



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

# PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS

Informe de trabajo

Aislamiento y caracterización de flavonoides, esteroles y otros constituyentes de  
*Senna occidentalis* (Leguminosae) y *Croton alamosanus* (Euphorbiaceae)

PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
**MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA

BLANCA MIRIAM REYES GARCÍA



TUTOR Dr. GUILLERMO DELGADO LAMAS AÑO 2006



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

Introducción.....	1
Antecedentes.....	2
Objetivo General.....	3
Referencias.....	15

## 1. Introducción

El aislamiento e identificación estructural de los principios activos de las plantas inició a principios del siglo XIX con el descubrimiento de la quinina a partir de la corteza del árbol *Cinchona officinalis*, que se empleó para el tratamiento de la malaria [1], y a partir de entonces se han caracterizado varios cientos de miles de productos naturales.

El avance en los procedimientos de purificación, elucidación estructural y la implementación de bioensayos específicos, han favorecido el descubrimiento de metabolitos secundarios bioactivos. Entre los hallazgos recientes se puede mencionar al taxol, un producto natural que se emplea en el tratamiento del cáncer que se aísla de la corteza del árbol *Taxus brevifolia* [2].

Es interesante notar que más del 60% de los fármacos anticancerígenos aprobados o en fase de aprobación en el período comprendido de 1983 a 1995 son de origen natural [3]. Por tal motivo, es previsible que la búsqueda de metabolitos bioactivos provenientes de fuentes naturales tales como plantas, microorganismos y organismos marinos, continúe como un campo de intensa actividad, ya que numerosos compuestos han sido la base para la elaboración de fármacos que se emplean actualmente para el tratamiento de diferentes padecimientos que se presentan a nivel mundial.

Es importante notar la relevancia del aislamiento y caracterización estructural de los metabolitos secundarios presentes en la naturaleza, ya que estos constituyen una herramienta fundamental para el entendimiento de las interacciones entre los organismos vivos y su evolución. Así mismo, las estructuras de los productos naturales marcan a grupos relacionados taxonómicamente y permiten definir relaciones filo- y biogenéticas. Finalmente, el estudio de los metabolitos secundarios permite el descubrimiento de sustancias bioactivas de interés terapéutico [4].

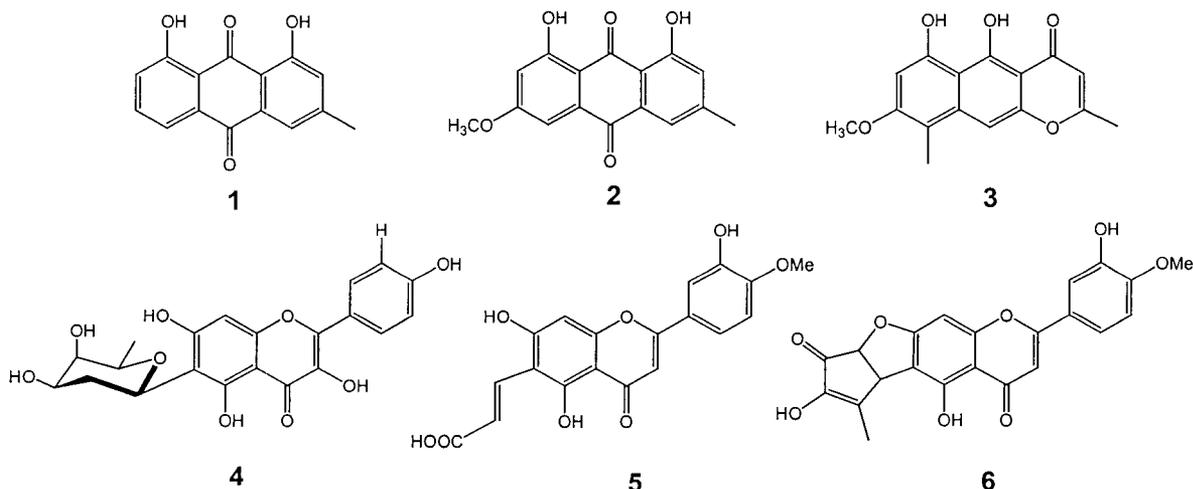
Este trabajo se refiere al análisis químico de dos especies vegetales: *Senna occidentalis* y *Croton alamosanus* que pertenecen a la familia Leguminosae y Euphorbiaceae respectivamente, y pretende contribuir a la generación de conocimiento sobre los constituyentes químicos de la flora de nuestro país.

## 2. Antecedentes

La familia Leguminosae (sinónimo: Fabaceae) ocupa el tercer lugar por número de especies de plantas con flores, y comprende alrededor de 650 géneros y aproximadamente 18000 especies. Puede considerarse una de las familias más importantes desde el punto de vista económico [5]. Las especies de esta familia biosintetizan compuestos que presentan una amplia variedad de propiedades biológicas tales como: antiinflamatoria [6], antimalárica [7], para el tratamiento de la gota [8], como antioxidante [9], entre otras.

