



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

**LIPOPENTASACÁRIDOS DE LAS RESINAS GLICOSÍDICAS DE
*IPOMOEA PES-CAPRAE***

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.F.B. SARA ROSARIO CRUZ MORALES



TUTOR: DR. ROGELIO PEREDA MIRANDA

2009



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	Dra. Martha Eugenia Albores Velasco
Secretario	Dr. Leovigildo Quijano
Primer Suplente	Dra. Rachel Mata Essayag
Segundo Suplente	Dr. Alexandre Cardoso Taketa

Sitio donde se desarrolló el tema:

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

Asesor: Dr. Rogelio Pereda Miranda

Sustentante: QFB Sara Rosario Cruz Morales

AGRADECIMIENTOS

El logro de este trabajo de investigación se ha alcanzado gracias al apoyo de las siguientes instituciones y personas a las que deseo expresar mi más sincero reconocimiento:

- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada durante el periodo de Febrero 2007 - Enero 2009 y por el apoyo económico brindado a través del proyecto 45861-Q.
- A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, UNAM (IN 208307-3) por el financiamiento parcial de esta investigación.
- Al M. en C. Atilano Gutiérrez de la Universidad Autónoma Metropolitana por el registro de los espectros de RMN.
- A la M. en C. Georgina Duarte y a la M. en C. Margarita Guzmán de la USAI de la Facultad de Química por el registro de los espectros de masas.
- Al Dr. Carlos Martín Cerda del Departamento de Química del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional por la asistencia brindada en la determinación de las rotaciones ópticas.
- A los miembros del jurado por sus comentarios y observaciones que permitieron la corrección del presente manuscrito.
- A la Dra. Mabel Fragoso Serrano por su apoyo y cooperación en la realización de esta investigación.
- Al Dr. Rogelio Pereda Miranda un reconocimiento especial por su tiempo, paciencia, confianza y dedicación incondicional durante la realización de esta investigación.

*A Dios, a mis padres Sara y Jorge y a mi querido abue por ayudarme hasta el
último instante, gracias.*

ÍNDICE

	Página
Lista de tablas	III
Lista de figuras	IV
Lista de abreviaturas	VI
I. Introducción	1
II. Antecedentes	3
2.1 Familia <i>Convolvulaceae</i> y el género <i>Ipomoea</i>	3
2.2 Resinas glicosídicas en la familia <i>Convolvulaceae</i>	4
2.2.1 Identificación y elucidación estructural	7
2.2.1.1 Métodos químicos	7
2.2.1.2 Métodos espectroscópicos	9
2.3 Diversidad Estructural	10
2.3.1 Ácidos glicosídicos pentasácaridos de la familia <i>Convolvulaceae</i>	10
2.3.2 Lipopentasacáridos de la familia <i>Convolvulaceae</i>	12
2.3.2.1 Resinas glicosídicas de <i>Ipomoea batatas</i>	12
2.3.2.2 Resinas glicosídicas de <i>Ipomoea stolonifera</i>	16
2.3.2.3 Resinas glicosídicas de <i>Ipomoea murucoides</i>	18
2.3.2.4 Resinas glicosídicas de <i>Ipomoea arborescens</i>	22
2.3.2.5 Resinas glicosídicas de <i>Ipomoea operculata</i>	23
2.3.3 La especie <i>Ipomoea pes-caprae</i>	25
2.3.3.1 Clasificación taxonómica	25
2.3.3.2 Descripción botánica y distribución geográfica	25
2.3.3.3 Antecedentes etnobotánicos	27
2.3.3.4 Resinas glicosídicas de <i>Ipomoea pes-caprae</i>	28
III. Justificación	32
IV. Objetivos	33
4.1 Objetivos Generales	33
4.2 Objetivos Específicos	33
V. Parte experimental	34
5.1 Material Vegetal	34
5.2 Fraccionamiento Primario	34
5.3 Métodos	35
5.3.1 Métodos cromatográficos	35
5.3.2 Determinación de las constantes espectroscópicas y espectrométricas	36

	Página
5.4 Fraccionamiento secundario	36
5.4.1 Fracción VII	36
5.4.2 Fracción FVIII	37
5.5 Preparación de derivados	38
5.5.1 Hidrólisis alcalina	38
5.6 Aislamiento de glicolípidos de las fracciones primarias FVII y FVIII	38
5.7 Caracterización estructural	39
VI. Resultados y Discusión	40
6.1 Extracción y fraccionamiento	40
6.2 Purificación de los glicolípidos individuales	42
6.2.1 Obtención de las estoloniferinas IX y X	43
6.2.2 Obtención de las pescapreínas XVIII y XIX	44
6.3 Elucidación Estructural	46
6.3.1 Ácido Glicosídico	46
6.3.2 Compuestos aislados	47
6.3.2.1 Asignación de señales de RMN ¹ H y ¹³ C	49
6.4 Análisis de los Espectros de Masas	63
VII. Conclusiones	66
VIII. Bibliografía	69

LISTA DE TABLAS

Tabla	Contenido	Página
1	Principales productos de hidrólisis de las resinas glicosídicas	8
2	Ácidos operculínicos	11
3	Ácidos simónicos	11
4	Lipopentasácaridos de <i>I. batatas</i>	13
5	Lipopentasácaridos de <i>I. batatas</i>	14
6	Lipopentasácaridos de <i>I. batatas</i>	14
7	Batatinósidos II y III	15
8	Dímeros tipo éster de <i>I. batatas</i>	15
9	Lipopentasácaridos de <i>I. stolonifera</i>	16
10	Lipopentasácaridos de <i>I. stolonifera</i>	17
11	Lipopentasácaridos de <i>I. stolonifera</i>	17
12	Lipopentasácaridos de <i>I. muruoides</i>	19
13	Lipopentasácaridos de <i>I. muruoides</i>	19
14	Lipopentasácaridos de <i>I. muruoides</i>	20
15	Lipopentasácaridos de <i>I. muruoides</i>	20
16	Lipopentasácaridos de <i>I. muruoides</i>	21
17	Lipopentasácaridos de <i>I. arborescens</i>	22
18	Lipopentasácaridos de <i>I. operculata</i>	23
19	Lipopentasácaridos de <i>I. operculata</i>	24
20	Lipopentasácaridos de <i>I. pes-caprae</i>	30
21	Lipopentasácaridos de <i>I. pes-caprae</i>	30
22	Fraccionamiento primario del extracto clorofórmico	40
23	Datos RMN ¹ H de la estoloniferina IX-X y pescapreínas XVIII-XIX (500 MHz)	61
24	Datos RMN ¹³ C de la estoloniferina IX-X y pescapreínas XVIII-XIX (125 MHz)	62

LISTA DE FIGURAS

Figura	Contenido	Página
1	Flor de la riñonina (<i>Ipomoea pes-caprae</i>)	26
2	Pescaprosido E	29
3	Pescaprosido A	29
4	Pescaprosido B	29
5	Pescapreína XVIII	31
6	Comparación de las fracciones primarias del extracto clorofórmico (FIII-FVIII) con las fracciones obtenidas del extracto hexánico (VI-IX)	41
7	Perfil cromatográfico de las fracciones VII y VIII	42
8	Perfil cromatográfico de la subfracción FVII.IV	43
9	Perfil cromatográfico de la subfracción FVII.VI	44
10	Perfil cromatográfico de la subfracción FVII.V	44
11	Perfil cromatográfico de la subfracción FVII.VII	45
12	Estoloniferina IX	47
13	Pescapreína XIX	47
14	Estoloniferina X	48
15	Pescapreína XX	48
16	Espectros RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de la estoloniferina IX y X y de las pescapreínas XVIII y XIX	50
17	Espectros RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de la estoloniferina IX y X y de las pescapreínas XVIII y XIX	51
18	Pescapreína XIX a color	52
19	Sección anomérica del espectro HSQC de la pescapreína XIX	53
20	Sección del espectro COSY de la porción olisogacárida de la pescapreína XIX	54
21	Sección del espectro TOCSY de la porción olisogacárida de la pescapreína XIX	56
22	Sección de la región oligosacárida de la pescapreína XIX del espectro HMBC	57
23	Sección del espectro HMBC de la pescapreína XIX	58
24	Sección del espectro HMBC de la pescapreína XIX	59
25	Región anomérica del espectro de RMN ^1H para las pescapreínas II y IV y para las pescapreínas XIX y XX	60
26	Patrón de fragmentación para la serie de las pescapreínas	63

Figura	Contenido	Página
27	Espectro de masas FAB (modo negativo) de la estoloniferina IX	64
28	Espectro de masas FAB (modo negativo) de la pescapreína XIX	64
29	Espectro de masas FAB (modo negativo) de la estoloniferina X	65
30	Espectro de masas FAB (modo negativo) de la pescapreína XX	65

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
α	Rotación óptica
J	Constante de acoplamiento
CHCl ₃	Cloroformo
CLAE	Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia
COSY	Correlación homonuclear
δ	Desplazamiento químico
d	Doblete
dd	Doble doblete
ddd	Doble de doble de doble
eV	Electrón volts
FAB	Bombardeo rápido de átomos
HMBC	Correlación heteronuclear a enlaces múltiples (¹³ C- ¹ H)
HSQC	Correlación espectroscópica heteronuclear a un solo enlace (¹³ C- ¹ H)
Hz	Hertz
[M-1] ⁻	Ión pseudomolecular
MHz	Megahertz
MeOH	Metanol
mg	Miligramo
μ l	Microlitro
μ m	Micrometros
m/z	Relación masa-carga
p.f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear Protónica
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
sa	Singulete ancho
t	Triplete
TOCSY	Correlación espectroscópica total (¹ H- ¹ H)

I. INTRODUCCIÓN.

Las plantas medicinales se han utilizado de manera tradicional y constituyen una de las manifestaciones del acervo cultural del pueblo mexicano. En la mayoría de los casos la población emplea estos recursos de manera empírica. Cabe destacar que en México, el conocimiento y uso de las plantas medicinales proviene de la época prehispánica. La flora medicinal de las culturas mesoamericanas más importantes se conoce parcialmente mediante algunas fuentes autóctonas que se han preservado como: pictografías, códices, libros sagrados, pinturas murales, esculturas y figuras de cerámica, así como una rica tradición oral de los diferentes grupos étnicos aún existentes. Las fuentes mencionadas representan una amplia información etnomédica prehispánica para la preselección efectiva de plantas medicinales como fuentes potenciales para el descubrimiento de nuevos medicamentos.

Uno de los grupos vegetales que se encuentra mejor representado por sus propiedades medicinales, purgativas y alucinógenas (de uso en los rituales religiosos) es la familia de las convolvuláceas donde los géneros más significativos son *Ipomoea*, *Convolvulus*, *Exogonium* y *Operculina* (Pereda-Miranda y Bah, 2003). Una de las características más notables de esta familia es la presencia de células secretoras de resinas glicosídicas en sus tejidos foliares y radiculares (Bruneton J, 1993). Desde el punto de vista químico, las resinas glicosídicas de las convolvuláceas son derivados glicosilados de ácidos grasos mono o dihidroxilados de 6 a 16 átomos de carbono, conocidos como glicolípidos. Los glicolípidos característicos del género *Ipomoea* constituyen una serie de oligosacáridos que tienen la particularidad de ser moléculas anfipáticas por la presencia simultánea en su estructura molecular de un núcleo sacárido y una porción hidrófoba constituida por la aglicona, la cual forma generalmente un éster intramolecular con la cadena oligosacárida. En las resinas glicosídicas podemos encontrar carbohidratos y ésteres de ácidos volátiles y no volátiles.

Los ácidos volátiles identificados con mayor frecuencia son tíglico, isobutírico, metilbutírico, nílico (Hernández-Carlos et al., 1999) y cinámico. Los ácidos grasos caracterizados en las especies del género *Ipomoea* incluyen los ácidos hexanoico, octanoico, decanoico y dodecanoico. El ácido hexadecanoico hidroxilado en la posición C-11 conocido con el nombre de ácido jalapínico, representa la aglicona que con mayor frecuencia se presenta en las resinas del género *Ipomoea*. Por otra parte, los carbohidratos incluyen a la D-glucosa, D-fucosa, D-quinovosa y L-ramnosa.

Las propiedades biológicas de las resinas glicosídicas son diversas e incluyen principalmente las antimicrobianas (Pereda-Miranda et al., 2006a), anticancerígenas (Reynolds et al., 1995) y, en especial, purgantes (Pereda-Miranda y Bah, 2003).

Existen varios criterios de selección para estudiar la composición química de una planta, uno de ellos es el quimiotaxonómico, el cual junto con la importancia como remedio en la medicina tradicional nos permitieron seleccionar a la especie medicinal *Ipomoea pes-caprae*, para continuar con la investigación de este género y ampliar el conocimiento sobre la diversidad estructural de las resinas glicosídicas. (Pereda-Miranda et al., 2005; Escobedo-Martínez y Pereda-Miranda, 2007)

II. ANTECEDENTES.

2.1 Familia *Convolvulaceae* y el género *Ipomoea*.

El nombre *Convolvulaceae* deriva del latín *convolvere* que significa entrelazarse y se refiere al crecimiento de las especies de esta familia en forma de enredaderas entrelazadas que se sujetan alrededor de un soporte. Una de sus características anatómicas más notables es la presencia de células secretoras de resinas glicosídicas presentes en sus tejidos foliares y en sus raíces. Estas glicorresinas tienen importancia medicinal debido a su acción purgante y son ampliamente utilizadas en las regiones tropicales y templadas del mundo. Muchas de ellas son parte de los géneros *Convolvulus*, *Exogonium*, *Ipomoea*, *Merremia* y *Operculina* y se encuentran incluidas en numerosas farmacopeas de países asiáticos y europeos. (Pereda-Miranda y Bah, 2003; Escalante-Sánchez et al., 2007).

La familia *Convolvulaceae* se encuentra distribuida en el mundo, especialmente en las zonas tropicales de Asia y América, particularmente en regiones que presentan temporadas de estiaje. En el mundo se estiman alrededor de 55 géneros y 1650 especies. Los géneros más representativos son *Convolvulus* (250 especies), *Ipomoea* (500 especies) y *Cuscuta* (170 especies). Dentro de las angiospermas, la familia *Convolvulaceae* representa una de las más grandes y diversas de México, reportándose 15 géneros y aproximadamente 217 especies, siendo el género *Ipomoea* uno de los mayoritarios con un grado de endemismos aproximadamente del 65%, es decir, 104 especies se encuentran presentes en México de las 160 que conforman este género (Mc Donald, 1991). La distribución de estas especies en el país muestra que el endemismo del género *Ipomoea* está concentrado en las regiones subtropicales de la costa del Pacífico.

La mayoría de las plantas del género *Ipomoea* son enredaderas con tallos enroscados que alcanzan de 1 a 5 metros. Existen unas cuantas especies como *I. phillomega* e *I. santillanii* que se presentan como lianas tropicales y alcanzan alturas de hasta 15 metros. Otras especies como *I. imperata* e *I. pes-caprae* alcanzan tamaños similares, pero han perdido su capacidad de enroscarse creciendo de manera tendida para formar cubiertas extensas sobre dunas en arenas costeras. Otras especies de las zonas áridas (*I. stans*, *I. duranguensis* e *I. sescossiana*) forman arbustos perennes leñosos y herbáceos que alcanzan hasta 1 metro de altura. Las especies *I. arborescens* (León et al., 2006) e *I. murucoides* (Chérigo y Pereda-Miranda, 2006; León et al., 2006) crecen en forma de árboles de madera suave y alcanzan de 3 a 9 metros de altura. Las flores del grupo son típicamente conocidas por su aspecto tubular y sus colores brillantes, generalmente con duración efímera y limitándose a las horas matinales.

2.2 Resinas glicosídicas en la familia *Convolvulaceae*.

Las resinas glicosídicas son derivados de ácidos grasos con cadenas de seis hasta dieciséis carbonos que pueden estar monohidroxilados o dihidroxilados y forman parte de una gran familia de sustancias conocidas como glicolípidos o lipopentasacáridos (Pereda-Miranda y Bah, 2003). Es muy conocido y documentado el uso de estas plantas como alimento y como agentes terapéuticos en la medicina tradicional de numerosos pueblos. (Argueta, 1994; Díaz, 1976; Lara et al., 1996; 1999; Martínez, 1989; McDonnald, 1991; Pereda-Miranda, 1994).

Una particularidad importante es la existencia de actividad alucinógena para los miembros del género *Ipomoea*, la cual se debe a las presencia de alcaloides similares a los del cornezuelo de centeno, compuestos característicos de la familia de las convolvuláceas (Stauffacher et al., 1965; Chao y DerMaderosian, 1973; Schimming et al., 1998; Botz et al., 1990-1991; Jenett-Siems et al., 1993; Henric et al., 1994).

Otro ejemplo de actividad biológica de los alcaloides presentes es la intoxicación de ciertos animales con *I. parasitica* (Amor-Prats y Harbone, 1993) o la actividad analgésica de *I. intrapilosa* (Osuna et al., 1996). En el caso de la actividad alelopática de *I. tricolor* (Anaya et al., 1995) se demostró que los compuestos responsables son las resinas glicosídicas presentes en la raíz y las partes aéreas (Pereda-Miranda et al., 1993; 1995). En *I. stans* las resinas glicosídicas han demostrado propiedades anticonvulsivas (Contreras et al., 1996), citotóxicas (Reynolds et al., 1995) y efectos vasoactivos (Perusquía et al., 1995). En la especie *I. pes-caprae* se han encontrado actividades hipoglucemiante, antiinflamatoria e insulinogénica (estimulación de la producción de insulina), además de propiedades citotóxicas (Perrusquía et al., 1995; León et al., 2004; Pereda-Miranda et al., 2006).

También se obtuvieron resultados de la evaluación de la actividad inmunomoduladora de *I. carnea* que sugieren que a bajas dosis del extracto se produce un incremento en la actividad fagocitaria de los macrófagos peritoneales (Hueza et al., 2003). También se han realizado estudios biodirigidos con algunas especies del género *Ipomoea* en los cuales se demostró que la actividad in vitro contra *Mycobacterium tuberculosis* del extracto soluble orgánico de las partes aéreas de *Ipomoea leptophylla* se debe a la presencia de resinas glicosídicas (Barnes, 2003). Por otro lado, estudios con infusiones de *I. aquatica* demostraron un efecto hipoglicémico (Sugandhika et al., 2000).

Uno de los primeros estudios sobre las propiedades biológicas de los glicolípidos es el efectuado con las partes aéreas de *I. leari*, donde se aisló un glucósido denominado "Ipolearósido" que demostró poseer actividad anticancerígena (Sarín et al., 1973). Otro ejemplo es el estudio de la actividad anticancerígena y antimicrobiana de las resinas de *I. bahiensis* contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* y *Neurospora crassa* (Bieber et al., 1986).

En los estudios más antiguos de esta clase de oligosacáridos no se logró determinar la estructura molecular de los glicolípidos responsables de tales efectos biológicos ya que la elucidación estructural dependía del estudio de sus productos de hidrólisis básica o ácida (Wagner, 1973).

El aislamiento y la caracterización estructural de los glicolípidos en su forma natural se inició a partir de la utilización de técnicas analíticas de alta resolución, tanto para su purificación mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAE) como para su elucidación estructural a través de los métodos espectrométricos (FAB-MS o SIMS-MS) (Costello, 1997; Baldwin, 1995; Wolfender et al., 1992) y espectroscópicos (RMN) (Agrawal, 1992; Agrawal y Pathak, 1996; Duus et al., 2000).

La naturaleza química anfipática y la complejidad estructural de las resinas glicosídicas han constituido un obstáculo que ha dificultado durante mucho tiempo el aislamiento de sus constituyentes individuales, y por lo tanto, la caracterización de su estructura molecular. Entre los métodos más comunes de separación que se han empleado para tratar de resolver las mezclas complejas de oligosacáridos que conforman las resinas de las convolvuláceas se encuentran los procedimientos de partición líquido-líquido y las técnicas cromatográficas en capa fina y columna, pero el uso exclusivo de estas técnicas no ha resultado conveniente para la purificación de los constituyentes individuales de mezclas complejas. En la actualidad, la aplicación de la cromatografía líquida de alta eficiencia ha permitido la separación y purificación exitosa de los glicolípidos individuales durante las últimas dos décadas (Pereda y Bah, 2003).

2.2.1 Identificación y elucidación estructural.

Hasta el inicio de la segunda mitad del siglo XX, existían dos maneras para establecer la presencia de resinas glicosídicas en la familia de las convolvuláceas; el primero está relacionado con su uso como laxante, ya que muchas de las drogas crudas utilizadas en la medicina tradicional poseen ese efecto y, el segundo, que consistía en el aislamiento de las resinas crudas y la identificación de sus productos de hidrólisis (Wagner, 1973). Actualmente, varias técnicas analíticas instrumentales, como la resonancia magnética nuclear se utilizan para la elucidación estructural de las resinas glicosídicas. Los principales enfoques utilizados para la caracterización estructural de estos complejos productos naturales incluyen la combinación de reacciones químicas de degradación y el empleo de técnicas espectroscópicas y espectrométricas de alta resolución. (Pereda-Miranda y Bah, 2003).

2.2.1.1 Métodos químicos.

Dentro de los métodos de degradación encontramos la hidrólisis de la mezcla de glicolípidos mediante reacciones químicas simples. Esta aproximación se desarrolló como un resultado de las dificultades encontradas en los intentos realizados para lograr el aislamiento de los constituyentes intactos de las resinas glicosídicas. Dentro de las reacciones de degradación encontramos:

Reacciones de saponificación. En este tipo de reacciones se liberan los ácidos grasos que esterifican al núcleo oligosacárido. Esta reacción también rompe la unión de la lactona macrocíclica y los enlaces tipo éster que formarían los polímeros para liberar un ácido glicosídico mayoritario soluble en agua (Bah y Pereda-Miranda, 1997; Pereda-Miranda et al., 2006). Los ácidos grasos libres o en la forma de sus correspondientes ésteres se analizan mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Posteriormente, se caracterizan a través de la comparación de sus tiempos de retención respectivos y de los patrones de fragmentación obtenidos mediante el análisis de los espectros de masas con aquellos registrados para muestras auténticas que se utilizan como controles de referencia (Pereda-Miranda et al., 2006).

Reacciones de hidrólisis. La hidrólisis ácida del ácido glicosídico libera la aglicona correspondiente, describiéndose en la mayoría de los casos, ácidos grasos hidroxilados de seis a dieciséis carbonos, así como las unidades de monosacáridos que constituyen al núcleo oligosacárido. El análisis directo por espectrometría de masas utilizando impacto electrónico (EI-MS) de la aglicona o por GC-EIMS de su éster metílico y/o derivados trimetilsililados permite la determinación del tamaño de la cadena (Pereda-Miranda y Hernández Carlos, 2002). Las unidades de azúcar se convierten en derivados volátiles mediante tratamiento con clorotrimetilsilano y entonces son analizadas por CG-MS.

La silación de los grupos hidroxilo seguido de la formación de mercaptanos de los grupos aldehídos ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{SH}/\text{F}_3\text{CCOOH}$) también se recomienda para evitar la detección de dos o tres picos (la forma lineal y las formas piranósidas isoméricas α y β) de cada unidad producidas por la anomerización normal de los azúcares durante la hidrólisis ácida (Pereda-Miranda, 1994). Otro método para detectar los monosacáridos liberados es mediante HPLC, utilizando una columna de fase reversa para el análisis de carbohidratos (Blanken et al., 1985; Boersma et al., 1981; Chaplin y Kennedy, 1986; Nikolov et al., 1985; Yang et al., 1981).

Tabla 1. Principales productos de hidrólisis de las resinas glicosídicas (Wagner, 1973).

