

00570



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

**"COMPUESTOS BIOACTIVOS DE *Cosmos pringlei*
Rob. & Fern. (ASTERACEAE). DETERMINACION
DE LA CONFIGURACION ABSOLUTA DEL 8a, 13-
epoxi - labdano - 14S, 15 diol."**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRIA EN CIENCIAS QUIMICAS

(QUIMICA - FARMACUTICA)

P R E S E N T A:

Q.F.B. ISABEL DEL CARMEN RIVERO CRUZ

27298f

2000



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 ASIGNADO.

Presidente: Dr. Alfredo Ortega Hernández.
Vocal: Dr. Manuel Jiménez Estrada.
Secretario: Dr. Andrés Navarrete Castro.
Primer suplente: Dr. Rafael Castillo Bocanegra.
Segundo suplente: Dra. Ma. Isabel Aguilar Laurents.

Sitio donde se desarrollo el tema:

Laboratorio 124, del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química de la UNAM.

Sustentante:

Rivero Cruz Isabel
Q.F.B. Isabel del Carmen Rivero Cruz.

Asesor:

Rachel Mata de Espindola
Dra. Rachel Mata Essayag.

AGRADECIMIENTOS.

El trabajo experimental de esta tesis se realizó mediante el apoyo económico otorgado a través de los siguientes proyectos: "Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America" (NIH GRANT5UO1TWI**00316-03); DGAPA (Dirección General de Asuntos del Personal Académico) IN 205197 y CONACyT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) 27978N.

Al CONACyT y al proyecto "Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America" por las becas otorgadas para la realización de mis estudios de maestría.

Al Dr. Robert Bye por la recolección e identificación del material vegetal utilizado en este estudio.

A Mónica Espíndola Mata por su valiosa ayuda en la corrección del estilo.

A las M. en C. Isabel Chávez y Beatriz Quiroz (Instituto de Química, UNAM) y al Q.F.B. Oscar S. Yañez Muñoz (USAI, Facultad de Química, UNAM), por el registro de los espectros de RMN.

A los siguientes profesores por el registro de los espectros de Masas: I.Q. Luis Velasco Ibarra, M. en C. Javier Pérez Flores (Instituto de Química, UNAM) y a la Q. Georgina Duarte Lisci (USAI, Facultad de Química, UNAM).

A las Q.F.B. Graciela Chávez y Marisela Gutiérrez (Facultad de Química, UNAM) y a la Q.F.B. Rocío Patiño (Instituto de Química, UNAM) por el registro de los espectros de IR y rotación óptica.

A la Dra. Perla C. Castañeda López, al Dr. Daniel Chávez Velasco, al M. en C. José Fausto Rivero Cruz y a la M. en C. Laura A. Acevedo por la valiosa ayuda en varios aspectos técnicos a lo largo del desarrollo del presente trabajo de tesis.

A los miembros del jurado por sus valiosos comentarios.

Por último, deseo agradecer de una forma muy especial a la creadora del presente proyecto de investigación, mi asesora, Dra. Rachel Mata de Espíndola por su invaluable apoyo y dirección.

DEDICATORIAS.

A la memoria de mi padre:

El hombre que me dio tanto amor, y que siempre vivirá en mi corazón y en mi mente.

A mi mamá:

Porque estoy en deuda eterna con Dios y la vida, por el enorme privilegio otorgado al darme una mamá como tú, este trabajo esta dedicado a una gran mujer, como una muestra de amor hacia quién me ha dado tanto.

A Blanca:

Porque las palabras sobran cuando se llega a la complicidad que juntas hemos alcanzado. Te quiero mucho.

A Fausto:

Porque sabes que conmigo puedes contar siempre. Solo me resta agradecerte toda la ayuda que me has brindado para poder finalizar este trabajo. Gracias.

A mi familia:

Por todo lo que significa esa palabra.

A Irma:

Porque tú sabes que para mi, eres una gran amiga, casi una hermana, no tengo palabras para agradecerte que siempre hayas estado conmigo en los momentos difíciles.

A Kay:

Un excelente amigo, que siempre me ha brindado su ayuda cuando más la he necesitado. Por todo, gracias.

A Verónica:

Mi fiel amiga, gracias por tenerme siempre en tus pensamientos.

A Pilar y Maricruz:

De manera muy especial quiero agradecerles su gran amistad y toda su ayuda brindada. Gracias.

A mis amigos:

Mirza, Tere, Martha, Samuel, José Luis, Griselda, porque soy muy afortunada al poder contar con una amistad como la de ustedes. Los quiero mucho.

A todos mis amigos y compañeros, que he tenido ha lo largo de mi vida, que siempre me han brindado su apoyo y su ayuda. Gracias.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por la oportunidad de permitirme forjar un futuro mejor.

Finalmente, no existe palabra que me permita expresar todo mi agradecimiento a quien le debo tanto, este trabajo se lo dedico con todo el respeto y admiración, a la inteligencia, al amor, a la paciencia y a la dedicación, de mi asesora. Gracias.

Dra. Rachel Mata de Espíndola.

INDICE.

Resumen	iv
Abstract	v
Lista de Abreviaturas	vi
Lista de Cuadros	viii
Lista de Esquemas	xi
Lista de Figuras	xi
Lista de Espectros	xiii
I. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS	1
II. ANTECEDENTES	5
2.1 ANTECEDENTES BOTANICOS Y ETNOBOTANICOS DE <i>Cosmos pringlei</i> Rob. & Fern. (Asteraceae).	5
2.2 ESTUDIOS QUIMICOS SOBRE EL GENERO <i>Cosmos</i> .	6
2.3 ANTECEDENTES BOTANICOS Y ETNOBOTANICOS DE <i>Xanthocephalum gymnospermoides</i> (A. Gray) Benth & Hook var <i>eradiatum</i> Lane (Asteraceae).	19
2.4 ESTUDIOS QUIMICOS SOBRE EL GENERO <i>Xanthocephalum</i> .	21
III. PARTE EXPERIMENTAL	30
3.1 ESTUDIO QUIMICO DE LA RAIZ DE <i>Cosmos pringlei</i> .	30
3.1.1 MATERIAL VEGETAL.	30
3.1.2 ANALISIS CROMATOGRAFICOS.	30
3.1.2.1 Cromatografía de líquidos de alta resolución analítica.	31
3.1.2.2 Cromatografía de líquidos de alta resolución preparativa.	31
3.1.3 CARACTERIZACION DE LOS PRODUCTOS NATURALES Y SUS DERIVADOS.	33

3.1.4 METODOS DE EXTRACCION Y FRACCIONAMIENTO.	33
3.1.5 Aislamiento y purificación de la 11 β -dihydrodeshidrocostuslactona (68), 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69) 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno(70)	35
3.1.6 Aislamiento y purificación de la deshidrocostuslactona (38) y de la costunólida (20) de la fracción primaria activa F ₅ .	38
3.1.7 Aislamiento y purificación de la 15-isovaleriloxi-costunólida (39), del 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17) de la fracción activa F ₇ .	39
3.1.8 Aislamiento y purificación de la 15-isobutiriloxi-costunólida (40), la 3 β -isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71) y la 3 β -isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72) de la fracción primaria F ₈ .	41
3.1.9 Aislamiento y purificación de la 3 β -hidroxi-5 α -pregn-16-en-20-ona (41) de la fracción primaria F ₉ .	43
3.2 DETERMINACION DE LA CONFIGURACION ABSOLUTA DEL 8 α , 13-EPOXILABDANO-14S, 15 DIOL (60).	44
3.2.1 Aislamiento del 8 α , 13-epoxilabdano-14S, 15 diol (60).	44
3.2.2 Obtención del 8 α , 13-epoxilabdano-14, 15 diacetato (60a).	44
3.2.3 Obtención del 8 α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b).	44
3.2.4 Obtención del éster metílico del ácido 8 α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-oico (60d).	45
3.2.5 Obtención del reactivo 1-(benzoiloxi)-benzotriazol.	46
3.2.6 Obtención del 8 α , 13-epoxilabdano-14-hidroxi-15-benzoiloxi (60e).	46
3.2.7 Obtención de los ésteres de Mosher del 8 α , 13-epoxilabdano-14-hidroxi-15-benzoiloxi (60e).	47

IV. RESULTADOS Y DISCUSION	48
4.1 Obtención de los metabolitos bioactivos de la especie <i>C. pringlei</i> .	48
4.1.1 Caracterización de los fenilpropanoides aislados de la especie <i>Cosmos pringlei</i> .	53
4.1.2 Caracterización de las lactonas sesquiterpénicas 11 β -dihidrodeshidrocostuslactona (68), la 3 β -isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71) y la 3 β -isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72).	64
4.2 Determinación de la configuración absoluta del 8 α , 13-epoxilabdano-14S, 15 diol (60).	74
V. CONCLUSIONES	82
VI. PERSPECTIVAS	83
VII. BIBLIOGRAFIA	84
VIII. ANEXO 1	89

Resumen.

Como parte del proyecto de investigación "Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America", el presente estudio describe la investigación química de la raíz de la especie medicinal *Cosmos pringlei*, recolectada en la región de El Alamillo, Municipio de Guerrero, Chihuahua.

La selección de la especie vegetal, objeto de este estudio, se realizó con base en los criterios etnomédico y quimiotaxonómico. El fraccionamiento biodirigido del extracto activo, permitió el aislamiento de siete lactonas sesquiterpénicas [la costunólida (20), la deshidrocostuslactona (38), la 15-isovaleriloxi-costunólida (39), la 15-isobutiriloxi-costunólida (40), la 11 β -dihidrodeshidrocostuslactona (68), la 3 β -isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71) y la 3 β -isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72)], un esteroide de tipo pregnano, el 3 β -hidroxi-5 α -pregn-16-en-20-ona (41), y tres fenilpropanoides [el 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17), 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69), 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70)]. Estos productos se caracterizaron por métodos espectroscópicos y espectrométricos. Los compuestos 70-72 constituyen productos naturales novedosos.

Por otra parte, se determinó la estereoquímica absoluta de los centros esterogénicos presentes en el compuesto 8 α , 13-epoxilabdano-14S, 15 diol (60), diterpenoide previamente aislado de la especie medicinal *Xanthocephalum gymnospermoides* var *eradiatum*, mediante la correlación química con el diterpeno 13-*epi*-manoilato de metilo (60d) y la aplicación del método de los ésteres de Mosher.

Abstract.

As a part of the project "Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America", the root of *Cosmos pringlei* was chemically investigated.

Bioactivity-directed fractionation of the active CH₂Cl₂-MeOH (1:1) extract, prepared from the roots of *C. pringlei*, led to the isolation of seven sesquiterpene lactones, namely, costunolide (20), dehydrocostuslactone (38), 15-isobutiriloxy-costunolide (39), 15-isovaleriloxy-costunolide (40), dihydrodehydrocostuslactone (68), 3β-isobutiriloxy-dehydrocostuslactone (71) and 3β-isovaleriloxy-dehydrocostuslactone (72). In addition, three phenylpropanoids, [1-(1', 2'-epoxy-3'-isobutiriloxy-propane)-3-methoxy-4-isobutiriloxy-benzene (17), 1-(1'-isobutiriloxy-2'-propene)-3-methoxy-4-isobutiriloxy-benzene (69) and 1-(1'-isovaleriloxy-2'-propene)-3-methoxy-4-isobutiriloxy-benzene (70)] and a steroid, [3β-hydroxi-5α-pregn-16-en-20-one (41)] were obtained. Compounds 70-72 are novel natural products.

The isolated compounds were identified by spectral methods, including MS and NMR measurements.

On the other hand, the absolute configuration of the stereogenic centers of 8α, 13-epoxylabdane-14*S*, 15 diol (60), a novel diterpene isolated from *Xanthocephalum gymnospermoides* var *eradiatum*, was determined. The absolute configuration was established using the advanced Mosher ester methodology and by chemical correlation of 60 with methyl 13-*epi*-manoylate (60d).

Lista de Abreviaturas.

[α]	rotación óptica	HIO ₄	ácido peryódico
Å	Amstrong	IPA	isopropanol
AcOEt	acetato de etilo	IR	infrarrojo
°C	grado centígrado	J	constante de acoplamiento
ccf	cromatografía en capa fina	KBr	Bromuro de potasio
CDCl ₃	cloroformo deuterado	λ	longitud de onda
CH ₂ Cl ₂	diclorometano	m	metro
CHCl ₃	cloroformo	mg	miligramo
(CH ₃ CH ₂) ₃ N	trietilamina	mm	milímetro
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución	μ m	micra
cm	centímetro	L	litro
δ	desplazamiento químico	μ L	microlitro
d	doblete	MeOH	metanol
ddd	doble de doble de doble	min	minuto
dt	doblete tripleteado	mL	mililitro
EMAR	Espectrometría de masas de alta resolución	MTPA	Ácido α -metoxi- α - trifluorometil-fenilacético
EMIE	Espectrometría de masas por impacto electrónico	Na	sodio
Et ₂ O	éter etílico	Ni	níquel
EtOH	etanol	nm	nanometro
eV	electron Volts	OsO ₄	tetraóxido de osmio
g	gramo	pf	punto de fusión
h	heptuplete	ppm	partes por millón
Hz	Hertz	qd	cuarteto dobleteado
Hex	hexano		

RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear protónica
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN ¹ H COSY	Espectroscopía bidimensional de correlación homonuclear (¹ H- ¹ H)
RMN ¹ H NOESY	Espectroscopía bidimensional por efecto nuclear de Overhauser (¹ H- ¹ H)
RMN ¹³ C-DEPT	Resonancia magnética nuclear de carbono 13 con desacoplamiento de los núcleos de hidrógeno
RMN 2D-HMBC	Espectroscopía bidimensional de correlación heteronuclear múltiple (¹ H- ¹³ C)
RMN 2D-HMQC	Espectroscopía bidimensional de correlación heteronuclear (¹ H- ¹³ C)
s	singulete
sa	singulete ancho
T	Transmitancia
td	triplete dobleteado
t _R	tiempo de retención
TMS	tetrametilsilano
TsCl	cloruro de tosilo

Lista de Cuadros.

Cuadro 1	Localización en México y nombres comunes de algunas especies del género <i>Cosmos</i> .	6
Cuadro 2	Metabolitos secundarios aislados del género <i>Cosmos</i> .	8
Cuadro 3	Metabolitos secundarios aislados e identificados de la raíz de la especie <i>Cosmos pringlei</i> .	17
Cuadro 4	Especies y variedades que conforman el género <i>Xanthocephalum</i> .	19
Cuadro 5	Metabolitos secundarios aislados del género <i>Xanthocephalum</i> .	23
Cuadro 6	Metabolitos secundarios aislados e identificados de la planta entera de la especie <i>Xanthocephalum gymnospermoides</i> var <i>eradiatum</i> .	27
Cuadro 7	Sistemas de elución utilizados para los análisis cromatográficos en capa fina.	32
Cuadro 8	Agentes cromógenos utilizados para los análisis cromatográficos en capa fina.	32
Cuadro 9	Fraccionamiento biodirigido del extracto diclorometano-metanólico (1:1) de <i>Cosmos pringlei</i> .	35
Cuadro 10	Resumen del fraccionamiento secundario mediante cromatografía en columna abierta de la fracción F ₇ .	40
Cuadro 11	Resumen del fraccionamiento secundario mediante cromatografía en columna abierta de la fracción F ₈ .	42
Cuadro 12	Metabolitos secundarios aislados de la especie <i>Cosmos pringlei</i> .	50

Cuadro 13	Constantes espectroscópicas y espectrométricas del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).	54
Cuadro 14	Constantes espectroscópicas y espectrométricas del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).	55
Cuadro 15	Constantes espectroscópicas y espectrométricas del 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17).	56
Cuadro 16	Datos espectroscópicos observados en los espectros de RMN ¹ H de los fenilpropanoides 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69), 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70) y 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17).	57
Cuadro 17	Datos espectroscópicos observados en los espectros de RMN ¹³ C de los fenilpropanoides 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69), 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70) y 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17).	58
Cuadro 18	Constantes espectroscópicas y espectrométricas de la 3β-isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71).	65
Cuadro 19	Constantes espectroscópicas y espectrométricas de la 3β-isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72).	66
Cuadro 20	Constantes espectroscópicas y espectrométricas de la 11β-dihidrodeshidrocostuslactona (68).	67

Cuadro 21	Datos espectroscópicos observados en los espectros de RMN ¹ H de las lactonas sesquiterpénicas deshidrocostuslactona (38), 11β-dihidrodeshidrocostuslactona (68), 3β-isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71) y 3β-isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72).	68
Cuadro 22	Datos espectroscópicos observados en los espectros de RMN ¹³ C de las lactonas sesquiterpénicas deshidrocostuslactona (38), 11β-dihidrodeshidrocostuslactona (68), 3β-isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71) y 3β-isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72).	69
Cuadro 23	Desplazamientos químicos de RMN ¹ H de los protones H-11 y H-13.	73
Cuadro 24	Desplazamientos químicos de (RMN ¹ H) para señales diagnósticas del derivado 8α, 13-epoxilabdano-14-hidroxi-15-benzoiloxi (60e) y sus ésteres de Mosher.	81

Lista de Esquemas.

Esquema 1	Extracción y fraccionamiento del extracto diclorometano-metanólico (1:1) de la raíz de <i>Cosmos pringlei</i> .	34
-----------	---	----

Lista de Figuras.

Figura 1	<i>Cosmos pringlei</i> .	7
Figura 2	<i>Xanthocephalum gymnospermoides</i> var <i>eradiatum</i> .	20
Figura 3	Cromatograma obtenido a nivel preparativo de la fracción F ₄ .	36
Figura 4	Cromatograma generado durante la purificación del pico a mediante el proceso de corte de núcleo.	37
Figura 5	Cromatograma generado durante la purificación del pico b mediante el proceso de corte de núcleo.	37
Figura 6	Cromatograma generado durante la purificación del pico c mediante el proceso de corte de núcleo.	38
Figura 7	Cromatograma obtenido a nivel preparativo de la fracción F _{7-C} .	40
Figura 8	Cromatograma obtenido a nivel preparativo de la mezcla obtenida de la fracción secundaria F _{8-B} .	42
Figura 9	Vista parcial del espectro HMBC del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).	61
Figura 10	Espectro de RMN ¹ H NOESY (δ 1.0-7.0) del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).	62

Figura 11	Vista parcial del espectro HMBC del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).	63
Figura 12	Correlaciones más importantes observadas en los espectros HMBC de los compuestos 3 β -isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71) y 3 β -isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72).	70
Figura 13	Experimentos de NOE diferencial con el compuesto 71.	71
Figura 14	Correlación química del 8 β , 13-epoxi-14-labdeno (79) con el barbatol (78).	75
Figura 15	Secuencia de reacciones utilizadas para determinar la configuración absoluta del centro quiral C-14 del derivado 78a.	75
Figura 16	Secuencia de reacciones realizadas para la obtención del éster metílico del ácido 8 α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-oico (60d).	77
Figura 17	Espectro de RMN ¹ H NOESY del 8 α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b).	78
Figura 18	Modelo para determinar la estereoquímica absoluta en alcoholes secundarios.	79
Figura 19	Conformación de máxima estabilidad y plano MTPA propuesto para los ésteres de (<i>S</i>)- y (<i>R</i>)- de Mosher.	80
Figura 20	Secuencia de reacciones realizadas para la protección de la función carbinólica primaria en C-15 del producto natural 60.	81

Lista de Espectros.

Espectro 1	Espectro en el IR del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).	89
Espectro 2	Espectro de masas del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).	90
Espectro 3	Espectro de RMN ¹ H del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).	91
Espectro 4	Espectro de RMN ¹ H COSY del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).	92
Espectro 5	Espectro de RMN ¹³ C del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).	93
Espectro 6	Espectro de RMN ¹³ C modalidad DEPT del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).	94
Espectro 7	Espectro de RMN de 2D-HMQC del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).	95
Espectro 8	Espectro de RMN de 2D-HMBC del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).	96
Espectro 9	Espectro en el IR del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).	97
Espectro 10	Espectro de masas del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).	98
Espectro 11	Espectro de RMN ¹ H del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).	99
Espectro 12	Espectro de RMN ¹ H COSY del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).	100
Espectro 13	Espectro de RMN ¹ H NOESY del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).	101

Espectro 14	Espectro de RMN ¹³ C del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).	102
Espectro 15	Espectro de RMN ¹³ C modalidad DEPT 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).	103
Espectro 16	Espectro de RMN de 2D-HMQC del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).	104
Espectro 17	Espectro de RMN de 2D-HMBC del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).	105
Espectro 18	Espectro en el IR del 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17).	106
Espectro 19	Espectro de masas del 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17).	107
Espectro 20	Espectro de RMN ¹ H del 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17).	108
Espectro 21	Espectro de RMN ¹ H COSY del 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17).	109
Espectro 22	Espectro de RMN ¹³ C del 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17).	110
Espectro 23	Espectro de RMN ¹³ C modalidad DEPT del 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17).	111
Espectro 24	Espectro en el IR de la 3β-isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71).	112
Espectro 25	Espectro de masas de la 3β-isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71).	113
Espectro 26	Espectro de RMN ¹ H de la 3β-isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71).	114

Espectro 27	Espectro de RMN ¹ H COSY de la 3β-isobutiriloxi- deshidrocostuslactona (71).	115
Espectro 28	Espectro de RMN ¹³ C de la 3β-isobutiriloxi- deshidrocostuslactona (71).	116
Espectro 29	Espectro en el IR de la 3β-isovaleriloxi- deshidrocostuslactona (72).	117
Espectro 30	Espectro de masas de la 3β-isovaleriloxi- deshidrocostuslactona (72).	118
Espectro 31	Espectro de RMN ¹ H de la 3β-isovaleriloxi- deshidrocostuslactona (72).	119
Espectro 32	Espectro de RMN ¹ H COSY de la 3β-isovaleriloxi- deshidrocostuslactona (72).	120
Espectro 33	Espectro de RMN ¹³ C de la 3β-isovaleriloxi- deshidrocostuslactona (72).	121
Espectro 34	Espectro en el IR de la 11β-dihidrodeshidrocostuslactona (68).	122
Espectro 35	Espectro de masas de la 11β-dihidrodeshidrocostuslactona (68).	123
Espectro 36	Espectro de RMN ¹ H de la 11β-dihidrodeshidrocostuslactona (68).	124
Espectro 37	Espectro de RMN ¹³ C de la 11β-dihidrodeshidrocostuslactona (68).	125
Espectro 38	Espectro en el IR del 8α, 13-epoxilabdano-14S, 15 diol (60).	126
Espectro 39	Espectro de masas del 8α, 13-epoxilabdano-14S, 15 diol (60).	127
Espectro 40	Espectro de RMN ¹ H del 8α, 13-epoxilabdano-14S, 15 diol (60).	128

Espectro 41	Espectro de RMN ¹ H del 8 α , 13-epoxilabdano-14, 15 diacetato (60a).	129
Espectro 42	Espectro de RMN ¹³ C del 8 α , 13-epoxilabdano-14S, 15 diol (60).	130
Espectro 43	Espectro de RMN ¹³ C modalidad DEPT del 8 α , 13-epoxilabdano-14S, 15 diol (60).	131
Espectro 44	Espectro RMN de 2D-HMQC del 8 α , 13-epoxilabdano-14S, 15 diol (60).	132
Espectro 45	Espectro en el IR del 8 α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b).	133
Espectro 46	Espectro de RMN ¹ H del 8 α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b).	134
Espectro 47	Espectro de RMN ¹ H NOESY del 8 α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b).	135
Espectro 48	Espectro de RMN ¹³ C del 8 α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b).	136
Espectro 49	Espectro de RMN ¹³ C modalidad DEPT del 8 α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b).	137
Espectro 50	Espectro de RMN de 2D-HMQC del 8 α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b).	138
Espectro 51	Espectro de RMN de 2D-HMBC del 8 α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b).	139
Espectro 52	Espectro en el IR del éster metílico del ácido 8 α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-oico (60d).	140
Espectro 53	Espectro de RMN ¹ H del éster metílico del ácido 8 α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-oico (60d).	141
Espectro 54	Espectro de RMN ¹ H del 8 α , 13-epoxilabdano-14-hidroxi, 15 benzoiloxi (60e).	142

Espectro 55	Espectro de RMN ¹ H del (<i>R</i>)-éster de Mosher del 8 α , 13-epoxilabdano-14-hidroxi, 15 benzoiloxi (60e).	143
Espectro 56	Espectro de RMN ¹ H del (<i>S</i>)-éster de Mosher del 8 α , 13-epoxilabdano-14-hidroxi, 15 benzoiloxi (60e).	144

I. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS.

La primera parte del presente trabajo de tesis se generó del proyecto de investigación "Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America", el cual a su vez forma parte de un programa de carácter internacional denominado "International Cooperative Biodiversity Group Program" (ICBG). Este programa está financiado por las siguientes instituciones gubernamentales de los Estados Unidos de América del Norte: National Science Foundation (NSF), U. S. Agency for International Development (USAID) y National Institute of Health (NIH).

Los objetivos generales del programa ICBG se describen en una publicación reciente de Suffnes y colaboradores (1995). A continuación se describen los más relevantes:

- 1.- Identificar los recursos naturales renovables en los países en vías de desarrollo y proponer estrategias para la conservación de los mismos.
- 2.- Desarrollar, a largo plazo, las estrategias ecológicas y económicas para el establecimiento de cultivos de los recursos vegetales en países en vías de desarrollo.
- 3.- Implementar estrategias de bajo costo para la investigación de los recursos naturales regionales.
- 4.- Establecer nuevas industrias.
- 5.- Buscar nuevos fármacos de origen natural para tratar enfermedades que ocasionan problemas en vastos sectores de la población.
- 6.- Contribuir al mejoramiento de la infraestructura de investigación de los países en vías de desarrollo que participan en el programa.
- 7.- Contribuir a la formación de recursos humanos capacitados para realizar investigación sobre los recursos naturales renovables de los países participantes.

Los países que hacen una labor conjunta con los Estados Unidos de América del Norte en el proyecto "Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America" son: Chile, Argentina y México. Las instituciones de Estados Unidos de América del Norte involucradas en el desarrollo de la empresa científica antes señalada son: Universidad de Arizona, donde reside el investigador principal del proyecto, American Cyanamid Company, Wyeth-Ayerst Laboratories y GWL Hansen's Disease Center. En México, la Universidad Nacional Autónoma de México, a través de la Facultad de Química y el Instituto de Biología, es la responsable de colaborar con el proyecto. En Chile, la institución participante es la Universidad Católica de Chile; en tanto que en la Argentina participan la Universidad Nacional de la Patagonia y el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).

La Facultad de Química, a través de un convenio establecido con la Universidad de Arizona realiza las siguientes actividades:

- a.- Preparación de extractos vegetales a partir de especies seleccionadas, principalmente mediante un criterio etnomédico.
- b.- Envío de los extractos para determinar su potencialidad biológica. Las evaluaciones biológicas se realizan en los laboratorios de las compañías American Cyanamid Company, Wyeth-Ayerst Laboratories, así como en los laboratorios de investigación de GWL Hansen's Disease Center.
- c.- Fraccionar de manera biodirigida los extractos que demuestren una actividad biológica significativa.
- d.- Separar y purificar los compuestos activos responsables de las actividades biológicas.
- e.- Elucidar las estructuras moleculares de los componentes aislados de las fracciones activas.

El convenio establecido con la Universidad de Arizona contiene una cláusula de confidencialidad en relación, a los resultados de las evaluaciones biológicas. Estos resultados, por lo tanto, no pueden ser difundidos sin el establecimiento de patentes que justifiquen los descubrimientos derivados de las investigaciones. En consecuencia, en el presente trabajo, no se describirá ningún resultado de tipo biológico.

En el contexto del proyecto “Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America” del programa ICBG, la raíz de la planta *Cosmos pringlei* Rob. & Fern. (Asteraceae) fue seleccionada como una fuente de principios activos de interés terapéutico y agroquímico. En consecuencia, uno de los objetivos del presente trabajo es el aislamiento y la caracterización de los principios activos responsables de las actividades biológicas demostradas por el extracto total de la raíz de *C. pringlei*. Para el cumplimiento de éste objetivo se plantearon los siguientes objetivos particulares:

- i. Preparar a gran escala el extracto total de la raíz de la especie mediante un proceso de maceración.
- ii. Realizar el fraccionamiento biodirigido del extracto total mediante un proceso de cromatografía en columna abierta.
- iii. Separar los principios activos a partir de las fracciones activas, empleando para ello, métodos cromatográficos.
- iv. Identificar los compuestos activos mediante la aplicación de métodos químicos, espectroscópicos y espectrométricos.

La segunda parte del presente trabajo de tesis tiene como objetivo primordial determinar la configuración absoluta del diterpenoide fitotóxico 8, 13-epoxilabdano-14, 15 diol, aislado previamente de la especie medicinal *Xanthocephalum gymnospermoides* var *eradiatum* (Asteraceae) (Rivero Cruz y Trejo Miranda, 1996). De esta forma se completará

la elucidación estructural del diterpeno que demostró una actividad fitotóxica significativa en pruebas de germinación y crecimiento radicular. Por lo tanto el producto natural constituye un candidato para el desarrollo de nuevos herbicidas biodegradables.

II. ANTECEDENTES.

2.1 ANTECEDENTES BOTANICOS Y ETNOBOTANICOS DE *Cosmos pringlei* Rob. & Fern. (Asteraceae).

El género *Cosmos* (Asteraceae) incluye 33 especies, que se localizan en el continente americano desde el sur de los Estados Unidos hasta Panamá. En México se encuentran descritas 31 de estas especies; en el Cuadro 1 se indican las especies con una mayor distribución en el territorio nacional. De éstas, *C. bipinnatus* es muy popular como especie ornamental (Starman *et al.*, 1995); y el cocimiento de las flores la especie *C. sulphureus* se utiliza en las prácticas médicas populares para combatir los efectos del piquete de alacrán (Martínez, 1989).

Cosmos pringlei Rob. & Fern. (Figura 1) es una planta herbácea perenne, endémica de la Sierra Madre Oriental, Estado de Chihuahua. Los individuos de esta especie miden de 60 a 90 cm de altura; tienen hojas opuestas, pinatífidas, con los segmentos lineales de 5-6 cm de largo por unos 5 mm de ancho; las flores en cabezuelas, miden 6 cm y son rosadas, solitarias con un pedúnculo muy largo. La planta crece como hierba en los bosques de encino o de pino, a una altitud de 2000-2500 m; su floración ocurre en el período comprendido entre los meses de julio a septiembre (Martínez, 1979; Sherff y Alexander, 1955).

Los indios Tarahumaras designan a la planta con el nombre de "bavisa", y emplean la decocción de la raíz para el tratamiento de la úlcera gástrica y de las hemorroides (Bye, 1996).

Cuadro 1. Localización en México y nombres comunes de algunas especies del género *Cosmos*.

ESPECIE	LOCALIZACION	NOMBRE COMÚN
<i>C. bipinnatus</i>	Hidalgo Michoacán Nayarit	Mirasol Xaricamata Huaabe
<i>C. caudatus</i>	Chiapas Yucatán	Cambray Chak-xul
<i>C. crithmifolius</i>	Sonora	Bavisa
<i>C. juxtlahuacensis</i>	Oaxaca	
<i>C. pringlei</i>	Chihuahua	Bavisa
<i>C. purpureus</i>	Morelos	Mirasol rojo
<i>C. sulphureus</i>	Guerrero Jalisco Michoacán Morelos Puebla	Sochipal Mirasol amarillo Ximula Mirasol amarillo Axal-xóchitl

2.2 ESTUDIOS QUIMICOS SOBRE EL GENERO *Cosmos*.

Desde el punto de vista químico, sólo las especies *C. bipinnatus*, *C. sulphureus*, *C. caudatus* y *C. pringlei* han sido investigadas. Los metabolitos secundarios aislados y caracterizados en estos estudios pertenecen a las categorías de los fenilpropanoides, los polienos, los poliacetilenos, las lactonas sesquiterpénicas, los triterpenoides modificados, los esteroides y los flavonoides (Akihisa *et al.*, 1996; Bate-Smith, 1980; Bohlmann *et al.*, 1964; Bohm, 1975; Chabannes y Pacheco, 1971; Cuevas Garibay, 1998; Fuzzati *et al.*, 1995; Kaneta *et al.*, 1978; Saito *et al.*, 1974, 1976 y 1979; Samata *et al.*, 1977; Shimokoriyama y Geissman, 1960). En el Cuadro 2 se ilustran las estructuras de los compuestos aislados de las especies estudiadas.

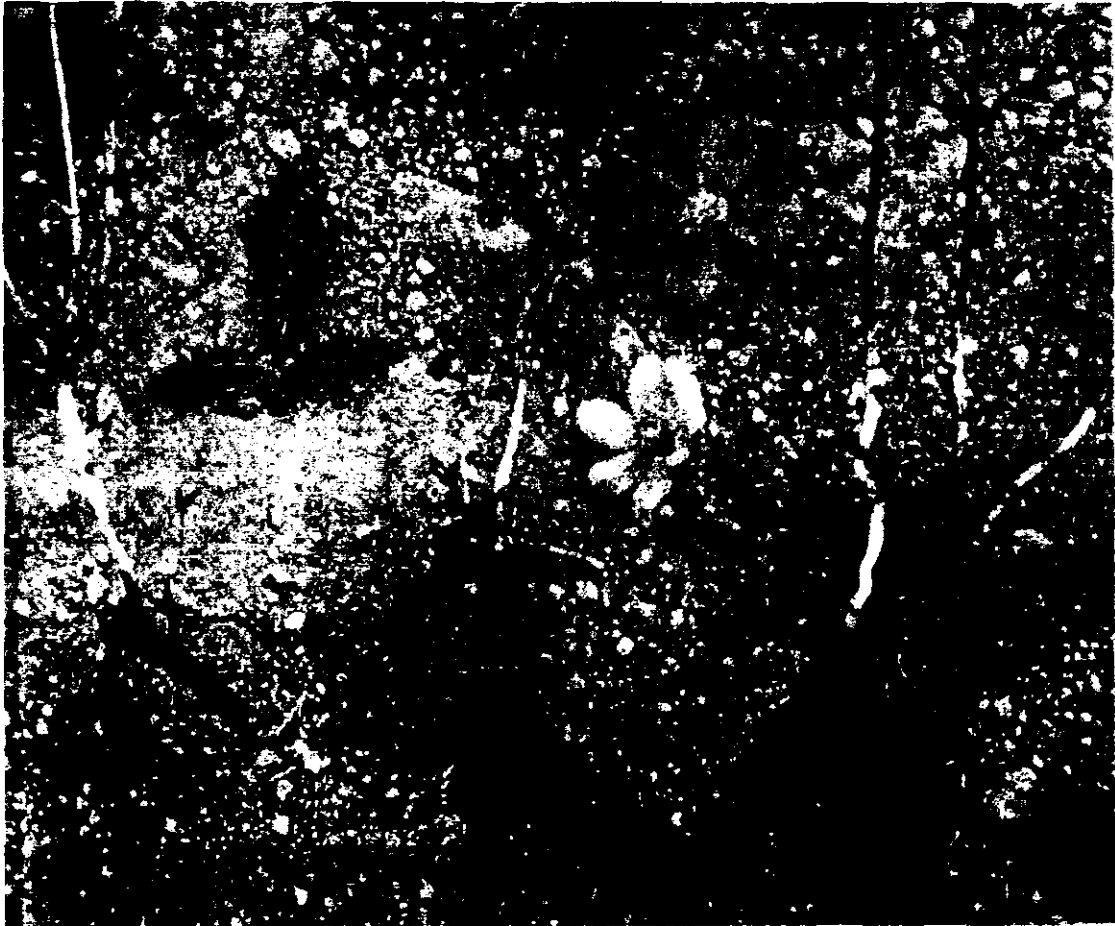
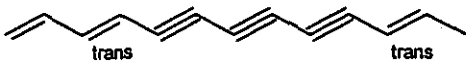
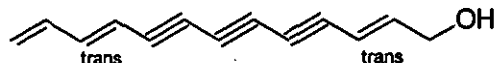
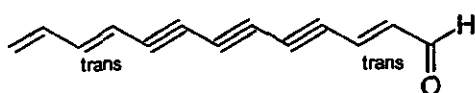
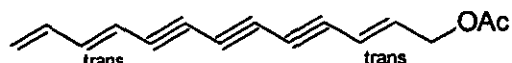


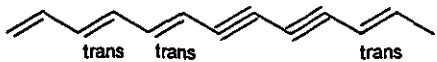
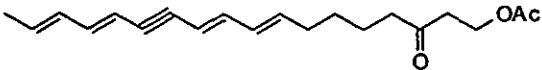
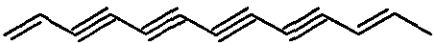
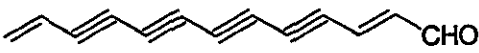
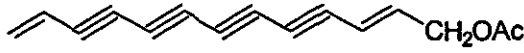
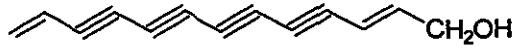
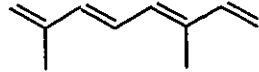
Figura 1. *Cosmos pringlei* (Bye, 1996).

Por otro lado, un estudio fitoquímico reciente realizado en nuestro laboratorio de la especie *C. pringlei* permitió el aislamiento de varias lactonas sesquiterpénicas [la costunólida (20), la deshidrocostuslactona (38), la 15-isovaleriloxi-costunólida (39), la 15-isobutiriloxi-costunólida (40)] y un esteroide de tipo pregnano [3β -hidroxi- 5α -pregn-16-en-20-ona (41)] (Cuevas Garibay, 1998). En el Cuadro 3 se indican las estructuras de los compuestos aislados previamente de *C. pringlei*.

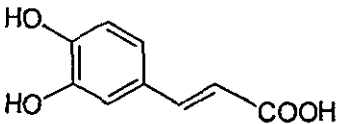
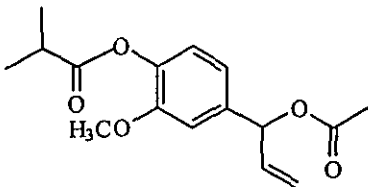
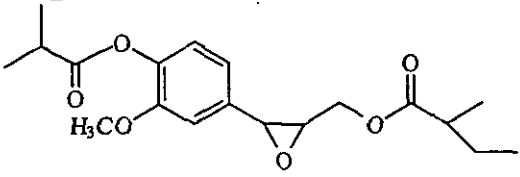
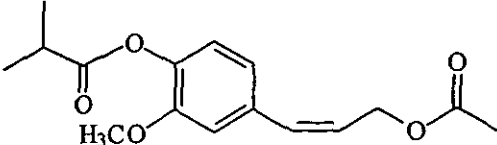
Cuadro 2. Metabolitos secundarios aislados del género *Cosmos*.

COMPUESTO	REFERENCIA	ESPECIE
 1, 3, 11-tridecatrien-5, 7, 9-triino (1)	Bohlmann <i>et al.</i> , 1964	<i>C. hybridus</i>
 2, 10, 12-tridecatrien-4, 6, 8-triin-1-ol (2)	Bohlmann <i>et al.</i> , 1964	<i>C. hybridus</i>
 2, 10, 12-tridecatrien-4, 6, 8-triin-1-al (3)	Bohlmann <i>et al.</i> , 1964	<i>C. sulphureus</i>
 1-acetoxi-2, 10, 12-tridecatrien-4, 6, 8-triino (4)	Bohlmann <i>et al.</i> , 1964	<i>C. sulphureus</i>

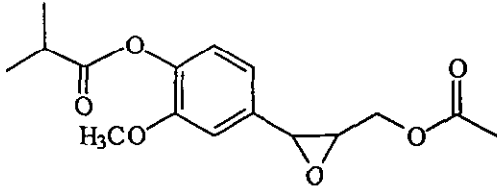
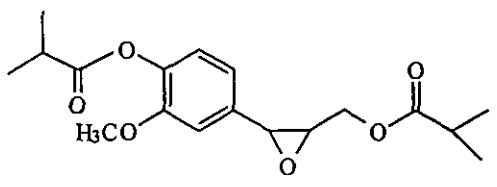
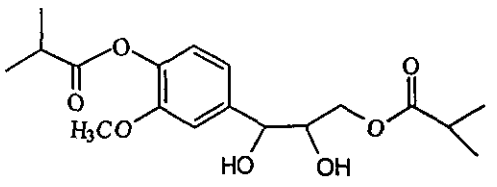
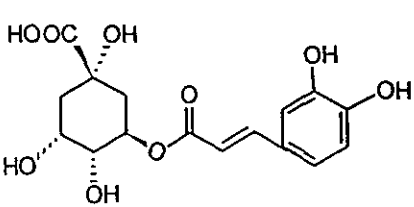
Cuadro 2. Metabolitos secundarios aislados del género *Cosmos* (continuación).

COMPUESTO	REFERENCIA	ESPECIE
 <p>1, 3, 5, 11-tridecatetraen-7, 9-diino (5)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1964	<i>C. sulphureus</i>
 <p>1-acetoxi-3-oxo-8, 10, 14, 16-octadecatetraen-12-ino (6)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1964	<i>C. sulphureus</i>
 <p>1, 11-tridecadien-3 ,5 ,7 ,9-tetraino (7)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1964	<i>C. diversifolius</i>
 <p>2, 12-tridecadien-4, 6, 8, 10-tetraen-1-al (8)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1964	<i>C. diversifolius</i>
 <p>1-acetoxi-2, 12-tridecadien-4, 6, 8, 10-tetraeno (9)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1964	<i>C. diversifolius</i>
 <p>2, 12-tridecadien-4, 6, 8, 10-tetraen-1-ol (10)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1964	<i>C. diversifolius</i>
 <p>2, 6-dimetil-1, 3, 5, 7-octatetraeno (11)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1964	<i>C. bipinnatus</i> <i>C. caudatus</i>

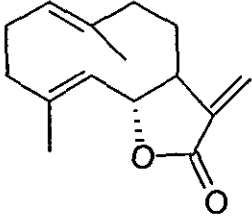
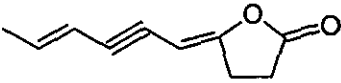
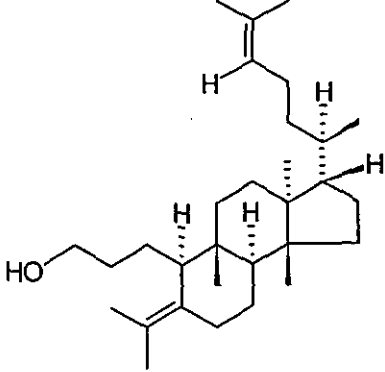
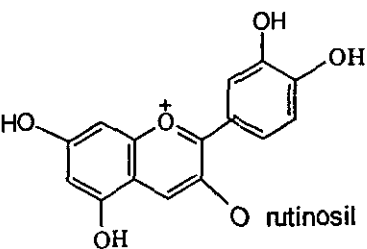
Cuadro 2. Metabolitos secundarios aislados del género *Cosmos* (continuación).

COMPUESTO	REFERENCIA	ESPECIE
 <p>ácido cafeico (12)</p>	Saito <i>et al.</i> , 1979	<i>C. bipinnatus</i>
 <p>1-(1'-acetoxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (13)</p>	Fuzzati <i>et al.</i> , 1995	<i>C. caudatus</i>
 <p>1-(1', 2'-epoxi-3'-[(2''-metil)]-butiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (14)</p>	Fuzzati <i>et al.</i> , 1995	<i>C. caudatus</i>
 <p>1-(3'-acetoxi-1'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (15)</p>	Fuzzati <i>et al.</i> , 1995	<i>C. caudatus</i>

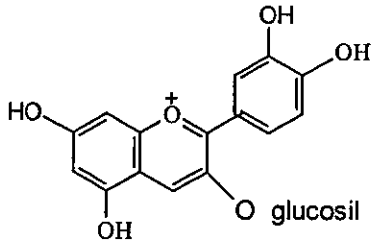
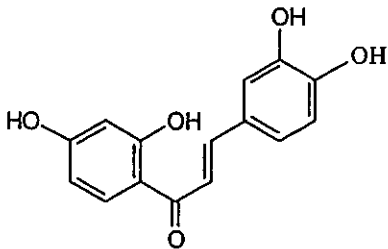
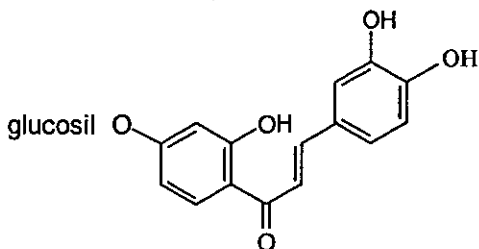
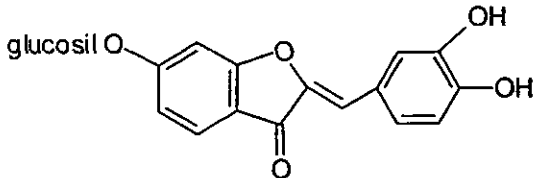
Cuadro 2. Metabolitos secundarios aislados del género *Cosmos* (continuación).

COMPUESTO	REFERENCIA	ESPECIE
 <p>1-(1', 2'-epoxi-3'-acetoxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (16)</p>	Fuzzati <i>et al.</i> , 1995	<i>C. caudatus</i>
 <p>1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17)</p>	Fuzzati <i>et al.</i> , 1995	<i>C. caudatus</i>
 <p>1-(1', 2'-dihidroxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (18)</p>	Fuzzati <i>et al.</i> , 1995	<i>C. caudatus</i>
 <p>ácido clorogénico (19)</p>	Saito <i>et al.</i> , 1979	<i>C. bipinnatus</i>

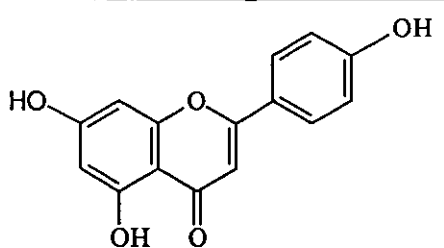
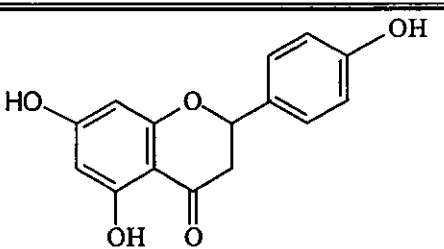
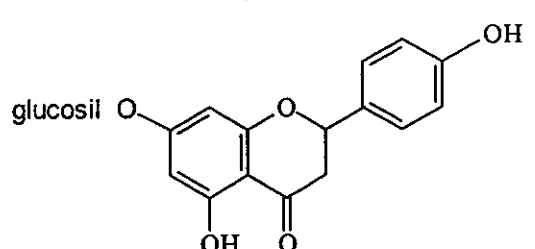
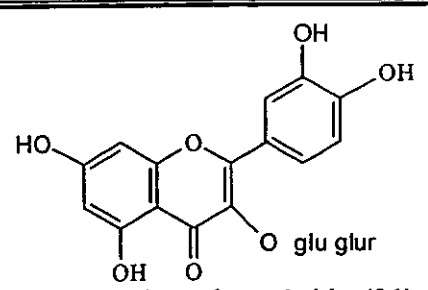
Cuadro 2. Metabolitos secundarios aislados del género *Cosmos* (continuación).

COMPUESTO	REFERENCIA	ESPECIE
 <p>costunólida (20)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1964	<i>C. sulphureus</i>
 <p>matricarialactona (21)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1964	<i>C. sulphureus</i>
 <p>helianol (22)</p>	Akihisa <i>et al.</i> , 1996	<i>C. bipinnatus</i>
 <p>3-rutinosil-cianidina (23)</p>	Samata <i>et al.</i> , 1977	<i>C. sulphureus</i> <i>C. caudatus</i>

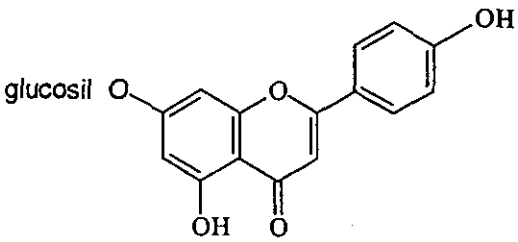
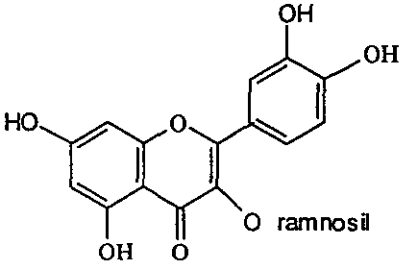
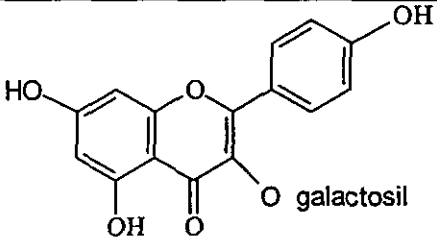
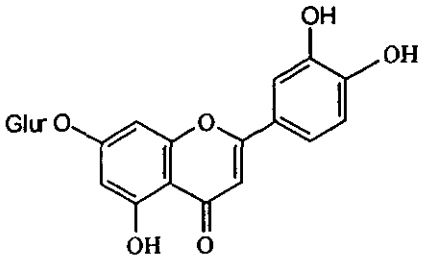
Cuadro 2. Metabolitos secundarios aislados del género *Cosmos* (continuación).

COMPUESTO	REFERENCIA	ESPECIE
 <p>3β-D-glucopiranosil-cianidina (24)</p>	Samata <i>et al.</i> , 1977	<i>C. sulphureus</i> <i>C. caudatus</i>
 <p>buteína (25)</p>	Bohm, 1975	<i>C. sulphureus</i> <i>C. bipinnatus</i>
 <p>corepsina (26)</p>	Shimokoriyama y Geissman, 1960	<i>C. sulphureus</i> <i>C. bipinnatus</i>
 <p>sulfureína (27)</p>	Bohm, 1975	<i>C. sulphureus</i> <i>C. bipinnatus</i>

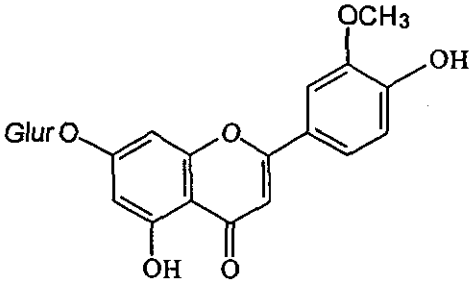
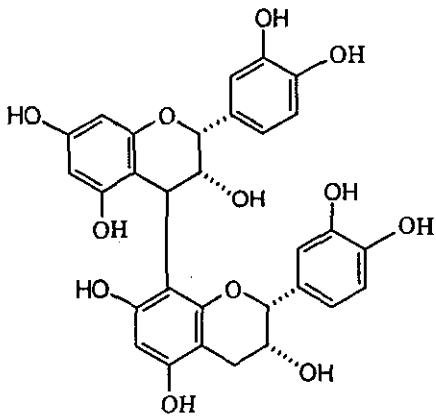
Cuadro 2. Metabolitos secundarios aislados del género *Cosmos* (continuación).

COMPUESTO	REFERENCIA	ESPECIE
 <p>apigenina (28)</p>	Chabannes y Pacheco, 1971	<i>C. bipinnatus</i>
 <p>naringenina (29)</p>	Chabannes y Pacheco, 1971	<i>C. bipinnatus</i>
 <p>prunina (30)</p>	Chabannes y Pacheco, 1971	<i>C. bipinnatus</i>
 <p>quercetina-3-glucoglucurónido (31)</p>	Chabannes y Pacheco, 1971	<i>C. bipinnatus</i>

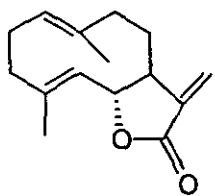
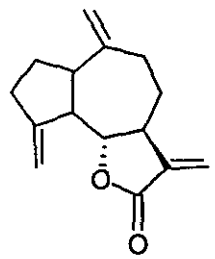
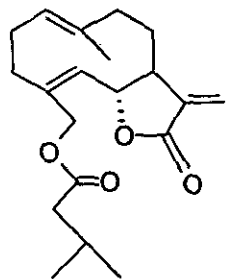
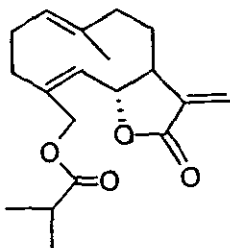
Cuadro 2. Metabolitos secundarios aislados del género *Cosmos* (continuación).

COMPUESTO	REFERENCIA	ESPECIE
 <p>apigenina-7-glucósido (32)</p>	Kaneta <i>et al.</i> , 1978	<i>C. bipinnatus</i>
 <p>quercetina-3-ramnósido (33)</p>	Kaneta <i>et al.</i> , 1978	<i>C. bipinnatus</i>
 <p>trifolina (34)</p>	Saito, 1974	<i>C. bipinnatus</i>
 <p>luteolina-3-glucurónido (35)</p>	Saito, 1974	<i>C. bipinnatus</i>

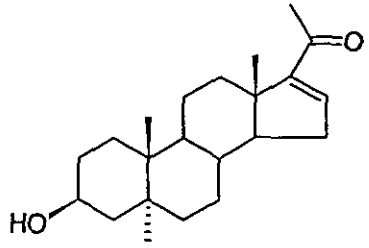
Cuadro 2. Metabolitos secundarios aislados del género *Cosmos* (continuación).

