



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**ANÁLISIS QUÍMICO DE *Santolina chamaecyparissus* L.
(Asteraceae), UNA PLANTA DE INTERÉS MEDICINAL.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA

LAURA NAVARRO ESTEFES



MÉXICO, CDMX.

2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesora: MARÍA ISABEL AGUILAR LAURENTS
VOCAL: Profesora: ISABEL DEL CARMEN RIVERO CRUZ
SECRETARIO: Profesora: MABEL CLARA FRAGOSO SERRANO
1er. SUPLENTE: Profesor: MARIO ALBERTO FIGUEROA SALDIVAR
2do. SUPLENTE: Profesor: MANUEL EDUARDO RANGEL GRIMALDO

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO 111, DEPARTAMENTO DE FARMACIA, CONJUNTO E, DIVISIÓN DE
POSGRADO DE LA FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.

ASESOR DEL TEMA:

DRA. MARÍA ISABEL AGUILAR LAURENTS

SUSTENTANTE:

LAURA NAVARRO ESTEFES

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y a la Facultad de Química por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de licenciatura.

A la Dra. María Isabel Aguilar Laurents por la confianza, enseñanzas, consejos y el apoyo incondicional que me brindó tanto en el desarrollo de este trabajo, como a lo largo del servicio social y estancia estudiantil.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM (DGAPA), por la beca otorgada a través del proyecto IN 225017, a cargo de la Dra. María Isabel Aguilar Laurents.

A los honorables miembros del jurado por sus valiosos comentarios para la corrección de este trabajo.

Al Dr. Andrés Navarrete Castro por el apoyo para la realización del ensayo biológico.

Al M. en C. Ramiro Ríos Gómez de la Unidad de Integración en Sistemática Vegetal y Suelo, FES Zaragoza, UNAM, por sus valiosos comentarios respecto de este trabajo.

Al personal técnico de la Unidad de Servicios Analíticos e Instrumentales (USAI), FQ, UNAM, por el registro de los espectros para el análisis de espectroscopia y espectrometría: M. en C. Rosa Isela del Villar, M. en C. Nayeli López Balbiaux, Q. Alejandrina Costa Huerta, Q. Georgina Duarte Lisci y Q. Marisela Gutiérrez.



ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	IV
LISTA DE TABLAS	VII
LISTA DE FIGURAS	VIII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 Familia Asteraceae	2
2.2 Características del género <i>Santolina</i>	2
2.2.1 Género <i>Santolina</i>	2
2.2.2 Distribución y hábitat	3
2.2.3 Composición química	3
2.3 Características de la especie <i>Santolina chamaecyparissus L.</i>	8
2.3.1 Clasificación taxonómica	8
2.3.2 Descripción	8
2.3.3 Nombres comunes	8
2.3.4 Usos	9
2.3.5 Antecedentes farmacológicos	10
2.3.5.1 Actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora	10
2.3.5.2 Actividad antiespasmódica	11
2.3.5.3 Actividad analgésica	11
2.3.5.4 Actividad antimicrobiana	12
2.3.5.5 Actividad citotóxica	12
2.4 Terpenos	12
2.4.1 Rutas biosintéticas	12
2.4.2 Monoterpenos	13
2.4.3 Sesquiterpenos	15
2.4.4 Triterpenos	15
3. JUSTIFICACIÓN	17
4. OBJETIVOS	18
4.1 Objetivo general	18
4.2 Objetivos particulares	18



5. PARTE EXPERIMENTAL	19
5.1 Material y equipo utilizado	19
5.2 Recolección e Identificación del material vegetal.....	20
5.3 Extracción	20
5.3.1 Desecación y Fragmentación.....	20
5.3.2 Obtención de los extractos orgánicos.....	20
5.3.3 Obtención del aceite esencial	21
5.4 Análisis químico del extracto de acetona	21
5.4.1 Fraccionamiento cromatográfico.....	21
5.4.2 Aislamiento y purificación de los metabolitos secundarios mayoritarios del extracto de acetona	22
5.4.2.1 Aislamiento y purificación de la 5,7-dihidroxi-4',6-dimetoxiflavona (pectolinaringenina)	22
5.4.2.2 Aislamiento y purificación del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol.....	23
5.4.2.3 Aislamiento y purificación del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol.....	23
5.4.2.4 Aislamiento y purificación del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno.....	23
5.4.2.5 Aislamiento y purificación del glucósido de β -sitosterol	23
5.5 Ensayo biológico. Determinación de la actividad antiespasmódica de los extractos en tráquea de cobayo.....	24
5.5.1 Reactivos	24
5.5.2 Material biológico	24
5.5.3 Disección de la tráquea y estabilización del tejido	24
5.5.4 Evaluación de la relajación.....	25
5.5.5 Procesamiento de los datos	25
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
6.1 Identificación de los compuestos presentes en el aceite esencial	26
6.2 Análisis químico del extracto de acetona	28
6.2.1 Aislamiento e identificación de la 5,7-dihidroxi-4',6-dimetoxiflavona (pectolinaringenina) (8)	28
6.2.2 Aislamiento e identificación del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (9)	30
6.2.3 Aislamiento e identificación del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (10).....	32
6.2.4 Aislamiento e identificación del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11).....	34
6.2.5 Aislamiento e identificación del glucósido de β -sitosterol (12)	36



6.3 Evaluación de la actividad antiespasmódica de los extractos en tráquea de cobayo	37
7. CONCLUSIONES	38
8. PERSPECTIVAS	38
9. REFERENCIAS	39
10. ANEXOS	44



LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
AcOEt	Acetato de etilo
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
MVA	Ácido mevalónico
NaHCO ₃	Bicarbonato de sodio
Hep-G2	Células cancerosas de hígado humano
cm	Centímetro
CHCl ₃	Cloroformo
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CaCl ₂ •2H ₂ O	Cloruro de calcio dihidratado
KCl	Cloruro de potasio
NaCl	Cloruro de sodio
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
CG	Cromatografía de gases
DOXP	1-desoxi-D-xilulosa-5-fosfato
DXR	Desoxixilulosa fosfato reductoisomerasa
DXS	Desoxixilulosa fosfato sintetasa
δ	Desplazamiento químico
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
CO ₂	Dióxido de carbono
KHS	Disolución de Krebs-Henseleit
dd	Doble de doble
d	Doblete
DE ₅₀	Dosis efectiva media
EM	Espectrometría de masas
HSQC	Espectroscopía bidimensional de correlación única heteronuclear a un enlace (¹ H- ¹³ C)



COSY	Espectroscopía bidimensional de correlación homonuclear (^1H - ^1H)
HMBC	Espectroscopía bidimensional de correlación heteronuclear a varios enlaces (^1H - ^{13}C)
NOESY	Espectroscopía bidimensional incrementada por el efecto nuclear Overhauser
fMLP	Formil metionil-leucil-fenilalanina
NaH_2PO_4	Fosfato de sodio dihidrogenado
MEP	Fosfato de metileritritol
PLA_2	Fosfolipasa A_2
G3P	Gliceraldehído 3-fosfato
$^\circ\text{C}$	Grado centígrado
g	Gramo
H	Hidrógeno
HMGC _o A	3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A
Hz	Hertz
h	Horas
IR	Infrarrojo
Int. rel.	Intensidad relativa
M^+	Ion molecular
kg	Kilogramo
MHz	Megahertz
MeOH	Metanol
CD_3OD	Metanol deuterado
μg	Microgramo
μM	Micromolar
mg	Miligramo
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Milimolar
min	Minuto



m	Multiplete
nm	Nanómetro
OMS	Organización Mundial de la Salud
O ₂	Oxígeno
DMAPP	Pirofosfato de dimetil alilo
FPP	Pirofosfato de farnesilo
GPP	Pirofosfato de geranilo
GGPP	Pirofosfato de geranil geranilo
IPP	Pirofosfato de isopentenilo
LPP	Pirofosfato de linalilo
NPP	Pirofosfato de nerilo
p.f.	Punto de fusión
<i>m/z</i>	Relación masa/carga
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	Singulete
s a	Singulete ancho
(NH ₄) ₄ Ce(SO ₄) ₄ •2H ₂ O	Sulfato cérico amoniacal
MgSO ₄ •7H ₂ O	Sulfato de magnesio heptahidratado
TMS	Tetrametilsilano
t _R	Tiempo de retención
UV	Ultravioleta

**LISTA DE TABLAS**

Tabla 1.	Principales compuestos secundarios aislados del género <i>Santolina</i> .	4
Tabla 2.	Clasificación botánica de la especie <i>Santolina chamaecyparissus</i> L.	8
Tabla 3.	Fraccionamiento cromatográfico del extracto de acetona.	21
Tabla 4.	Compuestos detectados en la fracción volátil de las partes aéreas de <i>S. chamaecyparissus</i> .	27
Tabla 5.	Datos espectroscópicos de la pectolinaringenina.	28
Tabla 6.	Datos espectroscópicos del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol.	31
Tabla 7.	Datos espectroscópicos del germacr-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol.	32
Tabla 8.	Datos espectroscópicos y espectrométricos del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno.	34



LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Compuestos mayoritarios presentes en el aceite esencial de algunas especies del género <i>Santolina</i> .	3
Figura 2.	<i>Santolina chamaecyparissus</i> L. (Asteraceae).	9
Figura 3.	Estructura del IPP y DMAPP.	12
Figura 4.	Rutas biosintéticas de terpenos en las plantas.	14
Figura 5.	Estructuras del GPP, LPP y NPP.	13
Figura 6.	Estructuras del FPP con sus isómeros <i>E</i> , <i>Z</i> y pirofosfato de nerolidilo.	15
Figura 7.	Estructura del escualeno, cicloartenol, lanosterol y catión dammarenilo.	16
Figura 8.	Cromatograma de gases de la fracción volátil de las partes aéreas de <i>S. chamaecyparissus</i> .	26
Figura 9.	Estructura de la 5,7-dihidroxi-4',6-dimetoxiflavona (pectolinaringenina) y principales correlaciones observadas en el espectro HMBC.	28
Figura 10.	Estructura del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol y principales correlaciones observadas en el espectro HMBC.	30
Figura 11.	Estructura del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol y principales correlaciones observadas en el espectro HMBC.	32
Figura 12.	Estructura del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno y principales correlaciones observadas en el espectro HMBC.	34
Figura 13.	Estructura del glucósido de β -sitosterol.	36
Figura 14.	Evaluación de la actividad relajante de los extractos de <i>S. chamaecyparissus</i> .	37
Figura 15.	Espectro de masas por impacto electrónico del (1 <i>R</i>)-1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ona (alcanfor) (1).	44
Figura 16.	Espectro de masas por impacto electrónico del <i>cis-p</i> -ment-2-en-7-ol (2).	44
Figura 17.	Espectro de masas por impacto electrónico del 1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ol (borneol) (3).	45
Figura 18.	Espectro de masas por impacto electrónico del 4-metil-1-(1-metiletil)-3-ciclohexen-1-ol (4-terpineol) (4).	45



- Figura 19.** Espectro de masas por impacto electrónico del 2,6,6,9-trimetiltriciclo[5.4.0.0(2,8)]undec-9-eno (α -longipineno) (5). 46
- Figura 20.** Espectro de masas por impacto electrónico del 4,4,11,11-tetrametil-7-tetraciclo[6.2.1.0(3.8)0(3.9)]undecanol (6). 46
- Figura 21.** Espectro de masas por impacto electrónico del 2,6,6,11-tetrametiltriciclo[5.4.0.0(2,8)]undec-10-en-9-ona (longiverbenona) (7). 47
- Figura 22.** Espectro en el IR de la pectolinaringenina (8). 48
- Figura 23.** Espectro en el UV de la pectolinaringenina (8). 49
- Figura 24.** Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CD₃OD) de la pectolinaringenina (8). 50
- Figura 25.** Espectro 1 de RMN-¹³C (400 MHz, CD₃OD) de la pectolinaringenina (8). 51
- Figura 26.** Espectro 2 de RMN-¹³C (400 MHz, CD₃OD) de la pectolinaringenina (8). 52
- Figura 27.** Espectro HSQC (400 MHz, CD₃OD) de la pectolinaringenina (8). 53
- Figura 28.** Espectro COSY (400 MHz, CD₃OD) de la pectolinaringenina (8). 54
- Figura 29.** Espectro HMBC (400 MHz, CD₃OD) de la pectolinaringenina (8). 55
- Figura 30.** Espectro NOESY (400 MHz, CD₃OD) de la pectolinaringenina (8). 56
- Figura 31.** Espectro en el IR del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (9). 57
- Figura 32.** Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CD₃OD) del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (9). 58
- Figura 33.** Espectro de RMN-¹³C (400 MHz, CD₃OD) del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (9). 59
- Figura 34.** Espectro HSQC (400 MHz, CD₃OD) del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (9). 60
- Figura 35.** Espectro COSY (400 MHz, CD₃OD) del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (9). 61
- Figura 36.** Espectro HMBC (400 MHz, CD₃OD) del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (9). 62
- Figura 37.** Espectro NOESY (400 MHz, CD₃OD) del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (9). 64
- Figura 38.** Espectro en el IR del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (10). 65
- Figura 39.** Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CD₃OD) del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (10). 66



- Figura 40.** Espectro de RMN-¹³C (400 MHz, CD₃OD) del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (10). 67
- Figura 41.** Espectro HSQC (400 MHz, CD₃OD) del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (10). 68
- Figura 42.** Espectro COSY (400 MHz, CD₃OD) del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (10). 69
- Figura 43.** Espectro HMBC (400 MHz, CD₃OD) del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (10). 70
- Figura 44.** Espectro NOESY (400 MHz, CD₃OD) del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (10). 71
- Figura 45.** Cromatograma de gases de la fracción Sca9. 72
- Figura 46.** Espectro de masas del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11). 73
- Figura 47.** Espectro en el IR del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11). 74
- Figura 48.** Espectro en el UV del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11). 75
- Figura 49.** Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11). 76
- Figura 50.** Espectro de RMN-¹³C (400 MHz, CDCl₃) del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11). 77
- Figura 51.** Espectro HSQC (400 MHz, CDCl₃) del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11). 78
- Figura 52.** Espectro COSY (400 MHz, CDCl₃) del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11). 79
- Figura 53.** Espectro HMBC (400 MHz, CDCl₃) del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11). 80
- Figura 54.** Espectro NOESY (400 MHz, CDCl₃) del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11). 81
- Figura 55.** Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CD₃OD) del glucósido de β-sitosterol (12). 82



1. INTRODUCCIÓN

El ser humano desde su existencia ha procurado su bienestar y gran parte lo ha encontrado en la naturaleza, buscando en la flora de su entorno plantas que le ayuden a tratar sus problemas de salud (Cortéz-Gallardo *et al.*, 2004; Villarreal *et al.*, 2014). Este conocimiento adquirido de una forma empírica se ha ido transmitiendo de generación en generación, por lo que es necesario aplicar el método científico de manera interdisciplinaria para el estudio de las plantas que actualmente están siendo utilizadas como medicinales (Osuna-Torres *et al.*, 2005).

Actualmente, las plantas constituyen un recurso valioso en los sistemas de salud de los países en desarrollo (Akerle., 1993). Aunque no se cuenta con datos precisos sobre el uso mundial de plantas medicinales, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que 80 % de la población de los países en desarrollo recurre a este tipo de medicina alternativa o complementaria para satisfacer sus necesidades médicas, por lo que este porcentaje aumenta cada año (Beyra *et al.*, 2004).

Con base en la importancia taxonómica, México ocupa el segundo lugar a nivel mundial en cuanto al número de plantas medicinales registradas, con 4500 plantas (Muñetón-Pérez., 2009). Sin embargo, se estima que la validación química, farmacológica y biomédica de los principios activos que contienen se ha llevado a cabo sólo en aproximadamente 5% de estas especies. También hay que considerar que una sola planta medicinal puede contener diversos principios activos, lo que indica que existe gran complejidad y riqueza bioquímica en la naturaleza (Ocegueda *et al.*, 2005).

En esta tesis se presenta el análisis químico de la especie *Santolina chamaecyparissus* L. la cual ha sido introducida a nuestro país con fines ornamentales, sin embargo, con base en estudios previos se ha encontrado que dicha especie se ha utilizado en los países del Mediterráneo con fines medicinales.



2. ANTECEDENTES

2.1 Familia Asteraceae

La familia Asteraceae, también denominada Compositae, es el grupo vegetal más diverso de plantas vasculares sobre el planeta. A nivel mundial se estima que la riqueza de esta familia varía entre 24,000 y 30,000 especies, agrupadas entre 1,600 y 1,700 géneros. Su distribución es cosmopolita, por lo que se encuentran en la mayor parte de los hábitats. Sus miembros son reconocidos por sus inflorescencias dispuestas en capítulos (flores sobre un receptáculo rodeado por brácteas), con cáliz modificado en un vilano, sus flores son gamopétalas y por lo general pentámeras (García-Sánchez *et al.*, 2014; Funk *et al.*, 2009).

2.2 Características del género *Santolina*

2.2.1 Género *Santolina*

Debido a que han sido pocos los autores que han estudiado desde el punto de vista botánico este género, su clasificación taxonómica ha sido diversa. En este género se agrupan más de 10 especies (Derbesy *et al.*, 1989), entre las que destacan: *Santolina oblongifolia* Boiss, *S. elegans* Boiss, *S. viscosa* Lag., *S. pinnata* Viviani, *S. chamaecyparissus* L. (subsp. *chamaecyparissus*, subsp. *incana*, subsp. *squarrosa*, subsp. *insularis* y subsp. *tomentosa*) y *S. rosmarinifolia* L. (subsp. *rosmarinifolia*, subsp. *melidensis*). Por otra parte, *S. pectinata*, *S. canescens*, *S. virens* Mill (también llamada *S. viridis*), *S. semidentata* y *S. ageratifolia* se han sinonimizado como *S. rosmarinifolia* L. haciendo referencia a subespecies de ésta última (López-Udías *et al.*, 2002). También se han reportado especies como *S. africana* Jord. & Fourr. endémica del Norte de África (Zaiter *et al.*, 2015) y *S. corsica* Jord. & Fourr. endémica de Córcega (Francia) y Cerdeña (Italia) (Arrigoni, 1979).



2.2.2 Distribución y hábitat

El género *Santolina* es originario de Europa meridional, crece silvestre en la parte centro-occidental de la región mediterránea; es frecuente en la Península Ibérica y en el Norte de África. Se desarrolla en laderas pedregosas y arcillosas, en suelos calcáreos y silíceos, desde el nivel del mar hasta los 2000 metros de altitud. Desde el punto de vista ecológico, es un género caméfito, basófilo y subnitrófilo (Giner-Pons *et al.*, 2000; Lam *et al.*, 1989; López-Udías *et al.*, 2002). En cultivo, se utiliza con fines ornamentales principalmente en América del Norte (Villarino, 1999).

2.2.3 Composición química

Las especies del género *Santolina* contienen una gran diversidad de compuestos volátiles y sus aceites esenciales son altamente aromáticos. Entre los compuestos mayoritarios detectados en las esencias se encuentran monoterpenos hidrocarbonados y monoterpenos oxigenados, algunos de los cuales se muestran en la Figura 1 (Teixeira da Silva, 2004; Palá-Paúl *et al.*, 2001).

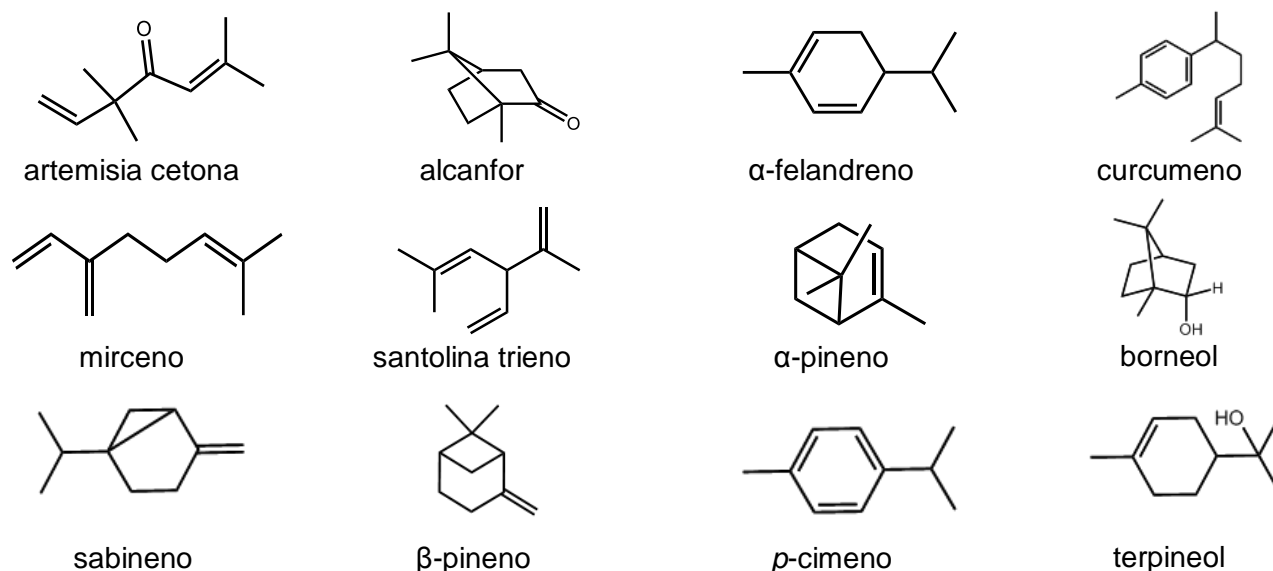


Figura 1. Compuestos mayoritarios presentes en el aceite esencial de algunas especies del género *Santolina*.



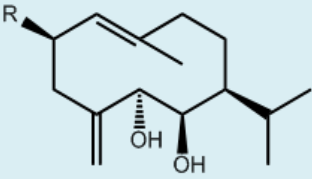
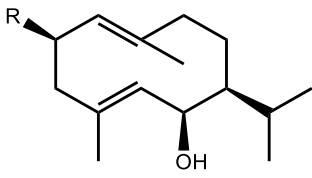
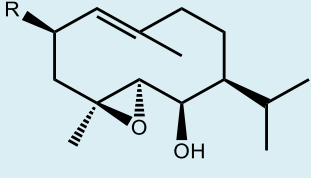
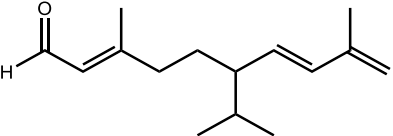
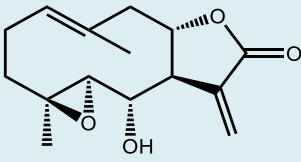
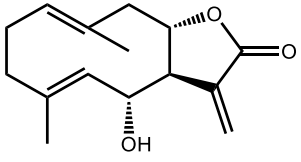
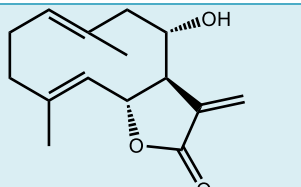
Además, de estas especies se han aislado compuestos de tipo sesquiterpeno con núcleos de germacrano y eudesmano, flavonoides, acetilenos heterocíclicos y tipo éter espiroacetalenol, cumarinas, esteroides como el β -sitosterol y triterpenos de tipo dammarano y friedelano.

En la Tabla 1 se resumen los metabolitos secundarios aislados de diferentes especies del género *Santolina*.

Tabla1. Principales compuestos secundarios aislados del género *Santolina*.

SESQUITERPENOS		
Nombre	Estructura	Especie y Referencia
(E,5R,6R,7S)-5,6-dihidroxigermacra-1(10),4(15)-dien-2-ona		<i>S. chamaecyparissus</i> L. (Marco <i>et al.</i> , 1993)
(1R,2R,5R,6R,7S)-germacra-4(15),10(14)-dien-1,2,5,6-tetraol		
(1S,2R,5R,6R,7S)-5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol		
(E,1S,4S,7S,8S)-germacra-5,10(14)-dien-1,4,8-triol		
Ácido (1ξ,2ξ,7S)-1,2-dihidroxi-5,6-seco-germacra-4(15),10(14)-dien-5,6-dioico-5,2-lactona		

**Tabla 1.** Principales compuestos secundarios aislados del género *Santolina* (cont.).

SESQUITERPENOS		
Nombre	Estructura	Especie y Referencia
1). R=OH (E, 2R,5R,6R,7S)-germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol 2). R=H (E)-7 α H-germacra-1(10),4(15)-dieno-5 α ,6 β -diol		1). <i>S. chamaecyparissus</i> L. (Marco <i>et al.</i> , 1993) (Sala <i>et al.</i> , 2000) 2). <i>S. rosmarinifolia</i> subsp <i>canescens</i> (Barrero <i>et al.</i> , 1999).
1). R=OH germacra-1(10)E,4E-dien-2 β ,6 β -diol 2). R=H (1E,4E)-7 α H-germacra-1(10),4-dien-6 β -ol		1). <i>S. chamaecyparissus</i> L. (Sanz <i>et al.</i> , 1991) (Marco <i>et al.</i> , 1993) 2). <i>S. rosmarinifolia</i> subsp <i>canescens</i> (Barrero <i>et al.</i> 1999)
1). R=OH (7S)-4 β ,5 α -epoxigermacr-1(10)E-en-2 β ,6 β -diol 2). R=H Shiromool		1). <i>S. chamaecyparissus</i> L. (Sanz <i>et al.</i> , 1991) (Marco <i>et al.</i> , 1993) (Sala <i>et al.</i> , 2000) 2). <i>S. rosmarinifolia</i> subsp <i>canescens</i> (Barrero <i>et al.</i> , 1999)
3,9-dimetil-6-isopropil-2(E),7(E),9-decatrional		<i>S. corsica</i> Jordan & Fourr (Ferrari <i>et al.</i> , 2005).
4 β ,5 α -epoxi-6 α -hidroxigermacra-1(10),11(13)-dien-8 α ,12-ólida		<i>S. rosmarinifolia</i> subsp. <i>canescens</i> (Barrero <i>et al.</i> , 1988).
Chamisellina		
Chamisantina		

**Tabla 1.** Principales compuestos secundarios aislados del género *Santolina* (cont.).

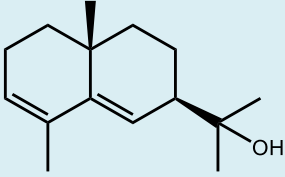
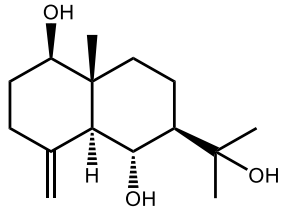
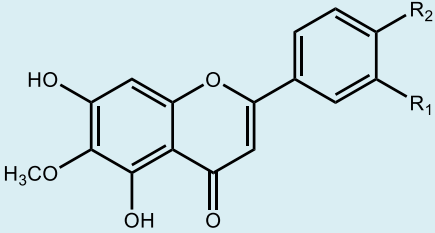
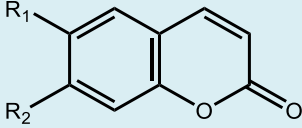
SESQUITERPENOS		
Nombre	Estructura	Especie y Referencia
7 α H-10 β metil-eudesma-3,5-dien-11-ol		<i>S. rosmarinifolia</i> subsp. <i>canescens</i> (Barrero <i>et al.</i> , 1988)
7 α H-10 β metil-eudesma-4(15)-en-1,6,11-triol		
FLAVONOIDES		
Nombre	Estructura	Especie y Referencia
Pectolinarigenina R ₁ =H R ₂ =OCH ₃		<i>S. chamaecyparissus</i> L. (Becchi, 1980) (Sala <i>et al.</i> , 2000)
Hispidulina R ₁ =H R ₂ =OH		
Nepetina R ₁ =R ₂ =OH		
Jaceosidina R ₁ =OCH ₃ R ₂ =OH		
CUMARINAS		
Nombre	Estructura	Especie y Referencia
Herniarina R ₁ =H R ₂ =OCH ₃		<i>S. oblongifolia</i> (Silván <i>et al.</i> , 1996).
Esculetina R ₁ =R ₂ =OH		
Escopolina R ₁ =OCH ₃ R ₂ =OGlu		
Escopoletina R ₁ =OCH ₃ R ₂ =OH		

Tabla 1. Principales compuestos secundarios aislados del género *Santolina* (cont.).

DERIVADOS ACETILÉNICOS		
Nombre	Estructura	Especie y Referencia
<p>R=H (E)-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno</p> <p>R=OH (E)-4-hidroxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno</p>	<p>CH₃(C≡C)₂CH=</p>	<p><i>S. chamaecyparissus</i> L. (Lam <i>et al.</i>, 1989)</p> <p><i>S. rosmarinifolia</i> subsp. <i>canescens</i> y subsp. <i>rosmarinifolia</i> (Maqua <i>et al.</i>, 1988) (Barrero <i>et al.</i>, 1999)</p> <p><i>S. corsica</i> Jordan & Fourr (Ferrari <i>et al.</i>, 2005)</p> <p><i>S. oblongifolia</i> (De Pascual Teresa <i>et al.</i>, 1986)</p>
<p>R=H R=COH R=CH₂OH</p>	<p>Z/E</p>	<p><i>S. chamaecyparissus</i> L. (Lam <i>et al.</i>, 1989)</p> <p><i>S. corsica</i> Jordan & Fourr (Ferrari <i>et al.</i>, 2005)</p> <p><i>S. oblongifolia</i> (De Pascual Teresa <i>et al.</i>, 1986)</p>

ESTEROLES Y TRITERPENOS		
Nombre	Estructura	Especie y Referencia
3-β-D-glucósido de β-sitosterilo (daucosterol)		<p><i>S. chamaecyparissus</i> L (Rios <i>et al.</i>, 1989)</p>
dammaradienol		<p><i>S. corsica</i> Jordan & Fourr (Ferrari <i>et al.</i>, 2005)</p>
friedelina R ₁ , R ₂ =O		<p><i>S. oblongifolia</i> (De Pascual Teresa <i>et al.</i>, 1986)</p>
3-epifriedelinol R ₁ =OH R ₂ =H		



2.3 Características de la especie *Santolina chamaecyparissus* L.

2.3.1 Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica se obtuvo de la referencia *Integrated Taxonomic Information System* y se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Clasificación botánica de la especie *Santolina chamaecyparissus* L.

Reino	Plantae
Subreino	Viridiplantae
División	Tracheophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Género	<i>Santolina</i>
Especie	<i>Santolina chamaecyparissus</i> L

2.3.2 Descripción

Santolina chamaecyparissus L. (Figura 2) es una planta perenne, subarborescente, muy aromática, con numerosos tallos leñosos rectos o ascendentes, que pueden alcanzar de 20 a 60 cm de altura. Las hojas son de color verde a cano-tomentosas, angostas, lineales, muy divididas, no superiores a 2 mm de longitud dispuestas en varias filas. Los capítulos son terminales, hemisféricos, sobre pedúnculos un poco hinchados en el vértice. Las flores son amarillas, tubuladas, gamopétalas y pentámeras (Giner-Pons, 2000).

2.3.3 Nombres comunes

En el área Mediterránea *S. chamaecyparissus* es denominada popularmente como: abrotano hembra, camamilla, cipresillo, guardarropa, hierba de San Juan, lombriguera,



manzanillera, manzanilla amarga, manzanilla de Mahón, manzanilla del campo, manzanilla del Pirineo, entre otras (Giner-Pons, 2000; De Santaya *et al.*, 2006).



Figura 2. *Santolina chamaecyparissus* L. (Asteraceae).

2.3.4 Usos

Santolina, etimológicamente significa “planta santa”, lo que hace referencia a sus propiedades medicinales. Las partes de la planta utilizadas como droga cruda son los capítulos florales, aunque también se emplean los tallos con hojas como infusiones, tanto para administración oral como para uso externo.

Se le han atribuido propiedades analgésicas, antiinflamatorias, antisépticas, antiespasmódicas, antibacteriales, antifúngicas, antihelmínticas, digestivas, carminativas, vulnerarias, emenagogas, expectorantes y cicatrizantes. También es utilizada en fitoterapia para diferentes tipos de dermatitis y en baños oculares se emplea como tratamiento para la conjuntivitis, blefaritis y diferentes procesos oculares irritativos.

Otros usos son: en cosmética se utiliza para aclarar el cabello, el aceite esencial se utiliza en perfumería, las flores y hojas se colocan entre la ropa contra las polillas y se utiliza como planta ornamental (Giner-Pons, 2000; Teixeira da Silva, 2004).