Ácidos volátiles	Ácidos grasos hidroxilados	Azúcares
Ácido acético	7-OH-C ₁₀	D-glucosa
Ácido propiónico	11-OH-C ₁₄ (Ácido convolvulinólico)	L-ramnosa
Ácido dimetilacético	11-OH-C ₁₈ (Ácido jalapinólico)	D-fucosa
Ácido metil-etil acético	3,12-di-OH-C ₁₆ (Ácido operculinólico)	D-quinovosa
Ácido isobutírico	3,11-di-OH-C ₁₄ (Ácido ipurólico)	D-xilosa
Ácido n-isovalérico	Tri-OH-C ₁₄ (Ácido brasiliólico)	
Ácido tiglico		
Ácido 4-oxo-caprílico		
Ácido α -metilbutírico		
Ácido β -metil- β -hidroxibutírico		
Ácido cinámico		
Ácido exogónico		

2.2.1.2 Métodos espectroscópicos.

Los métodos espectroscópicos permiten la elucidación estructural completa de los constituyentes individuales de las resinas glicosídicas mediante el uso combinado de la espectrometría de masas de alta resolución y la espectroscopia de resonancia magnética nuclear. El análisis estructural de las resinas glicosídicas inicia con el registro de FAB-MS de los ácidos glicosídicos que proporciona información relacionada con la secuencia de glicosidación, aunque este método no distingue la naturaleza de los 6-desoxiglucosos, ya que puede ser una de las posibles formas isoméricas: fucosa, quinovosa y ramnosa. Esta técnica no proporciona el sitio exacto de glicosilación o de acilación de la unidad sacárida.

La identificación de los elementos estructurales de los carbohidratos constitutivos del núcleo oligosacárido se obtiene del registro del espectro de RMN ^1H en piridina- d_5 , en el cual la región de desplazamientos químicos alrededor de δ 4.4-5.5 correspondiente a los protones anoméricos, permite hacer una estimación del número de unidades monosacáridas (Duus et al., 2000; Pereda-Miranda y Bah, 2003).

Las técnicas homonucleares de resonancia magnética nuclear en dos dimensiones como DQF-COSY y TOCSY permiten la asignación de los valores de desplazamiento químico para todos los protones dentro de cada unidad monosacárida, posibilitando la identificación de la naturaleza de cada una de ellas. Experimentos en dos dimensiones más sensibles de acoplamiento ^{13}C - ^1H , utilizando las técnicas HSQC o HMQC, nos ayudan a la asignación de los carbonos. Finalmente, las conectividades interglicosídicas se establecen con las correlaciones heteronucleares a larga distancia mediante estudios de HMBC ($^{2,3}\text{J}_{\text{CH}}$) (Duus et al., 2000; Pereda-Miranda y Bah, 2003).

2.3 Diversidad Estructural.

2.3.1 Ácidos glicosídicos pentasacáridos de la familia *Convolvulaceae*.

En la literatura se describen una gran cantidad y variedad de núcleos pentasacáridos presentes en diversas especies de convolvuláceas. En *Ipomoea operculata*, los ácidos operculínicos A, B, D y G, ácidos glicosídicos pentasacáridos, fueron aislados mediante la hidrólisis alcalina de la resina glicosídica soluble en éter (Ver tabla 2). Sin embargo, en un estudio previo de *Ipomoea operculata*, los ácidos operculínicos A y B fueron generados como productos de la hidrólisis básica de las operculinas I-V, VII-X y XIII-XVIII (Ono et al., 1989a; 1989b, 1990b, 1990c, 1991; 1992a); además, esta metodología permitió la caracterización de los residuos acilantes del núcleo oligosacárido como los ácido acético, tíglico, *n*-valérico, isovalérico, propiónico y (2*S*)-2-metilbutírico.

Del mismo modo, el ácido operculínico A se describió en las estoloniferinas IV-VII (Noda et al., 1994a) de la especie *Ipomoea stolonifera* y en las cuamoclinas I-IV de la especie *Ipomoea quamoclit* (Ono et al., 1992b).

Los ácidos simónicos A y B (Ver tabla 3) están presentes en las simoninas II y III-V respectivamente, todas ellas obtenidas a partir de la porción soluble en éter extraída de la raíz de *Ipomoea batatas* (Noda et al., 1992a), cuya saponificación también generó los ácidos (2*S*)-2-metilbutírico, *n*-octanoico y *n*-decanoico. El ácido simónico B se encuentra como uno de los núcleos oligosacáridos constitutivos de las estoloniferinas I-III de *Ipomoea stolonifera* (Noda et al., 1994a). Los ácidos grasos liberados en la saponificación de las estoloniferinas fueron (2*S*)-2-metilbutanoico, isobutanoico, *n*-hexanoico, *n*-octanoico y *n*-decanoico. El ácido simónico B también se encuentra en los batatinósidos I y IV–VI aislados de *Ipomoea batatas* (Escalante-Sánchez et al., 2007; 2008), en las murucoidinas I-III y VI-X aisladas de *Ipomoea murucoides* (Chérigo y Pereda-Miranda, 2006) y en las pescapreínas I-IV y VII-IX obtenidas de *Ipomoea pes-caprae* (Pereda-Miranda et al., 2005; Escobedo-Martínez y Pereda-Miranda, 2007).

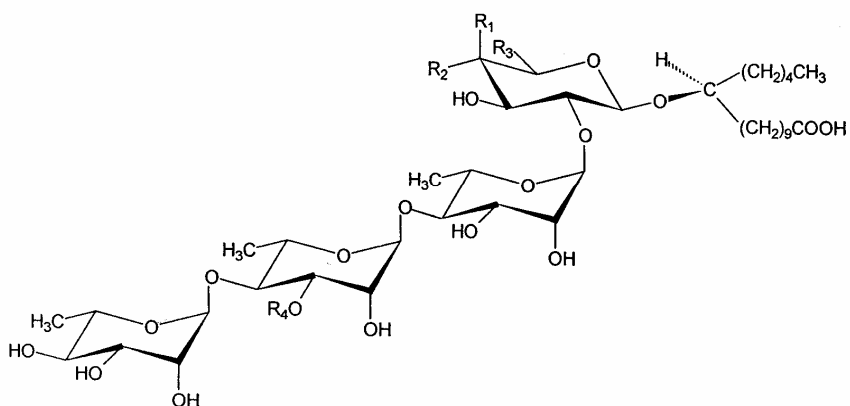


Tabla 2. Ácidos operculínicos.

Acido	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Operculínico A	OH	H	CH ₃	Glc p
Operculínico B	H	OH	CH ₂ OH	Glc p
Operculínico D	H	OH	H	Glc p
Operculínico G	OH	H	CH ₃	Glc p (2-OCH ₃)

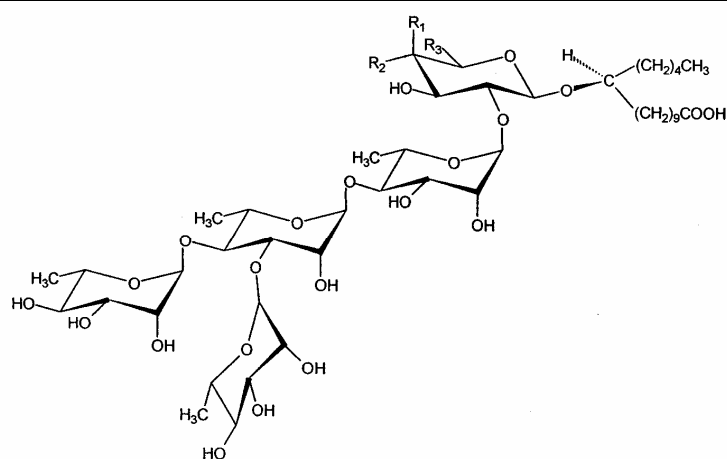


Tabla 3. Ácidos simónicos.

Acido	R ₁	R ₂	R ₃
Simónico A	H	OH	CH ₂ OH
Simónico B	OH	H	CH ₃

2.3.2 Lipopentasacáridos de la familia *Convolvulaceae*.

2.3.2.1 Resinas glicosídicas de *Ipomoea batatas*.

Las raíces de *I. batatas* se utilizan como alimento y además forman parte de la medicina tradicional de numerosos países. En 1974, se describió que las raíces y hojas de esta planta fueron efectivas contra la leucemia, anemia, hipertensión, diabetes y hemorragias, por lo que se realizó un análisis químico de las resinas glicosídicas solubles en éter obtenidas a partir de las raíces de la planta. Se aislaron cinco resinas glicosídicas, nombradas como simoninas I-V, sus estructuras fueron establecidas a partir de reacciones químicas degradativas y el análisis de sus datos espectroscópicos. Cabe señalar que la simonina I fue el primer ejemplo de una resina glicosídica sustituida con un ácido aromático, el ácido cinámico (Noda et al., 1992) (Ver tabla 4).

De un extracto etanólico, se obtuvieron siete resinas conocidas como batatósidos A-G, en el caso del batatósidio E se ha comprobado su actividad citotóxica contra células Hep-2 (Yongqin y Lingyi, 2008) (Ver tabla 4 y 5).

Los batatinósidos I y IV– VI son pentasacáridos macrocíclicos poliacilados que fueron aislados por la técnica de reciclaje de HPLC del extracto hexánico proveniente de los tubérculos de *I. batatas*. Las estructuras fueron elucidadas por la combinación de RMN y espectrometría de masas. El ácido glicosídico presente en estos compuestos es el núcleo pentasacárido ácido simónico B. (Escalante-Sánchez et al., 2007; 2008) (Ver tabla 4-6).

Los batatinósidos II y III son tetrasacáridos que contienen el ácido operculínico C como ácido glicosídico (Escalante Sánchez et al., 2008) (Ver tabla 7).

A partir del extracto hexánico se aislaron e identificaron los dímeros batatinas I-VI. Las batatinas I y II son dímeros tipo éster del batatinósido I (Escalante-Sánchez et al., 2007) (Ver tabla 8). Las batatinas III y IV son estructuras constituidas por dos unidades tetrasacáridas del ácido operculínico C. Las batatinas V y VI están constituidas por dos unidades pentasacáridas del ácido simónico B. (Escalante Sánchez, 2007).

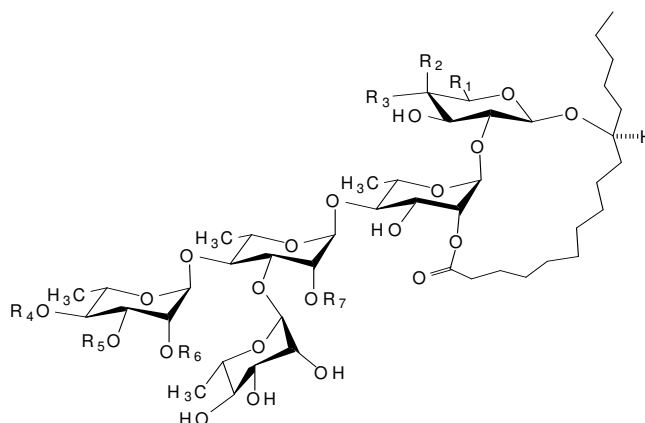


Tabla 4. Lipopentasacáridos de *I. batatas*.

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
Simonina I	CH ₂ OH	H	OH	<i>n</i> -dodecanoilo	H	H	(2 <i>S</i>)- mba
Simonina III	CH ₃	OH	H	<i>n</i> -dodecanoilo	H	H	(2 <i>S</i>)- mba
Simonina IV	CH ₃	OH	H	<i>n</i> -dodecanoilo	H	H	<i>n</i> -decanoilo
Simonina V	CH ₃	OH	H	<i>n</i> -dodecanoilo	H	H	<i>n</i> -octanoilo
Batatinósido I	CH ₃	OH	H	<i>n</i> -dodecanoilo	trans-cinamoilo	H	(2 <i>S</i>)- mba
Batatinósido IV	CH ₃	OH	H	<i>n</i> -dodecanoilo	H	H	(2 <i>S</i>)- mba
Batatósido D	CH ₃	OH	H	(2 <i>S</i>)- mba	trans-cinamoilo	H	(2 <i>S</i>)- mba
Batatósido E	CH ₃	OH	H	(2 <i>S</i>)- mba	H	trans-cinamoilo	(2 <i>S</i>)- mba
Batatósido F	CH ₃	OH	H	(2 <i>S</i>)- mba	<i>n</i> -dodecanoilo	trans-cinamoilo	(2 <i>S</i>)- mba
Batatósido G	CH ₃	OH	H	<i>n</i> -dodecanoilo	trans-cinamoilo	H	<i>n</i> -dodecanoilo

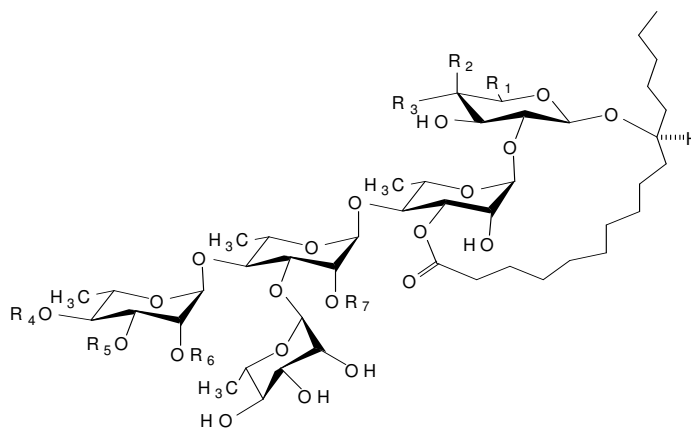


Tabla 5. Lipopentasacáridos de *I. batatas*.

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
Batatinósido V	CH ₃	OH	H	H	H	H	<i>n</i> -decanoilo
Batatósido A	CH ₃	OH	H	H	isobutanoilo	H	(2 <i>S</i>)- mba
Batatósido B	CH ₃	OH	H	isobutanoilo	trans-cinamoilo	trans-cinamoilo	<i>n</i> -butanoilo
Batatósido C	CH ₃	OH	H	H	<i>n</i> -dodecanoilo	H	(2 <i>S</i>)- mba

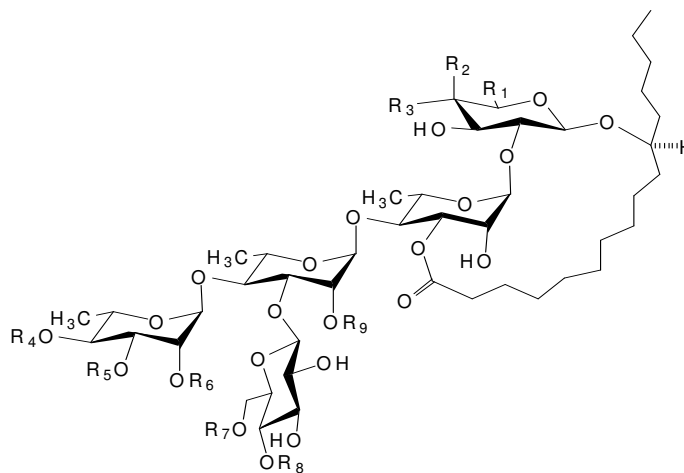


Tabla 6. Lipopentasacáridos de *I. batatas*.

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉
Batatinósido VI	CH ₃	OH	H	H	H	H	H	H	<i>n</i> -decanoilo

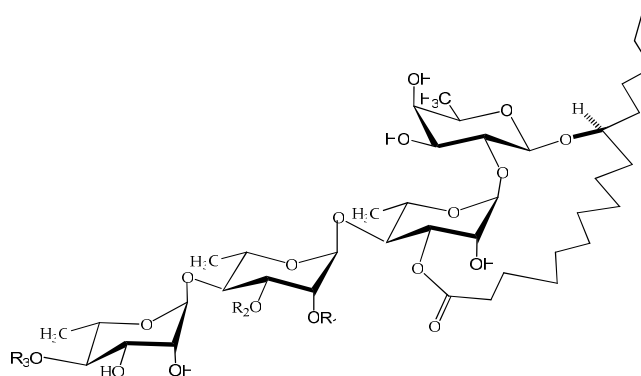


Tabla 7. Batatinósidos II y III

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃
Batatinosido II	H	<i>n</i> -decanoilo	H
Batatinosido III	H	H	<i>n</i> -dodecanoilo

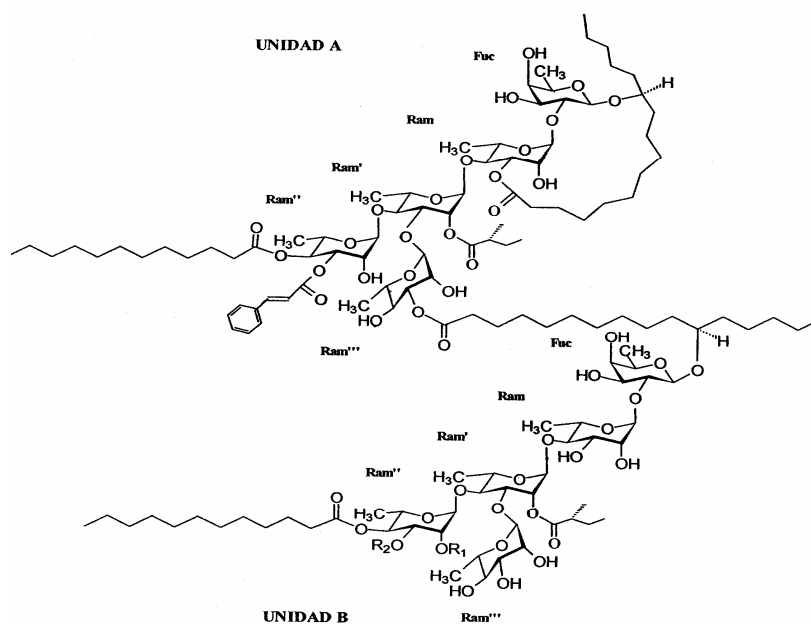


Tabla 8. Dímeros tipo éster de *I. batatas*.

Compuesto	R ₁	R ₂
Batatina I	trans-cinamoilo	H
Batatina II	H	trans-cinamoilo

2.3.2.2 Resinas glicosídicas de *Ipomoea stolonifera*.

De la planta rastrera *Ipomoea stolonifera* que crece en las dunas costeras, fueron aislados diez pentasacáridos y tres tetrasacáridos, nombrados como las estoloniferinas XI y XII respectivamente. La hidrólisis alcalina de los tetrasacáridos proporcionó al ácido operculínico C. El ácido simónico B se encuentra como uno de los núcleos oligosacáridos constitutivos de las estoloniferinas I-III y VIII-X (Noda et al., 1994; 1998) (Ver tabla 9 y 11).

Las estoloniferinas IV- VII representan las jalapinas solubles en éter y el ácido glicosídico presente en estos compuestos es identificado como el ácido operculínico A (Noda et al., 1994) (Ver tabla 10).

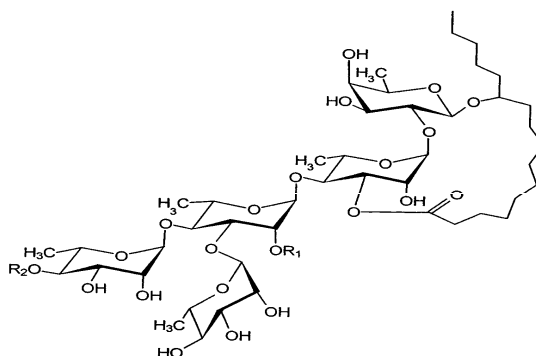
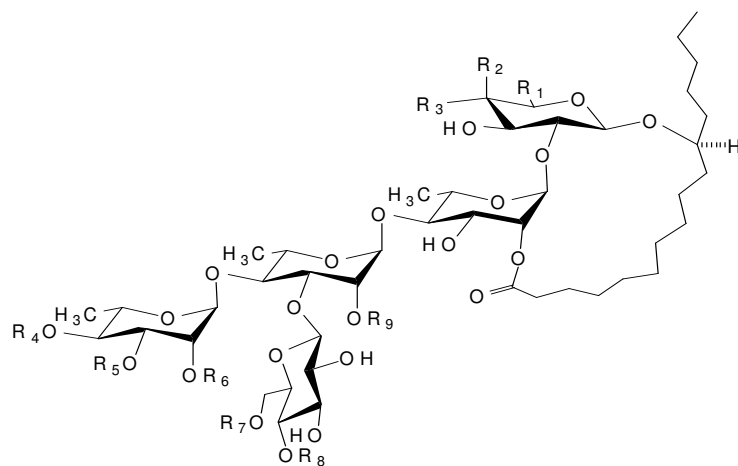
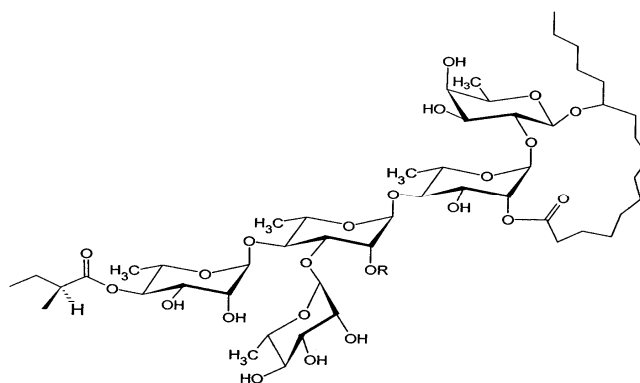


Tabla 9. Lipopentasacáridos de *I. stolonifera*.

Compuesto	R ₁	R ₂
Estoloniferina I	(2S)- mba	(2S)-mba
Estoloniferina II	<i>n</i> -decanoilo	iba
Estoloniferina III	<i>n</i> -decanoilo	(2S)-mba

Tabla 10. Lipopentasacáridos de *I. stolonifera*.

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉
Estoloniferina IV	CH ₃	OH	H	(2 <i>S</i>)- mba	H	H	H	H	<i>n</i> -decanoilo
Estoloniferina V	CH ₃	OH	H	(2 <i>S</i>)- mba	H	H	H	H	<i>n</i> -decanoilo
Estoloniferina VI	CH ₃	OH	H	<i>n</i> -hexanoilo	H	H	H	H	<i>n</i> -decanoilo
Estoloniferina VII	CH ₃	OH	H	<i>n</i> -hexanoilo	H	H	H	H	<i>n</i> -decanoilo

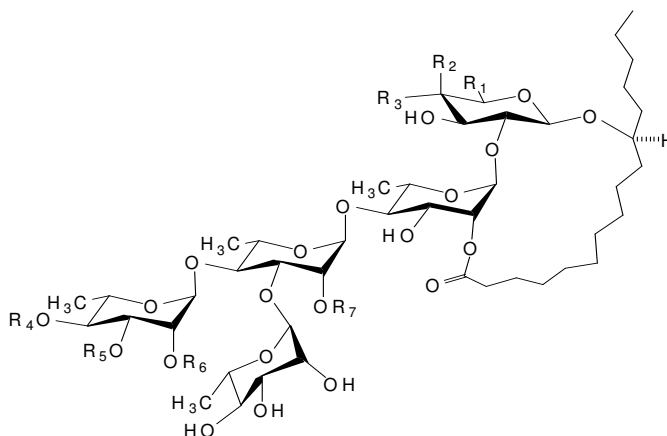
Tabla 11. Lipopentasacáridos de *I. stolonifera*.

Compuesto	R
Estoloniferina VIII	<i>n</i> -octanoilo
Estoloniferina IX	<i>n</i> -decanoilo
Estoloniferina X	<i>n</i> -dodecanoilo

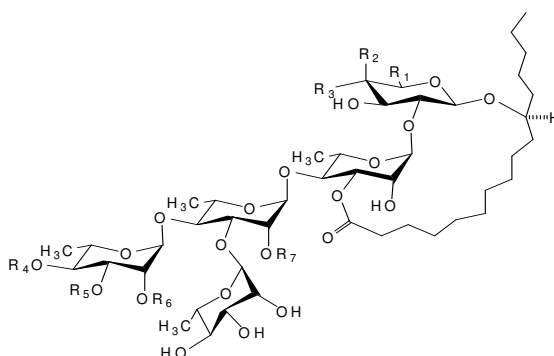
2.3.2.3 Resinas glicosídicas de *Ipomoea murucoides*.

Ipomoea murucoides es un árbol de flores blancas que crece en el sureste y centro de México. Esta especie es conocida en varios estados de México como cazahuate. Algunas comunidades usan el humo de los árboles quemados como repelente contra mosquitos. Las infusiones acuosas de las hojas, corteza y flores son utilizadas como un antiinflamatorio y contra picaduras de alacranes (Pérez-Amador et al., 1992).