COMPUESTO	REFERENCIA	ESPECIE
 <p data-bbox="258 762 632 803">crisoeriol-7-glucurónido (36)</p>	Saito, 1974	<i>C. bipinnatus</i>
 <p data-bbox="329 1328 556 1369">procianidina (37)</p>	Bate-Smith, 1980	<i>C. bipinnatus</i>

Cuadro 3. Metabolitos secundarios aislados e identificados de la raíz de la especie *Cosmos pringlei*.

COMPUESTO	REFERENCIA	ESPECIE
 <p>costunólida (20)</p>	Cuevas Garibay, 1998	<i>C. pringlei</i>
 <p>deshidrocostuslactona (38)</p>	Cuevas Garibay, 1998	<i>C. pringlei</i>
 <p>15-isovaleriloxi-costunólida (39)</p>	Cuevas Garibay, 1998	<i>C. pringlei</i>
 <p>15-isobutiriloxi-costunólida (40)</p>	Cuevas Garibay, 1998	<i>C. pringlei</i>

Cuadro 3. Metabolitos secundarios aislados e identificados de la raíz de la especie *Cosmos pringlei* (continuación).

COMPUESTO	REFERENCIA	ESPECIE
 <p>3β-hidroxi-5α-pregn-16-en-20-ona (41)</p>	Cuevas Garibay, 1998	<i>C. pringlei</i>

2.3 ANTECEDENTES BOTANICOS Y ETNOBOTANICOS DE *Xanthocephalum gymnospermoides* (A. Gray) Benth & Hook var *eradiatum* Lane (Asteraceae).

El género *Xanthocephalum* Willd, de la familia Asteraceae incluye ocho especies y tres variedades distribuidas principalmente en México y en la parte sur de los Estados Unidos de América del Norte (Lane, 1983). En el Cuadro 4 se enlistan las especies y variedades del género.

Filogenéticamente *Xanthocephalum* se encuentra estrechamente relacionado con los géneros *Olivaceae*, *Gutierrezia* y *Grindelia* (Lane, 1983).

Xanthocephalum gymnospermoides (A. Gray) Benth & Hook var *eradiatum* Lane es una planta anual endémica de la sierra Tarahumara, estado de Chihuahua. Los individuos de esta variedad son arbustos de 1 a 1.5 m de altura, con tallos rectos y flores amarillas (Figura 2). Posiblemente este taxón deriva de la especie *X. gymnospermoides* (A. Gray) Benth y la diferencia más importante entre esta variedad y los otros miembros del género es la carencia de pétalos florales rayados (Lane, 1983).

Cuadro 4. Especies y variedades que conforman el género *Xanthocephalum*.

ESPECIE	VARIEDAD
<i>X. centauroides</i> Willd	
<i>X. durangense</i> M. A. Lane	
<i>X. humile</i> (Kunth) Benth	
<i>X. benthamianum</i> Hemsley	
<i>X. gymnospermoides</i> (A. Gray) Benth	<i>gymnospermoides</i> <i>eradiatum</i> <i>intermedium</i>
<i>X. wrightii</i> (A. Gray)	
<i>X. seriocarpum</i> (A. Gray)	
<i>X. megalcephalum</i> Fernald	



Figura 2. *Xanthocephalum gymnospermoides* var *eradiatum* (Bye, 1996).

Generalmente la planta crece a una altitud entre 2000 y 2400 m de altura bien sea en zonas silvestres formando poblaciones densas o en los bordes de campos cultivados de los valles montañosos de la sierra Tarahumara. La especie es dominante en su habitat e inhibe el crecimiento de otras plantas anuales como especies de *Amaranthus*, *Bidens* y *Chenopodium*. Este hecho sugiere que *X. gymnospermoides* var *eradiatum* contiene aleloquímicos que constituyen agentes herbicidas potenciales. Los indios Tarahumaras reconocen a esta planta con el nombre de "URISO" y la utilizan medicinalmente para la cura de dolores cutáneos y el lavado de heridas (Bye, 1996).

2.4 ESTUDIOS QUIMICOS SOBRE EL GENERO *Xanthocephalum*.

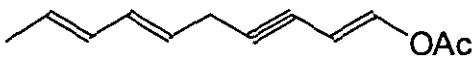
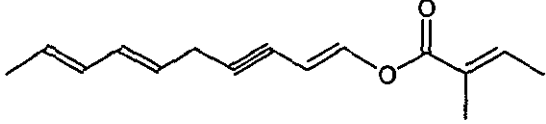
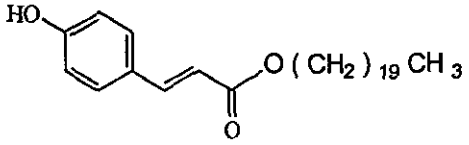
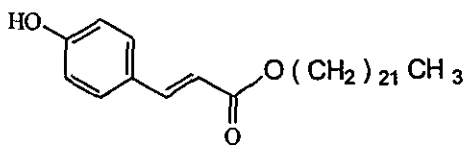
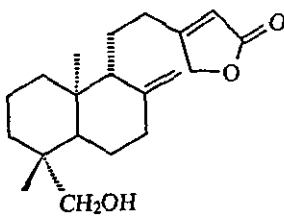
Las especies *X. benthamianum*, *X. centauroides*, *X. humile*, *X. seriocarpum*, *X. wrightii* y la variedad *X. gymnospermoides* var *gymnospermoides* han sido investigadas desde el punto de vista químico. Los metabolitos secundarios aislados y caracterizados en estos estudios incluyen diterpenoides de tipo labdano, poliacetilenos, triterpenoides de los tipos friedelano y bacarano, fenilpropanoides y flavonoides de los tipos flavona y flavonoles (Bohlmann, 1979; Yu *et al.*, 1987). En el Cuadro 5 se ilustran las estructuras de los compuestos aislados de los distintos taxones investigados. Cabe destacar que Lane (Lane, 1983; Lane, 1989), detectó mediante procedimientos cromatográficos la presencia de flavonoides en *X. gymnospermoides* var *eradiatum*. De manera adicional, el autor observó que la cantidad de estos metabolitos era considerablemente menor que las detectadas en *X. gymnospermoides*, *X. gymnospermoides* var *gymnospermoides* y *X. benthamianum* (Lane, 1983; Lane, 1989).

La literatura química describe también estudios del contenido metabólico secundario de *X. seriocarpum* y *X. wrightii*, sin embargo, estas especies fueron taxonómicamente reclasificadas en el género *Gutierrezia* (Lane, 1983).

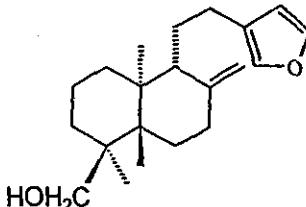
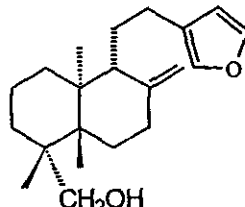
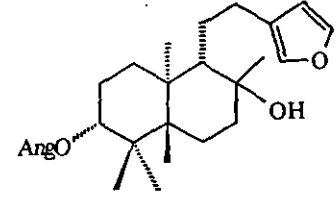
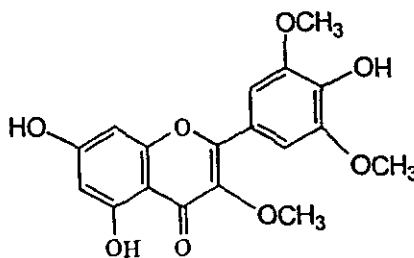
Recientemente, el estudio fitoquímico biodirigido del extracto cloroformo-metanólico (1:1) de la planta entera de *X. gymnospermoides* var *eradiatum*, utilizando como bioensayos la determinación del efecto inhibitorio del crecimiento radicular de las semillas *Amaranthus hypochondriacus* y *Physalis ixocarpa*, permitió el aislamiento de siete diterpenos de tipo labdano y un flavonoide (Rivero Cruz y Trejo Miranda, 1996). Estos fueron caracterizados por métodos químicos y espectroscópicos como: el 8, 13-epoxilabdano-14, 15 diol (60), grindelato de metilo (61), ácido grindélico (62), 7 α , 8 α -epoxi-grindelato de metilo (63), 7 α -hidroxi-8(17)-deshidrogrindelato de metilo (64), 17-hidroxi-grindelato de metilo (65), 6, 18-dihidroxi-grindelato de metilo (66) y el 3, 6-dimetil éter del camperol (67) (Cuadro 6). Los diterpenos 60, 61 y 66 son nuevos productos naturales. El signo positivo de la rotación óptica del producto 60 permitió proponer que el mismo era un enantiómero del barbatol (78), diterpenoide aislado de *Sideritis arborescens* Salzm. Cabe destacar que en esa ocasión no se determinó la configuración absoluta de los centros estereogénicos de la molécula correspondiente al producto 60. (Von Carstenn-Lichterfelde *et al.*, 1975).

El producto 60, el ácido grindélico (62) y su éster metílico 61 constituyeron los productos bioactivos mayoritarios y presentaron una actividad fitotóxica significativa contra la especie *A. hypochondriacus*. Los demás productos naturales o sus derivados no presentaron un efecto fitotóxico significativo. En consecuencia los compuestos 60-62 constituyen prototipos estructurales novedosos para el desarrollo de nuevos agentes herbicidas.

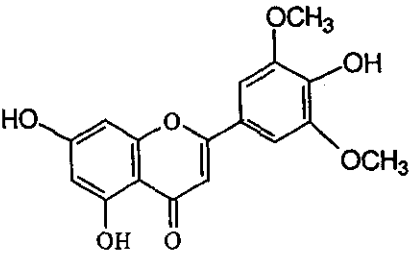
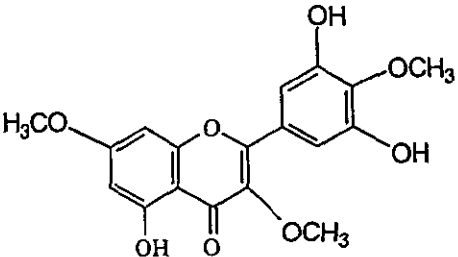
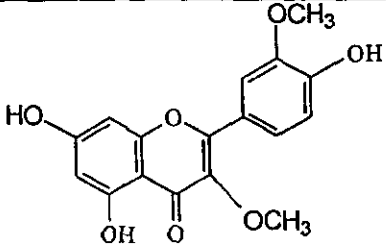
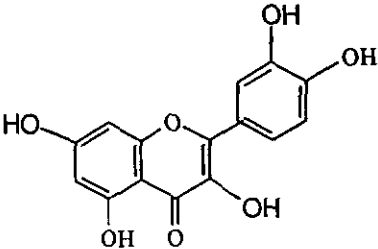
Cuadro 5. Metabolitos secundarios aislados del género *Xanthocephalum*.

ESTRUCTURA	REFERENCIA	ESPECIE
 <p>1-acetoxi-1, 6, 8-decatrien-3-ino (42)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1979	<i>X. linearifolium</i> <i>X. centauroides</i> <i>X. gymnospermoides</i> <i>X. wrightii</i> <i>X. humile</i>
 <p>1-angeloil-1, 6, 8-decatrien-3-ino (43)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1979	<i>X. linearifolium</i> <i>X. centauroides</i> <i>X. gymnospermoides</i> <i>X. wrightii</i> <i>X. humile</i>
 <p>4-hidroxi-cinamato de eicosanilo (44)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1979	<i>X. linearifolium</i> <i>X. megalcephalum</i>
 <p>4-hidroxi-cinamato de doeicosanilo (45)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1979	<i>X. linearifolium</i> <i>X. megalcephalum</i>
 <p><i>ent</i> 19-hidroxi-8(17), 13-labdadien-16,15-olida (46)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1979	<i>X. linearifolium</i>

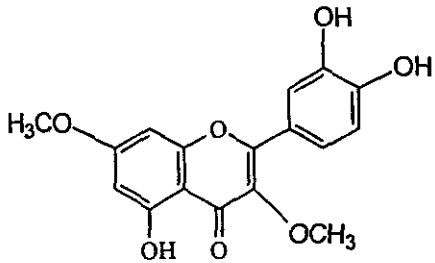
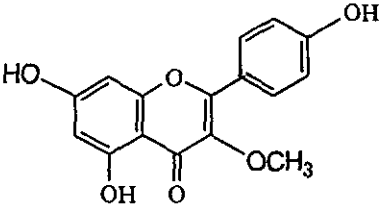
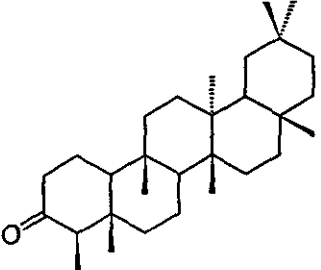
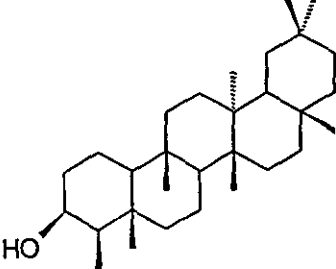
Cuadro 5. Metabolitos secundarios aislados del género *Xanthocephalum* (continuación).

ESTRUCTURA	REFERENCIA	ESPECIE
 <p data-bbox="223 673 677 752"><i>ent</i> 15, 16-epoxi-8(17), 13(16), 14-labdatrien-18-ol (47)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1979	<i>X. linearifolium</i>
 <p data-bbox="223 1015 677 1094"><i>ent</i> 15, 16-epoxi-8(17), 13(16), 14-labdatrien-19-ol (48)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1979	<i>X. linearifolium</i>
 <p data-bbox="196 1357 703 1435"><i>ent</i> 3-angeloil-15, 16-epoxi-13(16), 14-labdadien-8-ol (49)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1979	<i>X. linearifolium</i>
 <p data-bbox="211 1740 687 1813">5, 7, 4'-trihidroxi-3, 3', 5'-trimetoxi-flavona (50)</p>	Yu <i>et al.</i> , 1987	<i>X. gymnospermoides</i> var <i>gymnospermoides</i>

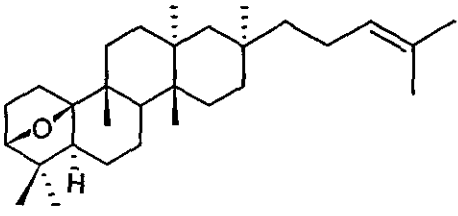
Cuadro 5. Metabolitos secundarios aislados del género *Xanthocephalum* (continuación).

ESTRUCTURA	REFERENCIA	ESPECIE
 <p>5, 7, 4'-trihidroxi-3', 5'-dimetoxi-flavona (51)</p>	Yu <i>et al.</i> , 1987	<i>X. gymnospermoides</i> var <i>gymnospermoides</i>
 <p>5, 3', 5'-trihidroxi-3, 7, 4'-trimetoxi-flavona (52)</p>	Yu <i>et al.</i> , 1987	<i>X. gymnospermoides</i> var <i>gymnospermoides</i>
 <p>5, 7, 4'-trihidroxi-3, 3'-dimetoxi-flavona (53)</p>	Yu <i>et al.</i> , 1987	<i>X. gymnospermoides</i> var <i>gymnospermoides</i>
 <p>3, 5, 7, 3', 4'-pentahidroxi-flavona (54)</p>	Yu <i>et al.</i> , 1987	<i>X. gymnospermoides</i> var <i>gymnospermoides</i>

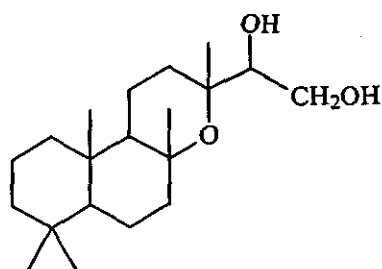
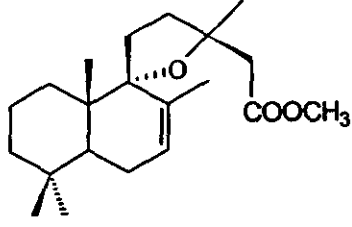
Cuadro 5. Metabolitos secundarios aislados del género *Xanthocephalum* (continuación).

ESTRUCTURA	REFERENCIA	ESPECIE
 <p>5, 3', 4'-trihidroxi-3, 7-dimetoxi-flavona (55)</p>	Yu <i>et al.</i> , 1987	<i>X. gymnospermoides</i> var <i>gymnospermoides</i>
 <p>5, 7, 4'-trihidroxi-3-metoxi-flavona (56)</p>	Yu <i>et al.</i> , 1987	<i>X. gymnospermoides</i> var <i>gymnospermoides</i>
 <p>3-friedelanona (57)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1979	<i>X. linearifolium</i> <i>X. centauroides</i> <i>X. wrightii</i>
 <p>3-friedelanol (58)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1979	<i>X. linearifolium</i> <i>X. centauroides</i> <i>X. wrightii</i>

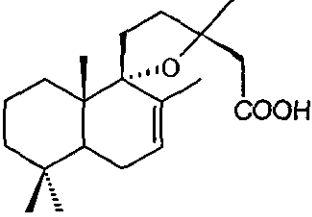
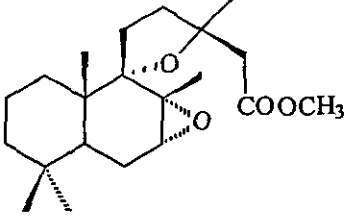
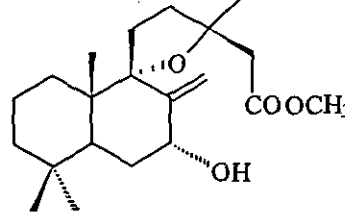
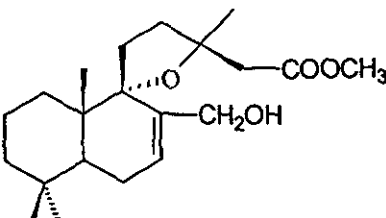
Cuadro 5. Metabolitos secundarios aislados del género *Xanthocephalum* (continuación).

ESTRUCTURA	REFERENCIA	ESPECIE
 <p>3β, 25-epoxi-21-bacareno (59)</p>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1979	<i>X. linearifolium</i>

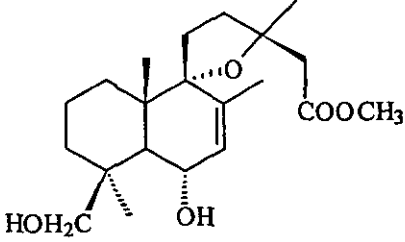
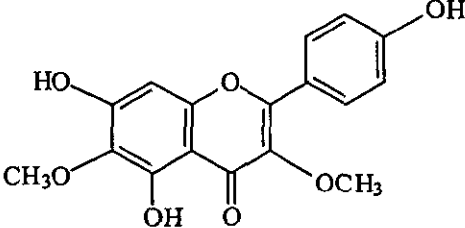
Cuadro 6. Metabolitos secundarios aislados e identificados de la planta entera de la especie *X. gymnospermoides* var *eradiatum*.

COMPUESTO	REFERENCIA	ESPECIE
 <p>8, 13-epoxilabdano-14, 15 diol (60)</p>	Rivero Cruz y Trejo Miranda, 1996	<i>X. gymnospermoides</i> var <i>eradiatum</i>
 <p>grindelato de metilo (61)</p>	Rivero Cruz y Trejo Miranda, 1996	<i>X. gymnospermoides</i> var <i>eradiatum</i>

Cuadro 6. Metabolitos secundarios aislados e identificados de la planta entera de la especie *X. gymnospermoides* var *eradiatum* (continuación).

COMPUESTO	REFERENCIA	ESPECIE
 <p>ácido grindélico (62)</p>	Rivero Cruz y Trejo Miranda, 1996	<i>X. gymnospermoides</i> var <i>eradiatum</i>
 <p>7α, 8α-epoxi-grindelato de metilo (63)</p>	Rivero Cruz y Trejo Miranda, 1996	<i>X. gymnospermoides</i> var <i>eradiatum</i>
 <p>7α-hidroxi-8(17)-deshidrogindelato de metilo (64)</p>	Rivero Cruz y Trejo Miranda, 1996	<i>X. gymnospermoides</i> var <i>eradiatum</i>
 <p>17-hidroxi-grindelato de metilo (65)</p>	Rivero Cruz y Trejo Miranda, 1996	<i>X. gymnospermoides</i> var <i>eradiatum</i>

Cuadro 6. Metabolitos secundarios aislados e identificados de la planta entera de la especie *X. gymnospermoides* var *eradiatum* (continuación).

COMPUESTO	REFERENCIA	ESPECIE
 <p>6, 18-dihidroxi-grindelato de metilo (66)</p>	<p>Rivero Cruz y Trejo Miranda, 1996</p>	<p><i>X. gymnospermoides</i> var <i>eradiatum</i></p>
 <p>3, 6-dimetil éter del camperol (67)</p>	<p>Rivero Cruz y Trejo Miranda, 1996</p>	<p><i>X. gymnospermoides</i> var <i>eradiatum</i></p>

III. PARTE EXPERIMENTAL.

3.1 ESTUDIO QUIMICO DE LA RAIZ DE *Cosmos pringlei*.

3.1.1 MATERIAL VEGETAL.

La raíz de *Cosmos pringlei* (Asteraceae) se recolectó en la región El Alamillo, Municipio de Guerrero, Chihuahua, el 8 de Octubre de 1996. La identificación de la especie estuvo a cargo del Dr. Robert Bye (Instituto de Biología, UNAM). Una muestra de herbario (Voucher: Bye 21336) fue depositada en el Herbario Nacional (MEXU), Instituto de Biología, UNAM.

3.1.2 ANALISIS CROMATOGRAFICOS.

La cromatografía por adsorción en columna abierta se realizó sobre gel de sílice Kieselgel 60 Merck (tamaño de partícula 0.063-0.200 mm, malla de 70-230 μm ASTM). Los análisis cromatográficos en capa fina (ccf) se efectuaron siguiendo las técnicas convencionales, utilizando placas de vidrio o aluminio recubiertas con gel de sílice (sílica gel 60 GF₂₅₄ Merck) con un espesor de 0.25 mm, y los sistemas de elución y agentes reveladores que se resumen en los Cuadros 7 y 8, respectivamente.

La cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) se realizó en un cromatógrafo marca Waters (Millipore Corp., Waters Chromatography Division Milford, M. A., USA) equipado con un detector de UV con arreglo de diodos (996). El control del equipo, la adquisición de datos, el procesamiento y manipulación de la información se realizaron utilizando el programa de software Millenium 2000 (Waters). Todos los análisis se realizaron a temperatura ambiente.

3.1.2.1 Cromatografía de líquidos de alta resolución analítica.

El método de cromatografía de líquidos de alta resolución analítica, nos permite optimizar las condiciones instrumentales necesarias para lograr la máxima resolución y separación de los constituyentes de una muestra. Los análisis se realizaron en una columna empacada con dimetiloctadecilsilil HCR-18 con un tamaño de partícula de 6 μm y un tamaño de poro de 60 Å. El diámetro interno de la columna es de 3.9 mm y la longitud de 300 mm. La concentración de las muestras problema utilizada en estos análisis fue de 0.5 mg en un volumen inyectado de 20 μL . La elución se realizó con un sistema isocrático y las fases móviles consistieron en mezclas binarias constituidas por metanol-agua y acetonitrilo-agua o mezclas ternarias constituidas por hexano-isopropanol-metanol. La velocidad de flujo fue de 0.35 mL/min. Las longitudes de onda utilizadas para la detección de los compuestos fueron de 205 y 215 nm.

3.1.2.2 Cromatografía de líquidos de alta resolución preparativa.

Una vez determinadas las condiciones analíticas se realizó el escalamiento a una columna preparativa, lo que nos permitió la separación y purificación de los constituyentes de las fracciones primarias o secundarias.

Estos análisis se realizaron en una columna preparativa empacada con dimetiloctadecilsilil HCR-18 con un tamaño de partícula de 6 μm y un poro de 60 Å, el diámetro interno de la columna es de 19 mm y la longitud de 300 mm, para todas las separaciones se utilizaron los sistemas de disolventes indicados en el inciso 3.1.2.1.

En todos los casos, se recurrió a la técnica de corte de núcleo y reinyección de la muestra. Este método consistió en someter a los picos mayoritarios de interés a un corte, eliminando así la contaminación causada por los componentes minoritarios eluidos antes y después del pico en cuestión, mismo que fue reinyectado en el sistema cromatográfico tantas veces como fue necesario hasta alcanzar su purificación (Hostettmann, 1986).

Cuadro 7. Sistemas de elución utilizados para los análisis cromatográficos en capa fina.

SISTEMA DE ELUCION	COMPOSICION	PROPORCION
I	Hex	100%
II	Hex-AcOEt	Diversas
III	AcOEt	100%
IV	AcOEt-MeOH	Diversas
V	Hex-CH ₂ Cl ₂	Diversas
VI	CH ₂ Cl ₂	100%
VII	CH ₂ Cl ₂ -MeOH	Diversas
VIII	MeOH	100%
IX	Hex-CHCl ₃	Diversas
X	AcOEt-MeOH	50:50

Cuadro 8. Agentes cromógenos utilizados para los análisis cromatográficos en capa fina.

AGENTE REVELADOR	COMPOSICION	REFERENCIA
Sulfato cérico *	Sulfato cérico amoniacal 12 g	Stahl, 1969
	Ac. Sulfúrico conc. 22,5 mL	Lowery <i>et al.</i> , 1993
	Hielo picado 350 g	
Ac. fosfomolibdico *	Ac. fosfomolibdico 5 g	Rupprecht <i>et al.</i> , 1990
	Etanol 100 mL	

* Para el desarrollo de la coloración se calienta durante aproximadamente 2 minutos a 110 °C.

3.1.3 CARACTERIZACION DE LOS PRODUCTOS NATURALES Y SUS DERIVADOS.

De manera general la caracterización de los productos aislados o sus derivados se realizó por métodos espectroscópicos y espectrométricos.

Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro digital JASCO DIP 360. Los espectros en el IR se midieron en un espectrómetro de rejilla Perkin Elmer modelo 599, utilizando las técnicas de película o pastilla de KBr.

Los espectros de RMN de 300/75 MHz se registraron en los aparatos Varian VXR-3005 ó Varian UNITY 300. Los espectros de 500/125 MHz, se registraron en un aparato Varian UNITY PLUS 500. En todos los casos se empleó como disolvente cloroformo deuterado (CDCl_3) y TMS como referencia interna.

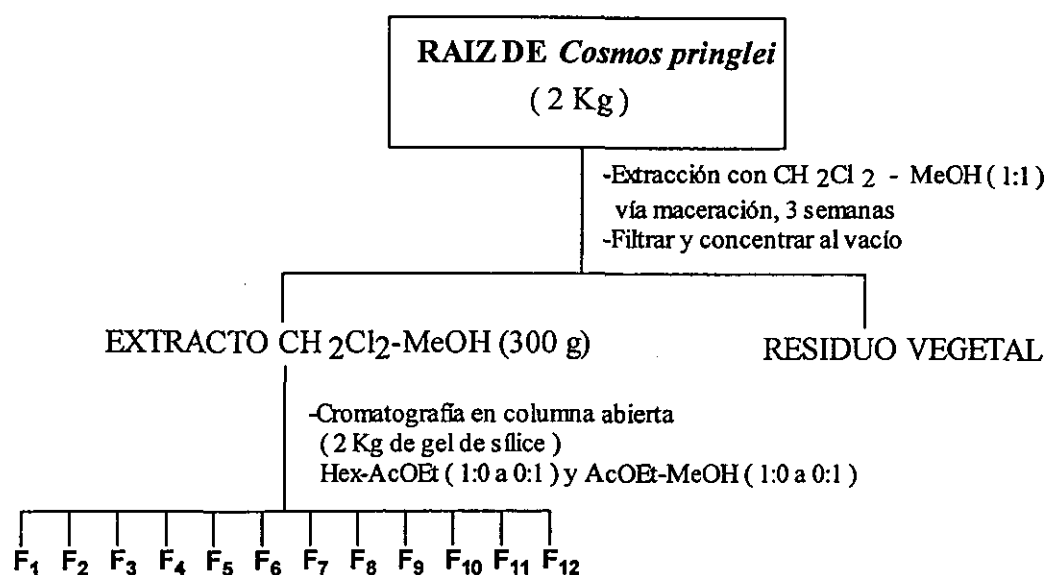
Los espectros de masas de impacto electrónico de los compuestos puros, se realizaron en un espectrómetro de masas modelo Joel JMS-AX505HA, mediante introducción directa a 70 eV. En particular, los espectros de los productos 71 y 72 se obtuvieron en un espectrómetro de masas JOEL JX102 acoplado a un cromatógrafo de gases. Todos los espectros se determinaron en la Unidad de Servicios Analíticos e Instrumentales (USAI), Facultad de Química o en el Instituto de Química, UNAM.

3.1.4 METODOS DE EXTRACCION Y FRACCIONAMIENTO.

El proceso de desecación de la raíz de *Cosmos pringlei* se llevó a cabo a temperatura ambiente. El material vegetal desecado (2.0 Kg) se fragmentó en un molino de cuchillas modelo Willey 4 y se extrajo mediante un proceso de maceración con CH_2Cl_2 -MeOH (1:1) a temperatura ambiente. El extracto resultante [300 g] se sometió a un fraccionamiento primario mediante una cromatografía en columna abierta utilizando como adsorbente 2 Kg de gel de sílice.

El proceso de elución se efectuó con hexano, mezclas de hexano-AcOEt [95:5, 90:10, 80:20, 60:40, 40:60 y 20:80], AcOEt, mezclas de AcOEt-MeOH [90:10, 80:20 y 60:40] y MeOH. Se obtuvieron un total de 250 fracciones de 1 L cada una reuniéndose aquellas que mostraron similitud cromatográfica para así obtener 12 conjuntos de fracciones primarias (F₁-F₁₂). De estas doce fracciones, de la F₄ a la F₁₁ demostraron actividad biológica en los distintos bioensayos realizados por los laboratorios subcontratados por la Universidad de Arizona.

En el Esquema 1 y Cuadro 9 se resumen los procesos de extracción y fraccionamiento primario.



Esquema 1. Extracción y fraccionamiento del extracto diclorometano-metanólico (1:1) de la raíz de *Cosmos pringlei*.

Cuadro 9. Fraccionamiento biodirigido del extracto diclorometano-metanólico (1:1) de *Cosmos pringlei*.

ELUYENTE	PROPORCION (%)	FRACCIONES COMBINADAS	CLAVE	PESO (g)
hexano	100	1-7	F ₁	1.50
Hex-AcOEt	95:5	8-25	F ₂	0.100
Hex-AcOEt	90:10	26-29	F ₃	7.55
Hex-AcOEt	80:20	30	F ₄	0.100
Hex-AcOEt	60:40	31-45	F ₅	65.36
Hex-AcOEt	40:60	46-54	F ₆	1.58
Hex-AcOEt	20:80	55-64	F ₇	4.37
AcOEt	100	65-75	F ₈	2.23
AcOEt- MeOH	90:10	76-90	F ₉	1.75
AcOEt- MeOH	80:20	91-101	F ₁₀	2.58
AcOEt- MeOH	60:40	102-168	F ₁₁	17.36
MeOH	100	169-239	F ₁₂	158.20

3.1.5 Aislamiento y purificación de la 11 β -dihidrodeshidrocostuslactona (68), del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69) y 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).

El aislamiento y la purificación de los constituyentes individuales presentes en las fracciones primarias o secundarias, se realizó mediante la técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR). Para la resolución de la fracción F₄ (100 mg) se determinaron en primer lugar las condiciones analíticas óptimas de separación. Posteriormente, se procedió a realizar la separación en una columna preparativa, el cromatograma resultante se muestra en la Figura 3 y como se puede apreciar, la fracción contenía tres compuestos mayoritarios (picos a-c).

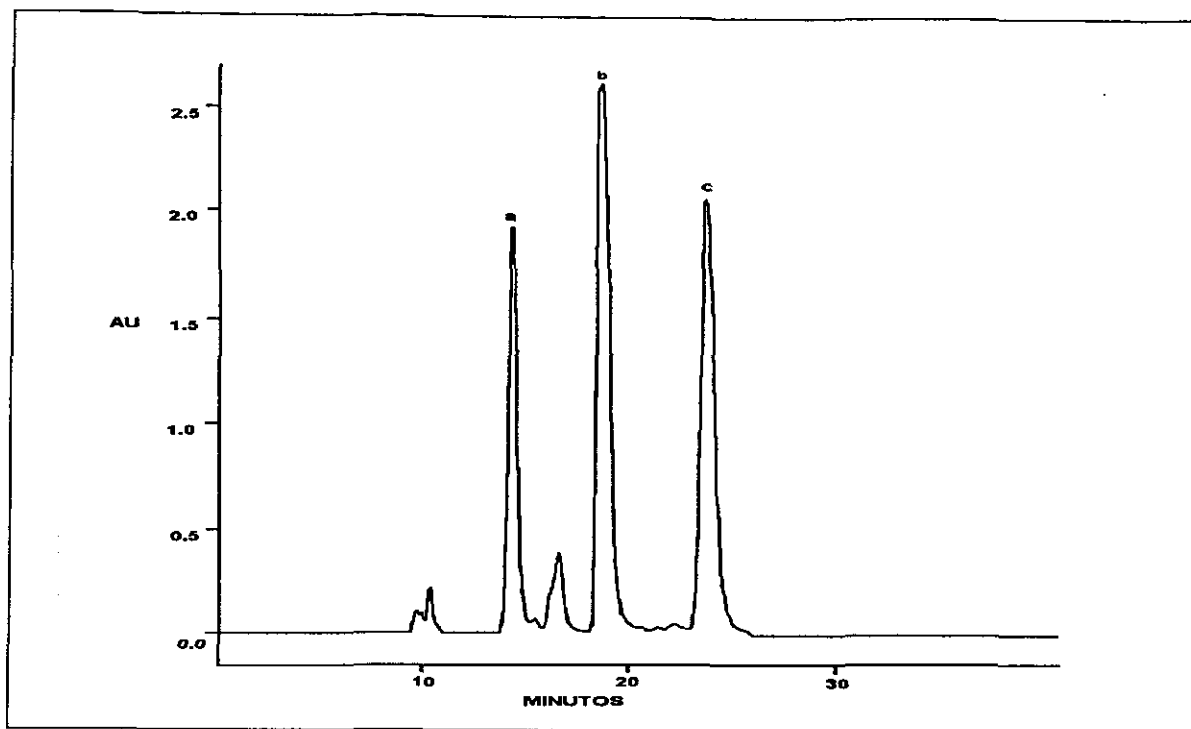


Figura 3. Cromatograma obtenido a nivel preparativo de la fracción F_4 . Condiciones de análisis: Detector UV/Visible, $\lambda = 215$ nm. Sistema de elución: acetonitrilo-agua (70:30). Flujo de 8.3 mL/min. Concentración de la muestra 100 mg/2.5 mL. Picos: a t_R 14.4 min, b t_R 20.5 min y c t_R 23.7 min.

Para lograr la purificación del compuesto **68**, correspondiente al pico **a**, se realizaron sucesivas cromatografías utilizando la técnica de corte de núcleo (Figura 4). El empleo de esta técnica permitió el aislamiento de 23.0 mg de la 11 β -dihidrodeshidrocostuslactona (**68**) como un aceite amarillo.

Para la purificación del compuesto **69**, correspondiente al pico **b**, se utilizó la técnica de corte de núcleo (Figura 5). Este proceso permitió la obtención de 24.9 mg del compuesto **69** bajo la forma de un líquido aceitoso color amarillo.

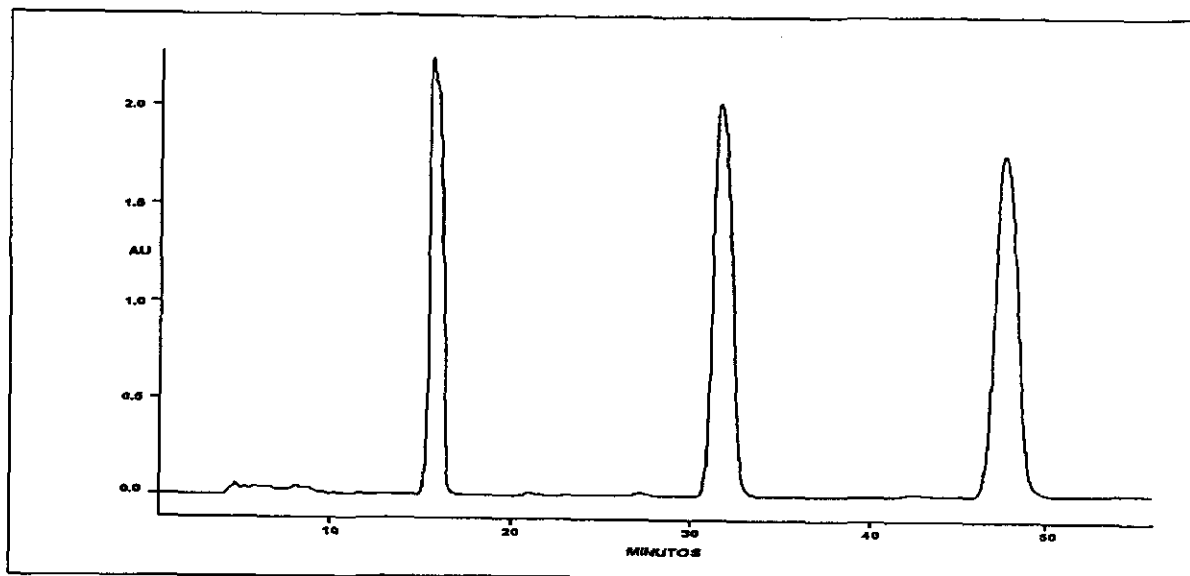


Figura 4. Cromatograma generado durante la purificación del pico a mediante el proceso de corte de núcleo. Las condiciones instrumentales se indican en el pie de la Figura 3. La concentración de la muestra fue de 4 mg/100 μ L.

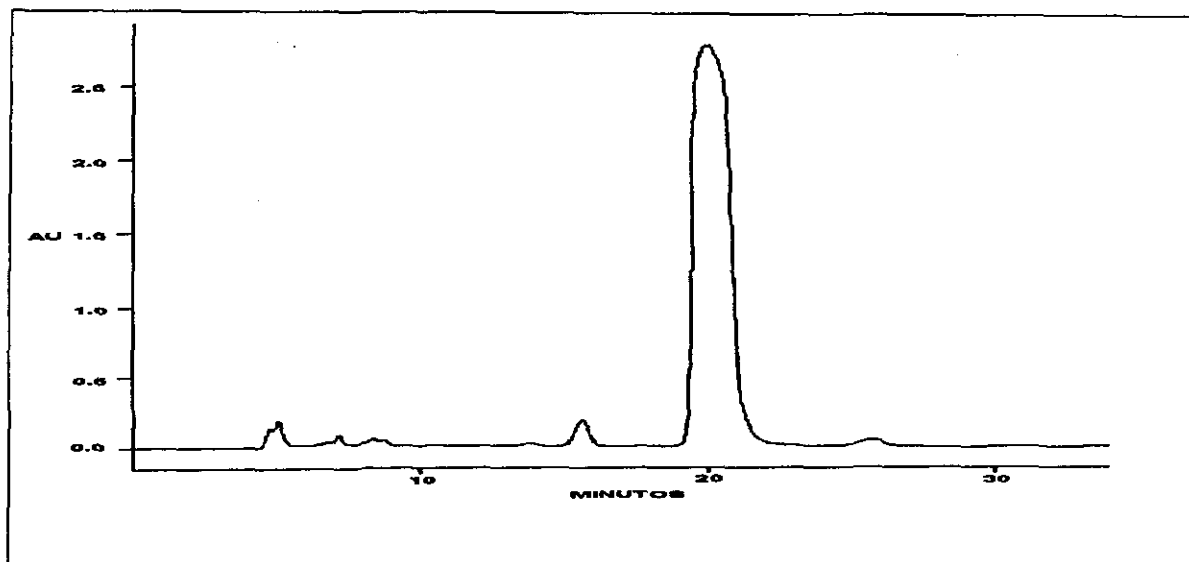


Figura 5. Cromatograma generado durante la purificación del pico b mediante el proceso de corte de núcleo. Las condiciones instrumentales se indican en el pie de la Figura 3. La concentración de la muestra fue de 4 mg/100 μ L.

Por último, el residuo correspondiente al pico c se recromatografió mediante la técnica de corte de núcleo (Figura 6). Así se purificaron 10 mg del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70) como un aceite amarillo.

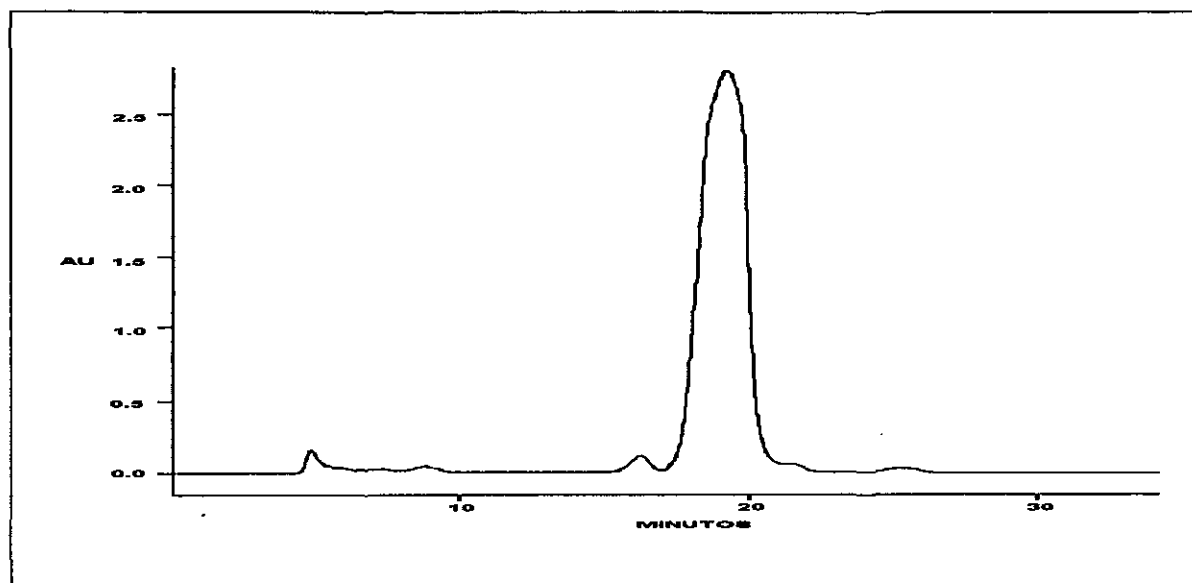


Figura 6. Cromatograma generado durante la purificación del pico c mediante el proceso de corte de núcleo. Las condiciones instrumentales se indican en el pie de la Figura 3. La concentración de la muestra fue de 4 mg/100 μ L.

3.1.6 Aislamiento y purificación de la deshidrocostuslactona (38) y de la costunólida (20) de la fracción primaria activa F₅.

De la fracción primaria activa F₅ (Cuadro 9), cristalizaron de manera espontánea 25 mg de un sólido cristalino amorfo incoloro con un punto de fusión de 56-57 °C, idéntico en todos sus aspectos a una muestra auténtica de deshidrocostuslactona (38), aislada previamente de la misma especie (Cuevas Garibay, 1998).

De la misma fracción F₅ (Cuadro 9), cristalizaron 2.5 g de un sólido cristalino incoloro en forma de pequeñas agujas con un punto de fusión de 105-106 °C, que fue identificado como la costunólida (20) por comparación con una muestra auténtica aislada de la misma especie (Cuevas Garibay, 1998).

3.1.7 Aislamiento y purificación de la 15-isovaleriloxi-costunólida (39) y del 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17) de la fracción activa F₇.

De la fracción primaria F₇ (Cuadro 9), cristalizaron de manera espontanea 1.4 g de un sólido cristalino amorfo de color blanco, con un punto de fusión de 122-124 °C, que fue identificado como 15-isovaleriloxi-costunólida (39) por comparación con una muestra auténtica (Cuevas Garibay, 1998).

Con la finalidad de separar los demás compuestos presentes en la fracción F₇ se procedió a realizar una cromatografía en columna abierta utilizando como adsorbente 225 g de gel de sílice. Se recogieron un total de 144 eluatos de 50 mL cada uno, utilizando como fase móvil hexano, hexano-AcOEt (diversas proporciones) y AcOEt. Cada una de las fracciones se analizó utilizando cromatografía en capa fina, combinándose aquellas que eran similares. En el Cuadro 10 se resumen los sistemas de elución utilizados y las fracciones combinadas. La resolución de la fracción F₇-C por CLAR, se realizó determinando en primer lugar las condiciones analíticas de separación. Posteriormente, se procedió a realizar la separación en una columna preparativa. El cromatograma resultante se muestra en la Figura 7. La aplicación de la técnica de corte de núcleo permitió exclusivamente la purificación del 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17) con un t_R 11.5 min.

Cuadro 10. Resumen del fraccionamiento secundario mediante cromatografía en columna abierta de la fracción F₇.

ELUYENTE	PROPORCION (%)	NUMERO DE FRACCIONES	FRACCIONES COMBINADAS	CLAVE
hexano	100	1-16	1-23	F ₇ -A
Hex-AcOEt	90:10	17-21	24-32	F ₇ -B
Hex-AcOEt	80:20	22-88	33-42	F ₇ -C
Hex-AcOEt	70:30	89-120	43-65	F ₇ -D
Hex-AcOEt	60:40	121-131	66-144	F ₇ -E
Hex-AcOEt	50:50	132-139		
AcOEt	100	140-144		

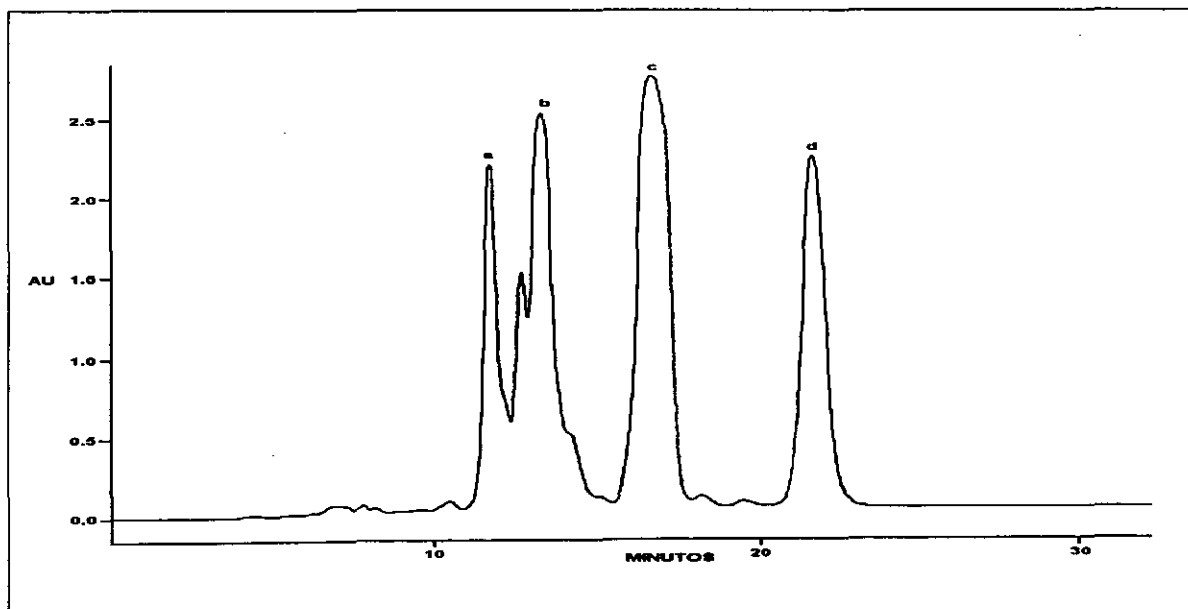


Figura 7. Cromatograma obtenido a nivel preparativo de la fracción F₇-C. Condiciones de análisis: Detector UV/Visible, $\lambda = 215$ nm. Sistema de elución: metanol-agua (80:20). Flujo de 8.3 mL/min. Concentración de la muestra 100 mg/2.5 mL. Picos: a t_R 11.5 min, b t_R 13.3 min, c t_R 16.3 min y d t_R 20.3 min.

3.1.8 Aislamiento y purificación de la 15-isobutiriloxi-costunólida (40), la 3 β -isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71) y la 3 β -isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72) de la fracción primaria F₈.

De la fracción primaria F₈ cristalizaron de manera espontanea 30 mg de un sólido cristalino amorfo, de color blanco, identificado por comparación con una muestra auténtica como la 15-isobutiriloxi-costunólida (40) (Cuevas Garibay, 1998).

El residuo de la fracción primaria activa F₈ (Cuadro 9), se recromatografió en una columna abierta de gel de sílice (593 g). El proceso de elución se llevó a cabo con hexano, hexano-AcOEt (diferentes proporciones) y AcOEt. Se colectaron un total de 208 fracciones de 15 mL cada una y se analizaron por cromatografía en capa fina, combinándose todas aquellas que presentaron homogeneidad cromatográfica. El proceso generó un total de 8 grupos de fracciones secundarias. En el Cuadro 11 se resume el proceso cromatográfico. Sucesivas cromatografías preparativas en capa delgada de gel de sílice de la fracción secundaria F₈-B (65 mg) utilizando como eluyente una mezcla de Hex:MeOH (7:3), permitieron obtener 25 mg de una mezcla de un líquido aceitoso de color amarillo.

Para realizar la purificación de los constituyentes individuales presentes en la mezcla, se realizó una separación mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR), determinándose primero las condiciones analíticas de separación. Posteriormente, se realizó la separación en una columna preparativa. El cromatograma resultante se muestra en la Figura 8. La purificación de los residuos correspondientes a los picos mayoritarios (a-b) permitió el aislamiento de la 3 β -isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71) con un t_R 11.5 min y la 3 β -isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72) con un t_R 16.5 min.

Cuadro 11. Resumen del fraccionamiento secundario mediante cromatografía en columna abierta de la fracción F₈.

ELUYENTE	PROPORCION (%)	NUMERO DE FRACCIONES	FRACCIONES COMBINADAS	CLAVE
hexano	100	1-16	1-56	F ₈ -A
Hex-AcOEt	90:10	17-150	57-85	F ₈ -B
Hex-AcOEt	80:20	151-174	86-94	F ₈ -C
Hex-AcOEt	70:30	175-190	95-142	F ₈ -D
Hex-AcOEt	60:40	191-198	143-174	F ₈ -E
Hex-AcOEt	50:50	199-206	175-205	F ₈ -F
AcOEt	100	207-208	206-207	F ₈ -G
			208	F ₈ -H

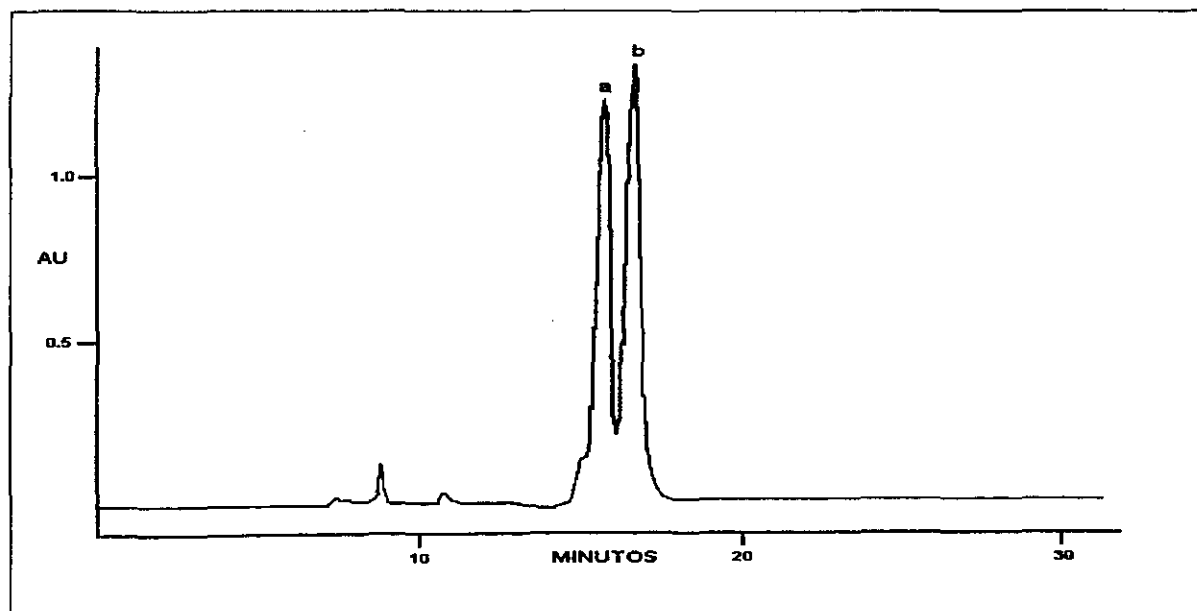


Figura 8. Cromatograma obtenido a nivel preparativo de la mezcla obtenida de la fracción secundaria F₈-B. Condiciones de análisis: Detector UV/Visible, $\lambda = 205$ nm. Sistema de elución: hexano:IPA:MeOH (90:5:5). Flujo de 8.3 mL/min. Concentración de la muestra 1.5 mg/100 μ L. Picos: a t_R 15.6 min y b t_R 16.5 min.

