

Universidad de Los Andes
Facultad de Ciencias
Departamento de Química
Laboratorio de Productos Naturales



Estudio Fitoquímico de las Especies:
Phytolacca rugosa (Phytolaccaceae),
Phytolacca icosandra (Phytolaccaceae),
Cestrum ruizteranianum (Solanaceae)
y *Ganophyllum giganteum*
(Sapindaceae)

Defensa de Tesis Doctoral
Postgrado Interdisciplinario en Química Aplicada
Mención Química Orgánica-Productos Naturales

Lic. Elier Galarraga M.

Mérida, Diciembre de 2011

CONTENIDO

	Página
Contenido 2
Resumen.....	... 5
Abstract.....	... 6
Résumé.....	... 7
Introducción 8
Biosíntesis de Saponinas en Plantas 12
Propiedades Biológicas y/o Farmacológicas de las Saponinas.....	... 18
Fitoquímica de los Géneros <i>Cestrum</i> , <i>Phytolacca</i> y <i>Ganophyllum</i> 26
Clasificación Taxonómica de: <i>Phytolacca rugosa</i> A. Braun & C. D Bouché, <i>Phytolacca icosandra</i> L., <i>Cestrum ruizteranianum</i> Benitez & D'Arcy y <i>Ganophyllum giganteum</i> (A. Chev) Hauman.....	... 37
Hipótesis y Objetivos 39
Resultados y Discusión 40
Estudio Fitoquímico de <i>Phytolacca rugosa</i> Braun & Bouché.....	... 46
- Ácido 3-O-β-D-glucopiranosil 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (1)....	... 48
- Ácido 3-O-[β-D-glucopiranosil (1→2)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (2).....	... 59
- Ácido 3-O-[β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (3).....	... 68
- Ácido 3-O-[β-D-glucopiranosil (1→3)-β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (4).....	... 77
Estudio Fitoquímico de <i>Phytolacca icosandra</i> L.....	... 86

- Ácido Spergulagénico (5)	88
- Ácido Epiacetilaleuritólico (6)	92
- Americanol A (7) y 3,4,9,9'-tetraacetil-americanol A (7a).....	95
- 3,3'-bis-desmetil-pinoresinol (8) y 3,3',4,4'-tetraacetil-pinoresinol (8a).....	107
- 6'-palmitil- Δ^7 -stigmastenil-D-acetilglucósido (9) y 6'-palmitil-spinasteril-D-acetilglucósido (9a).....	118
- Ácido 3-O-(β -D-2-O-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (10) (Icosandrósido).....	128
- Ácido 3-O-[α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11).....	139
- 9,10-metiledioxi, 5-metoxi-peltoginano (12) (Icosandrina).....	148
Estudio Fitoquímico de <i>Cestrum ruizteranianum</i> Benitez & D'Arcy.....	159
- Ácido Oleanólico (13) y Ácido Ursólico (13a).....	161
- Pennogenina-3-O-[α -L-rhamnopiranosil(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopiranosido (14).....	164
- β -chacotriosil (25, 26R)-3 β ,17 α ,26-trihidróxi-5-espirosteno (15).....	175
- Metil Protodioscina (16).....	184
- β -chacotriosil (22, 25R)-3 β , 17 α , 22, 26-tetarhidróxi-5-furosten-26-O- β -D-glucopiranosido (17).....	194
- Protodioscina (18) y Metil-proto-Pb (19).....	203
- 3-O-(2,4,4-tri- α -L-rhamnopiranosil- β -D-glucopiranosil) (25R)-3 β , 22, 26-tri-hidróxi-5-furosten-26-O- β -D-glucopiranosido (20).....	216
Estudio Fitoquímico de <i>Ganophyllum giganteum</i> (A. Chev) Hauman.....	225

- Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zanhico (21) (Giganteósido A).....	...227
- Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (22) (Giganteósido B).....	...239
- Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3) - β -D-xilopiranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (23) (Giganteósido C).....	...248
Parte Experimental.....	...257
Conclusiones.....	...259
Referencias Bibliográficas261

RESUMEN

El estudio fitoquímico de los extractos en MeOH/H₂O (7:3) de los frutos de *Phytolacca rugosa*, *P. icosandra* y *Cestrum ruizteranianum*, así como de la corteza de *Ganophyllum giganteum*, conllevó al aislamiento y caracterización estructural de veintitres compuestos naturales (**1-23**).

De *P. rugosa*, se obtuvieron cuatro saponinas triterpénicas (**1-4**) derivadas de la serie del ácido serjánico, las cuales han sido previamente reportadas para el género pero se reportan por primera vez para la especie.

De la especie *P. icosandra* se obtuvieron ocho compuestos, entre los cuales se encontraban dos ácidos triterpénicos [ácido espegulagénico (**5**) y el ácido epiacetilaleuritólico (**6**)], dos lignanos conocidos (**7**) y el (**8**) (**8**, reportado por primera vez para la familia Phytolaccaceae), una mezcla de glicósidos esteroidales (**9**) y (**9a**), dos saponinas triterpénicas (**10** y **11**) derivadas del ácido serjánico y un compuesto aromático (**12**) perteneciente al grupo de los peltoginoides.

El análisis de *C. ruizteranianum* presentó el aislamiento de una mezcla de triterpenos [ácidos ursólico y oleanólico (**13**)] y siete saponinas esteroidales ya conocidas (**14-20**) del tipo espirostano (**14** y **15**) y furostano (**16-20**). Todas las saponinas se reportan por primera vez para el género *Cestrum*.

Por último, de la corteza de la especie *G. giganteum* se lograron aislar tres saponinas triterpénicas (**21-23**) derivadas del ácido zanhico.

El ácido 3-*O*-(2-*O*-acetil-β-D-glucopiranosil)-28-*O*-β-D-glucopiranosil-serjánico (**10**), el 9,10-metilenodioxi-5-metoxi-peltoginano (**12**), el ácido 28-*O*-{4-*O*-acetil-β-D-fucopiranosil-[(1→2)-α-L-ramnopiranosil]-(1→3)-β-D-xilopiranosil}-3-*O*-β-D-glucoronopiranosil-zanhico (**21**), el ácido 28-*O*-{4-*O*-acetil-β-D-fucopiranosil-[(1→2)-β-D-glucoronopiranosil]-(1→3)-β-D-xilopiranosil}-3-*O*-α-L-ramnopiranosil-zanhico (**22**) y el ácido 28-*O*-{4-*O*-acetil-β-D-fucopiranosil-[(1→2)-β-D-glucoronopiranosil]-(1→3)-β-D-xilopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosil}-3-*O*-α-L-ramnopiranosil-zanhico (**23**) se reportan por primera vez en este trabajo como *nuevos productos naturales*.

ABSTRACT

Phytochemical analysis of the MeOH/H₂O (7:3) of the fruits of *Phytolacca rugosa*, *P. icosandra* and *Cestrum ruizteranianum*, as well as the barks of *Ganophyllum giganteum*, led to the isolation and structural characterization of twenty three (**1-23**) compounds.

From *P. rugosa*, four (**1-4**) known triterpenoidal saponins belonging to the serjanic acid series were obtained, all saponins are reported for the first time for *P. rugosa*.

P. icosandra was studied and eight compounds were isolated, two triterpenic acids [spergulagenic acid (**5**) and epiacetylaleurtyolic acid (**6**)], two lignanes (**7**) and (**8**) [**8**, reported for the first time in Phytolaccaceae], a mixture of steroidal glycosides (**9**) and (**9a**), two triterpenoidal saponins (**10 - 11**) and a peltoginoid-type compound (**12**).

Analysis of *C. ruizteranianum* led to the isolation of a triterpene mixture [oleanolic and ursolic acids (**13**)] and seven known (**14-20**) spirostane (**14, 15**) and furostane-type (**16-20**) saponins. All saponins are reported for the first time in *Cestrum* genus.

Finally, from the bark of *G. giganteum*, three saponins (**21-23**) belonging to the zanhic acid series were obtained.

Compounds determined as: 3-O-(β-D-2-acetoxy-glucopyranosyl) 28-O-β-D-glucopyranosyl-serjanic acid (**10**); 9,10-methylendioxy, 5-methoxy-peltoginane (**12**); 28-O-{β-D-4-O-acetylfucopyranosyl [(1→2)-α-L-rhamno-pyranosyl] (1→3)-β-D-xylopyranosyl}-3-O-β-D-glucoronopyranosyl-zanhic acid (**21**); 28-O-{β-D-4-O-acetylfucopyranosyl [(1→2)-β-D-glucoronopyranosyl] (1→3)-β-D-xylopyranosyl}-3-O-α-L-rhamnopyranosyl-zanhic acid (**22**) and 28-O-{β-D-4-O-acetylglucopyranosyl [(1→2)-β-D-glucoronopyranosyl] (1→3)-β-D-xylopyranosyl (1→2)-β-D-glucopyranosyl}-3-O-α-L-rhamnopyranosyl-zanhic acid (**23**), are described in this study as *new natural products*.

RÉSUMÉ

L'étude phytochimique des extraits MeOH/H₂O (7:3) des fruits de *P. rugosa*, *P. icosandra* et *C. ruizteranianum*, ainsi que de l'écorce de *G. giganteum* a conduit à l'isolement et à la caractérisation structurale de vingt-trois composés (**1-23**).

Quatre saponines triterpéniques (**1-4**) dérivées de l'acide serjanique ont été isolées à partir de *P. rugosa*; ces composés ont précédemment été rapportés pour ce genre, mais ils sont décrits pour cette espèce pour la première fois.

L'étude de *P. icosandra* a permis d'obtenir huit composés parmi lesquels figurent deux acides triterpéniques [l'acide spégulagénique (**6**) et l'acide épiacétylaleuritolique (**5**)], deux lignanes (**7**) et (**8**) (**8**, rapporté pour la première fois pour le genre et la famille), un mélange de glycosides stéroïdiens (**9** et **9a**), deux saponines triterpéniques (**10** et **11**) dérivées de l'acide serjanique et un composé aromatique (**12**) appartenant au groupe des peltogynoïdes.

L'analyse des fruits de *C. ruizteranianum* a conduit à l'isolement d'un mélange de triterpènes [incluant les acides ursolique et oléanolique (**13**)] et sept saponines stéroïdiennes (**14-20**) de types spirostane (**14-15**) et furostane (**16-20**). Tous les composés ont été décrits antérieurement, mais c'est la première fois qu'il sont signalés pour l'espèce et pour le genre *Cestrum*.

Enfin, l'écorce de *G. giganteum* a fourni trois saponines triterpéniques (**21-23**) dérivées de l'acide zanhique.

L'acide 3-*O*-(2-*O*-acétyl-β-D-glucopyranosyl)-28-*O*-β-D-glucopyranosyl-serjanique (**10**), le 9,10-méthylènedioxy-5-méthoxy-peltogynane (**12**), l'acide 28-*O*-{4-*O*-acétyl-β-D-fucopyranosyl}-[(1→2)-α-L-rhamnopyranosyl]-{(1→3)-β-D-xylopyranosyl}-3-*O*-β-D-glucopyranosyl-zanhique (**21**), l'acide 28-*O*-{4-*O*-acétyl-β-D-fucopyranosyl}-[(1→2)-β-D-glucoronopyranosyl]-{(1→3)-β-D-xylopyranosyl}-3-*O*-α-L-rhamnopyranosyl-zanhique (**22**) et l'acide 28-*O*-{4-*O*-acétyl-β-D-fucopyranosyl}-[(1→2)-β-D-glucoronopyranosyl]-{(1→3)-β-D-xylopyranosyl}-{(1→2)-β-D-glucopyranosyl}-3-*O*-α-L-rhamnopyranosyl-zanhique (**23**) sont décrits pour la première fois comme *nouveaux produits naturels*.

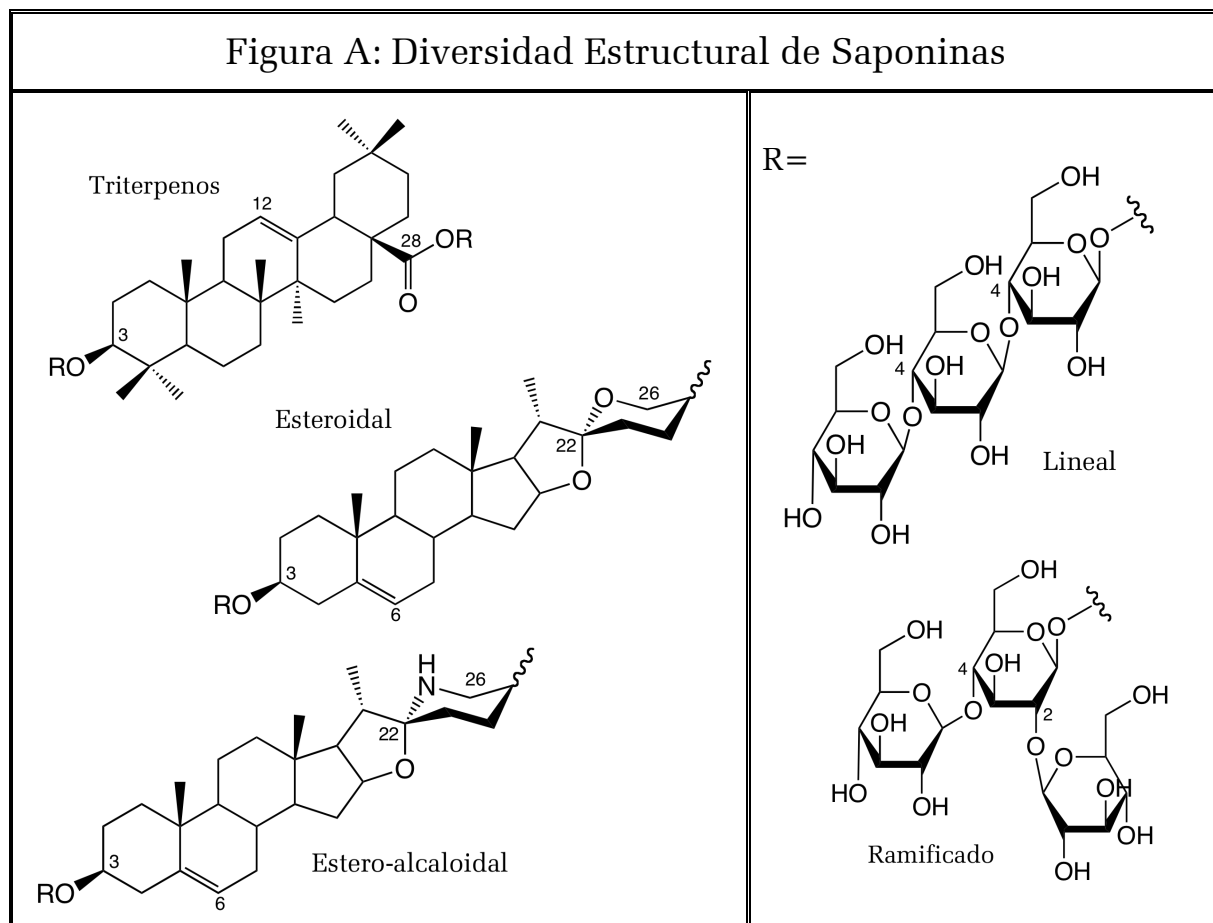
INTRODUCCIÓN.

Los compuestos naturales conocidos como saponinas, son glicósidos de alto peso molecular, constituidos por un “*glicósido*” o “*monosacárido*”, el cual está unido a un esqueleto triterpénico o esteroidal conocido como “*aglicona*” o “*genina*”. Generalmente están presentes en su mayoría (pero no exclusivamente) en el reino vegetal, donde se distribuyen ampliamente ya que se han encontrado hasta el momento en alrededor de 100 familias de plantas superiores, sin embargo, el número de compuestos que se han logrado aislar de organismos marinos se ha incrementado notablemente. Se han encontrado principalmente en el filo marino Echinodermata, particularmente en especies de la clase de Holothuroidea (pepinos de mar) y Asteroidea (estrellas de mar) (Mackie *et al.*, 1977).

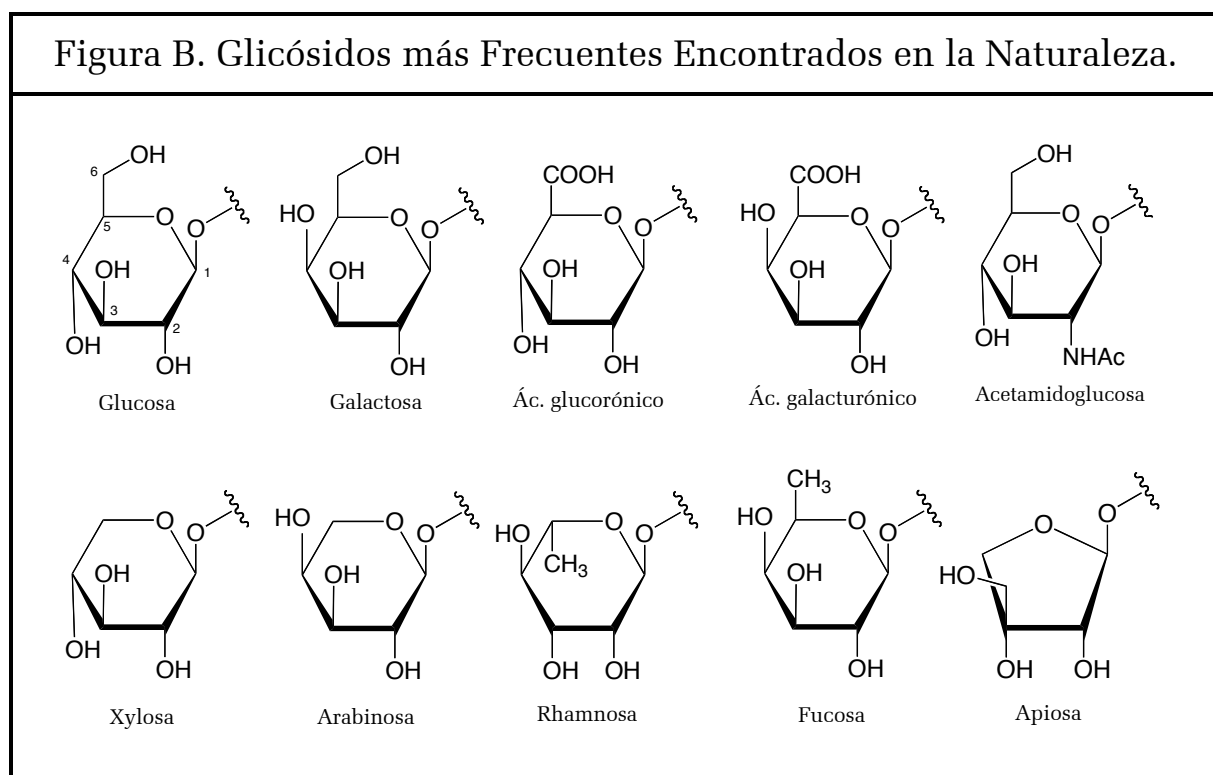
La definición etimológica de estos compuestos se basa en sus propiedades tenso-activas; como es bien sabido, una gran cantidad de saponinas poseen actividad como detergentes. Muchas plantas productoras de saponinas han sido utilizadas por cientos de años como jabones y este hecho se ve reflejado en los nombres comunes que muchas de estas especies poseen, Ej. soaproot (raíz jabonosa) *Chlorogalum pomeridianum*, soapbark (tallo jabonoso) *Quillaja saponaria*, soapberry (baya jabonosa) *Sapindus saponaria*, soapnut (nuez jabonosa) *Sapindus mukurossi*. Entre otras de sus propiedades frecuentes se pueden mencionar la actividad hemolítica y la piscicida. Éstas características, aunque no comunes para todas las saponinas, han sido frecuentemente utilizadas para distinguir a esta clase de compuestos naturales, pero debido a las numerosas excepciones que se han suscitado, estos compuestos ahora se definen más convenientemente por su estructura molecular que por las propiedades antes mencionadas.

Como ya se dijo, estas sustancias consisten de una aglicona, enlazada a una o varias unidades de monosacáridos. Dichas unidades pueden estar unida en uno, dos o tres puntos distintos de una sola molécula o aglicona, lo que les confiere el nombre de “*monodesmosídicas*”, “*bidesmosídicas*” o “*tridesmosídicas*” (proveniente de la palabra griega *desmos* =cadena) según el número de enlaces. De acuerdo a la naturaleza de la genina, dependiendo de la naturaleza del esqueleto carbonado se pueden reconocer dos grandes grupos. El primer grupo consiste en las saponinas esteroidales, las cuales están casi exclusivamente distribuidas entre las angiospermas monocotiledóneas. El segundo grupo está conformado por las saponinas triterpénicas, que son más comúnmente encontradas entre las angiospermas dicotiledóneas. Algunos autores distinguen un tercer grupo, el de las aminas esteroidales, las cuales son clasificadas por otros como saponinas esteroalcaloidales (Fig. A) (Bruneton, 1995).

Tanto las saponinas esteroidales como las estero-alcaloidales, constan de una aglicona de veintisiete carbonos (C_{27}) conocido como esqueleto espirostánico o furostánico, generalmente formado por una estructura de ciclo o seis anillos; mientras que las saponinas triterpénicas están formadas por un esqueleto de treinta carbonos (C_{30}) comprendiendo una estructura generalmente pentacíclica. Todas las saponinas tiene en común el enlace de una o más cadenas de azúcares hacia la aglicona. Las saponinas monodesmosídicas poseen este enlace normalmente ubicado en C-3, las bidesmosídicas con frecuencia presentan el enlace etéreo en C-3 y otro generalmente a través de un grupo éster en C-28 (saponinas triterpénicas) o C-26 (saponina esteroidales), en el caso de las tridesmosídicas no existe un patrón exclusivo y son raramente encontradas. El enlace entre los glicósidos puede ser lineal o ramificado (Fig. A), siendo once (11) el mayor número de unidades hasta ahora encontrado para una saponina (en el compuesto clematósido C, aislado de *Clematis manshurica*, Ranunculaceae), sin embargo, el número más común para la mayoría de las saponinas oscila entre 2 y 5 unidades. Kochetkov y Khorlin (1966), fueron los primeros en introducir el término “*oligósidos*” para aquellos glicósidos que contienen más de 3 ó 4 unidades monosacáridas.



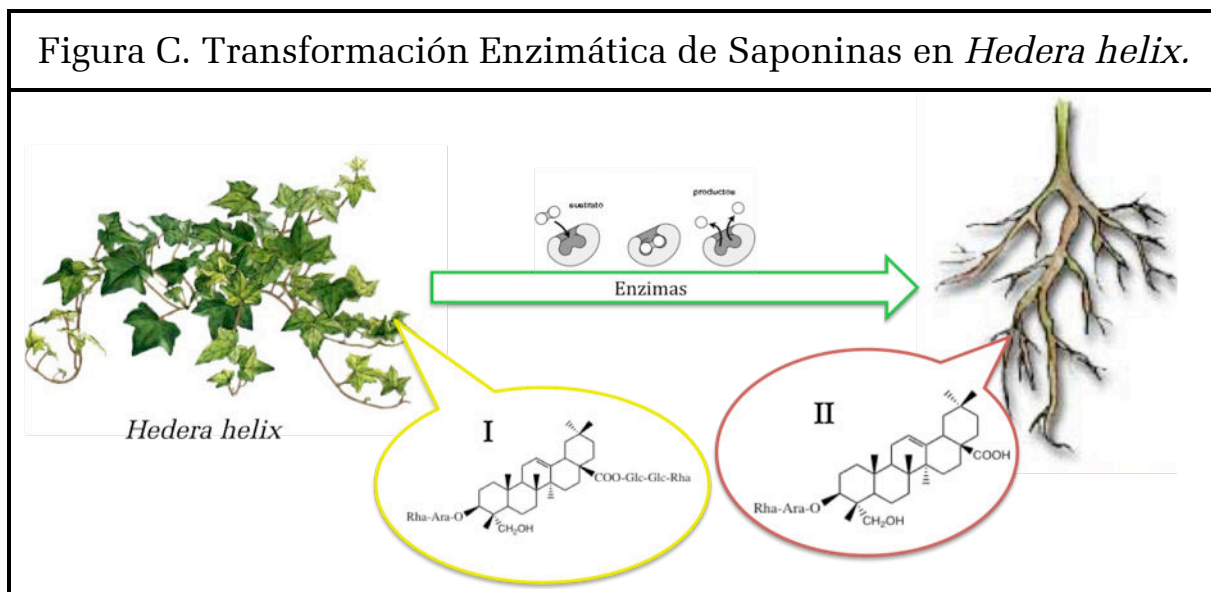
Los monosacáridos más comúnmente encontrados en plantas superiores y las correspondientes abreviaciones establecidas por la IUPAC son: D-glucosa (Glc), D-galactosa (Gal), D-ácido glucorónico (GlcA), D-ácido galacturónico (GalA), L-rhamnosa (Rha), L-arabinosa (Ara), D-xylosa (Xyl) y D-fucosa (Fuc); mientras que para organismos marinos el grupo D-quinovosa (Qui) es bastante usual. Existen también grupos menos comunes como la apiosa (Api), o aminoazúcares como la acetamido glucosa (GlcNAc). Las configuraciones de los monosacáridos pueden darse en las formas α o β y presentarse como piranosidos (*p*) como la glucosa o furanosidos (*f*) como la apiosa (Fig. B) (Sharon, 1982).



Gracias a los adelantos en el campo de la cromatografía y espectroscopía, el número de estructuras nuevas descubiertas ha ido en aumento: del período comprendido entre 1987 a 1990, alrededor de 400 saponinas y casi 100 geninas han sido descritas. Hoy en día, más de 100 sapogeninas esteroideas e incluso un mayor número de triterpénicas han sido identificadas. Esta biodiversidad puede ser multiplicada además, por la composición de cadenas de glicósidos, tipos de glicósidos, patrones y tipos de sustitución. Es bien sabido que incluso una sola especie puede poseer un gran número de saponinas individuales, tal es el caso de las raíces de la alfalfa (*Medicago sativa*) en la que se pueden encontrar al menos 25 tipos distintos de saponinas.

Tanto las estructuras como sus cantidades pueden variar dependiendo del tipo de planta en estudio. Esta biodiversidad estructural y amplio espectro de polaridades hacen del estudio y caracterización de este tipo de producto natural una tarea bastante complicada (Hostettmann and Marston, 1995).

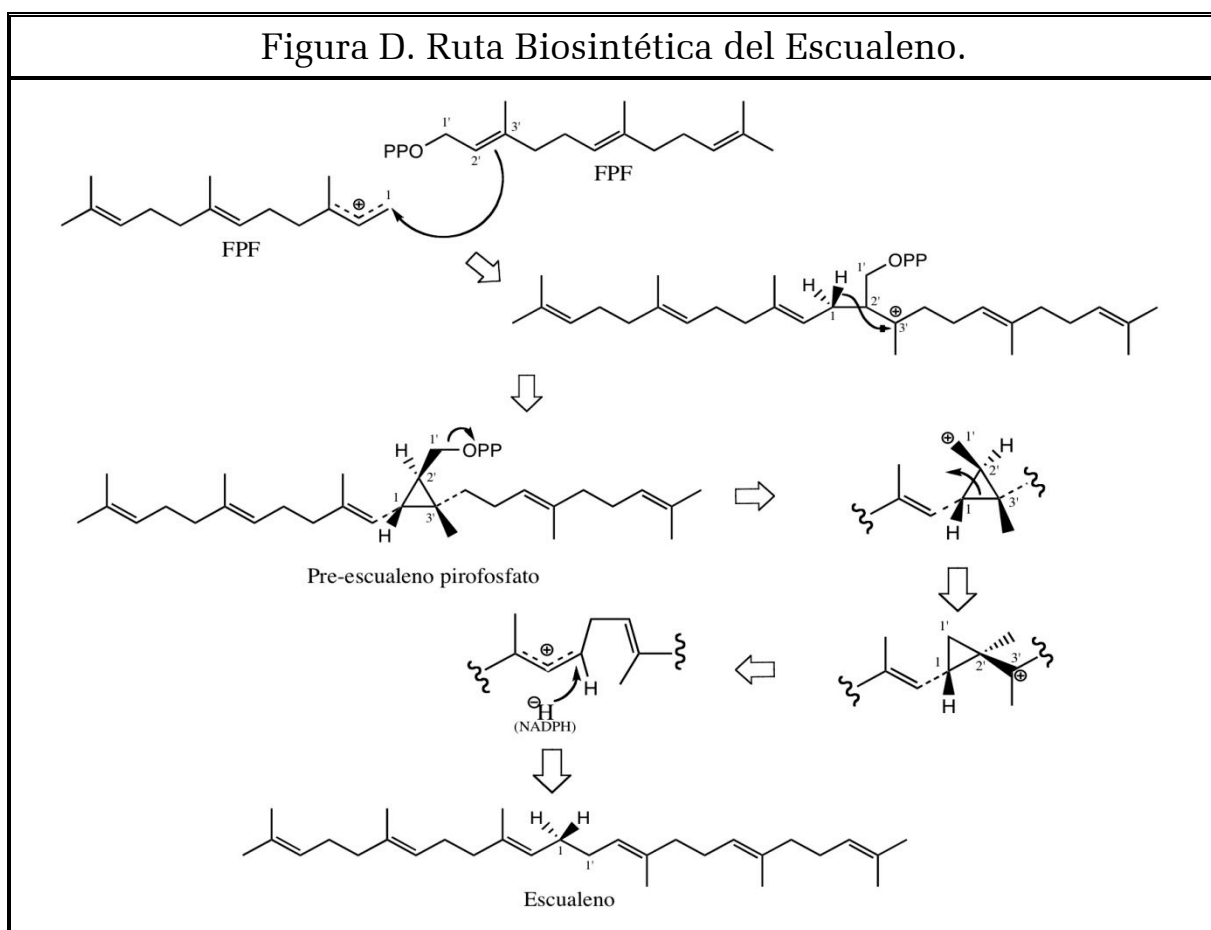
El rol biológico de las saponinas en las plantas ha sido cuestionado en muchas ocasiones y hasta ahora no hay una respuesta satisfactoria del porque su alto contenido en algunas especies (hasta en un 30%). Una teoría explica que éstas protegen a las plantas del ataque de hongos (Défago, 1977), esto basado en el hecho de que existe un incremento en la producción de saponinas en las zonas de la planta propensas al ataque de organismos externos. Se ha propuesto que las saponinas bidesmosídicas (las cuales frecuentemente no poseen las características comunes de las saponinas), existen como un medio de transporte desde los órganos en menor riesgo (hojas) a aquellas partes propensas a ser atacadas por microorganismos (raíces, semillas) (Tschesche and Wulff, 1972). Cuando el tejido de la planta es dañado, las enzimas actúan sobre las saponinas bidesmosídicas y una vez transformadas en sus derivados monodesmosídicos, pueden proveer una defensa contra la invasión de dichos microorganismos. Un ejemplo es la producción de α -hederina (II) a partir de la hederasaponina C (I), componente principal en la especie *Hedera helix* (Araliaceae) e inactiva en contra agentes microbiales (Fig. C).



Mucha de la atención que reciben estas sustancias deriva del hecho de que ciertas estructuras son utilizadas entre otras cosas como material de partida en la hemi-síntesis de esteroides medicinales y además han sido de importancia en el campo de la fitoterapia, farmacéutica y la industria de los cosméticos.

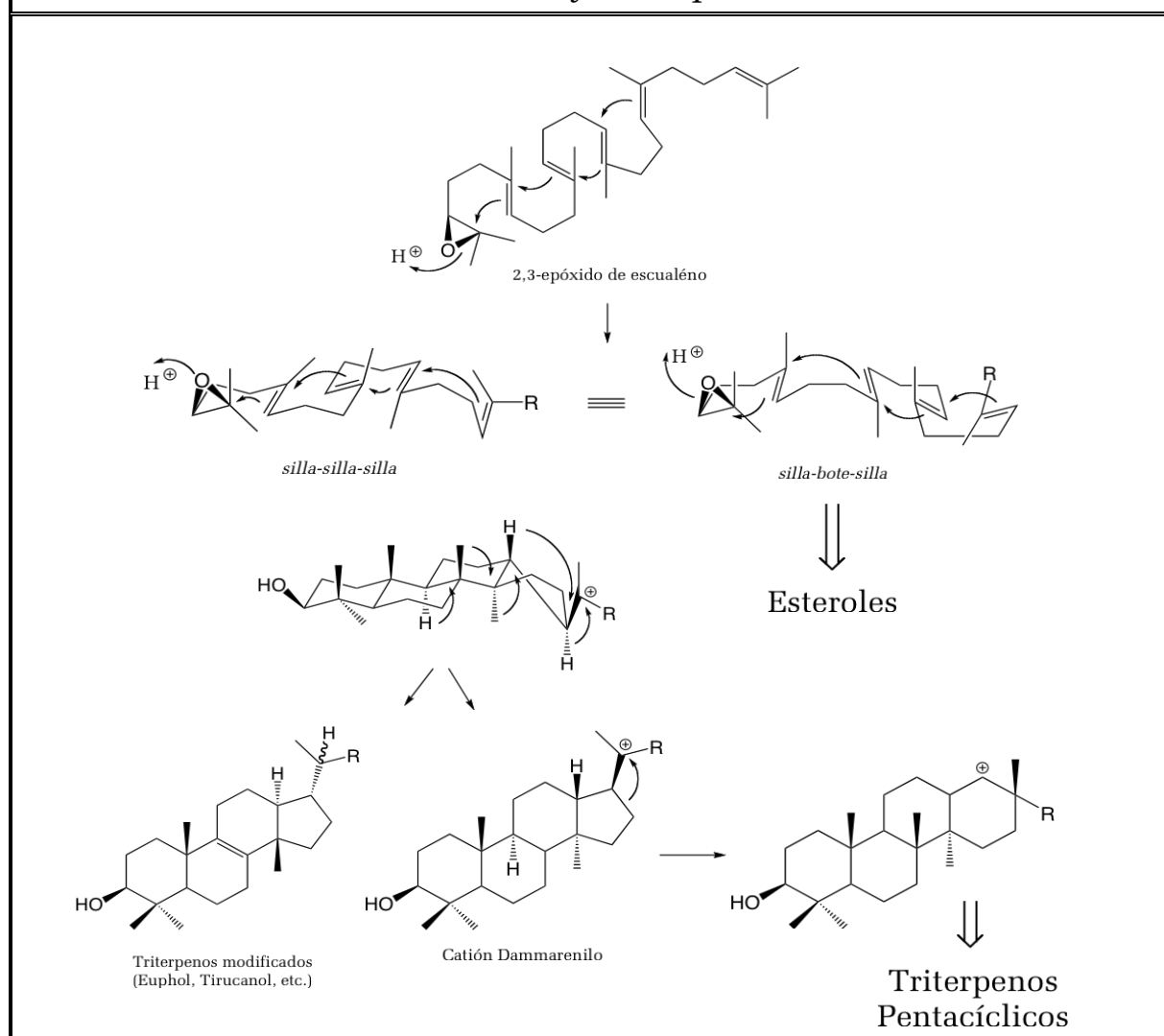
BIOSÍNTESIS DE SAPONINAS EN PLANTAS

La formación biológica de los triterpenos y esteroides se lleva a cabo bajo un mismo precursor biogénico, el cual es denominado “escualeno”. Este compuesto está formado por seis (6) unidades isoprénicas y en contraste con la formación de mono-, sesqui-, di- y sester-terpenos que provienen de la unión cabeza-cola de isoprenos activos (isopentenilpirofosfato IPPF y dimetilalilpirofosfato DMAPF), el escualeno lo hace por medio de la unión cola-cola de dos unidades de farnesilpirofosfato (FPF) C_{15} , (Marcano and Hasegawa, 2002; Harrison, 1985). La bioformación del escualeno ha sido objeto de estudio por muchos grupos de investigación, los cuales han obtenido una serie de conclusiones generales para este proceso, entre estas tenemos que: **a)** La unión de las dos unidades de FPF ocurren cola-cola; **b)** En dicha unión, una de las unidades de FPF invierte su configuración en C-1; **c)** La unidad de FPF que mantiene su configuración durante la unión en el 2^{do} paso, pierde su hidrógeno *pro-S* en C-1; **d)** La presencia de NADPH es necesaria en la formación del escualeno (Fig. D).



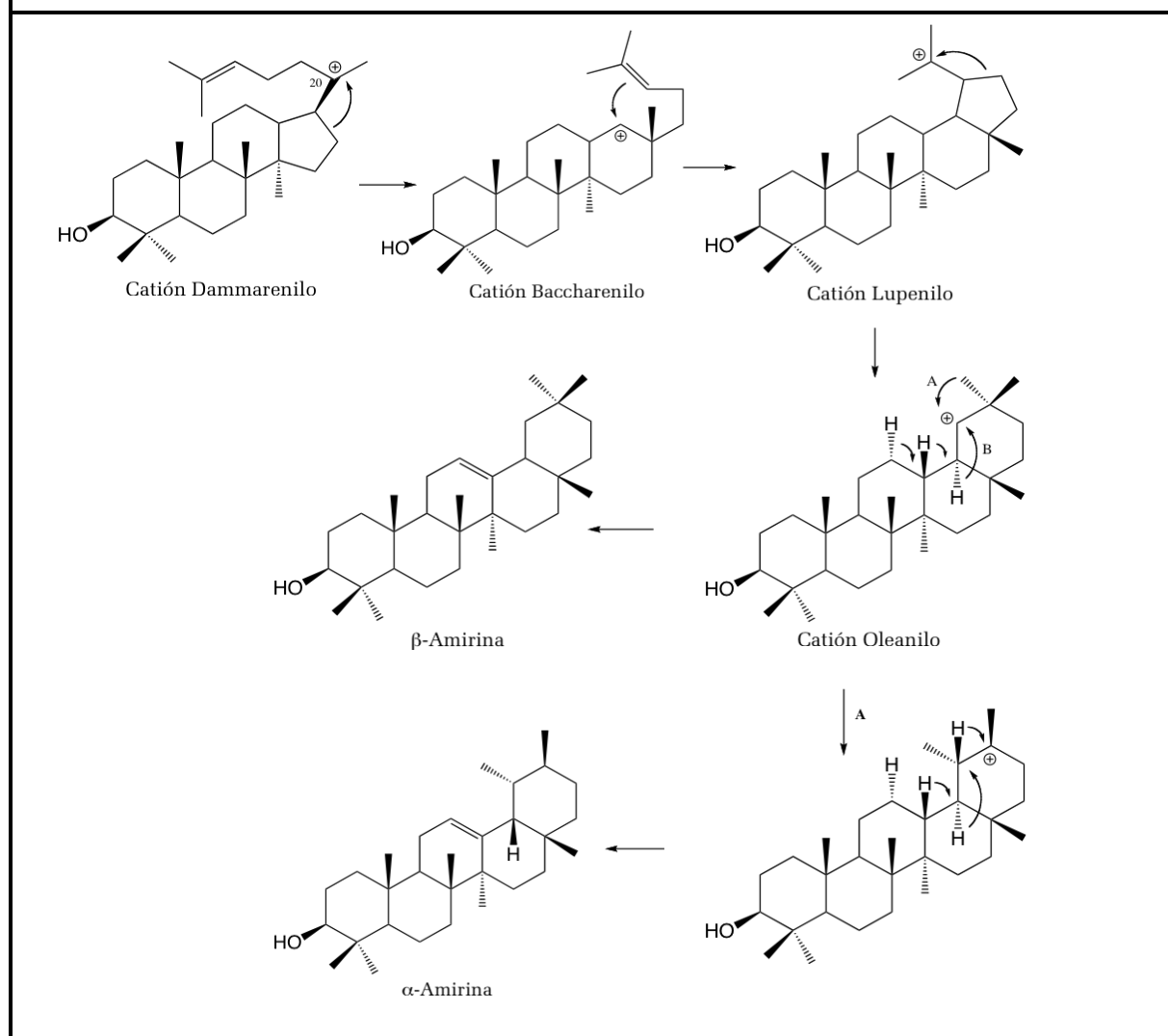
El primer paso confirmado en la formación de saponinas triterpénicas, involucra la ciclación del epoxi-escualeno (2,3-epóxido de escualeno), para dar así, uno de muchos potenciales productos. La gran mayoría de las saponinas encontradas en plantas superiores provienen de los esqueletos del oleanano y dammarano y en menor medida del lupano. Este evento de ciclación constituye también el punto de partida para los esteroides, en el cual, el 2,3-epóxido de escualeno se cicla y convierte en lanosterol (en animales y hongos) o cicloartenol (plantas). Es a partir de la conformación inicial del epóxido de escualeno sobre la superficie enzimática que depende la orientación de la ruta biosintética hacia los esteroides por una lado y hacia los triterpenos por el otro (Fig. E).

Figura E. Ciclación del 2,3-epóxido de escualeno en la Formación de Esteroides y Triterpenos



La ciclación, re-arreglo y desprotonación que conllevan a la formación de los diversos productos en la formación de triterpenos y esteroides, se encuentran bien establecidos (Abe *et al.*, 1993). La ciclación enzimática del 2,3-epóxido de escualeno hacia la formación de esteroides procede en la conformación *silla-bote-silla*, dando origen al catión protosteril (C_{20}), el cual es transformado en cicloartenol o lanosterol. La biosíntesis de los triterpenos por otro lado, involucra la ciclación del sustrato en conformación *silla-silla-silla* para generar el catión tetracíclico dammarenilo (Fig. E). Este puede ser posteriormente transformado en derivados triterpenoides catalizados por la enzima dammaredienol sintasa (DS) [parte del conjunto de las 2,3-oxidoescualen-ciclasas (OSCs)] o entrar en una serie de re-arreglos, generando los triterpenos derivados del lupeol, β - y α -amirina (Haralampidis *et al.*, 2002).

Figura F. Ciclación del Catión Dammarenilo para la Formación de Triterpenos de la Serie del Oleanano, α -Amirina y β -Amirina



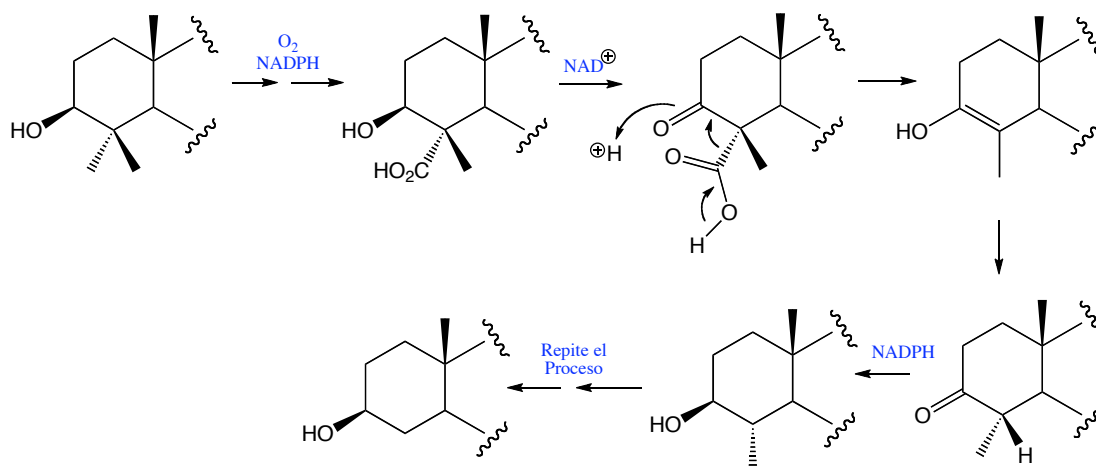
La subsecuente ciclación del catión dammarenilo conlleva a la formación del catión pentacíclico de los oleananos a través de los cationes intermediarios baccharenilo y lupenilo. Finalmente, una serie de trasposiciones [1,2] de hidrógenos, y la eliminación del protón H-12 resulta en la formación de los triterpenos pertenecientes al grupo de la β -amirina o α -amirina, característicos por la presencia del doble enlace Δ^{12} . Se han propuesto para la formación de la β -amirina dos trasposiciones [1,2] de hidrógenos: la primera del C-18 a C-19 y la segunda de C-13 a C-18; en la formación de α -amirina son tres las trasposiciones propuestas: de C-19 a C-20, de C-18 a C-19 y de C-13 a C-18 (Eschenmoser *et al.*, 1955; Barton *et al.*, 1971) (Fig. F). Estos mecanismos han sido confirmados en experimentos de incorporación isotópica en especies como *Rabdosia japonica* (Labiatae) (Seo *et al.*, 1988).

Una segunda manera de doblarse de la cadena del escualeno, da origen a un segundo isómero tetracíclico el cual se diferencia al de los dammaranos en la estereoquímica de los carbonos 8, 9, 13, 14 y 17, este esqueleto recibe el nombre de protostano el cual precede a todos los esqueletos de esteroides (Harrison, 1988; 1990) y a su vez, sufre una serie de modificaciones para formar los núcleos finales de los lanostanos (animales y hongos) y cicloartanos (plantas superiores y algas). Es a partir de este último, que se originan los esqueletos del espirostano y furostano, que constituyen los esqueletos base que conforman la gran mayoría de saponinas esteroidales.

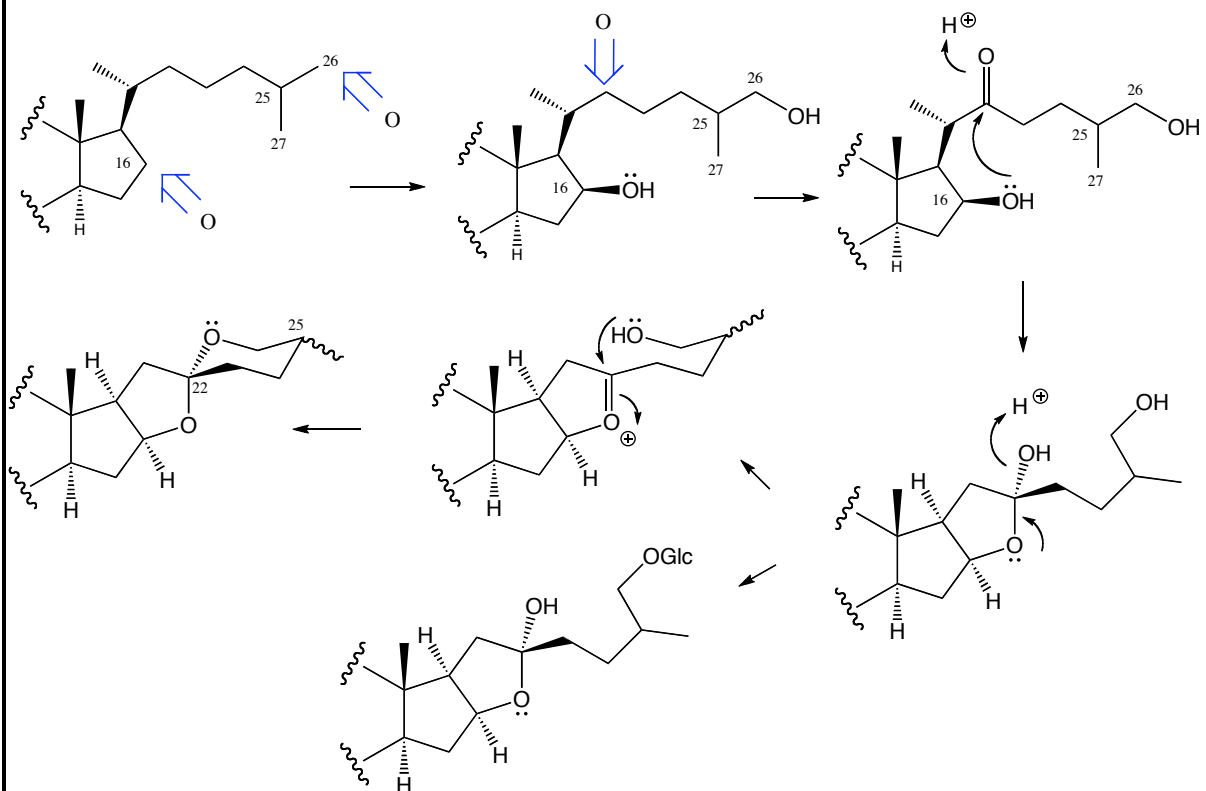
La transformación biosintética que da lugar al esqueleto espiroestánico a partir del cicloartenol procede a través de una serie de pasos. El metilo en C-14 es el primero en perderse y es removido en forma de ácido fórmico, la reacción es catalizada por la enzima P-450 mono-oxigenasa, mediante la cual, se logran las reacciones de oxidación que dan origen al derivado aldehídico en C-14; la pérdida del formaldehído genera el dieno $\Delta^{8,14}$ (probablemente por un rompimiento homolítico del aducto tipo peróxido) y el producto desmetilado es obtenido finalmente gracias a un paso de reducción promovido por NADPH. La pérdida de los metilos en C-4 ocurre secuencialmente, a través de un proceso de descarboxilación, el cual ocurre mediante la oxidación del -OH en C-3 a cetona para generar así el intermediario β -ceto ácido, en esta secuencia el enolato se regenera a cetona y el metilo remanente en C-4 retoma la configuración ecuatorial (α) la cual es más favorable [Fig. G(a)]. Por último, el carbono espirocetálico se forma a partir de la cadena lateral mediante una serie de reacciones de oxigenación, hidroxilando el C-16 y uno de los metilos terminales, así como la formación de una cetona en el C-22. Este intermediario es luego convertido en un hemiacetal mediante un ataque nucleofílico del grupo hidroxilo en C-16 hacia la cetona en C-22, finalmente transformándose al esqueleto final [Fig. G(b)] (Dewick, 2002).

Figura G. Formación de Esqueletos de Espirostano y Furostano a partir del Cicloartenol

a. Pérdida de metilos en C-4:



b. Formación del esqueleto espiroestánico y furoestánico:



La biosíntesis de saponinas desde la ciclación del 2,3-epóxido de escualeno, involucra una serie de modificaciones adicionales. Éstas modificaciones pueden incluir una gran variedad de eventos de oxidación y sustitución, y la adición de azúcares en diferentes posiciones del esqueleto carbonado. Muy poco se sabe acerca del grupo de enzimas requerido en esta elaboración. No obstante, una característica común compartida por todas las saponinas es la presencia de una cadena de azúcares unida a la aglicona en la posición C-3 del hidroxilo. El entendimiento de este proceso de glicosidación (el cual se cree que ocurre en la fase terminal de la biosíntesis de las saponinas) es de mucha importancia, ya que la presencia de un azúcar en la posición C-3 es crítica para la actividad biológica de muchas estructuras (Roddick, 1974; Osbourn, 1996). Se han logrado progresos substanciales en la caracterización de las glicosil-transferasas (Gtasas) en saponinas, y las evidencias experimentales sugieren que la cadena de oligosacáridos se origina por adición secuencial de una sola molécula de azúcar hacia la aglicona (Kintia *et al.*, 1974; Wojciechowski, 1975; 1983).

Existen solo algunos reportes acerca de la presencia de glicosil-transferasas (Gtasas) en el proceso formación de derivados monosacáridos en diversas agliconas triterpénicas. En los casos en que se estudió la localización de estas enzimas a nivel subcelular, se observó que en la gran mayoría de las veces se encontraban presentes en los microsomas (Kalinowska *et al.*, 2005). Se sabe que estas enzimas son bastante específicas, un ejemplo es la UDPGlcUA (Uridin-5-Difosfato-Glucosa Glucuronosil-transferasa), que cataliza eficientemente los triterpenos del tipo oleanano, pero falla al hacerlo con compuestos del tipo β -amirina.

El estudio de la incorporación de azúcares en esteroides posee más de una década y hasta ahora varias Gtasas han sido aisladas, purificadas y caracterizadas, se sabe además que estas también son altamente específicas para cada tipo de esteroide. La primera enzima en catalizar efectivamente la glucosidación de un esteroide fue la UDPGlc: nuatigenina Gtasa, la cual fue aislada de las hojas de avena (*Avena sativa*) (Kalinowska and Wojciechowski, 1986, 1987) y se logró hacer exitosamente en el C-3 de la nuatigenina, un raro esqueleto esteroideal representativo de esta especie y del cual derivan las saponinas “*avenósidos*”.

Hasta ahora, los estudios indican que las enzimas capaces de catalizar la adición de moléculas de azúcar en saponinas son bastante comunes en las plantas, sin embargo, la relación entre estas diversas enzimas no se podrá esclarecer hasta que una mayor cantidad de glicosil-transferasas sean purificadas y sus genes relevantes clonados. El reto será entonces caracterizar las otras enzimas, requeridas para los subsecuentes pasos de glicosidación que dan origen a la cadena de oligosacáridos.

PROPIEDADES BIOLÓGICA Y/O FARMACOLÓGICAS DE LAS SAPONINAS

Algunas de las propiedades naturales de las saponinas han sido utilizadas desde hace cientos de años. Las primeras investigaciones de actividad biológica fueron dirigidas hacia mezclas, pero con la introducción de métodos sofisticados de separación y técnicas de elucidación, la tendencia hoy en día es trabajar con compuestos puros o mezclas puras. Aunque ciertas propiedades de las saponinas se encuentran bien definidas, algunas veces los efectos son difíciles de evaluar y en otros casos, las respuestas se manifiestan solo en altas dosis. Para este tipo de compuestos, existen propiedades comunes sin importar la estructura, estas son:

A.- PROPIEDAD HEMOLÍTICA:

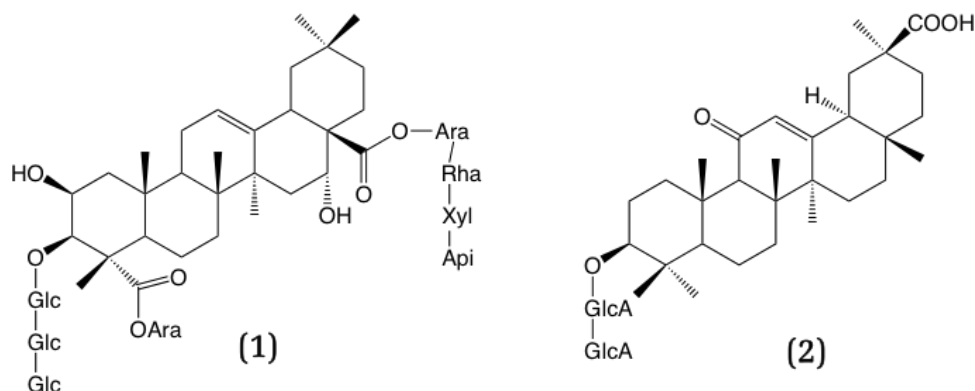
La habilidad que poseen las saponinas de causar la hemólisis de la sangre fue reportada por primera vez por Kobert en 1887. Se observó que bajas concentraciones de saponinas eran capaces de destruir la membrana eritrocítica, causando una liberación de la hemoglobina. El fenómeno envuelve una reducción de la tensión superficial entre la fase acuosa y la lipídica, causando la emulsión de los lípidos y su consecuente partida de la membrana. La actividad varía según la estructura del glicósido, siendo las saponinas monodesmosídicas las más fuertes.

B.- FORMACIÓN DE ESPUMAS:

Es la característica más común que posee este tipo de sustancias y el fenómeno ha sido utilizado como test para advertir la presencia de las mismas (Steiner and Holtzem, 1955). Pese a esto, debe prestarse mucha atención ya que no todas las saponinas forman espuma en soluciones acuosas y además de esto existen otros compuestos capaces de formar espumas, lo que puede llevar a conclusiones erróneas. El mecanismo de formación de espuma no es muy claro aún y no se sabe si es debido al carácter anfífilico que estas poseen.

C.- PRINCIPIOS AMARGOS:

Muchas saponinas poseen carácter amargo. Las semillas de la quinoa (*Chenopodium quinoa*) por ejemplo, contiene saponinas amargas las cuales deben removerse antes de ser cocinadas (Mizui *et al.*, 1988). De manera similar las soyasaponinas parcialmente acetiladas son responsables del sabor amargo y astringente de los granos de soya (Kitagawa *et al.*, 1988). Un tridesmósido del ácido zahnico (**1**), obtenido de la alfalfa (*Medicago sativa*), es el compuesto más amargo e irritante para la garganta hasta ahora encontrado en esa especie. Pese a esto, existen excepciones: la glicirricina (**2**), principal saponina del regaliz por ejemplo, es cincuenta veces más dulce que el azúcar.



Algunos de los atributos de las saponinas se conocen desde hace mucho tiempo, otros han sido recientemente descubiertos. Un ejemplo es la actividad anti-edulcorante y la útero-constrictora. Entre la gama de actividades más importantes que se han encontrado para este tipo de compuesto se puede mencionar:

- Actividad Citotóxica y Antitumoral
- Actividad Antibacterial/Antimicrobial
- Actividad Antiinflamatoria
- Actividad Moluscicida
- Actividad Antifúngica

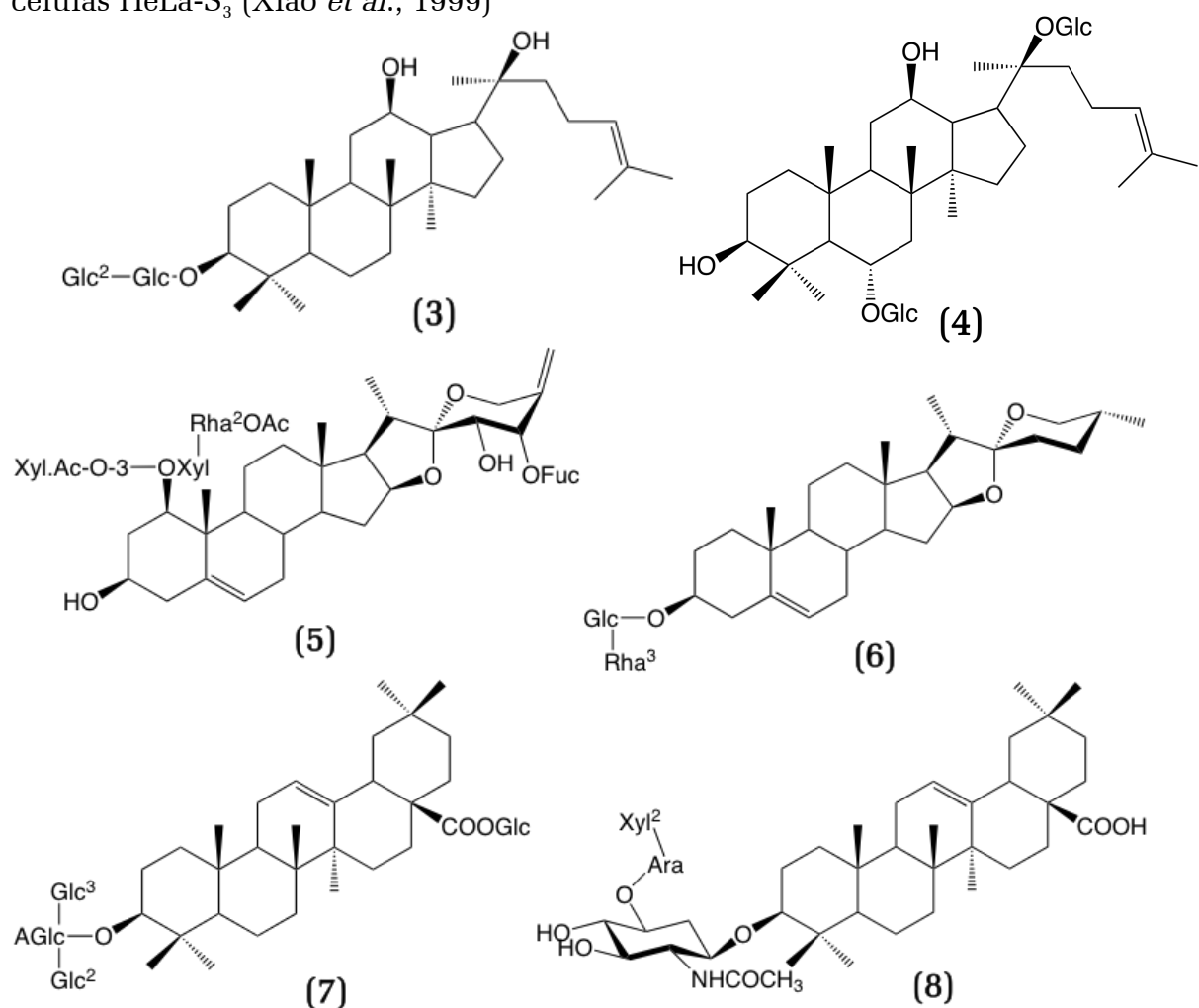
ACTIVIDAD CITOTÓXICA Y ANTITUMORAL:

La acción citotóxica de muchas saponinas se encuentra bien documentada (Tschesche and Wulff, 1972; Sparg *et al.*, 2004; Lacaille-Dubois, 2005), experimentos “*in vivo*” han sido llevados a cabo en contra de varias líneas celulares, pero la alta toxicidad de las saponinas ha sido el factor principal en el impedimento de las aplicaciones prácticas de estas sustancias. Varias saponinas de especies como *Saponaria officinalis*, *Myrsine africana*, *Hedera helix* y *Entada phaseoloides* han sido reportadas como sustancias con propiedades antitumorales, sin embargo, sus aplicaciones se han complicado debido su toxicidad (Tschesche and Wulff, 1972). A pesar de esto, se han propuesto desarrollos clínicos de algunas saponinas tales como los gingenósidos Rg₁ (3) y Rb₁ (4), los cuales han resultado activos en contra del cáncer de estómago (Hayasi and Kubo, 1980).

Tran y colaboradores en 2001, probaron saponinas del tipo espirostanol y furostanol, aisladas de las raíces y rizomas de *Dracanea angustifolia* (Dracaenaceae), con la finalidad de probar el efecto antiproliferativo en células de carcinoma de colon 26-L5 en ratones, fibrosarcoma humano HT-1080 y melanoma B-16 BL6.

Tres de los compuestos probados (**5**), mostraron potente actividad antiproliferativa contra células de fibrosarcoma HT-1080 (IC_{50} = 0,2 a 0,6 μ M), resultados comparables a la acción de la doxorubicina (Tran *et al.*, 2001). Otros glicósidos obtenidos de los tallos de *Dracanea draco*, conocidos como “*draconinas*” (**6**) han mostrado actividad significativa en contra de células de leucemia LH-60 con valores IC_{50} = 2,7 a 9,7 μ M, en períodos de 72 horas (González *et al.*, 2003).

Una saponina triterpénica (**7**) aislada de las raíces de *Aralia dasyphylla* (Araliaceae), mostró actividad citotóxica muy fuerte en contra de células kB (carcinoma humano de naso-faringe) y HeLa-S₃ (carcinoma cervical). Los valores IC_{50} para este compuesto fueron de 1,2 μ g/mL en células kB y 0,02 μ g/mL para células HeLa-S₃ (Xiao *et al.*, 1999)

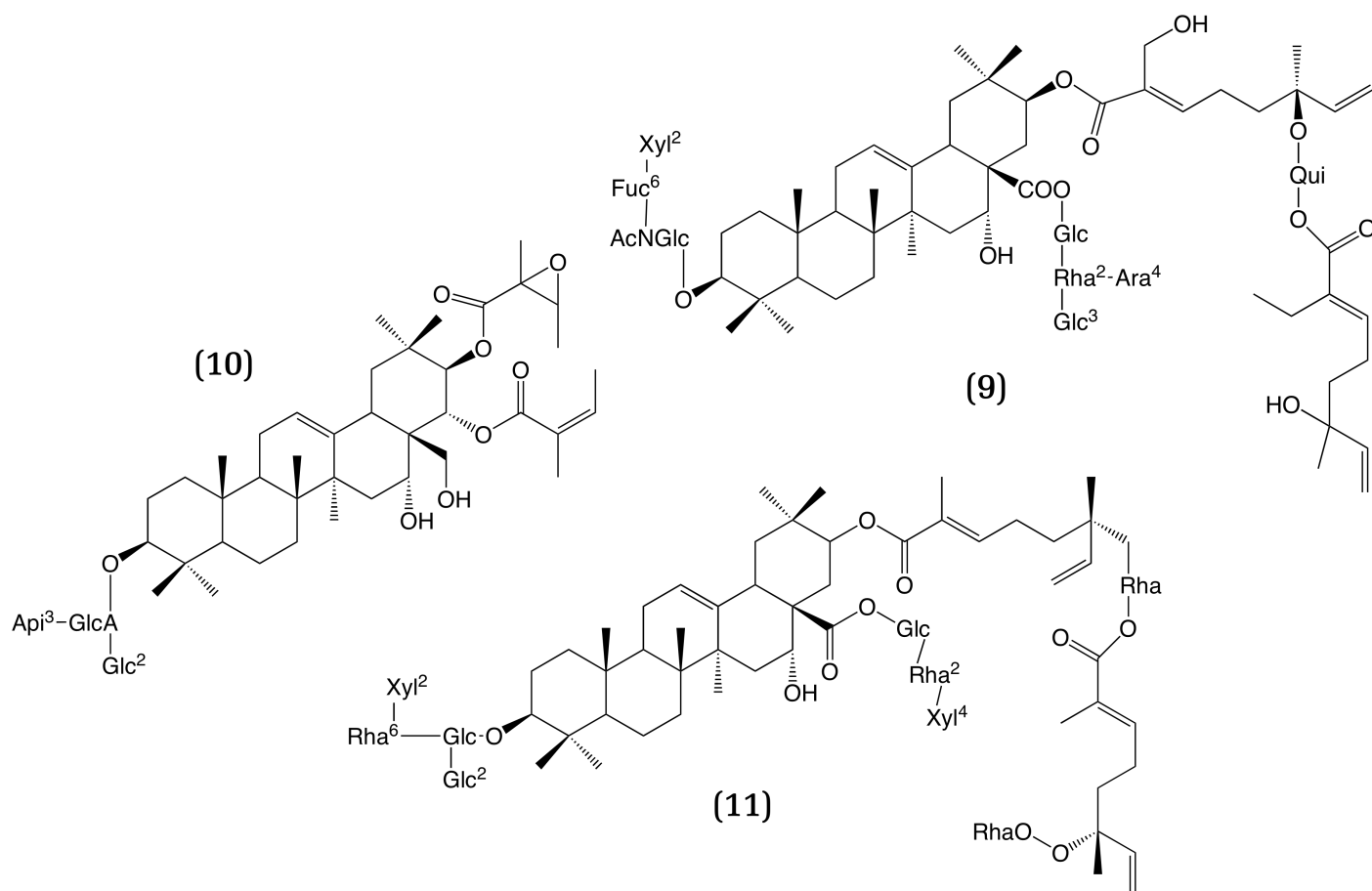


Compuestos aislados del extracto etanólico de *Albizia subdimidiata* (Leguminosae) se probaron en contra de células cancerígenas de ovario humano A2780. El compuesto albiziatriósido A (**8**), mostró fuerte acción citotóxica en contra de esta línea celular (IC_{50} = 0,9 μ g/mL) (Abdel-Kader *et al.*, 2001).

De *Acacia victoriae* (Leguminosae) se han obtenido saponinas con actividad antitumoral. Una nueva, la avicina G (**9**), presentó fuerte actividad citotóxica “*in Vitro*” en contra de células T de leucemia humana. Los valores IC_{50} fueron de 0,58 $\mu\text{g/mL}$ y 0,22 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (Jayatilake *et al.*, 2003).

Un estudio bio-dirigido del extracto etanólico de raíces de *Dodonea viscosa* (Sapindaceae) conllevó al aislamiento de los llamados dodoneósidos A y B (**10**), los mismos presentaron actividad en contra de células A2870, con índices IC_{50} de 0,79 y 0,70 μM respectivamente (Cao *et al.*, 2010). Otras saponinas triterpénicas (**11**) han exhibido fuerte citotoxicidad en contra de esta línea celular (IC_{50} = 0,6 a 1,5 $\mu\text{g/mL}$) y se han obtenido de *Albizia gummifera* (Leguminosae) (Cao *et al.*, 2007).

Algunos trabajos realizados, han mostrado algún tipo de relación estructura-actividad (R.E.A) en cuanto a la actividad citotóxica. Tommasi y colaboradores realizaron pruebas a diez (10) saponinas triterpénicas, obtenidas de *Trevesia palmata* (Araliaceae) y activas en contra de ciertas líneas celulares. Los resultados indicaban que el grupo hidroxilo en C-28 y los azúcares en la parte esterificada de la misma posición juegan un papel importante en la activación de esta propiedad (De Tommasi *et al.*, 2000).

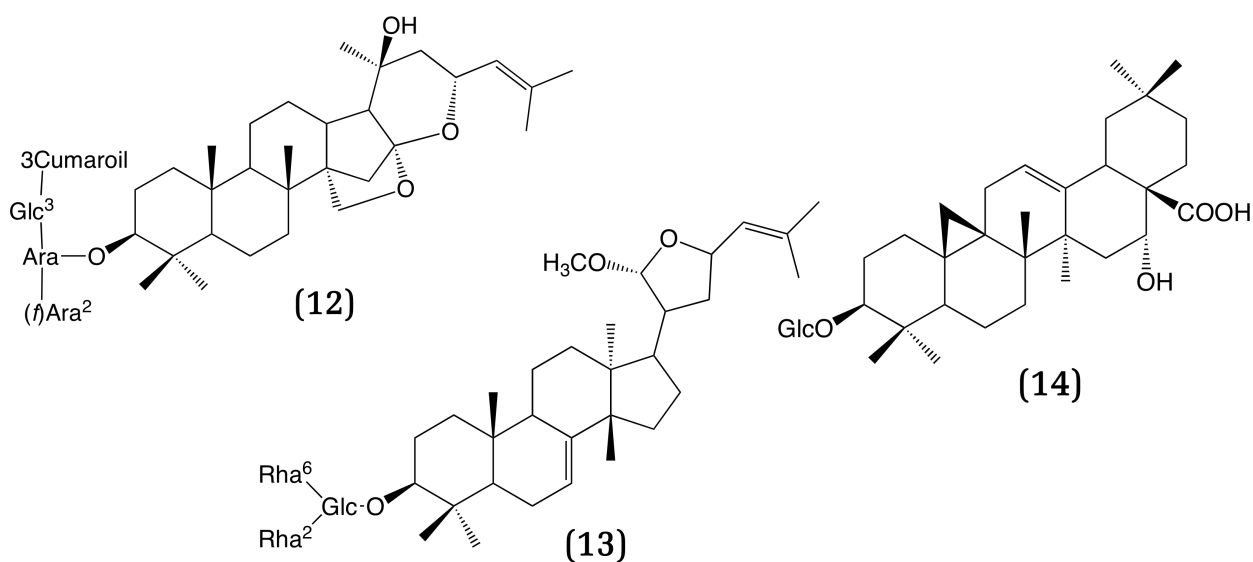


ACTIVIDAD ANTIMICROBIAL /ANTIBACTERIAL:

La jujubogenina (**12**) es un glicósido aislado de la especie *Colubrina retusa* (Rhamnaceae), la misma demostró poseer actividad antimicrobacterial probada en contra de *Mycobacterium intracellulare*. Los valores MIC para este derivado fueron de 10 µg/mL (ElSohly *et al.*, 1999).

De las agallas de *Sapindus mukorossi* (Sapindaceae), se han obtenido saponinas de la serie del tirucallano. Estos compuestos, entre los que se encuentra la sapinmusaponina J (**13**), mostraron mediana actividad en la inhibición del TPA, en ensayos de activación del virus Epstein-Barr (Huang *et al.*, 2006).

Otros compuestos como el ácido 9β-25, ciclo-3-O-(β-D-glucopiranosil)-echinosistóico (**14**), obtenido del extracto etanólico de *Symplocos paniculata* (Symplocaceae), ha presentado significativa actividad antimicrobacterial, analgésica y antiinflamatoria (Semwal and Semwal, 2011).



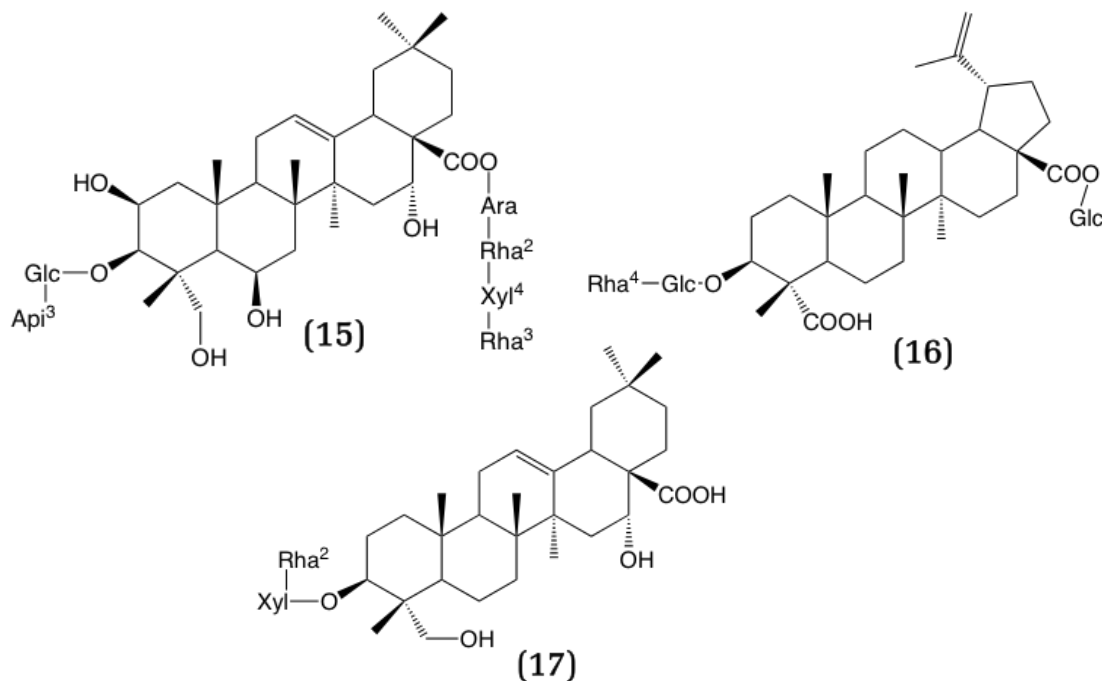
ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA:

Una saponina obtenida de *Crossopteryx febrifuga* (Rubiaceae), conocida como crossoptina B (**15**) ha demostrado actividad anti-inflamatoria probada en ratas, la cual se cree podría ser aún más efectiva que la exhibida por compuestos como la aspirina y la fenilbutazona (Foresta *et al.*, 1986).

El bidesmósido fruticesaponina B (**16**), que posee una sola unidad monosacárida, fue obtenido de la especie *Bupleurum fruticosens* (Apiaceae), y ha mostrado la más alta actividad antiinflamatoria hasta ahora vista para una saponina, en ensayos de edemas producidos en ratones. (Just *et al.*, 1998).

Otros estudios realizados a saponinas de la misma especie han presentado actividad antiinflamatoria en contra de edemas inducidos por TPA en ratones así como inflamaciones de la piel (Navarro *et al.*, 2001).

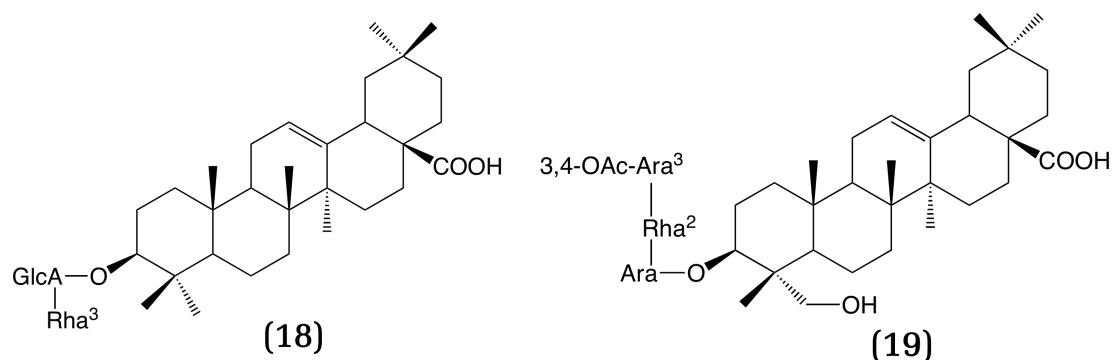
Li y colaboradores, presentaron el aislamiento de dos saponinas triterpénicas de los tallos de *Kalopanax pictus* (Araliaceae). Tanto la kalopanaxsaponina A como el pictósido A (17) presentaron una significativa acción antiinflamatoria en dosis orales de hasta 50 mg/mL (Li *et al.*, 2002).



ACTIVIDAD MOLUSCICIDA:

El mecanismo en el que opera este tipo de toxicidad involucra mayormente la capacidad de las saponinas de ligarse a las membranas de las agallas, lo cual resulta en un incremento en la permeabilidad y en la subsecuente pérdida de importantes electrolitos fisiológicos. La toxicidad en caracoles (actividad moluscicida) ha estimulado gran interés, ya que se busca controlar enfermedades como la schistosomiasis, que es una afección tropical que aflige a 250 millones de personas a nivel mundial. Los caracoles de los géneros *Biomphalaria*, *Bulinus* y *Oncomelania*, están directamente implicados en la transmisión de esta afección ya que actúan como huéspedes intermediarios en el ciclo de vida de este parásito (Mott, 1987). Ciertas plantas resultan muy efectivas eliminando estos caracoles y muchas de ellas han llegado incluso a etapas de pruebas de campo en zonas infectadas (Hostettmann, 1989), aquellas que contienen saponinas en su composición se han visto como las más prometedoras, entre estas están la *Phytolacca dodecandra* (Phytolaccaceae) y *Swartzia madagascariensis* (Fabaceae).

La actividad de saponinas como los rhamnosil glucorónidos **(18)** de *S. madagascariensis*, poseen actividad que incluso llega a compararse con compuestos moluscicidas de origen sintético (Borel and Hostettmann, 1987). Esta especie Africana es una de las más prometedoras para el control de la schistosomiasis, ya que cada árbol puede contener alrededor de 30 o 40 Kg de vainas y el extracto acuoso obtenido de éstas, exhibe una significativa actividad moluscicida en contra de las especies *Biomphalaria glabrata* y *Bulinus globosus* en disoluciones de hasta 100 mg/L de vainas molidas.



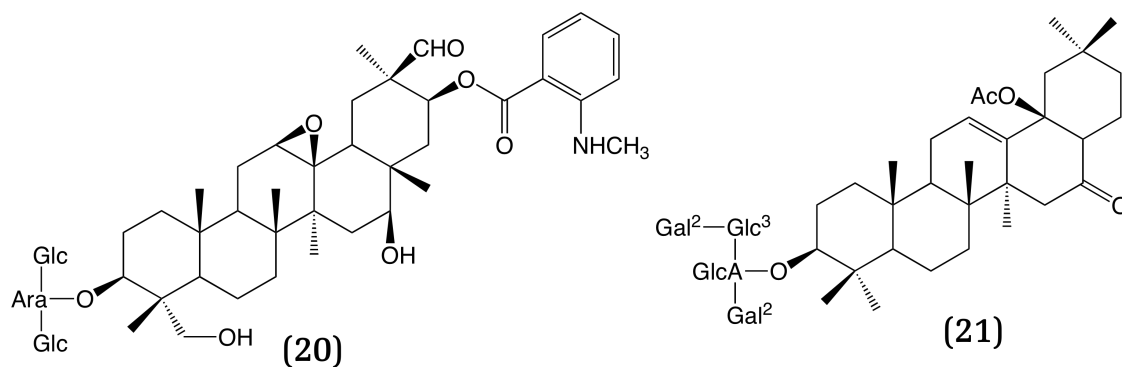
Algunas saponinas de la serie de la hederagenina, aisladas de la planta *Sapindus mukorossi* (Sapindaceae) poseen efecto moluscicida en contra del caracol *Pomacea canaliculata* conocido como “manzana dorada”, el cual se ha convertido en una peste para los sembradíos de arroz y otros granos acuáticos en Taiwan y otras regiones de Asia. El glicósido de la hederagenina **(19)** al ser probado, produjo la mortalidad de este caracol entre el 70-100%, en concentraciones de hasta 10 ppm, utilizando niclosamida como control (Huang *et al.*, 2003).

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA:

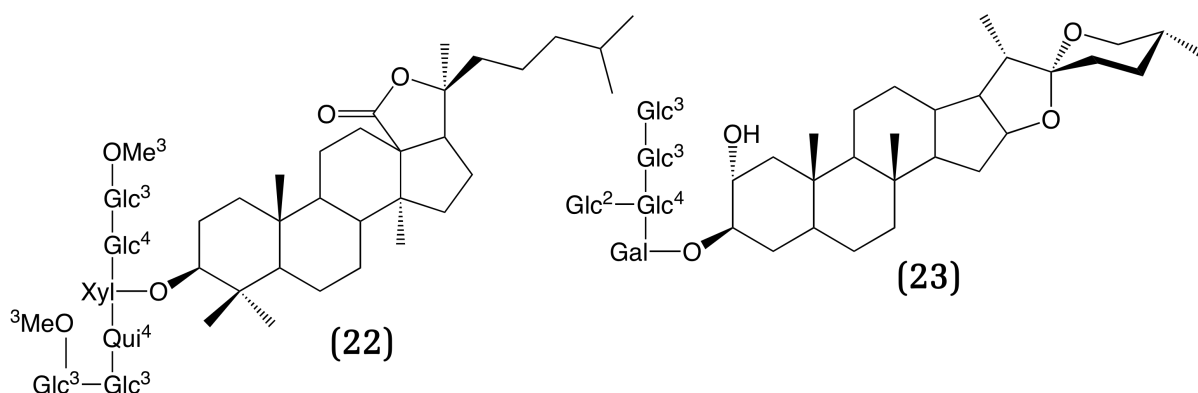
Las raíces de la avena contienen una serie de triterpenos trisacáridos entre los cuales está la avenacina A-1 **(20)**; se cree que estos compuestos protegen a la planta en contra de la enfermedad conocida como “take all”, causada por el hongo *Gaeumannomyces graminis* (Crombie *et al.*, 1987). Dos saponinas obtenidas de *Camellia japonica* (Theaceae), la camellidinas I **(21)** y II, poseen actividad en contra de *Pyricularia oryzae* (Nagata *et al.*, 1985). Este tipo de fungitoxicidad es bastante importante ya que este organismo afecta las cosechas de arroz.

La actividad antifúngica de los glicósidos triterpénicos de la serie del holostano (holothurinas de organismos marinos) también ha sido observada (Shimada, 1969). El crecimiento de varias cepas de hongos se ha visto considerablemente inhibido por estas saponinas y sus derivados, con valores MIC de hasta 0,78 µg/mL.

El Bivittósido D (**22**) aislado del pepino de mar *Bohadschia bivitatta*, ha mostrado fuerte acción en contra de *Penicillium chrysogenum*, *Trichophyllum rubrum* y *Candida utilis*. Se observó además que la presencia de un OH- α en posición C-12 (en holoturinas) y la secuencia lineal de los carbohidratos al parecer son esenciales para este tipo de actividad (Kitagawa *et al.*, 1989).

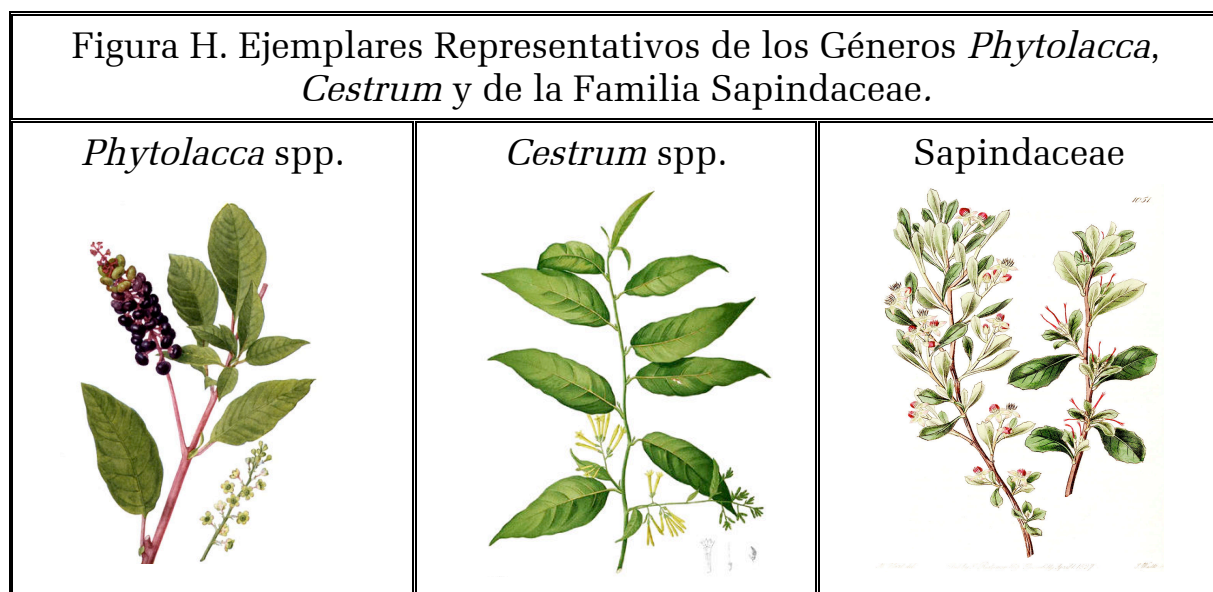


El compuesto CAY-1 (**23**), es una saponina esteroidea obtenida de los frutos de *Capasicum frutescens* (Solanaceae) la cual demostró ser un potente fungicida. Este glicósido esteroideo mostró valores de mortalidad LD₉₀ que van entre 3 y 20 μ M en contra de especies de *Aspergillus* y valores IC₅₀ de 9,5 μ M y 6,2 μ M en contra de *Pneumocystis carinii* y *Candida albicans* respectivamente (de Lucca *et al.*, 2002).



FITOQUÍMICA DE LOS GÉNEROS *CESTRUM*, *PHYTOLACCA* Y
GANOPHYLLUM

Phytolacca, es uno de los 41 géneros que conforman la familia de las Phytolaccaceae, éste comprende alrededor de 70 especies, las cuales se desarrollan en regiones tropicales y templadas distribuidas a lo largo de todo el Sur- y Norteamérica, el este de Asia, Nueva Zelanda (especialmente en las regiones neotropicales) y Sudáfrica. De manera general, se presentan en forma de hierbas, arbustos o árboles anuales o perennes, sus hojas son alternas, simples y pecioladas con las inflorescencias ubicadas de forma axilar-terminal en forma de racimos, panículas o espigas las cuales contienen de 5 a 100 flores que a su vez contienen de 5 a 8 sépalos unidos en la base e imbricados, con ovarios súpero o subínfero de 1 a 16 carpelos y 6 a 12 lóculos; poseen frutos achatados en forma de bayas, capsulas o drupas, localizados en el ápice y contienen entre 6 y 12 semillas por bayas (Fig. H) (Dequan and Larsen, 2003).



El género *Cestrum* (familia Solanaceae) por su parte, comprende alrededor de unas 300 especies, las cuales son nativas de las regiones cálidas tropicales y subtropicales de América (Mimaki *et al.*, 2001). Por lo general son especies ornamentales que se presentan en forma de arbustos de 1 a 4 metros, mayormente perennifolias con hojas simples y pecioladas; inflorescencias terminales o axilares, racemosas o paniculadas, cáliz campanulado o tubular con ovario bilocular. Fruto en baya (generalmente jugoso) y de forma ovoide, de color blanco o negruzco que contiene una o varias semillas (Fig. H). Algunas especies son tóxicas (Reiche, 1910).

Ganophyllum por otro lado, esta conformado por aproximadamente cuatro especies. Las plantas de este género pertenecen a la familia Sapindaceae, que cuenta con unos 137 géneros y unas 1.700 especies, distribuidas en regiones tropicales y subtropicales de Asia, Australia, algunas regiones de África y en casi todo el continente Americano. Se presentan por lo general como árboles o arbustos raramente herbáceos de hojas alternas, usualmente estipuladas con flores pequeñas, uni-sexuales, de 5 pétalos y sépalos agrupados de forma paniculada, el fruto puede ser carnoso o seco y generalmente es en forma de drupa o baya (Fig. H). Los estudios fitoquímicos del género son bastante escasos, sin embargo, los reportes de saponinas dentro de la familia Sapindaceae han sido muy numerosos (Delaude, 1993).

El estudio fitoquímico de estos géneros ha sido de gran importancia en el entendimiento de sus propiedades en el campo de la medicina tradicional y la farmacología. A continuación, se presenta un resumen de las principales saponinas aisladas y caracterizadas así como la evaluación de sus propiedades biológicas:

GÉNERO *PHYTOLACCA*:

Muchas especies del género *Phytolacca* han sido utilizadas en la medicina oriental desde hace ya un largo tiempo en el tratamiento de diversas afecciones tales como: edemas, reumatismo (*P. americana*, *P. insulares*) (Kang and Woo, 1987), dermatitis (*P. octandra*) (Moreno and Rodríguez, 1981), eméticas, purgativas y anti-sifilítica (*P. americana*) (Jolliffe, 1982), entre otras. Gracias a estas propiedades, el género ha sido objeto de numerosos estudios fitoquímicos, en los cuales se han encontrado principalmente saponinas triterpénica, pertenecientes en su gran mayoría a la serie del oleanano.

SAPONINAS TRITERPÉNICAS:

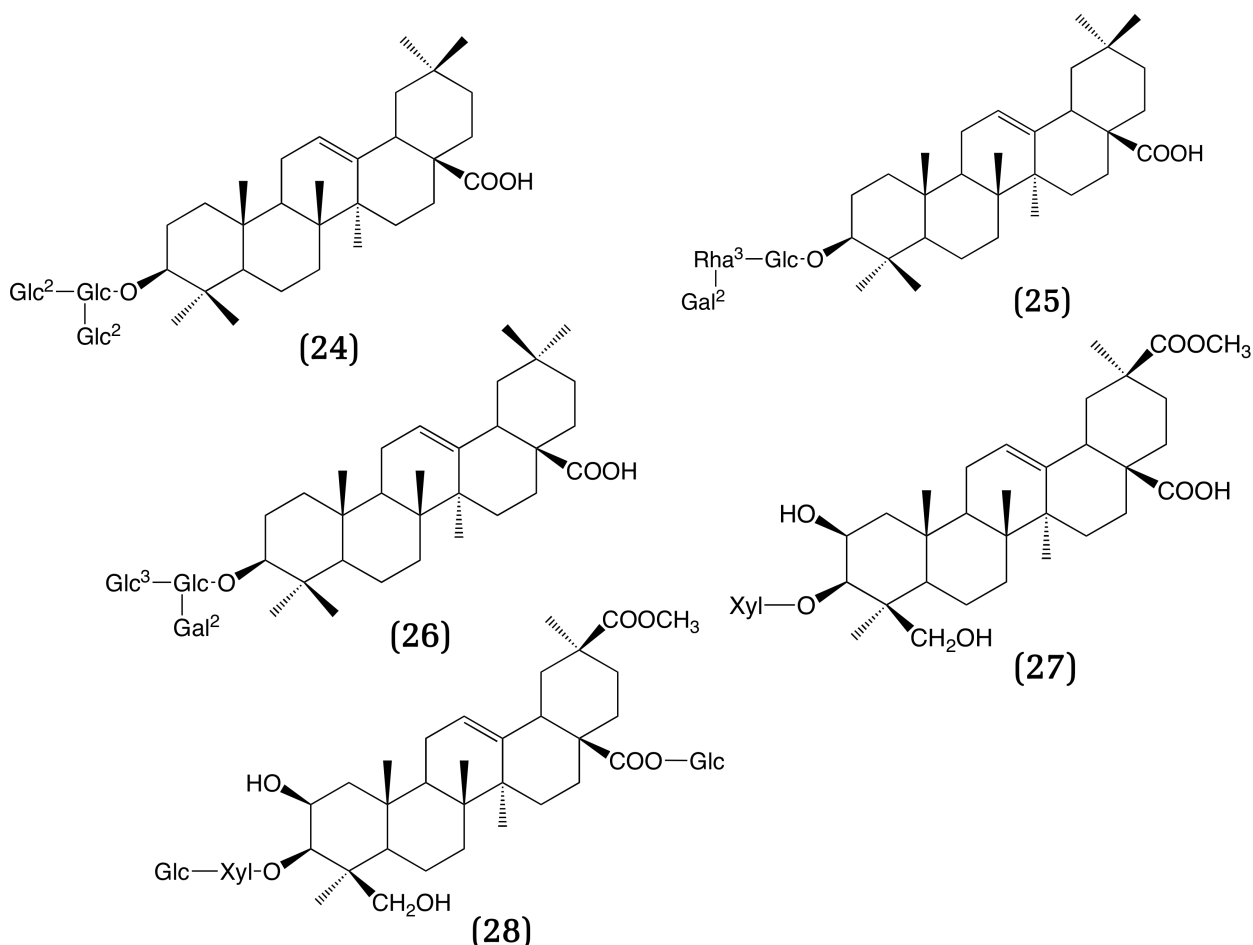
Este tipo de metabolito secundario es por mucho el más característico en las especies del género, tanto así, que podría ser considerado como un marcador quimiotaxonómico dentro del mismo. Muchos de estos compuestos han probado tener propiedades biológicas, dentro de las cuales se encuentran principalmente la acción moluscicida y la espermicida.

Una de las especies mayormente estudiada ha sido *Phytolacca dodecandra*; conocida comúnmente como “*endod*” en algunas regiones de África; esta planta ha sido empleada en el control de la schistosomiasis en países como Etiopía (Abebe *et al.*, 2005). Se sabe que los frutos de esta planta en suspensión acuosa pueden matar moluscos en concentraciones de hasta 10 ppm (Lemma & Duncan, 1970) Uno de los primeros compuestos a los que se le atribuyó esta propiedad biológica fue a la oleanoglicotoxina-A (**24**) (Parkhurst *et al.*, 1973a).

Trabajos posteriores demostraron la presencia de moluscidas muy activos, como el ácido 3-O-[β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopiranosil-oleanóico (**25**), que posee un índice de mortalidad media (LC₅₀) para poblaciones de *Biomphalaria glabrata* de hasta 2 ppm (Thilborg *et al.*, 1993).

Otra saponina obtenida de la especie *P. dodecandra* es la lemmatoxina (**26**), que posee propiedades altamente espermicidas, ya que demostró poseer casi 3 veces más acción que algunos patrones sintéticos (Nonoxinol-9), en pruebas realizadas utilizando esperma humana, (Stolzenberg and Parkhurst, 1974). Otra propiedad reportada para (**26**), junto con la lemmatoxina C (Parkhurst *et al.*, 1973b), ha sido la acción moluscicida (Parkhurst *et al.*, 1974).

Del extracto en metanol de *P. tetramera* se han aislado saponinas conocidas comúnmente como “fitolacósidos”, específicamente los fitolacósidos F, E y B (**27**). Este último, mostró mediana actividad antifúngica en contra de una serie de dermatofitos como *Trichophyton mentagrophytes* (MIC=25 μ g/mL) y *Candida albicans* (MIC=125 μ g/mL), utilizando ketoconazol como control (Escalante *et al.*, 2002).

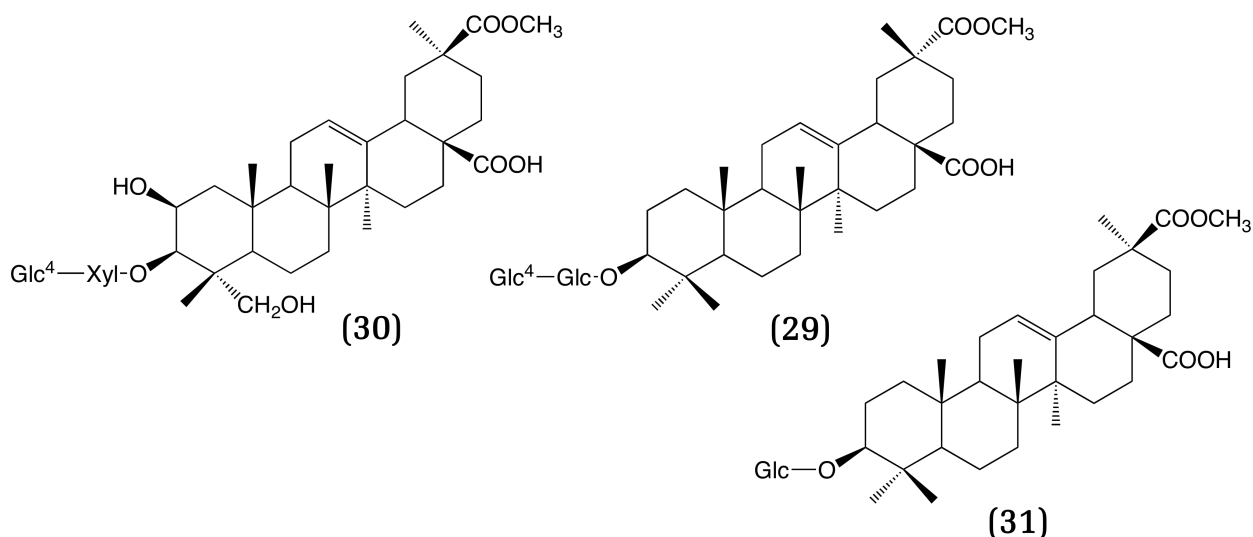


Un bidesmósido obtenida de los extractos polares de *Phytolacca esculenta* y conocido con el nombre de esculentósido H (**28**), ha resultado poseer significativa acción citotóxica (Yi and Wang, 1989).

La especie *Phytolacca octandra*, es conocida como una planta medicinal con propiedades antiinflamatorias y ha sido ampliamente utilizada desde la medicina prehispánica (Sahagun, 1959) y en la medicina tradicional Mexicana (Martínez, 1969). Estudios realizados en los años 80 revelaron la presencia de un compuesto mayoritario, aislado de la fracción fungistática [$ED_{50} = 3$ ppm, (*Trycohyton* sp.)] de la cromatografía general. El compuesto recibió el nombre de yiamolósido B (**29**) (Moreno and Rodríguez, 1981).

P. americana es otra de las especies representativas del género, y desde los primeros estudios fitoquímicos y de toxicidad (Ahmed *et al.*, 1949) realizados a la misma, muchos compuestos glicosidados se han obtenido de sus partes. De los cayos se han aislado saponinas con fuerte actividad antiinflamatoria, dentro de los compuestos presentes en mayor porcentaje figuran los fitolacósidos B (**27**) y E (Chi and Kim, 1985). Otros glicósidos, como las fitolaccageninas E y B, así como el esculentósido L, han sido probados como agentes antibacteriales y antifúngicos, sin embargo, los resultados fueron negativos (Akdemir *et al.*, 2000). En 2008 se llevó a cabo un estudio, enfocado en la evaluación de la citotoxicidad de doce saponinas triterpénicas en contra de las líneas celulares WI-38, VA-13 y HepG2, los resultados mostraron que solo un compuesto (**30**) resultó medianamente positivo ($IC_{50} = 7,1$ $\mu\text{g/mL}$) en contra de WI-38 (Wang *et al.*, 2008).

De los frutos de *P. icosandra*, también se han aislado compuestos con acción moluscicida como el ácido 3-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (**31**) que ha mostrado actividad en contra de *B. glabrata* ($MIC = 3,1$ $\mu\text{g/mL}$) (Treyvaud *et al.*, 2000).



Existen además, muchos otros trabajos que abordan el aislamiento y caracterización estructural de saponinas triterpénicas en especies de *Phytolacca*, los cuales se encuentran resumidos en la Tabla A:

Tabla A. Estudios Fitoquímicos Concernientes al Aislamiento de Saponinas Triterpénicas en Especies de <i>Phytolacca</i> .	
Especie	Referencias
<i>P. dodecandra</i>	Dorsaz and Hostettmann, 1986; Dommon and Hostettmann, 1984; Powell and Whalley, 1969.
<i>P. americana</i>	Cho <i>et al.</i> , 2003; Kang and Woo, 1991; Rosca and Tamas, 1984; Woo, 1979; Woo <i>et al.</i> , 1978; Suga <i>et al.</i> , 1978; Woo and Kang, 1977; Woo <i>et al.</i> , 1976; Woo and Kang, 1976; Shaaban and Ahmed, 1959.
<i>P. esculenta</i>	Yi, 1992a; Yi, 1992b; Yi, 1991; Yi and Huang, 1991; Yi, 1990; Yi and Wang, 1989; Wang and Yi, 1984; Woo <i>et al.</i> , 1976.
<i>P. tetramera</i>	Escalante <i>et al.</i> , 2002.
<i>P. icosandra</i>	Treyvaud <i>et al.</i> , 2000.
<i>P. acinosa</i>	Gao <i>et al.</i> , 2009; Li and He, 1998; Strauss <i>et al.</i> , 1995; Spengel and Schaffner, 1993.
<i>P. polyandra</i>	Yi <i>et al.</i> , 1995.
<i>P. rivinoides</i>	Nielsen <i>et al.</i> , 1995.
<i>P. bogotensis</i>	Nielsen <i>et al.</i> , 1995.
<i>P. octandra</i>	Howard, 1973; Moreno and Rodriguez, 1981.
<i>P. insularis</i>	Woo <i>et al.</i> , 1976.
<i>P. thyrsoflora</i>	Haraguchi <i>et al.</i> , 1988.
<i>P. dioica</i>	Soliman and Sobieh, 1999.

Si bien es cierto que las saponinas triterpénicas son los metabolitos secundarios mayormente encontrados en *Phytolacca*, existen también estudios fitoquímicos que reportan la presencia de otros tipos de metabolitos secundarios, tales como flavonoides, lignanos, esteroides, alcaloides etc.

La tabla B, muestra de forma resumida, los diversos trabajos relacionados a este tipo de compuestos, que en algunos casos también han resultado poseer algún tipo de actividad biológica y/o farmacológica.

Tabla B. Estudios Fitoquímicos de Diversos Metabolitos Secundarios en Especies de <i>Phytolacca</i> .								
Especie	Triterpenos	Flavonoides	Esteroides	Lignanos	Taninos	Alcaloides	Otros	Referencias
<i>P. dodecandra</i>	*							Spengel, 1996; Parkhurst <i>et al.</i> , 1990; Dommon <i>et al.</i> , 1984; Powell and Whalley, 1969.
<i>P. americana</i>	*	*	*	*		*	*	Bylka and Matlawska, 2001; Fukuyama <i>et al.</i> , 1992 Kang and Woo, 1980; Woo <i>et al.</i> , 1980; Woo <i>et al.</i> , 1978; Woo and Wagner, 1977; Woo, 1974; Johnsosl and Shimizu, 1974; Burke and LeQuense, 1971; Chumbalov and Mukhamedyarova 1969.
<i>P. esculenta</i>	*		*					Woo and Kang, 1985; Woo, 1975; Woo, 1973; Woo, 1971.
<i>P. acinosa</i>	*							Summon <i>et al.</i> , 2003; Spengel and Schaffner, 1990; Razdan <i>et al.</i> , 1983, 1982; Glombitza <i>et al.</i> , 1975.
<i>P. rugosa</i>	*							Morales, 1978.
<i>P. rivinoides</i>	*							Gonzalez <i>et al.</i> , 1972.
<i>P. thyrsoflora</i>		*						Haraguchi <i>et al.</i> , 1988.
<i>P. dioica</i>		*			*	*	*	Ashafa <i>et al.</i> , 2010; Solima and Sobieh, 1999.

GÉNERO *CESTRUM*:

De igual forma que en el género *Phytolacca*, una gran cantidad de especies pertenecientes al género *Cestrum* han encontrado aplicación en la medicina folklórica. Un ejemplo es la especie *C. parqui*, que ha sido utilizada en la medicina tradicional Chilena como antifebrífugo y antiinflamatorio (Backhouse *et al.*, 1996).

Las hojas de *C. auriculatum* son usadas en la provincia de Canta en Perú, aplicándolas externamente para reducir la inflamación en heridas y como tratamiento antipulgas, también han sido utilizadas gracias a sus propiedades antimicrobiales y antiinflamatorias (Horacio *et al.*, 2007). En el distrito de Pamparomas (Perú), el extracto acuoso de las hojas de esta especie se utiliza para tratar infecciones de la piel y alergias, aplicándose directamente en la zona afectada; además es ingerida como infusión (tomada en pequeñas dosis) para aliviar la fiebre y la diarrea. Se ha usado también como antirreumática y astringente (Rojas *et al.*, 2003).

En algunas localidades de China, las hojas de *C. nocturnum* se emplean por su acción farmacológica en heridas, zonas inflamadas y en algunos casos para el tratamiento de la epilepsia. Además, el aceite esencial de esta planta, ha probado ser un repelente de mosquitos muy eficaz y junto con la especie *C. diurnum* son usadas en algunos países de África para la prevención de la malaria (Ntoniforet *et al.*, 2006).

C. laevigatum ha sido usada tradicionalmente como sedante en caso de heridas y úlceras, así como antiespasmódico y diurético (Karawya *et al.*, 1971). Otra especie empleada ha sido *C. parvifolium*, para la cual se reportan usos en el tratamiento de fiebre, úlceras y desordenes en la piel (Moreno *et al.*, 2001). Muchas otras plantas de este género han encontrado su aplicación en el campo de la perfumería, producción de aromas florales y como plantas ornamentales.

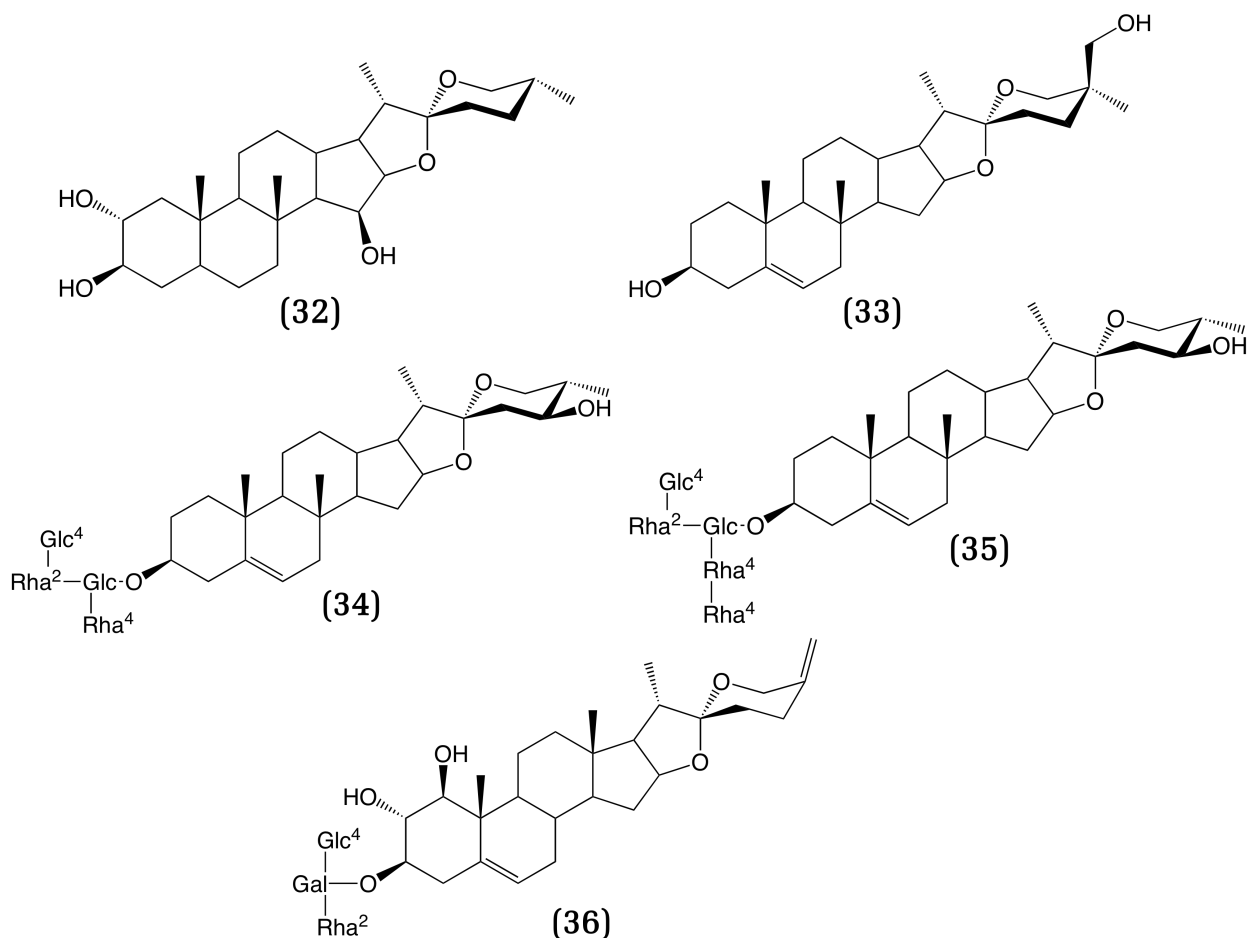
Desde los primeros reportes químicos realizados por Peckolt en 1909, una gran variedad de especies han sido analizadas y sus metabolitos aislados y caracterizados. Gracias a estos estudios, hoy día se sabe que el género *Cestrum* es bastante rico, principalmente en saponinas esteroidales, aceites esenciales y lignanos.

SAPONINAS ESTEROIDALES:

La presencia de saponinas esteroidales dentro del género ha sido bien documentada (Sajeli and Goyal, 2007). Los primeros estudios en reportar la presencia de estos compuestos se remontan a la década de los 40, con el análisis de la especie *C. parqui* de la cual se aisló el parquinósido (Echenique *et al.*, 1942).

Posteriormente se aislaron saponinas esteroidales de las especies *C. laevigatum* (Canham and Warren, 1950) y *C. diurnum* (Chakravarti and Datta, 1961) sentándose así los precedentes de estudios fitoquímicos de saponinas para el género.

Los primeros trabajos realizados a la especie *C. parqui*, reportan la presencia de varias saponinas aparte del parquinósido (para el cual se reportan propiedades hemolíticas) (Echenique *et al.*, 1942). De los frutos verdes de esta especie se han obtenido además la gitogenina y digitogenina (**32**) y de las hojas se ha aislado la diallogenina (Bianchi *et al.*, 1963). Estudios posteriores de las hojas reportan un raro compuesto denominado (25*R*)-isonuatigenina (**33**), que se cree, podría servir de marcador quimiotaxonómico para la especie (Torres *et al.*, 1988). Los últimos estudios demuestran que la acción insecticida que posee esta planta es debida al alto contenido en saponinas (Chaieb *et al.*, 2007a). Otros estudios reportan la presencia de saponinas triterpénicas y los compuestos parquisósidos A (**34**) y B (**35**), a los que se les atribuyen propiedades antiinflamatorias (AbdelGwad *et al.*, 1997; Baqai *et al.*, 2001).



Los estudios en *C. sendtnerianum*, prueban la existencia de saponinas spirostánicas de dos tipos: tri- y tetra-hidroxiladas y (Sajeli and Goyal, 2007). Las tri-hidroxiladas por lo general presentan grupos –OH en los carbonos C-1 (β), C-2 (α) o C-3 (β), mientras que las tetra-hidroxiladas presentan un grupo adicional en C-12 (β). Compuestos como el 3 β -O- α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 2)-O-[[β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 4)]- β -D-galactopiranosil-5,25(27)-dien-1 β ,2 α -dihidróxi-espiroetano (**36**), aislado de esta especie, mostró mediana actividad en contra de células cancerígenas HL60 (7.7 μ g/mL) (Haraguchi *et al.*, 1999; Haraguchi *et al.*, 2000).

Otros estudios relacionados al aislamiento y caracterización de saponinas esteroidales en *Cestrum*, se encuentran resumidos en la Tabla C.

Tabla C. Estudios Fitoquímicos Concernientes al Aislamiento de Saponinas Esteroidales en Especies de <i>Cestrum</i> .	
Especie	Referencias
<i>C. parqui</i>	Chaieb and Tayeb, 2009; Chaieb <i>et al.</i> , 2007b; Chaieb <i>et al.</i> , 2006; Chaieb <i>et al.</i> , 2005.
<i>C. diurnum</i>	Fouad <i>et al.</i> , 2008; Ahmad <i>et al.</i> , 1993; Karawya <i>et al.</i> , 1972; Roy and Chaterjee, 1968; Chaterjee and Roy, 1964; Chakravarti <i>et al.</i> , 1962.
<i>C. aurantiacum</i>	Karawya <i>et al.</i> , 1972.
<i>C. purpureum</i>	Karawya <i>et al.</i> , 1972.
<i>C. nocturnum</i>	Mimaki <i>et al.</i> , 2002; Mimaki <i>et al.</i> , 2001; Ahmad <i>et al.</i> , 1995; Chan and Muraveva, 1990; Roy and Chaterjee, 1968.
<i>C. laevigatum</i>	Canham and Warren, 1950.
<i>C. elegans</i>	Kereselidze <i>et al.</i> , 1970.
<i>C. axillare</i>	De Amorin <i>et al.</i> , 1992.
<i>C. khuntii</i>	Catalan and Tomasini, 1992.
<i>C. sendtnerianum</i>	Haraguchi <i>et al.</i> , 2000; Haraguchi <i>et al.</i> , 1999.

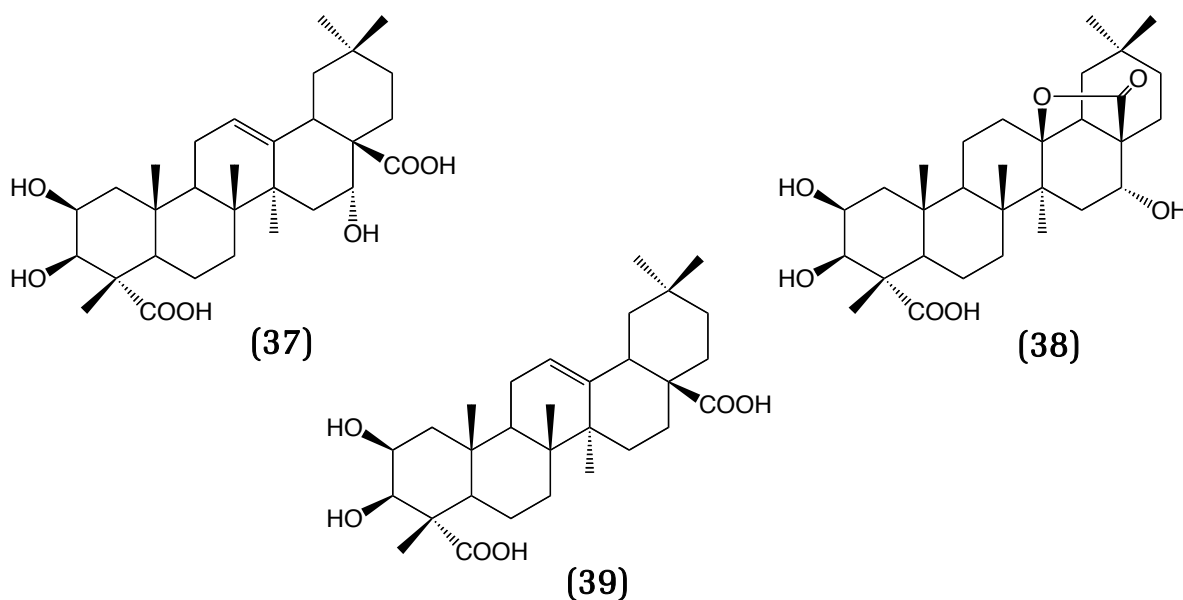
Como se observó anteriormente, la farmacología de este género se encuentra dotada de un número importante de actividades, como antiinflamatoria, antipirética, antioxidante, citotóxica, antimalárica, moluscicida, herbicida, etc. Muchas de estas actividades tienen su origen en el estudio de diversos metabolitos secundarios aparte de las saponinas esteroidales; estos estudios se encuentran resumidos en la tabla D.

Tabla D. Estudios Fitoquímicos de Diversos Metabolitos Secundarios en Especies de <i>Cestrum</i> .								
Especie	A. esenciales	Alcaloides	Terpenoides	Lignanos	Comp. Fenólicos	Flavonoides	Vitamina D ₃	Referencias
<i>C. parqui</i>		*	*	*	*	*		Fiorentino <i>et al.</i> , 2007; D'abrosca <i>et al.</i> , 2006; 2005; 2004a; 2004b; Bianchi <i>et al.</i> , 1963; Mercier and Chevalier, 1914.
<i>C. diurnum</i>	*	*	*	*			*	Khaled <i>et al.</i> , 2007; Bhattacharjee <i>et al.</i> , 2005; Mimaki <i>et al.</i> , 2001; Prema and Raghuramulu, 1995; Hughes <i>et al.</i> , 1977; Krook <i>et al.</i> , 1975; Collins and Halim, 1972; Halim <i>et al.</i> , 1971; Chakravarti <i>et al.</i> , 1963.
<i>C. aurantiacum</i>					*			Politis, 1948.
<i>C. purpureum</i>		*						Karawya <i>et al.</i> , 1972.
<i>C. nocturnum</i>	*	*				*		Chandra <i>et al.</i> , 2009; Chattaraj and Sinha, 2004; Chen <i>et al.</i> , 2002; Mimaki <i>et al.</i> , 2001; Buchbauer <i>et al.</i> , 1995; Li <i>et al.</i> , 1988; Collins and Halim, 1972; Halim <i>et al.</i> , 1971; Sadgopal, 1959; Gupta <i>et al.</i> , 1954.
<i>C. elegans</i>					*			Politis, 1948.
<i>C. khuntii</i>			*					Catalan and Tomasini, 1992.
<i>C. hediondium</i>						*		Enrique, 1947.
<i>C. euanthes</i>					*			Nagels <i>et al.</i> , 1982.
<i>C. lanatum</i>					*			Turnock <i>et al.</i> , 2001.
<i>C. auriculatum</i>		*						Marquez, 1961.