Del extracto clorofórmico de las flores del cazahuate de Morelos por medio del HPLC se obtuvieron las murucoidinas I-III y VI-X pentasacáridos del ácido jalapínico. La saponificación del extracto proporcionó dos ácidos glicosídicos ya conocidos, el ácido simónico A y el ácido simónico B. También en este extracto se encontraron las murucoidinas IV-V y XI, cuyo ácido glicosídico presente fue identificado como ácido operculínico A. Todos los compuestos fueron caracterizados a través de RMN (Chérigo y Pereda-Miranda, 2006) (Ver tabla 12-15). Estudios del contenido de las resinas glicosídicas presentes en las raíces de esta planta dieron como resultado el aislamiento y la caracterización de cinco pentasacáridos del ácido jalapínico, llamados murucinas 1-5 (Ver tabla 16). En realidad, la planta estudiada corresponde a otro miembro del complejo medicinal del “cazahuate” que corresponde a la especie *Ipomoea arborescens* (León et al., 2005; 2006; Chérigo y Pereda-Miranda, 2008).

Tabla 12. Lipopentasacáridos de *I. muruoides*.

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
Murucoïdina I	CH ₃	OH	H	H	H	H	(2 <i>S</i>)- mba
Murucoïdina II	CH ₃	OH	H	isobutanoilo	H	H	(2 <i>S</i>)- mba
Murucoïdina III	CH ₃	OH	H	(2 <i>S</i>)- mba	H	H	(2 <i>S</i>)- mba
Murucoïdina VII	CH ₂ OH	H	OH	isobutanoilo	H	H	(2 <i>S</i>)- mba
Murucoïdina VIII	CH ₂ OH	H	OH	(2 <i>S</i>)- mba	H	H	(2 <i>S</i>)- mba

Tabla 13. Lipopentasacáridos de *I. muruoides*.

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
Murucoïdina VI	CH ₂ OH	H	OH	(2 <i>S</i>)- mba	H	H	<i>n</i> -dodecanoilo
Murucoïdina IX	CH ₃	OH	H	isobutanoilo	H	H	(2 <i>S</i>)- mba
Murucoïdina X	CH ₃	OH	H	(2 <i>S</i>)- mba	H	H	(8 <i>R</i>)-hidroxi-dodecanoilo

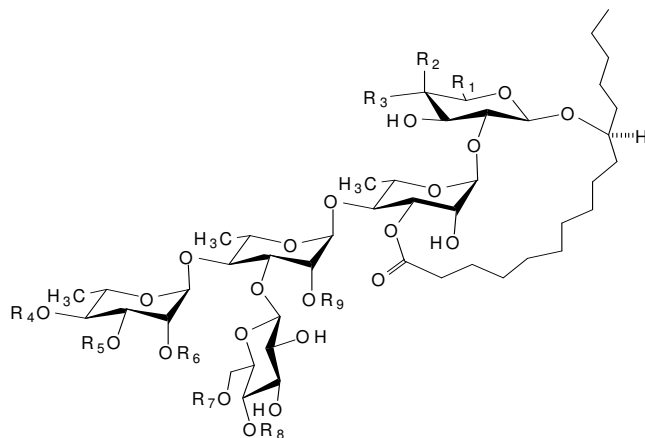


Tabla 14. Lipopentasacáridos de *I. muruoides*.

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉
Murucoïdina IV	CH ₃	OH	H	(2S)- mba	H	H	H	H	(2S)- mba
Murucoïdina XI	CH ₃	OH	H	(2S)- mba	H	H	H	H	n-dodecanoilo

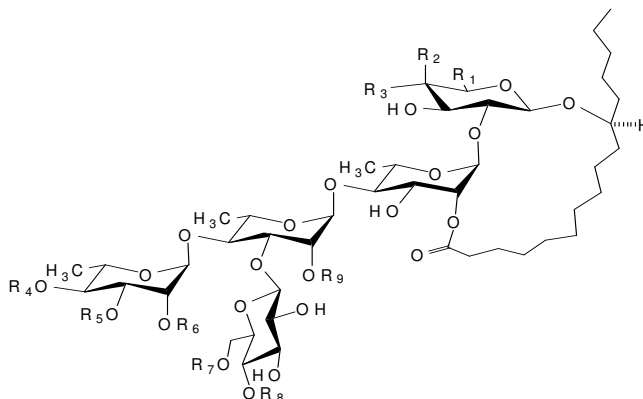


Tabla 15. Lipopentasacáridos de *I. muruoides*.

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉
Murucoïdina V	CH ₃	OH	H	(2S)- mba	H	H	H	H	(2S)- mba

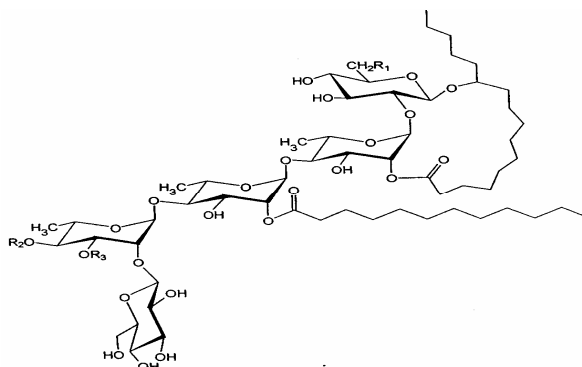


Tabla 16. Lipopentasacáridos de *I. murucoides*.

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃
Murucina 1	H	acetilo	H
Murucina 2	H	propanoilo	H
Murucina 3	H	<i>n</i> -butanoilo	H
Murucina 4	H	2-metilbutanoilo	H
Murucina 5	H	3-hidroximetilbutanoilo	H

2.3.2.4 Resinas glicosídicas de *Ipomoea arborescens*.

Ipomoea arborescens es un árbol que florece y fructifica entre noviembre y abril. Algunas comunidades del sur de México usan infusiones acuosas de la corteza junto con otras hierbas para prevenir la caída del cabello así como para el tratamiento del dolor de estómago de la misma forma que todas las especies de cazahuates, e.g. *Ipomoea murucoides*, *Ipomoea intrapilosa* e *Ipomoea wolcottiana* (Bah et al., 2007). En un estudio reciente se aislaron y caracterizaron diez pentasacáridos del ácido jalapinólico llamados arborescinas 1-6 y muricinas 6-9 (León et al., 2006) (Ver tabla 17).

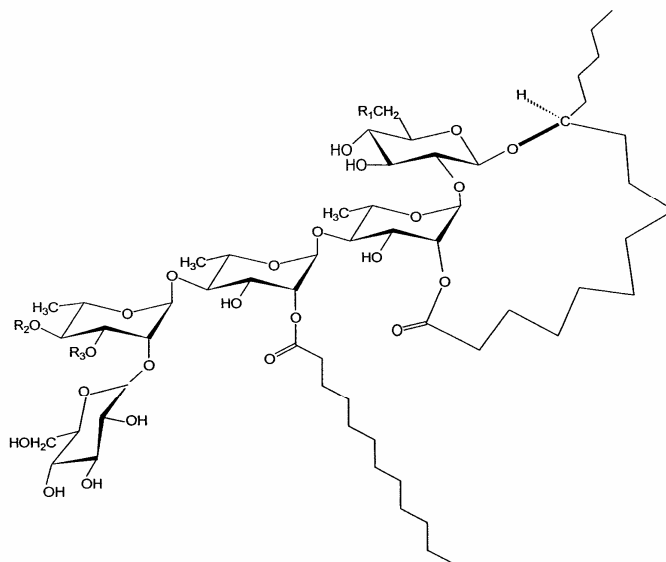


Tabla 17. Lipopentasacáridos de *I. arborescens*.

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃
Arborescina 1	OH	H	niloílo
Arborescina 2	OH	acetilo	niloílo
Arborescina 3	OH	propanoilo	niloílo
Arborescina 4	OH	butanoilo	niloílo
Arborescina 5	OH	(2S)- mba	niloílo
Arborescina 6	OH	tigloilo	niloílo
Muricina 6	H	acetilo	niloílo
Muricina 7	H	2-butenilo	niloílo
Muricina 8	H	tigloilo	niloílo
Muricina 9	H	H	H

2.3.2.5 Resinas glicosídicas de *Ipomoea operculata*.

De la porción soluble en éter de las resinas de *Ipomoea operculata* se han aislado las operculinas I-XVIII. Las operculinas I-II, V y VII-VIII presentan en su estructura el ácido operculínico A, mientras que las operculinas III-IV, IX-X Y XVI-XVIII presentan el ácido operculínico B. Los principales ácidos grasos que se encuentran acilando a las unidades monosacáridas son los ácidos dodecanoico y decanoico (Ono et al., 1989; 1990; 1991; 1992) (Ver tabla 18 y 19).

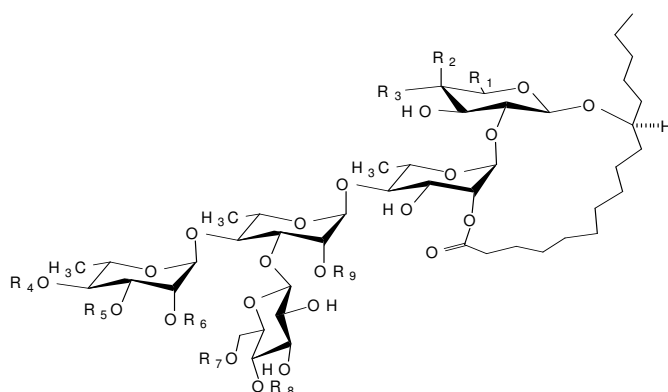


Tabla 18. Lipopentasacáridos de *I. operculata*.

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉
Operculina I	CH ₃	OH	H	<i>n</i> -dodecanoilo	H	H	H	H	<i>n</i> -dodecanoilo
Operculina II	CH ₃	OH	H	<i>n</i> -decanoilo	H	H	H	H	<i>n</i> -decanoilo
Operculina III	CH ₂ OH	H	OH	<i>n</i> -dodecanoilo	H	H	H	H	<i>n</i> -dodecanoilo
Operculina IV	CH ₂ OH	H	OH	<i>n</i> -decanoilo	H	H	H	H	<i>n</i> -decanoilo
Operculina VII	CH ₃	OH	H	<i>n</i> -decanoilo	H	H	H	H	<i>n</i> -dodecanoilo
Operculina VIII	CH ₃	OH	H	<i>n</i> -dodecanoilo	H	H	H	H	<i>n</i> -decanoilo
Operculina IX	CH ₂ OH	H	OH	<i>n</i> -decanoilo	H	H	H	H	<i>n</i> -dodecanoilo
Operculina X	CH ₂ OH	H	OH	<i>n</i> -dodecanoilo	H	H	H	H	<i>n</i> -decanoilo
Operculina XVI	CH ₂ OH	H	OH	H	H	H	H	H	<i>n</i> -dodecanoilo
Operculina XVII	CH ₂ OH	H	OH	H	H	H	H	H	<i>n</i> -decanoilo
Operculina XVIII	CH ₂ OH	H	OH	<i>n</i> -dodecanoilo	H	H	H	H	H

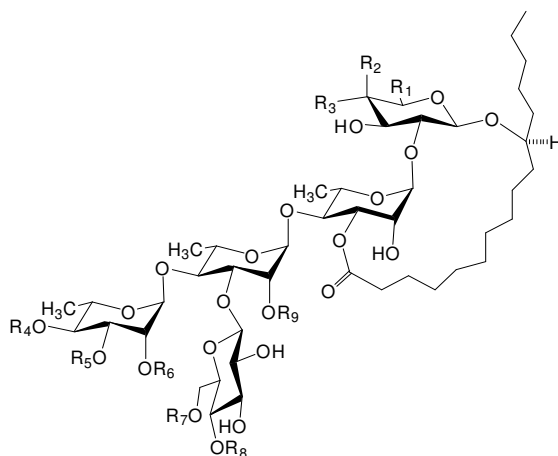


Tabla 19. Lipopentasacáridos de *I. operculata*.

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉
Operculina V	CH ₃	OH	H	<i>n</i> -dodecanoilo	H	H	H	H	<i>n</i> -dodecanoilo

2.3.3 La especie *Ipomoea pes-caprae*.

2.3.3.1 Clasificación taxonómica.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Dicotyledoneae / Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Convolvulaceae
Género	<i>Ipomoea</i>
Especie	<i>Ipomoea pes-caprae</i>

2.3.3.2 Descripción botánica y distribución geográfica.

Ipomoea pes-caprae es conocida en México como batatilla, churrystate de playa, hierba de la raya o riñonina. Es una herbácea robusta, suculenta, de tallo postrado, rastrero que crece a la orilla de la playa en el límite de la marea alta, donde forma grandes colonias que ayudan a estabilizar la arena de las dunas. Sus tallos suculentos secretan látex lechoso y postrados pueden extenderse por más de 10 metros.

Sus flores con una corola en forma de embudo o campana son de color púrpura o rosado de 3-6 cm de diámetro que pueden crecer separadas o en racimos. El color tiende a ser más oscuro dentro de la base de cada flor, los filamentos y estambres, el estigma y estilo son blancos. Son de vida corta, florecen con la salida del sol, cierran a media tarde y se marchitan al día siguiente. Tienen un cáliz de 5 sépalos lampiños como de 1 cm de largo.

Los frutos consisten en cápsulas o vainas dehiscentes cuando se secan, ovoides a globulosas de 12 a 17 mm de largo. En cada cápsula se encuentran 4 semillas de color café oscuro, con pelos cortos con apariencia de terciopelo, llegan a medir de 6 a 10 mm de largo.

Las hojas son simples y alternas, reniformes (en forma de riñón), coriáceas, su nombre específico se debe a la forma de las hojas como una pata de cabra (*pes-caprae*), debido a la similitud de la huella de la pezuña de las cabras. Las hojas más largas que anchas (suborbiculares), miden de 6 a 10 cm de largo, son de color verde oscuro de superficie lisa y brillante y comúnmente roídas en el ápice.

La planta crece en áreas soleadas protegidas y empiezan a florecer en mayo, pero el punto máximo de florecimiento depende de la localización. En el Golfo de México es de julio a septiembre. Esa especie se reconoce por su forma peculiar de tenderse sobre la arena, pues generalmente crece guiándose sobre dos grandes tallos paralelos que se extienden hasta medir aproximadamente 75 pies de largo. Es una planta que se desarrolla sobrevive en la playas rocosas o arenosas y permanece verde aun cuando está sometida a la sal y al golpe de las olas. Probablemente, compite por espacio y luz con *Ipomoea stolonifera* (Devall 1992).

En México *I. pes-caprae* se distribuye a todo lo largo de la costa mexicana (con mayor abundancia del lado del Pacífico) desde los estados de Sonora, Sinaloa, Jalisco, Guerrero, Oaxaca y Chiapas, así como también Veracruz, Quintana Roo y Yucatán.



Figura 1. Flor de la riñonina (*Ipomoea pes-caprae*).

2.3.3.3 Antecedentes etnobotánicos.

Es una planta medicinal utilizada como remedio natural para curar procesos inflamatorios, cólicos, trastornos renales y gonorrea entre otras patologías. En las Bahías de Chamela, Jalisco, por ejemplo se prepara un té con las hojas secas previamente trituradas de la planta y se pone en fomento para calmar el dolor en las zonas inflamadas. En la Sierra de los Tuxtlas en Veracruz, se utiliza para curar el asma, mientras que en la región de Misantla de ese mismo estado se usa para curar los riñones del mal de orín, para calmar las reumas y la lumbalgia, así como para tratar la disentería, el dolor de cintura y sanar las picaduras de animales ponzoñosos (Lorenzi et al., 2002; Roig y Mesa, 1974).

Investigaciones clínicas y preclínicas han confirmado algunas propiedades farmacológicas de esta planta. El extracto metanólico obtenido de las partes aéreas de esta planta exhibe una actividad antinociceptiva considerable así como también una acción analgésica (De Souza et al., 2000).

El estudio preliminar fitoquímico de esta planta medicinal mediante cromatografía en capa fina y utilizando reactivos específicos mostró que las fracciones de acetato de etilo contenían esteroides, terpenoides, alcaloides y flavonoides, mientras que la fracción acuosa indicó la presencia de taninos y saponinas (De Souza et al., 2000). Pongprayoon y colaboradores (1989) describieron que el extracto etéreo de *Ipomoea pes-caprae* inhibía la contracción del íleon de cobayos. El fraccionamiento biodirigido de este extracto resultó en el aislamiento de 2 compuestos: la β -damascenona y el E-fitol, que mostraron la misma potencia en el efecto biológico esperado con respecto a la papaverina utilizada como control positivo (Pongprayoon et al., 1992). El mismo extracto también mostró actividad antiinflamatoria considerable en distintos modelos experimentales, lo cual se relaciona con la presencia de varios compuestos que interactúan con los procesos bioquímicos de la inflamación (Pongprayoon et al., 1991; 1992).

Por otro lado, Khan y colaboradores (1994) reportaron las actividades insulinogénica e hipoglucemiante del extracto alcohólico obtenido de las hojas de *Ipomoea pes-caprae*.

2.3.3.4 Resinas glicosídicas de *Ipomoea pes-caprae*.

Los tallos secretan un látex lechoso rico en resinas glicosídicas. En un principio se identificó el pescaprósido E de las fracciones no polares del extracto hexánico de *I. pes-caprae* (Srivastava et al., 1991) (Figura 2). Sin embargo, la estructura de este ácido glicosídico no se elucidó correctamente.

Posteriormente se aislaron e identificaron 9 oligosacáridos lipofílicos del ácido jalapinólico: los pescaprósidos A y B (Figura 3 y 4) y las pescapreínas I-IV y VII-IX a partir del extracto hexánico de las partes aéreas de la planta y mediante el empleo del HPLC (Pereda-Miranda et al., 2005; Escobedo-Martínez y Pereda-Miranda, 2007). La saponificación de la mezcla cruda de resinas glicosídicas proporcionó el ácido simónico B como el ácido glicosídico mayoritario mientras que los residuos de esterificación de los oligosacáridos naturales estuvieron compuestos por cinco ácidos orgánicos: 2-metilpropanoico, 2-metilbutanoico, *n*-hexanoico, *n*-decanoico y *n*-dodecanoico (Ver tabla 20).

Recientemente se han aislado ocho resinas glicosídicas de la fracción lipofílica del extracto etanólico de *I. pes-caprae*: las pescapreínas X-XVII (Hongwen et al., 2008) (Ver tabla 21). En esta investigación se confirmó la posibilidad de reacciones de transesterificación a través de un orto-éster intermediario en soluciones acuosas neutras o ligeramente ácidas y, por lo tanto, la existencia de diastereoisómeros en las posiciones C-2 y C-3 de la ramnosa terminal es una consecuencia de este tipo de reacciones intramoleculares.

También se logró la identificación de la pescapreína XVIII que contiene xilosa a partir de una muestra comercial de la riñonina (Escobedo Martínez, 2007) (Figura 5). Este monosacárido también se encuentra en el ácido operculínico D, que es un núcleo pentasacárido obtenido de las resinas glicosídicas de *Ipomoea operculata* (Ono et al., 1990); en el ácido cuscúptico B y en el ácido operculínico F, que son núcleos tetrasacáridos aislados de las resinas de *Cuscuta chinensis* (Du et al., 1998) y de *Ipomoea operculata* (Ono et al., 1990), respectivamente.

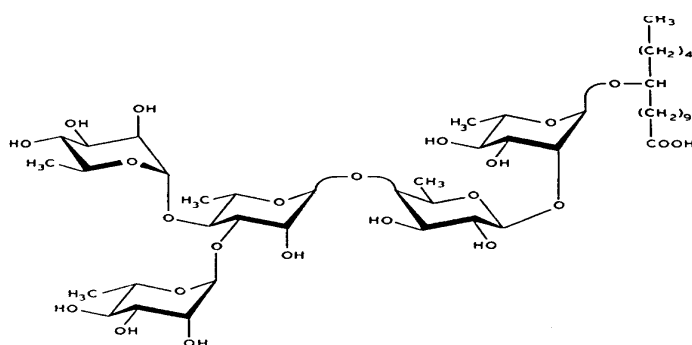


Figura 2. Pescaprósido E.

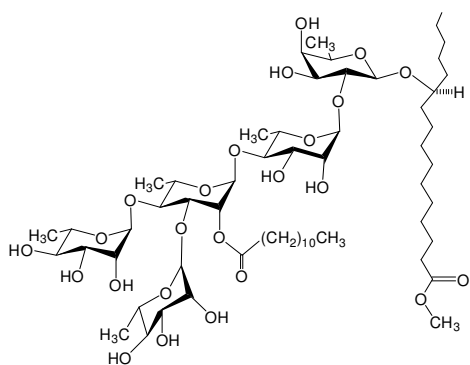


Figura 3. Pescaprósido A.

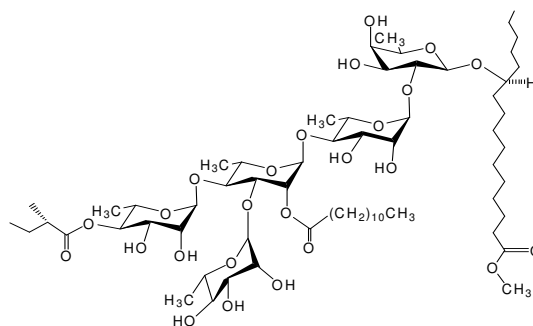
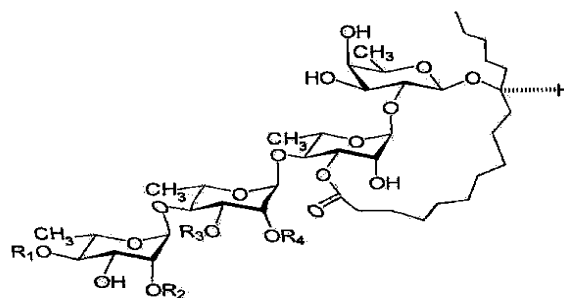
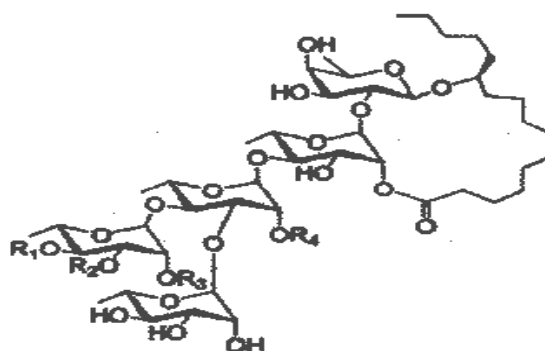


Figura 4. Pescaprósido B.

Tabla 20. Lipopentasacáridos de *I. pes-caprae*.

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Pescapreína I	H	H	H	<i>n</i> -dodecanoilo
Pescapreína II	lb	H	Ram	<i>n</i> -dodecanoilo
Pescapreína III	(2 <i>S</i>)-mb	H	Ram	<i>n</i> -dodecanoilo
Pescapreína IV	<i>n</i> -hexanoilo	H	Ram	<i>n</i> -dodecanoilo
Pescapreína V	(2 <i>S</i>)-mb	H	H	<i>n</i> -dodecanoilo
Pescapreína VI	H	<i>n</i> -dodecanoilo	(2 <i>S</i>)-mb	H
Pescapreína VII	H	H	Ram	<i>n</i> -decanoilo
Pescapreína VIII	<i>n</i> -dodecanoilo	H	Ram	ib
Pescapreína IX	<i>n</i> -hexanoilo	H	Ram	<i>n</i> -decanoilo

Tabla 21. Lipopentasacáridos de *I. pes-caprae*.

