



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

Aislamiento y caracterización de los constituyentes químicos de dos especies de la familia Asteraceae: *Mikania cordifolia* y *Milleria quinqueflora*

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.A. Yesica Rosalina Cruz Martínez

Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas
Instituto de Química

Ciudad de México, Junio 2019



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.

JURADO

Presidente	Dr. Leovigildo Quijano
Vocal	Dr. Manuel Jiménez Estrada
Vocal	Dra. María Isabel Aguilar Laurents
Vocal	Dra. Laura Patricia Álvarez Berber
Secretario	Dra. Martha Lydia Macias Rubalcava

Este trabajo se realizó en el laboratorio 1-C del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la tutoría del Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas.

Sustentante

Tutor

Q.A. Yesica Rosalina Cruz Martínez

Dr. E. Guillermo Delgado Lamas

ACTIVIDADES ACADÉMICAS

Parte de los resultados obtenidos en este trabajo de investigación se presentaron en los siguientes eventos académicos:

QuimiUNAM 2018

Constituyentes químicos de una población de *Mikania cordifolia* y análisis comparativo del contenido metabólico de la especie. Ciudad de México, 7 de agosto 2018.

53° Congreso Mexicano de Química

Yesica Cruz-Martínez, Guillermo Delgado. Constituyentes químicos de una población de *Mikania cordifolia* y análisis comparativo del contenido metabólico de la especie. Ciudad de México, 2-5 de octubre 2018.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México

Al Instituto de Química

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas

A CONACyT (becario 620162) y DGAPA UNAM (PAPIIT-IG200318).

Al Dr. Guillermo Delgado Lamas por su asesoría y apoyo durante el desarrollo de este proyecto.

Al Dr. Ángel Bravo Monzón y al Dr. José Calderón Pardo por proporcionar el material vegetal para su estudio.

A los miembros del jurado: Dr. Leovigildo Quijano, Dr. Manuel Jiménez Estrada, Dra. María Isabel Aguilar Laurents, Dra. Laura Patricia Álvarez Berber y Dra. Martha Lydia Macias Rubalcava por la revisión y aportaciones al presente trabajo.

Al personal técnico académico del Instituto de Química: M. en C. Elizabeth Huerta Salazar, Dra. Nuria Esturau Escofet, Dra. Beatriz Quiroz García y M. en C. Antonio Nieto Camacho.

A mis compañeros del laboratorio 1-C por su amistad y consejos durante mi estancia.

DEDICATORIA

A mis padres Miguel Cruz e Isabel Martínez

A Daniel Camarena

Gracias por su apoyo y amor incondicional



ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	12
2. ANTECEDENTES	13
2.1 Familia Asteraceae	13
2.2 Género <i>Mikania</i>	13
2.2.1 Química del género <i>Mikania</i>	14
2.2.2 Algunas actividades biológicas de extractos y sustancias obtenidas del género <i>Mikania</i>	17
2.3 Género <i>Milleria</i>	18
2.3.1 Química del género <i>Milleria</i>	19
2.3.2 Algunas actividades biológicas de extractos y sustancias obtenidas del género <i>Milleria</i>	20
3. JUSTIFICACIÓN	22
4. HIPÓTESIS	22
5. OBJETIVOS	23
5.1 Objetivo general	23
5.2 Objetivos particulares.....	23
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
6.1. Resultados del análisis químico de <i>Mikania cordifolia</i>	29
6.2. Resultados del análisis químico de <i>Milleria quinqueflora</i>	39
6.3 Resultados de actividad biológica preliminar de los extractos CH ₂ Cl ₂ /MeOH de <i>Mikania cordifolia</i> y <i>Milleria quinqueflora</i>	46
7. CONCLUSIONES	48
8. MATERIALES Y MÉTODOS	49
8.1 Material y equipos	49
8.2 Material vegetal	49
8.3 Extracción de partes aéreas de <i>Mikania cordifolia</i> y <i>Milleria quinqueflora</i>	50
8.4 Separación y purificación de productos naturales provenientes del extracto hexánico y CH ₂ Cl ₂ /MeOH de <i>Mikania cordifolia</i> y <i>Milleria quinqueflora</i>	50
8.5 Características físicas y datos espectroscópicos de los compuestos aislados.....	51
8.6 Ensayo de edema auricular en ratón CD-1 inducido con acetato de tetradecanoilforbol (ATF).....	59
9. REFERENCIAS	61
10. ANEXOS	65

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Ejemplar de <i>Mikania cordifolia</i> . Herbario Nacional de México....	14
Figura 2	Ejemplar de <i>Milleria quinueflora</i> . Herbario Nacional de México..	19
Figura 3	Países con estudios sobre <i>Mikania cordifolia</i> y <i>Milleria quinueflora</i>	46

ÍNDICE DE ESPECTROS

		Página
Espectro 1	RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) de lupeol y β-amirina.....	66
Espectro 2	RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz) de lupeol y β-amirina	67
Espectro 3	RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) de acetato de lupeilo.....	68
Espectro 4	RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) de acetato de lupeilo.....	69
Espectro 5	RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) de acetato de β-amirilo.....	70
Espectro 6	RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) de acetato de β-amirilo.....	71
Espectro 7	RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) de β-sitosterol y estigmasterol.....	72
Espectro 8	RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) de β-sitosterol y estigmasterol.....	73
Espectro 9	RMN ¹ H (CDCl ₃ , 700 MHz) de 15O-(4-hidroxi-metacril)-micrantólida.....	74
Espectro 10	RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 176 MHz) de 15O-(4-hidroxi-metacril)-micrantólida.....	75
Espectro 11	RMN ¹ H (CDCl ₃ , 700 MHz) de 15O-(2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida.....	76
Espectro 12	RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 176 MHz) de 15O-(2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida	77
Espectro 13	RMN ¹ H (CDCl ₃ , 700 MHz) de 15O-(hidroxi-metacril)-14O-acetil-micrantólida	78

Espectro 14	RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 176 MHz) de 15 <i>O</i> -(hidroxi-metacril)-14 <i>O</i> -acetil-micrantólida.....	79
Espectro 15	RMN ¹ H (CDCl ₃ , 700 MHz) de 15 <i>O</i> -(3'-cloro-2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida.....	80
Espectro 16	RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 176 MHz) de 15 <i>O</i> -(3'-cloro-2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida.....	81
Espectro 17	RMN ¹ H (DMSO-d ₆ , 400 MHz) de jaceosidina.....	82
Espectro 18	RMN ¹³ C (DMSO-d ₆ , 100 MHz) de jaceosidina.....	83
Espectro 19	RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del escualeno.....	84
Espectro 20	RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) del escualeno.....	85
Espectro 21	RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) de óxido de β-cariofileno.....	86
Espectro 22	RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) de óxido de β-cariofileno.....	87
Espectro 23	IR fracción K de <i>Milleria quinqueflora</i>	88
Espectro 24	IR fracción M de <i>Milleria quinqueflora</i>	89
Espectro 25	IR fracción Ñ de <i>Milleria quinqueflora</i>	90
Espectro 26	RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) de miller-9 <i>Z</i> -enólida y 1β-metoximiller-9 <i>Z</i> -enólida.....	91
Espectro 27	RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz) de miller-9 <i>Z</i> -enólida y 1β-metoximiller-9 <i>Z</i> -enólida.....	92
Espectro 28	RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) de 15 <i>O</i> -acetil-9α-hidroxi-8β-metacriloiloxi-14-oxo-acantospermólida.....	93
Espectro 29	RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz) de 15 <i>O</i> -acetil-9α-hidroxi-8β-metacriloiloxi-14-oxo-acantospermólida.....	94
Espectro 30	RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) de miller-1(10) <i>Z</i> -enólida.....	95
Espectro 31	RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz) de miller-1(10) <i>Z</i> -enólida.....	96

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

Ac	Acetato
AcOEt	Acetato de etilo
Ang	Angelato
RTA	Reflectancia total atenuada
CC	Cromatografía en columna
CCF	Cromatografía en capa fina
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
CHCl ₃	Cloroformo
d	Señal doble
dd	Señal doble de doble
Epoxy	Epóxido
FTIR	Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier
Hz	Hertz
iBut	Isobutirato
iVal	Isovalerato
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
LS	Lactonas sesquiterpénicas
m	Señal múltiple
Meacr	Metacrilato
MeOH	Metanol
nm	Nanómetros
P.f.	Punto de fusión
PN	Producto natural
ppm	Partes por millón
R _f	Factor de retención
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de hidrógeno
s	Singulete
Sen	Senecionato
t	Señal triple
TMS	Tetrametilsilano
δ	Desplazamiento químico
λ	Longitud de onda

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó el estudio químico de partes aéreas de dos especies de la familia Asteraceae: *Mikania cordifolia* y *Milleria quinqueflora*, colectadas en los estados de Hidalgo y Morelos, respectivamente. El análisis se llevó a cabo mediante procedimientos convencionales de extracción, separación y elucidación de la estructura molecular. De la especie *M. cordifolia* se logró el aislamiento y caracterización de los siguientes compuestos: lupeol, acetato de lupeilo, β -amirina, acetato de β -amirilo, β -sitosterol, estigmasterol, 15*O*-(4'-hidroxi-metacril)-micrantólida, 15*O*-(2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida, 15*O*-(4'-hidroxi-metacril)-14*O*-acetil-micrantólida, 15*O*-(3'-cloro-2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida y jaceosidina. Esta es la primera ocasión que se informa a esta última sustancia como constituyente de esta especie. Por otra parte, de *M. quinqueflora* se lograron obtener los siguientes compuestos: escualeno, óxido de β -cariofileno, β -sitosterol, estigmasterol y las mezclas de miller-9*Z*-enólida, 1 β -metoximiller-9*Z*-enólida, 15*O*-acetil-9 α -hidroxi-8 β -metacriloiloxi-14-oxo-acantospermólida y miller-1(10)*Z*-enólida.

La comparación de los resultados obtenidos en el presente trabajo con informes anteriores permitió evidenciar la constancia del contenido metabólico de ambas especies. Finalmente, los resultados preliminares de la inhibición de la inflamación *in vivo* observada para los extractos CH₂Cl₂/MeOH de *M. cordifolia* y *M. quinqueflora* indican actividad, por lo que es deseable la purificación de las mezclas de lactonas sesquiterpénicas para ponderar la actividad de cada constituyente.

SUMMARY

The results of the chemical study of aerial parts of two species of the Asteraceae family: *Mikania cordifolia* and *Milleria quinqueflora* collected in the states of Hidalgo and Morelos, respectively, are reported in the present work. The analysis was carried out by conventional procedures of extraction, separation and elucidation of the molecular structure. From *M. cordifolia* the following compounds were isolated and characterized: lupeol, lupeyl acetate, β -amyirin, β -amyryl acetate, β -sitosterol, stigmasterol, 15*O*-(4'-hydroxy-methacryl)-micrantholide, 15*O*-(2'-hydroxy-isobutyryl)-micrantholide, 15*O*-(4'-hydroxy-methacryl)-14*O*-acetyl-micrantholide, 15*O*-(3'-chloro-2'-hydroxy-isobutyryl)-micrantholide and jaceosidine. This is the first report of this last substance as a constituent of this species. On the other hand, the following compounds were obtained from the *M. quinqueflora*: squalene, β -caryophyllene oxide, β -sitosterol, stigmasterol and the mixtures of miller-9*Z*-enolide, 1 β -methoxymiller-9*Z*-enolide, 15*O*-acetyl-9 α -hydroxy-8 β -methacryloyloxy-14-oxo-acanthospermolide and miller-1(10)*Z*-enolide.

The comparison of the results obtained in the present work with respect to previous reports demonstrate the relative constancy in the metabolic content of both species. Finally, the preliminary results of the anti-inflammatory activity observed for the CH₂Cl₂/MeOH extracts from *M. cordifolia* and *M. quinqueflora* indicate bioactivity, so it is desirable to purify the mixtures of sesquiterpene lactones to evaluate the activity of each constituent.

1. INTRODUCCIÓN

Es bien conocido que México está entre los países con mayor variedad de especies vegetales a nivel mundial, ya que cuenta con un registro aproximado de 23 mil especies, donde la mayoría corresponde a angiospermas.¹ La información más reciente referente a las plantas en México indica que la familia Asteraceae es la más abundante al considerar el número de géneros y especies que la conforman, seguida de la familia Poaceae, Orchidaceae, Fabaceae y Rubiaceae.^{2,3}

Las especies de la familia Asteraceae biosintetizan diferentes productos naturales (PN) como poliacetilenos, compuestos fenólicos, esteroides y terpenoides; sin embargo, las lactonas sesquiterpénicas (LS) son los compuestos que mejor la caracterizan.⁴ Las LS desempeñan un papel importante en la naturaleza ya que pueden actuar como fitoalexinas, agentes aleloquímicos y como atractores de polinizadores.⁵ Por otro lado, en búsqueda de productos naturales de interés para la salud humana, se ha encontrado que estas sustancias muestran diversas actividades, tales como antibacteriana, antifúngica, analgésica, antiprotozoaria, citotóxica, antiinflamatoria, entre otras.⁵

La inflamación es un proceso para mantener la homeostasis del cuerpo, es indispensable para combatir patógenos y para la reparación del daño tisular. Por otra parte, los procesos inflamatorios pueden estar involucrados en otros padecimientos, entre los cuales pueden mencionarse la artritis reumatoide, inflamación intestinal, diabetes tipo 2, enfermedades neurodegenerativas y cáncer.⁶

En este contexto, los objetivos del presente trabajo pueden resumirse en el aislamiento y la determinación de la estructura molecular de los PN presentes en dos especies de la familia Asteraceae: *Mikania cordifolia* y *Milleria quinqueflora*, así como la comparación de los resultados obtenidos con los reportados en estudios previos. Adicionalmente, se realizó un bioensayo para ponderar la actividad antiinflamatoria de los extractos de CH₂Cl₂/MeOH de ambas especies.

2. ANTECEDENTES

2.1 Familia Asteraceae

La familia Asteraceae (Compositae) es la más grande de las angiospermas por el número de géneros y especies que la constituyen. Su distribución es cosmopolita; sin embargo, se halla mejor representada en regiones semiáridas, tropicales y subtropicales. En México los estados con mayor número de especies son Oaxaca, Jalisco, Durango, Guerrero y Michoacán; la amplia distribución geográfica y su riqueza en especies se debe a su plasticidad genética y mecanismos de dispersión eficientes.³ Muchas de las especies de esta familia son de importancia debido a la variedad de usos que se les da, desde el alimenticio como la lechuga (*Lactuca sativa*) y la alcachofa (*Cynara scolymus*); oleaginosa, como el girasol (*Helianthus annuus*) y el cártamo (*Carthamus tinctorius*); ornamental, como la dalia (*Dahlia coccinea*) y el crisantemo (*Chrysanthemum* sp.); o para cultivos medicinales, como la manzanilla (*Matricaria chamomilla*), árnica mexicana (*Heterotheca inuloides*) y qinghao (*Artemisia annua*).

2.2 Género Mikania

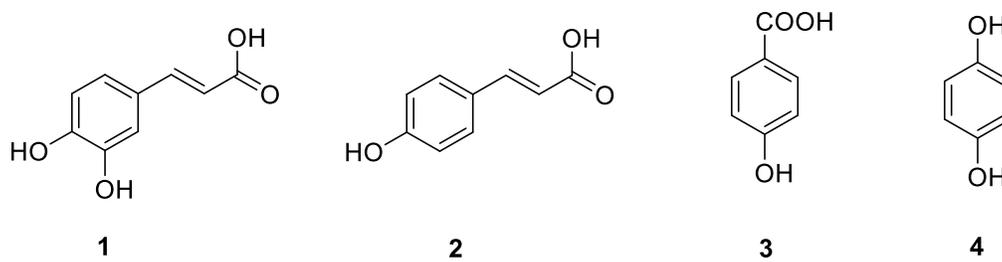
El género *Mikania* es el más grande y distintivo de la tribu Eupatorieae, ya que incorpora más de 450 especies, su distribución está representada en el Centro y Sur de América. En México, se distribuye principalmente en estados costeros del Golfo de México y del Océano Pacífico. Comprende enredaderas perennes, herbáceas o semileñosas, con hojas opuestas pecioladas de tres a siete nervios desde la base, capítulos dispuestos en racimos de corimbos y corolas blancas.⁷ Algunas de sus especies se conocen como “guaco” y se utilizan en la medicina tradicional para el tratamiento de fiebre y enfermedades respiratorias, además, la infusión de sus hojas se utiliza por los habitantes de las selvas tropicales para el tratamiento de picadura de serpiente.⁸ *Mikania cordifolia* (Figura 1) tiene mayor distribución natural en comparación de otras especies del género, la cual se extiende desde el sureste de Estados Unidos hasta Argentina.⁷



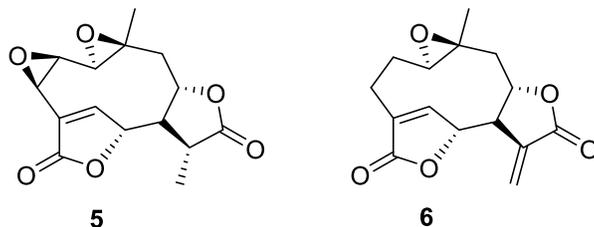
Figura 1. Ejemplar de *Mikania cordifolia*, Herbario Nacional de México. Colector: Rzedowski Número de colecta: 31734 Fecha de colecta: 1974-02-05 País: México Estado: Puebla Localidad: 5 km al SW de Cuetzalan, sobre la carretera a Zacapoaxtla.

2.2.1 Química del género *Mikania*

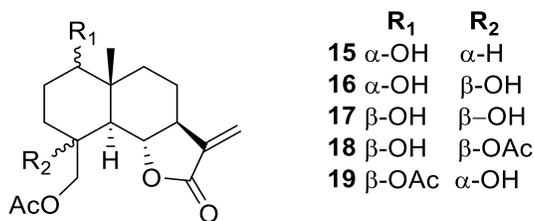
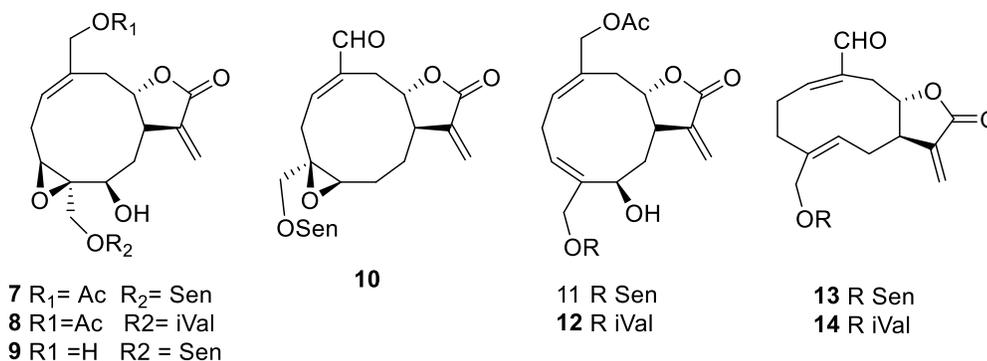
En los trabajos de análisis químico del género *Mikania* se han logrado aislar y caracterizar PN que incluyen cumarinas, fitoesteroles, flavonoides, diterpenos y sesquiterpenos.⁹ Respecto a los compuestos fenólicos se ha aislado ácido cafeico (**1**), ácido *p*-cumárico (**2**), ácido 4-hidroxibenzoico (**3**) e hidroquinona (**4**).¹⁰



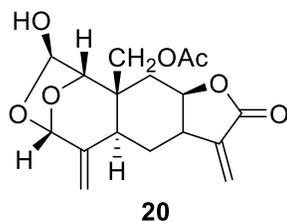
Por otra parte, existen reportes del aislamiento de diterpenos de tipo *ent*-kaurano, como el ácido *ent*-kaur-16-en-19-oico.¹¹ Respecto a los sesquiterpenos, de las partes aéreas de *M. micrantha* colectada en China¹² se han aislado germacranólidas como la dihidromikanólida (5) y desoximikanólida (6).



De una población de *M. thapsoides*¹³ y de *M. campanulata*¹⁴ colectadas en Argentina, se aislaron *cis,cis*-germacranólidas (7-12) y dos melampólidas (13, 14), además de las eudesmanólidas 15-19.

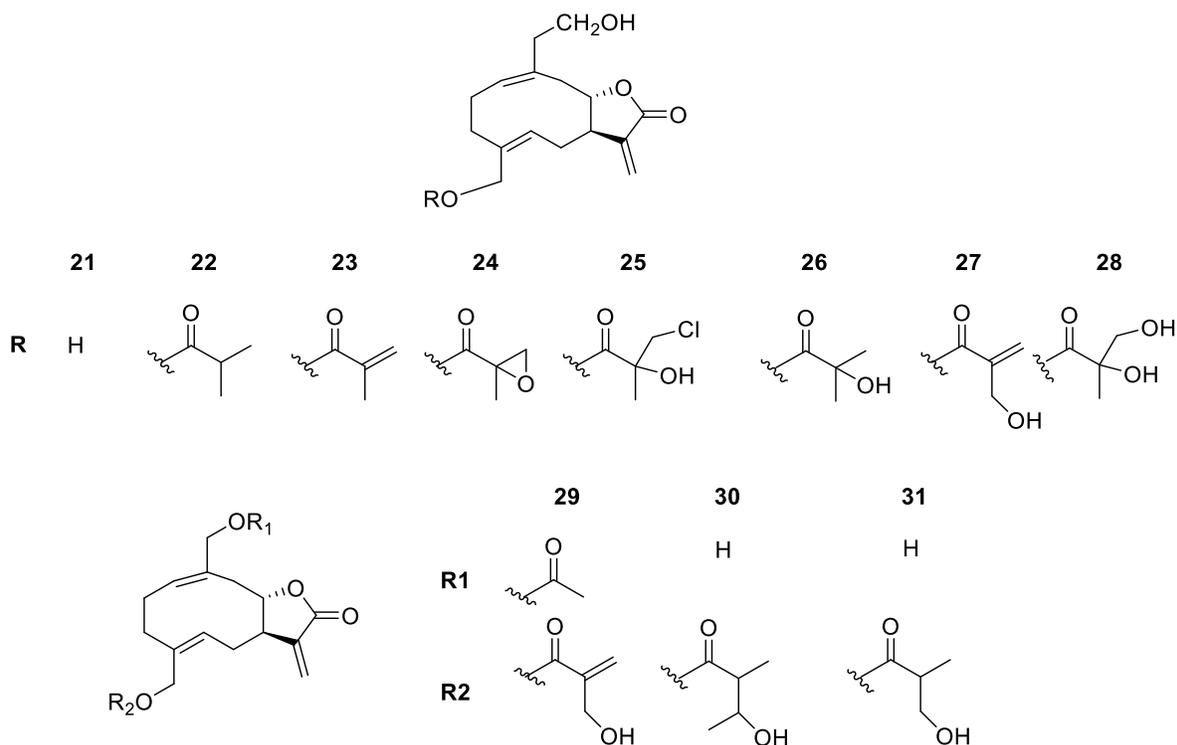


Respecto al análisis sobre la composición química de *M. cordifolia* se encuentra el primer trabajo realizado en 1998,¹⁵ donde se aisló la elemanólida micordilina (**20**).



Por otra parte, se han aislado *cis,trans*-germacranólidas funcionalizadas en C14 y/o C15. De Argentina se analizaron dos colectas de partes aéreas, de las cuales se aislaron y caracterizaron las lactonas **21-28** donde se pueden observar cambios en los grupos éster unidos al C15.¹⁶

De una población de Costa Rica se aislaron las lactonas **21-23**, **26-28** así como la 15*O*-(hidroxi-metacril)-14*O*-acetil-micrantólida (**29**) y 15*O*-(3'-hidroxi-2'-metil)-micrantólida (**30**).¹⁷ En México se estudiaron tres poblaciones de ésta especie colectadas en Michoacán, Guerrero y Chiapas, donde se caracterizaron las LS **21**, **25-27**, **29** y 15*O*-(3'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida (**31**).¹⁸



Finalmente, se analizaron cuatro poblaciones de partes aéreas colectadas en diferentes localidades de Brasil, empleando cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, los resultados mostraron similitud de las poblaciones respecto a la composición de triterpenos como α -amirina, lupeol, lupenona, acetato de α -amirilo, acetato de β -amirilo, taraxasterol, campesterol y β -sitosterol.¹⁹

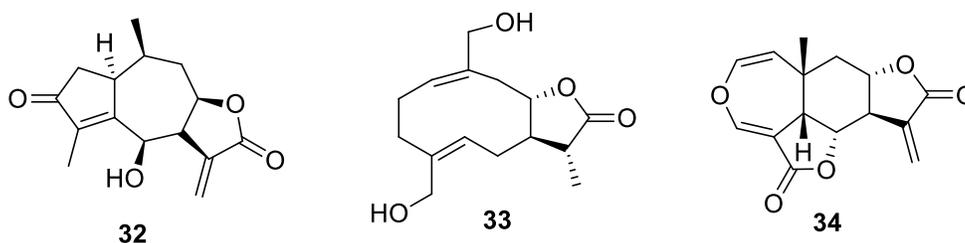
2.2.2 Algunas actividades biológicas de extractos y sustancias obtenidas del género *Mikania*

En el sur de América se ha registrado el uso empírico de las hojas y tallos de *M. cordata*, *M. cordifolia* y *M. guaco* para el tratamiento de picaduras de serpiente.⁸

Los extractos etanólicos de tallos y hojas de *M. cordifolia* colectadas en Paraguay se evaluaron para conocer la actividad insecticida frente a *Triatoma infestans*, un insecto heteróptero considerado como el vector responsable de la transmisión de la enfermedad de Chagas, los resultados mostraron inhibición en la muda del insecto en 73 y 25 % respectivamente.²⁰ Por otra parte, se evaluaron extractos acuosos y orgánicos de cuatro especies de *Mikania*: *M. micrantha*, *M. parodii*, *M. periplocifolia* y *M. cordifolia* colectadas en Argentina con la finalidad de conocer la actividad antiprotozoaria en epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania braziliensis*, los resultados más favorables se observaron para el extracto orgánico de *M. micrantha*, el cual inhibió 78 % y 85% de *T. cruzi* y *L. braziliensis* a una concentración de 10 $\mu\text{g/mL}$. El perfil cromatográfico y el análisis por infrarrojo sugirieron la presencia de lactonas sesquiterpénicas en el extracto.²¹

Por otra parte, se evaluó el potencial analgésico y la capacidad antioxidante *in vitro* del extracto etanólico de *M. cordifolia* colectada en Bangladesh, la actividad analgésica del extracto crudo mostró 42% de inhibición de la contracción abdominal de ratón a una dosis de 500 mg/kg de peso corporal. Respecto a la actividad de atrapamiento del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y actividad quelante de metales, los resultados fueron moderados.²² De *M. micrantha* y *M. cordifolia* colectadas en México se aislaron 13 LS que se evaluaron frente a líneas celulares de cáncer de sistema nervioso central, pecho y pulmón, del total de compuestos solamente la 8-*epi*-mikanocriptina (**32**), 11H β -11,13-

dihidromicrantólida (**33**), **5**, **6** y miscandenina (**34**) mostraron mayor actividad en las líneas celulares evaluadas, obteniendo una CI_{50} (concentración inhibitoria media) en un rango de 1.9 a 7.8 μM . Los mismos compuestos se evaluaron en un modelo de inflamación auricular murino inducido por el acetato de tetradecanoil forbol (ATF), donde se obtuvieron resultados marginales respecto a la inhibición de la inflamación.¹⁸



2.3 Género *Milleria*

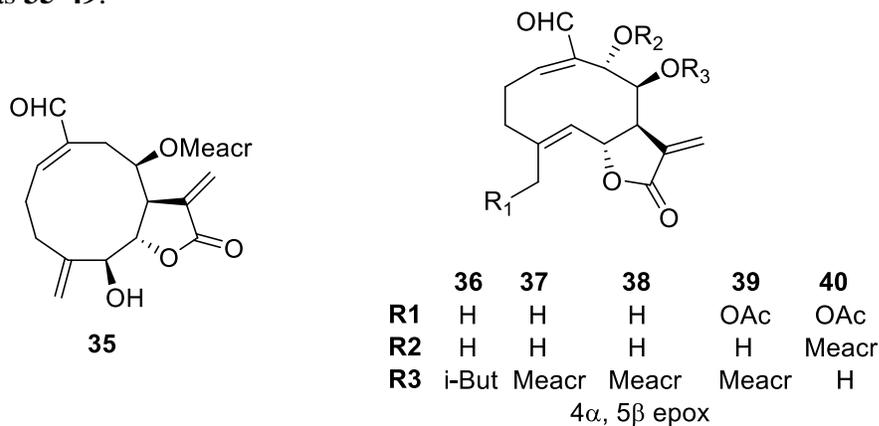
El género *Milleria* pertenece a la tribu Millerieae, comprende 16 especies descritas, de las cuales, solo las especies *perfoliata* y *quinqueflora* han sido aceptadas de acuerdo a la base de datos *The Plant List*.²³ Se distribuye principalmente en lugares de clima cálido entre 100 y 300 msnm, principalmente en el centro y sur de América. En México se ha registrado prácticamente en todos los estados de la república a excepción de Baja California, la frontera Norte (Nuevo León, San Luis Potosí, Tamaulipas, Zacatecas) y Tabasco.¹ Es una planta herbácea de 0.5 a 2 m de alto, tallos ramificados hacia la parte superior; hojas de posición opuesta triangular o acorazonada; flores agrupadas en cabezuelas pequeñas de 2 a 2.5 mm que encierran una flor laminar amarilla de 5 mm de largo y cuatro flores tubulosas de 3 mm de largo; un solo fruto en la cabezuela, seco y color negro. Es una planta abundante en la orilla de caminos y parcelas abandonadas. En la medicina tradicional se utiliza para el tratamiento de ampollas en la boca, dolor de muelas, insomnio y obesidad.²⁴

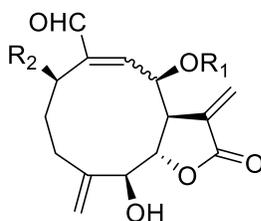


Figura 10. Ejemplar de *Milleria quinqueflora*, Herbario Nacional de México. Número de colecta: 11997 Fecha de colecta: 1986-10-11 País: México Estado: Morelos Localidad: 4 Km al NO de Yautepec, sobre la carretera federal a Tepoztlán.

2.3.1 Química del género *Milleria*

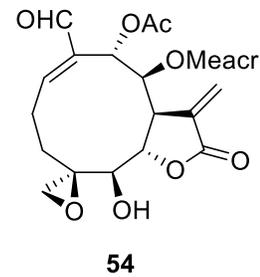
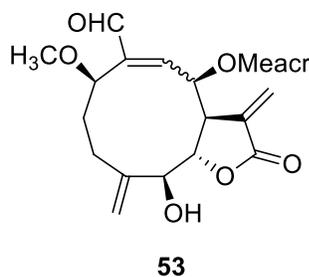
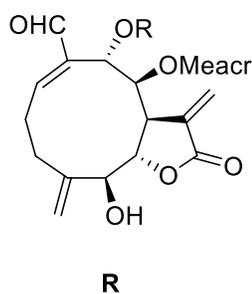
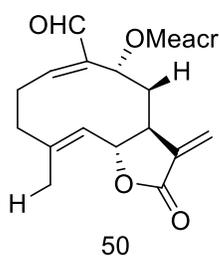
Existen dos trabajos que informan sobre la composición química de *M. quinqueflora*, de partes aéreas colectadas en Tilarán, Costa Rica²⁵ se logró el aislamiento y caracterización de germacreno D, escualeno, óxido de β -cariofileno, fitol, cicloartenol y las lactonas sesquiterpénicas **35-49**.