GÉNERO *GANOPHYLLUM*


Como se mencionó con anterioridad, los estudios fitoquímicos relacionados al género *Ganophyllum* son bastante pobres, existiendo solo algunos reportes, hecho que se ve reflejado en la poca cantidad de especies que lo conforman.


Se sabe que la especie *G. giganteum* es frecuentemente buscada por su madera, la cual es muy utilizada en carpintería y que sus frutos son comestibles (Delaude *et al.*, 1993). Uno de los primeros estudios fitoquímicos realizados a esta planta, revela el aislamiento de tres triterpenos, conocidos como ácido zanhico (37), su γ -lactona (38) y el ácido medicagenico (39) (Dimbi *et al.*, 1984). Posteriores estudios revelaron las propiedades citotóxicas del extracto hidroalcohólico (50% v/v) de las hojas de esta especie, que ha presentado una notable actividad en contra de monocitos humanos, con valores $IC_{50} = 1,3 \mu\text{g/mL}$ (Lamidi *et al.*, 2005).



Otra especie estudiada ha sido *G. falcatum*, cuyos extractos polares, obtenidos de la corteza del árbol, han presentado una potente acción termicida (Yazaki, 1982) en contra de las especies *Coptotermes acinaciformis* y *Nasutitermes exitiosus*, ambas consideradas plagas en países como Australia, ya que causan daños a la madera, que es frecuentemente utilizada como material de construcción.

TAXONOMÍA Y MORFOLOGÍA DE: *PHYTOLACCA RUGOSA* B. & B.
PHYTOLACCA ICOSANDRA L., *CESTRUM RUIZTERANIANUM* B. & D. Y
GANOPHYLLUM GIGANTEUM (A.C) & H

<i>Phytolacca rugosa</i> A. Braun & C. D. Bouché.		
	Reino:	Plantae
	Filo:	Tracheophyta
	Clase:	Magnoliopsida
	Orden:	Caryophyllales
	Familia:	Phytolaccaceae
	Subfamilia:	Orchidoideae
	Tribu:	Orchideae
	Género:	<i>Phytolacca</i>
	Especie:	<i>P. rugosa</i>
Morfología:		
Sufrútice de mediano porte. Hojas pecioladas de limbo lanceolado, ramas estiradas. Inflorescencias en racimos, cortos y compactos, de muchas flores, dotadas de pedúnculo reducido. Frutos de color rojo.		

<i>Phytolacca icosandra</i> L.		
	Reino:	Plantae
	Filo:	Tracheophyta
	Clase:	Magnoliopsida
	Orden:	Caryophyllales
	Familia:	Phytolaccaceae
	Subfamilia:	Orchidoideae
	Tribu:	Orchideae
	Género:	<i>Phytolacca</i>
	Especie:	<i>P. icosandra</i>
Morfología:		
Sufrútice frondoso, ramificado que alcanza hasta 3-4 m de altura. Hojas pecioladas alternas, ramas estiradas. Inflorescencias en espigas largas, compactas, de muchas flores . Frutos de intenso color rojo.		

Cestrum ruizteranianum Benitez & D'Arcy.



Reino:	Plantae
Filo:	Tracheophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Solanales
Familia:	Solanaceae
Subfamilia:	Cestroideae
Tribu:	Cestreae
Género:	<i>Cestrum</i>
Especie:	<i>C. ruizteranianum</i>

Morfología:

Arbusto pequeño con ramas decumbentes. Hojas compuestas imparipinnadas, con raquis rojizo y folíolos opuestos, decusados, sentados. Inflorescencia en racimos axilares. Frutos drupáceos, de rojizos a morados.

Ganophyllum giganteum (A. Chev) Hauman.



Reino:	Plantae
Filo:	Tracheophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Rosidae
Superorden:	Rutanae
Orden:	Sapindales
Familia:	Sapindaceae
Género:	<i>Ganophyllum</i>
Especie:	<i>G. giganteum</i>

Morfología:

Arbol herbáceo, de hojas alternas usualmente estipuladas o pinnadas. Inflorescencia terminal o axilar. Flores unisexuales, actinomorfas usualmente pequeñas. Frutos en forma de capsula, baya o fruta, que contienen una o dos semillas por lóculo.

HIPÓTESIS

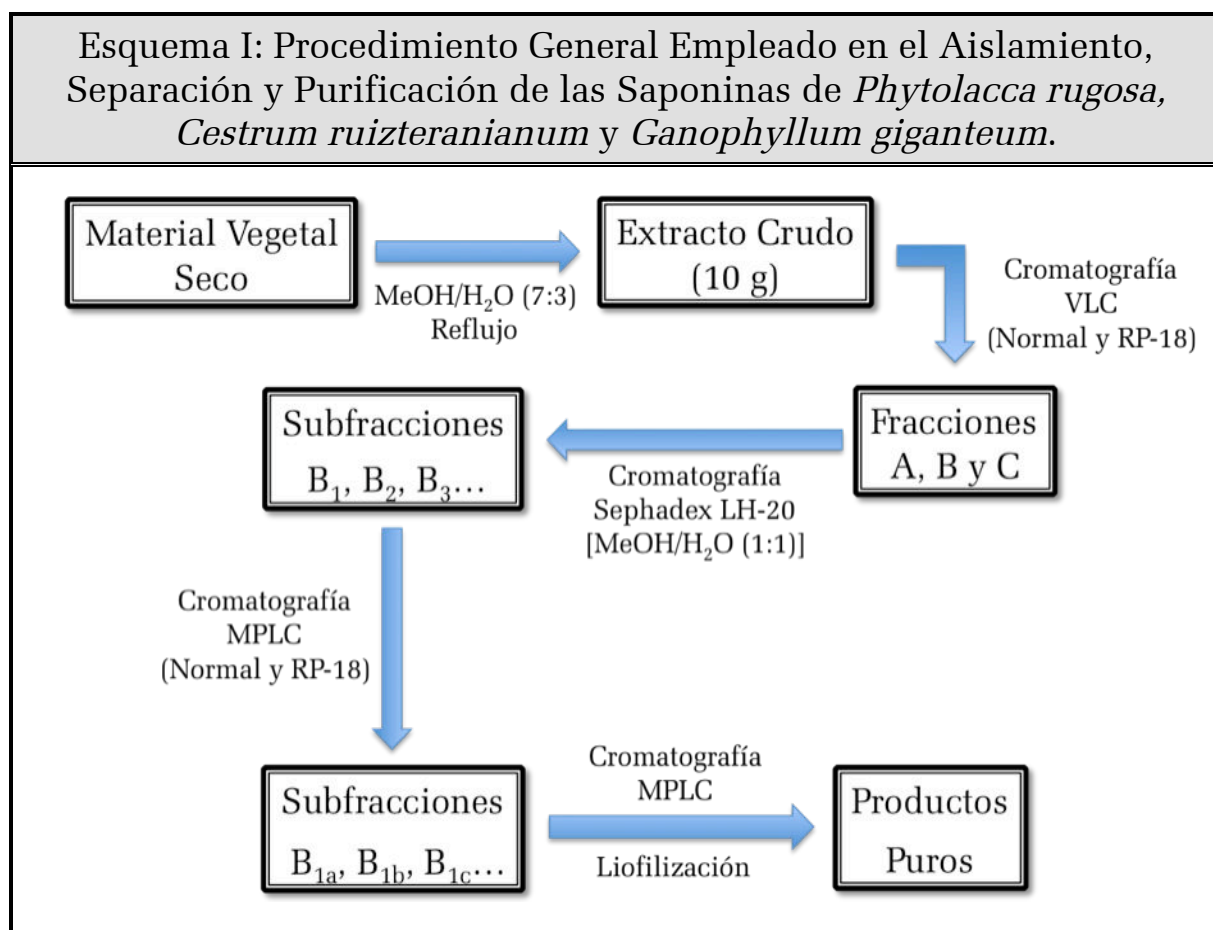
Como se pudo observar, las saponinas se encuentran entre los principales metabolitos secundarios biosintetizados por las especies de los géneros *Phytolacca* y *Cestrum*, así como de la familia Sapindaceae, a la cual pertenece el género *Ganophyllum*, este hecho aporta la suposición de que el estudio fitoquímico de las especies *Phytolacca rugosa*, *Phytolacca icosandra*, *Cestrum ruizteranianum* y *Ganophyllum giganteum*, podrían arrojar resultados positivos en cuanto a la obtención de este y otro tipo de compuestos. Mas aún, debido al gran espectro de propiedades biológicas y/o farmacológicas que estas sustancias poseen, es de esperarse además, algún tipo de actividad para los compuestos glicosidados que de estas especies se obtengan.

OBJETIVOS

1. Aislar los principales metabolitos secundarios de los extractos de media (CH_2Cl_2) y alta polaridad ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$) de las especies *Phytolacca rugosa*, *Phytolacca icosandra*, *Cestrum ruizteranianum*, encontradas en los Páramos de Los Andes Venezolanos. Así como de la especie Africana *Ganophyllum giganteum*.
2. Purificar dichos metabolitos a través de las diversas técnicas cromatográficas disponibles, así como otras técnicas de solubilidad.
3. Caracterizar dichos metabolitos mediante métodos espectroscópicos, espectrométricos y sus constantes físicas.
4. Obtener derivados químicos de los compuestos que se encuentren en mayor proporción, con la finalidad de corroborar sus estructuras químicas y/o estereoquímica.
5. De ser posible, realizar pruebas de actividad biológica y/o farmacológica a los compuestos obtenidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

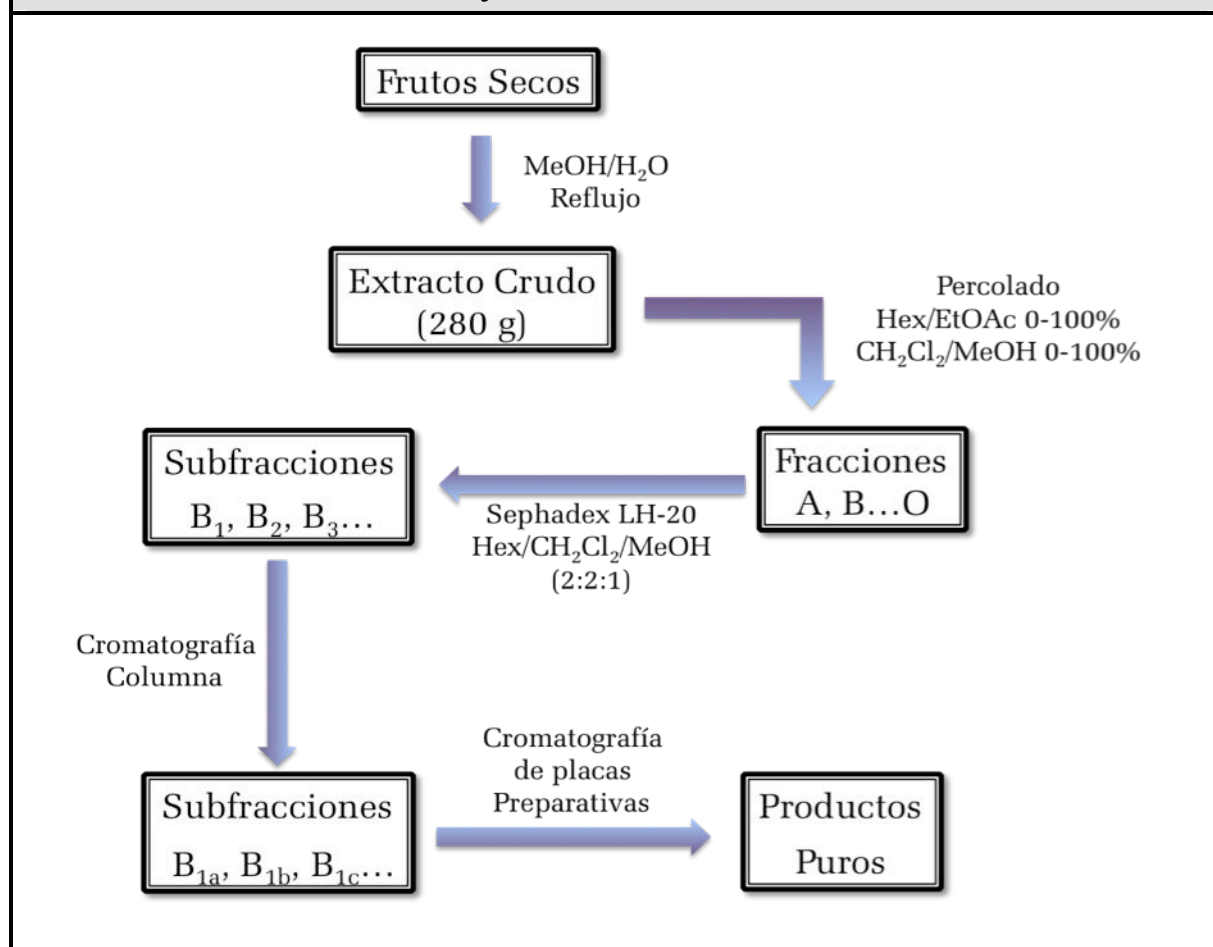
Los frutos de *Phytolacca rugosa* y *Cestrum ruizteranianum* así como la corteza de *Ganophyllum giganteum*, una vez secos, se extrajeron en solución hidroalcohólica MeOH/H₂O (7:3) en reflujo por 48 horas con la finalidad de obtener la mayor cantidad de compuestos de carácter saponínico. Una cierta cantidad de cada extracto (10 g) fue preadsorbida en gel de sílice de fase reversa (RP-18) y sometida a cromatografía líquida de vacío (VLC) utilizando para ello, tres tipos de eluyentes: MeOH 100% (fracción A), MeOH/H₂O 50% (fracción B) y H₂O 100% (fracción C). Posteriormente, la fracción B (en todos los casos) fue sometida a diversos procesos de fraccionamiento y separación (Esquema I) utilizando principalmente la cromatografía líquida de presión media (MPLC) en fase normal e inversa así como técnicas de exclusión de Sephadex LH-20.



De esta manera, se lograron aislar y caracterizar dieciséis compuestos, de los cuales: siete pertenecen al grupo de saponinas triterpénicas, siete al de saponinas esteroidales y dos triterpenos (Cuadro I).

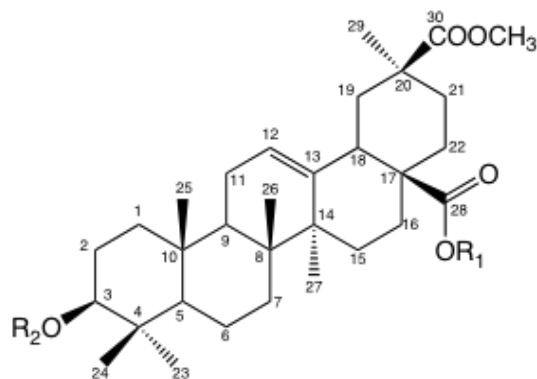
En el caso de la especie *P. icosandra*, la totalidad del extracto hidroalcohólico (280 g) fue preabsorbida en gel de sílice de fase normal y cromatografiado en columna gruesa de gravedad (percolado), utilizando para ello mezclas de Hex/EtOAc 0-100% y CH₂Cl₂/MeOH 0-100% como eluyentes. Una vez finalizado el proceso, se obtuvieron quince (15) subfracciones (A-O). Las subfracciones D (Hex/CH₂Cl₂ 80%, 4.3 g), G (Hex/EtOAc 40%, 1.2 g), I (EtOAc 100%, 7.8 g), J (CH₂Cl₂/MeOH 20%, 5.1 g) y K (CH₂Cl₂/MeOH 40%, 4.9 g) fueron sometidas a posteriores procesos cromatográficos, utilizando principalmente columna de gravedad y Sephadex LH-20. Se empleó además cromatografía TLC de placa preparativa para la purificación final de algunos productos (Esquema II). De las mencionadas subfracciones, se obtuvieron un total de diez compuestos conformados por: dos triterpenos, dos lignanos (y sus derivados acetilados), dos esteroides glicosidados, tres saponinas triterpénicas y un peltoginoide (Cuadro I).

Esquema II: Procedimiento General Empleado en el Aislamiento, Separación y Purificación de Metabolitos Secundarios de los frutos de *Phytolacca icosandra*



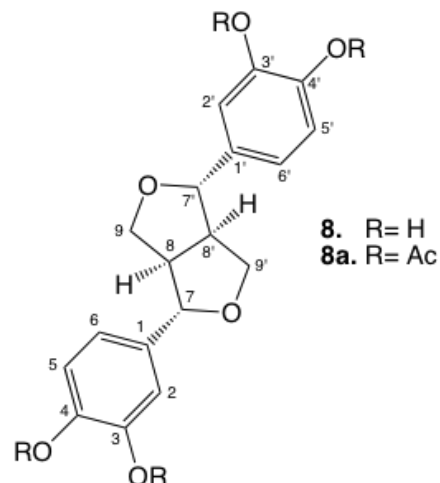
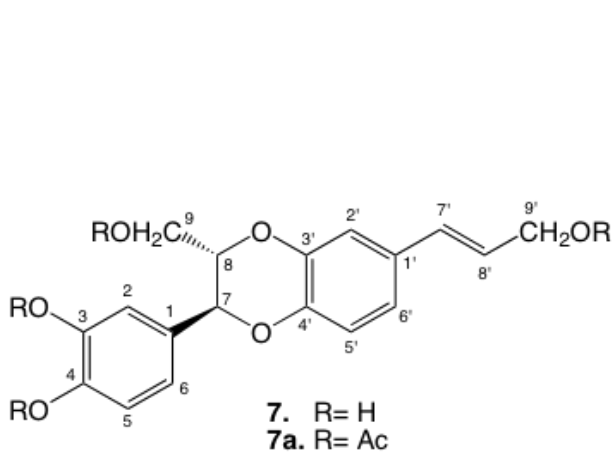
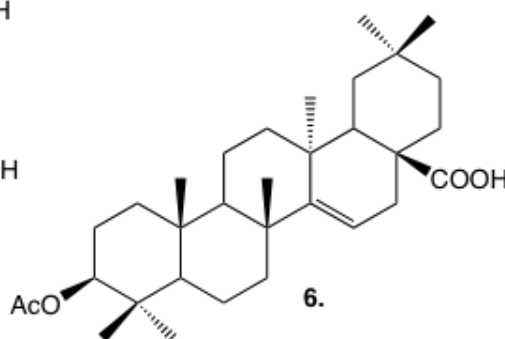
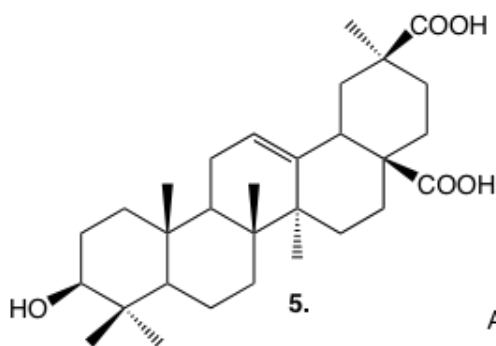
Cuadro I: Productos Aislados de los Frutos de *Phytolacca rugosa*,
Phytolacca icosandra, *Cestrum ruizteranianum* y
Ganophyllum giganteum

Phytolacca rugosa Braun & Bouché

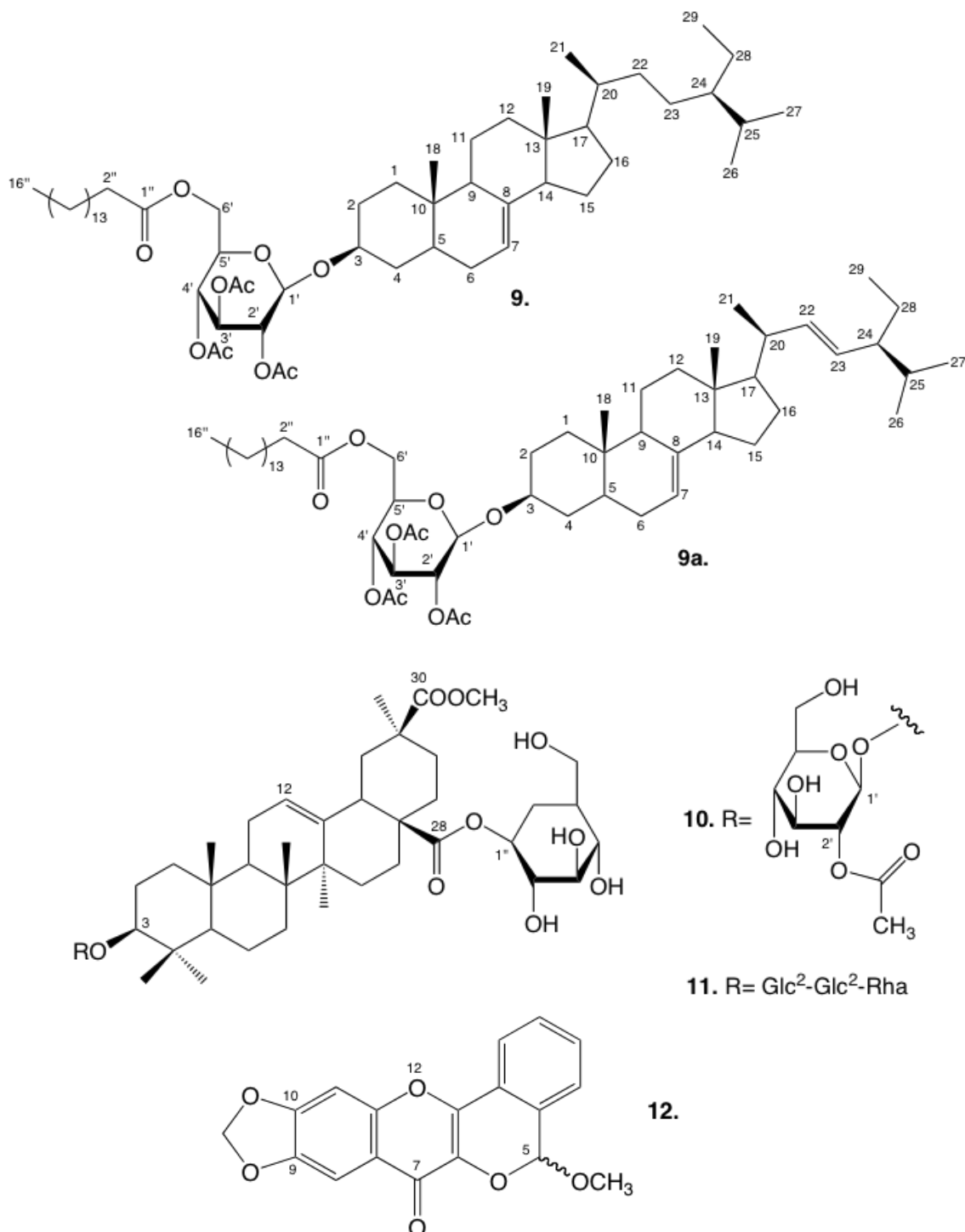


1. R₁ = Glc; R₂ = Glc
2. R₁ = Glc; R₂ = Glc³-Glc
3. R₁ = Glc; R₂ = Glc²-Glc
4. R₁ = Glc; R₂ = Glc³-Gal³-Glc

Phytolacca icosandra L.

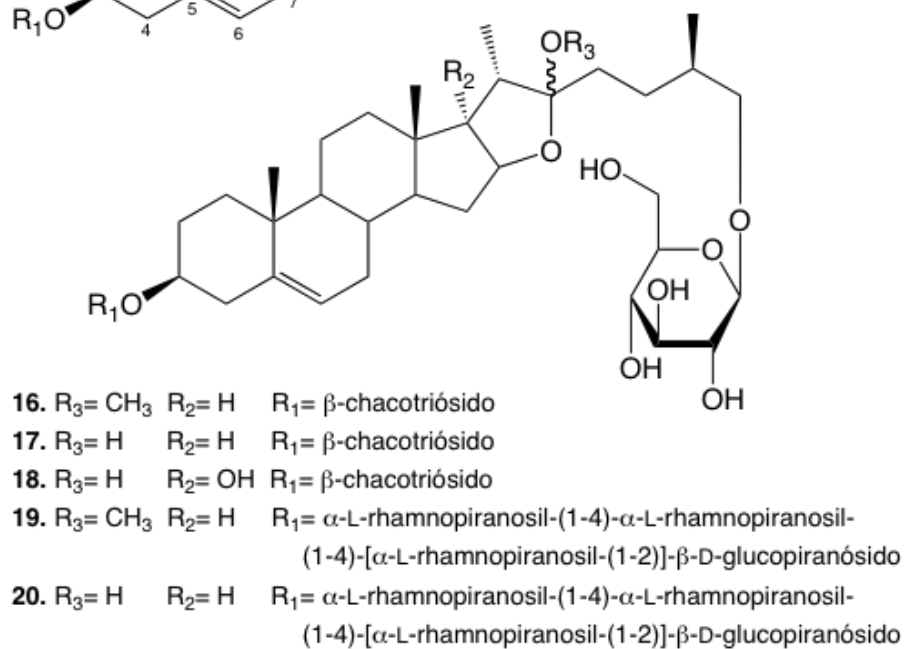
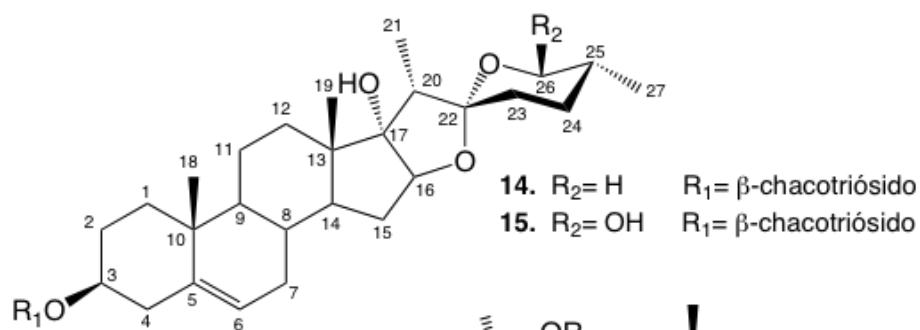
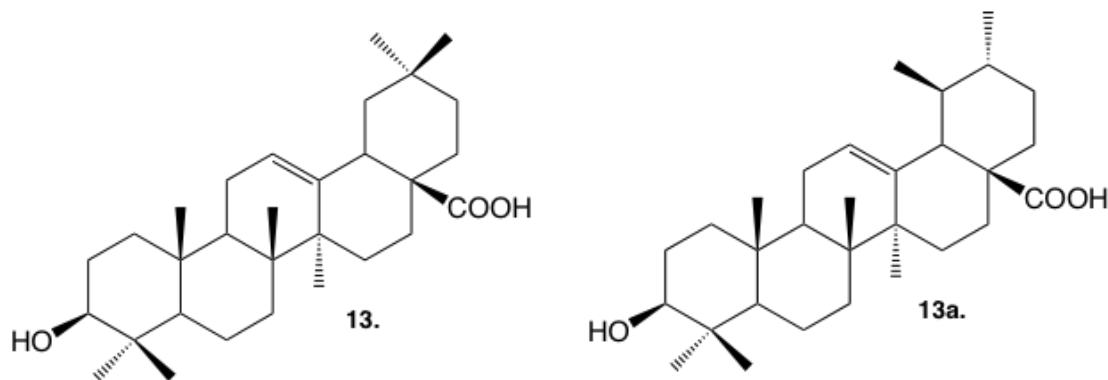


Cuadro I (Continuación): Productos Aislados de los Frutos de *Phytolacca rugosa*, *Phytolacca icosandra*, *Cestrum ruizteranianum* y *Ganophyllum giganteum*



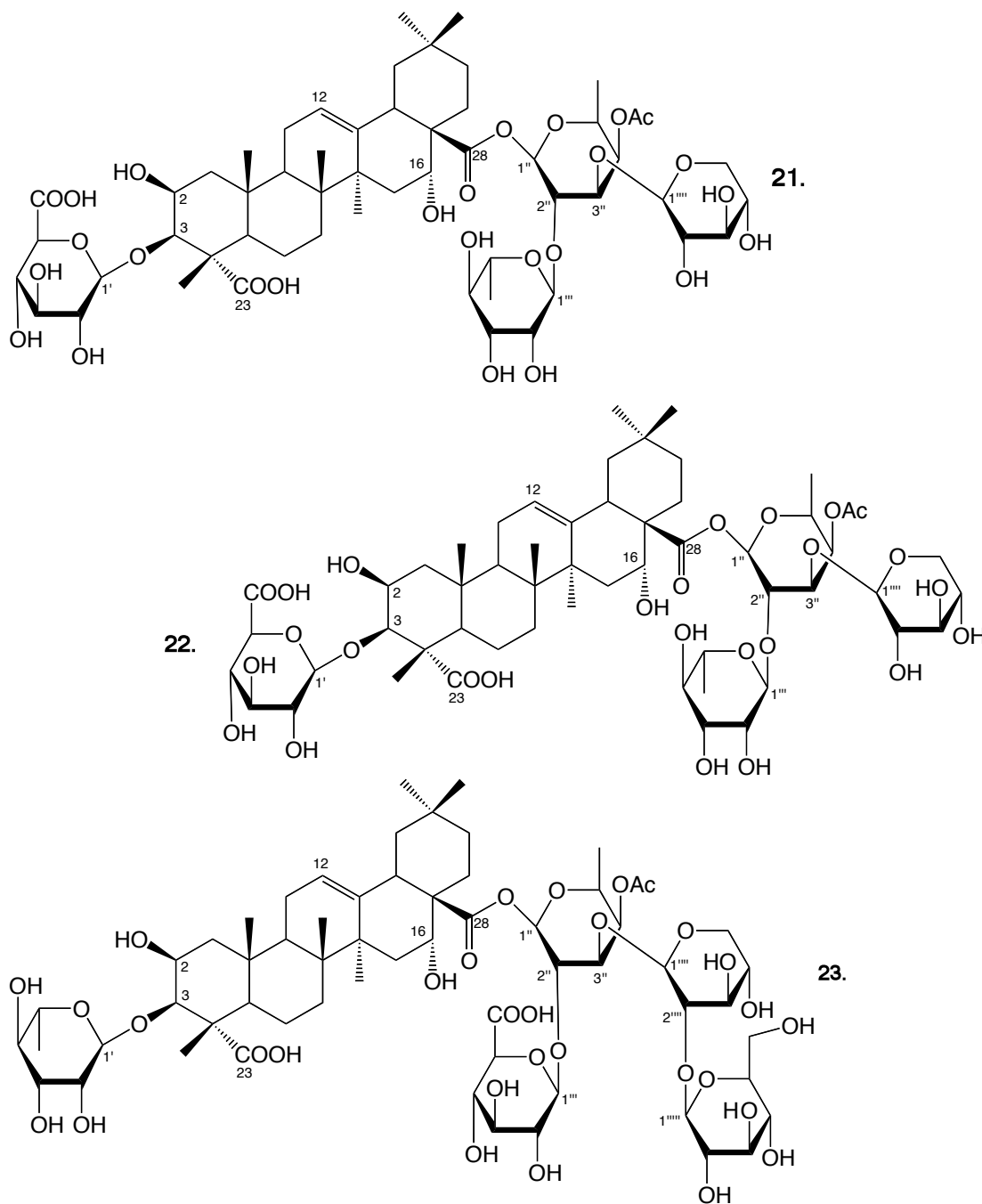
Cuadro I (Continuación): Productos Aislados de los Frutos de *Phytolacca rugosa*, *Phytolacca icosandra*, *Cestrum ruizteranianum* y *Ganophyllum giganteum*

Cestrum ruizteranianum Benitez & D'arcy.



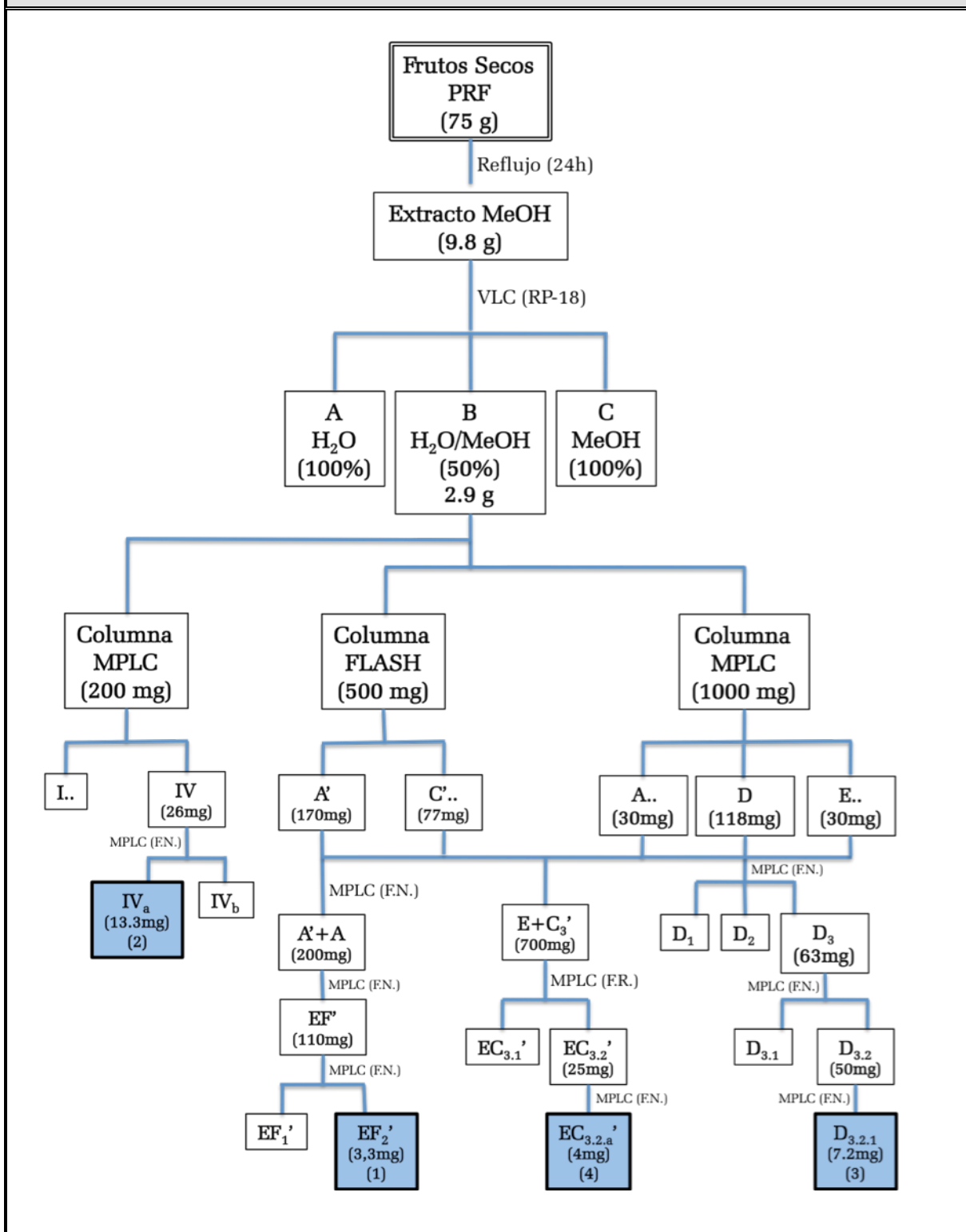
Cuadro I (Continuación): Productos Aislados de los Frutos de *Phytolacca rugosa*, *Phytolacca icosandra*, *Cestrum ruizteranianum* y *Ganophyllum giganteum*

Ganophyllum giganteum (A. Chev) Hauman



Estudio Fitoquímico de
Phytolacca rugosa Braun & Bouché

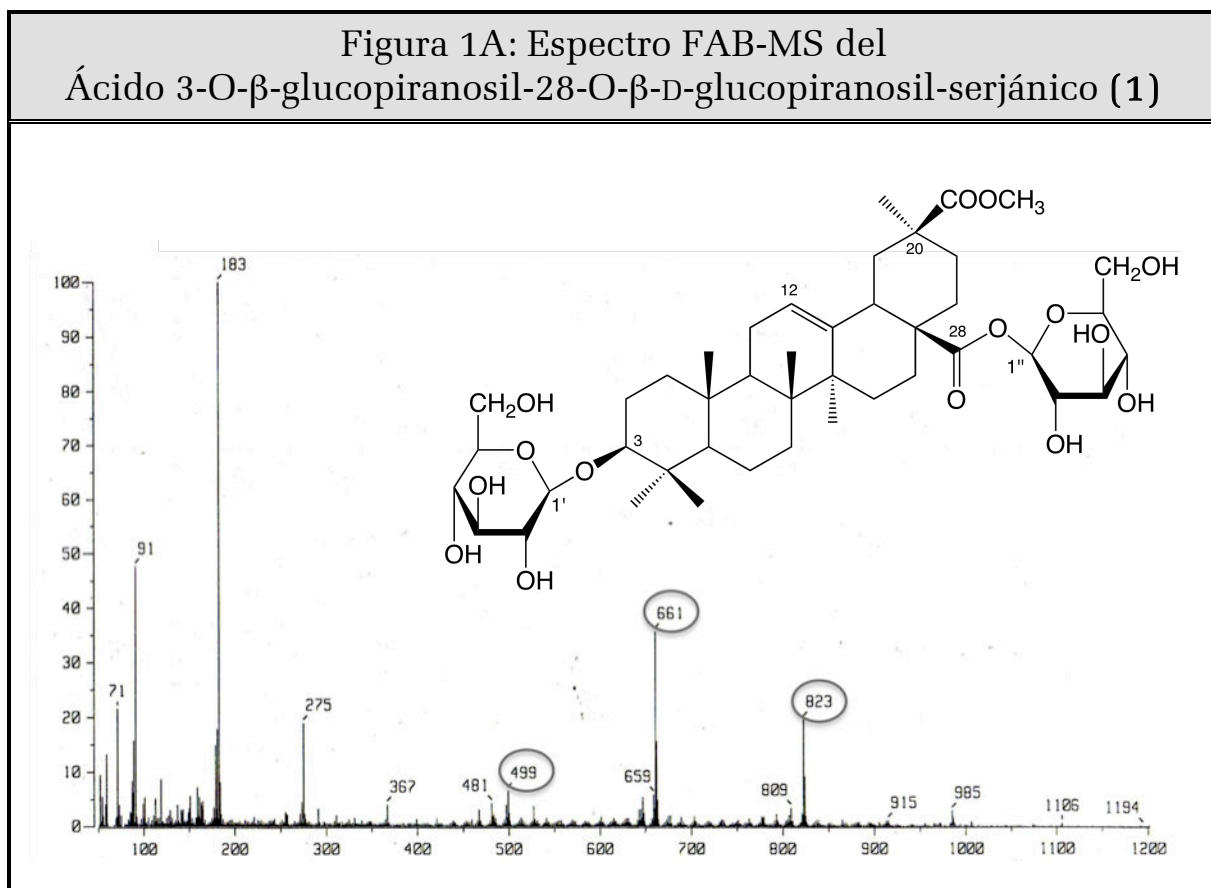
Esquema del Aislamiento y Purificación de Saponinas Triterpénicas de los Frutos de *Phytolacca rugosa* Braun & Bouché



ÁCIDO 3-O-(β -D-GLUCO-PIRANOSIL)-28-O- β -D-GLUCOPIRANOSIL-SERJÁNICO (1):

De las fracciones 31-36, procedentes de la combinación de fracciones “A” y “A’”, se logró aislar un sólido amorfo de color blanco, el cual se reveló como una mancha pura de color rojo [R_f = 0.76; sist. solv. $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (65:35:10); P.f.= +300 °C].

A través del análisis de los espectros de RMN- ^1H (Fig 1B; Tabla 1B,) y RMN- ^{13}C (Fig 1C; Tabla 1C) se logró inferir, gracias al número y posición de los metilos [$\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ = 1.22/28.0 (H-23), 0.91/16.6 (H-24), 0.74/15.2 (H-25), 0.99/17.1 (H-26), 1.21/26.2 (H-27) y 1.11/28.1 (H-29) ppm] así como de hidrógenos unidos a grupos hidroxilos (δ_{H} = 3.0-4.3 ppm), la presencia de un triterpeno tipo oleanano. Más aún, al observarse dos dobletes en δ_{H} = 4.83 y 6.12 ppm se pudieron confirmar dos monosacáridos dentro de la molécula, el esplazamiento de este último a campo bajo ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ = 6.12/95.3 ppm) indicó que el mismo se encontraba unido a un grupo éster. Las constantes de acoplamiento exhibidas por ambos dobletes (J = 5.2 y 5.6 Hz) fueron congruentes con una disposición axial de los hidrógenos anoméricos, con lo que la posición de ambos azúcares se concluyó beta (β).



El espectro de FAB-MS (Fig. 1A), presentó un ion molecular de $m/z= 823$, el cual es congruente con una fórmula molecular de $C_{43}H_{68}O_{15}$. El patrón de fraccionamiento de dicho espectro, mostró además dos picos en $m/z= 661$ y $m/z= 499$, correspondientes a la pérdida de dos grupos glucosa o galactosa (162 u.m.a) y a su correspondiente aglicona triterpénica ($m/z= 499$), esto fue señal inequívoca de que se trataba de una saponina triterpénica con dos hexosas unidas.

El estudio detallado de los espectros bidimensionales HSQC (Fig. 1E) y HMBC (Fig. 1F) permitió ubicar la posición de los dos grupos carbonilos en C-28 ($\delta_C= 176.1$ ppm) y C-30 ($\delta_C= 177.0$ ppm), mediante las correlaciones C-30 \leftrightarrow H-29 \leftrightarrow C-20 y C-17 \leftrightarrow H-18 \leftrightarrow C-28. La interacción del grupo carbonilo en C-30 con un metoxilo ($\delta_H/\delta_C= 3.56/51.6$ ppm) indicó la presencia de un éster metilado en esta posición. La presencia de un protón olefínico en $\delta_H= 5.58$ ppm (H-12), el cual interacciona en HMBC con un carbono hibridado sp^2 en $\delta_C= 143.5$ ppm (C-13) indicó que la aglicona presentaba un doble enlace entre los carbonos C-12 y C-13, el cual es común en esqueletos tipo oleanano. Ambos grupos funcionales en C-12 y C-30 además del pico observado en $m/z= 499$, confirmaron que el triterpeno en cuestión era el ácido serjánico (Savoir and Tursch, 1967; Morales *et al.*, 1978; Alvarado *et al.*, 1981).

Mediante el análisis del espectro TOCSY (Fig. 1D) se pudo conocer la secuencia de hidrógenos que conformaban las unidades de azúcar, según las correlaciones de los protones anoméricos con cada uno de los protones pertenecientes a dicha unidad y aunado al análisis del espectro RMN- 1H , se pudo conocer la disposición de cada uno de los protones involucrados. Las interacciones ROESY entre los protones anoméricos H-1'/1'' con sus respectivos protones H-3'/3'' y H-5'/5'' fue señal inequívoca de la presencia de dos grupos glucosas (Glc) (Fig. 1G), corroborado por los valores $\delta_{H/C}$ reportados en la literatura (Collins & Ferrier, 1998) para este tipo de unidad. La posición de ambos azúcares en la molécula pudo determinarse mediante las interacciones HMBC que presentaron los protones anoméricos con los carbonos C-3 y C-28, se dedujo entonces que el glicósido era de carácter bidesmosídico. La estructura gruesa del compuesto (**1**) se elucidó entonces como un triterpeno tipo ácido serjánico glucosidado en las posiciones C-3 y C-28.

La estereoquímica del éster metílico en C-30, la disposición *cis* en la fusión de los anillos D y E del triterpeno y la confirmación de la disposición de los hidrógenos anoméricos, pudieron determinarse mediante el análisis del espectro ROESY (Fig. 1G) a través de las interacciones espaciales: H-3 \leftrightarrow H-23 \leftrightarrow H-5 \leftrightarrow H-9 \leftrightarrow H-27 y H-24 \leftrightarrow H-25 \leftrightarrow H-26. La interacción entre H-29 y H-18 no fue observada, por lo que la disposición para este último se confirmó beta (β).

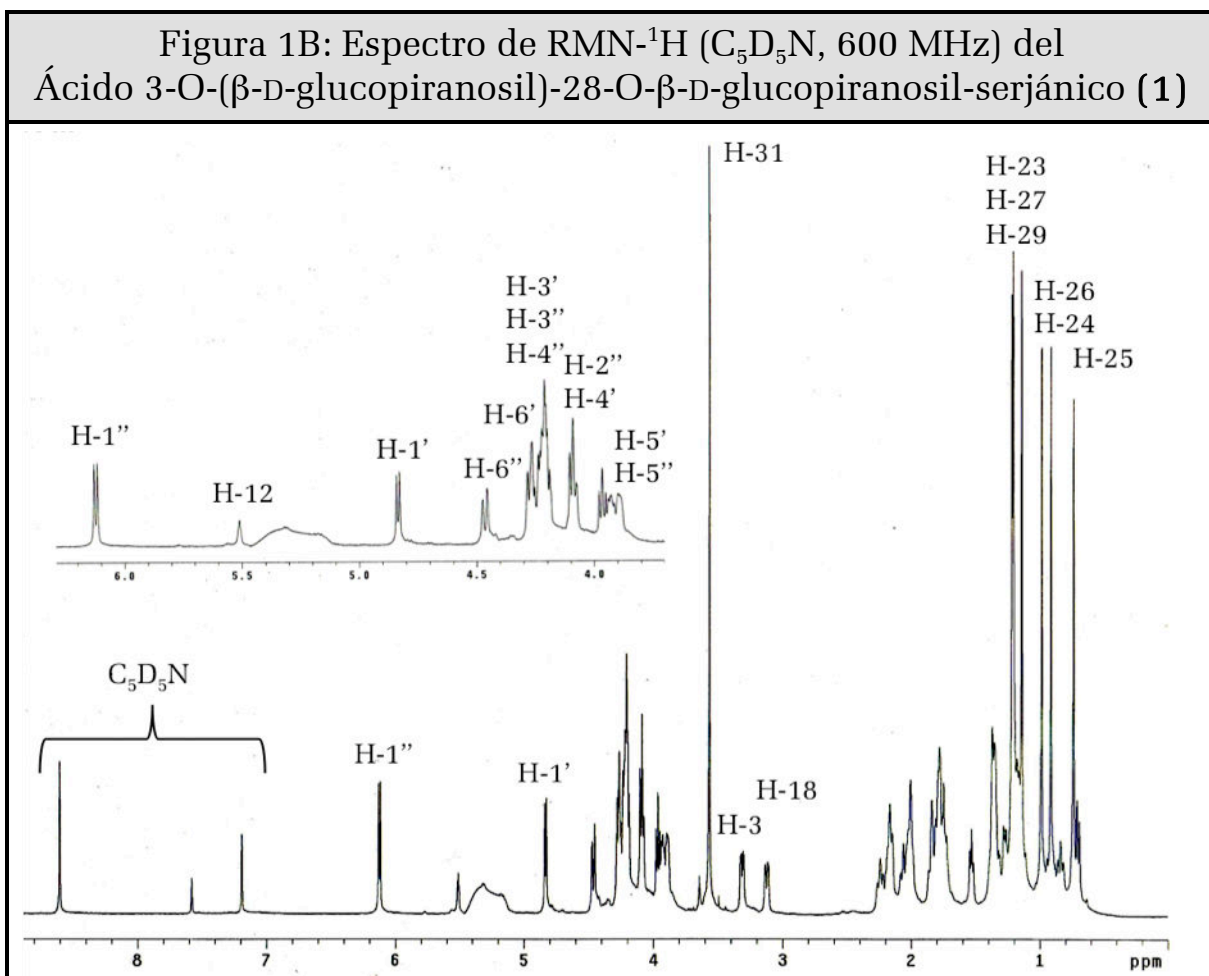


Tabla 1B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H (C₅D₅N, 600 MHz) del Ácido 3-O-(β-D-glucopiranosil)-28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (1)

H	H-3	H-5	H-9	H-12	H-18	H-23
δ (ppm)	3.32	0.69	1.53	5.51	3.12	1.22
<i>m</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>t</i>	<i>dd</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	2.8/7.6	8.0	-	-	3.6/13.2	-
H	H-24	H-25	H-26	H-27	H-29	H-31
δ (ppm)	0.91	0.74	0.99	1.21	1.11	3.56
<i>m</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	-	-

Tabla 1B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz) del Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil)-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1)

3-O- β -D-Glucosa						
H	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'
δ (ppm)	4.83	3.96	4.22	4.09	3.93	4.26/4.46
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>dd/dd</i>
<i>J</i> (Hz)	5.2	-	-	6.0	-	-
28-O- β -D-Glucosa						
H	H-1''	H-2''	H-3''	H-4''	H-5''	H-6''
δ (ppm)	6.12	4.09	4.20	4.22	3.90	4.24/4.28
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>dd/dd</i>
<i>J</i> (Hz)	5.6	-	-	-	-	-

Figura 1C: Espectro de RMN- ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz) del Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil)-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1)

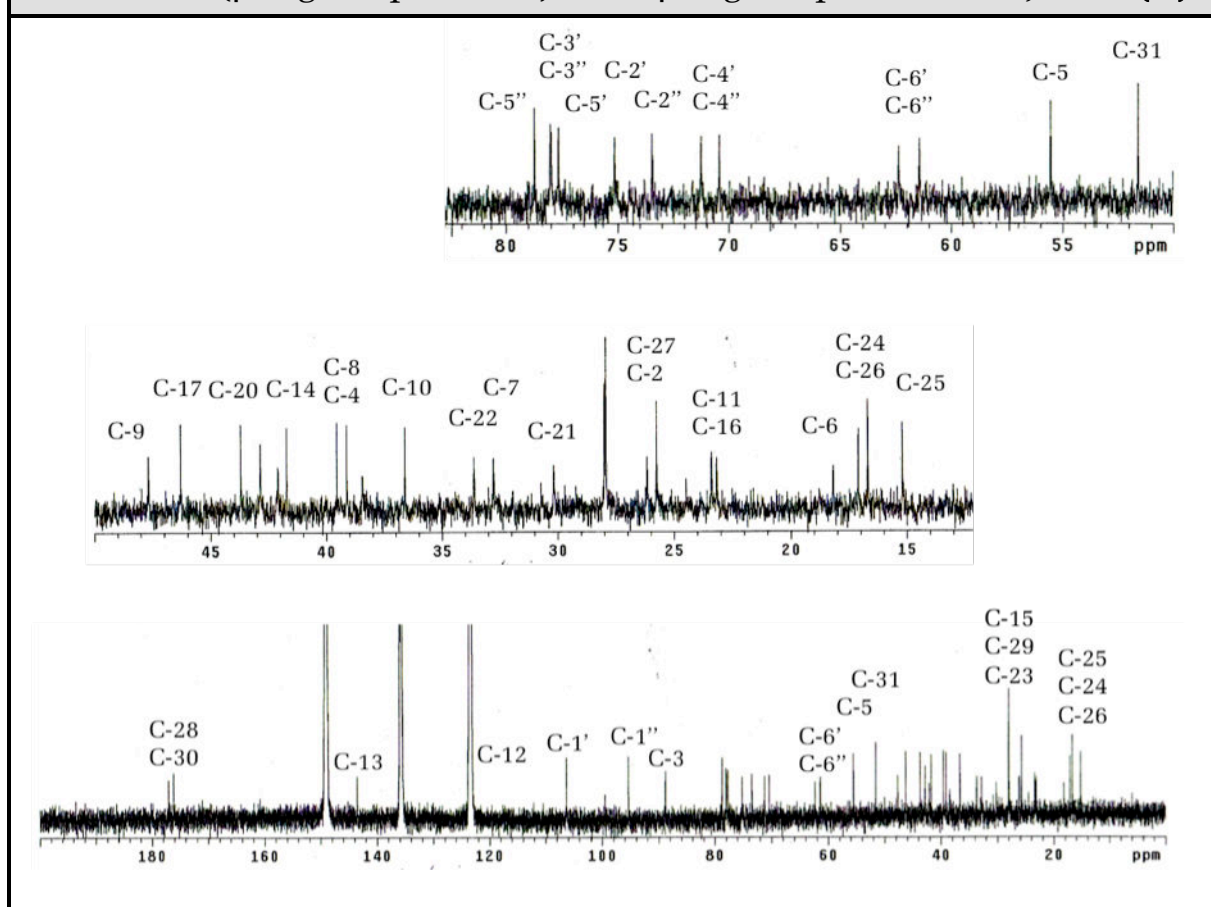


Tabla 1C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) de la Genina del Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil) -28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1)							
C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	38.4	27.9	88.8	39.1	55.5	18.6	32.8
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-O-	>C<	>CH-	-CH ₂ -	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	39.5	47.6	36.6	23.4	123.3	143.5	41.7
tipo	>C<	>CH-	>C<	-CH ₂ -	=CH-	>C=	>C<
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	28.1	23.2	46.3	42.8	42.1	43.7	30.2
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>C<	>CH-	-CH ₂ -	>C<	-CH ₂ -
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28
δ (ppm)	33.6	28.0	16.6	15.2	17.1	26.2	176.1
tipo	-CH ₂ -	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-O-C=O
C	C-29	C-30	C-31	TMS como referencia interna			
δ (ppm)	28.1	177.0	51.6				
tipo	-CH ₃	-O-C=O	-OCH ₃				

Tabla 1C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) de los Azúcares del Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil) -28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1)						
3-O- β -D-Glucosa						
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'
δ (ppm)	106.3	75.2	78.0	71.2	77.7	62.4
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-
28-O- β -D-Glucosa						
C	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''
δ (ppm)	95.3	73.4	78.1	70.4	78.7	61.4
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-

Figura 1D: Espectro TOCSY (C_5D_5N) del Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil)-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1)

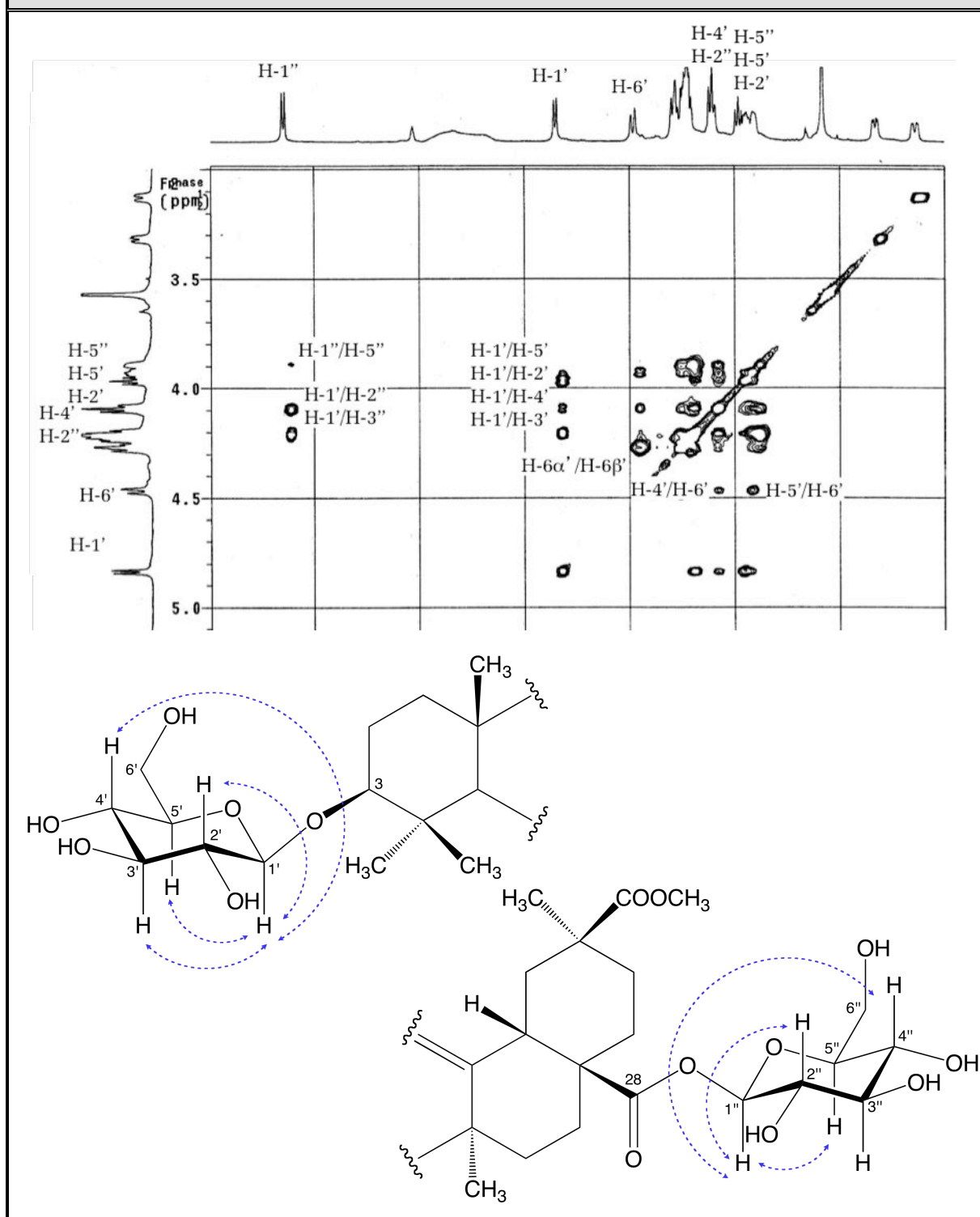


Figura 1E: Espectro HMQC (C_5D_5N) del Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil)-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1)

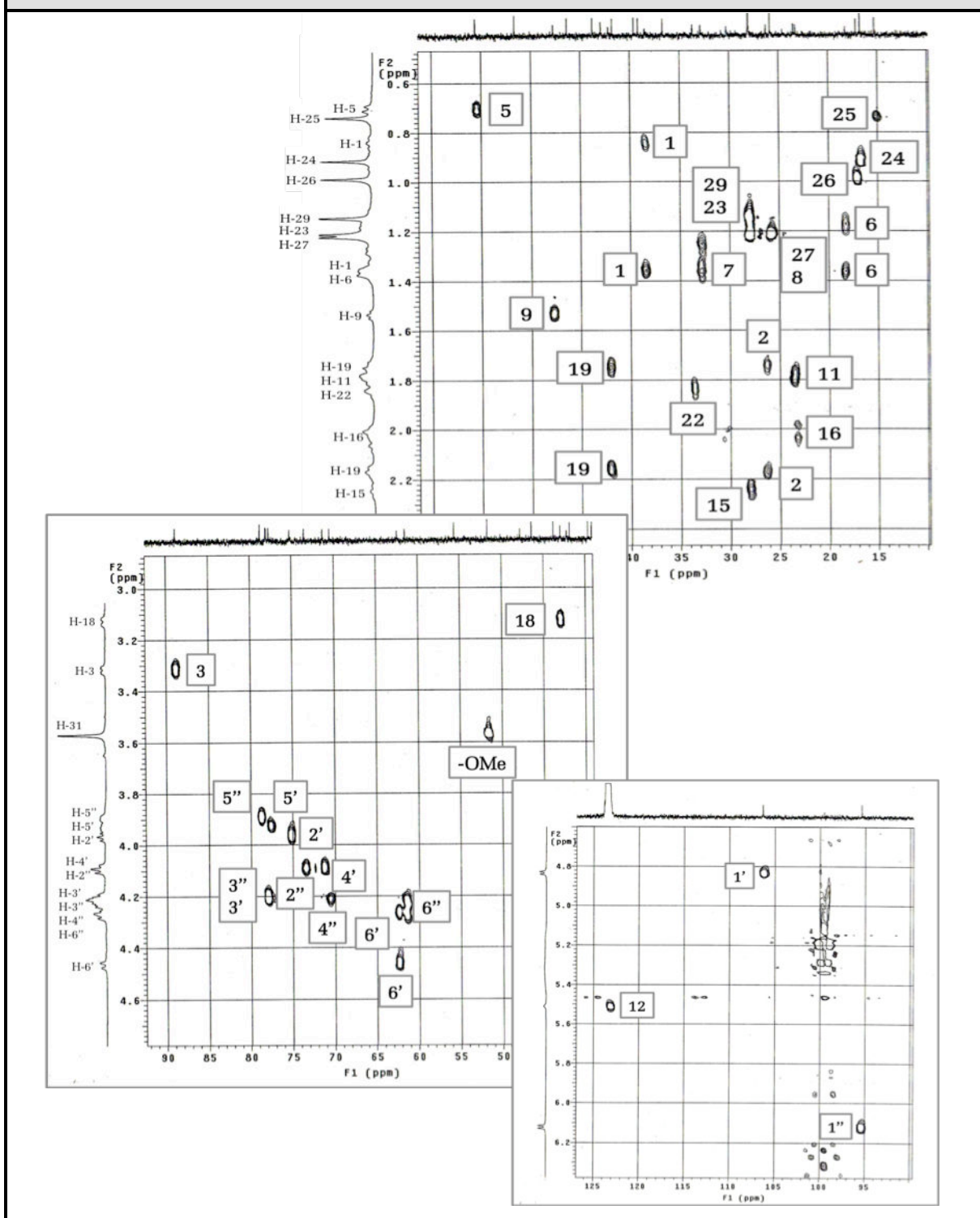


Figura 1F: Espectro HMBC (C_5D_5N) del Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil)-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1)

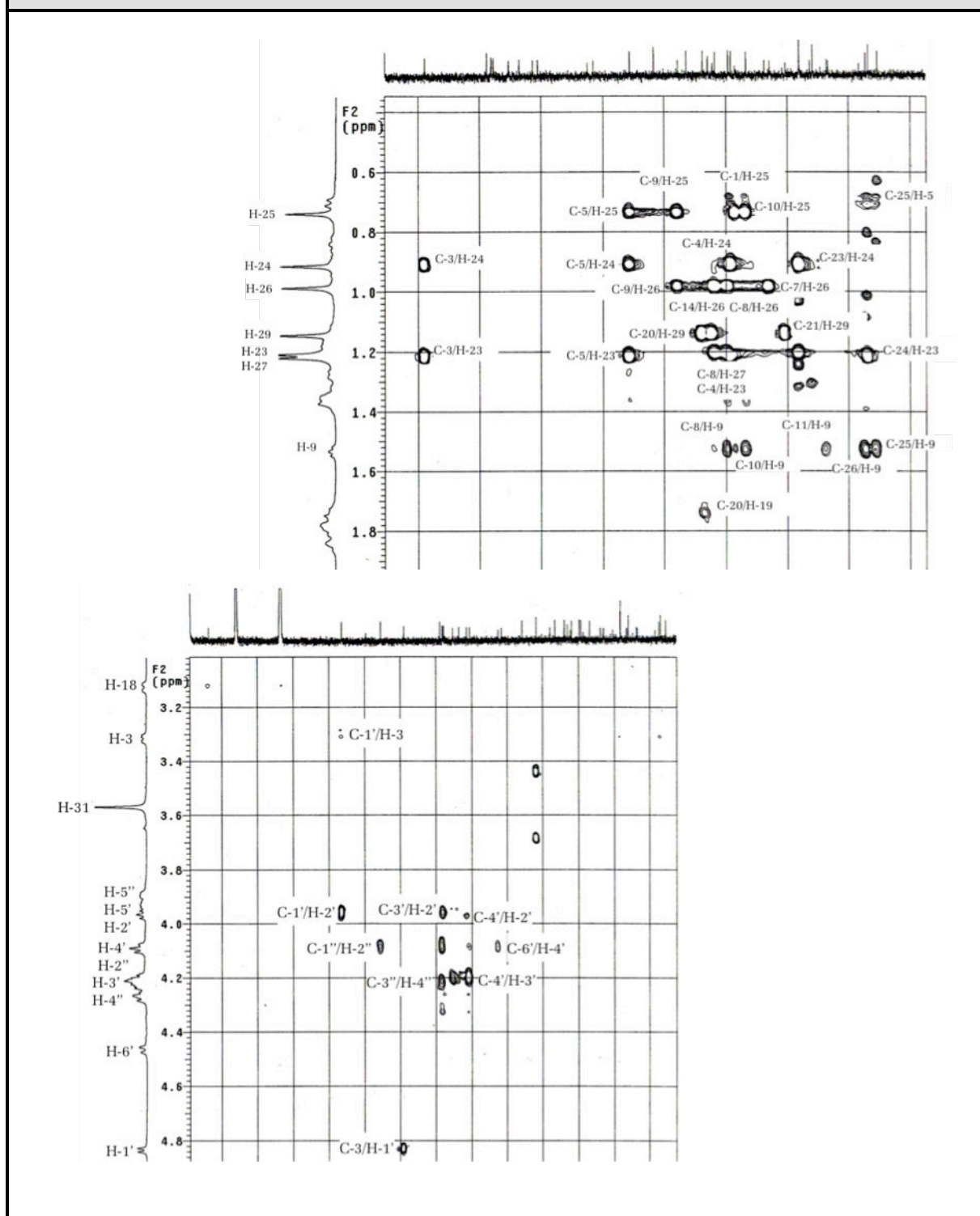
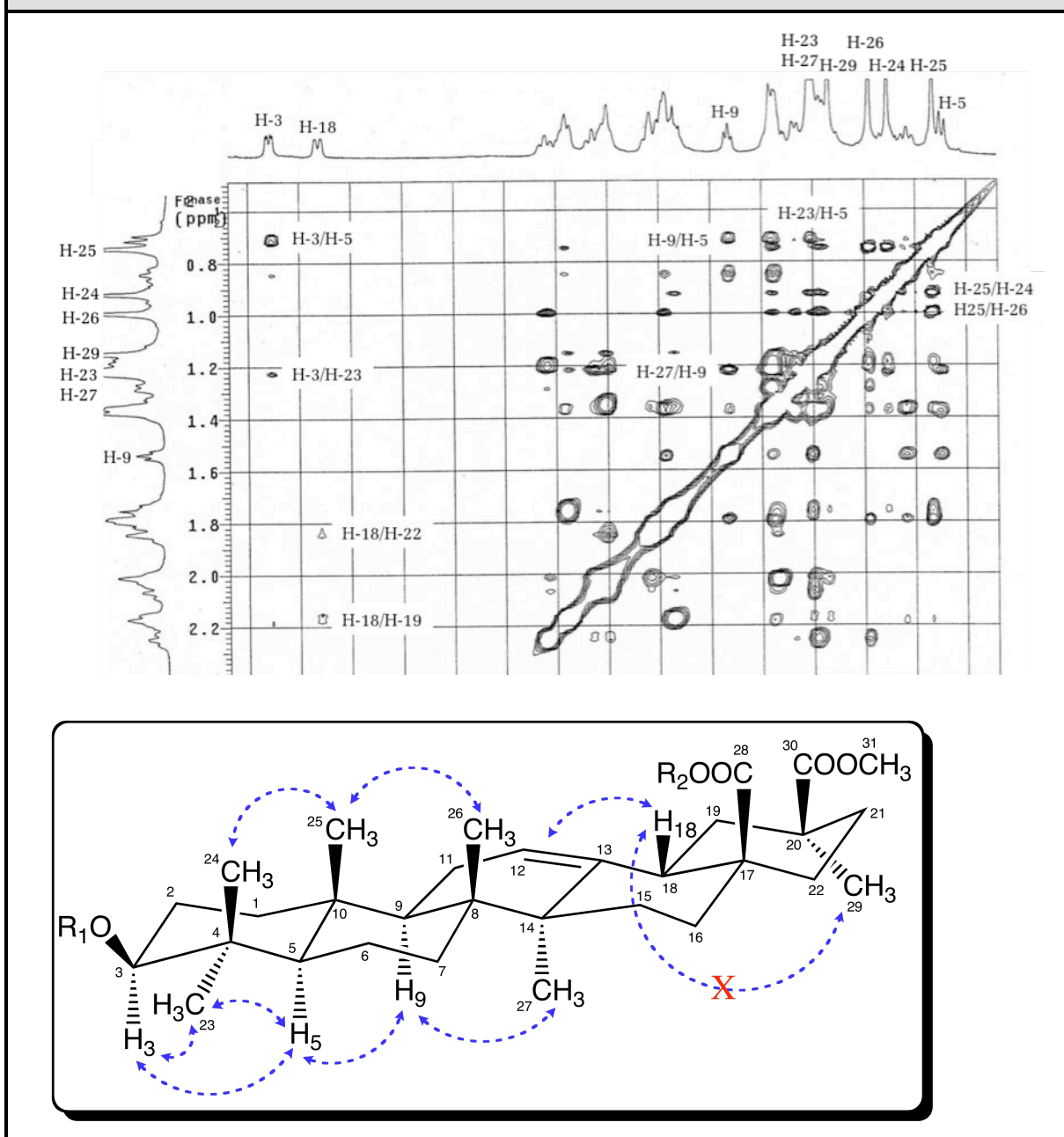
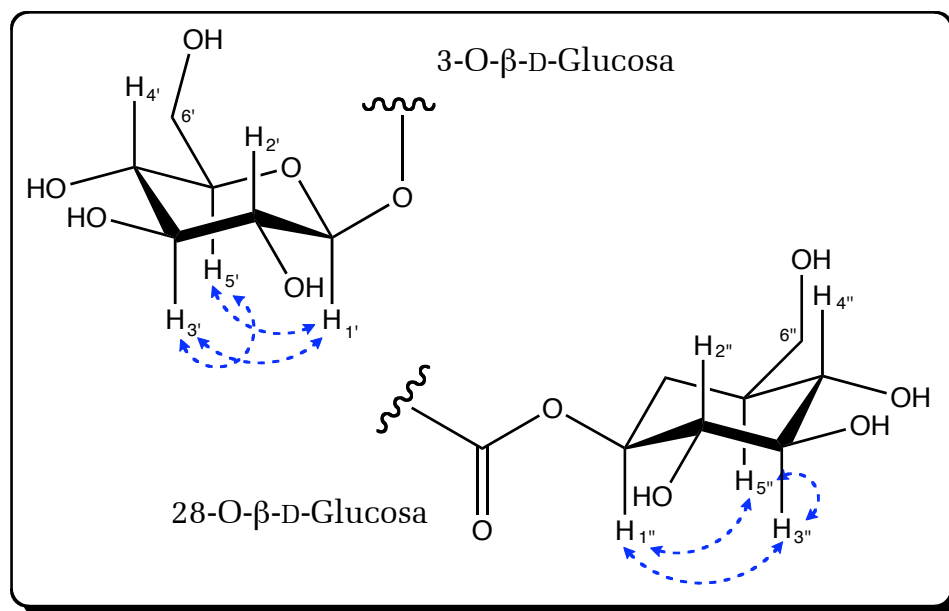
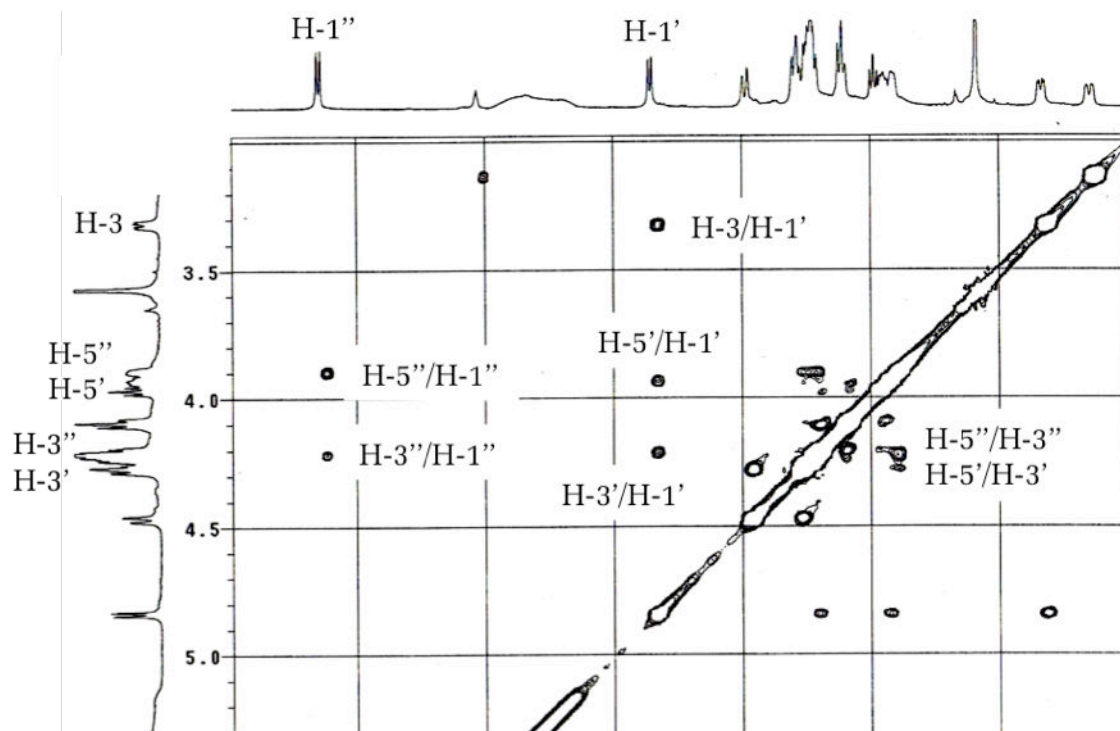


Figura 1G: Espectro ROESY (C_5D_5N) del Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil)-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1)

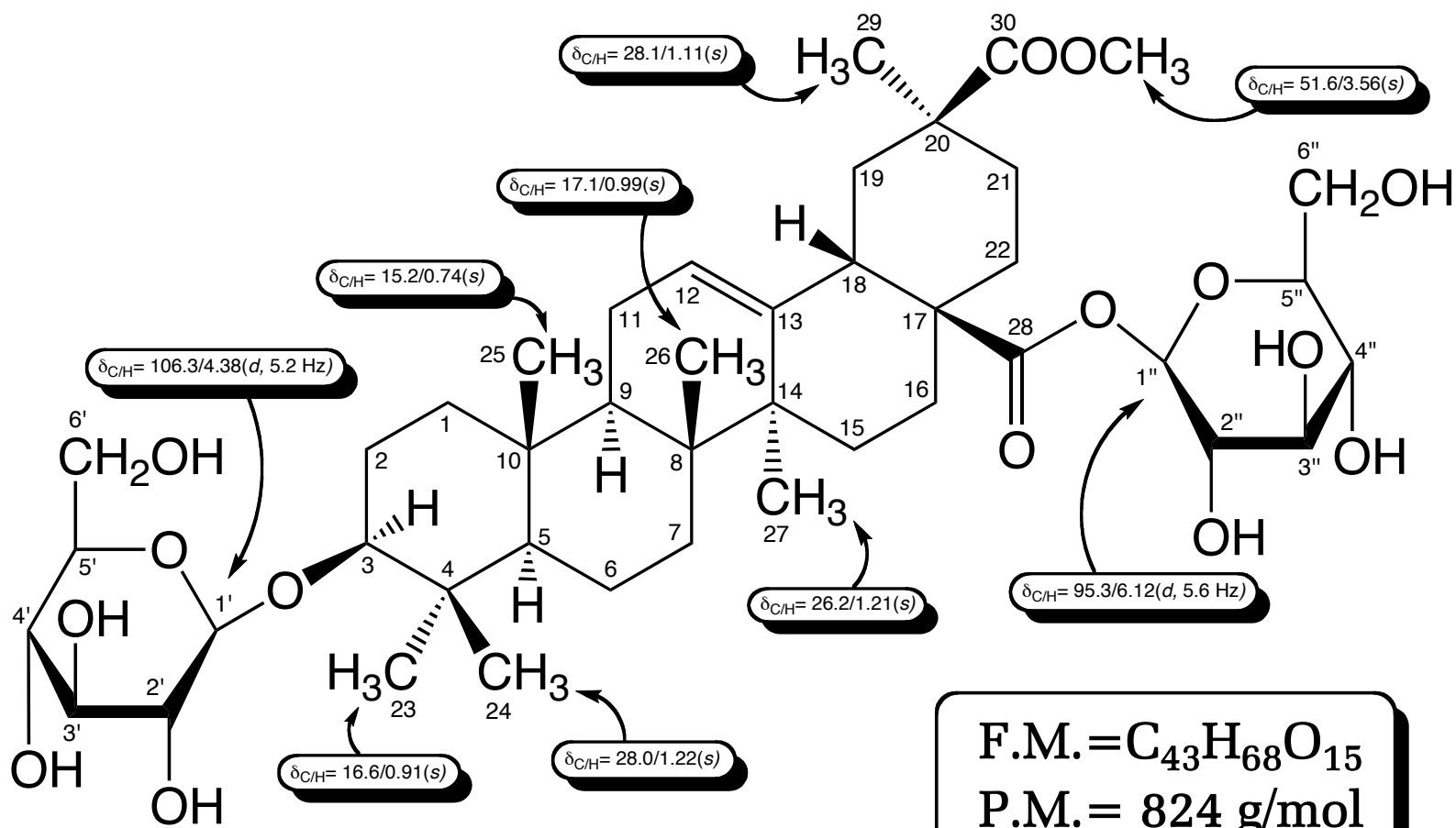


Finalmente, se pudo concluir que la estructura del compuesto en estudio correspondía a la del ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil)-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1), el cual ha sido obtenido con anterioridad de *Phytolacca thyriflora* (Haraguchi *et al.*, 1988) y se reporta en este estudio por primera vez para la especie *Phytolacca rugosa*.

Figura 1G (continuación): Espectro ROESY (C_5D_5N) del Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil)-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1)



Ácido 3-O-(β-D-glucopiranosil)-28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (1)



ÁCIDO 3-O-[β-D-GLUCOPIRANOSIL (1→2)-β-D-GLUCOPIRANOSIL] 28-O-β-D-GLUCOPIRANOSIL-SERJÁNICO (**2**):

De las fracciones 53-66, obtenidas de la reunión “IV” por cromatografía MPLC, se aisló un sólido color blanco el cual se reveló en placa de TLC como una mancha pura de coloración roja [$R_f = 0.5$, sist. solv. $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (65:35:10); P.f. = +300 °C]].

El análisis del espectro HR-ESI-MS (Fig. 2A) del compuesto (**2**) mostró un ion molecular de $m/z = 985$, que corresponde a una fórmula molecular de $\text{C}_{49}\text{H}_{78}\text{O}_{20}$. El patrón de fragmentación presentó picos en $m/z = 823$, $m/z = 661$ y $m/z = 500$, que mostraban la pérdida consecutiva de tres (3) unidades de hexosa (162 u.m.a). Mediante el estudio de los espectros de RMN- ^1H (Fig. 2B; Tabla 2B), RMN- ^{13}C (Fig. 2C; Tabla 2C), TOCSY (Fig. 2D) y HMBC (Fig. 2F) se pudo observar además que la mayoría de las señales e interacciones observadas en (**2**), coincidían perfectamente con las observadas para el compuesto (**1**), con excepción de una unidad adicional de hexosa, lo que sugirió que se trataba en principio de un derivado glicosidado del compuesto (**1**).

Figura 2A: Espectro HR-ESI-MS del Ácido 3-O-[β-D-glucopiranosil (1→2)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (**2**)

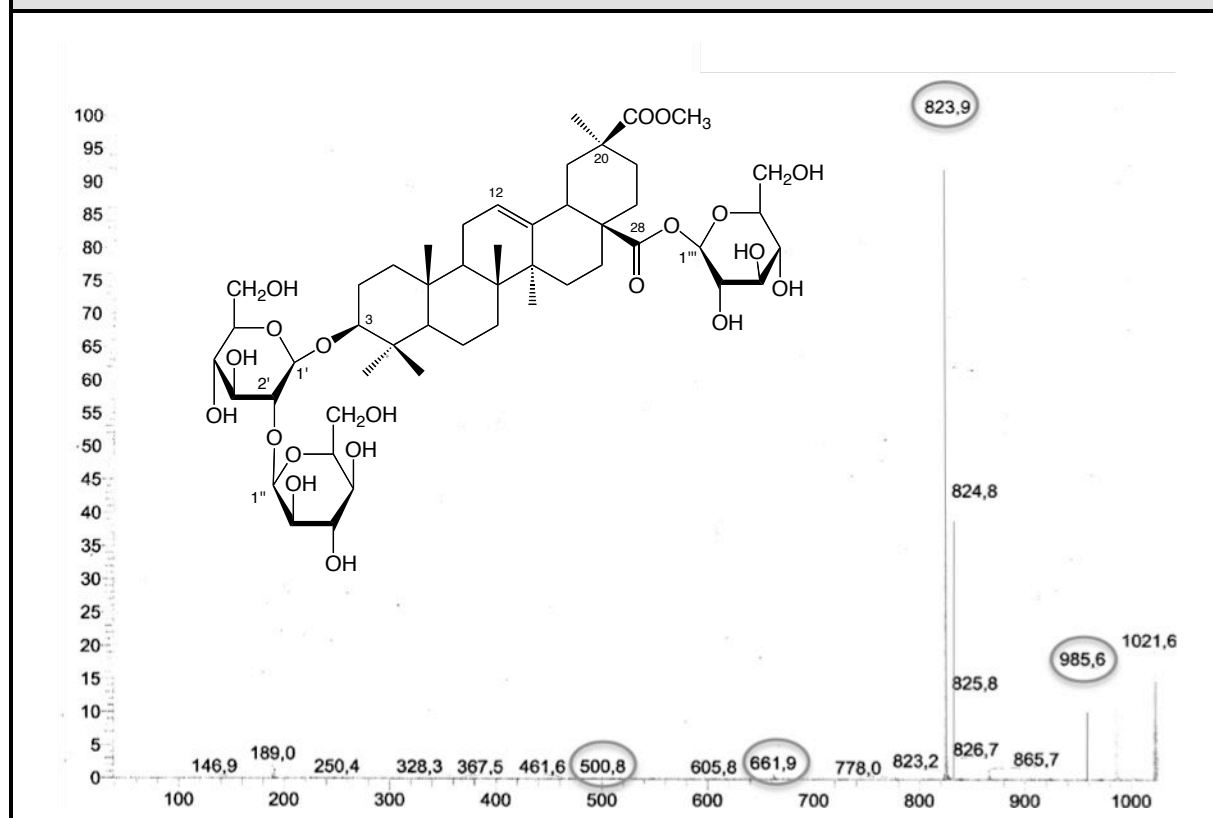


Figura 2B: Espectro de RMN-¹H (C₅D₅N, 400 MHz) del Ácido 3-O-[β-D-glucopiranosil (1→2)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (2)

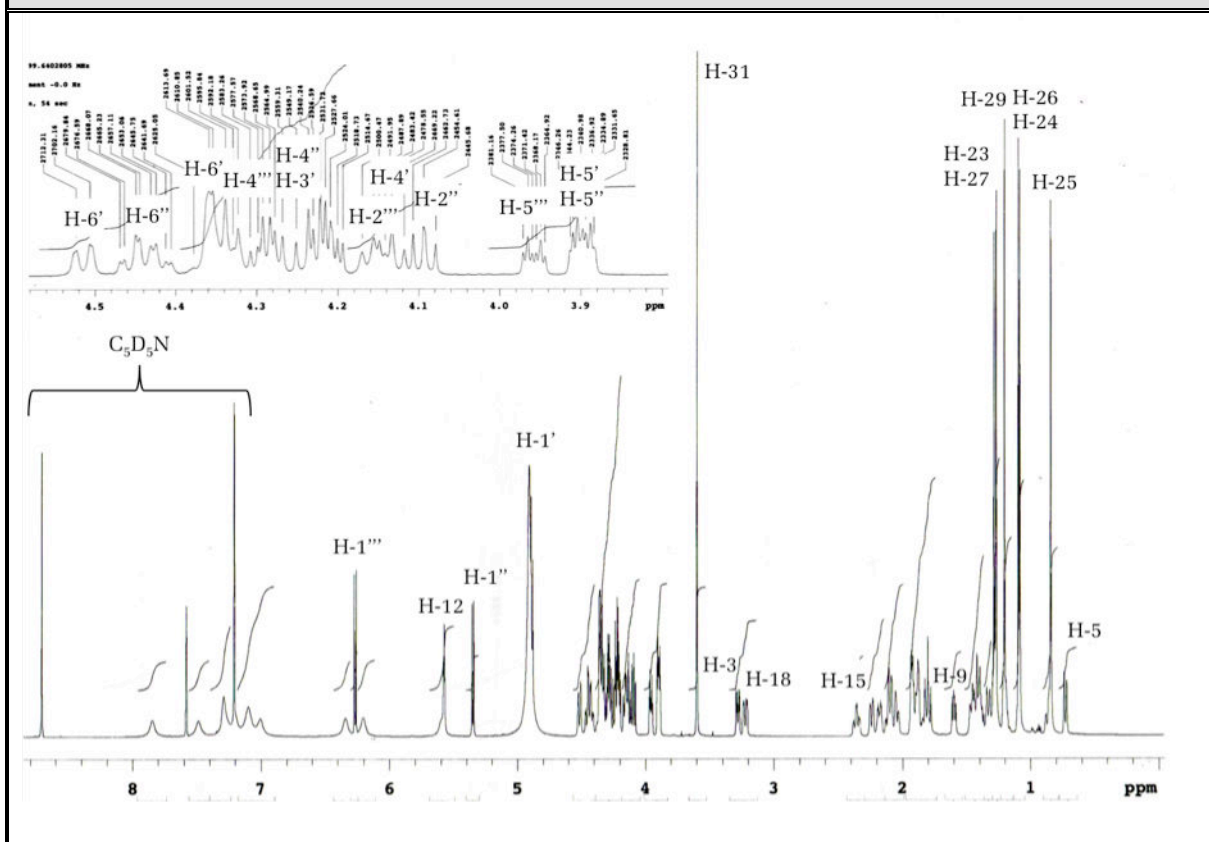


Tabla 2B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H (C₅D₅N, 600 MHz) de la Genina del Ácido 3-O-[β-D-glucopiranosil (1→2)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (2)

H	H-3	H-5	H-9	H-12	H-18	H-23
δ (ppm)	3.28	0.73	1.60	5.54	3.22	1.29
<i>m</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>t</i>	<i>dd</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	4.5/11.8	11.8	10.1/10.5	3.7	3.7/13.4	-
H	H-24	H-25	H-26	H-27	H-29	H-31
δ (ppm)	1.10	0.84	1.08	1.27	1.20	3.60
<i>m</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	-	-

Tabla 2B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) de los Azúcares del Ácido 3-O-[β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (2)						
3-O- β -D-Glucosa						
H	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'
δ (ppm)	4.90	4.22	4.30	4.13	3.96	4.46/4.52
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>dt</i>	<i>dd/dd</i>
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	3.7/9.7	-/10.2
2'-O- β -D-Glucosa						
H	H-1''	H-2''	H-3''	H-4''	H-5''	H-6''
δ (ppm)	5.35	4.09	4.22	4.27	3.90	4.36/4.44
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>dt</i>	<i>dd/dd</i>
<i>J</i> (Hz)	7.3	8.9/14.6	-	-	2.8/7.3	3.3/11.8
28-O- β -D-Glucosa						
H	H-1'''	H-2'''	H-3'''	H-4'''	H-5'''	H-6'''
δ (ppm)	6.27	4.16	4.24	4.34	3.90	4.33/4.36
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>dt</i>	<i>dd/dd</i>
<i>J</i> (Hz)	8.1	-	-	-	2.8/7.3	4.0/11.4

Al analizar las señales que conforman a la unidad de azúcar adicional, se pudo observar, gracias al espectro de masas y a la presencia de un grupo oximetilénico en $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}} = 4.36, 4.44/62.8$ ppm, que se trataba de un posible grupo glucosa o galactosa. Debido a la superposición de las señales en el espectro de RMN-¹H se hizo difícil confirmar la multiplicidad del protón H-4'', sin embargo, la comparación de los valores de desplazamiento de los hidrógenos y carbonos con los observados en la literatura (Hostettmann and Marston, 1995; Haraguchi *et al.*, 1988; Treyvaud *et al.*, 2000) así como las correlaciones ROESY, clasificaron a esta tercera unidad como un grupo glucosa (Glc).

Las interacciones HMBC (Fig. 2F) permitieron conocer las conexiones interglucosídica de los azúcares y gracias a los cruces entre las señales H-1'' \leftrightarrow C-2' y C-1'' \leftrightarrow H-2', se determinó una sustitución Glc \rightarrow ²Glc para la cadena ubicada en C-3. Se concluyó de esta manera que el compuesto en cuestión era el ácido 3-O-[β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (2), aislado de los frutos de *Phytolacca thyrsoiflora* y *P. icosandra* (Haraguchi *et al.*, 1988; Treyvaud *et al.*, 2000) y se reporta por primera vez para la especie *P. rugosa*.

Figura 2C: Espectro de RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) del Ácido 3-O-[β-D-glucopiranosil (1→2)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (2)

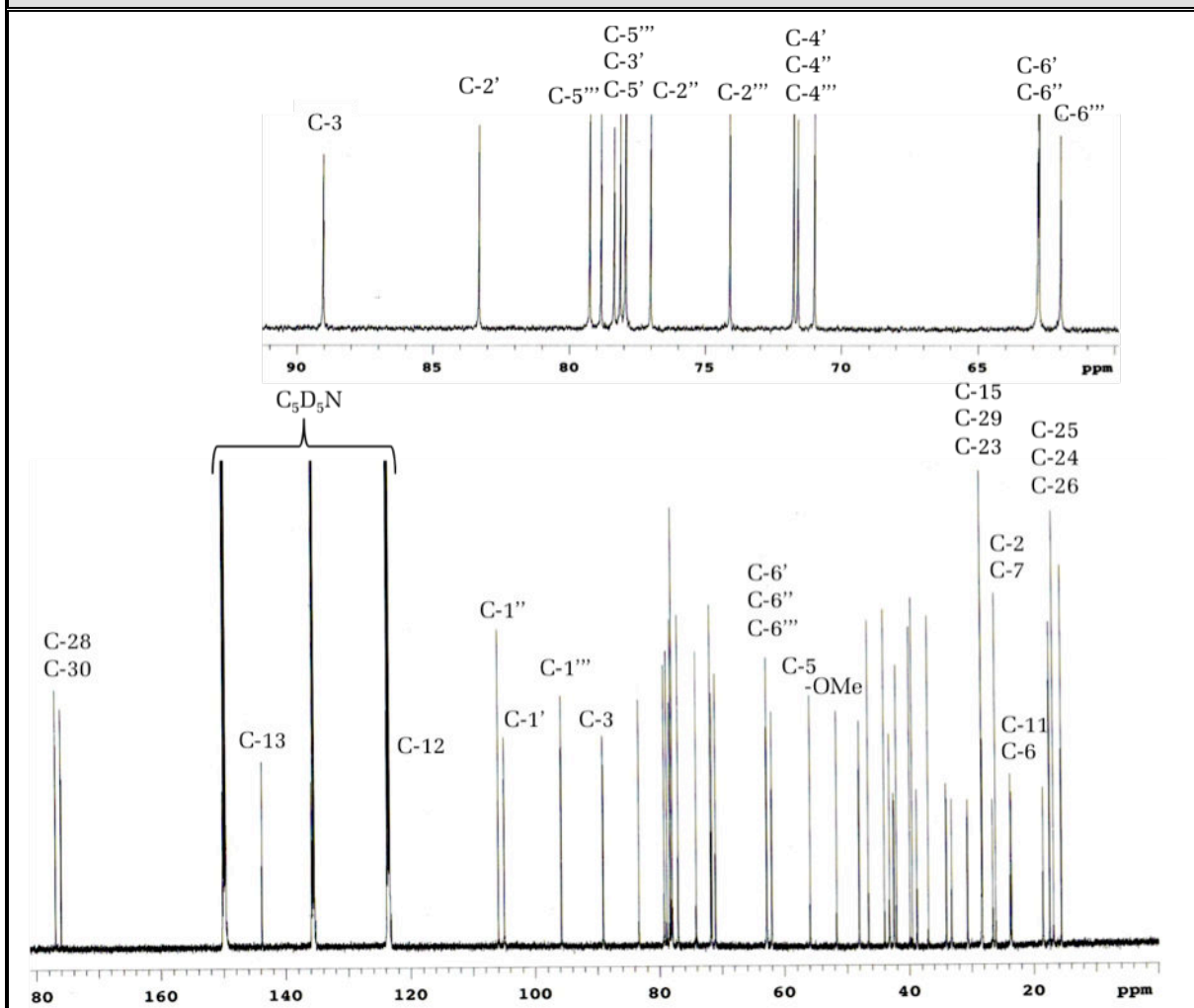


Tabla 2C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) de la Genina del Ácido 3-O-[β-D-glucopiranosil (1→2)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (2)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	38.7	26.5	89.0	39.5	55.9	18.5	33.2
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-O-	>C<	>CH-	-CH ₂ -	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	39.9	48.0	36.9	23.7	123.8	143.8	42.0
tipo	>C<	>CH-	>C<	-CH ₂ -	=CH-	>C=	>C<

C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	28.2	23.5	46.5	43.2	42.5	44.0	30.6
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>C<	>CH-	-CH ₂ -	>C<	-CH ₂ -
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28
δ (ppm)	34.0	28.3	16.8	15.5	17.4	26.1	176.0
tipo	-CH ₂ -	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-O-C=O
C	C-29	C-30	C-31	TMS como referencia interna			
δ (ppm)	28.3	176.9	51.7				
tipo	-CH ₃	-O-C=O	-OCH ₃				

Tabla 2C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) de los Azúcares de Ácido 3-O-[β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (2)						
3-O- β -D-Glucosa						
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'
δ (ppm)	105.0	83.3	78.1	71.6	77.9	62.8
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-
2'-O- β -D-Glucosa						
C	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''
δ (ppm)	105.9	77.0	78.4	71.0	77.9	62.8
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-
28-O- β -D-Glucosa						
C	C-1'''	C-2'''	C-3'''	C-4'''	C-5'''	C-6'''
δ (ppm)	95.8	74.1	78.8	71.8	79.3	62.0
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-

Figura 2D: Espectros ^1H - ^1H COSY y TOCSY ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) del Ácido 3-O- $[\beta\text{-D-glucopiranosil (1}\rightarrow\text{2)}\text{-}\beta\text{-D-glucopiranosil}]$ 28-O- $\beta\text{-D-glucopiranosil-serjánico (2)}$

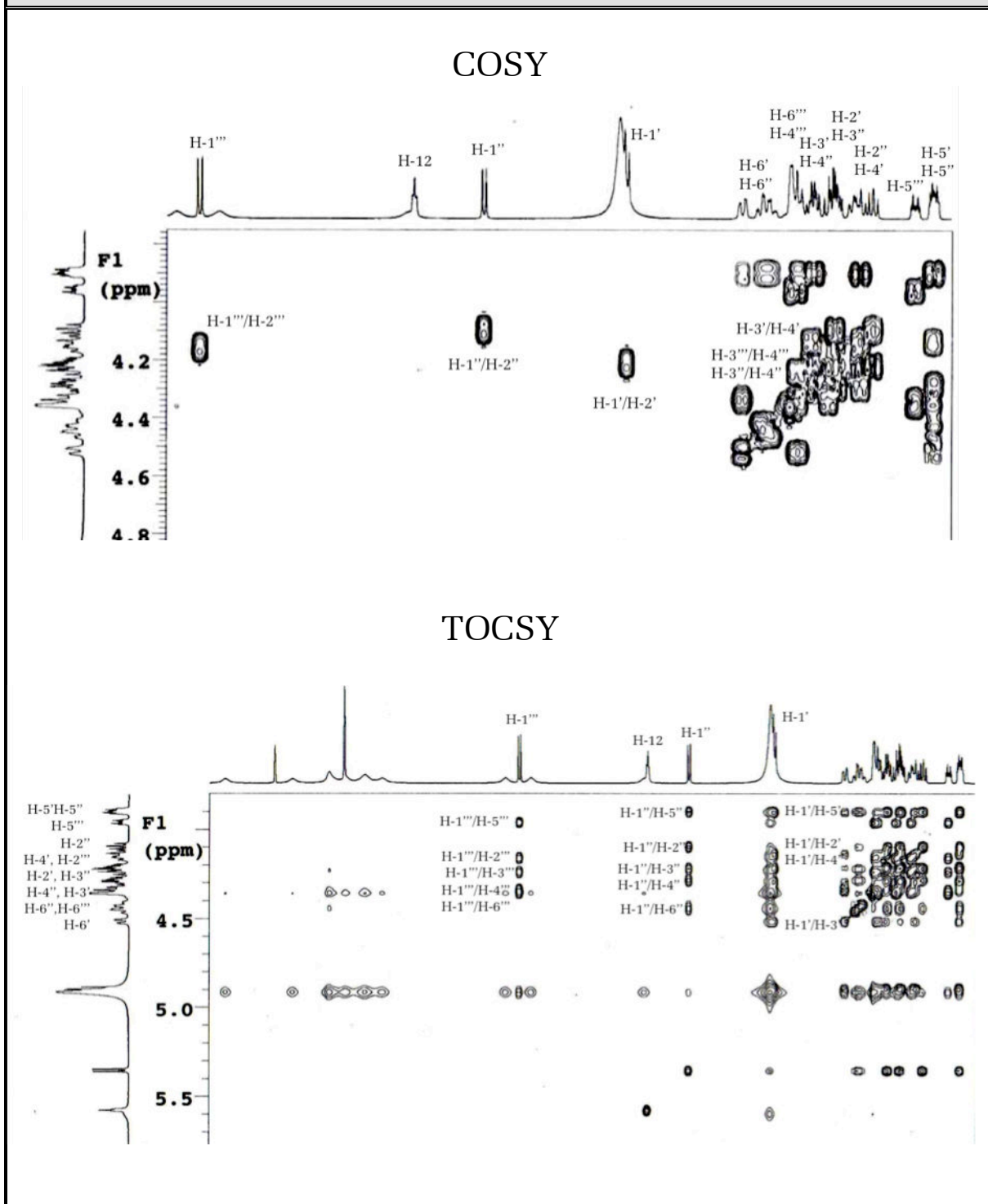


Figura 2E: Espectro HMQC (C_5D_5N) del Ácido 3-O-[β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (2)

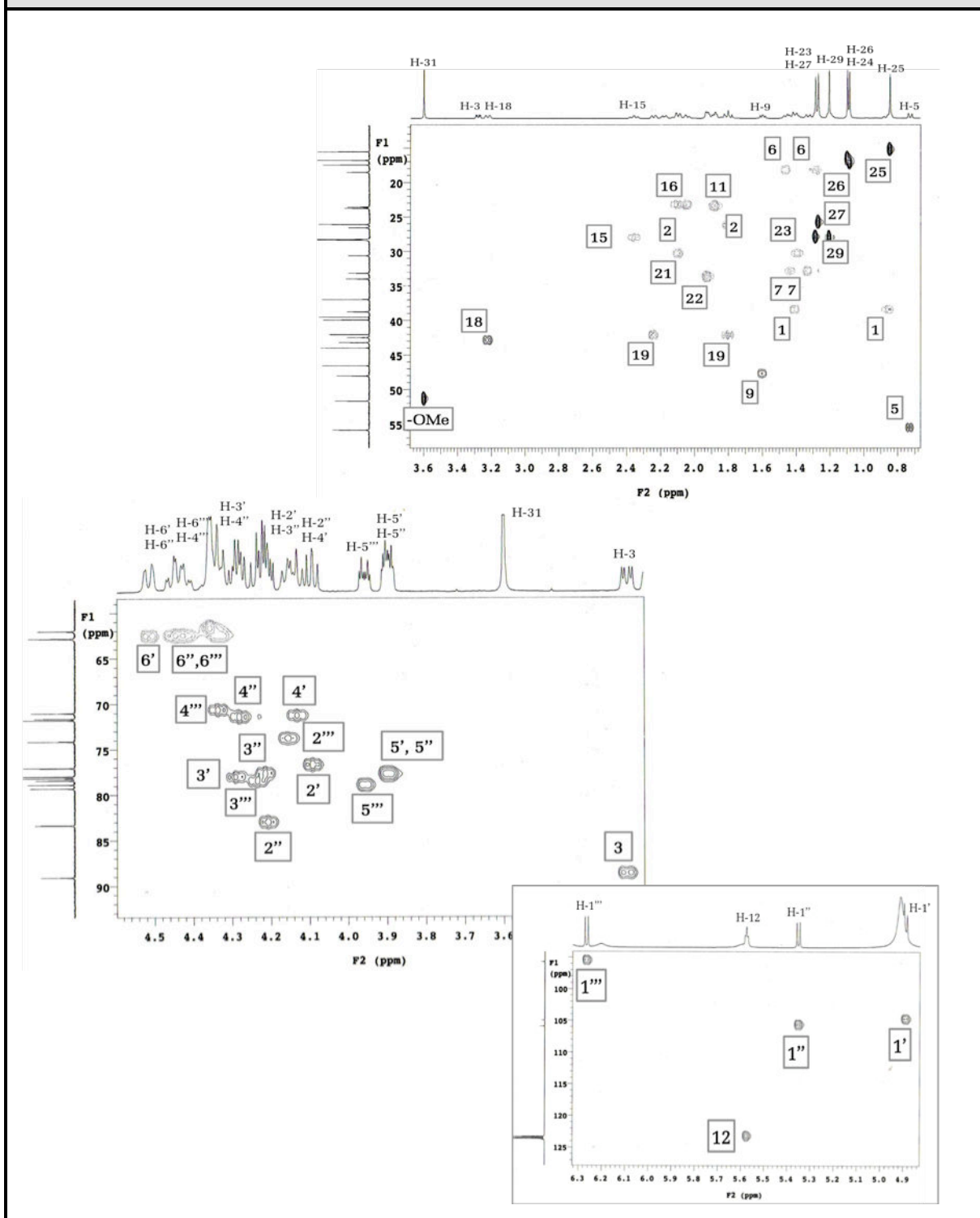
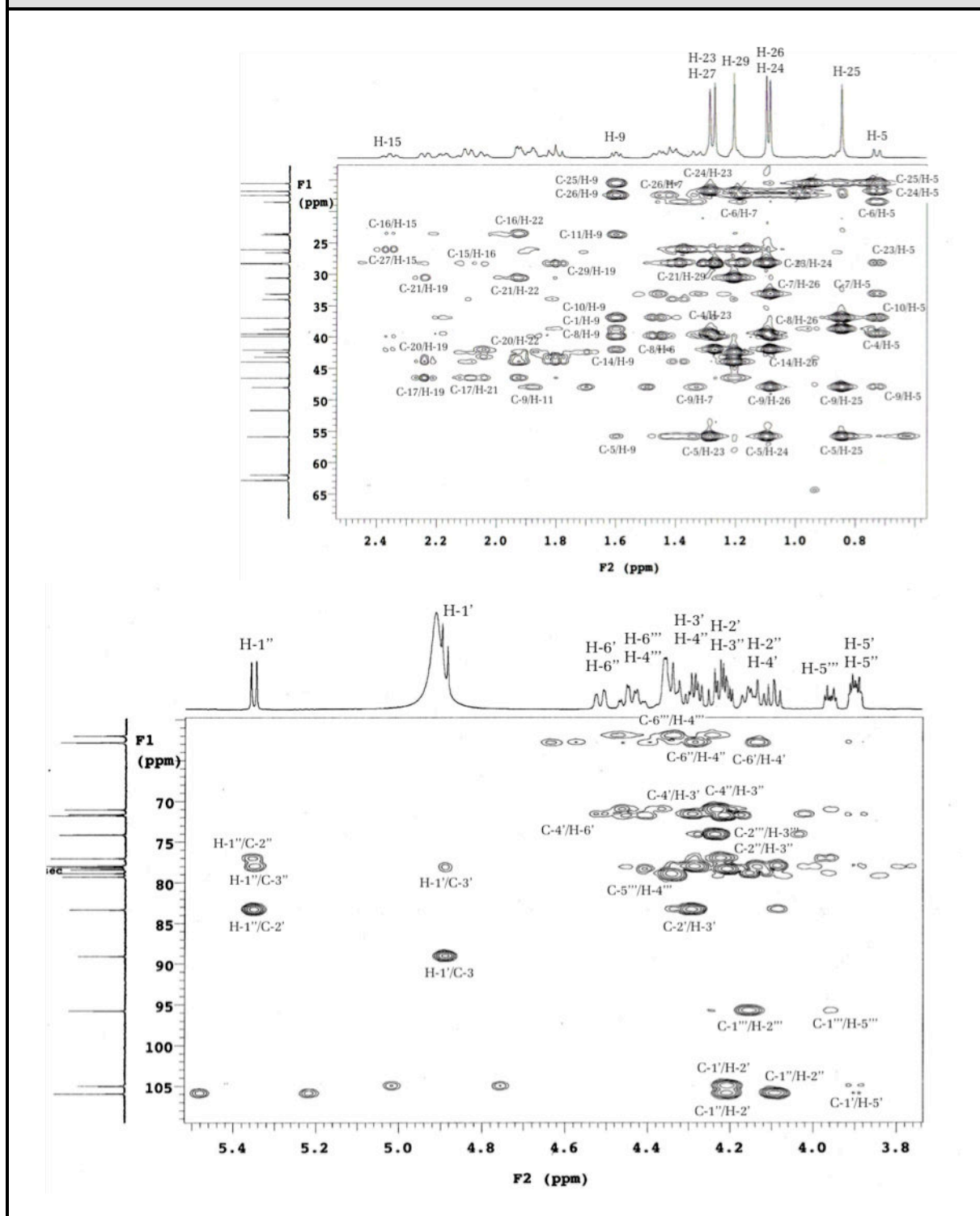
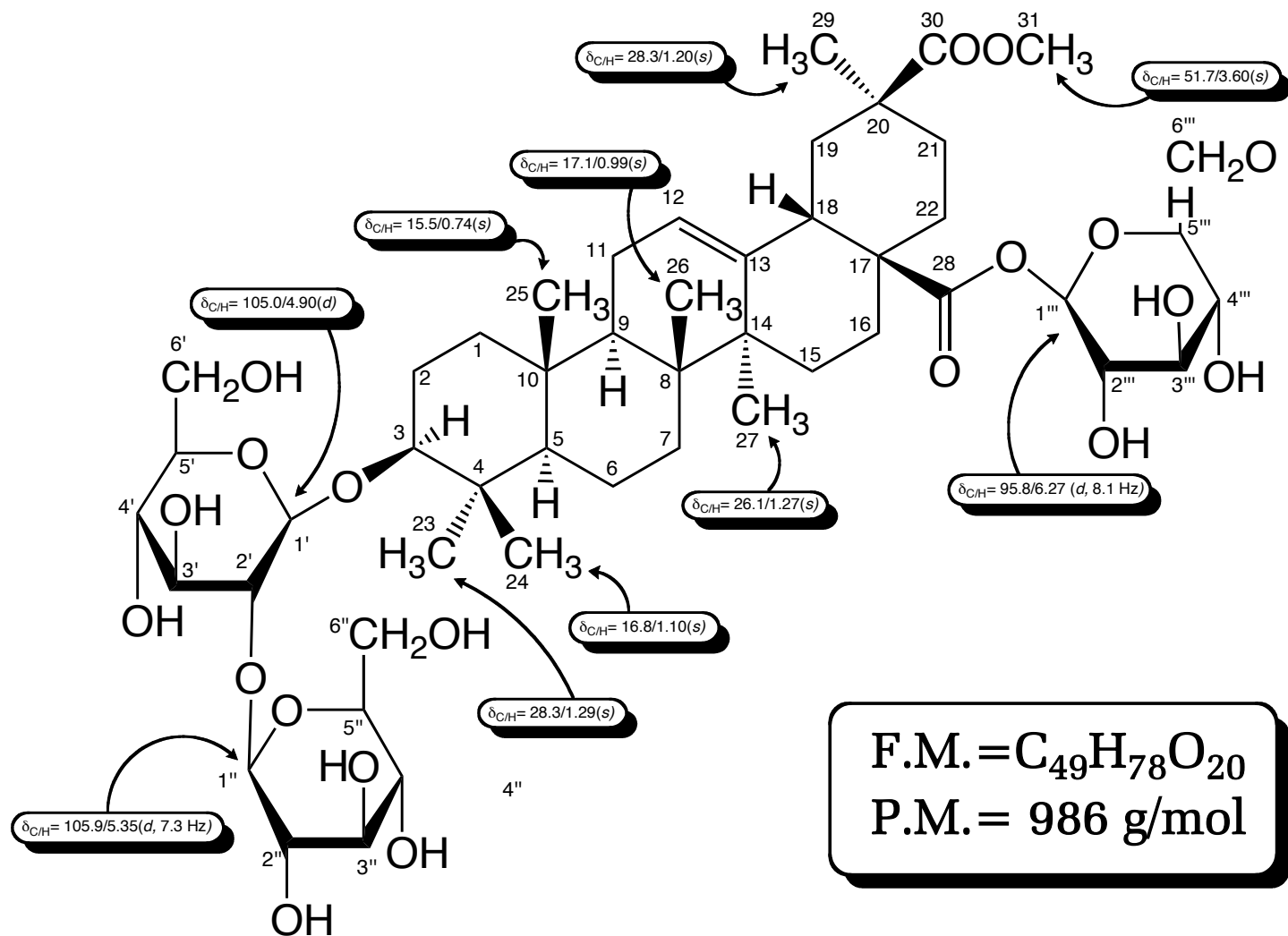


Figura 2F: Espectro HMBC (C_5D_5N) del Ácido 3-O-[β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (2)



Ácido 3-O-[β-D-glucopiranosil (1→2)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (2)



ÁCIDO 3-O-[β -D-GALACTOPIRANOSIL (1 \rightarrow 3)- β -D-GLUCOPIRANOSIL], 28-O- β -D-GLUCOPIRANOSIL-SERJÁNICO (**3**):

El compuesto (**3**) se obtuvo de las fracciones 30-46 de la reunión "D", de la cromatografía general. Se aisló como un sólido amorfo de coloración blanca, el cual reveló en placa TLC como un compuesto puro color rojo [R_f = 0.59; sist. solv. $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (65:35:10); P.f.= +300 °C]. El espectro de masas FAB (Fig. 3A) presentó el mismo ion molecular (m/z = 985) y el mismo patrón de fraccionamiento (m/z = 823, 661 y 499) que el compuesto (**2**), según esto, se pudo inferir que el compuesto en estudio era de igual forma, un triterpeno con tres grupos hexosa; a pesar de ello, los R_f de ambos compuestos resultaron ser diferentes, por lo que se concluyó que las unidades de hexosa debían ser diferentes o bien estar unidas de manera distinta en el compuesto (**3**).

Los datos aportados por los espectros de RMN^1H (Fig. 3B; Tabla 3B) y RMN^{13}C (Fig. 3C; Tabla 3C) confirmaron lo predicho anteriormente para la estructura (**3**), ya que se observaron muchas similitudes, con excepción de algunas señales adicionales, representativas de protones pertenecientes a un grupo galactosa (Gal).

Figura 3A: Espectro FAB-MS del Ácido 3-O-[β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (**3**)

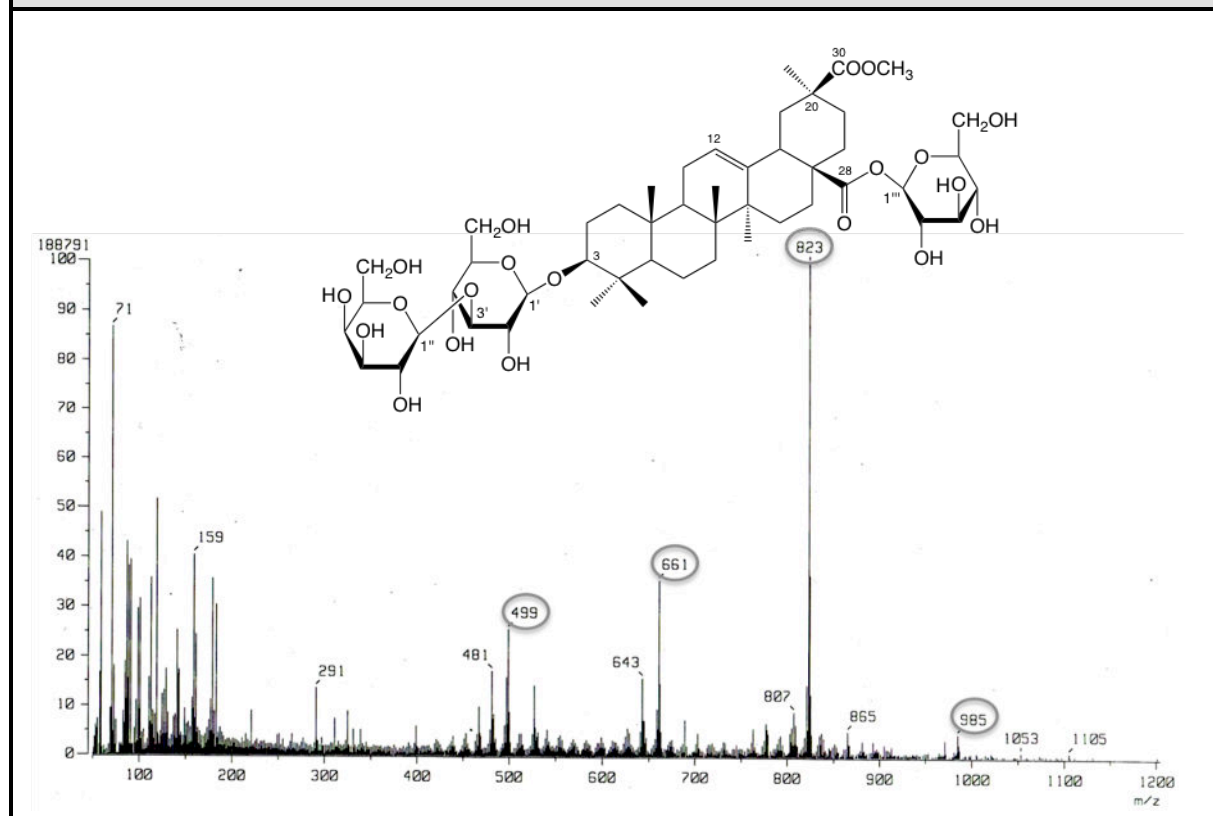


Figura 3B: Espectro de RMN-¹H (C₅D₅N, 600 MHz) del Ácido 3-O-[β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (3)

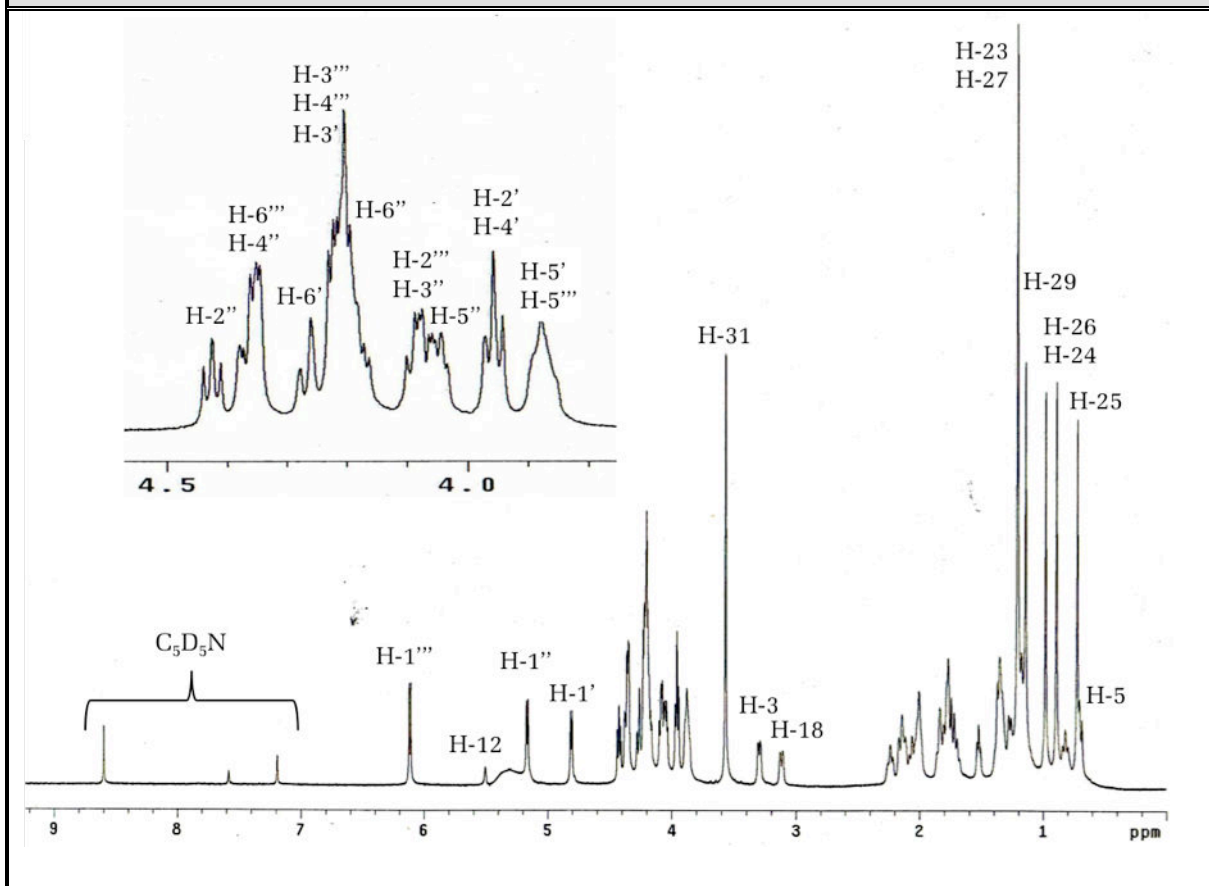


Tabla 3B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H (C₅D₅N, 600 MHz) de la Genina del Ácido 3-O-[β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (3)

H	H-3	H-5	H-9	H-12	H-18	H-23
δ (ppm)	3.30	0.69	1.53	5.51	3.13	1.21
<i>m</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>t</i>	<i>dd</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	2.4/5.2	8.0	5.2/6.4	3.7	-/9.2	-
H	H-24	H-25	H-26	H-27	H-29	H-31
δ (ppm)	0.89	0.72	0.98	1.21	1.14	3.57
<i>m</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	-	-

Tabla 3B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz) de los Azúcares del Ácido 3-O- $[\beta\text{-D-galactopiranosil} (1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-glucopiranosil}]$ 28-O- $\beta\text{-D-glucopiranosil-serjánico}$ (3)						
3-O- $\beta\text{-D-Glucosa}$						
H	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'
δ (ppm)	4.81	3.94	4.21	3.96	3.88	4.23/4.26
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
<i>J</i> (Hz)	5.2	5.6	-	-	-	-
3'-O- $\beta\text{-D-Galactosa}$						
H	H-1''	H-2''	H-3''	H-4''	H-5''	H-6''
δ (ppm)	5.17	4.42	4.22	4.36	4.04	4.17/4.36
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
<i>J</i> (Hz)	5.2	4.1	-	5.6	-	-
28-O- $\beta\text{-D-Glucosa}$						
H	H-1'''	H-2'''	H-3'''	H-4'''	H-5'''	H-6'''
δ (ppm)	6.11	4.09	4.20	4.07	3.86	4.19/4.35
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
<i>J</i> (Hz)	5.6	-	-	-	-	-

El espectro ^1H - ^1H COSY (Fig. 3D) mostró correlaciones del protón anomérico H-1'' en $\delta_{\text{H}} = 5.17$ ppm con su correspondiente hidrógeno H-2'' ($\delta_{\text{H}} = 4.42$ ppm) y este a su vez con H-3'' ($\delta_{\text{H}} = 4.07$ ppm), sin embargo, la correlación H-3'' \leftrightarrow H-4'' no pudo ser observada. Esto, unido al desplazamiento a campo inusualmente bajo de los protones H-4'' ($\delta_{\text{H}} = 4.36$ ppm) y H-2'' ($\delta_{\text{H}} = 4.42$ ppm) llevó a la conclusión de que se trataba de un grupo galactosa (Streefkerk *et al.*, 1973; Macías *et al.*, 2010; Collins & Ferrier, 1998).