2.3.5 Antecedentes farmacológicos

Se han realizado varios estudios farmacológicos de la especie *S. chamaecyparissus* L., lo que ha permitido confirmar experimentalmente las propiedades medicinales atribuidas a esta planta.

2.3.5.1 Actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora

Estudios *in vivo*, mediante un modelo experimental de edema en pata de ratón inducido por Fosfolipasa A₂ (PLA₂), el extracto de MeOH inhibe la formación del edema en un 55% a los 30 min y un 60% a los 60 min, similar a la inhibición producida por la referencia ciproheptadina de 65 y 66%, respectivamente. Además, el extracto de MeOH inhibe la actividad de la PLA₂ *in vitro* en un 39%. La fracción de CH₂Cl₂ también inhibe la actividad de la PLA₂ *in vitro* en un 48%. Del extracto activo se aislaron un flavonoide, la nepetina, y cuatro sesquiterpenos: I) espatulenol; II) (Z,1R,2R,5R,6R,7S)-germacra-4(15),9,-dien-1,2,5,6-tetraol; III) (7S)-4β,5α-epoxigermacr-1(10)E-en-2β,6β-diol y IV) (E, 2R,5R,6R,7S)-germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (Sala *et al.*, 2000).

Mediante el modelo de inflamación en córnea de conejo (modelo de queratitis por aloxano) se comprobó la acción inhibitoria de la formación de radicales libres. El extracto acuoso al 2.5% (obtenido por infusión) inhibe la quimioluminiscencia corneal en un 57% respecto al grupo control. La técnica de quimioluminiscencia corneal está asociada con la formación y liberación de radicales libres por los polimorfonucleares y macrófagos, por lo que permite valorar el grado de inflamación de un tejido (Serra *et al.*, 1991).

Por otra parte, a partir del extracto de cloroformo, mediante diversas técnicas cromatográficas se aisló el 3-β-D-glucósido de β-sitosterilo (daucosterol), el cual inhibe la inflamación o edema inducido por carragenina en pata de ratón. Este compuesto tiene una DE₅₀ de 70 mg/kg por vía intraperitoneal y de 146 mg/kg por vía oral (Ríos *et al.*, 1989).

En la respuesta inmune innata, los neutrófilos son la principal línea celular de defensa. Una activación descontrolada de la liberación del contenido granular de éstas células puede



destruir el tejido, lo cual dirige a la aparición de desórdenes inflamatorios. De acuerdo a Boudoukha y colaboradores (2016), el tratamiento de neutrófilos con el extracto acuoso y lo que llaman el “extracto polifenólico” (extracto de metanol) de las hojas de *S. chamaecyparissus* causa un importante efecto inhibitorio en la liberación de elastasa, inducida por la estimulación de los neutrófilos con formil metionil-leucil-fenilalanina (fMLP). Además, los mismos autores mencionan que el extracto acuoso a una concentración de 50 µg/mL, presenta un efecto inhibitorio de la degranulación de los neutrófilos en un $51.97 \pm 6.2\%$ y el “extracto polifenólico”, a la misma concentración, inhibe completamente la degranulación (Boudoukha *et al.*, 2016). Por otra parte, a 200 µg/mL, tanto el extracto acuoso como el “polifenólico” inhiben la migración quimiotáctica de neutrófilos inducida por fMLP en $54.61 \pm 7.3\%$ y $57.71 \pm 7.44\%$, respectivamente. También, la capacidad fagocítica de los neutrófilos se ve disminuida cuando son expuestos a ambos extractos a las concentraciones de 100 y 200 mg/mL. Al disminuir la actividad de los neutrófilos en presencia de los extractos, *S. chamaecyparissus*, puede ser considerada como una fuente de agentes inmunomoduladores, útiles en patologías que involucren una activación descontrolada de neutrófilos (Boudoukha *et al.*, 2016).

2.3.5.2 Actividad antiespasmódica

Para evaluar el efecto espasmolítico de la especie *S. chamaecyparissus* se han realizado diversos estudios en músculo liso de órgano aislado (duodeno de rata, íleon de cobayo, útero de rata y vaso deferente de rata). En todos ellos, los extractos de hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol inhiben las contracciones inducidas por acetilcolina, histamina, oxitocina y noradrenalina, de una forma dependiente de la concentración (Giner *et al.*, 1988; 1989).

2.3.5.3 Actividad analgésica

En modelos de analgesia térmica, ratones tratados con los extractos de hexano, cloroformo y acetato de etilo, respectivamente, a la dosis de 300 mg/kg fueron sometidos a estímulos térmicos de 55 °C cada 30 min. Todos los extractos orgánicos producen un incremento significativo en el tiempo de respuesta al estímulo térmico; este efecto disminuye con el tiempo (Giner *et al.*, 1988).



2.3.5.4 Actividad antimicrobiana

El aceite esencial de las flores de *S. chamaecyparissus* inhibe entre un 73 y 89.25% el crecimiento de distintos microorganismos fúngicos, como *Trichophyton rubrum*, *Microsporium canis*, *Epidermophyton floccosum*, *Aspergillus fumigatus*, *Scopulariopsis brevicaulis* y *Scytalidium dimidiatum*, con una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de 500 µg/mL. Para *Candida albicans* se reporta una CMI que varía entre 62.5-125 µg/mL. También, el aceite esencial inhibe el crecimiento de bacterias Gram positivas (*Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*) y bacterias Gram negativas (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* y *Citrobacter freundii*), siendo *E. faecalis* la más sensible con una zona de inhibición de 26 mm con una CMI en un rango entre 0.625 a 10 µg/mL (Salah-Fatnassi *et al.*, 2017; Suresh, 1997).

2.3.5.5 Actividad citotóxica

El aceite esencial de *S. chamaecyparissus* presenta una actividad importante contra la línea celular Hep-G2 (células cancerosas de hígado humano), inhibiendo su desarrollo en un 70.1 y 97.7% a las concentraciones de 50 y 100 µg/mL, respectivamente (Elsharkawy, 2014).

2.4 Terpenos

2.4.1 Rutas biosintéticas

Los terpenos son metabolitos secundarios que derivan de una unidad de cinco átomos de carbono, el pirofosfato de isopentenilo (IPP) y su isómero alílico el pirofosfato de dimetil alilo (DMAPP) (Figura 3).



Figura 3. Estructura del IPP y DMAPP



Las plantas biosintetizan al IPP y DMAPP mediante dos rutas diferentes, la primera es la ruta del ácido mevalónico (MVA) y la segunda la de la 1-desoxi-D-xilulosa-5-fosfato (DOXP), también designada como metileritritol fosfato (MEP). La ruta MVA, genera los precursores para la biosíntesis de sesquiterpenos (C_{15}) y triterpenos (C_{30}), mientras que la ruta DOXP biosintetiza a los hemiterpenos (C_5), monoterpenos (C_{10}), diterpenos (C_{20}) y carotenos (C_{40}) (Troll *et al.*, 2015). Ambas rutas se encuentran en compartimentos, las enzimas requeridas en la ruta MVA se localizan en el citosol, mientras que las enzimas de la ruta DOXP se encuentran en los cloroplastos. En la Figura 4 se muestran los distintos precursores y la ruta biosintética general de terpenos en las plantas (Cheng *et al.*, 2007).

2.4.2 Monoterpenos

Tienen como precursor al pirofosfato de geranilo (GPP), el cual se forma de la condensación entre las unidades IPP y DMAPP. Los isómeros de GPP son el pirofosfato de linalilo (LPP) y el pirofosfato de nerilo (NPP) (Figura 5). Estos tres intermediarios pueden producir una gran cantidad de monoterpenos lineales, componentes principales de aceites esenciales, como hidrocarburos, alcoholes, aldehídos o ésteres, especialmente acetatos. Además tanto el NPP y el LPP pueden llevar a cabo reacciones de ciclación, formando monociclos y biciclos.

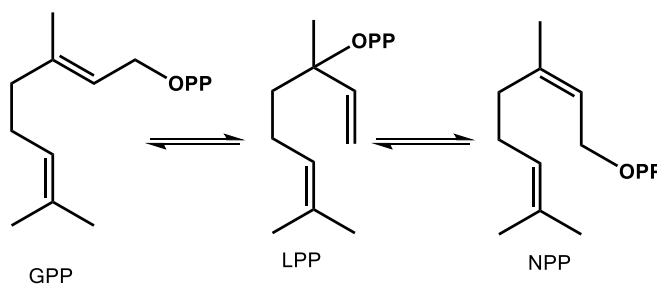


Figura 5. Estructuras del GPP, LPP y NPP.

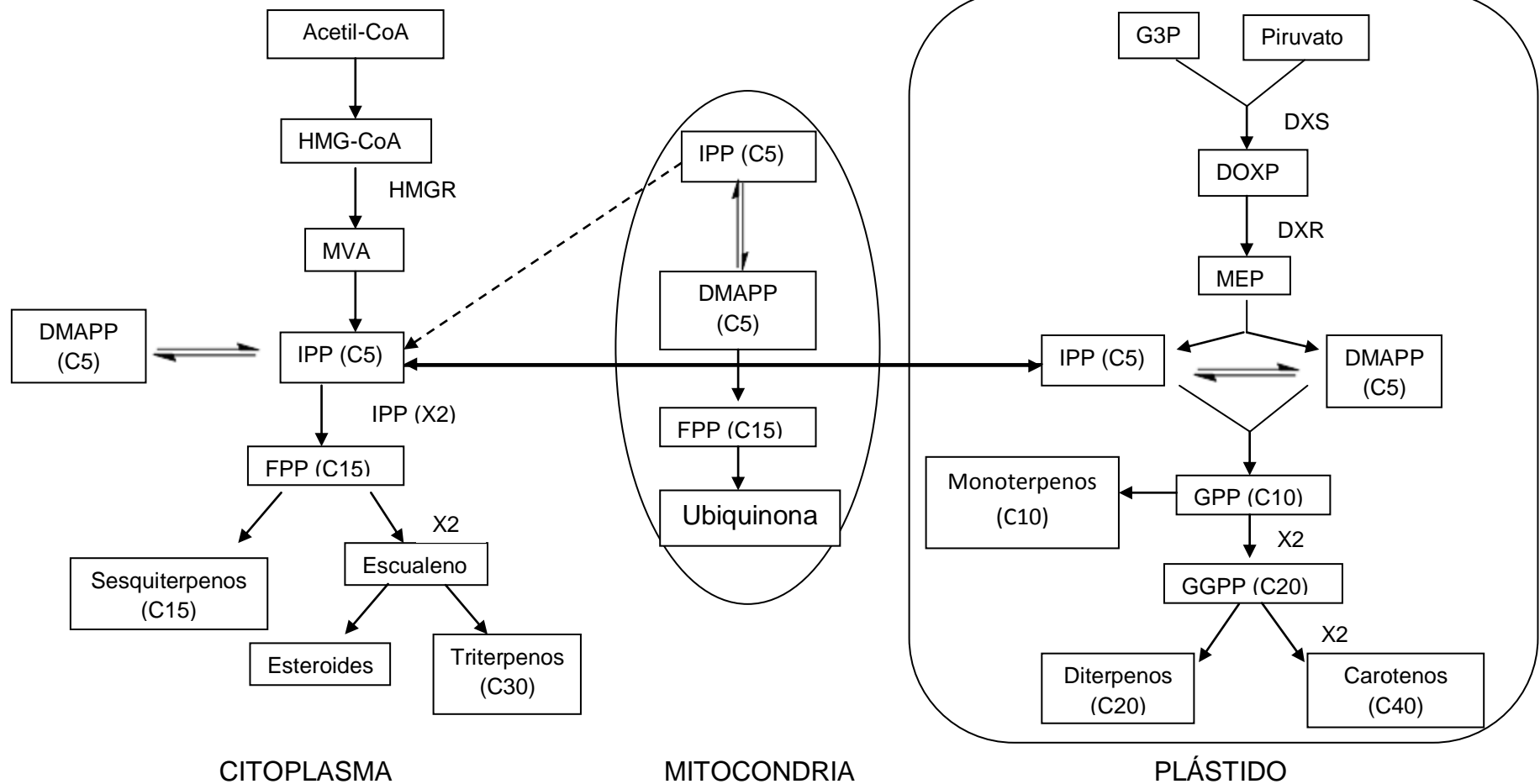


Figura 4. Rutas biosintéticas de terpenos en las plantas.

DMAPP, Pirofosfato de dimetil alilo; DOXP, Desoxixilulosa fosfato; DXR, Desoxixilulosa fosfato reductoisomerasa; DXS, Desoxixilulosa fosfato sintetasa; FPP, Pirofosfato de farnesilo; GGPP, Pirofosfato de geranil geranilo; GPP, Pirofosfato de geranilo; HMGCóA, 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A; IPP, Pirofosfato de isopentilo; MEP, Metileritritol fosfato; MVA, Ácido mevalónico; G3P, Gliceraldehído 3-fosfato.



2.4.3 Sesquiterpenos

La condensación de una unidad de IPP con el pirofosfato de geranilo (GPP) genera al pirofosfato de farnesilo (FPP), el cual es precursor de todos los sesquiterpenos tanto lineales como mono-, bi-, y tricíclicos (Figura 6).

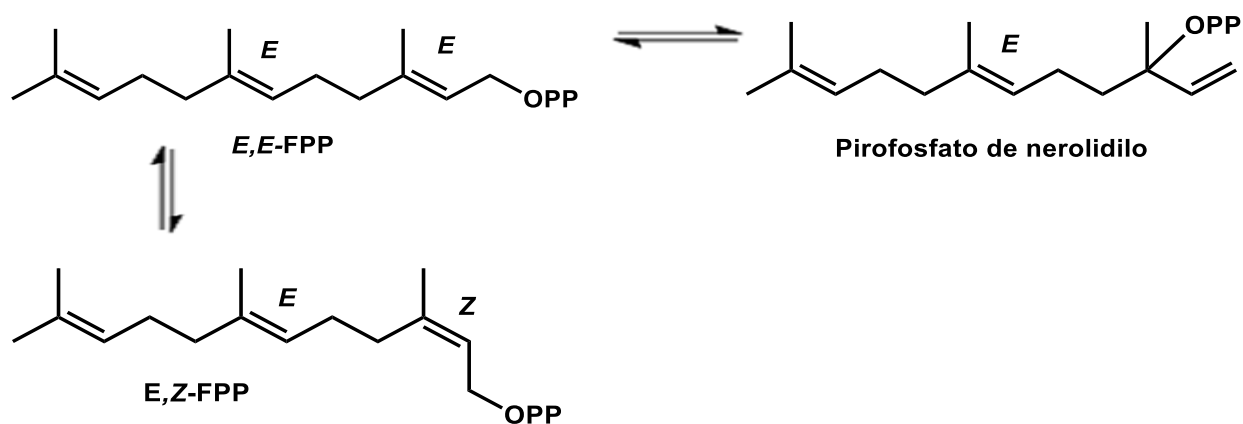
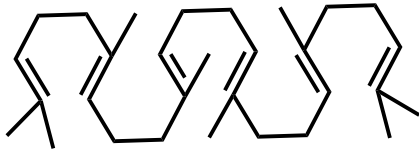


Figura 6. Estructuras del FPP con sus isómeros *E*, *Z* y pirofosfato de nerolidilo.

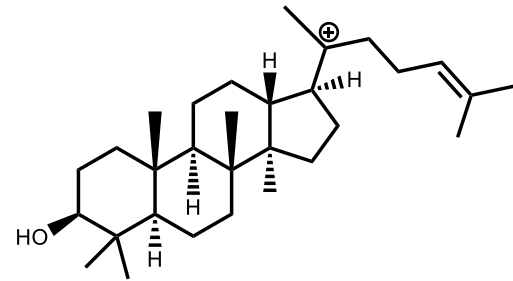
2.4.4 Triterpenos

De manera general el precursor de todos los triterpenos es el escualeno, éste es producto de la condensación de dos moléculas de pirofosfato de farnesilo (FPP). La ciclación del escualeno se lleva a cabo mediante el intermediario 2,3-óxido de escualeno, dando como productos lanosterol y cicloartenol, que a su vez son precursores de esteroides en animales y plantas, respectivamente.

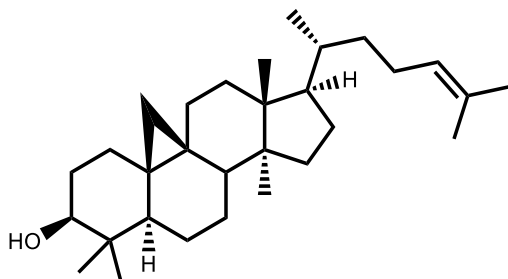
Por otra parte, el 2,3-óxido de escualeno genera al catión dammarenilo, a partir del cual se forman los triterpenos con estructura pentacíclica (Figura 7) (Dewick, 2002).



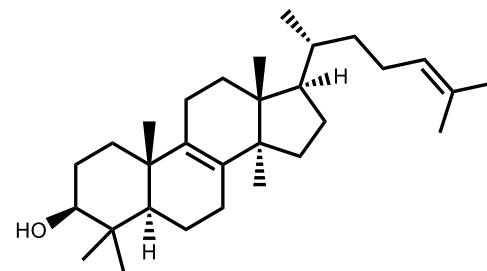
Escualeno



Catión dammarenilo



Cicloartenol



Lanosterol

Figura 7. Estructuras del escualeno, cicloartenol, lanosterol y catión dammarenilo.



3. JUSTIFICACIÓN

Las plantas contienen una amplia gama de sustancias químicas, las cuales les ayudan a protegerse contra los depredadores y adaptarse al ambiente. Debido a esa diversidad de metabolitos secundarios, las plantas son fuente de moléculas que pueden ser utilizadas para el desarrollo de agentes terapéuticos o en otros casos pueden servir como prototipo para la síntesis de nuevos fármacos.

La fitoquímica se encarga del estudio de los compuestos presentes en las plantas, utilizando métodos apropiados para aislar, purificar y posteriormente elucidar sus estructuras, mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

Por otra parte, es necesario confirmar las propiedades farmacológicas que se han atribuido a las plantas, por lo que es preciso evaluar los extractos, fracciones o compuestos puros, tanto en pruebas “*in vitro*” como “*in vivo*”.

Santolina chamaecyparissus L. es una planta que se utiliza en los países del Mediterráneo con fines medicinales pero ha sido introducida a nuestro país. Actualmente existe poca información de estudios químicos y farmacológicos realizados a las especies americanas, de ahí la importancia de investigar el contenido metabólico secundario mayoritario presente en las partes aéreas de *Santolina chamaecyparissus* L, con la finalidad de analizar o encontrar la presencia de compuestos adicionales a los que ya se han reportado en esta especie. Por otra parte, debido a que la planta popularmente se ha empleado para el tratamiento de problemas respiratorios, es importante la evaluación de su potencial antiespasmódico sobre tejido aislado de tráquea de cobayo y así contribuir a la confirmación de su uso popular.



4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general.

Realizar la identificación del contenido metabólico secundario mayoritario y el aislamiento de los componentes mayoritarios presentes en las partes aéreas de la planta medicinal *Santolina chamaecyparissus* L. (Asteraceae) y determinar su actividad antiespasmódica en tejido aislado de tráquea de cobayo.

4.2 Objetivos particulares.

1. Obtener los extractos orgánicos de hexano, acetona y MeOH, de las partes aéreas de la planta *S. chamaecyparissus* L. por medio de la técnica de maceración.
2. Obtener el aceite esencial de las partes aéreas mediante un proceso de hidrodestilación.
3. Evaluar la actividad antiespasmódica de los extractos orgánicos obtenidos y del aceite esencial en tejido aislado de tráquea de cobayo.
4. Realizar el aislamiento y elucidación estructural de los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en el extracto de acetona por métodos cromatográficos, espectroscópicos y espectrométricos.



5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Material y equipo utilizado

Para el análisis por cromatografía en capa fina se utilizaron placas cromatográficas TLC Silica gel 60 F₂₅₄ Merck. Como reveladores se emplearon una solución de sulfato cérico amoniacal $[(\text{NH}_4)_4\text{Ce}(\text{SO}_4)_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ al 1% con H₂SO₄ 2N y una lámpara de luz UV UVLMS-38 EL Series 3UV Lamp UVP visualizando a longitudes de onda de 254 y 365 nm.

Se utilizaron columnas de vidrio abiertas para el fraccionamiento de los extractos y como fase estacionaria gel de sílice 60 (malla 0.063-0.200 nm) Merck.

La cromatografía preparativa se realizó en cromatoplaques DC-Fertigplatten SIL G-100 UV254, MACHEREY-NAGEL de 1 mm de grosor con dimensiones de 20 x 20 cm.

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Fisher Johns y no están corregidos.

Los espectros en el UV e IR se determinaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Spectrum RX 1 FTIR.

Los espectros de RMN de ¹H y ¹³C fueron registrados a 400 MHz, en espectrómetros de alta resolución Varian Unity Inova, utilizando como disolventes CDCl₃, CD₃OD y como referencia interna TMS.

Los espectros de masas se obtuvieron en un espectrómetro marca Thermo-Electron, modelo DFS (Double Focus Sector), utilizando la técnica acoplada CG-EM y de ionización por impacto electrónico.



Para la determinación de la actividad antiespasmódica de cada extracto se utilizaron cámaras de vidrio para tejido aislado, provistas con ganchos de alambre de Nicromel, conectados a un transductor de fuerza (Grass FT 03E) de un polígrafo Biopack MP100. Los datos fueron procesados con el software Acqknowledge 3.8.2.

5.2 Recolección e Identificación del material vegetal

Para la realización de este estudio se emplearon las partes aéreas de la planta *Santolina chamaecyparissus* L., colectadas en el Pedregal de San Ángel, Ciudad Universitaria, UNAM, CDMX, el 29 de Septiembre de 2016. La identificación botánica fue realizada por el Dr. Robert Bye Boettler en el Instituto de Biología de la UNAM y el M. en C. Ramiro Ríos del Departamento de Botánica de la FES Zaragoza, UNAM. Una muestra de referencia se conserva en el laboratorio 111 del Departamento de Farmacia con el número de colecta SC-14-06-16.

5.3 Extracción

5.3.1 Desecación y Fragmentación

El material vegetal recolectado (213.8 g) fue sometido a un proceso de secado al aire libre y a la sombra y posteriormente fue fragmentado con una tijeras.

5.3.2 Obtención de los extractos orgánicos

Para la obtención de los extractos orgánicos, se emplearon 160 g del material vegetal, el cual se sometió a un proceso de maceración a temperatura ambiente, por periodos de 24 h con disolventes de distinta polaridad (hexano, acetona y metanol) consecutivamente y por triplicado. Cada uno de los extractos se filtraron y concentraron por medio de destilación al vacío utilizando un rotaevaporador, obteniéndose 4.7 g, 11.6 g y 19.5 g de extracto de hexano, acetona y MeOH, respectivamente.



5.3.3 Obtención del aceite esencial

53.8 g del material vegetal se sometieron a un proceso de hidrodestilación con 500 mL de agua destilada, con la finalidad de obtener la fracción volátil (aceite esencial) de la planta en estudio. El hidrodestilado se sometió a un proceso de extracción por reparto con AcOEt. La fracción de AcOEt se concentró a presión reducida con el rotaevaporador. El aceite esencial obtenido se analizó mediante cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/EM).

5.4 Análisis químico del extracto de acetona

5.4.1 Fraccionamiento cromatográfico

El fraccionamiento del extracto de acetona se realizó mediante una cromatografía en columna. Para ello se adsorbieron 10.7 g del extracto de acetona en 11.0 g de gel de sílice. La muestra se aplicó en una columna abierta de vidrio que contenía 220.0 g de gel de sílice. La elución se realizó con mezclas de disolventes de polaridad creciente de hexano-AcOEt y CHCl_3 -MeOH. Se recolectaron fracciones de 200 mL cada una, reuniendo un total de 170 fracciones primarias. La composición de los eluatos se detectó por medio de cromatografía en capa delgada, en placas de aluminio (2.5 x 6.5 cm) recubiertas de gel de sílice. Los compuestos se visualizaron con luz UV 254/365 nm y se empleó como revelador sulfato cérico amoniacal. Las fracciones fueron agrupadas con base en su similitud en la cromatografía en capa fina, obteniéndose 37 fracciones primarias, las cuales se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Fraccionamiento cromatográfico del extracto de acetona.

Sistema de elución	Fracciones recolectadas	Clave	Sistema de elución	Fracciones recolectadas	Clave
Hexano	1-5	Sca-1	Hexano: AcOEt (30:70)	89-92	Sca-23
Hexano: AcOEt (90:10)	6-7	Sca-2	Hexano: AcOEt (40:60)	93-97	Sca-24
	8-9	Sca-3		98-101	Sca-25
	10-11	Sca-4		102-105	Sca-26
Hexano: AcOEt (85:15)	12-16	Sca-5		106	Sca-27
	17-22	Sca-6		107-109	Sca-28
	23-25	Sca-7	Hexano: AcOEt (20:80)	110-116	Sca-29
	26-28	Sca-8	Hexano: AcOEt (10:90)	117-121	Sca-30
	29-31	Sca-9	AcOEt	122-126	Sca-31
	32-43	Sca-10		127-131	Sca-32
Hexano: AcOEt (75:25)	44-54	Sca-11	CHCl ₃ : MeOH (50:50)	132-136	Sca-33
	55-58	Sca-12		137-144	Sca-34
	59-61	Sca-13		145-152	Sca-35
	62-63	Sca-14		151-161	Sca-36
Hexano: AcOEt (65:35)	64-70	Sca-15	MeOH	162-170	Sca-37
	71-75	Sca-16			
	76-79	Sca-17			
Hexano: AcOEt (50:50)	80-81	Sca-18			
	82-84	Sca-19			
	85-86	Sca-20			
	87	Sca-21			
	88	Sca-22			

5.4.2 Aislamiento y purificación de los metabolitos secundarios mayoritarios del extracto de acetona

5.4.2.1 Aislamiento y purificación de la 5,7-dihidroxi-4',6-dimetoxiflavona (pectolinarigenina)

De la fracción Sca13 [hexano: AcOEt (75:25)], precipitó un sólido amarillo, el cual se separó de las aguas madres y se recristalizó con una mezcla de hexano y AcOEt, obteniéndose 11.4 mg de un compuesto cuya caracterización química se realizó mediante el análisis de los datos de RMN de ¹H y de ¹³C, y fue identificada como la 5,7-dihidroxi-4',6-dimetoxiflavona (pectolinarigenina).



5.4.2.2 Aislamiento y purificación del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol

De la fracción Sca22 [hexano: AcOEt (50:50)], precipitó un sólido amarillo, el cual se separó de las aguas madres y se recristalizó con una mezcla de hexano y AcOEt, obteniéndose 5.3 mg de un sólido blanco, identificado como el 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol con base en los datos espectroscópicos de RMN de ^1H y de ^{13}C .

5.4.2.3 Aislamiento y purificación del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol

De la fracción Sca28 [hexano: AcOEt (40:60)], precipitó un sólido amarillo, el cual se separó de las aguas madres y se recristalizó con una mezcla de hexano y AcOEt, obteniéndose 20.2 mg de un sólido blanco. La caracterización del metabolito, identificado como el germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol se realizó mediante el análisis de los datos espectroscópicos de RMN de ^1H y de ^{13}C .

5.4.2.4 Aislamiento y purificación del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno

El metabolito mayoritario presente en la fracción Sca9 [hexano: AcOEt (85:15)], fue aislado mediante cromatografía en placa preparativa. Para ello 65.0 mg de la fracción se aplicaron en una placa de gel de sílice (20 x 20 cm, 1 mm), ésta se eluyó 3 veces en un sistema de hexano: AcOEt (90:10) y se visualizó con una lámpara de luz UV 254/365 nm, obteniéndose 17.8 mg de un sólido café el cual fue identificado como el 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno con base en el análisis de los datos espectroscópicos en el IR, en el UV, de RMN de ^1H y de ^{13}C y CG/EM.

5.4.2.5 Aislamiento y purificación del glucósido de β -sitosterol

De la fracción Sca31 [AcOEt 100 %] precipitó un sólido blanco, el cual se separó de las aguas madres y se lavó con mezcla de hexano: AcOEt, obteniéndose 13.7 mg del compuesto, el cual fue identificado como el glucósido de β -sitosterol con base en el análisis de sus características espectroscópicas.



5.5 Ensayo biológico. Determinación de la actividad antiespasmódica de los extractos en tráquea de cobayo

5.5.1 Reactivos

La composición de la disolución Krebs-Henseleit (KHS) utilizada fue la siguiente: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1.2 mM), NaH_2PO_4 (1.4 mM), KCl (4.7 mM), NaCl (118.0 mM), NaHCO_3 (25.0 mM), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (2.5), EDTA (0.06 mM) y D-glucosa (11.1 mM).

Se utilizaron disoluciones de acetilcolina y carbacol a las concentraciones de 3 mM y 0.1 mM, respectivamente.

Se prepararon las disoluciones de los extractos a evaluar, a las concentraciones de 12.5, 50, 100 y 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para el extracto acuoso y de 25, 50, 100 y 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para los extractos de acetona y hexano. Los extractos se disolvieron en agua con 1 gota de tween 80.

5.5.2 Material biológico

Para el ensayo se emplearon cobayos machos de peso corporal entre 300-450 g, mantenidos a temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C) con libre acceso al alimento y agua.

5.5.3 Disección de la tráquea y estabilización del tejido

Los animales se sacrificaron con una sobredosis de pentobarbital sódico para uso veterinario (150 mg/kg, i.p), e inmediatamente se realizó la disección de la tráquea, a la cual se le quitó el tejido circundante y se colocó en disolución KHS a $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Se cortaron anillos de aproximadamente 2 mm de longitud y cada uno se suspendió por medio de ganchos de alambre de Nicromel a una cámara de tejido aislado, que contenía 10 mL de disolución KHS a 37 °C con burbujeo continuo de gas carbógeno (95% O_2 y 5% CO_2). Uno de los alambres se



fijó a la cámara de vidrio y el otro alambre al transductor de fuerza (Grass FT 03E) conectado al Polígrafo Biopac System MP100. El tejido se sometió a una tensión inicial de 1.5 g y se dejó estabilizar durante 45 min, realizando lavados cada 15 min con la disolución KHS. Transcurrido el tiempo, el tejido se estimuló con 100 μ L de la solución 3 mM de acetilcolina (para conocer la viabilidad del mismo), posteriormente se realizaron dos lavados cada 15 min con solución KHS. Cuando se alcanzó una contracción basal se inició el experimento.

5.5.4 Evaluación de la relajación

Al término de la estabilización, el tejido se estimuló con la solución de carbacol 0.1 mM. Cuando se alcanzó una meseta de contracción, las soluciones de los extractos se adicionaron de manera consecutiva y creciente, en intervalos de 4 min. Al finalizar el experimento el tejido se lavó con solución KHS. Como control se adicionó únicamente el vehículo (agua con tween 80).

Nota: La concentración real en la cámara de órgano aislado es 100 veces menor debido a la dilución (1:100).

5.5.5 Procesamiento de los datos

Los datos obtenidos se procesaron con el Software Acqknowledge 3.8.2 y posteriormente se construyeron gráficas de %Efecto vs Concentración para cada uno de los extractos.



6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se mencionó en los antecedentes y justificación, *Santolina chamaecyparissus* L. es una planta utilizada con fines medicinales en los países que delimitan el mar Mediterráneo, como Italia, España, Egipto, Francia, entre otros. En México, esta planta es empleada principalmente como ornamental, sin embargo, su intenso aroma motivó a su estudio químico, en primera instancia de los componentes volátiles y posteriormente de los extractos orgánicos, tomando en consideración los reportes previos de su actividad antiespasmódica, dirigiendo el estudio hacia la búsqueda de compuestos con una actividad relajante en tráquea de cobayo. Con los resultados del estudio fitoquímico que se presentan a continuación, se hace un análisis de los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en la especie mexicana.

6.1 Identificación de los compuestos presentes en el aceite esencial

Por el proceso de hidrodestilación y posterior extracción por reparto se obtuvo un aceite cuyo análisis por CG/EM dio evidencia de la presencia de 7 componentes mayoritarios de naturaleza mono y sesquiterpenoide (Figura 8). Los nombres, estructuras y tiempos de retención se muestran en la Tabla 4 y Figuras 15-21.