	41	42	43	44	45	46	47	48	49
R1	Meacr	Meacr	Meacr	Meacr	Meacr	Meacr	Ang	Meacr	Meacr
R2	H	H	OEt	H	H	H	H	OEt	OMe
9	E	Z	Z	E	E	Z	E	Z	Z
4-15	4β Epóxido								
5	H	H	H	H	H	OAc	H	H	H

Por otra parte, de partes aéreas de la misma especie²⁶ se aislaron las lactonas sesquiterpénicas **32-46** obtenidas previamente en el trabajo de 1987 además de las lactonas **47-51**.



51 CH3
52 Ac

2.3.2 Algunas actividades biológicas de extractos y sustancias obtenidas del género *Milleria*

Se han realizado pruebas a los extractos metanólicos de hojas y raíces de *M. quinqueflora* colectadas en la península de Yucatán; ambos extractos se evaluaron *in vitro* frente a promastigotes de *L. mexicana* mostrando una CI₅₀ de 135 y 49 µg/mL respectivamente, siendo doblemente más activo el extracto proveniente de las raíces de esta especie

vegetal.²⁷ Por otra parte, las lactonas sesquiterpénicas aisladas de hojas de *M. quinqueflora* (**32-51**) se evaluaron para conocer la actividad antiinflamatoria utilizando el factor de transcripción NF- κ B como blanco molecular, el cual está involucrado en la síntesis de diversos mediadores de la inflamación. Como parte de los resultados obtenidos, todos los compuestos mostraron inhibición en la activación del factor de transcripción NF- κ B en concentraciones de 5-10 μ M sin mostrar efectos citotóxicos.²⁶ La actividad de los compuestos se atribuyó al grupo α -metilen- γ -lactona así como grupos carbonilo α,β insaturados. Finalmente, se ha estudiado el efecto terapéutico de la lactona 4 β ,15-epoximiller-9-*Z*-enólida obtenida de *M. quinqueflora* en lesión local por envenenamiento botrópico en conejos por medio de la cuantificación de halo hemorrágico y necrosis local, el compuesto mostró actividad al presentar menor grado de edema, así como desaparición del halo hemorrágico a las 54 h del tratamiento, la actividad se atribuyó a la inhibición del factor de transcripción NF- κ B involucrado en el proceso inflamatorio.²⁸

3. JUSTIFICACIÓN

Mikania cordifolia y *Milleria quinqueflora* son dos especies vegetales que han sido estudiadas en diferentes países del continente americano, sin embargo, al distribuirse en México, es pertinente la generación de conocimiento científico respecto a la composición química de estas especies localizadas en nuestro país. Asimismo, las propiedades biológicas de los productos naturales obtenidos pueden ser evaluadas en diversos ámbitos de interés tales como el farmacológico, agronómico o ecológico.

4. HIPÓTESIS

Considerando estudios químicos previos sobre *Mikania cordifolia* y *Milleria quinqueflora* así como los usos empíricos que se les da a ambas especies, es posible que el análisis del material vegetal permita el aislamiento y la caracterización de compuestos con estructuras similares a los reportados anteriormente. De esta manera será posible comparar la constancia en el contenido metabólico de las especies y, eventualmente, evaluar algunas de sus propiedades biológicas.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Generar conocimiento científico adicional sobre la composición química y actividad biológica de los extractos obtenidos a partir de las especies *Mikania cordifolia* y *Milleria quinqueflora*.

5.2 Objetivos particulares

1. Aislar y elucidar las estructuras moleculares de los productos naturales presentes en el extracto hexánico y CH₂Cl₂/MeOH de partes aéreas de una población de *M. cordifolia* colectada en Hidalgo y una población de *M. quinqueflora* colectada en Morelos.
2. Contextualizar los resultados obtenidos para ambas especies con la información reportada en la literatura.
3. Realizar evaluaciones preliminares de la actividad antiinflamatoria de los extractos CH₂Cl₂/MeOH de ambas especies.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los extractos obtenidos de partes aéreas de ambas especies vegetales se analizaron aplicando métodos convencionales de extracción y purificación. En esta sección se presentarán las evidencias espectroscópicas de RMN ^1H y RMN ^{13}C que permitieron la determinación de las estructuras moleculares de los compuestos aislados, los cuales fueron confirmados por la comparación de los datos obtenidos con los informados en la literatura. En algunos casos se llevó a cabo la comparación directa con muestras auténticas obtenidas en el laboratorio.

De *Mikania cordifolia* se logró el aislamiento y caracterización de los siguientes compuestos: lupeol (**55**), acetato de lupeilo (**56**), β -amirina (**57**), acetato de β -amirilo (**58**), β -sitosterol (**59**), estigmasterol (**60**), 15*O*-(4'-hidroxi-metacril)-micrantólida (**27**), 15*O*-(2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida (**26**), 15*O*-(4'-hidroxi-metacril)-14*O*-acetil-micrantólida (**29**), 15*O*-(3'-cloro-2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida (**25**) y jaceosidina (**61**).

De *Milleria quinqueflora* se logró el aislamiento y caracterización de los siguientes compuestos: **59**, **60**, escualeno (**62**) y óxido de β -cariofileno (**63**). De las fracciones de mediana y alta polaridad, solo se analizaron aquellas que mostraron manchas pronunciadas en CCF y que además en el espectro de infrarrojo mostraron bandas entre 1760-1790 cm^{-1} correspondiente al carbonilo de γ -lactonas. Los fraccionamientos sucesivos por CC utilizando gel de sílice y diferentes sistemas de elución permitieron la obtención de mezclas, donde los compuestos mayoritarios fueron las LS miller-9*Z*-enólida (**64**) y 1 β -metoximiller-9*Z*-enólida (**65**), 15*O*-acetil-9 α -hidroxi-8 β -metacrililoiloxi-14-oxo-acantospermólida (**66**) así como la miller-1(10)*Z*-enólida (**67**).

En los siguientes diagramas se resume el procedimiento general de separación y los compuestos que se obtuvieron de cada fracción.

Diagrama de separación del extracto hexánico de *Mikania cordifolia*

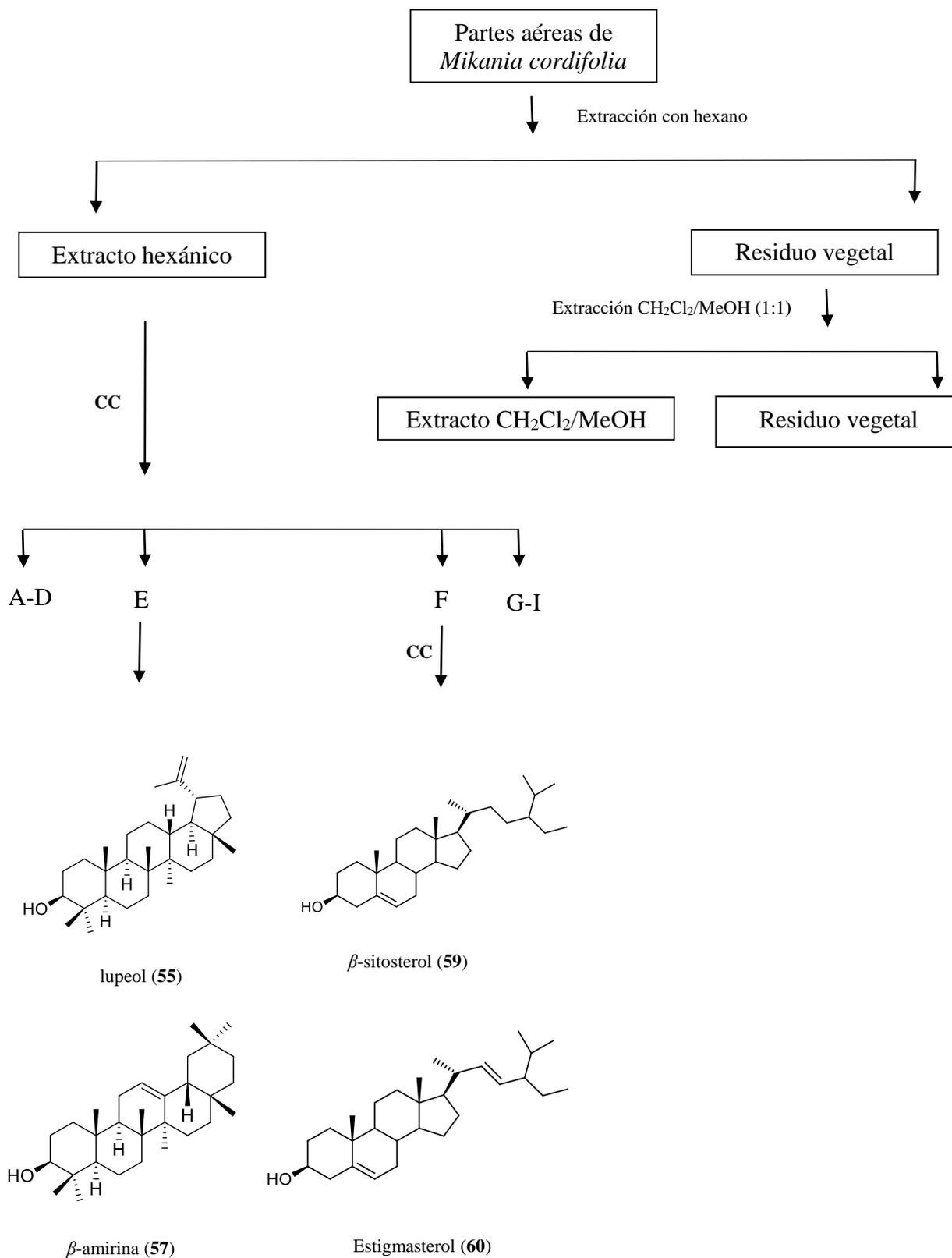


Diagrama de separación del extracto CH₂Cl₂/MeOH de *Mikania cordifolia*

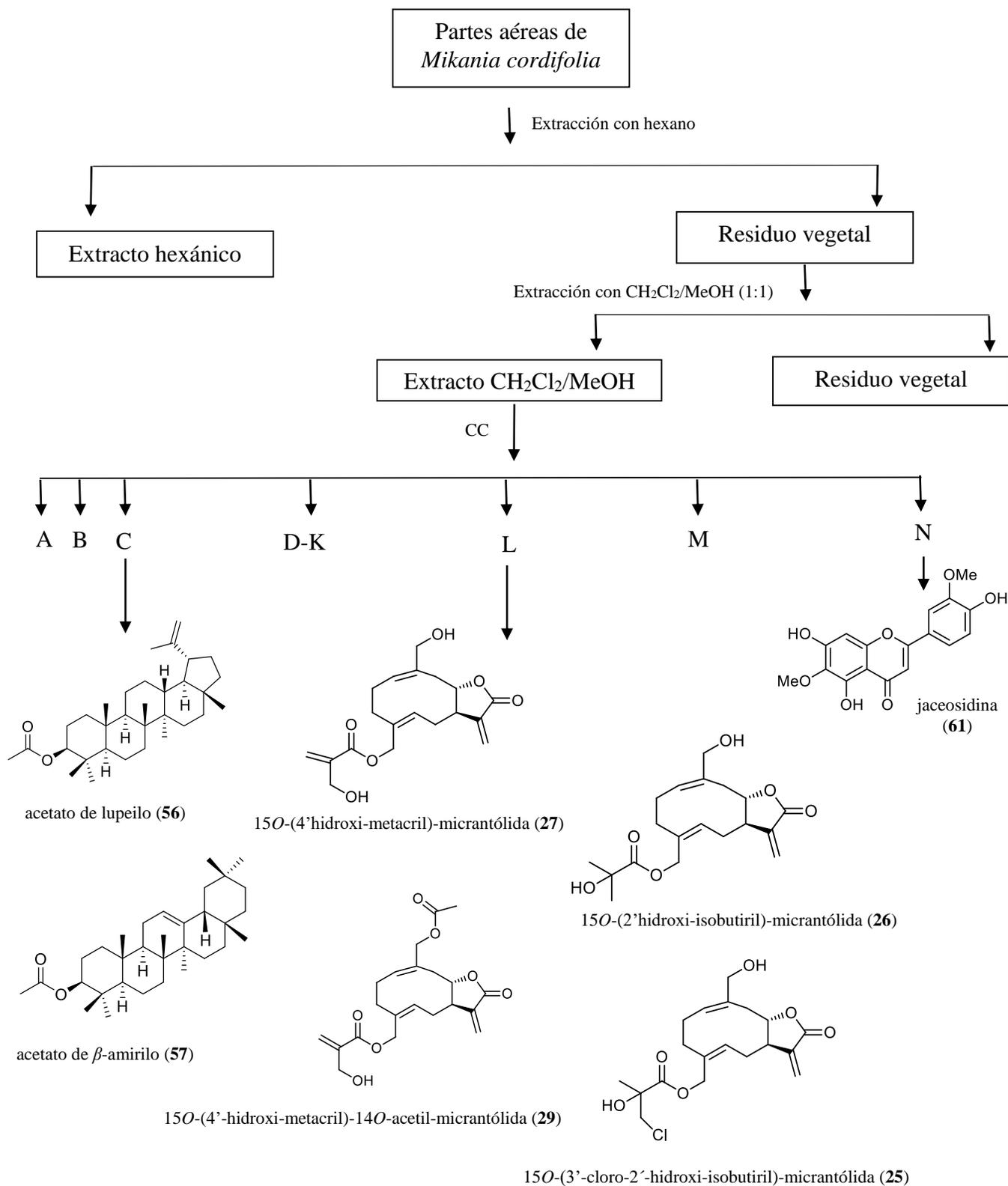


Diagrama de separación del extracto hexánico de *Milleria quinqueflora*

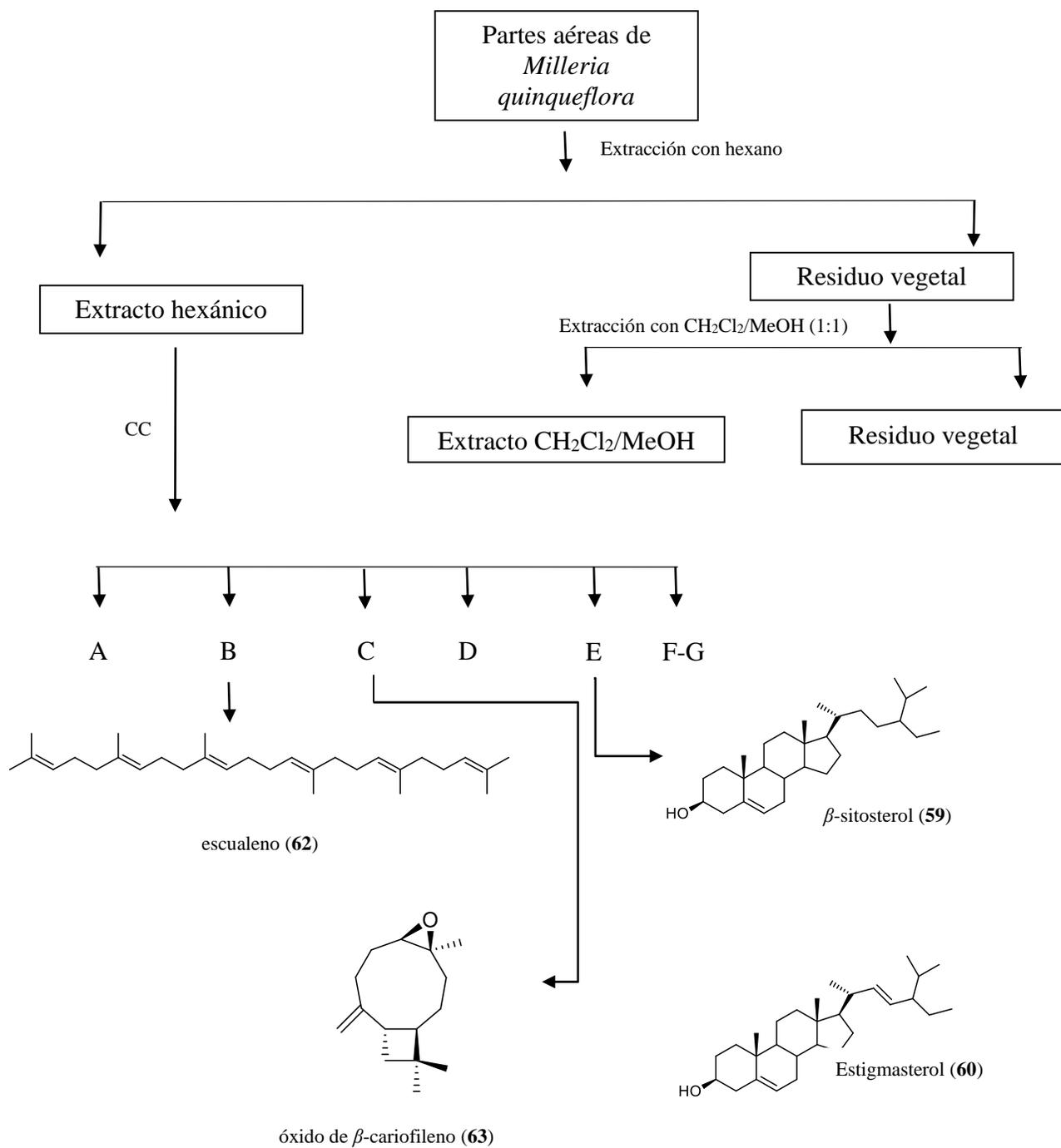
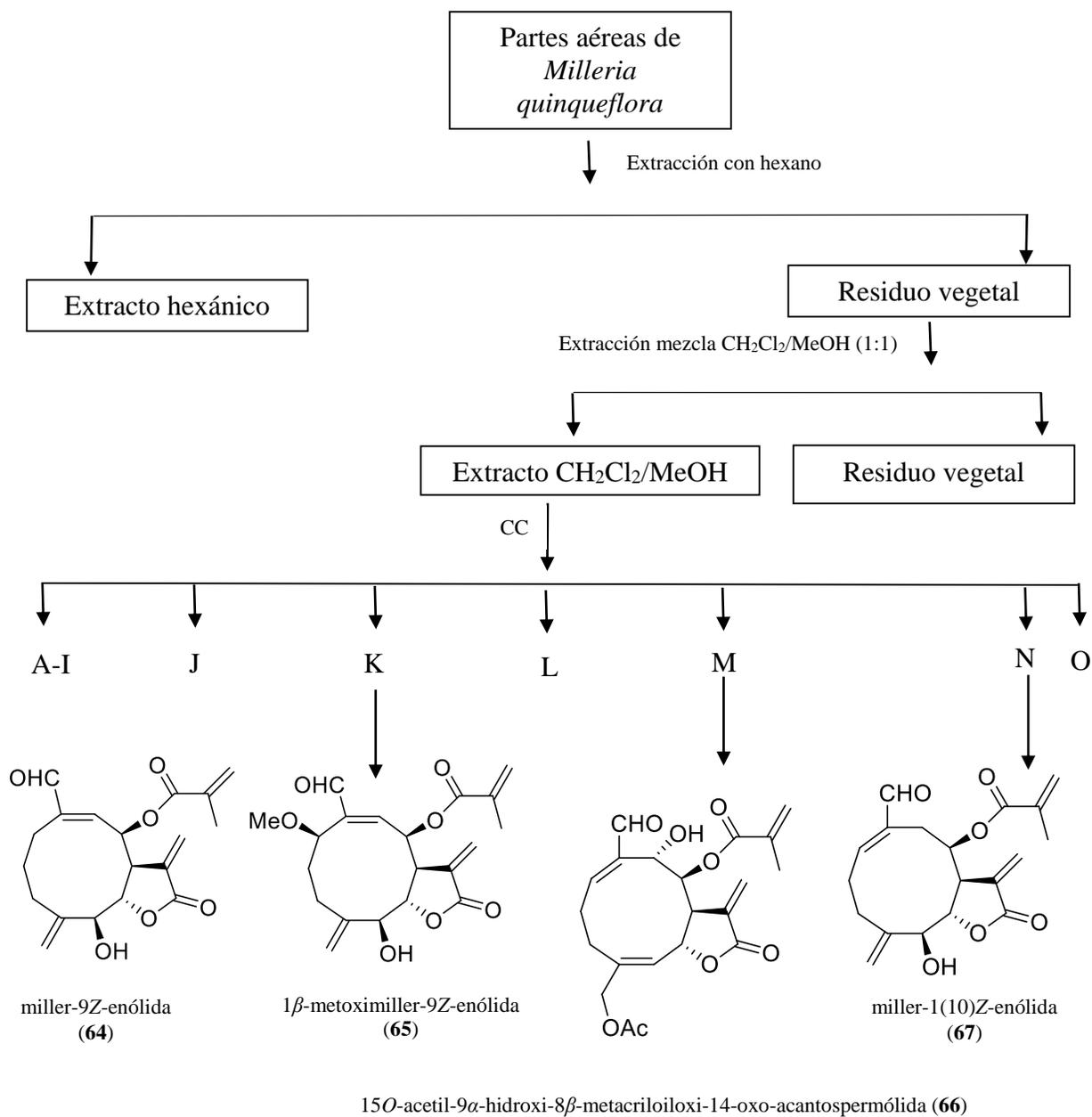
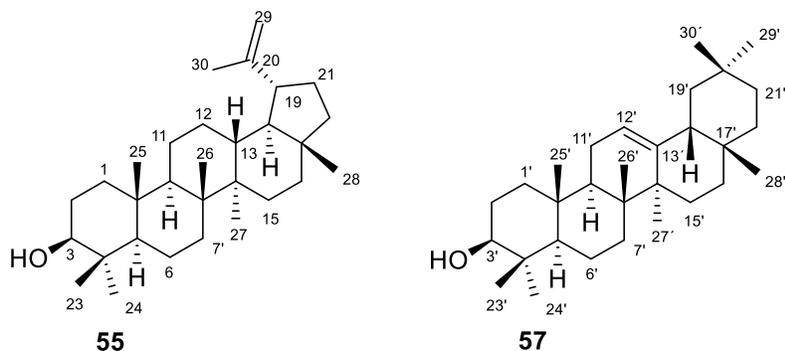


Diagrama de separación del extracto CH₂Cl₂/MeOH de *Milleria quinqueflora*



6.1. Resultados del análisis químico de *Mikania cordifolia*

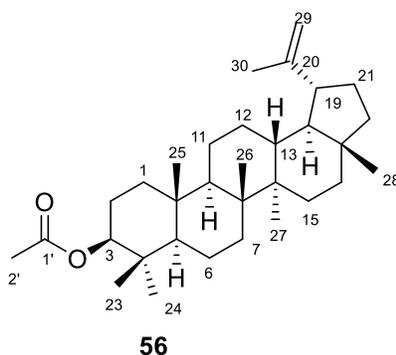
Mezcla de lupeol (**55**) y β -amirina (**57**)



De las fracciones de menor polaridad del extracto hexánico de *M. cordifolia* se logró el aislamiento de un sólido blanco que mostró una mancha homogénea en CCF. Al revelar con sulfato cérico amoniacal la mancha se observó inicialmente de color naranja, transcurrido el tiempo se tornó color rosa intenso. El espectro de RMN ^1H de éste sólido mostró numerosas señales hacia campo alto atribuibles a metilos y metilenos que corresponden a un perfil de triterpeno. En la región de hidrógenos vinílicos del espectro de RMN ^1H (Espectro 1) se observó una señal doble en δ_{H} 4.68 ($J=2.5$ Hz) y un doble de dobles en δ_{H} 4.56 ($J=2.5, 1.4$ Hz) correspondientes a los hidrógenos 29b y 29a del grupo isopropenilo del lupeol (**55**). En δ_{H} 3.18 se observó un doble de dobles ($J=11.2, 5.1$ Hz) característico del hidrógeno 3α de triterpenos, que fue consistente con el hidrógeno 3 del compuesto **55**, en δ_{H} 2.36 se observó una señal múltiple, asignada al metino de la posición 19. Adicionalmente, hacia campo alto se observaron siete singuletes en δ_{H} 1.68, 1.02, 0.96, 0.94, 0.82, 0.78 y 0.76, que correspondieron a los metilos de las posiciones 30, 26, 23, 27, 25, 28 y 24, respectivamente, del lupeol.²⁹ En el espectro de RMN ^{13}C (Espectro 2) se observaron 58 señales que sugirieron la presencia de una mezcla de dos triterpenos. La presencia de lupeol (**55**) en la mezcla se corroboró por las señales de los carbonos olefínicos 20 y 29 (en δ_{C} 109.5 y 151.1, respectivamente) así como por la señal del carbono del oximetino en C3 (δ_{C} 79.2). Sin embargo, se observaron dos señales adicionales de carbonos olefínicos en δ_{C} 121.7 y 145.1, los cuales coincidieron con los informados para el C12 y C13 de la β -amirina (**57**), sugiriendo que este triterpeno fuera el constituyente minoritario de la mezcla.³⁰ Para corroborar la presencia del compuesto **57** en la mezcla se

analizó detalladamente el espectro RMN ^1H en donde se observaron señales de menor intensidad en δ_{H} 5.18 (t, $J=3.6$ Hz) atribuible al hidrógeno vinílico en C12 del compuesto **57**. Adicionalmente, hacia campo alto se lograron distinguir singuletes en δ_{H} 1.13, 0.97 y 0.79 atribuibles a los metilos 27', 24' y 23', respectivamente, los desplazamientos químicos obtenidos fueron consistentes con la información de la literatura para dicho compuesto.³⁰ La intensidad de las señales de los hidrógenos vinílicos de ambos compuestos permitió concluir la proporción 9:1 de la mezcla lupeol: β -amirina.

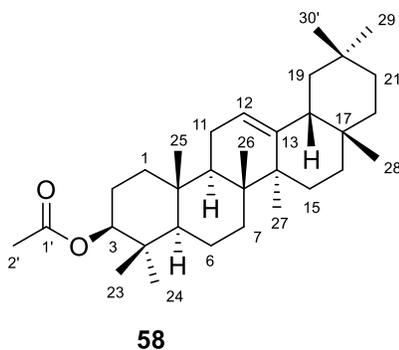
Acetato de lupeilo (**56**)



El compuesto **56** se logró purificar como un polvo blanco de las fracciones de menor polaridad del extracto $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ de *M. cordifolia*, en CCF se observó como una mancha homogénea color café que con el tiempo cambió a coloración morada al revelar con una solución de sulfato cérico amoniacal. De manera similar a los compuestos **55** y **57** descritos previamente, el espectro de RMN ^1H de **56** (Espectro 3) mostró numerosas señales correspondientes a metilos y metilenos, lo cual sugirió la presencia de un triterpeno. Se observaron dos señales en la región de hidrógenos vinílicos, una señal doble en δ_{H} 4.68 ($J=2.5$ Hz) y un doble de dobles en δ_{H} 4.58 ($J=2.5, 1.4$ Hz) atribuibles a los hidrógenos 29b y 29a del grupo isopropenilo del lupeol (**55**). A comparación del compuesto **55**, la señal del hidroximetino de la posición 3 α se desplazó 1.29 ppm hacia campo bajo debido a la desprotección del oxígeno de un éster, observándose el doble de dobles ($J=11.2, 5.1$ Hz) en δ_{H} 4.47; la estructura del éster se definió por la presencia de un singulete en δ_{H} 2.03 que integró para tres hidrógenos y que corresponde al metilo de un grupo acetato. Adicionalmente, se observaron siete singuletes hacia campo alto en δ_{H} 1.68, 1.03, 0.94, 0.86, 0.85, 0.84 y 0.79, que correspondieron a los metilos de la posición 30, 26, 27, 23, 24,

25 y 28, respectivamente, del compuesto **56**. En el espectro de RMN ^{13}C (Espectro 4) se observaron 32 señales, la señal correspondiente al grupo carbonilo se observó en δ_{C} 170.9, los carbonos olefínicos en δ_{C} 150.9 y 109.3 se asignaron a los C20 y C29, respectivamente, la señal en δ_{C} 80.9 se asignó al C3 unido a oxígeno; a comparación del compuesto **55**, se desplazó hacia campo bajo debido a la presencia del grupo acetato. La comparación de los datos obtenidos con los informados en la literatura permitió corroborar la estructura del acetato de lupeilo (**56**).³¹

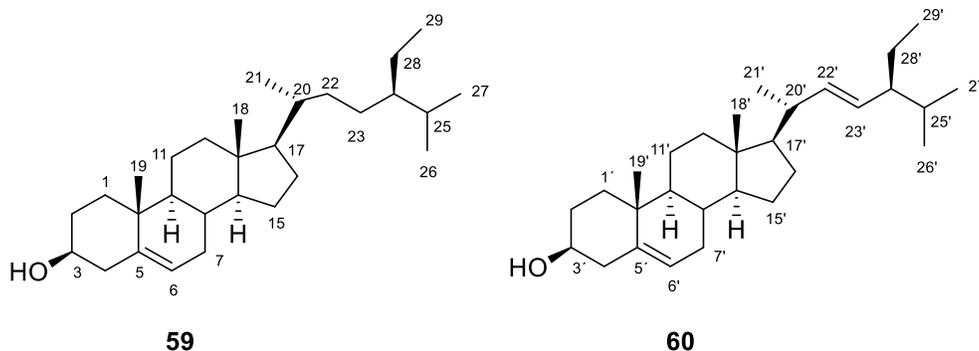
Acetato de β -amirilo (**58**)



El compuesto **58** se aisló como un sólido blanco de las fracciones de menor polaridad del extracto $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ de *M. cordifolia*, se observó como una mancha homogénea de color morado en CCF. El espectro de RMN ^1H (Espectro 5) mostró las señales hacia campo alto atribuibles a metilos y metilenos característicos de triterpenos. En la región de hidrógenos vinílicos se observó una señal triple en δ_{H} 5.19 ($J=3.6$ Hz) atribuible al hidrógeno del C12, presumiblemente de la β -amirina. Por otra parte, el hidroximetino de la posición 3α se observó en δ_{H} 4.50 mostrando una diferencia de desplazamiento químico de 1.32 ppm respecto al observado para el compuesto **57**, esto debido a la desprotección de un oxígeno de éster, la estructura del mismo se definió por la señal en δ_{H} 2.05 que integró para tres hidrógenos y se asignó al metilo de un grupo acetato. Adicionalmente, se observaron singuletes en δ_{H} 1.13-0.83, correspondientes a ocho metilos de la molécula. Respecto al espectro de RMN ^{13}C (Espectro 6) se observaron 32 señales, la correspondiente al grupo carbonilo se observó en δ_{C} 170.9, los carbonos olefínicos C12 y C13 se observaron en δ_{C} 121.5 y 145.1, respectivamente, la señal en δ_{C} 80.9 se asignó al C3 unido a un oxígeno, a

comparación del compuesto **57**, se desplazó hacia campo bajo debido a la presencia del grupo acetato. Las comparaciones directas de los datos espectroscópicos con los informados en la literatura permitieron corroborar la estructura del acetato de β -amirilo.³¹

Mezcla de β -Sitosterol (**59**) y estigmasterol (**60**)



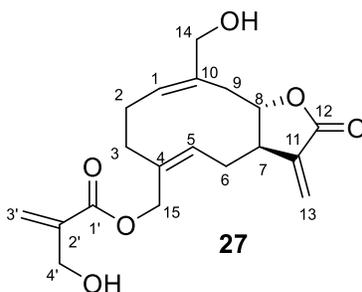
De ambas especies analizadas químicamente se logró el aislamiento de agujas blancas que se observaron como una mancha homogénea color vino en CCF al revelar con una solución de sulfato cérico amoniacal. En el espectro de RMN ^1H (Espectro 7) se observaron numerosas señales hacia campo alto traslapadas en δ_{H} 2.40-0.70 correspondientes a grupos metilo y metilenos. En δ_{H} 3.52 se observó un multiplete, el cual, de acuerdo a comparaciones con fitoesteroles aislados en el laboratorio, sería asignable al hidroximetino de la posición 3α . En efecto, la señal doble en δ_{H} 5.35 ($J=5.16$ Hz) correspondiente al hidrógeno vinílico 6, es consistente con el desplazamiento químico informado para el β -sitosterol (**59**). Sin embargo, se observó la presencia de señales adicionales en la región de hidrógenos vinílicos, dos dobles de dobles en δ_{H} 5.17 y 5.04 ($J=15.1, 8.6$ Hz) asignables a los hidrógenos 22 y 23 en disposición *trans* del estigmasterol (**60**). La proporción relativa de cada constituyente fue determinada por la integración de los hidrógenos vinílicos, evidenciando una mezcla 1:1. En el espectro de RMN ^{13}C (Espectro 8) se observaron un total de 56 señales que confirmaban la presencia de dos compuestos, los carbonos olefínicos compartidos C5 y C6 se observaron en δ_{C} 140.9 y 121.8, respectivamente. Sin embargo, se observaron dos señales adicionales de carbonos olefínicos en δ_{C} 139.4 y 129.4, los cuales fueron consistentes con los reportados para el C22 y C23, del estigmasterol. La

comparación de los datos obtenidos con los informados en la literatura, así como la comparación directa por CCF con muestras auténticas obtenidas en el laboratorio permitieron confirmar la presencia de una mezcla de β -sitosterol: estigmasterol (1:1).³²

Lactonas sesquiterpénicas

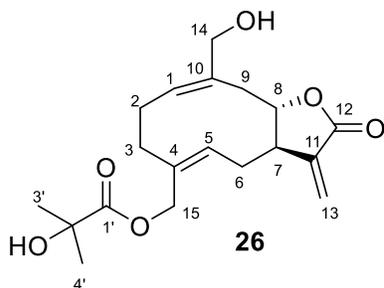
Después de separaciones cromatográficas sucesivas de la fracción L del extracto $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ de *M. cordifolia* se logró el aislamiento de cuatro lactonas sesquiterpénicas. Las cuales se observaron en CCF como manchas homogéneas de color rosa intenso al revelar con una solución de sulfato cérico amoniacal. Las sustancias se obtuvieron como aceites de color amarillo pálido, se observó la descomposición parcial de las muestras por CCF después del proceso de separación, la labilidad observada se atribuyó al contacto con la luz, el aire y/o al permanecer disueltos en cloroformo o diclorometano. De acuerdo a estudios previos sobre esta especie,¹⁸ era esperable el aislamiento de lactonas sesquiterpénicas pertenecientes al grupo de las melampólidas (1(10)-*cis*,4(5)-*trans*-ciclododecadienólidas). Efectivamente, se aislaron cuatro sustancias caracterizadas por un ciclododecadieno funcionalizadas en los C14 y/o C15, por lo cual, los espectros de RMN ^1H y RMN ^{13}C fueron similares, las diferencias que se observaron correspondieron a los grupos éster unidos al C14 y/o C15. A continuación se discuten las señales espectroscópicas de cada compuesto.

