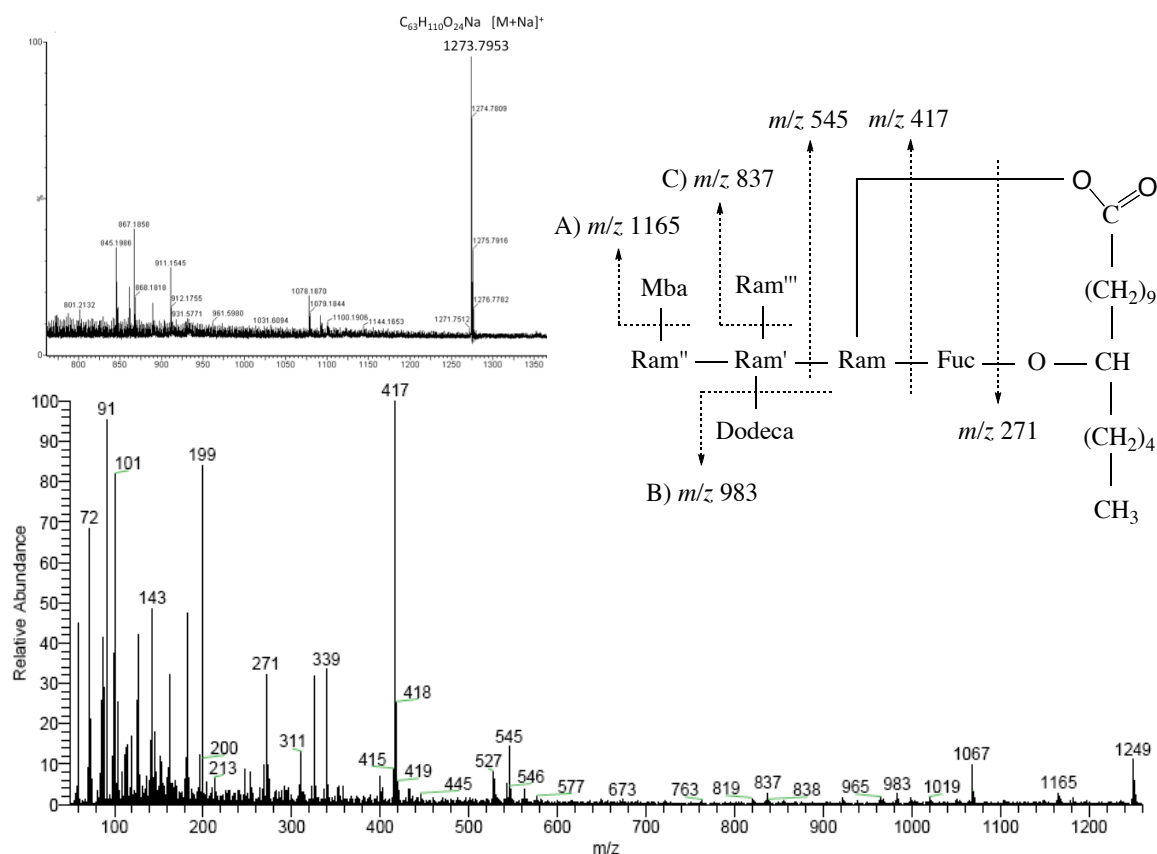


Figura 39. Espectros de EM-FAB (negativo) y EM-MALDI-TOF del **batatinósido VIII (11)**.

Las **batatinas V (5)**, **VI (6)**, **VII (1)**, **VIII (2)**, **IX (12)**, **X (7)** y **XI (8)** son dímeros oligosacáridos constituidos por dos unidades del mismo ácido glicosídico, designadas arbitrariamente como unidades A y B.¹¹ El análisis espectrométrico de las **batatinas V-XI** se llevó a cabo con dos técnicas de ionización: ESI y FAB con detección de iones negativos, con la finalidad de obtener mayor información estructural a través del registro de los diferentes productos de

fragmentación obtenidos en cada una de las técnicas.^{11,18,25,68-70} Este análisis también permitió detectar el fragmento $[M/2 - H]^-$ en las dos técnicas de ionización, el cual representa la ruptura del enlace tipo éster entre las dos unidades que constituyen el dímero: $[A - H]^-$ y $[B - H]^-$) como se ilustra para la **batatina I (Figura 40)**.^{11,18,25,68-70}

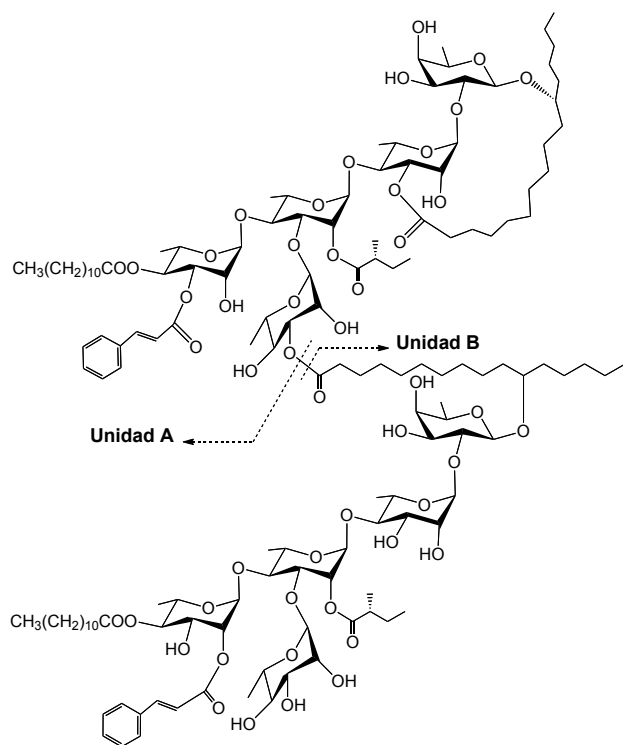


Figura 40. Ruptura de la unión del enlace tipo éster de las estructuras diméricas.

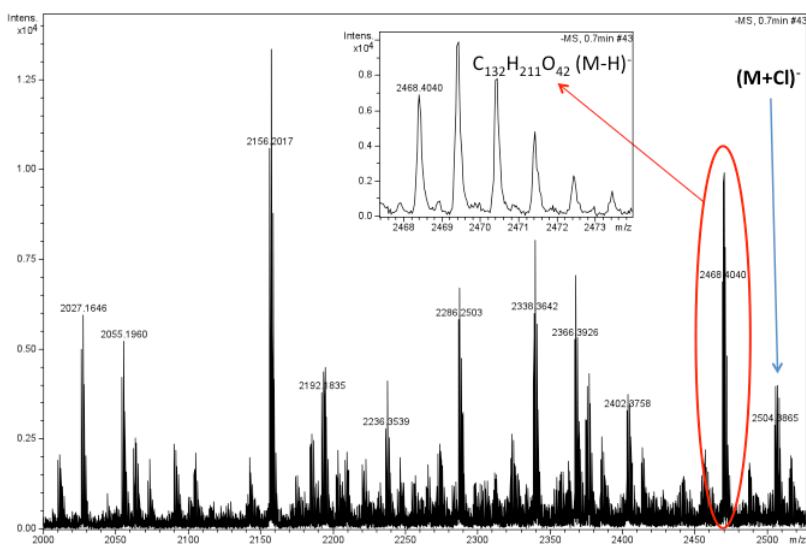


Figura 41. Ampliación del espectro EM-HRESI de la **batatina V (5)**.

En la EM-ESI, de alta resolución, las **batatinas V (5)** y **VI (6)** produjeron el mismo ión pseudomolecular $[M - H]^-$ a m/z 2468.4040 (calculado para $C_{132}H_{211}O_{42} + 13.5$ ppm) y a m/z 2468.4256 (calculado para $C_{132}H_{211}O_{42} + 4.8$ ppm), respectivamente, con el que se calculó la misma fórmula molecular para ambos compuestos, $C_{132}H_{212}O_{42}$, y se confirmó que estos compuestos también representan un par de diastereoisómeros. Otros fragmentos observados en la modalidad ESI fueron producidos por la eliminación de los grupos acilantes observadas a m/z 2367 $[2469 - C_5H_8O_2]^-$ y m/z 2339 $[2469 - C_9H_6O]^-$ que corresponden a la pérdida de los residuos de ácido 2-metilbutanoílo (Mba) y *trans*-cinamoílo (Cna), respectivamente (**Figura 41**). En la EM-FAB⁻ de las **batatinas V (5)** y **VI (6)** el pico $[M/2 - H]^-$ se observó a una m/z de 1235 ($[B - H]^-$, $C_{66}H_{107}O_{21}$). El fragmento de m/z 1133 corresponde a la pérdida del residuo de 2-metilbutanoilo con una diferencia de 84 unidades más H_2O con respecto al peso del ión a m/z 1235. El fragmento de m/z 1103 corresponde a la pérdida del residuo de *trans*-cinamoilo con una diferencia de 130 unidades con respecto al peso del ión de m/z 1233 ($[A - H]^-$, $C_{66}H_{105}O_{21}$); el fragmento de m/z 921 corresponde a la pérdida del residuo de dodecanoilo con una diferencia de 182 unidades con respecto al peso del ión de m/z 1103 y el fragmento de m/z 837 corresponde a la pérdida del residuo de 2-metilbutanoilo con una diferencia de 84 unidades con respecto al peso del ión de m/z 921 (**Figura 42**).

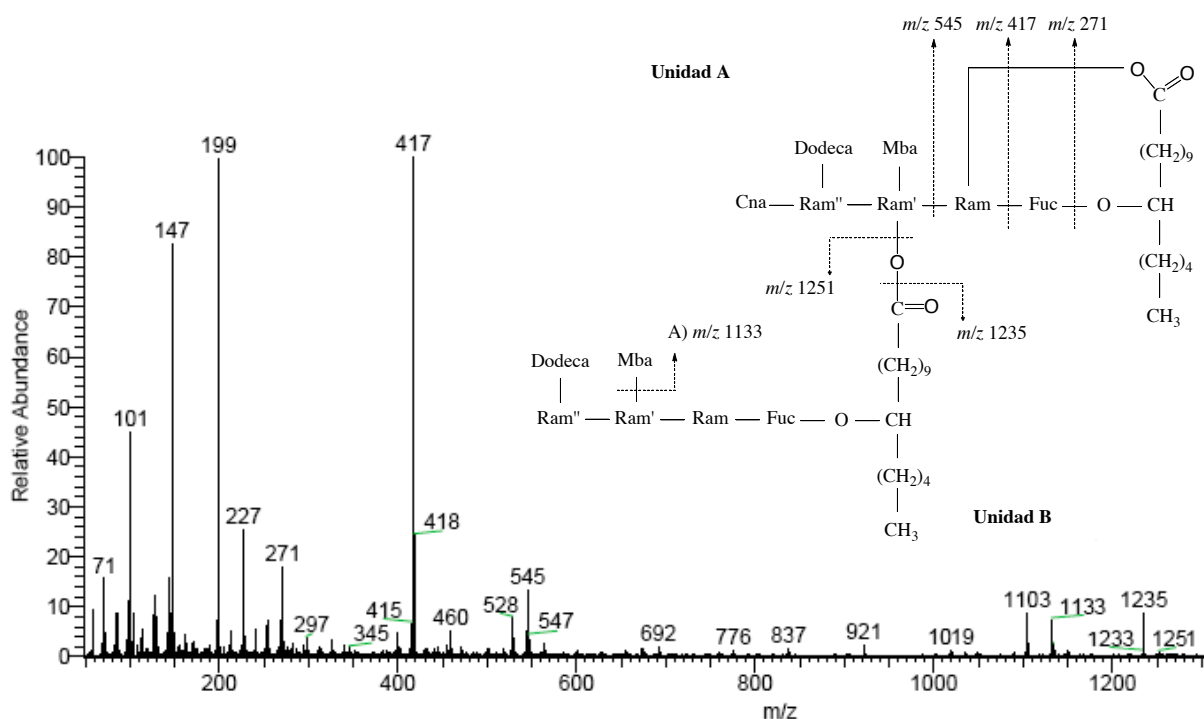


Figura 42. Espectro de masas FAB (negativo) de la **batatina V (5)**.

Este análisis permitió determinar que las **batatinas V (5)** y **VI (6)** contienen al ácido operculínico C (**Figura 15**), el cual es un tetrasacárido conformado por una unidad de fucosa (Fuc) y tres de ramnosa (Ram, Ram', Ram'') mediante los picos observados de m/z 271, 417, 545 y 837 (**Figura 43**) comunes a cada uno de las unidades tetrasacáridas que constituyen al dímero y que se observan en los oligosacáridos de las convolvuláceas.^{2,8,10,75,90,98-100} El pico de m/z 837, que indica la presencia de cuatro metilpentosas y del ácido jalapinólico, también se observa en los espectros de las **batatinas VII (1)** y **VIII (2)**, el **batatinósido VI (4)**, las **batatinas V (5)**, **VI (6)**, **X (7)** y **XI (8)**, la **pescapreína I (9)**, los **batatinósidos VII (10)**, **VIII (11)**, la **batatina IX (12)** y **batatinósidos IV (13)** y **IX (14)**.

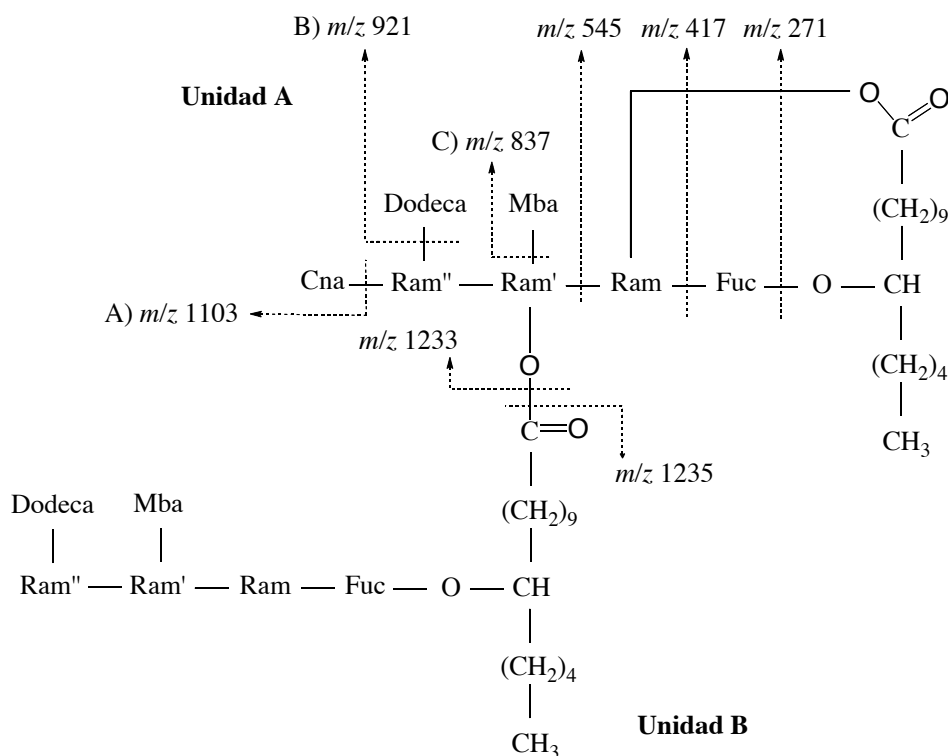


Figura 43. Patrón de fragmentación de las **batatinas V (5)** y **VI (6)**.

Además de los fragmentos producidos por la ruptura de los enlaces glicosídicos, los espectros de masas FAB^- de las **batatinas VII (1)**, **VIII (2)**, **IX (12)**, **X (7)** y **XI (8)** indican la presencia del fragmento diagnóstico que evidencia claramente la conexión entre dos unidades pentasacáridas, el pico $[M/2 - H]^-$.^{11,18,25,68-70} En la EM- FAB^- de la **batatina VII (1)** el pico $[M/2 -$

$H]^-$ se observó a una m/z 1235 ($[A - H]^-$). El fragmento de m/z 1053 corresponde a la pérdida del residuo de *n*-dodecanoilo con una diferencia de 182 unidades con respecto al peso del ión de m/z 1235, el fragmento de m/z 965 corresponde a la pérdida del residuo de isobutanoilo con una diferencia de 70 unidades más H_2O con respecto al peso del ión de m/z 1053 y el fragmento de m/z 819 corresponde a la pérdida de una metilpentosa (ramnosa) con una diferencia de 146 unidades con respecto al peso del ión de m/z 965. En la EM-HRESI de la **batatina VII (1)** se produjo el ión $[M - H]^-$ de m/z 2487.3860 (calculado para $C_{125}H_{217}O_{48} - 30.43$ ppm 2487.4617) con el que se calculó la fórmula molecular $C_{125}H_{218}O_{48}$.

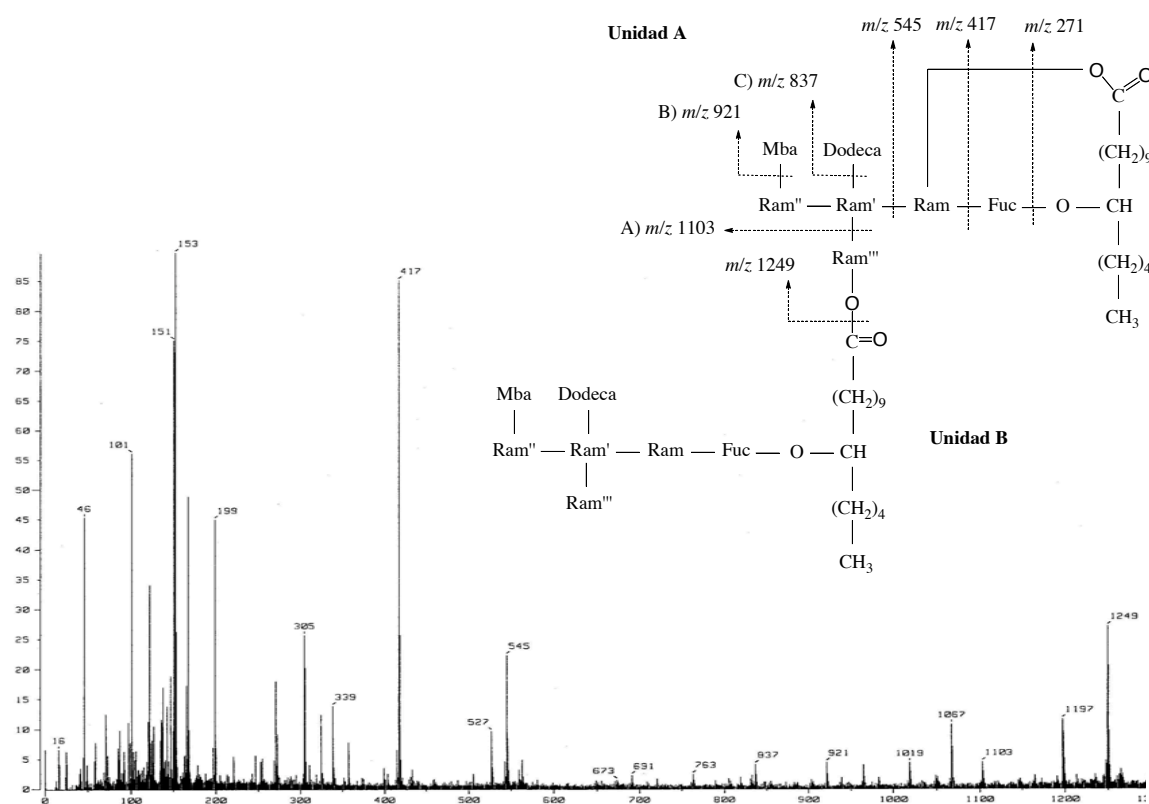


Figura 44. Espectro de masas FAB (negativo) de la **batatina VIII (2)**.

Para las **batatinas VIII (2)**, **IX (12)** y **XI (8)**, el pico $[M/2 - H]^-$ se observa a m/z de 1249. En el espectro de masas de la **batatina VIII (2)** el fragmento de m/z 1103 corresponde a la pérdida de una metilpentosa (ramnosa) con una diferencia de 146 unidades con respecto al peso del ión de m/z 1249 (**Figura 44**), el fragmento de m/z 1019 corresponde a la pérdida del residuo de 2-

metilbutanoilo con una diferencia de 84 unidades con respecto al peso del ión de m/z 1103 y el fragmento de m/z 837 corresponde a la pérdida del residuo de *n*-dodecanoilo con una diferencia de 182 unidades con respecto al peso del ión de m/z 1019. Para la **batatina VIII (2)** la EM-HRESI produjo el ión pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 2449.3231 (calculado para $C_{123}H_{203}O_{48} - 11.88$ ppm 2449.3522) con el que se calculó la fórmula molecular $C_{123}H_{204}O_{48}$ (**Figura 45**).

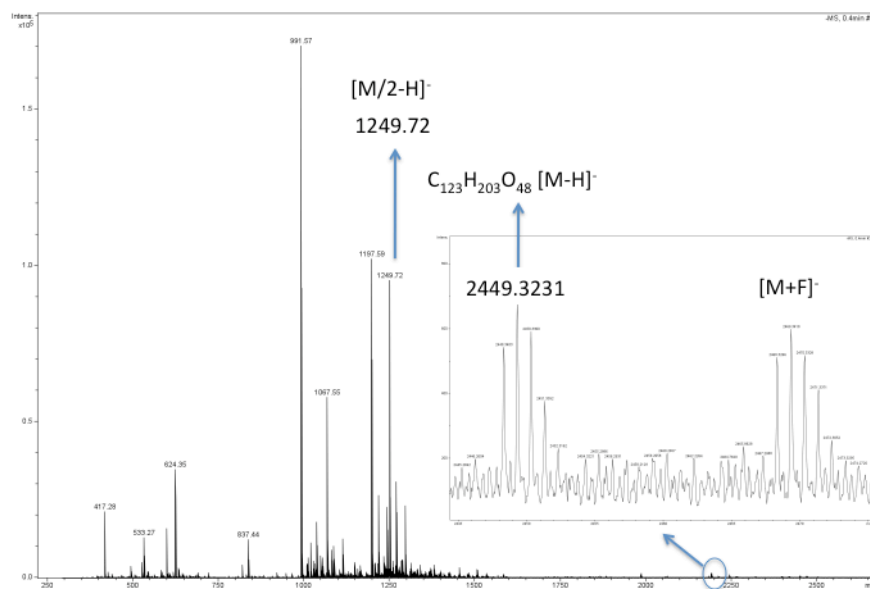


Figura 45. Ampliación del espectro de la EM-HRESI de la **batatina VIII (2)**.

En el espectro de masas FAB^+ de la **batatina IX (12)** el pico $[M/2 - H]^-$ se observó a una m/z de 1249 ($[A - H]^-$) o a una de m/z 1251 ($[B - H]^-$). El fragmento de m/z 1165 corresponde a la pérdida del residuo de 2-metilbutanoilo con una diferencia de 84 unidades con respecto al peso del ión de m/z 1249 ($[A - H]^-$), el fragmento de m/z 1019 corresponde a la pérdida de una metilpentosa (ramnosa) con una diferencia de 146 unidades con respecto al peso del ión de m/z 1165 y el fragmento de m/z 837 corresponde a la pérdida del residuo de *n*-dodecanoilo con una diferencia de 182 unidades con respecto al peso del ión de m/z 1019. En la EM-HRESI de la **batatina IX (12)** produjo el ión pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 2501.4556 (calculado para $C_{126}H_{219}O_{48} - 8.71$ ppm 2501.4774) con el que se calculó la fórmula molecular $C_{126}H_{220}O_{48}$ para este compuesto (**Figura 46**).

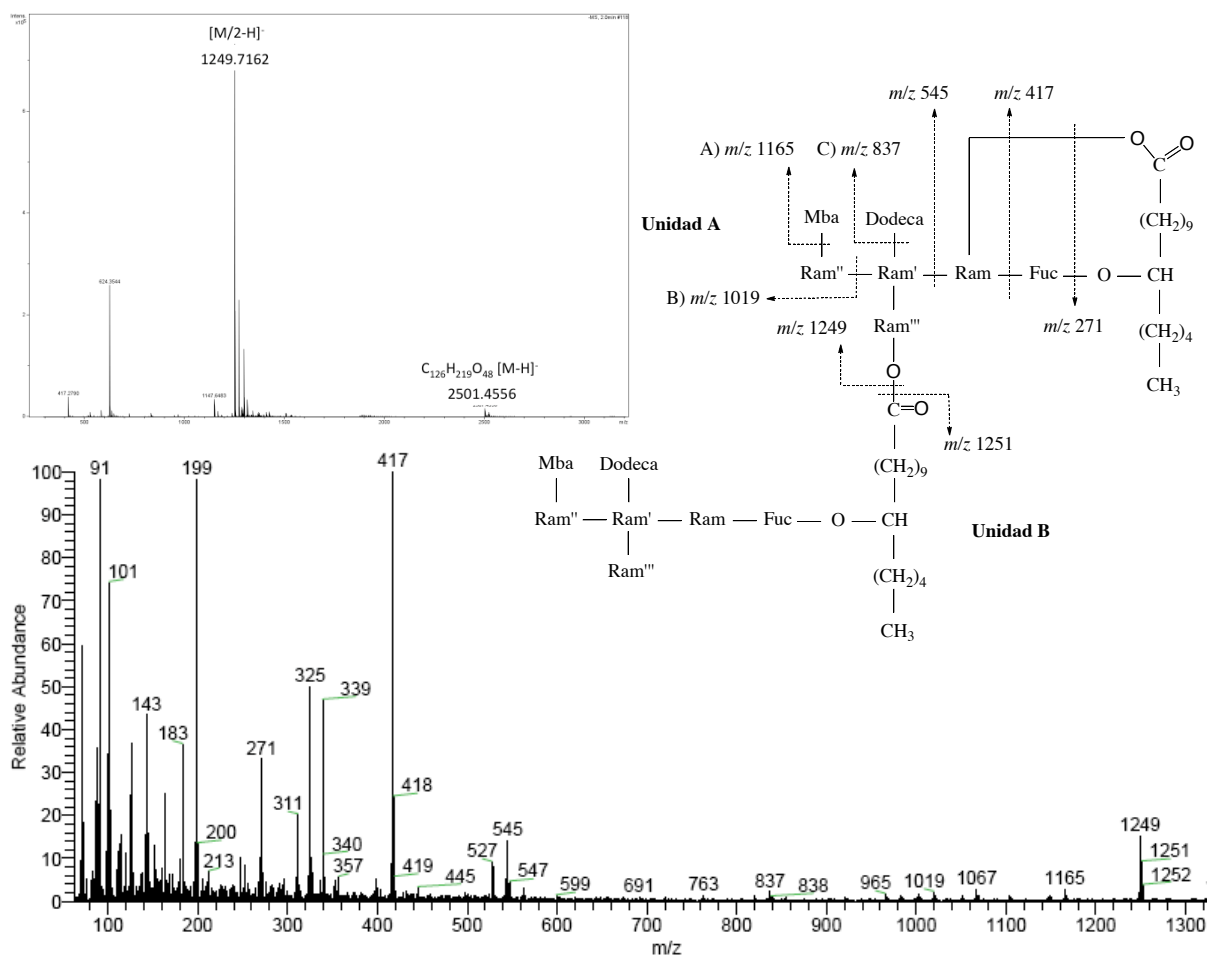


Figura 46. Espectro de masas ESI y FAB (negativo) de la **batatina IX (12)**.

Con respecto a la **batatina X (7)** en la EM-FAB⁻ el pico $[M/2 - H]^-$ se observa a m/z 1221 ($[A - H]^-$). El fragmento de m/z 1137 corresponde a la pérdida del residuo de 2-metilbutanoilo con una diferencia de 84 unidades con respecto al peso del ión a una m/z de 1221, el fragmento de m/z 991 corresponde a la pérdida de una metilpentosa con una diferencia de 146 unidades con respecto al peso del ión de m/z 1137 y el fragmento de m/z 837 corresponde a la pérdida del residuo de *n*-dodecanoilo con una diferencia de 182 unidades con respecto al peso del ión de m/z 1019. En la EM-HRESI la **batatina X (7)** produjo el ión pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 2445.4015 (calculado para $C_{122}H_{211}O_{48} - 5.43$ ppm 2445.4148) con el que se calculó su fórmula molecular $C_{122}H_{212}O_{48}$ (**Figura 47**). En la EM-FAB⁻ de la **batatina XI (8)** el pico $[M/2 - H]^-$ se observó a m/z 1249 ($[A - H]^-$). El fragmento de m/z 1165 corresponde a la pérdida del residuo de 2-metilbutanoilo con una diferencia de 84 unidades con respecto al peso del ión a m/z 1249, el

fragmento de m/z 1019 corresponde a la pérdida de una metilpentosa con una diferencia de 146 unidades con respecto al peso del ión a m/z 1165, el fragmento de m/z 837 corresponde a la pérdida del residuo de *n*-dodecanoilo con una diferencia de 182 unidades con respecto al peso del ión a m/z 1019 y en la EM-HRESI produjo el ión pseudomolecular $[M - H]^-$ de m/z 2501.4543 (calculado para $C_{126}H_{219}O_{48} - 9.23$ ppm 2501.4774) con el que se calculó la fórmula molecular $C_{126}H_{220}O_{48}$.

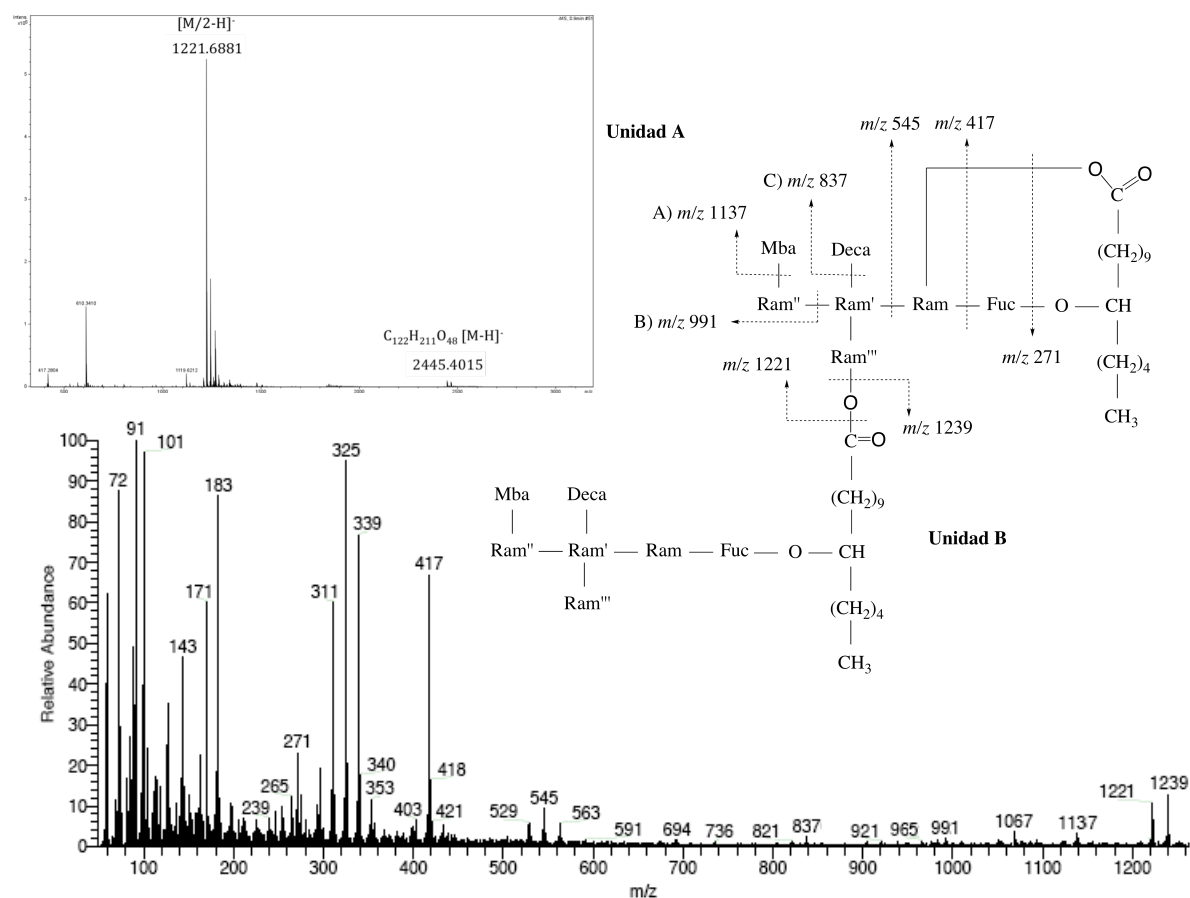


Figura 47. Espectro de masas FAB modo negativo de la **batatina X (7)**.

Este análisis permitió determinar que las **batatinas VII-XI** contienen al ácido simónico B (**Figura 18**), mediante los picos observados a m/z 271, 417, 545, 837, 965. Este análisis también permitió confirmar que las **batatinas IX (12)** y **XI (8)** representan un par de diastereoisómeros.

6.3 RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR UNIDIMENSIONAL Y BIDIMENSIONAL DE LOS BATATINÓSIDOS IV, VII-IX Y PESCAPREÍNA I.

El análisis de los espectros unidimensionales de RMN ^1H y ^{13}C y bidimensionales (COSY, TOCSY, HSQC y HMBC) fue de gran utilidad para la elucidación estructural de los glicolípidos individuales purificados. El procedimiento de asignación de las resonancias se realizó iniciando con la localización de las señales mejor resueltas y diagnósticas las cuales corresponden a las generadas por los protones y carbonos anoméricos de las unidades monosacáridas. Ya que los **batatinósidos VI (4)**, **VII (10)** y **IX (14)** contienen al ácido pentasacárido operculínico A (**Figura 14**) y los **batatinósidos IV (13)** y **VIII (10)**, y la **pescapreína I (3 y 9)** contienen al ácido pentasacárido simónico B (**Figura 18**), la elucidación estructural se realizó mediante la comparación de sus respectivas constantes espectroscópicas. Sus principales diferencias se encuentran en el tipo de la unidad monosacárida terminal de la cadena oligosacárida ramificada ya que en el ácido operculínico A es una unidad de hexosa (glucosa) y en el ácido simónico B es una unidad de metilpentosa (ramnosa);^{2,6,10-12,17,28-29,90-97,100-104,107-109} en la naturaleza de los grupos acilantes de la cadena oligosacárida y su posición de esterificación; así como la posición de lactonización del núcleo oligosacárido por la aglicona.

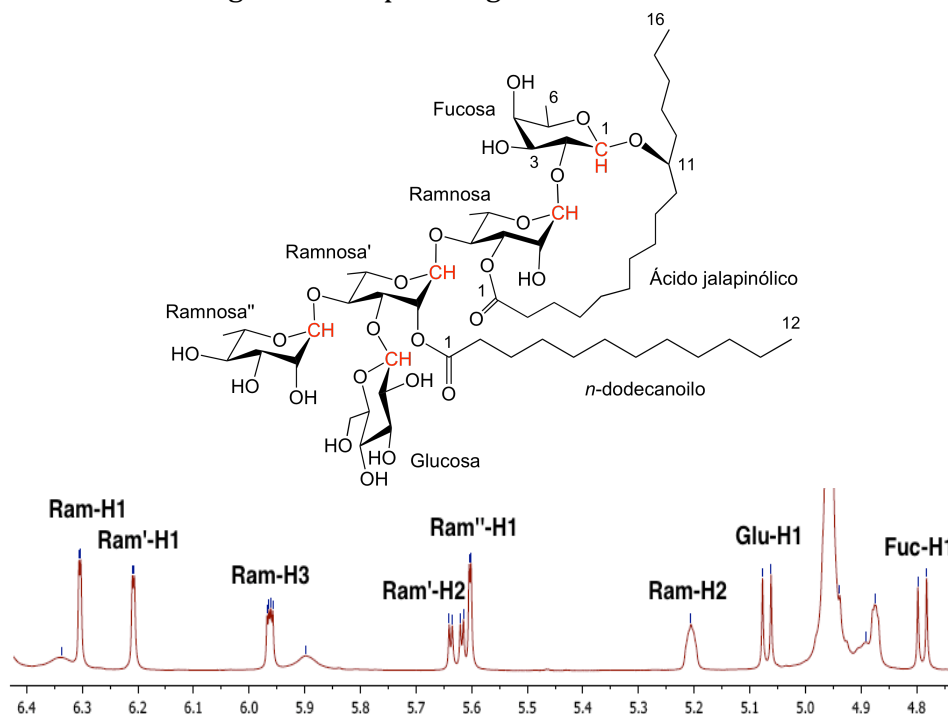


Figura 48. Región anomérica entre 4.7 y 6.4 ppm de espectro de RMN ^1H del **batatinósido IX (14)**.

En la región entre 4.7 y 6.4 ppm de los espectros de RMN ^1H de los **batatinósidos VI (4)**, **VII (10)** y **IX (14)** se observan cinco señales generadas por los protones anoméricos de las unidades monosacáridos, así como las dos señales que aportan las posiciones de esterificación y lactonización. Como se ilustra en la **Figura 48**, al analizar las constantes de acoplamiento para los **batatinósidos VI (4)**, **VII (10)** y **IX (14)**, se determinó que sus núcleos oligosacáridos están constituidos por una unidad de fucosa, una de glucosa y tres de ramnosa. Los dobletes de los protones anoméricos que registraron la constante de acoplamiento grande ($J = 7.5 \text{ Hz}$) correspondieron a la presencia de una unidad de glucosa y una de fucosa; y los dobletes de los protones anoméricos que registraron la constante de acoplamiento pequeña ($J = 1.5 \text{ Hz}$) a las ramnosas.^{6,10,17,29,90-97}

Localizados entre 1.4 y 1.6 ppm, se observan cuatro dobletes que indican la presencia de un número correspondiente de unidades de metilpentosa en la estructura de estos compuestos y también se observan dos tripletes entre 0.8 y 1 ppm que son característicos de los protones de los metilos terminales de los ácidos alifáticos de cadena larga, correspondientes al ácido que esterifica a la cadena oligosacárida y a la aglicona (**Figura 49**).

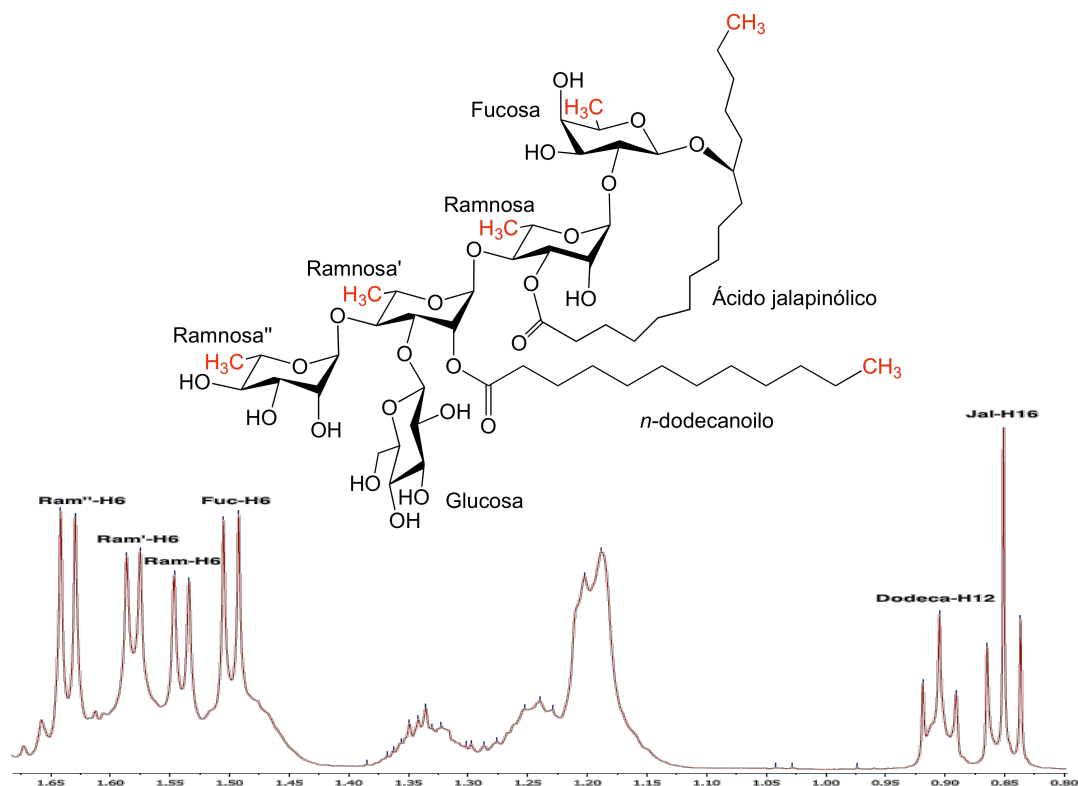


Figura 49. Región entre 0.8 y 1.7 ppm del espectro de RMN ^1H del **batatinósido IX (14)**.

Al analizar las constantes de acoplamiento de las señales en la región entre 4.7 y 6.4 ppm de los espectros de RMN ^1H para los **batatinósidos IV (13)** y **VIII (10)**, y la **pescapreína I (3 y 9)**, se determinó que sus núcleos oligosacáridos están constituidos por una unidad de fucosa y cuatro de ramnosa (**Figura 50**). El doblete del protón anomérico que registró la constante de acoplamiento mayor ($J = 7.5 \text{ Hz}$) correspondió a la presencia de una unidad de fucosa; y los dobletes de los protones anoméricos que registraron la constante de acoplamiento menores ($J = 1.5 \text{ Hz}$) se asignaron a las ramnosas.^{6,10-12,17,28-29,96,100-104}

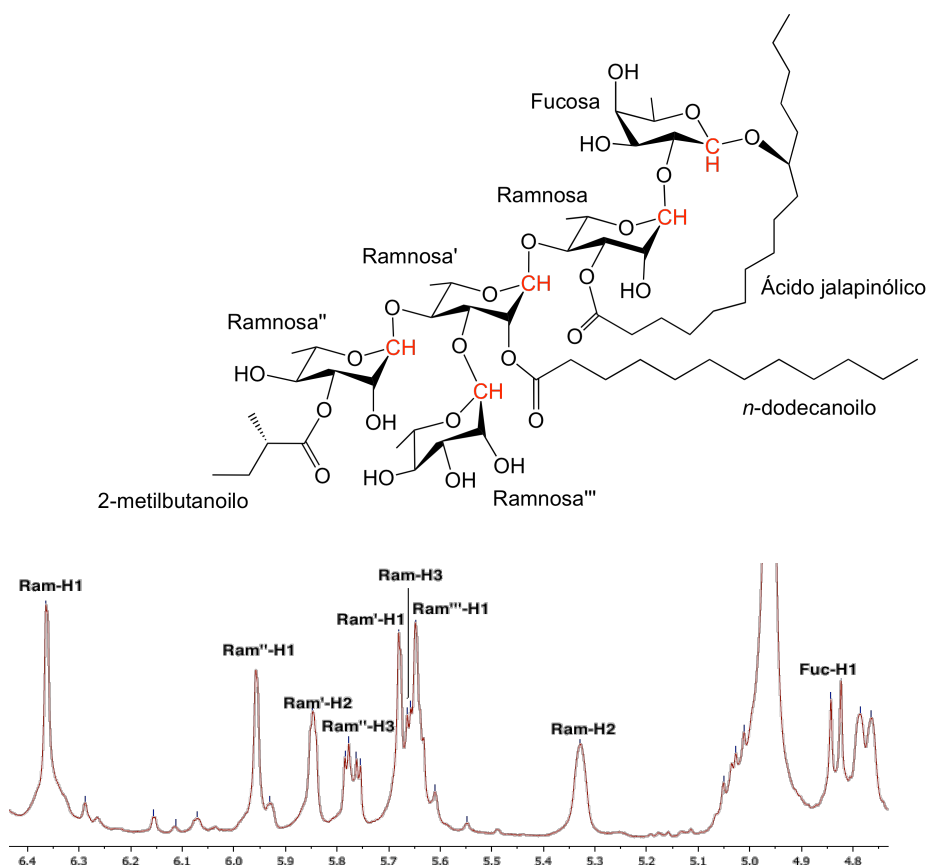


Figura 50. Señales anoméricas en la RMN ^1H del **batatinósido VIII (11)**.

Se observan cinco dobletes localizados entre 1.3 y 1.6 ppm (**Figura 51a**) que indican la presencia de un número correspondiente de unidades metilpentosa en la estructura para los **batatinósidos IV (13)** y **VIII (10)**, y la **pescapreína I (3 y 9)**. También, se observan tres triplete entre 0.8 y 1 ppm que son característicos de los protones de los metilos terminales de los ácidos grasos que esterifican a la cadena oligosacárida, uno a 0.86 ppm que corresponde al metilo terminal de la aglicona (**Figura 51b**).

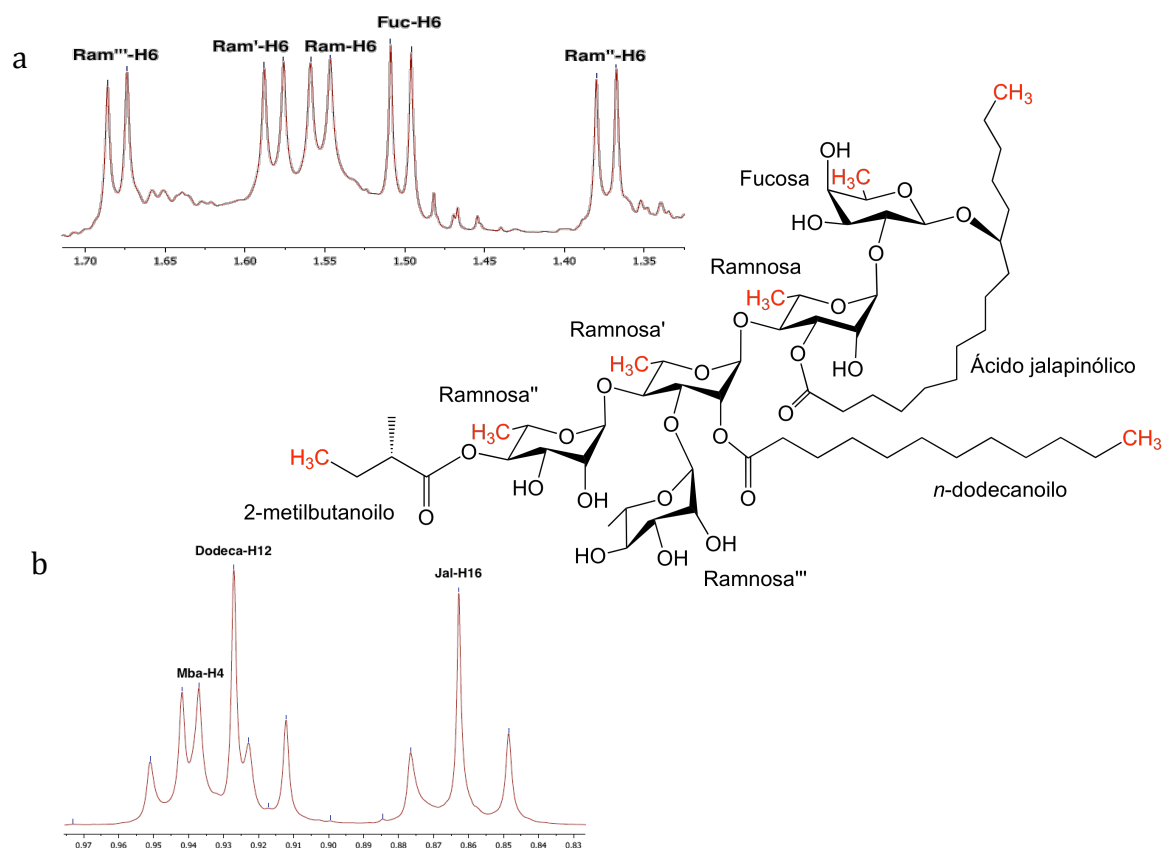


Figura 51. Región entre a) 0.9 y b) 1.5 ppm del espectro de la RMN ^1H del **batatinósido IV (13)**.

Después de identificar y diferenciar las señales mejor resueltas y diagnósticas en la RMN ^1H , se procedió a la asignación de sus señales respectivas de ^{13}C , siendo la primera observación importante el número de señales anómericas observadas entre 97 a 105 ppm (**Figura 52**) que indican directamente el número de unidades monosacáridas constituyentes del núcleo estructural de estas moléculas oligosacáridas, así como las señales entre 173–175 ppm las cuales corresponden a los grupos carbonilo de los ácidos que se encuentra acilando la porción glicosídica y al carbonilo aportado por la aglicona que forma la macrolactona característica de estos compuestos.^{6,10,17,29,90-97}

En la región para la resonancia de los metilos (16 a 19 ppm) en los espectros de RMN ^{13}C de los **batatinósidos VI (4)**, **VII (10)** y **IX (14)**, se observan cuatro señales características de los carbonos de los metilos terminales, que indican la presencia de un número correspondiente de unidades de metilpentosas en la estructura de estos compuestos. También, se observan dos

señales entre 14 y 15 ppm, características de los metilos terminales, correspondientes al ácido que esterifica a la cadena oligosacárida y a la aglicona (**Figura 53**). En todos los espectros se observa la señal característica del carbono del grupo hidroximetileno de una hexosa (glucosa),^{6,10,17,29,90-97} centrado en 62 ppm.

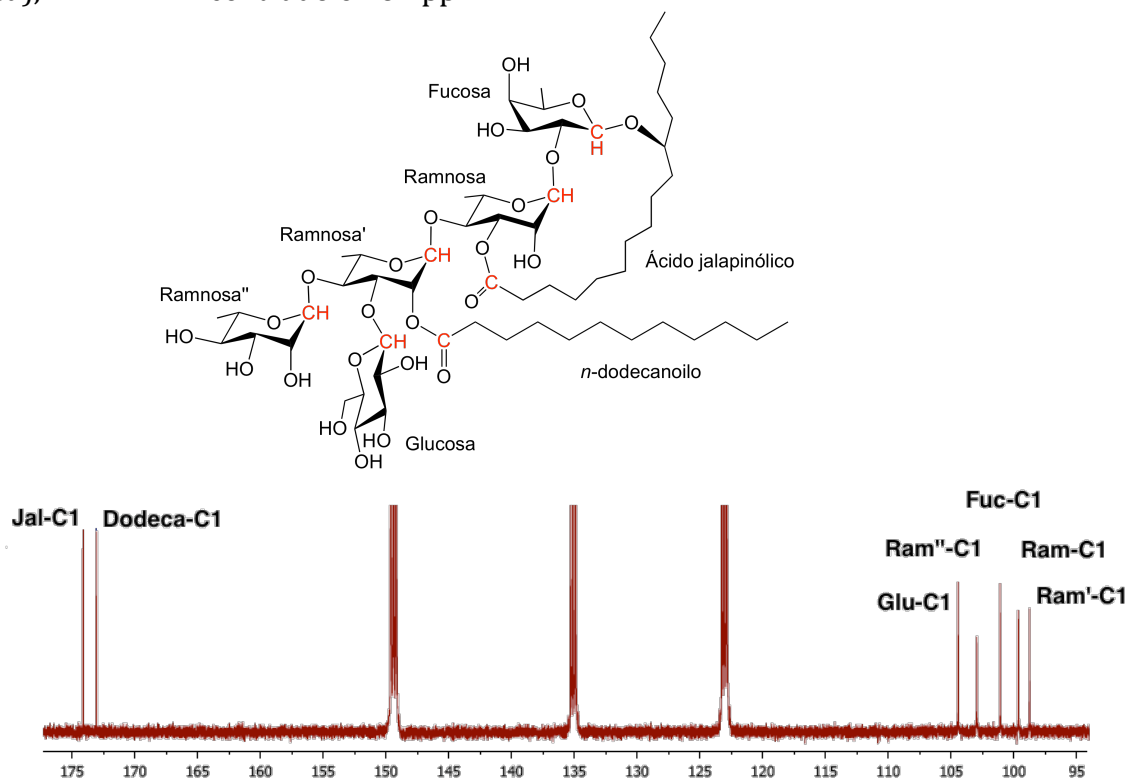


Figura 52. Región entre 95 y 175 ppm del espectro de RMN ¹³C del batatinósido IX (14).

