



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUIMICA

Estudio Fitoquímico de *Montanoa tomentosa* ssp.  
*xanthiifolia*

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**Q U I M I C A**

P R E S E N T A :

**MA. BEDA AIDA CABALLERO RODRIGUEZ**



EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUIMICA



MÉXICO, D.F.

2005

m351969



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

Dra. Yolanda Caballero Arroyo

Vocal

Dra. Rachel Mata Essayag

Secretario

M.C. Ana Lidia Pérez Castorena

1er Suplente

M.C. María del Rayo Salinas Vázquez

2do Suplente

M.C. Martha Menes Arzate

Sitio donde se desarrolló el tema:  
Instituto de Química, Laboratorio 2-7  
Ciudad Universitaria  
U.N.A.M.


Asesor del tema

  
M.C. Ana Lidia Pérez Castorena

Supervisor técnico

  
Dr. Alfonso Romo de Vivar

Sustentante

  
Ma. Beda Aida Caballero Rodríguez

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la  
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el  
contenido de mi trabajo recepcional.  
NOMBRE: Ma. Beda Aida Caballero  
Rodríguez  
FECHA: 5/11/2005  
FIRMA: Aida Caballero

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por otorgarme los medios para desarrollar el presente trabajo.  
Gracias.

A mis Padres, Tíos y Primos por todo su amor y apoyo.  
Gracias.

A mis hermanos, Rosalía, Rodrigo y Javier, por su cariño y ejemplo en el trabajo.

A la M.C. Ana Lidia Pérez Castorena, M.C. Amira Arciniegas, M.C. Emma Maldonado Jiménez, Dr. Ortega y Dr. Alfonso Romo de Vivar, por su paciencia y apoyo en la realización de este trabajo.  
Muchas Gracias.

Finalmente, a todos mis amigos que compartieron su tiempo en la realización de este trabajo.

## CONTENIDO

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	2
3. ANTECEDENTES	
3.1. Botánicos	3
3.2. Químicos	6
3.3. Terpenoides	13
3.4. Sesquiterpenoides	14
4. PARTE EXPERIMENTAL	
4.1. Equipos y Materiales	20
4.2. Material Vegetal	20
4.3. Obtención de extractos	21
4.4. Residuo hexánico	21
4.5. Residuo de Acetona	24
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
6. RESUMEN Y CONCLUSIÓN	35
7. ESPECTROS	37
8. BIBLIOGRAFÍA	43

## 1. INTRODUCCIÓN

Un gran número de medicamentos usados en la medicina moderna se han obtenido de plantas y en el presente, se continúa haciendo uso de ingredientes naturales en el 70% de los fármacos sintéticos. Estos ingredientes encuentran su fuente de abastecimiento en el 1% de la flora mundial.<sup>1</sup>

En México, desde épocas prehispánicas, se conocen plantas con características medicinales, un ejemplo de trascendencia cultural es el Zoapatle o Cihuapatli que significa “medicina de la mujer” (Cihua: mujer; pahltli: medicina o remedio) y que era indispensable para las parteras, curanderas y tlamatines. El cocimiento de las hojas, y ocasionalmente junto con la raíz, se utilizaba para inducir, acelerar o facilitar el parto, también para tratar trastornos menstruales, e inducir el aborto. El Zoapatle alcanzó tal fama que los españoles la incorporaron a su terapéutica doméstica.<sup>2</sup>

Alrededor de 20 plantas Mexicanas del género *Montanoa* han recibido el nombre de Zoapatle<sup>2</sup> y actualmente se sabe que seis especies de este género alteran la función uterina.<sup>3</sup>

Desde un punto de vista químico, también se han encontrado variaciones. Un ejemplo es *Montanoa tomentosa* ssp. *xanthiifolia* de la que se aislaron guayanólidas, una heliangólida y un oxepano, del vegetal recolectado en México,<sup>4,5</sup> pero se obtuvieron germacrólidas cuando la especie se recolectó en Guatemala<sup>6</sup> y Costa Rica.<sup>7</sup>

Considerando la variabilidad de metabolitos secundarios de *Montanoa tomentosa* ssp. *xanthiifolia*, se decidió realizar el estudio químico de una población recolectada en el estado de Chiapas. Los resultados obtenidos se describen en la presente tesis.

## 2. OBJETIVOS

- ❖ Aislar y caracterizar los metabolitos secundarios mayoritarios de *Montanoa tomentosa* ssp. *xanthiifolia* (Sch. Bip.) V. A. Funk. recolectada en el estado de Chiapas.
  
- ❖ Contribuir a la quimiotaxonomía del género *Montanoa*.

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1. Botánicos

El género *Montanoa* Cerv. pertenece a la tribu Heliantheae considerada como la primitiva de la familia Asteraceae.<sup>8</sup>

La mayoría de las especies del género *Montanoa* son arbustivas y unas pocas son arborescentes. Las inflorescencias exhiben rayos blancos y discos de flores amarillas que en conjunto dan un espectáculo agradable a la vista, por lo que algunos de los miembros del género son cultivados con fines ornamentales (Figura 1).

Las 25 especies pertenecientes al género *Montanoa*<sup>9</sup> se encuentran agrupadas en dos subgéneros: *Montanoa* y *Acanthocarphae*. La posición taxonómica de *Montanoa tomentosa* ssp. *xanthiifolia* es la siguiente:

Familia: Asteraceae

Tribu: Heliantheae

Subtribu: Verbesininae

Género: *Montanoa*

Subgénero: *Montanoa*

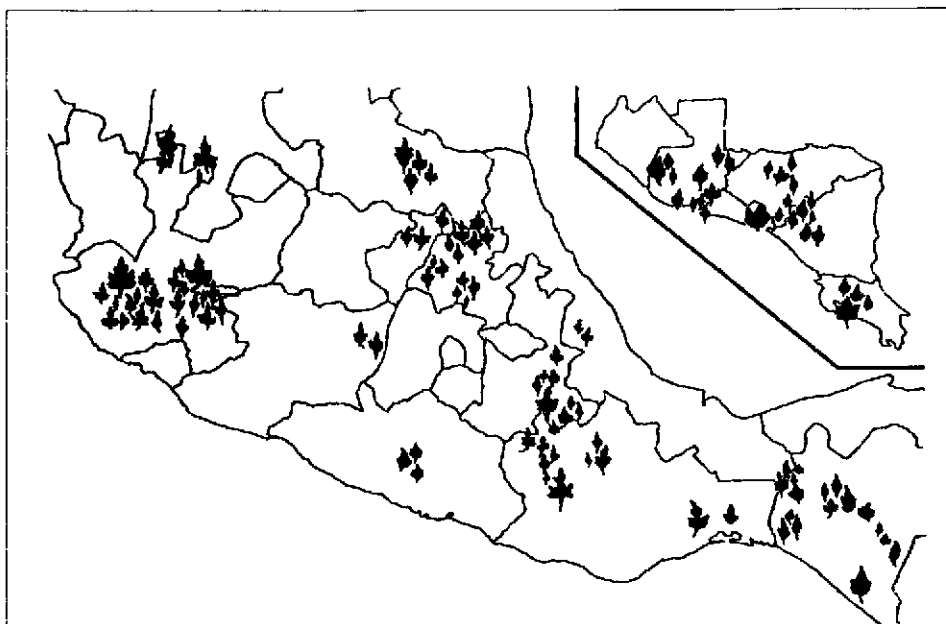
Sección: *Montanoa*





**Figura 1.** *Montanoa tomentosa* Cerv.

*Montanoa tomentosa* ssp. *xanthiifolia* (Sch. Bip.) V. A. Funk se caracteriza por ser un arbusto de 1 a 3 m de alto; sus hojas presentan de 3 a 5 lóbulos y florea entre agosto y enero. Crece a una altitud de 230 a 1800 m en lugares áridos, semi-áridos y húmedos, se puede localizar al borde de caminos, ríos y arroyos. Su distribución comprende desde el centro de la República Mexicana hasta Costa Rica (Figura 2).



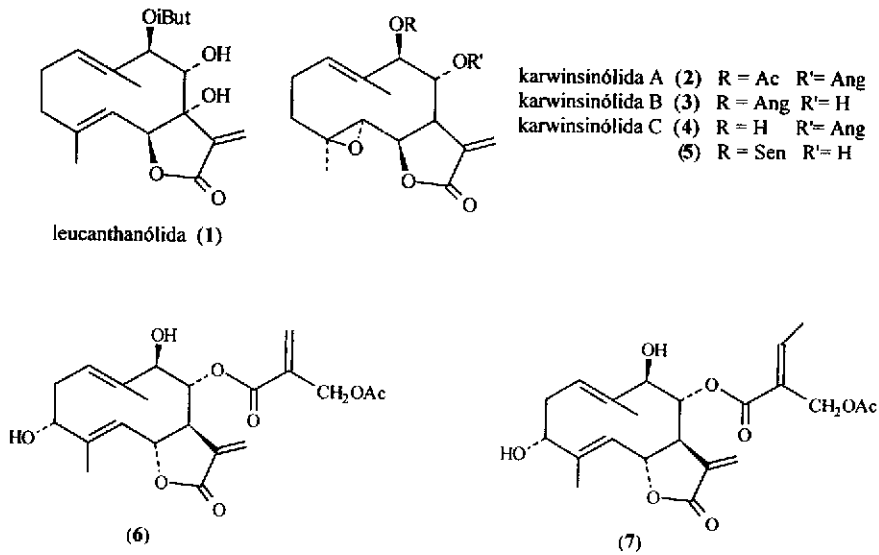
**Figura 2.** Distribución de *Montanoa tomentosa* ssp. *xanthiifolia* en México y América Central.

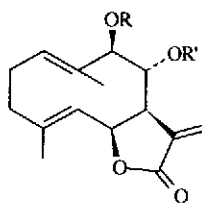
El nombre de Zoapatle lo han recibido tanto *Montanoa frutescens* como *Montanoa tomentosa*, la cual esta constituida por cuatro subespecies (*Montanoa tomentosa* ssp. *tomentosa*, *Montanoa tomentosa* ssp. *microcephala*, *Montanoa tomentosa* ssp. *rosi* y *Montanoa tomentosa* ssp. *xanthiifolia*). Como resultado de lo anterior, se ha concluido que el Zoapatle que se consume de manera tradicional, es probablemente un complejo constituido por más de un taxón.

3.2. Químicos

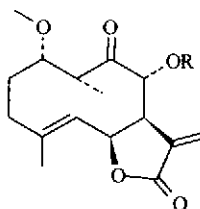
Estudios químicos realizados a diversas especies de *Montanoa* muestran que lactonas sesquiterpénicas y diterpenos, son los metabolitos secundarios que con mayor frecuencia son aislados del género.