15O-(4'-hidroxi-metacril)-micrantólida (27)



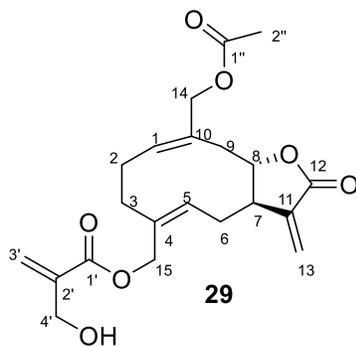
De las cuatro LS aisladas, el compuesto **27** fue el que mostró mayor labilidad. En la región de hidrógenos vinílicos del espectro de RMN ^1H (Espectro 9) del compuesto **27** se observó un par de señales dobles en δ_{H} 6.24 y δ_{H} 5.58 ($J=3$ Hz) correspondientes a los hidrógenos 13a y 13b característicos del doble enlace exocíclico de lactonas sesquiterpénicas. Adicionalmente, se observaron dos singuletes anchos en δ_{H} 6.25 y δ_{H} 5.88 que se atribuyeron a los hidrógenos 3'a y 3'b, del doble enlace del grupo hidroximetacrilato. Los hidrógenos vinílicos H5 y H1 se observaron en δ_{H} 5.60 y 5.56, ambas señales correlacionaron en el espectro HSQC con las señales de carbono en δ_{H} 126.4 y 124.8, respectivamente. En δ_{H} 4.66 y 4.56 ($J=12$ Hz) se observó un sistema AB correspondiente a los hidrógenos alílicos del metileno 15 unido a oxígeno de un éster, en δ_{H} 4.31 y 4.09 se observaron dos dobletes anchos de los hidrógenos 4'ab y 14ab, respectivamente. Por otra parte, se observó una señal ancha en δ_{H} 3.81 correspondiente al hidrógeno 8β unido a un átomo de oxígeno. Hacia campo alto se observaron multipletes correspondientes a metilenos de la molécula. En el espectro de RMN ^{13}C (Espectro 10) se observaron 19 señales de las cuales, las observadas en δ_{C} 169.5 y 166.1, se asignaron al carbonilo del anillo de la lactona y del grupo éster, respectivamente. En δ_{C} 139.4-120.9 se observaron ocho señales de carbonos olefínicos que indicaron la presencia de 4 insaturaciones en la molécula. Adicionalmente la señal en δ_{C} 84.3 se asignó al carbono unido a oxígeno de la posición 8, en δ_{C} 66.3-62.5 se observaron tres señales de metilenos unidos a oxígeno. Finalmente, en δ_{C} 46.6-28.6 se observaron las señales correspondientes al metino de la posición 7 y metilenos de la posición 9, 3, 6 y 2. La comparación detallada de los datos espectroscópicos con los informados en la literatura permitieron confirmar la estructura de la lactona 15*O*-(4'-hidroxi-metacril)-micrantólida (**7**).¹⁶

15*O*-(2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida (**26**)



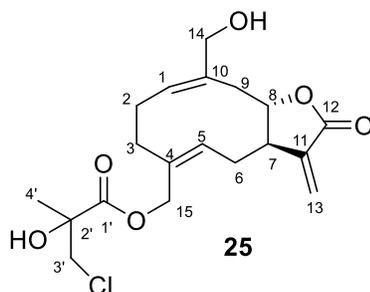
El espectro de RMN ^1H (Espectro 11) del aceite amarillo **26** mostró diferentes señales en la región de hidrógenos vinílicos, se observaron dos señales dobles en δ_{H} 6.26 y 5.60 ($J=3$ Hz) correspondientes a los hidrógenos 13a y 13b del metileno exocíclico característico de lactonas sesquiterpénicas. Los hidrógenos vinílicos H1 y H5 se traslaparon en la región de δ_{H} 5.61-5.64. Por otra parte, en δ_{H} 4.64 y 4.52 ($J=12$ Hz) se observó un sistema AB correspondiente a los hidrógenos alílicos del metileno 15 unido a oxígeno de un éster, así como un singulete ancho en δ_{H} 4.13 de los hidrógenos alílicos 14, la señal característica del hidrógeno 8β unido a oxígeno se observó en δ_{H} 3.84. Para confirmar la estructura del grupo éster unido al C15 los singuletes observados en δ_{H} 1.46 y δ_{H} 1.43 fueron concluyentes ya que integraron para tres hidrógenos cada uno y por su multiplicidad se asignaron a los metilos de la posición 3' y 4' del grupo hidroxiisobutirilo. En el espectro de RMN ^{13}C (Espectro 12) se observaron 19 señales de las cuales, las observadas en δ_{C} 177.0 y 169.7 se asignaron a los grupos carbonilo del grupo éster y del anillo de la lactona, respectivamente. En δ_{C} 139.1-121.0 se observaron seis señales de los carbonos olefínicos, indicando tres insaturaciones en la molécula, la señal en δ_{C} 84.2 se asignó al carbono 8 unido a oxígeno, también destacan las señales de los metilos de la posición 3' y 4' en δ_{C} 27.2 y 26.9, respectivamente. Las comparaciones detalladas con los datos de la literatura permitieron concluir la estructura de la 15*O*-(2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida.¹⁶

15*O*-(4'-hidroxi-metacril)-14*O*-acetil-micrantólida (**29**)



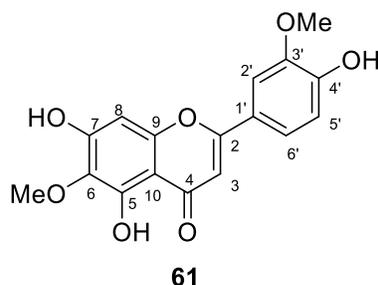
A comparación de los compuestos **26** y **27**, los espectros del aceite amarillo **29** mostraron un mayor número de señales. En la región de hidrógenos vinílicos del espectro de RMN ^1H (Espectro 13) se observaron dos señales dobles en δ_{H} 6.26 y 5.58 ($J= 3$ Hz) correspondientes a los hidrógenos 13a y 13b del metileno exocíclico característico de lactonas sesquiterpénicas, en δ_{H} 6.25 y 5.88 ($J=1.42$) se observaron dos señales dobles que se asignaron a los hidrógenos 3'a y 3'b, del doble enlace adicional del grupo hidroximetacrilato unido al C15. En δ_{H} 5.61-5.59 se traslaparon las señales de los hidrógenos vinílicos H1 y H5. Por otra parte, se observaron dos sistemas AB en δ_{H} 4.73 y 4.51 (d, $J= 13$ Hz) así como en δ_{H} 4.58 y 4.51 (d, $J=12$ Hz) correspondientes a los hidrógenos alílicos 15 y 14, respectivamente, ambos unidos a un oxígeno de éster. En δ_{H} 4.33 se observó un singulete ancho asignado a los hidrógenos del metileno 4', el desplazamiento observado hacia campo bajo para estos hidrógenos se atribuye a la desprotección del grupo hidroxilo. En δ_{H} 3.81 se observó una señal ancha correspondiente al hidrógeno 8β unido al oxígeno del anillo de la lactona, hacia campo alto se observaron numerosas señales sin multiplicidad definida correspondientes a los metilenos de la molécula, sin embargo, destacó un singulete en δ_{H} 2.08 que integró para tres hidrógenos y se asignó al metilo del grupo acetato unido al C14. En el espectro de RMN ^{13}C (Espectro 14) se observaron 21 señales de las cuales, las desplazadas en δ_{C} 170.9, 169.7 y 166.2 se asignaron a grupos carbonilo del grupo acetato, del metacrilato y del carbonilo de la lactona, respectivamente. Por otra parte, se observaron ocho señales de carbonos olefinicos en δ_{C} 142.2-121.1 que sugerían la presencia de cuatro insaturaciones en la molécula, en δ_{C} 83.6 y δ_{C} 67.9-62.2 se observaron cuatro señales de carbonos unidos a un átomo de oxígeno, la señal en δ_{C} 21.1 se asignó al metilo del grupo acetato, adicionalmente se observaron señales de carbonos de metilenos de la molécula. Las comparaciones detalladas con los datos de la literatura permitieron concluir la estructura de la 15*O*-(4'-hidroximetacril)-14*O*-acetil-micrantólida.¹⁶

150-(3'-cloro-2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida (25)



El espectro de RMN ^1H (Espectro 15) del aceite amarillo **25** mostró un perfil de LS del subgrupo de las melampólidas, en la región de hidrógenos vinílicos se observaron dos señales dobles en δ_{H} 6.26 y 5.59 ($J=3$ Hz) que correspondieron a los hidrógenos 13a y 13b del metileno exocíclico característico de lactonas sesquiterpénicas, en δ_{H} 5.64-5.61 se traslaparon las señales de los hidrógenos vinílicos H1 y H5, en δ_{H} 4.72 y 4.48 se observaron dos multipletes que se asignaron a los hidrógenos alílicos 15 unidos a un oxígeno de éster, así como un singlete ancho en δ_{H} 4.15 que se asignó a los hidrógenos alílicos 14. En δ_{H} 3.80 y 3.56 se observaron dos señales dobles ($J=10$ Hz) correspondientes a los hidrógenos 3'a y 3'b de un metileno, el desplazamiento observado hacia campo bajo se atribuye a la desprotección del cloro, en δ_{H} 3.72 se observó una señal ancha correspondiente al hidrógeno 8β unido a oxígeno, adicionalmente, hacia campo alto se observó un singlete que integró para tres hidrógenos en δ_{H} 1.37 y que se asignó al metilo de la posición 4'. En el espectro de RMN ^{13}C (Espectro 16) se observaron un total de 19 señales, las observadas en δ_{C} 173.7 y 169.5 correspondieron al grupo carbonilo del éster unido a C15 y al carbonilo del anillo de la lactona, respectivamente. En δ_{C} 139.0-121.1 se observaron seis carbonos olefínicos que sugirieron tres insaturaciones en la molécula, la señal en δ_{C} 84.2 se asignó al C8 unido a oxígeno, en δ_{C} 23.6 se observó la señal del C3' unido al átomo de cloro. La comparación detallada con los datos de la literatura permitió concluir la estructura de la 150-(3'-cloro-2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida (**25**).¹⁶

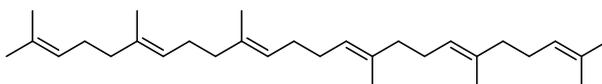
Jaceosidina (61)



De las fracciones de mayor polaridad del extracto $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ de *M. cordifolia* se aisló el compuesto **61** como un polvo amarillo pálido soluble parcialmente en metanol, en CCF se observó como una mancha homogénea de color amarillo al revelar con una solución de sulfato cérico amoniacal. En el espectro de RMN ^1H (Espectro 17) se observó un singulete en δ_{H} 12.94 característico del hidrógeno del hidroxilo unido al C5 que interacciona con el carbonilo de la posición 4. En la región de hidrógenos aromáticos del espectro de RMN ^1H se observaron dos señales dobles en δ_{H} 6.91 ($J=2.0$ Hz) y δ_{H} 7.47 ($J=8.0$, $J=2.0$ Hz) correspondientes a los hidrógenos unidos al C5' y C6' del anillo B de la flavona. Por otra parte, se observaron tres singuletes en δ_{H} 6.73, 6.88 y 7.44 que se asignaron a los hidrógenos unidos al C8, C3 y C2', respectivamente. Hacia campo alto se observaron dos singuletes en δ_{H} 3.93 y 3.73 que integraron para tres hidrógenos y que por su desplazamiento químico corresponden a dos grupos metoxilo de la posición 3' y 6, ambas señales correlacionaron en el espectro HSQC con los carbonos en δ_{C} 59.96 y 56.36, respectivamente. En el espectro de RMN de ^{13}C (Espectro 18) se observaron 17 señales, la correspondiente al carbonilo de la posición 4 se observó en δ_{C} 182.5, en la región de carbonos olefínicos se observaron 14 señales, lo cual fue indicio de siete insaturaciones en la molécula, las señales observadas en δ_{C} 59.9 y 56.3 correspondieron a los carbonos base oxígeno de los grupos metoxilo. Adicionalmente, las correlaciones observadas en HMBC y las comparaciones detalladas de los datos espectroscópicos obtenidos con los informados en la literatura permitieron confirmar la estructura de la jaceosidina (**61**).³³

6.2. Resultados del análisis químico de *Milleria quinqueflora*

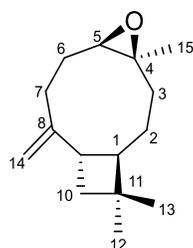
Escualeno (62)



62

De las fracciones de menor polaridad del extracto hexánico de *M. quinqueflora* se aisló un aceite incoloro viscoso que mostró una mancha homogénea color morado en CCF, el espectro de RMN de ^1H (Espectro 19) se caracterizó por tener un número bajo de señales. En la región de hidrógenos vinílicos se observó un multiplete en δ_{H} 5.12 que integró para seis hidrógenos, hacia campo alto, en la región de metilenos alílicos se observó un multiplete en δ_{H} 2.02 que integró para 20 hidrógenos, en δ_{H} 1.68 y 1.60 se observaron dos singuletes que integraron para 6 y 18 hidrógenos de metilos vinílicos, respectivamente. Por otra parte, en el espectro de RMN de ^{13}C (Espectro 20) solamente se observaron 15 señales, destacando seis carbonos olefínicos en δ_{C} 134.8-124.0, cinco carbonos de metilenos en δ_{C} 39.5-25.3 así como cuatro señales de metilos en δ_{C} 17.4-15.7. El número de hidrógenos (50) observados superaba el número de carbonos (15), esto podría ser explicado con una molécula que posea simetría estructural con fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{50}$, de acuerdo a la revisión bibliográfica, un PN con dichas características es el escualeno, un triterpeno lineal aislado de diversas fuentes vegetales. La molécula propuesta se corroboró al comparar los datos obtenidos con la información de la literatura,³⁴ adicionalmente, se realizó una comparación directa por CCF con muestras auténticas obtenidas en el laboratorio.

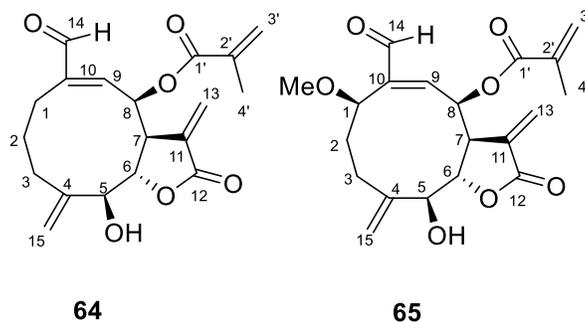
Óxido de β -cariofileno (63)



63

El compuesto **63** se aisló de las fracciones de menor polaridad del extracto hexánico de *M. quinqueflora* como un aceite blanquecino de olor dulce. En la región de hidrógenos vinílicos del espectro de RMN ^1H (Espectro 21) se observaron dos señales dobles en δ_{H} 4.97 ($J= 1.4$ Hz) y 4.86 ($J=0.9$ Hz) que se asignaron a los hidrógenos vinílicos en C14; en δ_{H} 2.88 se observó un doble de dobles ($J= 11, 4$ Hz) que corresponde al hidrógeno 5α del oximetino, hacia campo alto se observaron tres singuletes en δ_{H} 1.20, δ_{H} 1.0 y δ_{H} 0.98 asignados a los metilos de la posición 15, 13 y 12 respectivamente, el metilo 15 se observó desplazado hacia campo bajo debido a la desprotección del oxígeno del epóxido. El espectro de RMN ^{13}C (Espectro 22) mostró la presencia de 15 átomos de carbono de los cuales, dos correspondieron a los carbonos olefínicos C8 y C14 (δ_{C} 151.9 y 112.9, respectivamente), las señales observadas en δ_{C} 63.9 y δ_{C} 60.0 se asignaron a los carbonos 5 y 4 unidos a un átomo de oxígeno. En δ_{C} 50.8-17.1 se observaron carbonos correspondientes a metilos y metilenos, estas evidencias espectroscópicas sugieren la presencia del óxido de β -cariofileno, la comparación de los datos espectroscópicos obtenidos con la información de la literatura permitieron corroborar la estructura **63**.³⁵

Fracción K: miller-9Z-enólida (64) y 1 β -metoximiller-9Z-enólida (65)



El espectro de infrarrojo de la fracción K (Espectro 23) de *M. quinqueflora* mostró bandas en 3600, 1721 y 1760 cm^{-1} que corresponden a las absorciones de grupos hidroxilo, carbonilo y carbonilo de γ -lactonas α,β -insaturadas, respectivamente. Por lo tanto, considerando que se podrían aislar lactonas sesquiterpénicas, la fracción se sometió a numerosas cromatografías sucesivas empleando diferentes sistemas de elución con el

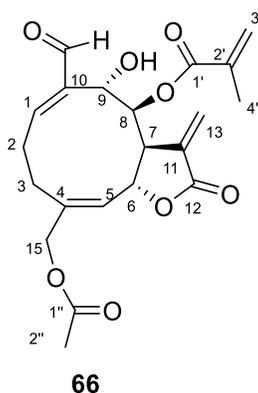
objetivo de obtener LS puras. Al final del proceso de recromatografías se logró la obtención de un aceite amarillo verdoso que se observó como una mancha homogénea en CCF (Rf: 0.6, Hexano:AcOEt 3:7) de color café intenso al revelar con sulfato cérico amoniacal. En el espectro de RMN ^1H (Espectro 26) se observaron numerosas señales traslapadas en la región de hidrógenos vinílicos así como en la región de metilenos. Respecto al espectro de RMN ^{13}C (Espectro 27) se lograron observar 59 señales, que de acuerdo al número de carbonos de las LS (15-20 átomos de carbono de acuerdo a sus funcionalizaciones) sugerían que este aceite podría estar constituido presumiblemente por una mezcla de al menos tres compuestos sesquiterpénicos. De acuerdo a los datos informados en la literatura sobre esta especie, se logró obtener una aproximación de la estructura de dos compuestos mayoritarios de la mezcla. En la tabla 1 se hace una comparación de los datos obtenidos con los reportados en la literatura, los cuales fueron consistentes con la estructura **64**.²⁵

Tabla 1. Datos espectroscópicos del compuesto **64**

Número de carbono	δ_{C} (ppm) Reportado ²⁵	δ_{C} (ppm) Obtenido	δ_{H} (ppm) Obtenido
14	190.3	190.6	
12	168.6	169.0	
1'	166.1	166.5	
4	144.4	144.6	
9	142.8	142.3	6.08 (p, $J=1.05$ Hz)
10	137.2	137.2	
2'	135.0	135.4	
11	133.3	133.6	
3'	127.1	127.2	6.06 (p, $J=1.05$ Hz) 5.62 (p, $J=1.05$ Hz)
13	125.5	125.9	6.43 (dd, $J=3.21, 2.64$ Hz)
15	117.0	117.4	5.88 (dd, $J=3.85, 2.21$ Hz)
5	81.8	81.4	4.72 (dd, $J=9.13, 3.91$ Hz)
6	79.8	80.0	4.94 (dd, $J=9.82, 3.57$ Hz)
8	71.7	72.6	6.48 (m)
7	44.6	44.3	3.88 (m)
1	32.6	32.9	
3	26.0	25.8	
2	21.5	21.9	
4'	18.2	18.2	1.90 (sa)

Adicionalmente, la presencia de una señal doble en δ_H 9.86 ($J= 0.85$ Hz) y un singulete en δ_H 3.25 que correlacionó con la señal en δ_C 55.6, sugirieron la presencia de un grupo metoxilo en el C1, la comparación de las señales observadas en el espectro de RMN ^{13}C con los informados en la literatura permiten proponer la presencia de la lactona 1 β -metoximiller-9Z-enólida (**65**). Es necesario dirigir los esfuerzos para lograr la separación de la mezcla utilizando otro tipo de fase estacionaria, así como otros sistemas de elución para poder confirmar la presencia de ambos compuestos.

Fracción M: 15O-acetil-9 α -hidroxi-8 β -metacrililoixi-14-oxo-acantospermólida (66)



Al igual que para la fracción K, el espectro de infrarrojo de la fracción M (Espectro 24) mostró bandas en 3600, 1721 y 1760 cm^{-1} que corresponden a las absorciones de grupos hidroxilo, carbonilo y carbonilo de γ -lactonas α,β -insaturadas, respectivamente. Esta información evidenció la presencia de LS por lo cual se realizaron numerosos intentos de separación, se logró obtener un aceite amarillo verdoso que se observó como una sola mancha en CCF (Rf 0.56; Hexano:AcOEt 3:7). En el espectro de RMN 1H (Espectro 28) se observaron numerosas señales traslapadas en la región de hidrógenos vinílicos así como en la región de metilenos. En el espectro de RMN ^{13}C (Espectro 29) se observaron 50 señales, que sugerían la presencia de una mezcla al menos tres compuestos sesquiterpénicos. La aproximación a la estructura molecular del compuesto mayoritario se llevó a cabo tomando en cuenta las señales de mayor intensidad. En el espectro de RMN 1H se observó hacia campo bajo, una señal doble en δ_H 9.50 ($J= 2.1$ Hz) cuyo desplazamiento químico es

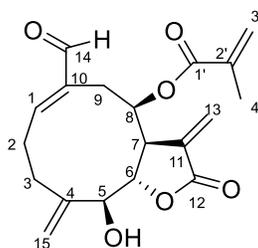
característico de un aldehído (asignado al hidrógeno 14), en la región de hidrógenos vinílicos se observó en δ_H 6.67 un doble de dobles ($J= 10.3, 8.5$ Hz) y en δ_H 5.16 una señal doble ($J= 5.2$ Hz) correspondientes a los hidrógenos vinílicos 1 y 5, respectivamente, ambas señales correlacionaron en el espectro HSQC con los carbonos en δ_C 154.7 y δ_C 131.8. Por otra parte, en la misma región, se observaron dos señales dobles en δ_H 6.27 ($J= 3$ Hz) y 5.70 ($J= 3$ Hz) correspondientes a los hidrógenos del metileno exocíclico característico de lactonas sesquiterpénicas, adicionalmente, se observaron las señales correspondientes a un grupo metacrilato, dos multipletes en δ_H 6.11 y 5.65 correspondientes a los hidrógenos vinílicos así como un singulete en δ_H 1.88 del metilo. En δ_H 6.08 se observó un doble de dobles ($J=7.4, 3.8$ Hz) del hidrógeno 8α unido a un oxígeno de éster que está en correlación con el δ_C 72.2. En δ_H 4.41 y 4.29 se observó un sistema AB ($J=14$ Hz) correspondiente a los hidrógenos alílicos 15 unidos a un oxígeno de éster, en δ_H 4.13 se observó un multiplete del hidrógeno 9β que mostró correlación con el carbono en δ_C 70.5. Otra señal característica fue un singulete en δ_H 2.11 asignado al metilo 2'' del grupo acetato. En el espectro de RMN de ^{13}C se observaron 21 señales de mayor intensidad, las observadas en δ_C 195.4, 170.5, 169.3 y 166.6 se asignaron a grupos carbonilo del aldehído, del grupo acetato, del anillo lactónico y del grupo metacrilato, respectivamente. Además, se observaron ocho señales de carbonos olefínicos que sugerían la presencia de cuatro insaturaciones en la molécula. La comparación de las señales de mayor intensidad con los datos de la literatura²⁵ permitió deducir el compuesto 15*O*-acetil-9*α*-hidroxi-8*β*-metacrililoiloxi-14-oxo-acantospermólida (**66**).

Tabla 2. Datos espectroscópicos del compuesto **66**

Número de carbono	δ_C (ppm) Reportado ²⁵	δ_C (ppm) Obtenido	δ_H (ppm) Obtenido
1	154.5	154.7	6.67 (dd, $J=10.3, 8.5$ Hz)
2	27.2	27.38	
3	33.1	33.220	
4	135.8	135.9	
5	131.7	131.8	5.16 (d, $J=5.2$ Hz)
6	73.6	73.8	
7	51.4	51.5	
8	72.1	72.2	6.08 (dd, $J=7.4, 3.8$ Hz)

9	70.4	70.5	4.13 m
10	144.5	144.6	
11	135.3	135.7	
12	168.7	169.0	
13	122.0	122.1	6.27 (d, $J=3$ Hz) 5.70 (d, $J=3$ Hz)
14	195.3	195.52	
15	61.3	61.4	4.41 (d, $J=14$ Hz) 4.29 (d, $J=14$ Hz)
1'	167.1	167.3	
2'	133.8	133.9	
3'	127.0	127.1	6.11 m, 5.65 m
4'	18.3	18.26	1.88 s
1''	170.4	170.57	
2''	20.7	20.9	2.11 s

Fracción N: miller-1(10)*Z*-enólida (**67**)



67

El compuesto **67** se aisló como un aceite amarillo pálido que se observó como una mancha homogénea color café en CCF, fue el compuesto que se pudo obtener con mayor pureza. En el espectro de RMN ^1H (Espectro 30) se observó una señal doble hacia campo bajo en δ_{H} 9.45 ($J=1.3$ Hz) característico de un aldehído (asignado al hidrógeno 14), en la región de hidrógenos vinílicos se observó un doble de dobles en δ_{H} 6.57 ($J= 12.5, 4.4$ Hz) correspondiente al hidrógeno vinílico 1, por otra parte, se observaron dos señales dobles en δ_{H} 6.27 ($J= 1.3$ Hz) y 5.69 ($J= 1.8$ Hz) correspondientes al metileno exocíclico del anillo de la lactona, adicionalmente, en la zona de hidrógenos vinílicos se observaron dos singuletes anchos en δ_{H} 6.04 y 5.56 correspondientes a los hidrógenos vinílicos del grupo metacrilato,

el cual se confirmó al observarse un singulete en δ_H 1.87 del metilo 4'. En δ_H 5.04 y δ_H 4.95 se observaron dos singuletes anchos que se asignaron a los hidrógenos vinílicos 15b y 15a del doble enlace exocíclico unido al carbono 4. En δ_H 5.37 se observó un doble de doble de dobles ($J= 10.7, 5.9, 2.7$ Hz) que corresponde al hidrógeno 8α unido a un carbono que soporta un grupo éster, destaca también una señal doble en δ_H 4.86 ($J= 9.4$ Hz) que corresponde al hidrógeno 6 unido oxígeno, en δ_H 3.96 se observó una señal doble ($J= 9.4$ Hz) del oximetino de la posición 5, hacia campo alto se observaron señales traslapadas correspondientes a los metilenos de la molécula. En el espectro de RMN de ^{13}C (Espectro 31) se observaron 19 señales, en δ_C 194.2, 168.2 y 165.9 se observaron las correspondientes a grupos carbonilo de aldehído, anillo lactónico y grupo metacrilato, respectivamente. Ocho carbonos olefinicos en δ_C 155.9-121.0 que sugerían la presencia de cuatro insaturaciones, tres carbonos unidos a oxígeno en δ_C 84.6, 80.2 y 74.4, carbonos de metilenos y un carbono de grupo metilo en δ_C 18.2. La comparación detallada con los datos de la literatura permitieron corroborar la estructura de la miller-1(10)Z-enólida (**67**).²⁵

Finalmente, en la Figura 3, se muestra un mapa del continente americano indicando en diferentes colores los países que han realizado estudios sobre la composición química de las especies *M. cordifolia* (verde, rojo, azul, amarillo, naranja) y *M. quinqueflora* (verde y rojo). Al comparar los productos naturales reportados para ambas especies en diferentes países del continente americano con los obtenidos en el presente trabajo, se puede observar constancia en el contenido de fitoesteroles, triterpenos pentacíclicos, así como de lactonas sesquiterpénicas con esqueleto de germacrano. Estas comparaciones permiten inferir que las plantas estudiadas, han mantenido un metabolismo secundario constante que les ha permitido existir en su entorno natural a través del tiempo. Sin embargo, en el género *Mikania* existe una especie (*M. micrantha*) que ha mostrado variabilidad en su contenido metabólico, debido a que se introdujo en Asia durante el siglo XX. Muchas especies introducidas se establecen, llegan a ser parte constitutiva de los ecosistemas a donde se han llevado y desplazan las especies nativas, convirtiéndose en especies invasoras, afectando cultivos de importancia económica como el café, cacao, té, entre otros.