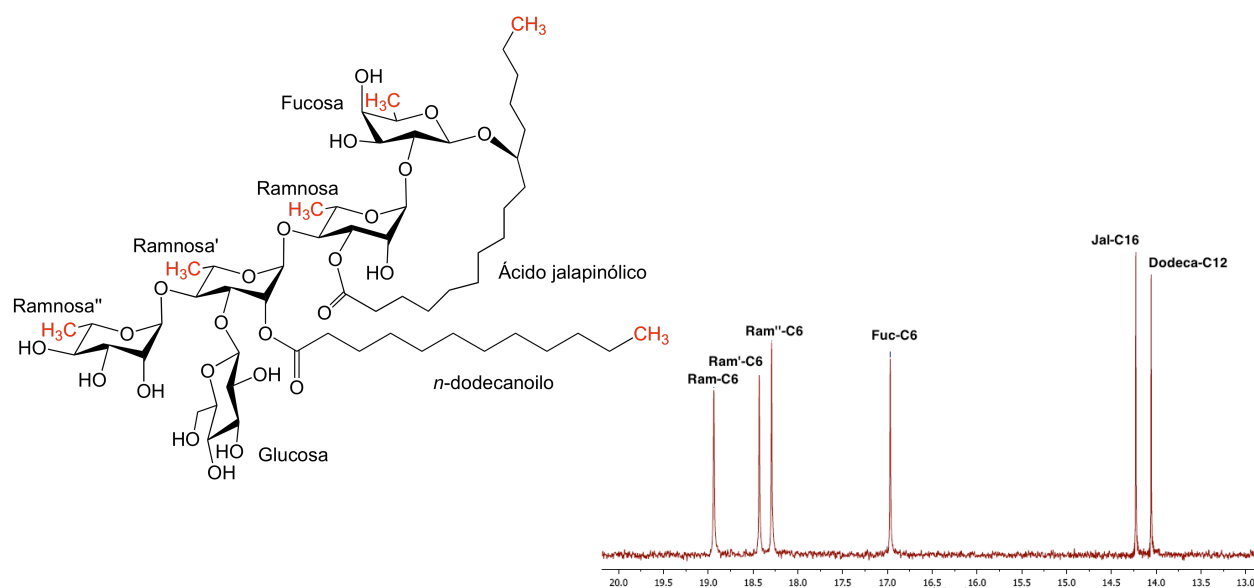


Figura 53. Región entre 14 y 19 ppm del espectro de RMN ¹H del batatinósido IX (14).

Para los **batatinósidos IV (13)** y **VIII (10)**, y la **pescapreína I (3 y 9)**, en la región anomérica observada entre 97 a 105 ppm (**Figura 54**) se observan cinco señales que indican directamente el número de unidades monosacáridas constituyentes del núcleo estructural de estas moléculas oligosacáridas, así como tres señales entre 173–175 ppm las cuales corresponden a los carbonilos de los ácidos que se encuentran acilando la porción glicosídica y al carbonilo aportado por la aglicona que forma la macrolactona.

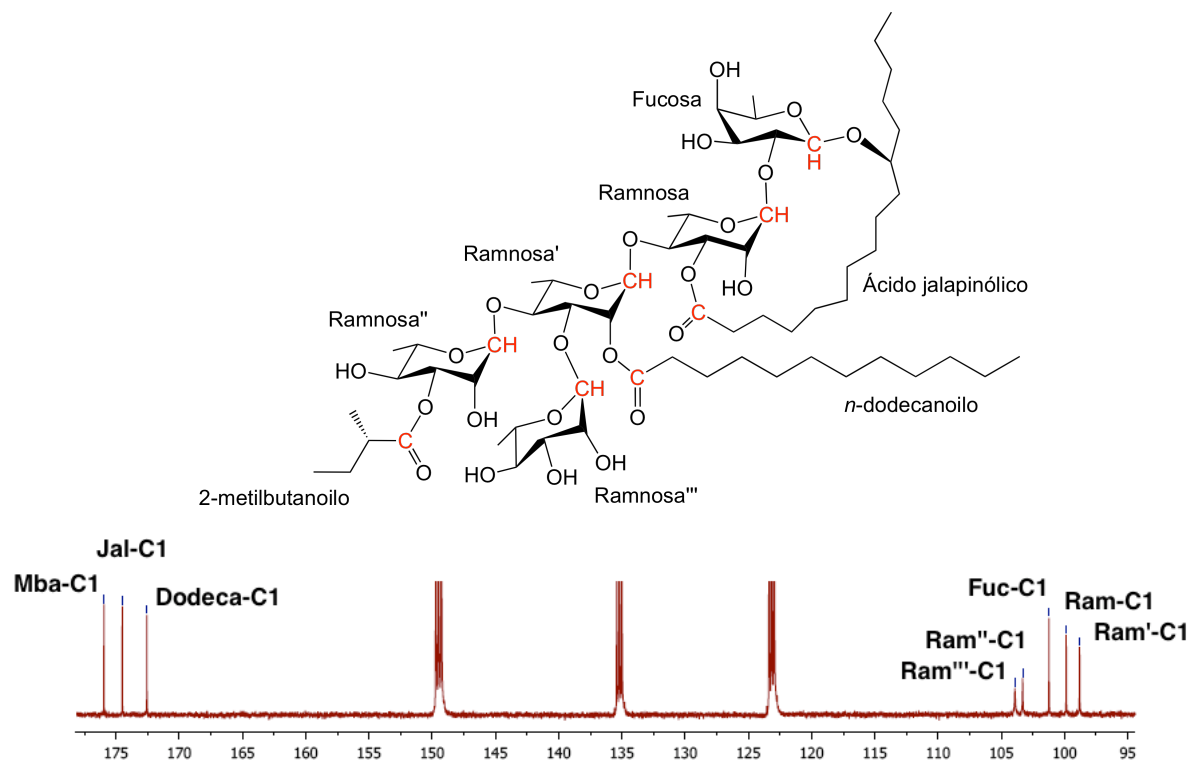


Figura 54. Región entre 95 y 175 ppm del espectro de RMN ^{13}C del **batatinósido VIII (10)**.

Para estos compuestos, en la región para la resonancia de los metilos, en los espectros de RMN ^{13}C , se observan cinco señales características de los carbonos de los metilos terminales, además se observan tres señales entre 11 y 15 ppm, características de los metilos terminales, correspondientes a los ácidos que esterifican a la cadena oligosacárida y a la aglicona (**Figura 55**).

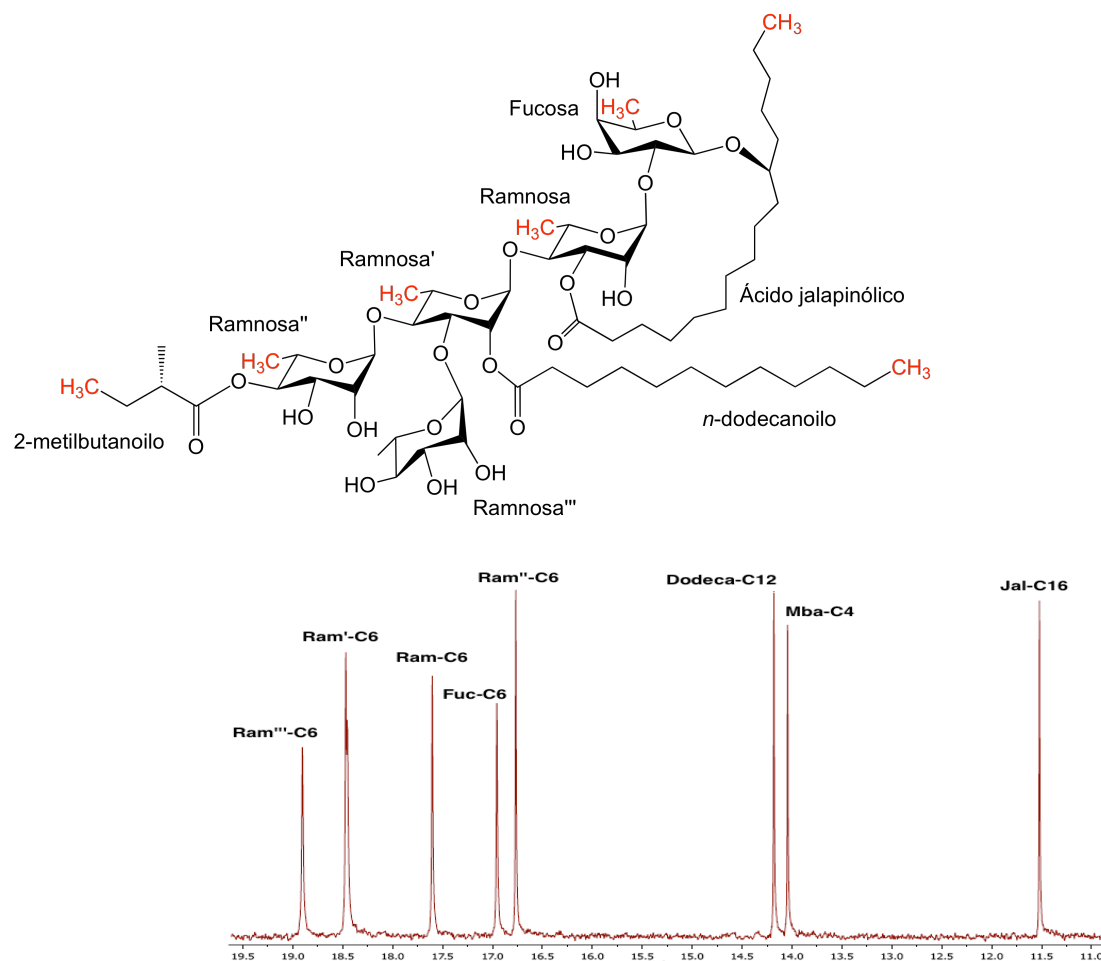


Figura 55. Región entre 11 y 19 ppm del espectro de RMN ^1H del **batatinósido VIII (11)**.

La elucidación estructural no sólo se realizó mediante técnicas espectroscópicas unidimensionales, también se utilizaron técnicas espectroscópicas bidimensionales (HSQC, COSY, TOCSY y HMBC). La asignación de las señales de RMN ^1H y ^{13}C se inició localizando en el espectro heteronuclear HSQC los carbonos anoméricos (desplazamientos químicos alrededor de 97-105 ppm) y sus correspondientes protones anoméricos (desplazamientos químicos alrededor de 4.7-6.4 ppm). En la **Figura 56** se ilustra las correlaciones anoméricas observadas para el **batatinósido VII (10)**.

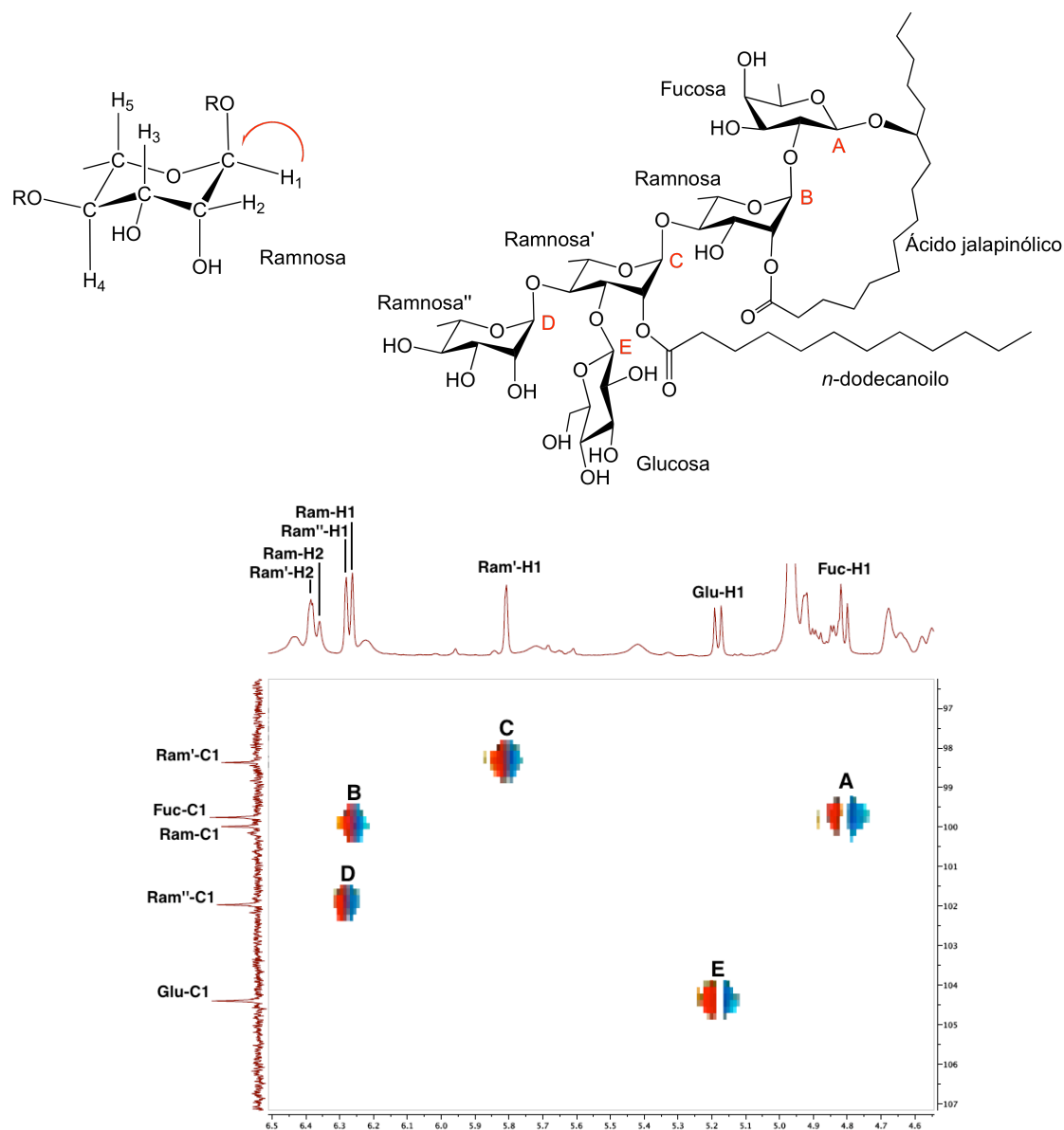


Figura 56. Espectro heteronuclear HSQC los carbonos anoméricos y sus correspondientes protones anoméricos del **batatinósido VII (10)**. A) Fuc C1/Fuc H1; B) Ram C1/Ram H1; C) Ram' C1/Ram' H1; D) Ram'' C1/Ram'' H1; E) Glu C1/Glu H1.

Como segundo paso, se establecieron los cuadros de conectividades para las señales de ¹H en el experimento COSY para establecer la secuencia de conectividades vecinales (³J_{H-H}) para asignar los desplazamientos químicos de cada una de las señales correspondientes a las unidades monosacáridas individuales del núcleo oligosacáridos, como se ilustra en la **Figura 57**.

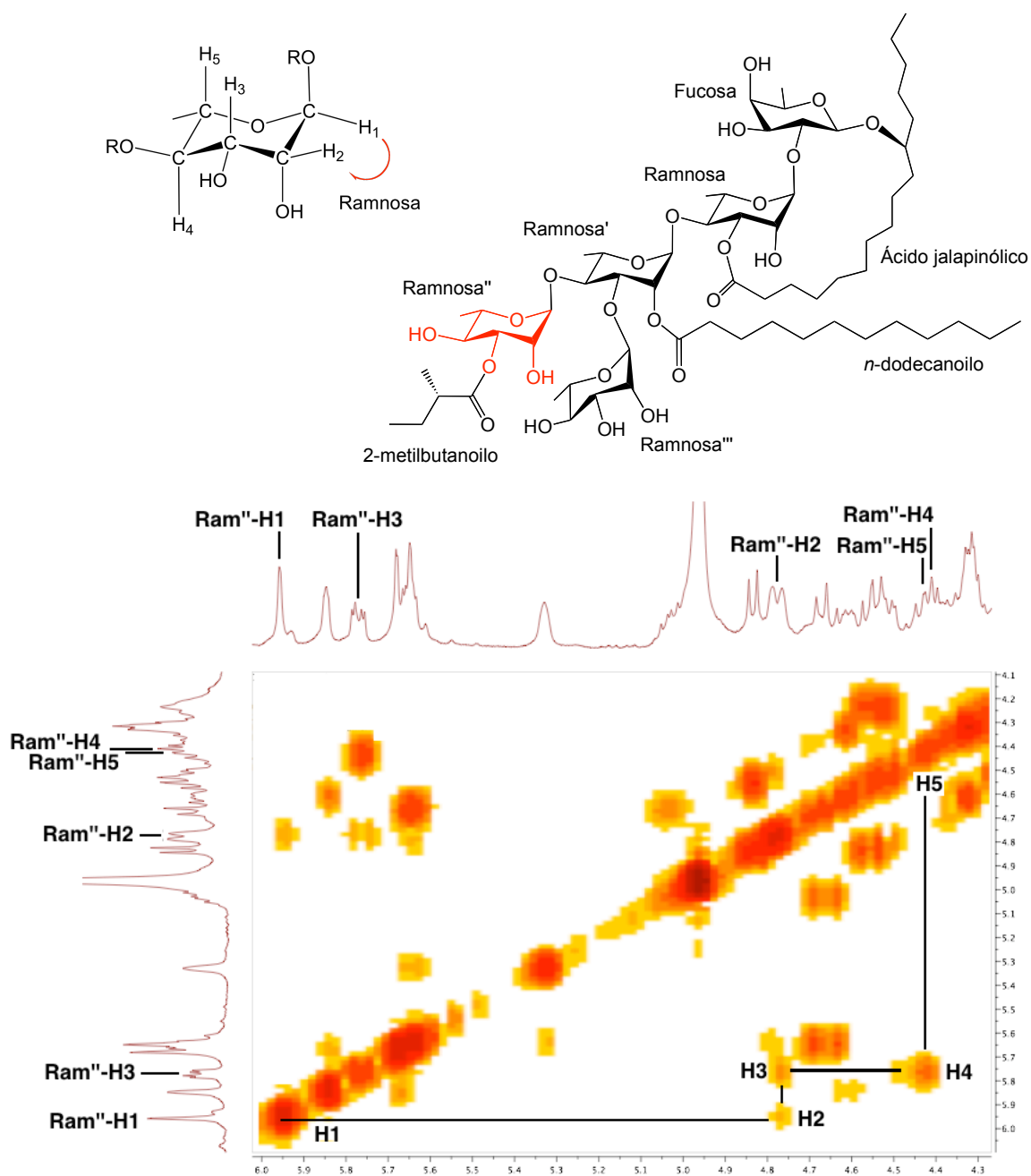


Figura 57. Conectividad en el experimento COSY (conectividades $^1J_{H-H}$) de la cuarta metilpentosa (Ram'') del **batatinósido VIII (11)** (señales de los protones H-1 al H-5).

A pesar de que el establecimiento de los cuadros de conectividad en el experimento COSY puede representar una herramienta espectroscópica que por sí misma resulta eficaz para lograr la localización y la asignación completa de las señales oligosacáridas en la RMN 1H , en la

elucidación estructural de las resinas glicosídicas se recurre también a otra técnica bidimensional homonuclear, el experimento TOCSY.¹⁰⁷⁻¹⁰⁹ Éste permite localizar las interacciones vecinales y también todas las correlaciones a larga distancia ^1H - ^1H dentro de una unidad monosacárida completa. Así, los cuadros de conectividad que se establecen en el TOCSY son de gran utilidad cuando existe sobreposición de señales como sucede en la mayor parte de los glicolípidos de las convolvuláceas, cuyas estructuras oligosacáridas generan espectros de RMN sumamente complejos, en especial para aquellos polímeros superiores a cuatro unidades monosacáridas y aquellos que se encuentran con un número bajo de grupos acilantes.^{2,6,10-12,17,28-29,90-97,100-104,107-109} La búsqueda de correlaciones a larga distancia ^1H - ^1H en el experimento TOCSY se inicia buscando nuevamente una señal oligosacárida diagnóstica y claramente resuelta en el espectro bidimensional, siguiendo en línea recta las señales transversales que indican las interacciones con los demás protones de la unidad monosacárida completa en una tendencia vertical u horizontal (**Figuras 58**).

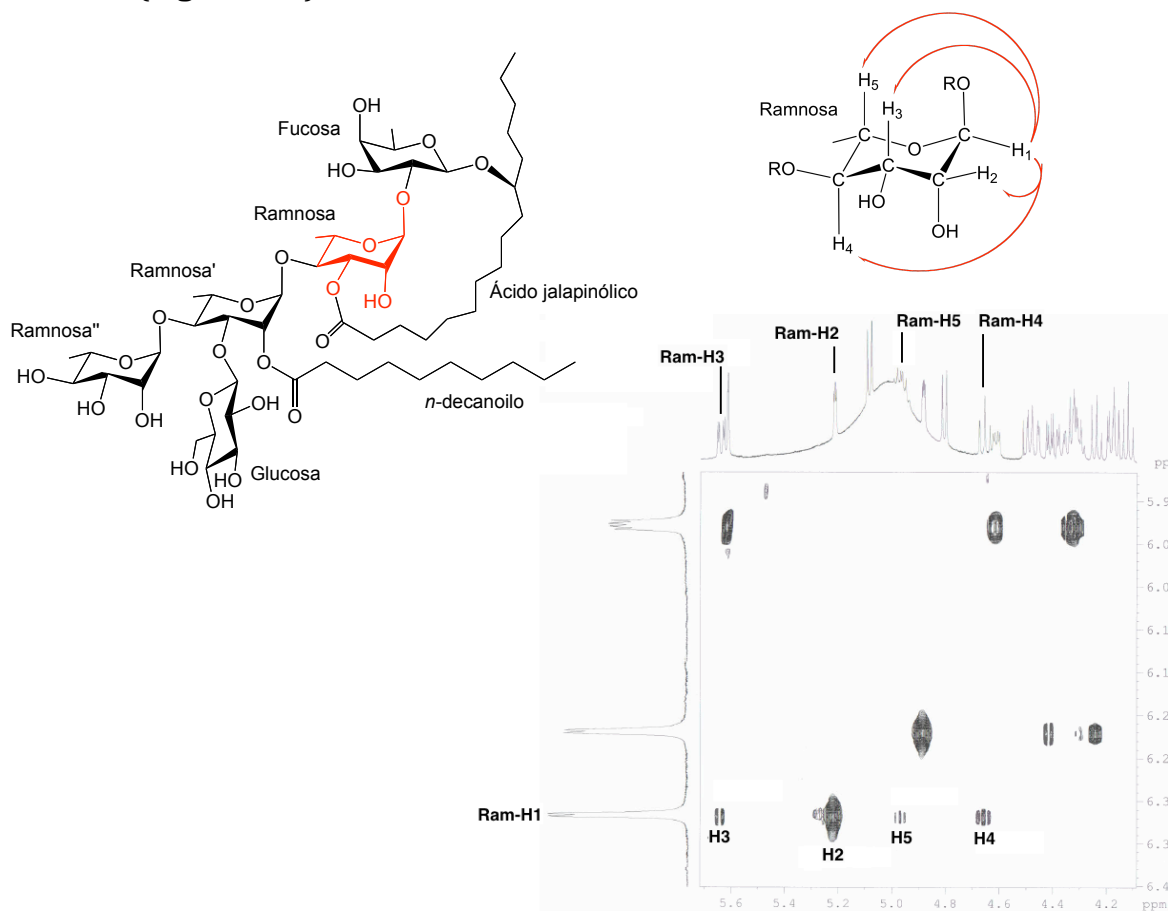


Figura 58. Correlaciones a larga distancia para las señales de H2-H5 en el experimento TOCSY correspondientes a la segunda metilpentosa (Ram) del **batatinósido VI (4)**.

Después de identificar y diferenciar las señales aportadas por los protones de cada unidad monosacárida en la RMN ^1H , se procedió a la asignación de las señales de RMN ^{13}C mediante la técnica HSQC (**Figura 59**).

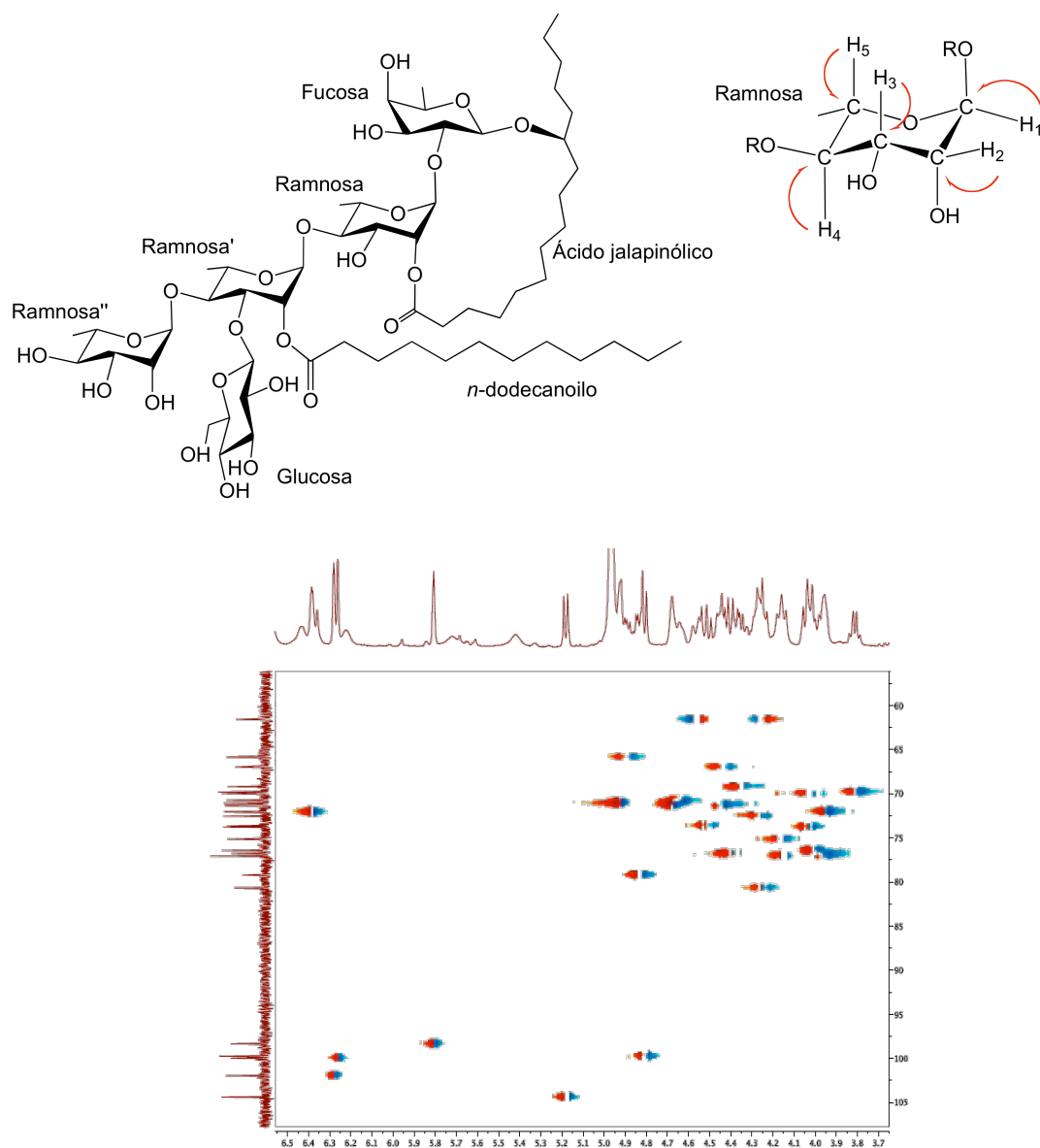


Figura 59. Ampliación del espectro heteronuclear HSQC del **batatinósido VII (10)**.

La identificación de las correlaciones a tres enlaces ($^3J_{\text{C-H}}$) entre H1-C5 (**Figura 60**) y a dos enlaces ($^2J_{\text{C-H}}$) entre H6-C5 (**Figura 61**) en el experimento HMBC permitió sustentar las

asignaciones hechas para cada una de las unidades monosacáridas que componen al núcleo oligosacáridos (**Cuadros 11 y 12**).

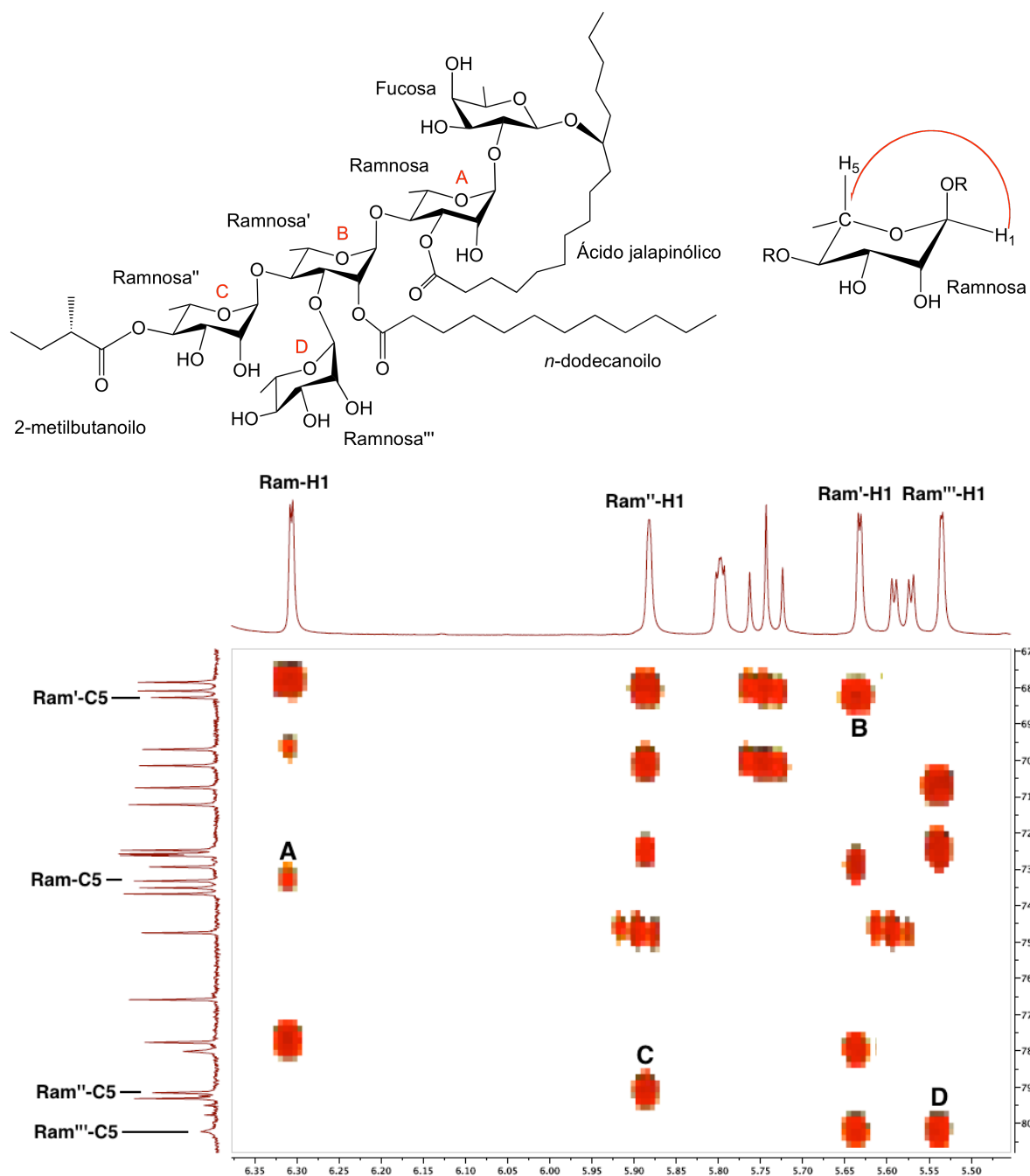


Figura 60. Identificación de las correlaciones a tres enlaces ($^3J_{C-H}$) entre H1-C5 en el espectro HMBC, del **batatinósido IV (13)**. A) Ram C5/Ram H1; B) Ram' C5/Ram' H1; C) Ram'' C5/Ram'' H1; D) Ram''' C5/Ram''' H1.

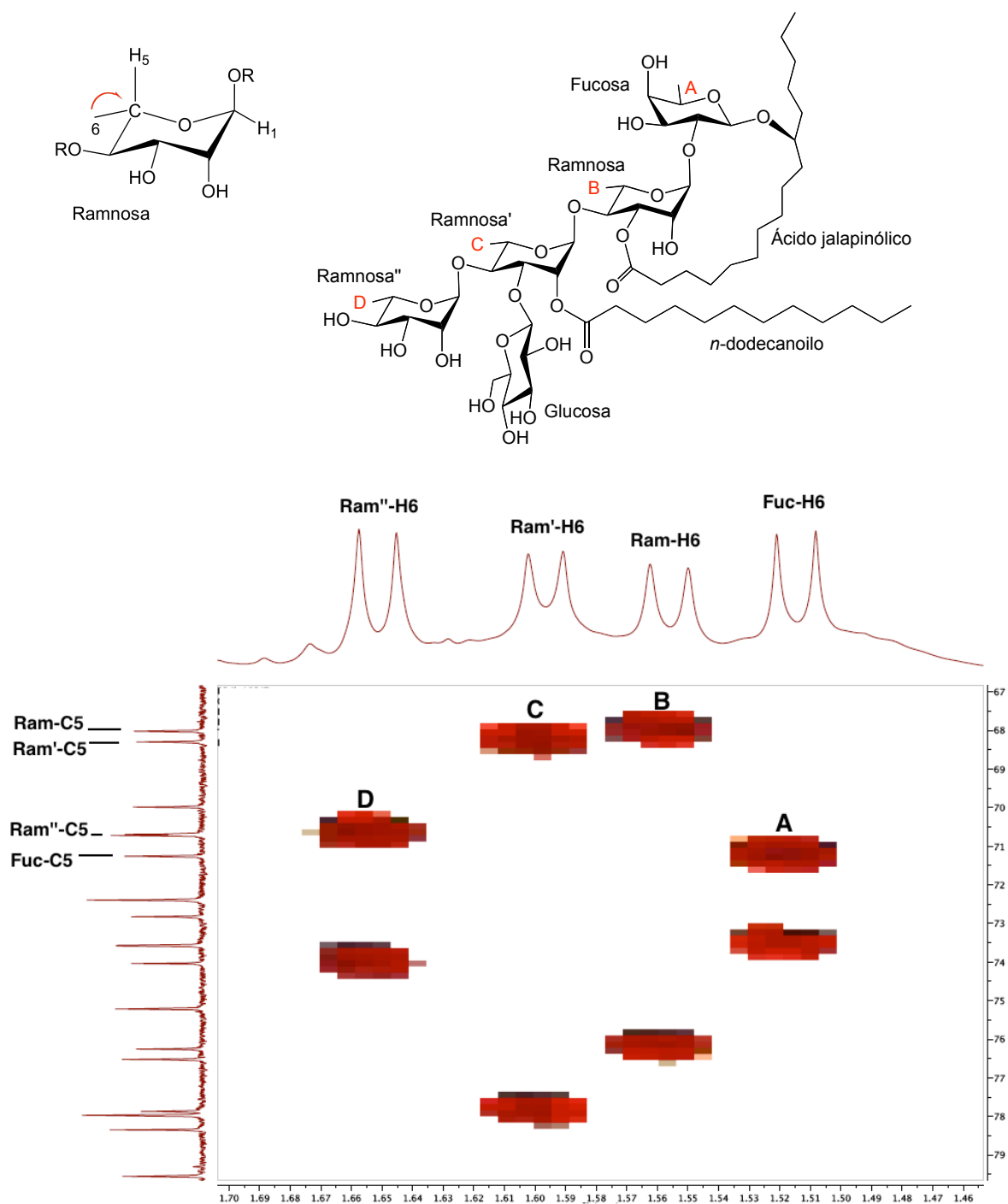


Figura 61. Correlaciones a dos enlaces ($^2J_{\text{C-H}}$) en el experimento HMBC del **batatinósido IX (14)**.
A) Fuc C5/Fuc H6; B) Ram C5/Ram' H6; C) Ram' C5/Ram' H6; D) Ram'' C5/Ram'' H6.

Cuadro 11. Desplazamientos químicos en RMN ^1H y ^{13}C
de los **batatinósidos VI (4), VII (10) y IX (14)**

posición ^c	Batatinósido VI ^a		Batatinósido VII ^b		Batatinósido IX ^a	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
Fuc-1	4.80 d (8.0)	101.5	4.81 d (8.0)	99.7	4.81 d (8.0)	101.6
2	4.49 dd (9.7, 8.0)	73.6	4.51 dd (9.7, 8.0)	73.6	4.51 dd (9.7, 8.0)	73.6
3	4.18 dd (9.7, 3.5)	76.5	4.16 dd (9.7, 3.5)	76.5	4.19 dd (9.7, 3.5)	76.5
4	3.91 d (3.5)	74.0	4.02 d (3.5)	73.6	3.92 d (3.5)	73.6
5	3.80 q (6.5)	71.2	3.81 q (6.5)	71.3	3.81 q (6.5)	71.3
6	1.51 d (6.0)	17.2	1.51 d (6.0)	17.2	1.51 d (6.0)	16.9
Ram-1	6.31 d (1.5)	100.1	6.26 d (1.5)	100.0	6.33 d (1.5)	100.1
2	5.21 dd (3.5, 1.5)	65.0	6.36 dd (9.5, 3.0)	68.0	5.23 dd (3.5, 1.5)	68.0
3	5.63 dd (9.5, 3.0)	77.9	4.68 dd (3.5, 1.5)	78.0	5.65 dd (9.5, 3.0)	78.0
4	4.64 t (9.5)	76.2	4.26 t (9.5)	76.3	4.67 t (9.5)	76.3
5	4.97 dq (9.5, 6.0)	68.0	4.32 dq (9.5, 6.0)	68.0	4.97 dq (9.5, 6.0)	68.0
6	1.55 d (6.0)	19.2	1.56 d (6.0)	19.2	1.56 d (6.0)	18.9
Ram'-1	5.61 d (2.0)	99.2	5.80 d (1.5)	98.4	5.63 d (2.0)	99.2
2	5.97 dd (3.0, 2.0)	72.6	6.39 dd (3.5, 1.5)	72.4	5.99 dd (3.0, 2.0)	72.4
3	4.61 dd (9.0, 3.0)	80.3	4.84 dd (9.5, 3.0)	80.3	4.63 dd (9.0, 3.0)	80.3
4	4.32 t (9.0)	77.9	4.39 t (9.5)	77.9	4.34 t (9.0)	77.9
5	4.33 *	68.3	4.92 dq (9.5, 6.0)	68.3	4.33 *	68.3
6	1.58 d (6.0)	18.7	1.60 d (6.0)	18.7	1.60 d (6.0)	18.4
Ram''-1	6.21 d (1.5)	103.4	6.28 d (1.5)	101.9	6.23 d (1.5)	103.4
2	4.88 dd (3.0, 1.5)	72.4	4.92 dd (3.5, 1.5)	72.4	4.90 dd (3.0, 1.5)	72.4
3	4.41 dd (9.0, 3.0)	72.8	4.25 dd (9.5, 3.0)	72.8	4.42 dd (9.0, 3.0)	72.8
4	4.22 t (9.0)	74.0	4.26 t (9.5)	74.0	4.26 t (9.0)	74.0
5	4.33*	70.8	4.32 dq (9.5, 6.0)	70.7	4.32	70.7
6	1.64 d (6.0)	18.5	1.65 d (6.0)	18.5	1.65 d (6.0)	18.2
Glu-1	5.08 d (7.5)	104.9	5.18 d (7.5)	104.3	5.09 d (7.5)	104.9
2	3.94 dd (9.0, 8.5)	75.2	4.03 dd (9.0, 8.5)	75.2	3.96 dd (9.0, 8.5)	75.2
3	4.11 *	77.9	4.16 *	78.3	4.14 *	78.3
4	4.12 *	70.8	4.18 *	70.7	4.18 *	70.7
5	3.86 m	76.5	3.87 m	78.0	3.87 m	78.0
6a	4.36 t (10.0)	62.5	4.38 t (10.0)	62.5	4.38 t (10.0)	62.5
6b	4.46 dd (10.0, 8.0)		4.47 dd (10.0, 8.0)		4.47 dd (10.0, 8.0)	
Jal-1		174.9		172.6		174.7
2a	2.26 ddd (14.5, 7.0, 2.0)	34.2	2.27 ddd (14.5, 7.0, 2.0)	34.2	2.28 ddd (14.5, 7.0, 2.0)	34.2
2b	2.65 ddd (14.5, 10.5, 3.0)		2.41 ddd (14.5, 10.5, 3.0)		2.67 ddd (14.5, 10.5, 3.0)	
11	3.86 m	79.6	3.81 m	79.6	3.87 m	79.6
16	0.85 t (7.0)	14.3	0.86 t (7.0)	12.8	0.87 t (7.0)	14.0
Deca-1		173.5				
2	2.39 ddd (16.0, 7.5, 2.0)	34.5				
10	0.92 t (7.0)	14.5				
Dodeca-1				172.1		173.5
2			2.40 ddd (16.0, 7.5, 2.0)	34.5	2.40 ddd (16.0, 7.5, 2.0)	34.5
12			0.93 t (7.0)	13.0	0.92 t (7.0)	14.2

Datos registrados a 500^a y 400^b MHz para ^1H y 125 MHz para ^{13}C en $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$. *Señales sobrepuestas. Entre paréntesis las constantes de acoplamiento (*J*) en Hz. s = singulete, d = doblete, t = triplete, m = multiplete. ^cAbreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Glu = glucosa; Jal = ácido 11-hidroxihexadecanoico; Deca = ácido decanoico; Dodeca = ácido dodecanoico.

Cuadro 12. Desplazamientos químicos en RMN ^1H y ^{13}C de los batatinósidos IV (13), VIII (11) y de la pescapreína I (3 y 9).

posición ^c	Batatinósido IV ^a		Batatinósido VIII ^b		Pescapreína I ^b	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
Fuc-1	4.79 d (8.0)	101.6	4.83 d (8.0)	101.8	4.79 d (7.8)	101.6
2	4.50 dd (9.5, 8.0)	73.3	4.54 dd (9.5, 8.0)	72.5	4.49-4.52*	73.4
3	4.17 dd (9.5, 3.5)	76.6	4.24 dd (9.5, 3.5)	76.6	4.18 dd (9.5,3.1)	76.6
4	3.90	73.5	3.94	73.6	3.90 bs	73.6
5	3.80 q (6.0)	71.2	3.83 q (6.0)	71.3	3.80 q (6.4)	71.2
6	1.51 d (6.0)	17.2	1.54 d (6.0)	17.3	1.50 d (6.4)	17.2
Ram-1	6.30 bs	100.2	6.36 bs	100.3	6.33 bs	100.5
2	5.28 bs	69.7	5.33 bs	69.9	5.30 bs	69.8
3	5.58 dd (9.6, 3.0)	77.8	5.65 dd (9.6, 3.0)	77.9	5.60 dd (9.7,2.5)	77.9
4	4.61 dd (9.6, 9.6)	78.0	4.66 dd (9.6, 9.6)	77.5	4.64 dd (9.7,9.7)	77.5
5	4.99 dq (9.6, 6.0)	67.8	5.03 dq (9.6, 6.0)	68.0	4.98 dq (9.3,6.2)	67.9
6	1.56 d (6.0)	19.1	1.57 d (6.0)	19.3	1.57 d (6.2)	18.6
Ram'-1	5.63 bs	99.1	5.67 bs	99.1	5.65 d (1.0)	99.4
2	5.80 bs	72.9	5.85 bs	73.1	5.81 dd (3.7,1.0)	73.0
3	4.49 dd (9.8, 3.0)	80.2	4.61 dd (9.8, 3.0)	80.2	4.49-4.52*	80.4
4	4.24 dd (9.8, 9.8)	79.1	4.31 dd (9.8, 9.8)	78.5	4.31 dd (8.5,8.5)	78.5
5	4.32 dq (9.8, 6.3)	68.3	4.32 dq (9.8, 6.3)	68.4	4.29 dq (8.5,5.9)	68.5
6	1.59 d (6.3)	18.7	1.50 d (6.3)	18.7	1.63 d (5.9)	18.3
Ram''-1	5.88 d (1.5)	103.6	5.95 d (1.5)	103.6	5.92 bs	103.2
2	4.60 bs	72.6	4.78 bs	72.7	4.64*	72.6
3	4.39 dd (9.5, 3.0)	70.1	5.76 dd (9.5, 3.0)	75.5	4.36 dd (9.5,3.1)	72.5
4	5.74 dd (9.5, 9.5)	74.7	4.43 dd (9.5, 9.5)	71.3	4.25 dd (9.5,9.5)	73.8
5	4.33 dq (9.5, 6.0)	68.1	4.40 dq (9.5, 6.0)	71.0	4.27-4.33*	70.7
6	1.38 d (6.0)	17.8	1.67 d (6.0)	18.4	1.54 d (6.1)	19.1
Ram'''-1	5.53 d (1.0)	104.3	5.65 d (1.0)	104.3	5.58 bs	104.4
2	4.75 dd (3.7, 1.0)	72.6	4.65 dd (3.7, 1.0)	72.6	4.82 dd (2.9,1.3)	72.6
3	4.49 dd (9.1, 3.7)	72.5	4.35 dd (9.1, 3.7)	72.6	4.49-4.52*	72.5
4	4.19 dd (9.1, 9.1)	73.7	4.19 dd (9.1, 9.1)	73.7	4.27-4.33*	73.6
5	4.27 dq (9.1, 6.1)	70.8	4.29 dq (9.1, 6.1)	70.5	4.27-4.33*	70.7
6	1.69 d (6.1)	18.7	1.73 d (6.1)	18.8	1.71 d (6.0)	18.8
Jal-1		174.8		174.9		174.9
2a	2.25 ddd (15.3, 7.1, 3.1)	33.6	2.29 ddd (15.3, 7.1, 3.1)	33.8	2.25 ddd (15.3, 6.1, 2.0)	33.7
2b	2.92 t (11.7)		2.95 t (11.7)		2.91 t (12.1)	
11	3.86 m	79.3	3.89 m	79.6	3.84 m	79.4
16	0.87 t (6.8)	14.3	0.88 t (6.8)	14.3	0.85 t (7.5)	14.3
Mba-1		176.3		176.6		
2	2.49 tq (7.0, 6.7)	41.5	2.42 tq (7.0, 6.7)	41.4		
2-Me	1.20 d (7.5)	17.0	1.07 d (7.5)	16.6		
3-Me	0.93 t (7.5)	11.8	0.91 t (7.5)	11.7		
Dodeca-1		172.9		172.9		172.9
2	2.36 t (7.2)	34.4	2.35 t (7.2)	34.4	2.33 t (7.4)	34.4
12	0.94 t (7.0)	14.4	1.00 t	14.5	0.92 t (7.1)	14.4

Datos registrados a 500^a y 400^b MHz para ^1H y 125 MHz para ^{13}C en $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$. *Señales sobrepuestas. Entre paréntesis las constantes de acoplamiento (*J*) en Hz. s = singulete, d = doblete, t = triplete, m = multiplete. ^cAbreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Jal = ácido 11-hidroxihexadecanoico; Mba = ácido 2-metilbutanoico; Dodeca = ácido dodecanoico.

La secuencia de glicosidación se asignó mediante las correlaciones ^1H - ^{13}C observadas en el espectro HMBC en la región oligosacárida, entre los protones anoméricos con los carbonos de las unidades monosacáridas vecinales.¹⁰⁷⁻¹⁰⁹ La **Figura 62** ilustra las conectividades que permitieron verificar la secuencia de glicosidación para la cadena oligosacárida de estos compuestos.

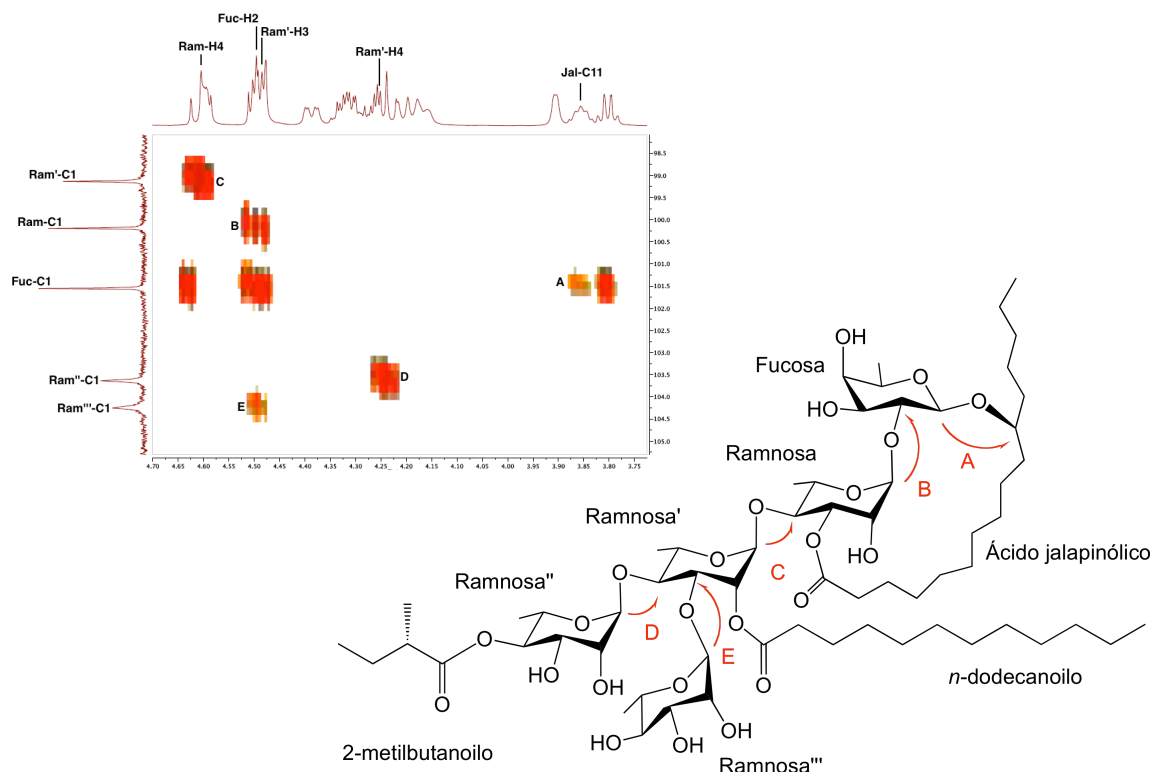


Figura 62. Correlaciones a tres enlaces ($^3J_{\text{C-H}}$) para la secuencia de glicosidación en el experimento HMBC del **batatinósido IV (13)**. A) Fuc C2/Jal C11; B) Ram C1/Fuc H2; C) Ram' C1/Ram H4; D) Ram'' C1/Ram' H4; E) Ram''' C1/Ram' H3.