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Pescapreína X	(2 <i>S</i>)-mba	cinamoilo	H	<i>n</i> -decanoilo
Pescapreína XI	(2 <i>S</i>)-mba	H	cinamoilo	<i>n</i> -decanoilo
Pescapreína XII	isobutanoilo	cinamoilo	H	<i>n</i> -decanoilo
Pescapreína XIII	isobutanoilo	H	cinamoilo	<i>n</i> -decanoilo
Pescapreína XIV	isobutanoilo	cinamoilo	H	<i>n</i> -dodecanoilo
Pescapreína XV	isobutanoilo	H	cinamoilo	<i>n</i> -dodecanoilo
Pescapreína XVI	(2 <i>S</i>)-mba	cinamoilo	H	<i>n</i> -dodecanoilo
Pescapreína XVII	(2 <i>S</i>)-mba	H	cinamoilo	<i>n</i> -dodecanoilo

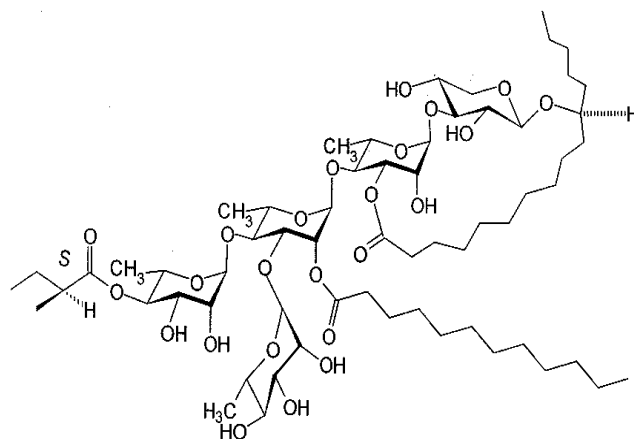


Figura 5. Pescapreina XVIII.

III. JUSTIFICACIÓN.

Las plantas ricas en resinas glicosídicas pertenecientes al género *Ipomoea* han demostrado un poderoso efecto citotóxico (Pereda-Miranda, 1994), antimicrobiano (Pereda-Miranda et al., 2006a) y purgante (Pereda-Miranda y Bah, 2003) de posible interés terapéutico para el desarrollo de nuevos agentes medicinales. Por lo tanto, la especie medicinal mexicana *Ipomoea pes-caprae* fue seleccionada para continuar con la investigación química de este género vegetal y ampliar el conocimiento sobre la diversidad estructural de las resinas glicosídicas de esta especie (Pereda-Miranda et al., 2005; Escobedo-Martínez y Pereda-Miranda, 2007). Así, el presente trabajo de investigación plantea la obtención de los glicolípidos constituyentes del extracto clorofórmico de las partes aéreas de la especie en estudio, al considerar su importancia como un remedio ampliamente utilizado en la medicina tradicional de nuestro país y tomando en cuenta un criterio quimiotaxonómico para la identificación de los oligosacáridos biodinámicos.

IV. OBJETIVOS.

4.1 Objetivos Generales.

- Lograr la separación y purificación de los constituyentes individuales de naturaleza oligosacárida de las resinas glicosídicas presentes en el extracto clorofórmico de *Ipomoea pes-caprae* mediante la aplicación de la Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia.
- Determinar la estructura molecular de los constituyentes presentes en las resinas glicosídicas solubles en cloroformo de *Ipomoea pes-caprae* mediante la aplicación de métodos espectroscópicos y espectrométricos con el propósito de ampliar el conocimiento relacionado con la diversidad estructural de estos metabolitos.

4.2 Objetivos Específicos.

- Estandarizar a nivel analítico mediante la aplicación de la cromatografía líquida de alta eficiencia, las condiciones instrumentales para lograr la máxima resolución de las complejas mezclas de resinas glicosídicas obtenidas a partir de las fracciones solubles en cloroformo.
- Extrapolar las condiciones analíticas instrumentales a un nivel preparativo en la cromatografía líquida de alta eficiencia para lograr el aislamiento de los constituyentes individuales presentes en las resinas glicosídicas lipofílicas de *Ipomoea pes-caprae*.
- Purificar a nivel preparativo mediante la aplicación de la técnica de reciclaje los constituyentes individuales presentes en las resinas glicosídicas de *Ipomoea pes-caprae*.
- Establecer la estructura molecular de los constituyentes individuales presentes en la fracción clorofórmica de la colecta silvestre mediante la aplicación de técnicas espectroscópicas y espectrométricas de alta resolución.

V. PARTE EXPERIMENTAL.

5.1 Material Vegetal.

El material vegetal se obtuvo de las partes aéreas de la planta medicinal *Ipomoea pes-caprae* colectada en las bahías del Océano Pacífico localizadas en el municipio de la Huerta, Estado de Jalisco en noviembre de 1989. La identificación del material vegetal se realizó por el Dr. Robert Bye, investigador del Jardín Botánico del Instituto de Biología, UNAM.

El material seco y pulverizado se sometió a una maceración exhaustiva con cloroformo para obtener los compuestos de baja o mediana polaridad. Al término de la extracción, las soluciones se filtraron y concentraron a sequedad mediante presión reducida.

Al extracto se le añadieron 200 mL de cloroformo para adsorberlo en sílica. Se ocuparon 18 g de sílica para adsorber 15.15 g de extracto.

5.2 Fraccionamiento primario.

El fraccionamiento de 15.15 g de extracto clorofórmico se llevó a cabo mediante cromatografía en columna abierta, la cual se empacó con 86.56 g de gel de sílice tamaño de partícula 0.040-0.063 μm y 227.44 g de gel de sílice tamaño de partícula 0.063-0.200 μm .

Primero se inició la elución con hexano, obteniéndose las primeras 5 fracciones de 200 mL cada una. Posteriormente se incrementó gradualmente la polaridad con los sistemas hexano- CHCl_3 , CHCl_3 , CHCl_3 -acetona, acetona, acetona-MeOH y MeOH.

Al final se colectaron 185 fracciones de 100 mL. Cada fracción se analizó mediante cromatografía en capa fina utilizando una fase móvil de CHCl_3 -MeOH 1:1 y se reunieron todas aquellas que resultaron similares a partir de las obtenidas con CHCl_3 -Acetona, debido a que las fracciones de baja polaridad solubles en hexano se analizaron previamente (Pereda-Miranda et al., 2005; Escobedo-Martínez y Pereda-Miranda, 2007).

De esta forma se generaron ocho fracciones que contenían mezclas de resinas glicosídicas y que fueron enumeradas como fracción I a VIII. Todas las fracciones presentaron color, por lo que fueron sometidas a un proceso de decoloración mediante carbón activado, para después ser filtradas y concentradas a sequedad bajo presión reducida.

Para llevar a cabo el fraccionamiento secundario sólo se consideraron las fracciones más polares, es decir, las fracciones VII y VIII, que presentaron una composición química diferente a la descrita previamente y representaron las subfracciones mayoritarias (Escobedo-Martínez y Pereda-Miranda, 2007).

5.3 Métodos.

5.3.1 Métodos cromatográficos.

Los análisis cromatográficos en capa fina (CCF) se efectuaron de acuerdo con las técnicas convencionales, utilizando placas de aluminio recubiertas con gel de sílice (sílica gel 60 F254 Merck) y diferentes sistemas de elución. Se utilizó la mezcla de H_2SO_4 -sulfato cérico como agente revelador, mediante calentamiento sobre una parrilla a 80°C para desarrollar color. Para las separaciones cromatográficas en columna abierta se empleó el gel de sílice 60 Merck (0.063-0.200 mm) como adsorbente. La cromatografía de líquidos de alta eficiencia (CLAE) se realizó en un cromatógrafo marca Waters (Millipore Corp., Waters Chromatography Division Milford, MA, USA), equipado con un sistema de entrega de disolventes 600E, un refractómetro diferencial modelo 410 y una computadora (Optiplex 466/Le, Dee).

El control del equipo, así como la adquisición y el procesamiento de la información se realizaron utilizando el programa Millenium 2000 (Waters).

5.3.2 Determinación de las constantes espectroscópicas y espectrométricas.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fischer-Johns. Las rotaciones ópticas se determinaron en un polarímetro Perkin-Elmer 241 utilizando metanol y/o cloroformo como disolventes.

Los espectros de resonancia magnética nuclear RMN ^1H y ^{13}C se obtuvieron en un aparato Varian XL-500 y en un Bruker DMX-500, los cuales operaron a una frecuencia de 500 MHz para el registro de los espectros de RMN ^1H y a 125 MHz para los de ^{13}C . Se utilizó piridina deuterada ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) y los desplazamientos químicos (δ) se expresaron en ppm utilizando como referencia interna el tetrametilsilano (TMS).

El registro de los espectros de masas se realizó en un aparato JEOL modelo SX-102 A, mediante el bombardeo rápido de átomos (FAB) en el modo negativo y en algunos casos, cuando se trató de una muestra volátil se requirió del acoplamiento de un cromatógrafo de gases marca Hewlett Packard 5890 serie II al espectrómetro de masas, utilizando la técnica de impacto electrónico para lograr la ionización.

5.4 Fraccionamiento secundario.

5.4.1 Fracción VII.

Antes de llevar a cabo el fraccionamiento secundario de esta fracción se realizaron varias pruebas para determinar las condiciones cromatográficas ideales para el proceso de purificación mediante HPLC.

Condiciones instrumentales: nivel analítico.

Columna: Symetry C-18, tamaño de partícula 5 μm ; 4.6 mm de diámetro interno x 250 mm de longitud (Waters).

Fase móvil: CH_3CN -MeOH (3:7)

Flujo: 0.4 mL/min

Detector: Índice de refracción

Volumen de inyección: 10 μ L

Concentración de la muestra de prueba: 1mg/100 μ L

Sensibilidad: 256 RIU

Tipo de elución: Isocrática

Una vez encontradas las condiciones a nivel analítico para la resolución de las muestras problemas, se procedió a extrapolar estas condiciones a nivel preparativo para lograr el aislamiento y la purificación de los constituyentes individuales presentes en la muestra.

Condiciones instrumentales: nivel preparativo.

Columna: SymetryPrep C-18, tamaño de partícula 7 μ m; 19 mm de diámetro interno x 300 mm de longitud (Waters).

Fase móvil: CH₃CN-MeOH (3:7)

Flujo: 9 mL/min

Detector: Índice de refracción

Volumen de inyección: 500 μ L

Concentración de la muestra de prueba: 50mg/500 μ L

Sensibilidad: 256 RIU

Tipo de elución: Isocrática

5.4.2 Fracción FVIII.

La fracción FVIII (2.34 g) se sometió al proceso de purificación mediante HPLC utilizando las mismas condiciones a nivel preparativo. Las subfracciones obtenidas fueron similares a las de la fracción primaria VII, por lo que se decidió reunir las.

Una vez reunidas las fracciones FVII y FVIII (4.72 g) se sometieron al proceso de purificación mediante HPLC a nivel preparativo utilizando una columna C₁₈ con un sistema de elución binario constituido por CH₃CN-MeOH (3:7), obteniendo así siete subfracciones.

5.5 Preparación de derivados.

5.5.1 Hidrólisis alcalina.

Las fracciones reunidas se sometieron a una hidrólisis alcalina. A 200 mg de la muestra problema disuelta en MeOH, se adicionaron 5 mL de KOH al 5%, la mezcla de reacción se mantuvo en reflujo (95° C) con agitación durante dos horas. Al término de este tiempo, se ajustó el pH a 4 con HCl 4N y, posteriormente, se extrajo con Et₂O (3x 10 mL). La fase etérea proporcionó una mezcla de ácidos grasos. La fase acuosa se extrajo de nuevo con *n*-butanol (3x 10 mL) y se concentró a presión reducida hasta proporcionar un residuo sólido que correspondió al ácido simónico B. Este residuo se identificó mediante la comparación de sus constantes espectroscópicas y espectrométricas con las registradas por una muestra auténtica. (Chérigo y Pereda-Miranda, 2006).

5.6 Aislamiento de glicolípidos de las fracciones primarias FVII y FVIII.

Una vez realizado el fraccionamiento secundario de las fracciones, se sometieron a purificación las subfracciones FVII.IV, FVII.V, FVII.VI y FVII.VII, cada una de ellas fue reinyectada en una columna C₁₈ a nivel preparativo con un sistema de elución binario constituido por CH₃CN-MeOH (3:7), aplicando la técnica de reciclaje de muestra utilizando de 10 a 20 ciclos para obtener la máxima separación de los constituyentes.

5.7 Caracterización estructural.

La caracterización estructural de los glicolípidos individuales se llevó a cabo mediante la aplicación de diferentes técnicas en la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (500 MHz).

Por otro lado, la espectrometría de masas en la modalidad FAB negativo constituye una técnica analítica esencial en la determinación estructural de los glicolípidos individuales. Esta técnica nos permite obtener el peso molecular de los productos puros y la determinación del tamaño de los residuos ácidos que esterifican el núcleo oligosacárido.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

6.1 Extracción y fraccionamiento.

La selección primaria de la riñonina (*Ipomoea pes-caprae*) se realizó de acuerdo al criterio quimiotaxonómico que considera las semejanzas en el metabolismo secundario de especies filogenéticamente relacionadas, aunado a consideraciones de tipo etnobotánico ya que ésta planta se utiliza ampliamente en la medicina tradicional de numerosos países de las zonas tropicales.

El procedimiento de maceración permitió obtener 15.15 g de la colecta (municipio de la Huerta, Estado de Jalisco) del extracto clorofórmico que fueron fraccionados, de manera preliminar, mediante cromatografía en columna abierta en fase normal. Esta secuencia metodológica permitió obtener ocho fracciones primarias FI-FVIII (ver Parte Experimental, inciso 5.2).

Tabla 22. Fraccionamiento primario del extracto clorofórmico.

Eluyente	Proporción	Fracción	Fracciones reunidas	Clave
Hexano	100	1-10		
Hexano-CHCl ₃	50:50	11-77		
CHCl ₃	100	78-99		
CHCl ₃ -Acetona	50:50	100-119	102-105	FI
Acetona	100	120-137	106-109	FII
Acetona-MeOH	50:50	138-163	110-119	FIII
MeOH	100	164-185	120-123	FIV
			124-126	FV
			128-150	FVI
			152-168	FVII
			168-185	FVIII

En la figura 6 se ilustra el perfil cromatográfico en capa fina en donde se comparan las fracciones FIII a FVIII obtenidas del extracto clorofórmico y las fracciones VI-IX obtenidas anteriormente del extracto hexánico (Escobedo-Martínez y Pereda-Miranda, 2007).

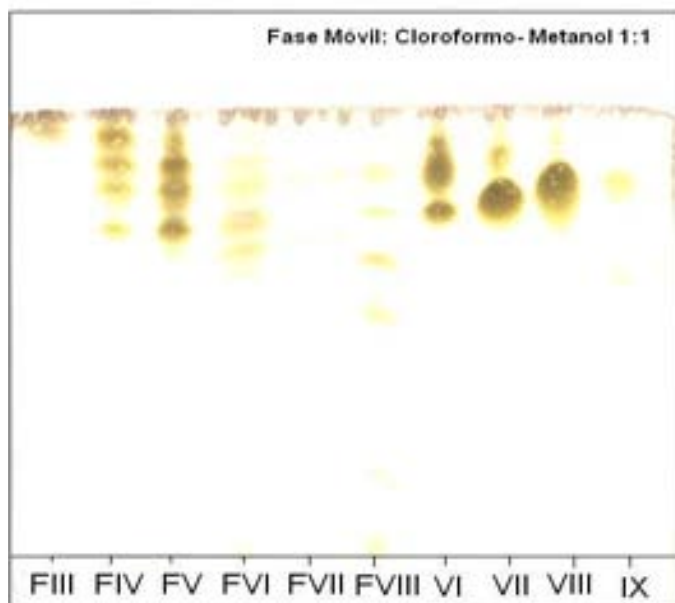


Figura 6. Comparación de las fracciones primarias del extracto cloroformico (FIII-FVIII) con las fracciones obtenidas del extracto hexánico (VI-IX)

Se obtuvieron los siguientes rendimientos de las fracciones primarias:

Fracción	Peso (g)
FI	0.21
FII	0.17
FIII	0.83
FIV	1.61
FV	0.99
FVI	1.12
FVII	4.76
FVIII	2.34

Las fracciones FVII y FVIII mayoritarias se sometieron a un fraccionamiento secundario debido a su mayor polaridad y a la presencia de resinas.

6.2 Purificación de los glicolípidos individuales.

Las primeras pruebas de purificación de los glicolípidos individuales se iniciaron con la fracción clorofórmica FVII mediante cromatografía líquida de alta eficiencia utilizando una columna de fase inversa (C-18). Se realizaron pruebas de separación utilizando un detector de índice de refracción. Estos primeros análisis se realizaron empleando CH₃CN-MeOH (9:1) como fase móvil que ya había sido utilizada para la purificación de los glicolípidos obtenidos del extracto hexánico (Escobedo-Martínez y Pereda-Miranda, 2007). Sin embargo se realizaron pruebas adicionales para obtener una fase móvil que permitiera una mejor resolución de la mezcla problema, siendo la fase móvil compuesta por CH₃CN-MeOH (3:7) la que proporcionó los mejores resultados.

Las fracciones FVII y FVIII se analizaron mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAE) en condiciones analíticas obteniéndose los mismos picos en el cromatograma, por lo que se decidió reunirlos y posteriormente estas condiciones fueron extrapoladas a nivel preparativo para lograr su fraccionamiento (Figura 7).

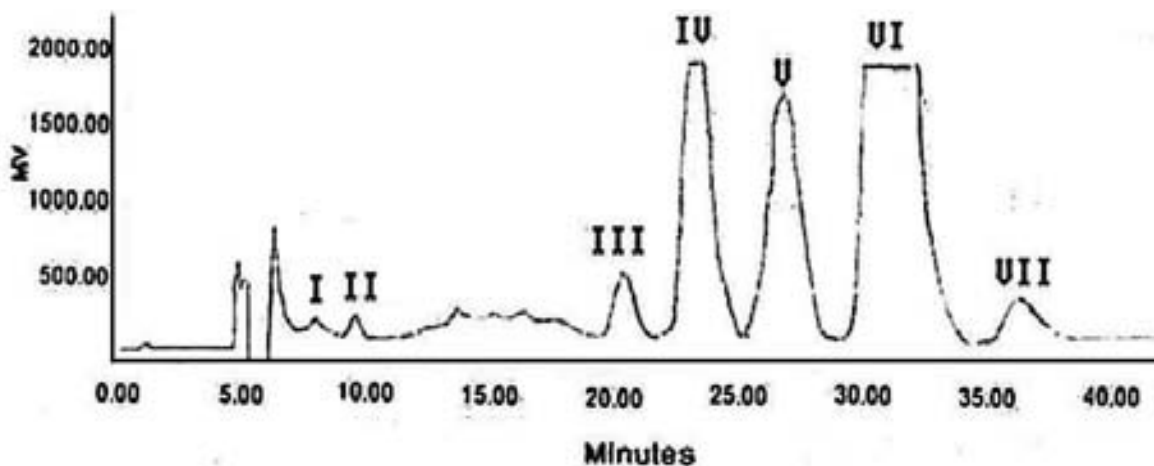


Figura 7. Perfil cromatográfico de las fracciones VII y VIII. Condiciones instrumentales: Columna SymetryPrep C-18 (19 x 300, 7 μ m); fase móvil: CH₃CN -MeOH (3:7); flujo de elución: 9 mL/min; volumen de inyección de la muestra: 500 μ L; concentración de la muestra: 0.1 mg/ μ L.

Se obtuvieron los siguientes rendimientos de las subfracciones:

Subfracción	Tiempo de retención (min)	Peso (mg)
FVII.I	8	2.0
FVII.II	9	3.5
FVII.III	20	5.0
FVII.IV	23	60.0
FVII.V	27	40.0
FVII.VI	31	80.0
FVII.VII	37	14.0

6.2.1 Obtención de las Estoloniferinas IX y X.

La purificación de los compuestos se llevó a cabo mediante la técnica conocida como “de rasurado del pico” seguida del reciclaje del mismo a través de la columna, utilizándose de 10 a 20 ciclos para obtener la máxima resolución que nos garantizara una pureza mayor al 99% del compuesto.

De la purificación de la subfracción FVII.IV se obtuvo la estoloniferina IX en un rendimiento de 50 mg (Figura 8).

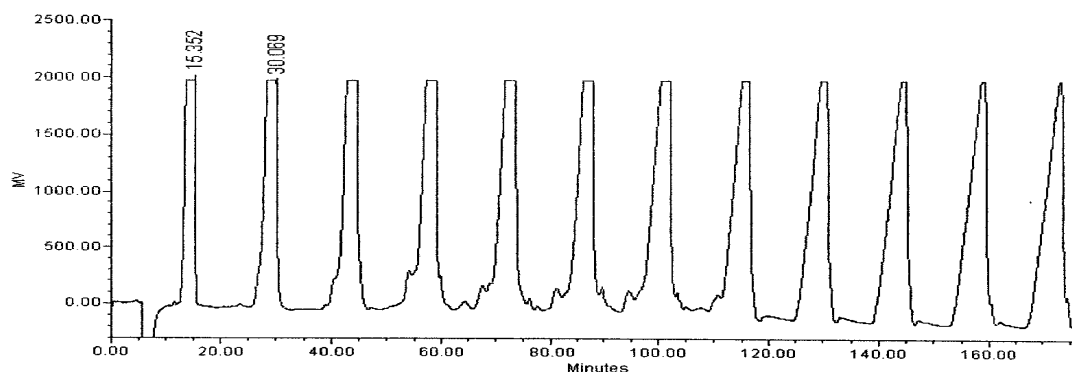


Figura 8. Perfil cromatográfico de la subfracción FVII.IV. Aplicación de reciclaje de la muestra. Condiciones instrumentales: Columna C-18 (19 x 300, 7µm); fase móvil: CH₃CN -MeOH (3:7); flujo de elución: 9mL/min; volumen de inyección de la muestra: 500 µL; concentración de la muestra: 0.1 mg/µL.

De la purificación de la subfracción FVII.VI se obtuvo la estoloniferina X en una cantidad de 40 mg (Figura 9).

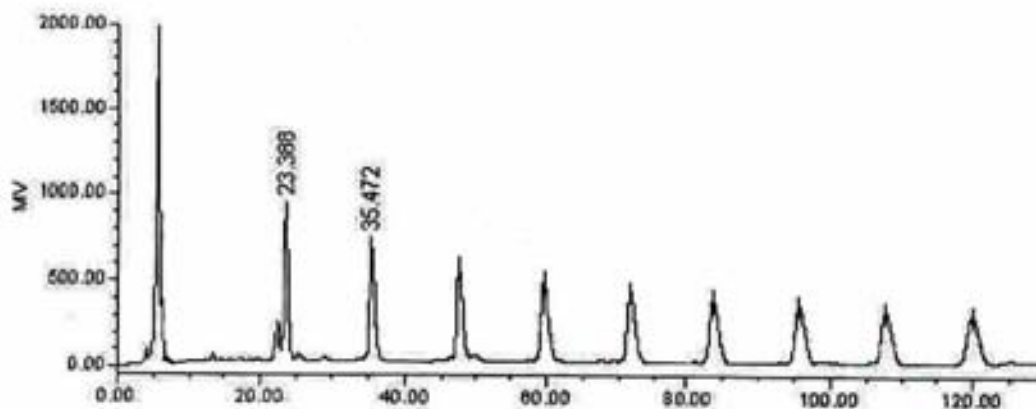


Figura 9. Perfil cromatográfico de la subfracción FVII.VI. Aplicación de reciclaje de la muestra. Condiciones instrumentales: Columna C-18 (19 x 300, 7 μ m); fase móvil: CH₃CN-MeOH (3:7); flujo de elución: 9mL/min; volumen de inyección de la muestra: 500 μ L; concentración de la muestra: 0.1 mg/ μ L.

6.2.2 Obtención de las Pescapreínas XIX y XX.

De la purificación de la subfracción FVII.V se obtuvo la pescapreína XIX en una cantidad de 10 mg (Figura 10).