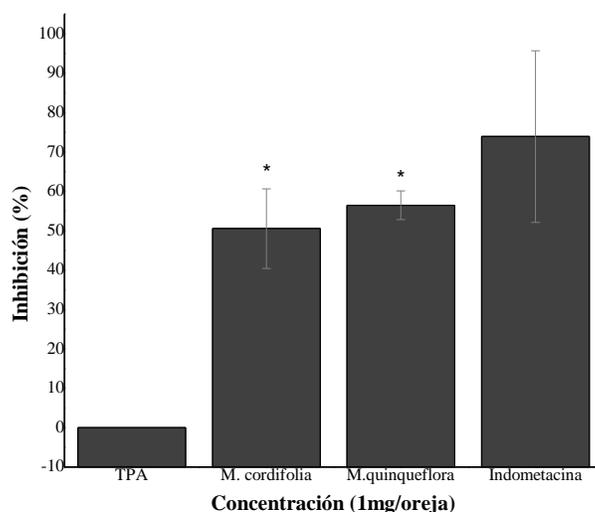


Figura 3. Países con estudios sobre *Mikania cordifolia* y *Milleria quinqueflora*

6.3 Resultados de actividad biológica preliminar de los extractos CH₂Cl₂/MeOH *Mikania cordifolia* y *Milleria quinqueflora*

Con base en los usos empíricos relacionados con procesos inflamatorios como enfermedades de la piel, enfermedades respiratorias, inflamación estomacal, llagas bucales y obesidad, que se han informado para las especies vegetales analizadas químicamente en el presente trabajo, se consideró pertinente realizar una evaluación preliminar de la actividad antiinflamatoria de los extractos CH₂Cl₂/MeOH. Ambos se evaluaron empleando el modelo de inducción de edema murino con acetato de tetradecanoilforbol (ATF), como referencia de agente antiinflamatorio se empleó indometacina a una concentración de 1 μmol/oreja. En la Gráfica 1 se muestra el promedio de tres repeticiones con el error estándar de la media, de cuatro grupos evaluados: **1)** ATF, **2)** extracto CH₂Cl₂/MeOH de *M. cordifolia*, **3)** extracto CH₂Cl₂/MeOH de *M. quinqueflora* y **4)** indometacina, los resultados se analizaron mediante una prueba de Dunnett con $p \leq 0.05$. Ambos extractos mostraron inhibición de la inflamación en este modelo biológico, siendo estadísticamente significativos respecto al

control (ATF). El extracto CH₂Cl₂/MeOH proveniente de *M. quinqueflora* mostró 5.92% de actividad adicional respecto al extracto de *M. cordifolia*, sin embargo, este valor no fue estadísticamente significativo. De acuerdo a los resultados de la composición química de las especies vegetales, la actividad de los extractos puede estar dada por diferentes productos naturales, entre ellos se encuentran los triterpenos pentacíclicos, los cuales han sido reportados como inhibidores de la inflamación en diferentes modelos biológicos. Por otra parte, otro tipo de productos naturales obtenidos de ambos extractos fueron lactonas sesquiterpénicas, las cuales han sido reportadas con una diversidad de actividades biológicas, entre las cuales se encuentra la actividad antiinflamatoria. Estos compuestos se caracterizan por tener en su estructura química una α -metilén- γ -lactona que puede reaccionar por adición tipo Michael con nucleófilos biológicos como grupos sulfhidrilo de las proteínas. Una observación derivada de la comparación de las estructuras aisladas, es que las lactonas sesquiterpénicas de *M. quinqueflora* presentan en su estructura molecular un mayor número de entidades electrofílicas con respecto a las lactonas sesquiterpénicas de *M. cordifolia*, por lo cual se puede especular que muestren mayor inhibición. Es necesario realizar esfuerzos para la obtención de mayor cantidad de productos naturales de ambas especies para poder evaluar su actividad biológica, así mismo, realizar ensayos que permitan conocer los posibles mecanismos de acción de dichos compuestos.



Grafica 1. Actividad antiinflamatoria de *Mikania cordifolia* y *Milleria quinqueflora*

7. CONCLUSIONES

El análisis químico de *Mikania cordifolia* y *Milleria quinqueflora* permitió el aislamiento y caracterización de 17 productos naturales, destacando la presencia de lactonas sesquiterpénicas de tipo germacrano para ambas especies.

La flavona jaceosidina se reporta por primera ocasión para el género *Mikania*.

La comparación de los resultados obtenidos con respecto a los de otras poblaciones de *M. cordifolia* y *M. quinqueflora* (tanto de México como de Latinoamérica) indican que hay una gran similitud en su contenido metabólico, tanto en triterpenos pentacíclicos como en lactonas sesquiterpénicas con esqueleto de germacrano. Lo anterior sugiere que la planta, al permanecer en su hábitat natural, mantiene un metabolismo secundario constante.

Los extractos CH₂Cl₂/MeOH de *M. cordifolia* y *M. quinqueflora* mostraron actividad en la inhibición de la inflamación inducida con ATF. De acuerdo a los resultados sobre la composición química de ambas especies, la actividad puede estar dada por productos naturales como triterpenos pentacíclicos y lactonas sesquiterpénicas.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1 Material y equipos

Para el proceso de extracción del material vegetal, así como para la separación cromatográfica se utilizaron diferentes disolventes como hexano, diclorometano, acetato de etilo, acetona y metanol, los cuales se destilaron en el laboratorio. Para realizar la separación por cromatografía en columna abierta se utilizó como fase estacionaria gel de sílice malla 70-230 y 230-400 (Mallinckrodt) y Sephadex® LH-20 (Sigma-Aldrich), para dar seguimiento a la separación se utilizaron cromatofolios TLC Silica gel 60 F₂₅₄ de 0.25 mm de espesor (Merck), así como una lámpara UV (Spectroline) λ 254 y λ 365 nm, los cromatofolios se revelaron utilizando una solución de sulfato sérico amoniacal ((NH₄)₄Ce(SO₄)₄) al 1% con ácido sulfúrico (H₂SO₄) 2N. Para el proceso de separación cromatográfica flash se utilizó el equipo Sepacore® (BÜCHI). Los puntos de fusión de algunos compuestos se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no fueron corregidos. Para algunas muestras se utilizó el espectrofotómetro de infrarrojo FTIR con ATR (Bruker Alpha II). Los espectros de RMN ¹H y ¹³C se obtuvieron en los equipos Bruker Avance 300 MHz, Bruker Avance III 400 MHz y Bruker Ascend TM 700 MHz, los desplazamientos químicos (δ) se reportan en ppm respecto a tetrametilsilano (TMS) que se utilizó como referencia interna, los disolventes deuterados empleados para la preparación de muestra fueron cloroformo (Sigma-Aldrich) y dimetilsulfóxido (Cambridge Isotope Laboratories, Inc.).

8.2 Material vegetal

Las partes aéreas de la especie *Mikania cordifolia* se colectaron por el Dr. Ángel Bravo Monzón en Acomulco, Hidalgo en marzo de 2016, se realizó el depósito en el Herbario de la Escuela de Biología de la Universidad Michoacana con folio asignado 29688. Por otra parte, las partes aéreas de *Milleria quinqueflora* se colectaron por el Dr. José Calderón Pardo en Cuernavaca, Morelos en agosto de 2018, se realizó el depósito en el Herbario Nacional de México con folio asignado 1494821.

8.3 Extracción de partes aéreas de *Mikania cordifolia* y *Milleria quinqueflora*

El material vegetal, 2.5 kg de partes aéreas secas de *M. cordifolia* y 0.7 kg de partes aéreas de *M. quinqueflora*, se trituraron hasta obtener materia sólida con un tamaño de 1 cm aproximadamente, una vez acondicionada la muestra se realizaron extracciones sucesivas, inicialmente una maceración con hexano durante 48 h a temperatura ambiente por triplicado y una segunda extracción utilizando una mezcla CH₂Cl₂/MeOH (1:1) durante 48 h por triplicado, las fases orgánicas se concentraron a presión reducida en un rotaevaporador (Büchi). De la especie *M. cordifolia* se obtuvieron 29.7 g de extracto hexánico y 284.9 g del extracto CH₂Cl₂/MeOH. De *M. quinqueflora* se obtuvieron 10.5 g y 70.34 g de extracto hexánico y CH₂Cl₂/MeOH, respectivamente.

8.4 Separación y purificación de productos naturales provenientes del extracto hexánico y CH₂Cl₂/MeOH de *Mikania cordifolia* y *Milleria quinqueflora*

Para la separación de los extractos hexánicos y CH₂Cl₂/MeOH de ambas especies vegetales se realizó un fraccionamiento primario en columna abierta, las muestras se adsorbieron en gel de sílice de malla 70-230 en relación 1:1 con la muestra, para el fraccionamiento inicial la columna se eluyó con una mezcla de hexano-AcOEt aumentado la polaridad en 10%, posteriormente la elución se realizó con acetona y finalmente lavado de la columna con metanol. La separación fue seguida por cromatografía en capa fina (CCF) con la finalidad de agrupar los eluatos por su perfil cromatográfico, del extracto hexánico de *M. cordifolia* se obtuvieron 9 fracciones codificadas de las A-I, del extracto CH₂Cl₂/MeOH se obtuvieron 14 subfracciones codificadas de la A-N; respecto a *M. quinqueflora*, del extracto hexánico se obtuvieron 7 subfracciones codificadas de la A-G y finalmente del extracto CH₂Cl₂/MeOH se obtuvieron 17 subfracciones codificadas de la A-O. Cada una de las fracciones se sometieron a procesos sucesivos de separación empleando gel de sílice 230-400, Sephadex® LH-20 y diferentes sistemas de elución hasta la obtención de productos naturales puros o en algunos casos mezclas, que se sometieron a análisis espectroscópicos de RMN ¹H y RMN ¹³C.

8.5 Características físicas y datos espectroscópicos de los compuestos aislados

Lupeol (**55**)

Sólido blanco Pf: 215-217 °C (literatura:213°C).²⁹

Solubilidad: CH₂Cl₂

Rf: 0.56 (Hexano/AcOEt 8:2)

A continuación se describen los datos espectroscópicos del compuesto **55**, las asignaciones espectroscópicas se realizaron de acuerdo a los datos informados en la referencia 29.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ_H 4.68 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-29b), 4.56 (dd, *J* = 2.57, 1.36 Hz, H-29a), 3.18 (dd, *J* = 11.17, 5.08 Hz, H-3), 2.36 (*m*, H-19), 1.92 (*m*, H-21), 1.68 (*s*, H-30), 1.62 (2H, *m*, H-2), 1.38 (2H, *m*, H-6), 1.35 (1H, dd, H-18), 1.25 (1H, *t*, H-9), 1.02 (3H, *s*, CH₃-26), 0.96 (3H, *s*, CH₃-23), 0.94 (3H, *s*, CH₃-27), 0.82 (3H, *s*, CH₃-25), 0.78 (3H, *s*, CH₃-28), 0.77 (*s*, CH₃-24), 0.68 (*d*, *J* = 8.6 Hz, H-5).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ_C 151.1 (C-20), 109.5 (C-29), 79.2 (C-3), 55.4 (C-5), 50.4 (C-9), 48.5 (C-18), 48.2 (C-19), 43.2 (C-17), 43.0 (C-14), 41.0 (C-8), 40.2 (C-22), 39.0 (C-4), 38.9 (C-1), 38.2 (C-13), 37.3 (C-10), 35.8 (C-16), 34.4 (C-7), 30.0 (C-21), 20.2 (C-23), 27.6 (C-15), 27.2 (C-2), 25.3 (C-12), 21.1 (C-11), 19.5 (C-30), 18.5 (C-6), 18.1 (C-28), 16.3 (C-25), 16.2 (C-26), 15.6 (C-24), 14.7 (C-27).

β-amirina (**57**)

Sólido blanco Pf: 215-217 °C (literatura: 204-205°C).³⁰

Solubilidad: CH₂Cl₂

Rf: 0.53 (Hexano/AcOEt 8:2)

A continuación se describen los datos espectroscópicos del compuesto **57**, las asignaciones espectroscópicas se realizaron de acuerdo a los datos informados en la referencia 30.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ_H 5.18 (*t*, *J* = 3.6 Hz, H-12), 3.18 (dd, *J* = 10.0, 6.0 Hz, H-3), 1.13 (*s*, H-27), 0.99 (3H, *s*, CH₃-23), 0.96 (3H, *s*, CH₃-26), 0.93 (3H, *s*, CH₃-25), 0.87

(3H, s, CH₃-29, 30), 0.86 (3H, s, CH₃-23), 0.83 (3H, s, CH₃-28), 0.79 (m, H-24), 0.68 (d, $J= 8.8$ H-5).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ_c 145.2 (C-13), 121.7 (C-12), 79.0 (C-3), 55.3 (C-5), 47.6 (C-9), 47.2 (C-18), 46.8 (C-19), 41.7 (C-14), 39.8 (C-8), 38.8 (C-4), 38.6 (C-1), 37.1 (C-10), 36.9 (C-22), 34.7 (C-21), 33.3 (C-29), 32.6 (C-7), 32.5 (C-17), 31.1 (C-20), 28.4 (C-28), 28.1 (C-23), 27.2 (C-2), 26.9 (C-16), 26.1 (C-15), 26.0 (C-27), 23.7 (C-30), 23.5 (C-11), 18.3 (C-6), 16.8 (C-26), 15.6 (C-25), 15.5 (C-24).

Acetato de lupeilo (56)

Polvo blanco. Pf: 210-211 °C (literatura: 215-216°C).²⁹

Solubilidad: hexano

Rf. 0.45 (Hexano/Tolueno 9:1)

A continuación se describen los datos espectroscópicos del compuesto **56**, las asignaciones espectroscópicas se realizaron de acuerdo a los datos informados en la referencia 29.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ_H 4.68 (1H, d, $J=2.54$ Hz, H-29b), 4.58 (dd, $J=2.56$, 1.4 Hz, H-29a), 4.47 (m, H-3), 2.40 (dt, $J=11.2$, 5.54, 5.54 Hz, H-19), 2.03 (s, CH₃-2'), 1.69 (s, CH₃-30), 1.03 (s, CH₃-26), 0.94 (s, CH₃-27), 0.86 (s, CH₃-23), 0.85 (s, CH₃-24), 0.84 (s, CH₃-25), 0.79 (s, CH₃-28).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ_c 170.9 (C-1'), 150.9 (C-20), 109.3 (C-29), 80.9 (C-3), 55.5 (C-5), 50.4 (C-9), 48.3 (C-18), 48.0 (C-19), 43.0 (C-17), 42.8 (C-14), 40.9 (C-8), 40.0 (C-22), 38.4 (C-1), 38.1 (C-13), 37.8 (C-4), 37.1 (C-10), 35.6 (C-16), 34.2 (C-7), 29.9 (C-21), 27.9 (C-23), 27.5 (C-15), 25.1 (C-12), 23.7 (C-2), 21.3 (C-2'), 21.0 (C-11), 19.3 (C-30), 18.2 (C-6), 18.0 (C-28), 16.5 (C-24), 16.2 (C-25), 16.0 (C-26), 14.5 (C-27) .

Acetato de β -amirilo (58)

Polvo blanco. P.f. literatura: 253-255°C.³¹

Solubilidad: hexano

Rf. 0. 51 (Hexano/Tolueno 9:1)

A continuación se describen los datos espectroscópicos del compuesto **58**, las asignaciones espectroscópicas se realizaron de acuerdo a los datos informados en la referencia 31.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ_H 5.19 (t, *J* = 3.53 Hz, H-12), 4.50 (m, H-3), 2.05 (s, CH₃-2'), 1.13 (s, H-27), 0.966 (s, CH₃-26), 0.964 (s, CH₃-25), 0.87 (s, CH₃-29,30), 0.87 (s, CH₃-24), 0.86 (s, CH₃-23), 0.83 (s, CH₃-28), 0.79 (m, H-5).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ_C 170.9 (C-1'), 21.3 (C-2'), 145.1 (C-13), 121.5 (C-12), 80.9 (C-3), 55.2 (C-5), 47.5 (C-9), 47.2 (C-18), 46.7 (C-19), 41.7 (C-14), 39.8 (C-8), 38.8 (C-4), 38.6 (C-1), 37.1 (C-10), 36.9 (C-22), 34.7 (C-21), 33.3 (C-29), 32.6 (C-7), 32.5 (C-17), 31.1 (C-20), 28.4 (C-28), 28.0 (C-23), 27.2 (C-2), 26.9 (C-16), 23.7 (C-2), 26.1 (C-15), 25.9 (C-27), 23.7 (C-30), 23.5 (C-11), 18.3 (C-6), 16.8 (C-26), 16.7 (C-25), 15.5 (C-24).

Mezcla de β-sitosterol (59) y estigmasterol (60)

β-sitosterol (59)

Cristales en forma de agujas finas

Solubilidad: hexano, CH₂Cl₂

P.f: 155-157°C (literatura: 134-135°C).³²

R.f: 0.53 (Hexano/AcOEt 7:3)

A continuación se describen los datos espectroscópicos del compuesto **59**, las asignaciones espectroscópicas se realizaron de acuerdo a los datos informados en la referencia 32.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ_H 5.35 (1H, d, *J* = 5.16 Hz, H-6), 3.52 (1H, tdd, *J* = 11.31 Hz, *J* = 5.31 Hz, *J* = 4.14 Hz, H-3), 1.01 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, *J* = 6.56 Hz, H-21), 0.68 (3H, s, H-18).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ_C 140.9 (C-5), 121.84 (C-6), 71.95 (C-3), 56.92 (C-14), 56.21 (C-17), 50.29 (C-9), 45.99 (C-24), 42.46 (C-4), 39.93 (C-12), 37.41 (C-1), 36.66 (C-

10), 36.30 (C-20), 34.10 (C-22), 32.06 (C-7), 31.81(C-2), 29.31 (C-25), 28.40 (C-16), 26.23 (C-23), 24.46 (C-15), 23.22 (C-28), 21.24 (C-11), 19.55(C-26), 19.19 (C-19), 18.93 (C-21), 12.13(C-29), 12.01(C-18).

Estigmasterol (60)

Cristales en forma de agujas finas

Solubilidad: hexano, CH₂Cl₂

P.f: 155-157°C (literatura: 174-176°C).³²

R.f: 0.53 (Hexano/AcOEt 7:3)

A continuación se describen los datos espectroscópicos del compuesto **60**, las asignaciones espectroscópicas se realizaron de acuerdo a los datos informados en la referencia 32.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ_H 5.37 (1H, dd, *J* 5.21 Hz, H-6), 5.17 (1H, dd, *J*=15.18, 8.58 Hz, H-22), 5.04 (1H, d, *J* 15.14, 8.64 Hz, H-23), 3.52 (1H, tdd, *J* =11.12 Hz, *J* =11.12 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ_C 140.96 (C-5), 139.4 (C-22), 129.43 (C-23), 121.88 (C-6), 71.95 (C-3), 56.92 (C-14), 56.21 (C-17), 51.39 (C-24), 50.32 (C-9), 42.46 (C-4), 40.64 (C-20), 39.93 (C-12), 37.41 (C-1), 36.66 (C-10), 32.06 (C-7, C-8,C-25), 31.81 (C-2), 29.07 (C-16), 25.56 (C-28), 24.46 (C-15), 21.37 (C-26), 21.24 (C-11, C-21), 19.55 (C-19),19.13 (C-27), 12.40 (C-29), 12.20 (C-18).

15O-(4'-hidroxi-metacril)-micrantólida (27)

Aceite amarillo pálido

Solubilidad: AcOEt

Rf: 0.35 (Hexano:AcOEt 3:7)

A continuación se describen los datos espectroscópicos del compuesto **27**, las asignaciones espectroscópicas se realizaron de acuerdo a los datos informados en la referencia 16.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, 25°C). δ 6.25 (1H, *d*, H-3'a), δ 5.88 (1H, *d*, *J*=1.34 H-3'b), δ 6.24 (1H, *d*, *J*=3.40 Hz H13a), δ 5.58 (1H, *d*, *J*= 3.00 H13b), δ 5.59 (1H, *sa*, H-5), δ 5.56 (1H, *sa*, H-1), δ 4.66 (1H, *d*, *J*=12.18, H-15a), δ 4.56 (1H, *d*, *J*=12.20, H-15b), δ 4.31 (2H,

sa, H-4'ab), δ 4.09 (2H, *m*, H-14ab), δ 3.81 (1H, *m*, H-8), δ 2.38 (1H, *m*, H-7), δ 2.92 (1H, *sa*, H-6 α), δ 2.78 (1H, *m*, H-6 β), δ 2.70 (1H, *sa*, H-9 α), δ 2.27 (1H, *m*, H-2 α), δ 2.19 (1H, *m*, H-9 β), δ 2.07 (1H, *m*, H-2 β), δ 2.06 (1H, *m*, H-3 β), δ 1.35 (1H, *m*, H-3 α).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , 25°C). δ 169.5 (C-12), δ 166.1 (C-1'), δ 139.41 (C-4), δ 139.30 (C-2'), δ 138.59 (C-10), δ 135.57 (C-11), δ 128.43 (C-5), δ 126.42 (C-3'), δ 124.88 (C-1), δ 120.89 (C-13), δ 84.28 (C-8), δ 66.37 (C-14), δ 63.55 (C-15), δ 62.51 (C-4'), δ 46.66 (C-7), δ 31.03 (C-9), δ 30.24 (C-6), δ 29.55 (C-3), δ 28.66 (C-2).

150-(2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida (26)

Aceite amarillo pálido

Solubilidad: AcOEt

R_f: 0.4 (Hexano:AcOEt 3:7)

A continuación se describen los datos espectroscópicos del compuesto **26**, las asignaciones espectroscópicas se realizaron de acuerdo a los datos informados en la referencia 16.

RMN ^1H (700 MHz, CDCl_3 , 25°C). δ 6.26 (1H, *d*, $J=3.4$ Hz. H-13a), δ 5.60 (1H, *d*, $J=3.05$ Hz. H-13b), δ 5.63 (1H, *m*, H1), δ 5.62 (1H, *m*, H5), δ 4.64 (1H, *d*, $J=12.10$, H-15a), δ 4.52 (1H, *d*, $J=12.19$, H-15b), δ 4.13 (2H, *sa*, H-14ab), δ 3.84 (1H, *sa*, H-8), δ 2.87 (1H, *sa*, H-7), 2.81 (1H, *m*, H-6 α), δ 2.76 (1H, *m*, H-9 α), δ 2.73 (1H, *m*, H-3 α), δ 2.37 (1H, *m*, H-9 β), δ 2.36 (1H, *m*, H-6 β), δ 2.34 (1H, *m*, H-3 β), δ 2.33 (1H, *m*, H-2 β), δ 2.21 (1H, *m*, H-2 α), δ 1.46 (3H, *s*, H-4'), δ 1.43 (3H, *s*, H-3').

RMN ^{13}C (176 MHz, CDCl_3 , 25°C). δ 177.01 (C-1'), δ 169.72 (C-12), δ 139.11 (C-4), δ 138.20 (C-10), δ 135.31 (C-11), δ 128.20 (C-5), δ 124.79 (C-1), δ 121.01 (C-13), δ 84.26 (C-8), δ 72.22 (C-2'), δ 66.09 (C-14), δ 64.10 (C-15), δ 46.60 (C-7), δ 35.77 (C-9), δ 30.53 (C-6), δ 30.01 (C-3), δ 28.30 (C-2), δ 27.29 (C-4'), δ 26.97 (C-3').

150-hidroxi-metacril-140-acetil-micrantólida (29)

Aceite amarillo pálido

Solubilidad: AcOEt

R_f: 0.56 (Hexano: AcOEt 3:7)

A continuación se describen los datos espectroscópicos del compuesto **29**, las asignaciones espectroscópicas se realizaron de acuerdo a los datos informados en la referencia 16.

RMN ¹H (700 MHz, CDCl₃, 25°C). δ 6.25 (1H, *sa*, H-3'a), δ 5.88 (1H, *d*, *J*=1.42 H-3'b), δ 6.26 (1H, *d*, *J*=3.9 Hz H13a), δ 5.58 (1H, *d*, *J*=2.91 H13b), δ 5.61 (1H, *m*, H-5), δ 5.59 (1H, *sa*, H-1), δ 4.58 (1H, *d*, *J*=12.96 H-14a), δ 4.51 (1H, *d*, *J*=12.80 H-14b), δ 4.73 (1H, *d*, *J*=12.11 H-15a), δ 4.51 (1H, *d*, *J*=12.80 H-15b), δ 4.33 (1H, *sa*, H-4'), δ 3.81 (1H, *m*, H-8), δ 2.86 (1H, *sa*, H-7), δ 2.84 (1H, *m*, H-3α), δ 2.77 (1H, *m*, H-9α), δ 2.72 (1H, *m*, H-6α), δ 2.49 (1H, *m*, H-9β), δ 2.39 (1H, *m*, H-3β), δ 2.35 (1H, *m*, H-6β), δ 2.32 (1H, *m*, H-2α), δ 2.24 (1H, *m*, H-2β), δ 2.08 (3H, *s*, H-6').

RMN ¹³C (176 MHz, CDCl₃, 25°C). δ 170.96 (C-1''), δ 169.77 (C-12), δ 166.21 (C-1'), δ 142.24 (C-1), δ 140.90 (C-4), δ 139.48 (C-11), δ 139.24 (C-10), δ 134.16 (C-2'), δ 128.74 (C-5), δ 126.27 (C-3'), δ 121.13 (C-13), δ 83.80 (C-8), δ 67.86 (C-14), δ 63.58 (C-15), δ 62.56 (C-4'), δ 47.29 (C-7), δ 35.73 (C-9), δ 31.20 (C-6), δ 29.85 (C-3), δ 28.84 (C-2), δ 21.13 (C-6').

15O-(3'-cloro-2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida (25)

Aceite amarillo pálido

Solubilidad: AcOEt

R_f: 0.45 (Hexano:AcOEt 3:7)

A continuación se describen los datos espectroscópicos del compuesto **25**, las asignaciones espectroscópicas se realizaron de acuerdo a los datos informados en la referencia 16.

RMN ¹H (700 MHz, CDCl₃, 25°C). δ 6.26 (1H, *d*, *J*=4.60 Hz. H-13a), δ 5.59 (1H, *d*, *J*=3.01 Hz. H-13b), δ 5.64 (1H, *m*, H1), δ 5.61 (1H, *m*, H5), δ 4.72 (1H, *m*, H-15a), δ 4.48 (1H, *m*, H-15b), δ 4.15 (2H, *sa*, H-14ab), δ 3.80 (1H, *d*, *J*=11.07, H-3'a), δ 3.56 (1H, *d*, *J*=11.12, H-3'b), δ 3.72 (1H, *sa*, H-8), δ 2.85 (1H, *sa*, H-7), δ 2.83 (1H, *m*, H-6α), δ 2.76

(1H, *m*, H-9 α), δ 2.65 (1H, *m*, H-3 α), δ 2.42 (1H, *m*, H-9 β), δ 2.34 (1H, *m*, H-2 β), δ 2.30 (1H, *m*, H-3 β), δ 2.23 (1H, *m*, H-2 α), δ 2.02 (1H, *m*, H-6 β), δ 1.49 (3H, *s*, H-4').

RMN ^{13}C (176 MHz, CDCl_3 , 25°C). δ 173.73 (C-1'), δ 169.58 (C-12), δ 139.00 (C-4), δ 138.21 (C-10), δ 135.10 (C-11), δ 128.69 (C-5), δ 125.28 (C-1), δ 121.18 (C-13), δ 84.27 (C-8), δ 75.07 (C-3'), δ 66.48 (C-14), δ 64.52 (C-15), δ 51.06 (C-2'), δ 46.45 (C-7), δ 35.79 (C-9), δ 31.89 (C-6), δ 30.06 (C-3), δ 28.40 (C-2), δ 23.62 (C-4').

Jaceosidina (61)

Polvo amarillo pálido

Solubilidad: MeOH

Pf: >300 °C

Rf: 0.58 (Hexano:AcOEt 2:8)

A continuación se describen los datos espectroscópicos del compuesto **61**, las asignaciones espectroscópicas se realizaron de acuerdo a los datos informados en la referencia 33.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 25°C). δ 12.94 (1H, *s*, 5-OH), δ 7.47 (1H, *d*, $J=8.0$ Hz, H-6'), δ 7.44 (1H, *s*, H-2'), δ 6.91 (1H, *d*, $J=2.0$ Hz, H5'), δ 6.88 (1H, *s*, H8), δ 6.73 (1H, *s*, H3), δ 3.93 (3H, *s*, 3'-CH₃O), δ 3.73 (3H, *s*, 6-CH₃O).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 25°C). δ 182.05 (C4), δ 164.18 (C2), δ 158.52 (C7), δ 152.53 (C5), δ 152.02 (C9), δ 149.75 (C3'), δ 145.72 (C4'), δ 131.80 (C6), δ 121.38 (C1'), δ 118.98 (C6'), δ 115.88 (C5'), δ 113.45 (C2'), δ 104.99 (C10), δ 102.64 (C8), δ 91.39 (C3), δ 59.96 (6-CH₃O), δ 56.36 (3'-CH₃O).

Escualeno (62)

Aceite viscoso incoloro

Solubilidad: hexano

Rf: 0.33 Hexano

A continuación se describen los datos espectroscópicos del compuesto **62**, las asignaciones espectroscópicas se realizaron de acuerdo a los datos informados en la referencia 34.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C). δ 5.11 (6H, m), δ 2.04 (20H, m), δ 1.68 (6H, s), δ 1.60 (18H, s).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C). δ 134.82, δ 134.62, δ 130.96, δ 124.15, δ 124.04, δ 124.44, δ 39.48, δ 39.40, δ 28.01, δ 26.51, δ 26.40, δ 25.41, δ 17.40, δ 15.76, δ 15.72.

Oxido de cariofileno (63)

Aceite incoloro

Solubilidad: hexano

Rf: 0.42 (Hexano:AcOEt 9:1)

A continuación se describen los datos espectroscópicos del compuesto **63**, las asignaciones espectroscópicas se realizaron de acuerdo a los datos informados en la referencia 35.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C). δ 4.97 (d, *J*= 1.36 H-14b), δ 4.86 (d, *J*=0.87 H-14a), δ 2.88 (dd, *J*= 10.9, 4.13 H-6), δ 2.63 (m, H-10), δ 1.76 (t, *J*=9.94 H-1), δ 1.20 (s, H-13), δ 1.0 (s, H-15), δ 0.98 (s, H-16).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C). δ 151.98 (C8), δ 112.91 (C13), δ 63.91 (C5), δ 50.88 (C1), δ 48.89 (C9), δ 39.90 (C10), δ 39.30 (C3), δ 34.17 (C11), δ 30.34 (C6), δ 29.86 (C14,7), δ 27.35 (C2), δ 21.77 (C15), δ 17.13 (C12).

15O-acetil-9α-hidroxi-8β-metacrililoiloxi-14-oxo-acantospermólida (66)

Aceite amarillo

Solubilidad: AcOEt

Rf: 0.35 (Hexano:AcOEt 3:7)

A continuación se describen los datos espectroscópicos del compuesto **66**, las asignaciones espectroscópicas se realizaron de acuerdo a los datos informados en la referencia 25.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, 25°C). δ 9.50 (d, *J*= 2.15 H-14), δ 6.67 (dd, *J*=10.28, 8.97, H1), δ 6.27 (d, *J*= 3.43 Hz, H-13a), δ 6.11 (m, H-3'a), δ 6.08 (dd, *J*= 7.42, 3.84 H-8), δ 5.70 (d, *J*= 3.11, H-13b), δ 5.65 (m, H-3'b), δ 5.16 (d, *J*= 5.20 H-5), δ 4.41 (d, *J*= 14.15

H-15a), δ 4.29 (d, $J= 14.15$ H-15b), δ 4.13 (m, H-9), δ 3.48 (s, H-7), δ 2.11 (Ac), δ 1.87 (s, H-4').

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , 25°C). δ 195.43 (C14), δ 170.56 (C1''), δ 169.32 (C12), δ 166.67 (C1'), δ 154.73 (C1), δ 144.12 (C10), δ 135.6 (C4), δ 135.47 (C11), δ 133.96 (C2'), δ 131.9 (C5), δ 127.18 (C3'), δ 122.23 (C13), δ 73.8 (C6), δ 72.21 (C8), δ 70.54 (C9), δ 62.98 (C15), δ 51.5 (C7), δ 35.84 (C3), δ 27.3 (C2), δ 20.9 (Ac), δ 18.21 (C4').