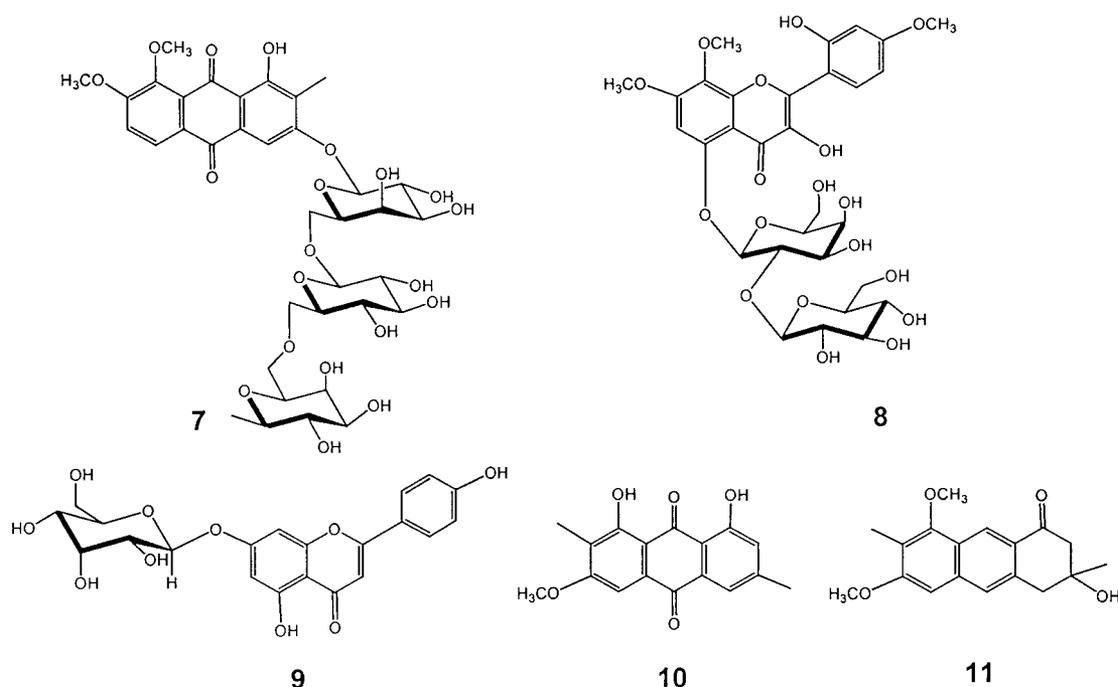
El género *Senna* (*Cassia*) pertenece a esta familia y comprende alrededor de 350 especies 80% de las cuales se distribuyen en el Continente Americano y el 20% restante se localizan en África, Madagascar y Australia [10]. Las hojas y semillas de algunas especies de este género se emplean como purgantes y laxantes, y se conoce que a las 1,8-dihidroxi-antraquinonas y particularmente a sus derivados se les atribuyen actividades purgantes [11]. También se ha reportado que las antraquinonas pueden inhibir la agregación de las plaquetas [12].

Se han aislado y caracterizado numerosos metabolitos secundarios a partir de varias decenas de diferentes especies de *Senna*, y a continuación se describen algunos de ellos. De las raíces de *S. rugosa* [13], se han aislado compuestos tales como crisofanol (1), fisciona (2), quinquangulina (3) entre otros. La torosoflavonas A (4), C (5) y D (6) se han aislado de las hojas de *S. torosa* [14,15].



*S. occidentalis* (sinónimo: *Cassia occidentalis*) se ha empleado en la medicina tradicional para reducir la fiebre, como tónico para el hígado, como diurético, para úlceras de los ojos, enfermedades cutáneas, en picaduras de víboras, en el tratamiento de niños que presentan convulsiones [16], entre otras aplicaciones.

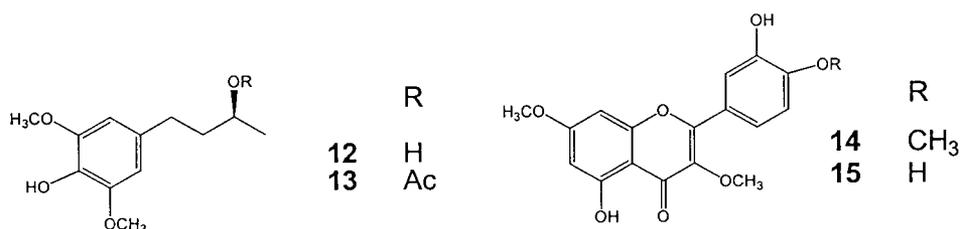
De las diferentes partes de esta planta se han aislado varios compuestos aromáticos. Por ejemplo, de las hojas se han obtenido antraquinonas y flavonoides glicosilados como **7**, **8** y **9** [16,17]. De las semillas se obtuvieron 7-metilfisciona (**10**) y 7-metiltorosacrisona (**11**), entre otros constituyentes [18].



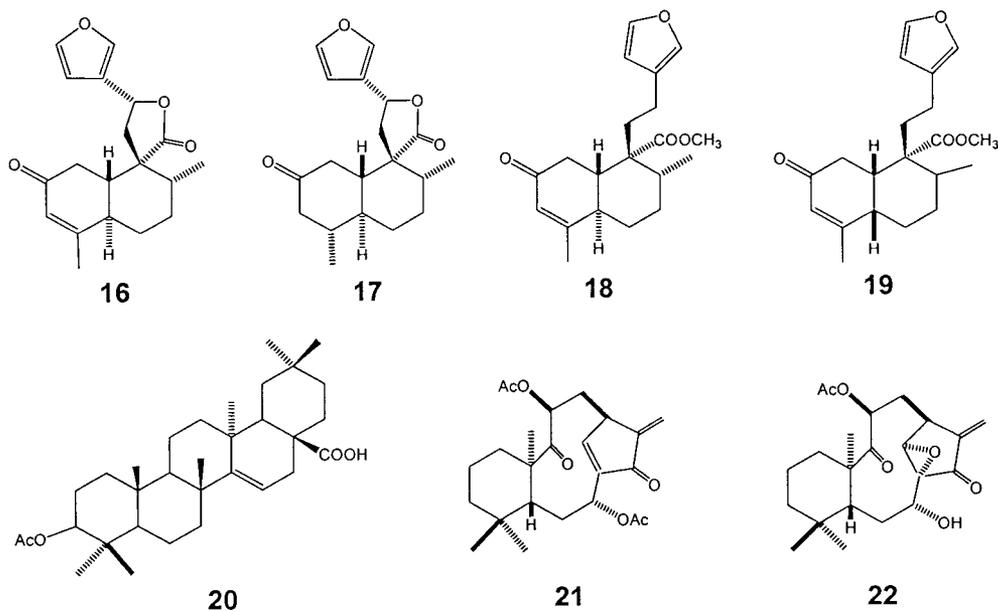
Por otro lado, la familia Euphorbiaceae es una de las más grandes en el mundo y ocupa el sexto lugar en diversidad. Consta de 5 subfamilias (Phyllanthoideae, Oldfieldioideae, Acalyphoideae, Crotonoideae y Euphorbioideae), 49 tribus, 317 géneros y 8100 especies distribuidas en todo el orbe, representadas en zonas tropicales y subtropicales [19]. Dentro de la subfamilia Crotonoideae, se encuentra el género *Croton* que incluye aproximadamente a 1300 especies distribuidas en todo el mundo [20]. En México se han descrito 124 especies de *Croton* [21].