Las interacciones HMBC (Fig. 3F) H-1'' \leftrightarrow C-3' y H-3'' \leftrightarrow C-1'' permitieron establecer el patrón de enlace entre las hexosas ubicadas en el C-3 del tipo: Gal \rightarrow 3 Glc. Este hecho se vio apoyado gracias al desapantallamiento observado en el carbono C-3' a $\delta_{\text{C}} = 87.8$ ppm, característico de glucosas sustituidas en esta posición (Agrawal, 1992; Agrawal and Rastogi, 1974).

Finalmente, se reconoció el compuesto (**3**) como el ácido 3-O- $[\beta\text{-D-galactopiranosil} (1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-glucopiranosil}]$ 28-O- $\beta\text{-D-glucopiranosil-serjánico}$, el cual fue aislado por primera vez de la especie *Phytolacca bogotensis* (Nielsen *et al.*, 1995) y es reportado en este estudio por primera vez de los frutos de *P.rugosa*.

Figura 3C: Espectro de RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) del Ácido 3-O-[β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (3)

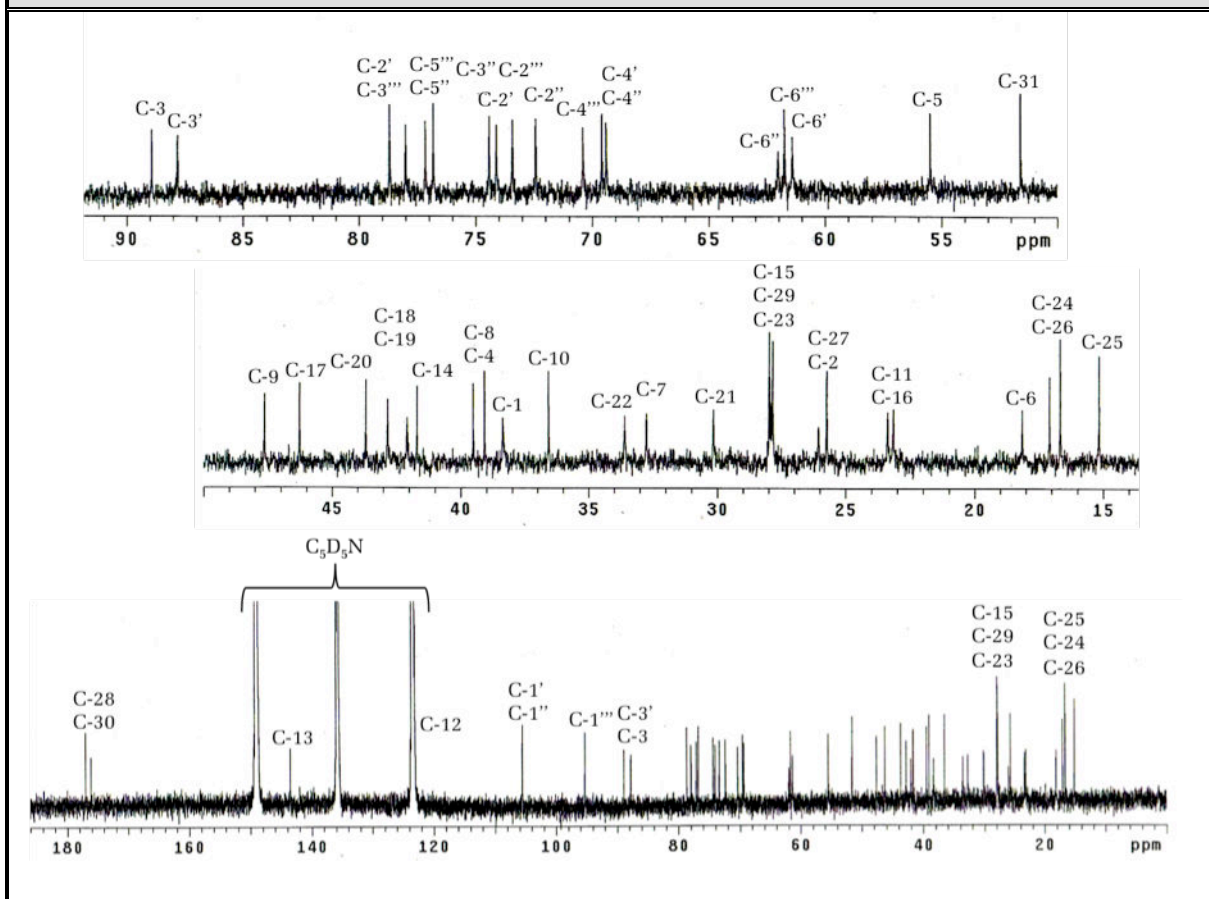


Tabla 3C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) de la Genina del Ácido 3-O-[β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (3)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	38.4	26.1	88.9	39.1	55.5	18.6	32.7
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-O-	>C<	>CH-	-CH ₂ -	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	39.5	47.6	36.5	23.2	123.1	143.5	41.7
tipo	>C<	>CH-	>C<	-CH ₂ -	=CH-	>C=	>C<
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	27.9	23.4	46.3	42.8	42.1	43.7	30.1
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>C<	>CH-	-CH ₂ -	>C<	-CH ₂ -

C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28
δ (ppm)	33.6	27.9	16.7	15.2	17.1	25.7	176.1
tipo	-CH ₂ -	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-O-C=O
C	C-29	C-30	C-31	TMS como referencia interna			
δ (ppm)	28.0	177.0	51.6				
tipo	-CH ₃	-O-C=O	-OCH ₃				

Tabla 3C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) de los Azúcares del Ácido 3-O-[β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (3)						
3-O- β -D-Glucosa						
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'
δ (ppm)	105.6	74.1	87.8	69.6	78.6	61.4
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-
3'-O- β -D-Galactosa						
C	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''
δ (ppm)	105.6	72.4	74.4	69.4	76.8	62.0
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-
28-O- β -D-Glucosa						
C	C-1'''	C-2'''	C-3'''	C-4'''	C-5'''	C-6'''
δ (ppm)	95.3	73.4	77.9	70.3	77.1	61.7
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-

Figura 3D: Espectros TOCSY y ^1H - ^1H COSY ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) del Ácido 3-O-[β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (3)

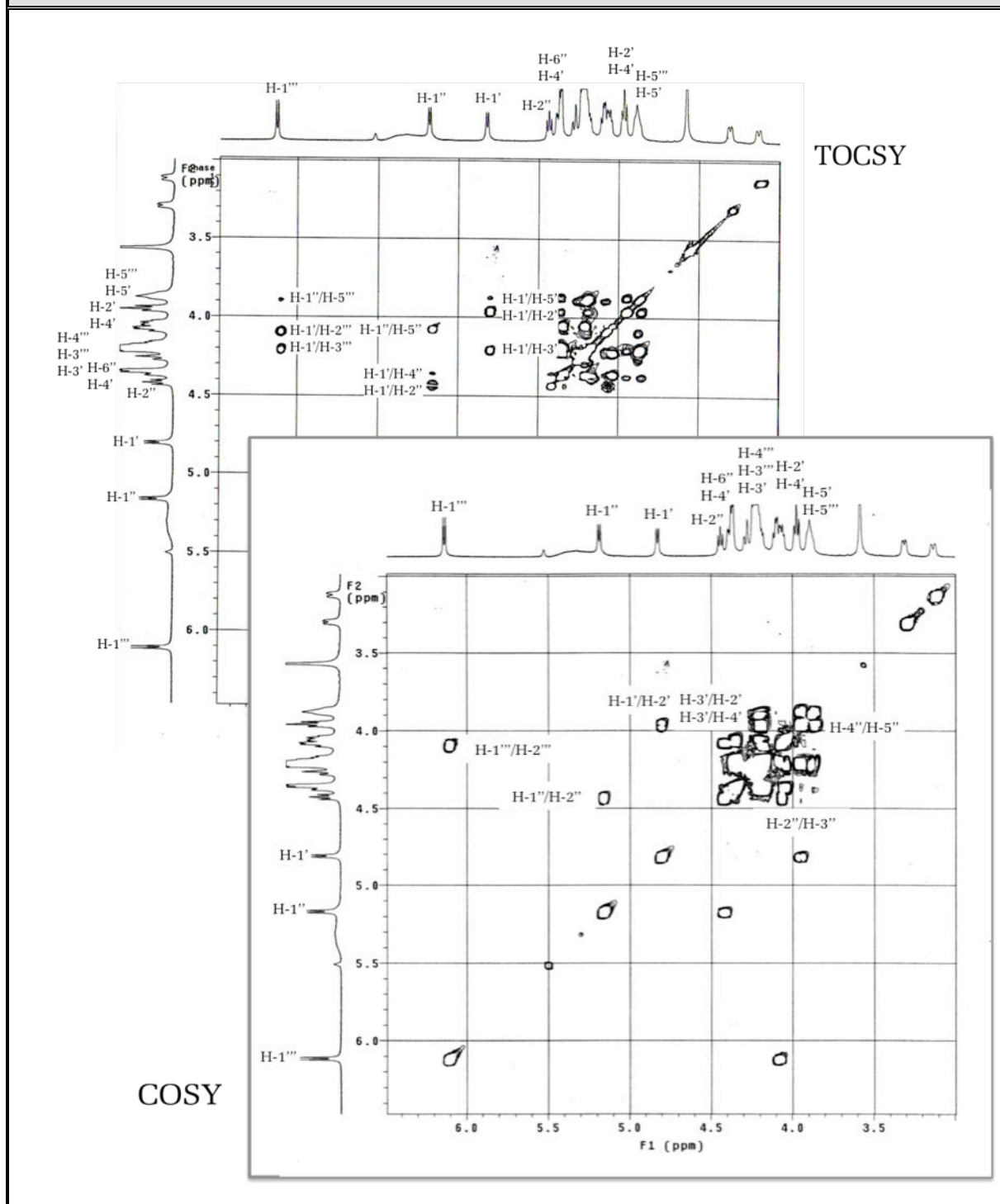


Figura 3E: Espectro HMQC (C_5D_5N) del
 Ácido 3-O-[β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil]
 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (3)

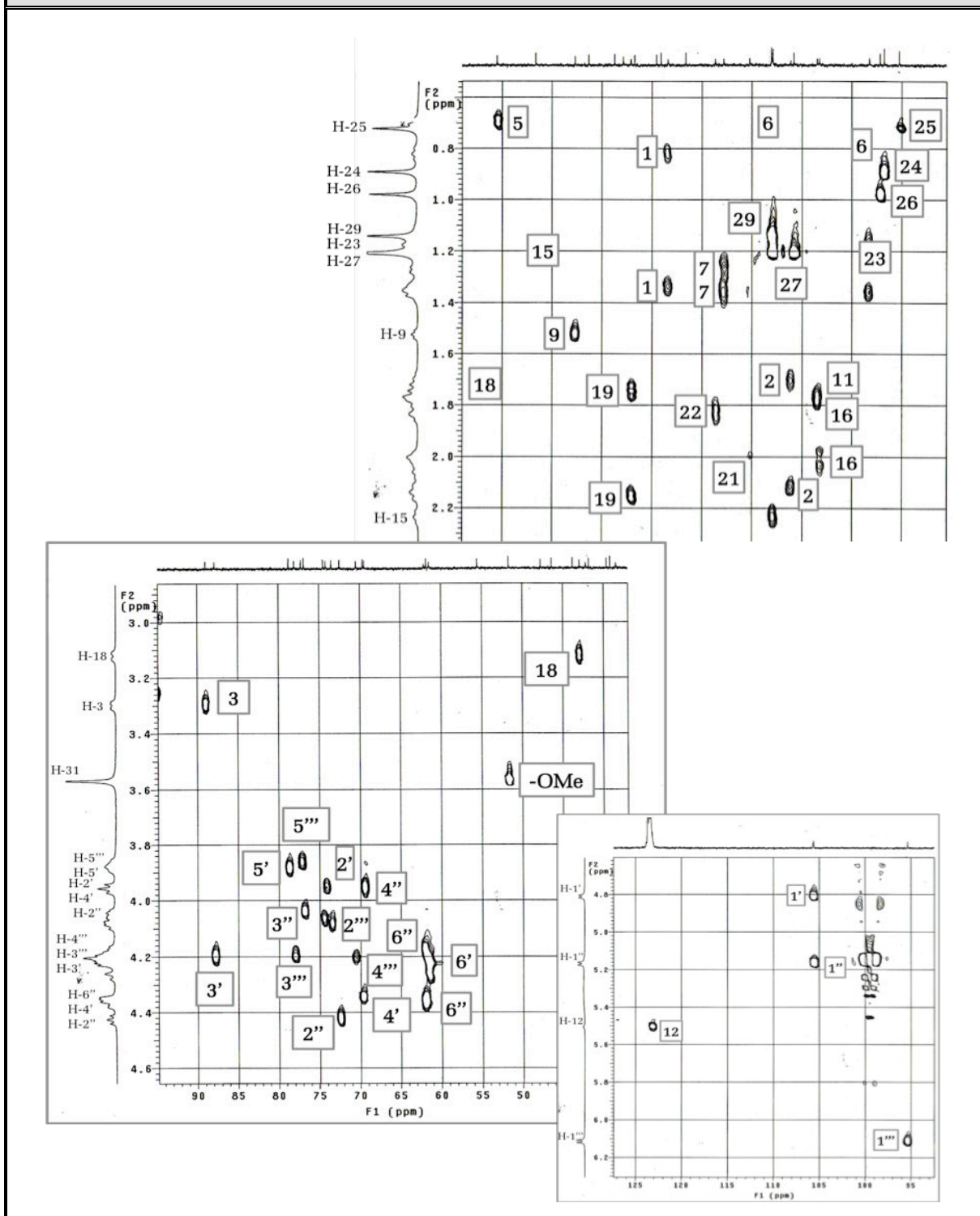
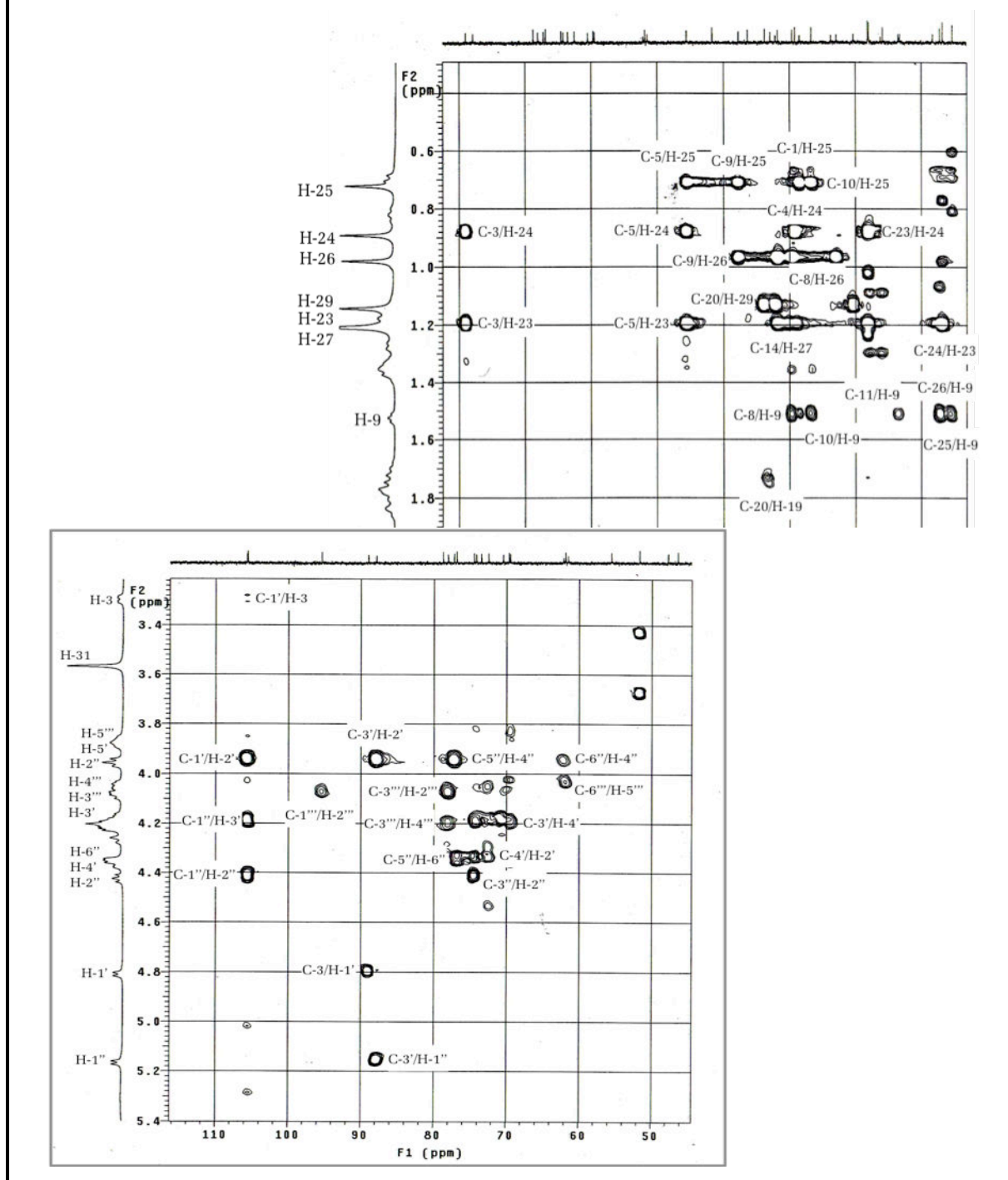
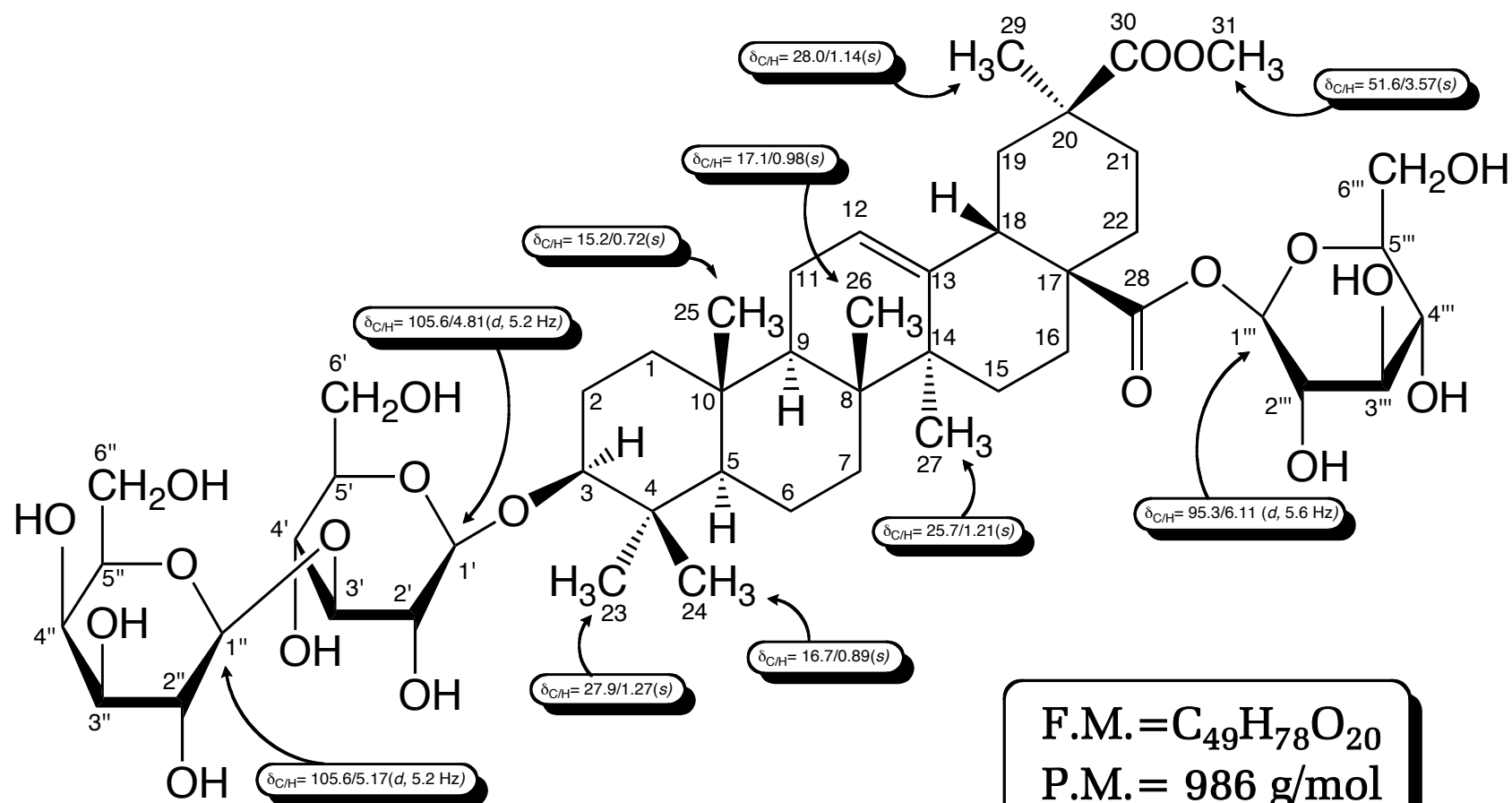


Figura 3F: Espectro HMBC (C_5D_5N) del
 Ácido 3-O-[β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil]
 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (3)



Ácido 3-O-[β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (3)



ÁCIDO 3-O-[β-D-GLUCOPIRANOSIL (1→3)-β-D-GALACTOPIRANOSIL (1→3)-β-D-GLUCOPIRANOSIL], 28-O-β-D-GLUCOPIRANOSIL-SERJÁNICO (**4**):

De las fracciones 55-63 de la combinación de reuniones “E” y “C” de la cromatografía general, se obtuvo un sólido color blanco el cual revelaba en placa TLC como una mancha pura de color rojo [$R_f = 0.43$; sist. solv. $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (65:35:10); P.f. = +300 °C].

El espectro de HR-ESI-MS (Fig. 4A) presentó un ion molecular de $m/z = 1147.8$, el cual se corresponde con una sustancia de fórmula molecular $\text{C}_{55}\text{H}_{88}\text{O}_{25}$, el patrón de fragmentación presentó picos en $m/z = 986.1$ y $m/z = 823.9$, asignables a la pérdida de dos grupos hexosa (162 u.m.a). El posterior análisis de los espectros de RMN- ^1H (Fig. 4B; Tabla 4B) y RMN- ^{13}C (Fig. 4C; Tabla 4C) advirtieron la presencia de otras dos unidades monosacáridas.

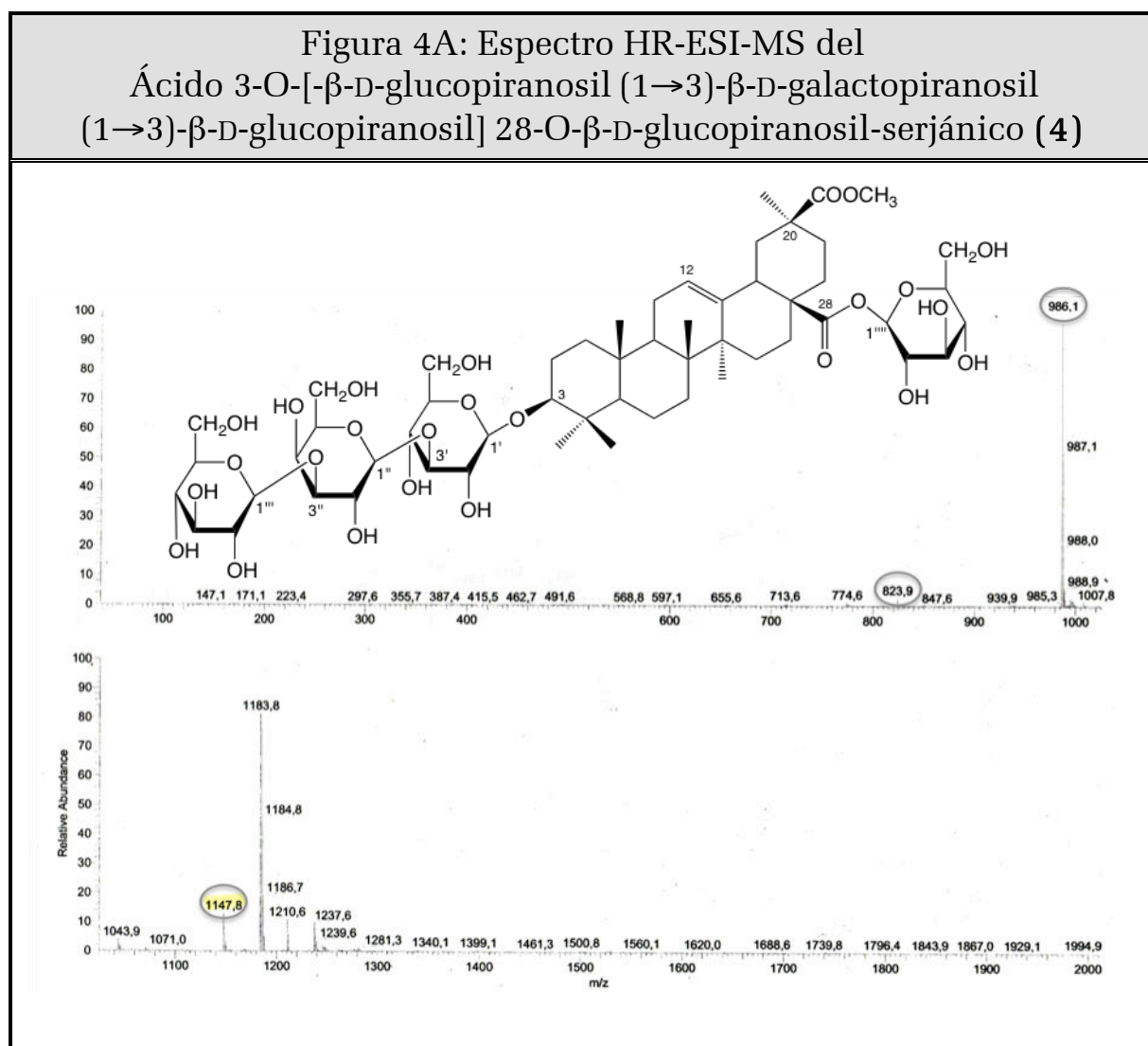


Figura 4B: Espectro de RMN-¹H (C₅D₅N, 600 MHz) del Ácido 3-O-[-β-D-glucopiranosil (1→3)-β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (4)

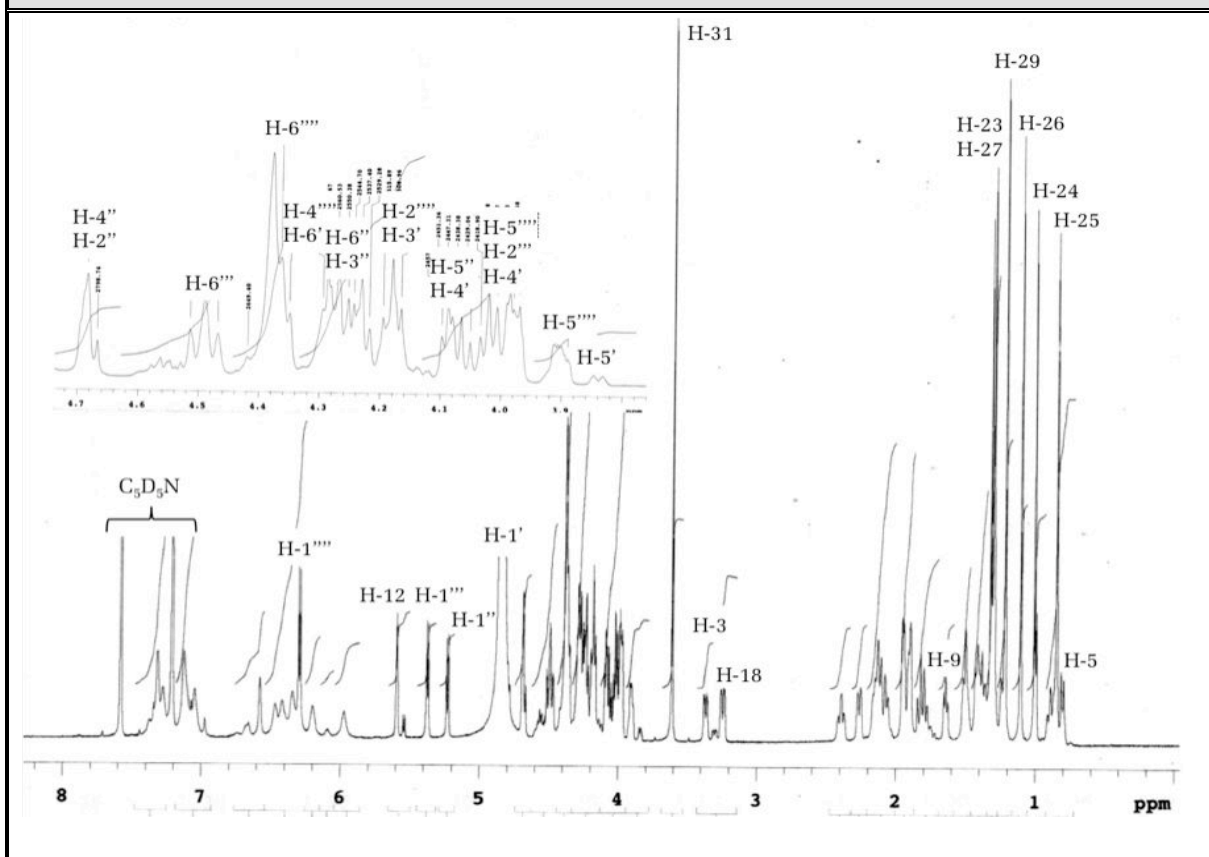


Tabla 4B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H (C₅D₅N, 600 MHz) de la Genina del Ácido 3-O-[-β-D-glucopiranosil (1→3)-β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (4)

H	H-3	H-5	H-9	H-12	H-18	H-23
δ (ppm)	3.37	0.80	1.64	5.59	3.24	1.32
<i>m</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>t</i>	<i>t</i>	<i>dd</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	4.1/11.4	11.8	8.7	3.7	3.7/10.6	-
H	H-24	H-25	H-26	H-27	H-29	H-31
δ (ppm)	1.01	0.85	1.11	1.30	1.22	3.61
<i>m</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	-	-

Tabla 4B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) de los Azúcares del Ácido 3-O-[- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (4)						
3-O- β -D-Glucosa						
H	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'
δ (ppm)	4.88	4.02	4.17	4.07	3.90	4.28/4.48
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	-	-
3'-O- β -D-Galactosa						
H	H-1''	H-2''	H-3''	H-4''	H-5''	H-6''
δ (ppm)	5.23	4.67	4.28	4.69	4.09	4.28/4.38
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
<i>J</i> (Hz)	7.7	-	-	-	-	-
3''-O- β -D-Glucosa						
H	H-1'''	H-2'''	H-3'''	H-4'''	H-5'''	H-6'''
δ (ppm)	5.37	4.42	4.27	4.22	3.98	4.38/4.44
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
<i>J</i> (Hz)	7.7	-	-	-	-	-
28-O- β -D-Glucosa						
H	H-1''''	H-2''''	H-3''''	H-4''''	H-5''''	H-6''''
δ (ppm)	6.30	4.17	4.25	4.36	3.97	4.28/4.38
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
<i>J</i> (Hz)	8.1	-	-	-	-	-

El estudio en profundidad de los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C, indicó la presencia de cuatro señales ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}} = 4.88/106.4, 5.23/105.9, 5.37/106.3$ y $6.30/95.8$ ppm) correspondientes a los hidrógenos y carbonos anoméricos de cuatro unidades de hexosa. Los mismos, presentaron correlaciones TOCSY (Fig. 4D) con cada uno de los protones pertenecientes a cada unidad y sus interacciones se corroboraron mediante el análisis de los espectros COSY (Fig. 4D) y HMBC (Fig. 4F). Nuevamente se observaron desplazamientos a campo bajo para los protones H-2'' ($\delta_{\text{H}} = 4.67$ ppm) y H-4'' ($\delta_{\text{H}} = 4.69$ ppm) lo que indicó la presencia de un grupo galactosa (Gal), confirmado además por la interacción ROE entre H-1'' \leftrightarrow H-4''. El resto de las señales fueron confirmadas como tres grupos glucosa (Glc).

Figura 4C: Espectro de RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) del Ácido 3-O-[-β-D-glucopiranosil (1→3)-β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (4)

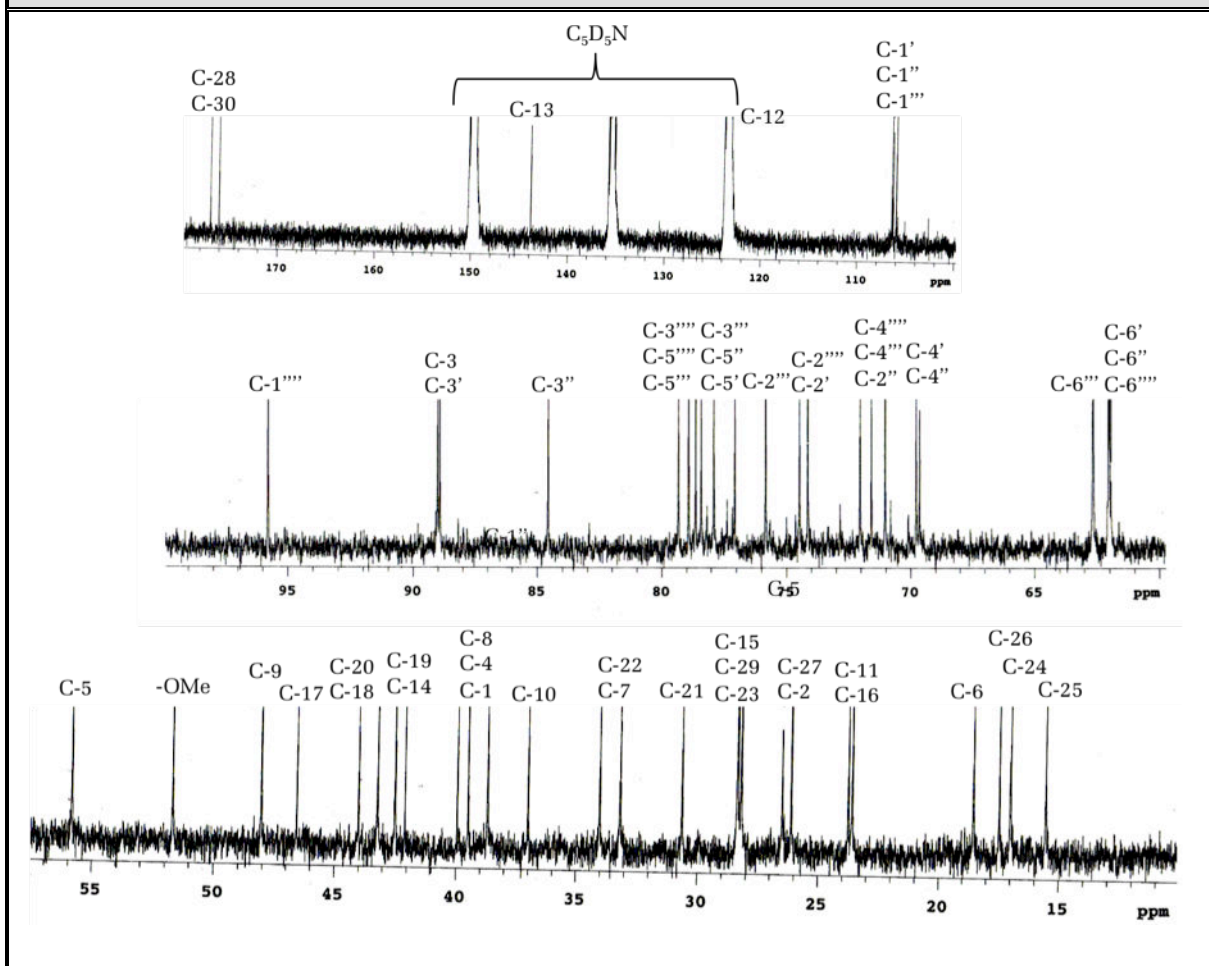


Tabla 4C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) de la Genina del Ácido 3-O-[-β-D-glucopiranosil (1→3)-β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (4)

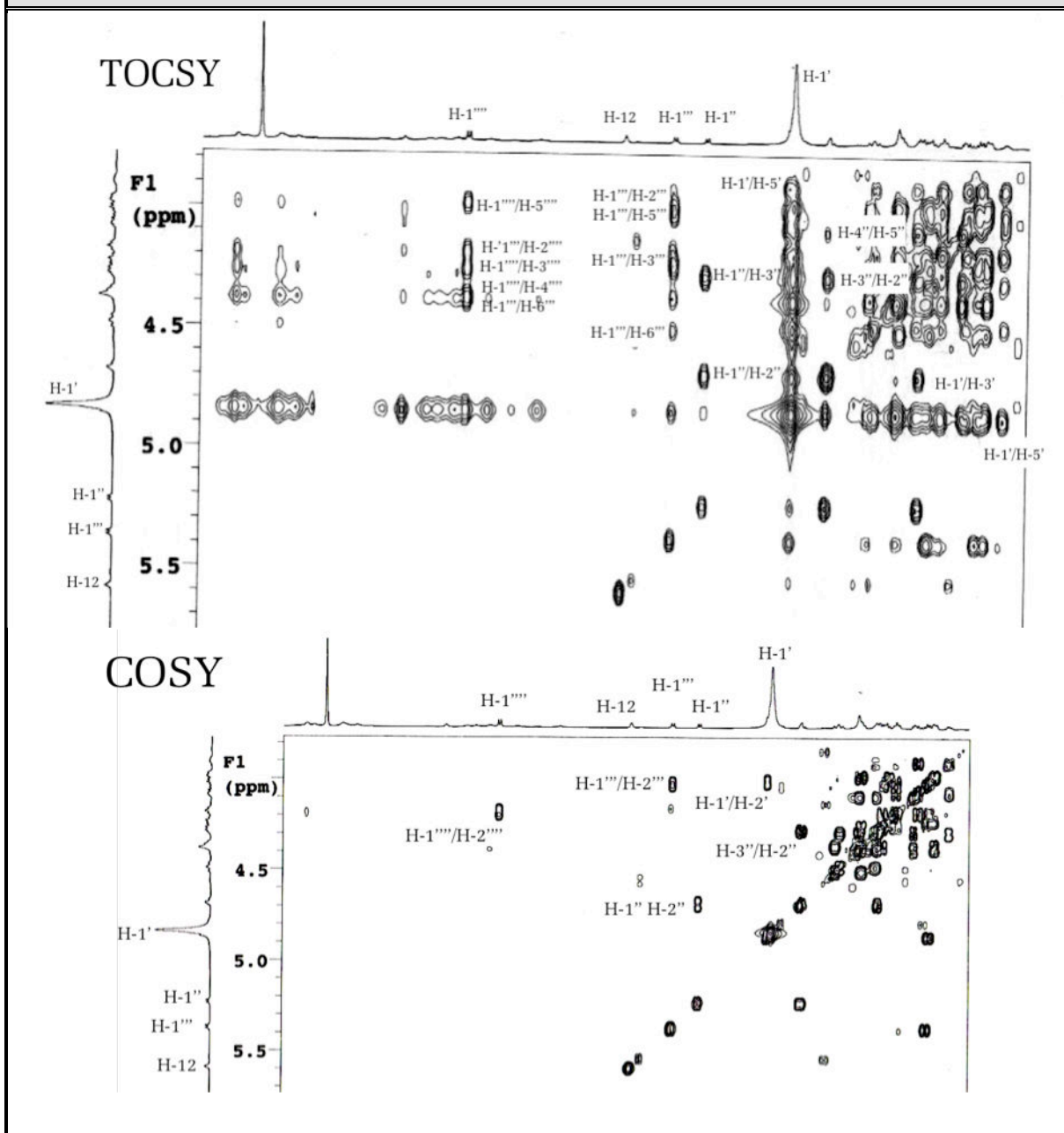
C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	38.7	26.5	89.0	39.5	55.8	18.6	33.2
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-O-	>C<	>CH-	-CH ₂ -	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	40.0	48.1	37.0	23.8	123.1	143.9	42.1
tipo	>C<	>CH-	>C<	-CH ₂ -	=CH-	>C=	>C<

C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	28.4	23.6	46.6	43.2	42.5	44.0	30.6
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>C<	>CH-	-CH ₂ -	>C<	-CH ₂ -
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28
δ (ppm)	34.0	28.2	17.0	15.6	17.5	26.1	176.1
tipo	-CH ₂ -	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-O-C=O
C	C-29	C-30	C-31	TMS como referencia interna			
δ (ppm)	28.4	176.9	51.7				
tipo	-CH ₃	-O-C=O	-OCH ₃				

Tabla 4C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) de los Azúcares del Ácido 3-O-[- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (4)						
3-O- β -D-Glucosa						
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'
δ (ppm)	106.4	74.5	88.9	69.8	77.9	62.0
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-
3'-O- β -D-Galactosa						
C	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''
δ (ppm)	106.0	72.1	84.6	69.7	77.1	62.1
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-
3''-O- β -D-Glucosa						
C	C-1'''	C-2'''	C-3'''	C-4'''	C-5'''	C-6'''
δ (ppm)	106.3	75.9	78.4	71.6	78.6	62.7
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-
28-O- β -D-Glucosa						
C	C-1''''	C-2''''	C-3''''	C-4''''	C-5''''	C-6''''
δ (ppm)	95.8	74.2	79.3	71.1	78.9	62.1
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-

La posición de los azúcares, así como la conexión interglucosídica, se observó en el HMBC, mediante los cruces: C-28 \leftrightarrow H-1''''; C-3 \leftrightarrow H-1'; C-1' \leftrightarrow H-3'', H-1' \leftrightarrow C-3'; C-1'' \leftrightarrow H-3''', H-1'' \leftrightarrow C-3'''. Con esto, quedó establecida la secuencia de glicósidos en el carbono C-3 de la molécula como: Glc \rightarrow ³Gal \rightarrow ³Glc.

Figura 4D: Espectros TOCSY y ^1H - ^1H COSY ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) del Ácido 3-O-[- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (**4**)



Se concluyó finalmente que el compuesto en estudio era el ácido 3-O-[- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (**4**), reportado anteriormente por Nielsen y colaboradores de la especie *Phytolacca rivinoides* (Nielsen *et al.*, 1995). De igual forma que los compuestos anteriores, (**4**) se reporta por primera vez para la especie *P. rugosa*.

Figura 4E: Espectro HMQC (C_5D_5N) del
 Ácido 3-O-[- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-galactopiranosil
 (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (4)

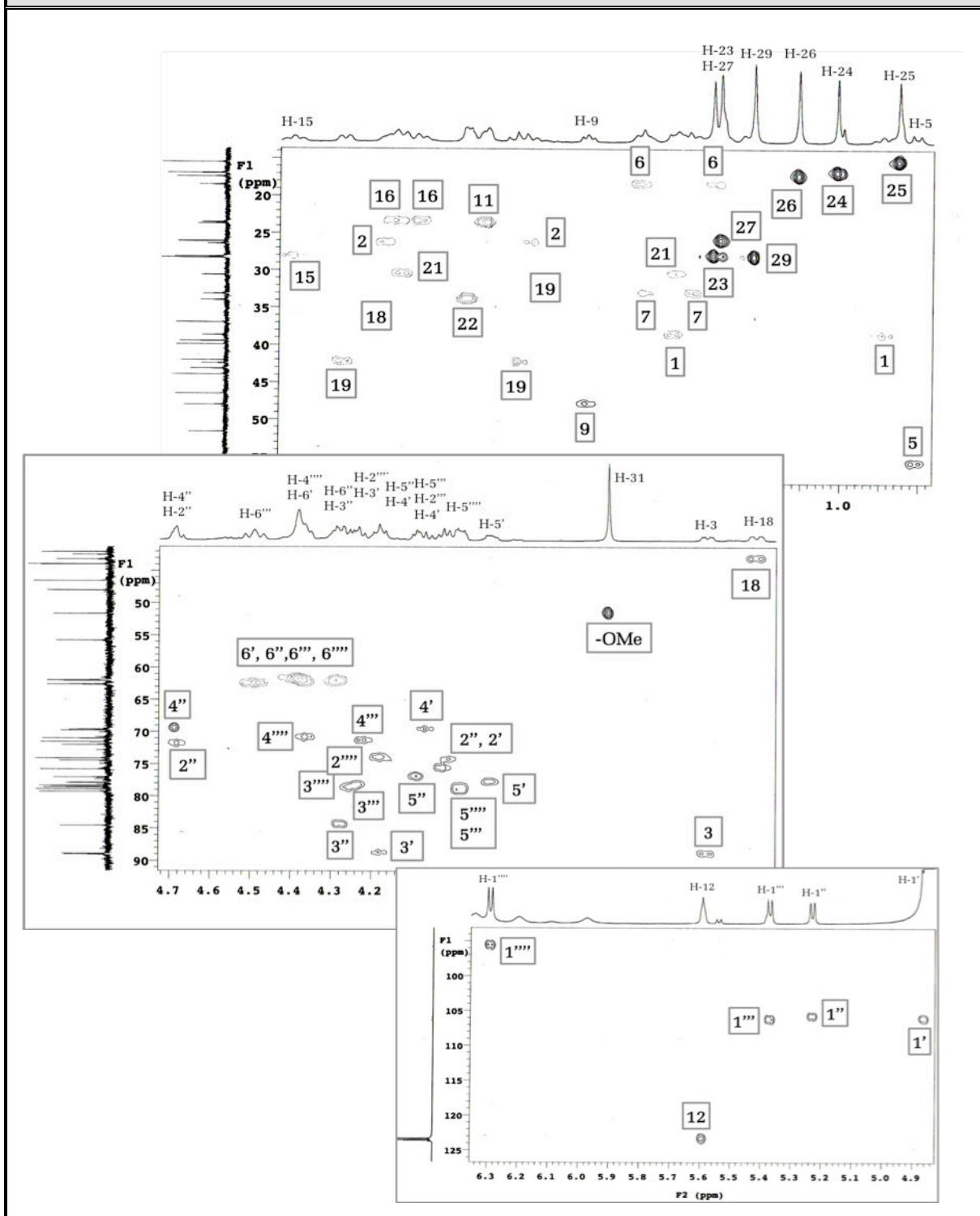
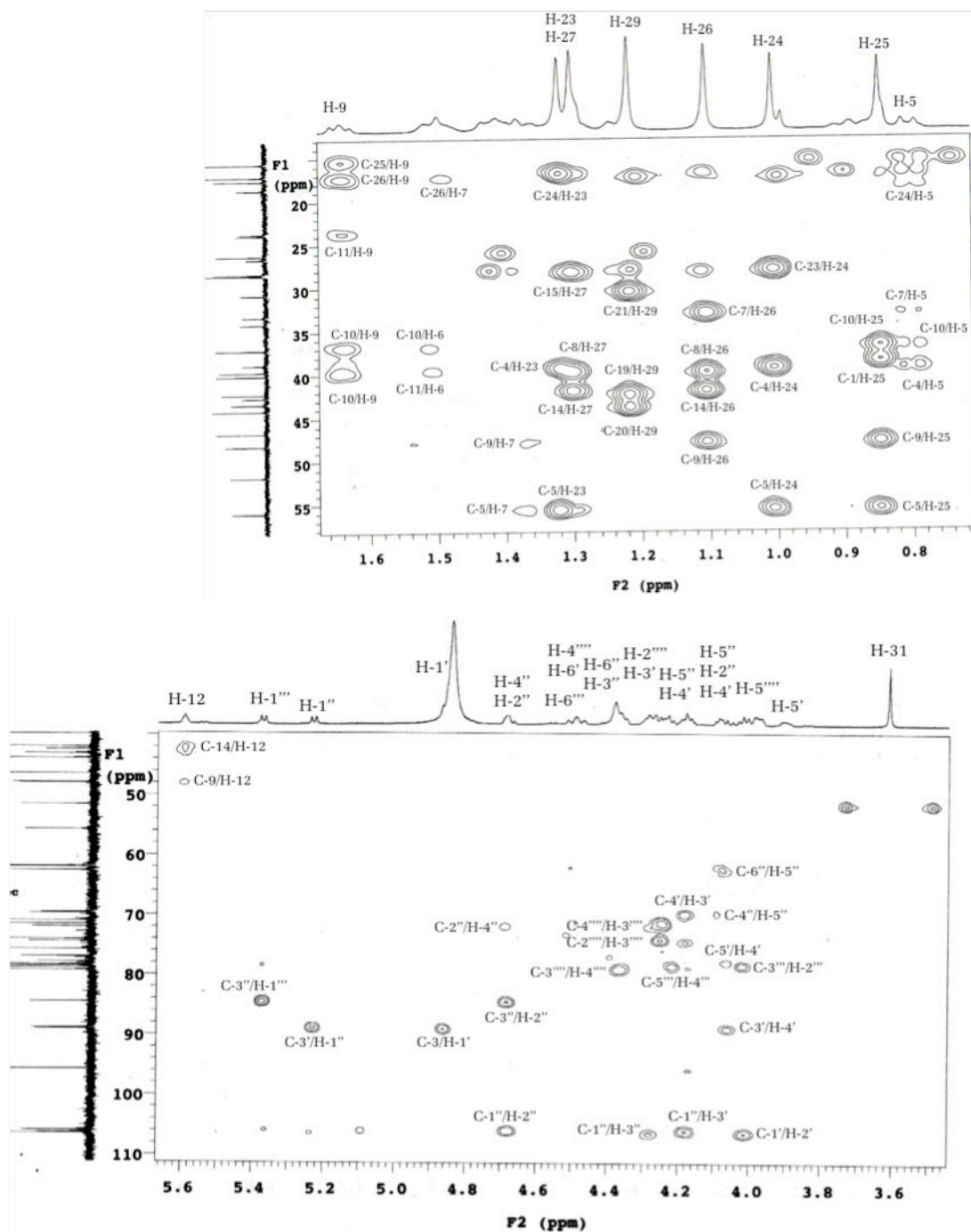
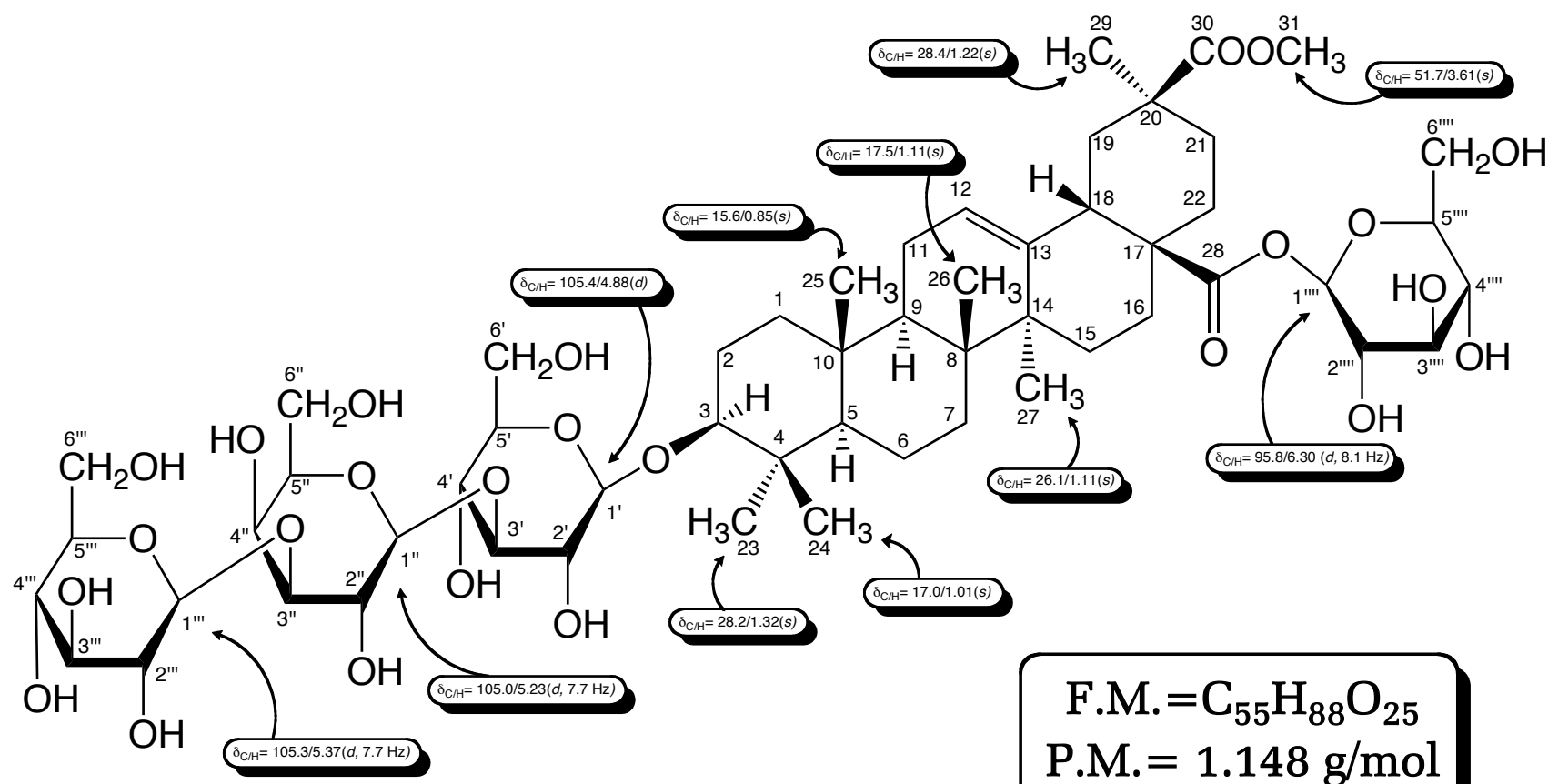


Figura 4F: Espectro HMBC (C_5D_5N) del
 Ácido 3-O-[- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-galactopiranosil
 (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (4)

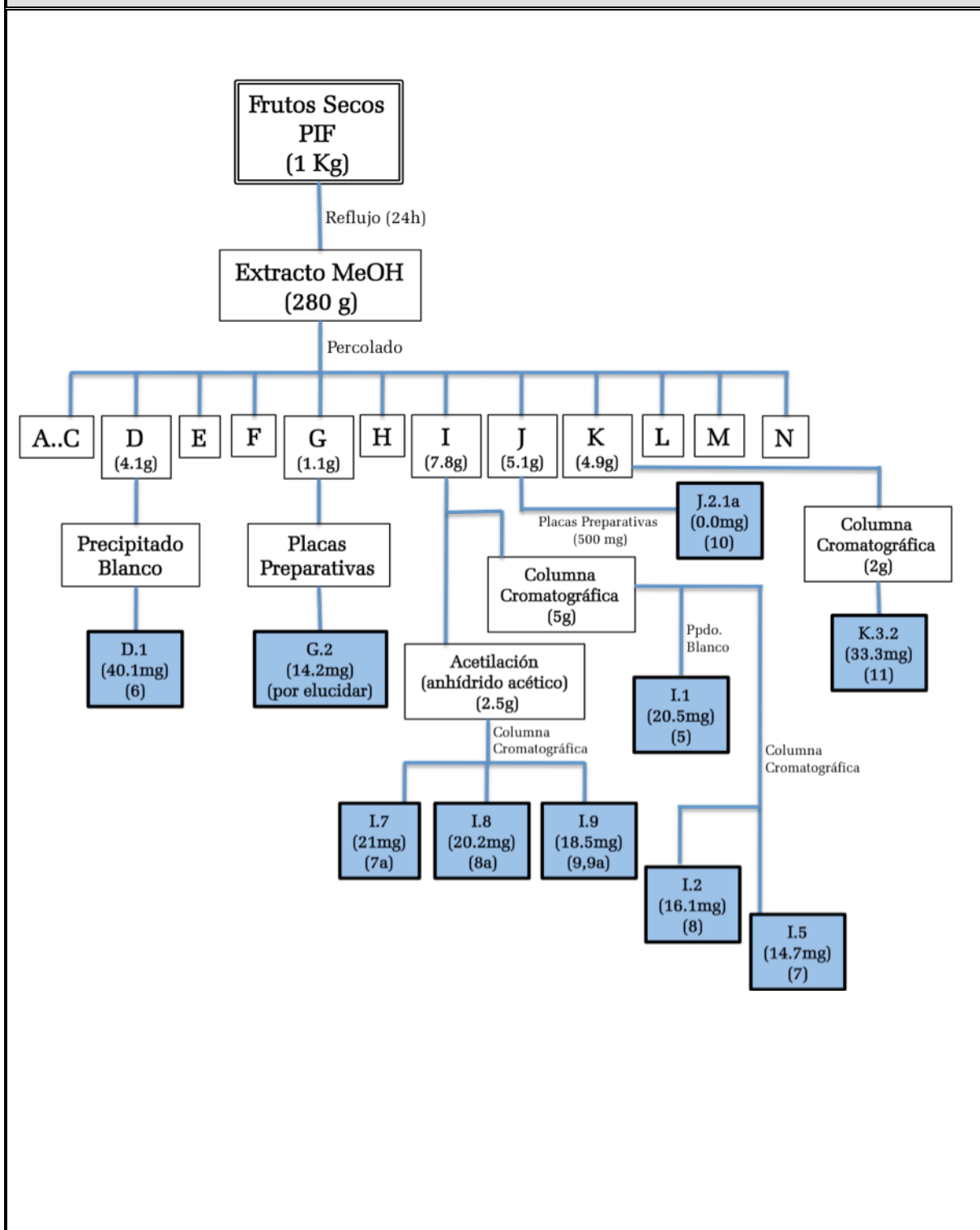


Ácido 3-O-[β-D-glucopiranosil (1→3)-β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (4)



Estudio Fitoquímico de
Phytolacca icosandra L.

Esquema del Aislamiento y Purificación de Metabolitos Secundarios de los Frutos de *Phytolacca icosandra* L.



ÁCIDO SPERGULAGÉNICO (5):

De las fracciones 6-21 de la reunión "I" de la cromatografía general, se logró aislar (usando columna cromatográfica de gravedad) un sólido blanco el cual se presentó en placa TLC como una mancha pura en forma de lengüeta de color rosado [$R_f = 0.65$, sist. solv. Hex/EtOAc (4:6); P.f. = 296-298 °C]

El espectro de IR (Fig. 5A; Tabla 5A) del compuesto (5) mostró bandas intensas en $\nu_{\text{máx}} = 1.666, 1.707 \text{ cm}^{-1}$ (tensión C=O) y 2.988 cm^{-1} (tensión O-H) características de grupos tipo ácido carboxílico. Los datos aportados por los espectros de RMN- ^1H (Fig. 2B; Tabla 2B) mostraron la presencia de: seis metilos, una señal en $\delta_{\text{H}} = 3.23 \text{ ppm}$ típica de un metino oxigenado y un triplete en $\delta_{\text{H}} = 5.41 \text{ ppm}$, propio de un protón perteneciente a un doble enlace. El espectro de RMN- ^{13}C presentó un total de treinta carbonos, observándose dos grupos carbonilos [$\delta_{\text{C}} = 180.8 \text{ (C-30)}$ y 181.6 (C-28) ppm], dos carbonos hibridados sp^2 [$\delta_{\text{C}} = 124.1 \text{ (C-12)}$ y 144.9 (C-14) ppm] y un carbono oxigenado [$\delta_{\text{C}} = 79.7 \text{ (C-3)}$ ppm].

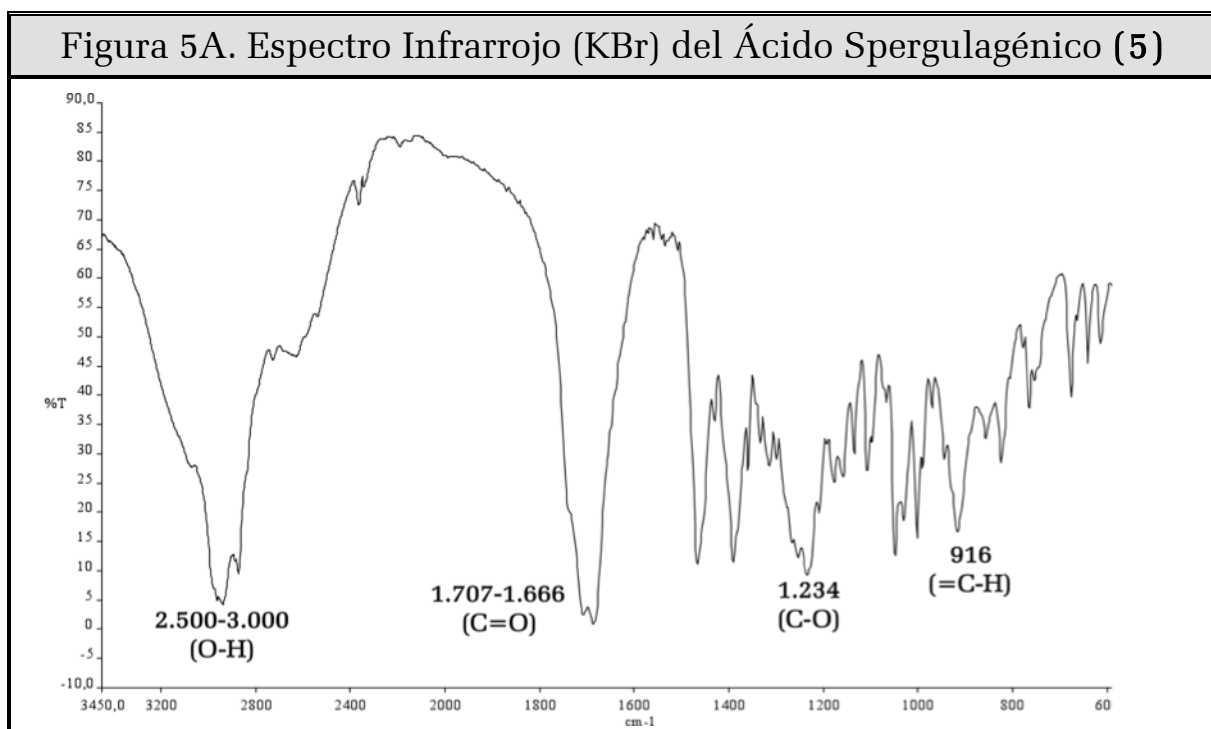


Tabla 5A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr), del Ácido Spergulagénico (5)

$\nu_{\text{máx}} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	2.988	1.707	1.666	1.234	916
Asignación	O-H carbox	C=O	C=O	C-O	=C-H

Figura 5B. Espectro de RMN-¹H (MeOD, 400 MHz) del Ácido Spergulagénico (5)

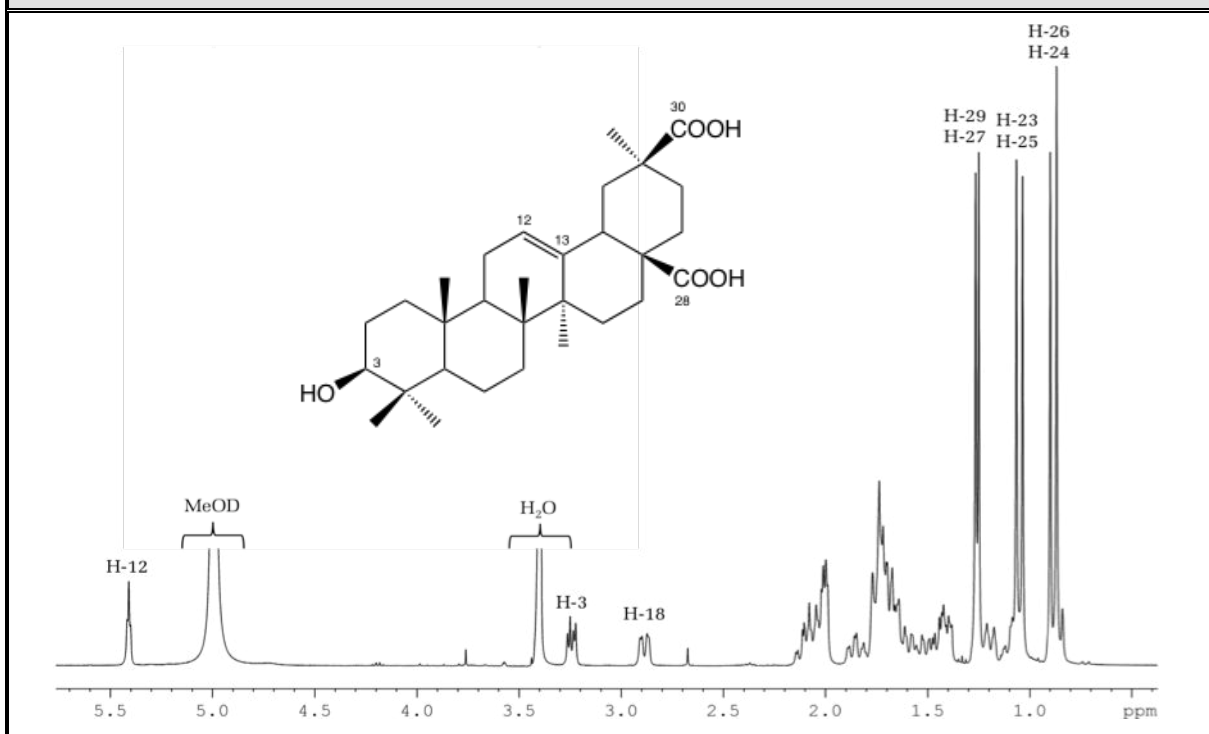


Tabla 5B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H (MeOD, 400 MHz) del Ácido Spergulagénico (5)

H	H-3	H-5	H-9	H-12	H-18	H-23
δ (ppm)	3.24	0.85	1.72	5.41	2.88	1.07
<i>m</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>t</i>	<i>dd</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	5.0/11.3	3.9	-	3.4	3.8/13.6	-
H	H-24	H-25	H-26	H-27	H-29	
δ (ppm)	0.87	1.04	0.90	1.27	1.25	
<i>m</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	-	

El estudio en profundidad de los espectros bidimensionales (¹H-¹H COSY, HMQC y HMBC) y la comparación de los datos espectrales de RMN-¹H y ⁻¹³C con los valores reportados en la literatura, permitieron identificar al compuesto (5) como el ácido spergulagénico. El mismo, fue reportado por primera vez de la especie *Mullugo spergula* (Chakrabarti *et al.*, 1966; 1968).

Figura 5B. Espectro de RMN-¹³C (MeOD, 100 MHz) del Ácido Spergulagénico (5)

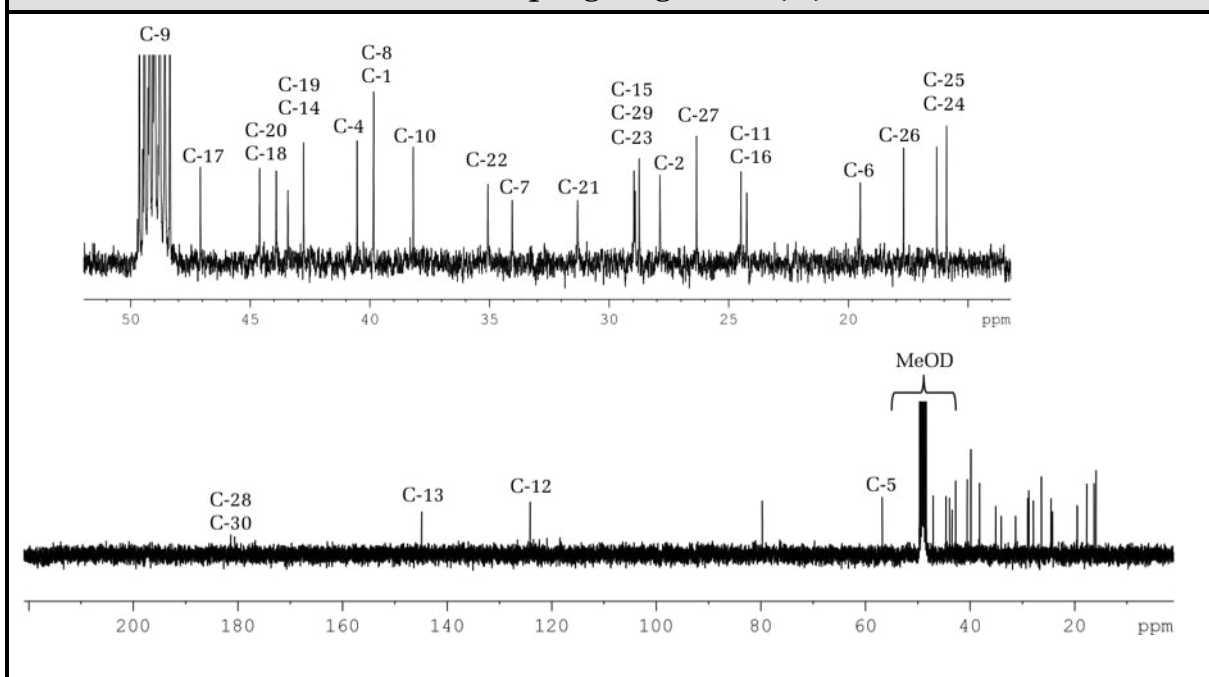
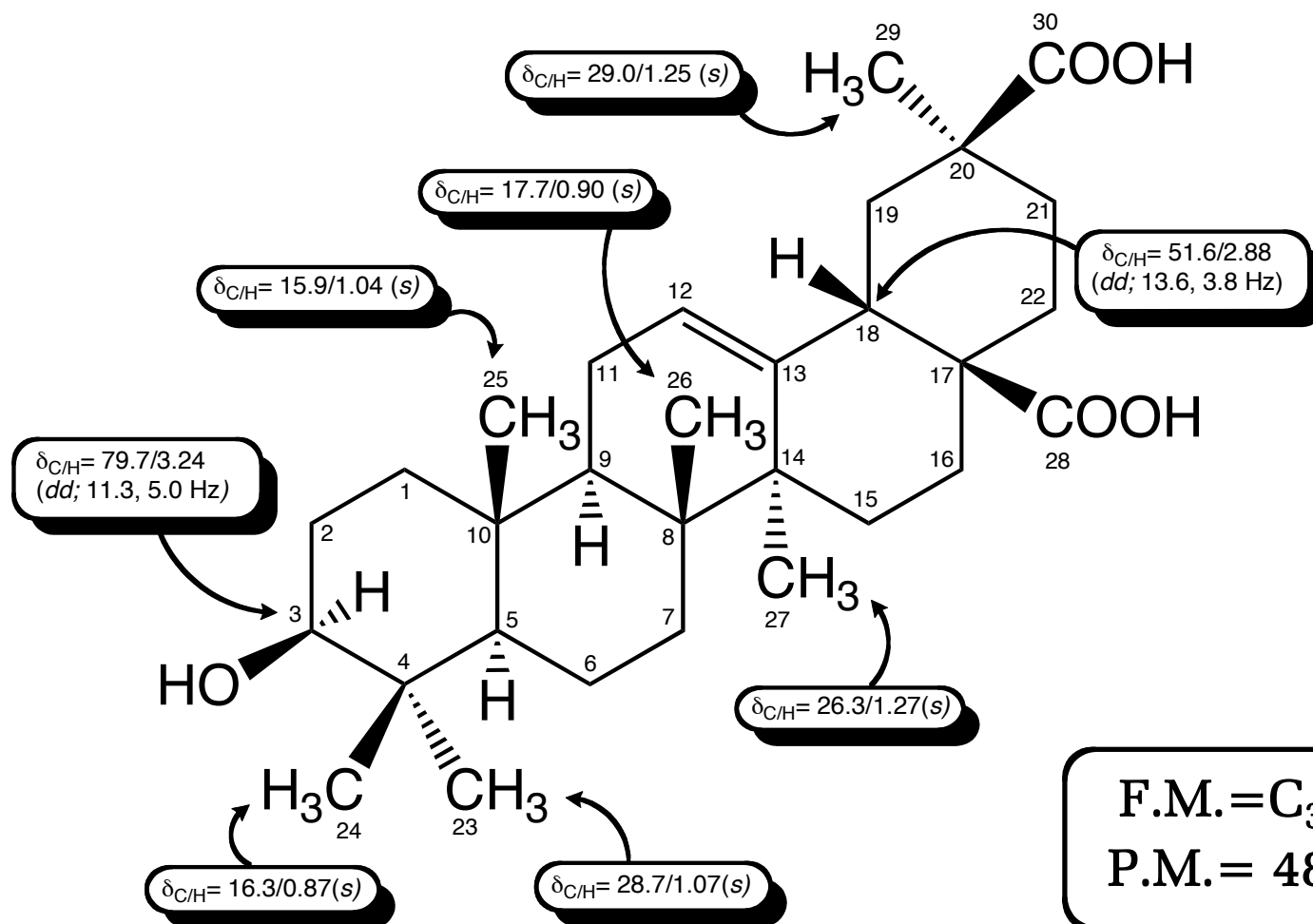


Tabla 8b. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (MeOD, 100 MHz) del Ácido Spergulagénico (5)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	39.8	27.9	79.7	40.5	56.8	19.5	34.1
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-O-	>C<	>CH-	-CH ₂ -	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	39.8	47.9	38.2	24.5	124.1	144.9	42.8
tipo	>C<	>CH-	>C<	-CH ₂ -	=CH-	>C=	>C<
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	28.9	24.3	47.1	43.9	43.4	44.6	31.3
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>C<	>CH-	-CH ₂ -	>C<	-CH ₂ -
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28
δ (ppm)	35.1	28.7	16.3	15.9	17.7	26.3	181.6
tipo	-CH ₂ -	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-O-C=O
C	C-29	C-30	TMS como referencia interna				
δ (ppm)	29.0	180.8					
tipo	-CH ₃	-O-C=O					

Ácido Spergulagénico (5)



ÁCIDO EPIACETILALEURITÓLICO (6):

De la fracción “D” de la cromatografía general, se logró separar por precipitación un sólido de color blanco, el cual fue purificado por filtración al vacío y recristalizado en MeOH. Reveló en TLC como una mancha pura de forma cuneada y de color rojo [$R_f = 0.65$, sist. solv. Hex/ CH_2Cl_2 (8:2); P.f. = 191-193 °C].

El espectro de IR (Fig. 6A; Tabla 6A) presentó bandas intensas en $\nu_{\text{máx}} = 2.944 \text{ cm}^{-1}$ (tensión O-H), 1.732 cm^{-1} , 1.688 cm^{-1} (tensión C=O) y 930 cm^{-1} (deformación =C-H). Su espectro de RMN- ^1H (Fig. 6B; Tabla 6B), muestra la presencia de ocho metilos, uno de ellos perteneciente a un grupo acetilo ($\delta_{\text{H}} = 2.03 \text{ ppm}$), un protón oxigenado [$\delta_{\text{H}} = 4.46 \text{ ppm}$ (H-3)] y un protón olefínico [$\delta_{\text{H}} = 5.51 \text{ ppm}$ (H-12)]. El espectro de RMN- ^{13}C , denotó un total de treinta y dos carbonos entre los que resaltan: dos grupos carbonilos [$\delta_{\text{C}} = 184.5$ (C-28), 171.1 (C-31) ppm], dos carbonos hibridados sp^2 [$\delta_{\text{C}} = 160.7$ (C-14), 117.0 (C-15) ppm], un carbono oxigenado [$\delta_{\text{C}} = 81.0 \text{ ppm}$ (C-3)] y un carbono alfa a un grupo carbonilo [$\delta_{\text{C}} = 21.4 \text{ ppm}$ (C-32)]. La totalidad de señales sugirió la presencia de un triterpeno acetilado tipo oleanano.

Figura 6A. Espectro Infrarrojo (KBr) del Ácido Epiacetilaleuritólico(6)

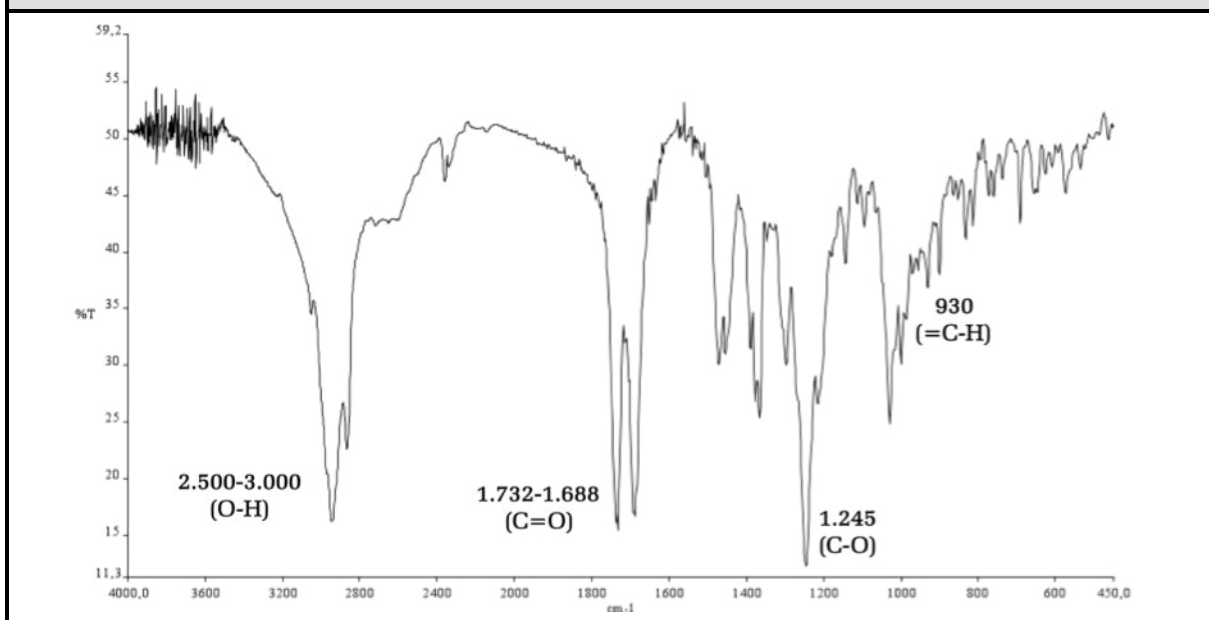


Tabla 6A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr), del Ácido Epiacetilaleuritólico (6)

$\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1})	2.944	1.732	1.688	1.245	930
Asignación	O-H carbox	C=O _{éster}	C=O _{ac. carbox.}	C-O	=C-H

Figura 6B. Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz) del Ácido Epiacetilaleuritólico (6)

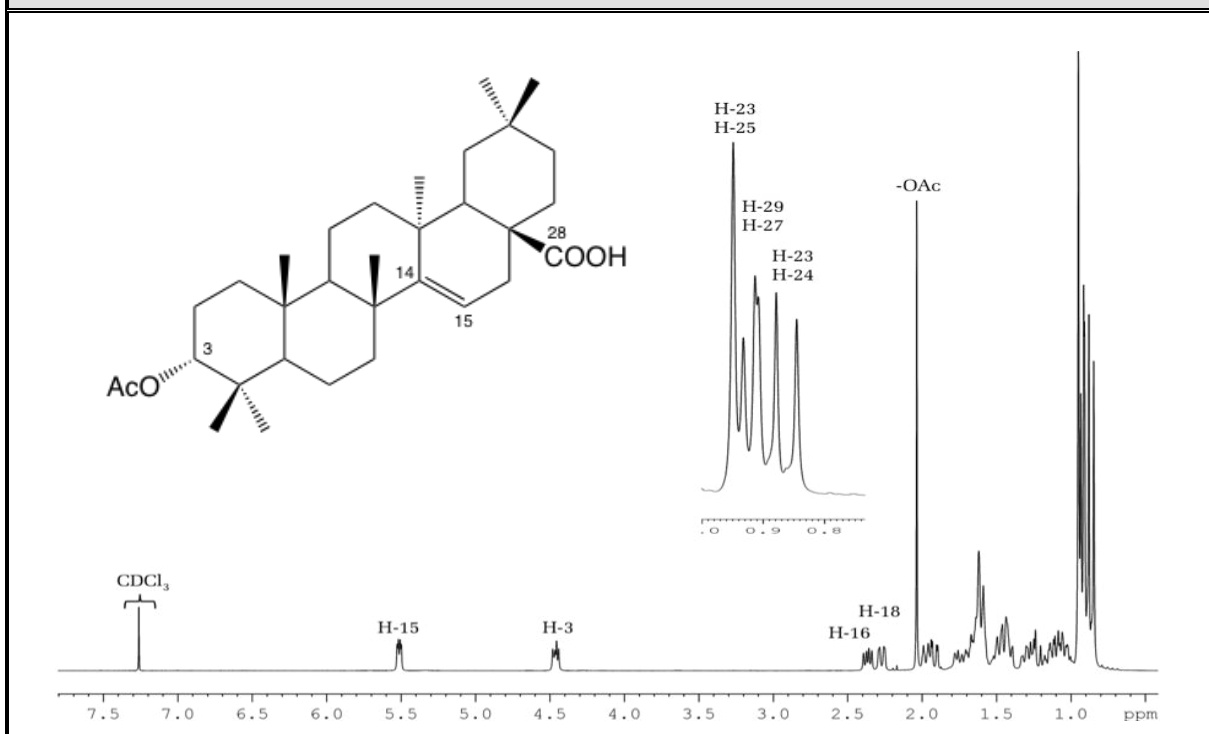


Tabla 6B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz) del Ácido Epiacetilaleuritólico (6)

H	H-3	H-5	H-15	H-18	H-23	H-24
δ (ppm)	4.45	0.86	5.51	2.27	0.85	0.88
<i>m</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>dd</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	6.2/10.3	6.5	3.3/7.8	2.4/13.7	-	-
H	H-25	H-26	H-27	H-29	H-30	H-32
δ (ppm)	0.95	0.95	0.91	0.93	0.91	2.03
<i>m</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	-	-

Las correlaciones HMBC entre el metilo en $\delta_{\text{H}} = 2.03$ ppm (H-32) con el carbonilo en $\delta_{\text{C}} = 171.1$ ppm (C-31) y la de este con el protón oxigenado en $\delta_{\text{H}} = 4.45$ ppm (H-3), ubicó al grupo acetilo en la posición C-3. Mientras que las correlaciones entre el carbono cuaternario sp² (C-14) con los metilos en $\delta_{\text{H}} = 0.95$ (H-26) y 0.91 (H-27) colocaron al doble enlace entre los carbonos C-14 y C-15, esto se corroboró además por el inusual desapantallamiento en C-14 a $\delta_{\text{C}} = 160.6$ ppm.

Figura 6C. Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz) del Ácido Epiacetilaleuritólico (**6**)

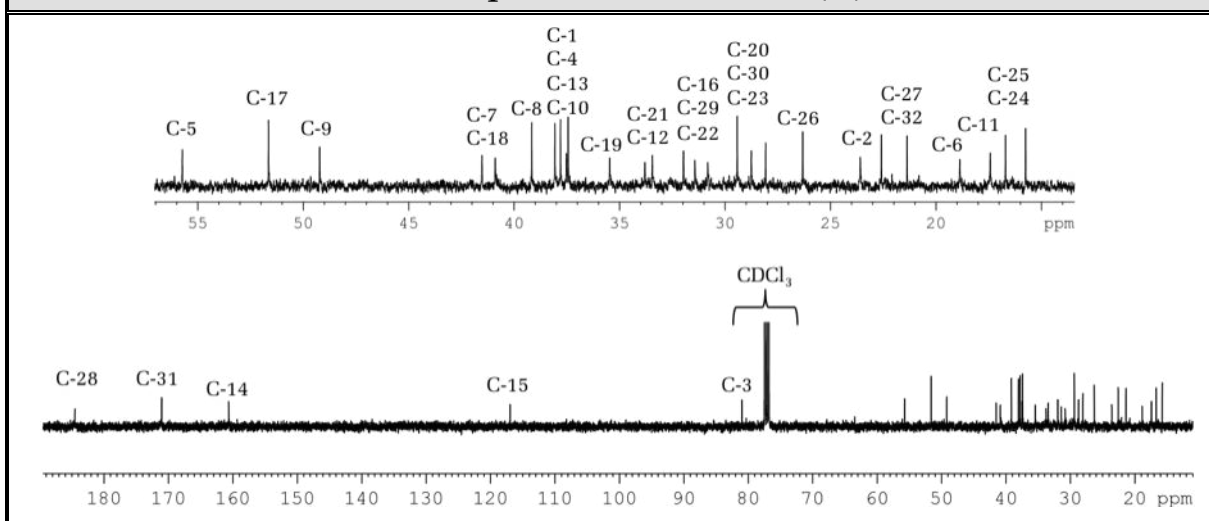
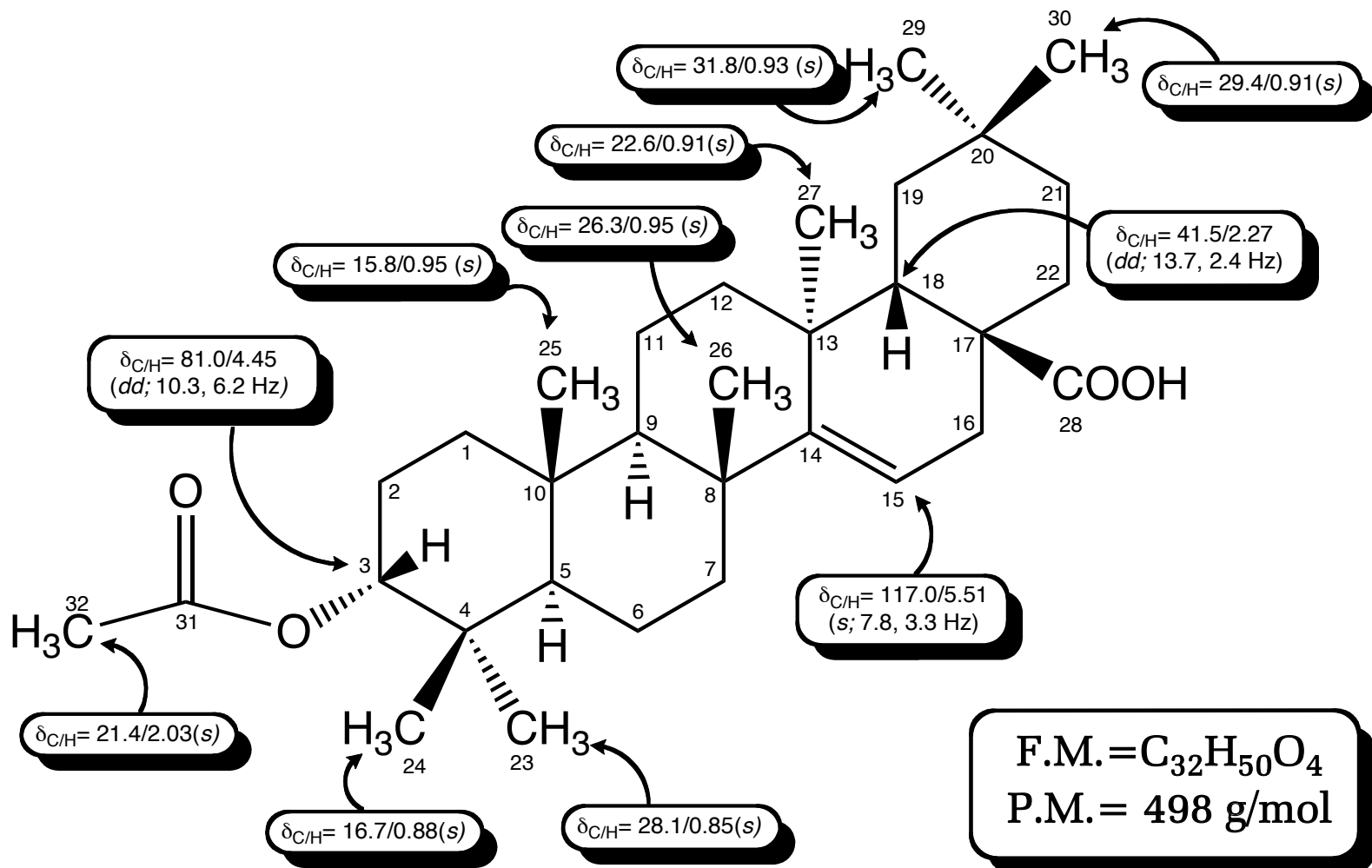


Tabla 6C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz) del Ácido Epiacetilaleuritólico (**6**)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	37.5	23.6	81.0	38.1	55.7	18.9	40.9
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-O-	>C<	>CH-	-CH ₂ -	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	39.2	49.2	37.4	17.4	33.5	37.8	160.6
tipo	>C<	>CH-	>C<	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>C<	>C=
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	117.0	31.4	51.6	41.5	35.6	29.4	33.8
tipo	=CH-	-CH ₂ -	>C<	>CH-	-CH ₂ -	>C<	-CH ₂ -
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28
δ (ppm)	30.8	28.1	16.7	15.8	26.3	22.6	184.5
tipo	-CH ₂ -	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-O-C=O
C	C-29	C-30	C-31	C-32	TMS Como referencia interna		
δ (ppm)	31.8	29.4	171.1	21.4			
tipo	-CH ₃	-CH ₃	-O-C=O	CH ₃ -C=O			

Una vez analizados los espectros bidimensionales se procedió a comparar los valores obtenidos con los reportados en la literatura (Sultanova *et al.*, 2004), por lo que se concluyó que el compuesto era el ácido epiacetilaleuritólico (**6**), el cual se obtuvo por primera vez de los frutos de *Phytolacca acinosa* (Razdan *et al.*, 1982).

Ácido Epiacetilaleurítico (6)



AMERICANOL A (**7**) Y 3,4,9,9'-TETRAACETIL-AMERICANOL A (**7a**):

De las fracciones 38-40 de la reunión "I" de la cromatografía general, se logró separar por columna cromatográfica, un aceite de coloración amarilla, el cual se mostró en placa TLC como una mancha pura de color morado. Dicho aceite no logró cristalizarse a pesar de repetidos intentos [$R_f = 0.48$, sist. solv. Hex/EtOAc (4:6)].

El análisis del espectro IR (Fig. 7A; Tabla 7A) mostró bandas $\nu_{\text{máx}} = 3.388 \text{ cm}^{-1}$ (tensión O-H alcoholes), 1.234 cm^{-1} (tensión C-O-C éteres), 1.504 cm^{-1} y 930 cm^{-1} (tensión C=C y defrom. =C-H aromáticos). El espectro de RMN- ^1H (Fig. 7B; Tabla 7B) presentó seis protones a campo bajo [$\delta_{\text{H}} = 6.8\text{-}7.0 \text{ ppm}$ (H-2,2'; H-5,5' y H-6,6')] que por su desplazamiento y multiplicidad corresponden a dos anillos aromáticos trisustituados, dos señales en $\delta_{\text{H}} = 6.25$ (H-8') y $\delta_{\text{H}} = 6.49$ (H-7') ppm asignables a un doble enlace disustituído y cuatro señales correspondientes a hidrógenos oxigenados [$\delta_{\text{H}} = 3.40\text{-}4.90 \text{ ppm}$ (H-9,9'; H-8 y H-7)].

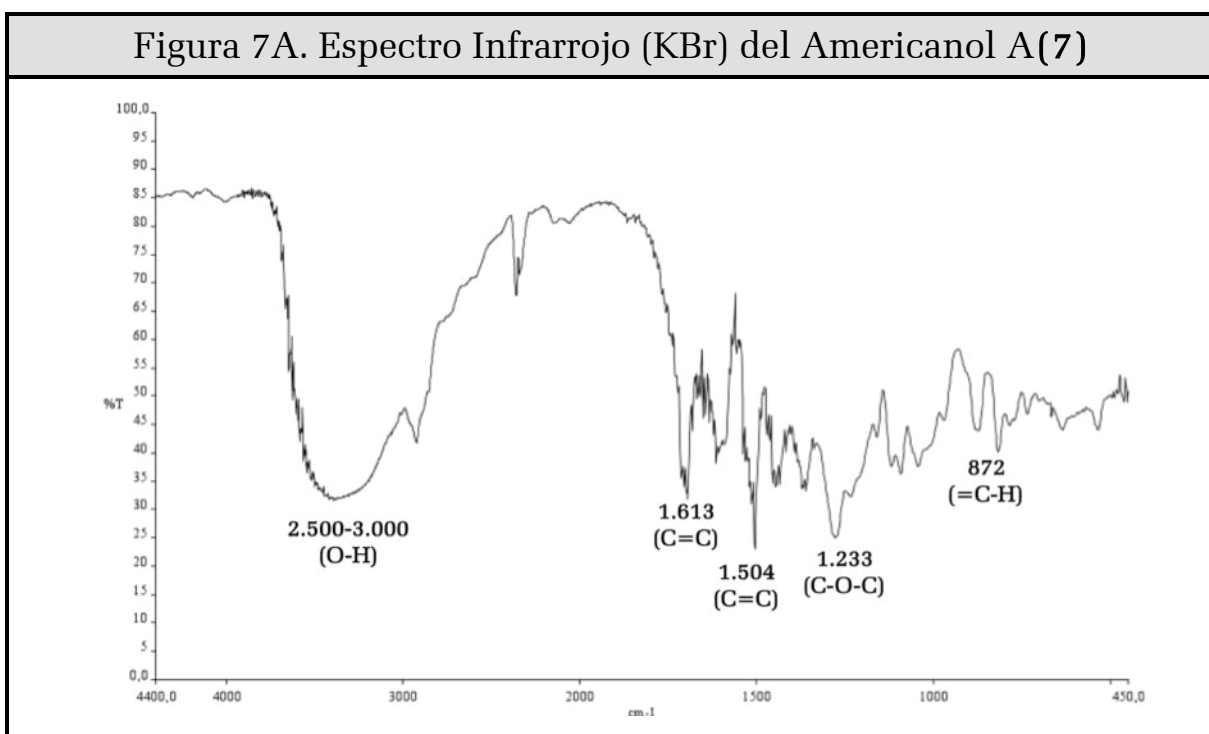


Tabla 7A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr), del Americanol A (7)

$\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1})	3.338	1.613	1.504	1.233	872
Asignación	O-H	C=C	C=C _{aromat.}	C-O-C	=C-H

Figura 7B. Espectro de RMN-¹H [CO(CD₃)₂, 400 MHz] del Americanol A (7)

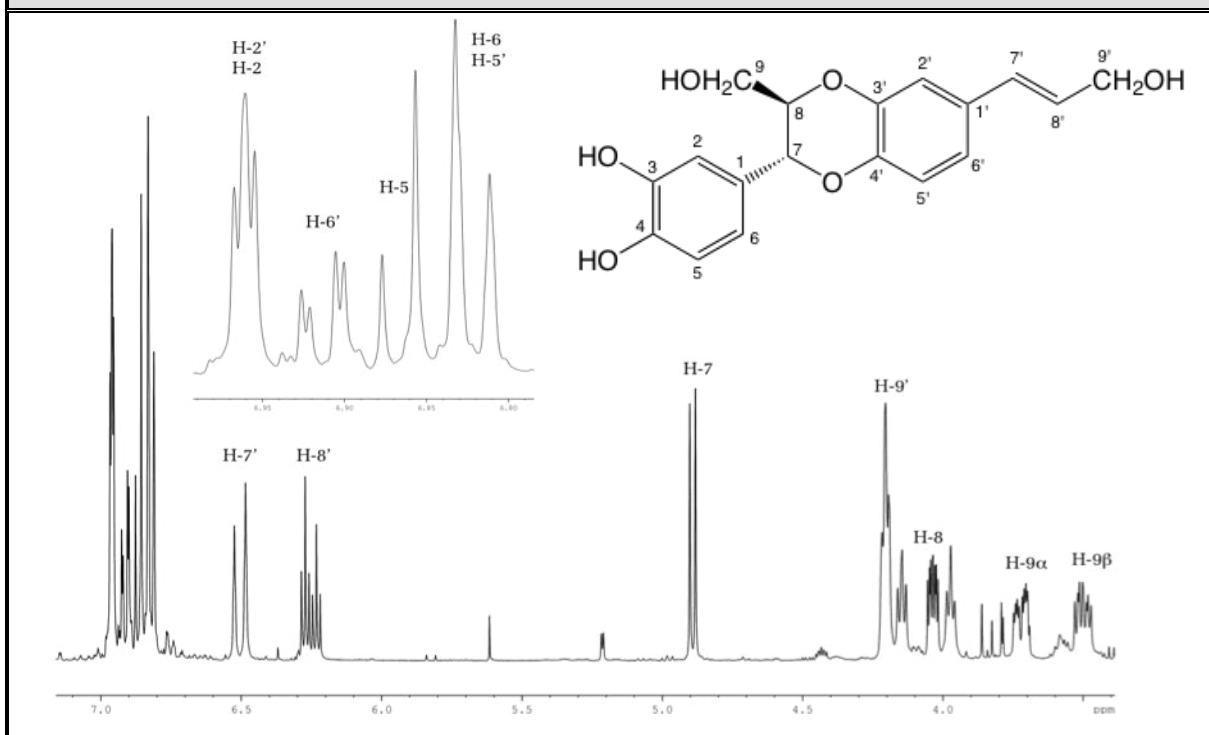


Tabla 7B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H [CO(CD₃)₂, 400 MHz] del Americanol A (7)

H	H-2	H-5	H-6	H-7	H-8	H-9
δ (ppm)	6.85	6.95	6.82	4.90	4.20	3.51/3.71
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>ddd</i>	<i>ddd/ddd</i>
<i>J</i> (Hz)	2.6	8.1	8.1/2.1	7.8	1.8/7.0/7.8	2.3/7.5/12.3
H	H-2'	H-5'	H-6'	H-7'	H-8'	H-9'
δ (ppm)	6.95	6.90	6.91	6.49	6.25	4.20
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>dt</i>	<i>t</i>
<i>J</i> (Hz)	2.3	8.3	2.1/8.4	15.7	5.4/15.8	5.1

El espectro de RMN-¹³C, reveló la presencia de dieciocho carbonos, divididos en: cuatro carbonos oxigenados [δ_c = 60-80 ppm (C-9,9'; C-8 y C-7)], seis metinos sp² [δ_c = 115-120 ppm (C-2,2'; C-5,5' y C-6,6')], cuatro cuaternarios sp² [δ_c = 125-135 ppm (C-1,1'; C-7' y C-8')] y cuatro cuaternarios sp² oxigenados [δ_c = 143-147 ppm (C-3,3'; y C-4,4')]. Se pudo establecer así, una fórmula molecular para el compuesto de C₁₈H₁₈O₆ (330 g/mol) a la que corresponden diez grados de insaturación.

Figura 7C. Espectro de RMN-¹³C [CO(CD₃)₂, 100 MHz] del Americanol A (7)

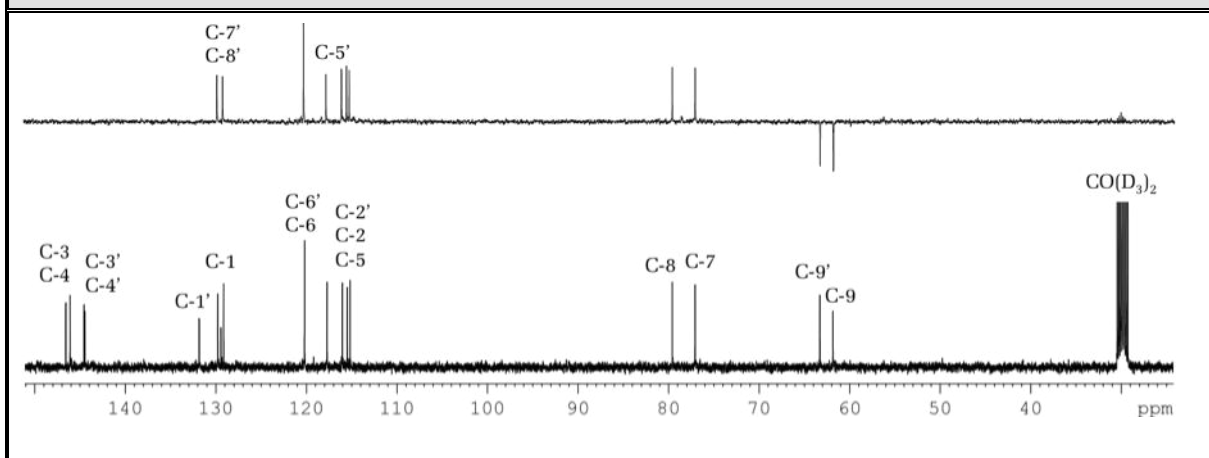
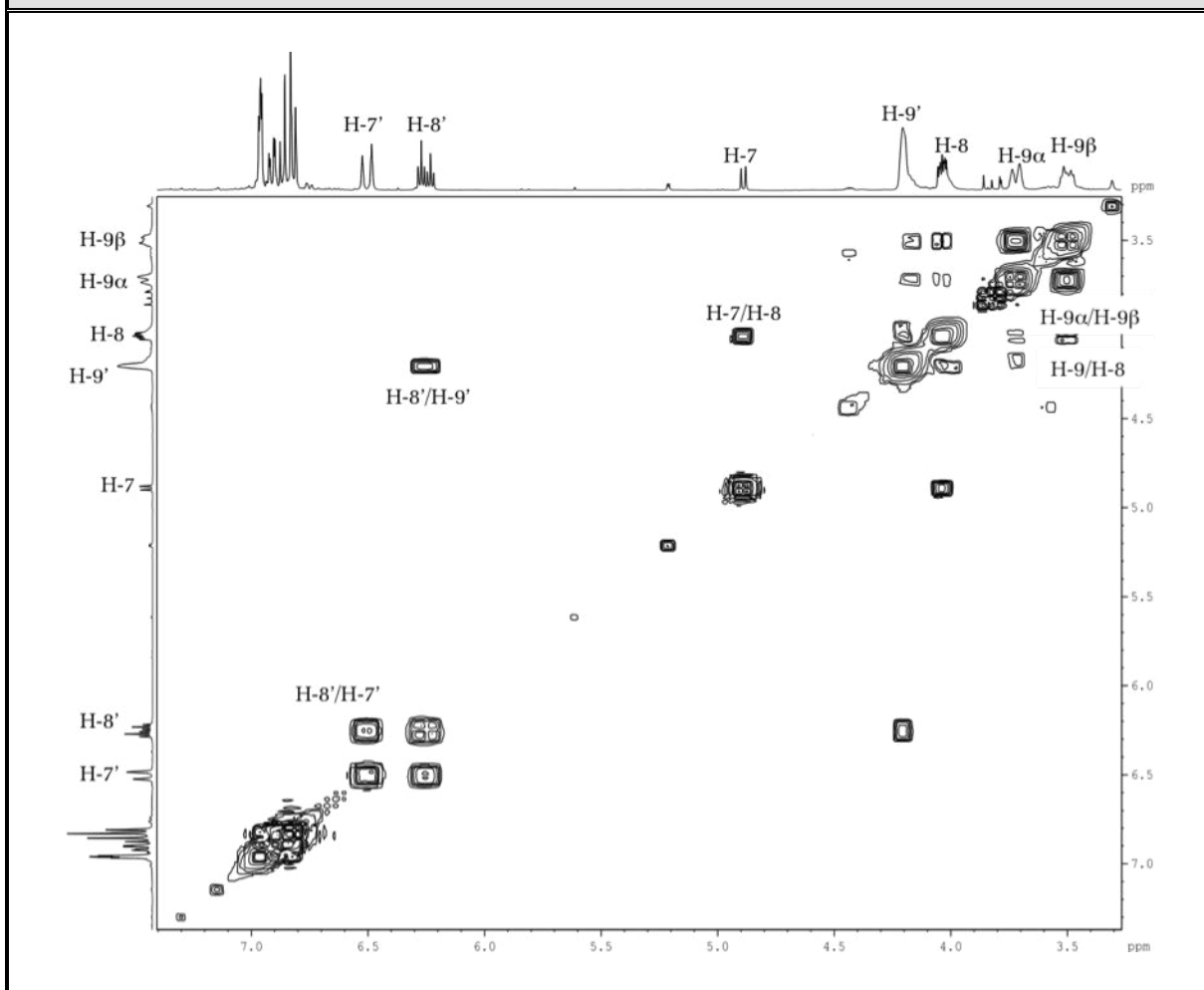


Tabla 7C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C [CO(CD₃)₂, 100 MHz] del Americanol A (7)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	129.4	115.2	146.5	146.1	116.0	120.2	77.0
tipo	=C=	=CH-	=C-O-	=C-O-	=CH-	=CH-	>CH-O-
C	C-8	C-9	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'
δ (ppm)	79.6	61.8	131.8	115.2	144.4	144.5	117.7
tipo	>CH-O-	-CH ₂ -O-	=C=	=CH-	=C-O-	=C-O-	=CH-
C	C-6'	C-7'	C-8'	C-9'	TMS como referencia interna		
δ (ppm)	120.1	129.8	129.1	63.3			
tipo	=CH-	=CH-	=CH-	-CH ₂ -O-			

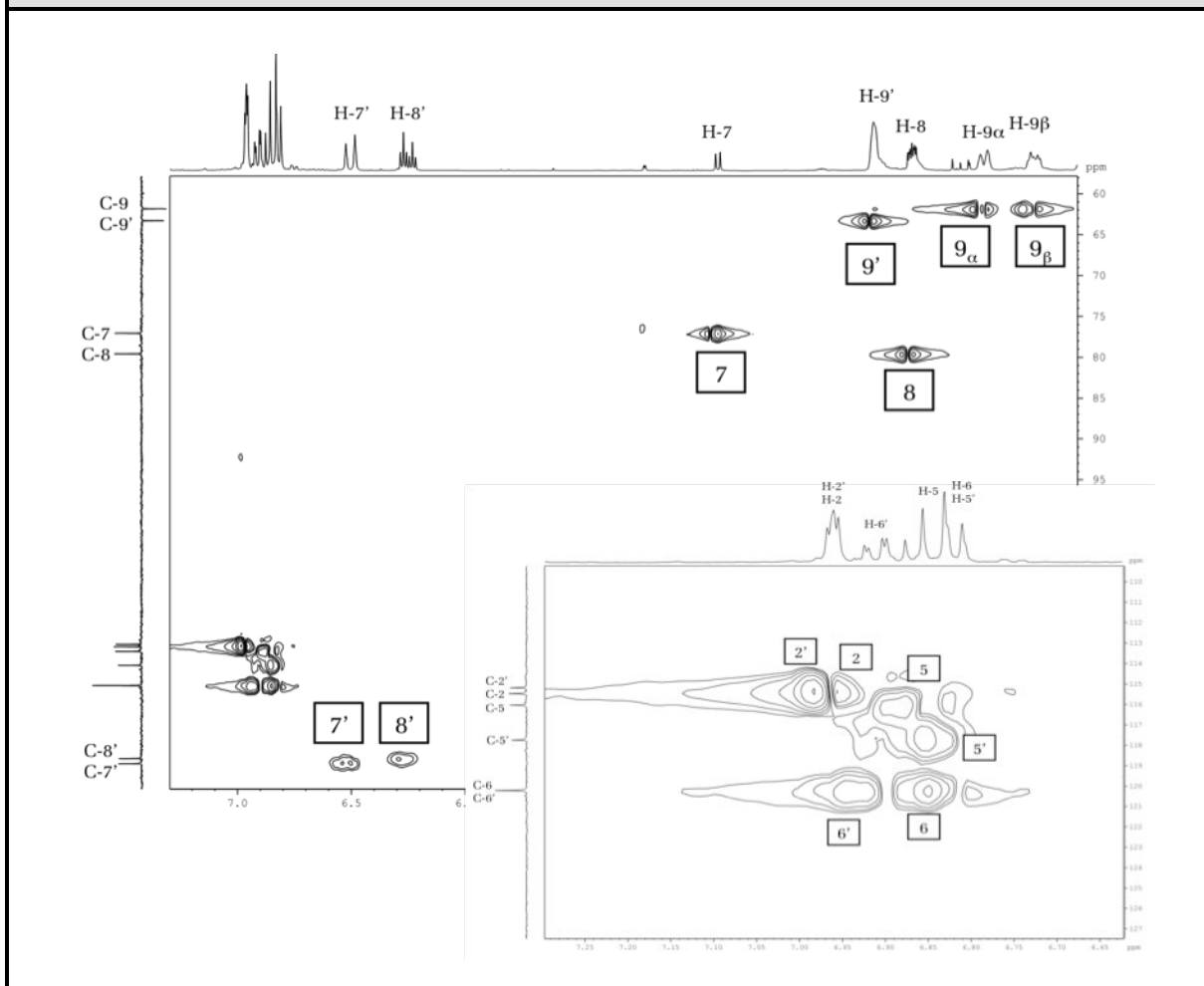
El espectro HMBC (Fig. 7F), mostró interacciones entre el carbono cuaternario C-1 ($\delta_C = 129.4$ ppm) con un protón [$\delta_H = 6.95$ ppm (H-5)] alfa a un carbono oxigenado y un metino alifático oxigenado [$\delta_H = 4.90$ ppm (H-7)], el cual a su vez interactuaba con dos protones aromáticos [$\delta_H = 6.82$ (H-6) y 6.85 (H-2) ppm]. Los protones H-2 y H-5 presentaron correlaciones con dos carbonos cuaternarios sp^2 oxigenados en $\delta_C = 146.1$ (C-4) y 146.5 (C-3) respectivamente, viéndose las correlaciones: H-5 \leftrightarrow C-1 \leftrightarrow H-7 \leftrightarrow C-2, H-7 \leftrightarrow C-6, H-5 \leftrightarrow C-3 y H-2 \leftrightarrow C-4. El protón oxigenado H-7 presentó interacción ¹H-¹H COSY (Fig. 7D) con otro metino oxigenado [$\delta_H = 4.20$ (H-8) ppm], el cual interactuaba con dos señales [$\delta_H = 3.51$ y 3.71 (H-9) ppm] propias de un oximetileno. Con esto se establecieron las relaciones H-7 \leftrightarrow H-8 \leftrightarrow H-9, lo que constituyó la subestructura “A” (Fig. 7F) del compuesto (7).

Figura 7D. Espectro ^1H - ^1H COSY [$\text{CO}(\text{CD}_3)_2$, 400 MHz] del Americanol A (7)



La subestructura “B” (Fig. 7F) surge de las correlaciones HMBC entre los carbonos cuaternarios sp^2 oxigenados C-3' ($\delta_{\text{C}} = 144.5$ ppm) y C-4' ($\delta_{\text{C}} = 146.6$ ppm) con los protones aromáticos en $\delta_{\text{H}} = 6.90$ (H-5') y 6.95 (H-2') ppm, respectivamente. El protón H-2' se cruza con el carbono en $\delta_{\text{C}} = 120.1$ ppm (C-6') y el hidrógeno H-5' con el carbono C-1' ($\delta_{\text{C}} = 131.8$ ppm). A su vez, los carbonos C-6' y C-1' interaccionan con dos hidrógenos olefínicos en $\delta_{\text{H}} = 6.49$ (H-7') y 6.25 (H-8') (relacionados a través de sus constantes de acoplamiento) y por último el hidrógeno H-8' presenta una interacción COSY con un segundo metileno oxigenado en $\delta_{\text{H}} = 4.20$ ppm (H-9'). Las correlaciones para la subestructura “B” fueron entonces: C-3' \leftrightarrow H-5' \leftrightarrow C-1', C-4' \leftrightarrow H-2' \leftrightarrow C-6' \leftrightarrow H-7' \leftrightarrow H-8' \leftrightarrow C-1' y C-7' \leftrightarrow H-9' \leftrightarrow H-8'. Las subestructuras “A” y “B” formaban nueve grados de insaturación y fue lógico pensar que el último grado venía dado entonces por los enlaces etéreos entre los carbonos C-7 \leftrightarrow C-3' y C-8 \leftrightarrow C-4' completándose así la estructura gruesa del compuesto (7).

Figura 7E. Espectro HSQC [$\text{CO}(\text{CD}_3)_2$, 400 MHz] del Americanol A (**7**)



El establecimiento de la estereoquímica en los hidrógenos H-7 y H-8 se pudo resolver gracias al estudio de sus constantes de acoplamiento ($J_{7,8} = 7.8$ Hz) y al análisis del espectro NOESY (Fig. 7C-1) del derivado acetilado (**7a**) (Figs. 7A-1, 7B-1; Tablas 7A-1, 7B-1), en donde la interacción entre H-7 y H-8 no se observa, evidenciándose la posición de los mismos en lados opuestos de la molécula (7*S*, 8*R*). La identificación inambigua del compuesto (**7**) frente a su isómero (isoamericanol A) se resolvió gracias a la presencia de una correlación HMBC débil entre el protón H-7 ($\delta_{\text{H}} = 4.90$ ppm) con el carbono C-4' ($\delta_{\text{C}} = 144.5$ ppm) y la interacción de éste último con el protón H-6' ($\delta_{\text{H}} = 6.91$ ppm). En adición, los valores obtenidos se compararon con los reportados en la literatura (Fukuyama *et al.*, 1992) para ambos compuestos, con lo que se pudo confirmar la estructura del americanol A (**7**). Este neolignano fue aislado por primera vez de las semillas de *P. americana* y para el mismo se reportan propiedades neurotróficas (Fukuyama *et al.*, 1992). El americanol A se reporta en este estudio por primera vez para la especie *P. icosandra*.

