

7 00550

UNAM  
POSGRADO



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS  
QUÍMICAS

CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y  
EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE LOS METABOLITOS  
SECUNDARIOS DE *Bocconia arborea*  
(PAPAVERACEAE)

**T E S I S**

PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

P R E S E N T A

**Q.F.B. JOSÉ ANÍBAL JULIÁN HERMENEGILDO**

TUTOR: DR. GUILLERMO DELGADO LAMAS

CIUDAD UNIVERSITARIA, MEXICO, D. F.

2002

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



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.

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

RECIBO DE ENTREGA  
MAYO 20 1954



OF.CPCQ.457/02

**BIÓL. FRANCISCO INCERA UGALDE**  
Jefe de la Unidad de Administración del Posgrado  
Presente

Me es grato informarle que el alumno **JOSÉ ANÍBAL JULIÁN HERMENEGILDO**, con número de cuenta 93562982, presentará su examen para optar por el grado de Maestro en Ciencias Químicas, quien defenderá el proyecto de investigación titulado: "**Caracterización Estructural y Evaluación Biológica de los Metabolitos Secundarios de *Bocconia arborea* (Papaveraceae)**", ante el siguiente jurado:

Presidente	Dr. Alfonso Romo de Vivar Romo	Instituto de Química, UNAM
Vocal	Dra. Martha Albores Velasco	Facultad de Química, UNAM
Secretario	Dr. Manuel Jiménez Estrada	Instituto de Química, UNAM
Primer suplente	Dra. María Isabel Aguilar Laurents	Facultad de Química, UNAM
Segundo suplente	Dr. René Miranda Ruvalcaba	FES-Cuautitlán

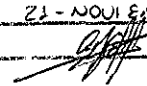
Sin otro particular de momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo

Atentamente,  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cd. Universitaria, D.F. a 14 de mayo de 2002

  
**DR. RAYMUNDO CEA OLIVARES**  
Coordinador del Programa

c.c.p. Integrantes del Jurado  
Presidente del SAO  
Interesado  
Expediente

Sección Escolar de la División de Estudios de Posgrado. Facultad de Química

Al Director de la Dirección General de Bibliotecas  
UNAM a difundir en formato electrónico e imp.  
contenido de mi trabajo recepo  
NOMBRE: JOSE ANIBAL JULIAN  
HERMENEGILDO  
FECHA: 21-NOVIEMBRE-2002  
FIRMA: 

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

NOV 20 1957  
LIBRARY OF CONGRESS

Esta tesis fue realizada en el laboratorio 1, edificio C, del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. Guillermo Delgado Lamas

Sustentante:

Asesor:

Q.F.B. José Aníbal Julián Hermenegildo

Dr. Guillermo Delgado Lamas



## **AGRADECIMIENTOS**

*A Dios porque está conmigo siempre.*

*Agradezco a mis tíos María Isabel Jacobo y Elfego Miguel por brindarme su apoyo incondicional en cada proyecto de mi vida. Los amo.*

*Al Dr. Guillermo Delgado, por permitirme formar parte de su equipo de trabajo, el respaldo y estímulo brindado para la realización de este proyecto, por su enseñanza, y su generosa calidad humana.*

*Al personal Técnico-Académico del Instituto de Química:*

*a la M. en C. María Isabel Chávez por su valiosa colaboración en el registro de los espectros de RMN,*

*a la Q. Rocío Patiño por el registro de los espectros de IR, UV y RO,*

*al Ing. Luis Velasco y al M. en C. Javier Pérez por el registro de los espectros de masas,*

*a los M. en C. Ma. Teresa Ramírez y Antonio Camacho por las evaluaciones antiinflamatorias*

*a la Lic. Cecilia Aguilar, y al personal de la Biblioteca "Jesús Romo Armería".*

*Al personal del Centro de Investigación Biomédica del Sur, I.M.S.S., Xochitepec, Morelos*

*al M. en C. Víctor Navarro por las evaluaciones antimicrobianas,*

*al Q.F.B. Daniel Alonso por las evaluaciones citotóxicas*





## **DEDICATORIAS**

*A mis tíos Ma Isabel Jacobo y Efeego Miguel  
porque son el mejor ejemplo de bondad*

*A Esther Varela  
por los hermosos momentos  
que juntos hemos compartido.*

*Al Dr. Guillermo Delgado  
a quien considero un amigo.*

*A todos mis amigos y compañeros  
con quien he crecido y aprendido*



## INDICE

Acrónimos y abreviaturas.	i
1. INTRODUCCIÓN.	1
2. OBJETIVO GENERAL	4
2.1 Justificación	4
2.2 Metas	4
3 ANTECEDENTES	5
3.1 Generalidades	5
3.2 Perfil fitoquímico del género <i>Bocconia</i>	6
3.2.1 Alcaloides de protoberberina	7
3.2.2 Alcaloides de benzofenantridina	8
3.2.3 Alcaloides de protopina	8
3.2.4 Alcaloides de roheadina	9
3.2.5 Otros alcaloides relacionados	9
3.3 Origen biosintético de alcaloides presentes en <i>Bocconia</i>	15
3.4 Alcaloides de tipo benzofenantridina	18
3.4.1 Clasificación de los alcaloides de tipo benzofenantridina	18
3.5 Importancia farmacológica de alcaloides	20
3.6 Investigaciones previas realizadas a <i>B. arborea</i>	21
4. PARTE EXPERIMENTAL	22
4.1 Recolección e identificación del material vegetal	22
4.2 Preparación de los extractos orgánicos	22
4.3 Material y equipo	23
4.4 Extracto hexánico de las semillas	24
4.5 Cromatografía del extracto metanólico de las semillas	25
4.5.1 Fraccionamiento del extracto metanólico de las semillas	25
4.6 Cromatografía del extracto metanólico de la raíz	26
4.6.1 Fraccionamiento del extracto metanólico de la raíz	26



5. RESULTADOS.	27
5.1 Aislamiento de dihidroqueleritrina (8).	27
5.2 Aislamiento de 6-metoxidihidroquelirubina (50).	28
5.3 Aislamiento de 6-acetonildihidosanguinarina (15).	30
5.4 Aislamiento de sanguidimerina (23a).	31
5.5 Aislamiento de 6-metoxidihidosanguinarina (35).	33
5.6 Aislamiento de oxisanguinarina (16).	35
5.7 Aislamiento de 6-metoxidihidroqueleritrina (10).	36
5.8 Aislamiento de 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51).	37
5.9 Aislamiento del ácido 20- <i>epi</i> -katónico (52).	39
5.10 Formación del 20- <i>epi</i> -katonato de metilo (53).	40
6. DISCUSION DE RESULTADOS.	42
6.1 Caracterización del triacilglicérido A.	42
6.2 Caracterización de dihidroqueleritrina (8).	44
6.3 Caracterización de 6-metoxidihidroquelirubina (50).	46
6.4 Caracterización de 6-acetonildihidosanguinarina (15).	50
6.5 Caracterización de sanguidimerina (23a).	51
6.6 Caracterización de 6-metoxidihidosanguinarina (35).	59
6.7 Caracterización de oxisanguinarina (16).	61
6.8 Caracterización de 6-metoxidihidroqueleritrina (10).	62
6.9 Caracterización de 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51).	63
6.10 Caracterización del ácido 20- <i>epi</i> -katónico (52)	68
6.11 Caracterización del 20- <i>epi</i> -katonato de metilo (53)	68
7. EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA	73
7.1 Resultados de actividad antimicrobiana	73
7.2 Resultados de actividad antiinflamatoria	77
7.3 Resultados de actividad citotóxica	80
8. RESUMEN Y CONCLUSIONES	82
9. ESPECTROS	83
Espectro 1. RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) triacilglicérido A.	85
Espectro 2. RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) dihidroqueleritrina (8).	86
Espectro 3. EM (IE 70 eV) dihidroqueleritrina (8).	87
Espectro 4. RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 6-metoxidihidroquelirubina (50)	88



Espectro 5. RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 6-metoxidihidroquelirubina (50).	89
Espectro 6. RMN <sup>13</sup> C DEPT (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 6-metoxidihidroquelirubina (50).	90
Espectro 7. RMN HSQC (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 6-metoxidihidroquelirubina (50).	91
Espectro 8. RMN HMBC (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 6-metoxidihidroquelirubina (50).	92
Espectro 9. RMN NOESY (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 6-metoxidihidroquelirubina (50).	93
Espectro 10. EM (IE, 70 eV) 6-metoxidihidroquelirubina (50)	94
Espectro 11. RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 6-acetonildihidroqueleritrina (15)	95
Espectro 12. EM (IE, 70 eV) 6-acetonildihidroqueleritrina (15)	96
Espectro 13. IR (CHCl <sub>3</sub> ) sanguídimerina (23b)	97
Espectro 14. RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) sanguídimerina (23a).	98
Espectro 15. RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) sanguídimerina (23a).	99
Espectro 16. RMN HETCOR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) sanguídimerina (23a)	100
Espectro 17. RMN FLOCK (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) sanguídimerina (23a).	101
Espectro 18. RMN NOESY (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) sanguídimerina (23a)	102
Espectro 19. RMN NOESY (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) sanguídimerina (23a).	103
Espectro 20. EM (IE, 70 eV) sanguídimerina (23a)	104
Espectro 21. IR (CHCl <sub>3</sub> ) 6-metoxidihidrosanguinarina (35)	105
Espectro 22. RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 6-metoxidihidrosanguinarina (35).	106
Espectro 23. RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 6-metoxidihidrosanguinarina (35)	107
Espectro 24. RMN <sup>13</sup> C DEPT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 6-metoxidihidrosanguinarina (35)	108
Espectro 25. EM (IE, 70 eV) 6-metoxidihidrosanguinarina (35).	109
Espectro 26. RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) oxisanguinarina (16)	110
Espectro 27. EM (IE, 70 eV) oxisanguinarina (16)	111
Espectro 28. RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 6-metoxidihidroqueleritrina (10).	112
Espectro 29. EM (IE, 70 eV) 6-metoxidihidroqueleritrina (10).	113
Espectro 30. IR (CHCl <sub>3</sub> ) 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51).	114
Espectro 31. RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51)	115
Espectro 32. RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51).	116
Espectro 33. RMN <sup>13</sup> C DEPT (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51)	117
Espectro 34. RMN HSQC (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51)	118
Espectro 35. RMN HMBC (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51)	119
Espectro 36. RMN NOESY (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51)	120
Espectro 37. EM (IE, 70 eV) 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51).	121





Espectro 38. IR (CHCl <sub>3</sub> ) ácido 20- <i>epi</i> -katónico (52).	122
Espectro 39. RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) ácido 20- <i>epi</i> -katónico (52)	123
Espectro 40. RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) ácido 20- <i>epi</i> -katónico (52)	124
Espectro 41. RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) ácido 20- <i>epi</i> -katónico (52)	125
Espectro 42. RMN <sup>13</sup> C DEPT (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) ácido 20- <i>epi</i> -katónico (52).	126
Espectro 43. RMN HSQC (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) ácido 20- <i>epi</i> -katónico (52)	127
Espectro 44. RMN HMBC (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) ácido 20- <i>epi</i> -katónico (52)	128
Espectro 45. RMN NOESY (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) ácido 20- <i>epi</i> -katónico (52).	129
Espectro 46. EM (IE 70 eV) ácido 20- <i>epi</i> -katónico (52).	130
Espectro 47. IR (CHCl <sub>3</sub> ) 20- <i>epi</i> -katonato de metilo (53)	131
Espectro 48. RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 20- <i>epi</i> -katonato de metilo (53)	132
Espectro 49. RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 20- <i>epi</i> -katonato de metilo (53).	133
Espectro 50. EM (IE, 70 eV) 20- <i>epi</i> -katonato de metilo (53)	134
10 REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA.	135
ANEXO I Datos de Difracción de Rayos X de 6-metoxidihidrosanguinarina (35).	141
ANEXO II Datos de Difracción de Rayos X de sanguidimerina (23a)	153
ANEXO II Datos de Difracción de Rayos X del ácido 20- <i>epi</i> -katónico (52)	173



## Acrónimos y abreviaturas

AcOEt	Acetato de etilo
CC	Cromatografía en columna
$\text{CDCl}_3$	Cloroformo deuterado
$\text{CHCl}_3$	Cloroformo
$\text{CI}_{50}$	Concentración inhibitoria media
$\text{cm}^{-1}$	Número de onda
CMI	Concentración mínima inhibitoria
COSY	Correlated spectroscopy
d	Señal doble
dd	Señal doble de doble
$\delta$	Desplazamiento químico
DEPT	Distortionless enhancement by polarization transfer
DMSO	Dimetilsulfóxido
EM	Espectrometría de masas
eV	Electrón volt
Hex	Hexano
HETCOR	Heteronuclear Correlation
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
Hz	Hertz
IE	Impacto electrónico
IMEPLAM	Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales.
IR	Espectroscopía de Infrarrojo
$J$	Constante de acoplamiento
l	Litro
$\text{M}^+$	Ion molecular
m	Señal multiple
ml	Mililitro

<i>m/z</i>	Relación masa-carga
MeOH	Metanol
MHz	Megahertz
ND	No determinado
NE	No estudiado
nm	Nanómetro
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
Pf	Punto de fusión
PM	Peso molecular
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN <sup>1</sup> H	Resonancia Magnética Nuclear de Protón
RMN <sup>13</sup> C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
RO	Rotación óptica
s	Señal sencilla
TPA	13-acetato-tetrahidroforbol
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta

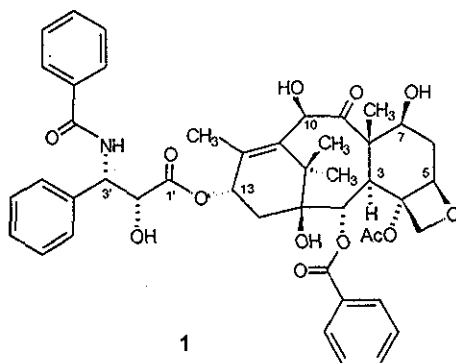
## 1. INTRODUCCIÓN.

El afán por conseguir sustancias novedosas con actividad farmacológica ha llevado a intensificar su búsqueda a partir de fuentes naturales como las plantas, animales, microorganismos y en menor proporción los organismos marinos. Pero es a las plantas a las que se ha dedicado mayor atención, sobre todo aquellas que tienen un empleo medicinal, debido a los antecedentes que de estas se tiene en cuanto a su uso. De ahí que, en las últimas décadas se haya replanteado la importancia que la medicina tradicional tiene como una alternativa más para el tratamiento de diversas enfermedades que afectan a la humanidad. Esto no quiere decir que exista un regreso a la herbolaria tradicional, sino que se trata de una revalorización de las plantas medicinales bajo una interpretación científica rigurosa [1] con el fin de preservar el conocimiento etnomédico que de estas se tiene, y que haya un mejor aprovechamiento y preservación de las mismas. La etnobotánica juega un papel muy importante para la obtención del conocimiento que se ha transmitido de generación en generación dentro de las poblaciones que tienen la tradición de emplear las plantas para el tratamiento de enfermedades [2]. En nuestro país se han registrado unas 2 000 plantas en uso medicinal, en donde la mayor parte se emplean en el tratamiento de enfermedades de tipo digestivo, respiratorio y cutáneo [3]. Por esto, la investigación en plantas medicinales es una tarea multidisciplinaria en donde la trascendencia del estudio depende de la colaboración entre botánicos, químicos y farmacólogos [3,4].

En la actualidad, los productos medicinales elaborados a partir de plantas suelen ser extractos crudos, fracciones cromatográficas, mezclas o conjuntos de compuestos cuya acción farmacológica depende de la combinación de los principios activos obtenidos del o los vegetales, configurando una nueva categoría de productos denominados fitofármacos. Estos productos son muy populares en países con una fuerte tradición de medicina herbolaria y con disposiciones legales para el registro de los mismos, como Alemania, Francia y Suiza [5].

Los laboratorios farmacéuticos han dedicado una buena parte de sus inversiones en la búsqueda de nuevas plantas medicinales debido al predominio de enfermedades en las cuales se ha tenido poco éxito en su tratamiento, como el sida y el cáncer. De hecho, se reconocen cinco áreas de investigación en las que se ha puesto mayor atención: enfermedades infecciosas, neurológicas, cardiovasculares y metabólicas, inflamatorias y relacionadas, y oncológicas [5-9].

Aproximadamente el 25 % de los fármacos empleados hoy en día en los países desarrollados proceden o se han modelado a partir de productos naturales [3-5]. Si bien, la medicina tradicional es un buen punto de partida para iniciar una investigación y aumentar las probabilidades de obtener sustancias bioactivas, no se deben descartar las plantas que no sean usadas medicinalmente tal es el caso especial del descubrimiento del taxol (1) un alcaloide tipo diterpeno que es usado en el tratamiento del cáncer de ovario, cuya fuente es *Taxus brevifolia*. Fue obtenido de manera aleatoria dentro de un programa de rastreo en el Instituto Nacional del Cáncer [1,5,10,11]. Tomando en cuenta este hallazgo y los datos anteriormente mencionados, y considerando que en el mundo existen unas 265 000 especies de plantas, y de éstas solo menos del 1 % se han estudiado exhaustivamente por su valor medicinal y composición química [4,5], aunado a la megabiodiversidad que México tiene, la cual se ha considerado como tercer lugar en el mundo [12], queda todavía una gran tarea que realizar en esta área de investigación.



El presente trabajo forma parte de un proyecto de investigación de la planta *Bocconia arborea*, enfocado a conocer la estructura molecular de sus metabolitos secundarios y evaluar su actividad biológica, con el fin de hacer una contribución en esta área del conocimiento. De esta planta anteriormente se han estudiado las partes aéreas y la corteza, ahora se estudian los constituyentes minoritarios de las partes aéreas y adicionalmente se estudian la raíz y las semillas. De lo que ya se ha estudiado, se ha reportado que contiene alcaloides de tipo protopina y benzofenantridina. Cabe destacar que, en general, los alcaloides conforman un grupo de metabolitos secundarios de gran interés debido a que se ha descubierto que en su

mayoría presentan alguna actividad biológica, y que aun cuando se conocen unos 21 120 alcaloides derivados solamente de plantas, éstos han sido pobremente evaluados biológicamente [13]. Por lo anterior, y conociendo los antecedentes del uso medicinal de esta planta, se pretende llevar a cabo la obtención de los constituyentes químicos de esta planta y realizar su evaluación biológica, con el fin de establecer alguna correlación entre el uso etnomédico y las propiedades biológicas de tales metabolitos.



## **2. OBJETIVO GENERAL**

Este trabajo de investigación tiene como objetivo general la generación de conocimiento de la estructura molecular de los metabolitos secundarios presentes en la raíz y semillas de la planta *Bocconia arborea*, conocida como "lora sangre", así como de su actividad biológica.

### **2.1 Justificación**

Debido a la importancia del empleo popular de esta planta para el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas, y a los antecedentes que se tienen respecto a la actividad antimicrobiana de las sustancias previamente aisladas de las partes aéreas, y considerando que el extracto metanólico de la raíz presentó actividad antimicrobiana considerable, la cual fue detectada recientemente, se plantearon las siguientes metas:

### **2.2 Metas**

1. Compilar la información etnobotánica, química y biológica de *B. arborea*.
2. Recolectar y seleccionar la raíz y las semillas de la planta, y preparar los extractos orgánicos
3. Aislar y purificar mediante diversos métodos de separación química, los metabolitos secundarios constituyentes de la planta.
4. Realizar la caracterización estructural de estos metabolitos con base en sus propiedades físicas, espectroscópicas y espectrométricas
5. Realizar evaluaciones para detectar actividad antimicrobiana, antiinflamatoria y citotóxica a las sustancias purificadas e identificar las que son responsables de la actividad biológica.
6. Correlacionar los resultados obtenidos con el uso etnomédico del vegetal.
7. Ponderar el potencial de *B. arborea* para el desarrollo de agentes con actividad farmacológica

### 3. ANTECEDENTES.

#### 3.1 Generalidades.

*Bocconia arborea* S. Wats. es un arbusto de 3 a 4 m de altura, de corteza tuberosa y agrietada, ramos jóvenes y base de las inflorescencias tomentosas. De hojas alternas, lanceoladas y pinnatífidas, cara inferior rubiginosa-tomentosa, inflorescencias en panojas terminales; flores muy pequeñas y fruto con una sola semilla comprimida, de dos colores: rojo y negro. Florece de octubre a diciembre [14].

Se localiza en Mesoamérica. En México se puede encontrar en varias regiones, cambiando de nombre vulgar dependiendo del lugar, como se informa en la Tabla 1.

Tabla 1. Localización de *B. arborea* S. Wats. y algunos nombres vulgares.

Estado	Nombre vulgar
Morelos	llora sangre, ahuacachilli
Sinaloa	palmilla, palo del diablo
Durango	árbol de judas, palo de judas, sauco, palo del diablo
Nayarit	chicalote, chicalote de árbol
Jalisco	cocoxihuitl
Michoacán	Enguande, inguande, engüemba, lora sangre, palo amarillo
Oaxaca	mano de león, lora sangre
Puebla	palo de yodo

También se ha localizado en los estados de Guerrero, Colima, Hidalgo, Veracruz, México, además de el D. F. Habita entre los 1 800 y 2 000 metros sobre nivel del mar. Se encuentra asociada frecuentemente a cultivos de riego y de temporal [14-15].

En la región de Morelos donde se colectó la planta, Baytelman menciona que el lora sangre se usa para problemas de la piel, en "jotes" o verrugas [16]. Maximino Martínez destaca las propiedades vermífugas y purgantes [14]. En las monografías científicas del IMEPLAM, se reportan una gran diversidad de usos del lora sangre, por distintas comunidades (los cuales se mencionan tal y como han sido registrados): para tratar abscesos, anestésico, anestésico local, antiparasitario, antitérmico, antitumoral, astringente, atrofia mesentérica, carminativo, catarético,

catártico, para el tratamiento de condilomas, deterativo, empeines, gastritis, heridas, hidropesía, hipnótico, lunares espesos y crudos, ictericia, llagas, disuelve las nubes de los ojos, tetanizante, produce tumefacción, úlcera de mal carácter, verrugas, vulnerario y analgésico [17].

### 3.2 Perfil fitoquímico del género *Bocconia*.

El género *Bocconia* Plum pertenece a la familia Papaveraceae, de la tribu Chelidoniae, comprende 10 especies que son endémicas de regiones tropicales y subtropicales de Centro y Sudamérica. Se han reconocido las siguientes especies: *B. arborea*, *B. cordata*, *B. frutescens*, *B. hintoniorum*, *B. integrifolia*, *B. latisejala*, *B. laurine*, *B. microcarpa*, *B. pearcei* y *B. vulcanica* [18-20]

La importancia de este género se debe principalmente a la biosíntesis de alcaloides, habiéndose identificado algunos del tipo protoberberina, benzofenantridina, protopina y roheadina. Cabe destacar que no se han reportado en la literatura otro tipo de metabolitos secundarios que no sean de la clase mencionada.

Como complemento de lo antes mencionado a continuación se presentan de manera resumida los alcaloides aislados de especies del género *Bocconia*:

#### ***B. arborea*:**

Allocriptopina (26), bocconarborina A (24), bocconarborina B (25), dihidrosanguinarina (14), oxisanguinarina (16), protopina (28), queleritridimerina (22), queleritrina (19), 6-acetonildihidroqueleritrina (9), 6-acetonildihidrosanguinarina (15), 6-metoxidihidroqueleritrina (10), (±)-sanguidimerina (23a) [20-23].

#### ***B. cordata*:**

Allocriptopina (26), bocconolina (12), criptopina (27), dehidroqueilantifolina (5), dihidroqueleritrina (8), dihidrosanguinarina (14), oxisanguinarina (16), protopina (28), protopina N-óxido (29), queleritrina (19), quelirubina (17), sanguinarina (18), 9,10-demetilensanguinarina (20), 9,10-demetilen-9,10-dihidrosanguinarina (21) [18, 24, 25].

***B. frutescens:***

Allocriptopina (26), berberina (2), columbamina (3), coptisina (4), corisamina (6), (-)-isocoripalmina (7), papaverrubina E (30), protopina (28), queleritrina (19), roheadina (31) sanguinarina (18) [26-27].

***B. integrifolia:***

Dihidroqueleritrina (8), dihidroquelirubina (13), dihidrosanguinarina (14), 12-metoxidihidroqueleritrina (11) [28].

***B. latisejala:***

Allocriptopina (26), oxisanguinarina (16), protopina (28), queleritrina (19), sanguinarina (18) [29].

***B. laurine:***

Protopina (28) [30].

***B. microcarpa:***

Allocriptopina (26), protopina (28), queleritrina (19), sanguinarina (18), 9,10-demetilensanguinarina (20), 9,10-demetilen-9,10-dihidrosanguinarina (21) [18, 30, 31]

***B. pearcei:***

Allocriptopina (26), berberina (2), coptisina (4), protopina (28), queleritrina (19), quelirubina (17), sanguinarina (18) [18, 30, 31].

A su vez, los alcaloides identificados en especies del género *Bocconia*, son clasificados de acuerdo a su tipo estructura:

**3.2.1 Alcaloides de protoberberina:**

Berberina (2)

Columbamina (3)

Coptisina (4)

Corisamina (6)

Dehidroqueilantifolina (5)

(-)-isocoripalmina (7)

### 3.2.2 Alcaloides de benzofenantridina:

- (±)-Bocconarborina A (24)
- (±)-Bocconarborina B (25)
- Bocconolina (12)
- Dihidroqueleritrina (8)
- Dihidroquelirubina (13)
- Dihidrosanguinarina (14)
- Oxisanguinarina (16)
- Queleritridimerina (22)
  - 1,3-bis-(6-hidroqueleritrinil)-acetona [32]
  - 1,3-bis-(8-hidroqueleritrinil)-acetona [32]
  - 1,3-bis-(11-hidroqueleritrinil)-acetona [32]
- Queleritrina (19)
- Quelirubina (17)
  - Bocconina [32]
- (±)-sanguidimerina (23a)
- Sanguinarina (18)
- 6-acetonildihidroqueleritrina (9)
  - 8-acetonildihidroqueleritrina [32]
- 6-acetonildihidrosanguinarina (15)
- 6-metoxidihidroqueleritrina (10)
  - Angolina [32]
  - 11-O-metildihidroqueleritrina [32]
  - 9-metoxiqueleritrina [32]
  - 8-metoxiqueleritrina [32]
- 9,10-demetilensanguinarina (20)
- 9,10-demetilen-9,10-dihidrosanguinarina (21)
- 12-metoxidihidroqueleritrina (11)

### 3.2.3 Alcaloides de protopina:

- Allocriptopina (26)
- Criptopina (27)
- Protopina (28)

*N*-óxido de Protopina (29)

**3.2.4 Alkaloides de roheadina:**

Papaverrubina E (30)

Roheadina (31)

**3.2.5 Otros alcaloides relacionados:**

Fagaronina (36)

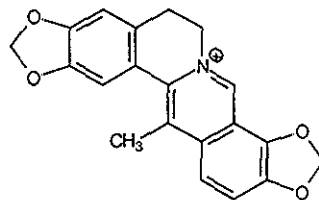
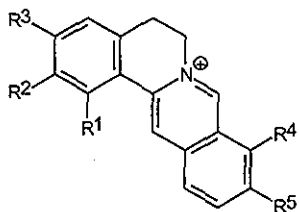
6-acetonildihidroavicina (32)

6-acetonildihidronitidina (33)

6-etoxidihidrosanguinarina (34)

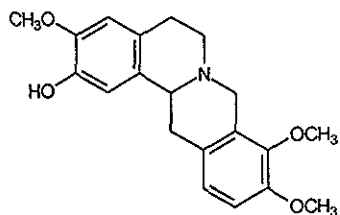
6-metoxidihidrosanguinarina (35)

### Alcaloides de tipo protoberberina



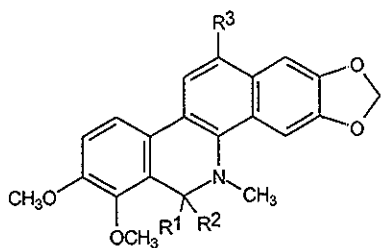
6

- 2  $R^1 = H$   $R^2 + R^3 = OCH_2O$   $R^4 = R^5 = OCH_3$
- 3  $R^1 = H$   $R^2 = OH$   $R^3 = R^4 = R^5 = OCH_3$
- 4  $R^1 = H$   $R^2 + R^3 = R^4 + R^5 = OCH_2O$
- 5  $R^1 = H$   $R^2 = OH$   $R^3 = OCH_3$ ,  $R^4 + R^5 = OCH_2O$

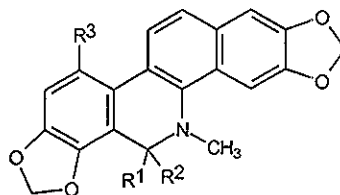


7

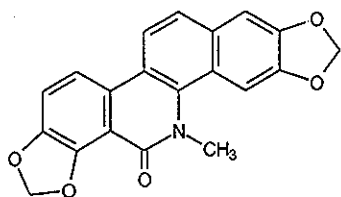
## Alcaloides de tipo benzofenantridina



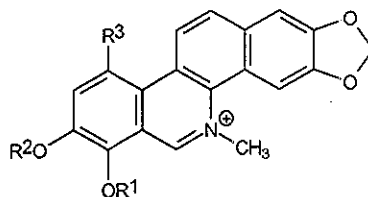
- 8  $R^1 = R^2 = R^3 = H$   
 9  $R^1 = R^3 = H$   $R^2 = CH_2COCH_3$   
 10  $R^1 = R^3 = H$   $R^2 = OCH_3$   
 11  $R^1 = R^2 = H$ ,  $R^3 = OCH_3$   
 12  $R^1 = R^3 = H$   $R^2 = CH_2OH$



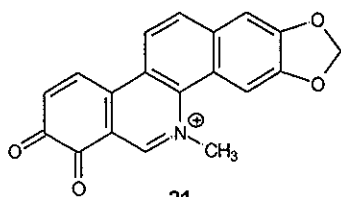
- 13  $R^1 = R^2 = H$ ,  $R^3 = OCH_3$   
 14  $R^1 = R^2 = R^3 = H$   
 15  $R^1 = R^3 = H$   $R^2 = CH_2COCH_3$



16

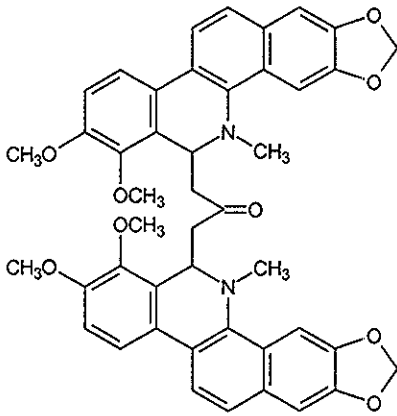


- 17  $R^1 + R^2 = CH_2$ ,  $R^3 = OCH_3$   
 18  $R^1 + R^2 = CH_2$   $R^3 = H$   
 19  $R^1 = R^2 = CH_3$   $R^3 = H$   
 20  $R^1 = R^2 = R^3 = H$

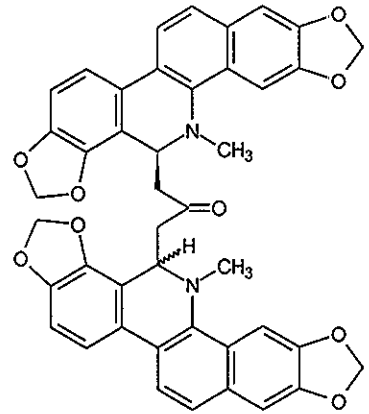


21



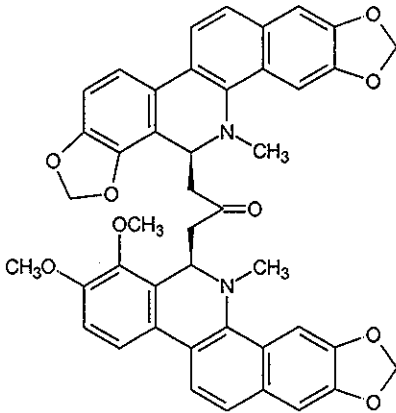


**22**

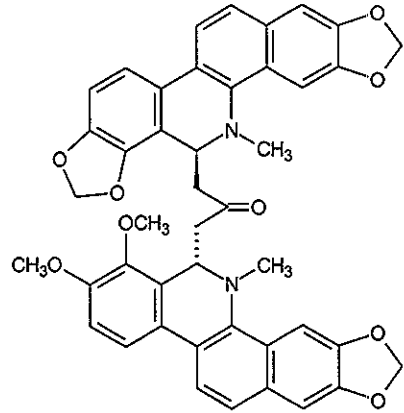


**23** meso  $\alpha$ -H

**23a** (dl)-  $\beta$ -H y su enantiómero

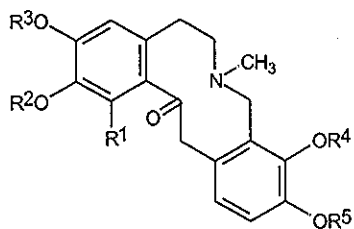


**24**



**25**

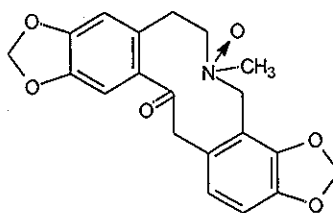
### Alcaloides de tipo protopina



26  $R^1 = H$   $R^2 + R^3 = CH_2$   $R^4 = R^5 = CH_3$

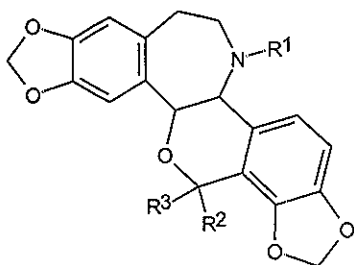
27  $R^1 = H$ ,  $R^2 = R^3 = CH_3$   $R^4 + R^5 = CH_3$

28  $R^1 = H$   $R^2 + R^3 = R^4 + R^5 = CH_2$



29

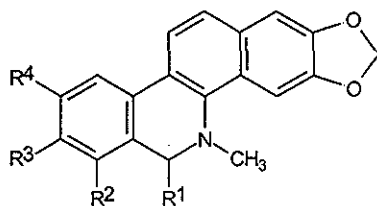
### Alcaloides de tipo rhoeadina



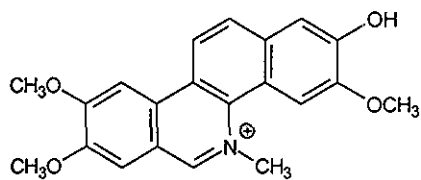
30  $R^1 = R^2 = H$ ,  $R^3 = OCH_3$

31  $R^1 = CH_3$ ,  $R^2 = H$   $R^3 = OCH_3$

### Otros alcaloides relacionados



- 32  $R^1 = \text{CH}_2\text{COCH}_3$   $R^2 = \text{H}$   $R^3 + R^4 = \text{OCH}_2\text{O}$   
 33  $R^1 = \text{CH}_2\text{COCH}_3$ ,  $R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = R^4 = \text{OCH}_3$   
 34  $R^1 = \text{OCH}_2\text{CH}_3$   $R^2 + R^3 = \text{OCH}_2\text{O}$ ,  $R^4 = \text{H}$   
 35  $R^1 = \text{OCH}_3$   $R^2 + R^3 = \text{OCH}_2\text{O}$   $R^4 = \text{H}$



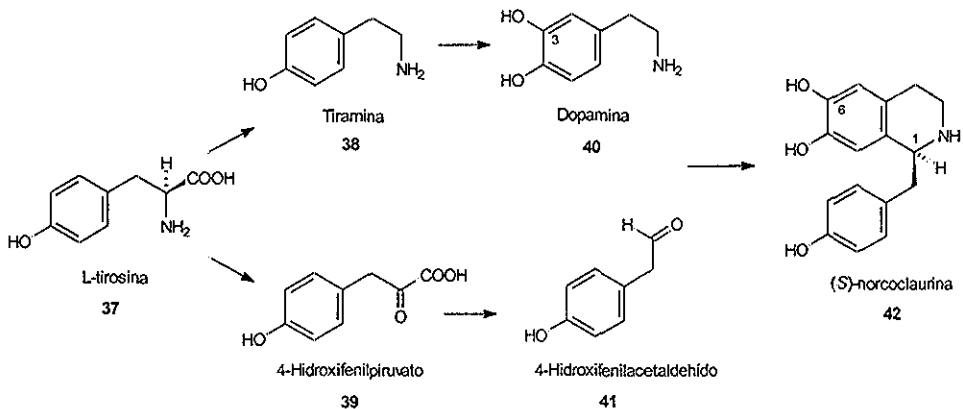
36

### 3.3 Origen biosintético de alcaloides presentes en *Bocconia*.

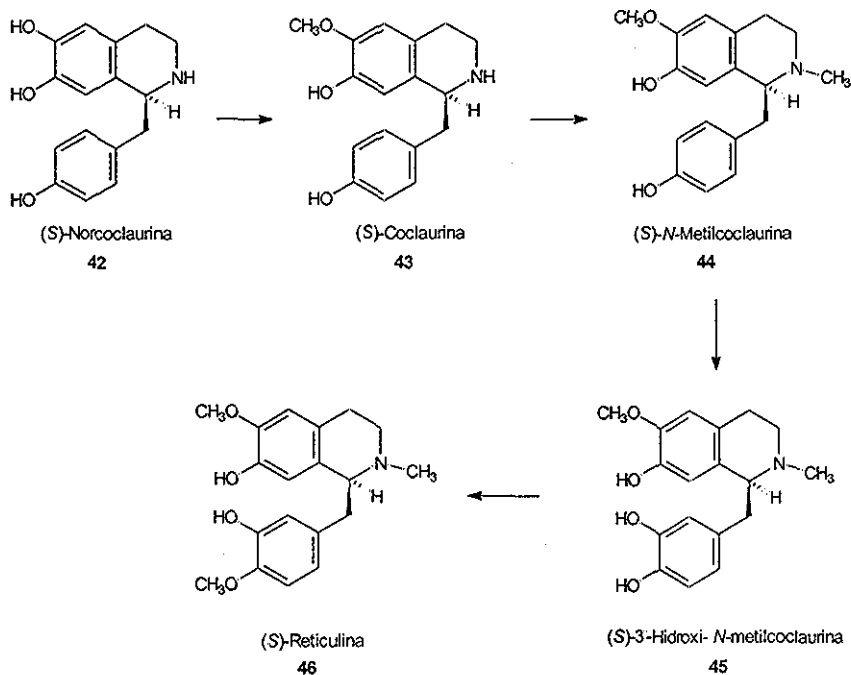
Se ha encontrado que los alcaloides de tipo protoberberina, protopina, benzofenantridina y rhoeadina, se biosintetizan a partir de tirosina a través de alcaloides de tipo bencilisoquinolina, tetrahidroprotoberberina y protopina [34]. Los compuestos benciltetrahidroisoquinolinas son intermediarios fundamentales durante el metabolismo de los alcaloides isoquinolínicos, los cuales tienen un precursor común: (S)-reticulina. Esta afirmación está basada en resultados obtenidos de experimentos con marcaje isotópico, en donde a partir de L-tirosina (37) se obtiene (S)-norcoclaurina (42) y (S)-coclaurina (43) hasta obtener (S)-reticulina (46) [35, 36].

Es importante mencionar que tales estudios han sido realizados con cultivos de células de diferentes especies como: *Eschscholtzia californica*, *Chelidonium majus*, *Macleaya cordata*, y *Papaver bracteatum*, que para este caso en particular, se mencionan únicamente aquellas que son de la familia Papaveraceae [34]. Con lo cual se trata de dar una idea general de la biosíntesis de los tipos de alcaloides encontrados en el género *Bocconia*, por lo que estos datos se resumen en los siguientes esquemas:

Esquema 1. Ruta biosintética para la formación de (S)-norcoclaurina (42) a partir de L-tirosina (37)



Esquema 2. Formación de (S)-Reticulina (46) a partir de (S)-Norcoclaurina (42)

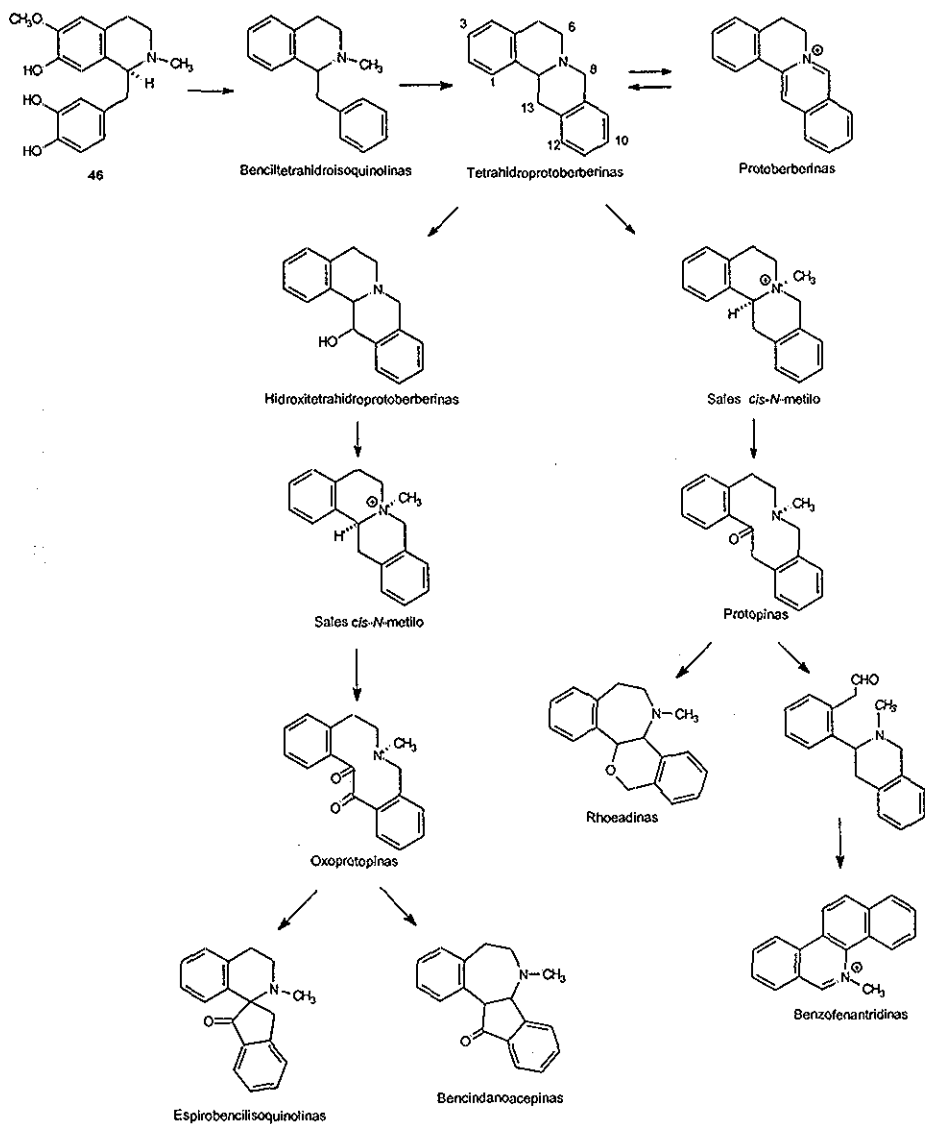


Las rutas biosintéticas del metabolito primario L-tirosina a protoberberinas han sido investigados con experimentos enzimáticos en plantas, y se ha encontrado que el trihidroxilado (S)-norcoclaurina (42) es el primer sistema bencilisoquinolina formado a partir de diferentes unidades C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>.

Se han delineado tres rutas biosintéticas diferentes a partir de estos experimentos. La primera involucra la secuencia de sales de protoberberina → tetrahidroprotoberberinas → sales N-metilo → protopinas → benzofenantridinas. La segunda va de acuerdo con la secuencia tetrahidroprotoberberinas → sales N-metilo → protopinas → rhoeadinas Y finalmente, la tercera involucra la secuencia tetrahidroprotoberberinas → hidroxitetrahidroprotoberberinas → sales N-metilo → oxoprotopinas → espirobencilisoquinolinas o benzoindanoazepinas. Estas conversiones biosintéticas involucran N-metilación, C-metilación u oxidación en C-13, y oxidación en C-14, o de forma alternante en C-6 o C-8. Las protopinas son intermediarios

principales de protoberberinas a alcaloides tipo isoquinolina, tales como benzofenantridinas, rhoeadinas, espirobencilisoquinolinas, y bencindanoazepinas [34], esquema 3.

Esquema 3. Tres rutas biosintéticas de alcaloides a partir de (S)-Reticulina (46)



### 3. 4 Alcaloides de tipo benzofenantridina.

Como se ha observado, el género *Bocconia* tiene una mayor abundancia de alcaloides de tipo benzofenantridina que los otros tipos, y considerando que los hallazgos en este trabajo han sido principalmente alcaloides de este tipo, se pondrá mayor énfasis en éstos. En principio, es importante reconocer al sistema tetracíclico y su numeración, como se indica en la figura 1. la cual está de acuerdo a la manera en que se enumera un fenantreno [37]

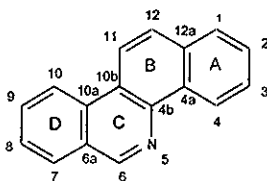


Figura 1. Sistema benzofenantridina

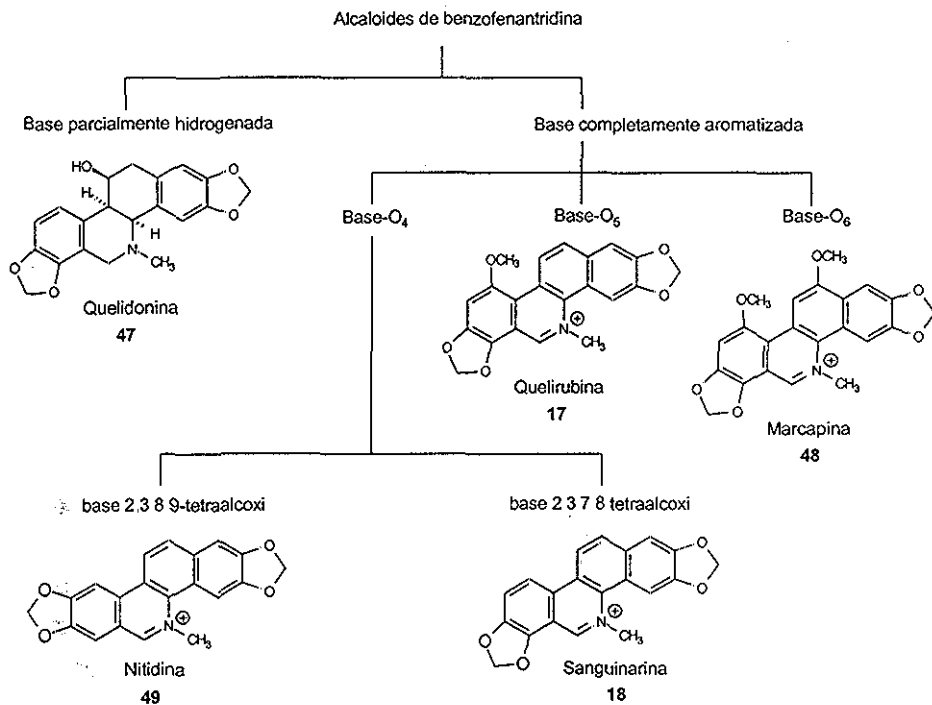
#### 3. 4. 1 Clasificación de los alcaloides de tipo benzofenantridina.

Los alcaloides de tipo benzofenantridina están ampliamente distribuidos en la familia Papaveraceae, encontrándose también en las familias Rutaceae y en menor proporción en Fumariaceae [18, 32, 33]. Este tipo de alcaloides puede clasificarse dentro de seis grupos principales [33] de acuerdo a su estructura y propiedades:

1. Hexahidrobzenofenantridina
2. Dihidrobzenofenantridina
3. *N*-Demetilbenzofenantridina
4. Benzofenantridina cuaternaria
5. Benzofenantridina dimérica
6. Secobenzofenantridina

Esta clasificación se ha reflejado directamente al momento de nombrarlos de manera trivial. Recientemente algunos autores los han clasificado con base en su grado de oxidación y el número de oxígenos funcionales en su estructura: pueden ser completamente aromatzados o parcialmente hidrogenados. Los completamente aromatzados pueden ser base-O<sub>4</sub>, base-O<sub>5</sub> ó base-O<sub>8</sub> [38], de acuerdo con el esquema 4

Esquema 4 Clasificación de alcaloides de tipo benzofenantridina





### 3.5 Importancia farmacológica de alcaloides.

Los alcaloides, en general, han demostrado poseer alguna actividad biológica, tales como: antimicrobiana, antitumoral, antiinflamatoria y antiviral. A continuación se mencionan algunos ejemplos:

Tabla 2 Actividad biológica determinada en algunos alcaloides

Actividad biológica	Substancia	Referencia
Antimicrobiana	Quelerequina (19)	39, 40
	Sanguinarina (18)	40
	6-acetonildihidroavicina (32)	41
	6-acetonildihidronitidina (33)	41
	6-etoxidihidrosanguinarina (34)	41
	6-metoxidihidrosanguinarina (35)	40
	Berberina (2)	39
Antiinflamatoria	Quelerequina (19)	42
	Sanguinarina (18)	42
Antitumoral	Quelerequina (19)	43, 44
	Sanguinarina (18)	43, 44
	Fagaronina (36)	43, 46, 47
	Nitidina (49)	43, 45, 46
Antiviral	Fagaronina (36)	48

La mayoría de los alcaloides mencionados, a los cuales se les ha determinado su actividad biológica, se han obtenido de otros géneros o familias diferentes a *Bocconia*, pero son sustancias que están relacionados con el tipo de alcaloides que se han venido estudiando, ya que los aislados de *Bocconia*, hasta ahora, no habían sido bioevaluados.

### 3.6 Investigaciones previas realizadas a *B. arborea*.

Los primeros reportes que se han registrado de estudios de *B. arborea* son los realizados por Manske en 1943, en los que estudió las hojas, la madera y la corteza. En uno de estos menciona que obtuvo queleritrina (19), protopina (28) y allocriptopina (26) [21]. Veintiséis años después reporta que obtuvo dihidrosanguinarina (14), oxisanguinarina (16), 6-metoxidihidroqueleritrina (10) y queleritridimerina (22) [22].

En 1996, Navarro detectó actividad antimicrobiana en el extracto metanólico de las partes aéreas (hojas y tallos) de *B. arborea*, en un rastreo antimicrobiano realizado a diversas plantas del estado de Morelos [49, 50]. Posteriormente encontró que tal actividad biológica era debida a la presencia de dihidroqueleritrina (8) y dihidrosanguinarina (14) [51]. En la tesis de Maestría de él mismo menciona que aisló dos productos que presentaron actividad antimicrobiana: a) producto naranja (dihidrosanguinarina, 14); b) producto amarillo (dihidroqueleritrina, 8). Los espectros de RMN <sup>1</sup>H analizados por Navarro dan evidencia de la presencia de mezclas de al menos dos sustancias en cada muestra. Dihidrosanguinarina (14) (identificada como producto naranja) y dihidroqueleritrina (8) (identificada como producto amarillo), son constituyentes de tales mezclas y aparentemente no son los constituyentes mayoritarios, ya que se observó que en las mezclas también están presentes 6-metoxidihidrosanguinarina (35) y 6-metoxidihidroqueleritrina (10) [52]. En el presente trabajo se observó que por CCF (a simple vista) 6-metoxidihidrosanguinarina (35) posee un color naranja intenso y 6-metoxidihidroqueleritrina (10) presenta un color amarillo, lo cual también es evidente cuando la cromatoplaça es irradiada con una lámpara de UV.

Recientemente, de las partes aéreas de *B. arborea* se ha reportado la obtención de bocconarborinas A (24) y B (25), 6-metoxidihidroqueleritrina (10), y el dímero de benzofenantridina (±)-sanguidimerina (23a). Se determinó la actividad antimicrobiana de 6-metoxidihidroqueleritrina (10), el cual confiere bioactividad al extracto metanólico de esta planta [19]. En el presente trabajo se estudia el extracto metanólico de la raíz, del cual se observó una actividad antimicrobiana significativa. Así también, se estudian las semillas de esta planta como información adicional acerca de esta especie.

## 4. PARTE EXPERIMENTAL.

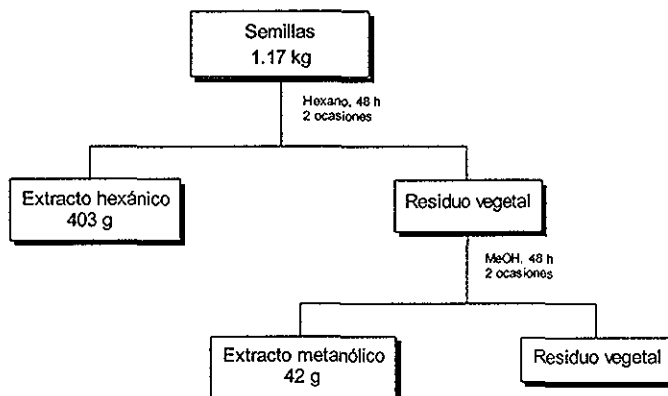
### 4.1 Recolección e identificación del material vegetal.

*Bocconia arborea* S Wats. (Papaveraceae). conocida como "llora sangre", fue recolectada el 28 de junio del 2000, en el Km 8 ½ de la carretera federal Cuernavaca-Tepoztlán, en el municipio de Tepoztlán, Morelos. Se recolectaron tallos y hojas, ramas, raíz y semillas. Un ejemplar de la misma se encuentra depositada en el Herbario Nacional del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (MEXU), con el registro 1045202.

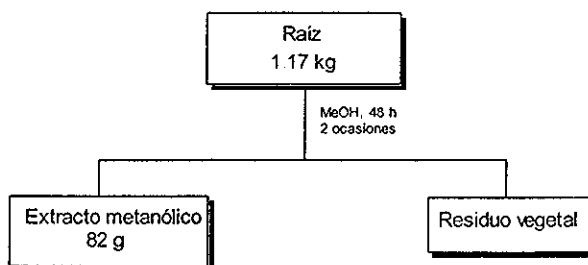
### 4.2 Preparación de los extractos orgánicos.

Se seleccionaron las semillas y la raíz de la planta. La desecación del material vegetal se llevó a cabo a temperatura ambiente, a la sombra, y posteriormente fue molido, obteniéndose 1.17 Kg de semillas y 1.17 Kg de raíz. La extracción de este material vegetal fue por maceración. La extracción de las semillas se realizó primeramente con hexano durante 48 h en dos ocasiones, y posteriormente con metanol durante 48 h también dos ocasiones (esquema 5). La extracción de la raíz se realizó sólo con metanol durante 48 h en dos ocasiones (esquema 6). Los disolventes fueron eliminados a presión reducida en un rotaevaporador. Se obtuvieron 403 g de extracto hexánico de las semillas, 42 g de extracto metanólico de las semillas y 82 g de extracto metanólico de la raíz.

Esquema 5 Diagrama de extracción de las semillas de *B. arborea*



Esquema 6 Diagrama de extracción de la raíz de *B. arborea*



Cada uno de los extractos obtenidos se fraccionaron en mezclas menos complejas, mediante cromatografía en columna. Las fracciones se analizaron por cromatografía en capa fina analítica, y se reunieron de acuerdo a sus características cromatográficas. Los diversos conjuntos de fracciones se resolvieron en sus constituyentes mediante cromatografías sucesivas en columna y/o en placa preparativa, y empleando técnicas de recristalización.

#### 4.3 Material y equipo.

Para la realización de las cromatografías en columna se usó como fase estacionaria gel de sílice ( $\text{SiO}_2$ ) marca Macherey-Nagel 60, malla 04-0 063/230-400 ASTM, y alúmina activada ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) Alcoa Chemicals, grado F-20, malla 80-200. Los disolventes utilizados como fase móvil fueron hexano, acetato de etilo, cloroformo y metanol, en diferentes proporciones. Las cromatografías fueron en fase normal, manteniendo un orden creciente de polaridad.