Algunas especies de este género se han empleado en la medicina tradicional. Por ejemplo, *C. ciliato-glandulosus* se emplea para disminuir la temperatura y como purgante; *C. cortesianus* para el tratamiento de enfermedades de la piel y *C. repens* para tratar la disentería [22]. Ciertas especies se han usado para el tratamiento del asma, como anticancerígeno, como insecticidas y para el tratamiento de la diabetes, dermatitis y malaria, entre otros usos [23]. A continuación se describen algunos metabolitos secundarios aislados de algunas especies de *Croton*.

De las partes aéreas de *C. schiedeana* (planta usada para el tratamiento de la hipertensión) se aislaron dos fenilbutanoides: **12**, **13** [24], y dos flavonoles: el éter 3,4',7-trimetílico de la quercetina (ayanina) (**14**) y el éter 3,7-dimetílico de la quercetina (flavonoide que ha mostrado efectos vasorelajantes) (**15**) [25].



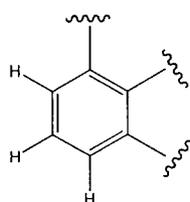
De la corteza de la planta *C. cajuara* se han obtenido compuestos del tipo clerodano como *trans*-deshidroacrotina (**16**), *trans*-acrotina (**17**), *trans*-cajuarina B (**18**), *cis*-cajuarina B (**19**) y el ácido acetil aleurítico (**20**). Es conocido que los compuestos **16** y **18** muestran actividad anti-inflamatoria, anticonceptiva, hipoglicémica, antitumoral, anti-estrogénica, antiespasmolítica y antiulcerosa [26]. De las hojas de la planta de *C. kongensis*, se han obtenido seco-*ent*-kauranos como los metabolitos **21** y **22**. Cabe mencionar que estos compuestos presentan actividad antimicrobiana, citotóxica y antimalárica [27].



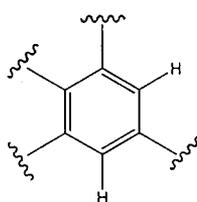


El compuesto **1** se aisló como un sólido anaranjado pf 198-200 °C. En el espectro de masas se observa el ión molecular  $M^+$   $m/z$  254 (int. rel. 100) que define a la fórmula  $C_{15}H_{10}O_4$ . En el espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz,  $CDCl_3$ ) se observan dos señales simples alrededor de  $\delta$  12.00 lo cual sugiere la presencia de dos hidrógenos fenólicos quelatados.

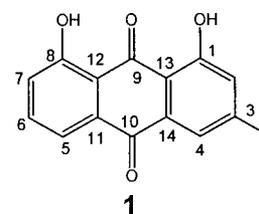
En la región de aromáticos se observa un sistema ABC de acuerdo a las señales en  $\delta$  7.83 (dd,  $J = 8.0, 1.5$ ),  $\delta$  6.67 (t,  $J = 8.0$ ) y  $\delta$  7.29 (dd,  $J = 8.0, 1.5$ ) que podrían atribuirse al fragmento 1. Por otro lado, se observa un sistema AM para las señales en  $\delta$  7.10 (da,  $J = 1.0$ ) y  $\delta$  7.65 (d,  $J = 1.0$ ) para el fragmento 2.



Fragmento 1.



Fragmento 2

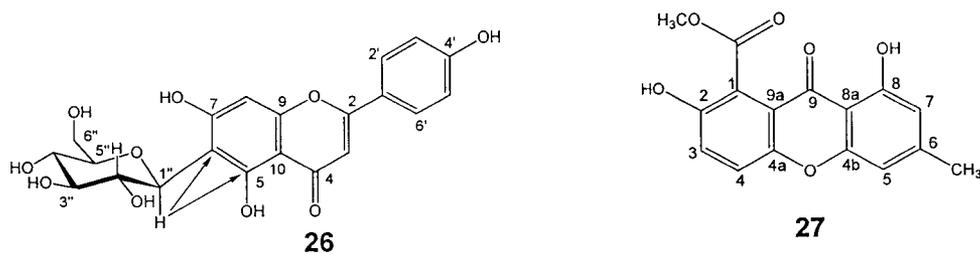


La combinación de los fragmentos estructurales 1 y 2 integran la fórmula **1**, que está de acuerdo con los datos descritos ABC = H-5, H-6, H-7 y AM = H-2 y H-4 y con la fórmula molecular. Finalmente, el singulete en  $\delta$  2.47 se asigna al metilo. El análisis de los datos espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C con los datos físicos informados en la literatura [31,32] confirmaron la estructura del crisofanol (**1**).

El compuesto **26** se aisló como un polvo amarillo soluble en metanol y a partir de 210°C se descompone. El espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO) muestra una señal en  $\delta$  13.52 probablemente de un hidrógeno que se encuentra formando un puente de hidrógeno. Dos señales dobles en  $\delta$  7.88 (d,  $J = 9.0$ ) y 6.90 (d,  $J = 9.0$ ) corresponden a un sistema bencenoide *para*-disustituído (AA'BB'), característico de hidrógenos aromáticos del anillo B de un flavonoide. El singulete en  $\delta$  6.70 correlaciona a larga distancia en la modalidad HMBC del espectro de resonancia con el carbono  $\delta$  121.0 y  $\delta$  102.6 que corresponde al hidrógeno H-3 del un flavonoide, y la señal simple en  $\delta$  6.43 (que correlaciona en HMBC con los carbonos cuaternarios en  $\delta$  156.3 y  $\delta$  102.6) se asigna al H-8 del flavonoide. En  $\delta$  4.58 aparece un doblete con  $J = 9.8$  característica de un hidrógeno anomérico de una C- $\beta$ -glucopiranososa, que se encuentra en disposición antiperiplanar con respecto al hidrógeno H-2" (d,  $J = 9.8$ ). Las correlaciones del hidrógeno anomérico H-1" con los carbonos C-5 ( $\delta$  160.5) y C-6 ( $\delta$  108.9) del anillo A de flavonoide (ver figura 1) a tres y dos enlaces de distancia, indican que se trata de un 6-C-glicósido. Entre  $\delta$  3.0 y  $\delta$  4.3 se observa una serie

de señales que corresponden a los hidrógenos de la glucopiranososa. Las asignaciones de las señales de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se muestran en la tabla 1. Los datos físicos y espectroscópicos concuerdan con los reportados en la literatura [33,34] para isovitexina (**26**).