Las lactonas sesquiterpénicas obtenidas son generalmente germacrólidas, eudesmanólidas y guayanólidas. Como ejemplo de germacrólidas se pueden mencionar a: leucanthanólida (1) obtenida de *Montanoa leucantha* ssp. *leucantha*;<sup>10</sup> karwinsinólida A (2), karwinsinólida B (3), karwinsinólida C (4) y la lactona 5, aisladas de *Montanoa karwinski*;<sup>11</sup> los compuestos 6 y 7 obtenidos de *Montanoa tomentosa* ssp. *microcephala*<sup>12</sup> y las germacrólidas 8-14 aisladas de *Montanoa hibiscifolia*.<sup>13</sup> Las *trans*, *trans*-germacranólidas aisladas de *Montanoa* se caracterizan por presentar generalmente oxidados los carbonos 8 y 9, y por contener la función lactona *cis* o *trans* cerrada hacia C-6. Una excepción es tomentosina (15) que fue aislada de *Montanoa tomentosa*.<sup>14</sup>

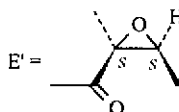
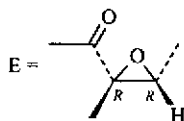
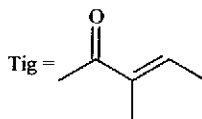
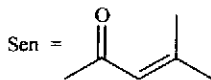
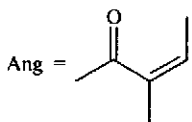
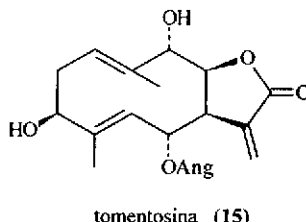
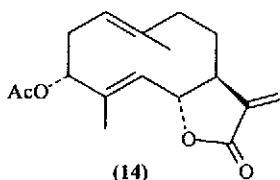




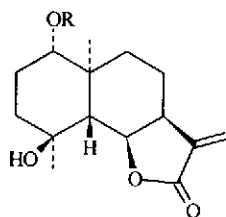
- (8) R = H R' = E  
 (9) R = H R' = E'  
 (10) R = E' R' = H  
 (11) R = Tig R' = H



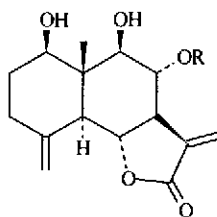
- (12) R = E'  
 (13) R = E



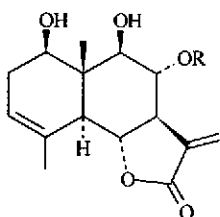
Ejemplos de compuestos pertenecientes a la familia de las eudesmanólidas, son los siguientes: 16 y 17 aisladas de *Montanoa dumicola*<sup>15</sup> y que presentan una fusión de los anillos A y B poco común; montafrusina C (18), montafrusina D (19), montafrusina E (20) y montafrusina F (21) obtenidas de *Montanoa frutescens*;<sup>16</sup> hidroxi-bis-dihidroencelina (22), encelina (23), 1,2-deshidro-3-epi-isotelekina (24), acetato de 1,2-deshidro-3-epi-isotelekina (25) aisladas de *Montanoa speciosa*;<sup>17</sup> y las eudesmanólidas 26 a 29 aisladas de *Montanoa hibiscifolia*.<sup>13</sup> La mayoría de estos compuestos presentan oxidados los carbonos 1, 8 y 9 y la lactona se encuentra cerrada hacia C-6.



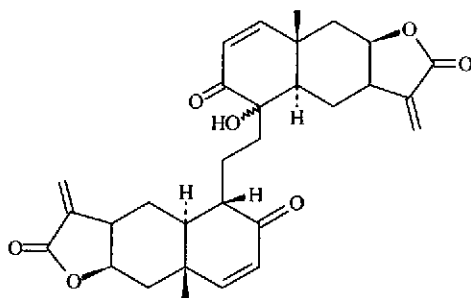
(16) R = Ang  
(17) R = Mac



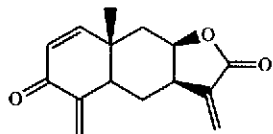
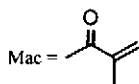
montafrusina C (18) R = Ang  
montafrusina D (19) R = Sen



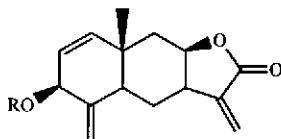
montafrusina E (20) R = Ang  
montafrusina F (21) R = Sen



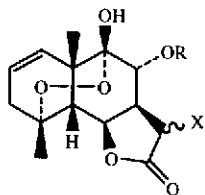
hidroxi-bis-dihydroencelina (22)



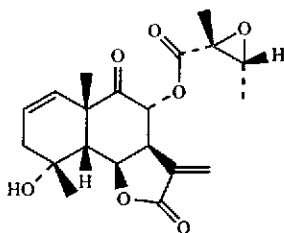
encelina (23)



1,2-deshidro-3-epi-isotelekina (24) R = H  
acetato de 1,2-deshidro-3-epi-isotelekina (25) R = Ac

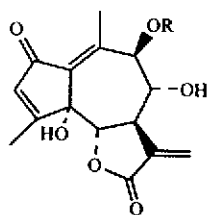


(26) R = E X = CH<sub>2</sub>  
(27) R = E' X = CH<sub>2</sub>  
(28) R = E' X = OMe

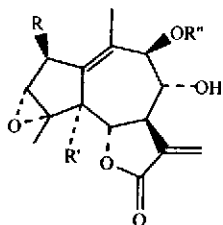


(29)

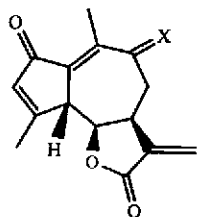
Con respecto a las guayanólidas, éstas presentan la lactona *cis* o *trans* cerrada hacia C-6 y en la mayoría de los compuestos, los carbonos 2 y 9 se encuentran oxidados. Ejemplos: pumilina (30), zoapatanólida C (31) y zoapatanólida D (32) aisladas de *Montanoa tomentosa*;<sup>18</sup> isodeshidroleucodina (33) y 9-oxo-isodeshidroleucodina (34) aisladas de *Montanoa imbricata* y *Montanoa hexagona*;<sup>19</sup> montacephalina (35), tomencephalina (36) y 5-hidroxitomencephalina (37) aisladas de *Montanoa tomentosa* ssp. *microcephala*<sup>20</sup> y zoapatanólida C (31), zoapatanólida D (32) y zoapatanólida F (38) aisladas de *Montanoa tomentosa* ssp. *tomentosa*.<sup>21</sup>



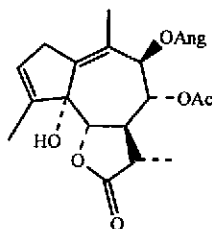
pumilina (30) R = Ang  
montacephalina (35) R = Sen



zoapatanólida C (31)  
R = OAc R' = OH R'' = Ang  
zoapatanólida D (32)  
R = OAc R' = H R'' = Ang  
tomencephalina (36)  
R = H R' = H R'' = Sen  
5-hidroxitomencephalina (37)  
R = H R' = OH R'' = Sen

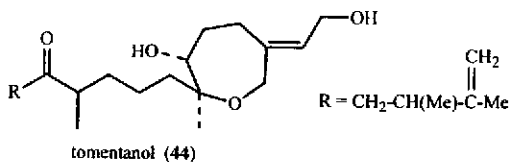
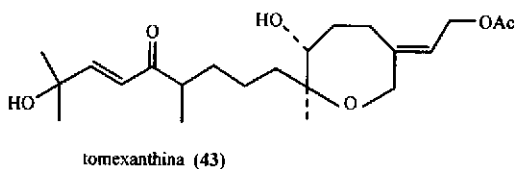
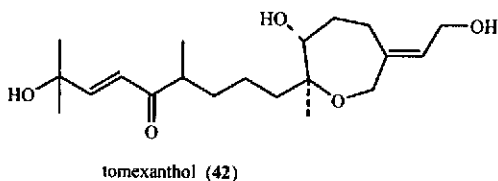
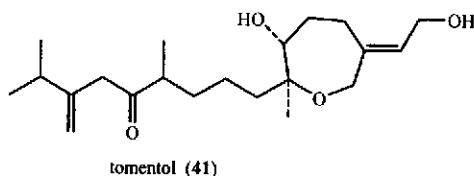
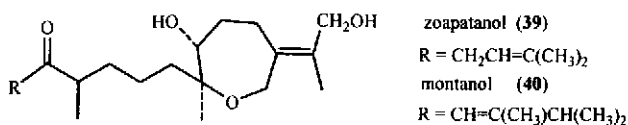


X = H, H isodeshidroleucodina (33)  
X = O 9-oxo-isodeshidroleucodina (34)

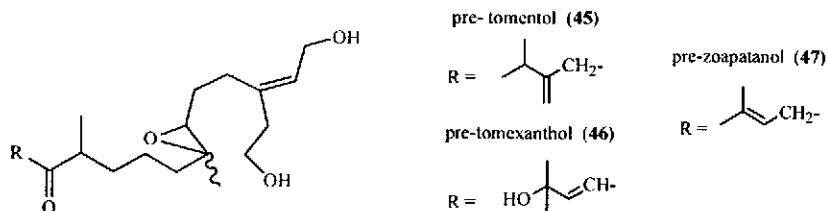


zoapatanólida F (38)

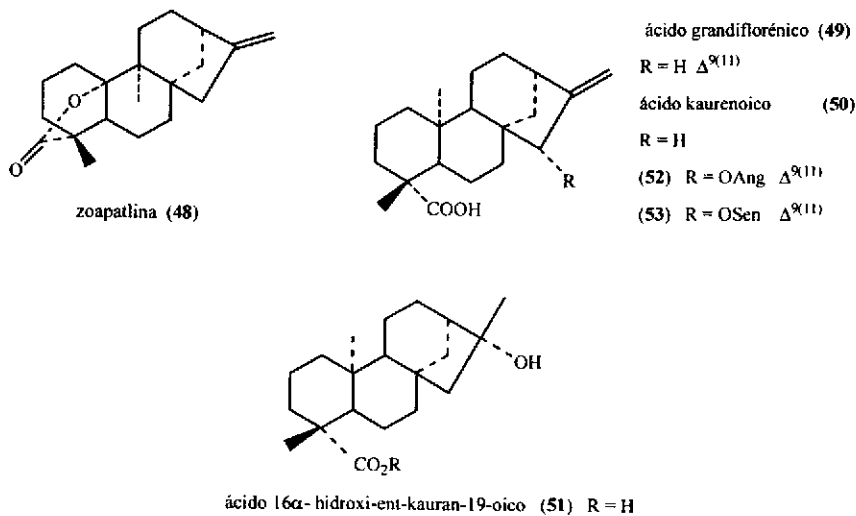
Otros metabolitos característicos del género *Montanoa* son los diterpenos, que pueden ser oxepanos como: zoapatanol (39), montanol (40), tomentol (41), tomexanthol (42), tomexanthina (43) y tomentanol (44) que se aislaron de *Montanoa tomentosa* sin especificar la subespecie.<sup>22,23,24,25</sup> Se ha descrito la presencia del compuesto 39 en: *M. leucantha* ssp. *arborescens*, *M. leucantha* ssp. *leucantha*, *M. mollissima*, *M. tomentosa* ssp. *tomentosa* y *M. tomentosa* ssp. *microcephala*.<sup>26</sup>



Adicionalmente, de *Montanoa tomentosa*<sup>25</sup> se han aislado los diterpenos lineales pre-tomentol (45), pre-tomexanthol (46) y pre-zoapatanol (47) considerados como precursores de los oxepanos correspondientes.

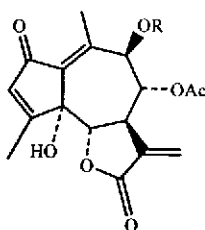


Otros ejemplos de diterpenos son aquellos que derivan del kaurano, como: zoapatlina (48), ácido grandiflorénico (49) y ácido kaurenoico (50) aislados de *M. tomentosa*<sup>27,28</sup> (los dos últimos también se obtuvieron de *M. tomentosa* ssp. *microcephala*<sup>12,20</sup>); ácido 16 $\alpha$ -hidroxi-ent-kauran-19-oico (51) obtenido de *M. hibiscifolia*<sup>29</sup> y los derivados de ácido grandiflorónico 52 y 53 así como 50 aislados de *M. karwinskii*.<sup>11</sup>

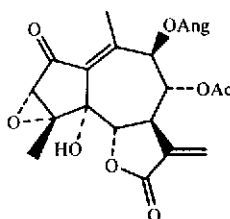




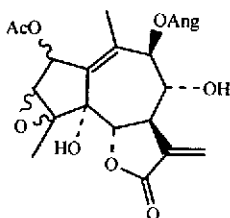
Con respecto a la variabilidad de metabolitos secundarios obtenidos de una misma especie, como reflejo de su hábitat, se puede mencionar a *Montanoa tomentosa* ssp. *xanthiifolia* que ha sido objeto de diversos estudios. Cuando la especie se recolectó en Estados Unidos<sup>24</sup> o en México<sup>4,5</sup> se obtuvieron el oxepano tomexantina (43), las guayanólidas 9-metacrilato de 8-acetil-9-desacilpumilina (54), 8-acetilpumilina (55), 8-acetil-3 $\alpha$ -epoxipumilina (56) y zoapatanólida C (57) y, la heliangólida 9 $\beta$ -hidroxi-3-epinobilina (58). Pero cuando el taxón se recolectó en Guatemala o Costa Rica,<sup>6,7</sup> se obtuvieron las germacranólidas 59 a 64.



