

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
QUÍMICO BIOLÓGICAS



MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS

“Estudio fitoquímico de los extractos polares de *Cestrum roseum*”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS QUÍMICAS

PRESENTA:

Q.F.B. MIRIAM LECO GONZÁLEZ

DIRECTORES:

DOCTOR EN CIENCIAS EN LA ESPECIALIDAD DE FARMACOLOGÍA
HUGO ALEJANDRO GARCÍA GUTIÉRREZ

DOCTORA EN CIENCIAS QUÍMICAS
ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES

MORELIA, MICHOACÁN.

ABRIL DE 2018.

*La ciencia es respecto del alma lo que es la luz respecto de los ojos,
y si las raíces son muy amargas,
los frutos son muy dulces.*

Aristóteles

EL PRESENTE TRABAJO SE LLEVÓ A CABO EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA MEDICINAL DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO BAJO LA DIRECCIÓN DEL D.C. HUGO ALEJANDRO GARCÍA-GUTIÉRREZ Y DE LA D.C. ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES, CON UNA BECA DE INVERSIÓN EN EL CONOCIMIENTO (264405) OTORGADA POR EL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA. CON EL APOYO ECONÓMICO DE LOS PROYECTOS: CIC-UMSNH Y CONACYT CIENCIA BÁSICA (167952).

Parte de este trabajo se presentó en los siguientes eventos académicos:

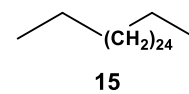
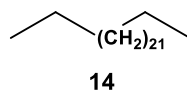
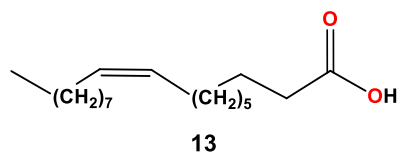
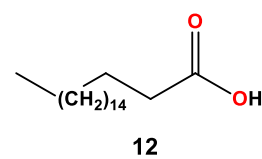
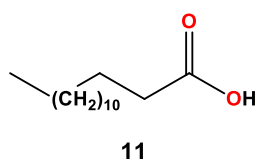
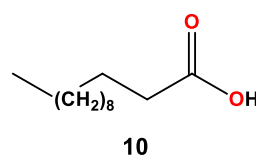
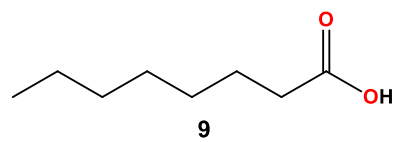
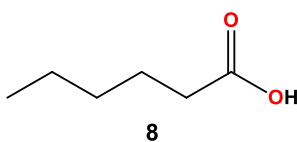
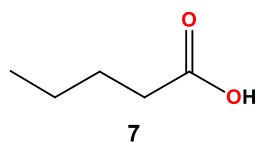
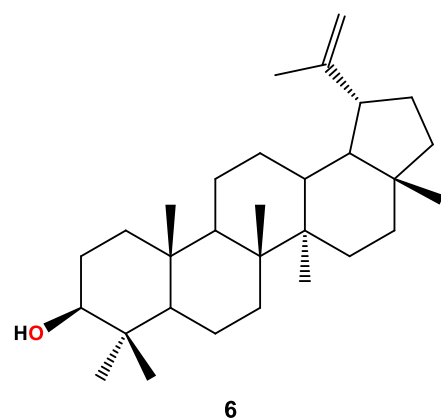
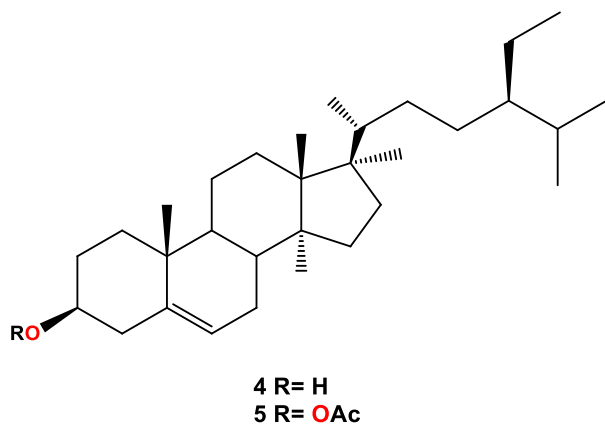
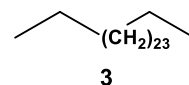
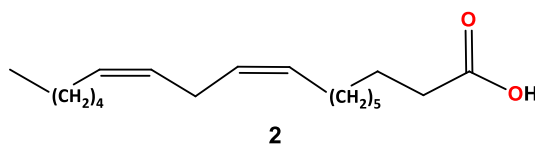
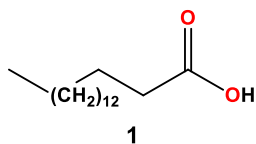
1. “Identificación de metabolitos terpénicos de los extractos orgánicos de *Cestrum roseum*”. **Miriam Leco-González**, Hugo A. García-Gutiérrez, Luis Prado-Villanueva, Luis J. Calvillo-Carranza, Lidia Beiza-Granados, Rosa E. del Río. Presentado en la 3a Semana del Posgrado en Ciencias Químicas celebrada el 27 de Junio de 2016 en Morelia, Michoacán.
2. “Estudio fitoquímico de las partes aéreas de *Cestrum roseum*”. **Miriam Leco-González**, Luis Prado-Villanueva, Luis J. Calvillo-Carranza, Rosa E. del Río, Hugo A. García-Gutiérrez. Presentado en el 11o Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación celebrado los días 13 y 14 de Octubre de 2016 en Morelia, Michoacán.
3. “Fitoquímica preliminar de las partes aéreas de *Cestrum roseum*”. **Miriam Leco-González**, Rosa E. del Río, Lidia Beiza-Granados, Hugo A. García-Gutiérrez. Presentado en el II Congreso Internacional y IV Nacional de Químico Farmacobiología celebrado del 28 de noviembre al 1 de diciembre 2016 en Morelia, Michoacán.
4. “Estudio químico de los extractos de baja polaridad de *Cestrum roseum*”. **Miriam Leco-González**, Hugo A. García-Gutiérrez, Ulises D. Silva-Vázquez, Rosa E. del Río, Carlos M. Cerda-García-Rojas, Pedro Joseph-Nathan. Presentado en la 13a Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales celebrada del 17 al 20 de mayo de 2017 en Morelia, Michoacán.
5. “Análisis fitoquímico de los extractos de baja polaridad de *Cestrum roseum*”. **Miriam Leco-González**, Lidia Beiza-Granados, Ulises D. Silva-Vázquez, Juan D. Hernández-Hernández, Luisa U. Román-Marín, Rosa E. del Río, Hugo A. García-Gutiérrez. Presentado en el 1er Foro de Posgrado en Ciencias Químicas del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas celebrado del 31 de julio al 4 de agosto de 2017 en Morelia, Michoacán.

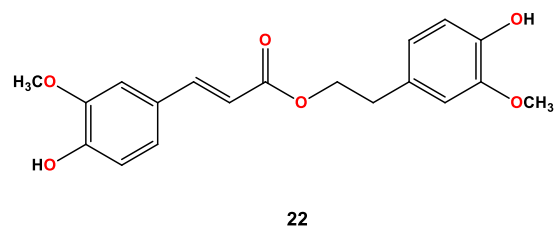
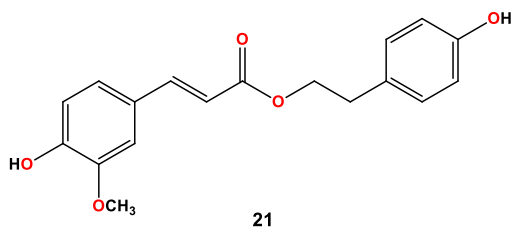
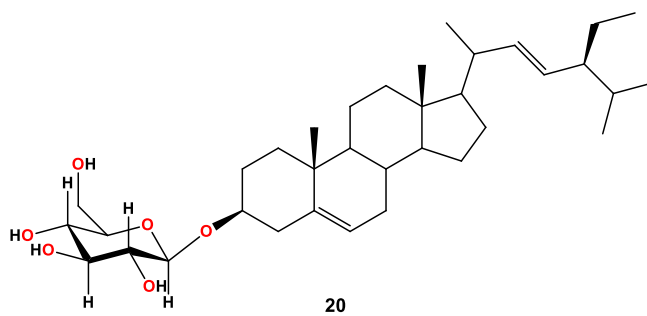
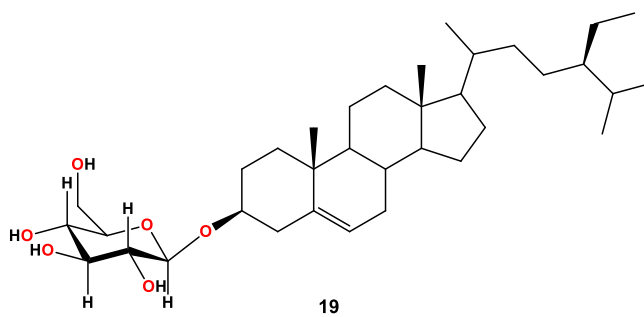
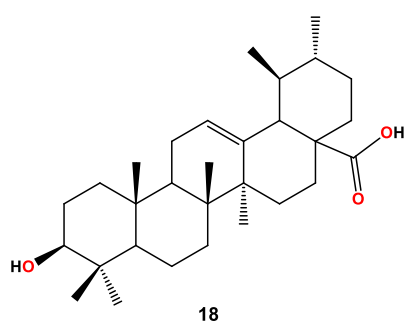
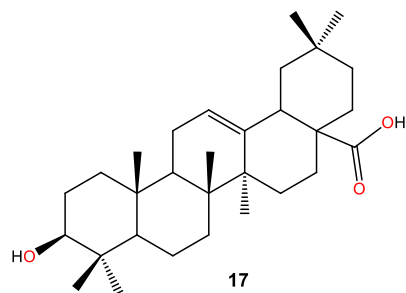
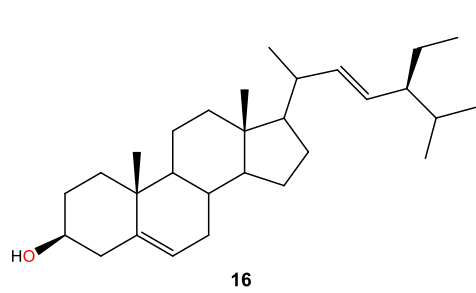
ÍNDICE GENERAL

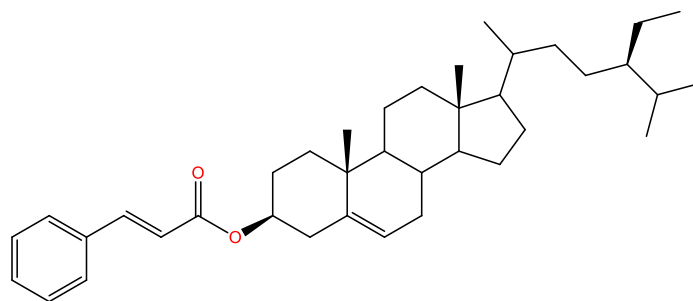
I.	RESUMEN DE ESTRUCTURAS	vii
II.	ÍNDICE DE FIGURAS	x
III.	ÍNDICE DE TABLAS	xii
IV.	SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	xiii
V.	RESUMEN	xv
VI.	ABSTRACT	xvi
1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	Producto natural	2
1.2.	Importancia de los productos naturales	7
2.	ANTECEDENTES	9
2.1.	Familia Solanaceae	9
2.2.	Género <i>Cestrum</i>	10
2.3.	<i>Cestrum roseum</i>	11
2.4.	Estudios químicos descritos del género <i>Cestrum</i>	13
3.	JUSTIFICACIÓN	19
4.	OBJETIVOS	19
4.1.	Objetivo general	19
4.2.	Objetivos particulares	19
5.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	20
5.1.	Análisis de los extractos hexánicos de las diferentes partes de la planta	21
5.2.	Análisis de los extractos de tallo	27
5.3.	Análisis de los extractos de flores	39
5.4.	Análisis del extracto de hojas	42
5.5.	Análisis del extracto de raíz	43
5.6.	Modificaciones químicas	46
6.	CONCLUSIONES	49
7.	PARTE EXPERIMENTAL	50

7.1.	Material vegetal	50
7.2.	Obtención de extractos	50
7.3.	Cromatografías	50
7.4.	Identificación de compuestos	51
7.5.	Obtención del β -sitosterol (6) y estigmasterol (16)	51
7.6.	Obtención del lupeol (6)	52
7.7.	Obtención de ácido oleanólico (17)	53
7.8.	Obtención de ácido ursólico (18)	54
7.9.	Obtención del β -sitosterol-5-en-3- <i>O</i> - β -D-glucopiranosido (19) y del estigmasta-5,22-dien-3- <i>O</i> - β -D-glucopiranosido (20)	55
7.10.	Obtención del 4'-hidroxi fenetil <i>trans</i> -ferulato (21)	57
7.11.	Obtención del 4'-hidroxi-3'-metoxi fenetil <i>trans</i> -ferulato (22)	58
7.12.	Preparación de los cinamatos, β -sitosterol (23) y estigmasterol (24)	58
7.13.	Preparación del acetato del ácido oleanólico (25)	60
7.14.	Preparación del acetato del ácido ursólico (26)	61
8.	BIBLIOGRAFÍA	63
9.	ANEXO	67

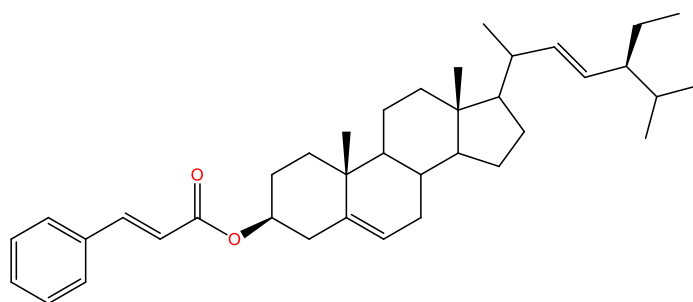
I. RESUMEN DE ESTRUCTURAS



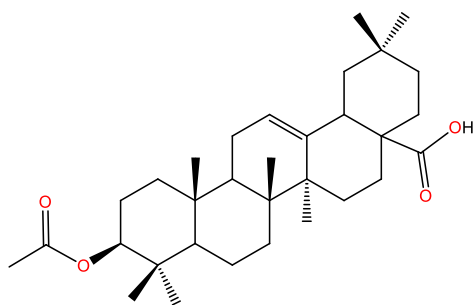




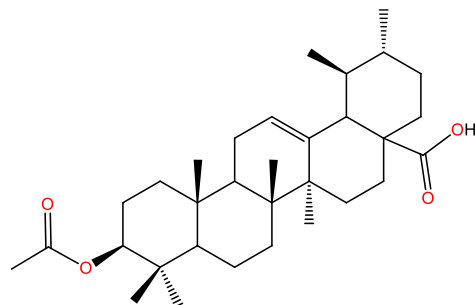
23



24



25



26

II. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Elementos básicos del metabolismo primario y en relación con el metabolismo secundario de plantas	3
Figura 2.	Estructura del isopreno	4
Figura 3.	Ejemplos de terpenos	5
Figura 4.	Ejemplos de compuestos fenólicos	6
Figura 5.	Clasificación de los alcaloides según su esqueleto	7
Figura 6.	Gráfico de fármacos a partir de un producto natural	8
Figura 7.	Especies de la familia Solanaceae A) Papa (<i>Solanum tuberosum</i>). B) Chiles (<i>Capsicum</i> spp.). C) Tabaco (<i>Nicotiana tabacum</i>). D) Belladona (<i>Atropa belladonna</i>). E) Estramonio (<i>Datura stramonium</i>). F) Mandrágora (<i>Mandragora officinarum</i>). G) Petunia (<i>Petunia</i> spp.). H) Huevo de noche (<i>Cestrum nocturnum</i> L.)	10
Figura 8.	Distribución de especies de <i>Cestrum</i>	11
Figura 9.	<i>Cestrum roseum</i>	12
Figura 10.	Esquema de floración de <i>Cestrum roseum</i>	12
Figura 11.	Estructuras de los compuestos glicosilados de <i>C. parqui</i>	13
Figura 12.	Estructuras de los compuestos fitotóxicos de <i>C. parqui</i>	14
Figura 13.	Estructuras de los metabolitos encontrados en <i>C. nocturnum</i>	15
Figura 14.	Estructuras de los glucósidos de <i>C. diurnum</i>	16
Figura 15.	Compuesto mayoritario de <i>C. lanatum</i>	16
Figura 16.	Triterpeno mayoritario de <i>C. laurifolium</i>	17
Figura 17.	Estructuras de los triterpenos obtenidos de <i>C. buxifolium</i>	17
Figura 18.	Espectro de masa del ácido pentanoico (7)	22
Figura 19.	Espectro de masa del ácido hexanoico (8)	22
Figura 20.	Espectro de masa del ácido octanoico (9)	23
Figura 21.	Espectro de masa del ácido dodecanoico (10)	23
Figura 22.	Espectro de masa del ácido tetradecanoico (11)	24
Figura 23.	Espectro de masa del ácido hexadecanoico (1)	24
Figura 24.	Espectro de masa del ácido octadecanoico (12)	25
Figura 25.	Espectro de masa del ácido-9-octadecenoico (13)	25
Figura 26.	Espectro de masa del ácido 9,12-octadecadienoico (2)	26
Figura 27.	Espectro de masa del pentacosano (14)	26
Figura 28.	Espectro de masa del octacosano (15)	27
Figura 29.	Espectro de RMN de ¹ H en CDCl ₃ a 400 MHz del extracto de CH ₂ Cl ₂ de tallo	27
Figura 30.	Espectro de RMN de ¹ H en CDCl ₃ a 400 MHz de la mezcla de β-sitosterol (4) y estigmasterol (16)	28
Figura 31.	Espectro de RMN de ¹ H en CDCl ₃ a 400 MHz del lupeol (6)	29

Figura 32.	Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 a 400 MHz del ácido oleanólico (17)	30
Figura 33.	Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 a 400 MHz del ácido ursólico (18)	31
Figura 34.	Espectro de RMN de ^1H en DMSO-d_6 a 400 MHz del extracto de AcOEt de tallo	32
Figura 35.	Espectro de RMN de ^1H en DMSO-d_6 a 400 MHz del β -sitosterol-5-en-3- <i>O</i> - β -D-glucopiranosido (19) y estigmasta-5,22-dien-3- <i>O</i> - β -D-glucopiranosido (20)	34
Figura 36.	Espectro de RMN de ^1H en Pyr-d_5 a 300 MHz del β -sitosterol-5-en-3- <i>O</i> - β -D-glucopiranosido (19) y estigmasta-5,22-dien-3- <i>O</i> - β -D-glucopiranosido (20)	35
Figura 37.	Espectro de RMN de ^1H en DMSO-d_6 a 400 MHz del extracto MeOH de tallo	36
Figura 38.	Espectro de RMN de ^1H en CD_3OD a 300 MHz del 4'-hidroxi fenetil <i>trans</i> -ferulato (21)	38
Figura 39.	Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 a 400 MHz del extracto de CH_2Cl_2 de flores	39
Figura 40.	Espectro de RMN de ^1H en DMSO-d_6 a 400 MHz del extracto de AcOEt de flores	40
Figura 41.	Espectro de RMN de ^1H en DMSO-d_6 a 400 MHz del extracto MeOH de flores	41
Figura 42.	Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 a 400 MHz del extracto de CH_2Cl_2 de hojas	42
Figura 43.	Espectro de RMN de ^1H en DMSO-d_6 a 400 MHz del extracto MeOH de raíz	43
Figura 44.	Espectro de RMN de ^1H en CD_3OD a 300 MHz del 4'-hidroxi-3'-metoxi fenetil <i>trans</i> -ferulato (22)	45
Figura 45.	Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 a 400 MHz de los cinamatos 23 y 24	46
Figura 46.	Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 a 400 MHz del éster 25	47
Figura 47.	Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 a 400 MHz del éster 26	48

III. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Clasificación de los terpenos	4
Tabla 2.	Rendimientos obtenidos de los extractos	20
Tabla 3.	Compuestos en mayor abundancia del precipitado de los extractos crudos de cada una de las partes de <i>Cestrum roseum</i>	21
Tabla 4.	Rendimientos obtenidos de la mezcla de 4 y 16 de las diferentes partes de la planta	51
Tabla 5.	Rendimientos obtenidos del compuesto 6 de las partes aéreas de la planta	52
Tabla 6.	Rendimientos obtenidos del compuesto 17 de las diferentes partes de la planta	53
Tabla 7.	Rendimientos obtenidos del compuesto 18 de las diferentes partes de la planta	54
Tabla 8.	Rendimientos de la mezcla de los compuestos 18 y 19 de las diferentes partes de la planta	55
Tabla 9.	Rendimientos obtenidos del compuestos 21 de las diferentes partes de la planta	57
Tabla 10.	Datos espectroscópicos de RMN del 4'-hidroxi fenetil <i>trans</i> -ferulato (21)	67
Tabla 11.	Datos espectroscópicos de RMN del 4'-hidroxi-3'-metoxi fenetil <i>trans</i> -ferulato (22)	68

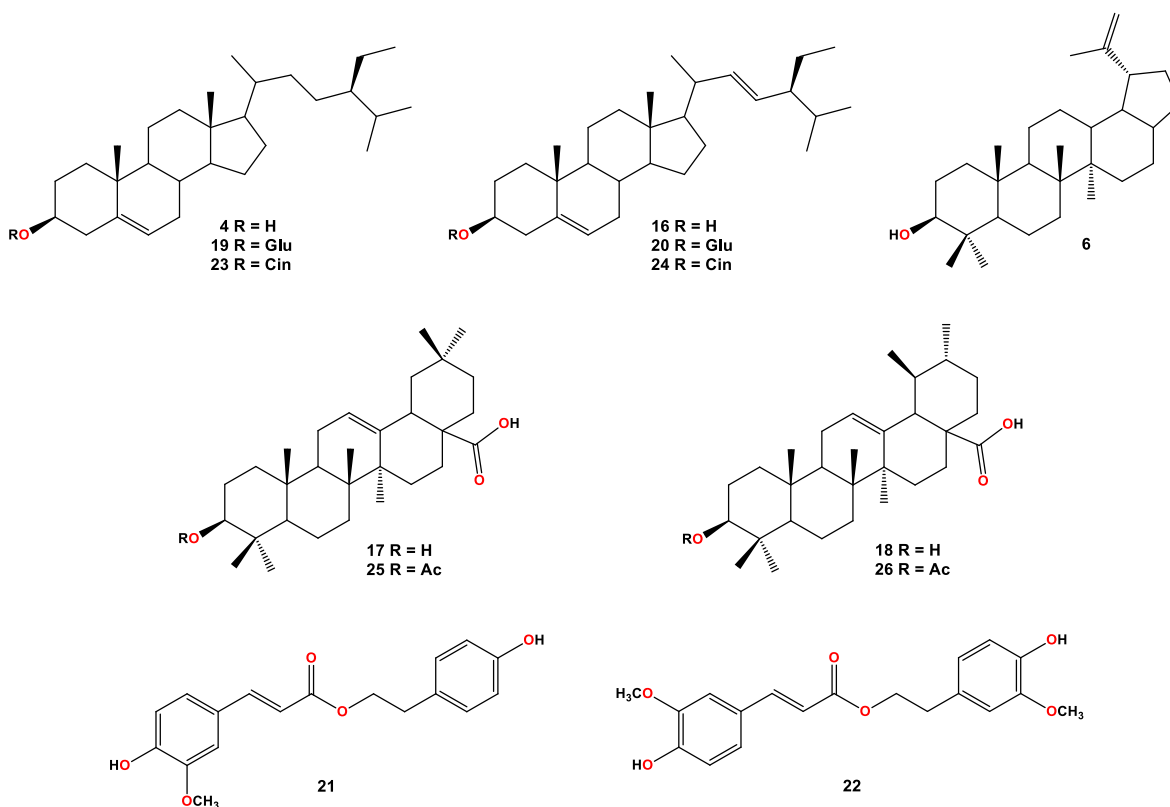
IV. SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

a.C.	Antes de Cristo
AcOEt	Acetato de etilo
C	Concentración
ca.	Cerca
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CD ₃ OD	Metanol deuterado
CH ₂ Cl ₂	Cloruro de metileno
Cin	Grupo cinamoílo
cm	Centímetro
CoA	Acetil coenzima A
CO ₂	Dióxido de carbono
d	Señal doble
d.C.	Después de Cristo
dd	Señal doble de dobles
DEPT	Resonancia magnética nuclear de carbono trece con mejora sin distorsión de polarización
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
<i>epi</i>	Epímero
g	Gramo
h	Hora
Hex	Hexano
HMBC	Resonancia magnética nuclear de coherencia heteronuclear a múltiples enlaces
HSQC	Resonancia magnética nuclear de coherencia cuántica única heteronuclear
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
km	Kilómetro
m	Señal múltiple
MeOH	Metanol
MEP	Metileritritol fosfato
mg	Miligramo
MHz	Megahertz
min	Minutos
mL	Mililitro
mm	Milímetro

OAc	Grupo funcional acetoxi
OH	Grupo hidroxilo
<i>p</i>	<i>para</i> sustituido
p.f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
Pyr-d ₅	Piridina deuterada
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	Señal simple
spp	Especies sin especificar
T	Señal triple
td	Señal triple de dobles
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta
°C	Grados Celsius
δ	Desplazamiento químico

V. RESUMEN

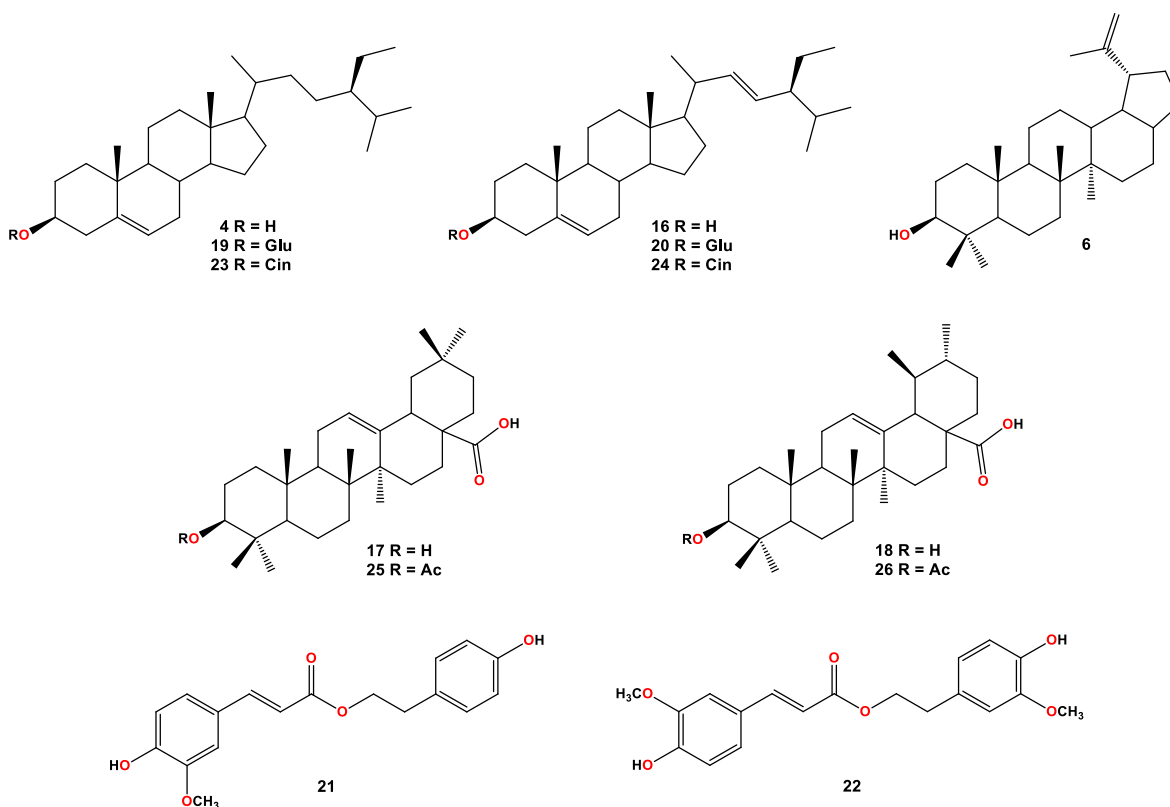
En México la familia Solanaceae forma parte importante de la biodiversidad ya que algunas especies poseen gran interés económico. Una especie que se encuentra distribuido en el estado de Michoacán es *Cestrum roseum* del que solo existe un estudio químico reportado de extractos poco polares de raíz, en el presente trabajo se realizó el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios de los extractos (poco polares y polares) de raíz y partes aéreas de la planta. Se identificó como compuestos mayoritarios cadenas hidrocarbonadas, ácidos grasos, triterpenos (**4**, **6**, **16**, **17** y **18**), compuestos glucosidados (**19** y **20**) y fenilpropanoides (**21** y **22**); además de que se realizó modificaciones químicas para corroborar la presencia del grupo hidroxilo en los triterpenos.



Palabras clave: Solanaceae, *Cestrum roseum*, triterpenos, glicósido, fenilpropanoides.

VI. ABSTRACT

In Mexico, the Solanaceae family is an important part of biodiversity, because some species have great economic interest. An important member of this family is distributed in the state of Michoacan, this specie was classified as *Cestrum roseum*. Preliminary phytochemical study of non-polar extracts of roots was reported recently, in the present work the isolation and identification of secondary metabolites of non-polar and polar solvents extracts was carried out in roots and aerial parts of the plant. As a result of the phytochemical study of *C. roseum* different compounds were identified as: hydrocarbon chains, fatty acids, triterpenes (**4**, **6**, **16**, **17** and **18**), glycosylated compounds (**19** and **20**) and phenylpropanoids (**21** and **22**); in addition chemical modifications were carried out to corroborate the presence of some functional groups.



Keywords: Solanaceae, *Cestrum roseum*, triterpenes, glucoside, phenylpropanoids.

1. INTRODUCCIÓN

Desde la prehistoria se conocen plantas cuyos extractos han sido usados en pócimas o en curaciones y aún las plantas sin tratamiento se han empleado para los mismos fines. El conocimiento que la humanidad ha tenido, se ha transmitido por comunicación oral o a través de códices y otros escritos, de generación en generación.