El compuesto **27** se obtuvo como un sólido cristalino de color amarillo con *pf* 224-227 °C. En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) se observan las siguientes señales: un singulete en  $\delta$  12.20 que se asigna a un hidrógeno presumiblemente quelatado y en  $\delta$  7.30 una señal simple que corresponde al hidrógeno del grupo hidroxilo que correlaciona en HMBC a tres enlaces de distancia con el carbono cuaternario en  $\delta$  113.7 y con el metino en  $\delta$  125.4. Las dos señales dobles en  $\delta$  7.48 (d,  $J = 9.0$ ) y  $\delta$  7.36 (d,  $J = 9.0$ ) corresponden a un sistema AB; y en  $\delta$  6.74 (dd,  $J = 1.5, 0.5$ ) y  $\delta$  6.63 (dd,  $J = 1.5, 0.5$ ) resuenan los hidrógenos aromáticos para un sistema AM (ver fragmento 2). A campo alto ( $\delta$  2.43, s) se observa una señal simple para los hidrógenos de un metilo y en  $\delta$  4.00 un singulete de metoxilo. El espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) mostró 10 carbonos cuaternarios (dos corresponden a grupo carbonilo), 12 carbonos  $sp^2$  (cuatro se asignan a metinos aromáticos) y 2 carbonos  $sp^3$  (uno de ellos está unido a oxígeno). En el espectro de masas se observa el ión molecular  $M^+$   $m/z$  300 (int. rel. 31) que define a la fórmula  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6$ . Los fragmentos estructurales arriba mencionados así como la fórmula molecular, son consistentes con la estructura de la pinselina. La comparación de los datos físicos y espectroscópicos con los reportados en la literatura [35], confirmaron su identidad (**27**). En la tabla 2 se muestran los datos de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de **27**.



**figura 1.** Correlaciones selectas HMBC observadas para **26**

**Tabla 1.** Datos espectroscópicos de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) y RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO,  $J$  en Hz) de **26**

posición	<b>26</b>	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
2	165.0	
3	102.5	6.70 s
4	181.5	
5	160.5	
6	108.9	
7	163.1	
8	93.8	6.43 s
9	156.3	
10	102.6	
1'	121.0	
2'	128.2	7.88 d (8.7)
3'	115.9	6.90 d (8.7)
4'	161.2	
5'	115.9	6.90 d (8.7)
6'	128.2	7.88 d (8.7)
1''	73.2	4.58 d (9.8)
2''	70.5	4.06 t (9.8)
3''	78.9	3.16 t (9.0)
4''	70.2	3.12 t (9.0)
5''	81.3	3.15 traslapada
6''	61.4	3.67d (11.0) 3.40 dd (11.0, 5.0)

**Tabla 2.** Datos espectroscópicos de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) y  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $J$  en Hz) de **27**

posición	<b>27</b>	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
1	113.7	
2	152.3	
3	125.4	7.36 d (9.0)
4	122.3	7.48 d (9.0)
4a	150.8	
4b	155.6	
5	107.2	6.74 dd (1.5, 0.5)
6	148.8	
7	111.4	6.63 dd (1.5, 0.5)
8	161.2	
8a	107.2	
9	180.1	
9a	118.6	
COO	169.1	
OCH <sub>3</sub>	53.1	4.00 s
CH <sub>3</sub>	22.6	2.43 s
2-OH		7.30 s ancho
8-OH		12.20

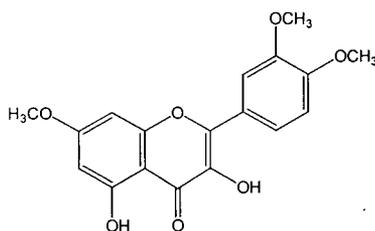
#### 4.2 Conclusiones

Este es el primer informe sobre los constituyentes químicos de *Senna occidentalis* colectada en nuestro país. Se considera que **1** y **27** son metabolitos característicos de las especies pertenecientes al género *Senna*, ya que la literatura científica de productos naturales reporta diferentes compuestos que presentan un esqueleto de tipo antraquinona y xantona. Estos compuestos forman parte de los pigmentos de las plantas que pertenecen a este género. **26** es un flavonoide C-glicosilado que no se había aislado y caracterizado previamente de esta especie vegetal. Se aislaron siete compuestos de esta especie.

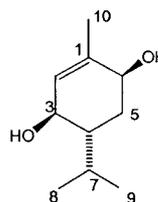
### 4.3 Estudio químico de *Croton alamosanus*

Se aisló el compuesto **28** como polvo amarillo. El trazo del espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) mostró características que sugerían la presencia de un flavonoide. La señal simple en  $\delta$  11.70 corresponde posiblemente al hidrógeno fenólico quelatado con el carbonilo de la  $\gamma$ -pirona. En  $\delta$  7.83 ( $J = 8.5, 2.0$ ) se presenta una señal doble de doble que pertenece al hidrógeno aromático H-6' que se acopla con las señales dobles en  $\delta$  7.78 ( $J = 2.0$ ) y en  $\delta$  7.00 ( $J = 8.7$ ) que definen la estructura del anillo B del flavonoide sustituido en 3' y 4'; y se asignan a los hidrógenos aromáticos H-2' y H-5', respectivamente. El singulete en  $\delta$  6.62 pertenece al hidrógeno del hidroxilo que se ubica en C-3. En  $\delta$  6.50 ( $J = 2.0$ ) resuena el hidrógeno aromático H-8 y en  $\delta$  6.39 ( $J = 2.0$ ) el hidrógeno H-6 que se presentan como señales dobles. Finalmente los singuletes en  $\delta$  3.89,  $\delta$  3.97 y  $\delta$  3.99 se asignan a los hidrógenos de los metoxilos que se ubican en los carbonos C-7, C-4' y C-3' respectivamente. Los datos espectroscópicos concuerdan con los reportados en la literatura [36] para 3,5-dihidroxi-7,3',5'-trimetoxiflavona (**28**).