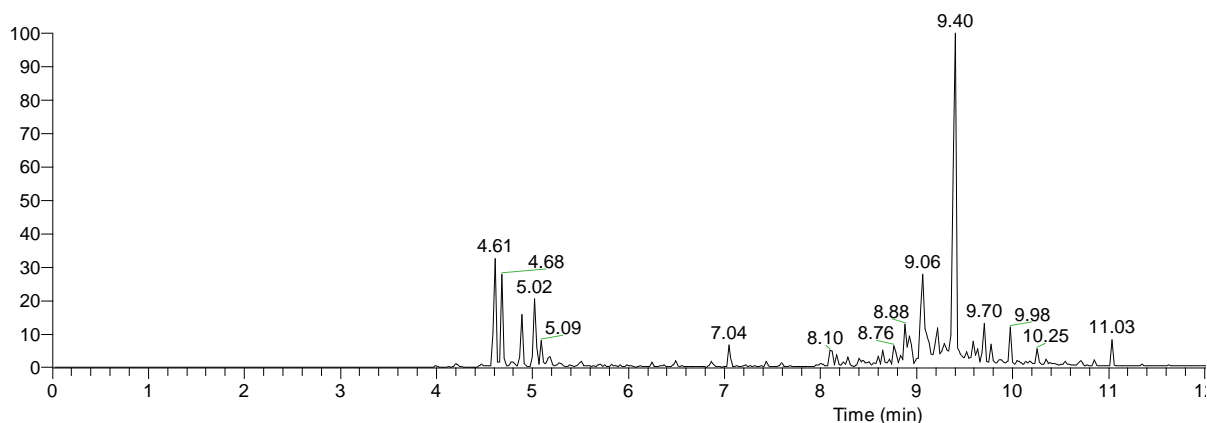
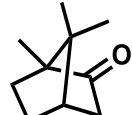
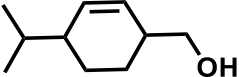
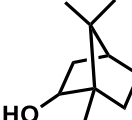
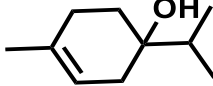
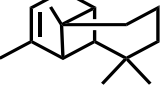
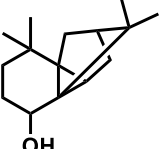
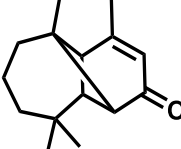


Figura 8. Cromatograma de gases de la fracción volátil de las partes aéreas de *S. chamaecyparissus*.



Tabla 4. Compuestos detectados en la fracción volátil de las partes aéreas de *S. chamaecyparissus*.

	Nombre	Tiempo de retención (min)	Estructura
1	(1 <i>R</i>)-1,7,7-trimetilbicyclo[2.2.1]heptan-2-ona (alcanfor)	4.61	
2	<i>cis-p</i> -ment-2-en-7-ol	4.68	
3	1,7,7-trimetilbicyclo[2.2.1]heptan-2-ol (borneol)	4.89	
4	4-metil-1-(1-metiletil)-3-ciclohexen-1-ol (4-terpineol)	5.02	
5	2,6,6,9-tetrametiltriciclo[5.4.0.0(2,8)]undec-9-eno (α -longipineno)	7.04	
6	4,4,11,11-tetrametil-7-tetraciclo[6.2.1.0(3,8)0(3,9)]undecanol	8.88	
7	2,6,6,11-tetrametiltriciclo[5.4.0.0(2,8)]undec-10-en-9-ona (longiverbenona)	9.40	

Se ha reportado en la literatura principalmente la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *S. chamaecyparissus*, ya que es activo contra los microorganismos fúngicos (*Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Epidermophyton floccosum*, *Aspergillus fumigatus*, *Scopulariopsis brevicaulis* y *Scytalidium dimidiatum*), bacterias Gram negativas (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* y *Citrobacter freundii*) y bacterias Gram positivas (*Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*) (Salah-Fatnassi *et al*, 2017).



6.2 Análisis químico del extracto de acetona

6.2.1 Aislamiento e identificación de la 5,7-dihidroxi-4',6-dimetoxiflavona (pectolinarigenina) (8)

El compuesto aislado de la fracción Sca 13 es un sólido amarillo con punto de fusión de 207-209 °C y se identificó como 5,7-dihidroxi-4',6-dimetoxiflavona (pectolinarigenina) (Figura 9), con base en las propiedades espectroscópicas indicadas en la Tabla 5 y que se discuten a continuación:

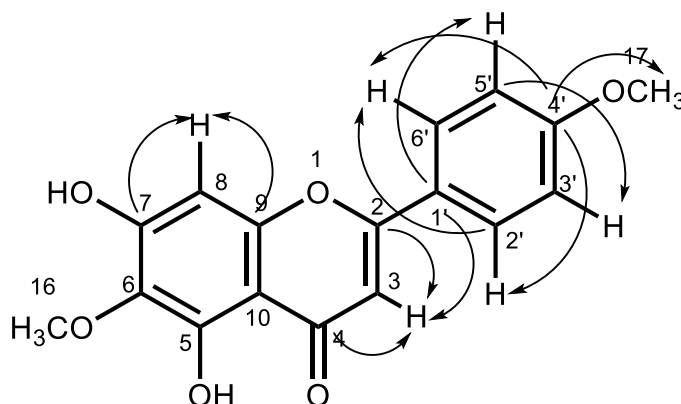


Figura 9. Estructura de la 5,7-dihidroxi-4',6-dimetoxiflavona (pectolinarigenina) y principales correlaciones observadas en el espectro HMBC.

Tabla 5. Datos espectroscópicos de la pectolinarigenina.

Fórmula molecular	$C_{17}H_{14}O_6$
p.f.	207-209 °C
UV (Figura 23)	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm): 208, 315
IR (Figura 22)	$\nu_{\text{máx}}$ (pastilla) cm^{-1} : 3449, 3073, 2957, 2555, 1660, 1623, 1441, 1369, 1164, 1102, 979, 824.
RMN ^1H (Figura 24)	400 MHz, CD_3OD , δ_{H} : 7.95 (2H, d, $J=13$ Hz, H-2' y H-6'), 7.09 (2H, d, $J=9$ Hz, H-3' y H-5'), 6.64 (1H, s, H-3), 6.58 (1H, s, H-8), 3.89 (3H, s, H-16), 3.88 (3H, s, H-17).
RMN ^{13}C (Figura 25 y 26)	400 MHz, CD_3OD , δ_{C} : 184.2 (C-4), 166.0 (C-2), 164.4 (C-4'), 158.8 (C-9), 154.7 (C-7), 152.5 (C-5), 131.4 (C-6), 129.3 (C-2' y C-6'), 124.6 (C-1'), 115.6 (C-3' y C-5'), 104.3 (C-10), 103.9 (C-3), 95.3 (C-8), 60.9 (C-16), 56.0 (C-17).



Este compuesto presentó dos bandas de absorción intensa en el espectro en el UV (208 y 315 nm) característica de metabolitos de tipo flavonoide, absorciones en el infrarrojo para grupos -OH (3449 cm^{-1}), grupos C-H y C-C aromáticos (3073 y 1623 cm^{-1}), grupos metilo (2957 y 1441 cm^{-1}), carbonilo de cetona α,β insaturada (1660 cm^{-1}) y absorciones de C-O (1164 , 1102 y 979 cm^{-1}). Por otra parte se observaron 17 señales en el espectro de RMN- ^{13}C correspondiendo dos de ellas a dos grupos metoxilo (δ_{C} 60.9 y 56.0; C-16 y C-17). Las quince señales restantes fueron asignadas a carbonos sp^2 , 6 agrupadas en la zona de carbonos aromáticos base de oxígeno (δ_{C} 166.0, 152.5, 131.4, 154.7, 158.8 y 164.4, asignados a los carbonos C-2, C-5, C-6, C-7, C-9 y C-4', respectivamente); 5 carbonos aromáticos protonados (δ_{C} 103.9, 95.3, 129.3, 129.3, 115.6 y 115.6, asignados a los carbonos C-3, C-8, C-2', C-6', C-3' y C-5', respectivamente); un carbonilo de cetona α,β insaturada (δ_{C} 184.2, C-4) y dos carbonos aromáticos cuaternarios (δ_{C} 124.6 y 104.3; C-1' y C-10). En el espectro de RMN ^1H se observaron señales para hidrógenos en carbonos sp^2 de un sistema A_2X_2 (δ_{H} 7.95 y 7.09, integrando para dos hidrógenos cada una, asignadas a H-2', H-6' y H-3', H-5', respectivamente) y dos hidrógenos singulete (δ_{C} 6.64 y 6.58, asignados a H-3 y H-8, respectivamente); también se observó una señal en δ_{H} 12.81 correspondiente a un hidrógeno formando un puente con el oxígeno de un carbonilo (δ_{C} 184.2). La integración de los resultados anteriores concuerda con la estructura de un flavonoide dimetoxilado en las posiciones 6 y 4' por las correlaciones observadas en los espectros COSY, HSQC, HMBC (Figura 9) y NOESY (Figuras 27-30). En conjunto, todas estas observaciones permitieron establecer la estructura del producto como la de la pectolinarigenina, aislada previamente de la especie *S. chamaecyparissus* (Becchi, 1980).



6.2.2 Aislamiento e identificación del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (9)

El compuesto aislado de la fracción Sca 22 (sólido blanco con punto de fusión de 210-213 °C), se identificó como 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (Figura 10), con base en las propiedades espectroscópicas presentadas en la Tabla 6 y que se discuten a continuación:

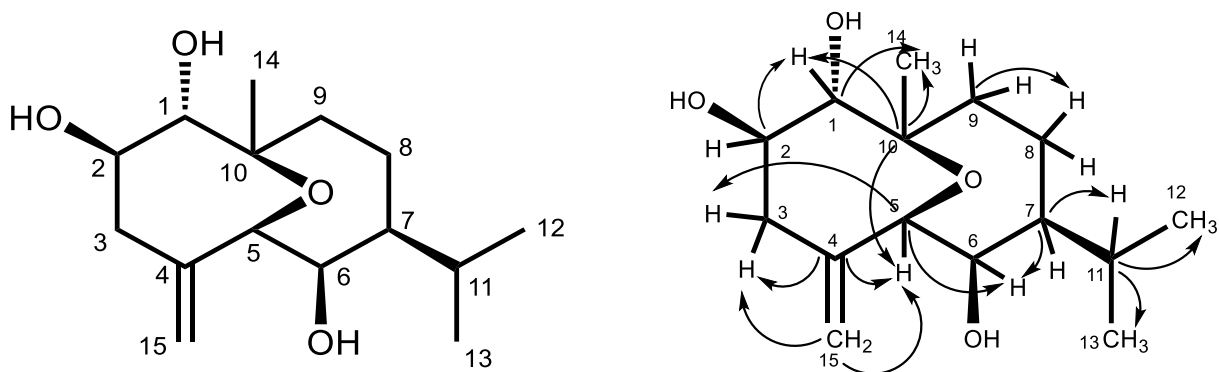


Figura 10. Estructura del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol y principales correlaciones observadas en el espectro HMBC.

Este compuesto presentó absorciones características en el infrarrojo para grupos -OH (3471 y 3360cm^{-1}), grupos C-H y C-C de doble ligadura (3093 y 1635cm^{-1}), grupos alifáticos (1459 y 1365cm^{-1}) y grupos C-O (1164 , 1066 , 1024 y 982cm^{-1}).

Su fórmula molecular se estableció como $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_4$ con base en el análisis de los espectros de RMN. Así, el espectro de RMN ^{13}C (Figura 33) presentó señales para quince átomos de carbono, de los cuales dos corresponden a un grupo metileno terminal (C-15) unido a un carbono cuaternario (C-4), ambos con hibridación sp^2 (δ_{C} 147.4 y 113.1); cinco carbonos alifáticos base de oxígeno, uno de ellos cuaternario (δ_{C} 80.8 , C-10) y cuatro terciarios (δ_{C} 85.3 , 74.4 , 72.2 y 71.9 , asignados respectivamente a C-5, C-6, C-1 y C-2); dos metinos alifáticos en δ_{C} 47.6 y 34.3 (C-7 y C-11); tres grupos metileno alifáticos (δ_{C} 42.0 , 40.5 y 21.4 , asignados a C-3, C-9 y C-8); tres grupos metilo de los cuales uno se presenta como un singulete en RMN- ^1H (Figura 32) unido a un carbono base de oxígeno (δ_{H} 1.12 , H-14), y dos grupos metilo geminales unidos a un metino, como señales dobles en RMN ^1H (δ_{H} 0.97 y 0.96 , asignados a



H-12 y H-13). Por otra parte, en el análisis del espectro HMBC, C-10 presenta correlaciones con los hidrógenos H-9, H-1, H-5 y H-14; H-5 presenta correlaciones con C-6, C-4, C-10 y C-15. Los carbonos C-10 y C-5 comparten el mismo átomo de oxígeno en una función éter (Figuras 10 y 36). El análisis del resto de los espectros (Figuras 34-37) corroboró la estructura del producto como la del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol, sesquiterpeno identificado con anterioridad en la especie estudiada (Marco, 1993).

Tabla 6. Datos espectroscópicos del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol.

Fórmula molecular	$C_{15}H_{26}O_4$
p.f.	210-213 °C
IR (Figura 31)	$\nu_{\text{máx}}$ (pastilla) cm^{-1} : 3471, 3360, 3093, 2979, 2875, 2494, 1635, 1459, 1365, 1164, 1066, 1024, 982, 909.
RMN 1H (Figura 32)	400 MHz, CD_3OD , δ_H : 5.06 (1H, s.a, H-15), 4.78 (1H, s a, H-15), 4.53 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-1), 4.43 (1H, d, $J=6.28$ Hz, H-5), 4.32 (1H, d, $J=6.28$ Hz, H-6), 3.73 (1H, ddd, $J=8.8$, 4.4 y 5.0 Hz, H-2), 2.82 (1H, dd, $J=16.2$, 4.7 Hz, H_a -3), 2.40 (1H, dd, $J=13.76$, 5.2 Hz, H_b -3), 2.10 (1H, m, H_b -8), 2.10 (1H, m, H_b -9), 1.68 (1H, m, H-11), 1.58 (1H, m, H-7), 1.30 (1H, m, H_a -8), 1.30 (1H, m, H_a -9), 1.12 (3H, s, H-14), 0.97 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-12), 0.96 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-13).
RMN ^{13}C (Figura 33)	400 MHz, CD_3OD , δ_C : 147.43 (C-4), 113.13 (C-15), 85.35 (C-5), 80.83 (C-10), 74.47 (C-6), 72.24 (C-1), 71.94 (C-2), 47.61 (C-7), 42.07 (C-3), 40.58 (C-9), 34.32 (C-11), 24.09 (C-14), 21.40 (C-8), 21.36 (C-12), 21.08 (C-13).



6.2.3 Aislamiento e identificación del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (10)

El producto aislado y recristalizado de la fracción Sca 28 constituyó un sólido blanco con punto de fusión de 190-192 °C, el cual fue identificado como el germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (Figura 11) de acuerdo con sus características espectroscópicas (Tabla 7).

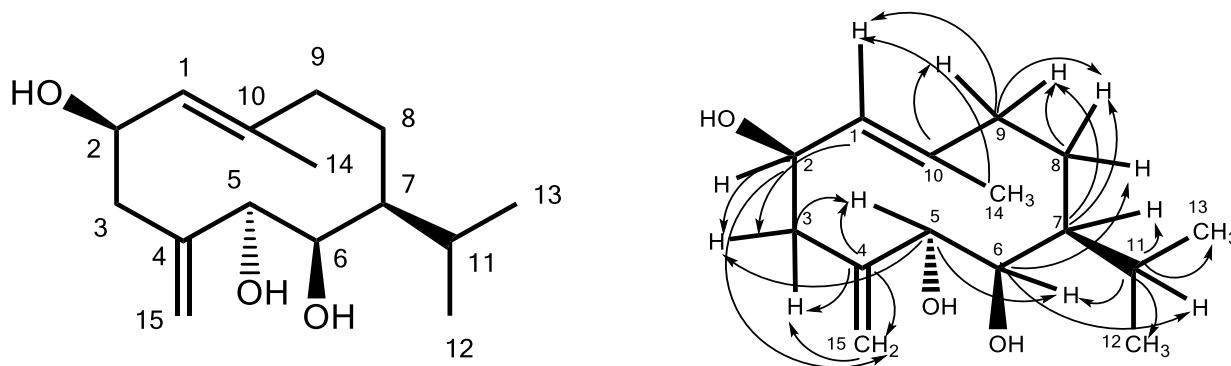


Figura 11. Estructura del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol y principales correlaciones observadas en el espectro HMBC.

Tabla 7. Datos espectroscópicos del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol.

Fórmula molecular	C ₁₅ H ₂₆ O ₃
p.f.	190-192 °C
IR (Figura 38)	$\nu_{\text{máx}}$ (pastilla) cm ⁻¹ : 3314, 2951, 1672, 1640, 1465, 1381, 1056, 1010, 912.
RMN ¹ H (Espectro 39)	400 MHz, CD ₃ OD, δ_{H} : 5.23 (1H, dt, $J=10.32, 1.5$ Hz, H-1), 4.97 (1H, s, H _a -15), 4.85 (1H, s, H _b -15), 4.50 (1H, ddd, $J= 10.1, 8.4$ y 8.4 Hz, H-2), 3.91 (1H, d, $J= 10.0$ Hz, H-6), 3.74 (1H, d, $J=9.64$ Hz, H-5), 2.72 (1H, dd, $J= 12.04$ y 6.68 Hz, H _a -3), 2.40 (1H, m, H _a -9), 2.10 (1H, dd, $J=11.6$ y 11.0 Hz, H _b -3), 1.74 (1H, m, H-11), 1.73 (1H, m, H _a -8), 1.70 (1H, s, H _b -9), 1.68 (3H, d, $J=1.6$ Hz, H-14), 1.39 (1H, m, H _b -8), 1.13 (1H, dd, $J=7.76$ y 7.56 Hz, H-7), 0.99 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-12), 0.99 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-13).
RMN ¹³ C (Figura 40)	400 MHz, CD ₃ OD, δ_{C} : 146.98 (C-4), 139.80 (C-10), 129.64 (C-1), 114.33 (C-15), 78.05 (C-5), 73.77 (C-6), 70.98 (C-2), 45.80 (C-3), 43.28 (C-7), 36.62 (C-9), 32.86 (C-11), 30.56 (C-8), 23.02 (C-14), 21.96 (C-12), 21.64 (C-13).



Este compuesto presentó absorciones en el infrarrojo para grupos -OH (3314 cm^{-1}), grupos C-C de doble ligadura (1672 y 1640 y cm^{-1}), grupos alifáticos (1465 y 1381 cm^{-1}) y C-O (1056 , 1010 y 912 cm^{-1}).

El espectro de RMN ^{13}C (Figura 40) mostró señales para 15 átomos, de los cuales cuatro presentaron hibridación sp^2 y acoplamiento entre sí por pares (HMBC, Figura 43) (δ_{C} 129.6 y 139.8 asignados a C-1 y C-10; δ_{C} 146.9 y 114.3, asignados a C-4 y C-15); en la Figura 11 se observa que C-4 y C-10 son carbonos cuaternarios, C-1 corresponde a un grupo metino y C-15 es un metileno terminal (HSQC, Figura 41). También se observaron tres carbonos terciarios base de oxígeno (δ_{C} 78.0, 73.77 y 70.98, asignados a C-5, C-6 y C-2); tres grupos metileno alifáticos (δ_{C} 45.80, 36.62 y 30.56, asignados a C-3, C-9 y C-8); dos grupos metino alifáticos (δ_{C} 43.28 y 32.86, asignados a C-7 y C-11) y tres grupos metilo, de los cuales uno está unido a un carbono con hibridación sp^2 (δ_{C} 23.02, C-14) y dos grupos metilo unidos a un metino como señales dobles en RMN ^1H (δ_{H} 0.99 y 0.99, asignados a C-12 y C-13) que integraron para seis hidrógenos. El análisis detallado de los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C permitió establecer la fórmula molecular de $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_3$. Las correlaciones observadas en el espectro COSY, HMBC y NOESY (Figuras 11 y 42-44) permitieron inferir que se trataba de un sesquiterpeno con núcleo de germacrano, caracterizado como el germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol. La presencia de este compuesto ha sido reportada con anterioridad en *S. chamaecyparissus* y los datos espectroscópicos reportadas coinciden con los experimentales de este trabajo (Marco, 1993).



6.2.4 Aislamiento e identificación del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11)

De la fracción Sca9 se aisló el producto identificado como el 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (Figura 12), con base en sus propiedades espectroscópicas (Tabla 8).

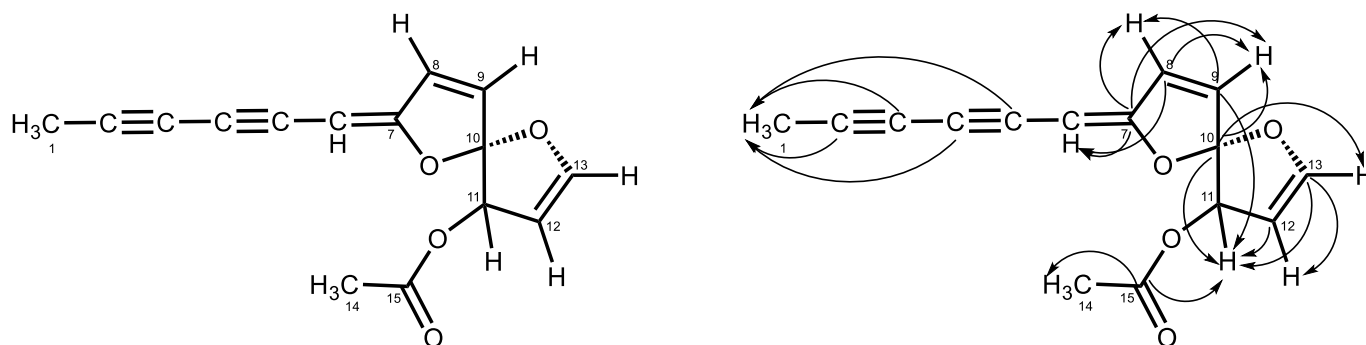


Figura 12. Estructura del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno y principales correlaciones observadas en el espectro HMBC.

Tabla 8. Datos espectroscópicos y espectrométricos del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno.

Fórmula molecular	C ₁₅ H ₁₂ O ₄
UV (Figura 48)	λ _{máx} (nm): 242, 319
IR (Figura 47)	ν _{máx} (pastilla) cm ⁻¹ : 3430, 3104, 2918, 2850, 2231, 2168, 2140, 1737, 1678, 1621, 1577, 1371, 1281, 1225, 1155, 1058, 1025, 959, 906.
RMN ¹ H (Figura 49)	400 MHz, CDCl ₃ , δ _H : 6.76 (1H, d, J=5.8 Hz, H-8), 6.59 (1H, dd, J=3.1, 1.7 Hz, H-13), 6.33 (1H, dd, J=5.7, 1.7Hz, H-9), 5.69 (1H, dd, J=2.0, 2.0 Hz, H-11), 5.21 (1H, dd, J=2.7, 2.7 Hz, H-12), 5.14 (1H, s a, H-6), 2.07 (3H, s, H-14), 1.98 (3H, d, J=1.2 Hz, H-1).
RMN ¹³ C (Figura 50)	400 MHz, CDCl ₃ , δ _C : 170.45 (C-15), 168.88 (C-7), 148.61 (C-13), 133.77 (C-9), 126.11 (C-8), 117.33 (C-10), 100.84 (C-12), 83.16 (C-6), 80.53 (C-2), 77.70 (C-4), 75.25 (C-11), 70.30 (C-5), 64.86 (C-3), 20.56 (C-14), 4.83 (C-1).



CG/EM t.r.= 23.58 min (Figura 45 y 46)	<i>m/z</i> (Int.rel.): 256 [M^+] (49.0), 227 (34.9), 213 (39.8), 197 (9.5), 185 (100.0), 169 (8.0), 159 (9.8), 139 (13.8), 128 (32.3), 115 (23.9), 110 (11.5), 103 (5.5), 88 (8.9), 76 (12.1), 63 (17.1), 55 (7.1), 50 (13.2), 43 (100.0), 28 (5.7).
--	--

El producto Sca 9 se obtuvo como un sólido amorfo café, la fórmula molecular se estableció por análisis por CG/EM (Figura 46) que mostró un pico mayoritario (el compuesto se degrada muy rápidamente) con t.r.= 23.58 min y un ion molecular en *m/z* 256 (Figura 45). Las señales para hidrógenos y carbonos detectadas en los espectros de RMN ^1H y de ^{13}C (Figuras 49 y 50) fueron adecuadas para una fórmula molecular de $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$, que es congruente con el peso molecular detectado por espectrometría de masas. El IDH calculado a partir de la fórmula molecular (10) sugirió la presencia de numerosas insaturaciones y/o anillos en la molécula. El análisis en el UV (Figura 48) sugirió la presencia de grupos cromofóricos importantes (absorciones en 242 y 319 nm); el espectro en el IR (Figura 47) mostró señales de C-H insaturado (3104 cm^{-1}), C-H saturado (2918 y 2850 cm^{-1}), C-C de triple ligadura (2231 , 2168 y 2140 cm^{-1}), carboxilo de éster (1737 cm^{-1}), C-C de doble enlace (1678 y 1621 cm^{-1}), grupo CH_3 (1371 y 1281 cm^{-1}) y C-O (1225 , 1155 , 1058 , 1025 y 959 cm^{-1}). El análisis detallado de los espectros de RMN (Figuras 49-54) evidenció las características estructurales.

El espectro de RMN ^{13}C (Figura 50) mostró 15 carbonos, de los cuales 6 corresponden a grupos metino, 2 a grupos metilos y 7 a carbonos cuaternarios, uno de los cuales pertenece al grupo carbonilo de un acetato ($\delta_{\text{C}} 170.45$; $\delta_{\text{H}} 2.07$). En $\delta_{\text{C}} 117.33$ (C-10) se observa la señal de un grupo cetral, el cual mostró correlaciones en el espectro HMBC (Figura 53) con los hidrógenos H-8, H-13, H-9, H-11 y H-12. El metilo en $\delta_{\text{H}} 1.98$ correlacionó en HMBC con cuatro carbonos cuaternarios localizados en $\delta_{\text{C}} 64.86$ (C-3), 70.30 (C-5), 77.70 (C-4) y 80.53 (C-2), lo que permitió establecer que estos carbonos cuaternarios pertenecen a dos grupos alquino. Las señales para estos grupos se observan en el espectro en el Infrarrojo (Figura 47) en 2231 , 2168 y 2140 cm^{-1} . Por otra parte, en el espectro HMBC (Figura 53) se observaron correlaciones entre el carbonilo (asignado a C-15) con H-11 y con H-14.

El espectro de RMN ^1H (Figura 49) mostró una señal doble ($\delta_{\text{H}} 6.76$, asignado a H-8) y un doble de doble ($\delta_{\text{H}} 6.33$, asignado a H-9) como metinos vinílicos vecinos entre sí (correlación



en COSY, Figura 52); al correlacionar el metino en δ_H 6.33 con el metino en C-11 (NOESY, Figura 54), se asignó su posición en la estructura (H-9), mientras que el hidrógeno H-8 correlacionó con el carbono vinílico cuaternario C-7, y este último con el metino H-6 (HMBC, Figura 53). Un par de hidrógenos de otro doble enlace se observó en δ_H 5.21 y δ_H 6.59 (Figura 49, asignados a H-12 y H-13). La señal en δ_H 5.69 se asignó al metino H-11 el cual se observó como una señal múltiple y tuvo acoplamiento con C-9, C-10, C-12, C-13 y con el carbonilo C-15 (HMBC, Figura 53). Las correlaciones mencionadas en párrafos anteriores sugirieron la estructura del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (Figura 12). Finalmente la confirmación de la estructura se realizó mediante la comparación de sus propiedades físicas y espectroscópicas con aquellas descritas en la literatura (Maqua, 1988). El 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno es un metabolito que ha sido reportado en *S. chamaecyparissus* (Lam, 1989).

6.2.5 Aislamiento e identificación del glucósido de β -sitosterol (12)

El último compuesto aislado de la fracción de acetona fue identificado como glucósido de β -sitosterol (Figura 13) de acuerdo a las características espectroscópicas observadas en el espectro de RMN 1H (Figura 55). En δ_H 5.36 se observa una señal múltiple asignada al protón H-3; en δ_H 4.37 se observa un doblete diagnóstico para la presencia de un hidrógeno anomérico y entre δ_H 3.8 y 3.0 las señales correspondientes a los hidrógenos de un residuo de glucosa. Otras señales características del glucósido de β -sitosterol se observan entre δ_H 2.4 y 0.8 que corresponden con los 6 metilos y 11 metilenos presentes en la molécula, evidenciando el núcleo del β -sitosterol.

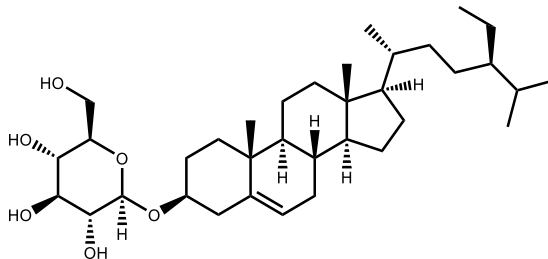


Figura 13. Estructura del glucósido de β -sitosterol.



6.3 Evaluación de la actividad antiespasmódica de los extractos en tráquea de cobayo

S. chamaecyparissus, es una planta que se utiliza popularmente para el tratamiento de enfermedades respiratorias, por lo que se determinó la actividad de los extractos de acetona, hexano y del aceite esencial sobre músculo liso aislado de tráquea de cobayo.

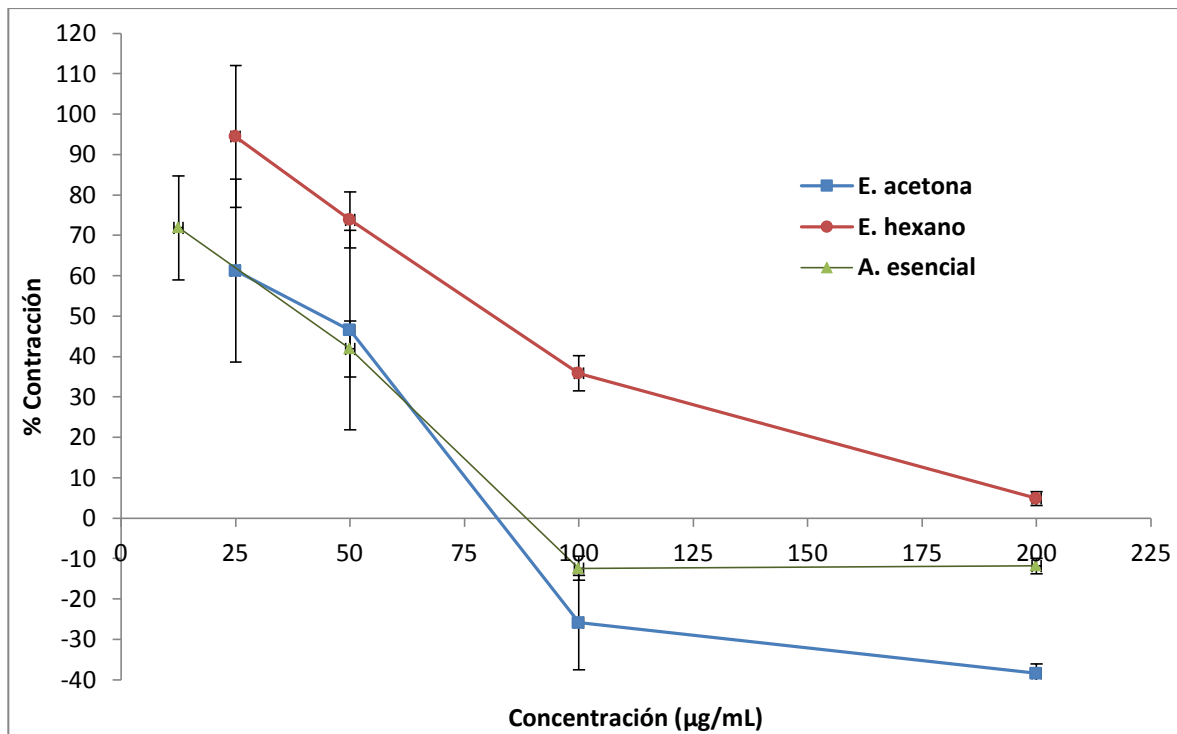


Figura 14. Evaluación de la actividad relajante de los extractos de *S. chamaecyparissus*.