Los primeros registros que se tienen sobre el uso de plantas son el de Hipócrates el cual conocía el uso de la manzanilla y de la cicuta. Dioscórides (77 a.C.) escribió *Materia Medica*, una obra considerada por 15 siglos la cumbre de la botánica y farmacia; en ella registro todas las plantas y medicinas conocidas por los griegos e incluyó desde la simple descripción hasta su utilización. Plinio (37-79 d.C.) escribió un manual de 47 volúmenes de *Historia Natural* en la cual se indicaban usos y características vegetales como la casia y el anís.^{1,2}

En México son notables los códices mayas, mixtecos, mexicas y purépechas. Los códices aztecas, en particular, nos ilustran sobre la vida de la antigua Tenochtitlán, sobre sus habitantes y costumbres, entre las que destacan la herbolaria, la medicina entre otras cosas. De los códices aztecas, destacan el Códice Matritense, el Códice Florentino y Códice de la Cruz Badiano.

El *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*, más conocido como Códice de la Cruz Badiano fue escrito en 1552 por el médico Martín de la Cruz y traducido al latín por Juan Badiano, es una recopilación de las plantas utilizadas en el siglo XVI, y su riqueza conceptual le ha ganado ser considerado una de las obras maestras de la literatura médica mundial.³

En la actualidad se estima que un 80 % de la población de los países en desarrollo se basa en la medicina tradicional para la cura de enfermedades y padecimientos ya sea por tradición, cultura o porque no existen otras opciones y que al menos 35 000 especies vegetales presentan potencial para uso medicinal.⁴

1.1. Producto natural

Un producto natural es todo compuesto de origen orgánico o inorgánico, que se encuentre en la naturaleza y que pueda ser procesado por el hombre. Se considera productos naturales a aquellos que provienen principalmente de plantas, hongos, bacterias y organismos marinos.⁵

El conjunto de reacciones químicas que tienen lugar en un organismo constituye el metabolismo. La mayor parte del carbono, el nitrógeno y la energía termina en moléculas comunes a todas las células, necesarias para su funcionamiento y el de los organismos. Algunas moléculas son de suma importancia como lo son los aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos, todos ellos denominados metabolitos primarios; los cuales están presentes en todas las plantas y desempeñan prácticamente las mismas funciones.

Los metabolitos secundarios además de no presentar una función definida en los procesos mencionados, difieren de los metabolitos primarios en que ciertos grupos presentan una distribución restringida en el reino vegetal, es decir, no todos los metabolitos secundarios se encuentran en los diferentes grupos de plantas. Se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción limitada a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a algunas especies.^{6,7}

Diversos productos del metabolismo secundario tienen funciones ecológicas específicas como atrayentes o repelentes de animales. Un gran número son pigmentos que proporcionan color a flores y frutos, jugando un papel esencial en la reproducción atrayendo a insectos polinizadores o atrayendo a animales que van a utilizar los frutos como fuente de alimento, contribuyendo de esta forma a la dispersión de semillas. También intervienen en los mecanismos de defensa de las plantas frente a diferentes patógenos, actuando como pesticidas naturales.^{6,8}

Las principales rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios derivan del metabolismo primario del carbono (Figura 1). Se agrupan en tres clases principales:

- ❖ Terpenos.
- ❖ Compuestos fenólicos.
- ❖ Alcaloides.⁹

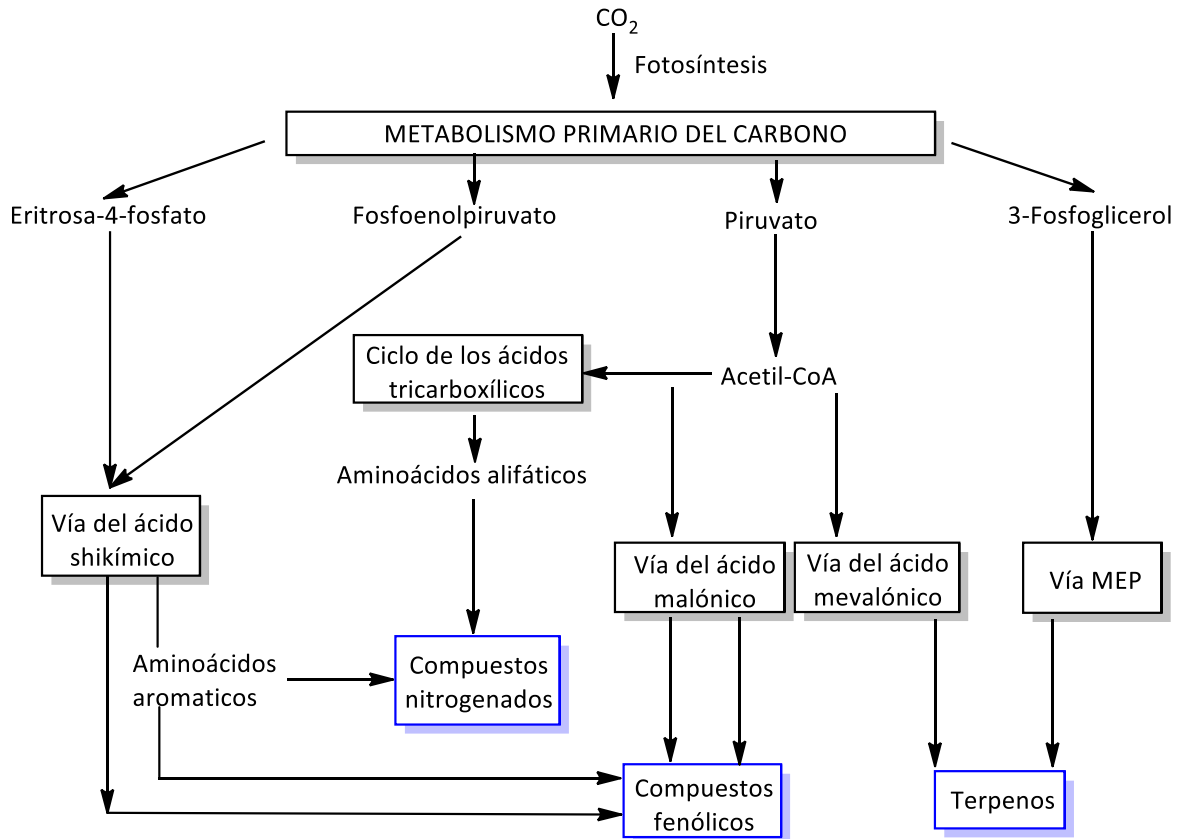


Figura 1. Elementos básicos del metabolismo primario y en relación con el metabolismo secundario de plantas.

Terpenos

Los terpenos constituyen el mayor grupo de metabolitos secundarios. La ruta biosintética de la cual derivan da lugar a metabolitos secundarios que resultan de la unión de unidades de isopreno (Figura 2). Estos se originan de la vía del ácido mevalónico y de la vía metileritritol fosfato.¹⁰

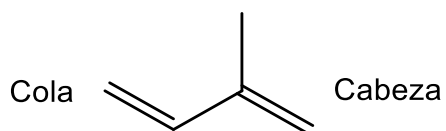


Figura 2. Estructura del isopreno.

Los terpenos se clasifican según el número de unidades de isopreno o el número de unidades de cinco carbonos que contienen como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de los terpenos.

Grupo	N° de átomos de carbonos	N° de unidades de isopreno	Ejemplo
Hemiterpeno	5	1	Isopreno
Monoterpenos	10	2	Mentol
Sesquiterpenos	15	3	Rasteviona
Diterpenos	20	4	Crotonadiol
Sesterterpenos	25	5	Ácido gascárdico
Triterpenos	30	6	β -sitosterol
Tetraterpenos	40	8	β -caroteno
Politerpenos	$[C_5]_n$ cuando $n > 8$	n	

El grupo de los terpenos, incluye hormonas, pigmentos carotenoides, esteroides, derivados de los esteroides, látex y aceites esenciales, algunos ejemplos se muestran en la Figura 3.

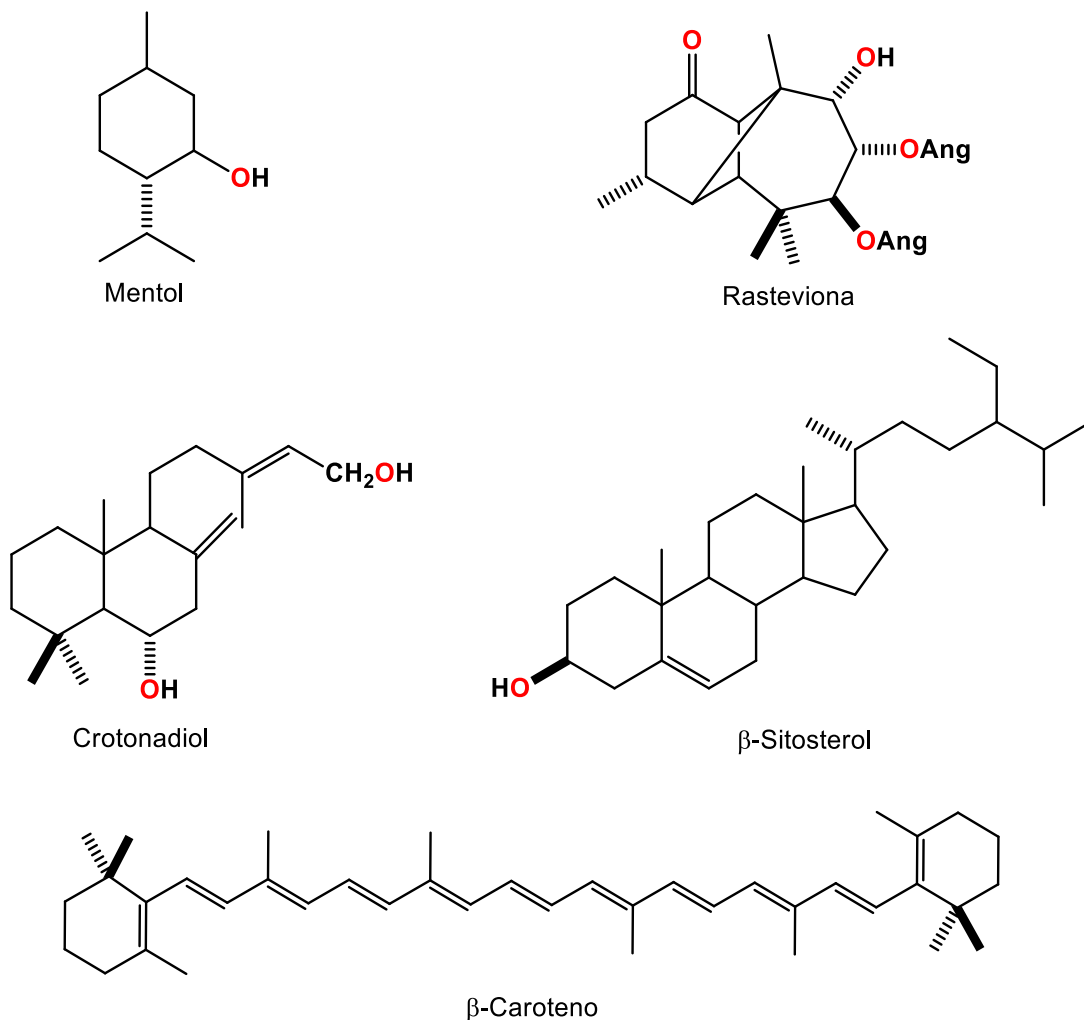


Figura 3. Ejemplos de terpenos.

Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son un grupo diverso que comprende moléculas sencillas como los ácidos fenólicos hasta polímeros complejos como los taninos y la lignina. En el grupo también se encuentran pigmentos flavonoides, los cuales están implicados en las interacciones planta-herbívoro.

Existen dos rutas básicas implicadas en la biosíntesis de compuestos fenólicos:

- La ruta del ácido shikímico, es la vía más frecuente donde se obtienen: ácidos benzoicos, acetofenonas, lignanos, ligninas, cumarinas, entre otros.¹⁰

- La ruta de la acetil-CoA, que origina compuestos policíclicos como: cromonas, isocumarinas, orcinoles, dépsidos, depsidonas, xantonas, quinonas, entre otros. En la Figura 4 se muestran algunos ejemplos.

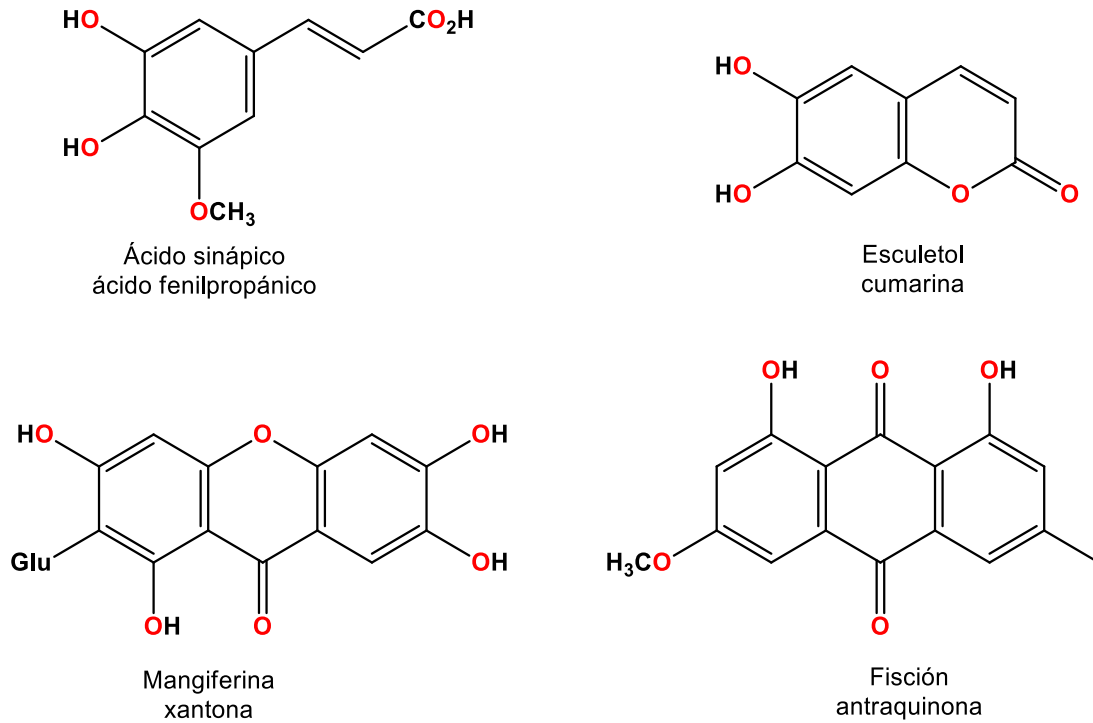


Figura 4. Ejemplos de compuestos fenólicos.

Alcaloides

Los alcaloides son una gran familia de más de 15 000 metabolitos; se consideran como compuestos heterocíclicos que generalmente se sintetizan a partir de aminoácidos, tales como triptófano, tirosina, fenilalanina, lisina, arginina y ornitina, encontrándose sólo o combinados con terpenoides. También se pueden derivar de purina y acetato de policétidos.¹¹

Se pueden clasificar según su esqueleto (Figura 5) en quinolénicos, isoquinolénicos, indólicos, tropánicos, quinolizidínicos, piperidínicos, purínicos y pirrolizidínicos.¹²

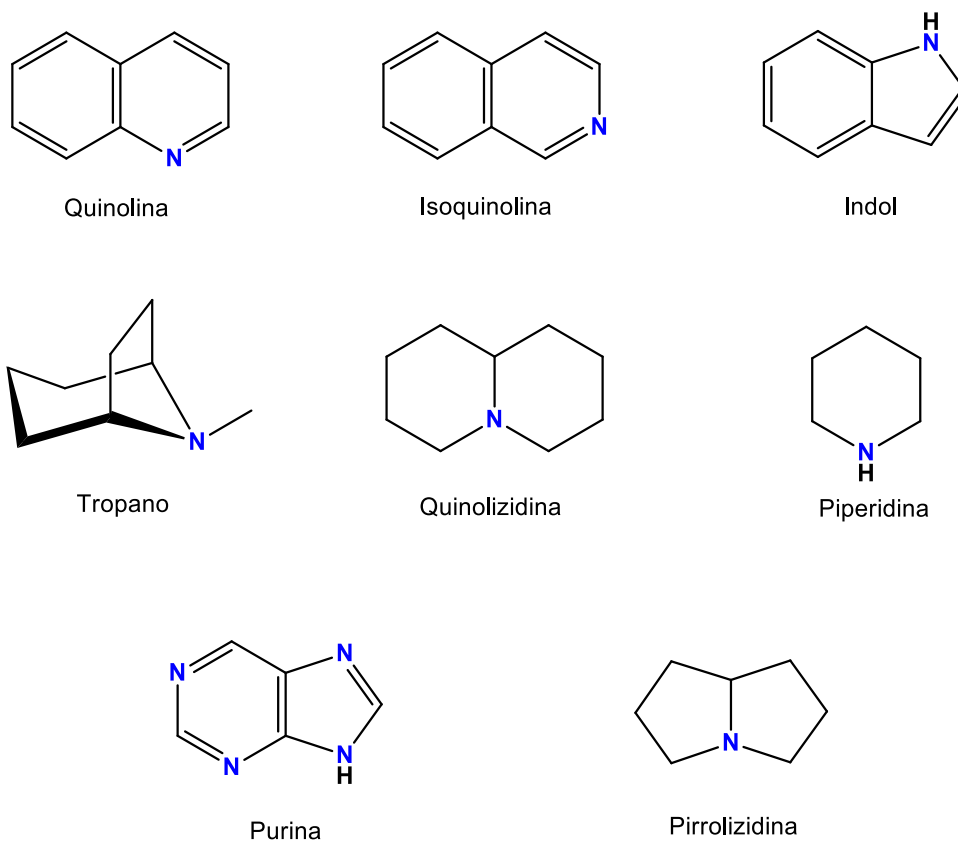
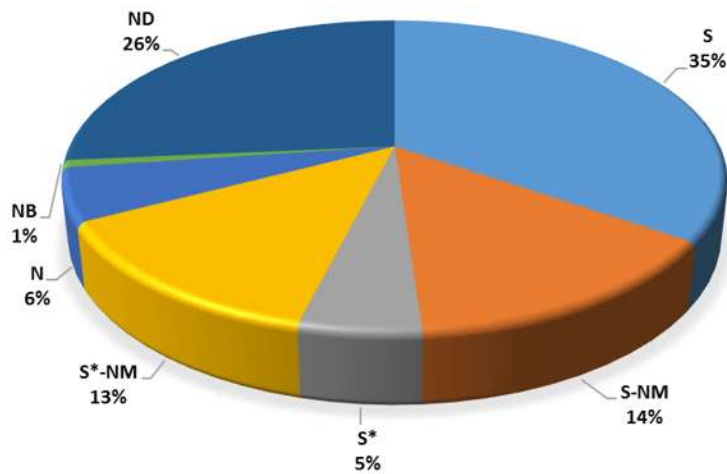


Figura 5. Clasificación de los alcaloides según su esqueleto.

1.2. Importancia de los productos naturales

Los productos naturales siguen desempeñando un papel importante en el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos. Cabe mencionar que el 1 % de los metabolitos secundarios son utilizados sin modificación química y el 14 % se preparan por síntesis total, usando como modelo un producto natural. Aproximadamente el 26 % de los medicamentos son derivados de un producto natural modificado químicamente. En la siguiente figura se muestra el gráfico de los porcentajes de fármacos a partir de un producto natural¹³.



Siglas:

"S": Fármaco totalmente sintético, que se encuentra a menudo mediante selección aleatoria / Modificación de un agente existente.

"S-NM": Simulación de un producto natural.

"S*": Hecho por síntesis total, pero a partir de un modelo de producto natural.

"S*-NM": Hecho por síntesis total / Simulación de un producto natural.

"N": Producto natural, no modificado en estructura, aunque podría ser semi- o totalmente sintético.

"NB": Producto natural "metabolito secundario".

"ND": Derivado de un producto natural y suele ser un modificado químicamente.

Figura 6. Gráfico de fármacos a partir de un producto natural.

Por lo anteriormente mencionado resulta importante aislar los metabolitos secundarios de las diferentes partes de la planta, así como llevar a cabo la identificación y elucidación estructural debido al uso potencial que representan como modelos en la síntesis de nuevos fármacos.

2. ANTECEDENTES

2.1. Familia Solanaceae

La familia Solanaceae se caracteriza por incluir plantas generalmente herbáceas; anuales o perennes; leñosas o herbáceas, erectas o trepadoras; hojas comúnmente alternas, raramente pseudopuestas o verticiladas, simples o compuestas; flores solitarias a numerosas, dispuestas en cimas o racimos, por lo común hermafroditas y actinomorfas; cáliz gamosépalo, regularmente persistente, en ocasiones acrescente en el fruto; corola rotácea a tubular; estambres 5, fruto en forma de baya o cápsula, dehiscente o indehiscente; semillas numerosas, pequeñas.^{11,14}

Se encuentra entre las familias más grandes de las angiospermas. Consiste a nivel mundial de alrededor de 96 géneros y 2 300 especies, tiene una distribución cosmopolita, existiendo el mayor número de especies en los climas cálidos y cálido-templados.¹⁴

En México la familia encuentra un sitio importante de diversificación, siendo especialmente rico en especies y endemismos en los géneros *Solanum*, *Physalis*, *Lycianthes* y *Cestrum*, así como géneros restringidos como *Nectouxia*, *Datura*, *Tzeltalia* o *Plowmania*.¹⁵

Las especies de esta familia poseen gran interés económico en diversos rubros a nivel mundial, como la “papa” (*Solanum tuberosum*), los “chiles” (*Capsicum* spp.), el “jitomate” (*Solanum lycopersicon*), el “tomate verde” (*Physali philadelphica*) y el “tabaco” (*Nicotiana tabacum*). Además, las solanáceas tienen fama de ser una de las familias más ricas en especies que biosintetizan moléculas tóxicas por ejemplo la “belladona” (*Atropa belladonna*), el “estramonio” (*Datura stramonium*), el “beleño negro” (*Hyoscyamus niger*) y la “mandrágora” (*Mandragora officinarum*). También son muy importantes las plantas ornamentales como la “petunia” (*Petunia* spp.), “huele de noche” (*Cestrum nocturnum* L.) y “copa de oro” (*Solandra* spp.).^{11,15}

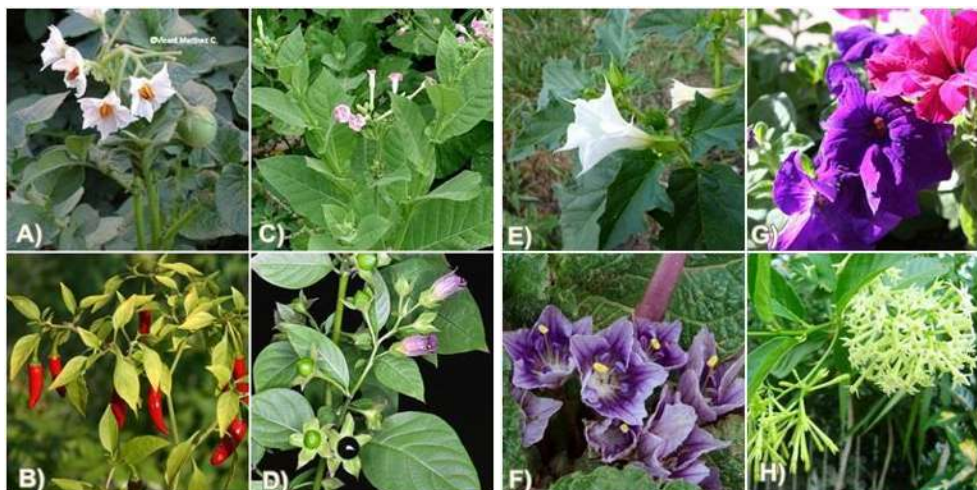


Figura 7. Especies de la familia Solanaceae **A)** Papa (*Solanum tuberosum*). **B)** Chiles (*Capsicum* spp.). **C)** Tabaco (*Nicotiana tabacum*). **D)** Belladona (*Atropa belladonna*). **E)** Estramonio (*Datura stramonium*). **F)** Mandrágora (*Mandragora officinarum*). **G)** Petunia (*Petunia* spp.). **H)** Huele de noche (*Cestrum nocturnum* L.).

2.2. Género *Cestrum*

El género *Cestrum* es de origen americano, con algunos taxones naturalizados en otros continentes. Su número de especies aún no ha sido bien definido, pero se considera que debe estar entre 150 y 175. Son arbustos de 1 hasta 4 m de altura, en su mayoría siempre verdes, crecen con frecuencia en el bosque de pino y encino.¹⁶⁻¹⁸

En México el género se encuentra distribuido en el sur del país abundando las especies principalmente en los estados de Michoacán, Oaxaca, Chiapas y Veracruz.¹⁹

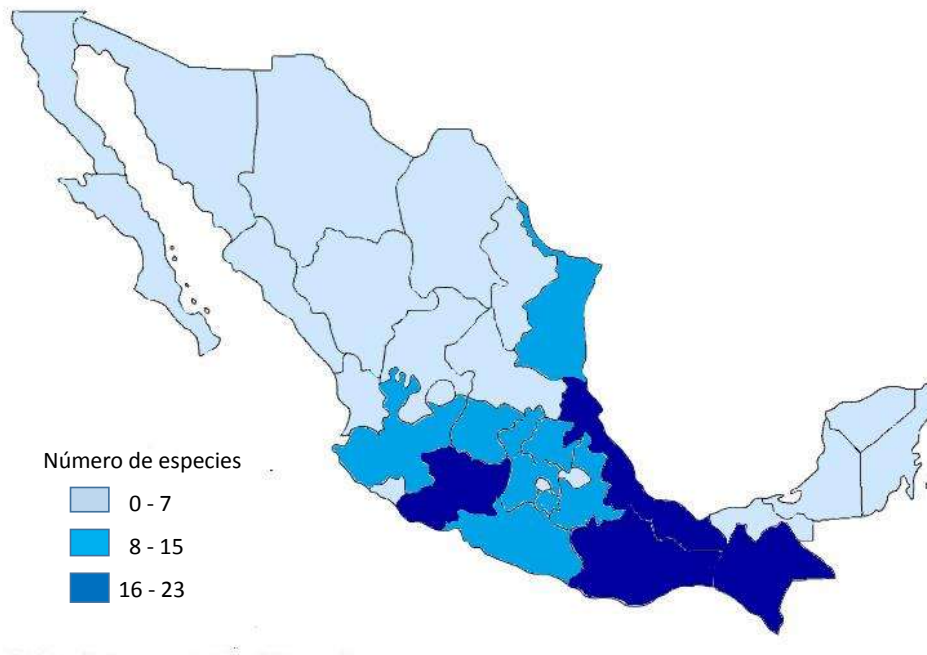


Figura 8. Distribución de especies de *Cestrum*.

2.3. *Cestrum roseum*

Arbusto hasta de 2 (5) m de alto; ramas jóvenes de color gris-verdoso, o bien, morado-pardo; hojas con peciolo de 0.6 a 2.2 cm de longitud, verde o morado; limbo ovado-lanceolado u oblongo-lanceolado, de 7 a 13 cm de longitud y de 3 a 5.3 cm de ancho, ápice acuminado, base subredondeada, con 5 a 9 pares de nervaduras laterales, haz verde fuerte, envés verde pálido; fascículos formados por 4 a 8 (10) flores, pedúnculo de 0.5 a 4 cm de longitud, pubescentes; cáliz de color verde, verde con guinda o guinda, cilíndrico u obcónico, de 0.9 a 1.4 cm de longitud y de 4 a 4.5 mm de grosor, con dientes triangulares o lanceolados, de 4 a 7 mm de longitud y de 1 a 1.5 mm de ancho; corola de color rojo vino (guinda o morado oscuro), de (1.8) 2 a 2.8 cm de longitud; anteras glandulosas, de 1 a 1.5 mm de longitud; ovario globoso, sobre un disco glanduloso, conteniendo de 12 a 20 óvulos, estilo de 1.8 a 2 cm de longitud, un poco más largo que los estambres; baya morada o negra, globosa u ovalada, de 0.6 a 2 cm de longitud y hasta de 0.7 cm de grosor; semillas maduras

4 a 6, oblongas, angulosas, de 3 a 4 mm de longitud y ca. 2 mm de ancho; *C. roseum* es conocida comúnmente como “Hediondilla”.¹⁴



Figura 9. *Cestrum roseum*.

La floración de *Cestrum roseum* ocurre durante todo el año y principalmente en los meses de marzo a mayo, con el pico de floración en abril.¹⁹

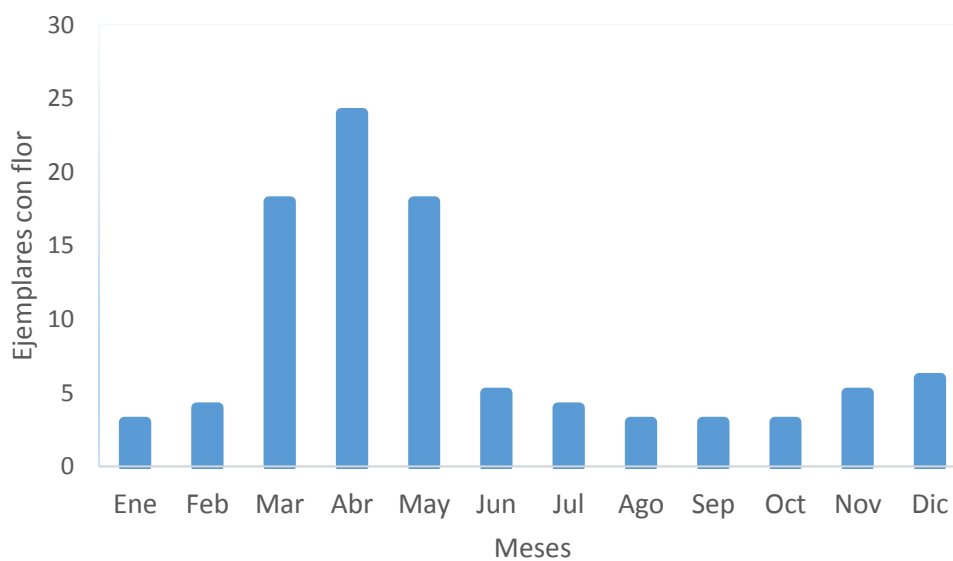


Figura 10. Esquema de floración de *Cestrum roseum*.