El compuesto **29** se obtuvo como un sólido cristalino en forma de agujas solubles en metanol con pf 164-165°C. En el espectro de hidrógeno (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) se observa un singulete ancho en  $\delta$  5.46 que es asignable para el hidrógeno vinílico H-2 y en  $\delta$  3.91 resuena una señal simple ancha que corresponde al hidrógeno H-6. El doblete ancho en  $\delta$  3.83 ( $J = 9.0$ ) es asignable para H-3. En  $\delta$  2.11 resuena el hidrógeno H-7 que se presenta como una señal múltiple. El singulete ancho en  $\delta$  1.76 pertenece a los hidrógenos del grupo metilo que se ubica en C-1. En  $\delta$  1.58 y en  $\delta$  1.37 se observan dos multipletes para los hidrógenos H-4 y H-5, respectivamente. El doblete en  $\delta$  0.96 ( $J = 7.0$ ) se asigna al metilo C-8 y en  $\delta$  0.81 ( $J = 7.0$ ) para el metilo C-9 que forman parte del grupo isopropilo. Los datos espectroscópicos se compararon con los de la literatura [37] y confirmaron la identidad de **29**.



**28**

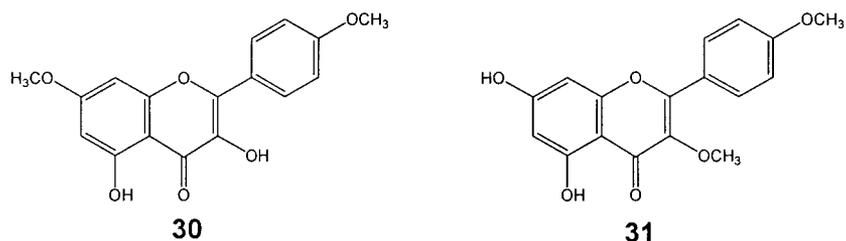


**29**

El compuesto **30** se obtuvo como un polvo amarillo con pf 179-180°C. El espectro de masas muestra el ion molecular  $\text{M}^+$   $m/z$  314 (int. rel. 100). Su espectro de IR (KBr) muestra bandas de absorción en 3400, 1620, 1500  $\text{cm}^{-1}$ .

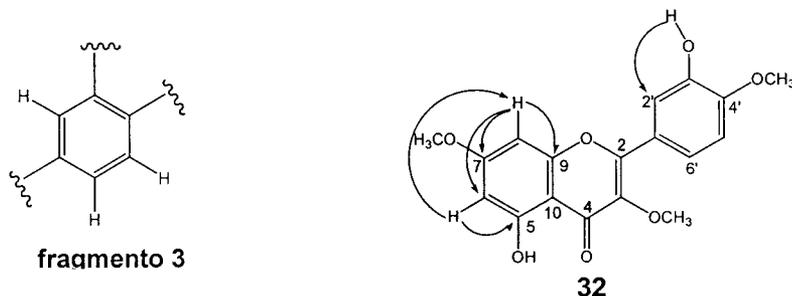
En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) se observa en la región de aromáticos un sistema AA'BB' para los hidrógenos H-2', H-6' ( $J = 9.0, 2.0$ ) y H-3', H-5' ( $J = 9.0, 2.0$ ) que resuenan en  $\delta$  8.18 y 7.04, respectivamente. El singulete ancho en  $\delta$  6.63 corresponde presumiblemente al hidrógeno hidroxílico del C-3. Las dos señales dobles en  $\delta$  6.50 ( $J = 2.0$ ) y en  $\delta$  6.38 ( $J = 2.0$ ) describen un sistema AM (ver fragmento 2), que corresponden a los hidrógenos aromáticos H-8 y H-6, respectivamente. En  $\delta$  3.89 se observa la superposición de dos señales simples correspondientes a los hidrógenos de metoxilo que se ubican en C-4' y C-7. La comparación de los datos con los reportados en la literatura [38] confirmaron la estructura del producto natural 3,5-dihidroxi-7,4'- dimetoxiflavona (**30**).

La sustancia **31** se aisló como un polvo amarillo. En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) mostró notables similitudes con respecto a **30**. Este espectro muestra dos señales dobles de dobles que corresponden a un sistema AA'BB' de los hidrógenos aromáticos que resuenan en  $\delta$  8.06 para H-2', H-6' ( $J = 9.0, 2.0$ ) y en  $\delta$  7.02 para H-3', H-5' ( $J = 9.0, 2.0$ ). En  $\delta$  6.41 ( $J = 2.0$ ) y  $\delta$  6.31 ( $J = 2.0$ ) se observan dos señales dobles que son asignables para los hidrógenos H-8 y H-6 respectivamente. Los singuletes centrados en  $\delta$  3.90 y 3.84 corresponden a los hidrógenos de los metoxilos de las posiciones C-4' y C-3. Los datos espectroscópicos obtenidos concuerdan con los reportados en la literatura [39] para 5,7-dihidroxi-3,4'-dimetoxiflavona (**31**).



El compuesto **32** se aisló como un sólido amarillo cristalino con pf 166-168 °C. En el espectro de IR (KBr) muestra bandas de absorción en 3420, 1620, 1510  $\text{cm}^{-1}$ . Los datos de RMN $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) muestran un singulete en  $\delta$  12.63 que indica la presencia de un hidrógeno fenólico quelatado. En la región de aromáticos se observa un doble de doble centrado en  $\delta$  7.72 ( $J = 8.5, 2.5$ ), un doblete en  $\delta$  7.69 ( $J = 2.5$ ) y en  $\delta$  6.97 ( $J = 8.5$ ) asignados al sistema ABX (H-2', H-5' y H-6') del fragmento 3. La señal doble en  $\delta$  6.44 ( $J = 2.5$ ) correlaciona a larga distancia en el experimento HMBC de RMN (ver **32**) con carbonos cuaternarios base de oxígeno de  $\delta$  165.4 (C-7),  $\delta$  156.7 (C-9) y con el metino en  $\delta$  97.8 (C-6). Esta señal doble se acopla con el doblete en  $\delta$  6.35 (H-6,  $J = 2.5$ ) que correlaciona a larga distancia con un carbono cuaternario base de oxígeno en  $\delta$  162.0 (C-5) y con el metino en  $\delta$  92.1 (C-8). Esta descripción estructural determina la presencia del anillo A de un