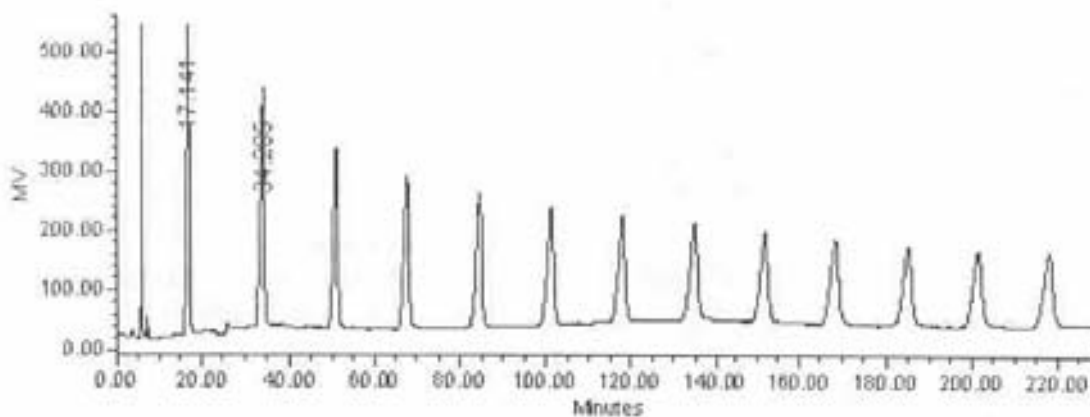


Figura 10. Perfil cromatográfico de la subfracción FVII.V. Aplicación de reciclaje de la muestra. Condiciones instrumentales: Columna C-18 (19 x 300, 7 μ m); fase móvil: CH₃CN-MeOH (3:7); flujo de elución: 9mL/min; volumen de inyección de la muestra: 500 μ L; concentración de la muestra: 0.1 mg/ μ L.

De la purificación de la subfracción FVII.VII se obtuvo la pescapreína XX en una cantidad de 4 mg (Figura 11).

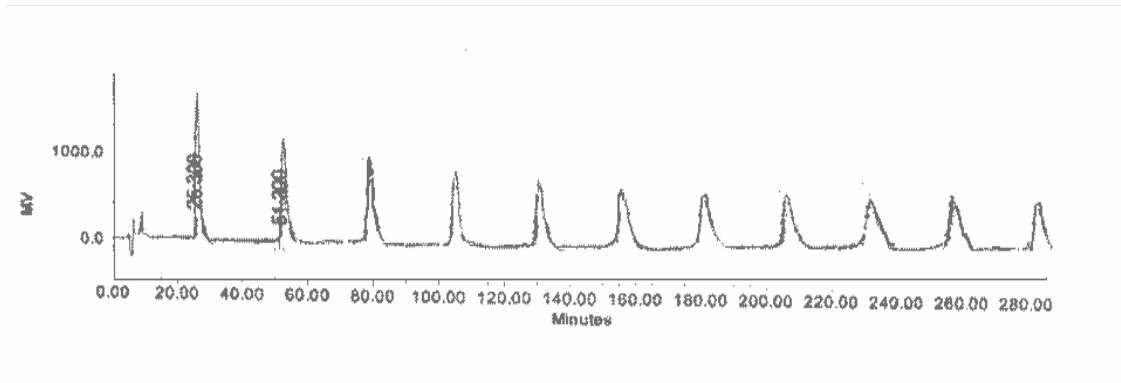


Figura 11. Perfil cromatográfico de la subfracción FVII.VII. Aplicación de reciclaje de la muestra. Condiciones instrumentales: Columna C-18 (19 x 300, 7 μ m); fase móvil: CH₃CN-MeOH (3:7); flujo de elución: 9mL/min; volumen de inyección de la muestra: 500 μ L; concentración de la muestra: 0.1 mg/ μ L.

6.3 Elucidación Estructural.

6.3.1 Ácido Glicosídico.

El registro de los espectros unidimensionales de RMN ^1H y ^{13}C de los compuestos fue el primer paso realizado para obtener información general acerca de la estructura del núcleo oligosacárido constitutivo de las resinas glicosídicas del extracto clorofórmico de la riñonina. La primera observación importante fue el número de señales dobles observadas entre los desplazamientos químicos de 1 a 2 ppm en el espectro de RMN ^1H . Estas corresponden a los protones de los grupos metilo de las 6-desoxihexosas y son señales diagnósticas que constituyeron las evidencias necesarias para establecer el número de unidades monosacáridas presentes en el núcleo oligosacárido que, en este caso, era de cinco. El núcleo oligosacárido de los compuestos correspondió al ácido simónico B previamente identificado como el núcleo oligosacárido de las resinas glicosídicas de dos muestras de la riñonina (Ver Antecedentes, Tabla 3), una comercial (Escobedo-Martínez y Pereda-Miranda, 2007) y otra silvestre (Pereda-Miranda et al., 2005).

Con el auxilio de las técnicas espectroscópicas bidimensionales en la RMN (COSY, TOCSY) y al considerar que el núcleo está compuesto por cinco metilpentosas, se pudo resolver la asignación de las señales para los protones de los metinos centrados entre 4.0 y 5.7 ppm. Esta zona presentó una gran complejidad producto de la sobreposición de las señales. Se logró identificar la presencia de la fucosa como la quinta unidad sacárida del núcleo oligosacárido a través de los valores para las constantes de acoplamiento observados para esta unidad sacárida (Pereda-Miranda et al, 2003). Finalmente, las correlaciones a larga distancia $^{2,3}J_{\text{CH}}$ permitieron establecer la secuencia de glicosidación y proponer la estructura molecular del ácido glicosídico.

6.3.2 Compuestos aislados.

Las figuras ilustran las estructuras de los compuestos aislados a partir del extracto clorofórmico de la riñonina.

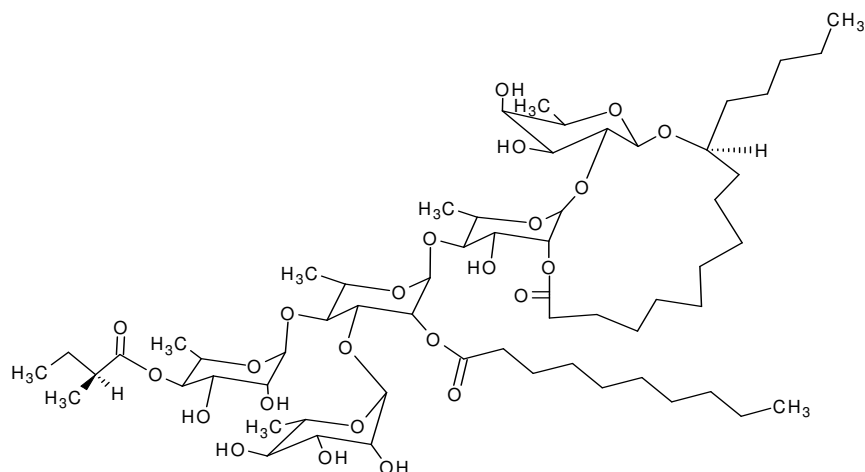


Figura 12. Estoloniferina IX (1).

(1) **Estoloniferina IX (FVII.IV)**. Sólido blanco; p.f. 128-132 °C. $[\alpha]_D -30.6$ (MeOH, c 1.0). RMN¹H y ¹³C (tablas 23 y 24). FABMS (modo negativo) m/z 1221 [M-H]⁻, 1067 [M-H-C₁₀H₁₈O]⁻, 965, 837, 691, 545, 417, 271.

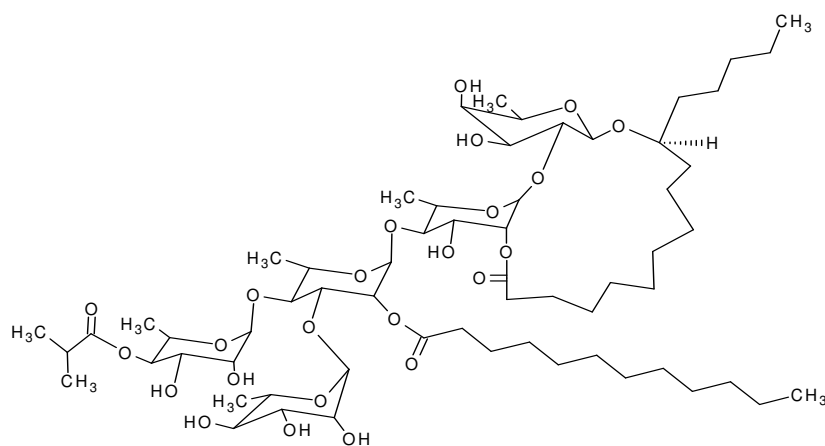


Figura 13. Pescapreína XIX (2).

(2) **Pescapreína XIX (FVII.V)**. Sólido blanco; p.f. 121-123 °C. $[\alpha]_D -32.5$ (MeOH, c 0.5). RMN¹H y ¹³C (tablas 23 y 24). FABMS (modo negativo) m/z 1235 [M-H]⁻, 1165 [M-H-C₄H₆O]⁻, 1019, 837, 545, 417, 271.

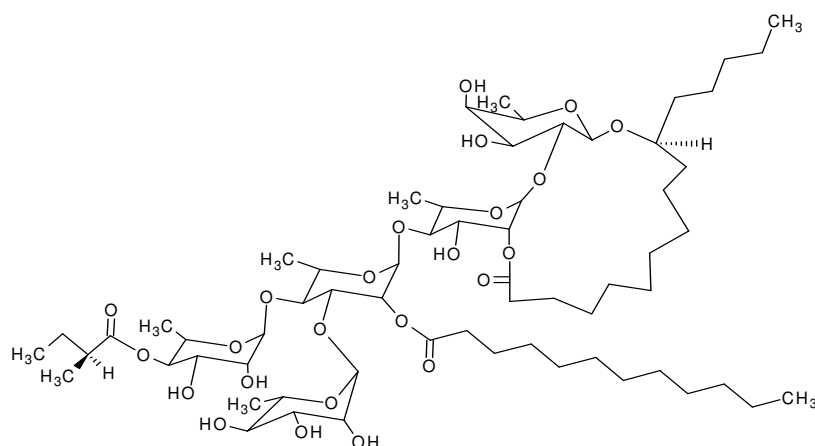


Figura 14. Estoloniferina X (3)

(3) Estoloniferina X (FVII.VI). Sólido blanco; p.f. 125-130 °C. $[\alpha]_D -37.1$ (MeOH, c 1.03). RMN¹H y ¹³C (tablas 23 y 24). FABMS (modo negativo) m/z 1249 [M-H]⁻, 1165 [M-H-C₅H₈O]⁻, 1067 [M-H-C₁₂H₂₂O]⁻, 1019, 837, 545, 417, 271.

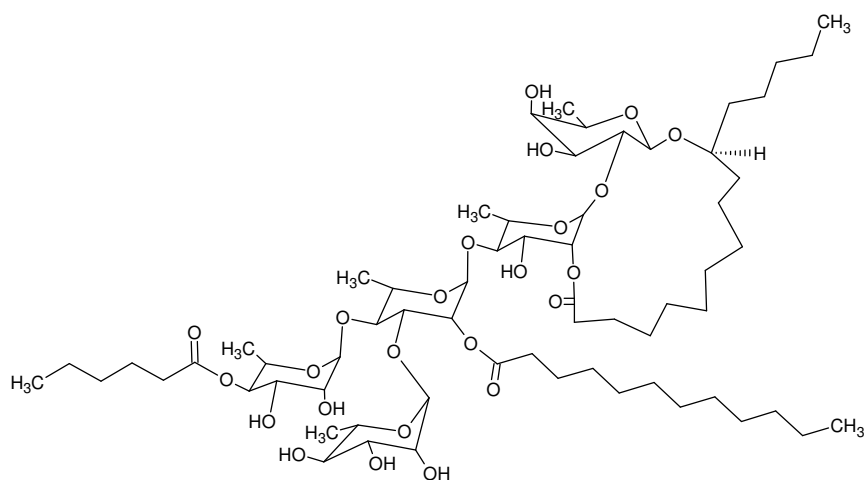


Figura 15. Pescapreína XX (4)

(4) Pescapreína XX (FVII.VII). Sólido blanco; p.f. 120-122 °C. $[\alpha]_D -60$ (MeOH, c 0.81). RMN¹H y ¹³C (tablas 23 y 24). FABMS (modo negativo) m/z 1263 [M-H]⁻, 1165 [M-H-C₆H₁₀O]⁻, 1081 [M-H-C₁₂H₂₂O]⁻, 1019, 837, 545, 417, 271.

Debido a que los compuestos aislados poseen al ácido simónico B como su núcleo oligosacárido constitutivo, la elucidación estructural de cada uno de estos constituyentes individuales, se realizó mediante la comparación de sus respectivas constantes espectroscópicas y su diferenciación se logró a través del análisis individual de la espectrometría de masas. Estos compuestos presentan prácticamente las mismas señales en los espectros RMN ^1H y ^{13}C . Sin embargo, presentan diferencias en sus pesos moleculares debido a la diversidad en los ácidos que se encuentran esterificando las unidades sacáridas de la cadena glicosídica.

6.3.2.1 Asignación de señales de RMN ^1H y ^{13}C .

La asignación de las señales de RMN ^1H y ^{13}C se realizó mediante técnicas bidimensionales homonucleares (COSY, TOCSY). Este análisis permitió la asignación de las cuatro unidades de ramnosa y la única unidad de fucosa.

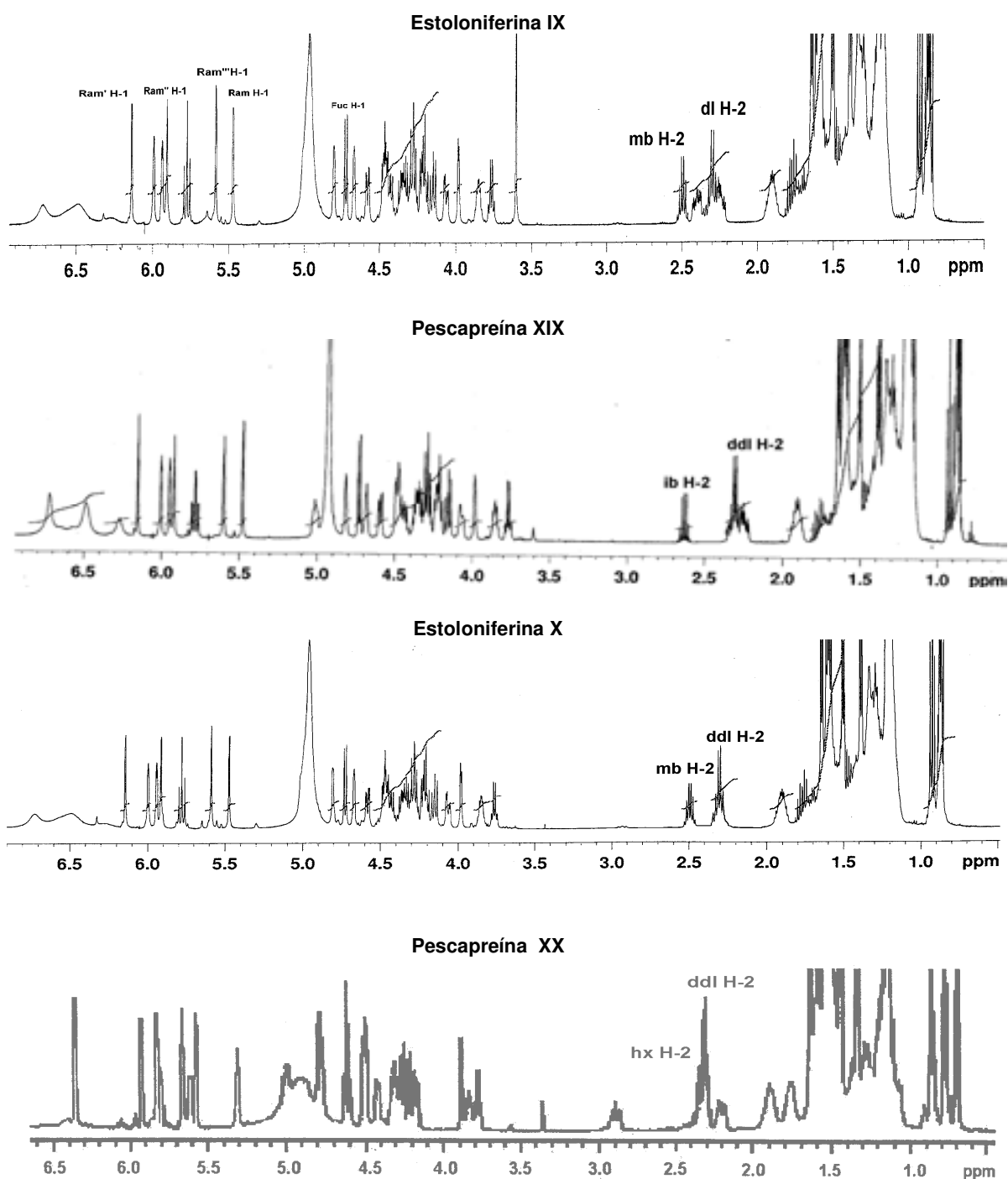


Figura 16. Espectros RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de la estoloniferina IX y X y de las pescapreínas XIX y XX. Se indican las señales que identifican los residuos de 2-metabutanoilo (mb, H-2), isobutanoilo (ib, H-2), *n*-hexanoilo (hx, H-2), *n*-decanoilo (dl, H-2) y *n*-dodecanoilo (ddl, H-2)

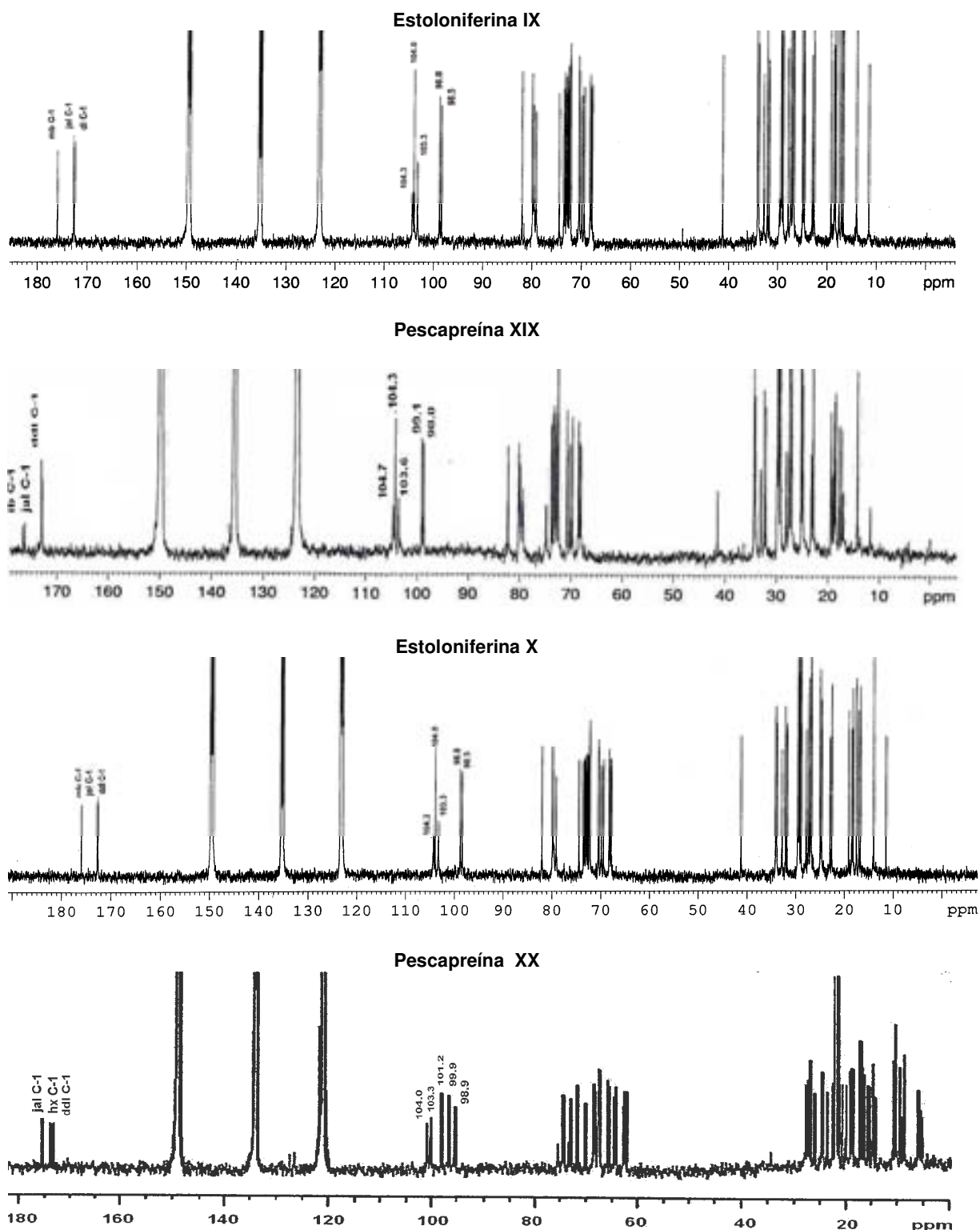


Figura 17. Espectros RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de la estoloniferina IX y X y de las pescapreínas XIX y XX. Se indican las señales que identifican los carbonos de los residuos de 2-metabutoilo (mb, C-1), isobutanoilo (ib, C-1), *n*-hexanoilo (hx, C-1), *n*-decanoilo (dl, C-1) y *n*-dodecanoilo (ddl, C-1).

A continuación se muestra el procedimiento para la asignación de las señales de la pescapreína XIX.

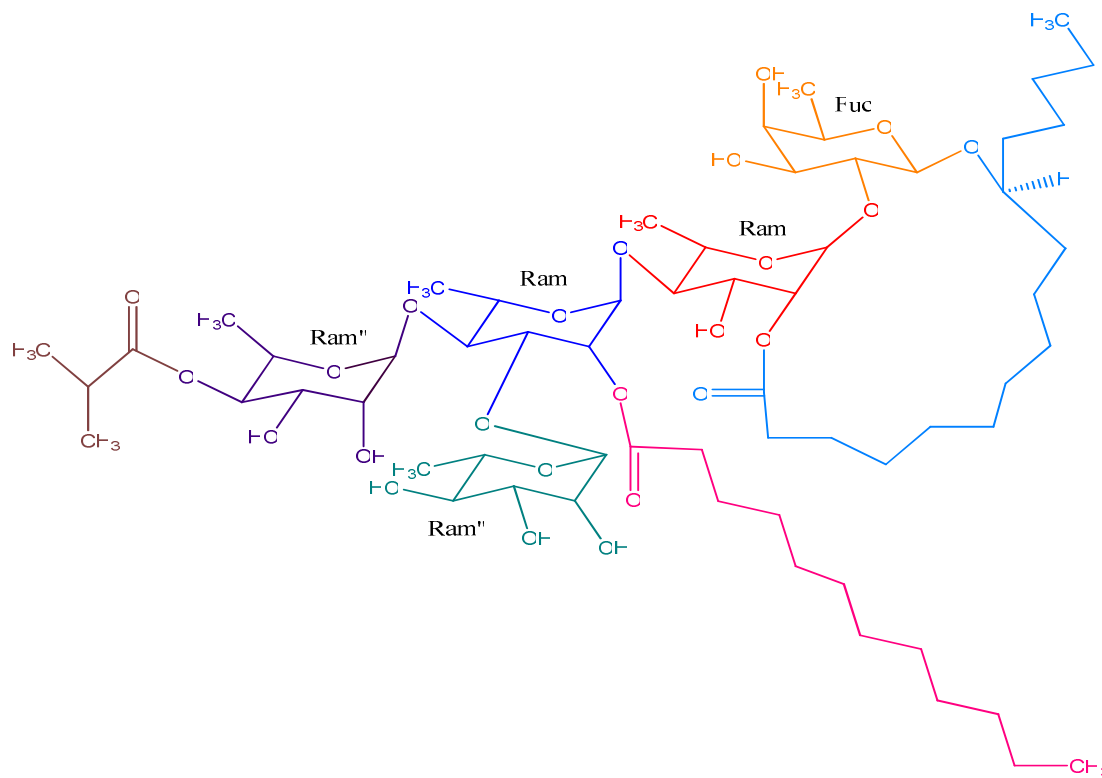


Figura 18. Pescapreína XIX. Abreviaciones: Fuc = Fucosa, Ram = ramnosa interna superior, Ram' = ramnosa interna inferior, Ram'' = ramnosa externa superior y Ram''' = ramnosa externa inferior.

La asignación de las señales de RMN ^1H y ^{13}C se inició localizando en el espectro heteronuclear HSQC los carbonos anoméricos (desplazamientos químicos alrededor de 98-100 ppm) y sus correspondientes protones. En la siguiente figura se ilustran las correlaciones anoméricas observadas para la pescapreína XIX.