El análisis por cromatografía en capa fina se efectuó en cromatofolios marca Macherey-Nagel Duren, tipo Alugram SiF/UV<sub>254</sub>. Como reveladores se utilizaron una lámpara de rayos UV Spectroline, modelo ENF-240C ( $\lambda$  de 254 y 365 nm), una solución de sulfato cérico amoniacal  $(\text{NH}_4)_4\text{Ce}(\text{SO}_4)_4$  al 1 % en ácido sulfúrico 2N, reactivo de Draggendorf (Munier y Macheboeuf) [53,54], y reactivo de Mayer [54, 55], estos dos últimos para la detección de alcaloides. La cromatografía en capa fina preparativa se realizó en placas preparativas Merck de 2 mm de grosor y una superficie de 20 x 20 cm.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no fueron corregidos. Las lecturas de rotación óptica fueron determinadas en un espectropolarímetro

digital marca JASCO J720. Los espectros de ultravioleta se obtuvieron en un espectrofotómetro Shimadzu UV160. Los espectros de espectroscopía de absorción infrarroja se obtuvieron en un equipo FT-IR NICOLET MAGNA 750. Los espectros de espectrometría de masas se obtuvieron en un espectrómetro marca JEOL, modelo JMS-AX505HA, utilizando la técnica de impacto electrónico con un potencial de ionización de 70 eV, y una corriente de ionización de 100  $\mu$ a y JEOL modelo JMX-SX102A para la técnica de ionización por bombardeo con átomos rápidos (FAB). Los espectros de 1D y 2D de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , se obtuvieron en espectrómetros analíticos Varian, modelo Unity 300 y Unity plus 500, a 300 y 500 MHz respectivamente, asimismo un espectrómetro Jeol eclipse 300 a 300 MHz. Se utilizó como disolvente  $\text{CDCl}_3$  y en algunos casos DMSO como codisolvente, siendo el estándar interno tetrametilsilano (TMS) para todos los experimentos. Los valores de desplazamiento químico de los núcleos observados están registrados en ppm. Se recurrió a experimentos bidimensionales de RMN como COSY, NOESY, DEPT, HSQC y HMBC para realizar de manera inambigua la asignación de las señales.

#### 4.4 Extracto hexánico de las semillas

El extracto hexánico de las semillas resultó ser un aceite de color rojizo con un peso de 403 g a partir de 1.17 kg de semillas (34.4 %). El extracto se analizó por RMN  $^1\text{H}$  para tratar de dar una aproximación de los constituyentes de este aceite. El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 1) presentó señales características para un triacilglicérido y también se observan señales, en menor proporción, características para alcaloides (trazas, <1%) del tipo que se han estado identificando en este estudio. El triacilglicérido, constituyente mayoritario del extracto presentó la siguiente estructura (figura 2) en el cual no se ha determinado la longitud de las cadenas hidrocarbonadas.

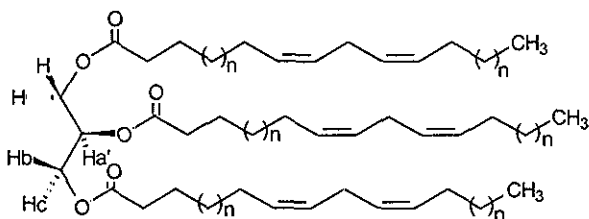


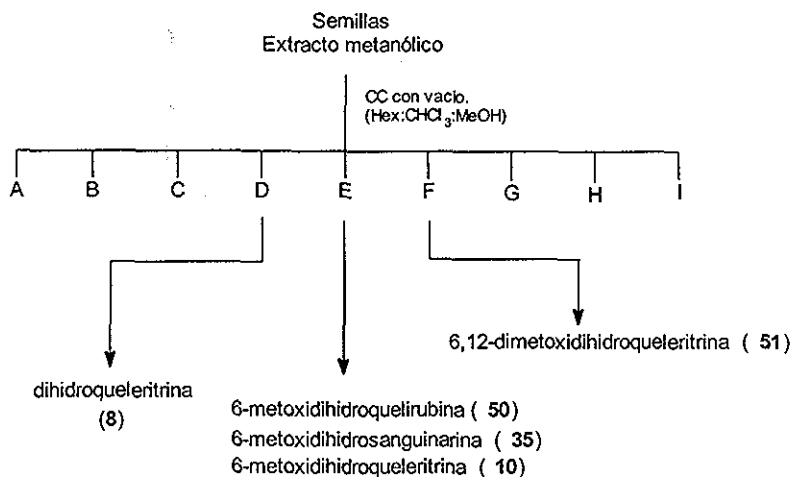
Figura 2 Triacilglicérido del extracto hexánico de las semillas

#### 4.5 Cromatografía del extracto metanólico de las semillas.

##### 4.5.1 Fraccionamiento del extracto metanólico de las semillas.

El extracto metanólico de las semillas (30.42 g) se adsorbió en la misma cantidad de gel de sílice 70-230 (1:1). Se aplicó a una columna cromatográfica, empacada con gel de sílice fina (7.5 cm de diámetro y 11 cm de altura), a presión reducida. La fase móvil inicial fue hexano al 100 % con aumento del gradiente de polaridad con  $\text{CHCl}_3$ , hasta eluir con este último al 100 %. Posteriormente, se aumentó el gradiente de polaridad con MeOH hasta un máximo de  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (8:2) de la mezcla eluyente. En el desarrollo de la cromatografía, se colectaron eluatos de 400 ml cada uno, los cuales se reunieron de acuerdo a su similitud cromatográfica obteniéndose 9 fracciones. Cada una de estas fueron resueltas a mezclas menos complejas

Esquema 7. Cromatografía del extracto metanólico de las semillas

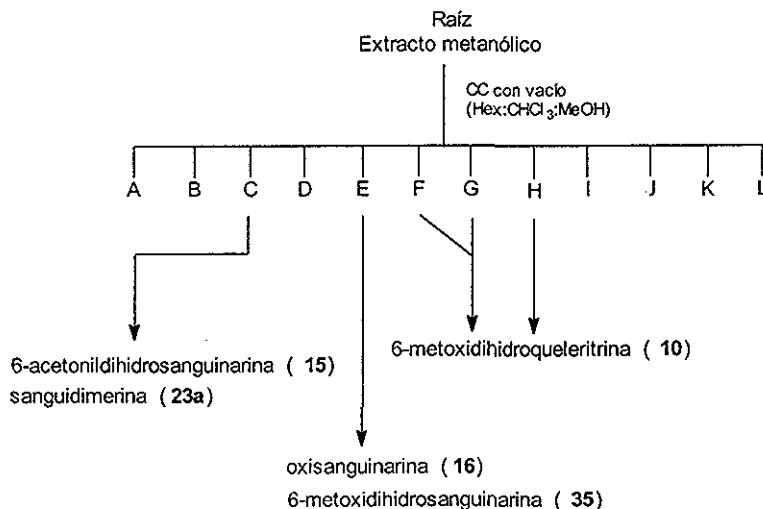


## 4.6 Cromatografía del extracto metanólico de la raíz.

### 4.6.1 Fraccionamiento del extracto metanólico de la raíz.

El extracto metanólico (70.05 g) se adsorbieron en gel de sílice 70-230 (1:1). Se aplicaron a una columna cromatográfica empacada a presión reducida con gel de sílice fina (10.5 cm de diámetro y 11 cm de altura) Se eluyó inicialmente con hexano al 100 % y posteriormente se aumentó el gradiente de polaridad de la fase con  $\text{CHCl}_3$ , hasta llegar a eluir con el 100 % de este último. En seguida, se aumentó el gradiente de polaridad con MeOH hasta llegar a un máximo de  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (8:2) de la mezcla eluyente. En el desarrollo de la columna se colectaron eluatos de 400 ml, los que se reunieron de acuerdo a su similitud cromatográfica, y se obtuvieron 12 fracciones. Cada una de estas se resolvieron a mezclas menos complejas.

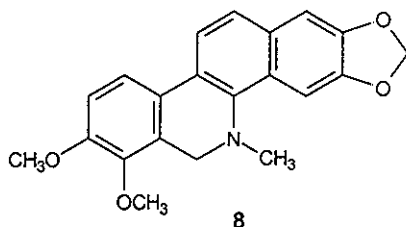
Esquema 8 Cromatografía del extracto metanólico de la raíz



## 5. RESULTADOS.

### 5.1 Aislamiento de dihidroqueleritrina (8).

Del extracto metanólico de las semillas se aisló un sólido cuya CCF al ser revelada con sulfato cérico amoniacal, dio una mancha de color amarillo con un halo café. Este material se disolvió en  $\text{CHCl}_3$  caliente, se llevó a baño de hielo y cristalizó de MeOH como un sólido cristalino amarillo que se filtró en un embudo Hirsch y se lavó con MeOH frío. Se caracterizó por sus propiedades físicas y espectroscópicas, identificándose como dihidroqueleritrina (8) [22,28,32]. Este alcaloide es un constituyente mayoritario del extracto metanólico de las semillas (2.111 g, 0 25 % del total de material seco)



Sólido cristalino de color amarillo

En CCF se observa de color azul violáceo con la lampara de  $\text{UV}_{365}$

$\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{NO}_4$  PM 349 g/mol

Pf 164-165 °C ( $\text{CHCl}_3$ -MeOH) (lit 161-162 °C) [32]

$R_f$  0.77 Hex- $\text{CHCl}_3$ -MeOH (1.5:1.5:0 1)

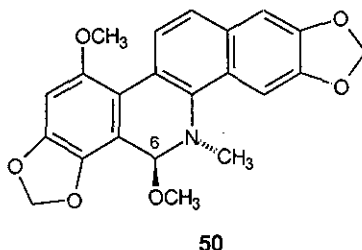
RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 2)  $\delta$ , integración, multiplicidad,  $J$ , asignación: 7.70 (1H, d, 8.7, H-11), 7.67 (1H, s, H-4), 7.50 (1H, d, 9.0, H-10), 7.47 (1H, d, 8.7, H-12), 7.11 (1H, s, H-1), 6.94 (1H, d, 9.0, H-9), 6.04 (2H, s,  $\text{OCH}_2\text{O}$ ), 4.29 (2H, s, 2H-6), 3.93 (3H, s, 7- $\text{OCH}_3$ ), 3.88 (3H, s, 8- $\text{OCH}_3$ ), 2.60 (3H, s, N- $\text{CH}_3$ ).

EM (IE, 70 eV, espectro 3)  $m/z$  (% ar) 349 [ $\text{M}^+$ ] (100), 348 (80), 334 (10), 333 (9), 332 (9), 318 (10), 304 (7), 290 (12).



## 5.2 Aislamiento de 6-metoxidihidroquelirubina (50).

Un sólido obtenido del extracto metanólico de las semillas a partir de la fracción E, el cual pudo ser identificado por el color rojo que se observó cuando su placa (CCF) fue irradiada con una lámpara de UV<sub>365</sub>. Este sólido se solubilizó en CHCl<sub>3</sub>, en caliente, y se llevó a un baño de hielo y se indujo recristalización con MeOH. el sólido se filtró mediante un embudo Hirsch, y se lavó con MeOH frío. del cual se obtuvo un polvo blanco, que se identificó por sus características físicas y espectroscópicas como 6-metoxidihidroquelirubina (50) [56] Se obtuvieron 48 mg, equivalente al 0.004 % del total del peso de las semillas.



Polvo de color blanco.

En CCF se observa de color rojo con la lampara de UV<sub>365</sub>

C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>6</sub>            PM = 393 g/mol

**Pf** 182-184 °C (CHCl<sub>3</sub>-MeOH)

**Rf** 0.5    Hex-CHCl<sub>3</sub>-MeOH (1 5:1 5:0.1)

**RO** [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> = (CHCl<sub>3</sub>) No se pudo leer debido a la alta coloración (rojiza) de la muestra.

**RMN** <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 4)  $\delta$ , integración, multiplicidad, J, asignación: 8.44 (1H, d, 8.5, H-11), 7.72 (1H, s, H-4), 7.46 (1H, d, 8.5, H-12), 7.11 (1H, s, H-1), 6.68 (1H, s H-9), 6.07 6.03 (2H, 2d, 1.5, -OCH<sub>2</sub>O-), 6.05, 6.04 (2H, 2d, 1.5 -OCH<sub>2</sub>O-) 5.31 (1H, s, H-6), 3.89 (3H, s, 10-OCH<sub>3</sub>), 3.41 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 2.74 (3H, s, CH<sub>3</sub>-N).

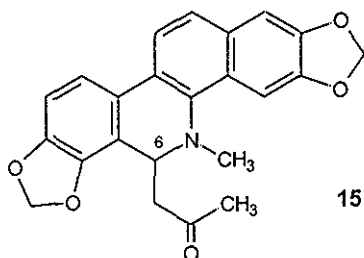
**RMN** <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro5)  $\delta$ , asignación: 152.51 (C-10), 147.77 (C-3), 147.35 (C-2, C-8), 139.19 (C-7), 138.35 (C-4b), 130.54 (C-12a), 126.83 (C-4a), 124.63 (C-11), 122.93 (C-12), 122.54 (C-10b), 114.90 (C-6a), 113.09 (C-10a), 104.32 (C-1), 101.77 (-OCH<sub>2</sub>O-), 100.91

(OCH<sub>2</sub>O-), 100.45 (C-4), 95.81 (C-9), 85.98 (C-6), 56.69 (10-OCH<sub>3</sub>), 54.21 (6-OCH<sub>3</sub>), 40.13 (CH<sub>3</sub>-N).

EM (IE, 70 eV, espectro 10) *m/z* (% ar) 393 [M]<sup>+</sup> (24), 363 (27), 362 (100), 347 (19), 332 (13), 318 (6), 302 (4), 261 (7), 246 (5), 181 (9), 145 (9)

### 5.3 Aislamiento de 6-acetonildihidrosanguinarina (15).

Al residuo que constituye la fracción C del extracto metabólico de la raíz (2.3883 g), se realizó cromatografía en columna abierta. empacada con alúmina. La columna de 50 cm de altura y 2.5 cm de diámetro, se eluyó con mezcla de Hex-CHCl<sub>3</sub> (1:1), con eluatos colectados de 50 ml, y gradualmente se aumentó la polaridad de la mezcla eluyente, hasta CHCl<sub>3</sub> al 100 %, y posteriormente con mezcla de CHCl<sub>3</sub>-MeOH (80:20) como máximo de polaridad. Las subfracciones 4 a 8 se reunieron de acuerdo a su similitud cromatográfica y de ellas, por recristalización por par de disolventes CHCl<sub>3</sub>-éter isopropílico, se obtuvo un polvo amarillo (65 mg, 0.006 %) que, de acuerdo a sus características espectroscópicas, se identificó como (±)-6-acetonildihidrosanguinarina (15). Este alcaloide ya ha sido aislado de las partes aéreas de esta especie [23, 57].



Polvo de color amarillo

En CCF se observa de color azul-violáceo con lámpara de UV<sub>365</sub>

C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub> PM = 389 g/mol

Pf 185-186 °C (CHCl<sub>3</sub>-éter isopropílico) (lit: 194-195 °C [57])

R<sub>f</sub> 0.7 Hex-CHCl<sub>3</sub>-MeOH (1.5:1.5:0.1)

RO [α]<sub>D</sub> 0 (CHCl<sub>3</sub>)

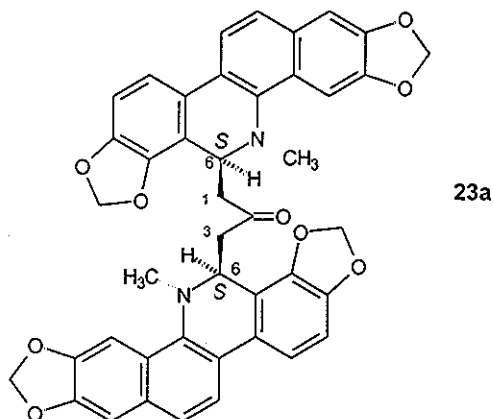
UV λ max (MeOH) nm (log ε) 212 (4.44), 236 (4.54), 285 (4.54), 323 (4.17)

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 11) δ, integración, multiplicidad, J, asignación: 7.69 (1H, d, 8.7, H-11), 7.53 (1H, s, H-4), 7.48 (1H, d, 8.7, H-12), 7.33 (1H, d, 8.1, H-10), 7.10 (1H, s, H-1), 6.86 (1H, d, 8.1, H-9), 6.04 (4H, m, 2 -OCH<sub>2</sub>O-), 4.87 (1H, dd, 10.0, 4.0, H-6), 2.66 (1H, dd, 15.0, 10.0, H-13A), 2.65 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>), 2.30 (1H, dd, 15.0, 4.0, H-13B), 2.06 (3H, s, -COCH<sub>3</sub>)

EM (IE, 70 eV, espectro 12) m/z (% ar) 389 [M]<sup>+</sup> (14), 333 (23), 332(100), 317 (13), 316 (4), 274 (5).

#### 5.4 Aislamiento de sanguidimerina (23a).

De la misma fracción C, descrita anteriormente, a partir de las subfracciones 10 a 12 se obtuvo un sólido, el cual se solubilizó en la mínima cantidad de cloroformo, en caliente. se llevó a baño de hielo y se recrystalizó de MeOH. Se filtro y se lavó con MeOH frío, se obtuvo un sólido cristalino (120 mg, 0.12 %), en forma de agujas, de color amarillo, el cual con base en sus características físicas y espectroscópicas, se identificó como ( $\pm$ )-sanguidimerina (23a) [23,58-60] Aunque de estructura ya conocida, este alcaloide no había sido aislado de *Bocconia*.



Polvo cristalino (agujas) de color amarillo.

En CCF se observa de color azul violáceo con la lámpara de UV<sub>365</sub>

C<sub>43</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub> PM = 720 g/mol

**Pf** 194-196 °C (CHCl<sub>3</sub>-MeOH) (lit: 174 °C [59])

**R<sub>f</sub>** 0.75 Hex-CHCl<sub>3</sub>-MeOH (1.5:1.5:0.1)

**RO** [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> 0 ° (CHCl<sub>3</sub>, 1.5 mg/ml)

**IR** (CHCl<sub>3</sub>, espectro 13)  $\nu_{\max}$  3693, 2946, 2895, 2804, 2778, 1713, 1603, 1501, 1464, 1442, 1416, 1360, 1211, 1186, 1153, 1124, 1100, 1043, 947, 860 cm<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 14)  $\delta$ , integración, multiplicidad, *J*, asignación: 7.57 (2H, d, 8.7, H-11, H-11'), 7.44 (2H, s, H-4, H-4'), 7.37 (2H, d, 8.4, H-12, H-12'), 7.24 (2H, d, 8.4, H-10, H-10'), 7.01 (2H, s, H-1, H-1'), 6.79 (2H, d, 8.1, H-9, H-9'), 6.06 (4H, dd, 1.5, 2 x OCH<sub>2</sub>O), 5.97

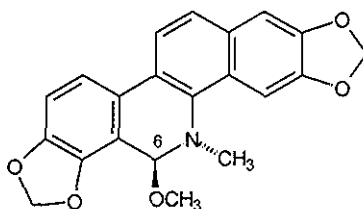
(4H, dd, 1.2, 2 x OCH<sub>2</sub>O), 4.92 (2H, dd, 10.5, 3.5, H-6, H-6'), 2.62 (6H, s, N-CH<sub>3</sub>, N-CH<sub>3</sub>'), 2.47 (2H, dd, 15.9, 10.5, H-1''A, H-3''A), 2.20 (2H, dd, 15.9, 3.5, H-1''B, H-3''B).

**RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 15) δ (asignación): 206.88 (C-2''), 148.08 (C-3, C-3'), 147.43 (C-2, C-2'), 147.16 (C-8, C-8'), 144.23 (C-7, C-7'), 139.28 (C-4b, C-4b'), 130.88 (C-12a, C-12a'), 127.44 (C-4a, C-4a'), 125.69 (C-10a, C-10a'), 123.84 (C-12, C-12'), 123.38 (C-10b, C-10b'), 119.91 (C-11, C-11'), 116.27 (C-6a, C-6a'), 116.18 (C-10, C-10'), 107.29 (C-9, C-9'), 104.28 (C-1, C-1'), 101.60 (2 x OCH<sub>2</sub>O), 100.93 (2 x OCH<sub>2</sub>O), 100.65 (C-4, C-4'), 53.96 (C-6, C-6'), 47.23 (C-1'', C-3''), 43.04 (N-CH<sub>3</sub>, N-CH<sub>3</sub>').

**EM** (IE, espectro 20) *m/z* (% ar) 720 [M]<sup>+</sup> (5), 389 (3), 332 (100), 317 (7).

## 5.5 Aislamiento de 6-metoxidihidrosanguinarina (35).

Con la fracción E (6.976 g) del extracto metanólico de la raíz, que comprende los eluatos 94-106 de la columna de fraccionamiento se realizó una CC abierta empacada con alúmina, de 24 cm de altura y 4.5 cm de diámetro. Se eluyó con mezcla de Hex-CHCl<sub>3</sub> (1:1), con aumento gradual de la polaridad de la mezcla eluyente hasta llegar a CHCl<sub>3</sub> al 100 % y posteriormente se aumenta con MeOH hasta un máximo de CHCl<sub>3</sub>-MeOH (80:20), colectando eluatos de 50 ml. En las subfracciones 7 a 15 se observa un sólido, el cual se reúne en un matraz, se disuelve en CHCl<sub>3</sub> caliente, y posteriormente se coloca en baño de hielo. Se induce recristalización con una espátula y se le agregan gotas de MeOH. Se obtiene un residuo cristalino el cual se separa por filtración en un embudo Hirsch, y se lava con MeOH. Se obtiene un polvo color naranja tenue (1.323 g, 0.13 %), que mediante el análisis de sus propiedades físicas y espectroscópicas resultó ser un alcaloide de tipo benzofenantridina, identificado como (-)-6-metoxidihidrosanguinarina (35) [61,63].



35

Polvo cristalino color amarillo naranja tenue

En CCF se observa de color naranja intenso con la lámpara de UV<sub>365</sub>

C<sub>21</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>5</sub> PM 363 g/mol

Pf 255-256 °C (CHCl<sub>3</sub>-MeOH) (lit: 195-197 °C [63])

R<sub>f</sub> 0.45 Hex-CHCl<sub>3</sub>-MeOH (1.5:1.5:0.1)

RO [α]<sub>D</sub> -21.5° (CHCl<sub>3</sub>, 1.16 mg/ml)

IR (CHCl<sub>3</sub>, espectro 21) ν<sub>max</sub> 3693, 2948, 2901, 1690, 1644, 1598, 1502, 1477, 1443, 1415, 1359, 1320, 1290, 1256, 1168, 1125, 1044, 944, 862 cm<sup>-1</sup>

UV λ max (EtOH) nm (log ε) 211 (4.46), 235 (4.56), 284 (4.59), 323 (4.23)

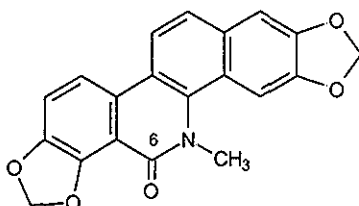
**RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 22) δ, integración, multiplicidad, *J*, asignación: 7.75 (1H, d, 9.0, H-11), 7.69 (1H, s, H-4), 7.48 (1H, d, 9.0, H-12), 7.41 (1H, d, 9.0, H-10), 7.12 (1H, s, H-1), 6.93 (1H, d, 9.0, H-9), 6.12 (2H, d, OCH<sub>2</sub>O), 6.05 (2H, dd, OCH<sub>2</sub>O), 5.37 (1H, s, H-6), 3.46 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 2.79 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 23) δ (asignación): 148.08, 147.43, 147.23, 145.26, 138.18, 131.07, 126.84, 125.75, 123.74 (C-12), 122.79, 120.21 (C-11), 116.35 (C-10), 113.14, 108.84 (C-9), 104.65 (C-1), 101.73 (OCH<sub>2</sub>O), 101.06 (OCH<sub>2</sub>O), 100.62 (C-4), 85.89 (C-6), 54.09 (O-CH<sub>3</sub>), 40.87 (N-CH<sub>3</sub>).

**EM** (IE, 70 eV, espectro 25) *m/z* (% ar) 363 [M]<sup>+</sup> (17), 332 (100), 317 (12), 166 (12).

## 5.6 Aislamiento de oxisanguinarina (16)

De la misma cromatografía realizada a la fracción E del extracto metanólico de la raíz, se obtuvo, de la subfracción 23-27, un polvo amarillo (42 mg, 0.004 %) que al ser observado por CCF, aparece junto con una mancha naranja y amarilla (las cuales corresponden a 6-metoxidihidosanguinarina y 6-metoxidihidroqueleritrina, respectivamente), siendo esta la sustancia de mayor polaridad. Se identifica por CCF como una mancha de color azul claro al ser vista con la lámpara de UV, y al ser revelada con sulfato cérico amoniacal se observa como una mancha color café. Esta sustancia se diferenció de los otros alcaloides aislados por ser casi insoluble en  $\text{CHCl}_3$ , propiedad que sirvió para separarla de dicha subfracción, se analizó y caracterizó por sus propiedades físicas y espectroscópicas como oxisanguinarina (16) [62-64]



16

Polvo de color amarillo

En CCF se observa de color azul claro con la lámpara de UV<sub>365</sub>

$\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{NO}_5$  PM 347 g/mol

Pf mayor a 290 °C (MeOH- $\text{CHCl}_3$ ) (lit: 354-356 °C [64])

R<sub>f</sub> 0.35 Hex- $\text{CHCl}_3$ -MeOH (1.5:1 5:0.1)

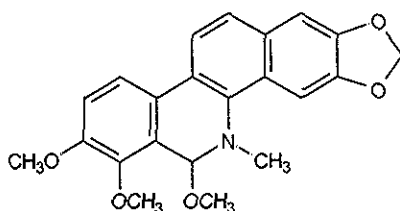
RMN <sup>1</sup>H (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$  + DMSO, espectro 26)  $\delta$ , integración, multiplicidad, J, asignación:  
7.99 (1H, d, 9.0), 7.78 (1H, d, 9.0), 7.57 (1H, s, H-4), 7.54 (1H, d, 9.0), 7.26 (1H, d, 9.0), 7.17 (1H, s, H-1), 6.27 (2H, s,  $\text{OCH}_2\text{O}$ ), 6.11 (2H, s,  $\text{OCH}_2\text{O}$ ), 3.90 (3H, s, N- $\text{CH}_3$ )

EM (IE, 70 eV, espectro 27)  $m/z$  (% ar) 347 [ $\text{M}]^+$  (100), 346 (47), 318 (20), 302 (5), 289 (12), 274 (7), 260 (5), 246 (4), 232 (4), 203 (7), 188 (7)



## 5.7 Aislamiento de 6-metoxidihidroqueleritina (10).

De las fracción E (6.97 g), F (2.09 g), G (6.31 g), y H (2.62 g) del extracto metanólico de la raíz se obtuvo un polvo amarillento que por CCF se presenta como una mancha de color amarillo, esta cromatopla, al ser revelada con sulfato cérico amoniacal, presenta una mancha de color amarillo. Cada una de estas fracciones, las cuales fueron tratadas por separado, se cromatografiaron en columnas abiertas eluidas por gravedad empacadas con alúmina y eluidas con fase móvil de Hex-CHCl<sub>3</sub> (1:1). Las subfracciones donde apareció esta sustancia colorida se reunieron y posteriormente el sólido obtenido fue purificado por recristalización. Cada sólido se solubilizó en CHCl<sub>3</sub> caliente y posteriormente se enfrió en baño de hielo, se recristalizó de éter isopropílico. Se obtuvieron sólidos blancos los cuales fueron filtrados mediante un embudo Hirsch. A estos polvos se les determinaron sus propiedades físicas, y por estas y por sus propiedades espectroscópicas se dedujo que dichos productos se trataban de (-)-6-metoxidihidroqueleritina (10) [22,23]. Este alcaloide, ya conocido, es un constituyente mayoritario de la raíz (1.928 g, 0.19 %) y minoritario de las semillas (82.6 mg, 0.010 %).



10

Polvo de color blanco amarillento.

En CCF se observa de color amarillo intenso con la lámpara de UV<sub>254</sub> y UV<sub>365</sub>.

C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub> PM 379 g/mol

Pf 244-246 °C (CHCl<sub>3</sub>-éter isopropílico); lit: 248-250 °C [23]

R<sub>f</sub> 0.3 Hex-CHCl<sub>3</sub>-MeOH (1.5:1.5:0.1)

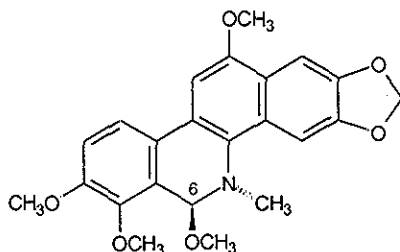
RO [α]<sub>D</sub> -18.0 (CHCl<sub>3</sub>, 1.33 mg/ml)

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 28) δ, integración, multiplicidad, asignación: 7.78 (1H, d, 8.7, H-11), 7.70 (1H, s, H-4), 7.62 (1H, d, 8.7, H-10), 7.47 (1H, d, 8.7, H-12), 7.12 (1H, s, H-1), 7.04 (1H, d, 8.7, H-9), 6.05 (2H, s, OCH<sub>2</sub>O), 3.96 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>), 3.92 (3H, s, 8-OCH<sub>3</sub>), 3.46 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 2.76 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>).

EM (IE) m/z (% ar) 379 [M]<sup>+</sup> (15), 349 (27), 348 (100), 333 (16), 332 (12), 318 (11), 290 (15).

### 5.8 Aislamiento de 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51).

La fracción D del extracto metanólico de las semillas (4 22 g), se adsorbió en gel de sílice 70-230 y aplicada a una columna abierta tipo flash, la cual se comenzó a eluir con  $\text{CHCl}_3$  al 100 % v/v, y se fue aumentando gradualmente la polaridad de la fase móvil con MeOH. De la subfracción 20 (polaridad de la mezcla eluyente  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (96:4)), se obtuvo un sólido que, por recristalizaciones sucesivas de  $\text{CHCl}_3$ -MeOH se logró purificar una sustancia de color blanco (68 mg, 0.008 %), que fue analizada e identificada como (-)-6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51), es el alcaloide de mayor polaridad que se ha aislado de *Bocconia*, de estructura novedosa y cuyas características físicas y espectroscópicas se presentan a continuación:



51

Polvo de color blanco

En CCF se observa de color amarillo-limón con la lámpara de  $\text{UV}_{365}$

$\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{NO}_6$  PM 409 g/mol

Pf 245-247 °C ( $\text{CHCl}_3$ -MeOH)

$R_f$  0.18  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (3.0:0.3)

RO  $[\alpha]_D$  -10.6° ( $\text{CHCl}_3$  1.6 mg/ml)

IR ( $\text{CHCl}_3$ , espectro 30)  $\nu_{\text{max}}$  2940, 2906, 2842, 1773, 1708, 1666, 1601, 1541, 1497, 1465, 1387, 1347, 1295, 1270, 1081, 1041, 942, 872  $\text{cm}^{-1}$ .

UV  $\lambda$  max ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) nm (log  $\epsilon$ ) 220 (4.57), 290 (4.67), 325 (4.14).

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 31)  $\delta$ , integración, multiplicidad, J, asignación: 7.68 (1H, d, 0.5, H-4), 7.58 (1H, d, 8.5, H-10), 7.56 (1H, d, 0.5, H-1), 7.13 (1H, s, H-11), 7.04 (1H, d, 9.0, H-

9), 6.05 (2H, dd, 4.0, 1.5, OCH<sub>2</sub>O), 5.50 (1H, s, H-6), 4.02 (3H, s, 12-OCH<sub>3</sub>), 3.96 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>), 3.93 (3H, s, 8-OCH<sub>3</sub>), 3.45 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 2.67 (3H, s, CH<sub>3</sub>-N).

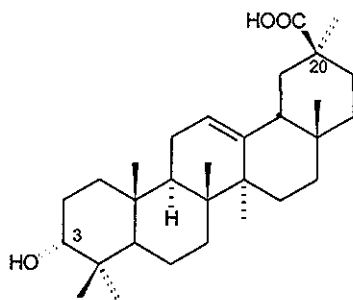
**RMN <sup>13</sup>C** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 32)  $\delta$  (asignación): 152.19 (C-8, C-12), 148.39 (C-3), 147.12 (C-7), 146.84 (C-2), 131.89 (C-4b), 127.97 (C-4a), 125.97 (C-6a), 125.06 (C-10a), 122.74 (C-12a), 122.35 (C-10b), 118.78 (C-10), 112.77 (C-9), 101.04 (OCH<sub>2</sub>O), 100.53 (C-4), 99.75 (C-1), 98.77 (C-11), 86.14 (C-6), 61.66 (7-OCH<sub>3</sub>), 55.96 (8-OCH<sub>3</sub>), 55.69 (12-OCH<sub>3</sub>), 54.02 (6-OCH<sub>3</sub>), 40.41 (CH<sub>3</sub>-N).

**EM FABHR**  $m/z$  409.1518 [M + H]<sup>+</sup> para C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>6</sub> (calcd [M + H]<sup>+</sup>  $m/z$  409.1525)

**EM (IE, 70 eV, espectro 37)**  $m/z$  (% ar) 409 [M]<sup>+</sup> (15), 378 (100), 363 (16), 348 (13), 334 (5), 320 (11), 189 (12).

## 5.9 Aislamiento del ácido 20-*epi*-katónico (52).

El ácido 20-*epi*-katónico, sólido cristalino, incoloro, se obtuvo del extracto de diclorometano de las partes aéreas de *B. arborea*. El extracto de diclorometano (40 g) se adsorbió en gel de sílice 70-230 en proporción (1:1), se aplicó a una columna empacada con sílice fina y se desarrolló a presión reducida. La columna se eluyó con hexano y se aumentó gradualmente la polaridad con acetato de etilo, de la cual se obtuvieron 15 fracciones, las cuales se reunieron de acuerdo a su similitud cromatográfica. Una de las fracciones (1.132 g) se recromatografió en una columna empacada con sílice 70-230 suspendida. Se comenzó a eluir con  $\text{CHCl}_3$  al 100 % y se aumentó la polaridad de la mezcla con AcOEt. Se obtuvo un residuo de color café (0.270 g) cuya CCF al ser revelada con sulfato cérico amoniacal presentó una mancha de color café. Este residuo fue solubilizado en  $\text{CHCl}_3$  en caliente y se llevó a baño de hielo. Se indujo recristalización con gotas de MeOH. Recristalizó un sólido cristalino incoloro que fue lavado con MeOH frío. Este sólido cristalino (95 mg) fue caracterizado estructuralmente mediante sus propiedades físicas y espectroscópicas, y resultó ser un triterpenoide pentacíclico funcionalizado con un grupo OH en la posición 3 y un grupo carboxilo en la posición 20, identificándose como el ácido (+)- 20-*epi*-katónico (52), el cual es de estructura novedosa.



Sólido cristalino incoloro.

$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$  PM 456 g/mol

Pf 271-272 °C ( $\text{CHCl}_3$ -MeOH)

$R_f$  0.2 Hex-  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (1.5:1.5:0.1)

0.4  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (3:0.1)

RO  $[\alpha]_D +98.26^\circ$  ( $c=1.15$  mg/ml,  $\text{CHCl}_3$ )

**IR**  $\nu_{\max}$  (CHCl<sub>3</sub>, espectro 38) 3615, 3519, 2928, 2859, 1736, 1698, 1602, 1459, 1384, 1125 1066, 991 cm<sup>-1</sup>

**UV**  $\lambda_{\max}$  (EtOH) nm (log  $\epsilon$ ) 207 (3.69), 279 (2.76)

**RMN** <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 39)  $\delta$ , integración, multiplicidad, *J*, asignación: 1.58 (1H, dd, 6.0, 3.5, H-1 $\beta$ ), 1.32 (1H, dd, 9.5, 4.5, H-1 $\alpha$ ), 1.54, (1H, dd, 6.5, 3.5, H-2 $\beta$ ), 1.93 (1H, m, H-2 $\alpha$ ), 3.44 (1H, dd, 2.5, 2.5, H-3 $\beta$ ), 1.24 (1H, dd, 9.0, 2.0, H-5 $\alpha$ ), 1.44 (2H, m, H-6 $\alpha$ , H-6 $\beta$ ), 1.33 (2H, m, H-7 $\alpha$ , H-7 $\beta$ ), 1.71 (1H, t, 9.0, H-9 $\alpha$ ), 1.89 (2H, m, H-11 $\alpha$ , H-11 $\beta$ ), 5.28 (1H, dd, 3.5, 3.5, H-12), 0.99 (1H, ddd, 13.5, 4.5, 3.0, H-15 $\beta$ ), 1.78 (1H, ddd, 13.5, 13.5, 4.5, H-15 $\alpha$ ), 1.94 (1H, m, H-16 $\beta$ ), 0.87 (1H, m, H-16 $\alpha$ ), 1.97 (1H, dd, 9.0, 4.5, H-18 $\beta$ ), 1.87 (1H, dd, 4.0, 3.5, H-19 $\beta$ ), 1.66 (1H, dd, 13.5, 13.5, H-19 $\alpha$ ), 1.91 (2H, m, H-21 $\beta$ ), 1.31 (1H, m, H-21 $\alpha$ ), 1.36 (2H, m, 1.36, H-22 $\alpha$ , H-22 $\beta$ ), 0.97 (3H, s, CH<sub>3</sub>-23), 0.86 (3H, s, CH<sub>3</sub>-24), 0.95 (3H, s, CH<sub>3</sub>-25), 0.97 (3H, s, CH<sub>3</sub>-26), 1.17 (3H, s, CH<sub>3</sub>-27), 0.81 (3H, s, CH<sub>3</sub>-28), 1.19 (3H, s, CH<sub>3</sub>-29)

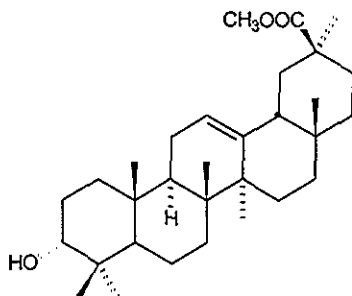
**RMN** <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 40)  $\delta$  (asignación): 32.53 (C-1), 25.08 (C-2), 76.52 (C-3), 36.96 (C-4), 48.85 (C-5), 18.29 (C-6), 31.98 (C-7), 39.97 (C-8), 47.29 (C-9), 37.34 (C-10), 23.34 (C-11), 122.68 (C-12), 144.36 (C-13), 41.61 (C-14), 26.10 (C-15), 26.92 (C-16), 32.91 (C-17), 48.21 (C-18), 42.77 (C-19), 43.98 (C-20), 31.09 (C-21), 38.26 (C-22), 28.29 (C-23), 22.27 (C-24), 15.31 (C-25), 16.76 (C-26), 26.28 (C-27), 28.10 (C-28), 23.65 (C-29), 181.70 (C-30)

**EM FABHR** *m/z* 456.3586 [M + H]<sup>+</sup> para C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub> (calcd [M + H]<sup>+</sup> *m/z* 456.3603)

**EM** (IE, 70 eV, espectro 46) *m/z* (% ar) 456 [M]<sup>+</sup> (4), 248 (100), 233 (5), 207 (6), 190 (12)

## 5.10 Formación del 20-*epi*-katonato de metilo (53).

En un matraz Erlenmeyer de 25 ml fueron colocados 37.8 mg del ácido 20-*epi*-katónico y se le adicionó gotas de una solución etérea de diazometano, hasta que ya no se observó burbujeo. El exceso de diazometano se dejó evaporar. Por CCF se observa que la reacción se llevó a cabo en su totalidad, por comparación con el R<sub>f</sub> del ácido. De esta manera se obtuvo el (+)-20-*epi*-katonato de metilo (53), también de estructura novedosa, y se determinaron sus propiedades físicas y espectroscópicas.



53

Sólido blanco

C<sub>31</sub>H<sub>50</sub>O<sub>3</sub> PM 470 g/mol

Pf 205-206 °C (CHCl<sub>3</sub>-MeOH)

R<sub>f</sub> 0.5 Hex-CHCl<sub>3</sub>-MeOH (1.5:1.5:0.1)

RO [α]<sub>D</sub> + 88.71 ° (c = 1.24 mg/ml, CHCl<sub>3</sub>)

IR ν<sub>max</sub> (CHCl<sub>3</sub>, espectro 47) 3621, 2950, 2929, 2861, 1721, 1602, 1459, 1384, 1314, 1162, 1086, 1067, 991 cm<sup>-1</sup>

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 48) δ, integración, multiplicidad, *J*, asignación: 3.41 (1H, dd, 2.5, 2.5, H-3β), 1.26 (1H, dd, 9.0, 2.0, H-5α), 1.69 (1H, dd, 9.0, 9.0, H-9α), 5.28 (1H, dd, 3.5, 3.5, H-12), 0.99 (1H, ddd, 13.5, 4.5, 3.0, H-15α), 1.77 (1H, ddd, 13.5, 13.5, 4.0, H-15β), 0.88 (1H, m, H-16α), 1.95 (1H, m, H-16β), 1.97 (1H, dd, 13.5, 4.0, H-18β), 1.62 (1H, dd, 13.5, 13.5, H-19α), 1.86 (1H, dd, 13.5, 4.0, H-19β), 0.96 (3H, s, H-23), 0.85 (3H, s, H-24), 0.95 (3H, s, H-25), 0.96 (3H, s, H-26), 1.27 (3H, s, H-27), 0.78 (3H, s, H-28), 1.52 (3H, s, H-29), 3.68 (3H, s, OCH<sub>3</sub>)

RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 49) δ (asignación): 32.53 (C-1), 25.22 (C-2), 76.17 (C-3), 37.02 (C-4), 48.95 (C-5), 18.29 (C-6), 31.92 (C-7), 39.95 (C-8), 47.42 (C-9), 37.35 (C-10), 23.38 (C-11), 122.66 (C-12), 144.39 (C-13), 41.61 (C-14), 26.09 (C-15), 26.97 (C-16), 33.04 (C-17), 48.21 (C-18), 42.88 (C-19), 44.29 (C-20), 31.31 (C-21), 38.42 (C-22), 28.25 (C-23), 22.30 (C-24), 15.25 (C-25), 16.77 (C-26), 26.09 (C-27), 28.18 (C-28), 28.53 (C-29), 177.74 (C-30), 51.49 (COOCH<sub>3</sub>).

EM (IE, 70 eV, espectro 50) *m/z* (% ar) 470 [M]<sup>+</sup> (5), 452 (2), 437 (3), 411 (3), 262 (100), 247 (3), 203 (8), 190 (10), 189 (6), 147 (8).

## 6. DISCUSION DE RESULTADOS

### 6.1 Caracterización del triacilglicérido A.

Del extracto hexánico de las semillas de *B. arborea* se obtuvo un aceite rojizo, el cual fue analizado por RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 1), en donde se observa un espectro prácticamente limpio, y en donde se distingue una señal múltiple de  $\delta$  5.37 5.32 con una integración para 12H que por su desplazamiento pueden asignarse a protones vinílicos. Están presentes dos señales doble de doble, centradas a  $\delta$  4.29 y 4.14 que integran para dos protones cada una, estos protones son geminales a oxígeno. Las constantes de acoplamiento para la señal a  $\delta$  4.29 (12 y 4.5 Hz), corresponden a un acoplamiento geminal entre los protones Hb y Hc, y a un acoplamiento *anti* de Hb con Ha, respectivamente (ver figura 3). Las constantes de acoplamiento para la señal doble de doble a  $\delta$  4.14 (12 y 6 Hz), están de acuerdo con acoplamiento geminal entre Hb y Hc e indican un acoplamiento *syn* entre Hc y Ha, como en la figura 3.

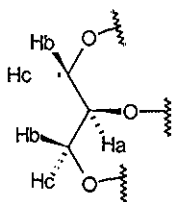


Figura 3.  
Fragmento de triacilglicérido que muestra los protones que presentan acoplamiento

Con base en la información anterior se propone una estructura de tipo triacilglicérido con posibles tres enlaces dobles sustituidos. A  $\delta$  2.77 se observa una señal triple que integra para seis protones, asignados a protones doblemente alílicos (señal d). Esta integración y la presencia de enlaces dan evidencia de fragmentos como el de la figura 4.

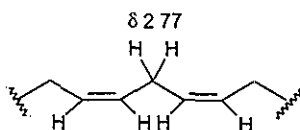
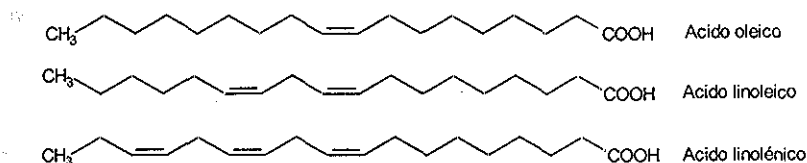


Figura 4.  
Protones doblemente alílicos en  $\delta$  2.77

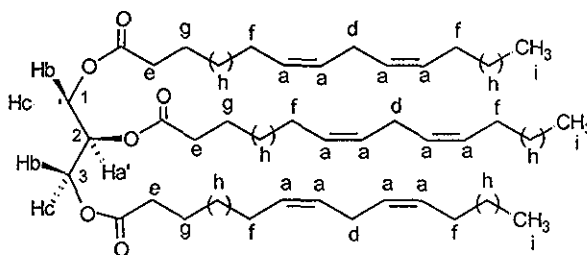
La señal doble de doble centrada en  $\delta$  2.04 con una integración para doce protones se asigna a los protones vinílicos del fragmento anterior. A  $\delta$  2.31 se encuentra una señal triple que integra para seis protones asignables, por su desplazamiento químico a tres metilenos vecinos a carbonilo de éster (señal e), el cual puede ser resultado de la condensación de grupos hidroxilos del glicerol con residuos de ácidos grasos. Adicionalmente, se observa una señal múltiple  $\delta$  1.61 que integra para seis protones correspondientes a hidrógenos en posición  $\beta$  al carbonilo (señal g), dos señales sencillas  $\delta$  1.1 y 1.3 que integran para 44 protones asignados a 22 metilenos de los residuos de ácidos grasos (señales h), y por último, una señal múltiple en  $\delta$  0.89 que integra para nueve protones que corresponden a tres metilos terminales (señal i) de las cadenas de los residuos de ácidos grasos

Dentro de los ácidos grasos no saturados con uno o más dobles enlaces por molécula los más importantes son los ácidos oleico, linoleico y linoléico.



La configuración de los dobles enlaces es casi invariablemente *cis*, en lugar de *trans*, que es más estable.

De la integración de la información anteriormente descrita, se deduce la estructura promedio para el triacilglicérido A en donde la ubicación específica de las cadenas C-1, C-2 o C-3 no está definida. En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 1, página 84) están indicadas las señales.

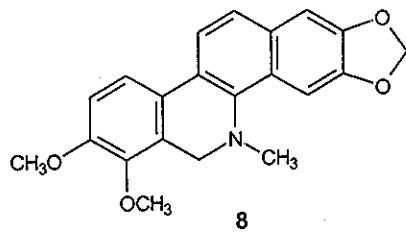


Triacilglicérido A



## 6.2 Caracterización de dihidroqueleritrina (8).

De la fracción D del extracto metanólico de las semillas se aisló y purificó un sólido cristalino de color amarillo, el cual mostró en el espectro de masas (IE, 70eV, espectro 3) un ion molecular a  $m/z$  349 que sugiere una fórmula molecular  $C_{21}H_{19}NO_4$ . Fue caracterizado mediante RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ , espectro 2), en el que se observan las siguientes señales: En  $\delta$  2.60 hay una señal sencilla intensa con integración para 3H la cual es característica de grupo metilo unido a nitrógeno. Se observan dos señales sencillas intensas a  $\delta$  3.88 y 3.93 con integración de 3H para cada señal, las cuales corresponden a grupos metoxilo aromáticos. A  $\delta$  4.29 está presente una señal sencilla que integra para 2H la cual corresponde a un metileno. A  $\delta$  6.04 se observa una señal sencilla con integración para 2H. que de acuerdo a su desplazamiento químico, se trata un grupo dioximetileno. En la región de los protones aromáticos se distinguen cinco señales: a  $\delta$  6.94 una señal doble con integración para 1H ( $J = 8.7$  Hz), que por el valor de su constante de acoplamiento forma parte de un sistema AB. En  $\delta$  7.11 aparece una señal sencilla con integración de 1H. Hacia  $\delta$  7.49 está una señal triple. la cual integra para 2H, el valor de la constante de acoplamiento para cada parte de esta señal, es de 9.0 y 8.7 Hz por lo que dicha señal no llega a ser simétrica y no puede considerarse como una señal triple sino como dos señales dobles, en la que dos señales dobles están encimadas. Tales señales dobles están centradas en  $\delta$  7.47 ( $J = 8.7$  Hz), y  $\delta$  7.50 ( $J = 9.0$  Hz), por lo que también forman parte de un sistema AB. Una señal sencilla en  $\delta$  7.65 que integra para 1H, y por último se observa una señal doble a  $\delta$  7.70 ( $J = 8.4$  Hz), con integración para 1H. Por lo anterior, se considera que existen dos sistemas AB, los cuales por el experimento COSY se logra definir cada uno de ellos. Por lo tanto, se deduce que esta substancia es de tipo benzofenantridina, funcionalizada con un grupo dioximetileno en las posiciones 2, 3, y con metoxilo en las posiciones 7 y 8. Tiene dos hidrógenos en la posición 6, los cuales, al ser equivalentes, sólo se observan como una señal sencilla. Por lo tanto, esta molécula se identifica como dihidroqueleritrina (8) [22,28], la cual es un alcaloide mayoritario del extracto metanólico de las semillas. Este alcaloide ya ha sido reportado por Manske para *B. arborea*, y por Sticher para *B. integrifolia* [22, 28].



100 100 100 100 100

### 6.3 Caracterización de 6-metoxidihidroquelirubina (50).

Esta sustancia es polvo blanco amarillento, obtenido de la fracción C del extracto metanólico de las semillas. El espectro de masas (IE, 70eV, espectro 10) presenta un ion molecular a  $m/z$  393 que permite proponer una fórmula molecular  $C_{22}H_{19}NO_6$ .

El espectro de RMN  $^1H$  (500 MHz,  $CDCl_3$ , espectro 4) presenta una señal sencilla a  $\delta$  2.74, con integración para 3 H, la cual corresponde a un grupo metilo unido a nitrógeno. Se observa otra señal sencilla a  $\delta$  3.41 cuya integración es para 3H, la cual es característica para un grupo metoxilo alifático. Esta presenta una señal sencilla a  $\delta$  3.89, con integración para 3H, corresponde a un grupo metoxilo aromático. A  $\delta$  5.31 aparece una señal sencilla con integración para 1 H. Una señal múltiple que bien pudiera corresponder a cuatro señales doble que están centradas en  $\delta$  6.07, 6.05, 6.04, 6.03 ( $J = 1.5$  Hz), con una integración total de 4H, lo cual hace suponer que se trata de dos grupos dioximetilenos, ya que el desplazamiento químico en esta posición es característico para este grupo funcional. En la región de protones aromáticos se observan cinco señales: una señal sencilla a  $\delta$  6.68, con integración para 1H; otra señal sencilla que aparece a  $\delta$  7.11 con integración para 1 H; dos señales dobles centradas a  $\delta$  7.46 ( $J = 8.5$  Hz) y 8.44 ( $J = 8.5$  Hz), con integración de 1 H cada una, que conforman un sistema AB, por último se observa una señal sencilla a  $\delta$  7.72, con una integración para un 1H. Lo anterior, lleva a una deducción de un total de diecinueve protones, seis oxígenos y un nitrógeno.

El espectro de RMN  $^{13}C$  (125 MHz,  $CDCl_3$ , espectro 5) presenta un total de 21 señales. Por medio del experimento DEPT, se dedujo el grado de hidrogenación para algunos carbonos obteniéndose: tres metilos, dos metilenos y seis metinos, dando un total de once carbonos protonados, que por diferencia del espectro de RMN  $^{13}C$  se deduce un total de al menos diez carbonos no protonados. De los metilos observados, uno de ellos está unido a nitrógeno y dos de ellos corresponden a los grupos metoxilo. Los metilenos que se observan en el espectro DEPT y de acuerdo al desplazamiento químico presentado, se refieren a los grupos dioximetilenos. El experimento de correlación  $^1H$ - $^{13}C$  bidimensional, HSQC, con el cual se observan interacciones heteronucleares a un enlace, permite confirmar los fragmentos estructurales anteriormente descritos. Comparando con la fórmula molecular deducida por espectrometría de masas, la diferencia es un carbono, el cual puede estar presente en el espectro de RMN  $^{13}C$  pero como señal encimada. Al observar en la región que correspondería a carbonos cuaternarios o aromáticos de dicho espectro, a  $\delta$  147.35 hay una señal de mayor

intensidad respecto a las que están en esta región, por lo que se establece que a este desplazamiento químico resuenan dos carbonos

Con base en todos los datos anteriores, se propone para esta molécula un esqueleto estructural principal de tipo benzofenantridina. En el cual los dos grupos dioximetilenos pudieran estar conectados en las posiciones 2, 3 y 7, 8 como se ha venido observando que sucede para este tipo de sistemas. Tomando como base este sistema benzofenantridina sólo queda por conectar los fragmentos restantes. La señal que aparece a  $\delta$  3.41 que corresponde a un metoxilo alifático debe de estar unido en una posición no aromática de la molécula, que es la posición 6 del mencionado sistema. El otro sustituyente de esta posición debe de ser el protón que aparece a  $\delta$  5.31, el cual no es aromático, pero que está desplazado a campo bajo debido a que es geminal al metoxilo alifático. Ahora, falta por conectar los fragmentos correspondientes a las señales que aparecen en la región de protones aromáticos, en donde dos señales sencillas deben corresponder a los protones de las posiciones 1 y 4 del sistema.

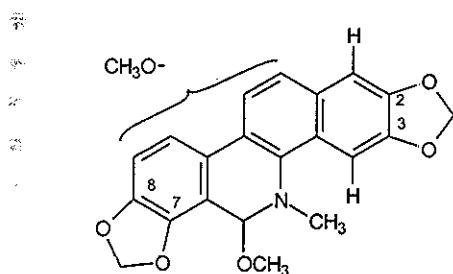


Figura 3  
Región que falta por asignar  
en el fragmento estructural de  
benzofenantridina

Los fragmentos restantes son un metoxilo aromático, un sistema AB y una señal sencilla, los cuales tienen que ser acomodados en las posiciones 9, 10 y 11, 12. Para realizar la conexión inambigua de estos fragmentos se recurre al experimento NOESY. En donde se observan las siguientes correlaciones espaciales:

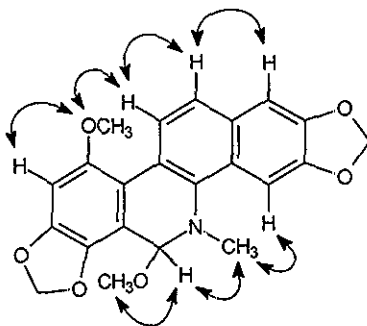


Figura 4 Interacciones selectas por NOESY para 6-metoxidihidroquelinirubina (50)

En este experimento se observa una interacción de H-6 con el metilo del nitrógeno, lo que establece que se encuentran del mismo lado, guardando una relación *syn*, no observándose interacción alguna entre el metoxilo en 6 y el metilo del nitrógeno, guardando por lo tanto una relación *anti*.

Mediante el experimento HSQC se determinó el desplazamiento químico de los carbonos protonados, estos datos se encuentran en la tabla 4. Asimismo, el experimento HMBC permitió establecer las correlaciones heteronucleares a dos y tres enlaces necesarias para confirmar la propuesta estructural para 50, cuyos datos se encuentran en la tabla 3.

Tabla 3 Correlaciones observadas por HMBC para 6-metoxidihidroquelinirubina (50)

H	$\delta^1\text{H}$	Carbonos que correlacionan ( $\delta^{13}\text{C}$ )
H-1	7.11	C-3 (147.77), C-11 (124.63) C-4a (126.83) C-12 (122.93)
H-4	7.72	C-2 (147.35) C-4b (138.35) C-12a (130.54)
N-CH <sub>3</sub>	2.74	C-4b (138.35) C-6 (85.98)
H-6	5.31	C-4b (138.35) C-10a (113.09), <i>o</i> -OCH <sub>3</sub> (54.21), N-CH <sub>3</sub> (40.13)
6-OCH <sub>3</sub>	3.41	C-6 (85.98)
H-9	6.68	C-10 (152.51) C-8 (147.35) C-7 (139.19) C-10a (113.09)
10-OCH <sub>3</sub>	3.89	C-10 (152.51)
H-11	8.44	C-4b (138.35) C-12a (130.54) C-10a (113.09)
H-12	7.46	C-4a (126.83), C-11 (124.63) C-1 (104.32)
OCH <sub>2</sub> O	6.04, 6.05	C-3 (147.77) C-2 C-8 (147.35) C-7 (139.19), C-9 (95.81)

De esta manera se deducen todas las asignaciones correspondientes a esta molécula. Al tratar de buscar información para este tipo de estructura se encontró que ya había registrada

una molécula semejante a ésta, denominada metoxibocconina [56] Los autores señalan que se trata de un derivado semisintético y mencionan sus datos espectroscópicos, los cuales se presentan en la tabla 4. Por lo tanto, esta la primera ocasión que 6-metoxidihidroquelirubina (sin: metoxibocconina, 50) se reporta como producto natural y como constituyente de *Bocconia arborea*.