La posición de esterificación y lactonización para los **batatinósidos VI (4)**, **VII (10)** y **IX (14)** se determinaron mediante las siguientes observaciones: en primer lugar, se localizó las señales mejor resueltas y diagnóstica de la cadena alifática que corresponden a los grupos metileno alfa a los dos grupos carbonilos observados en la región de 174 a 175 ppm. En el espectro de RMN ^1H del **batatinósido VII (10)** se observó un triplete en 2.34 ppm con una constante de acoplamiento de 7.3 Hz (**Figura 63**), difícil de interpretar por una sobreposición debido a la similitud en su desplazamiento químico con los protones del grupo metileno alfa al grupo carbonilo de la aglicona que forma la macrolactona a través de la esterificación intramolecular con el hidroxilo de la posición C-2 de la unidad de ramnosa interna (Ram).

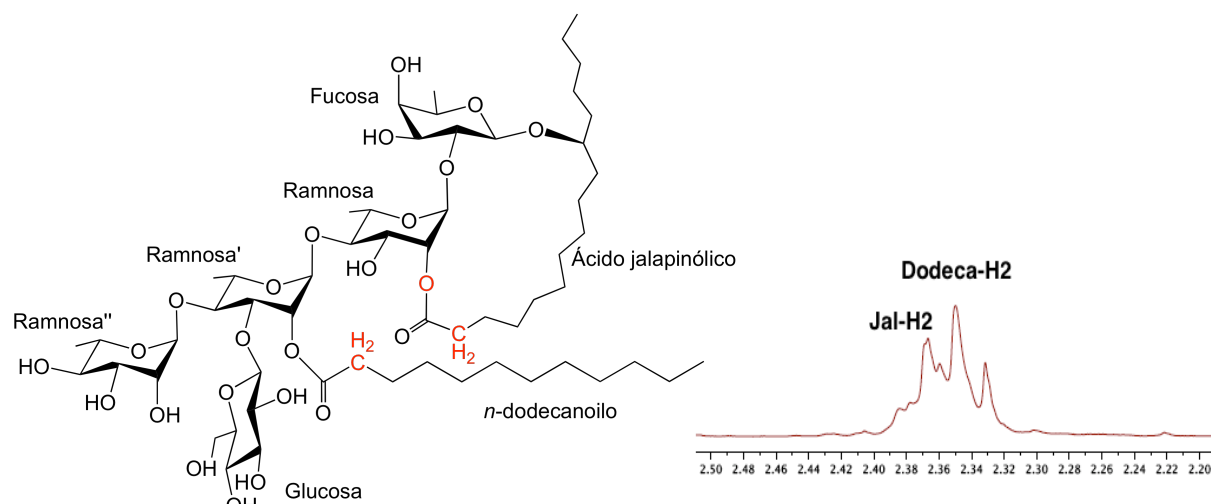


Figura 63. Región entre 2.2 y 2.5 ppm de espectro de RMN ^1H del **batatinósido VII (10)**.

En el caso de los espectro de RMN ^1H de los **batatinósidos VI (4)** y **IX (14)** se observó un doble de doble de dobles en 2.4 ppm. En algunos casos, donde evidentemente hay alguna restricción en la libertad conformacional para el residuo de ácido graso, estas señales aparecen como señales magnéticamente no equivalentes y semejantes a un doblete de dobletes de dobletes para los protones (CH_2) correspondiente al grupo metileno alfa al grupo carbonilo de los ácidos *n*-decanoico (Deca) y *n*-dodecanoico (Dodeca) (**Figura 64**).

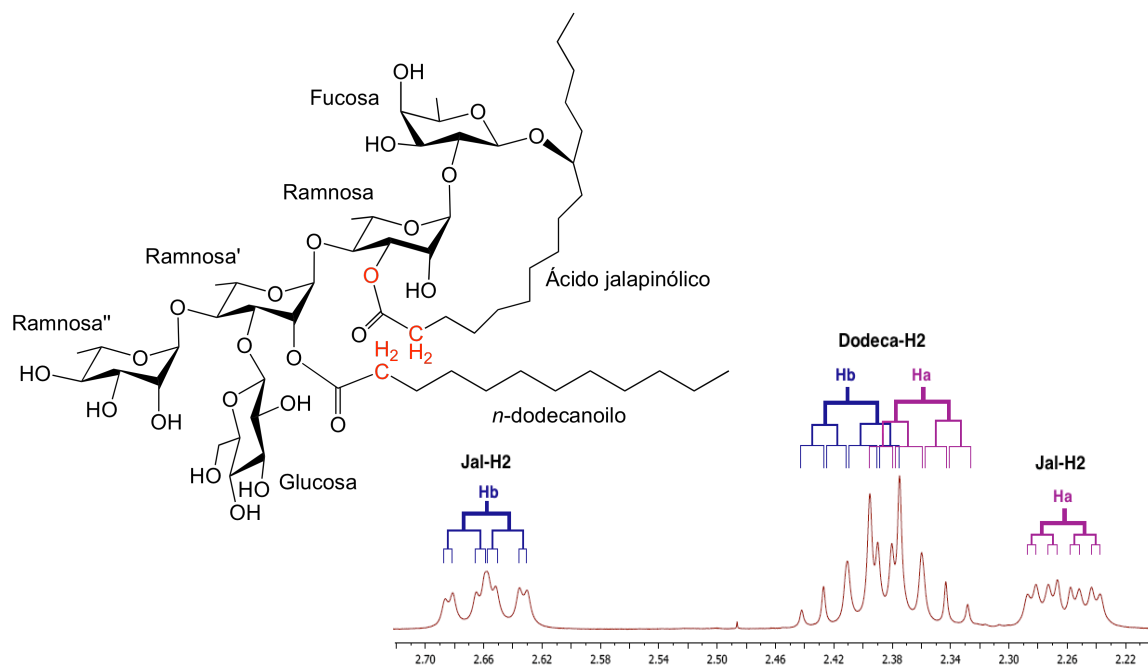


Figura 64. Región entre 2.2 y 2.7 ppm de espectro de RMN ^1H del **batatinósido IX (14)**.

Además de estas señales en 2.4 ppm, en el espectro de RMN ^1H de los **batatinósidos VI y IX** se registran dos dobles de dobles de dobles en 2.66 y 2.26 ppm, las cuales son señales diagnósticas correspondientes a los protones del grupo metileno alfa al grupo carbonilo de la aglicona que forma la esterificación intramolecular en el hidroxilo de la posición C-3 de la unidad de ramnosa interna (Ram).

En el espectro de RMN ^1H del **batatinósido IV (13)** se observa un triplete en 2.35 ppm (CH_2) con una constante de acoplamiento de 7.2 Hz (**Figura 65**) para los protones correspondiente a un grupo metileno alfa al grupo carbonilo del ácido *n*-dodecanoico (Dodeca), el cual se confirma mediante la eliminación observada de este grupo en la espectrometría de masas.

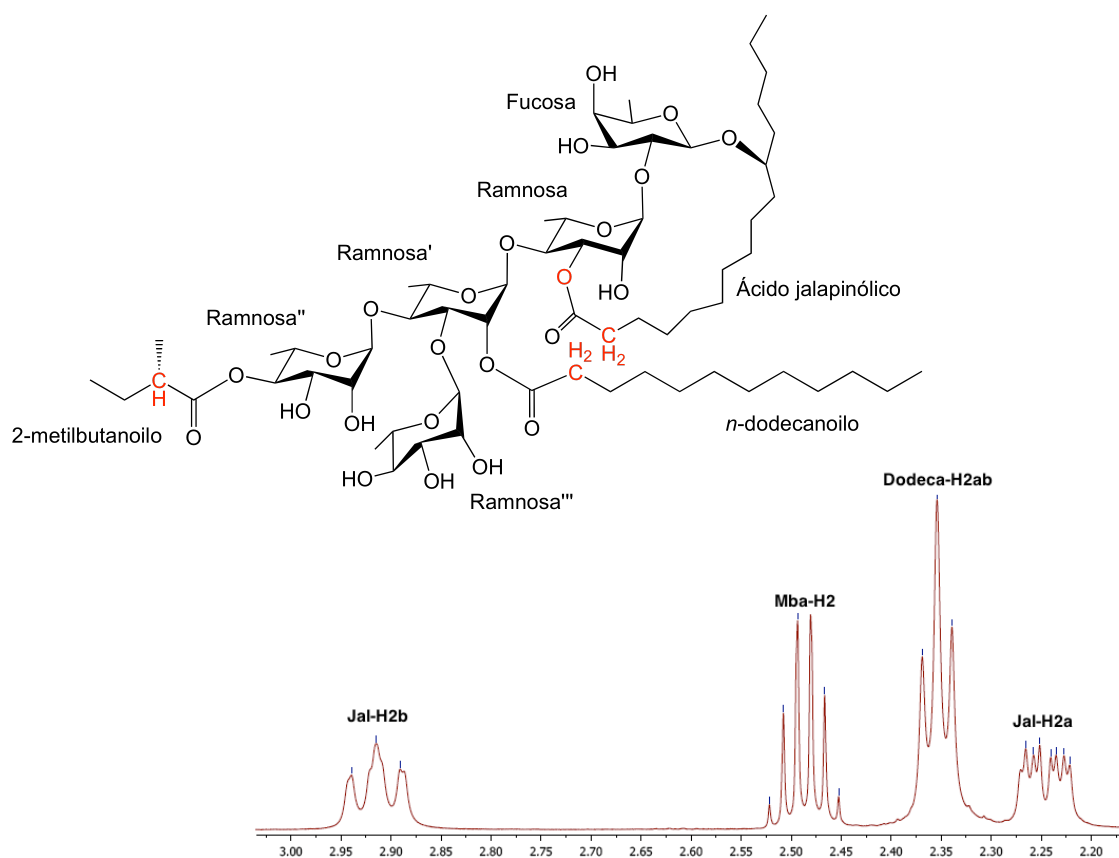


Figura 65. Región entre 2.2 y 2.7 ppm de espectro de RMN ^1H del **batatinósido IV (13)**.

Estas señales son difíciles de interpretar en muchos casos por una sobreposición debido a la similitud en su desplazamiento químico con alguno de los protones del grupo metileno alfa al

carbonilo de la aglicona o a los protones de otro residuo de ácido graso, como se observa en el espectro de RMN ^1H del **batatinósido VIII (11)** (Figura 66).

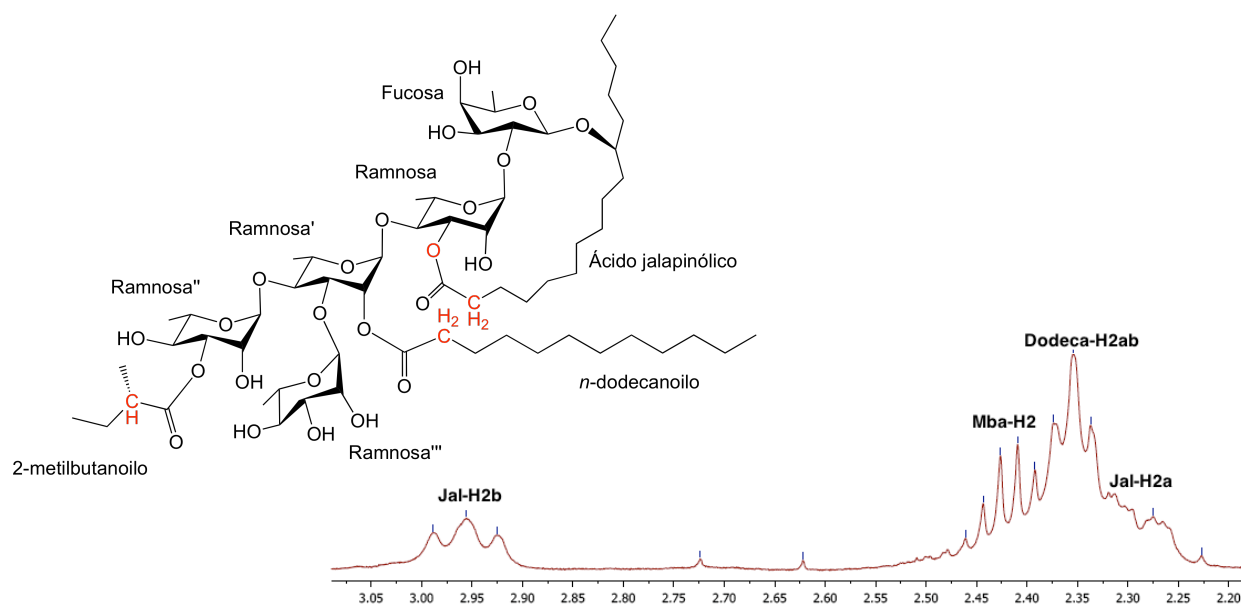


Figura 66. Región entre 2.2 a 3.1 ppm de espectro de RMN ^1H del **batatinósido VIII (11)**.

En el espectro de RMN ^1H de la **pescapreína I (3 y 9)** se observó un triplete en 2.34 ppm con una constante de acoplamiento de 7.3 Hz (Figura 67), correspondiente al metileno alfa al grupo carbonilo del ácido *n*-dodecanoico (Dodeca), el cual se confirmó mediante la eliminación observada de este grupo en la espectrometría de masas.

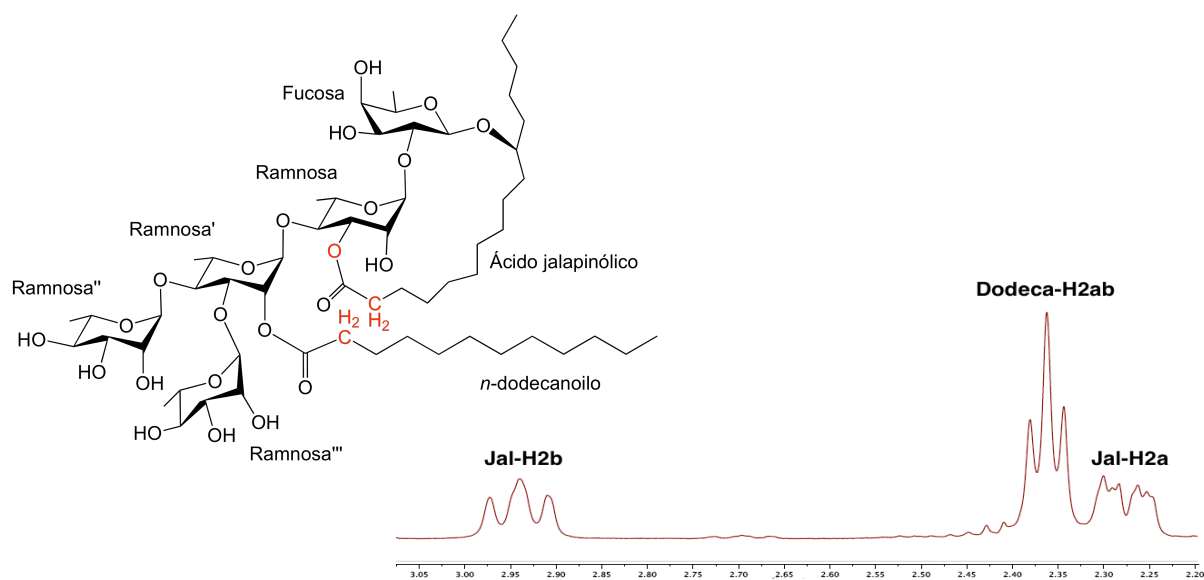


Figura 67. Región entre 2.2 y 2.7 ppm de espectro de RMN ^1H de la **pescapreína I (9)**.

En el espectro de RMN ^1H de la **pescapreína I** (**3** y **9**) se registran dos señales en forma de doble de doble de dobles centradas en 2.95 y 2.27 ppm (**Figura 67**), las cuales son señales diagnósticas para los protones del grupo metileno alfa al grupo carbonilo de la aglicona y que está formando la esterificación intramolecular con la unidad de ramnosa interna inferior (Ram) en la posición C-3 de la unidad de ramnosa interna inferior (Ram). También, en los espectros de RMN ^1H de los **batatinósidos IV** (**13**) y **VIII** (**11**) en la región de 2.4 ppm (**Figuras 65 y 66**), se observó un doble de triplete correspondiente al protón de un metino alfa al grupo carbonilo del ácido 2-metilbutanoico. Otras señales diagnósticas para la identificación del residuo del ácido 2-metilbutanoico en la RMN ^1H son el doblete localizado a 1.2 ppm generado por los protones del grupo metilo de la posición 2 (2-Me) y un triplete correspondiente a la señal del grupo metilo terminal (3-Me), asimismo el carbono 2 del éster metilbutírico genera una señal aproximadamente a 40 ppm en la RMN ^{13}C . La presencia de cada uno de los residuos de ácidos grasos se confirmó mediante espectrometría de masas.

En segundo lugar, la diferenciación entre las señales de cada uno de los ésteres se determinó en el experimento de HMBC a partir de las correlaciones a dos enlaces ($^2J_{\text{CH}}$) entre la señal de cada carbonilo y sus correspondientes metilenos en posición alfa, como se ilustra en las **Figuras 68 y 69**.

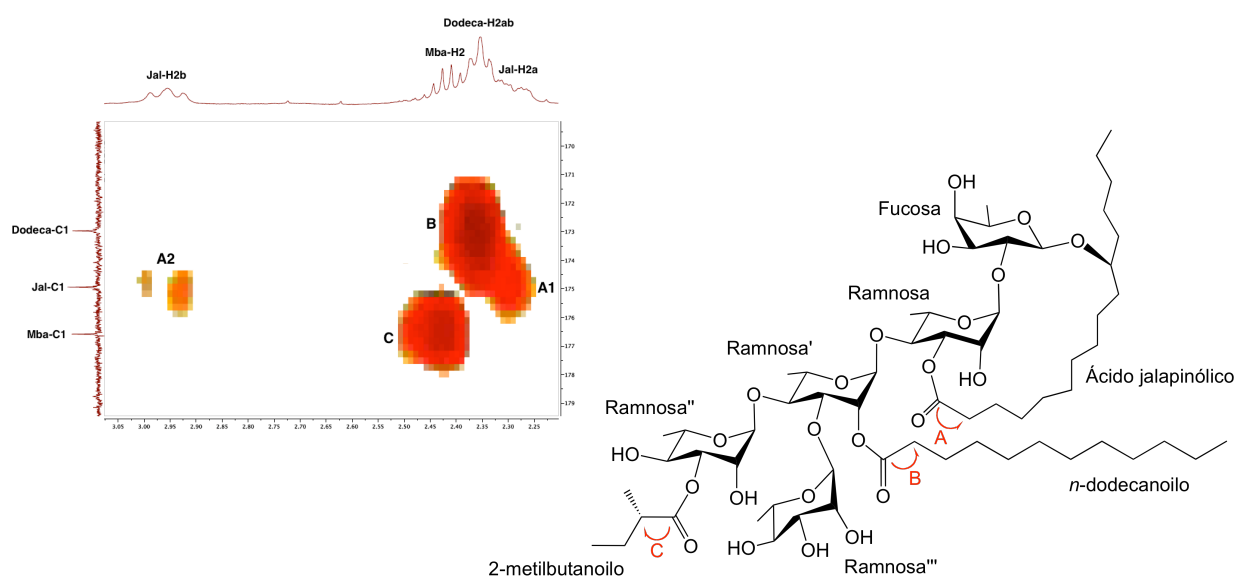


Figura 68. Correlaciones a tres enlaces ($^2J_{\text{C-H}}$) en el experimento HMBC del **batatinósido VIII** (**11**).
A1) Jal C1/Jal H2a; A2) Jal C1/Jal H2b; B) Dodeca C1/Dodeca H2ab; C) Mba C1/Mba H2.

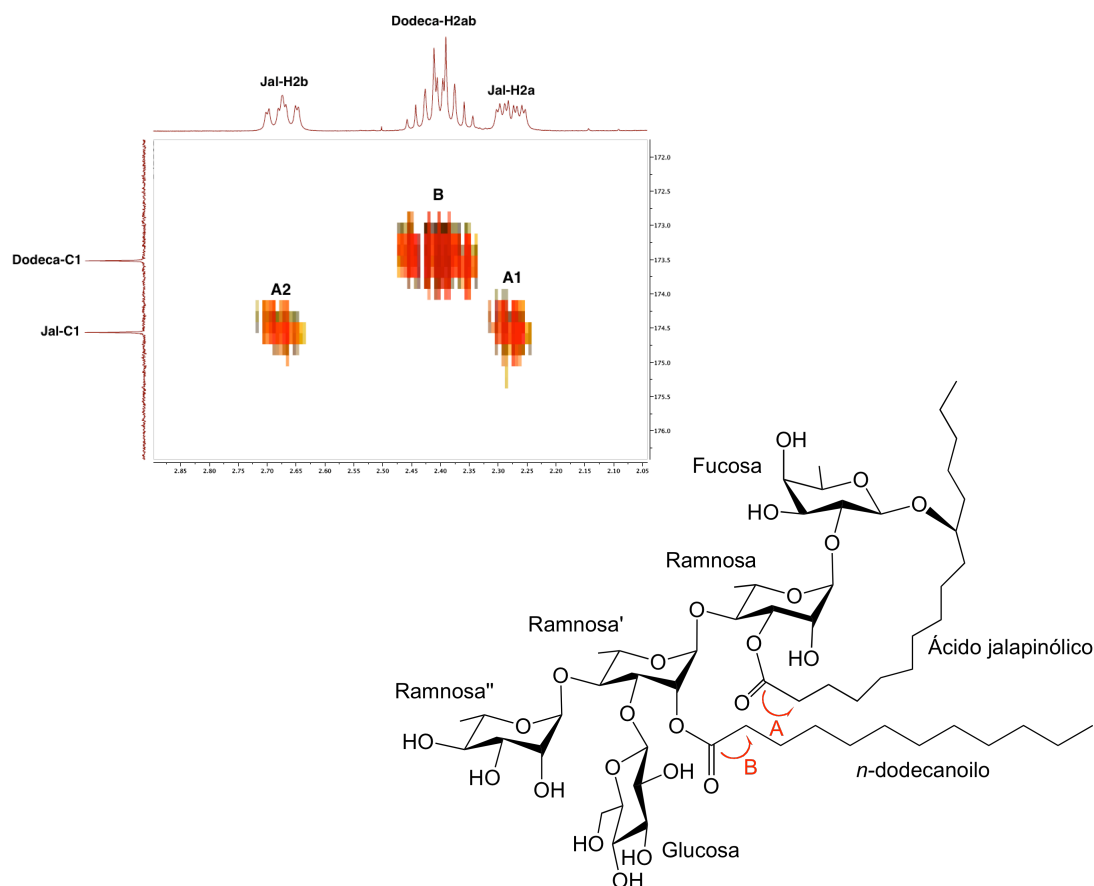


Figura 69. Correlaciones a tres enlaces ($^2J_{C-H}$) en el experimento HMBC del **batatinósido IX (14)**. A1) Jal C1/Jal H2a; A2) Jal C1/Jal H2b; B) Dodeca C1/Dodeca H2ab.

El sitio de esterificación y lactonización se dedujo a partir de las correlaciones a tres enlaces ($^3J_{CH}$) entre el carbono C-1 (el carboxilo) de cada uno de los ésteres con las señales protónicas gemíales a estos grupos en el núcleo oligosacárido. El núcleo oligosacárido del **batatinósido VII (10)** está lactonizado en C-2 de la ramnosa interna (Ram) (**Figura 70**), mientras que el núcleo oligosacárido de los **batatinósidos IV (13)**, **VI (4)**, **VIII (11)** y **IX (14)**, así como de la **pescapreína I**, se establece la lactonización con la aglicona en la posición C-3 de la ramnosa interna (Ram) (**Figura 71**). También, de este análisis se pudo determinar que los **batatinósidos VI, VI-IX** y la **pescapreína I** se esterifican en la posición C-2 de la ramnosa externa (Ram') con los ácidos grasos acilantes.

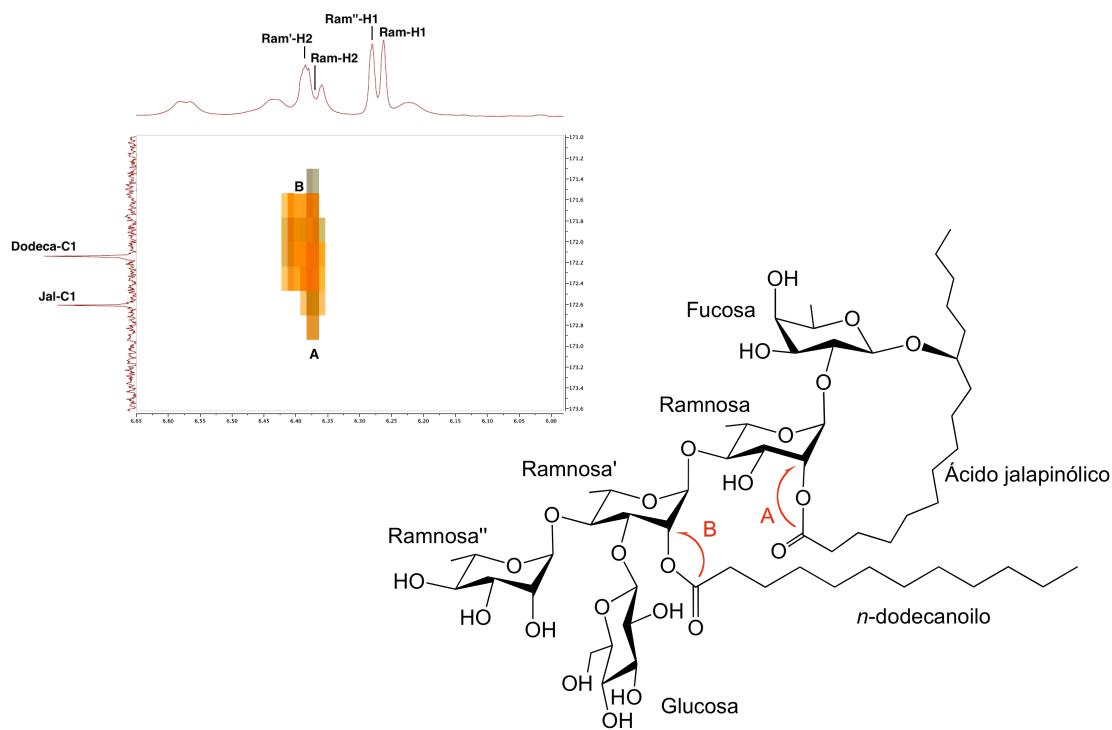


Figura 70. Correlaciones a tres enlaces ($^3J_{C-H}$) en el experimento HMBC del batatinósido VII (10). A) Jal C1/Ram H2; B) Dodeca C1/Ram' H2.

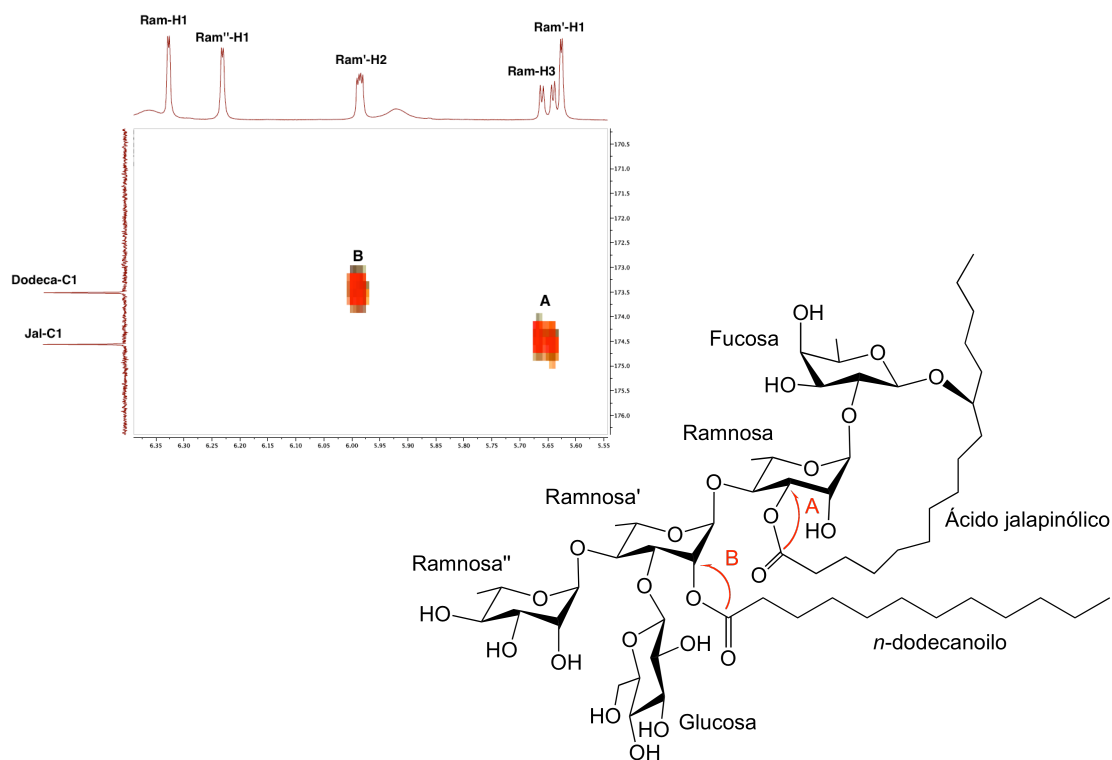


Figura 71. Correlaciones a tres enlaces ($^3J_{C-H}$) en el experimento HMBC del batatinósido IX (14). A) Jal C1/Ram H3; B) Dodeca C1/Ram' H2.

En los espectros de RMN ^1H de los **batatinósidos IV (13)** y **VIII (11)**, en la región de 2.4 ppm, se observa un doble de triplete correspondiente al protón de un grupo metino alfa al grupo carbonilo del ácido 2-metilbutanoico (**Figuras 65 y 66**) y su sitio de esterificación también se dedujo a partir de las correlaciones a tres enlaces ($^3J_{\text{C-H}}$) en el experimento de HMBC. De esta forma, se determinó que el **batatinósido IV (13)** está esterificado en C-4 de la ramnosa externa inferior (Ram'') (**Figura 72**), mientras que el **batatinósido VIII (13)** está esterificado en C-3 de la ramnosa externa inferior (Ram'') (**Figura 73**).

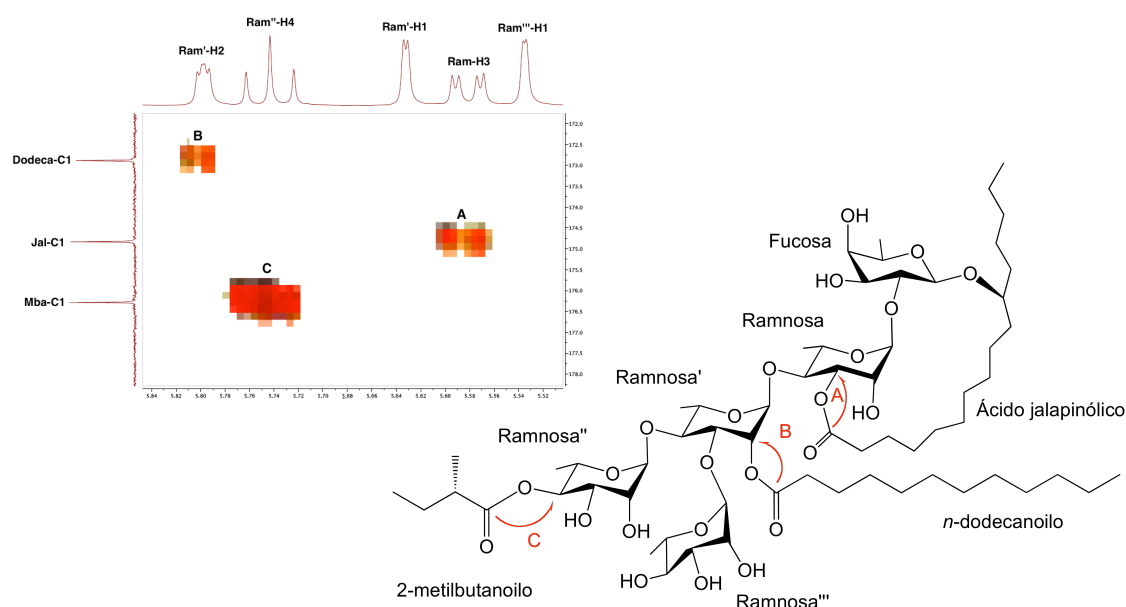


Figura 72. Correlaciones a tres enlaces ($^3J_{\text{C-H}}$) en el experimento HMBC del **batatinósido IV (13)**. A) Jal C1/Ram H3; B) Dodeca C1/Ram' H2; C) Mba C-1/Ram'' H4.

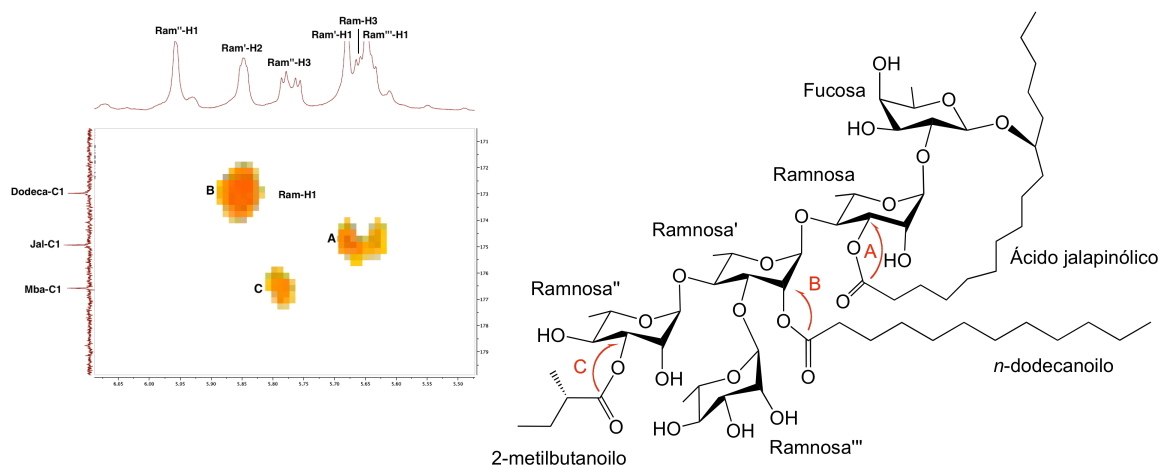


Figura 73. Correlaciones a tres enlaces ($^3J_{\text{C-H}}$) en el experimento HMBC del **batatinósido VIII (11)**. A) Jal C1/Ram H3; B) Dodeca C1/Ram' H2; C) Mba C1/Ram'' H3.

6.3.1 ESTRUCTURA DE LOS BATATINÓSIDOS IV,VI-IX Y LA PESCAPREÍNA I:

Este análisis de los datos espectroscópicos y espectrométricos permitió proponer las siguientes estructuras:

6.3.1.1 Batatinósido IV (13):

Éster intramolecular 1,3''-11-*O*- α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 3) -*O*- [4-*O*-(2*S*)-metilbutanoil] - α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 4) -*O*-[2-*O*-*n*-dodecanoil] - α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 4) -*O*- α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 2) - β -D-fucopiranosido del ácido jalapινόlico.

6.3.1.2 Batatinósido VI (4):

Éster intramolecular 1,3''-11-*O*- β - D - glucopiranosil -(1 $\rightarrow$ 3)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*-[2-*O*-*n*-decanoil] - α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil -(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-fucopiranosido del ácido (11*S*)-hexadecanoico.

6.3.1.3 Batatinósido VII (10):

Éster intramolecular 1,2''-11-*O*- β - D - glucopiranosil -(1 $\rightarrow$ 3)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*-[2-*O*-*n*-dodecanoil] - α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil -(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-fucopiranosido del ácido (11*S*)-hexadecanoico.

6.3.1.4 Batatinósido VIII (11):

Éster intramolecular 1,3''-11-*O*- α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 3) -*O*-[3-*O*-(2*S*)-metilbutanoil]- α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 4) -*O*-[2-*O*-*n*-dodecanoil]- α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 4) -*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-fucopiranósido del ácido jalapínico.

6.3.1.5 Batatinósido IX (14):

Éster intramolecular 1,3''-11-*O*- β - D - glucopiranosil -(1 $\rightarrow$ 3)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*-[2-*O*-*n*-dodecanoil] - α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil -(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-fucopiranósido del ácido (11*S*)-hexadecanoico.

6.3.1.6 Pescapreína I (3 y 9):

Éster intramolecular 1,3''-11-*O*- α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 3)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4) -*O*-[2-*O*-*n*-dodecanoil]- α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 4) -*O*- α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 2) - β -D-fucopiranósido del ácido jalapínico.

En las **Figuras 74** a la **79** se ilustran las estructuras moleculares propuestas para los **batatinósidos VI, VII-IX** y la **pescapreína I**.

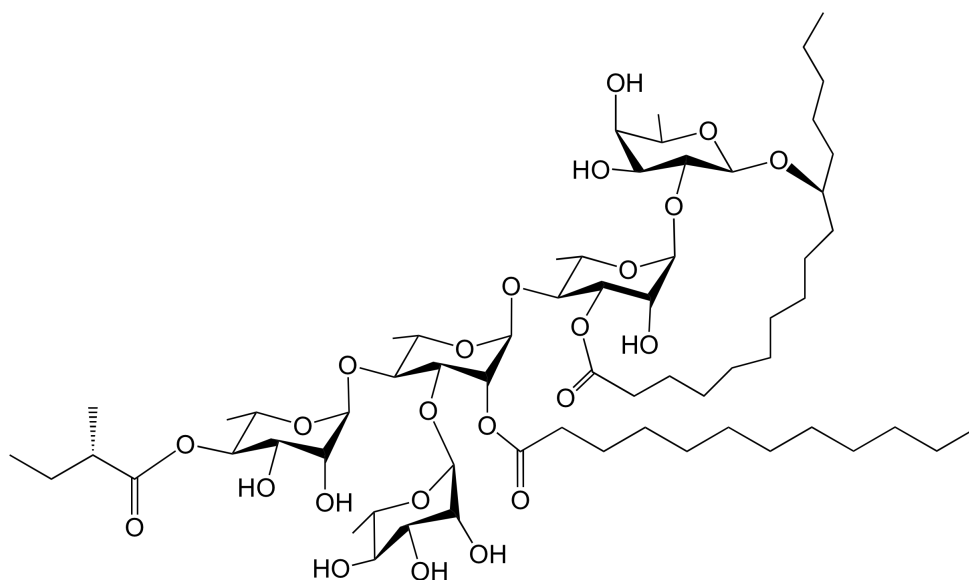


Figura 74. Estructura molecular propuesta para el **Batatinósido IV (13)**.

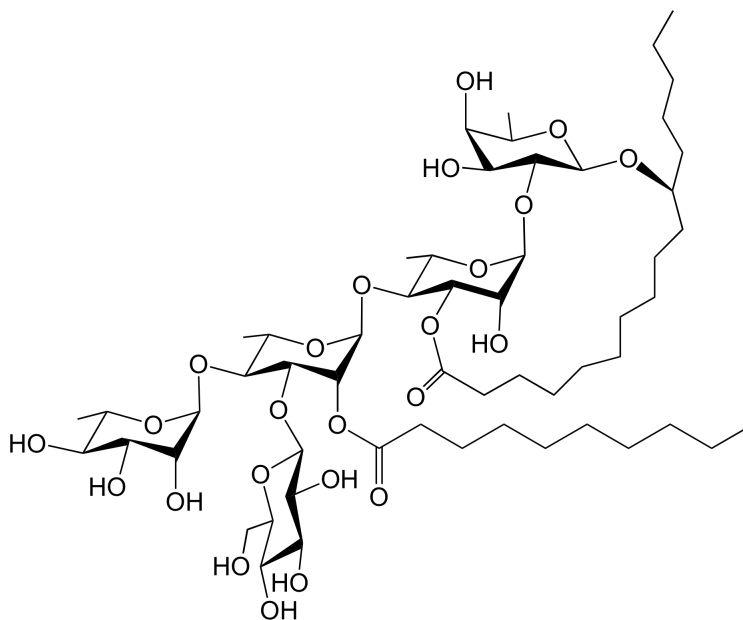


Figura 75. Estructura molecular propuesta para el **Batatinósido VI (4)**.

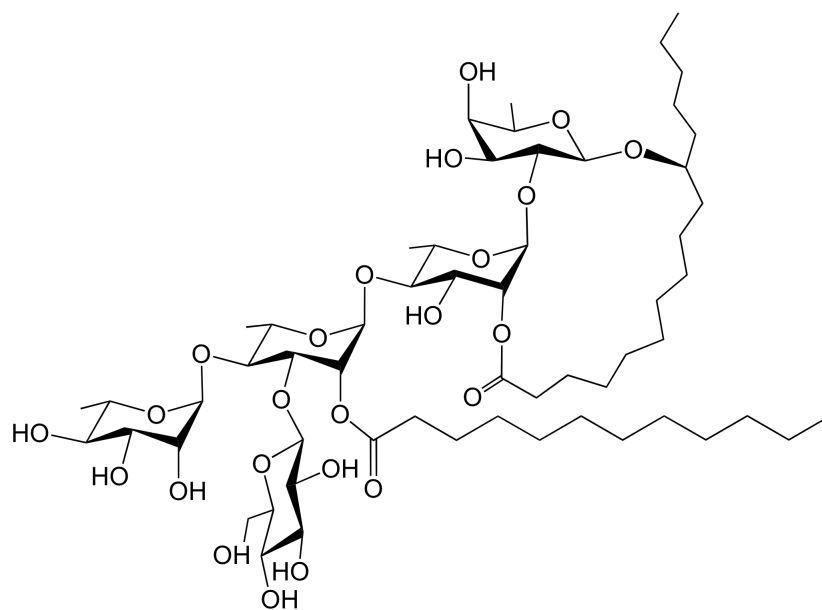


Figura 76. Estructura molecular propuesta para el **Batatinósido VII (10)**.

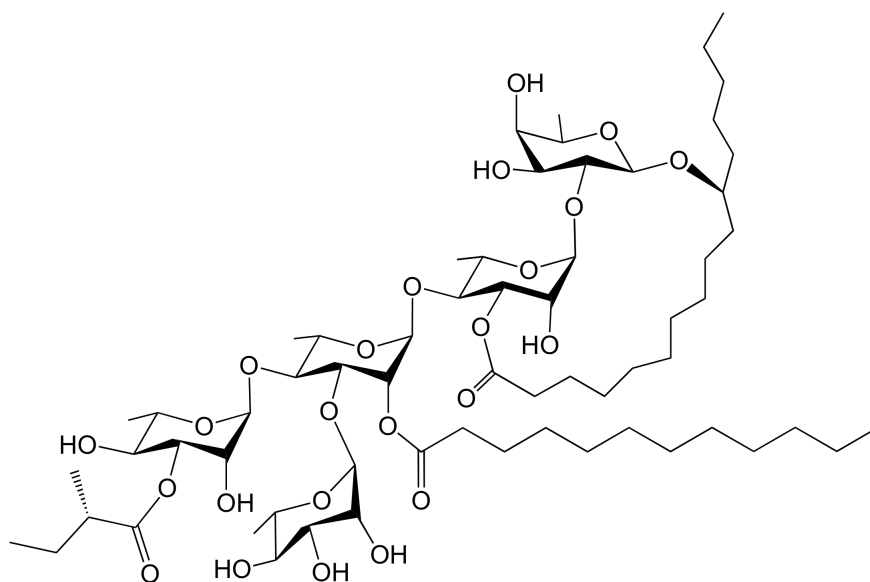


Figura 77. Estructura molecular propuesta para el **Batatinósido VIII (11)**.

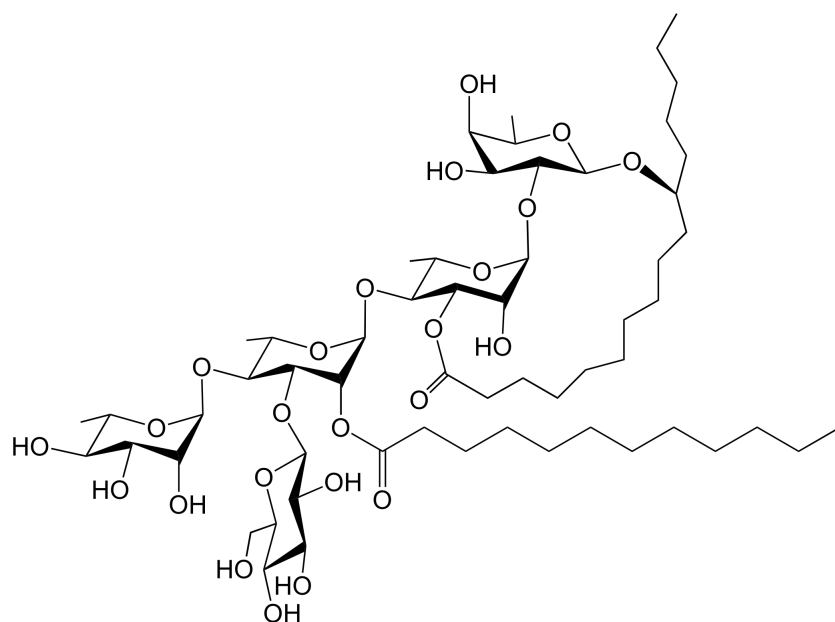


Figura 78. Estructura molecular propuesta para el **Batatinósido IX (14)**.

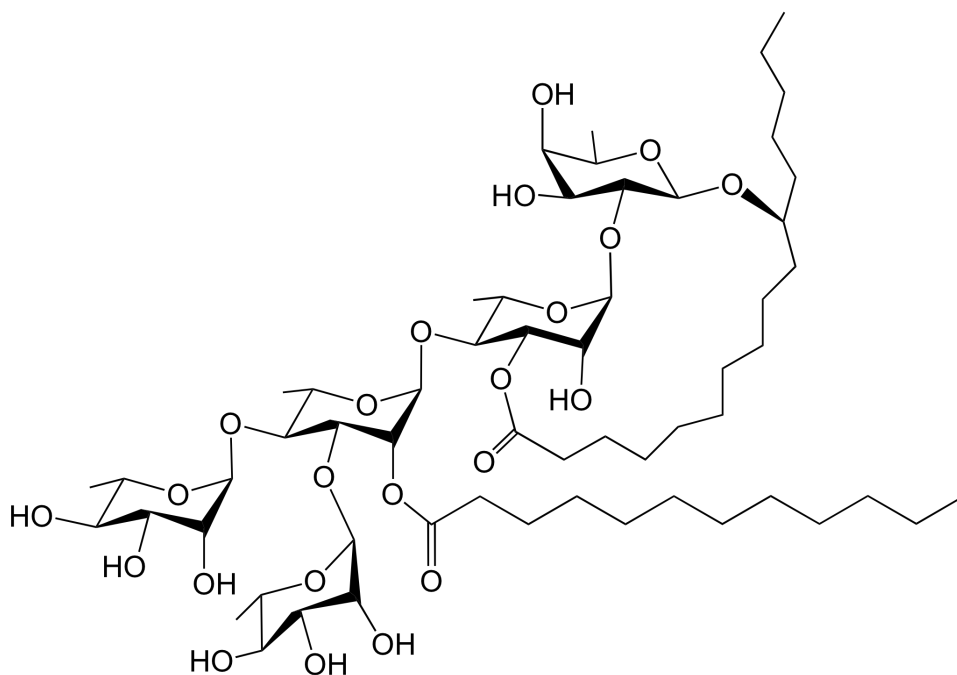


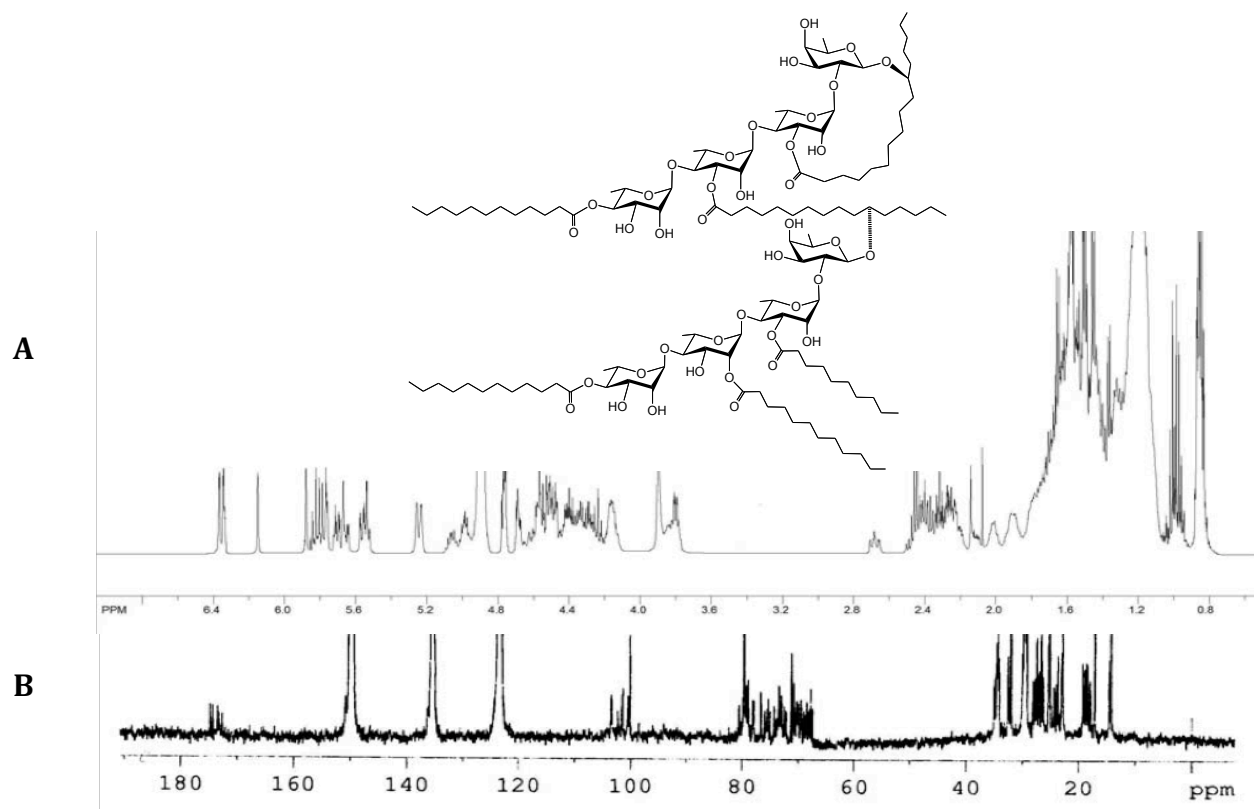
Figura 79. Estructura molecular propuesta para la **Pescapreína I**.