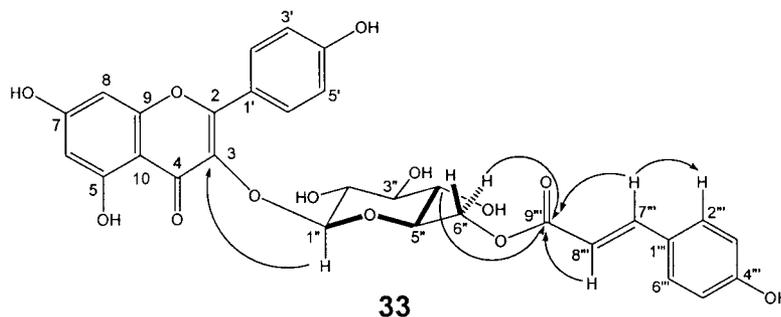
flavonoide con la interacción de los hidrógenos H-8 y H-6. En  $\delta$  5.70 se ubica un singulete que se asigna para un hidroxilo fenólico en la posición C-3', el cual correlaciona a larga distancia en la modalidad HMBC con el carbono C-2' ( $\delta$  114.4). Tres señales simples se observan en  $\delta$  3.98 (OCH<sub>3</sub>-4'), 3.88 y 3.87 que corresponden a los metoxilos de **32**. Los datos físicos y espectroscópicos se compararon con los reportados en la literatura [40] y confirmaron la estructura de 3',5-dihidroxi-7,3,4'-trimetoxiflavona (ayanina).



**Figura 2.** Correlaciones selectas HMBC observadas para **32**

Finalmente, se caracterizó el compuesto **33** como un sólido amorfo, soluble en metanol. En el espectro de IR (KBr) se observan bandas de adsorción en 3461, 3253, 2919, 1684, 1654, 1502 cm<sup>-1</sup>. El espectro de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO) muestra en el experimento DEPT un metileno, 17 metinos y 12 carbonos cuaternarios (dos de carbonilo y siete unidos a oxígeno) que establecen la fórmula molecular C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>O<sub>13</sub>. Del espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO) se observan en la región de aromáticos dos sistemas para anillos aromáticos disustituídos (AA'BB'): el primero en  $\delta$  7.98 (d,  $J$  = 9.0) y  $\delta$  6.84 (d,  $J$  = 9.0) y el segundo en  $\delta$  7.36 (d,  $J$  = 9.0) y en  $\delta$  6.77 (d,  $J$  = 9.0). Dos señales dobles en  $\delta$  6.14 (d,  $J$  = 2.0) y  $\delta$  6.37 (d,  $J$  = 2.0) describen al sistema aromático AX. El singulete en  $\delta$  12.56 indica un hidrógeno presumiblemente quelatado. Los datos anteriores concuerdan con el esqueleto de un flavonoide sustituido por grupos hidroxilos en los carbonos C-4', C-5' y C-7'. En  $\delta$  5.44 (d,  $J$  = 7.0) se presenta una señal doble característica para el hidrógeno anomérico H-1" de  $\beta$ -glucopiranososa que se encuentra en disposición axial. El hidrógeno H-1" correlaciona en HMBC con el carbono C-3 ( $\delta$  133.0), indicando la unión del azúcar en el C-3 del anillo C del flavonoide. Las señales múltiples que resuenan alrededor de  $\delta$  3.14-  $\delta$  3.40 corresponden a los hidrógenos H-2", H-3", H-4" y H-5" de la glucopiranososa. Las señales dobles de dobles en  $\delta$  4.26 (dd,  $J$  = 12.0, 2.0) y  $\delta$  4.00 (dd,  $J$  = 12.0, 7.0) son características para los hidrógenos H-6"a y H-6"b del metileno de la glucopiranososa. Ambos hidrógenos correlacionan a más de un enlace de distancia con el carbonilo que resuena en  $\delta$  166.1. Las señales en  $\delta$  7.33 (d,  $J$  = 16.0) y  $\delta$  6.10 (d,  $J$  = 16.0) son asignables para hidrógenos olefinicos que se encuentran

en configuración *trans*. Tales hidrógenos correlacionan con el carbono cuaternario de  $\delta$  166.1 y  $\delta$  124.8. El hidrógeno olefínico en  $\delta$  7.33 (H-7'') a su vez correlaciona a tres enlaces de distancia en HMBC, con el metino que se ubica en  $\delta$  130.1 que pertenece al segundo sistema AA'BB'. Los datos anteriores muestran que se tiene el grupo *p*-cumarato unido al C-6'' de la glucopiranosica. Los datos espectroscópicos se compararon con los reportados en la literatura [41,42]. En la tabla 3 se muestran los datos espectroscópicos.



**Tabla 3.** Datos espectroscópicos de RMN  $^{13}\text{C}$  y  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO, *J* en Hz) de **33**

posición	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	posición	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
2	156.4		1''	100.9	5.44 (d, <i>J</i> = 7.0)
3	133.0		2''	74.0	3.20 (m)
4	177.3		3''	76.2	3.23 (m)
5	161.1		4''	69.9	3.16 (m)
6	98.7	6.14 (d, <i>J</i> = 2.0)	5''	74.2	3.35 (m)
7	164.1		6''	62.9	4.26 (dd, <i>J</i> = 12.0, 2.0) 4.00 (dd, <i>J</i> = 12.0, 7.0)
8	93.6	6.37 (d, <i>J</i> = 2.0)	1'''	124.8	
9	156.3		2'''	130.1	7.36 (d, <i>J</i> = 9.0)
10	103.8		3'''	115.7	6.77 (d, <i>J</i> = 9.0)
1'	120.7		4'''	159.7	
2'	130.7	7.98 (d, <i>J</i> = 9.0)	5'''	115.7	6.77 (d, <i>J</i> = 9.0)
3'	115.0	6.84 (d, <i>J</i> = 9.0)	6'''	130.1	7.36 (d, <i>J</i> = 9.0)
4'	159.9		7'''	144.5	7.33 (d, <i>J</i> = 16.0)
5'	115.0	6.84 (d, <i>J</i> = 9.0)	8'''	113.6	6.10 (d, <i>J</i> = 16.0)
6'	130.7	7.98 (d, <i>J</i> = 9.0)	9'''	166.1	
2''-OH		5.43			
3''-OH		5.16			
4''-OH		5.21			

#### 4.4. Evaluación biológica de 28

La evaluación de **28** como agente antioxidante en el modelo *in vitro* basado en la peroxidación de lípidos de cerebro de rata [43], mostró una actividad notable ( $IC_{50}=16.79\pm 0.71 \mu M$ ), la cual es comparable a la quercetina ( $IC_{50}=4.11\pm 0.26 \mu M$ ). Por lo tanto, esta especie puede considerarse como una fuente de agentes antioxidantes.