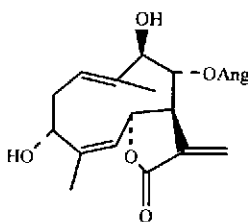
9- metacrilato de 8- acetil- 9- desacilpumilina (54)  
R = Mac  
8-acetilpumilina (55) R = Ang



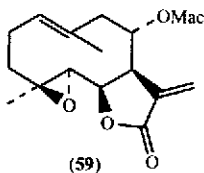
8- acetil-3 $\alpha$ - epoxipumilina (56)



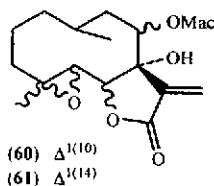
zoapatanólida C (57)



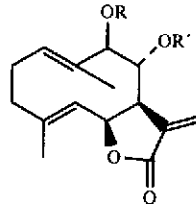
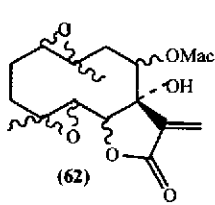
9 $\beta$ -hidroxi-3-epinobilina (58)



(59)



(60)  $\Delta^{1(10)}$   
(61)  $\Delta^{1(14)}$

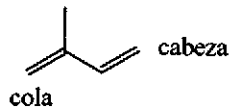


(63) R = Sen R' = H

(64) R = H R' = Sen

### 3.3. Terpenoides

Los terpenoides están formados por unidades de isopreno (2-metil-1,3-butadieno) unidas normalmente cabeza-cola.



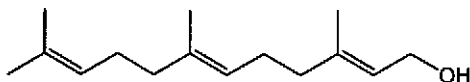
Los terpenoides se dividen en siete grupos de acuerdo al número de unidades de isopreno que contienen (Tabla 1).<sup>30</sup>

**Tabla 1. Clasificación de los terpenoides**

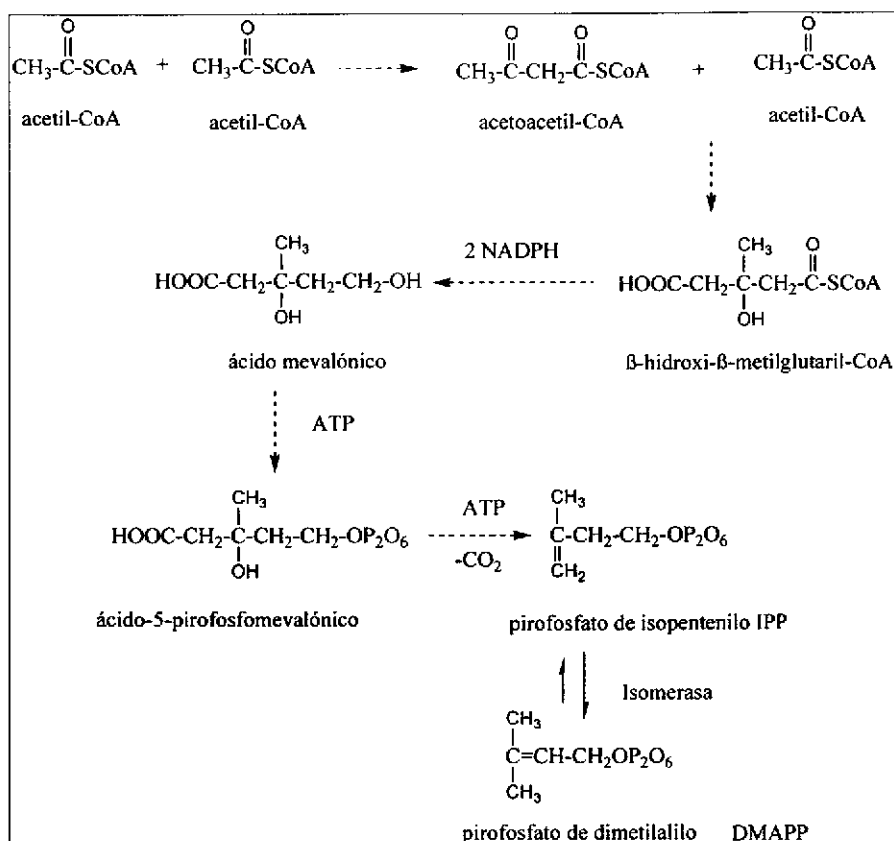
GRUPO	ATOMOS DE CARBONO	UNIDADES DE ISOPRENO	EJEMPLOS
Hemiterpenoide	5	1	isopreno
Monoterpenoide	10	2	geraniol
Sesquiterpenoide	15	3	farnesol
Diterpenoide	20	4	geranil-geraniol
Sesterpenoide	25	5	ofobrolina A
Triterpenoide	30	6	escualeno
Tetraterpenoide	40	8	fitoeno
Politerpenoide	C <sub>5n</sub>	n	caucho

### 3.4. Sesquiterpenoides

Son productos naturales que poseen un esqueleto de 15 átomos de carbono. El farnesol es uno de los sesquiterpeno más sencillos y se le considera precursor de las lactonas sesquiterpénicas.<sup>31</sup>

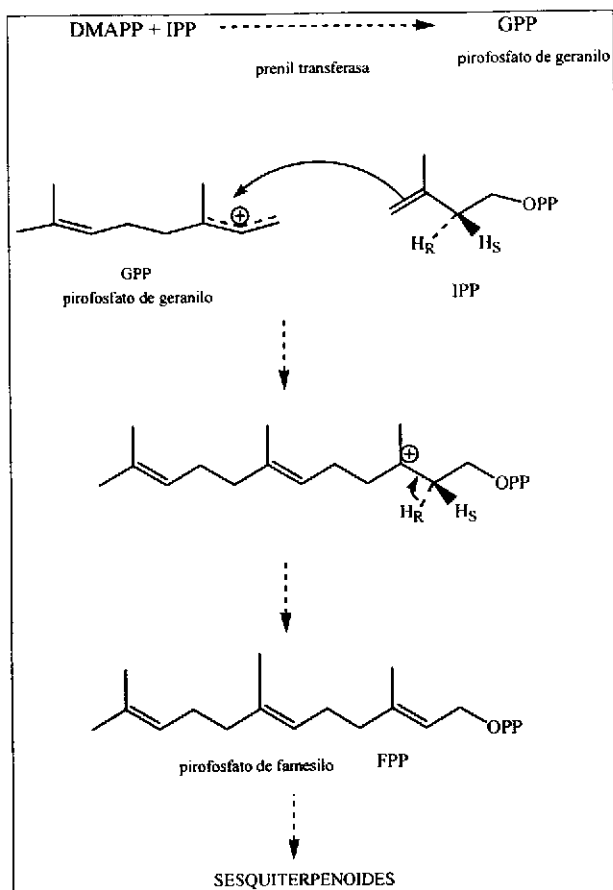


La ruta metabólica propuesta para la formación de los sesquiterpenoides es conocida como acetato-mevalonato (Esquema 1). En esta ruta, dos moléculas de acetil-CoA se unen por una reacción de Claisen para producir acetoacetil CoA, la adición de una tercera molécula de acetil-CoA mediante un proceso aldólico estereoespecífico, da lugar a  $\beta$ -hidróxi- $\beta$ -metilglutaril CoA. Posteriormente, esta molécula se reduce con dos moléculas de NADPH formando ácido mevalónico. El ácido sufre una fosforilación y una descarboxilación, produciendo pirofosfato de isopentenilo (IPP), mismo que con ayuda de una isomerasa, da lugar a pirofosfato de dimetilalilo (DMAPP).



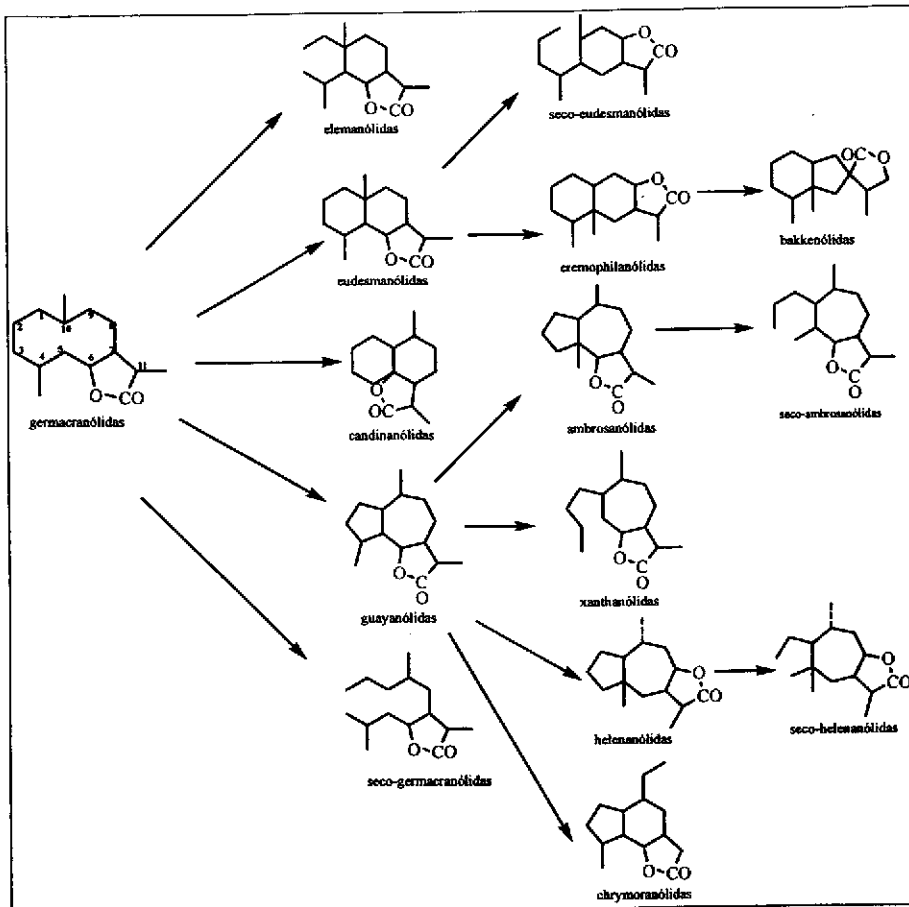
Esquema 1. Ruta metabólica acetato-mevalonato.

La combinación del pirofosfato de dimetilalilo (DMAPP) y de pirofosfato de isopentenilo (IPP) genera pirofosfato de geranilo (GPP) que al perder el difosfato sufre la adición de una segunda molécula de IPP y la eliminación de un protón, dando lugar a pirofosfato de farnesilo (FPP) que es el precursor de los sesquiterpenoides<sup>30</sup> (Esquema 2).



**Esquema 2.** Formación del precursor de los sesquiterpenoides

Un grupo importante de sesquiterpenoides es aquel conformado por lactonas sesquiterpénicas. Se ha propuesto que la ciclización del pirofosfato de farnesilo (FPP), seguida de una serie de oxidaciones del esqueleto carbonado, da lugar a las germacranólidas, precursoras a su vez del resto de las lactonas sesquiterpénicas<sup>32</sup> (Esquema 3).

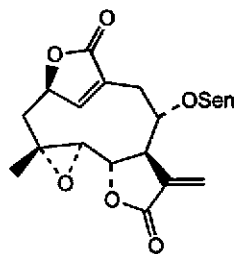


Esquema 3. Relación biogénica entre diversas lactonas sesquiterpénicas.

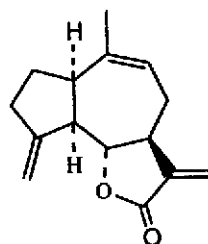
El interés en las lactonas sesquiterpénicas radica no sólo en su valor quimiotaxonomico, sino también por sus interesantes propiedades biológicas, como por ejemplo antihelmíntica ó inhibidora de tumores cancerosos. Algunos compuestos con sus actividades biológicas se encuentran en la Tabla 2.