6.4 RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR UNIDIMENSIONAL Y BIDIMENSIONAL DE LAS BATATINAS V–XI.

Las **batatinas V (5)**, **VI (6)**, **VII (1)**, **VIII (2)**, **IX (12)**, **X (7)** y **XI (8)** son dímeros oligosacáridos constituidos por dos unidades del mismo ácido glicosídico. Las **batatinas V (5)** y **VI (6)** son dímeros constituidos por dos unidades del ácido operculínico C (**Figura 15**), tetrasacárido conformado por una unidad de fucosa y tres unidades de ramnosa y como aglicona al ácido jalapinólico, a diferencia de las **batatinas VII (1)**, **VIII (2)**, **IX (12)**, **X (7)** y **XI (8)** que son dímeros constituidos por dos unidades del ácido simónico B (**Figura 18**), pentasacárido conformado por una unidad de fucosa y cuatro de ramnosa y como aglicona al ácido jalapinólico. Debido a que las **batatinas V–XI** son dímeros constituidos por el mismo tipo de unidades oligosacáridas, la elucidación estructural se realizó mediante la comparación de sus constantes espectroscópicas. Sus principales diferencias se encuentran en el número de unidades monosacáridas que forman su cadena oligosacárida, en la naturaleza de los ácidos que esterifican a estos núcleos glicosídicos, y en la posición de esterificación y lactonización. Cada unidad del ácido glicosídico (unidades A y B) presentan residuos de los ácidos *n*-decanoico, *n*-dodecanoico, 2-metilbutanoico, *trans*-cinámico y 2-metilpropanoico.

6.4.1 BATATINAS III–VI.

La elucidación de las estructuras y la asignación de los desplazamientos químicos de sus señales se llevó a cabo combinando las técnicas espectroscópicas en la RMN y en la espectrometría de masas. La elucidación se inició como en los casos descritos anteriormente con el registro de los espectros unidimensionales de RMN ^1H y ^{13}C (**Figuras 80–83**) de los compuestos puros para obtener información general acerca de su estructura. La estructura oligosacárida de las **batatinas V (5)** y **VI (6)**, al igual que la de las **batatinas III** y **IV (Figura 22)**, están constituidas por dos unidades del ácido operculínico C (**Figura 15**).^{8,10,18,75,90,92,98–100} Las **batatinas III** y **IV** se aislaron del extracto soluble en hexano de la variedad de cáscara blanca, mientras que las **batatinas V (5)** y **VI (6)** se aislaron del extracto soluble en cloroformo de la variedad de cáscara morada.



80. Espectros de RMN A) ^1H y B) ^{13}C , de la **batatina III**.

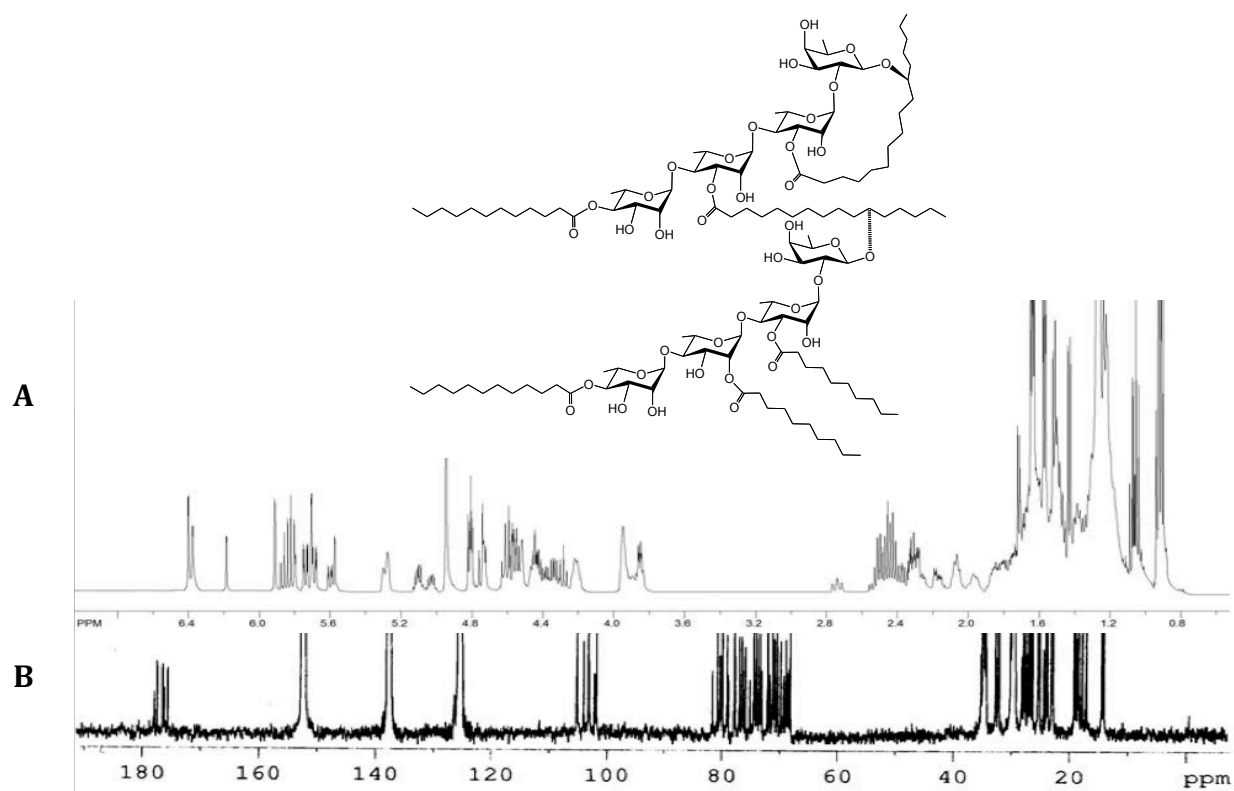


Figura 81. Espectros de RMN A) ^1H y B) ^{13}C , de la **batatina IV**.

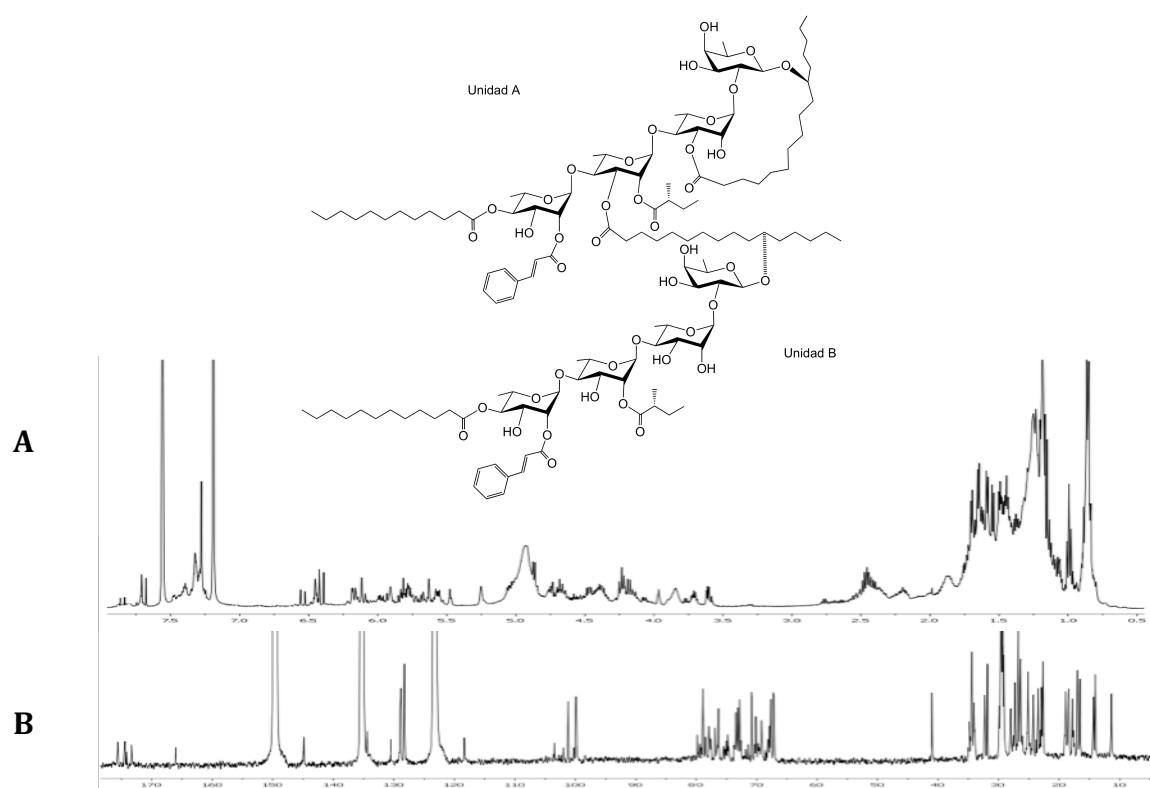


Figura 82. Espectros de RMN A) ^1H y B) ^{13}C , de la **batatina V (5)**.

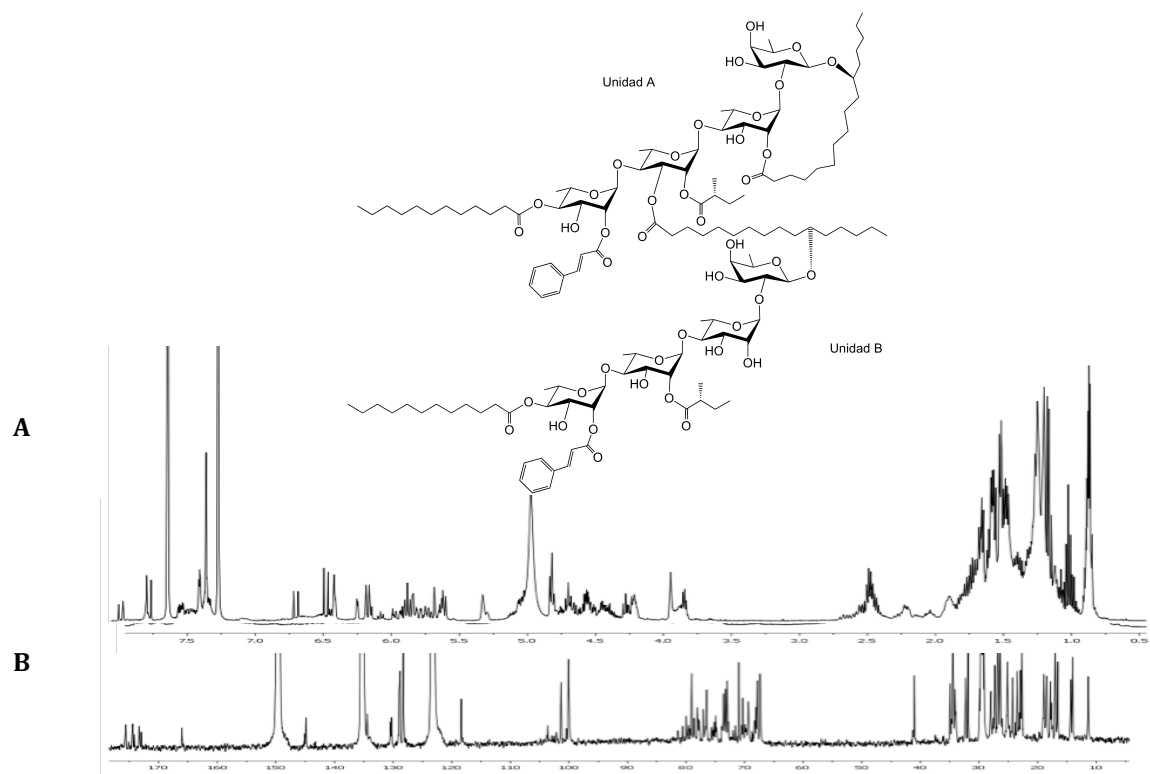


Figura 83. Espectros de RMN A) ^1H y B) ^{13}C , de la **batatina VI (5)**.

Es importante mencionar que toda la espectroscopía en la RMN de las **batatinas III, IV, V (5)** y **VI (6)** es prácticamente similar y no hay diferencias significativas en los desplazamientos químicos generados por las señales de estos compuestos. Mediante la espectrometría de masas se demostró que estos compuestos poseen la misma fórmula molecular, con esta evidencia se dedujo que ambos representan diastereoisómeros. La propuesta de que la estructura de estos compuestos esta constituida por dos unidades del núcleo tetrasacárido del ácido operculínico C, pudo deducirse tras observar ocho señales anoméricas de carbono relacionadas con ocho protones anoméricos en el espectro HSQC (**Figura 84**), seis de ramnosa y dos de fucosa lo cual también se confirmó verificando las secuencias de glicosilación con los espectros HMBC.

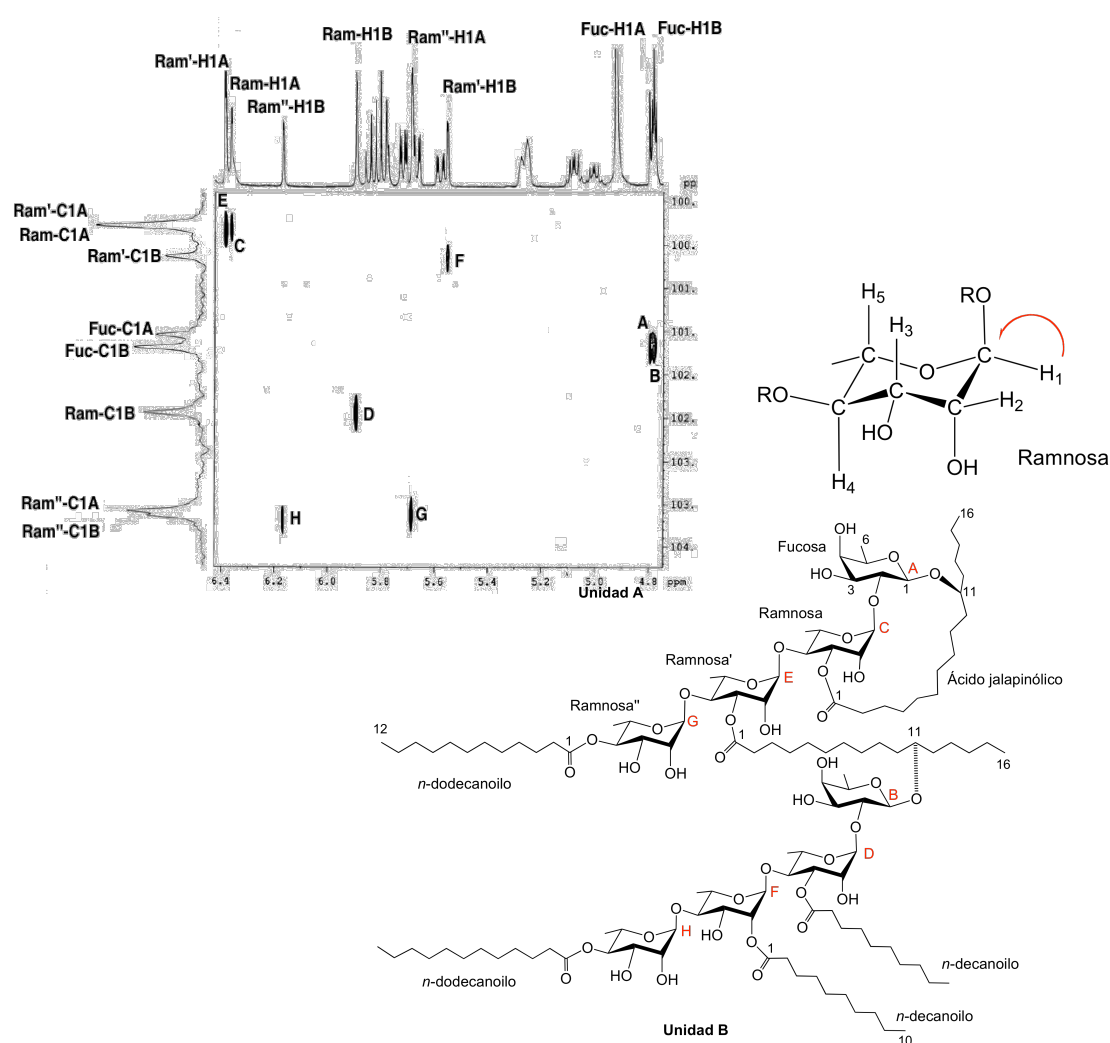


Figura 84. Sección del espectro HSQC del **batatina IV** para la identificación de los carbonos anoméricos y sus correspondientes protones anoméricos. A) Fuc C1/Fuc H1, unidad A; B) Fuc C1/Fuc H1, unidad B; C) Ram C1/Ram H1, unidad A; D) Ram C1/Ram H1, unidad B; E) Ram' C1/Ram' H1, unidad A; F) Ram' C1/Ram' H1, unidad B; G) Ram'' C1/Ram'' H1, unidad A; H) Ram'' C1/Ram'' H1, unidad B; I) Ram''' C1/Ram''' H1, unidad A; J) Ram''' C1/Ram''' H1, unidad B.

En el análisis de los espectros de RMN ^1H de la región anomérica se observaron señales no anoméricas paramagnéticamente desplazadas a campo bajo y de acuerdo con las conectividades observadas en la expansión del espectro COSY (**Figura 85**), se determinó que en la estructura de las **batatinas III** y **IV** hay seis posiciones de esterificación, cuatro de las cuales están ocupadas por los residuos alquílicos de los ácidos *n*-decanoico y *n*-dodecanoico, confirmado por espectrometría de masas, las dos restantes están ocupadas por el éster intramolecular (macrolactona) y la unión éster entre los dos núcleos oligosacáridos que constituyen la estructura dimérica de estos compuestos. En la estructura de las **batatinas V (5)** y **VI (6)** hay ocho posiciones de esterificación, seis de las cuales están ocupadas por los residuos alquílicos de los ácidos 2-metilbutanoico, *trans*-cinámico y *n*-dodecanoico, también confirmado por espectrometría de masas. Las dos posiciones de esterificación restantes están ocupadas por la macrolactona y la unión éster entre las dos unidades oligosacáridas que establece su estructura dimérica.

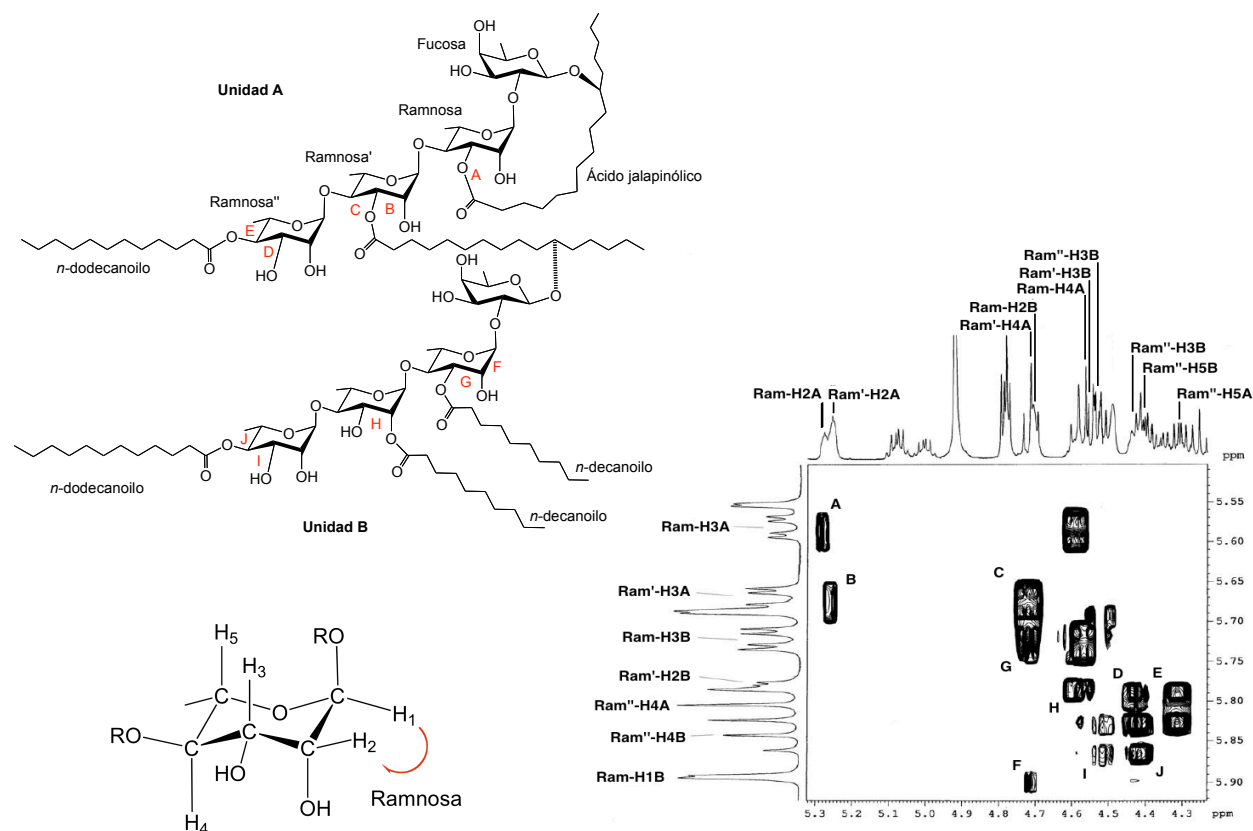


Figura 85. Sección del espectro COSY para la porción oligosacárida de la **batatina IV (8)**. Correlaciones ($^3J_{\text{H-H}}$): A) Ram H2/H3, unidad A; B) Ram' H2/H3, unidad A; C) Ram' H3/H4, unidad A; D) Ram'' H3/H4, unidad A; E) Ram'' H4/H5, unidad A; F) Ram H1/H2, unidad B; G) Ram H2/H3, unidad B; H) Ram' H2/H3, unidad B; I) Ram'' H3/H4, unidad B; J) Ram'' H4/H5, unidad B.

Después de haber realizado la asignación de las señales y sus desplazamientos químicos mediante los espectros COSY, TOCSY y HSQC, se procedió con el establecimiento de la asignación de las distintas posiciones de esterificación por medio de los espectros HMBC (**Figuras 86 y 87**). El análisis detallado permitió determinar las diferencias estructurales de este par de diastereoisómeros y con lo cual se concluyó que comparten el mismo patrón de sustitución, siendo la única diferencia para las **batatinas III y IV** en la posición en la que los ácidos *n*-decanoico y *n*-dodecanoico esterifican a la unidad B, específicamente en sus unidades monosacáridas ramnosa externa superior (Ram') y ramnosa terminal (Ram'').

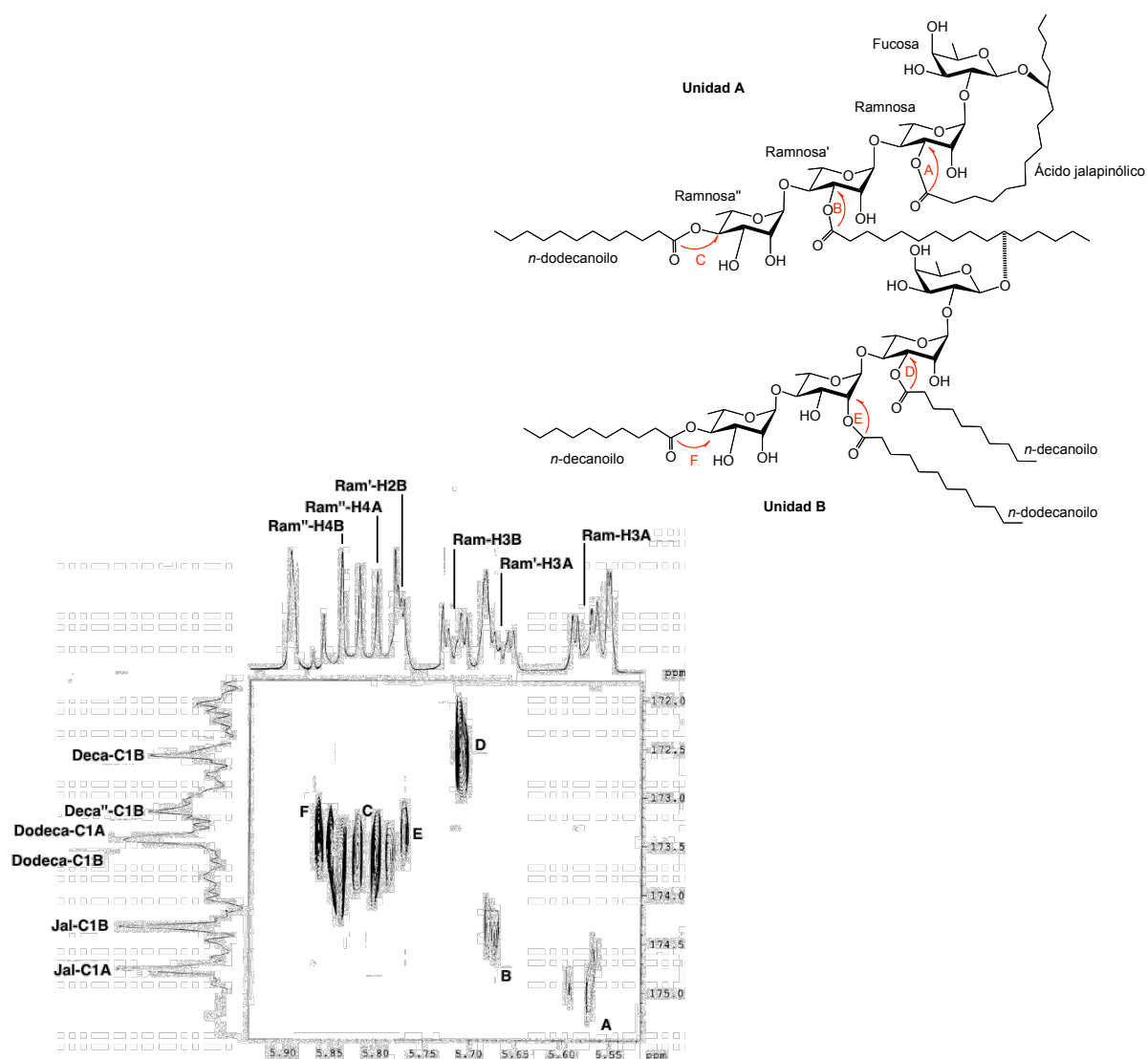


Figura 86. Sección del espectro HMBC de la **batatina III** para la determinación de las posiciones de esterificación. Conectividades ($^3J_{C-H}$): A) Jal C1/Ram H3, unidad A; B) Jal C1 unidad B/Ram' H3 unidad A; C) Dodeca C1/Ram'' H4, unidad A; D) Deca C1/Ram H3, unidad A; E) Dodeca' C1/Ram' H2, unidad B; F) Deca' C1/Ram'' H4, unidad B.

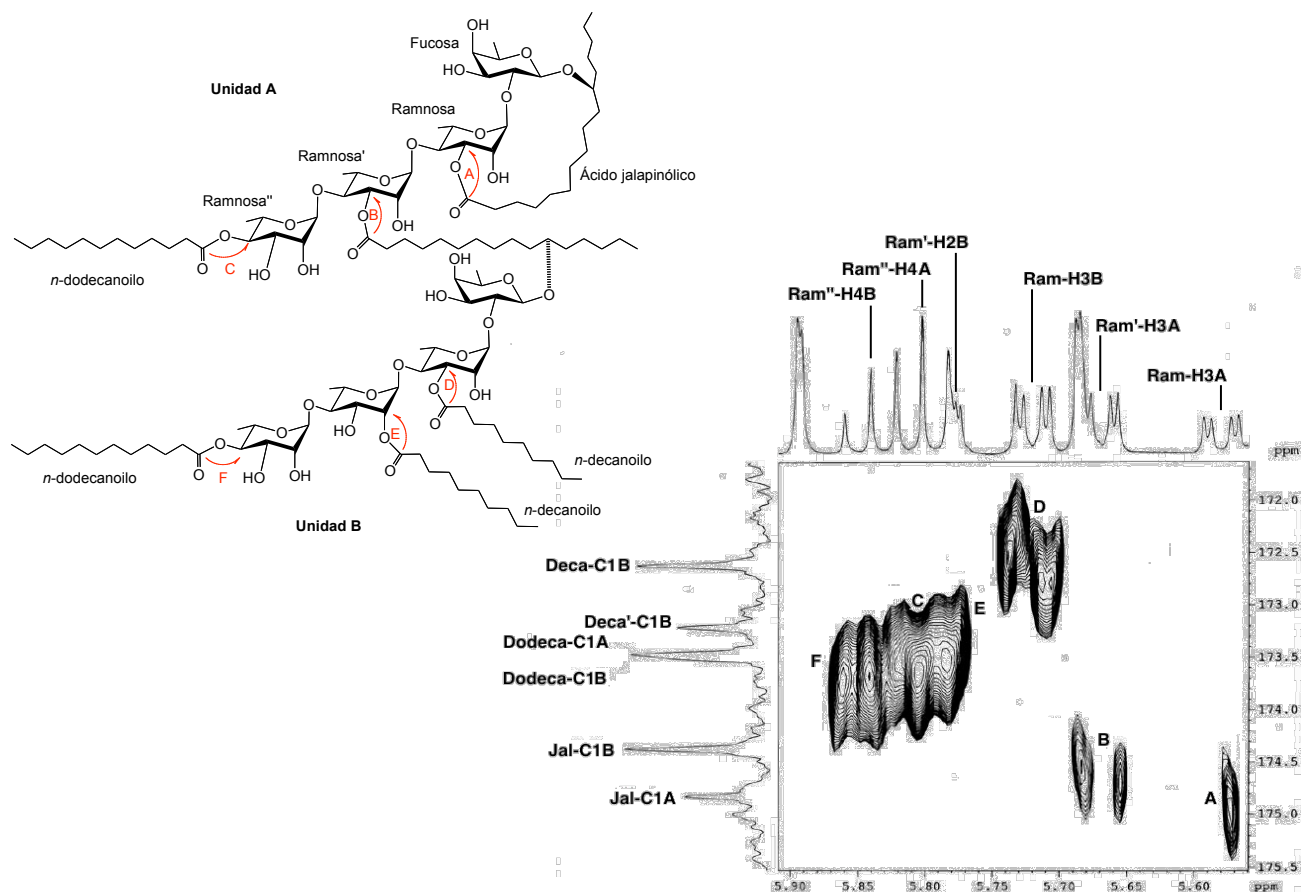


Figura 87. Sección del espectro HMBC de la **batatina IV** para la determinación de las posiciones de esterificación. Conectividades ($^3J_{C-H}$): A) Jal C1/Ram H3, unidad A; B) Jal C1 unidad B/Ram' H3, unidad A; C) Dodeca C1/Ram'' H4, unidad B; D) Dodeca C1/Ram H4'', unidad A; E) Deca C1/Ram' H2, unidad B; F) Deca C1/RamH3, unidad B.

Las **batatinas V (5)** y **VI (6)** comparten el mismo patrón de sustitución pero no la misma posición de lactonización ya que en la unidad glicosídica A de la **batatina V** se establece la macrolactonización en C-3 de la ramnosa interna inferior (Ram), mientras que este núcleo oligosacárido de la **batatina VI** está lactonizado por la aglicona en la posición C-2 de la ramnosa interna inferior (Ram). Para las **batatinas III y IV** se determinó que comparten la misma posición de lactonización que la **batatina V (5)**. Para las **batatinas III–VI**, la posición de la unión éster entre las dos unidades oligosacáridas se localiza por las conectividades $^3J_{CH}$ entre el grupo carbonilo por el éster (δ_{C-1} 174.1-174.4; unidad B) y el H-3 de la tercera unidad monosacárida (Ram') (δ_{H-3} 5.67-5.68 unidad A). Para las **batatinas III-IV**, el grupo *n*-dodecanoilo en la unidad A (δ_{C-1} 173.4-173.5) fue localizado en la unidad monosacárida terminal (Ram'') (δ_H 5.80); y el grupo *n*-decanoilo en la unidad B (δ_{C-1} 173.2) fue localizado en C-3 de la segunda unidad monosacárida

(Ram) (δ_H 5.58). Las **figuras 86 y 87** muestra una expansión del espectro de HMBC de correlaciones $^3J_{CH}$ entre la posición de aislación en la cadena oligosacárida y entre los tres distinguibles resonancias de tipo carbonil. Los residuos de dodecanoil fueron diferenciados de los sustituyentes decanoil mediante el pequeño cambio en su desplazamiento químico a campo bajo ($\Delta\delta$ ca. +0.3 ppm) inducido por el incremento $(CH_2)_2$ en el largo de la cadena alifática.¹¹⁰ La diferencia entre las estructuras isoméricas de las **batatinas III y IV** consiste en la posición de los residuos *n*-decanoilo o *n*-dodecanoilo en C-2 de la segunda ramnosa y C-4 de la ramnosa termina en la cadena glicosídica.

Para la **batatina V (5)**, la señal de carbonilo centrado en δ 174.5 se asignó a la lactona y el sitio de lactonización en la unidad A se corroboró su ubicación en C-3 de la segunda unidad monosacárida (Ram, unidad A). Para la **batatina VI (6)**, la señal del carbonilo centrado en δ 174 se asignó a la lactona y el sitio de lactonización se ubicó en el C-2 de la segunda unidad monosacárida (Ram, unidad A). Para los dos compuestos, al igual que las **batatinas III y IV**, la posición del enlace entre la unida B acíclica y la unidad A macrocíclica se identificó entre el grupo carbonilo del éster (δ_C 174.1-174.4; unidad B) y H-3 de la ramnosa intermedia (δ_H 5.67-5.68; unidad A), además de mostrar el mismo patrón de acilación por tres ácidos grasos diferentes en cada fracción oligosacárida. Los sitios de esterificación fueron: cada residuo de *n*-metilbutanoilo (δ_{C-1} 175.4 -175.5) en H-2 de la ramnosa intermedia (Ram') a δ_H 6.45 (unidad A) o a 6.46 (unidad B); los grupos *n*-dodecanoilo (δ_{C-1} 173.3-173.4) en H-4 de la ramnosa terminal (Ram'') a δ_H 5.77 (unidad A) o a 5.84 (unidad B); y los residuos de cinamoilo (δ_{C-1} 166) se localizaron en C-2 de la tercera ramnosa (Ram'''). Estas estructuras diastereoméricas difieren en la posición de lactonización por la aglicona en la unidad A. Para la **batatina V (5)**, la lactona macrocíclica (δ_{C-1} 174.5) se ubicó en C-3 de la segunda unidad sacárida (Ram) (δ_{H-3} 5.68), mientras que para la **batatina VI (6)** se localizó (δ_{C-1} 174) en C-2 de la segunda unidad sacárida (Ram) (δ_{H-2} 5.96). Para las **batatinas III-V**, la señal del carbonilo centrada a δ 174.5-174.8 se asignó al grupo lactona por los acoplamiento $^2J_{CH}$ con el metileno diastereotopico C-2 de la aglicona (δ_H 2.13-2.17 y 2.24-2.27). El sitio de lactonización en la unidad A se corroboró en C-3 de la segunda unidad monosacárida (Ram) por las constantes $^3J_{CH}$ entre este grupo carbonilo de la lactona y sus protones geminales (δ_H 5.57-5.58) en el anillo piranósido.

6.4.2 ESTRUCTURAS PARA LAS BATATINAS III - VI

De acuerdo con toda la información espectroscópica y espectrométrica analizada se propusieron la siguientes estructuras para las **batatinas III - VI**.

6.4.2.1 BATATINA III:

Éster intramolecular 1-3''- 11 - *O* - α - L - ramnopiranosil - {4 - *O* - (*n*-dodecanoil))- (1→4) - *O* - α - L - [3 - *O* - (11*S*-hidrohexadecanoil) - 11 - *O* - α - L - ramnopiranosil - {4 - *O* - (*n*-decanoil)) - (1→4) - *O* - α - L - ramnopiranosil - {2 - *O* - (*n*-dodecanoil))- (1→4) - *O* - α - L - ramnopiranosil - {3-*O*-(*n*-decanoil)) - (1→2) - *O* - β -D - fucopiranósido] ramnopiranosil - (1→4) - *O* - α - L - ramnopiranosil - (1→2) - *O* - β -D - fucopiranósido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.

6.4.2.2 BATATINA IV:

Éster intramolecular 1-3''- 11 - *O* - α - L - ramnopiranosil - {4 - *O* - (*n*-dodecanoil))- (1→4) - *O* - α - L - [3 - *O* - (11*S*-hidrohexadecanoil) - 11 - *O* - α - L - ramnopiranosil - {4 - *O* - (*n*-dodecanoil)) - (1→4) - *O* - α - L - ramnopiranosil - {2 - *O* - (*n*-decanoil)) - (1→4) - *O* - α - L - ramnopiranosil - {3-*O*-(*n*-decanoil)) - (1→2) - *O* - β -D - fucopiranósido] ramnopiranosil - (1→4) - *O* - α - L - ramnopiranosil - (1→2) - *O* - β -D - fucopiranósido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.

6.4.2.3 BATATINA V (5):

Éster intramolecular 1-3''- 11 - *O* - α - L - ramnopiranosil - {4 - *O* - (*n*-dodecanoil); 2 - *O* - (*trans*-cinamoil)) - (1→4) - *O* - α - L - [3 - *O* - (11*S*-hidrohexadecanoil) - 11 - *O* - α - L - ramnopiranosil - {4 - *O* - (*n*-dodecanoil); 2 - *O* - (2- *trans*-cinamoil)) - (1→4) - *O* - α - L - ramnopiranosil - {2 - *O* - (2-metilbutanoil)) - (1→4) - *O* - α - L - ramnopiranosil - (1→2) - *O* - β - D - fucopiranósido] - {2 - *O* - (2-metilbutanoil)) ramnopiranosil - (1→4) - *O* - α - L - ramnopiranosil - (1→2) - *O* - β - D - fucopiranósido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.

6.4.2.4 BATATINA VI (6):

Éster intramolecular 1-2''- 11 - *O* - α - L - ramnopiranosil - {4 - *O* - (*n*-dodecanoil); 2 - *O* - (*trans*-cinamoil)} - (1 $\rightarrow$ 4) - *O* - α - L - [3 - *O* - (11*S*-hidrohexadecanoil) - 11 - *O* - α - L - ramnopiranosil - {4 - *O* - (*n*-dodecanoil); 2 - *O* - (2- *trans*-cinamoil)} - (1 $\rightarrow$ 4) - *O* - α - L - ramnopiranosil - {2 - *O* - (2-metilbutanoil)} - (1 $\rightarrow$ 4) - *O* - α - L - ramnopiranosil - (1 $\rightarrow$ 2) - *O* - β - D - fucopiranósido] - {2 - *O* - (2-metilbutanoil)} ramnopiranosil - (1 $\rightarrow$ 4) - *O* - α - L - ramnopiranosil - (1 $\rightarrow$ 2) - *O* - β - D - fucopiranósido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.

En las **Figuras 88 y 91** se ilustran las estructuras moleculares propuestas para las **batatinas III - VI**.

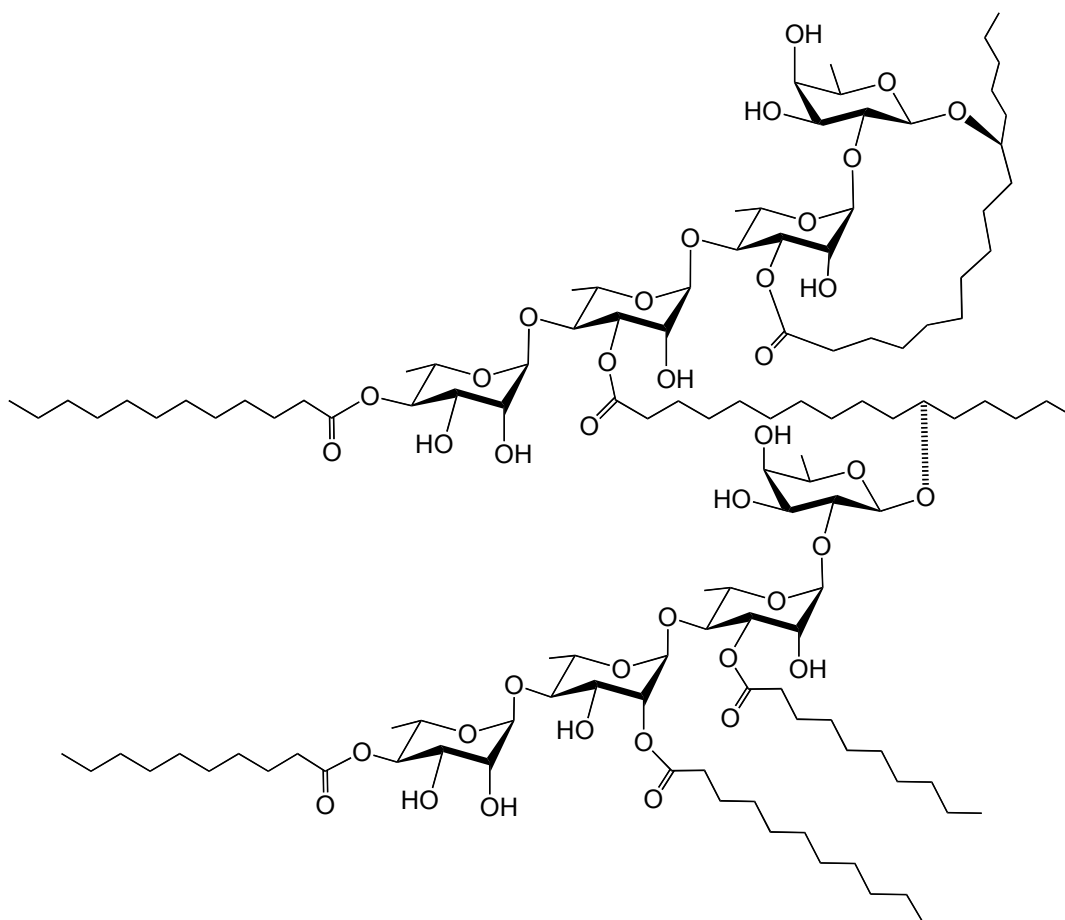


Figura 88. Estructura molecular propuesta para la **Batatina III**.

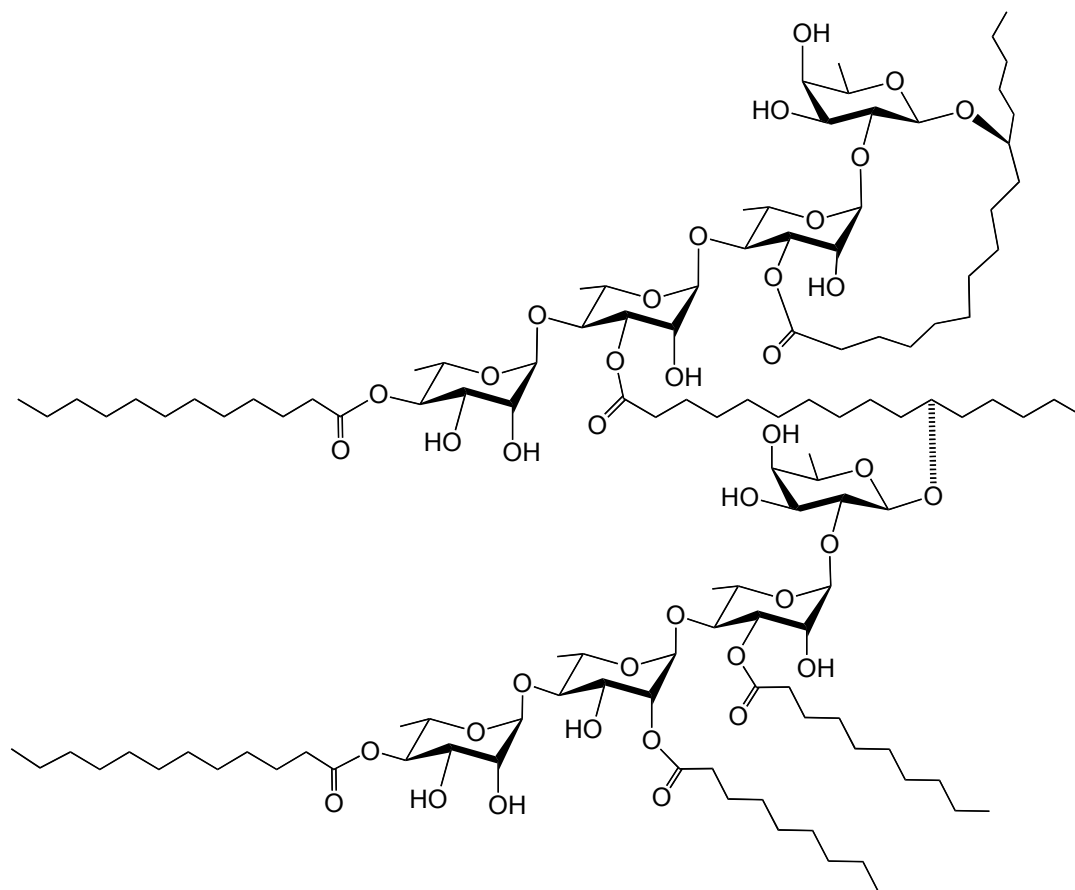


Figura 89. Estructura molecular propuesta para la **Batatina IV**.

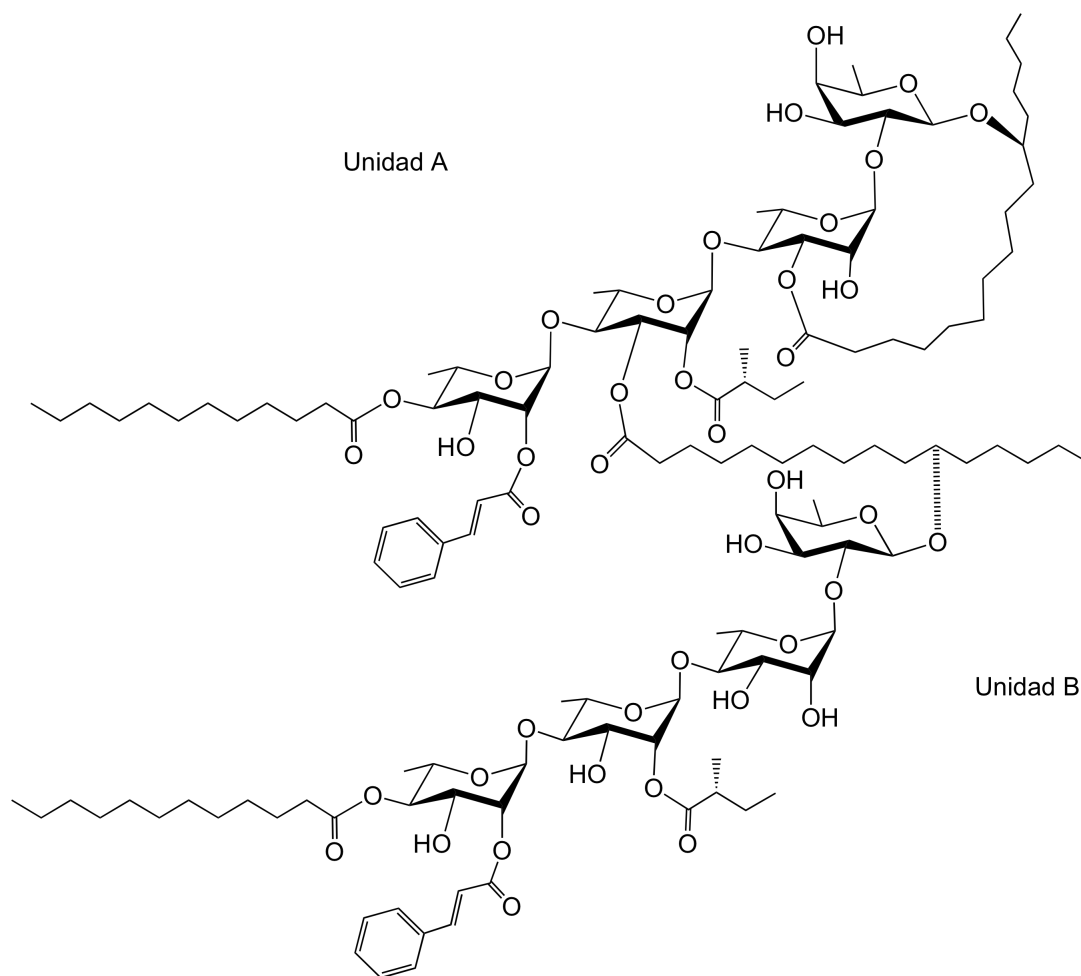


Figura 90. Estructura molecular propuesta para la **Batatina V (5)**.

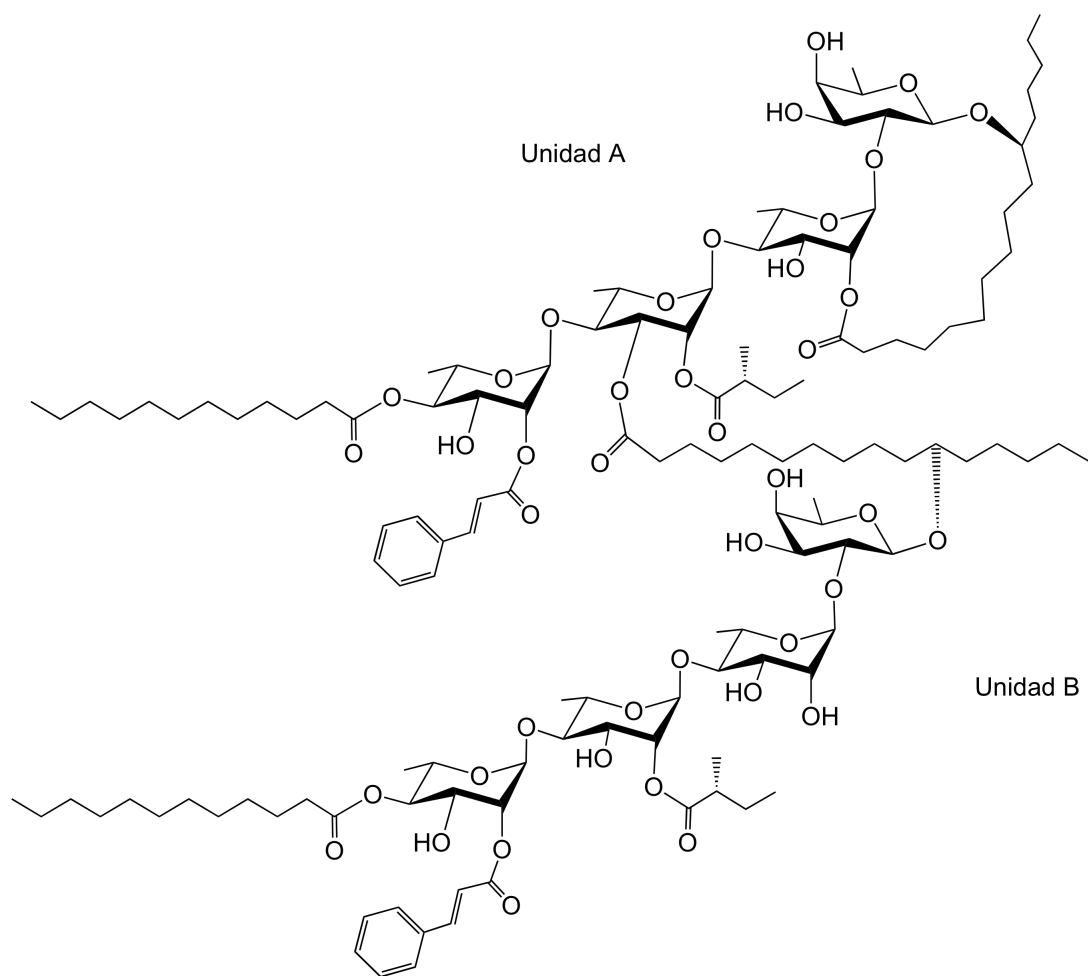


Figura 91. Estructura molecular propuesta para la **Batatina VI (6)**.