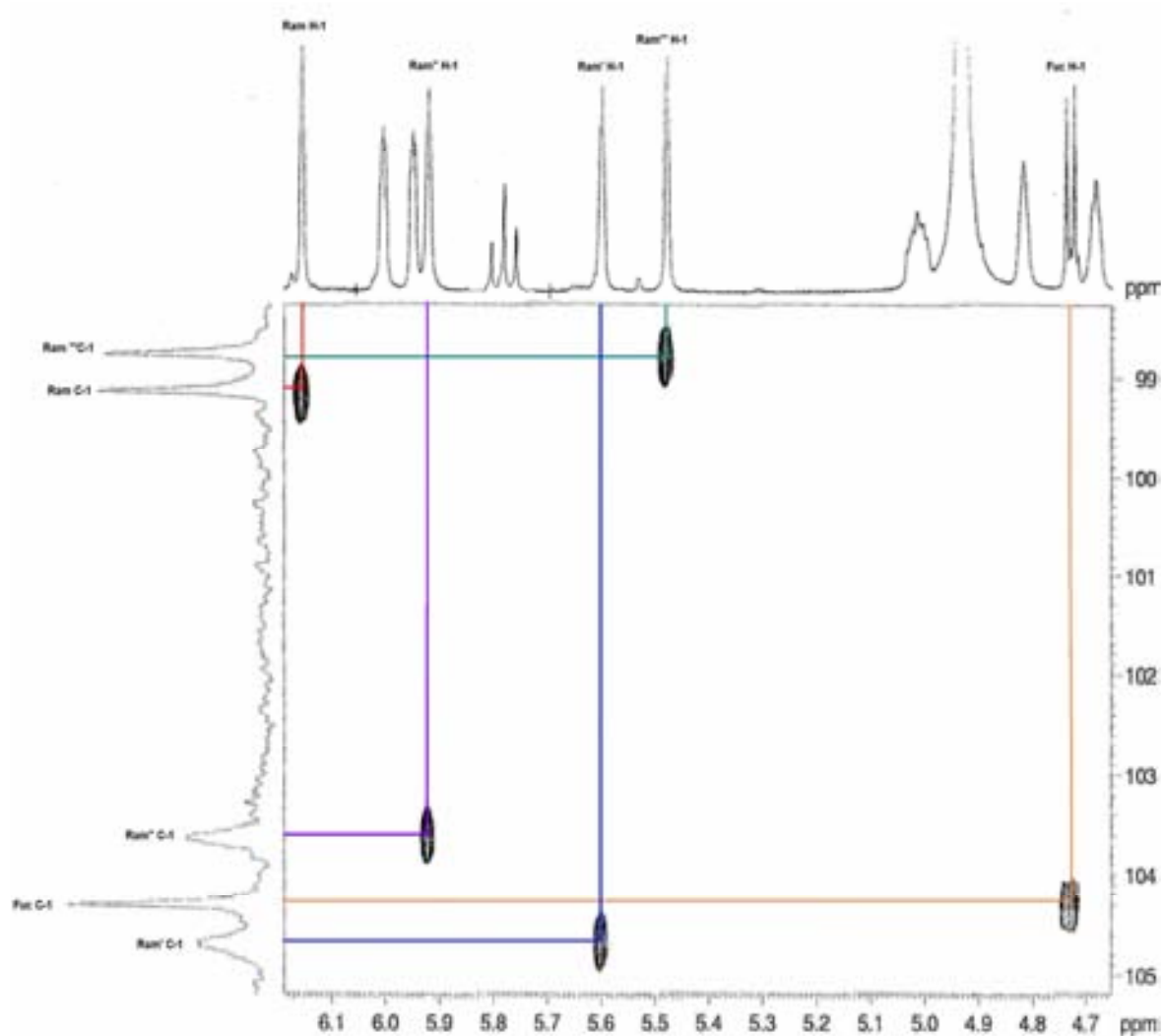


Figura 19. Sección anomérica del espectro HSQC de la pescapreína XIX.

Posteriormente, el análisis de los espectros homonucleares COSY y TOCSY en forma simultánea, permitió la asignación de las señales correspondientes a los metinos de cada monosacárido del núcleo oligosacárido, estableciendo las conectividades registradas en los experimentos bidimensionales. En la figura 20 se muestran los cuadros de conectividad para la secuencia de ^1H — ^1H de la ramnosa externa (Ram^o) de la pescapreína XIX. Los cuadros de conectividad se inician con el protón H-1 anomérico de cada unidad sacárida y cuya asignación se obtiene a partir del análisis bidimensional HSQC.

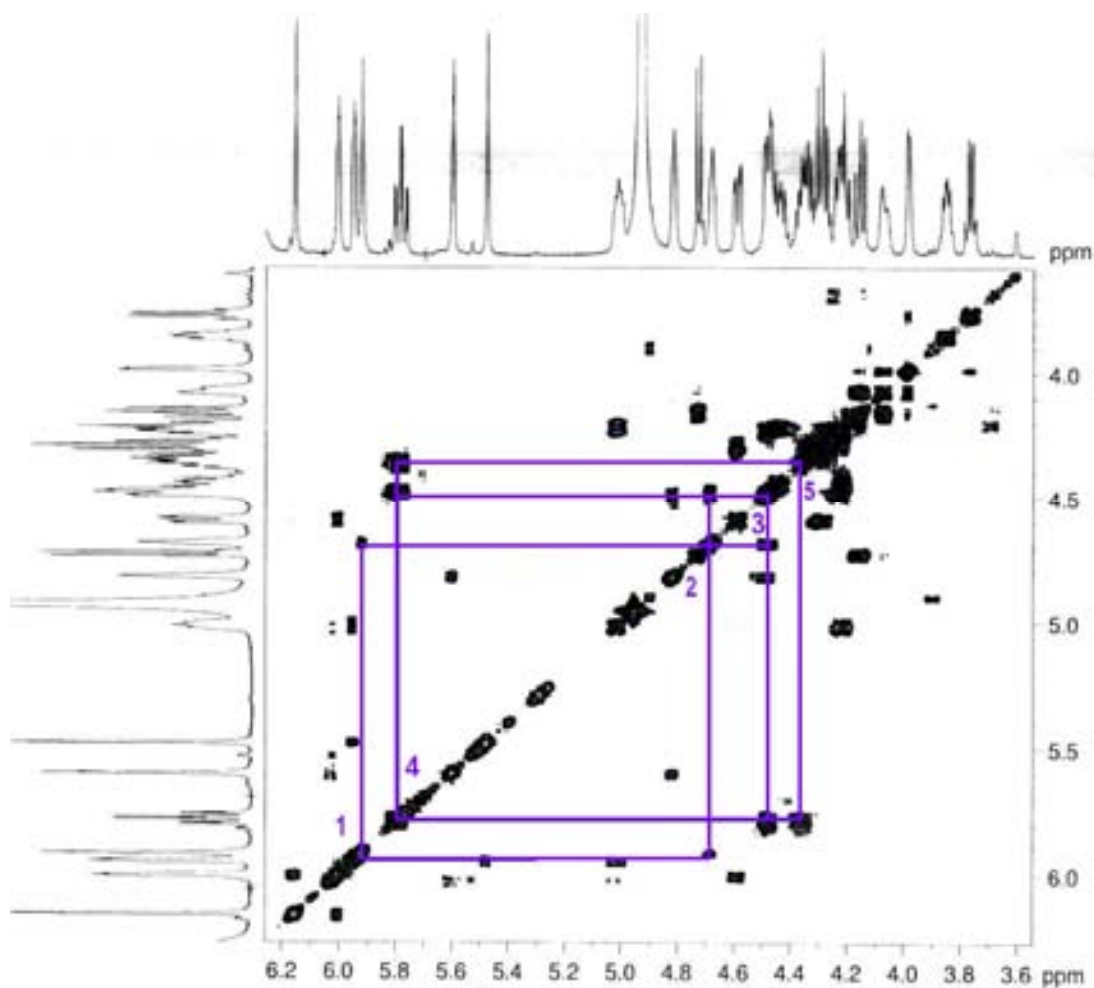


Figura 20. Sección del espectro COSY de la porción oligosacárida de la pescapreína XIX.

El espectro homonuclear TOCSY permite verificar la secuencia de acoplamientos para cada una de las unidades monosacáridas. En la figura 21 se muestra la porción oligosacárida de la pescapreína XIX en el experimento TOCSY y se indican las señales correspondientes a la ramnosa externa (Ram^m), las cuales coinciden con las obtenidas por medio del análisis del experimento COSY. Cabe mencionar que la secuencia de ^1H - ^1H puede interrumpirse en el espectro COSY, H_4 - H_5 de la fucosa, impidiendo la identificación de la secuencia completa. El experimento TOCSY permite el establecimiento de la secuencia total de las interacciones vecinales entre los hidrógenos de cada unidad sacárida. El análisis del experimento TOCSY se puede realizar de dos maneras: mediante los cuadros de conectividad para obtener la secuencia de acoplamientos para los metinos y trazando una línea horizontal o vertical a partir del protón anomérico para identificar los desplazamientos químicos de las resonancias de todos los metinos en cada unidad sacárida.

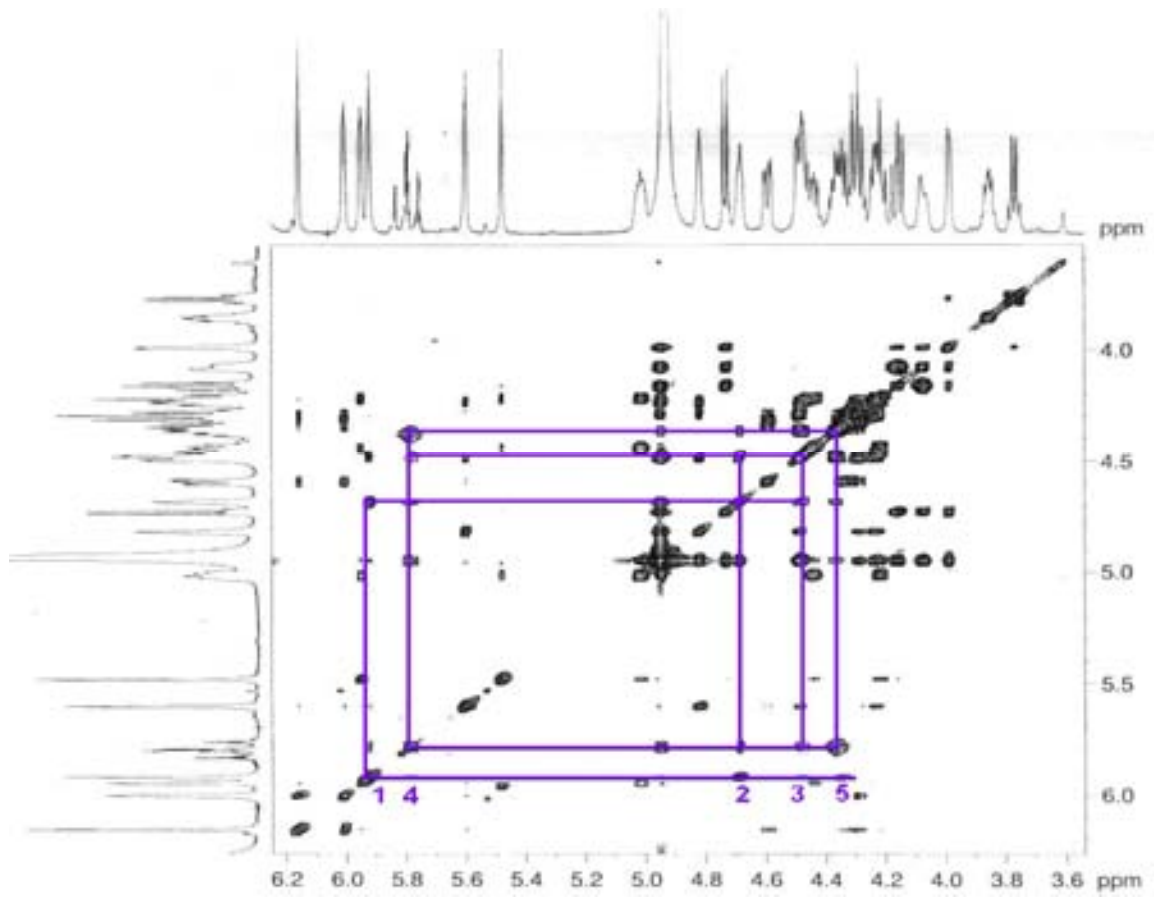


Figura 21. Sección del espectro TOCSY de la porción olisogacárida de la pescapreína XIX.

Después de identificar y diferenciar las señales de los metinos para cada monosacárido, por medio de los experimentos COSY y TOCSY, se procedió con la asignación de los desplazamientos de ^{13}C mediante el análisis del experimento HSQC de la misma manera que en la figura 19. Posteriormente se comprobó la secuencia de glicosidación mediante las correlaciones ^1H - ^{13}C observadas en el espectro HMBC en la región oligosacárida a través de conectividades interglicosídicas entre los protones anoméricos con los carbonos de las unidades sacáridas vecinales ($^3J_{\text{C-H}}$). La figura 22 ilustra las conectividades para la pescapreína XIX mostrando las correlaciones entre los monosacáridos.

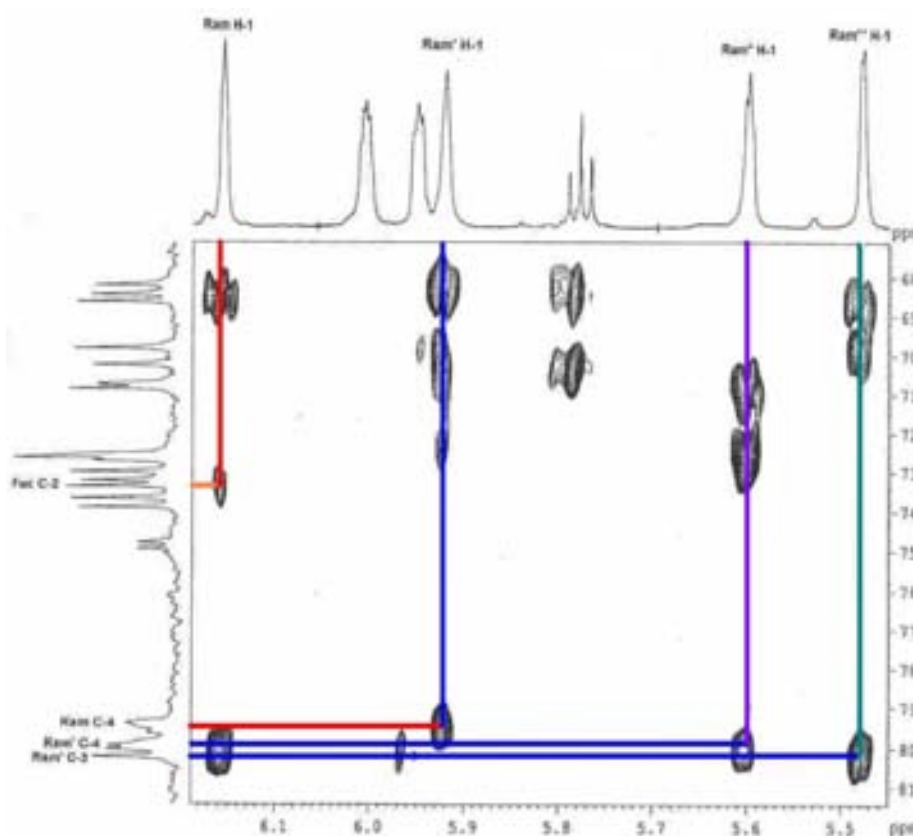


Figura 22. Sección de la región oligosacárida de la pescapreína XIX del espectro HMBC.

Los experimentos unidimensionales (^1H y ^{13}C) y bidimensionales (COSY, TOCSY y HMBC) discutidos hasta este momento permitieron deducir los tipos de monosacáridos y la secuencia de glicosidación en el núcleo oligosacárido.

Una vez establecida la secuencia de glicosidación se procedió a la asignación de los carbonilos mediante la secuencia de pulsos HMBC a partir de sus acoplamiento con los hidrógenos alfa al carbonilo de la aglicona (el grupo metileno H-2) y los metinos H-2 de cada uno de los grupos acilantes.

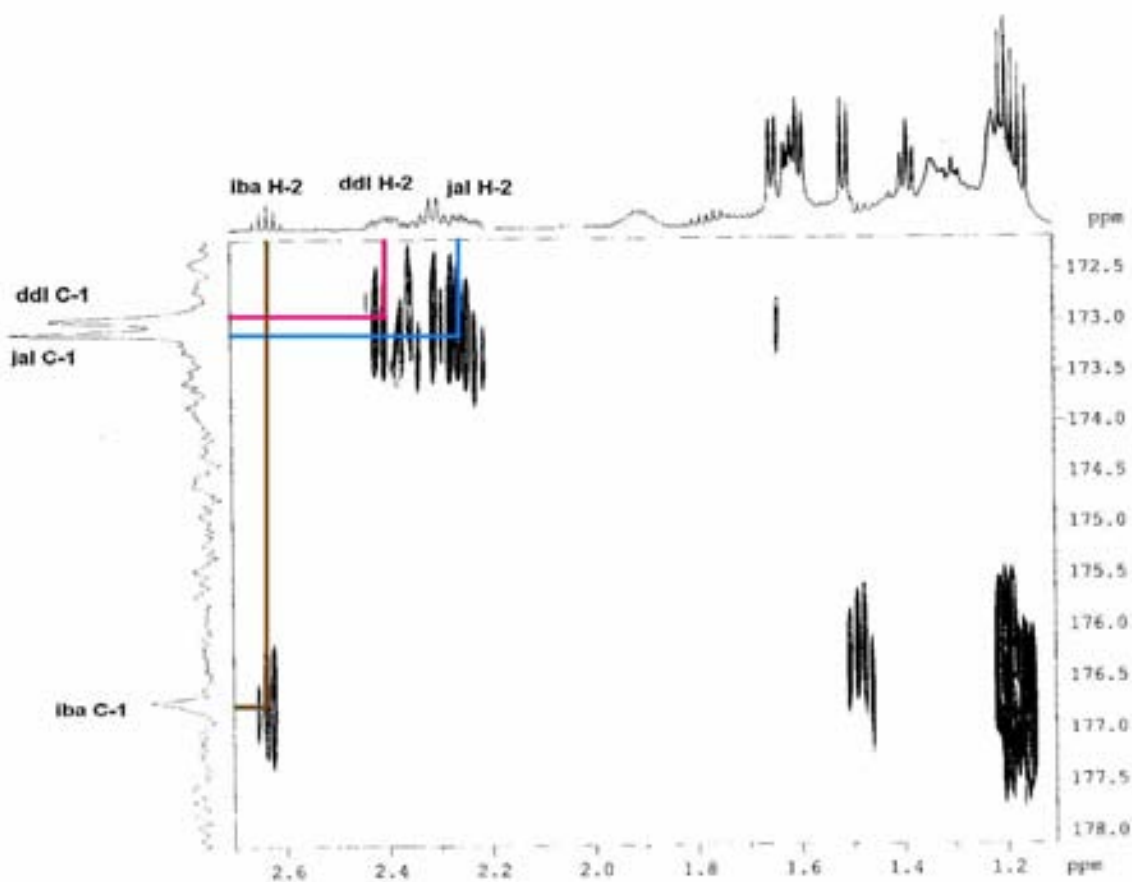


Figura 23. Sección del espectro HMBC de la pescapreína XIX. Se muestran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de cada uno de los ésteres con los hidrógenos en posición α-carbonilo.

Los sitios de acilación se dedujeron a partir de las correlaciones ^1H y ^{13}C ($^3J_{\text{C-H}}$) en el experimento HMBC, entre los carbonos del carbonilo de cada uno de los ácidos con las señales protónicas geminales a estos grupos acilantes. La figura 24 ilustra estas conectividades, en donde la interacción entre el H-2 de la ramnosa interna con el C-1 de la aglicona permitió identificar el sitio de lactonización. También se pudieron observar las conectividad entre C-1 de los ácidos (172.9 y 176.4) con los metinos en las posiciones H-2 de la Ram' y H-4 de la Ram'', respectivamente.

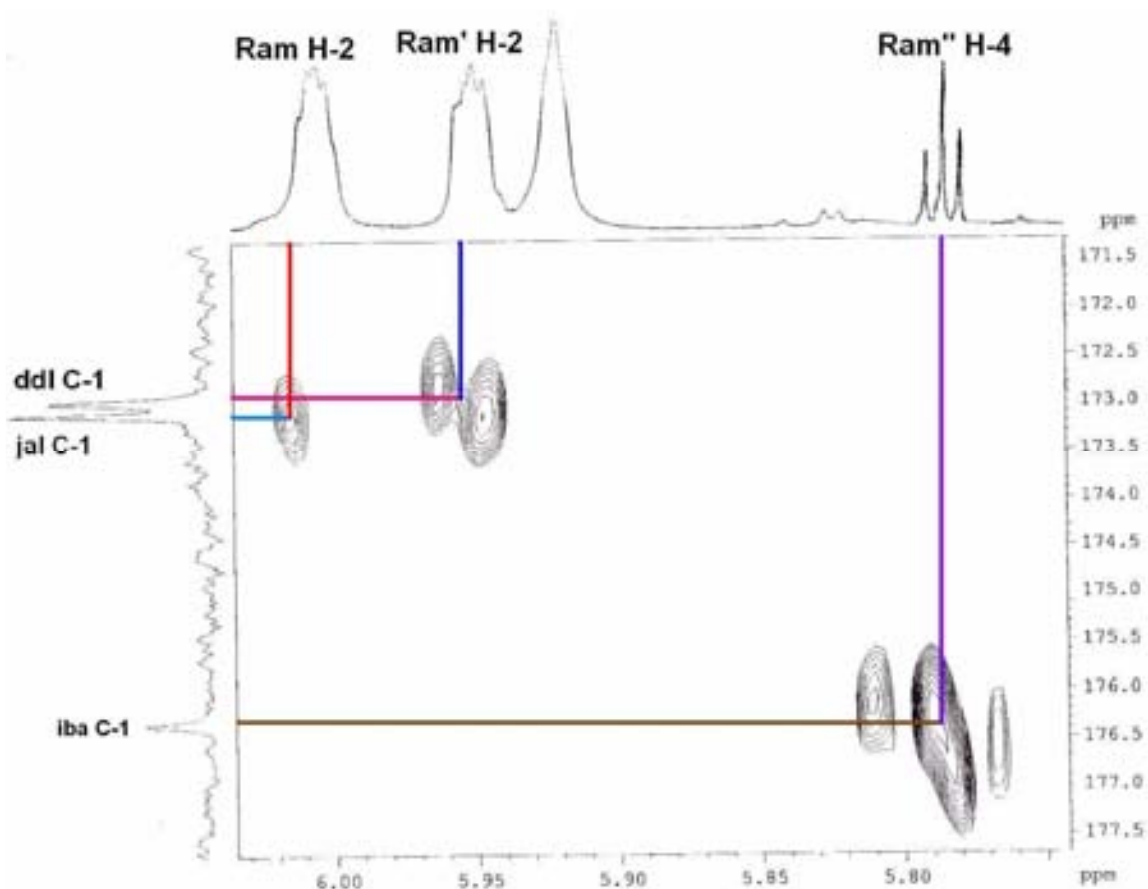


Figura 24. Sección del espectro HMBC de la pescapreína XIX. Se muestran las correlaciones entre los carbonos de los carbonilos de cada uno de los ésteres con las señales protónicas geminales a los grupos acilantes.

Cabe señalar que la diferencia observada en los desplazamientos químicos de los metinos de la posición C-2 y C-3 de la unidad de ramnosa interna superior de las pescapreínas II y IV con respecto a las pescapreínas XIX y XX se debe a la posición de lactonización ya que para las primeras ocurre en la posición C-3 mientras que en las últimas sucede en la posición C-2.