Miller-1(10)Z-enólida (67)

Aceite amarillo

Solubilidad: AcOEt

R.f: 0.3 (Hexano:AcOEt 3:7)

A continuación se describen los datos espectroscópicos del compuesto **67**, las asignaciones espectroscópicas se realizaron de acuerdo a los datos informados en la referencia 25.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , 25°C). δ 9.45 (d, $J= 1.26$ H-14), δ 6.27 (d, $J=1.34$ H13a), δ 6.04 (sa, H-3'a), δ 5.69 (d, $J=1.80$, H-13b), δ 5.56 (sa, H-3'b), δ 5.37 (ddd, $J= 10.67$, 5.91, 2.77, H-8), δ 5.04 (sa, H-15b), δ 4.94 (sa, H-15a), δ 3.96 (d, $J=9.44$ H-5), δ 2.81 (sa, H-7), δ 1.87 (s, H-4').

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , 25°C). δ 194.26 (C14), δ 169.27 (C12), δ 165.90 (C1'), δ 155.95 (C1), δ 144.01 (C4), δ 138.90 (C10), δ 135.57 (C2'), δ 135.30 (C11), δ 126.01 (C3'), δ 125.04 (C13), δ 121.07 (C15), δ 80.63 (C5), δ 80.27 (C6), δ 74.41 (C9), δ 41.71 (C7), δ 29.66 (C9), δ 27.54 (C3), δ 26.05 (C2), δ 18.23 (C4').

8.6 Ensayo de edema auricular en ratón CD-1 inducido con acetato de tetradecanoilforbol (ATF).

Para el ensayo se utilizaron ratones machos de la cepa CD-1 con un peso de 25-30 g, obtenidos del centro de producción UNAM-ENVIGO. Los animales se resguardaron de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-199, el agua y alimento se

proporcionaron ad libitum. El ensayo se realizó de acuerdo a Del-Ángel y colaboradores en 2015 con algunas modificaciones.³⁶

Para determinar el % de inhibición se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición del edema} = (C-E)/C \times 100$$

C= Edema del grupo testigo (tratado con etanol y vehículo del extracto o estándar)

E= Edema del grupo experimental (TPA más extracto o estándar).

9. REFERENCIAS

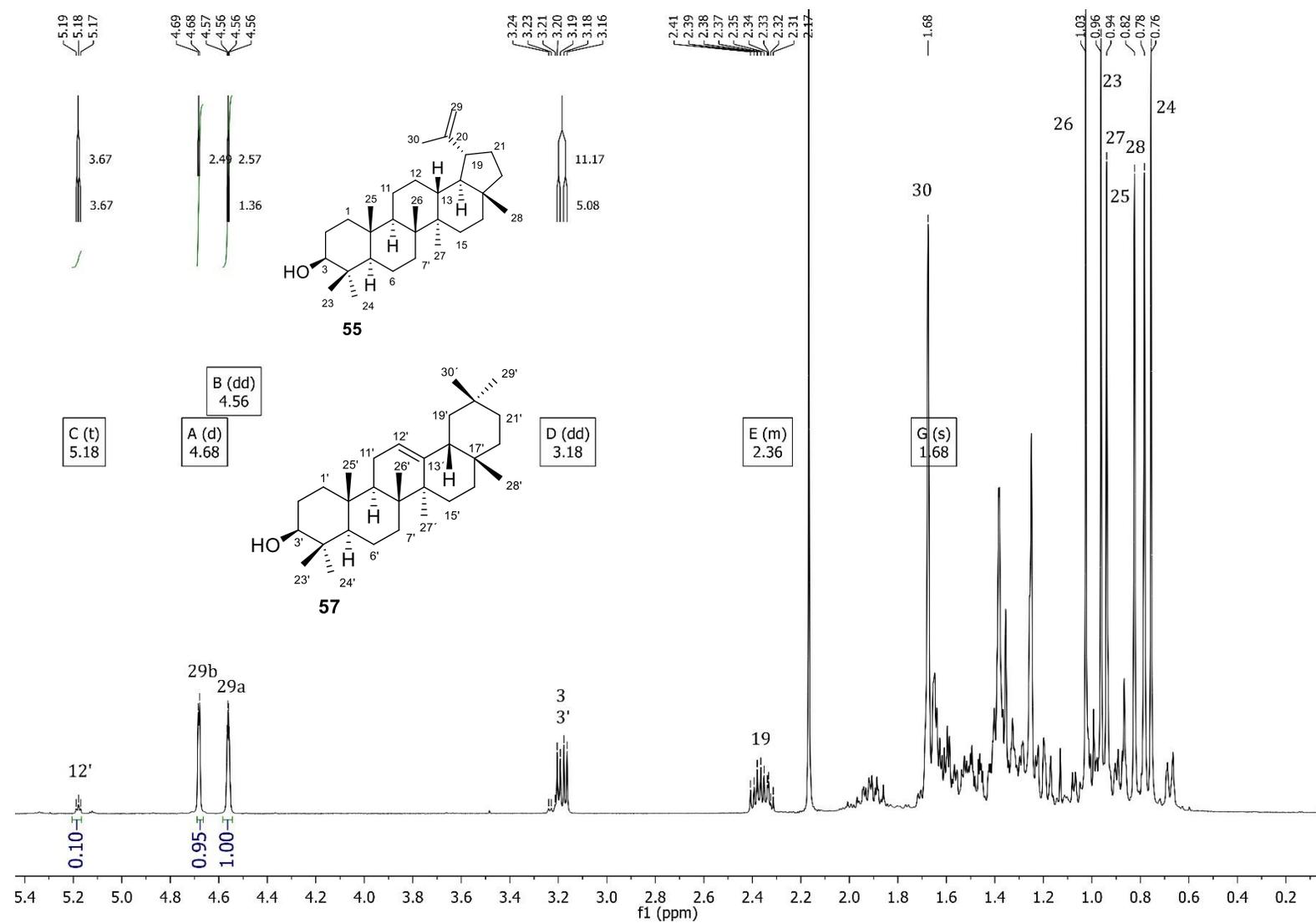
1. Villaseñor, J.L. Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Rev. Mex. Biodiv.* **2016**, *87*, 559–902. doi:10.1016/j.rmb.2016.06.017
2. Villaseñor, J.L. Los géneros de plantas vasculares de la flora de México. *Bol. Soc. Bot. México.* **2004**, *75*, 105-135. doi: 10.17129/botsci.1694
3. Villaseñor, J.L. Diversidad y distribución de la familia Asteraceae en México. *Bot. Sci.* **2018**, *96*, 332-358. doi: 10.17129/botsci.1872
4. Seaman, F.C. Sesquiterpene lactones as taxonomic characters in the Asteraceae. *Bot. Rev.* **1982**, *48*, 121-595.
5. Chadwick, M.; Trewin, T.; Gawthrop, F.; Wagstaff, C. Sesquiterpenoids Lactones: Benefits to Plants and People. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 12780-12805. doi: 10.3390/ijms140612780
6. Fürst, R.; Zündorf, I. Plant-Derived Anti-Inflammatory Compounds: Hopes and Disappointments regarding the Translation of Preclinical Knowledge into Clinical Progress. *Hindawi* **2014**, 9 páginas. doi: 10.1155/2014/146832
7. Holmes, W.C. The genus *Mikania* (Compositae, Eupatorieae) in Mexico. *Sida, Botanical Miscellany* **1990**, *5*, 27-28.
8. Felix-Silva, J.; Silva, A.A.; Zucolotto, S.M.; Fernandez, M. Medicinal Plants for the Treatment of Local Tissue Damage Induced by Snake Venoms: An Overview from Traditional Use to Pharmacological Evidence. *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.* **2017**, 52 páginas. doi: 10.1155/2017/5748256.
9. Ruffato, L.C.; Gower A.; Schwambach, J.; Moura, S. Genus *Mikania*: chemical composition and phytotherapeutical activity. *Rev. Bras. Farmacogn.* **2012**, *22*, 1384-1403. doi: 10.1590/S0102-695X2012005000099.
10. Li-Mei, D.; Xu-Chao, J.; Qing-Wen, L.; Qiang, Z.; Bi Luo.; Wen-Bin, Liu.; Xu, Z.; Qiao-Lin, X.; Jian-Wen, Tan. Phenolics from *Mikania micrantha* and Their Antioxidant Activity. *Molecules* **2017**, *22*, 1140. doi: :10.3390/molecules22071140
11. Bertolucci, S.K.; Pereira, A.; Pinto, J.; Oliveira, A.; Braga, F. Isolation and HPLC quantitation of kaurane-type diterpenes and cinnamic acid derivatives of long-term

- stored leaves of *Mikania laevigata* and *Mikania glomerata*. *An. Acad. Bras. Cienc.* **2013**, *85*, 473-485. doi:10.1590/S0001-37652013005000029
12. Shao, H.; Peng, S.; Wei, X.; Zhang, D.; Zhang, C. Potential allelochemicals from an invasive weed *Mikania micrantha* H.B.K. *J. Chem. Ecol.* **2005**, *31*, 12 páginas. doi: 10.1007/s10886-005-5805-0
 13. Catalán, C.; Cuenca, M.; Hernández, L.; Joseph-Nathan, P. *cis,cis*-Germacranolides and Melampolides from *Mikania thapsoides*. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 949-953. doi: 10.1021/np030055p
 14. Krautmann, M.; Riscalá, E.; Burgueño, E.; Mora, E.; Catalán, C.; Joseph-Nathan, P. C-15-Functionalized Eudesmanolides from *Mikania campanulata*. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 1173-1179. doi: 10.1021/np070154t
 15. Herz, W.; Subramaniam, P.S.; Murari, R.; Dennis, N.; Blount, J.F. Micordilin, a Complex Elemanolide from *Mikania cordifolia*. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 1720-1724. doi: 10.1021/jo00430a011
 16. Gutierrez, A.B.; Oberti, J.C.; Sosa, V.E.; Herz, W. Melampolides from *Mikania cordifolia*. *Phytochemistry* **1987**, *26*, 2315-2320. doi: 10.1016/S0031-9422(00)84710-X
 17. Castro, V.; Jakupovic, J.; Bohlmann, F. Germacranolides from *Mikania* species. *Phytochemistry* **1989**, *28*, 527-530. doi: 10.1016/0031-9422(89)80046-9
 18. Ríos, V.E.; León, A.; Chávez, M.I.; Torres, Y.; Ramírez-Apan, M.T.; Toscano, R.; Bravo-Monzón, A.; Espinosa-García, F.J.; Delgado G. Sesquiterpene lactones from *Mikania micrantha* and *M. cordifolia* and their cytotoxic and anti-inflammatory evaluation. *Fitoterapia* **2014**, *64*, 155-163. doi: 10.1016/j.fitote.2014.02.006
 19. Abrão de Oliveira, P.; Casanova, I.C.; Rodrigues de Oliveira, D.C. Comparative analysis of triterpenoids from *Mikania cordifolia* collected from four different locations. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* **2006**, *42*, 547-552. doi: 10.1007/s10600-007-0064-7
 20. Arias, A.R.; Ferro, E.; Inchausti, A.; Ascurra, M.; Acosta, N.; Rodríguez, E. Mutagenicity, insecticidal and trypanomicidal activity of some Paraguayan Asteraceae. *J. Ethnopharmacol.* **1995**, *45*, 35-41. doi: 10.1016/0378-8741(94)01193-4

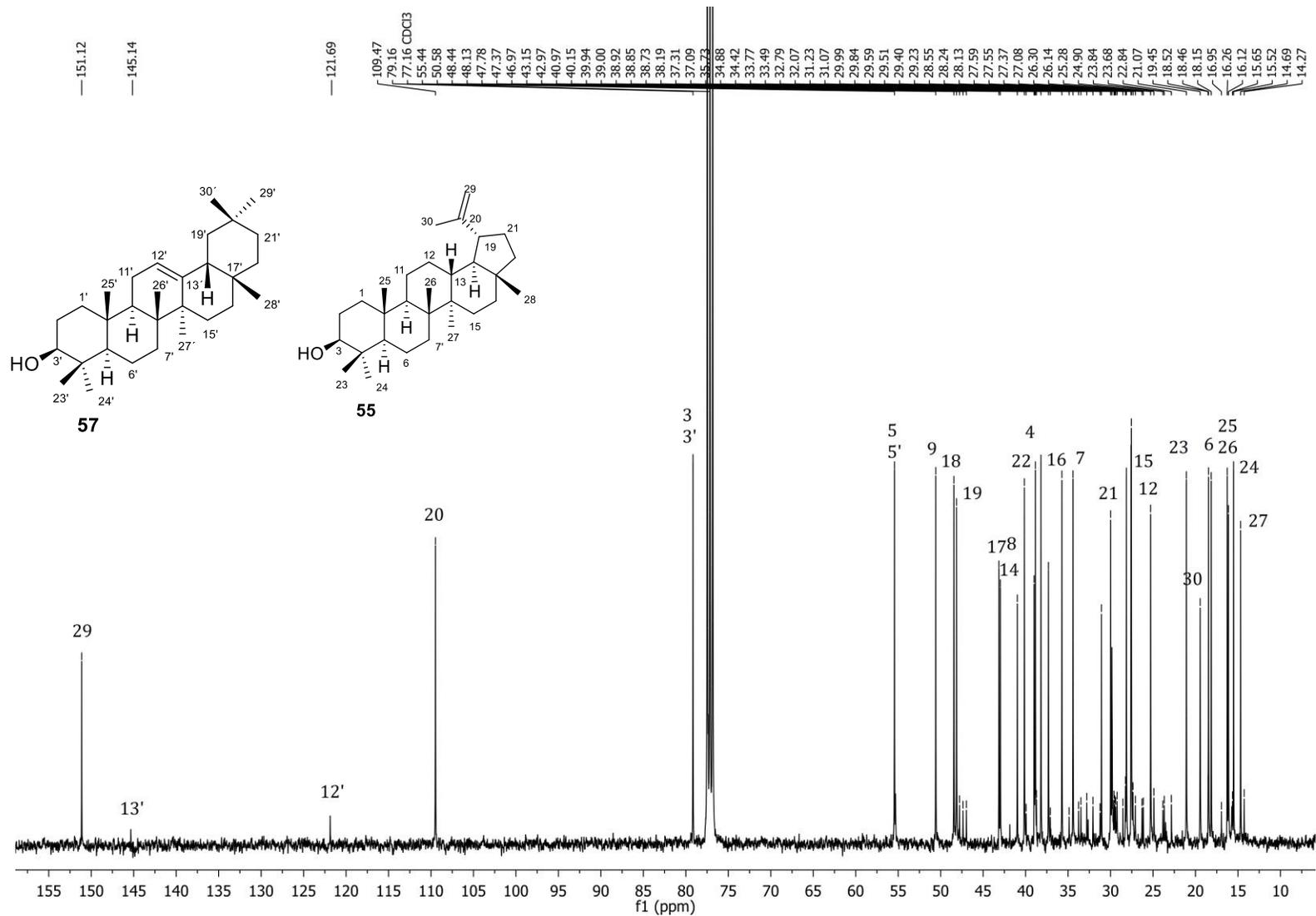
21. Laurella, L.C.; Frank, F.M.; Sarquiz, A.; Alonso, M.R.; Giberti, G.; Cavallaro, L.; Catalán, C.A.; Cazorla, S.I.; Malchiodi, E.; Martino, V.S.; Sulsen, V.P. *In vitro* Evaluation of antiprotozoal and antiviral activities of extracts from Argentinean *Mikania* species. *Sci. World J.* **2012**, 6 páginas. doi:10.1100/2012/121253
22. Rahman, S.M.; Nurul, M.; Tarek, A.; Naim, S.M.; Shahid-Ud-Daula, A.F.; Sarwar, G.; Shohel, M. Investigation of analgesic potential and *in vitro* antioxidant activity of two plants of Asteraceae family growing in Bangladesh. *J. Pharm. Res.* **2013**, 6, 599-603. doi: 10.1016/j.jopr.2013.05.016
23. <http://www.theplantlist.org/> Último acceso 31 de marzo 2019.
24. Rzedowski, G.C. Manual de malezas de la región de Salvatierra, Guanajuato. *Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes.* **2004**, Fascículo complementario XX, 115.
25. Jakupovic, J.; Castro, V.; Bohlmann, F. Millerenolides, sesquiterpene lactones from *Milleria quinqueflora*. *Phytochemistry* **1987**, 26, 2011-2017. doi: 10.1016/S0031-9422(00)81748-3
26. Castro, V.; Rungeler, P.; Murillo, R.; Hernandez, E.; Mora, G.; Pahlid, H.L.; Merfort, I. Study of sesquiterpene lactones from *Milleria quinqueflora* on their anti-inflammatory activity using the transcription factor NF-kB as molecular target. *Phytochemistry* **2000**, 53, 257-263. doi: 10.1016/S0031-9422(99)00510-5
27. Peraza-Sánchez, S.R.; Cen-Pacheco, F.; Noh-Chimal, A.; May-Pat, F.; Simá-Polanco, P.; Dumonteil, E.; García-Miss, M.R.; Mut-Martín, M. Leishmanicidal evaluation of extracts from native plants of the Yucatan península. *Fitoterapia* **2007**, 78, 315–318. doi: 10.1016/j.fitote.2007.03.013
28. Melo, M.M.; Habermehl, G.G.; Castro, V.; Merfort, I. Topic utilization of sesquiterpene lactone from *Milleria quinqueflora* on treatment of bothropic envenomation in rabbits. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* **2005**, 57, 548-552.
29. Burns, D.; Reynolds, W.; Buchanan, G.; Reese, P.; Enriquez, R. Assignment of ¹H and ¹³C spectra and investigation of hindered side-chain rotation in lupeol derivatives. *Magn. Reson. Chem.* **2000**; 38, 488–493. doi: 10.1002/1097-458X(200007)38:7<488::AID-MRC704>3.0.CO;2-G
30. Okoye, N.; Lotanna, D.; Nnaemeka, H.; Emeka, E.; Sylvester, C.; Basden, F. Beta-Amyrin and alpha-amyrin acetate isolated from the stem bark of *Alstonia boonei*

- display profound anti-inflammatory activity. *Pharm. Biol.* **2014**, *52*, 1478–1486. doi: 10.3109/13880209.2014.898078
31. Mauryaa, R.; Srivastavab, A.; Shahc, P.; Imran Siddiqic, M.; Rajendrand, S.M.; Purib, A.; Yadava, P. β -Amyrin acetate and β -amyrin palmitate as antidyslipidemic agents from *Wrightia tomentosa* leaves. *Phytomedicine* **2012**, *19*, 682– 685.
 32. Prakash, V.S.; Prakash, I. Isolation of Stigmasterol and β -Sitosterol from the dichloromethane extract of *Rubus suavissimus*. *Int. J. Curr. Pharm. Res.* **2012**, *1*, 239-242. doi: 10.3329/icpj.v1i9.11613
 33. Destandau, E.; Alaoui, M.; Zubrzycki, S.; Akssira, M.; El Rhaffari, L.; Elfakir, C. Centrifugal partition chromatography elution gradient for isolation of sesquiterpene lactones and flavonoids from *Anvillea radiata*. *J. Chromatogr. A.* **2015**, *985*, 29-37. doi: 10.1016/j.jchromb.2015.01.019
 34. Han-Ping, H.; Yizhong, C.; Mei, S.; Harold, C. Extraction and Purification of Squalene from Amaranthus Grain. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 368–372. doi: 10.1021/jf010918p
 35. Krebs, H. C.; Rakotoarimanga, J.V.; Habermehl, G.G. Isolation of Spatulanol and (-)-Caryophyllene Oxide from *Vernonia mollissima* Don and ^1H and ^{13}C Reassignment by Two-Dimensional NMR Spectroscopy. *Magn. Reson. Chem.* **1990**, *28*, 124-128. doi: 10.1002/mrc.1260280207
 36. Del-Ángel, M.; Nieto, A.; Ramírez-Apan, T.; Delgado, G. Anti-inflammatory effect of natural and semi-synthetic phthalides. *Eur. J. Pharmacol.* **2015**, *752*, 40-48. doi: 10.1016/j.ejphar.2015.01.026

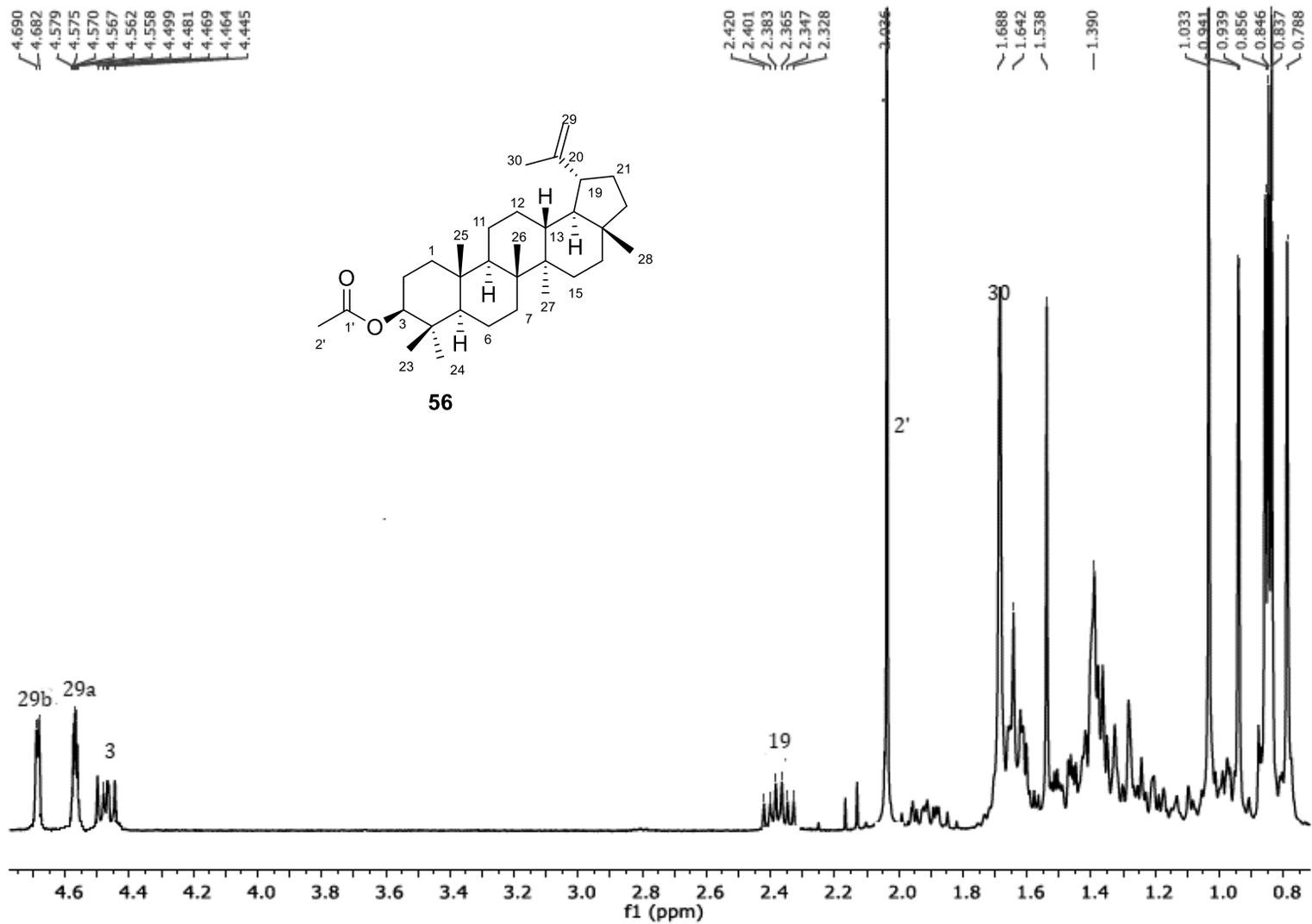
10. ANEXOS



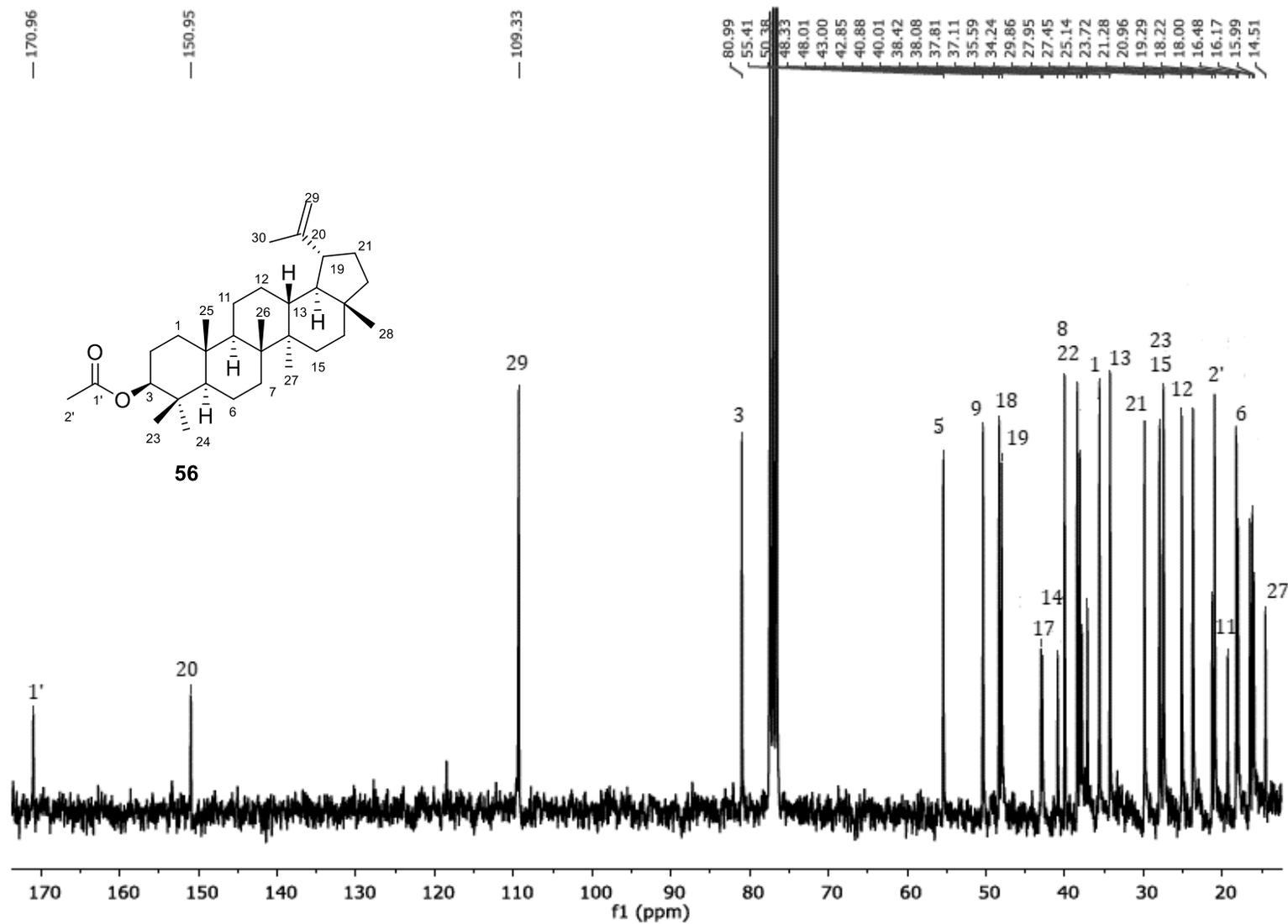
Espectro 1. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) de lupeol (55) y β-amirina (57)



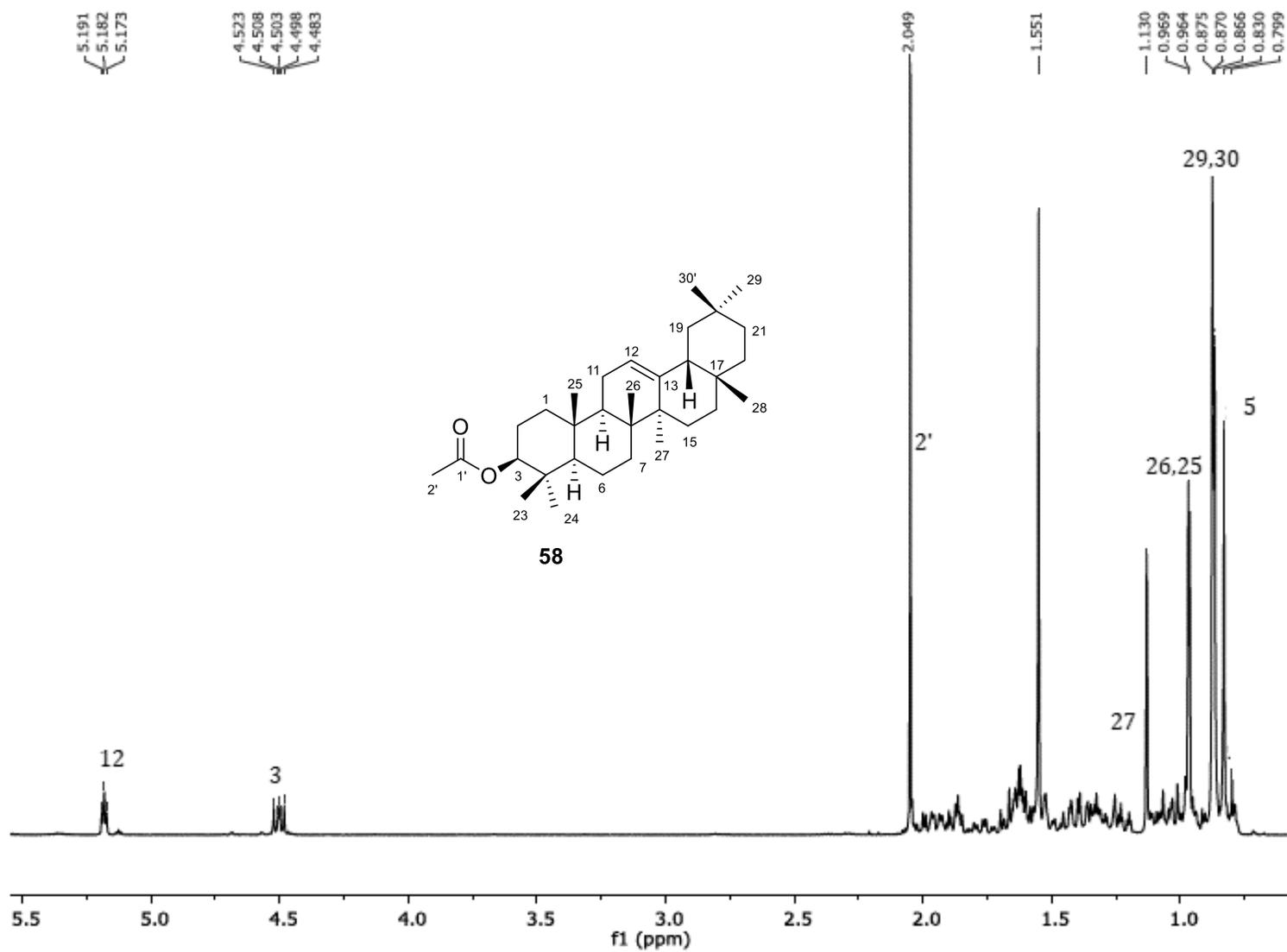
Espectro 2. RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) de lupeol (55) y β -amirina (57)