3.1.9 Aislamiento y purificación de la 3 β -hidroxi-5 α -pregn-16-en-20-ona (41) de la fracción primaria F₉.

De la fracción primaria F₉, cristalizaron de manera espontanea 85 mg de un sólido cristalino de color blanco, con un punto de fusión de 122-124 °C, caracterizado como la 3 β -hidroxi-5 α -pregn-16-en-20-ona (41) por comparación con una muestra auténtica (Cuevas Garibay, 1998).

3.2 DETERMINACION DE LA CONFIGURACION ABSOLUTA DEL 8 α , 13-EPOXILABDANO-14S, 15 DIOL (60).

3.2.1 AISLAMIENTO DEL 8 α , 13-EPOXILABDANO-14S, 15 DIOL (60).

El producto natural utilizado en el presente estudio se aisló previamente de la especie *X. gymnospermoides* var *eradiatum* (Rivero Cruz y Trejo Miranda, 1996).

3.2.2 OBTENCION DEL 8 α , 13-EPOXILABDANO-14, 15-DIACETATO (60a).

Para obtener el derivado acetilado del compuesto 60, 10 mg del mismo se trataron con 0.1 mL de piridina y 0.1 mL de anhídrido acético. La mezcla de reacción se mantuvo 48 horas a temperatura ambiente y al término de este tiempo el producto acetilado fue procesado de acuerdo a la metodología previamente descrita en la literatura (Pavia *et al.*, 1995). La acetilación del compuesto 60 condujo al diacetato 60a bajo la forma de un líquido aceitoso color amarillo. IR (película) cm^{-1} : 1745. RMN^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 5.03 (1H, dd, $J= 2.60$ y 8.85 , H-14), 4.46 (1H, dd, $J= 2.7$ y 12.0 , H-15_A), 4.08 (1H, dd, $J= 8.60$ y 11.85 , H-15_B), 2.10 (3H, s, OAc), 2.02 (3H, s, OAc), 1.20 (3H, s, H-17), 1.19 (3H, s, H-16), 0.87 (3H, s, H-18) y 0.80 (6H, s, H-19 y H-20). EMIE m/z (int. rel.): 408 [$\text{M}^+(1.1)$], 263 (98.6), 245 (100.0), 205 (8.18), 189 (9.27), 163 (25.7), 137 (68.6), 123 (29.3), 81 (25.1), 69 (24.7) y 43 (53.2).

3.2.3 OBTENCION DEL 8 α , 13-EPOXI-15-NOR-LABDAN-14-AL (60b).

Para la obtención del aldehído 60b se aplicó un procedimiento previamente descrito por Rodríguez y Valverde (1973). 10 mg del compuesto 60 se disolvieron en 603 μL de etanol, a esta solución se le agregó 905 μL de una solución etanólica de ácido peryódico 0.1 N. La mezcla anterior se dejó en la obscuridad a temperatura ambiente durante 24 horas. Al

cabo de este tiempo la mezcla de reacción se alcalinizó con una solución saturada de NaHCO_3 y se extrajo con cloroformo. La fase orgánica resultante se lavó con agua, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró al vacío. De esta forma se obtuvieron 8 mg del 8α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (**60b**) bajo la forma de un aceite de color amarillo. IR (película) cm^{-1} : 1730. $[\alpha]_{20}^D + 42.0$. RMN¹H (500 MHz, CDCl_3) δ : 9.60 (1H, d, $J = 2.0$, H-14), 1.15 (3H, s, H-17), 1.07 (3H, s, H-16), 0.86 (3H, s, H-18), 0.78 (3H, s, H-19) y 0.70 (3H, s, H-20). RMN¹³C (125 MHz, CDCl_3) δ : 205.40 (C-14), 78.03 (C-13), 76.00 (C-8), 57.35 (C-9), 56.37 (C-5), 42.44 (C-7), 42.07 (C-3), 39.25 (C-1), 36.83 (C-10), 33.30 (C-18), 33.30 (C-4), 31.53 (C-12), 29.70 (C-6), 24.77 (C-16), 22.77 (C-17), 21.24 (C-19), 20.00 (C-2), 15.80 (C-20) y 15.70 (C-11). EMAR: 292.4619.

3.2.4 OBTENCION DEL ESTER METILICO DEL ACIDO 8α , 13-EPOXI-15-NOR-LABDAN-14-OICO (**60d**).

A una solución de 8 mg del aldehído **60b** en 2.3 mL de acetona se agregó 100 μL del Reactivo de Jones. La mezcla se calentó a reflujo con agitación constante durante 2 horas. Al cabo de este tiempo, el producto de reacción fue procesado de acuerdo a la metodología previamente descrita en la literatura (Browers *et al.*, 1953). De esta forma se obtuvieron 7 mg del ácido 8α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-oico (**60c**). Una vez obtenido el producto **60c** se procedió a su metilación mediante un tratamiento con una solución etérea de diazometano. La solución de diazometano se preparó con hidróxido de potasio (5.0 g en 7.5 mL de agua), 25 mL de metanol y 21.9 g de N-metil-N-nitroso-p-toluensulfonamida (Diazald, Aldrich) en 45 mL de éter etílico. Por cada 100 mg del producto a metilar se utilizaron 20 mL de la solución etérea de diazometano. El producto a metilar se disolvió en metanol o éter etílico y la mezcla de reacción se dejó a temperatura ambiente durante 24 horas. IR (película) cm^{-1} : 1750. $[\alpha]_{20}^D + 30.0$. RMN¹H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3.81 (3H, s, OMe), 1.15 (3H, s, H-16), 1.07 (3H, s, H-17), 0.86 (3H, s, H-18), 0.78 (3H, s, H-19) y 0.70 (3H, s, H-20). EMAR: 322.4882.

3.2.5 OBTENCION DEL REACTIVO 1-(BENZOILOXI)-BENZOTRIAZOL.

675 mg del 1-hidroxi-benzotriazol y 770 μL de trietilamina se disolvieron en 4 mL de cloruro de metileno a temperatura ambiente. La solución resultante se agitó y se le adicionaron lentamente 580 μL de cloruro de benzoilo. La mezcla se dejó reaccionar durante 20 min y al término de este tiempo el producto de reacción fue procesado de acuerdo a la metodología previamente descrita en la literatura (Kim *et al.*, 1985). El producto crudo se recristalizó en CH_2Cl_2 y éter de petróleo, generando 576 mg de un sólido amorfo color blanco, con un punto de fusión de 76-77 $^\circ\text{C}$. IR (KBr) cm^{-1} : 1775.

3.2.6 OBTENCION DEL 8α , 13-EPOXILABDANO-14-HIDROXI-15-BENZOILOXI (60e).

Para la obtención del 8α , 13-epoxilabdano-14-hidroxi-15-benzoiloxi (60e), 7.5 mg del compuesto 60 y 5.8 mg del 1-(benzoiloxi)-benzotriazol (inciso 3.2.5) se disolvieron en 4 mL de cloruro de metileno a temperatura ambiente. Posteriormente, y en condiciones de agitación, se adicionó a la mezcla de reacción 3.6 μL de trietilamina. La mezcla se dejó reaccionar durante 18 horas y al término de este tiempo el producto de reacción fue procesado y purificado de acuerdo a la metodología previamente descrita en la literatura (Kim *et al.*, 1985). RMN¹H (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.09 (2H, m, H-2 y H-6), 7.56 (1H, m, H-4), 7.44 (2H, m, H-3 y H-5), 4.47 (1H, dd, $J=1.5$ y 11.4, H-15_A), 4.15 (1H, dd, $J=8.1$ y 11.7, H-15_B), 3.98 (1H, dt, $J=2.4$ y 5.4, H-14), 1.32 (3H, s, H-16), 1.14 (3H, s, H-17), 0.87 (3H, s, H-18) y 0.79 (6H, s, H-19 y H-20). EMAR: 428.6122.

3.2.7 OBTENCION DE LOS ESTERES DE MOSHER DEL 8 α , 13-EPOXILABDANO-14-HIDROXI-15-BENZOILOXI (60e).

A una solución de 1.5 mg del compuesto **60e** en 800 μ L de CDCl_3 se agregó piridina- d_5 (100 μ L), 4-dimetilamino-piridina (0.5 mg) y cloruro del ácido (*R*)-(-)- α -metoxi- α -trifluorometil-fenilacético (25 mg). La mezcla resultante se dejó reposar durante 30 min bajo una atmósfera de nitrógeno para obtener el éster de Mosher [(**60e**) *S*-MTPA]. Así, el tratamiento del mismo compuesto (1.5 mg) con el cloruro del ácido (*S*)-(-)- α -metoxi- α -trifluorometil-fenilacético, como se describe anteriormente, permitió la obtención del éster de Mosher [(**60e**) *R*-MTPA].

IV. RESULTADOS Y DISCUSION.

4.1 OBTENCION DE LOS METABOLITOS BIOACTIVOS DE LA ESPECIE *C. pringlei*.

La selección primaria de la especie *C. pringlei*, se realizó con base en consideraciones de tipo etnomédico y quimiotaxonómico. La primera consideración, tiene su fundamento en el hecho de que las plantas utilizadas en las prácticas médicas populares son de primordial importancia para el descubrimiento de fármacos de aplicación terapéutica (Cox y Balick, 1994; Prance, 1994). El segundo criterio considera las semejanzas del metabolismo secundario entre las especies filogenéticamente relacionadas. La especie *C. pringlei* pertenece a la familia Asteraceae la cual contiene numerosas especies ricas en principios biodinámicos.

Una vez realizado el proceso de selección primaria, se procedió a la recolección de la especie y a la preparación de un extracto en pequeña escala. Posteriormente, el extracto resultante se sometió a una serie de evaluaciones biológicas. Estas evaluaciones se efectuaron en los laboratorios participantes en el proyecto "Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America". Con base en los resultados de los ensayos biológicos se estableció que *C. pringlei* contiene principios activos de interés terapéutico y agroquímico. Los acuerdos de confidencialidad establecidos con la Universidad de Arizona, sin embargo, no permiten describir las actividades biológicas demostradas por el extracto, fracciones y compuestos puros obtenidos de *C. pringlei*. En consecuencia en el presente trabajo solo se presentarán los resultados derivados del estudio químico.

Con la finalidad de obtener los constituyentes activos a partir de la especie *Cosmos pringlei*, se realizó un estudio fitoquímico biodirigido. Este tipo de estudio ha demostrado en diversas ocasiones ser el más eficiente para la obtención de metabolitos secundarios bioactivos, tanto de interés medicinal como agroquímico (Hamburger y Hostettmann, 1991; Ghisalberti, 1993; Hostettmann y Marston, 1990; Kinghorn *et al.*, 1995; *inter alia*).

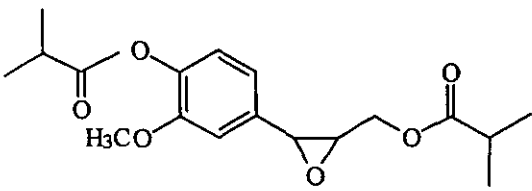
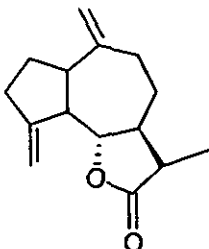
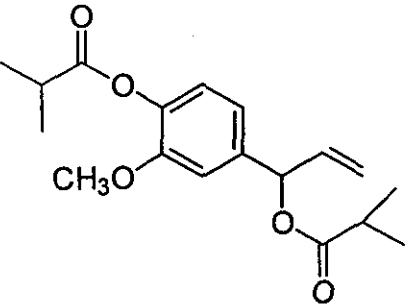
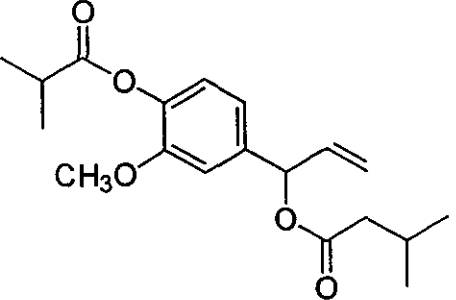
Para la preparación del extracto vegetal a gran escala, se utilizó un procedimiento de maceración con una mezcla de CH_2Cl_2 -MeOH (1:1) como disolvente. A continuación, el extracto se fraccionó mediante una cromatografía en columna abierta, usando gel de sílice como fase estacionaria. Este proceso permitió la obtención de doce fracciones primarias (Cuadro 9, sección experimental). Cada una de las fracciones resultantes se evaluó utilizando los mismos bioensayos que permitieron determinar la potencialidad plaguicida y terapéutica del extracto original. De nueva cuenta estas evaluaciones se realizaron en los laboratorios subcontratados por la Universidad de Arizona.

El aislamiento y la purificación de los compuestos presentes en las fracciones primarias activas [F₄, F₇ y F₈] se realizó mediante el empleo de las cromatografías en columna abierta y de líquidos de alta resolución. Este proceso permitió el aislamiento y la purificación de once metabolitos secundarios. De estos, cinco ya habían sido descritos con anterioridad en la especie *C. pringlei* (Cuevas Garibay, 1998). Los compuestos aislados incluyeron:

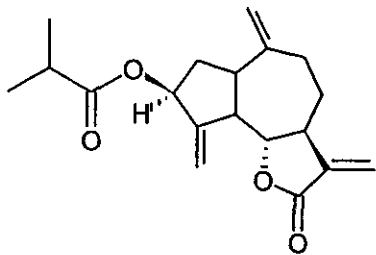
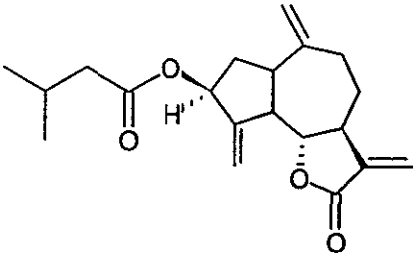
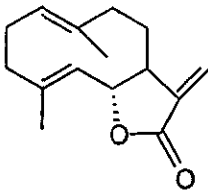
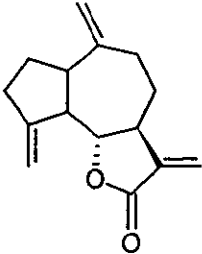
- a) Tres fenilpropanoides: el 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17), el 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69) y el 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).
- b) Cuatro lactonas sesquiterpénicas de tipo guayanólida: la deshidrocostuslactona (38), la 11 β -dihidrodeshidrocostuslactona (68), la 3 β -isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71) y la 3 β -isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72).
- c) Tres lactonas sesquiterpénicas de tipo germacranólida: la costunólida (20), la 15-isovaleriloxi-costunólida (39) y la 15-isobutiriloxi-costunólida (40).
- d) Por último, un esteroide de tipo pregnano, el 3 β -hidroxi-5 α -pregn-16-en-20-ona (41).

En el Cuadro 12 se ilustran las estructuras de los compuestos aislados de *Cosmos pringlei* en el presente estudio.

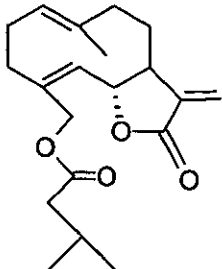
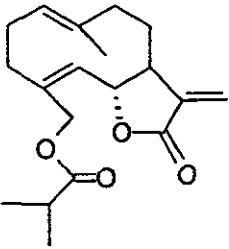
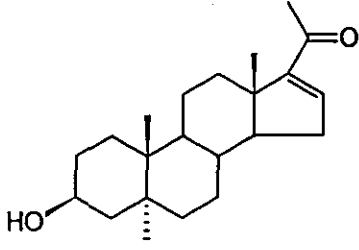
Cuadro 12. Metabolitos secundarios aislados de la especie *Cosmos pringlei*.

ESTRUCTURA	COMPUESTO
	1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17)
	11β-dihidrodeshidrocostuslactona (68)
	1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69)
	1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70)

Cuadro 12. Metabolitos secundarios aislados de la especie *Cosmos pringlei* (continuación).

ESTRUCTURA	COMPUESTO
	3β-isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71)
	3β-isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72)
	costunólida (20)
	deshidrocostuslactona (38)

Cuadro 12. Metabolitos secundarios aislados de la especie *Cosmos pringlei* (continuación).

ESTRUCTURA	COMPUESTO
	15-isovaleriloxi-costunólida (39)
	15-isobutiriloxi-costunólida (40)
	3β-hidroxi-5α-pregn-16-en-20-ona (41)

La elucidación estructural de los compuestos obtenidos se llevó a cabo mediante la aplicación de métodos espectroscópicos y espectrométricos. Todos los espectros que se analizan en la siguiente sección se incluyen en el Anexo 1 en forma consecutiva.

4.1.1 Caracterización de los fenilpropanoides aislados de la especie *Cosmos pringlei*.

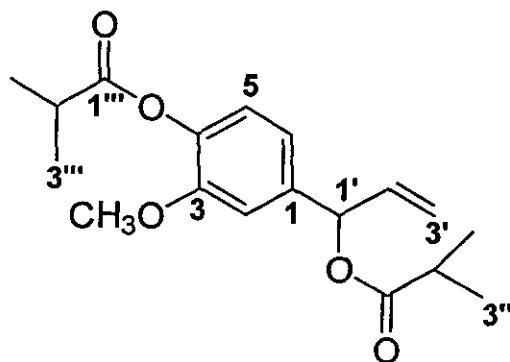
Los tres fenilpropanoides aislados en el presente estudio presentan el anillo bencénico sustituido en las posiciones C-3 y C-4. En todos los casos el sustituyente de la posición C-3 es un grupo metoxilo y el de la posición C-4 un residuo isobutiriloxi. La diferencia entre los tres compuestos radica en la porción estructural correspondiente a la cadena propanoide. En los compuestos **69** y **70** esta cadena es de naturaleza vinílica y presenta un residuo isobutiriloxi o isovaleriloxi en C-1'. El compuesto **17**, en cambio, presenta una cadena C₃ con una función epóxido entre C-1' y C-2' y un residuo isobutiriloxi en C-3'. De estos productos el 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (**70**) constituye un nuevo producto natural.

La elucidación estructural de los tres fenilpropanoides se realizó mediante la aplicación de técnicas espectroscópicas y espectrométricas. Así, los espectros de IR permitieron detectar los principales grupos funcionales presentes en las moléculas y en todos los casos, se observaron bandas asociadas con la presencia de grupos carbonilos de funciones éster (~1762-1737 cm⁻¹) derivadas de hidroxilos tanto fenólicos como carbinólicos (Espectros 1, 9 y 18).

Los espectros de masas generados por la técnica de impacto electrónico (EMIE) de los compuestos **69**, **70** y **17** (Espectros 2, 10 y 19) presentan iones moleculares en una relación de masa carga (m/z) de 320, 334 y 336 uma, respectivamente. Estos iones moleculares corresponden a las fórmulas moleculares C₁₈H₂₄O₅, C₁₉H₂₆O₅ y C₁₈H₂₄O₆, respectivamente.

Los espectros de RMN (Cuadros 16 y 17; Espectros 3-8, 11-17 y 20-23) de los tres productos presentan el perfil típico de un fenilpropanoide (Bohlmann *et al.*, 1983, 1985; Bottini *et al.*, 1986; Fuzzati *et al.*, 1995; Sy y Brown, 1998; Macías *et al.*, 1994; Marston y Hostettmann, 1995; Metwally *et al.*, 1985; Muckensturm *et al.*, 1997; Pérez *et al.*, 1995; Pistelly *et al.*, 1995; Sugimoto *et al.*, 1995 ; *inter alia*). Las características más importantes de los espectros se resumen a continuación:

Cuadro 13. Constantes espectroscópicas y espectrométricas del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).



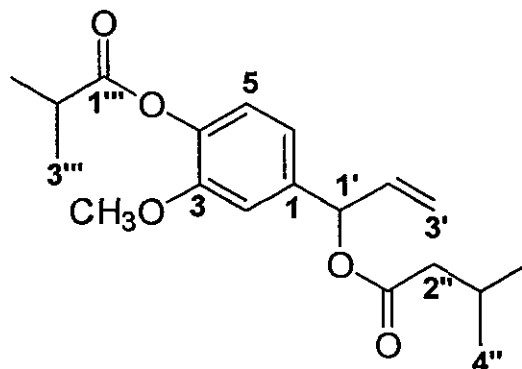
1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69)

Fórmula molecular: $C_{18}H_{24}O_5$

IR $\nu_{\text{máx}}$ KBr, (cm^{-1}): 3402, 2975, 2919, 2850, 1762, 1737, 1606, 1510, 1466, 1268, 1187, 1153, 1125, 1094, 1037 y 987. (Espectro 1).

EMIE m/z (int. rel.): 320 [M^+ (8.9)], 250 (56.9), 181 (13.0), 180 (100), 162 (73.2), 147 (5.7), 131 (29.3), 119 (7.3), 103 (8.9), 91 (5.7), 71 (27.6), 55 (5.7), 43 (64.2) y 41 (6.5). (Espectro 2).

Cuadro 14. Constantes espectroscópicas y espectrométricas del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).



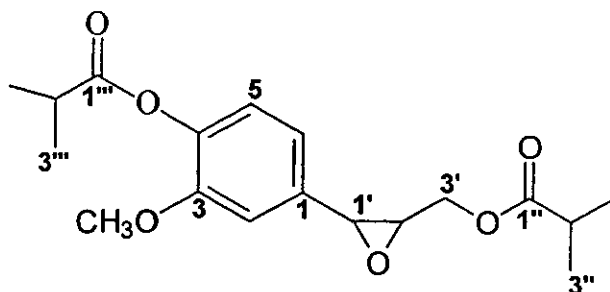
1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70)

Fórmula molecular: C₁₉ H₂₆ O₅

IR $\nu_{\text{máx}}$ KBr, (cm⁻¹): 3402, 2975, 2919, 1762, 1737, 1606, 1510, 1466, 1268, 1187, 1153, 1094, 1047 y 987. (Espectro 9).

EMIE m/z (int. rel.): 334 [M⁺ (9.3)], 313 (5.0), 264 (63.5), 250 (3.4), 180 (100), 162 (89.8), 147 (12.7), 131 (50.0), 119 (14.4), 103 (18.6), 85 (11.0), 71 (19.5), 55 (16.1), 43 (38.1) y 41 (10.2). (Espectro 10).

Cuadro 15. Constantes espectroscópicas y espectrométricas del 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17).



1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17)

Fórmula molecular: C₁₈ H₂₄ O₆

IR $\nu_{\text{máx}}$ KBr, (cm⁻¹): 3472, 2973, 2936, 2876, 1760, 1736, 1605, 1509, 1468, 1416, 1387, 1348, 1268, 1189, 1155, 1124, 1095, 1035, 1047, 914, 864, 750 y 543. (Espectro 18).

EMIE m/z (int. rel.): 336 [M⁺ (3.1)], 293 (3.1), 284 (3.1), 266 (20.3), 245 (6.2), 223 (34.4), 179 (100), 153 (89.0), 151 (20.3), 137 (17.2), 119 (6.2), 93 (9.4), 84 (7.8), 71 (7.7), 57 (7.7), 43 (64.0) y 41 (9.4). (Espectro 19).

Cuadro 16. Datos espectroscópicos observados en los espectros de RMN¹H de los fenilpropanoides 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69), 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70) y 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17) (Espectros 3, 11 y 20. Anexo I).[▲]

Protón	69	70	17
δ_H			
2	6.93 d (1.5)	6.93 d (2.0)	6.93 s
5	6.99 d (8.5)	6.99 d (8.5)	6.99 d (8.1)
6	6.93 ddd (2.0, 8.5)	6.93 ddd (8.0, 8.5)	6.91 dd (0.6, 9.0)
1'	6.24 d (5.5)	6.27 dt (1.5, 6.0)	4.14 d (4.5)
2'	5.98 qd (6.0, 10.5, 17.0)	5.98 qd (6.0, 10.5, 17.0)	3.45 td (4.5, 6.9)
3' _B	5.30 dt (1.5, 17.0)	5.30 dt (1.05, 17.0)	4.07 dd (4.2, 12.6)
3' _A	5.24 dt (1.5, 10.5)	5.25 dt (1.0, 10.5)	3.85 dd (7.2, 12.3)
2''	2.61 h (7.0)	2.25 d (7.0)	2.57 h (6.9)
3'' _B	1.20 d (7.0)	2.12 h (7.0)	1.16 d (6.9)
3'' _A	1.18 d (7.0)		
4'' _B		0.95 d (7.0)	
4'' _A		0.94 d (7.0)	
2'''	2.83 h (7.0)	2.83 h (7.0)	2.83 h (7.2)
3'''	1.31 d (7.0)	1.31 d (7.0)	1.32 d (7.2)
OCH ₃	3.81 s	3.81 s	3.82 s

[▲] Los valores de desplazamiento químico se expresan en ppm. El estándar interno es TMS. Las constantes de acoplamiento se expresan en Hertz y se encuentran en parentésis.

Cuadro 17. Datos espectroscópicos observados en los espectros de RMN¹³C de los fenilpropanoides 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69), 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70) y 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17) (Espectros 5, 14 y 22. Anexo I).[▲]

Número de carbono	69	70	17
δ_C			
1	137.76	137.67	132.93
2	111.33	111.50	111.39
3	151.18	151.19	151.20
4	139.75	139.83	132.93
5	122.74	122.72	122.80
6	119.41	119.56	118.55
1'	75.31	75.40	56.25
2'	136.24	136.20	56.11
3'	116.86	116.99	62.11
1''	175.86	171.97	176.80
2''	34.16	43.62	33.90
3''	18.99	25.77	18.85
4''		22.39	
1'''	175.19	175.16	175.09
2'''	33.96	33.96	34.00
3'''	18.89	18.98	19.00
OCH ₃	55.90	55.92	56.02

[▲] Los valores de desplazamiento químico se expresan en ppm. El estándar interno es TMS.

- a) En δ_H 6.99 (d, $J=8.5$ Hz, H-5) y 6.93 (d, $J=2.0$ Hz, H-2; ddd, $J=0.5, 8.5$ Hz, H-6) se observan dos multipletes asignables a los protones del anillo aromático del núcleo base (ver Cuadro 16). En el espectro de RMN¹³C las señales para el anillo aromático aparecen en δ_C ~137 (C-1), ~111 (C-2), ~151 (C-3), ~139 (C-4), ~122 (C-5) y ~119 (C-6). El conjunto de señales recién descrito sugiere la presencia de un anillo aromático trisustituido. Así mismo, el desplazamiento químico de las señales en δ_C ~139 y ~151, indica que dos de los sustituyentes del anillo aromático son oxigenados.
- b) En δ_H 3.81 se aprecia un singulete correspondiente a un grupo metoxilo unido a un anillo aromático. Esta señal correlaciona en el espectro HMQC con la absorción en δ_C ~55.90 (Espectros 7 y 16).
- c) En todos los casos se aprecian también señales asociadas con la presencia de los residuos derivados del ácido isobutírico. En el caso del producto **70** se observaron también señales para un grupo isovaleriloxi. Las señales del residuo derivado del ácido isobutírico que se encuentra esterificando el grupo fenólico de los tres compuestos aparecen en δ_H 1.32 (d, $J=7.0$ Hz) y 2.83 (h, $J=7.0$ Hz) en los espectros de RMN¹H y en δ_C 18.89, 33.96 y ~175 en los espectros de RMN¹³C (Espectros 3, 5, 11, 14, 20 y 22). Las absorciones del residuo isobutírico que esterifica la función carbinólica presente en la cadena lateral de los compuestos **69** y **17** aparecen en δ_H ~1.20 (d, $J=7.0$ Hz) y ~2.6 (h, $J=7.0$ Hz) en los espectros de RMN¹H y en δ_C ~19, ~34 y ~176 en los espectros de RMN¹³C (Espectros 3, 5, 20 y 22). Por último, las señales del residuo isovalérico que esterifica la función carbinólica presente en la cadena lateral del compuesto **70** aparecen en δ_H 0.94 (d, $J=7.0$ Hz), 0.95 (d, $J=7.0$ Hz), 2.12 (h, $J=7.0$ Hz) y 2.25 (d, $J=7.0$ Hz) en el espectro de RMN¹H y en δ_C 22.39, 25.77, 43.62 y 171.97 en el espectro de RMN¹³C (Espectros 11 y 14).
- d) Finalmente, los espectros contienen señales diagnósticas para la cadena propanoide del núcleo base. En el caso de los productos **69** y **70** se observa un sistema ABCX; la parte ABC corresponde a los hidrógenos de una doble ligadura terminal y las absorciones correspondientes aparecen en δ_H 5.25 (dt, $J=1.0$ y 10.5 Hz), 5.30 (dt, $J=1.0$ y 17.0 Hz) y 5.98 (qd, $J=6.0, 10.5$ y 17.0 Hz) en los espectros de RMN¹H y en δ_C ~116 y ~136 en los

espectros de RMN¹³C (Espectros 3, 5, 11 y 14). La parte X del sistema se asigna al metino geminal a la función éster (isobutirato en el caso del producto **69** e isovalerato en el caso del producto **70**) presente en C-1' de la cadena lateral. La señal correspondiente se observa como un doblete ($J=1.5$ y 6.0 Hz) en δ_H 6.27 en los espectros de RMN¹H y en δ_C ~75 en los espectros de RMN¹³C.

En el caso del producto **17**, en lugar de las señales para la doble ligadura terminal se observan absorciones atribuibles a una función epoxídica [δ_H 4.15 y 3.45/ δ_C 56.11 y 56.25] ubicada entre C-1' y C-2' (Cuadros 16 y 17). Asimismo, el espectro de RMN¹H de este producto presentó un sistema AB asignable a los hidrógenos del metileno que se encuentra unido al segundo residuo isobutiriloxi presente en este compuesto.

El patrón de sustitución del anillo aromático y la ubicación de los sustituyentes, tanto en la cadena lateral como en el anillo bencénico, se confirmó con base en las correlaciones observadas en los espectros HMBC y NOESY de los tres compuestos. A manera de ejemplo, en el caso del producto novedoso **70** las correlaciones H-6, H-2/C-1' y H-2/C-3 en el espectro HMBC (Figura 9) y H-2/OMe y H-6, H-2/H-1' en el espectro RMN¹H-NOESY (Figura 10) permitieron establecer que el OMe y la cadena propanoide guardan una relación *meta*. Por otro lado, las correlaciones H-2, H-6/C-4, H-5/C-1 y H-5/C-3 observadas en el espectro HMBC (Figura 9) indican que los sustituyentes oxigenados se encuentran en disposición *orto*. En consecuencia el anillo aromático es 1, 3, 4 trisustituido. El residuo isovaleriloxi se ubicó en C-1' debido a las correlaciones H-1'/C-1'' y H-2''/C-1'' observadas en el espectro HMBC (Figura 11).

Con base en las evidencias presentadas el nuevo producto natural se caracterizó como el 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (**70**). Los productos **69** y **17** se caracterizaron como 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno y 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno, respectivamente. Estos dos fenilpropanoides se aislaron previamente de la especie relacionada *C. caudatus* y las constantes espectroscópicas y espectrométricas se encontraban en perfecta armonía con las descritas en la literatura (Fuzzati *et al.*, 1995).

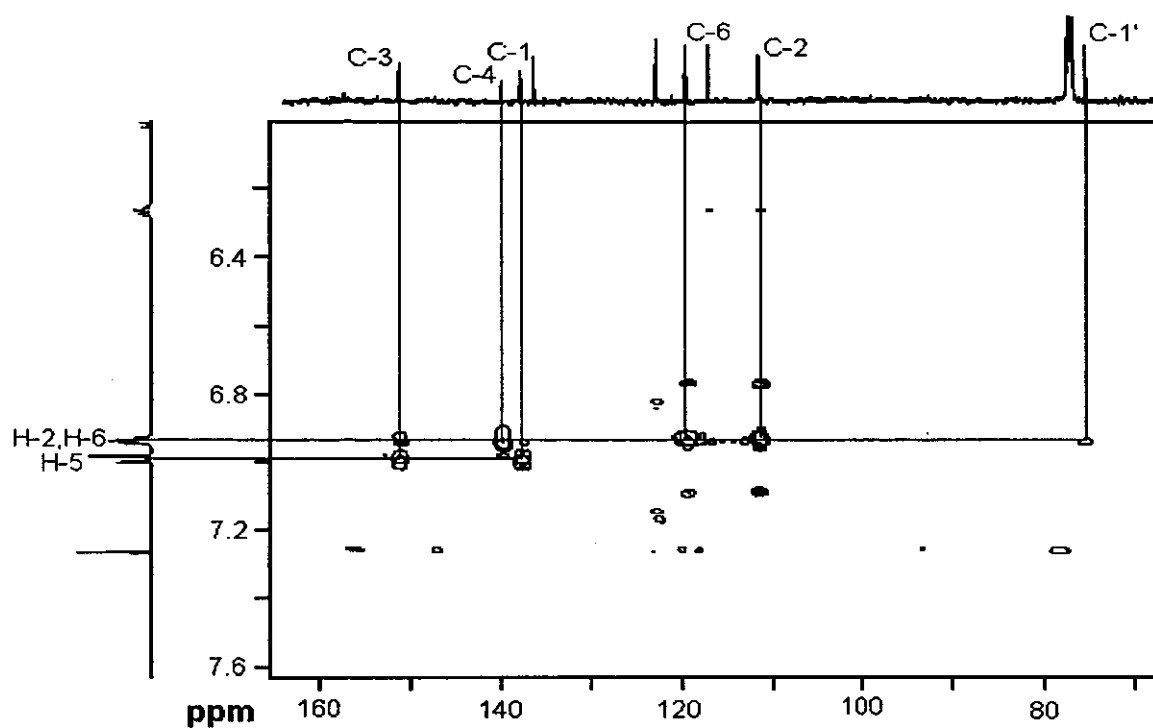
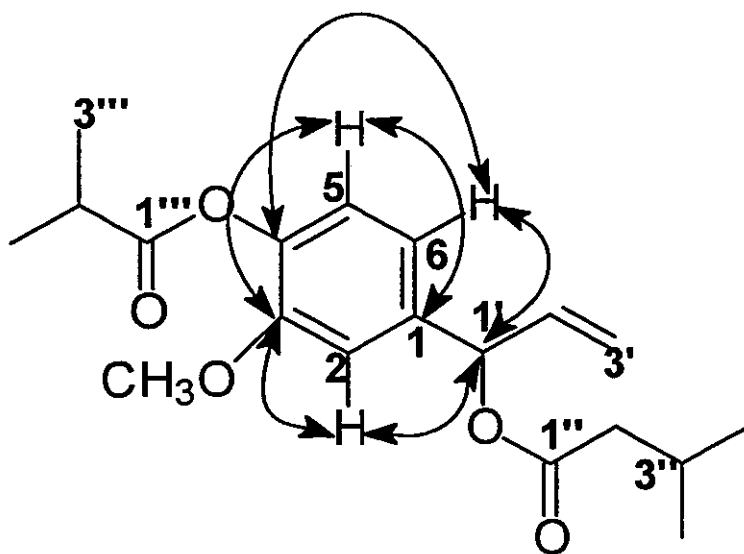


Figura 9. Vista parcial del espectro HMBC del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70), mostrando las correlaciones señaladas en la estructura.



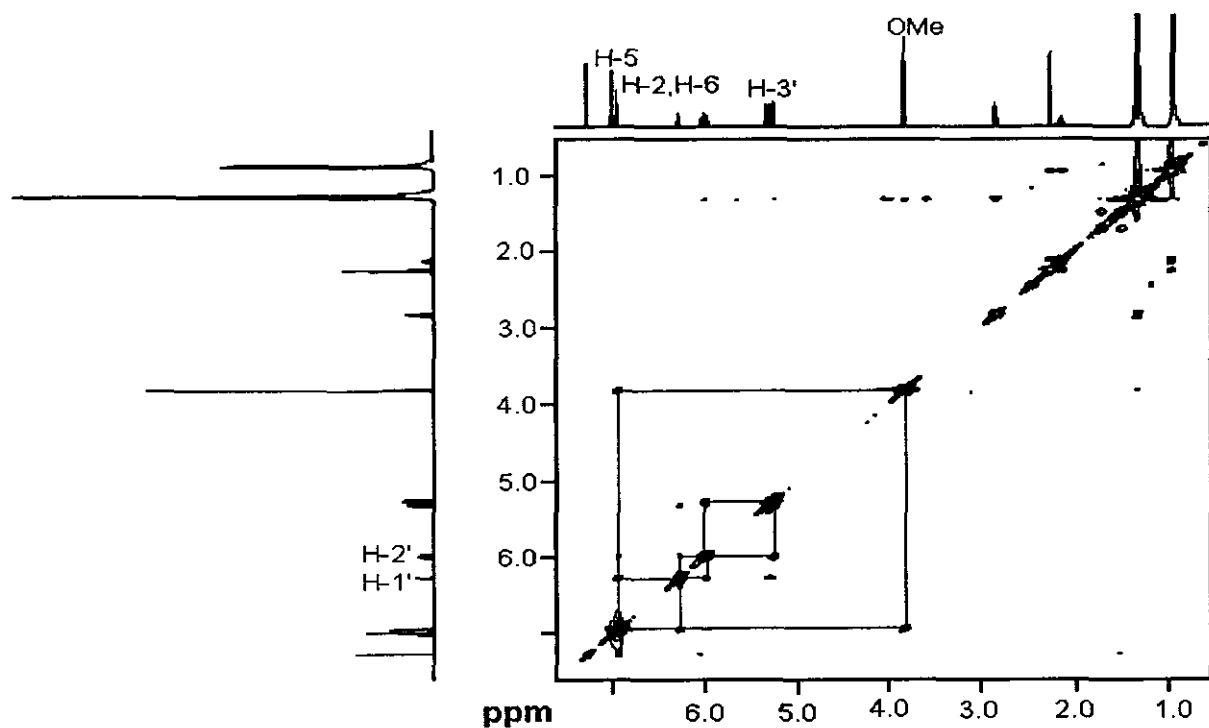
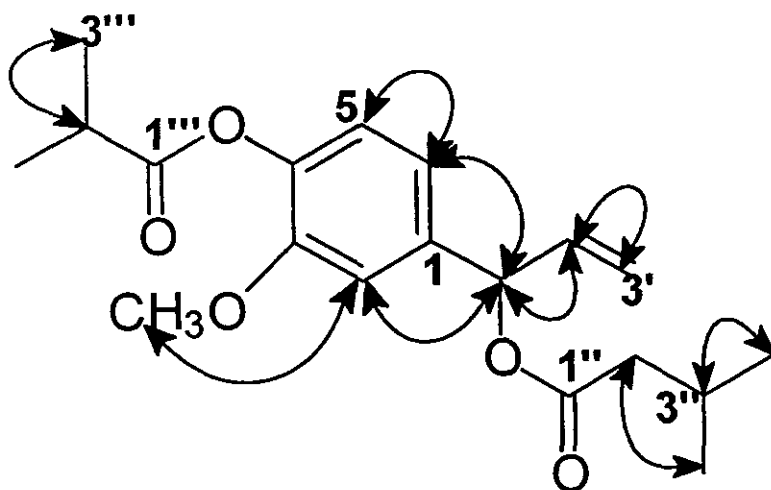


Figura 10. Espectro de RMN¹H NOESY (δ 1.0-7.0) del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70), mostrando las correlaciones señaladas en la estructura.



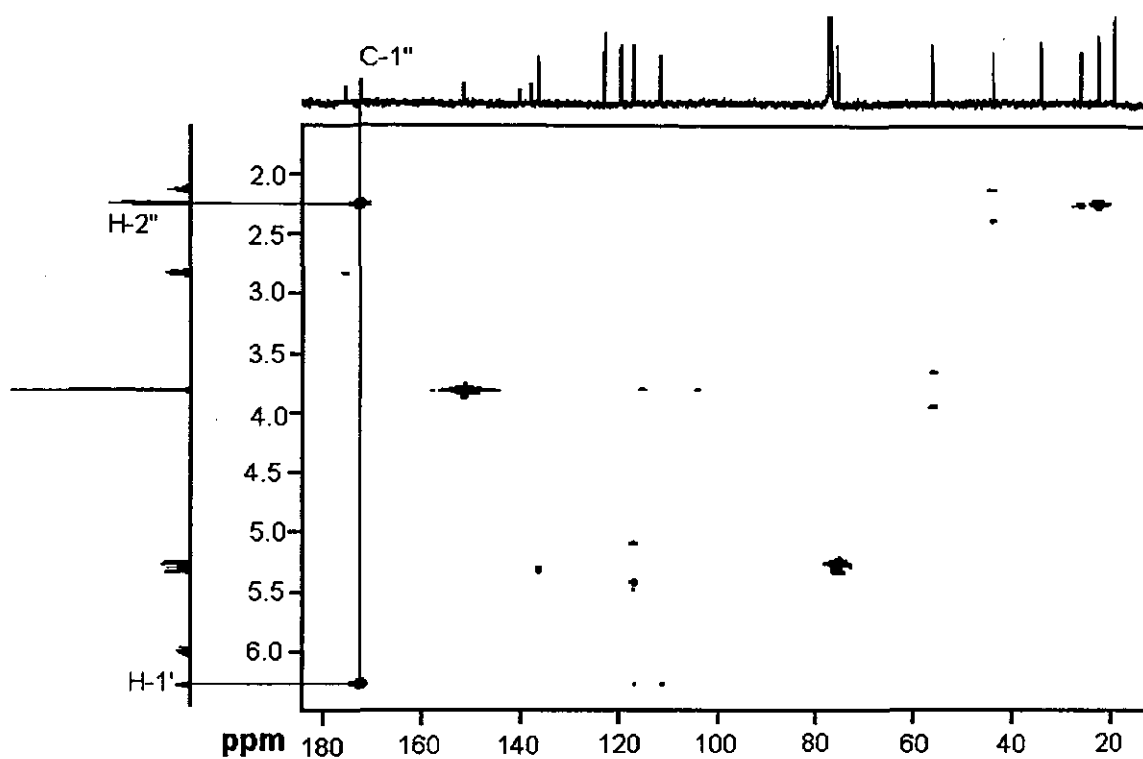
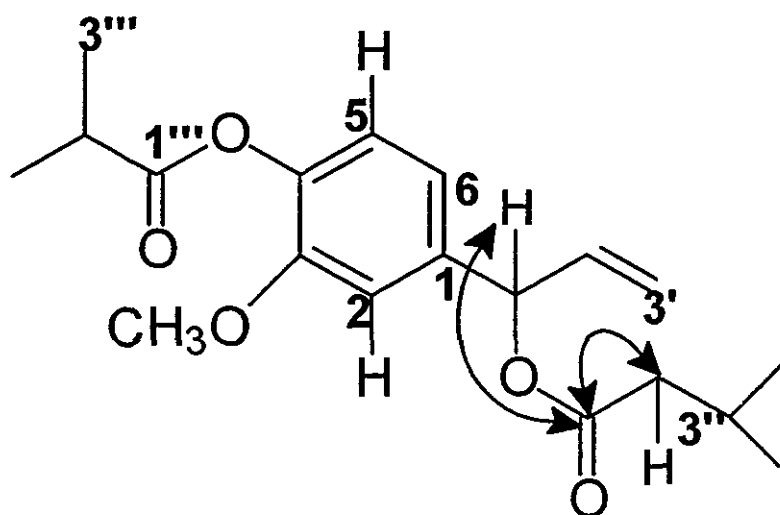


Figura 11. Vista parcial del espectro de HMBC del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70), mostrando las correlaciones señaladas en la estructura.



4.1.2 Caracterización de las lactonas sesquiterpénicas 11 β -dihidrodeshidrocostuslactona (68), 3 β -isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71) y 3 β -isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72).

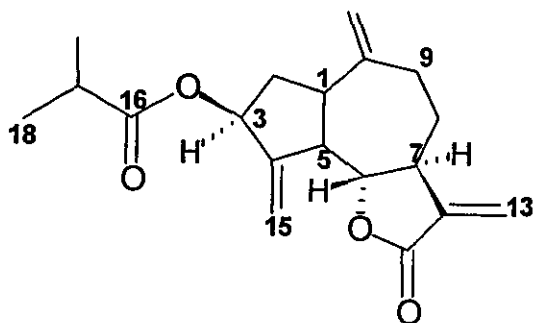
De las siete lactonas sesquiterpénicas obtenidas en la presente investigación, los compuestos 20 y 38-40 se aislaron e identificaron en un estudio realizado recientemente en nuestro laboratorio (Cuevas Garibay, 1998). En consecuencia en la presente sección se discutirá solo la elucidación estructural de las guayanólidas 68, 71 y 72.

Los productos 71 y 72 representan productos naturales novedosos y se aislaron como aceites incoloros. Los espectros en el IR de los dos compuestos presentan como característica relevante bandas asociadas con la presencia de los grupos carbonilo de la γ -lactona- α , β -insaturada y de una función éster (~ 1767 - 1732 cm^{-1}). La fórmula molecular de cada uno de los compuestos se determinó por EMIE como $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_4$ y $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_4$, respectivamente.

Los espectros de RMN (Cuadros 21 y 22; Espectros 26-28 y 31-33) de los dos productos resultaron muy similares a los de la deshidrocostuslactona (38) y en todos los casos permitieron evidenciar la presencia de las dos dobles ligaduras exocíclicas en C-14 y C-15 y la correspondiente a la γ -lactona- α , β -insaturada, *trans* fusionada entre C-6/C-7 del núcleo base.

Las principales diferencias observadas entre los espectros de RMN de la deshidrocostuslactona (38) y los productos 71 y 72, consisten en la presencia en estos últimos de un grupo de señales atribuibles a un grupo isobutiriloxi e isovaleriloxi, respectivamente. De tal forma que en lugar de la señal asignable al metileno C-3 de la deshidrocostuslactona (38), los espectros de 71 y 72 presentaron un multiplete en δ_{H} 5.58 y una señal en δ_{C} ~ 74 , asignables al hidrógeno geminal de una función éster. El desplazamiento químico de esta señal sugiere la naturaleza aliflica del hidrógeno. En los espectros de RMN del producto 71 se observan además las señales correspondientes a un grupo isobutirilo en δ_{H} 2.59 (h, $J=6.9$ Hz), 1.20 (d, $J=6.5$ Hz) y 1.19 (d, $J=6.5$ Hz) y en δ_{C} 18.19, 18.93, 34.09 y 176.79 (Espectros 26-28).

Cuadro 18. Constantes espectroscópicas y espectrométricas de la 3 β -isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71).



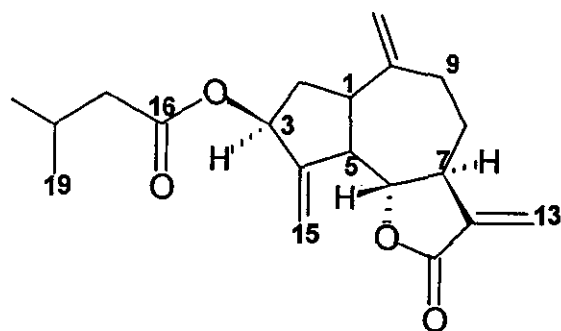
3 β -isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71)

Fórmula molecular: C₁₉ H₂₄ O₄

IR $\nu_{\text{máx}}$ KBr, (cm⁻¹): 2926, 2868, 1767, 1732, 1662, 1462, 1293, 1255, 1188, 1152 y 549. (Espectro 24).

EMIE m/z (int. rel.): 316 [M⁺ (1.5)], 273 (4.5), 245 (100.0), 228 (37.9), 199 (24.2), 183 (13.6), 171 (12.1), 157 (13.6), 143 (13.6), 129 (16.6), 105 (16.6), 91 (27.3), 71 (87.9), 53 (12.1), 43 (60.6) y 41 (89.1). (Espectro 25).

Cuadro 19. Constantes espectroscópicas y espectrométricas de la 3 β -isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72).



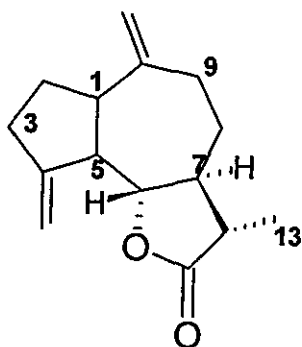
3 β -isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72)

Fórmula molecular: C₂₀ H₂₆ O₄

IR $\nu_{\text{máx}}$ KBr, (cm⁻¹): 2926, 2868, 1767, 1732, 1662, 1462, 1293, 1255, 1188 y 1152. (Espectro 29).

EMIE m/z (int. rel.): 330 [M⁺ (1.5)], 273 (1.5), 245 (100.0), 228 (33.3), 199 (19.7), 183 (10.6), 171 (9.1), 157 (10.6), 143 (10.6), 129 (13.6), 105 (13.6), 91 (21.3), 85 (84.8), 79 (10.6), 53 (9.1), 57 (59.1) y 41 (9.1). (Espectro 30).

Cuadro 20. Constantes espectroscópicas y espectrométricas de la 11 β -dihidrodeshidrocostuslactona (68).



11 β -dihidrodeshidrocostuslactona (68)

Fórmula molecular: C₁₅ H₂₀ O₂

IR $\nu_{\text{máx}}$ KBr, (cm⁻¹): 3433, 3251, 3080, 2930, 2872, 1770, 1639, 1452, 1407, 1313, 1209, 1122, 1010, 1176, 989, 895, 549 y 498 (Espectro 34).

EMIE m/z (int. rel.): 232 [M⁺ (21.9)], 189 (22.6), 180 (38.1), 158 (100.0), 147 (36.2), 131 (41.5), 119 (37.7), 105 (54.3), 91 (66.0), 79 (52.8), 55 (44.3) y 49 (36.8). (Espectro 35).

Cuadro 21. Datos espectroscópicos observados en los espectros de RMN¹H de las lactonas sesquiterpénicas deshidrocostuslactona (38), 11β-dihidrodesidrocostuslactona (68), 3β-isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71) y 3β-isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72) (Espectros 26, 31 y 36. Anexo I).[▲]

Protón	38	68	71	72
δ_H				
1	2.89 m	2.84 m	2.94 m	2.94 m
2	1.90 m	1.95 m	1.80 m	1.80 m
3	2.49 m	2.50 m	5.58 m	5.58 m
5	2.89 m	2.84 m	2.87 m	2.87 m
6	3.93 t (9.15)	3.92 t (9.4)	4.07 t (9.6)	4.07 t (9.6)
7	2.89 m	1.90 m	2.87 m	2.87 m
8a	2.20 m	2.17 m	2.17 m	2.17 m
8b	1.34 m			
9	2.49 m	2.50 m	2.48 m	2.48 m
9'	2.20 m	2.17 m		
11		2.22 m		
13a	6.17 d (3.6)	1.23 d (7.2)	6.23 d (3.2)	6.23 d (3.2)
13b	5.50 d (3.0)		5.51 d (3.2)	5.51 d (3.2)
14	4.89 d (0.6)	4.88 sa	4.97 sa	4.97 sa
14'	4.79 d (0.6)	4.77 sa	4.95 sa	4.95 sa
15	5.24 dd (0.9, 2.1)	5.17 d (2.4)	5.47 m	5.47 m
15'	5.04 dd (0.9, 2.1)	5.03 d (1.5)	5.28 dt (2.0, 4.2)	5.28 dt (2.0, 4.2)
17			2.59 h (6.9)	2.24 m
18			1.20 d (6.5)	2.17 m
18'			1.19 d (6.5)	
19				0.97 d (6.6)

[▲] Los valores de desplazamiento químico se expresan en ppm. El estándar interno es TMS. Las constantes de acoplamiento se expresan en Hertz y se encuentran en parentésis.

Cuadro 22. Datos espectroscópicos observados en los espectros de RMN¹³C de las lactonas sesquiterpénicas deshidrocostuslactona (38), 11β-dihidrodesidrocostuslactona (68), 3β-isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71) y 3β-isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72) (Espectros 28, 33 y 37. Anexo I).[♦]

Número de carbono	38	68	71	72
δ_c				
1	44.7	46.39	44.58	44.63
2	29.9	29.49	34.59	34.81
3	32.2	31.87	74.27	74.34
4	151.0	149.28	147.81	148.20
5	51.6	51.33	50.27	50.27
6	84.8	84.61	83.89	83.99
7	47.1	49.18	45.19	45.21
8	30.5	31.81	30.65	30.73
9	35.9	36.97	36.57	36.61
10	139.5	149.28	147.89	148.26
11	148.9	41.38	139.50	139.52
12	169.7	169.7	170.00	170.00
13	119.7	12.60	120.38	120.38
14	112.1	111.20	114.35	114.26
15	109.0	108.34	113.43	113.26
16			176.79	172.86
17			34.09	43.61
18			18.19	25.77
18'			18.93	
19				22.39
19'				22.41

[♦] Los valores de desplazamiento químico se expresan en ppm. El estándar interno es TMS.

Por otro lado, en los espectros del producto **72** se apreciaron también las señales correspondientes al grupo isovalerilo en δ_H 2.24 (m), 2.17 (m) y 0.97 (d, $J=6.6$ Hz) y en δ_C 22.39, 22.41, 25.77, 43.61 y 172.86 (Espectros 31-33).

Considerando que el protón geminal de la función éster es de naturaleza alílica, los residuos isobutiriloxi e isovaleriloxi de los compuestos **71** y **72**, respectivamente, se podrían ubicar en principio en las posiciones C-3 ó C-9. Los experimentos de tipo COSY y HMBC permitieron discriminar entre estas dos alternativas.