Tabla 4. Datos de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  para 6-metoxidihidroquelirubina (50) y Metoxibocconina

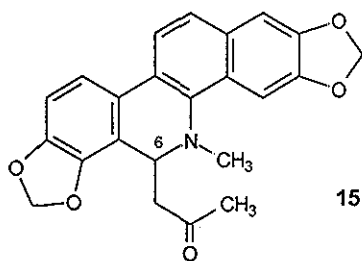
	6-metoxidihidroquelirubina <sup>a</sup>		metoxibocconina <sup>b</sup>	
	$\delta$ $^1\text{H}$ mult, (J, Hz)	$^{13}\text{C}$	$\delta$ $^1\text{H}$ mult, (J, Hz)	$^{13}\text{C}$
C-1	7.11 s	104.32	7.11 s	104.31
C-2		147.35		147.33
C-3		147.77		147.75
C-4	7.72 s	100.45	7.72 s	100.44
C-4a		126.83		126.81
C-4b		138.35		138.31
C-6	5.31 s	85.98	5.31 s	85.98
C-6a		114.90		114.88
C-7		139.19		139.17
C-8		147.35		147.33
C-9	6.68 s	95.81	6.68 s	95.78
C-10		152.51		152.48
C-10a		113.09		113.06
C-10b		122.54		122.53
C-11	8.44 d (8.5)	124.63	8.45 d (9.0)	124.62
C-12	7.46 d (8.5)	122.93	7.46 d (9.0)	122.93
C-12a		130.54		130.52
-OCH <sub>2</sub> O-	6.04	100.91	6.05 d 6.04 d (1.5)	100.91
-OCH <sub>2</sub> O-	6.05	100.77	6.07 d 6.03 d (1.5)	101.77
N-CH <sub>3</sub>	2.74	40.13	2.74 s	40.16
6-OCH <sub>3</sub>	3.41	54.21	3.44 s	54.24
10-OCH <sub>3</sub>	3.89	56.69	3.89 s	56.68

<sup>a</sup> Experimental: RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (500 MHz 125 MHz respectivamente  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  en ppm.

<sup>b</sup> Literatura [56]: RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (400 MHz 100.6 MHz respectivamente  $\text{CDCl}_3$ )

#### 6.4 Caracterización de 6-acetonildihidrosanguinarina (15).

De la fracción C del extracto metanólico de la raíz se obtuvo un polvo amarillo, que presentó en el espectro de masas (IE, 70eV, espectro 12) un ion molecular a  $m/z$  389 que corresponde a una fórmula molecular  $C_{21}H_{19}NO_4$ . Por espectroscopía de RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ , espectro 11), se dedujeron los siguientes fragmentos estructurales: una metil cetona (por la señal sencilla a  $\delta$  2.06 con integración para 3H), un grupo metileno unido a metino (debido a que se observan doce señales características de un sistema ABX, que son tres señales doble de doble, la primera centrada en 2.30 con integración de 1H ( $J = 15.0, 4.0$  Hz), la segunda a  $\delta$  2.66 que integra para 1H ( $J = 15.0, 10.0$  Hz), y la tercera a  $\delta$  4.87 que integra para 1H ( $J = 10.0, 4.0$  Hz). Este fragmento está unido a la metil cetona, lo que constituye un grupo acetoniilo. A  $\delta$  2.65 está presente una señal sencilla que integra para 3H la cual es característica de metilo unido a nitrógeno. Se observa una señal múltiple a  $\delta$  6.04 con integración para 4H, que por la región en donde está situada, corresponde a dos grupos dioximetilenos. En la región de protones aromáticos están presentes seis señales: cuatro señales dobles y dos señales sencillas, con integración de 1H para cada una de ellas. Las cuatro señales dobles, por el valor de su constante de acoplamiento, corresponden a dos sistemas AB centrados en 6.86 ( $J = 8.1$  Hz), 7.33 ( $J = 8.1$  Hz), 7.48 ( $J = 8.7$  Hz) y 7.69 ( $J = 8.7$  Hz); las dos señales sencillas localizadas a  $\delta$  7.10 y 7.53 corresponden a metinos. De acuerdo a los fragmentos descritos se propone una estructura con sistema de tipo benzofenantridina, la cual presenta dos grupos dioximetilenos en las posiciones 2,3 y 7,8; y funcionalizada en la posición 6 con un grupo acetoniilo, identificándose como ( $\pm$ )-6-acetonildihidrosanguinarina (15).



Esta sustancia ya había sido aislada anteriormente de las partes aéreas de esta misma especie. Los datos espectroscópicos de RMN  $^1H$  descritos en la literatura [23, 57], permitieron confirmar su identidad. Obteniéndose como mezcla racémica.

## 6.5 Caracterización de sanguidimerina (23a).

De la fracción C se aisló y purificó un sólido cristalino de color amarillo. En el espectro de infrarrojo (espectro 13) se observó la presencia de una banda de absorción a  $1713\text{ cm}^{-1}$  debido a un grupo carbonilo, y bandas de absorción de  $1464$  a  $947\text{ cm}^{-1}$ , correspondientes a un sistema aromático. El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 14), presenta una señal sencilla a  $\delta\ 2.63$  que integra para 3H, la cual es característica de un grupo metilo unido a nitrógeno. Se observan doce señales, agrupadas en tres doble de doble, con integración de 1H para cada una de ellas, que al medir y comparar sus constantes de acoplamiento, se deduce que constituyen un sistema ABX. Estas señales están centradas en  $\delta\ 2.20$  ( $J = 15.9, 3.5\text{ Hz}$ ),  $2.47$  ( $J = 15.9, 10.5\text{ Hz}$ ) y  $4.92$  ( $J = 10.5, 3.5\text{ Hz}$ ), lo que permite deducir que se trata de un grupo metileno que está unido a un metino. A  $\delta\ 6.04$  se presentan dos señales doble de doble, con una integración total de 4H, y que por la región en donde se localizan corresponden a dos grupos dioximetileno. En la región de protones aromáticos se localizan seis señales: cuatro señales doble, con integración de 1H para cada una de ellas, y que corresponden a dos sistemas AB; y dos señales sencillas con integración de 1H para cada una de ellas. De este espectro se deduce un total de 16 protones. En el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 15) se observan 22 señales, entre las cuales hay una señal en  $\delta\ 206$  que es característica de un grupo carbonilo, lo cual confirma el descrito en el espectro de infrarrojo. El espectro de masas presenta un ion molecular a  $m/z\ 720$ ; debido a que presenta un peso molecular relativamente alto, se trató de proponer una doble asignación de núcleos de hidrógeno para cada una de las señales presentes en el espectro RMN  $^1\text{H}$ . Con los datos anteriores, se propone una fórmula molecular constituida por las integraciones de las señales en el espectro de RMN  $^1\text{H}$ , y queda como  $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{NO}_4$ , la cual requiere de un peso molecular de 346 uma. Si se considera un múltiplo doble de la fórmula molecular deducida, se obtiene la fórmula  $\text{C}_{42}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8$ , la cual tiene un peso molecular de 692. La diferencia con respecto al ion molecular registrado ( $m/z\ 720$ ) son precisamente 28 uma, las cuales corresponden al grupo carbonilo (previamente establecido por la banda de absorción a  $1713\text{ cm}^{-1}$  en el espectro de IR). De esta manera, se determina que dicha molécula tiene la fórmula molecular  $\text{C}_{43}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8$  y un peso molecular de 720 uma. Por lo anterior, se propone que se trata de un sistema benzofenantridina pero en forma de dímero, y éste debe ser simétrico debido a que en los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , se observan señales de núcleos que son equivalentes (por lo que solo se manifiestan la mitad de señales del total de núcleos). Con base en la multiplicidad



presentada por los protones aromáticos, los cuales son dos sistemas AB y dos señales sencillas, se define la estructura mostrada en la figura 5.

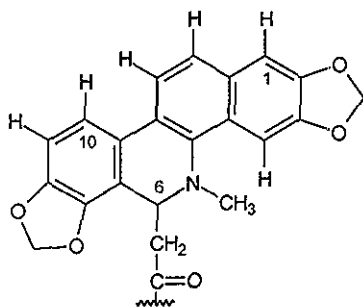


Figura 5  
Fragmento estructural observado por  
RMN.

Por lo tanto, considerando que hay un grupo metino unido a metileno, tendrían que ser dos fragmentos que serían equivalentes. Esto sólo sucede cuando se trata de una acetona, y en este caso una acetona 1,3-disustituída, estando este último fragmento, unido al sistema benzofenantridina por la posición 6, por lo que se confirma una estructura dimérica, como se observa en la figura 6. Mediante el experimento NOESY se observa que hay una interacción espacial entre H-6 y el grupo metilo del nitrógeno, lo que da evidencia de que estos dos grupos están en una conformación *syn*, fenómeno que no sucedería si estuvieran en una posición *anti*. Asimismo, se observa un efecto NOESY entre H-6 y uno de los dos protones del metileno, lo cual hace suponer que tal protón se encuentra en posición *syn* y el otro se encuentra en un ángulo tal, que no permite que se observe este efecto.

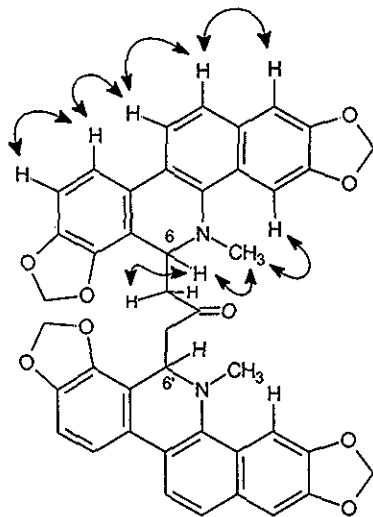


Figura 6.  
Interacciones selectas  
observadas por NOESY

La estructura para esta substancia dimérica tiene dos carbonos quirales, pero debido a su simetría, solo son posibles tres estereoisómeros: el isómero *meso* ( $6R,6'S$  ó  $6S,6'R$ ), y el par enantiomérico *dl* ( $6R,6'R$  y  $6S,6'S$ ).

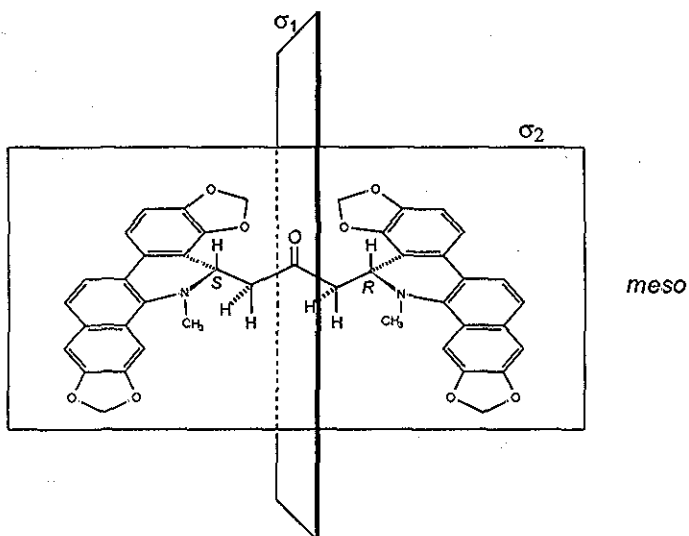


Figura 7. Isómero *meso* ( $6R,6'S$  ó  $6S,6'R$ ) (23)

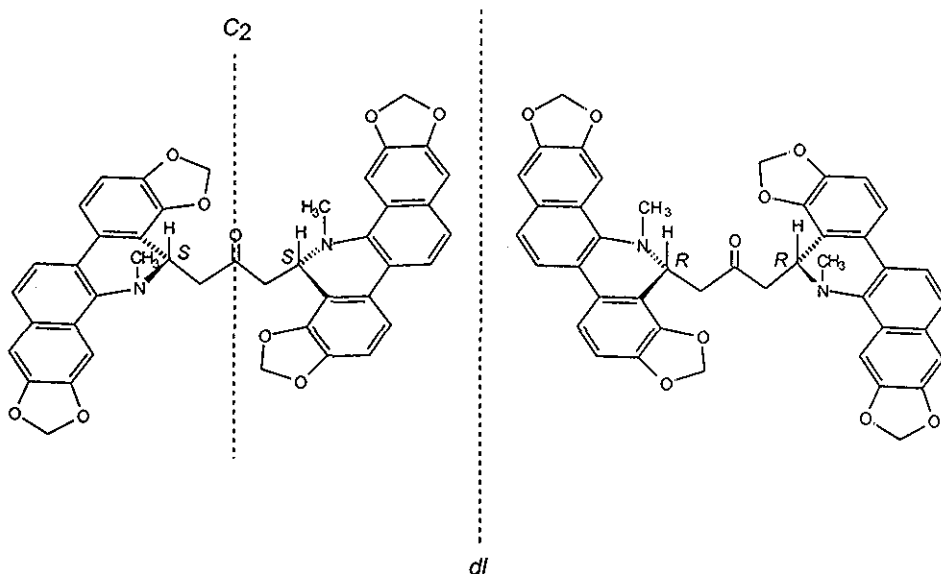


Figura 8. Par enantiomérico *dl* (6*R* 6'*R* y 6*S* 6'*S*) (23a)

Al revisar en la literatura datos para esta tipo de molécula, se encontró que hay cuatro informes, incluyendo a *meso*-quelidimerina [58], (+)-sanguidimerina [59], quelidimerina [60], y (±)-sanguidimerina [23]. Sin embargo, ninguno de los informes establecen definitivamente la estereoquímica en C(6) y C(6'). A continuación se comentan cada uno de ellos.

Quelidimerina (aislada de *Chelidonium majus* L. (Papaveraceae)), está propuesta por Farnsworth como un compuesto *meso* (*meso*-1,3-bis-(11-hidrosanguinarinil)-acetona) en donde se mencionan los datos espectroscópicos de RMN  $^1\text{H}$  pero no realiza la asignación espectroscópica de los núcleos. Con base en el valor de actividad óptica: "el cual no mostró rotación óptica observable  $[\alpha]_D = \pm 0$ " [58], y en un análisis preliminar por difracción de rayos X (del cual no presenta la información completa), los autores deducen que se trata del isómero *meso* [58], debido a que el cristal pertenece a un grupo espacial  $P2_12_12_1$ . Sin embargo este argumento no es definitivo para la asignación estereoquímica.

Sanguidimerina, propuesta también por Farnsworth (aislada de *Sanguinaria canadensis* (Papaveraceae)), presentó una rotación óptica específica positiva ( $[\alpha]_D = +21.2$ ) [59] y con base en los datos preliminares de difracción por rayos X para *meso*-quelidimerina sugirió que se

trataba del isómero (+)-sanguidimerina [59]. Sin embargo, el autor no describe datos de RMN para esta sustancia.

La estructura de quelidimerina (aislada de *Corydalis flabellata* (Fumariaceae)), fue mencionada por Mabry y realiza las asignaciones de los núcleos de H y C mediante RMN [60]. El autor propone que se trata de quelidimerina, tomando como base los datos de Farnsworth, pero sin justificar la estereoquímica.

En el trabajo anteriormente realizado a las partes aéreas de *B. arborea* por nuestro grupo de trabajo, se aisló un dímero de benzofenantridina, el cual fue ópticamente inactivo, y con valores de los desplazamientos químicos en RMN  $^1\text{H}$  diferentes a los valores informados por Farnsworth para quelidimerina [58] por lo que se dedujo que no se trataba de esta sustancia, sino de sanguidimerina, pero en mezcla racémica [23].

Tabla 5. Datos de RMN  $^1\text{H}$  para el dímero de benzofenantridina

Asignación	(±)-sanguidimerina	meso- quelidimerina	quelidimerina	Dímero aislado de la Raíz
	Julián (a) [23]	Farnsworth (b) [58]	Mabry (c) [60]	(d) [Presente trabajo]
	$\delta$ 1H mult (J, Hz)	$\delta$ 1H mult (J Hz)	$\delta$ 1H mult (J, Hz)	$\delta$ 1H mult, (J, Hz)
H-1 H-1'	7.05 s	6.98 s	7.05 s	7.01 s
H-4 H-4'	7.43 s	7.42 s	7.41 s	7.44 s
H-6 H-6'	4.75 dd (9.0, 5.0)	4.88 d	4.75 dd (9.4, 4.9)	4.93 dd (10.1, 3.5)
H-9 H-9'	6.81 d (8.4)	6.75 d (8.0)	6.81 d (8.2)	6.79 d (8.2)
H-10 H-10'	7.28 d (8.4)	7.23 d (8.0)	7.27 d (8.2)	7.24 d (8.2)
H-11 H-11'	7.64 d (8.4)	7.58 d (6.8)	7.64 d (8.4)	7.57 d (8.5)
H-12 H-12'	7.43 d (8.4)	7.35 d (6.8)	7.44 d (8.4)	7.37 d (8.5)
N-CH <sub>3</sub>	2.53 s	2.60 s	2.52 s	2.63 s
-OCH <sub>2</sub> O-	5.99 d (1.5)	5.90 m	5.99	5.97 dd
-OCH <sub>2</sub> O-	6.04 dd (2.7, 1.2)	6.10 m	6.03	6.06 dd
H-13 <sub>A</sub> H-15 <sub>A</sub>	2.27 dd (15.0, 5.0)	2.20 d	2.28 dd (15.3, 4.9)	2.20 dd (15.9, 3.5)
H-13 <sub>B</sub> H-15 <sub>B</sub>	2.61 dd (15.9, 9.0)	2.52 d	2.61 dd (15.3, 9.4)	2.47 dd (15.9, 10.1)

(a) RMN  $^1\text{H}$  300 MHz. CDCl<sub>3</sub> (b) No reporta datos (c) RMN  $^1\text{H}$  200 MHz. CDCl<sub>3</sub> (d) RMN  $^1\text{H}$  300 MHz. CDCl<sub>3</sub>

Los datos del espectro de RMN  $^1\text{H}$  para el dímero de benzofenantridina se compararon con los datos espectroscópicos descritos en los reportes anteriormente mencionados, y se observa que tales datos muestran ciertas variaciones en los desplazamientos químicos de los

protones para esta molécula. Las mayores diferencias encontradas son las resultantes de la comparación de los datos de las columnas (a) y (b), y entre (c) y (d) (tabla 5). Los valores más parecidos son entre (a) y (c), y entre (b) y (d). Considerando esta comparación, se tienen 2 conjuntos de señales espectroscópicas que deben corresponder a cada una de los diastereoisómeros (*meso* y *dl*). Así, los datos de las columnas (a)/(c) y (b)/(d) corresponden a las mismas sustancias.

El análisis de difracción por rayos X de un cristal del dímero de benzofenantridina aislada de las raíces de *B. arborea* permitió establecer de manera inambigua la configuración y conformación espacial en el estado sólido de esta estructura, y establece que se trata sólo de un enantiómero (*6S,6'S*) del par *dl* (figura 9).

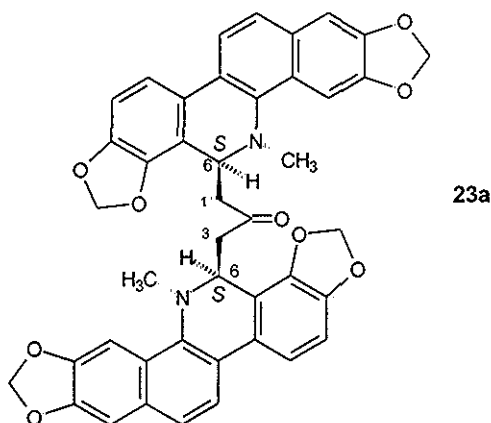


Figura 9 Configuración y orientación relativa del dímero de benzofenantridina aislado de *B. arborea*

Este hallazgo contrasta con lo reportado por Farnsworth para la sustancia denominada quelidimerina [58] y asignada como *meso*. El autor menciona un análisis preliminar por rayos X pero la información es incompleta, ya que no describe ningún parámetro que permita concluir que efectivamente corresponda al isómero *meso*. Por otro lado, debido a que no presenta datos de RMN de (+)-sanguidimerina [59], no es posible establecer una diferencia contundente entre estos dos estereoisómeros para determinar que tan significativa es la diferencia entre los valores de desplazamientos químicos en RMN, ya que las diferencias de los desplazamientos químicos entre ( $\pm$ )-sanguidimerina (a) y el dímero de benzofenantridina (d), son consistentes. Si

consideramos que la diferencia entre los valores de los desplazamientos químicos de los protones entre quelidimerina (b) y el dímero de benzofenantridina (d) es mínima, y se considera la posibilidad de que se trate del mismo compuesto, entonces el producto que obtuvo Farnsworth no corresponde al isómero *meso*, sino al par *dl*.

Con el fin de evitar confusiones en el empleo de nombres triviales a las estructuras, se propone el nombre general de sanguidimerina para los dímeros derivados de 1,3-bis-(6-hidrosanguinarinil)-acetona y se antecede a este nombre el descriptor estereoquímico correspondiente. Esta propuesta es consistente con el nombre de los fragmentos unidos a la acetona. Así, pueden existir *meso*, *dl*, *d* y *l*-sanguidimerina como productos naturales.

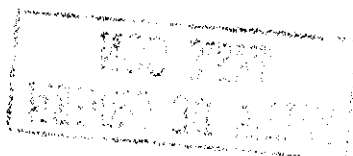
Con los datos espectroscópicos establecidos para (±)-sanguidimerina (23a) en el presente estudio y considerando los datos espectroscópicos obtenidos para el dímero obtenido de las partes aéreas [23], lo que se consideraba como (±)-sanguidimerina debe de corresponder al compuesto *meso*-sanguidimerina, debido a las diferencias en los desplazamientos químicos de los núcleos de protón anteriormente señaladas.

Considerando los datos espectroscópicos anteriormente descritos, se puede deducir que es muy probable que el compuesto que aisló Farnsworth de *C. majus* es (±)-sanguidimerina, debido a la similitud de los desplazamientos químicos de los protones del dímero aislado de las raíces.

Tabla 6. Resumen de correcciones del nombre para sanguidimerina (23b)

Fuente	Ref.	Farnsworth	Mabry	Julián	Nombre actual*	Obs.
<i>C. majus</i>	58	<i>meso</i> - quelidimerina			(±)- sanguidimerina	Se corrige estructura y se modifica el nombre
<i>S. canadensis</i>	59	(+)- sanguidimerina			(+)- sanguidimerina	
<i>C. flabellata</i>	60		<i>meso</i> - quelidimerina		<i>meso</i> - sanguidimerina	Se modifica el nombre
<i>B. arborea</i> (aéreas)	23			(±)- sanguidimerina	<i>meso</i> - sanguidimerina	Se corrige estructura
<i>B. arborea</i> (raíz)					(±)- sanguidimerina	

\* Derivado de la presente investigación



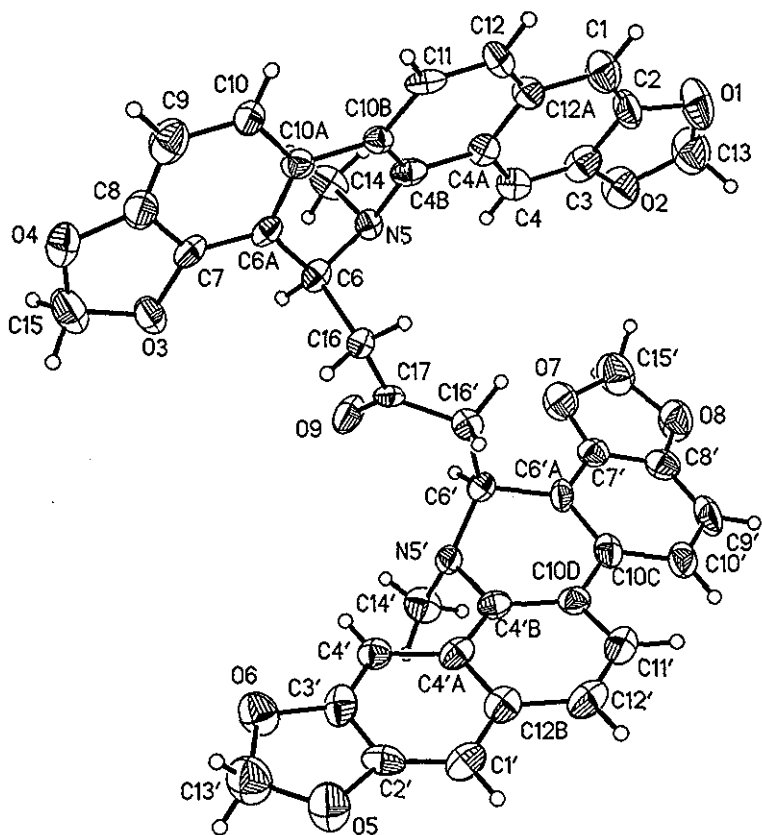
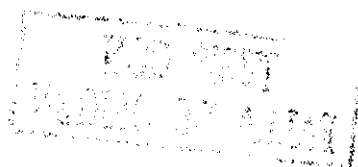


Figura 10 Difracción por rayos X de sanguidimerina (23a)

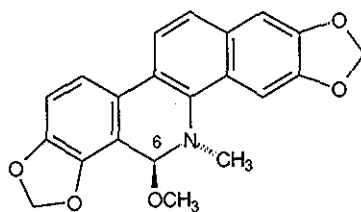
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## 6.6 Caracterización de 6-metoxidihidrosanguinarina (35).

De la fracción E se aisló y purificó un sólido cristalino de color naranja tenue, el cual, es fácilmente reconocible por CCF debido a que se observa como una mancha de color naranja intenso cuando es vista con lámpara de UV. El espectro de IR ( $\text{CHCl}_3$ , espectro 21), presenta bandas de absorción de 1690 a  $862\text{ cm}^{-1}$ , correspondientes a un sistema aromático. El espectro de masas (IE, 70 eV, espectro 25), presenta un ion molecular a  $m/z$  363 que corresponde a la fórmula molecular  $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{NO}_5$ . El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz  $\text{CDCl}_3$ , espectro 22), presenta una señal sencilla a  $\delta$  2.78 con integración para 3H característica de un grupo metilo unido a nitrógeno. Está presente otra señal sencilla intensa a  $\delta$  3.46 con integración para 3 H, que de acuerdo a su desplazamiento, es característica de un grupo metoxilo alifático. Una señal sencilla a  $\delta$  5.37 con integración para 1 H y que por su desplazamiento a campo bajo, se deduce que es geminal al grupo metoxilo. Hacia  $\delta$  6.06 hay una señal doble de doble y a  $\delta$  6.12 una señal doble que en total integran para 4 H, y que por su localización, corresponden a dos grupo dioximetilenos. En la región de los protones aromáticos se observan claramente dos sistemas AB, el primero constituido por dos señales dobles centradas en  $\delta$  6.93 y 7.41 (ambas con  $J = 8.2\text{ Hz}$ ); y el segundo constituido también por dos señales dobles centradas en  $\delta$  7.48 y 7.76 (con  $J = 8.7\text{ Hz}$ ), las cuales cada una de ellas integra para 1 H. Dos señales sencillas localizadas a  $\delta$  7.12 y 7.69 con integración para 1 H, corresponden a dos protones aromáticos en posición *para*. La integración de cada uno de estos datos permite deducir una estructura de tipo benzofenantridina funcionalizada con dos grupos dioximetileno en las posiciones 2, 3 y 7, 8. Un grupo metoxilo alifático en la posición 6, y dos sistemas AB en las posiciones 9, 10 y 11, 12. Los datos espectroscópicos arriba mencionados corresponden con los reportados en la literatura [61], y considerando la actividad óptica, se deduce la estructura de este alcaloide como (-)-6-metoxidihidrosanguinarina (35). Su estructura fue confirmada por análisis de difracción por rayos X de un cristal de la sustancia purificada, lo que permitió determinar su configuración y conformación espacial en el estado sólido.







35

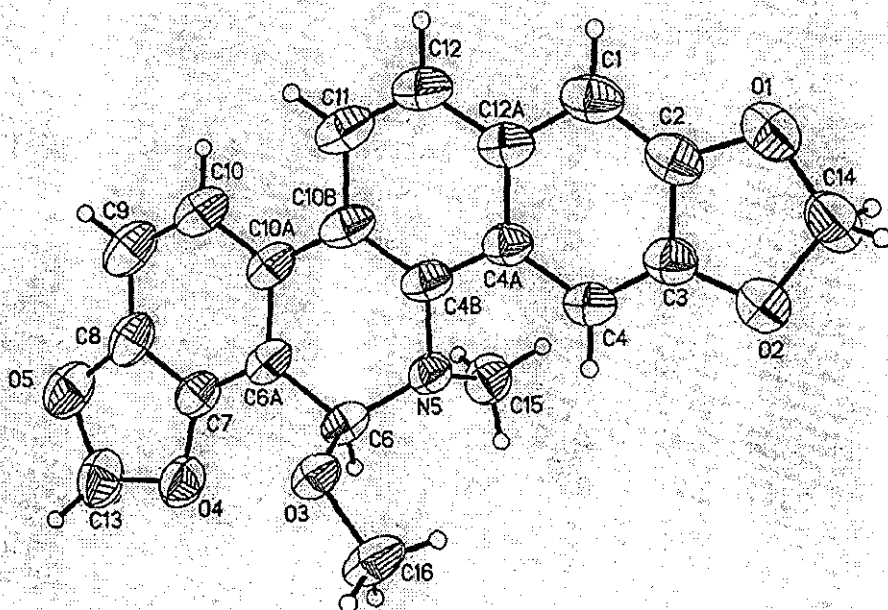


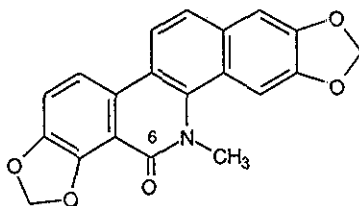
Figura 11 Difracción por rayos X de 6-metoxidihidosanguinarina (35)

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## 6.7 Caracterización de oxisanguinarina (16).

Un polvo amarillo obtenido de la fracción E del extracto metanólico de la raíz, presentó en el espectro de masas un ion molecular a  $m/z$  347, que permite sugerir una fórmula molecular  $C_{20}H_{13}NO_5$ . El espectro de RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$  + DMSO, espectro 26), permite deducir un sistema de tipo benzofenantridina, como los que se han descrito en el presente trabajo, en el cual se observa una señal sencilla a  $\delta$  3.90 que tiene una integración para 3H, la cual es característica de un grupo metilo unido a nitrógeno. A  $\delta$  6.27 y 6.11 se localizan dos señales sencillas con una integración de 2H cada una, por su desplazamiento químico se pueden atribuir a dos grupos dioximetileno. En la región de protones aromáticos, se observan seis señales, cada una de ellas tiene una integración para 1H, las cuales se encuentran de la siguiente manera: cuatro señales doble correspondientes a dos sistemas AB y dos señales sencillas.

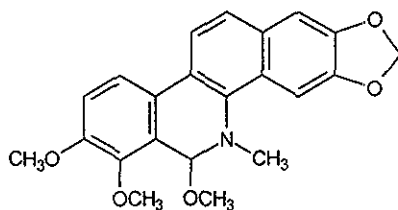
Debido a que la muestra fue poco soluble en  $CHCl_3$  se usó como codisolvente DMSO, cuya señal, en el espectro de RMN  $^1H$ , se encuentra a  $\delta$  2.99. Asimismo y debido al codisolvente, las señales se observan desplazadas hacia campo bajo, fenómeno que afecta los desplazamientos químicos originales de las señales de los protones de la molécula pero que en esta ocasión se usó para elucidar su estructura por RMN, la cual correspondió al alcaloide oxisanguinarina (16) [62-64]. La comparación de los datos con los informados previamente confirmó su identidad.



16

## 6.8 Caracterización de 6-metoxidihidroqueleritrina (10).

Este sólido blanco aislado y purificado del extracto metanólico de las semillas y de la fracción G del extracto metanólico de la raíz, presentó en el espectro de masas (IE. 70 eV, espectro 29), un ion molecular a  $m/z$  379 que es acorde con la fórmula molecular  $C_{22}H_{21}NO_5$ . En el espectro de RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ , espectro 28) se observan las siguientes señales: a  $\delta$  2.76 una señal sencilla que integra para tres protones la cual es característica de un grupo metilo unido a nitrógeno. Una señal sencilla a  $\delta$  3.46 que integra para 3H que por su desplazamiento corresponde a un metoxilo alifático. Dos señales sencillas a  $\delta$  3.93 y 3.96 con una integración de 3H para cada una, las cuales son características de metoxilos aromáticos. A  $\delta$  5.55 una señal sencilla con integración de 1H la cual corresponde a un metino bencílico alifático. Una señal doble de doble a  $\delta$  6.05 con una integración para 2H, esta señal corresponde a un grupo dioximetileno. Hacia la región de protones aromáticos se distinguen seis señales: cuatro señales dobles y dos señales sencillas. Las señales dobles están centradas en  $\delta$  7.04 ( $J= 8.8$  Hz), 7.47 ( $J= 8.5$  Hz), 7.62 ( $J= 8.8$  Hz), y 7.78 ( $J= 9.0$  Hz). Las señales sencillas están localizadas en  $\delta$  7.12 y 7.70, todas estas señales tienen una integración para un protón. Con base en la información anteriormente descrita se deduce que esta molécula es (-)- 6-metoxidihidroqueleritrina (10), ya que sus datos espectroscópicos son muy similares a los descritos en la literatura. Anteriormente esta sustancia ha sido obtenida a partir de las partes aéreas [22, 23], y del extracto metanólico de las semillas



10

## 6.9 Caracterización de 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51).

Un polvo de color amarillo fue obtenido de la fracción D del extracto metanólico de las semillas. El espectro de IR ( $\text{CHCl}_3$ , espectro 30), muestra bandas de absorción de 1497 a 872  $\text{cm}^{-1}$ , que aunado a los máximos de absorción a 220, 290 y 325 nm del espectro de UV sugieren la presencia de un sistema aromático extendido. El espectro de masas (IE, 70 eV, espectro 37), presenta un ion molecular a  $m/z$  409, con lo cual se propone la fórmula molecular  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{NO}_6$ . Esto fue confirmado por análisis de espectrometría de masas de alta resolución, el cual mostró un ion molecular a  $m/z$  409.1518  $[\text{M} + \text{H}]^+$  que corresponde a una fórmula  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{NO}_6$  mientras que el calculado fue de 409.1525  $[\text{M} + \text{H}]^+$ .

El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 31) presenta una señal sencilla a  $\delta$  2.67 con una integración para 3 H, la cual es característica para grupo metilo unido a nitrógeno. Se observa una señal sencilla a  $\delta$  3.45 que tiene una integración para 3H, que se refiere a un grupo metoxilo alifático. En seguida se encuentran tres señales sencillas ( $\delta$  3.93, 3.96 y 4.02), con una integración de 3 H para cada una de estas, las cuales corresponden a grupos metoxilos aromáticos. A  $\delta$  5.50 hay una señal sencilla con integración para 1 H, la cual está desplazada a campo bajo pero sin llegar a ser aromática. Una señal doble de doble esta centrada en  $\delta$  6.05 y tiene una integración para 2 H, es propia de un grupo dioximetileno. En la región de protones aromáticos se observan cinco señales, de las cuales hay evidencia de un sistema AB cuyos desplazamientos están centrados en  $\delta$  7.04 ( $J = 8.5$  Hz) y  $\delta$  7.58 ( $J = 8.5$  Hz) y una integración de 1H para cada señal. Un sistema AX con señales dobles centradas en  $\delta$  7.56 y  $\delta$  7.68 ( $J = 0.5$  Hz), con integración cada una para 1 H; y por último una señal sencilla con  $\delta$  7.13 e integración de 1 H. Lo que permite deducir un total de 23 protones.

Por otra parte, el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 32) presenta 22 señales. Por medio del espectro del experimento DEPT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 33), se establece el grado de hidrogenación de los carbonos: cinco son metilos, en donde por la región en la que se encuentran permiten proponer que cuatro de ellos están unidos a oxígeno y uno de ellos a nitrógeno; un metileno aromático que corresponde al dioximetileno, y seis metinos aromáticos. Por diferencia del espectro normal de RMN  $^{13}\text{C}$  se determinó la presencia de 11 carbonos no protonados. Al tratar de reconocer en el espectro estas señales, sólo se observaron diez, por lo que se infiere que dos carbonos están presentando el mismo desplazamiento químico, cumpliendo así con el número de carbonos de la fórmula molecular deducida.

Considerando los valores espectroscópicos de los fragmentos descritos y los datos registrados en la literatura, permiten suponer una estructura de tipo benzofenantridina en la cual el grupo dioximetileno se pudiera ubicar en las posiciones 2 y 3, con lo que cumpliría para el sistema AX (protones en posición *para*) (figura 12), observado en la región de protones aromáticos.

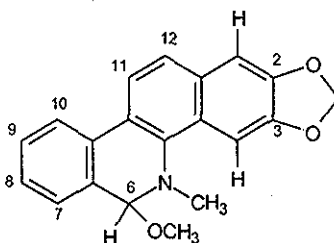


Figura 12 Sistema AX, protón y metoxilo alifáticos.

El metoxilo alifático a  $\delta$  3.45 puede estar unido al carbono de la posición 6 ya que es en esta posición donde hay un carbono alifático. Es también en esta posición en la que el protón localizado a  $\delta$  5.50 está conectado geminal al metoxilo y se justifica así su desplazamiento a bajo campo (figura 12).

Los siguientes tres grupos metoxilo son aromáticos los cuales tienen que estar unidos de tal manera que cumplan con la multiplicidad de los protones que faltan por asignar en los anillos aromáticos: un sistema AB y una señal sencilla. Ya que el sistema AB puede situarse en el anillo B ó D del sistema benzofenantridina. Este problema es resuelto con el experimento NOESY, en donde se pueden observar interacciones en el espacio y la distribución de grupos funcionales en dicho sistema. Las interacciones observadas se muestran en la figura 13.

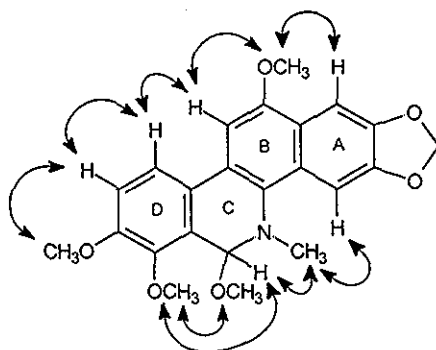


Figura 13 Interacciones selectas por NOESY para 51.

Estas interacciones selectas observadas por NOESY permiten deducir, de manera inambigua, la conectividad de los metoxilos y protones aromáticos que faltaban por asignar, eliminando de esta manera cualquier otra posibilidad de conectividad estructural.

Un dato importante que hay que resaltar es que se observa una interacción espacial entre H-6 con el metilo del nitrógeno, lo que es de suponer que dichos grupos se encuentran del mismo lado. Por lo tanto, la relación que guardan estos dos grupos es *syn*. Mientras que el metoxilo también de la posición 6 respecto al metilo del nitrógeno mantienen una relación *anti*. Ya que para éstos últimos no se observa interacción espacial alguna debido que están lejanos. De esta manera, se deduce que en la posición 6 el protón se encuentra  $\alpha$  y el metoxilo  $\beta$ .

Mediante el experimento HSQC fue posible establecer las correlaciones carbono-hidrógeno a un enlace, lo que permitió determinar los desplazamientos químicos de los carbonos protonados, figura 14.

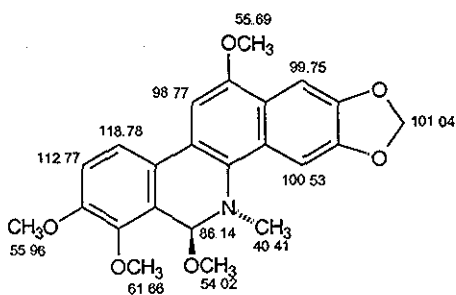


Figura 14 Asignaciones de  $^{13}\text{C}$  por HSQC para 51.

El análisis del experimento HMBC permite establecer correlaciones hidrógeno-carbono a dos y tres enlaces. Este experimento confirma la propuesta estructural para este alcaloide.

Tabla 7. Correlaciones observadas por HMBC para 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51)

H	$\delta^1\text{H}$	Carbonos que correlaciona ( $\delta^{13}\text{C}$ )
H-1	7.56	C-3 (148.39), C-4a (127.97)
H-4	7.68	C-2 (146.84), C-4b (131.89), C-12a (122.74)
N-CH <sub>3</sub>	2.67	C-4b (131.89), C-6 (86.14)
H-6	5.50	C-7 (147.12), C-4b (131.89), C-10a (125.06), 7-OCH <sub>3</sub> (54.02), 9-CH <sub>3</sub> (40.41)
6-OCH <sub>3</sub>	3.45	C-6 (86.14)
7-OCH <sub>3</sub>	3.96	C-7 (147.12)
8-OCH <sub>3</sub>	3.93	C-8 (152.19)
H-9	7.04	C-8 (152.19), C-7 (147.12), C-10a (125.06)
H-10	7.58	C-8 (152.19), C-6a (125.97), C-10b (122.35)
H-11	7.13	C-8 (152.19), C-4b (131.89), C-10a (125.06), C-10b (122.35), C-1 (99.75)
12-OCH <sub>3</sub>	4.02	C-12 (152.19)
OCH <sub>2</sub> O	6.05	C-3 (148.39), C-2 (146.84)

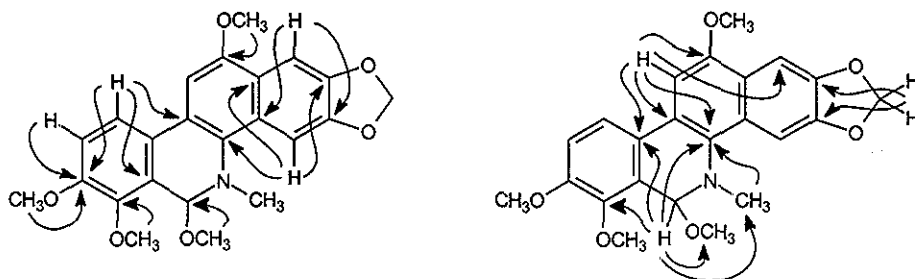


Figura 15. Correlaciones carbono-hidrógeno por HMBC para 51.

Por lo tanto las asignaciones de las señales observadas por RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C para 51 quedan como a continuación se enlistan en la tabla 8.

Tabla 8 Datos de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C para 51.

Asignación	$\delta$ <sup>1</sup> H mult; (J Hz) <sup>a</sup>	<sup>13</sup> C <sup>b</sup>
C-1	7.56 d (0.5)	99.75
C-2		146.84
C-3		148.39
C-4	7.68 d (0.5)	100.53
C-4a		127.97
C-4b		131.89
C-6	5.50 s	86.14
C-6a		125.97
C-7		147.12
C-8		152.19
C-9	7.04 d (8.5)	112.77
C-10	7.58 d (8.5)	118.78
C-10a		125.06
C-10b		122.35
C-11	7.13 s	98.77
C-12		152.19
C-12a		122.74
-OCH <sub>2</sub> O-	6.05 dd (1.5 4.0)	101.04
N-CH <sub>3</sub>	2.67 s	40.41
6-OCH <sub>3</sub>	3.45 s	54.02
7-OCH <sub>3</sub>	3.96 s	61.66
8-OCH <sub>3</sub>	3.93 s	55.96
12-OCH <sub>3</sub>	4.02 s	55.69

<sup>a</sup> RMN <sup>1</sup>H registrado en CDCl<sub>3</sub> a 500 MHz;  $\delta$  en ppm

<sup>b</sup> RMN <sup>13</sup>C registrado en CDCl<sub>3</sub> a 125 MHz

No se encontraron datos en la literatura referentes a la estructura 51, por lo que esta sustancia representa un producto natural novedoso: (-)-6,12-dimetoxidihidroqueleritrina.



## 6.10 Caracterización del ácido 20-*epi*-katónico (52).

Es un sólido cristalino de las partes aéreas de *B. arborea*, el cual había quedado pendiente por falta de muestra. El espectro de IR de esta sustancia presentó bandas de absorción a 3615 y 1125  $\text{cm}^{-1}$  para grupo hidroxilo, a 1698  $\text{cm}^{-1}$  para grupo carbonilo, y a 1602  $\text{cm}^{-1}$  para olefina. En el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 40) se observan 30 señales, una de ellas en  $\delta$  181.7 lo cual establece la presencia de un grupo carboxilo. El espectro del experimento DEPT de RMN  $^{13}\text{C}$  presenta los siguientes grupos de carbonos protonados: siete grupos metilo, diez grupos metileno y cinco grupos metino. Por diferencia del espectro normal de RMN  $^{13}\text{C}$  y el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  DEPT, se determina la presencia de seis carbonos cuaternarios y un carbono de carboxilo. El análisis de masas de alta resolución permitió determinar una fórmula molecular  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$  lo cual establece la presencia de un esqueleto de triterpenoide. El espectro de masas (IE, 70 eV, espectro 46), presentó un ion molecular a  $m/z$  456 y un pico base a  $m/z$  248 lo que cumple con el patrón de fragmentación retro Diels-Alder [65] característico para triterpenoides pentacíclicos  $\Delta^{12}$ -insaturados.

La reacción del producto natural con diazometano generó el éster metílico correspondiente, en cuyo espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 48) se observa la señal simple a  $\delta$  3.7 del éster metílico.

Para realizar la elucidación estructural de este triterpenoide se cuenta con la siguiente información del espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , espectro 39):

1. señales sencillas para siete grupos metilo terciarios,
2. una señal triple con integración para un protón centrado en  $\delta$  3.44, geminal de un grupo hidroxilo secundario en C-3,
3. Una señal triple a  $\delta$  5.28 con integración para un protón, el cual es característico de un doble enlace trisustituido en C-12 para el esqueleto de un triterpenoide pentacíclico.

Las asignaciones de los núcleos de hidrógeno y carbono fueron realizadas mediante el uso de experimentos de RMN bidimensionales, tales como: COSY, HSQC y HMBC. Partiendo del hidrógeno carbinólico ( $\delta$  3.44), el cual muestra tres correlaciones  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ , una de ellas muestra correlación a  $\delta$  28.29 y 22.27 correspondientes a dos metilos, con un metileno a  $\delta$  32.53, y con un grupo metino a  $\delta$  48.85 (asignado a C-5). Esta última señal muestra correlación  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  con un grupo metilo ( $\delta$  0.95), asignado a  $\text{CH}_3$ -25, el cual también correlaciona con la

señal localizada a  $\delta$  32.53 (asignada a C-1), estableciendo el patrón característico para el anillo A del triterpenoide con hidroxilo en C-3, un metilo en C-10 y dos metilos geminales en C-4

El análisis de los espectros de RMN  $^1\text{H}$  permitió establecer la orientación del grupo hidroxilo en C-3 mediante la multiplicidad y el valor de la constante de acoplamiento que presenta el protón geminal al hidroxilo, el cual se reconoce por la señal triple centrada en  $\delta$  3.44 y los acoplamientos relativamente pequeños de tipo ecuatorial-axial y diecuatorial ( $\phi_{ea} = \phi_{ee} = 60^\circ$ ,  $J_{ea} = J_{ee} = 3\text{Hz}$ ), con los protones del metileno C-2. Ya que si el protón H-3 fuese axial los valores de la  $J$  debieran ser mucho mayores debido a que habría acoplamientos diaxial ( $\phi_{aa} = 180^\circ$ ,  $J_{aa} \approx 7-9\text{ Hz}$ ), y axial-ecuatorial ( $\phi_{ao} \approx 60^\circ$ ,  $J_{eo} \approx J_{oo} \approx 2-5\text{ Hz}$ ). Por lo tanto, el protón H-3 es  $\beta$ -ecuatorial, y el grupo hidroxilo es  $\alpha$ -axial. Además, se observa claramente el desplazamiento químico hacia campo alto de los C-1 y C-5 debido al efecto  $\gamma$ -gauche [66]. Esto es, al existir un grupo  $3\alpha\text{-OH}$  en el esqueleto olean-12-eno induce una compresión estérica sobre los núcleos C-1 y C-5 a través de interacciones 1,3 con los protones *syn*-diaxiales de estos átomos de carbono. Esta perturbación estérica de los enlaces C-H genera una corriente de electrones a lo largo del enlace y en dirección al átomo de carbono, de tal manera que se produce una expansión de sus orbitales, y en consecuencia, la protección de los núcleos [66]

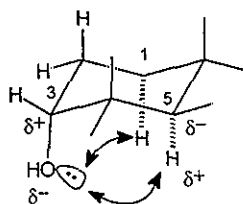
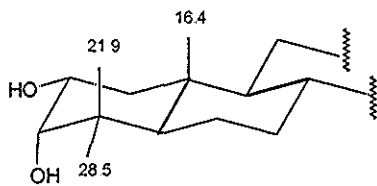
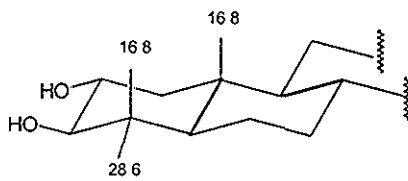


Figura 16. Efecto de polarización  $\gamma$ -gauche sobre los núcleos C-1 y C-5 inducido por el grupo  $3\alpha\text{-OH}$ .

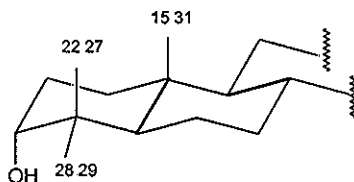
Adicionalmente se ha demostrado un efecto  $\gamma$  hacia grupos metilo en la posición C-4, en donde el desplazamiento químico en RMN  $^{13}\text{C}$  de estos, está fuertemente influenciada por la estereoquímica del grupo hidroxilo en C-3. El cambio en la estereoquímica de este grupo hidroxilo de axial a ecuatorial resulta en un desplazamiento a campo alto de cerca de 5 ppm para un grupo metilo axial en C-4, mientras que el grupo metilo ecuatorial en C-4 permaneció prácticamente sin variación [67]. Efecto que es observado para los grupos metilo (C-23 y C-24) en C-4 debido al grupo  $3\alpha\text{-OH}$ .



3-*epi*-maslinato de metilo



maslinato de metilo



Acido 20-*epi*-katónico

Figura 17 Efecto de la estereoquímica de C-3 en RMN  $^{13}\text{C}$  de los grupos metilo de C-4

El grupo metilo en C-10 (C-25) muestra una interacción con un metino a  $\delta$  171, asignado a H-9 en el experimento de HMBC, y esta señal correlaciona con el carbono del metino olefínico localizado a  $\delta$  122.68. El hidrógeno olefínico correspondiente muestra un acoplamiento con un metileno vecinal (H-11a,b) en el espectro COSY. Este mismo hidrógeno olefínico (H-12) muestra correlaciones, en el espectro HMBC, con el carbono cuaternario olefínico ( $\delta$  144.36, C-13) y con el carbono cuaternario alifático ( $\delta$  41.61, C-14), estableciendo que el doble enlace está localizado a 12(13). Una señal a  $\delta$  1.17 correspondiente a un grupo metilo muestra correlación con C-13, y su señal fue asignada a C-27. La señal del metino en  $\delta$  1.97 muestra una correlación  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  con el carbono olefínico la cual se asignó al H-18, este hidrógeno exhibe correlación COSY con los protones del metileno en H-19, donde tales protones correlacionan con un grupo carbonilo ( $\delta$  181.70) en el espectro HMBC. Adicionalmente, C-18 muestra una correlación con un grupo metileno y metino asignados a C-22 y C-28, respectivamente. Finalmente, el grupo carbonilo exhibe una correlación con un grupo metilo ( $\delta$  1.22) y con un segundo metileno, asignado a C-21, de esta manera, los grupos carboxilo y metilo están localizados en C-20 estableciendo la estructura de un olean-12-eno.

La orientación del grupo carboxilo fue determinada mediante la comparación de los desplazamientos químicos de los carbonos del anillo E del triterpenoide, reportados para un par epimérico: 3β-acetoxiolean-12-en-30-oato de metilo y 3β-acetoxiolean-12-en-29-oato de metilo [68, 69], figura 18. Las diferencias en los desplazamientos químicos de los carbonos son interpretados en términos de la configuración de C-20. Se observa que cuando el grupo carboxilo esta en posición α, hay un efecto de protección sobre los carbonos del anillo E.

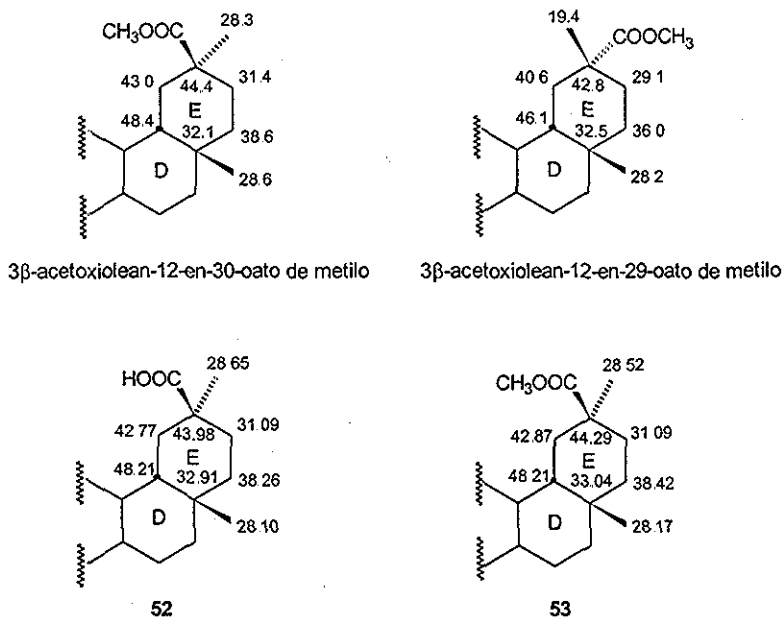
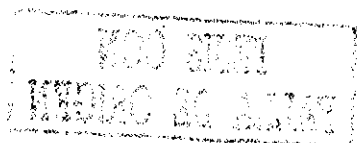
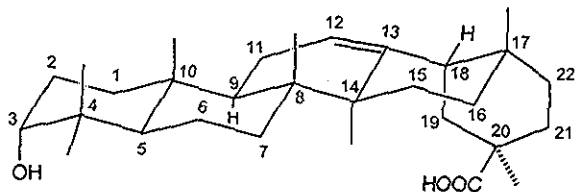


Figura 18. Comparación de RMN  $^{13}\text{C}$  de los carbonos del anillo E del triterpenoide.

Los desplazamientos químicos en RMN  $^{13}\text{C}$  para los carbonos del anillo E de 52 y 53 son similares a los del C-18 y C-22 del 3β-acetoxiolean-12-en-30-oato de metilo y los desplazamientos a campo bajo son debidos a los efectos β, γ-syn axial del carboxilato con orientación β, y esto va de acuerdo con el desplazamiento a campo bajo de C-20. Por lo tanto, la estructura del compuesto natural aislado se determinó como el ácido 3α-hidroxi-olean-12-en-30-oico (52) (ácido 20-*epi*-katónico), y el éster metílico derivado como 3α-hidroxi-olean-12-en-30-oato de metilo (53) (20-*epi*-katonato de metilo) [70-72]





Acido 20-*epi*-katónico (52)

El análisis de difracción de rayos X de un cristal de esta sustancia permitió corroborar de manera inambigua la configuración y conformación en el estado sólido, los datos anteriormente descritos.

El ácido 20-*epi*-katónico representa un nuevo producto natural y esta es la primera vez que se identifica la presencia de triterpenoides en *Bocconia*

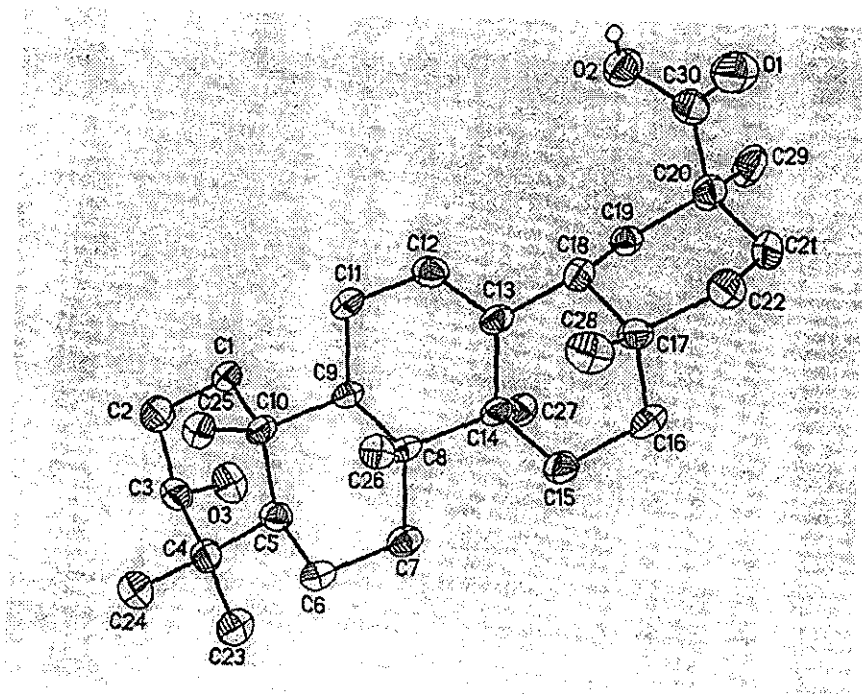


Figura 19 Difracción por rayos X del ácido 20-*epi*-katónico (52).

## 7. EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA.

### 7.1 Resultados de actividad antimicrobiana.

Se realizaron ensayos antimicrobianos a las sustancias purificadas a partir de estos extractos, tales como: dihidroqueleritrina (8), 6-acetonildihidroqueleritrina (9), 6-metoxidihidroqueleritrina (10), 6-acetonildihidrosanguinarina (15), oxisanguinarina (16), 6-metoxidihidrosanguinarina (35), 6-metoxidihidroquelirubina (50), 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51), ácido 20-*epi*-katónico (52), y 20-*epi*-katonato de metilo (53) El ensayo biológico para la determinación de la actividad antimicrobiana se realizó por el método de dilución en agar, y se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) Los resultados obtenidos se muestran en las tablas 9 y 10. Todos los valores son respecto a los controles de gentamicina y nistatina.