Tabla 2. Algunas lactonas sesquiterpénicas con actividad biológica

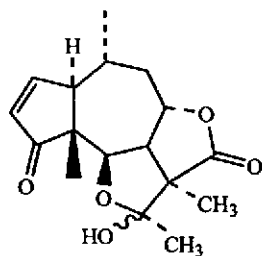
Compuesto	Origen	Actividad biológica
elephantina (65)	<i>Elephantopus elatus</i>	Inhibidora de tumores cancerosos <sup>33</sup>
eremantina (66)	<i>Eremanthus elaeagnus</i>	Antiparasitaria <sup>34</sup>
tenulina (67)	<i>Helenium amarum</i>	Tóxica al ganado <sup>35</sup>
mikanólida (68)	<i>Mikania monagasensis</i>	Antimicrobiana <sup>36</sup>
partenina (69)	<i>Parthenium hysterophorus</i>	Dermatitis al contacto <sup>32</sup>
sivasinólida (70)	<i>Tanacetum densum</i> ssp <i>sivasicum</i>	Antibacteriana <sup>37</sup>
artemisinina (71)	<i>Artemisia annua</i>	Antimalarica <sup>38</sup>
helenalina (72)	<i>Helenium autumnale</i>	Anti-inflamatoria <sup>32</sup>



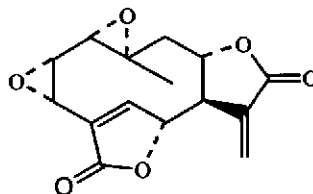
elephantina (65)



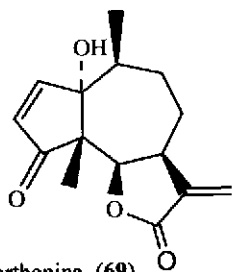
eremantina (66)



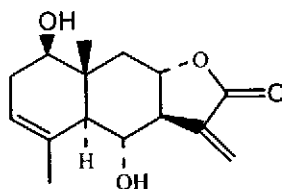
tenulina (67)



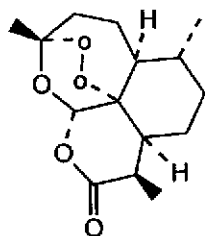
mikanólida (68)



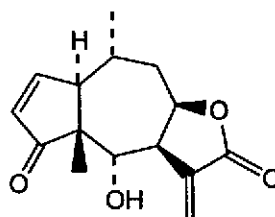
parthenina (69)



sivasinólida (70)



artemisina (71)



helenalina (72)



## 4. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1. Equipos y Materiales

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y los valores no se corrigieron. Los espectros de UV fueron obtenidos en un espectrómetro Perkin-Elmer modelo 552. Las rotaciones ópticas se determinaron en un Polarímetro Jasco modelo DIP-360. Los espectros de Infrarrojo fueron determinados en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 283B y en un Nicolet FT-IR5 SX. Los espectros de RMN  $^1\text{H}$  a 300 MHz y de RMN  $^{13}\text{C}$  a 75 MHz se obtuvieron en un espectrómetro VXR-300S y los espectros de RMN  $^1\text{H}$  a 80 MHz fueron determinados en un espectrómetro Varian FT-80 A. En todos los experimentos se utilizó tetrametilsilano hexadeuterado (TMS) como referencia interna. Los espectros de masas fueron obtenidos en un espectrómetro Hewlett Packard 5985-B mediante las técnicas de impacto electrónico a 70 eV ó de ionización química a 220 eV con  $\text{CH}_4$ . Para las cromatografías en columna se utilizó gel de sílice G 60 y se operaron con vacío. La pureza de los compuestos y el avance de las reacciones se determinaron por cromatografía en capa delgada utilizando cromatoplasas ALUGRAM SIL G/ UV. Se usó como revelador una solución de  $\text{CeSO}_4$  al 3% en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2N.

### 4.2. Material Vegetal

*Montanoa tomentosa* Cerv. ssp. *xanthiifolia* (Sch. Bip.) V. A. Funk fue recolectada en Chiapas en octubre de 1989 y fue identificada por el Dr. José Luis Villaseñor. Una muestra botánica se encuentra en el Herbario del Instituto de Biología de la UNAM (MEXU 543443).

#### 4.3. Obtención de extractos

La parte aérea seca y molida (500 g) se extrajo con cloroformo a temperatura ambiente. El extracto clorofórmico (26 g) se absorbió en celita y se colocó en una columna de vidrio que contenía tierra de bentonita (500 g; SiO<sub>2</sub> 72.5%, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 13%, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 5.0%, MgO 1.5%, CaO 0.8%, humedad 8.5%). La columna se eluyó con 3 l de hexano y 3 l de acetona, de manera consecutiva. Después de eliminar el disolvente a presión reducida, se obtuvieron del residuo hexánico 508.6 mg de un sólido y 15.48 g de aguas madres, además, se obtuvieron 7.6 g de residuo de acetona.

#### 4.4. Residuo Hexánico

El sólido (508.6 mg) se filtró y purificó por cromatografía en columna eluida con hexano/AcOEt 65:35, se obtuvieron 25 fracciones. Las fracciones 8 a 24 se reunieron y purificaron por cromatografía en columna eluida con benceno/AcOEt 85:15, se obtuvieron 48 fracciones de 50 ml. De las fracciones 4 a 18 se obtuvo 4 $\beta$ ,5 $\alpha$ -epoxi-8 $\alpha$ -isobutiriloxi-*trans*-1(10)-germacren-12,6 $\beta$ -ólida (I) como un sólido blanco cristalino (369.3 mg) que se recrystalizó en hexano/AcOEt, p.f. 157-160°C.

$[\alpha]_D$ : -75.5° (c 0.20, CHCl<sub>3</sub>); UV  $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 268 (3.7), 205 (4.3); IR  $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$  cm<sup>-1</sup>: 3036 (C=C-H), 1773 (C=O,  $\gamma$ -lactona), 1728 (C=O, éster), 1667 (C=C); EM-IQ  $m/z$  (int. rel. %): 335 [M+H]<sup>+</sup> (4), 247 [335-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (80), 229 (100); EM-IE  $m/z$  (int. rel. %): 246 [M-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (13), 71 [C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup> (57), 43 [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup> (100), 41 [C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup> (48).

De las fracciones 19 a 47 se obtuvo 4 $\beta$ ,5 $\alpha$ -epoxi-7 $\alpha$ -hidroxi-8 $\alpha$ -isobutiriloxi-*trans*-1(10)-germacren-12,6 $\beta$ -ólida (II) como un sólido blanco cristalino (128 mg) que se recrystalizó en hexano/AcOEt, p.f. 164-170°C.

$[\alpha]_D$ : -104.3° (c 0.12, CHCl<sub>3</sub>); UV  $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 206 (4.6), 204 (4.7); IR  $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$  cm<sup>-1</sup>: 3452 (OH), 3035 (C=C-H), 1779 (C=O  $\gamma$ -lactona), 1729 (C=O éster), 1670 (C=C); EM-IE  $m/z$  (int. rel. %): 279 [M-C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup> (0.1), 262 [M-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (0.3), 244 [262-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (0.25), 226 [244-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (0.2), 71 [C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup> (34), 43 [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup> (100), 41 [C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup> (39).

Las aguas madres (15.48 g) del sólido obtenido del residuo hexánico, se analizaron por cromatografía en columna usando 230 g de gel de sílice. La cromatografía se eluyó con hexano y se incrementó gradualmente la polaridad con AcOEt. Se obtuvieron 217 fracciones de 125 ml cada una (Tabla 1).

**Tabla 1.** Cromatografía en columna de las aguas madres del sólido del residuo hexánico.

FRACCIONES	ELUYENTE
1-37	Hexano
38-73	Hexano-AcOEt 98:2
74-90	Hexano-AcOEt 96:4
91-103	Hexano-AcOEt 94:6
104-120	Hexano-AcOEt 90:10
121-140	Hexano-AcOEt 85:15
141-186	Hexano-AcOEt 80:20
187-200	Hexano-AcOEt 75:25
201-217	Hexano-AcOEt 65:35

Las fracciones 32-45 se purificaron por cromatografía en columna usando como eluyente hexano, se obtuvieron 194 fracciones de 125 ml. De las fracciones 26-119 se obtuvo acetato de taraxasterilo (III) como sólido blanco cristalino, p.f. 220-226°C, 386.6 mg.

De esta misma cromatografía y de las fracciones 168-173 se obtuvo ácido kaurenoico (IV) como un sólido blanco, p.f. 145-150°C, 26 mg.

El residuo (1.417 g) obtenido de la reunión de las fracciones 47-65 (Tabla 1) se purificó por cromatografía en columna eluida con hexano/AcOEt 95:5, se obtuvieron 12 fracciones. De las fracciones 1-3 se obtuvo IV (92.10 mg) y sus aguas madres (510 mg) se purificaron por cromatografía en columna eluida de manera similar a la anterior. Se obtuvieron 312 mg de IV.

Las fracciones 72-88 (309.3 mg) mostradas en la Tabla 1, se purificaron por cromatografía en columna usando como eluyente benceno/AcOEt 95:5, se obtuvieron 50 fracciones de 50 ml. De las fracciones 10-23 se obtuvo un sólido cristalino constituido por una mezcla de  $\beta$ -sitosterol (V) y estigmasterol (VI), p.f. 134-139°C, 84.8 mg.

Las fracciones 134-154 (520 mg) de la Tabla 1, se purificaron por cromatografía en columna usando como eluyente benceno/AcOEt 90:10, se obtuvieron 73 fracciones de 50 ml. De las fracciones 22-32 se obtuvieron 311.2 mg de I.

Las fracciones 168-176 (151.2 mg) mostradas en la Tabla 1, se purificaron por cromatografía en columna usando como eluyente  $\text{CHCl}_3$ /AcOEt 90:10, se obtuvieron 61.2 mg de II.

**4.5. Residuo de Acetona**

El residuo (7.6 g) se analizó por cromatografía en columna usando como eluyentes hexano y AcOEt como se muestra en la Tabla 2. Se obtuvieron 255 fracciones de 200 ml cada una.

**Tabla 2.** Cromatografía en columna del residuo de acetona.

FRACCIONES	ELUYENTE
1-11	Hexano
12-13	Hexano-AcOEt 95:5
14-52	Hexano-AcOEt 90:10
53-71	Hexano-AcOEt 85:15
72-107	Hexano-AcOEt 80:20
108-118	Hexano-AcOEt 75:25
119-166	Hexano-AcOEt 70:30
167-179	Hexano-AcOEt 65:35
180-208	Hexano-AcOEt 55:45
209-235	Hexano-AcOEt 45:55
236-243	Hexano-AcOEt 35:65
244-252	Hexano-AcOEt 25:75
253-255	Hexano-AcOEt 15:85
256-274	AcOEt

Las fracciones 33-55 se purificaron por cromatografía en columna eluida con hexano/AcOEt 90:10. Se obtuvo una mezcla de  $\beta$ -sitosterol (V) y estigmastero (VI), 13.2 mg.

Las fracciones 81-94 (220 mg) se purificaron por cromatografía en columna usando como eluyente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$  95:5. Se obtuvieron 77 fracciones de 25 ml. De las fracciones 23-48 se obtuvo (1R,4S)-1,4-ciclo-5 $\alpha$ -hidroxi-8 $\alpha$ -isobutiriloxi-7 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -oxagermacran-12,6 $\beta$ -ólida (VII) como sólido blanco cristalino que se recristalizó en hexano/AcOEt, p.f. 172-173°C, 100 mg.

$[\alpha]_D$ : -201.5° (c 0.2,  $\text{CHCl}_3$ ); UV  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 202 (3.9), 205 (3.9); IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3592 (C-OH), 3030 (C=C-H), 1779 (C=O,  $\gamma$ -lactona), 1734 (C=O, éster); EM-IQ  $m/z$  (int. rel. %): 351  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (12), 333  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$  (7), 281  $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}]^+$  (27), 279  $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_7\text{O}]^+$  (10), 263  $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2]^+$  (24), 245  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$  (100); EM-IE  $m/z$  (int. rel. %): 71  $[\text{C}_4\text{H}_7\text{O}]^+$  (29), 43  $[\text{C}_3\text{H}_7]^+$  (100), 41  $[\text{C}_3\text{H}_5]^+$  (38).

Las fracciones 119-147 (786.9 mg) se purificaron por cromatografía en columna usando como eluyente hexano/AcOEt 70:30, se obtuvieron 96 fracciones. Las fracciones 36 a 86 se reunieron (281.2 mg) y se sometieron de manera consecutiva a dos cromatografías en columna eluidas con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$  90:10. Se obtuvieron 98 mg de 4 $\beta$ -hidroxi-8 $\alpha$ -isobutiriloxi-7 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -oxaguayan-12,6 $\beta$ -ólida (VIII) como goma incolora.