Figura 7F. Espectro HMBC [$\text{CO}(\text{CD}_3)_2$, 400 MHz] del Americanol A (7)

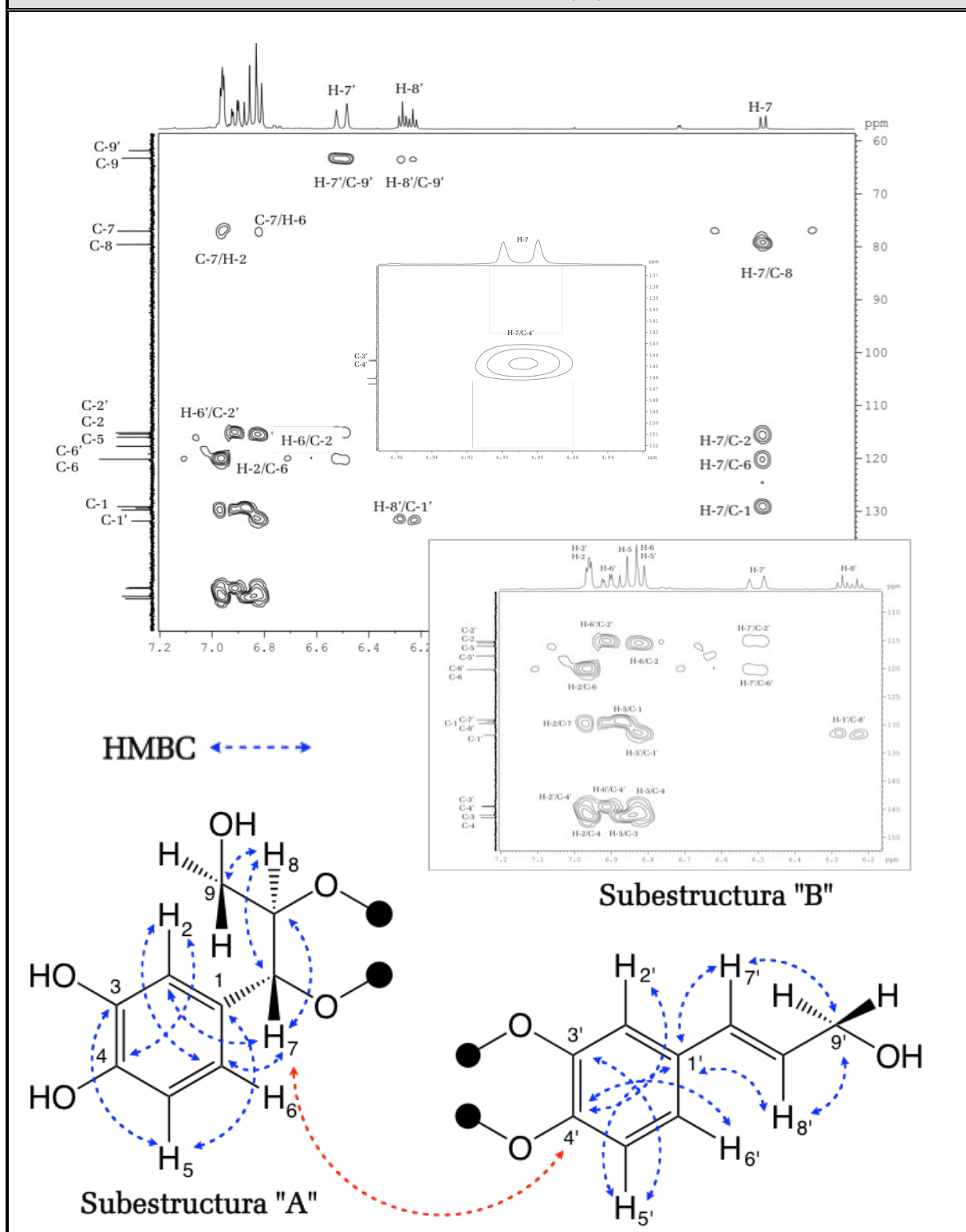


Figura 7A-1. Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz) del 3,4,9,9'-Tetraacetil-americanol A (7a)

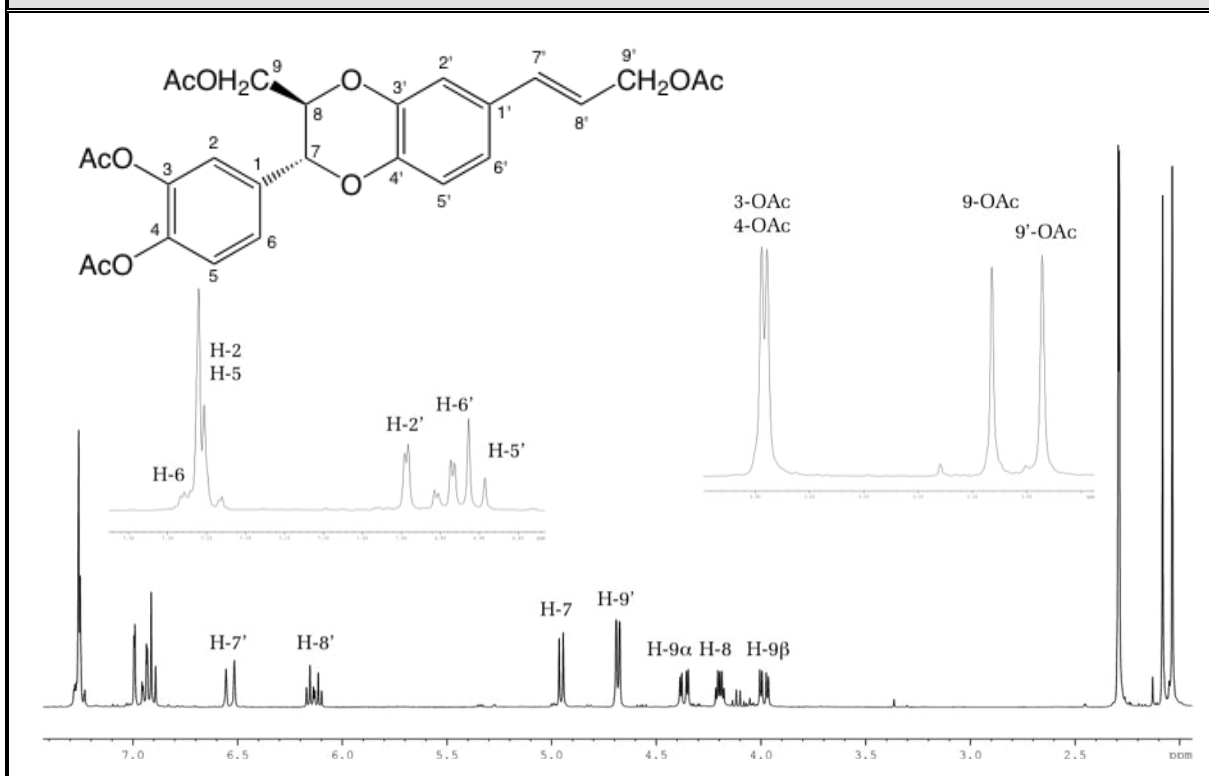


Tabla 7A-1. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz) del 3,4,9,9'-Tetraacetil-americanol A (7a)

H	H-2	H-5	H-6	H-7	H-8	H-9
δ (ppm)	7.26	7.24	7.27	4.95	4.20	3.98/4.36
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>ddd</i>	<i>dd/dd</i>
<i>J</i> (Hz)	2.7	9.1	-	7.8	2.6/4.3/7.7	3.1/12.2
H	H-2'	H-5'	H-6'	H-7'	H-8'	H-9'
δ (ppm)	6.99	6.90	6.94	6.54	6.15	4.68
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>dt</i>	<i>dd</i>
<i>J</i> (Hz)	1.8	8.4	1.9/8.4	15.8	6.5/15.8	0.7/6.6
H	CH ₃ (3)	CH ₃ (4)	CH ₃ (9)	CH ₃ (9')		
δ (ppm)	2.29	2.28	2.08	2.04		
<i>m</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>		
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-		

Figura 7B-1. Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz) del 3,4,9,9'-Tetraacetil-americanol A (7a)

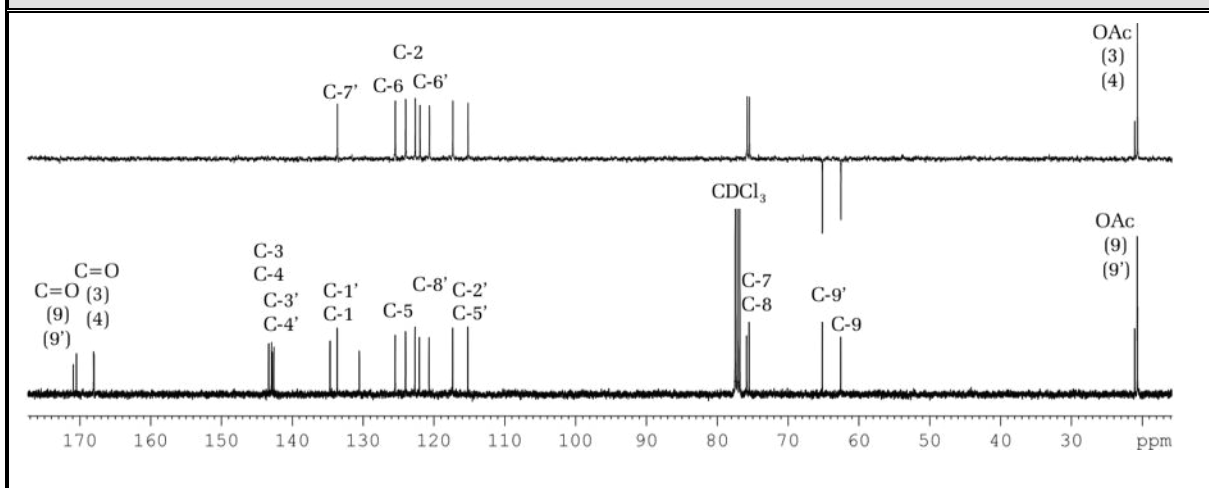
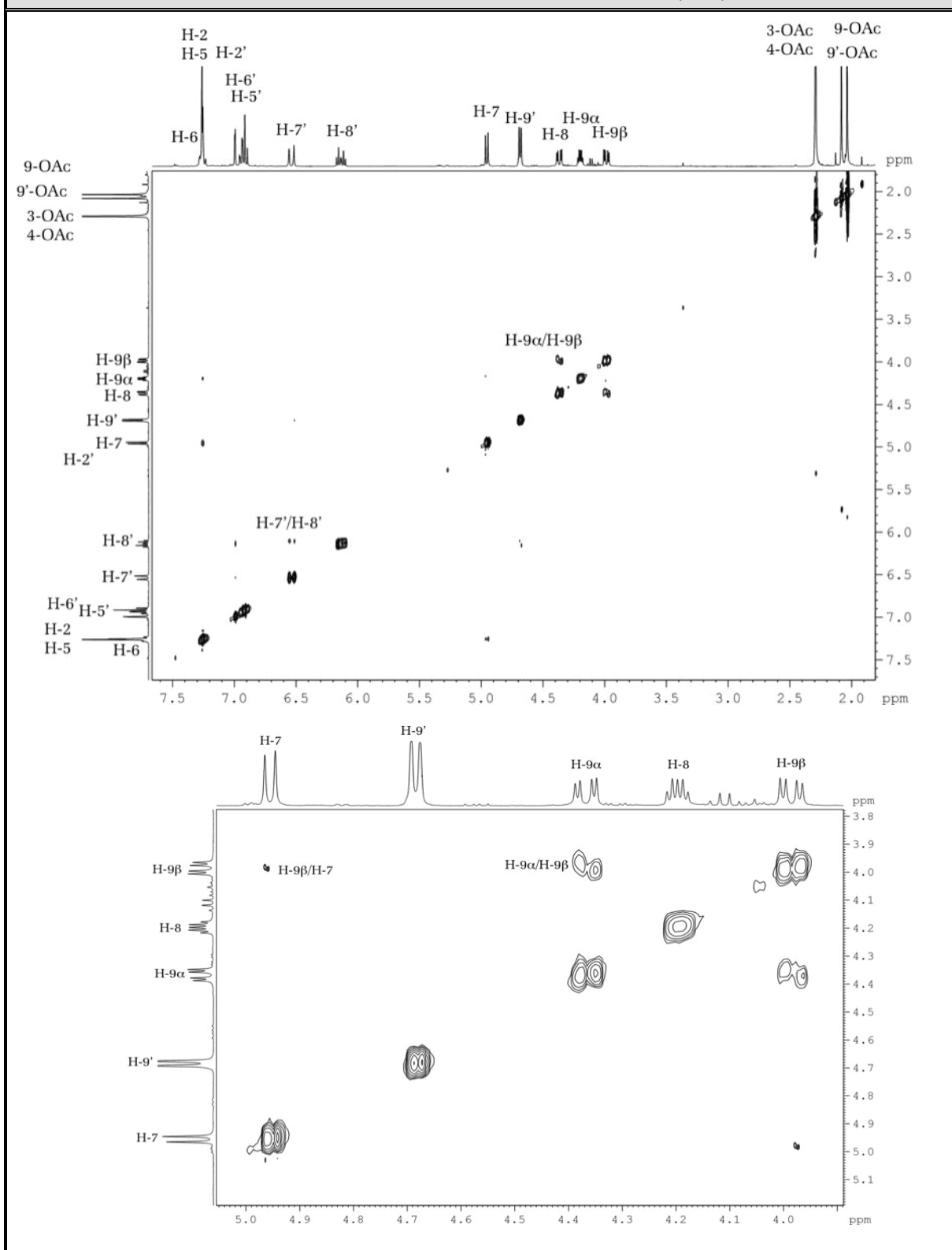


Tabla 7B-1. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz) del 3,4,9,9'-Tetraacetil-americanol A (7a)

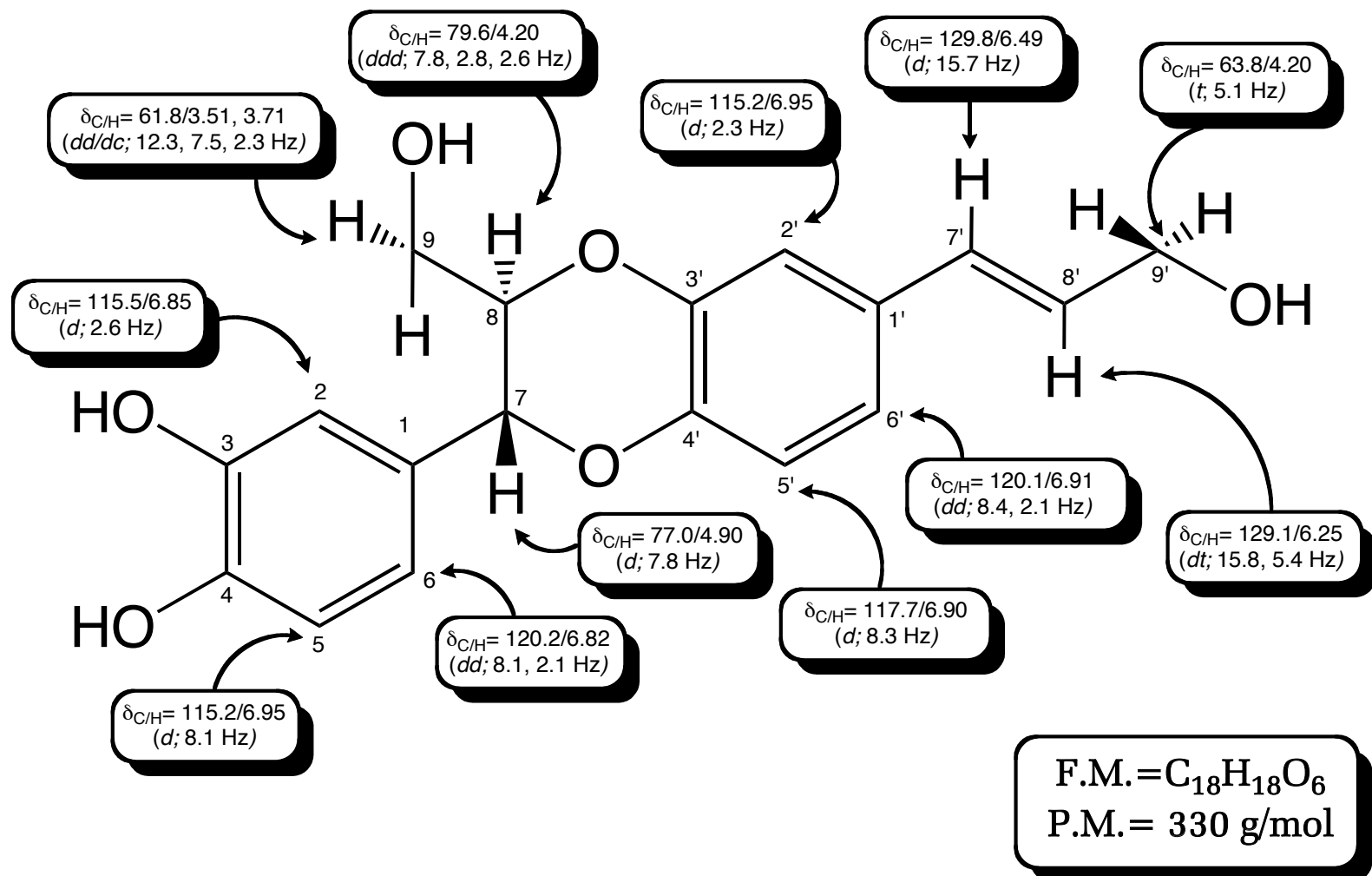
C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	134.7	122.7	142.6	143.3	124.0	125.5	75.9
tipo	=C=	=CH-	=C-O-	=C-O-	=CH-	=CH-	>CH-O-
C	C-8	C-9	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'
δ (ppm)	75.5	62.6	130.6	115.2	142.9	142.8	117.4
tipo	>CH-O-	-CH ₂ -O-	=C=	=CH-	=C-O-	=C-O-	=CH-
C	C-6'	C-7'	C-8'	C-9'	C=O (3)	C=O (4)	C=O (9)
δ (ppm)	120.7	133.7	122.1	65.2	167.9	167.9	170.5
tipo	=CH-	=CH-	=CH-	-CH ₂ -O-	-O-C=O	-O-C=O	-O-C=O
C	C=O (9')	CH ₃ (3)	CH ₃ (4)	CH ₃ (9)	CH ₃ (9')	TMS como referencia interna	
δ (ppm)	170.9	20.7	20.7	21.1	20.7		
tipo	-O-C=O	CH ₃ -C=O	CH ₃ -C=O	CH ₃ -C=O	CH ₃ -C=O		

El derivado (7a) [C₂₆H₂₆O₁₀ (498 g/mol)], se obtuvo utilizando el método convencional de anhídrido acético en piridina (Vogel, 1967). Se presentó como un aceite de coloración amarilla (no cristalizó) que reveló en placa TLC como un compuesto puro de coloración morada [R_f = 0.46, sist. solv. Hex/EtOAc (6:4)]. El tetraacetato de americanol A (7a) fue derivatizado de igual forma por Fukuyama y colaboradores (Fukuyama *et al.*, 1992).

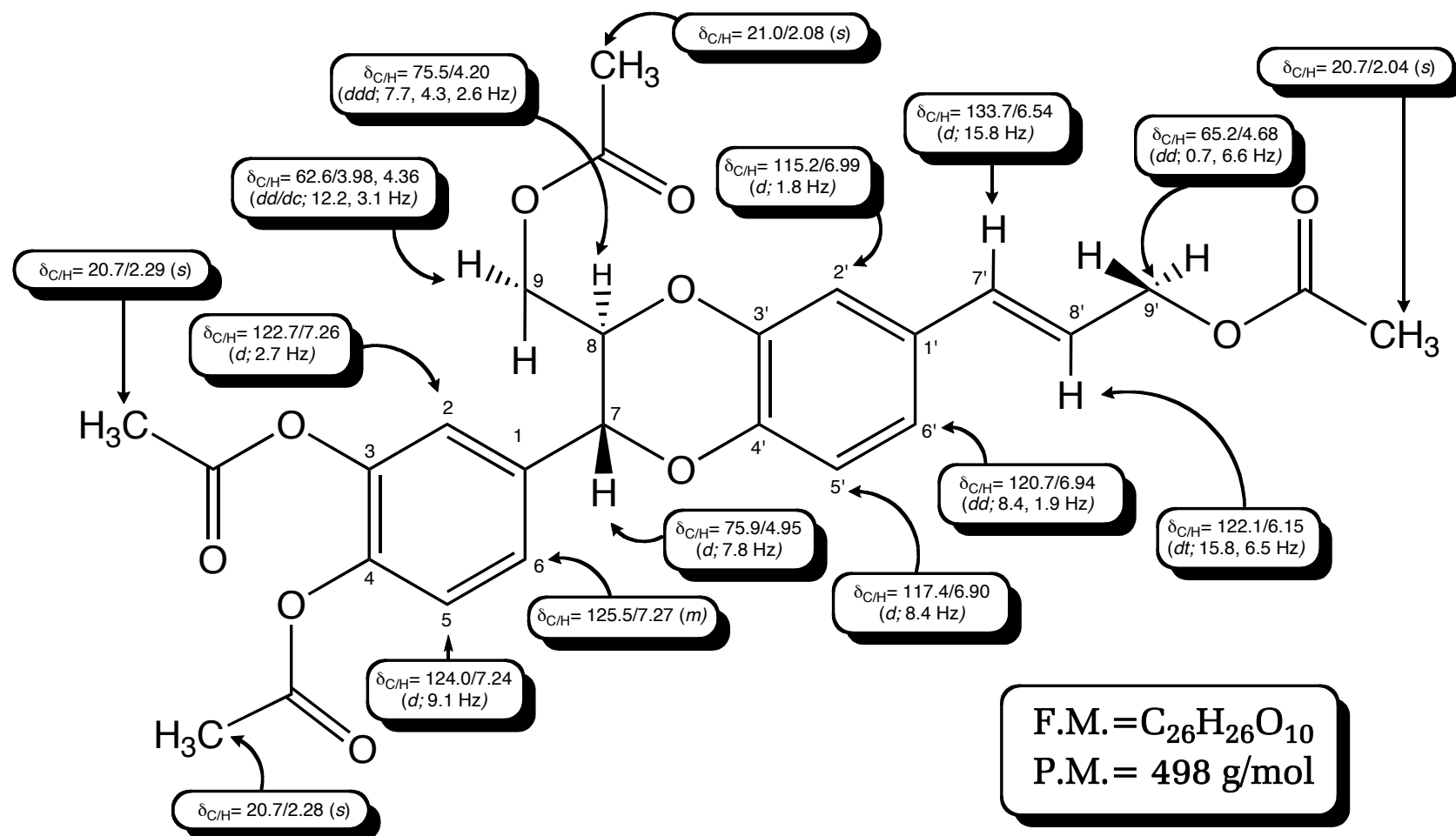
Figura 7C-1. Espectro NOESY (CDCl_3) del
3,4,9,9'-Tetraacetil-americanol A (**7a**)



Americanol A (7)



3,4,9,9'-tetraacetil-americanol A (7a)



3,3'-BIS-DESMETILPINOESINOL (**8**) Y 3,3',4,4'-TETRAACETIL-PINOESINOL (**8a**):

De las fracciones 17-19 de la reunión "I" de la cromatografía general se logró purificar por placa TLC preparativa, un aceite color amarillo que, después de repetidos intentos no pudo recristalizarse. El mismo se reveló en placa de TLC, como una mancha pura de color marrón [$R_f = 0.66$, sist. solv. Hex/EtOAc (4:6)].

El espectro de IR (Fig. 8A; Tabla 8A) presentó bandas en $\nu_{\text{máx}} = 3.305 \text{ cm}^{-1}$ (tensión O-H) y 1.199 cm^{-1} (tensión C-O) de alcoholes; 1.285 cm^{-1} (tensión C-O-C) de éteres y 1.522 cm^{-1} (tensión C=C), 816 cm^{-1} (deform. =C-H) de grupos aromáticos.

Figura 8A. Espectro Infrarrojo (KBr) del 3,3'-bis-desmetilpinoesinol (**8**)

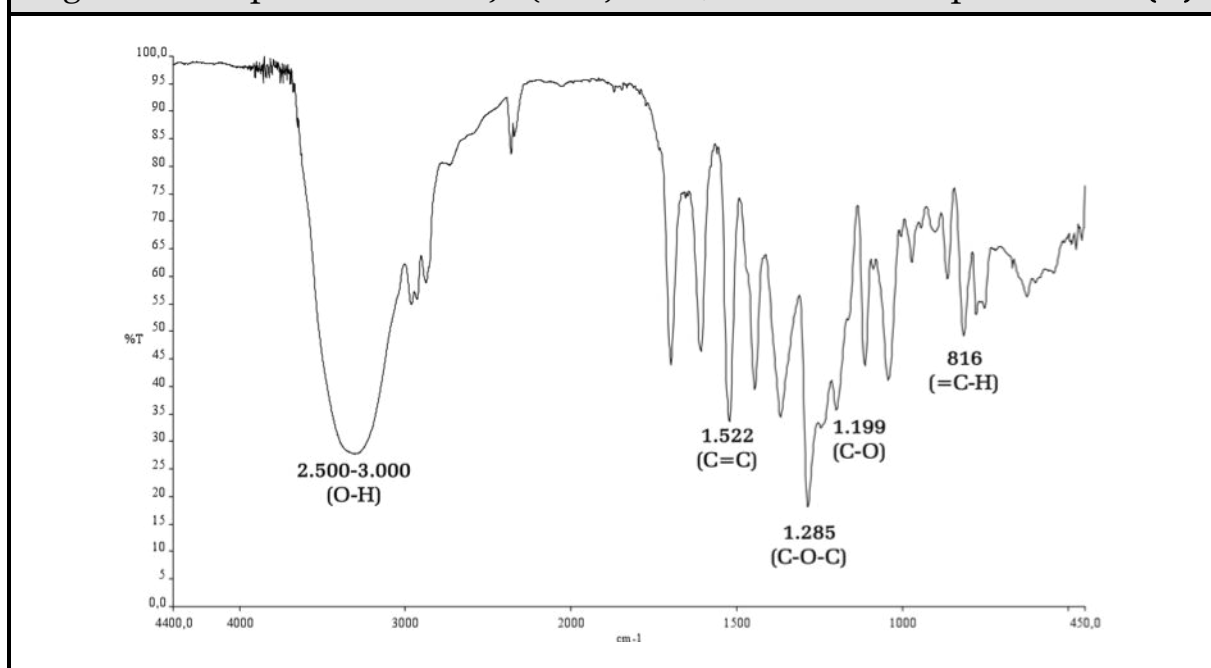


Tabla 8A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr), del 3,3'-bis-desmetilpinoesinol (**8**)

$\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1})	3.305	1.522	1.285	1.199	816
Asignación	O-H	C=C	C-O-C	C-O	=C-H

Su espectro de RMN- ^1H (Fig. 8B; Tabla 8B) reveló la presencia de siete señales, tres de ellas pertenecientes a un anillo aromático trisustituido [$\delta_{\text{H}} = 6.70 \text{ dd}$ (H-6), 6.78 d (H-5), 6.87 d (H-2) ppm], un metino alifático [$\delta_{\text{H}} = 3.01 \text{ dd}$ (H-8) ppm], un metino oxigenado [$\delta_{\text{H}} = 4.60 \text{ d}$ (H-7) ppm] y dos señales pertenecientes a un metileno oxigenado [$\delta_{\text{H}} = 3.76 \text{ dd}$, 4.16 dd (H-9) ppm].

De igual manera, el espectro de RMN- ^{13}C (Fig. 8C; Tabla 8C) mostró un total de nueve carbonos, en los que se pudo observar: tres metinos y tres carbonos cuaternarios hibridados sp^2 , un metino y un metileno oxigenados y un metino alifático.

Las interacciones HMBC (Fig. 8F) y ^1H - ^1H COSY (Fig. 8D) permitieron el esclarecimiento de la estructura gruesa del compuesto (**8**). Los hidrógenos aromáticos H-2 ($\delta_{\text{H}} = 6.87$ ppm) y H-6 ($\delta_{\text{H}} = 6.87$ ppm) presentaron interacciones con un metino alifático oxigenado en $\delta_{\text{C}} = 58.1$ ppm (C-7), al mismo tiempo que presentaron correlación con un carbono sp^2 oxigenado a $\delta_{\text{C}} = 143.9$ ppm (C-4).

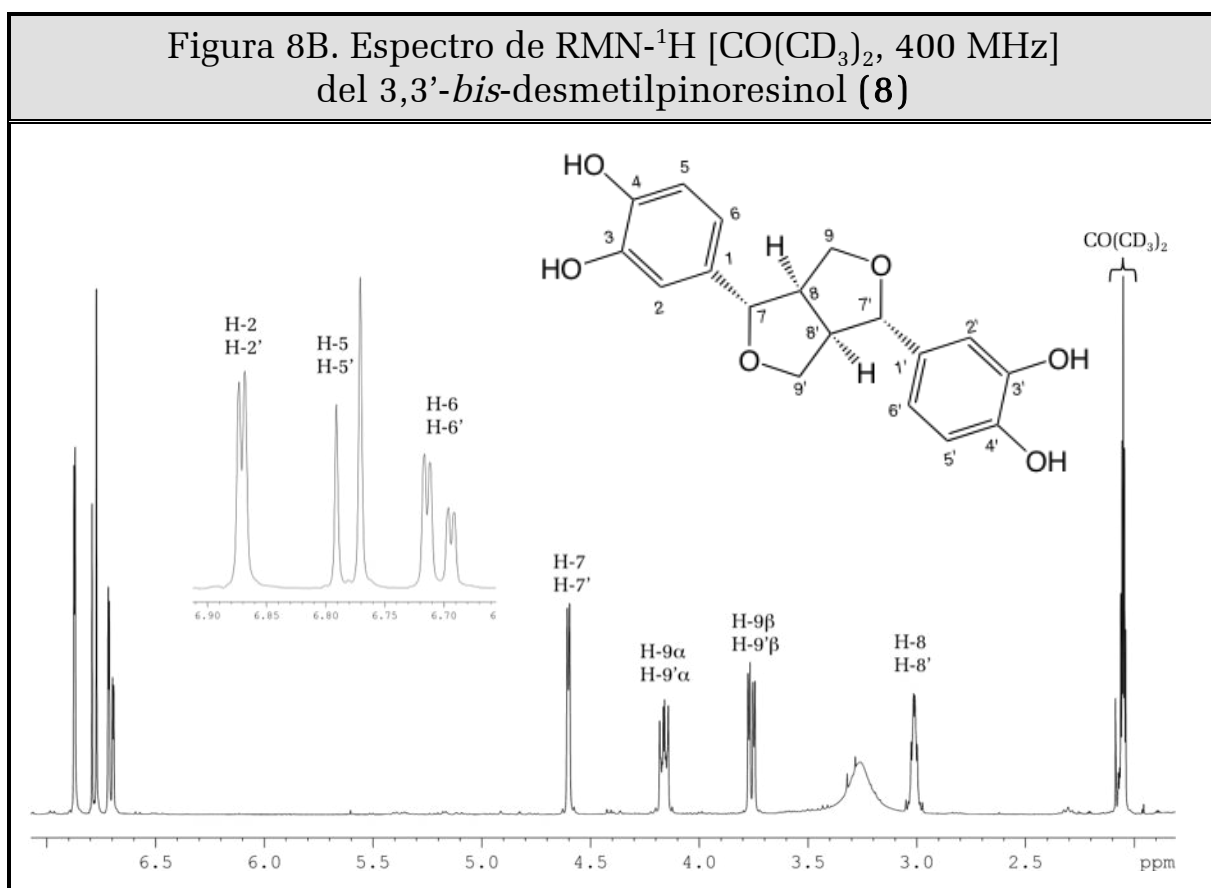


Tabla 8B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^1H ($\text{CO}(\text{CD}_3)_2$, 400 MHz) del 3,3'-bis-desmetilpinoresinol (**8**)

H	H-2/2'	H-5/5'	H-6/6'	H-7/7'	H-8/8'	H-9/9'
δ (ppm)	6.87	6.78	6.70	4.60	3.01	3.76/4.16
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>ddd</i>	<i>dd/dd</i>
<i>J</i> (Hz)	2.0	8.1	2.0/8.1	4.2	4.1/6.4/15.9	3.7; 9.1/6.9; 8.9

El tercer hidrógeno aromático [$\delta_{\text{H}} = 6.78$, d ppm (H-5)] se relacionó con un segundo carbono oxigenado sp^2 [$\delta_{\text{H}} = 144.5$ ppm (C-3)] y con un carbono cuaternario sp^2 [$\delta_{\text{C}} = 133.2$ ppm (C-1)], con lo que se completó la estructura de anillo aromático trisustituido. El protón H-7 presentó dos interacciones: la primera a tres enlaces (interacción COSY), con un metino alifático [$\delta_{\text{C}} = 53.8$ ppm (C-8)] y la segunda con un oximetileno [$\delta_{\text{C}} = 70.8$ ppm (C-9)]. Las interacciones HMBC y COSY fueron entonces: $\text{H-2} \leftrightarrow \text{C-7} \leftrightarrow \text{H-6} \leftrightarrow \text{C-4}$, $\text{C-3} \leftrightarrow \text{H-5} \leftrightarrow \text{C-1}$, $\text{C-8} \leftrightarrow \text{H-7} \leftrightarrow \text{C-9}$, $\text{H-2} \leftrightarrow \text{H-7} \leftrightarrow \text{H-6}$ y $\text{H-8} \leftrightarrow \text{H-7} \leftrightarrow \text{H-9}$, lo que establece la subestructura "A" (Fig. 8E) del compuesto (8).

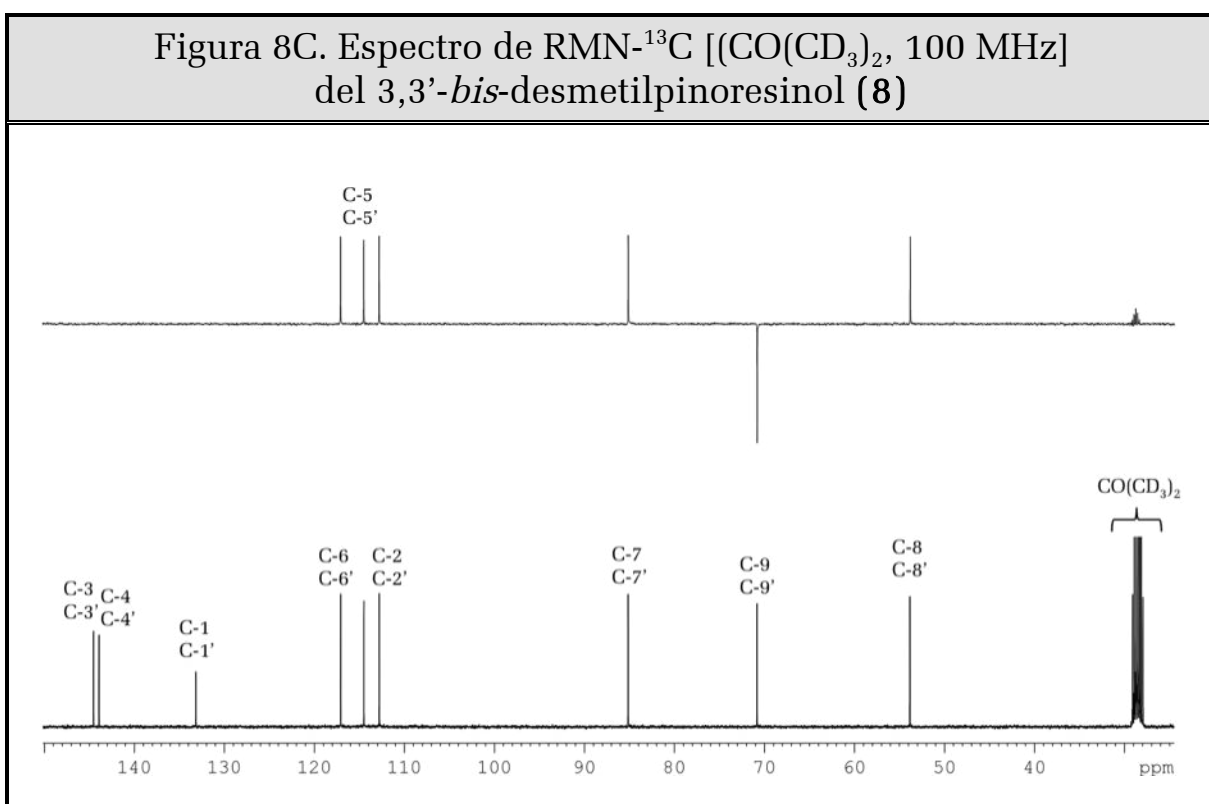
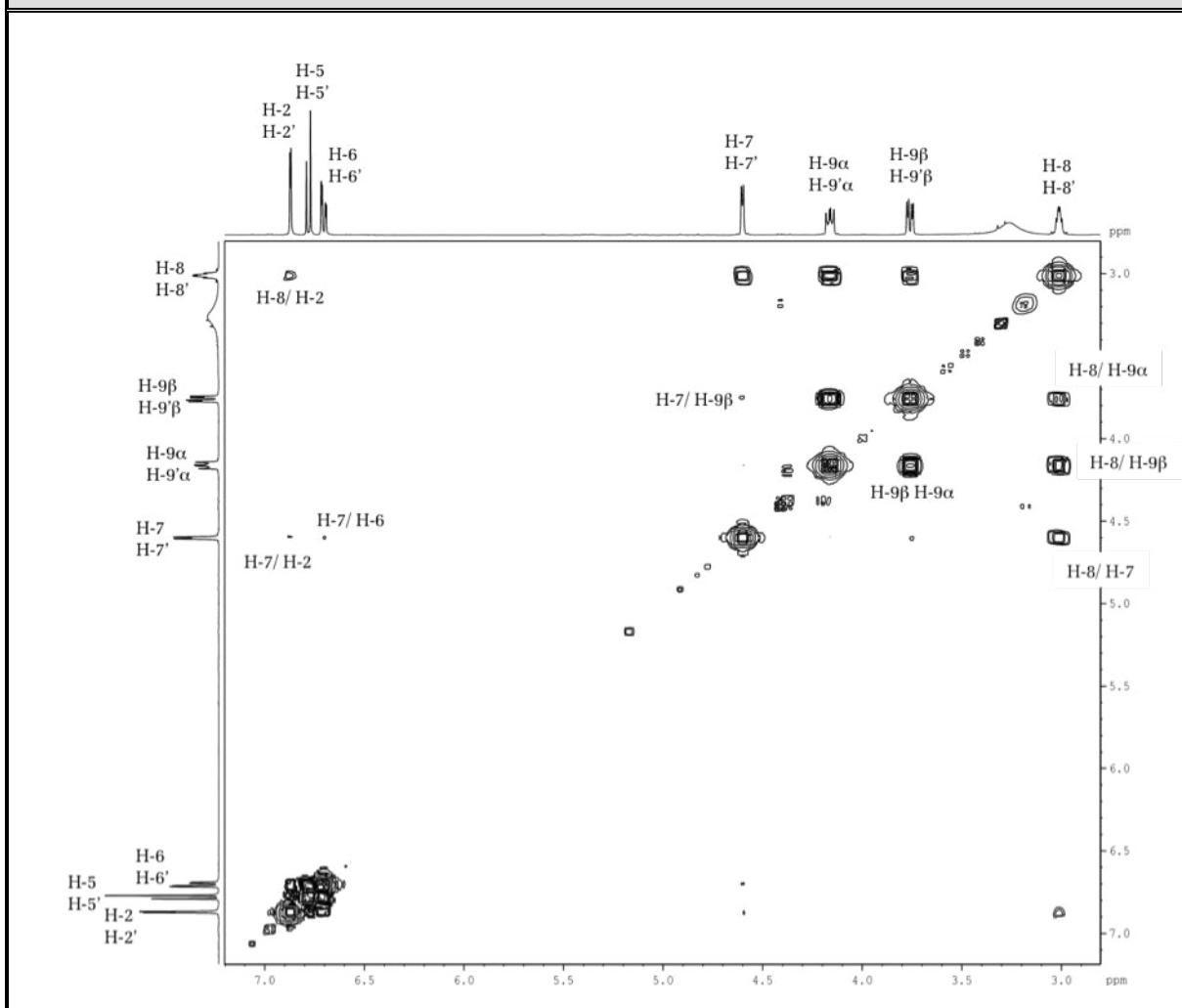


Tabla 8C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^{13}C ($\text{CO}(\text{CD}_3)_2$, 100 MHz) del 3,3'-bis-desmetilpinoresinol (8)

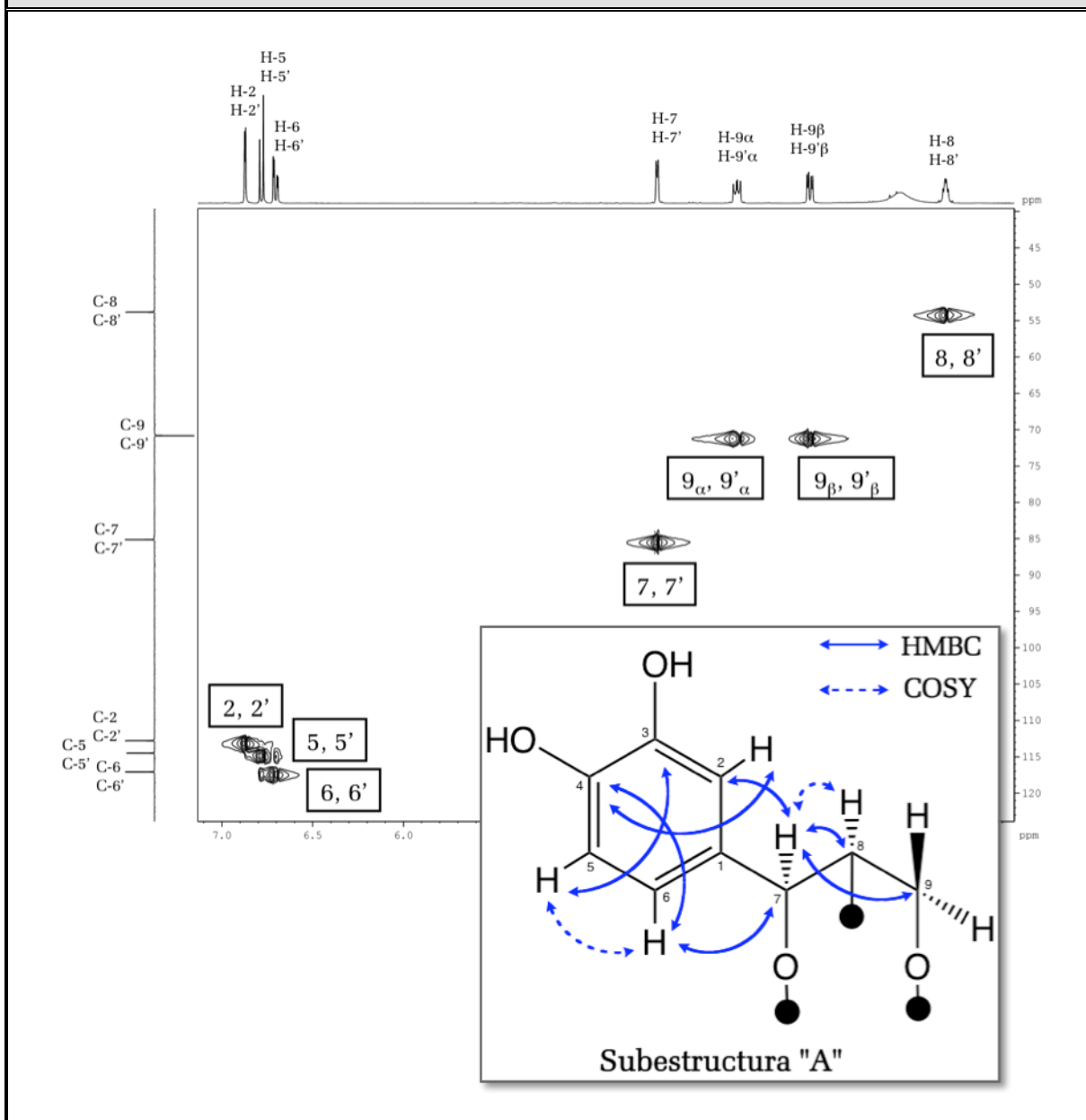
C	C-1/1'	C-2/2'	C-3/3'	C-4/4'	C-5/5'	C-6/6'	C-7/7'
δ (ppm)	133.1	112.8	144.5	143.9	114.5	117.1	85.1
tipo	=C=	=CH-	=C-O	=C-O	=CH-	=CH-	>CH-O
C	C-8/8'	C-9/9'	TMS como referencia interna				
δ (ppm)	53.8	70.8					
tipo	>CH-O-	-CH ₂ -O					

Figura 8D. Espectro ^1H - ^1H COSY [$\text{CO}(\text{CD}_3)_2$] del 3,3'-*bis*-desmetilpinoresinol (**8**)



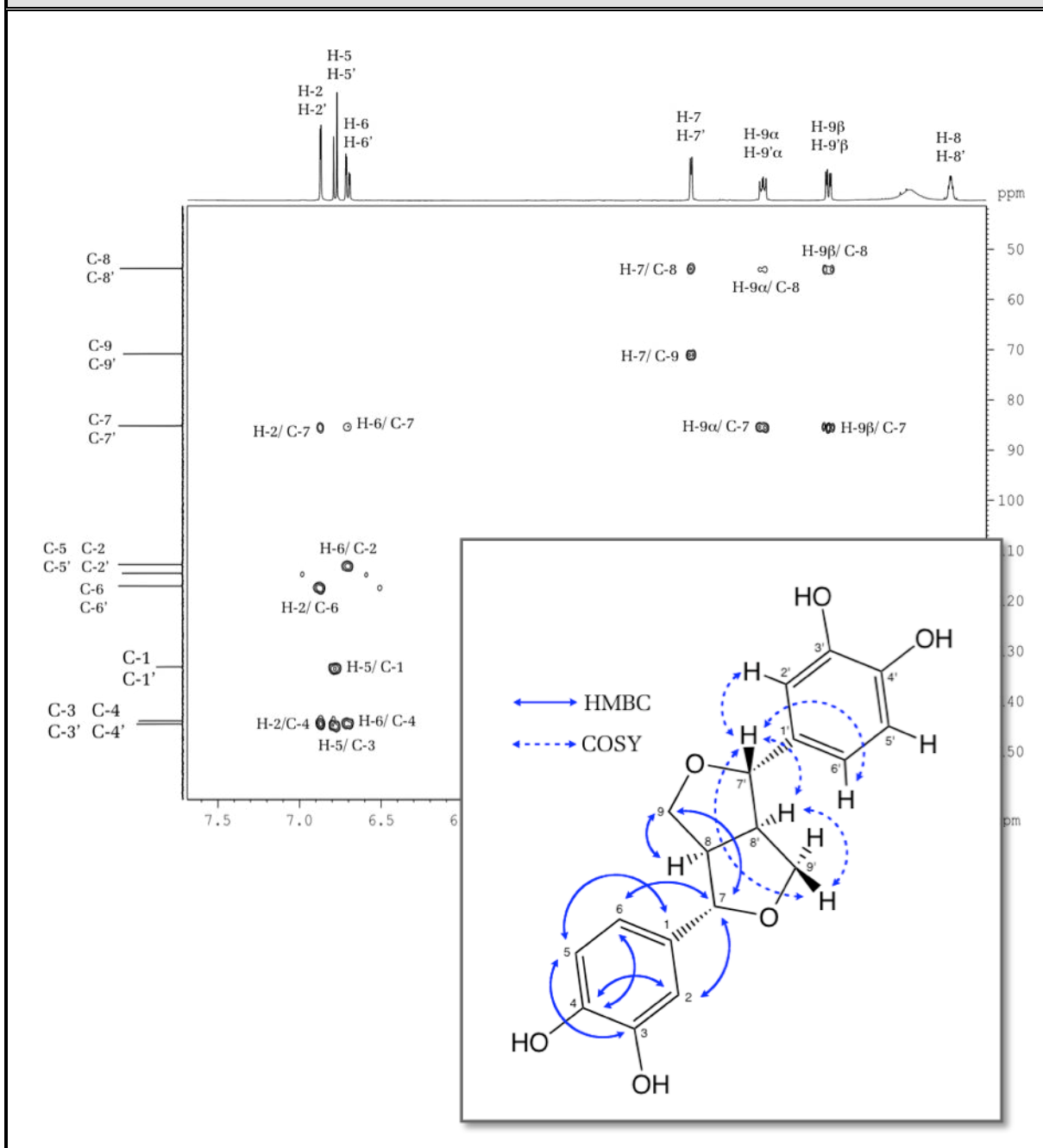
Al observar con detenimiento los espectros bidimensionales HMBC y ^1H - ^1H COSY, se pudo comprobar que la posición C-8/H-8 de la molécula no presentaba correlación de ningún tipo con otros hidrógenos o carbonos. Debido a la rigidez de la estructura, la posibilidad de que los carbonos C-7 y C-9 formaran enlaces etéreos con los carbonos aromáticos oxigenados C-3 y C-4 era muy poco probable, por lo que necesariamente se recurrió a la búsqueda de otras alternativas. La bibliografía consultada para el tipo de metabolitos secundarios que por lo general forman este tipo de fragmentos, sugirió que se trataba de un compuesto simétrico del tipo *bis*-epoxilignano (Suzuki and Umezawa, 2007; Davin and Lewis, 2003). El patrón de sustitución del compuesto (**8**) le confiere el nombre de: 3,3',4,4'-tetrahidróxi-7,9',7',9-*bis*-epoxilignano (Ayres and Loike, 1990).

Figura 8E. Espectro HMQC $[\text{CO}(\text{CD}_3)_2]$
del 3,3'-bis-desmetilpinoresinol (**8**)



La transformación del compuesto (**8**) en su derivado acetilado (Vogel, 1967), permitió confirmar las supociones propuestas, ya que se observa en el espectro de masas (I.E., 70 eV) (Fig. 8A-1) un ion molecular de $m/z= 498$, correspondiente a una fórmula molecular de $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$. Se observaron además picos en $m/z= 455$, 414 y 372 correspondientes a la pérdida de los cuatro grupos acetoxi-. La presencia del pico en $m/z= 331$ verificó la simetría del compuesto (**8**).

Figura 8F. Espectro HMBC $[\text{CO}(\text{CD}_3)_2]$ del 3,3'-bis-desmetilpinoresinol (**8**)



El experimento NOESY (Fig. 8D-1) del derivado (**8a**) determinó de manera inequívoca la estereoquímica en los centros quirales de C-7 y C-8, al se observarse las interacciones: H-7 \leftrightarrow H-9 β y H-8 \leftrightarrow H-9 α . Con esto, la configuración relativa de los compuestos (**8**) y (**8a**) se estableció: 7*S*, 7'*S*, 8*R*, 8'*R* (Pelter *et al.*, 1976; 1978).

Figura 8A-1. Espectro de Masas de Impacto Electrónico (I.E., 70 eV) del 3,3',4,4'-tetraacetil-pinoresinol (8a)

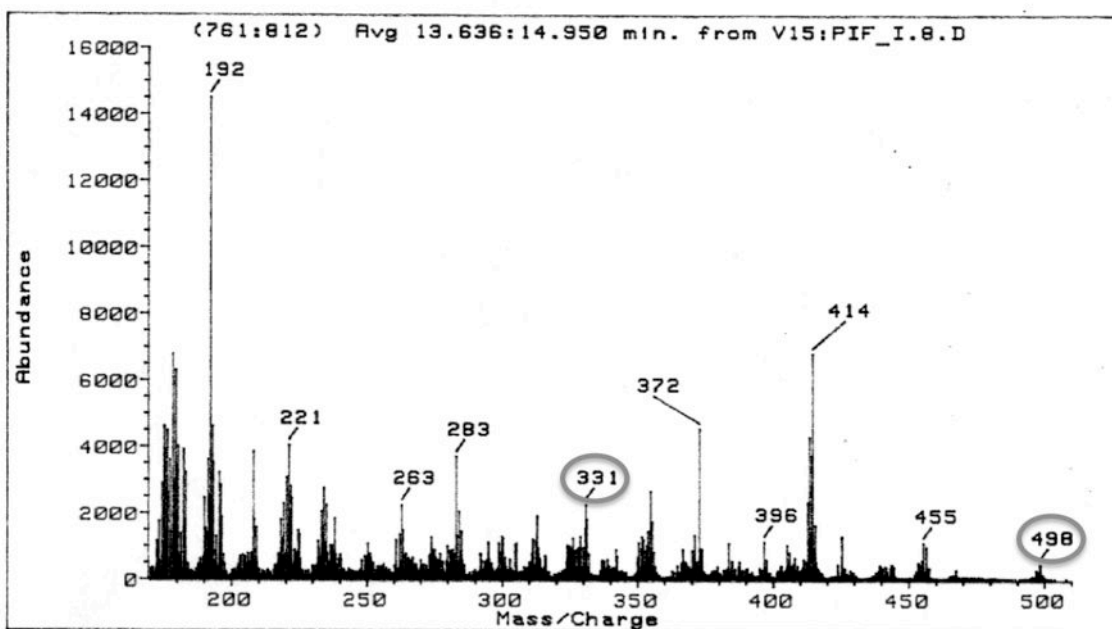


Figura 8B-1. Espectro de RMN-¹H [CO(CD₃)₂, 400 MHz] del 3,3',4,4'-tetraacetil-pinoresinol (8a)

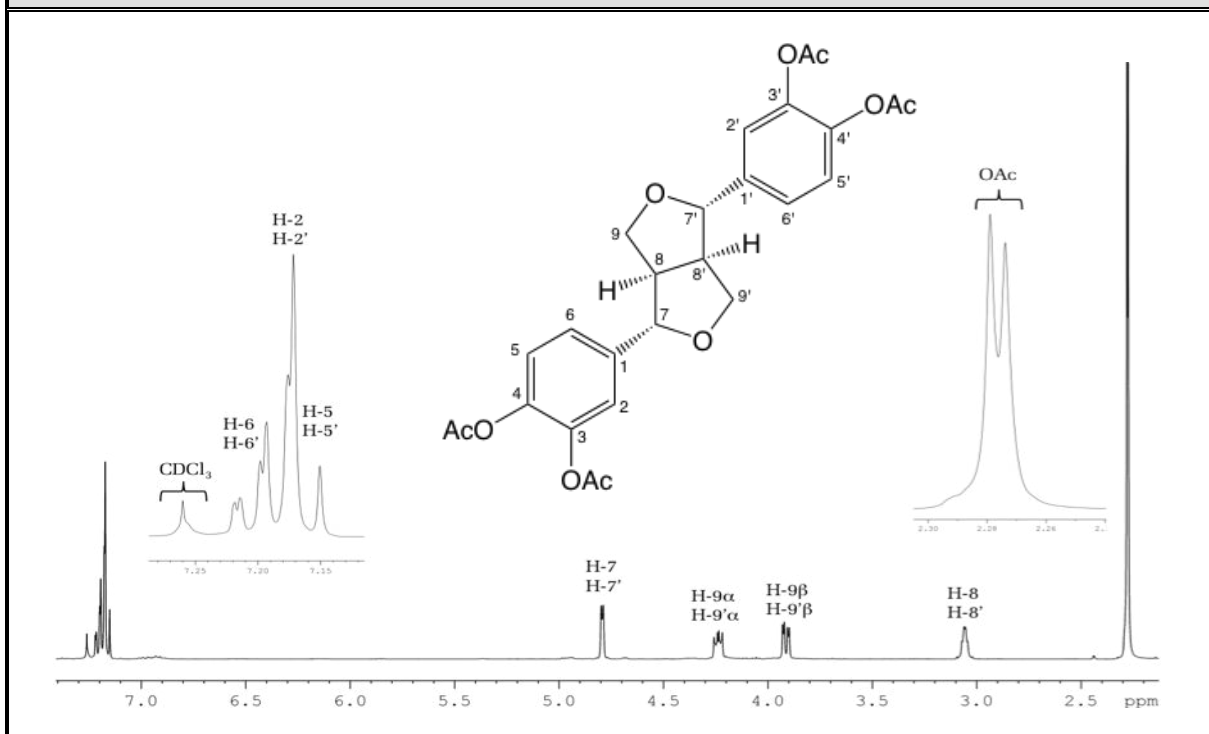


Tabla 8B-1. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) del 3,3',4,4'-tetraacetil-pinoresinol (**8a**)

H	H-2/2'	H-5/5'	H-6/6'	H-7/7'	H-8/8'	H-9/9'
δ (ppm)	7.21	7.16	7.18	4.79	3.05	3.91/4.23
m	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>ddd</i>	<i>dd/dd</i>
<i>J</i> (Hz)	2.1	8.4	2.0/8.3	4.0	4.4/6.5/15.9	3.4; 9.4/6.7; 9.1
H	CH_3	CH_3				
δ (ppm)	2.28	2.27				
m	<i>s</i>	<i>s</i>				
<i>J</i> (Hz)	-	-				

Figura 8C-1. Espectro de RMN- ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) del 3,3',4,4'-tetraacetil-pinoresinol (**8a**)

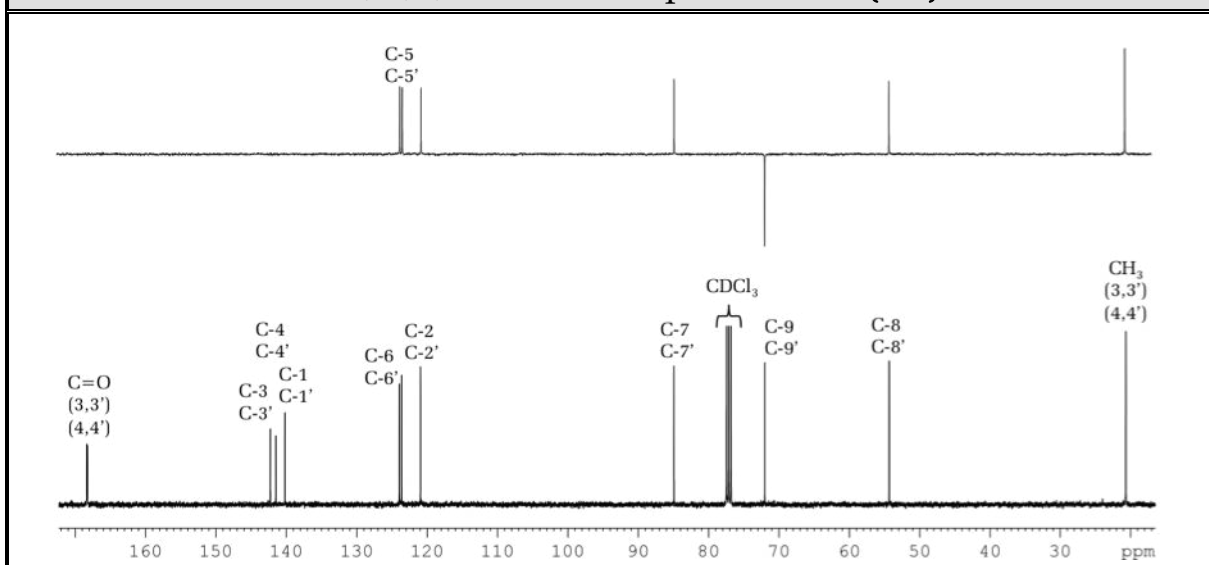
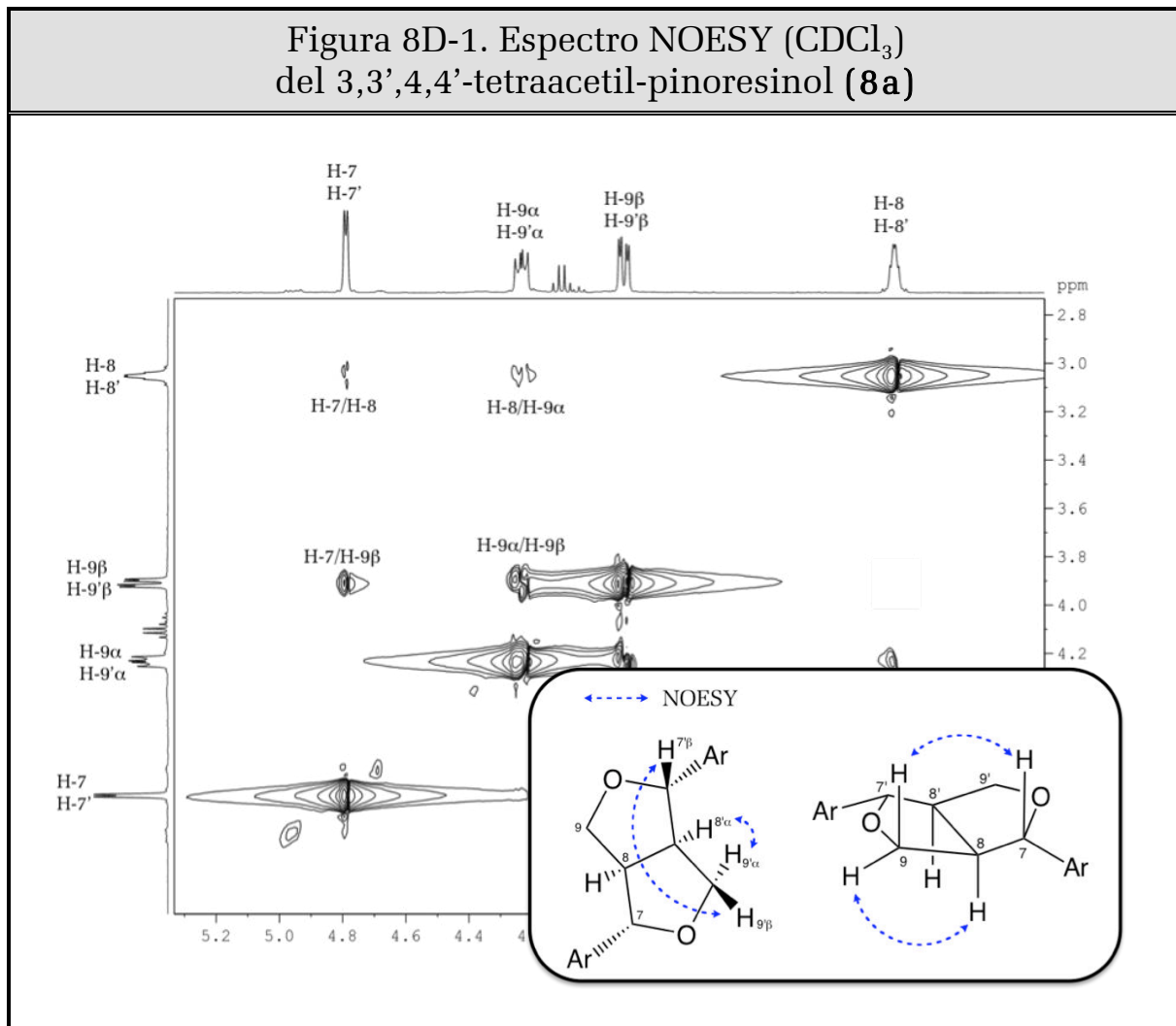


Tabla 8C-1. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) del 3,3',4,4'-tetraacetil-pinoresinol (**8a**)

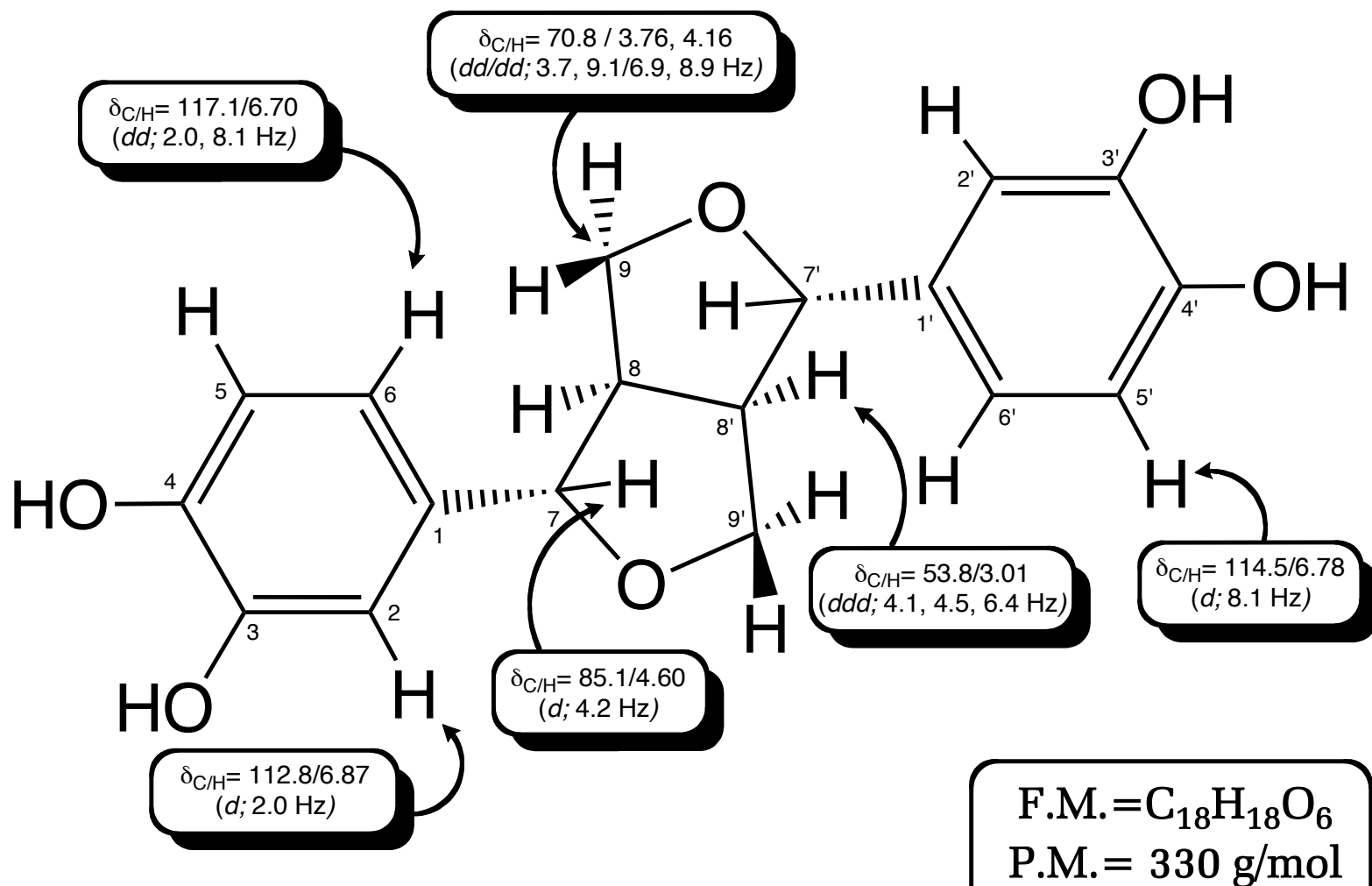
C	C-1/1'	C-2/2'	C-3/3'	C-4/4'	C-5/5'	C-6/6'	C-7/7'
δ (ppm)	142.3	120.9	140.2	141.5	123.6	123.9	84.9
tipo	=C=	=CH-	=C-O-	=C-O-	=CH-	=CH-	>CH-O-
C	C-8/8'	C-9/9'	C=O (3)	C=O (4)	CH_3 (3)	CH_3 (4)	TMS referencia interna
δ (ppm)	54.4	72.0	168.3	164.4	20.7	20.7	
tipo	>CH-O-	- CH_2 -O-	O-C=O	O-C=O	CH_3 -C=O	CH_3 -C=O	



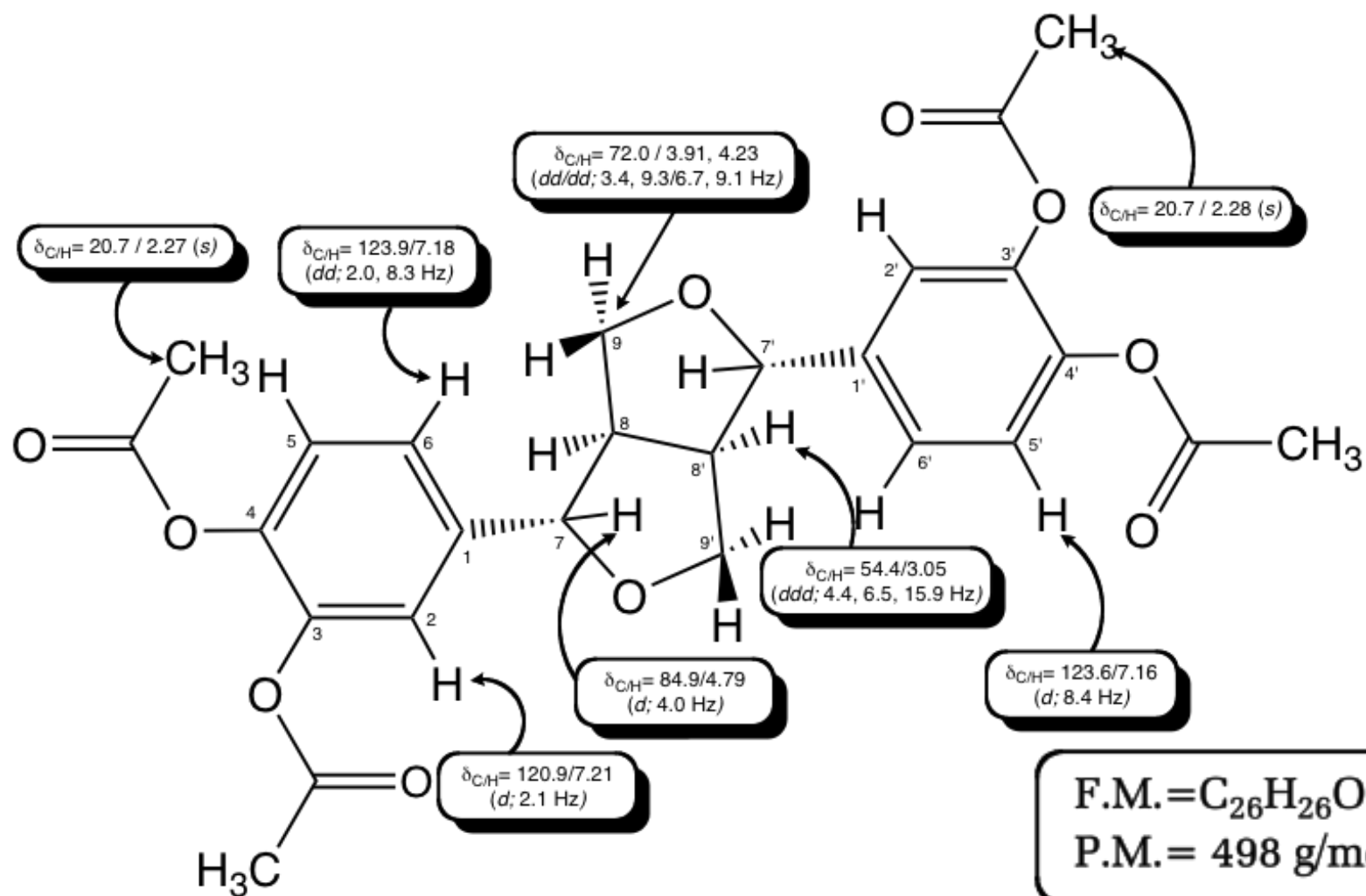
Una vez resuelta la estereoquímica de los carbonos C-7 y C-8, se pudo asignar el compuesto (**8**) como el (\pm)-3,3'-*bis*-desmetilpinoresinol y su derivado acetilado, el (\pm)-3,3',4,4'-tetraacetil-pinoresinol (**8a**).

El compuesto (**8**) fue obtenido por primera vez de *Joannesia princeps* (Euphorbiaceae) (Waibel *et al.*, 2003) y ha sido aislado además de *Morinda citrifolia* (Rubiaceae) (Kamiya *et al.*, 2004). También ha sido reportado como producto de degradación de la sesamina en la bilis de ratas y ha demostrado poseer propiedades antioxidativas (Nakai *et al.*, 2003). Es notorio el hecho de que la presencia de esta sustancia, constituye el primer reporte dentro de la familia Phytolaccaceae.

3,3'-bis-desmetilpinoresinol (8)



3,3',4,4'-tetraacetil-pinoresinol (8)



6'-PALMITIL- Δ^7 -STIGMASTENIL- β -D-ACETILGLUCÓSIDO (**9**) Y 6'-PALMITIL-SPINASTERIL- β -D-ACETILGLUCÓSIDO (**9a**):

De las fracciones 3-6 de la reunión "I.a" [fracción I (2.5 g) acetilada] de la cromatografía general, se logró obtener, por medio de una columna cromatográfica, una cera amarillenta que se mostró en placa TLC, como una mancha pura de color cobre [R_f = 0.51, sist. solv. Hex/EtOAc (8:2); P.f. = 88-90 °C].

Las señales más resaltantes exhibidas en el espectro de RMN- ^1H (Fig 9A; Tabla 9A) del compuesto (**9**), fueron seis picos a campo alto (δ_{H} = 0.5 a 1.1 ppm), correspondientes a seis metilos, una señal muy intensa en δ_{H} = 1.25 ppm, característica de varios grupos metilenos pertenecientes a cadenas carbonadas, tres metilos que por sus desplazamientos a campo bajo se asignan a grupos acetato (δ_{H} = 2.03 ppm), un triplete en δ_{H} = 2.32 ppm propio de un grupo -CH₂- alfa a un carbonilo (en ácidos grasos) y ocho señales propias de hidrógenos oxigenados (δ_{H} = 3.5 a 5.2 ppm).

Debido a la multiplicidad de los seis grupos metilo [δ_{H} = 0.54, *s* (H-18); 0.77, *s* (H-19); 1.02, *d* (H-21); 0.84, *d* (H-26); 0.82, *d* (H-27); 0.79, *t* (H-29)] se pudo conocer que el compuesto en estudio no pertenecía a la serie de los triterpenos. Por otro lado, el espectro de RMN- ^{13}C (Fig. 9B; Tabla 9B) mostró un total de cincuenta y siete carbonos dentro de los que resaltaba la presencia de cuatro carbonilos, dos carbonos sp² (doble enlace trisustituido), un carbono doblemente oxigenado y seis carbonos oxigenados. La información proporcionada por ambos espectros permitió inferir la presencia de un compuesto glicosidado.

Las interacciones mostradas por el espectro HMBC (Fig 9E) de cada uno de los metilos con sus carbonos aledaños y aunado a la información proporcionada por el espectro HSQC (Fig. 9D) para cada uno de los mismos, se pudo caracterizar a la genina como un compuesto del tipo esteroidal. La presencia del doble enlace pudo ubicarse además entre los carbonos C-7 y C-8, gracias al cruce HMBC entre el protón olefínico H-7 (δ_{H} = 5.13 ppm) y el carbono C-9 (δ_{C} = 49.6 ppm), este tipo de esqueleto es conocido con el nombre de Δ^7 -estigmastenol ó 22-dihidro-espinaesterol (Moreau *et al.*, 2004).

La unidad de hexosa pudo ubicarse en el carbono C-3 de la genina gracias al cruce HMBC entre C-3 \leftrightarrow H-1'. El espectros COSY (Fig. 9C), permitió identificar dicha unidad como un grupo glucosa (Glc), esto gracias a la fuerte interacción entre los protones H-3' \leftrightarrow H-4' y a la comparación de los desplazamientos observados, con los valores reportados en la literatura (Hostettmann and Marston, 1995) para glucosas acetiladas.

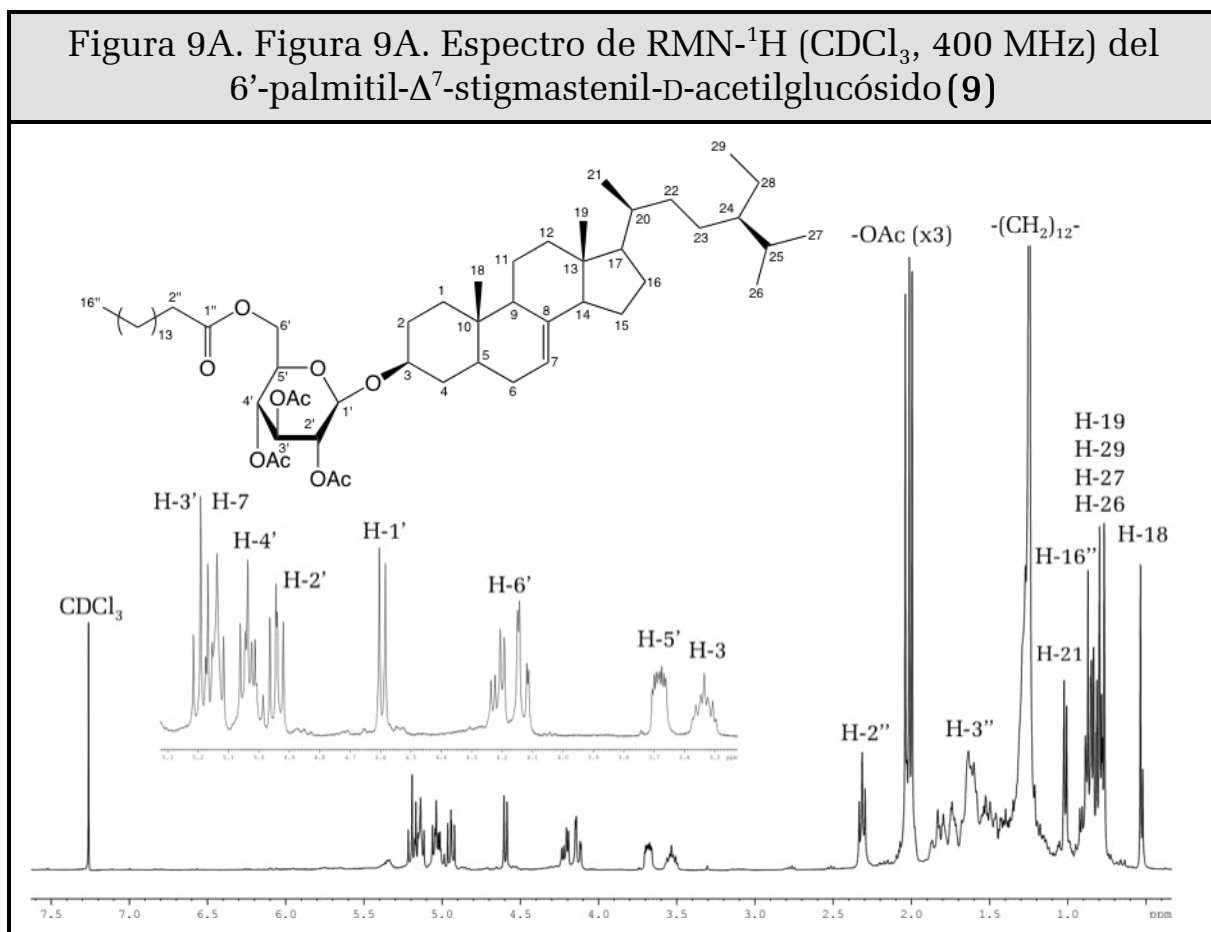


Tabla 9A. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz) del 6'-palmitil-Δ⁷-stigmastenil-β-D-acetilglucósido (9)

H	H-3	H-5	H-7	H-9	H-14	H-17
δ (ppm)	3.53	2.02	5.13	1.61	1.81	1.26
<i>m</i>	<i>h</i>	<i>m</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
<i>J</i> (Hz)	4.5	-	2.9/8.5	-	-	-
H	H-18	H-19	H-20	H-21	H-22	H-23
δ (ppm)	0.54	0.77	2.02	1.02	1.42	1.14
<i>m</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	6.6	-	-
H	H-24	H-25	H-26	H-27	H-29	
δ (ppm)	1.51	1.50	0.84	0.82	0.79	
<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>t</i>	
<i>J</i> (Hz)	-	-	7.1	7.1	7.2	

Tabla 9A. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) del 6'-palmitil- Δ^7 -stigmastenil- β -D-acetilglucósido (9)						
3-O- β -D-Acetilglucosa						
H	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'
δ (ppm)	4,59	4.94	5.19	5.04	3.69	4.13/4.22
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>t</i>	<i>t</i>	<i>t</i>	<i>m</i>	<i>dd/dd</i>
<i>J</i> (Hz)	8.0	9.6	9.5	9.6	-	2.4;12.2/ 5.3;12.2
-OAc	-	2.01	2.00	2.04	-	-
6'-O-Ácido Palmítico						
H	H-2''	H-3''	H-4'' a H-13''	H-14''	H-15''	H-16''
δ (ppm)	2.32	1.57	1.25	1.24	1.25	0.87
<i>m</i>	<i>t</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>t</i>
<i>J</i> (Hz)	7.5	-	-	-	-	6.6

El hecho de observar solo tres grupos acetoxi-, supuso una sustitución en alguno de los oxígenos de la unidad de azúcar, ya que si ésta se hubiese encontrado monosustituída, se observarían cuatro grupos acetilo. El análisis del espectro HMBC reveló entonces la presencia de una interacción entre un carbono carbonílico [$\delta_{\text{C}} = 173.6$ ppm (C-1'')] y uno de los protones diasterotópicos del oximetileno H-6' ($\delta_{\text{H}} = 4.13$ ppm), ubicando una cadena alifática en el carbono C-6' de la unidad de hexosa. La interacción entre el mismo carbonilo y el metileno alfa a este grupo [$\delta_{\text{H}} = 2.32$ ppm (H-2'')] permitió corroborar dicha afirmación. Otras correlaciones observadas fueron: C-3'' \leftrightarrow H-2'' \leftrightarrow C-4'', H-3'' \leftrightarrow C-4'' \leftrightarrow H-5'' y C-14'' \leftrightarrow H-16'' \leftrightarrow C-15 (Fig. A).

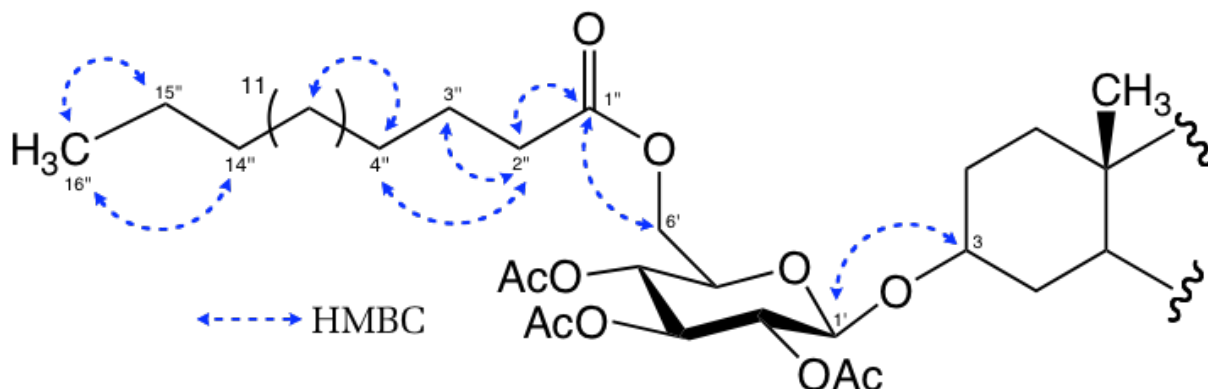


Figura A. Ubicación de la cadena lateral mediante interacciones HMBC

Figura 9B. Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz) del 6'-palmitil-Δ⁷-stigmastenil-β-D-acetilglucósido (9)

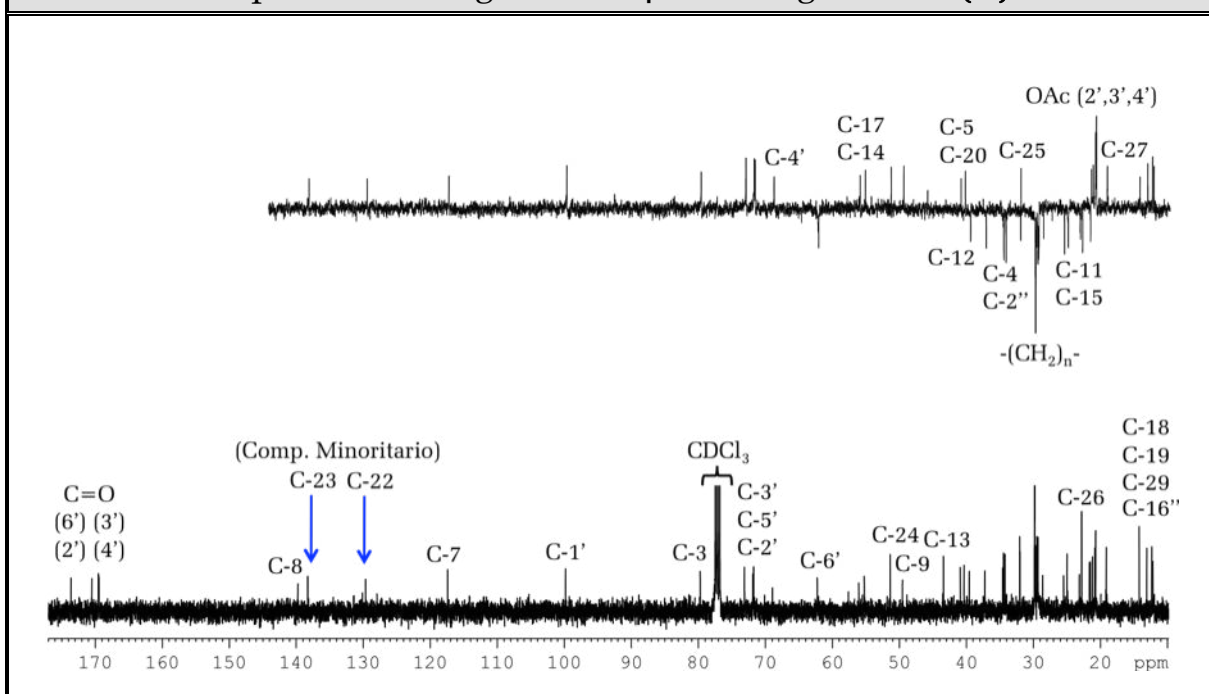


Tabla 9B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz) del 6'-palmitil-Δ⁷-stigmastenil-β-D-acetilglucósido (9)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	37.3	29.8	79.8	34.6	40.9	29.4	117.4
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-O-	-CH ₂ -	>CH-	-CH ₂ -	=CH-
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	139.7	49.6	34.5	21.7	39.6	43.4	55.3
tipo	>C=	>CH-	>C<	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>C<	>CH-
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	23.2	28.6	56.1	12.2	13.1	40.4	21.2
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-	-CH ₃	-CH ₃	>CH-	-CH ₃
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28
δ (ppm)	28.9	25.5	51.4	32.0	21.5	19.2	22.8
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-	>CH-	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₂ -
C	C-29	TMS como referencia interna					
δ (ppm)	12.4						
tipo	-CH ₃						

Tabla 9B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) del 6'-palmitil- Δ^7 -stigmastenil- β -D-acetilglucósido (**9**)

3-O- β -D-Acetilglucosa							
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	
δ (ppm)	99.8	71.8	73.1	68.6	71.9	62.3	
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-	
-OAc	-	169.5	170.5	169.4	-	-	
-OAc	-	20.8	20.8	20.9	-	-	
6'-O-Ácido Palmítico							
C	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''/13''	C-14''	C-15''	C-16''
δ (ppm)	173.6	34.3	25.0	29.7	32.1	22.8	14.3
tipo	-O-C=O	-CH ₂ -	-CH ₂ -	-CH ₂ -	-CH ₂ -	-CH ₂ -	-CH ₃

Figura 9C. Espectro ^1H - ^1H COSY (CDCl_3) del 6'-palmitil- Δ^7 -stigmastenil- β -D-acetilglucósido (**9**)

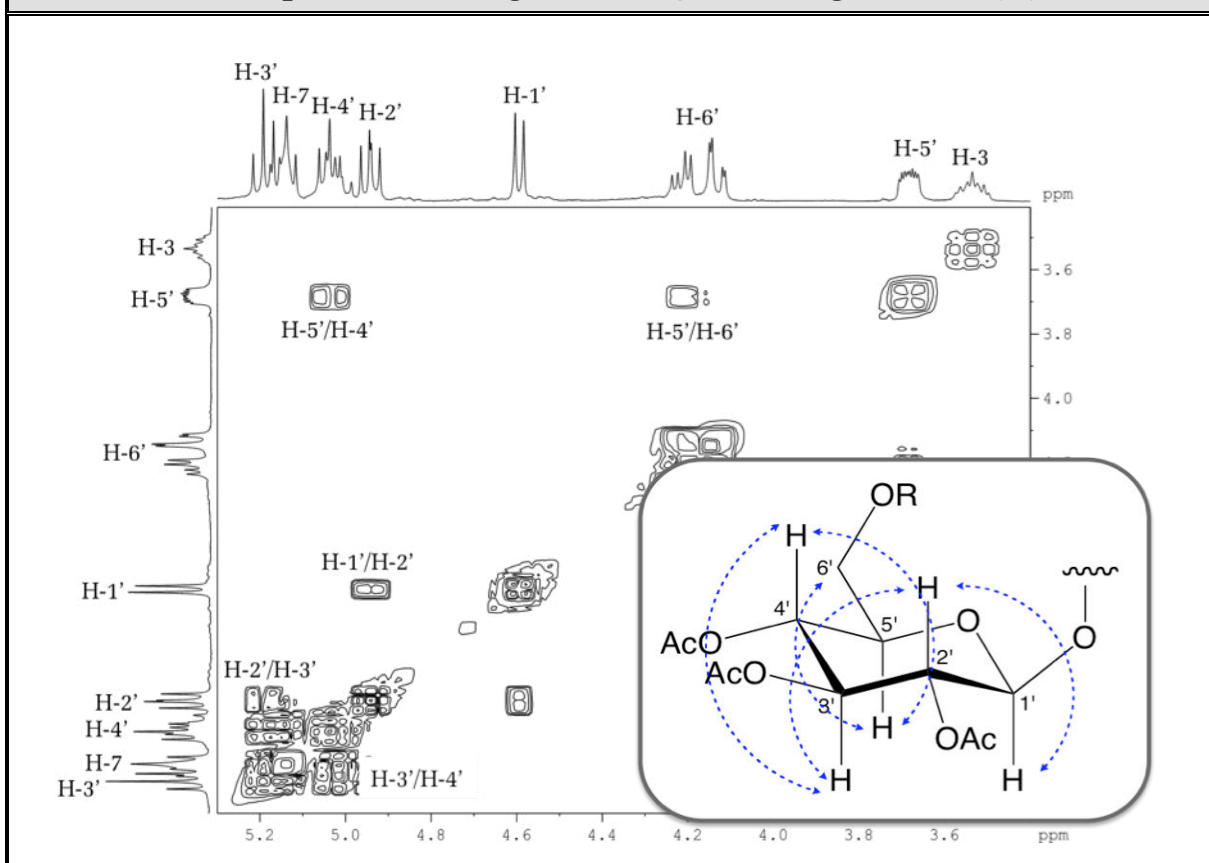


Figura 9D. Espectro HMQC (CDCl_3) del 6'-palmitil- Δ^7 -stigmastenil- β -D-acetilglucósido (9)

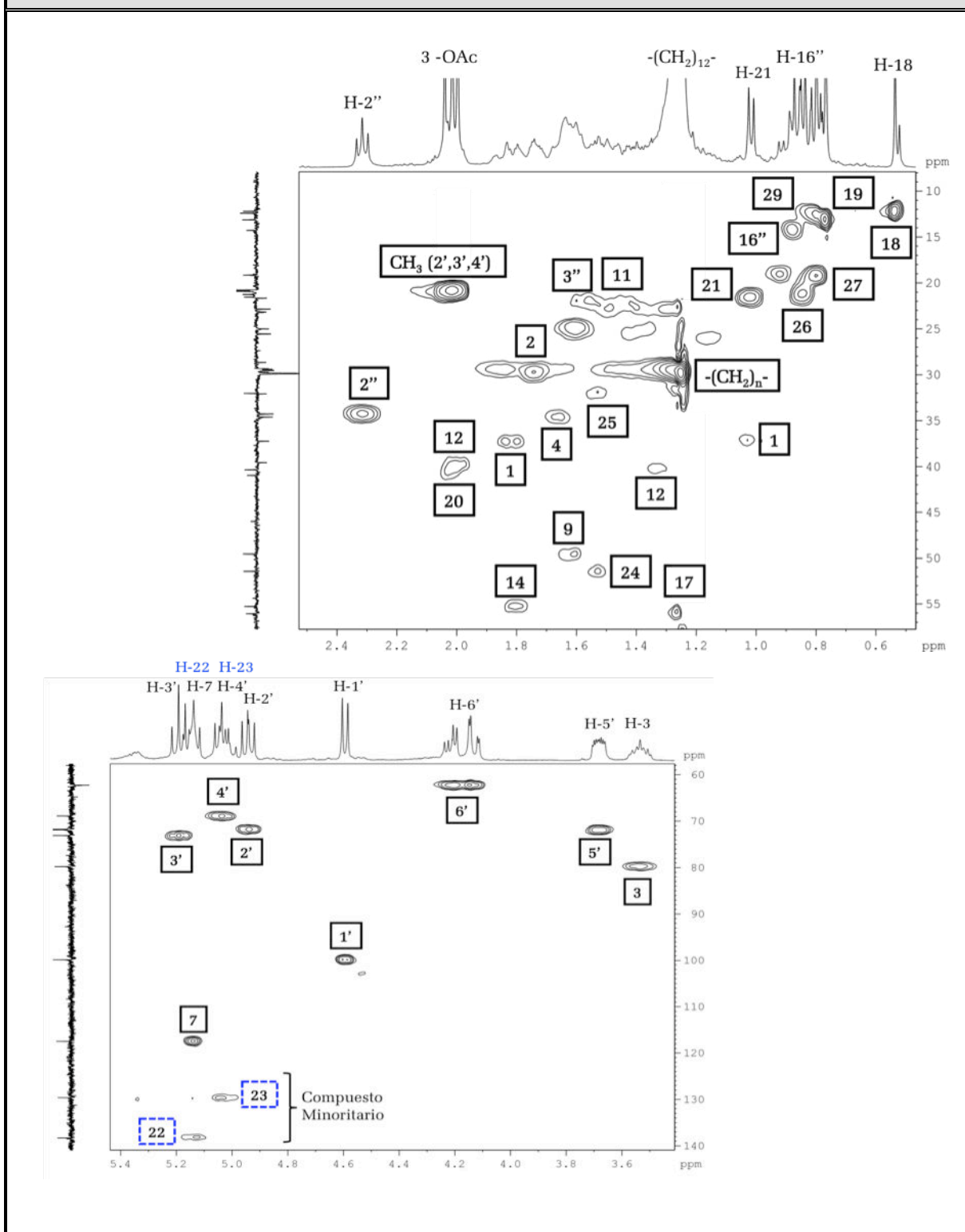


Figura 9E. Espectro HMBC (CDCl_3) del 6'-palmitil- Δ^7 -stigmastenil- β -D-acetilglucósido (9)

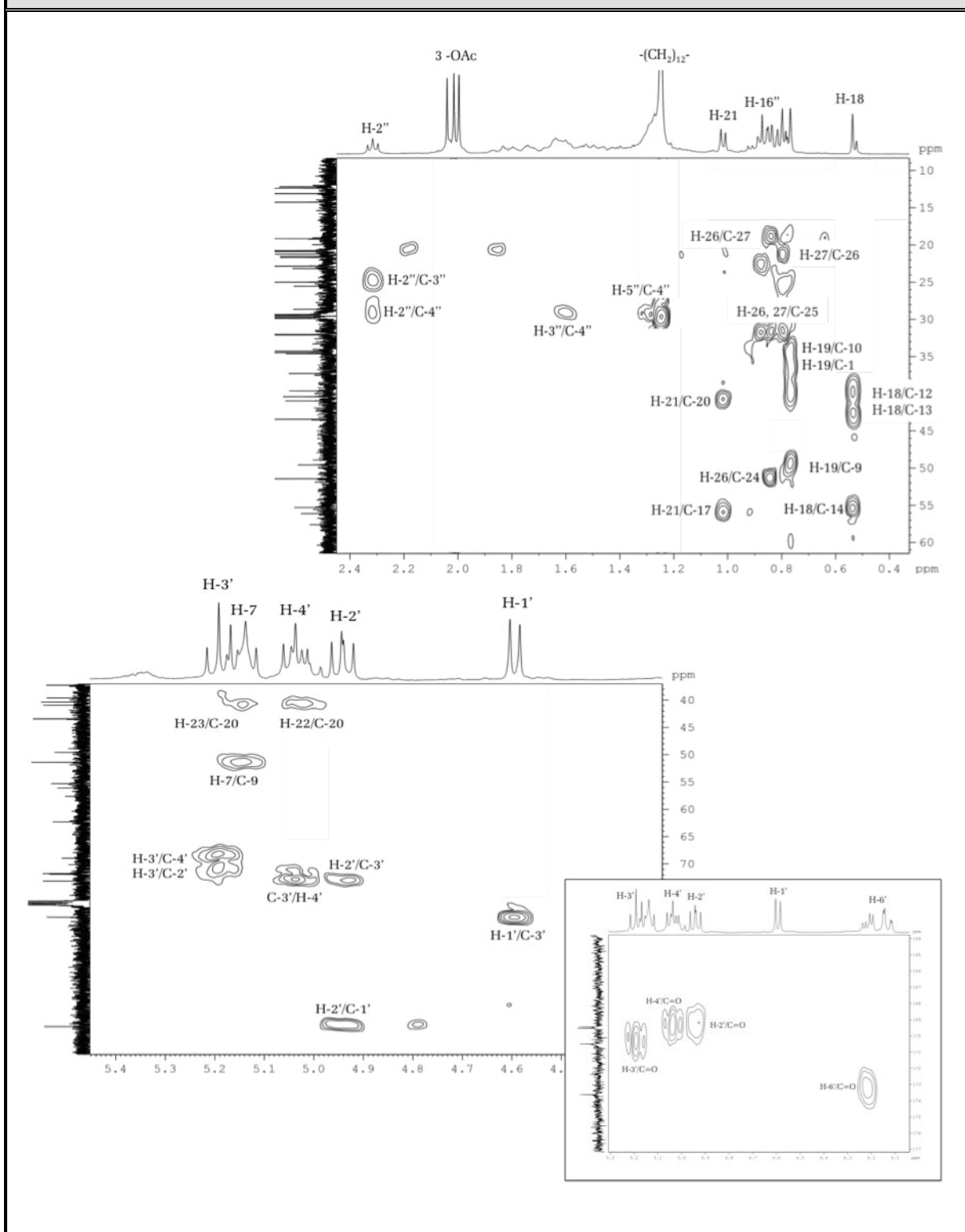
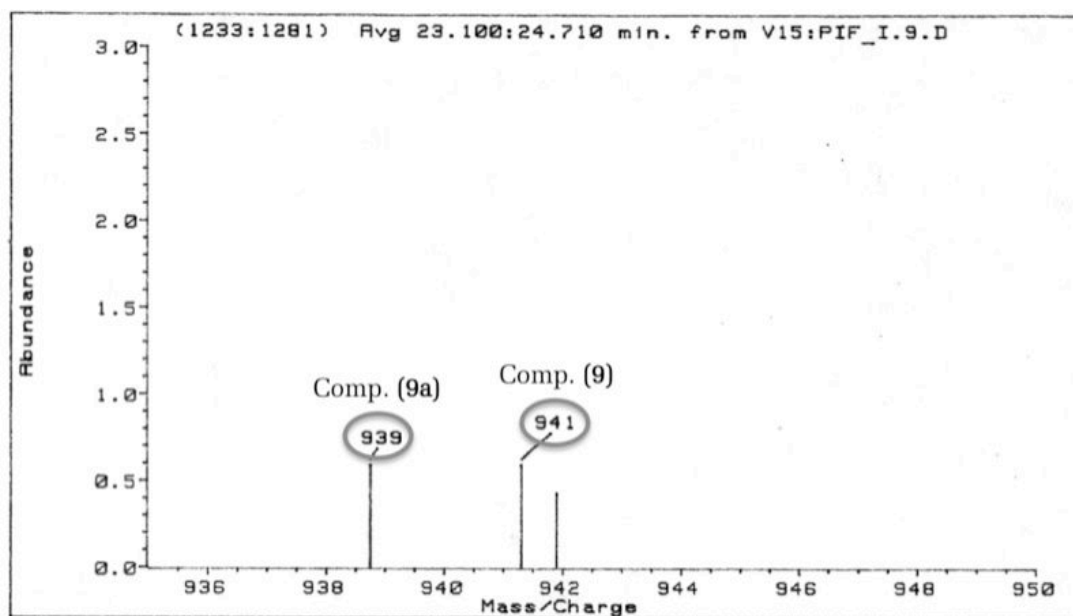
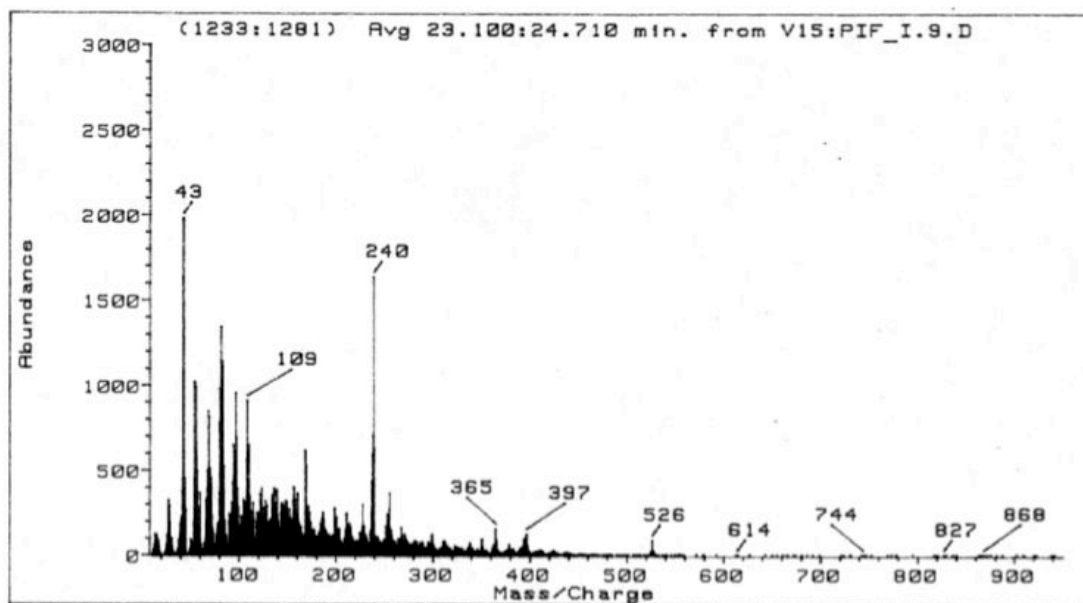


Figura 9F. Espectro de Masas de Impacto Electrónico (I.E., 70 eV) del 6'-palmitil- Δ^7 -stigmastenil- β -D-acetilglucósido (9)



La señal intensa en $\delta_{\text{H}} = 1.25$ ppm, mostró una integral aproximada de 24 protones, los que, excluyendo los hidrógenos pertenecientes a los carbonos C-2'', C-3'' y C-16'' (cuyos protones no se encontraban en esa zona) se corresponde con doce átomos de carbono. Sumando los carbonos antes mencionados, así como el carbono carbonílico unido a C-6' y la presencia de un ion molecular en el espectro de masas (Fig. 9F) de $m/z = 941$ ($\text{C}_{57}\text{H}_{96}\text{O}_{10}$), se concluyó sin lugar a dudas, la presencia de un ácido graso de dieciséis átomos de carbonos, conocido en su forma libre en la naturaleza como ácido palmítico [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}_2\text{H}$].

En conclusión, el compuesto en estudio posee la estereoestructura (**9**), la cual corresponde a la descrita en la bibliografía para el 6'-palmitil- Δ^7 -stigmastenil- β -D-acetilglucósido. Este esteroide glicosidado fue reportado por primera vez como alcohol libre, de la especie *Phytolacca americana* (Woo, 1974).

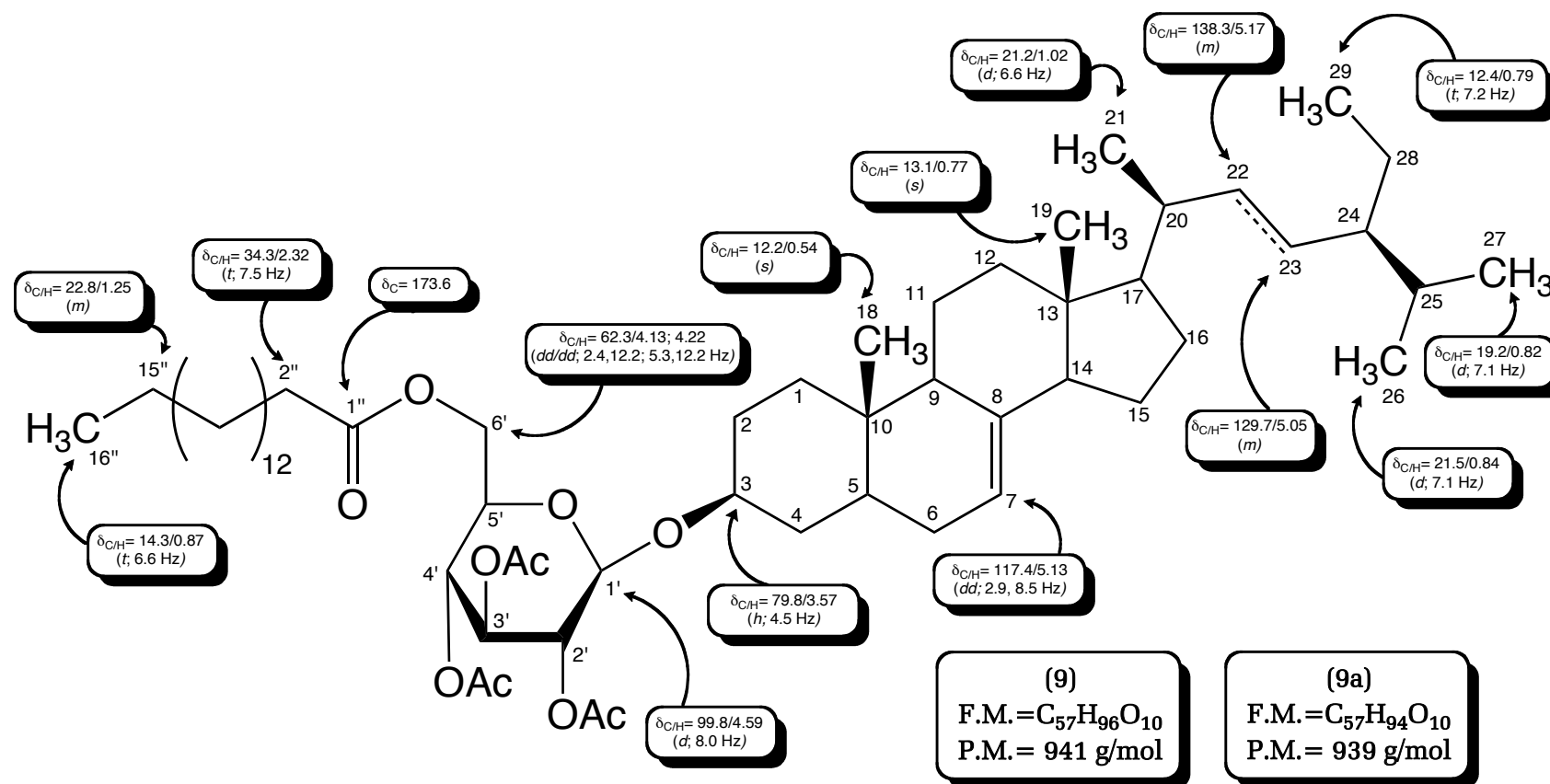
El componente minoritario presente en el sólido en el que se identificó el compuesto (**9**) resultó ser otro esteroide, perteneciente a la serie del spinasterol (Moreau *et al.*, 2004). El mismo se encontró en una proporción aproximada del 33% y fue imposible de separar a pesar de repetidos intentos.

Al analizar con detalle el espectro de RMN- ^{13}C (Fig. 9B) se logra distinguir en el mismo una serie de pequeños picos entre los cuales la mayoría de los correspondientes a carbonos sp^3 aparecen parcialmente superpuestos o muy próximos a los asignados al 6'-palmitil- Δ^7 -stigmastenil- β -D-acetilglucósido (**9**). Sin embargo, en la región de los carbonos sp^2 se observa que los picos correspondientes a esta nueva serie, aparecen notablemente diferenciados (tanto en el trazo BB como en el DEPT-135) de los asignados al doble enlace endocíclico entre C-7 y C-8 en el compuesto (**9**). En razón a este hecho se pensó que el contaminante era un esteroide similar a (**9**), el cual poseía un esqueleto del tipo spinasterol como aglicona.

El análisis del espectro HMQC (Fig. 9D), confirmó esta hipótesis al detectarse en el mismo, dos señales poco intensas, típicas de protones olefínicos en $\delta_{\text{C/H}} = 138.3/5.17$; $129.7/5.05$ ppm, los cuales se encuentran ubicados en las posiciones C-22 y C-23 respectivamente, del esqueleto esteroideal. El espectro de masas también arrojó información concluyente, al presentar un pico en $m/z = 939$, el cual es concordante con el ion molecular del compuesto minoritario. En consecuencia, este isómero fue identificado como (**9a**) es decir, el 6'-palmitil-spinasteril- β -D-acetilglucósido. Este metabolito fue reportado de igual forma de la especie *Phytolacca americana* (Woo, 1974).

Los compuestos (**9**) y (**9a**) se reportan en este estudio por primera vez para la especie *Phytolacca icosandra*.

6'-palmitil- Δ^7 -stigmastenil- β -D-acetilglucósido (9)
 6'-palmitil-spinasteril- β -D-acetilglucósido (9a)



ÁCIDO 3-O-(β -D-2-ACETOXIGLUCOPIRANOSIL) 28-O- β -D-GLUCOPIRANOSIL-SERJÁNICO (**10**)

El glicósido (**10**), se aisló de la fracción “J” de la cromatografía general, por medio de una columna cromatográfica de sílica gel y fue purificado utilizando placas TLC preparativas. Se presentó como un sólido amorfo de color blanco y se reveló en placa TLC como una mancha pura de color rojo [R_f = 0.81; sit. solv. $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (65:35:10); P.f. = +300 °C].

El espectro de IR (Fig. 10A; Tabla 10A) mostró bandas en $\nu_{\text{máx.}} = 3.401 \text{ cm}^{-1}$ y 1.220 cm^{-1} , características de tensiones O-H y C-O de alcoholes y una banda en 1.569 cm^{-1} propia de tensión C=C de compuestos olefínicos. Por otro lado, se observaron bandas en 1.729 cm^{-1} y 1.075 cm^{-1} propias de tensión C=O y tensión simétrica C-O-C de ésteres. El espectro de masas (I.E., 70eV) (Fig. 10B) del compuesto (**10**), presentó un ion molecular de $m/z = 867$, correspondiente a un producto de fórmula molecular $\text{C}_{45}\text{H}_{70}\text{O}_{16}$.

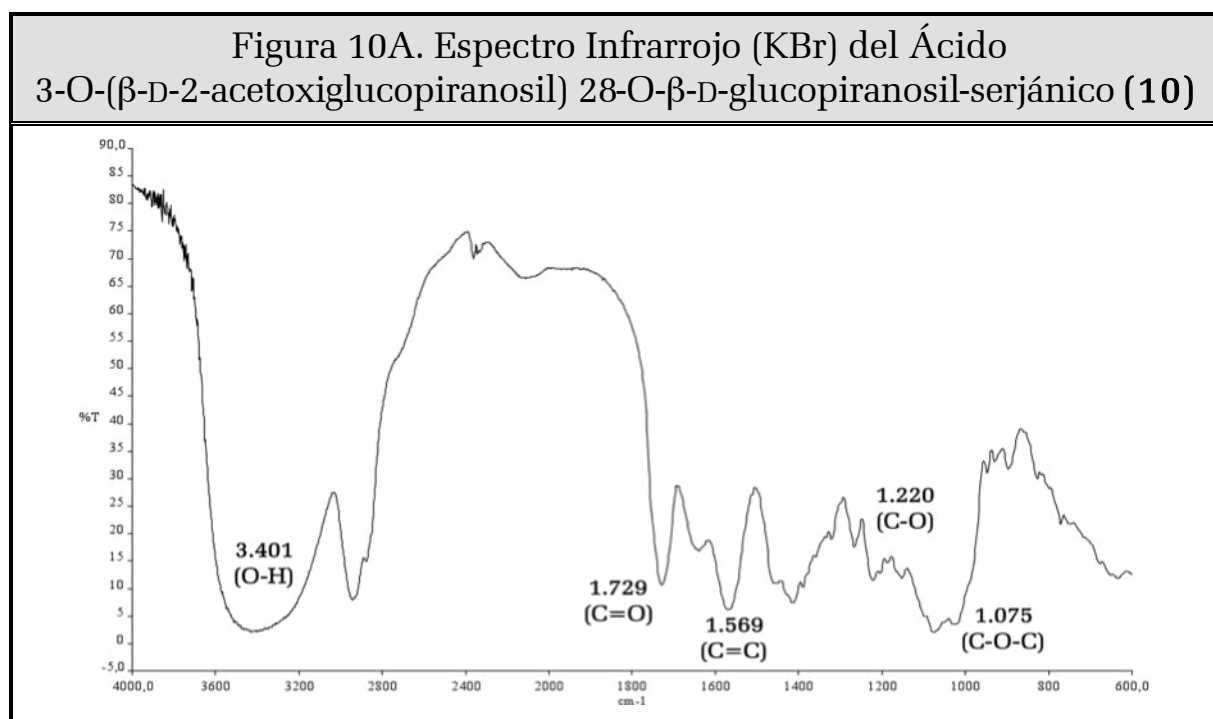


Tabla 10A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr), del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (**10**)

$\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1})	3.401	1.729	1.569	1.220	1.075
Asignación	O-H	C=O	C=C	C-O	C-O-C

Figura 10B: Espectro de Masas de Impacto Electrónico (I.E., 70 eV) del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (10)

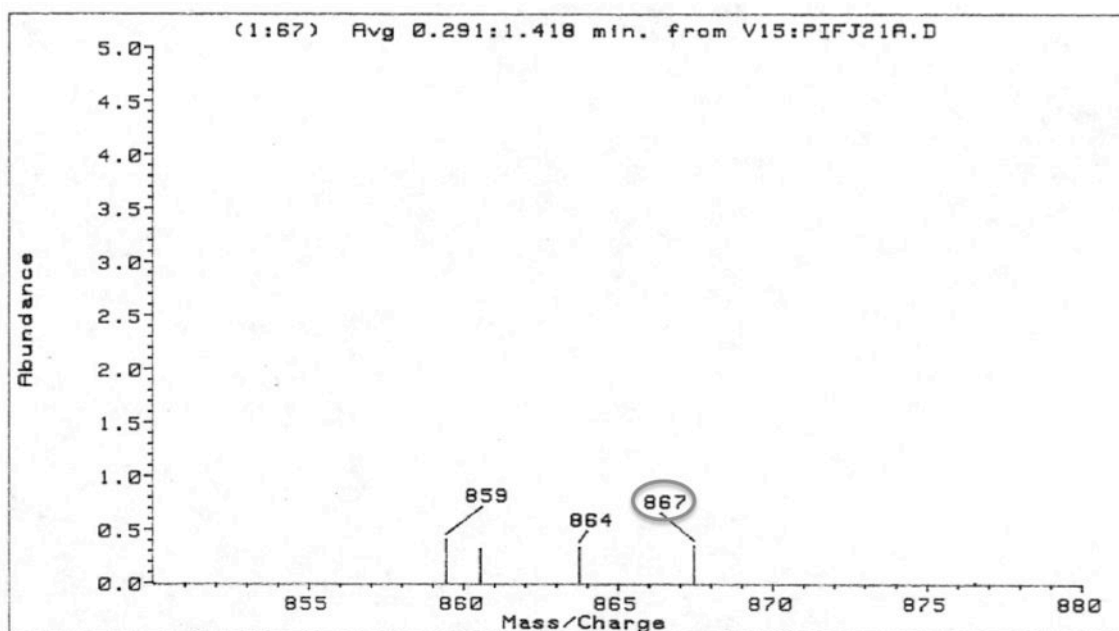
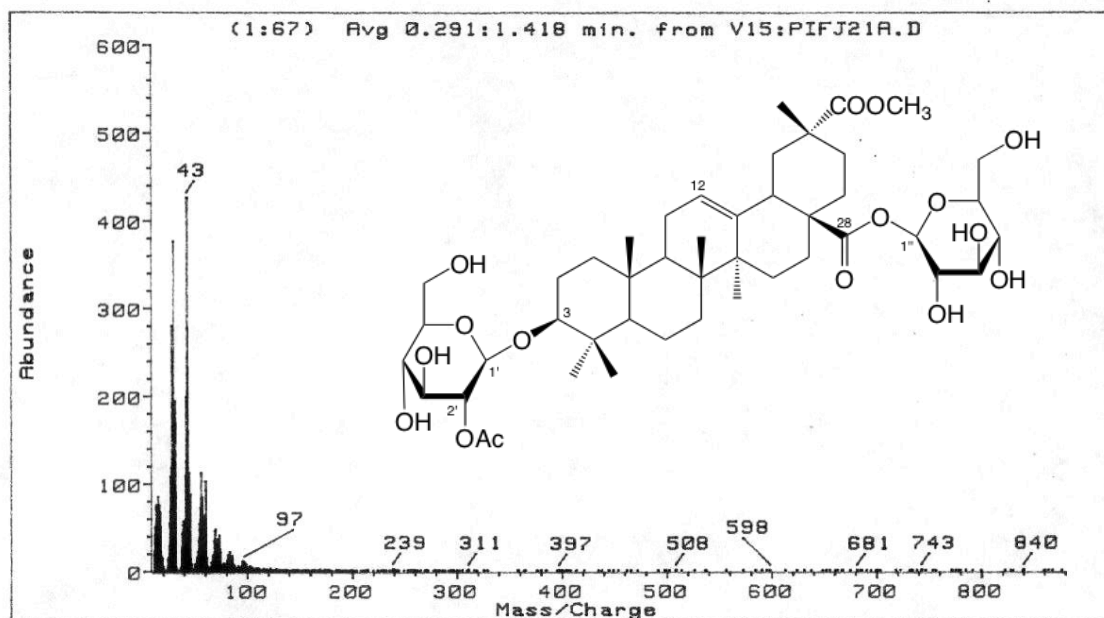


Figura 10C. Espectro de RMN-¹H (MeOD, 400 MHz) del Ácido 3-O-(β-D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (10)

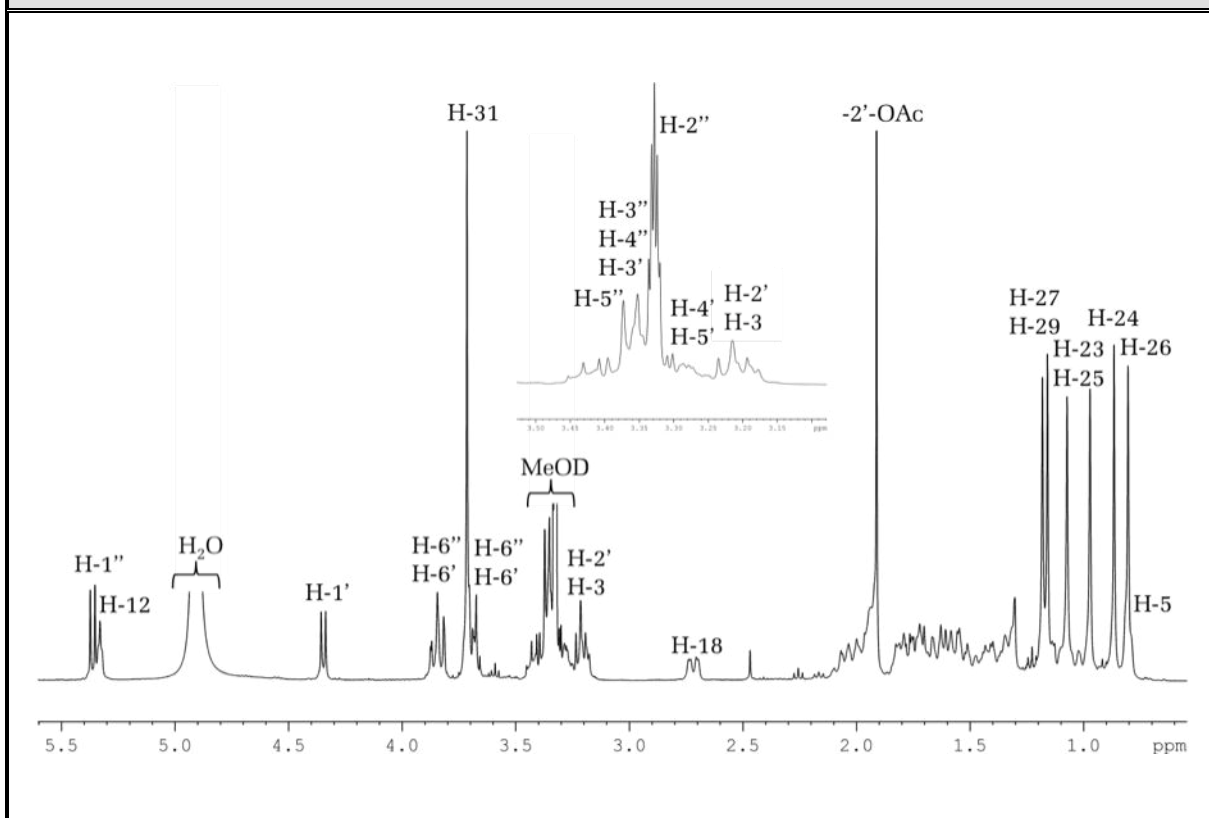


Tabla 10C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H (MeOD, 400 MHz) de la Genina del Ácido 3-O-(β-D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (10)

H	H-3	H-5	H-9	H-12	H-18	H-23
δ (ppm)	3.27	0.71	1.61	5.33	2.72	1.15
m	<i>m</i>	-	<i>m</i>	<i>t</i>	<i>dd</i>	<i>s</i>
J (Hz)	-	-	-	3.2	3.5/13.4	-
H	H-24	H-25	H-26	H-27	H-29	H-31
δ (ppm)	0,94	1.04	0.88	1.25	1.23	3.72
m	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-

Tabla 10C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (MeOD, 400 MHz) de los Azucres del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxi- glucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (10)							
3-O- β -D-2-Acetilglucosa							
H	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'	2'-O-Ac
δ (ppm)	4.35	3.21	3.37	3.31	3.28	3.69/3.84	1.99
m	<i>d</i>	<i>t</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>s</i>
J (Hz)	7.8	8.0	-	3.1	-	-	-
28-O- β -D-Glucosa							
H	H-1''	H-2''	H-3''	H-4''	H-5''	H-6''	
δ (ppm)	5.36	3.33	3.35	3.37	3.42	3.69/3.84	
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	
J (Hz)	8.1	-	-	-	-	-	

El espectro de RMN-¹H (Fig. 10C; Tabla 10C) mostró una serie de señales que dieron indicio de la presencia de un triterpeno tipo ácido serjánico, éstas fueron: seis singletes, que por sus desplazamientos e integrales fueron asignadas a grupos metilos soportados por carbonos cuaternarios, dos metilos adicionales desplazados a $\delta_{\text{H}} = 1.99$ y 3.72 ppm, de un grupo acetato y un ésteres metílico respectivamente, un metino alifático en $\delta_{\text{H}} = 2.72$ (H-18), un pico en $\delta_{\text{H}} = 3.27$ ppm asignado a un protón oxigenado (H-3) y un triplete olefínico en $\delta_{\text{H}} = 5.33$ ppm (H-12). Se observaron también una serie de protones en la zona de hidrógenos unidos a átomos de oxígeno ($\delta_{\text{H}} = 3.2$ a 4.0 ppm) y dos dobletes en $\delta_{\text{H}} = 4.35$ (H-1') y 5.35 ppm (H-1'') indicando la presencia de dos monosacáridos.