Cuadro 13. Desplazamientos químicos en RMN ¹H de las **batatinas III y IV**.

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

^aDatos registrados a 500 MHz en C₅D₅N. *Señales sobrepuestas. Los acoplamientos (J) se encuentran en paréntesis y se expresan en Hz. s = señal simple, d = doble, t = señal triple, q = señal cuádruple, m = señal múltiple. ^bAbreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Jal = 11-hidrohexadecanoilo; Deca = decanoilo; Dodeca = dodecanoilo.

Cuadro 14. Desplazamientos químicos en RMN ^1H de las **batatinas V (5)** y **VI (6)**.

protón ^b	Batatina V ^a		Batatina VI ^a	
	Unidad A	Unidad B	Unidad A	Unidad B
Fuc-1	4.77 d (8.0)	4.78 d (7.8)	4.85 d (8.0)	4.87 d (7.7)
2	4.53 dd (9.5, 7.5)	4.55 dd (9.5, 7.5)	4.17 dd (9.5, 7.8)	4.53 dd (9.5, 8.0)
3	4.17 dd (9.5, 3.5)	4.18 dd (9.5, 3.5)	4.07 dd (9.5, 3.2)	4.17 dd (9.5, 3.2)
4	3.89 *	3.89 *	3.96 d (2.0)	3.96 d (1.0)
5	3.79 bs	3.81 bs	3.84 bs	3.84 bs
6	1.50 d (6.0)	1.52 d (6.0)	1.58 d (6.1)	1.61 d (6.2)
Ram-1	6.35 bs	5.89 bs	5.66 bs	5.90 bs
2	5.28 bs	4.71 bs	5.96 bs	4.70 bs
3	5.57 dd (9.8, 3.0)	5.72 dd (9.8, 3.3)	5.04 dd (9.0, 3.3)	5.73 dd (9.5, 2.5)
4	4.59 t (9.6)	4.56 t (9.8)	4.58 t (9.8)	4.53 t (10.1)
5	5.01 dq (9.5, 6.0)	4.40 dq (9.5, 6.0)	5.04 dq (9.5, 6.0)	4.40 dq (9.5, 6.0)
6	1.58 d (6.3)	1.57 d (6.0)	1.64 d (6.1)	1.63 d (6.1)
Ram'-1	6.37 bs	5.55 bs	6.37 bs	5.55 bs
2	6.45 bs	6.45 dd (3.0, 1.3)	6.46 bs	6.46 bs
3	5.68 dd (9.8, 3.0)	4.59 dd (9.4, 3.0)	5.68 dd (9.5, 2.5)	4.60 dd (9.5, 2.0)
4	4.71 t (9.8)	4.25 t (9.4)	4.70 t (9.5)	4.23 t (9.5)
5	5.07 dq (9.8, 6.3)	4.35 dq (9.4, 6.0)	5.04 dq (9.5, 6.5)	4.34 dq (9.5, 6.5)
6	1.60 d (6.3)	1.67 d (6.0)	1.67 d (6.2)	1.69 d (6.1)
Ram''-1	5.62 d (1.5)	6.16 bs	5.69 d (1.5)	6.16 bs
2	6.17 bs	5.91 bs	6.17 bs	5.98 bs
3	4.42 dd (9.5, 3.0)	4.53 dd (9.5, 3.0)	4.47 dd (9.5, 3.0)	4.55 dd (9.5, 3.2)
4	5.77 t (9.5)	5.84 t (9.5.0)	5.78 t (9.5)	5.81 t (9.5)
5	4.33 dq (9.5, 6.0)	4.41 dq (9.5, 6.0)	4.35 dq (9.5, 6.0)	4.42 dq (9.5, 6.0)
6	1.37 d (6.0)	1.47 d (6.0)	1.54 d (6.2)	1.57 d (6.1)
Jal-2	2.17*	2.20*	2.24*	2.19 ddd (13.6, 6.5, 2.8)
	2.24*	2.64*	2.78 ddd (13.8, 6.8, 2.8)	2.64 ddd (13.9, 6.9, 2.8)
11	3.80 bs	3.84 bs	3.84 bs	3.84 bs
16	0.99 t (7.5)	1.02 t (7.0)	0.98 t (7.5)	0.99 t (7.2)
Dodeca-2	2.52*	2.52*	2.50*	2.50
12	0.86 t (7.0)	0.876 t (7.0)	0.86 t (7.4)	0.87 t (7.5)
Mba-2	2.45*	2.47*	2.44 ddd (13.8, 7.0, 2.2)	2.46 ddd (13.8, 6.7, 2.2)
2-Me	1.15 d (7.5)	1.14 d (7.5)	1.15 d (6.9)	1.9 d (7)
3-Me	0.84 t (7.5)	0.93 t (7.5)	0.84 t (7.1)	0.88 t (7.6)
Cna-2	6.62 d (16.0)	6.40 d (15.9)	6.54 d (16.0)	6.40 d (15.9)
3	7.89 d (15.9)	7.69 d (16.0)	7.85 d (16.0)	7.69 d (15.9)

^aDatos registrados a 500 MHz en $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$. Los acoplamientos se encuentran en paréntesis (*J*) y se expresan en Hz. *Señales sobrepuestas. s = singulete, d = doblete, t = triplete, m = multiplete.

^bAbreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Jal = 11-hidroxihexadecanoilo; Mba = 2-metilbutanoilo; Dodeca = dodecanoilo; Cna = *trans*-cinamoilo.

Cuadro 15. Desplazamientos químicos en RMN ^{13}C de las **batatinas III-VI**.

carbón ^b	Batatina III ^a		Batatina IV ^a		Batatina V ^a		Batatina VI ^a	
	Unidad A	Unidad B	Unidad A	Unidad B	Unidad A	Unidad B	Unidad A	Unidad B
Fuc- 1	101.7	101.5	101.7	101.5	101.3	101.4	101.3	101.4
2	73.0	73.1	73.0	73.2	72.9	73.2	80.5	73.3
3	76.7	76.6	76.9	76.8	76.6	76.4	73.2	76.5
4	73.4	73.4	73.6	73.6	73.4	73.4	73.6	73.6
5	71.2	71.2	71.2	71.2	71.0	71.0	70.5	71.0
6	17.2	17.2	17.2	17.2	17.4	17.4	17.6	17.6
Ram -1	100.2	102.4	100.3	102.4	100.0	102.2	100.0	102.3
2	69.4	70.3	69.6	70.4	69.3	70.3	72.9	70.4
3	77.9	75.5	77.9	75.6	77.8	72.5	71.0	72.5
4	79.1	78.1	79.1	78.1	79.0	78.1	79.9	78.1
5	67.7	69.0	67.7	69.0	67.8	69.3	67.8	69.3
6	18.9	18.5	19.0	18.5	18.9	18.4	18.9	18.4
Ram'-1	100.2	100.6	100.3	100.6	100.0	100.4	100.0	100.4
2	69.5	74.2	69.7	74.3	72.9	72.9	72.9	72.7
3	78.9	70.8	79.0	70.9	78.6	71.0	79.0	71.0
4	76.0	80.6	76.0	80.7	76.4	79.5	76.4	79.5
5	67.4	68.5	67.4	68.5	67.4	68.3	67.4	68.3
6	19.3	18.7	19.3	18.7	19.1	18.8	19.1	18.8
Ram''-1	103.5	103.6	103.6	103.7	103.6	103.7	103.6	103.7
2	72.4	72.1	72.6	72.3	72.7	71.9	72.7	71.9
3	69.9	70.1	70.1	70.2	73.3	73.3	73.3	73.3
4	75.0	75.3	75.4	75.0	75.0	75.3	75.4	75.0
5	68.1	67.9	68.1	68.0	67.8	68.0	67.8	68.0
6	17.8	18.0	17.9	18.0	17.6	17.8	17.6	17.8
Jal - 1	174.8	174.3	174.8	174.4	174.5	174.4	174.0	174.1
2	34.6	34.2	34.6	34.3	34.3	33.9	34.9	34.0
11	79.7	79.3	79.8	79.3	79.5	79.3	81.4	79.5
16	14.5	14.5	14.6	14.6	14.3	14.3	14.3	14.3
Deca -1		173.2		173.2				
2		34.4		34.4				
10		14.2		14.3				
Deca -1		172.6		172.6				
2		34.4		34.4				
10		14.2		14.3				
Dodeca -1	173.5	173.4	173.4	173.5	173.3	173.4	173.3	173.4
2	34.6	34.6	34.7	34.7	34.6	34.6	34.7	34.7
12	14.2	14.2	14.3	14.3	14.0	14.0	14.0	14.0
Mba-1					175.5	175.5	175.4	175.4
2					41.3	41.3	41.3	41.3
2-Me					16.6	16.6	16.5	16.5
3-Me					11.3	11.3	11.3	11.3
Cna-1					166.0	166.0	166.0	166.0
2					118.3	118.3	118.3	118.3
3					144.8	144.8	145.1	145.1

Datos registrados a 125^a MHz en C₅D₅N. s = singulete, d = doblete, t = triplete, m = multiplete.

^bAbreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Jal = 11-hidroxihexadecanoilo; Mba = 2-metilbutanoilo; Deca = decanoilo; Dodeca = dodecanoilo; Cna = *trans*-cinamoilo.

6.4.3 BATATINAS VII (1), VIII (2), IX (12), X (7) Y XI (8)

La estructura oligosacárida dimérica de las **batatinas VII-XI**, al igual que la de las **batatinas I y II (Figura 21)**, está constituida por dos unidades del núcleo pentasacárido del ácido simónico B (**Figura 18**) y, por lo tanto, la elucidación estructural se realizó mediante la comparación de sus constantes espectroscópicas.^{6,10-12,17,28-29,96,100-104} Sin embargo, sus principales diferencias se encuentran en los ácido que esterifican a la cadena oligosacárida, en la posición de esterificación y en la posición de lactonización. Las **batatinas I, II, VII (1) y VIII (2)** se aislaron del extracto soluble en hexano de la variedad de cáscara blanca, las **batatinas X (7) y XI (8)** se aislaron del extracto soluble en cloroformo de la variedad de cáscara morada mientras que la **batatina IX (12)** se aisló del extracto soluble en cloroformo de la variedad de cáscara amarilla.

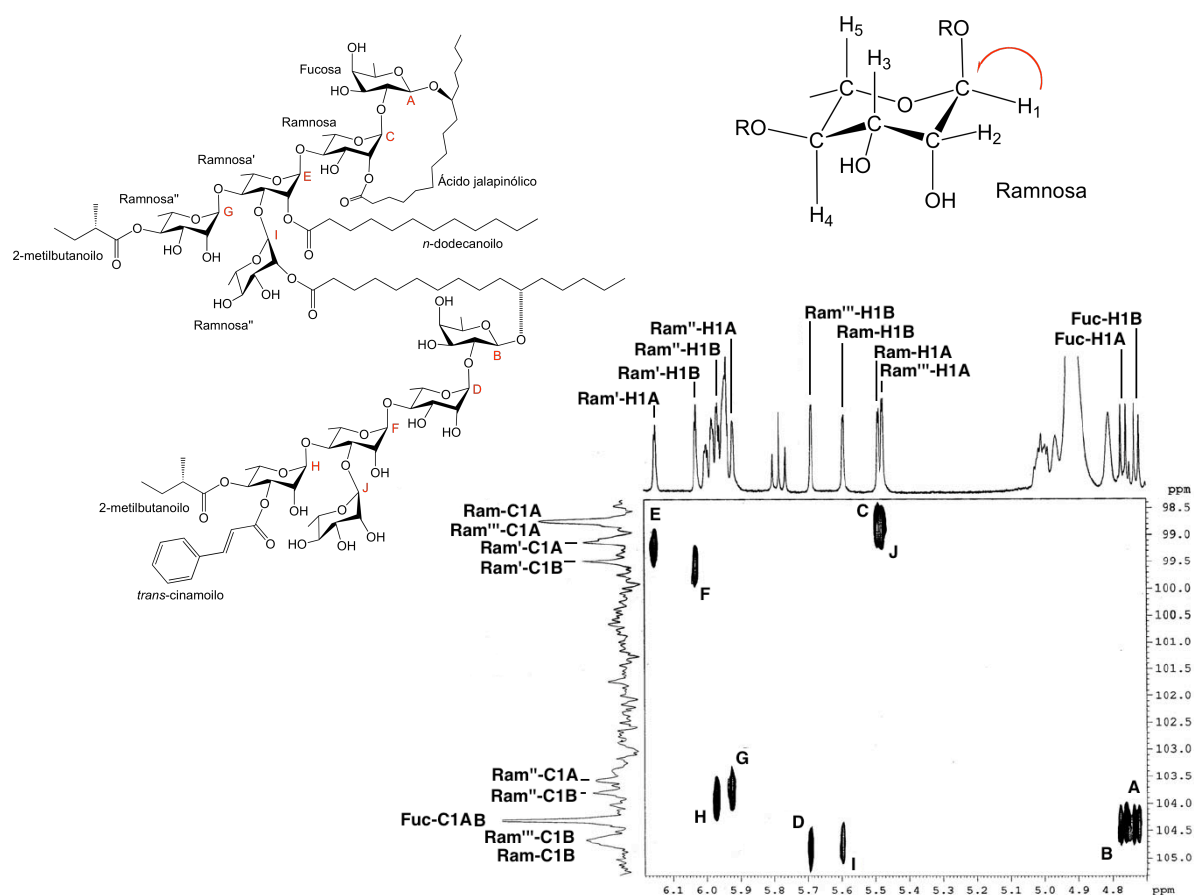


Figura 92. Sección del espectro HSQC de la **batatina VIII (2)** para la identificación de los carbonos anoméricos y sus correspondientes protones. A) Fuc C1/Fuc H1, unidad A; B) Fuc C1/Fuc H1, unidad B; C) Ram C1/Ram H1, unidad A; D) Ram C1/Ram H1, unidad B; E) Ram' C1/Ram' H1, unidad A; F) Ram' C1/Ram' H1, unidad B; G) Ram'' C1/Ram'' H1, unidad A; H) Ram'' C1/Ram'' H1, unidad B; I) Ram''' C1/Ram''' H1, unidad A; J) Ram''' C1/Ram''' H1, unidad B.

La primera evidencia para confirmar que las batatinas VII-XI poseen una estructura polimérica fue la identificación de las señales en la región de desplazamiento químico comprendida entre los 95 y 105 ppm en la RMN ^{13}C . Se demostró mediante el espectro HMQC que estas señales se correlacionan exactamente con diez señales anoméricas en la RMN ^1H (**Figuras 92 y 93**).^{11,18,25,68-70}

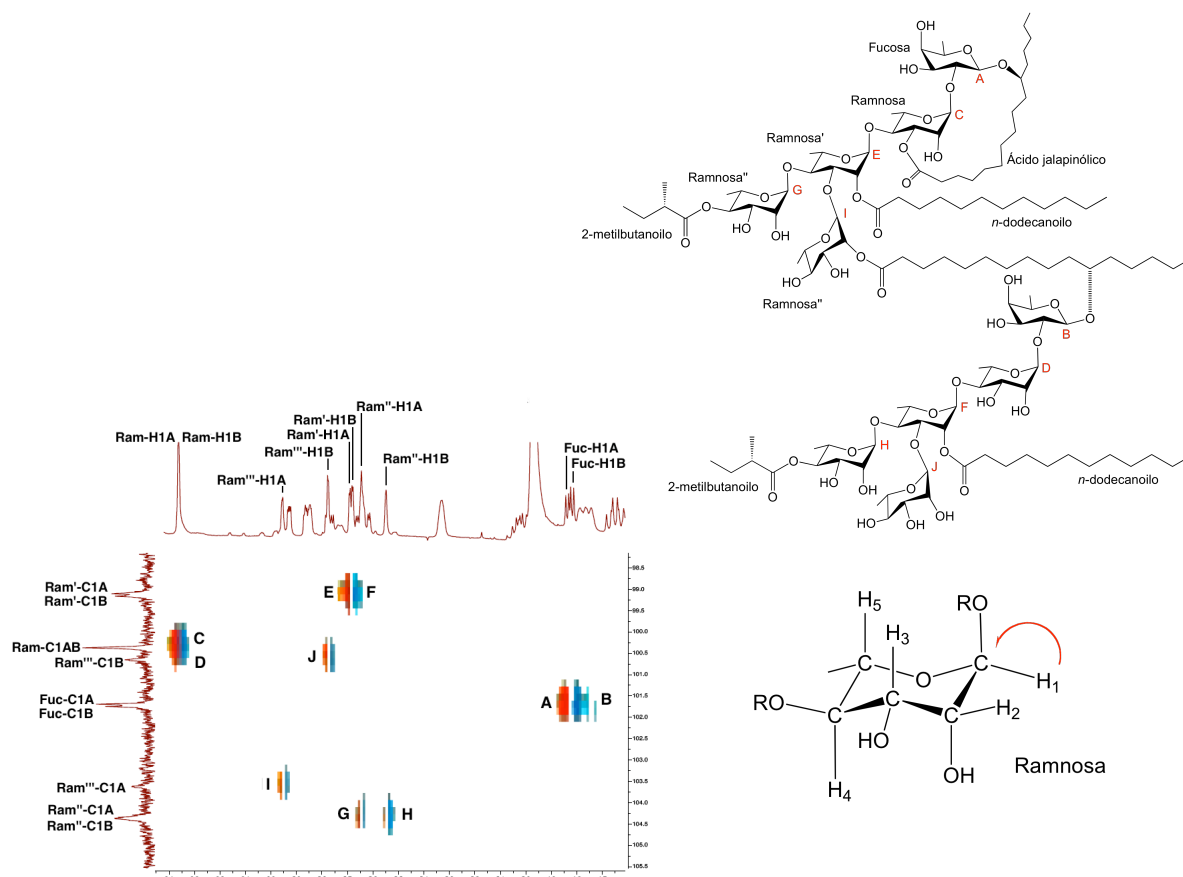


Figura 93. Sección del espectro HSQC del **batatina IX (12)** para la identificación de los carbonos anoméricos y sus correspondientes protones. A) Fuc C1/Fuc H1 unidad A; B) Fuc C1/Fuc H1 unidad B; C) Ram C1/Ram H1 unidad A; D) Ram C1/Ram H1 unidad B; E) Ram' C1/Ram' H1 unidad A; F) Ram' C1/Ram' H1 unidad B; G) Ram'' C1/Ram'' H1 unidad A; H) Ram'' C1/Ram'' H1 unidad B; I) Ram''' C1/Ram''' H1 unidad A; J) Ram''' C1/Ram''' H1 unidad B.

Como siguiente paso, se establecieron los cuadros de conectividad para estas señales en el experimento COSY y TOCSY simultáneamente con el objetivo de asignar las señales correspondientes a cada unidad monosacárida del núcleo oligosacárido. Con los cuadros de conectividad en el experimento COSY se obtiene la secuencia de conectividades 3JH-H para cada señal (Figura 109 y 110).

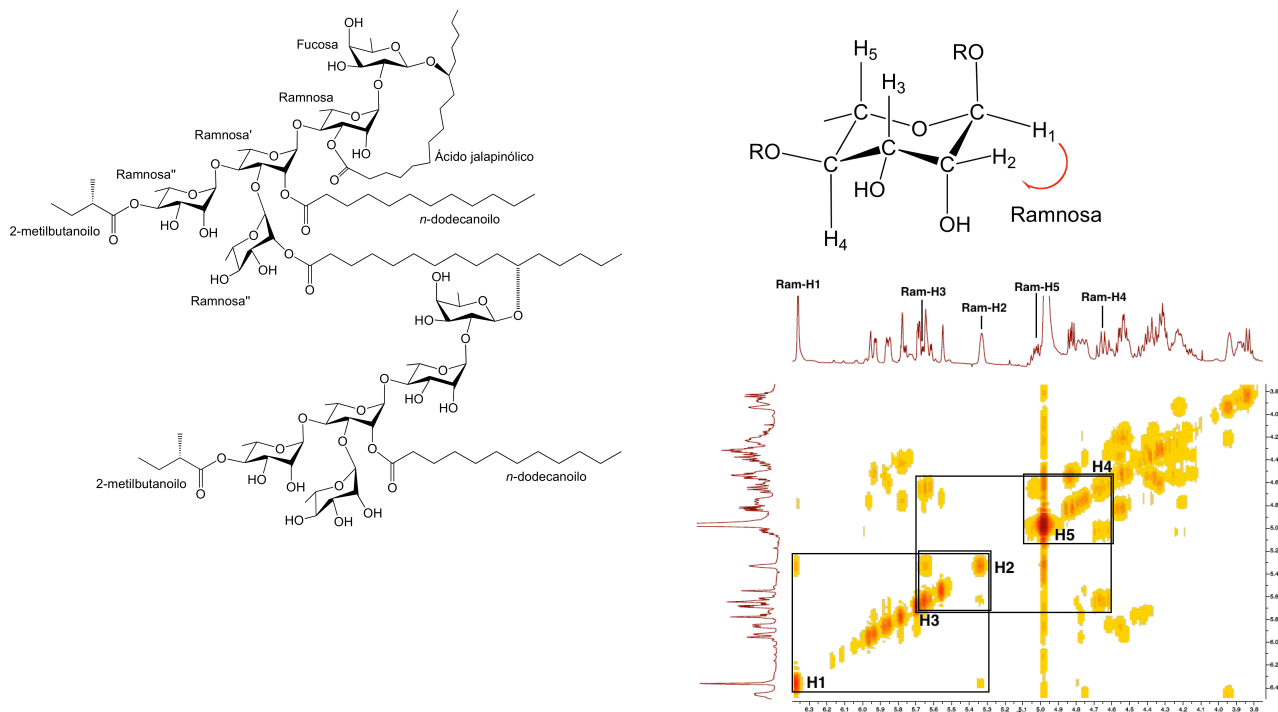


Figura 94. Cuadros de conectividades para las señales de H1–H5 en el experimento COSY correspondientes a la ramnosa interna superior (Ram, unidad A) de la **batatina IX (12)**.

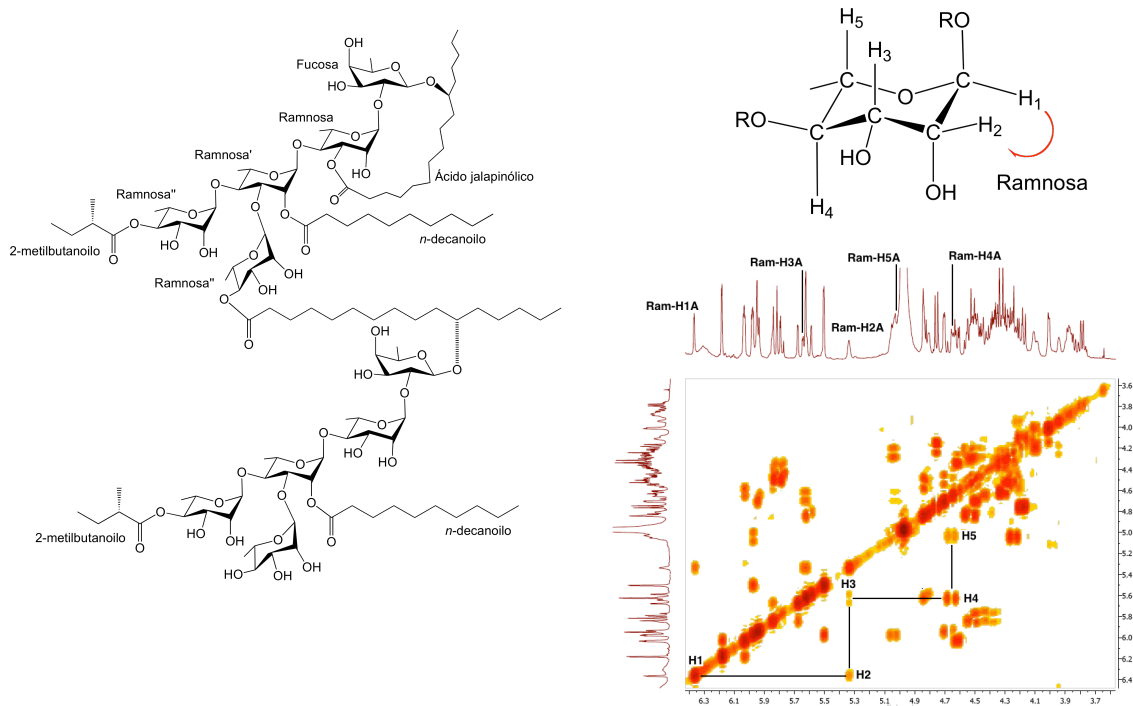


Figura 95. Cuadros de conectividades para las señales de H1–H5 en el experimento COSY correspondientes a la ramnosa interna superior (Ram, unidad A) de la **batatina X (7)**.

En la **Figura 96** se muestra la porción oligosacárida del espectro TOCSY, el cual permite localizar las interacciones vecinales y también pueden hallarse las correlaciones a larga distancia ^1H - ^1H entre los protones de una unidad monosacárida completa (señales de los protones H-1 al H-6). La búsqueda de correlaciones a larga distancia ^1H - ^1H en el experimento TOCSY se inicia buscando nuevamente una señal oligosacárida diagnóstica y claramente resuelta en el espectro bidimensional, siguiendo en línea recta las señales transversales que indican las interacciones con los demás protones de la unidad monosacárida completa en una tendencia vertical u horizontal.

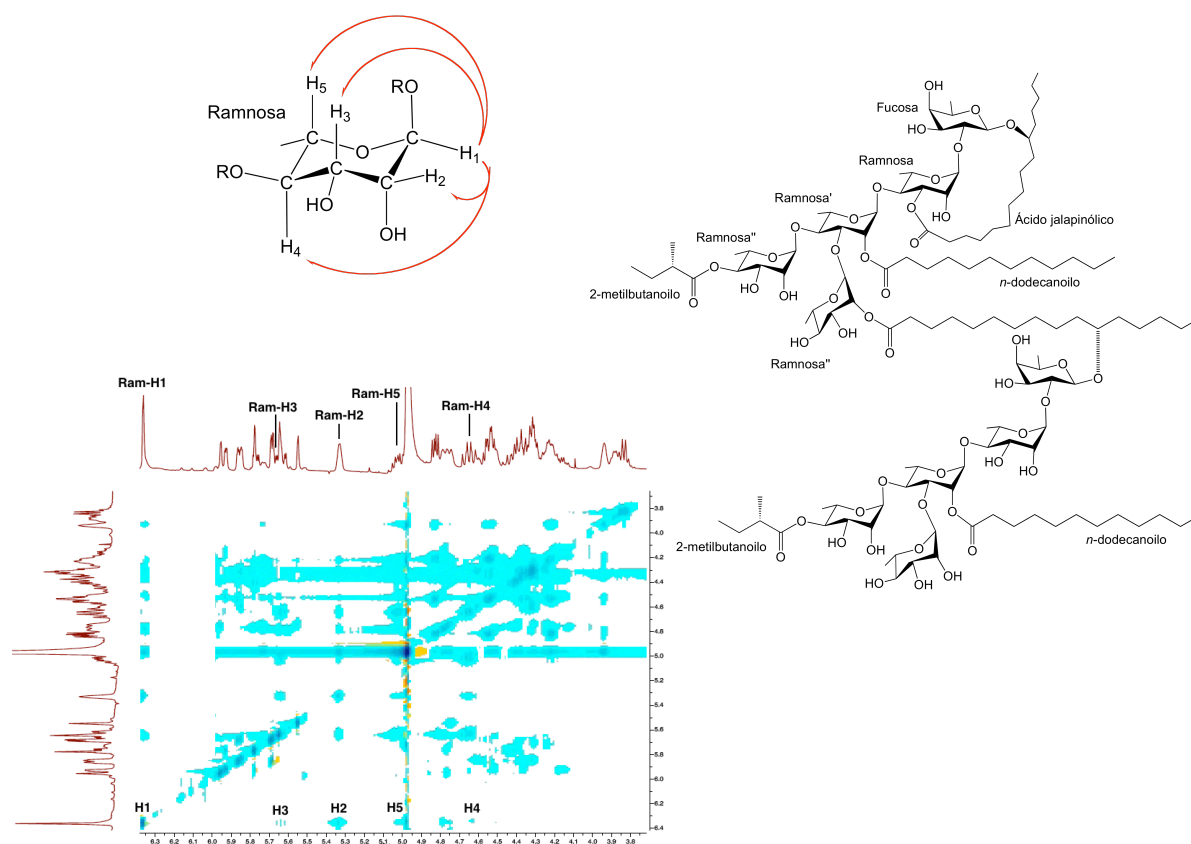


Figura 96. Porción oligosacárida de la ramnosa (señales de los protones H-1 al H-5, Ram unidad A) de la **batatina IX (12)** en el espectro TOCSY.

Después de identificar y diferenciar las señales aportadas por los protones de cada unidad monosacárida en la RMN ^1H , se procedió a la asignación de las señales de ^{13}C mediante la técnica HSQC (**Figura 97**).

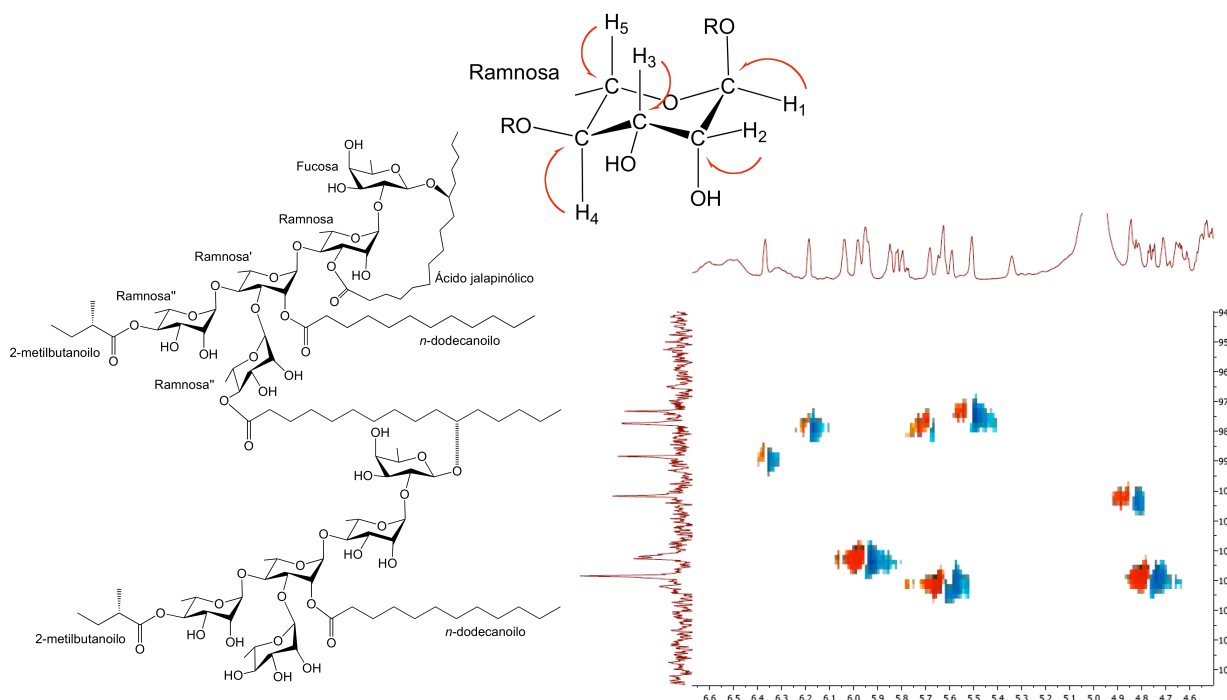


Figura 97. Asignación de las señales de RMN ^{13}C mediante la técnica HSQC de la **batatina XI (8)**.

La identificación de las correlaciones a tres enlaces ($^3J_{\text{C-H}}$) entre C5–H1 (**Figura 98**) y a dos enlaces ($^2J_{\text{C-H}}$) entre C5–H6 (**Figura 99**) en el experimento HMBC permitió sustentar estas asignaciones en las diferentes unidades monosacáridas que componen a cada unidad oligosacárida.

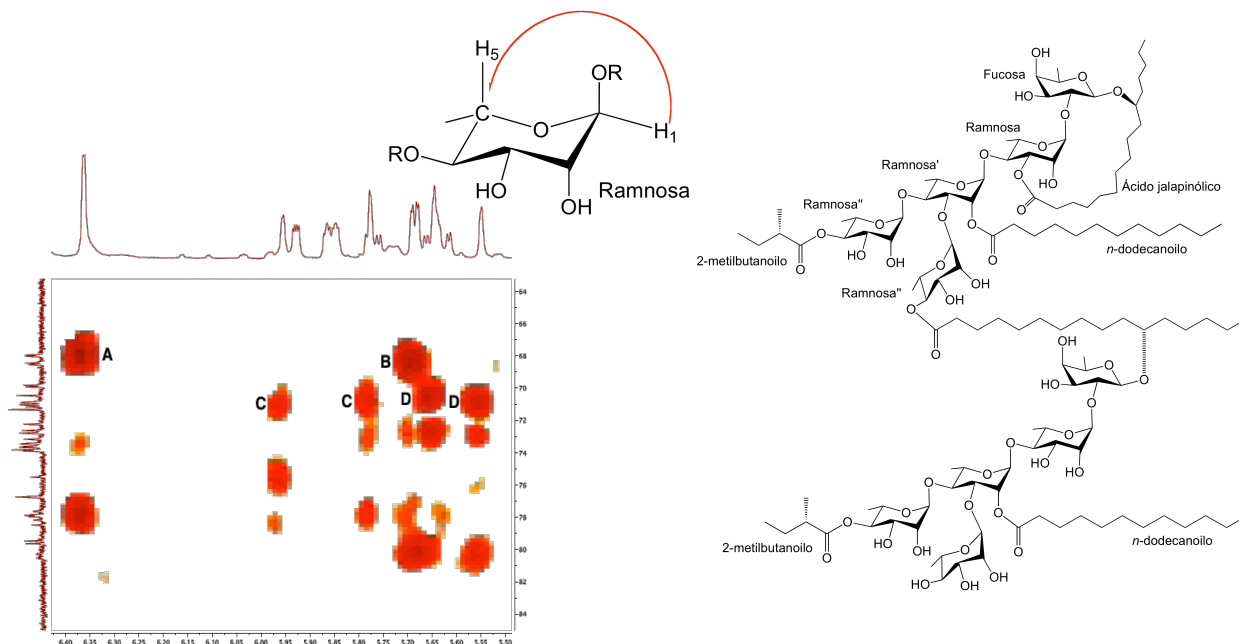


Figura 98. Identificación de las correlaciones a tres enlaces ($^3J_{\text{C-H}}$) diagnósticas en el espectro HMBC de la **batatina IX (12)**. A) Fuc C5/Ram H1, unidades A y B; B) Ram C5/Ram' H1, unidades A y B; C) Ram' C5/Ram'' H1, unidades A y B; D) Ram'' C5/Ram''' H1, unidades A y B.

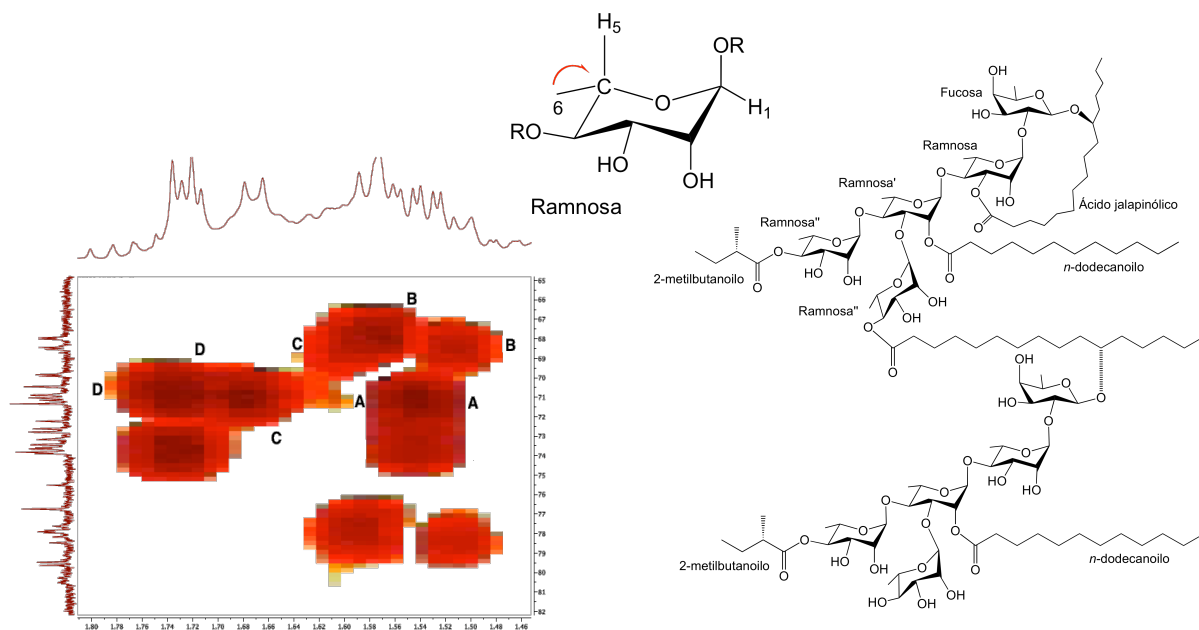


Figura 99. Identificación de las correlaciones a dos enlaces ($2J_{C-H}$) diagnósticas en el espectro HMBC de la **batatina IX (12)**. A) Fuc C5/Fuc H6, unidades A y B; B) Ram C5/Ram H6, unidades A y B; C) Ram' C5/Ram' H6, unidades A y B; D) Ram''' C5/Ram''' H6, unidades A y B.

La secuencia de glicosidación de las **batatinas VII-XI** se asignó mediante las correlaciones $^1H-^{13}C$ observadas en el espectro HMBC en la región oligosacárida entre los protones anoméricos con los carbonos de las unidades monosacáridas vecinales que constituyen el enlace glicosídico. Las **Figuras 100 y 101** ilustran las conectividades en el experimento HMBC que forman la cadena oligosacárida de estos compuestos.

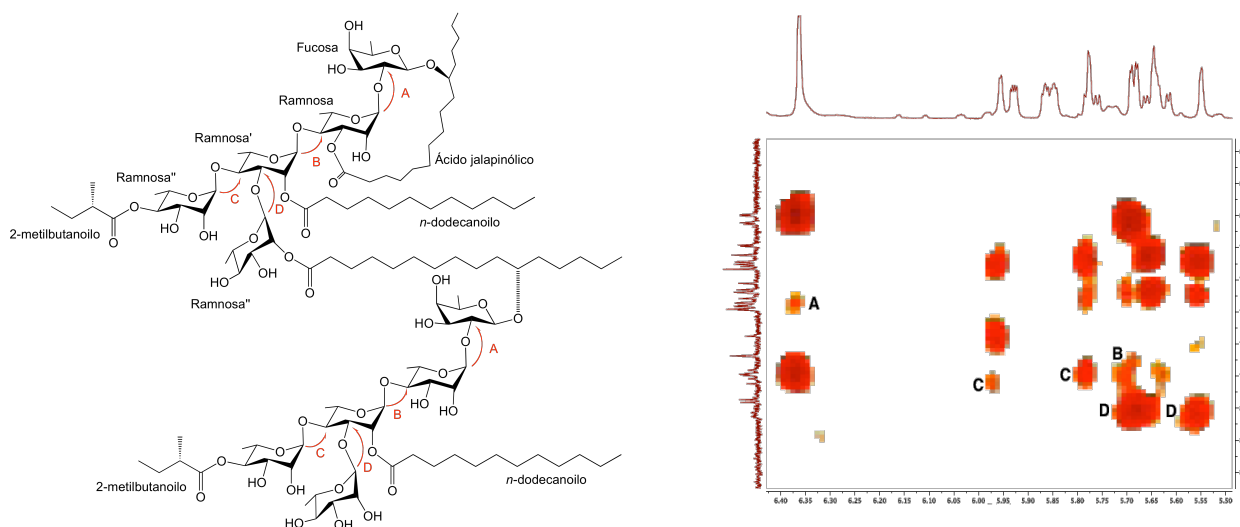


Figura 100. Correlaciones a tres enlaces ($3J_{C-H}$) para la secuencia de glicosidación de la **batatina IX (12)**. A) Fuc C2/Ram H1; B) Ram C4/Ram' H1; C) Ram' C4/Ram'' H1; D) Ram''' C3/Ram''' H1.

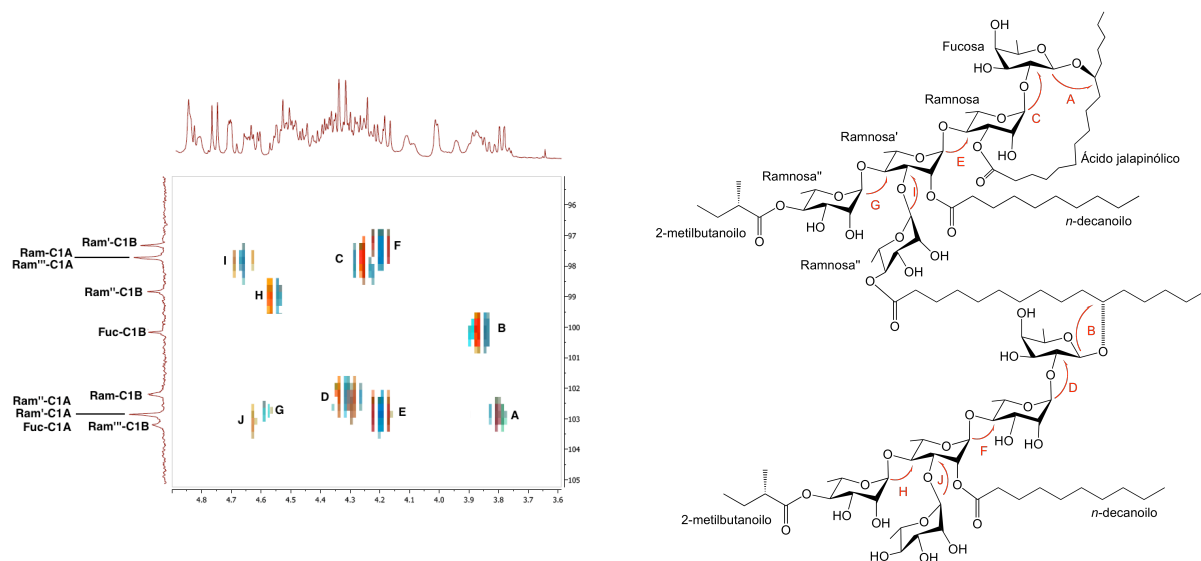


Figura 101. Correlaciones a tres enlaces ($^3J_{C-H}$) para la secuencia de glicosidación de la **batatina X (7)**.

A) Fuc C1/Jal H11, unidad A; B) Fuc C1/Jal H11, unidad B; C) Ram C1/Fuc H2, unidad A; D) Ram C1/Fuc H2, unidad B; E) Ram' C1/Ram H4, unidad A; F) Ram' C1/Ram H4, unidad B; G) Ram'' C1/Ram' H4, unidad A; H) Ram'' C1/Ram' H4, unidad B; I) Ram''' C1/Ram' H3, unidad A; J) Ram''' C1/Ram' H3, unidad B.

Las correlaciones más importantes presentes en los espectros HMBC de los las **batatinas VII–XI** son:

- La señal del carbono C–2 de la unidad fucosa con el H–11 del ácido jalapínico, unidad A.
- La señal del carbono C–1 de la unidad de ramnosa interna superior (Ram) con el H–2 de la fucosa (Fuc).
- La señal del carbono C–1 de la unidad de ramnosa interna inferior (Ram') con el H–4 de la ramnosa interna superior (Ram).
- La señal del carbono C–1 de la unidad de ramnosa externa superior (Ram'') con el H–4 de la ramnosa interna inferior (Ram').
- La señal del carbono C–1 de la unidad de ramnosa externa inferior (Ram''') con el H–3 de a ramnosa interna inferior (Ram').

Para poder determinar la posición de esterificación y lactonización para las **batatinas VII–XI**, en primer lugar, se localizó las señales centradas entre 2.0–2.8 ppm para los protones del grupo metileno, o protón del grupo metino como del 2-metilpropanoilo (Iba) o del 2-metilbutanoilo (Mba)(**Figura 102**), alfa a los grupos carbonilos y sus correlaciones a dos ligaduras con los carbonos anoméricos observados en la región de 160 a 175 ppm (**Figuras 103–104**). Luego, se

detectaron las señales desplazadas a campo bajo producto de la acilación.^{28-29,90-97,100-104,107-109}

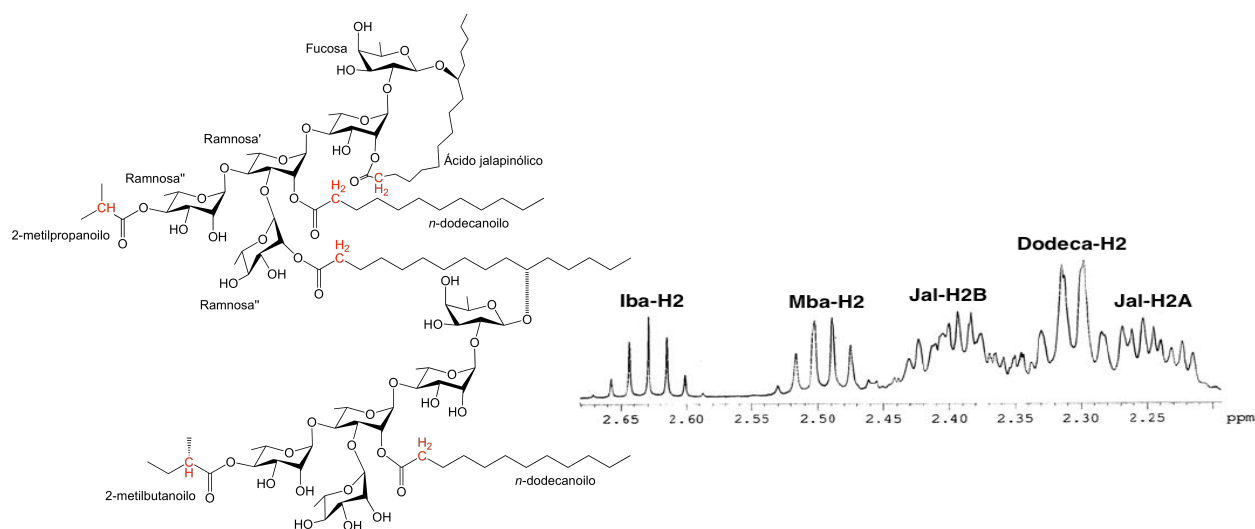


Figura 102. Señales centradas entre 2.0-2.8 ppm del espectro de RMN ^1H para los protones del grupo metileno y protón de los grupos metino de la **batatina VII (1)**.

En la estructura de las **batatinas VII-XI**, hay seis posiciones de esterificación, cuatro de las cuales están ocupadas por los ácidos 2-metilbutanoico, 2-metilpropanoico, *trans*-cinámico, *n*-decanoico y *n*-dodecanoico (confirmado por espectrometría de masas) y las dos restantes están ocupadas por el éster intramolecular (macrolactona) y la unión éster entre las dos unidades glicosídicas que constituyen su estructura dimérica.^{11,18,25,68-70} En algunos casos, se observó hay una sobreposición entre las señales protónicas geminales a los grupos de esterificación en el núcleo oligosacáridos y las señales anómericas.

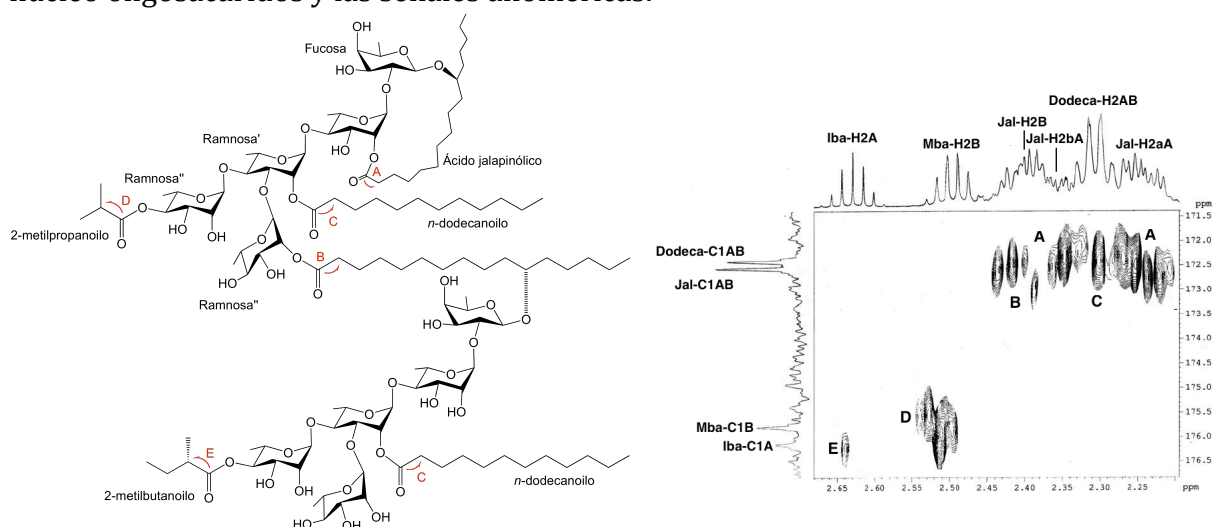


Figura 103. Correlaciones a dos enlaces ($^2J_{\text{CH}}$) en el experimento HMBC de la **batatina VII (1)**. A) Jal C1/Jal H2ab, unidad A; B) Jal C1/Jal H2, unidad B; C) Dodeca C1/Dodeca H2, unidades A y B; D) Mba C1/Mba H2, unidad B; E) Iba C1/Iba H2, unidad A.