$[\alpha]_D$ : -75.6° (c 0.27,  $\text{CHCl}_3$ ); UV  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 204 (3.9), 206 (3.9); IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3593 (C-OH), 3010 (C=C-H), 1781 (C=O,  $\gamma$ -lactona), 1733 (C=O, éster); EM-IQ  $m/z$  (int. rel. %): 351  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (6), 332  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$  (33), 245  $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2]^+$  (100); EM-IE  $m/z$  (int. rel. %): 71  $[\text{C}_4\text{H}_7\text{O}]^+$  (16), 43  $[\text{C}_3\text{H}_7]^+$  (100), 41  $[\text{C}_3\text{H}_5]^+$  (24).

**Acetilación de VII**

Al compuesto VII (25 mg) se le adicionó piridina (0.25 ml) y anhídrido acético (0.25 ml), la mezcla se dejó a temperatura ambiente y con agitación constante por 4 h. Posteriormente, se adicionó agua y la mezcla se extrajo con AcOEt. La fase orgánica se lavó con una solución acuosa diluida de HCl hasta un pH ligeramente ácido, después se lavó con una solución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> hasta pH 7, se lavó con agua y se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. Después de eliminar el disolvente se obtuvieron 19.7 mg de un residuo que se purificó por cromatografía en columna eluida con hexano/AcOEt 80:20. Se obtuvieron 4.0 mg de VIIa que cristalizó en hexano/AcOEt, p.f. 160-163°C.

IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$  cm<sup>-1</sup>: 1780, 1740; EM-IE *m/z* (int. rel %): 321 [M-C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup> (0.5), 304 [M-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (0.7), 244 [304-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (1.2), 71 [C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup> (22.4), 43 (100).

**Transformación de II con tonsil**

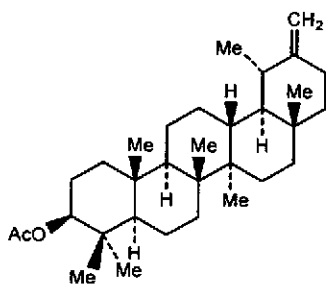
Una mezcla constituida por 2 mg del compuesto II, 10 ml de acetona y 30 mg de tonsil, se dejó con agitación constante y a temperatura ambiente por 48 horas. Posteriormente, la mezcla se filtro y analizó por cromatografía en capa delgada. El análisis mostró la presencia de una mezcla de productos, de los cuales, dos presentaron R<sub>f</sub>s similares a los de VII y VIII.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

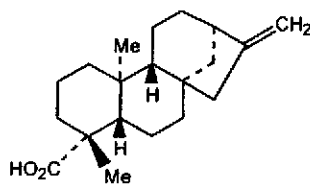
Del residuo hexánico de *Montanoa tomentosa* ssp. *xanthiifolia* se aislaron los compuestos conocidos: acetato de taraxasterilo (III), ácido kaurenoico (IV),  $\beta$ -sitosterol (V) y estigmasterol (VI). Estos compuestos fueron identificados por comparación de sus características espectroscópicas, Rf's y p.f con las correspondientes a muestras originales.

Adicionalmente, de este residuo se aislaron las dos nuevas lactonas sesquiterpénicas  $4\beta,5\alpha$ -epoxi- $8\alpha$ -isobutiriloxi-*trans*-1(10)-germacren-12,6 $\beta$ -ólida (I) y  $4\beta,5\alpha$ -epoxi- $7\alpha$ -hidroxi- $8\alpha$ -isobutiriloxi-*trans*-1(10)-germacren-12,6 $\beta$ -ólida (II).

Del residuo de acetona se obtuvieron nuevamente V y VI, además de las dos nuevas lactonas (1*R*,4*S*)-1,4-ciclo- $5\alpha$ -hidroxi- $8\alpha$ -isobutiriloxi- $7\alpha,10\alpha$ -oxagermacran-12,6 $\beta$ -ólida (VII) y  $4\beta$ -hidroxi- $8\alpha$ -isobutiriloxi- $7\alpha,10\alpha$ -oxaguayan-12,6 $\beta$ -ólida (VIII).

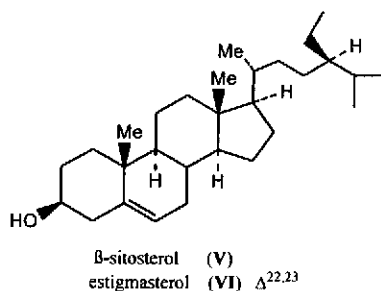


acetato de taraxasterilo (III)



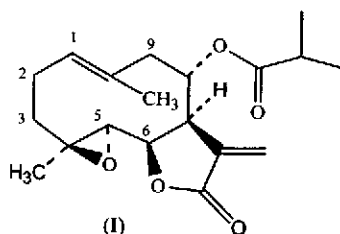
ácido kaurenoico (IV)





**4 $\beta$ ,5 $\alpha$ -Epoxi-8 $\alpha$ -isobutiriloxi-*trans*-1(10)-germacren-12,6 $\beta$ -ólida (I).** El espectro de masas del compuesto **I** presentó un fragmento de  $m/z$  335 que correspondió al ion molecular más un hidrógeno  $[M+H]^+$ , por lo tanto, la fórmula molecular de **I** debe ser  $C_{19}H_{26}O_5$ . La presencia del grupo isobutirato se dedujo al observar en el espectro de RMN  $^1H$  (Tabla 3, espectro 1) dos dobletes en  $\delta$  1.12 y 1.13 ( $J=7.5$  Hz) que se asignaron a los metilos del éster, y un heptuplete en  $\delta$  2.41 ( $J=7.6$  Hz) que se atribuyó al hidrógeno  $\alpha$  del grupo acilo. La función fue corroborada en el espectro de masas que mostró un fragmento de  $m/z$  246 que correspondió a la pérdida de ácido isobutírico, además se observaron los fragmentos del grupo acilo de  $m/z$  71  $[C_4H_7O]^+$  y 43  $[C_3H_7]^+$ .

El éster se propuso unido a C-8 en función del desplazamiento químico y multiplicidad de la señal de H-8 ( $\delta$  5.16, ddd,  $J=11.5, 7.5, 4.5$  Hz) que indicó su vecindad a tres hidrógenos, dos de ellos correspondieron a los de C-9 y el tercer hidrógeno al de C-7.



La  $\gamma$ -lactona  $\alpha$ ,  $\beta$ -no saturada se dedujo a partir de las bandas en 1773 y 1667  $\text{cm}^{-1}$  observadas en el espectro de IR (espectro 2) y porque en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Tabla 3) H-6 se observó como una señal doble de doble en  $\delta$  4.03 ( $J= 10, 6$  Hz). Las constantes de acoplamiento permitieron proponer al hidrógeno del cierre lactónico (H-6) *trans* a H-5 y *cis* a H-7. La estereoquímica propuesta se basó también en los acoplamientos observados entre cada uno de los hidrógenos de C-13 con H-7 (H-13a:  $\delta$  6.1, d,  $J= 1$  Hz; H-13b:  $\delta$  5.65, d,  $J= 0.5$  Hz).

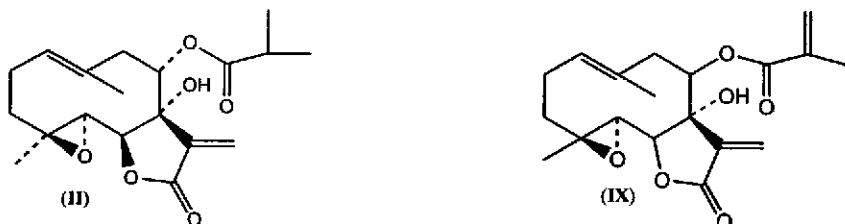
Por otra parte, las posiciones del doble enlace y del epóxido en el anillo de 10 miembros, se establecieron con base en lo siguiente: las señales de los grupos metilo 14 y 15 se observaron en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  en  $\delta$  1.84 y 1.3, respectivamente, lo que indicó el carácter vinílico del primero y la relación *gem* a una función oxigenada del segundo. Sumado a lo anterior, H-1 dio lugar a un triplete ancho en  $\delta$  5.4 ( $J= 8$  Hz) y H-5 a un doblete en  $\delta$  3.0 ( $J= 10$  Hz) cuya constante de acoplamiento corroboró su vecindad a H-6. Lo antes descrito permitió proponer para esta nueva germacrólida la estructura mostrada como I.

Tabla 3. Datos de RMN <sup>1</sup>H de I,II,VII,VIIa y VIII (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>).<sup>a</sup>

H	I	II	VII <sup>b,c</sup>	VIIa	VIII <sup>b</sup>
1	5.4 ta (8)	5.6 ta (5)	2.0-2.1 <sup>c</sup>		1.5-1.7 <sup>c</sup>
2a			1.96-2.06 <sup>c</sup>		1.6-1.7 <sup>c</sup>
2b			1.76-1.9 <sup>c</sup>		1.4-1.5 <sup>c</sup>
3a			1.48-1.6 <sup>c</sup>		1.9-2.2 <sup>c</sup>
3b			1.48-1.6 <sup>c</sup>		1.6-1.8 <sup>c</sup>
5	3.0 d (10)	2.75 da (9.5)	3.92 d (10)	5.22 d (10)	1.95 dd (12.4, 11.5)
6	4.03 dd (10, 6)	3.84 d (9.5)	4.15 d (10)	4.3 d (10)	3.85 d (11.5)
7	3.17 dda (7.5, 6)				
8	5.16 ddd (11.5, 7.5, 4.5)	4.95 da (10)	5.64 dd (9.2, 7.6)	5.65 dd (9, 7)	5.23 dd (7.8, 3.2)
9a			2.30 dd (11.6, 7.6)		2.46 dd (13.8, 7.8)
9b			1.52 dd (11.6, 9.2)		1.61 dd (13.8, 3.2)
13a	6.1 d (1)	6.25 s	6.16 s	6.2 s	6.26 s
13b	5.65 d (0.5)	5.73 s	5.57 s	5.64 s	5.73 s
14	1.84 sa	1.76 s	1.34 s	1.35 s	1.39 s
15	1.3 s	1.34 s	1.30 s	1.30 s	1.32 s
2'			2.41 hept (7.6)		2.43 hept (6.9)
3'	1.12 d (7.5)	1.1 d (7.5)	1.06 d (7.6)	1.07 d (6.5)	1.06 d (6.9)
4'	1.13 d (7.5)	1.1 d (7.5)	1.06 d (7.6)	1.07 d (7.5)	1.04 d (6.9)
2''				2.05 s	

<sup>a</sup> Constantes de acoplamiento entre paréntesis. <sup>b</sup> Obtenido a 300 MHz, asignaciones basadas en experimentos COSY, HETCOR y COLOC. <sup>c</sup> Señal compleja.

**4 $\beta$ ,5 $\alpha$ -Epoxi-7 $\alpha$ -hidroxi-8 $\alpha$ -isobutiriloxi-*trans*-1(10)-germacren-12,6 $\beta$ -ólida (II).** Este compuesto presentó una estructura similar a la de I, lo que se evidenció al comparar los datos espectroscópicos de ambos compuestos. La diferencia estructural de II se hizo patente al observar en su espectro de IR (espectro 3) una banda en 3452 cm<sup>-1</sup> que indicó la presencia de función alcohol. Adicionalmente, su espectro de RMN <sup>1</sup>H (Tabla 3, espectro 4) no mostró alguna señal atribuible a H-7 y la señal de H-6 se observó como un doblete en  $\delta$  3.84 ( $J = 9.5$  Hz), estos hechos indujeron a proponer un grupo hidroxilo unido C-7.



Por otra parte, un compuesto con una estructura similar a la de II pero con un metacrilato unido a C-8 (IX) fue descrito como uno de los componentes de *Montanoa tomentosa* ssp. *xanthiifolia* recolectada en Guatemala.<sup>6</sup> La confirmación de la estructura II propuesta para la nueva germacrólida, se obtuvo de su análisis de difracción de rayos X.