El espectro de RMN-¹³C (Fig. 10D; Tabla 10D) mostró un total de cuarenta y cinco (45) carbonos, de los cuales, treinta y uno (31) fueron asignados al esqueleto triterpénico, el resto de los carbonos, dado su número, hibridación y desplazamiento, fueron asignados a las dos unidades de hexosa y al grupo acetato.

Mediante el estudio detallado de los espectros COSY (Fig. 10E), HSQC (Fig. 10F) y HMBC (Fig. 10G) se pudo corroborar la estructura gruesa del bidesmósido triterpénico. Se observó además, que el carbono carbonílico asignado al grupo acetato ($\delta_{\text{C}} = 180.4$ ppm) no presentaba interacciones con ninguno de los hidrógenos asignados al esqueleto triterpénico, por lo que necesariamente debía estar unido a una de las dos unidades de hexosa. El cruce TOCSY (Fig. 10E) entre el metilo perteneciente al grupo acetato y el protón H-2' de una de las unidades de glucosa, ubicó a el referido grupo en la posición C-2' de esta unidad.

Figura 10D. Espectro de RMN-¹³C (MeOD, 100 MHz) del Ácido 3-O-(β-D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (10)

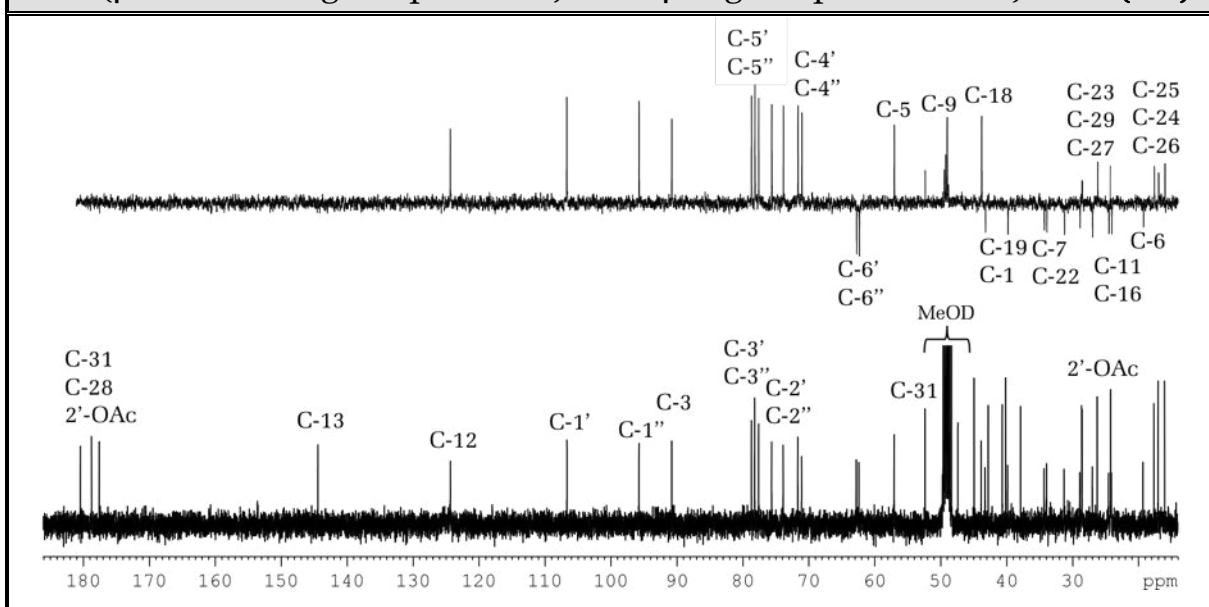


Tabla 10D. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (MeOD, 100 MHz) de la Genina del Ácido 3-O-(β-D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (10)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	39.9	27.0	90.8	40.1	57.1	19.3	34.0
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-O-	>C<	>CH-	-CH ₂ -	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	40.7	49.7	37.9	24.1	124.4	144.4	42.8
tipo	>C<	>CH-	>C<	-CH ₂ -	=CH-	>C=	>C<
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	28.9	24.5	47.4	43.8	43.3	44.9	31.3
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>C<	>CH-	-CH ₂ -	>C<	-CH ₂ -
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28
δ (ppm)	34.3	28.6	17.0	16.0	17.7	26.2	177.6
tipo	-CH ₂ -	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-O-C=O
C	C-29	C-30	C-31	TMS Como patrón interno			
δ (ppm)	28.6	178.7	52.4				
tipo	-CH ₃	-O-C=O	-OCH ₃				

Tabla 10D. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^{13}C (MeOD, 100 MHz) de los Azúcares del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (10)								
3-O- β -D-2-Acetilglucosa								
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	2-O-Ac	2-O-Ac
δ (ppm)	106.7	75.7	78.2	71.7	77.6	62.8	180.4	24.2
tipo	O ₂ >CH-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-	O-C=O	CH ₃
28-O- β -D-Glucosa								
C	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''		
δ (ppm)	95.8	73.9	78.7	71.1	78.2	62.4		
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-		

Las interacciones NOESY (Fig. 10H) entre los hidrógenos anoméricos H-1/1' con los protones H-3/3', H-5/5' de cada unidad de hexosa fueron señales inequívocas de la presencia de dos grupos glucosa (Glc). Por otro lado, las constantes de acoplamiento de los hidrógenos anoméricos ($J_1 = 7.8$ Hz y $J_{1''} = 8.1$ Hz) permitieron asignar una disposición beta para los mismos. La posición de los azúcares pudo deducirse gracias al desplazamiento químico de unos de los hidrógenos anoméricos a $\delta_{\text{H}} = 5.36$ ppm que junto con la interacción HMBC del mismo con un carbono carbonílico a $\delta_{\text{C}} = 177.6$ ppm determinó a la primera unidad de hexosa en el carbono C-28 del triterpeno. La interacción entre el carbono C-3 del triterpeno ($\delta_{\text{C}} = 90.8$ ppm) y el segundo protón anomérico desplazado en $\delta_{\text{H}} = 4.35$ ppm permitió localizar a esta segunda unidad de hexosa en posición C-3.

La estereoquímica del bidesmósido (**10**) fue confirmada mediante el estudio del espectro NOESY, así como de su derivado acetilado (**10a**). Se concluyó pues, que el compuesto (**10**) era el ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico. La presencia de este compuesto sin el grupo acetoxi- en C-2', fue reportada por primera vez de la especie *Phytolacca thyrsoflora* (Haraguchi *et al.*, 1987), sin embargo, al poseer un grupo acetato ubicado en la posición C-2' de la unidad 3-O- β -D-glucosa este glicósido es considerado un **nuevo producto natural**. Para el mismo se propuso el nombre de **Icosandrósido (10)**.

Figura 10E. Espectros ^1H - ^1H COSY y TOCSY (MeOD) del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (10)

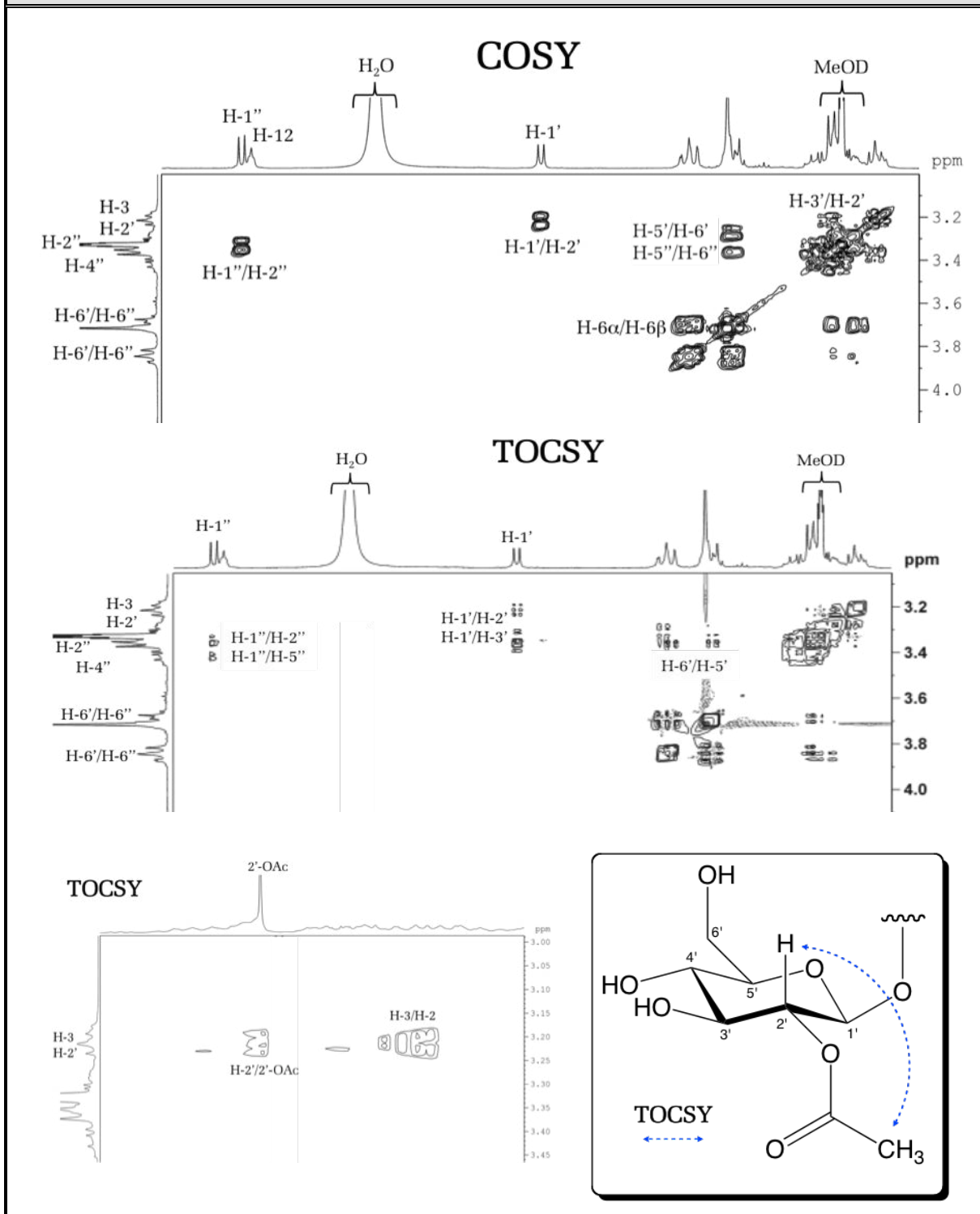


Figura 10F. Espectro HMQC (MeOD) del Ácido 3-O-(β-D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (10)

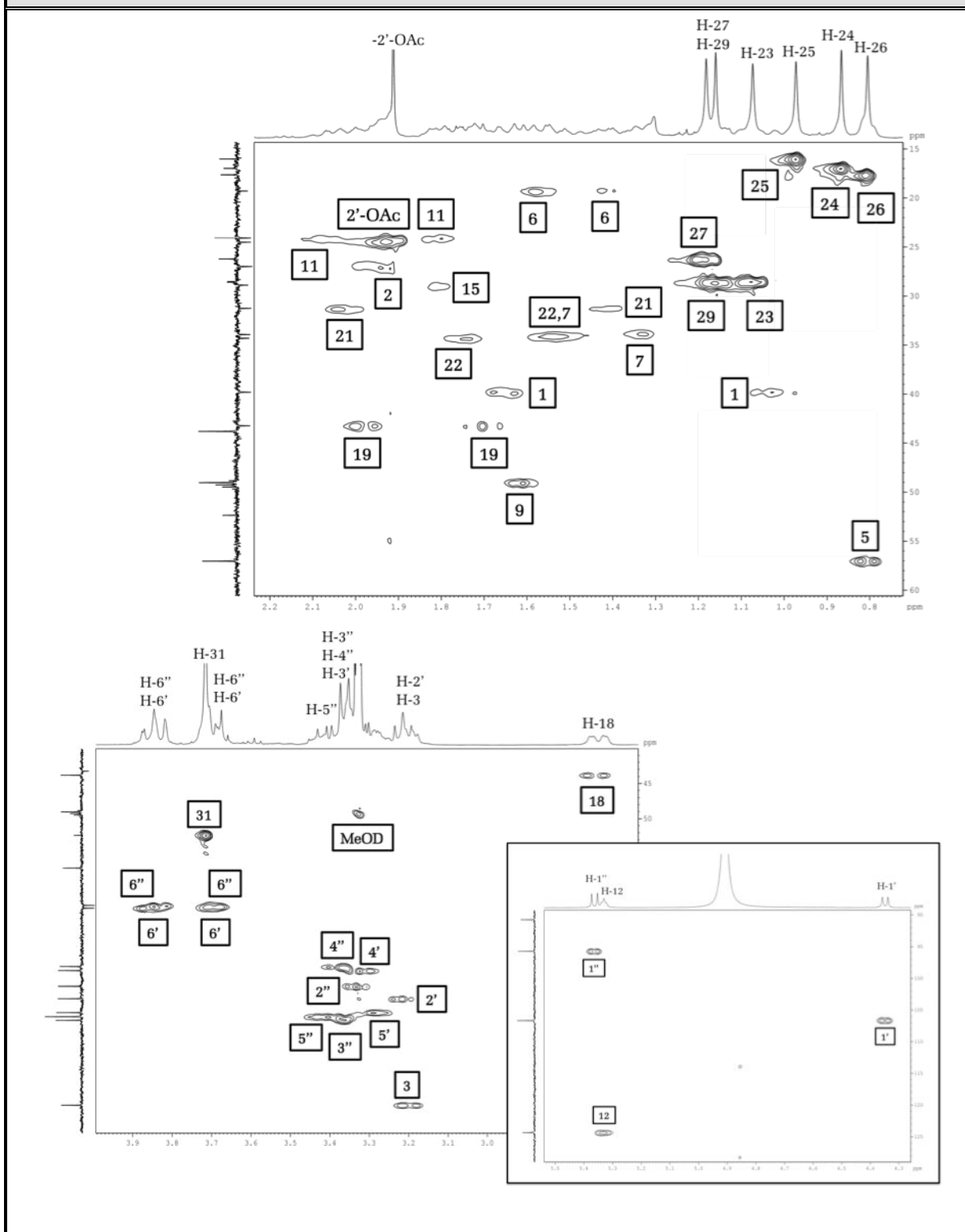


Figura 10G. Espectro HMBC (MeOD) del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (10)

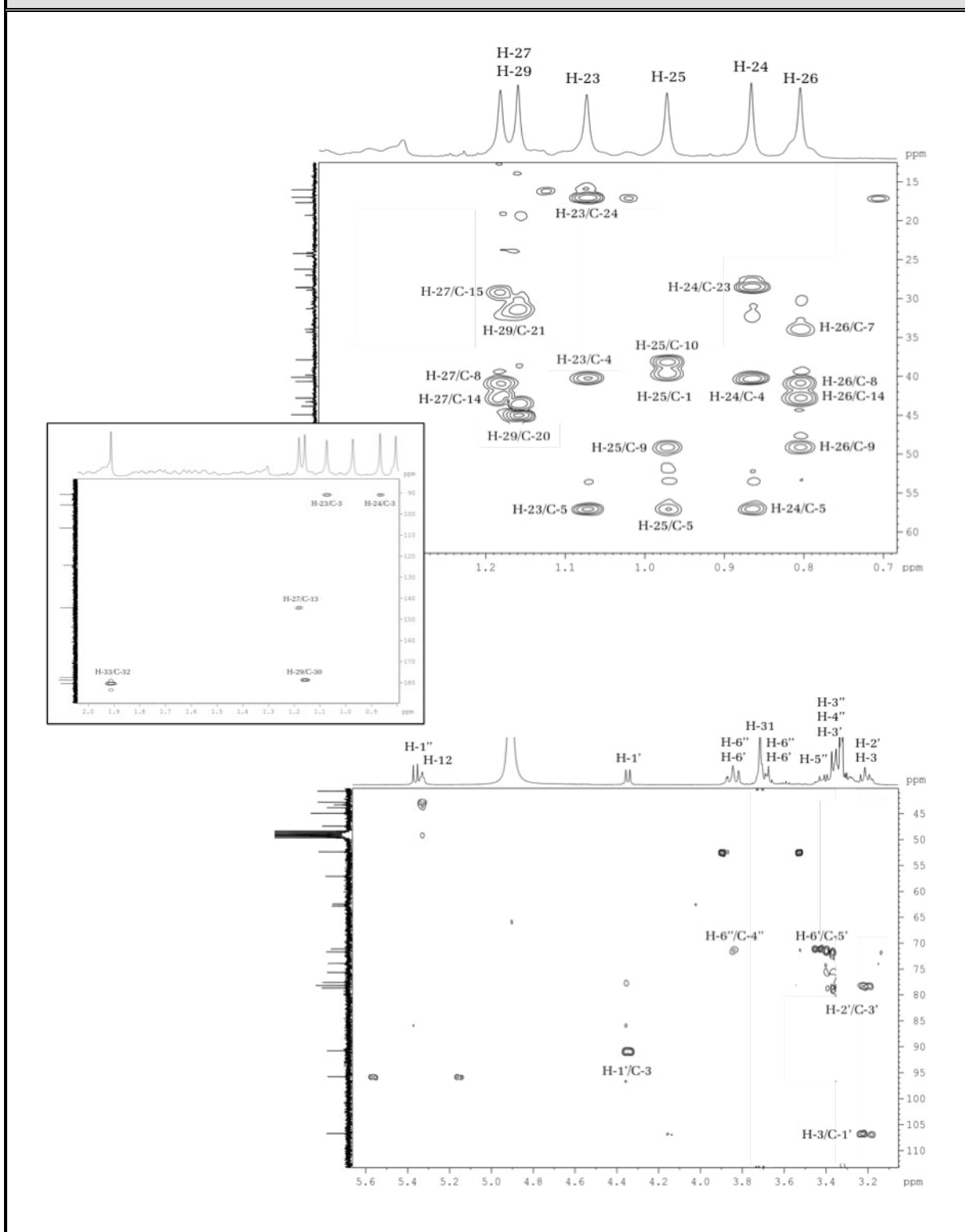
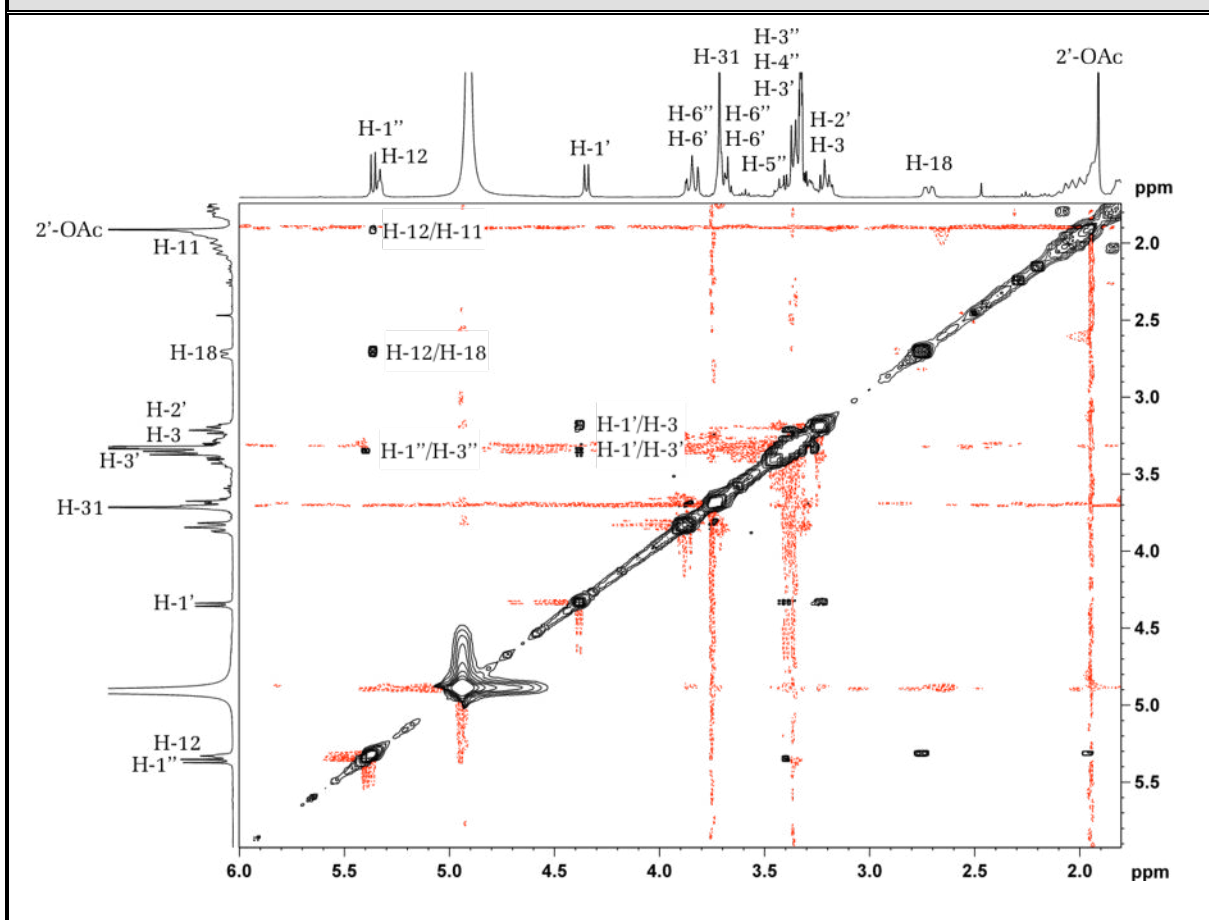
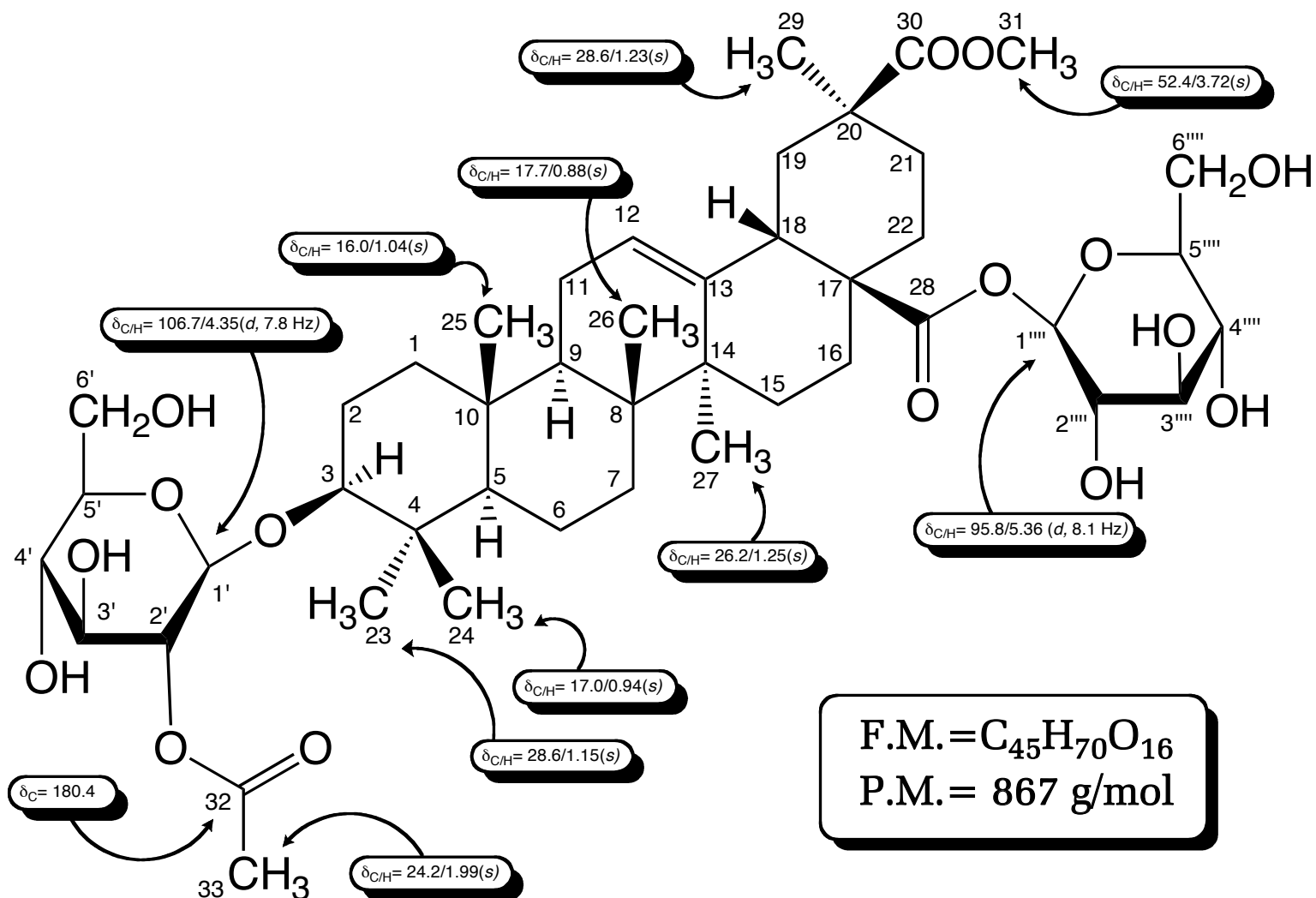


Figura 10H. Espectros NOESY (MeOD) del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (10)



Ácido 3-O-(β-D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (10)



ÁCIDO 3-O-[- α -L-RHAMNOPIRANOSIL(1 \rightarrow 2)- β -D-GLUCOPIRANOSIL(1 \rightarrow 2)- β -D-GLUCOPIRANOSIL] 28-O- β -D-GLUCOPIRANOSIL-SERJÁNICO (**11**)

El compuesto (**11**) se obtuvo como un sólido blanco por separación cromatográfica utilizando una columna de sephadex LH-20, de la fracción "K" de la cromatografía general. Se reveló en placa de TLC como un compuesto puro de color rojo [R_f = 0.21; sist. solv. $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (65:35:10); P.f. = +300 °C].

El espectro de RMN- ^1H (Fig. 10A; Tabla 10A) presentó las típicas señales de hidrógenos pertenecientes a triterpenos tipo oleanano: seis sigletes a campo alto, dos señales en δ_{H} = 2.69 y 3.21 ppm, propias de los hidrógenos H-18 y H-3 y un triplete en δ_{H} = 5.31 ppm del doble enlace entre C-12 y C-13. En la zona de los protones doblemente oxigenados pudieron apreciarse cuatro dobletes [δ_{H} = 4.40 (H-1'), 4.87 (H-1''), 5.18 (H-1''') 5.35 (H-1''') ppm] que confirmaron cuatro unidades de hexosa. La presencia de un grupo rhamnosa (Rha) fue inferida por medio de un doblete en δ_{H} = 1.24 ppm, cuya integral correspondió a tres protones. El espectro de RMN- ^{13}C (Fig. 10B; Tabla 10B) presentó un total de cincuenta y cinco (55) señales, concordantes con un esqueleto triterpénico tipo ácido serjánico y cuatro unidades monosacáridas.

El establecimiento de las cuatro unidades de hexosa fue llevado a cabo mediante el análisis de los espectros de TOCSY (Fig. 10C), HMBC (Fig. 10E) y NOESY, corroborándose la presencia de tres unidades de glucosa y un grupo rhamnosa. La interacción HMBC del carbono carbonílico en δ_{C} = 177.6 ppm con el protón anomérico en δ_{H} = 5.35 ppm, ubicó a una de las unidades de glucosa de la posición C-28, la misma no mostró otras conexiones interglicosídicas por lo que lógicamente las tres unidades remanentes se ubicaron en la posición C-3 de la aglicona. El cruce HMBC entre el protón H-3 (δ_{H} = 3.21 ppm) del triterpeno y el carbono anomérico C-1' (δ_{C} = 105.7 ppm) indicaron la sustitución en C-3 de un segundo grupo glucosa. Los inusuales desplazamientos a campo bajo de los protones H-2' y H-2'' a δ_{C} = 78.2 y 79.2 ppm, fueron indicios inequívocos de la sustitución de los azúcares restantes en esta posición, quedando así la conexión interglicosídica en C-3 del tipo: 3-O-Glc \rightarrow Glc 2 \rightarrow Rha 2 . La configuración de los azúcares fue apoyada además por medio de las constantes de acoplamiento de los protones anoméricos, para lo cual se concluyeron tres unidades β -glucosa ($J_{1'}$ = 7.8; $J_{1''}$ = 7.7 y $J_{1'''}$ = 8.1) y una α -rhamnosa ($J_{1''''}$ = 1.1 Hz). El compuesto (**11**) se determinó entonces como el ácido 3-O-[- α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico.

Figura 11A. Espectro de RMN-¹H (MeOD, 400 MHz) del Ácido 3-O-[- α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 2) glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11)

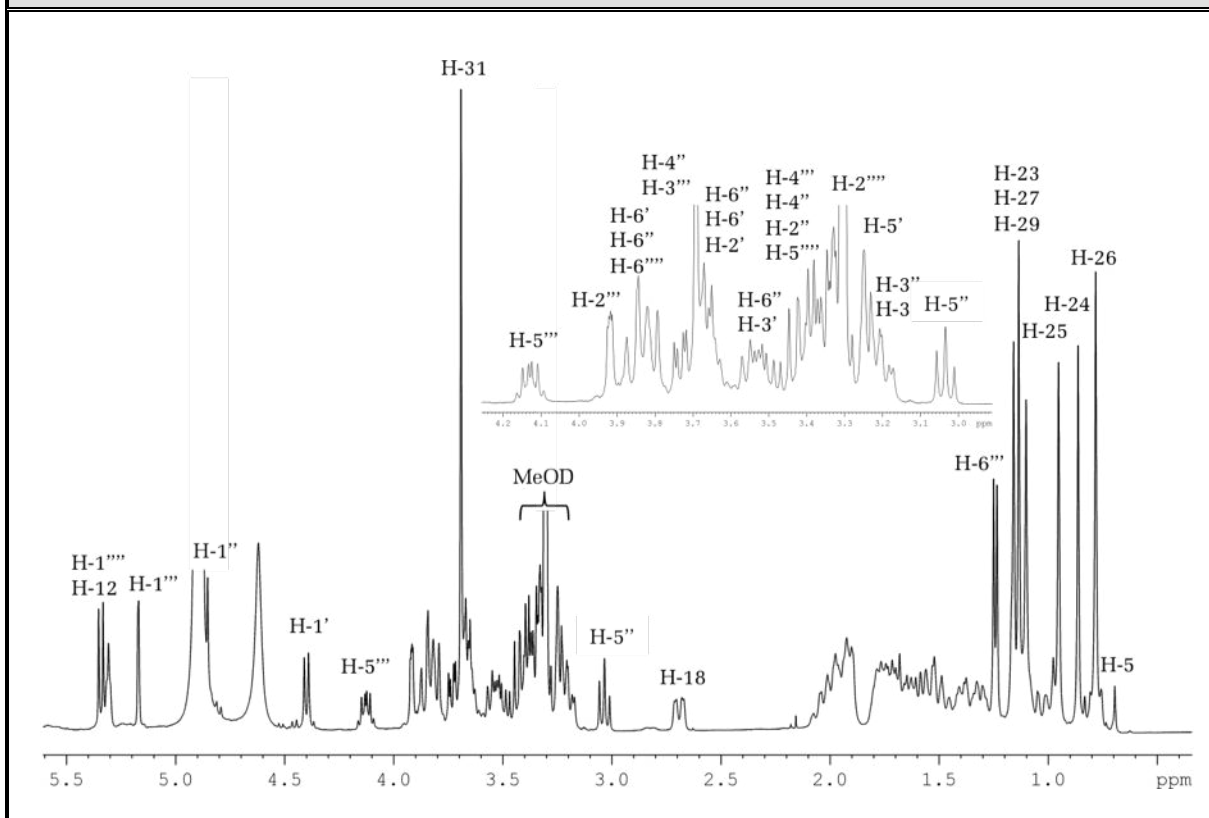


Tabla 11A. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H (MeOD, 400 MHz) de la Genina del Ácido 3-O-[- α -L-rhamno-piranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11)

H	H-3	H-5	H-9	H-12	H-18	H-23
δ (ppm)	3.21	0.77	1.60	5.31	2.69	1.11
m	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>t</i>	<i>dd</i>	<i>s</i>
J (Hz)	-	-	-	3.3	3.0/13.5	-
H	H-24	H-25	H-26	H-27	H-29	H-31
δ (ppm)	0.87	0.96	0.79	1.17	1.14	3.70
m	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-

Tabla 11A. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (MeOD, 400 MHz) de los Azúcares del Ácido 3-O-[- α -L-rhamno-piranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11)						
3-O- β -D-Glucosa						
H	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'
δ (ppm)	4.40	3.66	3.56	3.75	3.25	3.64/3.87
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J (Hz)	7.8	-	-	-	-	-
2'-O- β -D-Glucosa						
H	H-1''	H-2''	H-3''	H-4''	H-5''	H-6''
δ (ppm)	4.87	3.34	3.65	3.34	3.04	3.66/3.84
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>t</i>	<i>m</i>
J (Hz)	7.7	-	-	-	9.4	-
2''-O- β -D-Rhamnosa						
H	H-1'''	H-2'''	H-3'''	H-4'''	H-5'''	H-6'''
δ (ppm)	5.18	3.92	3.74	3.37	4.13	1.25
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	1.1	-	3.3/9.6	-	-	6.1
28-O- β -D-Glucosa						
H	H-1''''	H-2''''	H-3''''	H-4''''	H-5''''	H-6''''
δ (ppm)	5.35	3.31	3.35	3.24	3.43	3.52/3.82
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J (Hz)	8.1	-	-	-	-	-

Al realizar la búsqueda bibliográfica de este compuesto, se observó que el mismo fue aislado en primera ocasión de *Phytolacca bogotensis* (Nielsen *et al.*, 1995); además, es la segunda vez que se reporta para la especie *Phytolacca icosandra* (Treyvaud *et al.*, 2000). En el estudio realizado en primera ocasión, se reportó para este compuesto una mediana actividad moluscicida contra de *Biomphalaria glabrata* (MIC >50 μ g/mL) así como una baja actividad espermicida (MIC >60 μ g/mL).

Figura 11B. Espectro de RMN-¹³C (MeOD, 100 MHz) del Ácido 3-O-[- α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11)

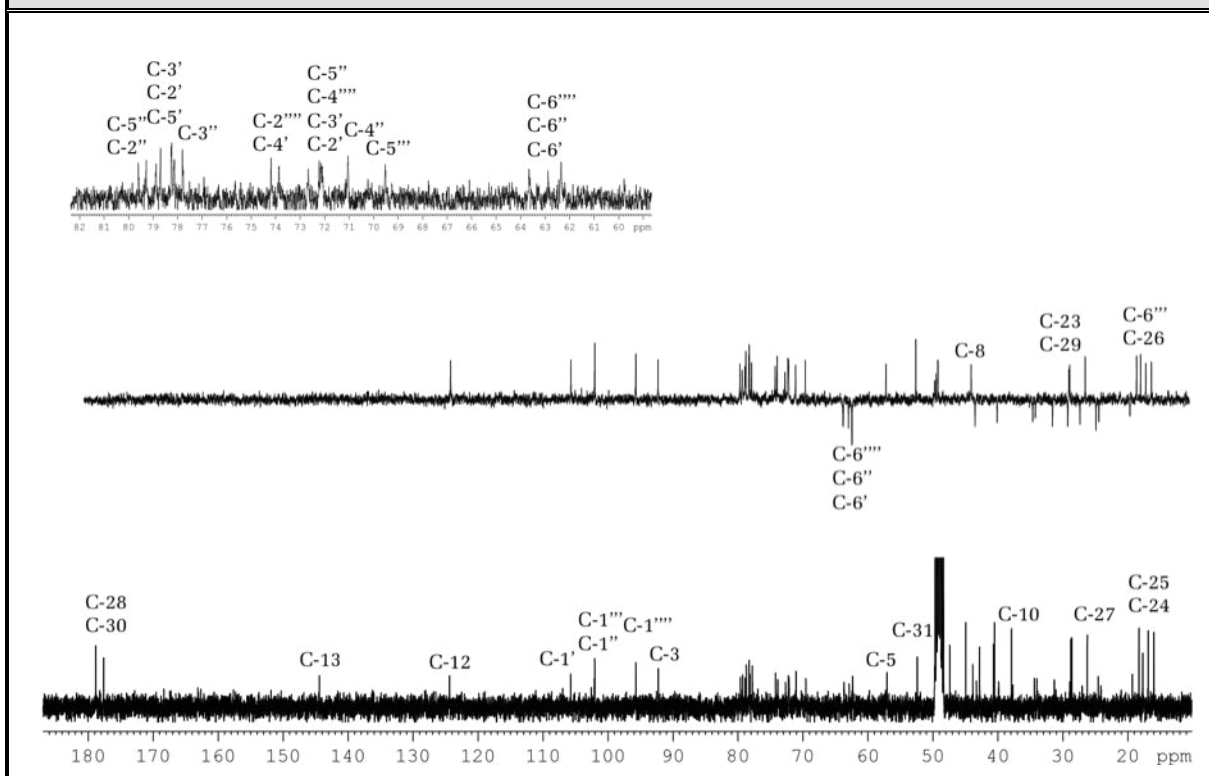


Tabla 11B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (MeOD, 100 MHz) de la Genina del Ácido 3-O-[- α -L-rhamno-piranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	39.7	26.9	92.2	40.6	57.0	19.3	34.0
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-O-	>C<	>CH-	-CH ₂ -	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	40.5	48.1	37.9	24.3	124.4	144.4	42.8
tipo	>C<	>CH-	>C<	-CH ₂ -	=CH-	>C=	>C<
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	28.8	24.5	47.4	43.9	43.3	45.0	31.3
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>C<	>CH-	-CH ₂ -	>C<	-CH ₂ -

C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28
δ (ppm)	34.4	28.8	16.9	15.9	17.7	26.2	177.6
tipo	-CH ₂ -	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-O-C=O
C	C-29	C-30	C-31	TMS como referencia interna			
δ (ppm)	28.6	178.8	52.4				
tipo	-CH ₃	-O-C=O	-OCH ₃				

Tabla 11B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (MeOD, 100 MHz) de los Azúcares del Ácido 3-O-[- α -L-rhamno-piranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11)						
3-O- β -D-Glucosa						
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'
δ (ppm)	105.7	78.2	78.9	72.2	78.1	62.4
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-
2'-O- β -D-Glucosa						
C	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''
δ (ppm)	102.1	79.3	77.8	71.1	78.2	62.3
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-
2''-O- β -D-Rhamnosa						
C	C-1'''	C-2'''	C-3'''	C-4'''	C-5'''	C-6'''
δ (ppm)	102.0	72.2	72.1	74.2	69.5	18.3
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃
28-O- β -D-Glucosa						
C	C-1''''	C-2''''	C-3''''	C-4''''	C-5''''	C-6''''
δ (ppm)	95.7	73.8	78.7	72.1	79.6	62.4
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-

Figura 11D. Espectro HMQC (MeOD)
del Ácido 3-O-[α -L-rhamnopiranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil
(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11)

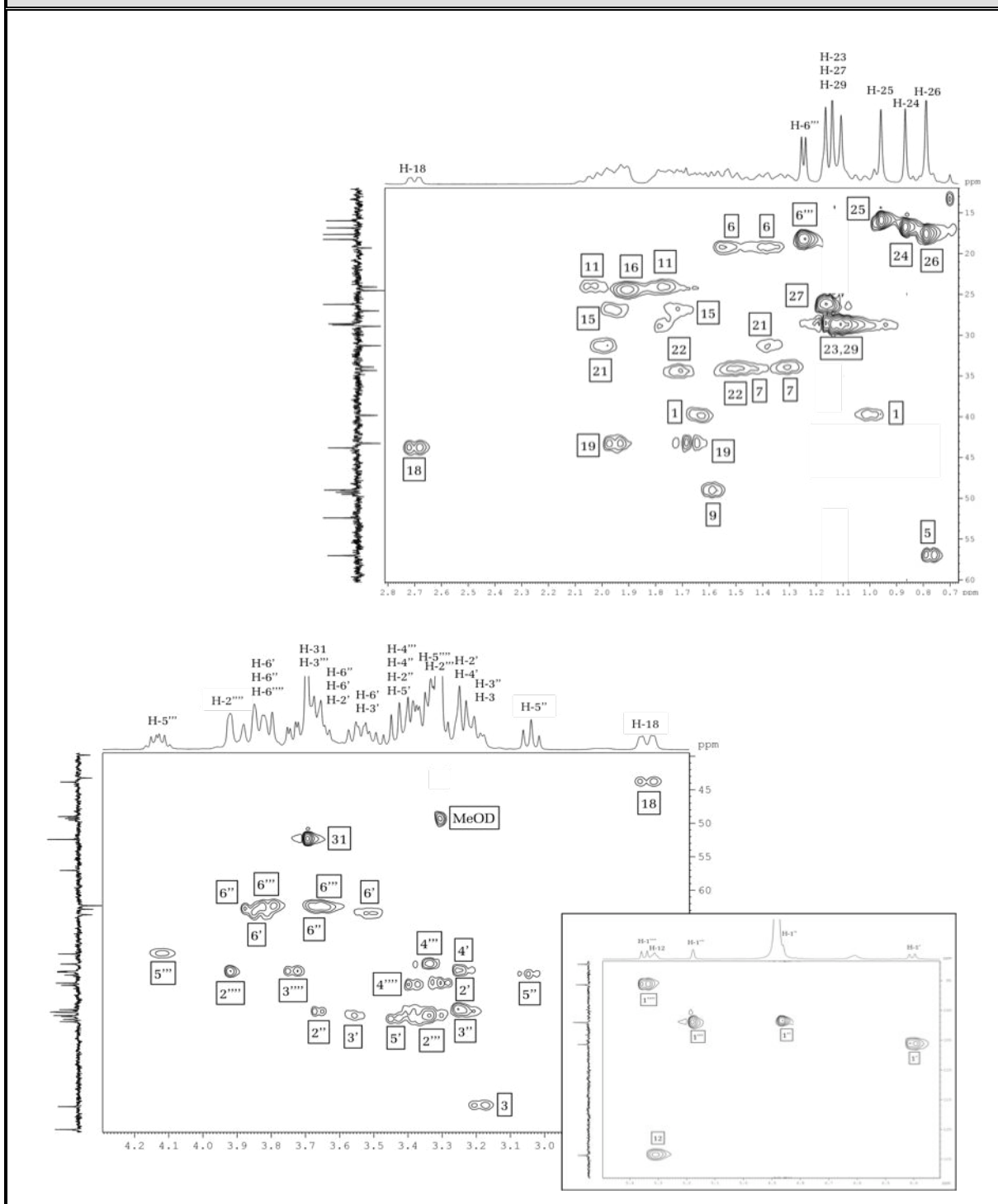
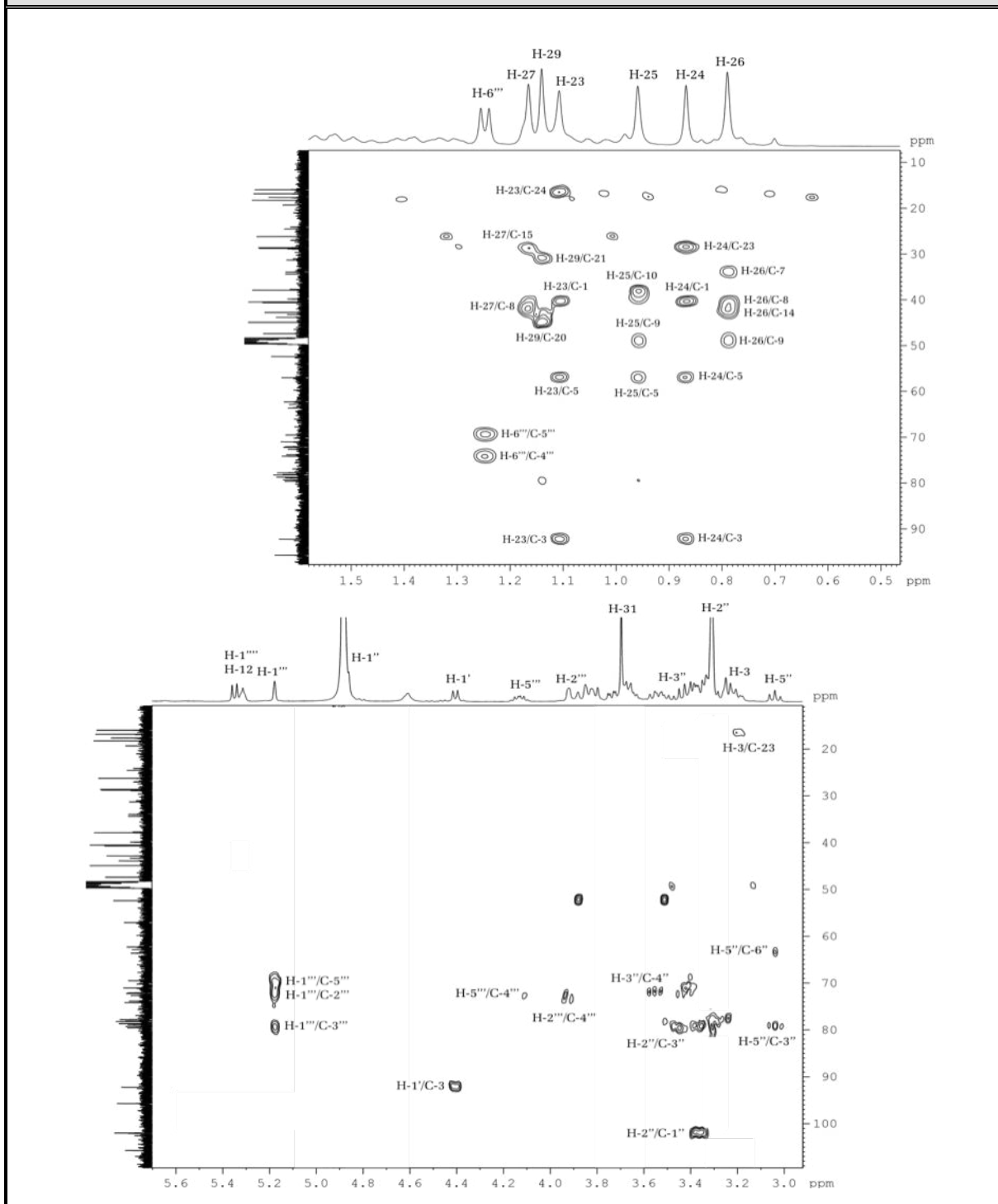
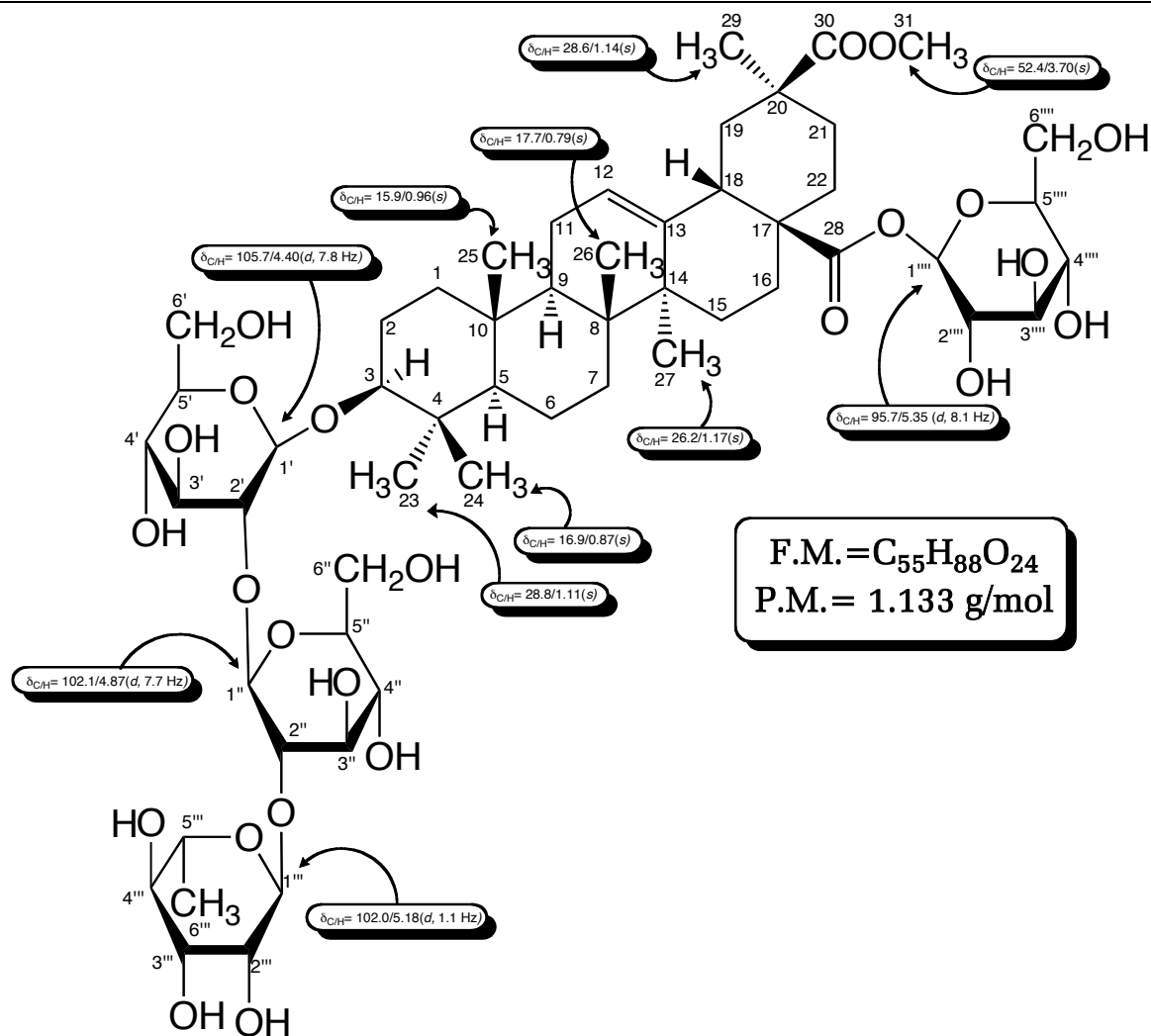


Figura 11E. Espectro HMBC (MeOD)
del Ácido 3-O-[- α -L-rhamnopiranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil
(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11)



Ácido 3-O-[- α -L-rhamnopiranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil]
28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11)



9,10-METILEDIOXI, 5-METOXI-PELTOGINANO (**12**):

El compuesto (**12**) se logró obtener de la reunión "G" de la cromatografía general, mediante la purificación por placas preparativas (PTLC). El mismo, se presentó como un sólido amorfo de color blanco, el cual podía observarse en placa fina de TLC como un compuesto color azul celeste bajo luz UV (254 y 366 nm) y presentaba una coloración amarilla al ser revelado con revelador "oleum". [R_f = 0.43; sit. solv. Hex/EtOAc (50:50); P.f. = +250 °C].

El espectro de masas del referido compuesto (Fig. 12A), presentó un ion molecular de m/z = 324, congruente con una fórmula molecular $C_{18}H_{12}O_6$ y para la cual corresponden trece (13) grados de insaturación. Presentó además, un pico base en m/z = 293, correspondiente a la pérdida de un grupo $-OCH_3$. El espectro de IR (Fig. 12B; Tabla 12B) presentó bandas en ν_{max} = 2.921 cm^{-1} y 1.462 cm^{-1} , propias de vibraciones de tensión $=C-H$ y $C=C$ de compuestos aromáticos, una banda en 1.634 cm^{-1} de tensión $C=O$ de grupos carbonilo y señales en 1.255 cm^{-1} y 1.025 cm^{-1} correspondientes a vibraciones de tensión $C-O-C$ asimétrica y simétrica de grupos éteres.

Figura 12A: Espectro de Masas de Impacto Electrónico (I.E., 70 eV) del 9,10-metiledioxi, 5-metoxi-peltoginano (**12**)

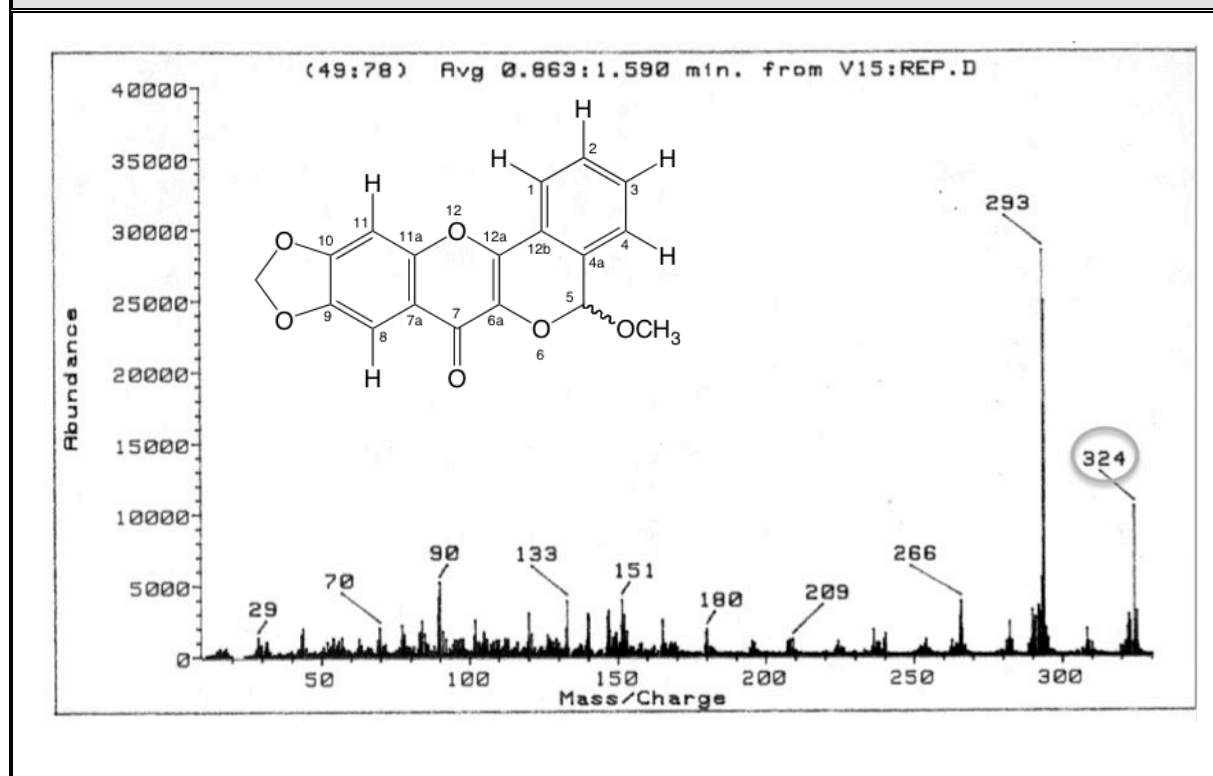


Figura 12B. Espectro Infrarrojo (KBr) del 9,10-metiledioxi, 5-metoxi-peltoginano(12)

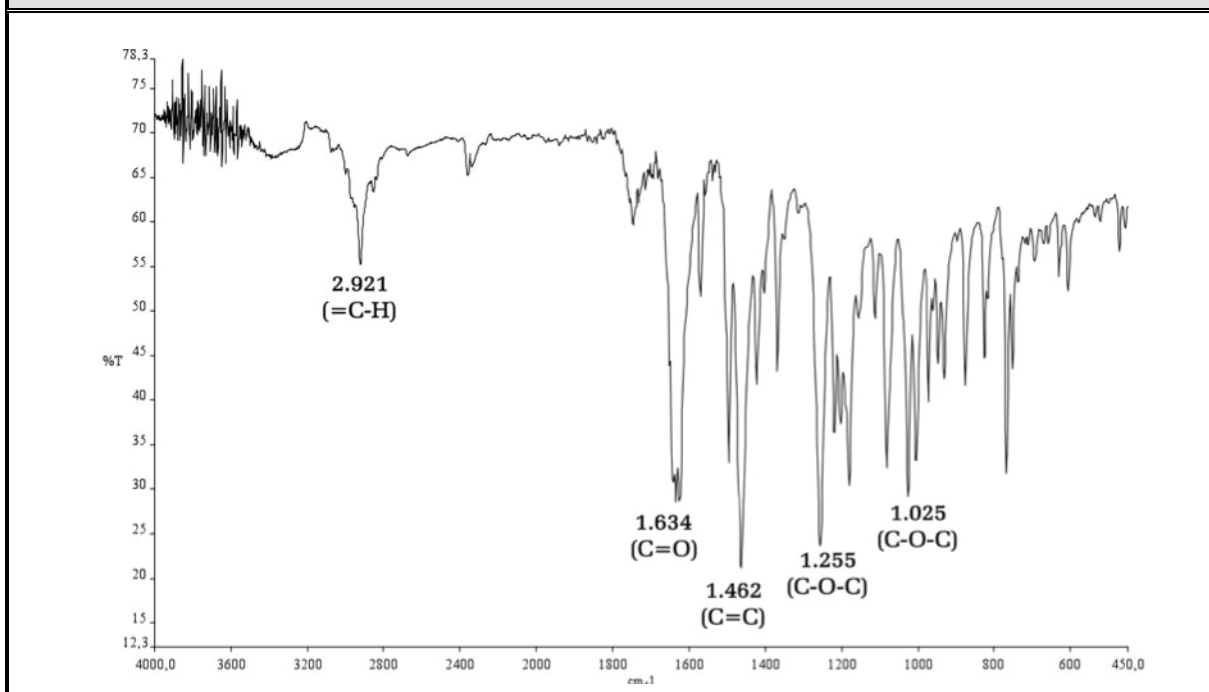


Tabla 12B: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr) del 9,10-metiledioxi, 5-metoxi-peltoginano (12)

$\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1})	2.921	1.634	1.462	1.255	1.025
Asignación	=C-H	>C=O	C=C	C-O-C _{asim.}	C-O-C _{sim.}

En el espectro de RMN-¹H (Fig. 12C; Tabla 12C) se pudieron observar nueve (9) señales, las cuales se analizaron como: un singlete intenso en $\delta_{\text{H}} = 3.64$ ppm, que por su integral y desplazamiento se asignó a un grupo metoxilo (-OCH₃), dos singletes desplazados en $\delta_{\text{H}} = 6.08$ (H-5) y 6.12 ppm (próprio de hidrógenos doblemente oxigenados) el protón más apantallado se identificó como un metino (O-CH-O), y el menos apantallado, gracias a su integral, como un grupo metilendioxi- (O-CH₂-O). En la zona de los hidrógenos aromáticos se observaron primeramente cuatro señales [$\delta_{\text{H}} = 7.41$ (*dd*, H-4); 7.56 (*td*, H-2); 7.59 (*td*, H-3) y 7.91 (*dd*, H-1) ppm], relacionadas entre sí por sus constantes de acoplamiento ($J = 4.0$ y 8.0 Hz) y que gracias a su multiplicidad fueron confirmadas como parte de un anillo aromático bi-sustituido. Finalmente se observaron en esta misma zona, dos singletes en $\delta_{\text{H}} = 6.98$ (H-11) y 7.63 (H-8) ppm.

Figura 12C. Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz) del 9,10-metiledioxi, 5-metoxi-peltoginano (**12**)

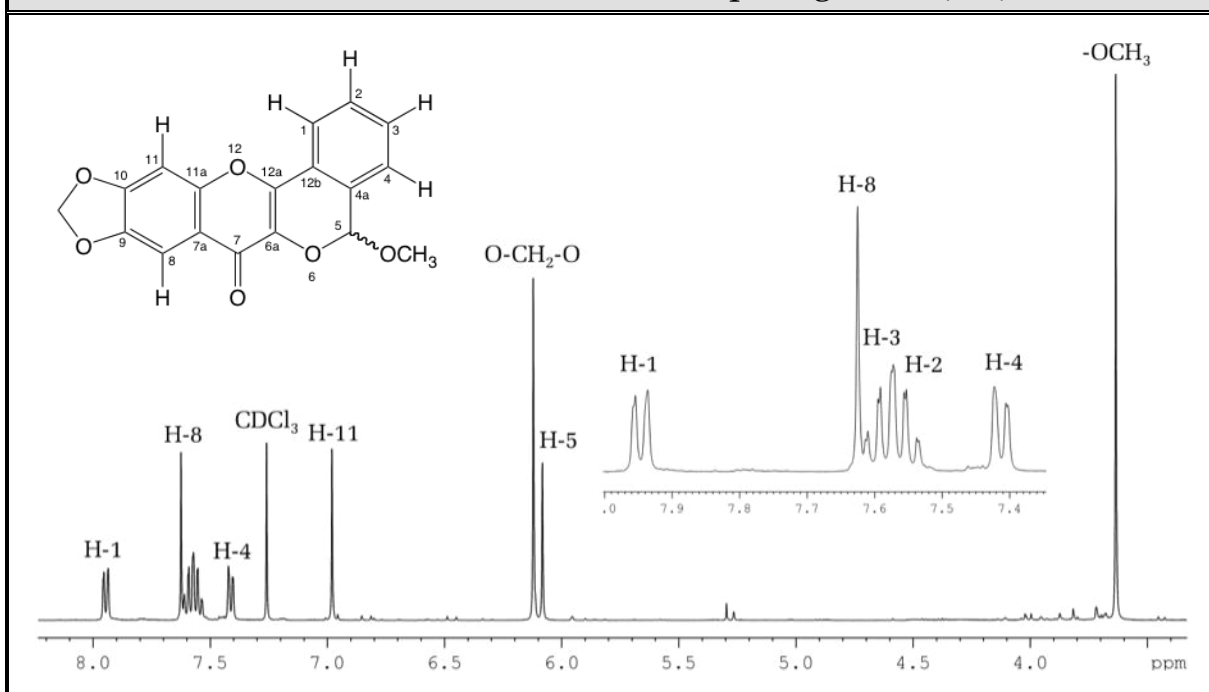


Tabla 12C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz) del 9,10-metiledioxi, 5-metoxi-peltoginano (**12**)

H	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5
δ (ppm)	7.91	7.56	7.59	7.41	6.08
<i>m</i>	<i>dd</i>	<i>td</i>	<i>td</i>	<i>dd</i>	<i>s</i>
J (Hz)	1.2/7.3	7.5/1.3	7.5/1.3	1.2/7.2	-
H	H-8	H-11	O-CH ₂ -O	-OCH ₃	
δ (ppm)	7.63	6.98	6.12	3.64	
<i>m</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	
J (Hz)	-	-	-	-	

El espectro de RMN-¹³C (Fig 12D; Tabla 12D) presentó un total de dieciocho (18) carbonos, entre los que resaltaban: un carbono carbonílico [δ_c = 171.0 ppm (C-7)], cinco carbonos sp² oxigenados [δ_c = 152.7 (C-10), 152.1 (C-11a), 146.1 (C-9), 145.9 (C-12a) y 133.7 (C-6a) ppm], seis metinos sp² [δ_c = 131.0 (C-3), 129.9 (C-2), 126.3 (C-4), 121.6 (C-1), 102.4 (C-8) y 97.8 (C-11) ppm], un metileno y metino doblemente oxigenados [δ_c = 102.5 y 98.5 (C-5) ppm] y un carbono metoxílico (δ_c = 56.1 ppm).

Tabla 12D. Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz) del 9,10-metiledioxi, 5-metoxi-peltoginano (12)

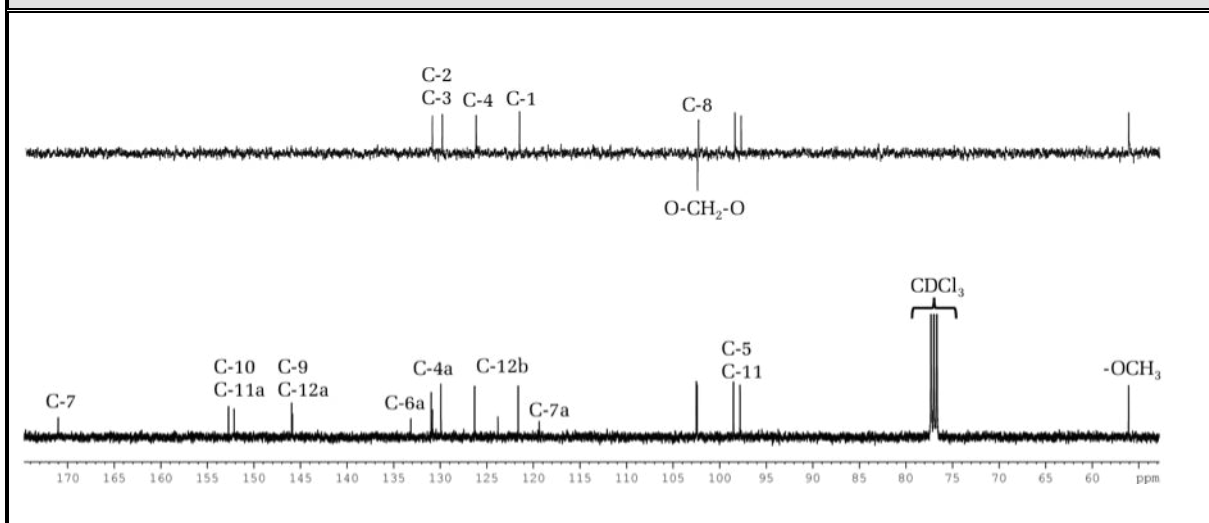


Tabla 12D. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (MeOD, 100 MHz) del 9,10-metiledioxi, 5-metoxi-peltoginano (12)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-4a	C-5	C-6a
δ (ppm)	121.6	129.9	131.0	126.3	130.9	98.5	133.7
tipo	=C-H	=C-H	=C-H	=C-H	=C=	O-CH-O	=C-O
C	C-7	C-7a	C-8	C-9	C-10	C-11	C-11a
δ (ppm)	171.0	119.4	102.4	146.0	152.7	97.8	152.1
tipo	C=O	=C=	=C-H	=C-O	=C-O	=C-H	=C-O
C	C-12a	C-12b	-	-	TMS Como referencia interna		
δ (ppm)	145.9	123.8	102.5	56.1			
tipo	=C-O	=C=	O-CH ₂ -O	-OCH ₃			

El espectro ¹H-¹H COSY (Fig. 12E) proporcionó relativamente poca información, sin embargo se pudo observar una correlación muy débil entre los dos singuletes aromáticos en $\delta_H = 6.98$ (H-8) y 7.63 (H-11) ppm, lo que dió indicios de una posible disposición “*para*” entre éstos, en un anillo aromático tetra-sustituido. Otras correlaciones COSY observadas fueron: H-1 \leftrightarrow H-2 \leftrightarrow H-3 \leftrightarrow H-4.

La información sustraída hasta este punto permitió el establecimiento de varias subestructuras, a saber: un carbono carbonílico (Subest. 1), un grupo metoxilo (Subest. 2), un metino acetálico (Subest. 3), un grupo metilendioxi- (Subest. 4), un anillo aromático bi-sustituido (Subest. 5) y un anillo aromático tetra-sustituido (Subest. 6).

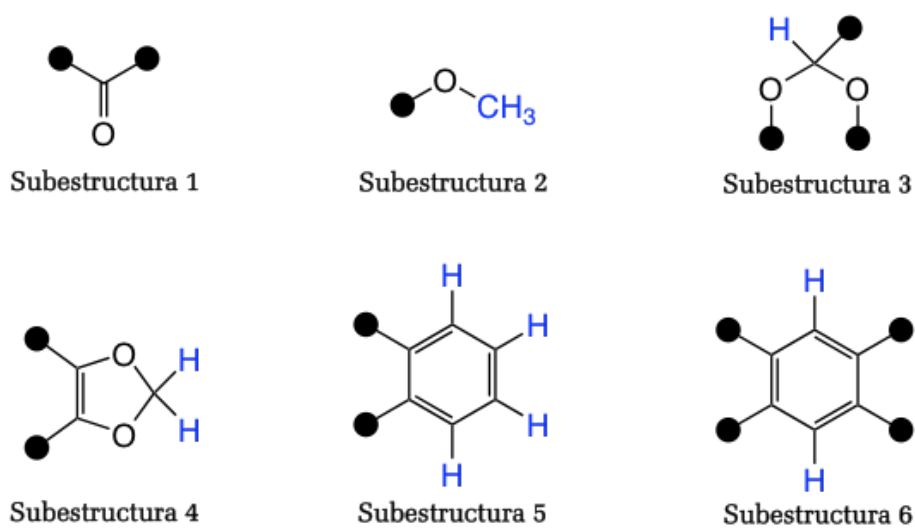
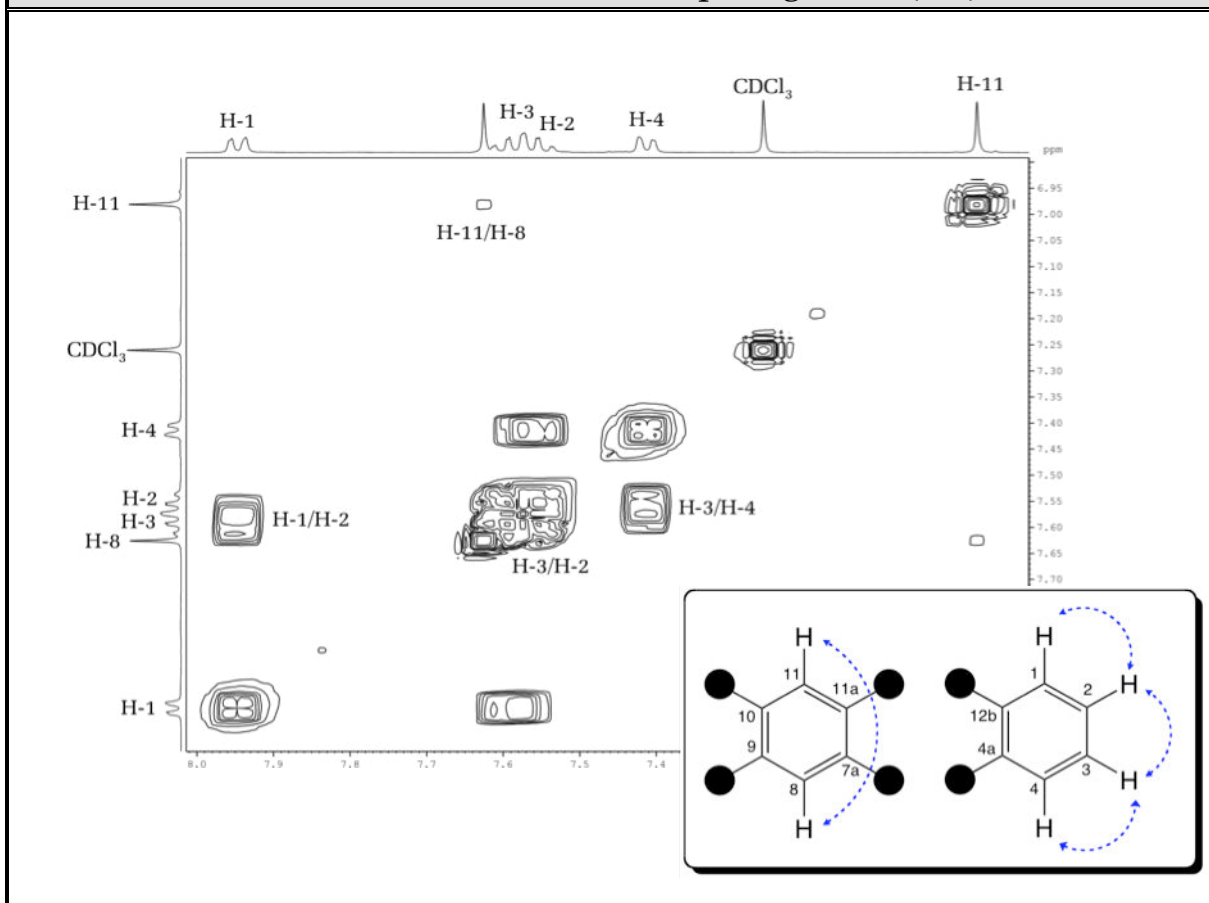


Tabla 12E. Espectro de ^1H - ^1H COSY (CDCl_3), del 9,10-metiledioxi, 5-metoxi-peltoginano (12)



El espectro HMBC (Fig. 12G) proporcionó la información necesaria para el engranaje total del compuesto (**12**). Los protones pertenecientes al grupo metilendioxi- ($\delta_{H/C} = 6.12/102.5$ ppm) presentaron correlaciones con dos carbonos sp^2 cuaternarios desplazados en $\delta_C = 152.7$ (C-10) y 146.0 (C-9) ppm, que a su vez se cruzaban con los singletes ubicados en $\delta_H = 7.63$ (H-8) y 6.98 (H-11) ppm. El hidrógeno en $\delta_H = 6.98$ ppm (H-11), presentó una tercera correlación con un carbono alfa a un grupo carbonilo [$\delta_C = 119.4$ ppm (C-7a)], mientras que el hidrógeno localizado en $\delta_H = 7.63$ ppm (H-7), presentó dos interacciones más: la primera con un carbono sp^2 cuaternario, que por su desplazamiento a $\delta_C = 152.1$ ppm (C-11a), corresponde a un carbono oxigenado y la segunda con el carbono carbonílico en $\delta_C = 171.0$ (C-7) ppm. En este punto, se pudo observar la unión de las subestructuras 1, 4 y 6, que dieron origen a una subestructura mayor, la cual fue denominada “Subestructura A” (Fig. B). El total de correlaciones observadas fueron: $H-11 \leftrightarrow C-9 \leftrightarrow OCH_2O \leftrightarrow C-10 \leftrightarrow H-8$, $C-11a \leftrightarrow H-8 \leftrightarrow C-7$ y $C-10 \leftrightarrow H-11 \leftrightarrow C-7a$.

Una segunda subestructura gruesa, surge de la unión de las subestructuras 2, 3 y 5. Las correlaciones HMBC entre el grupo metoxilo ($\delta_{H/C} = 3.64/56.1$ ppm) y el carbono acetálico [$\delta_{H/C} = 6.08/98.5$ ppm (C/H-5)] relacionaron a las subestructuras 2 y 3. Por otro lado, las interacciones entre el carbono acetálico y uno de los protones del anillo aromático bisustituído [$\delta_H = 7.41$ (H-4)] unen a la subestructura 3 con la 5, esta misma unión se vió reforzada gracias a la interacción que presentó uno de los carbonos cuaternarios del anillo bisustituído [$\delta_C = 123.8$ (H-12b)], con los los hidrógenos ubicados en $\delta_H = 7.41$ (H-4) y 6.08 (H-5) ppm antes mencionados. Una última correlación surge entre el protón en $\delta_H = 7.91$ (H-1) del anillo aromático y un carbono cuaternario oxigenado desplazado a $\delta_C = 145.9$ (C-12a) ppm. La unión de estas tres subestructuras dan origen a la “Subestructura B” (Fig. B-1). El total de cruces HMBC observados fue entonces: $OCH_3 \leftrightarrow C-5 \leftrightarrow H-4 \leftrightarrow C-12b \leftrightarrow H-5 \leftrightarrow C-6a$, $C-12a \leftrightarrow H-1 \leftrightarrow C-3$ y $H-2 \leftrightarrow C-4$.

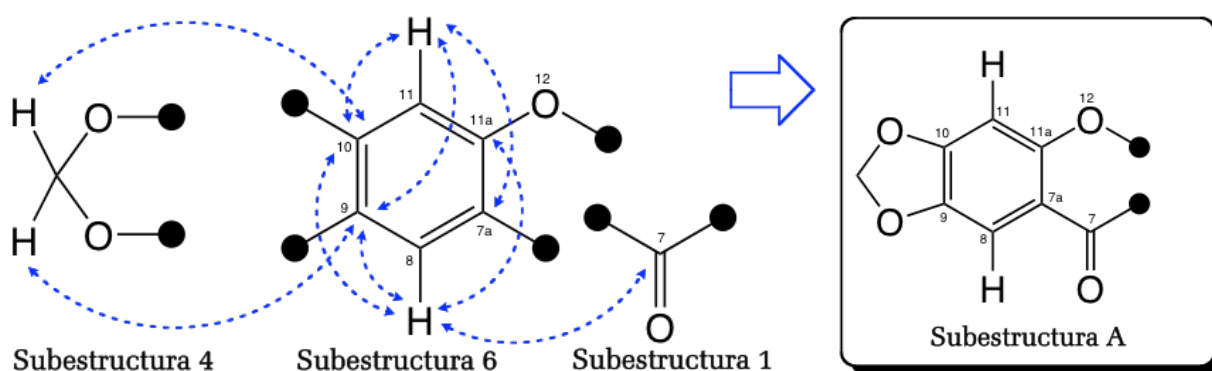


Figura B: Interacciones HMBC en la formación de la Subestructura A.

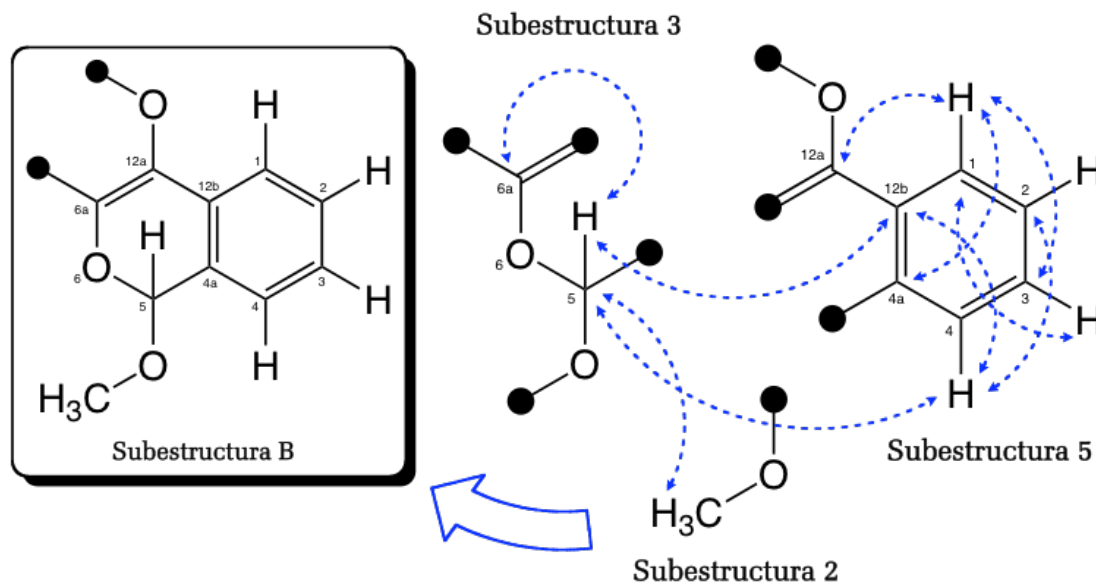


Figura B-1: Interacciones HMBC en la formación de la Subestructura B.

Figura 12F: Espectro HMQC (CDCl_3), del 9,10-metiledioxi, 5-metoxi-peltoginano (12)

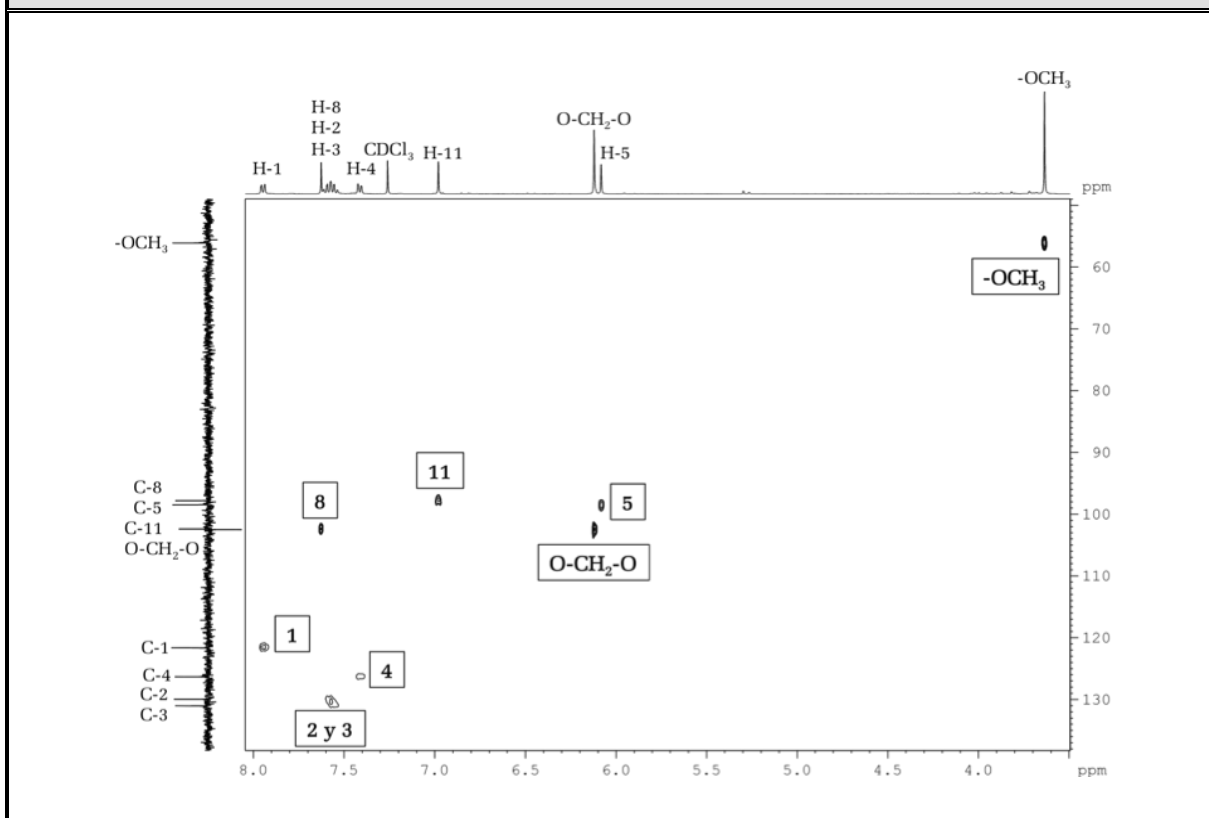
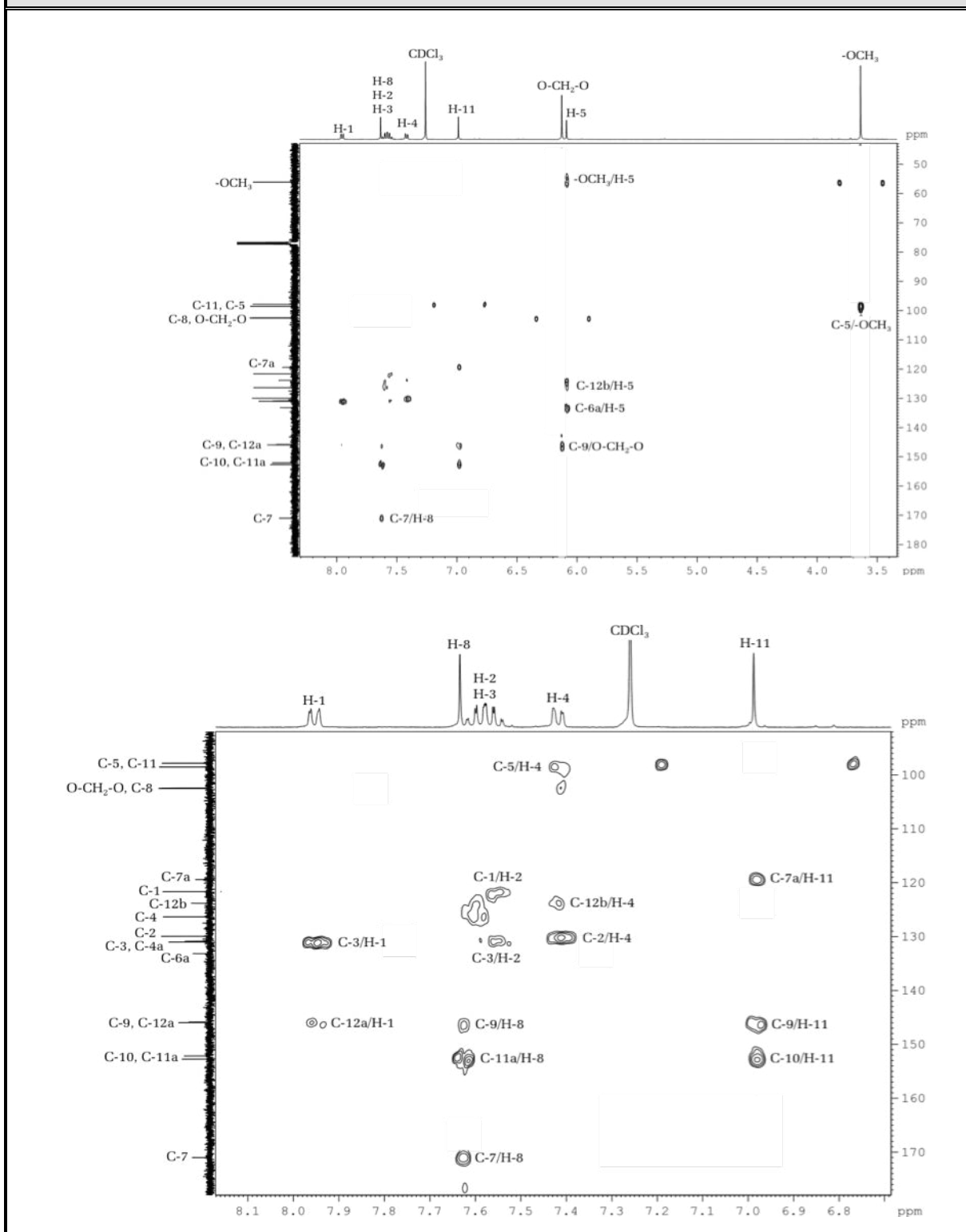


Figura 12G: Espectro HMBC (CDCl_3) del 9,10-metiledioxi, 5-metoxi-peltoginano(12)



En este punto se pudo observar que tanto la subestructura “A” como la “B” presentaban ambas seis (6) grados de insaturación de un total de doce (12). Las uniones entre los carbonos C-6a y C-7 y los carbonos C-11a y C-12a proporcionaron el último grado de insaturación necesario para engranar de manera total la estructura del compuesto (12).

Al observar el esqueleto base de esta sustancia, se puede apreciar que el mismo posee una estructura tipo flavonoide el cual ha sufrido una modificación entre los anillos B y C, este tipo de compuestos pertenece al grupo de los llamados “peltoginoides”, conocidos también en algunos casos como “homoflavonoides” (Fig C). El hecho de ser (12) una estructura de este tipo frente a otras posibilidades como *bi*-isocumarinas o rotenoides (Fig. C), deriva del hecho de que: **a)** para el caso de *bi*-isocumarinas, los valores reportados para el carbono carbonílico se encuentra aproximadamente en $\delta_c = 157$ ppm (Snyder and Nakanishi, 1981), valor que se encuentran muy por debajo del observado para el compuesto (12), **b)** de tratarse de un rotenoide, la interacción HMBC entre el protón aromático H-4 ($\delta_H = 7.41$ ppm) y el carbono acetálico C-5 ($\delta_c = 98.5$ ppm) no podría observarse, debido a la ubicación a más de cuatro enlaces, la cual sí es observada en (12).

Con ello quedan descartadas estas posibilidades y se confirma sin lugar a duda la presencia de este tipo de esqueleto en el compuesto (12). La estereoquímica en C-5 queda sin resolver, ya que no existen hidrógenos aledaños con los cuales el protón H-5 pueda formar ángulos dihedrales.

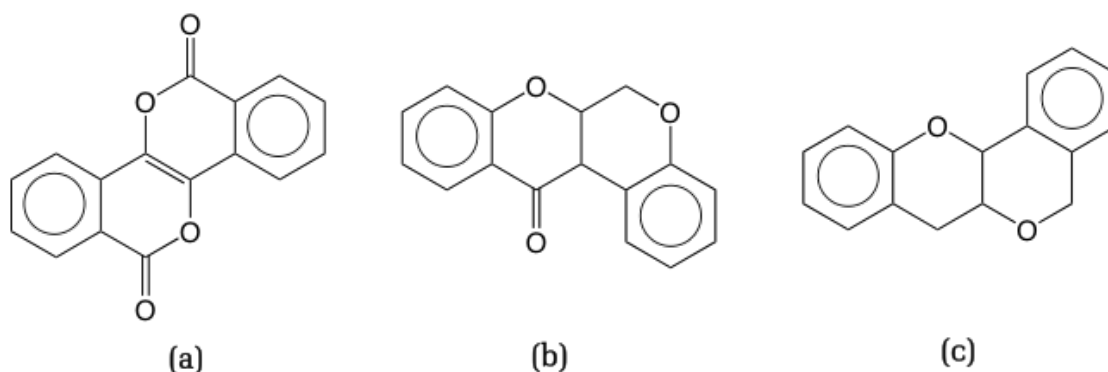


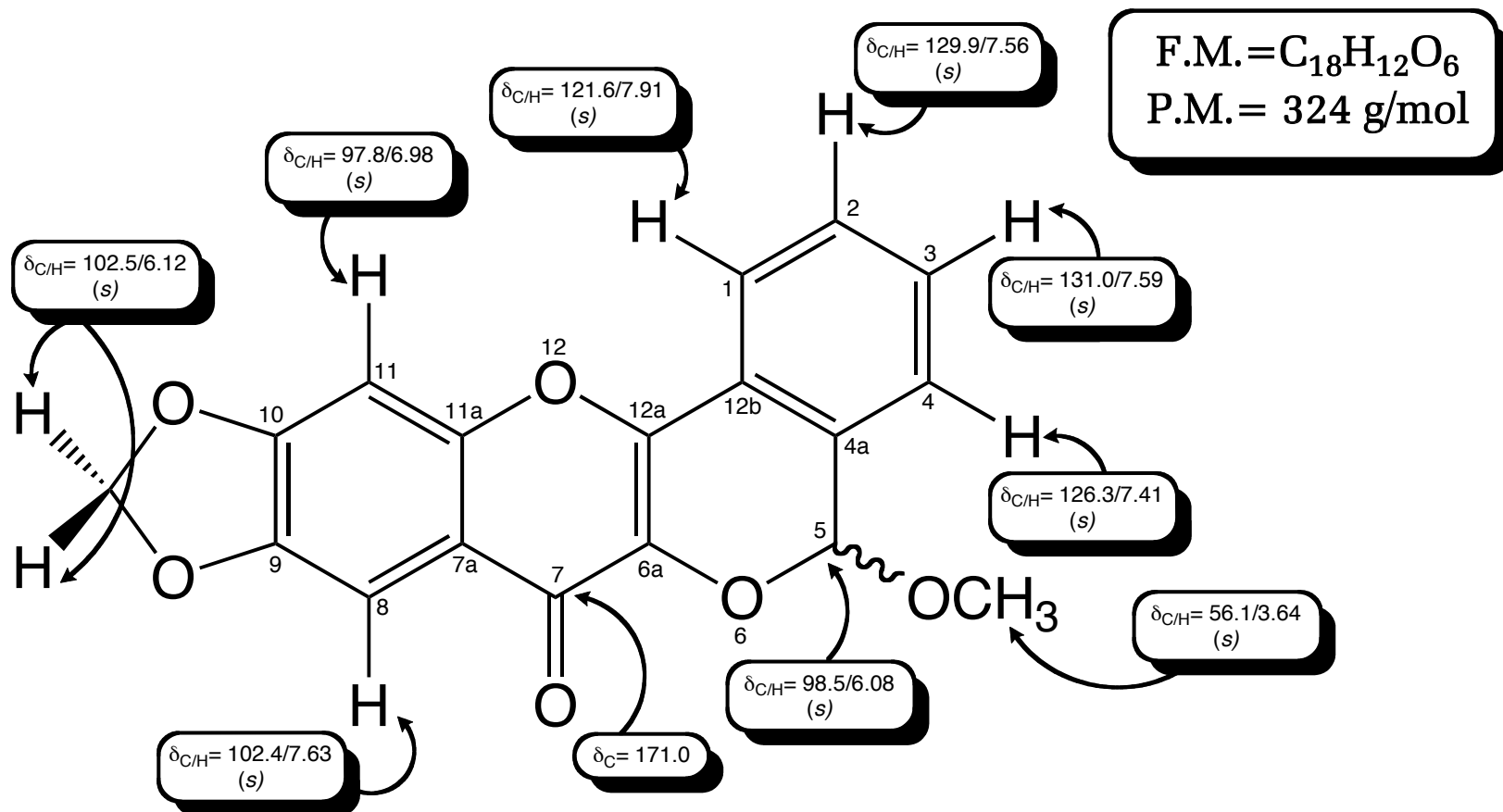
Figura C. Esqueletos del tipo: (a) *bi*-isocumarina, (b) rotenoides, (c) peltoginoides

En razón a lo anterior, se concluye que la estructura del compuesto en estudio corresponde a la del **9,10-metilendioxi, 5-metoxi-peltoginano (12)**. Hasta ahora, éste compuesto no se ha encontrado reportado en la literatura y por tanto es considerado un **nuevo producto natural**. Para el mismo se ha propuesto, sobre la base de su origen, el nombre de **Icosandrina**.

Los compuestos pertenecientes a serie de los peltoginanos, se han encontrado mayormente en diversos géneros de la familia Leguminosae como: *Colophospermum* (Drewes and Roux, 1965; 1966; 1967), *Goniorrhachis* (Gotlieb and de Souza, 1972), *Peltogyne* (van der Merwe *et al.*, 1972; de Almeida *et al.*, 1974; Malan and Roux, 1974), *Acacia* (van Heerden *et al.*, 1979; Brant *et al.*, 1981; Ahmadu *et al.*, 2010), *Caesalpinia* (McPhearson *et al.*, 1983), *Derris* (Koysomboon *et al.*, 2006), sin embargo, también han estado presentes en géneros de otras familias, entre estas están : *Iris* (Iridaceae) (Choudary *et al.*, 2001), *Macaranga* y *Croton* (Euphorbiaceae) (Li *et al.*, 2009; Zou *et al.*, 2010), *Ophioglossum* (Ophioglossaceae) (Lin *et al.*, 2005) y *Cassine* (Celastraceae) (Drewes and Masimbye, 1993).

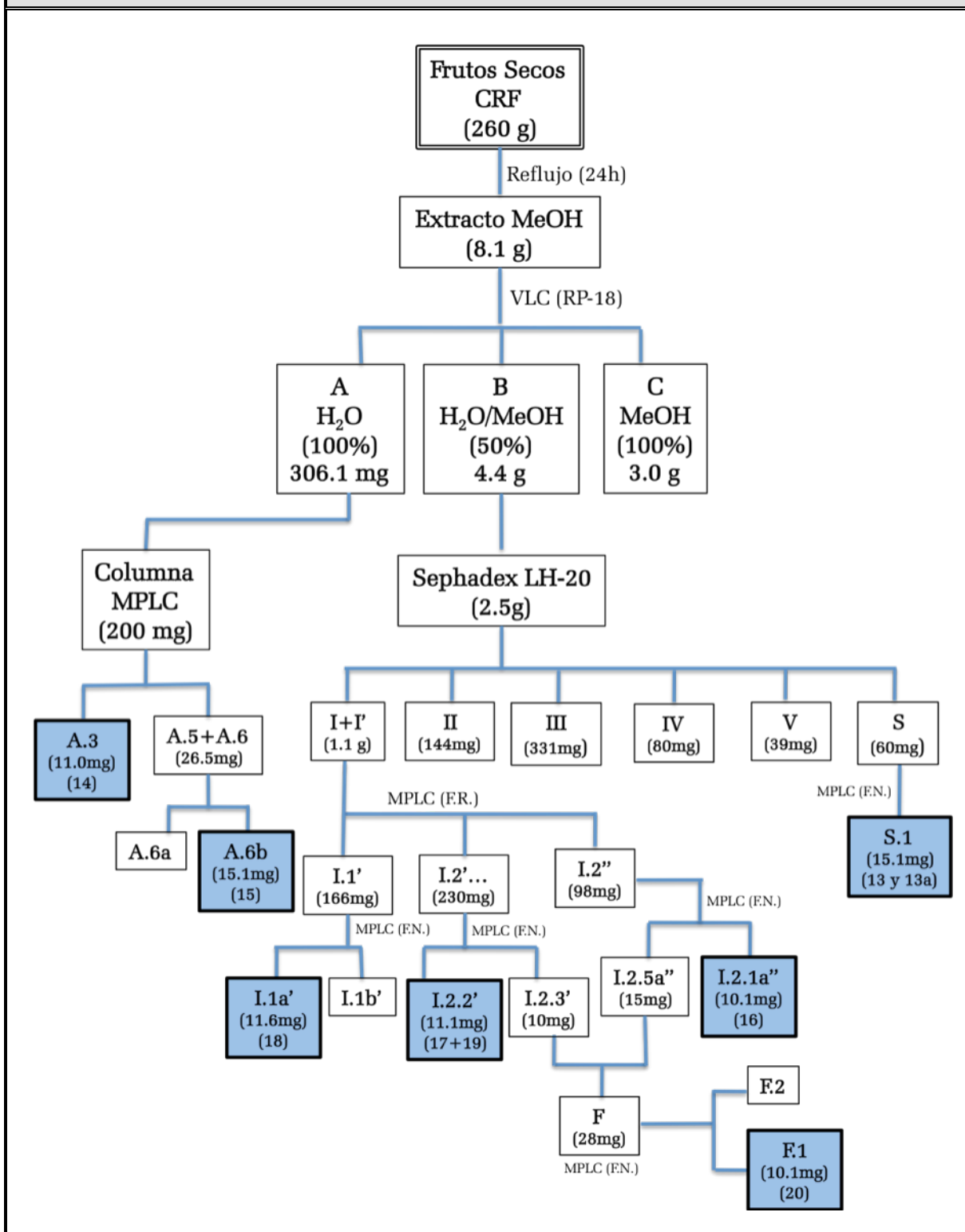
Es de resaltar, el hecho de que aparte de ser un nuevo compuesto natural, es la primera vez que se encuentra este tipo de metabolito secundario dentro del género *Phytolacca* y más aún, en la familia Phytolaccaceae, lo que podría constituir un dato de gran relevancia en estudios de tipo quimiotaxonómico.

9,10-metiledioxi, 5-metoxi-peltoginano (12)



Estudio Fitoquímico de
Cestrum ruizteranianum
Benitez & D'Arcy

Esquema del Aislamiento y Purificación de Saponinas Esteroidales de los Frutos de *Cestrum ruizteranianum* Benitez & D'Arcy



ÁCIDO OLEANÓLICO (**13**) Y ÁCIDO URSÓLICO (**13a**)

De la fracción “S” de la cromatografía general, se logró separar por columna de sephadex LH-20 un sólido amorfo de color blanco, el cual se reveló en placa TLC como una mancha pura de color rosado [$R_f = 0.61$, sist. solv. Hex/EtOAc (8:2); P.f. = 250-252 °C].

Al realizar un análisis a los espectros FAB-MS (Fig. 13A; 13A), RMN- ^1H y RMN- ^{13}C (Fig. 13B; Tabla 13B) así como de los bidimensionales (COSY, TOCSY, HMQC, HMBC y NOESY) pudimos darnos cuenta de manera rápida, que el compuesto en cuestión era en realidad una mezcla de dos triterpenos bastante comunes, conocidos como ácido ursólico (**13**) y ácido oleanólico (**13a**), en proporción aproximada de 4:1 respectivamente. De igual forma, se procedió a comparar los valores experimentales de RMN- ^{13}C con los reportados en la literatura para este tipo de compuestos (Mahato *et al.*, 1992; Mahato and Sucharita, 1997) y adicionalmente se compararon los valores de R_f de la muestra con una muestra patrón. Así pues, pudo confirmarse de manera inequívoca las estructuras (**13**) y (**13a**). Como se mencionó anteriormente, éstos triterpenos son bastante conocidos y ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Para esta mezcla de ácidos se han reportado una gran gama de propiedades biológicas y farmacológicas, entre las que destacan la hepato-protectiva y antiinflamatoria (Liu, 1995, 2005).

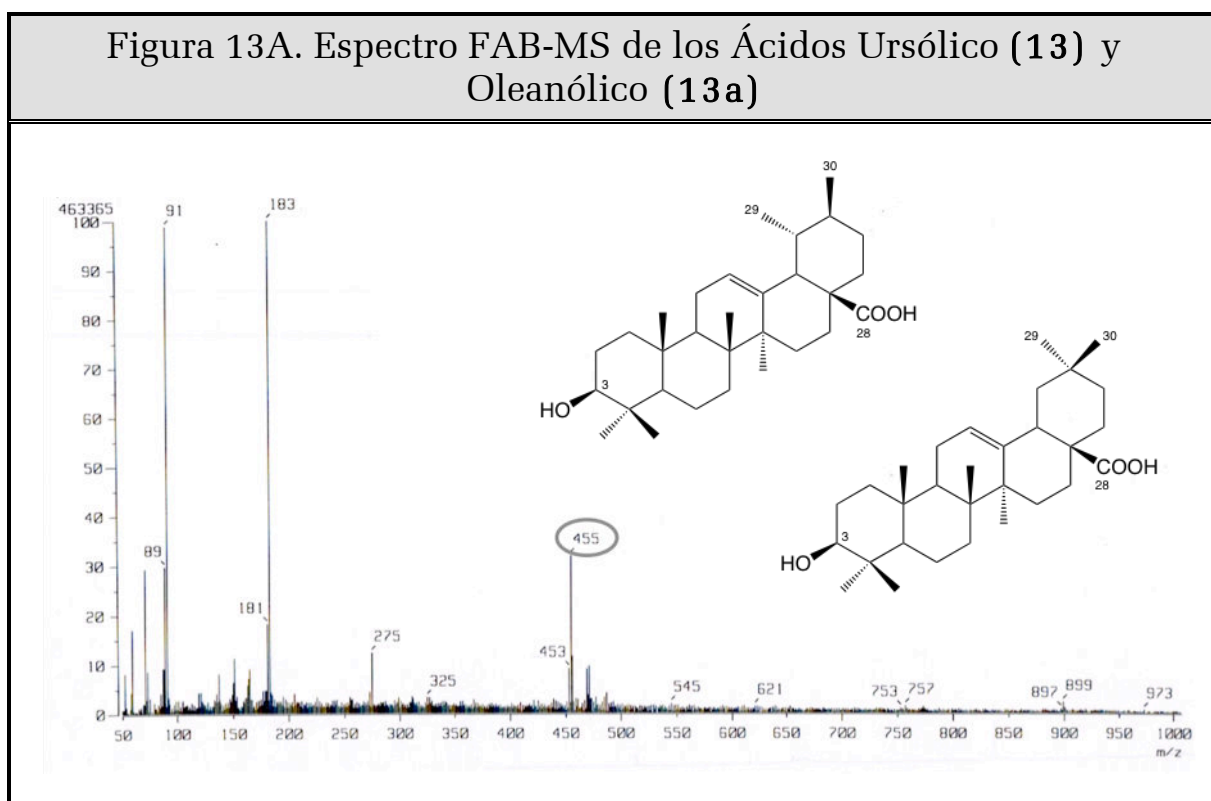


Figura 13B. Espectro de RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) de la Mezcla de Ácido Ursólico (13) y Oleanólico (13a)

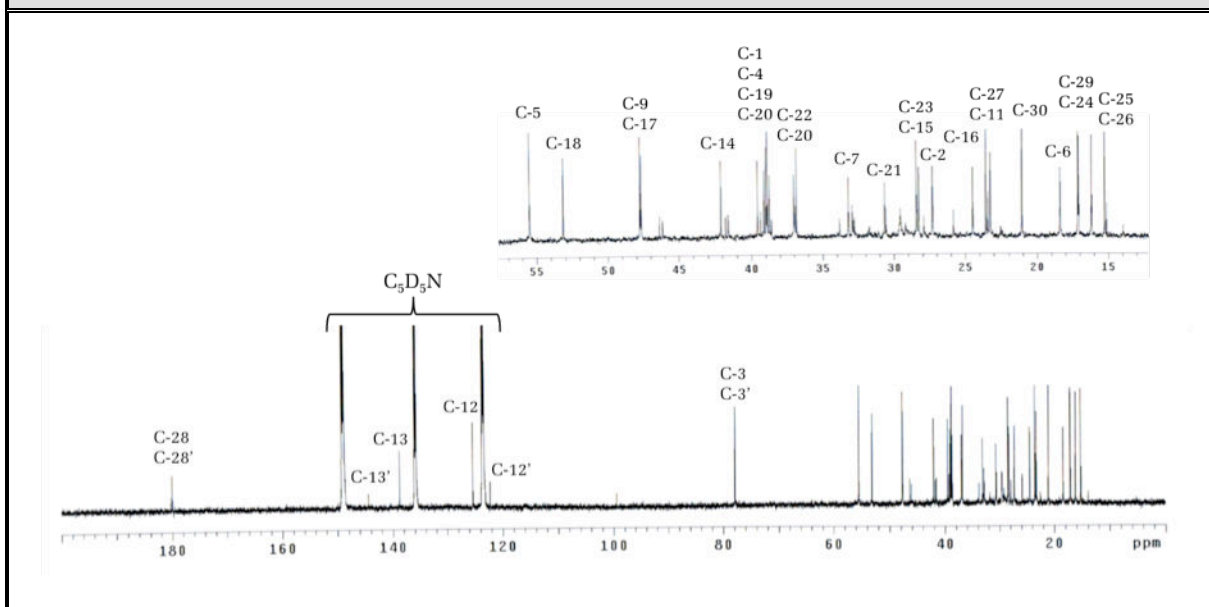
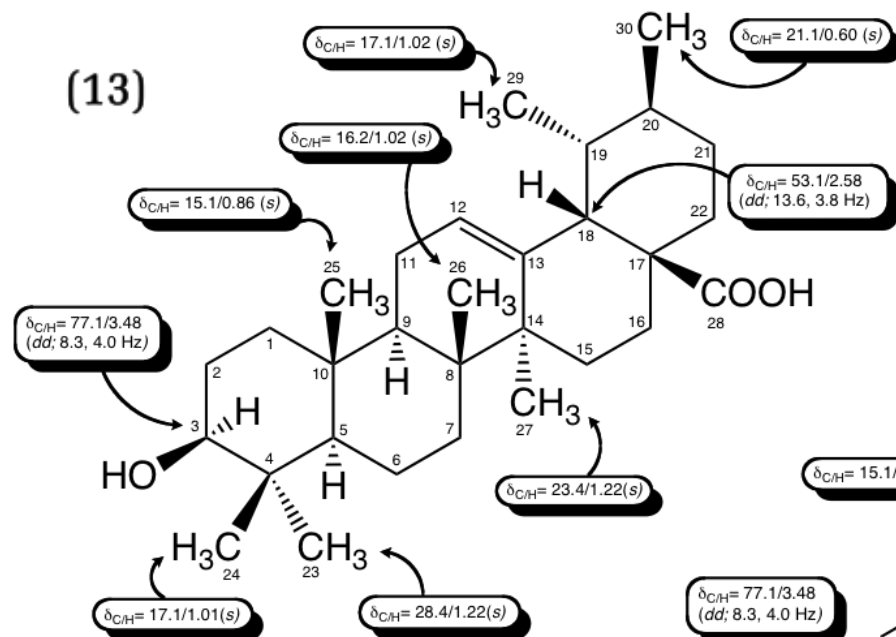


Tabla 13B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) de la Mezcla de Ácido Ursólico (13) y Oleanólico (13a)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	38.9	27.3	77.1	39.1	55.4	18.3	33.2
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-O-	>C<	>CH-	-CH ₂ -	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	18.4	47.9	37.0	23.3	124.5	138.9	42.1
tipo	>C<	>CH-	>C<	-CH ₂ -	=CH-	>C=	>C<
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	28.3	24.5	47.9	53.1	39.3	39.5	30.6
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>C<	>CH-	-CH ₂ -	>C<	-CH ₂ -
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28
δ (ppm)	36.9	28.4	17.1	15.1	16.2	23.4	179.8
tipo	-CH ₂ -	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-O-C=O
C	C-29	C-30	C-12'	C-13'	C-29'	TMS como referencia interna	
δ (ppm)	17.1	21.1	122.2	144.2	33.2		
tipo	-CH ₃	-O-C=O	=CH-	>C=	-CH ₃		

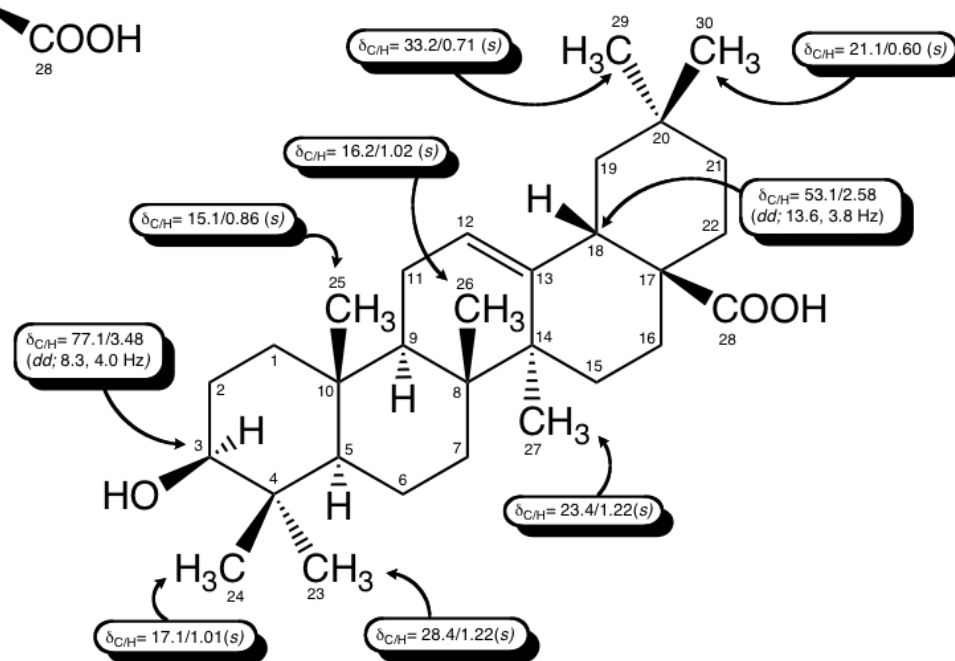
Ácido Ursólico (13) y Ácido Oleanólico (13a)

(13)



F.M. = $C_{30}H_{48}O_3$
 P.M. = 456 g/mol

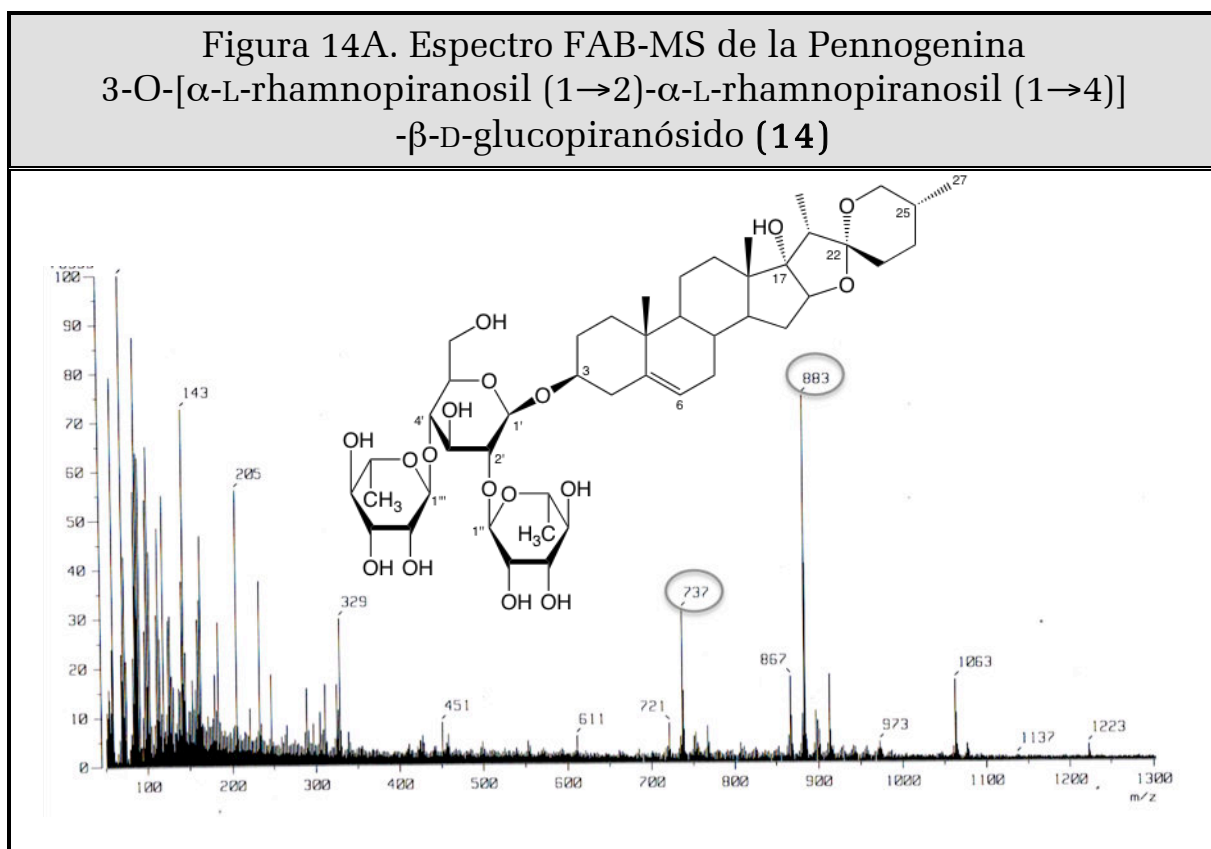
(13a)



PENNOGENINA-3-O-[α -L-RHAMNOPIRANOSIL(1 \rightarrow 2)- α -L-RHAMNOPIRANOSIL(1 \rightarrow 4)]- β -D-GLUCOPIRANÓSIDO (**14**)

El compuesto (**14**) fue obtenido de la fracción "A" de la cromatografía general por medio de columna de gel sílice de fase normal. Se aisló como un sólido amorfo de color blanco, revelado en placa TLC como una mancha pura de color verde [R_f = 0.48, sist. solv. $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (70:30:5); P.f. = +300 °C].