2.4. Estudios químicos descritos del género *Cestrum*

Debido a la fragancia de las flores de este género se han empleado históricamente como plantas ornamentales en diferentes partes del mundo. En las últimas décadas se iniciaron estudios para la identificación de los metabolitos secundarios del género *Cestrum*.

Las especies más estudiadas de este género son *Cestrum parqui*, *Cestrum nocturnum*., *Cestrum diurnum*, *Cestrum lanatum*, *Cestrum laurifolium* y *Cestrum buxifolium*, encontrando en sus estudios fitoquímicos estructuras de ácidos grasos polihidroxilados, triterpenos, sapogeninas, glucósidos, algunos alcaloides y fenilpropanoides.

Cestrum parqui

El primer reporte de esta planta lo realizó Clive y colaboradores, aislando e identificando del extracto etanólico de hojas dos glucósidos derivados del kaureno: pararquina y carboxiparquina, los cuales difieren entre sí sólo por un carboxilo en C-4. Se cree que el primer compuesto es el responsable del envenenamiento masivo de herbívoros y el segundo glicósido es un compuesto no tóxico.²⁰ Tasnim y colaboradores identificaron de los extractos metanólicos de las partes aéreas dos glicósidos de esteroides de la serie spirostanol a los que nombraron parquisósido a y b.²¹

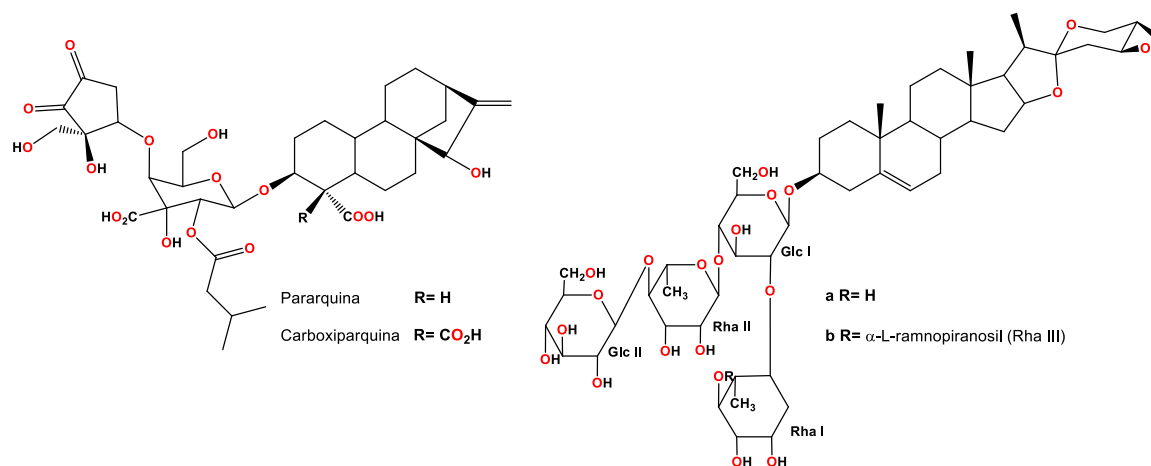


Figura 11. Estructuras de los compuestos glicosilados de *C. parqui*.

Mientras que D'Abrosca y Antonio Fiorentino reportaron del extracto metanólico de las hojas al spirostantriol, *nor*-isoprenoides así como 14 nuevos ácidos grasos polihidroxlados (oxipilinas) responsables de la fitotoxicidad en *Lactuca sativa* L. presentando efectos sobre la germinación y el crecimiento de ésta.^{22,23}

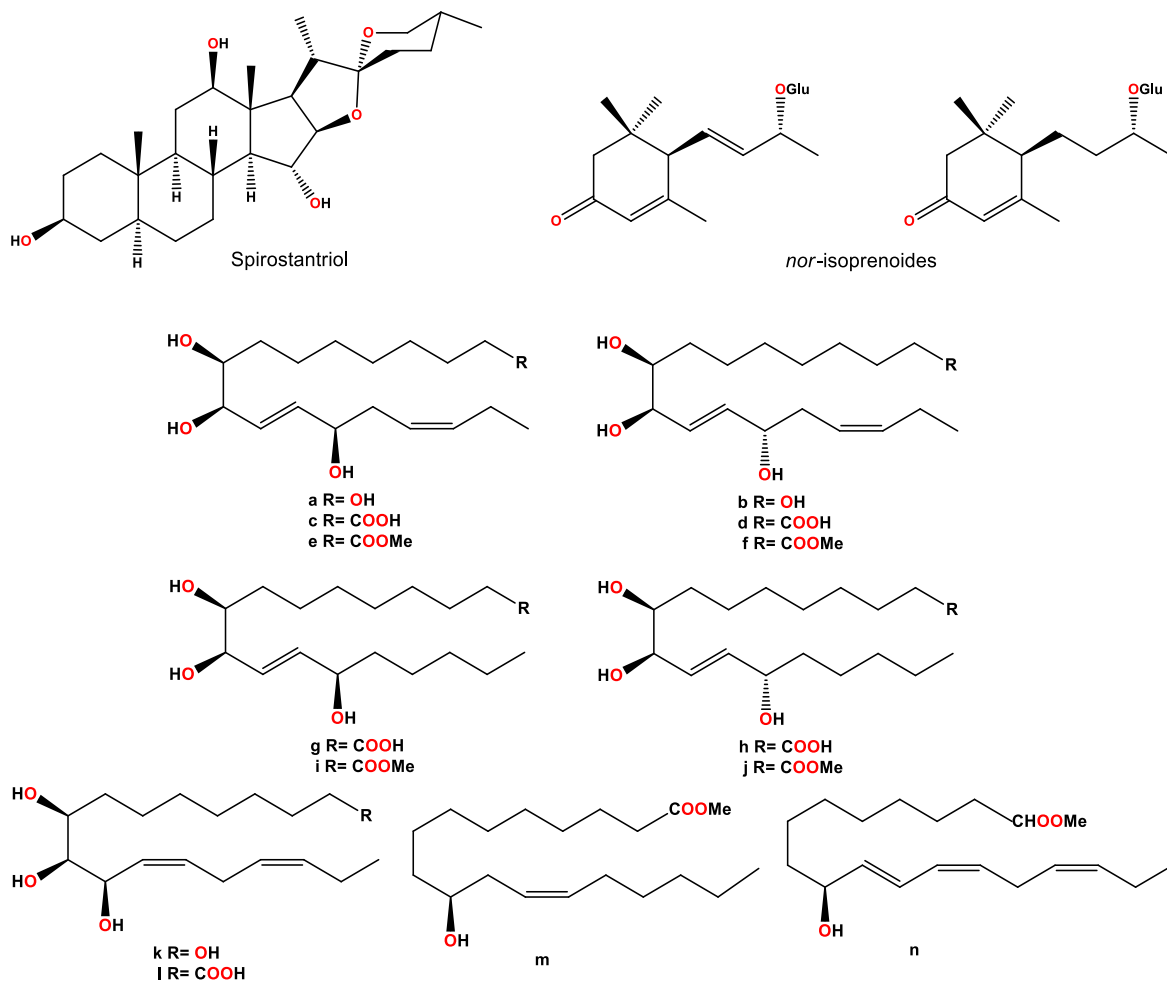


Figura 12. Estructuras de los compuestos fitotóxicos de *C. parqui*.

***Cestrum nocturnum* L.**

Cestrum nocturnum L., es llamado comúnmente: dama de noche, jazmín de noche, galán de noche, huele de noche, cesto o zorrillo. De esta especie Cuartas y colaboradores, encontraron como compuestos mayoritarios dos saponinas: gitogenina y digitogenina. También identificaron diferentes alcaloides como nicotina, atropina, hiosciamina y escopolamina.²⁴

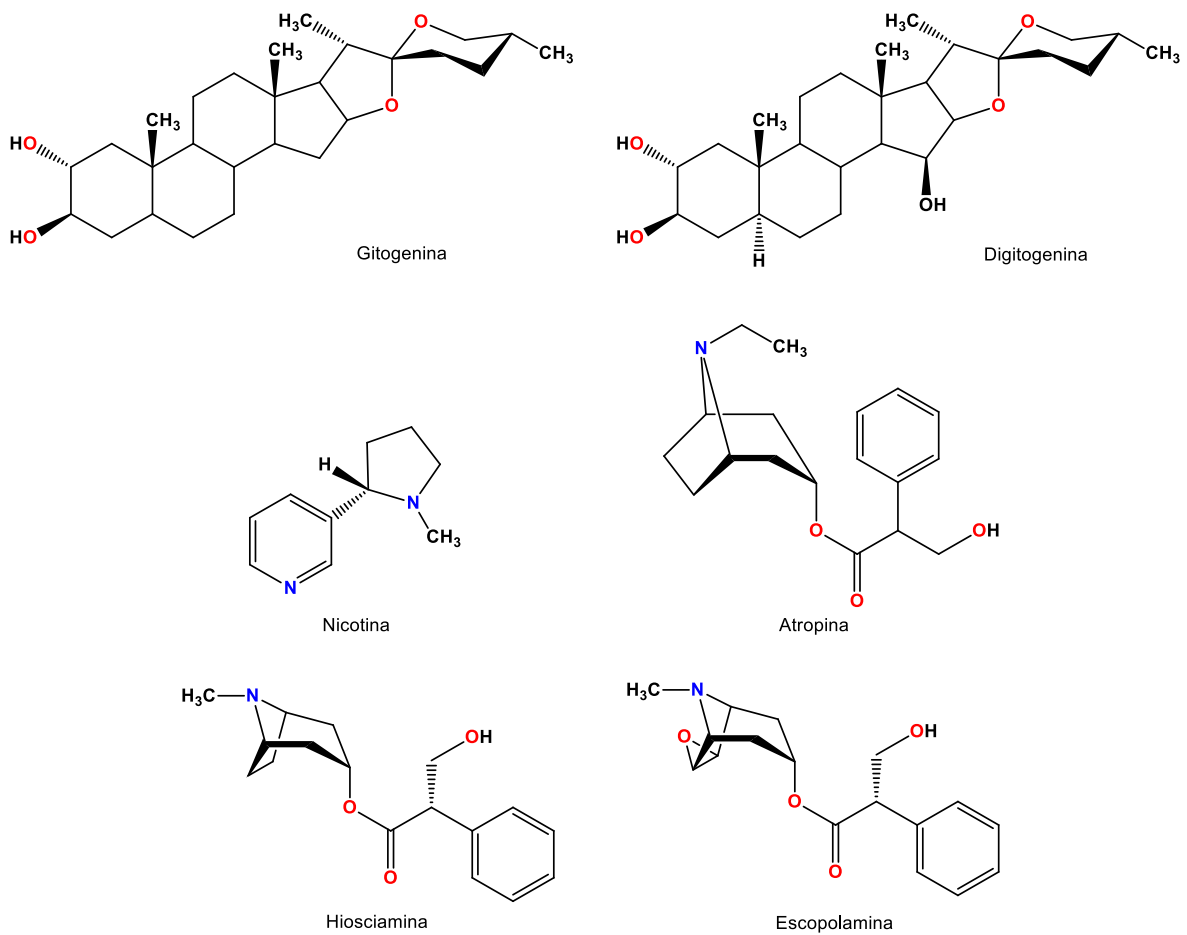


Figura 13. Estructuras de los metabolitos encontrados en *C. nocturnum*.

***Cestrum diurnum* L.**

Mohamed y colaboradores, aislaron del extracto metanólico de las partes aéreas de *Cestrum diurnum* L., un nuevo glucósido 9-*nor*-lignano (cestrumosido) y al berchemol 4' glucosilado.²⁵

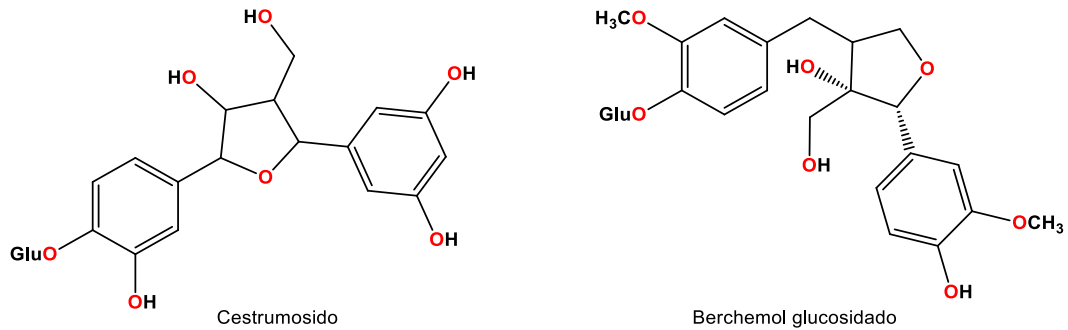


Figura 14. Estructuras de los glucósidos de *C. diurnum*.

Cestrum lanatum

Del extracto de diclorometano de las partes aéreas de *Cestrum lanatum* Turnock y colaboradores, identificaron la *N-trans*-feruloiltiramina. Este compuesto se ha aislado de diferentes familias por lo cual su quimiotaxonomía aún no se ha establecido.²⁶

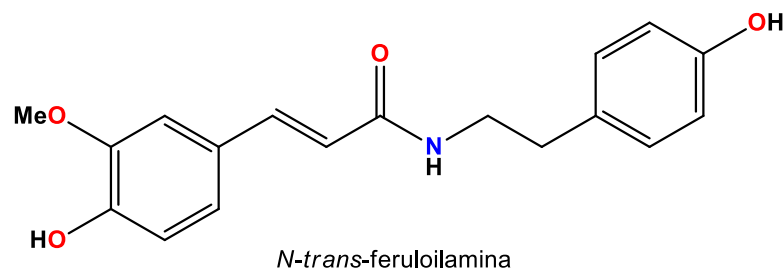


Figura 15. Compuesto mayoritario de *C. lanatum*.

***Cestrum laurifolium* L'Herit**

Del extracto etanólico de hojas de *Cestrum laurifolium* L'Herit, se identificó como compuesto mayoritario al triterpeno conocido como ácido ursólico, el cual se emplea como agente emulsificante en preparación de farmacéuticos, cosméticos y alimentos. Se ha demostrado que posee actividad carcinogénica, antiinflamatoria, antimicrobiana, antiviral y puede ser utilizada sistemáticamente en aplicación tópica.²⁷

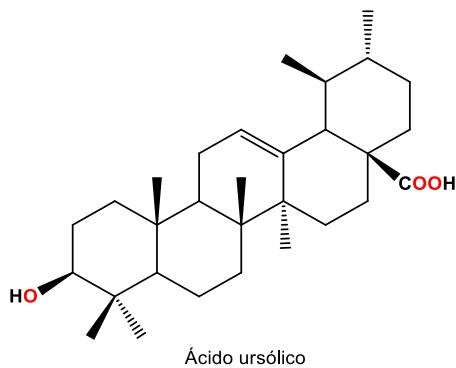


Figura 16. Triterpeno mayoritario de *C. laurifolium*.

***Cestrum buxifolium* Kunth**

Ciangherotti y colaboradores, aislaron e identificaron de los extractos isopropanólicos de *C. buxifolium* Kunth dos compuestos de naturaleza triterpénica pentacíclica. De las hojas el producto aislado fue al ácido *epi*-ursólico y de los tallos la friedelina.²⁸

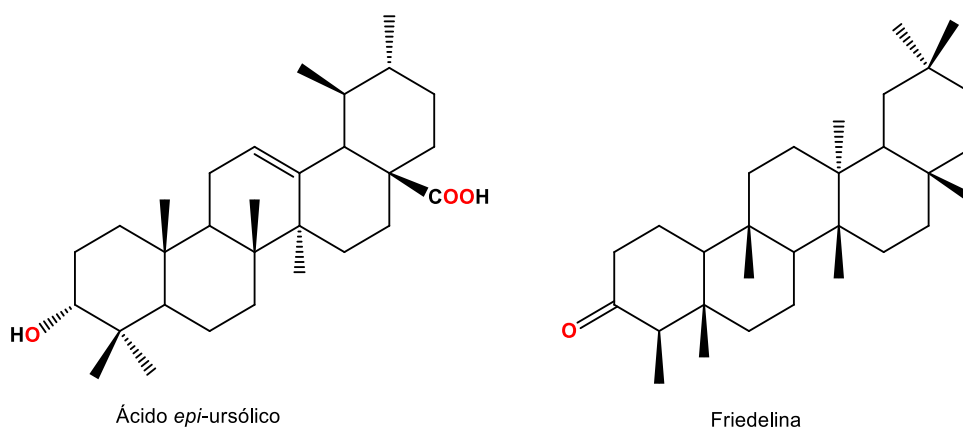
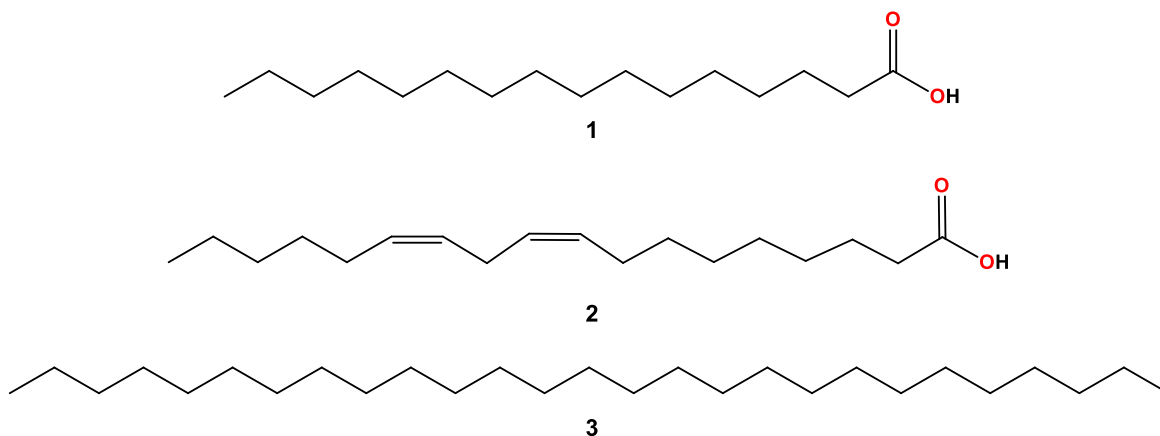


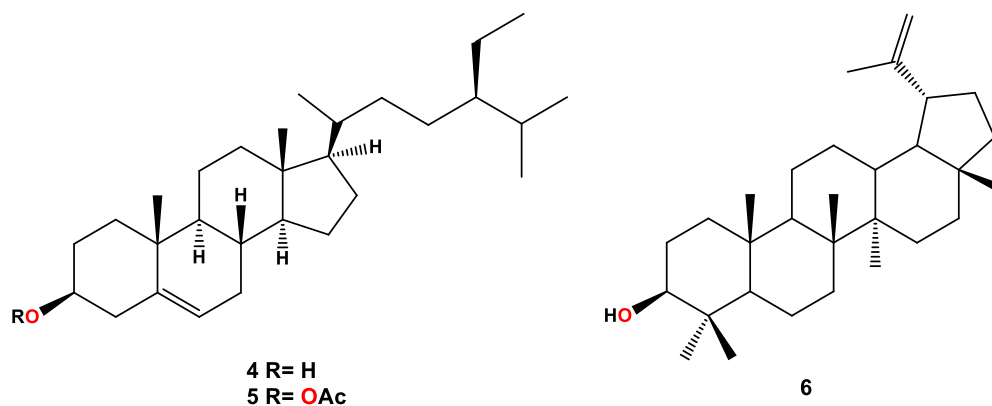
Figura 17. Estructuras de los triterpenos obtenidos de *C. buxifolium*.

Cestrum roseum

En un estudio químico preliminar de los componentes mayoritarios de raíz de los extractos poco polares se obtuvieron los siguientes compuestos: al ácido hexadecanoico (**1**), al ácido 9,12-octadecadienoico (**2**) y al heptacosano (**3**).²⁹



El β -sitosterol (**4**), del cual se preparó su derivado acetilado **5**, confirmando la presencia del grupo hidroxilo. También se aisló el triterpeno pentacíclico lupeol (**6**).



Este trabajo es el único antecedente sobre esta especie, por lo que resulta interesante continuar con el estudio químico para ampliar la búsqueda de metabolitos secundarios.

3. JUSTIFICACIÓN

Debido a que en la actualidad existe una gran diversidad de especies vegetales de las cuales se desconoce la composición química y la estructura de los productos naturales con potencial de presentar alguna actividad biológica, es necesario llevar a cabo su estudio fitoquímico. Además, los metabolitos secundarios descritos son importantes en el ámbito farmacológico siendo utilizados como modelos en la síntesis de nuevos medicamentos.

Dada la importancia de ampliar los estudios químicos del género *Cestrum* resulta relevante llevar a cabo la búsqueda de metabolitos secundarios en los extractos poco polares y polares de *Cestrum roseum* para contribuir con información que enriquezcan la quimiotaxonomía de este género y en particular de la especie.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Realizar el estudio de los metabolitos secundarios de *Cestrum roseum* de los extractos apolares y polares.

4.2. Objetivos particulares

- ❖ Recolección y secado de *Cestrum roseum*.
- ❖ Obtener los extractos de hexano, cloruro de metileno, acetato de etilo y metanol de *Cestrum roseum* (raíz, tallo, hojas, flores, frutos).
- ❖ Aislar y purificar por cromatografía los extractos obtenidos.
- ❖ Caracterizar mediante sus datos físicos y espectroscópicos, los compuestos aislados.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Cestrum roseum fue colectada en el km 197 de la carretera México-Morelia, vía Mil Cumbres, fue secada bajo la sombra y separada en sus partes aéreas y raíz. La raíz y tallos fueron sometidos a reflujo; mientras que las flores, frutos y hojas se llevaron a maceración, en ambos métodos se utilizaron disolventes en orden ascendente de polaridad (hexanos, diclorometano, acetato de etilo y metanol), tres veces con cada disolvente, se filtró y se llevaron a sequedad en rotavapor. Posteriormente fueron resuspendidos en metanol para eliminar las grasas. El rendimiento de los extractos se describe en la Tabla 2.

Tabla 2. Rendimientos obtenidos de los extractos en g.

Disolvente		Raíz (885 g)	Tallo (1041.8 g)	Frutos (52.8 g)	Flores (200 g)	Hojas (255g)
Hexano	I	1.05	2.72	0.83	7.23	7.20
	II	0.47	1.28	0.23	1.19	1.16
	III	0.26	0.48	0.18	0.71	0.76
CH₂Cl₂	I	0.62	1.61	0.22	2.63	2.98
	II	0.48	0.87	0.15	1.45	1.63
	III	0.38	0.44	0.09	0.87	0.69
AcOEt	I	0.92	1.62	0.27	1.49	1.75
	II	0.74	1.38	0.19	0.38	0.53
	III	0.51	1.15	0.11	0.16	0.27
MeOH	I	20.20	37.95	2.65	17.80	4.52
	II	10.71	28.71	1.89	8.41	4.02
	III	3.84	19.03	1.46	5.37	3.84

5.1. Análisis de los extractos hexánicos de las diferentes partes de la planta

El análisis de los extractos hexánicos de las diferentes partes de la planta por medio de RMN de ^1H permitió observar un conjunto de señales representativas de cadenas hidrocarbonadas de ácido grasos, por lo cual estas muestras fueron enviadas a cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas para su identificación. Los componentes de los extractos se identificaron por comparación de sus patrones de fragmentación con la base de datos NIST 2011. Los compuestos de mayor abundancia se describen en la Tabla 3.

Tabla 3. Compuestos en mayor abundancia del precipitado de los extractos crudos de cada una de las partes de *Cestrum roseum*.

Nombre	Nombre común	Flores	Frutos	Tallo	Hojas	Raíz
Ácido pentanoico $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2$	Ácido valérico	•		•		
Ácido hexanoico $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2$	Ácido caproico		•			
Ácido octanoico $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_2$	Ácido caprílico		•			
Ácido dodecanoico $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_2$	Ácido láurico		•			
Ácido tetradecanoico $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}_2$	Ácido mirístico	•	•			•
Ácido hexadecanoico $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$	Ácido palmítico	•	•	•	•	•
Ácido octadecanoico $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$	Ácido esteárico	•	•	•		
Ácido-9-octadecenoico $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$	Ácido oleico	•	•	•		
Ácido 9, 12-octadecadienoico $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$	Ácido linoleico		•		•	•
Pentacosano $\text{C}_{25}\text{H}_{52}$			•			
Octacosano $\text{C}_{28}\text{H}_{58}$		•	•			•

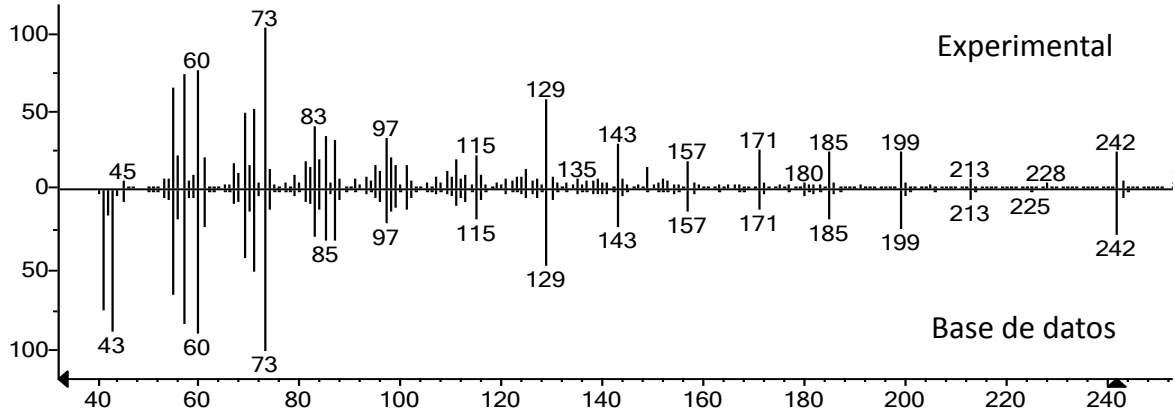
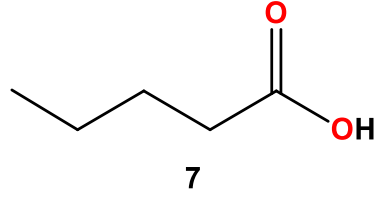


Figura 18. Espectro de masa del ácido pentanoico (7).

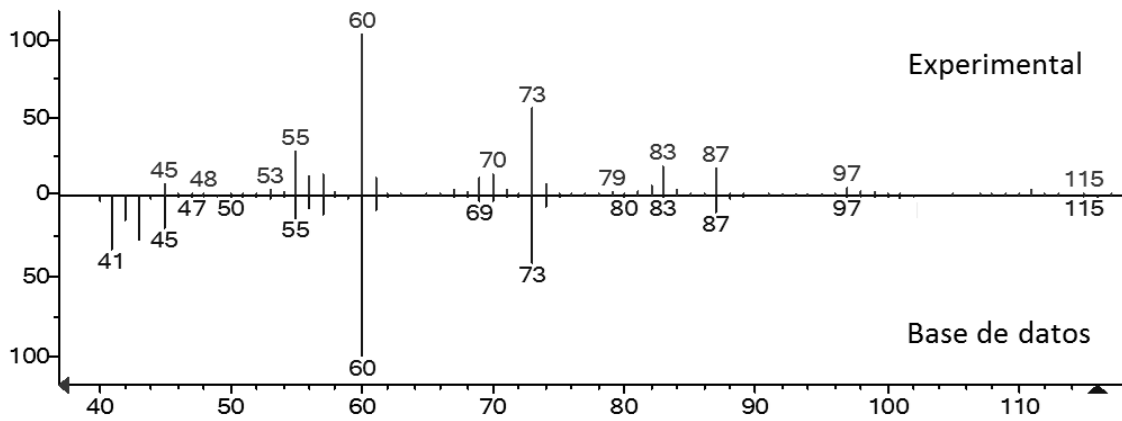
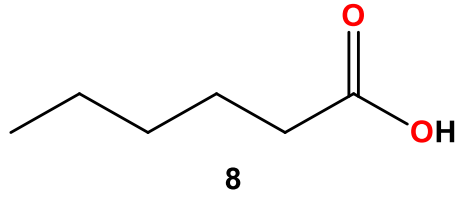


Figura 19. Espectro de masa del ácido hexanoico (8).

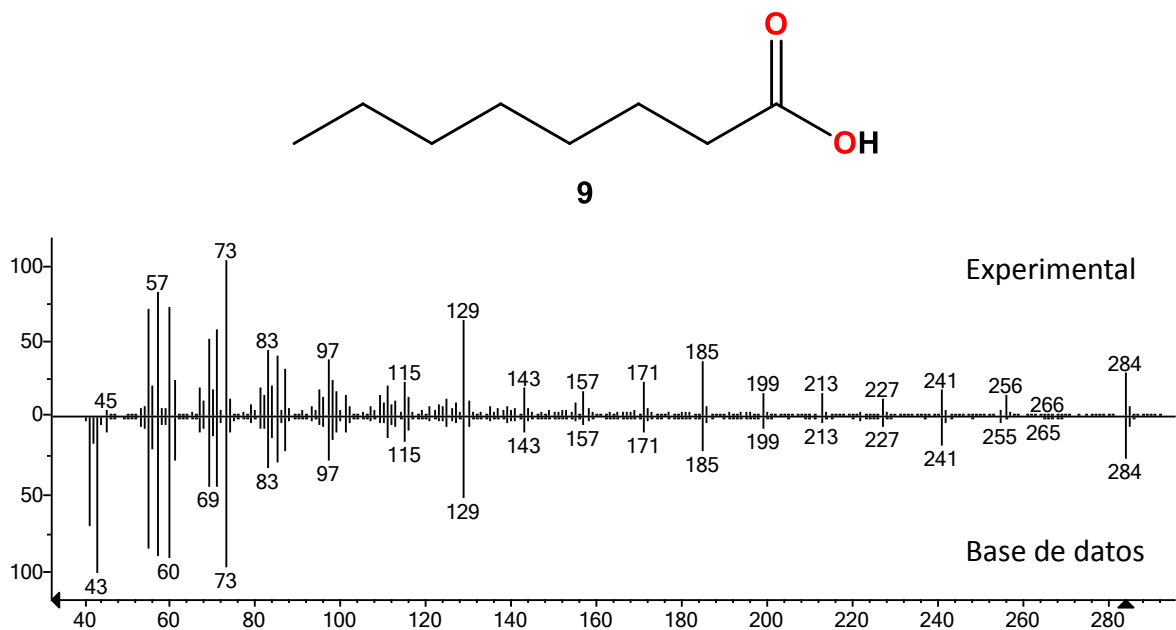


Figura 20. Espectro de masa del ácido octanoico (**9**).