Como se muestra en la Figura 14, los tres extractos evaluados inhiben las contracciones inducidas por carbacol en músculo liso de tráquea aislada de cobayo. El extracto de acetona y el aceite esencial presentan la mayor actividad relajante, a la concentración de 50 µg/mL disminuyendo el porcentaje de contracción hasta un 46.5 y 41.8%, respectivamente.

En la literatura se han reportado diversos estudios sobre músculo liso de órgano aislado (duodeno de rata, íleon de cobayo, útero de rata y vaso deferente de rata), en los cuales los extractos de hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol inhiben las contracciones inducidas por diversos agonistas (acetilcolina, histamina, oxitocina y noradrenalina) (Giner, 1988; 1989).



7. CONCLUSIONES

Santolina chamaecyparissus L. contiene compuestos de tipo mono y sesquiterpenoide oxigenados, de acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis por CG/EM del aceite esencial, siendo el borneol uno de los compuestos mayoritarios.

Los compuestos mayoritarios de las partes aéreas de *Santolina chamaecyparissus* L. consisten en un flavonoide (pectolinaringenina), dos sesquiterpenos de tipo germacrano: el 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol y el germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol, un derivado acetilénico (4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno) y un esteroide (glucósido de β -sitosterol).

En conjunto, los resultados obtenidos en este trabajo permiten validar el uso popular de *S. chamaecyparissus*, especie colectada en la Ciudad de México, como antiespasmódico del tracto respiratorio ya que tanto el extracto de acetona como el aceite esencial mostraron una actividad relajante sobre músculo liso de tráquea de cobayo, en el ensayo realizado.

8. PERSPECTIVAS

1. Realizar la evaluación farmacológica de los metabolitos aislados con la finalidad de establecer al compuesto activo y su posible mecanismo de acción.
2. Continuar con el estudio fitoquímico del extracto de metanol de *S. chamaecyparissus* para establecer su composición.



9. REFERENCIAS

- Akerele, O. (1993). *Las plantas medicinales: un tesoro que no debemos desperdiciar*, Foro mundial de la salud, 15, 390-395.
- Arrigoni, P.V. (1979). *Le genre Santolina L. en Italie*. Webbia, 34, 257–264.
- Barrero, A. F., Sánchez, J. F., Arana, E. (1988). *Germacranolides from Santolina rosmarinifolia subsp. canescens*. Phytochemistry, 27 (12), 3969-3970.
- Barrero, A. F., Herrador, M. M., Quilez, J. F., Alvarez, R., Portal, D., Gavin, J. A., Gravalos, D. G., Simmonds, M.S.J., Blaney, W.M. (1999). *Bioactive sesquiterpenes from Santolina rosmarinifolia subsp. canescens, a conformational analysis of the germacrane ring*. Phytochemistry, 51, 529-541.
- Becchi, M., Carrier, M. (1980). *6-methoxy flavones of Santolina chamaecyparissus*. Planta Medica, 38(3), 267-268.
- Beyra, A., León, M., Iglesias, E., Ferrándiz, D., Herrera, R., Volpato, G., Álvarez, R. (2004), *Estudios etnobotánicos sobre plantas medicinales en la provincia de Camagüey (Cuba)*, Anales del jardín botánico de Madrid, 61(2), 185-204.
- Boudoukha, C., Bouriche, H., Ortega, E., Senator, A. (2016). *Immunomodulatory effects of Santolina chamaecyparissus leaf extracts on human neutrophil functions*. Pharmaceutical Biology, 54(4), 667-673.
- Cheng, A., Lou, Y., Mao, Y., Lu, S., Wang, L., Chen, X. (2007). *Plant Terpenoids: Biosynthesis and Ecological Functions*. Journal of Integrative Plant Biology, 49 (2), 179-186.
- Cortez-Gallardo, V., Macedo-Ceja, J. P., Hernández-Arroyo, M., Arteaga-Aureoles, G., Espinosa-Galván, D., Rodríguez-Landa, J. F. (2004), *Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas*, Revista Biomédica, 15(2), 123-136.



- Derbesy, M., Touche, J., Zola, A. (1989). *The essential oil of Santolina chamaecyparissus* L. J. Essent. Oil Res. 1, 269–275.
- De Pascual Teresa, J., Bellido, I. S., González, M. S., Vicente, S. (1986). *Tetracyclic triterpenes and nerolidol derivatives from Santolina oblongifolia*. Phytochemistry, 25 (1), 185-190.
- De Santayana, M. P., Morales, R. (2006). *Manzanillas ibéricas: historia y usos tradicionales*. Revista de fitoterapia, 6(2), 143-153.
- Dewick, P. M. (2002). *Medicinal Natural Products*, Segunda Edición, John Wiley & Sons, Chichester, Inglaterra. Pp. 172-219.
- Elsharkawy, E. (2014). *Anticancer effect and seasonal variation in oil constituents of Santolina chamaecyparissus*. Chemistry and Material Research, 6(3), 85-91.
- Ferrari, B., Tomi, F., Richomme, P., Casanova, J. (2005). *Two new irregular acyclic sesquiterpenes aldehydes from Santolina corsica essential oil*. Magnetic Resonance in Chemistry, 43, 73-74.
- Ferrari, B., Tomi, F., Casanova, J. (2005). *Terpenes and acetylene derivatives from the roots of Santolina Corsica (Asteraceae)*. Biochemical Systematics and Ecology, 33, 445-449.
- Funk, V. A., Susanna, A., Stuessy, T. F., & Robinson, H. (2009). *Classification of compositae*. Systematic, evolution and biogeography of Compositae, 171-192.
- García-Sánchez, C. A., Sánchez-González, A., & Villaseñor, J. L. (2014). *La familia Asteraceae en el Parque Nacional Los Mármoles, Hidalgo, México*. Acta botánica mexicana, (106), 97-116.



- Giner, R. M., Ríos, J. L., Villar, A. (1988). *CNS Depressant Effects, Anti-inflammatory Activity and Anti-cholinergic Actions of Santolina chamaecyparissus Extracts*. *Phytotherapy Research*, 2 (1), 37-41.
- Giner, R. M., Ríos, J. L., Villar, A. (1989). *Inhibitory effects of Santolina chamaecyparissus extracts against spasmogen agonists*. *Journal of Ethnopharmacology*, 27, 1-6.
- Giner-Pons, R., Rios-Cañavate, J. (2000). *Santolina chamaecyparissus*. *Revista de fitoterapia*, 1(1), 27-34.
- *Integrated Taxonomic Information System*. Consultado en línea en: <https://www.itis.gov/>
- Lam, J., Bildsoe, H., Christensen, L., Thomassen, T. (1989). *Chemical Constituents of Santolina chamaecyparissus*. *Acta Chemica Scandinavica*, 43, 799-802.
- López-Udías, S., Fabregat-Lluega, C. (2002) *El género Santolina L: en el Sistema Ibérico*. *Encuentro Nacional de Estudios sobre la Cordillera Ibérica*, 471-479.
- Maqua, M. P., Vines, A. C., Caballero, E., Grande, M. C., Medarde, M., Bellido, I. S. (1988). *Components from Santolina rosmarinifolia, subsp. rosmarinifolia and canescens*. *Phytochemistry*, 27(11), 3664-3667.
- Marco, J. A., Sanz-cervera, J. F., Carda, M., Lex, J. (1993). *Oxygenated germacranes from Santolina chamaecyparissus*. *Phytochemistry*, 34(6), 1549-1559.
- Muñetón-Pérez, P. (2009), *Plantas medicinales: un complemento vital para la salud de los mexicanos*. *Revista Digital Universitaria* (en línea). 10 (9). Disponible en internet: <http://www.revista.unam.mx/vol.10/num9/art58/int58.htm>
- Ocegueda, S., Moreno, E., Koleff, P. (2005). *Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica*, CONABIO, *Biodiversitas*, 62, 12-15.



- Osuna-Torres, L., Tapia-Pérez, M., Aguilar-Contreras, A. (2005). *Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales*, Universidad de Barcelona, p. 17.
- Palá-Paúl, J., Pérez-Alonso, M. J., Velasco-Negueruela, A., Palá-Paúl, R., Sanz, J., Conejero, F. (2001). *Seasonal variation in chemical constituents of Santolina rosmarinifolia L. ssp. rosmarinifolia*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 29, 663-672.
- Ríos, J. L., Giner, R. M., Villar, A. (1989). *Isolation and identification of an antiinflammatory principle from Santolina chamaecyparissus*. *Phytotherapy Research*, 3(5), 212-214.
- Sala, A., Recio, M. C., Giner, R. M., Máñez, S., Ríos, J. L. (2000). *Anti-phospholipase A₂ and anti-inflammatory activity of Santolina chamaecyparissus*. *Life Sciences*, 66(2), 35-40.
- Salah-Fatnassi, K., Hassayoun, F., Cheraif, I., Khan, S., Ben, H., Hammami, M., Aouni, M., Harzallah-Skhiri, F. (2017). *Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of flowerhead and root essential oils of Santolina chamaecyparissus L., growing wild in Tunisia*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24, 875-882.
- Sanz, J. F., García-Sarrión, A., Marco, J. A. (1991). *Germacrane derivatives from Santolina chamaecyparissus*. *Phytochemistry*, 30(10), 3339-3342.
- Serra, A., Alió, J. L., Mulet, M. E., Artola, A., Ayala, M. J., Ríos, J. L., Simeón, S. (1991). *Acción inhibidora de radicales libres en córnea de la Santolina chamaecyparissus*. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*, 61, 57-62.
- Silván, A. M., Abad, M. J., Bermejo, P., Sollhuber, M., Villar, A. (1996). *Antiinflammatory Activity of Coumarins from Santolina oblongifolia*. *Journal of Natural Products*, 59(12), 1183-1185.



- Suresh, B., Sriram, S., Dhanaraj, S. A., Elango, K., Chinnaswamy, K. (1997). *Anticandidal activity of Santolina chamaecyparissus volatile oil*. Journal of Ethnopharmacology, 55, 151-159.
- Teixeira da Silva, J. (2004). *Mining the essential oils of the Anthemideae*. African Journal of Biotechnology, 3 (12), 706-720.
- Troll, D., Gershenzon, J. (2015). *Biosynthesis and Biological Functions of Terpenoids in Plants*. Adv Biochem Eng Biotechnol, 148, 63-106.
- Villarino, V. (1999). *Las plantas de extractos: Bases para un plan de Desarrollo del Sector*. Fundación Alfonso Martín Escudero, p. 130.
- Villarreal, M. L., Cardoso, A., Ortíz, A., Sharma, A. (2014), *Bioteconología para producir medicinas de plantas mexicanas*. Revista Digital Universitaria (en línea), 15 (8). Disponible en Internet: <http://www.revista.unam.mx/vol.15/num8/art62/index.html>
- Zaiter, L., Benayache, F., Beghidja, N., Figueredo, G., Chalard, P., Chalchat, J., Marchioni, E., Benayache, S. (2015). *Essential oils of Santolina africana Jord. & Furr. and Santolina chamaecyparissus L.*, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 18(6), 1338-1342.



10. ANEXOS

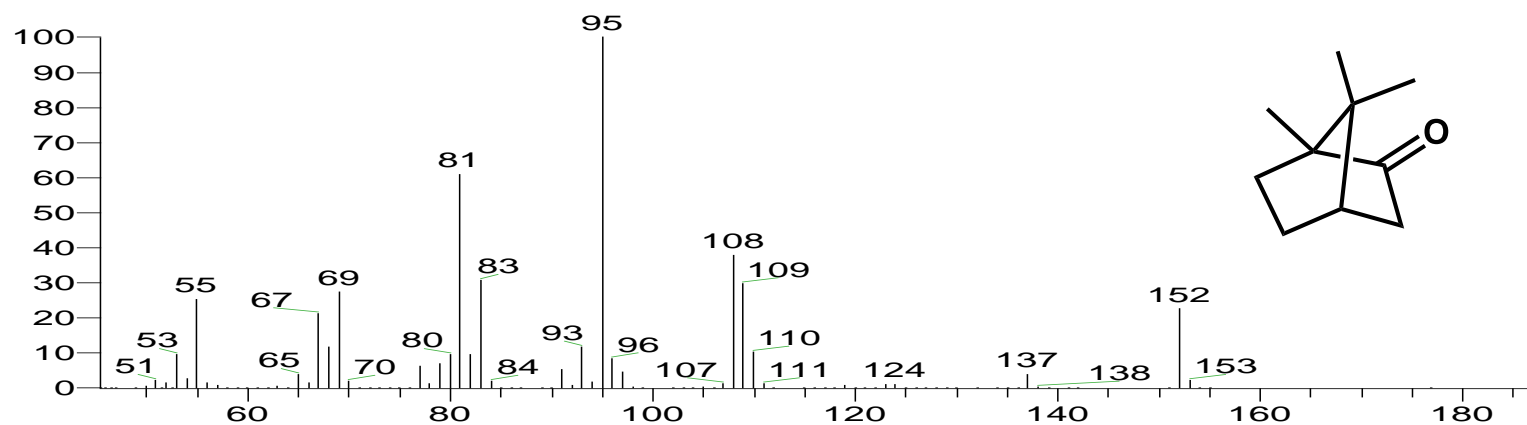


Figura 15. Espectro de masas por impacto electrónico del (1R)-1,7,7-trimetilbicyclo[2.2.1]heptan-2-ona (alcanfor) (1).

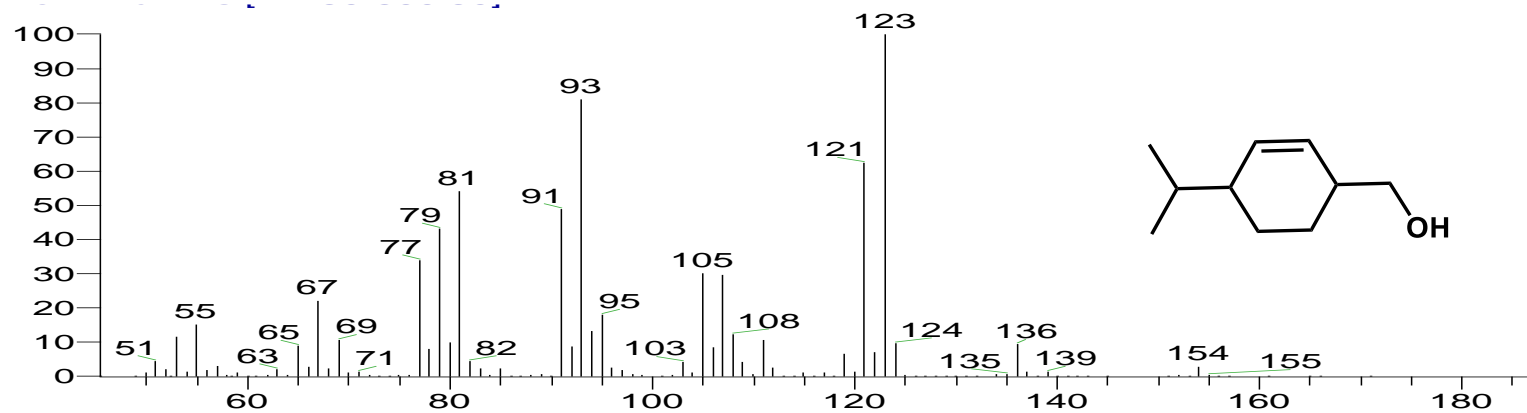


Figura 16. Espectro de masas por impacto electrónico del *cis-p*-ment-2-en-7-ol (2).

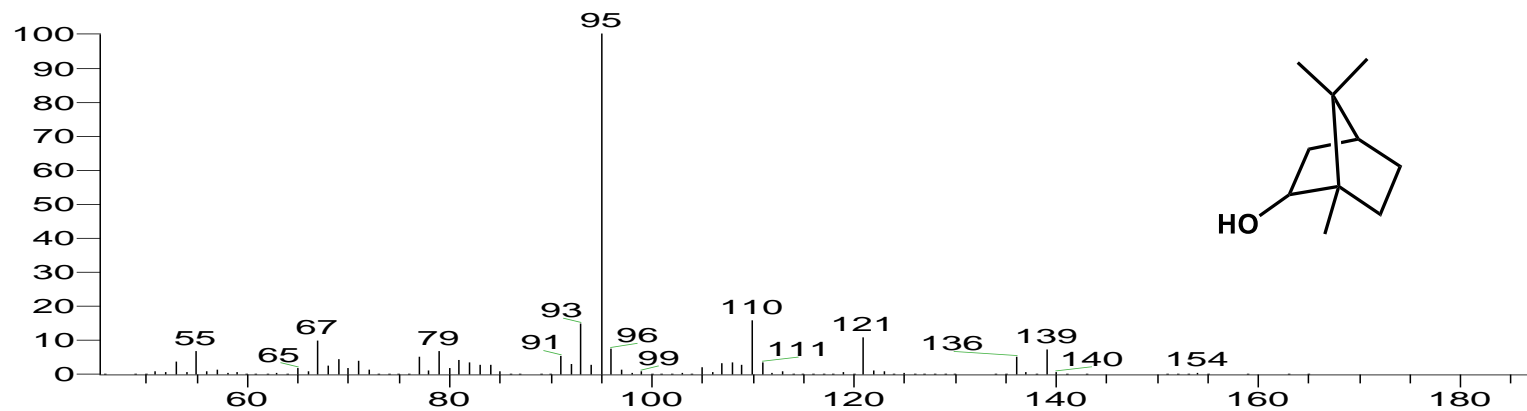


Figura 17. Espectro de masas por impacto electrónico del 1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ol (borneol) (3).

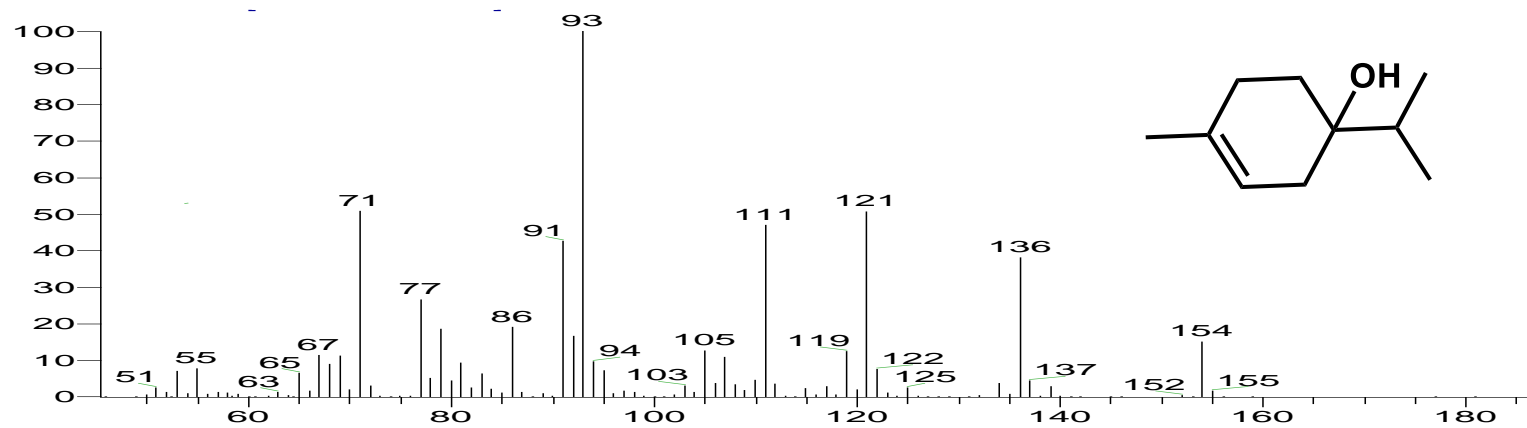


Figura 18. Espectro de masas por impacto electrónico del 4-metil-1-(1-metiletil)-3-ciclohexen-1-ol (4-terpineol) (4).

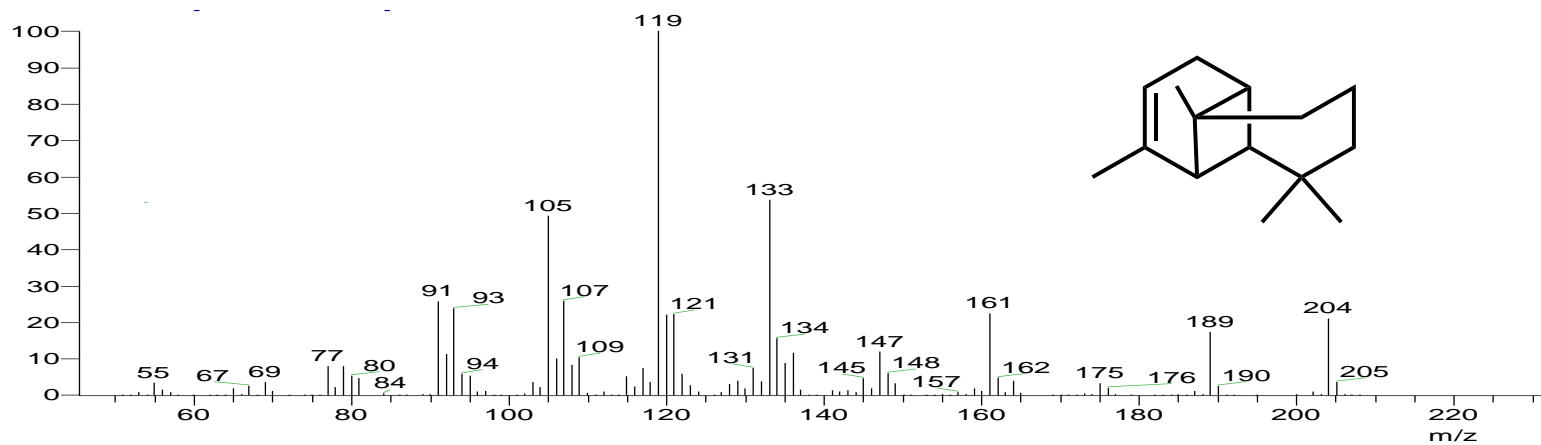


Figura 19. Espectro de masas por impacto electr3nico del 2,6,6,9-trimetiltriciclo[5.4.0.0(2,8)]undec-9-eno (α -longipineno) (5).

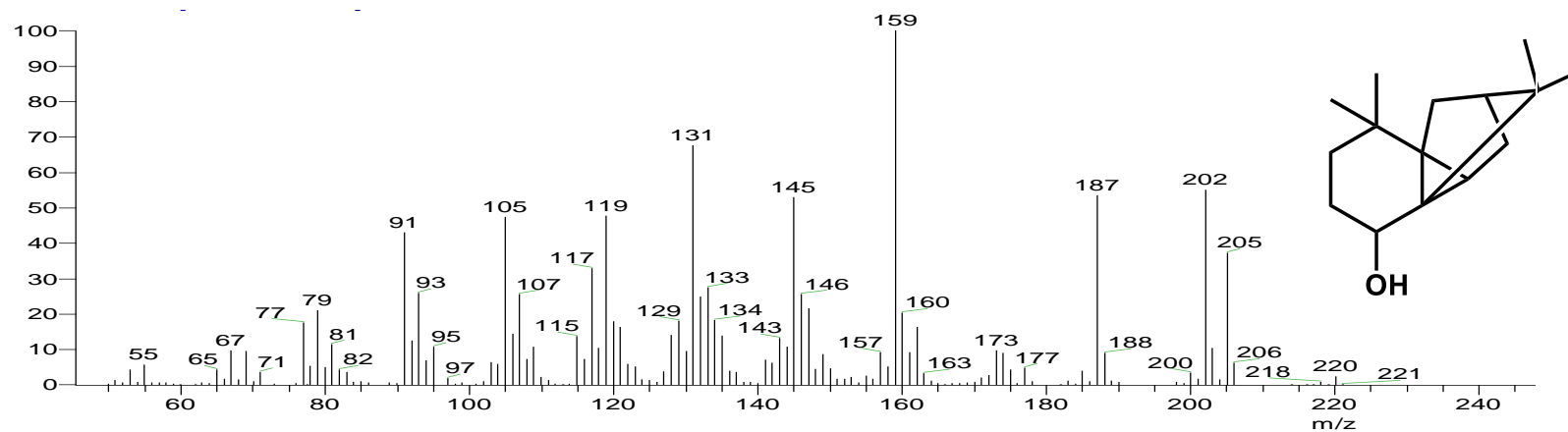


Figura 20. Espectro de masas por impacto electr3nico del 4,4,11,11-tetrametil-7-tetraciclo[6.2.1.0(3.8)0(3.9)]undecanol (6).

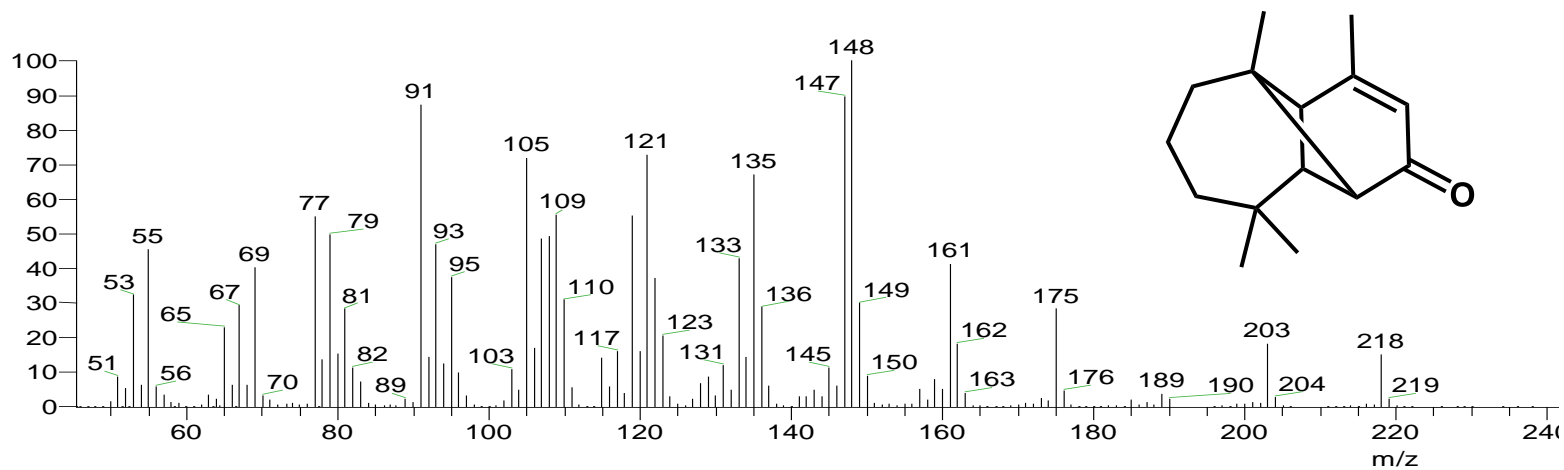


Figura 21. Espectro de masas por impacto electrónico del 2,6,6,11-tetrametiltricyclo[5.4.0.0(2,8)]undec-10-en-9-ona (longiverbenona) (7).

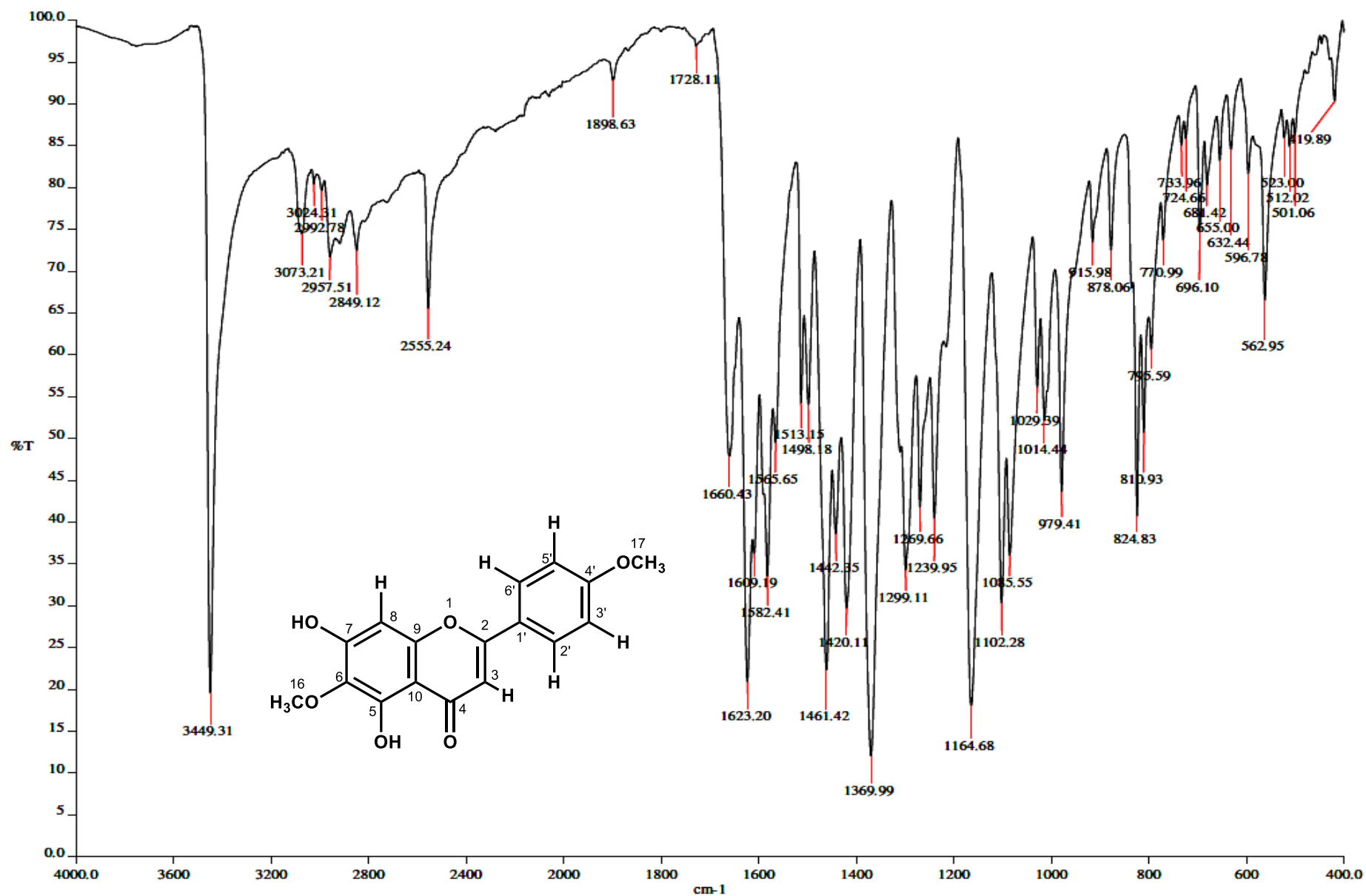


Figura 22. Espectro en el IR de la pectolinarigenina (8).