Tabla 9 Resultados de actividad antimicrobiana, CMI ( $\mu\text{g/ml}$ )

Substancia	<i>S. aureus</i>	<i>S. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>S. typhi</i>	<i>C. albicans</i>
8	62	125	>500	>500	>500	>500	62
15	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
16	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
23 b	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
50	62	31	62	125	125	125	31
51	250	250	>500	>500	>500	>500	62
52	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
53	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Gentamicina	2.0	2.0	4.0	4.0	4.0	4.0	-
Nistatina	-	-	-	-	-	-	8.0

Tabla 10 Resultados de actividad antimicrobiana, CMI (CMI µg/ml)

Substancia	<i>S. aureus</i>	<i>S. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>S. typhi</i>	<i>C. albicans</i>
EMR	32	32	1 000	1 000	500	4 000	32
9	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
10	32	16	>500	250	250	>500	8
35	8	8	62	62	62	125	16
Gentamicina	2.0	10.0	5.0	10	10	10	-
Nistatina	-	-	-	-	-	-	20

EMR = Extracto metanólico de la raíz

Las cepas de los microorganismos empleadas:

<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213	<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 12453
<i>Streptococcus faecalis</i>	ATCC 29212	<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 11060
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Salmonella typhi</i>	ATCC 06539		

En cuanto a los valores de actividad antimicrobiana obtenidos de las sustancias puras, cabe destacar la actividad presentada por los alcaloides de tipo benzofenantridina, tales como: 6-metoxidihidrosanguinarina (35), 6-metoxidihidroqueleritrina (10) y 6-metoxidihidroquelerubina (50). En menor proporción, dihidroqueleritrina (8) y 6, 12-dimetoxidihidroqueleritrina (51). El resto de las sustancias evaluadas no presentaron actividad.

Destaca la selectividad de dihidroqueleritrina (8) y 6, 12-dimetoxidihidroqueleritrina (51) contra microorganismos gram (+), tales como: *S. aureus* y *S. faecalis*.

Es muy considerable la potencia que tienen 6-metoxidihidroqueleritrina (10) y 6-metoxidihidrosanguinarina (35), sin embargo, poca selectividad.

Los alcaloides monoméricos son bioactivos (el dímero de benzofenantridina sanguidimerina (23a), no presentó bioactividad).

Debido a que en los alcaloides evaluados las diferencias estructurales no son tan notables, es posible observar cierta correlación entre la estructura y la actividad. Tomando como base el alcaloide dihidroqueleritrina (8) se observa que éste presenta una actividad antimicrobiana moderada, pero cuando en la posición 6 del núcleo de benzofenantridina se substituye un hidrógeno por un grupo metoxilo, la bioactividad aumenta, como es el caso de 6-metoxidihidroqueleritrina (10).

Al comparar los alcaloides 6-metoxidihidroqueleritrina (10) y 6-metoxidihidrosanguinarina (35), ambos bioactivos, se observa que el grupo dioximetileno en la posición 7 y 8 del núcleo benzofenantridina de 35, le confiere mayor bioactividad, siendo mas potente pero menos selectivo.

En esa misma posición 6 si se substituye por un grupo acetoniilo, por ejemplo 6-acetonildihidroqueleritrina (9) y 6-acetonildihidrosanguinarina (15), o por un grupo carbonilo, oxisanguinarina (16), la bioactividad se vuelve nula. Lo que permite deducir que si en esa posición se substituye por un grupo voluminoso tal actividad se afecta considerablemente.

La importancia de la actividad antimicrobiana de los alcaloides de tipo benzofenantridina contra algunos microorganismos se debe a que, estos, son causantes de diversas enfermedades en el humano *S aureus* es patógeno y altamente resistente y ocasiona abscesos, neumonía, bacteremia, endocarditis, entre otras *S faecalis*, *E. coli* y *P. mirabilis* causan bacteremias e infecciones en el tracto urinario. *S sonnei* causa gastroenteritis aguda *S typhi* es causante de fiebre tifoidea, fiebre paratifoidea, bacteremia y gastroenteritis aguda. *C. albicans* forma parte de la flora normal en el tracto respiratorio, gastrointestinal y tracto vaginal, pero se caracteriza por ser oportunista en pacientes inmunodeprimidos y puede llegar a causar enfermedades en piel, tracto respiratorio y vaginal [73]

Los resultados obtenidos de la actividad antimicrobiana se muestran en dos tablas por separado debido a que estas evaluaciones fueron realizadas en diferentes momentos. Aún cuando los controles fueron los mismos y por consiguiente también las cepas, se logra observar una cierta variabilidad en la CMI para algunos de estos, lo cual no quiere decir que el método carezca de confiabilidad, mas al contrario, el método debe estimar las variaciones causadas por el analista, además de que debe de considerarse un margen de error en la dilución y en la lectura de las muestras. Por otro lado, se debe de considerar que algunas cepas, sino se tiene el debido cuidado pueden sufrir alguna alteración biológica y tornarse resistentes. Cabe resaltar que la importancia de este estudio es el determinar la actividad antimicrobiana de tales



metabolitos y poder diferenciar entre estos aquellos que son activos y específicamente contra qué microorganismos, de manera preliminar

Con estos resultados se trata de justificar el por qué la planta es tan preciada en algunas comunidades de nuestro país para el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas de tipo gastrointestinal, respiratorio y cutáneo. Lo cual se debe a que esta planta contiene alcaloides de tipo benzofenantridina con potencial antimicrobiano

## 7.2 Resultados de actividad antiinflamatoria.

Algunas de las sustancias puras, tales como: dihidroqueleritrina (8), acetonildihidroqueleritrina (9), 6-metoxidihidroqueleritrina (10), 6-acetonildihidrosanguinarina (15), ( $\pm$ )-sanguidimerina (23a), 6-metoxidihidrosanguinarina (35), 6-metoxidihidroquelirubina (50), 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51), ácido 20-*epi*-katónico (52), y 20-*epi*-katonato de metilo (53); fueron evaluadas para determinar su potencial antiinflamatorio mediante el empleo del modelo para evaluar la actividad antiedematosa en la inflamación inducida con TPA. Se determinó el porcentaje de inhibición del edema, cuyos resultados se encuentran en la tabla 11.

Tabla 11 Resultados de actividad antiinflamatoria

Substancia (0.31 mg/oreja)	Vehículo	Inhibición del edema (%)
<b>Indometacina</b>	EtOH-Acetona (1:1)	55.81
<b>8</b>	Diclorometano	42.12
<b>9</b>	Diclorometano	35.96
<b>10</b>	Diclorometano	50.25
<b>15</b>	Diclorometano	28.33
<b>23a</b>	Diclorometano	7.39
<b>35</b>	Diclorometano	59.11
<b>50</b>	EtOH-Acetona (1:1)	47.53
<b>51</b>	Diclorometano	64.78
<b>52</b>	EtOH-Acetona (1:1)	28.25
<b>53</b>	Diclorometano	21.18

Modelo: Evaluación de la actividad antiedematosa en el edema inducido con TPA  
Vía de administración: Tópica (0.31 mg/oreja)  
n = 3 ratones macho, cepa CD1

Las sustancias que presentaron el mayor porcentaje de inhibición del edema, dihidroqueleritrina (8), 6-metoxidihidroqueleritrina (10), 6-metoxidihidrosanguinarina (35) y 6, 12-dimetoxidihidroqueleritrina (51), se evaluaron para determinar su concentración inhibitoria media ( $CI_{50}$ ), tales resultados se encuentran en la tabla 12.

Tabla 12. Determinación de la  $CI_{50}$  de actividad antiinflamatoria.

Substancia	Control	Edema expresado en mg (promedio $\pm$ ES) (% de inhibición del edema)				$CI_{50}$ ( $\mu\text{mol/oreja}$ )
		0.1 ( $\mu\text{mol/oreja}$ )	0.31 ( $\mu\text{mol/oreja}$ )	1 ( $\mu\text{mol/oreja}$ )	3.1 ( $\mu\text{mol/oreja}$ )	
Indometacina	14.83 $\pm$ 0.99	13.03 $\pm$ 0.99 (12.14)	11.4 $\pm$ 0.48 * (22.44)	7.13 $\pm$ 1.87 * (51.94)	3.48 $\pm$ 1.11 * (76.56)	0.98 (0.53-1.05) <sup>a</sup>
8	14.19 $\pm$ 0.34	13.59 $\pm$ 0.29 (9.17)	12.63 $\pm$ 0.55 (15.57)	10.71 $\pm$ 0.65 * (28.37)	9.09 $\pm$ 1.42 * (39.26)	> 3.1
10	14.45 $\pm$ 0.52	9.78 $\pm$ 0.84 * (32.35)	7.3 $\pm$ 0.84 * (49.48)	5.88 $\pm$ 0.49 * (59.34)	2.58 $\pm$ 0.37 * (80.28)	0.37 (0.219-0.65) <sup>a</sup>
35	13.03 $\pm$ 0.69	10.10 $\pm$ 0.8 (22.46)	7.93 $\pm$ 0.89 * (39.16)	1.95 $\pm$ 0.56 * (85.03)	1.88 $\pm$ 0.94 * (85.57)	N.D. (1-0.31)
51	14.0 $\pm$ 0.75	11.48 $\pm$ 0.29 (18.04)	7.78 $\pm$ 0.53 * (44.46)	7.57 $\pm$ 0.83 * (45.92)	7.13 $\pm$ 0.84 * (49.11)	> 3.1

\* $p \leq 0.01$  ANOVA seguida de una prueba de Dunnett

<sup>a</sup> Límites de confianza 95 %

ND = No determinada

La  $CI_{50}$  (ND) del alcaloide 6-metoxidihidrosanguinarina (35) no se pudo determinar debido a que la dosis de 1  $\mu\text{mol/oreja}$  del alcaloide alcanza su máxima actividad. Para la estimación de la  $CI_{50}$  es necesario tener por lo menos tres puntos significativos y aunque esta substancia los tiene (señalados con un asterisco), los puntos de las últimas dos dosis están casi sobrepuestos, lo que impide calcular la  $CI_{50}$ , esto no quiere decir que este alcaloide carezca de actividad, de hecho este alcaloide inhibe el edema en un 39 % de manera significativa a la dosis de 31  $\mu\text{mol/oreja}$

En el cálculo para obtener el valor de la  $CI_{50}$  del alcaloide 6-metoxidihidroqueleritrina (10), se emplean los datos que son significativos y se requiere de al menos tres puntos para poder hacer una regresión lineal y aproximar por interpolación la  $CI_{50}$  de tal manera que ésta se considere significativa. De los cuatro alcaloides evaluados, este es el más activo.

Los alcaloides 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51) y dihidroqueleritrina (8) ambos presentan actividad significativa, el primero a partir de la dosis de 0.31  $\mu\text{mol/oreja}$  y el segundo desde 1  $\mu\text{mol/oreja}$ ; aunque presentan puntos significativos, la  $CI_{50}$  no se puede determinar debido a que ninguno de los dos alcaloides evaluados sobrepasa el 50 % de inhibición del edema.

En resumen, en el método para evaluar la actividad antiedematosa en el edema inducido con TPA en la oreja de ratón, los cuatro alcaloides evaluados presentan actividad antiinflamatoria significativa. En orden decreciente de bioactividad, quedan de la siguiente manera: 6-metoxidihidrosanguinarina (35), 6-metoxidihidroqueleritrina (10), 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51), y dihidroqueleritrina (8). Cabe resaltar que los alcaloides 35 y 10 presentaron una mayor actividad que el control, lo que demuestra la importancia de estas moléculas como posibles agentes antiinflamatorios.

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**

### 7.3 Resultados de actividad citotóxica.

Se realizó la evaluación de la actividad citotóxica sobre algunas líneas celulares cancerosas de algunos de los alcaloides obtenidos: como: dihidroqueleritrina (8), acetonildihidroqueleritrina (9), 6-metoxidihidroqueleritrina (10), 6-metoxidihidrosanguinarina (35), 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (51), ácido 20-*epi*-katónico (52), y 20-*epi*-katonato de metilo (53), los resultados se muestran en la tabla 13.

Tabla 13. Resultados de actividad citotóxica CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ).

Substancia	Líneas celulares			
	OVCAR	UIISO	Colon	KB
8	> 20	< 1	> 20	5
9	3.98	15.8	< 1	> 20
10	> 20	> 20	1.74	1.4
35	< 1	1.77	< 1	< 1
51	> 20	25.1	> 20	2
52	> 20	22.4	19.95	7.1
53	> 20	> 20	> 20	4

OVCAR: Cáncer de ovario; UIISO: Carcinoma de cervix; Colon: Cáncer de colon; KB: Carcinoma nasofaríngeo. Las líneas celulares cancerosas son de humano

El alcaloide dihidroqueleritrina (8) presenta inhibición del crecimiento de células cancerosas de carcinoma nasofaríngeo y en mayor proporción contra células de carcinoma de cervix, y manifiesta cierta selectividad hacia esas líneas celulares cancerosas.

De los alcaloides evaluados 6-acetonildihidroqueleritrina (9) es el único que presenta bioactividad, con cierta selectividad, frente a líneas celulares de cáncer de ovario, pero a su vez también presenta bioactividad contra líneas celulares de cáncer de colon, y en menor proporción contra líneas celulares de carcinoma de cervix.

El alcaloide 6-metoxidihidroqueleritrina (10) inhibe la proliferación, con cierta selectividad, de células cancerosas de colon y de carcinoma nasofaríngeo.

6-metoxidihidrosanguinarina (35) es el alcaloide que presenta una mayor potencia y a su vez presenta una menor selectividad en su bioactividad, ya que inhibe la proliferación de todas las líneas celulares cancerosas evaluadas, a una CMI mínima, por lo tanto este alcaloide es el de mayor citotoxicidad.

El alcaloide 6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (**51**) presenta bioactividad contra líneas celulares cancerosas de carcinoma nasofaríngeo, y es el único que presenta selectividad hacia una sola línea celular. Al comparar las estructuras de los alcaloides **10** y **51**, en donde la única diferencia es el metoxilo en la posición 12 de **51**, y tal vez es éste metoxilo, en la posición 12, el responsable de la selectividad en la bioactividad de **51**.

Lo relevante en esta evaluación es la bioactividad citotóxica presentada por el ácido 20-*epi*-katónico (**52**), y el 20-*epi*-katonato de metilo (**53**), así como la selectividad frente a la línea celular de carcinoma nasofaríngeo, debido a que son sustancias de tipo triterpenoide, las cuales no se caracterizan por presentar este tipo de actividad biológica.

Con base en estos resultados se demuestra la relevancia que este tipo de alcaloides tiene como posibles agentes potenciales debido a la bioactividad presentada. Asimismo, se abre otro camino para continuar el estudio en cuanto a otras líneas celulares cancerosas, ya que de acuerdo con estadísticas, el cáncer está ocupando los primeros sitios en causas de muerte en nuestro país. Por ello, es necesario ampliar la gamma de moléculas que puedan actuar como agentes terapéuticos en el tratamiento de este tipo de enfermedades. Por otro lado, considerando los diferentes usos que se le da a este vegetal, es necesario ampliar su estudio biológico para determinar una probable actividad antiparasitaria y antiviral.

## 8. RESUMEN Y CONCLUSIONES.

Esta investigación permitió conocer acerca de la estructura molecular y la actividad biológica de los metabolitos secundarios de *Bocconia arborea* S Wats. conocida vulgarmente como "llora sangre", la cual es empleada en la medicina tradicional en la región de Morelos para el tratamiento de diversas enfermedades de tipo digestivo, respiratorio y cutáneo.

El estudio de las partes aéreas, y por primera vez de la raíz y las semillas de esta planta, permitió la obtención de alcaloides de tipo benzofenantridina tales como: Dihidroqueleritrina (**8**), ( $\pm$ )-6-acetonildihidosanguinarina (**15**), (-)-6-metoxidihidosanguinarina (**35**), (-)-6-metoxidihidroqueleritrina (**10**), oxisanguinarina (**16**), 6-metoxidihidroquelirubina (**50**), (-)-6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (**51**), ( $\pm$ )-sanguidimerina (**23a**); de un triterpenoide pentacíclico denominado como (+)-ácido 20-*epi*-katónico (**52**) y su derivado éster metílico caracterizado como (+)-20-*epi*-katonato de metilo (**53**).

Se realizó la evaluación biológica de los metabolitos secundarios obtenidos y los alcaloides **8**, **35**, **10**, **50** y **51** demostraron poseer actividad antimicrobiana, antiinflamatoria y citotóxica. Los triterpenoides **52** y **53** demostraron poseer actividad citotóxica y actividad antiinflamatoria moderada.

Los resultados obtenidos permiten concluir que existe una correlación entre las actividades biológicas encontradas para las sustancias aisladas y caracterizadas, y el uso popular tradicional del vegetal.

El alcaloide (-)-6,12-dimetoxidihidroqueleritrina (**51**) y el triterpenoide (+)-ácido 20-*epi*-katónico (**52**) constituyen nuevos productos naturales.

Los alcaloides de tipo benzofenantridina monoméricos son bioactivos, los diméricos no.

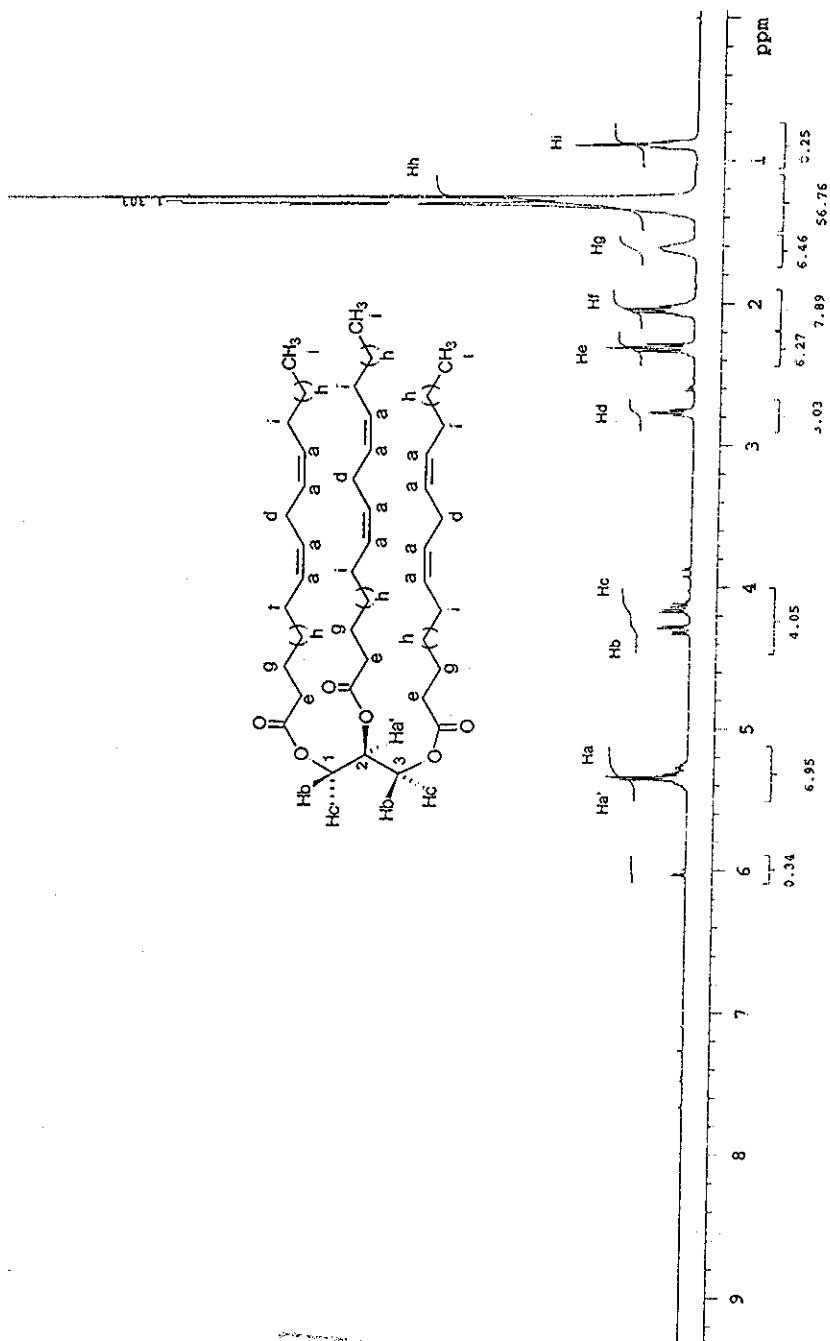
Es importante mencionar que la mayor cantidad de los alcaloides caracterizados se encontraron en la raíz, y precisamente estas sustancias son las de mayor importancia en referencia a su actividad biológica, por lo que al evaluar el potencial de *Bocconia arborea* como fuente de agentes con actividad terapéutica, es relevante considerar procedimientos que permitan la conservación del vegetal. Es indudable que el rendimiento relativo de los metabolitos secundarios constituye una limitante para la obtención a escala de las sustancias. Además, son necesarios estudios adicionales referentes a la toxicidad del vegetal así como de los metabolitos aislados.

8  
4  
2  
0

## 9. ESPECTROS



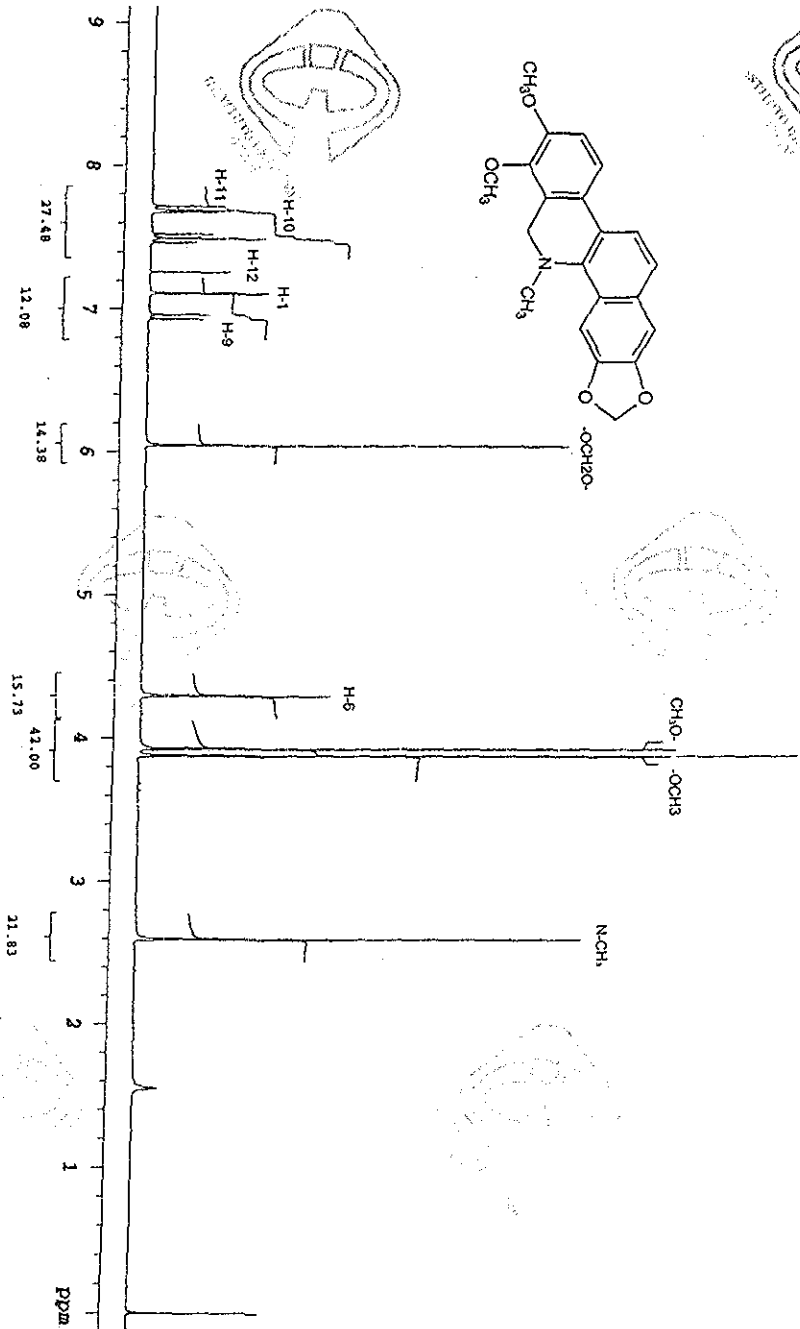
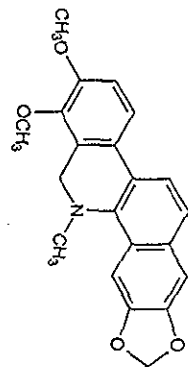




Espectro 1. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) triacilglicérido A

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

RECIBIDO EN  
BIBLIOTECA DE LA  
UNIVERSIDAD DE CALDAS



Espectro 2. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) dihidroquinolina (8).

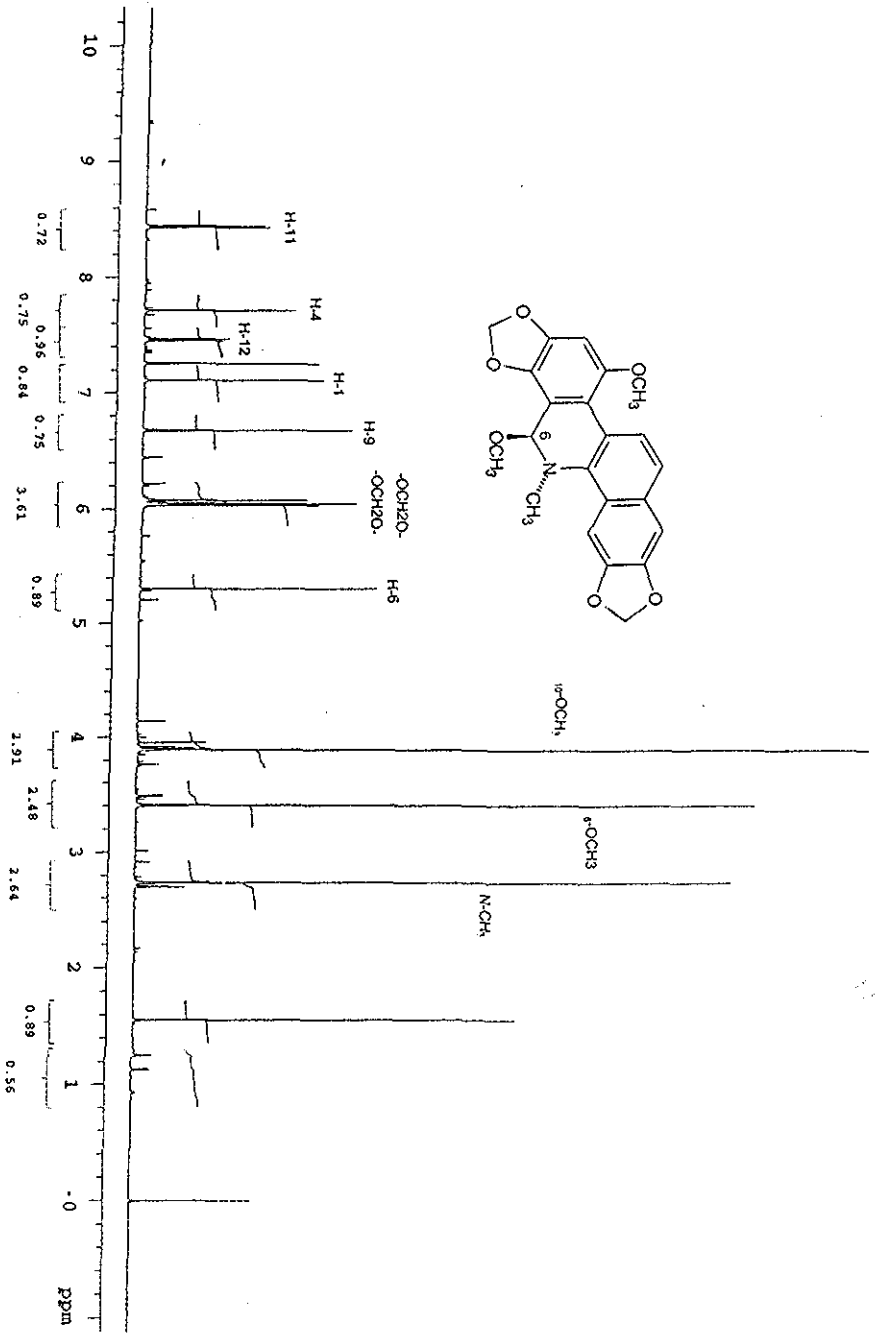
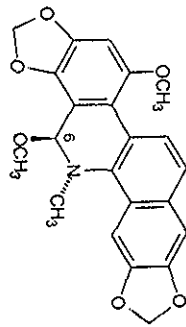
TESIS CON FALLA DE ORIGEN

RECORADO DE ALUMNO



Espectro 3. EM (IE, 70 eV) dihidroqueritina (8).

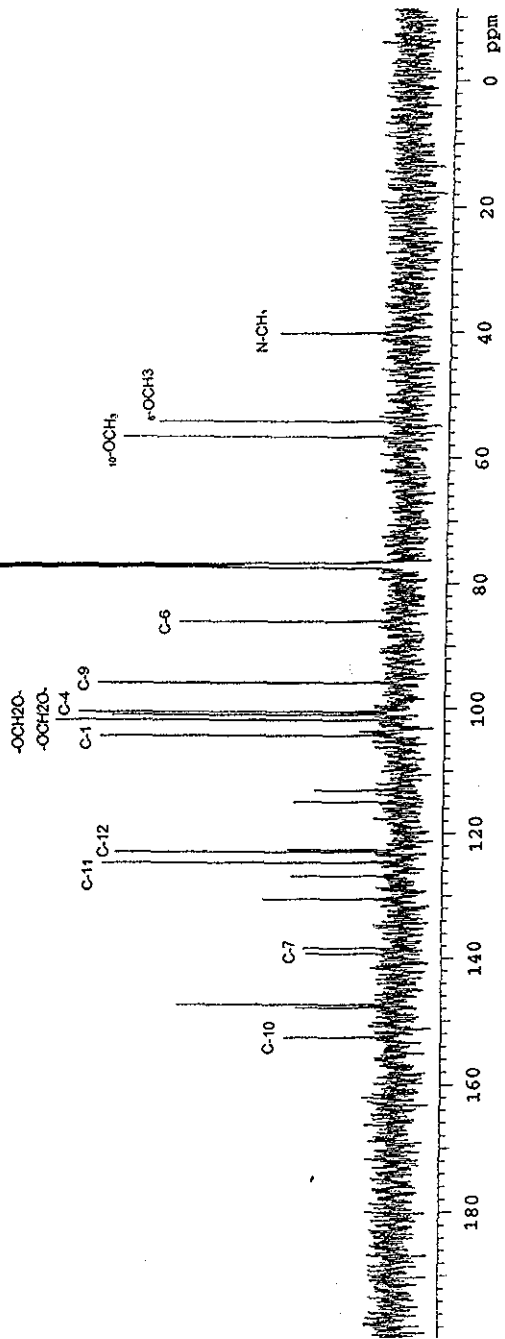
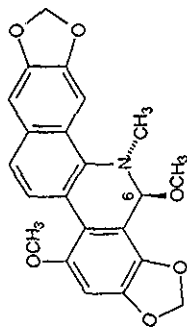
**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Espectro 4. RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 6-metoxidihidroquetrubina (50).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

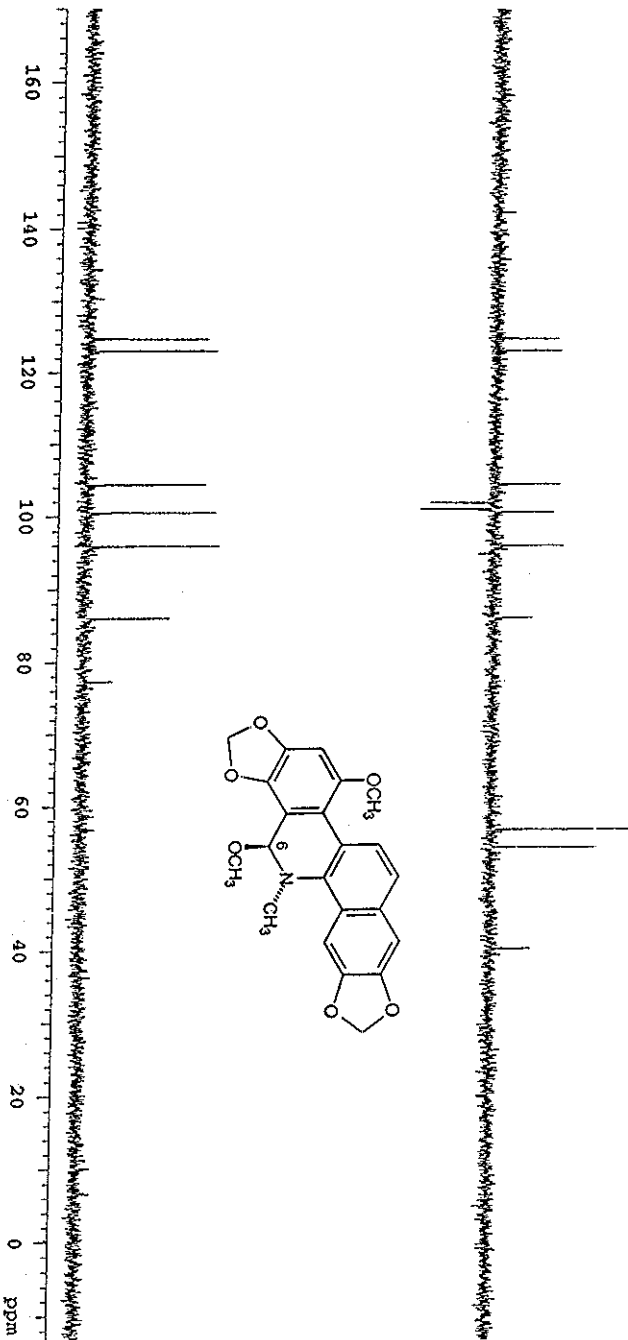
RECIBO EN ALUMNADO  
100 00001



Espectro 5. RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 6-metoxidihidroqueirubina (50).

ELABORADO POR  
 INGENIERO DE ALIAT

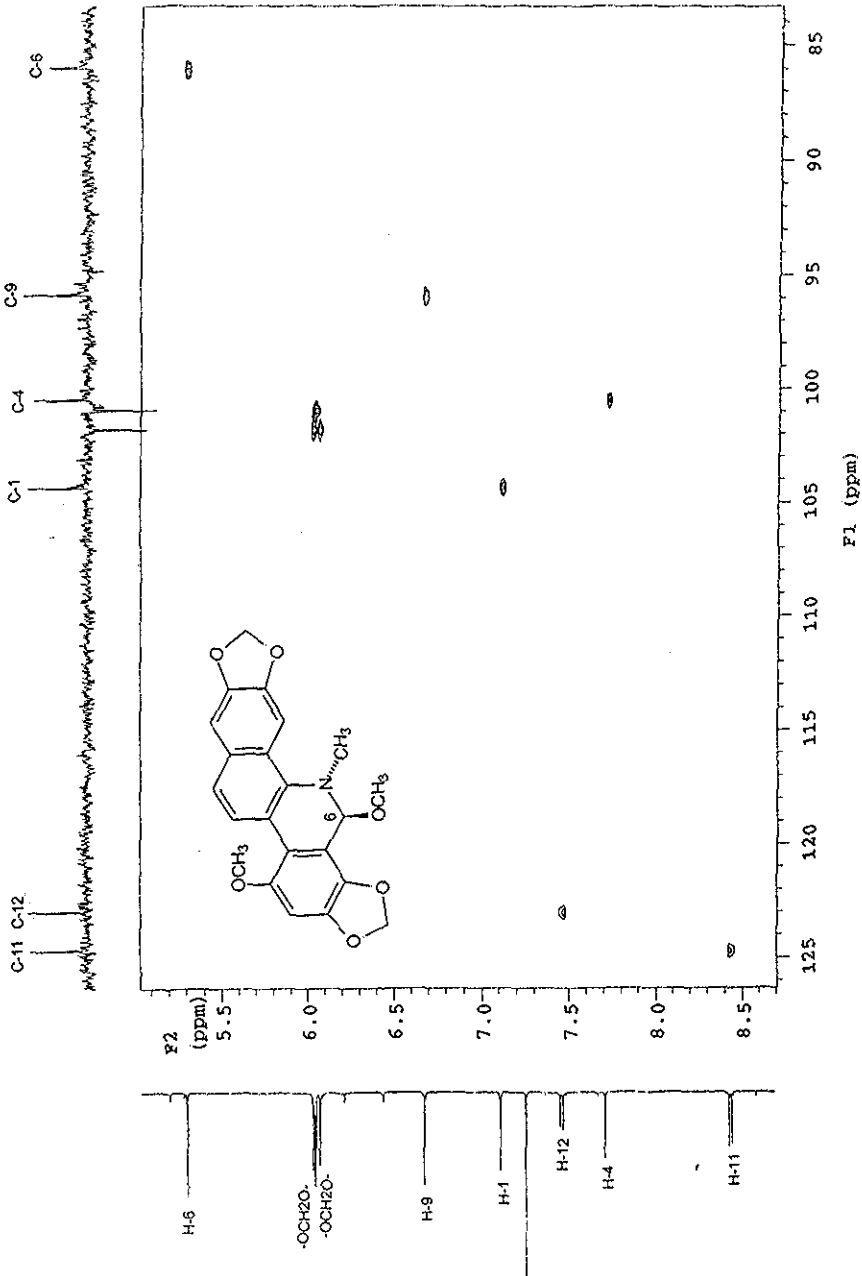
TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN



Espectro 6. RMN <sup>13</sup>C DEPT (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 6-metoxidihidroquercetina (50).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

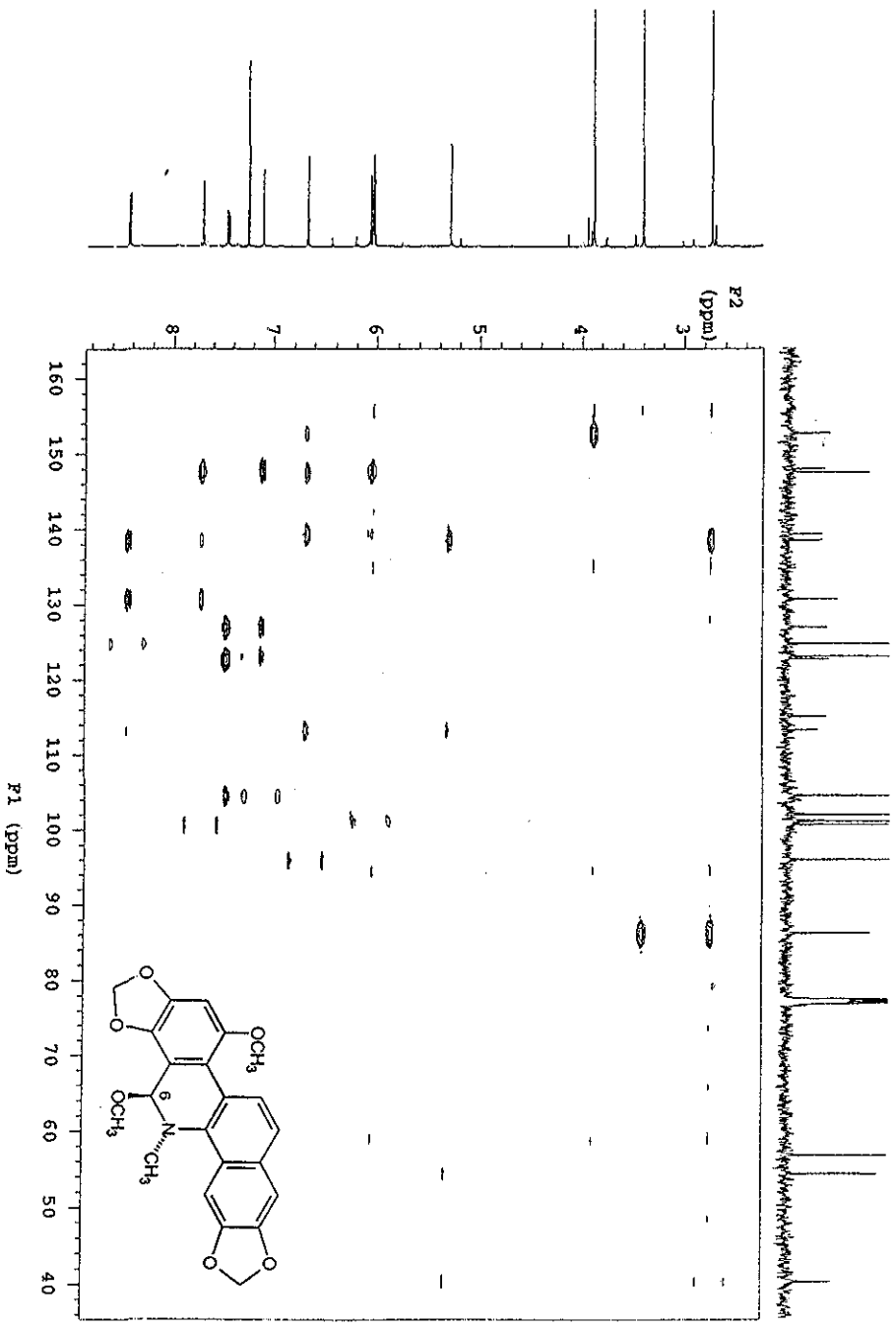
800 0000  
MEXICO, D.F.



Espectro 7. RMN HSQC (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 6-metoxidihidroquinolina (50).

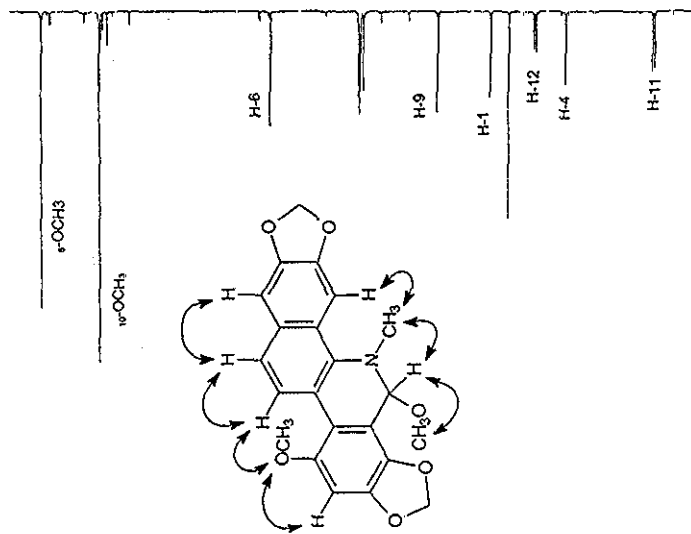
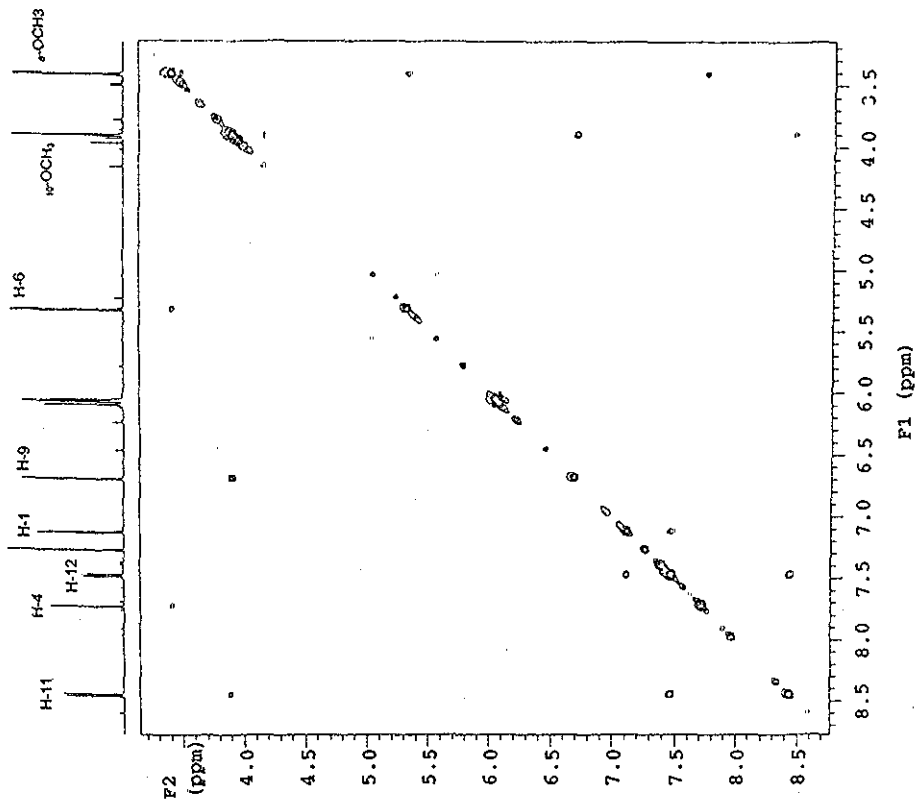
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



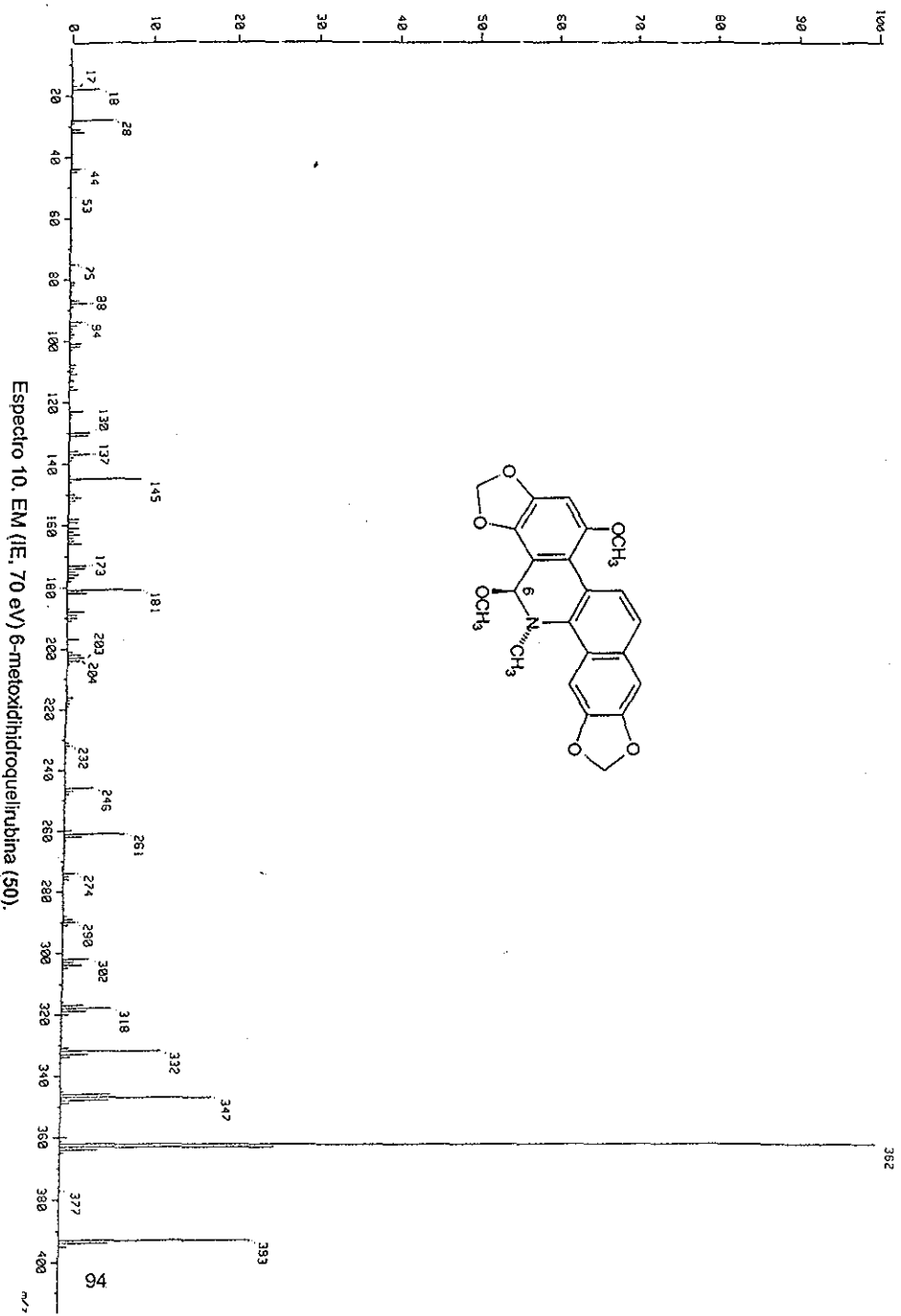
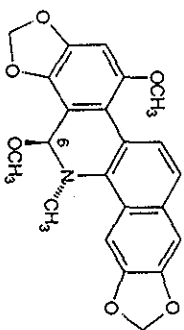


Espectro 8. RMN HMBC (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 6-metoxidihidroquetrubina (50).

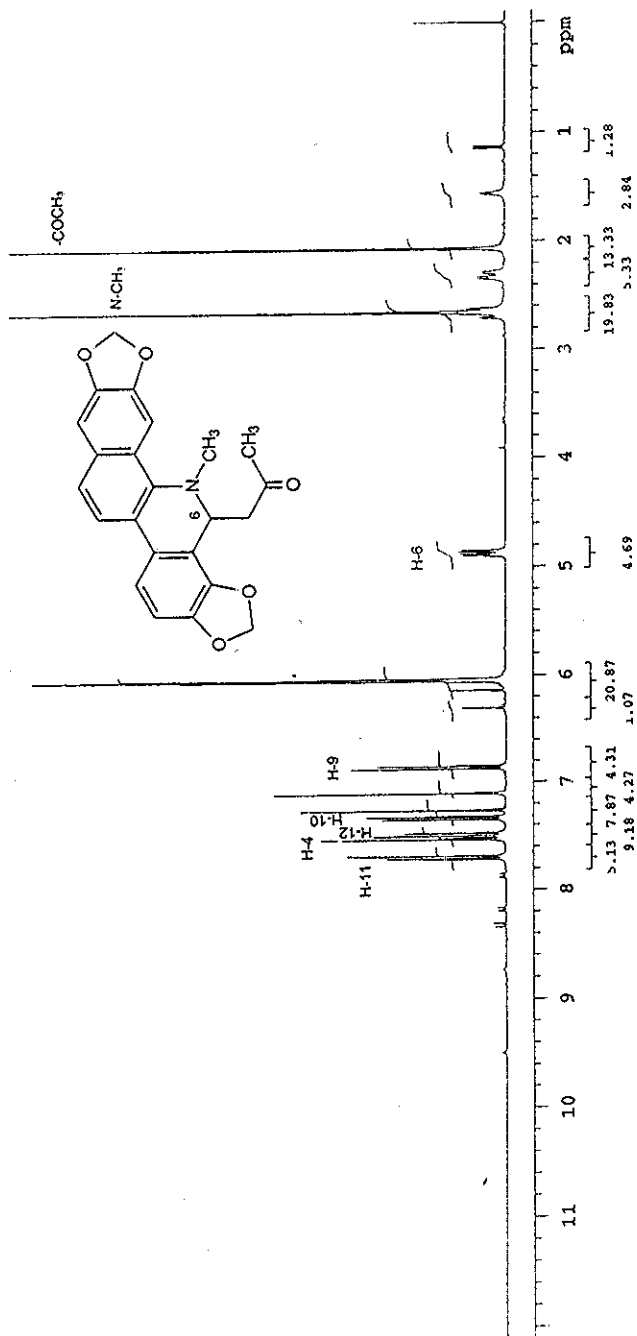




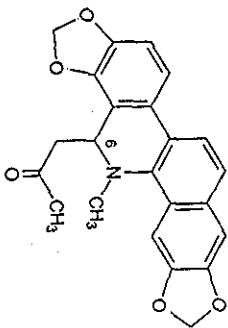
Espectro 9. RMN NOESY (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 6-metoxidihidroquelirubina (50).



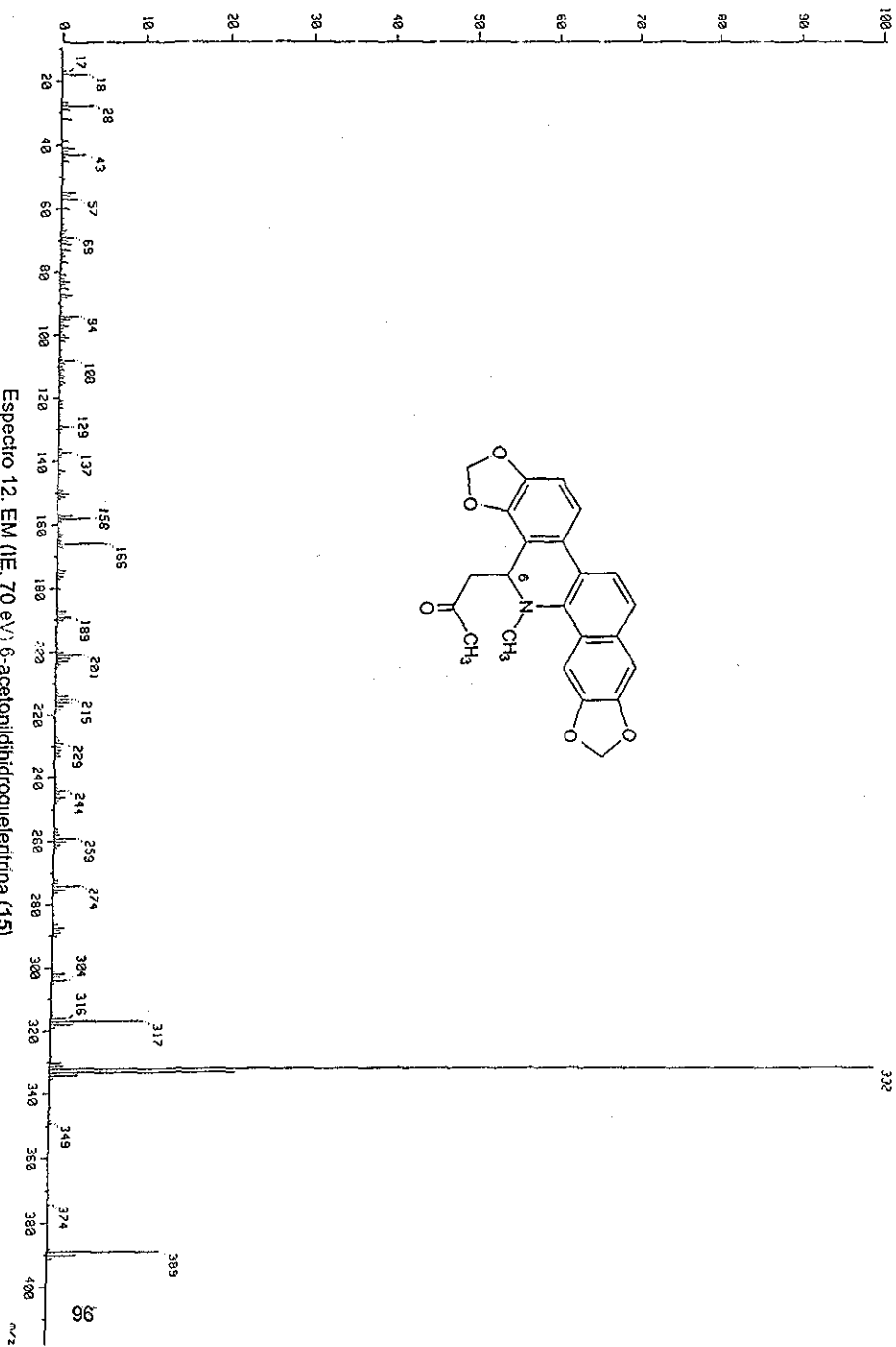
Espectro 10. EM (IE, 70 eV) 6-metoxidihidroquelinina (50).