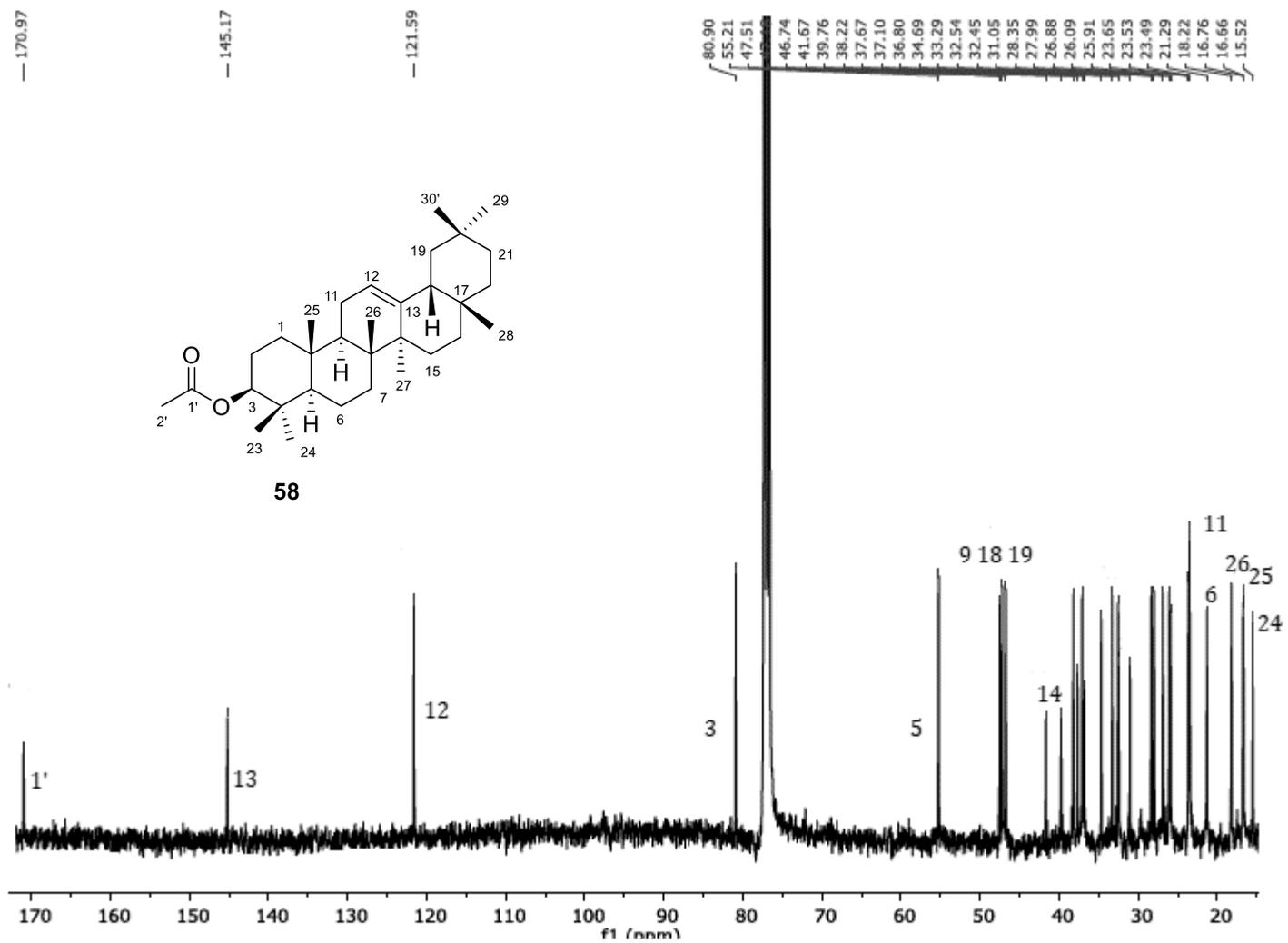
Espectro 3. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de acetato de lupeilo (**56**)



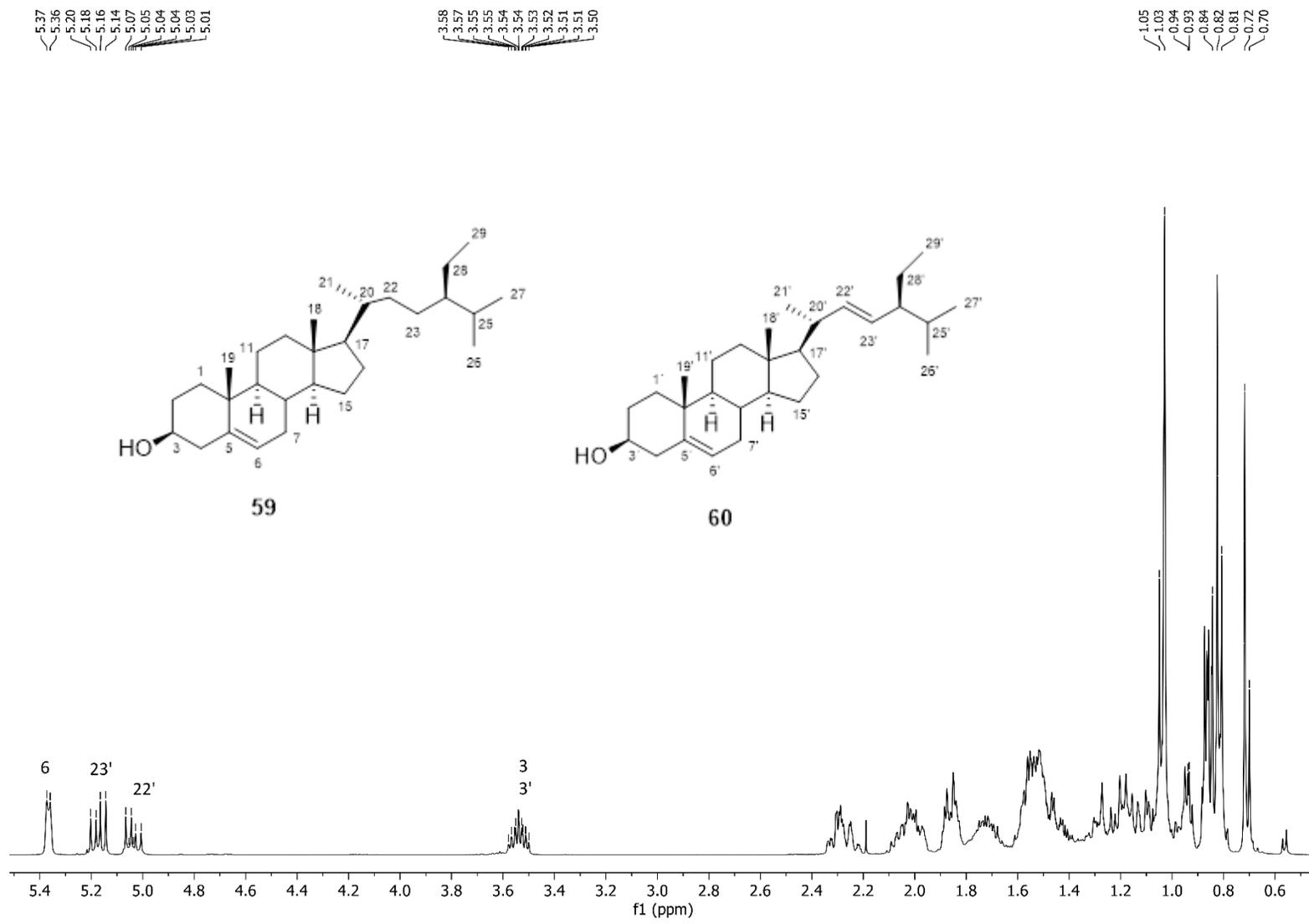
Espectro 4. RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de acetato de lupeilo (56)



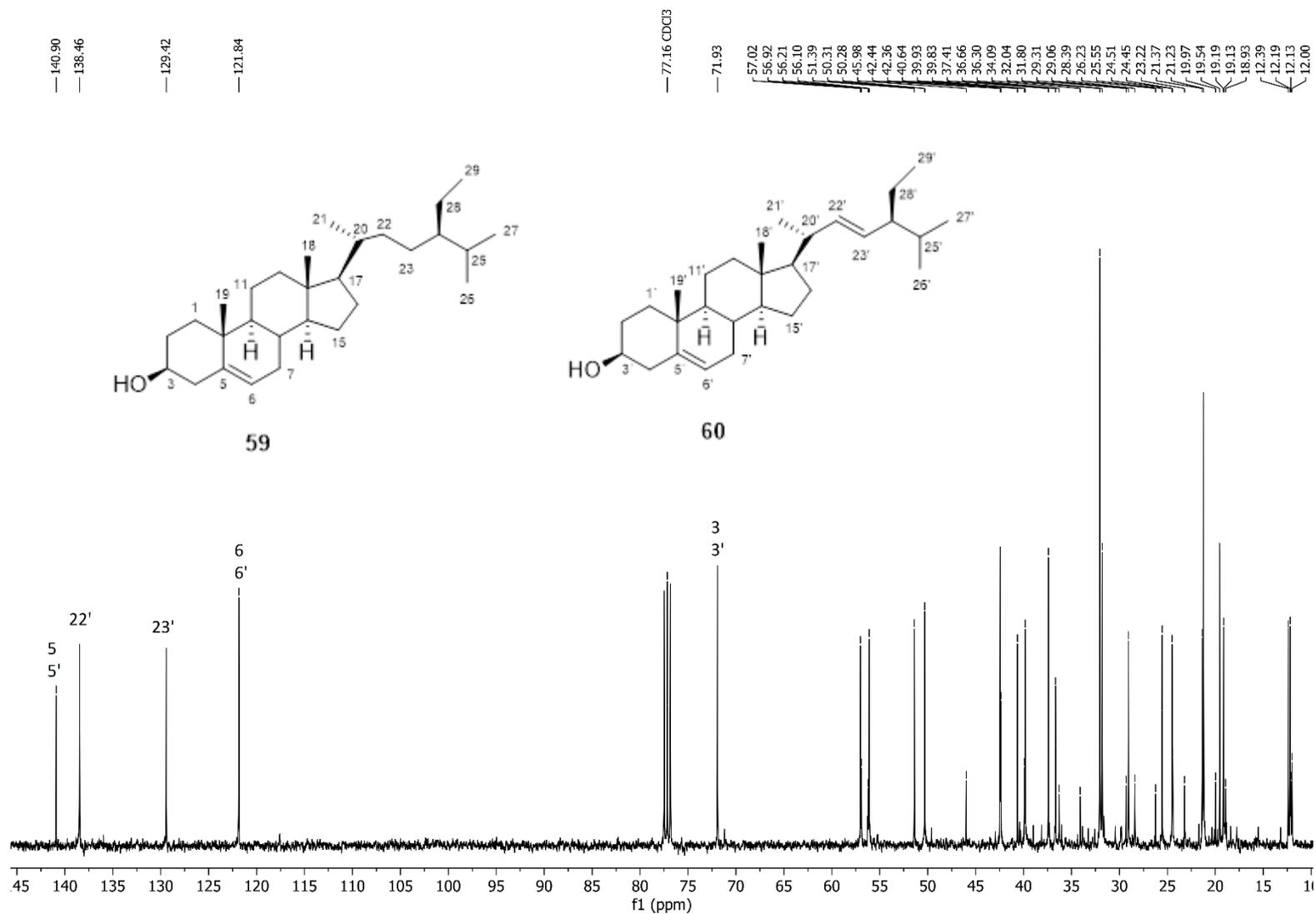
Espectro 5. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de acetato de β-amirilo (**58**)



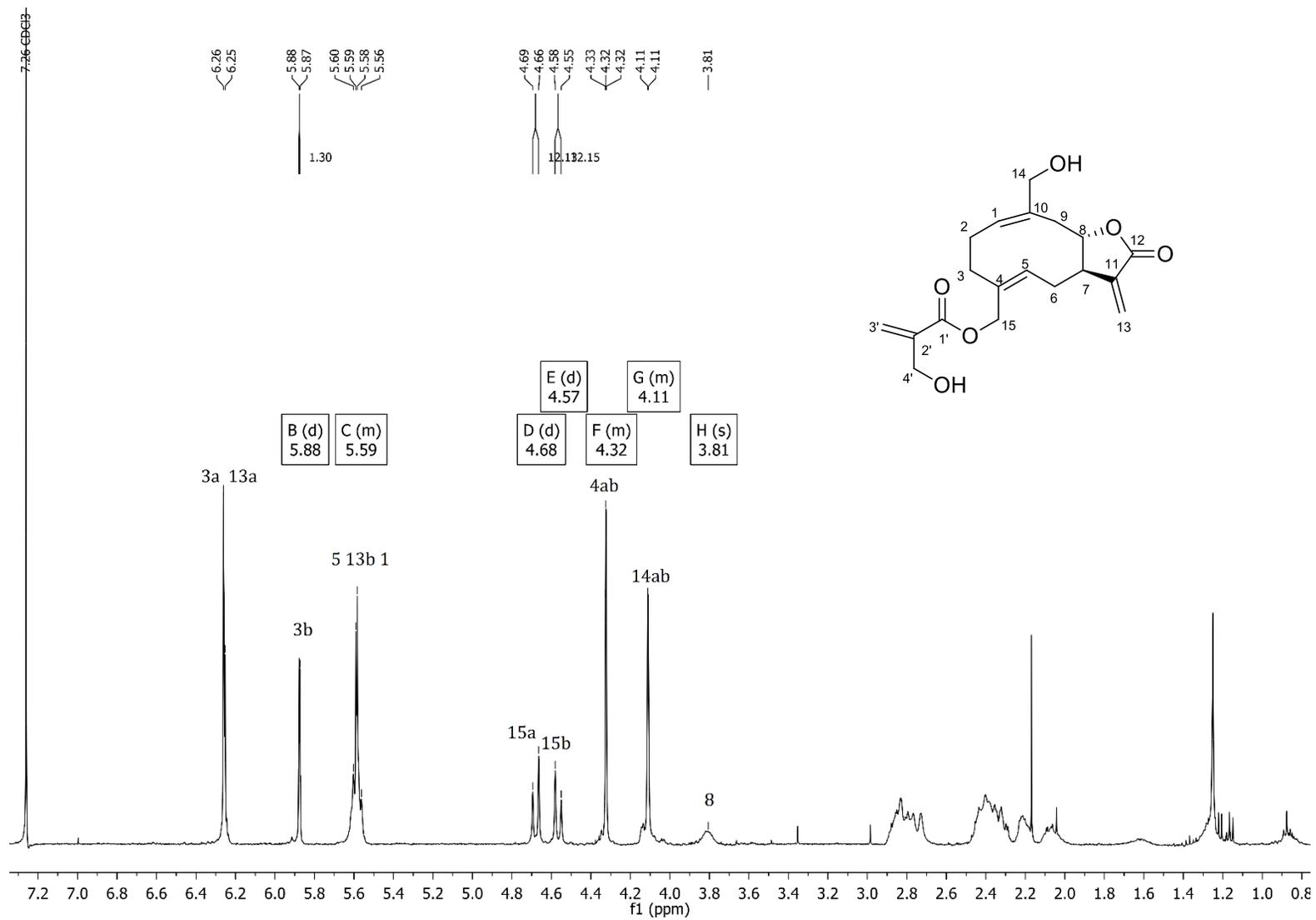
Espectro 6. RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de acetato de β -amirilo (**58**)



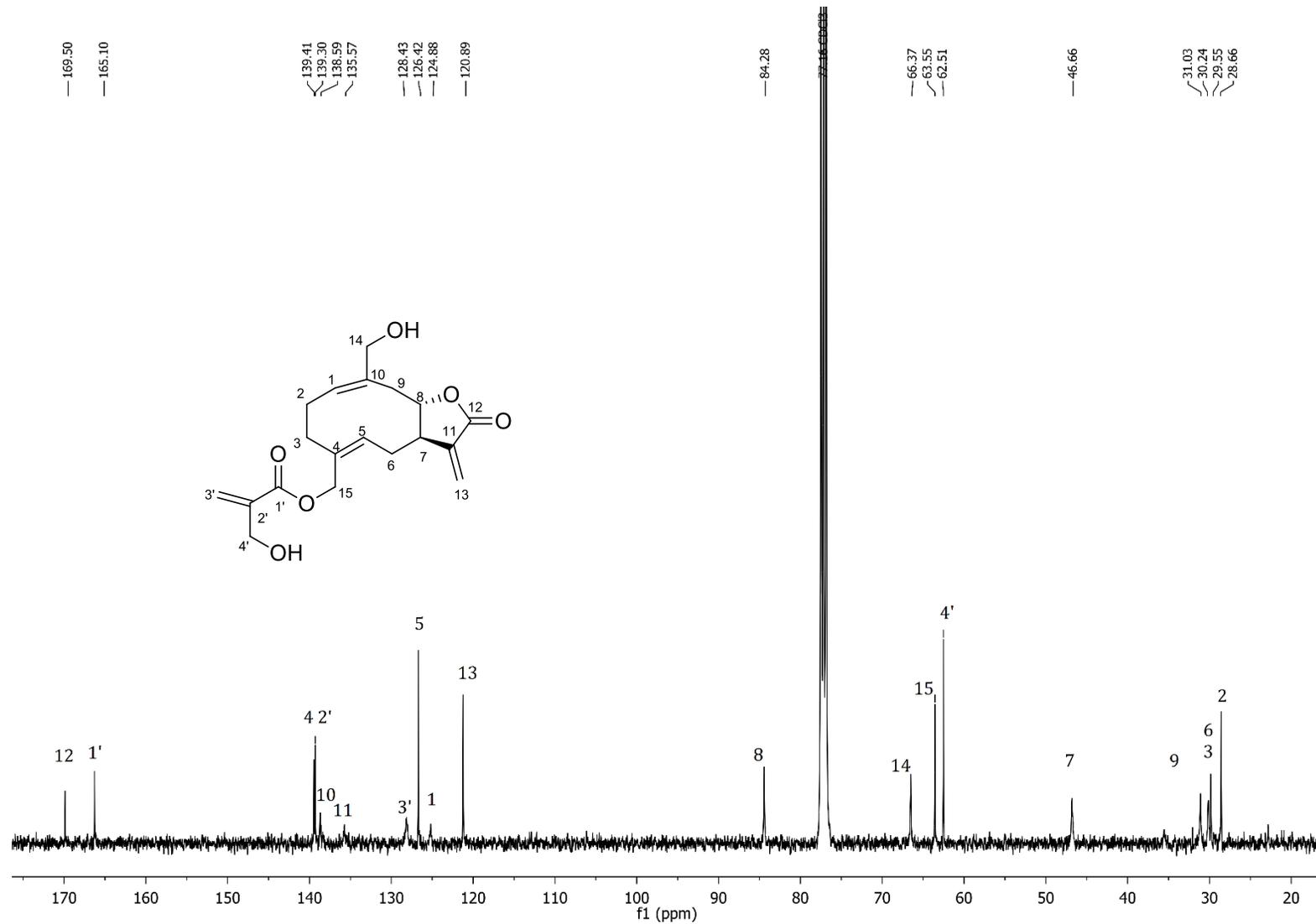
Espectro 7. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de β -sitosterol (**59**) y estigmasterol (**60**)



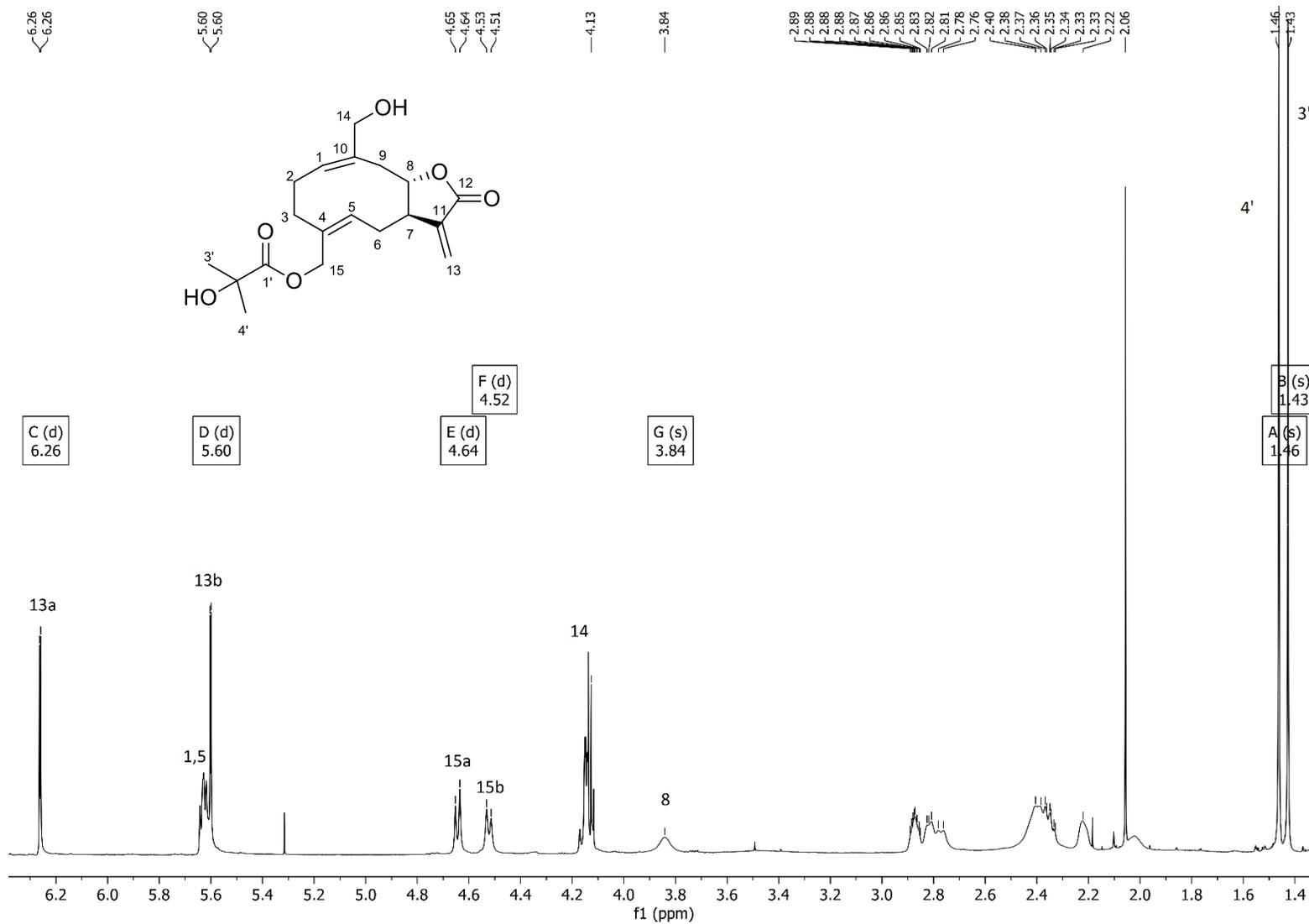
Espectro 8. RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de β -sitosterol (**59**) y estigmasterol (**60**)



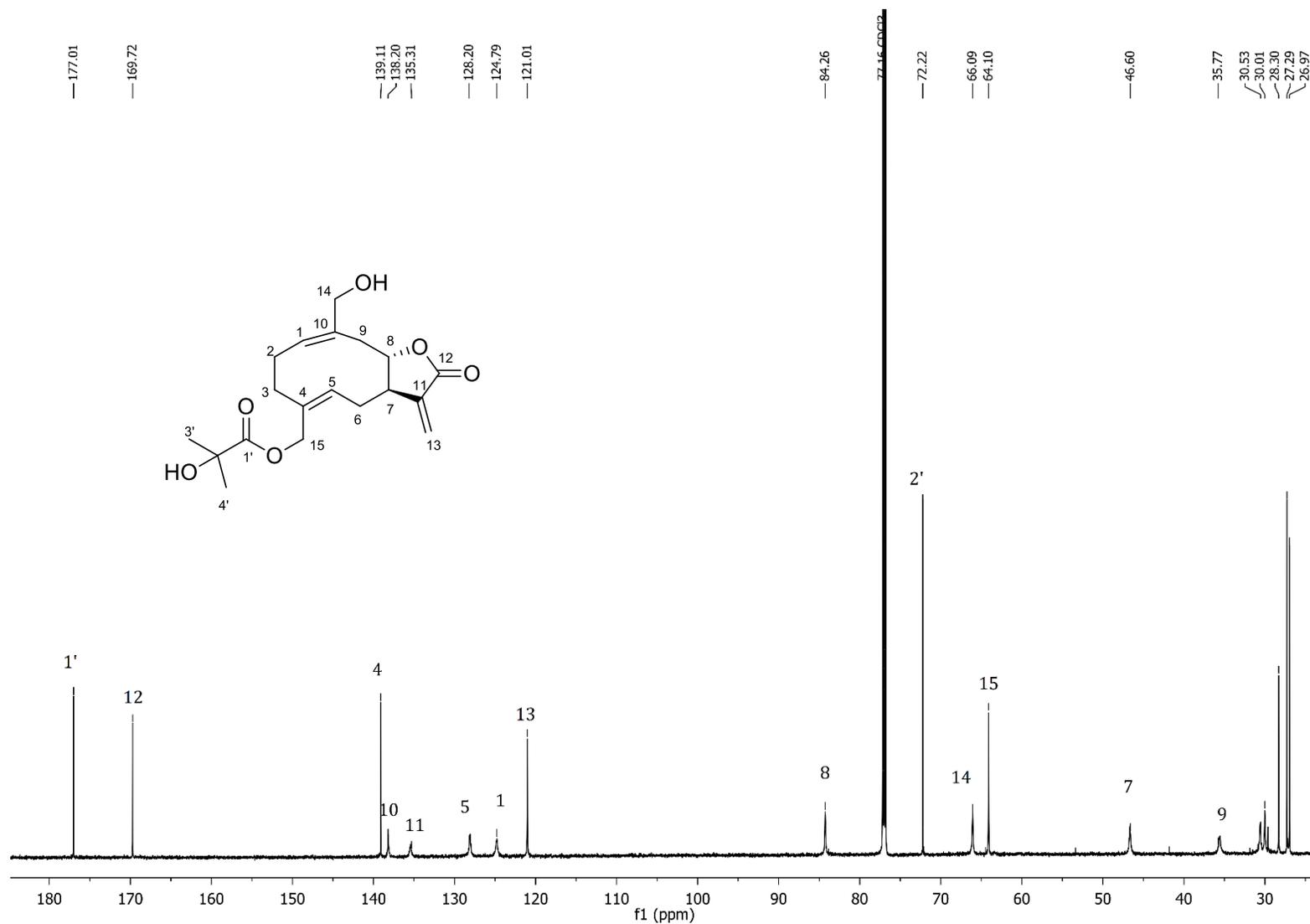
Espectro 9. RMN ¹H (CDCl₃, 700 MHz) de 15-O-(4-hidroxi-metacril)-micrantólida (**27**)



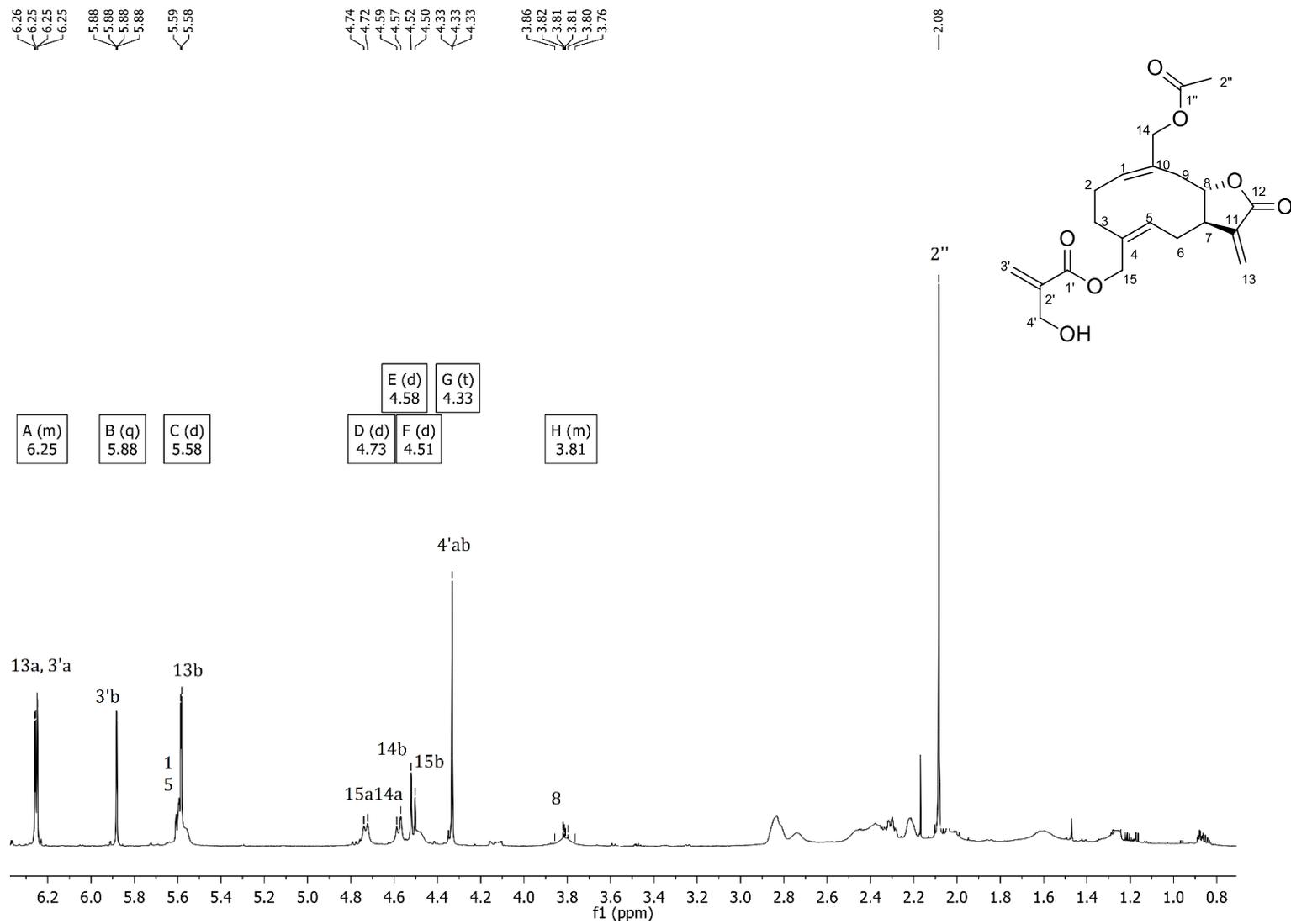
Espectro 10. RMN ¹³C (CDCl₃, 176 MHz) de 15O-(4-hidroxi-metacril)-micrantólida (**27**)