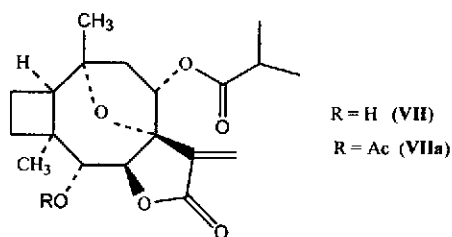
**(1R,4S)-1,4-Ciclo-5 $\alpha$ -hidroxi-8 $\alpha$ -isobutiriloxi-7 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -oxagermacran-12,6 $\beta$ -ólida (VII).** Este compuesto presentó en su espectro de masas un fragmento de  $m/z$  351 que correspondió al ion molecular más un hidrógeno  $[M+H]^+$ , concordante con la fórmula molecular C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>O<sub>6</sub>, lo que indicó que dicho compuesto correspondía a un isómero estructural de II. El puente etéreo presente en el compuesto VII, entre los carbonos 7 y 10, se dedujo por los desplazamientos químicos de C-7 y C-10 en  $\delta$  86.6 y 82.3, respectivamente, observados en el espectro de RMN <sup>13</sup>C (Tabla 4), y porque en el espectro de RMN <sup>1</sup>H (Tabla 3, espectro 5) no se observó señal atribuible a H-7. Adicionalmente, el espectro bidimensional COLOC mostró una correlación entre la señal de C-10 ( $\delta$  82.3) y la señal de los hidrógenos de C-14 ( $\delta$  1.34).

Tabla 4. Datos de RMN <sup>13</sup>C de VII, VIIa y VIII. Correlaciones observadas en los espectros COLOC de VII y VIII (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

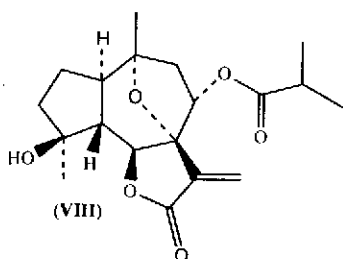
C	VII	Correlaciones	VIIa	VIII	Correlaciones
1	47.7		47.4	50.4	
2	22.4		22.1	24.7	
3	31.5	H-15	31.5	39.2	H-15
4	44.9	H-15	44.6	77.8	H-15
5	76.8	H-6	76.7	51.9	H-15
6	84.8	H-5	81.8	80.1	H-6
7	86.6	H-13a	86.6	87.1	H-13a
8	74.5	H-6, H-9b	74.8	73.9	
9	48.1		48.2	40.0	
10	82.3	H-14	82.4	86.2	H-14
11	138.7	H-13a, H-13b, H-6	138.6	134.6	H-13a
12	167.5	H-13a	166.9	167.8	H-13a
13	120.5	H-13a, H-13b	120.1	122.7	H-13a, H-13b
14	21.7		21.8	22.6	H-14
15	12.5	H-5	13.5	25.5	H-3b
1'	175.9	H-3', H-4'	175.6	175.9	
2'	33.9	H-3', H-4'	34.1	33.8	H-3', H-4'
3'	18.5	H-3', H-4'	18.6	18.7	H-3', H-4'
4'	18.7	H-3', H-4'	18.7	18.8	H-3', H-4'
1''			169.8		
2''			21.8		

El grupo hidroxilo se propuso unido a C-5 por que el hidrógeno de este carbono se observó como un doblete en  $\delta$  3.92 ( $J=10$  Hz) formando un sistema AB con el hidrógeno del cierre lactónico (H-6,  $\delta$  4.15, d,  $J=10$  Hz). Además, la posición de la función alcohol se corroboró al obtener el derivado acetilado **VIIa** que mostró en su espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Tabla 3) la señal de H-5 desplazada a campo bajo ( $\delta$  5.22, d,  $J=10$  Hz).

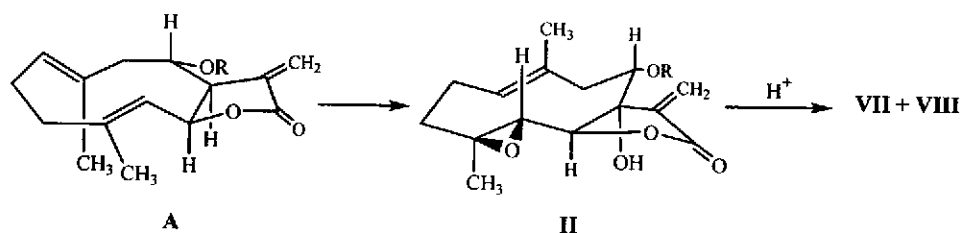
El nuevo metabolito al igual que las germacrólidas **I** y **II**, presentó un isobutirato unido a C-8, lo que se dedujo por la presencia de las señales correspondientes al éster y por el desplazamiento químico de H-8 ( $\delta$  5.64, dd,  $J=9.2, 7.6$  Hz) (Tablas 3 y 4). Por lo tanto, la estructura propuesta para este compuesto es aquella identificada como **VII**.



**4 $\beta$ -Hidroxi-8 $\alpha$ -isobutiriloxi-7 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -oxaguayan-12,6 $\beta$ -ólida (VIII).** Esta nueva guayanólida al igual que **VII**, presentó un anillo de tetrahydrofurano y un grupo hidroxilo. El desplazamiento químicos de C-4 ( $\delta$  77.8) observado en el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Tabla 4), indujo a proponer la función alcohol unida a dicho carbono. La estereoquímica de la fusión de los anillos del guayano se dedujo a partir de las constantes de acoplamiento de H-5 ( $\delta$  1.95, dd,  $J_{1,5}=12.4$  Hz,  $J_{5,6}=11.5$  Hz) (Tabla 3, espectro 6) que indicaron su relación *trans* con el hidrógeno 1.

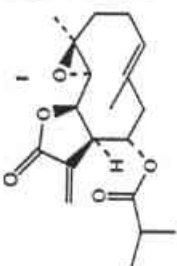
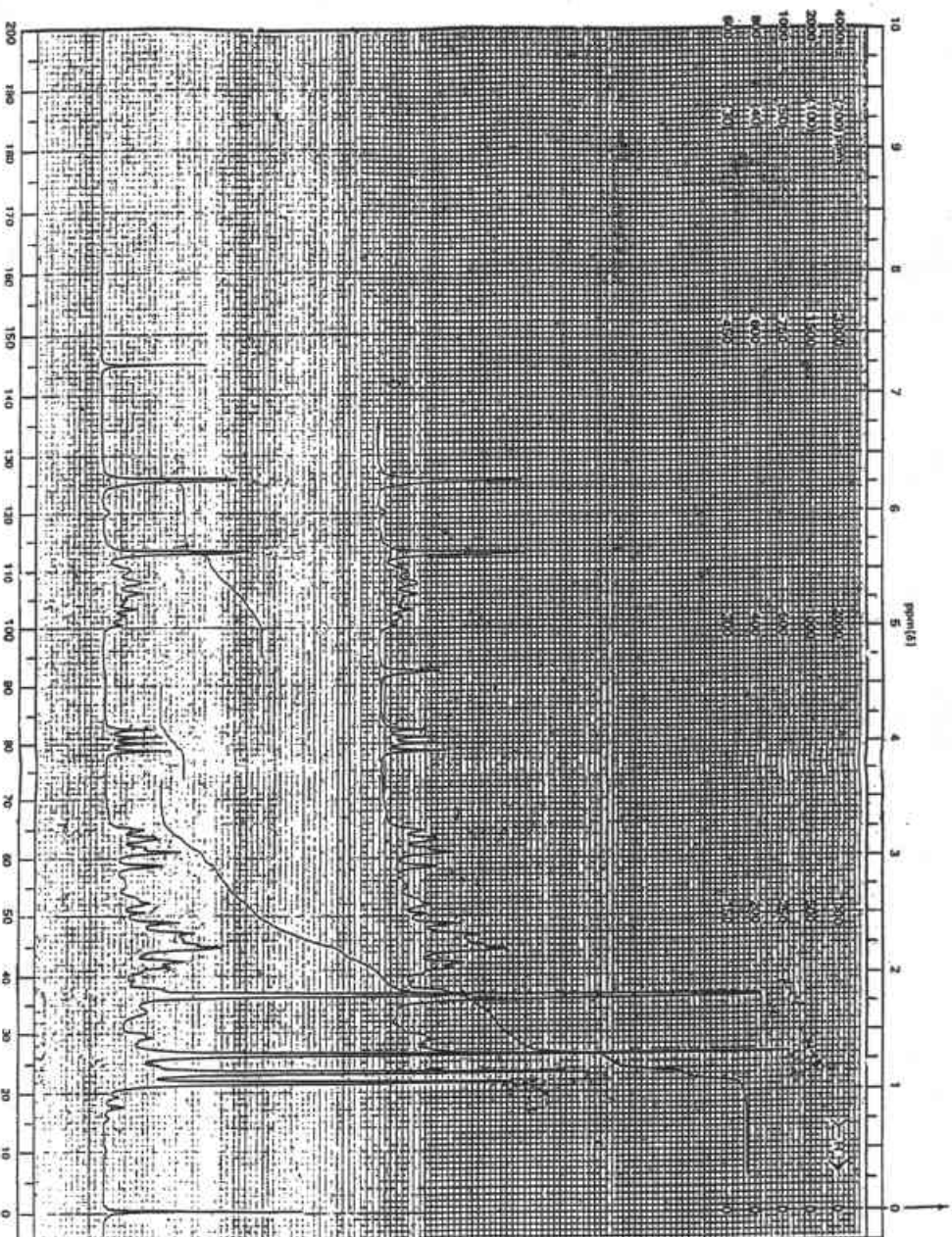


Considerando la relación estructural entre los compuestos **II**, **VII** y **VIII**, se puede proponer a la germacrólida hipotética **A** como su precursora. Para tal caso, el compuesto **A** debe de presentar una conformación  ${}^1D_{14}, {}_{15}D^5$ , para que una epoxidación del doble enlace que se localiza entre los carbonos 4 y 5, se lleve a cabo por la cara que se encuentra hacia fuera del ciclo, dando lugar a **II**. Una posterior rotación del doble enlace 1(10), originará una conformación  ${}^1D^{14}, {}_{15}D^5$  adecuada para que **II** se pueda ciclicizar formando **VII** y **VIII**.



Después de tratar el compuesto **II** con tonsil en acetona durante 48 horas, el análisis de la mezcla de reacción por cromatografía en capa delgada, reveló la presencia de una mezcla compleja de productos, de los cuáles, dos presentaron  $R_f$ s similares a los de **VII** y **VIII**. Este experimento aunque no concluyente, apoya la propuesta de biogénesis de los compuestos **VII** y **VIII** a partir de **II**.<sup>39</sup>

# Espetro 1



NUCLEI: 1H 13C FD PD  
 LOCK: INTERNAL CENTRAL  
 LOCK SIGNAL \_\_\_\_\_  
 SPIN RATE \_\_\_\_\_ rpm TEMP \_\_\_\_\_ °C

**ACQUISITION**  
 SPECTRAL WIDTH (SM) \_\_\_\_\_  
 NO. OF TRANSMITS (NT) \_\_\_\_\_  
 ACQUISITION TIME (AT) \_\_\_\_\_  
 PULSE WIDTH (PW) \_\_\_\_\_ μs  
 PULSE DELAY (PD) \_\_\_\_\_ μs  
 DATA POINTS (DP) \_\_\_\_\_