#### 4.5. Conclusiones

*Croton alamosanus* no había sido previamente analizado químicamente y nuestro grupo de trabajo inició su estudio. De las fracciones analizadas se aislaron flavonoles con diferente grado de metilación y puede concluirse que estas sustancias son características de cierto grupo de especies de *Croton*. Por otro lado, el compuesto **33** ha sido aislado de las especies *C. tonkinensis* [44] y *C. menthodus* [45] y ahora de *C. alamosanus*.

### 5. Parte experimental

#### 5.1 *Senna occidentalis*

Las partes aéreas de la planta se secaron a temperatura ambiente, el material vegetal seco (921 g) y triturado se sometió a maceración consecutiva con hexano, cloruro de metileno y metanol, obteniéndose los extractos correspondientes. El extracto metanólico (45.6 g) se sometió a dos particiones sucesivas empleando inicialmente AcOEt-H<sub>2</sub>O (3 ocasiones) y posteriormente *n*-butanol-H<sub>2</sub>O (3 ocasiones), obteniéndose dos extractos adicionales: de acetato de etilo (17.4 g) y *n*-butanólico (17.2 g).

El extracto hexánico (17 g) se aplicó a una columna cromatográfica la cual se desarrolló a presión reducida [46]. La elución de la columna se realizó con mezclas de polaridad creciente de hexano-acetato de etilo. Del proceso cromatográfico se obtuvieron ocho subfracciones principales. De la subfracción 3 (eluida con hexano-AcOEt 9:1) se obtuvo un sólido blanco ceroso (0.00325%) que corresponden al alcohol montanílico (C<sub>28</sub>H<sub>58</sub>O). De la subfracción 5 (eluida con hexano-AcOEt 9:1) se obtuvo la mezcla 3:2 (0.00402%) de  $\beta$ -sitosterol (**23**) [28] con estigmasterol (**24**) [29].

De la cromatografía en columna del extracto de cloruro de metileno (7.68 g) se obtuvieron 16 fracciones principales. De la subfracción 3 (eluida con hexano-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 9:1) se aisló y caracterizó el crisofanol (**1**) (0.001195%) [31,32].

Del desarrollo de la cromatografía en columna del extracto de acetato de etilo se obtuvieron 12 subfracciones. El sistema de elución consistió en mezclas de hexano-acetato de etilo y acetato de etilo-metanol-agua. De la subfracción 3 (eluida con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 99:1) se aisló

el *para*-hidroxi benzoato de metilo (**25**) (0.00022%) [30]. Las subfracciones 5-10 se aplicaron a una placa analítica de 20x20 cm, la fase móvil consistió en una mezcla de hexano-isopropanol 95:5; de este proceso cromatográfico se obtuvo la pinselina (**27**) (0.00032%) [35].

Se realizó una cromatografía en columna a presión reducida del extracto *n*-butanólico, empleando como fase estacionaria sílica gel para capa fina. La fase móvil consistió en mezclas de AcOEt: MeOH: H<sub>2</sub>O. De este proceso cromatográfico se obtuvieron 12 fracciones finales. De las fracciones 4-8 se obtuvo isovitexina (**26**) (0.00141%) [33,34].

## 5.2 *Croton alamosanus*

Las hojas de *Croton alamosanus* fueron secadas (920 g) a la sombra, trituradas y maceradas consecutivamente con diferentes disolventes: hexano, acetona y con mezcla de diclorometano:metanol, 1:1. Este último extracto se resolvió en sus componentes mediante una cromatografía en columna a presión reducida, empleando como fase móvil mezclas de hexano-acetato de etilo y acetato de etilo-metanol de polaridad creciente. Del proceso cromatográfico se obtuvieron 21 fracciones principales.

La fracción 12 se resolvió en sus componentes mediante cromatografía en columna, empleando como fase móvil mezclas de hexano-acetato de etilo, del proceso cromatográfico se aisló y caracterizó 3,5-dihidroxi-7,4'-dimetoxiflavona (**30**) (0.00097%) [38]. Mediante recromatografía en columna de la fracción 13 (eluida con hexano-AcOEt) se aislaron los compuestos 5,7-dihidroxi-3,4'-dimetoxiflavona (**31**) (0.00043%) [39] y 3,5-dihidroxi-7,3',4'-trimetoxiflavona (**28**) (0.00048%) [36]. De la fracción 14 (eluida con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-AcOEt) se purificó y caracterizó la ayanina (**32**) (0.00086%) [40]. La fracción 16 se resolvió en sus componentes mediante recromatografía en columna (eluida con hexano-AcOEt) obteniéndose el compuesto (**29**) (0.00130%) [37]. Finalmente, la fracción 19 se recromatografió empleando mezclas de AcOEt-MeOH de polaridad creciente; de este proceso cromatográfico se purificó y caracterizó (**33**) (0.01000%) [41,42].

## 6. Conclusiones generales

Se aislaron 13 productos naturales de las especies estudiadas que pueden incluirse en el grupo de xantonas, antraquinonas, terpenos, esteroides, flavonoides metoxilados, flavonoides C- y O-glicosilados y compuestos aromáticos.

Estos resultados proporcionan las bases para estudios adicionales que pueden referirse al papel ecológico que desempeñan estos constituyentes, a su significado taxonómico y a bioevaluaciones adicionales.