El espectro FAB-MS (Fig. 14A) muestra un ion molecular de m/z = 883, correspondiente a una fórmula molecular de $\text{C}_{45}\text{H}_{72}\text{O}_{17}$, se observó además un pico en m/z = 737 asignado a la pérdida de un grupo rhamnosa (Rha) (146 u.m.a). El análisis del espectro de RMN- ^1H (Fig. 14B; Tabla 14B) mostró nuevamente dos zonas bastante diferenciadas, que evidencian la presencia de una sustancia glicosidada que presentaba tres (3) unidades de hexosa dados los protones anoméricos en δ_{H} = 4.80, d (H-1'); 5.65, d (H-1'') y 6.16, d (H-1''') ppm. Dos de de los protones se asignaron a unidades de rhamnosa (Rha) dada la presencia de dos metilos dobles en δ_{H} = 1.52, (H-6'') y 1.67, (H-6''') ppm, el tercer hidrógeno fue asignado a un grupo tipo glucosa (Glc). A campo alto resaltaron cuatro (4) señales correspondientes a metilos en δ_{H} = 0.62, d (H-27); 0.87, s (H-18); 0.98, s (H-19) y 1.17, d (H-27), indicativo de la presencia de un esqueleto de tipo esteroidal.



El espectro de RMN-¹³C presentó un total de cuarenta y cinco (45) carbonos, de los cuales, dieciocho se asignaron (por su desplazamiento) a las tres unidades de monosacáridos, lo que dejó un total de veintisiete (27) carbonos pertenecientes lógicamente a la aglicona. Este número es concordante con la cantidad normal de carbonos que correspondería a un esqueleto del tipo esteroidal y aunado a la presencia de un carbono cetálico en $\delta_C = 109.7$ (C-22) ppm se determinó que la naturaleza del esqueleto carbonado era de la serie del espirostano.

El análisis detallado del espectro de HMBC (Fig. 14G) permitió identificar la aglicona de manera inambigua, a través de las diferentes interacciones de los metilos con sus carbonos e hidrógenos aledaños, en este sentido, se pudieron observar las siguientes correlaciones: C-13 \leftrightarrow H-18 \leftrightarrow C-14, C-12 \leftrightarrow H-18 \leftrightarrow C-17, C-5 \leftrightarrow H-19 \leftrightarrow C-9, C-1 \leftrightarrow H-19 \leftrightarrow C-10, C-17 \leftrightarrow H-21 \leftrightarrow C-20, C-22 \leftrightarrow H-21, C-26 \leftrightarrow H-27 \leftrightarrow C-25 y C-24 \leftrightarrow H-27. De esta manera, se confirmó la presencia de un esqueleto espiroestánico con un doble enlace ubicado entre los carbonos C-5 y C-6 (5-espiroesteno), ubicado gracias a la interacción HMBC entre el metilo H-19 ($\delta_H = 0.98$ ppm) y un carbono cuaternario sp² en $\delta_C = 140.5$ ppm (C-5). Se observó además la presencia de un grupo hidroxilo en el carbono C-17 de la aglicona, dado que el mismo se encontraba inusualmente desapantallado a $\delta_C = 89.9$ ppm (C-17), además pudo ubicarse mediante las interacciones HMBC con los metilos H-18 ($\delta_H = 0.87$ ppm), H-19 ($\delta_C = 0.98$ ppm) y H-16 ($\delta_H = 4.45$ ppm).

La interacción NOE (Fig. 14H) entre el metilo H-27 y el protón H-26 α , determinó la disposición de H-27 α . Los desplazamientos de RMN-¹³C observados para los carbonos C-23, C-24, C-26 y C-27, fueron concordantes con una configuración (25*R*) del anillo espiroestánico (Welzel *et al.*, 1981). La disposición alfa del metilo H-21 se evidenció gracias al desplazamiento del mismo a campo inusualmente alto ($\delta_C = 9.4$ ppm), como consecuencia del impedimento estérico producido por el -OH α en C-17, lo que hace además que los valores de C-16 y C-17 se observen en el rango de los ≈ 90.0 ppm (Marquardt, 1978), con esto se concluye además que la fusión de los anillos D y E ocurre de forma “*cis*”. Según estas observaciones, se identificó a la aglicona como: (25*R*),17 α -hidróxi-5-espiroesteno, conocida comúnmente como “*pennogenina*” (Espejo *et al.*, 1982; Agrawal *et al.*, 1985).

La elucidación de los carbohidratos asociados se realizó mediante el análisis de los espectros COSY, TOCSY (Figs. 14D y 14E) y HMBC (Fig. 14G). La identificación de los hidrógenos pertenecientes a los dos grupos rhamnosa (Rha), pudo lograrse gracias a las correlaciones TOCSY entre los metilos y cada protón, mientras que en el caso de la glucosa (Glc) las interacciones fueron entre el protón anomérico y sus correspondientes hidrógenos.

Figura 14B. Espectro de RMN- ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz) de la Pennogenina 3-O-[α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopiranosido (14)

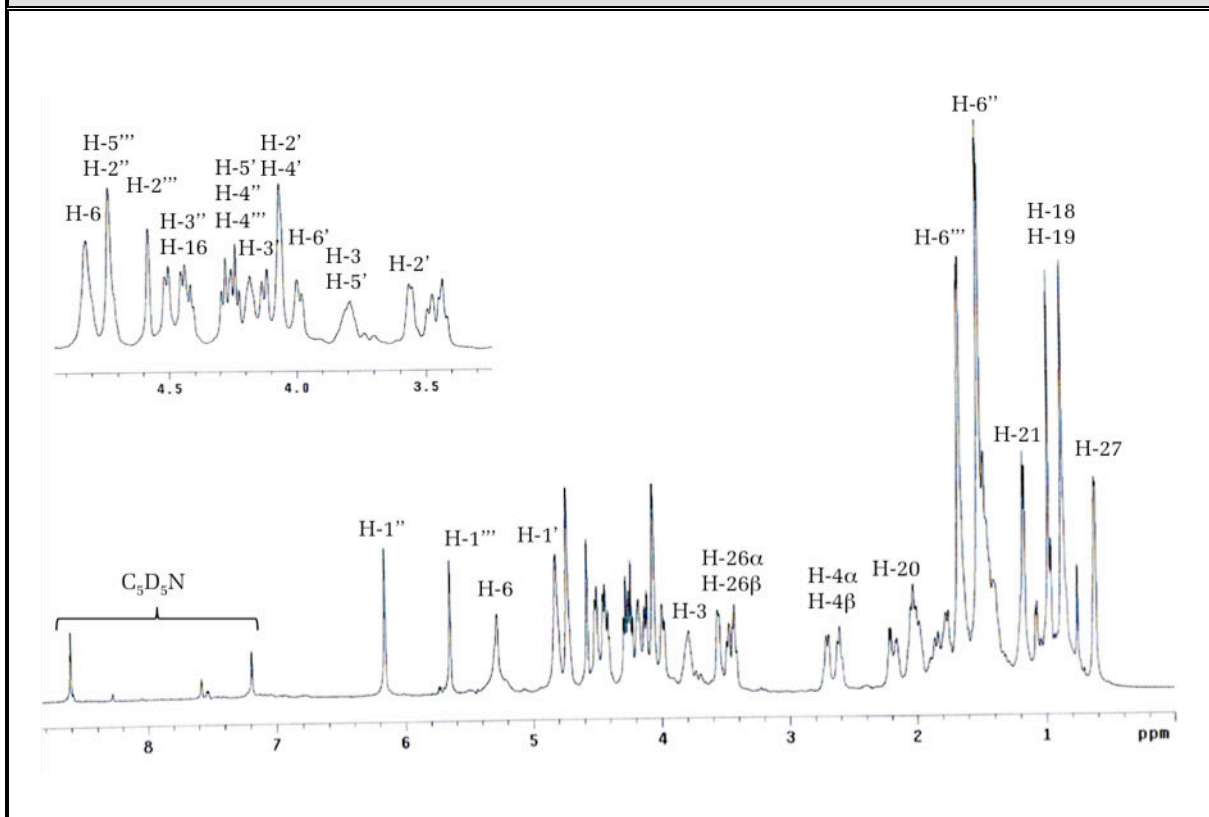


Tabla 14B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz) de la Genina de la Pennogenina 3-O-[α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopiranosido (14)

H	H-3	H-6	H-8	H-9	H-14	H-16
δ (ppm)	3.79	5.28	1.44	0.84	1.98	4.45
m	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-
H	H-18	H-19	H-20	H-21	H-25	H-27
δ (ppm)	0.87	0.98	2.21	1.17	1.48	0.62
m	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	-	-	-	6.9	-	6.6

Tabla 14B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) de los Azúcares de la Pennogenina 3-O-[α -rhamnopiranosil (1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopiranosido (14)						
3-O- β -D-Glucosa						
H	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'
δ (ppm)	4.80	4.07	4.18	4.07	3.79	3.99/4.11
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J (Hz)	5.6	-	-	-	-	-
2'-O- β -D-Rhamnosa						
H	H-1''	H-2''	H-3''	H-4''	H-5''	H-6''
δ (ppm)	6.16	4.75	4.50	4.23	4.81	1.67
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	1.2	-	-	-	-	5.7
4'-O- β -D-Rhamnosa						
H	H-1'''	H-2'''	H-3'''	H-4'''	H-5'''	H-6'''
δ (ppm)	5.65	4.58	4.43	4.22	4.73	1.52
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	1.2	-	-	-	-	5.5

Se pudo conocer la naturaleza de cada azúcar gracias a las interacciones NOE (Fig. 14G) de los protones anoméricos. Los cruces H-3 \leftrightarrow H-1' \leftrightarrow H-5' se observaron para la β -glucosa, mientras que para las α -rhamnosa se observan las interacciones H-1'' \leftrightarrow H-4'' y H-1''' \leftrightarrow H-4'''. Las constantes de acoplamiento de $J_{H-1'} = 5.6$ Hz, $J_{H-1''} = 1.2$ Hz y $J_{H-1'''} = 1.2$ Hz, confirmaron estas deducciones.

La interacción NOE entre el hidrógeno H-3 ($\delta_H = 3.79$ ppm) y el protón anomérico H-1' ($\delta_H = 4.80$ ppm) ubicó a la unidad de glucosa en la posición C-3 de la aglicona. Por otro lado, las interacciones HMBC H-1''' \leftrightarrow C-4 y H-1'' \leftrightarrow C-2' ubican a las unidades de rhamnosa en las posiciones C-2' y C-4' de la 3-O-glucosa. La interconexión del tipo Rha \leftarrow ²Glc⁴ \rightarrow Rha entre estas unidades es bastante común en saponinas de tipo esteroideal y se conocen con el nombre de " *β -chacotriósido*". Según lo observado anteriormente, se pudo elucidar al compuesto (**14**) como la pennogenina-3-O-[α -L-rhamnopiranosil(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamno-piranosil(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopiranosido. El mismo fue aislado por primera vez de *Trillium kamschaticum* (Liliaceae) (Nohara *et al.*, 1975), sin embargo es la primera vez que se obtiene en el género *Cestrum*.

Figura 14C. Espectro de RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) de la Pennogenina 3-O-[α-L-rhamnopiranosil (1→2)-α-L-rhamnopiranosil (1→4)]-β-D-glucopiranosido (14)

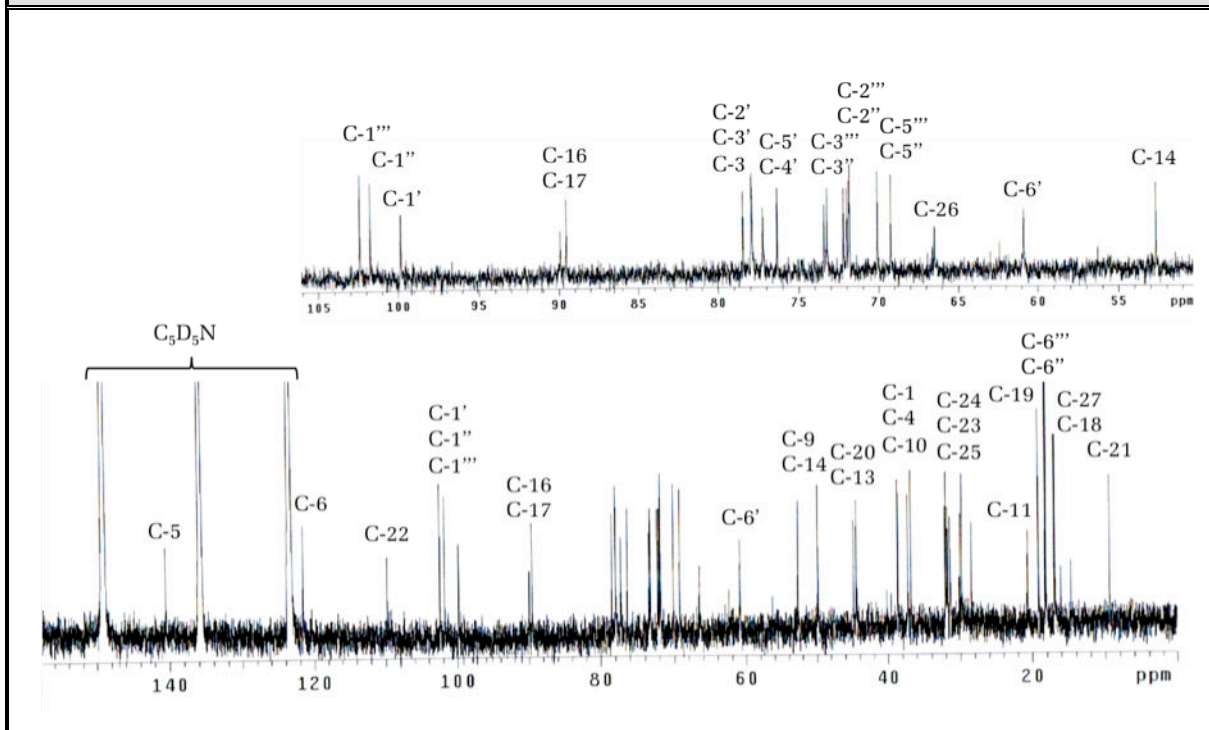


Tabla 14C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) de la Genina de la Pennogenina 3-O-[α-L-rhamnopiranosil (1→2)-α-L-rhamnopiranosil (1→4)]-β-D-glucopiranosido (14)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	37.2	32.0	77.9	38.6	140.5	121.6	31.8
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-O-	-CH ₂ -	>C=	=CH-	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	32.1	49.8	36.8	20.6	31.9	44.8	52.7
tipo	>CH-	>CH-	>C<	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>C<	>CH-
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	31.7	89.5	89.9	16.8	19.1	44.5	9.4
tipo	-CH ₂ -	>CH-O-	>C-O-	-CH ₃	-CH ₃	>CH-	-CH ₃
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	TMS
δ (ppm)	109.7	29.8	28.4	30.0	66.5	16.9	Ref.
tipo	O-C-O	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-	-CH ₂ -O-	-CH ₃	Interna

Tabla 14C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz) de los Azúcares de la Pennogenina 3-O-[α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopiranosido (**14**)

3-O- β -D-Glucosa						
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'
δ (ppm)	99.8	77.9	78.4	77.2	76.3	60.9
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-
2'-O- β -D-Rhamnosa						
C	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''
δ (ppm)	101.7	71.7	72.2	73.4	69.2	18.2
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃
4'-O- β -D-Rhamnosa						
C	C-1'''	C-2'''	C-3'''	C-4'''	C-5'''	C-6'''
δ (ppm)	102.4	71.8	72.0	73.3	70.1	18.1
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃

Figura 14D. Espectro COSY ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de la Pennogenina 3-O-[α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopiranosido (**14**)

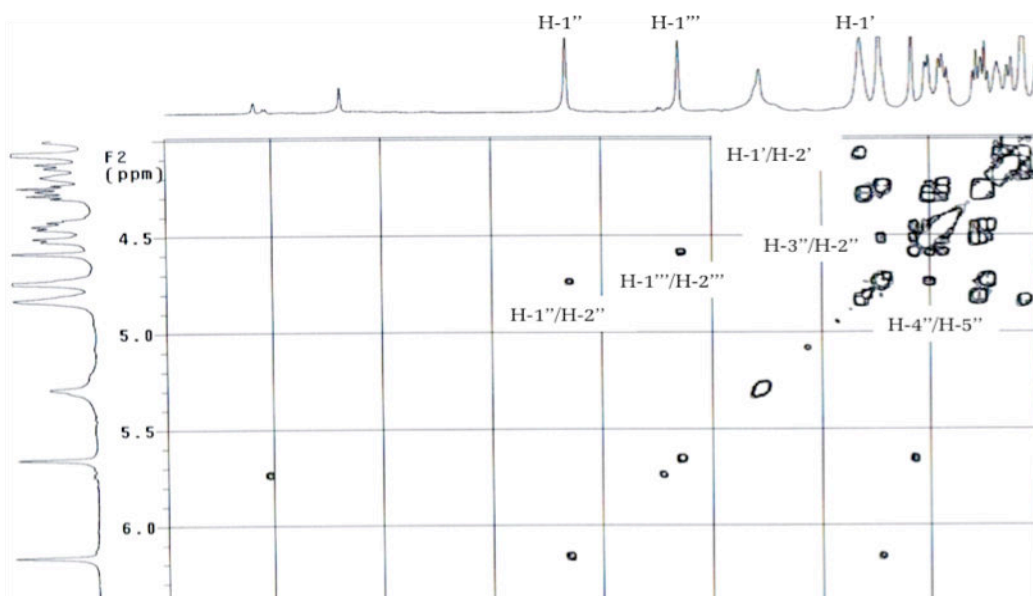


Figura 14E. Espectro TOCSY (C_5D_5N) de la Pennogenina 3-O-[α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopiranosido (14)

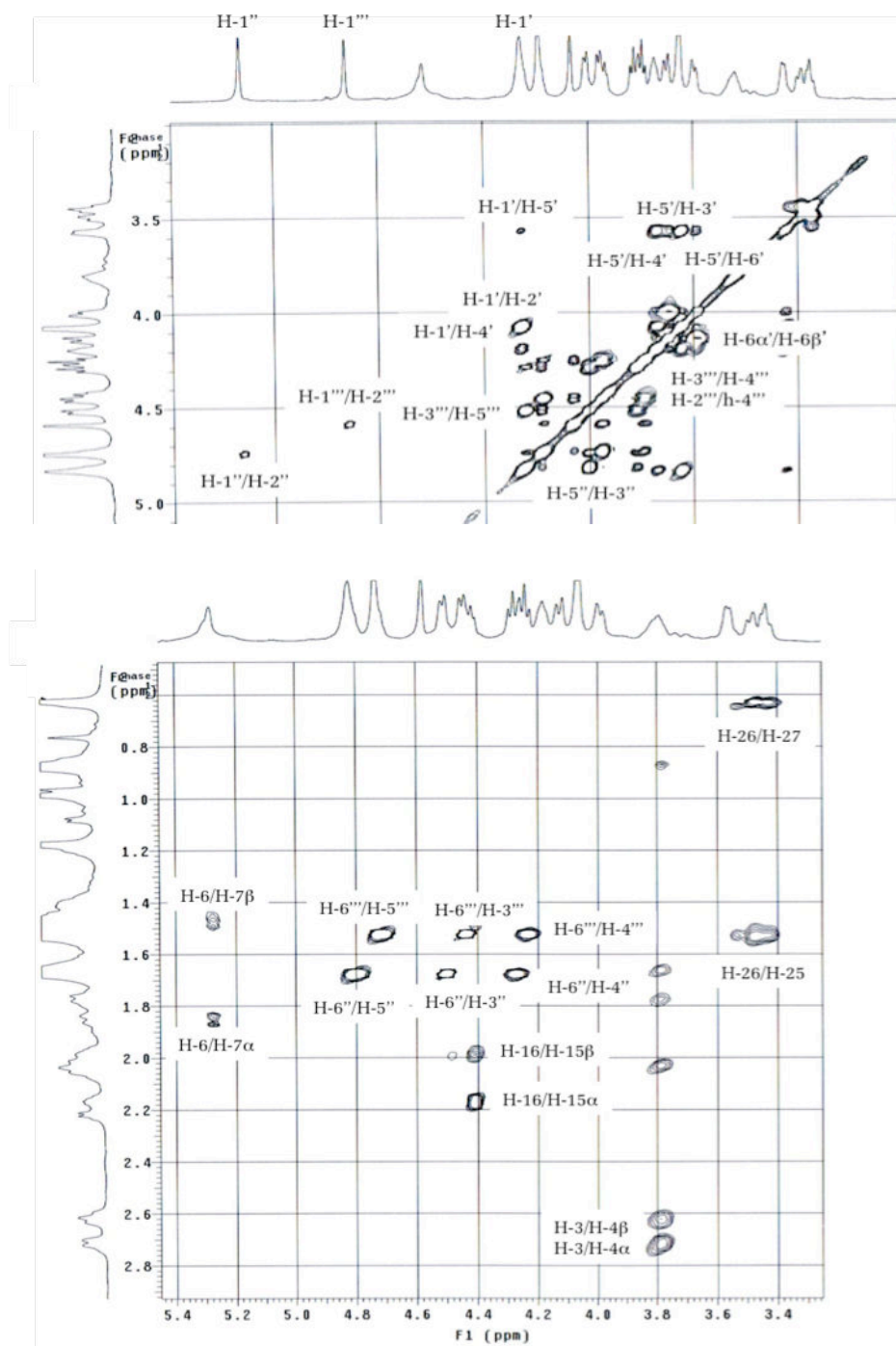


Figura 14F. Espectro HMQC (C_5D_5N) de la Pennogenina
3-O-[α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil
(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopiranosido (14)

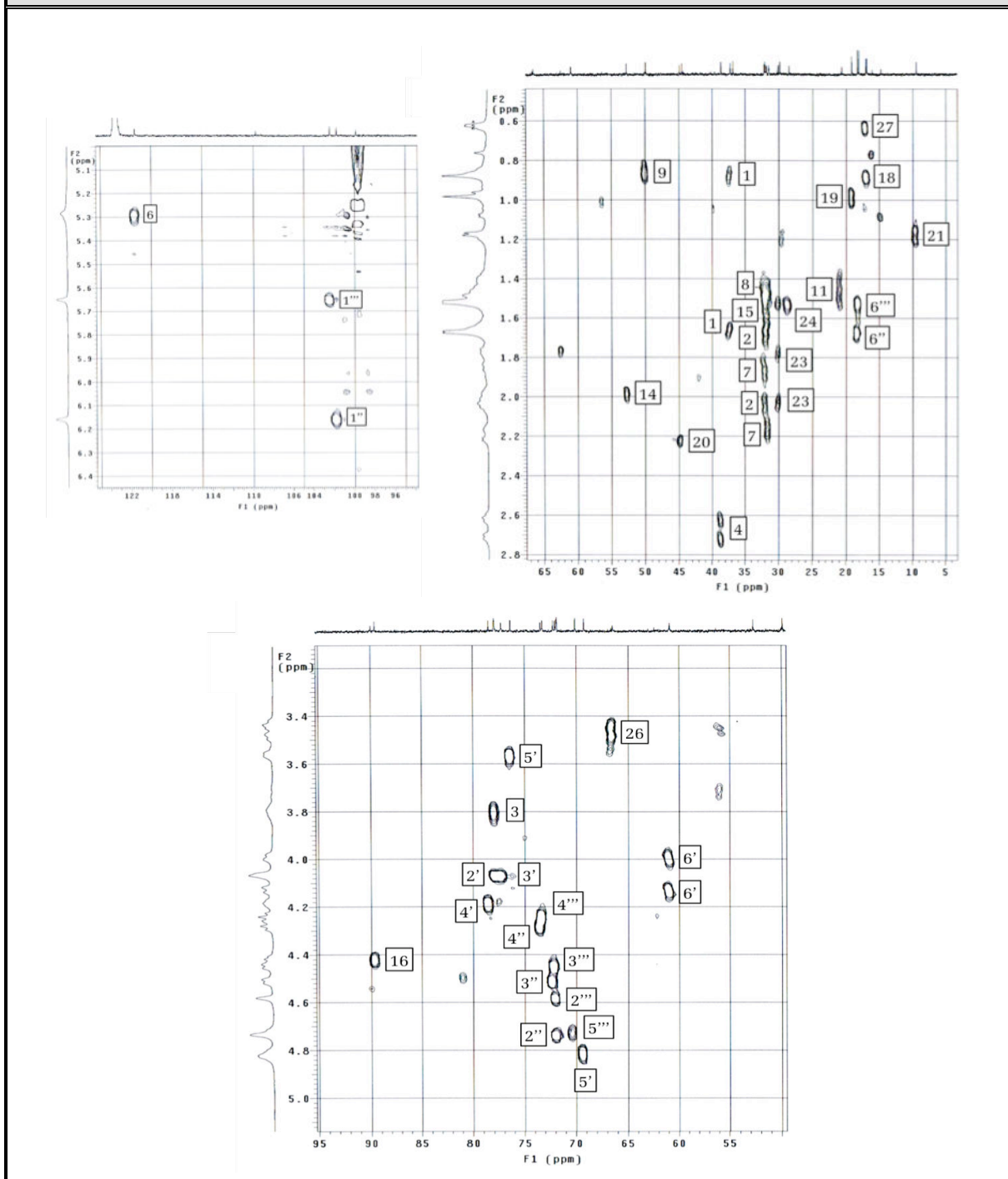


Figura 14G. Espectro HMBC (C_5D_5N) de la Pennogenina
 3-O-[α -L-rhamnopira-nosil (1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil
 (1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopiranosido (14)

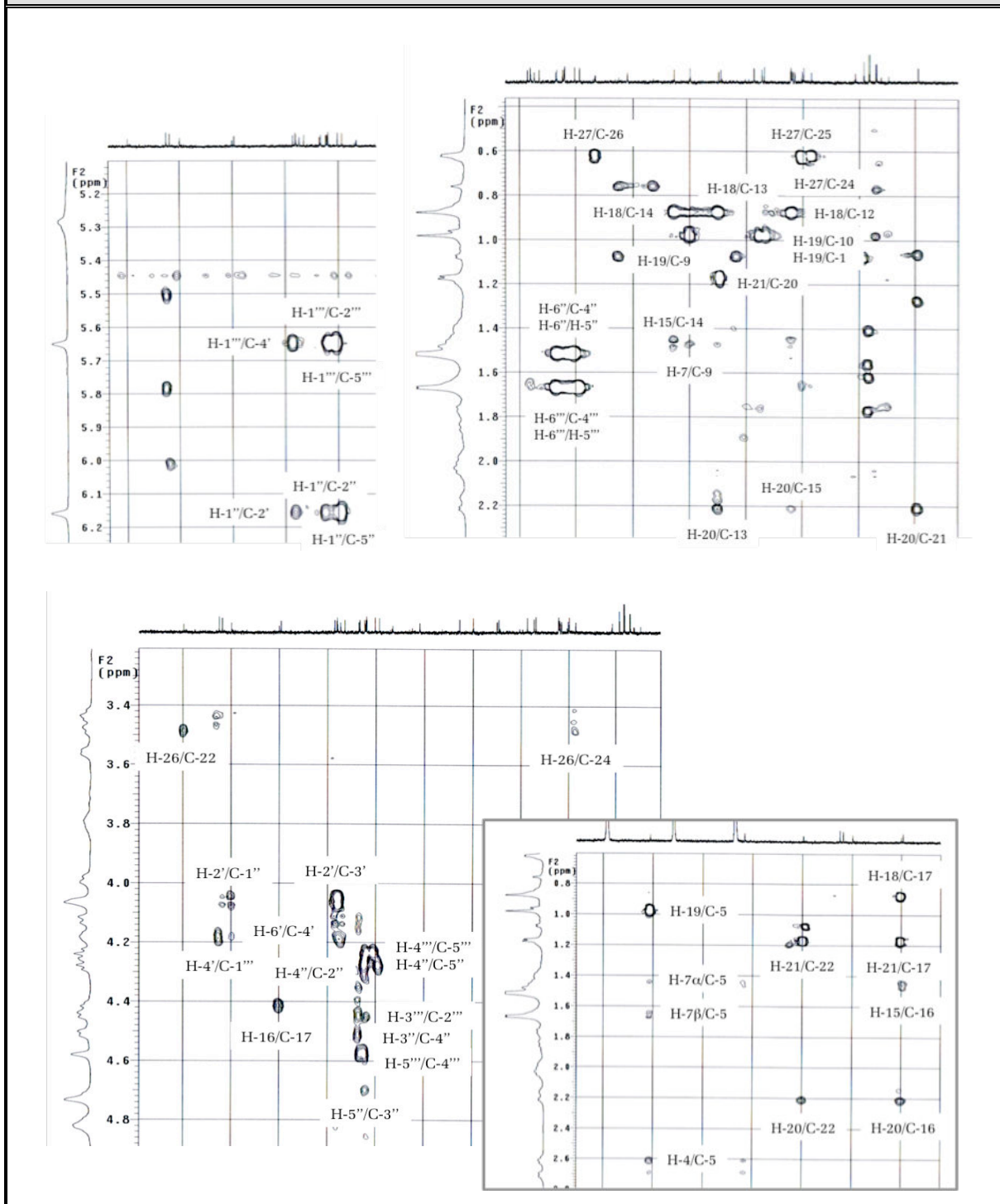
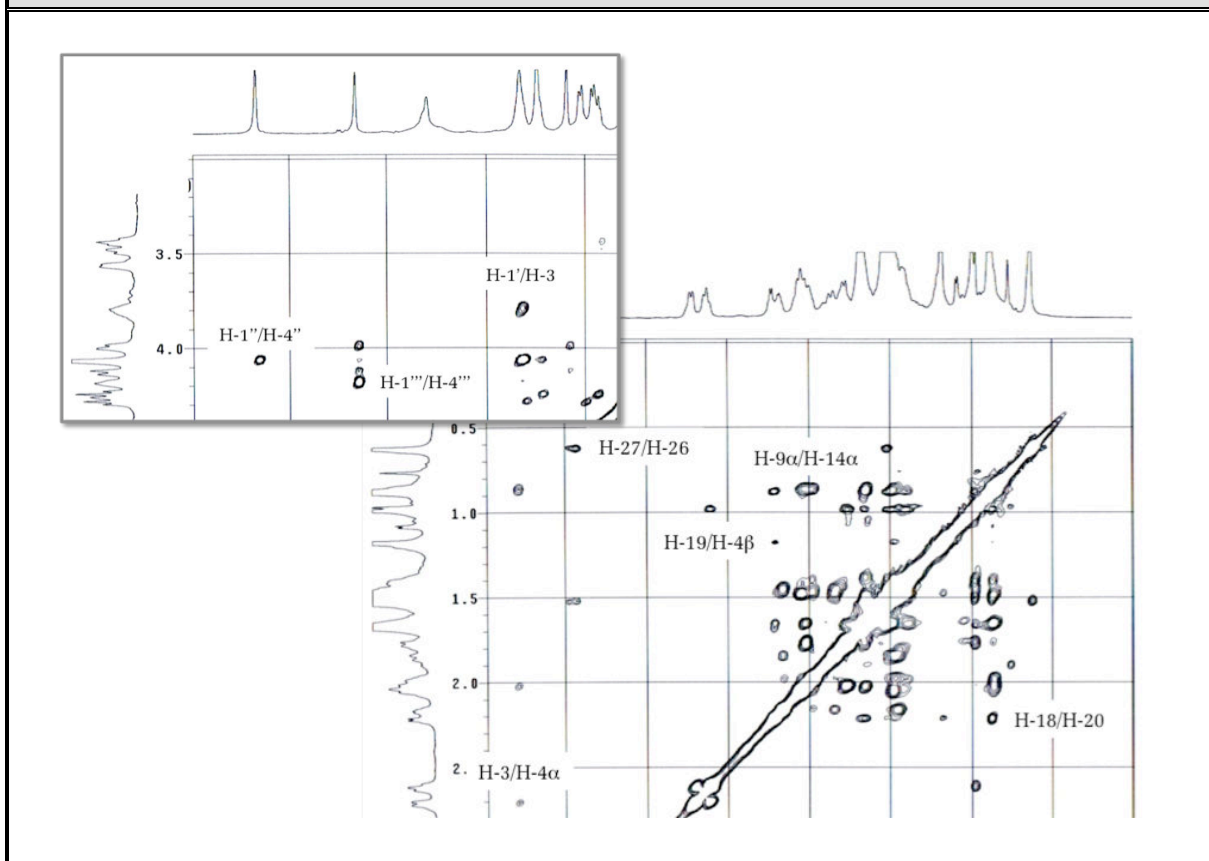
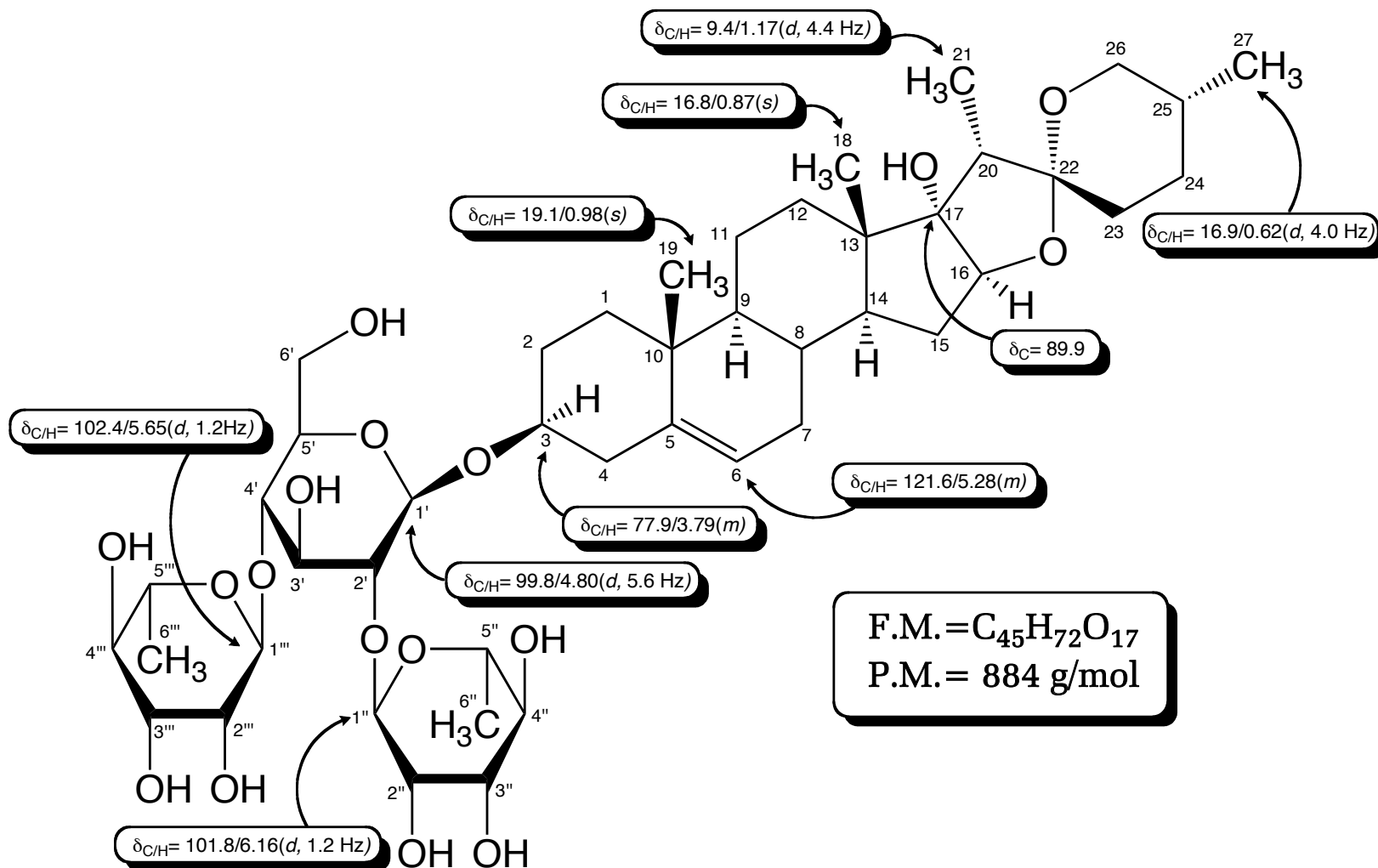


Figura 14H. Espectro ROESY (C_5D_5N) de la Pennogenina 3-O-[α -L-rhamnopira-nosil (1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopiranósido (14)



Pennogenina-3-O-[α -L-rhamnopyranosil (1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranosil (1 \rightarrow 4)]
- β -D-glucopiranosido (14)



β -CHACOTRIOSIL (25*R*, 26*R*)-3 β ,17 α ,26-TRIHIDRÓXI-5-ESPIROSTENO (**15**)

El compuesto (**15**) se logró aislar de la fracción “A” de la cromatografía general por medio de una columna de gel de sílice en fase normal. Se obtuvo como un sólido amorfo de color blanco y se presentó como una mancha pura de color marrón en placa de TLC [R_f = 0.42, sist. solv. $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (70:30:5); P.f.= +300 °C].

El espectro de FAB-MS (Fig. 15A) del compuesto (**15**) presentó un pico en m/z = 899, el cual se corresponde con una fórmula molecular de $\text{C}_{45}\text{H}_{72}\text{O}_{18}$, se observaron además picos en m/z = 753 y 611 correspondientes a la pérdida de dos grupos rhamnosa (Rha). El espectro de RMN- ^1H (Fig. 15B; Tabla 15B) presentó mucha similitud con las señales del compuesto (**14**) (m/z = 883), con excepción de la aparición de un nuevo doblete en δ_{H} = 5.06 ppm, también se pudo observar una pequeña diferencia en el espectro de RMN- ^{13}C (Fig. 15C; Tabla 15C), en donde la señal correspondiente al metileno oxigenado H-26 [δ_{C} = 66.5 ppm, en el compuesto (**14**)] aparece ahora como un metino [confirmado por el HMQC (Fig. 15E)] desplazado a δ_{C} = 96.4 ppm. Este desapantallamiento ($\delta_{\text{C}} \approx 30$ ppm) es característico de grupos -CH doblemente oxigenados y al no observarse correlación de ningún tipo entre este metino y los hidrógenos pertenecientes a los azúcares, se asumió la presencia de un -OH libre en la posición C-26.

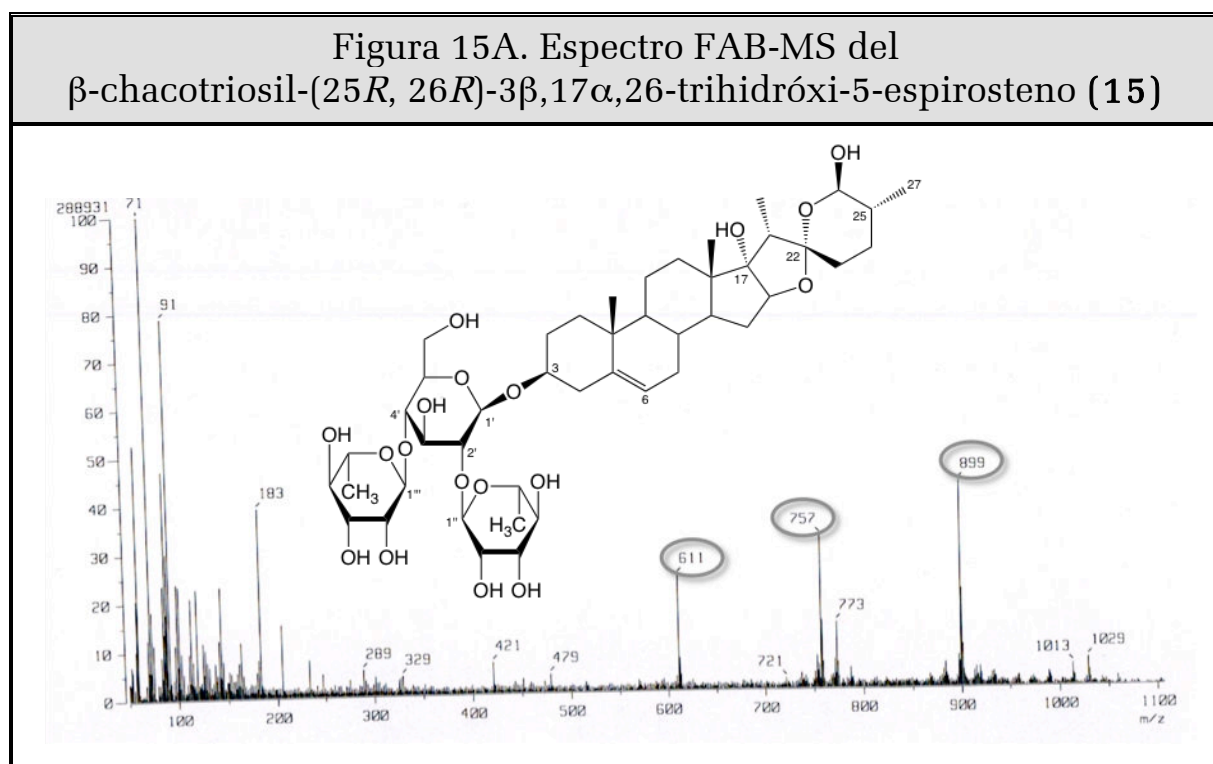


Figura 15B. Espectro de RMN- ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz) del β -chacotriosil-(25*R*, 26*R*)-3 β ,17 α ,26-trihidr3xi-5-espirosteno (**15**)

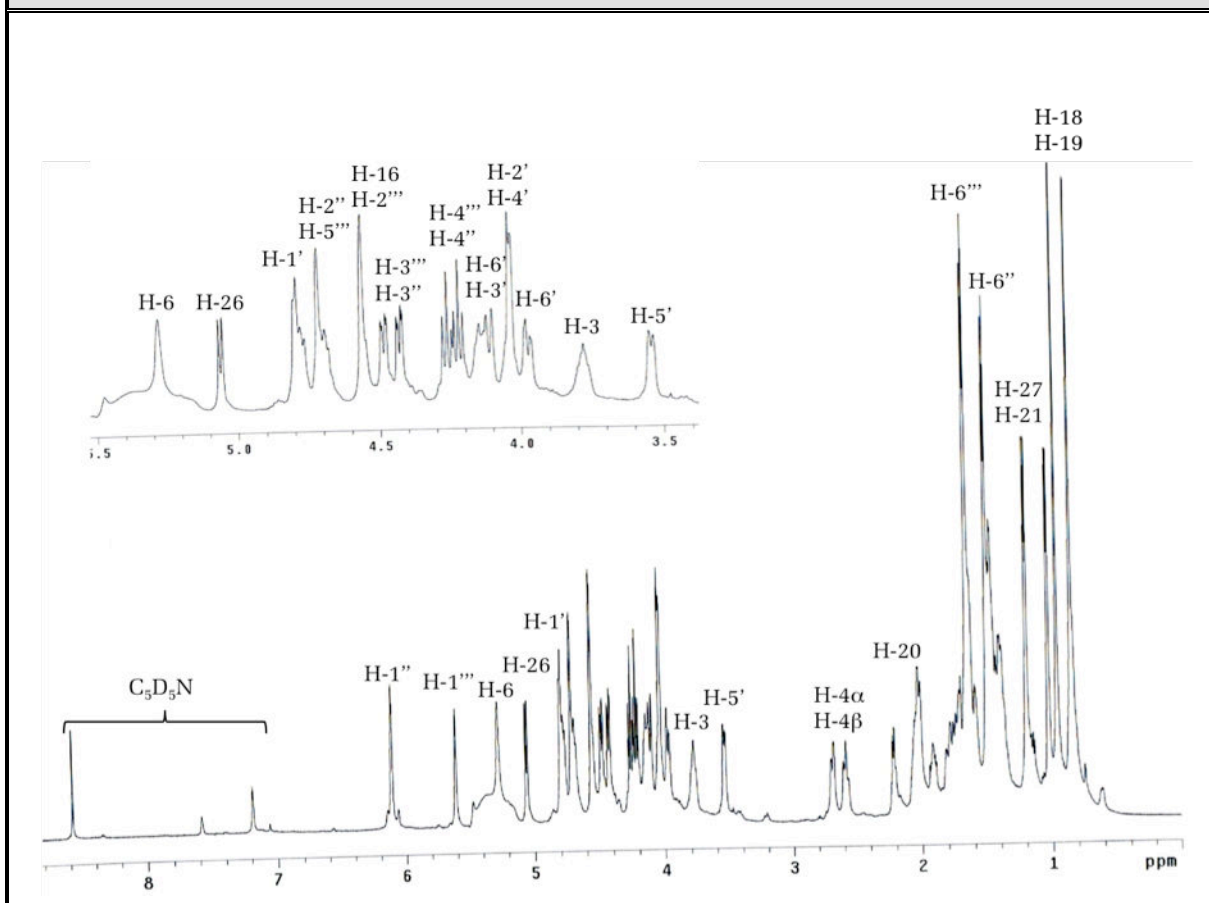


Tabla 15B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz) de la Genina del β -chacotriosil-(25*R*, 26*R*)-3 β ,17 α ,26-trihidr3xi-5-espirosteno (**15**)

H	H-3	H-6	H-9	H-14	H-16	H-18
δ (ppm)	3.78	5.28	0.74	1.92	4.55	0.82
m	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>s</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-
H	H-19	H-20	H-21	H-25	H-26	H-27
δ (ppm)	0.98	2.22	1.18	1.65	5.06	1.03
m	<i>s</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>d</i>
J (Hz)	-	-	6.7	-	6.5	4.2

Tabla 15B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) de los Azucares del β -chacotriosil-(25 <i>R</i> , 26 <i>R</i>)-3 β ,17 α ,26-trihidróxi-5-espirosteno (15)						
3-O- β -D-Glucosa						
H	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'
δ (ppm)	4.79	4.04	4.14	4.03	3.53	3.98/4.12
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>
J (Hz)	5.4	-	-	-	-	-
2'-O- β -D-Rhamnosa						
H	H-1''	H-2''	H-3''	H-4''	H-5''	H-6''
δ (ppm)	6.11	4.71	4.48	4.22	4.77	1.66
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>dd</i>	<i>t</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	1.1	-	-	-	-	5.3
4'-O- β -D-Rhamnosa						
H	H-1'''	H-2'''	H-3'''	H-4'''	H-5'''	H-6'''
δ (ppm)	5.61	4.55	4.42	4.26	4.69	1.51
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>dd</i>	<i>t</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	1.1	-	-	-	-	5.6

La presencia y ubicación del grupo (-OH) fue posteriormente confirmada mediante el análisis del espectro HMBC (Fig. 15F) y por la comparación de los espectros de masas de los compuestos (**14**) y (**15**), donde se observó una diferencia de 16 u.m.a, correspondiente al mencionado grupo.

La posición de los glicósidos y la conexión interglicosídica se pudo determinar gracias al análisis de los espectros COSY, TOCSY (Fig. 15D) y HMBC, concluyéndose una conectividad igual a la del compuesto (**14**). La interacción NOE entre H-27 α \leftrightarrow H-26 y la constante de acoplamiento observada para H-26 ($J = 5.6$ Hz), corroboraron la conformación *trans*-diaxial entre estos dos protones, lo que evidenció una configuración 25*R*, 26*R*. En consecuencia, se logró elucidar a la sponina (**15**) como: β -chacotriosil-(25*R*, 26*R*)-3 β , 17 α , 26-trihidróxi-5-espirosteno. Este compuesto fue aislado por primera vez de *Solanum nodiflorum* (Solanaceae) (Ando *et al.*, 1999) y se ha reportado para el mismo, una acción en contra de virus del herpes tipo-1 (HSV-1) ($EC_{50} = 0.92$ μ g/mL) (Ikeda *et al.*, 2000). El compuesto (**15**) es reportado por primera vez para el género *Cestrum*.

Figura 15C. Espectro de RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) del β-chacotriosil-(25*R*, 26*R*)-3β,17α,26-trihidróxi-5-espirosteno (15)

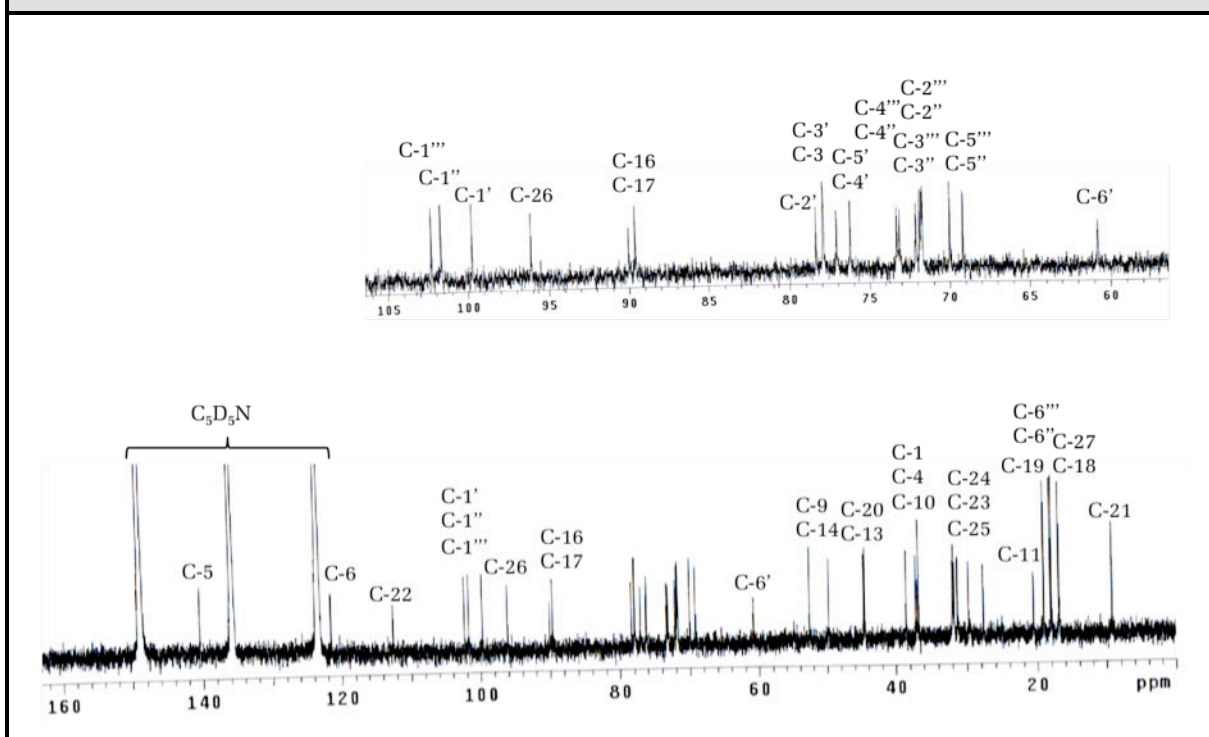


Tabla 15C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) de la Genina del β-chacotriosil-(25*R*, 26*R*)-3β,17α,26-trihidróxi-5-espirosteno (15)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	37.1	31.2	77.9	38.5	140.4	121.5	31.7
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-O-	-CH ₂ -	>C=	=CH-	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	31.8	49.7	36.7	20.5	31.7	44.7	52.6
tipo	>CH-	>CH-	>C<	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>C<	>CH-
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	31.9	89.6	90.0	16.9	19.1	44.5	9.2
tipo	-CH ₂ -	>CH-O-	>C-O-	-CH ₃	-CH ₃	>CH-	-CH ₃
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	TMS Ref. Interna
δ (ppm)	112.5	29.7	27.7	36.9	96.1	16.9	
tipo	O-C-O	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-	CH<O ₂	-CH ₃	

Tabla 15C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz) de los Azucares del β -chacotriosil-(25*R*, 26*R*)-3 β ,17 α ,26-trihidróxi-5-espirosteno (**15**)

3-O- β -D-Glucosa						
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'
δ (ppm)	99.7	78.3	77.9	77.1	76.2	60.8
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-
2'-O- β -D-Rhamnosa						
C	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''
δ (ppm)	101.6	71.8	71.9	73.1	69.9	18.1
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃
4'-O- β -D-Rhamnosa						
C	C-1'''	C-2'''	C-3'''	C-4'''	C-5'''	C-6'''
δ (ppm)	102.3	71.7	72.1	73.3	69.1	19.1
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃

Figura 15D. Espectro TOCSY ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) del β -chacotriosil-(25*R*, 26*R*)-3 β ,17 α ,26-trihidróxi-5-espirosteno (**15**)

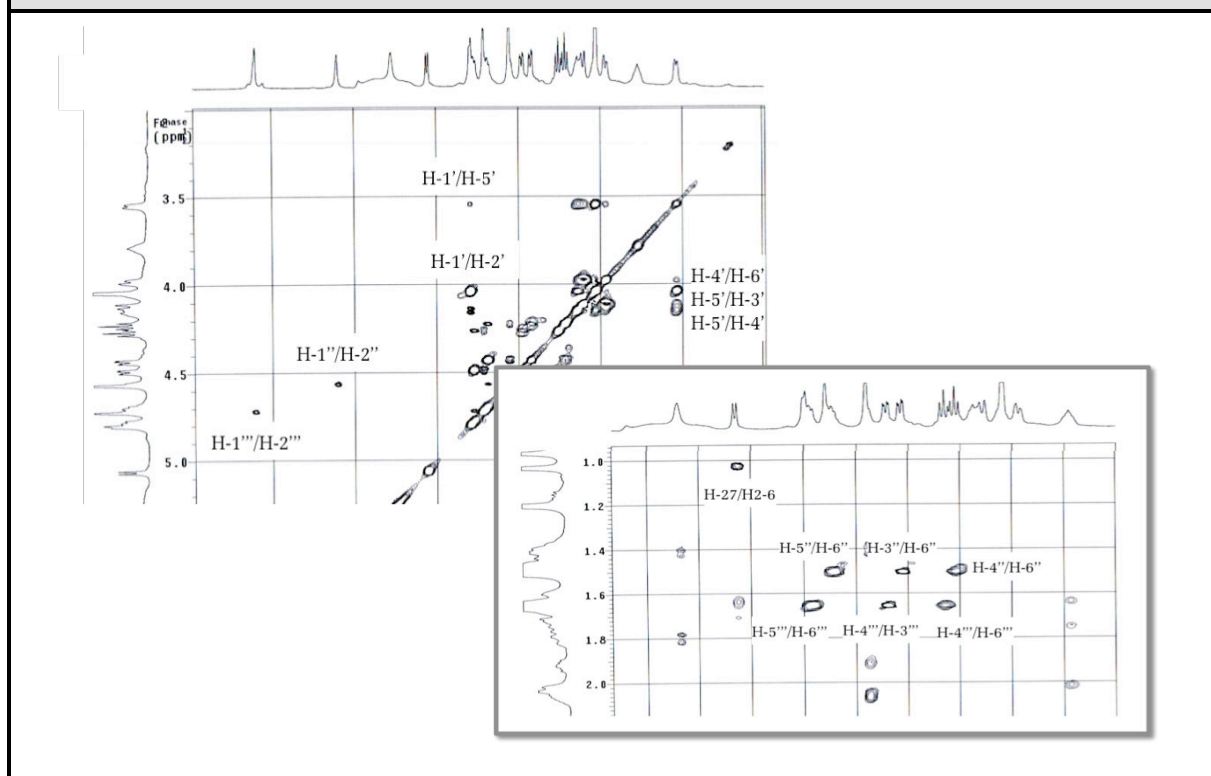


Figura 15E. Espectro HMQC (C_5D_5N) del β -chacotriosil-(25*R*, 26*R*)-3 β ,17 α ,26-trihidr3xi-5-espirosteno (15)

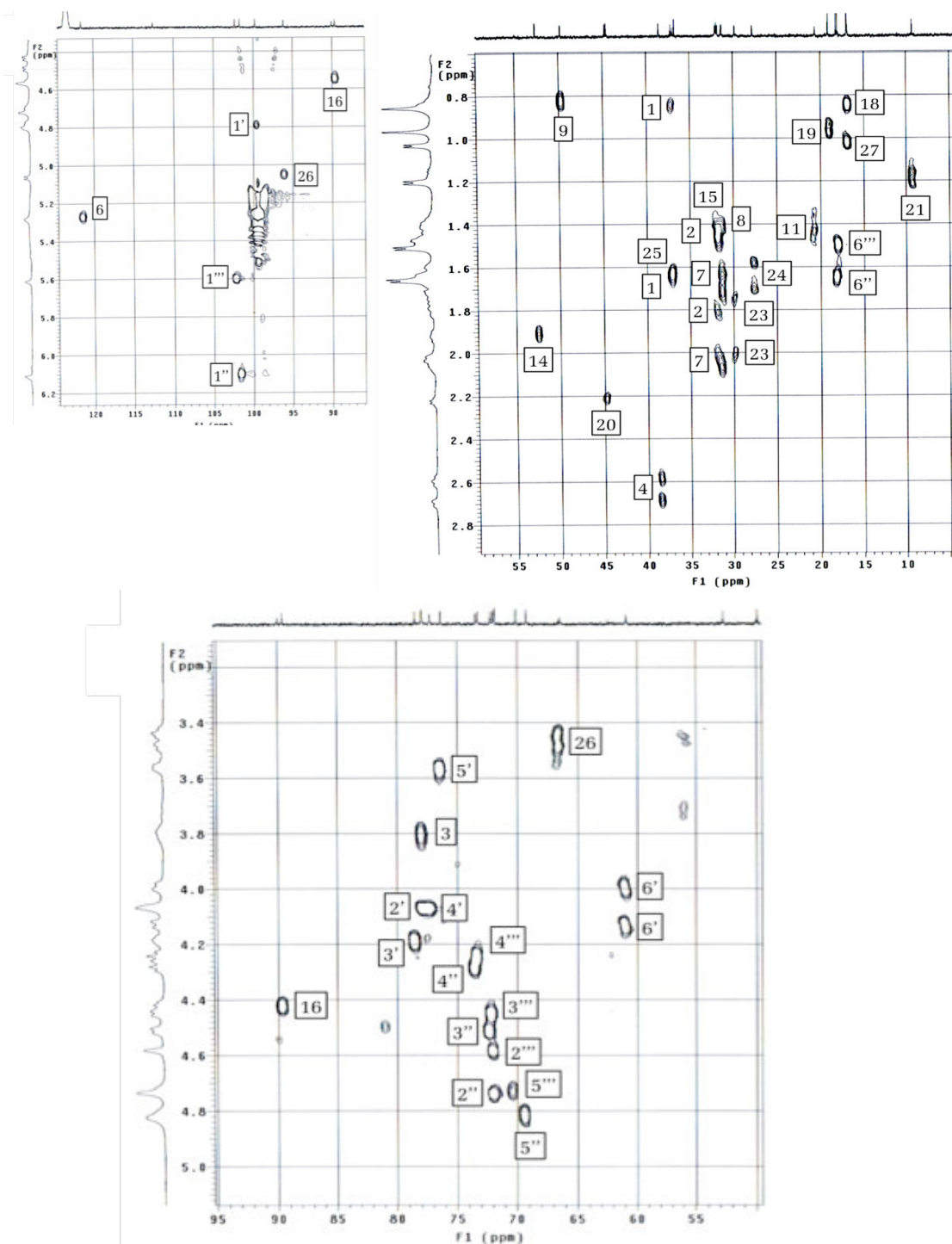


Figura 15F. Espectro HMBC (C_5D_5N) del β -chacotriosil-(25*R*, 26*R*)-3 β ,17 α ,26-trihidr3xi-5-espirosteno (15)

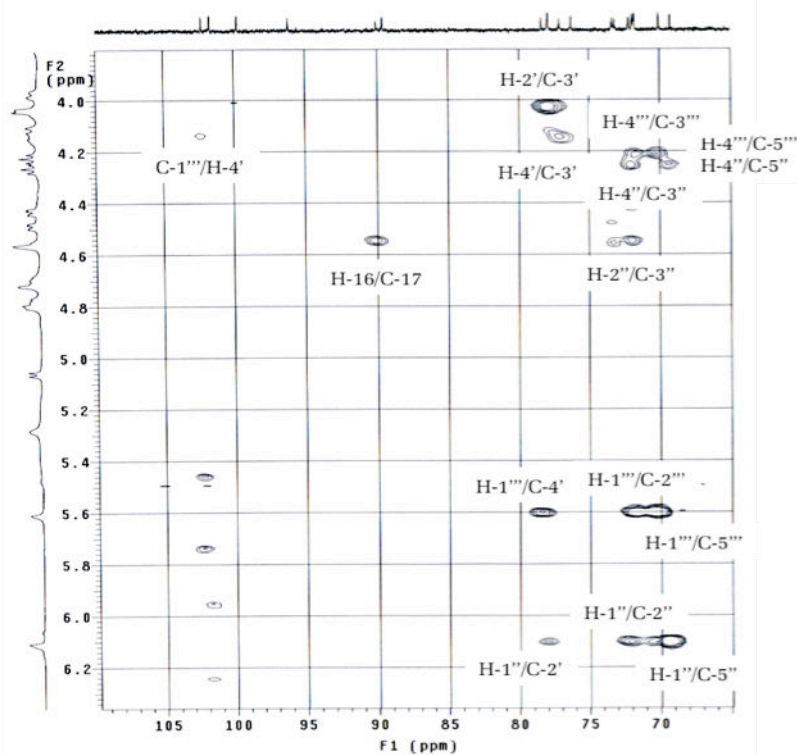
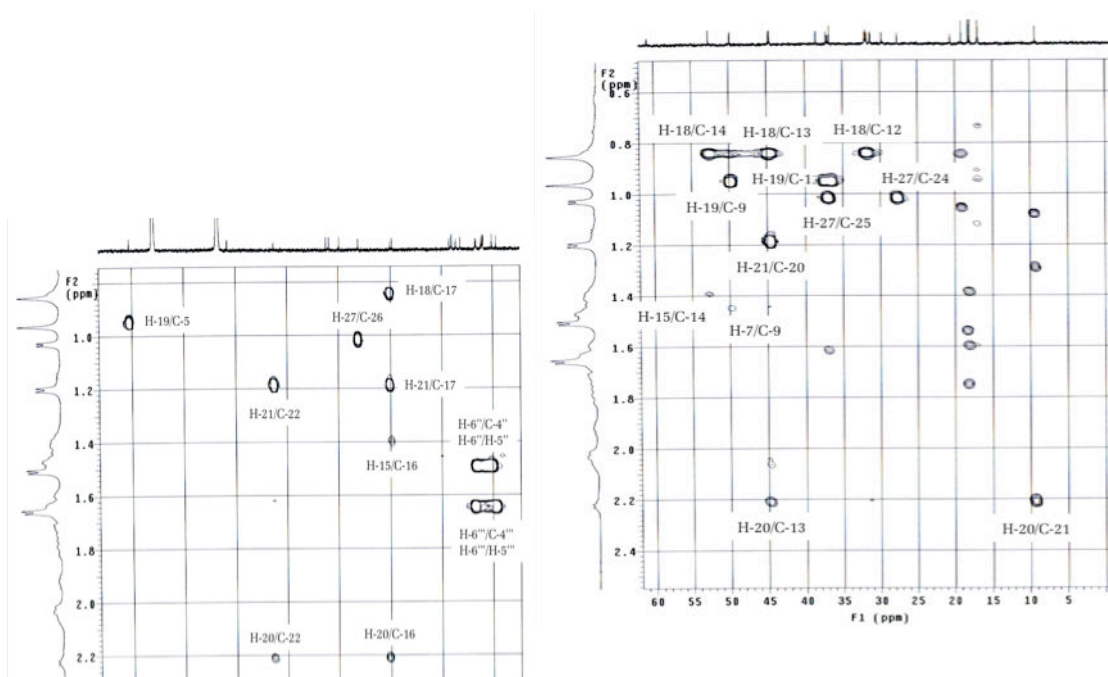
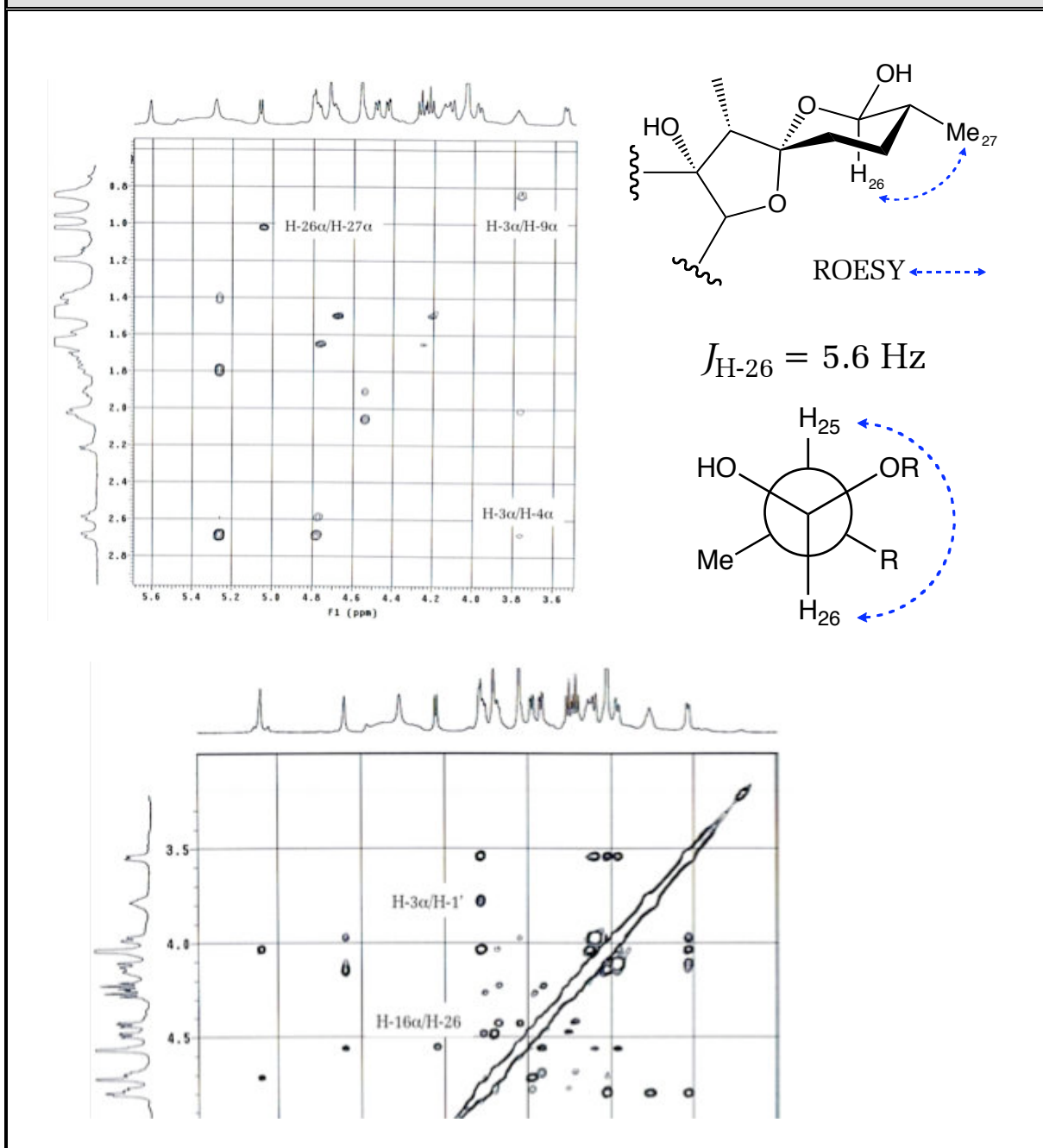
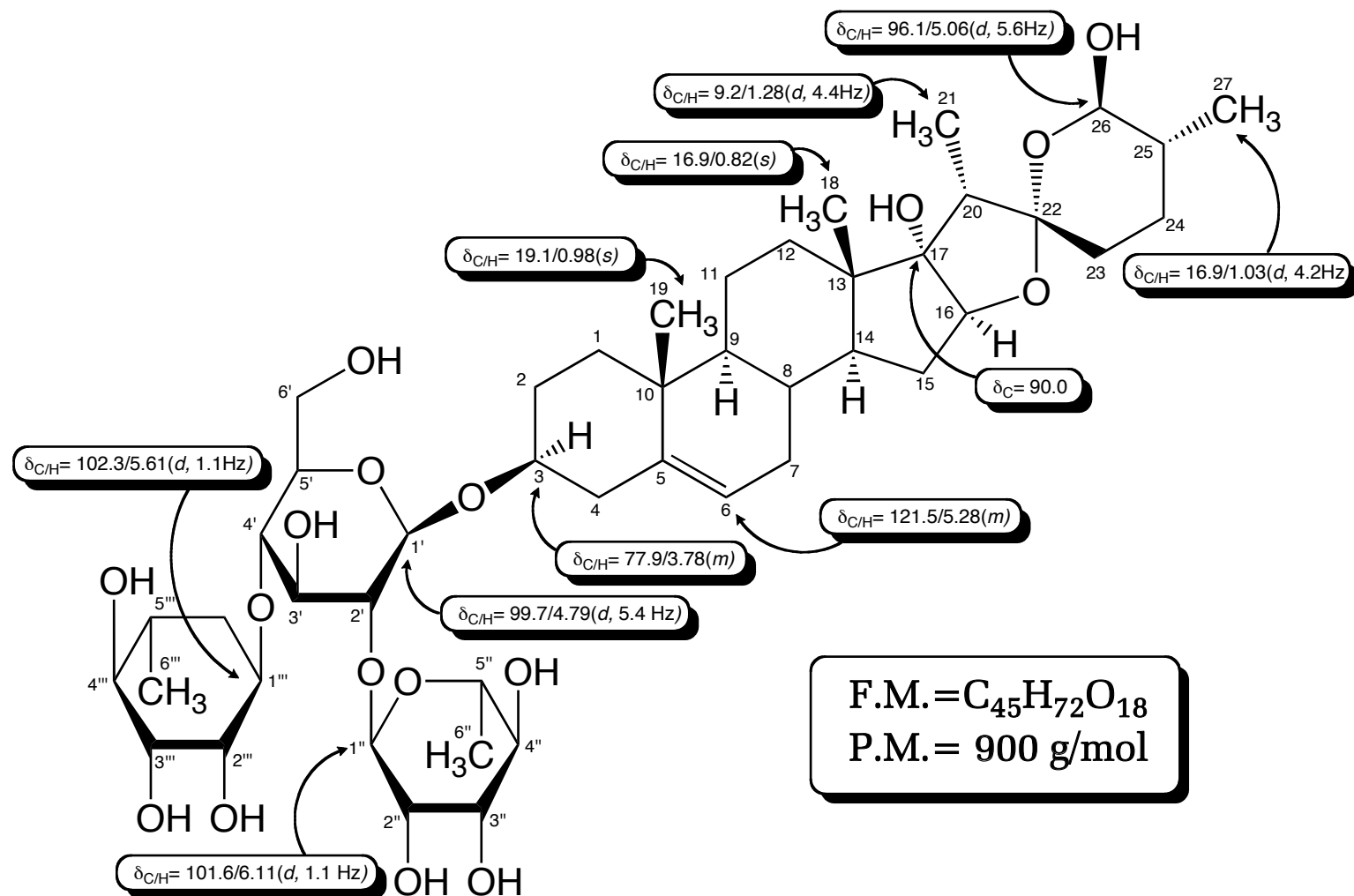


Figura 15G. Espectro ROESY (C_5D_5N) del β -chacotriosil-(25*R*, 26*R*)-3 β ,17 α ,26-trihidróxi-5-espirosteno (**15**)



β -chacotriosil-(25*R*, 26*R*)-3 β ,17 α ,26-trihidr3xi-5-espirosteno (15)



METIL-PROTODIOSCINA (16)

El glicósido (16) fue obtenido a partir de la fracción "I", subfracción "I'" de la cromatografía general, se pudo separar a través de una columna cromatográfica de gel de sílice en fase normal. Al ser revelado en placa de TLC, se mostró como una mancha pura, color verde [$R_f = 0.27$, sist. solv. $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (70:30:5); P.f. = +300 °C].

El espectro FAB-MS (Fig. 16A) del compuesto (16) presentó un ion molecular bastante intenso en $m/z = 1061$, atribuible a una fórmula molecular de $\text{C}_{52}\text{H}_{86}\text{O}_{22}$, también se observaron picos en $m/z = 915$, 753 y 607, los cuales son debidos a la pérdida consecutiva de unidades de rhamnosa (Rha), glucosa (Glc) y rhamnosa (Rha) respectivamente. El espectro de RMN- ^1H (Fig. 16B; Tabla 16B) presentó prácticamente el mismo número de señales que en los compuestos (14) y (15), con la excepción de un singlete muy intenso en $\delta_{\text{H}} = 3.21$ ppm, propio de un metilo oxigenado ($-\text{OCH}_3$). Por otro lado, el espectro de RMN- ^{13}C (Fig. 16C; Tabla 16C) presentó un total de cincuenta y dos (52) carbonos, es decir, siete (7) carbonos más que en los compuestos anteriores. Estas nuevas señales se asignaron a: una nueva unidad de glucosa (Glc) [$\delta_{\text{C}} = 104.2$ (C-1'''), 74.5 (C-2'''), 77.0 (C-3'''), 71.1 (C-4'''), 77.6 (C-5''') y 62.1 (C-6''') ppm] y a un grupo metoxilo ($\delta_{\text{C}} = 47.1$ ppm). El apantallamiento del carbono C-17 a $\delta_{\text{C}} = 63.6$ ppm, sugirió la pérdida del grupo $-\text{OH}$ en esa posición.

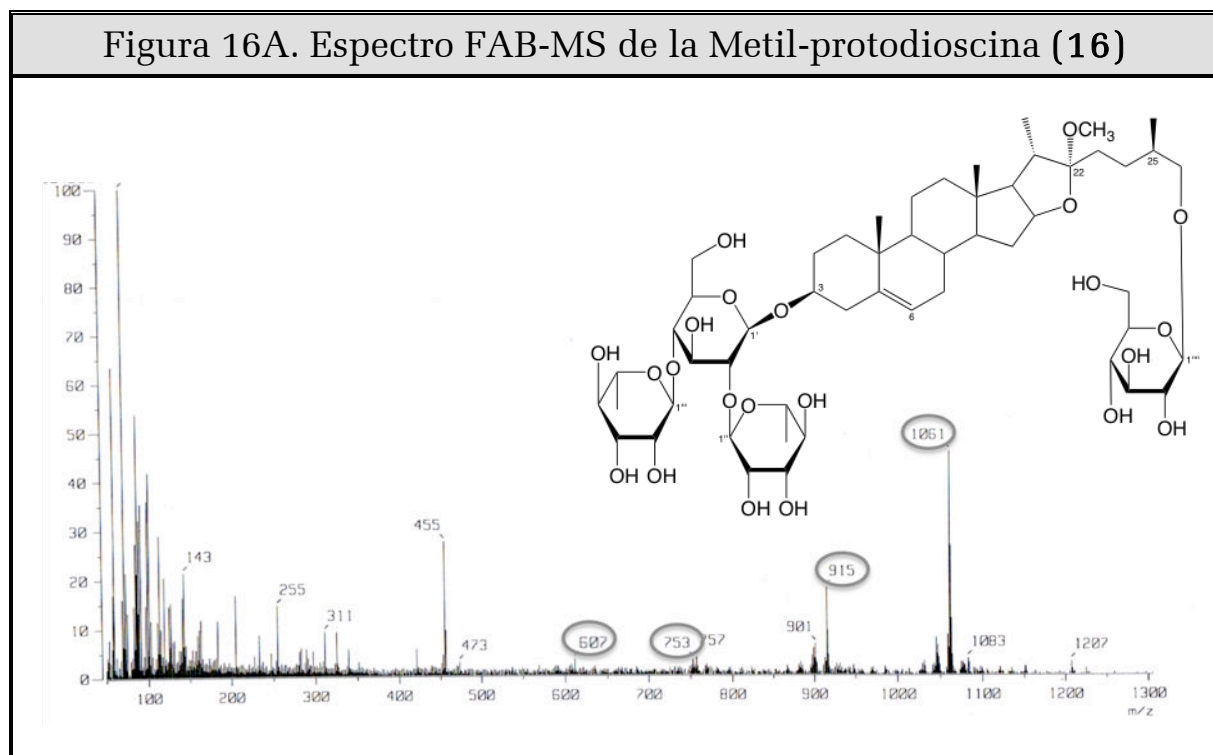


Figura 16B. Espectro de RMN-¹H (C₅D₅N, 600 MHz) de la Metil-protodioscina (16)

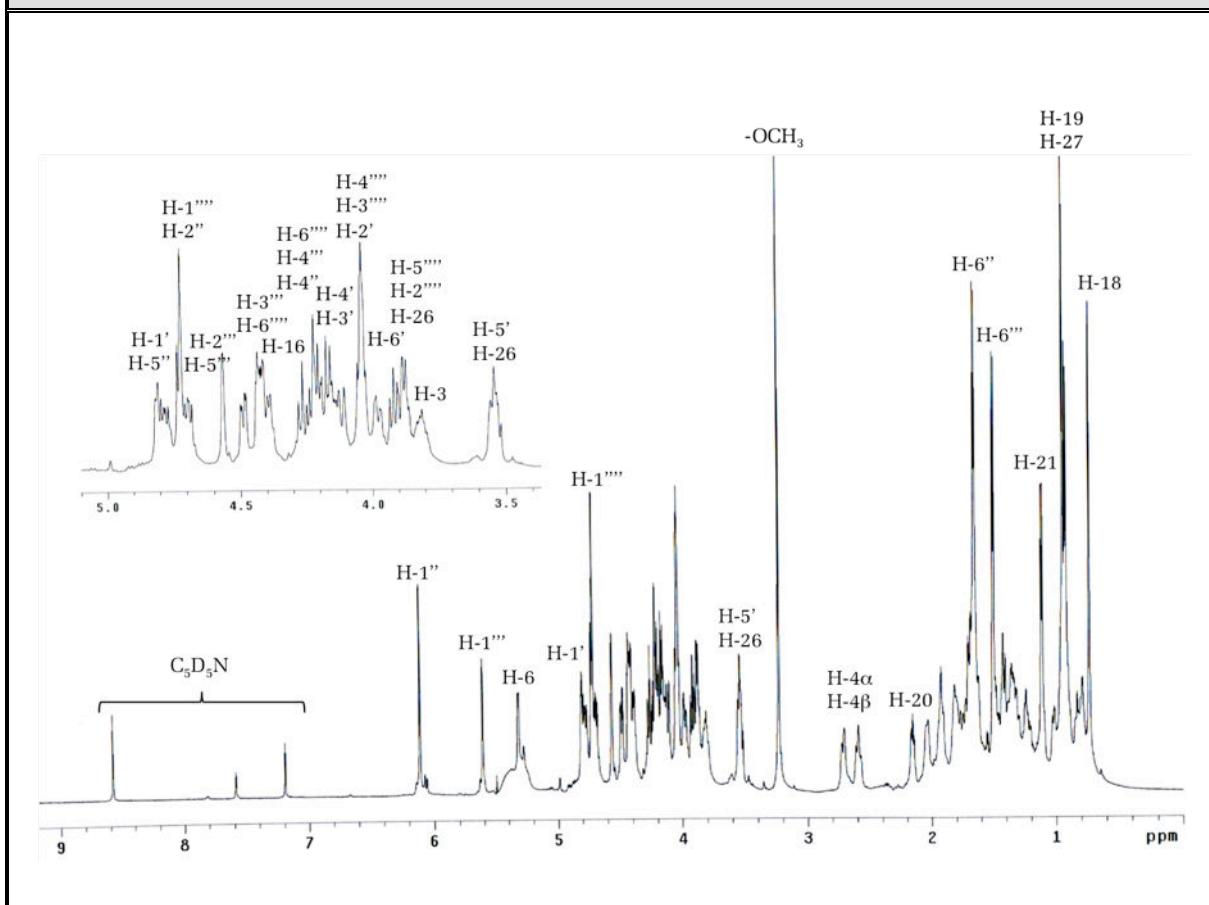


Tabla 16B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H (C₅D₅N, 600 MHz) de la Genina de la Metil-protodioscina (16)

H	H-3	H-6	H-9	H-14	H-16	H-18
δ (ppm)	3.81	5.32	0.79	0.87	4.39	0.74
m	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>s</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-
H	H-19	H-20	H-21	H-25	H-27	-OCH ₃
δ (ppm)	0.94	2.16	1.12	1.81	0.92	3.21
m	<i>s</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>s</i>
J (Hz)	-	-	6.9	-	6.7	-

Tabla 16B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz) de los Azúcares de la Metil-protodioscina (16)						
3-O- β -D-Glucosa						
H	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'
δ (ppm)	4.81	4.04	4.16	4.18	3.55	3.98/4.11
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-
2'-O- β -D-Rhamnosa						
H	H-1''	H-2''	H-3''	H-4''	H-5''	H-6''
δ (ppm)	6.12	4.71	4.48	4.24	4.77	1.65
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	5.7
4'-O- β -D-Rhamnosa						
H	H-1'''	H-2'''	H-3'''	H-4'''	H-5'''	H-6'''
δ (ppm)	5.11	4.57	4.43	4.21	4.69	1.50
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	5.6
26-O- β -D-Glucosa						
H	H-1''''	H-2''''	H-3''''	H-4''''	H-5''''	H-6''''
δ (ppm)	4.73	3.92	4.04	4.06	3.90	4.19/4.43
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-

El espectro HMQC (Fig. 16E) permitió la asignación de cada nuevo carbono con su respectivo hidrógeno, mientras que el TOCSY (Fig. 16D) permitió la asignación inequívoca de cada protón dentro de la molécula, con lo que se corroboró la presencia de esta nueva unidad de glucosa (Glc). La correlación HMBC (Fig. 16F) entre el metilo oxigenado y un carbono cetálico en $\delta_{\text{C}} = 112.6$ ppm ($-\text{OCH}_3 \leftrightarrow \text{C}-22$) permitió la ubicación del grupo metoxilo en la posición C-22 de la aglicona y el desapantallamiento del carbono C-26 a $\delta_{\text{C}} = 74.9$ ppm, indicó la ruptura del anillo espiroestánico, concluyéndose entonces la presencia de un esqueleto tipo furostano. Los cruces $\text{H}-26 \leftrightarrow \text{C}-1'''$ (HMBC) y $\text{H}-26 \leftrightarrow \text{H}-1''''$ (TOCSY y NOESY), ubicaron a esta nueva unidad de glucosa en el carbono C-26 de la cadena carbonada del furostano. La disposición del grupo $-\text{OCH}_3$ se determinó alfa (α) gracias a la interacción NOE entre éste y los hidrógenos $\text{H}-17\alpha$ y $\text{H}-16\alpha$ de la aglicona.

Figura 16C. Espectro de RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) de la Metil-protodioscina (16)

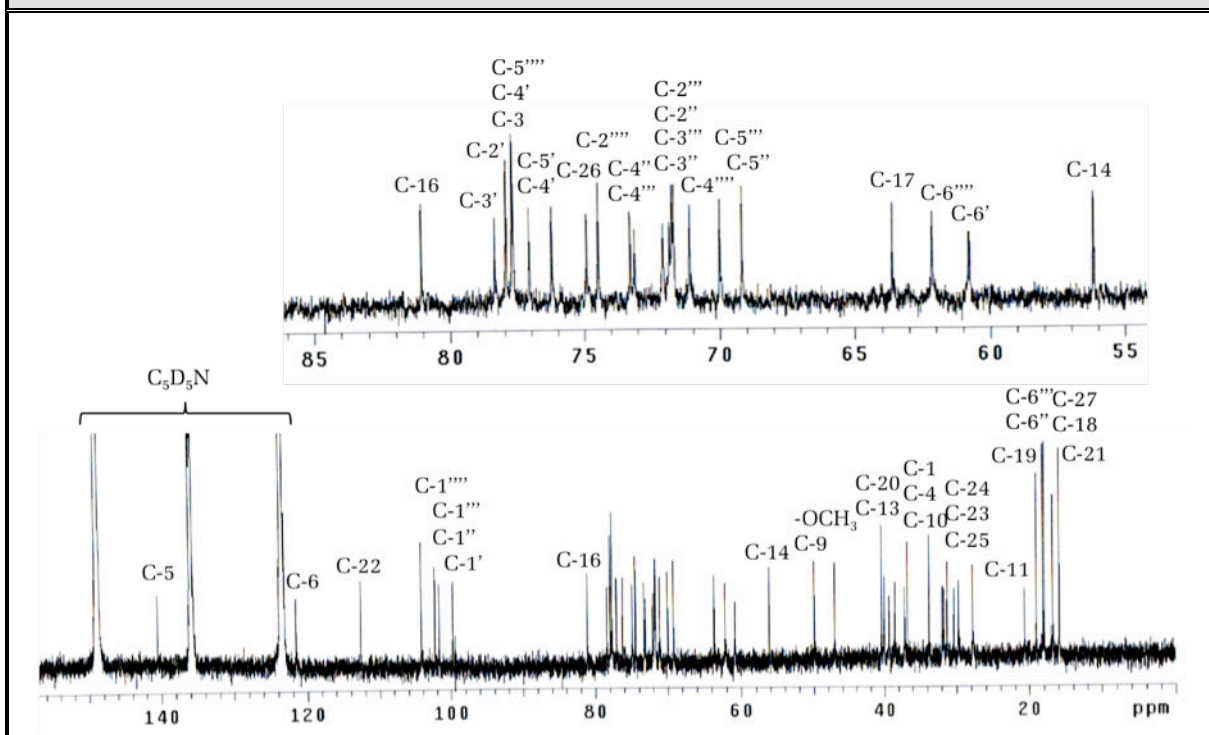


Tabla 16C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) de la Genina de la Metil-protodioscina (16)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	37.1	29.7	77.7	38.5	140.5	121.5	31.7
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-O-	-CH ₂ -	>C=	=CH-	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	31.2	49.9	36.7	20.6	39.3	40.4	56.2
tipo	>CH-	>CH-	>C<	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>C<	>CH-
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	31.9	81.0	63.6	15.9	19.0	40.1	15.9
tipo	-CH ₂ -	>CH-O-	>C-O-	-CH ₃	-CH ₃	>CH-	-CH ₃
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28
δ (ppm)	112.6	30.4	27.7	33.7	74.9	16.8	47.1
tipo	O-C-O	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-	-CH ₂ -O-	-CH ₃	-OCH ₃

Tabla 16C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz) de los Azúcares de la Metil-protodioscina (16)						
3-O- β -D-Glucosa						
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'
δ (ppm)	99.7	77.9	78.3	77.6	76.2	60.8
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-
2'-O- β -D-Rhamnosa						
C	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''
δ (ppm)	101.7	71.7	72.1	73.3	69.1	18.1
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃
4'-O- β -D-Rhamnosa						
C	C-1'''	C-2'''	C-3'''	C-4'''	C-5'''	C-6'''
δ (ppm)	102.3	71.7	71.9	73.1	70.0	19.7
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃
26-O- β -D-Glucosa						
C	C-1''''	C-2''''	C-3''''	C-4''''	C-5''''	C-6''''
δ (ppm)	104.2	74.5	77.0	71.1	76.6	62.1
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-

La configuración (25*R*) fue deducida al comparar los valores de desplazamiento químico (δ) de los carbonos C-25 (33.7 ppm), C-26 (74.9 ppm) y C-27 (16.8 ppm) con los reportados en la literatura (Agrawal, 2004) y fue confirmada por la diferencia entre los desplazamientos químicos de H_a-26 y H_b-26 ($\delta_a - \delta_b = 0.36$) ya que ésta diferencia es usualmente de $\delta > 0.57$ para una configuración (25*S*) y $\delta < 0.48$ para configuraciones (25*R*) (Agrawal, 2003). Una vez establecida la estereoquímica, se pudo identificar al compuesto (**16**) como: 26-O- β -glucopiranosil (22, 25*R*)-22-metoxi-3 β , 26-dihidróxi-5-furosten- β -chacotriósido, el cual es comúnmente conocido como “metil-protodioscina”. Fue aislado por primera vez de los rizomas de *Dioscorea gracillima* (Dioscoreaceae) (Kawasaki *et al.*, 1974) y es además reportado por primera vez para el género *Cestrum*.

Figura 16D. Espectro TOCSY (C_5D_5N) de la Metil-protodioscina (16)

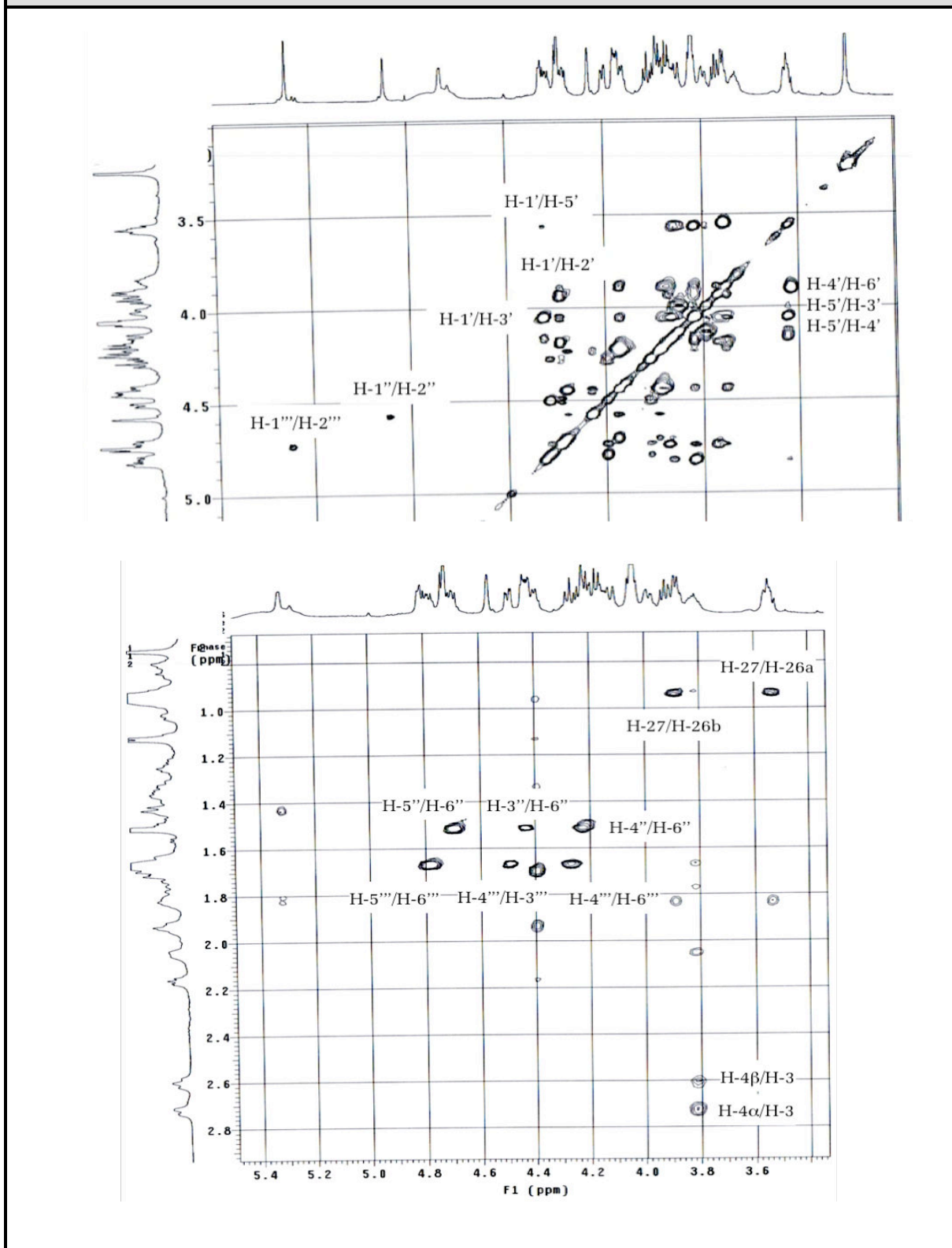


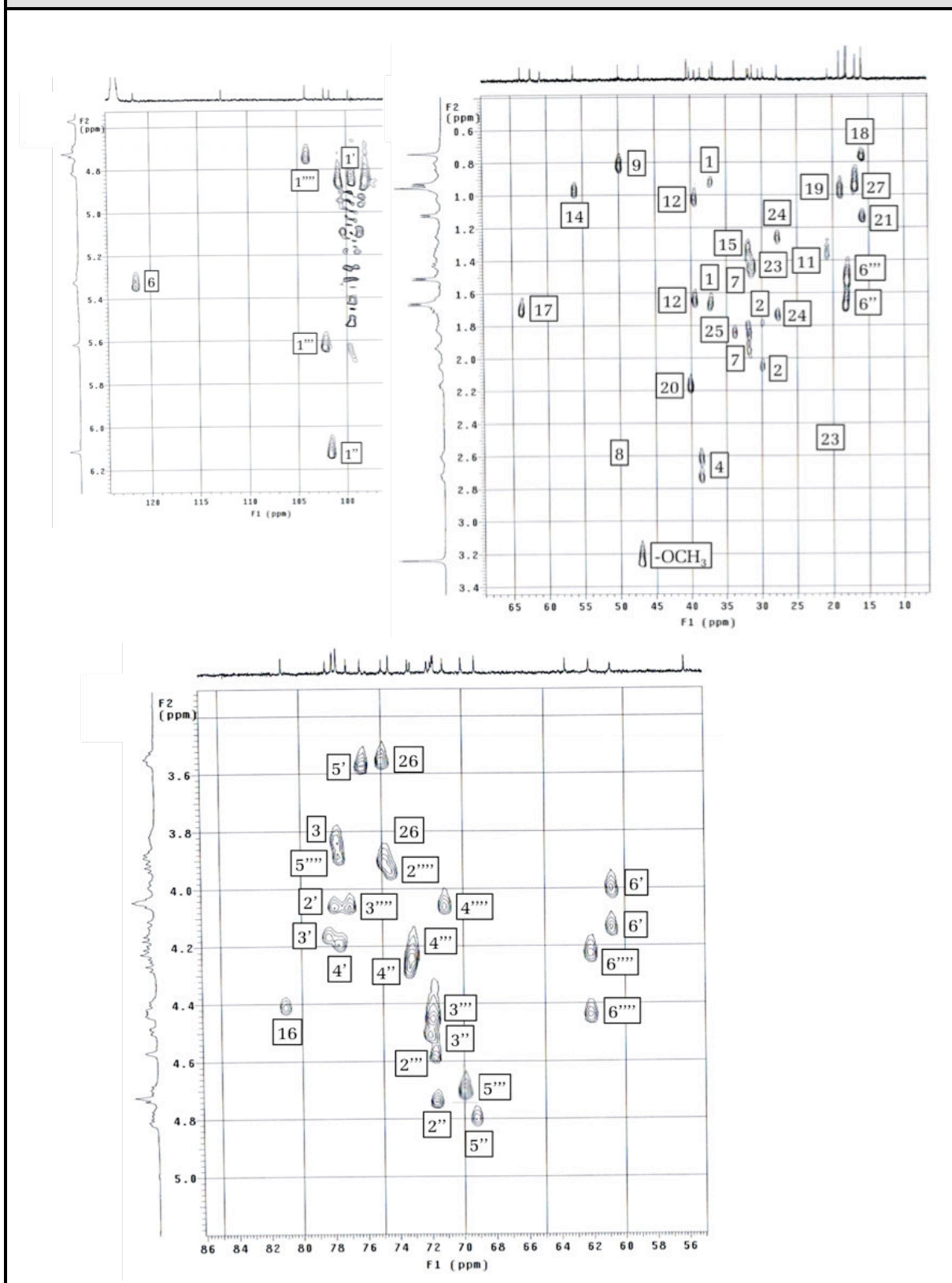
Figura 16E. Espectro HMQC (C_5D_5N) de la Metil-protodioscina (16)

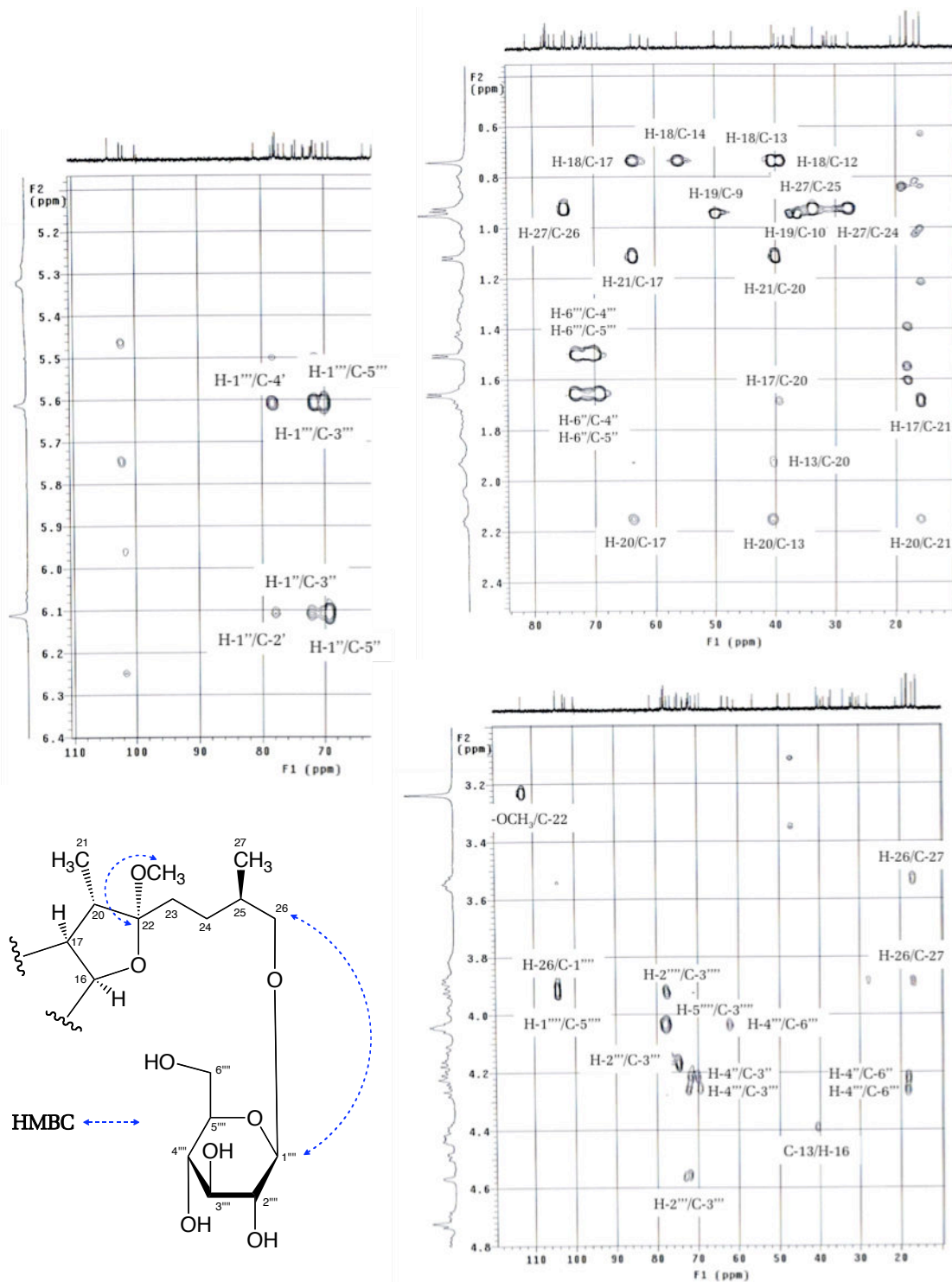
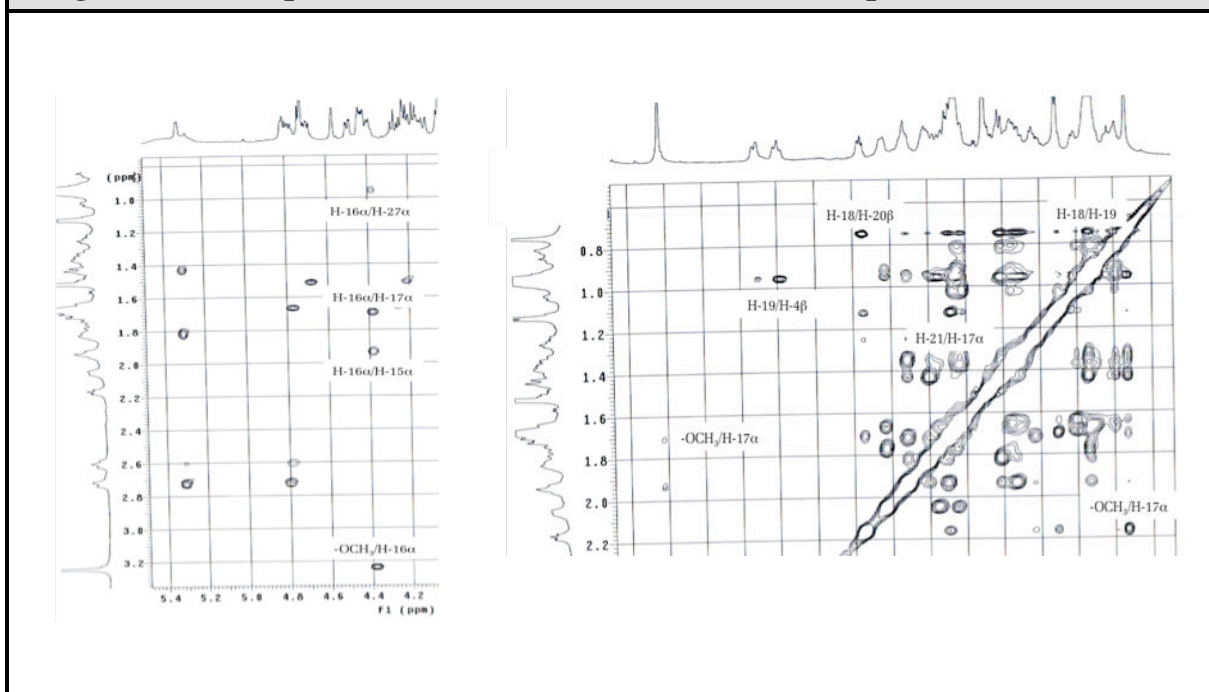
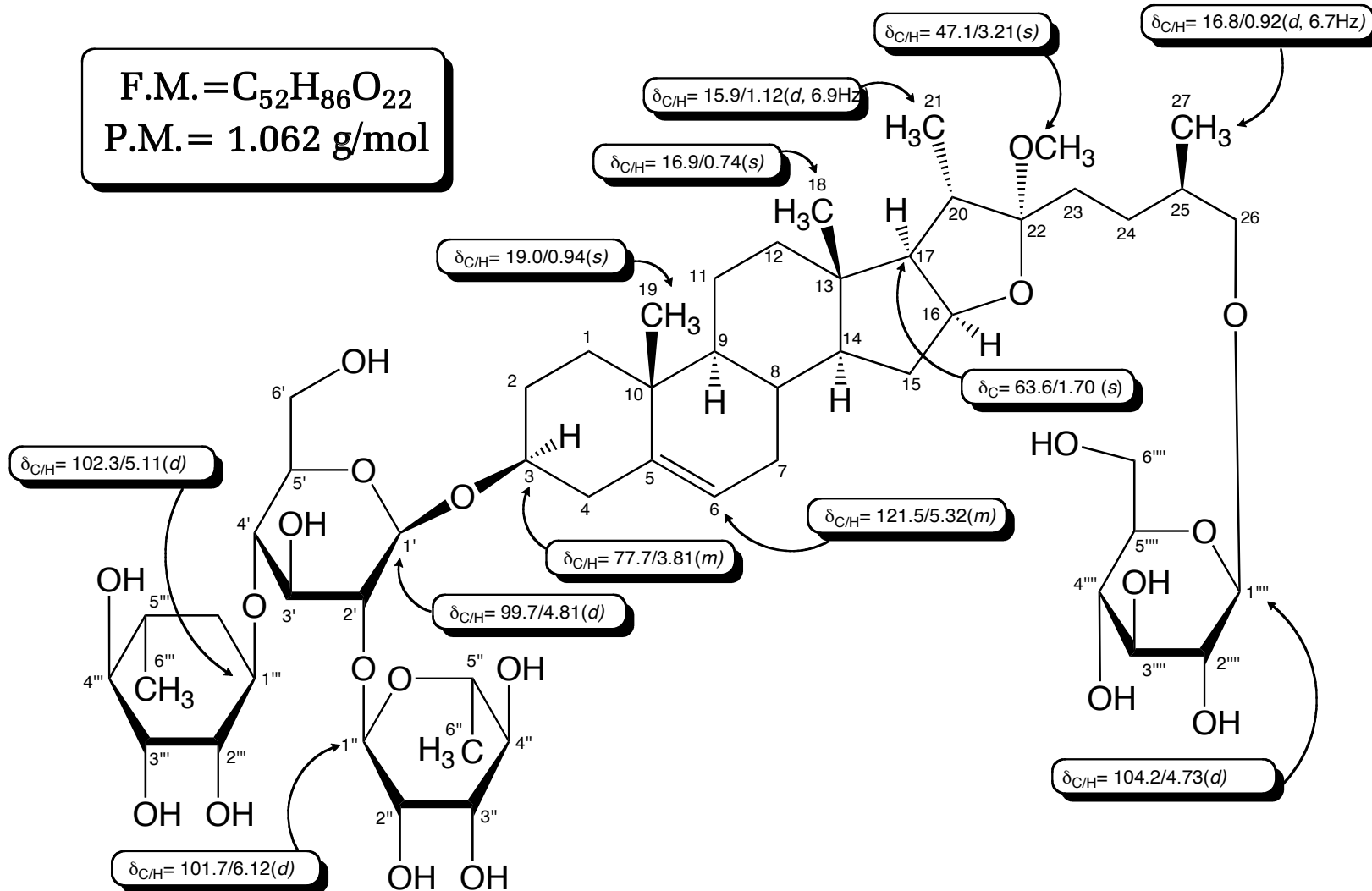
Figura 16F. Espectro HMBC (C_5D_5N) de la Metil-protodioscina (16)

Figura 16G. Espectro ROESY (C_5D_5N) de la Metil-protodioscina (16)

Metil-protodioscina (16)

F.M. = $C_{52}H_{86}O_{22}$
P.M. = 1.062 g/mol



β -CHACOTRIOSIL (22, 25*R*)-3 β , 17 α , 22, 26-TETARHIDRÓXI-5-FUOSTEN-26-O- β -GLUCOPIRANÓSIDO (**17**)

El compuesto (**17**) fue separado de la fracción "I" de la cromatografía general, por medio de una columna cromatográfica de sílica gel en fase normal. Se obtuvo como un sólido amorfo de color blanco y reveló en TLC como una mancha pura de color verde [R_f = 0.18, sist. solv. $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (70:30:5); P.f.= +300 °C].

El ion molecular de m/z = 1.063, mostrado por el espectro FAB-MS (Fig. 17A), sugirió una fórmula molecular de $\text{C}_{51}\text{H}_{84}\text{O}_{23}$, mientras que los picos presentes en m/z = 901, 757 y 611, evidenciaron claramente la pérdida de un grupo glucosa (Glc) y dos grupos rhamnosa (Rha). El espectro de RMN- ^1H (Fig. 17B; Tabla 17B), presentó las mismas señales que el compuesto (**16**), con la excepción del singlete intenso en δ_{H} = 3.21 ppm (-OCH₃), el cual no se observó en este caso. El espectro de RMN- ^{13}C (Fig. 17C; Tabla 17C), corroboró estas aseveraciones al observarse un total de cincuenta y un (51) carbonos, uno menos que para el compuesto (**16**). Por otro lado, se observó nuevamente el carbono cuaternario en δ_{C} = 90.4 ppm, característico del carbono hidroxilado en la posición C-17. El análisis posterior de los espectros COSY, TOCSY (Fig. 17D), HMQC (Fig. 17E) y HMBC (Fig. 17F) confirmaron las predicciones propuestas.

Figura 17A. Espectro FAB-MS del β -chacotriosil (22, 25*R*)-3 β , 17 α , 22, 26-tetarhidróxi-5-furosten-26-O- β -glucopiranosido (**17**)

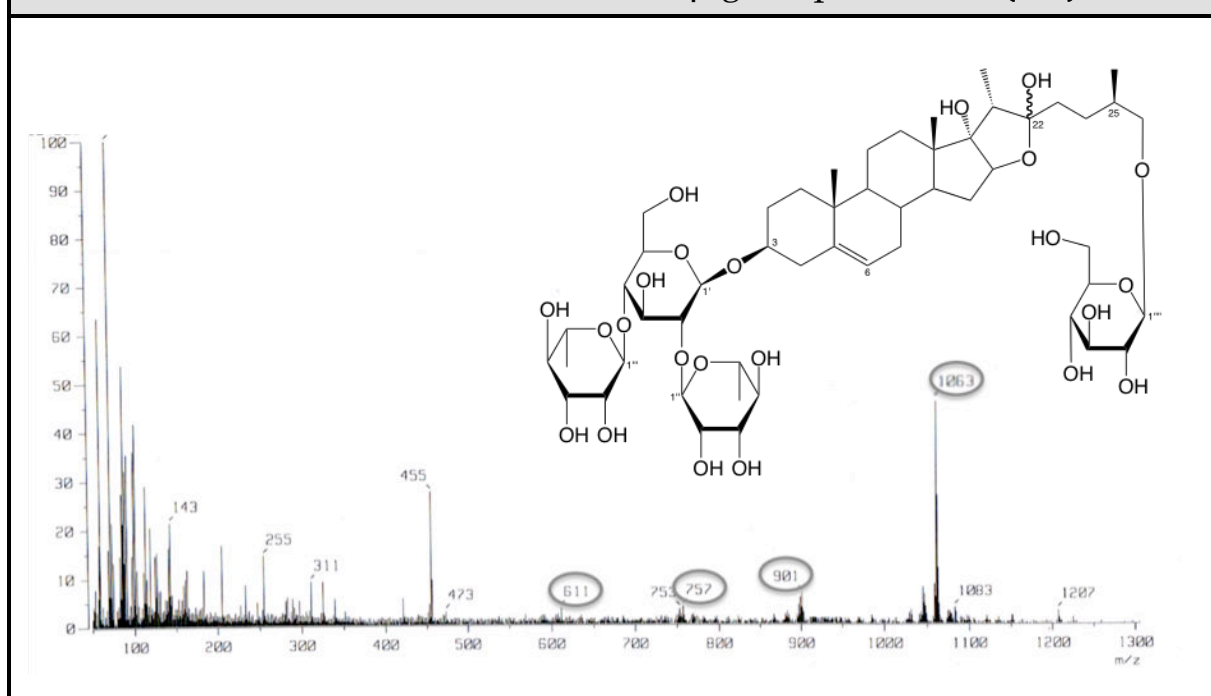


Figura 17B. Espectro de RMN-¹H (C₅D₅N, 600 MHz) del β-chacotriosil (22, 25*R*)-3β, 17α, 22, 26-tetarhidróxi-5-furosten-26-O-β-glucopiranósido (17)

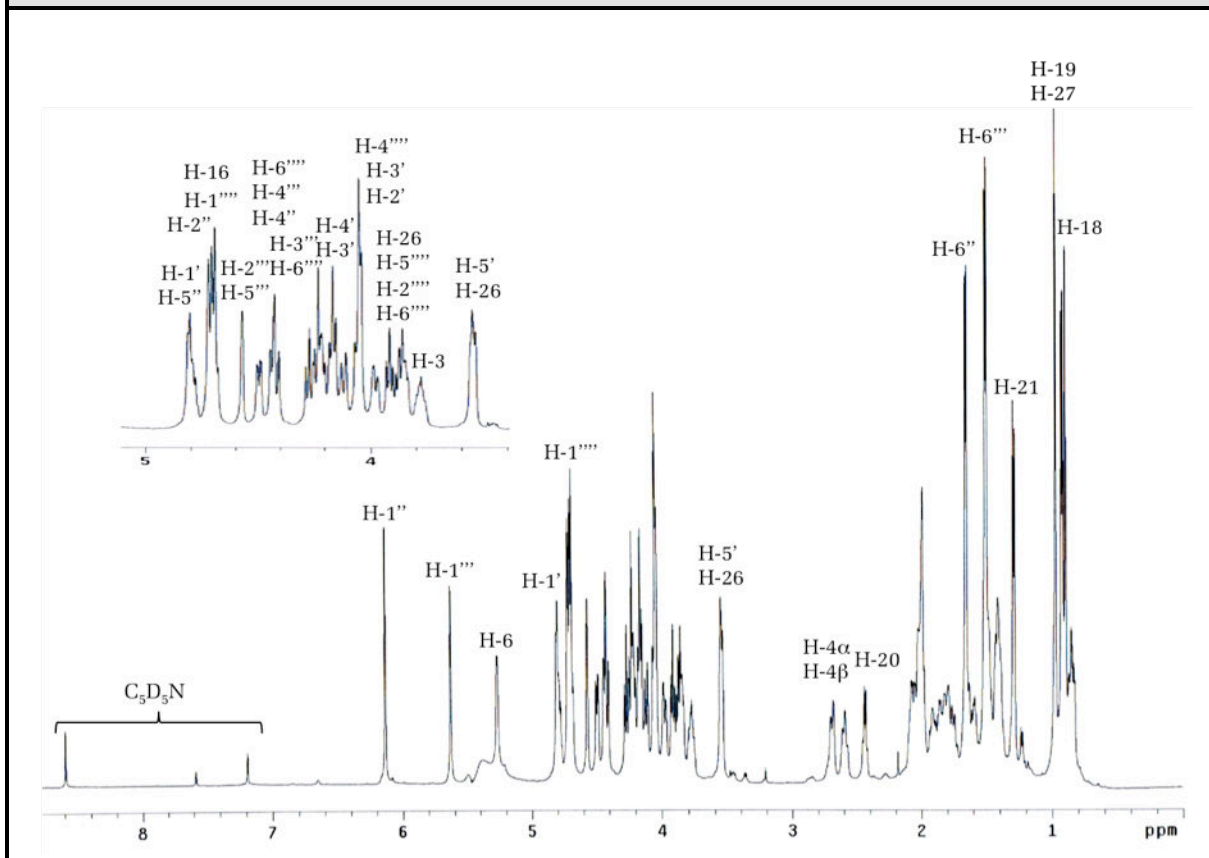


Tabla 17B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H (C₅D₅N, 600 MHz) de la Genina del β-chacotriosil (22, 25*R*)-3β, 17α, 22, 26-tetarhidróxi-5-furosten-26-O-β-glucopiranósido (17)

H	H-3	H-6	H-8	H-9	H-14	H-16
δ (ppm)	3.78	5.26	1.39	0.83	1.92	4.69
m	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-
H	H-18	H-19	H-20	H-21	H-25	H-27
δ (ppm)	0.85	0.90	2.45	1.24	1.85	0.91
m	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	-	-	-	6.7	-	6.7

Tabla 17B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) de los Azúcares del β -chacotriosil (22, 25 <i>R</i>)-3 β , 17 α , 22, 26-tetrahidróxi-5-furosten-26-O- β -glucopiranosido (17)						
3-O- β -D-Glucosa						
H	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'
δ (ppm)	4.81	4.04	4.04	4.16	3.54	4.21/4.43
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-
2'-O- β -D-Rhamnosa						
H	H-1''	H-2''	H-3''	H-4''	H-5''	H-6''
δ (ppm)	6.13	4.69	4.49	4.26	4.78	1.63
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	5.6
4'-O- β -D-Rhamnosa						
H	H-1'''	H-2'''	H-3'''	H-4'''	H-5'''	H-6'''
δ (ppm)	5.63	4.57	4.44	4.22	4.68	1.50
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	5.5
26-O- β -D-Glucosa						
H	H-1''''	H-2''''	H-3''''	H-4''''	H-5''''	H-6''''
δ (ppm)	4.70	3.92	4.16	4.04	3.85	3.97/4.11
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-

Los desplazamientos de RMN-¹³C de los carbonos C-16 y C-21, nuevamente fueron concordantes con los valores reportados para moléculas con el grupo -OH en disposición alfa (α). Por otro lado, la disposición del grupo -OH en C-22 permaneció incierta debido a que no se observan interacciones NOE para el mismo, mientras que la configuración (25*R*) se mantuvo [H-26: δ_a - δ_b = 0.29 (<0.48)] (Agrawal, 2003; 2004). Así pues, se concluye el compuesto (**17**) como: β -chacotriosil (22, 25*R*)-3 β , 17 α , 22, 26-tetrahidróxi-5-furosten-26-O- β -glucopiranosido. Esta saponina fue obtenida de la especie *Solanum nodiflorum* (Solanaceae) (Ando *et al.*, 1999) y los reportes indican que posee mediana actividad anti-herpes tipo-1 (EC₅₀ = 7.80 μ g/mL) (Ikeda *et al.*, 2000). Es la primera vez que el compuesto (**17**) es aislado dentro del género *Cestrum*.