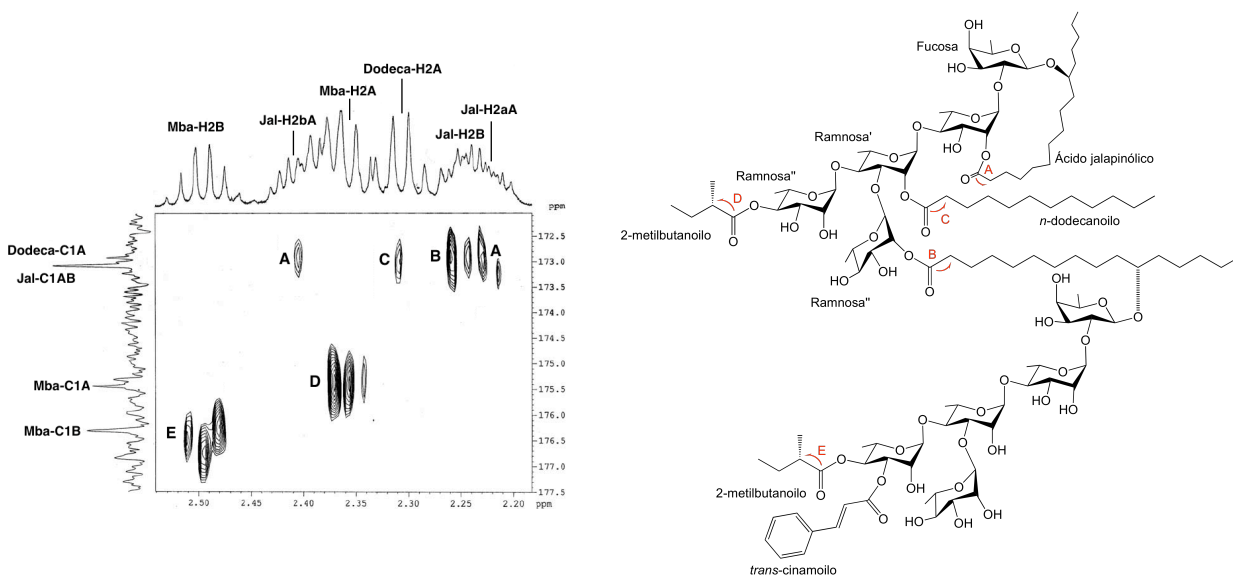


Figura 104. Correlaciones a dos enlaces ($^2J_{CH}$) en el experimento HMBC de la **batatina VIII (2)**.

A) Jal C1/Jal H2ab, unidad A; B) Jal C1/Jal H2, unidad B; C) Dodeca C1/Dodeca H2, unidad A; D) Mba C1/Mba H2, unidad A; E) Mba C1/Mba H2, unidad B.

El grupo carbonilo del *trans*-cinamoilo para la **batatina VIII (2)** pudo identificarse fácilmente del resto de los otros ésteres por su desplazamiento químico característico (ca. δ 167).¹⁰³ También, la asignación de esta señal se confirmó a través de las conectividades con los protones vinílicos (dobletes $J_{trans} = 16$ Hz en la RMN 1H) de las posiciones 2 y 3 de este residuo (**Figura 105**).

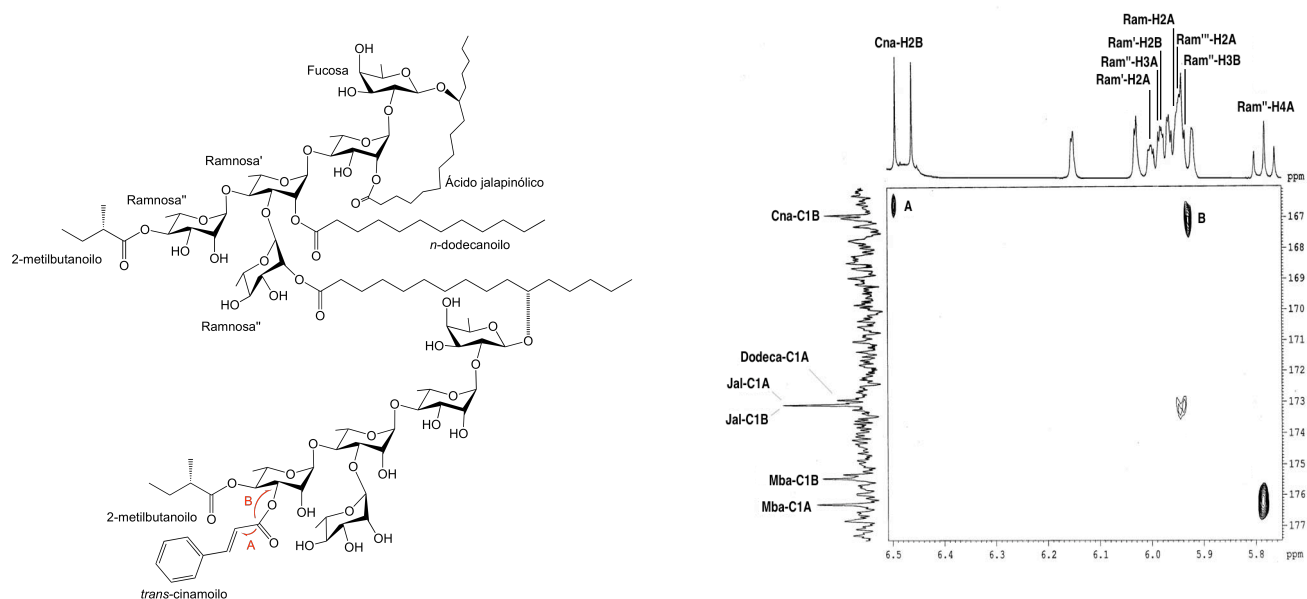


Figura 105. Sección del espectro HMBC de la **batatina VIII (2)** para la identificación y determinación del residuo *trans*-cinamoilo. Conectividades ($^3J_{C-H}$): A) Cna C1/Cna H2, B) Cna C1/Ram'' H3 unidad B.

La diferenciación entre las señales de los carboxilos de las agliconas y de los residuos de ácidos grasos se logró mediante las correlaciones a dos enlaces ($^2J_{CH}$) en el experimento de HMBC (**Figura 106**), utilizando las señales distinguibles de los protones del grupo metileno alfa al grupo carbonilo de la macrolactona (en forma de dos multipletes que integran para un hidrógeno ya que no son señales magnéticamente equivalentes) y del residuo de ácido graso (en forma de un triplete que integra para dos hidrógenos ya que son equivalentes).

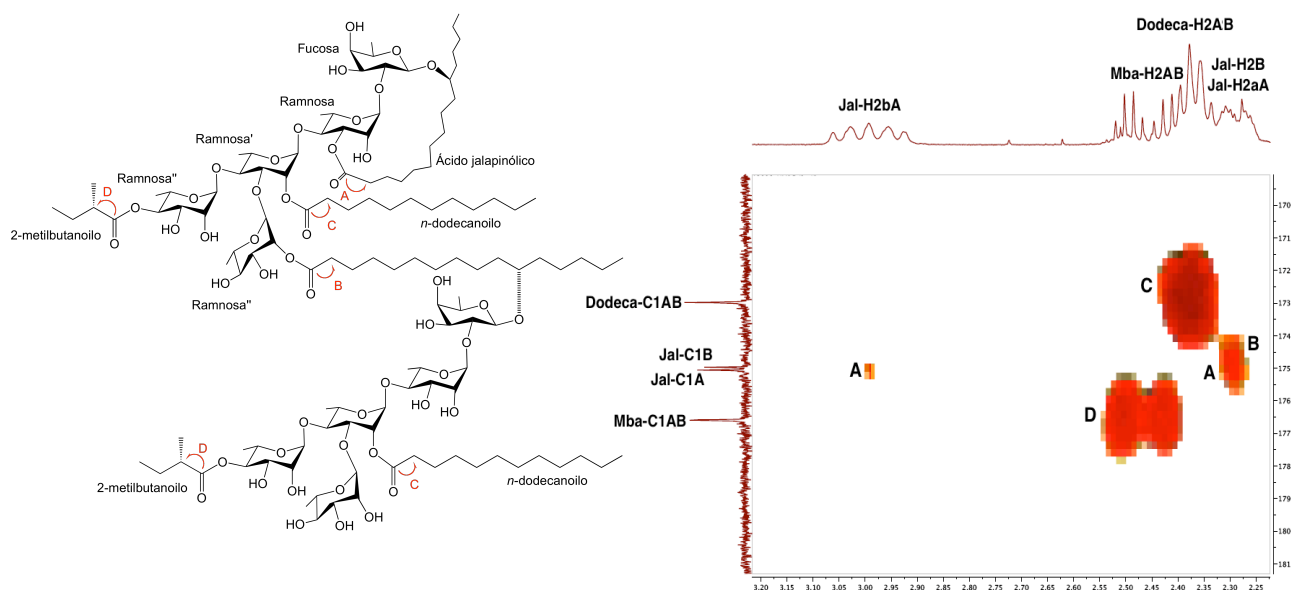


Figura 106. Correlaciones a dos enlaces ($^2J_{CH}$) en el experimento HMBC de la **batatina IX (12)**.
A) Jal C1/Jal H2ab, unidad A; B) Jal C1/Jal H2, unidad B; C) Dodeca C1/Dodeca H2, unidades A y B;
D) Mba C1/Mba H2, unidades A y B

Este análisis permitió determinar los grupos que están esterificando las dos unidades oligosacáridas de cada uno de estos compuestos; para la **batatina VII (1)**, se determinó que se encuentra esterificada por un residuo del ácido 2-metilbutanoico, uno del ácido 2-metilpropanoico y dos del ácido *n*-dodecanoico; para la **batatina VIII (2)**, se determinó que los grupos acilantes corresponden a dos residuo del ácido 2-metilbutanoico, uno del ácido *trans*-cinámico y uno del ácido *n*-dodecanoico; con respecto a las **batatinas IX (12) y XI (8)** se determinó que ésta presenta dos residuos del ácido 2-metilbutanoico y dos residuos del ácido *n*-dodecanoico y para la **batatina X (7)** se determinó que ésta presenta dos residuos del ácido 2-

metilbutanoico y dos residuos del ácido *n*-decanoico. El sitio de esterificación y lactonización se dedujo a partir de las correlaciones a tres enlaces ($^3J_{C-H}$) en el experimento de HMBC, entre el carbono C-1 (el carboxilo) de cada uno de los ésteres con las señales protónicas geminales a estos grupos en el núcleo oligosacáridos (**Figura 107**). El núcleo oligosacárido A de las **batatinas VII (1) y VIII (2)** está lactonizado por la aglicona en la posición C-2 de la segunda unidad monosacárida (Ram), mientras que para las **batatinas IX (12) X (7) y XI (8)** está en la posición C-3 de la segunda unidad monosacárida (Ram). También, se pudo determinar que la unión éster entre las dos unidades oligosacáridas (unidades A y B) se localiza en la posición C-2 de la ramnosa externa ramificada (Ram''') para las **batatinas VII, VIII y IX**, y en la posición C-4 de la ramnosa externa ramificada (Ram''') para las **batatinas X y XI**.

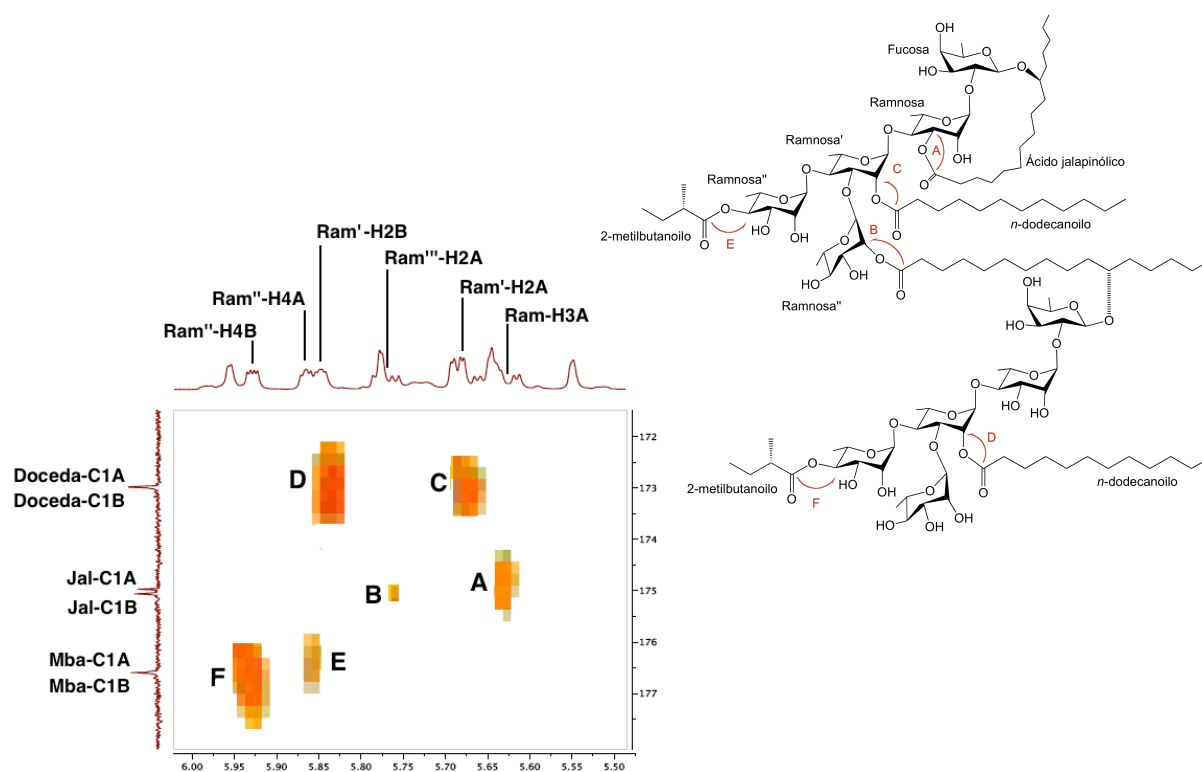


Figura 107. Correlaciones a tres enlaces ($^3J_{C-H}$) en el experimento HMBC de la **batatina IX (12)**.

- A) Jal C1/Ram H2, unidad A ; B) Jal C1 unidad B/Ram''' H2 unidad A; C) Dodeca C1/Ram' H2, unidad A; D) Dodeca C1/Ram' H2, unidad B; E) Mba C1/Ram'' H4, unidad A; F) Mba C1/Ram'' H4, unidad B.

Para las **batatina VII (1) y VIII (2)**, la señal de carbonilo centrado en δ 172.4 y 172.9 se asignó a la lactona y el sitio de lactonización en la unidad A se corroboró su ubicación en C-2 de la segunda unidad monosacárida (Ram, unidad A). Para las **batatina IX (12), X (7), XI (8), X (7) y XI**

(8) la señal del carbonilo centrado en δ 175.1 y 173.4 se asignó a la lactona y el sitio de lactonización se ubicó en el C-3 de la segunda unidad monosacárida (Ram, unidad A). Para las **batatinas VII (1), VIII (2) y IX (12)** la posición del enlace entre la unidad B acíclica y la unidad A macrocíclica se identificó entre el grupo carbonilo del éster (δ_C 172.4, 173.1 y 174.9; unidad B) y H-2 de la ramnosa externa inferior (Ram'') (δ_H 5.94, 5.96 y 5.68; unidad A). Los sitios de esterificación para la **batatina VII (1)** fueron: los grupos *n*-dodecanoilo (δ_{C-1} 172.6) en H-2 de la ramnosa externa superior (Ram') a δ_H 6.0 (unidades A y B); un residuo de isobutanoilo (δ_{C-1} 176.2) en H-4 de la ramnosa externa inferior (Ram'') a δ_H 5.82 (unidad A); y por un residuo de 2-metilbutanoilo (δ_{C-1} 175.4) en H-4 de la ramnosa externa superior (Ram'') a δ_H 5.78 (unidad B). Para la **batatina VIII (2)** los grupos *n*-dodecanoilo (δ_{C-1} 172.9-173.1) se localizaron en H-2 de la ramnosa externa superior (Ram') a δ_H 6.00 (unidad A) o a 5.98 (unidad B); cada residuo de 2-metilbutanoilo (δ_{C-1} 175.4 -176.3) en H-4 de la ramnosa externa inferior (Ram'') a δ_H 5.78 (unidad A) o a 5.96 (unidad B); y por un residuo de ácido *trans*-cinamoilo (δ_{C-1} 166.9) en H-3 de la ramnosa externa inferior (Ram'') a δ_H 5.93 (unidad B). Con respecto a la **batatina IX (12)**, las dos unidades oligosacáridas (unidades A y B) están esterificadas en las mismas posiciones; los grupos *n*-dodecanoilo (δ_{C-1} 172.9) se localizaron en H-2 de la ramnosa externa superior (Ram') a δ_H 5.67 (unidad A) o a 5.83 (unidad B); y cada residuo de 2-metilbutanoilo (δ_{C-1} 175.4 -175.5) en H-4 de la ramnosa externa inferior (Ram'') a δ_H 5.85 (unidad A) o a 5.97 (unidad B). Para las **batatinas X (7) y XI (8)** la posición del enlace entre la unidad B acíclica y la unidad A macrocíclica se identificó entre el grupo carbonilo del éster (δ_C 173.4 unidad B) y H-4 de la ramnosa externa ramificada (Ram''') (δ_H 5.60; unidad A) y las dos unidades oligosacáridas (unidades A y B) están esterificadas en las mismas posiciones; los grupos *n*-decanoilo y *n*-dodecanoilo (δ_{C-1} 171.5 y 171.6) se localizaron en H-2 de la ramnosa externa superior (Ram') a δ_H 5.95 (unidad A) o a 6.0 (unidad B); y cada residuo de 2-metilbutanoilo (δ_{C-1} 174.8) en H-4 de la ramnosa externa inferior (Ram'') a δ_H 5.78 (unidad A) o a 5.82 (unidad B).

Cuadro 16. Desplazamientos químicos en RMN ^1H de las **batatinas VII (1) y VIII (2).**

protón ^b	Batatina VII ^a		Batatina VIII ^a	
	Unidad A	Unidad B	Unidad A	Unidad B
Fuc-1	4.73 d (7.5)	4.73 d (7.5)	4.77 d (7.5)	4.73 d (7.5)
2	4.16 dd (8.5, 7.5)	4.15 dd (8.0, 7.5)	4.16 dd (8.5, 7.5)	4.15 dd (8.0, 7.5)
3	4.07 dd (8.5, 2.5)	4.08 dd (8.0, 2.5)	4.06 dd (8.5, 2.5)	4.10 dd (8.0, 2.5)
4	3.99 d (1.0)	3.99 d (1.0)	3.99 d (1.0)	3.99 d (1.0)
5	3.77 dq (6.5, 2.0)	3.76 dq (6.5, 1.0)	3.77 dq (6.5, 2.0)	3.79 dq (6.5, 1.0)
6	1.51 d (6.5)	1.51 d (6.5)	1.52 d (6.5)	1.51 d (6.5)
Ram-1	5.47 d (2.0)	5.59 d (1.0)	5.49 d (2.0)	5.59 d (1.0)
2	5.94 dd (3.0, 2.0)	4.81 bs	5.95 dd (3.0, 2.0)	4.81 bs
3	5.01 dd (9.4, 3.0)	4.48 dd (9.9, 3.2)	4.99 dd (9.4, 3.0)	4.49 dd (9.9, 3.2)
4	4.22 t (9.4)	4.22 t (9.9)	4.18 t (9.4)	4.21 t (9.9)
5	4.44 dq (9.4, 6.0)	4.44 dq (9.9, 6.5)	4.43 dq (9.4, 6.0)	4.18 dq (9.9, 6.5)
6	1.61 d (6.0)	1.62 d (6.5)	1.61 d (6.0)	1.59 d (6.5)
Ram'-1	6.15 d (2.0)	6.14 d (2.0)	6.16 d (2.0)	6.03 d (2.0)
2	6.00 dd (3.0, 2.0)	6.00 dd (3.0, 2.0)	6.00 dd (3.0, 2.0)	5.98 dd (3.0, 2.0)
3	4.59 dd (9.0, 3.0)	4.59 dd (9.5, 3.0)	4.59 dd (9.0, 3.0)	4.61 dd (9.5, 3.0)
4	4.29 t (9.0)	4.29 t (9.5)	4.29 t (9.0)	4.30 t (9.5)
5	4.32 dq (9.0, 6.0)	4.33 dq (9.5, 6.0)	4.33 dq (9.0, 6.0)	4.31 dq (9.5, 6.0)
6	1.65 d (6.0)	1.65 d (6.0)	1.65 d (6.0)	1.60 d (6.0)
Ram''-1	5.92 d (1.0)	5.92 d (1.2)	5.92 d (1.0)	5.97 d (1.2)
2	4.68 dd (3.0, 1.0)	4.68 dd (3.0, 1.2)	4.67 dd (3.0, 1.0)	4.97 dd (3.0, 1.2)
3	4.48 dd (9.7, 3.0)	4.48 dd (9.5, 3.0)	4.48 dd (9.7, 3.0)	5.93 dd (9.5, 3.0)
4	5.82 t (9.7)	5.78 t (9.5)	5.78 t (9.7)	5.96 t (9.5)
5	4.37 dq (9.8, 6.5)	4.35 dq (9.5, 6.5)	4.36 dq (9.8, 6.5)	4.51 dq (9.5, 6.5)
6	1.39 d (6.5)	1.39 d (6.5)	1.39 d (6.5)	1.72 d (6.5)
Ram'''-1	5.48 d (1.0)	5.59 d (1.0)	5.48 d (1.0)	5.69 d (1.0)
2	5.94 dd (3.0, 1.0)	4.81 bs	5.94 dd (3.0, 1.0)	4.81 bs
3	5.01 dd (9.3, 3.0)	4.48 dd (9.5, 3.0)	5.00 dd (9.3, 3.0)	4.38 dd (9.5, 3.0)
4	4.24 t (9.3)	4.21 t (9.5)	4.18 t (9.3)	4.19 t (9.5)
5	4.29 dq (9.3, 6.0)	4.44 dq (9.5, 6.0)	4.45 dq (9.3, 6.0)	4.21 dq (9.5, 6.0)
6	1.60 d (6.0)	1.61 d (6.0)	1.61 d (6.0)	1.55 d (6.0)
Jal - 2	2.24 ddd (12.0, 8.0, 3.5)	2.24 ddd (12.0, 8.0, 3.5)	2.22 ddd (12.0, 8.0, 3.5)	2.25*
2'	2.39 ddd (12.0, 8.0, 3.5)	2.39 ddd (12.0, 8.0, 3.5)	2.38 ddd (12.0, 8.0, 3.5)	2.41*
11	3.85 m	3.85 m	3.85 m	3.89 m
16	0.88 t (7.0)	0.89 t (7.0)	0.88 t (7.0)	0.88 t (7.0)
Mba - 2		2.50 tq (7.0, 7.0)	2.37 tq (7.0, 7.0)	2.50 tq (7.0, 7.0)
2-Me		1.20 d (7.0)	1.06 d (7.0)	1.20 d (7.0)
3-Me		0.93 t (7.5)	0.84 t (7.5)	0.93 t (7.5)
Iba -2	2.63 sept (7.0)			
3	1.19 d (7.0)			
3'	1.16 d (7.0)			
Cna-2				6.67 d (15.9)
3				7.79 d (15.7)
Dodeca-2	2.31 dd (16.0, 7.5)	2.25 - 2.40*	2.31 dd (16.0, 7.5)	
12	0.86 t (7.0)	0.87 t (7.0)	0.88 t (7.0)	

^aDatos registrados a 500 MHz en $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$. *Señales sobrepuestas. Entre paréntesis las constantes de acoplamiento (J) en Hz. s = singulete, d = doblete, t = triplete, m = multiplete. ^bAbreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Jal = 11(S)-hidroxihexadecanoilo; Mba = 2-metilbutanoilo; Dodeca = *n*-dodecanoilo; Cna = *trans*-cinamoilo.

Cuadro 17. Desplazamientos químicos en RMN ^{13}C de las **batatinas I (1)** y **VIII (2)**.

carbón ^b	Batatina VII ^a		Batatina VIII ^a	
	Unidad A	Unidad B	Unidad A	Unidad B
Fuc-1	104.3	104.3	104.3	104.3
2	80.2	80.2	80.2	80.2
3	73.3	73.3	73.3	73.3
4	72.9	72.9	72.9	72.9
5	70.8	70.8	70.8	70.8
6	17.4	17.4	17.4	17.4
Ram-1	98.7	104.6	98.7	104.6
2	73.8	72.5	73.8	72.5
3	69.7	72.6	69.7	72.6
4	80.0	80.6	80.0	80.6
5	68.6	68.6	68.6	68.6
6	19.4	18.6	19.4	18.6
Ram'-1	99.1	99.5	99.1	99.5
2	73.1	73.2	73.1	73.2
3	79.8	79.8	79.8	79.8
4	79.3	79.5	79.3	79.5
5	68.4	70.8	68.4	70.8
6	18.8	18.7	18.8	18.7
Ram''-1	103.6	103.8	103.6	103.8
2	72.7	70.5	72.7	70.5
3	73.3	76.5	73.3	76.5
4	74.8	74.8	74.8	74.8
5	68.2	71.0	68.2	71.0
6	17.9	18.4	17.9	18.4
Ram'''-1	98.7	104.6	98.7	104.6
2	73.8	72.5	73.8	72.5
3	69.7	72.6	69.7	72.6
4	73.6	73.5	73.6	73.5
5	70.7	70.7	70.7	70.7
6	19.4	18.5	19.4	18.5
Jal - 1	172.9	173.1	172.9	173.1
2	34.2	34.3	34.2	34.3
11	82.3	82.3	82.3	82.3
16	14.3	14.3	14.3	14.3
Mba - 1		176.3	175.4	176.3
2		41.5	41.4	41.5
2-Me		17.0	16.8	17.0
3-Me		11.8	11.8	11.8
Iba -1	175.4			
2	41.4			
3	16.8			
3'	11.8			
Cna-1				166.9
2				118.4
3				128.7
Dodeca-1	172.9	173.1	172.9	173.1
2	34.5	34.2	34.5	34.2
12	14.3	14.3	14.3	14.3

^aDatos registrados a 125 MHz en $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$. * ^bAbreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Jal = 11(*S*)-hidroxihexadecanoilo; Mba = 2-metilbutanoilo; Dodeca = *n*-dodecanoilo; Cna = *trans*-cinamoilo.

Cuadro 18. Desplazamientos químicos en RMN ^1H y ^{13}C de la **batatina IX (12)**.

	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$		$\delta_{\text{C}}^{\text{b}}$	
	Unidad A	Unidad B	Unidad A	Unidad B
Fuc-1	4.73 d (7.5)	4.73 d (7.5)	104.3	104.3
2	4.16 dd (8.5, 7.5)	4.15 dd (8.0, 7.5)	80.2	80.2
3	4.07 dd (8.5, 2.5)	4.08 dd (8.0, 2.5)	73.3	73.3
4	3.99 d (1.0)	3.99 d (1.0)	72.9	72.9
5	3.77 dq (6.5, 2.0)	3.76 dq (6.5, 1.0)	70.8	70.8
6	1.51 d (6.5)	1.51 d (6.5)	17.4	17.4
Ram-1	5.47 d (2.0)	5.59 d (1.0)	98.7	104.6
2	5.94 dd (3.0, 2.0)	4.81 bs	73.8	72.5
3	5.01 dd (9.4, 3.0)	4.48 dd (9.9, 3.2)	69.7	72.6
4	4.22 t (9.4)	4.22 t (9.9)	80.0	80.6
5	4.44 dq (9.4, 6.0)	4.44 dq (9.9, 6.5)	68.6	68.6
6	1.61 d (6.0)	1.62 d (6.5)	19.4	18.6
Ram'-1	6.15 d (2.0)	6.14 d (2.0)	99.1	99.5
2	6.00 dd (3.0, 2.0)	6.00 dd (3.0, 2.0)	73.1	73.2
3	4.59 dd (9.0, 3.0)	4.59 dd (9.5, 3.0)	79.8	79.8
4	4.29 t (9.0)	4.29 t (9.5)	79.3	79.5
5	4.32 dq (9.0, 6.0)	4.33 dq (9.5, 6.0)	68.4	70.8
6	1.65 d (6.0)	1.65 d (6.0)	18.8	18.7
Ram''-1	5.92 d (1.0)	5.92 d (1.2)	103.6	103.8
2	4.68 dd (3.0, 1.0)	6.00 dd (3.0, 1.2)	72.7	70.5
3	5.77 dd (9.7, 3.0)	4.48 dd (9.5, 3.0)	73.3	76.5
4	5.82 t (9.7)	5.78 t (9.5)	74.8	74.8
5	4.37 dq (9.8, 6.5)	4.35 dq (9.5, 6.5)	68.2	71.0
6	1.39 d (6.5)	1.39 d (6.5)	17.9	18.4
Ram'''-1	5.48 d (1.0)	5.59 d (1.0)	98.7	104.6
2	5.94 dd (3.0, 1.0)	4.81 bs	73.8	72.5
3	5.01 dd (9.3, 3.0)	4.48 dd (9.5, 3.0)	69.7	72.6
4	4.24 t (9.3)	4.21 t (9.5)	73.6	73.5
5	4.29 dq (9.3, 6.0)	4.44 dq (9.5, 6.0)	70.7	70.7
6	1.60 d (6.0)	1.61 d (6.0)	19.4	18.5
Jal - 1			172.9	173.1
2a	2.24 ddd (12.0, 8.0, 3.5)	2.24 ddd (12.0, 8.0, 3.5)	34.2	34.3
2b	2.39 ddd (12.0, 8.0, 3.5)	2.39 ddd (12.0, 8.0, 3.5)		
11	3.85 m	3.85 m	82.3	82.3
16	0.88 t (7.0)	0.89 t (7.0)	14.3	14.3
Mba - 1			175.4	176.3
2	2.63 sept (7.0)	2.50 tq (7.0, 7.0)	41.4	41.5
2-Me	1.19 d (7.0)	1.20 d (7.0)	16.8	17.0
3-Me	1.16 d (7.0)	0.93 t (7.5)	11.8	11.8
Dodeca-1			172.9	173.1
2	2.31 dd (16.0, 7.5)	2.25 - 2.40*	34.5	34.2
12	0.86 t (7.0)	0.87 t (7.0)	14.3	14.3

Datos registrados a 400^a MHz para ^1H y a 125^b MHz para ^{13}C en $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$. *Señales sobrepuestas. Entre paréntesis las constantes de acoplamiento (J) en Hz. s = singulete, d = doblete, t = triplete, m = multiplete. ^bAbreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Jal = 11(*S*)-hidroxihexadecanoilo; Mba = 2-metilbutanoilo; Dodeca = *n*-dodecanoilo.

Cuadro 19. Desplazamientos químicos^a en RMN ¹H de las **batatinas X (7)** y **XI (8)**.

protón ^b	Batatina X ^a		Batatina XI ^a	
	Unidad A	Unidad B	Unidad A	Unidad B
Fuc-1	4.73 d (7.5)	4.73 d (7.5)	4.77 d (7.5)	4.73 d (7.5)
2	4.16 dd (8.5, 7.5)	4.15 dd (8.0, 7.5)	4.16 dd (8.5, 7.5)	4.15 dd (8.0, 7.5)
3	4.07 dd (8.5, 2.5)	4.08 dd (8.0, 2.5)	4.06 dd (8.5, 2.5)	4.10 dd (8.0, 2.5)
4	3.99 d (1.0)	3.99 d (1.0)	3.99 d (1.0)	3.99 d (1.0)
5	3.77 dq (6.5, 2.0)	3.76 dq (6.5, 1.0)	3.77 dq (6.5, 2.0)	3.79 dq (6.5, 1.0)
6	1.51 d (6.5)	1.51 d (6.5)	1.52 d (6.5)	1.51 d (6.5)
Ram-1	5.47 d (2.0)	5.59 d (1.0)	5.49 d (2.0)	5.59 d (1.0)
2	5.94 dd (3.0, 2.0)	4.81 bs	5.95 dd (3.0, 2.0)	4.81 bs
3	5.01 dd (9.4, 3.0)	4.48 dd (9.9, 3.2)	4.99 dd (9.4, 3.0)	4.49 dd (9.9, 3.2)
4	4.22 t (9.4)	4.22 t (9.9)	4.18 t (9.4)	4.21 t (9.9)
5	4.44 dq (9.4, 6.0)	4.44 dq (9.9, 6.5)	4.43 dq (9.4, 6.0)	4.18 dq (9.9, 6.5)
6	1.61 d (6.0)	1.62 d (6.5)	1.61 d (6.0)	1.59 d (6.5)
Ram'-1	6.15 d (2.0)	6.14 d (2.0)	6.16 d (2.0)	6.03 d (2.0)
2	6.00 dd (3.0, 2.0)	6.00 dd (3.0, 2.0)	6.00 dd (3.0, 2.0)	4.80 dd (3.0, 2.0)
3	4.59 dd (9.0, 3.0)	4.59 dd (9.5, 3.0)	4.59 dd (9.0, 3.0)	4.61 dd (9.5, 3.0)
4	4.29 t (9.0)	4.29 t (9.5)	4.29 t (9.0)	4.30 t (9.5)
5	4.32 dq (9.0, 6.0)	4.33 dq (9.5, 6.0)	4.33 dq (9.0, 6.0)	4.31 dq (9.5, 6.0)
6	1.65 d (6.0)	1.65 d (6.0)	1.65 d (6.0)	1.60 d (6.0)
Ram''-1	5.92 d (1.0)	5.92 d (1.2)	5.92 d (1.0)	5.97 d (1.2)
2	4.68 dd (3.0, 1.0)	4.97 dd (3.0, 1.2)	4.67 dd (3.0, 1.0)	4.97 dd (3.0, 1.2)
3	4.48 dd (9.7, 3.0)	4.48 dd (9.5, 3.0)	4.48 dd (9.7, 3.0)	5.93 dd (9.5, 3.0)
4	5.82 t (9.7)	5.78 t (9.5)	5.78 t (9.7)	5.96 t (9.5)
5	4.37 dq (9.8, 6.5)	4.35 dq (9.5, 6.5)	4.36 dq (9.8, 6.5)	4.51 dq (9.5, 6.5)
6	1.39 d (6.5)	1.39 d (6.5)	1.39 d (6.5)	1.72 d (6.5)
Ram'''-1	5.48 d (1.0)	5.59 d (1.0)	5.48 d (1.0)	5.69 d (1.0)
2	5.94 dd (3.0, 1.0)	4.81 bs	5.94 dd (3.0, 1.0)	4.81 bs
3	5.01 dd (9.3, 3.0)	4.48 dd (9.5, 3.0)	5.00 dd (9.3, 3.0)	4.38 dd (9.5, 3.0)
4	4.24 t (9.3)	4.21 t (9.5)	4.18 t (9.3)	4.19 t (9.5)
5	4.29 dq (9.3, 6.0)	4.44 dq (9.5, 6.0)	4.45 dq (9.3, 6.0)	4.21 dq (9.5, 6.0)
6	1.60 d (6.0)	1.61 d (6.0)	1.61 d (6.0)	1.55 d (6.0)
Jal - 2	2.24 ddd (12.0, 8.0, 3.5)	2.24 ddd (12.0, 8.0, 3.5)	2.22 ddd (12.0, 8.0, 3.5)	2.25*
2'	2.39 ddd (12.0, 8.0, 3.5)	2.39 ddd (12.0, 8.0, 3.5)	2.38 ddd (12.0, 8.0, 3.5)	2.41*
11	3.85 m	3.85 m	3.85 m	3.89 m
16	0.88 t (7.0)	0.89 t (7.0)	0.88 t (7.0)	0.88 t (7.0)
Mba - 2	2.50 tq (7.0, 7.0)	2.50 tq (7.0, 7.0)	2.37 tq (7.0, 7.0)	2.50 tq (7.0, 7.0)
2-Me	1.20 d (7.0)	1.20 d (7.0)	1.06 d (7.0)	1.20 d (7.0)
3-Me	0.93 t (7.5)	0.93 t (7.5)	0.84 t (7.5)	0.93 t (7.5)
Deca-2	2.31 dd (16.0, 7.5)	2.25 - 2.40*		
10	0.86 t (7.0)	0.87 t (7.0)		
Dodeca-2			2.31 dd (16.0, 7.5)	2.31 dd (16.0, 7.5)
12			0.88 t (7.0)	0.88 t (7.0)

^aDatos registrados a 400 MHz en C₅D₅N. *Señales sobrepuestas. Entre paréntesis las constantes de acoplamiento (*J*) en Hz. s = singulete, d = doblete, t = triplete, m = multiplete. ^bAbreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Jal = 11(S)-hidroxihexadecanoilo; Mba = 2(S)-metilbutanoilo; Dodeca = *n*-dodecanoilo.

Cuadro 20. Desplazamientos químicos en RMN ^{13}C de las **batatinas X (7)** y **XI (8)**..

carbón ^b	Batatina X ^a		Batatina XI ^a	
	Unidad A	Unidad B	Unidad A	Unidad B
Fuc-1	104.3	104.3	104.3	104.3
2	80.2	80.2	80.2	80.2
3	73.3	73.3	73.3	73.3
4	72.9	72.9	72.9	72.9
5	70.8	70.8	70.8	70.8
6	17.4	17.4	17.4	17.4
Ram-1	98.7	104.6	98.7	104.6
2	73.8	72.5	73.8	72.5
3	69.7	72.6	69.7	72.6
4	80.0	80.6	80.0	80.6
5	68.6	68.6	68.6	68.6
6	19.4	18.6	19.4	18.6
Ram'-1	99.1	99.5	99.1	99.5
2	73.1	73.2	73.1	73.2
3	79.8	79.8	79.8	79.8
4	79.3	79.5	79.3	79.5
5	68.4	70.8	68.4	70.8
6	18.8	18.7	18.8	18.7
Ram''-1	103.6	103.8	103.6	103.8
2	72.7	70.5	72.7	70.5
3	73.3	76.5	73.3	76.5
4	74.8	74.8	74.8	74.8
5	68.2	71.0	68.2	71.0
6	17.9	18.4	17.9	18.4
Ram'''-1	98.7	104.6	98.7	104.6
2	73.8	72.5	73.8	72.5
3	69.7	72.6	69.7	72.6
4	73.6	73.5	73.6	73.5
5	70.7	70.7	70.7	70.7
6	19.4	18.5	19.4	18.5
Jal - 1	172.9	173.1	172.9	173.1
2	34.2	34.3	34.2	34.3
11	82.3	82.3	82.3	82.3
16	14.3	14.3	14.3	14.3
Mba - 1	175.4	176.3	175.4	176.3
2	41.4	41.5	41.4	41.5
2-Me	16.8	17.0	16.8	17.0
3-Me	11.8	11.8	11.8	11.8
Deca-1	172.9	173.1		
2	34.5	34.2		
10	14.3	14.3		
Dodeca-1			172.9	173.1
2			34.5	34.2
12			14.3	14.3

^aDatos registrados a 125 MHz en $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$. ^bAbreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Jal = 11(*S*)-hidroxihexadecanoilo; Mba = 2(*S*)-metilbutanoilo; Dodeca = *n*-dodecanoilo.

6.4.4 ESTRUCTURAS PARA LAS BATATINAS VII, VIII, IX, X Y XI.

De acuerdo con toda la información espectroscópica y espectrométrica analizada se propusieron la siguientes estructuras para las **batatinas VII, VIII, IX, X y XI**.

6.4.4.1 BATATINA VII (1):

Éster intramolecular 1,2''-11-*O*-[2 -*O*- 11*S*-hidroxihexadecanoil)- 11-*O*- α -L-ramnopiranosil (1 $\rightarrow$ 3) -*O*-[4-*O*-(2*S*-metilbutanoil)]- α - L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*-[2-*O*-*n*-dodecanoil]- α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 4) -*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-fucopiranósido]- α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 3) -*O*-[4-*O*-(2-metilpropanoil)]- α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 4) -*O*-[2-*O*-*n*-dodecanoil]- α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 4) -*O*- α -L-ramnopiranosil- (1 $\rightarrow$ 2) - β -D-fucopiranósido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.

6.4.4.2 BATATINA VIII (2):

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

6.4.4.3 BATATINA IX (12):

Éster intramolecular 1,3''-11-*O*-[2 -*O*- 11*S*-hidroxihexadecanoil)- 11-*O*- α -L-ramnopiranosil (1 $\rightarrow$ 3) -*O*-[4-*O*-(2*S*-metilbutanoil)]- α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*-[2-*O*-*n*-dodecanoil]- α -L-

ramnopiranosil- (1→4) -O-α-L-ramnopiranosil-(1→2)-β-D-fucopiranósido]-α-L-ramnopiranosil- (1→3) -O-[4-O-(2*S*-metilbutanoil)]-α-L-ramnopiranosil- (1→4) -O-[2-O-*n*-dodecanoil]-α-L-ramnopiranosil- (1→4) -O-α-L-ramnopiranosil- (1→2) -β-D-fucopiranósido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.

6.4.4.4 BATATINA X (7):

Éster intramolecular 1,3''-11-O-[4 -O- 11*S*-hidroxihexadecanoil)- 11-O-α-L-ramnopiranosil (1→3) -O-[4-O-(2*S*-metilbutanoil)]-α-L-ramnopiranosil-(1→4)-O-[2-O-*n*-decanoil]-α-L-ramnopiranosil- (1→4) -O-α-L-ramnopiranosil-(1→2)-β-D-fucopiranósido]-α-L-ramnopiranosil- (1→3) -O-[4-O-(2*S*-metilbutanoil)]-α-L-ramnopiranosil- (1→4) -O-[2-O-*n*-decanoil]-α-L-ramnopiranosil- (1→4) -O-α-L-ramnopiranosil- (1→2) -β-D-fucopiranósido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.

6.4.4.5 BATATINA XI (8):

Éster intramolecular 1,3''-11-O-[4 -O- 11*S*-hidroxihexadecanoil)- 11-O-α-L-ramnopiranosil (1→3) -O-[4-O-(2*S*-metilbutanoil)]-α-L-ramnopiranosil-(1→4)-O-[2-O-*n*-dodecanoil]-α-L-ramnopiranosil- (1→4) -O-α-L-ramnopiranosil-(1→2)-β-D-fucopiranósido]-α-L-ramnopiranosil- (1→3) -O-[4-O-(2*S*-metilbutanoil)]-α-L-ramnopiranosil- (1→4) -O-[2-O-*n*-dodecanoil]-α-L-ramnopiranosil- (1→4) -O-α-L-ramnopiranosil- (1→2) -β-D-fucopiranósido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.

En las **Figuras 108-112** se ilustran las estructuras moleculares propuestas para las **batatinas V y VI**.

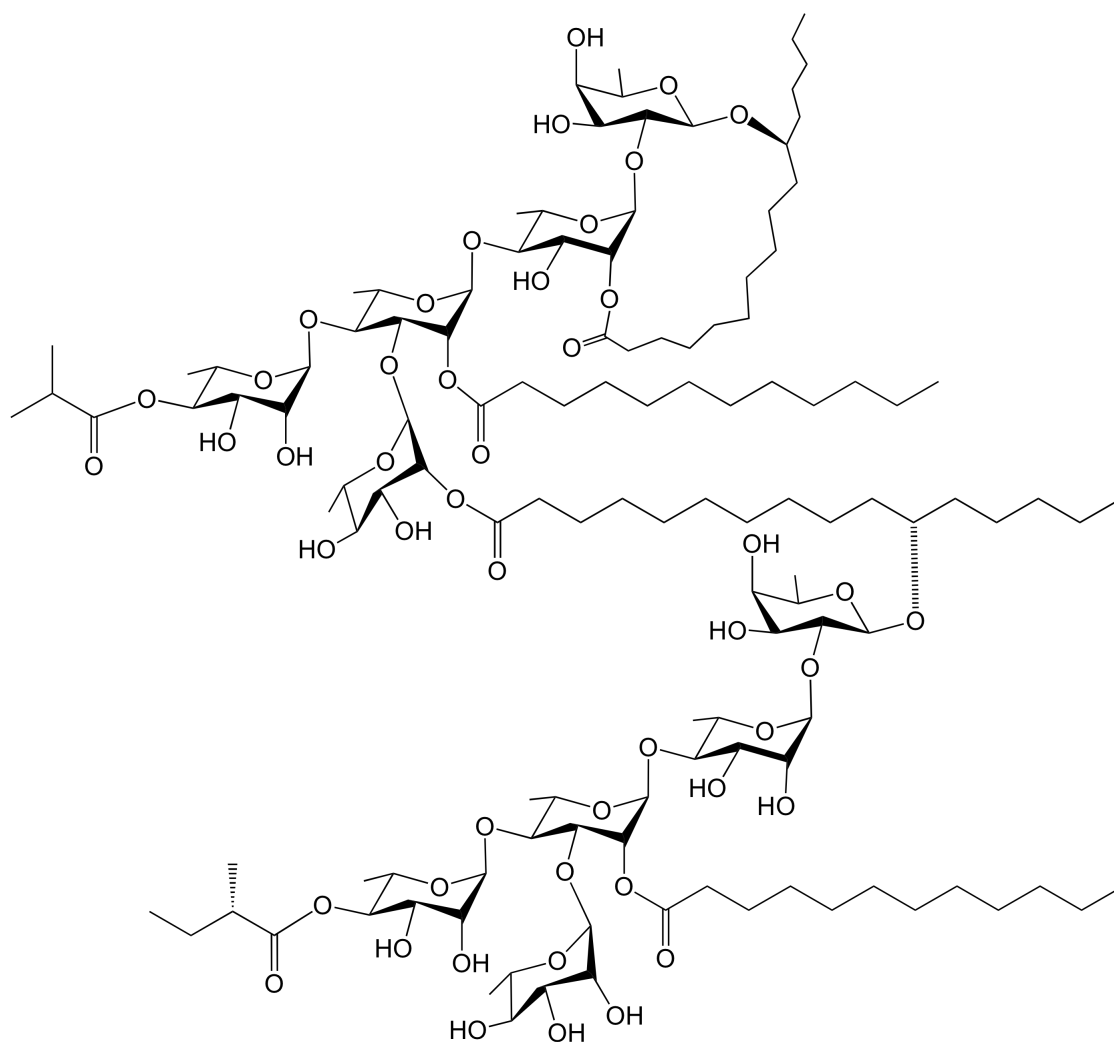


Figura 108. Estructura molecular propuesta para la **Batatina VII (1)**.

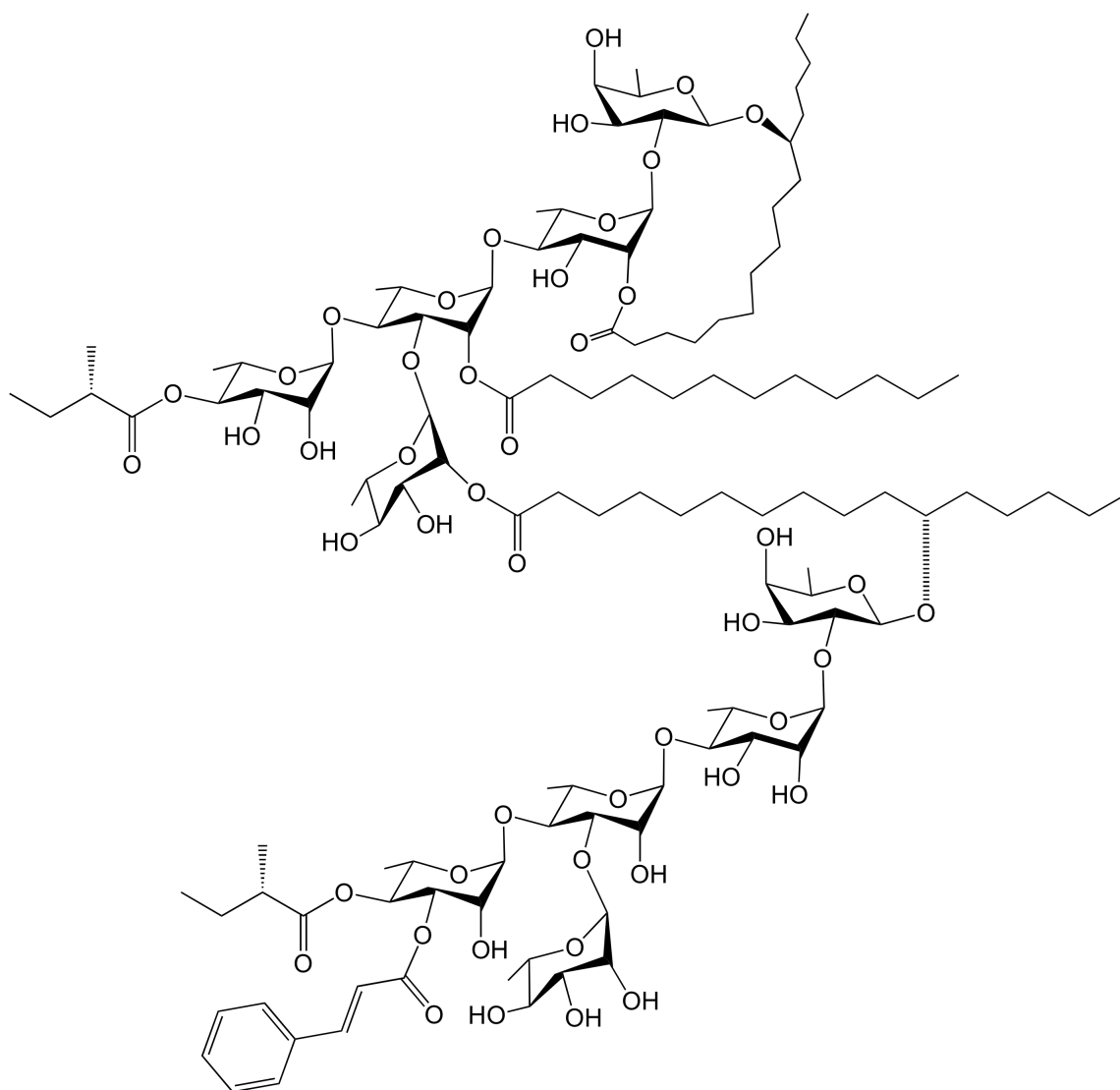


Figura 109. Estructura molecular propuesta para la **Batatina VIII (2)**.