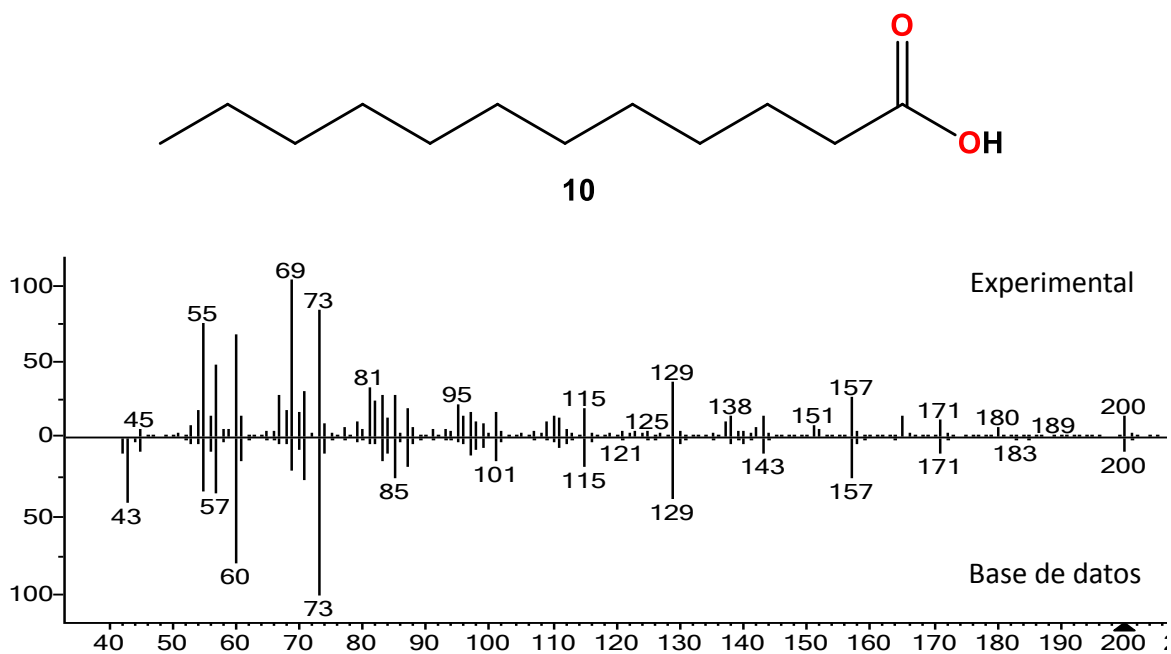


Figura 21. Espectro de masa del ácido dodecanoico (**10**).

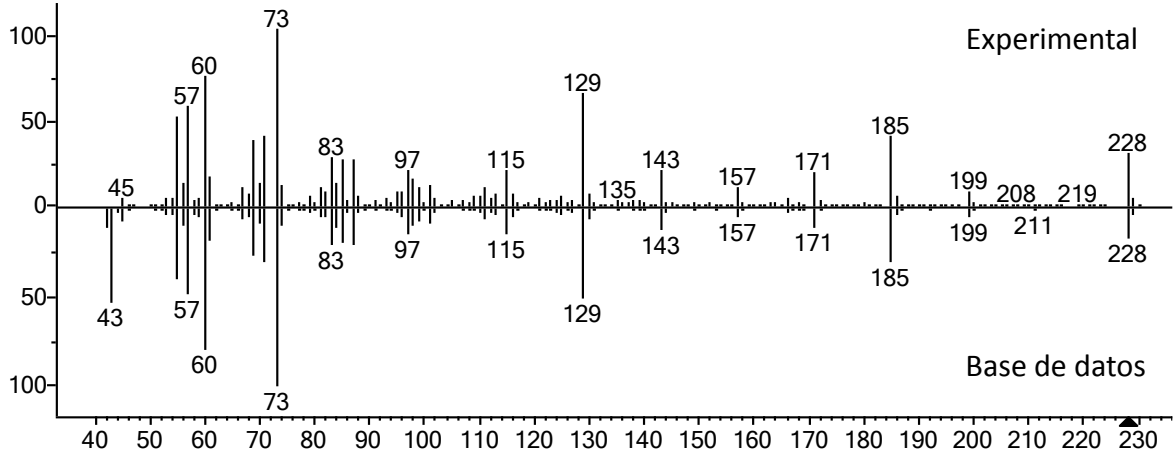
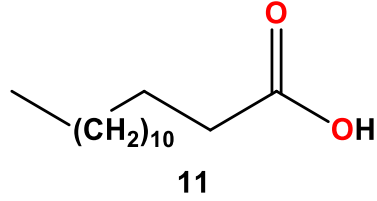


Figura 22. Espectro de masa del ácido tetradecanoico (**11**).

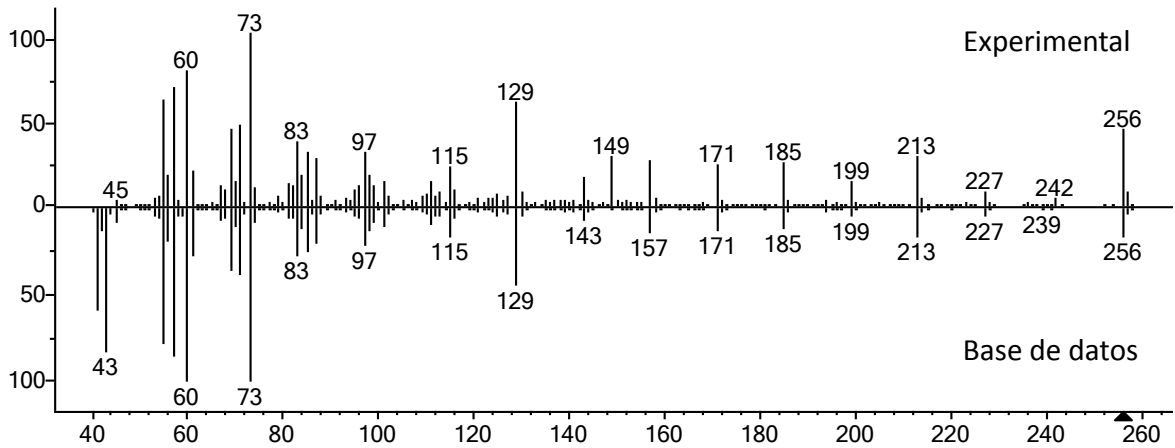
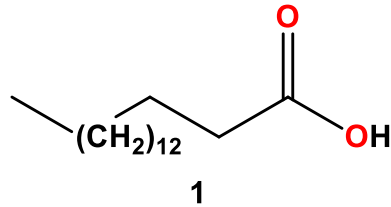
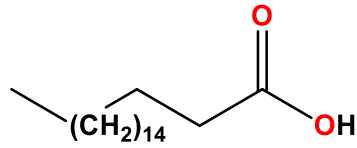


Figura 23. Espectro de masa del ácido hexadecanoico (**1**).



12

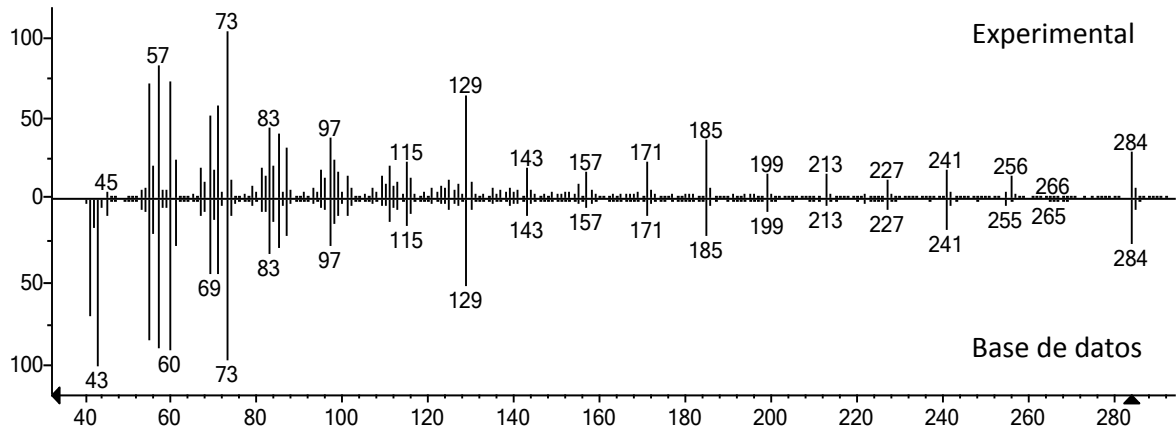
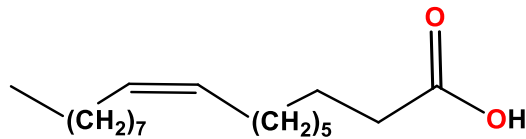


Figura 24. Espectro de masa del ácido octadecanoico (12).



13

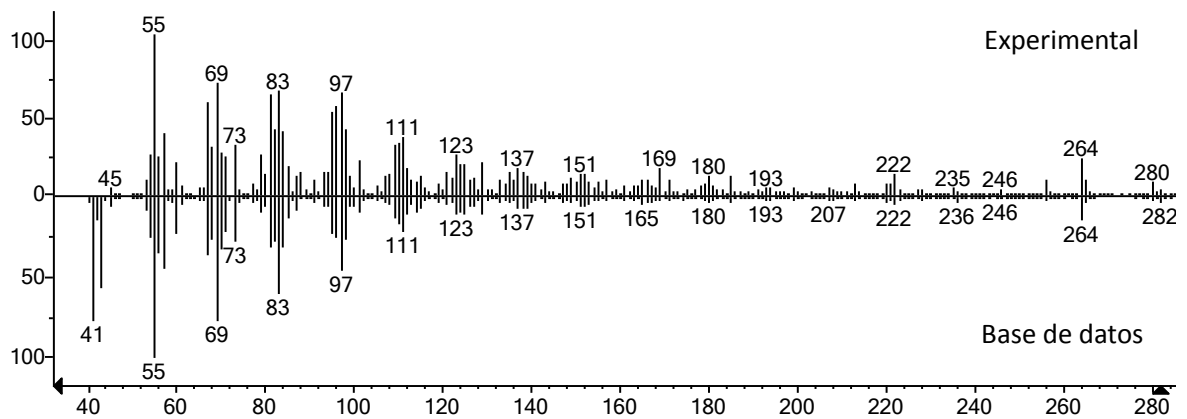


Figura 25. Espectro de masa del ácido-9-octadecenoico (13).

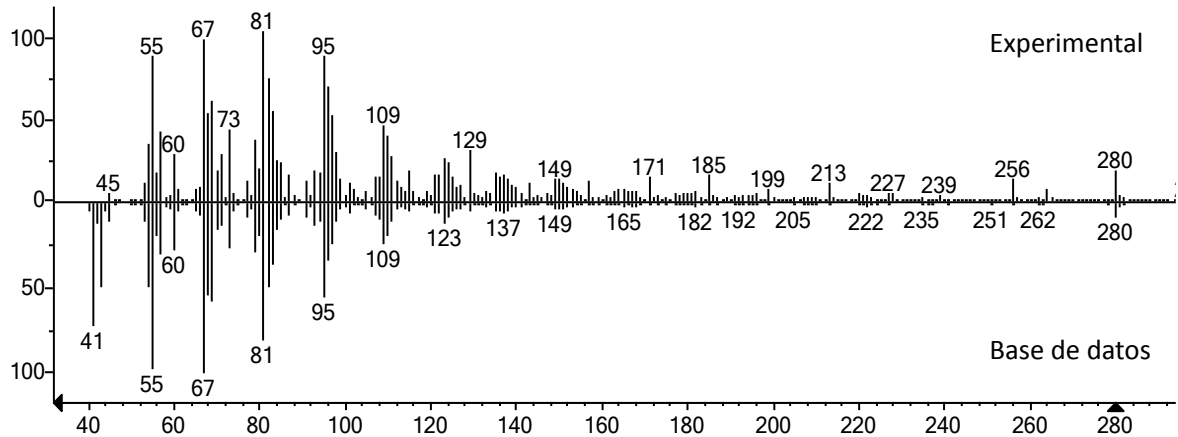
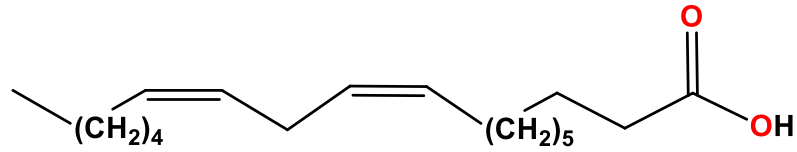


Figura 26. Espectro de masa del ácido 9,12-octadecadienoico (**2**).

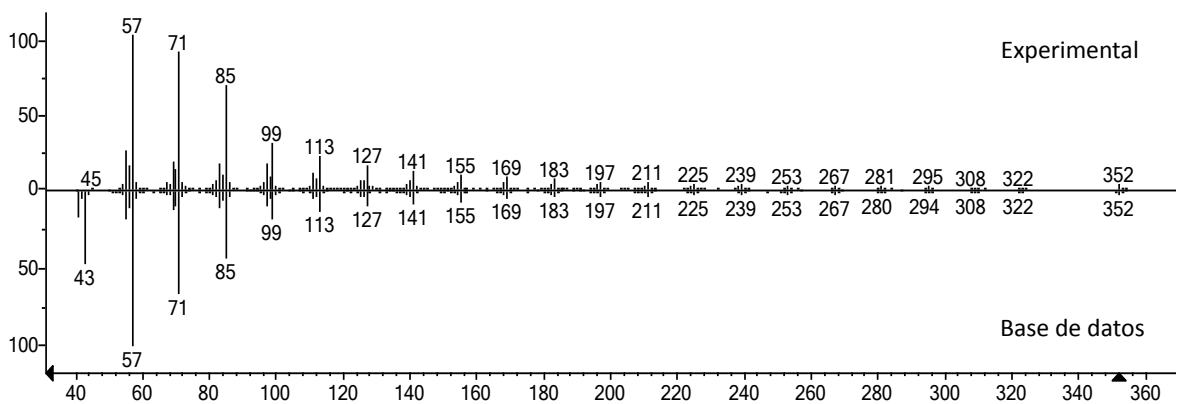
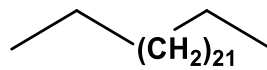


Figura 27. Espectro de masa del pentacosano (**14**).

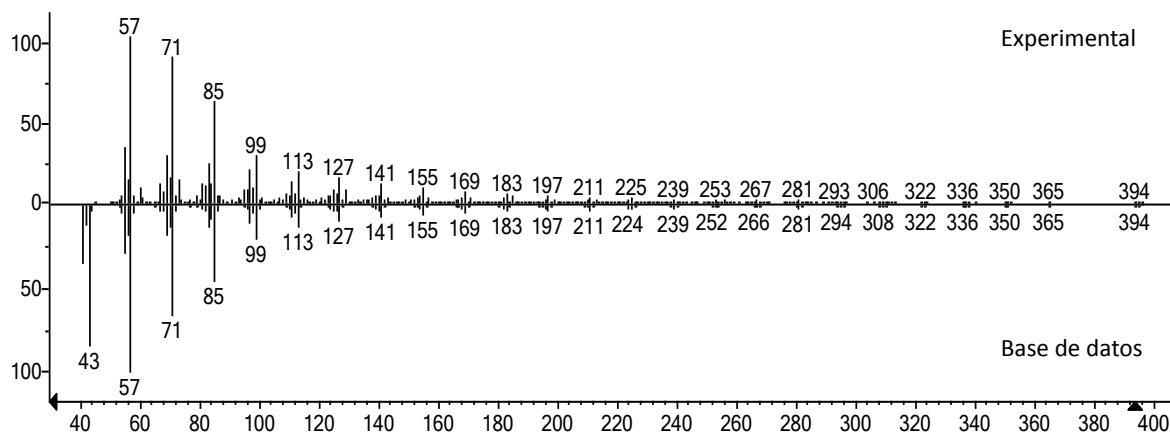
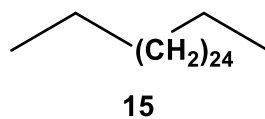


Figura 28. Espectro de masa del octacosano (**15**).

5.2. Análisis de los extractos de tallo

Se inició la búsqueda de metabolitos secundarios en el extracto CH_2Cl_2 de tallo del cual se obtuvo el 0.28 % de rendimiento, el análisis por RMN de ^1H (Figura 29) en CDCl_3 mostró señales en las regiones de los protones vinílicos, base de alcohol y protones alifáticos.

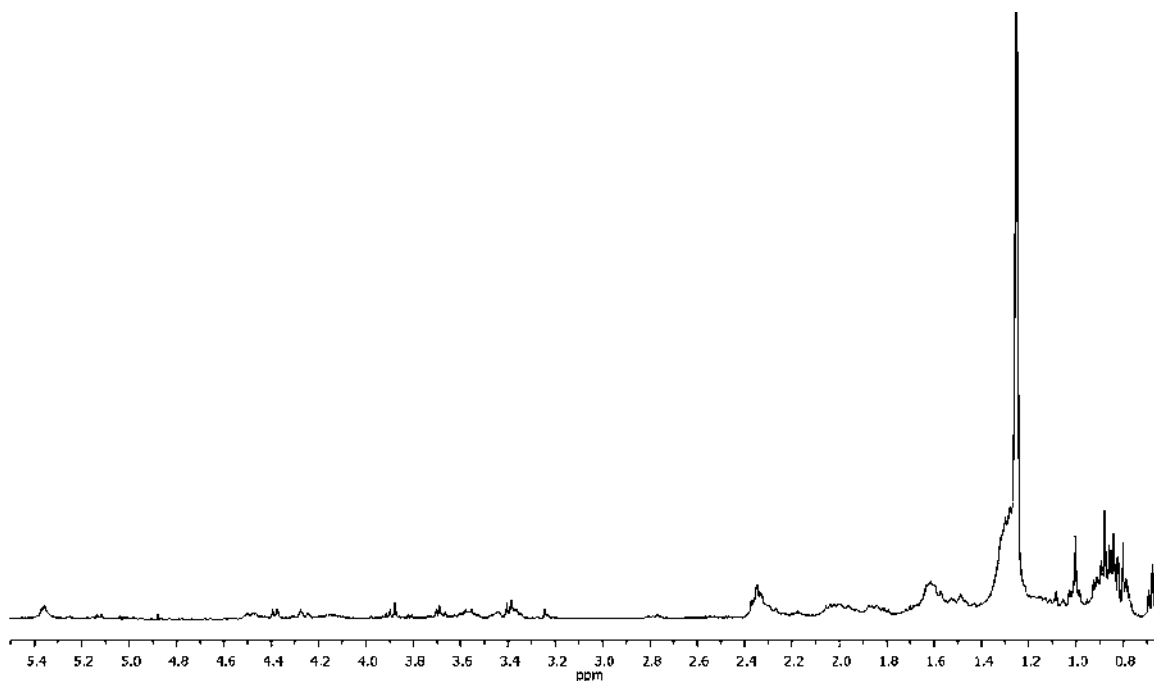


Figura 29. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 a 400 MHz del extracto de CH_2Cl_2 de tallo.

Un lote de 2 g del extracto CH₂Cl₂ de tallo fue sometido a purificación mediante cromatografía en columna abierta usando como disolventes mezclas de hex-AcOEt en orden ascendente de polaridad. De las fracciones eluidas con una polaridad 9:1 hex:AcOEt, se obtuvieron 25 mg de una mezcla de esteroides identificados como β -sitosterol (**4**) y estigmasterol (**16**).

En su espectro de RMN de ¹H (Figura 30) de la mezcla de los compuestos **4** y **16** se observó en 5.36 ppm una señal doble con una *J* = 5.6 Hz para el protón vinílico H-6, en 5.15 ppm una señal doble de doble con una *J* = 15.2 y 8.8 Hz correspondiente H-21, así como en 5.04 ppm una señal doble de dobles con una *J* = 15.2 y 8.8 Hz del H-20; en 3.50 ppm se encontró una señal múltiple correspondiente al metileno base de hidroxilo H-3; a campo alto se identificaron las señales pertenecientes a los metilos 19, 24, 26, 27, 28 y 29. Como la única diferencia entre los compuesto **4** y **16** es el doble enlace en C-20=C-21 de **16**, se realizó la comparación de las integrales del H-6 respecto al H-20 la cual nos dio una proporción 3:1, lo que nos indica una mayor cantidad de β -sitosterol (**4**). La asignación de estos compuestos se llevó a cabo con la ayuda de los datos espectroscópicos descritos en la literatura.^{30,31}

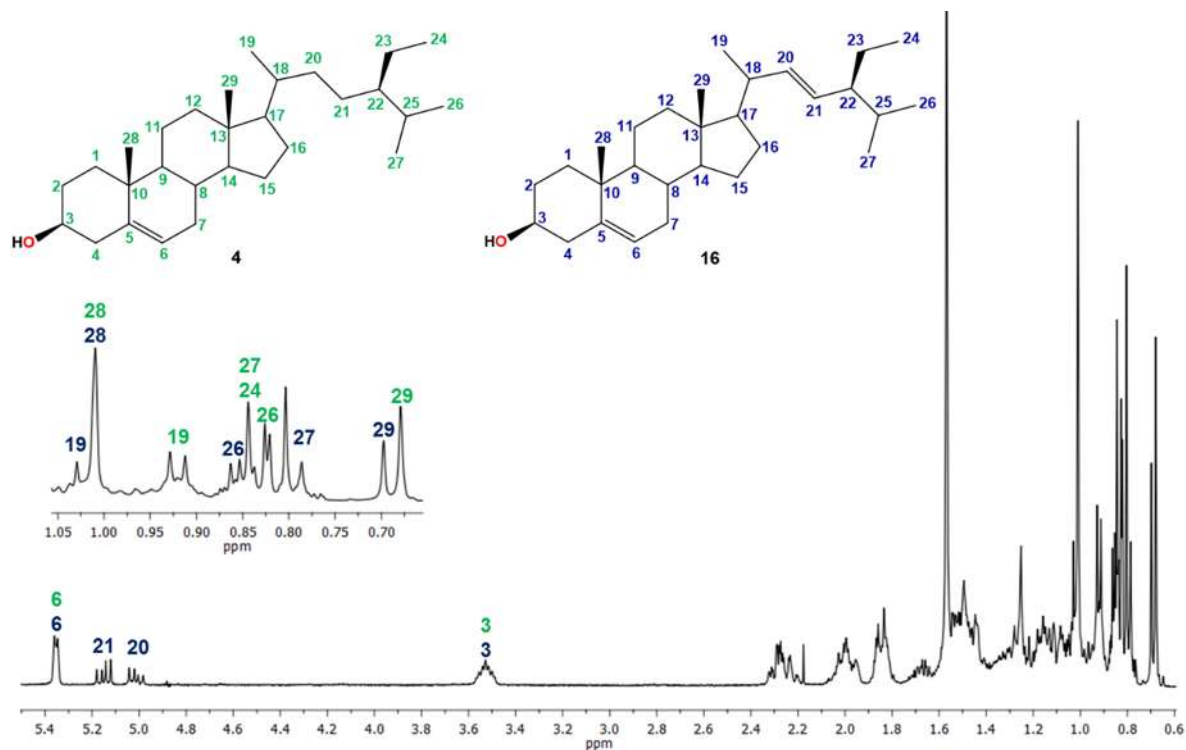


Figura 30. Espectro de RMN de ¹H en CDCl₃ a 400 MHz de la mezcla de β -sitosterol (**4**) y estigmasterol (**16**).

En la polaridad 8:2 hex:AcOEt se obtuvieron 13 mg de un sólido blanco. En su espectro de RMN de ^1H (Figura 31) se identificó una señal doble en 4.69 ppm con una $J = 2.3$ Hz correspondiente al H-29a, en 4.56 ppm una señal doble de dobles con una $J = 2.3$ y 1.3 Hz que corresponde al H-29b; en 3.19 ppm se encontró una señal doble de dobles ($J = 11.2, 5.2$ Hz) asignada al metino base de hidroxilo H-3. En 2.38 ppm una señal triple de dobles con una $J = 11.0$ y 5.8 Hz perteneciente al H-19, en campo alto se mostraron las señales de los metilos 23, 24, 25, 26, 27, 28 y 30. Los datos correlacionaron con el triterpeno conocido como lupeol (**6**) en base al desplazamiento químico y las constantes de acoplamiento para H-3.^{32,33}

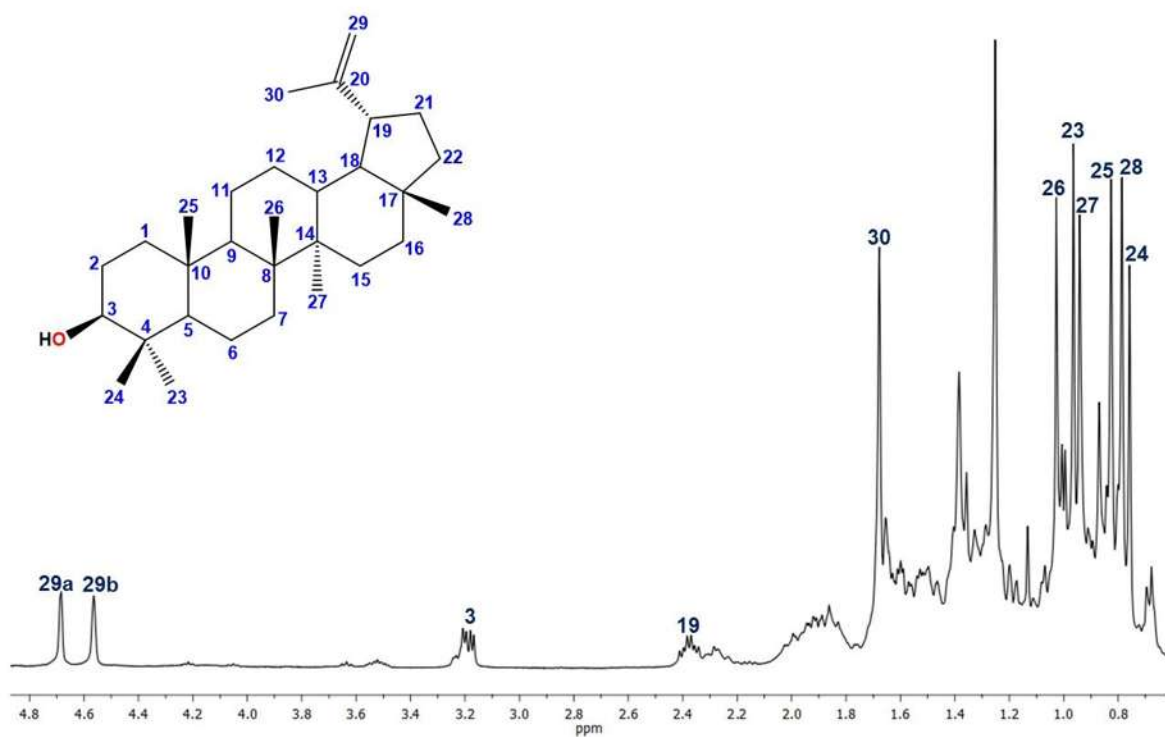


Figura 31. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 a 400 MHz del lupeol (**6**).

En la polaridad 7:3 hex:AcOEt, se obtuvieron 15 mg de un sólido blanco, su espectro de RMN de ^1H (Figura 32) mostró en 5.27 ppm una señal simple correspondiente al H-12, en 3.23 ppm una señal doble de dobles con una $J = 10.0$ y 2.4 Hz asignada para el H-3 base de hidroxilo; en 2.83 ppm se observó una señal doble de dobles con $J = 12.4$ y 3.2 Hz para el H-18. Entre 0.75 ppm y 1.13 ppm se identificaron las señales de los metilos 23, 24, 25, 26, 27, 29 y 30. La asignación inequívoca se realizó por comparación de los datos de la literatura^{34,35} para el ácido oleanólico (17).

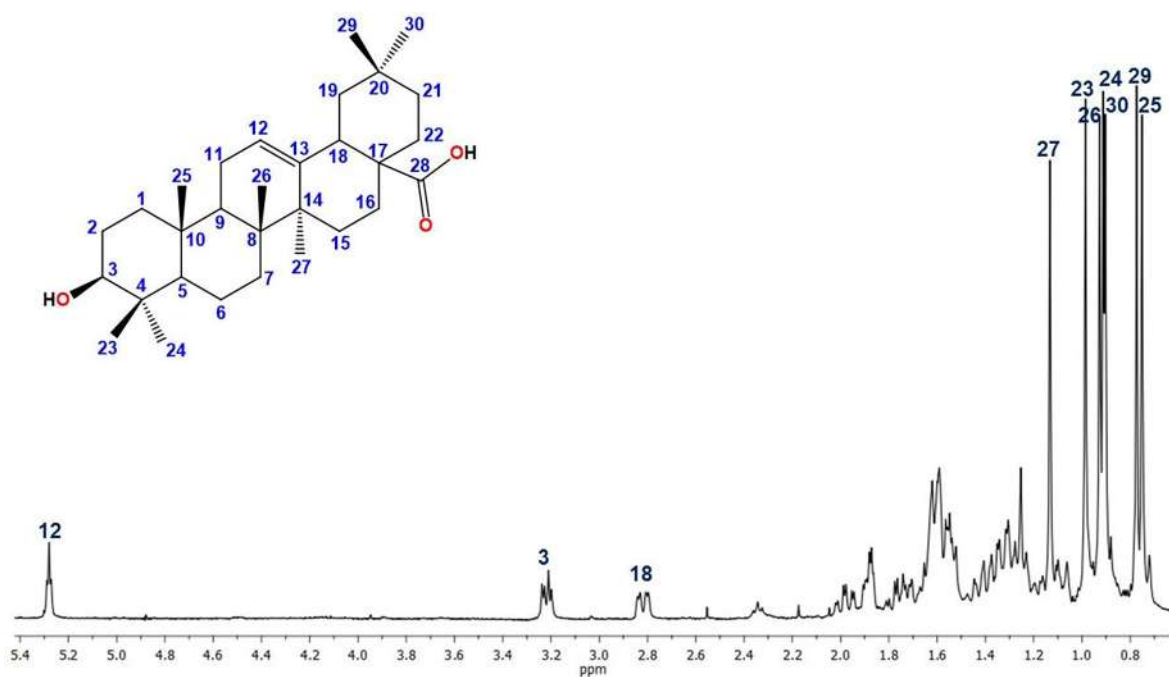


Figura 32. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 a 400 MHz del ácido oleanólico (17).