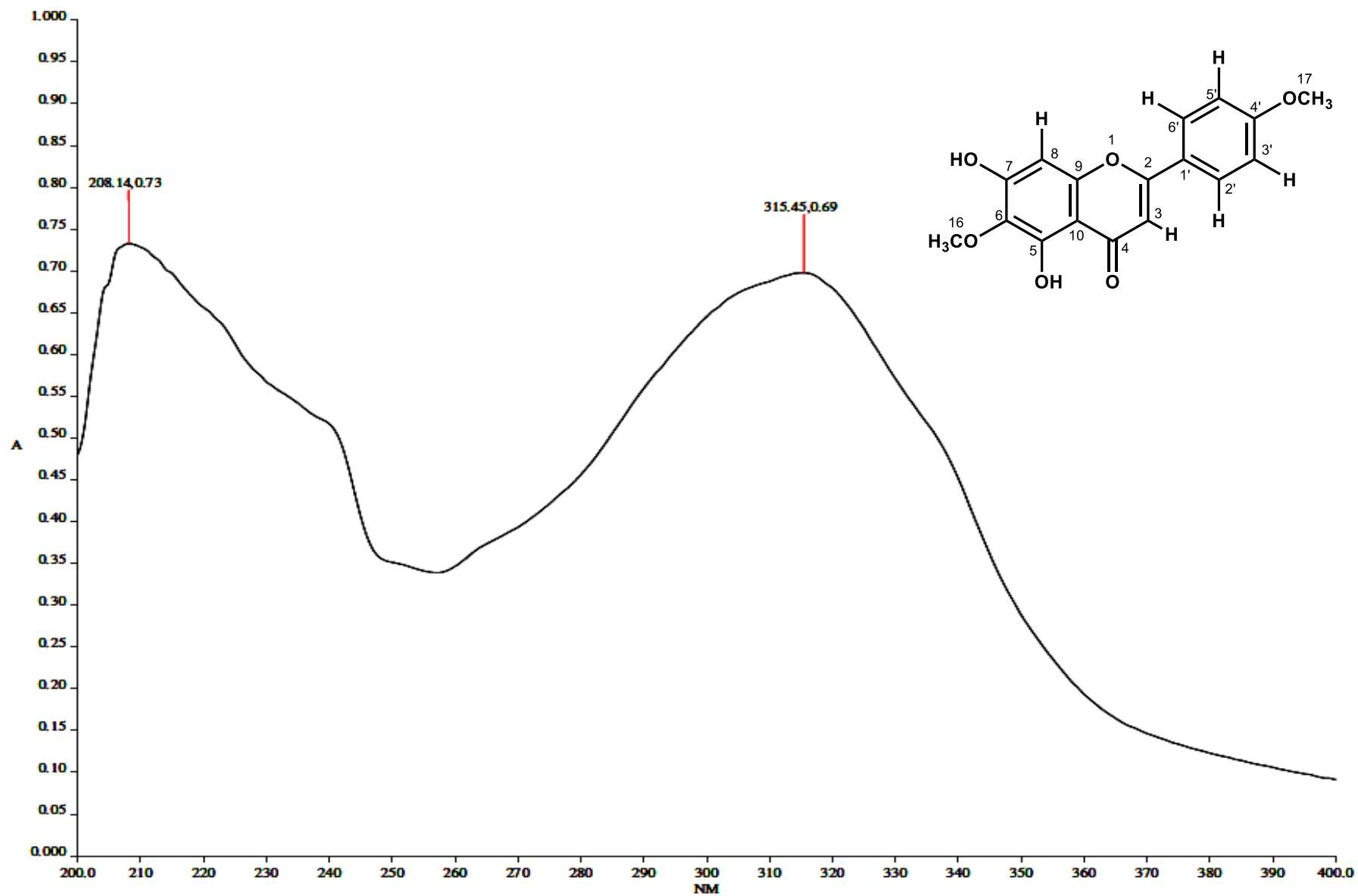


Figura 23. Espectro en el UV de la pectolinarigenina (8).

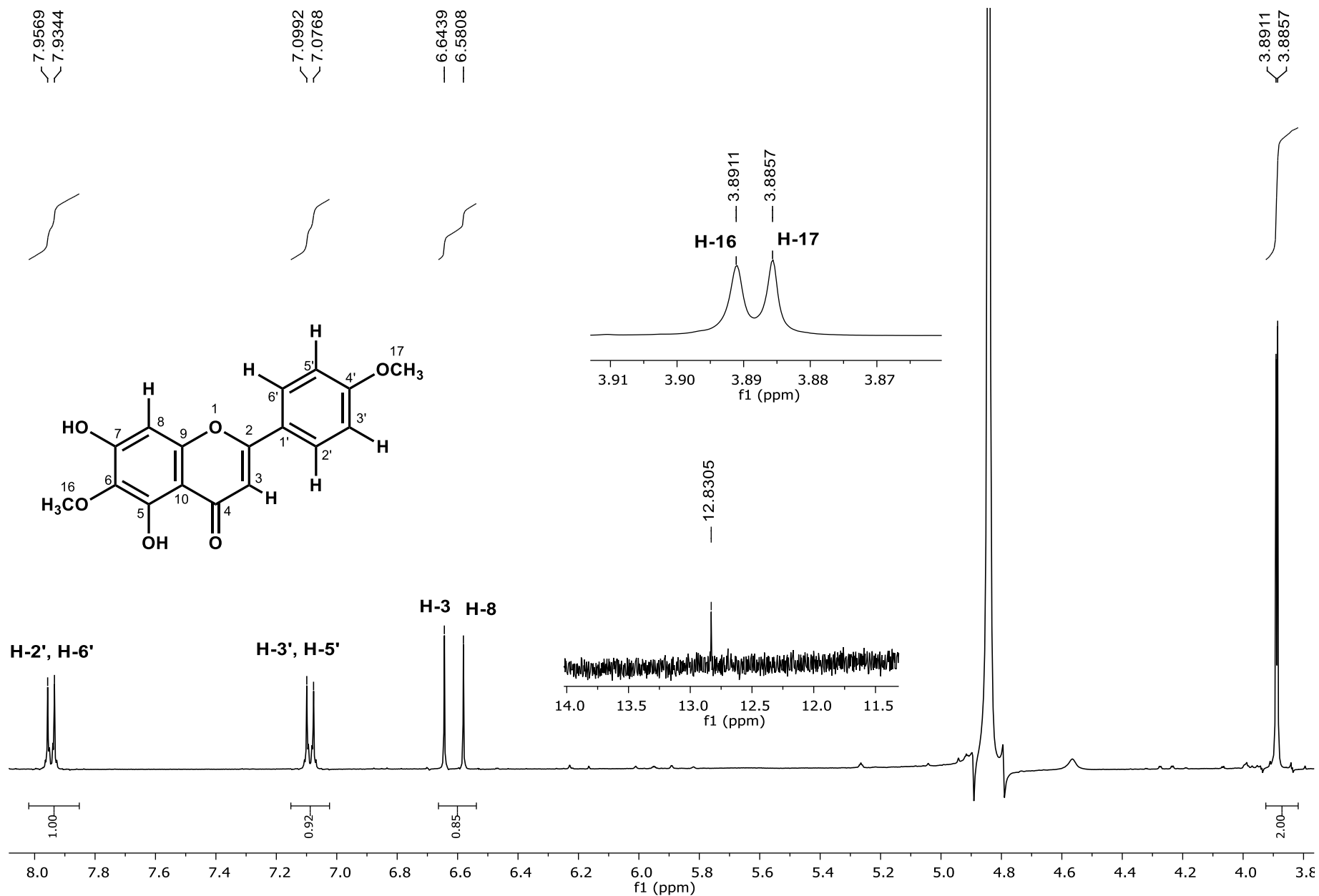
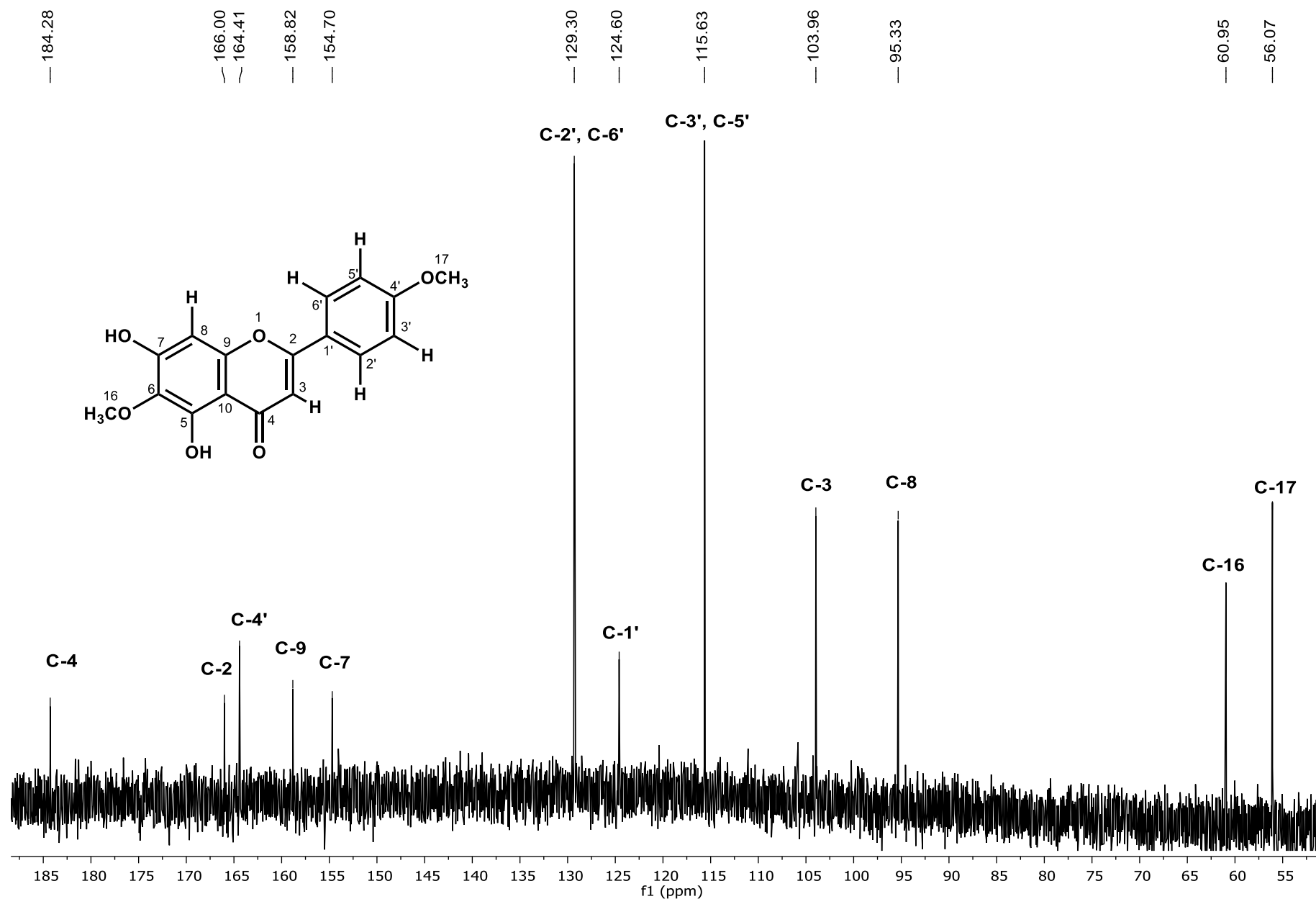
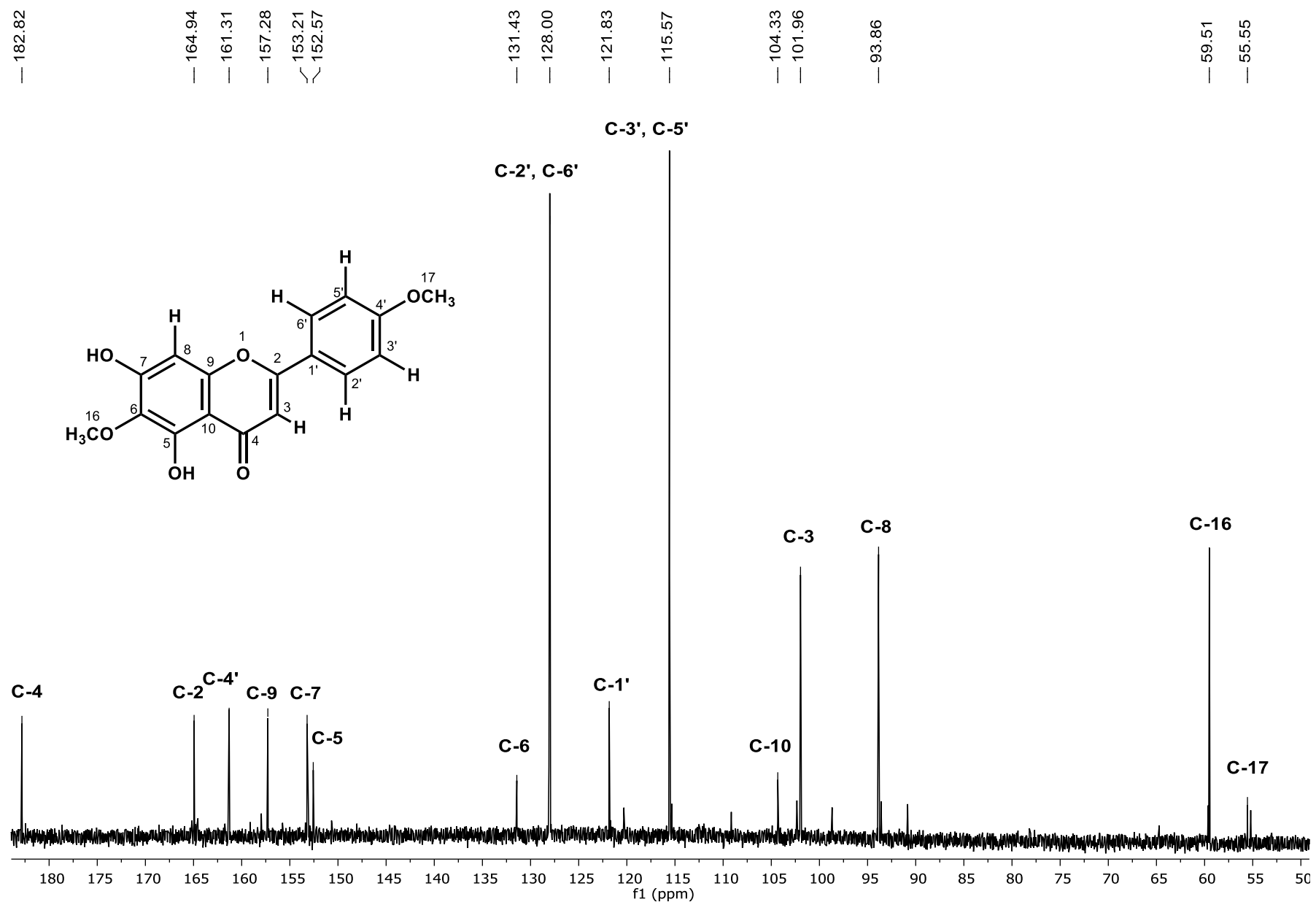


Figura 24. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CD₃OD) de la pectolinarigenina (8).





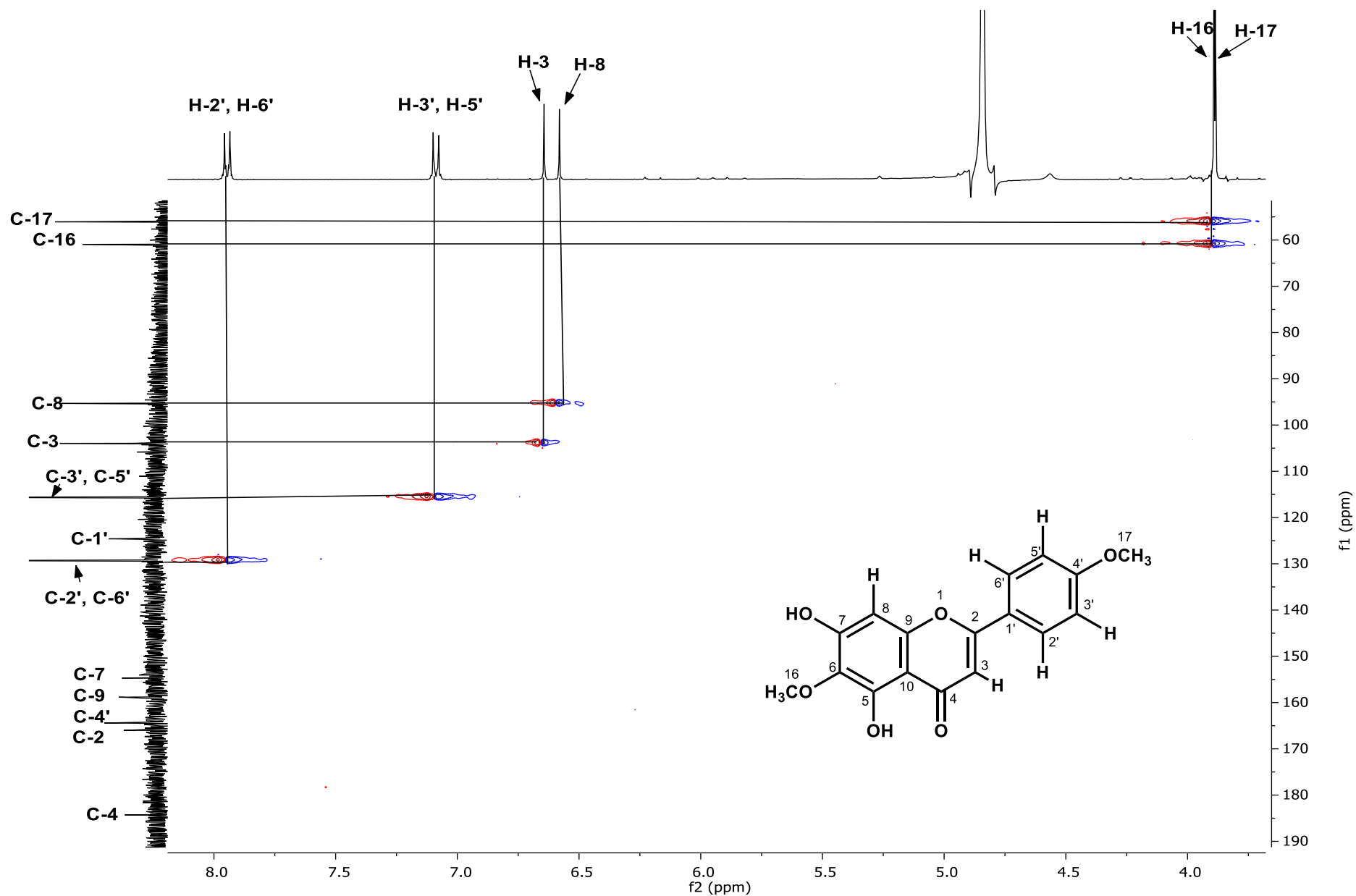


Figura 27. Espectro HSQC (400 MHz, CD₃OD) de la pectolinarigenina (8).

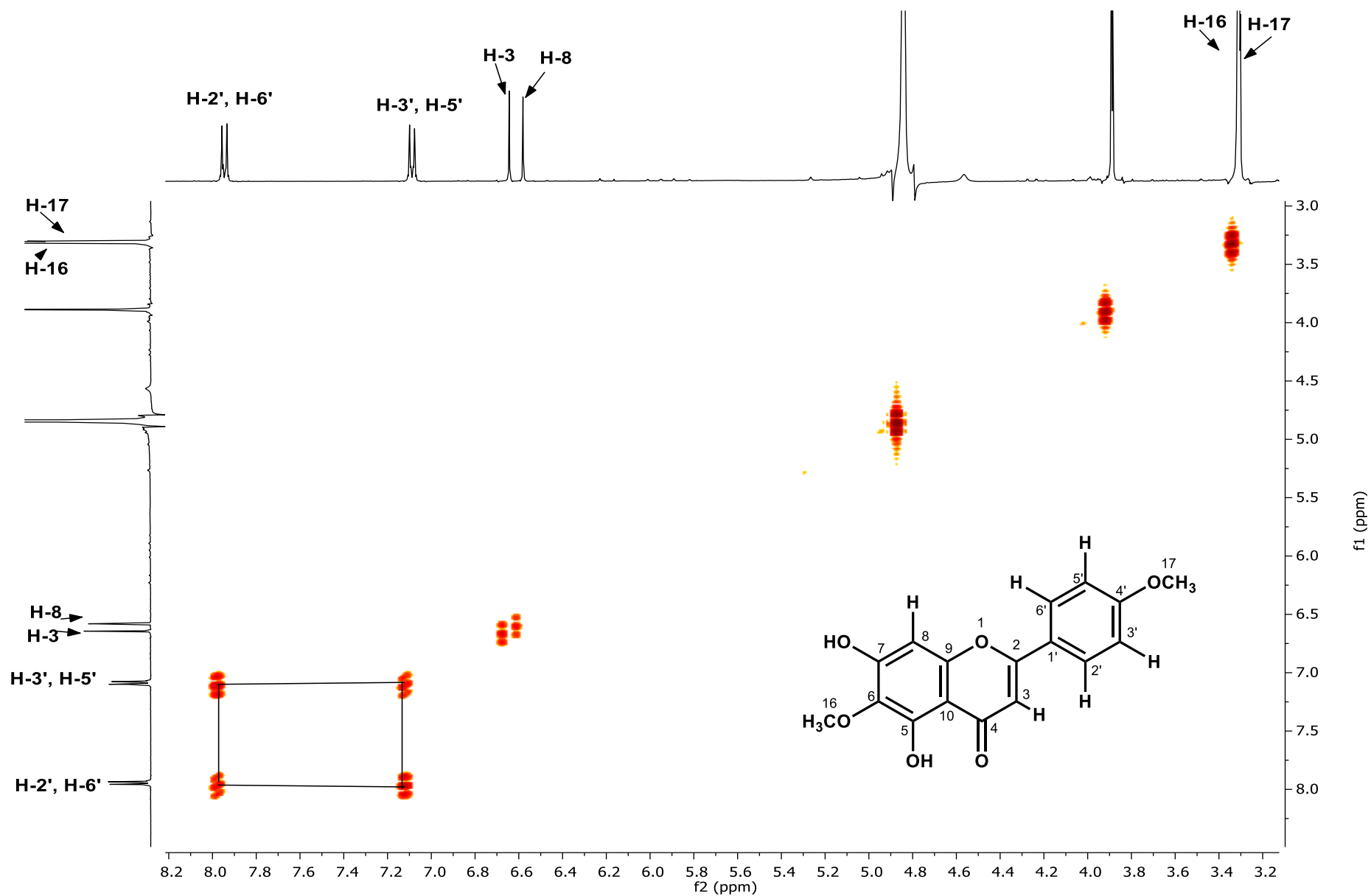


Figura 28. Espectro COSY (400 MHz, CD_3OD) de la pectolinarigenina (8).

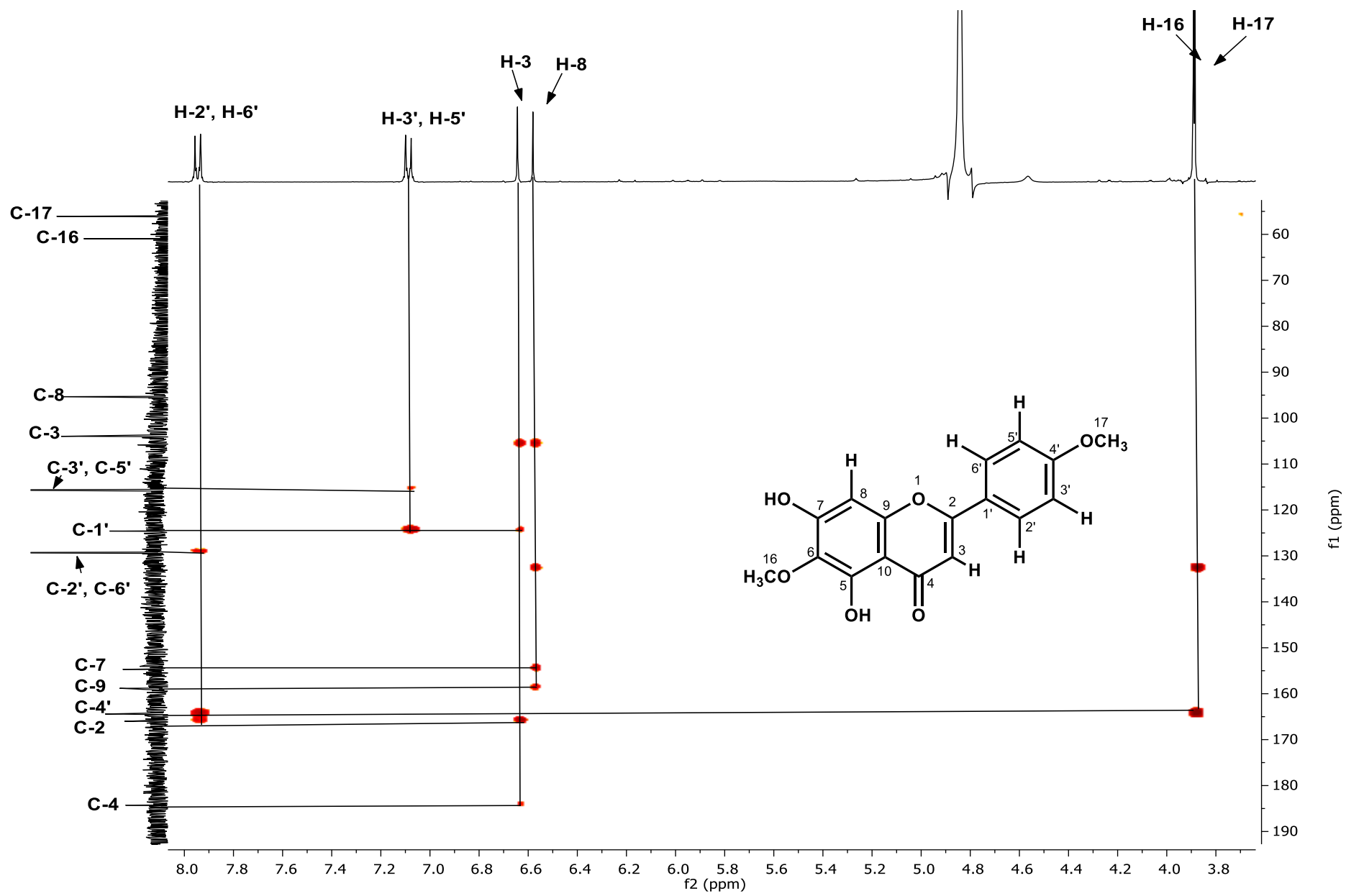


Figura 29. Espectro HMBC (400 MHz, CD₃OD) de la pectolinarigenina (8).

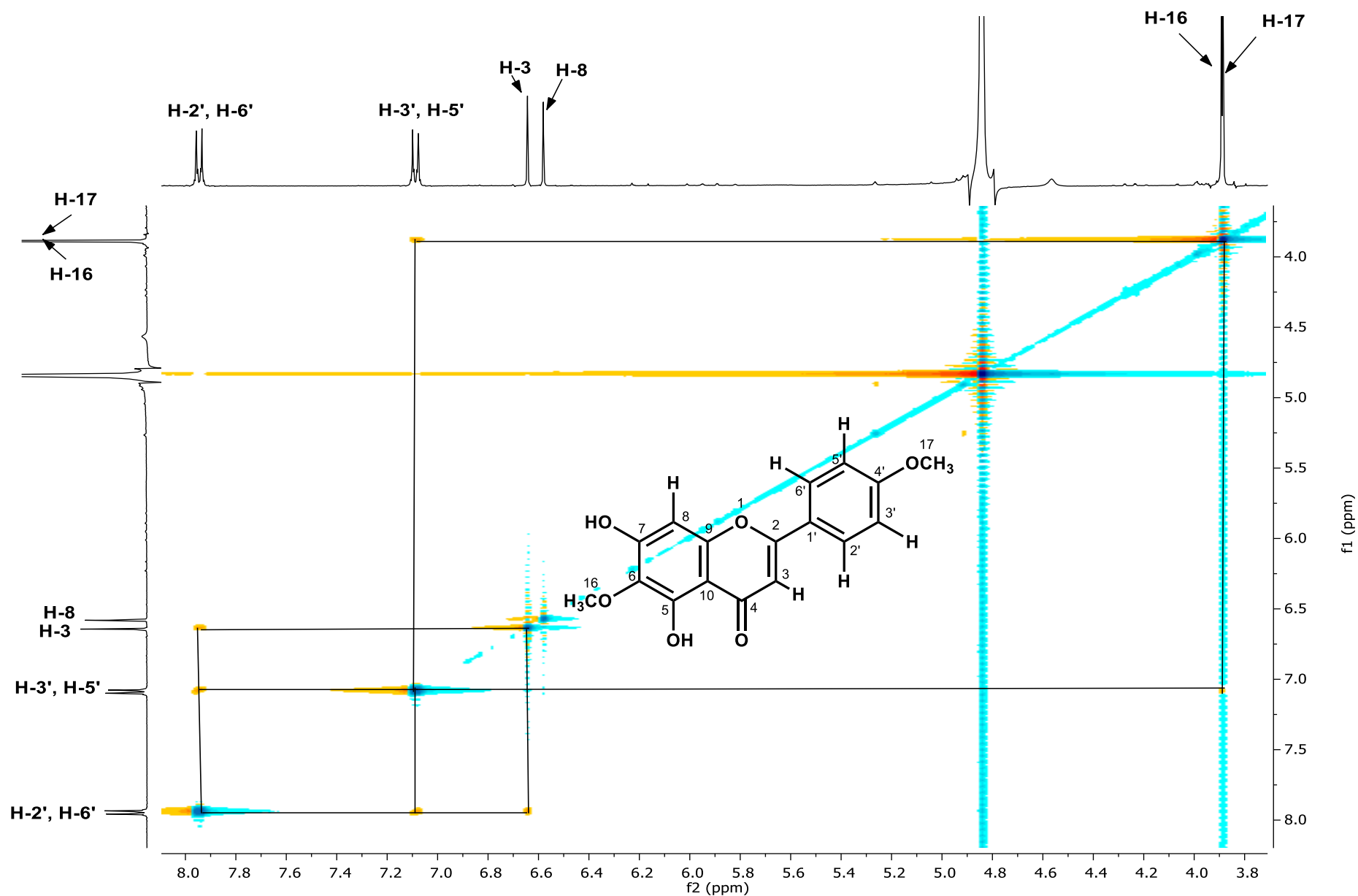


Figura 30. Espectro NOESY (400 MHz, CD₃OD) de la pectolinarigenina (8).

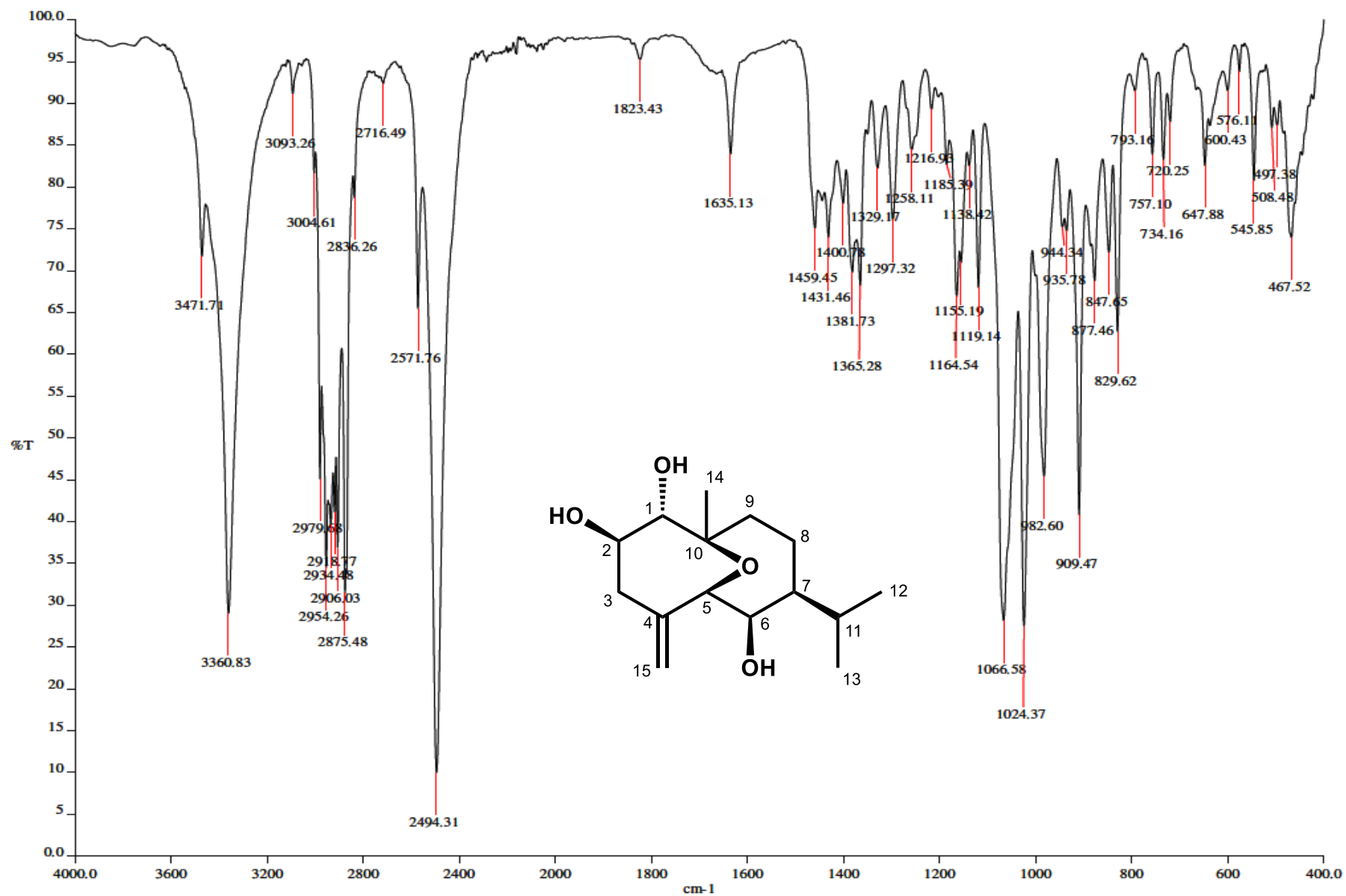


Figura 31. Espectro en el IR del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (9).