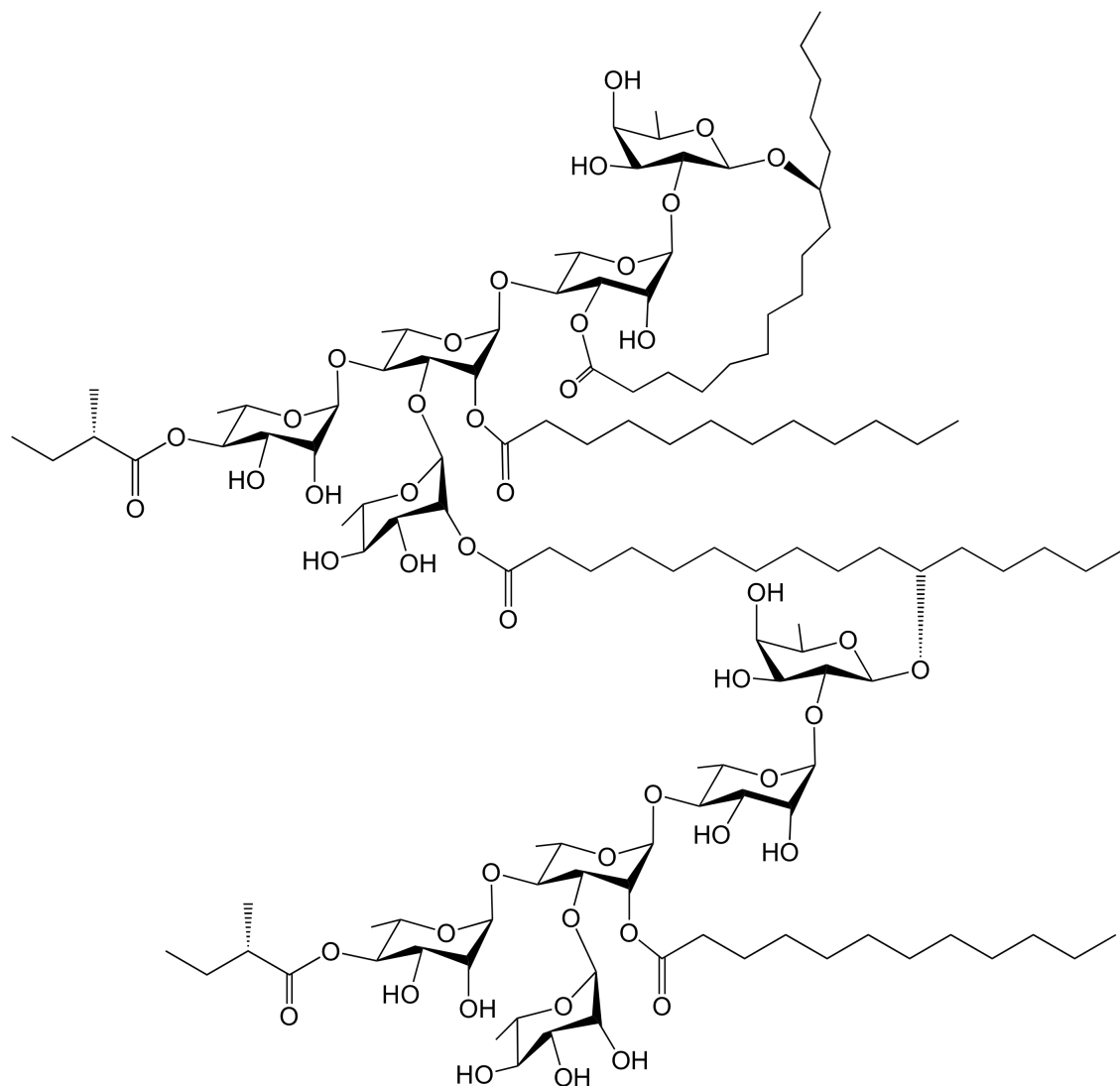


Figura 110. Estructura molecular propuesta para la **Batatina IX (12)**.

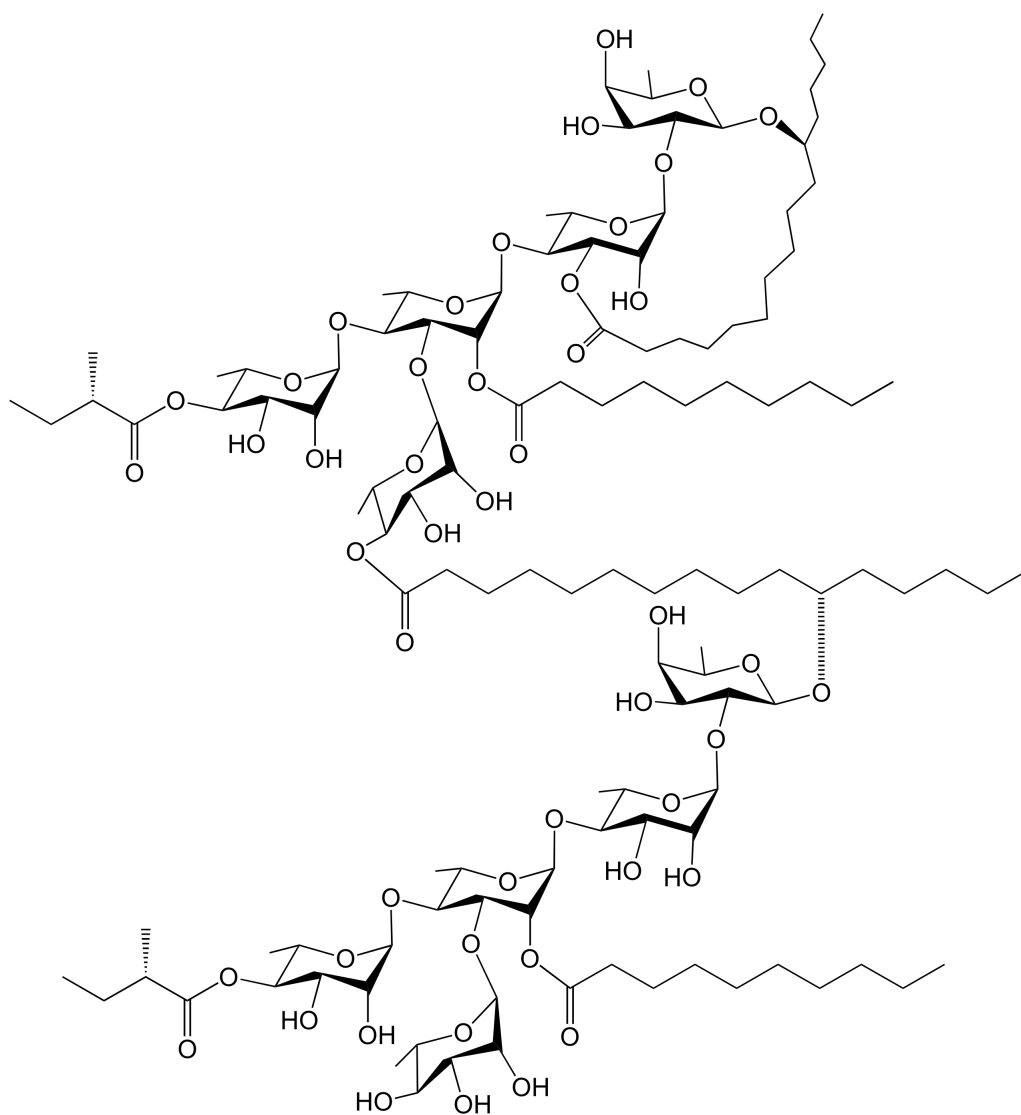


Figura 111. Estructura molecular propuesta para la **Batatina X (7)**.

7 CONCLUSIONES

La partición de las fracciones ricas en mezclas de glicolípidos en una columna C-18 a nivel preparativo, mediante la sobrecarga de columna y el corte de núcleo, se efectuó para reunir cantidades suficientes de las mezclas de menor complejidad que pudieran ser resueltas con mayor facilidad. Estas mezclas se inyectaron utilizando la técnica de reciclaje de muestra para separar y purificar sus constituyentes y realizar el estudio de elucidación estructural de las resinas glicosídicas de tres variedades del camote. Las **batatinas VII (1)** y **VIII (2)**, la **pescapreína I (3)** y el **batatinósidos VI (4)**, fueron aislados del extracto soluble en hexano de la variedad de cáscara blanca, mientras que las **batatinas V (5)**, **VI (6)**, **X (7)** y **XI (8)** fueron obtenidas del extracto soluble en cloroformo de la variedad de cáscara morada. La serie de los **batatinósidos IV (13)**, **VII (10)**, **VIII (11)** y **IX (14)**, así como la **batatina IX (12)** y la **pescapreína I (9)** fueron aislados del extracto soluble en cloroformo de la variedad de cáscara amarilla. El éxito en la purificación de estos constituyentes ha dependido exclusivamente del empleo de la cromatografía de líquidos de alta eficacia, ya que éstos se presentaron en forma de mezclas diastereoisoméricas, dificultando su purificación mediante el empleo de las técnicas cromatográficas convencionales.

El análisis de los espectros unidimensionales de RMN ^1H y ^{13}C y bidimensionales (COSY, TOCSY, HSQC y HMBC) fue de gran utilidad para la elucidación estructural de los glicolípidos individuales purificados. El procedimiento de asignación de las resonancias se realizó iniciando con la localización de las señales mejor resueltas y diagnósticas las cuales son las señales generadas por los protones y carbonos anoméricos de las unidades monosacáridas. En la región entre 4.7 y 6.4 ppm de los espectros de RMN ^1H se observan las señales generadas por los protones de las unidades monosacáridos, así como las señales que aportan las posiciones de esterificación y lactonización. Los desplazamientos químicos alrededor de 98-106 ppm en el espectro de ^{13}C correspondientes a los carbonos anoméricos, asistido con el HSQC, permitieron establecer el número de unidades monosacáridas presentes en los compuestos. Con el análisis de las técnicas bidimensionales homonucleares en la RMN (COSY y TOCSY), se resolvieron las asignaciones de las señales para los metinos entre 4.0-5.7 ppm para cada unidad monosacárida.

Después de identificar y diferenciar las señales aportadas por los protones de cada unidad monosacárida en la RMN ^1H , por medio de los experimentos COSY y TOCSY, se completó la asignación de las señales de RMN ^{13}C mediante la técnica HSQC. Finalmente, la técnica espectroscópica de RMN bidimensional HMBC permitió la asignación de la secuencia de glicosidación y los sitios de acilación, mediante el estudio de los acoplamientos ^1H - ^{13}C a larga distancia ($^2,3J_{\text{C-H}}$). La primera evidencia para confirmar que las **batatinas V-XI** poseen una estructura polimérica fue la identificación de las señales en la región de desplazamiento químico comprendida entre los 95 y 105 ppm en la RMN ^{13}C . Se demostró mediante el espectro HSQC que estas señales se correlacionan exactamente con el mismo número de protones anoméricos en la RMN ^1H .

Los espectros de masas FAB (modo negativo) permitieron determinar los pesos moleculares y con ello la fórmula molecular, además de que en cada uno de los espectros se observaron los picos comunes provocados por las rupturas de los enlaces glicosídicos. Al analizar las diferencias de peso que hay entre cada uno de los iones pseudomoleculares $[\text{M} - \text{H}]^-$ y los fragmentos de mayor peso formados por las eliminaciones de los grupos acilos se establecieron sus respectivos sustituyentes. Este análisis permitió determinar que los **batatinósidos VI, VII y IX** contienen al ácido pentasacárido operculínico A, y con respecto a los **batatinósidos IV, VIII** y la **pescapreína I** contienen al ácido pentasacárido simónico B, lo cual se confirmó con la técnica de ionización MALDI-TOF.

La elucidación estructural de las **batatinas V-XI** se facilitó en gran medida con el empleo del análisis espectrométrico. Además de los fragmentos producidos por la ruptura de los enlaces glicosídicos, los espectros de masas FAB (modo negativo) indican la presencia de dos fragmentos diagnósticos que evidencian claramente la conexión entre dos unidades oligosacáridas. El análisis espectrométrico de las **batatinas V-XI** se llevó a cabo con dos técnicas de ionización; ESI y FAB con detección de iones negativos, lo que permitió confirmar los pesos moleculares y con ello la fórmula molecular.

El trabajo experimental realizado permitió la elucidación estructural de once nuevos oligómeros, los **batatinósidos VI-IX** y las **batatina V-XI**, dímeros tipo éster, así como los

glicolípidos ya reportados, la **pescapreína I** y el **batatinósido IV**. La **pescapreína I** se caracterizo en las variedades del camote de cáscara blanca y amarilla.

Las estructuras de los **batatinósidos VI (4)**, **VII (10)** y **IX (14)** no han sido descritos en la literatura y las principales diferencias estructurales son la posición de lactonización y la longitud de la cadena alifática del ácido que esterifica al núcleo oligosacárido ya que la posición de esterificación es la misma. El **batatinósidos IV (13)** y la **pescapreína I** fueron previamente asilados de *Ipomoea batatas*¹⁰ y de *Ipomoea pes-caprae*,²⁸ respectivamente.²⁸ El **batatinósido VIII (11)** también constituye un nuevo producto natural y la principal diferencia estructural de los **batatinósidos IV** y **VIII** es la posición de esterificación para el residuo de ácido 2-metilbutanoilo. Los **batatinósidos IV (13)** y **VIII (11)** están esterificados en C-2 de la ramnosa externa superior (Ram') por el ácido *n*-dodecanoilo, además se establece la posición de lactonización entre el núcleo C-1 de la aglicona con el hidroxilo en C-3 de la ramnosa interna inferior (Ram). Las estructuras diméricas de las **batatinas V-XI** no han sido descrito en la literatura.

El aislamiento y la caracterización estructural de las **batatinas V-VI**, oligómeros tipo éster del ácido operculínico C, a partir del extracto clorofórmico de la variedad morada, así como del **batatinósido VI**, pentasacárido del ácido operculínico A, a partir del extracto hexánico de la variedad blanca, se describieron en dos artículos de investigación.

El aislamiento y la caracterización estructural de las **batatinas VII-XI**, cinco oligómeros tipo éster del ácido simónico B, a partir del extracto hexánico de la variedad blanca y del extracto clorofórmico de las variedades morada y amarilla, así como de los **batatinósidos VII-IX**, tres pentasacáridos de los ácidos simónico B y operculínico A, a partir del extracto clorofórmico de la variedad amarilla, permitirán la publicación de dos artículos de investigación adicionales.

8 BIBLIOGRAFÍA

1. Pereda-Miranda R, Mata R, Anaya AL, Wickramaratne DB, Pezzuto JM, Kinghorn AD (1993). Tricolorin A, major phytochemical inhibitor from *Ipomoea tricolor*. J Nat Prod 56, 571-582.
2. Pereda-Miranda R, Rosas-Ramírez D, Castañeda-Gómez J (2010). Resin Glycosides from the Morning Glory Family. En: Kinghorn D, Falk H, Kobayashi J (eds.) Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. Springer: New York, Vol. 92, p 77-152.
3. Rencurosi A, Mitchell EP, Cioci G, Pérez S, Pereda-Miranda R, Imberty A (2004). Crystal structure of tricolorin A: molecular rationale for the biological properties of resin glycosides found in some Mexican herbal remedies. Angewandte Chemie Int. Ed. 43 (44).
4. Pereda-Miranda R, Bah M (2003). Biodynamic constituents in the Mexican morning glories: purgative remedies transcending boundaries. Current Topics in Medicinal Chemistry 3, 111-131.
5. Pereda-Miranda R, Kaatz GW, Gibbons S (2006). Polyacylated oligosaccharides from medicinal Mexican morning glory species as antibacterials and inhibitors of multidrug resistance in *Staphylococcus aureus*. J Nat Prod 69, 406-409.
6. Chérigo L, Pereda-Miranda R, Fragoso-Serrano M, Jacobo-Herrera N, Kaatz GW, Gibbons S (2008). Inhibitors of bacterial multidrug efflux pumps from the resin glycosides of *Ipomoea murucoides*. J Nat Prod 71, 1037-1045.
7. Yoshikawa K, Yagi C, Hama H, Tanaka M, Arihara S, Hashimoto T (2010). Ipomotaosides A-D, resin glycosides from the aerial parts of *Ipomoea batatas* and their inhibitory activity against COX-1 and COX-2. J Nat Prod 73, 1763-1766.
8. Noda N, Kogetsu H, Miyahara K, Kawasaki T (1992). Resin glycosides. XV. Simonins I-V, ether-soluble resin glycosides (jalapins) from the roots of *Ipomoea batatas* (cv. Simon). Chem Pharm Bull 40, 3163-3168.
9. Linares E, Bye R, Rosas-Ramírez D, Pereda-Miranda, R (2008). El camote. CONABIO. Biodiversitas 81, 11-15.
10. Escalante-Sánchez E, Rosas-Ramírez D, Linares E, Bye R, Pereda-Miranda R (2008). Batatinosides II-VI, Acylated Lipooligosaccharides from the Resin Glycosides of Sweet Potato. J Agric Food Chem 56, 9423-9428.

11. Escalante-Sánchez E, Pereda-Miranda R (2007). Batatins I and II, ester-type dimers of acylated pentasaccharides from the resin glycosides of sweet potato. *J Nat Prod* 70, 1029–1034.
12. Yin Y, Li Y, Kong L (2008). Pentasaccharide glycosides from the tubers of sweet potato (*Ipomoea batatas*). *J Agric Food Chem* 56 (7), 2363–2368.
13. Noda N, Horiuchi Y (2008). The Resin Glycosides from the Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L. LAM.). *Chem Pharm Bull.* 56(11), 1607-1610.
14. Yong-Qin Y, Xue-Feng Ha Ling-Yi K, Masatake N (2008). Three New Pentasaccharide Resin Glycosides from the Roots of Sweet Potato (*Ipomoea batatas*). *Chem Pharm Bull* 56 (12), 1670-1674.
15. Yong-Qin Y, Ling-Yi K (2008). Ether-soluble resin glycosides from the roots of *Ipomoea batatas*. *Journal of Asian Natural Products Research* 10 (3), 233–238.
16. Yongqin Y, Yi L, Lingyi K (2008). Pentasaccharide Glycosides from the Tubers of Sweet Potato (*Ipomoea batatas*). *J Agric Food Chem* 56 (7), 2363–2368.
17. YongQin Y, Jun-Song W, Jian-Guang L, Ling-Yi K (2009). Novel acylated lipopoligosaccharides from the tubers of *Ipomoea batatas*. *Carbohydrate Research* 344, 466–473.
18. Rosas-Ramírez D, Escalante-Sánchez E, Pereda-Miranda R (2011). Batatins III–VI, glycolipid ester-type dimers from *Ipomoea batatas*. *Phytochemistry* 72, 773–780.
19. Pereda-Miranda R, Hernández-Carlos B (2002). HPLC isolation and structural elucidation of diastereoisomeric niloyl ester tetrasaccharides from the Mexican scammony root. *Tetrahedron* 58, 3145-3154.
20. Kubo I, Nakatsu T (1990). Recent examples of preparative-scale recycling high performance liquid chromatography in natural products chemistry. *LC-CG*, 8, 933-939.
21. Schultes RE, Hofmann A (1979). Plantas de los Dioses. Las fuerzas mágicas de las plantas alucinógenas. Fondo de Cultura Económica, México.
22. Freedland C, Mansbach R (1999). Behavioral profile of constituents in ayahuasca, an Amazonian psychoactive plant mixture. *Drug and Alcohol Dependence* 54(3), 183-194.
23. Hashimoto Y, Kawanishi K (1975) New organic bases from amazonian *Banisteriopsis caapi*. *Phytochemistry* 14 (7), 1633-1635.

24. Halpern J (2004). Hallucinogens and dissociative agents naturally growing in the United States, *Pharmacology & Therapeutics* 102 (2), 131-138.
25. Castañeda-Gómez J, Pereda-Miranda R (2011). Resin Glycosides from the Herbal Drug Jalap (*Ipomoea purga*). *J Nat Prod* 74 (5), 1148-1153.
26. Hernández F (1959). Historia de las plantas de la Nueva España. En: Obras Completas. Universidad Nacional Autónoma de México. Imprenta Universitaria. México D.F. Vol. 2, 227-229.
27. McDonald A (1991) Origin and diversity of Mexican Convolvulacea. *Anales Inst. Biol. Univ. Autón. México, Sec. Bot.* 62, 65-82.
28. Pereda-Miranda R, Escalante-Sánchez E, Escobedo-Martínez C (2005). Characterization of lipophilic pentasaccharides from beach morning glory (*Ipomoea pes-caprae*). *J Nat Prod* 68 , 226-230.
29. Chérigo L, Pereda-Miranda R (2006). Resin glycosides from the flowers of *Ipomoea murucoides*. *J Nat Prod* 69, 595-599.
30. Mabberley DJ (1989). The plant-book. Ed. 2. Cambridge.
31. McDonald JA, Mabry TJ (1992). Phylogenetic systematics of New World *Ipomoea* (*Convolvulaceae*) based on chloroplast DNA restriction site variation. *Pl Syst Evol* 180, 243-259.
32. Pereda-Miranda R, Fragoso-Serrano M, Escalante-Sánchez E, Hernández-Carlos B, Linares E, Bye R (2006). Profiling of the Resin Glycoside Content of Mexican Jalap Roots with Purgative Activity. *J Nat Prod* 69, 1460-1466.
33. Singhvi NR, Sharma KD (1984). Allelopathic effects of *Ludwigia adscendens* Linn. and *Ipomoea aquatica* Forsk on seedling growth of pearl millet (*Pennisetum typhoideum* Rich). *Trans Isdt & Ucds* 9, 95-100.
34. Villamayor FG, Perez RD (1983). Sweet potato as a weed control agent for cassava. *The Radix* 5, 10-11.
35. Noda N, Kogetsu H, Miyahara K, Kawasaki T (1992a). Scammonins VII and VIII, two resin glycosides from *Convolvulus scammonia*. *Phytochemistry* 31, 2761-2766.
36. Contreras CM, Chacón L, Enríquez RG (1996). Anticonvulsant properties of *Ipomoea stans*. *Phytomedicine* 3, 41-44.

37. Díaz JL (1976). Usos de las Plantas Medicinales de México. Monografías Científicas II. Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales, A.C., México p. 66-67.
38. Noda N, Kobayashi H, Miyahara K, Kawasaki T (1988). Resin glycosides. II. Identification and characterization of the component organic and glycosidic acids of the crude resin glycoside from the seeds of *Ipomoea muricata*. Chem Pharm Bull 36, 627-633.
39. Noda N, Kobayashi H, Miyahara K, Kawasaki T (1988). Resin glycosides. II. Isolation and structural study of the genuine resin glycosides, muricatins I-VI, from the seeds of *Ipomoea muricata*. Chem Pharm Bull 36, 920-929.
40. Trease GE, Evans WC (1988). Tratado de Farmacognosia. 12a. ed. Editorial Interamericana, México, pp. 491-492.
41. Martínez, M. (1989). Las plantas medicinales de México. 6ª ed. Editorial Botas, México, pp. 276-279.
42. Linajes Palacios JA (1991). La raíz de jalapa *Ipomoea purga* (Wender) Hayne (*Convolvulaceae*) en el municipio de Xico, Veracruz, México: sus sistemas de producción. Tesis Licenciatura. Facultad de biología. Universidad Veracruzana. México.
43. Bieber LW, Alves da Silva filho A, Correa Lima RMO, De Andrade Chiappeta A, Chiappeta A, Carneiro do Nascimento S, De Souza IA, De Mélo JF, Jurgen-Veith H (1986). Anticancer and antimicrobial glycosides from *Ipomoea bahiensis*. Phytochemistry 25, 1077-1081.
44. Pereda-Miranda R, Mata R, Anaya AL, Winckramaratne DBM, Pezuto JM, Kinhorn AD (1993). Tricolorin A, mayor phyto-growth inhibitor from *Ipomoea tricolor*. J Nat Prod 56, 571-582.
45. Roig y Mesa JT (1974). Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. Instituto del Libro. La Habana, Cuba, p. 124.
46. Díaz JL (1977). Usos de las Plantas Medicinales de México. Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales, A.C., México p. 66.
47. Singh, S. y Stacey, B.E. (1973). A new β -D-quinovoside from commercial *Ipomoea purga*. Phytochemistry 12, 1701-1705.
48. Soto Núñez JC (1987). Las plantas medicinales y su uso tradicional en la cuenca del río Balsas; estado de Michoacán y Guerrero, México. Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.

49. Tyler VE, Brady LR, Robbers JE (1988). Pharmacognosy. 9a. ed. Lea & Febiger, Filadelfia, pp. 143.
50. Wallis TE (1966). Manual de Farmacognosia. Ed. C.E.C.S.A., México, pp. 477-481.
51. González-Elizondo M (1984). Las Plantas Medicinales de Durango. Inventario básico. CIIDIR-Instituto politécnico Nacional, México, p.34.
52. Hartwell JL (1968). Plants used against cancer. A Survey. Lloydia. J Nat Prod 31, 71-170.
53. Linares E, Bye R, Flores B (1990). Tés Curativos de México. 2ª ed., Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
54. Castro Ramírez AE (1988). Estudio comparativo del conocimiento sobre plantas medicinales utilizadas por dos grupos étnicos del municipio de Pahuatlán, Puebla. San Juan Iztacala, México. Tesis Licenciatura. Escuela Nacional de Estudios Profesionales-Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.
55. Jenett-Siems K, Kaloga M, Eich E (1993). Ipangulines, the first pyrrolizidine alkaloids from the *Convolvulaceae*. Phytochemistry 34, 437-440.
56. Jenett-Siems K, Kaloga M, Eich E (1994). Ergobalansine/ergobalansinine, a proline free peptyde-type alkaloid of the fungal genus balansia is a constituent of *Ipomoea piurensis*. J Nat Prod 57, 1304-1306.
57. Jenett-Siems K, Kaloga M, Eich E (1994). Hygrines and tropanes, alkaloids of considerable importance for the chemotaxonomy of the *Convolvulaceae*. European Journal of Pharmaceutical Sciences 2, 122.
58. Molyneux RJ, McKenzie RA, O'Sullivan BM, Elbein AD (1995). Identification of the glycosides inhibitors swainsonine and calystegine B2 in Weir vine (*Ipomoea* sp. Q6 [aff calobra]) and correlation with toxicity. J Nat Prod 58, 878-886.
59. Schimmind T, Tofern B, Mann P, Richter A, Jenett-Siems K, Dräger B, Asano N, Gupta P, Correa DM, Eich E (1998). Distribution and taxonomic significance of Calystegines in the *Convolvulaceae*. Phytochemistry 49, 1989-1995.
60. Schultes RE (1941). A contribution to our knowledge of *Rivea corymbosa*, the narcotic ololiuqui of the Aztecs. Botanical Museum of Harvard University, Cambridge, Massachusetts, p. 45.
61. MacLeod JK, Ward A (1997). Structural investigation of resin glycosides from *Ipomoea lonchophylla*. J Nat Prod 60, 467-471.

62. Harborne JB (1988). Introduction to Ecological Biochemistry. 3a. ed., Academic Press, Cambridge, p. 353.
63. Osuna L, Ponce-Monter H, Campos GM, Rojas J, Meckes M (1996). Effect of *Ipomoea intrapilosa* methanol extract on the serotonergic response in rat uterus. *Phytotherapy Research* 10, 257-259.
64. Hofmann A (1963). The active principles of seeds of *Rivea corymbosa* and *Ipomoea violacea*. *Botanical museum Leaflets Harvard University* 20, 194-212.
65. Stoll A, Hofmann A (1965). The ergot alkaloids. En: R.H.F. Manske (ed.), *The Alkaloids*. Vol. 8, Academic Press, New York, pp. 725-783.
66. Der Maderosian A (1967). Hallucinogenic indole compounds from higher plants. *Lloydia. J Nat Prod* 30, 23-38.
67. Chao JM, Der Maderosian A (1973). Identification of ergoline alkaloids in the genus *Argyria* and related genera and their chemotaxonomic implications in the *Convolvulaceae*. *Phytochemistry* 12, 2435-2440.
68. Noda N, Takahashi N, Kawasaki T, Miyahara K, Hanazono H, Yang CR (1995). A Novel resin glycoside, merremine (tuguajalapine X dimer), from *Merremia hungaiensis*. *Chem Pharm Bull* 43, 1061-1063.
69. Bah M, Pereda-Miranda R (1997). Isolation and structural characterization of new glycolipid ester type dimers from the resin of *Ipomoea tricolor* (*Convolvulaceae*). *Tetrahedron* 53, 9007-9022.
70. León-Rivera I, Mirón-López G, Estrada-Soto S, Aguirre-Crespo F, Gutiérrez MC, Molina-Salinas GM, Hurtado G, Navarrete-Vázquez G, Montiel E (2009). Glycolipid ester-type heterodimers from *Ipomoea tyrianthina* and their pharmacological activity. *Bioorg Med Chem Lett* 19, 4652-4656.
71. Bah M, Pereda-Miranda R (1996). Detailed FAB-Mass spectrometry and high resolution NMR investigation of tricolorins A-E, individual oligosaccharides from the resins of *Ipomoea tricolor* (*Convolvulaceae*). *Tetrahedron* 41, 13063-13080.
72. Barnes CC, Smalley MK, Manfredi KP, Kindscher K, Loring H, Sheeley DM (2003). Characterization of an anti-tuberculosis resin glycoside from the Prairie medicinal plant *Ipomoea leptophylla*. *J Nat Prod* 66, 1457-1462.

73. Hernández-Carlos B, Bye R, Pereda-Miranda R (1999). Orizabins V-VIII, tetrasaccharide glycolipids from the mexican scammony root (*Ipomoea orizabensis*). J Nat Prod 62, 1096-1100.
74. Stavri M, Piddock LJV, Gibbons S (2007). Bacterial efflux pump inhibitors from natural sources. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 59, 1247-1260.
75. Chérigo L, Pereda-Miranda R, Gibbons S (2009). Bacterial resistance modifying tetrasaccharide agents from *Ipomoea murucoides*. Phytochemistry 70, 222-227.
76. Escobedo-Martínez C, Cruz-Morales S, Fragoso-Serrano M, Rahman MM, Gibbons S, Pereda-Miranda R (2010). Characterization of a xylose containing oligosaccharide, an inhibitor of multidrug resistance in *Staphylococcus aureus*, from *Ipomoea pes-caprae*. Phytochemistry 71, 1796-1801.
77. Corona-Castañeda B, Pereda-Miranda R (2011). Morning glory resin glycosides as modulators of antibiotic activity in multidrug-resistant Gram-negative bacteria. Planta Med. DOI: 10.1055/s-0031-1280292.
78. Pereda-Miranda R, Villatoro-Vera R, Bah M, Lorencec A (2009). Pore-forming activity of morning glory resin glycosides in model membranes. Rev Latinoamer Quím 37,2.
79. Martin FW (1988). Genetic and physiological basis for breeding and improving the sweet potato. VIIth Symposium of the International Society for Tropical Root Crops. Gosier (Gouldaloupe) 1-6 July 1985 Ed. INRA Paris. pp. 749-761.
80. Jones A (1980). Sweet potato. Hybridization of Crop Plants American Crop Science Society of America. Madison. Wisc. pp. 645-655.
81. Austin DF (1991). *Ipomoea littoralis* (Convolvulaceae) - Taxonomy, distribution and ethnobotany. Economic Botany 45, 251-256.
82. Austin DF (1978). The *Ipomoea batatas* complex. I. Taxonomy. Bull. Torrey Bot. Club 105, 114-129.
83. Pardo Tomás J, López Terrada ML (1993). Las primeras noticias sobre plantas americanas en las relaciones de viajes y crónicas de Indias (1493-1553). Instituto de Estudios Documentales sobre la Ciencia, Valencia.
84. O'Brien PJ (1972). The sweet potato: its origin and dispersal. Anthropologist 74, 343-365.
85. Montaldo P (1994). La agricultura americana durante el siglo XVI y sus antecedentes. Dirección de Investigación y Desarrollo, Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.

86. Seminario J (ed.) (2004). Raíces Andinas: Contribuciones al conocimiento y a la capacitación. Serie: Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003) No. 6. Universidad Nacional de Cajamarca, Centro Internacional de la Papa, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación. Lima, Perú, 376 p.
87. Austin DF (1988). The taxonomy, evolution and genetic diversity of sweet potatoes and related wild species. In: Exploration, maintenance and utilization of sweet potato genetic resources. Report of the First Sweet Potato Planning Conference 1987. International Potato Center, Lima, Perú. p. 27-59.
88. Yen DE (1974). The sweet potato and Oceania. Bishop Museum Bull., Honolulu. 236, 1-389.
89. Rajapakse S, Nilmalgoda S, Molnara M, Ballarda R, Austin D, Bohacc J (2004). Phylogenetic relationships of the sweet potato in *Ipomoea* series Batatas (*Convolvulaceae*) based on nuclear β -amylase gene sequences. Mol. Phylogenet. Evol. 30, 623-632.
90. Ono M, Kawasaki T, Miyahara K (1989). Resin glycosides V. Identification and characterization of the component organic and glycosidic acids of the ether-soluble crude resin glycosides ("jalapín") from rhizoma jalapae brasiliensis (roots of *Ipomoea operculata*). Chem Pharm Bull 37, 3209-3213.
91. Ono M, Kuwabata K, Kawasaki T, Miyahara K (1992). Resin glycosides XIV. Quamoclins I-IV, new ether-soluble resin glycosides (jalapín) from the seeds of *Quamoclit pennata*. Chem Pharm Bull 40, 3169 - 3173.
92. Kitagawa I, Ohashi K, In N, Sakagami M, Yoshikawa M, Shibuya H (1997) Indonesian Medinal Plants. XIX. Chemical Structures of Four Additional Resin-Glycosides, Mammosides A, B, H1 and H2, from the Tuber of *Merremia mammosa* (*Convolvulaceae*). Chem Pharm Bull 45, 786-794.
93. Noda N, Tsuji K, Miyahara K, Yang CR (1994) Resin glycosides XXI. Tuguajalapins I-X, the resin glycosides having long-chain fatty acid groups from the root of *Merremia hungaiensis*. Chem Pharm Bull 42, 2011-2016.
94. Bah M, Chérigo L, Cardoso A, Fragoso-Serrano M, Hammond B, Pereda-Miranda R (2007) Intrapilosins I-VII, Pentasaccharides from the seeds of *Ipomoea intrapilosa*. J Nat Prod 70, 1153-1157.

95. Noda N, Takahashi T, Kawasaki T, Miyahara K, Yang CR (1994). Stoloniferins I-VII, resin glycosides from *Ipomoea stolonifera*. *Phytochemistry* 36, 365.
96. Ono M, Fukuda H, Murata H, Miyahara K (2009) Resin glycosides from the leaves and stems of *Ipomoea digitata*. *J Nat Med* 63, 176.
97. Ono M, Fujimoto K, Kawata M, Fukunaga T, Kawasaki T, Miyahara K (1992) Resin glycosides. XIII. Operculins VI, XI, XII, XIII, XIV and XV, the ether-soluble resin glycosides ("Jalapin") from rhizoma jalapae brasiliensis (roots of *Ipomoea operculata*). *Chem Pharm Bull* 40, 1400.
98. Noda N, Takahashi N, Miyahara K, Yang CR (1998) Stoloniferins VIII-XII, resin glycosides from *Ipomoea stolonifera*. *Phytochemistry* 48, 837.
99. Escobedo-Martínez C, Pereda-Miranda R (2007) Resin glycosides from *Ipomoea pes-caprae*. *J Nat Prod* 70, 974.
100. Noda N, Takahashi Ono M, Fukunaga T, Kawasaki T, Miyahara K (1990) Resin glycosides VIII. Four new glycosidic acids, operculinic acids D, E, F, and G, of the ether-soluble crude resin glycosides ("Jalapin") from rhizoma jalapae brasiliensis (roots of *Ipomoea operculata*). *Chem Pharm Bull* 38, 2650.
101. Ono M, Ueguchi T, Murata H, Kawasaki T, Miyahara K (1992) Resin glycosides XVI. Marubajalapins I-VII, new ether-Soluble resin glycosides from *Pharbitis purpurea*. *Chem Pharm Bull* 40, 3169.
102. Ono M, Ueguchi T, Kawasaki T, Miyahara K (1992) Resin glycosides XVII. Marubajalapins VIII-XI, jalapins from the aerial part of *Pharbitis purpurea*. *Yakugaku Zasshi* 112, 866-872.
103. Tao H, Hao X, Liu J, Ding J, Fang Y, Gu Q, Zhu W (2008) Resin glycoside constituents of *Ipomoea pes-caprae* (Beach Morning Glory). *J Nat Prod* 71, 1998-2004.
104. Duus JØ, Gotfredsen H, Block K (2000). Carbohydrate structural determination by NMR spectroscopy: modern methods and limitations. *Chemical Reviews* 100, 4589-4614.
105. Du XM, Kohinata K, Kawasaki T, Guo YT, Miyahara K (1998) Resin glycosides XXVI. Components of the ether-insoluble glycoside-like fraction from *Cuscuta chinensis*. *Phytochemistry* 48, 843.
106. Du XM, Sun NY, Nishi M, Kawasaki T, Guo Y-T, Miyahara K (1999). Components of the ether-insoluble resin glycoside fraction from the seed of *Cuscuta australis*. *J Nat Prod* 62, 722.

107. Imberty A, Pérez S (2000). Structure, conformation, and dynamics of bioactive oligosaccharides: theoretical approaches and experimental validations. *Chemical Reviews* 100, 4567-4588.
108. Wormald MR, Petrescu AJ, Pao YL, Glithero A, Elliott T, Dwek RA (2002). Conformational studies of oligosaccharides and glycopeptides: complementarity of NMR, X-ray crystallography and molecular modelling. *Chemical Reviews* 102, 371-386.
109. Agrawal PK, Pathak AK (1996). Nuclear magnetic resonance spectroscopic approaches for the determination of interglycosidic linkage and sequence in oligosaccharides. *Phytochemical análisis* 7, 113-130.
110. Lie Ken Jie MSF, Mustafa J (1997). High-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy. Applications to fatty acids and triacylglycerols. *Lipids* 32, 1019-1034.

9 APÉNDICE

9.1 PUBLICACIONES:

- **Rosas-Ramírez D**, Escalante-Sánchez E, Pereda-Miranda R (2011). Batatins III–VI, glycolipid ester-type dimers from *Ipomoea batatas*. *Phytochemistry* 72, 773–780.
- Pereda-Miranda R, **Rosas-Ramírez D**, Castañeda-Gómez J (2010). Resin Glycosides from the Morning Glory Family. En: Kinghorn D, Falk H, Kobayashi J (eds.) *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*. Springer: New York, Vol. **92**, p 77-152.
- Escalante-Sánchez E, **Rosas-Ramírez D**, Linares E, Bye R, Pereda-Miranda R (2008). Batatinosides II–VI, Acylated Lipooligosaccharides from the Resin Glycosides of Sweet Potato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 9423–9428.
- Linares E, Bye R, **Rosas-Ramírez D**, Pereda-Miranda R (2008). El camote. *CONABIO. Biodiversitas* 81, 11-15.
- **Rosas-Ramírez D** and Pereda-Miranda R. Batatinosides VII-IX, Penta-oligosaccharides from the Sweet Potato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. En preparación.
- **Rosas-Ramírez D** and Pereda-Miranda R. Batatins VII-XI, lipo-oligosaccharide ester-type dimers from the Sweet Potato. *Journal of Natural Products*. En preparación.

9.2 PRESENTACIONES EN CONGRESOS:

- Batatins III-VI, glycolipid ester-type dimers from sweet potato. (*Ipomoea batatas*). **Daniel Rosas-Ramírez** and Rogelio Pereda-Miranda. En: The 52nd Annual Meeting of the American Society of Pharmacognosy. San Diego, California, USA, 2011.
- Five novels oligosaccharides from sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) LAM). **Daniel Rosas-Ramírez**, Edgar Escalante-Sánchez and Rogelio Pereda-Miranda. En: 7th Joint Meeting of AFERP and American Society of Pharmacognosy, GA, PSE & SIF. Atenas, Grecia, 2008.



Batatins III–VI, glycolipid ester-type dimers from *Ipomoea batatas*

Daniel Rosas-Ramírez, Edgar Escalante-Sánchez, Rogelio Pereda-Miranda *

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

ARTICLE INFO

Article history:

Received 27 November 2010

Received in revised form 18 January 2011

Available online 29 March 2011

Keywords:

Sweet potato

Ipomoea batatas

Convolvulaceae

Ester-type oligomer

Glycolipid

Resin glycoside

Structural spectroscopy

Tetrasaccharide

ABSTRACT

Batatins III–VI (1–4), glycolipid ester-type dimers, were isolated from the tuberous roots of sweet potato (*Ipomoea batatas*) using recycle high performance liquid chromatography. Their structures were characterized by means of several high-resolution NMR and mass spectrometry techniques. These compounds are the first examples of ester-type dimers which consist of two units of the heterotetrasaccharide operculinic acid C. Each unit was esterified by a different amount and type of acid residues: (2S)-methylbutanoic, cinnamic, decanoic (capric) and dodecanoic (lauric) acids. Batatins III–VI (1–4) are an example of the presence of a large number of resin glycoside congeners in each morning glory species caused by partial acylation of their constitutive saccharide cores.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The functional diversity of monosaccharides presents the possibility of generating countless constitutional and stereochemical variations (diastereoisomers) on their covalent combination to form complex carbohydrates, as found in the chemical diversity of morning glory resin glycosides (Pereda-Miranda et al., 2010). Most of these oligosaccharides are glycosyl derivatives of (11S)-hydroxyhexadecanoic acid. Their sugar cores are composed by a heteropolysaccharide of only a few residues of D-glucose and/or epimers of pentoses (L-rhamnose, D-fucose, D-quinovose, and D-xylose). The structural complexity of these glycolipids primarily arises from the variable linkage positions among the saccharide units, the size of the macrolactone ring formed by the aglycone spanning two or more units of their oligosaccharide cores, and the multiple variations caused by acylation of the sugar cores (Pereda-Miranda et al., 2010). This chemical diversity makes it extremely difficult to access homogeneous quantities of oligosaccharides for structural identification. Consequently, the methodological approaches to achieve total homogeneity of oligosaccharides based on recycle HPLC offers the unique opportunity to have a series of pure oligosaccharides for spectroscopic and spectrometric characterization (Bah and Pereda-Miranda, 1997; Pereda-Miranda and Hernández-Carlos, 2002).

Polar members of the resin glycosides possess high molecular weights as a result of being ester-type polymers of glycolipids. Prior to this investigation, only eight ester-type dimers from only four different members of the morning-glory family (Convolvulaceae) had been isolated. Merremmin was obtained from the roots of *Merremia hungaiensis* and is the first example of an ester-type heterodimer which consists of two units of the pentasaccharide operculinic acid A, each one esterified by two residues of hexadecanoic (palmitic) acid (Noda et al., 1995). Tricolorins H–J, three ester-type heterohexasaccharides, were purified from *Ipomoea tricolor* and consisting of two trisaccharide units of tricoloric acid C with a difference in the position for the ester-type linkage. Only tricolorin H was acylated in the macrocyclic unit by (2S)-methylbutanoic acid (Bah and Pereda-Miranda, 1997). Tyrianthins A and B, two acylated ester-type dimers, were isolated from *Ipomoea orizabensis*. Scammonic acid A was determined to be the heterotetraglycosidic acid in both monomeric units and the esterifying residues were identified as nilic, 2-methylbutanoic, and butanoic acids (León-Rivera et al., 2009).

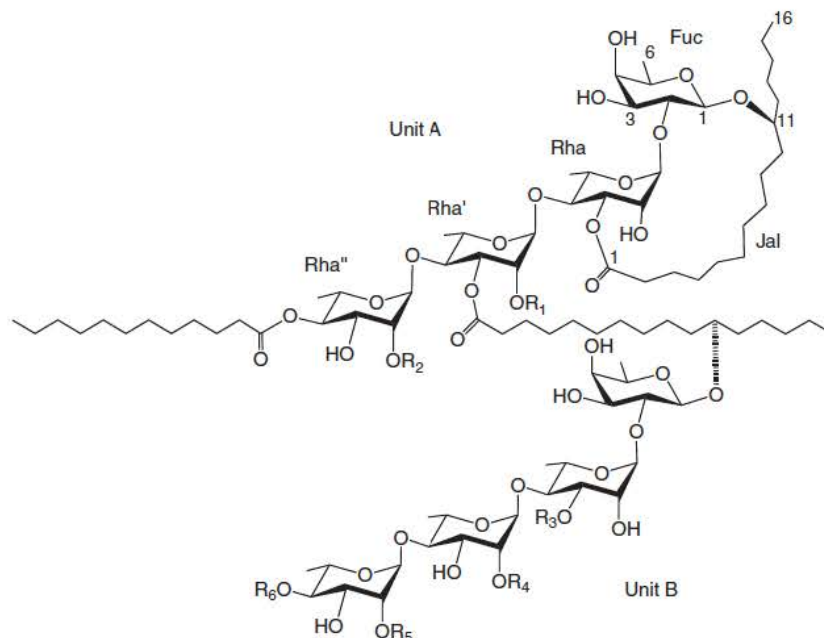
Native to tropical America, sweet potato (*Ipomoea batatas*) is a perennial vine that has been cultivated in Mexico, Central and lowland South America, and the Caribbean for over 5000 years because of its edible tubers. Today, it is cultivated around the world, especially in developing countries as a staple food, but also for its uses in folk remedies (Escalante-Sánchez et al., 2008). Batatins I–II were acylated ester-type dimers isolated from hexane-soluble extracts of the tuberous roots of this crop. Simonic acid B was confirmed as the glycosidic acid forming each of the two branched heteropentasaccharide units. Three acylating residues responsible for

* Corresponding author. Tel.: +52 55 5622 5288; fax +52 55 5622 5329.

E-mail addresses: pereda@unam.mx, pereda@prodigy.net.mx (R. Pereda-Miranda).

the lipophilicity of these high molecular weight oligomers were identified as (2*S*)-methylbutanoic, cinnamic, and dodecanoic (lauric) acids (Escalante-Sánchez and Pereda-Miranda, 2007). The present investigation describes the isolation and characterization of four novel ester-type dimers of the tetrasaccharide operculinic acid C and named batatins III–VI (1–4).

tified by comparison with authentic samples as previously described (Chérigo et al., 2008; Escobedo-Martínez et al., 2010; Pereda-Miranda et al., 2006). From compounds 1 and 2, two peaks were detected: *n*-decanoic (deca) and *n*-dodecanoic (dodeca) acids; compounds 3 and 4 afforded three peaks: 2-methylbutanoic (mba), cinnamic (CA), and *n*-dodecanoic acids.



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
1	H	H	deca	dodeca	H	deca
2	H	H	deca	dodeca	H	dodeca
3	mba	CA	H	mba	CA	dodeca

2. Results and discussion

Batatins III (1) and IV (2) were isolated by recycle-preparative HPLC from a hexane-soluble resin glycoside mixture of the white-skinned cultivar, while the members V (3) and VI (4) of this series were obtained from a chloroform-soluble extract of the purple-skinned variety. Compounds 1–4 were submitted to saponification and yielded a water-soluble glycosidic acid and an organic solvent-soluble acidic fraction. In all cases, the glycosidic acid was characterized as operculinic acid C, hexadecanoic acid (11*S*)-[O-6-deoxy- α -L-mannopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O-6-deoxy- α -L-mannopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O-6-deoxy- α -L-mannopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-6-deoxy- β -D-galactopyranosyl]oxy. The sequence of glycosidation for this isolated glycosidic acid and the absolute configuration for its sugar core and aglycone have been extensively reported. This glycosidic acid was originally isolated from the resin glycosides of *Ipomoea operculata* (Ono et al., 1989) and named mammoside I after its isolation from *Merremia mammosa* (Kitagawa et al., 1997). It has also been isolated from the resin glycosides of *I. batatas* (Escalante-Sánchez et al., 2008; Noda et al., 1992; Noda and Horiuchi, 2008; Yoshikawa et al., 2010), *Ipomoea murucoides* (Chérigo et al., 2009), *I. operculata* (Ono et al., 1992), *Ipomoea pes-caprae* (Escobedo-Martínez and Pereda-Miranda, 2007), and *Ipomoea stolonifera* (Noda et al., 1998). The organic-solvent soluble fractions were analyzed by GC–MS and the liberated acids were identified by comparison with authentic samples as previously described (Chérigo et al., 2008; Escobedo-Martínez et al., 2010; Pereda-Miranda et al., 2006). From compounds 1 and 2, two peaks were detected: *n*-decanoic (deca) and *n*-dodecanoic (dodeca) acids; compounds 3 and 4 afforded three peaks: 2-methylbutanoic (mba), cinnamic (CA), and *n*-dodecanoic acids.

In the negative ESIMS, batatins III (1) and IV (2) showed the same iodine adduct at m/z 2477 $[M+I]^-$. HRESIMS registered the exact mass at m/z 2348.5427 for the quasimolecular ion $[M-H]^-$ of 1 (calcd for $C_{124}H_{219}O_{40}$ –13.8 ppm) and at m/z 2348.5467 for the ion of 2 (calcd for $C_{124}H_{219}O_{40}$ –15.5 ppm), which corroborated that these natural compounds represent a pair of diastereoisomers. They shared the same high-mass fragment ions at m/z 1019 [macrocyclic unit A] $^-$ and 1173 [unit B–H–C₁₀H₁₈O] $^-$, resulting from the cleavage of an ester-type dimer linkage. These peaks confirmed an asymmetric substitution pattern for each tetrasaccharide core (Bah and Pereda-Miranda, 1997; Escalante-Sánchez and Pereda-Miranda, 2007). Negative-ion FABMS was successful in detecting the fragment ion for intact monomeric unit B at m/z 1329, allowing for the exact mass estimation of a triacylated operculinic acid C by observing the ester elimination at 991 $[1173-C_{12}H_{22}O]^-$ and 837 $[991-C_{10}H_{18}O]^-$. Other shared fragments were produced by the common glycosidic cleavage of the sugar moieties observed in all resin glycosides (Escalante-Sánchez et al., 2008; Kitagawa et al., 1997; Pereda-Miranda et al., 2005). For example, peaks resulting from cleavage of the anomeric linkage at the four methylpentose moiety (Rha'') in each pentasaccharide (units A and B) were observed in secondary ion mass spectroscopy at m/z 329 $[C_6H_{10}O_4+C_{12}H_{23}O]^-$ and 301 $[C_6H_{10}O_4+C_{10}H_{19}O]^-$ for compound 1 and suggested that this monosaccharide was substituted either by a decanoyl or dodecanoyl residue. In contrast, dimer 2 only

showed the fragment at m/z 329 as an evidence for the presence of a dodecanoyl moiety at the Rha'' residue of each pentasaccharide core.

In negative HRESIMS, batatins V (3) and VI (4) produced their quasimolecular ion $[M-H]^-$ at m/z 2468.4040 (calcd for $C_{132}H_{211}O_{42} + 13.5$ ppm) and at m/z 2368.4256 (calcd for $C_{132}H_{211}O_{42} + 4.8$ ppm), respectively, which corroborated that these compounds represent a pair of diastereoisomers. In negative-mode FABMS, the $[M/2-H]^-$ peak observed at m/z 1235 $[M-H-C_{66}H_{108}O_{21}]^-$ represented the high-mass fragment ion from the ester-type dimer cleavage (Escalante-Sánchez and Pereda-Miranda, 2007). Other shared fragments were produced by the ester eliminations observed at m/z 2368 $[2470-C_5H_8O_2]^-$ and m/z 2339 $[2470-C_9H_6O]^-$ (Escalante-Sánchez et al., 2008).