Así los cuadros de conectividad observados para los protones H-6, H-13, H-7 y H-1 observados en el espectro COSY permitieron confirmar que los residuos isobutiriloxi o isovaleriloxi se encontraban en la posición C-3 del núcleo base (Figura 12). Por último, la configuración β de los residuos isobutiriloxi o isovaleriloxi en C-3 se estableció con base en experimentos de NOE diferencial y por comparación con una serie de modelos descritos en la literatura. Así, en los dos casos la irradiación del multiplete correspondiente a H-5 y H-7 ocasionó la exaltación de H-3, lo cual es congruente con una disposición α de H-3 y en consecuencia con una estereoquímica β de los residuos isovaleriloxi e isobutiriloxi. A manera de ejemplo en la Figura 13 se ilustra el experimento de doble resonancia con el compuesto **71**.

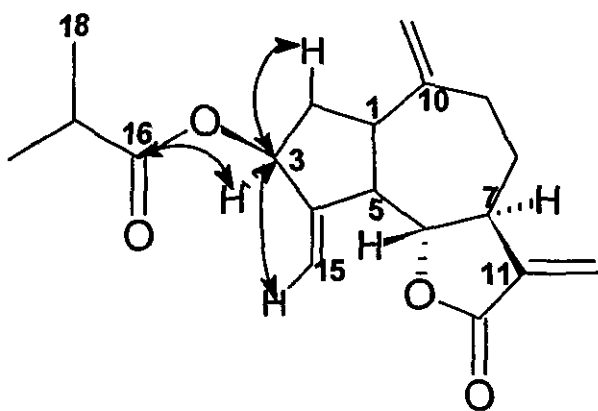


Figura 12. Correlaciones más importantes observadas en los espectros COSY y HMBC de los compuestos 3 β -isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (**71**) y 3 β -isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (**72**).

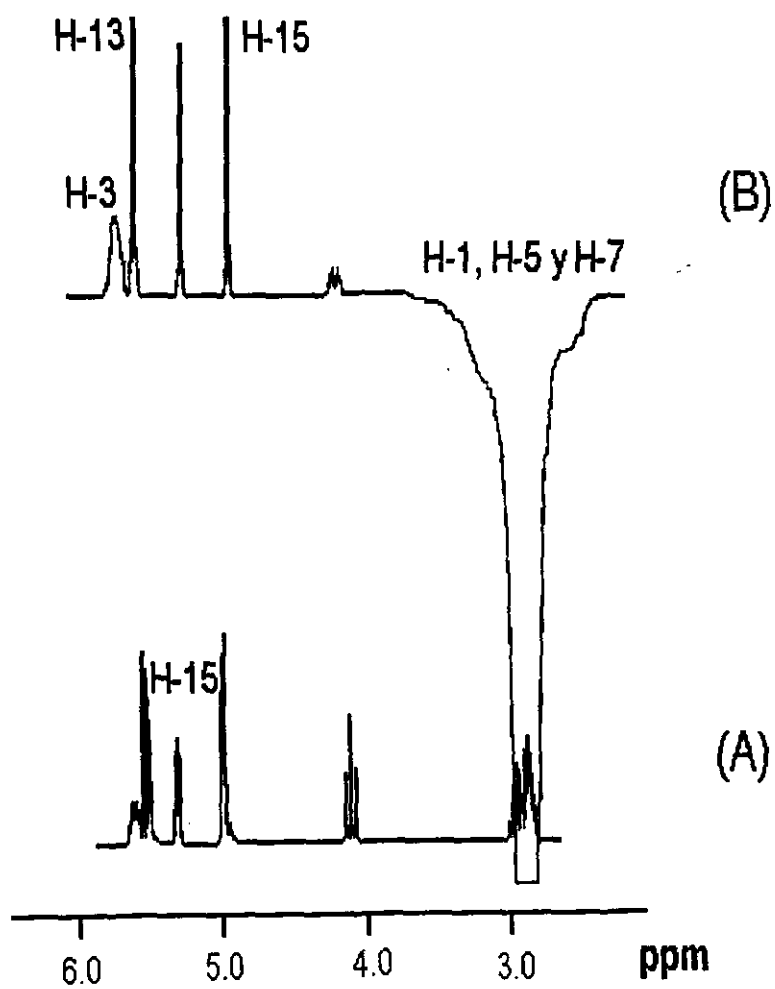


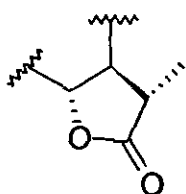
Figura 13. Experimento de NOE diferencial con el compuesto 71. (A) normal. (B) irradiación de H-1, H-5 y H-7 en el compuesto 71.

Los espectros de RMN de la 11 β -dihidrodeshidrocostuslactona (**68**) difieren de la deshidrocostuslactona (**38**) en la ausencia del sistema AB correspondiente a los hidrógenos H-13 y H-13' (Cuadros 21 y 22) y de las señales de los carbonos vinílicos asignables a C-11 y C-13. En su lugar los espectros presentaron las señales para un metilo en δ_H/δ_C 1.23 (d, H-13)/12.6 y para un metino en δ_H/δ_C 2.22(m, H-11)/41.38.

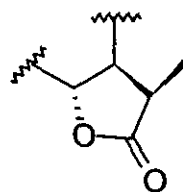
La disposición β del metilo en C-11 se estableció mediante el análisis comparativo de los desplazamientos químicos observados en los espectros de RMN¹H de **68** para la señal del metilo H-13 y del metino H-11, con los de una serie de modelos descritos en la literatura (Ando *et al.*, 1989; Bohlmann y Chen, 1982; Fernández *et al.*, 1989; Ito *et al.*, 1984; *inter alia*). Los modelos seleccionados se indican en el Cuadro 23. De tal forma que los desplazamientos químicos de los espectros son prácticamente idénticos a los de los compuestos **73-75**, los cuales presentan el metilo β orientado en C-11.

Con base en esta evidencia el producto **68** se identificó como la 11 β -dihidrodeshidrocostuslactona o mokolactona, aislada previamente de varias especies de *Brachylaena* y otras compuestas (Bohlmann y Zdero, 1982).

Cuadro 23. Desplazamientos químicos de RMN¹H de los protones H-11 y H-13.



11β



11α

Tipo de lactona sesquiterpénica	¹ H (δ en ppm)	
	H-11	H-13
11β-13-dihidrozaluzanina C (73)	2.23	1.22
11β-13-dihidrozaluzanina C, acetato (74)	2.23	1.22
11β-13-dihidotubiferina (75)	2.28	1.21
11α-13-dihidrozaluzanina C (76)	2.78	1.17
11α-13-dihidrozaluzanina C, acetato (77)	2.70	1.16
11β-13-dihidrodeshidrocostuslactona (68)	2.22	1.23

4.2 DETERMINACION DE LA CONFIGURACION ABSOLUTA DEL 8 α , 13-EPOXILABDANO-14S, 15 DIOL (60).

Como se indicó en la sección de antecedentes (inciso 2.4) el metabolito 8 α , 13-epoxilabdano-14S, 15 diol (60), C₂₀H₃₆O₃, constituye uno de los principios fitotóxicos mayoritarios de la especie medicinal *Xanthocephalum gymnospermoides* var *eradiatum*, sin embargo, a la fecha no se ha establecido la configuración absoluta de los centros quirales presentes en la molécula (Rivero Cruz y Trejo Miranda, 1996). En el estudio que precede al presente trabajo se propuso, con base en las evidencias espectroscópicas y el valor positivo de la rotación óptica, que el producto 60 era el enantiómero del barbatol (78), diterpeno aislado de la especie *Sideritis arborescens* Salzm. En el caso del barbatol (78) el esqueleto de tipo *ent* labdano se determinó mediante su correlación química con el compuesto *ent* 8 β ,13-epoxi-14-labdano (79). La correlación química (Figura 14) consistió en el tratamiento del compuesto 79 con una solución de tetraóxido de osmio en Et₂O:dioxano (1:1). Esta reacción generó dos compuestos epiméricos en C-14 los cuales fueron separados por métodos cromatográficos. El compuesto de menor polaridad obtenido en un rendimiento del 11% y su derivado diacetilado resultaron idénticos en todas sus propiedades [pf, IR, RMN¹H, [α]₂₀^D] al producto natural barbatol (78) y su diacetato, respectivamente (Rodríguez y Valverde, 1973; Von Carstenn-Lichterfelde *et al.*, 1975).

Por otro lado la aplicación del Método de Horeau en el derivado semisintético 82, obtenido según la secuencia de reacciones indicada en la Figura 15, permitió establecer que la configuración absoluta en el centro quiral C-14 del producto 82 era *S*. En consecuencia, el barbatol (78) epímero en este centro quiral del compuesto 78a debía presentar una configuración *R* en dicho centro.

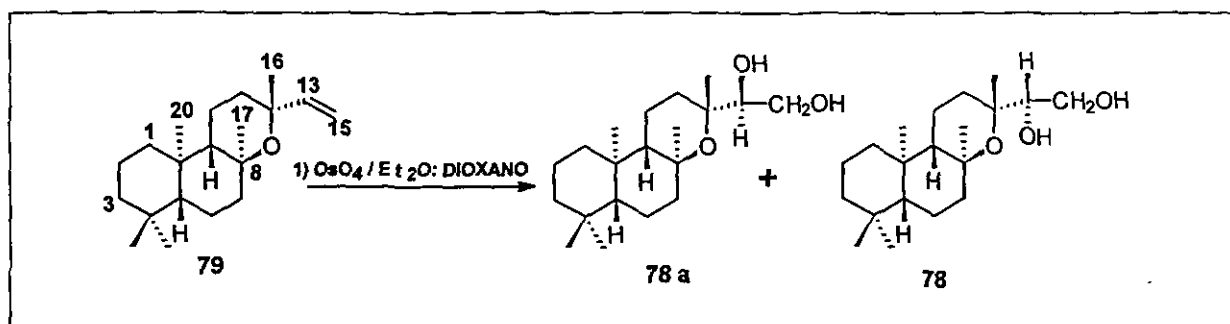


Figura 14. Correlación química del 8 β ,13-epoxi-14-labdeno (79) con el barbatol (78). (Von Carstenn-Lichterfelde *et al.*, 1975).

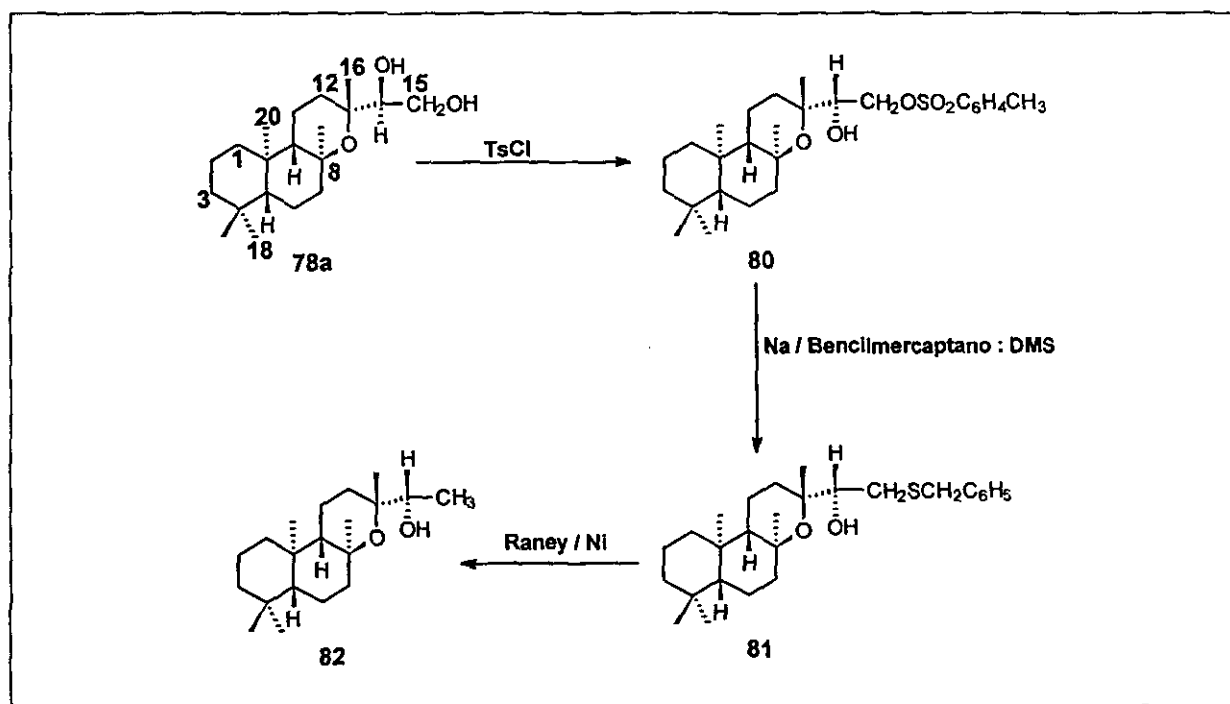


Figura 15. Secuencia de reacciones utilizadas para determinar la configuración absoluta del centro quiral C-14 del derivado 78a. (Rodríguez y Valverde, 1973; Von Carstenn-Lichterfelde *et al.*, 1975).

En el presente trabajo se determinó la configuración absoluta de los centros estereogénicos del diterpeno **60** utilizando la siguiente estrategia:

1.- En primer lugar el producto **60** se transformó en el compuesto **60d** de configuración absoluta conocida. Esta transformación permitió comprobar que el producto **60** pertenece a la serie *normal*.

2.- Una vez establecida la naturaleza *normal* del diterpeno, la configuración del carbinol secundario en C-14 se determinó mediante la aplicación de la metodología de los ésteres de Mosher. Como resultado de este procedimiento se determinó que la configuración absoluta en C-14 es *S*.

Para obtener el producto **60d**, el producto **60** se degradó en primer lugar al aldehído **60b** mediante el tratamiento con HIO_4 . Posteriormente, el aldehído se transformó en el ácido **60c** por oxidación con el reactivo de Jones. Por último, el ácido **60c** se metiló con diazometano con la finalidad de generar el éster metílico **60d** (Figura 16), el cual resultó idéntico en todos sus aspectos al 13-*epi*-manoilato de metilo (**60d**) previamente descrito en la literatura (Giles *et al.*, 1962). El signo positivo de la rotación óptica del éster **60d** permitió comprobar que el diterpeno **60** pertenece a la serie *normal*.

Los compuestos **60a-60d** se caracterizaron mediante la aplicación de métodos espectroscópicos y espectrométricos. De particular interés resulta el intermediario **60b**, cuya estructura no se había descrito con anterioridad. El aldehído se obtuvo como un aceite de color amarillo claro, ópticamente activo ($[\alpha]_{20}^D +42.0$) y su fórmula se estableció como $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{O}_2$ mediante espectrometría de masas. Su espectro en el IR presentó una banda característica para carbonilo de aldehído ($\sim 1730 \text{ cm}^{-1}$). El espectro de RMN^{13}C presentó absorciones para 19 átomos de carbono en congruencia con la fórmula molecular establecida y resultó similar al del producto natural **60**. La principal diferencia observada fue la ausencia de las señales correspondientes al diol y en su lugar se observó la señal diagnóstica para el grupo aldehído en $\delta_{\text{C}} 205.45$. Esta señal correlacionó en el espectro de HMQC con la señal en $\delta_{\text{H}} 9.60$ (Espectro 50). Otras señales relevantes presentes en el espectro de RMN^1H son las correspondientes a los metilos en $\delta_{\text{H}} 1.15$ (H-17), 1.07 (H-16), 0.86 (H-18), 0.78 (H-19) y 0.70 (H-20).

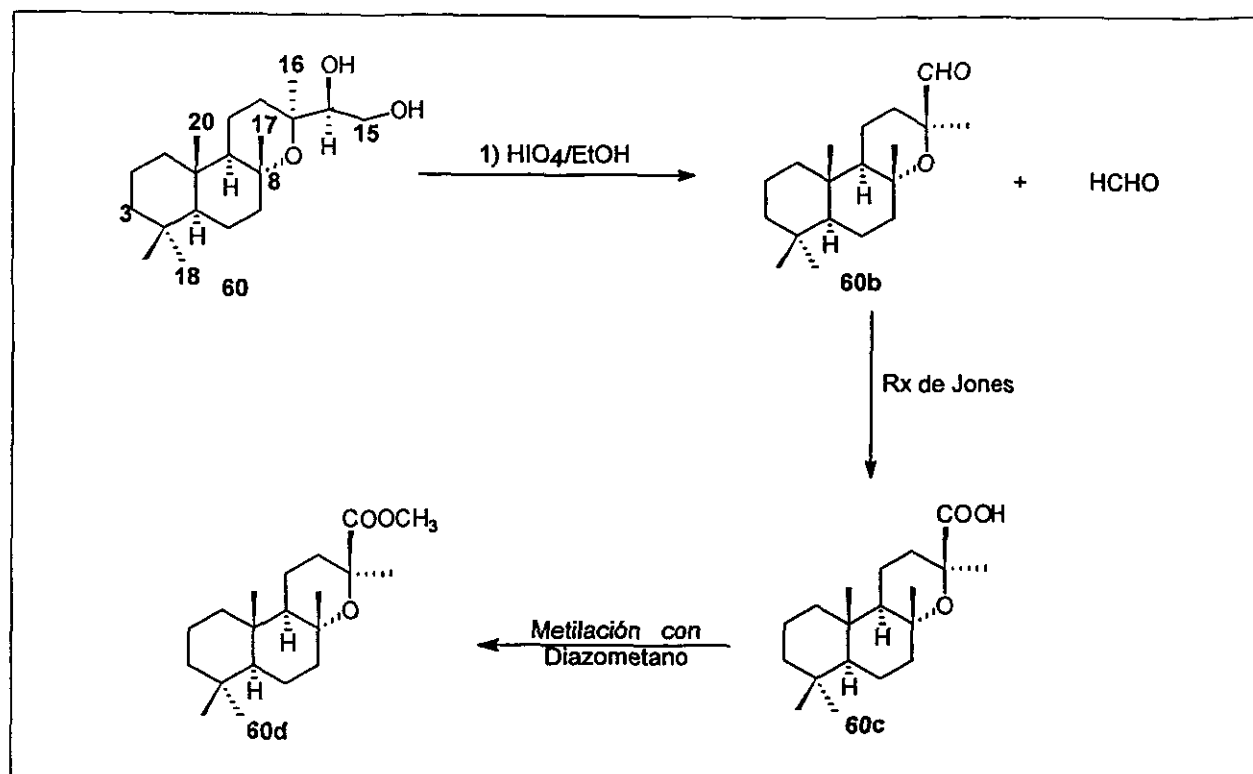


Figura 16. Secuencia de reacciones realizadas para la obtención del éster metílico del ácido 8α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-oico (60d).

Por otra parte el análisis detallado del espectro NOESY del compuesto 8α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b) permitió establecer que el grupo metilo en C-8 y el grupo aldehído en C-13 guardan una relación *syn* (Figura 17).

Considerando que el diterpeno pertenece a la serie *normal* este experimento permitió confirmar de manera inequívoca la configuración absoluta en el centro quiral C-13 como *S*.

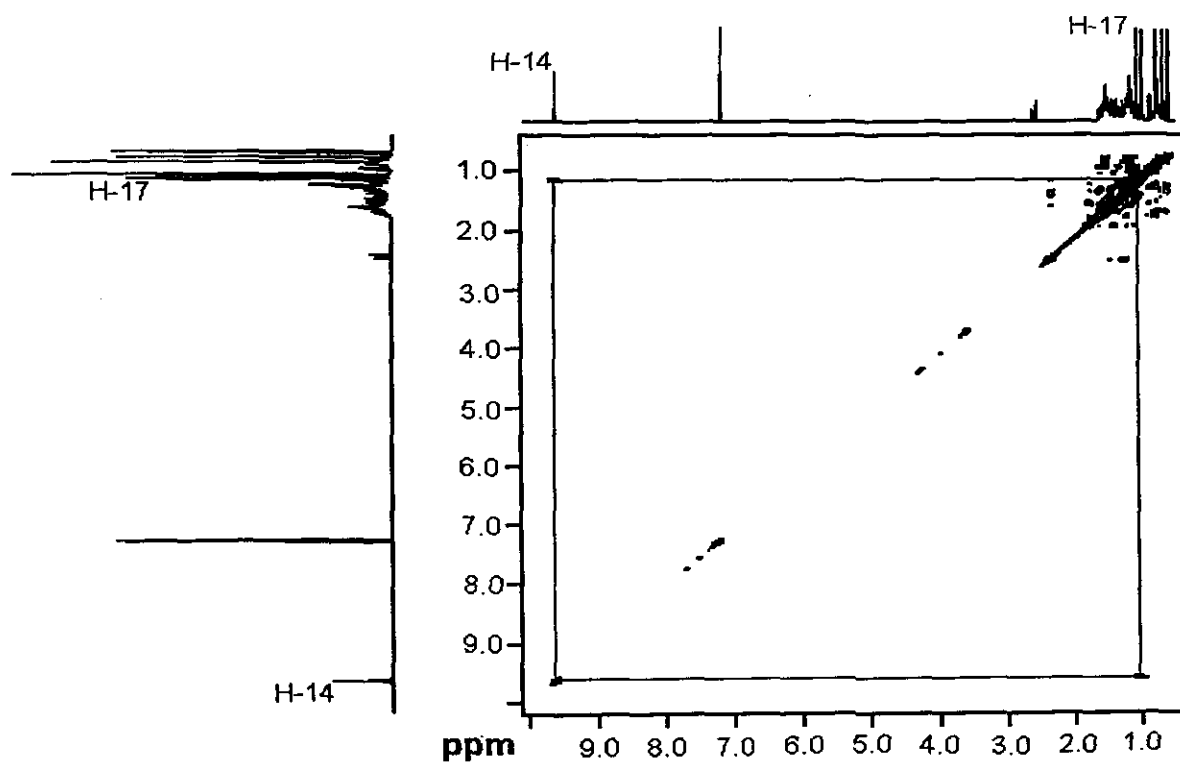
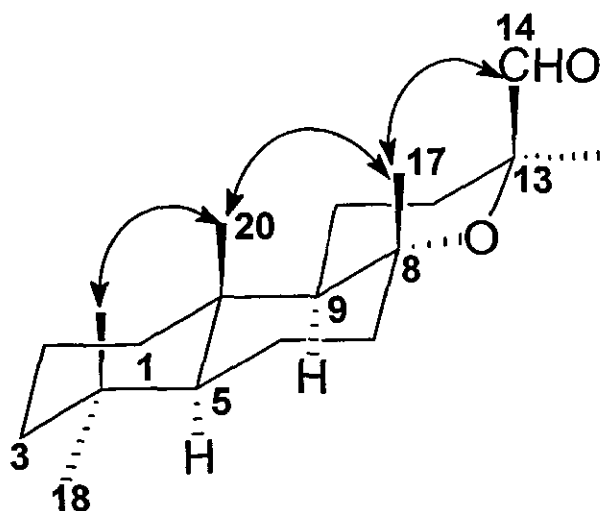


Figura 17. Espectro de RMN¹H NOESY del 8 α , 13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b) mostrando las correlaciones señaladas en la estructura.



Una vez establecida la configuración *normal* del labdano, el siguiente paso en el proceso de elucidación de la configuración absoluta estructural del compuesto 8α , 13-epoxilabdano-14, 15 diol (**60**) fue la determinación de la estereoquímica absoluta del carbinol en C-14 y para ello se aplicó la metodología de los ésteres de Mosher. Para establecer la configuración absoluta de alcoholes secundarios por el Método de Mosher es necesario la formación de los ésteres correspondientes con los ácidos quirales (*S*)- y (*R*)- α -metoxi- α -trifluorometil-fenilacético [(*S*)- y (*R*)-MTPA]. Posteriormente se analizan las diferencias de los desplazamientos químicos en los espectros de RMN¹H de los ésteres (*S*)- y (*R*)-MTPA con el fin de establecer el efecto protector inducido por el anillo aromático y el efecto desprotector inducido por el grupo metoxilo del MTPA sobre los hidrógenos cercanos al centro quiral (Dale y Mosher, 1973; Ohtani *et al.*, 1991). Según el modelo empleado por Ohtani y colaboradores (1991), los hidrógenos del lado derecho del plano del MTPA deben tener diferencias de desplazamientos químicos ($\Delta\delta = \delta_S - \delta_R$) positivas ($\Delta\delta > 0$), y los hidrógenos del lado izquierdo del plano deben tener diferencias negativas ($\Delta\delta < 0$), tal como se ilustra en las Figuras 18 y 19. Por último, se determina la configuración absoluta del alcohol secundario aplicando la regla de Cahn-Ingold-Prelog.

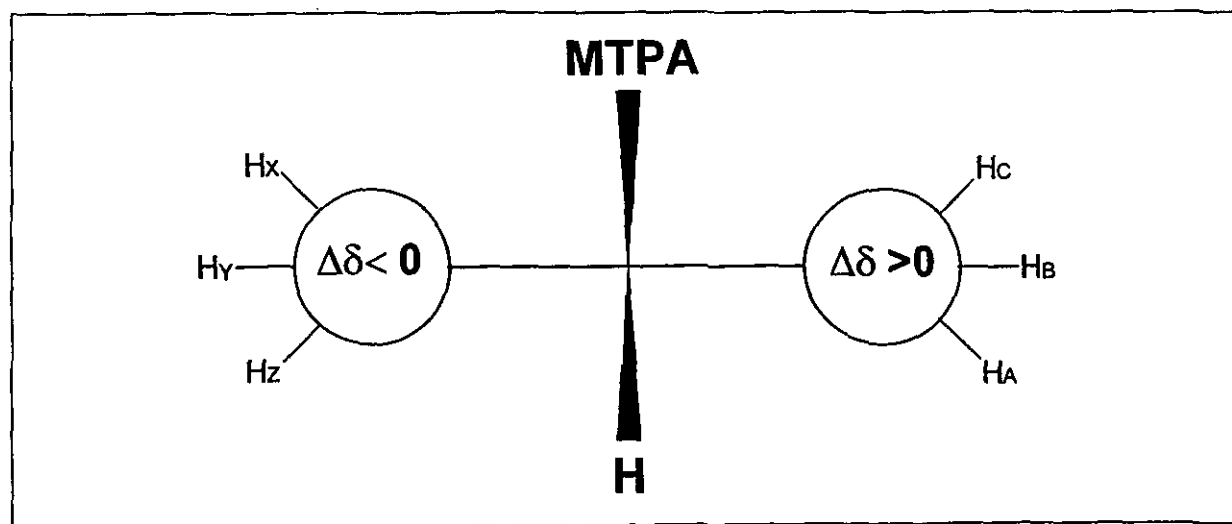


Figura 18. Modelo para determinar la estereoquímica absoluta en alcoholes secundarios (Ohtani *et al.*, 1991).

ESTADOS UNIDOS
DE LA BIBLIOTECA

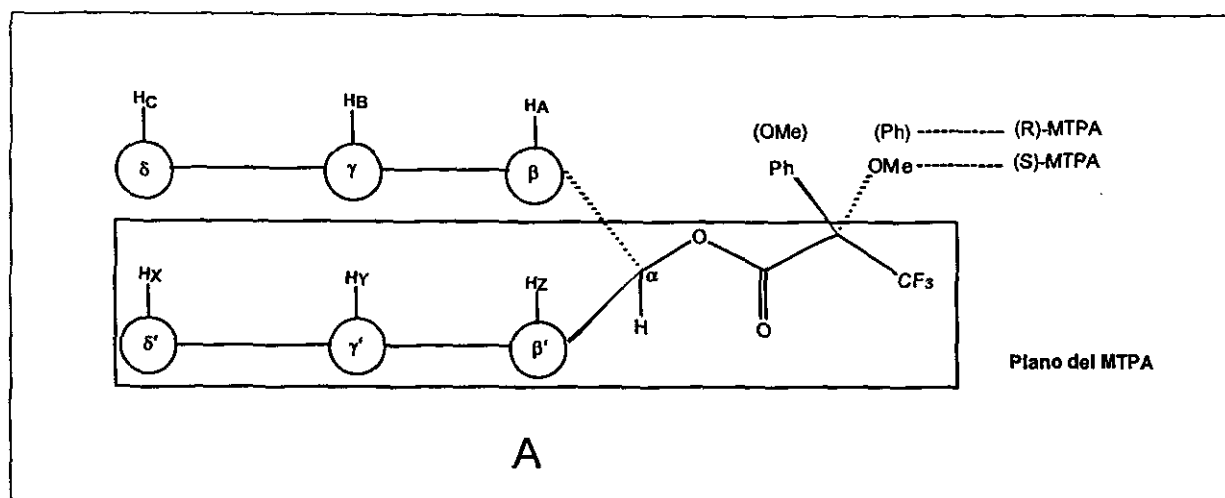


Figura 19. Conformación de máxima estabilidad y plano MTPA propuesto para los ésteres (S)- y (R)- de Mosher (Ohtani *et al.*, 1991).

Para determinar la configuración absoluta del centro C-14 mediante el método de Mosher fue necesario proteger en primer lugar el carbinol primario mediante el tratamiento del producto natural con el 1-(benzoiloxi)-benzotriazol de acuerdo al método de Kim *et al* (1985). El producto 8α , 13-epoxilabdano-14-hidroxi, 15-benzoiloxi (**60e**), obtenido mediante la secuencia de reacciones indicada en la Figura 20, se caracterizó mediante el empleo de métodos espectroscópicos. El espectro de RMN^1H fue muy similar al producto natural **60**. La principal diferencia es la presencia de señales en la región aromática (δ_{H} 7.0-7.6) asociadas al anillo aromático del grupo benzoilo (Espectro 54).

La comparación de los desplazamientos químicos en los espectros de RMN^1H de los ésteres de Mosher *R* y *S* del compuesto **60e** (Espectros 54-56), permitió realizar las siguientes observaciones y conclusiones (Cuadro 24): a) La diferencia positiva ($\Delta\delta_{\text{S-R}}$) para los protones H-16 y H-12 y las diferencias negativas para los protones H-15_A y H-15_B indican una estereoquímica *S* para el centro quiral C-14.

Con base en la correlación química del éster **60d** con el 13-*epi*-manoilato de metilo (**60d**) y la determinación de la configuración absoluta del carbinol primario C-14 como *S*, el producto natural **60** se caracterizó como el 8α , 13-epoxilabdano-14*S*, 15 diol.

Cuadro 24. Desplazamientos químicos (RMN¹H) para señales diagnósticas del derivado 8 α , 13-epoxilabdano-14-hidroxi-15-benzoiloxi (60e) y sus ésteres de Mosher.[▲]

Protón	60	60e	60e (S)-MTPA	60e (R)-MTPA	$\Delta\delta$ (S-R)
12	2.17	2.08	2.07	1.82	0.25
14	3.45	3.99	5.57	5.44	S
15 _B	3.62	4.15	4.21	4.38	-0.17
15 _A	3.75	4.48	4.55	4.72	-0.17
16	1.13	1.33	1.26	1.10	0.16
17	1.30	1.14	1.25	1.24	0.01
18	0.87	0.87	0.87	0.85	0.02
19	0.80	0.79	0.80	0.78	0.02
20	0.80	0.79	0.80	0.72	0.08

[▲] CDCl₃, 500 MHz.

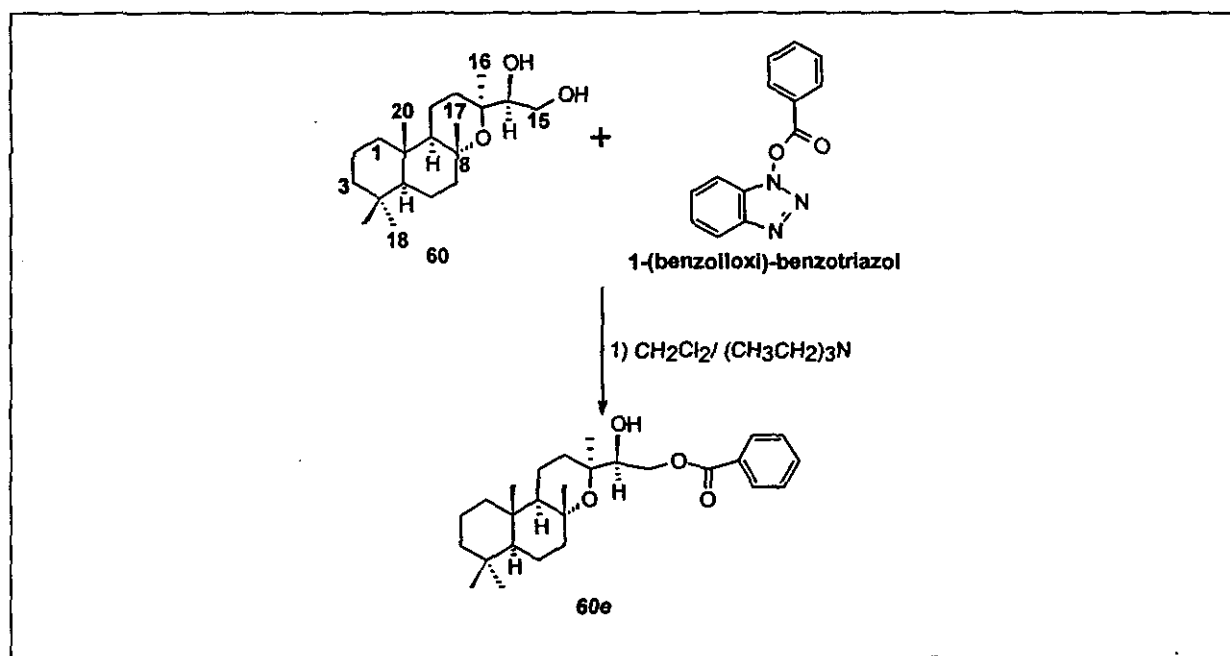


Figura 20. Secuencia de reacciones realizadas para la protección de la función carbinólica primaria en C-15 del producto natural **60**.

V. CONCLUSIONES.

1. La especie medicinal *Cosmos pringlei* es una fuente potencial de productos bioactivos de interés medicinal y agroquímico. La potencialidad biológica del extracto se demostró en el marco del proyecto "Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America".
2. El fraccionamiento biodirigido del extracto total permitió el aislamiento y caracterización de varios compuestos bioactivos, de interés agroquímico y medicinal incluyendo tres nuevos productos naturales los cuales se caracterizaron como: el 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70), la 3 β -isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71) y la 3 β -isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72).
3. El presente estudio constituye una aportación adicional al conocimiento de la flora medicinal Mexicana y contribuye al conocimiento del contenido metabólico de la especie medicinal *C. pringlei*.
4. Desde el punto de vista quimiotaxonómico es importante mencionar que las investigaciones realizadas en nuestro laboratorio describen por primera vez la presencia de lactonas sesquiterpénicas de tipo guayanólida en el género *Cosmos*.
5. Por otra parte, se determinó la configuración absoluta, del compuesto 8 α , 13-epoxilabdano-14*S*, 15 diol (60), diterpeno aislado previamente de la especie medicinal *Xanthocephalum gymnospermoides* var *eradiatum*, mediante su correlación química con el éster 60*d* y la aplicación de la metodología de los ésteres de Mosher. La correlación química con el 13-*epi*-manoilato de metilo (60*d*) permitió establecer la naturaleza *normal* del labdano. Por otro lado, la preparación y posterior análisis de los espectros de RMN¹H de los ésteres 60*e* (*R*)-MTPA y 60*e* (*S*)-MTPA de Mosher conllevaron a determinar que la estereoquímica absoluta del carbinol en C-14 del diterpeno es *S*.

VI. PERSPECTIVAS.

1. Determinar la configuración absoluta en el carbinol C-1' de los compuestos 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69) y 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).
2. Determinar la configuración absoluta en los carbonos C-1' y C-2' del compuesto 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17).
3. Completar el estudio químico de las restantes fracciones activas derivadas del extracto CH₂Cl₂:MeOH (1:1) de *Cosmos pringlei*.

VI. BIBLIOGRAFIA.

- Akihisa, T., Yasukawa, K., Oinuma, H., Kasahara, Y., Kimura, Y., Yamanouchi, S., Takido, M., Kumaki, K. y Tamura, T. (1996). Triterpene alcohols from de flowers of *Compositae* and their anti-inflammatory effects. *Phytochemistry*, **43** 1255-1260.
- Ando, M., Kusaka, H., Ohara, H., Takase, K., Yamaoka, H. y Yanagi, Y. (1989). Studies on the Syntheses of Sesquiterpene Lactones. 11. The syntheses of 3-Epizaluzanin C, Zaluzanin C, Zaluzanin D, and related compounds 3 α -hydroxiguaia-1(10), 4(15), 11(13)-trieno-12, 6 α -lactone and 3 α -hydroxiguaia-4(15), 9, 11(13)-trieno-12, 6 α -lactone. *J. Org. Chem.*, **54** 1952-1960.
- Bate-Smith, E. C. (1980). Astringent tannins of *Cosmos bipinnatus*. *Phytochemistry*, **19** 982.
- Bohlmann, F., Bornowski, H. y Koehn, S. (1964). The polynes of the genus *Cosmos*. *Ber.*, **97** 2583-2585.
- Bohlmann, F., Knauf, W., Grenz, M. y Lane, M. A. (1979). Ein neues diterpen aus *Xanthocephalum linearifolium*. *Phytochemistry*, **18** 2040-2042.
- Bohlmann, F. y Chen, Z. (1982). Guaianolides from *Ainsliaea fragans*. *Phytochemistry*, **21** 2120-2122.
- Bohlmann, F. y Zdero, C. (1982). Sesquiterpene lactones from *Brachylaena* species. *Phytochemistry*, **21** 647-651.
- Bohlmann, F., Ahmed, M., Grenz, M., King, R. M. y Robinson, H. (1983). Bisabolene derivatives and other constituents from *Coreopsis* species. *Phytochemistry*, **22** 2858-2859.
- Bohlmann, F., Banerjee, S., Jakupovic, J., King, R. M. y Robinson, H. (1985). Bisabolene derivatives and acetylenic compounds from Peruvian *Coreopsis* species. *Phytochemistry*, **24** 1295-1297.
- Bohm, B.A. (1975). Chalcones, aurones and dihydrochalcones. En: *The Flavonoids*. Eds. Harborne, J. B., Mabry, T. J. y Mabry, H. Edit. Chapman and Hall, London, pp 442-504.

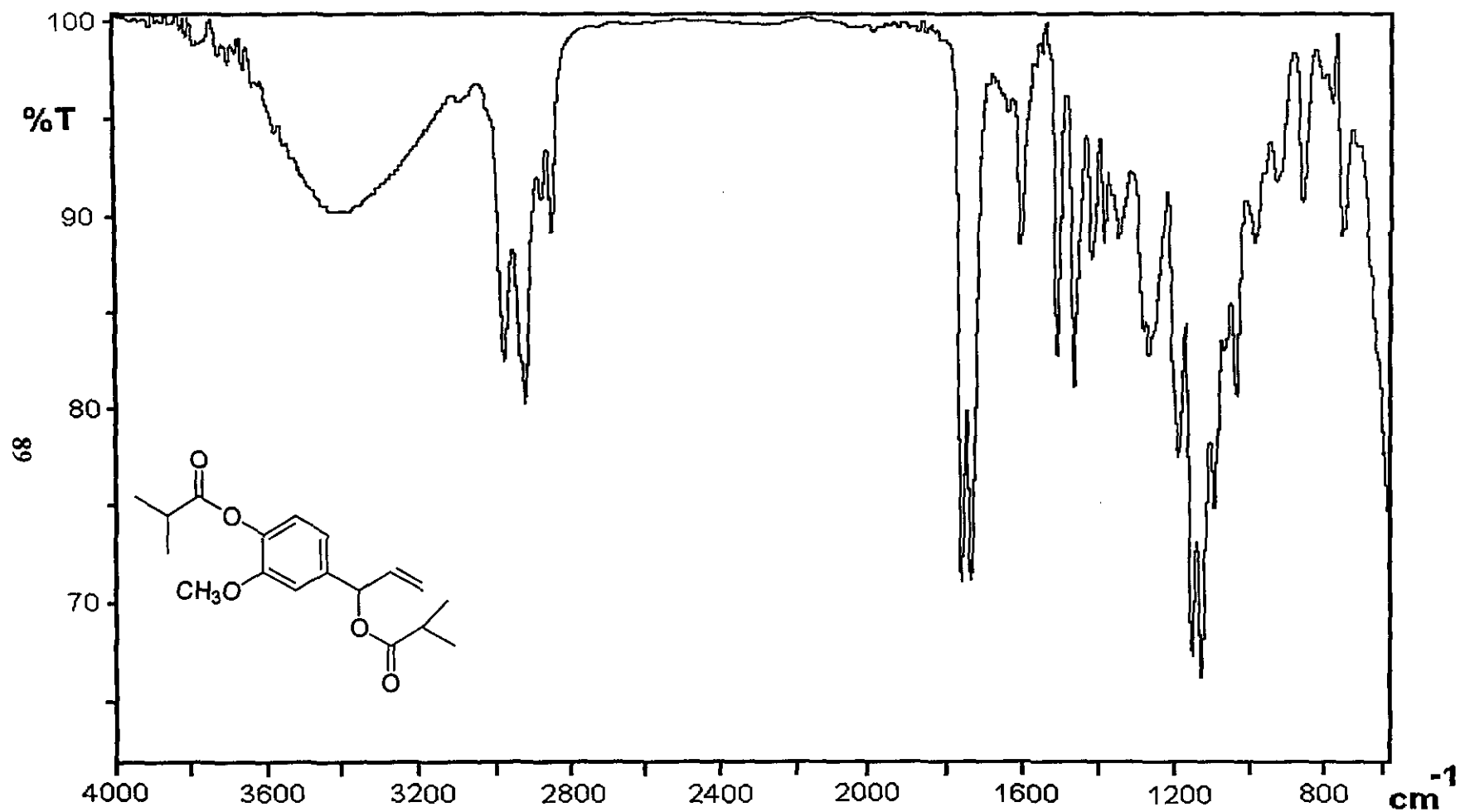
- Bottini, A. T., Dev, V., Garfagnoli, D. J., Mathela, C. S., Melkani, A. B., Miller, A. A. y Sturm, N. S. (1986). Oxiranylphenyl esters from *Pimpinella diversifolia*. *Phytochemistry*, **25** 207-211.
- Browers, A., Halsal, T. G., Jones, E. R. N. y Lemin, J. A. (1953). The chemistry of the Triterpene and related compounds. Part XVIII. Elucidation of the structure of Polyporenic Acid C. *J. Chem. Soc.*, 2548-2560.
- Bye, R. B. (1996). Comunicación personal.
- Cox, P. A. y Balick, M. J. (1994). The ethnobotanical approach to drug discovery. *Scientific American*, pp 82-87.
- Cuevas Garibay, N. (1998). Compuestos bioactivos de la especie *Cosmos pringlei* (Asteraceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Chabannes, B. y Pacheco, H. (1971). Biogenesis of plant pigments IV. Biogenesis of cosmosiine in *Cosmos bipinnatus* and the chemical conversion of prunine to cosmosiine. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **4** 1486-1491.
- Dale, J. A. y Mosher, H. S. (1973). Nuclear magnetic resonance enantiomer reagents. Configurational correlation via nuclear magnetic resonance chemical shifts of diastereomeric mandelate, O-methylmandelate and α -methoxy- α -trifluoromethylphenylacetate (MTPA) esters. *Journal of the American Chemical Society*, **95** 512-519.
- Fernández, I., García, B., Grancha, F. J. y Pedro, J. R. (1989). Sesquiterpene lactones, flavonoids and coumarins from *Centaurea collina*. *Phytochemistry*, **28** 2405-2407.
- Fuzzati, N., Sutarjadi, Dyatniko, W., Rahman, A. y Hostettmann, K. (1995). Phenylpropane derivatives from roots of *Cosmos caudatus*. *Phytochemistry*, **39** 409-412.
- Ghisalberti, E. (1993). Detection and isolation of bioactive natural products. En: *Bioactive Natural Products. Detection, Isolation and Structural Determination*. Eds. Colegate, S. y Molyneux, R. Edit. CRC Press, EUA, pp 10-49.

- Giles, A. J., Mims, S. S. y Bernasek, E. (1962). Isolation and characterization of 12 α -hydroxy-13-*epi*-manoyl oxide. *Tetrahedron*, **18** 169-176.
- Hostettmann, K. y Hostettmann, M. (1986). Preparative chromatography techniques, applications in natural product isolation. Edit. Berlín Heidelberg, pp 27-79.
- Hamburger, M. y Hostettmann, K. (1991). Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry*, **30** 3864-3874.
- Hostettmann, K. y Marston, A. (1990). Bioactive constituents of plants used in African traditional medicine. En: *Studies in Natural Products Chemistry*, **7** 405-437.
- Ito, K., Iida, T. y Kobayashi, T. (1984). Guaiane sesquiterpenes from *Magnolia watsonii*. *Phytochemistry*, **23** 188-190.
- Kaneta, M., Hikichi, H., Endo, S. y Sugiyama, N. (1978). Identification of flavones in sixteen *Compositae* species. *Agric. Biol. Chem.*, **42** 475-477.
- Kim, S., Chang, H. y Kim, W. J. (1985). Selective benzylation of diols with 1-(benzoyloxi)-benzotriazole. *J. Org. Chem.*, **50** 1751-1752.
- Kinghorn, A. D. (1995). Novel strategies for plants-derived anticancer agents. *International Journal of Pharmacognosy*, **33** 48-58.
- Lane, M. A. (1983). Taxonomy of *Xanthocephalum* (*Compositae*:*Astereae*). *Systematic Botanic*, **8** 305-316.
- Lane, M. A. (1989). Annual *Xanthocephalum*. *Phytologia*, **66** 482-487.
- Lowery, C. (1993). Reagent chemicals. American Chemical Society Specification. Edit. Washington D, C., pp 90-91.
- Macías, M. J., Martín, V., Grande, M. y Kubeczka, K. (1994). Phenylpropanoids from *Pimpinella villosa*. *Phytochemistry*, **37** 539-542.
- Martínez, M. (1979). Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Edit. Fondo de Cultura Económica, México D, F., pp 48.
- Martínez, M. (1979). Las Plantas Medicinales de México. Sexta edición. Edit. Botas, México D, F.
- Metwally, M. A., King, R. M. y Robinson, H. (1985). An acetylenic epoxide and a ferulate from *Coreopsis longula*. *Phytochemistry*, **24** 182-183.

- Marston, A. y Hostettmann, K. (1995). Isolation of antifungal and larvicidal constituents of *Diplolophium buchanani* by centrifugal partition chromatography. *Journal of Natural Products*, **58** 128-130.
- Muckensturm, B., Foechterlen, D., Reduron, J. P., Danton, P. e Hildenbrand, M. (1997). Phytochemical and chemotaxonomic studies of *Foeniculum vulgare*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **25** 353-358.
- Ohtani, I., Kusumi, T., Kashman, Y. y Kakisawa, H. (1991). High-field FT NMR application of Mosher's method. The absolute configuration of marine terpenoids. *Journal of the American Chemical Society*, **113** 4092-4096.
- Pavia, D., Lampman, G., Kriz, G. y Engel, R. (1995). Organic laboratory techniques: A microscale approach. Edit. Saunders College, EUA, pp 345.
- Pérez, C., Almonacid, L. N., Trujillo, J. M., González, A. G., Alonso, S. J. y Navarro, E. (1995). A new irregular phenylpropanoid from *Apollonias barbujana*. *Planta Médica*, **61** 535-536.
- Pistelli, L., Bilia, A. R., Bertoli, A., Morelli, I. y Marsili, A. (1995). Phenylpropanoids from *Bupleurum fruticosum*. *Journal of Natural Products*, **58** 112-116.
- Prance, G. T. (1994). Ethnobotany and the search for new drugs. Ciba Foundation Symposium 185. Edit. John Wiley and Sons, New York.
- Rivero Cruz, I. y Trejo Miranda, J. (1996). Estudio químico y biológico de la planta medicinal *Xanthocephalum gymnospermoides* var *eradiatum* (Asteraceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Rodríguez, B. y Valverde, S. (1973). Borjatriol, a new diterpenoid from *Sideritis mugronensis*, Borja (Labiatae). *Tetrahedron*, **29** 2837-3843.
- Rupprecht, J. K., Hui, Y. H. y McLaughlin, J. L. (1990). Annonaceous acetogenins: A review. *Journal of Natural Products*, **53** 237-278.
- Saito, K. (1974). Distribution of flavonoids and related compounds in various parts of *Cosmos bipinnatus*. *Z. Pflanzenphysiol.*, **71** 80-82.

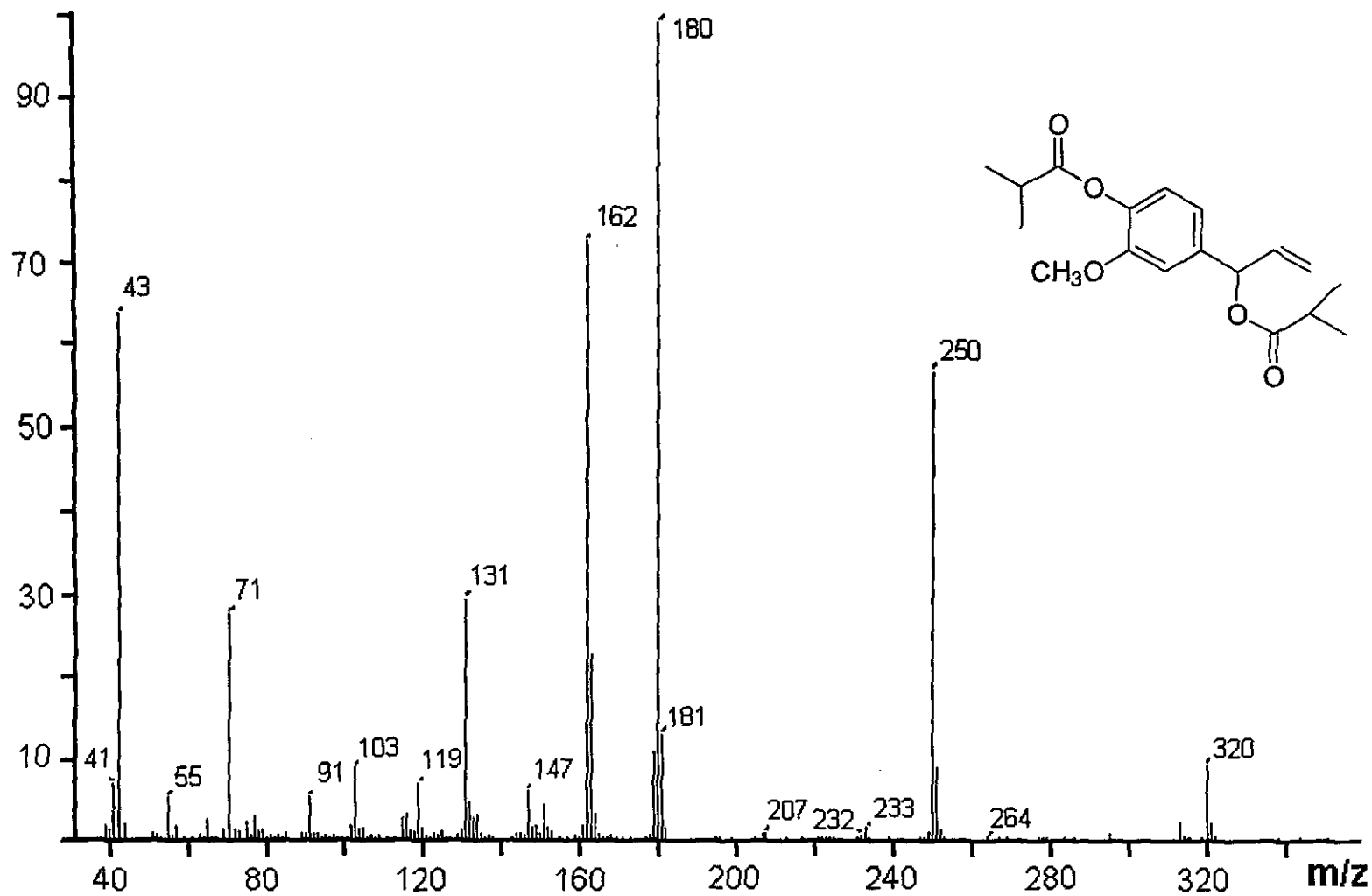
- Saito, K. (1976). Flavone glycosides in the ray flowers of *Cosmos bipinnatus*. *Planta Médica*, **30** 349-355.
- Saito, K. (1979). Quantitative variation of flavonoids and related compounds in *Cosmos bipinnatus*. *Acta Soc. Bot. Pol.*, **48** 317-325.
- Samata, Y., Inazu, K. y Takahashi, K. (1977). Studies on the interspecific hybrid between *Cosmos sulphureus* and *Cosmos caudatus* with special reference to flower color and pigments. *Ikushugaku Zasshi*, **27** 223-236.
- Sherff, E. E. y Alexander, E. J. (1955). Compositae-Heliantheae-Coreopsidinae. En: North America Flora. Serie II. Edit. The New York Botanical Garden, pp 1-149.
- Shimokoriyama, M. y Geissman, T. A. (1960). Anthochor pigments XIV. The pigments of *Viguiera multiflora* and *Baeria chrysostoma*. *J. Org. Chem.*, **25** 1956-1959.
- Stahl, E. (1969). Thin layer chromatography. Edit. Academic Press Inc., New York.
- Starman, T. W., Cerny, T. A. y Mackenzie, A. J. (1995). Productivity and profitability of some field-grown speciality cut flowers. *Horstscience*, **30** 1217-1220.
- Suffnes, M., Cragg, G., Grever, M., Grifo, F., Johnson, G., Mead, J., Schepartz, S., Venditti, J., Wolpert, M. (1995). The National Cooperative Natural Products Drug Discovery Group (NCNPDDG) and International Cooperative Biodiversity Group (ICBG) Programs. *International Journal of Pharmacognosy*, **33** 5-16.
- Sugimoto, N., Goto, Y., Akao, N., Kiuchi, F., Konolo, K. y Tsuda, Y. (1995). Mobility inhibition and nematocidal activity of Asarone and related phenylpropanoids on second-stage larvae of *Toxocara canis*. *Biol. Pharm. Bull.*, **18** 605-609.
- Sy, L. y Brown, G. F. (1998). Novel phenylpropanoids and lignans from *Illicium verum*. *Journal of Natural Products*, **61** 987-992.
- Von Carstenn-Lichterfelde, C., Rodríguez, B. y Valverde, S. (1975). Barbatol, a new diterpenoid from a *Sideritis arborescens* Salzm. Subspecie. *Experientia*, **31** 757-758.
- Yu, S., Fang, N. y Mabry, T. J. (1987). Flavonoid aglycones from *Xanthocephalum gymnospermoides* var *gymnospermoides*. *Phytochemistry*, **26** 2131-2133.