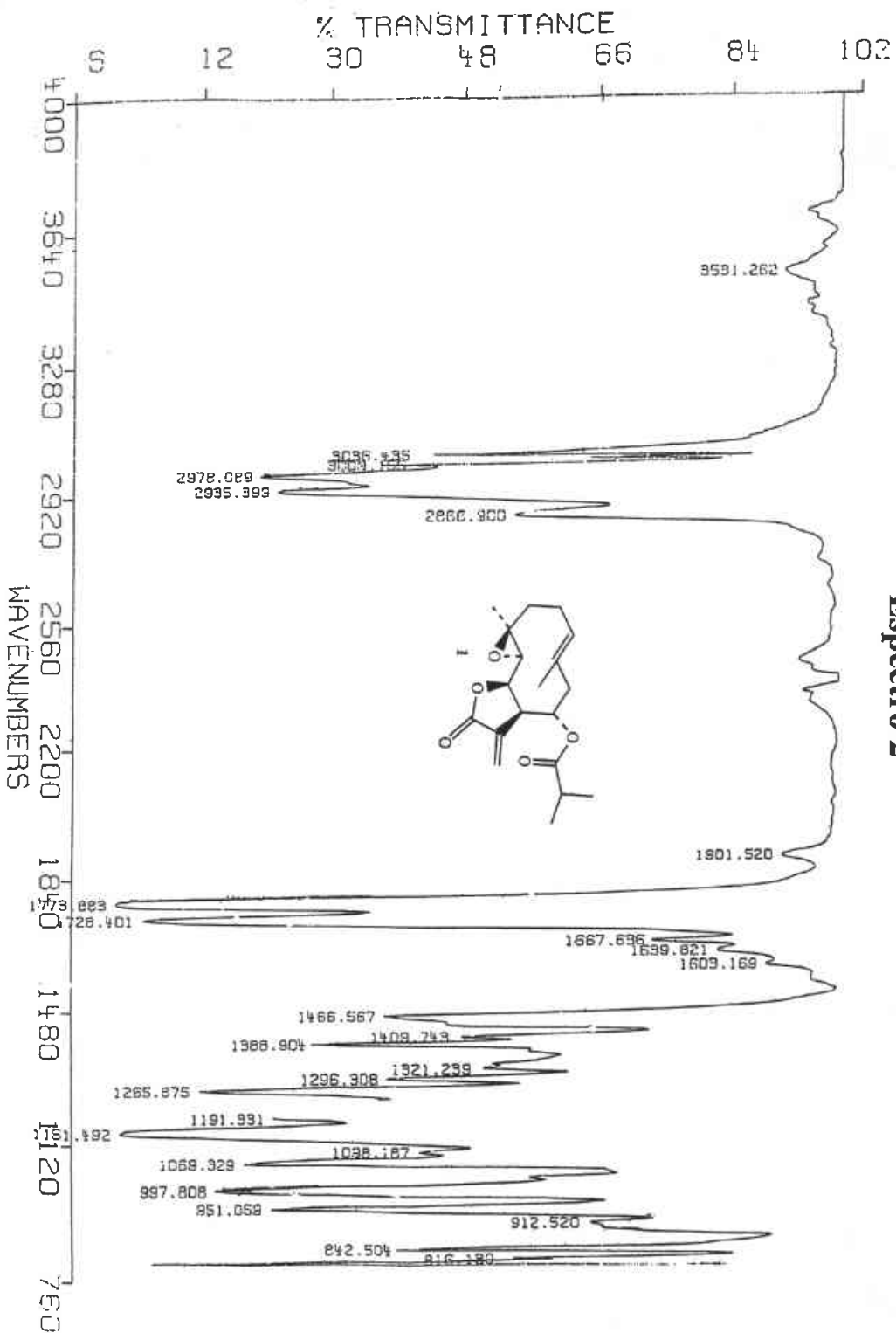
TRANSMITTER OFFSET (TO) \_\_\_\_\_  
 HIGH FIELD \_\_\_\_\_ LOW FIELD \_\_\_\_\_  
 RECEIVER GAIN (RG) \_\_\_\_\_  
 DECOUPLER MODE (DM) \_\_\_\_\_  
 DECOUPLER OFFSET (DO) \_\_\_\_\_  
 NOISE BANDWIDTH (NB) \_\_\_\_\_ Hz  
 ACQUISITION MODE (AM) \_\_\_\_\_

**DISPLAY**  
 SENS. ENHANCEMENT (ES) \_\_\_\_\_  
 WIDTH OF PLOT (WP) \_\_\_\_\_  
 END OF PLOT (EP) \_\_\_\_\_  
 WIDTH OF CHART (WC) \_\_\_\_\_  
 END OF CHART (EC) \_\_\_\_\_  
 VERTICAL SCALE (VS) \_\_\_\_\_  
 REFERENCE LINE (RL) \_\_\_\_\_

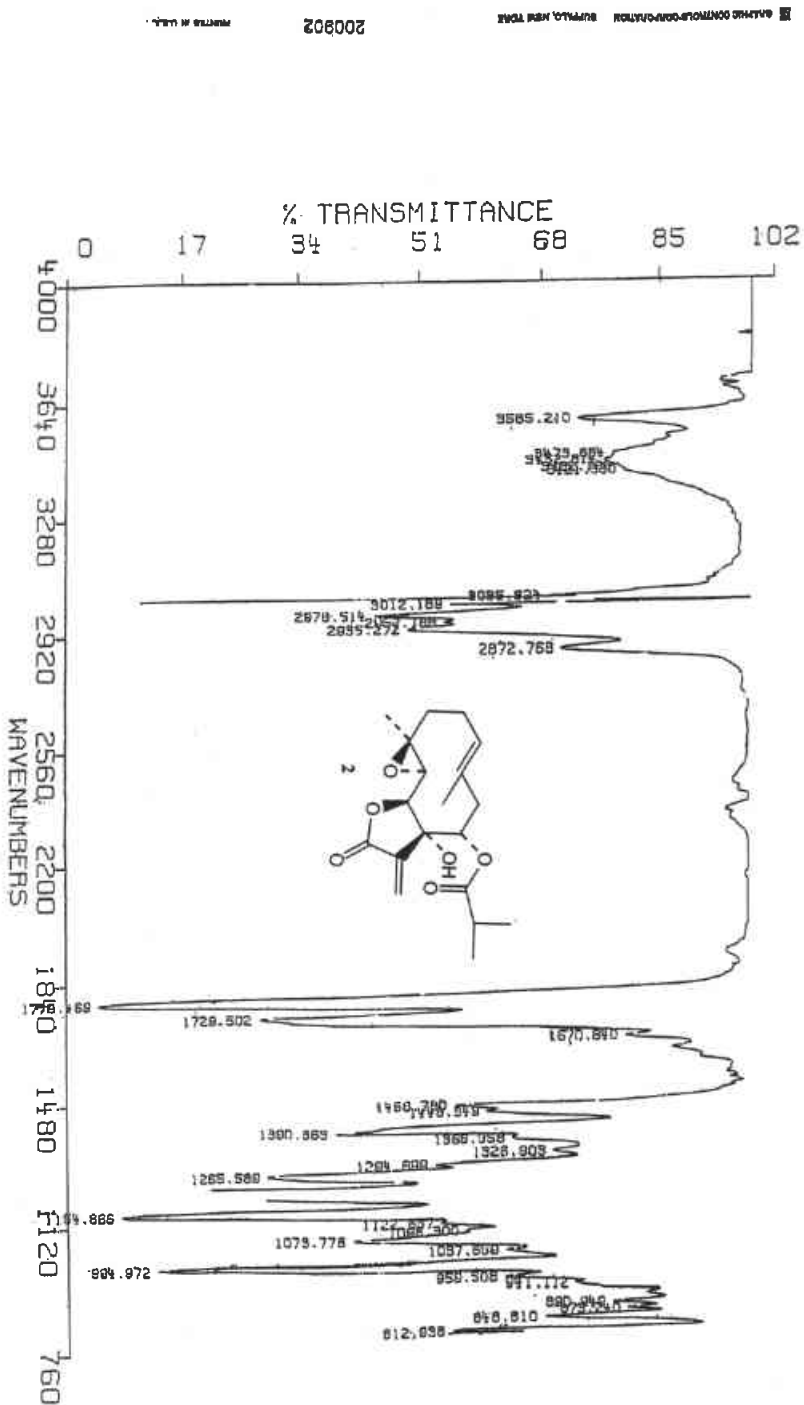
Varian Associates, Inc.  
 U.S. Patent and Trademark Office  
 Sufferland, N.J. 08010 U.S.A.