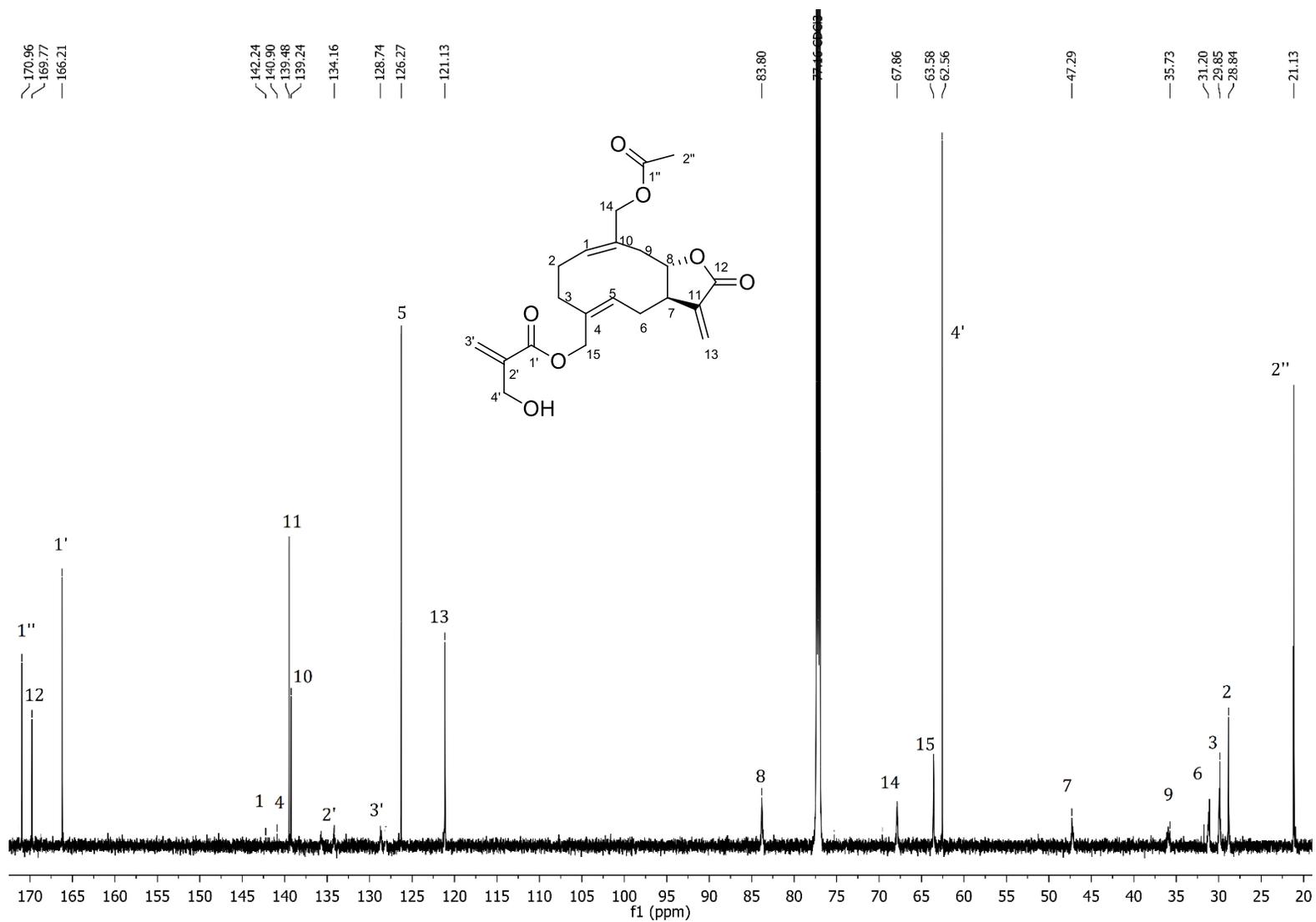
Espectro 11. RMN ^1H (CDCl_3 , 700 MHz) de 15O-(2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida (26)



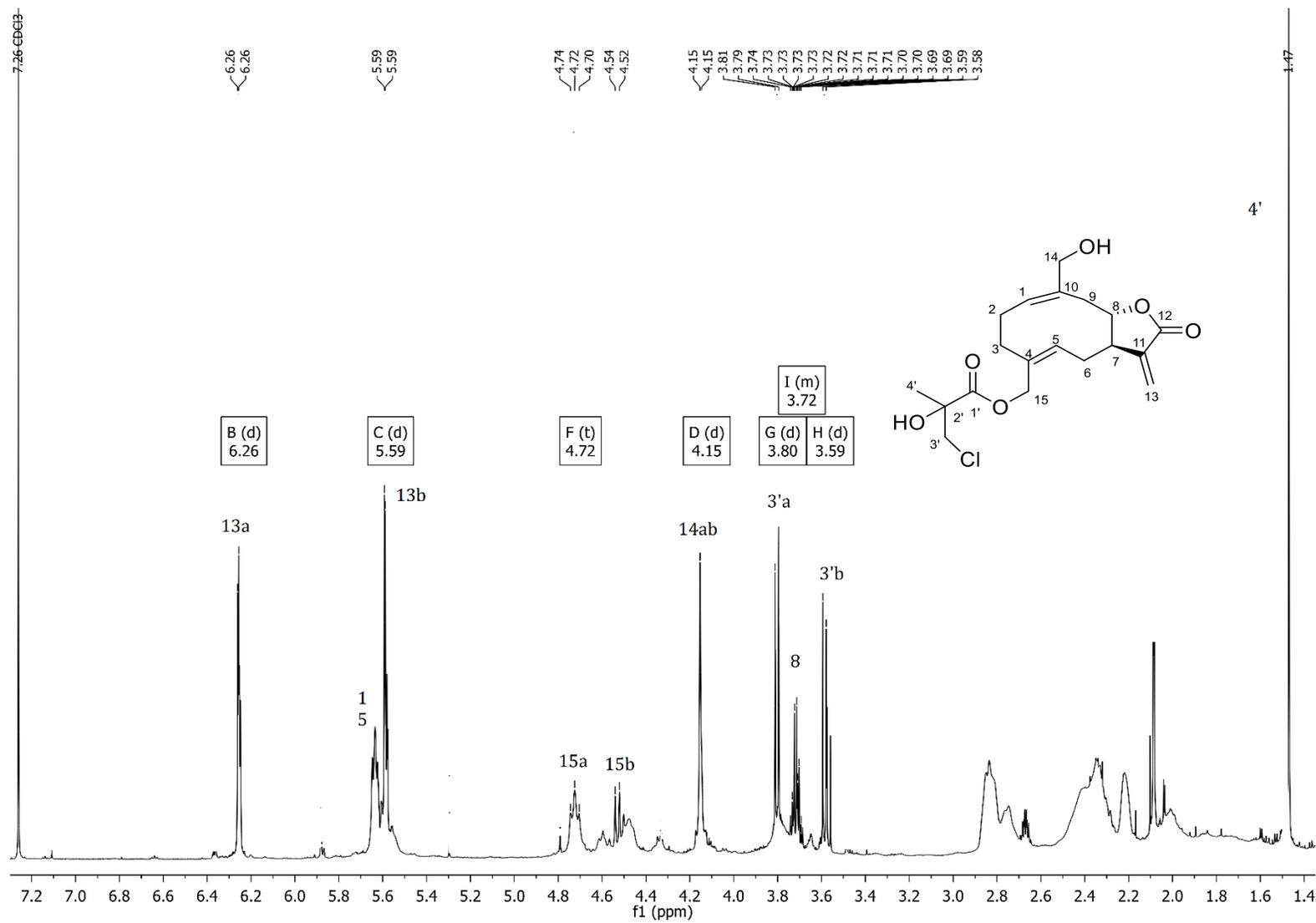
Espectro 12. RMN ¹³C (CDCl₃, 176 MHz) de 15O-(2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida (**26**)



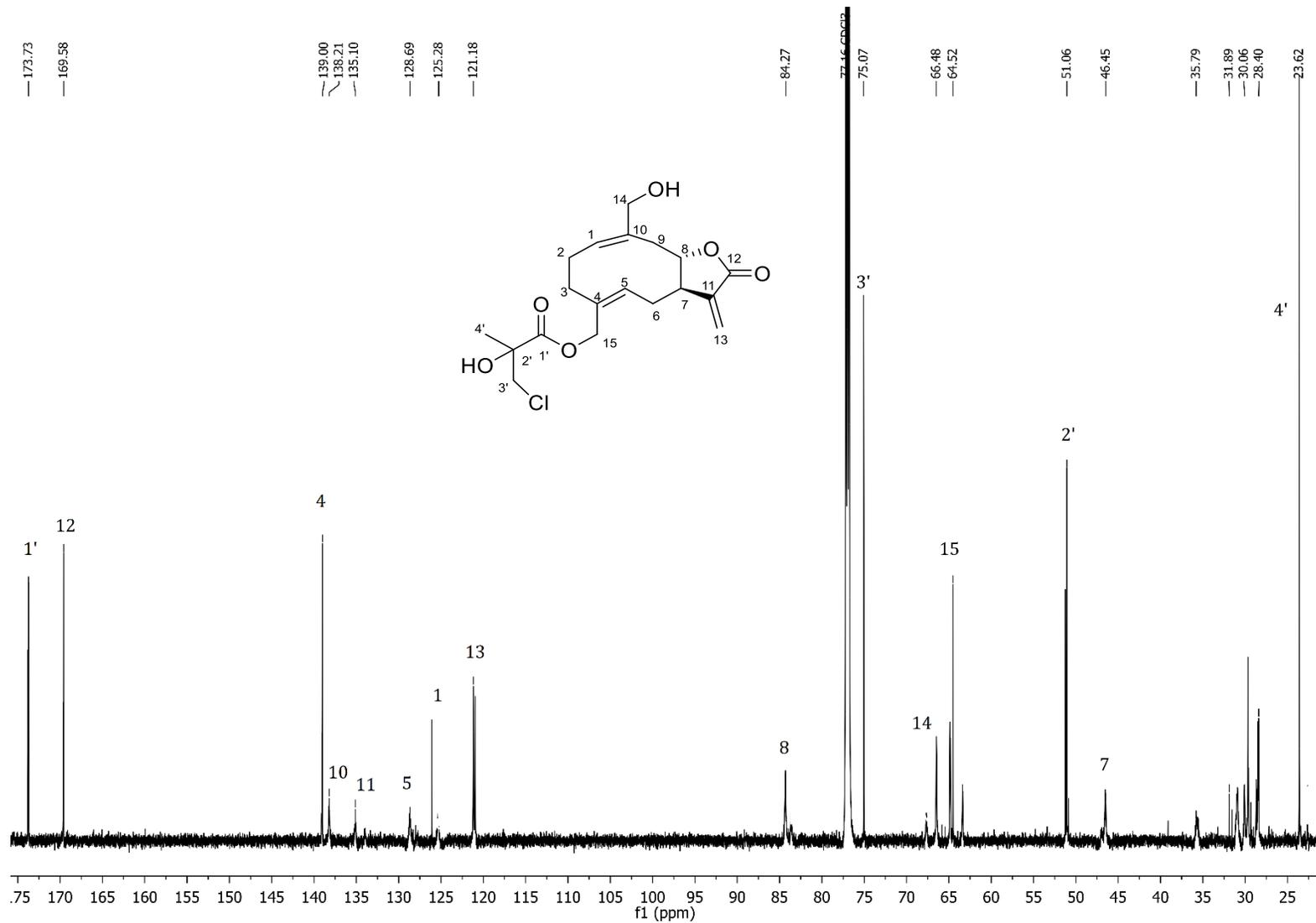
Espectro 13. RMN ^1H (CDCl_3 , 700 MHz) de 15*O*-(hidroxi-metacril)-14*O*-acetil-micrantólida (**29**)



Espectro 14. RMN ¹³C (CDCl₃, 176 MHz) de 15O-(hidroxi-metacril)-14O-acetil-micrantólida (29)

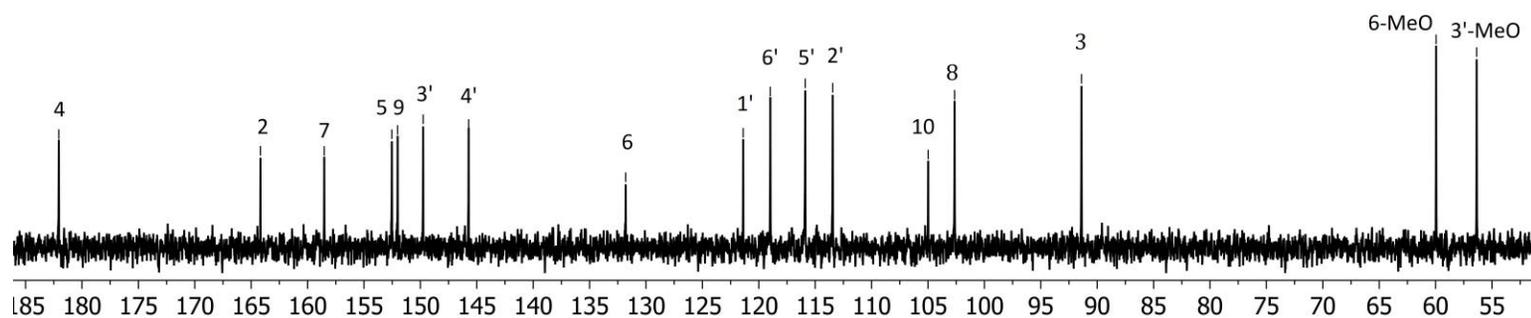
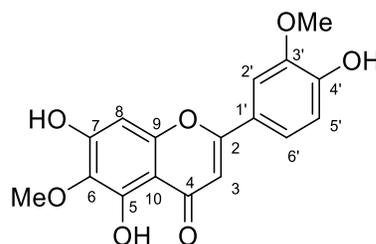


Espectro 15. RMN ¹H (CDCl₃, 700 MHz) de 15O-(3'-cloro-2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida

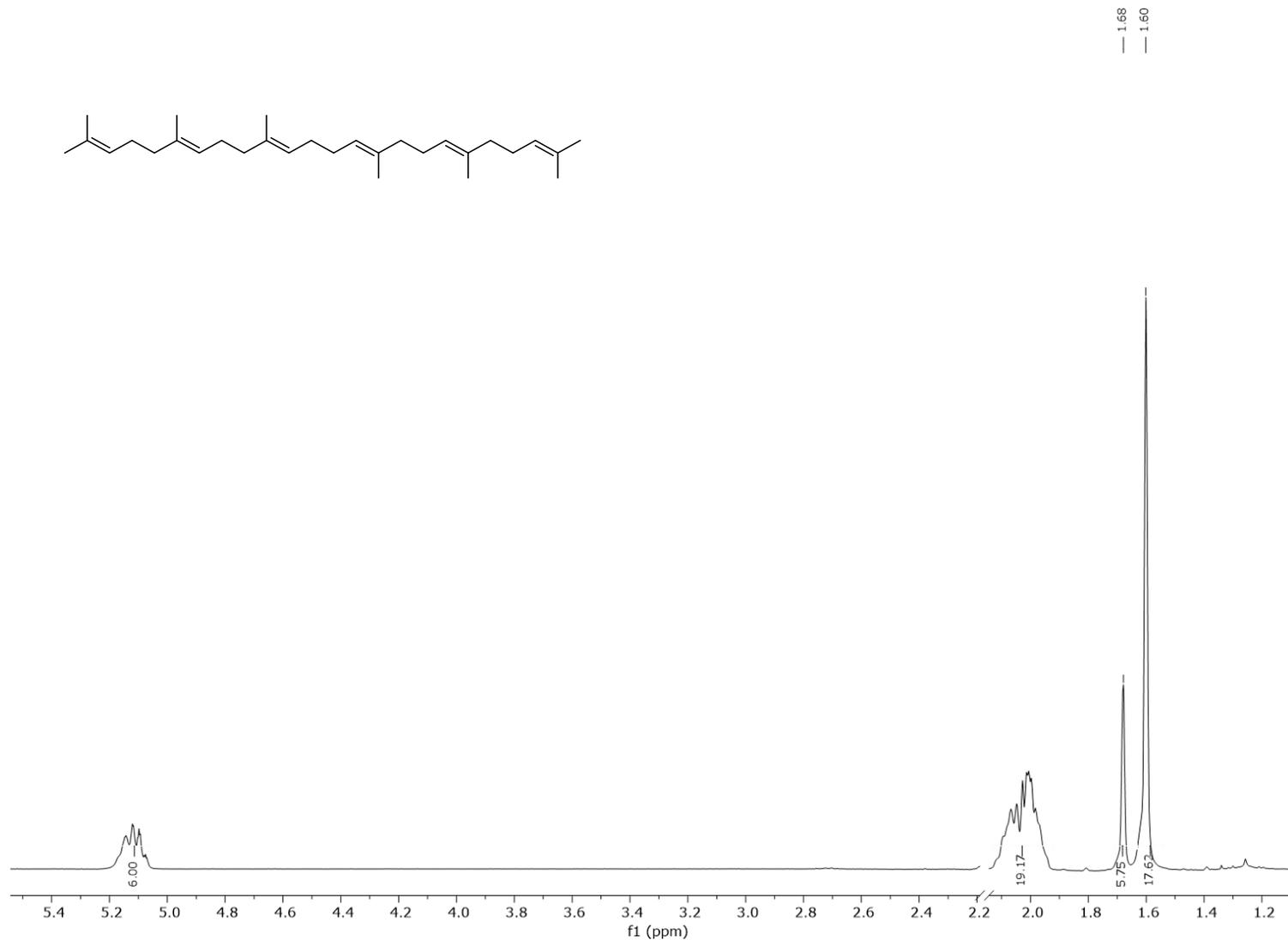


Espectro 16. RMN ^{13}C (CDCl_3 , 176 MHz) de 15O-(3'-cloro-2'-hidroxi-isobutiril)-micrantólida (**25**)

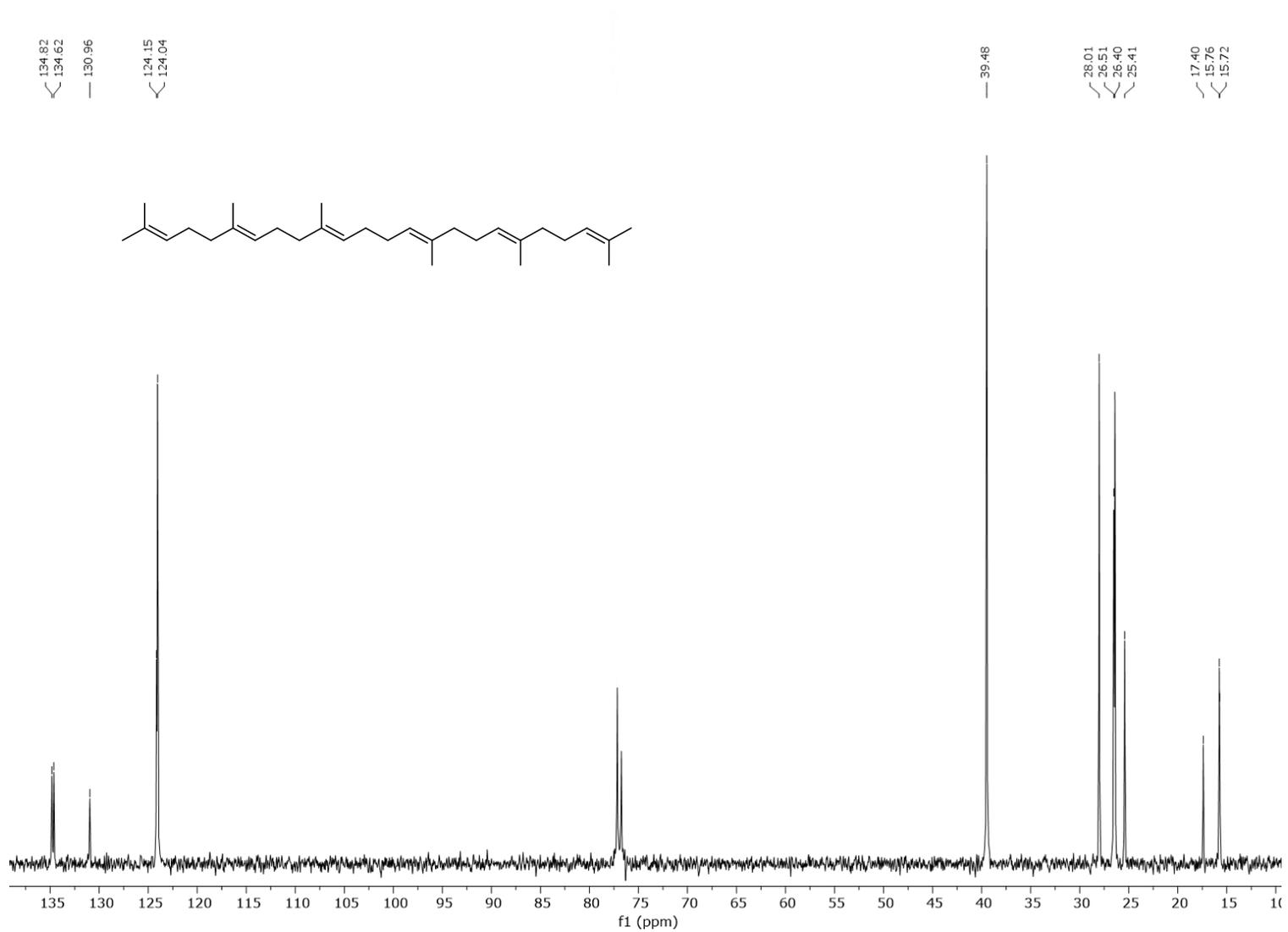
—182.05
 —164.18
 —158.52
 ~152.53
 ~152.02
 ~149.75
 ~145.72
 —131.80
 —121.38
 ~118.98
 ~115.88
 —113.45
 —104.99
 —102.64
 —91.39
 —59.96
 —56.36



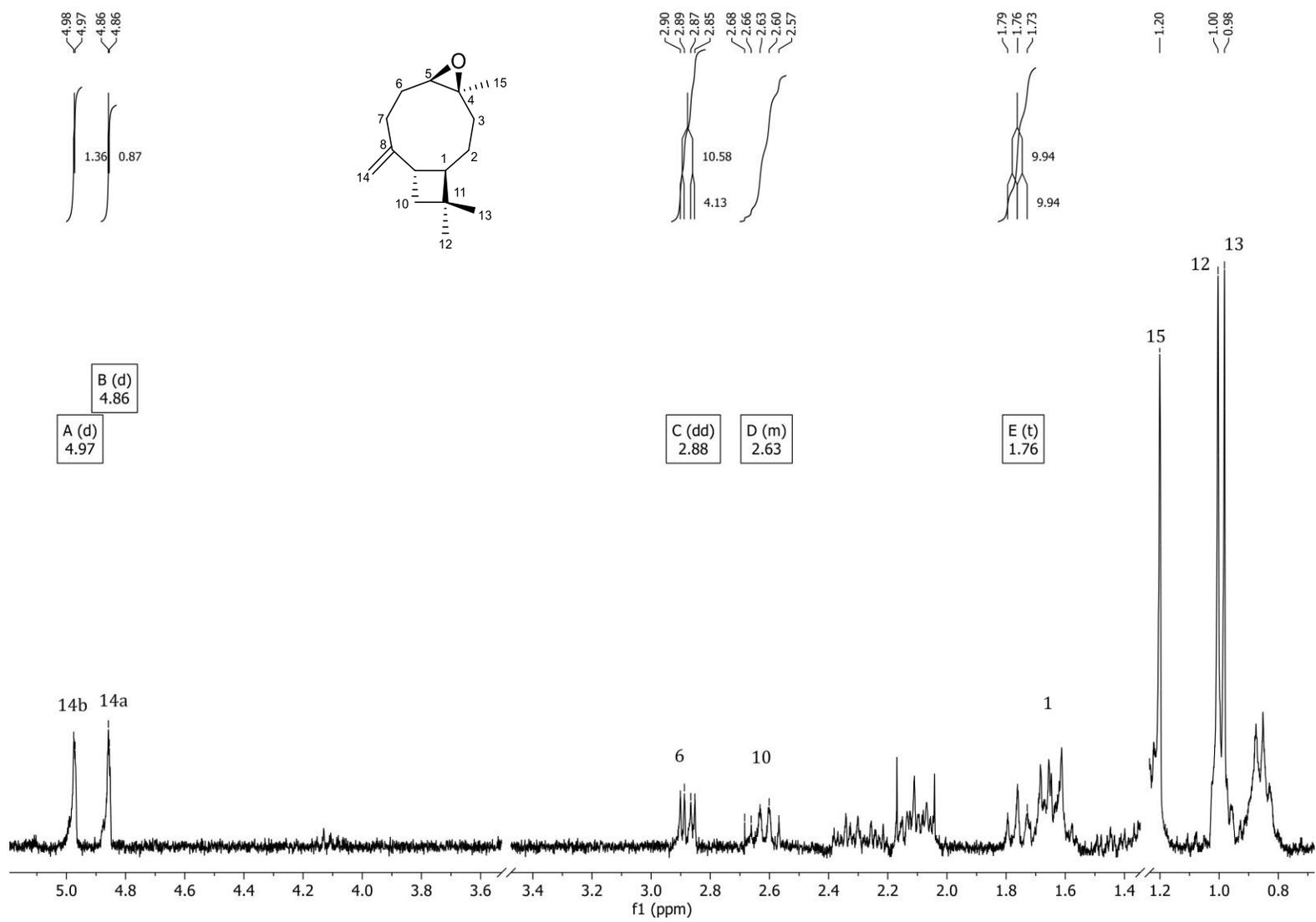
Espectro 18. RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de jaceosidina (**61**)



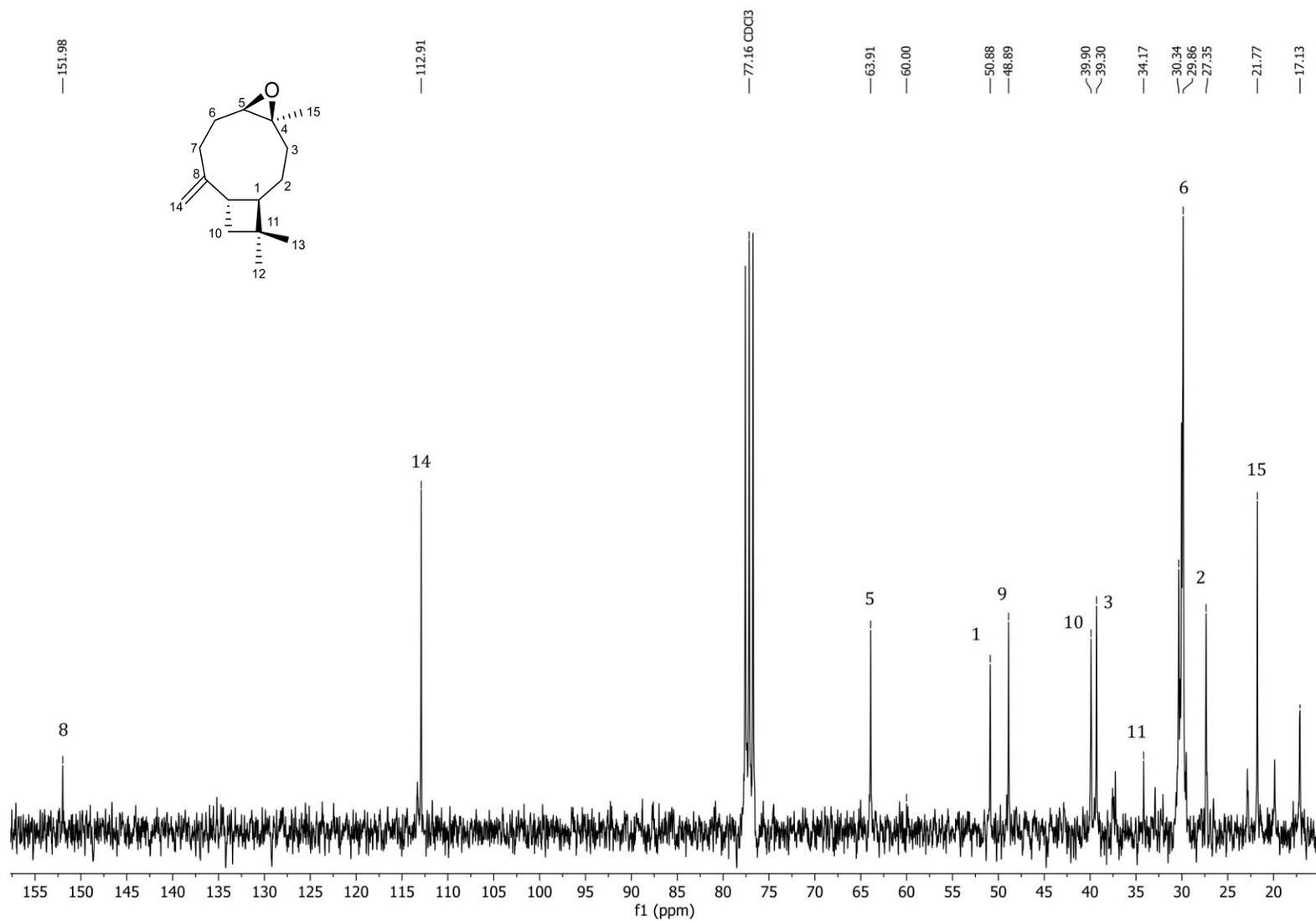
Espectro 19. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) del escualeno (**62**)



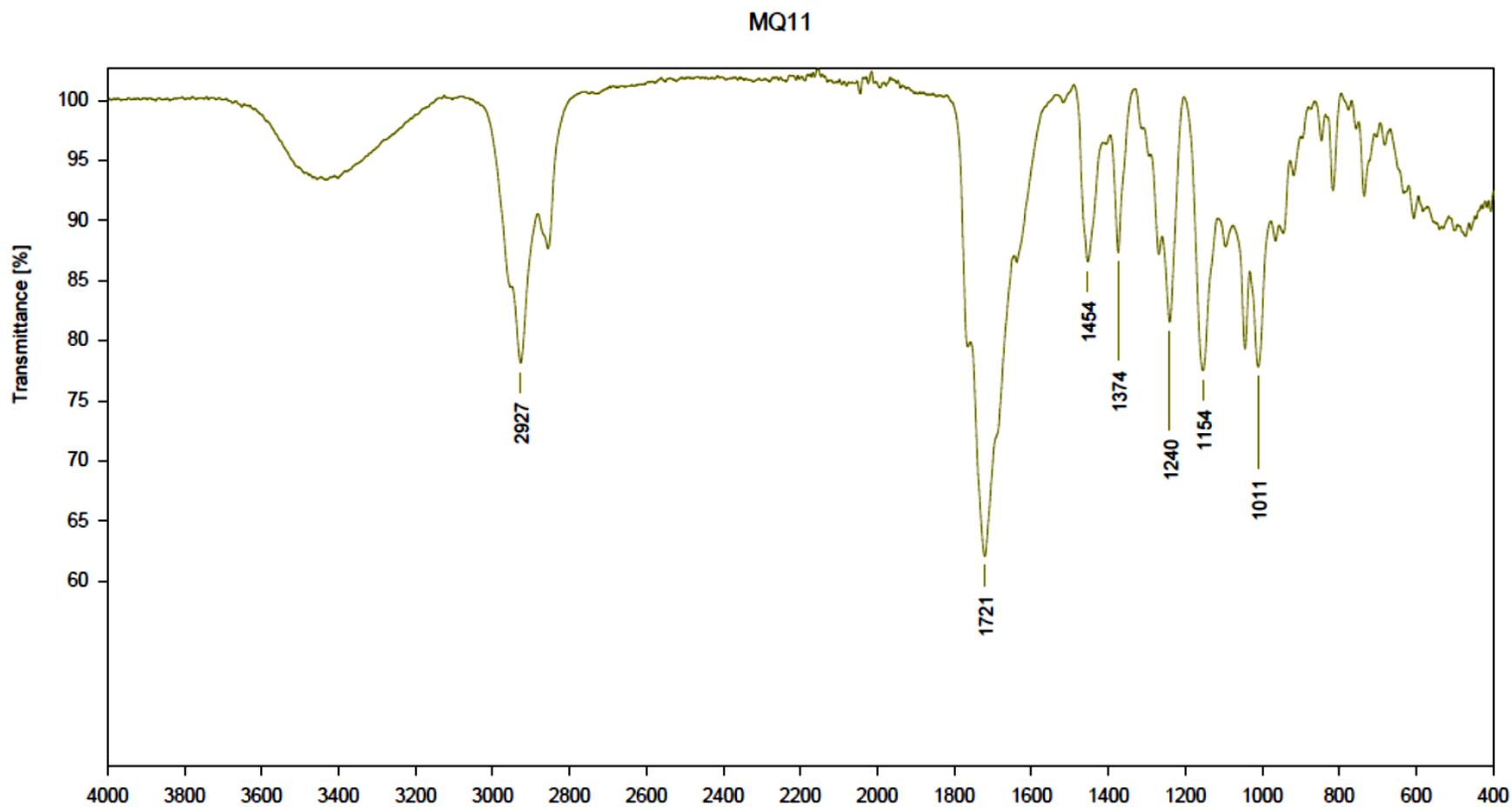
Espectro 20. RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) del escualeno (**62**)