En esta misma polaridad se obtuvieron 4 mg de un sólido blanco cuyo espectro de RMN de ^1H (Figura 33) mostró en 5.25 ppm una señal simple correspondiente al H-12, en 3.21 ppm una señal doble de dobles con una $J = 10.8$ y 4.8 Hz asignada para el H-3 base de hidroxilo; en 2.34 ppm se observó una señal doble $J = 12.4$ para el H-18. Entre 0.78 ppm y 1.09 ppm se encontraron las señales de los metilos 23, 24, 25, 26, 27, 29 y 30. Los datos de RMN correlacionaron con los del ácido ursólico (**18**).^{34,36,37}

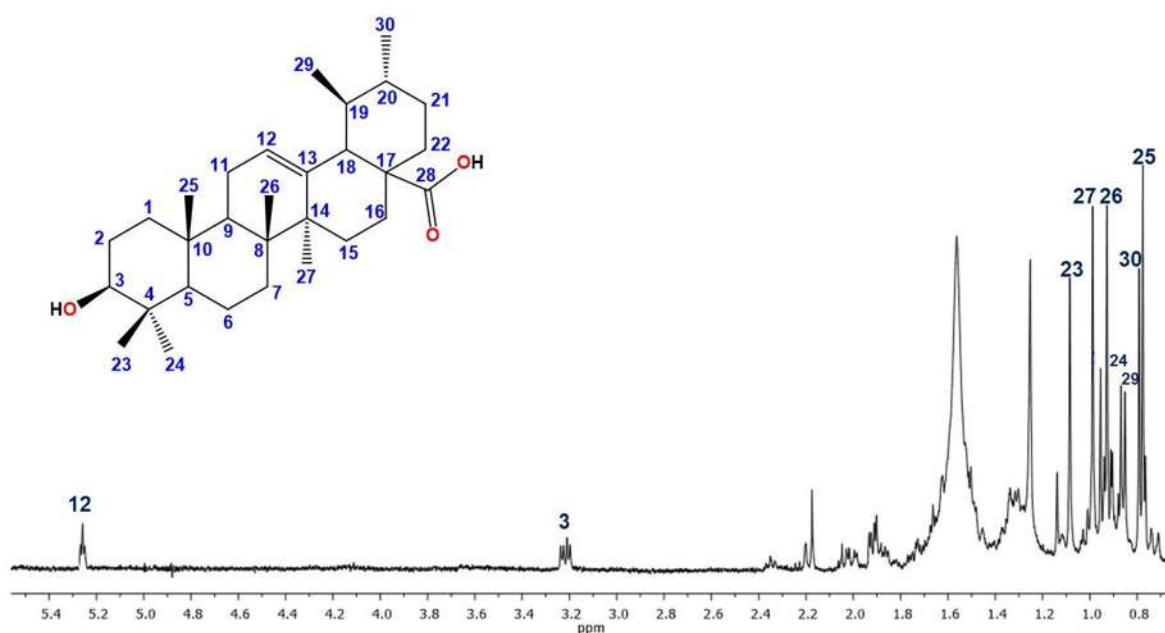


Figura 33. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 a 400 MHz del ácido ursólico (**18**).

Se continuó el análisis del extracto de AcOEt de tallo obteniendo un rendimiento de 0.40 %. Su espectro de RMN de ^1H (Figura 34) en DMSO-d_6 mostró señales en la región de los aromáticos, en la región base de heteroátomos, así como también algunas señales hacia campo alto.

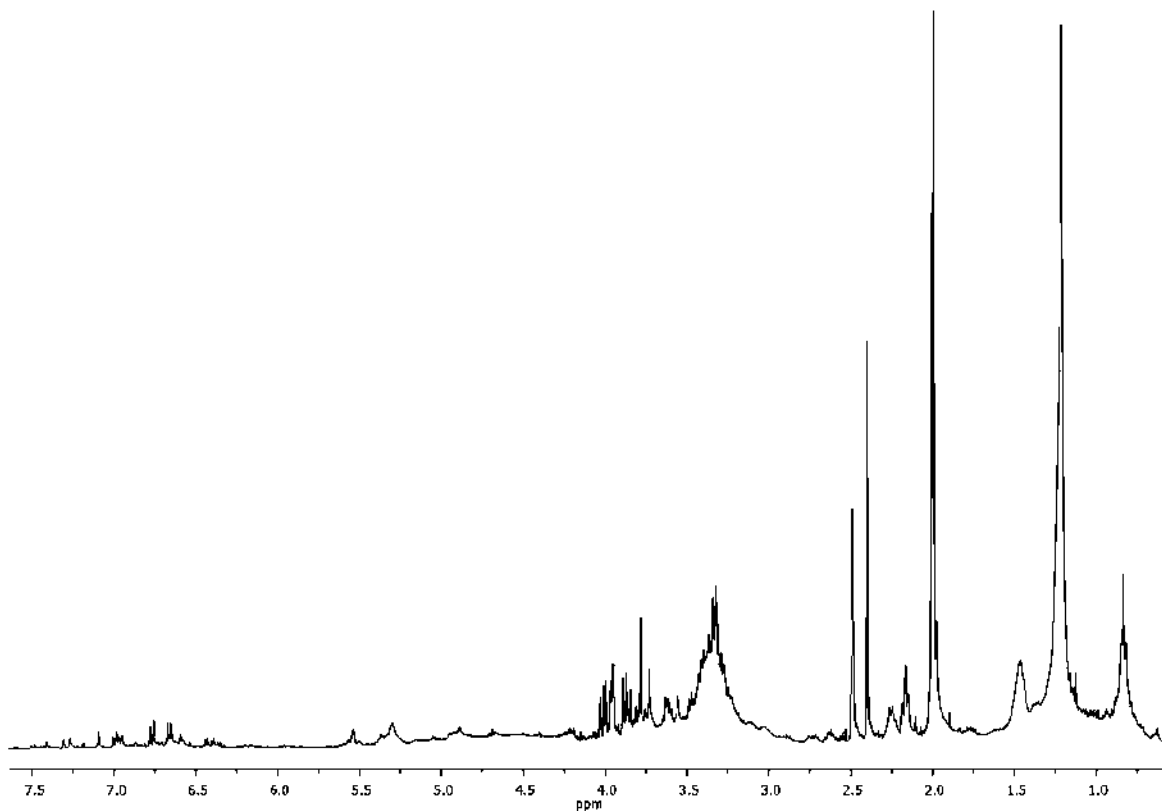
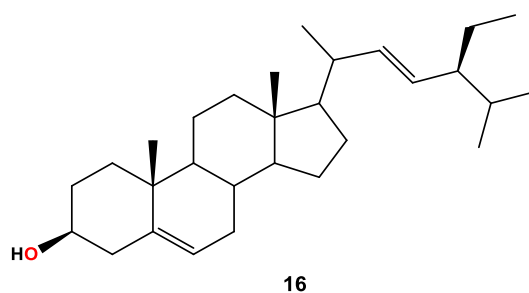
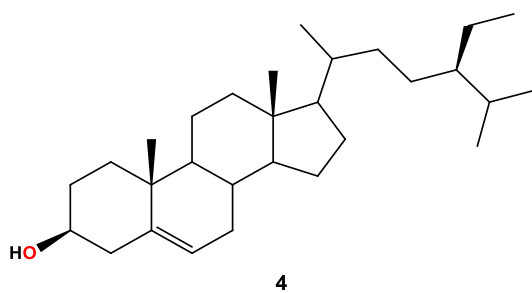
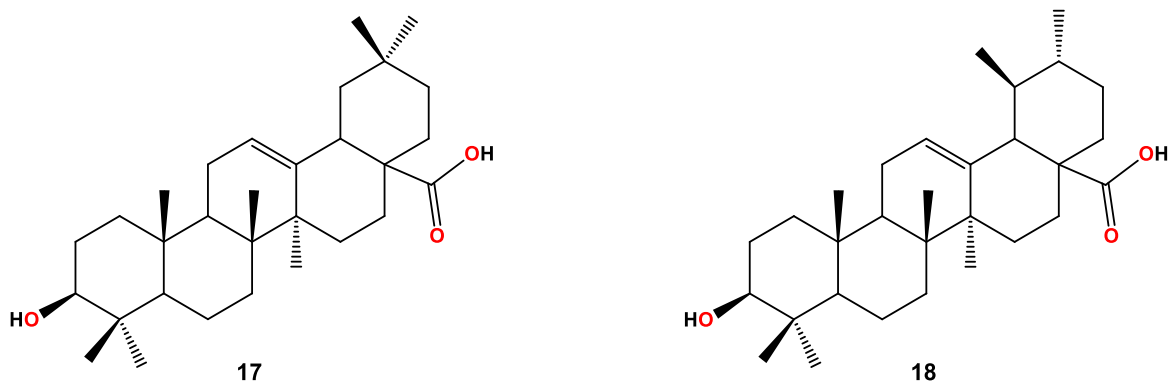


Figura 34. Espectro de RMN de ^1H en DMSO-d_6 a 400 MHz del extracto de AcOEt de tallo.

Un lote de 2 g del extracto de AcOEt de tallo se sometió a cromatografía en columna, en la que se utilizó mezclas de hex:AcOEt en orden creciente de polaridad obteniendo fracciones enriquecidas las cuales fueron recromatografiadas. En la polaridad 9:1 hex:AcOEt se aislaron 7 mg de mezcla de β -sitosterol (**4**) y estigmasterol (**16**).



En la polaridad 7:3 hex:AcOEt se purificaron dos compuestos como sólidos blancos identificados como ácido oleanólico (**17**) y ácido ursólico (**18**) obtenidos 3 y 2 mg, respectivamente.



A partir de la polaridad 3:7 hex:AcOEt se aislaron 10 mg de una cera blanca que sólo fue soluble en DMSO y piridina; al observar su espectro de RMN de ^1H (Figura 35) en DMSO- d_6 se identificó en 5.33 ppm una señal doble con un $J = 4.8$ Hz para el protón vinílico H-6, en 5.18 ppm una señal doble de doble con una $J = 15.2$ y 8.4 Hz correspondiente H-21, así como en 5.05 ppm una señal doble de dobles con una $J = 15.2$ y 8.4 Hz del H-20; en la región base de hidroxilo se observaron varias señales las cuales fueron asignadas para la D-glucosa, en 4.22 ppm se encontró una señal doble con una $J = 7.6$ Hz correspondiente para el H-1'; en 3.66 ppm se mostró una señal doble de dobles con una $J = 12.0$ y 4.4 Hz, en 3.50 ppm una señal múltiple ambas señales corresponden al H-6'; en 3.08 ppm se encontraron señales múltiples traslapadas asignadas para los H-3', H-4' y H-5'; en 2.89 ppm se mostró una señal múltiple asignada para el H-2'; hacia campo alto se observaron las señales pertenecientes a los metilos 19, 24, 26, 27, 28 y 29. Cabe mencionar que todas las asignaciones se compararon con las de la literatura³⁸ correlacionando para la mezcla de β -sitosterol-5-en-3-O- β -D-glucopiranosido (**19**) y estigmasta-5,22-dien-3-O- β -D-glucopiranosido (**20**), en una proporción 4:1.

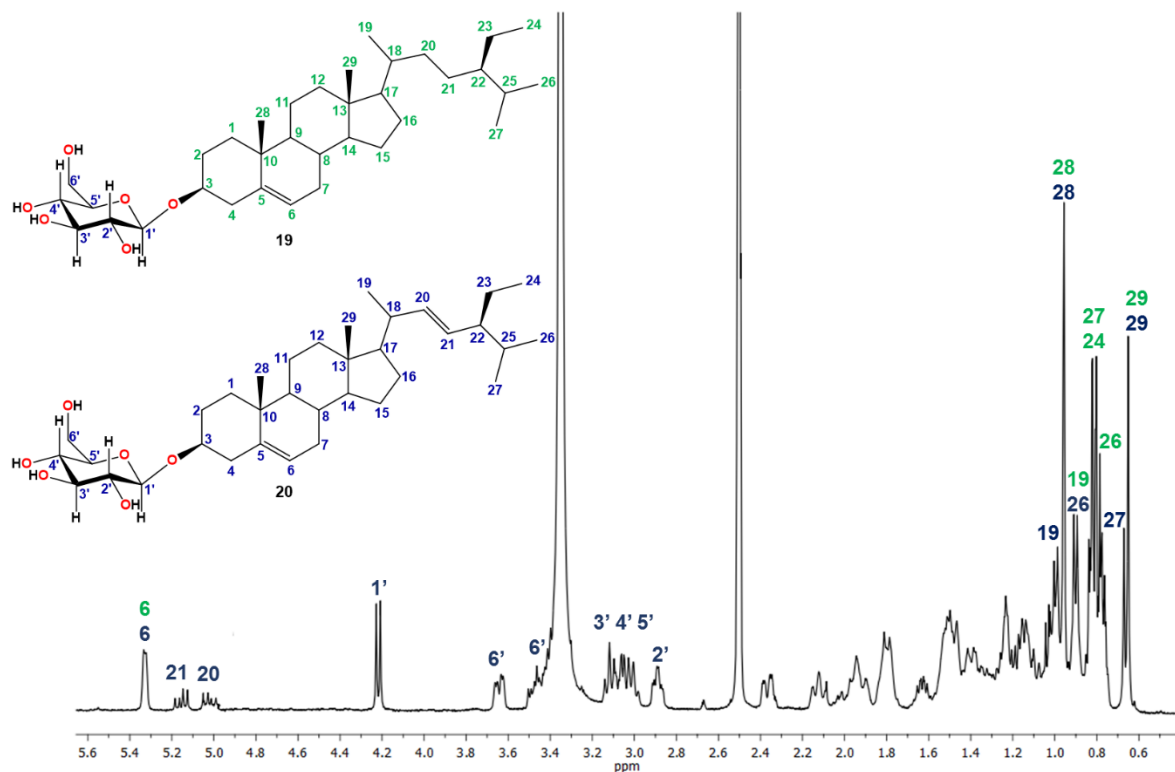


Figura 35. Espectro de RMN de ^1H en DMSO-d_6 a 400 MHz del β -sitosterol-5-en-3- O - β -D-glucopiranosido (**19**) y estigmastera-5,22-dien-3- O - β -D-glucopiranosido (**20**).

El espectro de RMN de ^1H en piridina deuterada (Figura 36) de la mezcla, mostró en 5.44 ppm una señal doble con una $J = 4.8$ Hz para el protón vinílico H-6, en 5.26 ppm una señal doble de doble con una $J = 15.6$ y 8.5 Hz correspondiente H-21; en la región base de hidroxilo se observaron varias señales en 4.66 ppm una señal doble de dobles con una $J = 11.7$ y 2.4 Hz, y una en 4.51 ppm una señal doble de dobles con una $J = 11.7$ y 5. Hz, ambas señales corresponden al H-6'; en 4.39 ppm una señal triple con una $J = 8.7$ para los H-3' y H-4'; en 4.16 ppm una señal triple con una $J = 8.7$ Hz para el H-2'; en 4.08 ppm una señal múltiple correspondiente para el H-5', en este mismo desplazamiento se mostró traslapada la señal del H-3 base de éster; hacia campo alto se pudieron observar las señales pertenecientes a los metilos 19, 24, 26, 27, 28 y 29; todas las asignaciones se compararon con las de la literatura.³⁹

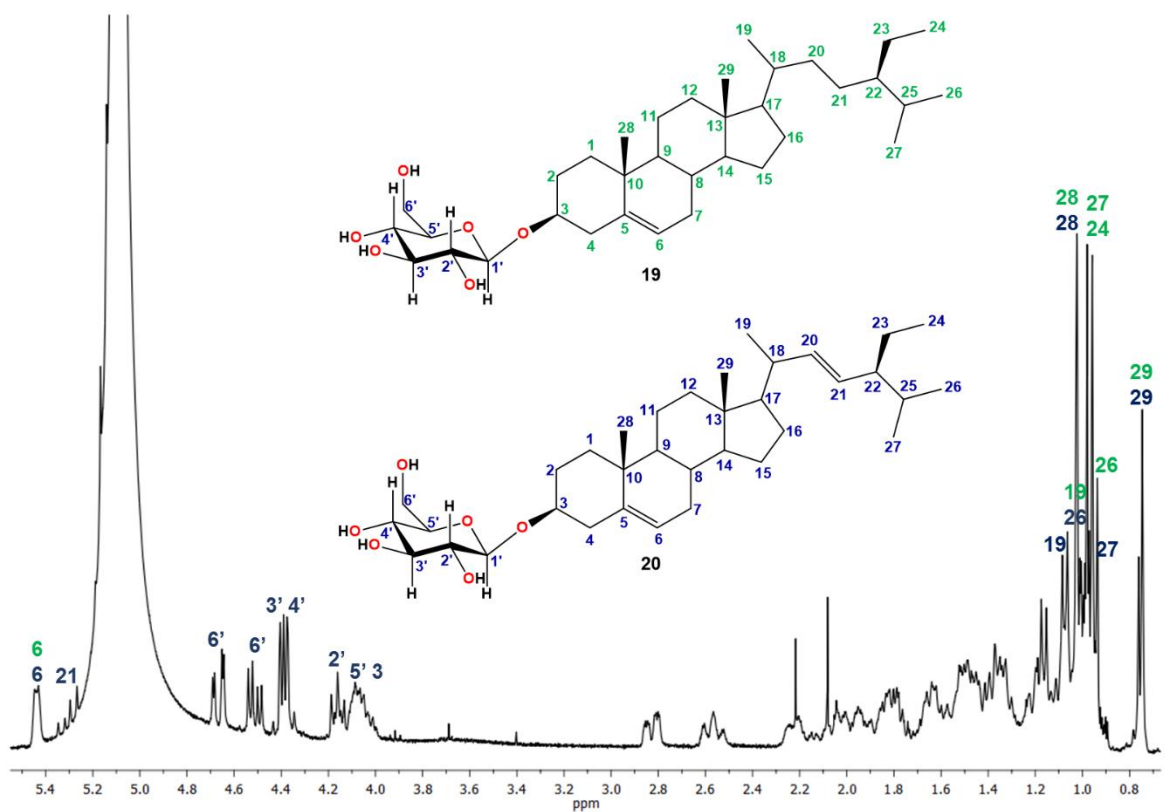


Figura 36. Espectro de RMN de ^1H en Pyr- d_5 a 300 MHz del β -sitosterol-5-en-3-O- β -D-glucopiranosido (**19**) y estigmasterol-5,22-dien-3-O- β -D-glucopiranosido (**20**).

Finalmente del tallo se analizó el extracto de MeOH obteniendo un rendimiento del 8.22 %. Una alícuota se utilizó para adquirir su espectro ^1H (Figura 37) en DMSO- d_6 , el cual mostró señales en la región de los aromáticos, en la región base de hidroxilo y también señales en la región de los protones alifáticos.

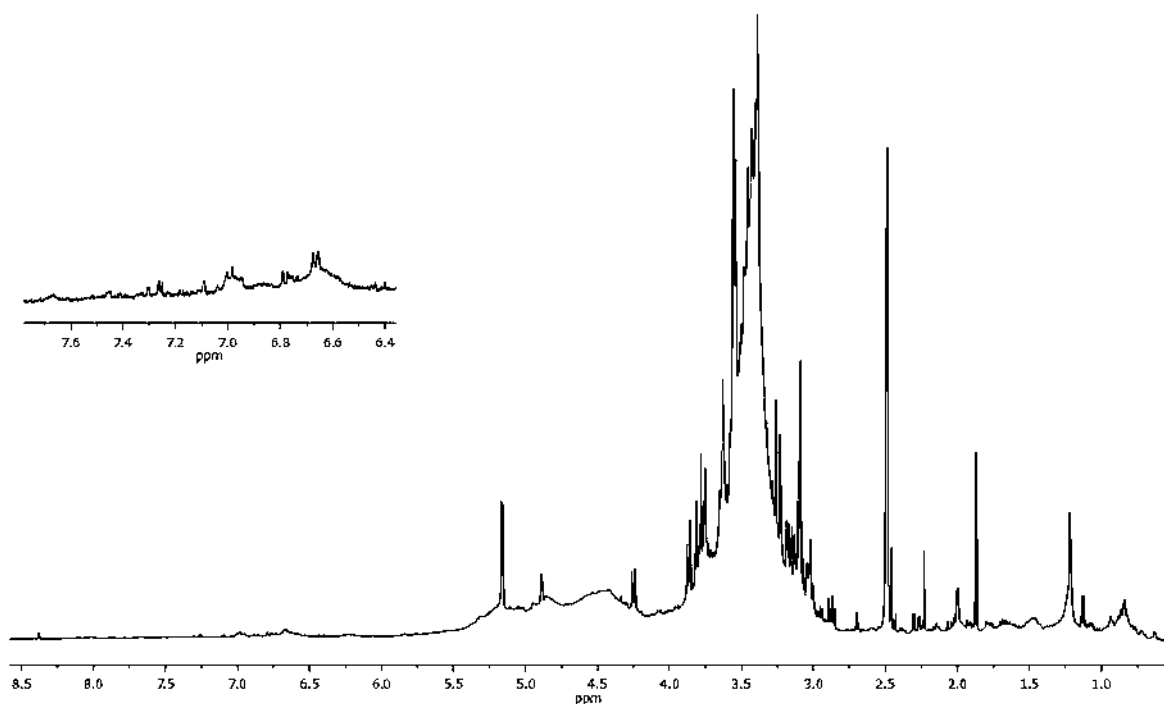
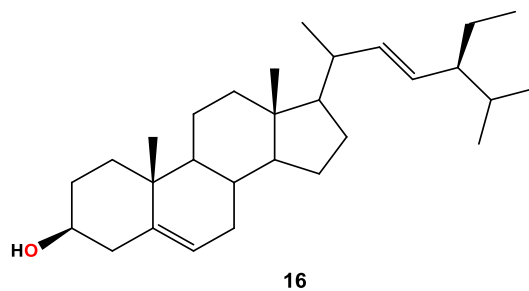
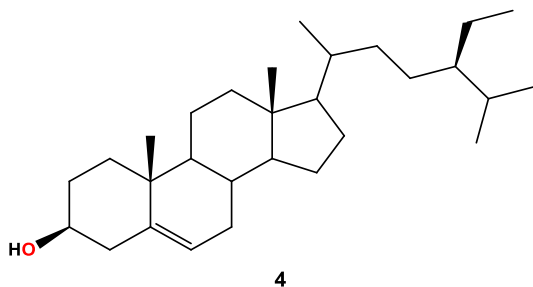
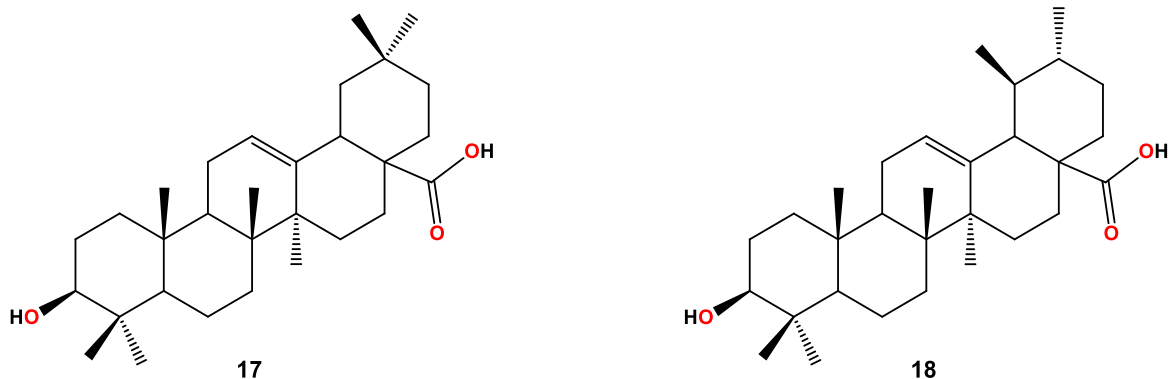


Figura 37. Espectro de RMN de ^1H en DMSO-d_6 a 400 MHz del extracto MeOH de tallo.

Un lote de 6.9 g del extracto MeOH de tallo fue sometido a separación mediante cromatografía en columna abierta usando como disolventes mezclas de hex-AcOEt AcOEt:MeOH en orden ascendente de polaridad para la obtención de fracciones enriquecidas las cuales posteriormente fueron recromatografiadas. De las fracciones eluidas con una polaridad 8:2 hex:AcOEt, se obtuvieron 4 mg de una mezcla de triterpenos identificados como β -sitosterol (**4**) y estigmasterol (**16**).



En la polaridad 7:3 hex:AcOEt se aislaron e identificaron el ácido oleanólico (**17**) y ácido ursólico (**18**), obteniendo 3 y 1 mg respectivamente, como sólidos blancos.



En la polaridad 3:7 hex:AcOEt se aislaron 2 mg de un compuesto blanco ceroso, en su espectro de RMN de ^1H (Figura 38) en CD_3OD se observaron señales hacia campo bajo en 7.45 ppm una señal doble con una $J = 15.8$ Hz asignada para el H-7, en 7.11 ppm una señal doble con una $J = 2.1$ Hz para el H-2, en 7.06 ppm una señal doble con una $J = 8.5$ Hz para los protones H-2' y H-6'; en 7.04 ppm se encontró una señal doble de dobles con $J = 8.2$ y 2.1 Hz asignada para el H-6, en 6.80 ppm una señal doble con una $J = 7.9$ Hz para el H-5, en 6.72 ppm se encuentra una señal doble con una $J = 8.5$ Hz para los H-3' y H-5'; en 6.42 ppm se observó una señal doble con una $J = 15.8$ Hz para el protón H-8; en 3.87 ppm se mostró una señal simple que integra para tres protones correspondiente al OMe, en 3.48 ppm una señal triple con una $J = 7.0$ Hz para el H-1'' y en 2.77 ppm una señal triple con una $J = 7.2$ Hz para el H-2''; estos desplazamientos fueron confirmados con la literatura^{40,41} para la estructura 4'-hidroxi fenetil *trans*-ferulato (**21**).

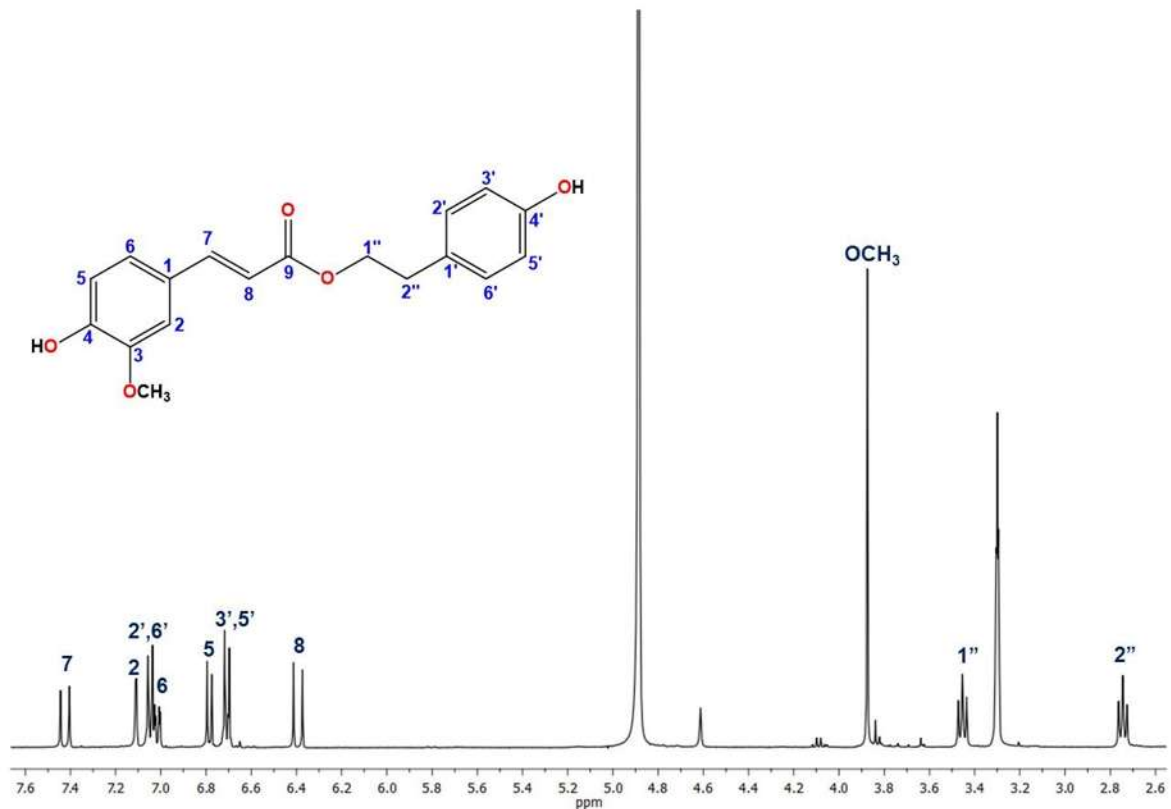
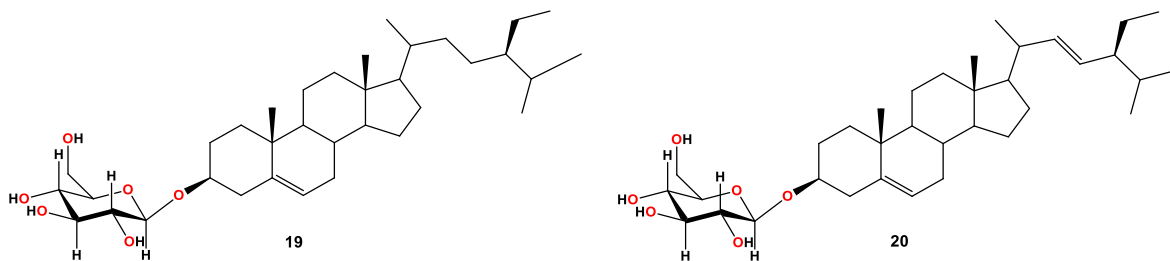


Figura 38. Espectro de RMN de ^1H en CD_3OD a 300 MHz del 4'-hidroxi fenetil *trans*-ferulato (**21**).