VIII. ANEXO 1.

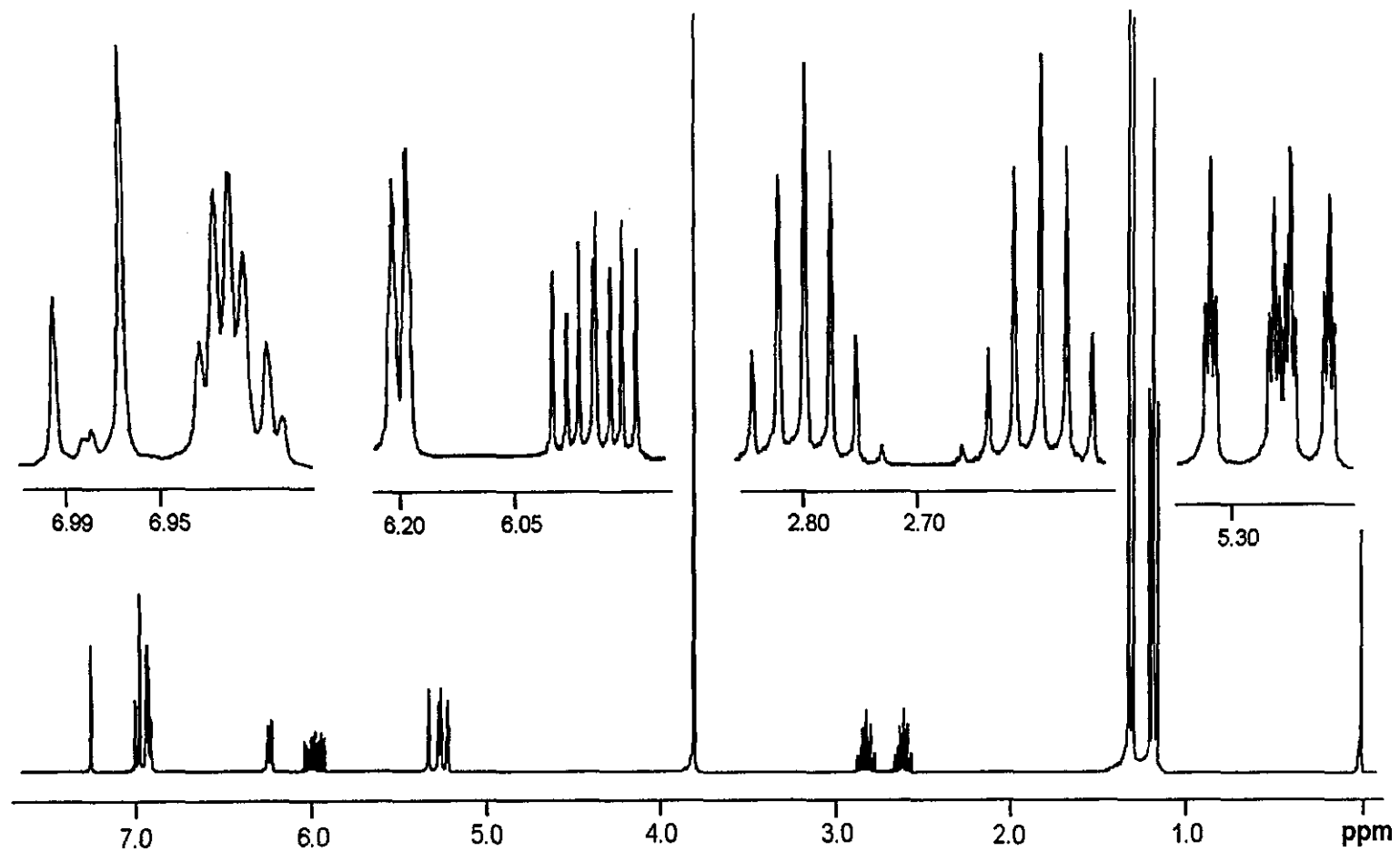


Espectro 1. Espectro en el IR del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).

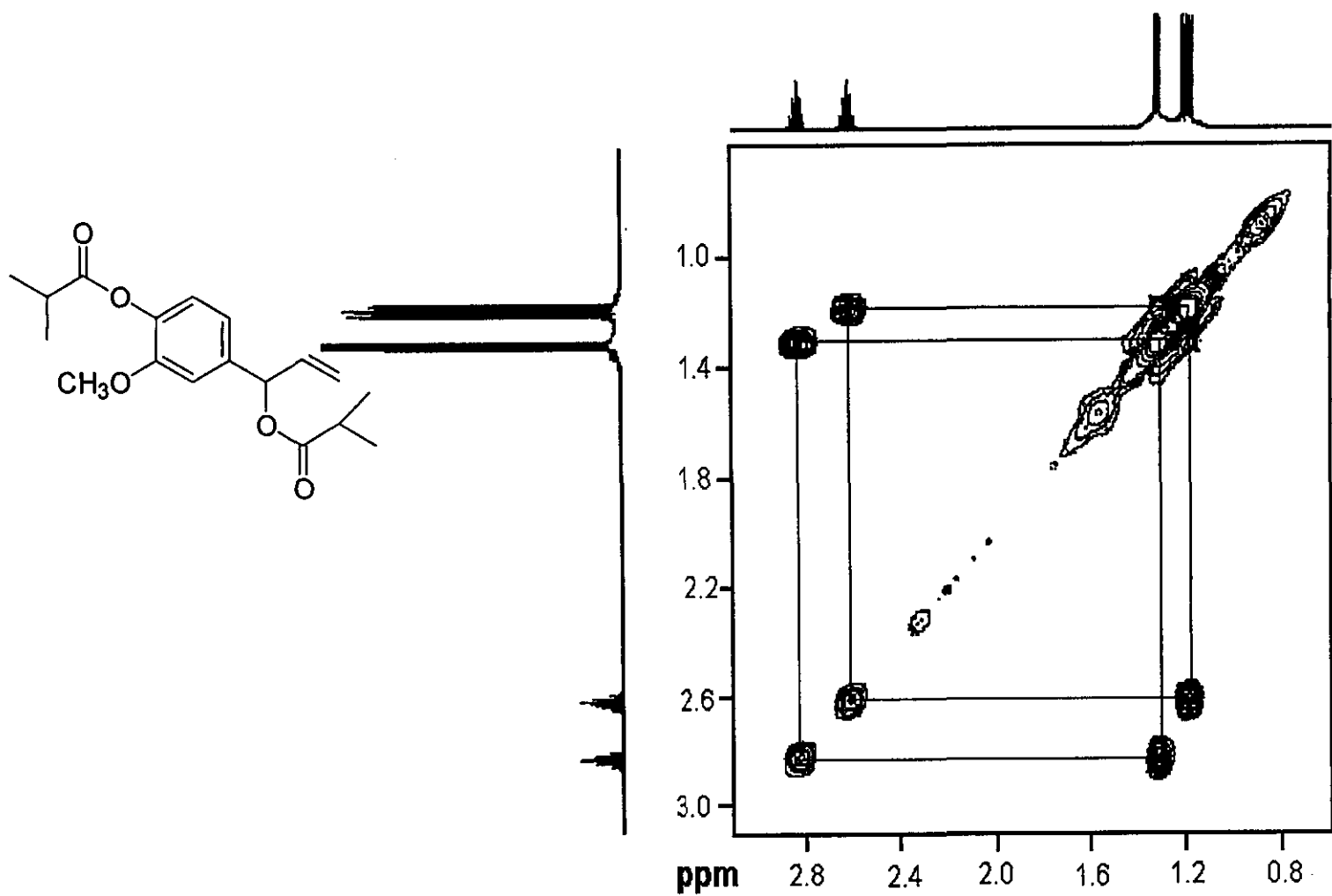
06



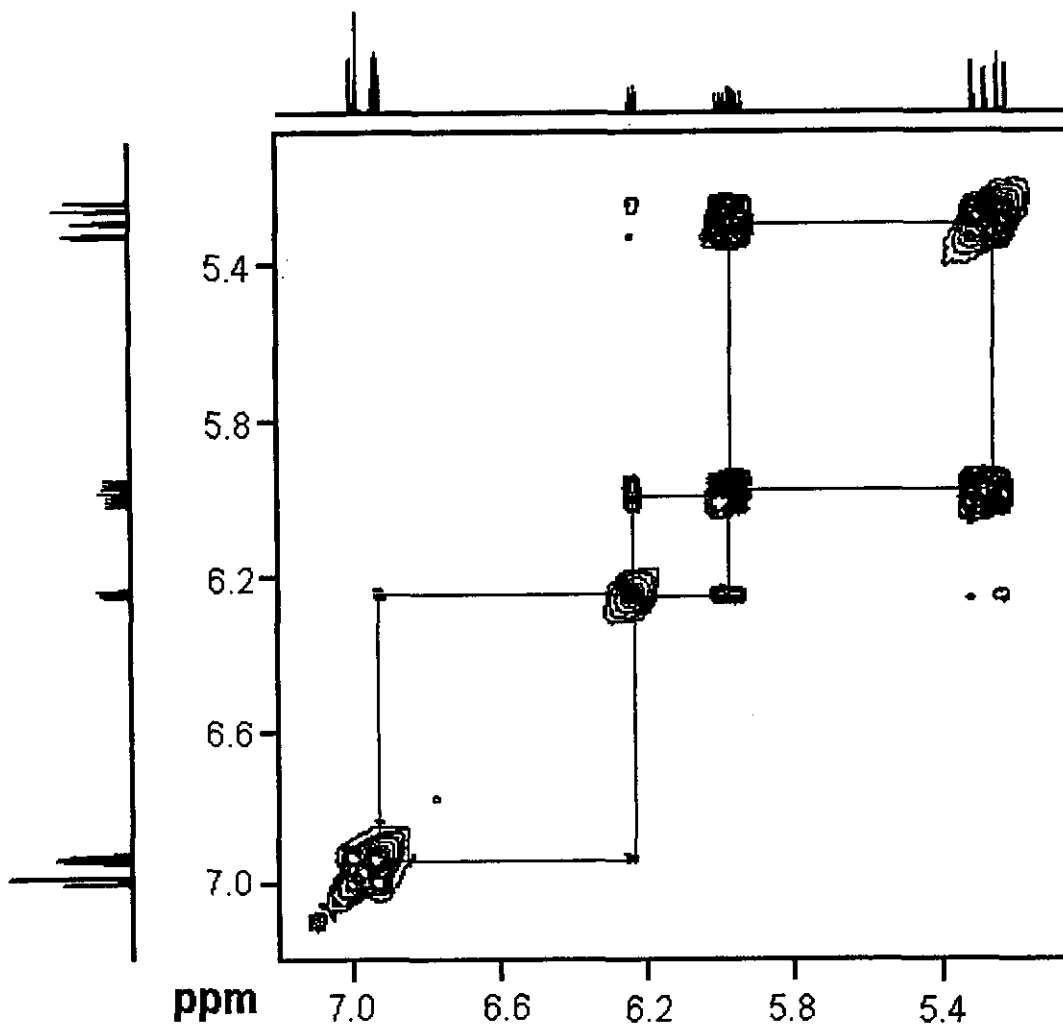
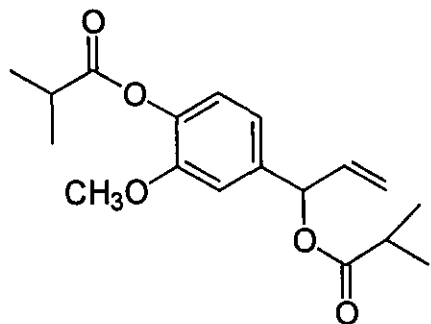
Espectro 2. Espectro de masas del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).



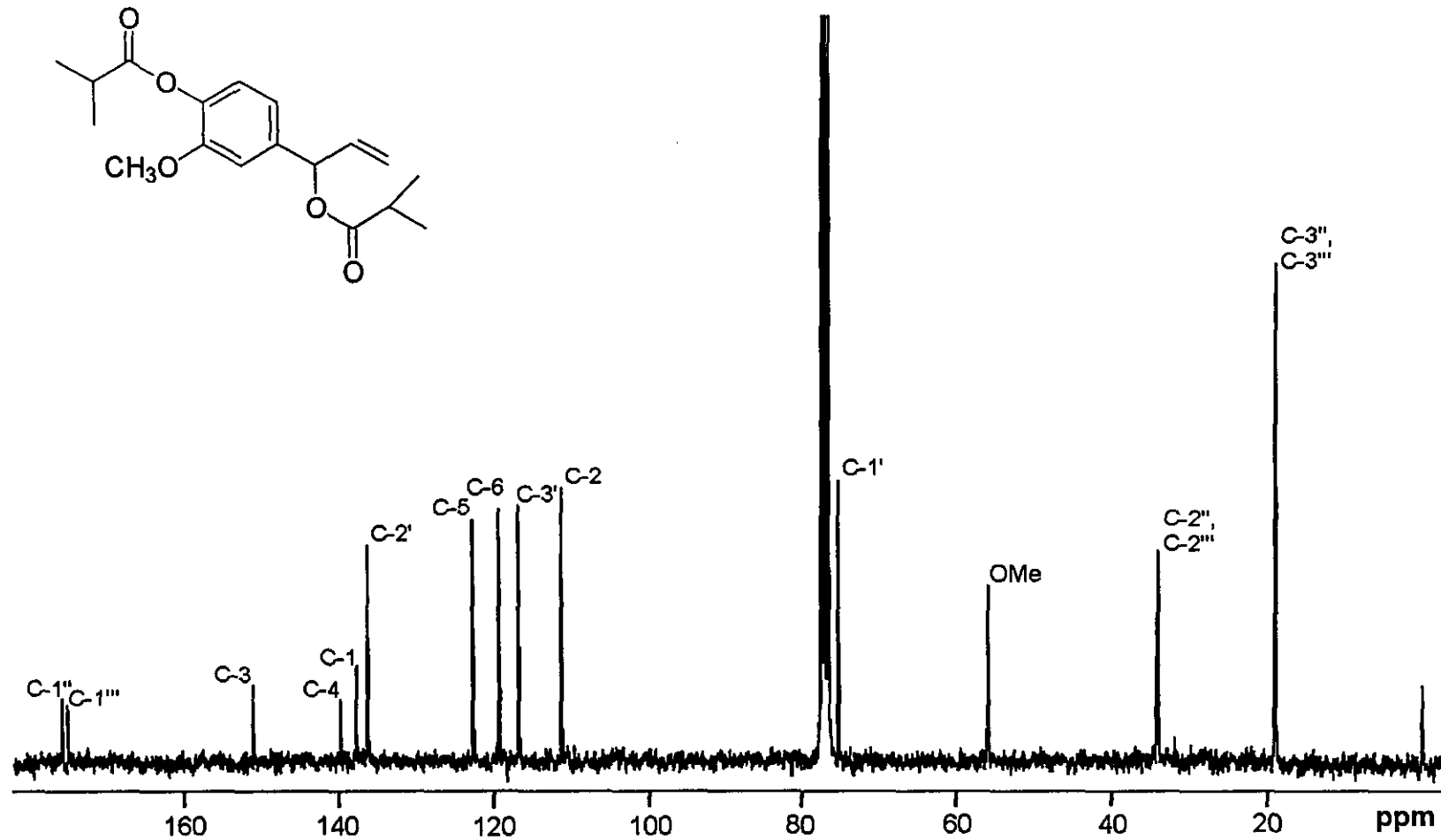
Espectro 3. Espectro de RMN^1H del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).



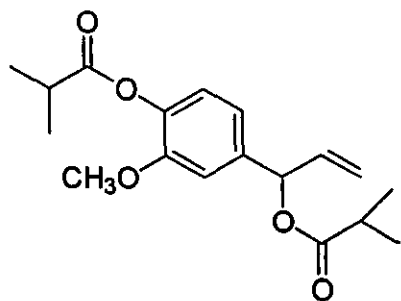
Espectro 4. Espectro parcial de RMN¹H COSY del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).



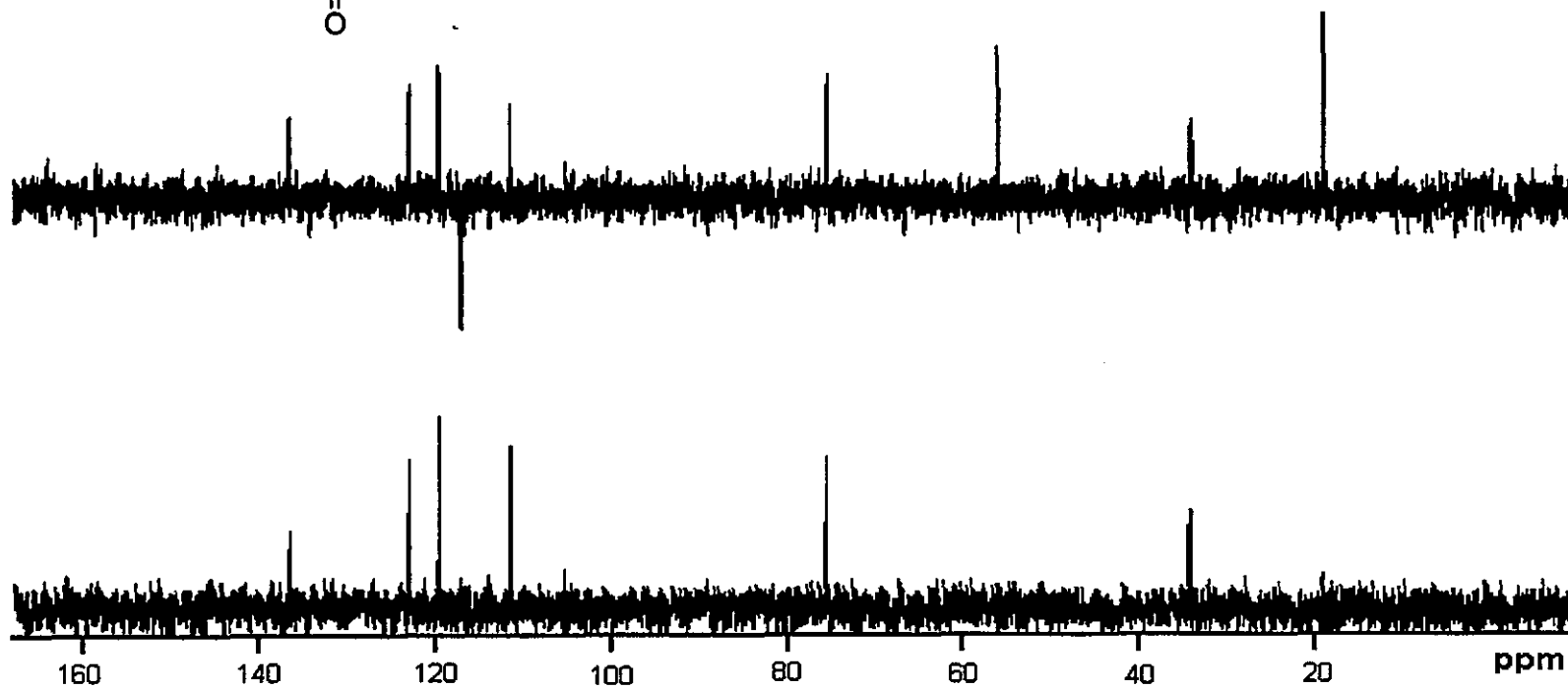
Espectro 4. Espectro parcial de RMN¹H COSY del 1-(1'-isobutiriloxy-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).



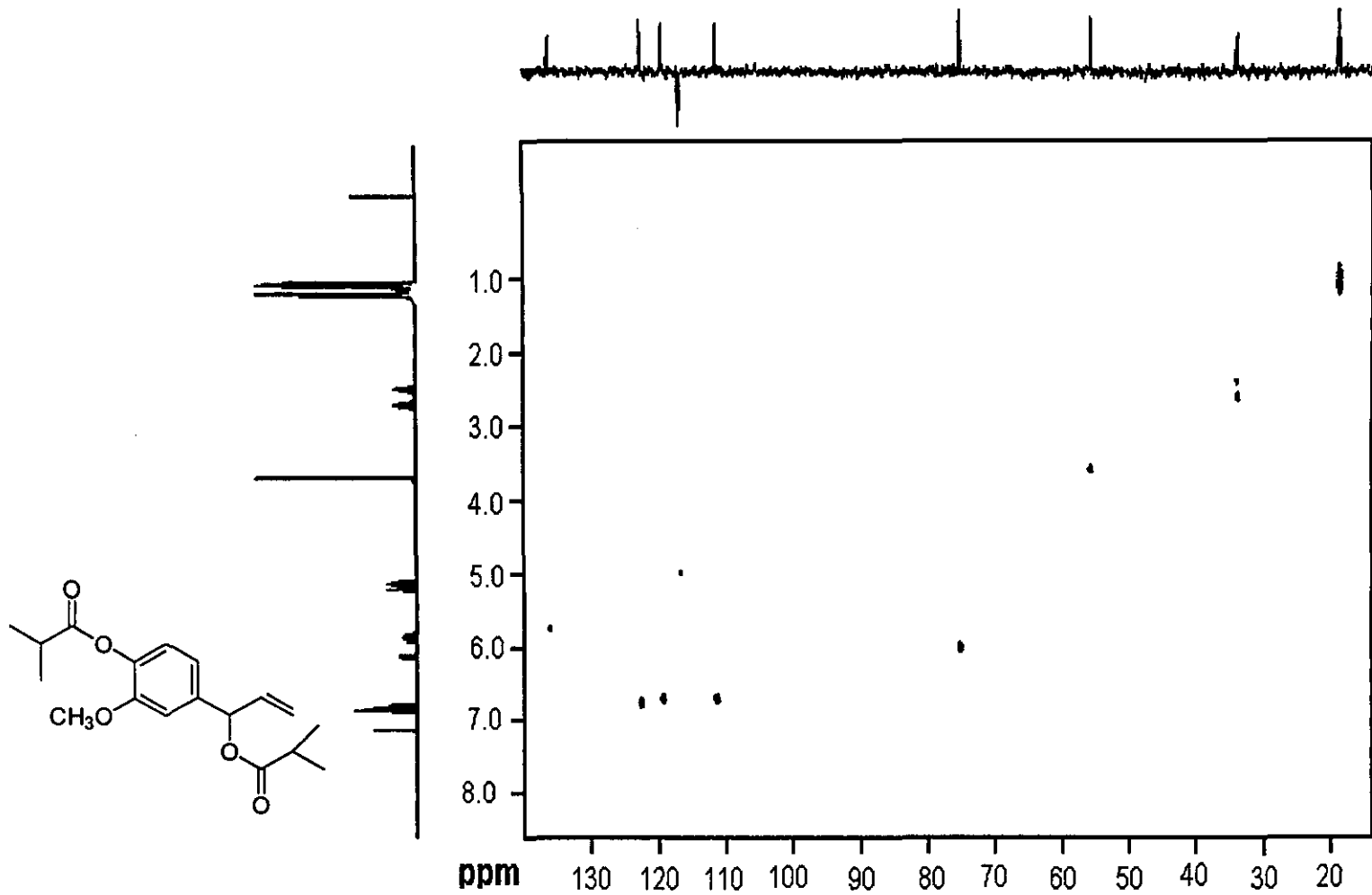
Espectro 5. Espectro de RMN^{13}C del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).



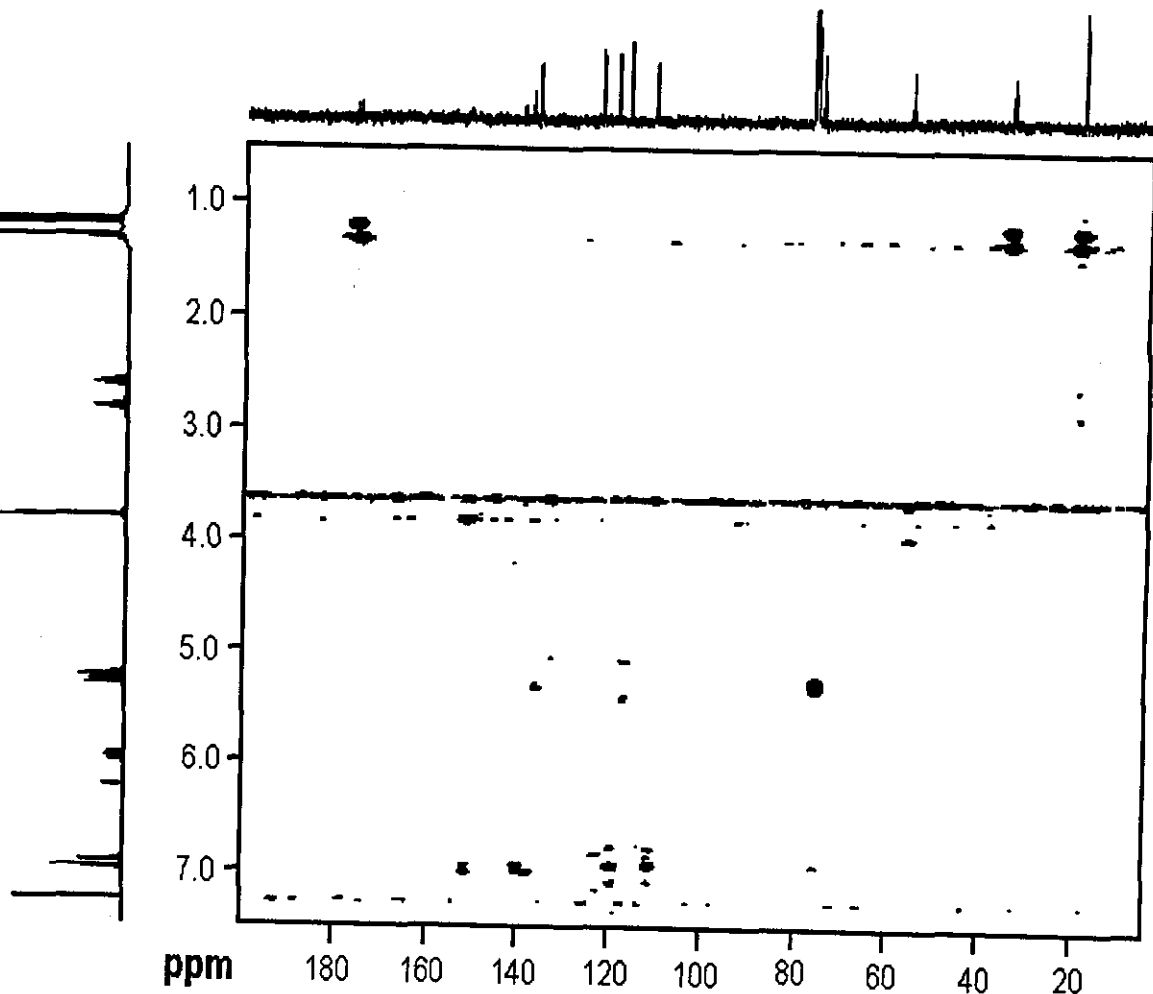
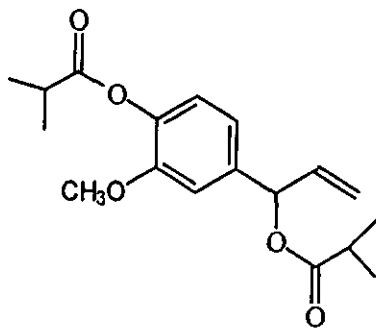
94



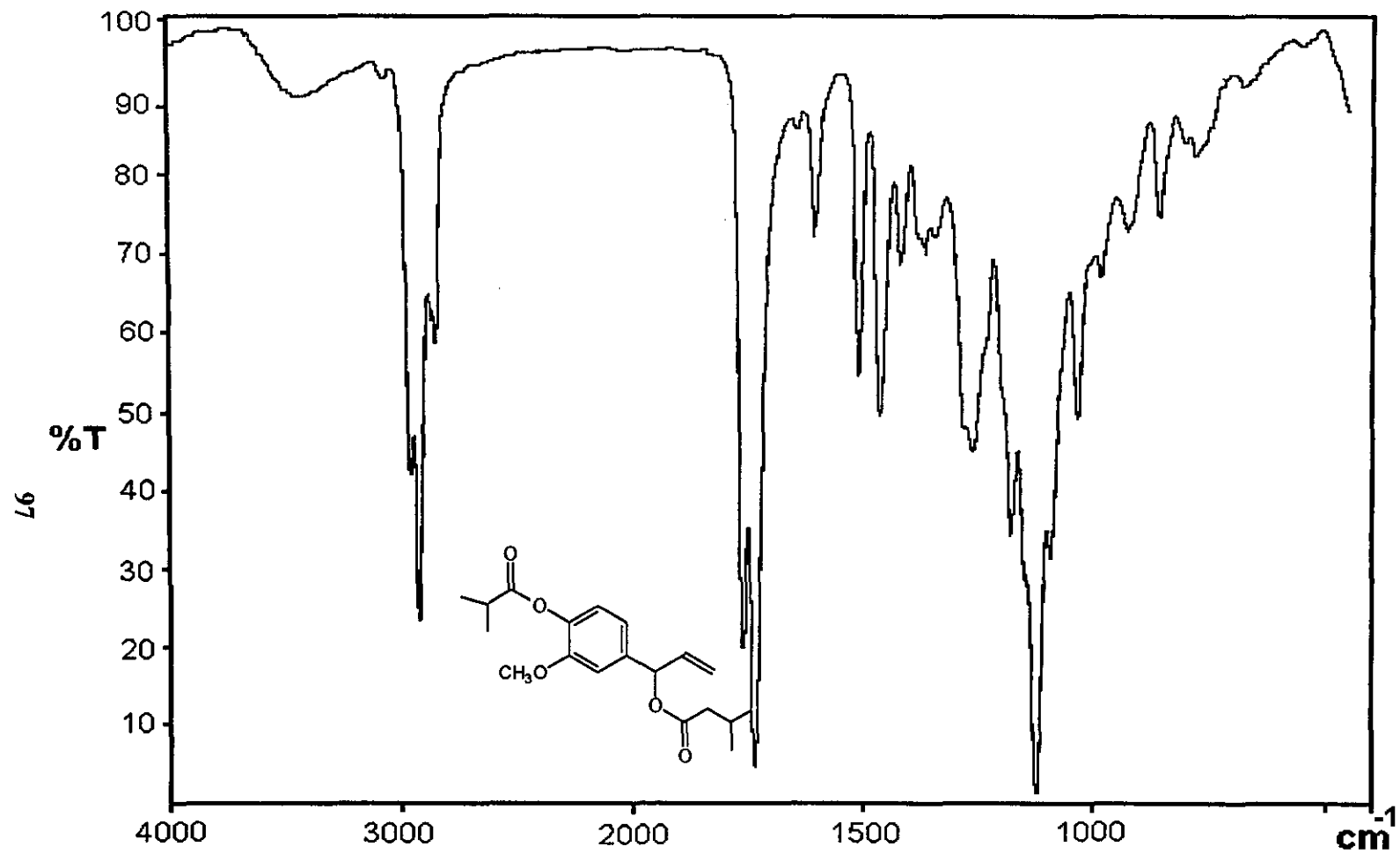
Espectro 6. Espectro de RMN¹³C modalidad DEPT del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).



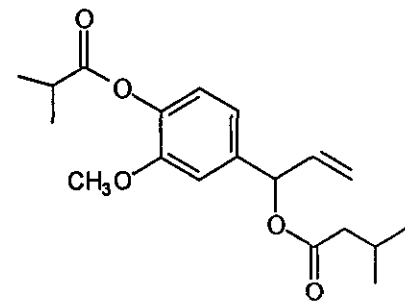
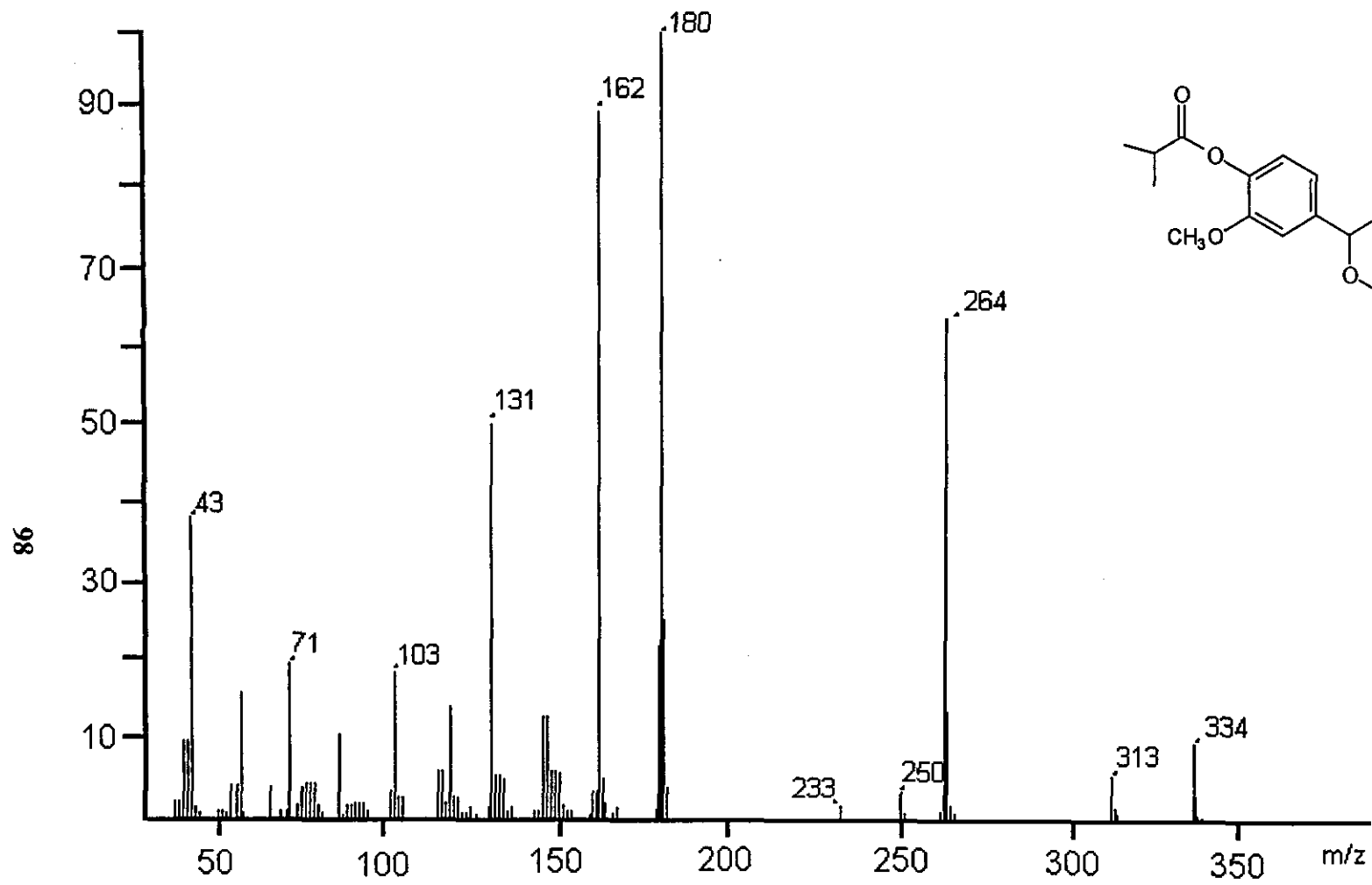
Espectro 7. Espectro de RMN 2D-HMQC del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).



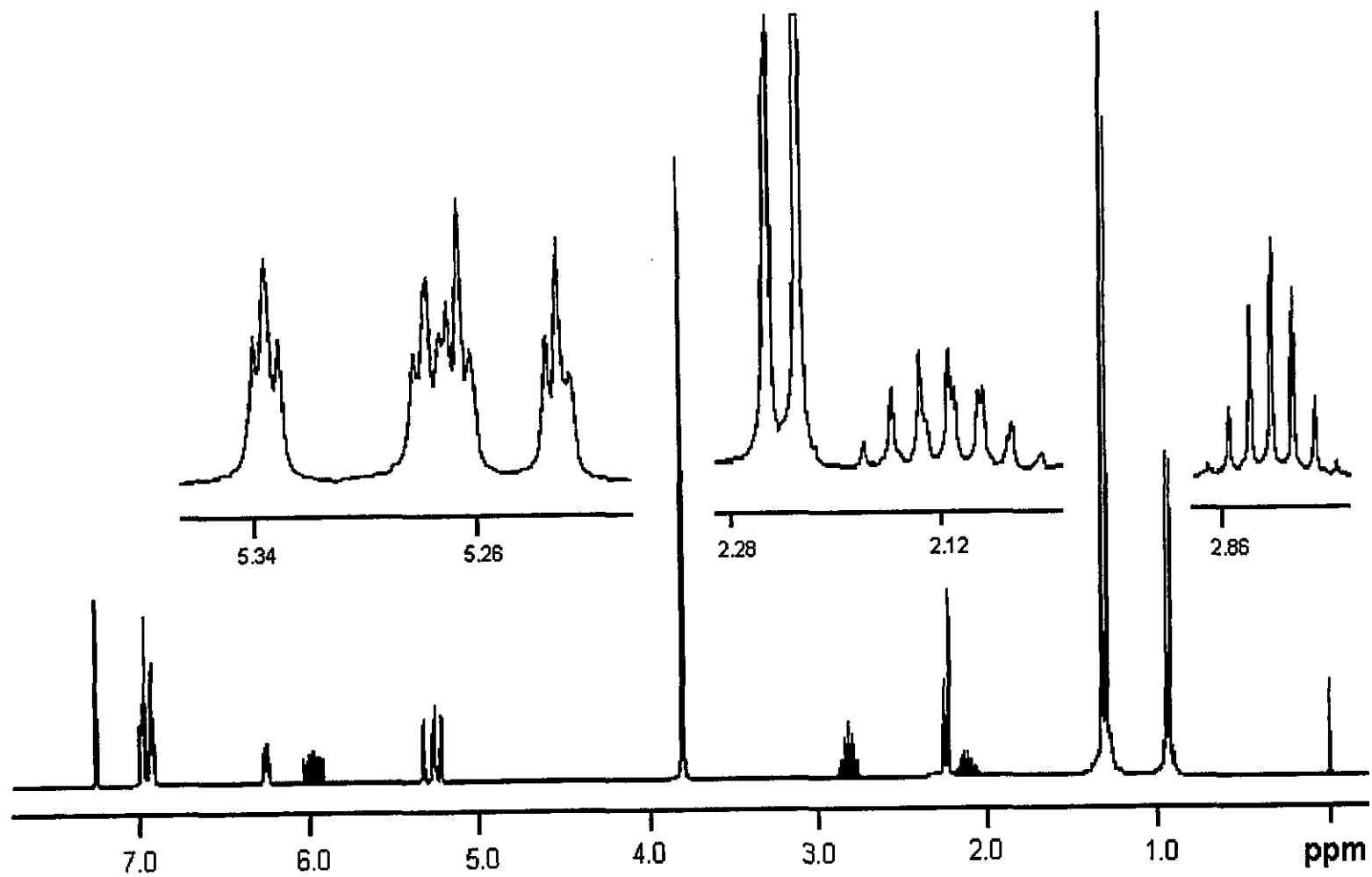
Espectro 8. Espectro de RMN 2D-HMBC del 1-(1'-isobutiriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (69).



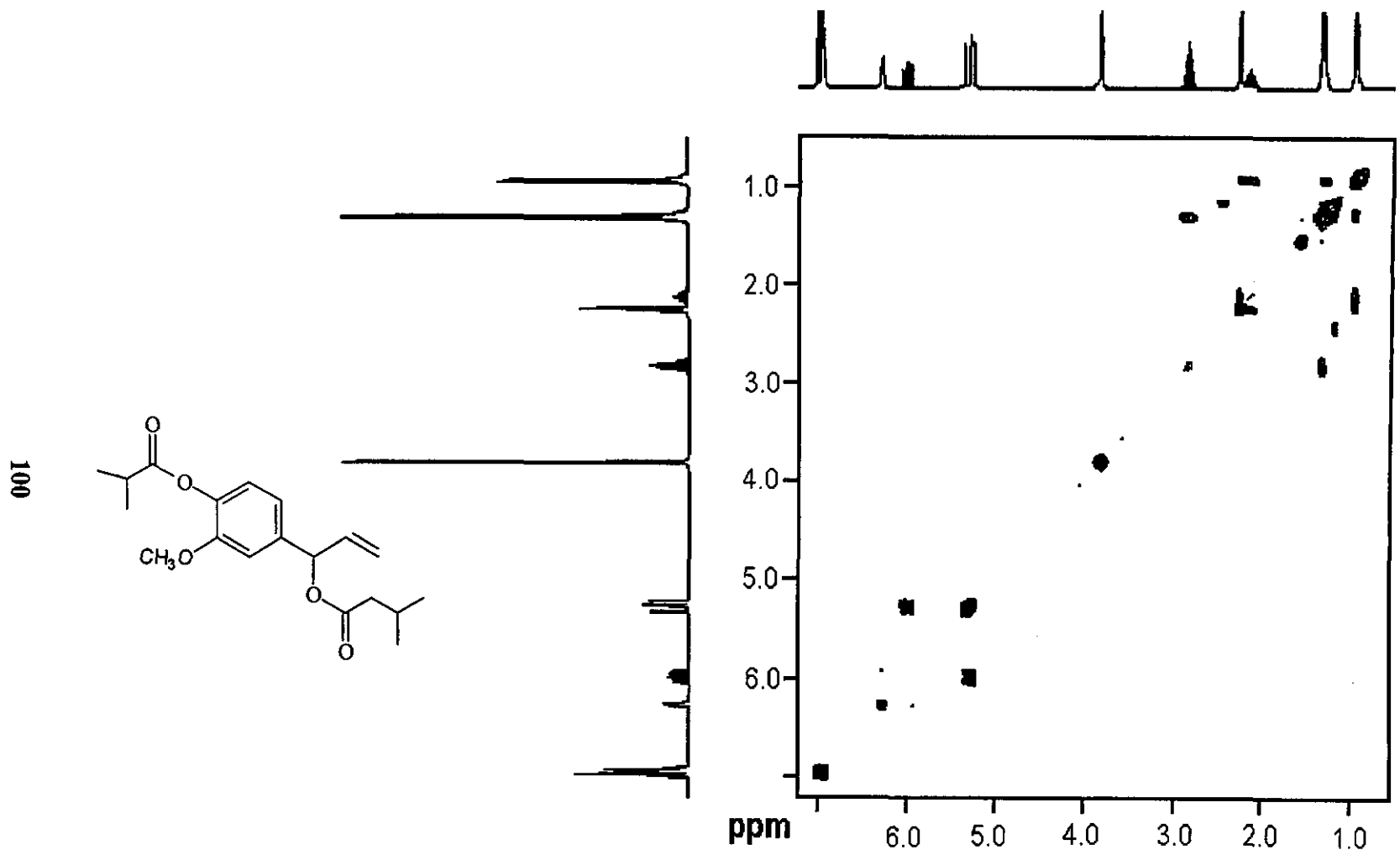
Espectro 9. Espectro en el IR del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).



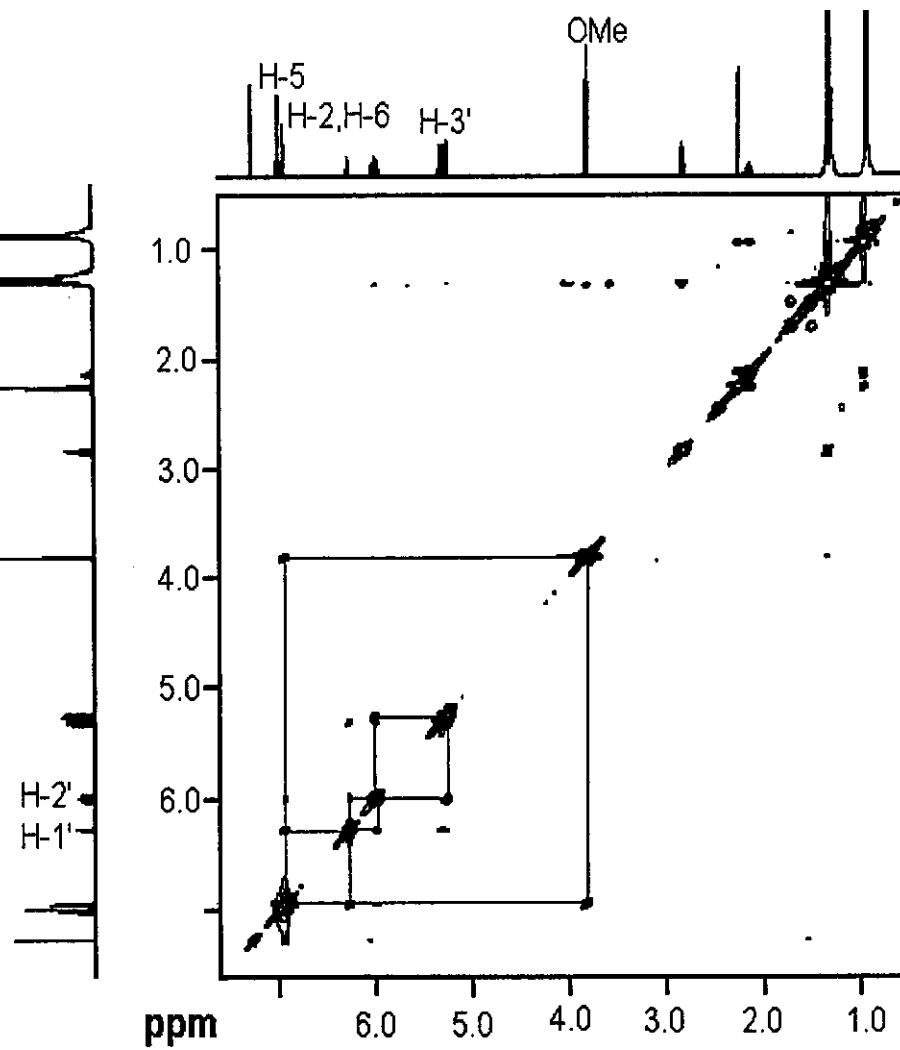
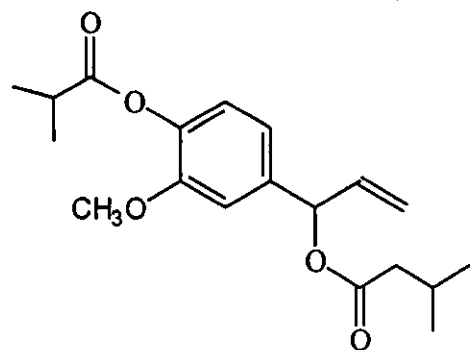
Espectro 10. Espectro de masas del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).



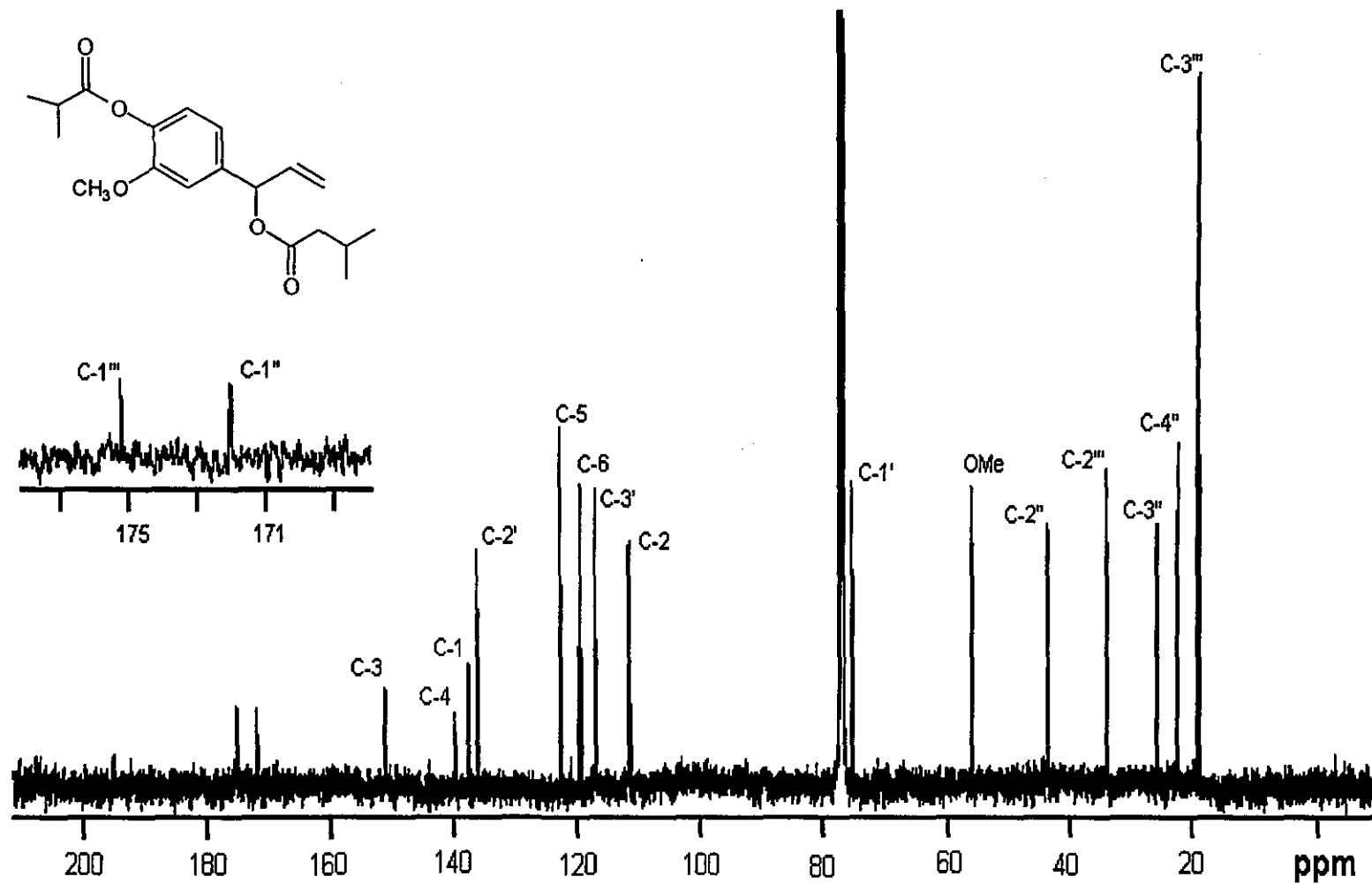
Espectro 11. Espectro de RMN^1H del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).



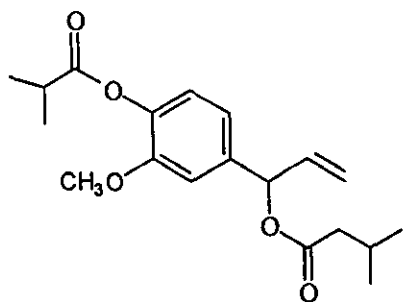
Espectro 12. Espectro de RMN¹H COSY del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).