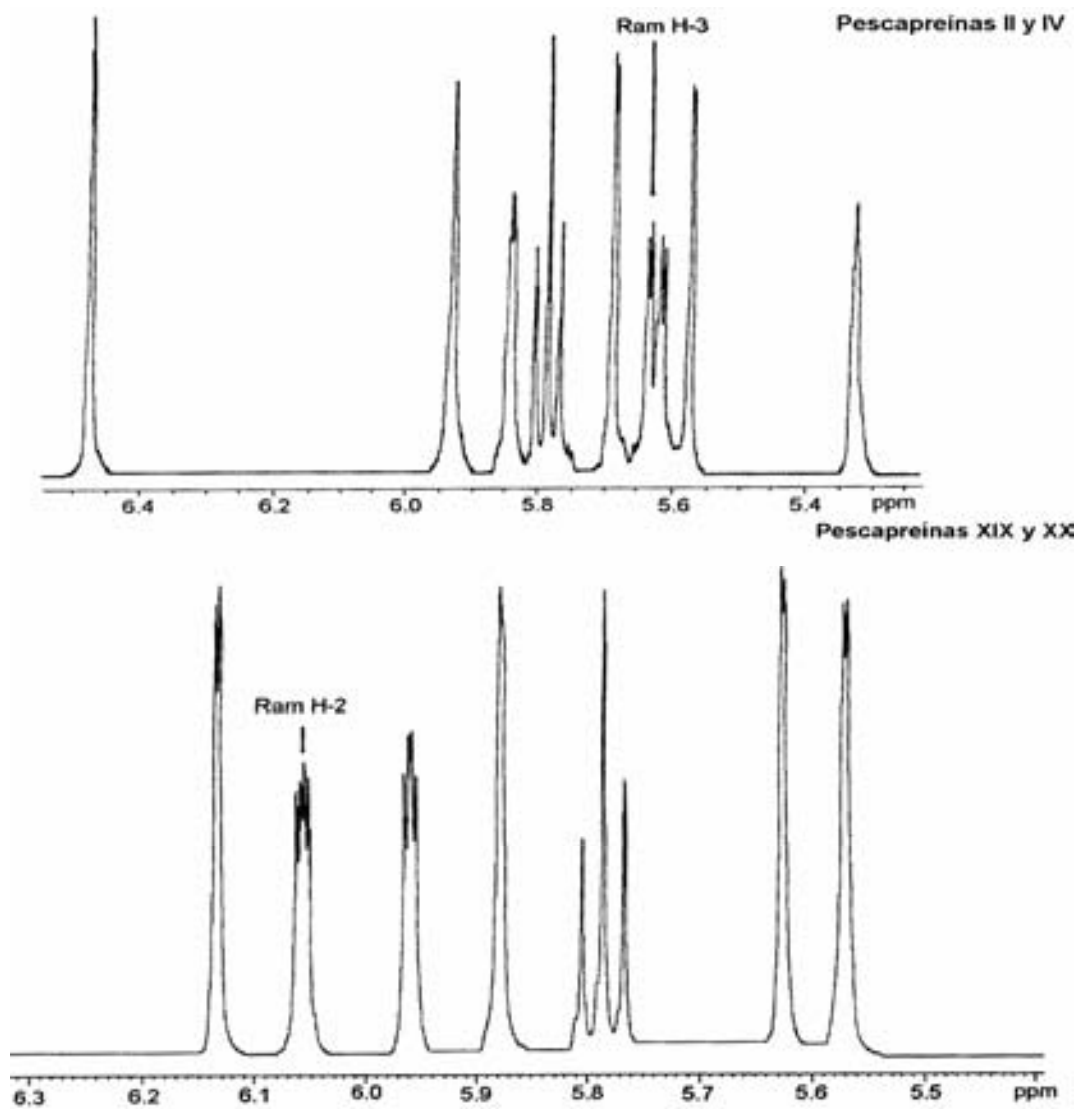


Figura 25. Región anomérica del espectro de RMN ¹H para las pescapreínas II y IV y para las pescapreínas XIX y XX.

Tabla 23. Datos RMN ¹H de la estoloniferina IX-X y pescapreínas XIX-XX (500 MHz)

Protón	Estoloniferina IX	Estoloniferina X	Pescapreína XIX	Pescapreína XX
fuc-1	4.72 d (7.3)	4.73 d (7.3)	4.73 d (7.6)	4.78 d (7.9)
2	4.20 dd (7.3, 9.8)	4.15 dd (7.3, 9.5)	4.52 dd (9.5, 7.6)	4.50 dd (9.5, 7.9)
3	4.06 dd (9.8, 3.4)	4.06 dd (9.5, 3.4)	4.19 dd (9.5, 3.4)	4.16 dd (9.5, 3.3)
4	3.98 d (3.4)	3.98 d (3.4)	3.91 d (3.4)	3.89 d (0.33)
5	3.76 q (6.1)	3.77 q (6.4)	3.82 q (6.4)	3.789 q (6.4)
6	1.52 d (6.1)	1.50 d (6.4)	1.51 d (6.4)	1.49 d (6.4)
Ram-1	5.48 d (1.2)	5.48 d (1.5)	6.02 d (1.4)	6.32 d (1.0)
2	5.94 dd (1.2, 3.1)	5.94 dd (1.5, 3.4)	5.61 dd (9.8, 2.8)	5.58 dd (10.1, 2.5)
3	5.00 (dd 3.1, 9.5)	5.01 (dd 3.4, 9.5)	5.30 dd (2.8, 1.5)	5.29 dd (2.5, 1.0)
4	4.23 dd (9.5, 9.5)	4.21 dd (9.5, 9.5)	4.63 dd (9.8, 9.8)	4.61 dd (10.1, 10.1)
5	4.43 dq (9.5, 6.1)	4.43 dq (9.5, 6.1)	5.00 dq (9.8, 6.7)	4.98 dq (10.1, 6.2)
6	1.61 d (6.1)	1.61 d (6.1)	1.58 d (6.7)	1.55 d (6.2)
ram ⁻¹	6.14 d (1.5)	6.14 d (1.5)	5.60 d (1.5)	5.63 d (1.5)
2	6.00 dd (1.5, 3.1)	6.00 dd (1.5, 3.1)	5.90 dd (3.3, 1.5)	5.80 dd (2.0, 1.5)
3	4.58 dd (3.1, 8.9)	4.58 dd (3.1, 8.9)	4.52 dd (8.7, 3.3)	4.50 dd (9.4, 2.0)
4	4.28 dd (8.9, 8.5)	4.28 dd (8.9, 8.5)	4.25 dd (8.7, 8.7)	4.20 dd (9.4, 9.4)
5	4.34 dq (8.5, 6.1)	4.34 dq (8.5, 6.1)	4.32 dq (8.7, 6.4)	4.31 dq (9.4, 6.0)
6	1.65 d (6.1)	1.64 d (6.1)	1.60 d (6.4)	1.57 d (6.0)
ram ⁻¹	5.91 sa	5.91 sa	5.96 sa	5.90 sa
2	4.66 dd (1.0, 3.1)	4.67 dd (1.5, 3.1)	4.62 dd (3.3, 1.3)	4.61 dd (3.2, 1.0)
3	4.46 dd (3.1, 9.5)	4.46 dd (3.1, 9.5)	4.42 dd (9.8, 3.3)	4.41 dd (9.7, 3.2)
4	5.77 dd (9.5, 10.1)	5.78 dd (9.5, 9.5)	5.76 dd (9.8, 9.8)	5.78 dd (9.7, 9.7)
5	4.38 dq (10.1, 6.1)	4.36 dq (9.5, 6.1)	4.33 dd (9.8, 6.1)	4.33 dq (9.7, 6.2)
6	1.39 d (6.1)	1.39 d (6.1)	1.38 d (6.1)	1.38 d (6.2)
ram ⁻¹	5.59 sa	5.59 sa	5.56 sa	5.55 sa
2	4.80 dd (1.0, 2.9)	4.80 dd (1.0, 3.5)	4.78 dd (3.0, 1.3)	4.76 dd (3.0, 1.0)
3	4.47 dd (2.9, 9.2)	4.48 dd (3.5, 9.5)	4.51 dd (9.5, 3.0)	4.50 dd (9.2, 3.0)
4	4.21 dd (9.2, 9.2)	4.22 dd (9.5, 9.5)	4.21 dd (9.5, 9.5)	4.24 dd (9.2, 9.2)
5	4.28 dq (9.2, 6.1)	4.29 dq (9.5, 6.1)	4.27 dq (9.5, 5.8)	4.27 dq (9.2, 6.0)
6	1.59 d (6.1)	1.59 d (6.1)	1.71 d (5.8)	1.68 d (6.0)
jal-2	2.26 m	2.25 m	2.28 m	2.24 m
	2.40 m	2.40 m	2.93 t (12.5)	2.91 t (12.7)
11	3.85 m	3.85 m	3.87 m	3.89 m
16	0.85 t (7.0)	0.87 t (7.3)	0.86 t (7.0)	0.83 t (6.7)
iba-2			2.64 sept (7.0)	
3			1.17 d (7.0)	
3'			1.20 d (7.0)	
mba-2	2.50 tq (7.0, 7.0)	2.50 tq (6.7, 6.7)		
2-Me	0.93 t (7.3)	0.93 t (7.3)		
3-Me	1.20 d (7.0)	1.20 d (6.7)		
hexa-2				2.38 m
6				0.75 t (7.1)
deca-2	2.37 t (7.3)			
10	0.88 t (6.7)			
dodeca-2		2.37 t (7.4)	2.38 t (7.3)	2.35 t (7.5)
12		0.88 t (7.0)	0.95 t (7.0)	0.91 t (6.8)

Datos registrados en C₅D₅N. Los desplazamientos químicos (δ) están en ppm en relación al TMS.

Los acoplamientos (J) se encuentran en paréntesis y se expresan en Hz.

Abreviaciones: sa = señal simple ancha, d = señal doble, t = señal triple, q =señal cuádruple, m = señal múltiple.

Las asignaciones se basaron en los experimentos ¹H-¹H COSY y TOCSY.

Abreviaciones: Fuc = Fucosa, Ram = Ramnosa, Jal = 11-hidroxihexadecanoilo, mb = 2-metilbutanoilo, ib = isobutanoilo, hexa = *n*-hexanoilo, deca = *n*-decanoilo, dodeca = *n*-dodecanoilo

Tabla 24. Datos RMN ¹³C de la estoloniferina IX-X y pescapreínas XIX-XX (125 MHz)

Carbono	Estoloniferina IX	Estoloniferina X	Pescapreína XIX	Pescapreína XX
fuc-1	103.3	103.3	103.6	101.2
2	73.0	73.4	73.0	73.0
3	76.3	76.7	76.3	76.3
4	73.2	73.6	73.2	73.2
5	70.9	71.3	70.9	70.9
6	16.8	17.1	16.8	16.8
ram-1	98.8	98.8	99.1	99.9
2	77.4	77.8	77.4	77.5
3	69.4	69.8	69.4	69.4
4	77.6	78.1	79.0	77.6
5	67.6	67.9	67.5	67.5
6	18.8	19.2	18.8	18.8
ram'-1	98.5	98.5	98.8	98.9
2	72.6	73.0	72.6	72.6
3	79.9	80.3	80.0	79.9
4	78.8	79.2	79.9	78.7
5	67.9	68.4	67.9	67.9
6	18.4	18.8	18.4	18.4
ram"-1	104.0	104.0	104.3	103.3
2	72.3	72.7	72.3	72.3
3	69.8	70.2	69.8	69.8
4	74.4	74.8	74.4	74.7
5	67.8	68.2	67.7	67.7
6	17.4	17.9	17.5	17.5
ram"-1	104.3	104.3	104.7	104.0
2	72.3	72.6	72.3	72.2
3	72.2	72.6	72.2	72.1
4	73.3	73.7	73.4	73.4
5	70.4	70.8	70.4	70.4
6	18.4	18.8	18.4	18.4
jal-1	174.5	174.9	173.9	176.0
2	33.3	33.7	33.3	33.3
11	78.9	74.9	79.0	79.0
16	13.9	14.3	13.9	13.9
iba-1			176.4	
2			41.2	
3			11.4	
3'			16.6	
mba-1	175.9	176.4		
2	41.2	41.6		
2-Me	16.6	17.0		
3-Me	11.4	11.8		
hexa-1				173.1
2				34.0
6				13.6
deca-1	172.6			
2	34.0			
10	14.0			
dodeca-1		173.0	172.9	173.0
2		34.4	34.0	34.2
12		14.4	14.0	14.0

Datos registrados en C₅D₅N. Los desplazamientos químicos (δ) están en ppm en relación al TMS.

Todas las asignaciones se basaron en los experimentos HMBC.

Abreviaciones: Fuc = Fucosa, Ram = Ramnosa, Jal = 11-hidroxihexadecanoilo, mb = 2-metilbutanoilo, ib = isobutanoilo, hexa = *n*-hexanoilo, deca = *n*-decanoilo, dodeca = *n*-dodecanoilo

6.4 Análisis de los Espectros de Masas.

Los espectros de masas FAB (modo negativo) de las estoloniferinas IX y X y de las pescapreínas XIX y XX permitieron calcular la fórmula molecular para cada uno de ellos. En cada uno de los espectros se observaron picos comunes provocados por las rupturas de los enlaces glicosídicos, similares a los generados por las operculinas presentes en *Ipomoea operculata* (Ono et al., 1990c). La figura siguiente ilustra el patrón de fragmentación característico para esta clase de moléculas.

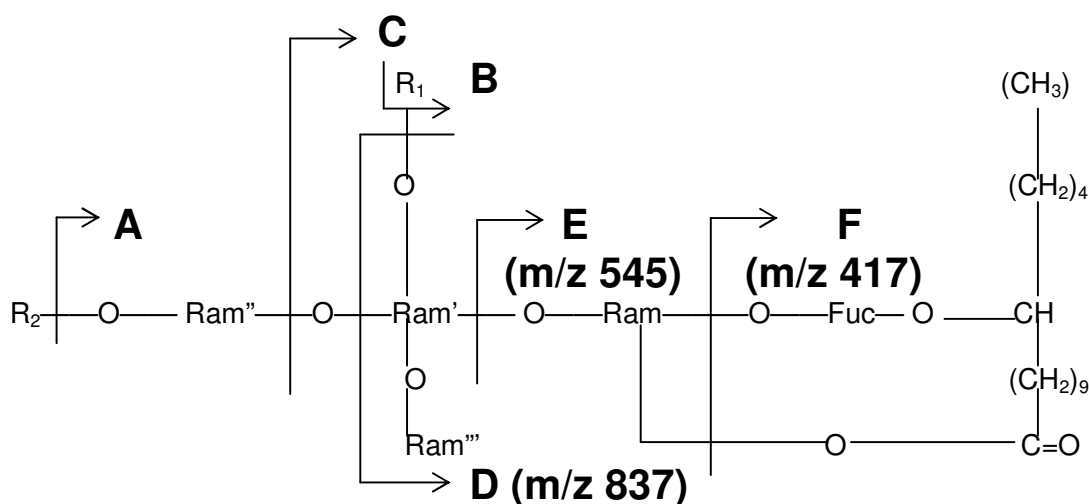


Figura 26. Patrón de fragmentación para la serie de las pescapreínas.

De acuerdo a los espectros de masas FAB (modo negativo), las estoloniferinas y las pescapreínas mostraron patrones de fragmentación semejantes ya que todas presentaron los iones D, E y F, sin embargo, para establecer las diferencias entre cada uno de los compuestos resultó de utilidad analizar las diferencias de peso que hay entre sus respectivos iones pseudomoleculares $[M-1]$ y los iones A y B. Estas diferencias corresponden a las pérdidas de los ácidos que esterifican los núcleos oligosacáridos, tomando como referencia la figura 26 que representa la fragmentación de los compuestos aislados, se obtuvieron los siguientes fragmentos:

Para la estoloniferina IX, el fragmento B (m/z 1067) que corresponde a la pérdida del residuo de decanoilo con una diferencia de 154 unidades con respecto al ion pseudomolecular $[M-1]$ 1221 unidades. El fragmento A no se registró en el espectro pero el fragmento D fue el que presentó una correlación con la pérdida de un residuo de 2-metilbutanoilo. El fragmento D equivale a una m/z de 837 $[M - H - C_{10}H_{18}O - C_6H_{10}O_4 - C_5H_8O]^-$ que corresponde a una diferencia de 384 unidades con respecto al ion pseudomolecular $[M-1]$ 1221 unidades.

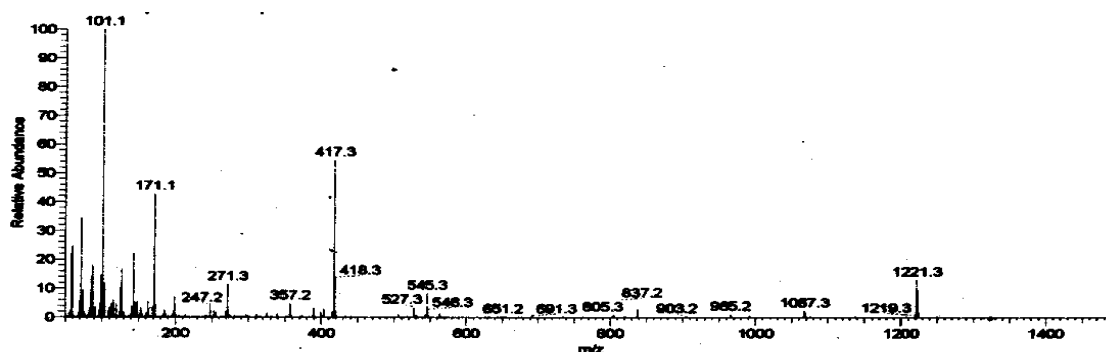


Figura 27. Espectro de masas FAB (modo negativo) de la estoloniferina IX.

Para la pescapreína XIX, se observó el fragmento A (m/z 1165) que corresponde a la pérdida del residuo de isobutanoilo con una diferencia de 70 daltons con respecto al peso del ion pseudomolecular $[M-1]$ de m/z 1235 unidades. El fragmento D fue el que presentó la correlación con la pérdida de un residuo de n-dodecanoilo pues no se registró ningún fragmento correspondiente al pico B en el espectro de este compuesto. El fragmento D equivalente a una m/z 837 $[M - H - C_{12}H_{22}O - C_6H_{10}O_4 - C_4H_6O]^-$ que corresponde a una diferencia de 398 unidades con respecto al ion pseudomolecular $[M-1]$ de m/z 1235.

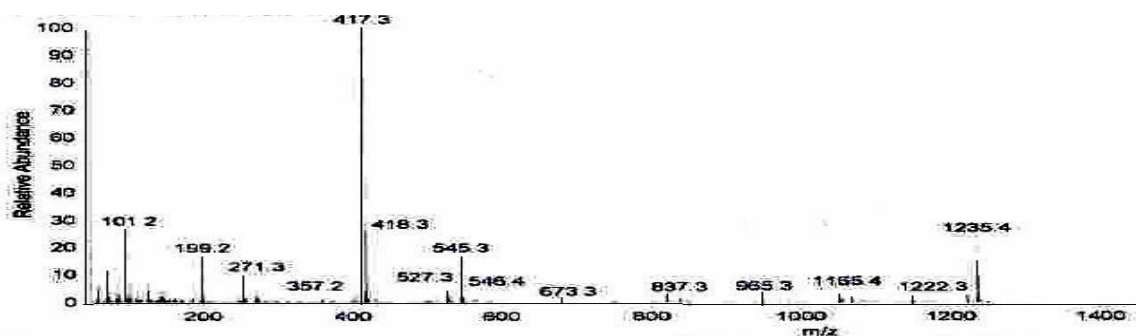


Figura 28. Espectro de masas FAB (modo negativo) de la pescapreína XIX.

Para la estoloniferina X, se observó el fragmento A (m/z 1165) que corresponde a la pérdida del residuo de 2-metilbutanoilo con una diferencia de 84 unidades con respecto del ion pseudomolecular $[M-1]$ de m/z 1249 unidades. El fragmento B (m/z 1067) corresponde a la pérdida del residuo de dodecanoilo con una diferencia de 182 unidades con respecto al peso de ion pseudomolecular $[M-1]$ de m/z 1249 unidades.

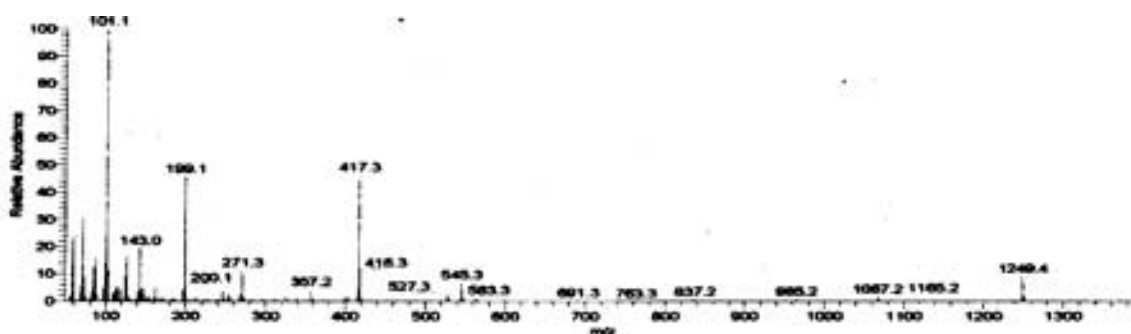


Figura 29. Espectro de masas FAB (modo negativo) de la estoloniferina X.

Para la pescapreína XX, el fragmento A de m/z 1165 corresponde a la pérdida del residuo de n-hexanoilo con una diferencia de 98 unidades con respecto del ion pseudomolecular $[M-1]$ de m/z 1263 unidades. El fragmento B de m/z 1081 corresponde a la pérdida del residuo de dodecanoilo con una diferencia de 182 unidades con respecto al peso de ion pseudomolecular $[M-1]$ de m/z 1263 unidades.

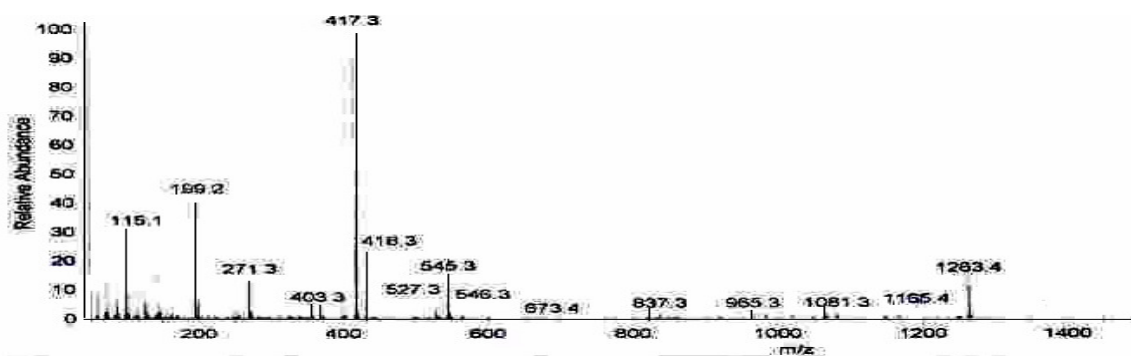


Figura 30. Espectro de masas FAB (modo negativo) de la pescapreína XX.

VII. CONCLUSIONES.

- Utilizando las técnicas de cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAE) se obtuvieron 2 lipopentasacáridos novedosos en la literatura, las pescapreínas XIX y XX, provenientes de las resinas glicosídicas solubles en cloroformo de *Ipomoea pes-caprae*, junto con las estoloniferinas IX y X que se identificaron por primera vez en esta especie y que representan constituyentes de estructura conocida y aislados previamente de *Ipomoea stolonifera*.
- Las técnicas analíticas desarrolladas para la purificación de los constituyentes individuales de la riñonina podrán ser utilizadas como protocolos analíticos para el desarrollo de técnicas instrumentales para el control de calidad de los preparados herbolarios que contengan este material vegetal.
- El empleo de las técnicas analíticas de alta resolución en la resonancia magnética nuclear (500 MHz) y la espectrometría de masas (FAB) permitieron la caracterización estructural de los compuestos novedosos y, de esta forma, se logró ampliar el conocimiento sobre la diversidad en la composición química de las resinas glicosídicas de la riñonina.
- Las pescapreínas XIX y XX así como las estoloniferinas IX y X presentaron como núcleo oligosacárido al ácido simónico B:
 11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)]-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)-*O*- β -D-fucopiranosido del ácido (11*S*)- hidroxihexadecanoico.
 Este núcleo oligosacárido también se encuentra presente en las fracciones insolubles en éter de las plantas *Ipomoea stolonifera*, *Ipomoea batatas*, *Ipomoea murucoides* e *Ipomoea pes-caprae*.