A partir de la polaridad 1:9 hex:AcOEt se obtuvieron 7 mg de la mezcla de β -sitosterol-5-en-3-*O*- β -D-glucopiranosido (**19**) y estigmasta-5,22-dien-3-*O*- β -D-glucopiranosido (**20**) en una proporción 3:1.



5.3. Análisis de los extractos de flores

Del extracto de CH_2Cl_2 de flores se obtuvo el 2.47 % de rendimiento, se llevó una alícuota a RMN de ^1H (Figura 39) en CDCl_3 , en el espectro se observaron señales en la región base de hidroxilo, señales en la región de los vinílicos y en la región de los alifáticos.

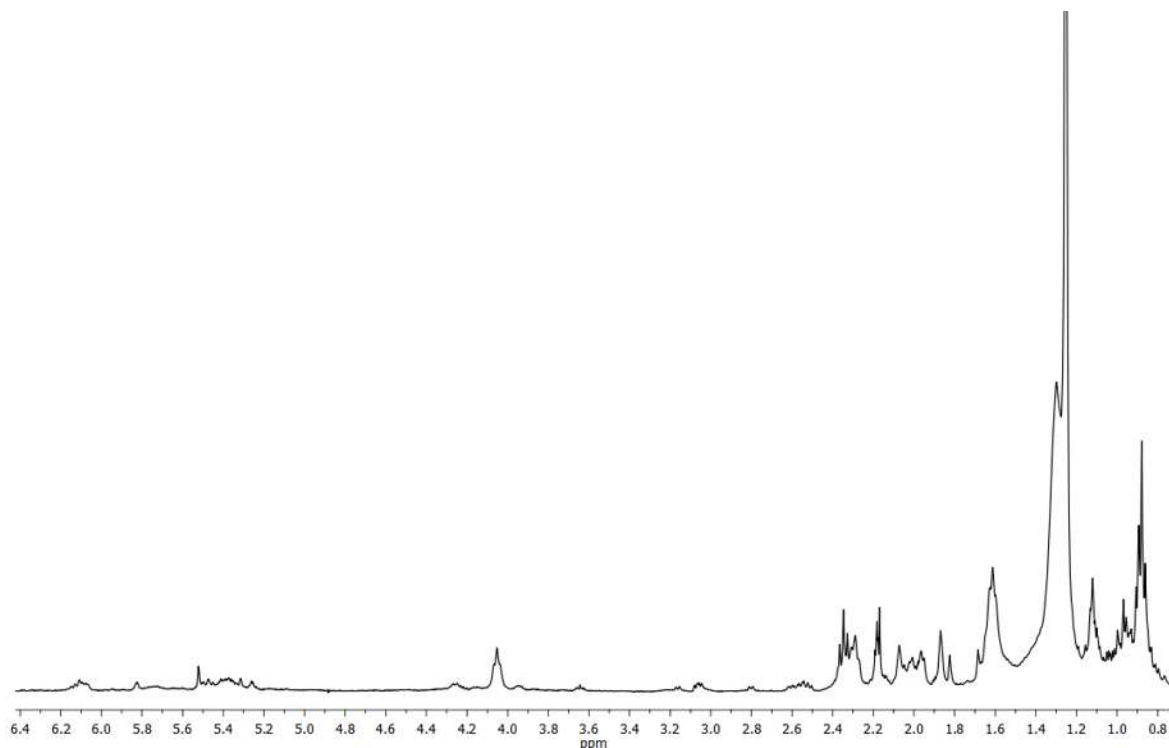


Figura 39. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 a 400 MHz del extracto de CH_2Cl_2 de flores.

Se inició la búsqueda de metabolitos secundarios con 2 g del extracto de CH_2Cl_2 flores en cromatografía en columna utilizando mezclas de disolventes hex:AcOEt en orden ascendente de polaridad; en la polaridad 9:1 hex:AcOEt se identificó mezcla de β -sitosterol (**4**) y estigmasterol (**16**), de ambos obtuvieron 9 mg.

En la polaridad 7:3 se obtuvo 15 mg y 2 mg de los triterpenos ácido oleanólico (**17**) y al ácido ursólico (**18**).

Del extracto de AcOEt de flores se obtuvo 1.01 % de rendimiento. El análisis de una alícuota por RMN de ^1H (Figura 40) en DMSO-d_6 mostró señales en la región de protones alifáticos, base de hidroxilo y vinílicos.

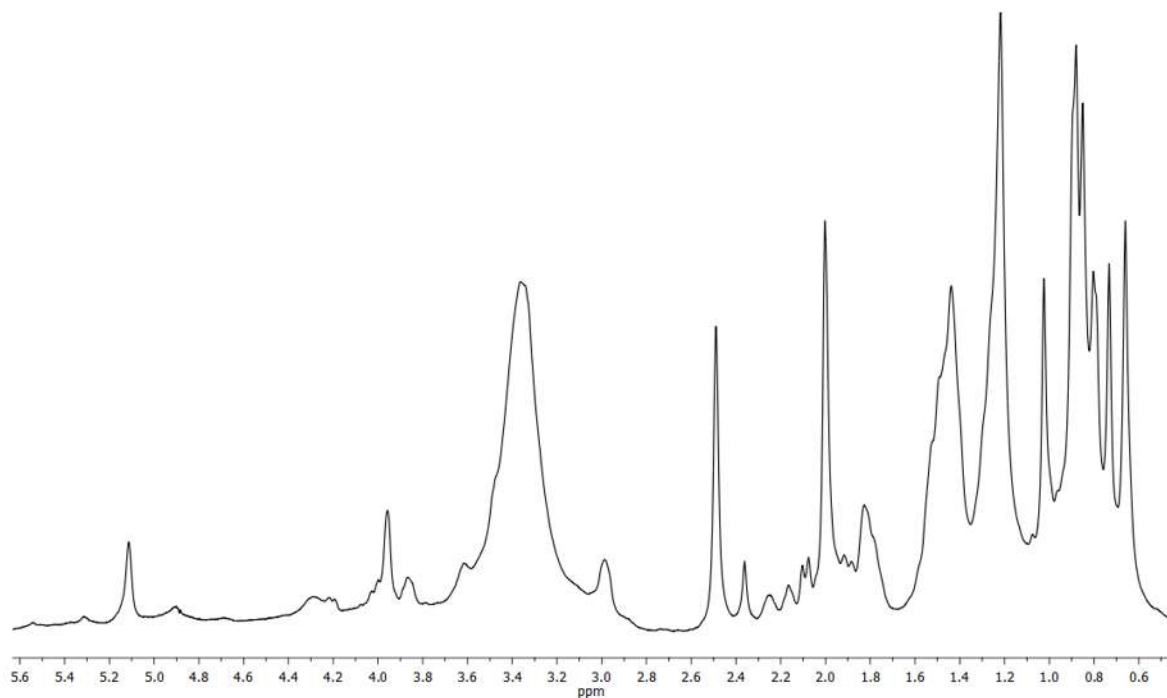


Figura 40. Espectro de RMN de ^1H en DMSO-d_6 a 400 MHz del extracto de AcOEt de flores.

Para la purificación de 1.2 g del extracto de AcOEt de flores se obtuvieron primero fracciones enriquecidas y posteriormente fueron recromatografiadas. Se aisló e identificó en la polaridad 9:1 hex:AcOEt la mezcla de β -sitosterol (**4**) y estigmasterol (**16**), de ambos se logró obtener 4 mg.

En la polaridad 7:3 Hex:AcOEt se identificaron a los triterpenos ácido oleanólico (**17**) y al ácido ursólico (**18**), obteniendo 5 mg y 1 mg, respectivamente.

A partir de la polaridad 4:6 hex:AcOEt se obtuvieron 10 mg de la mezcla de β -sitosterol-5-en-3-*O*- β -D-glucopiranosido (**19**) y estigmasta-5,22-dien-3-*O*- β -D-glucopiranosido (**20**) en una proporción 3:1.

De esta parte aérea de la planta también se analizó el extracto MeOH, obteniéndose en un rendimiento del 15.78 %. Una alícuota se utilizó para adquirir su espectro ^1H (Figura 41) en DMSO-d_6 , el cual mostró señales en la región de los aromáticos, base de hidroxilo, así como también señales hacia campos altos.

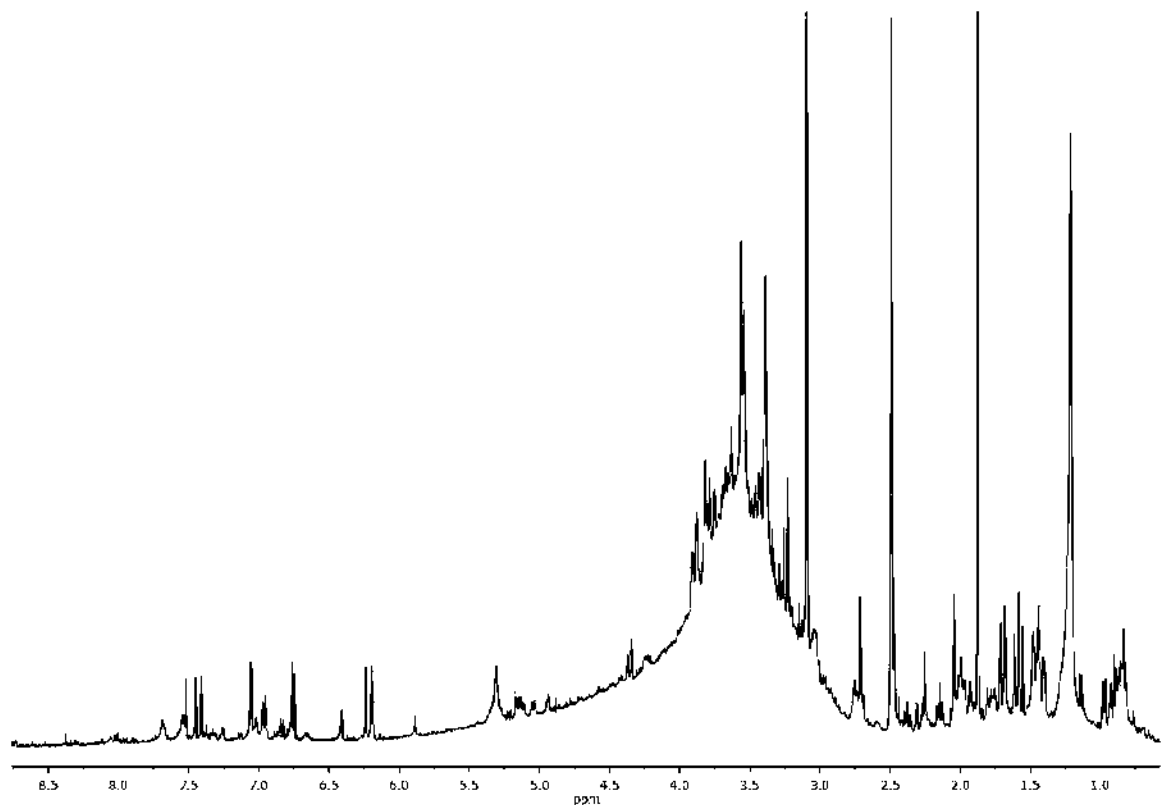


Figura 41. Espectro de RMN de ^1H en DMSO-d_6 a 400 MHz del extracto MeOH de flores.

Un lote de 9 g del extracto de MeOH de raíz se sometió a separación mediante cromatografía en columna abierta usando como disolventes mezclas de hex:AcOEt y AcOEt:MeOH en orden ascendente de polaridad obteniendo fracciones gruesas, las cuales fueron sometidas a recromatografía. De las fracciones eluidas con la polaridad 8:2 hex:AcOEt, se obtuvo 1.4 mg la mezcla de triterpenos β -sitosterol (**4**) y estigmasterol (**16**). En la polaridad 7:3 hex:AcOEt se obtuvo dos sólidos blancos 4 y 2 mg identificados como ácido oleanólico (**17**) y ácido ursólico (**18**), respectivamente.

5.4. Análisis del extracto de hojas

Del extracto de CH_2Cl_2 de hojas se obtuvo el 2.07 % de rendimiento, en su espectro RMN de ^1H (Figura 42) en CDCl_3 ; se identificaron señales típicas de las clorofilas, además de que se observaron señales en la región de los protones vinílicos, base de hidroxilo y de protones alifáticos hacia campo alto.

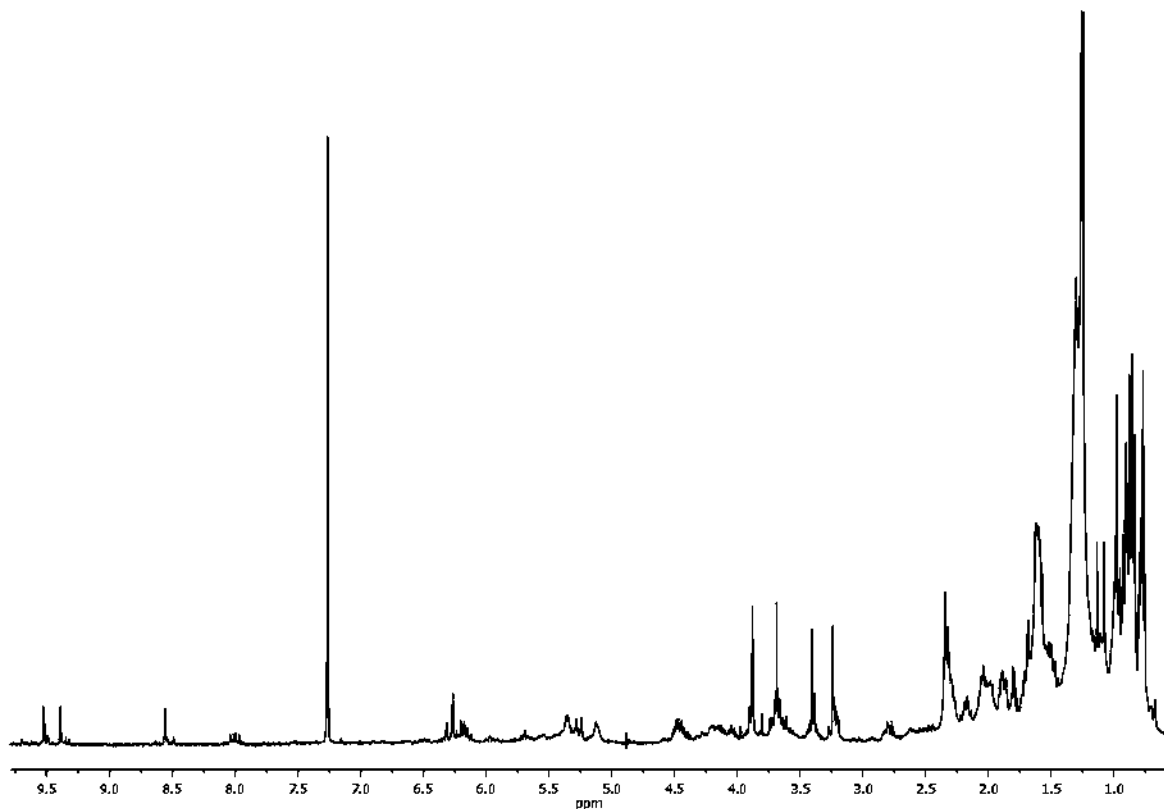


Figura 42. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 a 400 MHz del extracto de CH_2Cl_2 de hojas.

Se inició la búsqueda de metabolitos secundarios con 2.05 g de extracto de hojas por cromatografía en columna y utilizando como eluente mezclas en orden ascendente de polaridad de hex:AcOEt. En la polaridad 9:1 hex:AcOEt se encontró la mezcla de β -sitosterol (**4**) y estigmasterol (**16**), de ambos se logró obtener 9 mg. En la polaridad 8:2 hex:AcOEt se logró identificar 4 mg del triterpeno pentacíclico conocido como lupeol (**6**).

En la polaridad 7:3 hex:AcOEt se lograron identificar a los triterpenos ácido oleanólico (**17**) y al ácido ursólico (**18**), obteniendo 6 mg y 2 mg, respectivamente.

5.5. Análisis del extracto de raíz

Para concluir el estudio fitoquímico de la raíz se realizó la búsqueda de metabolitos secundarios en el extracto de MeOH el cual se obtuvo un 3.93 % de rendimiento. El análisis por RMN de ^1H (Figura 43) en DMSO-d_6 mostró señales en la región de los aromáticos, en la región de los hidrógenos base de heteroátomo y señales en la región de protones alifáticos.

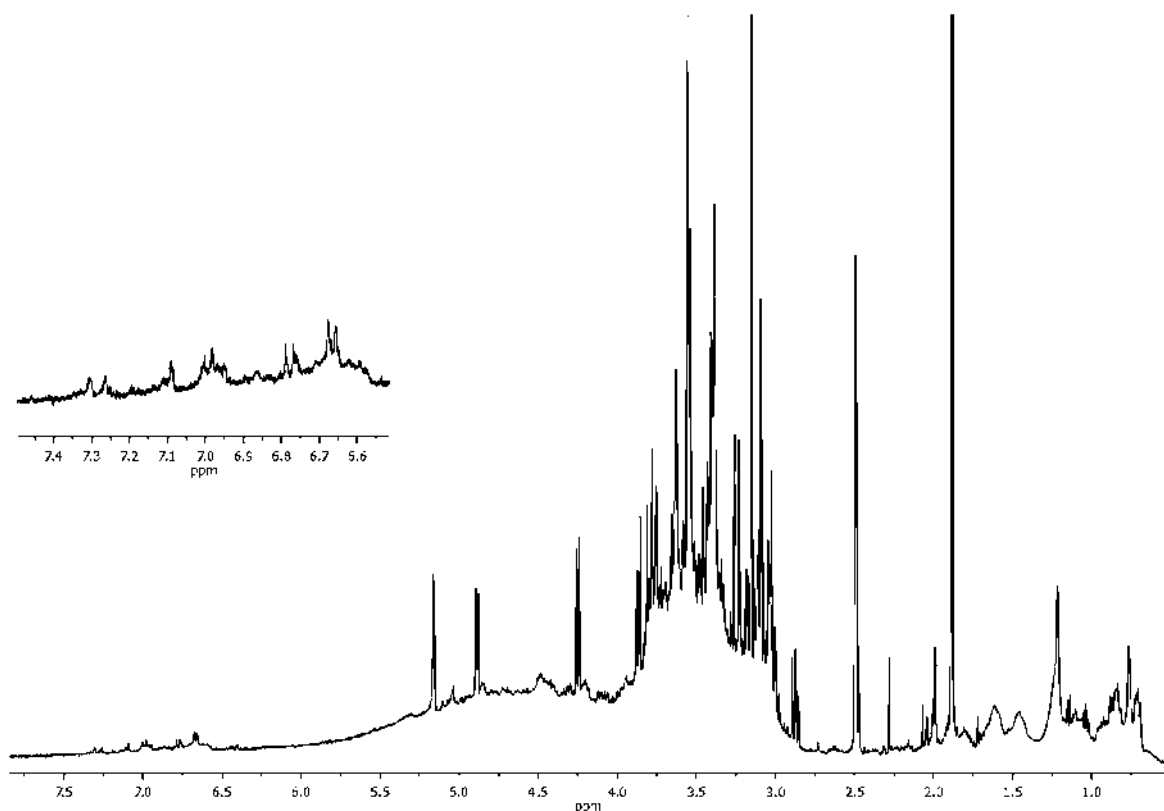


Figura 43. Espectro de RMN de ^1H en DMSO-d_6 a 400 MHz del extracto MeOH de raíz.

Un lote de 11 g del extracto de MeOH de raíz se sometió a separación mediante cromatografía en columna abierta usando como disolventes mezclas de hex:AcOEt y AcOEt:MeOH en orden ascendente de polaridad obteniendo fracciones gruesas las cuales fueron recromatografiadas. De las fracciones eluidas con la polaridad 8:2 hex:AcOEt, se obtuvieron 5 mg de una mezcla de triterpenos β -sitosterol (**4**) y estigmasterol (**16**).

En la polaridad 7:3 hex:AcOEt se obtuvieron 5 y 3 mg de dos sólidos blancos identificados como ácido oleanólico (**17**) y ácido ursólico (**18**), respectivamente.

En la polaridad 2:8 hex:AcOEt se aislaron 30.1 mg de un compuesto blanco ceroso cuyo espectro de RMN de ^1H mostró patrones típicos de un resto fenetilo *p*-sustituido y un resto feruloilo con un doble enlace *trans* para el compuesto 4'-hidroxi fenetil *trans*-ferulato (**21**).

En esta misma polaridad se aisló 1.8 mg de un compuesto blanco ceroso, con un patrón de señales similares a las del compuesto (**21**). En su espectro de RMN de ^1H (Figura 44) mostró dos señales dobles de un sistema AX: en 7.43 ppm con una $J = 15.8$ Hz para el H-7 y la otra en 6.40 ppm con una $J = 15.8$ Hz para el H-8; en la región de los aromáticos se observaron varias señales, una señal doble en 7.11 ppm con una $J = 2.0$ Hz para el H-2, en 7.03 ppm una señal doble de dobles con $J = 8.2$ y 2.0 Hz para el H-6, en 6.82 ppm una señal doble con una $J = 2.0$ Hz para el H-2', en 6.79 ppm una señal doble con una $J = 8.2$ Hz asignada para el H-5, en 6.71 ppm una señal doble con una $J = 8.2$ Hz para el H-5', en 6.67 ppm una señal doble de dobles con $J = 8.2$ y 2.0 Hz asignada para el H-6'; en 3.88 ppm y 3.83 ppm se observaron dos señales simples correspondientes para los OMe asignados para el H-3 y H-3', respectivamente. En 3.48 ppm se identificó una señal triple con una $J = 7.6$ Hz para el H-1'' y en 2.75 ppm otra señal triple con una $J = 7.6$ Hz para el H-2''. Estos desplazamientos correlacionaron con los descritos en la literatura^{42,43} para el compuesto 4'-hidroxi-3'-metoxi fenetil *trans*-ferulato (**22**).

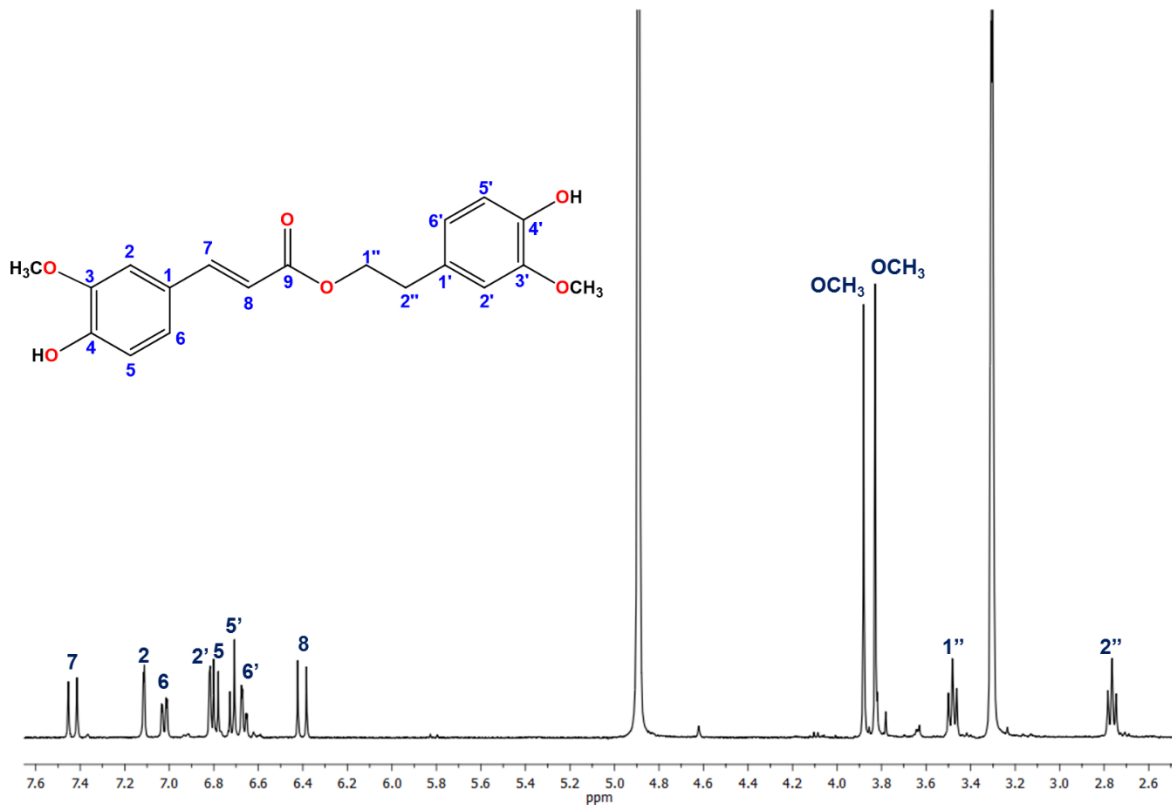


Figura 44. Espectro de RMN de ¹H en CD₃OD a 300 MHz del 4'-hidroxi-3'-metoxi fenetil *trans*-ferulato (**22**).

A partir de la polaridad 19:1 AcOEt:MeOH se aislaron 8 mg de la mezcla de β-sitosterol-5-en-3-O-β-D-glucopiranosido (**19**) y estigmasta-5,22-dien-3-O-β-D-glucopiranosido (**20**) en una proporción 4:1.

Debido a la importancia que tienen los alcaloides en la familia Solanaceae en la que se encuentra *Cestrum roseum* se decidió llevar a cabo su búsqueda en esta especie, sin embargo, sólo se lograron identificar los compuestos **21** y **22**.

5.6. Modificaciones químicas

Una vez obtenidos los triterpenos **4**, **16**, **17**, **18** se llevaron a cabo modificaciones químicas en el grupo hidroxilo.

Los ésteres **23** y **24** se prepararon a partir de la mezcla de β -sitosterol (**4**) y estigmasterol (**16**) con cloruro de cinamoilo en presencia de piridina. El espectro de RMN de ^1H (Figura 45) mostró dos señales dobles de un sistema AX correspondientes a los protones vinílicos del cinamoilo una en 7.67 ppm con una $J = 16.0$ Hz para el H-3' y la segunda en 6.42 ppm con una $J = 16.0$ Hz asignada para el protón vinílico H-2' alfa al carbonilo; en 7.52 ppm se identificó una señal doble de dobles con $J = 7.6$ y 3.6 Hz para los hidrógenos H-5' y H-9', en 7.37 ppm una señal múltiple correspondientes para los H-6', H-8' y H-7'; se observó el desplazamiento de la señal múltiple que originalmente se encontraba en 3.50 ppm como base de hidroxilo hacia 4.76 ppm correspondiente al desplazamiento del protón base de éster. Se obtuvo una proporción de 6:1 de los correspondientes cinamatos **23** y **24**.

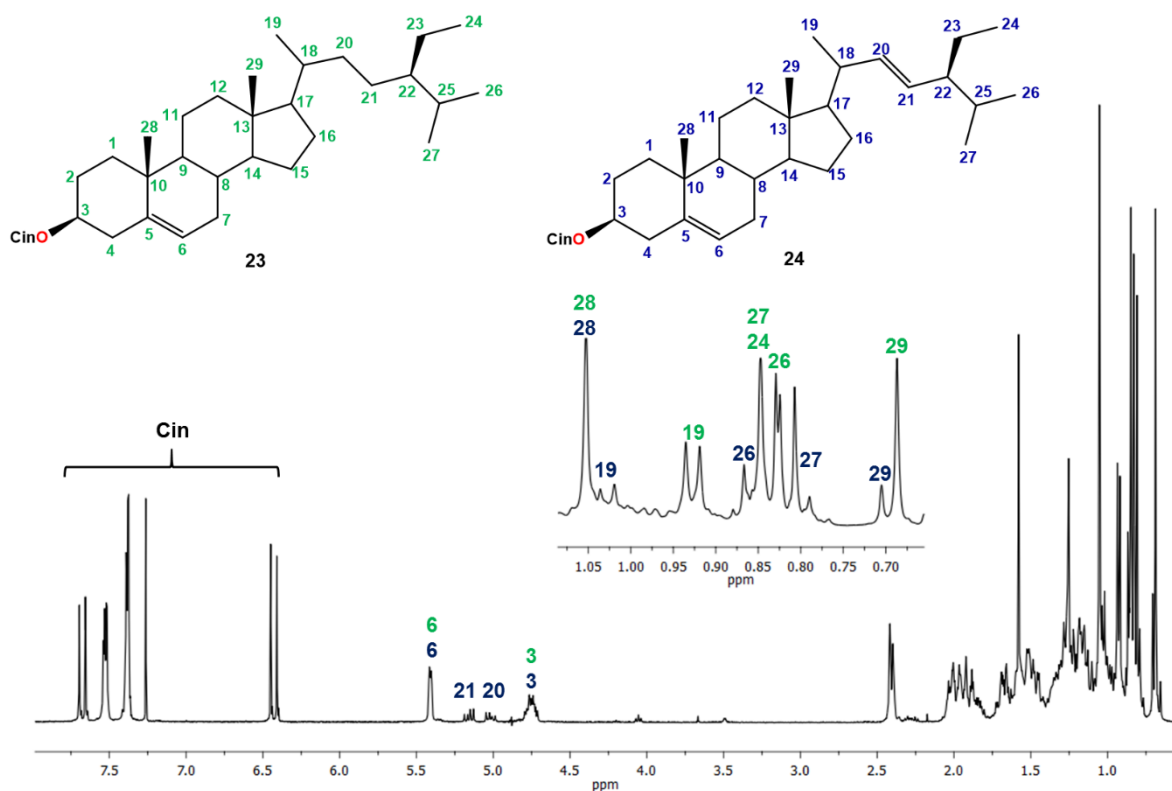


Figura 45. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 a 400 MHz de los cinamatos **23** y **24**.