## 7. Referencias citadas

1. Phillipson, J.D. Phytochemistry and medicinal plants. *Phytochemistry* **2001**, *56*, 237-243.
2. Cragg, G. M.; Boyd, M.R.; Khanna, R.; Kneller, R.; Mays, T. D. *Pure Appl Chem.* **1999**, *71*, 1619-1633.
3. Cragg, G. M.; Newman, D. J.; Snader, K. M. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1022-1037.
4. Espinosa-García, F. J.; Delgado, G. *Rev. Latinoam. Quím.* **1998**, *26*, 13-29
5. Doyle, J. J.; Doyle, J. L.; Ballenger, J. A.; Dickson, E. E.; Kajita, T.; Ohashi, H. *Am. J. Bot.* **1997**, *84*, 541-554.
6. Foster, H. B.; Niklas, H.; Lutz, S. *Planta Med.* **1980**, *40*, 309-311.
7. Briggmann, G.; Menche, D.; Bezabih, M.; Abegaz, B. M.; Kamisky, R. *Planta Med.* **1999**, *65*, 757-758.
8. Woldu, Y.; Abegaz, B.; Botta, B., Delle Monache, G.; Delle Monache, F. *Phytochemistry* **1988**, *27*, 1227-1228.
9. Lokvam, J.; Coley, P. D.; Cursar, T. A. *Phytochemistry* **2004**, *65*, 351-358.
10. Marazzi, B.; Endress, P. K.; Paganucci de Queiroz, L. Conti, E. *Am. J. Bot.* **2006**, *93*, 288-303.
11. Anu, S. J.; Madhusudanan Rao, J. *Phytochemistry* **2001**, *57*, 583-585.
12. Yun-Choi, H. S.; Kim, J. H. *J. Nat. Prod.* **1990**, *53*, 630-633.
13. Barbosa, F. G., Conceicao, M.; Oliveira, F.; Braz-Filho, R.; Silveira, R. E. *Bioch. Syst. Ecol.* **2004**, *32*, 363-365.
14. Kitanaka, S.; Ogata, K.; Takido, M. *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 2441-2444.
15. Kitanaka, S.; Takido, M. *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, *39*, 3254-3257.
16. Purwar, Ch.; Rai, R.; Srivastava, N.; Singh, J. *Ind. J. Chem.*, **2003**, *42B*, 434-436.
17. Chahuan, D.; Chahuan, J. S.; Siddiqui, I. R.; Singh, J. *Ind. J. Chem.* **2001**, *40B*, 860-863.
18. Kitanaka, S.; Igarashi, H.; Takido, M. *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, *33*, 971-974.
19. Martínez, M.; Jimenez, J.; Cruz, R.; Juárez, E.; García, R.; Cervantes, A.; Mejía, R. L. *An. Inst. Biol. (UNAM), Serie Bot.* **2002**, *73*, 155-281.
20. Berry, P. E.; Hipp, A. L.; Wurdack, K. J.; Vann Ee, B.; Rinna, R. *Am. J. Bot.* **2005**, *92*, 1520-1534.
21. Steinmann, V. W. *Act. Bot. Mex.* **2002**, *61*, 61-93.
22. Schultes, R. E. *J. Linn. Soc.* **1987**, *94*, 79-95.
23. Rizk, A-F. M. *Bot. J. Linn. Soc.* **1987**, *94*, 293-326.
24. Puebla, P.; Correa, S. X.; Guerrero, M. F.; San Feliciano, A. *Biochem. Syst. Ecol.* **2005**, *33*, 849-854.
25. Guerrero, M. F.; Puebla, P.; Carrón, R. Martín, M. L., San Román, L. *J. Pharm. Pharmacol.* **2002**, *54*, 1373-1378.
26. Maciel, M. M.; Pinto, A. C.; Arruda, A. C.; Pamplona, S. G. S.; Vanderline, F. A.; Lapa, A. J.; Echeverria, A.; Grynberg, N. F.; Colus, I.; Farias, R. A. F.; Luna, A. M.; Rao, V. *J. Ethnopharmacol.* **2000**, *70*, 41-55.
27. Thongtan, J.; Kittakoo, P.; Ruangrunsi, N.; Saenboonrueng, J.; Thebtaranonth, Y. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 868-870.

28. Pourchet, Ch.; Behnke, J. *The Aldrich Library of <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H FT NMR Spectra*. United States of America. **1993**, 2, 563.
29. Muheirn, L. J. *Tetrahedron Lett.* **1973**, 14, 3175-3178.
30. Pourchet, Ch.; Behnke, J. *The Aldrich Library of <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H FT NMR Spectra*. United States of America. **1993**, 2, 1253.
31. Kunt, D.; Aksnes, D. W. *Magn. Res. Chem.* **1992**, 30, 359-360.
32. Barba, B.; Díaz, J. G.; Herz, W. *Phytochemistry* **1992**, 31, 4374-4375.
33. Cheng, G.; Bai, Y.; Tao, J.; Liu, J.; Tu, G.; Ma, L.; Liao, N.; Xu, X. *Tetrahedron* **2000**, 56, 8915-8920.
34. Hosoya, T.; Sook Yun, Y.; Kunugi, A. *Tetrahedron* **2005**, 61, 7037-7044.
35. Yamazaki, M.; Okuyama, E. *Chem. Pharm. Bull.* **1980**, 28, 3649-3655.
36. Matsuda, H.; Morikawa, T.; Toguchida, I.; Yoshikawa, M. *Chem. Pharm. Bull.* **2002**, 50, 788-795.
37. Li, Xu-Qin.; Gao, K.; Jia, Zhong-Jian. *Planta Med.* **2003**, 69, 356-360.
38. Rossi, M. E.; Yoshida, M.; Soares, J. G. *Phytochemistry* **1997**, 45, 1263-1269.
39. Deng, B.; Lepoivre, J. A.; Lemiere, G.; Domisse, R.; Claeys, M.; Boers, F.; Groot, A. *Liebigs. Ann.* **1997**, 2169-2175.
40. Dong, H.; Lin Gou, Y.; Geng Cao, S.; Xing Chen, S.; Yeow Sim, K.; Hock Goh, S.; Manjunatha Kini, R. *Phytochemistry* **1999**, 50, 899-902.
41. Tsukamoto, S.; Tomise, K.; Aburatani, M.; Onuki, H.; Hirorta, H. *J. Nat. Prod.* **2004**, 67, 1839-1841.
42. Kumarasamy, Y.; Cox, P. J.; Jaspar, M.; Rashid, M. A.; Sarker, S. D. *Pharmaceutical Biology* **2003**, 41, 237-242.
43. Rossato, J. I.; Ketzer, L. A.; Centuriao, F. B.; Silva, S. J. N.; Lüdtkke, D. S.; Zeni, G.; Braga, A. L.; Rubin, M. A.; Rocha, J. B. T. *Neurochem. Research* **2002**, 27, 297-303.
44. Phan, Minh Giang.; Lee, Jung Joon.; Phan, Tong Son. *Tap Chi Hoa Hoc* **2004**, 42, 125-128.
45. Capasso, A.; Piacente, S.; De Tomassi, N.; Ragucci, M.; Pizza, C. *Phytoterapy Research* **2000**, 14, 156-159.
46. Coll, J. C.; Bowden, B. F. *J. Nat. Prod.* **1986**, 49, 934-936.