Figura 17C. Espectro de RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) del β-chacotriosil (22, 25*R*)-3β, 17α, 22, 26-tetarhidróxi-5-furosten-26-O-β-glucopiranósido (17)

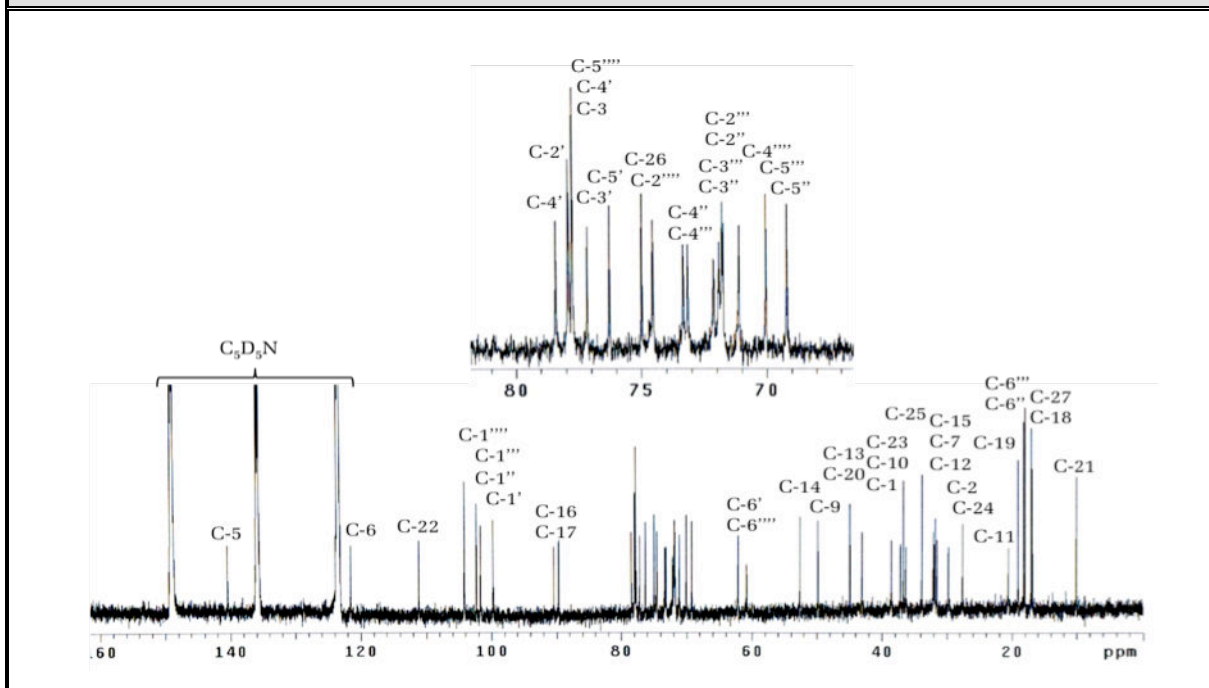


Tabla 17C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) de la Genina del β-chacotriosil (22, 25*R*)-3β, 17α, 22, 26-tetarhidróxi-5-furosten-26-O-β-glucopiranósido (17)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	36.3	29.8	77.3	38.5	140.4	121.5	32.1
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-O-	-CH ₂ -	>C=	=CH-	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	31.8	49.8	36.7	20.6	31.9	44.9	52.6
tipo	>CH-	>CH-	>C<	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>C<	>CH-
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	31.5	89.7	90.4	16.9	19.1	43.0	10.1
tipo	-CH ₂ -	>CH-O-	>C-O-	-CH ₃	-CH ₃	>CH-	-CH ₃
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	TMS Ref. interna
δ (ppm)	111.2	37.1	27.6	33.8	75.2	17.0	
tipo	O-C-O	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-	-CH ₂ -O-	-CH ₃	

Tabla 17C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz) de los Azucres del β -chacotriosil (22, 25 <i>R</i>)- 3β , 17 α , 22, 26-tetarhidróxi-5-furosten-26-O- β -glucopiranosido (17)						
3-O- β -D-Glucosa						
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'
δ (ppm)	99.8	77.9	77.1	78.4	76.1	62.2
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-
2'-O- β -D-Rhamnosa						
C	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''
δ (ppm)	101.7	71.7	72.1	73.3	69.1	18.1
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃
4'-O- β -D-Rhamnosa						
C	C-1'''	C-2'''	C-3'''	C-4'''	C-5'''	C-6'''
δ (ppm)	102.3	71.8	71.9	73.2	70.0	18.0
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃
26-O- β -D-Glucosa						
C	C-1''''	C-2''''	C-3''''	C-4''''	C-5''''	C-6''''
δ (ppm)	104.2	74.5	77.7	71.1	77.6	60.8
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-

Figura 17D. Espectro TOCSY (C_5D_5N) del β -chacotriosil (22, 25R)- 3β , 17 α , 22, 26-tetarhidróxi-5-furosten-26-O- β -glucopiranosido (17)

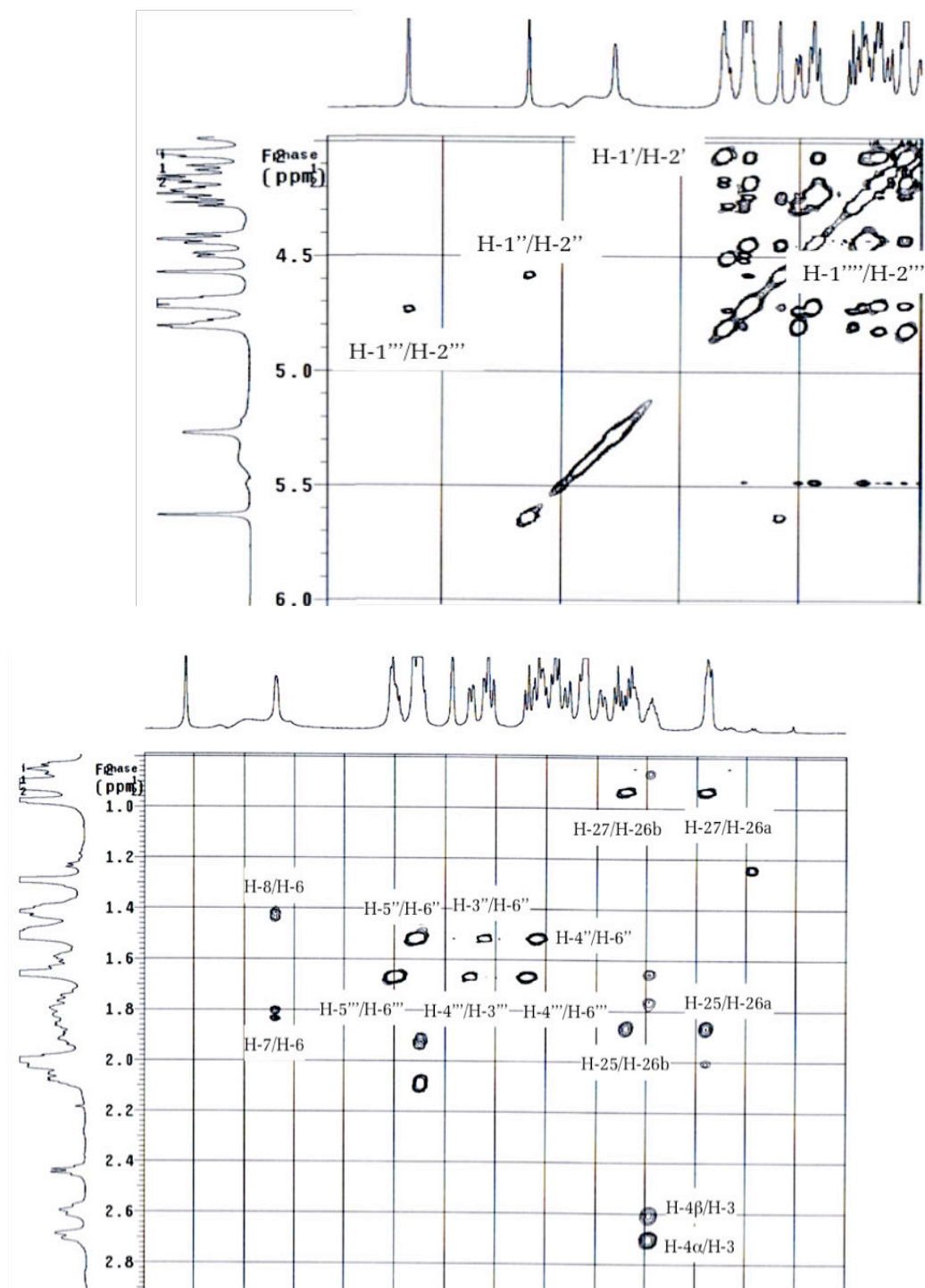


Figura 17E. Espectro HMQC (C_5D_5N) del β -chacotriosil (22, 25R)- β , 17 α , 22, 26-tetrahidróxi-5-furosten-26-O- β -glucopiranosido (17)

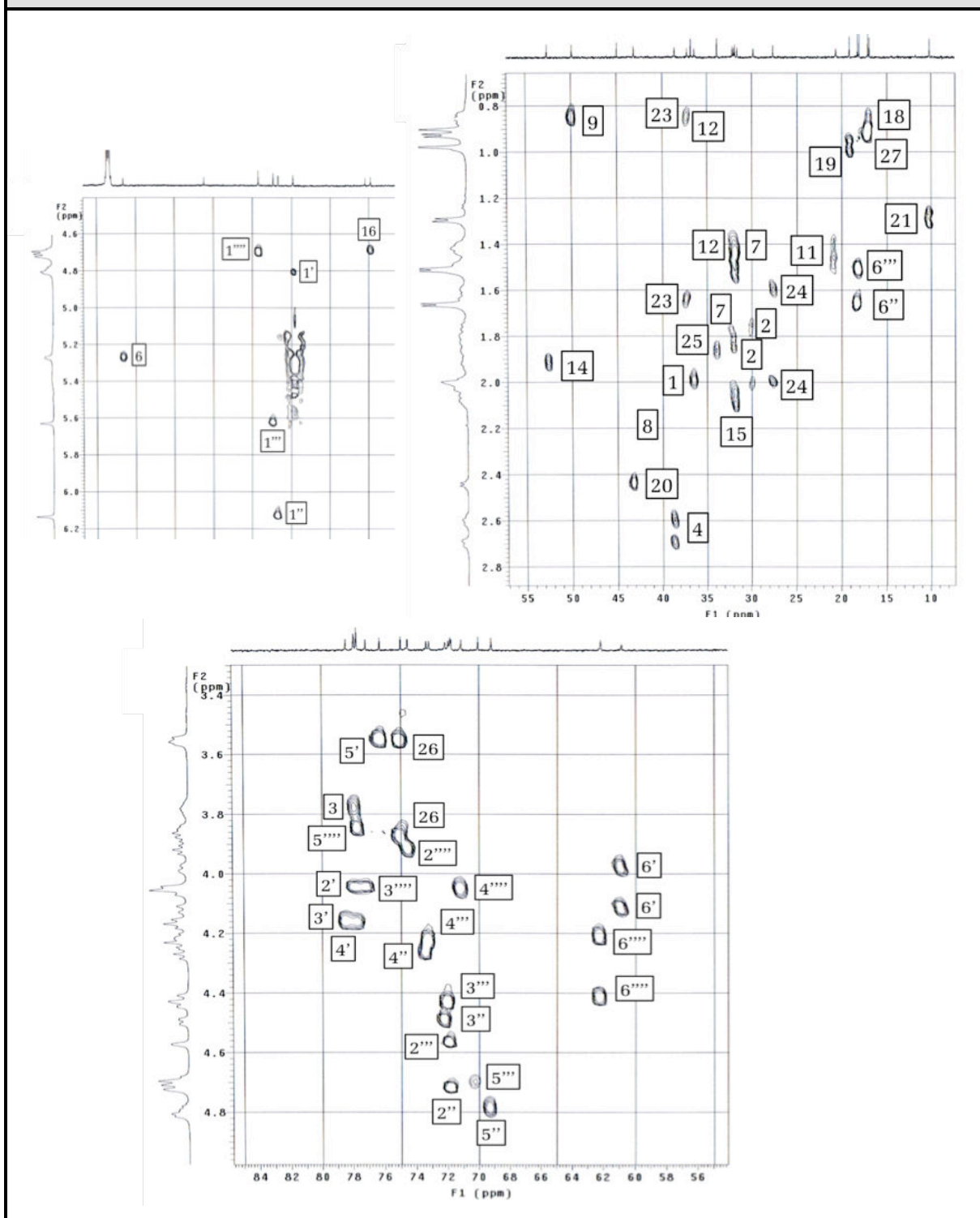
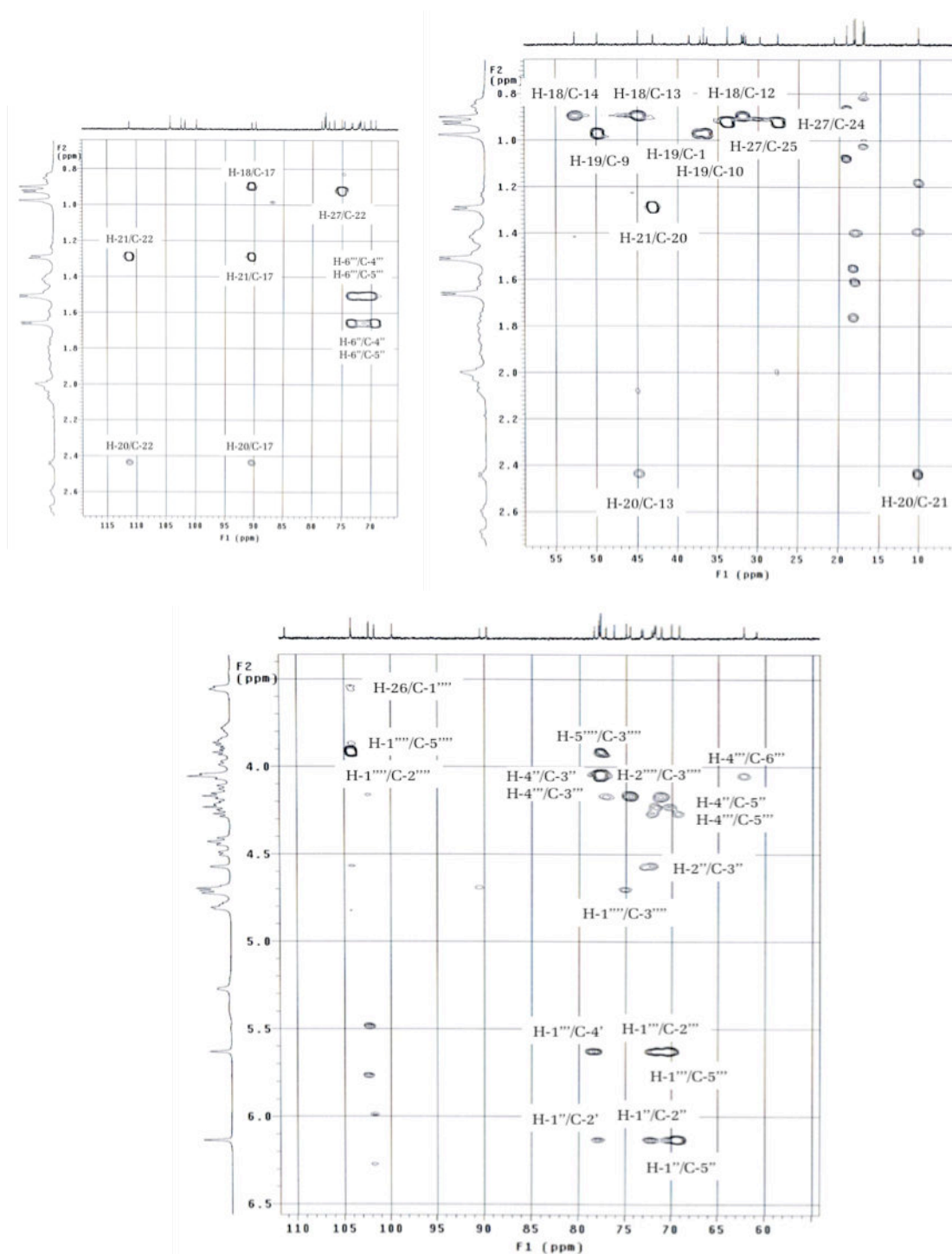
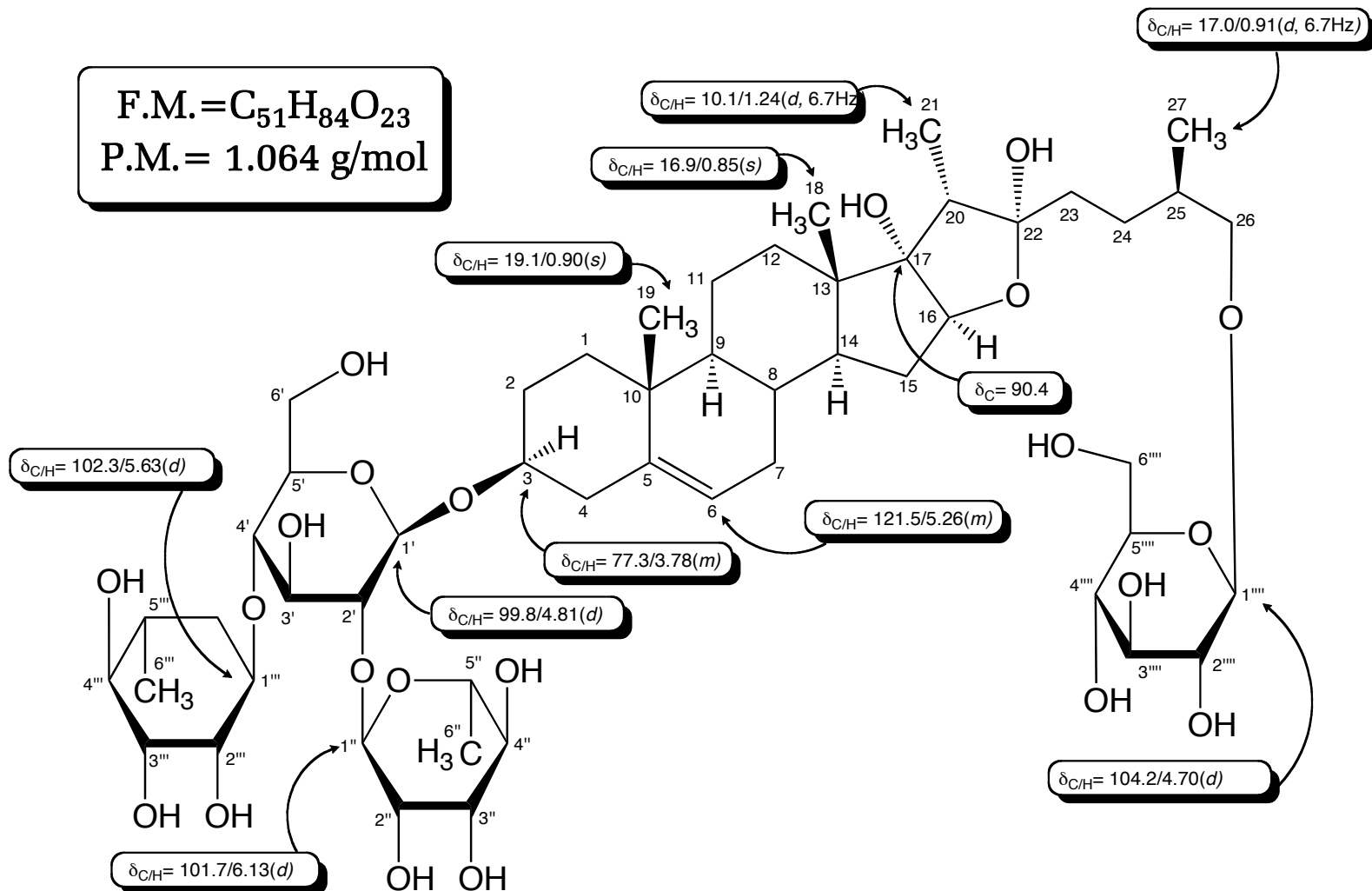


Figura 17F. Espectro HMBC (C_5D_5N) del β -chacotriosil (22, 25*R*)- β , 17 α , 22, 26-tetrahidróxi-5-furosten-26-O- β -glucopiranósido (17)



β -chacotriosil (22, 25*R*)-3 β , 17 α , 22, 26-tetarhidróxi-5-furosten-
26-O- β -glucopiranósido (17)

F.M. = $C_{51}H_{84}O_{23}$
P.M. = 1.064 g/mol



PROTODIOSCINA (18) Y METIL-PROTO-Pb (19)

La mezcla de los glicósidos (18)+(19) fue obtenida de la fracción "I" del proceso cromatográfico general. Se presentó como un sólido amorfo de color blanco, el cual aparecía en placa fina de TLC como una mancha semipura de color verde [$R_f = 0.13$, sist. solv. $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (70:30:5); P.f. = +300 °C].

Los picos observados en el espectro de FAB-MS (Fig. 18A) en $m/z = 1.047$, 901, 739 y 593, se corresponden con un compuesto cuya fórmula molecular es de $\text{C}_{51}\text{H}_{84}\text{O}_{22}$ y el cual, ha sufrido la pérdida consecutiva de unidades de rhamnosa (Rha), glucosa (Glc) y rhamnosa (Rha). Al observar el espectro de RMN^1H (Fig. 18B; Tabla 18B) se corroboraron los mencionados monosacáridos más una cuarta unidad de hexosa, la cual fue posteriormente inferida como una unidad deglucosa (Glc) dada la presencia en el RMN^{13}C (Fig. 18C; Tabla 18C) de un carbono oximetilénico desplazado a $\delta_c = 60.8$ ppm (H-6').

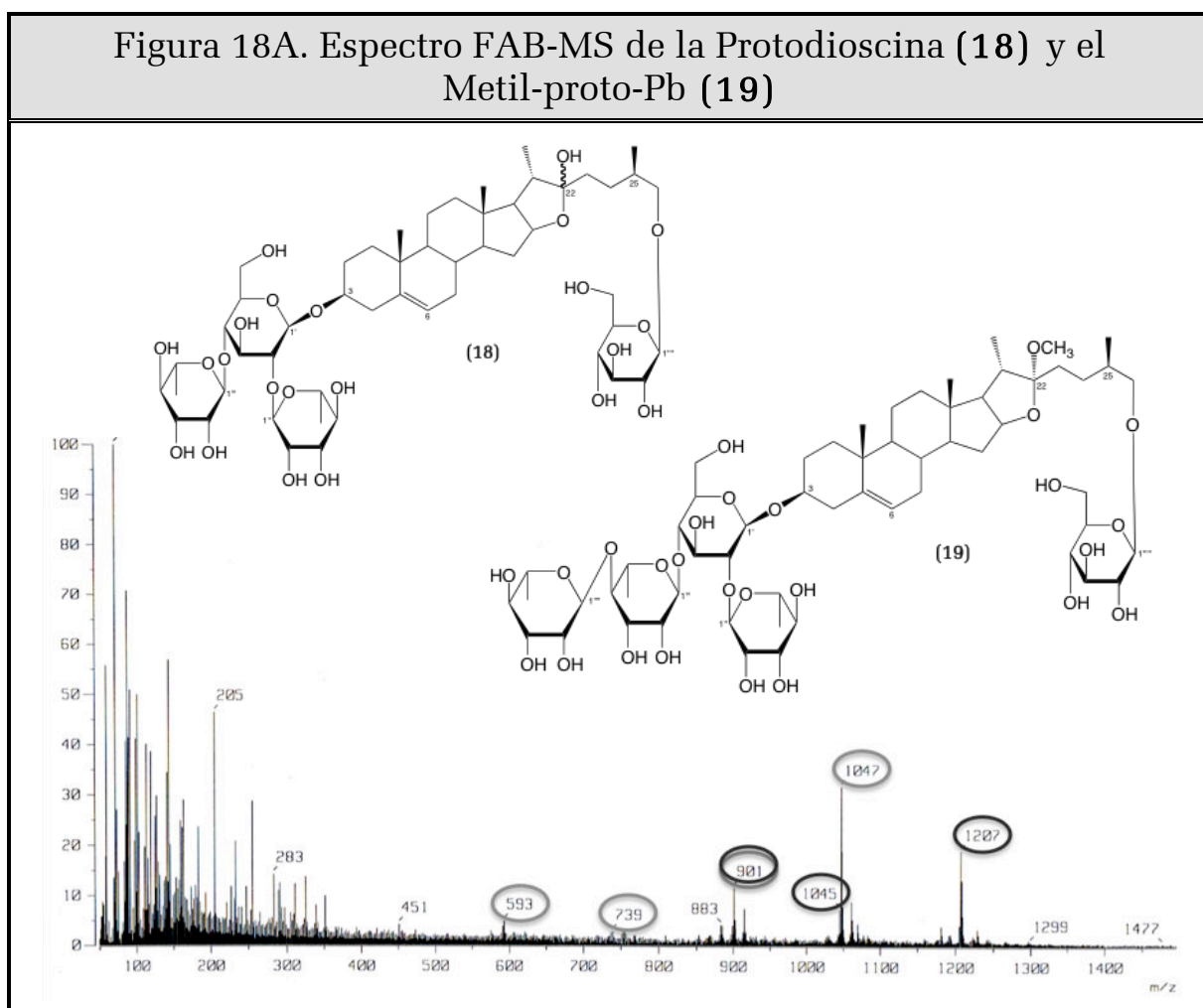


Figura 18B. Espectro de RMN-¹H (C₅D₅N, 600 MHz) de la Protodioscina (18) y el Metil-proto-Pb (19)

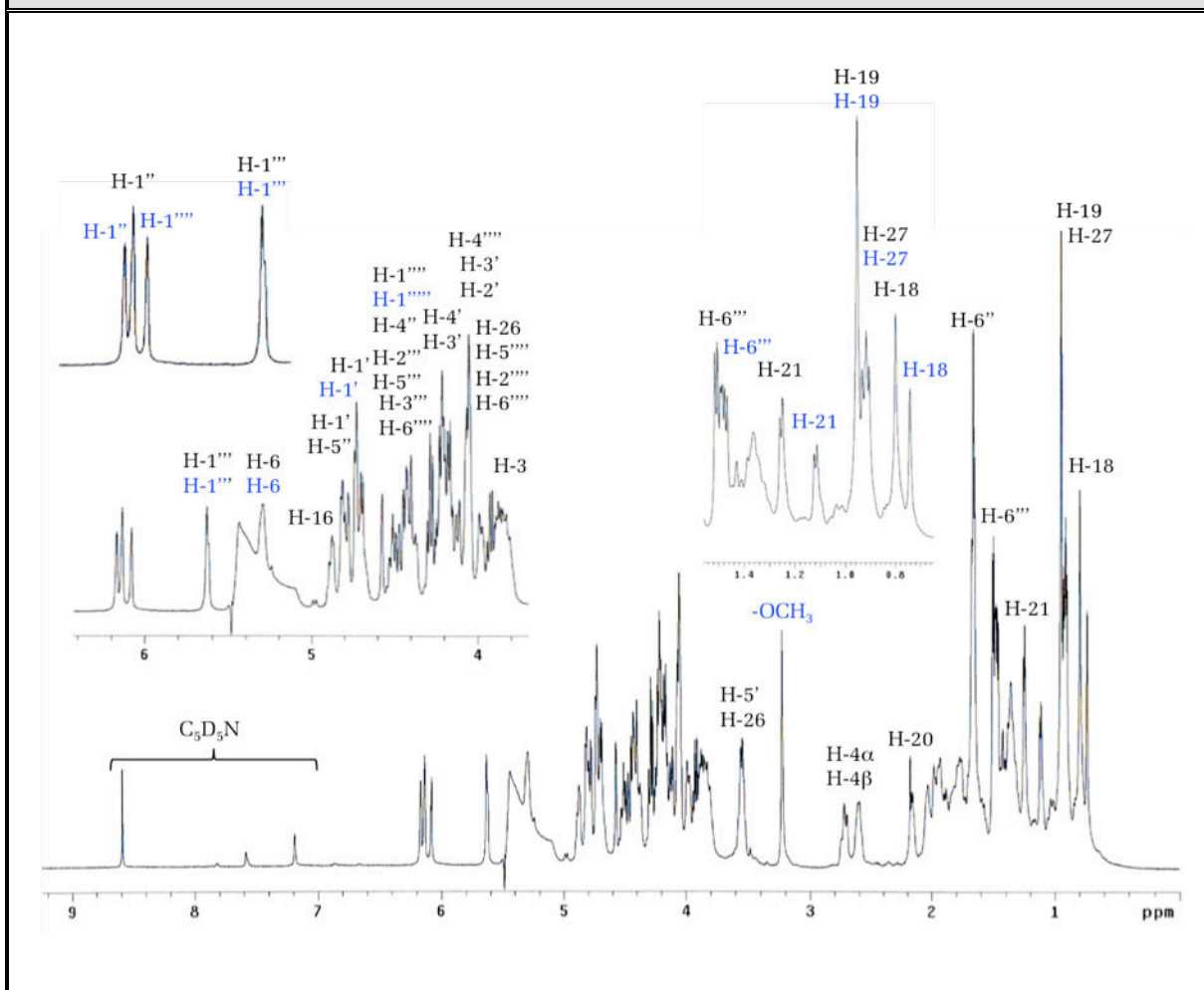


Tabla 18B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H (C₅D₅N, 600 MHz) de la Genina de la Protodioscina (18)

H	H-3	H-6	H-8	H-9	H-16	H-17
δ (ppm)	3.82	5.30	1.44	0.84	4.89	1.91
m	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-
H	H-18	H-19	H-20	H-21	H-25	H-27
δ (ppm)	0.80	0.95	2.17	1.26	1.90	0.91
m	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	-	-	-	6.7	-	6.7

Tabla 18B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) de los Azúcares de la Protodioscina (18)						
3-O- β -D-Glucosa						
H	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'
δ (ppm)	4.81	4.11	4.12	4.18	3.85	3.97/4.15
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-
2'-O- β -D-Rhamnosa						
H	H-1''	H-2''	H-3''	H-4''	H-5''	H-6''
δ (ppm)	6.13	4.74	4.47	4.28	4.81	1.67
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	5.4
4'-O- β -D-Rhamnosa						
H	H-1'''	H-2'''	H-3'''	H-4'''	H-5'''	H-6'''
δ (ppm)	5.63	4.57	4.40	4.21	4.69	1.49
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	5.6
26-O- β -D-Glucosa						
H	H-1''''	H-2''''	H-3''''	H-4''''	H-5''''	H-6''''
δ (ppm)	4.69	3.54	4.18	4.07	3.86	4.21/4.40
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-

Al realizar el análisis comparativo de los espectros de RMN¹H y ⁻¹³C de las señales mayoritarias de la mezcla (**18**) + (**19**) con las del compuesto (**17**) se pudieron verificar similitudes la el aglicona, con la excepción de que para la mezcla, el grupo -OH en C-17 ($\delta_c = 63.1$ ppm) estaba ausente. De igual forma ocurrió con las unidades de hexosa, donde se pudo comprobar la presencia de un grupo 3-O- β -chacotriósido y un grupo 26-O- β -glucopiranosido. Todo lo anterior esto estuvo apoyado por los espectros TOCSY (Fig. 18D), HMQC (Fig. 18E) y HMBC (Fig. 18F).

Las observaciones a nivel de estereoquímica resultaron ser las mismas que para el compuesto (**17**). De esta forma se pudo elucidar al compuesto (**18**) como el: β -chacotriósido (22, 25*R*) 3 β , 22 ξ , 26-trihidróxi-5-espirosten-26-O- β -glucopiranosido, comúnmente conocido como "*protodioscina*". La protodioscina fue reportada por primera vez de *Dioscorea gracillima* (Discoreaceae) (Kawasaki *et al.*, 1974).

Figura 18C. Espectro de RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) de la Protodioscina (18) y el Metil-proto-Pb (19)

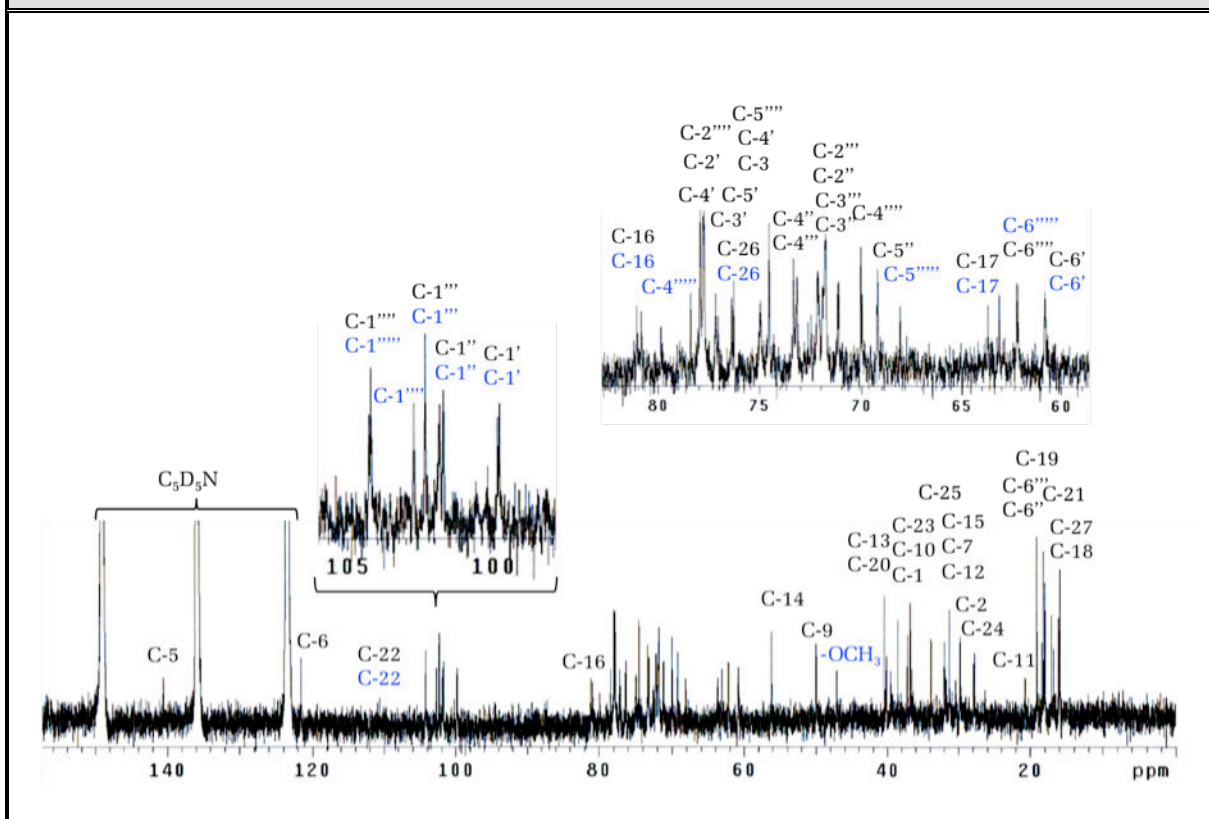


Tabla 18C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) de la Genina de la Protodioscina (18)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	39.4	29.8	77.1	38.5	140.5	121.5	32.0
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-O-	-CH ₂ -	>C=	=CH-	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	31.3	50.0	36.8	20.7	39.5	40.5	56.2
tipo	>CH-	>CH-	>C<	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>C<	>CH-
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	36.5	81.1	63.1	15.9	19.1	40.1	16.0
tipo	-CH ₂ -	>CH-O-	>C-O-	-CH ₃	-CH ₃	>CH-	-CH ₃
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	TMS Ref. interna
δ (ppm)	110.7	37.1	27.9	33.7	74.9	16.8	
tipo	O-C-O	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-	-CH ₂ -O-	-CH ₃	

Tabla 18C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz) de los Azúcares de la Protodioscina (18)						
3-O- β -D-Glucosa						
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'
δ (ppm)	99.8	77.7	77.9	77.7	76.4	60.8
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-
2'-O- β -D-Rhamnosa						
C	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''
δ (ppm)	102.3	71.8	72.1	73.3	69.2	18.0
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃
4'-O- β -D-Rhamnosa						
C	C-1'''	C-2'''	C-3'''	C-4'''	C-5'''	C-6'''
δ (ppm)	102.7	71.8	72.1	73.1	70.0	18.0
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃
26-O- β -D-Glucosa						
C	C-1''''	C-2''''	C-3''''	C-4''''	C-5''''	C-6''''
δ (ppm)	104.2	76.3	77.1	71.1	74.6	62.2
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-

En la revisión detallada de los espectros de RMN- ^1H y ^{13}C , se logra distinguir una serie de pequeñas señales en su mayoría superpuestas o muy próximas a las del compuesto mayoritario, la más resaltante de ellas, un singlete en $\delta_{\text{H}} = 3.23$ ppm, que al ser ubicada en el HMQC con su correspondiente carbono a $\delta_{\text{C}} = 47.1$ ppm se corroboró como un grupo metoxilo. Este grupo, presentó una correlación HMBC con un carbono desplazado a $\delta_{\text{C}} = 112.6$ ppm, lo que indicó la existencia de un compuesto minoritario (**19**) cuya aglicona se encontraba metoxilada en C-22.

El análisis en profundidad de los espectros de RMN uni- y bidimensional confirmaron lo predicho, al encontrarse a lo largo del espectro de banda ancha (BB) y DEPT-135, pequeños picos atribuidos al compuesto minoritario (**19**). Más aún, se observó la presencia en este compuesto de una unidad adicional de rhamnosa (Rha), dada por la presencia de seis pequeñas señales en el RMN- ^{13}C ($\delta_{\text{C}} = 103.8, 71.8, 71.9, 70.8, 70.0$ y 18.1). El espectro FAB-MS aportó datos concluyentes, al observarse un pico en $m/z = 1.207$, correspondiente a un compuesto de fórmula molecular de $\text{C}_{58}\text{H}_{96}\text{O}_{26}$.

Figura 18D. Espectro TOCSY (C_5D_5N) de la Protodioscina (18) y el Metil-proto-Pb (19)

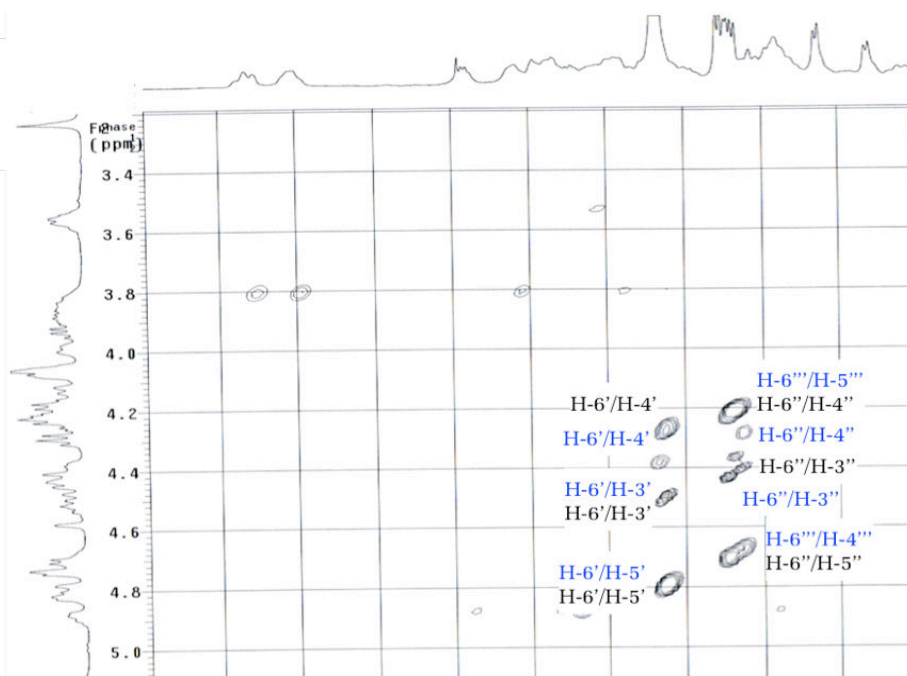
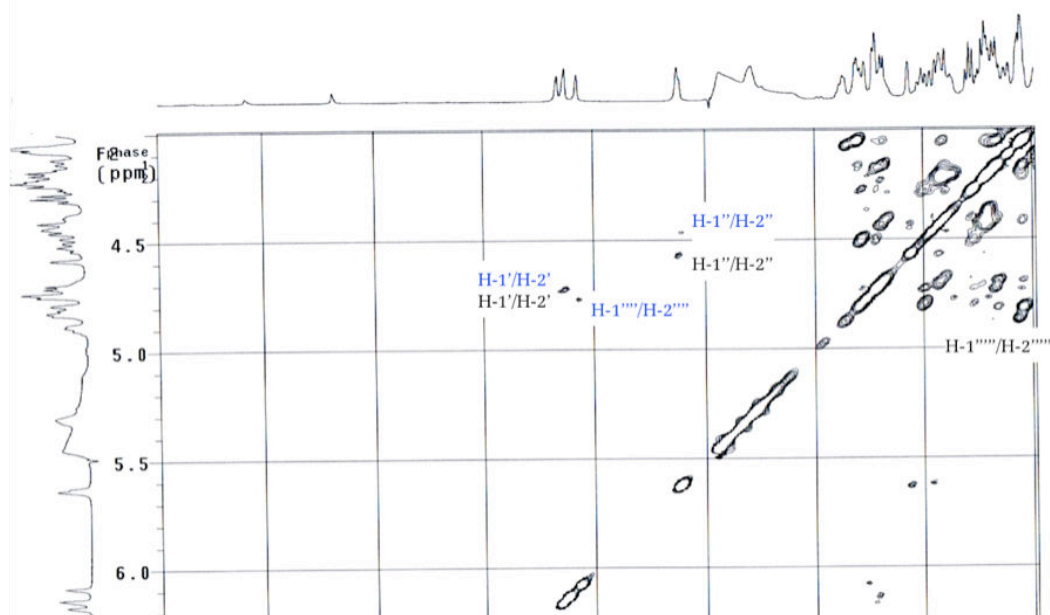


Figura 18E. Espectro HMQC (C_5D_5N) de la Protodioscina (18) y el Metil-proto-Pb (19)

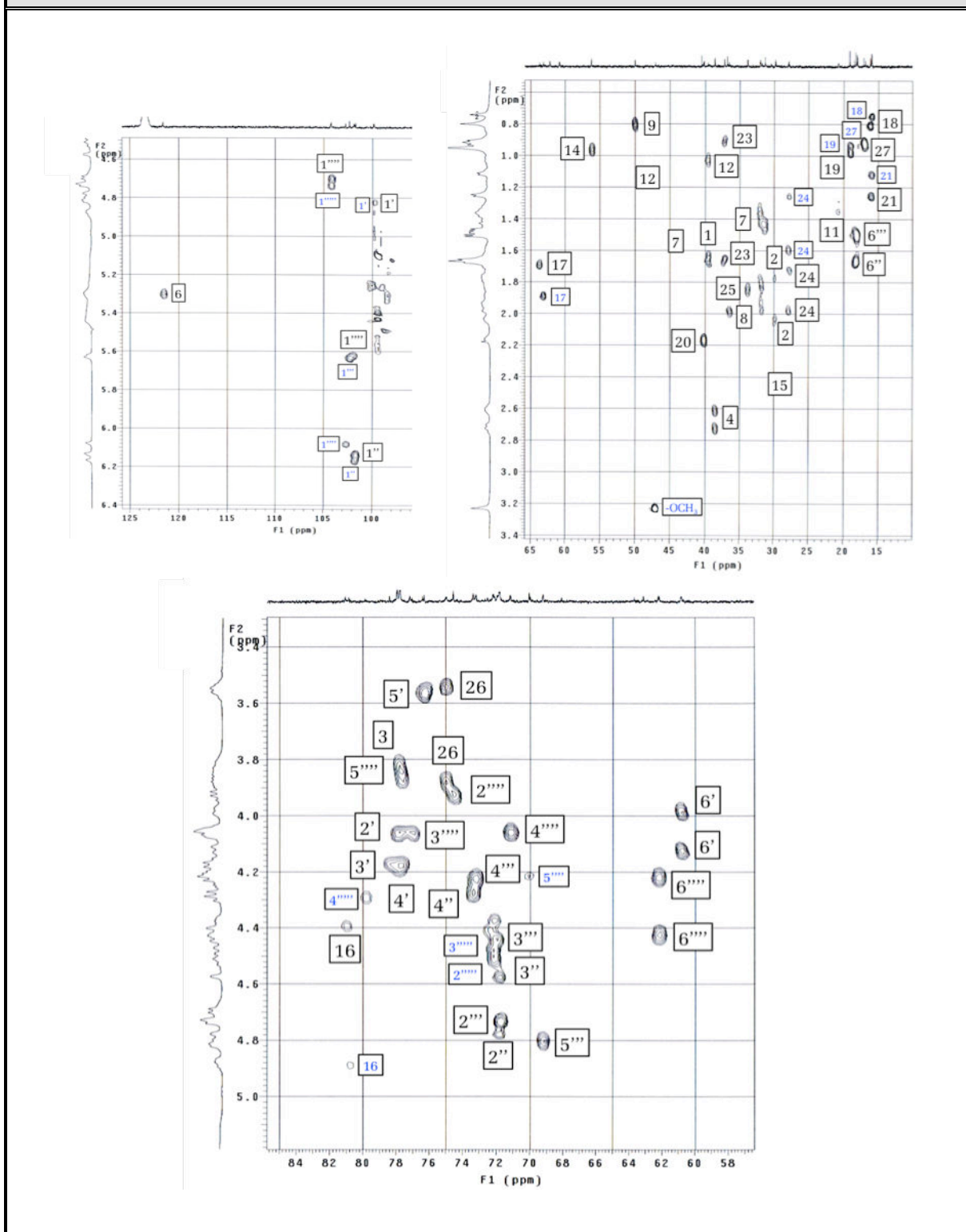
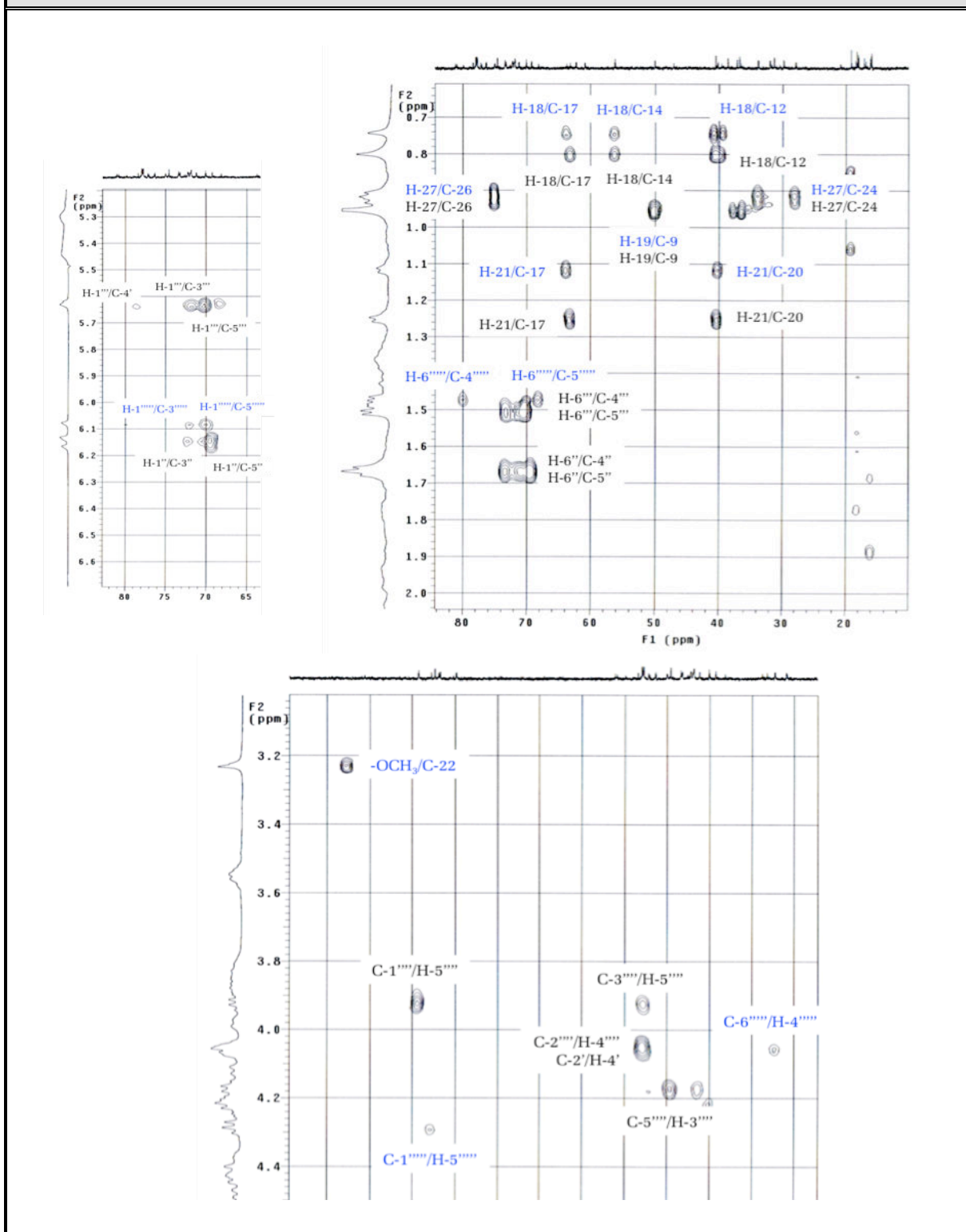


Figura 18F. Espectro HMBC (C_5D_5N) de la Protodioscina (18) y el Metil-proto-Pb (19)



Se pudo visualizar además, la pérdida consecutiva de un grupo glucosa (Glc) y rhamnosa (Rha), dada la presencia de picos minoritarios en $m/z= 1.045$ y 901 . La conexión interglucosídica de esta quinta unidad de hexosa, se asumió en el carbono C-4'' de la unidad de rhamnosa del 3-O- β -chacotriosil, en vista de los valores de desplazamiento observados en el RMN- ^{13}C para esta unidad.

En consecuencia, se pudo identificar al compuesto minoritario como **(19)**, es decir: β -chacotriosil (22, 25*R*)- 3β , 26-dihidróxi-22-metóxi-5-furosten-26-O- β -glucopiranosido. Este compuesto se conoce además como “*Metil-proto-Pb*” y fue obtenido de por primera vez de *Paris polyphylla* (Melanthiaceae) (Miyamura *et al.*, 1982). Los compuestos **(18)** y **(19)**, se reportan en este estudio por primera vez para el género *Cestrum*.

Tabla 18B-1. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz) de la Genina del Metil-proto-Pb (**19**)

H	H-3	H-6	H-9	H-14	H-16	H-18
δ (ppm)	3.82	5.30	0.84	1.02	4.40	0.74
m	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>s</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-
H	H-19	H-20	H-21	H-25	H-27	-OCH ₃
δ (ppm)	0.95	2.18	1.26	1.90	0.92	3.23
m	<i>s</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>s</i>
J (Hz)	-	-	6.7	-	6.7	-

Tabla 18B-1. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz) de los Azucares del Metil-proto-Pb (**19**)

3-O- β -D-Glucosa						
H	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'
δ (ppm)	4.81	4.11	4.18	4.12	3.85	3.97/4.15
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-
2'-O- β -D-Rhamnosa						
H	H-1''	H-2''	H-3''	H-4''	H-5''	H-6''
δ (ppm)	6.16	4.74	4.47	4.28	4.81	1.66
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	5.5

4'-O-β-D-Rhamnosa						
H	H-1'''	H-2'''	H-3'''	H-4'''	H-5'''	H-6'''
δ (ppm)	5.63	4.37	4.51	4.31	4.69	1.47
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	5.5
4'''-O-β-D-Rhamnosa						
H	H-1''''	H-2''''	H-3''''	H-4''''	H-5''''	H-6''''
δ (ppm)	6.07	4.78	4.45	4.73	4.19	1.51
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	5.7
26-O-β-D-Glucosa						
H	H-1'''''	H-2'''''	H-3'''''	H-4'''''	H-5'''''	H-6'''''
δ (ppm)	4.74	3.54	4.18	4.07	3.86	4.21/4.40
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-

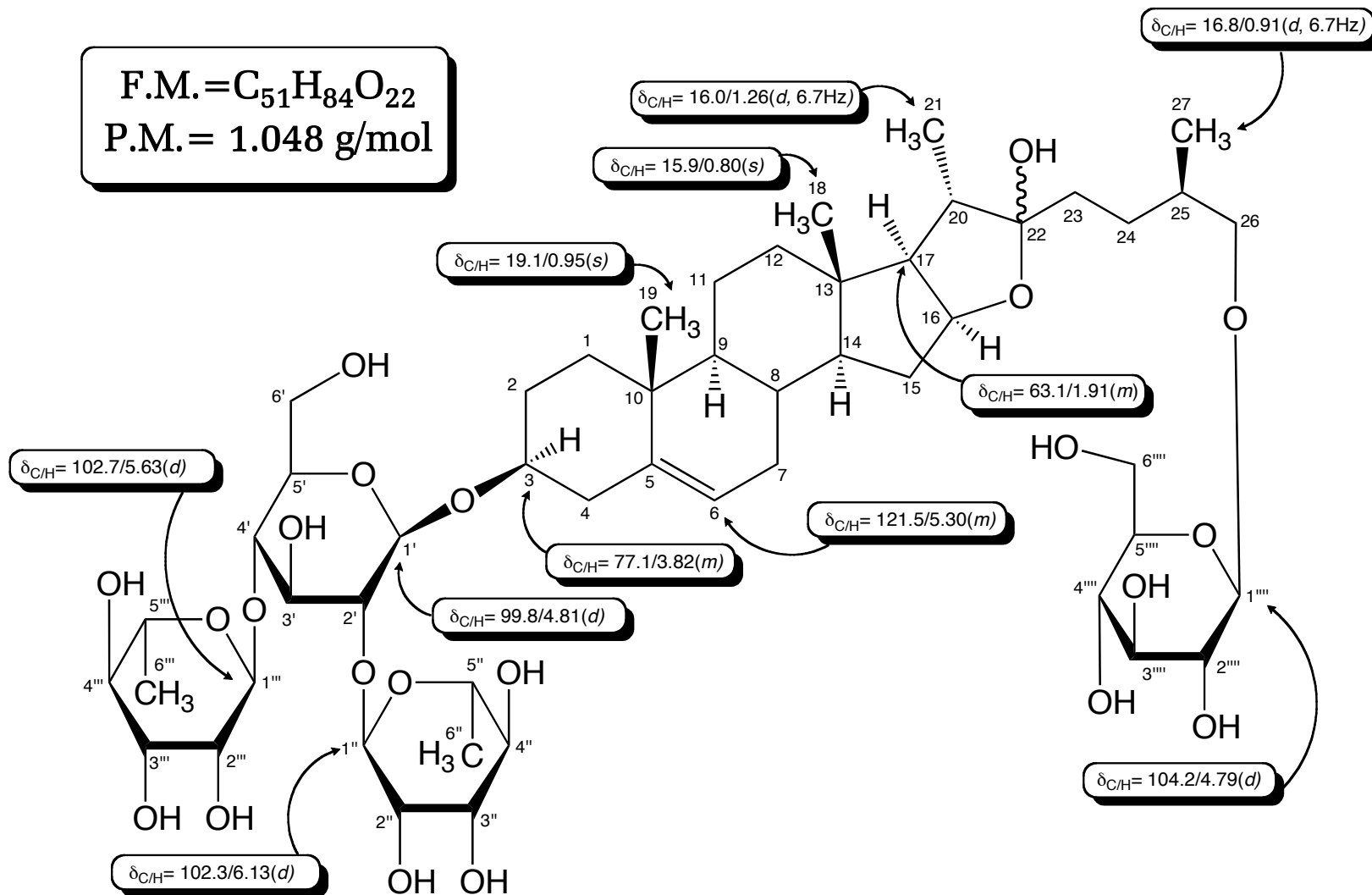
Tabla 18C-1. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) de la Genina del Metil-proto-Pb (**19**)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	39.4	29.8	77.1	38.5	140.5	121.5	31.9
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-O-	-CH ₂ -	>C=	=CH-	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	31.3	50.0	36.8	20.7	39.5	40.5	56.2
tipo	>CH-	>CH-	>C<	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>C<	>CH-
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	36.5	80.2	63.7	15.9	19.1	40.1	16.0
tipo	-CH ₂ -	>CH-O-	>C-O-	-CH ₃	-CH ₃	>CH-	-CH ₃
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28
δ (ppm)	112.6	37.1	27.9	33.7	74.9	17.0	47.1
tipo	O-C-O	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-	-CH ₂ -O-	-CH ₃	-OCH ₃

Tabla 18C-1. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz) de los Azucares del Metil-proto-Pb (19)						
3-O- β -D-Glucosa						
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'
δ (ppm)	99.8	77.7	77.9	77.7	76.4	60.8
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-
2'-O- β -D-Rhamnosa						
C	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''
δ (ppm)	102.3	71.8	72.1	73.3	69.2	18.2
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃
4'-O- β -D-Rhamnosa						
C	C-1'''	C-2'''	C-3'''	C-4'''	C-5'''	C-6'''
δ (ppm)	102.7	71.8	72.1	78.4	68.1	17.9
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃
4'''-O- β -D-Rhamnosa						
C	C-1''''	C-2''''	C-3''''	C-4''''	C-5''''	C-6''''
δ (ppm)	103.8	71.8	71.9	70.8	70.0	18.1
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃
26-O- β -D-Glucosa						
C	C-1'''''	C-2'''''	C-3'''''	C-4'''''	C-5'''''	C-6'''''
δ (ppm)	104.2	76.3	77.1	71.1	74.6	62.2
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-

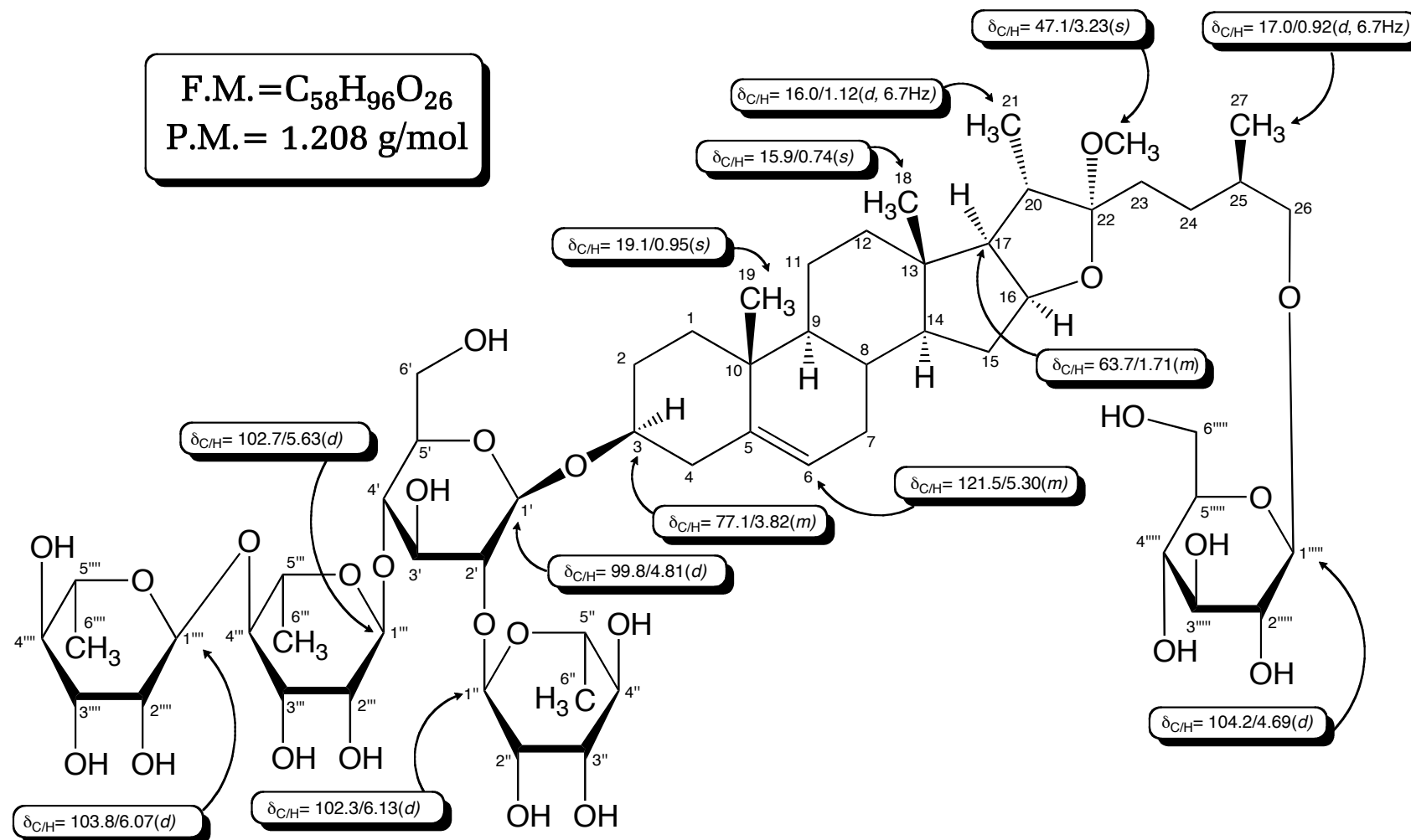
Protodioscina (18)

F.M. = $C_{51}H_{84}O_{22}$
P.M. = 1.048 g/mol



Metil-proto-Pb (19)

F.M. = $C_{58}H_{96}O_{26}$
 P.M. = 1.208 g/mol



3-O-(2,4,4-TRI- α -L-RHAMNOPIRANOSIL- β -D-GLUCOPIRANOSIL) (25R)-3 β , 22, 26-TRI-HIDRÓXI-5-FUOSTEN-26-O- β -D-GLUCOPIRANÓSIDO (**20**)

El bidesmósido (**20**) se pudo obtener de la combinación de fracciones "I" e "I'", subfracción "F" de la cromatografía general. Se presentó como un sólido amorfo color blanco y se reveló en placa de TLC como una mancha pura de color marrón [R_f = 0.11, sist. solv. $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (70:30:5); P.f. = +300 °C].

El espectro de FAB-MS (Fig. 20A), reveló un pico muy intenso asignado al ion molecular en m/z = 1.193, el cual es correspondiente a una fórmula molecular de $\text{C}_{57}\text{H}_{94}\text{O}_{26}$, se observaron además picos en m/z = 1.047, 901, 755 y 593, que lógicamente se atribuyeron a la pérdida consecutiva de tres unidades de rhamnosa (Rha) y una de glucosa (Glc). Al comparar los espectros de RMN- ^1H (Fig. 20B; Tabla 20B) y RMN- ^{13}C (Fig. 20C; Tabla 20C) del compuesto (**20**) con el del compuesto (**18**), se observaron las mismas señales para el esqueleto esteroidal, mientras que la comparación con el compuesto (**17**), evidenció diferencias únicamente en la ausencia del carbono cuaternario hidroxilado C-17 (δ_c = 90.4 ppm). A campo bajo, se observaron una serie de señales correspondientes a una quinta unidad de hexosa, corroborada por el HMQC (Fig. 20E), y elucidada como otra molécula de glucosa gracias a la presencia de un carbono oximetilénico en δ_c = 62.1 ppm (C-6').

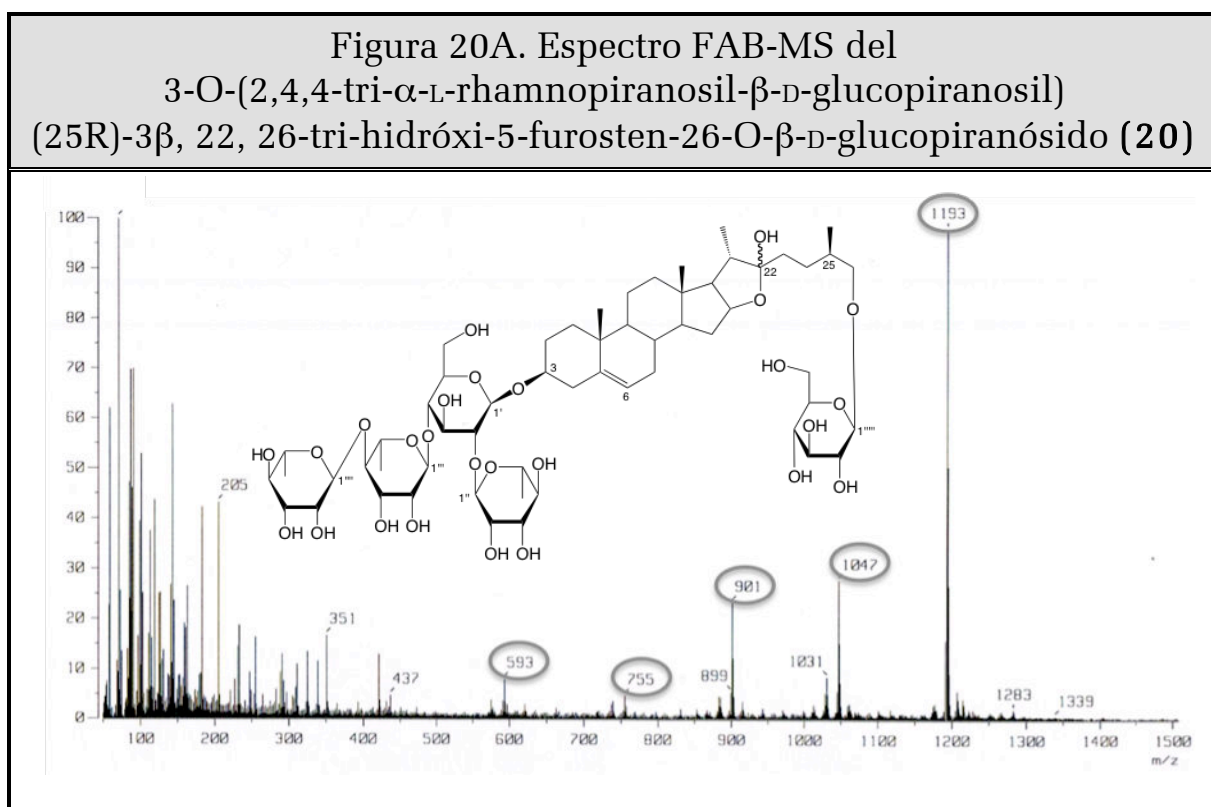


Figura 20B. Espectro de RMN-¹H (C₅D₅N, 600 MHz) del 3-O-(2,4,4-tri- α -L-rhamnopiranosil- β -D-glucopiranosil) (25R)-3 β , 22, 26-tri-hidróxi-5-furosten-26-O- β -D-glucopiranosido (**20**)

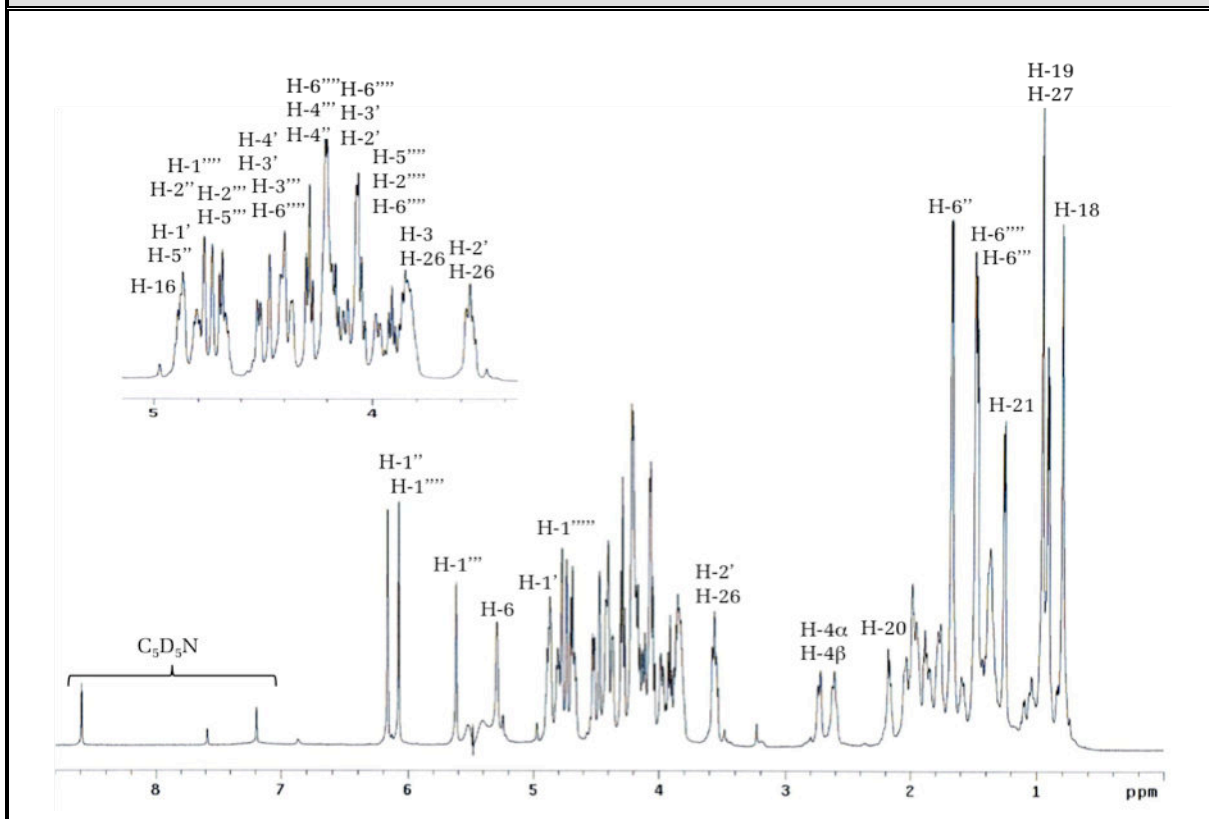


Tabla 20B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H (C₅D₅N, 600 MHz) de la Genina del 3-O-(2,4,4-tri- α -L-rhamnopiranosil- β -D-glucopiranosil) (25R)-3 β , 22, 26-tri-hidróxi-5-furosten-26-O- β -D-glucopiranosido (**20**)

H	H-3	H-6	H-8	H-9	H-16	H-17
δ (ppm)	3.85	5.29	1.43	0.83	4.82	1.90
m	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-
H	H-18	H-19	H-20	H-21	H-25	H-27
δ (ppm)	0.18	0.95	2.18	1.24	1.85	0.90
m	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	-	-	-	6.7	-	6.7

Tabla 20B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz) de los Azúcares del 3-O-(2,4,4-tri- α -L-rhamnopiranosil- β -D-glucopiranosil) (25R)-3 β , 22, 26-tri-hidróxi-5-furosten-26-O- β -D-glucopiranosido (20)						
3-O- β -D-Glucosa						
H	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'
δ (ppm)	4.86	4.07	4.18	3.88	4.08	3.97/4.13
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-
2'-O- β -D-Rhamnosa						
H	H-1''	H-2''	H-3''	H-4''	H-5''	H-6''
δ (ppm)	6.16	4.73	4.53	4.28	4.80	1.68
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	1.2	-	-	-	-	5.1
4'-O- β -D-Rhamnosa						
H	H-1'''	H-2'''	H-3'''	H-4'''	H-5'''	H-6'''
δ (ppm)	5.61	4.47	4.40	4.28	4.67	1.47
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	1.1	-	-	-	-	5.6
4'''-O- β -D-Rhamnosa						
H	H-1''''	H-2''''	H-3''''	H-4''''	H-5''''	H-6''''
δ (ppm)	6.06	4.77	4.37	4.20	4.21	1.48
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J (Hz)	1.1	-	-	-	-	5.6
26-O- β -D-Glucosa						
H	H-1'''''	H-2'''''	H-3'''''	H-4'''''	H-5'''''	H-6'''''
δ (ppm)	4.70	2.56	4.16	4.04	3.92	4.20/4.42
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J (Hz)	-	-	-	-	-	-

Por otro lado, al compararse los iones moleculares de los compuestos (**19**) ($m/z= 1.207$) y el (**20**) ($m/z= 1.193$) se hizo evidente que la diferencia de 14 u.m.a correspondía a un grupo $-\text{CH}_3$. Por ende, se pudo concluir que el compuesto (**20**) correspondía un derivado desmetoxilado de esqueleto esteroidal presente en (**19**).

Figura 20C. Espectro de RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) del 3-O-(2,4,4-tri- α -L-rhamnopiranosil- β -D-glucopiranosil) (25R)-3 β , 22, 26-tri-hidróxi-5-furosten-26-O- β -D-glucopiranosido (**20**)

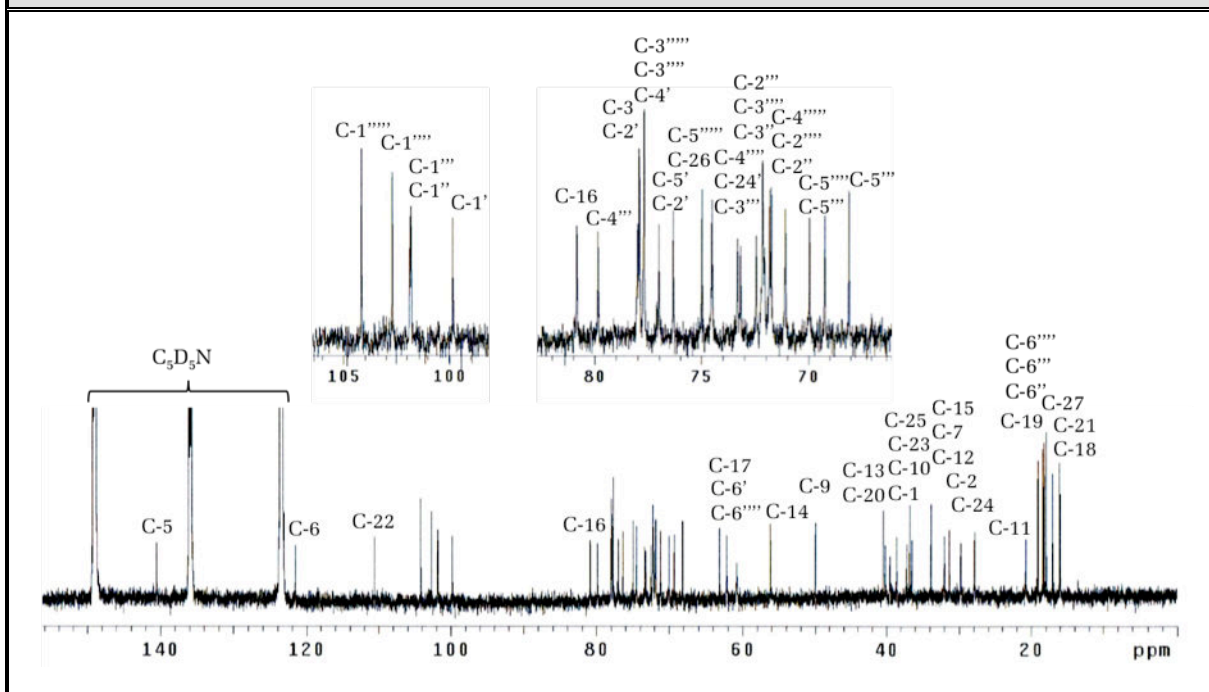


Tabla 20C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) de la Genina del 3-O-(2,4,4-tri- α -L-rhamnopiranosil- β -D-glucopiranosil) (25R)-3 β , 22, 26-tri-hidróxi-5-furosten-26-O- β -D-glucopiranosido (**20**)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	36.4	29.8	77.9	38.5	140.5	121.6	31.8
tipo	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-O-	-CH ₂ -	>C=	=CH-	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	31.3	49.9	36.7	20.7	39.5	40.4	56.1
tipo	>CH-	>CH-	>C<	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>C<	>CH-
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	31.9	80.8	63.1	15.9	19.1	40.2	16.1
tipo	-CH ₂ -	>CH-O-	>C-O-	-CH ₃	-CH ₃	>CH-	-CH ₃
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	TMS Ref. interna
δ (ppm)	110.5	37.1	27.9	33.8	74.9	17.1	
tipo	O-C-O	-CH ₂ -	-CH ₂ -	>CH-	-CH ₂ -O-	-CH ₃	

Tabla 20C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz) de los Azúcares del 3-O-(2,4,4-tri- α -L-rhamnopiranosil- β -D-glucopiranosil) (25R)-3 β , 22, 26-tri-hidróxi-5-furosten-26-O- β -D-glucopiranosido (20)						
3-O- β -D-Glucosa						
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'
δ (ppm)	99.8	80.0	77.6	77.7	76.9	60.8
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-
2'-O- β -D-Rhamnosa						
C	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''
δ (ppm)	101.8	71.8	72.2	73.3	69.2	18.2
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃
4'-O- β -D-Rhamnosa						
C	C-1'''	C-2'''	C-3'''	C-4'''	C-5'''	C-6'''
δ (ppm)	101.9	72.2	72.5	79.5	68.1	18.4
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃
4''-O- β -D-Rhamnosa						
C	C-1''''	C-2''''	C-3''''	C-4''''	C-5''''	C-6''''
δ (ppm)	102.6	71.9	72.1	73.2	69.9	17.9
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃
26-O- β -D-Glucosa						
C	C-1'''''	C-2'''''	C-3'''''	C-4'''''	C-5'''''	C-6'''''
δ (ppm)	104.2	76.3	77.7	71.1	74.5	62.2
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-

La confirmación de la estructura y las consideraciones estereoquímicas se llevaron a cabo una vez más gracias los experimentos HMBC (Fig. 20F) y NOESY respectivamente. La configuración (25R) se determinó mediante los valores de desplazamiento de C-23, C-24, C-25 y C-26 y la diferencia de desplazamiento entre los protones de C-26 ($\Delta_{\text{Ha-Hb}} = 0.29$) (Agrawal *et al.*, 2003; 2004). Finalmente se pudo determinar al bidesmósido esteroidal como el 3-O-(2,4,4-tri- α -L-rhamnopiranosil- β -D-glucopiranosil) (25R)-3 β , 22, 26-trihidróxi-5-furosten-26-O- β -D-glucopiranosido (**20**), el cual fue aislado por primera vez de la especie asiática *Ypsilandra thibetica* (Melanthiaceae) (Kawabe *et al.*, 1996). Al igual que las saponinas (**14-19**), el compuesto (**20**) se reporta por primera vez para el género *Cestrum*.

Figura 20D. Espectro TOCSY (C_5D_5N) del
 3-O-(2,4,4-tri- α -L-rhamnopyranosil- β -D-glucopyranosil)
 (25R)-3 β , 22, 26-tri-hidróxi-5-furosten-26-O- β -D-glucopiranosido (20)

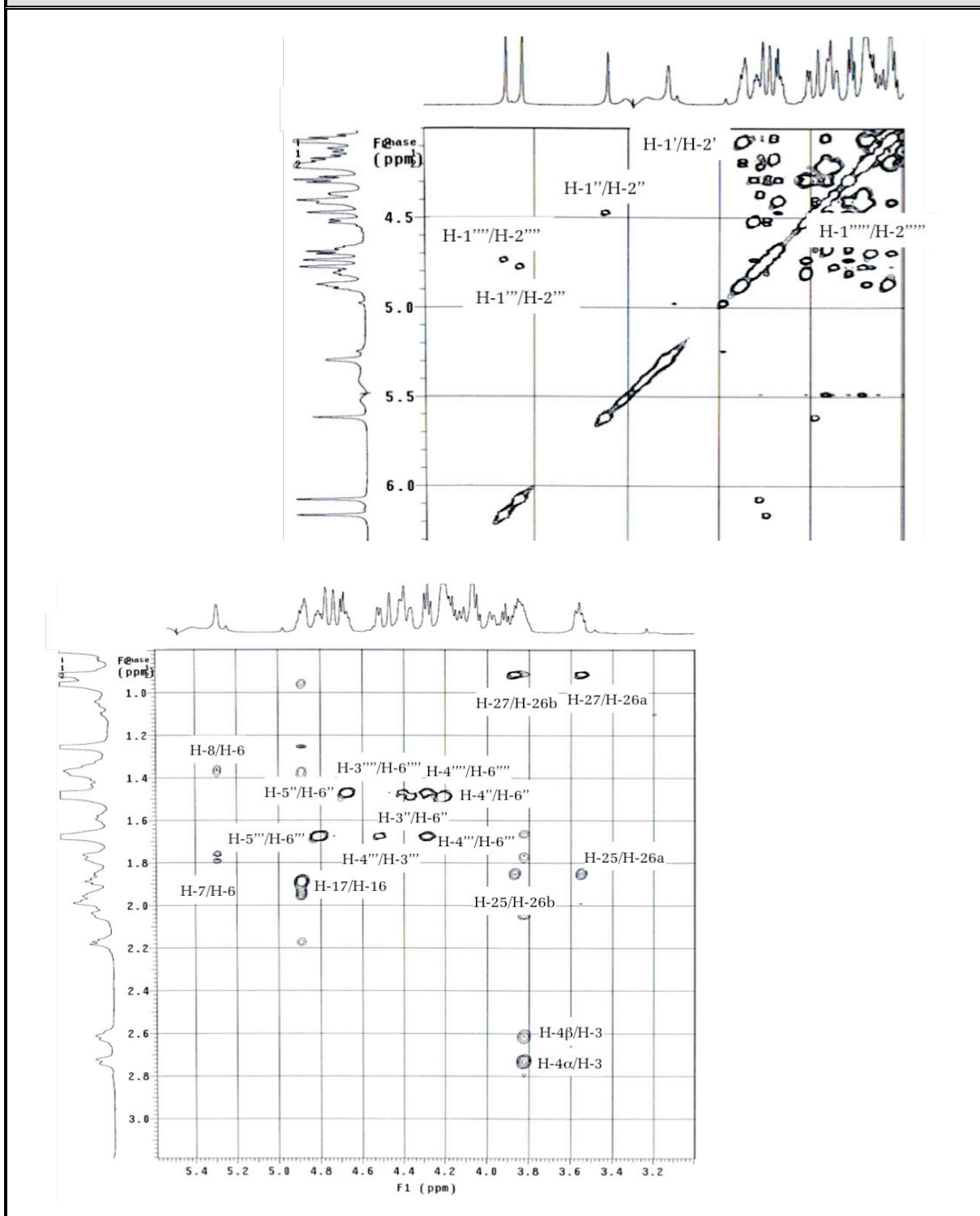


Figura 20E. Espectro HMQC (C_5D_5N) del
 3-O-(2,4,4-tri- α -L-rhamnopiranosil- β -D-glucopiranosil)
 (25R)-3 β , 22, 26-tri-hidr3xi-5-furosten-26-O- β -D-glucopiranosido (20)

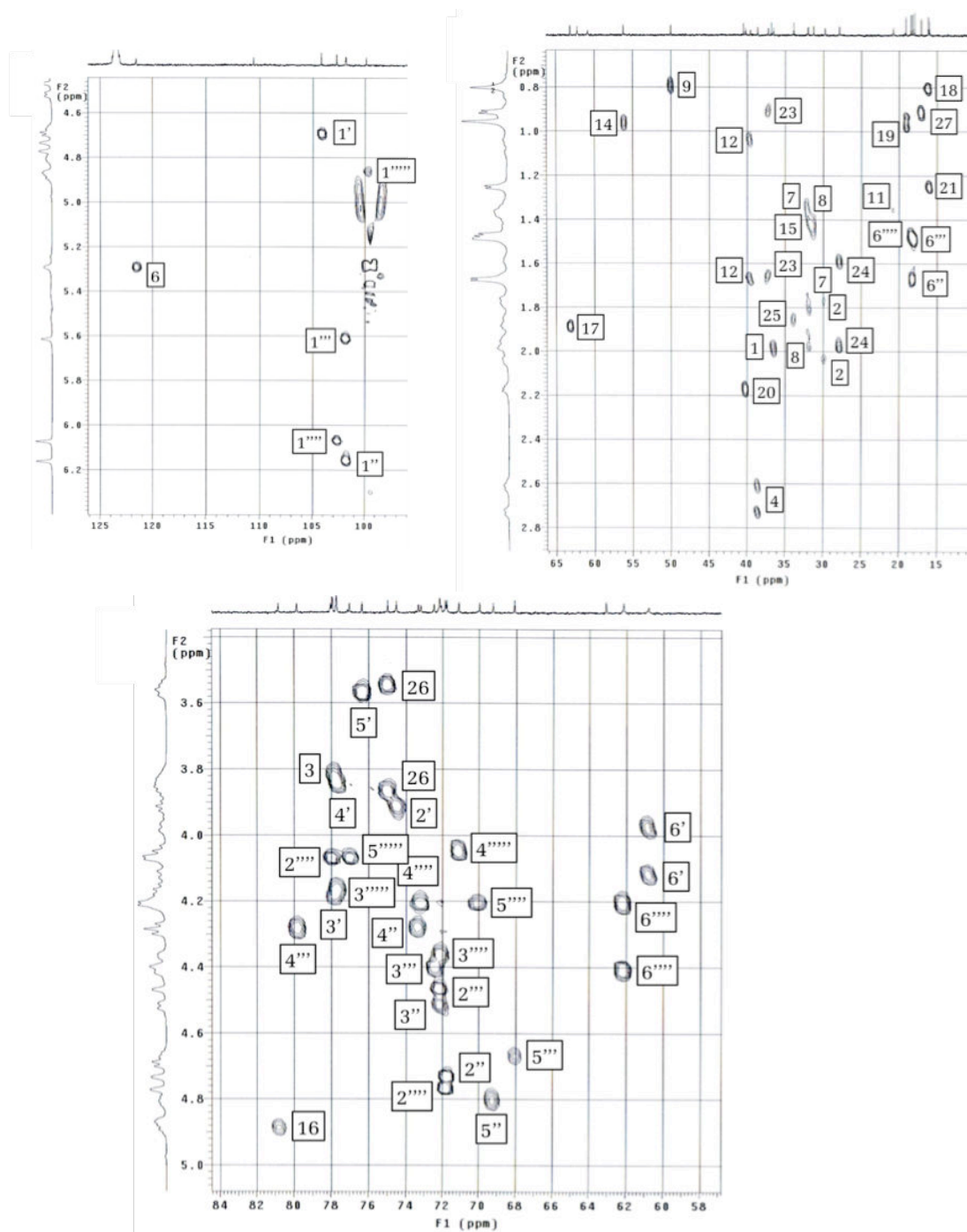
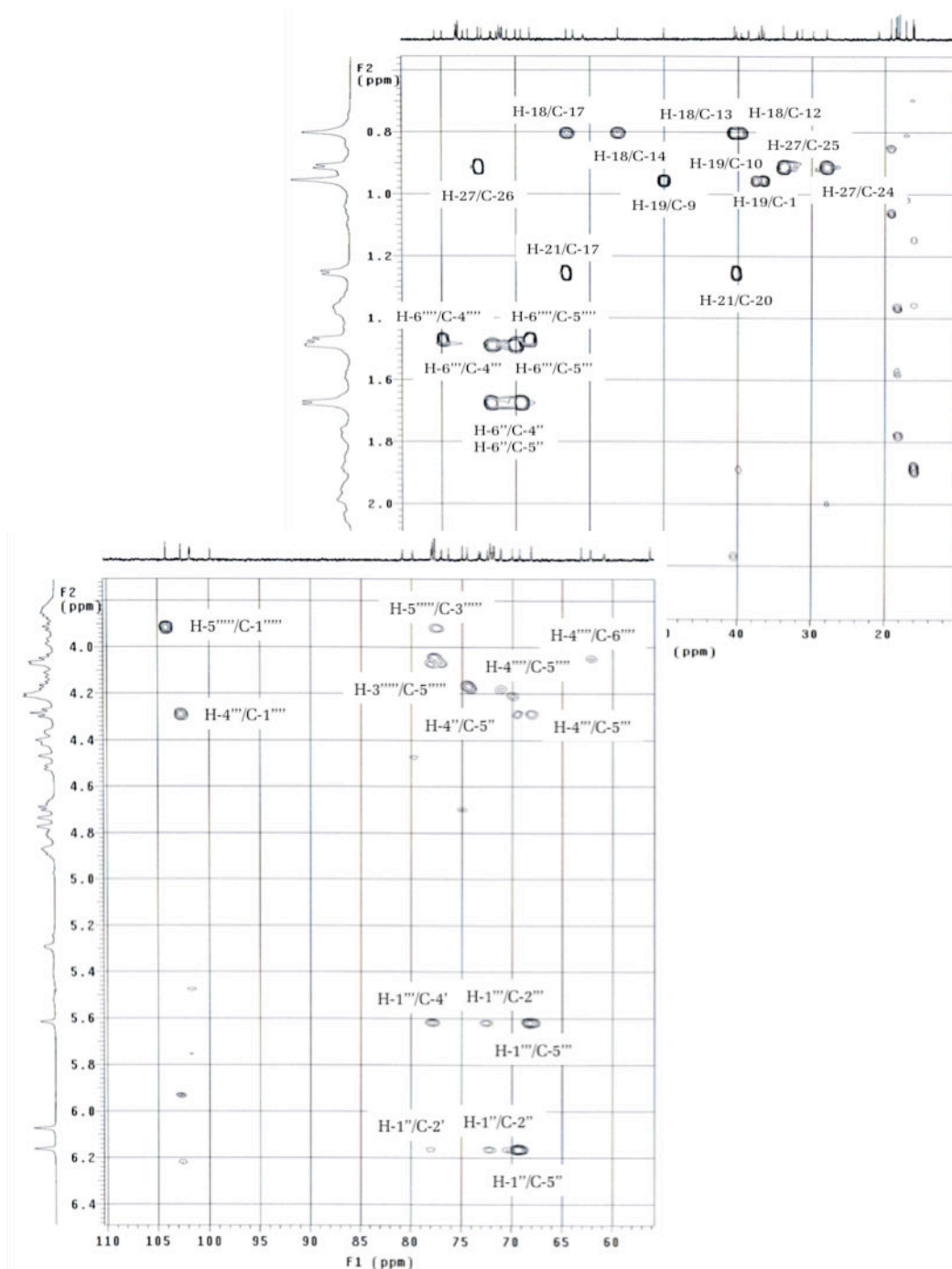
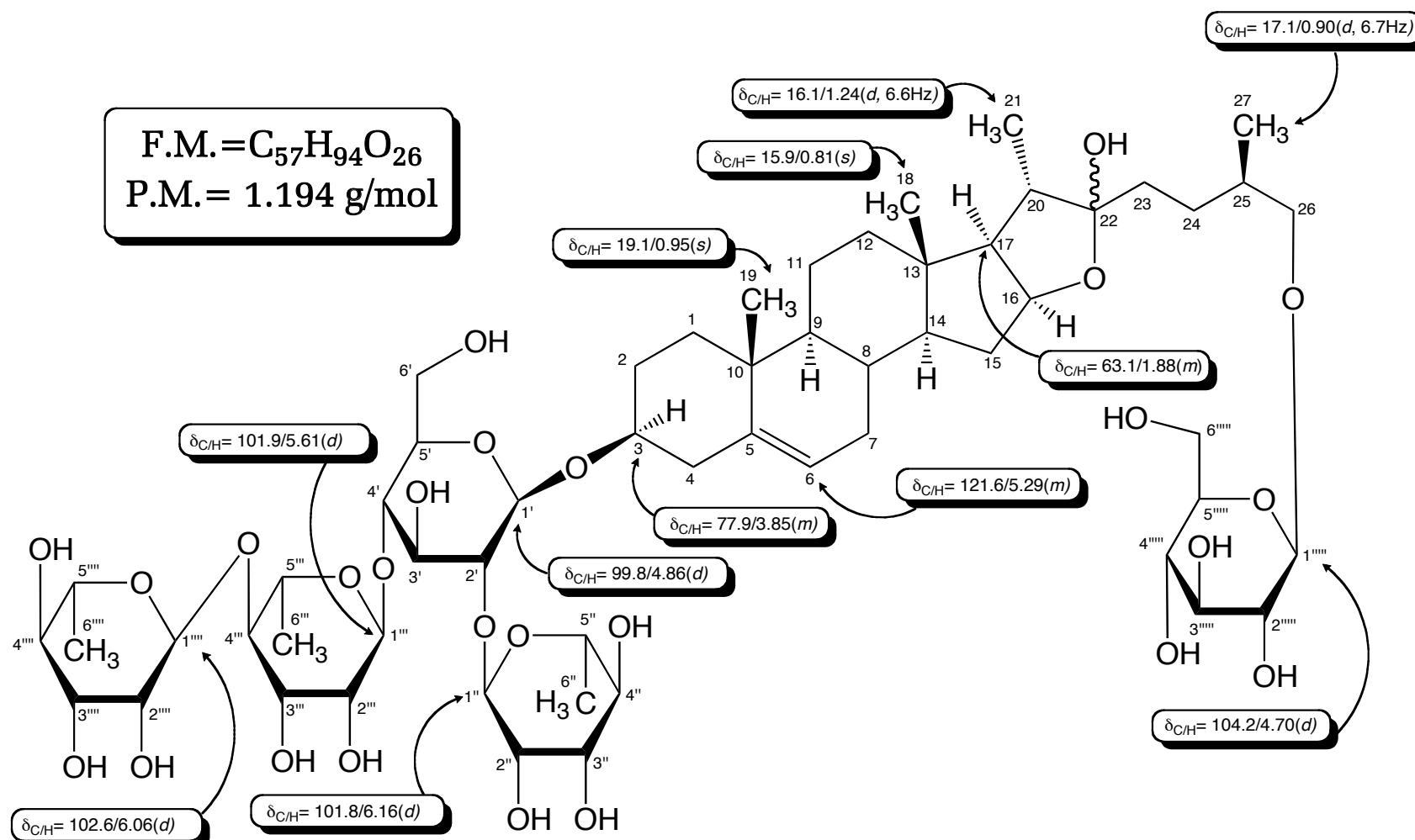


Figura 20F. Espectro HMBC (C_5D_5N)
 del 3-O-(2,4,4-tri- α -L-rhamnopiranosil- β -D-glucopiranosil)
 (25R)-3 β , 22, 26-tri-hidróxi-5-furosten-26-O- β -D-glucopiranosido (20)



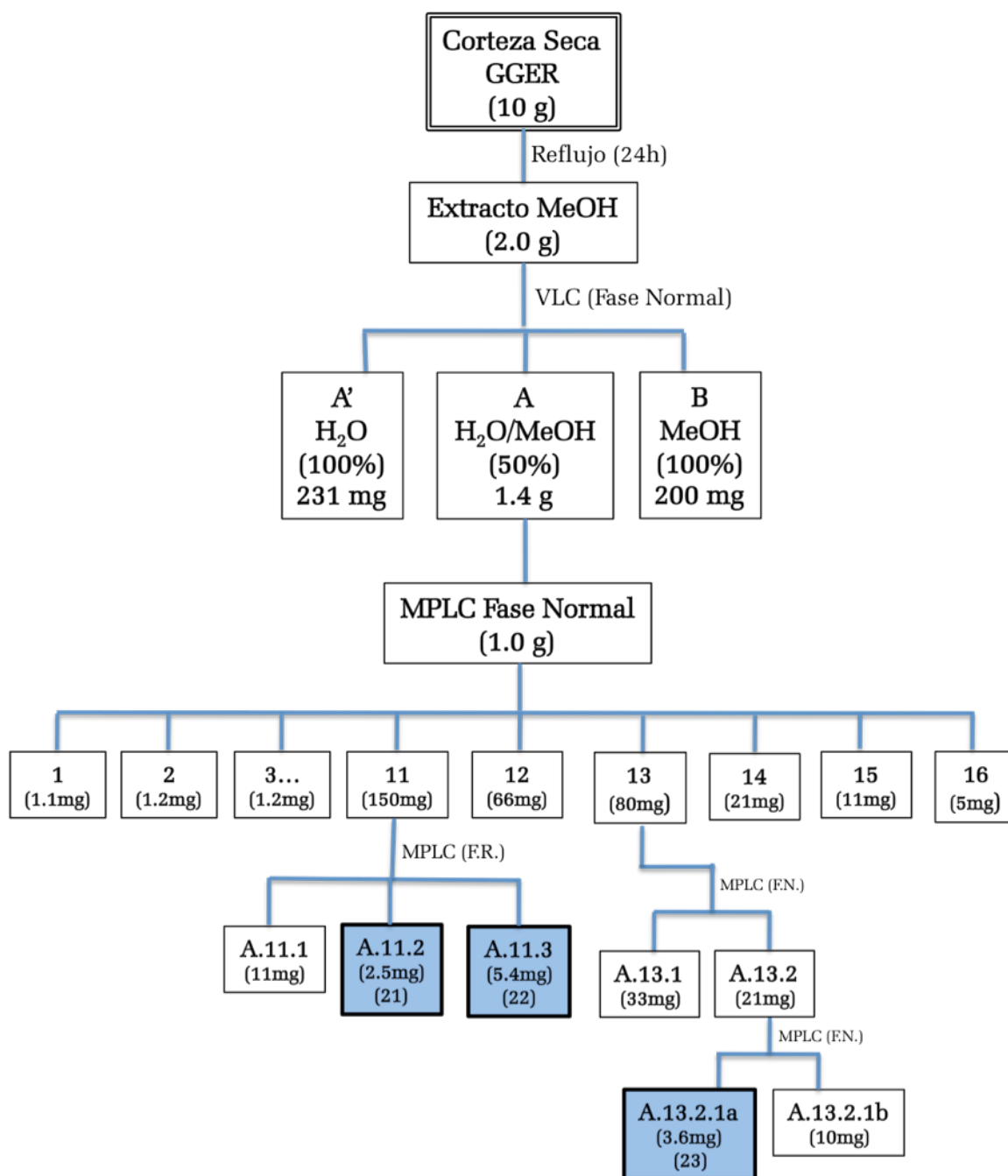
3-O-(2,4,4-tri- α -L-rhamnopyranosil- β -D-glucopyranosil) (25R)-3 β , 22, 26-tri-hidr3xi-5-furosten-26-O- β -D-glucopiranosido (20)

F.M. = $C_{57}H_{94}O_{26}$
P.M. = 1.194 g/mol



Estudio Fitoquímico de
Ganophyllum giganteum
(A. Chev) Hauman

Esquema del Aislamiento y Purificación de Saponinas Triterpénicas de la Corteza de *Ganophyllum giganteum* (A. Chev) Hauman



ÁCIDO 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-ACETILFUCOPIRANOSIL [(1 \rightarrow 2)- α -L-RHAMNOPIRANOSIL] (1 \rightarrow 3)- β -D-XILOPIRANOSIL}-3-O- β -D-GLUCORONOPIRANOSIL-ZANHICO (**21**)

El glicósido (**21**), fue obtenido de la fracción “A”, subfracción 11, de la cromatografía general. Se presentó físicamente como un sólido amorfo de color blanco, el cual reveló como una mancha pura de color verde en placa de TLC [R_f = 0.45, sist. solv. $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (65:35:10); P.f. = +300 °C].

El espectro HR-ESI-MS (Fig. 21A) de dicho compuesto, presentó un ion molecular en m/z = 1.160, para el cual corresponde una fórmula molecular de $\text{C}_{55}\text{H}_{84}\text{O}_{26}$. Los espectros de RMN- ^1H (Fig. 21B; Tabla 21B) y RMN- ^{13}C (Fig. 21C; Tabla 21C) mostraron señales representativas de un triterpeno glicosidado, observándose la clásica diferenciación entre la zona de la genina (δ_{H} = 0.5 – 2.5 ppm) y los correspondientes carbohidratos (δ_{H} = 3.0 – 6.5 ppm). A campo alto pudieron apreciarse nueve (9) metilos, de los cuales seis eran singuletes propios de esqueletos tipo oleanano, dos dobletes representativos de metilos de unidades de rhamnosa (Rha) o fucosa (Fuc) y un metilo perteneciente a un grupo acetato (δ_{H} = 2.06 ppm). A campo bajo, se pudieron reconocer cuatro dobletes anoméricos, lo que significó la presencia de cuatro unidades de hexosa.

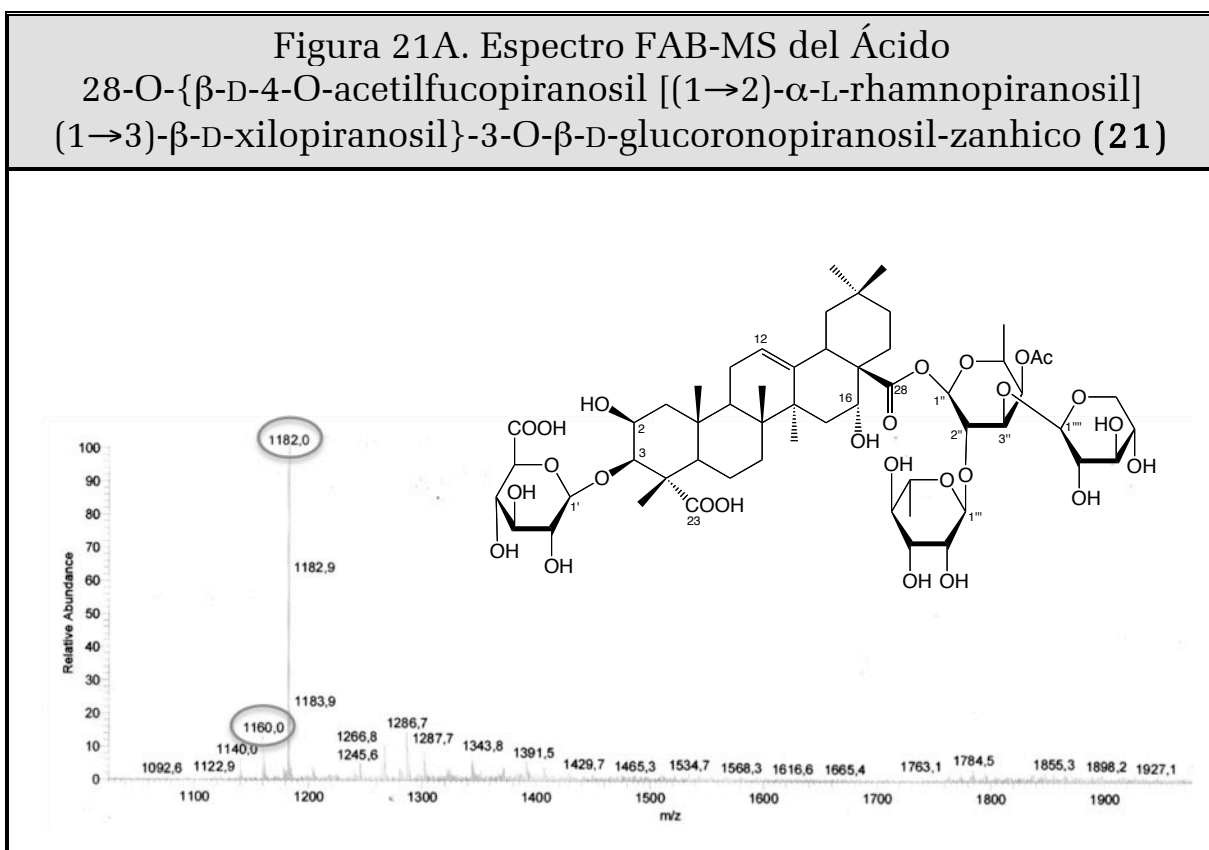


Figura 21B. Espectro de RMN-¹H (DMSO-*d*₆, 600 MHz) del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zanhico (21)

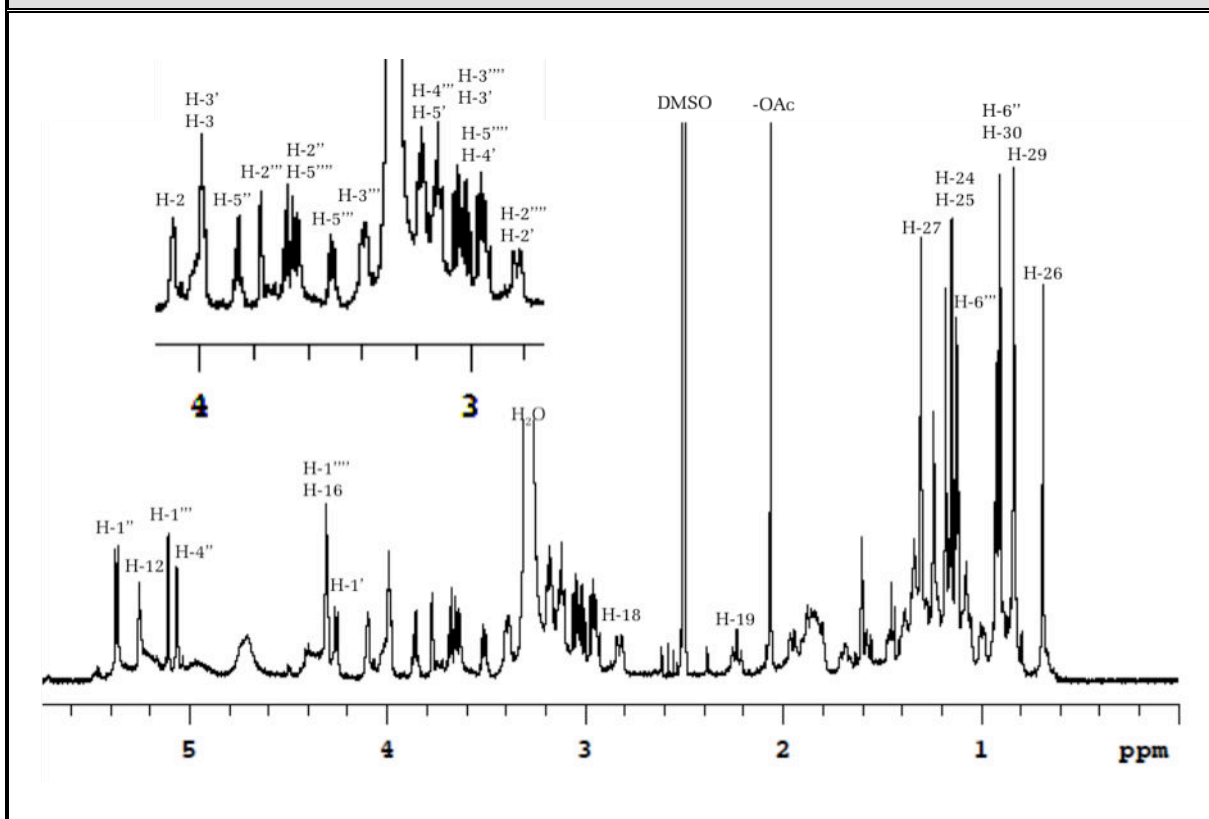


Tabla 21B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H (DMSO-*d*₆, 600 MHz) de la Genina del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zanhico (21)

H	H-3	H-2	H-5	H-12	H-16	H-18
δ (ppm)	4.01	4.10	1.39	5.26	4.31	2.82
<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>t</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	3.3	-	12.6
H	H-24	H-25	H-26	H-27	H-29	H-30
δ (ppm)	1.16	1.19	0.65	1.30	0.83	0.91
<i>m</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	-	-

Tabla 21B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 600 MHz) de los Azucares del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zhanico (21)							
3-O- β -D-Ac. Glucorónico							
H	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'	
δ (ppm)	4.28	2.96	3.12	3.04	3.18	-	
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	-	
<i>J</i> (Hz)	7.7	-	-	-	-	-	
28-O- β -D-4-Acetil-fucosa							
H	H-1''	H-2''	H-3''	H-4''	H-5''	H-6''	-OAc
δ (ppm)	5.36	3.68	3.99	5.06	3.84	0.92	2.06
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>t</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	8.1	8.9	-	3.3	7.1	6.5	-
2''-O- β -D-Rhamnosa							
H	H-1'''	H-2'''	H-3'''	H-4'''	H-5'''	H-6'''	
δ (ppm)	5.11	3.78	3.40	3.19	3.52	1.12	
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	
<i>J</i> (Hz)	1.0	-	8.9/1.6	-	6.5	6.1	
3''-O- β -D-Xylosa							
H	H-1''''	H-2''''	H-3''''	H-4''''	H-5a''''	H-5b''''	
δ (ppm)	4.31	2.98	3.12	3.26	3.02	3.64	
<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>dd</i>	<i>dd</i>	
<i>J</i> (Hz)	7.3	-	-	-	5.3/11.4	5.1/11.1	

Los metilos asignados a la genina [$\delta_{C/H}$ = 14.5/1.16 (C-24), 16.6/1.19 (C-25), 16.7/0.65 (C-26), 26.3/1.30 (C-27), 32.7/0.83 (C-29), 24.2/0.91 (C-30)], presentaron correlaciones con sus respectivos carbonos e hidrógenos aledaños, en este sentido se pudieron observar las siguientes interacciones HMBC (Fig. 21F): C-23 \leftrightarrow H-24 \leftrightarrow C-3, H-24 \leftrightarrow C-4, C-1 \leftrightarrow H-25 \leftrightarrow C-10, H-25 \leftrightarrow C-9 \leftrightarrow H-26 \leftrightarrow C-14, C-7 \leftrightarrow H-26 \leftrightarrow C-8 \leftrightarrow H-27 \leftrightarrow C-13, C-14 \leftrightarrow H-27 \leftrightarrow C-15, C-19 \leftrightarrow H-29 \leftrightarrow C-21 \leftrightarrow H-30 \leftrightarrow C-19, H-29 \leftrightarrow C-20 \leftrightarrow H-30, H-12 \leftrightarrow C-14 y C-28 \leftrightarrow H-22. Las mismas, confirmaron el carácter triterpénico de la genina, con lo cual se pudo además conocer que las posiciones C-23 y C-28 se encontraban oxidadas, dados los desplazamientos de ambos carbonos a δ_C = 181.8 y 174.9 ppm, respectivamente (Fig. D).

El espectro COSY (Fig. 21D), reveló una correlación entre H-3 ($\delta_{\text{H}} = 4.01$ ppm) y un metino desplazado a $\delta_{\text{H}} = 4.10$ ppm asignado como H-2, por lo que se concluyó que este carbono se encontraba oxigenado. El carbono C-16, no pudo identificarse dentro del rango normal en el que usualmente se presentaría en triterpenos además, tampoco presentó las correlaciones usuales C-16 \leftrightarrow H-15 H-15 \leftrightarrow C-14 \leftrightarrow H-16 con ninguno de sus átomos vecinos por lo que se concluyó que la posición C-16 también se encontraba oxigenada.

Al realizar la búsqueda bibliográfica del género *Ganophyllu*, nos dimos cuenta de que el único estudio fitoquímico realizado con anterioridad a la especie *G. giganteum* (Dimbi *et al.*, 1984), reportaba el aislamiento de un triterpeno oxidado en las posiciones: C-2 (-OH), C-16 (-OH), C-23 (COOH) y C-28 (COOH). Al compararse los valores de $\delta_{\text{H/C}}$ reportados para este compuesto (Dimbi *et al.*, 1984; Freiler *et al.*, 1996; Cuéllar *et al.*, 1997; Lavaud *et al.*, 1998) con los obtenidos de manera experimental se pudo comprobar de forma inequívoca, que se trataba del ácido 16 α -hidróxi-medicagénico, conocido también como “ácido zanhico” (Fig. D).

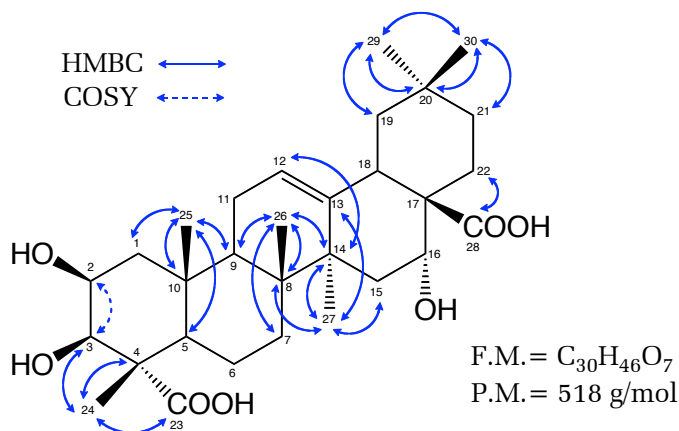


Figura D: Correlaciones HMBC y COSY de la aglicona del compuesto (21)
(ácido zanhico)

Una vez elucidada la genina, se procedió al análisis del número y tipo de glicósidos que la conformaban. El espectro de RMN-¹H, corroboró la presencia de cuatro señales anoméricas [$\delta_{\text{C/H}} = 101.5/4.28$ ($J = 7.7$, C-1’); 93.1/5.36 ($J = 8.1$, C-1’’); 100.5/5.11 ($J = 1.0$, C-1’’’) y 104.1/4.31 ($J = 7.3$, C-1’’’’)]. Los experimentos TOCSY (Fig. 21D) y HMBC, permitieron ubicar sin ambigüedad a los protones asociados a cada hidrógeno anomérico y gracias a sus constantes de acoplamiento (J_{Hz}) se determinó la configuración para cada monosacárido. En este sentido se pudieron identificar dichas unidades como: β -D-Ácido glucorónico, β -D-4-O-Acetil-fucopiranososa, α -L-Rhamnosa y β -D-Xilosa. Corroborado por comparación con los valores de desplazamiento en RMN-¹³C reportados en la literatura (Agrawal, 1992).