# Espectro 2

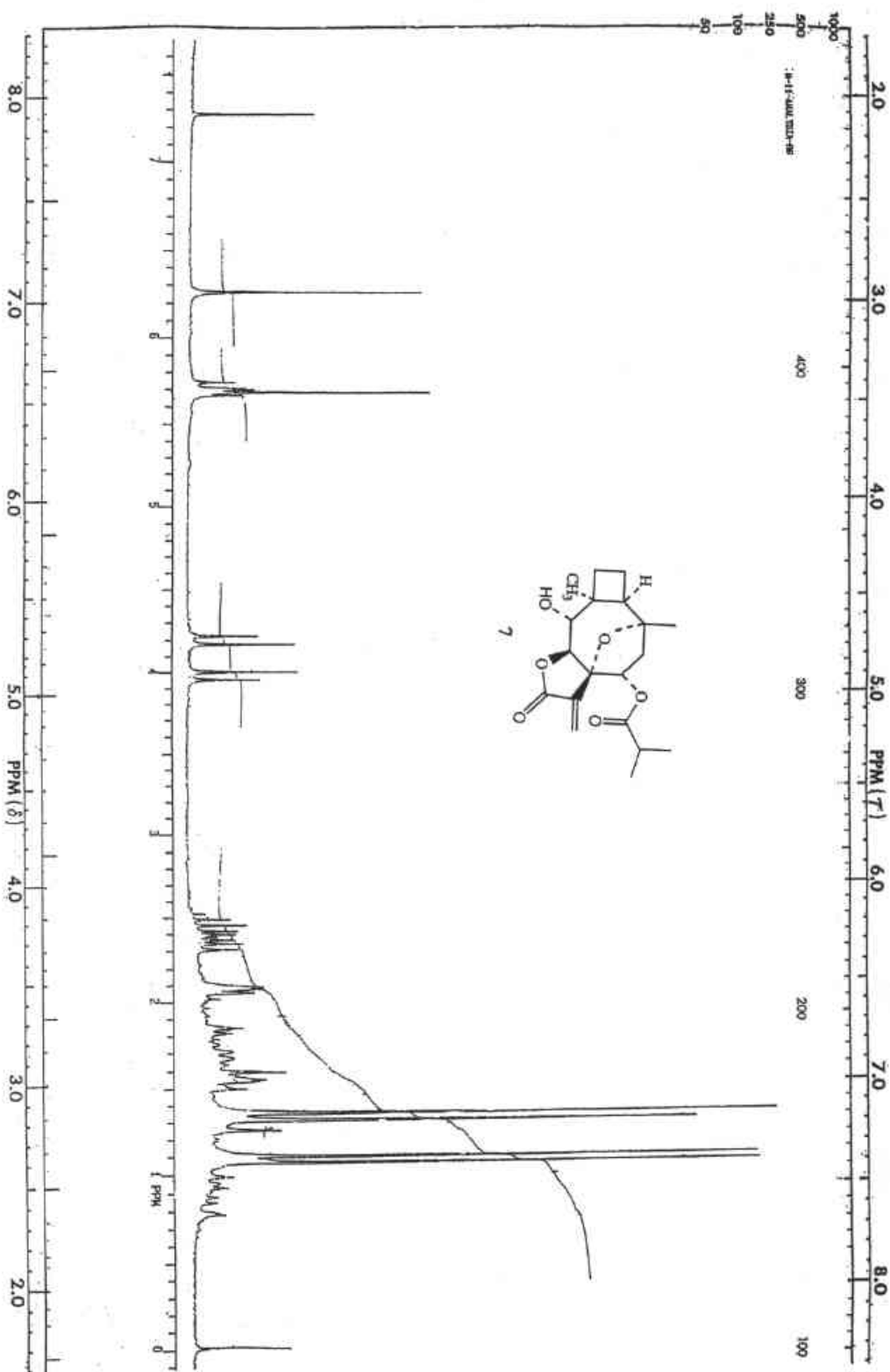


# Espectro 3

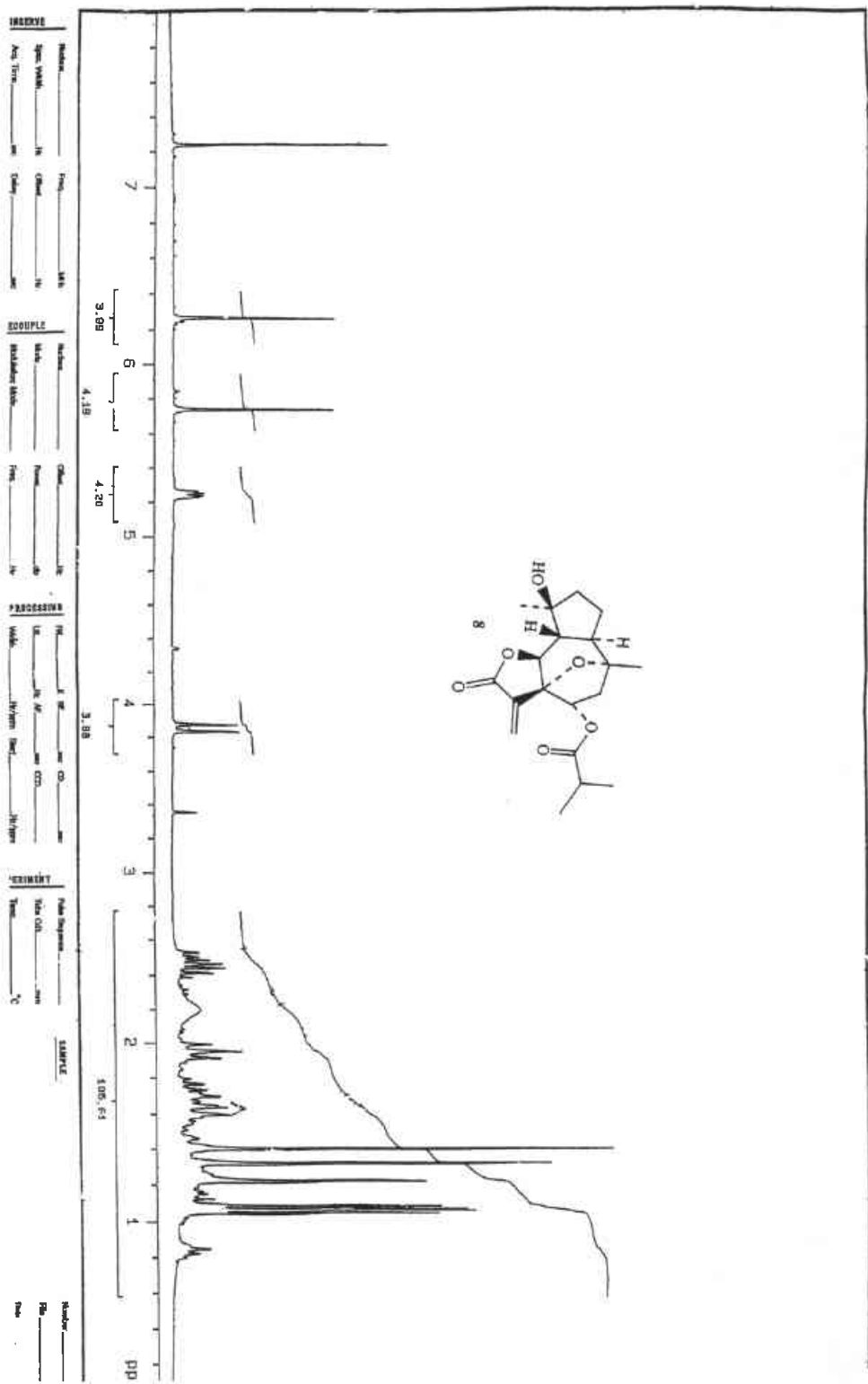




# Espectro 5



# Espectro 6



## 6. RESUMEN Y CONCLUSIÓN

- El estudio fitoquímico de las partes aéreas de *Montanoa tomentosa* ssp. *xanthiifolia* dio lugar al aislamiento de cuatro compuestos descritos en la literatura: acetato de taraxasterilo (III), ácido kaurenico (IV),  $\beta$ -sitosterol (V) y estigmasterol (VI).
- Adicionalmente, se obtuvieron las nuevas lactonas sesquiterpénicas:
  - 4 $\beta$ ,5 $\alpha$ -epoxi-8 $\alpha$ -isobutiriloxi-*trans*-1(10)-germacren-12,6 $\beta$ -ólida (I).
  - 4 $\beta$ ,5 $\alpha$ -epoxi-7 $\alpha$ -hidroxi-8 $\alpha$ -isobutiriloxi-*trans*-1(10)-germacren-12,6 $\beta$ -ólida (II).
  - (1*R*,4*S*)-1,4-ciclo-5 $\alpha$ -hidroxi-8 $\alpha$ -isobutiriloxi-7 $\alpha$ -10 $\alpha$ -oxagermacran-12,6 $\beta$ -ólida (VII).
  - 4 $\beta$ -hidroxi-8 $\alpha$ -isobutiriloxi-7 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -oxaguayan-12,6 $\beta$ -ólida (VIII).
- Los compuestos previamente descritos en la literatura, fueron identificados por comparación de sus características espectroscópicas, Rfs y p.f. con las correspondientes a muestras originales.
- La elucidación estructural de los nuevos metabolitos se llevo a cabo analizando sus datos espectroscópicos de IR, UV, EM, RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C, COSY, HETCOR y COLOC.
- La estructura propuesta para el compuesto II, 4 $\beta$ ,5 $\alpha$ -epoxy-7 $\alpha$ -hidroxi-8 $\alpha$ -isobutiriloxi-*trans*-1(10)-germacren-12,6 $\beta$ -ólida, se corroboró a través de su análisis de difracción de rayos X.

- La factibilidad de que el compuesto 4 $\beta$ ,5 $\alpha$ -epoxy-7 $\alpha$ -hidroxi-8 $\alpha$ -isobutiriloxi-*trans*-1(10)-germacren-12,6 $\beta$ -ólida (II) sea precursor de (1*R*,4*S*)-1,4-ciclo-5 $\alpha$ -hidroxi-8 $\alpha$ -isobutiriloxi-7 $\alpha$ -10 $\alpha$ -oxagermacran-12,6 $\beta$ -ólida (VII) y de 4 $\beta$ -hidroxi-8 $\alpha$ -isobutiriloxi-7 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -oxaguayan-12,6 $\beta$ -ólida (VIII), se propone considerando la transformación de II con tonsil y acetona en VII y VIII.
  
- Los compuestos aislados de *Montanoa tomentosa* ssp. *xanthiifolia* recolectada en el estado de Chiapas, comprueban la variabilidad de metabolitos que sintetiza la especie.
  
- El presente estudio contribuye al conocimiento de la quimiotaxonomía del género *Montanoa*.

## 8. Bibliografía

1. Estrada L. E., Quezada N. Chamanismo y Plantas Medicinales. En: Plantas Medicinales de México., Estrada L. E., Edit., Universidad Autónoma de Chapingo, 2ª Edición, 1995, 29-40.
2. Lozoya X., Lozoya M., Flora Medicinal de México. Primera parte: Plantas Indígenas. División de Biología Experimental, Unidad de Investigación, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, 1982, 193-223.
3. Gallegos A. J. *Contraception* 1983, **27**, 227-237.
4. Seaman F. C., Malcolm A. J., Fischer N. H. *Phytochemistry* 1984, **23**, 464-465.
5. Seaman F. C., Malcolm A. J., Fronczek F. R., Lee I. Y., Fischer N. H. *Phytochemistry* 1984, **23**, 817-822.
6. Seaman F. C., Malcolm A. J., Fischer N. H. *Phytochemistry* 1985, **24**, 2003-2005.
7. Castro V., Jakupovic J. *Phytochemistry* 1985, **24**, 2449-2450.
8. Stuessy T. F. Heliantheae, Systematic Review, en: The Biology and Chemistry of the Compositae, Heywood V. H., Harborne J. B., Turner B. L., Edits., Academic Press, London, 1977, Vol. 2, 621-671.
9. Funk V. A. The Systematics of *Montanoa* (Asteraceae, Heliantheae). Memoirs of the New York Botanical Garden, 1982, Vol. 36, 1-133.
10. Oshima Y., Wong S-M., Konno C., Cordell G. A., Waller D. P., Soejarto D. D., Fong H. H. S. *J. Nat. Prod.* 1986, **49**, 313-317.
11. Quijano L., Vásquez-C. A., Ríos T. *Phytochemistry* 1995, **38**, 1251-1255.
12. Braca A., Cioffi G., Morelli I., Venturella F., Pizza C., De Tommasi N. *Planta Medica* 2001, **67**, 774-776.
13. Müller S., Murillo R., Castro V., Brecht V., Merfort I. *J. Nat. Prod.* 2004, **67**, 622-630.
14. Geissman T. A., Griffin T. S. *Rev. Latinoamer. Quím.* 1971, **2**, 81-83.



15. Bohlmann F., Schmeda-Hirschmann G., Jakupovic J. *J. Nat. Prod.* 1984, **47**, 663-672.
16. Quijano L., Calderón J. S., Gómez-Garibay F., Bautista S., Ríos T. *Phytochemistry* 1985, **24**, 861-862.
17. Quijano L., Gómez-Garibay F., Trejo-B R. I., Ríos T. *Phytochemistry* 1991, **30**, 3293-3295.
18. Quijano L., Gómez-Garibay F., Calderón J. S., López P. J., Ríos T. *Phytochemistry* 1984, **23**, 125-127.
19. Seaman F. C., Fischer N. H., Mabry T. J. *Phytochemistry* 1986, **25**, 2663-2664.
20. Topcu G., Cordell G. A., Farnsworth N. R., Fong H. H. S. *J. Pharm. Sc.* 1988, **77**, 553-556.
21. Quijano L., Gómez-Garibay F., Sierra-R. E., Ríos T. *Phytochemistry* 1991, **30**, 1947-1950.
22. Levine S. D., Adams R. E., Chen R., Cotter M. L., Hirsch A. F., Kane V. V., Kanojia R. M., Shaw C., Wachter M. P., Chin E., Huettemann R., Ostrowski P., Mateos J. L., Noriega L., Guzmán A., Mijarez A., Tovar L. *J. Am. Chem. Soc.* 1979, **101**, 3404-3405.
23. Quijano L., Calderón J. S., Gómez Garibay F., Rosario M. V., Ríos T. *Phytochemistry* 1985, **24**, 2337-2340.
24. Oshima Y., Cordell G. A., Fong H. H. S. *Phytochemistry* 1986, **25**, 2567-2568.
25. Quijano L., Calderón J. S., Gómez-Garibay F., Rosario V., Ríos T. *Phytochemistry* 1985, **24**, 2741-2743.
26. Marcelle G. B., Bunyaphatsara N., Cordell G. A., Fong H. H. S., Nicolaou K. C., Zipkin R. E. *J. Nat. Prod.* 1985, **48**, 739-745.
27. Caballero Y., Walls F. *Bol. Inst. Quím. Univ. Nacl. Autón. Méx.* 1970, **22**, 79-102.
28. Enríquez R. G., Escobar L. I., Romero M. L., Chávez M. A., Lozoya X. *J. Chromatogr.* 1983, **258**, 297-301.
29. Ponce-M. H., Campos-L. G., Pedrón N., De la Torre L., Villanueva T., Gallegos A., Romo de Vivar A., Azpeitia E., Pérez A. *J. Ethnopharm.* 1988, **24**, 127-134.

30. Dewick P. M. *Medicinal Natural Products*, John Wiley & Sons, 1997, 152-269.
31. Fischer N. H., Olivier E. J., Fischer H. D. The Biogenesis and Chemistry of Sesquiterpene Lactones, en: *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, Herz W., Grisebach H., Kirby G. W. editores, Springer-Verlag, New York, 1979, Vol. 38, 47-390.
32. Rodríguez E., Towers G. H. N., Mitchell J. C. *Phytochemistry* 1976, **15**, 1573-1580.
33. Kupchan S. M., Aynehchi Y., Cassady J. M., Schnoes H. K., Burlingame A. L. *J. Org. Chem.* 1969, **34**, 3867-3875.
34. García M., Da Silva A. J. R., Baker P. M., Gilbert B., Rabi J. A. *Phytochemistry* 1976, **15**, 331-332.
35. Herz W., Sharma R. P. *J. Org. Chem.* 1975, **40**, 2557-2559.
36. Herz W., Subramaniam P. S., Santhanam P. S., Aota K., Hall A. L. *J. Org. Chem.* 1970, **35**, 1453-1464.
37. Gören N., Bozok-Johansson C., Jakupovic J., Lin Lee-J., Shieh Hui-L., Cordell G. A., Celik N. *Phytochemistry* 1992, **31**, 101-104.
38. Foglio M. A., Correa D. P., Aparecida A. M., Possenti A., Ferreira R. R. A., Ferreira Da-Silva. E., García R. V. L., De Carvalho J. E. *Planta Medica* 2002, **68**, 515-518.
39. Fischer N. H. Sesquiterpene Lactones: Biogenesis and Biomimetic Transformations, en: *Recent Advances in Phytochemistry*, Towers G. H. N., Stafford H. A., editores, 1990, Vol. 24, 161-201.