A partir de los ácidos oleanólico (**17**) y ursólico (**18**) se prepararon los derivados acetilados **25** y **26**, respectivamente, por tratamiento con anhídrido acético/piridina durante 8 h en baño de vapor.

El crudo de reacción del ácido oleanólico se llevó a purificación, obteniendo en la polaridad 8:2 hex:AcOEt 8 mg del derivado acetilado **25**, el cual se analizó mediante RMN de ^1H (Figura 46) mostrando una señal simple alrededor de 2.04 ppm típica del metilo de acetato, también se observó el desplazamiento de la señal que se encontraba en 3.25 ppm base de hidroxilo hacia 4.49 ppm ahora base de éster, las demás señales del sistema no presentaron cambios significativos en su desplazamiento químico.

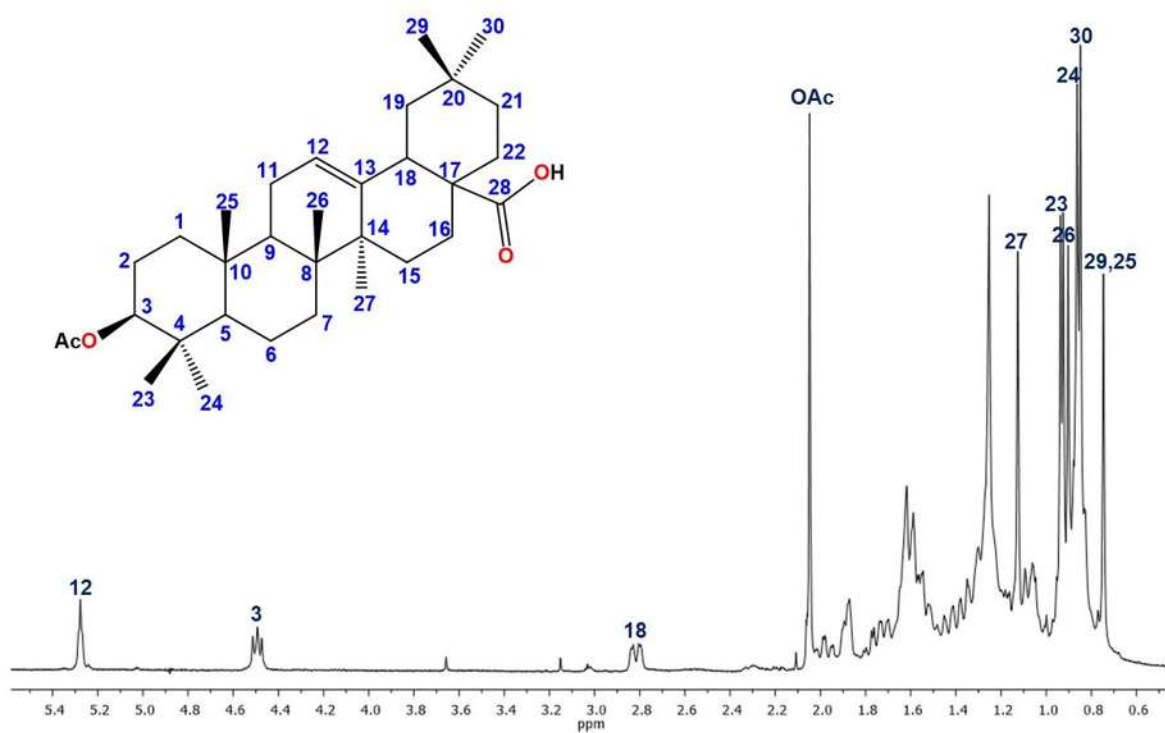


Figura 46. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 a 400 MHz del éster **25**.

De igual manera el crudo de reacción del ácido ursólico se llevó a purificación, obteniendo en la polaridad 8:2 hex:AcOEt 4 mg del derivado acetilado **26**, el cual se analizó mediante el espectro de RMN de ^1H (Figura 47) mostró una señal simple alrededor de 2.03 ppm correspondiente al metilo de acetato, de igual manera se observó el desplazamiento de la señal que se encontraba en 3.21 ppm base de hidroxilo hacia 4.49 ppm ahora base de éster.

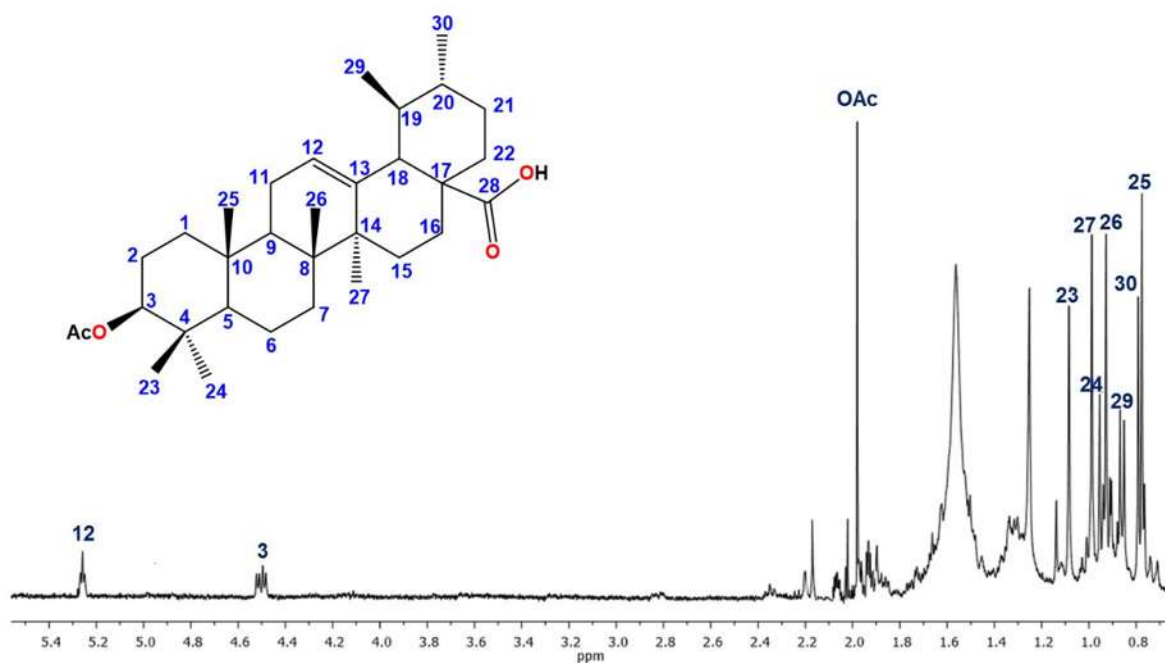


Figura 47. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 a 400 MHz del éster **26**.

6. CONCLUSIONES

De los extractos hexánicos de la planta se identificaron como componentes mayoritarios cadenas hidrocarbonadas correspondientes al ácido pentanoico (**7**), ácido hexanoico (**8**), ácido octanoico (**9**), ácido dodecanoico (**10**), ácido tetradecanoico (**11**), ácido hexadecanoico (**1**), ácido octadecanoico (**12**), ácido-9-octadecenoico (**13**), ácido 9,12-octadecadienoico (**2**), pentacosano (**14**) y al octacosano (**15**).

También se identificó como compuestos mayoritarios a los triterpenos β -sitosterol (**4**), estigmasterol (**16**), lupeol (**6**), ácido oleanólico (**17**) y ácido ursólico (**18**), los cuales muestran una tendencia aparecer en los extractos de baja polaridad así como en menor cantidad en los extractos de mayor polaridad. Cabe mencionar que estos compuestos tienen actividad biológica como antiinflamatorios, antibacterianos, antifúngicos y antimicrobianos.

Así mismo, en los extractos de AcOEt y MeOH se identificó como componente mayoritario la mezcla de β -sitosterol-5-en-3-O- β -D-glucopiranosido (**19**) y estigmasta-5,22-dien-3-O- β -D-glucopiranosido (**20**). En los extractos metanólicos de tallo y raíz se identificaron a los compuestos 4'-hidroxi fenetil *trans*-ferulato (**21**) y al 4'-hidroxi-3'-metoxi fenetil *trans*-ferulato (**22**) considerados ésteres fenilpropanoides. Cabe resaltar que son aislados por primera vez en el género *Cestrum*; el hallazgo es relevante ya que se ha descrito en la literatura que muestran actividad citotóxica y antifúngica importante.

Para finalizar se evaluó la reactividad química de los triterpenos **4**, **16**, **17** y **18**, confirmando la presencia del grupo hidroxilo.

7. PARTE EXPERIMENTAL

7.1. Material vegetal

Cestrum roseum fue colectada en el km 197 de la carretera México-Morelia, vía Mil Cumbres (19°40.932' N – 100°50.375' W). La planta fue identificada por el Dr. J. Rzedowski, conservando un ejemplar en el Herbario del Instituto de Ecología en Pátzcuaro A.C. La planta fue separada en sus distintas partes: raíces, tallos, hojas, frutos y flores, las cuales se secaron a la sombra y se obtuvieron los extractos de hexano, cloruro de metileno, acetato de etilo y metanol.

7.2. Obtención de extractos

Para la obtención de los extractos las partes más duras de la planta: raíz y tallo, fueron cortadas en pequeñas astillas las cuales se molieron; el polvo obtenido se sometió a reflujo por 5 h utilizando como disolventes hexanos, diclorometano, acetato de etilo y metanol; tres veces por cada disolvente.

Las partes blandas de la planta: hojas, flores y frutos, se sometieron a maceración a temperatura ambiente, empleando como disolventes hexanos, cloruro de metileno, acetato de etilo y metanol durante tres días y repitiendo tres veces el procedimiento por cada disolvente.

7.3. Cromatografías

Para la obtención de fracciones enriquecidas los extractos crudos se purificaron mediante cromatografía en columna abierta con fase estacionaria gel de sílice 70-230 mallas y utilizando como fase móvil mezclas de disolventes hex:AcOEt y AcOEt:MeOH en orden ascendente de polaridad, estas fracciones fueron sometidas a recromatografía.

Para las recromatografías se utilizó como fase estacionaria gel de sílice de 230-400 mallas y como fase móvil mezclas de hex:AcOEt en orden ascendente de polaridad. Las fracciones eluidas se analizaron por cromatografía en placa fina, observándose bajo luz UV y reveladas con sulfato cérico amoniacal.

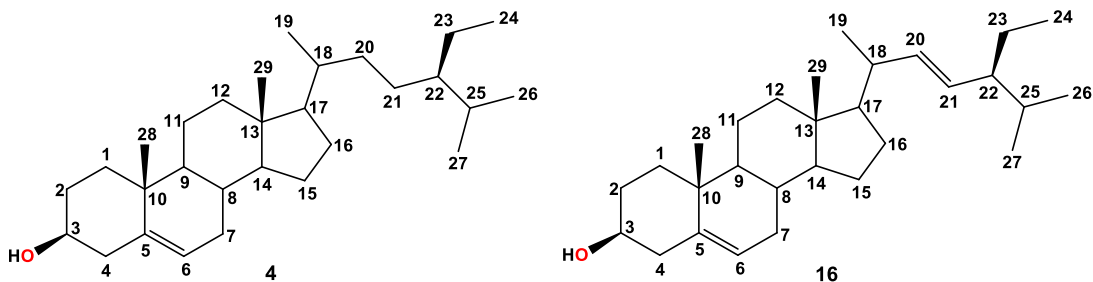
7.4. Identificación de compuestos

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato de Fisher Johns y no están corregidos. La identificación y caracterización de los compuestos obtenidos se realizó mediante Resonancia Magnética Nuclear a 400 MHz para ^1H y ^{13}C a 100 MHz en un equipo Varian Mercury Plus 400 del IIQB-UMSNH. Los experimentos en dos dimensiones se determinaron en un equipo Varian Mercury 300 en el CINVESTAV-IPN. Se utilizaron como disolventes el cloroformo deuterado (CDCl_3), dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d_6), metanol deuterado (CD_3OD) y piridina deuterada (Pyr-d_5) y como referencia interna tetrametilsilano (TMS). Los ácidos grasos fueron identificados mediante espectrometría de masa acoplado a cromatografía de gases, en un equipo Thermo Fisher Scientific. Los datos obtenidos fueron comparados con la base de datos NIST 2011.

7.5. Obtención del β -sitosterol (4) y estigmasterol (16)

Tabla 4. Rendimientos obtenidos de la mezcla de **4** y **16** de las diferentes partes de la planta.

Extractos de CH_2Cl_2 9:1 hex:AcOEt		Extractos de AcOEt 9:1 hex:AcOEt		Extractos de MeOH 8:2 hex:AcOEt	
Parte de la planta / Cantidad	Rendimiento	Parte de la planta / Cantidad	Rendimiento	Parte de la planta / Cantidad	Rendimiento
Tallo 2.0 g	25 mg (1.25 %)	Tallo 2.0 g	7 mg (0.35 %)	Tallo 6.9 g	4 mg (0.06 %)
Flores 2.0 g	9 mg (0.45 %)	Flores 1.2 g	4 mg (0.33 %)	Flores 9.0 g	1.4 mg (0.02 %)
Hojas 2.1 g	9 mg (0.43 %)			Raíz 11.0 g	5 mg (0.04 %)



Sólido blanco con p.f. 136-138 °C.

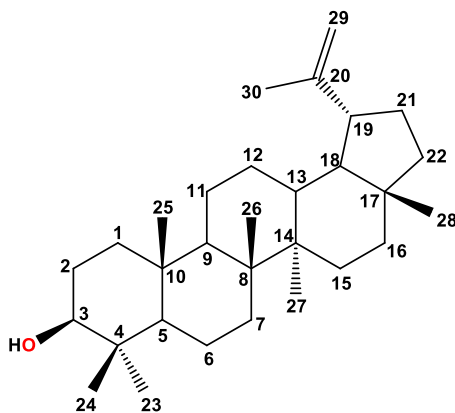
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) **β -sitosterol (4)** δ 5.36 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-6), 3.50 (1H, m, H-3), 1.00 (3H, s, H-28), 0.92 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-19), 0.84 (3H, d, $J = 2.8$ Hz H-27), 0.82 (3H, d, $J = 2.0$ Hz, H-26), 0.68 (3H, s, H-29). **Stigmasterol (16)** δ 5.36 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-6), 5.15 (1H, dd, $J = 15.2, 8.8$ Hz, H-21), 5.05 (1H, dd, $J = 15.2, 8.8$ Hz, H-20), 3.50 (1H, m, H-3), 1.02 (3H, s, H-19), 1.00 (3H, s, H-28), 0.85 (3H, d, $J = 2.8$ Hz H-26), 0.80 (3H, d, $J = 2.0$ Hz, H-27), 0.70 (3H, s, H-29).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) **β -sitosterol (4)** δ 140.7 (C-5), 121.7 (C-6), 71.8 (C-3), 56.7 (C-14), 55.9 (C-17), 50.1 (C-9), 45.8 (C-22), 42.2 (C-4), 42.2 (C-13), 39.7 (C-12), 37.2 (C-1), 36.5 (C-10), 36.3 (C-18), 34.2 (C-20), 33.8 (C-2), 31.8 (C-7), 31.8 (C-8), 29.6 (C-25), 29.1 (C-16), 24.3 (C-15), 26.3 (C-21), 23.3 (C-23), 21.1 (C-11), 20.0 (C-26), 19.8 (C-27), 19.2 (C-19), 18.9 (C-28), 11.9 (C-24), 11.8 (C-29). **Stigmasterol (16)** δ 140.7 (C-5), 138.3 (C-20) 129.2 (C.21), 121.7 (C-6), 71.8 (C-3), 56.7 (C-14), 55.9 (C-17), 50.1 (C-9), 45.8 (C-22), 42.2 (C-4), 42.2 (C-13), 40.5 (C-18), 39.7 (C-12), 37.2 (C-1), 36.5 (C-10), 33.8 (C-2), 31.8 (C-7), 31.8 (C-8), 29.6 (C-25), 29.1 (C-16), 25.9 (C-23), 24.3 (C-15), 21.1 (C-11), 20.0 (C-26), 19.8 (C-27), 19.2 (C-19), 18.9 (C-28), 11.9 (C-24), 11.8 (C-29).

7.6. Obtención del lupeol (6)

Tabla 5. Rendimientos obtenidos del compuesto 6 de las partes aéreas de la planta.

Extractos de CH_2Cl_2 8:2 hex:AcOEt	
Parte de la planta / Cantidad	Rendimiento
Tallo 2.0 g	13 mg (0.65 %)
Hojas 2.1 g	4 mg (0.19 %)



Sólido blanco con p.f. 179-180 °C.

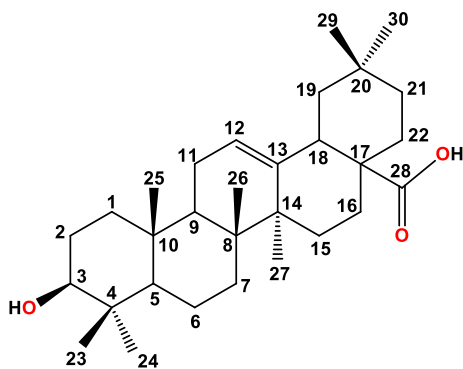
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 4.69 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-29a), 4.56 (1H, dd, $J = 2.3, 1.3$ Hz, H-29b), 3.19 (1H, dd, $J = 11.2, 5.2$ Hz, H-3), 2.38 (1H, td, $J = 11.0, 5.8$ Hz, H-19), 1.93 (1H, m, H-21 β), 1.86 (1H, m, H-15 β), 1.68 (3H, s, H-30), 1.65 (1H, m, H-1 β), 1.63 (1H, m, H-12 β), 1.60 (1H, m, H-13), 1.57 (1H, m, H-2 α), 1.53 (1H, m, H-2 β), 1.51 (1H, m, H-6 α), 1.46 (1H, m, H-16 β), 1.41 (1H, m, H-11 α), 1.38 (1H, m, H-7 α), 1.38 (1H, m, H-6 β), 1.36 (1H, m, H-22 β), 1.36 (1H, m, H-16 α), 1.33 (1H, m, H-18), 1.29 (1H, m, H-21 α), 1.27 (1H, m, H-9), 1.19 (1H, m, H-22 α), 1.06 (1H, m, H-12 α), 1.03 (3H, s, H-26), 1.02 (1H, m, H-15 α), 0.97 (3H, s, H-23), 0.94 (3H, s, H-27), 0.87 (1H, m, H-1 α), 0.83 (3H, s, H-25), 0.78 (3H, s, H-28), 0.76 (3H, s, H-24), 0.68 (1H, m, H-5 α).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 150.9 (C-20), 109.3 (C-29), 79.0 (C-3), 55.3 (C-5), 50.4 (C-9), 48.3 (C-18), 48.0 (C-19), 43.0 (C-17), 42.8 (C-14), 40.8 (C-8), 40.0 (C-22), 38.8 (C-4), 38.7 (C-1), 38.0 (C-13), 37.1 (C-10), 35.6 (C-16), 34.2 (C-7), 29.7 (C-21), 28.1 (C-23), 28.0 (C-15), 27.4 (C-2), 25.1 (C-12), 20.9 (C-11), 19.3 (C-30), 18.3 (C-6), 18.0 (C-28), 16.1 (C-25), 15.9 (C-26), 15.3 (C-24), 14.5 (C-27).

7.7. Obtención de ácido oleanólico (17)

Tabla 6. Rendimientos obtenidos del compuesto **17** de las diferentes partes de la planta.

Extractos de CH_2Cl_2 7:3 hex:AcOEt		Extractos de AcOEt 7:3 hex:AcOEt		Extractos de MeOH 7:3 hex:AcOEt	
Parte de la planta / Cantidad	Rendimiento	Parte de la planta / Cantidad	Rendimiento	Parte de la planta / Cantidad	Rendimiento
Tallo 2.0 g	15 mg (0.75 %)	Tallo 2.0 g	3 mg (0.15 %)	Tallo 6.9 g	3 mg (0.04 %)
Flores 2.0 g	15 mg (0.75 %)	Flores 1.2 g	5 mg (0.41 %)	Flores 9.0 g	4 mg (0.04 %)
Hojas 2.1 g	6 mg (0.29 %)			Raíz 11.0 g	5 mg (0.04 %)



Sólido blanco con p.f. 173-174 °C.

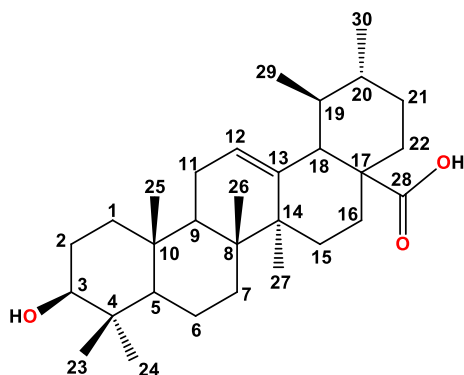
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 5.27 (1H, s, H-12), 3.23 (1H, dd, $J = 10.0, 2.4$ Hz, H-3), 2.83 (1H, dd, $J = 12.4, 3.2$ Hz, H-18), 1.97 (1H, m, H-15 β), 1.88 (1H, m, H-16 α), 1.81 (1H, m, H-22 β), 1.73 (2H, m, H-11), 1.73 (1H, m, H-16 β), 1.70 (1H, m, H-19 α), 1.6 (2H, m, H-2), 1.55 (1H, m, H-22 α), 1.54 (1H, m, H-9), 1.54 (1H, m, H-6 α), 1.52 (1H, m, H-1 β), 1.40 (1H, m, H-7 α), 1.37 (1H, m, H-21 α), 1.31 (1H, m, H-6 β), 1.26 (1H, m, H-7 β), 1.19 (1H, m, H-19 β), 1.13 (3H, s, H-27), 0.98 (3H, s, H-23), 0.96 (1H, m, H-21 β), 0.95 (1H, m, H-15 α), 0.93 (3H, s, H-26), 0.91 (3H, s, H-24), 0.90 (3H, s, H-30), 0.77 (3H, s, H-29), 0.75 (3H, s, H-25), 0.72 (1H, m, H-5).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 183.3 (C-28), 143.6 (C-13), 122.6 (C-12), 79.00 (C-3), 55.2 (C-5), 47.6 (C-9), 46.5 (C-17), 45.9 (C-19), 41.6 (C-14), 40.9 (C-18), 39.2 (C-8), 38.7 (C-4), 38.4 (C-1), 37.0 (C-10), 33.8 (C-21), 33.0 (C-7), 32.6 (C-29), 32.4 (C-22), 30.6 (C-20), 28.1 (C-23), 27.6 (C-15), 27.1 (C-2), 25.9 (C-27), 23.5 (C-11), 23.4 (C-16), 22.9 (C-30), 18.3 (C-6), 17.1 (C-26), 15.5 (C-24), 15.3 (C-25).

7.8. Obtención del ácido ursólico (18)

Tabla 7. Rendimientos obtenidos del compuesto **18** de las diferentes partes de la planta.

Extractos de CH_2Cl_2 7:3 hex:AcOEt		Extractos de AcOEt 7:3 hex:AcOEt		Extractos de MeOH 7:3 hex:AcOEt	
Parte de la planta / Cantidad	Rendimiento	Parte de la planta / Cantidad	Rendimiento	Parte de la planta / Cantidad	Rendimiento
Tallo 2.0 g	4 mg (0.20 %)	Tallo 2.0 g	2 mg (0.10 %)	Tallo 6.9 g	1 mg (0.01 %)
Flores 2.0 g	2 mg (0.10 %)	Flores 1.2 g	1 mg (0.08 %)	Flores 9.0 g	2 mg (0.02 %)
Hojas 2.1 g	2 mg (0.09 %)			Raíz 11.0 g	3 mg (0.03 %)



Sólido blanco con p.f. 195-197 °C.

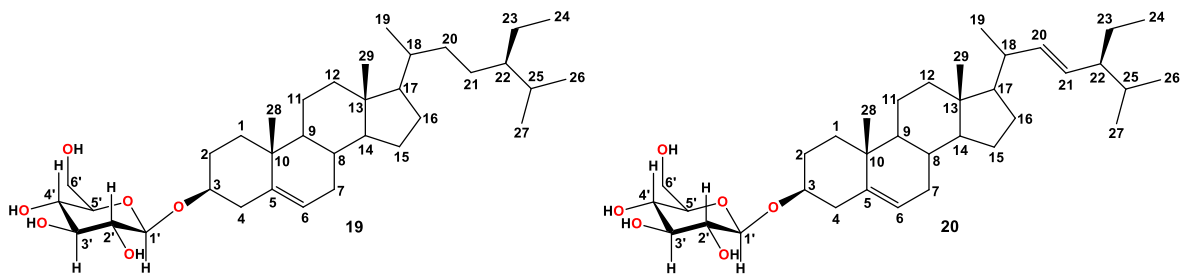
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 5.25 (1H, s, H-12), 3.21 (1H, dd, $J = 10.8, 4.8$ Hz, H-3), 2.34 (1H, d, $J = 12.4$ Hz, H-18), 1.93 (1H, m, H-15 β), 1.86 (1H, m, H-16 α), 1.82 (1H, m, H-16 β), 1.78 (2H, m, H-22), 1.75 (2H, m, H-11), 1.72 (2H, m, H-2), 1.69 (1H, m, H-9), 1.66 (1H, m, H-7 α), 1.62 (1H, m, H-1 β), 1.62 (1H, m, H-6 α), 1.50 (1H, m, H-19 α), 1.49 (1H, m, H-21 β), 1.36 (1H, m, H-21 α), 1.30 (1H, m, H-6 β), 1.29 (1H, m, H-7 β), 1.09 (3H, s, H-23), 0.96 (3H, s, H-27), 0.94 (1H, m, H-15 α), 0.93 (3H, s, H-26), 0.91 (1H, m, H-20), 0.87 (3H, s, H-24), 0.85 (3H, s, H-29), 0.82 (1H, m, H-1 α), 0.79 (3H, s, H-30), 0.78 (3H, s, H-25), 0.76 (1H, m, H-5).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 183.2 (C-28), 143.5 (C-13), 122.6 (C-12), 79.00 (C-3), 55.2 (C-5), 53.2 (C-18), 47.6 (C-9), 47.6 (C-17), 41.6 (C-14), 40.9 (C-8), 39.3 (C-4), 38.7 (C-19), 38.6 (C-20), 38.4 (C-1), 37.1 (C-10), 37.2 (C-22), 33.7 (C-7), 30.6 (C-21), 28.1 (C-15), 27.6 (C-23), 27.1 (C-2), 25.9 (C-16), 24.4 (C-27), 23.6 (C-11), 22.9 (C-30), 18.3 (C-6), 17.1 (C-26), 17.0 (C-29), 16.3 (C-24), 15.3 (C-25).

7.9. Obtención del β -sitosterol-5-en-3-O- β -D-glucopiranosido (19) y del estigmasta-5,22-dien-3-O- β -D-glucopiranosido (20)

Tabla 8. Rendimientos de la mezcla de los compuestos **18** y **19** de las diferentes partes de la planta.

Extractos de AcOEt			Extractos de MeOH		
Parte de la planta / Cantidad	Polaridad	Rendimiento	Parte de la planta / Cantidad	Polaridad	Rendimiento
Tallo 2.0 g	3:7 Hex:AcOEt	10 mg (0.50 %)	Tallo 6.9 g	1:9 Hex:AcOEt	7 mg (0.10 %)
Flores 1.2 g	4:6 Hex:AcOEt	10 mg (0.83 %)	Raíz 11.0 g	19:1 AcOEt:MeOH	8 mg (0.07 %)



Cera blanca.

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) **β -sitosterol-5-en-3-O- β -D-glucopiranosido (19)** δ 5.33 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-6), 4.22 (1H, dd, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 3.66 (1H, dd, $J = 12.0, 4.4$ Hz, H-6'a), 3.46 (1H, m, H-6'b), 3.12 (1H, m, H-3'), 3.06 (1H, m Hz, H-4'), 3.03 (1H, m, H-5'), 2.89 (1H, m, H-2'), 2.36 (1H, dd, $J = 13.2, 4$ Hz, H-1 α), 2.12 (1H, m, H-1 β), 0.96 (3H, s, H-28), 0.91 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-19), 0.82 (3H, d, $J = 2.8$ Hz H-27), 0.80 (3H, d, $J = 2.0$ Hz, H-24), 0.76 (3H, d, $J = 6.4$ Hz H-26), 0.65 (3H, s, H-29). **Estigmasta-5,22-dien-3-O- β -D-glucopiranosido (20)** δ 5.18 (1H, dd, $J = 15.2, 8.4$ Hz, H-21), 5.05 (1H, dd, $J = 15.2, 8.4$ Hz, H-20), 1.00 (3H, s, H-19), 0.96 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-28), 0.81 (3H, d, $J = 2.8$ Hz H-26), 0.80 (3H, d, $J = 2.0$ Hz, H-27), 0.66 (3H, s, H-29).

RMN de ^1H (300 MHz, Pyr-d_5) **β -sitosterol-5-en-3-O- β -D-glucopiranosido (19)** δ 5.44 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-6), 4.66 (1H, dd, $J = 11.7, 2.4$ Hz, H-6'a), 4.51 (1H, dd, $J = 11.7, 5.1$ Hz, H-6'b), 4.39 (1H, t, $J = 8.7$ Hz, H-3'), 4.39 (1H, t, $J = 8.7$ Hz, H-4'), 4.16 (1H, t, $J = 8.7$ Hz, H-2'), 4.08 (1H, m, H-3), 4.08 (1H, m, H-5'), 2.85 (1H, dd, $J = 13.2, 2.7$ Hz, H-4 α), 2.47 (1H, ddd, $J = 13.8, 13.8, 2.4$ Hz, H-4 β), 1.02 (3H, s, H-28), 1.01 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-19), 0.98 (3H, d, $J = 2.8$ Hz H-27), 0.96 (3H, d, $J = 2.0$ Hz, H-24), 0.94 (3H, d, $J = 6.4$ Hz H-26), 0.74 (3H, s, H-29). **Estigmasta-5,22-dien-3-O- β -D-glucopiranosido (20)** δ 5.26 (1H, dd, $J = 15.6, 8.5$ Hz, H-21), 1.07 (3H, s, H-19), 1.01 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-28), 1.00 (3H, d, $J = 2.8$ Hz H-26), 0.94 (3H, d, $J = 6.4$ Hz H-27), 0.75 (3H, s, H-29).