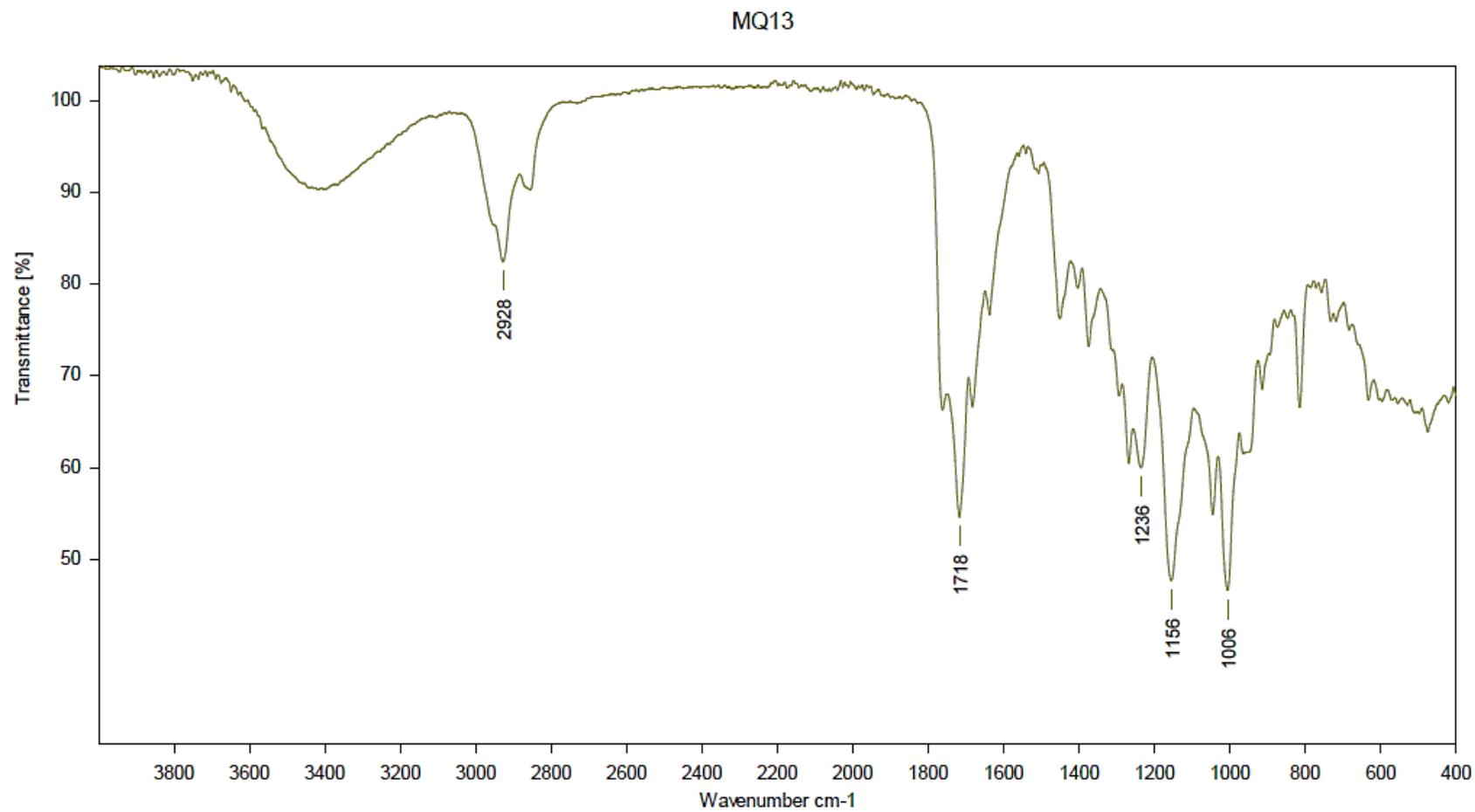
Espectro 21. RMN ^1H (CDCl₃, 300 MHz) de óxido de cariofileno (**63**)



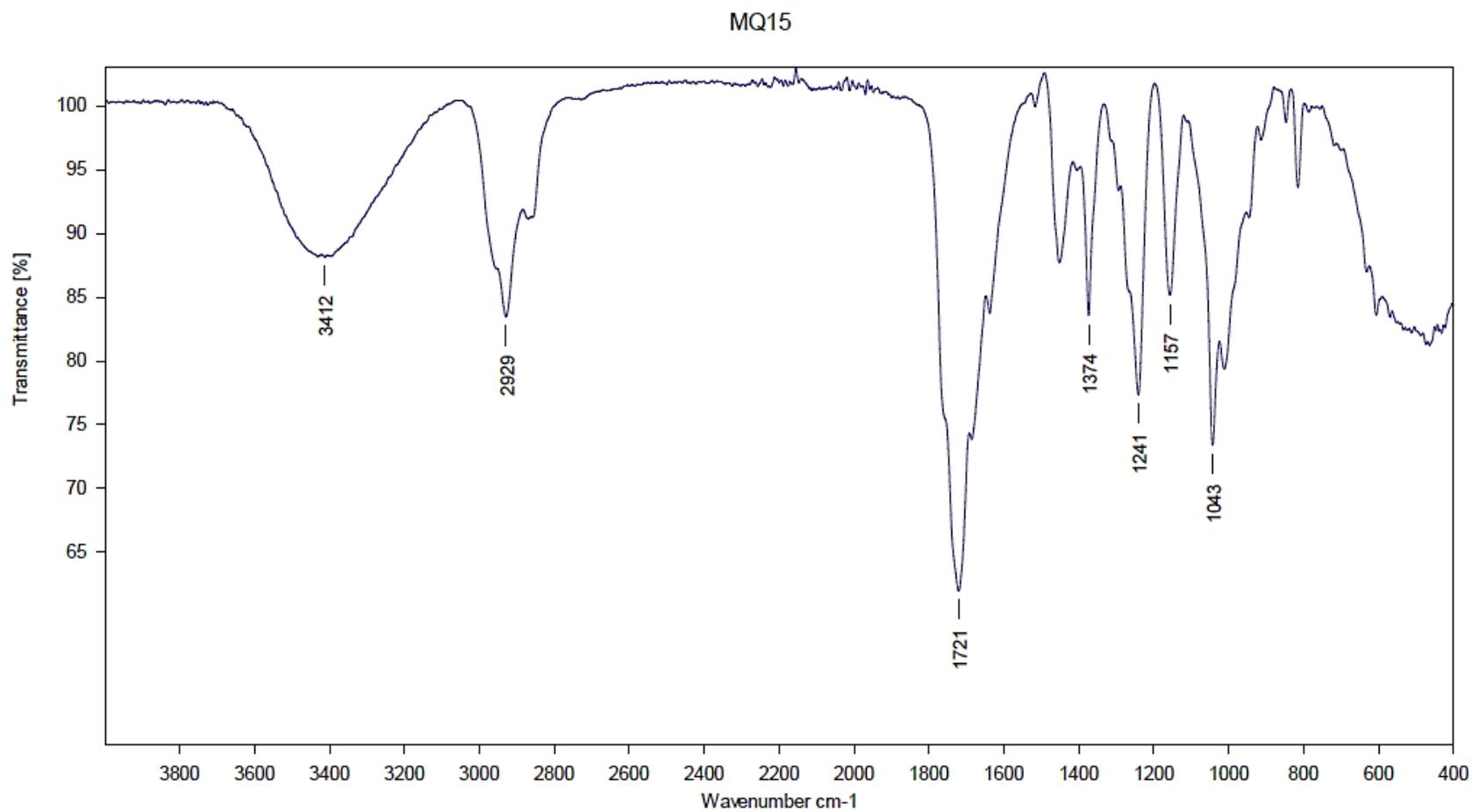
Espectro 22. RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de óxido de cariofileno (**63**)



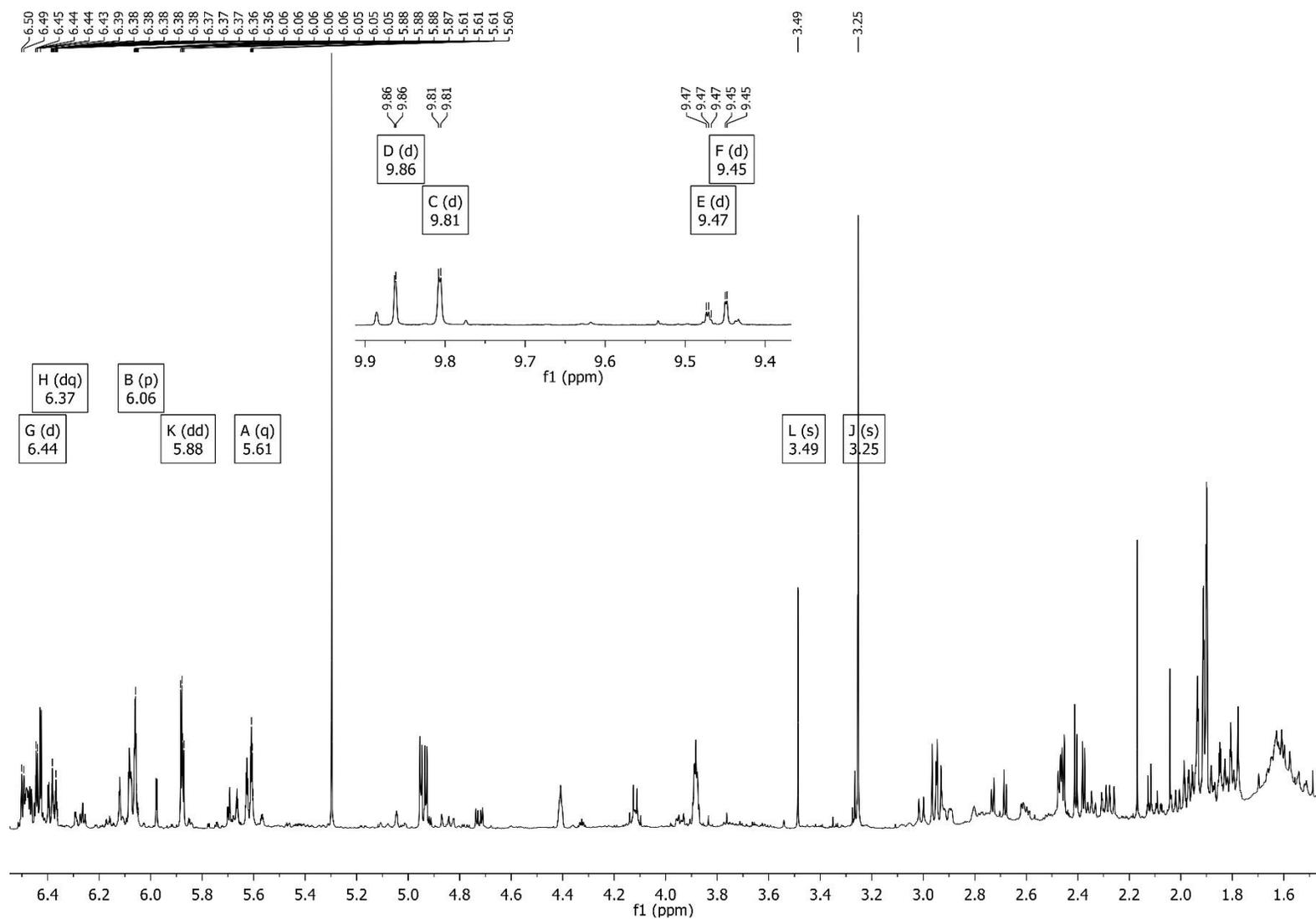
Espectro 23. IR fracción K de *Milleria quinqueflora*



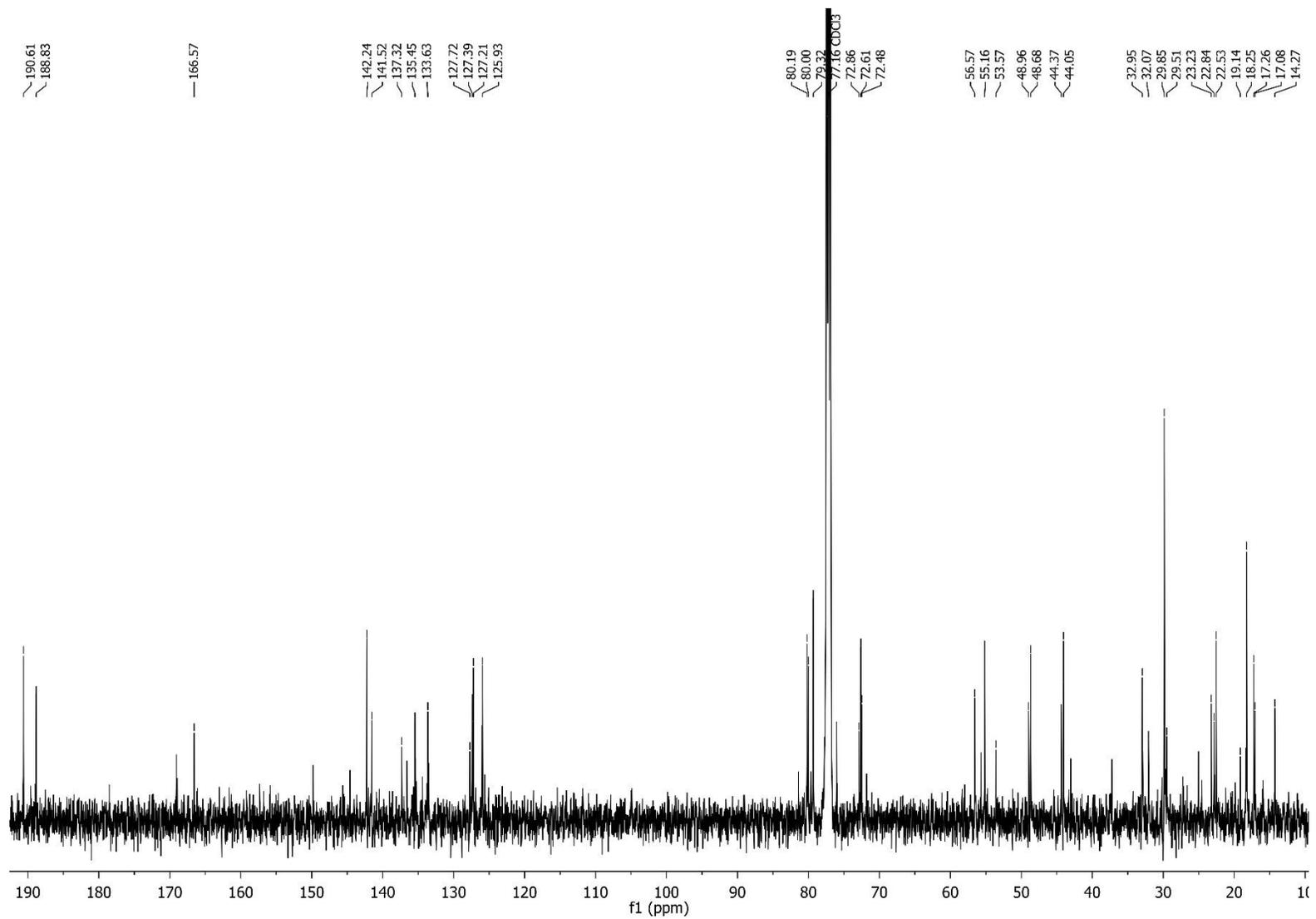
Espectro 24. IR fracción M de *Milleria quinqueflora*



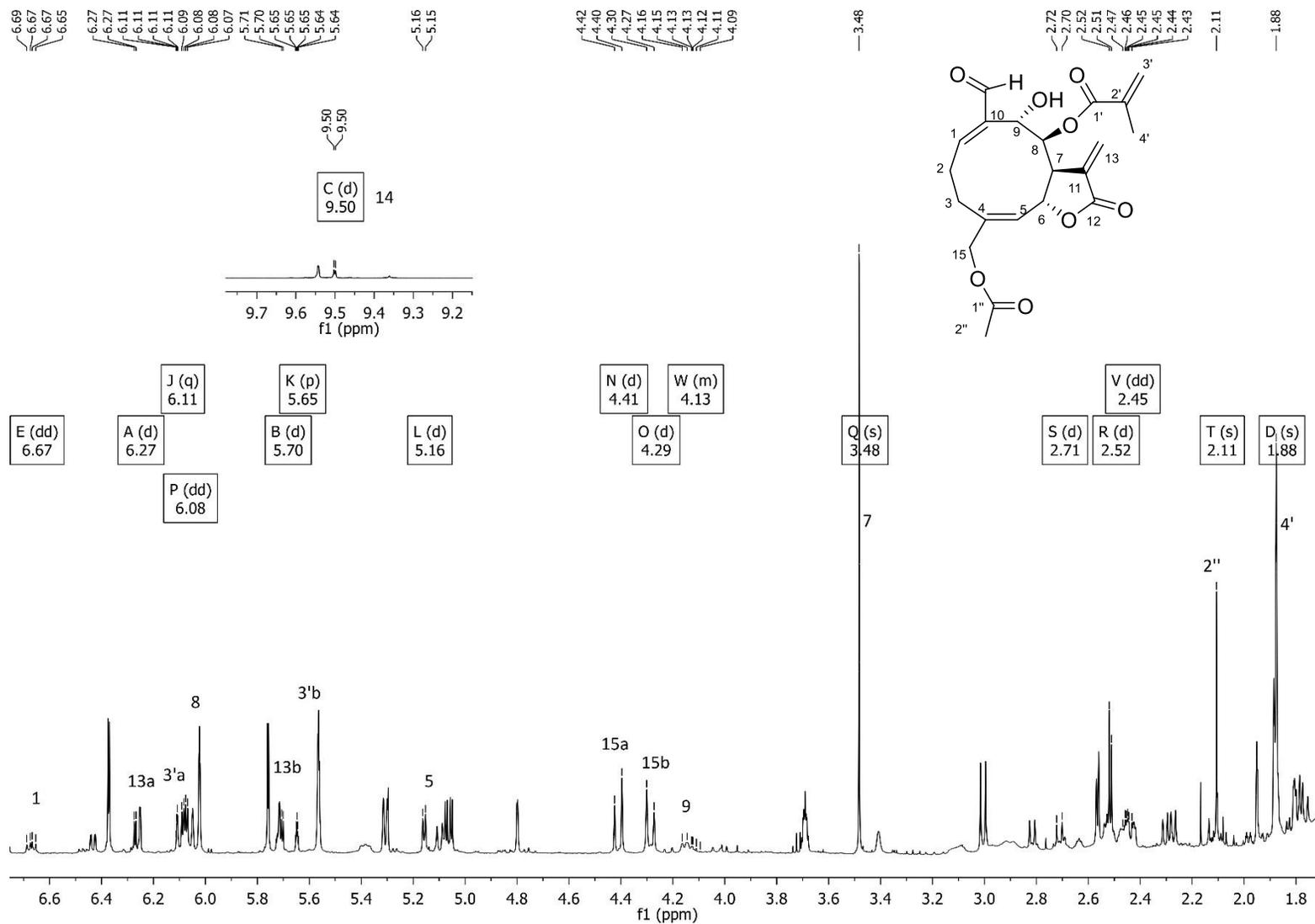
Espectro 25. IR fracción Ñ de *Milleria quinqueflora*



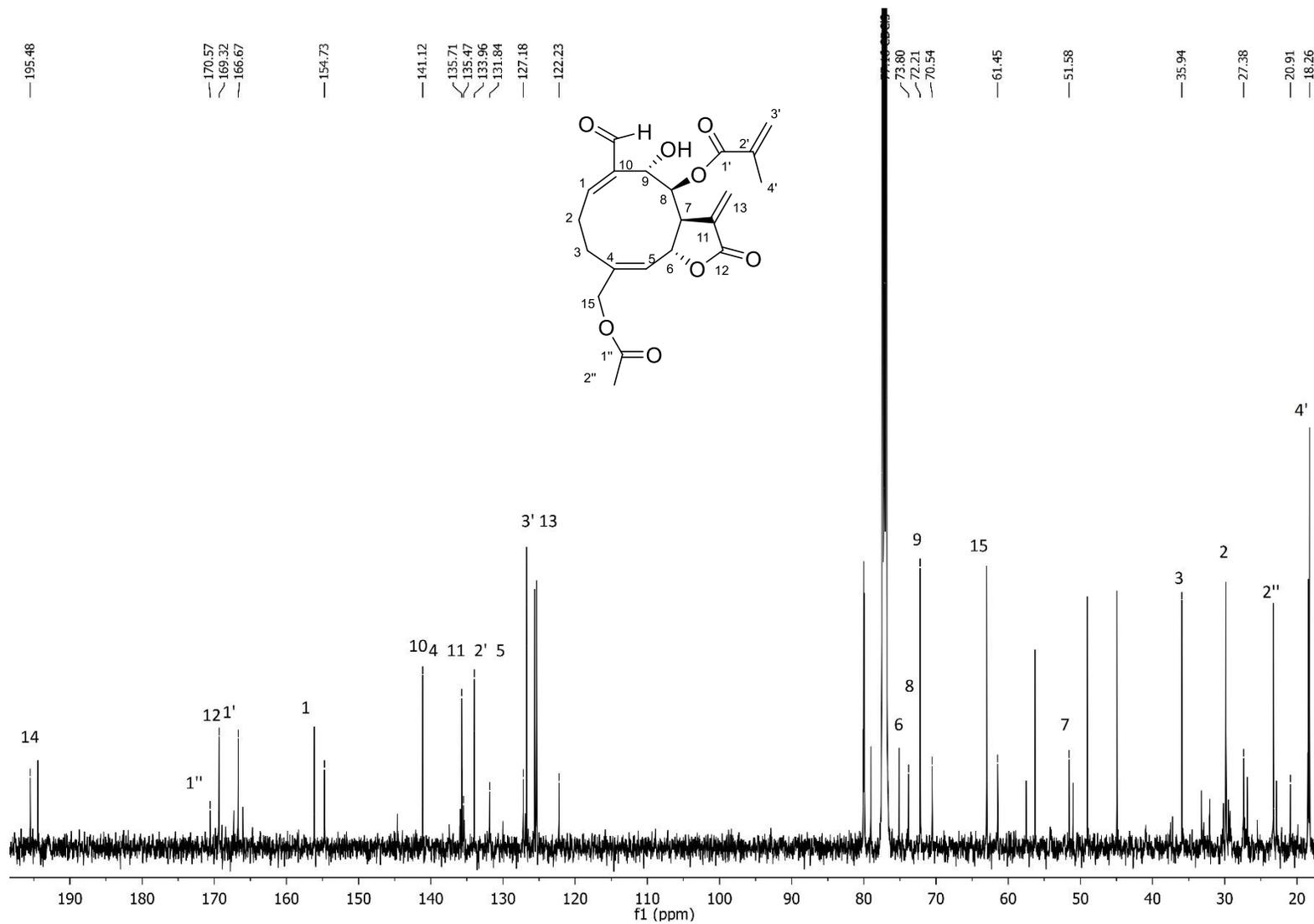
Espectro 26. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) de miller-9Z-enólida (**64**) y 1β -metoximiller-9Z-enólida (**65**)



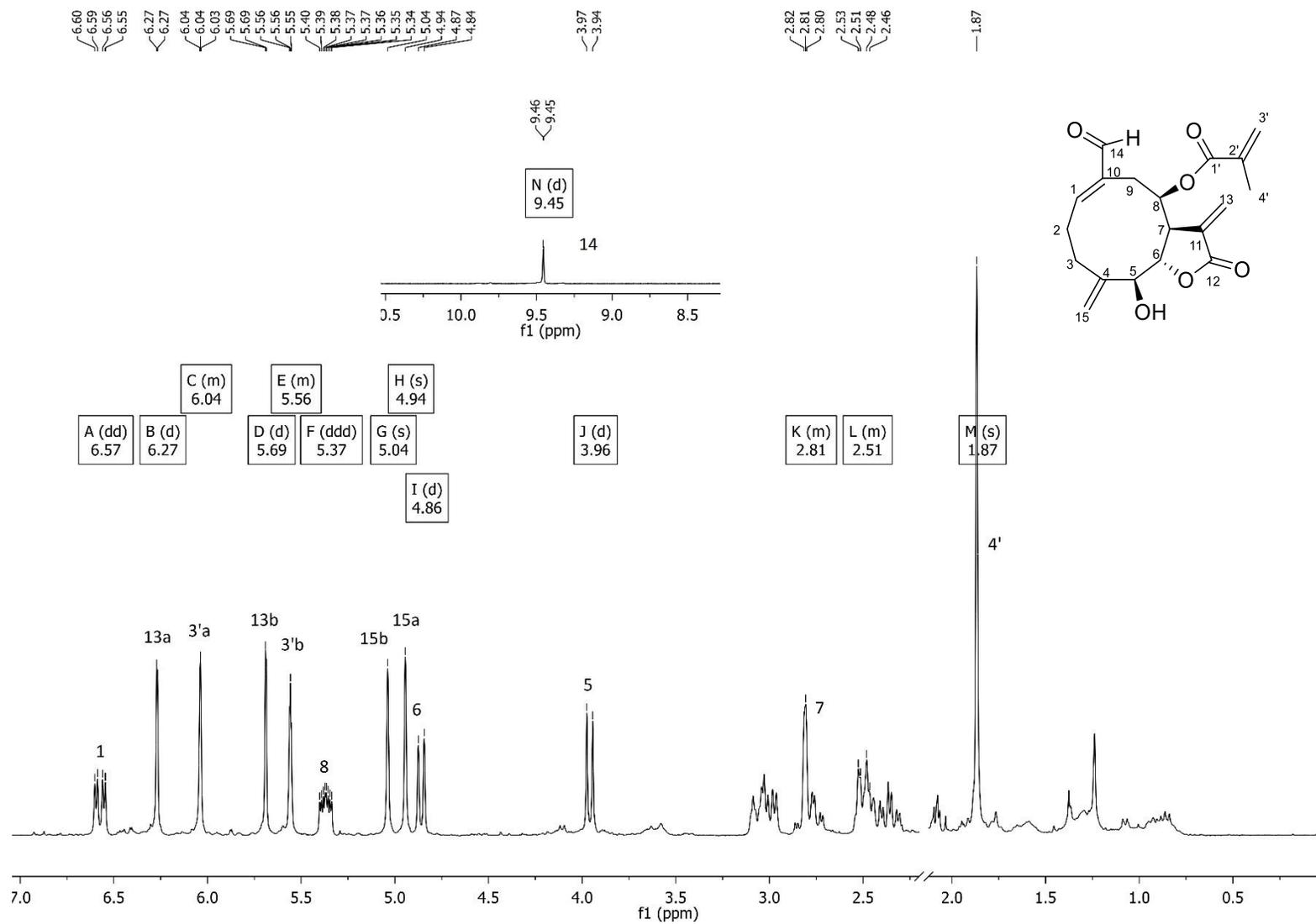
Espectro 27. RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) de miller-9Z-enólida (**64**) y 1β-metoximiller-9Z-enólida (**65**)



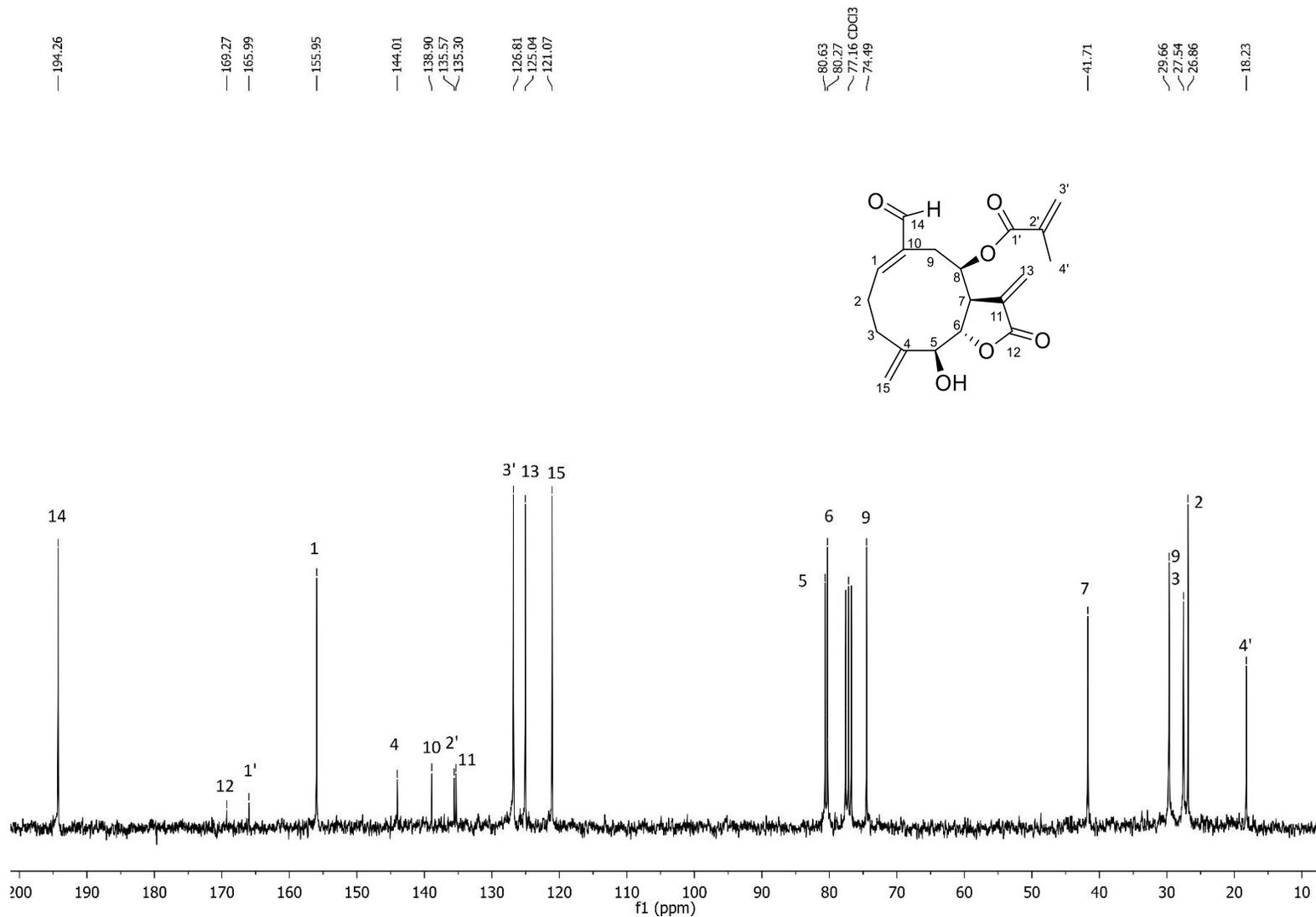
Espectro 28. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) de 15*O*-acetil-9 α -hidroxi-8 β -metacrililoiloxi-14-oxo-acantospermólida (**66**)



Espectro 29. RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) de 15*O*-acetil-9α-hidroxi-8β-metacrililoixi-14-oxo-acantospermólida (**66**)



Espectro 30. RMN ^1H (CDCl₃, 400 MHz) de miller-1(10)Z-enólida (**67**)



Espectro 31. RMN ^{13}C (CDCl₃, 100 MHz) de miller-1(10)Z-enólida (**67**)