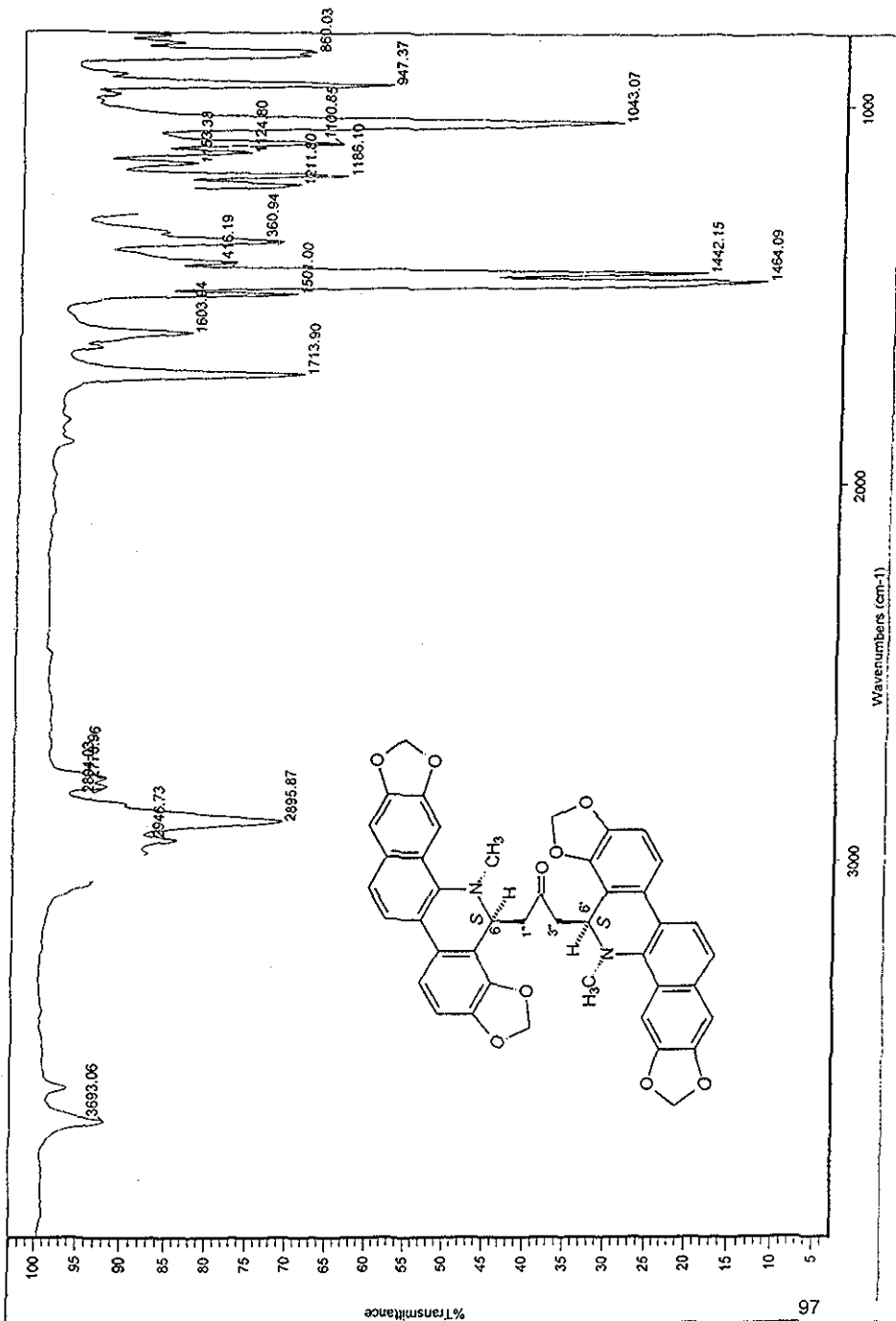


Espectro 11. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 6-acetonilhidroquelitrina (15).

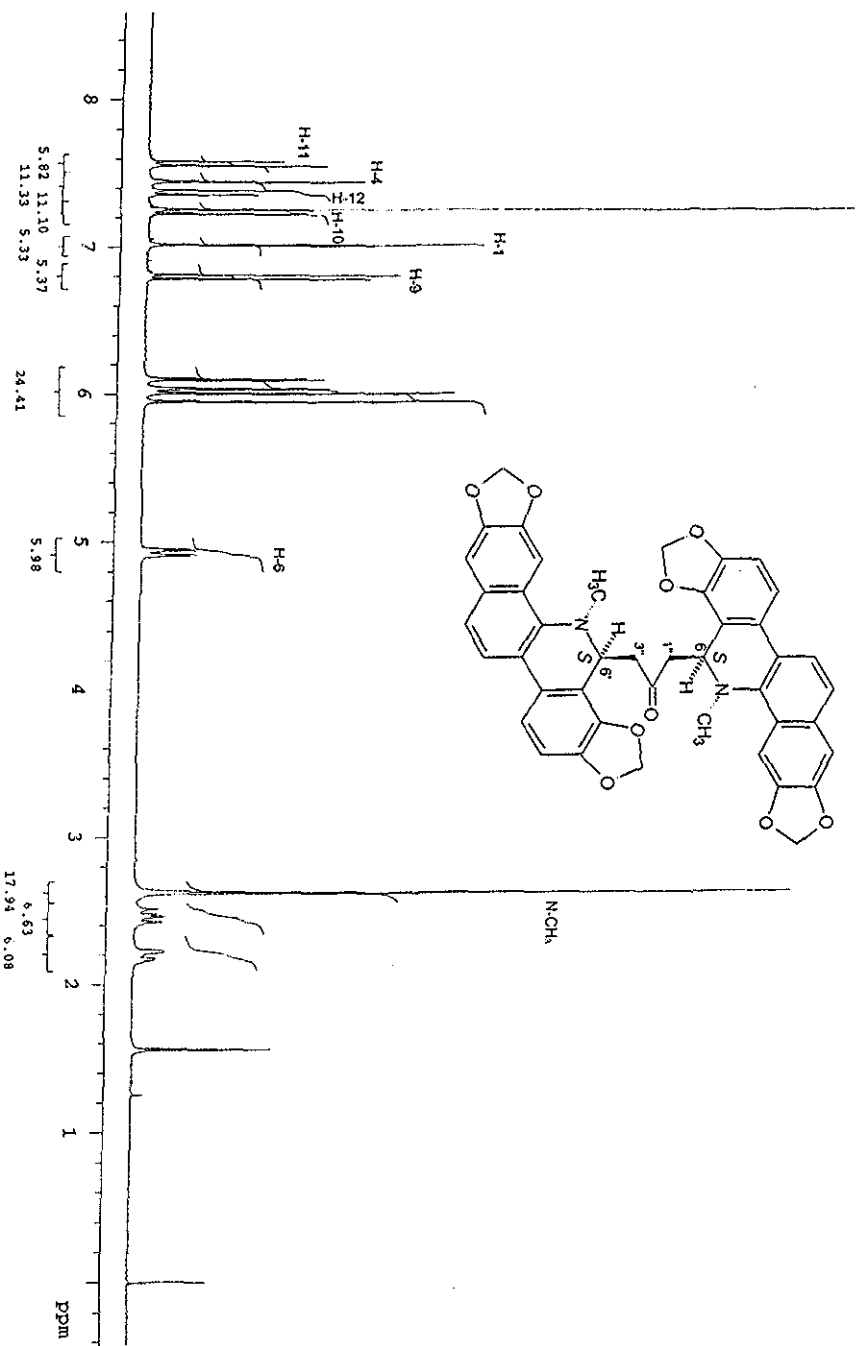


Espectro 12. EM (IE, 70 eV) 6-acetonilhidroquetrina (15).

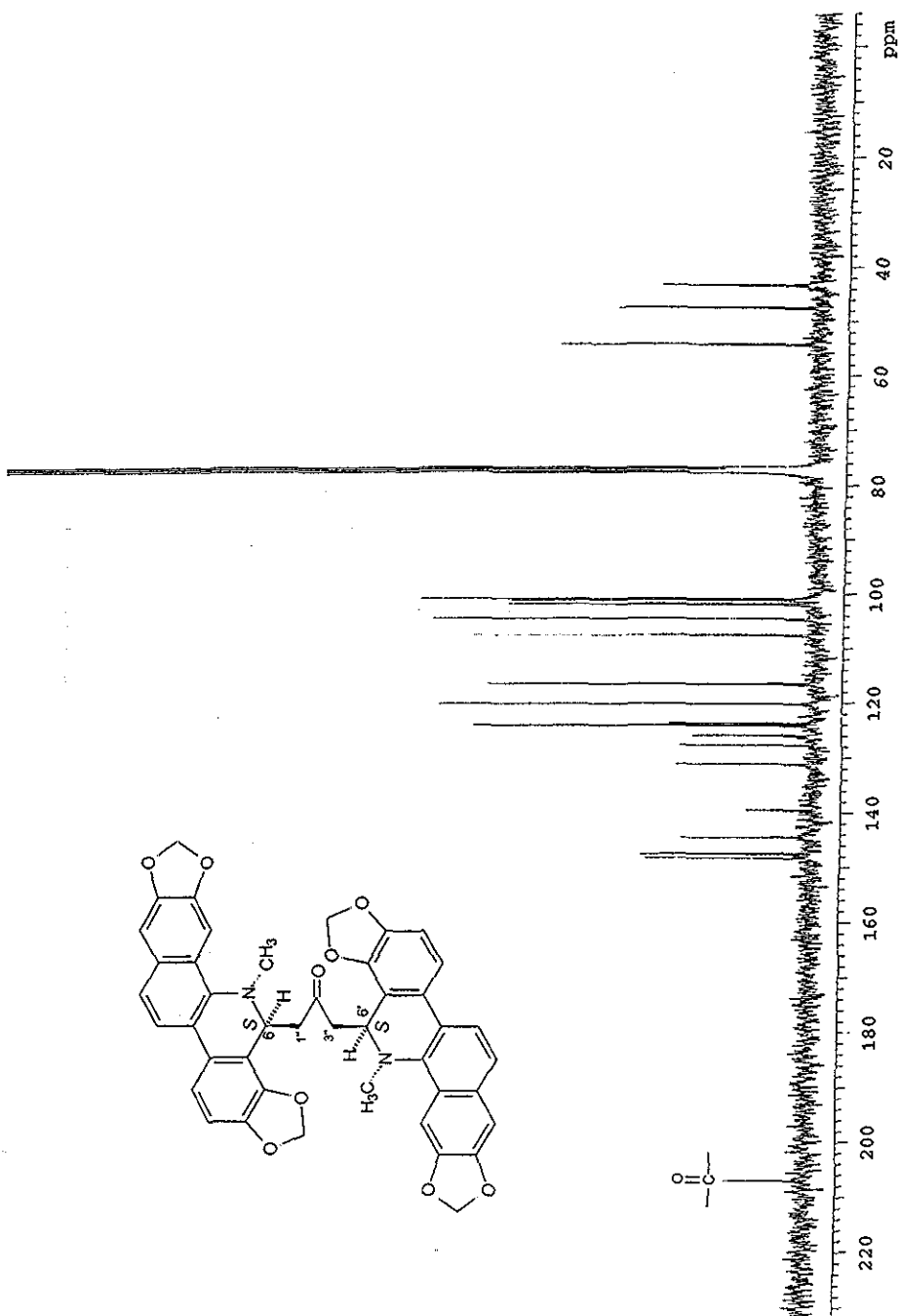




Espectro 13. IR (CHCl<sub>3</sub>) sanguidimerina (23a).

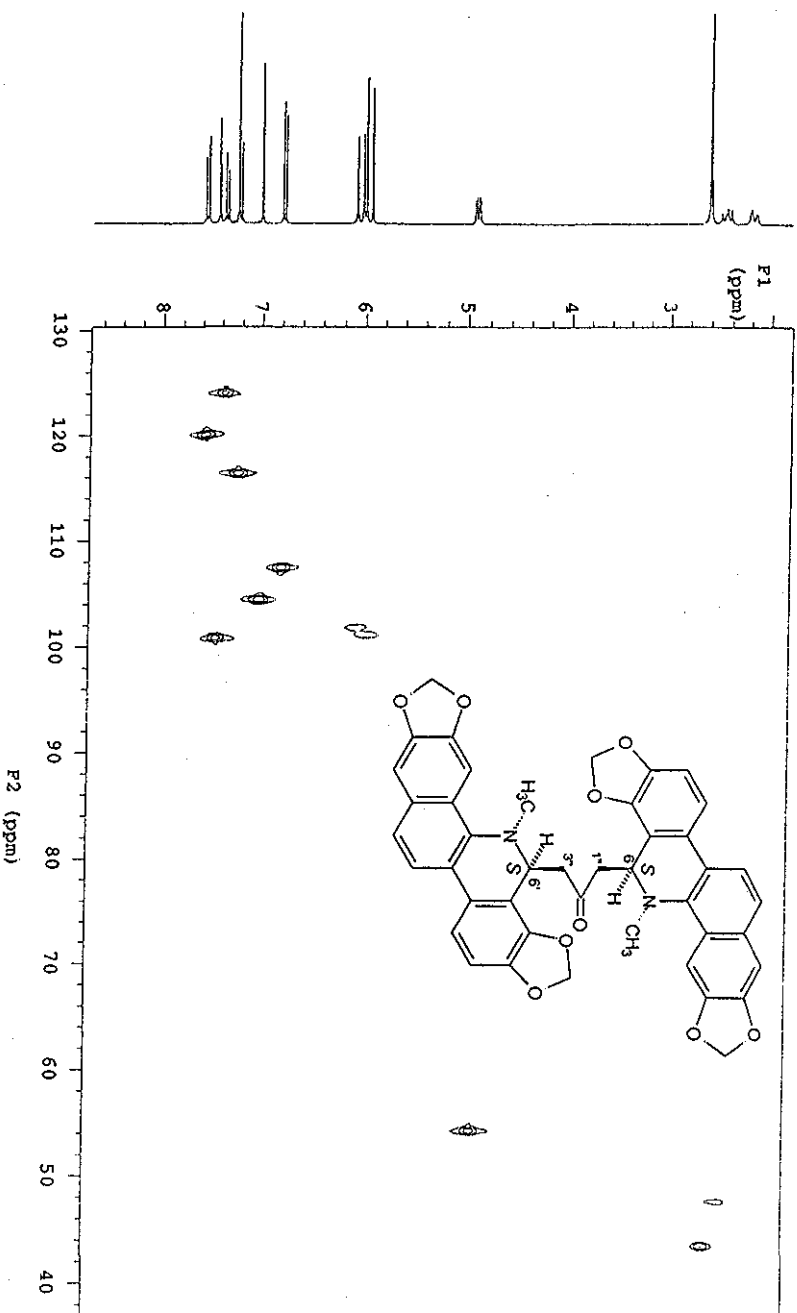


Espectro 14. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) sanguidimena (23a).

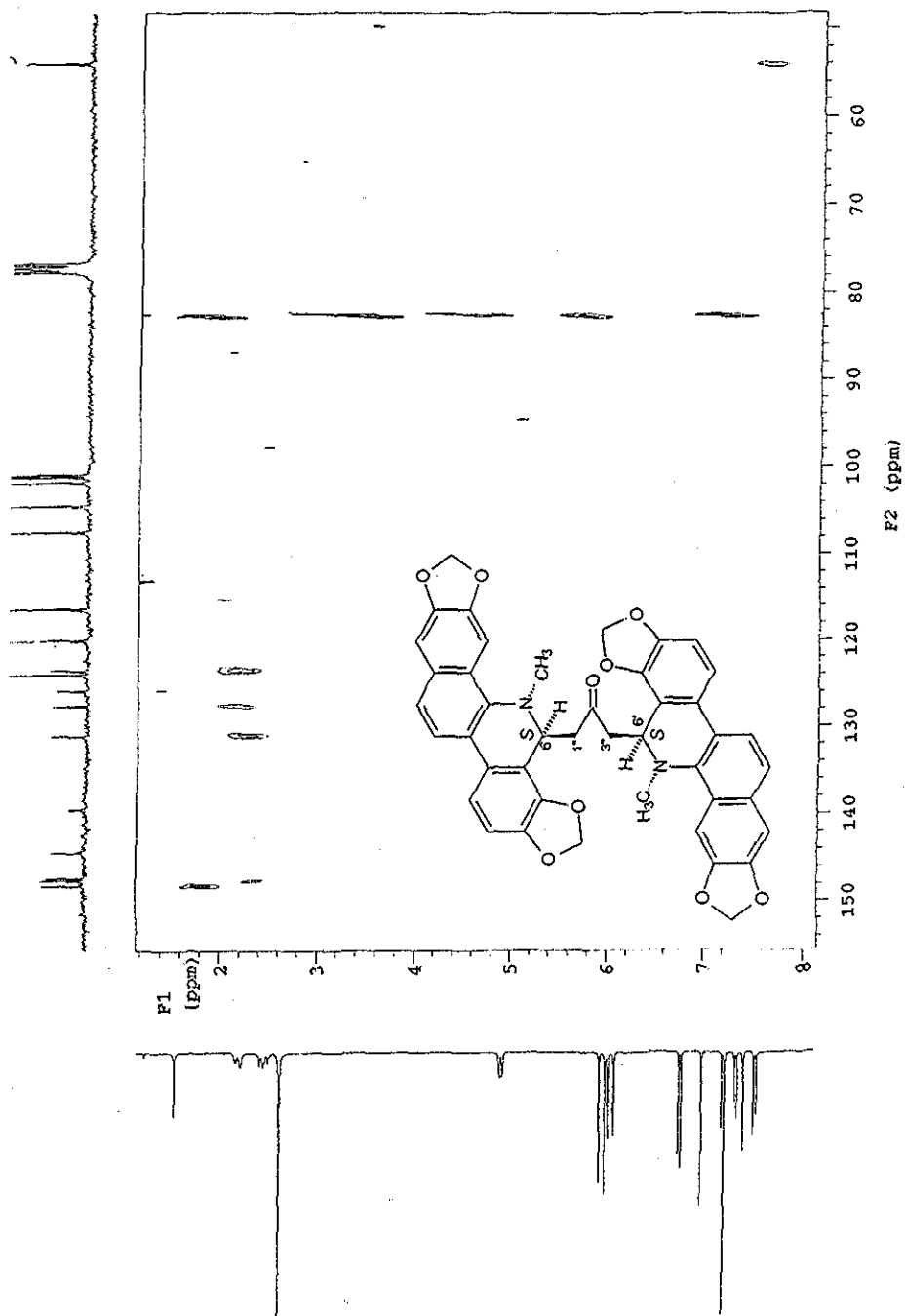


Espectro 15. RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) sanguidimena (23a).

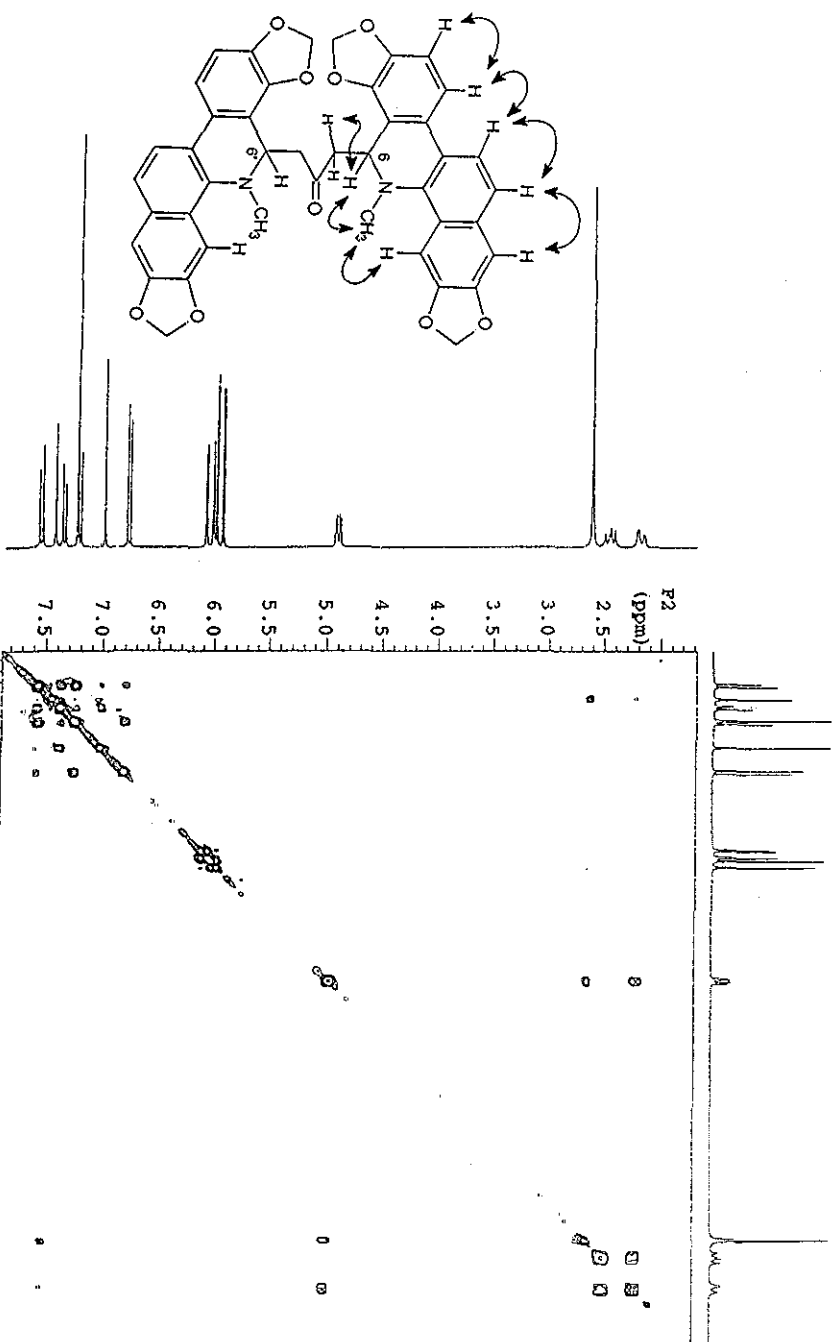




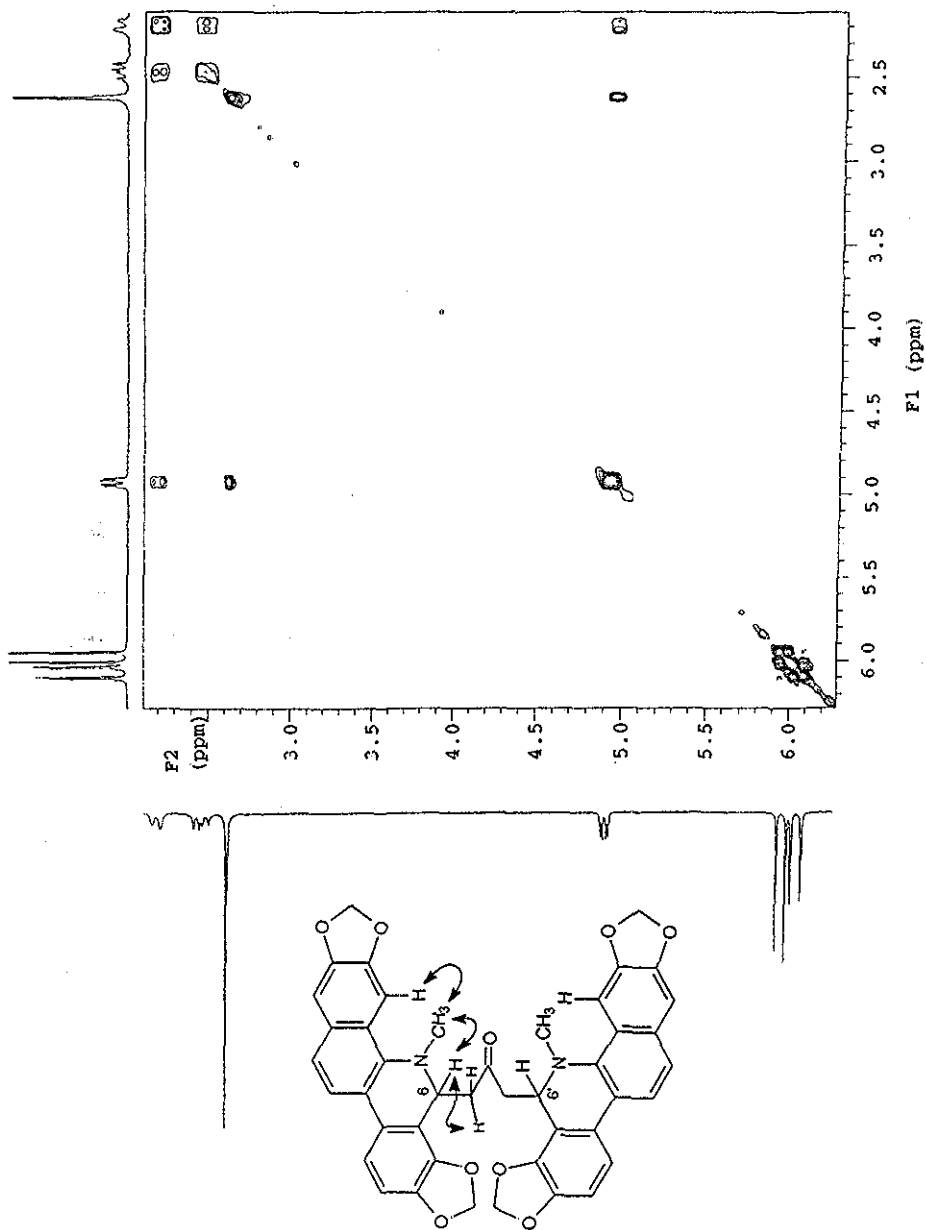
Espectro 16. RMN HETCOR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) sanguidimerina (23a).



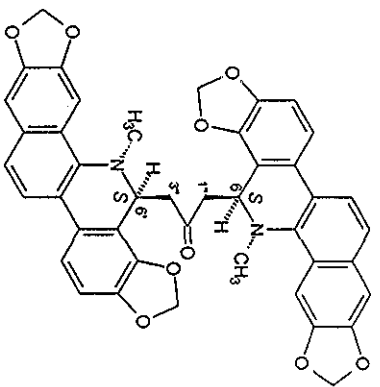
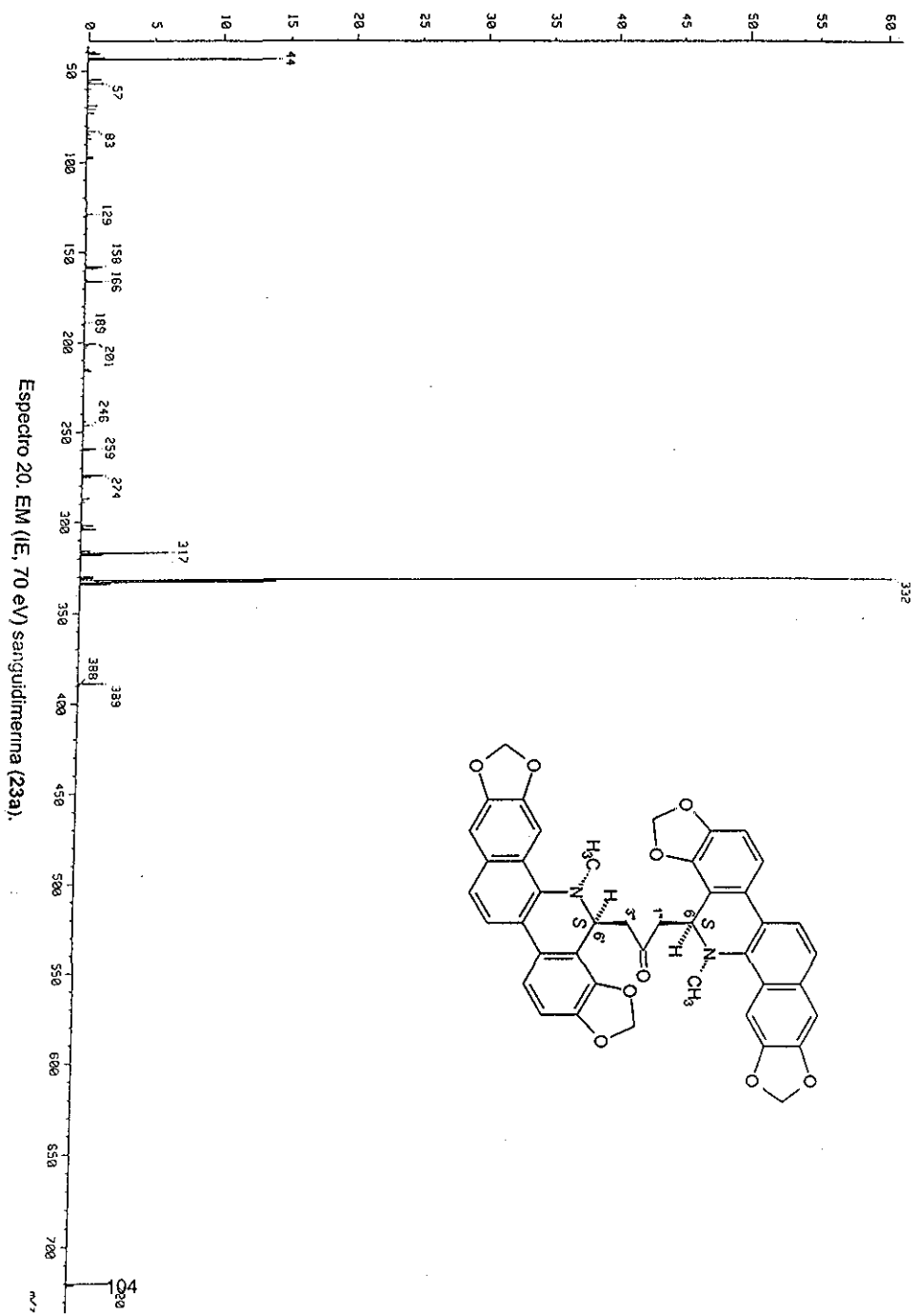
Espectro 17. RMN FLOCK (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) sanguidimenna (23a).

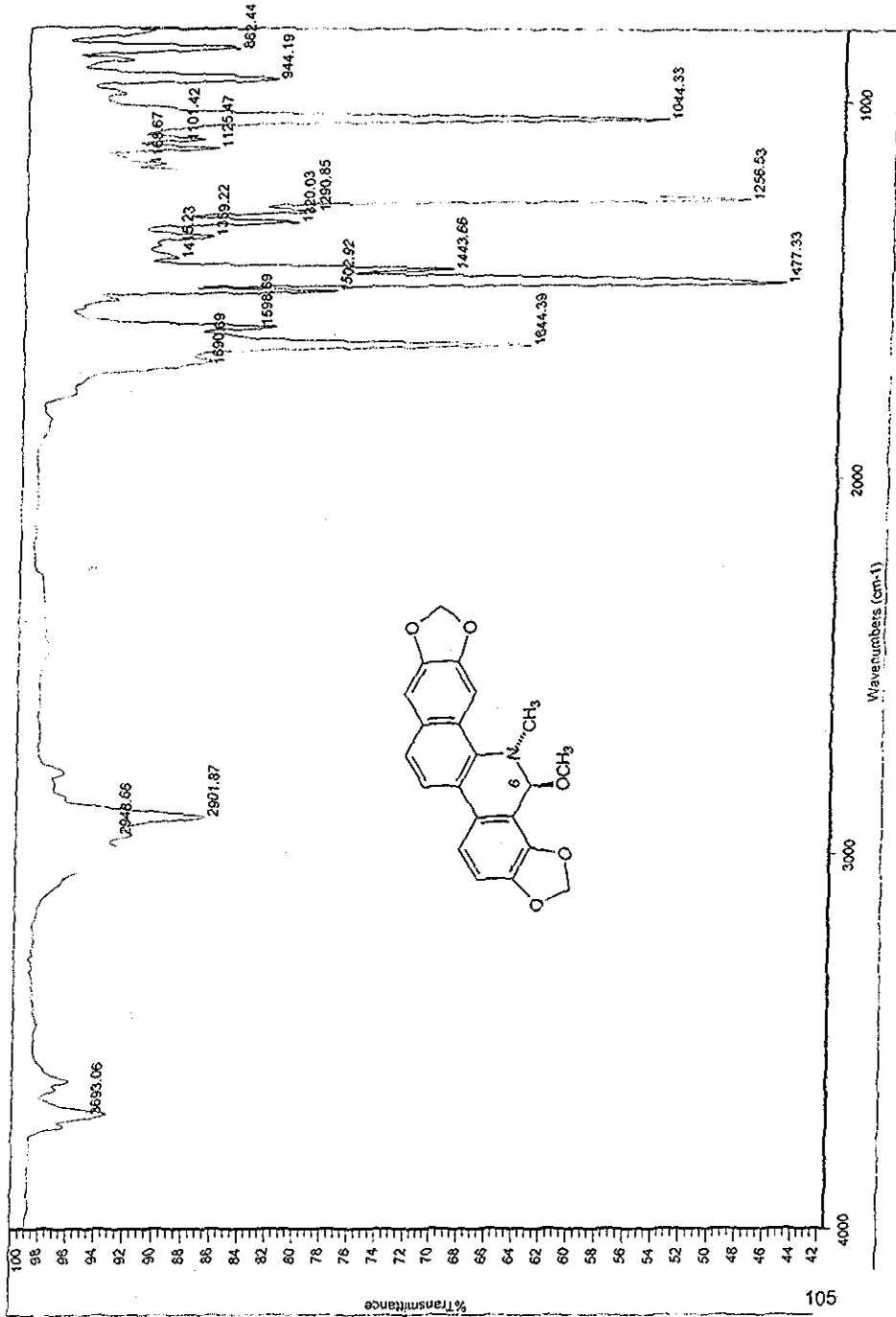


Espectro 18. RMN NOESY (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) sanguidimerina (23a).

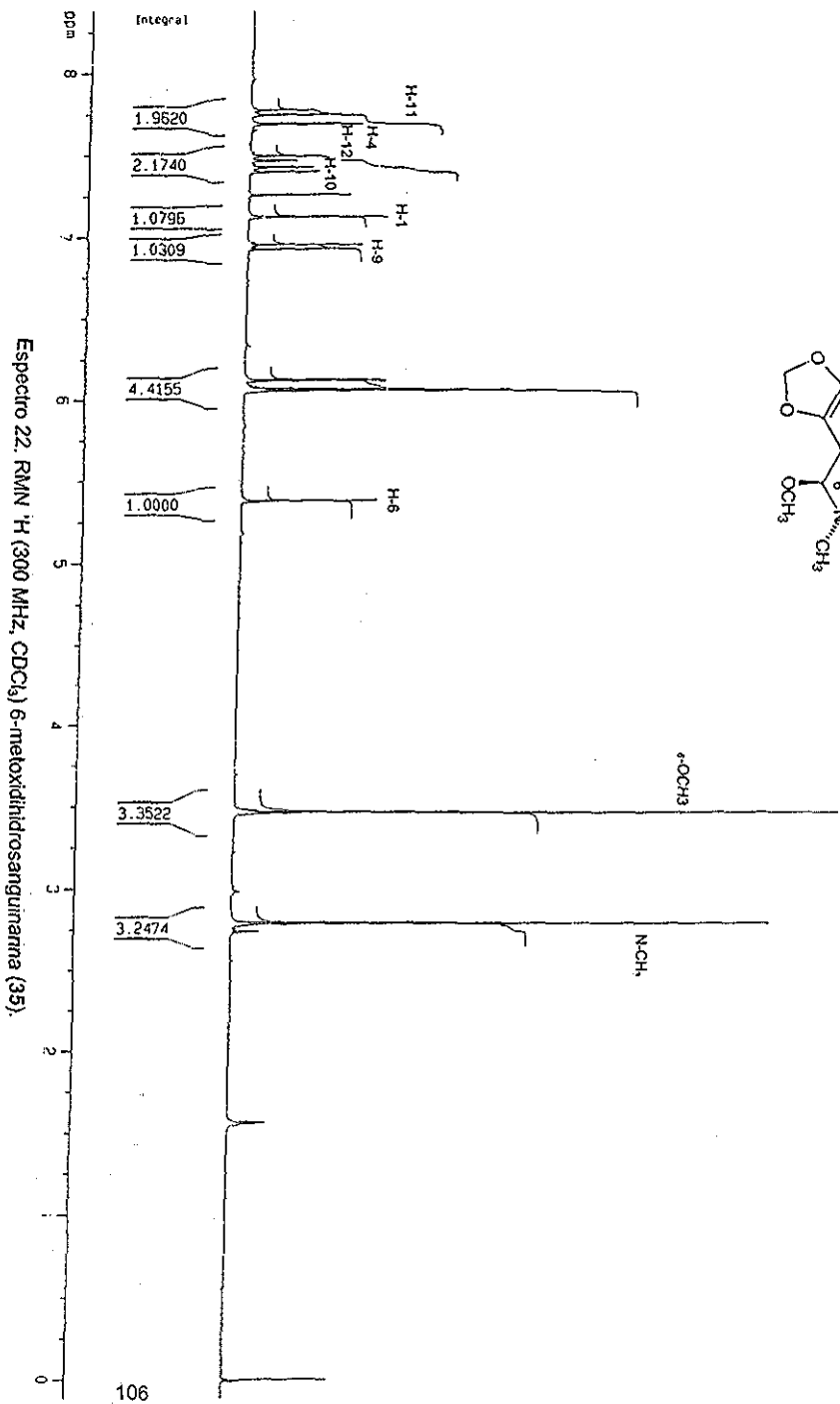
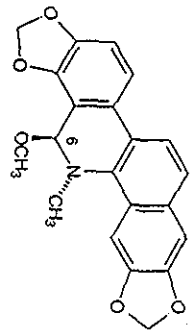


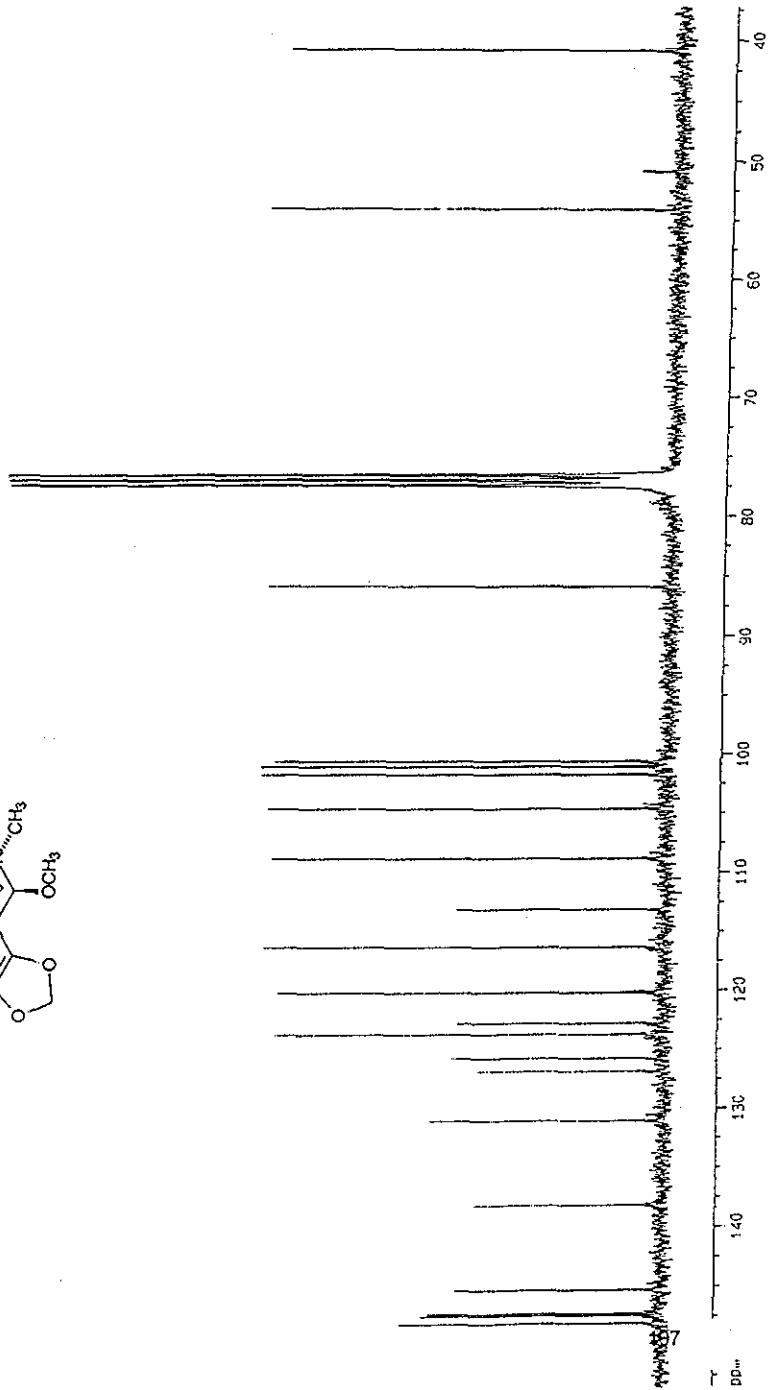
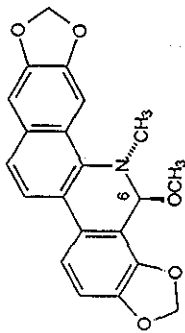
Espectro 19. RMN NOESY (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) sanguidimerina (23a).





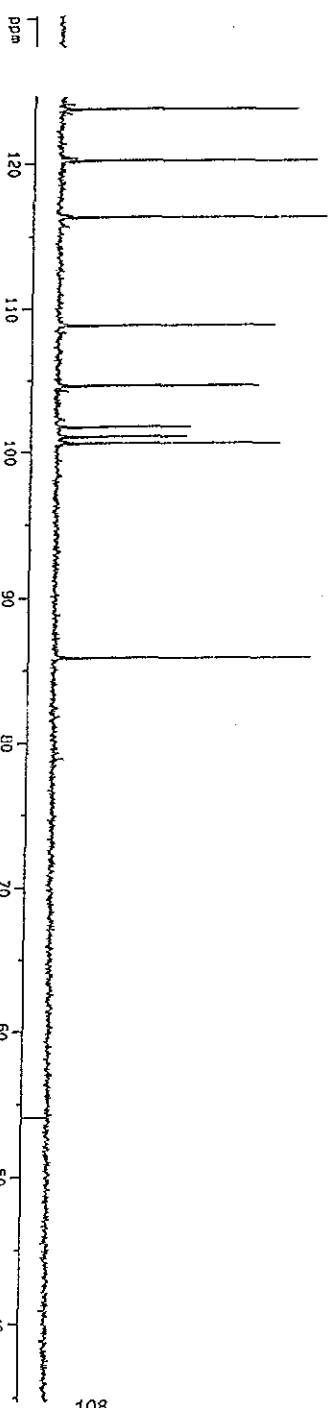
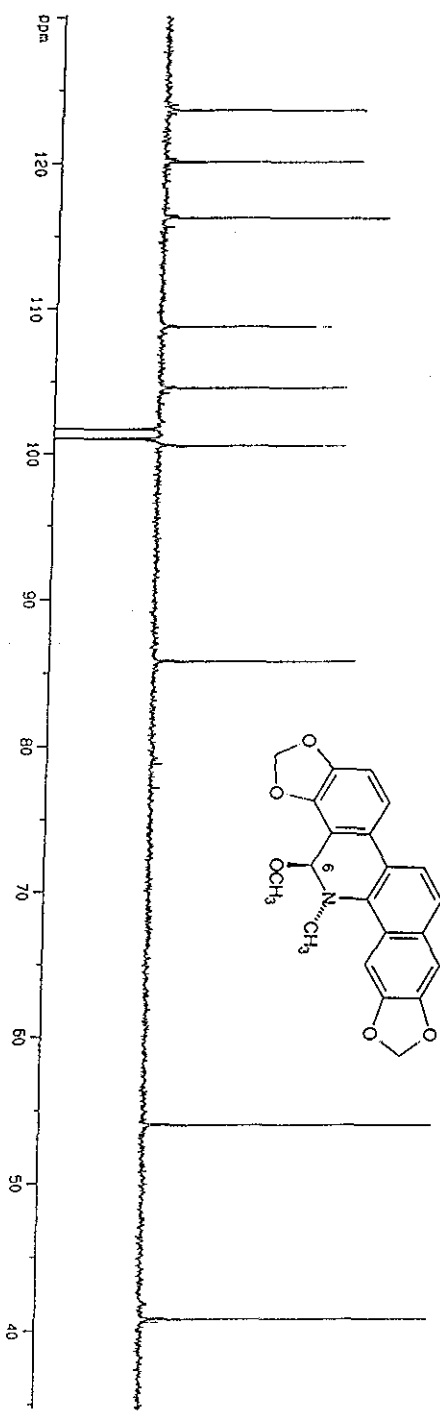
Espectro 21. IR (CHCl<sub>3</sub>) 6-metoxidihidrosangunama (35).



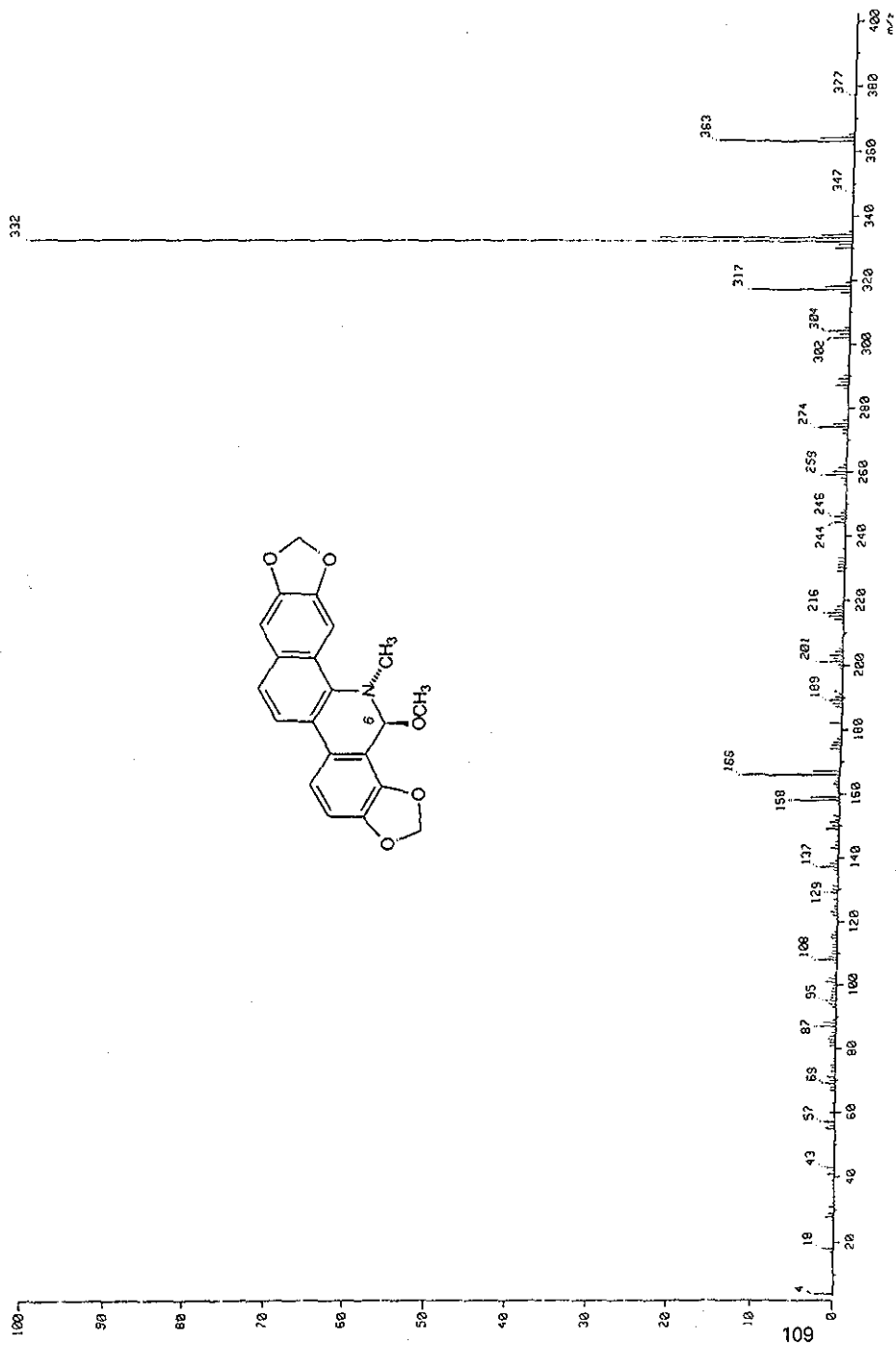


Espectro 23. RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 6-metoxidihidrosanguinaria (35).

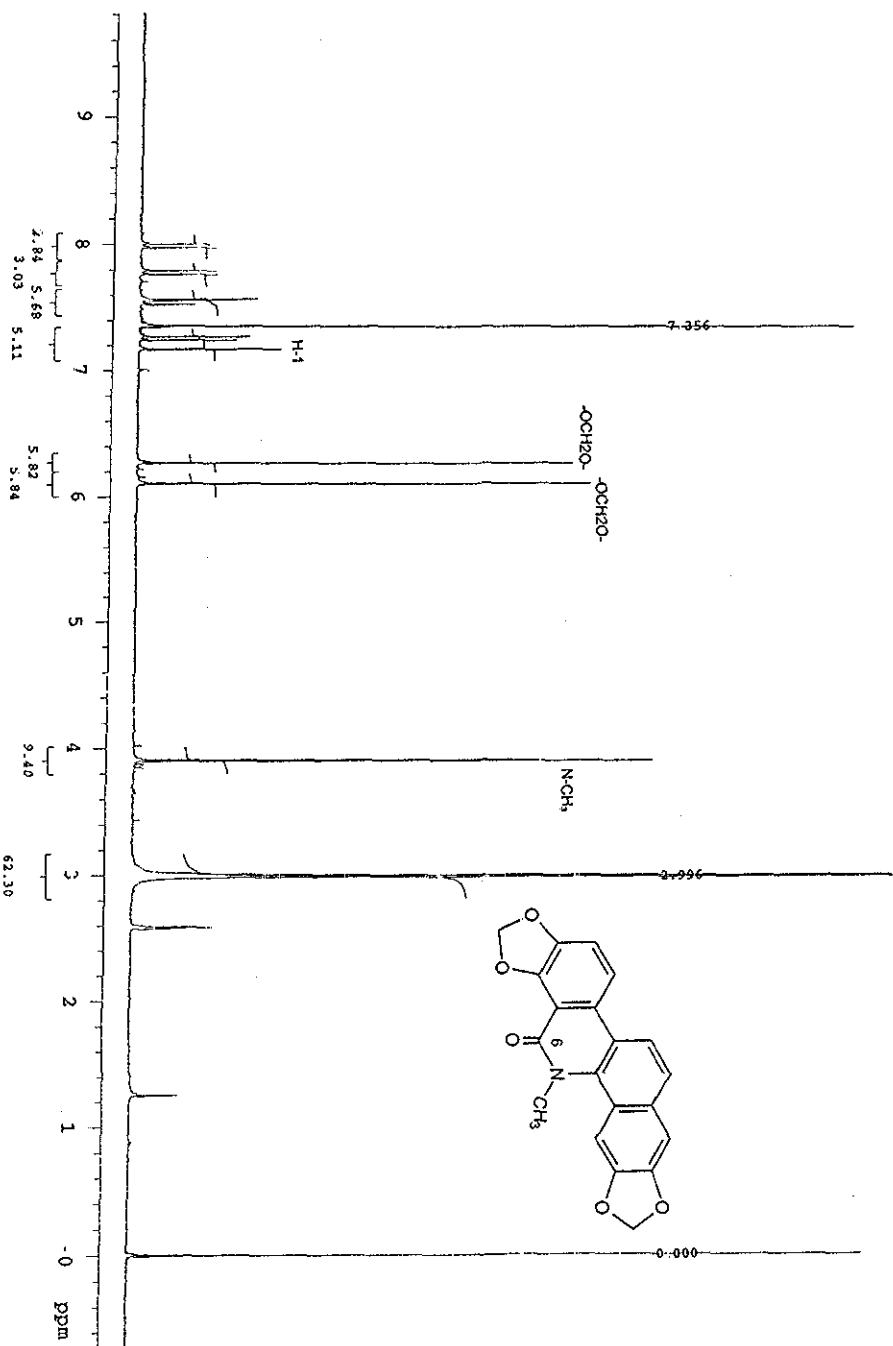




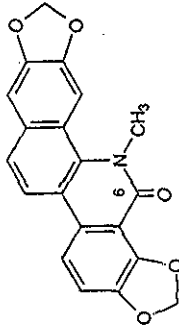
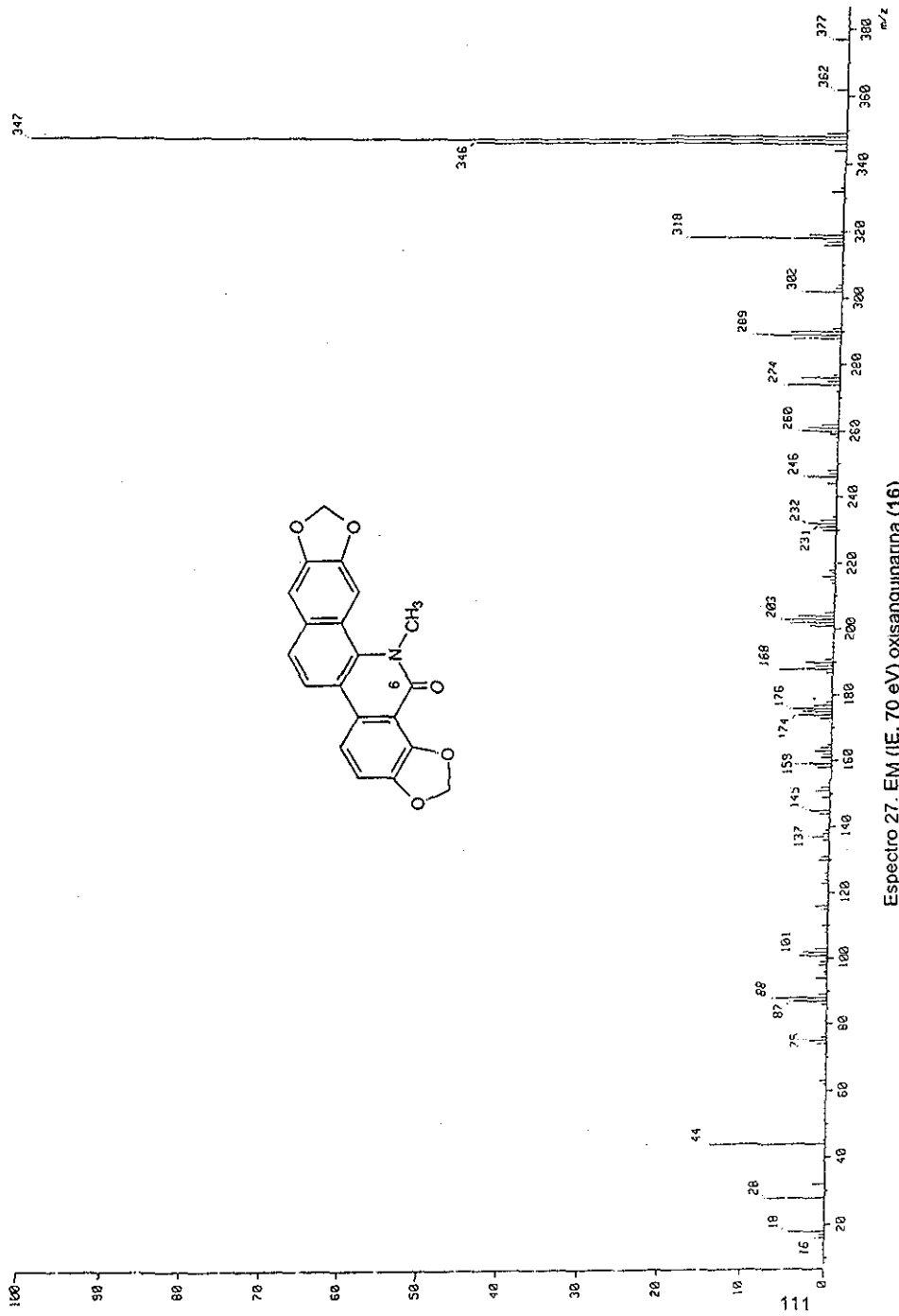
Espectro 24. RMN <sup>13</sup>C DEPT (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 6-metoxidihidrosanguinina (35).



Espectro 25. EM (IE, 70 °C) 6-metoxidihidrosangumarina (35).



Espectro 26. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) oxisanguinarina (16).