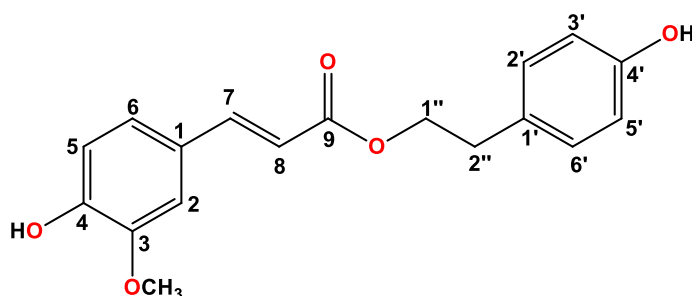
RMN de ^{13}C (75 MHz, Pyr-d_5) **β -sitosterol-5-en-3-O- β -D-glucopiranosido (19)** δ 141.9 (C-5), 122.9 (C-6), 103.6 (C-1'), 79.6 (C-3'), 79.5 (C-3), 79.1 (C-5'), 76.4 (C-2'), 72.7 (C-4'), 63.9 (C-6'), 57.8 (C-14), 57.3 (C-17), 51.4 (C-9), 47.0 (C-22), 43.5 (C-13), 41.0 (C-12), 40.4 (C-4), 38.5

(C-1), 38.0 (C-18), 37.5 (C-10), 35.1 (C-20), 33.2 (C-7), 33.1 (C-8), 31.3 (C-2), 30.5 (C-25), 29.6 (C-16), 27.5 (C-21), 25.6 (C-15), 24.5 (C-23), 22.4 (C-11), 21.0 (C-27), 20.5 (C-28), 20.3 (C-26), 20.1 (C-19), 13.0 (C-24), 12.2 (C-29). RMN de ^{13}C (75 MHz, Pyr- d_5) **Estigmasta-5,22-dien-3-O- β -D-glucopiranosido (20)** δ 141.9 (C-5), 139.5 (C-20), 128.1 (C-21), 122.9 (C-6), 103.6 (C-1'), 79.6 (C-3'), 79.5 (C-3), 79.1 (C-5'), 76.4 (C-2'), 72.7 (C-4'), 63.9 (C-6'), 57.8 (C-14), 57.3 (C-17), 51.4 (C-9), 43.5 (C-13), 41.0 (C-12), 40.4 (C-4), 38.5 (C-1), 37.5 (C-10), 35.5 (C-18), 33.2 (C-7), 33.1 (C-8), 31.3 (C-2), 30.8 (C-22), 30.6 (C-25), 29.6 (C-16), 25.6 (C-15), 24.5 (C-23), 22.4 (C-11), 21.0 (C-27), 20.5 (C-28), 20.3 (C-26), 20.1 (C-19), 13.0 (C-24), 12.2 (C-29).

7.10. Obtención del 4'-hidroxi fenetil *trans*-ferulato (21)

Tabla 9. Rendimientos obtenidos del compuesto **21** de las diferentes partes de la planta.

Extractos de MeOH		
Parte de la planta / Cantidad	Polaridad	Rendimiento
Tallo 6.9 g	3:7 hex:AcOEt	2 mg (0.03 %)
Raíz 11.0 g	2:8 hex:AcOEt	30.1 mg (0.27 %)



Cera blanca.

Rotación: $[\alpha]_{589} -1.5$, $[\alpha]_{578} -1.5$,
 $[\alpha]_{546} -1.8$, $[\alpha]_{436} -2.3$ (c 3.9, MeOH).

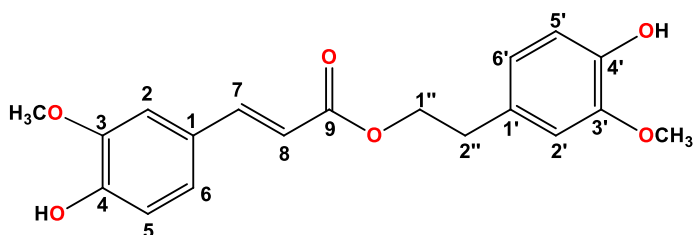
RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ
 7.45 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-7), 7.11
 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2), 7.06 (2H, d,

$J = 8.5$ Hz, H-2', H-6'), 7.04 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, H-6), 6.80 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-5), 6.72
 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', H-5'), 6.42 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-8), 3.87 (3H, s, OCH_3), 3.48 (2H, t, J
 $= 7.0$ Hz, H-1''), 2.77 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-2'').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ 169.1 (C-9), 156.9 (C-4'), 149.8 (C-4), 149.2 (C-3), 142 (C-7),
 131.3 (C-1'), 130.7 (C-2'), 128.2 (C-1), 123.2 (C-6), 118.7 (C-8), 116.4 (C-5), 116.2 (C-3'), 111.5
 (C-2), 56.3 (OCH_3), 42.5 (C-1''), 35.8 (C-2'').

7.11. Obtención del 4'-hidroxi-3'-metoxi fenetil *trans*-ferulato (22)

El compuesto se aisló en mezcla con el compuesto **21** del extracto metanólico de raíz, en la polaridad 2:8 hex:AcEOT; ya que ambos compuestos tienen un factor de retención muy cercano se decidió llevar a cabo su separación por cromatografía en placa preparativa utilizando como eluente una mezcla de 3:7 hex:AcOEt. La elución se llevó a cabo 3 veces. Con la ayuda de luz ultravioleta se observó su separación la cual se marcó y con una espátula se desprendió el gel de sílice del soporte de vidrio; lo obtenido se transfirió a una pipeta y se filtró con AcOEt, se obtuvo 1.8 mg (0.02 %) del compuesto 4'-hidroxi-3'-metoxi fenetil *trans*-ferulato.



Cera blanca.

RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ
7.43 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-7), 7.11
(1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 7.03 (1H, dd,
 $J = 8.2, 2.0$ Hz, H-6), 6.82 (1H, d, $J =$

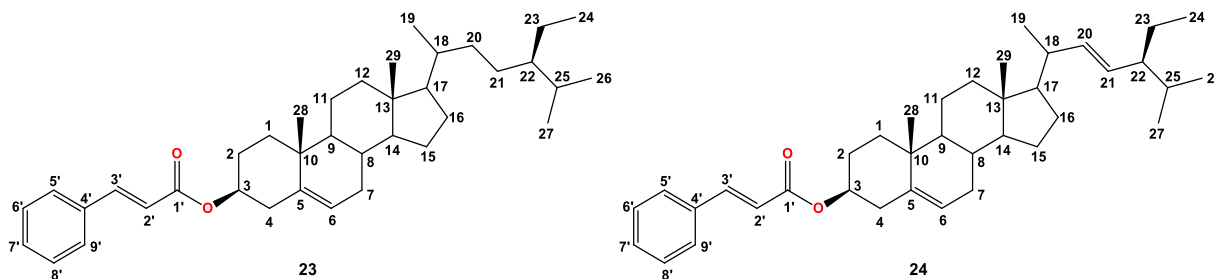
2.0 Hz, H-2'), 6.79 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 6.71 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 6.67 (1H, dd, $J = 8.2,$
2.0 Hz, H-6'), 6.40 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-8) 3.88 (3H, s, OCH_3 , H-3), 3.83 (3H, s, OCH_3 , H-3'),
3.48 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 2.75 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2'').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ 169.2 (C-9), 149.89 (C-4), 149.3 (C-3), 148.9 (C-3'), 146.0 (C-
4'), 142.0 (C-7), 132.0 (C-1'), 128.2 (C-1), 123.2 (C-6), 122.2 (C-6'), 118.7 (C-8), 116.4 (C-5),
116.1 (C-5'), 113.4 (C-2'), 111.5 (C-2), 56.4 (OCH_3 , C-3), 56.3 (OCH_3 , C-3'), 42.4 (C-1''), 36.2
(C-2'').

7.12. Preparación de los cinamatos, β -sitosterol (23) y estigmasterol (24)

A una solución de 10 mg de la mezcla de β -sitosterol (**4**) y estigmasterol (**16**) en 0.5 mL de piridina se le adicionaron 30 mg de cloruro de cinamoilo (3:1). La mezcla se dejó reaccionar por 8 horas en baño de vapor. Transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se vertió sobre hielo-agua en embudo de separación y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con ácido clorhídrico al 10 %, agua, solución saturada de bicarbonato de sodio y agua;

posteriormente se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó hasta sequedad. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna a través de gel de sílice malla 230-400 empleando como eluyente mezclas de hex:AcOEt en orden ascendente de polaridad, en fracciones de 10 mL cada una. De las fracciones eluidas con una polaridad 19:1 hex:AcOEt, se obtuvieron 7 mg en forma de agujas incoloras con un rendimiento de 53%.



Agujas incoloras con p.f. 140-141 °C.

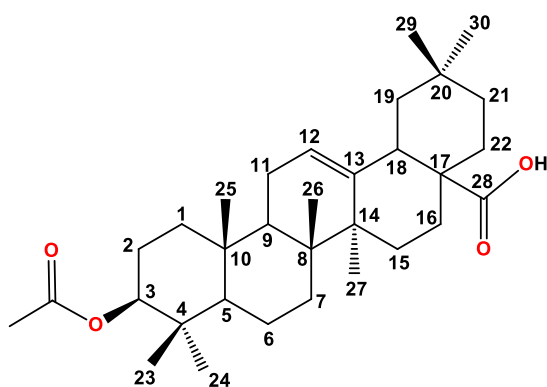
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3). **3 β -cinamato de sitosterilo (23)** δ 7.67 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-3'), 7.52 (1H, dd, J = 7.6, 3.6 Hz, H-5',9'), 7.37 (1H, m, H-6', 8'), 7.37 (1H, m, H-7'), 6.42 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-2'), 5.40 (1H, d, J = 4.8 Hz, H-6), 4.76 (1H, m, H-3), 1.05 (3H, s, H-28), 0.93 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-19), 0.85 (3H, d, J = 2.0 Hz, H-27), 0.82 (3H, d, J = 2.0 Hz, H-26), 0.69 (3H, s, H-29). **3 β -cinamato de estigmasterilo (24)** δ 7.67 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-3'), 7.52 (1H, dd, J = 7.6, 3.6 Hz, H-5',9'), 7.37 (1H, m, H-6', 8'), 7.37 (1H, m, H-7'), 6.42 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-2'), 5.40 (1H, d, J = 4.8 Hz, H-6), 5.15 (1H, dd, J = 15.2, 8.8 Hz, H-21), 5.05 (1H, dd, J = 15.2, 8.8 Hz, H-20), 4.76 (1H, m, H-3), 1.05 (3H, s, H-28), 1.02 (3H, s, H-19), 0.86 (3H, d, J = 2.8 Hz H-26), 0.80 (3H, d, J = 2.0 Hz, H-27), 0.70 (3H, s, H-29).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) **3 β -cinamato de sitosterilo (23)** δ 166.4 (C-1'), 144.4 (C-3'), 139.7 (C-5), 134.5 (C-4'), 130.2 (C-7'), 128.8 (C-6'), 128.0 (C-5'), 122.7 (C-6), 118.7 (C-2'), 74.07 (C-3), 56.7 (C-14), 55.9 (C-17), 50.1 (C-9), 45.8 (C-22), 42.2 (C-4), 42.2 (C-13), 39.7 (C-12), 38.2 (C-1), 37.0 (C-10), 36.1 (C-18), 33.9 (C-20), 31.9 (C-2), 31.8 (C-7), 29.1 (C-8), 28.2 (C-25), 27.8 (C-16), 26.0 (C-15), 24.2 (C-21), 23.0 (C-23), 21.1 (C-11), 19.8 (C-26), 19.3 (C-27), 19.0 (C-19), 18.7 (C-28), 11.9 (C-24), 11.8 (C-29). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) **3 β -cinamato**

de estigmasterilo (**24**) δ 166.4 (C-1'), 144.4 (C-3'), 139.7 (C-5), , 138.3 (C-20), 134.5 (C-4'), 130.2 (C-7'), 130.1 (C.21), 128.8 (C-6'), 128.0 (C-5'), 122.7 (C-6), 118.7 (C-2'), 74.07 (C-3), 56.7 (C-14), 55.9 (C-17), 50.1 (C-9), 45.8 (C-22), 42.2 (C-4), 42.2 (C-13), 39.7 (C-18), 38.2 (C-12), 37.0 (C-1), 36.5 (C-10), 33.9 (C-2), 31.9 (C-7), 31.8 (C-8), 29.1 (C-25), 28.3 (C-16), 24.3 (C-23), 24.3 (C-15), 21.1 (C-11), 20.0 (C-26), 19.8 (C-27), 19.2 (C-19), 18.9 (C-28), 11.9 (C-24), 11.8 (C-29).

7.13. Preparación del acetato del ácido oleanólico (**25**)

A una solución de 10 mg del ácido oleanólico (**17**) en 1 mL de piridina se le adicionaron 2 ml de anhídrido acético, la mezcla se dejó reaccionar en baño de vapor durante 8 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se vertió sobre hielo-agua en embudo de separación y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con ácido clorhídrico al 10 %, agua, solución saturada de bicarbonato de sodio y agua; posteriormente se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó hasta sequedad. El residuo se purificó por cromatografía en columna a través de sílica gel malla 230-400 empleando como eluyente mezclas de hexano-acetato de etilo, en orden ascendente de polaridad, en fracciones de 10 mL cada una. De las fracciones eluidas con una polaridad 9:1 hex:AcOEt, se obtuvieron 8 mg de un sólido blanco amorfo con un rendimiento de 73 %.



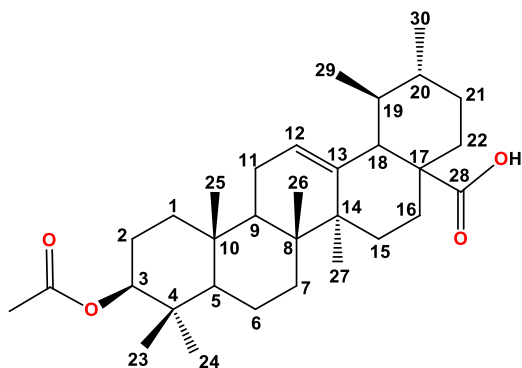
Sólido blanco amorfo con p.f. 193-195 °C.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 5.29 (1H, s, H-12), 4.49 (1H, t, $J = 8.8$ Hz, H-3), 2.82 (1H, dd, $J = 14, 4.4$ Hz, H-18), 2.05 (3H, s, OAc), 1.97 (1H, m, H-15 β), 1.88 (1H, m, H-16 α), 1.81 (1H, m, H-22 β), 1.73 (2H, m, H-11), 1.73 (1H, m, H-16 β), 1.70 (1H, m, H-19 α), 1.6 (2H, m, H-2), 1.55 (1H, m, H-22 α), 1.54 (1H, m, H-9), 1.54 (1H, m, H-6 α), 1.52 (1H, m, H-1 β), 1.40 (1H, m, H-7 α), 1.37 (1H, m, H-21 α), 1.31 (1H, m, H-6 β), 1.26 (1H, m, H-7 β), 1.19 (1H, m, H-19 β), 1.13 (3H,

s, H-27), 0.94 (3H, s, H-23), 0.94 (1H, m, H-21 β), 0.93 (1H, m, H-15 α), 0.92 (3H, s, H-26), 0.91 (3H, s, H-24), 0.86 (3H, s, H-30), 0.85 (3H, s, H-29), 0.77 (3H, s, H-25), 0.72 (1H, m, H-5).
 RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 183.3 (C-28), 170.0 (OAc-1'), 143.6 (C-13) 122.6 (C-12), 79.00 (C-3), 55.2 (C-5), 47.6 (C-9), 46.5 (C-17), 45.9 (C-19), 41.6 (C-14), 40.9 (C-18), 39.2 (C-8), 38.7 (C-4), 38.4 (C-1), 37.0 (C-10), 33.8 (C-21), 33.0 (C-7), 32.6 (C-29), 32.4 (C-22), 30.6 (C-20), 28.3 (C-23), 27.6 (C-15), 27.1 (C-2), 25.9 (C-27), 23.5 (C-11), 23.4 (C-16), 22.9 (C-30), 20.5 (OAc-2'), 18.3 (C-6), 17.1 (C-26), 15.6 (C-24), 15.3 (C-25).

7.14. Preparación del acetato del ácido ursólico (26)

A una solución de 6 mg del ácido ursólico (18) en un mL de piridina, se le adicionó un ml de anhídrido acético, la mezcla se dejó reaccionar en baño de vapor durante 8 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se vertió sobre hielo-agua en embudo de separación y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con ácido clorhídrico al 10 %, agua, solución saturada de bicarbonato de sodio y agua; posteriormente se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó hasta sequedad. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna a través de sílica gel malla 230-400 empleando como eluyente mezclas de hexano-acetato de etilo, en orden ascendente de polaridad, en fracciones de 10 mL cada una. De las fracciones eluidas con una polaridad 9:1 hex:AcOEt, se obtuvieron 4 mg de un sólido amorfo blanco con un rendimiento de 62 %.



Sólido blanco amorfo con p.f. 214-216 °C.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 5.26 (1H, s, H-12), 4.49 (1H, dd, $J = 10.8, 4.8$ Hz, H-3), 2.34 (1H, d, $J = 12.4$ Hz, H-18), 2.03 (3H, s, OAc), 1.93 (1H, m, H-15 β), 1.86 (1H, m, H-16 α), 1.82 (1H, m, H-16 β), 1.78 (2H, m, H-22), 1.75 (2H, m, H-11), 1.72 (2H, m, H-2), 1.69 (1H, m, H-9), 1.66 (1H, m, H-7 α), 1.62 (1H, m, H-1 β), 1.62 (1H, m, H-6 α), 1.50 (1H, m, H-19 α), 1.49 (1H, m, H-21 β), 1.36 (1H, m, H-21 α), 1.30 (1H, m, H-6 β), 1.29 (1H, m, H-7 β), 1.09 (3H, s, H-23), 0.96 (3H, s, H-27), 0.94

(1H, m, H-15 α), 0.93 (3H, s, H-26), 0.91 (1H, m, H-20), 0.87 (3H, s, H-24), 0.85 (3H, s, H-29), 0.82 (1H, m, H-1 α), 0.79 (3H, s, H-30), 0.78 (3H,s, H-25), 0.76 (1H, m, H-5).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 183.2 (C-28), 170.0 (OAc-1'), 143.5 (C-13) 122.6 (C-12), 79.0 (C-3), 55.2 (C-5), 53.2 (C-18), 47.6 (C-9), 47.6 (C-17), 41.6 (C-14), 40.9 (C-8), 39.3 (C-4), 38.7 (C-19), 38.6 (C-20), 38.4 (C-1), 37.1 (C-10), 37.2 (C-22), 33.7 (C-7), 30.6 (C-21), 28.1 (C-15), 27.6 (C-23), 27.1 (C-2), 25.9 (C-16), 24.4 (C-27), 23.6 (C-11), 22.9 (C-30), 21.4 (OAc-2'), 18.3 (C-6), 17.1 (C-26), 17.0 (C-29), 16.3 (C-24), 15.3 (C-25).

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Marcano D.; Hasegawa M.; Fitoquímica orgánica. 2da Edición, Torino, **2002**, 29-31, 89-93.
2. Dimayuga, R. E.; Medicina tradicional y popular de Baja California Sur. SEP, UABCS, **1996**, 2-5.
3. García G. C. J.; Blanco D. F.; La cirugía plástica y el Códice De la Cruz-Badiano. Medicina Universitaria, **2004**, 6, 51.
4. García de A. J. E.; Ramírez B. C.; Robles A. G.; Zañudo H. J.; Salcedo R. A.; Conocimiento y uso de las plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara. Desacatos; **2012**, 39, 29-44.
5. Osuna T. L.; Plantas medicinales de la medicina tradicional para tratar afecciones gastrointestinales: estudio etnobotánico, fotoquímico y farmacológico. Ed. Universitat de Barcelona; **2005**, 16-18.
6. Ávalos G. A.; Pérez-Urria C. E.; Metabolismo secundario de plantas, Facultad de Biología. Universidad Complutense. Madrid Reduca (Biología); Serie Fisiología Vegetal, **2009**, 2, 119-145.
7. Villar del F. Á. M.; Farmacognosia General. España: Síntesis, **1999**, 21-25, 191-208.
8. Sepúlveda J. G.; Porta-D. H.; Rocha S. M.; La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Rev. Mex. Fitopatol.*, **2003**, 21, 355-363.
9. Lincon T.; Zeiger E.; Fisiología vegetal. Universitat Jaume, **2006**, 529-545.
10. Bruneton J.; Farmacognosia: Fitoquímica plantas medicinales. 2da edición, España: ACRIBIS, **2001**, 3-6.
11. García-Llanos G.H.; Aislamiento, modificación estructural y evaluación biológica de metabolitos secundarios de *Withania aristata* (Solanaceae), endemismo canario. Tesis doctoral, Universidad de la Laguna, España, **2009**.
12. Arango A. G. J.; Alcaloides y compuestos nitrogenados. Universidad de Antioquia. Facultad de Química Farmacéutica, Medellín; **2002**, 12-14.

13. Newman D. J.; Cragg G. M.; Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *J. Nat. Prod.*, **2016**, *79*, 624-661.
14. Calderón de Rzedowski G.; Rzedowski J.; Flora Fanerogámica del Valle de México. Pátzcuaro: Instituto de Ecología A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. **2005**, 648, 649.
15. Martínez M.; Rodríguez A.; Vargas O.; Chiang F.; Catálogo nomenclatural de las Solanaceae de México. Universidad Autónoma de Querétaro; Informe Final SNIB-CONABIO, Proyecto HS004, Mexico, D.F., **2011**, 1-10.
16. Cuevas R.; Montero J. C.; Nuevo registro de *Cestrum mortonianum* (Solanaceae) y descripción de una variedad en la vertiente pacífica de México. *Act. Bot. Mex.*, **2011**, *95*, 37-43.
17. En línea [<http://conabio.inaturalist.org/taxa/72040-Cestrum>].
18. Cuevas A.; Carmen T.; Vargas O.; Rodríguez A.; Diversidad de la familia Solanaceae en el estado de Jalisco, México. *Rev. Mex. Biodiv.*, **2008**, *79*, 67-79.
19. Ramírez Segura O.; Biología reproductiva y síndrome de polinización de tres especies de *Cestrum* (Solanaceae). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Querétaro, **2013**.
20. Perce M. C.; Skaelton N. J.; Naylor S.; Kannan R.; Kelland J.; Oelrichs P. B.; Sanders J. K. M.; Williams D. H.; Parquin and carboxyparquin, toxic kaurene glycosides from the shrub *Cestrum parqui*. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1992**, 593-600.
21. Tasnim B. F.; Ali A.; Uddin A. V.; Two new spirostanol glycosides from *Cestrum parqui*. *Helv. Chim. Acta*, **2001**, *84*, 3350-3356.
22. D'Abrosca B.; Della G. M.; Fiorentino A.; Monaco P.; Natale A.; Oriano P.; Zarrelli A.; Structural characterization of phytotoxic terpenoids from *Cestrum parqui*. *Phytochemistry* **2005**, *66*, 2681-2688.
23. Fiorentino A.; D'Abrosca B.; Della G. M.; Izzo A.; Natale A.; Pascarella M. T.; Pacifico S.; Zarrelli A.; Monaco P.; Chemical characterization of new oxylipins from *Cestrum parqui*, and their effects on seed germination and early seedling growth. *Chem. Biodivers.*, **2008**, *5*, 1780-1791.

24. Cuartas B. Y.; Castaño R. E.; Descripción botánica y fitoquímica del jazmín de noche (*Cestrum nocturnum* L). Boletín científico, Centro de museos, Museo de Historia Natural **2008**, *12*, 17-23.
25. Mohamed K.; Fouad M.; Matsunami K.; Kamel M.; Otsuka H. A new norlignan glycoside from *Cestrum diurnum* L. *Arkivoc* **2007**, *13*, 63-70.
26. Turnock J.; Cowan S.; Watson A.; Bartholomew B.; Bright C.; Latif Z.; Sarker S. D.; Nash R. J.; N-trans-feruloyltyramine from two species of the Solanaceae. *Biochem. Syst. Ecol.*, **2001**, *29*, 209-211.
27. Ferrer H. A. E.; Hernández E. M.; Pérez M. C.; Basterrechea R. M.; Fuentes F. V.; Torres F. M.; Aislamiento de ácido ursólico de la hojas de *Cestrum laurifolium* L'Herit. *CENIC Ciencias químicas* **2007**, *38*, 243-247.
28. Ciangherotti C.; Buitrago D.; Morales A.; Estudio de los componentes químicos de *Cestrum buxifolium* Kunth. *Revista de la Facultad de Farmacia* **2004**, *46*, 31-34.
29. Leco González M.; Aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios mayoritarios de *Cestrum roseum*. Tesis de licenciatura. Facultad de Químico-Farmacobiología. UMSNH. **2015**.
30. Kamboj A.; Kumar S. A.; Isolation of stigmasterol and β -sitosterol from petroleum ether extract of aerial parts of *Ageratum conyzoides* (Asteraceae). *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, **2011**, *3*, 94-96.
31. Koay Y. C.; Wong O. H.; Eldeen I. M. S.; Asmawi M.Z.; Chemical Constituents and Biological Activities of *Strobilanthes crispus* L. *Rec. Nat. Prod.*, **2013**, *7*, 59-64.
32. Thum K. V.; Kiem V. P.; Minh V. C.; Yen H. P.; Cuong X. N.; Huong T. H.; A new flavang glucoside from *Glochidion eriocarpum*. *J. Chem.*, **2010**, *48*, 125-131.
33. Burns D.; Reynolds F. W.; Buchanan G.; Reese B. P.; Enriquez G. R.; Assignment of ^1H and ^{13}C spectra and investigation of hindered side-chain rotation in lupeol derivatives. *Magn. Reson. Chem.*, **2000**, *38*, 488-493.
34. Seebacher W.; Simic N.; Weis R.; Sat R.; Kunert O.; Complete assignments of ^1H and ^{13}C NMR resonances of oleanolic acid, 18a-oleanolic acid, ursolic acid and their 11-oxo derivatives. *Magn. Reson. Chem.*, **2003**, *41*, 636-638.

35. Adesina S. K.; Reisch J.; A Triterpenoid glycoside from *Tetrapleura tetraptera* a Fruit. *Phytochemistry* **1985**, *24*, 3003-3006.
36. Keat B. N.; Umar U. R.; Lajis H. N.; Chen Y. T.; Li Y. T.; Rahmani M.; Sukari A. M.; Chemical constituents from two weed species of *Spermacoce* (Rubiaceae). *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, **2010**, *14*, 6-11.
37. Amzad H. M.; Ismail Z.; Isolation and characterization of triterpenes from the leaves of *Orthosiphon stamineus*. *Arabian J. Chem.*, **2013**, *6*, 295-298.
38. Ridhay A.; Noor A.; Soekamto N.; Harlim T.; A stigmasterol glycoside from the root wood of *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *degrabrata* K. *Indones. J. Chem.*, **2012**, *12*, 100-103.
39. Faizi S.; Ali M.; Saleem R.; Irfanullan B. S.; Spectral assignments and reference data, complete ¹H and ¹³C NMR assignments of stigma-5-en-3-O-β-glucoside and its acetyl derivative. *Magn. Reson. Chem.*, **2001**, *39*, 339-405.
40. Darwish F. M. M.; Reinecke M. G.; Ecdysteroids and other constituents from *Sida spinosa* L. *Phytochemistry* **2003**, *62*, 1179-1184.
41. Kaewamatawong R.; Ruangrunsi N.; Likhitwitayawuid K.; Chemical constituents of *Polyalthia parviflora* stem. *J. Nat. Med.*, **2007**, *61*, 349-350.
42. Sun J.; Huo H.; Zhang J.; Huang Z.; Zheng J.; Zhang Q.; Zhao Y.; Li J.; Tu P.; Phenylpropanoid amides from the roots of *Solanum melongena* L. (Solanaceae). *Biochem. Syst. Ecol.*, **2015**, *58*, 265-269.
43. Ying H.; Jiang H.; Liu H.; Chen F.; Du Q.; Ethyl acetate-n-butanol gradient solvent system for high-speed countercurrent chromatography to screen bioactive substances in okra. *J. Chromatogr. A.*, **2014**, *1359*, 117-123.

9. ANEXO

Tabla 10. Datos espectroscópicos de RMN del 4'-hidroxi fenetil *trans*-ferulato (**21**).

C/H	DEPT	$\delta^{13}\text{C}$	gHSQC	gHMBC
1	C	128.2	/	/
2	CH	111.5	7.12	123.2, 142.0, 149.8
3	C	149.2	/	/
4	C	149.8	/	/
5	CH	116.4	6.79	128.2, 149.2
6	CH	123.3	7.02	111.5, 142.0, 149.8
7	CH	142.0	7.43	111.5, 118.7, 123.2, 128.2, 169.1
8	CH	118.7	6.40	128.2, 169.1
9	C=O	169.1	/	/
1'	C	131.3	/	/
2'	CH	130.7	7.06	35.8, 130.7, 156.9
3'	CH	116.2	6.71	116.2, 131.3, 156.9
4'	C	156.9	/	/
1''	CH ₂	42.5	3.45	35.8, 131.3, 169.1
2''	CH ₂	35.8	2.74	42.5, 130.7, 131.3
OMe	OCH ₃	56.3	3.88	149.2

Tabla 11. Datos espectroscópicos de RMN del 4'-hidroxi-3'-metoxi fenetil *trans*-ferulato (22).

C/H	DEPT	$\delta^{13}\text{C}$	gHSQC	gHMBC
1	C	128.2	/	/
2	CH	111.5	7.11	123.2, 142.0, 149.3, 149.8
3	C	149.3	/	/
4	C	149.8	/	/
5	CH	116.4	6.79	128.2, 149.3
6	CH	123.3	7.03	111.5, 149.8
7	CH	142.0	7.43	111.5, 123.2, 169.2
8	CH	118.7	6.40	128.2, 169.2
9	C=O	169.2	/	/
1'	C	132.0	/	/
2'	CH	113.4	6.82	122.2, 146.0
3'	C	116.2	/	/
4'	C	146.0	/	/
1''	CH ₂	42.4	3.48	36.2, 132.0, 169.2
2''	CH ₂	36.2	2.75	42.4, 113.4, 122.2, 132.0
OMe	OCH ₃	56.3	3.88	149.3
OMe	OCH ₃	42.4	3.83	148.9