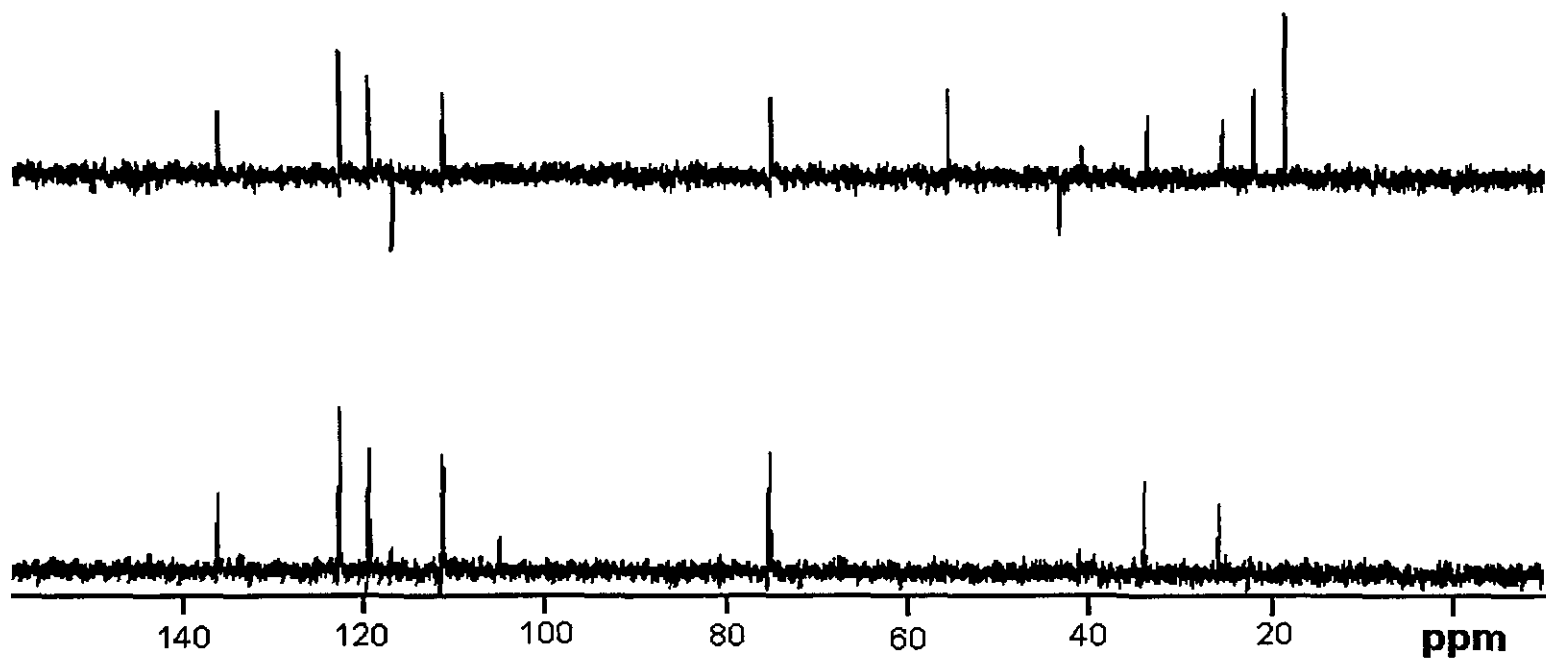
Espectro 13. Espectro de RMN¹H NOESY del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).



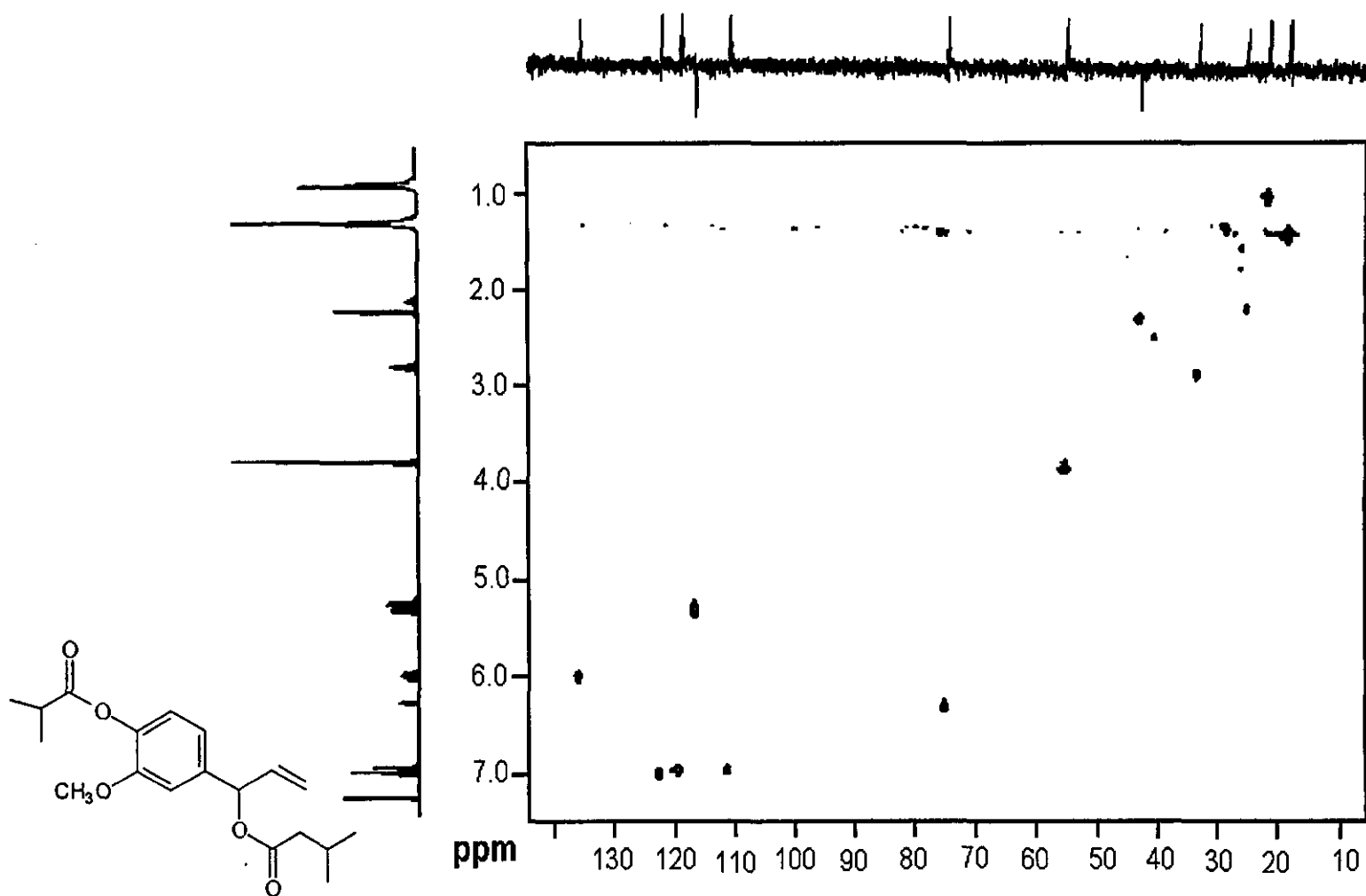
Espectro 14. Espectro de RMN ^{13}C del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).



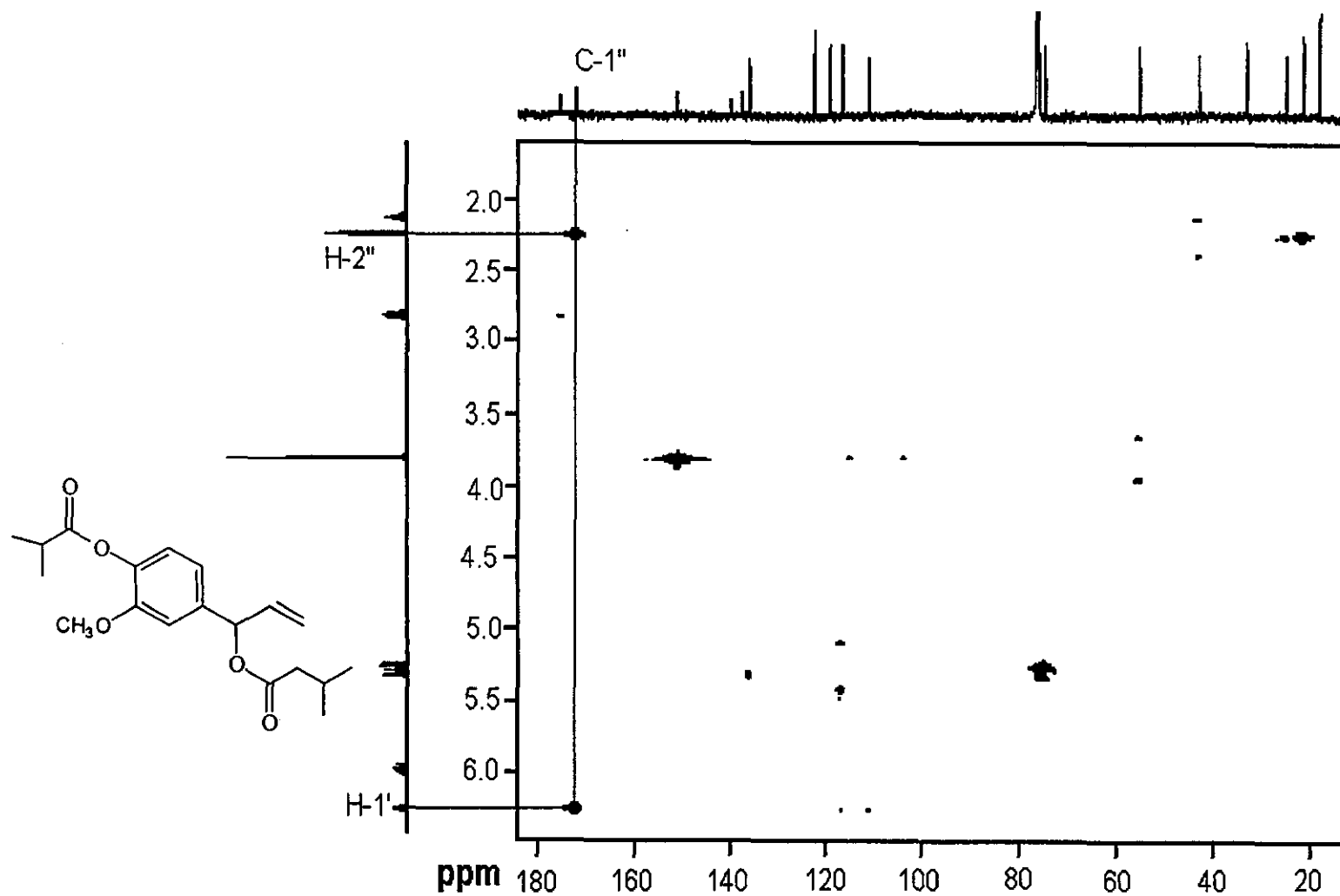
103



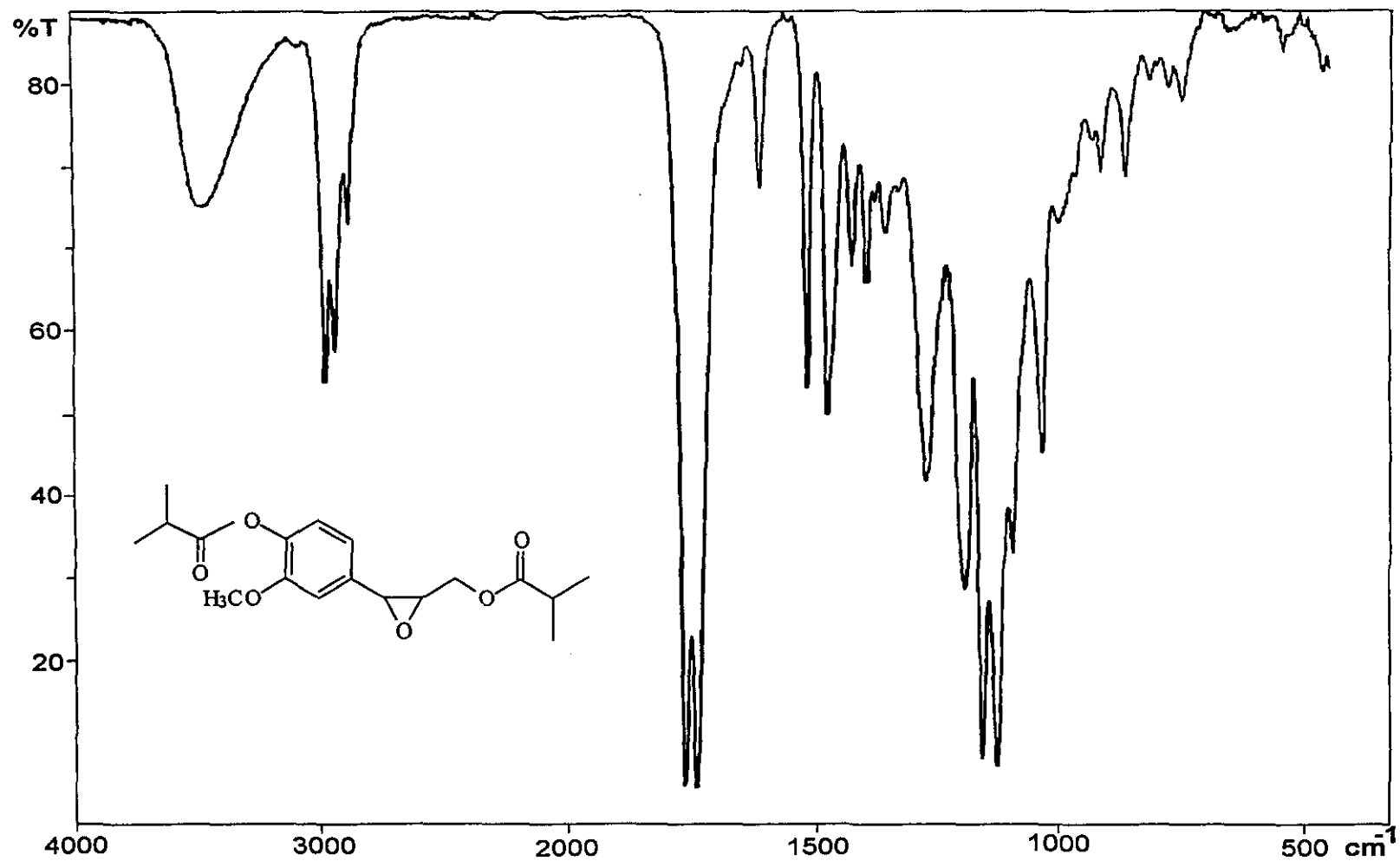
Espectro 15. Espectro de RMN¹³C modalidad DEPT del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).



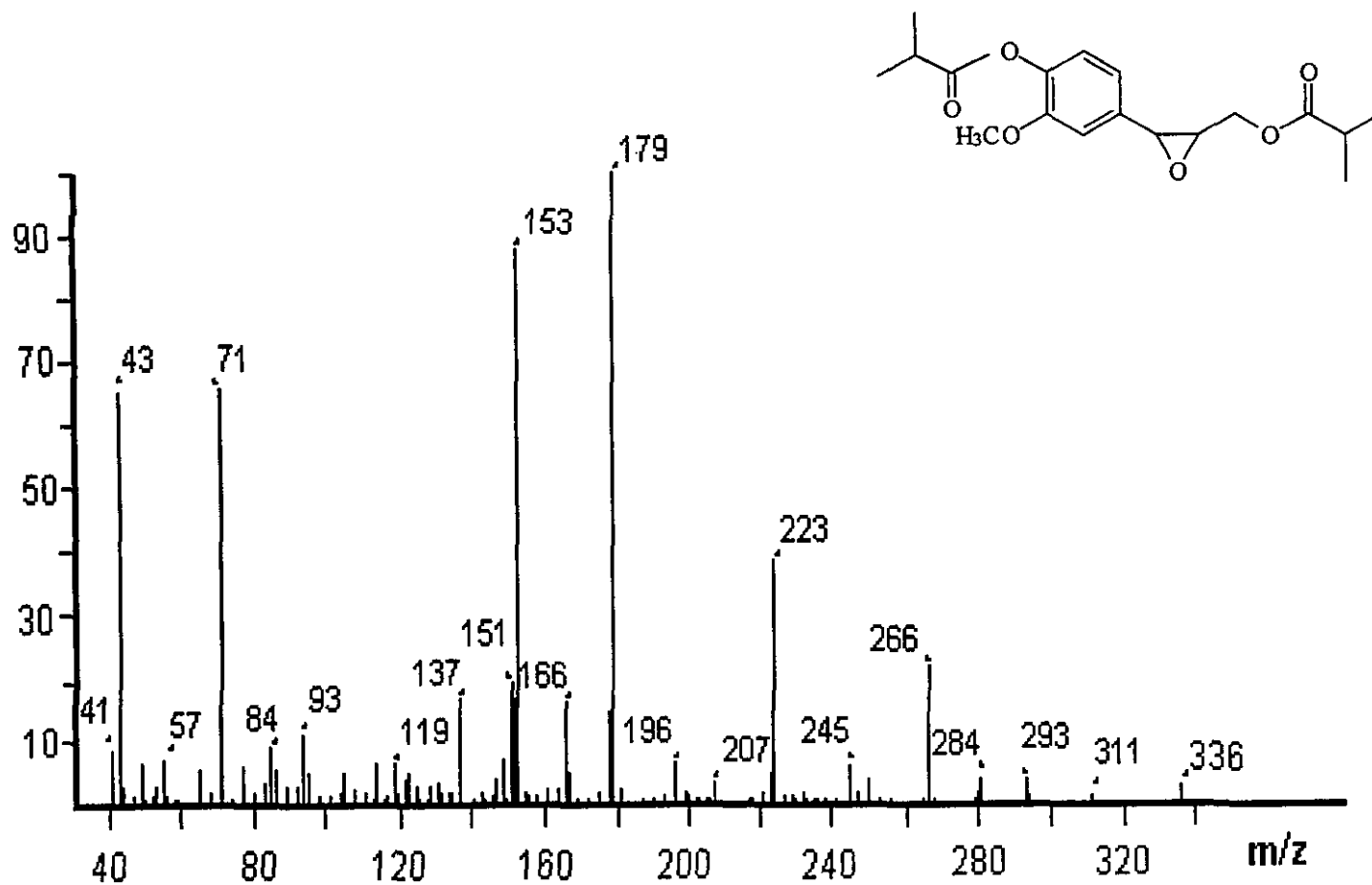
Espectro 16. Espectro de RMN 2D-HMQC del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).



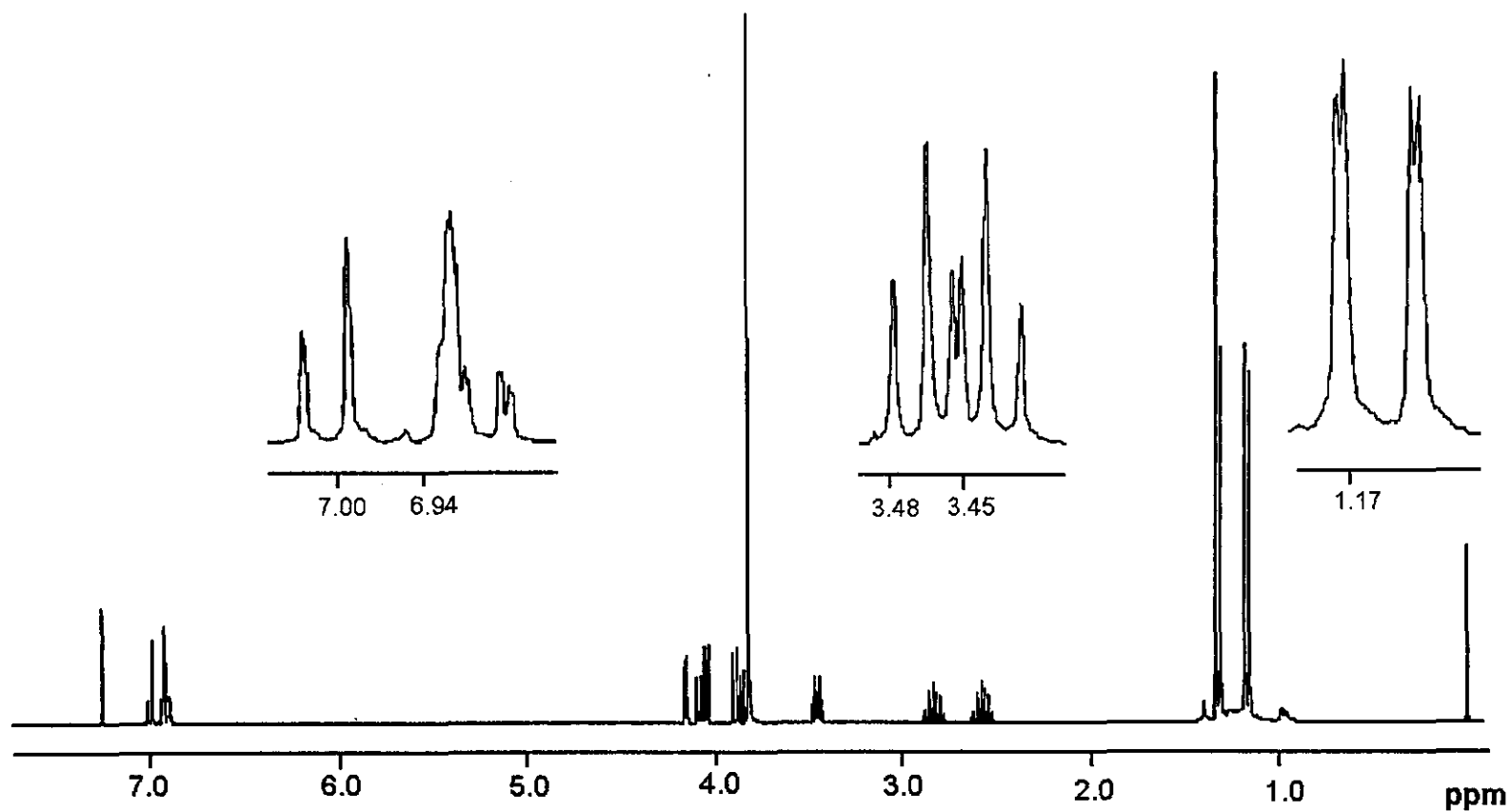
Espectro 17. Espectro de RMN 2D-HMBC del 1-(1'-isovaleriloxi-2'-propeno)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (70).



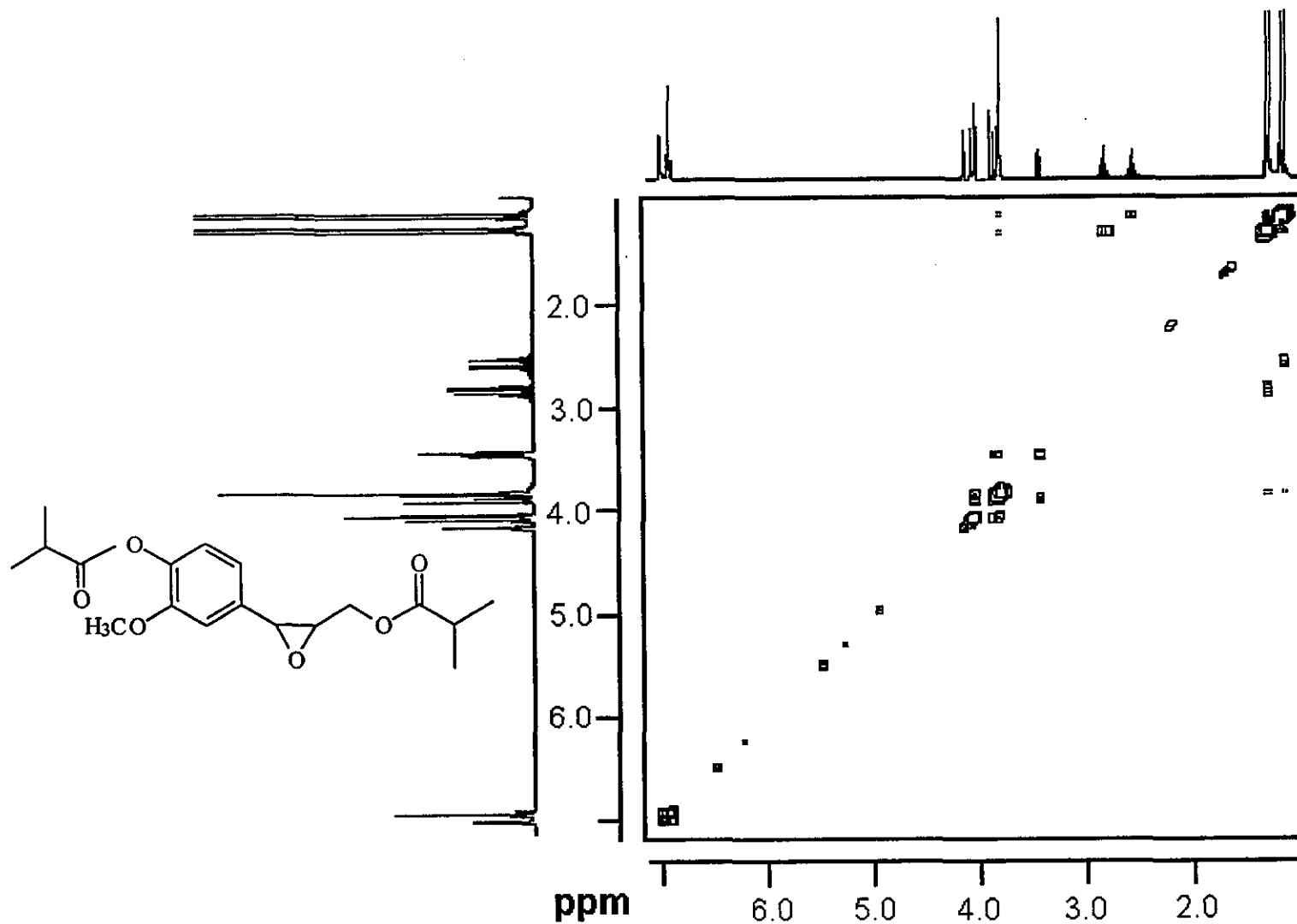
Espectro 18. Espectro en el IR del 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxy-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxy-benceno (17).



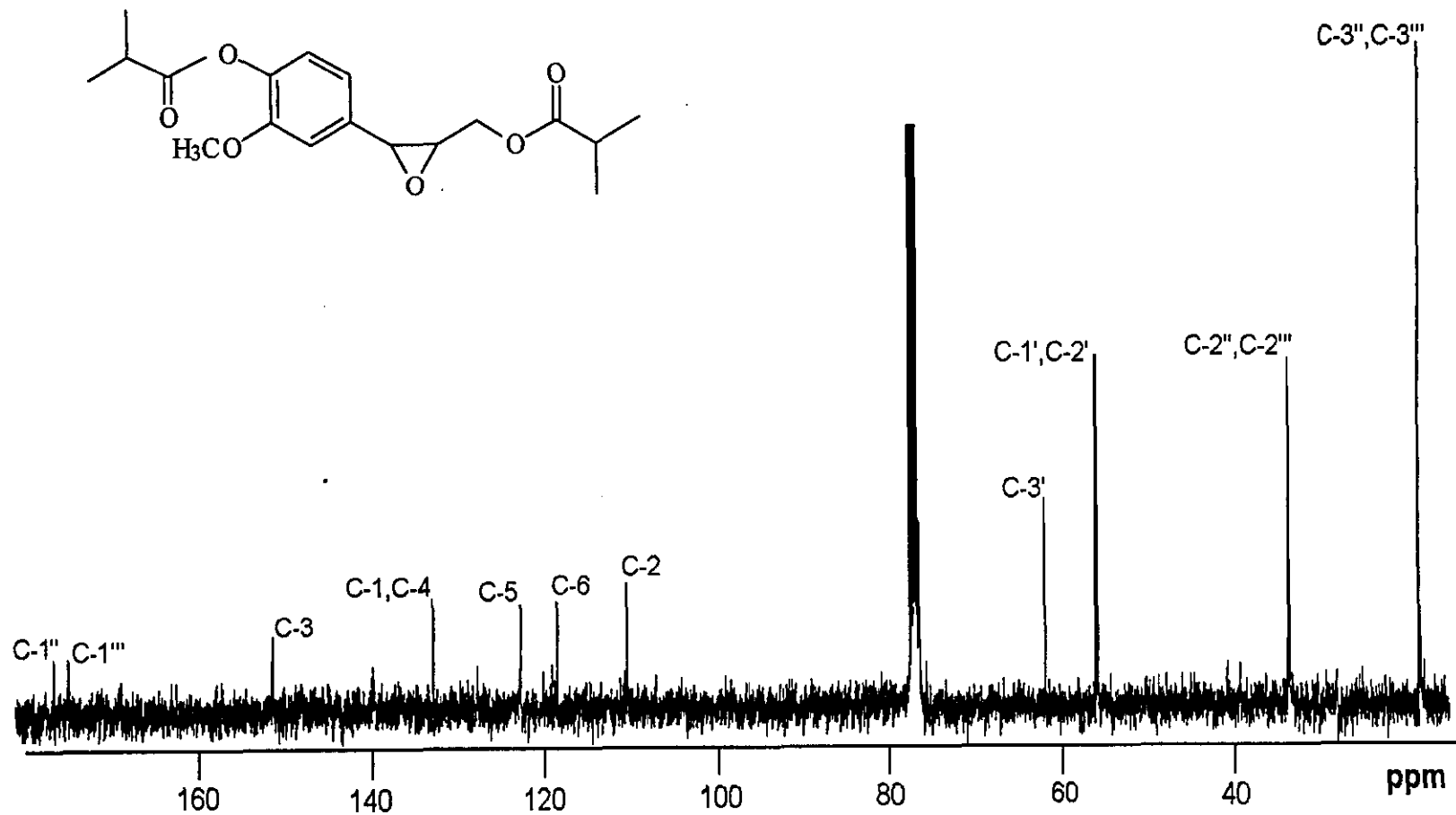
Espectro 19. Espectro de masas del 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxy-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxy-benceno (17).



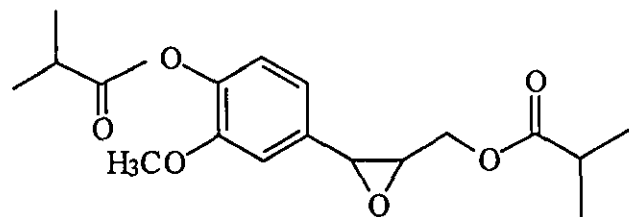
Espectro 20. Espectro de RMN^1H del 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxy-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxy-benceno (17).



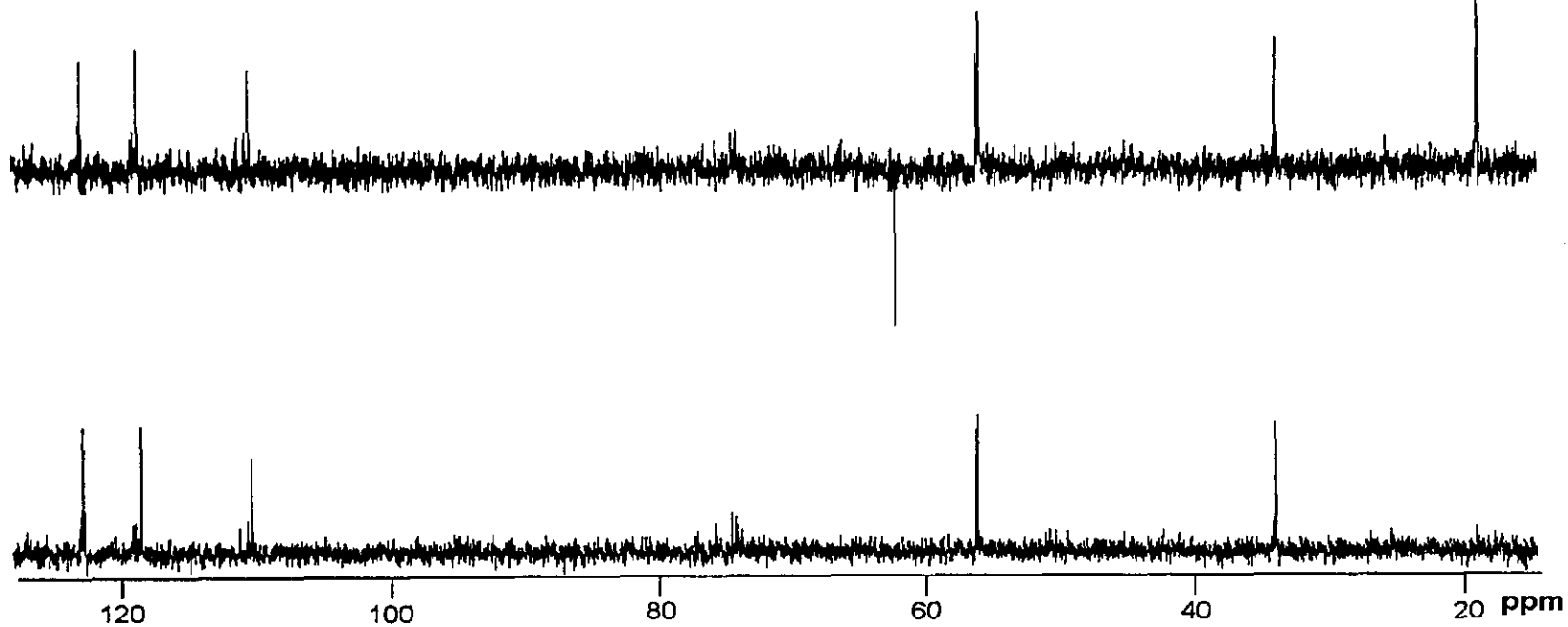
Espectro 21. Espectro de RMN¹H COSY del 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxy-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxy-benceno (17).



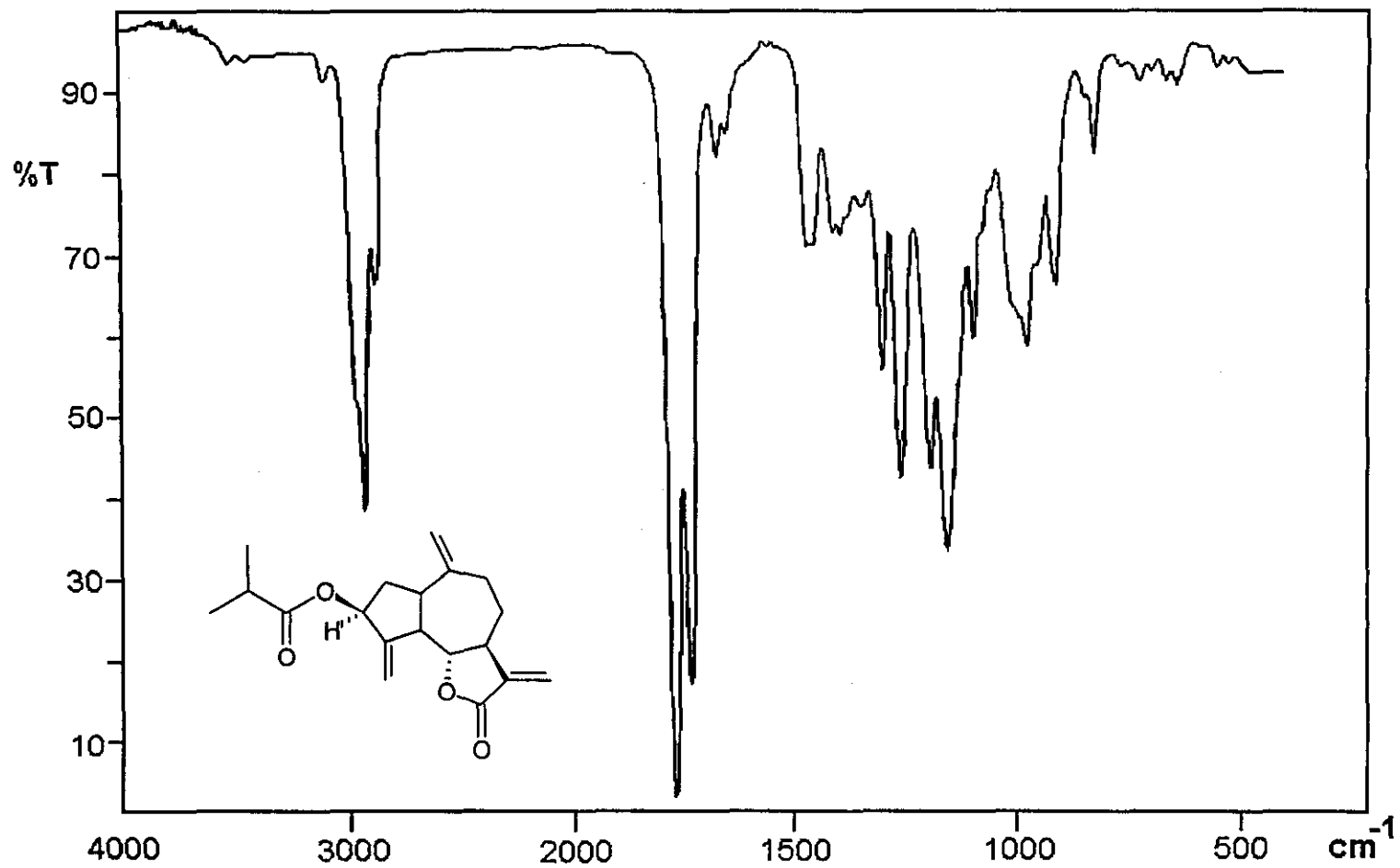
Espectro 22. Espectro de RMN ^{13}C del 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17).



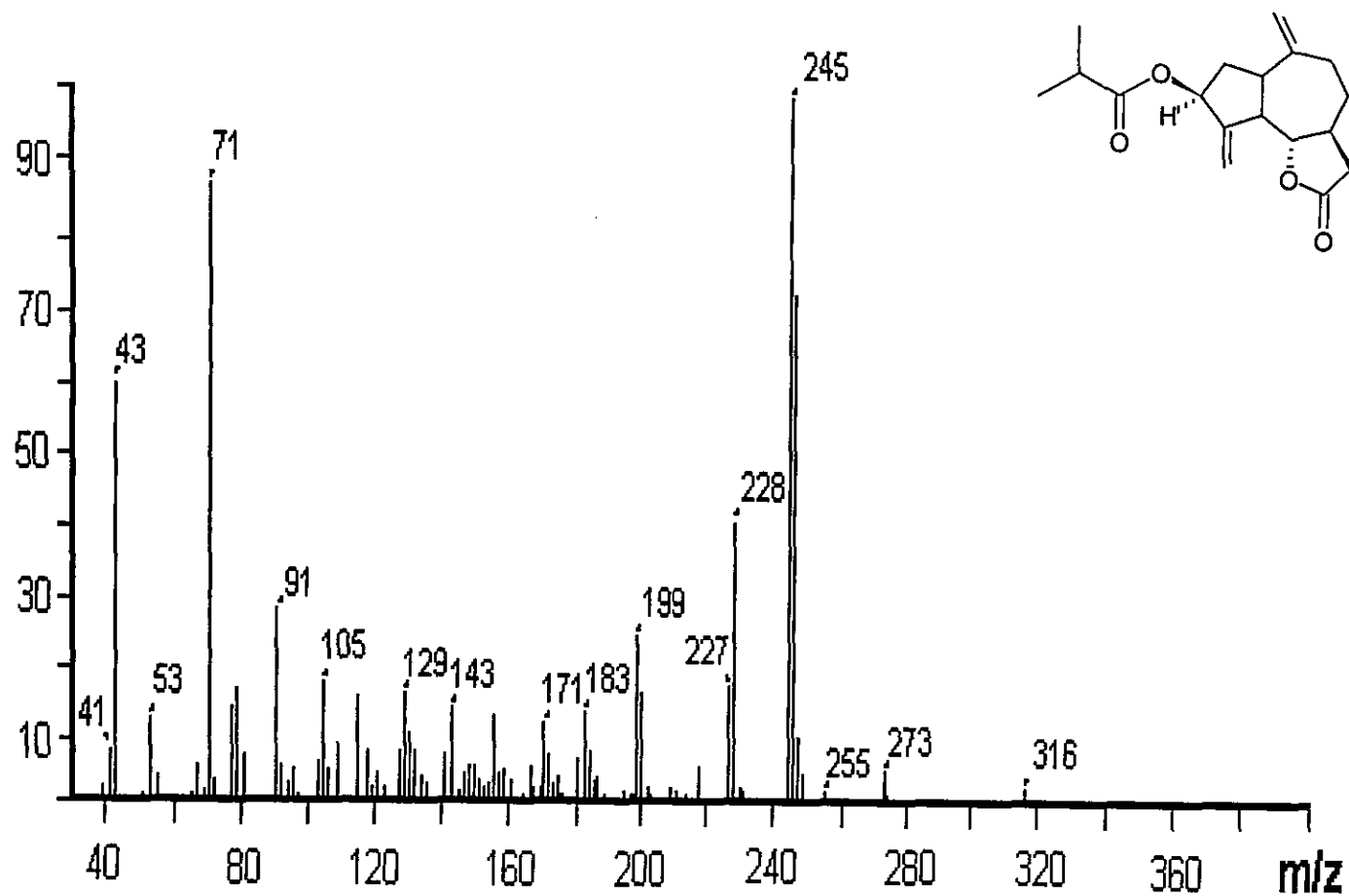
III



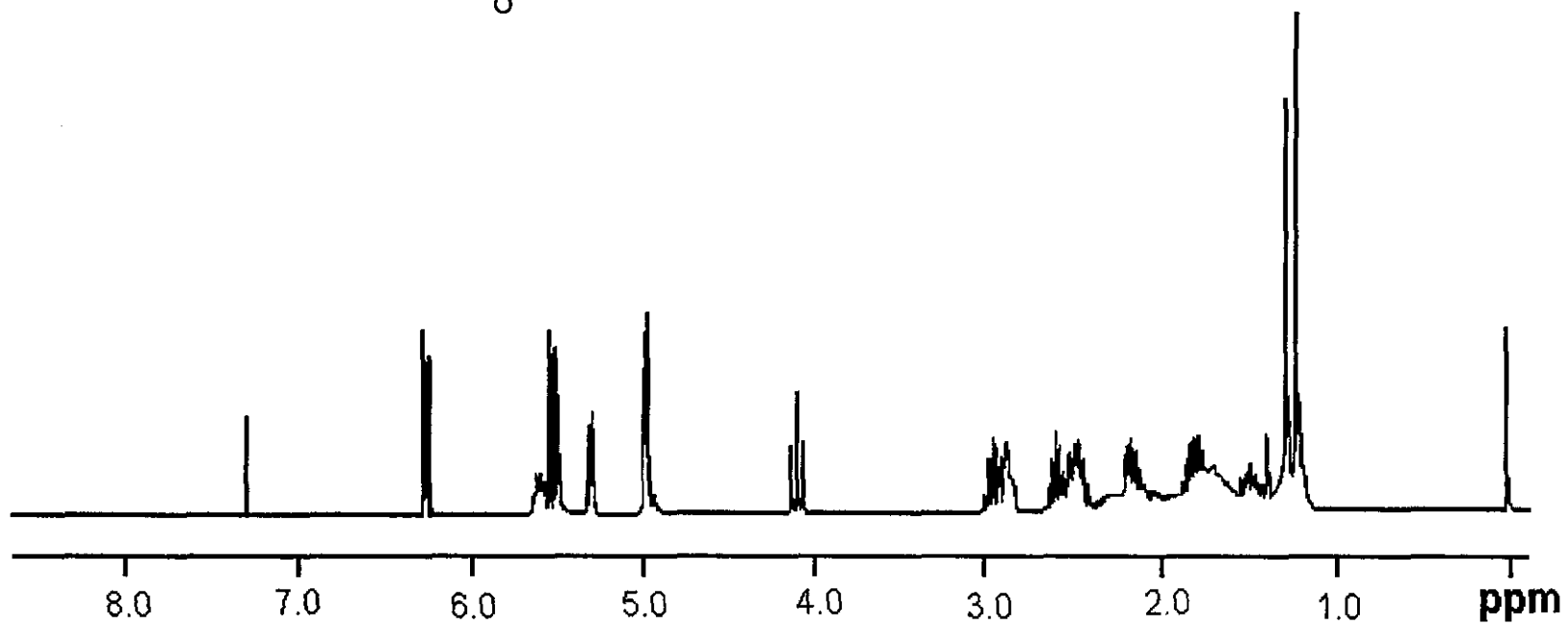
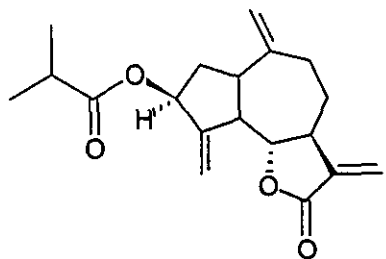
Espectro 23. Espectro de RMN ^{13}C modalidad DEPT del 1-(1', 2'-epoxi-3'-isobutiriloxi-propano)-3-metoxi-4-isobutiriloxi-benceno (17).



Espectro 24. Espectro en el IR de la 3β-isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71).

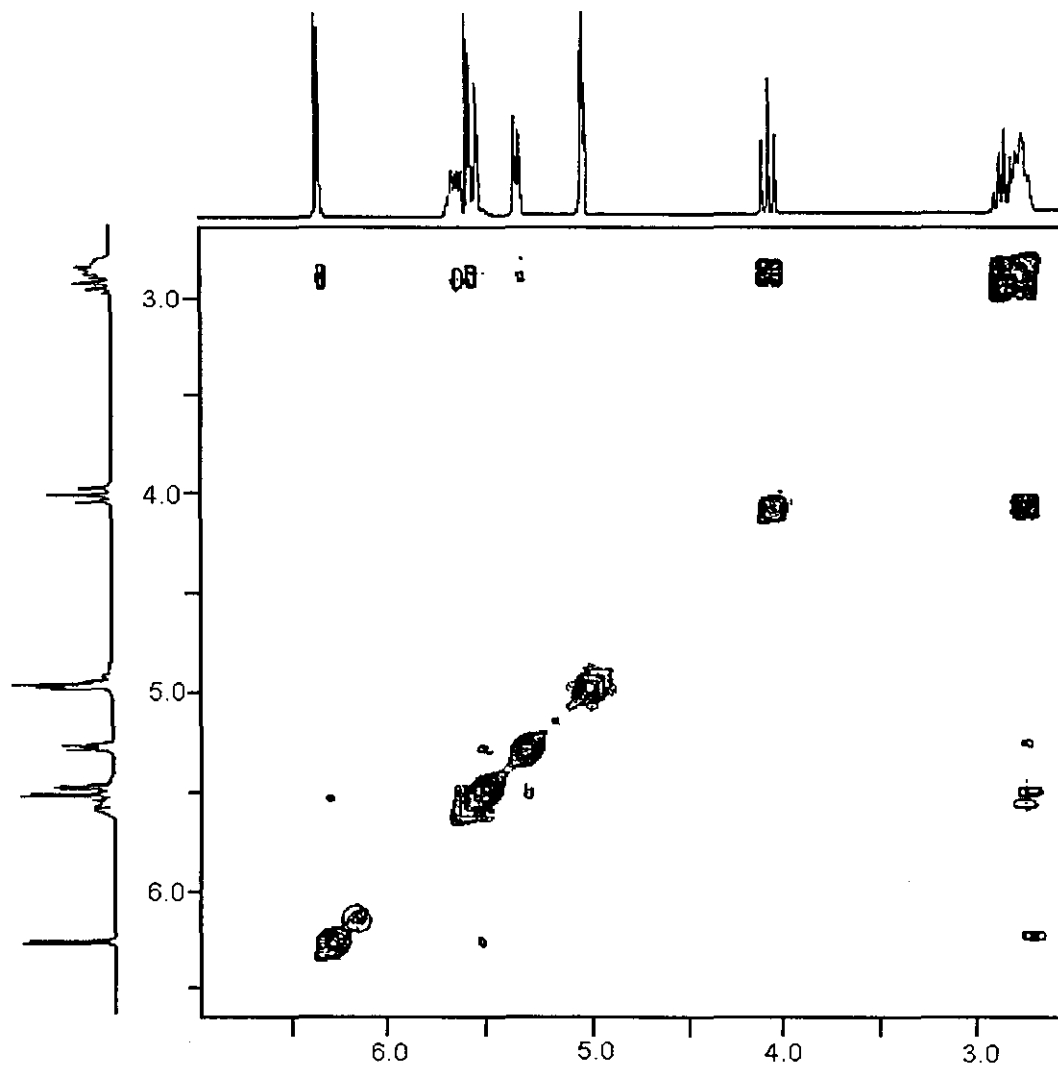
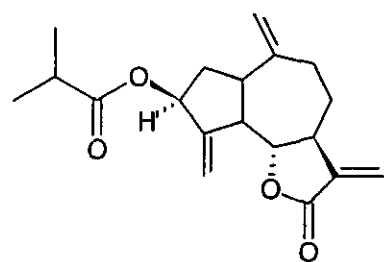


Espectro 25. Espectro de masas de la 3β-isobutiriloxy-deshidrocostuslactona (71).

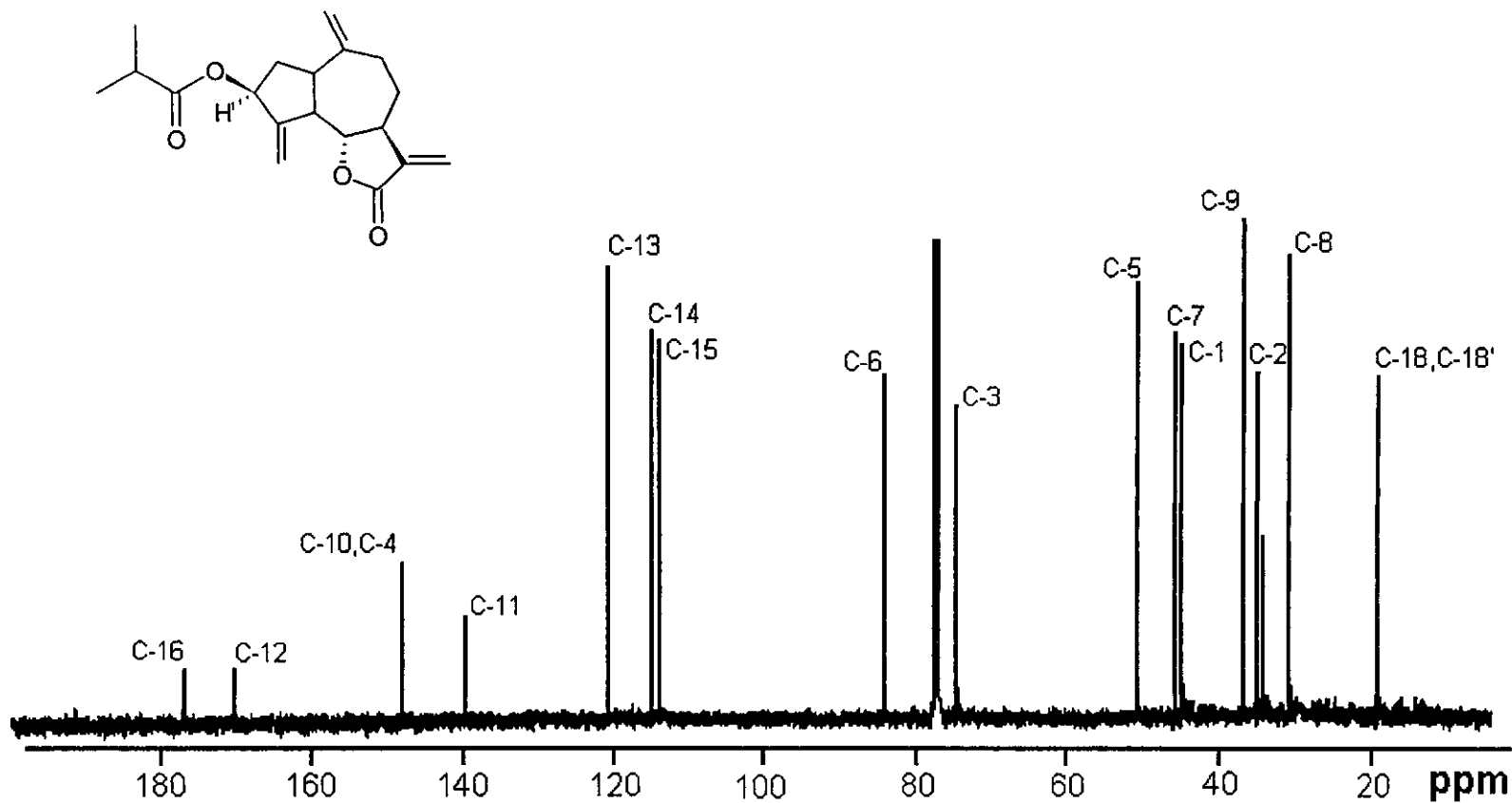


114

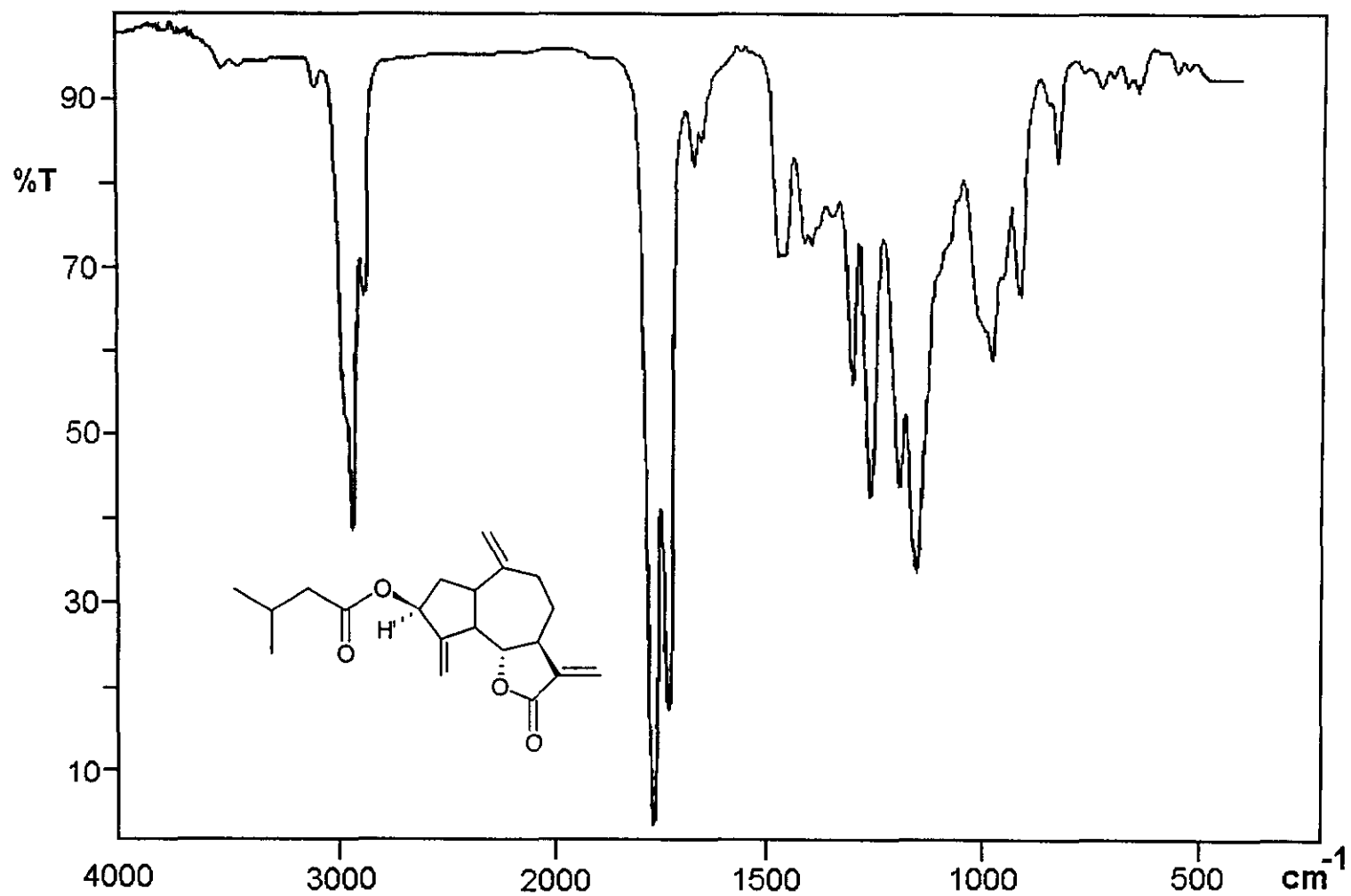
Espectro 26. Espectro de RMN¹H de la 3β-isobutiriloxy-deshidrocostuslactona (71).