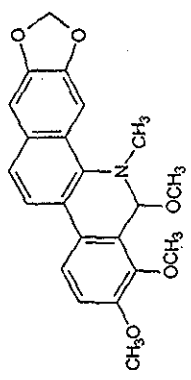
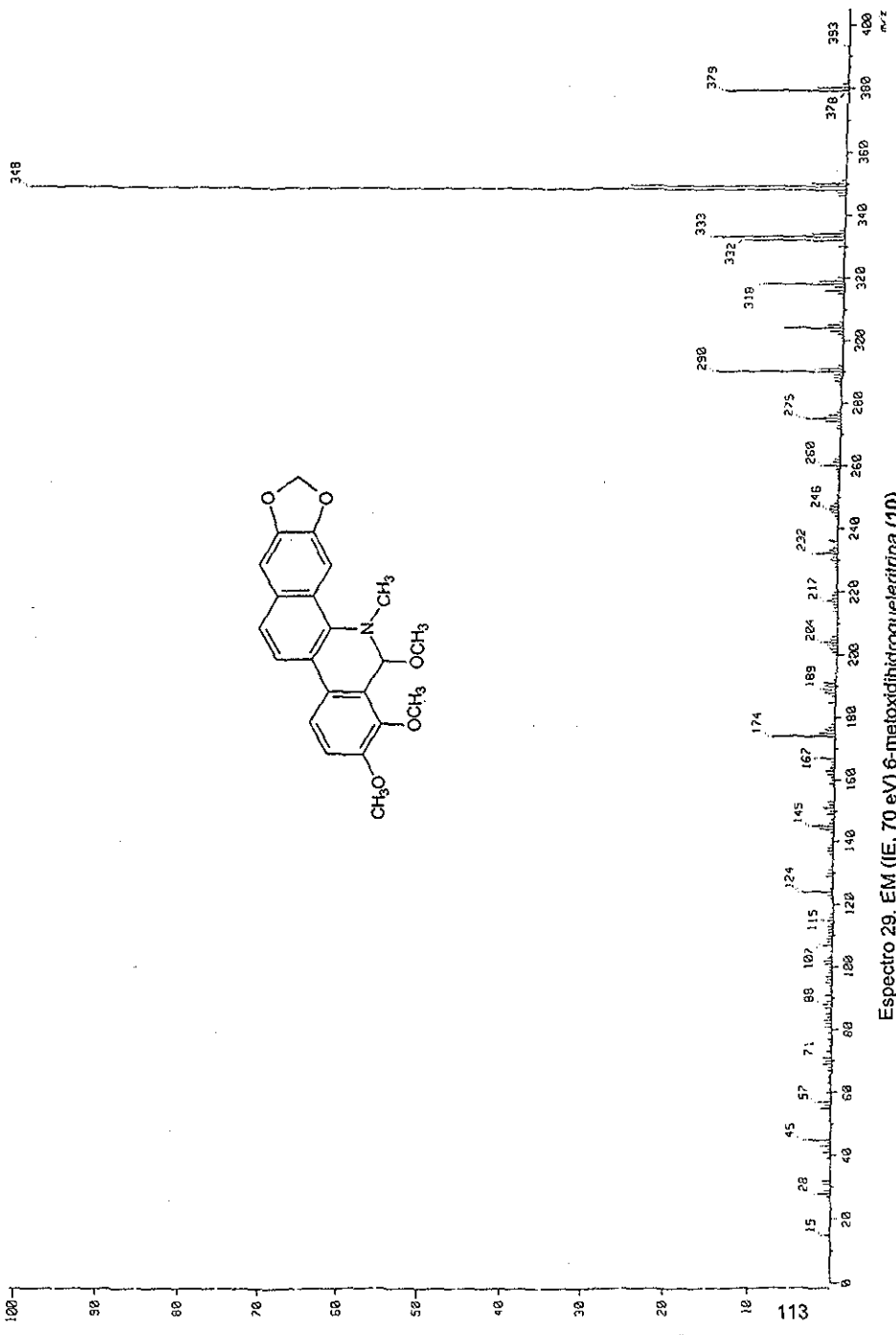


Espectro 27. EM (IE, 70 eV) oxisangunarina (16).

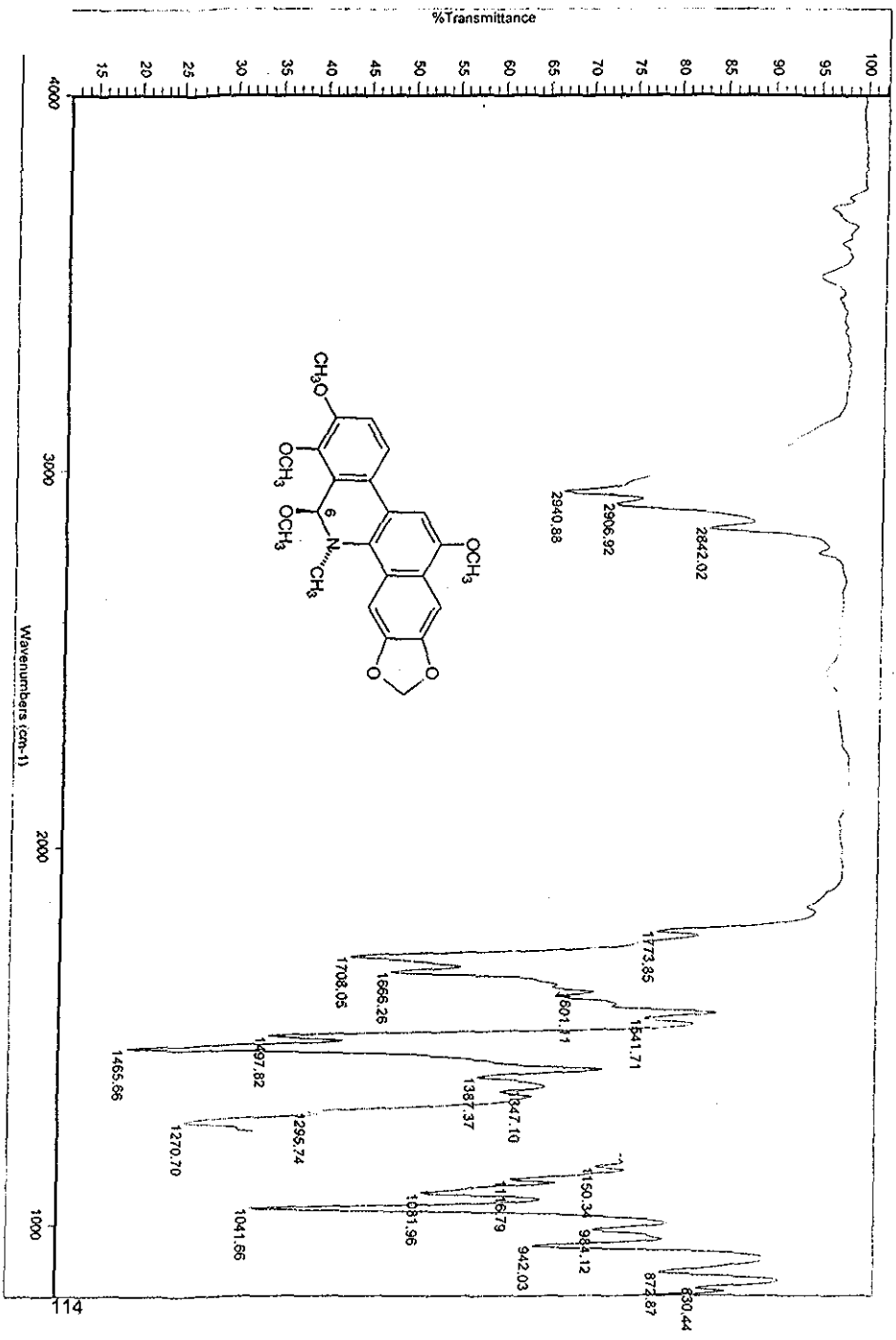
RECEBIDO EM ALIANÇA  
 2003 2003  
 2003 2003



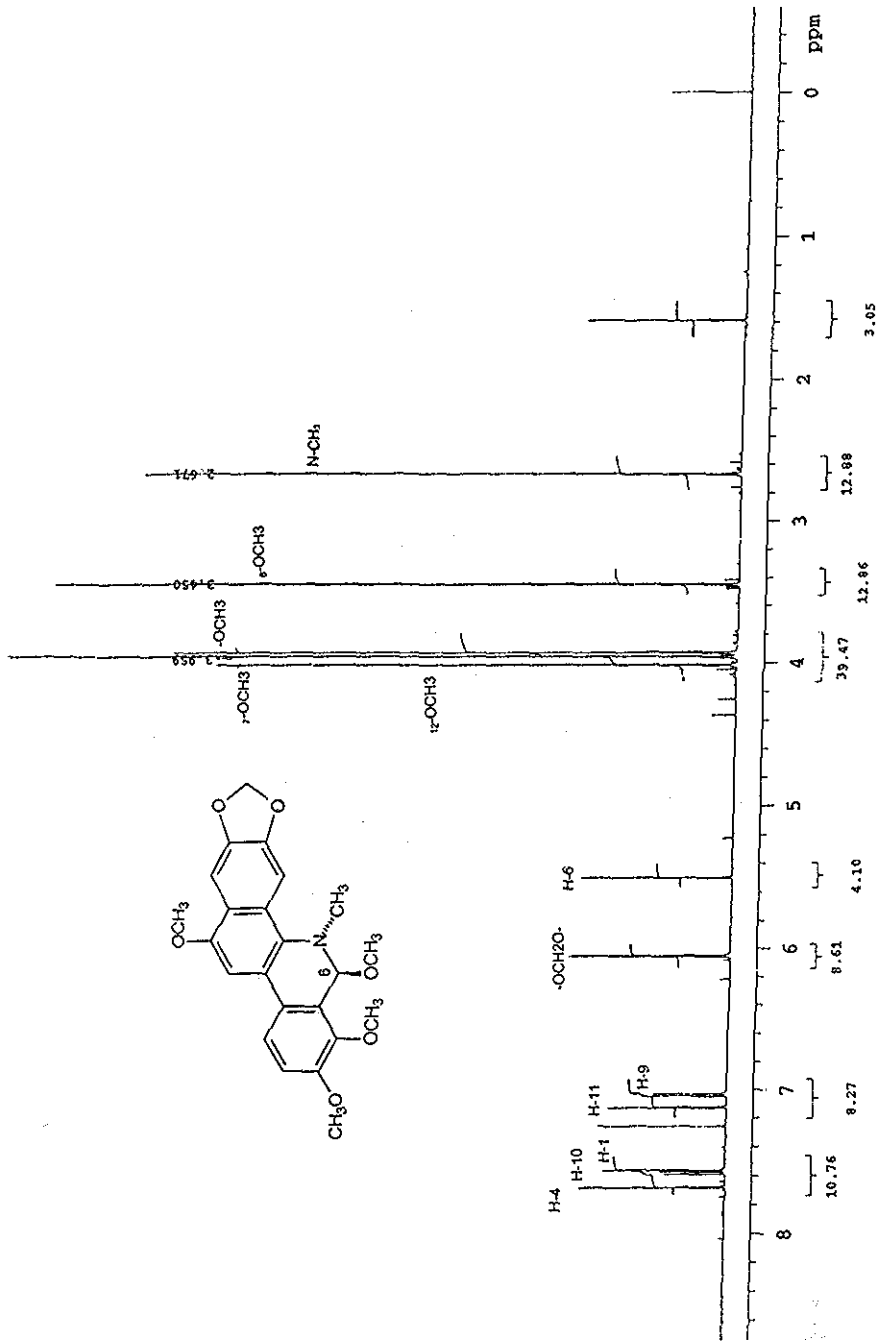
Espectro 28. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 6-metoxidihidroquinolina (10).



Espectro 29. EM (IE, 70 eV) 6-metoxidihidroquelitrina (10).

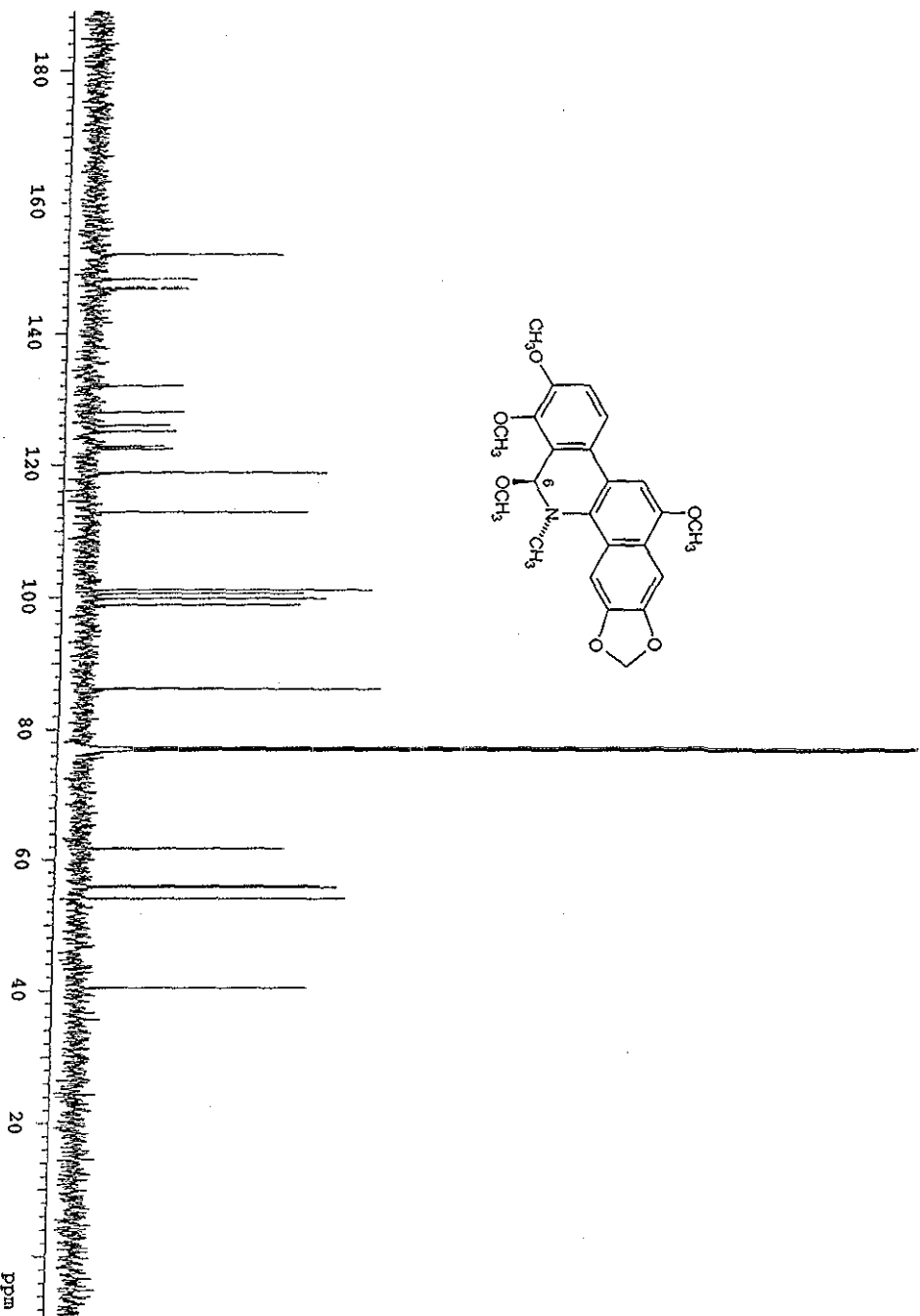
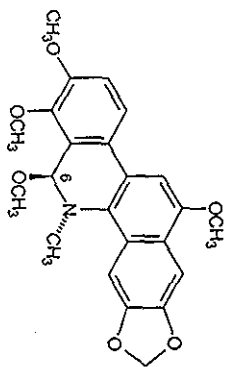


Espectro 30. IR (CHCl<sub>3</sub>) 6,12-dimetoxidihidroquetrina (51).

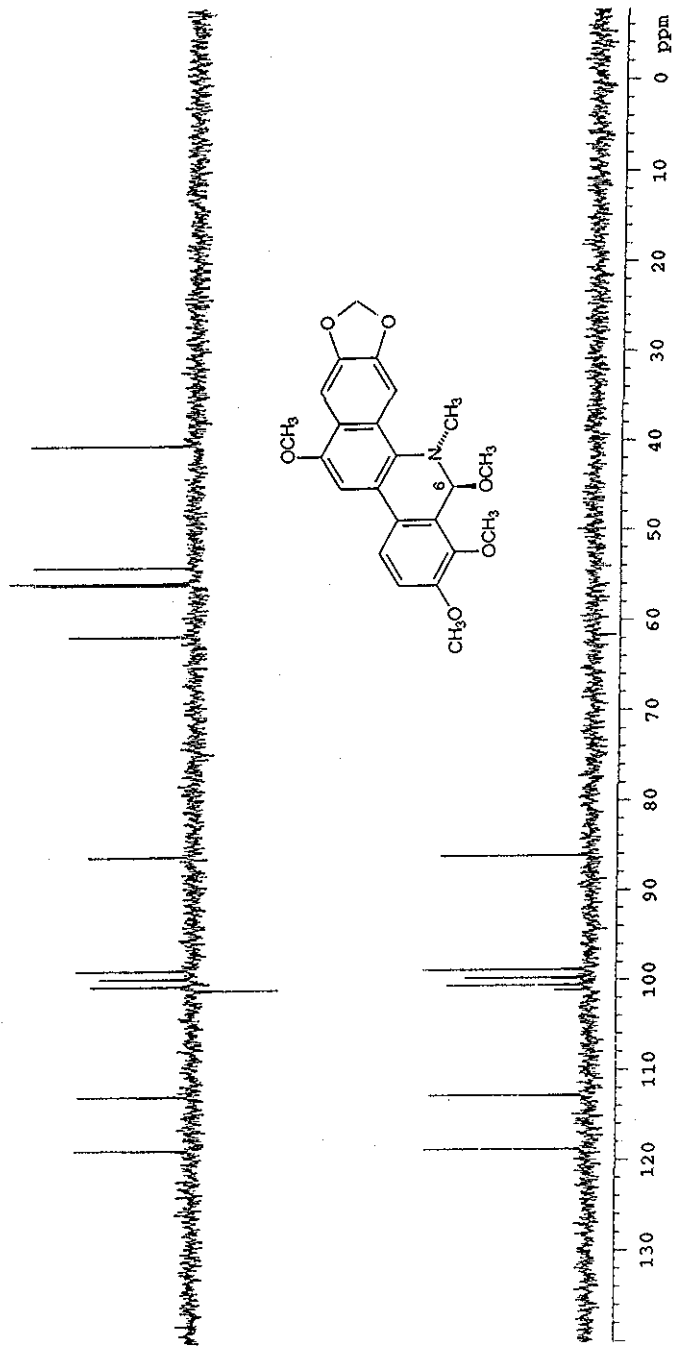


Espectro 31. RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 6,12-dimetoxidihidroqueleritina (51).

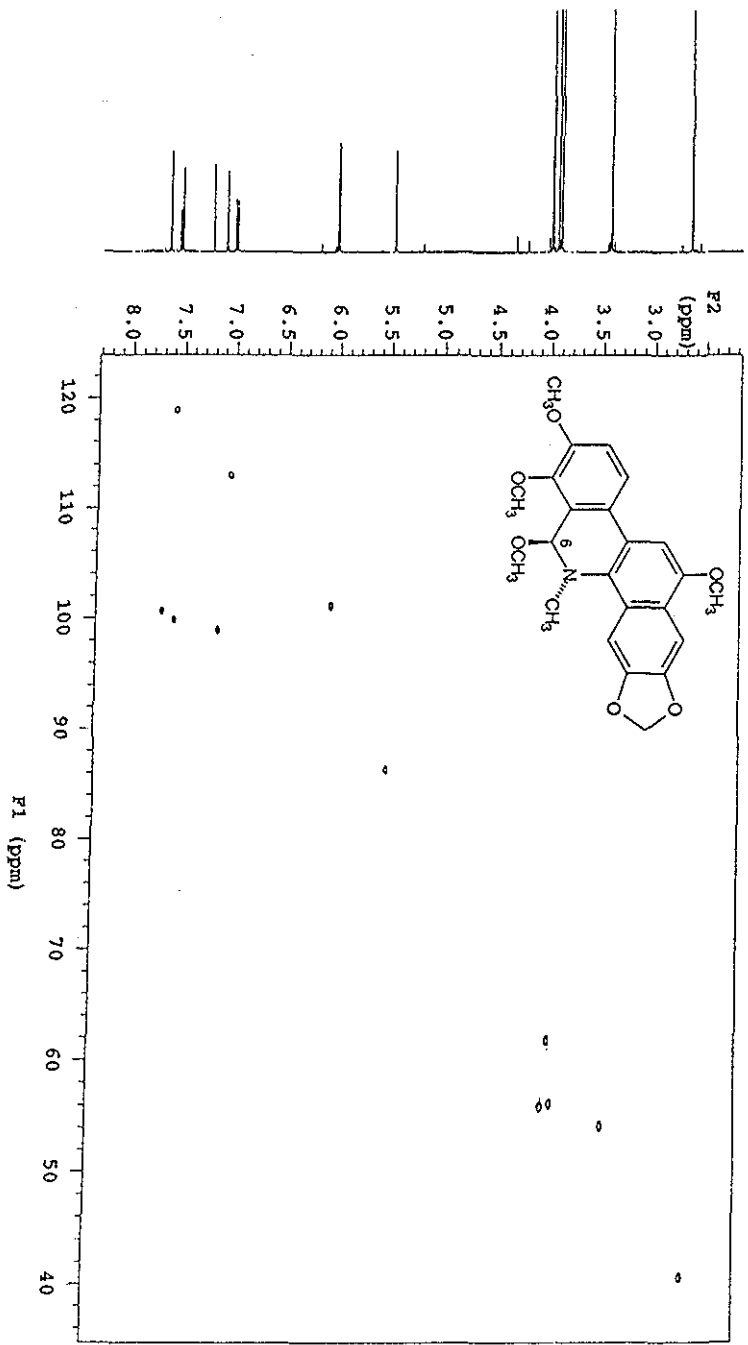
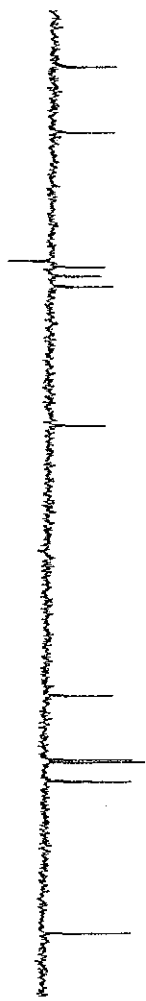




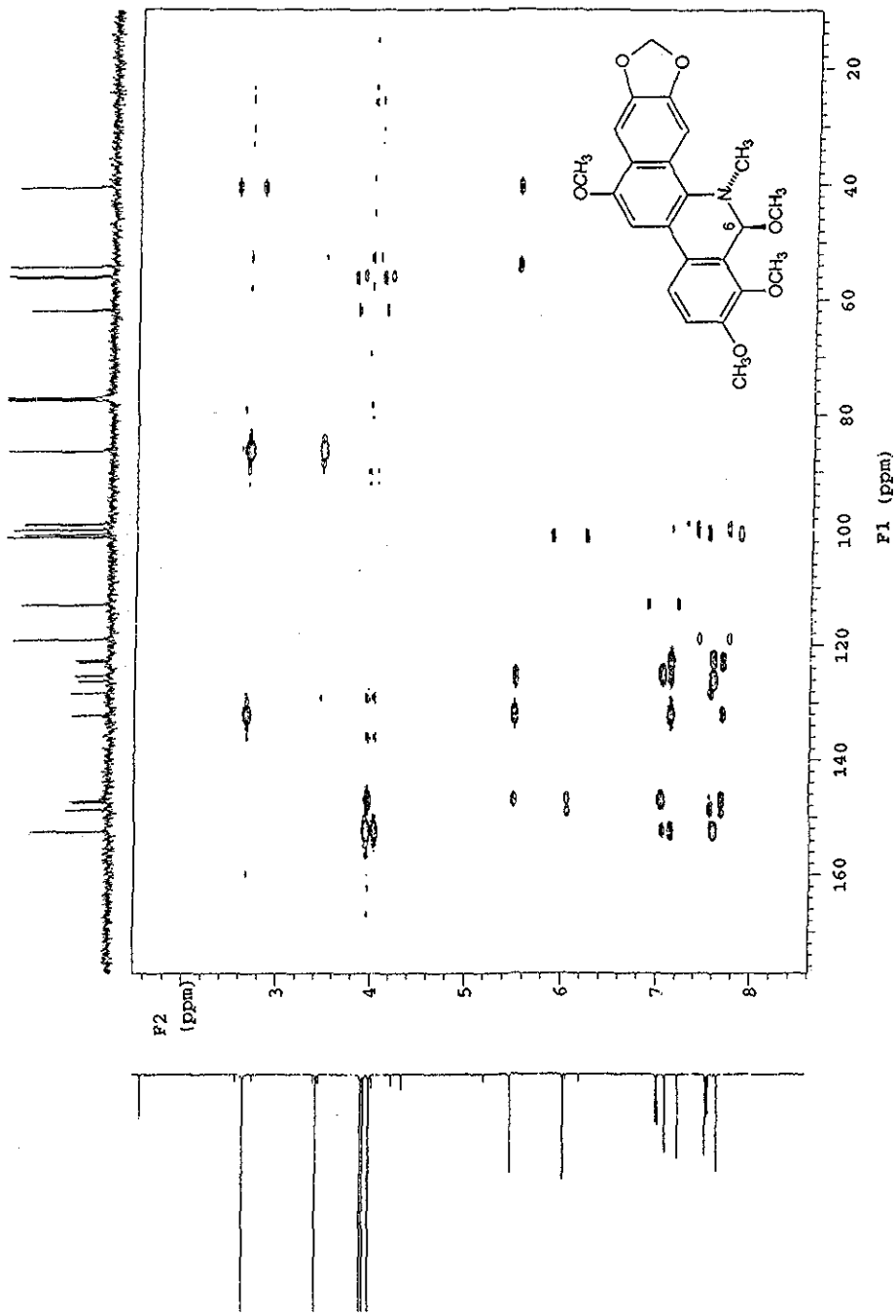
Espectro 32. RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 6,12-dimetoxidihidroquercetina (51).



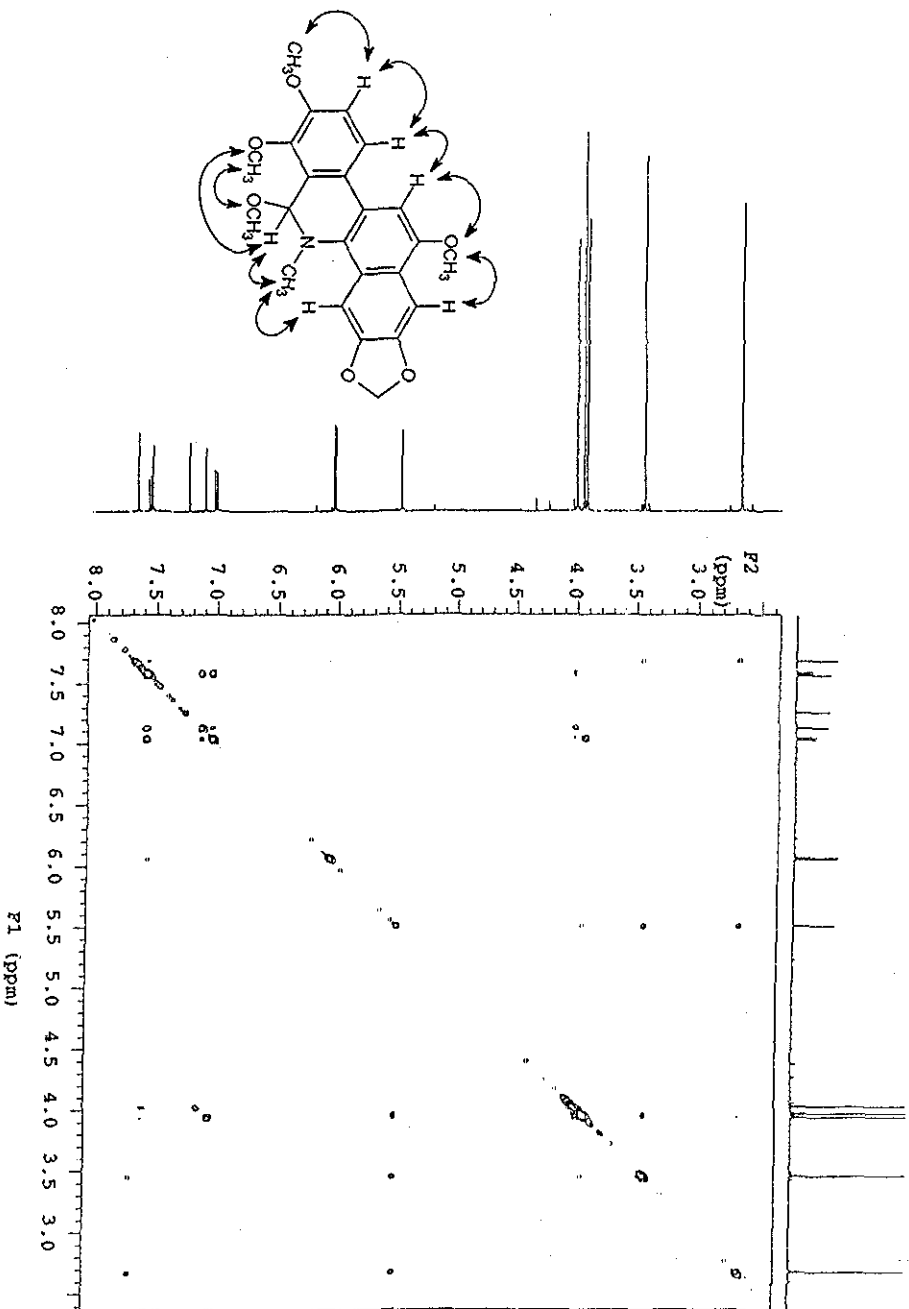
Espectro 33. RMN <sup>13</sup>C DEPT (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 6,12-dimetoxidihidroqueltrina (51).



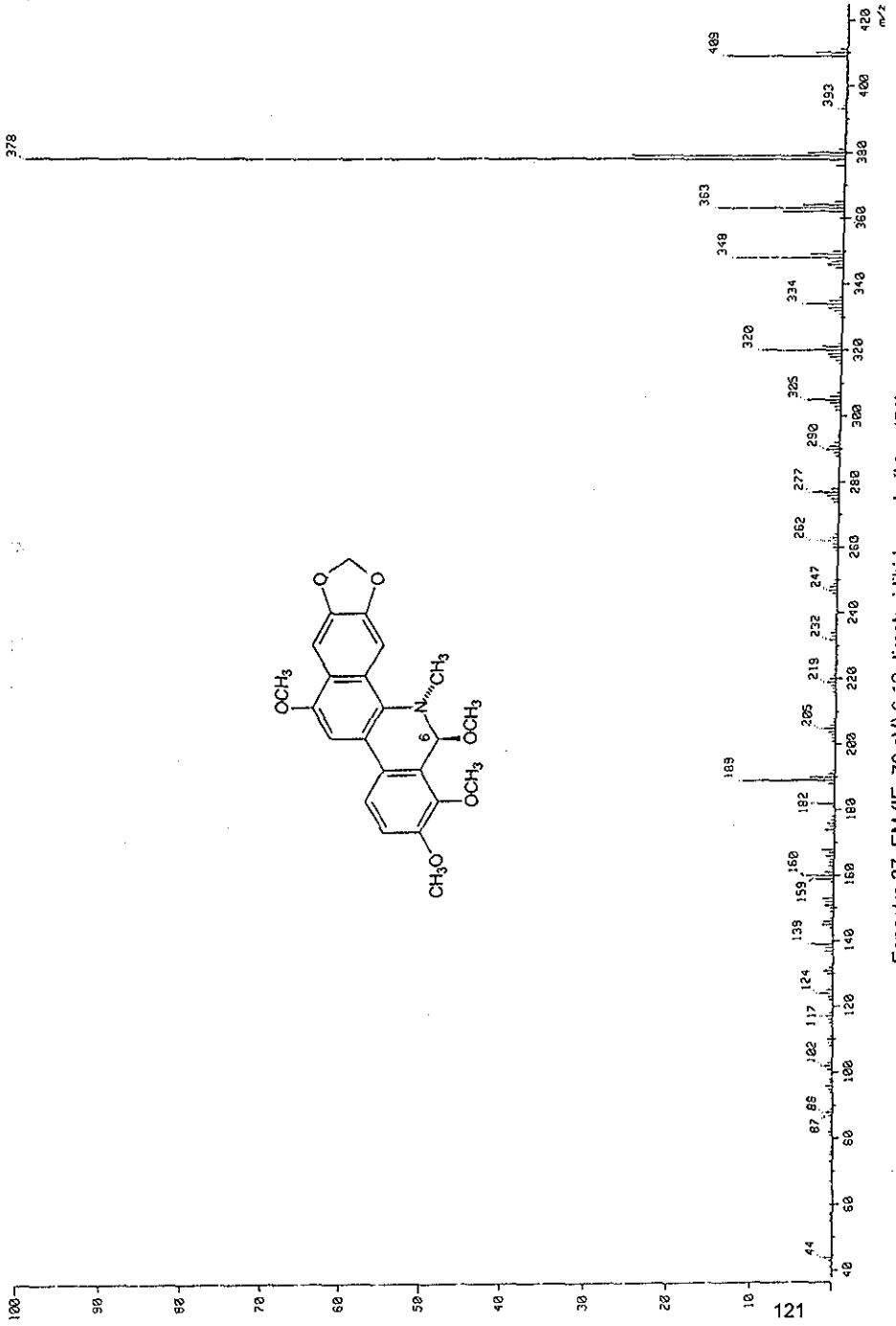
Espectro 34. RMN HSQC (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 6,12-dimetoxidihidroquercetrina (57).



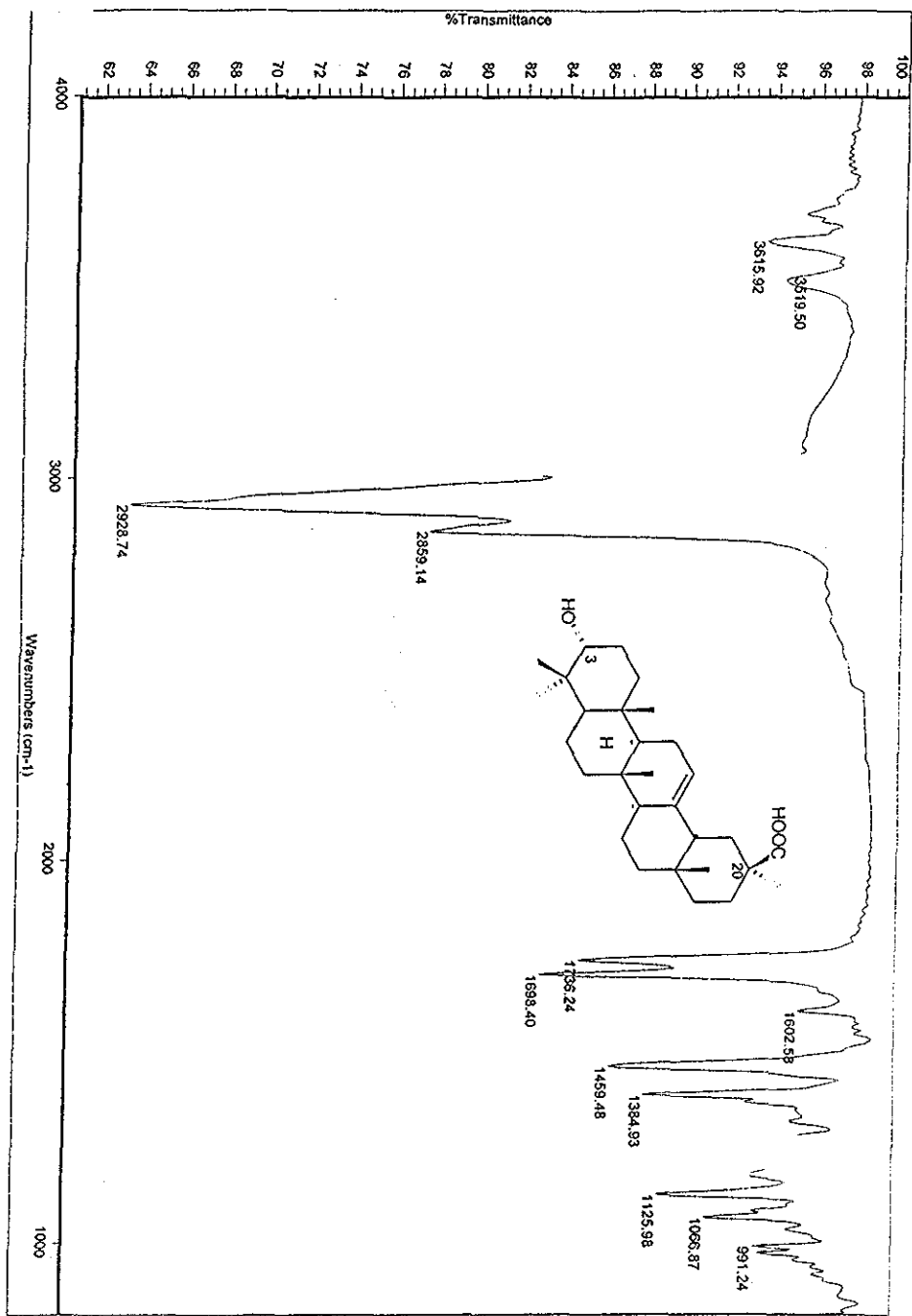
Espectro 35. RMN HMBC (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 6,12-dimetoxidihidroquinolina (51).



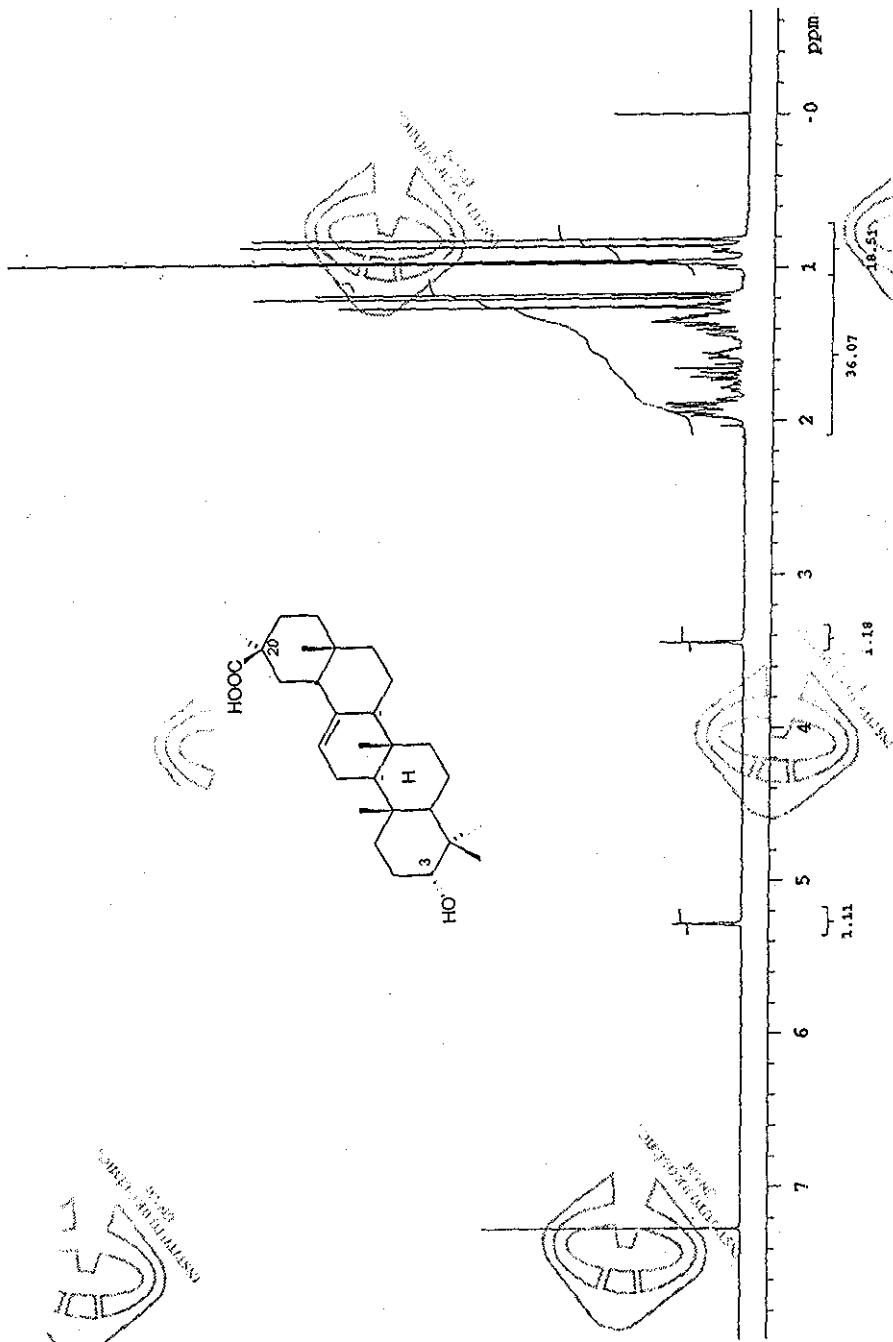
Espectro 36. RMN NOESY (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 6,12-dimetoxidihidroqueleritina (51).



Espectro 37. EM (IE, 70 eV) 6,12-dimetoxidihidroqueleritina (51).

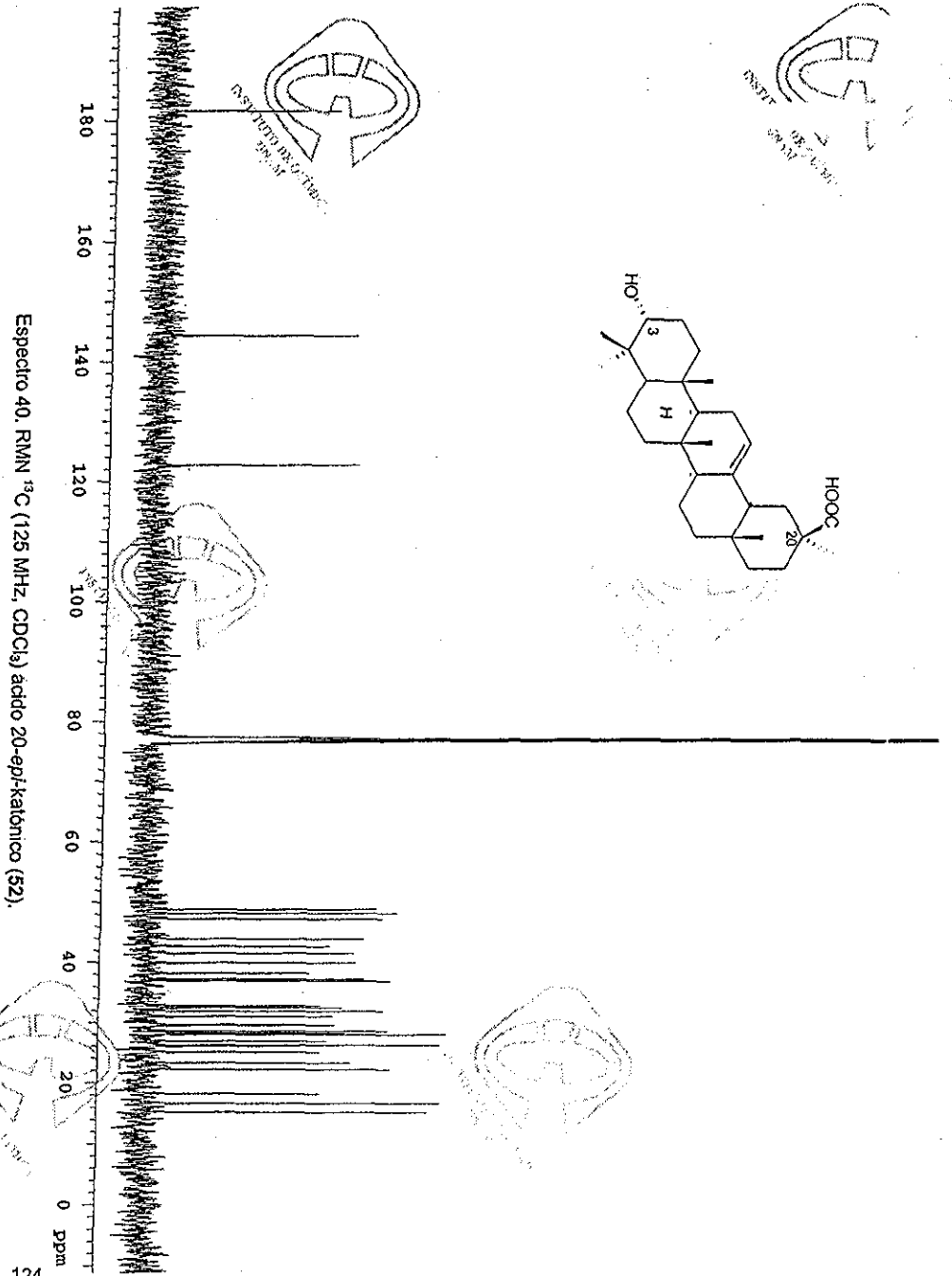
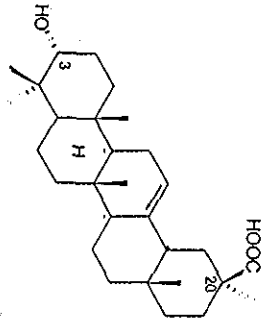


Espectro 38. IR (CHCl<sub>3</sub>) ácido 20-epi-katónico (52).

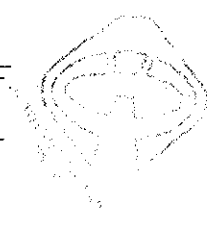


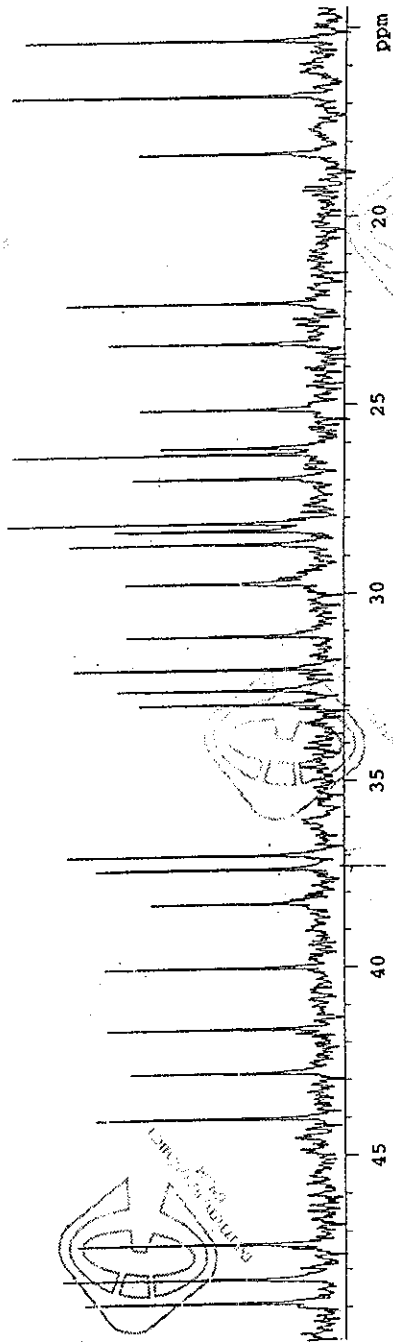
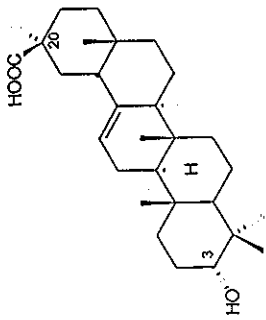
Espectro 39. RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) ácido 20-epi-katónico (52).



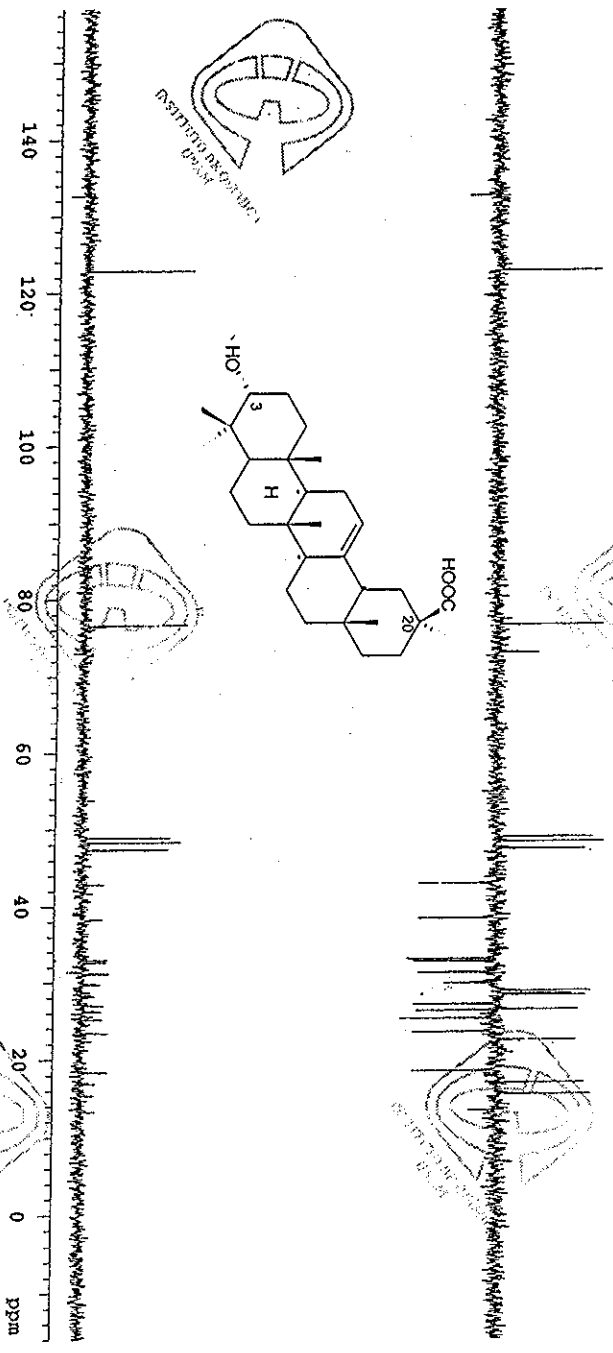
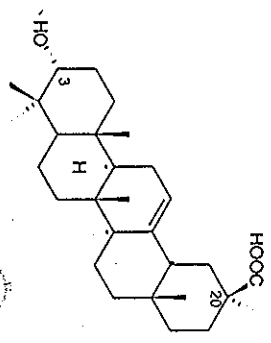
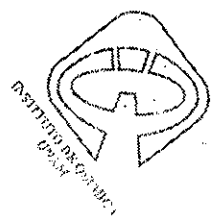


Especetro 40. RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ácido 20-epi-katónico (52).

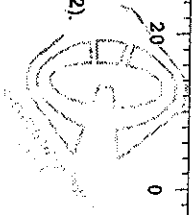


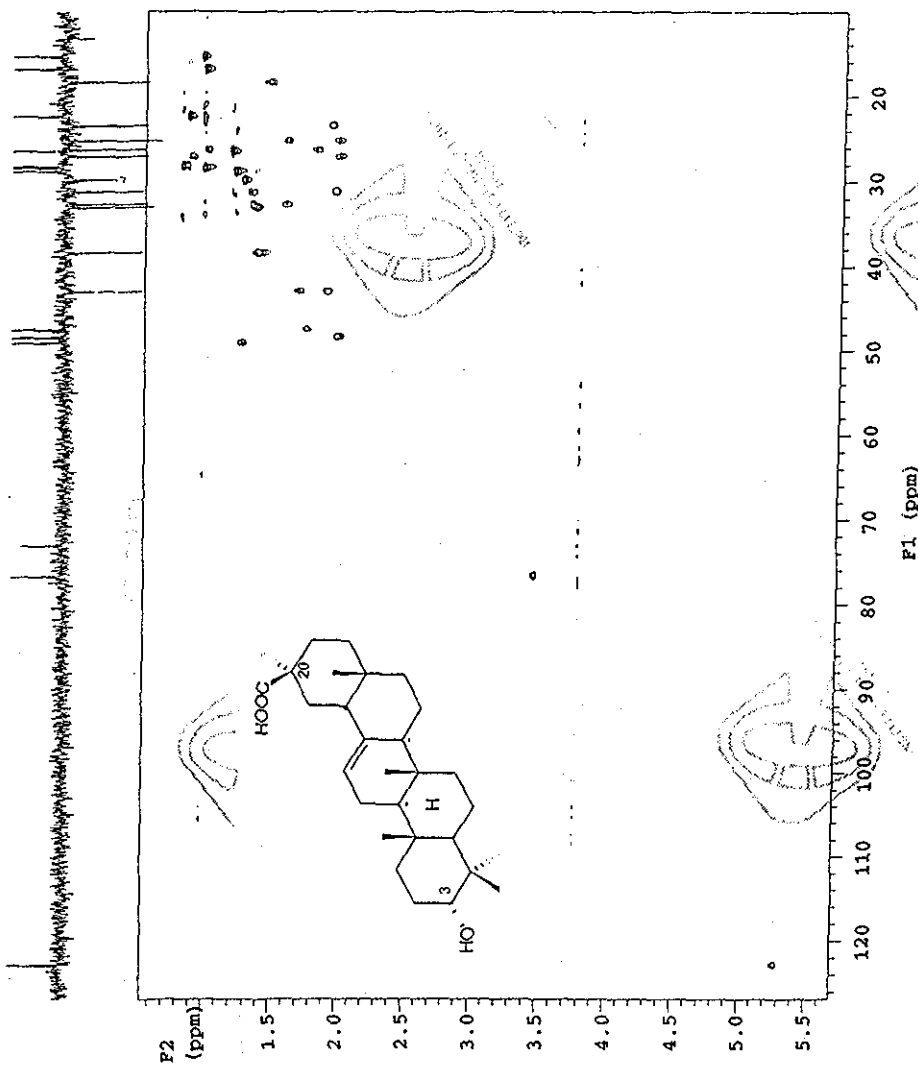


Espectro 41. RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ácido 20-epi-katónico (52).

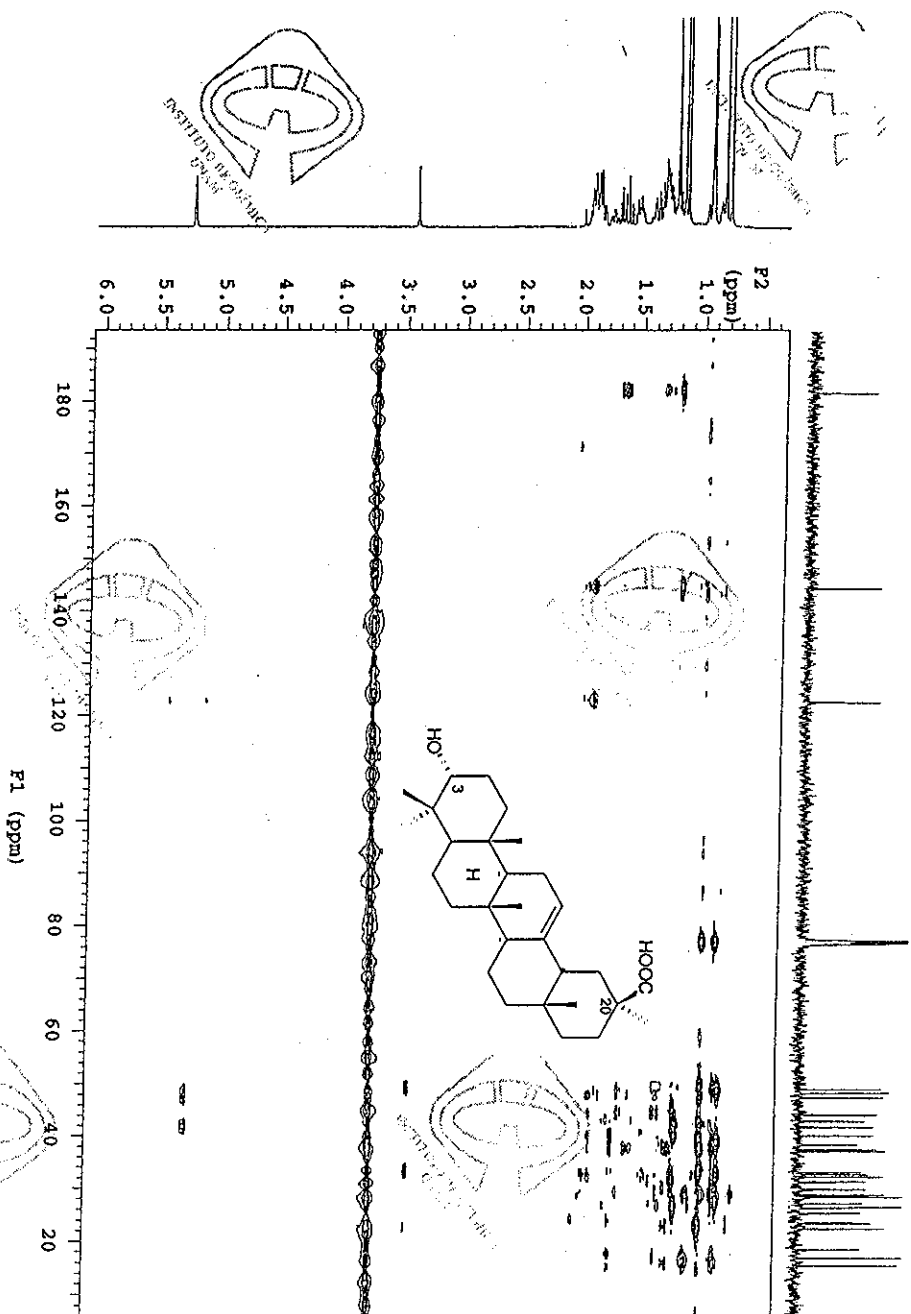


Espectro 42. RMN <sup>13</sup>C DEPT (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) ácido 20-epi-katónico (52).