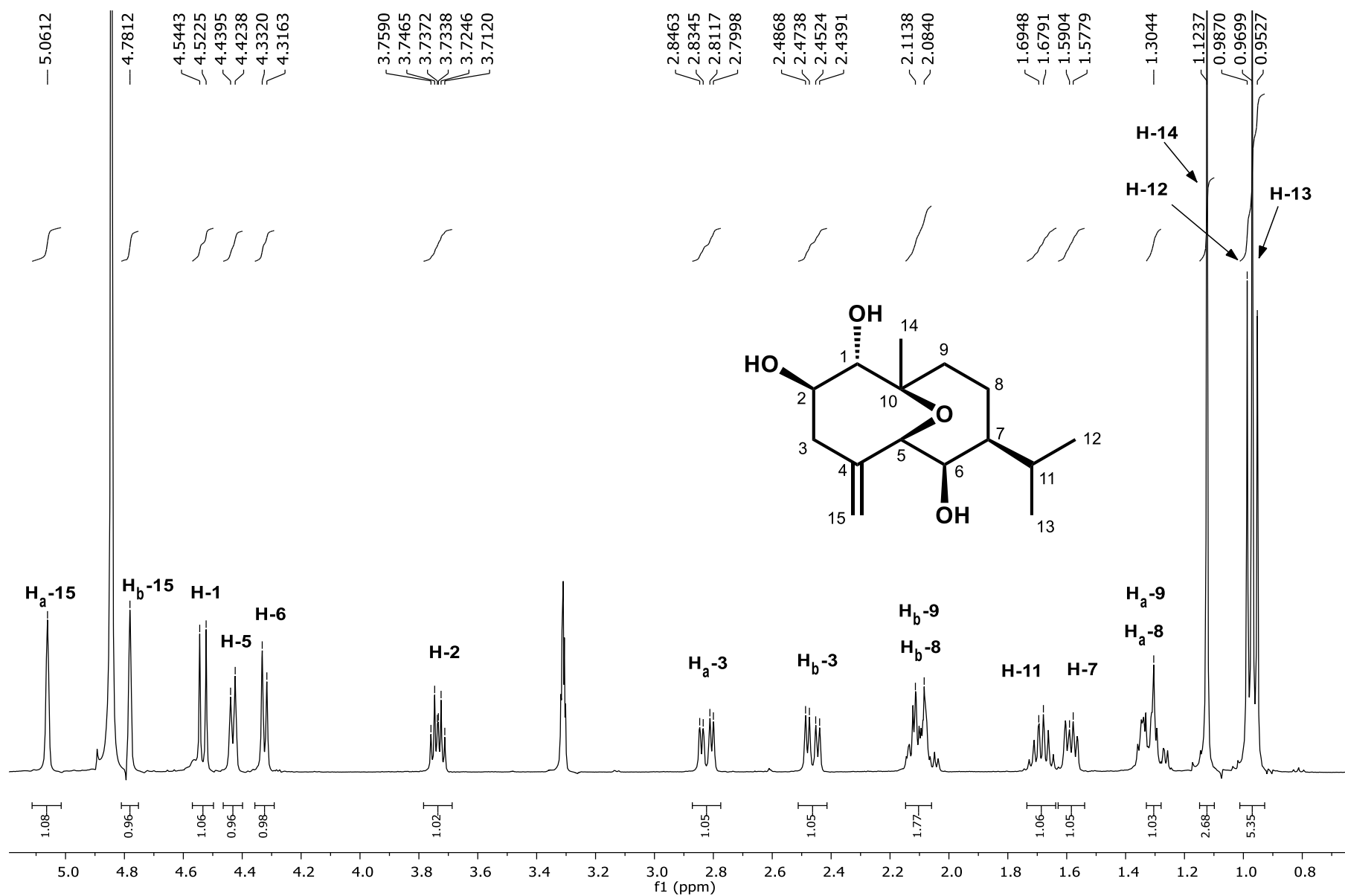


Figura 32. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CD₃OD) del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (9).

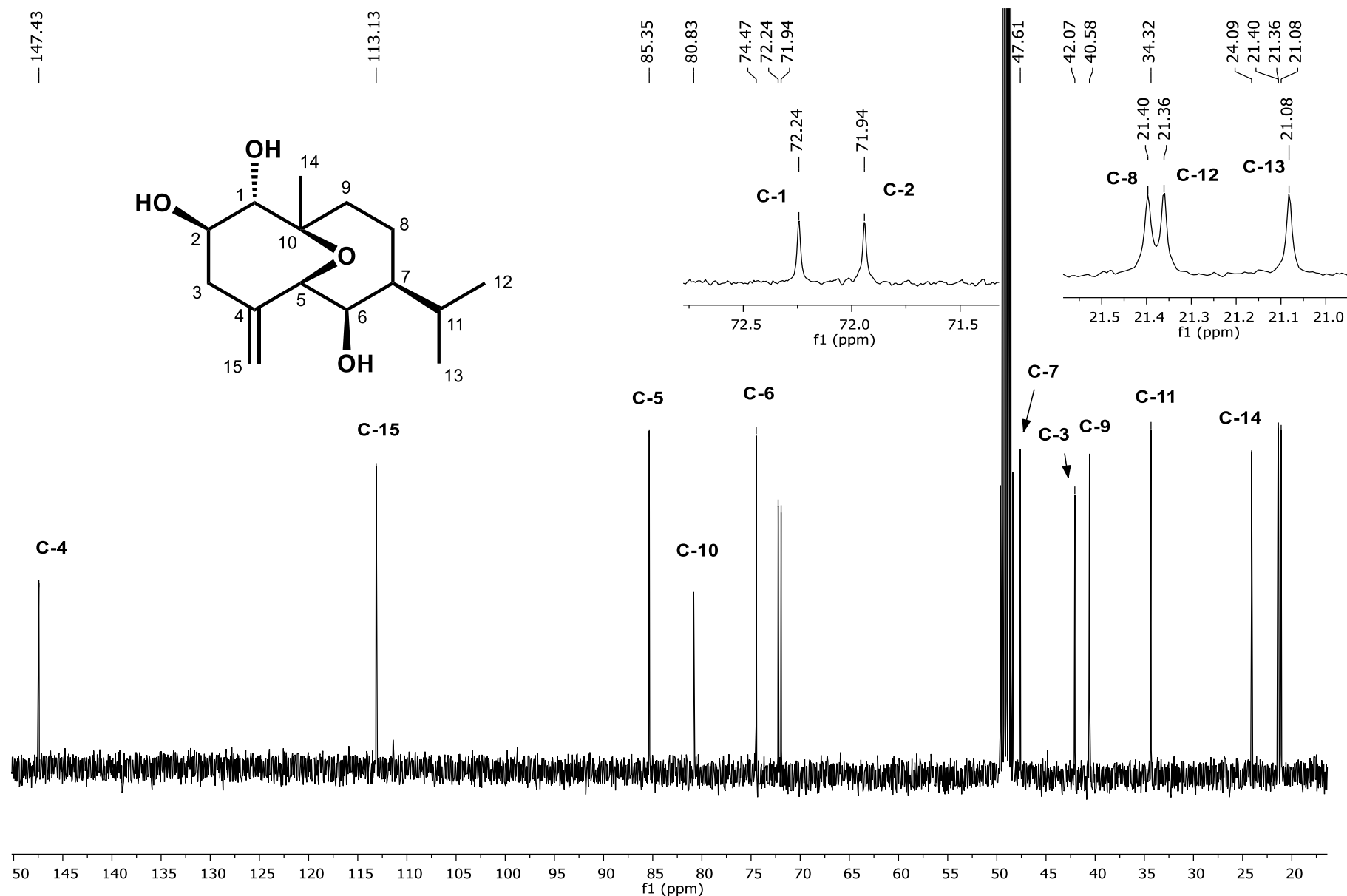


Figura 33. Espectro de RMN- ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (9).

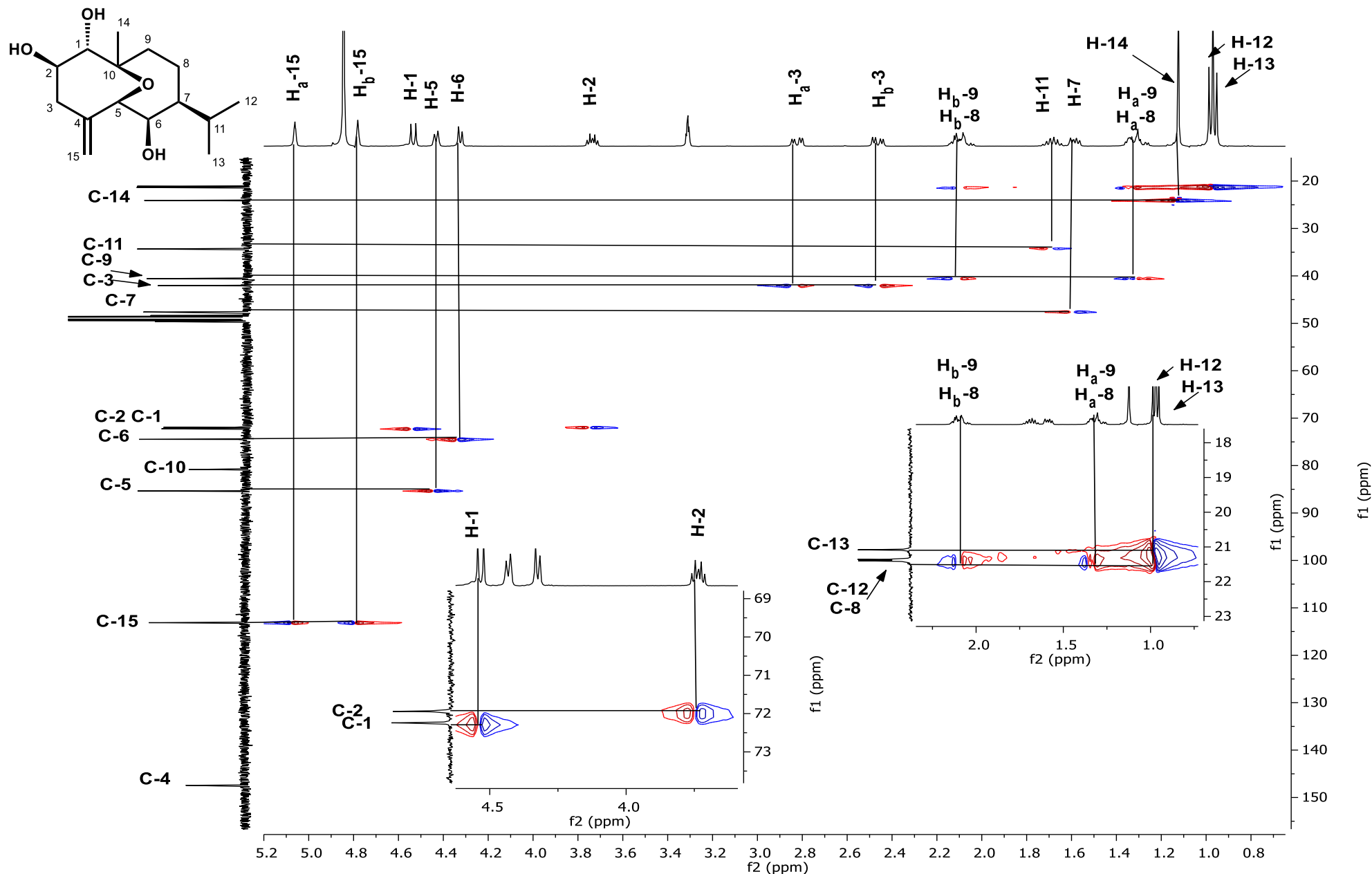


Figura 34. Espectro HSQC (400 MHz, CD₃OD) del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (9).

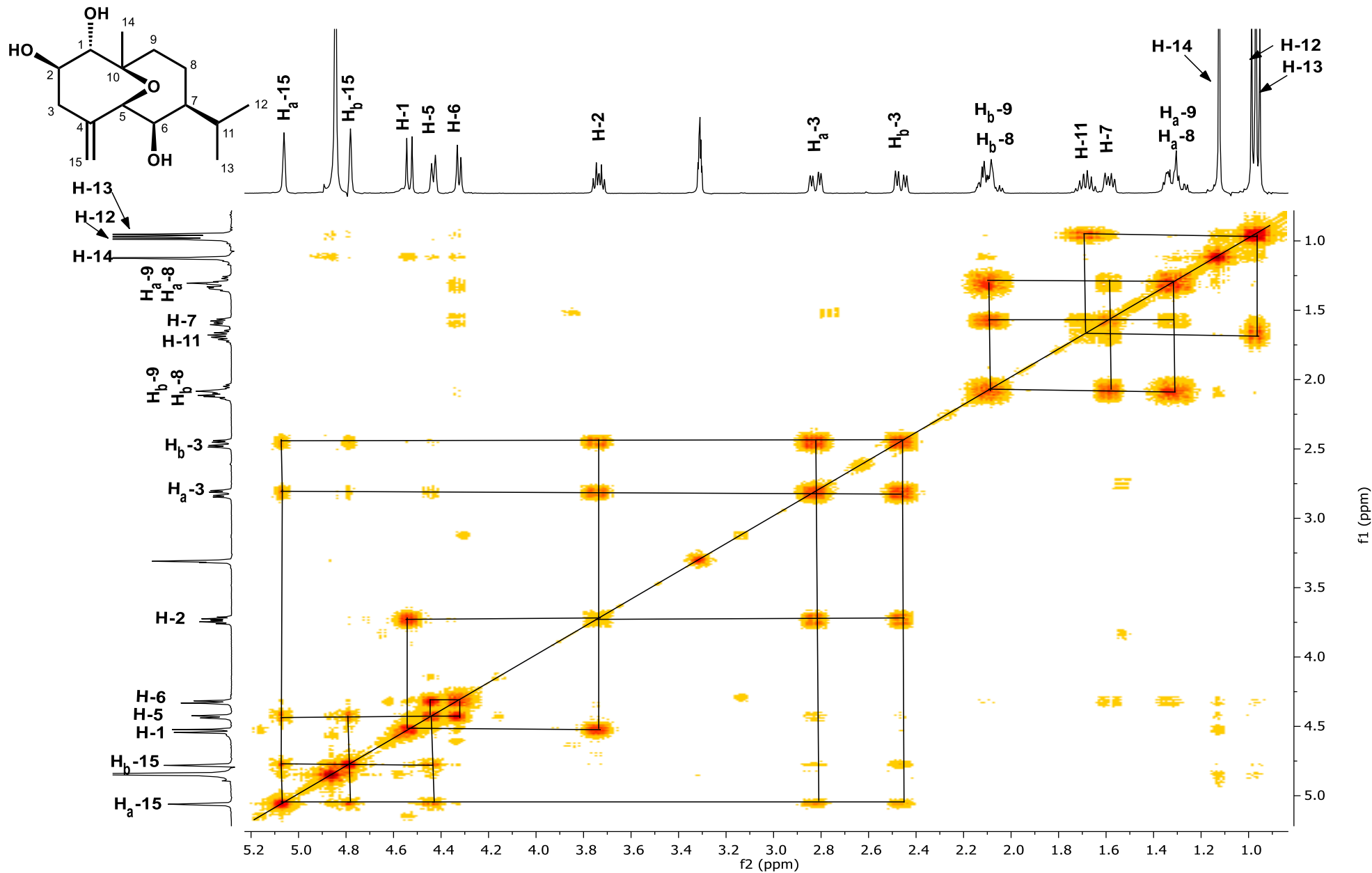


Figura 35. Espectro COSY (400 MHz, CD_3OD) del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (9).

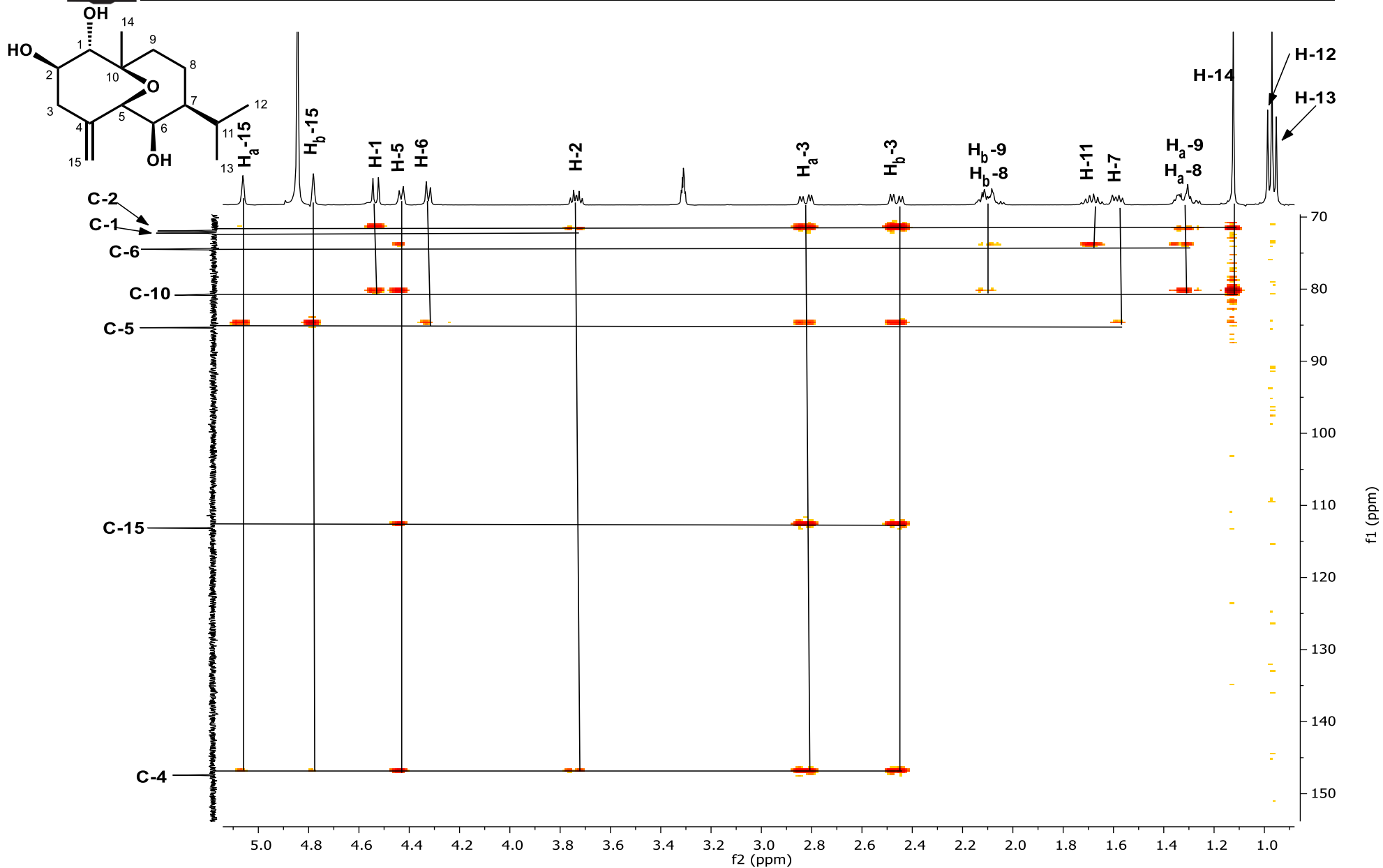


Figura 36. Espectro HMBC (400 MHz, CD₃OD) del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (9).

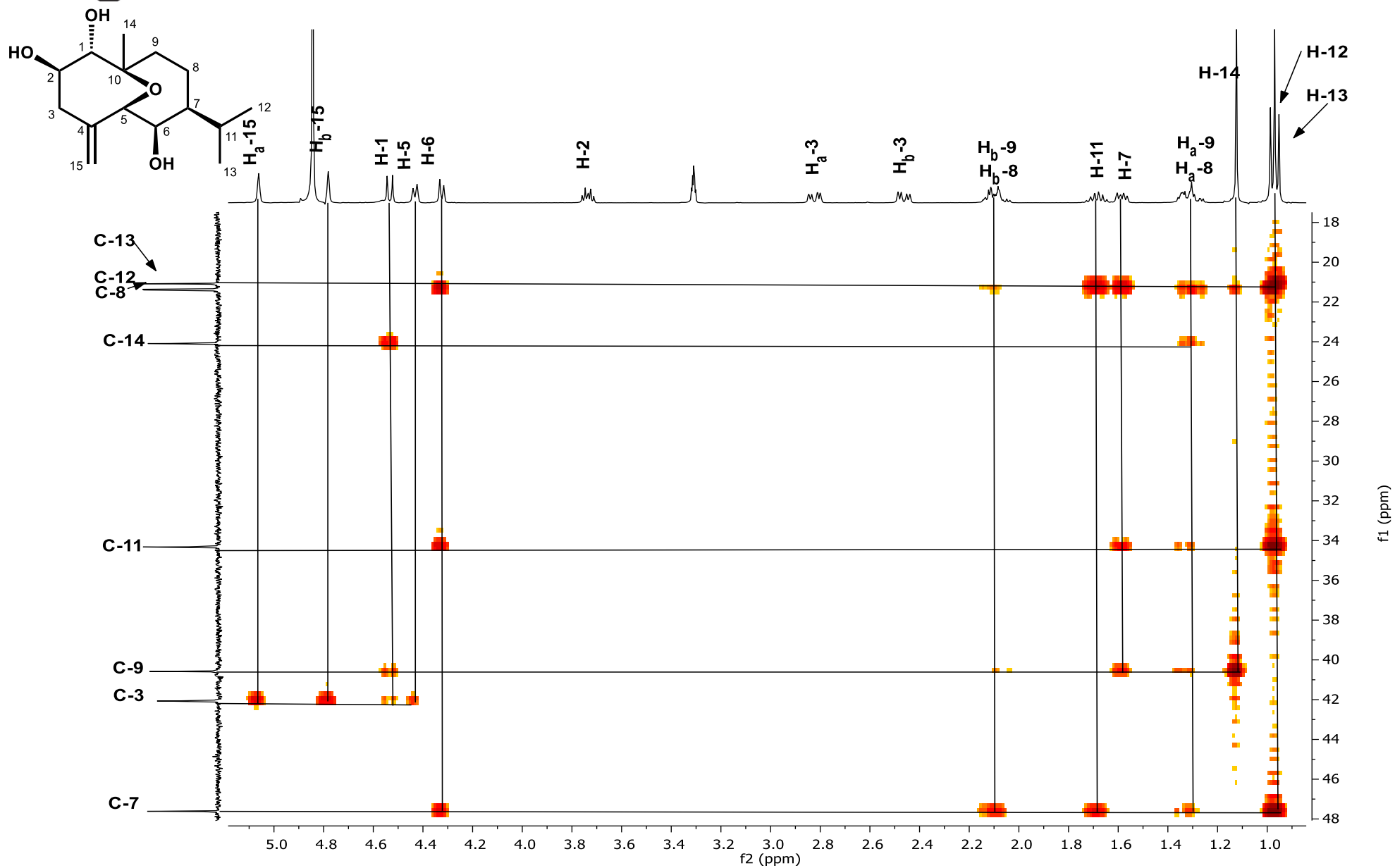


Figura 36. Espectro HMBC (400 MHz, CD₃OD) del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (9) (continuación).

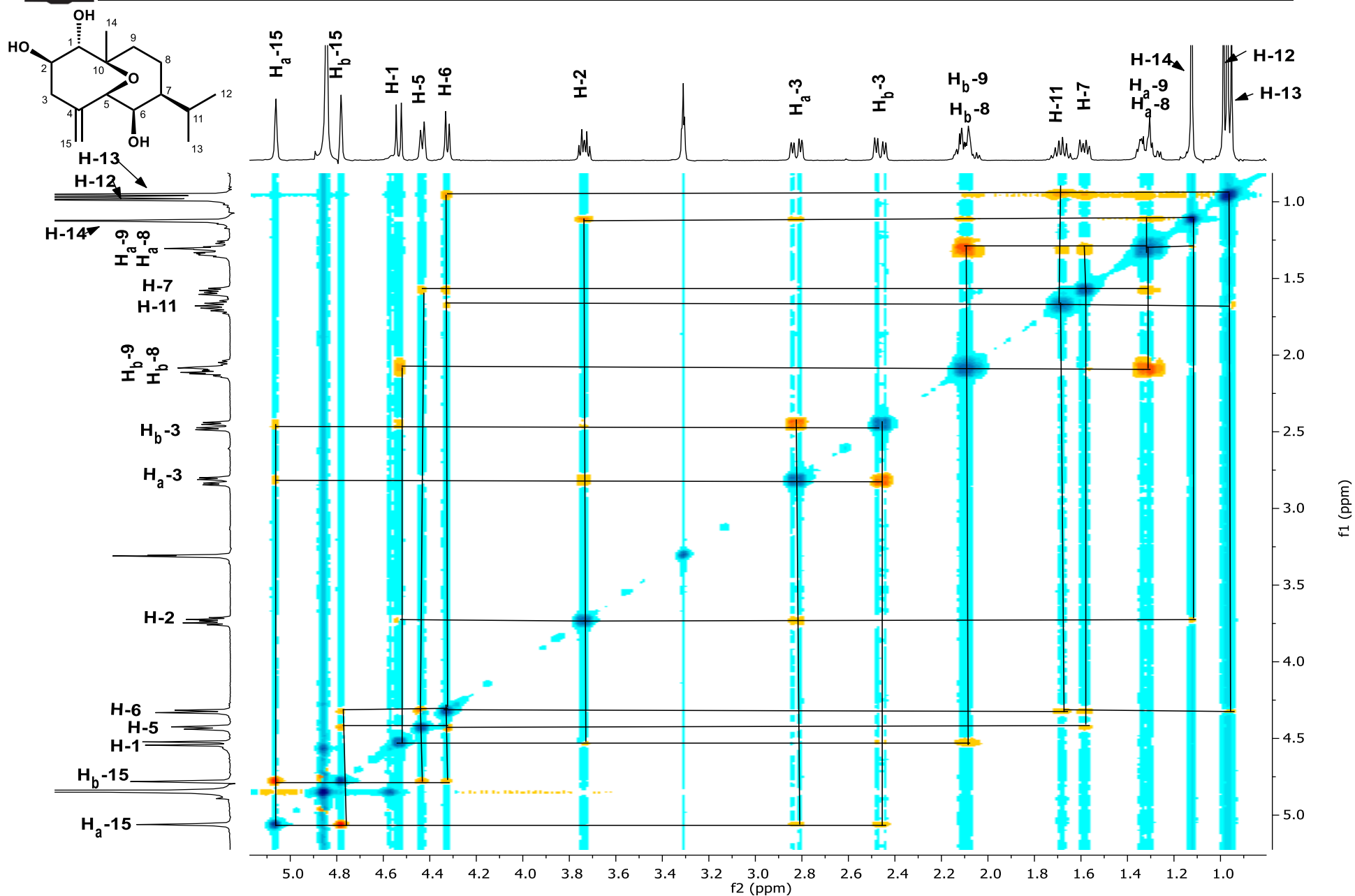


Figura 37. Espectro NOESY (400 MHz, CD₃OD) del 5,10-epoxigermacr-4(15)-en-1,2,6-triol (9).

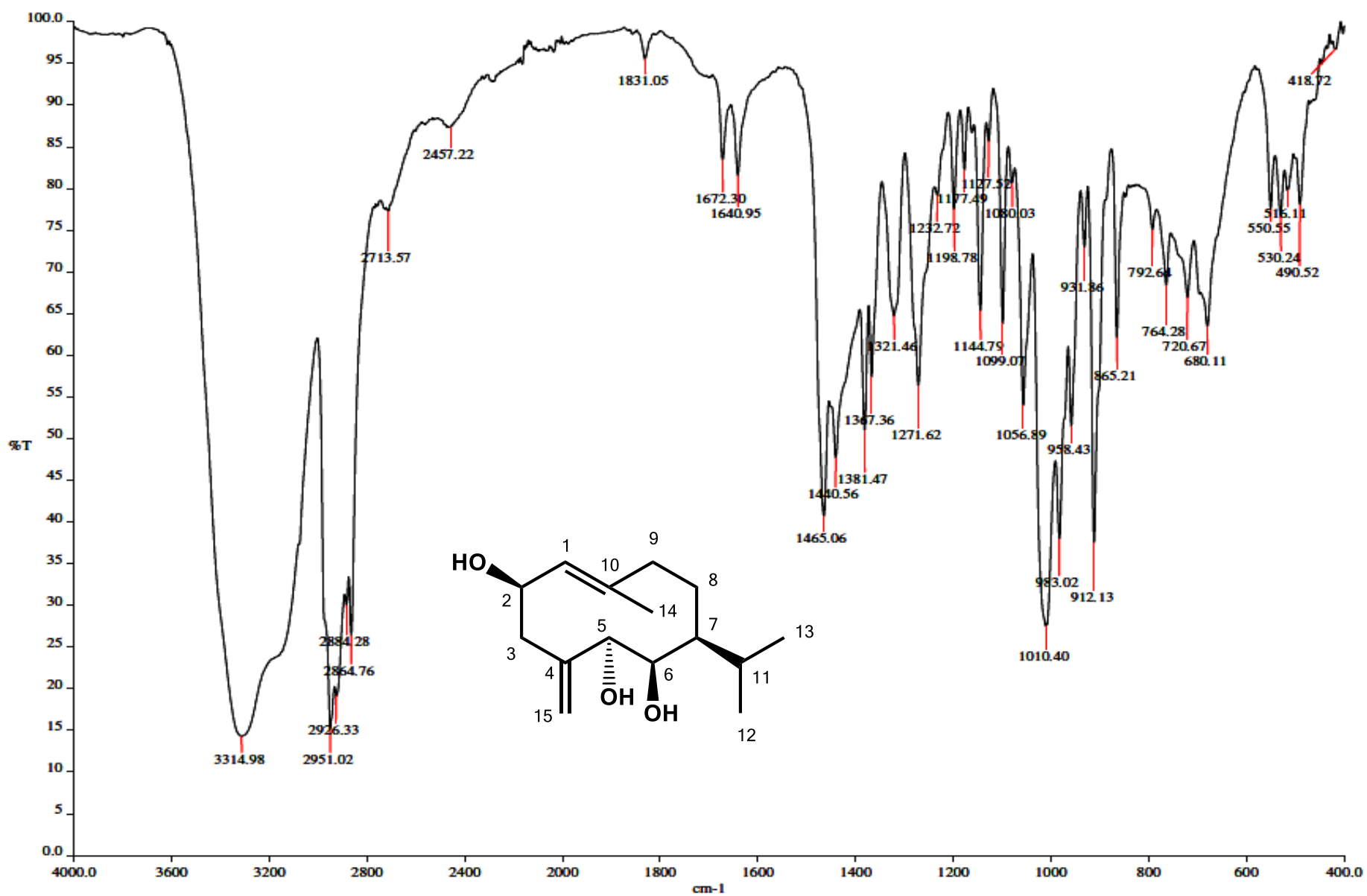


Figura 38. Espectro en el IR del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (10).