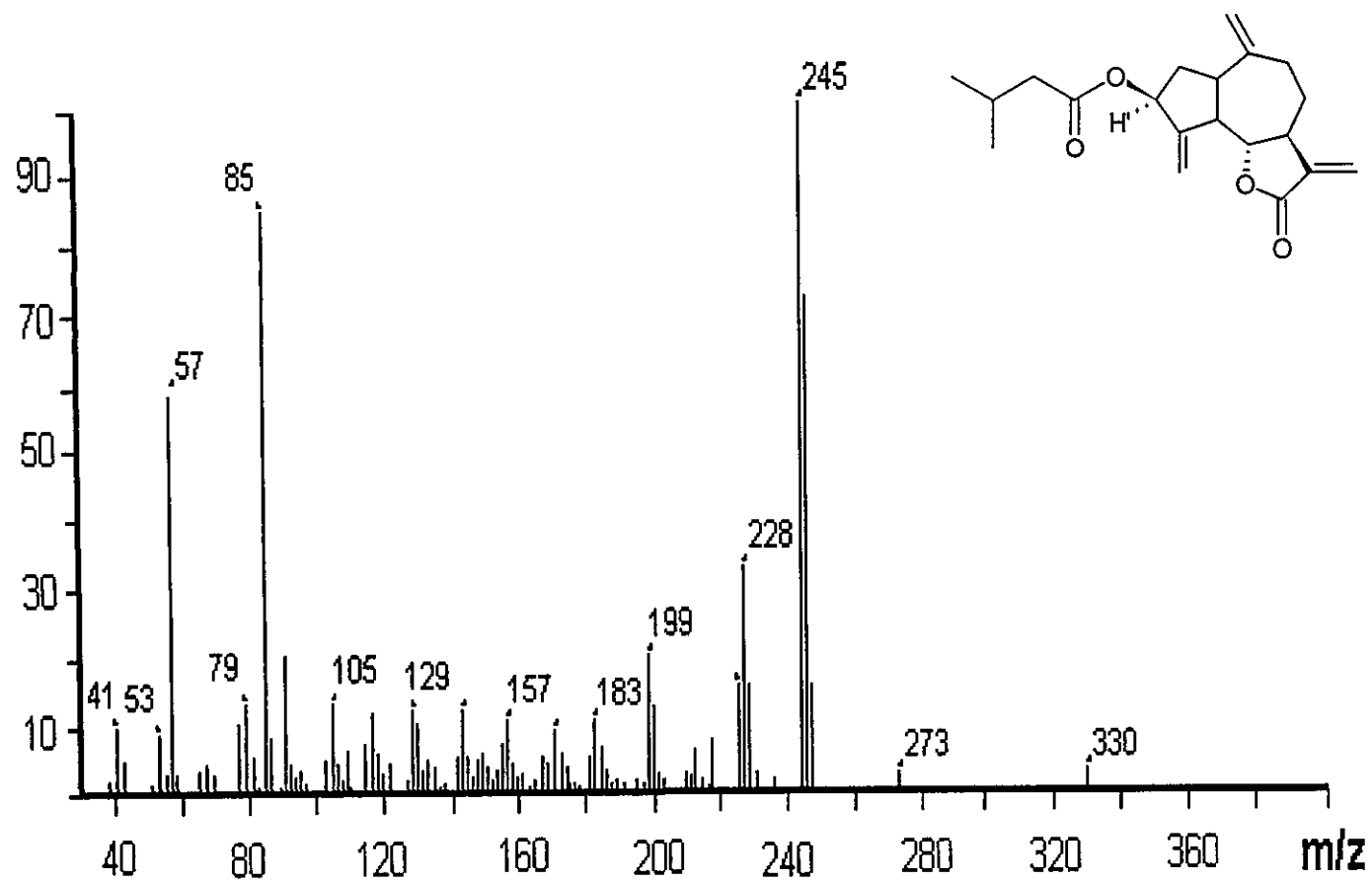
Espectro 27. Espectro de RMN¹H COSY de la 3β-isobutiriloxy-deshidrocostuslactona (71).



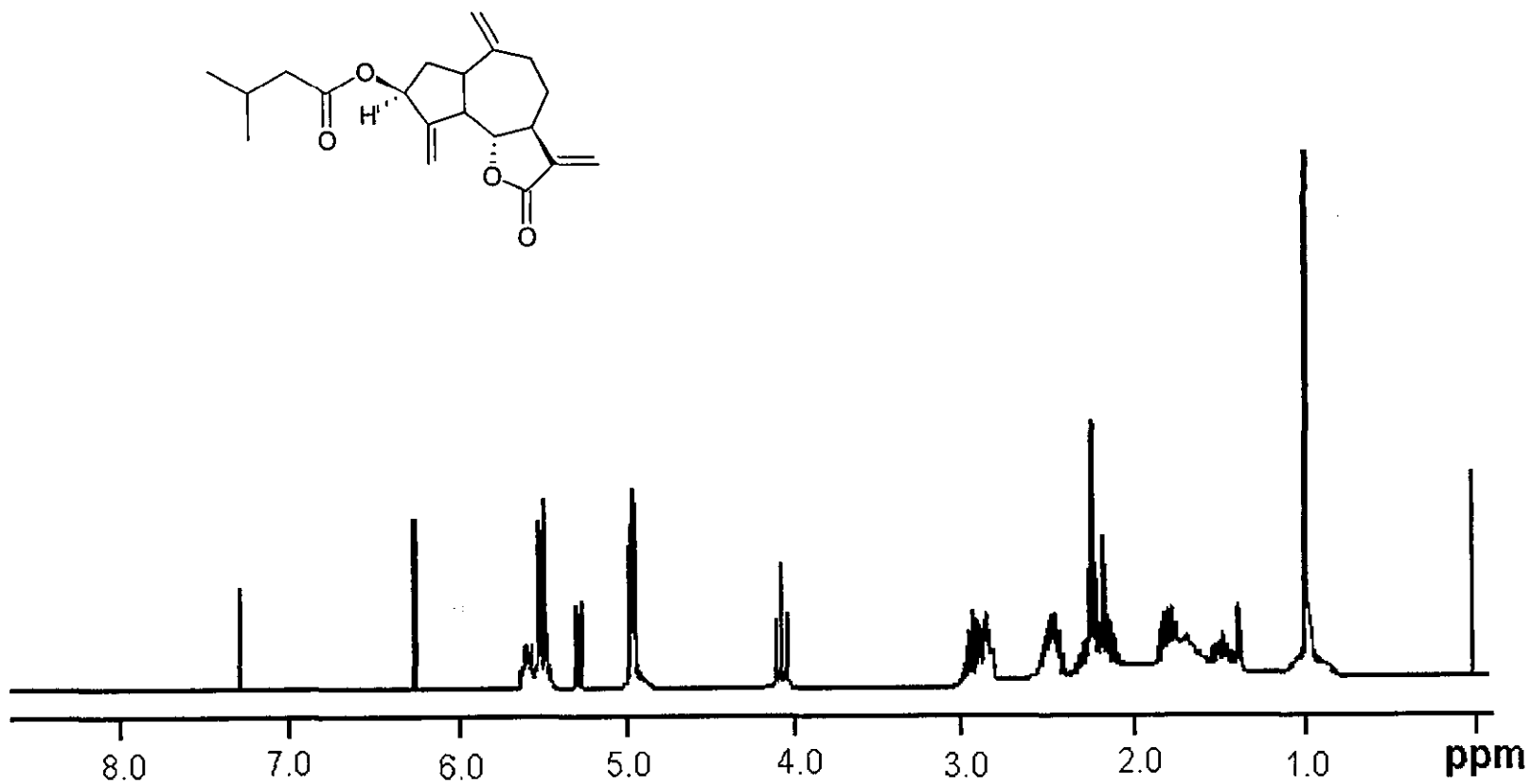
Espectro 28. Espectro de RMN¹³C de la 3β-isobutiriloxi-deshidrocostuslactona (71).



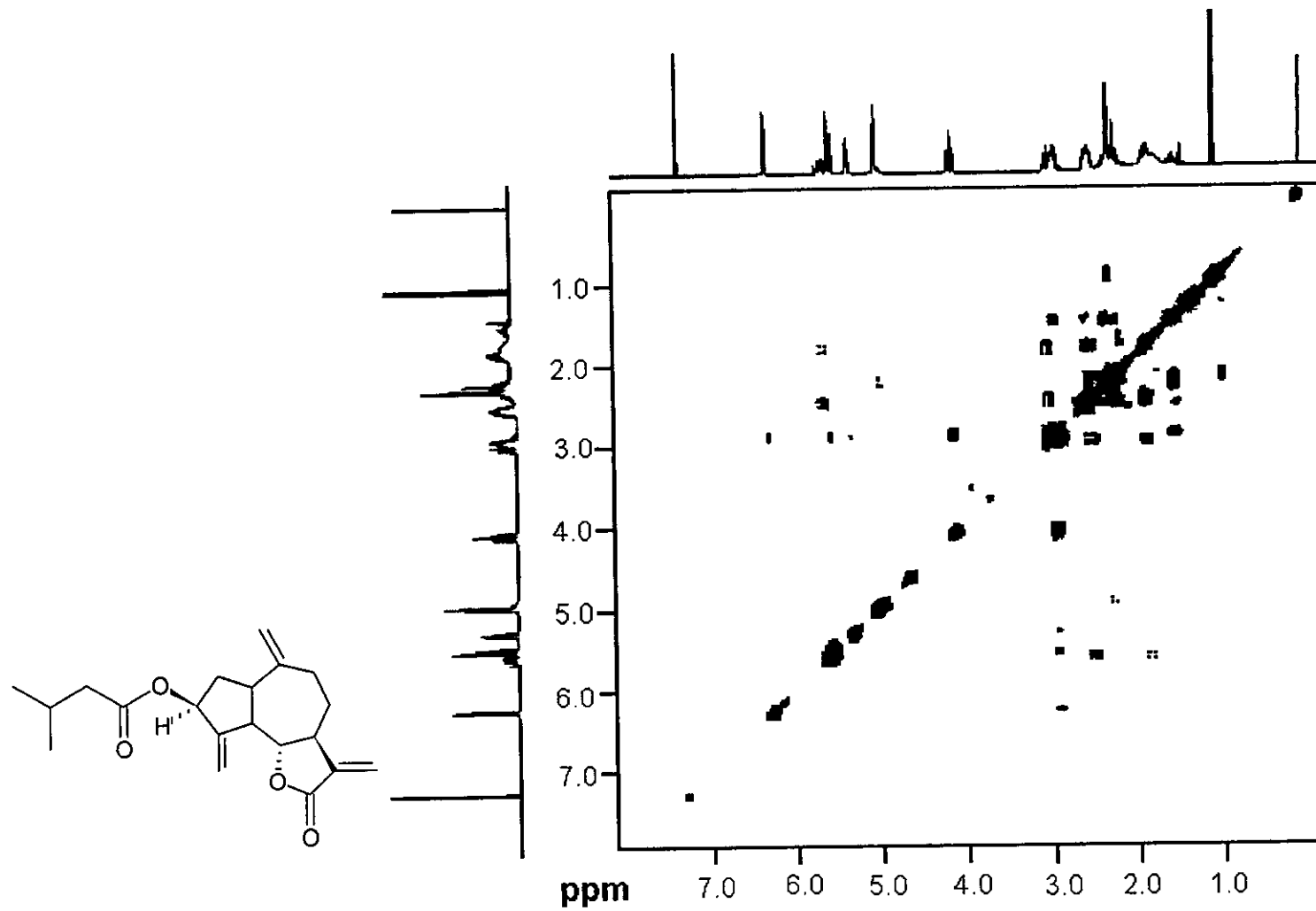
Espectro 29. Espectro en el IR de la 3β-isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72).



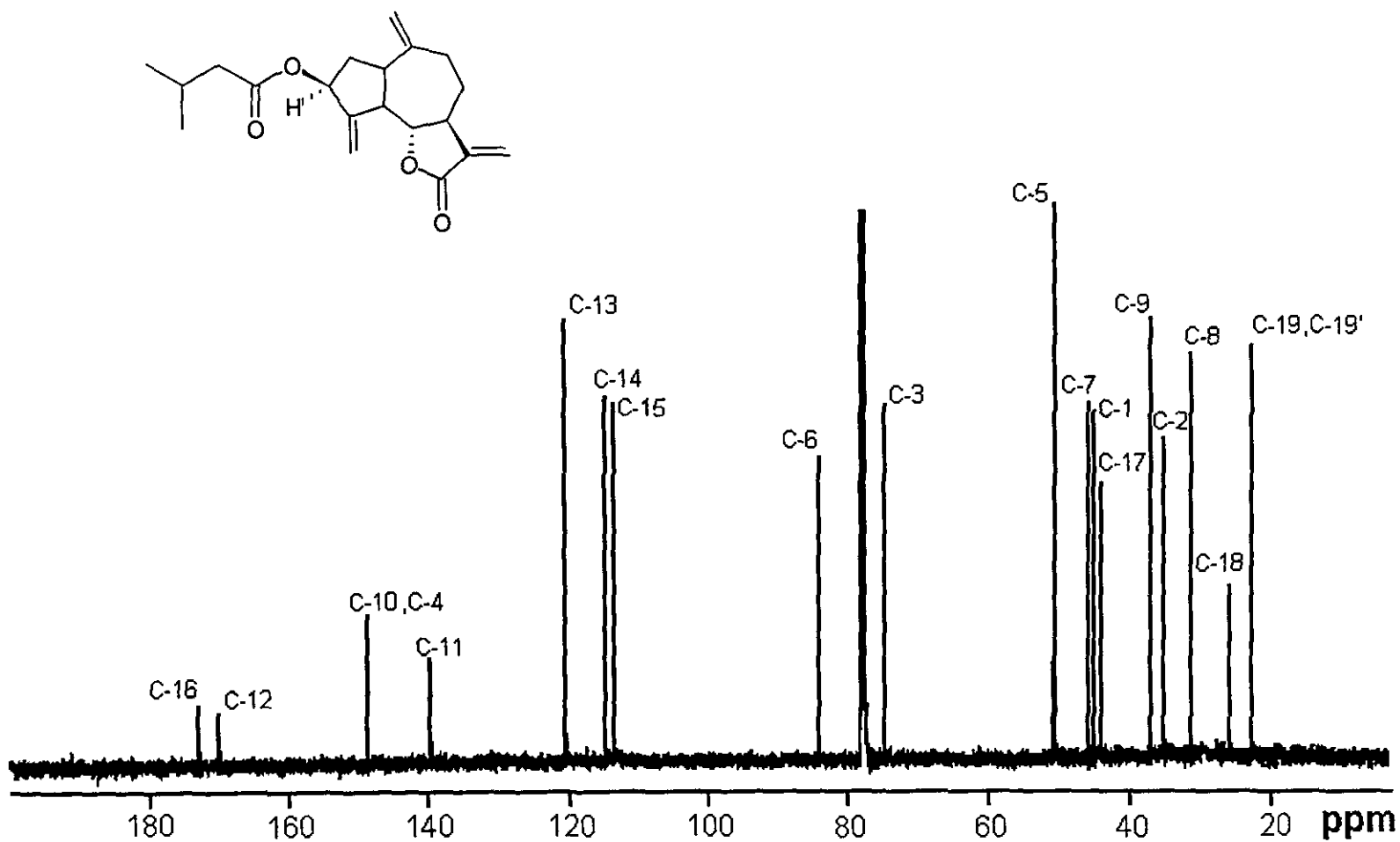
Espectro 30. Espectro de masas de la 3β-isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72).



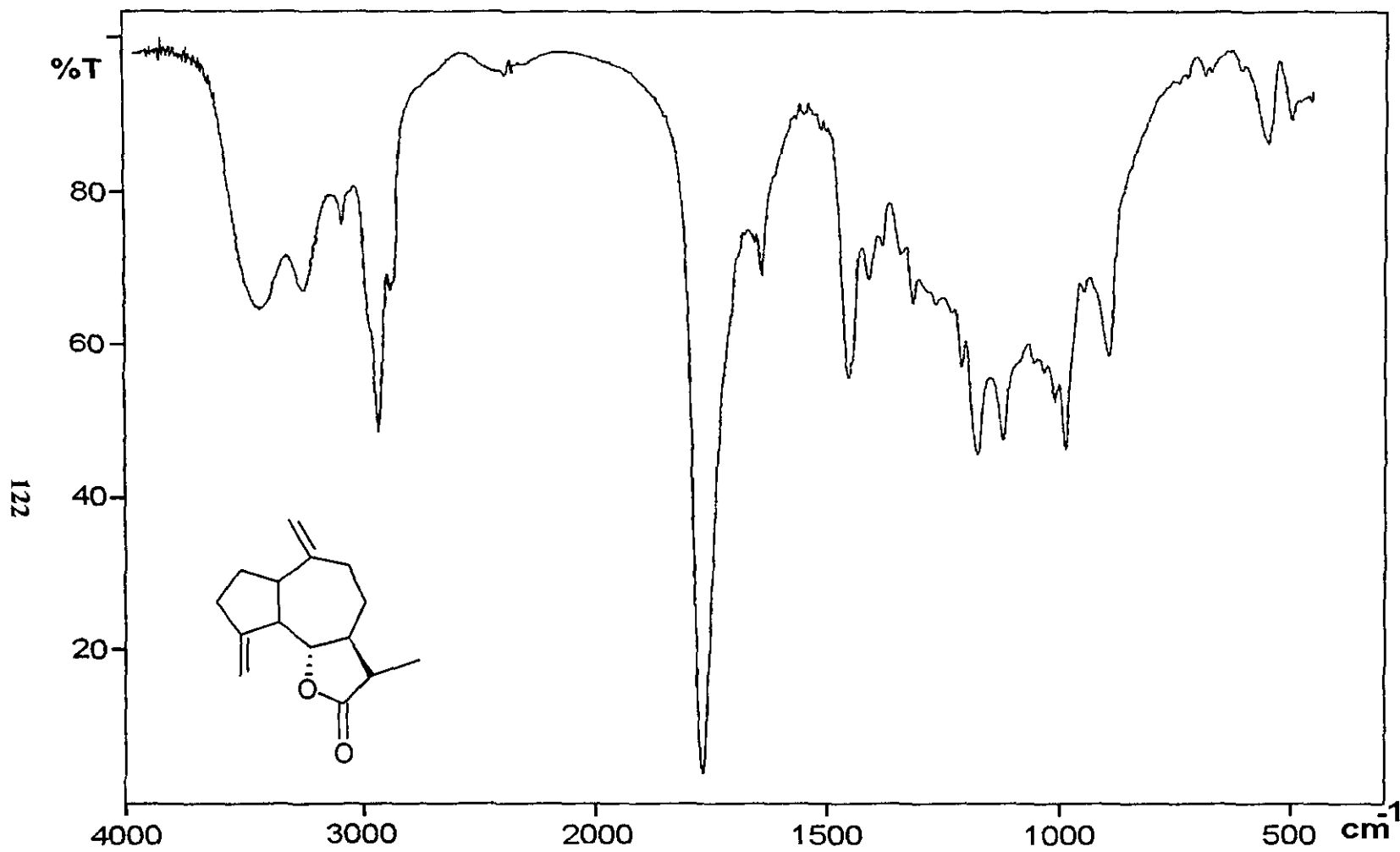
Espectro 31. Espectro de RMN¹H de la 3β-isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72).



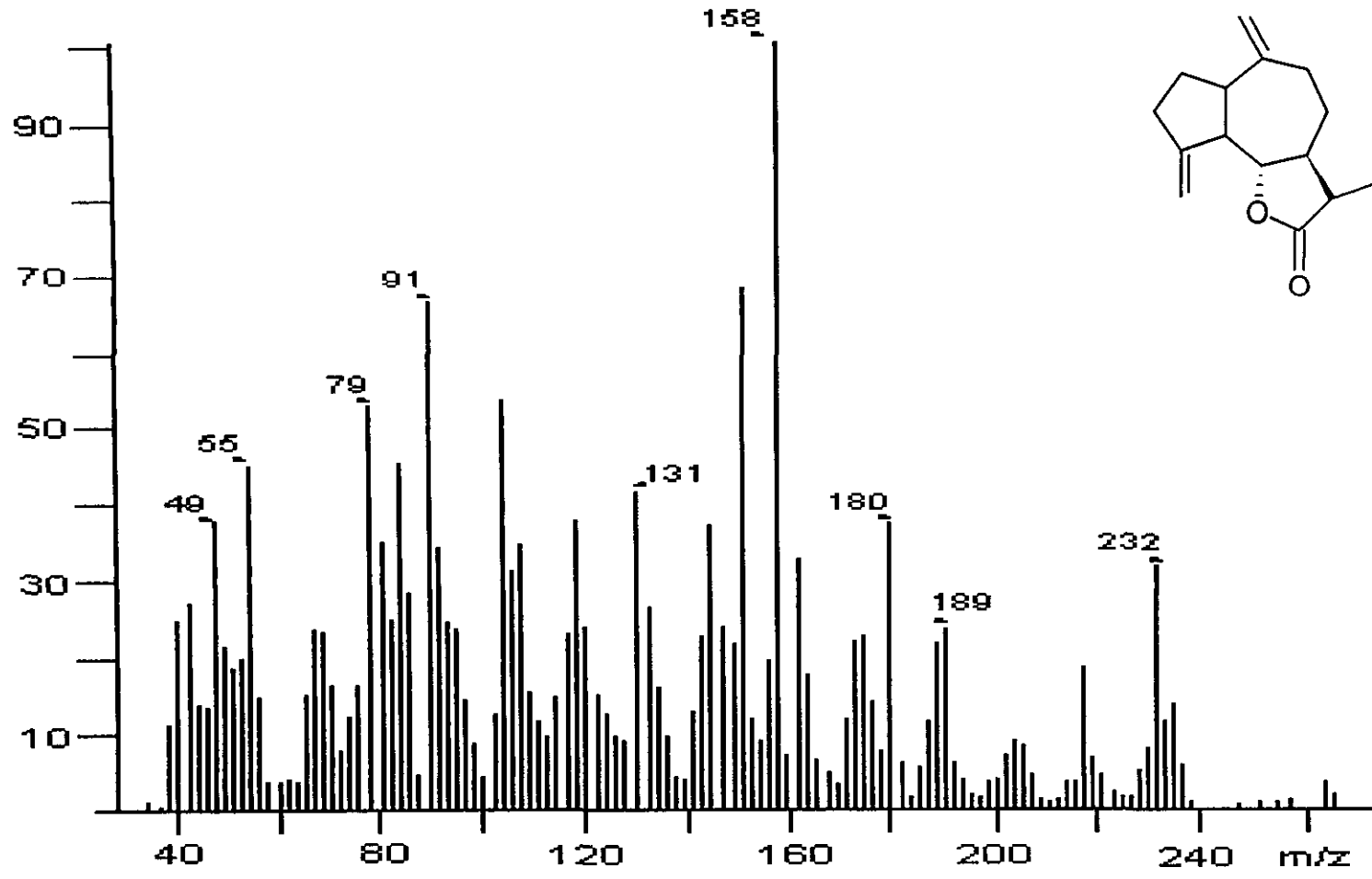
Espectro 32. Espectro de RMN¹H COSY de la 3β-isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72).



Espectro 33. Espectro de RMN¹³C de la 3β-isovaleriloxi-deshidrocostuslactona (72).

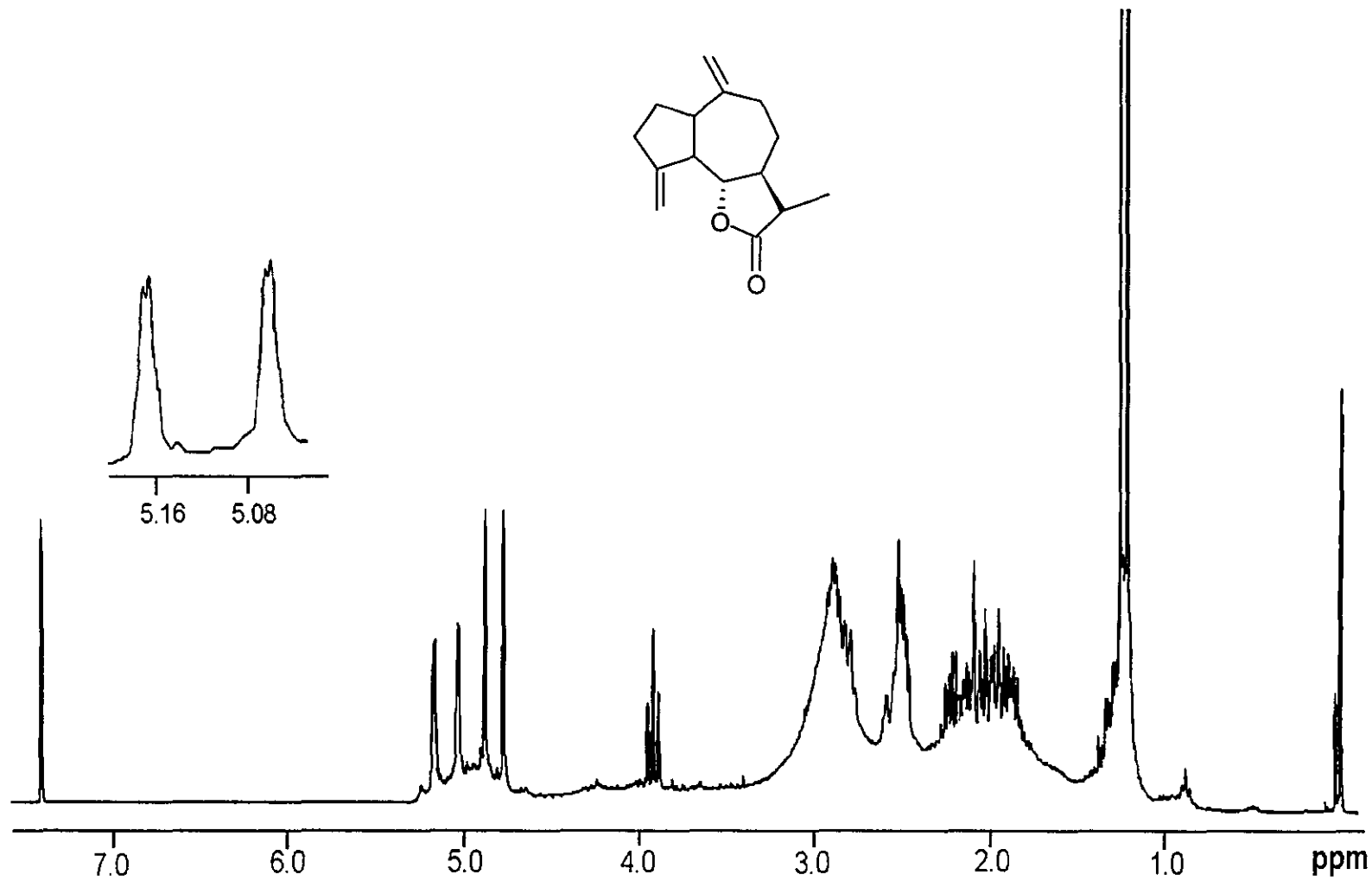


Espectro 34. Espectro en el IR de la 11β-dihydrodeshidrocostuslactona (68).

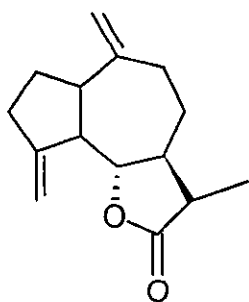


Espectro 35. Espectro de masas de la 11β-dihydrodeshidrocostuslactona (68).

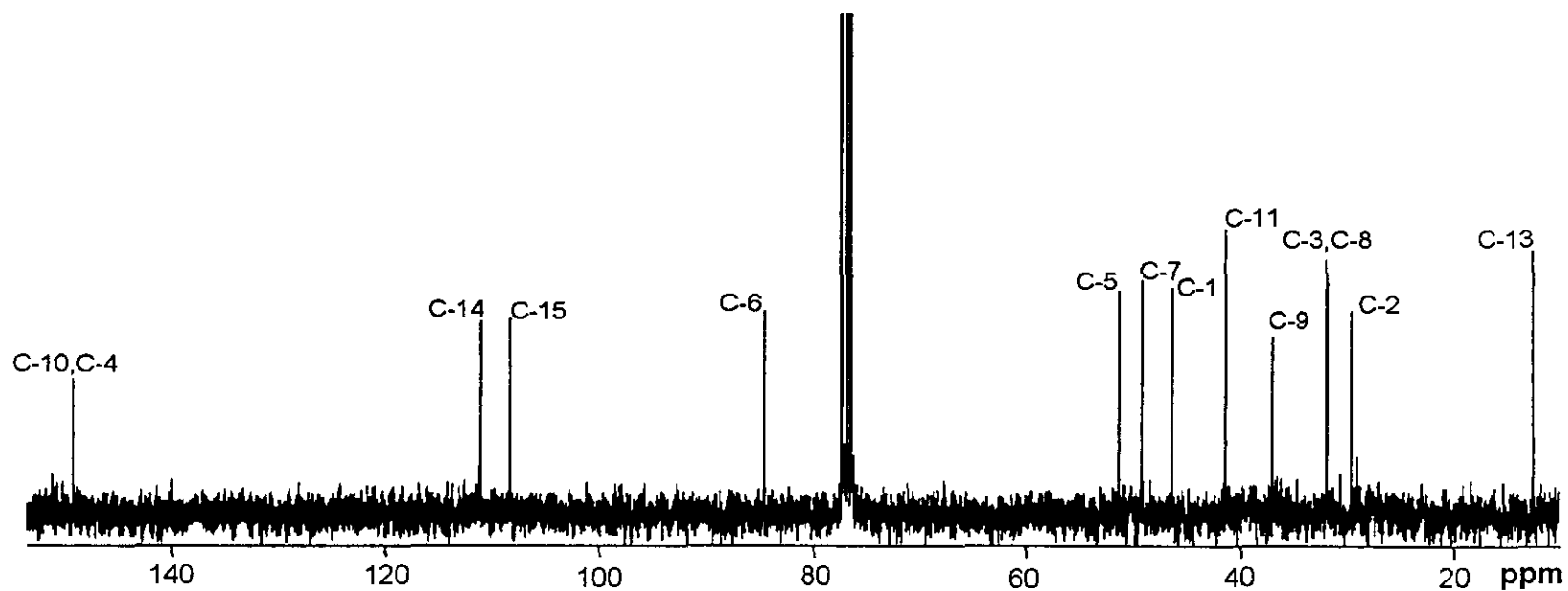
124



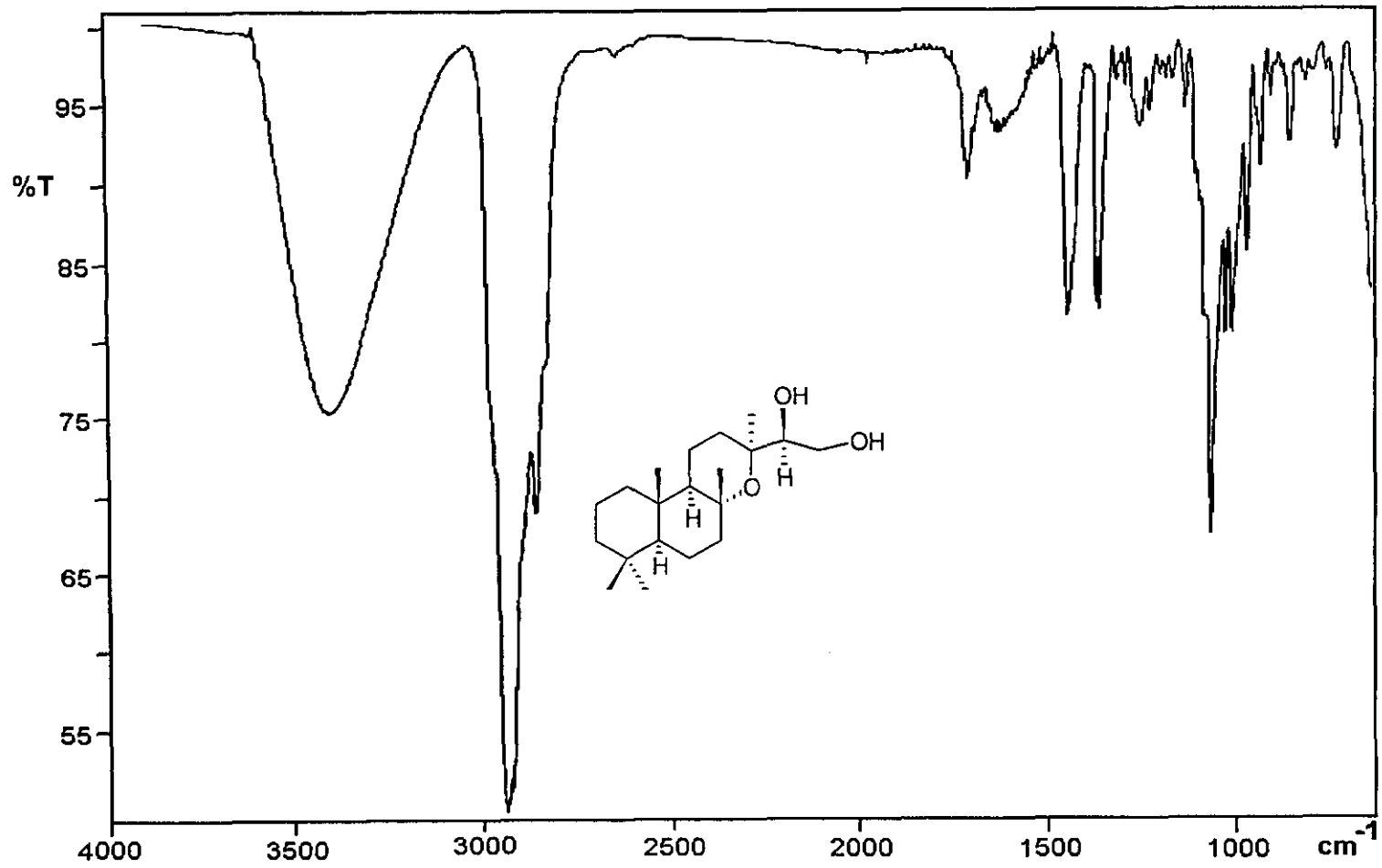
Espectro 36. Espectro de RMN¹H de la 11β-dihidrodesidrocostuslactona (68).



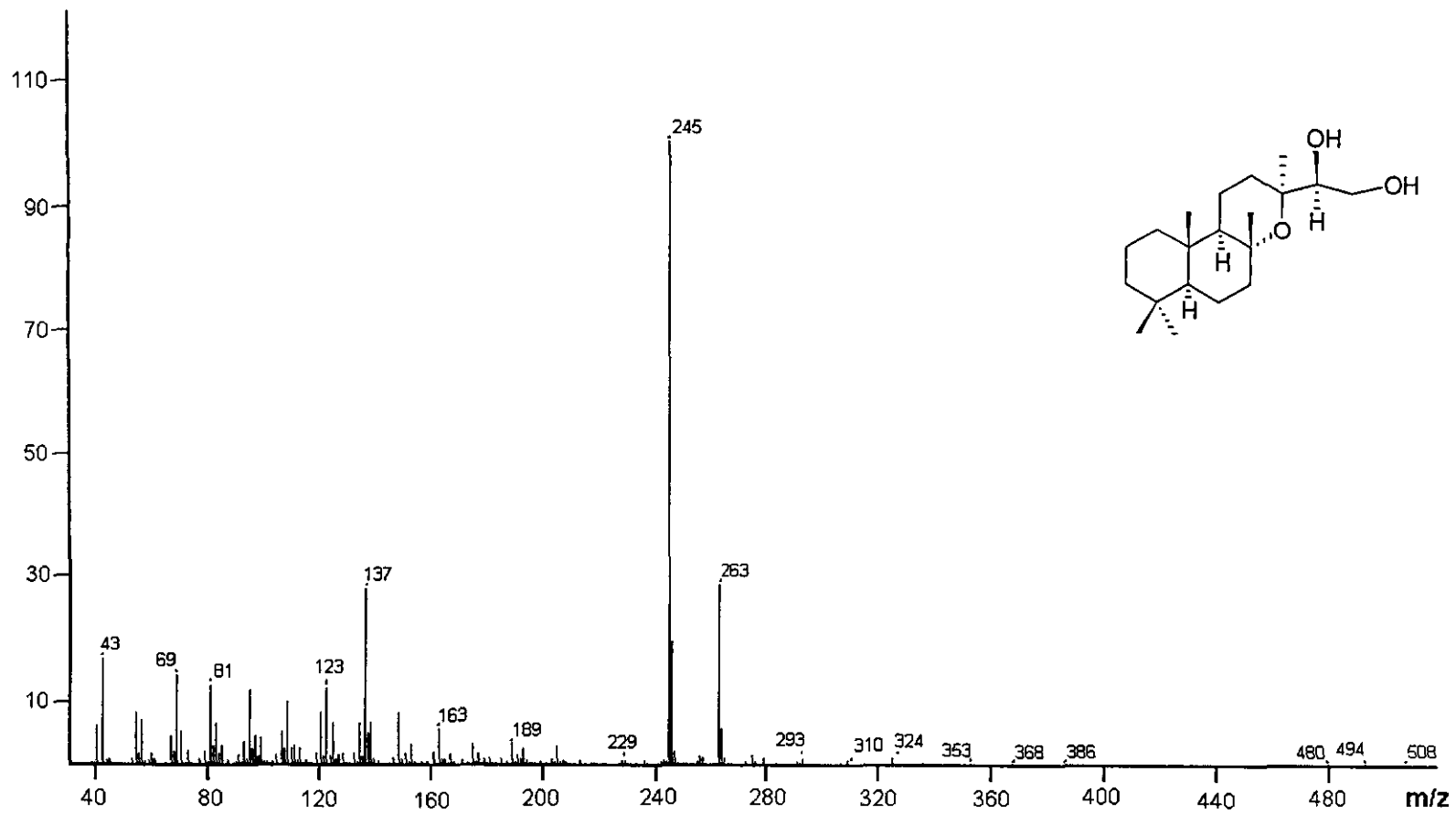
125



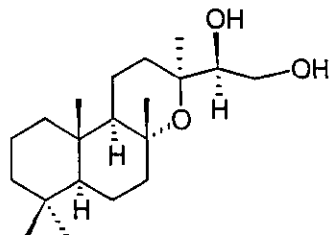
Espectro 37. Espectro de RMN¹³C de la 11β-dihidrodeshidrocostuslactona (68).



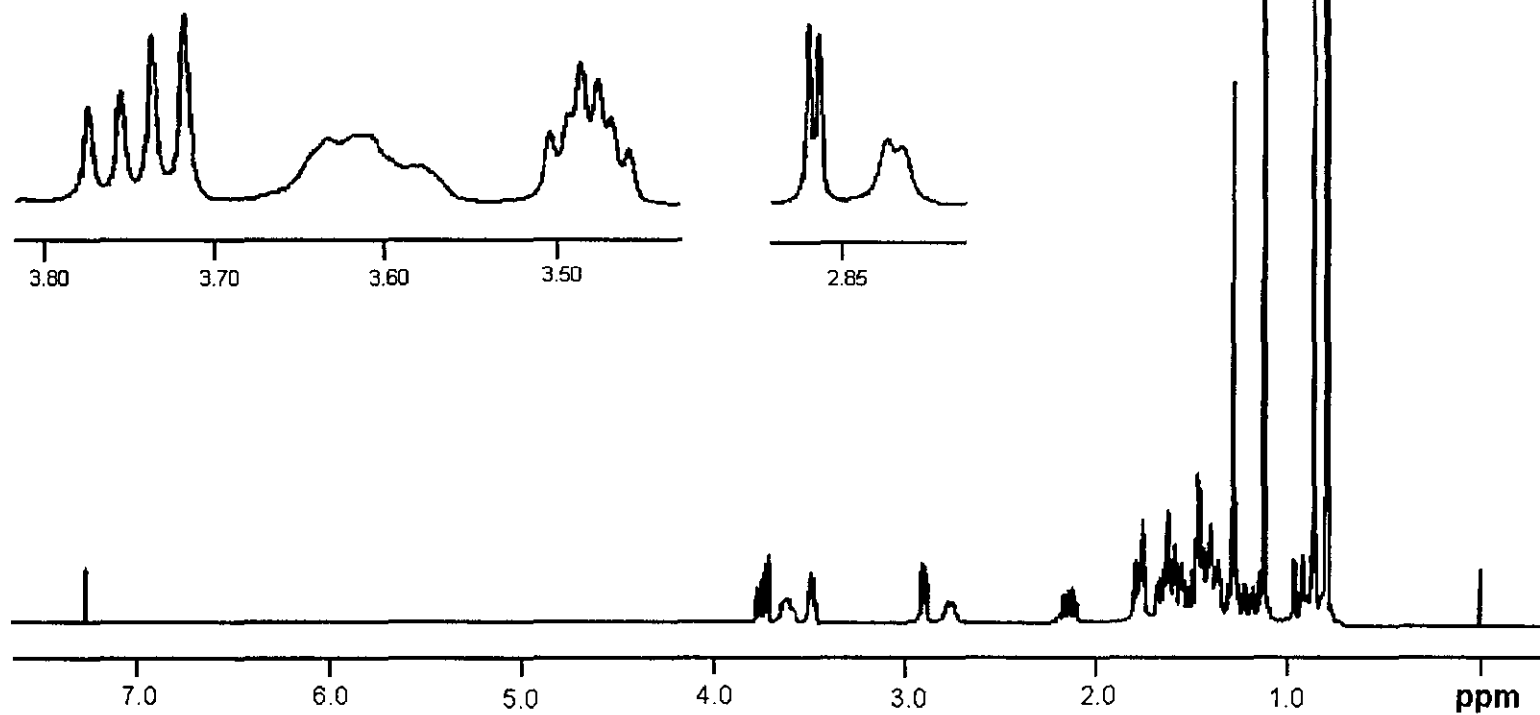
Espectro 38. Espectro en el IR del 8 α , 13-epoxilabdano-14S, 15 diol (60).



Espectro 39. Espectro de masas del 8 α , 13-epoxilabdano-14S, 15 diol (60).

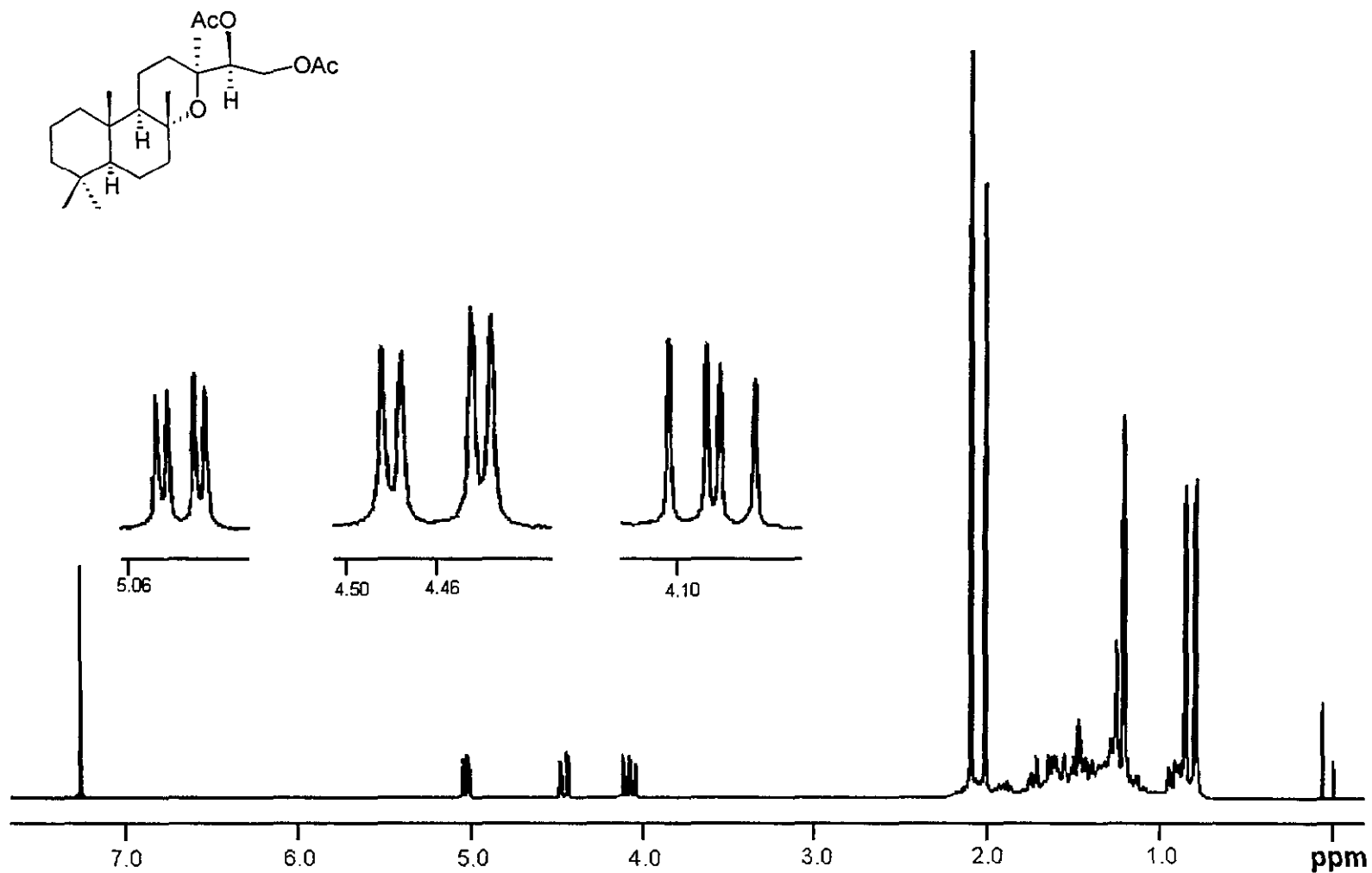


128

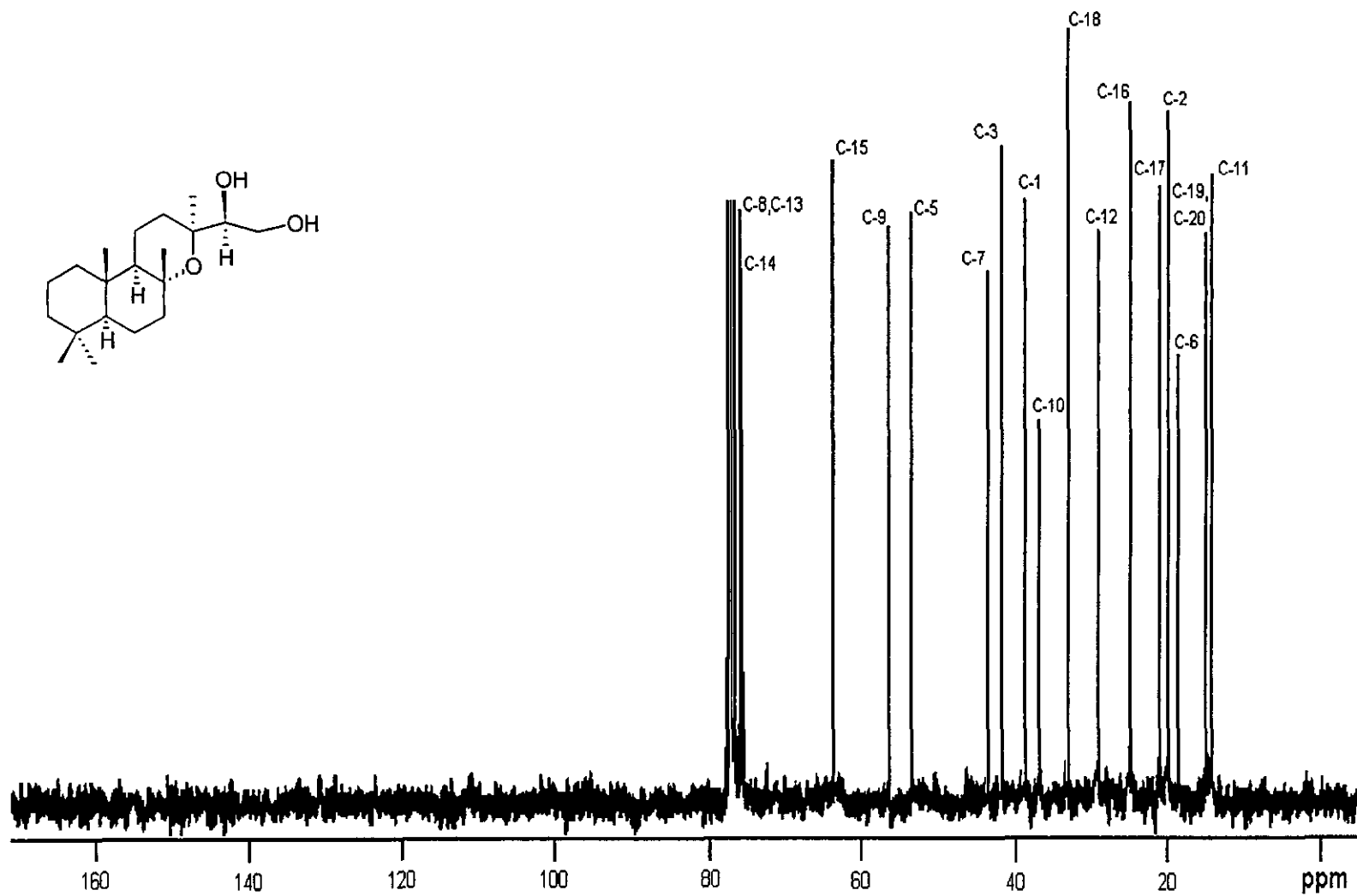


Espectro 40. Espectro de RMN¹H del 8α, 13-epoxilabdano-14S, 15 diol (60).