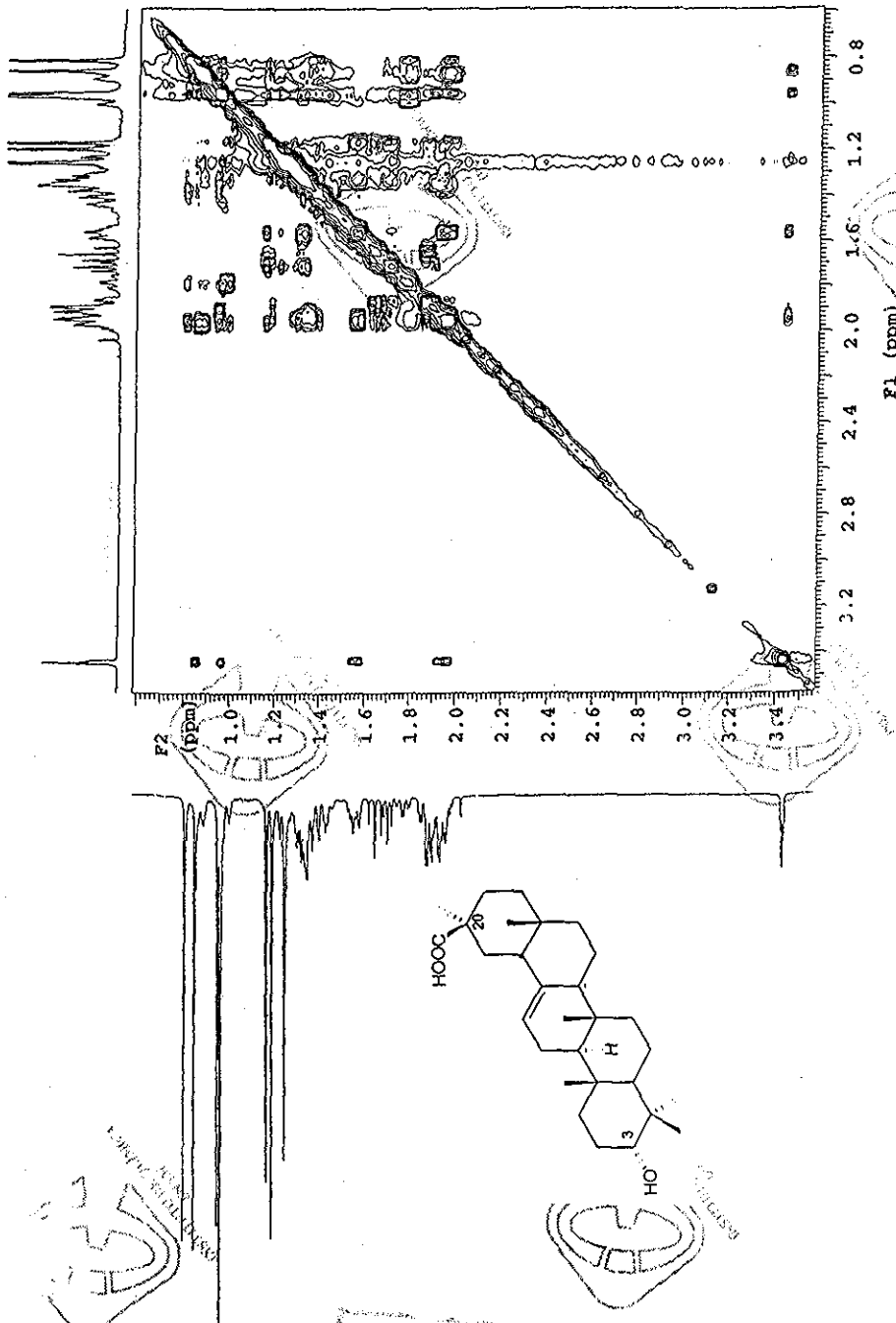




Espectro 43. RMN HSQC (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ácido 20-epi-katónico (52).

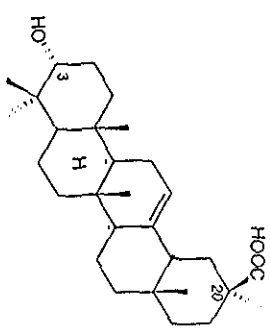
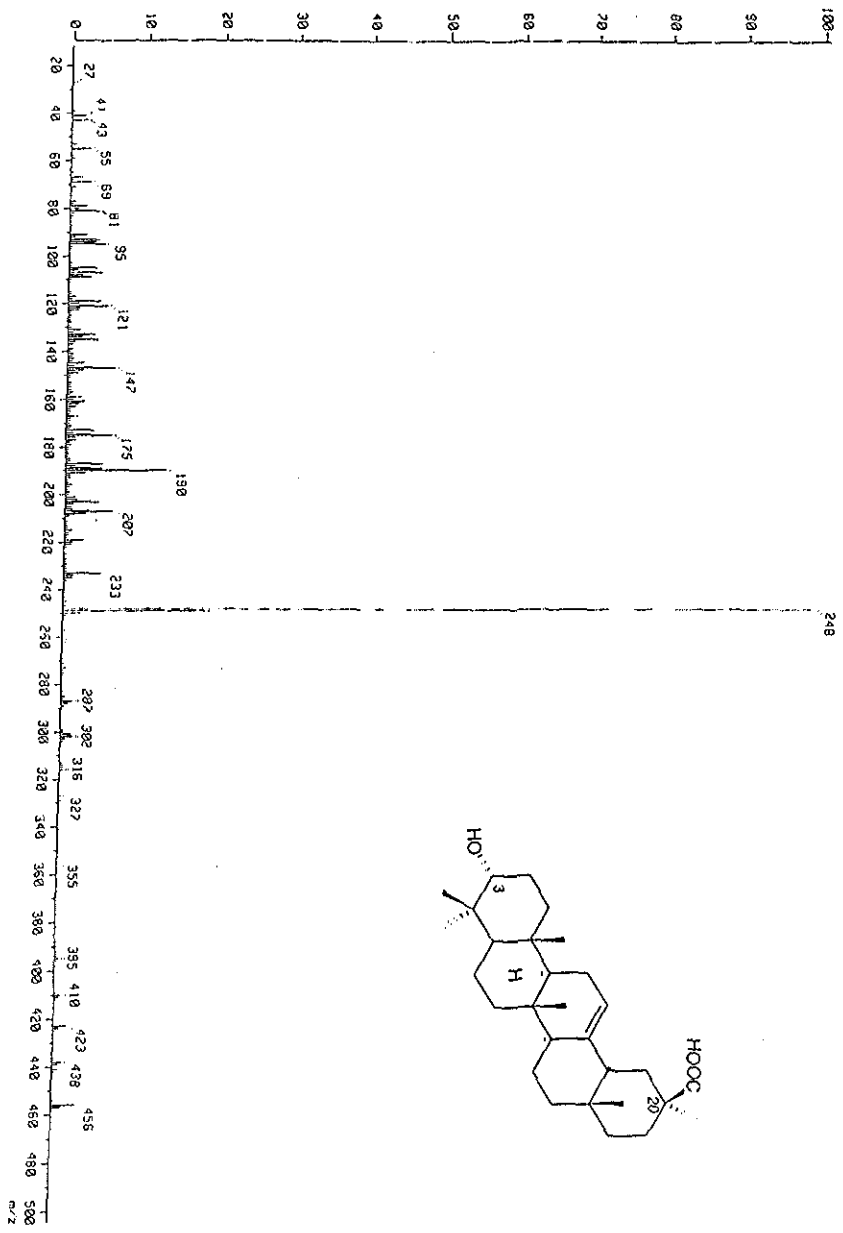


Espectro 44. RMN HMBC (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ácido 20-epi-katónico (52).

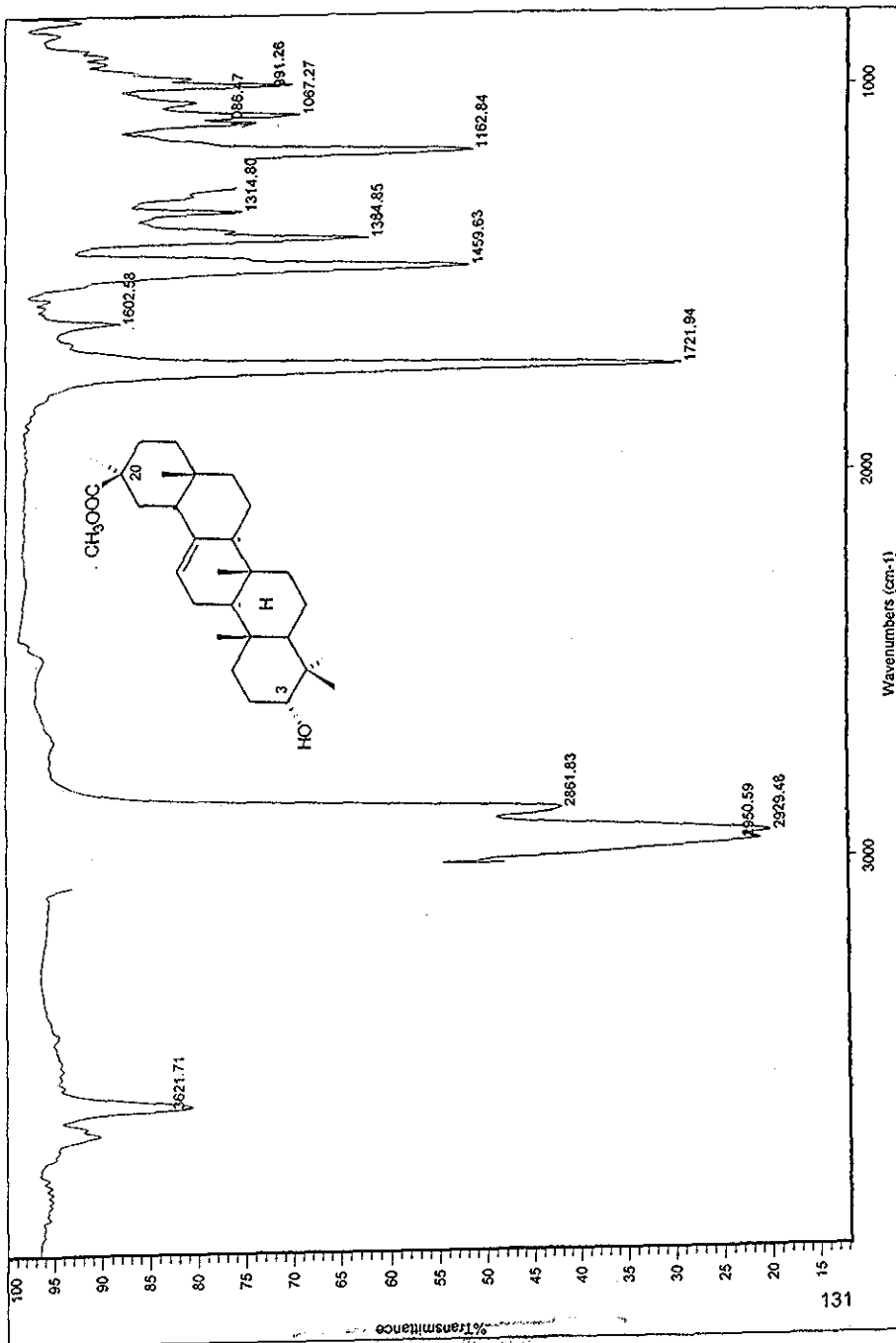


Espectro 45. RMN NOESY (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) ácido 20-epi-katónico (52)

Espectro 46. EM (IE, 70 eV) ácido 20-epi-katónico (52).



TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Espectro 47. IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 20-epi-katonato de metilo (53).

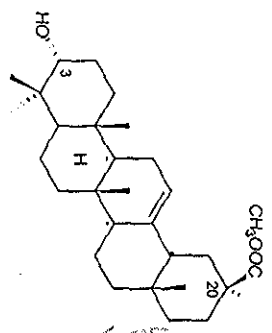
LIBRO DE ACTAS  
 CENTRO DE ALUMNOS

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

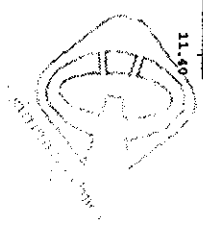
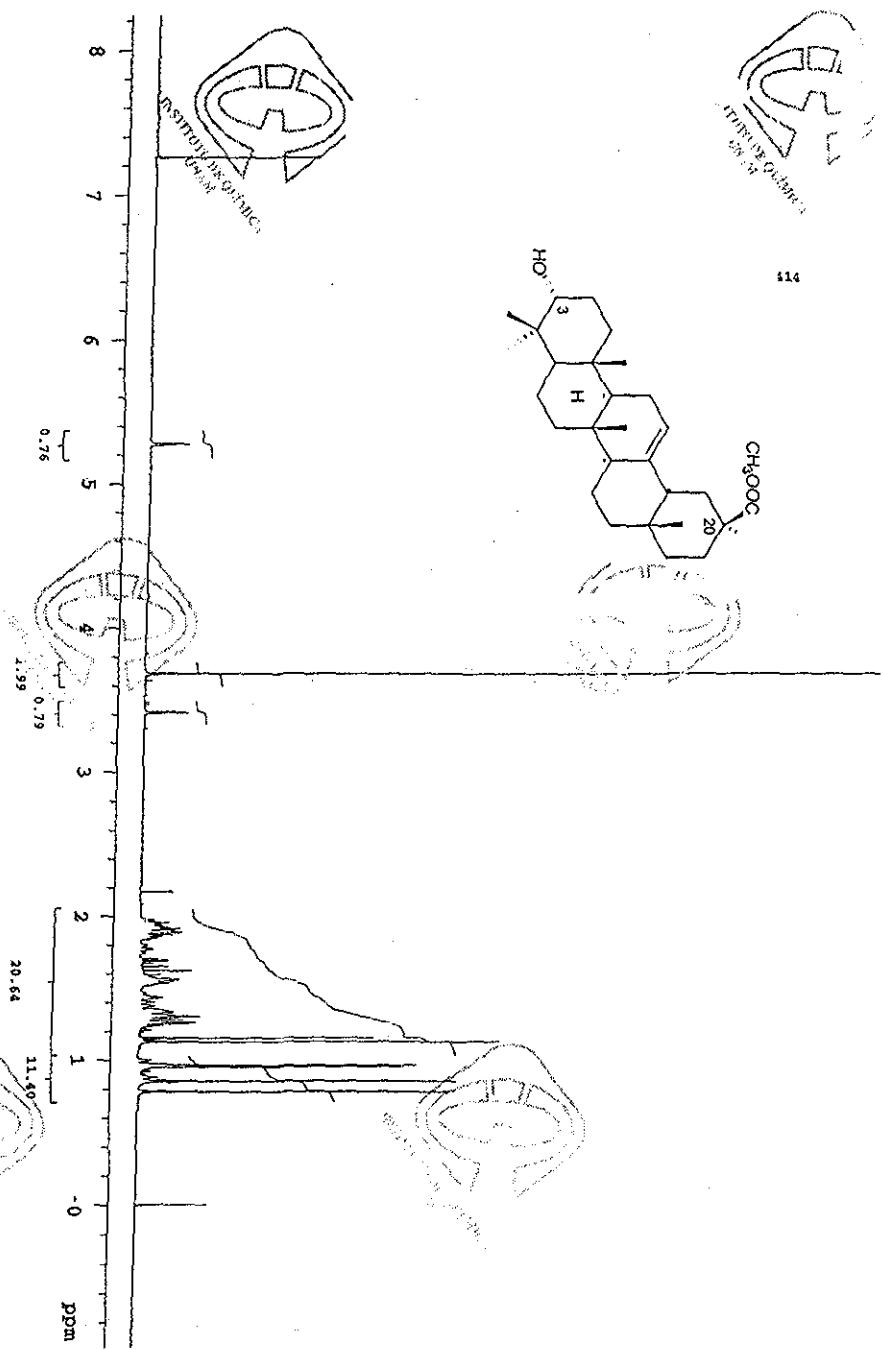




114



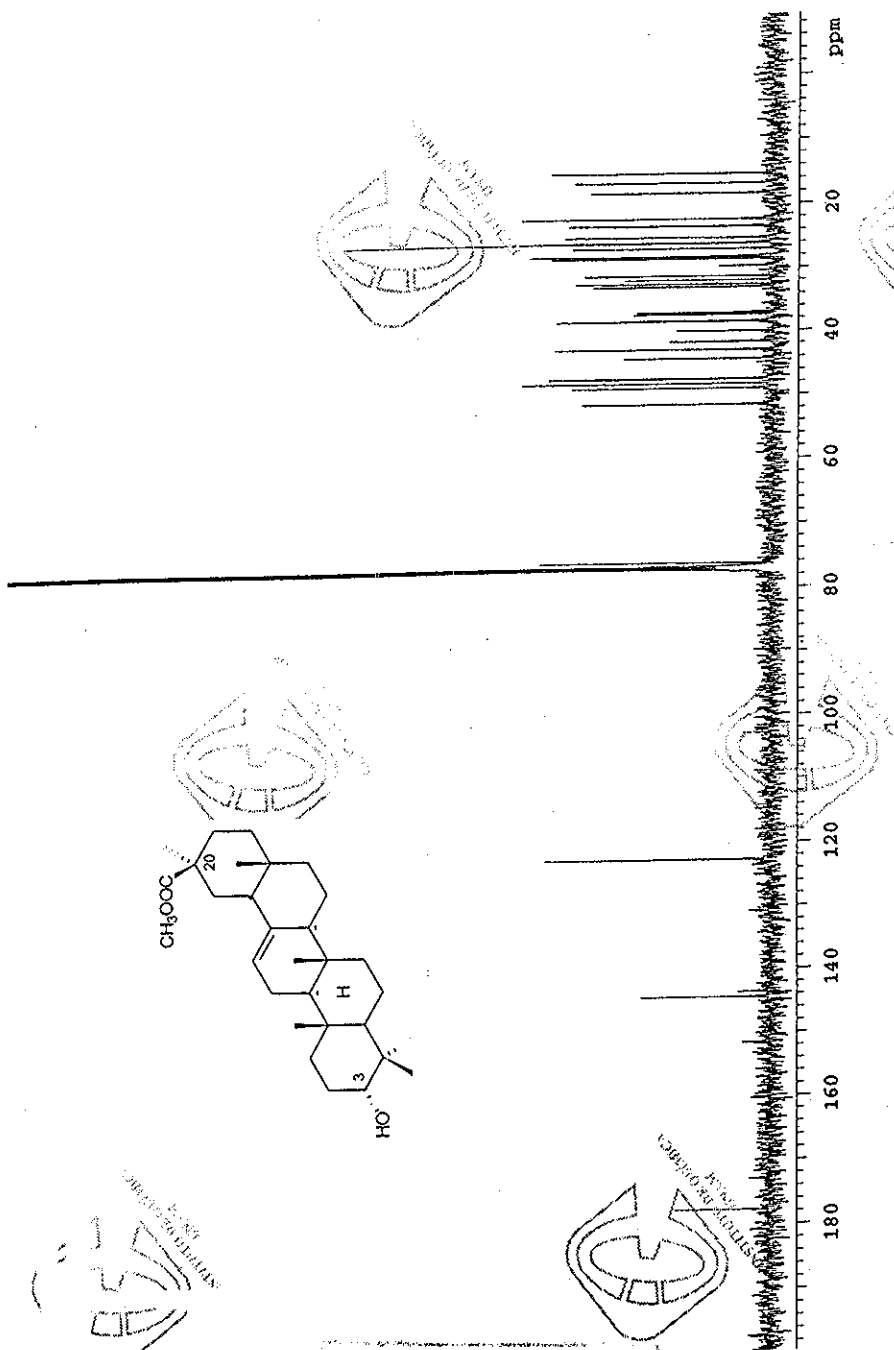
Espectro 48. RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 20-epi-kalonato de metilo (53).



132

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

RECIBO EN ALIANZA

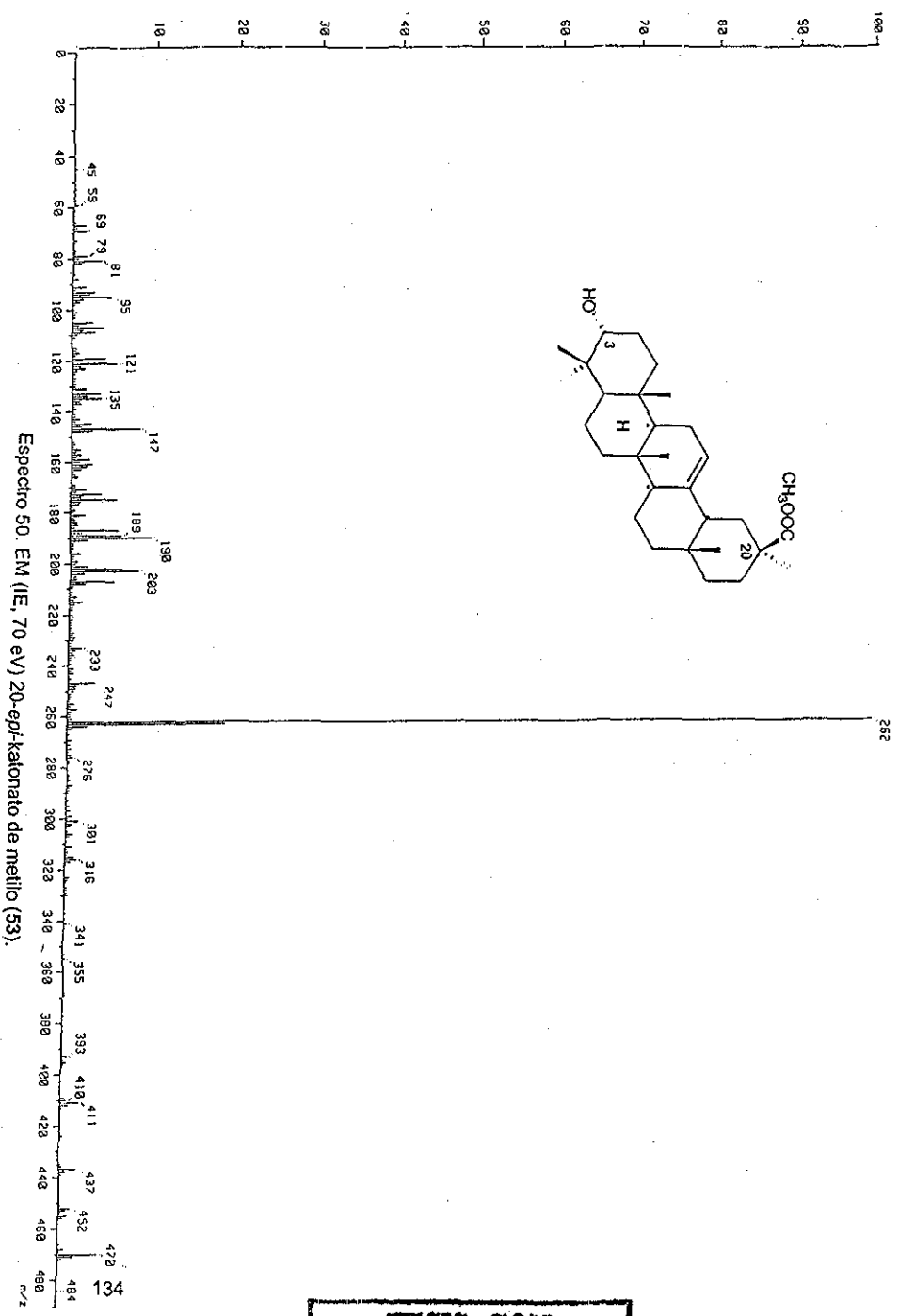


Espectro 49. RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 20-epi-katonato de metilo (53).

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
INSTITUTO QUÍMICO DE MÉXICO

300 HOURS  
LIBRARY

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Espectro 50. EM (IE, 70 eV) 20-epi-katonaato de metilo (53).

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

## 10. REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA.

- 1 Cordell, G. A. Changing Strategies in Natural Products Chemistry *Phytochemistry* **1995**, *40*, 1585-1612
- 2 Cox, A. P.; Balick, J. M. The Ethnobotanical Approach to Drug Discovery. *Sci Amer.* **1994**, *6*, 82-87.
- 3 Camacho, J. R.; Aguilar, A.; Lozoya, X. Encuesta sobre el Uso Actual de Plantas en la Medicina Tradicional Mexicana. *Rev. Med. IMSS* **1987**, *25*, 283-291.
- 4 Lozoya, X. Fármacos de Origen Vegetal de Ayer y Hoy. *Investigación y Ciencia* **1997**, *245*, 4-10.
- 5 Hostettmann, K.; Hamburger, M. Bioactivity in Plants: The Link Between Phytochemistry and Medicine. *Phytochemistry*, **1991**, *30*, 3864-3874
- 6 Agosta, W. C. Medicines and Drugs from Plants. *J Chem Educ.* **1997**, *74*, 857-860.
- 7 Newman, D. J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M. Natural Products in Drug Discovery and Development. *J. Nat Prod.* **1997**, *60*, 52-60
- 8 Yue-Zhong, S. Recent Natural Products Based Drugs Development: A Pharmaceutical Industry Perspective. *J. Nat Prod* **1998**, *61*, 1053-1071
- 9 Houghton, P. J. Roots of Remedies: Plants, People and Pharmaceuticals *Chemistry & Industry* **1999**, 15-19.
- 10 Wani, M. C.; Taylor, H. L.; Wall, M. E.; Coggon, P.; McPhail, A. T. Plant Antitumor Agents VI The Isolation and Structure of Taxol, a Novel Antileukemic and Antitumor Agent from *Taxus brevifolia*. *J. Am. Chem Soc.* **1971**, *93*, 2325-2327.
- 11 Newman, D. J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M. The Influence of Natural Products upon Drug Discovery. *Nat. Prod. Rep.* **2000**, *17*, 215-234
- 12 Estrada, E.; Linares, E.; Bye, R. Biological Diversity of Medicinal Plants in México, in: *Phytochemistry of Medicinal Plants*. Ed. J. T. Arnason, Plenum Press, New York *Rec. Adv. Phyt* **1995**, *29*, 65-82.
- 13 Cordell, G.; Quinn-Beattie, M. L.; Farnsworth, N. R. The Potential of Alkaloids in Drug Discovery. *Phytother. Res.* **2001**, *15*, 183-205.
- 14 Martínez, M. Las Plantas Medicinales de México. Ed. Botas 3ª edición. México, D. F. **1945**, 165-172.
- 15 Consulta en el Herbario Nacional de México. Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México

- 16 Baytelman, B. Acerca de Plantas y Curanderos Instituto Nacional de Antropología e Historia México, D. F. **1983**, 452 p.
17. Díaz, J. L. Usos de las Plantas Medicinales de México. Monografías Científicas II, IMEPLAM. México, A.C **1977**, 329 p
- 18 Preininger, V. The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology Ed. A Brossi, Academic Press, New York. Chapter 1 in: *The Alkaloids* **1986**, 29, 1-98.
19. Julián, A. Aislamiento y Elucidación Estructural de los Alcaloides Presentes en *Bocconia arborea* (Papaveraceae), una Planta Empleada en la Medicina Tradicional. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. U N A.M. **2000**, 82p.
20. Turner, B L A New Species of *Bocconia* (Papaveraceae) from Oaxaca, México. *Phytologia* **1995**, 79, 313-316
- 21 Manske, R. H. F. The Alkaloids of Papaveraceous Plants XXXVIII *Bocconia arborea* Wats. *Can. J. Res.* **1943**, 21, 140-143.
- 22 MacLean, D B.; Gracey, D. E. F.; Saunders, J. K.; Rodrigo, R.; Manske, R. H. F. Some benzophenanthridine alkaloids from *Bocconia arborea*. *Can. J. Chem.* **1969**, 47, 1951-1956.
23. Julián, A.; Delgado, G. (±)-Bocconarborines A and B, Novel 1,3-Bis-Benzof[c]phenanthridinyl Acetone Alkaloids from *Bocconia arborea* *Rev. Soc. Quím. Méx.* **2001**, 45, 189-194.
- 24 Iwasa, K.; Okada, M.; Takao, N. Protopine-N-oxide, An Alkaloid from *Bocconia cordata*. *Phytochemistry* **1983**, 22, 627-628.
25. Ishii, H.; Ueda, E.; Nakajima, K.; Ishida, T.; Ishikawa, T.; Harada, K.; Ninomiya, I.; Naito, T. Kiguchi, T. Chelirubine. *Chem. Pharm. Bull.* **1978**, 26, 864-873.
26. Slavík, J.; Slavíková, L. On Alkaloids from The Leaves of *Bocconia frutescens* L. *Coll. Czech Chem. Comm.* **1975**, 40, 3206-3210.
- 27 Táborová, E.; Věžník, F.; Slavík, J. Alkaloids from *Bocconia frutescens* L. *Coll. Czech Chem. Comm.* **1980**, 45, 1301-1304.
28. Oechslin, S. M.; König, G. M.; Oechslin-Merkel, K.; Wright, A. D.; Kinghorn, A. D.; Sticher, O. An NMR Study of Four Benzophenanthridine Alkaloids. *J. Nat. Prod.* **1991**, 54, 519-524
29. Rojas, P.; Quevedo, J.; Alcalá, A.; Armendáriz, L. G.; Monroy, A.; García, J.; Domínguez, X. A Chemical Study of *Bocconia latisejala* Wats. *Can. J. Chem.* **1965**, 43, 679-682.
- 30 Šantavý, F. The Alkaloids: Chemistry and Physiology Ed. R. H. F. Manske. Academic Press, New York. Chapter 5 in *The Alkaloids* **1970**, 12, 333-454.
31. Šantavý, F. The Alkaloids: Chemistry and Physiology. Ed. R. H. F. Manske, R. G. A. Rodrigo, Academic Press, New York Chapter 4 in *The Alkaloids*. **1979**, 17, 385-544.

- 32 Krane, B D.; Fagbule, M. O.; Shamma, M.; The Benzophenanthridine Alkaloids. *J. Nat. Prod* **1984**, *47*, 1-43.
33. Šimánek, V. The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology Ed A. Brossi, Academic Press, New York. Chapter 4 in *The Alkaloids* **1985**, *26*, 185-240
- 34 Iwasa, K. The Biotransformation of Protoberberine Alkaloids by Plant Tissue Cultures, in: *The Alkaloids* Ed G. A. Cordell, Academic Press, New York. *The Alkaloids*. **1995**, *46*, 273-346.
35. Zenk, M. H. The Formation of Benzophenanthridine Alkaloids *Pure & Appl. Chem* **1994**, *66*, 2023-2028
- 36 Zenk, M. H.; Frenzel, T S-Adenosyl-L-Methionine: 3-Hydroxy-N-Methyl-(S)-Coclaurine-4'-O-Methyl Tranferase, A Regio-and Stereoselective Enzyme of The (S)-Reticuline Pathway *Phytochemistry* **1990**, *29*, 3505-3511
37. Smith, M B.; March, J Advanced Organic Chemistry. John Wiley & Sons, Inc. 5<sup>th</sup> ed. 2001.
- 38 Ishikawa, T.; Ishii, H. Recent Advances on Antitumor-Active Benzo[c]phenanthridine Alkaloids. *Heterocycles* **1999**, *50*, 627-639.
39. Sofowora, E. A.; Odebiyi, O. O. Antimicrobial Alkaloids from a Nigerian Chewing Stick (*Fagara zanthoxyloides*). *Planta Medica* **1979**, *36*, 204-207.
- 40 Clark, G W.; Clark, D.; Park, Y. H.; Mitcher, L A Antimicrobial Agents From Plants. An Investigaction of *Hunnemannia fumariaefolia* Pseudoalcoholates of Sanguinarine and Chelerytrine. *Lloydia* **1978**, *41*, 145-150
- 41 Gunatilaka, A. A. L.; Wijesundara, D. S. A.; Tillekeratne, L. M V, Inada, A.; Nishi, M.; Nakanishi, T.; Kumar, V.; Bandara, B M. R.; Karunaratne, V.; Nissanka, A. P K Antimicrobial Alkaloids from *Zanthoxylum tetraspermum* and *Zcaudatum*. *Phytochemistry* **2001**, *56*, 857-861
42. Šimánek, V.; Preininger, V.; Slavík, J.; Maršálek, E.; Kroutil, M.; Lenfeld, J Antiinflammatory Activity of Quaternary Benzophenanthridine Alkaloids from *Chelidonium majus* *Planta Medica* **1981**, *43*, 161-165.
- 43 Nakanishi, T.; Susuki, M.; Saimoto, A.; Kabasawa, T. Structural Considerations of NK109, an Antitumor Benzo[c]phenanthridine alkaloid. *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 864-867.
44. Farnsworth N R.; Cordell, G A. A Review of Selected Potential Anticancer Plant Principles. *Heterocycles* **1976**, *4*, 393-427.

45. Cheng, C C.; Zee-Cheng, K Y Preparation and Antileukemic Activity of Some Alkoxybenzo[c]phenanthridinium Salts and Corresponding Dihydro Derivatives. *J. Med. Chem.* **1975**, *18*, 66-71.
46. Stermitz, T. A.; Romero, R.; Amoros, L. G.; Gillespie, J. P.; Stermitz, F. R Synthesis and Biological Activity of Some Antitumor Benzophenanthridinium Salts. *J. Med. Chem.* **1975**, *18*, 708-713
47. Farnsworth, N. R.; Fong, H. H. S.; Bevelle, C.; Bell, C. L.; Tin-Wa, M. Potential Anticancer Agents I: Confirming Evidence for the Structure of Fagaronine. *J. Pharm. Sci.* **1974**, *63*, 1476-1477.
48. Seth, M. L Inhibition of Reverse Transcriptase Activity by Benzophenanthridine Alkaloids. *J. Nat. Prod.* **1979**, *42*, 187-196.
49. Navarro, V.; Villarreal, M. L.; Rojas, G.; Lozoya, X. Antimicrobial Evaluation of Some Plants Used in Mexican Traditional Medicine for the Treatment of Infectious Diseases. *J. Ethnopharmacol.* **1996**, *53*, 143-147
50. Navarro, V.; Rojas, G.; Delgado, G.; Lozoya, X. Antimicrobial Compounds Detected in *Bocconia arborea* Extracts by a Direct Bioautographic Method. *Arch. Med. Res.* **1998**, *29*, 191-194.
51. Navarro, V.; Delgado, G. Two Antimicrobial Alkaloids from *Bocconia arborea*. *J. Ethnopharmacol.* **1999**, *66*, 223-226.
52. Navarro, V. Bioevaluación y análisis fitoquímico de los metabolitos secundarios de dos plantas superiores: *Bocconia arborea* y *Schkuhria schkuhrioides*. Tesis de Maestría Facultad de Ciencias Químicas e Industriales, U. A. E. M. **1997**, 69 p.
53. Verpoorte, R.; Baerheim, A. Chromatography of alkaloids. *J. Chromatography Library* **1983**, *23-A*, 760 pp.
54. Maldoni, B. Alkaloids: Isolation and Purification. *J. Chem. Educ.* **1991**, *68*, 700-703
55. Domínguez, X. A. Métodos de Investigación Fitoquímica. Ed. Limusa México, **1973**, 450 pp.
56. Onda, M.; Harigaya, Y.; Konda, Y. Studies on the Constituents of *Bocconia cordata* III Structure Elucidation of Bocconine by Means of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopic Studies. *J. Heterocyclic Chem.* **1986**, *23*, 877-879.
57. Furuya, T.; Ikuta, A.; Syōno, K. Alkaloids from Callus Tissue of *Papaver somniferum*. *Phytochemistry* **1972**, *11*, 3041-3044.

58. Tin-Wa, M.; Kim, H. K.; Fong, H. H. S.; Farnsworth, N. R. The Structure of Chelidimerine, A New Alkaloid from *Chelidonium majus*. *Lloydia* **1972**, *35*, 87-89
59. Tin-Wa, M.; Fong, H. H. S.; Abraham, D. J.; Trojanek, J.; Farnsworth, N. R. Structure of Sanguidimerine, A New Major Alkaloid from *Sanguinaria canadensis*. *J. Pharm. Sci.* **1972**, *35*, 61, 1846-1847
60. Khan, M. A.; Lewis, D. E.; Shah, G. N.; Mabry, T. J. Chelidimerine from *Corydalis flabellata*: Interpretation of NMR Spectra. *Rev. Latinoamer. Quím.* **1990**, *21*, 140-142.
61. Zhang, G. L.; Rücker, G.; Breitmaier, E.; Mayer, R. Alkaloids from *Hypecoum leptocarpum*. *Phytochemistry* **1995**, *40*, 1813-1816.
62. Shamma, M.; Tomlinson, H. H. Síntesis of Oxysanguinarine. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2852-2855.
63. Pandey, V. B.; Ray, A. B.; Dasgupta, B. Minor Alkaloids of *Fumaria indica* seeds. *Phytochemistry* **1979**, *18*, 695-696
64. Dostal, J.; Bochořáková, H.; Táborská, E.; Slavík, J. Structure of Sanguinarine Base. *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 599-602
65. Budzikiewicz, H.; Djerassi, Carl; Williams, D. H. Structural Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry. Holden-Day, Inc. San Francisco. 1964.
66. Wehrli, F. W. y Wirthlin, T. Interpretation of Carbono-13 NMR Spectra, John Wiley, Great Britain, p. 36
67. Crews, P.; Kho-Wiseman, E. Stereochemical Assignments in Marine Natural Products by <sup>13</sup>C NMR γ Effects. *Tetrahedron Lett.* **1978**, 2483-2486.
68. Ricca, G. S.; Danielli, B.; Lamisano, G.; Duddeck, H.; Elgamal, M. H. Carbon-13 NMR Spectra of Some Pentacyclic Triterpenoids with the Olean-12-ene and 18α-Olean-12-ene Skeleton. *Org. Mag. Res.* **1978**, *11*, 163-166.
69. Wiemer, D. F.; Baenziger, N. C.; Ales, D. C.; Chen, T. K. Anti-Repellent Triterpenoids from *Cordia alliodora*. *J. Org. Chem.* **1983**, *20*, 3525-3531
70. King, F. E.; Morgan, J. W. W. The Chemistry of Extractives from Hardwoods. Part XXX. The constitution of Katonic Acid, a triterpene from *Sandoricum indicum*. *J. Chem. Soc.* **1960**, 4738-4747
71. Coxon, D. T.; Wells, J. W. 3-Epi-Katonic Acid from Guar Meal, *Cyamopsis tetragonoloba*. *Phytochemistry* **1980**, *19*, 1247-1248.



72. Kaneda, N.; Pezzuto, J. M.; Kinghorn, A. D.; Farnsworth, N. R.; Santisuk, T.; Tuchinda, P.; Udchachon, J.; Reutrakul, V. Plant Anticancer Agents, L. Cytotoxic Triterpenes from *Sandoricum koetjape* Stems. *J. Nat. Prod.* **1992**, *55*, 654-659.
73. Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics. Editors: Hardman, J. G. and Limbird, L. E. McGraw-Hill. 2001.
74. Friebolin, H. Basic One- and Two-Dimensional NMR Spectroscopy. Third Edition Wiley-VCH, New York, 1998.

## 10. REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA.

- 1 Cordell, G. A. Changing Strategies in Natural Products Chemistry *Phytochemistry* **1995**, *40*, 1585-1612
- 2 Cox, A. P.; Balick, J. M. The Ethnobotanical Approach to Drug Discovery. *Sci Amer.* **1994**, *6*, 82-87.
- 3 Camacho, J. R.; Aguilar, A.; Lozoya, X. Encuesta sobre el Uso Actual de Plantas en la Medicina Tradicional Mexicana. *Rev. Med. IMSS* **1987**, *25*, 283-291.
- 4 Lozoya, X. Fármacos de Origen Vegetal de Ayer y Hoy. *Investigación y Ciencia* **1997**, *245*, 4-10.
- 5 Hostettmann, K.; Hamburger, M. Bioactivity in Plants: The Link Between Phytochemistry and Medicine. *Phytochemistry*, **1991**, *30*, 3864-3874
- 6 Agosta, W. C. Medicines and Drugs from Plants. *J Chem Educ.* **1997**, *74*, 857-860.
- 7 Newman, D. J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M. Natural Products in Drug Discovery and Development. *J. Nat Prod.* **1997**, *60*, 52-60
- 8 Yue-Zhong, S. Recent Natural Products Based Drugs Development: A Pharmaceutical Industry Perspective. *J. Nat Prod* **1998**, *61*, 1053-1071
- 9 Houghton, P. J. Roots of Remedies: Plants, People and Pharmaceuticals *Chemistry & Industry* **1999**, 15-19.
- 10 Wani, M. C.; Taylor, H. L.; Wall, M. E.; Coggon, P.; McPhail, A. T. Plant Antitumor Agents VI The Isolation and Structure of Taxol, a Novel Antileukemic and Antitumor Agent from *Taxus brevifolia*. *J. Am. Chem Soc.* **1971**, *93*, 2325-2327.
- 11 Newman, D. J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M. The Influence of Natural Products upon Drug Discovery. *Nat. Prod. Rep.* **2000**, *17*, 215-234
- 12 Estrada, E.; Linares, E.; Bye, R. Biological Diversity of Medicinal Plants in México, in: *Phytochemistry of Medicinal Plants*. Ed. J. T. Arnason, Plenum Press, New York *Rec. Adv. Phyt* **1995**, *29*, 65-82.
- 13 Cordell, G.; Quinn-Beattie, M. L.; Farnsworth, N. R. The Potential of Alkaloids in Drug Discovery. *Phytother. Res.* **2001**, *15*, 183-205.
- 14 Martínez, M. Las Plantas Medicinales de México. Ed. Botas 3ª edición. México, D. F. **1945**, 165-172.
- 15 Consulta en el Herbario Nacional de México. Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México

- 16 Baytelman, B. Acerca de Plantas y Curanderos Instituto Nacional de Antropología e Historia México, D. F. **1983**, 452 p.
17. Díaz, J. L. Usos de las Plantas Medicinales de México. Monografías Científicas II, IMEPLAM. México, A.C **1977**, 329 p
- 18 Preininger, V. The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology Ed. A Brossi, Academic Press, New York. Chapter 1 in: *The Alkaloids* **1986**, 29, 1-98.
19. Julián, A. Aislamiento y Elucidación Estructural de los Alcaloides Presentes en *Bocconia arborea* (Papaveraceae), una Planta Empleada en la Medicina Tradicional. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. U N A.M. **2000**, 82p.
20. Turner, B L A New Species of *Bocconia* (Papaveraceae) from Oaxaca, México. *Phytologia* **1995**, 79, 313-316
- 21 Manske, R. H. F. The Alkaloids of Papaveraceous Plants XXXVIII *Bocconia arborea* Wats. *Can. J. Res.* **1943**, 21, 140-143.
- 22 MacLean, D B.; Gracey, D. E F.; Saunders, J. K.; Rodrigo, R.; Manske, R. H. F. Some benzophenanthridine alkaloids from *Bocconia arborea*. *Can. J. Chem.* **1969**, 47, 1951-1956.
23. Julián, A.; Delgado, G. (±)-Bocconarborines A and B, Novel 1,3-Bis-Benzof[c]phenanthridinyl Acetone Alkaloids from *Bocconia arborea* *Rev. Soc. Quím. Méx.* **2001**, 45, 189-194.
- 24 Iwasa, K.; Okada, M.; Takao, N. Protopine-N-oxide, An Alkaloid from *Bocconia cordata*. *Phytochemistry* **1983**, 22, 627-628.
25. Ishii, H.; Ueda, E.; Nakajima, K.; Ishida, T.; Ishikawa, T.; Harada, K.; Ninomiya, I.; Naito, T. Kiguchi, T. Chelirubine. *Chem. Pharm. Bull.* **1978**, 26, 864-873.
26. Slavík, J.; Slavíková, L. On Alkaloids from The Leaves of *Bocconia frutescens* L. *Coll. Czech Chem. Comm.* **1975**, 40, 3206-3210.
- 27 Tábořská, E.; Věžník, F.; Slavík, J. Alkaloids from *Bocconia frutescens* L. *Coll. Czech Chem. Comm.* **1980**, 45, 1301-1304.
28. Oechslin, S. M.; König, G. M.; Oechslin-Merkel, K.; Wright, A. D.; Kinghorn, A. D.; Sticher, O. An NMR Study of Four Benzophenanthridine Alkaloids. *J. Nat. Prod.* **1991**, 54, 519-524
29. Rojas, P.; Quevedo, J.; Alcalá, A.; Armendáriz, L. G.; Monroy, A.; García, J.; Domínguez, X. A Chemical Study of *Bocconia latisejala* Wats. *Can. J. Chem.* **1965**, 43, 679-682.
- 30 Šantavý, F. The Alkaloids: Chemistry and Physiology Ed. R. H. F. Manske. Academic Press, New York. Chapter 5 in *The Alkaloids* **1970**, 12, 333-454.
31. Šantavý, F. The Alkaloids: Chemistry and Physiology. Ed. R. H. F. Manske, R. G. A. Rodrigo, Academic Press, New York Chapter 4 in *The Alkaloids*. **1979**, 17, 385-544.

- 32 Krane, B D.; Fagbule, M. O.; Shamma, M.; The Benzophenanthridine Alkaloids. *J. Nat. Prod* **1984**, *47*, 1-43.
33. Šimánek, V. The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology Ed A. Brossi, Academic Press, New York. Chapter 4 in *The Alkaloids* **1985**, *26*, 185-240
- 34 Iwasa, K. The Biotransformation of Protoberberine Alkaloids by Plant Tissue Cultures, in: *The Alkaloids* Ed G. A. Cordell, Academic Press, New York. *The Alkaloids*. **1995**, *46*, 273-346.
35. Zenk, M. H. The Formation of Benzophenanthridine Alkaloids *Pure & Appl. Chem* **1994**, *66*, 2023-2028
- 36 Zenk, M. H.; Frenzel, T S-Adenosyl-L-Methionine: 3-Hydroxy-N-Methyl-(S)-Coclaurine-4'-O-Methyl Tranferase, A Regio-and Stereoselective Enzyme of The (S)-Reticuline Pathway *Phytochemistry* **1990**, *29*, 3505-3511
37. Smith, M B.; March, J Advanced Organic Chemistry. John Wiley & Sons, Inc. 5<sup>th</sup> ed. 2001.
- 38 Ishikawa, T.; Ishii, H. Recent Advances on Antitumor-Active Benzo[c]phenanthridine Alkaloids. *Heterocycles* **1999**, *50*, 627-639.
39. Sofowora, E. A.; Odebiyi, O. O. Antimicrobial Alkaloids from a Nigerian Chewing Stick (*Fagara zanthoxyloides*). *Planta Medica* **1979**, *36*, 204-207.
- 40 Clark, G W.; Clark, D.; Park, Y. H.; Mitcher, L A Antimicrobial Agents From Plants. An Investigaction of *Hunnemannia fumariaefolia* Pseudoalcoholates of Sanguinarine and Chelerytrine. *Lloydia* **1978**, *41*, 145-150
- 41 Gunatilaka, A. A. L.; Wijesundara, D. S. A.; Tillekeratne, L. M V, Inada, A.; Nishi, M.; Nakanishi, T.; Kumar, V.; Bandara, B M. R.; Karunaratne, V.; Nissanka, A. P K Antimicrobial Alkaloids from *Zanthoxylum tetraspermum* and *Zcaudatum*. *Phytochemistry* **2001**, *56*, 857-861
42. Šimánek, V.; Preininger, V.; Slavík, J.; Maršálek, E.; Kroutil, M.; Lenfeld, J Antiinflammatory Activity of Quaternary Benzophenanthridine Alkaloids from *Chelidonium majus* *Planta Medica* **1981**, *43*, 161-165.
- 43 Nakanishi, T.; Susuki, M.; Saimoto, A.; Kabasawa, T. Structural Considerations of NK109, an Antitumor Benzo[c]phenanthridine alkaloid. *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 864-867.
44. Farnsworth N R.; Cordell, G A. A Review of Selected Potential Anticancer Plant Principles. *Heterocycles* **1976**, *4*, 393-427.

45. Cheng, C C.; Zee-Cheng, K Y Preparation and Antileukemic Activity of Some Alkoxybenzo[c]phenanthridinium Salts and Corresponding Dihydro Derivatives. *J. Med. Chem.* **1975**, *18*, 66-71.
46. Stermitz, T. A.; Romero, R.; Amoros, L. G.; Gillespie, J. P.; Stermitz, F. R Synthesis and Biological Activity of Some Antitumor Benzophenanthridinium Salts. *J. Med. Chem.* **1975**, *18*, 708-713
47. Farnsworth, N. R.; Fong, H. H. S.; Bevelle, C.; Bell, C. L.; Tin-Wa, M. Potential Anticancer Agents I: Confirming Evidence for the Structure of Fagaronine. *J. Pharm. Sci.* **1974**, *63*, 1476-1477.
48. Seth, M. L Inhibition of Reverse Transcriptase Activity by Benzophenanthridine Alkaloids. *J. Nat. Prod.* **1979**, *42*, 187-196.
49. Navarro, V.; Villarreal, M. L.; Rojas, G.; Lozoya, X. Antimicrobial Evaluation of Some Plants Used in Mexican Traditional Medicine for the Treatment of Infectious Diseases. *J. Ethnopharmacol.* **1996**, *53*, 143-147
50. Navarro, V.; Rojas, G.; Delgado, G.; Lozoya, X. Antimicrobial Compounds Detected in *Bocconia arborea* Extracts by a Direct Bioautographic Method. *Arch. Med. Res.* **1998**, *29*, 191-194.
51. Navarro, V.; Delgado, G. Two Antimicrobial Alkaloids from *Bocconia arborea*. *J. Ethnopharmacol.* **1999**, *66*, 223-226.
52. Navarro, V. Bioevaluación y análisis fitoquímico de los metabolitos secundarios de dos plantas superiores: *Bocconia arborea* y *Schkuhria schkuhrioides*. Tesis de Maestría Facultad de Ciencias Químicas e Industriales, U. A. E. M. **1997**, 69 p.
53. Verpoorte, R.; Baerheim, A. Chromatography of alkaloids. *J. Chromatography Library* **1983**, *23-A*, 760 pp.
54. Maldoni, B. Alkaloids: Isolation and Purification. *J. Chem. Educ.* **1991**, *68*, 700-703
55. Domínguez, X. A. Métodos de Investigación Fitoquímica. Ed. Limusa México, **1973**, 450 pp.
56. Onda, M.; Harigaya, Y.; Konda, Y. Studies on the Constituents of *Bocconia cordata* III Structure Elucidation of Bocconine by Means of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopic Studies. *J. Heterocyclic Chem.* **1986**, *23*, 877-879.
57. Furuya, T.; Ikuta, A.; Syño, K. Alkaloids from Callus Tissue of *Papaver somniferum*. *Phytochemistry* **1972**, *11*, 3041-3044.

58. Tin-Wa, M.; Kim, H. K.; Fong, H. H. S.; Farnsworth, N. R. The Structure of Chelidimerine, A New Alkaloid from *Chelidonium majus*. *Lloydia* **1972**, *35*, 87-89
59. Tin-Wa, M.; Fong, H. H. S.; Abraham, D. J.; Trojanek, J.; Farnsworth, N. R. Structure of Sanguidimerine, A New Major Alkaloid from *Sanguinaria canadensis*. *J. Pharm. Sci.* **1972**, *35*, 61, 1846-1847
60. Khan, M. A.; Lewis, D. E.; Shah, G. N.; Mabry, T. J. Chelidimerine from *Corydalis flabellata*: Interpretation of NMR Spectra. *Rev. Latinoamer. Quím.* **1990**, *21*, 140-142.
61. Zhang, G. L.; Rücker, G.; Breitmaier, E.; Mayer, R. Alkaloids from *Hypecoum leptocarpum*. *Phytochemistry* **1995**, *40*, 1813-1816.
62. Shamma, M.; Tomlinson, H. H. Síntesis of Oxysanguinarine. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2852-2855.
63. Pandey, V. B.; Ray, A. B.; Dasgupta, B. Minor Alkaloids of *Fumaria indica* seeds. *Phytochemistry* **1979**, *18*, 695-696
64. Dostal, J.; Bochořáková, H.; Táborská, E.; Slavík, J. Structure of Sanguinarine Base. *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 599-602
65. Budzikiewicz, H.; Djerassi, Carl; Williams, D. H. Structural Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry. Holden-Day, Inc. San Francisco. 1964.
66. Wehrli, F. W. y Wirthlin, T. Interpretation of Carbono-13 NMR Spectra, John Wiley, Great Britain, p. 36
67. Crews, P.; Kho-Wiseman, E. Stereochemical Assignments in Marine Natural Products by <sup>13</sup>C NMR γ Effects. *Tetrahedron Lett.* **1978**, 2483-2486.
68. Ricca, G. S.; Danielli, B.; Lamisano, G.; Duddeck, H.; Elgamal, M. H. Carbon-13 NMR Spectra of Some Pentacyclic Triterpenoids with the Olean-12-ene and 18α-Olean-12-ene Skeleton. *Org. Mag. Res.* **1978**, *11*, 163-166.
69. Wiemer, D. F.; Baenziger, N. C.; Ales, D. C.; Chen, T. K. Anti-Repellent Triterpenoids from *Cordia alliodora*. *J. Org. Chem.* **1983**, *20*, 3525-3531
70. King, F. E.; Morgan, J. W. W. The Chemistry of Extractives from Hardwoods. Part XXX. The constitution of Katonic Acid, a triterpene from *Sandoricum indicum*. *J. Chem. Soc.* **1960**, 4738-4747
71. Coxon, D. T.; Wells, J. W. 3-Epi-Katonic Acid from Guar Meal, *Cyamopsis tetragonoloba*. *Phytochemistry* **1980**, *19*, 1247-1248.

72. Kaneda, N.; Pezzuto, J. M.; Kinghorn, A. D.; Farnsworth, N. R.; Santisuk, T.; Tuchinda, P.; Udchachon, J.; Reutrakul, V. Plant Anticancer Agents, L. Cytotoxic Triterpenes from *Sandoricum koetjape* Stems. *J. Nat. Prod.* **1992**, *55*, 654-659.
73. Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics. Editors: Hardman, J. G. and Limbird, L. E. McGraw-Hill. 2001.
74. Friebolin, H. Basic One- and Two-Dimensional NMR Spectroscopy. Third Edition Wiley-VCH, New York, 1998.

## **ANEXO I**

**Datos de Difracción de Rayos X de 6-metoxidihidrosanguinarina (35)**





Table 1. Crystal data and structure refinement for AJRAME94.

Identification code	AJ-RAM-E94
Crystal size	0.40 x 0.28 x 0.28 mm
Empirical formula	$C_{21}H_{17}NO_5$
Formula weight	363.36
Temperature	293(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Orthorhombic
Space group	$P2_12_12_1$
Unit cell dimensions	$a = 7.8175(5)$ Å $\alpha = 90^\circ$ $b = 9.5921(9)$ Å $\beta = 90^\circ$ $c = 22.714(2)$ Å $\gamma = 90^\circ$
Volume	1703.2(2) Å <sup>3</sup>
Z	4
Density (calculated)	1.417 g/cm <sup>3</sup>
Absorption coefficient	0.102 mm <sup>-1</sup>
F(000)	760
Diffractometer used	Siemens P4/PC
System data collection	xscans ver 2.1 (Siemens 1994)
Scan type	$\omega$
Standard reflections	3 every 97 reflections
$\theta$ range for data collection	2.30 to 29.98°
Index ranges	$0 \leq h \leq 10$ , $0 \leq k \leq 13$ , $0 \leq l \leq 31$

Solution and Refinement

System solution	SHELXS-97 (Sheldrick, 1990)
Reflections collected	2830
Independent reflections	2830 ( $R_{int} = 0.0000$ )
System refinement	SHELXL-97 (Sheldrick, 1997)
Refinement method	Full-matrix least-squares on $F^2$
Weighting scheme	calc
Hydrogens atoms	no refined
Data / restraints / parameters	2830 / 0 / 245
Goodness-of-fit on $F^2$	0.851
Final R indices [ $I > 2\sigma(I)$ ]	$R1 = 0.0430$ , $wR2 = 0.0693$
R indices (all data)	$R1 = 0.1245$ , $wR2 = 0.0817$
Absolute structure parameter	0(2)
Extinction method	SHELXL
Extinction coefficient	0.0096(5)
Largest diff. peak and hole	0.138 and $-0.146 \text{ e}\text{\AA}^{-3}$
Solved by	Simon Hernandez-Ortega

Table 2. Atomic coordinates [ $\times 10^4$ ] and equivalent isotropic displacement parameters [ $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ] for AJRAME94.  $U(\text{eq})$  is defined as one third of the trace of the orthogonalized  $U_{ij}$  tensor.

	x	y	z	$U(\text{eq})$
O(1)	7787(3)	8181(3)	4622(1)	76(1)
O(2)	6101(4)	9728(3)	4101(1)	77(1)
O(3)	7362(3)	9499(2)	1198(1)	59(1)
O(4)	6064(3)	7853(3)	-24(1)	72(1)
O(5)	7219(4)	5952(3)	-515(1)	85(1)
C(1)	8644(4)	6783(4)	3767(2)	68(1)
C(2)	7757(5)	7813(4)	4032(2)	63(1)
C(3)	6715(4)	8729(4)	3720(2)	60(1)
C(4)	6464(4)	8619(3)	3132(2)	59(1)
C(4A)	7312(4)	7514(3)	2833(2)	53(1)
C(4B)	7089(4)	7282(3)	2219(2)	55(1)
N(5)	5879(3)	8125(3)	1907(1)	52(1)
C(6)	6202(4)	8362(3)	1286(2)	54(1)
C(6A)	6932(4)	7118(3)	969(2)	56(1)
C(7)	6815(4)	6958(4)	375(2)	57(1)
C(8)	7473(5)	5814(4)	88(2)	67(1)
C(9)	8291(5)	4766(4)	378(2)	79(1)
C(10)	8442(5)	4919(4)	988(2)	73(1)
C(10A)	7807(4)	6075(3)	1291(2)	58(1)
C(10B)	8037(4)	6269(3)	1920(2)	59(1)
C(11)	9205(5)	5443(4)	2246(2)	75(1)
C(12)	9360(5)	5598(4)	2839(2)	70(1)
C(12A)	8431(4)	6629(4)	3144(2)	58(1)
C(13)	6298(5)	7218(4)	-594(2)	84(1)
C(14)	6482(6)	9228(4)	4685(2)	83(1)
C(15)	4068(4)	7802(4)	2038(2)	71(1)
C(16)	6586(5)	10809(3)	1329(2)	83(1)

Table 3. Bond lengths [Å] for AJRAME94.