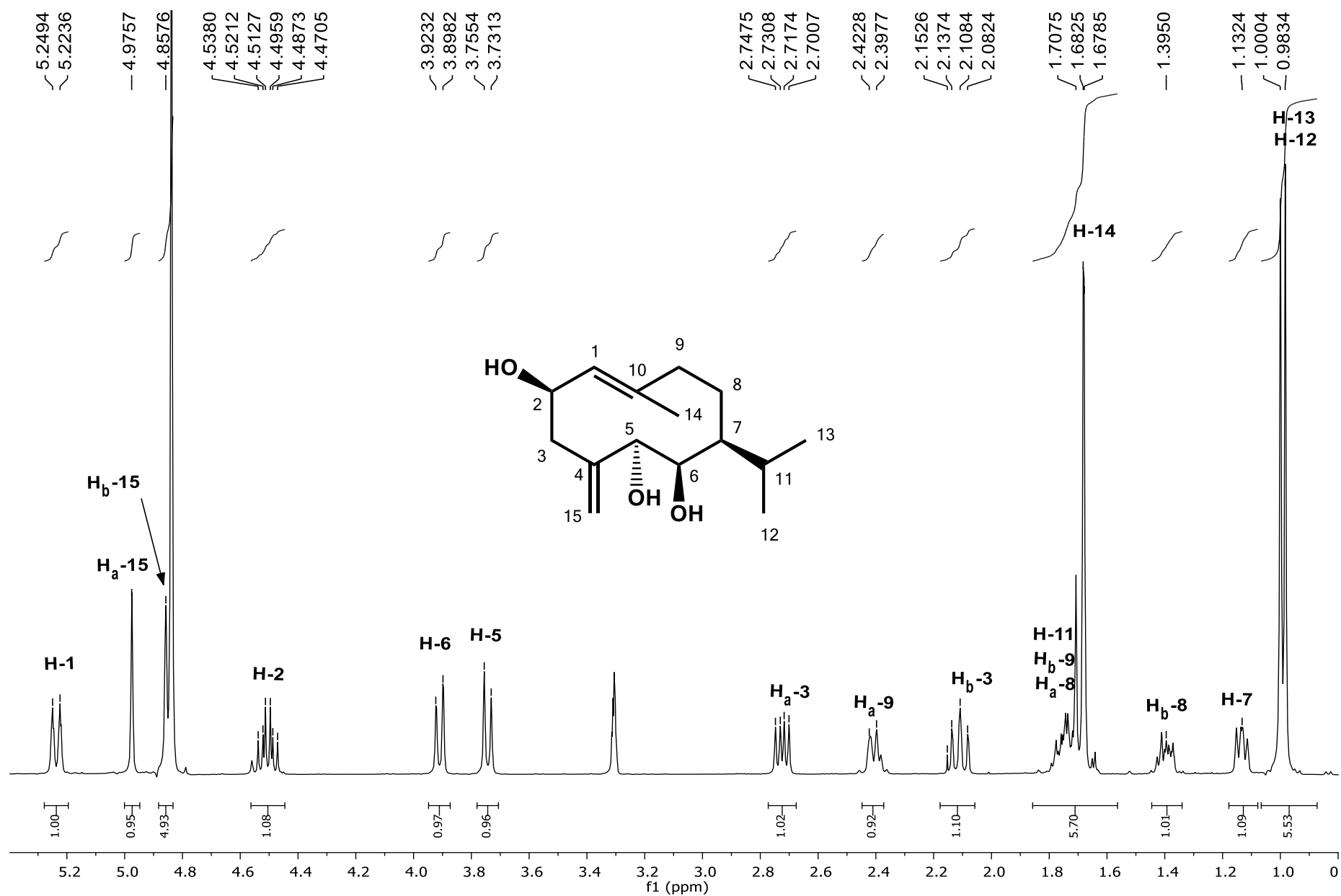


Figura 39. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CD₃OD) del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (10).

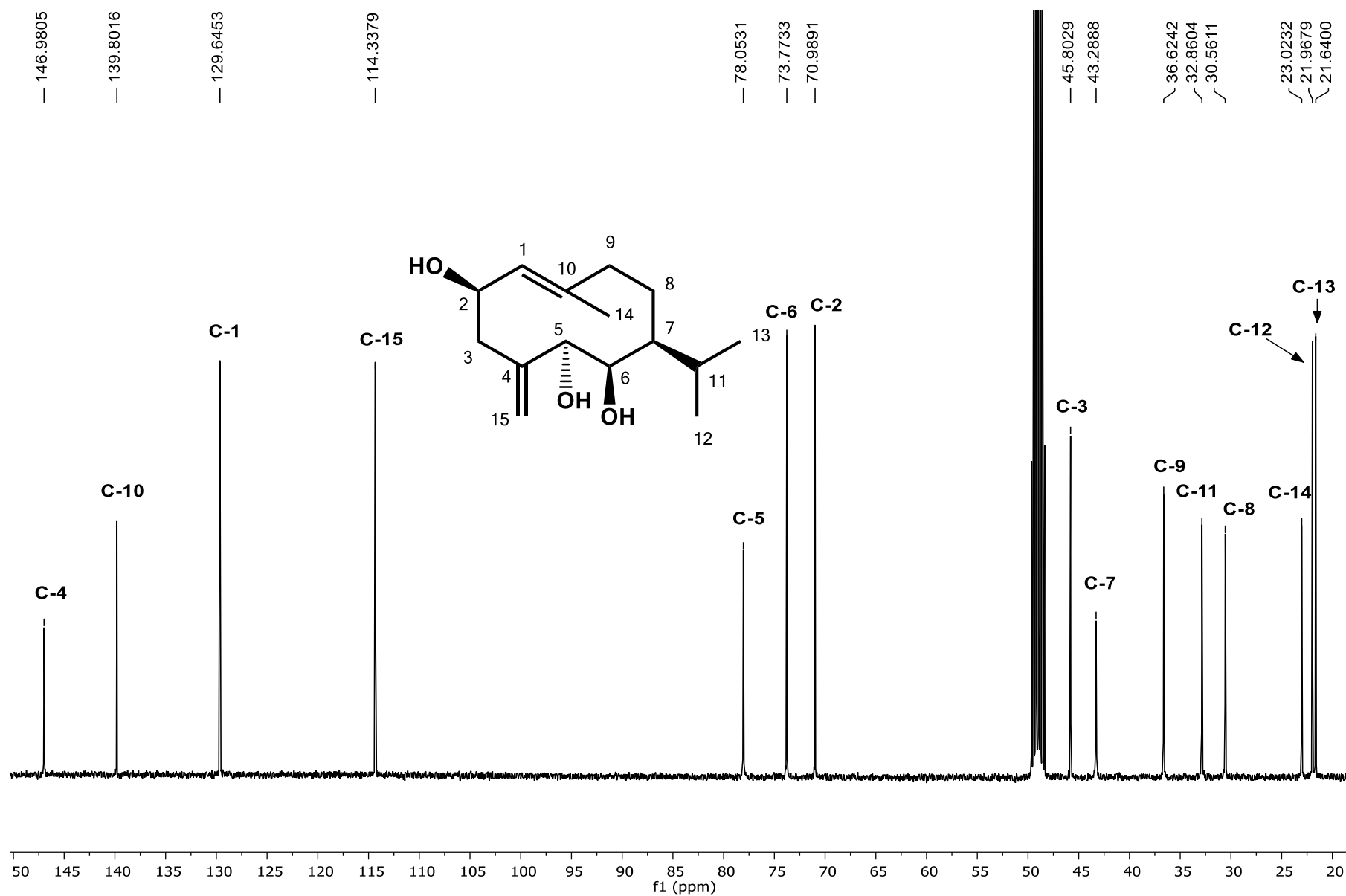


Figura 40. Espectro de RMN-¹³C (400 MHz, CD₃OD) del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (10).

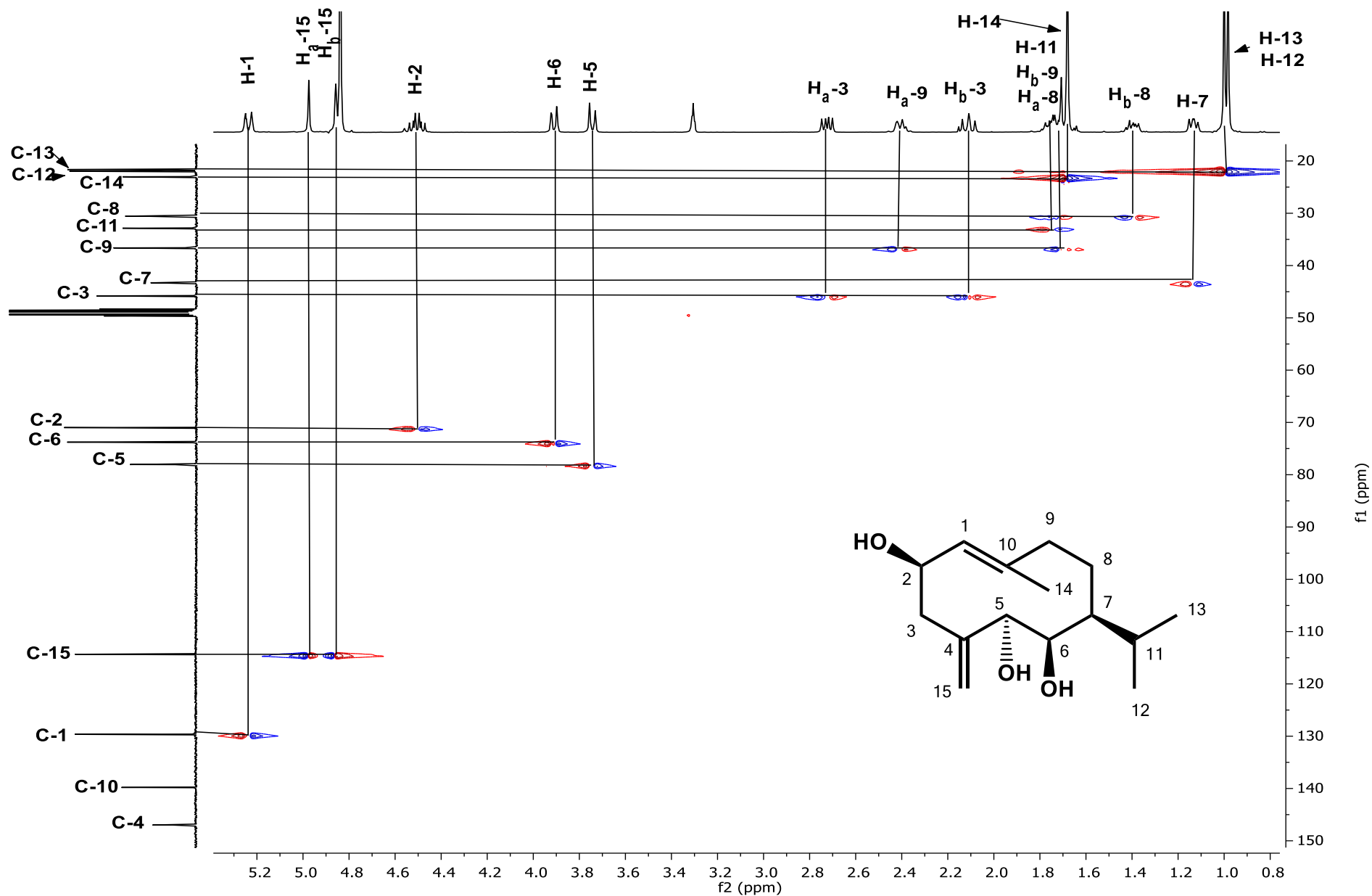


Figura 41. Espectro HSQC (400 MHz, CD₃OD) del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (10).

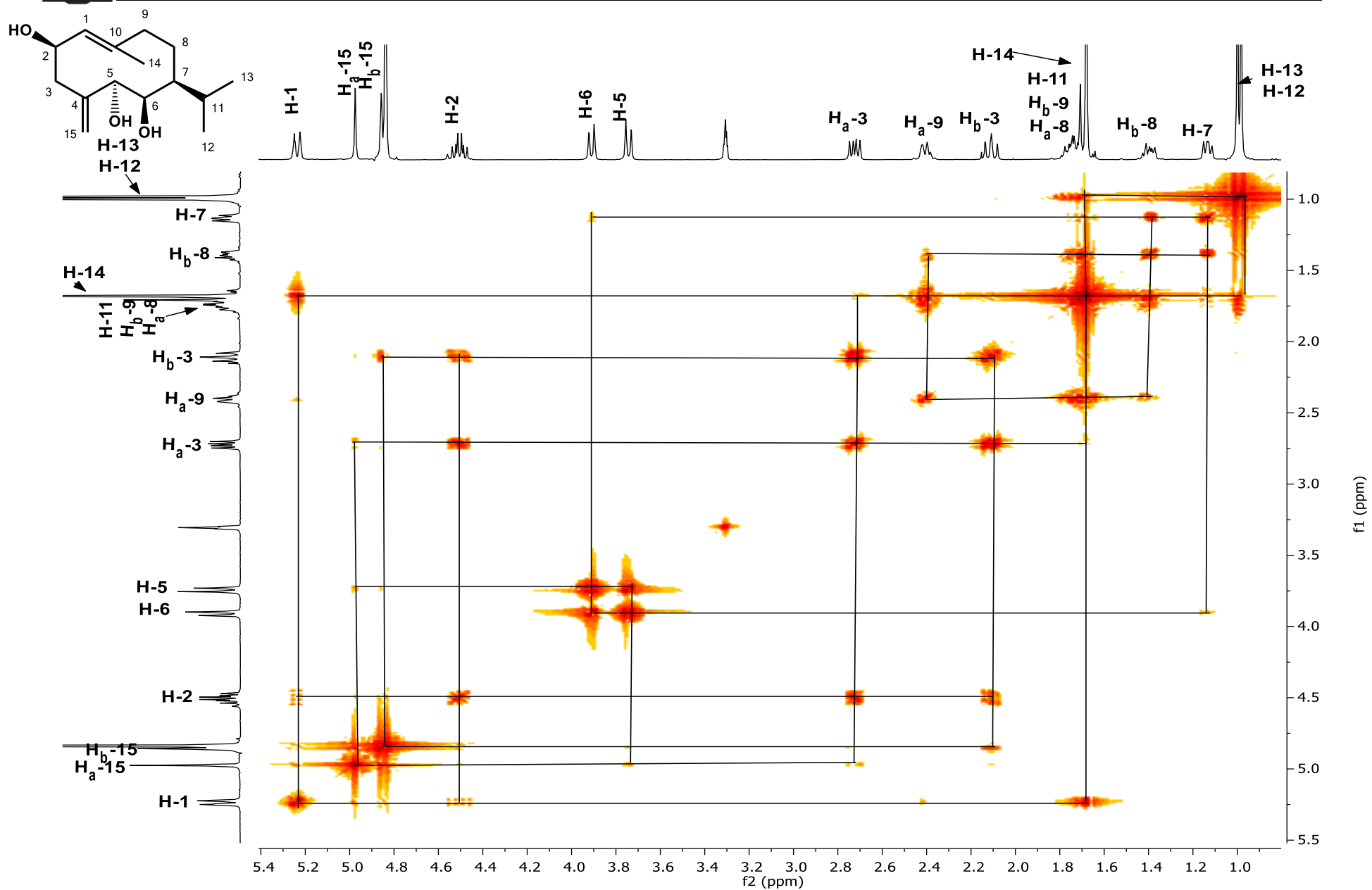


Figura 42. Espectro COSY (400 MHz, CD₃OD) del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (10).

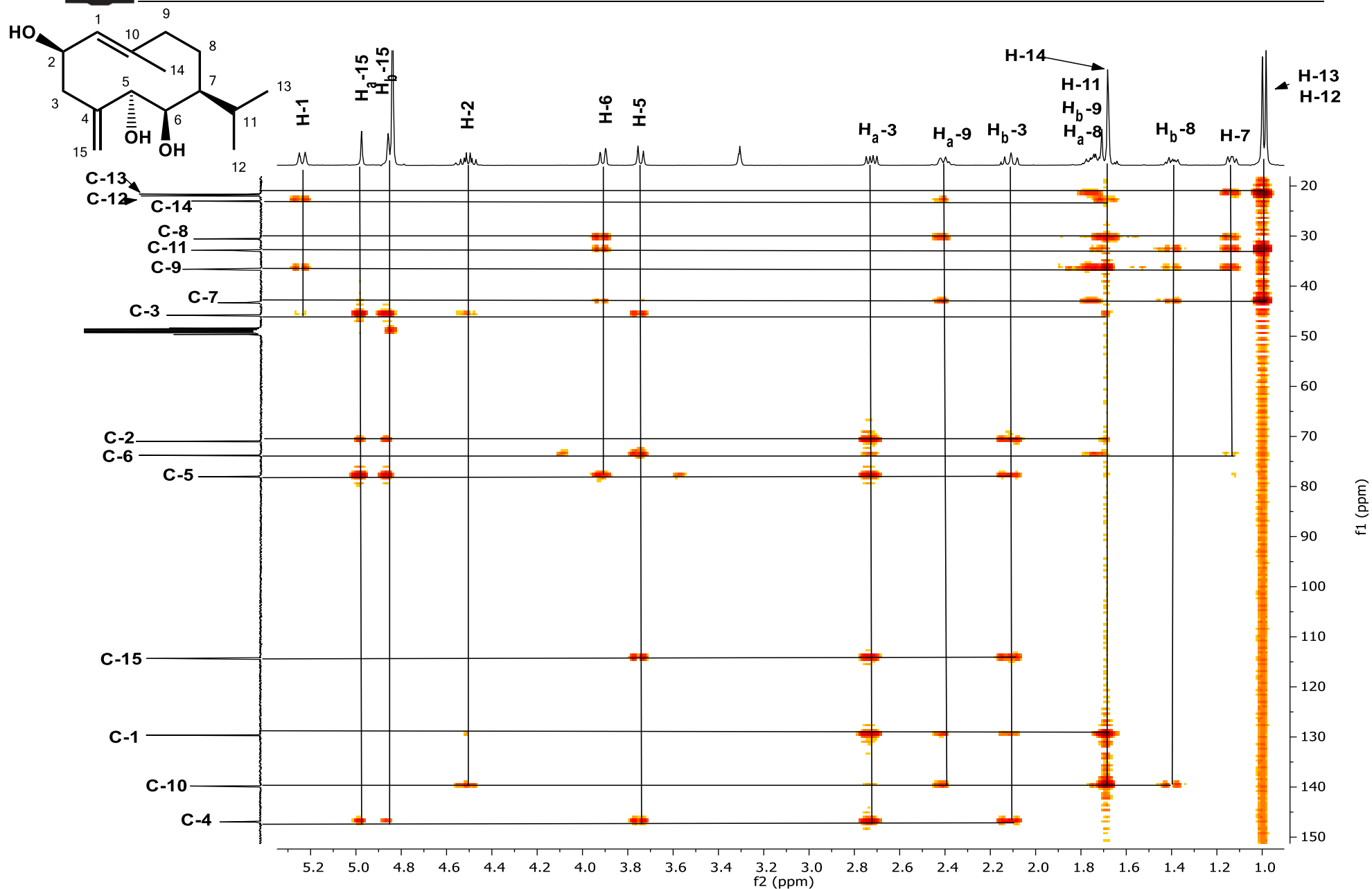


Figura 43. Espectro HMBC (400 MHz, CD₃OD) del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (10).

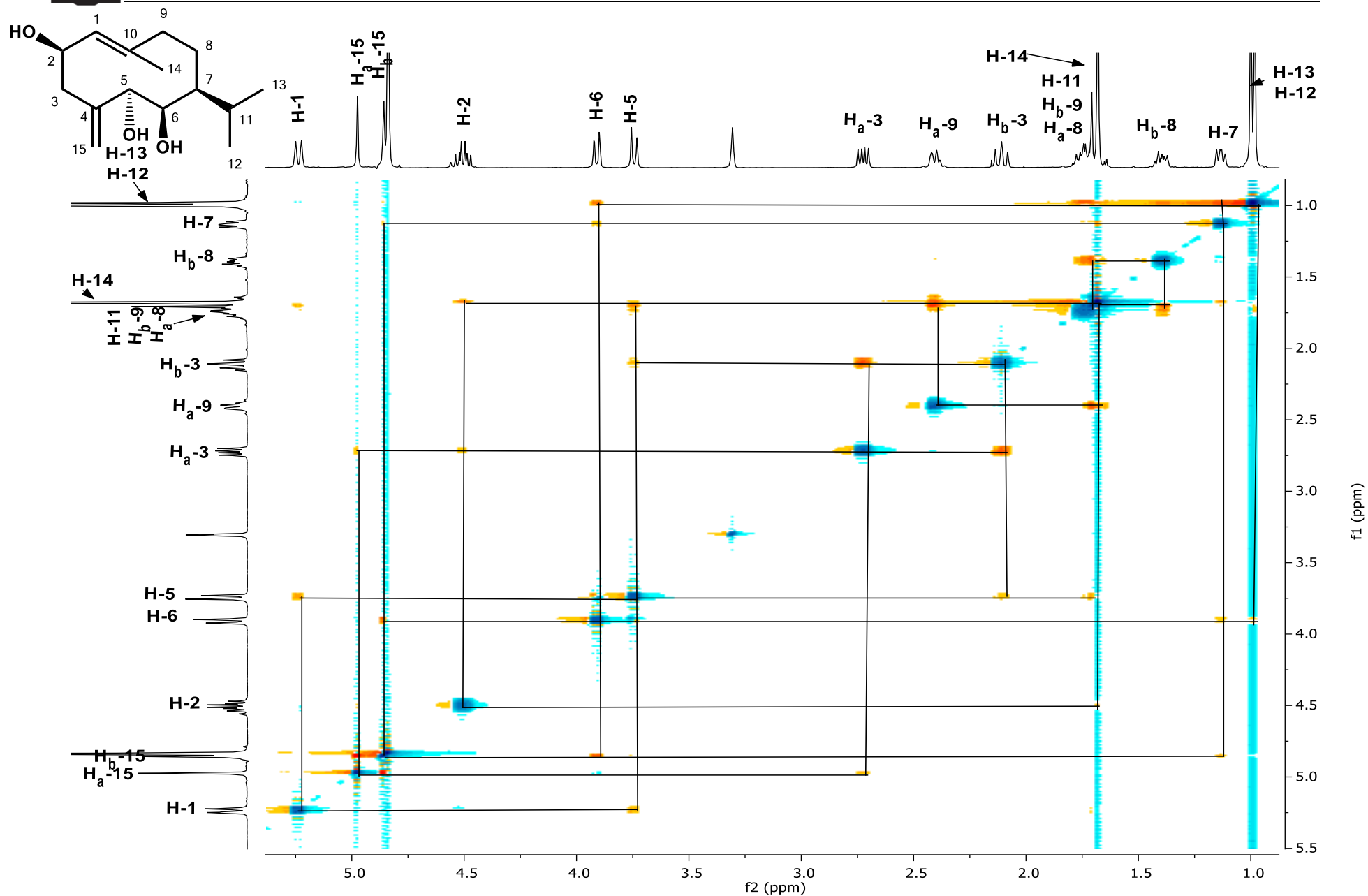


Figura 44. Espectro NOESY (400 MHz, CD₃OD) del germacra-1(10),4(15)-dien-2,5,6-triol (10).

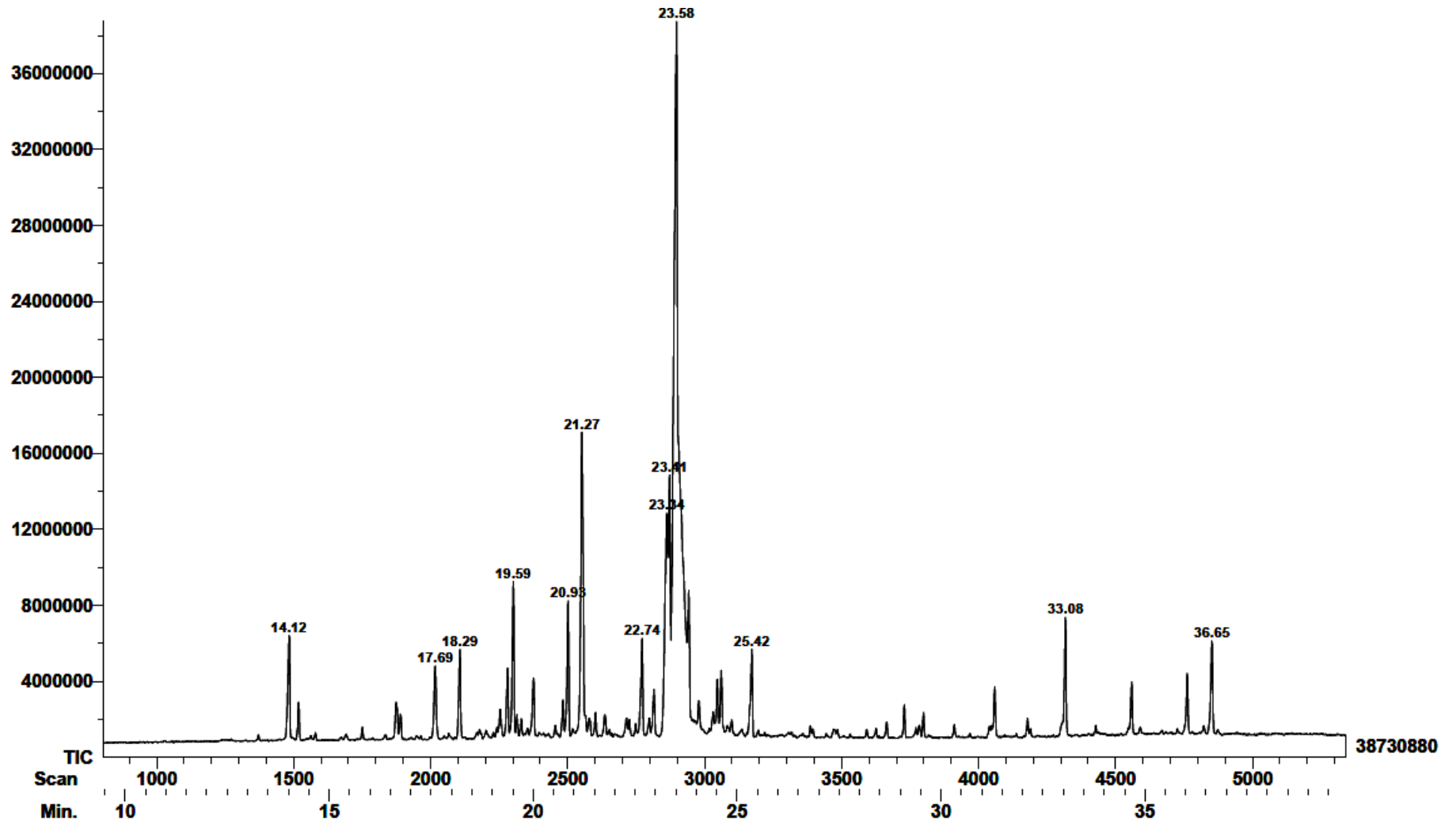


Figura 45. Cromatograma de gases de la fracción Sca9.



Scan: 2898 R.T.: 23.58

Base: m/z 185; 99.6%FS TIC: 39664080

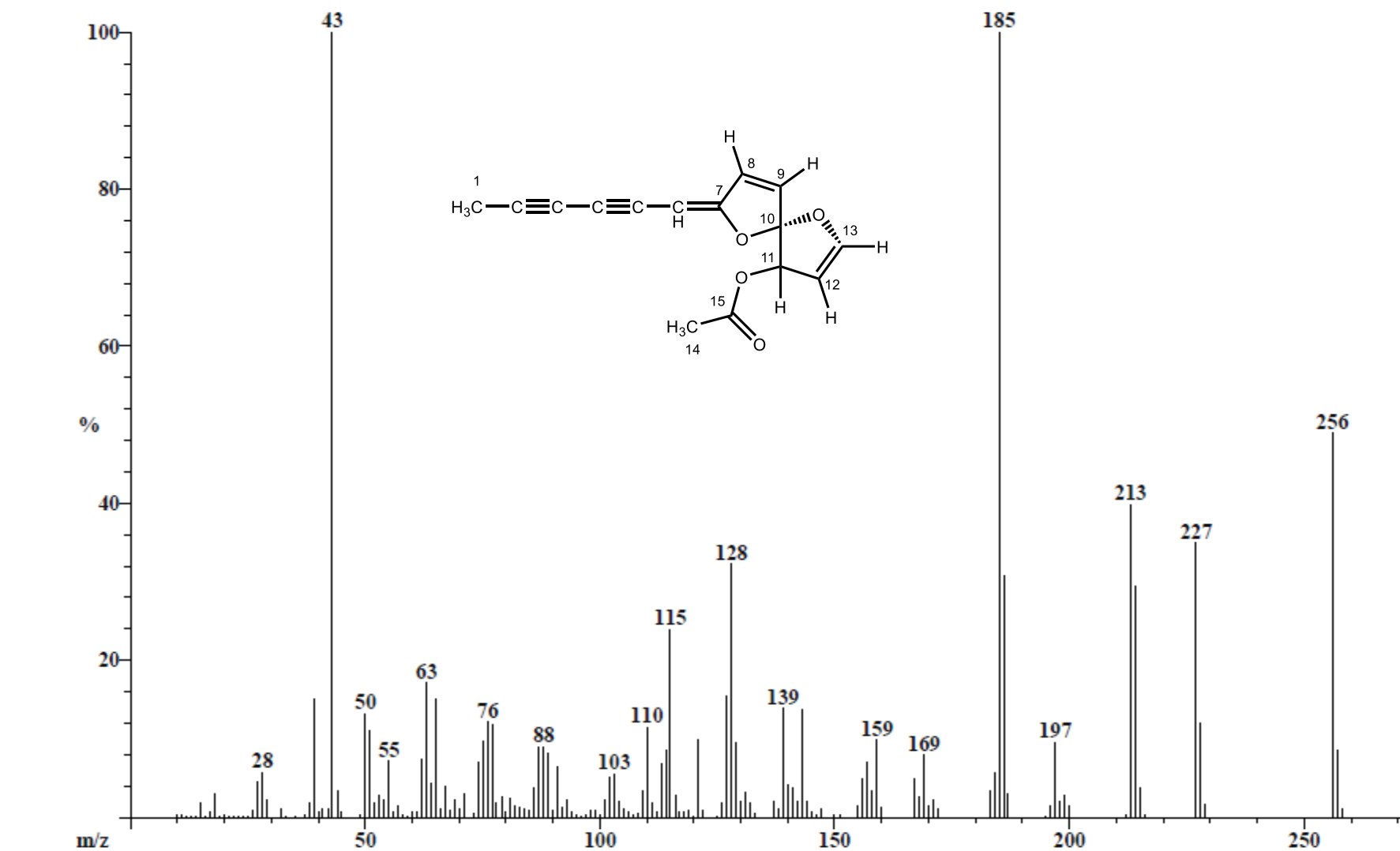


Figura 46. Espectro de masas del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11).

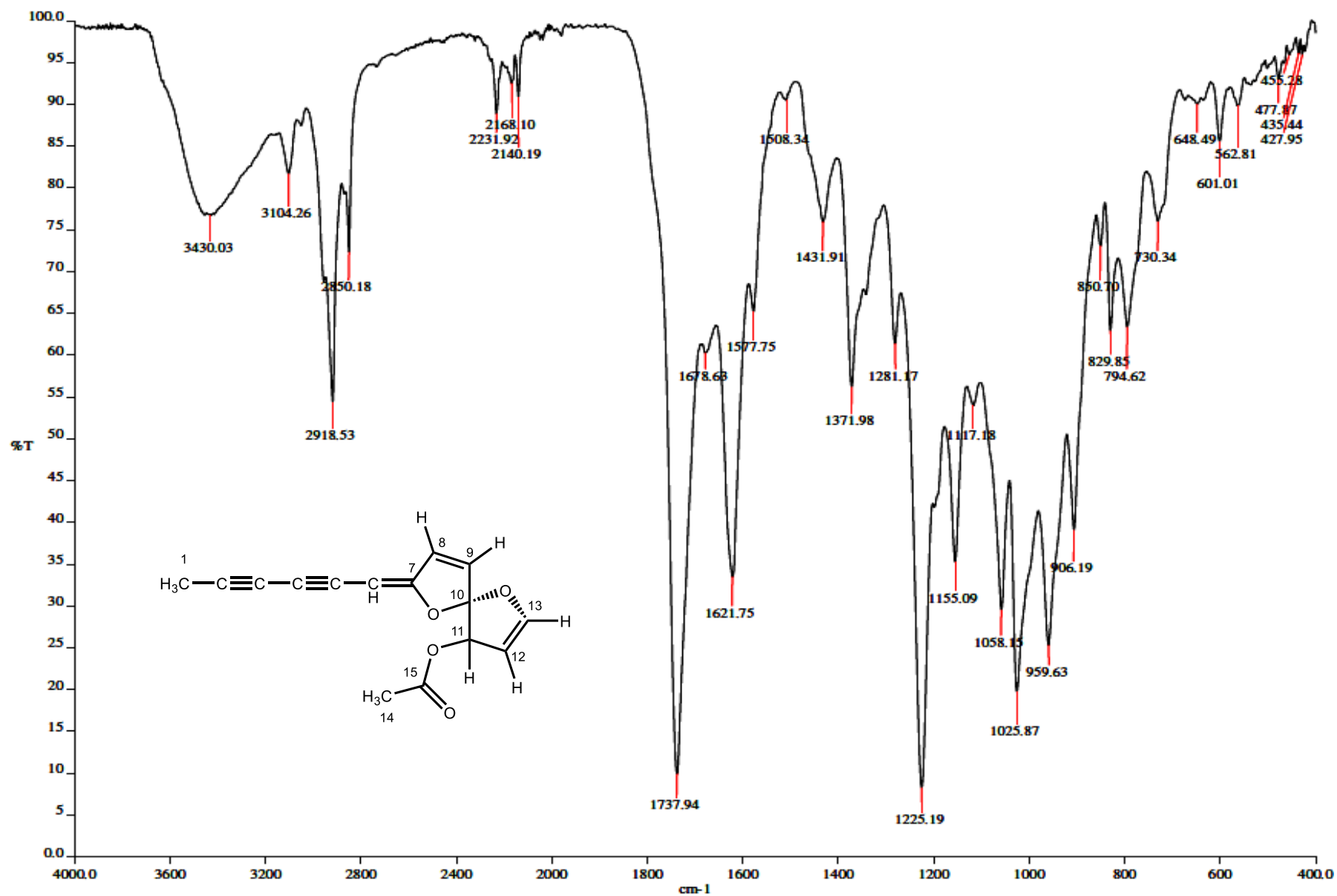


Figura 47. Espectro en el IR del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11).