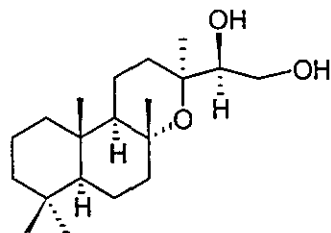
129



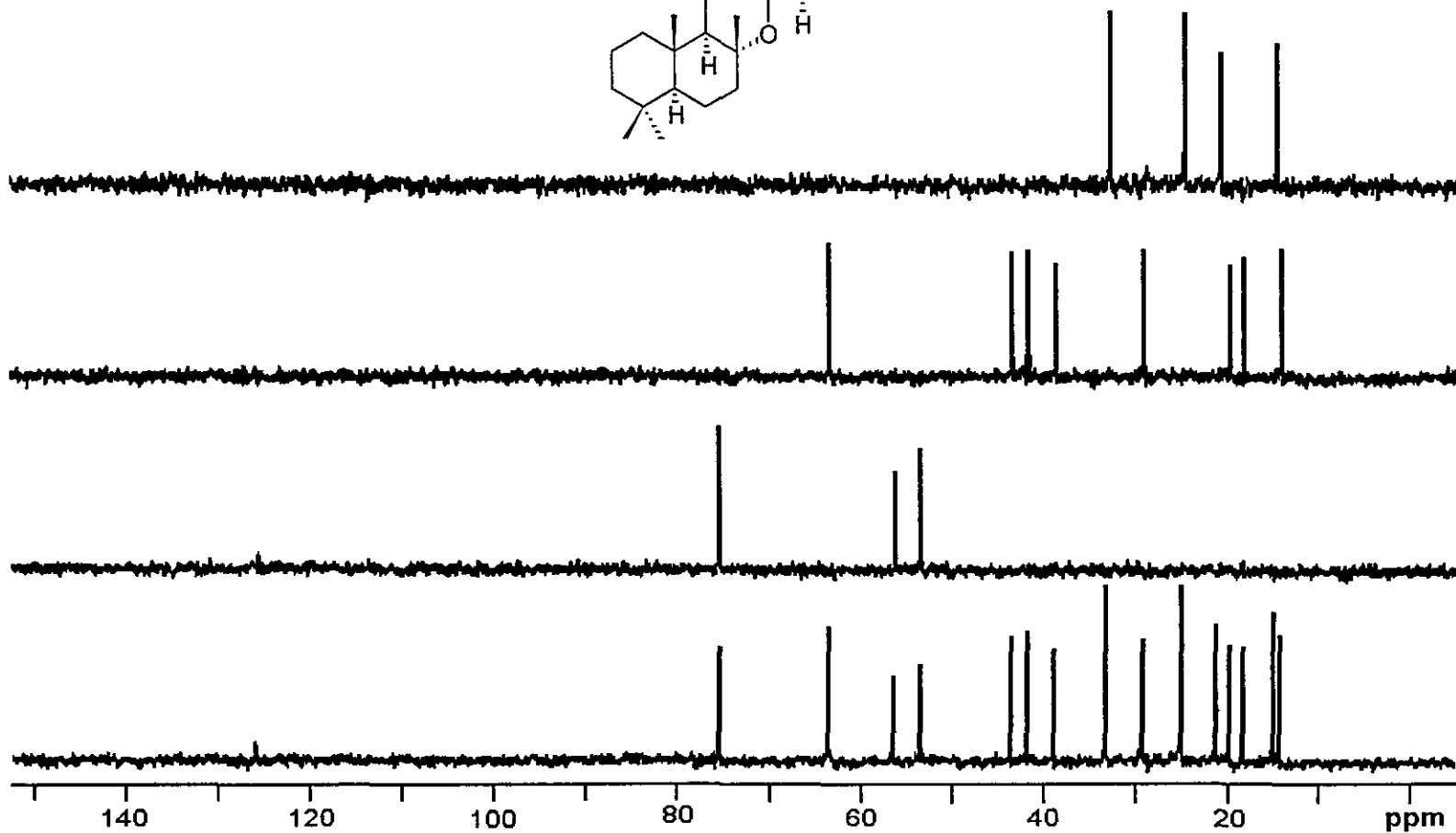
Espectro 41. Espectro de RMN^1H del 8 α , 13-epoxilabdano-14, 15-diacetato (60a).



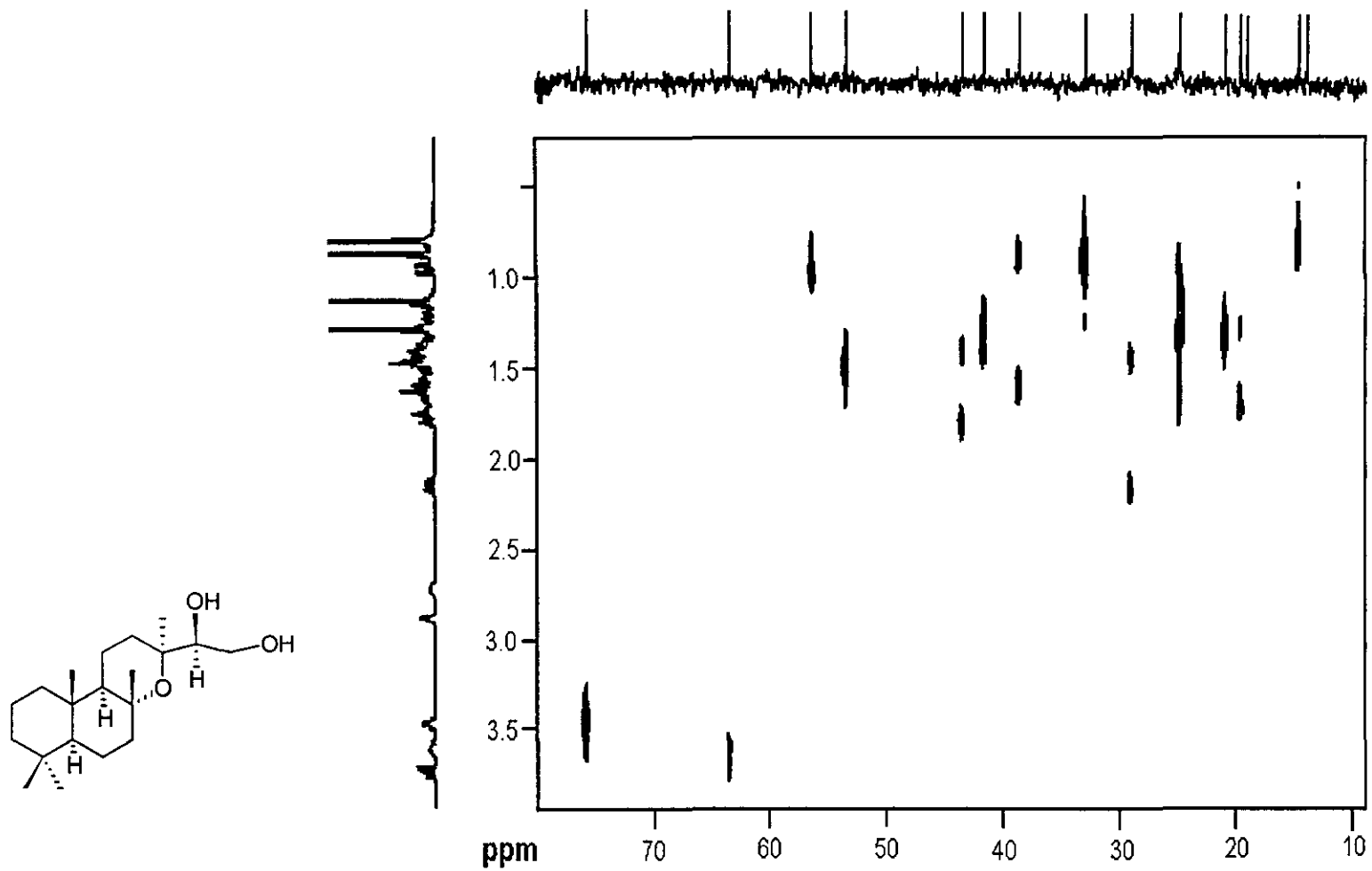
Espectro 42. Espectro de RMN¹³C del 8α, 13-epoxilabdano-14S, 15 diol (60).



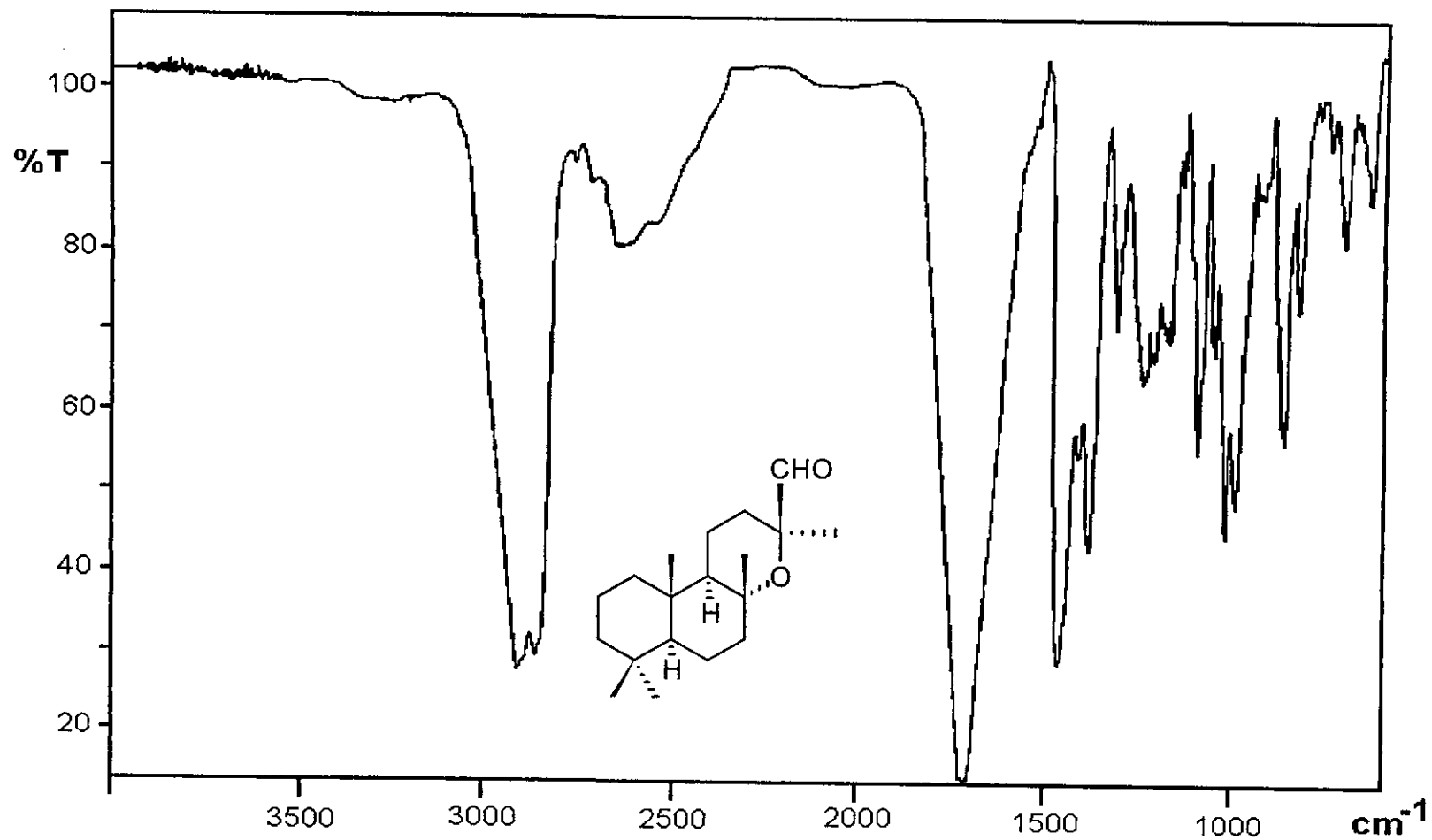
131



Espectro 43. Espectro de RMN¹³C modalidad DEPT del 8α, 13-epoxilabdano-14S, 15 diol (60).

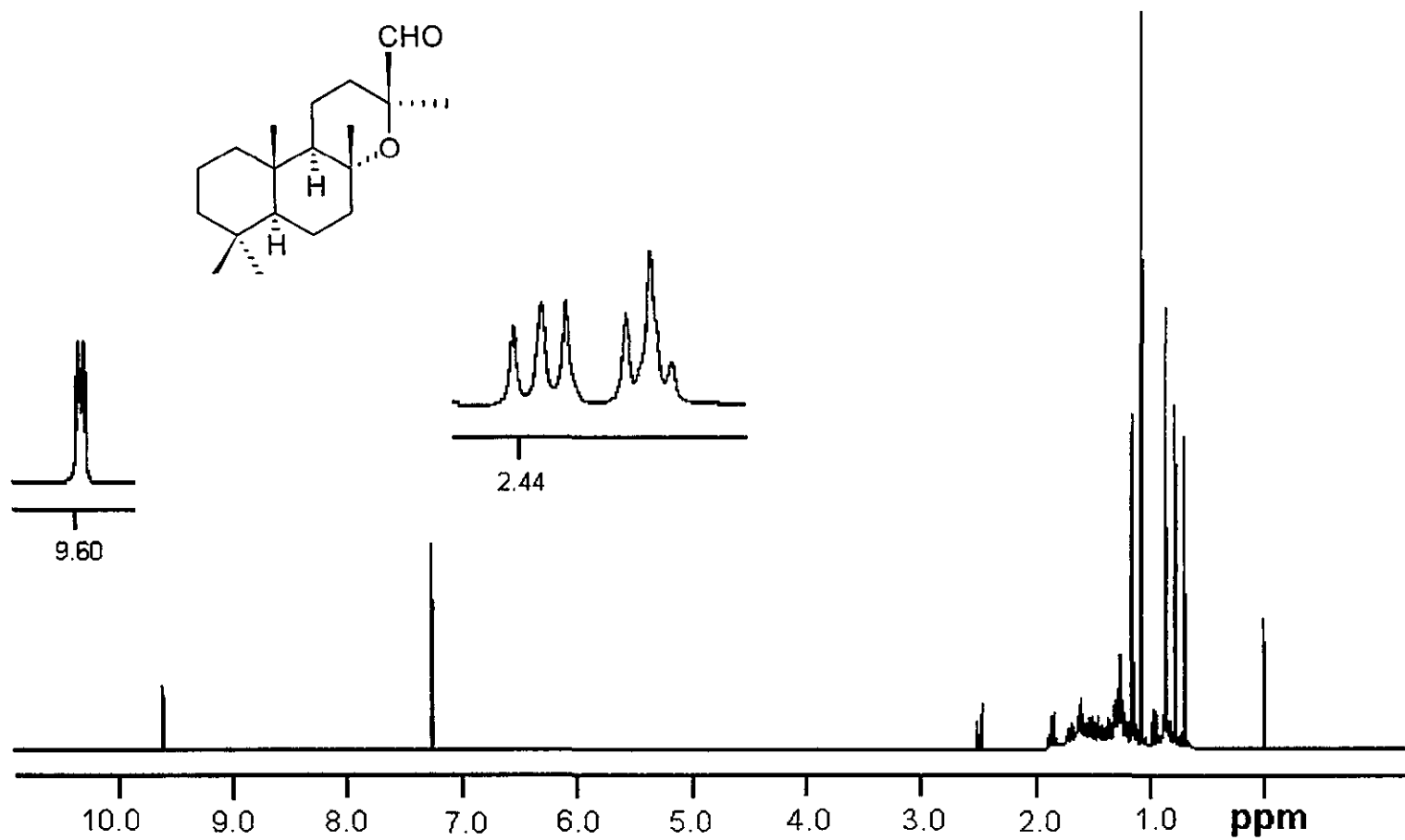


Espectro 44. Espectro de RMN 2D-HMQC del 8 α , 13-epoxilabdano-14 S , 15 diol (60).

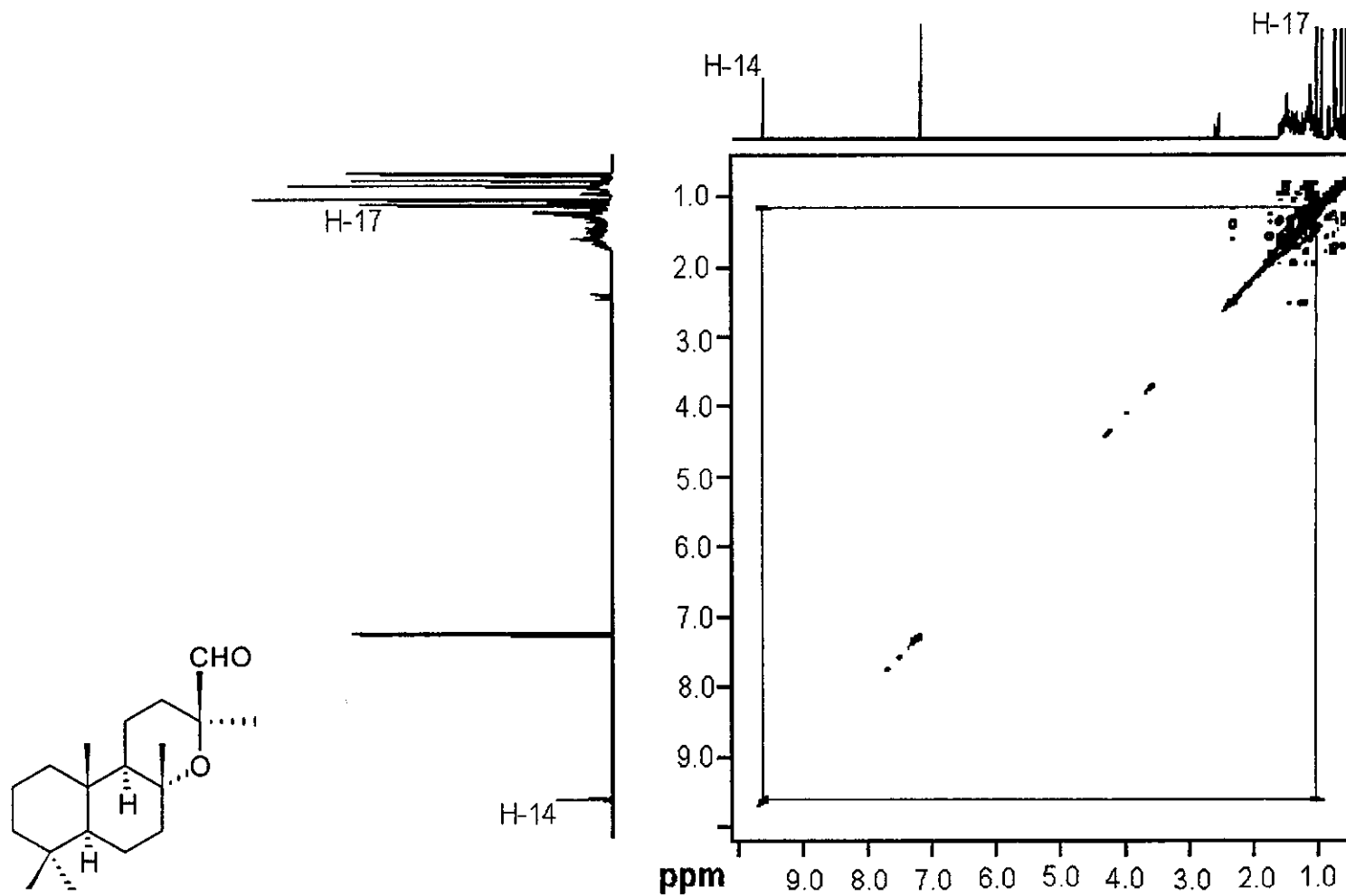


Espectro 45. Espectro en el IR del 8 α ,13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b).

134

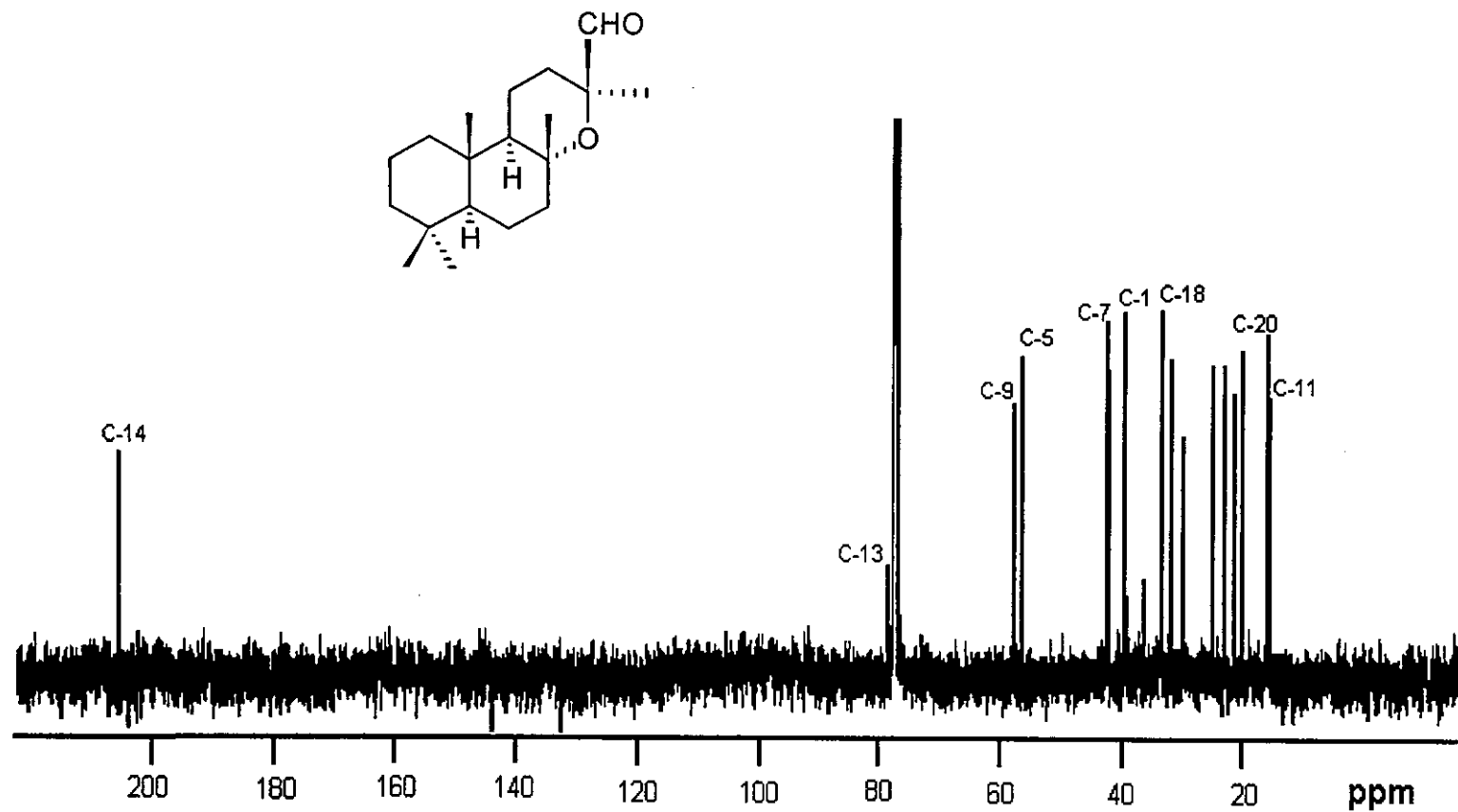


Espectro 46. Espectro de RMN^1H del 8 α ,13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b).



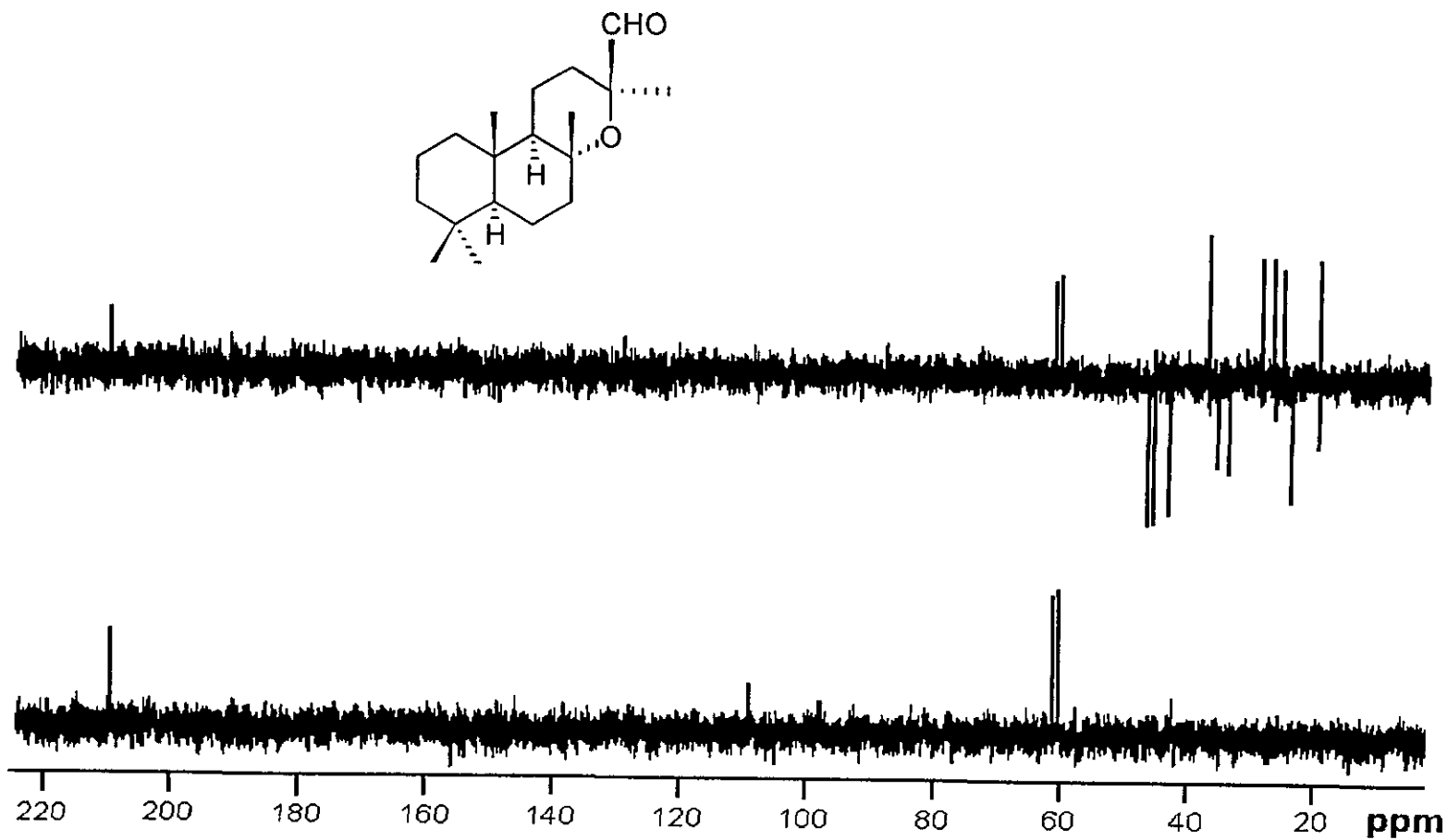
Espectro 47. Espectro de RMN ^1H NOESY del 8 α ,13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b).

136

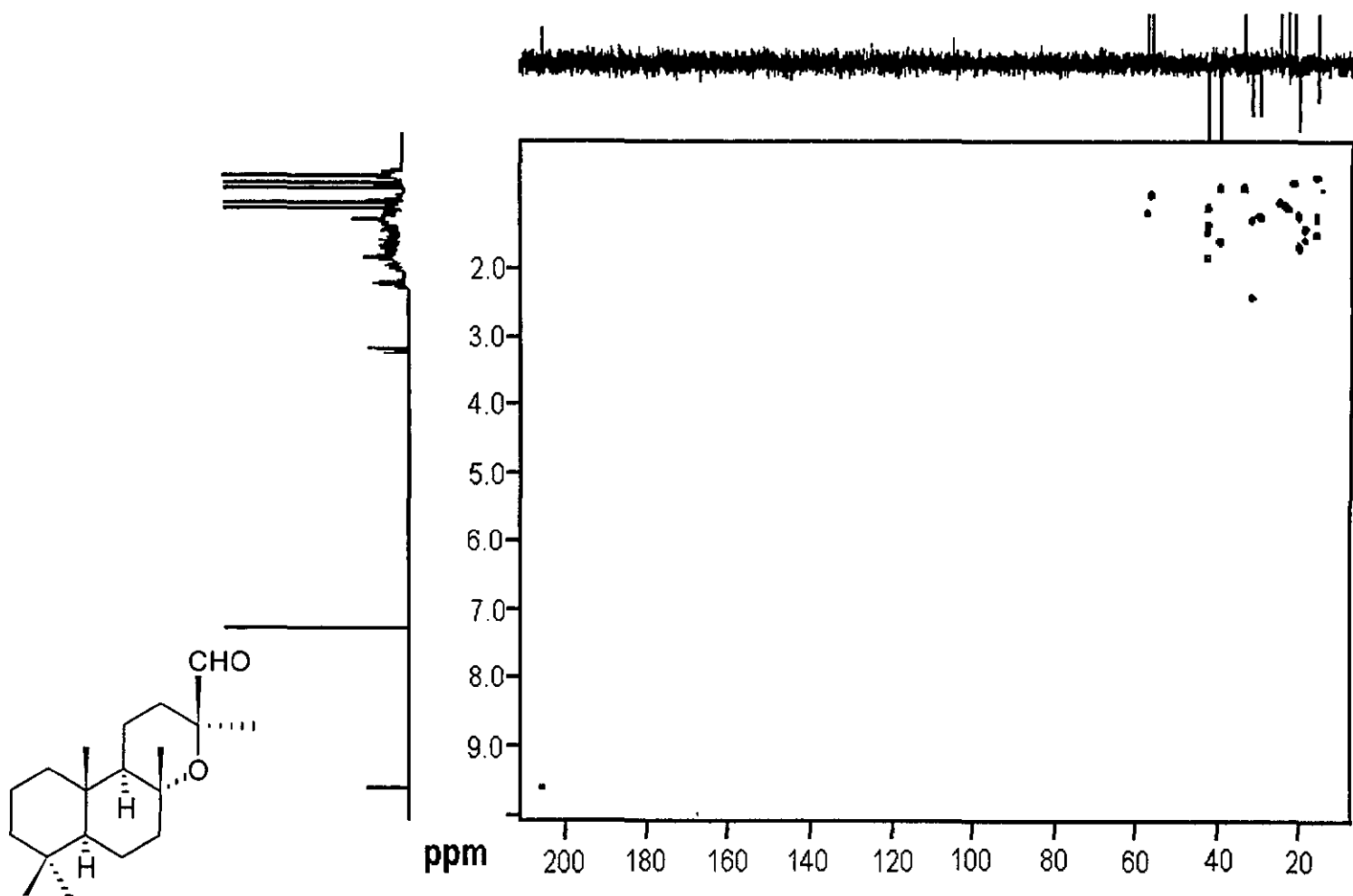


Espectro 48. Espectro de RMN ^{13}C del 8 α ,13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b).

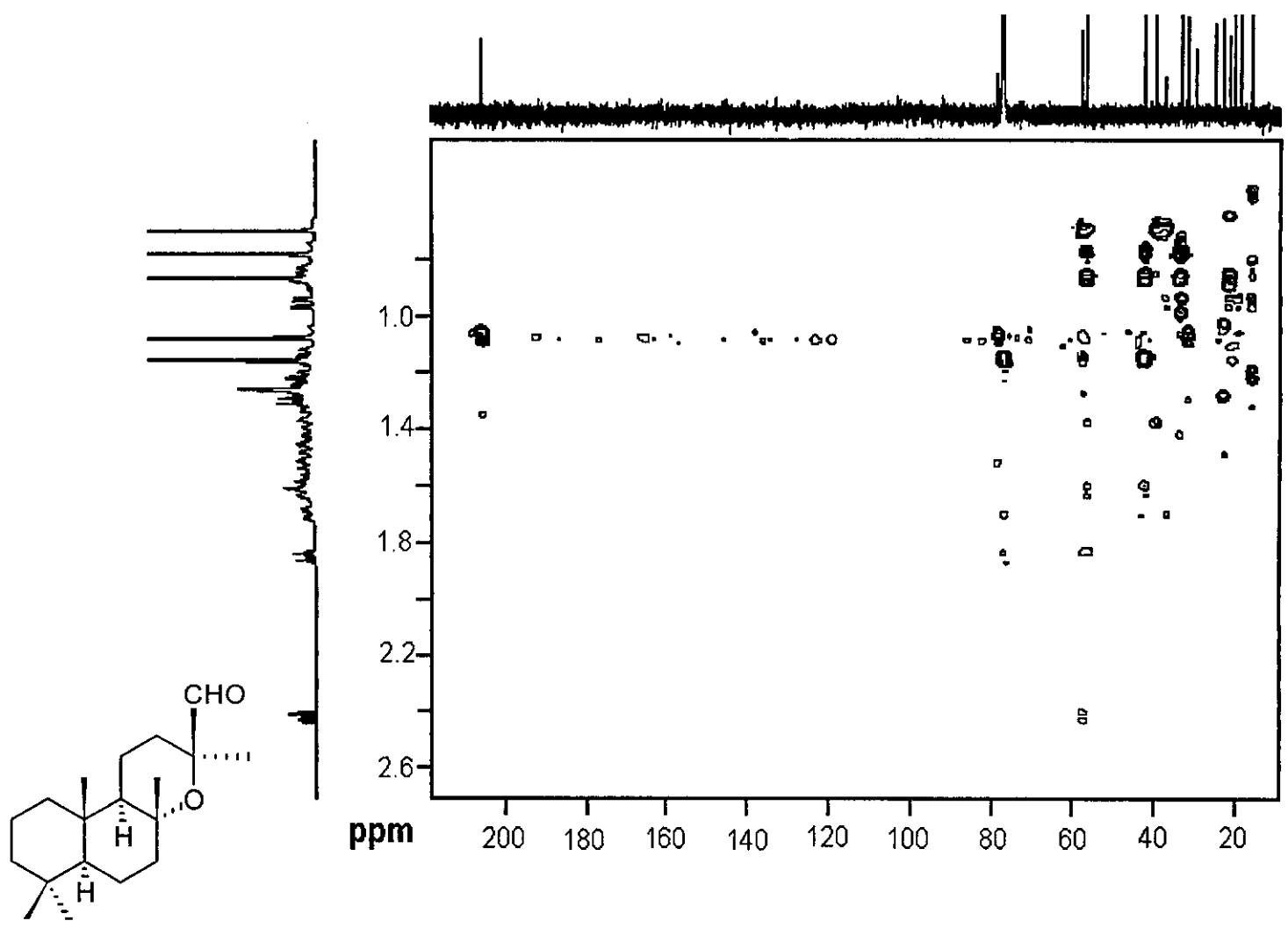
137



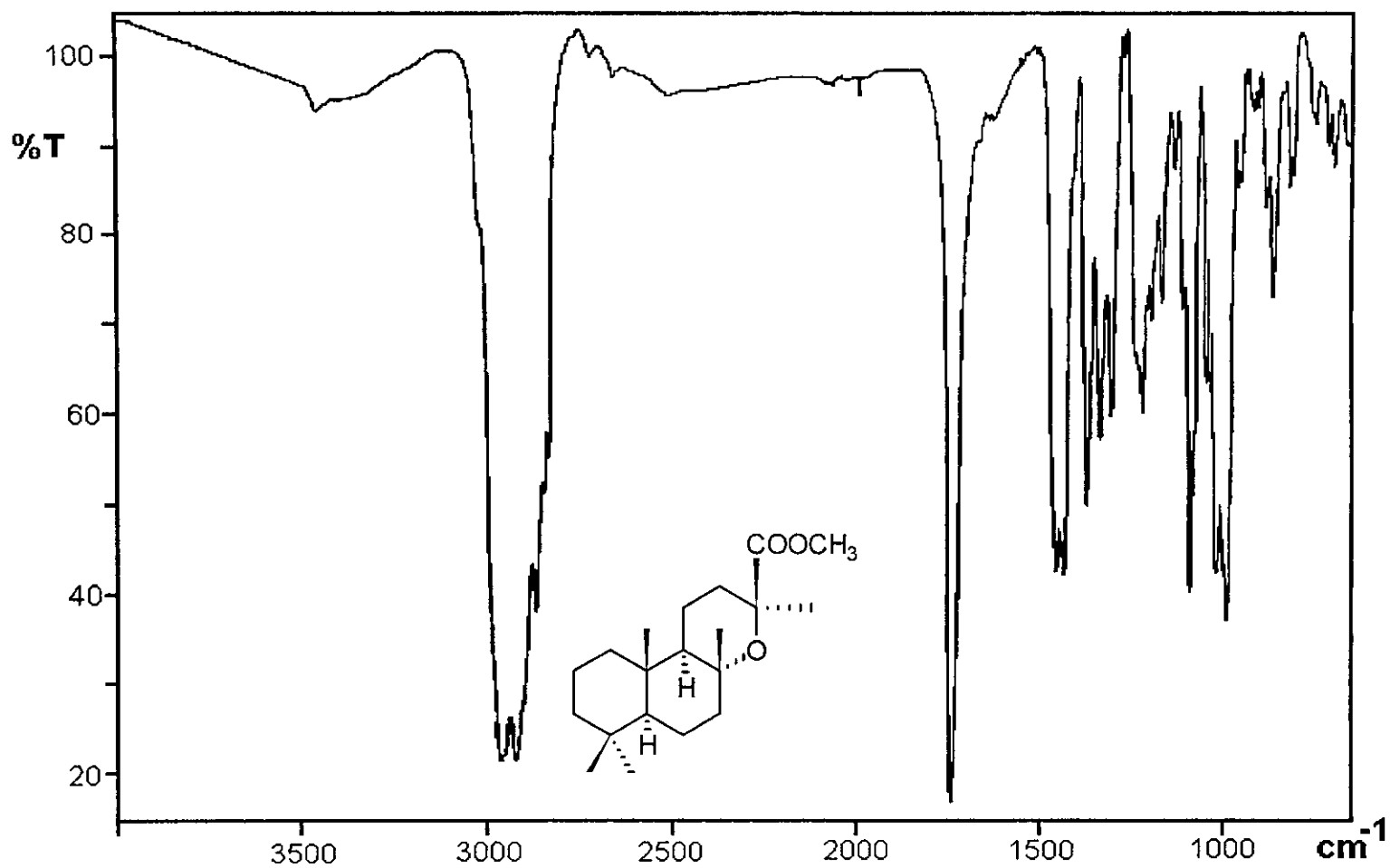
Espectro 49. Espectro de RMN¹³C modalidad DEPT del 8 α ,13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b).



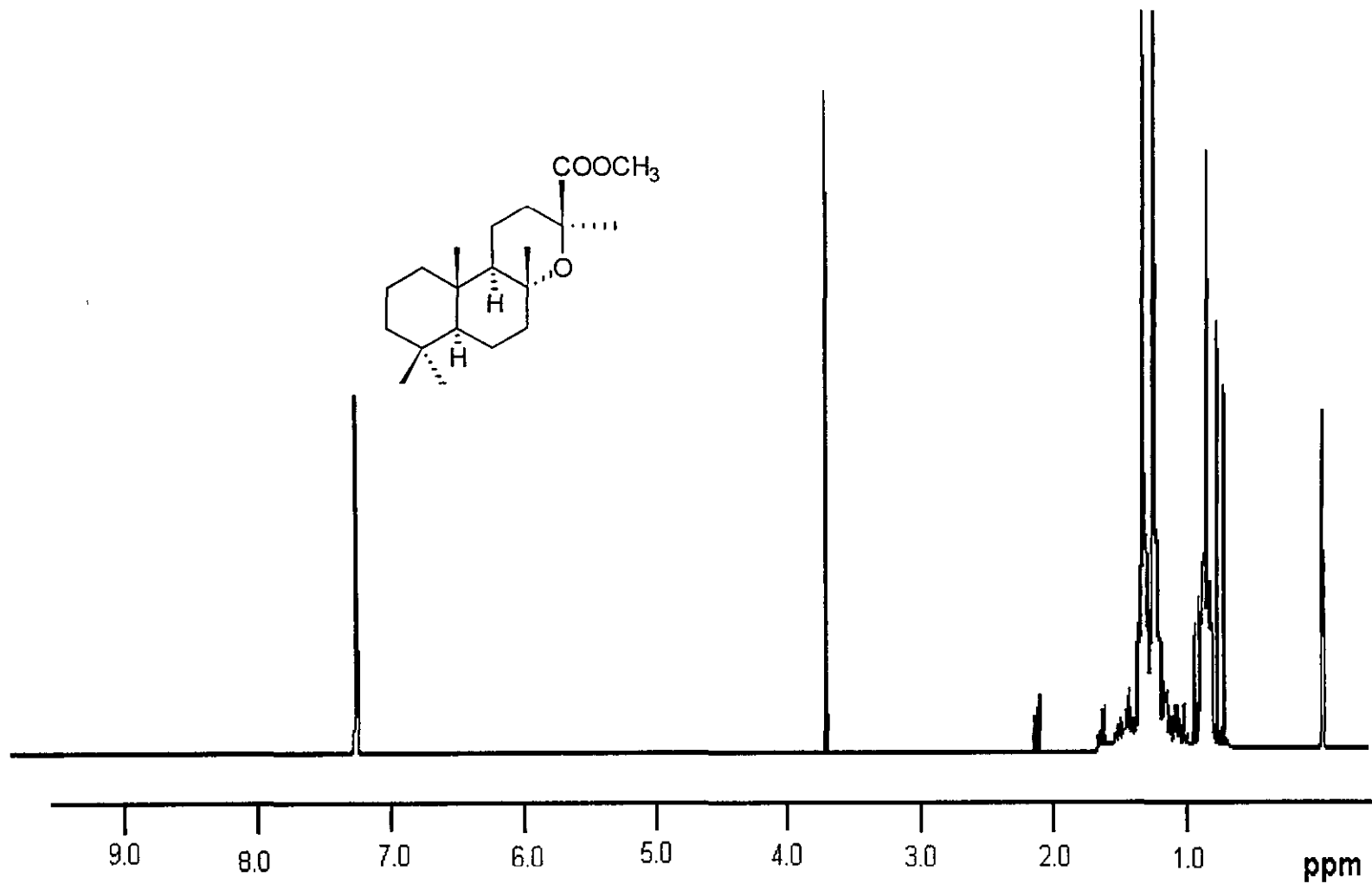
Espectro 50. Espectro de RMN 2D-HMOC del 8 α ,13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b).



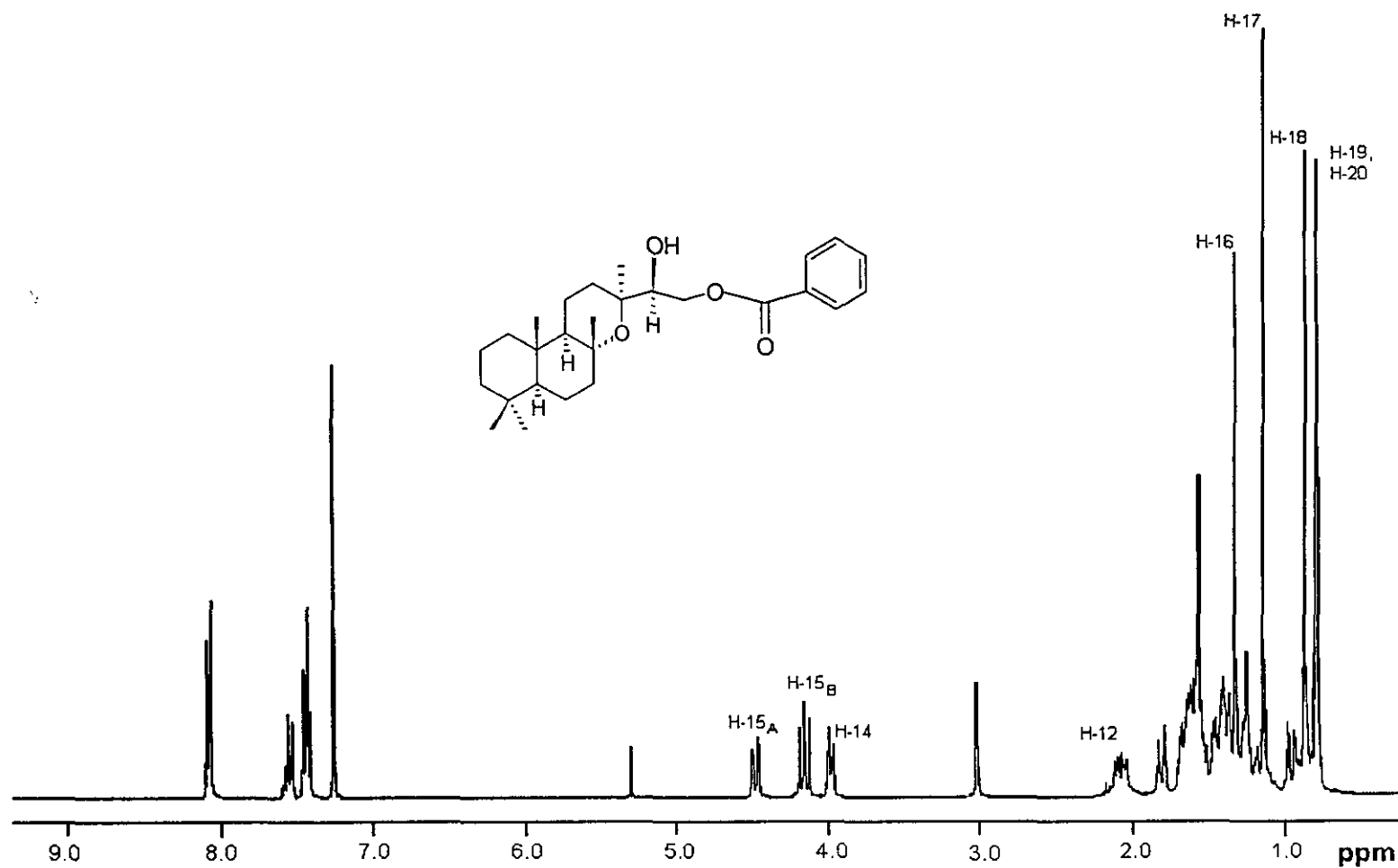
Espectro 51. Espectro de RMN 2D-HMBC del 8 α ,13-epoxi-15-nor-labdan-14-al (60b).



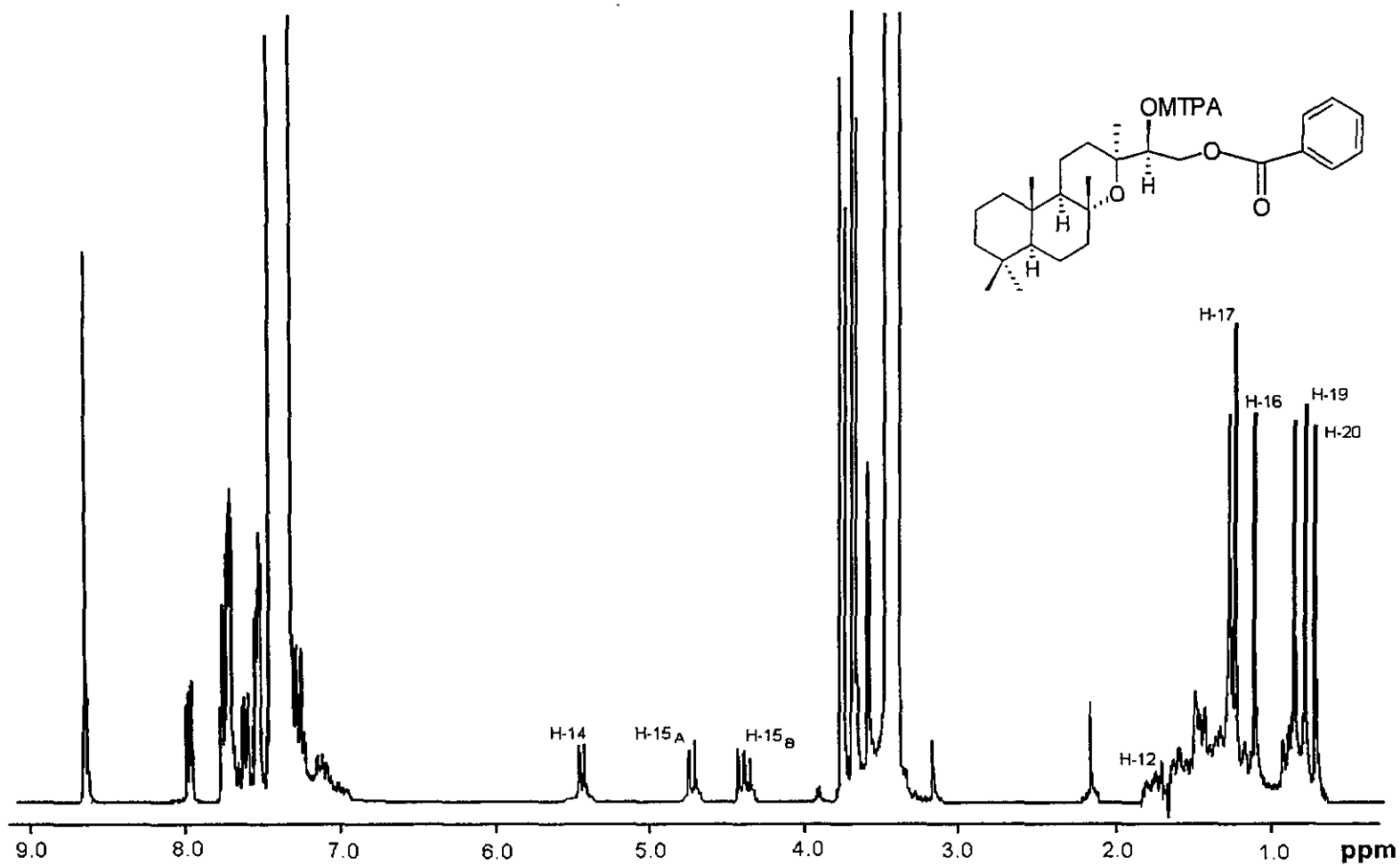
Espectro 52. Espectro en el IR del éster metílico del ácido 8 α ,13-epoxi-15-nor-labdan-14-oico (60d).



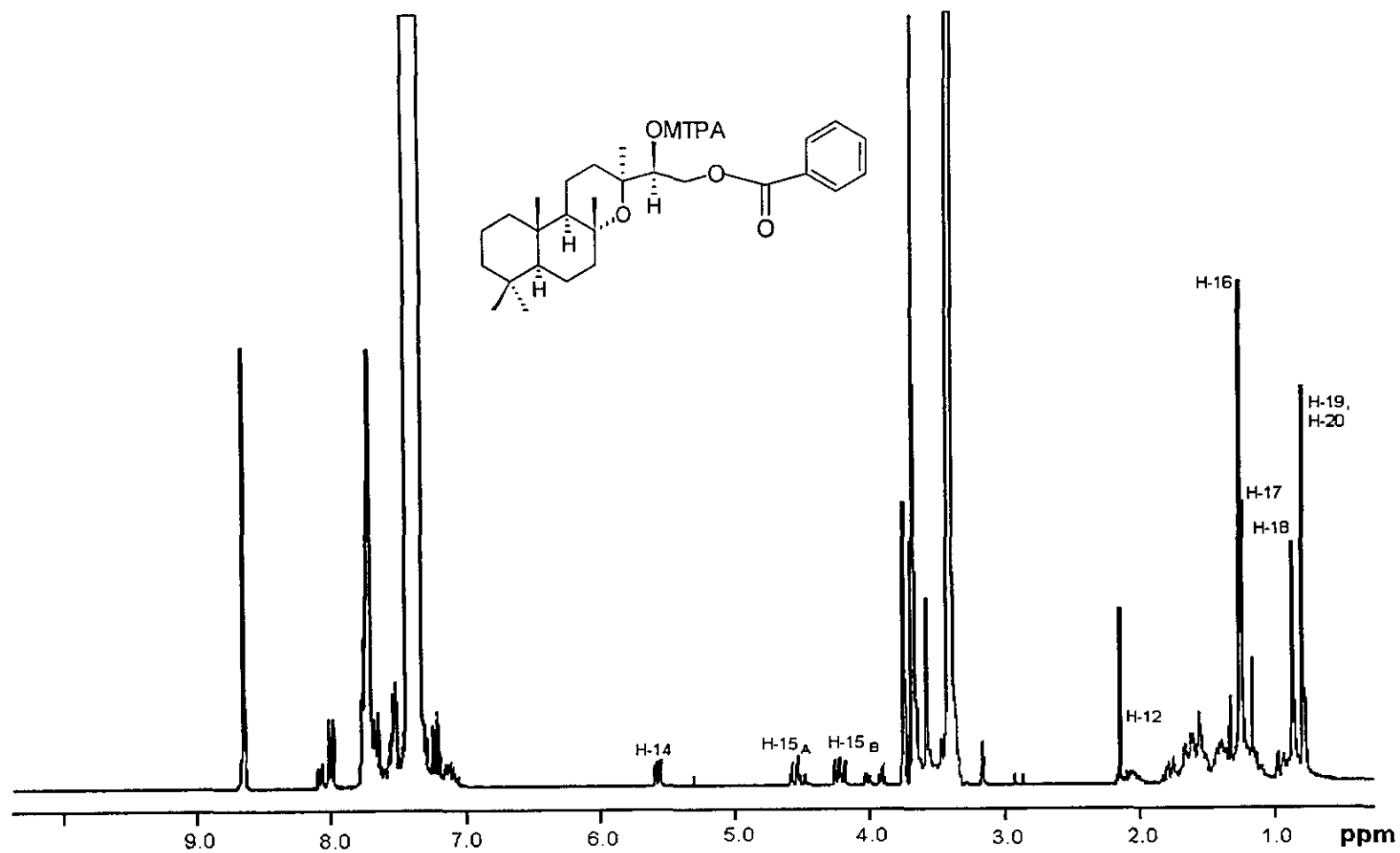
Espectro 53. Espectro de RMN^1H del éster metílico del ácido 8 α ,13-epoxi-15-nor-labdan-14-oico (60d).



Espectro 54. Espectro de RMN^1H del 8 α , 13-epoxilabdano-14-hidroxi, 15 benzoiloxi (60e).



Espectro 55. Espectro de RMN^1H del (*R*)-éster de Mosher del 8 α , 13-epoxilabdano-14-hidroxi, 15 benzoiloxi (60e).



Espectro 56. Espectro de RMN^1H del (*S*)-éster de Mosher del 8 α , 13-epoxilabdano-14-hidroxi, 15 benzoiloxi (60e).