- Los residuos acilantes de los núcleos oligosacáridos se identificaron como el (2*S*)-metilbutanoilo, el *n*-hexanoilo, el isobutanoilo, el *n*-decanoilo y el *n*-dodecanoilo. Todos los compuestos aunque presentaron el mismo núcleo oligosacárido están esterificados por los distintos residuos ácidos en la posición 2 de la ramnosa interna inferior (Ram') y en la posición 4 de la ramnosa externa superior (Ram").
- El sitio de lactonización del núcleo oligosacárido por la aglicona se localizó en la posición C-2 en las pescapreínas XIX y XX y en las estoloniferinas IX y X.
- Las pescapreínas XIX y XX no han sido descritas y la principal diferencia estructural con respecto a las simoninas III a V es el residuo de dodecanoilo en la posición 4 de la ramnosa externa superior. Además, las pescapreínas aisladas son diastereoisómeros de las pescapreínas II y IV, ya que en éstas últimas el éster macrocíclico se establece en la posición 3 de la unidad sacárida de ramnosa interna superior (ver Figura 25), mientras que en las pescapreínas XIX y XX se localiza en la posición 2 de esta misma unidad. Estos compuestos tienen la misma fórmula molecular y sus espectros de masas son idénticos. Difieren sus valores para las constantes físicas (punto de fusión y rotación óptica), así como en los espectros de resonancia magnética nuclear, en donde, gracias al experimento HMBC se estableció la posición de lactonización.

- De acuerdo con la información espectroscópica y espectrométrica analizada se propusieron las siguientes estructuras para las pescapreínas XIX y XX, así como las estructuras ya conocidas de las estoloniferinas IX y X.

Pescapreína XIX: Éster intramolecular 1,2"-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[4-*O*-isobutanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)]-*O*-{2-*O*-*n*-dodecanoil}- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.

Pescapreína XX: Éster intramolecular 1,2"-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[4-*O*-*n*-hexanoil]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)]-*O*-{2-*O*-*n*-dodecanoil}- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.

Estoloniferina IX: Éster intramolecular 1,2"-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[4-*O*-(2*S*)-2-metilbutiril]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)]-*O*-{2-*O*-*n*-decanoil}- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.

Estoloniferina X: Éster intramolecular 1,2"-11-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[4-*O*-(2*S*)-2-metilbutiril]- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)]-*O*-{2-*O*-*n*-dodecanoil}- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fucopiranosido del ácido (11*S*)-hidroxihexadecanoico.

VIII. BIBLIOGRAFÍA.

- Agrawal, P.K. NMR Spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides. *Phytochemistry*, 1992, 31, 3307-3330.
- Agrawal, P.K. y Pathak, K.A. Nuclear Magnetic Resonances Spectroscopy Approach for the Determination of Interglycosidic Linkage and Sequence in Oligosaccharides. *Phytochemical Analysis*, 1996, 7, 113-130.
- Amor-Prats, D. y Harbones, J.B. Allelochemical effects on ergoline alkaloids from *Ipomoea parasitica* on *Heliothis virescens*. *Chemoecology*, 1993, 4, 55-61.
- Anaya, A.L., Calera, M.R., Mata, R y Pereda-Miranda, R. Allelopathic potencial of compounds isolated from *Ipomoea tricolor* Cav (Convolvulaceae) *Journal of Chemical Ecology*, 1990, 16, 2145-2152.
- Argueta A. Atlas de Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Instituto Nacional Indigenista. Biblioteca de la Medicina Tradicional Mexicana. México, 1994.
- Bah, M., Pereda-Miranda, R. Detailed FAB-mass spectrometry and high resolution NMR investigations of tricolorins A-E, individual oligosaccharides from the resins of *Ipomoea tricolor* (Convolvulaceae). *Tetrahedron*, 1996, 52, 13063-13080.
- Bah, M., Pereda-Miranda, R. Isolation and structural characterization of new glycolipid ester type dimers from the resin of *Ipomoea tricolor* (Convolvulaceae). *Tetrahedron*, 1997, 53, 9007-9022.
- Bah, M.. Aplicación de la resonancia magnética nuclear y la espectrometría de masas (FAB) de alta resolución en la elucidación estructural de las tricolorinas A-J, oligosacáridos aislados de las resinas de *Ipomoea tricolor* (Convolvulaceae). Tesis Doctoral, Facultad de Química, UNAM, México, 1997, 292.
- Bah, M., Chérigo, L, Cardoso, A. T., Fragoso-Serrano, M, Hammond, G. B. y Pereda-Miranda, R. Intrapilosins I-VII, pentasaccharides from the Seeds of *Ipomoea intrapilosa*. *J. Nat. Prod.*, 2007, 70 (7), 1153-1157.
- Baldwin, M.A. Modern Mass. Spectrometry in Biorganic Analysis. *Natural Products Reports*, 1995, 34-44.
- Barnes, C.C., Smalley, M.K., Manfredi, K.P. Kindscher, K., Loring H. Sheeley, D.F. Characterization of an anti-tuberculosis Resin Glycoside from

- the Prairie Medicinal Plant *Ipomoea leptophylla*. J. Nat. Prod., 2003, 66, 1457-1462.
- Bieber, L.W., Dasilva Filho, A.A., Correa-Lima, R.M. O., De Andrade-Chiappeta, A., Carnero Do Nascimento, S., De Souza, I. A., De Mello, J.F. y Jurgen-Veith, H. Anticancer and Antimicrobial Glycosides from *Ipomoea bahiensis*. Phytochemistry, 1986, 25, 1077-1081.
 - Bidlingmyer, B. A. Practical HPLC Methodology and applications. John Wiley, Nueva York, 1992, 269-283.
 - Blanken, W.M., Bergh, M.L., Koppen, P. L. y Eijnden, D. H. High pressure liquid chromatography of neutral oligosaccharides: effects of structural parameters. Analytical Biochemistry, 1985, 145, 322-330.
 - Boersma, A., Lamblin, G., Degand, P. Roussel, P. Separation of a complex mixture of oligosaccharides by HPLC on bonded-primary amine packing using a linear gradient solvent system. Carbohydrate Research, 1981, 94, C7-C9.
 - Botz, I., Hahn, E. y Szabo, L.G. Botanical identification of *Ipomoea tricolor* Cav. Seed samples from Hungary and layer chromatography examination of their hallucinogen ergot alkaloids. Acta Bot Hung, 1990-1991, 36, 229-243.
 - Bruneton, J. Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes Medicinales, Technique et documentation-Lavoisier, Paris, 1993, 156-157.
 - Castelli, M. V., Cortés, J. C. G., Escalante, A., Bah, M., Pereda-Miranda, R., Ribas, J. C., y Zacchino, S. A. In vitro inhibition of (1-3)- β -Glucan Synthasa by glycoresins from Convolvulaceous Plants. Planta Médica, 2002, 68, 739-742.
 - Contreras C. M., Chacón, L. y Enriquez, R.G. Anticonvulsant properties of *Ipomoea stans*. Phytomedicine, 1996, 3, 41-44.
 - Costello, C. E. Time, life... and mass spectrometry. New techniques to address biological questions. Biophysical Chemistry, 1997, 68, 173-188.
 - Chao, J. M. y DerMarderosian, A. H. Identification of the ergoline alkaloids in the genus *Argyreia* and related genera and their chemotaxonomic implication in the Convolvulacea. Phytochemistry, 1973, 12, 2435-2440.
 - Chaplin, M.F. y Kennedy, J. F. Carbohydrate Analysis. A practical approach. IRL Press limited. Oxford, 1986, 1-53.

- Chérigo, L. y Pereda-Miranda, R. Resin Glycosides from the Flowers of *Ipomoea murucoides*. J. Nat. Prod., 2006, 69, 595-599.
- Chérigo, L., Pereda-Miranda P., Fragoso-Serrano M., et al. Inhibitors of Bacterial Multidrug Efflux Pumps from the Resing Glycosides of *Ipomoea murucoides*. J. Nat. Prod., 2008, 71, 1037-1045.
- De Souza, M.M., Madeira, A., Berti, C., Krogh, R., Yunes, R. A., y Cechinel-Filho, V. Anticonceptive properties of the methanolic extract obtained from *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. Journal of Ethnopharmacology, 2000, 69, 85-90.
- Devall, M.S. The biological flora of coastal dunes and wetlands.2 *Ipomoea pes-caprae* (L) Roth. Journal of Coastal Research, 1992, 8 (2), 442-456.
- Díaz, J. L. Índice y Sinonimia de las Plantas Medicinales de México. Monografías Científicas I y II. Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales A.C. IME PLAM. México, 1976.
- Du, X., Kohinata, K., Kawasaki, T., Guo, Y. T. y Miyahara, K. Components of the ether-insoluble resin glycoside like fraction from *Cuscuta chinensis*. Phytochemistry, 1998, 48, 843-850.
- Duus, J., Gottfredsen, Ch. H. y Bock, K. Carbohydrate Structural Determination by NMR Spectroscopy: Modern Methods and Limitations. Chem. Rev., 2000, 100, 4589-4614.
- Enriquez, R. G., León, U. I., Pérez, F., Carpenter, K.A., Puzzoli, F. V., y Reynolds, W. L. Characterization by two dimensional NMR spectroscopy of a complex tetrasaccharide glycoside isolated from *Ipomoea stans*. Canadian Journal of Chemistry, 1992, 70, 1000-1008.
- Escalante Sánchez, E. Caracterización de la composición química de las resinas glicosídicas de tres remedios herbolarios purgantes del género *Ipomoea* (Convolvulaceae). Tesis Doctoral. Facultad de Química, UNAM. México, 2007.
- Escalante-Sánchez E., Pereda-Miranda, R. Batatins I y II, Ester-Type Dimers of Acylated Pentasaccharides from the Resin Glycosides of Sweet Potato. J. Nat. Prod., 2007, 70, 1029-1034.
- Escalante-Sánchez E., Rosas-Ramírez, D. y Pereda-Miranda, R. Batatinosides II–VI, Acylated Lipooligosaccharides from the Resin Glycosides of Sweet Potato. J. Agric. Food Chem., 2008, 56 (20), 9423–9428.

- Escobedo Martínez, C. Resinas Glicosídicas de la Planta Medicinal *Ipomoea pes-caprae*. Tesis de Doctoral. Facultad de Química, UNAM. México, 2007.
- Escobedo-Martínez, C. y Pereda-Miranda, R. Resin Glycosides from *Ipomoea pes-caprae*. J. Nat. Prod. 2007, 70 (6), 974 -978.
- Henric, A., Kaloga, M. y Eich, E. Jacpaniculines, the first lignanamidea alkaloids from the Convolvulaceae. Phytochemistry, 1994, 37, 1637.
- Hernández-Carlos, B., Bye, R. y Pereda-Miranda, R. Orizabins V –VIII, Tetrasaccharide Glycolipids from the Mexican Scammony Root (*Ipomoea orizabensis*). J. Nat. Prod., 1999, 62, 1096-1100.
- Hostettmann, K., Hostettmann, M. y Marson, A. Preparative Chromatography techniques. Applications in Natural Products Isolation. Springer-Verlag, Berlín, 1986, 37-40.
- Hueza, I. M., Fonseca, E.S. M., Paulino C. A., Haraguchi, M., y Górnaiak, S. L. Evaluation of immunomodulatory activity of *Ipomoea carnea* on peritoneal cell of rats. Journal of Ethnopharmacology, 2003, 87, 181-186.
- Jenett-Siems, K., Kaloga, M. y Eich, E. Ipangulines, the first pyrrolizidine alkaloids from the Convolvulaceae. Phytochemistry, 1993, 34, 437-440.
- Khan, M. M., Ahmad, F., Rasgogi, A.K., Kidwai, J.R. Insulinogenic and hypoglycemic activities of *Ipomoea pes-caprae*. Fitoterapia, 1994, 65, 231-234.
- Kubo, I. y Nakatsu, R. Recent examples of preparative-scale recycling high performance liquid chromatography in natural products chemistry. LC-CG, 1990, 8, 933-939.
- Lara, F. y Márquez, C. Plantas Medicinales de México. Composición, usos y actividad biológica. UNAM. México, 1996.
- Lara, F., Márquez, C., Esquivel, B. y Mata, R. Plantas Medicinales de México II. UNAM. México, 1999.
- León, I., Enriquez, R. G., Dino, G., Villarreal, N. L., Alonso, D., Reynolds, W. F. y Yu, M. Isolation and Characterization of Five New Tetrasaccharide Glycosides from the Roots of *Ipomoea stans* and their cytotoxic activity. J. Nat. Prod., 2004, 67, 1552-1556.

- León, I., Enriquez, R. G., Nieto, D. A., Alonso, D., Reynolds, W. F., Aranda, E. y Villa J. Penthasaccharide Glycosides from the Roots of *Ipomoea murucoides*. J. Nat. Prod., 2005, 68, 1141-1146.
- León, I. Mirón, G. y Alonso, D. Characterization of pentasaccharide glycosides from the Roots of *Ipomoea arborescens*. J. Nat. Prod., 2006, 69, 896-902.
- Lorenzi, H., Abreu Matos, F. J. Plantas medicinales no Brasil Nativas e Exóticas. Instituto Plantarum de Estudos da flora Ltda. Sao Paulo, 2002, 182.
- Mannich, C. y Schumann, P. Jalap Resins and its principal constituent, convolvulin. Archiv der Pharmazie, 1938, 276, 211-226.
- Matuda, E. El género *Ipomoea* en México. An. Inst. Biol. México, 1965. Vol. 36, 85-106.
- Martínez, M. Las plantas medicinales de México. Ediciones Botas. México, 1989.
- McDonnald, A. Origin and diversity of Mexican Convolvulaceae. Anales Inst. Bio. Univ. Nac. Autón. México. Sec. Bot., 1991, 62 (1), 65-82.
- Nikolov, Z. L., Meagher, M. M. y Reilly, P. J. High performance liquid chromatography of disaccharides on amine-bonded silica columns. Journal of Chromatography, 1985, 319, 51-57.
- Noda, N., Yoda, S., Kawasaki, T. y Miyahara, K. Resin Glycosides XV. Simonins I-V. Ether-Soluble resin Glycosides (Jalapins) from the roots fo *Ipomoea batatas* (cv. Simon). Chem. Pharm. Bull., 1992a, 40, 3163-3168.
- Noda, N., Takahashi, T., Kawasaki, T., Miyahara, K. y Yang, C.R. Stoloniferins I-VII, Resin glycosides from *Ipomoea stolonifera*. Phytochemistry, 1994a, 36, 365-371.
- Noda, N., Takahashi, T., Miyahara, K. y Yang, CR. Stoloniferins VII-XII. Resin Glycosides, from *Ipomoea stolonifera*. Phytochemistry, 1998, 48, 837-841.
- Ono, M., Kubo, K., Miyahara, K. y Kawasaki, T. Operculin I y II, new ether soluble resin glycosides ("Jalapin") with fatty acid ester groups from rhizoma jalapae braziliensis (Roots of *Ipomoea operculata*). Chem. Pharm. Bull., 1989a, 37, 241-244.

- Ono, M., Kawasaki, T. y Miyahara, K. Resin Glycosides V. Identification and Characterization of the Component Organic and Glycosidic Acids of the Ether-Soluble Crude Resin Glycosides ("Jalapin") from Rhizoma Jalapae Braziliensis (Roots of *Ipomoea operculata*). Chem. Pharm. Bull., 1989b, 37, 3209-3213.
- Ono, M., Fukunaga, T., Kawasaki, T. y Miyahara, K. Four New Glycosides Acids, Operculinic Acids D, E, F y G, of the Ether-Soluble Crude Resin Glycosides ("Jalapin") from Rhizoma Jalapae Braziliensis (Roots of *Ipomoea operculata*). Chem. Pharm. Bull., 1990a, 38 (10), 2650-2655.
- Ono, M., Noda, N., Kawasaki, T. y Miyahara, K. Resin Glycosides VII. Reinvestigation of the Component Organic and Glycosidic Acids of Pharbitin, the crude Ether-Soluble Resin Glycoside ("Convolvulin") from *Pharbitis semen* (Seeds of *Pharbitis nil*). Chem. Pharm. Bull., 1990b, 38 (7), 1892-2897.
- Ono, M., Kawasaki, T. y Miyahara, K. Resin Glycosides IX. Operculins I, II, V, VII and VIII. New ether-soluble resin glycosides of Rhizoma Jalapae Braziliensis (Roots of *Ipomoea operculata*). Chem. Pharm. Bull., 1990c, 38, 2986-2991.
- Ono, M., Kawasaki, T. y Miyahara, K. Resin Glycosides XI. Operculins II, IV, IX, X, XVI, XVII and XVIII. New ether-soluble resin glycosides ("Jalapin") of Rhizoma Jalapae Braziliensis (Roots of *Ipomoea operculata*). Chem. Pharm. Bull., 1991, 39, 2534-2539.
- Ono, M., Fujimoto, K., Kawata, T., Fukunawa, T., Kawasaki, T. y Miyahara, K. Resin Glycosides XII. Operculins VI, XI, XII, XIII y XIV y XV, Ether-Soluble Resin Glycosides (Jalapin) from Rhizoma Jalapae Braziliensis (Roots of *Ipomoea operculata*). Chem. Pharm. Bull., 1992a, 40, 1400-1403.
- Ono, M., Kuwabata, K., Kawasaki, T y Miyahara, K. Resin Glycosides XVI. Quamoclins I-IV, new ether-soluble. Resin Glycosides (Jalapin) from the seeds of *Quamoclit pennata*. Chem. Pharm. Bull., 1992b, 40, 2674-2680.
- Osuna, L., Ponces-Monter, H., Campos, G. M., Rojas, J. y Meckes, M. Effect of *Ipomoea intrapilosa* methanol extract on the serotonergic response in rat uterus. Phytotherapy Research, 1996, 10, 257-259.
- Pereda-Miranda, R. Bioactive Natural Products from traditionally used Mexican Plants. J.T. Arnason (ed). Phytochemistry of Medicinal Plants. Plenum Press. New York, 1994, 83-112.

- Pereda-Miranda R., Fragoso-Serrano M., Escalante-Sánchez E., Hernández-Carlos B., Linares E., Bye R. Profiling of the resin glycoside content of Mexican Jalap Roots with Purgative Activity. *J. Nat. Prod.*, 2006, 69, 1460-1466.
- Pereda-Miranda, R. Bioactive Natural Products from traditionally used Mexican Plants. En J.T.Arnason (Ed). *Phytochemistry of Medicinal Plants*. Plenum Press, New York, 1995, 83-112.
- Pereda-Miranda, R., Hernández-Carlos, B. HPLC isolation and structural elucidation of diastereoisomeric niloyl ester tetrasaccharides from the Mexican scammony root. *Tetrahedron*, 2002, 58, 1460-1466.
- Pereda-Miranda, Kaatz, G. W. Gibbons, S. Polyacilated Oligosaccharides from Medicinal Mexican morning glory species as antibacterials and inhibitors of multidrug resistance in *Staphylococcus aureus*. *J. Nat. Prod.*, 2006a, 69, 406-466.
- Pereda-Miranda, R., Bah, M. Biodynamic constituents in the Mexican morning glories: purgative remedies transcending boundaries. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2003, 3, 111-131.
- Pereda-Miranda R., Fragoso-Serrano M., Escalante-Sánchez E. y Escobedo-Martínez C. Characterization of Lipophilic Pentasaccharides from Beach Morning Glory (*Ipomoea pes-caprae*). *J. Nat. Prod.*, 2005, 68, 226-239.
- Perez-Amador, N.C., Amor, D., y Murguía, G. *Phyton*, 1992, 53, 1-4.
- Perusquía, M., Mendoza, S., Bye, R., Linares, E. y Mata, R. Vasoactive effects of aqueous extract from five Mexican medicinal plants on isolated rat aorta. *Journal of Ethnopharmacology*, 1995, 46, 63-69.
- Pongprayoon, U., Bohlin, L., Sandbert, F. Inhibitory effect of extract of *Ipomoea pes-caprae* on guinea-pig ileum smooth muscle. *Acta Pharm. Nordica*, 1989, 1, 41-44.
- Pongprayoon, U., Baeckström, P., Jacobsson, U., Lindström, M., Bohlin, L. Compounds inhibiting prostaglandin synthesis isolated from *Ipomoea pes-caprae*. *Planta Medica*, 1991a, 57, 516-518.
- Pongprayoon, U., Baeckström, P., Jacobsson, U., Lindström, M., Bohlin, L. Antispasmodic activity of beta-damascedone and E-phytol isolated from *Ipomoea pes-caprae*. *Planta Medica*, 1992a, 58, 19-21.

- Pongprayoon, U., Baeckström, P., Jacobsson, U., Lindström, M., Bohlin, L. Inhibition of ethyl phenyl-propiolate-induced rat ear oedema by compounds isolated from *Ipomoea pes-caprae*. *Phytother. Res.*, 1992b, 6, 104-107.
- Rencurosi, A., Mitchell, E.P., Cioci, G., Pérez, S., Pereda-Miranda, R., Imberty, A. Crystal structure of tricolorin A: molecular rationale for the biological properties of plant resin glycosides found in some Mexican Herbal Remedies. *Angewandte Chemie International*, 43, 2004, 5918-5922.
- Reynolds, W.F. y Enriquez, R.G. Isolation and characterization of citotoxic and antimicrobial glycosides from *Ipomoea stans*. *J. Nat. Prod.*, 1995, 58, 1730-1734.
- Roig y Mesa, J. T. Plantas medicinales aromáticas venenosas de Cuba. Ed. Instituto del Libro. La Habana, 1974, 223-224.
- Sarin, J.P.S., Hari, G.S., Nandu, K.M. y Dhar, M. M. Ipolearósido: A new glycoside from *Ipomoea leari*, with anti-cancer activity. *Phytochemistry*. 1973, 12, 2461-2468.
- Schimming, T., Tofern, B., Mann, P., Richter, A., Jenett-Siems, K., Dräger, B., Asno, N., Gupta, P., Correa, D. M. y Eich, E. Distribution and Taxonomic significance of Calystegines in the Convolvulaceae. *Phytochemistry*, 1998, 49, 1989-1995.
- Srivastava, R. y Kassum, S. Structure of pescaproside E. A fatty acid glycoside from *Ipomoea pes-caprae*. *Carbohydrate Research*, 1991, 212, 169-176.
- Stauffacher, D., Tschertter, H. y Hofmann. Isolierung von Ergosin and Ergosinin neben Agroclavin aus den Samen von *Ipomoea argyrophylla* VATKE (Convolvulaceae). *Hel. Chim. Acta.*, 1965, 48, 1379-1380.
- Sugandhika, T., Malinie, S. M. D. y Kamsz, E. R. Oral hypoglycemic activity of *Ipomoea aquatica*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, 72, 293-298.
- Hongwen, T., Xiaojiang, H., Jinggen, L., Jian, D., Yuchun, F., Qianqun, G. y Weiming, Z. Resin Glycoside Constituents of *Ipomoea pes-caprae* (Beach Morning Glory). *J. Nat. Prod.*, 2008, en prensa.
- Trease, G. E. y Evans, W. C. *Pharmacognosy*. 15th edition. WB Saunders, USA, 2002.
- Wagner, H. The chemistry of resin glycosides of the convolvulaceae family. *Nobel Symposium*, 1973, 25, 235-240.

- Wolfender, J. L., Maillard, M., Marston, A. y Hostettmann, K. Mass Spectrometry of Underivatized Naturally Occurring Glycosides. *Phytochemical Analysis*, 1992, 3, 193-214.
- Yang, M. T., Milligan, L. P. y Mathison, G. W. Improved sugar separation by high performance liquid chromatography using porous microparticle carbohydrate columns. *Journal of Chromatography*, 1981, 209, 316-322.
- Yongqin Y., Yi L., Lingyi K. Pentasaccharide Glycosides from the Tubers of Sweet Potato (*Ipomoea batatas*). *J. Agric. Food Chem.*, 2008, 56 (7), 2363–2368.