A combination of 1H NMR spectra and 2D homonuclear techniques (DQF-COSY and TOCSY) allowed all C-bonded protons to be sequentially assigned within each ring system. For these compounds, edited 1H NMR sub-spectra assigned all resonances in both monomeric units (Bah and Pereda-Miranda, 1997; Pereda-Miranda and Bah, 2003). Coupling constants for proton resonances were simulated for all resonances (Tables 1 and 2) by means of non-linear fit of the 1H NMR spectrum through an iterative process using the MestRe-C program as previously described (Escobedo-Martínez and Pereda-Miranda, 2007; Mendoza-Espinoza et al., 2009).

All the resonances in the ^{13}C NMR spectrum were assigned (Table 3) by HSQC (Duus et al., 2000). Eight diagnostic carbon

signals in the anomeric region (ca. 100–104 ppm) were registered and correlated with the same number of proton resonances observed in the downfield region δ 4.78–6.38 (Tables 1 and 2) for all compounds 1–4. Expansion of the COSY spectrum for the region δ 4.3–5.9 showed that compounds 1 and 2 present six sites of esterification and compounds 3 and 4 have eight. HMBC was used to locate the ester residues on each monomeric unit, the lactonization on unit A, and the linkage formed by the ester-type dimer structure (Bah and Pereda-Miranda, 1997; Escalante-Sánchez and Pereda-Miranda, 2007). For compounds 1–3, the carbonyl signal centred at δ 174.5–174.8 was assigned to the lactone group because of its observed 2J -coupling with the C-2 diastereotopic methylene protons of the aglycon unit (δ_H 2.13–2.17 and 2.24–2.27). The site of lactonization on unit A was corroborated at C-3 of the second monosaccharide unit (Rha, unit A) because of the observed 3J -coupling between this lactone carbonyl group and its geminal proton (δ_H 5.57–5.58) in the pyranose ring. For compound 4, the lactonization was corroborated at C-2 of the second monosaccharide unit (Rha, unit A) by the observed 3J -coupling between this carbonyl group (δ 174) and its geminal proton (δ_H 5.96) in the saccharide core. In batatins III–VI (1–4), the position for the ester linkage established by the acyclic unit B at the macrocyclic unit A was identified by the $^3J_{CH}$ connectivity between the carbonyl group for the ester (δ_C 174.1–174.4; unit B) and H-3 of the Rha' moiety (δ_H 5.67–5.68 unit A). For compounds 1 and 2, the *n*-dodecanoic group in unit A (δ_{C-1} 173.4–173.5) was located at C-4 of Rha'' (δ_H 5.80);

Table 1

1H NMR spectroscopic data of compounds 1 and 2 (500 MHz).^a

Proton ^b	1		2	
	Unit A	Unit B	Unit A	Unit B
Fuc-1	4.78 d (8.0)	4.79 d (7.5)	4.78 d (8.0)	4.79 d (8.0)
2	4.53 dd (9.5, 8.0)	4.54 dd (9.5, 7.5)	4.52 dd (9.5, 8.0)	4.54 dd (9.5, 8.0)
3	4.18 dd (9.5, 3.0)	4.18 dd (9.5, 2.0)	4.19 dd (9.5, 3.5)	4.19 dd (9.5, 3.0)
4	3.92 d (3.0)	3.92 d (2.0)	3.92 d (3.5)	3.92 d (3.0)
5	3.82 q (6.0)	3.82 d (6.0)	3.82 d (6.5)	3.82 d (6.0)
6	1.52 d (6.0)	1.52 d (6.0)	1.52 d (6.5)	1.52 d (6.0)
Rha-1	6.36 d (2.0)	5.89 d (1.5)	6.36 d (1.5)	5.89 d (1.5)
2	5.27 bs	4.71 bs	5.28 bs	4.71 bs
3	5.58 dd (9.7, 3.0)	5.72 dd (9.8, 3.3)	5.58 dd (9.8, 3.0)	5.72 dd (9.5, 2.5)
4	4.58 dd (9.7, 9.7)	4.56 dd (9.8, 9.8)	4.58 dd (9.8, 9.8)	4.56 dd (9.5, 9.5)
5	5.00 dq (9.7, 6.3)	4.40 dq (9.8, 6.0)	5.01 dq (9.8, 6.3)	4.40 dq (9.5, 6.0)
6	1.59 d (6.3)	1.58 d (6.0)	1.59 d (6.3)	1.58 d (6.0)
Rha'-1	6.38 d (1.5)	5.55 d (1.3)	6.38 d (2.0)	5.55 d (1.5)
2	5.25 bs	5.78 dd (3.0, 1.3)	5.26 bs	5.78 dd (2.0, 1.5)
3	5.67 dd (9.8, 3.0)	4.59 dd (9.4, 3.0)	5.67 dd (9.5, 2.5)	4.59 dd (9.5, 2.0)
4	4.71 dd (9.8, 9.8)	4.25 dd (9.4, 9.4)	4.71 dd (9.5, 9.5)	4.26 dd (9.5, 9.5)
5	5.08 dq (9.8, 6.3)	4.35 dq (9.4, 6.0)	5.09 dq (9.5, 6.3)	4.36 dq (9.5, 6.5)
6	1.59 d (6.3)	1.67 d (6.0)	1.59 d (6.3)	1.67 d (6.5)
Rha''-1	5.69 d (1.5)	6.17 d (1.5)	5.69 d (1.5)	6.17 d (1.0)
2	4.48 dd (3.0, 1.5)	4.78 bs	4.49 bs	4.78 bs
3	4.43 dd (9.5, 3.0)	4.53 dd (9.5, 3.0)	4.43 dd (9.5, 3.0)	4.53 dd (9.5, 3.2)
4	5.80 dd (9.5, 9.5)	5.84 dd (9.5, 9.5)	5.80 dd (9.5, 9.5)	5.84 dd (9.5, 9.5)
5	4.31 dq (9.5, 6.0)	4.41 dq (9.5, 6.0)	4.31 dq (9.5, 6.0)	4.41 dq (9.5, 6.0)
6	1.38 d (6.0)	1.47 d (6.0)	1.38 d (6.0)	1.47 d (6.0)
Jal-2a	2.10–2.6*	2.10–2.6*	2.10–2.6*	2.10–2.6*
2b	2.70 ddd (14.0, 7.0, 2.5)	2.10–2.6*	2.27 ddd (14.0, 8.5, 3.5)	2.10–2.6*
11	3.84–3.86*	3.84–3.86*	3.84–3.86*	3.84–3.86*
16	1.00 t (7.5)**	1.02 t (7.0)**	1.00 t (7.5)**	1.02 t (7.0)**
Deca-2		2.10–2.6*		2.10–2.6*
10		0.861 t (7.5)		0.862 t (7.5)
Deca-2		2.10–2.6*		2.10–2.6*
10	0.874 t (7.0)	0.859 t (7.0)**		0.860 t (7.0)**
Dodeca-2		2.10–2.6*	2.10–2.6*	2.10–2.6*
12		0.876 t (7.0)**	0.873 t (7.0)**	0.871 t (7.0)**

^a Data recorded in C_5D_5N . Chemical shifts (δ) are in ppm relative to TMS. The spin coupling (J) is given in parenthesis (Hz). Chemical shifts marked with an asterisk (*) indicate overlapped signals and those marked with a double asterisk (**) indicate interchangeable signals. Spin-coupled patterns are designated as follows: bs = broad singlet, d = doublet, t = triplet, m = multiplet, q = quartet, sept = septet. All assignments are based on 1H – 1H COSY and TOCSY experiments.

^b Abbreviations: Fuc = fucose, Rha = rhamnose, Jal = 11-hydroxyhexadecanovl, deca = decanovl, dodeca = dodecanovl.

Table 2

¹H NMR spectroscopic data of compounds **3** and **4** (500 MHz).^a

Proton ^b	3		4	
	Unit A	Unit B	Unit A	Unit B
Fuc-1	4.77 d (8.0)	4.78 d (7.8)	4.85 d (8.0)	4.87 d (7.7)
2	4.53 dd (9.5, 8.0)	4.55 dd (9.5, 7.8)	4.17 dd (9.5, 8.0)	4.53 dd (9.5, 7.7)
3	4.17 dd (9.5, 3.5)	4.18 dd (9.5, 3.5)	4.07 dd (9.5, 2.5)	4.17 dd (9.5, 2.5)
4	3.89*	3.89*	3.96 d (2.5)	3.96 d (2.5)
5	3.79 q (6.0)	3.81 q (6.0)	3.84 q (6.1)	3.84 q (6.2)
6	1.50 d (6.0)	1.52 d (6.0)	1.58 d (6.1)	1.61 d (6.2)
Rha-1	6.35 bs	5.89 bs	5.66 bs	5.90 bs
2	5.28 bs	4.71 bs	5.96 bs	4.70 bs
3	5.57 dd (9.6, 3.0)	5.72 dd (9.7, 3.3)	5.04 dd (9.0, 3.3)	5.73 dd (9.5, 2.5)
4	4.59 dd (9.6, 9.6)	4.56 dd (9.7, 9.7)	4.58 dd (9.5, 9.5)	4.53 dd (9.5, 9.5)
5	5.01 dq (9.6, 6.0)	4.40 dq (9.7, 6.0)	5.04 dq (9.5, 6.0)	4.40 dq (9.5, 6.0)
6	1.58 d (6.0)	1.57 d (6.0)	1.64 d (6.0)	1.63 d (6.0)
Rha'-1	6.37 bs	5.55 bs	6.37 bs	5.55 bs
2	6.45 bs	6.45 dd (3.0, 1.3)	6.46 bs	6.46 bs
3	5.68 dd (9.8, 3.0)	4.59 dd (9.4, 3.0)	5.68 dd (9.5, 2.5)	4.60 dd (9.5, 2.0)
4	4.71 dd (9.8, 9.8)	4.25 dd (9.4, 9.4)	4.70 dd (9.5, 9.5)	4.23 dd (9.5, 9.5)
5	5.07 dq (9.8, 6.3)	4.35 dq (9.4, 6.0)	5.04 dq (9.5, 6.5)	4.34 dq (9.5, 6.5)
6	1.60 d (6.3)	1.67 d (6.0)	1.67 d (6.5)	1.69 d (6.5)
Rha''-1	5.62 d (1.5)	6.16 bs	5.69 d (1.5)	6.16 bs
2	6.17 bs	5.91 bs	6.17 bs	5.98 bs
3	4.42 dd (9.5, 3.0)	4.53 dd (9.5, 3.0)	4.47 dd (9.5, 3.0)	4.55 dd (9.5, 3.2)
4	5.77 dd (9.5, 9.5)	5.84 dd (9.5, 9.5)	5.78 dd (9.5, 9.5)	5.81 dd (9.5, 9.5)
5	4.33 dq (9.5, 6.0)	4.41 dq (9.5, 6.0)	4.35 dq (9.5, 6.0)	4.42 dq (9.5, 6.0)
6	1.37 d (6.0)	1.47 d (6.0)	1.54 d (6.0)	1.57 d (6.0)
Jal-2	2.17*	2.20*	2.24*	2.19 ddd (13.6, 6.5, 2.8)
	2.24*	2.64*	2.78 ddd (13.8, 6.8, 2.8)	2.64 ddd (13.9, 6.9, 2.8)
11	3.80 bs	3.84 bs	3.84 bs	3.84 bs
16	0.99 t (7.5)**	1.02 t (7.0)**	0.98 t (7.5)**	0.99 t (7.2)**
Dodeca-2	2.52*	2.52*	2.50*	2.50*
12	0.86 t (7.0)	0.876 t (7.0)	0.86 t (7.4)	0.87 t (7.5)
Mba-2	2.45*	2.47*	2.44 ddd (13.8, 7.0, 2.2)	2.46 ddd (13.8, 6.7, 2.2)
2-Me	1.15 d (7.5)	1.14 d (7.5)	1.15 d (6.9)	1.9 d (7.0)
3-Me	0.84 t (7.5)	0.93 t (7.5)	0.84 t (7.1)	0.88 t (7.6)
CA-2	6.62 d (16.0)	6.40 d (15.9)	6.54 d (16.0)	6.40 d (15.9)
3	7.89 d (15.9)	7.69 d (16.0)	7.85 d (16.0)	7.69 d (15.9)

^a Data recorded in C₅D₃N. Chemical shifts (δ) are in ppm relative to TMS. The spin coupling (*J*) is given in parenthesis (Hz). Chemical shifts marked with an asterisk (*) indicate overlapped signals and those marked with a double asterisk (**) indicate interchangeable signals. Spin-coupled patterns are designated as follows: bs = broad singlet, d = doublet, t = triplet, m = multiplet, q = quartet, sept = septet. All assignments are based on ¹H–¹H COSY and TOCSY experiments.

^b Abbreviations: Fuc = fucose, Rha = rhamnose, Jal = 11-hydroxyhexadecanoyl, deca = decanoyl, dodeca = dodecanoyl, mba = 2-methylbutanoyl, CA = *trans*-cinnamoyl.

and the *n*-decanoic group in unit B (δ_{C-1} 173.2) was located at C-3 of Rha (δ_H 5.58). Fig. 1 shows an expansion of the HMBC spectrum for **1** and **2** to display the ³*J*_{CH} correlations between the acylated saccharide core positions and the three distinguishable carbonyl-type resonances. Dodecanoyl residues were differentiated from the decanoyl substituents by means of the small downfield shift ($\Delta\delta$ ca. +0.3 ppm) induced by the (CH₂)₂-increment in the length of the aliphatic chain (Lie Ken Jie and Mustafa, 1997). Isomeric structural differences between compounds **1** and **2** consist in the position of *n*-decanoyl or *n*-dodecanoyl residue at C-2 of the second rhamnose and C-4 of the terminal rhamnose on the glycosidic core.

Batatin V (**3**) and VI (**4**) showed the same pattern of acylations by three different fatty acids in both saccharide moieties. Fig. 2 shows the key HMBC correlations (³*J*_{CH}) for the sites of esterification: each of the 2-methylbutyryl groups (δ_{C-1} 175.4–175.5) showed a ³*J*_{CH} cross-peak with H-2 of Rha' at δ_H 6.45 (unit A) or at 6.46 (unit B); the *n*-dodecanoic groups (δ_{C-1} 173.3–173.4) also exhibited a ³*J*_{CH} coupling with the H-4 signal of Rha'' at δ_H 5.77 (unit A) or at 5.84 (unit B); and the cinnamic acid residues (δ_{C-1} 166) were located at C-2 of the third rhamnose saccharide (Rha'') by means of the ³*J*_{CH} correlation with the protons centered at δ_{H-2} 5.91 (unit B) or at 6.17 (unit A). Their diastereomeric structures differed in the position for lactonization by the aglycon in unit A. For compound

second saccharide (Rha) (δ_{H-3} 5.57), while for isomer **4**, it was placed (δ_{C-1} 174) at C-2 of the second saccharide (Rha) (δ_{H-2} 5.96).

3. Concluding remarks

The amphiphilic properties of these hydrophobic oligosaccharides **1–4** exemplify the subtle solubility equilibrium between low-polarity solvents (i.e., hexane and chloroform) and polar organic solvents (methanol) that results from the fatty acid acylation of the glycosidic core. The structural variety of resin glycosides is considerably increased by partial acylation of their saccharide cores. In fact, as reported here and in previous works on the resin glycosides, a large number of congeners occur in each species of the morning-glory family (Pereda-Miranda et al., 2010). The methodological approaches used for the isolation and structural spectroscopy of **1–4** could be applicable for purification and characterization of polar members with large molecular weights (Du et al., 1999; Pereda-Miranda et al., 2010).

4. Experimental

4.1. General experimental procedures

All melting points were determined on a Fisher Johns apparatus.

Table 3

¹³C NMR spectroscopic data of compounds 1–4 (125.7 MHz).^a

Carbon ^b	1		2		3		4	
	Unit A	Unit B	Unit A	Unit B	Unit A	Unit B	Unit A	Unit B
Fuc-1	101.7	101.5	101.7	101.5	101.3	101.4	101.3	101.4
2	73	73.1	73	73.2	72.9	73.2	80.5	73.3
3	76.7	76.6	76.9	76.8	76.6	76.4	73.2	76.5
4	73.4	73.4	73.6	73.6	73.4	73.4	73.6	73.6
5	71.2	71.2	71.2	71.2	71	71	70.5	71
6	17.2	17.2	17.2	17.2	17.4	17.4	17.6	17.6
Rha-1	100.2	102.4	100.3	102.4	100	102.2	100	102.3
2	69.4	70.3	69.6	70.4	69.3	70.3	72.9	70.4
3	77.9	75.5	77.9	75.6	77.8	72.5	71	72.5
4	79.1	78.1	79.1	78.1	79	78.1	79.9	78.1
5	67.7	69	67.7	69	67.8	69.3	67.8	69.3
6	18.9	18.5	19	18.5	18.9	18.4	18.9	18.4
Rha'-1	100.2	100.6	100.3	100.6	100	100.4	100	100.4
2	69.5	74.2	69.7	74.3	72.9	72.9	72.9	72.7
3	78.9	70.8	79	70.9	78.6	71	79	71
4	76	80.6	76	80.7	76.4	79.5	76.4	79.5
5	67.4	68.5	67.4	68.5	67.4	68.3	67.4	68.3
6	19.3	18.7	19.3	18.7	19.1	18.8	19.1	18.8
Rha''-1	103.5	103.6	103.6	103.7	103.6	103.7	103.6	103.7
2	72.4	72.1	72.6	72.3	72.7	71.9	72.7	71.9
3	69.9	70.1	70.1	70.2	73.3	73.3	73.3	73.3
4	75	75.3	75.4	75	75	75.3	75.4	75
5	68.1	67.9	68.1	68	67.8	68	67.8	68
6	17.8	18	17.9	18	17.6	17.8	17.6	17.8
Jal-1	174.8	174.3	174.8	174.4	174.5	174.4	174	174.1
2	34.6	34.2	34.6	34.3	34.3	33.9	34.9	34
11	79.7	79.3	79.8	79.3	79.5	79.3	81.4	79.5
16	14.5	14.5	14.6	14.6	14.3	14.3	14.3	14.3
Deca-1		173.2		173.2				
2		34.4		34.4				
10		14.2		14.3				
Deca-1		172.6		172.6				
2		34.4		34.4				
10		14.2		14.3				
Dodeca-1	173.4	173.4	173.5	173.5	173.3	173.4	173.3	173.4
2	34.6	34.6	34.7	34.7	34.6	34.6	34.7	34.7
12	14.2	14.2	14.3	14.3	14	14	14	14
Mba-1					175.5	175.5	175.4	175.4
2					41.3	41.3	41.3	41.3
2-Me					16.6	16.6	16.5	16.5
3-Me					11.3	11.3	11.3	11.3
CA-1					166	166	166	166
2					118.3	118.3	118.3	118.3
3					144.8	144.8	145.1	145.1

^a Data recorded in C₅D₅N. Chemical shifts (δ) are in ppm relative to TMS. All assignments are based on HMQC and HMBC experiments.^b Abbreviations: Fuc = fucose, Rha = rhamnose, Jal = 11-hydroxyhexadecanoyl, deca = decanoyl, dodeca = dodecanoyl, mba = 2-methylbutanoyl, CA = *trans*-cinnamoyl.

Perkin-Elmer model 241 polarimeter. ¹H (500 MHz) and ¹³C (125.7 MHz) NMR experiments were conducted on a Bruker MX-500 instrument. Instrumentation used for HPLC analysis consisted of a Waters (Millipore Corp., Waters Chromatography Division, Milford, MA) 600E multisolute delivery system equipped with a refractive index detector (Waters 410). Negative ion LR-FAB/MS were recorded using a matrix of triethanolamine or glycerol on a JEOL SX102A spectrometer. Negative ion ES/MS experiments were performed on a Bruker MicrOTOF-Q high resolution quadrupole-time of flight spectrometer. Nitrogen was used as both nebulizing and drying gas. Mass spectra were acquired over a range of 50–3500 Da in 5 s/scan using electrospray ionization with capillary voltage set to 3.2 kV. The sample (2 mg) was dissolved in HPLC grade MeOH (0.5 mL). Aliquots were further diluted to give working solutions of 0.4 mg/mL and infused directly to the ESI source using a syringe pump at a flow rate of 180 µL/h. Recordings were processed using Bruker Data Analysis software. GC/MS was performed on a Hewlett–Packard 5890-II instrument coupled to a JEOL SX-102A spectrometer. GC conditions: HP-5MS (5%-phenyl)-meth-

ylpolysiloxane column (30 m × 0.25 mm, film thickness 0.25 µm); He, linear velocity 30 cm/s; 50 °C isothermal for 3 min, linear gradient to 300 °C at 20 °C/min; final temperature hold, 10 min. MS conditions: ionization energy, 70 eV; ion source temperature, 280 °C; interface temperature, 300 °C; scan speed, 2 scans s⁻¹; mass range, 33–880 amu. NMR spectroscopic simulation was carried out with the MestreC 4.0 program (Mestrelab Research, Santiago de Compostela, Spain).

4.2. Plant material

The tuberous roots of the white-skinned cultivar of *I. batatas* were collected in plantations in San Nicolás, Salvatierra, Guanajuato, Mexico, in 1999. The tubers of the purple-skinned variety were collected in Santa Rita, Maravatio, Guanajuato in 1999. The plant material was identified by Dr. Robert Bye. A voucher specimen (R. Bye FB 1312 for the purple-skinned cultivar; FB 1315 for the white-skinned variety) was deposited in the Ethnobotanical

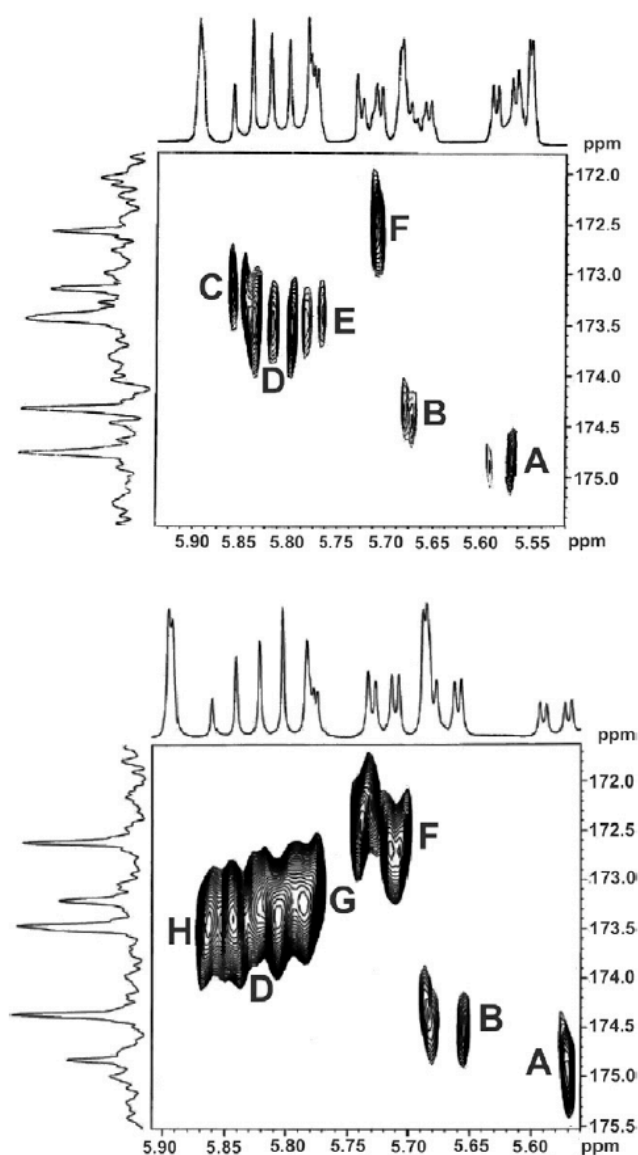


Fig. 1. HMBC spectra of compounds **1** (above) and **2** (below) showing connectivities ($^3J_{CH}$) for the sites of esterification: (A) C₁-Jal unit A/H₃-Rha unit A; (B) C₁-Jal unit B/H₃-Rha' unit A; (C) C₁-deca/H₄-Rha' unit B; (D); C₁-dodeca/H₄-Rha' unit A; (E) C₁-dodeca/H₂-Rha' unit B; (F) C₁-deca/H₃-Rha unit B; (G) C₁-deca/H₂-Rha' unit B; (H); C₁-dodeca/H₄-Rha' unit B.

Collection of the National Herbarium (MEXU), Instituto de Biología, UNAM.

4.3. Extraction and isolation of compounds **1–4**

Powdered dry tuberous roots of the white-skinned cultivar (2.6 kg) were extracted by maceration at room temperature with hexane (8 L) to give, after removal of the solvent, a medium amber syrup (13.1 g) (Escalante-Sánchez et al., 2008). The tubers of purple-skinned variety (2.1 kg) were extracted by maceration at room temperature with CHCl₃ (8 L) to give, after removal of the solvent, a dark amber syrup (38.74 g). The crude extracts prepared were independently subjected to over silica gel column chromatography (CC) (150 g) using gradients of CH₂Cl₂ in hexane, Me₂CO in CH₂Cl₂ and MeOH. The process was monitored by TLC, and a total of 36 fractions, rich in resin glycosides for the hexane extract (150 mL each), were collected and combined in 7 resin glycoside-containing fractions (I–VII). All fractions were subjected to over silica gel CC

(30 g) using a gradient of MeOH in CHCl₃ to eliminate the pigmented residues. For the chloroform extract, a total of 42 fractions (150 mL each), rich in resin glycosides, were collected and combined in 5 resinous fractions (I–V). The elution with CH₂Cl₂–Me₂CO–MeOH (7:2.5:0.5), being the most abundant in resin glycosides (6.68 g), was further subjected to treatment with activated charcoal, followed by silica gel CC (180 g; elution with CH₂Cl₂–MeOH, 9:1) to eliminate pigments. All decolorized primary fractions were analyzed by HPLC. These analytical separations were done on a Symmetry C₁₈ column (Waters; 5 mm, 4.6 × 250 mm) with an isocratic elution of various proportions of CH₃CN–MeOH and a flow rate of 0.7 mL/min. The best chromatographic elution system found was then applied to each fraction in preparative HPLC on a reversed-phase C₁₈ column (7 mm, 19 × 300 mm), and a sample injection of 20 µL (sample concentration: 10 mg/mL). The elution was isocratic with CH₃CN–MeOH (9:1) using a flow rate of 9 mL/min. From the hexane-soluble extract obtained with the white-skinned cultivar, fraction I (30 mg) provided an eluate with *t*_R of 28.9 min (peak I); a peak with *t*_R of 11.7 min (peak II) was eluted from fraction II (20 mg); isolation of lipooligosaccharides from fractions V and VI were previously reported (Escalante-Sánchez et al., 2008). From the CHCl₃-soluble extract prepared with the purple-skinned variety, fraction II (4.16 g) was further subjected to Si gel (80 g) CC using a gradient of MeOH in CH₂Cl₂. Elution with CH₂Cl₂–MeOH (1:1) afforded 144 mg of a mixture which was purified by preparative HPLC and yielded an eluate with *t*_R 16.1 min (peak III). All HPLC peaks were collected by the technique of heart cutting and independently reinjected in the apparatus operated in the recycle mode (Pereda-Miranda and Hernández-Carlos, 2002) to achieve total homogeneity after 10–20 consecutive cycles employing the same isocratic elution. Each peak was recycled on a reversed-phase C₁₈ column (7 mm, 19 × 300 mm) with a flow rate of 9 mL/min. These techniques afforded pure compounds **1** (14.5 mg) and **2** (12.1 mg) from peak I and II, respectively. Recycling of peak III allowed the separation of compounds **3** (16.4 mg) and **4** (12 mg).

4.4. Compound characterization

4.4.1. Batatin III (**1**)

White powder; mp 93–94 °C; [α]_D –82 (c 0.1, MeOH); For ¹H and ¹³C NMR spectroscopic data, see Tables 1 and 3; negative ESIMS *m/z* 2477 [M+I][–], 2349 [M–H][–], 1173 [1329–H–C₁₀H₁₈O][–], 1019 [M–H–1329; unit A][–], 991 [1329–C₁₀H₁₈O–C₁₂H₂₂O][–], 527, 417; negative-ion FABMS *m/z*: 2348 [M–H][–], 1329 [unit B][–], 1173 [1329–H–C₁₀H₁₈O][–], 1019 [M–H–1329][–], 991 [1173–C₁₂H₂₂O][–], 837 [991–C₁₀H₁₈O][–], 691 [837–146][–], 545, 417, 271; HRESIMS *m/z* 2348.5427 [M–H][–] (calcd for C₁₂₄H₂₁₉O₄₀ 2348.5103).

4.4.2. Batatin IV (**2**)

White powder; mp 95–96 °C; [α]_D –61 (c 0.1, MeOH); For ¹H and ¹³C NMR spectroscopic data, see Tables 1 and 3; negative ESIMS *m/z* 2477 [M+I][–], 2349 [M–H][–], 1173 [1329–H–C₁₀H₁₈O][–], 1019 [M–H–1329; unit A][–], 991 [1329–C₁₀H₁₈O–C₁₂H₂₂O][–], 527, 417; negative-ion FABMS *m/z*: 2348 [M–H][–], 1329 [unit B][–], 1173 [1329–H–C₁₀H₁₈O][–], 1019 [M–H–1329][–], 991 [1173–C₁₂H₂₂O][–], 837 [991–C₁₀H₁₈O][–], 691 [837–146][–], 545, 417, 271; HRESIMS *m/z* 2348.5467 [M–H][–] (calcd for C₁₂₄H₂₁₉O₄₀ 2348.5103).

4.4.3. Batatin V (**3**)

White powder; mp 114–115 °C; [α]_D –45 (c 0.15, MeOH); For ¹H and ¹³C NMR spectroscopic data, see Tables 2 and 3; negative-ion FABMS *m/z*: 2469 [M–H][–], 2385 [M–H–C₅H₈O][–], 2367 [M–H–C₅H₈O–H₂O][–], 2339 [M–H–C₉H₆O][–], 2157 [M–H–C₉H₆O–C₁₂H₂₂O][–], 1235 [unit B, C₆₆H₁₀₇O₂₁][–], 1133 [1235–C₅H₈O–H₂O][–], 1105 [1235–C₉H₆O][–], 1019 [1105–

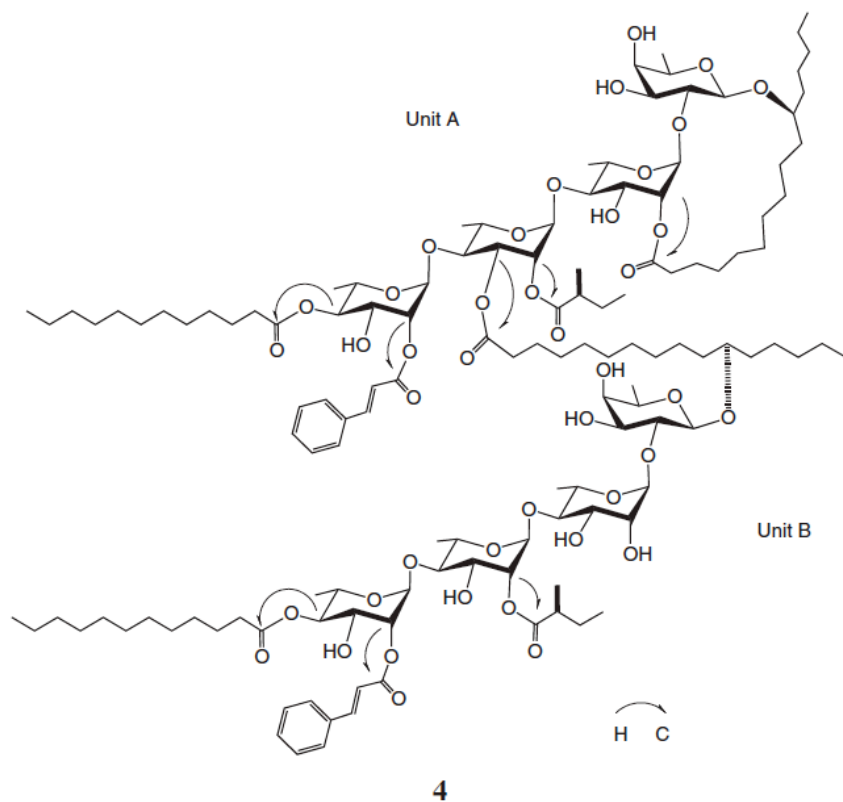


Fig. 2. Key HMBC correlations ($^3J_{CH}$) for the sites of esterification.

C_5H_8O] $^-$, 923 [1105– $C_{12}H_{22}O$] $^-$, 837 [1019– $C_{12}H_{22}O$] $^-$, 545, 417, 271; HRESIMS m/z 2504.3865 [M+Cl] $^-$ (calcd for $C_{132}H_{212}ClO_{42}$ 2504.4141), 2468.4040 [M–H] $^-$ (calcd for $C_{132}H_{211}O_{42}$ 2468.4375).

4.4.4. Batatin VI (4)

White powder; mp 83–85 °C; For $[\alpha]_D$ –31 (c 0.17, MeOH); 1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 2 and 3; negative-ion FABMS m/z : 2469 [M–H] $^-$, 2367 [M–H– C_5H_8O –H $_2O$] $^-$, 2339 [M–H– C_9H_6O] $^-$, 1235 [unit B, $C_{66}H_{107}O_{21}$] $^-$, 1133 [1235– C_5H_8O –H $_2O$] $^-$, 1105 [1235– C_9H_6O] $^-$, 1019 [1105– C_5H_8O] $^-$, 923 [1105– $C_{12}H_{22}O$] $^-$, 837 [1019– $C_{12}H_{22}O$] $^-$, 545, 417, 271. HRESIMS m/z 2504.4085 [M+Cl] $^-$ (calcd for $C_{132}H_{212}ClO_{42}$ 2504.4141), 2468.4256 [M–H] $^-$ (calcd for $C_{132}H_{211}O_{42}$ 2468.4375).

4.5. Alkaline hydrolysis of compounds 1–4

Individual solutions of compounds 1–4 (5 mg each) in 5% KOH–H $_2O$ (3 mL) were heated until reflux began at 95 °C, this being held for 2 h. The reaction mixtures were acidified to pH 4.0 and extracted with CHCl $_3$ (5 mL). The organic layers were washed with H $_2O$ and dried over anhydrous Na $_2$ SO $_4$. The solutions were directly analyzed by GC–MS. From compounds 1 and 2, two peaks were detected: *n*-decanoic acid (t_R 14.6 min); m/z [M] $^+$ 172 (2), 155 (3), 143 (12), 129 (62), 115 (15), 112 (12), 87 (20), 73 (100), 60 (90), 57 (40), 55 (45), 43 (30), 41 (35), 39 (6), and *n*-dodecanoic acid (t_R 17.8 min); m/z [M] $^+$ 200 (15), 183 (2), 171 (18), 157 (40), 143 (20), 129 (48), 115 (20), 101 (15), 85 (33), 73 (100), 60 (80), 57 (30), 55 (47), 43 (30). From compounds 3 and 4, three peaks were detected: 2-methylbutanoic acid (t_R 7.2 min), m/z [M] $^+$ 102 (3), 87 (33), 74 (100), 57 (50), 41 (28), 39 (8); cinnamic acid (t_R 16.5 min), m/z [M] $^+$ 148 (100), 147 (96), 131 (25), 103 (40), 102 (20), 77 (25), 74 (8), 51 (20), 50 (8), 39 (5), 38 (4); and *n*-dodecanoic acid (t_R 17.8 min), m/z [M] $^+$ 200 (15), 183 (2), 171 (18), 157 (40), 143 (10), 129 (48), 115 (20), 101 (15), 85 (33), 73 (100), 60 (80), 57 (30), 55 (47), 43 (30). The preparation and identification of 4-

bromophenacyl (2*S*)-2-methylbutyrate were performed according to previously reported procedures: mp 40–42 °C; $[\alpha]_D$ +18 (c 1.0, MeOH); GC–MS (t_R 4.75 min); m/z [M+2] $^+$ 272 (6.8), [M] $^+$ 270 (7.3), 254 (3.8), 252 (3.8), 186 (2.1), 172 (8.6), 171 (100), 70 (9.7), 169 (88.7), 90 (13.9), 89 (23.4), 85 (11.5), 63 (5.3) 57 (19), 51 (2.3), 50 (2.9), 41 (8.5), 39 (9.4) (Pereda-Miranda and Hernández-Carlos, 2002). This transesterification procedure has been used to confirm the absolute configuration for 2-methylbutyric acid (Bah et al., 2007; Escobedo-Martínez et al., 2010).

The aqueous phase from each reaction was extracted with *n*-BuOH (5 mL) and concentrated to give a colorless solid. Each residue was analyzed by HPLC: Symmetry C $_{18}$ column (Waters; 5 mm, 4.6 × 250 mm) with an isocratic elution of CH $_3$ CN–H $_2O$ (4:1) and a flow rate of 0.5 mL/min. This procedure identified the same glycosidic acid in all fractions (t_R = 7.80 min) which were combined and subjected to preparative HPLC on a Waters μ Bondapak NH $_2$ column (7.8 × 300 mm; 10 μ m). The elution was isocratic with CH $_3$ CN–H $_2O$ (4:1), using a flow rate of 3 mL/min and a sample injection of 500 μ L (sample concentration: 15 mg/mL). This procedure yielded operculinic acid C (13.5 mg, t_R = 6.70 min) which was identified by comparison of their physical constants and NMR data with published values: mp 132 °C; $[\alpha]_D$ –80 (c 1.0, MeOH) ($[\alpha]_D$ –87; Kitagawa et al., 1997). This residue (7 mg) was acetylated (Ac $_2$ O–C $_5$ H $_5$ N, 2:1) to give a waxy solid (10 mg) that was subjected to preparative HPLC on a reversed-phase C $_{18}$ column (7 mm, 19 × 300 mm). The elution was isocratic with CH $_3$ CN using a flow rate of 8 mL/min. Peak with t_R value of 12.6 min afforded peracetyl operculinic acid C (7.5 mg): mp 93–94 °C; $[\alpha]_D$ –18 (c 0.35, MeOH); 1H NMR (C $_5$ D $_5$ N, 500 MHz) δ 1.49 (3H, d, J = 6.0 Hz, Fuc-6), 3.75 (1H, q, J = 6.5 Hz, Fuc-5), 4.47 (1H, dd, J = 9.5, 8.5 Hz, Fuc-2), 4.73 (1H, d, J = 8.0 Hz, Fuc-1), 4.11 (1H, dd, J = 10.0, 3.5 Hz, Fuc-3), 3.90 (1H, d, J = 3.0 Hz, Fuc-4), 1.56 (3H, d, J = 6.5 Hz, Rha-6), 4.29 (1H, dd, J = 9.5, 9.5 Hz, Rha-4), 4.83 (1H, dd, J = 10.0, 6.5 Hz, Rha-5), 6.20 (1H, bs, Rha-1), 4.62 (1H, dd, J = 3.5, 1.5 Hz, Rha-2), 4.58 (1H, dd, J = 9.0, 3.5 Hz Rha-3), 1.56 (3H, d, J = 6.0 Hz, Rha'-6), 4.31

(1H, dd, $J = 9.5$, 6.0 Hz, Rha'-5), 4.53 (1H, dd, $J = 9.5$, 3.5 Hz, Rha'-3), 6.19 (1H, bs, Rha'-1), 4.39 (1H, dd, $J = 9.5$, 9.5 Hz, Rha'-4), 4.77 (1H, bs, Rha'-2), 1.57 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, Rha'-6), 4.32 (1H, dd, $J = 9.0$, 5.5 Hz, Rha''-5), 4.23 (1H, dd, $J = 9.0$, 9.0 Hz, Rha''-4), 4.44 (1H, dd, $J = 9.0$, 3.0 Hz, Rha''-3), 6.27 (1H, bs, Rha''-1), 4.80 (1H, bs, Rha''-2), 0.89 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, Jal-16), 2.62 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, CH₂CO₂), 3.88 (1H, bs, Jal-11); ¹³C NMR (C₅D₅N, 125 MHz) δ 17.1 (CH₃, Fuc-6), 76.6 (CH, Fuc-3), 71.1 (CH, Fuc-5), 73.4 (CH, Fuc-4), 75.4 (CH, Fuc-2), 101.6 (CH, Fuc-1), 19.0 (CH₃, Rha-6), 67.1 (CH, Rha-5), 72.7 (CH, Rha-2), 73.2 (CH, Rha-3), 80.6 (CH, Rha-4), 101.4 (CH, Rha-1), 18.8 (CH₃, Rha'-6), 73.0 (CH, Rha'-2), 79.5 (CH, Rha'-4), 73.4 (CH, Rha'-3), 68.3 (CH, Rha'-5), 102.8 (CH, Rha'-1), 18.4 (CH₃, Rha''-6), 70.2 (CH, Rha''-5), 72.8 (CH, Rha''-3), 73.9 (CH, Rha''-4), 72.3 (CH, Rha''-2), 103.0 (CH, Rha''-1), 14.3 (CH₃, Jal-16), 35.7 (CH₂CO₂), 77.9 (CH, Jal-11), 172.6 (C, Jal-1).

4.6. Sugar analysis and aglycone identification

Operculinic acid C (5 mg) in 4 N HCl (5 mL) was heated at 90 °C for 2 h. The reaction mixture was diluted with H₂O (2.5 mL) and extracted with Et₂O (15 mL). The aqueous phase was neutralized with 1 N KOH, extracted with *n*-BuOH (20 mL), and concentrated to give a colorless solid. The residue was analyzed by HPLC: Waters standard column for carbohydrate analysis (3.9 × 300 mm, 10 μ m), using an isocratic elution of CH₃CN–H₂O (17:3), a flow rate of 1 mL/min, and a sample injection of 20 μ L (sample concentration: 2 mg/mL). Co-elution experiments with standard carbohydrate samples allowed the identification of rhamnose ($t_R = 6.9$ min) and fucose ($t_R = 8.3$ min). Each of these eluates was individually collected, concentrated, and dissolved in H₂O. Optical activity was recorded after stirring the solutions for 2 h at room temperature and values were identical with those registered for commercially available samples: L-rhamnose [α]₅₉₈ + 8, [α]₅₇₈ + 8, [α]₅₄₆ + 9, [α]₄₃₆ + 15, [α]₃₆₅ + 21 (c 0.1, H₂O), control [α]_D + 8 (c 0.1, H₂O); D-fucose [α]₅₉₈ + 79, [α]₅₇₈ + 83, [α]₅₄₆ + 94, [α]₄₃₆ + 155, [α]₃₆₅ + 236 (c 0.1, H₂O), control [α]_D + 81 (c 0.1, H₂O). The organic phase-soluble product was methylated with CH₂N₂ to further perform its separation by HPLC using a normal phase ISCO column (10 × 250 mm, 10 μ m), an isocratic elution of hexane–CHCl₃–Me₂CO (6:3:1), and a flow rate of 0.5 mL/min to afford methyl (11S)-hydroxyhexadecanoate (jalapinic acid methyl ester): t_R 16.4 min; mp 42–44 °C; [α]_D + 7.3 (c 2, CHCl₃); ¹³C NMR: 174.4, 72.0, 51.4, 37.5, 37.4, 34.1, 31.9, 29.6, 29.5, 29.4, 29.2, 29.1, 25.6, 25.3, 24.9, 22.6, 14.1. This aglycone (1 mg) was derivatized with Sigma Sil-A and analyzed by GC–MS analysis, (t_R 12.8 min): m/z [M]⁺ 358 (0.3), 343 (0.5), 311 (10.5), 287 (59.7), 173 (100), 73 (46.3) (Pereda-Miranda et al., 2006).

Acknowledgements

This research was supported by Dirección General de Asuntos del Personal Académico, UNAM (IN217310) and CONACyT (101380-Q). D.R.-R. and E.E.-S. are grateful to CONACyT for graduate student scholarships. Thanks are due to Dr. Davinia Mills (Bio-Centre Facility, University of Reading, UK), Georgina Duarte, and Margarita Guzmán (Facultad de Química, UNAM) for the recording of mass spectra. We also wish to thank Dr. Mabel Fragoso-Serrano (Facultad de Química, UNAM) for HPLC technical assistance.

References

Bah, M., Pereda-Miranda, R., 1997. Isolation and structural characterization of new glycolipid ester type dimers from the resin of *Ipomoea tricolor* (Convolvulaceae). Tetrahedron 53. 9007–9022.

Bah, M., Chérigo, L., Taketa, A.T.C., Fragoso-Serrano, M., Hammond, G.B., Pereda-Miranda, R., 2007. Intrapilins I–VII, pentasaccharides from the seeds of *Ipomoea intrapilosa*. J. Nat. Prod. 70, 1153–1157.

Chérigo, L., Pereda-Miranda, R., Fragoso-Serrano, M., Jacobo-Herrera, N., Kaatz, G.W., Gibbons, S., 2008. Inhibitors of bacterial multidrug efflux pumps from the resin glycosides of *Ipomoea murucoides*. J. Nat. Prod. 71, 1037–1045.

Chérigo, L., Pereda-Miranda, R., Gibbons, S., 2009. Bacterial resistance modifying tetrasaccharide agents from *Ipomoea murucoides*. Phytochemistry 70, 222–227.

Du, X.M., Sun, N.Y., Nishi, M., Kawasaki, T., Guo, Y.T., Miyahara, K., 1999. Components of the ether-insoluble resin glycoside fraction from the seed of *Cuscuta australis*. J. Nat. Prod. 62, 722–725.

Duus, J.O., Gotfredsen, C.H., Bock, K., 2000. Carbohydrate structural determination by NMR spectroscopy: modern methods and limitations. Chem. Rev. 100, 4589–5614.

Escalante-Sánchez, E., Pereda-Miranda, R., 2007. Batatins I and II, ester-type dimers of acylated pentasaccharides from the resin glycosides of sweet potato. J. Nat. Prod. 70, 1029–1034.

Escalante-Sánchez, E., Rosas-Ramírez, D., Linares, E., Bye, R., Pereda-Miranda, R., 2008. Batatinosides II–VI, acylated lipooligosaccharides from the resin glycosides of sweet potato. J. Agric. Food. Chem. 56, 9423–9428.

Escobedo-Martínez, C., Cruz-Morales, S., Fragoso-Serrano, M., Rahmanb, M.M., Gibbons, S., Pereda-Miranda, R., 2010. Characterization of a xylose containing oligosaccharide, an inhibitor of multidrug resistance in *Staphylococcus aureus*, from *Ipomoea pes-caprae*. Phytochemistry 71, 1796–1801.

Escobedo-Martínez, C., Pereda-Miranda, R., 2007. Resin glycosides from *Ipomoea pes-caprae*. J. Nat. Prod. 70, 974–978.

Kitagawa, I., Ohashi, K., In, N., Sakagami, M., Yoshikawa, M., Shibuya, H., 1997. Indonesian medicinal Plants. XIX. Chemical structures of four additional resin glycosides, mamosides A, B, H1 and H2, from the Tuber of *Merremia mammosa* (Convolvulaceae). Chem. Pharm. Bull. 45, 786–794.

León-Rivera, I., Mirón-López, G., Estrada-Soto, S., Aguirre-Crespo, F., Gutiérrez, M.C., Molina-Salinas, G.M., Hurtado, G., Navarrete-Vázquez, G., Montiel, E., 2009. Glycolipid ester-type heterodimers from *Ipomoea tyrianthina* and their pharmacological activity. Bioorg. Med. Chem. Lett. 19, 4652–4656.

Lie Ken Jie, M.S.F., Mustafa, J., 1997. High-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy. Applications to fatty acids and triacylglycerols. Lipids 32, 1019–1034.

Mendoza-Espinoza, J.A., López-Vallejo, F., Fragoso-Serrano, M., Pereda-Miranda, R., Cerda-García-Rojas, C.M., 2009. Structural reassignment, absolute configuration, and conformation of hypurticine, a highly flexible polyacyloxy-6-heptenyl-5, 6-dihydro-2H-pyran-2-one. J. Nat. Prod. 72, 700–708.

Noda, N., Horiuchi, Y., 2008. The resin glycosides from the sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam.). Chem. Pharm. Bull. 56, 1607–1610.

Noda, N., Takahashi, N., Kawasaki, T., Miyahara, K., Hanazono, H., Yang, C.R., 1995. A Novel resin glycoside, merremisin (tuguajalapin X dimer), from *Merremia hungaiensis*. Chem. Pharm. Bull. 43, 1061–1063.

Noda, N., Takahashi, N., Miyahara, K., Yang, C.R., 1998. Stoloniferins VIII–XII, resin glycosides from *Ipomoea stolonifera*. Phytochemistry 48, 837–841.

Noda, N., Yoda, S., Kawasaki, T., Miyahara, K., 1992. Resin Glycosides XV. Simonins I–V, ether-soluble resin glycosides (jalapins) from the roots of *Ipomoea batatas* (cv. Simon). Chem. Pharm. Bull. 40, 3163–3168.

Ono, M., Fujimoto, K., Kawata, M., Fukunaga, T., Kawasaki, T., Miyahara, K., 1992. Resin Glycosides. XIII. Operculins VI, XI, XII, XIII, XIV and XV, the ether-soluble resin glycosides ("jalapin") from *rhizoma jalapae brasiliensis* (roots of *Ipomoea operculata*). Chem. Pharm. Bull. 40, 1400–1403.

Ono, M., Kawasaki, T., Miyahara, K., 1989. Resin Glycosides. V. Identification and characterization of the component organic and glycosidic acids of the ether-soluble crude resin glycosides ("jalapin") from *rhizoma jalapae brasiliensis* (roots of *Ipomoea operculata*). Chem. Pharm. Bull. 37, 3209–3213.

Pereda-Miranda, R., Bah, M., 2003. Biodynamic constituents in the Mexican morning Glories: purgative remedies transcending boundaries. Curr. Top. Med. Chem. 3, 111–131.

Pereda-Miranda, R., Escalante-Sánchez, E., Escobedo-Martínez, C., 2005. Characterization of lipophilic pentasaccharides from beach morning glory (*Ipomoea pes-caprae*). J. Nat. Prod. 68, 226–230.

Pereda-Miranda, R., Fragoso-Serrano, M., Escalante-Sánchez, E., Hernández-Carlos, B., Linares, E., Robert, B., 2006. Profiling of the resin glycoside content of Mexican jalap roots with purgative activity. J. Nat. Prod. 69, 1460–1466.

Pereda-Miranda, R., Hernández-Carlos, B., 2002. HPLC isolation and structural elucidation of diastereomeric niloyl ester tetrasaccharides from Mexican scammony root. Tetrahedron 58, 3145–3154.

Pereda-Miranda, R., Rosas-Ramírez, D., Castañeda-Gómez, J., 2010. Resin Glycosides from the morning glory family. In: Kinghorn, A.D., Falk, H., Kobayashi, J. (Eds.), Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, vol. 92. SpringerWien, New York, pp. 77–152.

Yoshikawa, K., Yagi, C., Hama, H., Tanaka, M., Arihara, S., Hashimoto, T., 2010. Ipomotoasides A–D, resin glycosides from the aerial parts of *Ipomoea batatas* and their inhibitory activity against COX-1 and COX-2. J. Nat. Prod. 73, 1763–1766.