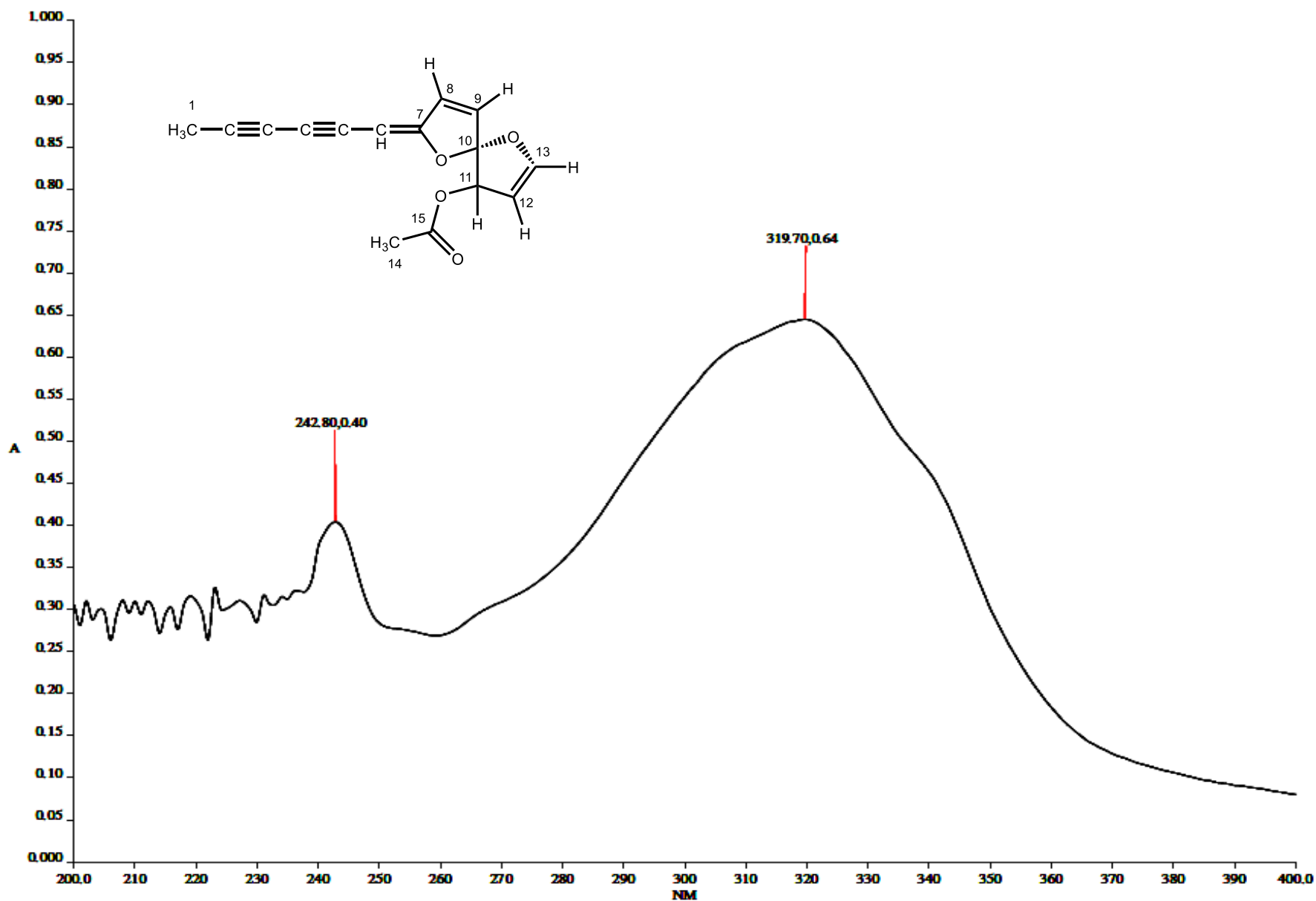


Figura 48. Espectro en el UV del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11).

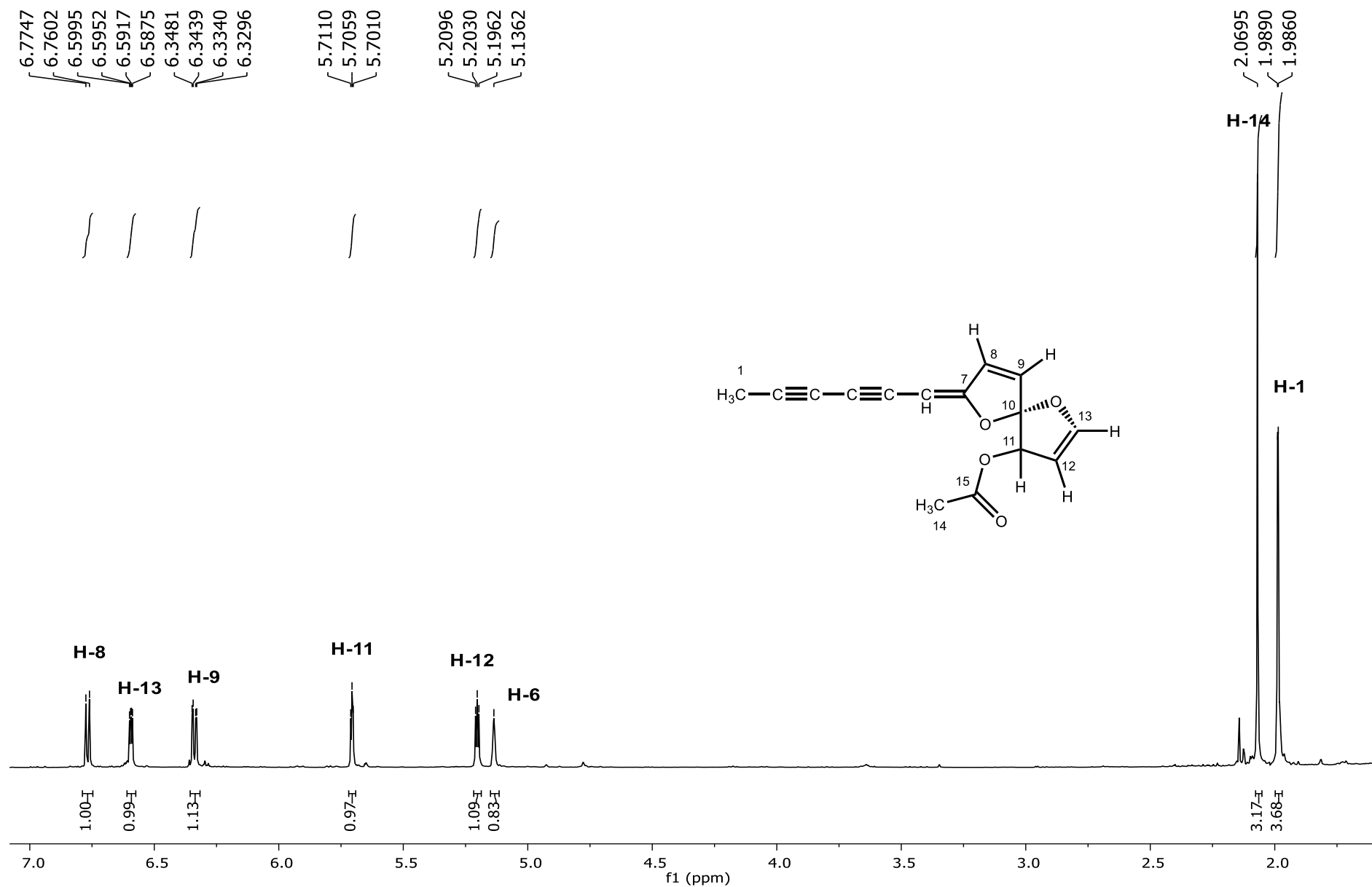


Figura 49. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) del 4-acetoxy-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11).

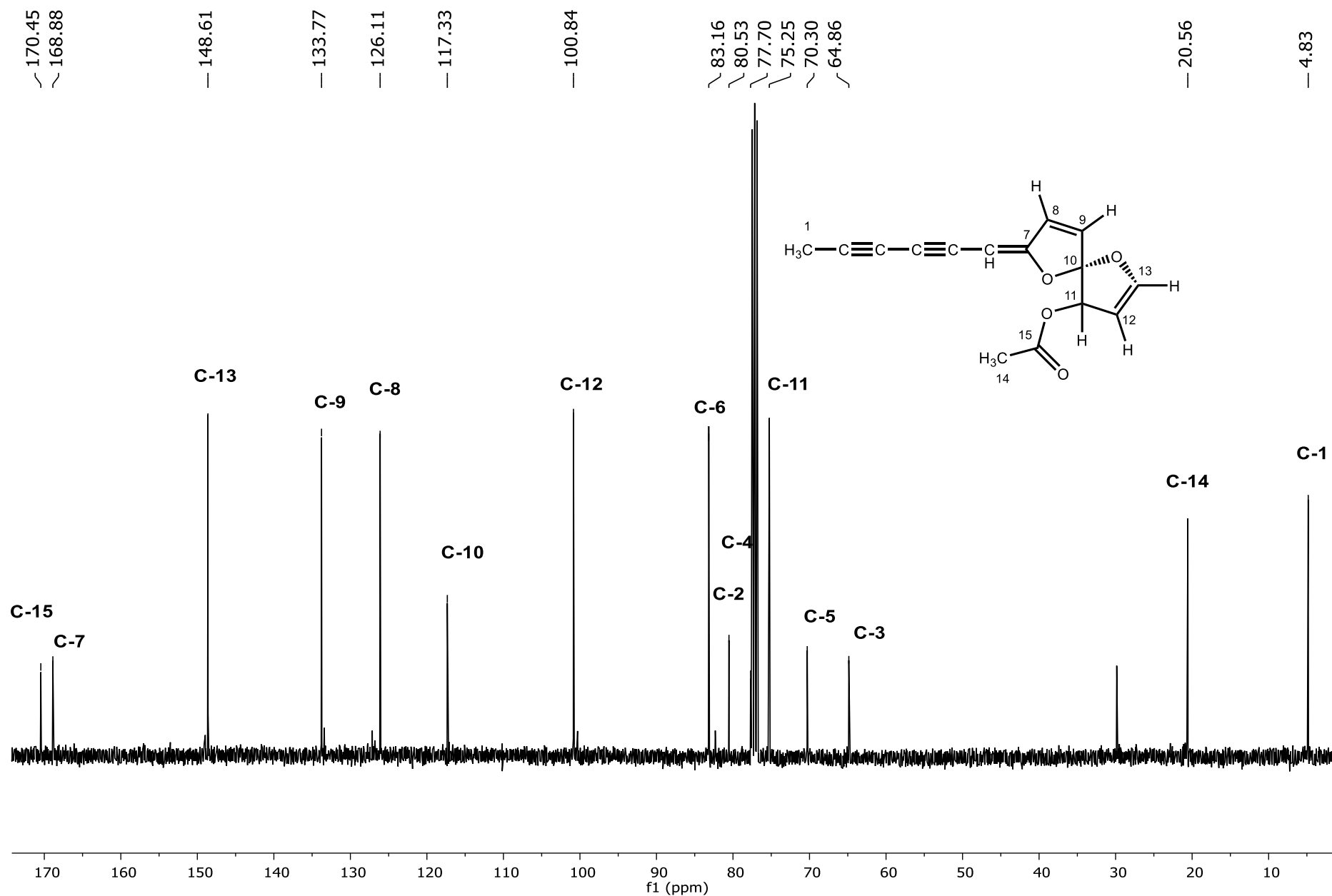


Figura 50. Espectro de RMN- ^{13}C (400 MHz, CDCl_3) del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11)

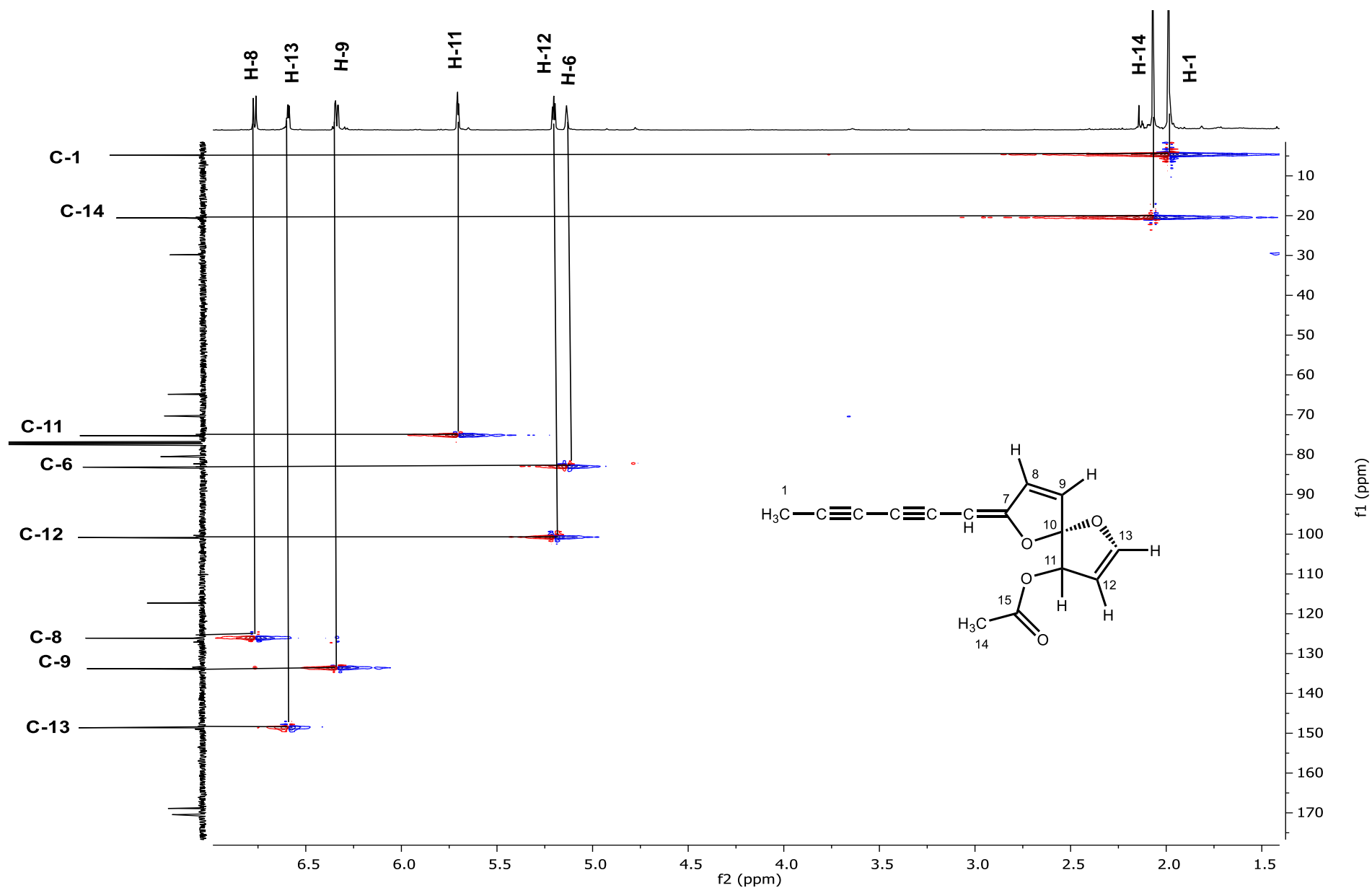


Figura 51. Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) del 4-acetoxy-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11).

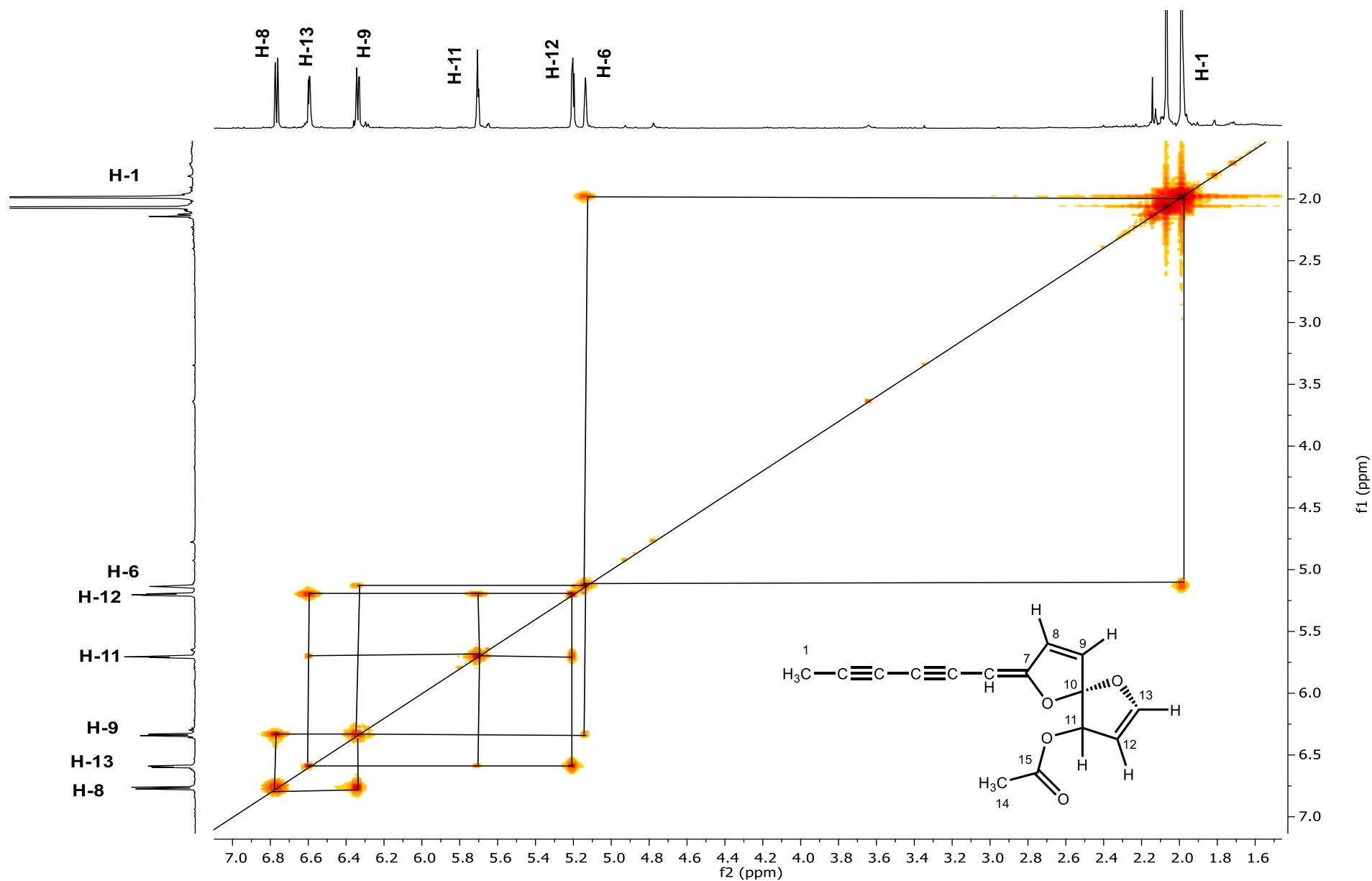


Figura 52. Espectro COSY (400 MHz, CDCl_3) del 4-acetoxy-7-(2,4-hexadienilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11).

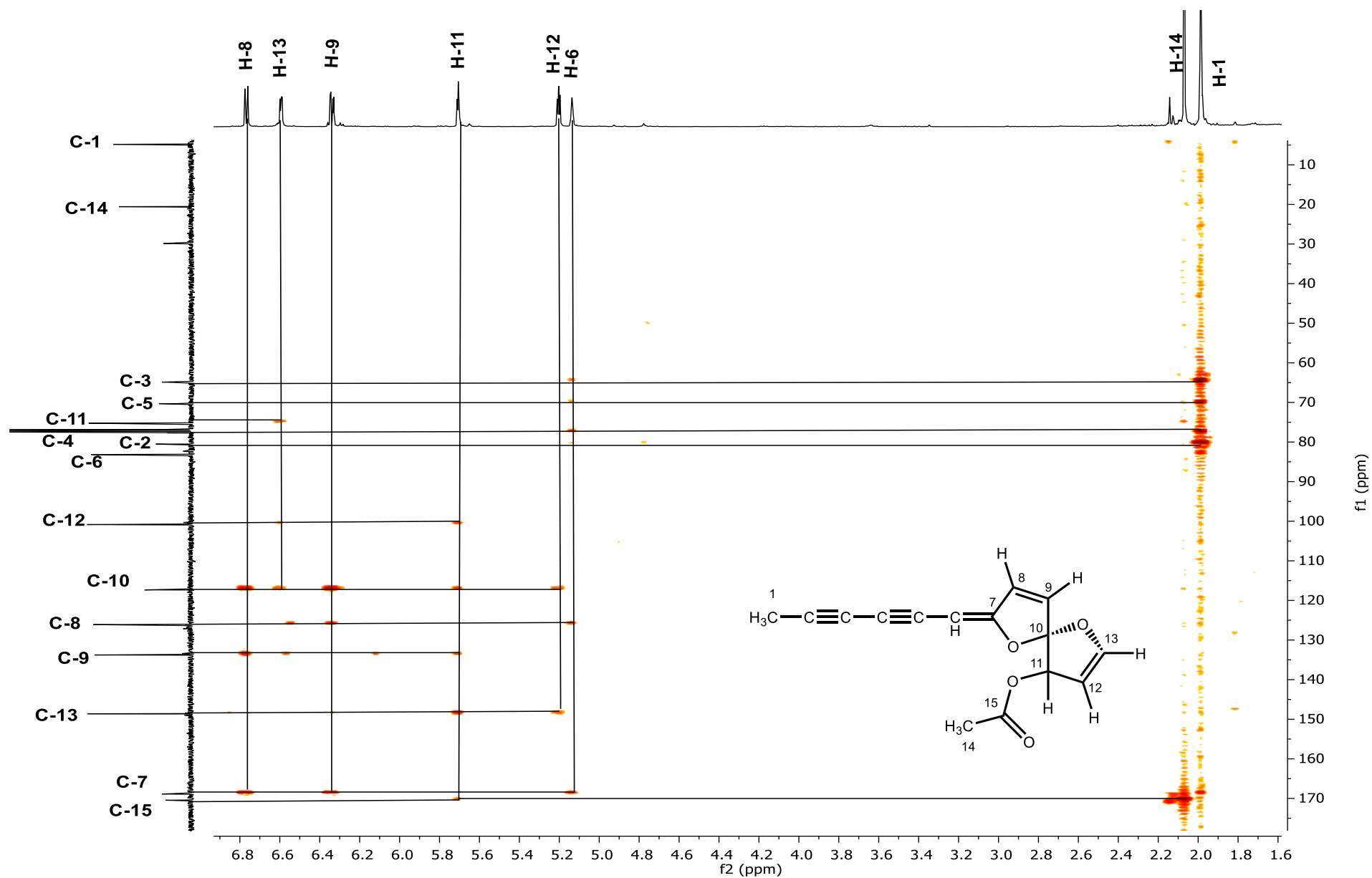


Figura 53. Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) del 4-acetoxi-7-(2,4-hexadienilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11).

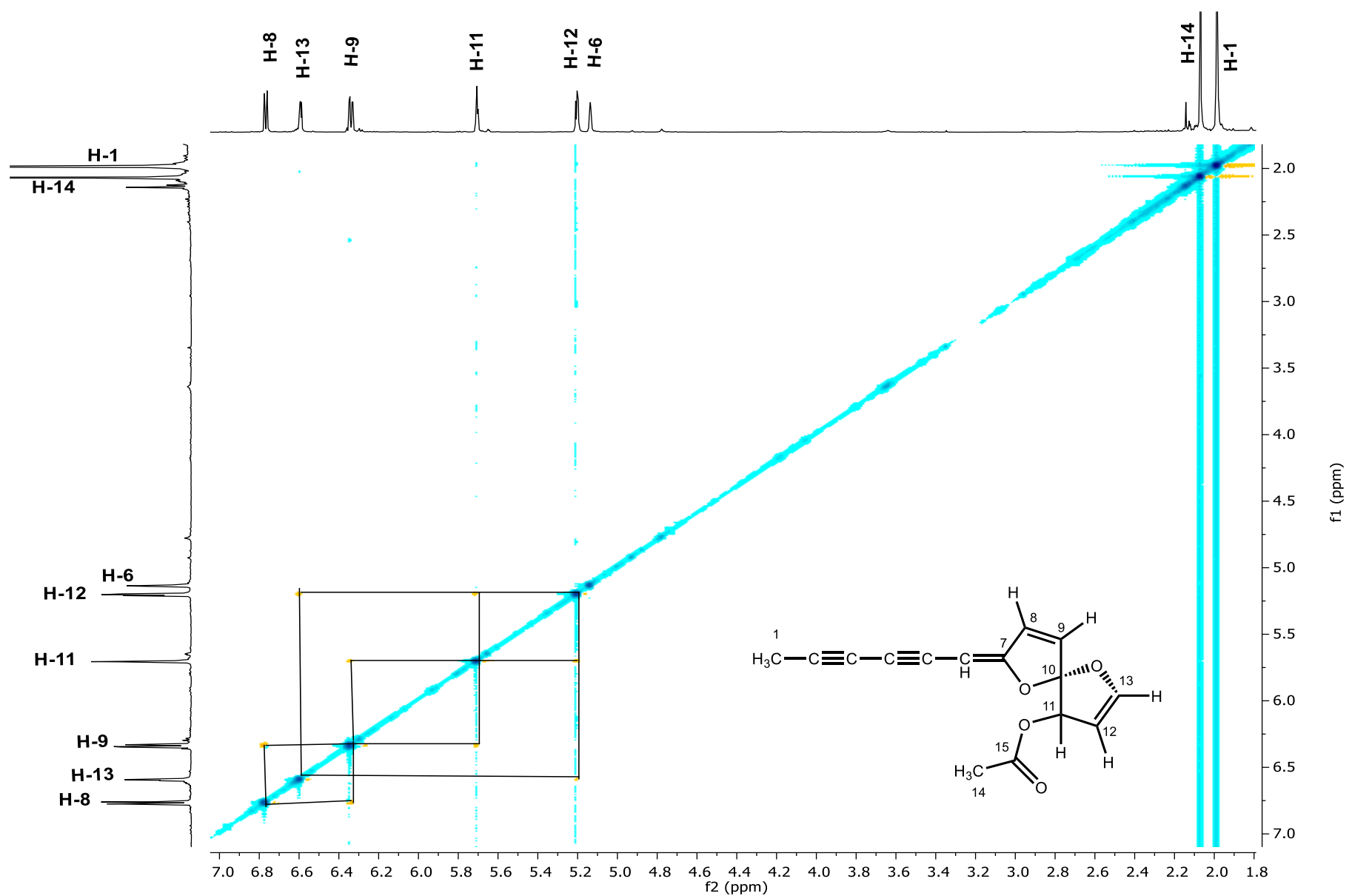


Figura 54. Espectro NOESY (400 MHz, CDCl₃) del 4-acetoxy-7-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]nona-2,8-dieno (11).

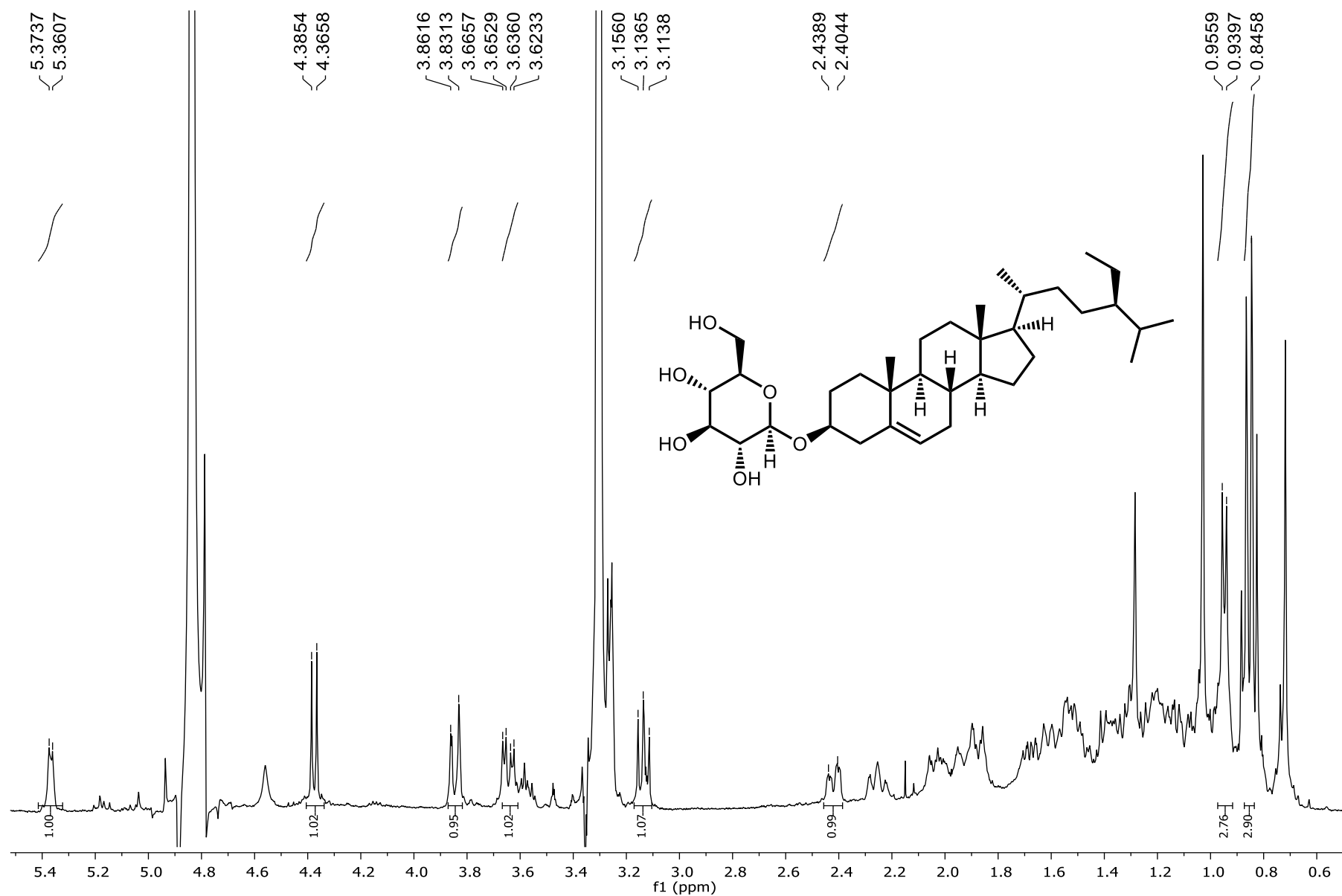


Figura 55. Espectro de RMN- ^1H (400 MHz, CD_3OD) del glucósido de β -sitosterol (12).