---

O(1)-C(2)	1.384(4)	O(1)-C(14)	1.439(5)
O(2)-C(3)	1.377(4)	O(2)-C(14)	1.441(4)
O(3)-C(16)	1.426(3)	O(3)-C(6)	1.432(3)
O(4)-C(7)	1.379(4)	O(4)-C(13)	1.442(4)
O(5)-C(8)	1.390(5)	O(5)-C(13)	1.424(5)
C(1)-C(2)	1.350(5)	C(1)-C(12A)	1.434(5)
C(2)-C(3)	1.392(4)	C(3)-C(4)	1.354(5)
C(4)-C(4A)	1.422(4)	C(4A)-C(12A)	1.408(4)
C(4A)-C(4B)	1.425(4)	C(4B)-C(10B)	1.397(4)
C(4B)-N(5)	1.432(4)	N(5)-C(6)	1.452(4)
N(5)-C(15)	1.479(4)	C(6)-C(6A)	1.506(4)
C(6A)-C(7)	1.360(4)	C(6A)-C(10A)	1.415(4)
C(7)-C(8)	1.375(5)	C(8)-C(9)	1.361(5)
C(9)-C(10)	1.398(5)	C(10)-C(10A)	1.397(4)
C(10A)-C(10B)	1.453(5)	C(10B)-C(11)	1.417(4)
C(11)-C(12)	1.361(5)	C(12)-C(12A)	1.409(5)

---

Table 4. Angles [ $^{\circ}$ ] for AJRAME94.

---

C(2)-O(1)-C(14)	105.2(3)	C(3)-O(2)-C(14)	105.9(3)
C(16)-O(3)-C(6)	111.9(2)	C(7)-O(4)-C(13)	105.9(3)
C(8)-O(5)-C(13)	106.1(3)	C(2)-C(1)-C(12A)	117.2(4)
C(1)-C(2)-O(1)	127.6(4)	C(1)-C(2)-C(3)	122.4(4)
O(1)-C(2)-C(3)	110.0(4)	C(4)-C(3)-O(2)	128.6(3)
C(4)-C(3)-C(2)	122.5(4)	O(2)-C(3)-C(2)	108.9(4)
C(3)-C(4)-C(4A)	117.5(3)	C(12A)-C(4A)-C(4)	120.0(3)
C(12A)-C(4A)-C(4B)	118.1(3)	C(4)-C(4A)-C(4B)	121.9(3)
C(10B)-C(4B)-C(4A)	121.3(3)	C(10B)-C(4B)-N(5)	120.3(3)
C(4A)-C(4B)-N(5)	118.4(3)	C(4B)-N(5)-C(6)	117.0(3)
C(4B)-N(5)-C(15)	114.5(3)	C(6)-N(5)-C(15)	113.2(3)
O(3)-C(6)-N(5)	111.4(3)	O(3)-C(6)-C(6A)	107.3(3)
N(5)-C(6)-C(6A)	114.0(3)	C(7)-C(6A)-C(10A)	117.7(3)
C(7)-C(6A)-C(6)	122.6(3)	C(10A)-C(6A)-C(6)	119.7(3)
C(6A)-C(7)-C(8)	122.3(4)	C(6A)-C(7)-O(4)	127.6(3)
C(8)-C(7)-O(4)	110.1(3)	C(9)-C(8)-C(7)	122.4(4)
C(9)-C(8)-O(5)	127.8(4)	C(7)-C(8)-O(5)	109.7(4)
C(8)-C(9)-C(10)	116.2(4)	C(10A)-C(10)-C(9)	122.8(4)
C(10)-C(10A)-C(6A)	118.6(4)	C(10)-C(10A)-C(10B)	122.8(4)
C(6A)-C(10A)-C(10B)	118.6(3)	C(4B)-C(10B)-C(11)	118.5(4)
C(4B)-C(10B)-C(10A)	120.0(3)	C(11)-C(10B)-C(10A)	121.5(4)
C(12)-C(11)-C(10B)	120.9(4)	C(11)-C(12)-C(12A)	121.1(4)
C(4A)-C(12A)-C(12)	119.9(4)	C(4A)-C(12A)-C(1)	120.3(4)
C(12)-C(12A)-C(1)	119.8(4)	O(5)-C(13)-O(4)	108.1(3)
O(1)-C(14)-O(2)	106.7(3)		

---

Table 5. Anisotropic displacement parameters [ $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ] for AJRAME94.

The anisotropic displacement factor exponent takes the form:

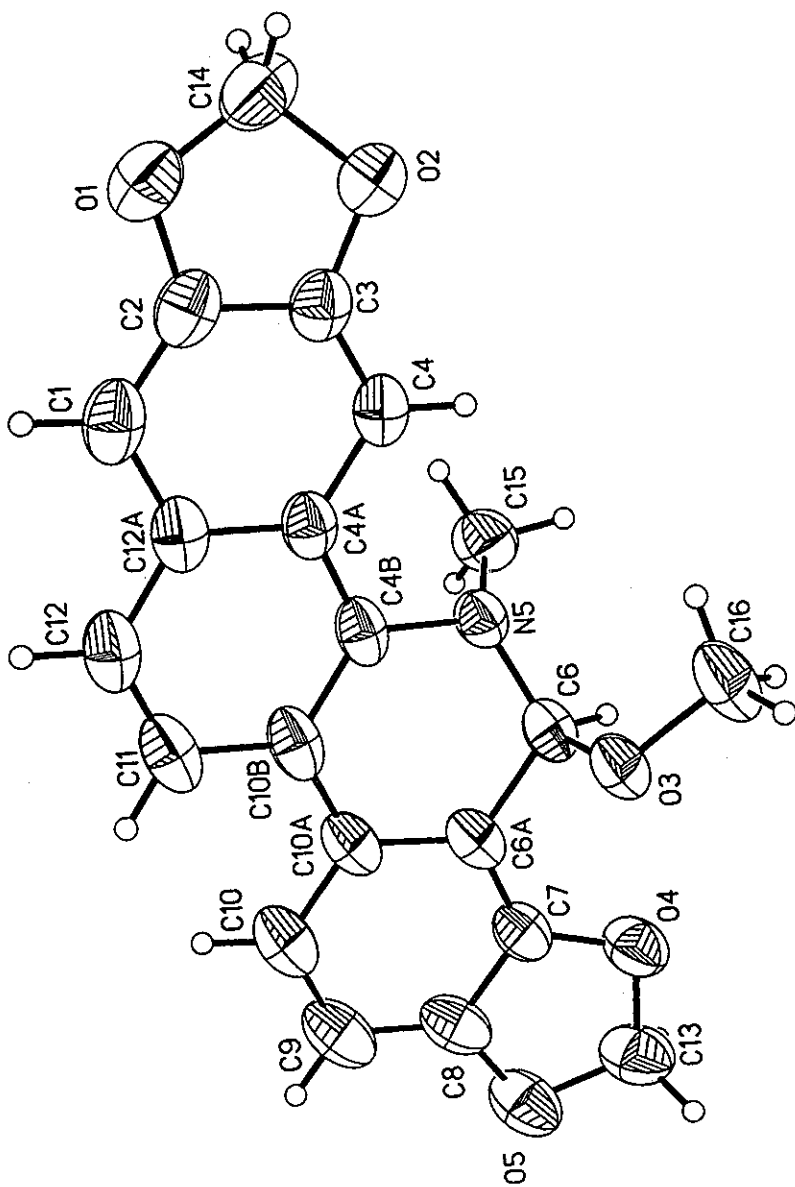
$$-2\pi^2 [ (ha^*)^2 U_{11} + \dots + 2hka^* b^* U_{12} ]$$

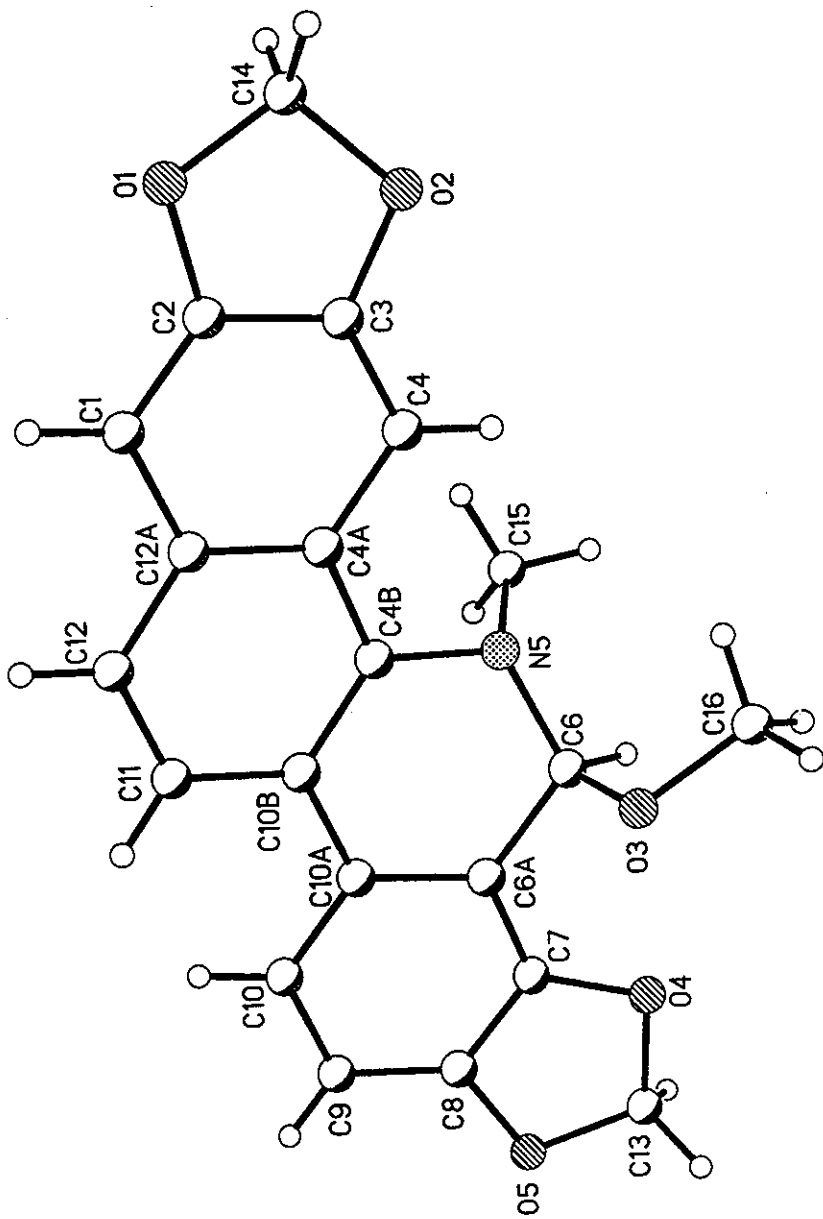
	U11	U22	U33	U23	U13	U12
O(1)	74(2)	89(2)	65(2)	16(2)	0(2)	-6(2)
O(2)	89(2)	78(2)	62(2)	5(2)	-3(2)	11(2)
O(3)	56(1)	43(1)	79(2)	-7(1)	4(1)	5(1)
O(4)	78(2)	74(2)	65(2)	-16(2)	-2(2)	16(2)
O(5)	84(2)	84(2)	88(2)	-33(2)	-6(2)	15(2)
C(1)	55(2)	62(2)	88(3)	26(2)	-5(2)	-10(2)
C(2)	58(2)	63(2)	68(3)	16(2)	-4(2)	-17(2)
C(3)	49(2)	61(2)	69(3)	15(2)	3(2)	-4(2)
C(4)	55(2)	53(2)	69(3)	12(2)	-5(2)	2(2)
C(4A)	45(2)	47(2)	68(2)	10(2)	-1(2)	-2(2)
C(4B)	41(2)	43(2)	80(3)	6(2)	-5(2)	1(2)
N(5)	44(1)	49(2)	61(2)	1(2)	1(2)	8(2)
C(6)	47(2)	49(2)	67(2)	-5(2)	-8(2)	8(2)
C(6A)	45(2)	45(2)	77(3)	-9(2)	2(2)	2(2)
C(7)	46(2)	55(2)	70(3)	-10(2)	-2(2)	3(2)
C(8)	54(2)	66(2)	80(3)	-27(2)	2(2)	0(2)
C(9)	69(3)	62(2)	106(4)	-32(3)	-1(3)	6(2)
C(10)	64(3)	54(2)	102(4)	-12(2)	-3(3)	9(2)
C(10A)	47(2)	44(2)	83(3)	-10(2)	0(2)	3(2)
C(10B)	43(2)	43(2)	92(3)	1(2)	-10(2)	2(2)
C(11)	57(2)	60(2)	108(4)	1(3)	-5(3)	15(2)
C(12)	58(2)	61(2)	91(3)	17(3)	-13(2)	7(2)
C(12A)	43(2)	50(2)	82(3)	14(2)	-4(2)	-5(2)
C(13)	87(3)	96(3)	69(3)	-22(3)	4(3)	9(3)
C(14)	103(3)	87(3)	60(3)	11(3)	1(3)	-8(3)
C(15)	50(2)	86(3)	75(3)	1(2)	2(2)	9(2)
C(16)	81(3)	47(2)	123(4)	-10(2)	5(3)	13(2)

Table 6. Hydrogen coordinates (  $\times 10^4$  ) and isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for AJRAME94.

	x	y	z	U(eq)
H(1)	9363	6197	3980	82
H(4)	5764	9242	2932	70
H(6)	5113	8604	1098	65
H(9)	8725	3993	181	95
H(10)	8988	4221	1201	88
H(11)	9874	4787	2052	90
H(12)	10091	5012	3047	84
H(13A)	5196	7030	-774	101
H(13B)	6931	7841	-850	101
H(14A)	6888	9986	4931	100
H(14B)	5467	8832	4864	100
H(15A)	3737	6973	1830	85
H(15B)	3360	8566	1915	85
H(15C)	3932	7656	2453	85
H(16A)	5549	10904	1107	100
H(16B)	7358	11548	1227	100
H(16C)	6330	10856	1742	100









## **ANEXO II**

**Datos de Difracción de Rayos X de sangüidimerina (23a)**



Table 1. Crystal data and structure refinement for AJRAMC-10.

Identification code	ajramc-10	
Record Code		
Empirical formula	C <sub>45</sub> H <sub>34</sub> C <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>9</sub>	
Formula weight	959.44	
Temperature	291(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Orthorhombic	
Space group	F2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>	
Unit cell dimensions	a = 10.7625(6) Å	= 90°
	b = 15.5199(9) Å	= 90°
	c = 26.0467(15) Å	= 90°
Volume	4350.7(4) Å <sup>3</sup>	
Z	4	
Density (calculated)	1.465 g/cm <sup>3</sup>	
Absorption coefficient	0.454 mm <sup>-1</sup>	
F(000)	1968	
Crystal size / shape / color	0.40 × 0.10 × 0.10 mm / PRISM/ YELLOW	
Theta range for data collection	1.56 to 25.00°	
Diffractometer used / Scan Mode	CCD area detector/ phi and omega scans	

## Solution and Refinement

Index ranges	-12<= h <=12, -18<= k <=18, -30<= l <=30
Reflections collected	35983
Independent reflections	7671 [R(int) = 0.1006]
Completeness to theta = 25.00°	100.0 %
Absorption correction	None
Max. and min. transmission	0.9560 and 0.8392
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	7671 / 0 / 555
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	0.893
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0700, wR2 = 0.1435
R indices (all data)	R1 = 0.1434, wR2 = 0.1634
Absolute structure parameter	0.00(11)
Largest diff. peak and hole	0.502 and -0.399 e.Å <sup>-3</sup>
Solved by	SimonHO

Table 2. Atomic coordinates ( $\times 10^4$ ) and equivalent isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for AJRAMC-10.  $U(\text{eq})$  is defined as one third of the trace of the orthogonalized  $U_{ij}$  tensor.

	x	y	z	$U(\text{eq})$
O(1)	4690(5)	10294(3)	3278(2)	77(2)
O(2)	4465(5)	8883(3)	3011(2)	64(1)
O(3)	6814(5)	4854(3)	5551(2)	60(1)
O(4)	6914(5)	5045(3)	6437(2)	74(2)
C(1)	5202(6)	9961(5)	4188(3)	56(2)
C(2)	4902(6)	9756(5)	3696(3)	58(2)
C(3)	4794(6)	8899(5)	3523(3)	53(2)
C(4)	4990(5)	8221(4)	3834(2)	41(2)
C(4A)	5337(5)	8415(4)	4355(2)	37(2)
C(4B)	5618(5)	7723(4)	4713(2)	40(2)
N(5)	5461(4)	6860(3)	4532(2)	33(1)
C(6)	6339(5)	6256(4)	4771(2)	34(2)
C(6A)	6428(6)	6369(4)	5350(2)	35(2)
C(7)	6623(6)	5708(4)	5680(2)	42(2)
C(8)	6710(6)	5812(5)	6201(3)	51(2)
C(9)	6588(7)	6611(5)	6421(3)	60(2)
C(10)	6372(6)	7301(4)	6096(2)	44(2)
C(10A)	6282(6)	7191(4)	5564(2)	38(2)
C(10B)	6021(5)	7908(4)	5210(2)	31(2)
C(12A)	5454(6)	9286(4)	4530(3)	43(2)
C(11)	6117(5)	8797(4)	5347(2)	41(2)
C(12)	5833(6)	9433(4)	5022(3)	45(2)
C(13)	4396(8)	9768(6)	2863(3)	80(3)
C(14)	4141(6)	6581(4)	4606(2)	49(2)
C(15)	6937(8)	4420(5)	6025(3)	74(2)
C(16)	7625(5)	6339(4)	4520(2)	39(2)
O(5)	14323(4)	4159(3)	4169(2)	66(2)
O(6)	12319(4)	3711(3)	4319(2)	60(1)
O(7)	6322(5)	6792(3)	2428(2)	63(1)



O(8)	6582(5)	7561(3)	1677(2)	69(2)
O(9)	7059(4)	5297(3)	3882(2)	58(1)
C(1')	13817(7)	5238(5)	3509(3)	53(2)
C(2')	13557(6)	4608(5)	3848(3)	46(2)
C(3')	12321(7)	4321(4)	3934(2)	45(2)
C(4')	11339(6)	4649(4)	3689(2)	40(2)
C(4'A)	11558(6)	5312(4)	3322(2)	39(2)
C(4'B)	10601(6)	5681(4)	3043(2)	36(2)
N(5')	9363(5)	5340(3)	3116(2)	33(1)
C(6')	8352(6)	5979(4)	3062(2)	37(2)
C(6'A)	8531(7)	6544(4)	2596(2)	40(2)
C(7')	7534(7)	6891(4)	2320(2)	39(2)
C(8')	7721(7)	7353(4)	1886(3)	46(2)
C(9')	8842(8)	7509(4)	1693(3)	58(2)
C(10')	9871(7)	7203(4)	1965(3)	51(2)
C(10C)	9741(7)	6714(4)	2415(2)	43(2)
C(10D)	10795(6)	6362(4)	2704(2)	36(2)
C(11')	11999(7)	6672(4)	2655(2)	48(2)
C(12')	12981(7)	6293(5)	2903(3)	57(2)
C(12B)	12788(7)	5601(4)	3243(2)	44(2)
C(13')	13604(7)	3586(6)	4450(3)	75(2)
C(14')	9144(6)	4550(4)	2808(2)	54(2)
C(15')	5710(8)	7315(5)	2055(3)	74(2)
C(16')	8205(6)	6484(4)	3566(2)	37(2)
C(17)	7578(5)	5984(4)	3974(2)	32(2)
C(19)	8654(11)	9672(12)	3441(3)	228(9)
C(20)	7243(7)	3425(6)	4360(3)	86(3)
C1(1)	7017(5)	3014(3)	3750(2)	117(2)
C1(2)	8711(6)	3703(4)	4595(2)	116(2)
C1(3)	6492(6)	2696(4)	4761(2)	98(2)
C1(4)	8364(5)	8766(3)	3930(2)	67(2)
C1(5)	8216(7)	10596(4)	3644(2)	159(2)
C1(6)	7731(6)	9342(5)	2925(2)	113(2)
C1(1A)	7027(10)	2627(8)	3911(4)	146(4)
C1(2A)	8851(6)	3385(4)	4412(3)	116(2)

C1 (3A)	6557 (4)	2961 (3)	4947 (2)	69 (1)
C1 (4A)	8431 (8)	9057 (5)	4040 (3)	131 (3)
C1 (5A)	7923 (11)	10449 (8)	3365 (5)	147 (4)
C1 (6A)	7931 (7)	8865 (5)	2910 (3)	137 (3)

---

Table 3. Bond lengths [Å] and angles [°] for AJRAMC.

---

O(1)-C(2)	1.389(8)
O(1)-C(13)	1.391(9)
O(2)-C(3)	1.380(7)
O(2)-C(13)	1.429(8)
O(3)-C(7)	1.382(7)
O(3)-C(15)	1.413(8)
O(4)-C(8)	1.356(8)
O(4)-C(15)	1.445(8)
C(1)-C(2)	1.360(10)
C(1)-C(12A)	1.403(8)
C(2)-C(3)	1.408(10)
C(3)-C(4)	1.345(9)
C(4)-C(4A)	1.440(8)
C(4A)-C(12A)	1.433(8)
C(4A)-C(4B)	1.454(8)
C(4B)-C(10B)	1.396(7)
C(4B)-N(5)	1.430(7)
N(5)-C(6)	1.469(7)
N(5)-C(14)	1.498(7)
C(6)-C(6A)	1.522(7)
C(6)-C(16)	1.536(7)
C(6A)-C(7)	1.353(8)
C(6A)-C(10A)	1.400(8)
C(7)-C(8)	1.371(8)
C(8)-C(9)	1.372(9)
C(9)-C(10)	1.385(9)
C(10)-C(10A)	1.400(8)
C(10A)-C(10B)	1.472(8)
C(10B)-C(11)	1.428(8)
C(12A)-C(12)	1.364(8)
C(11)-C(12)	1.336(8)
C(16)-C(17)	1.527(7)
O(5)-C(2')	1.365(7)

O(5)-C(13')	1.388(8)
O(6)-C(3')	1.379(7)
O(6)-C(13')	1.439(8)
O(7)-C(7')	1.343(8)
O(7)-C(15')	1.428(8)
O(8)-C(8')	1.379(8)
O(8)-C(15')	1.412(8)
O(9)-C(17)	1.227(6)
C(1')-C(2')	1.348(9)
C(1')-C(12B)	1.423(9)
C(2')-C(3')	1.420(9)
C(3')-C(4')	1.336(8)
C(4')-C(4'A)	1.424(8)
C(4'A)-C(4'B)	1.383(8)
C(4'A)-C(12B)	1.412(9)
C(4'B)-C(10D)	1.394(8)
C(4'B)-N(5')	1.446(7)
N(5')-C(6')	1.479(7)
N(5')-C(14')	1.484(7)
C(6')-C(6'A)	1.510(8)
C(6')-C(16')	1.538(7)
C(6'A)-C(7')	1.398(9)
C(6'A)-C(10C)	1.409(9)
C(7')-C(8')	1.354(9)
C(8')-C(9')	1.329(9)
C(9')-C(10')	1.398(9)
C(10')-C(10C)	1.404(8)
C(10C)-C(10D)	1.466(9)
C(10D)-C(11')	1.388(8)
C(11')-C(12')	1.371(9)
C(12')-C(12B)	1.408(9)
C(16')-C(17)	1.480(8)
C(19)-Cl(5A)	1.455(17)
C(19)-Cl(5)	1.601(17)
C(19)-Cl(6)	1.748(13)

C(19) -C1(4A)	1.845(14)
C(19) -C1(4)	1.923(16)
C(19) -C1(6A)	2.022(17)
C(20) -C1(1A)	1.719(13)
C(20) -C1(1)	1.730(10)
C(20) -C1(2A)	1.737(10)
C(20) -C1(3)	1.738(9)
C(20) -C1(2)	1.749(10)
C(20) -C1(3A)	1.844(9)
C(2) -O(1) -C(13)	107.1(6)
C(3) -O(2) -C(13)	104.9(6)
C(7) -O(3) -C(15)	105.0(5)
C(8) -O(4) -C(15)	104.9(5)
C(2) -C(1) -C(12A)	118.0(7)
C(1) -C(2) -O(1)	129.4(7)
C(1) -C(2) -C(3)	122.8(7)
O(1) -C(2) -C(3)	107.7(7)
C(4) -C(3) -O(2)	127.5(7)
C(4) -C(3) -C(2)	122.3(7)
O(2) -C(3) -C(2)	110.3(7)
C(3) -C(4) -C(4A)	116.4(6)
C(12A) -C(4A) -C(4)	121.4(6)
C(12A) -C(4A) -C(4B)	118.4(6)
C(4) -C(4A) -C(4B)	120.2(6)
C(10B) -C(4B) -N(5)	122.4(6)
C(10B) -C(4B) -C(4A)	120.4(6)
N(5) -C(4B) -C(4A)	117.2(5)
C(4B) -N(5) -C(6)	112.5(5)
C(4B) -N(5) -C(14)	109.9(5)
C(6) -N(5) -C(14)	111.8(4)
N(5) -C(6) -C(6A)	112.8(5)
N(5) -C(6) -C(16)	110.2(5)
C(6A) -C(6) -C(16)	110.8(5)
C(7) -C(6A) -C(10A)	117.2(5)
C(7) -C(6A) -C(6)	123.4(6)

C(10A)-C(6A)-C(6)	119.4(6)
C(6A)-C(7)-C(8)	123.3(6)
C(6A)-C(7)-O(3)	126.6(6)
C(8)-C(7)-O(3)	110.0(6)
O(4)-C(8)-C(7)	110.8(6)
O(4)-C(8)-C(9)	128.3(7)
C(7)-C(8)-C(9)	120.8(7)
C(8)-C(9)-C(10)	117.4(7)
C(9)-C(10)-C(10A)	121.5(6)
C(6A)-C(10A)-C(10)	119.8(6)
C(6A)-C(10A)-C(10B)	117.5(5)
C(10)-C(10A)-C(10B)	122.7(6)
C(4B)-C(10B)-C(11)	116.9(6)
C(4B)-C(10B)-C(10A)	118.9(6)
C(11)-C(10B)-C(10A)	124.1(6)
C(12)-C(12A)-C(1)	122.1(6)
C(12)-C(12A)-C(4A)	118.9(6)
C(1)-C(12A)-C(4A)	119.1(6)
C(12)-C(11)-C(10B)	122.6(6)
C(11)-C(12)-C(12A)	122.7(6)
O(1)-C(13)-O(2)	110.0(6)
O(3)-C(15)-O(4)	109.1(5)
C(17)-C(16)-C(6)	109.7(5)
C(2')-O(5)-C(13')	108.3(6)
C(3')-O(6)-C(13')	105.3(6)
C(7')-O(7)-C(15')	104.0(6)
C(8')-O(8)-C(15')	104.7(5)
C(2')-C(1')-C(12B)	116.4(7)
C(1')-C(2')-O(5)	130.3(7)
C(1')-C(2')-C(3')	121.6(7)
O(5)-C(2')-C(3')	108.1(6)
C(4')-C(3')-O(6)	127.4(7)
C(4')-C(3')-C(2')	123.2(6)
O(6)-C(3')-C(2')	109.3(6)
C(3')-C(4')-C(4'A)	117.7(6)

C(4'B)-C(4'A)-C(12B) 119.3(6)  
C(4'B)-C(4'A)-C(4') 121.8(6)  
C(12B)-C(4'A)-C(4') 118.8(6)  
C(4'A)-C(4'B)-C(10D) 122.4(6)  
C(4'A)-C(4'B)-N(5') 117.8(6)  
C(10D)-C(4'B)-N(5') 119.8(6)  
C(4'B)-N(5')-C(6') 114.9(5)  
C(4'B)-N(5')-C(14') 112.2(5)  
C(6')-N(5')-C(14') 112.7(5)  
N(5')-C(6')-C(6'A) 111.9(5)  
N(5')-C(6')-C(16') 109.7(5)  
C(6'A)-C(6')-C(16') 113.8(5)  
C(7')-C(6'A)-C(10C) 117.8(6)  
C(7')-C(6'A)-C(6') 122.6(6)  
C(10C)-C(6'A)-C(6') 119.6(6)  
O(7)-C(7')-C(8') 112.3(6)  
O(7)-C(7')-C(6'A) 126.4(6)  
C(8')-C(7')-C(6'A) 121.2(7)  
C(9')-C(8')-C(7') 123.2(7)  
C(9')-C(8')-O(8) 127.9(7)  
C(7')-C(8')-O(8) 108.7(7)  
C(8')-C(9')-C(10') 117.7(7)  
C(9')-C(10')-C(10C) 121.9(7)  
C(10')-C(10C)-C(6'A) 118.1(7)  
C(10')-C(10C)-C(10D) 123.5(7)  
C(6'A)-C(10C)-C(10D) 118.3(6)  
C(11')-C(10D)-C(4'B) 117.4(6)  
C(11')-C(10D)-C(10C) 123.2(6)  
C(4'B)-C(10D)-C(10C) 119.5(6)  
C(12')-C(11')-C(10D) 121.9(6)  
C(11')-C(12')-C(12B) 120.6(7)  
C(12')-C(12B)-C(4'A) 118.2(7)  
C(12')-C(12B)-C(1') 119.5(7)  
C(4'A)-C(12B)-C(1') 122.3(6)  
O(5)-C(13')-O(6) 108.9(6)  
O(8)-C(15')-O(7) 108.7(6)

C(17)-C(16')-C(6')	113.1(5)
O(9)-C(17)-C(16')	121.6(5)
O(9)-C(17)-C(16)	120.7(6)
C(16')-C(17)-C(16)	117.7(5)
Cl(5A)-C(19)-Cl(5)	30.9(6)
Cl(5A)-C(19)-Cl(6)	80.2(7)
Cl(5)-C(19)-Cl(6)	110.4(8)
Cl(5A)-C(19)-Cl(4A)	118.3(8)
Cl(5)-C(19)-Cl(4A)	98.3(6)
Cl(6)-C(19)-Cl(4A)	115.2(10)
Cl(5A)-C(19)-Cl(4)	127.5(8)
Cl(5)-C(19)-Cl(4)	112.8(6)
Cl(6)-C(19)-Cl(4)	101.8(10)
Cl(4A)-C(19)-Cl(4)	16.3(3)
Cl(5A)-C(19)-Cl(6A)	102.3(8)
Cl(5)-C(19)-Cl(6A)	132.0(8)
Cl(6)-C(19)-Cl(6A)	22.2(4)
Cl(4A)-C(19)-Cl(6A)	102.1(9)
Cl(4)-C(19)-Cl(6A)	86.5(8)
Cl(1A)-C(20)-Cl(1)	24.5(4)
Cl(1A)-C(20)-Cl(2A)	99.4(7)
Cl(1)-C(20)-Cl(2A)	101.5(6)
Cl(1A)-C(20)-Cl(3)	83.0(5)
Cl(1)-C(20)-Cl(3)	104.3(5)
Cl(2A)-C(20)-Cl(3)	113.1(6)
Cl(1A)-C(20)-Cl(2)	122.6(7)
Cl(1)-C(20)-Cl(2)	122.6(6)
Cl(2A)-C(20)-Cl(2)	23.2(3)
Cl(3)-C(20)-Cl(2)	111.8(5)
Cl(1A)-C(20)-Cl(3A)	103.3(6)
Cl(1)-C(20)-Cl(3A)	124.2(5)
Cl(2A)-C(20)-Cl(3A)	108.6(5)
Cl(3)-C(20)-Cl(3A)	20.3(2)
Cl(2)-C(20)-Cl(3A)	99.7(5)

---

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:



Table 4. Anisotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for AJRAMC. The anisotropic displacement factor exponent takes the form:  $-2^2 [ h^2 a^2 U_{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U_{12} ]$

	$U_{11}$	$U_{22}$	$U_{33}$	$U_{23}$	$U_{13}$	$U_{12}$
O(1)	110(5)	55(3)	66(4)	30(3)	-22(4)	1(3)
O(2)	87(4)	69(4)	37(3)	7(3)	-16(3)	7(3)
O(3)	94(4)	38(3)	48(3)	7(3)	10(3)	17(3)
O(4)	109(5)	68(4)	45(3)	18(3)	16(3)	15(4)
C(1)	70(6)	49(5)	49(5)	11(4)	-13(4)	2(4)
C(2)	55(5)	38(5)	80(6)	27(5)	6(5)	10(4)
C(3)	46(5)	79(6)	35(4)	4(4)	-6(3)	3(4)
C(4)	35(4)	46(4)	43(4)	-7(4)	-7(3)	-3(3)
C(4A)	20(3)	51(4)	40(4)	7(4)	-6(3)	4(3)
C(4B)	23(4)	49(5)	48(4)	-11(4)	2(3)	-1(3)
N(5)	27(3)	33(3)	39(3)	1(3)	-3(3)	-4(3)
C(6)	29(4)	37(4)	37(4)	-3(3)	0(3)	-14(3)
C(6A)	32(4)	49(4)	22(3)	-1(3)	2(3)	1(3)
C(7)	40(4)	50(5)	35(4)	0(4)	14(3)	-5(4)
C(8)	50(5)	54(5)	49(5)	12(4)	7(4)	5(4)
C(9)	56(5)	81(6)	44(5)	10(5)	-2(4)	-1(5)
C(10)	41(4)	47(4)	42(4)	11(4)	8(4)	3(4)
C(10A)	39(4)	44(4)	29(4)	-1(3)	-2(3)	8(3)
C(10B)	30(4)	29(4)	34(4)	-6(3)	2(3)	-1(3)
C(12A)	44(4)	35(4)	49(5)	-1(4)	5(4)	0(4)
C(11)	33(4)	52(5)	37(4)	-19(4)	6(3)	9(3)
C(12)	52(5)	27(4)	56(5)	4(4)	-2(4)	2(3)
C(13)	92(7)	81(7)	67(6)	22(6)	-13(5)	7(6)
C(14)	42(4)	41(4)	64(5)	-9(4)	-17(4)	0(3)
C(15)	93(7)	53(5)	76(6)	18(5)	-8(5)	19(5)
C(16)	45(4)	38(4)	32(4)	5(3)	8(3)	6(3)
O(5)	50(3)	74(4)	74(4)	18(3)	-16(3)	-10(3)
O(6)	47(3)	60(3)	72(3)	8(3)	-19(3)	-1(3)
O(7)	61(4)	71(4)	56(3)	18(3)	-8(3)	12(3)
O(8)	69(4)	72(4)	66(4)	26(3)	-7(3)	7(3)

O(9)	77(4)	47(3)	48(3)	-7(2)	25(3)	-23(3)
C(1')	41(5)	64(5)	55(5)	1(4)	8(4)	-8(4)
C(2')	36(4)	55(5)	47(5)	-16(4)	-10(4)	13(4)
C(3')	65(5)	46(4)	25(4)	-1(4)	-5(4)	-6(4)
C(4')	41(4)	45(4)	33(4)	-7(3)	-1(3)	3(4)
C(4'A)	41(4)	45(4)	32(4)	-11(3)	5(3)	-10(4)
C(4'B)	31(4)	42(4)	34(4)	-8(4)	1(3)	1(3)
N(5')	38(3)	32(3)	29(3)	1(2)	4(2)	0(3)
C(6')	43(4)	39(4)	30(4)	1(3)	3(3)	1(3)
C(6'A)	64(5)	23(4)	33(4)	2(3)	12(4)	-7(4)
C(7')	46(5)	35(4)	37(4)	-8(3)	-1(4)	3(4)
C(8')	51(5)	45(5)	43(5)	-7(4)	-6(4)	7(4)
C(9')	90(7)	39(4)	45(5)	18(4)	-7(5)	11(5)
C(10')	81(6)	31(4)	41(4)	-3(4)	13(4)	-5(4)
C(10C)	73(6)	26(4)	31(4)	-7(3)	6(4)	-4(4)
C(10D)	38(4)	40(4)	30(4)	-3(3)	1(3)	7(4)
C(11')	52(5)	50(5)	41(4)	0(4)	7(4)	-9(4)
C(12')	46(5)	69(6)	57(5)	-6(4)	13(4)	-14(4)
C(12B)	50(5)	45(4)	35(4)	-11(4)	-1(4)	-8(4)
C(13')	64(6)	80(6)	80(6)	14(5)	-12(5)	1(5)
C(14')	51(5)	45(4)	66(5)	-10(4)	-6(4)	-5(4)
C(15')	71(6)	69(6)	81(6)	18(5)	-14(5)	5(5)
C(16')	46(4)	35(4)	28(4)	-7(3)	-6(3)	-1(3)
C(17)	22(3)	33(4)	42(4)	-10(3)	5(3)	4(3)
C(19)	128(10)	520(30)	34(6)	5(11)	0(6)	157(15)
C(20)	59(5)	82(6)	117(7)	13(6)	-2(5)	-27(5)

---

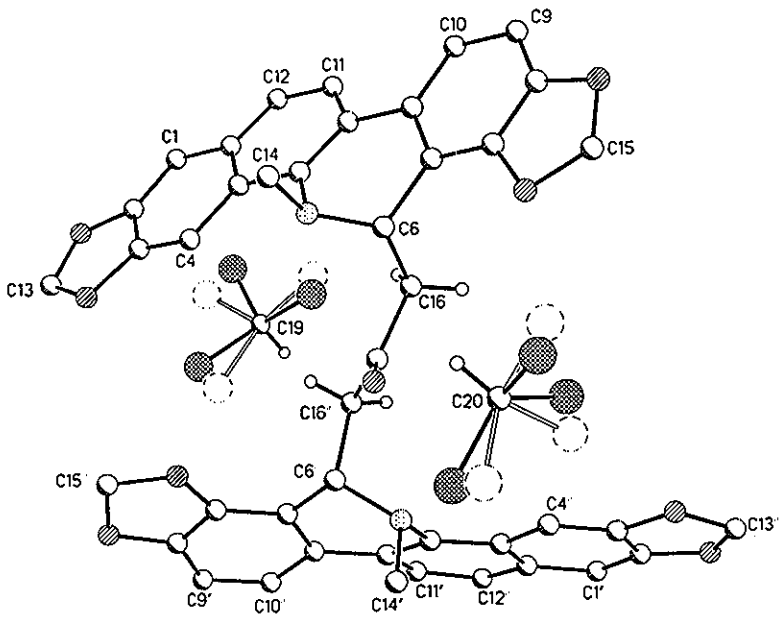
Table 5. Hydrogen coordinates ( $\times 10^4$ ) and isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for AJRAMC.

	x	y	z	U(eq)
H(1)	5240	10533	4294	67
H(4)	4906	7656	3719	49
H(6)	6037	5671	4705	41
H(9)	6647	6686	6774	73
H(10)	6285	7850	6234	52
H(11)	6389	8938	5675	49
H(12)	5895	9999	5136	54
H(13A)	4971	9877	2584	96
H(13B)	3564	9899	2743	96
H(14A)	3968	6531	4966	59
H(14B)	4015	6033	4443	59
H(14C)	3595	7000	4456	59
H(15C)	7714	4104	6033	89
H(15D)	6262	4013	6068	89
H(16A)	7873	6940	4513	46
H(16B)	8233	6022	4719	46
H(1')	14626	5426	3452	64
H(4')	10539	4451	3755	48
H(6')	7581	5656	3009	45
H(9')	8938	7812	1387	69
H(10')	10664	7328	1844	61
H(11')	12144	7150	2449	57
H(12')	13783	6495	2846	68
H(13C)	13724	3686	4815	90
H(13D)	13850	2999	4374	90
H(14D)	9010	4705	2456	65
H(14E)	8425	4255	2937	65
H(14F)	9855	4179	2833	65
H(15A)	5036	6995	1897	88
H(15B)	5363	7823	2218	88
H(16C)	9021	6657	3687	44

H(16D)	7730	7004	3499	44
H(19)	9532	9687	3341	274
H(20)	6748	3954	4375	103

---







### ANEXO III

Datos de Difracción de Rayos X del ácido 20-*epi*-katónico (52).





Table 1. Crystal data and structure refinement for AJ-All-8.

Identification code	AJA-118
Crystal size	0.32 x 0.20 x 0.20 mm
Empirical formula	$C_{30}H_{48}O_3$ with $CH_3OH$
Formula weight	488.73
Temperature	293(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Orthorhombic
Space group	$P2_1^2_12_1$
Unit cell dimensions	$a = 11.0739(12)$ Å $\alpha = 90^\circ$ $b = 14.115(3)$ Å $\beta = 90^\circ$ $c = 18.510(3)$ Å $\gamma = 90^\circ$
Volume	2893.2(8) Å <sup>3</sup>
Z	4
Density (calculated)	1.122 g/cm <sup>3</sup>
Absorption coefficient	0.072 mm <sup>-1</sup>
F(000)	1080
Diffractionmeter used	Siemens P4/PC
System data collection	xscans ver 2.1 (Siemens 1994)
Scan type	$\omega$ scan
Standard reflections	3 every 97 reflections
$\theta$ range for data collection	1.81 to 25.00°
Index ranges	$0 \leq h \leq 13$ , $0 \leq k \leq 16$ , $0 \leq l \leq 22$

### Solution and Refinement

System solution	SHELXS-97 (Sheldrick, 1990)
Reflections collected	2875
Independent reflections	2875 ( $R_{int} = 0.0000$ )
Absorption correction	None
System refinement	SHELXL-97 (Sheldrick, 1997)
Refinement method	Full-matrix least-squares on $F^2$
Weighting scheme	
calc	
Hydrogens atoms	no refined except H on O atoms
Data / restraints / parameters	2875 / 0 / 326
Goodness-of-fit on $F^2$	0.762
Final R indices [ $I > 2\sigma(I)$ ]	$R1 = 0.0486$ , $wR2 = 0.0628$
R indices (all data)	$R1 = 0.1481$ , $wR2 = 0.0765$
Absolute structure parameter	7(3)
Extinction method	SHELXL
Extinction coefficient	0.00193(10)
Extinction expression	$F_c^* = kF_c [1 + 0.001 \times F_c^2 \lambda^3 / \sin(2\theta)]^{-1/4}$
Largest diff. peak and hole	0.154 and -0.181 $e\text{\AA}^{-3}$
Solved by	Simon Hernandez-Ortega

Table 2.. Atomic coordinates [ $\times 10^4$ ] and equivalent isotropic displacement parameters [ $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ] for AJ-A11-8..  $U(\text{eq})$  is defined as one third of the trace of the orthogonalized  $U_{ij}$  tensor.

	x	y	z	U(eq)
C(1)	5411(5)	4553(4)	1521(4)	59(2)
C(2)	5334(6)	3519(4)	1762(4)	64(2)
C(3)	6531(6)	2993(5)	1662(4)	61(2)
C(4)	7571(6)	3465(4)	2059(3)	53(2)
C(5)	7613(5)	4545(4)	1861(3)	46(2)
C(6)	8641(5)	5103(4)	2209(3)	52(2)
C(7)	8873(5)	6027(4)	1778(3)	47(2)
C(8)	7735(6)	6658(4)	1737(3)	42(2)
C(9)	6621(5)	6067(4)	1513(3)	46(2)
C(10)	6407(5)	5109(4)	1933(3)	42(2)
C(11)	5494(5)	6685(4)	1464(3)	56(2)
C(12)	5745(6)	7697(4)	1214(3)	51(2)
C(13)	6817(6)	8072(4)	1097(3)	43(2)
C(14)	7947(5)	7451(4)	1133(3)	42(2)
C(15)	9071(5)	8045(4)	1321(3)	52(2)
C(16)	9130(5)	9052(4)	982(3)	55(2)
C(17)	7975(6)	9624(4)	1150(3)	45(2)
C(18)	6878(5)	9098(4)	843(3)	41(2)
C(19)	6805(5)	9178(3)	9(3)	41(2)
C(20)	6810(6)	10208(4)	-251(3)	54(2)
C(21)	7942(5)	10698(4)	29(3)	59(2)
C(22)	8057(6)	10625(4)	841(3)	56(2)
C(23)	8777(6)	2986(4)	1823(4)	64(2)
C(24)	7456(6)	3281(4)	2886(3)	69(2)
C(25)	5965(5)	5239(4)	2724(3)	58(2)
C(26)	7535(5)	7123(4)	2491(3)	53(2)
C(27)	8151(5)	7031(3)	371(3)	49(2)
C(28)	7827(6)	9732(4)	1980(3)	65(2)
C(29)	6774(5)	10223(4)	-1096(3)	71(2)
C(30)	5680(6)	10719(5)	-10(4)	54(2)
C(31)	1851(9)	938(8)	577(5)	277(9)
O(1)	5621(4)	11537(3)	199(3)	86(2)
O(2)	4690(4)	10192(3)	-79(3)	68(2)
O(3)	6807(6)	2938(3)	912(3)	68(2)
O(4)	2632(5)	1019(5)	146(3)	106(2)

Table 3. Bond lengths [Å] for AJ-A11-8.

---

C(1)-C(2)	1.529(7)	C(1)-C(10)	1.553(7)
C(2)-C(3)	1.530(8)	C(3)-O(3)	1.423(8)
C(3)-C(4)	1.519(8)	C(4)-C(24)	1.558(7)
C(4)-C(23)	1.559(8)	C(4)-C(5)	1.568(7)
C(5)-C(6)	1.527(7)	C(5)-C(10)	1.561(7)
C(6)-C(7)	1.550(7)	C(7)-C(8)	1.545(7)
C(8)-C(9)	1.546(7)	C(8)-C(26)	1.558(7)
C(8)-C(14)	1.599(7)	C(9)-C(11)	1.525(7)
C(9)-C(10)	1.577(7)	C(10)-C(25)	1.556(7)
C(11)-C(12)	1.528(7)	C(12)-C(13)	1.317(7)
C(13)-C(14)	1.528(8)	C(13)-C(18)	1.524(7)
C(14)-C(15)	1.540(7)	C(14)-C(27)	1.548(7)
C(15)-C(16)	1.555(7)	C(16)-C(17)	1.544(7)
C(17)-C(22)	1.527(7)	C(17)-C(18)	1.534(7)
C(17)-C(28)	1.551(7)	C(18)-C(19)	1.550(7)
C(19)-C(20)	1.532(7)	C(20)-C(30)	1.511(8)
C(20)-C(21)	1.523(7)	C(20)-C(29)	1.565(7)
C(21)-C(22)	1.511(7)	C(30)-O(1)	1.220(7)
C(30)-O(2)	1.331(8)	C(31)-O(4)	1.182(9)

---

Table 4. Angles [ $^{\circ}$ ] for AJ-A11-8.

C(2)-C(1)-C(10)	112.3(6)	C(1)-C(2)-C(3)	112.3(6)
O(3)-C(3)-C(4)	109.4(6)	O(3)-C(3)-C(2)	109.3(6)
C(4)-C(3)-C(2)	112.6(6)	C(3)-C(4)-C(24)	109.9(6)
C(3)-C(4)-C(23)	108.9(5)	C(24)-C(4)-C(23)	105.8(6)
C(3)-C(4)-C(5)	109.7(5)	C(24)-C(4)-C(5)	113.1(5)
C(23)-C(4)-C(5)	109.3(5)	C(6)-C(5)-C(10)	109.8(4)
C(6)-C(5)-C(4)	115.2(5)	C(10)-C(5)-C(4)	116.8(5)
C(5)-C(6)-C(7)	109.9(5)	C(8)-C(7)-C(6)	112.0(5)
C(7)-C(8)-C(9)	110.7(4)	C(7)-C(8)-C(26)	108.3(5)
C(9)-C(8)-C(26)	110.8(5)	C(7)-C(8)-C(14)	108.6(5)
C(9)-C(8)-C(14)	107.9(5)	C(26)-C(8)-C(14)	110.5(4)
C(11)-C(9)-C(8)	111.1(5)	C(11)-C(9)-C(10)	113.4(5)
C(8)-C(9)-C(10)	116.8(5)	C(1)-C(10)-C(25)	107.4(5)
C(1)-C(10)-C(5)	108.0(5)	C(25)-C(10)-C(5)	114.1(5)
C(1)-C(10)-C(9)	107.3(5)	C(25)-C(10)-C(9)	114.2(5)
C(5)-C(10)-C(9)	105.5(5)	C(9)-C(11)-C(12)	113.9(5)
C(13)-C(12)-C(11)	126.0(6)	C(12)-C(13)-C(14)	120.0(5)
C(12)-C(13)-C(18)	118.2(6)	C(14)-C(13)-C(18)	121.4(6)
C(13)-C(14)-C(15)	111.1(5)	C(13)-C(14)-C(27)	107.4(5)
C(15)-C(14)-C(27)	107.2(5)	C(13)-C(14)-C(8)	108.2(5)
C(15)-C(14)-C(8)	110.0(5)	C(27)-C(14)-C(8)	112.9(4)
C(14)-C(15)-C(16)	116.1(5)	C(17)-C(16)-C(15)	111.3(5)
C(22)-C(17)-C(18)	110.9(5)	C(22)-C(17)-C(16)	111.1(5)
C(18)-C(17)-C(16)	109.1(4)	C(22)-C(17)-C(28)	106.6(5)
C(18)-C(17)-C(28)	109.3(5)	C(16)-C(17)-C(28)	109.8(5)
C(13)-C(18)-C(17)	112.4(5)	C(13)-C(18)-C(19)	112.0(5)
C(17)-C(18)-C(19)	112.1(5)	C(20)-C(19)-C(18)	112.4(5)
C(30)-C(20)-C(21)	111.4(5)	C(30)-C(20)-C(19)	110.9(6)
C(21)-C(20)-C(19)	109.1(5)	C(30)-C(20)-C(29)	105.5(5)
C(21)-C(20)-C(29)	110.8(6)	C(19)-C(20)-C(29)	109.0(5)
C(22)-C(21)-C(20)	112.2(5)	C(21)-C(22)-C(17)	115.5(5)
O(1)-C(30)-O(2)	121.0(7)	O(1)-C(30)-C(20)	126.1(7)
O(2)-C(30)-C(20)	112.8(6)		

Table 5. Anisotropic displacement parameters [ $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ] for AJ-A11-8.

The anisotropic displacement factor exponent takes the form:

$$-2\pi^2 [ (h a^*)^2 U_{11} + \dots + 2h k a^* b^* U_{12} ]$$

	U11	U22	U33	U23	U13	U12
C(1)	35(4)	57(5)	84(5)	19(4)	-1(4)	-6(4)
C(2)	56(5)	62(4)	74(5)	4(4)	-14(4)	-19(4)
C(3)	56(5)	47(4)	79(6)	17(4)	-9(5)	-2(4)
C(4)	53(5)	57(4)	50(4)	4(4)	-3(4)	-6(4)
C(5)	43(4)	41(4)	54(4)	2(3)	-3(4)	6(3)
C(6)	34(4)	60(5)	61(5)	-3(4)	-4(4)	5(4)
C(7)	39(4)	40(4)	60(4)	-9(4)	-2(4)	6(4)
C(8)	26(4)	49(4)	51(4)	-9(3)	-10(3)	0(3)
C(9)	28(4)	58(4)	51(4)	7(4)	-1(3)	5(4)
C(10)	31(4)	54(4)	41(4)	4(4)	-2(3)	-3(3)
C(11)	30(4)	62(5)	77(5)	9(4)	1(4)	-4(4)
C(12)	46(5)	53(4)	54(5)	1(4)	3(4)	15(4)
C(13)	31(4)	45(4)	52(4)	-6(3)	-8(4)	-4(3)
C(14)	28(4)	51(4)	47(4)	-1(3)	-8(3)	-6(3)
C(15)	39(4)	47(4)	71(5)	1(4)	2(4)	7(4)
C(16)	31(4)	64(5)	70(5)	-5(4)	4(4)	-6(4)
C(17)	39(4)	42(4)	54(4)	2(3)	-9(4)	2(4)
C(18)	36(4)	38(4)	50(4)	-6(3)	6(4)	-3(3)
C(19)	38(4)	37(4)	49(4)	-5(3)	-1(4)	1(3)
C(20)	46(4)	63(5)	54(5)	4(4)	-10(4)	-9(4)
C(21)	51(5)	49(5)	76(5)	11(4)	-5(5)	-11(4)
C(22)	60(5)	53(4)	56(4)	-6(4)	-11(4)	-2(4)
C(23)	58(5)	43(4)	91(6)	-11(4)	0(5)	0(4)
C(24)	70(5)	66(5)	70(5)	20(4)	1(5)	4(4)
C(25)	50(4)	56(4)	66(5)	9(4)	3(4)	-2(4)
C(26)	48(4)	56(4)	53(4)	4(4)	-2(4)	2(4)
C(27)	43(4)	50(4)	53(4)	-6(3)	6(4)	2(4)
C(28)	76(6)	56(4)	62(5)	-16(4)	-20(5)	5(4)
C(29)	52(4)	105(6)	58(5)	17(4)	7(4)	-19(5)
C(30)	50(5)	68(5)	43(4)	13(4)	-13(4)	-3(4)
C(31)	189(16)	520(30)	123(11)	150(14)	-7(10)	100(19)
O(1)	59(3)	56(3)	144(5)	-18(4)	-29(4)	-6(3)
O(2)	52(3)	56(3)	95(5)	-6(3)	4(3)	-2(3)
O(3)	89(4)	55(3)	61(4)	-6(3)	-3(3)	-7(3)
O(4)	70(4)	143(5)	106(6)	46(4)	42(4)	38(4)

Table 6. Hydrogen coordinates ( $\times 10^4$ ) and isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for AJ-A11-8.

	x	y	z	U(eq)
H(1A)	4638	4857	1602	70
H(1B)	5580	4575	1007	70
H(2A)	4711	3200	1486	76
H(2B)	5105	3496	2268	76
H(3A)	6438	2347	1849	73
H(5)	7796	4556	1343	56
H(6A)	9369	4721	2215	62
H(6B)	8432	5258	2704	62
H(7A)	9520	6379	2007	56
H(7B)	9131	5866	1293	56
H(9)	6785	5874	1014	55
H(11A)	5112	6707	1935	68
H(11B)	4930	6393	1131	68
H(12)	5079	8086	1137	61
H(15A)	9781	7695	1168	63
H(15B)	9113	8109	1842	63
H(16A)	9827	9386	1171	66
H(16B)	9226	8997	463	66
H(18)	6160	9415	1036	49
H(19A)	7485	8847	-203	49
H(19B)	6072	8871	-157	49
H(21A)	8646	10413	-194	70
H(21B)	7921	11360	-108	70
H(22A)	7427	11007	1059	67
H(22B)	8827	10896	983	67
H(23A)	8896	3079	1314	77
H(23B)	8741	2320	1926	77
H(23C)	9436	3265	2084	77
H(24A)	8118	3578	3133	82
H(24B)	7471	2612	2976	82
H(24C)	6709	3541	3058	82
H(25A)	6567	5575	2996	69
H(25B)	5831	4629	2939	69
H(25C)	5225	5593	2726	69
H(26A)	6835	7523	2474	63
H(26B)	8230	7496	2616	63
H(26C)	7419	6638	2847	63
H(27A)	8858	6637	376	59
H(27B)	8261	7536	30	59
H(27C)	7462	6659	234	59
H(28A)	7106	10085	2081	78
H(28B)	8513	10061	2173	78
H(28C)	7770	9116	2197	78
H(29A)	7479	9913	-1283	86
H(29B)	6755	10867	-1262	86
H(29C)	6064	9898	-1262	86
H(31A)	1413	363	486	60
H(31B)	1311	1469	541	60
H(31C)	2193	917	1053	60



H(2)	4300(60)	10460(50)	180(40)	81
H(3)	6760(70)	2480(40)	690(30)	82
H(4)	3040(70)	1520(40)	-200(40)	127

---

Table 7. Intramolecular and Intermolecular hydrogen bond.

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
O(2)-H(2)...O(4)#1	0.75(6)	2.02(7)	2.594(7)	134(7)
O(3)-H(3)...O(1)#2	0.77(5)	2.04(6)	2.716(6)	146(8)
O(4)-H(4)...O(3)#3	1.05(6)	2.04(7)	2.615(8)	111(5)

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1  $x, y+1, z$     #2  $x, y-1, z$     #3  $x-1/2, -y+1/2, -z$