Figura 21C. Espectro de RMN-¹³C (DMSO-*d*₆, 150 MHz) del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zanhico (21)

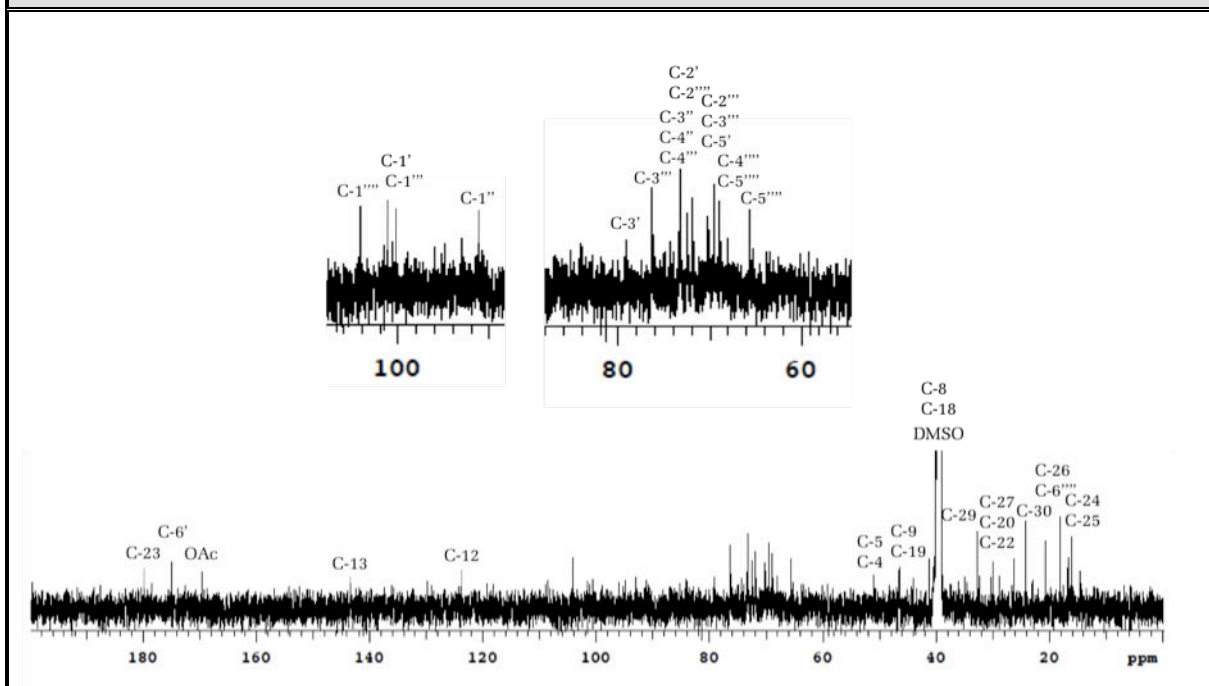


Tabla 21C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (DMSO-*d*₆, 150 MHz) de la Genina del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zanhico (21)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	43.9	68.9	84.1	51.0	50.9	19.3	32.4
tipo	-CH ₂ -	>CH-O	>CH-O-	>C<	>CH-	-CH ₂ -	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	39.4	46.4	36.0	32.0	124.4	143.3	41.2
tipo	>C<	>CH-	>C<	-CH ₂ -	=CH-	>C=	>C<
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	35.9	72.5	48.1	40.1	46.5	30.0	35.1
tipo	-CH ₂ -	>CH-O	>C<	>CH-	-CH ₂ -	>C<	-CH ₂ -
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28
δ (ppm)	30.2	181.9	14.5	16.6	16.7	26.3	174.9
tipo	-CH ₂ -	O-C=O	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-O-C=O

C	C-29	C-30	TMS Como referencia interna
δ (ppm)	32.7	24.2	
tipo	-CH ₃	-CH ₃	

Tabla 21C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 150 MHz) de los Azucares del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zanhico (21)							
3-O- β -D-Ac. Glucorónico							
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	
δ (ppm)	101.5	74.2	76.2	71.9	73.4	172.5	
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	COOH	
28-O- β -D-4-Acetil-fucosa							
C	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''	C-7''
δ (ppm)	93.2	73.2	79.2	72.2	69.1	16.1	170.2/20.6
tipo	CH<O ₂ -	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃	-OAc
2''-O- β -D-Rhamnosa							
C	C-1'''	C-2'''	C-3'''	C-4'''	C-5'''	C-6'''	
δ (ppm)	100.5	70.0	70.2	71.9	69.1	18.1	
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃	
3''-O- β -D-Xylosa							
C	C-1''''	C-2''''	C-3''''	C-4''''	C-5''''	-	
δ (ppm)	103.9	73.6	76.2	69.4	65.6	-	
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-	-	

El hidrógeno anomérico en $\delta_{\text{H}} = 4.28$ (H-1') ppm, presenta correlaciones TOCSY con los protones H-2' ($\delta_{\text{H}} = 2.96$), H-3' ($\delta_{\text{H}} = 3.12$), H-4' ($\delta_{\text{H}} = 3.04$) y H-5' (3.18), éste último a su vez presentó un cruce HMBC con un carbono ubicado en $\delta_{\text{C}} = 172.5$, representativo de grupos -COOH. Las interacciones ROE: H-1' \leftrightarrow H-3', H-1' \leftrightarrow H-5', confirmaron a esta unidad como β -D-ácido glucorónico. Se ubicó a la misma en el carbono C-3 de la aglicona, gracias al cruce HMBC H-1' \leftrightarrow C-3, apoyado por las interacciones H-2 \leftrightarrow H-1' \leftrightarrow H-3 del espectro ROESY (Fig. 21G).

La señal H-1''/C-1'', a pesar de no presentar correlaciones de ningún tipo, pudo ubicarse en el carbono C-28 del esqueleto triterpénico, gracias al desplazamiento característico en $\delta_{H/C} = 5.36/93.1$ ppm, sin embargo, el hidrógeno anomérico presento interacciones TOCSY con los hidrógenos H-2'' ($\delta_H = 3.68$), H-3'' ($\delta_H = 3.99$) y H-4'' ($\delta_H = 5.06$) y HMBC con C-3'' ($\delta_C = 79.2$), C-5'' ($\delta_C = 69.1$) y el metilo C-6'' ($\delta_H = 16.1$). El desplazamiento a campo inusualmente bajo del protón H-4'' fue indicativo de una sustitución tipo éster, confirmada al compararse los valores reportados en la literatura para fucosas acetiladas en esa posición (Marston, 1995; Freiler *et al.*, 1996). Las interacciones espaciales H-1'' \leftrightarrow H-3'', H-1'' \leftrightarrow H-5'' y H-4'' \leftrightarrow H-6'' corroboraron finalmente a esta unidad como una β -D-4-acetilfucosa (4AcFuc).

La tercera unidad de azúcar fue identificada como un grupo β -D-xilosa (Xyl), gracias a la presencia característica de un metilendioxi (H-5'''), ubicado en $\delta_C = 65.6$ ppm y cuyos protones diasterotópicos aparecían como dos dobletes de doblete desplazados en $\delta_H = 3.02/3.64$ ppm. Se observaron además los cruces TOCSY entre el protón anomérico H-1''' y H-2''' ($\delta_H = 2.98$), H-3''' ($\delta_H = 3.12$), H-4''' ($\delta_H = 3.26$) y H-5''' ($\delta_H = 3.02/3.64$). Por último, la cuarta unidad de azúcar fue determinada como una unidad de α -L-rhamnosa (Rha).

La secuencia de sustitución interglucosídica fue determinada mediante el experimento ROESY, al observarse fuertes interacciones de los hidrógenos H-2'' ($\delta_H = 3.68$) y H-3'' ($\delta_H = 3.99$) de la unidad de 4-O-acetilfucosa, con los hidrógenos anoméricos de las unidades de rhamnosa (H-1'', $\delta_H = 3.99$) y xilosa (H-1''', $\delta_H = 3.99$) respectivamente. Así pues, el patrón de sustitución en C28 se concluyó como: Rha \leftarrow ²4-O-Ac.Fuc³ \rightarrow Xyl (Fig. D-1).

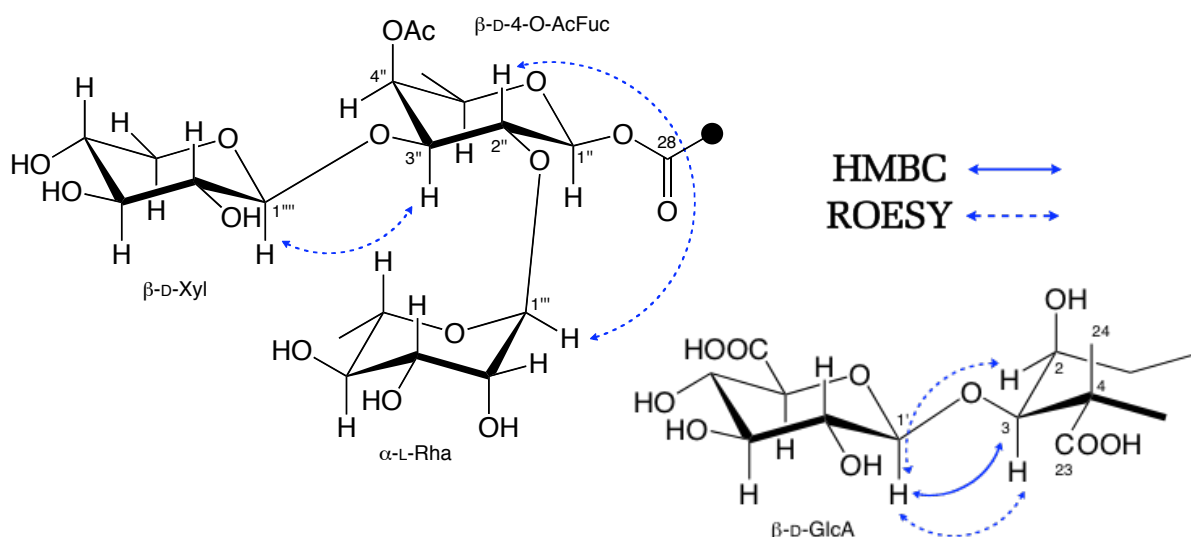
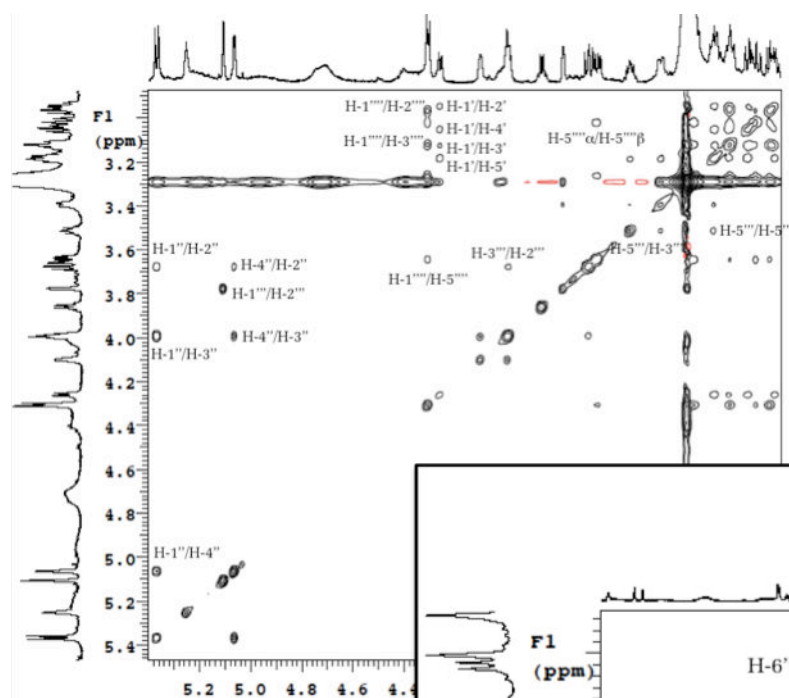
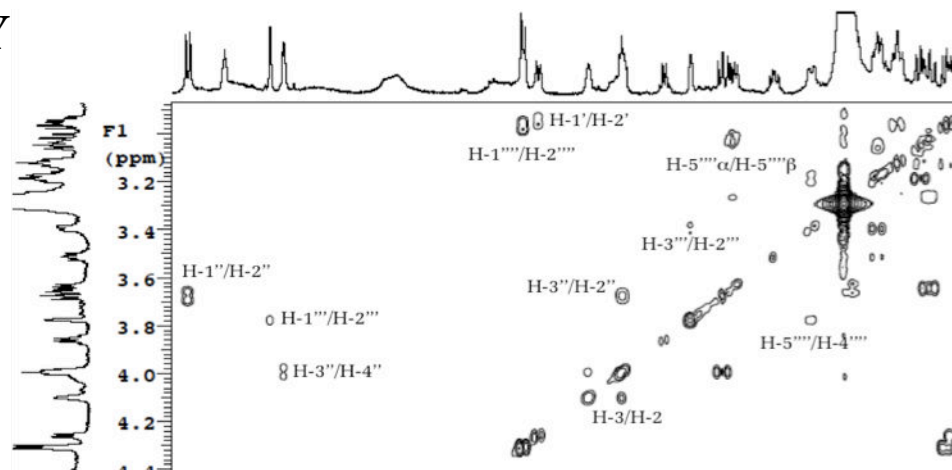


Figura D-1: Ubicación y secuencia interglucosídica en C-3 y C-28 de los azúcares del compuesto (21)

Figura 21D. Espectro COSY y TOCSY del Ácido
28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil]
(1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zanhico (21)

COSY



TOCSY

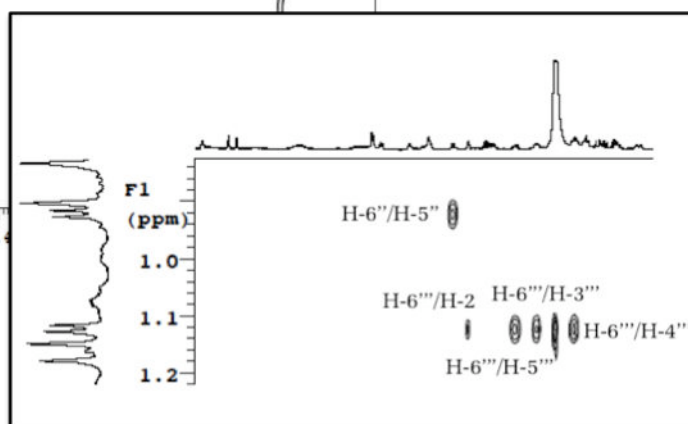


Figura 21E. Espectro HSQC del Ácido
 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil]
 (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zanhico (21)

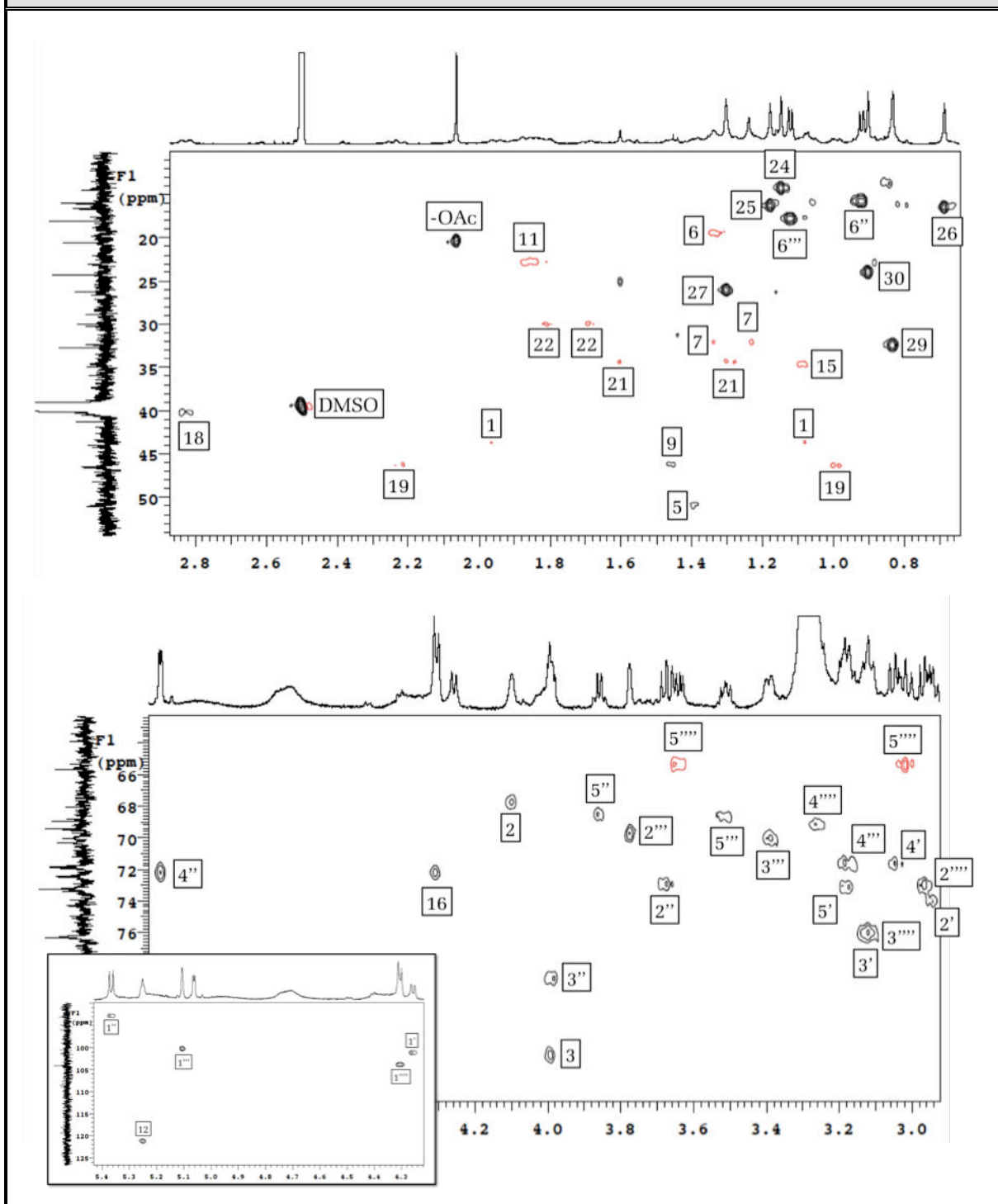


Figura 21F. Espectro HMBC del Ácido
28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil]
(1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucuronopiranosil-zanhico (21)

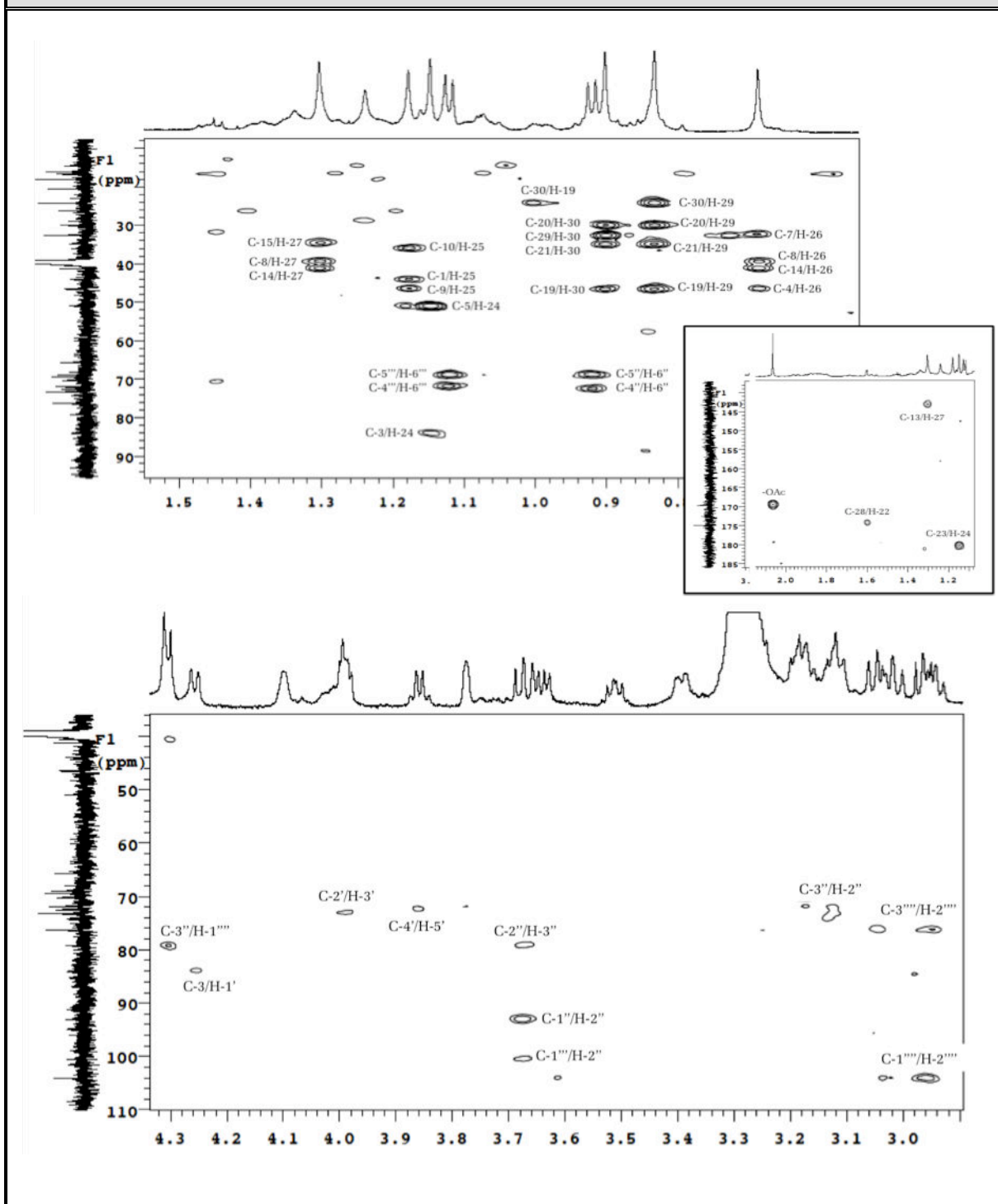
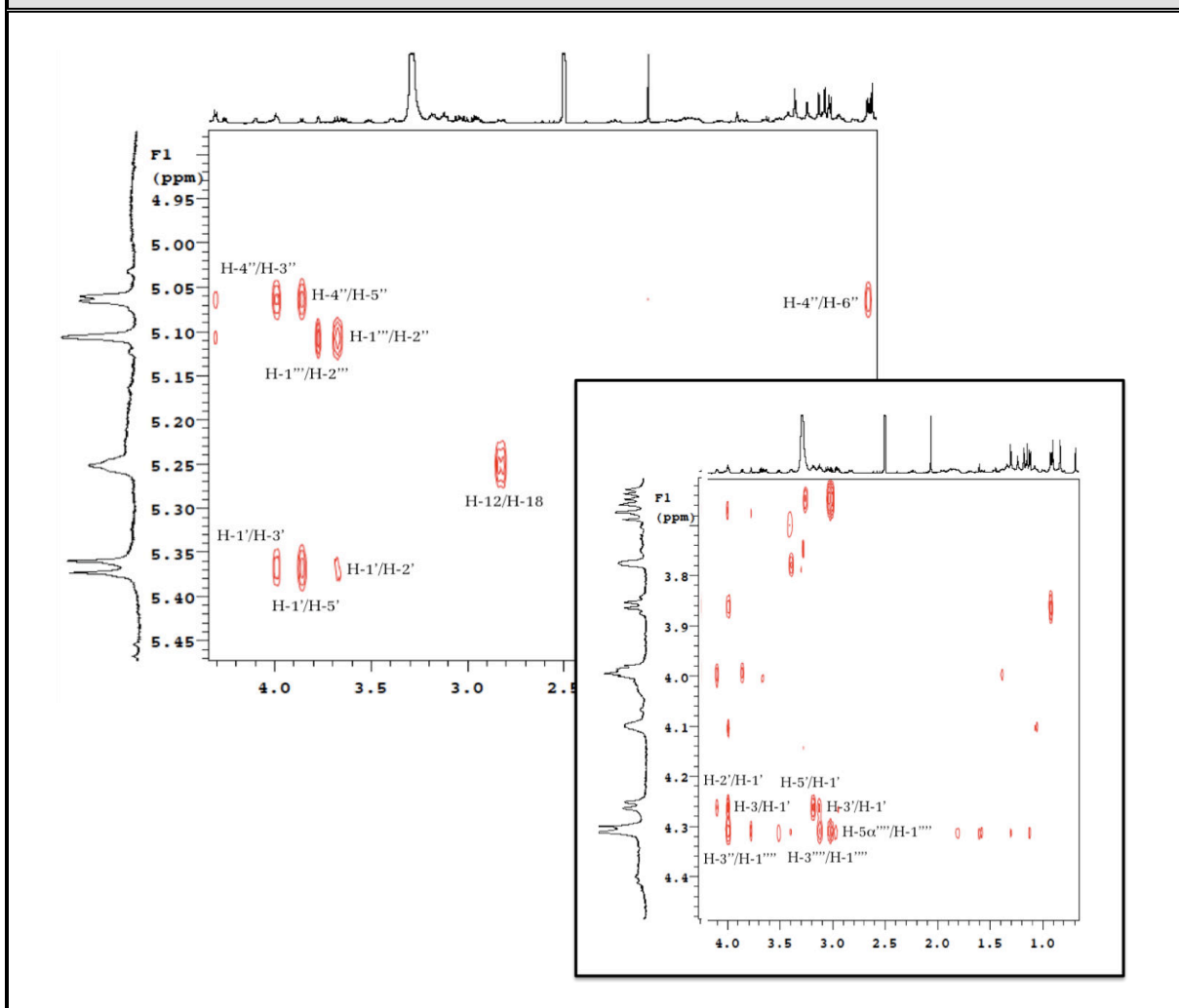


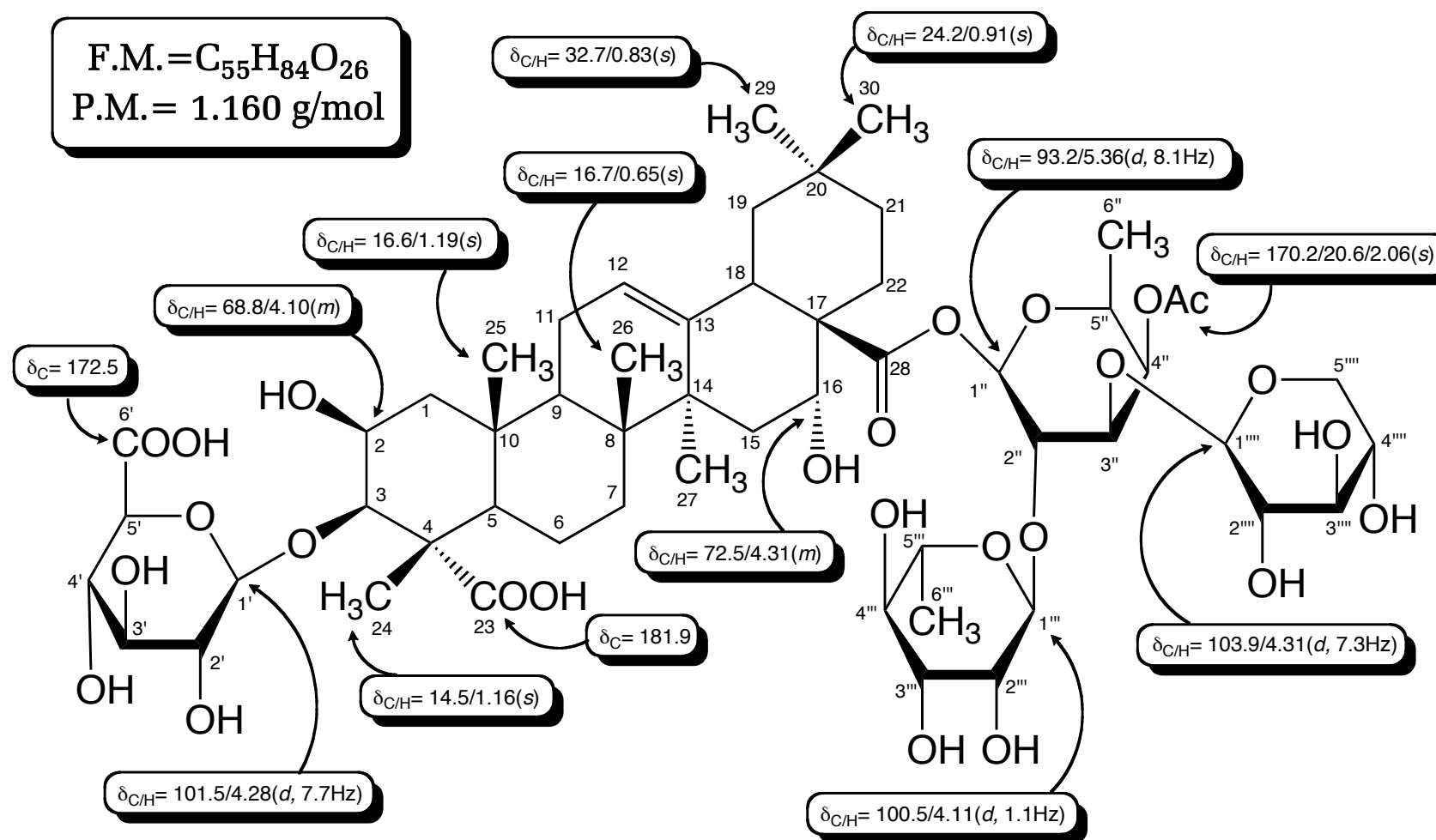
Figura 21G. Espectro ROESY del Ácido
 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil]
 (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zanhico (21)



De esta manera, se pudo elucidar al bidesmósido (21) como el ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zanhico. La revisión bibliográfica hecha para este producto, reveló que hasta el momento no se encuentra reportado en la literatura, por tanto se considera un **nuevo producto natural**. Para el glicósido (21) se propone entonces, sobre la base de su fuente natural, el nombre de **Giganteósido A**.

Ácido 28-O-{\beta-D-4-O-acetilfucopiranosil [(1→2)-\alpha-L-rhamnopiranosil] (1→3)-\beta-D-xilopiranosil}-3-O-\beta-D-glucoronopiranosil-zanhico (21)

F.M. = $C_{55}H_{84}O_{26}$
P.M. = 1.160 g/mol



ÁCIDO 28-O-{\beta-D-4-O-ACETILFUCOPIRANOSIL [(1\rightarrow2)-\beta-D-GLUCORONOPIRANOSIL] (1\rightarrow3)-\beta-D-XILOPIRANOSIL}-3-O-\alpha-L-RHAMNOPIRANOSIL-ZANHICO (**22**)

El compuesto (**22**) fue obtenido de la misma fracción que el compuesto (**21**) y se presentó como un sólido amorfo de color blanco, el cual reveló en placa TLC como una mancha pura de color verde [$R_f = 0.34$, sist. solv. $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (65:35:10); P.f. = +300 °C].

El pico correspondiente al ion molecular en $m/z = 1159$ en el espectro de masas FAB-MS, fue concordante con un compuesto de fórmula molecular $\text{C}_{55}\text{H}_{84}\text{O}_{26}$, se observaron además dos picos importantes, el primero en $m/z = 983$ correspondiente a la pérdida de una unidad de ácido glucorónico (GlcA) y el segundo en $m/z = 517$ correspondiente a la aglicona. Al analizar con detalle los espectros de RMN- ^1H (Fig. 22B; Tabla 22B), RMN- ^{13}C (Fig. 22C; Tabla 22C) y HMQC (Fig. 22D), se pudo comprobar que el compuesto presentaba las mismas señales que el glicósido (**21**). Se determinó una vez más al ácido zanhico como aglicón, gracias a los desplazamientos observados para los seis metilos terciarios [H-24 ($\delta_{\text{H}} = 0.91$), H-25 ($\delta_{\text{H}} = 1.01$), H-26 ($\delta_{\text{H}} = 1.44$), H-27 (0.86) H-29 ($\delta_{\text{H}} = 0.88$), H-30 ($\delta_{\text{H}} = 0.93$)] y al pico en $m/z = 517$ correspondiente a este tipo de triterpeno.

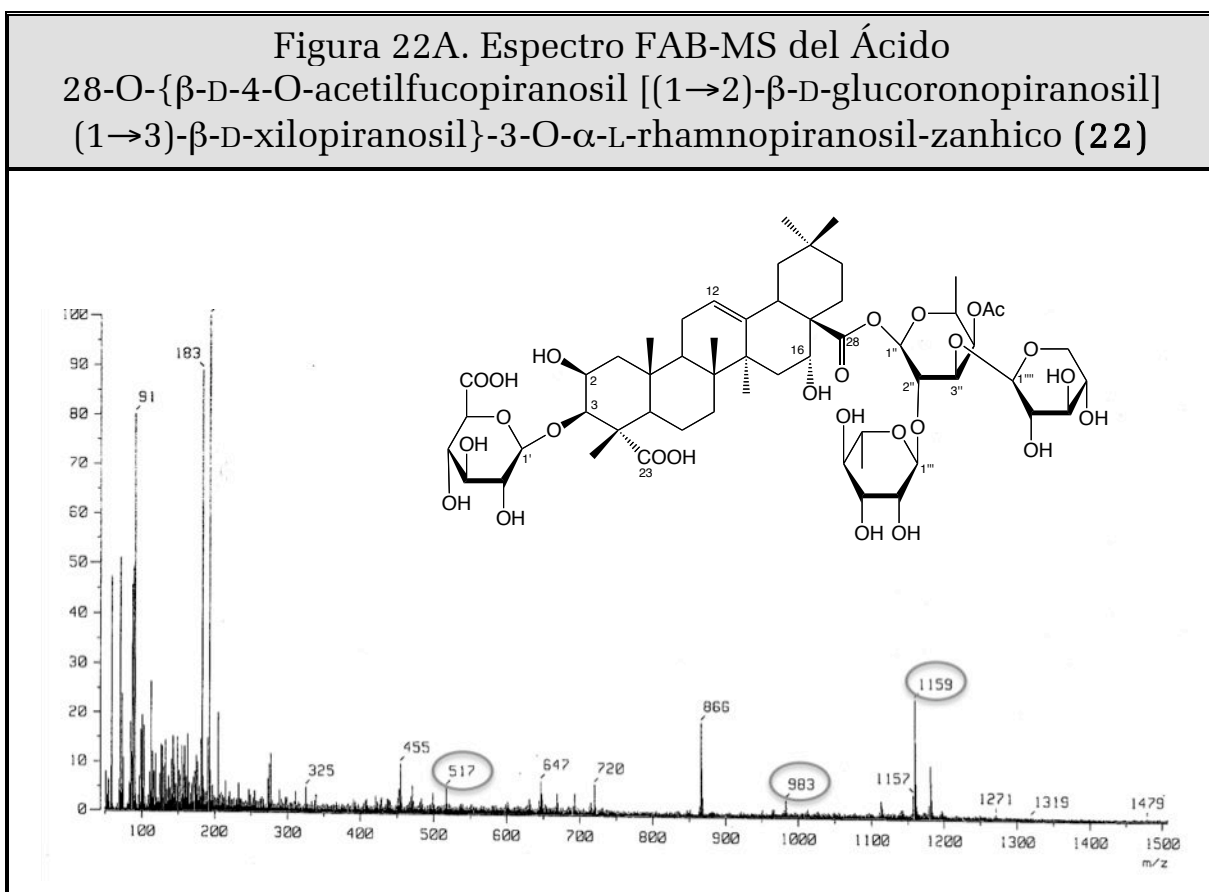


Figura 22B. Espectro de RMN- ^1H (DMSO- d_6 , 600 MHz) del Ácido 28-O- $\{\beta\text{-D-4-O-acetilfucopiranosil} [(1\rightarrow2)\text{-}\beta\text{-D-glucoronopiranosil}] (1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-xilopiranosil}\}\text{-3-O-}\alpha\text{-L-rhamnopiranosil-zanhico (22)$

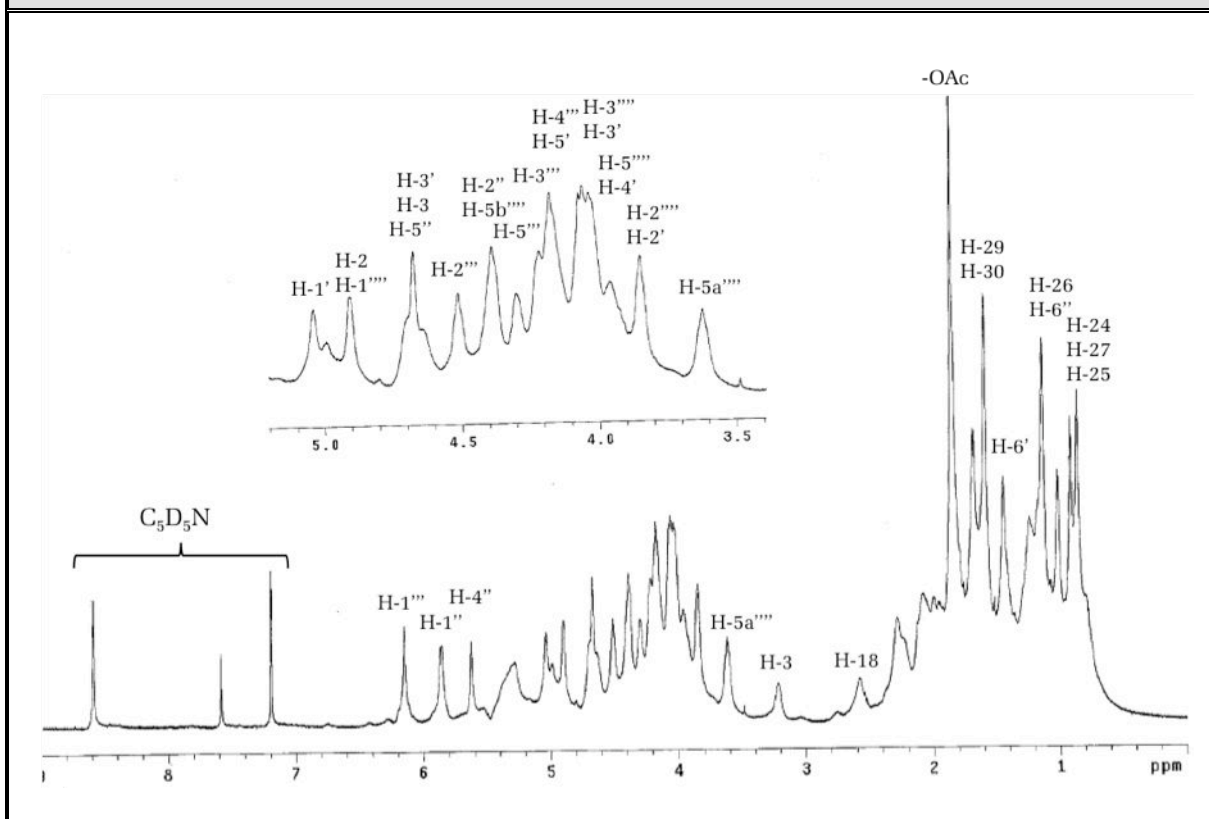


Tabla 22B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz) de la Genina del Ácido 28-O- $\{\beta\text{-D-4-O-acetilfucopiranosil} [(1\rightarrow2)\text{-}\beta\text{-D-glucoronopiranosil}] (1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-xilopiranosil}\}\text{-3-O-}\alpha\text{-L-rhamnopiranosil-zanhico (22)$

H	H-3	H-2	H-5	H-12	H-16	H-18
δ (ppm)	3.31	4.03	1.69	5.45	5.06	2.59
<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>t</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	-	-
H	H-24	H-25	H-26	H-27	H-29	H-30
δ (ppm)	0.91	1.01	1.44	0.86	0.88	0.93
<i>m</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	-	-

Tabla 22B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) de los Azúcares del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (22)							
3-O- α -L-Rhamnosa							
H	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'	
δ (ppm)	5.04	3.78	3.40	4.17	4.38	1.44	
<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	-	-	
28-O- β -D-4Acetilfucosa							
H	H-1''	H-2''	H-3''	H-4''	H-5''	H-6''	-OAc
δ (ppm)	5.85	4.51	4.29	5.62	4.03	1.13	1.86
<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	-	-	-
2''-O- β -D-Ac.Glucorónico							
H	H-1'''	H-2'''	H-3'''	H-4'''	H-5'''	-	
δ (ppm)	6.15	4.62	4.16	4.38	4.01	-	
<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	-	
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	-	-	
3''-O- β -D-Xylosa							
H	H-1''''	H-2''''	H-3''''	H-4''''	H-5a''''	H-5b''''	
δ (ppm)	4.90	3.85	4.39	4.06	3.61	4.29	
<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	-	-	

El estudio en detalle de los espectros COSY y TOCSY (Fig. 22D) permitieron confirmar la presencia de las mismas unidades de azúcar que las presentes en el bidesmósido (21), es decir: β -D-ácido glucorónico, α -L-rhamnosa, β -D-4-O-acetilfucosa y β -D-xilosa, sin embargo, el experimento ROESY (Fig. 22F) develó una interconexión distinta entre las mismas, ya que el hidrógeno H-2'' ($\delta_{\text{H}} = 4.51$ ppm) de la unidad de β -D-4-O-acetilfucosa presentó correlaciones con el protón anomérico de la unidad de ácido glucorónico ($\delta_{\text{H}} = 6.15$ ppm), mientras que el protón anomérico del grupo rhamnosa ($\delta_{\text{H}} = 5.04$ ppm) se cruza ahora con H-3 ($\delta_{\text{H}} = 3.22$ ppm) ubicando al mencionado grupo en el C-3 de la aglicona. El resto de las conexiones permanecieron inalteradas.

Figura 22C. Espectro de RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) del Ácido 28-O-{\beta-D-4-O-acetilfucopiranosil [(1→2)-\beta-D-glucoronopiranosil] (1→3)-\beta-D-xilopiranosil}-3-O-\alpha-L-rhamnopiranosil-zanhico (22)

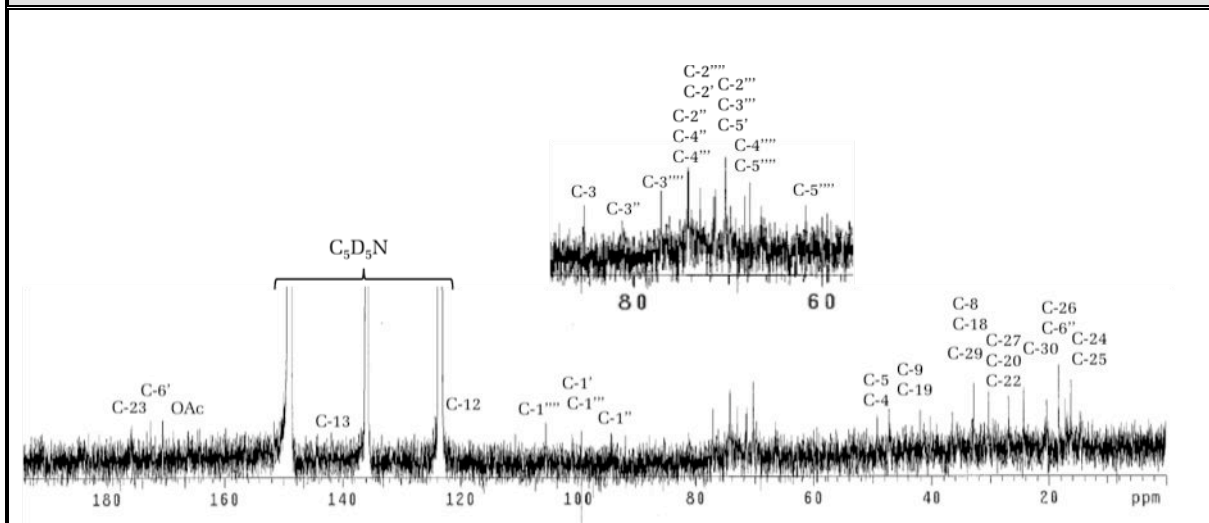


Tabla 22C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) de la Genina del Ácido 28-O-{\beta-D-4-O-acetilfucopiranosil [(1→2)-\beta-D-glucoronopiranosil] (1→3)-\beta-D-xilopiranosil}-3-O-\alpha-L-rhamnopiranosil-zanhico (22)

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	n.a.	70.4	81.0	56.9	50.9	20.3	32.7
tipo	-CH ₂ -	>CH-O	>CH-O-	>C<	>CH-	-CH ₂ -	-CH ₂ -
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	44.3	49.2	n.a.	24.3	123.1	146.5	41.9
tipo	>C<	>CH-	>C<	-CH ₂ -	=CH-	>C=	>C<
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21
δ (ppm)	36.5	73.8	n.a.	45.2	47.2	30.3	36.5
tipo	-CH ₂ -	>CH-O	>C<	>CH-	-CH ₂ -	>C<	-CH ₂ -
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28
δ (ppm)	29.8	186.8	24.8	17.8	17.2	30.1	177.6
tipo	-CH ₂ -	O-C=O	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-O-C=O
C	C-29	C-30	TMS Como referencia interna (n.a. = no asignado)				
δ (ppm)	14.8	27.1					
tipo	-CH ₃	-CH ₃					

Tabla 22C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz) de los Azucres del Ácido 28-O- $\{\beta\text{-D-4-O-acetilfucopiranosil [(1\rightarrow2)\text{-}\beta\text{-D-glucoronopiranosil}]$ (1 \rightarrow 3)- $\beta\text{-D-xilopiranosil}\}$ -3-O- $\alpha\text{-L-rhamnopiranosil-zanhico}$ (22)							
3-O- $\alpha\text{-L-Rhamnosa}$							
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	
δ (ppm)	100.5	70.0	72.3	73.2	71.8	18.3	
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃	
28-O- $\beta\text{-D-4-Acetil-fucosa}$							
H	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''	C-7''/C-8''
δ (ppm)	94.9	74.0	81.2	72.6	70.3	16.2	173.9/20.5
tipo	CH<O ₂ -	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃	-OAc
2''-O- $\beta\text{-D-Ac. Glucorónico}$							
H	C-1'''	C-2'''	C-3'''	C-4'''	C-5'''	C-6'''	
δ (ppm)	101.2	71.4	76.5	71.8	70.8	174.1	
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	COOH	
3''-O- $\beta\text{-D-Xylosa}$							
H	C-1''''	C-2''''	C-3''''	C-4''''	C-5''''	-	
δ (ppm)	105.2	74.2	77.2	70.0	66.4	-	
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-	-	

Se elucidó entonces al compuesto (22) como el ácido 28-O- $\{\beta\text{-D-4-O-acetilfucopiranosil [(1\rightarrow2)\text{-}\beta\text{-D-glucoronopiranosil}]$ (1 \rightarrow 3)- $\beta\text{-D-xilopiranosil}\}$ -3-O- $\alpha\text{-L-rhamnopiranosil-zanhico}$ (22). De igual manera, el compuesto (21) no se encontró reportado en la bibliografía, por lo que constituye un nuevo producto natural. Para este compuesto se propuso el nombre de Giganteósido B (22).

Figura 22D. Espectro COSY y TOCSY (C_5D_5N) del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (22)

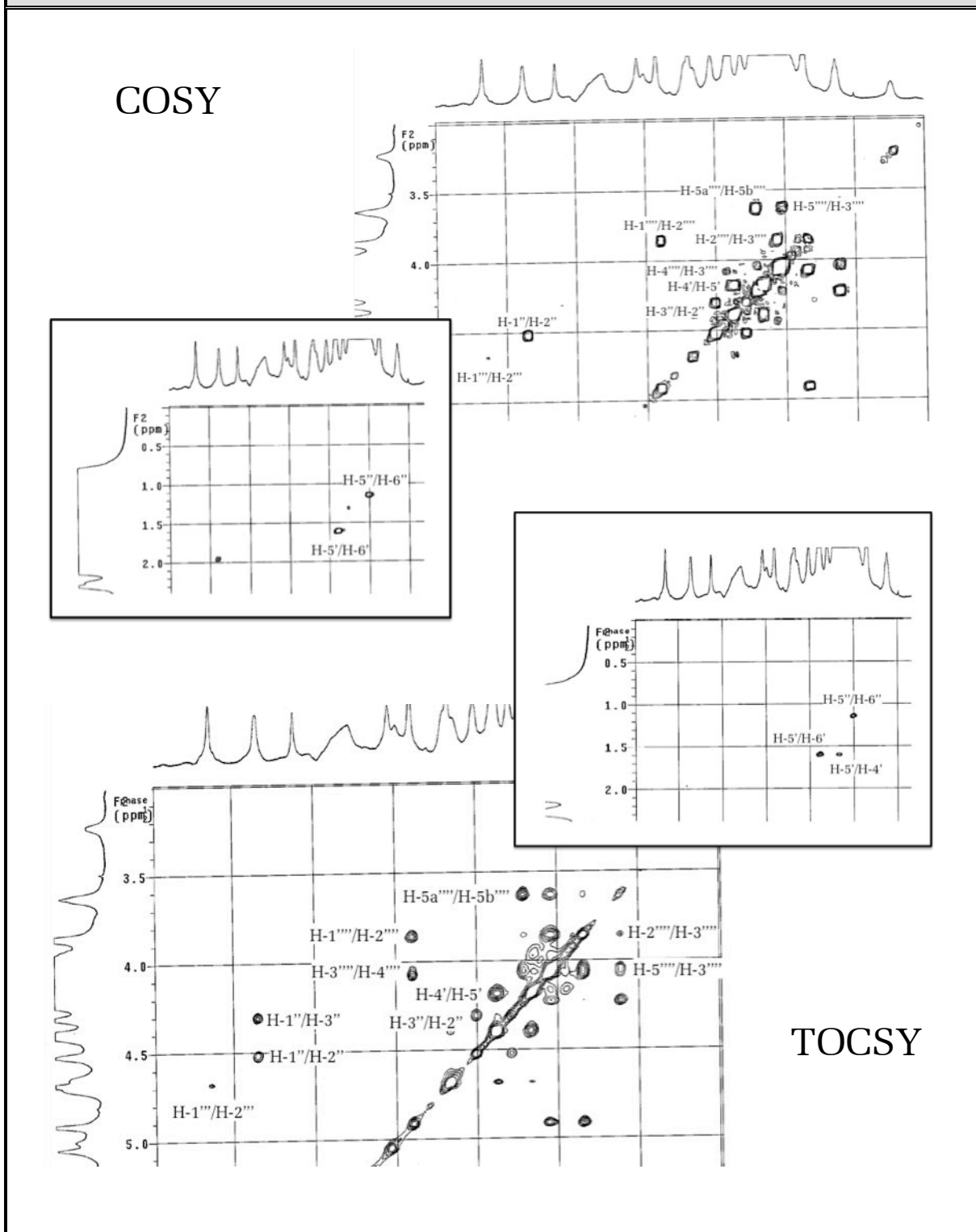


Figura 22E. Espectro HMQC (C_5D_5N) del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (22)

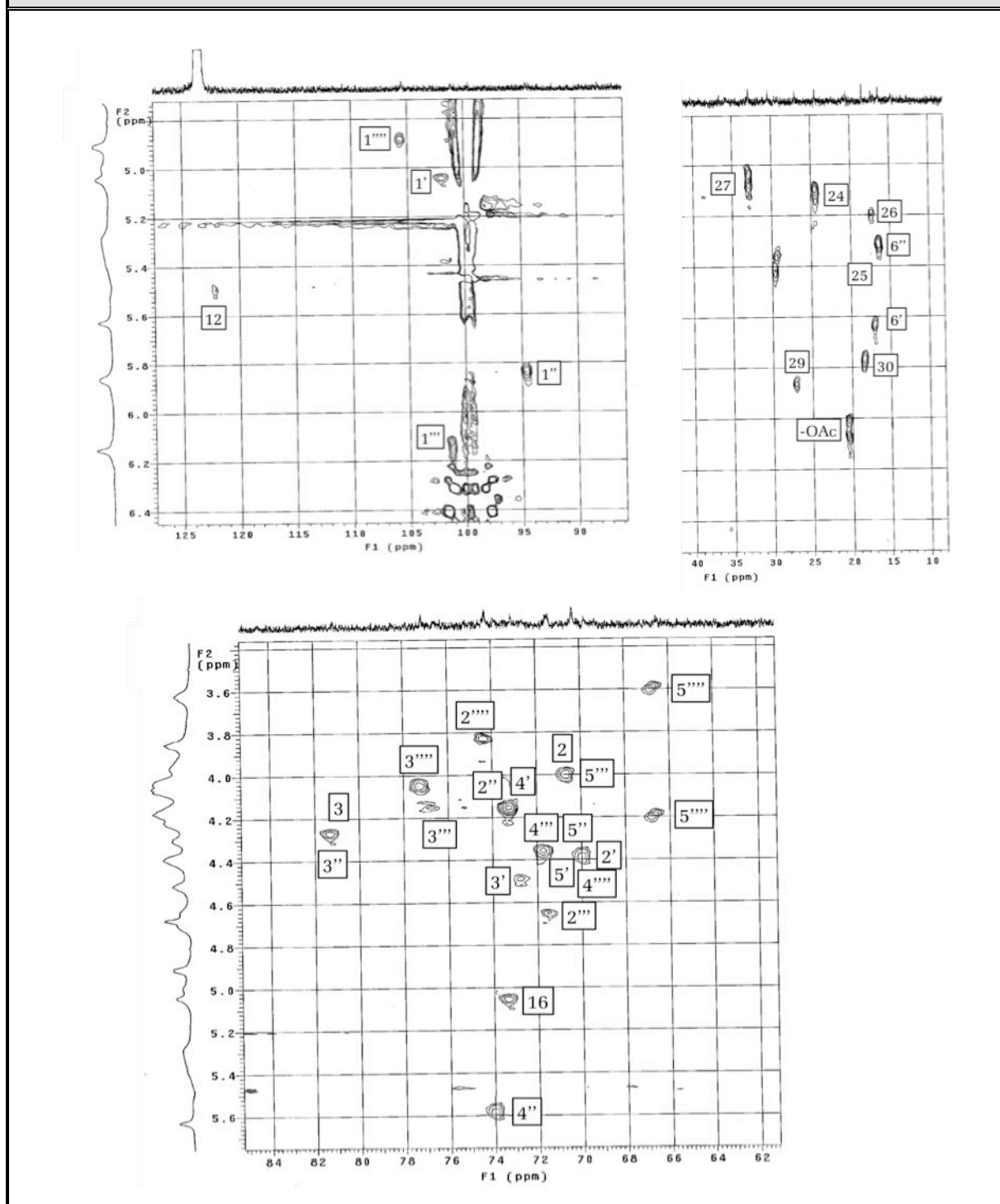
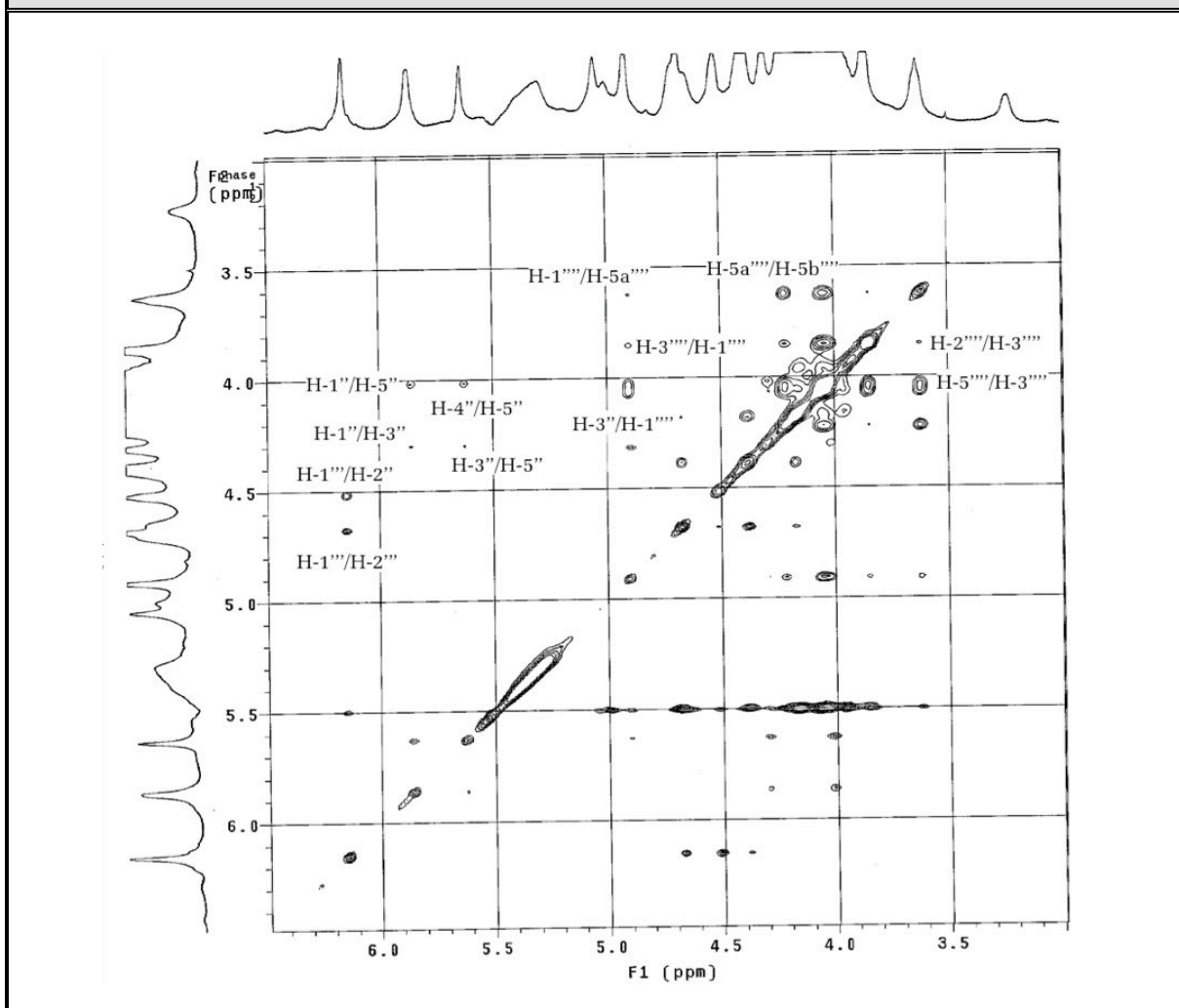
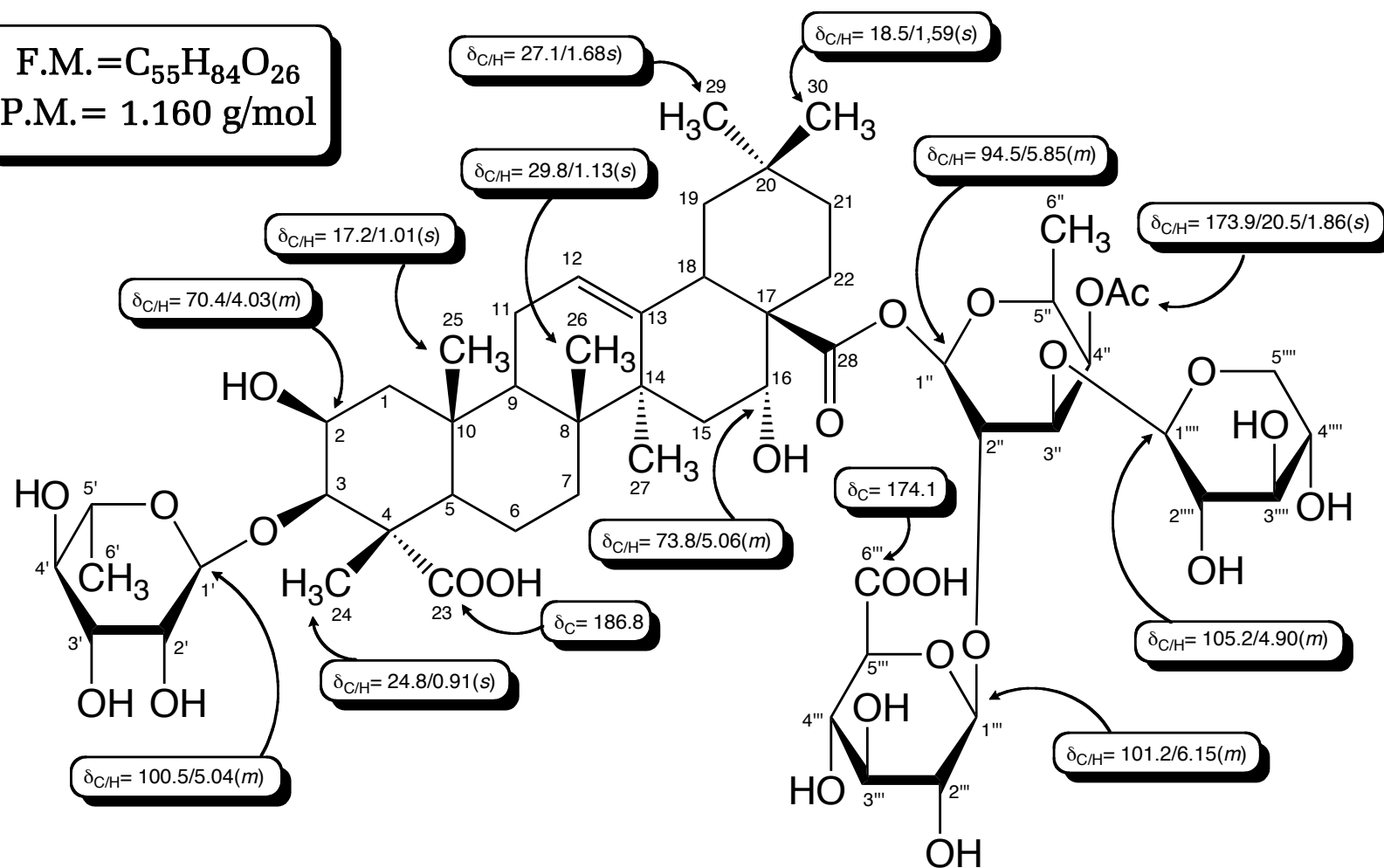


Figura 22F. Espectro ROESY (C_5D_5N) del Ácido
28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil]
(1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (22)



Ácido 28-O-{\beta-D-4-O-acetilfucopiranosil [(1\to2)-\beta-D-glucoronopiranosil] (1\to3)-\beta-D-xilopiranosil}-3-O-\alpha-L-rhamnopiranosil-zanhico (22)

F.M. = $C_{55}H_{84}O_{26}$
P.M. = 1.160 g/mol



ÁCIDO 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-ACETILFUCOPIRANOSIL [(1 \rightarrow 2)- β -D-GLUCORONOPIRANOSIL] (1 \rightarrow 3)- β -D-XILOPIRANOSIL(1 \rightarrow 2)- β -D-GLUCOPIRANOSIL}-3-O- α -L-RHAMNOPIRANOSIL-ZANHICO (**23**)

El glicósido (**23**) se obtuvo de la fracción "A", subfracción 13, de la cromatografía general. Se aisló como un sólido amorfo de color blanco, el cual reveló en placa TLC como una mancha pura de color verde [R_f = 0.29, sist. solv. $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (65:35:10); P.f. = +300 °C].

El espectro de FAB-MS (Fig. 23A) presentó un ion molecular en m/z = 1.320, el cual es correspondiente a un compuesto de fórmula molecular $\text{C}_{61}\text{H}_{94}\text{O}_{31}$, se observaron además picos en m/z = 1.159, 983 y 809, los cuales correspondían a: pérdida de un grupo glucosa (Glc), pérdida de un grupo ácido glucorónico (GlcA) y el rompimiento contiguo de un grupo xilosa (Xyl) y un grupo acetato (-OAc).

El estudio de los espectros uni- (Figs. 23B a 23C) y bidimensionales (Figs. 23D a 23F), revelaron la presencia de las mismas señales que en el compuesto (**22**), con la excepción de seis (6) nuevos picos en la región de los carbonos oxigenados. El estudio comparativo de los espectros de masas de los compuestos (**22**) y (**23**) sugirió la presencia de una unidad adicional de glucosa (-Glc) en (**23**), debido a la diferencia de 162 u.m.a. entre ambos compuestos.

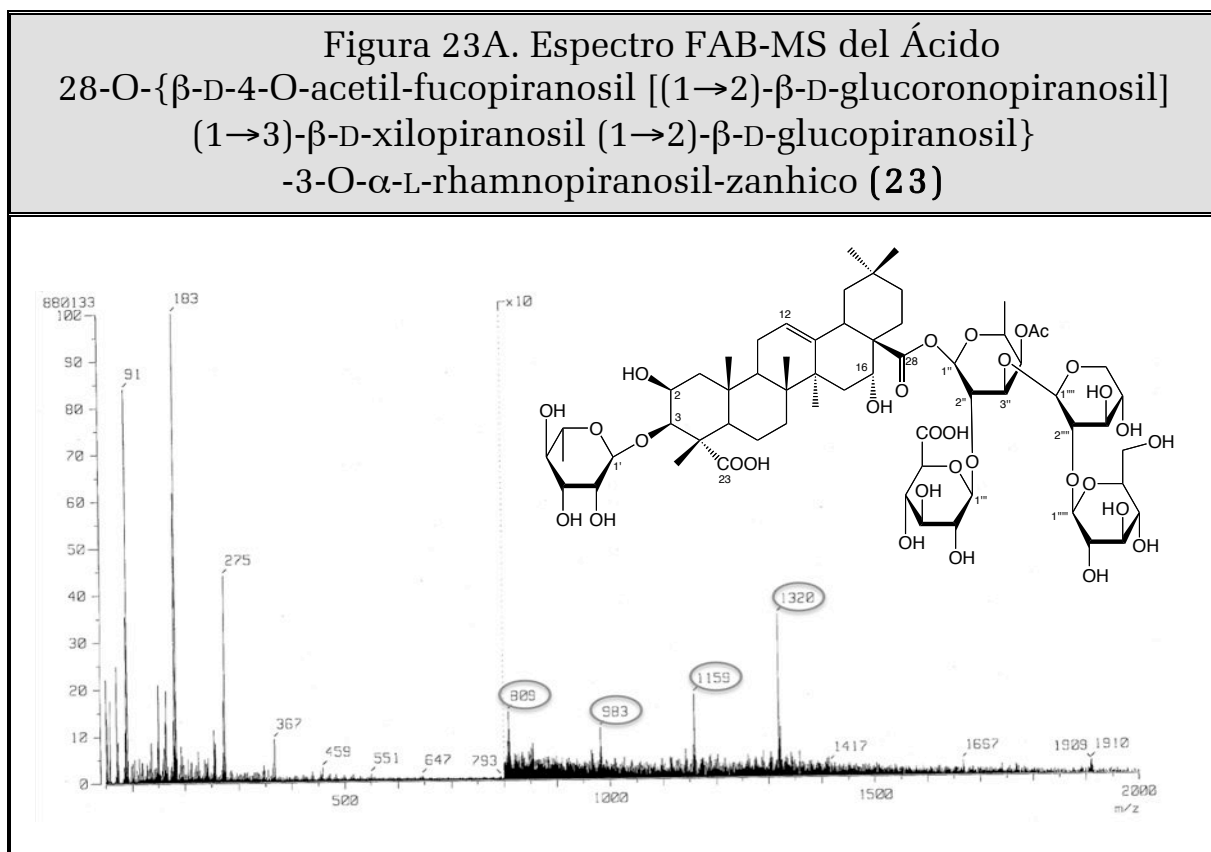


Figura 23B. Espectro de RMN-¹H (C₅D₅N, 600 MHz) del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetil-fucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil} -3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (23)

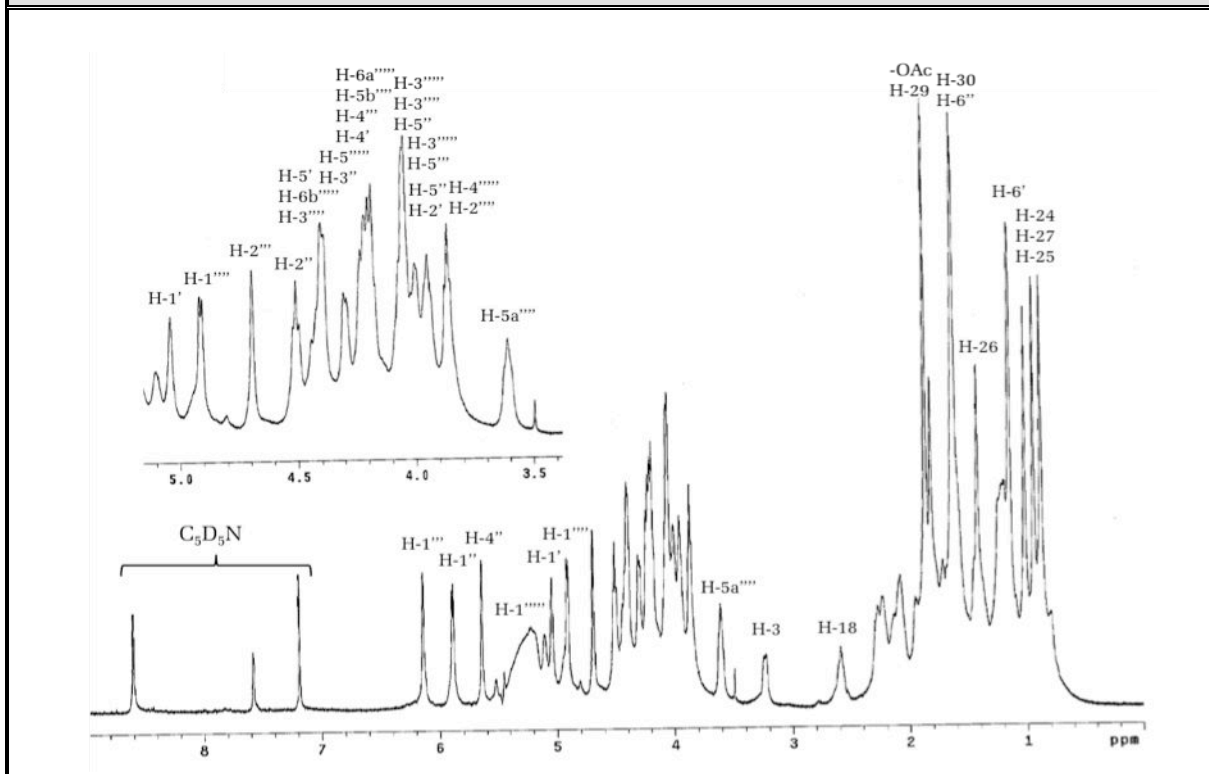


Tabla 23B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹H (C₅D₅N, 600 MHz) de la Genina del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetil-fucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil} -3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (23)

H	H-3	H-2	H-5	H-12	H-16	H-18
δ (ppm)	3.22	4.30	0.79	5.51	5.04	2.59
<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>t</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	-	-
H	H-24	H-25	H-26	H-27	H-29	H-30
δ (ppm)	0.93	1.01	1.41	0.87	0.88	0.93
<i>m</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	-	-

Tabla 23B. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz) de los Azúcares del Ácido 28-O- $\{\beta\text{-D-4-O-acetil-}$ fucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- $\beta\text{-D-glucoronopiranosil}$] (1 \rightarrow 3)- $\beta\text{-D-xilopiranosil}$ (1 \rightarrow 2)- $\beta\text{-D-glucopiranosil}\}$ -3-O- $\alpha\text{-L-rhamnopiranosil-zanhico}$ (23)							
3-O- $\alpha\text{-L-Rhamnosa}$							
H	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'	
δ (ppm)	5.04	4.01	4.22	4.18	4.41	1.61	
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	
J (Hz)	1.1	-	-	-	-	5.5	
28-O- $\beta\text{-D-4-Acetil-fucosa}$							
H	H-1''	H-2''	H-3''	H-4''	H-5''	H-6''	-OAc
δ (ppm)	5.89	4.49	4.30	5.63	4.02	1.13	1.86
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>s</i>
J (Hz)	7.6	-	-	-	-	4.3	-
2''-O- $\beta\text{-D-Ac. Glucorónico}$							
H	H-1'''	H-2'''	H-3'''	H-4'''	H-5'''	H-6'''	
δ (ppm)	6.14	4.69	4.40	4.23	3.95	-	
m	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	-	
J (Hz)	-	-	-	-	-	-	
3''-O- $\beta\text{-D-Xilosa}$							
H	H-1''''	H-2''''	H-3''''	H-4''''	H-5a''''	H-5b''''	
δ (ppm)	4.91	3.81	4.04	4.21	3.61	4.22	
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	
J (Hz)	6.2	-	-	-	-	-	
2''''-O- $\beta\text{-D-Glucosa}$							
H	H-1'''''	H-2'''''	H-3'''''	H-4'''''	H-5'''''	H-6'''''	
δ (ppm)	5.10	3.87	4.05	3.82	4.29	4.21/4.42	
m	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	
J (Hz)	-	-	-	-	-	-	

Se pudo confirmar, sin lugar a dudas, la presencia del nuevo grupo glucosa con la aparición en el HMQC (Fig. 23E) de seis nuevas señales, entre las que resaltan las del metileno oxigenado en $\delta_{\text{C}} = 60.8$ (C-6''''') ppm, con sus respectivos hidrógenos en $\delta_{\text{H}} = 4.21$ y 4.42 ppm.

Figura 23C. Espectro de RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetil-fucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil} -3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (23)

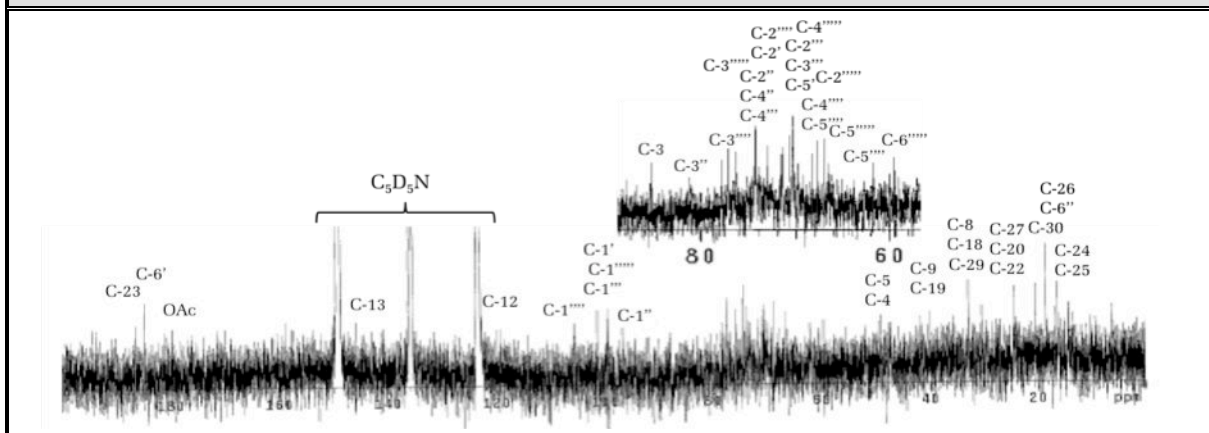


Tabla 23C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN-¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) de la Genina del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetil-fucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (23)

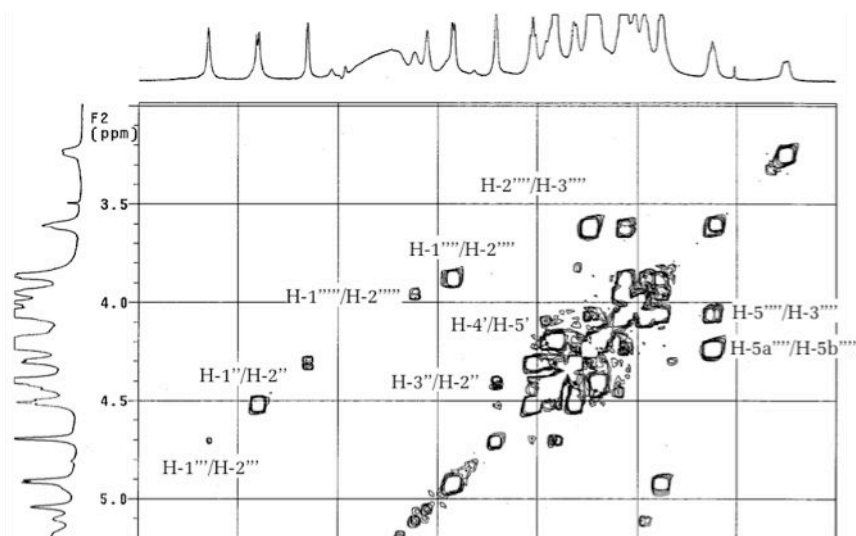
C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	
δ (ppm)	44.2	70.9	85.2	n.a	48.3	20.4	31.9	
tipo	-CH ₂ -	>CH-O	>CH-O-	>C<	>CH-	-CH ₂ -	-CH ₂ -	
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	
δ (ppm)	44.3	48.1	n.a	24.4	123.3	145.7	n.a	
tipo	>C<	>CH-	>C<	-CH ₂ -	=CH-	>C=	>C<	
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21	
δ (ppm)	33.5	71.8	49.0	40.0	45.5	n.a	26.0	
tipo	-CH ₂ -	>CH-O	>C<	>CH-	-CH ₂ -	>C<	-CH ₂ -	
C	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28	
δ (ppm)	32.2	184.1	22.8	15.5	15.1	31.2	179.2	
tipo	-CH ₂ -	O-C=O	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-O-C=O	
C	C-29	C-30	TMS					
δ (ppm)	12.3	20.5	Como referencia interna					
tipo	-CH ₃	-CH ₃	(n.a. = no asignado)					

Tabla 23C. Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz) de los Azúcares del Ácido 28-O- $\{\beta\text{-D-4-O-acetil-}$ fucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- $\beta\text{-D-glucoronopiranosil}$] (1 \rightarrow 3)- $\beta\text{-D-xilopiranosil}$ (1 \rightarrow 2)- $\beta\text{-D-glucopiranosil}\}$ -3-O- $\alpha\text{-L-rhamnopiranosil-zanhico}$ (23)							
3-O- $\alpha\text{-L-Rhamnosa}$							
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	
δ (ppm)	100.1	70.1	74.7	71.9	68.4	16.3	
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃	
28-O- $\beta\text{-D-4-Acetil-fucosa}$							
C	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''	-
δ (ppm)	92.5	71.1	79.3	71.5	69.1	14.5	170.8/20.6
tipo	-CH<O ₂	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₃	-OAc
2''-O- $\beta\text{-D-Ac. Glucorónico}$							
C	C-1'''	C-2'''	C-3'''	C-4'''	C-5'''	C-6'''	
δ (ppm)	99.5	69.8	70.0	74.9	73.2	179.2	
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-COOH	
3''-O- $\beta\text{-D-Xilosa}$							
C	C-1''''	C-2''''	C-3''''	C-4''''	C-5''''	C-6''''	-
δ (ppm)	103.2	76.4	75.1	75.1	64.9	-	-
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-	-
2''''-O- $\beta\text{-D-Glucosa}$							
C	C-1'''''	C-2'''''	C-3'''''	C-4'''''	C-5'''''	C-6'''''	
δ (ppm)	103.2	73.8	75.3	72.3	71.2	60.8	
tipo	-O-CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	>CH-O-	-CH ₂ -O-	

De igual forma que para el compuesto (**22**), la disposición de los azúcares fue la misma, con las interacciones ROESY (Fig. 23F) entre H-2'' \leftrightarrow H-1''' y H-3'' \leftrightarrow H-1'''''. La posición del grupo glucosa se determinó gracias a el valor de desplazamiento presentado por el carbono C-2''''' de la unidad de xilosa a $\delta_{\text{C}} = 76.4$ ppm, que al compararse con el desplazamiento exhibido por este carbono en el compuesto (**22**) ($\delta_{\text{C}} = 74.2$) presento un desapantallamiento de $\Delta\delta_{\text{C}} = 2.2$ ppm, característico en xilosas sustituidas en esta posición. En conclusión, el compuesto (**23**) se determinó como el ácido 28-O- $\{\beta\text{-D-4-O-acetilfucopiranosil [(1\rightarrow2)-\beta\text{-D-glucoronopiranosil}] (1\rightarrow3) -\beta\text{-D-xilopiranosil (1\rightarrow2)-\beta\text{-D-glucopiranosil}\}$ -3-O- $\alpha\text{-L-rhamnopiranosil-zanhico}$. Este compuesto tampoco se encuentra descrito en la literatura y para el mismo se propuso el nombre de **Giganteósido C (23)**.

Figura 23D. Espectros COSY y TOCSY (C_5D_5N) del Ácido
 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetil-fucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopiranosil]
 (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil}
 -3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (23)

COSY



TOCSY

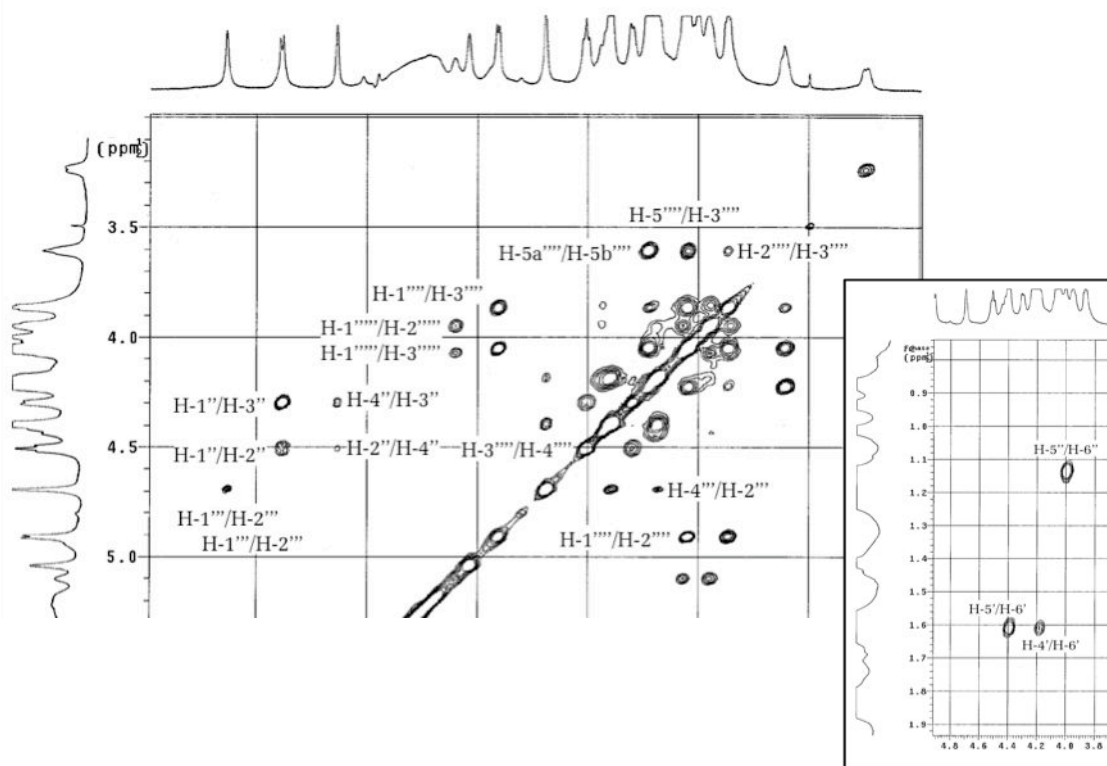


Figura 23E. Espectro HMQC (C_5D_5N) del Ácido
 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetil-fucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil]
 (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil}
 -3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (23)

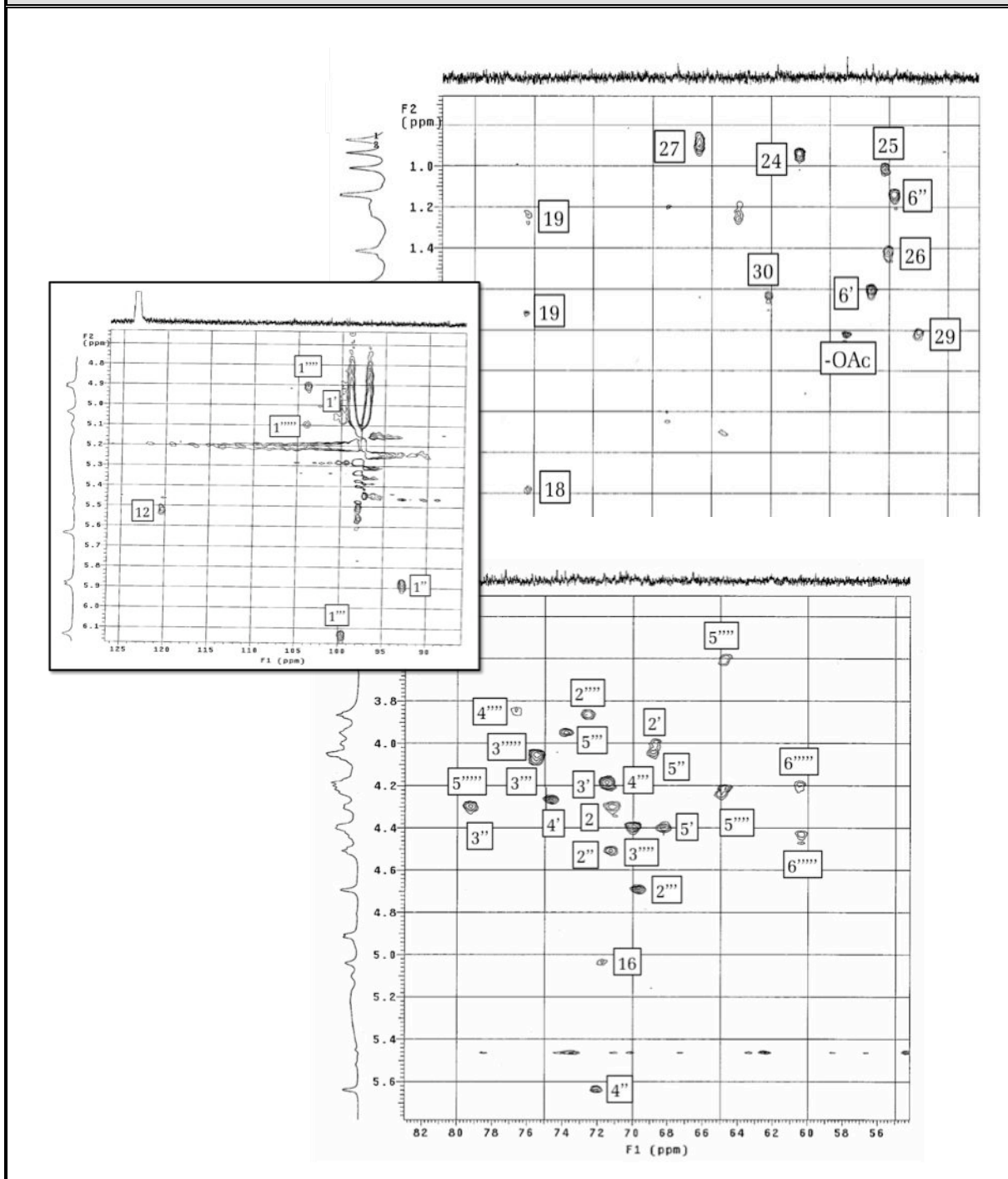
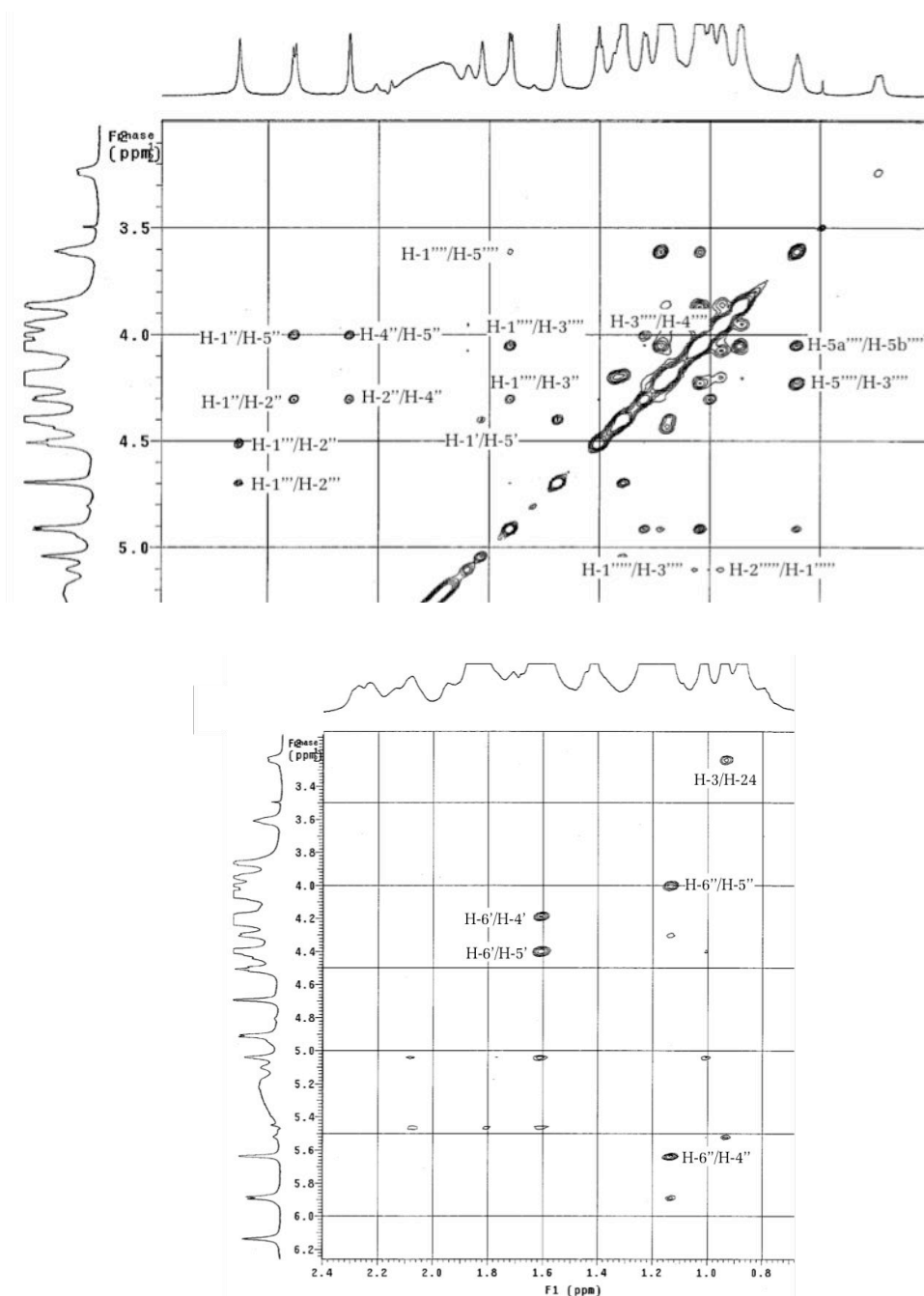
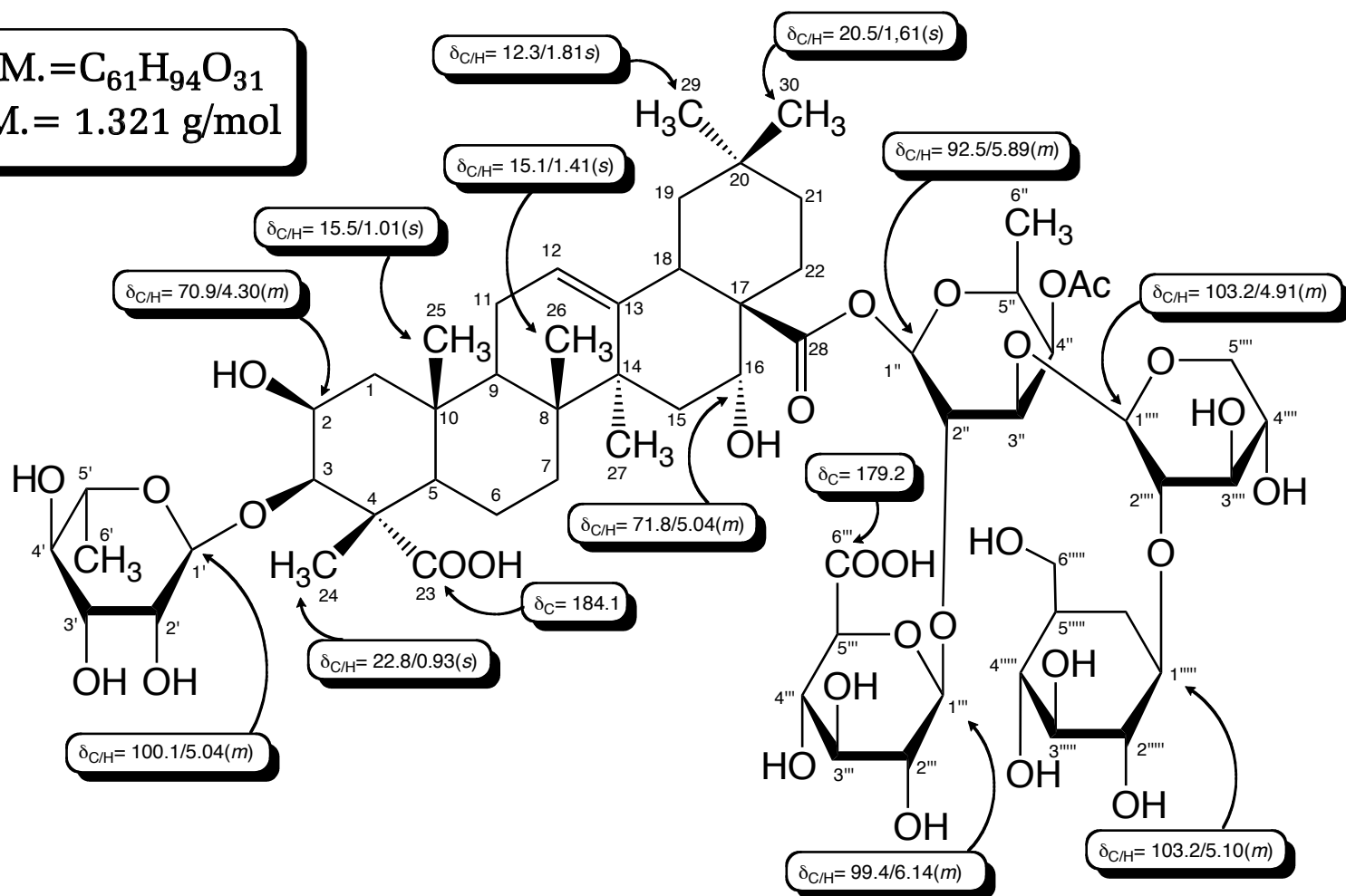


Figura 23F. Espectro ROESY (C_5D_5N) del Ácido
 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetil-fucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil]
 (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil}
 -3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (23)



Ácido 28-O-{\beta-D-4-O-acetilfucopiranosil [(1\rightarrow2)-\beta-D-glucoronopiranosil] (1\rightarrow3)-\beta-D-xilopiranosil (1\rightarrow2)-\beta-D-glucopiranosil}-3-O-\alpha-L-rhamnopiranosil-zanhico (23)

F.M. = $C_{61}H_{94}O_{31}$
P.M. = 1.321 g/mol



PARTE EXPERIMENTAL

1. TÉCNICAS GENERALES APLICADAS.

1.1. Cromatografía en Capa Fina y Capa Gruesa:

Para la cromatografía de capa fina analítica TLC y HPTLC se emplearon placas de gel de sílice fluorescente sobre soporte de vidrio de la casa Merck, HF 254 (0,25 mm de espesor). Las cromatoplasacas se desarrollaron en los sistemas de eluyentes adecuados y se revelaron rociándolas con: “*oleum*” [CH₃COOH-H₂O-H₂SO₄ (20:4:1) *v/v*], agente “*komarowsky*” [mezcla 5:1 de *p*-hidroxibenzaldehído (2% MeOH) y 50% EtOH/H₂SO₄] ó “*vainillina*” [4-hidróxi-3-metoxi-benzaldehído en MeOH], luego calentándolas con corriente de aire a 100 °C por algunos minutos. Las placas para cromatografía de capa gruesa o preparativa se hicieron suspendiendo gel de sílice fluorescente (HF 254) en agua destilada (relación 1:2 *p/p*) y extendiendo luego la mezcla en piezas de vidrio. Las placas fueron activadas a 120 °C durante 24 horas. Una vez eluidas se secaron a la temperatura ambiente, y luego, las bandas identificadas por exposición a la luz UV se marcaron y se rasparon, vertiendo la gel recuperada en diferentes envases. Los productos se recuperaron mediante extracción con acetato de etilo o acetona y filtración en un embudo Bücher.

1.2. Cromatografía en columna:

Para la cromatografía en columna al vacío se usó como adsorbente gel de sílice fase normal 60 (63-200 µm, 70-230 mesh) y sílica fase reversa Lichrosper®60 RP-18-WF de la casa Merck. Las columnas se desarrollaron siguiendo las técnicas descritas en la literatura (Coll and Bowden, 1986; Willis, 1991). Para la cromatografía en MPLC se utilizó una bomba Gilson M 305 con columna de vidrio Büchi (460x25, 460x15 y 230x15 mm) y pre-columna (110x15 mm) con sílica gel 60 (SiO₂ 15-40 µm) de la casa Merck. La cromatografía Líquida de Vacío (VLC) fue llevada a cabo, usando sílica gel Merck, de fase reversa RP-18 (25-40 µm) .

1.3. Punto de Fusión:

Los puntos de fusión fueron determinados empleando un aparato de plancha de calentamiento para el rango 20-300 °C (± 1 °C), marca Fisher-Johns.

1.4. Espectros de Infrarrojo:

Se realizaron en un espectrofotómetro infrarrojo-FT Perkin Elmer, modelo FT-1725X, en pastillas de KBr o en película.

1.5. Espectros de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C :

Se corrieron en un equipo de Resonancia Magnética Nuclear Bruker-Avance DRX 400, 100 MHz y un equipo Varian VNMR 600, 150 MHz, respectivamente. Como solvente se usó CDCl_3 , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, MeOD y DMSO- d_6 . Para obtener los espectros bidimensionales se aplicaron secuencias de pulso estándar, usando un cabezal de detección inversa de 5 mm.

1.6. Espectros de Masas:

Se realizaron utilizando diversos equipos: en el caso de bombardeo rápido de átomos (FAB-MS), se uso un espectrómetro JEOL SX 102 con glicerol como matriz (en m/z). Para la técnica de electrospray (ESI-MS), se utilizó un aparato Micromass Q-TOF-1 (en m/z). Finalmente, en el caso de impacto electrónico (I.E.), se tomaron en un equipo Hewlett-Packard 5930A con un potencial electrónico de 70 eV (en m/z).

2. RECOLECCIÓN, SECADO Y PREPARACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.

El material vegetal se recolectó, en el Páramo de “San José de Acequias”, Municipio Autónomo Arzobispo Chacón, Estado Mérida (*Phytolaca rugosa* y *P. icosandra*) y en la carretera “Mucuchíes-Gavidia”, Municipio Rangel, Estado Mérida (*Cestrum ruizteranianum*). Las muestras botánicas se encuentran depositadas en el herbario MERF de la Facultad de Farmacia (ULA) [*Voucher Especímenes*: J. M. Amaro-Luis, N° 2321, 2322 y 1862 respectivamente]. La especie *G. giganteum* fue recolectada en la localidad de Mayumbe (Bosque de Luki), en la República Democrática del Congo-África e identificada por el Prof. Herman Breyne (Herbario de Kinshasa) por comparación con un espécimen (Donis, N° 2257) depositado en el Jardín Botánico Nacional de Bruselas-Bélgica.

El material vegetal de las plantas se mantuvo al aire, a temperatura ambiente y en un lugar sombreado durante quince días. Transcurrido este tiempo se realizó una extracción. Una vez completado este proceso, se seco el material manteniéndolo extendido bajo campana durante 24 horas. A continuación se procedió a molerlo en un molino eléctrico, quedando listo para una segunda extracción.

3. EXTRACCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.

Los frutos, hojas y corteza de las especies antes mencionadas, fueron extraídas por separado, utilizando como solvente MeOH/ H_2O (70:30) de manera continua, mediante reflujo en sohxlet hasta agotamiento. Las disoluciones procedentes de las la extracciones fueron filtradas y concentradas al vacío en un rotavapor a 40° C. Los extractos obtenidos fueron pesados y conservados en recipientes de vidrio, en nevera a 4 °C hasta el inicio de los procesos de separación.

CONCLUSIONES

1. La breve reseña, incluida en la presente memoria, sobre los principales tipos de saponinas encontradas en la naturaleza, pone una vez más en evidencia la relevancia química que tienen estos metabolitos secundarios y su importancia como productos biológica y/o farmacológicamente activos.
2. En el presente trabajo se presentaron los resultados obtenidos en el estudio fitoquímico realizado a las especies *Phytolacca rugosa*, *P. icosandra*, *Cestrum ruizteranianum* y *Ganophyllum giganteum*. Dicho estudio demostró que:
 - a. Los frutos de *P. rugosa*, *P. icosandra* y *C. ruizteranianum*, así como la corteza de *G. giganteum*, resultaron ser una fuente importante de saponinas triterpénicas y esteroidales, dado que de las mismas se lograron aislar e identificar dieciseis saponinas, de las cuales, nueve pertenecían a la serie del oleanano, dos a la del espirostano y cinco a la del furostano. Además, se obtuvieron de la especie *P. icosandra*, otros metabolitos secundarios tales como triterpenos, lignanos y peltoginanos.
 - b. De la especie *P. rugosa*, se lograron aislar y caracterizar cuatro (**1-4**) saponinas triterpénicas, las cuales han sido previamente obtenidas de plantas pertenecientes al género *Phytolacca*, sin embargo, son reportadas en este trabajo por primera vez para la especie antes mencionada.
 - c. Los metabolitos secundarios aislados de la especie *P. icosandra*, compuestos (**8**), (**10**) y (**12**) se reportan por primera vez para la familia Phytolaccaceae; más aún, los compuestos (**10**) y (**12**) son descritos por primera vez y por tanto constituyen **nuevos productos naturales**. Se asignó para los mismos, sobre la base de su fuente vegetal, los nombres de **Icosandrósido (10)** e **Icosandrina (12)**.
 - d. La presencia de un compuesto como la **Icosandrina (12)** en la familia Phytolaccaceae, podría constituir un dato importante en estudios de carácter quimiotaxonómicos y/o sistemáticos, dado que los compuestos del tipo peltoginoide se han encontrado en su forma natural, casi exclusivamente en especies de la familia Leguminosae. El presente, constituye el primer reporte de este tipo de sustancias en Phytolacáceas.
 - e. De los frutos de *C. ruizteranianum*, se caracterizaron siete saponinas esteroidales (**14-20**). A pesar de que este tipo de compuestos se encuentran con frecuencia en el género *Cestrum*, ninguno de ellos ha sido reportado para el mismo y los glicósidos (**14**), (**16**), (**19**) y (**20**) se reportan además por primera vez para la familia Solanaceae.

- f. De la especie *G. giganteum*, se lograron obtener tres saponinas triterpénicas derivadas del ácido zanhico. Estos compuestos resultaron ser ***nuevos compuestos naturales***, a los cuales se les asignó, sobre la base de su origen, los nombres de **Giganteósido A (21)**, **Giganteósido B (22)** y **Giganteósido C (23)**.
- g. Los datos extraídos de la literatura científica, ponen de manifiesto el hecho de que muchas saponinas triterpénicas y esteroidales, poseen un amplio espectro de actividades biológicas y farmacológicas y dada la abundancia de estos estos compuestos en cada una de las especies estudiadas, se hace evidente que las mismas pueden ser aprovechadas como fuente de productos activos, usados como materia prima para la obtención de sustratos glicosidados, susceptibles de ser modificados químicamente con vistas a obtener derivados potencialmente activos, desde el punto de vista biológico y/o farmacológico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDEL-GWAD M. M., EL-AMIN S. M., EL-SAYED M. M., REFAHY L. A. and SABRY W. A. 1997. Molluscicidal Saponins from *Cestrum parqui*. *Al-Azhar J. Pharm. Sci.*, **20**, 80-84.
2. ABDEL-KADER M., HOCH J., BERGER J. M., EVANS R., MILLER J. S., WISSE J. H., MAMBER S. W., DALTON J. M. and KINGSTON D. G. I. 2001. Two Bioactive Saponins from *Albizia subdimidiata* from The Suriname Rainforest. *J. Nat. Prod.*, **64**, 536-539.
3. ABE I., EBIZUKA Y., SEO S. and SANAKAWA U., 1989. Purification of Squalene-2,3-epoxide Cyclases from Cell Suspension Cultures of *Rabdosia japonica* Hara. *FEBS Lett.*, **249**, 100-04.
4. ABEBE F., ERKO B., GEMETCHU T. and GUNDERSEN S. G., 2005. Control of *Biomphalaria pfeifferi* Population and Schistosomiasis Transmission in Ethiopia Using the Soap Berry Endod (*Phytolacca dodecandra*), With Special Emphasis on Application Methods. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, **99**, 787-794.
5. AGRAWAL S. K. and RASTOGI R. P. 1974. Triterpenoid Saponins and Their Genins. *Phytochemistry*, **13**, 2623-2645.
6. AGRAWAL P. K. 1992. NMR Spectroscopy In The Structural Elucidation of Oligosaccharides and Glycosides. *Phytochemistry*, **31**, 3307-3330.
7. AGRAWAL P. K. 2003. 25R/25S Stereochemistry of Spirostane-type Steroidal Sapogenins and Steroidal Saponins Via Chemical Shift of Geminal Protons of Ring-F. *Mag. Res., Chem.*, **41**, 965-968.
8. AGRAWAL P. K. 2004. Dependence of ¹H NMR Chemical Shifts of Geminal Protons of Glycosyloxy Methylene (H₂-26) on The Orientation of The 27-Methyl Group of Furostane-type Steroidal Saponins. *Mag. Res., Chem.*, **42**, 990-993.
9. AHMAD V. U., BAQAI F. T. and AHMAD R. 1993. A Tigogenin Pentasaccharide from *Cestrum diurnum*. *Phytochemistry*, **34**, 511-15.
10. AHMAD V. U., BAQAI F. T. and AHMAD R. 1995. A Diosgenin Tetrasaccharide from *Cestrum nocturnum*. *Zeits. Naturf. B: Chem. Sci.*, **50**, 1104-1110.

11. AHMADU A., ABDULKARIM A., GROUGNET R., MYRIANTHOPOULOS V., TILLEQUIN F., MAGIATIS P. and SKALTSOUNIS A-L. 2010. Two New Peltogynoids from *Acacia nilotica* Delile with Kinase Inhibitory Activity. *Planta Medica*, **76**, 468-470.
12. AHMED Z. F., ZUFALL C. J. and JENKINS G. L. 1949. A contribution to the Chemistry and Toxicology of the Root of *Phytolacca americana* L. *J. Amer. Pharm. Assoc.*, **38**, 443-448.
13. AKDEMIR Z. S., CALIS I. O. and MERAL E. M. 2000. Antimicrobial Activity Studies on the Major Triterpene Saponins from *Phytolacca americana* L. *Eczacilik Fakultesi Dergisi.*, **20**, 53-58.
14. ALVARADO M., MORENO M. And RODRÍGUEZ V. M. 1981. ¹³C NMR Spectra of Some Serjanic Acid Derivatives. *Phytochemistry*, **20**, 2436-2438.
15. ANDERSON R. J., BENDELL D. J. and GROUNDWATER P. W. 2004. "Organic Spectroscopic Analysis". Royal Society of Chemistry, London.
16. ANDO J., MIYAZONO A., ZHU X. H., IKEDA T. and NOHARA T. 1999. Studies on the Constituents of Solanaceous Plants, Steroidal Glycosides from *Solanum nodiflorum*. *Chem. Pharm. Bull.*, **12**, 1794-1976.
17. ASHAF A. O. T. SUNMONU T. O. and AFOLAYAN A. J. 2010. Toxicological Evaluation of Aqueous Leaf and Berry Extracts of *Phytolacca dioica* L. In Male Wistar Rats. *Food Chem. Toxicol.*, **48**, 1886-1889
18. AYRES D. C. AND LOIKE J. D. 1990. Lignans: Chemical, Biological and Clinical Properties. Cambridge University Press. New York.
19. BACKHOUSE N. C., DELPORTE R., SALINAS P., PINTO A., ARAVENA S. and CASSELS B. K. 1996. Antinflammatory and Antipyretic Activities of *Cuscuta Chilensis*, *Cestrum Parqui*, and *Psorela Glandulosa*. *Int. J. Pharm.*, **34**, 53-57.
20. BAQAI F. T., ALI A. and AHMAD V. 2001. Two New Spirostanol Glycosides from *Cestrum parqui*. *Helv. Chim. Acta*, **84**, 3350-3356.
21. BARTON D. H. R., MELLOWS G., WIDDOWSON D. A. and WRIGTH J. J., 1971. Biosynthesis of Terpenes and Steroids. Part IV. Specific Hydride Shifts in The Biosynthesis of Lanosterol and β -Amyrin. *J. Chem. Soc. C.*, 1142-1148.

22. BHATTACHARJEE I., GHOSH A. and CHANDRA G. 2005. Antimicrobial Activity of The Essential Oil of *Cestrum diurnum* (L.) (Solanales: Solanaceae). *Afr. J. Biotech.*, **4**, 371-374.
23. BIANCHI E., GIRARDI F., DIAZ F., SANDOVAL R. and GONZALES M. 1963. Components of The Leaves and Fruit of *Cestrum parqui*: Tigogenin, Digallogenin, Digitogenin and Ursolic acid. *Ann. Chim.*, **53**, 1761-1778.
24. BOREL C. and HOSTETTMANN K. 1987. Molluscicidal Saponins from *Swartzia madagascarensis* DESVAUX. *Helv. Chim. Acta*, **70**, 570-576.
25. BRANT E. V., FERREIRA D. and ROUX D. G. 1981. Metabolites from the Purple Heartwood of Mimosoideae. Part 3. *Acacia crombei* C. T. White: Structure and Partial Synthesis of Crombenin, a Natural Spiropeltogynoid. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1**, 1879-1883.
26. BRUNETON J., 1995. "Pharmacognosy and Phytochemistry of Medicinal Plants." Lavoisier Publishing. Paris.
27. BUCHBAUER G., JIROVETZ L. and KAUL V. K. 1995. Volatiles of The Absolute of *Cestrum nocturnum* L. *J. Esse. Oil Res.*, **7**, 5-9.
28. BURKE D. E. and LE QUESNE P. W., 1971. 3-Acetyloleanolic Acid from *Phytolacca americana* Seeds. *Phytochemistry*, **10**, 3319-3320.
29. BYLKA W. and MATLAWSKA I. 2001. Flavonoids and Free Phenolic Acids from *Phytolacca americana* L. Leaves. *Acta Pol. Pharm.*, **58**, 69-72.
30. CANHAM P. A. S. and WARREN F. L. 1950. Saponins. I. Isolation of Gitogenin and Digitogenin from *Cestrum laevigatum*. *J. Sou. Afr. Chem. Inst.*, **3**, 9-12.
31. CAO S., BRODIE P., CALLMANDER M., RANDRIANAIVO R., RAZAFITSALAMA J., RAKOTOBE E., RASAMISON V. E., DYKE T. K., SHEN Y., SUH E. M. and KINGSTON D. G. I. 2010. Antiproliferative Triterpenoid Saponins of *Dodonaea viscosa* from The Madagascar Dry Forest. *J. Nat. Prod.*, **72**, 1705-1707.
32. CAO S., NORRIS A., MILLER J. S., RATOVOSON F., RAZAFITSALAMA J., ANDRIANTSIFERANA R., RASAMISON V. E., TENDYKE K., SUH T. and KINGSTON D. G. I. 2007. Cytotoxic Triterpenoid Saponins of *Albizia gummifera* from the Madagascar Rain Forest. *J. Nat. Prod.*, **70**, 361-366.

33. CATALAN C. A. N. and TOMASINI S. P. 1992. Triterpenoids and Sterols from *Cestrum kunthii*. *Fitoterapia*, **63**, 551.
34. CHAIEB I. and TAYEB W. 2009. Comparison of The Molluscicidal Activity of *Cestrum parqui* (Solanaceae) and *Quillaja saponaria* (Quillajaceae) Saponins. *Tuni. J. Med. Plants Nat. Prod.*, **2**, 31-35.
35. CHAIEB I., BEN HALIMA-KAMEL M. and BEN HAMMOUDA M. H. 2005. Experiments for Studying The Molluscicidal Potential of *Cestrum parqui* (Solanaceae) Saponins Against *Theba pisana* (Helicidae) Snails. *Commun. Agr. Appl. Biol. Sci.*, **70**, 809-815.
36. CHAIEB I., BEN HALIMA-KAMEL M. and BEN HAMMOUDA M. H. 2006. Insect Growth Regulator Activity of *Cestrum parqui* Saponins: An Interaction With Cholesterol Metabolism. *Commun. Agr. Appl. Biol. Sci.*, **71**(2B), 489-496C.
37. CHAIEB I., BEN HÇ, MONIA T. M., HLAWA W., RAOUANI N., BEN AHMED D., DAAMI M. and BEN HAMMOUDA M. H. 2007b. Pesticidal Potentialities of *Cestrum parqui* Saponins. *Int. J. Agr. Res.*, **2**, 275-281.
38. CHAIEB I., HABIB B., HICHEM B. J., MONIA B H., HABIB B H. and MOHAMED Z. M. 2007a. Purification of a Natural Insecticidal Substance from *Cestrum parqui* (Solanaceae). *Pakis. J. Biol. Sci.*, **10**, 3822-3828.
39. CHAKRABARTI P., MUKHERJEE D. K. AND BARUA A. K. 1966. The Constitution of Spergulagenic Acid, A New Sapogenin from *Mollugo spergula*. *Tetrahedron*, **22**, 1431-1435.
40. CHAKRABARTI P., MUKHERJEE D. K. AND BARUA A. K. 1968. The Structure and Stereochemistry of Spergulagenic Acid. *Tetrahedron*, **24**, 1107-1111.
41. CHAKRAVARTI R. N. and DATTA S. 1961. Crystalline Saponin from *Cestrum diurnum*. *Bull. Calcu. Sch. Trop. Med.*, **9**, 16.
42. CHAKRAVARTI R. N., DATTA S. and MITRA M. N. 1962. Identification of The Saponin from *Cestrum diurnum*. *Bull. Calc. School Trop. Med.*, **10**, 123.
43. CHAKRAVARTI R. N., DATTA S. and MITRA M. N. 1963. Ursolic Acid from *Cestrum diurnum*. *Bull. Calc. School Trop. Med.*, **11**, 20-21.

44. CHAN V. T. and MURAVEVA D. A. 1990. *Cestrum nocturnum* of Vietnamese Flora As A Source of Steroidal Saponins. *Farmatsiya*, **39**, 25-27.
45. CHANDRA G., SHUKLA R., GHOSH A., BHATTACHARJEE I., CHOWDHURY N., CHATTERJEE S. K., GHOSH A. K. and CHATTERJEE S. 2009. Isolation, Chemical Characterization and Seasonal Variation of Some Primary and Secondary Biochemicals of *Cestrum nocturnum* (Solanaceae). *Rec. Prog. Med. Plants.*, **23**, 315-324.
46. CHATTARAJ M. and SINHA N. K. 2004. Isolation and Characterization of Chemical Constituents from The Leaves of *Cestrum nocturnum*. *J. Mett. Mat. Sci.*, **46**, 243-245.
47. CHATTERJEE M. L. and ROY A. R. 1964. Pharmacological Studies With Saponin from *Cestrum diurnum*. *Bull. Calc. School Trop. Med.*, **12**, 58-59.
48. CHEN Z., YOU X. and ZANG X. 2002. Analysis of Essential Oils Collected at Night from *Cestrum nocturnum* (L.). *Shipin Kexue.*, **23**, 110-112.
49. CHI H. J. and KIM H. S. 1985. Saponins from the Callus Mass of *Phytolacca americana*. *Arch. Pharm. Res.*, **8**, 15-20.
50. CHO S. Y., SIM J., KANG S. S., JEONG C., LINHARDT R. J. and KIM Y. S. 2003. Enhancement of Heparin and Heparin Disaccharide Absorption by the *Phytolacca americana* Saponins. *Arch. Phar. Res.*, **26**, 1102-1108.
51. CHOUDARY M I., NUER-E-ALAM M., AKHTAR F., AHMAD S., BAIG I., ONDOGNI P., GOMBOSURENGYING P. and ATTA-UR-AHMAN. 2001. Five New Peltogynoids from Underground Parts of *Iris bungei*: A Mongolian Medicinal Plant. *Chem. Pharm. Bull.*, **49**, 1295-1298.
52. CHUMBALOV T. K. and MUKHAMED'YAROVA M. M. 1969. Chemical Study of *Phytolacca americana*. *Khimi. Prirodny. Soedin.*, **5**, 594-595.
53. COLEGATE S. M. and MOLYNEUX R. J. 2008. "Natural Products, Detection, Isolation, and Structural Determination, Second Ed." CRC Press, Taylor & Francis, London.
54. COLL J. C. and BOWDEN B. F., 1986. The Application of Vacuum Liquid Chromatography to the Separation of Terpenes Mixtures. *J. Nat. Prod.*, **49**, 934-936.

55. COLLINS P. M. and FERRIER R. J. 1998. "Monosaccharides: Their Chemistry and Their Roles in Natural Products 3rd Edition". John Wiley & Sons Ltd., Chichester, England.
56. COLLINS R. P. and HALIM A. F. 1972. Chemical Examination of The Essential Oil from Flowers of *Cestrum nocturnum* and *Cestrum diurnum*. *Flav. Ind.*, **3**, 159-160.
57. CROMBIE L., CROMBIEN W. L. M. And WHITING D. A. 1987. The Chemical Defences of Oat Roots Against "Take all" Disease. **En**, Biologicka Active Natural Products. Ed. K. Hostetmann and Lee P.J. Pag. 244-259. Clarendon Press. Oxford, UK.
58. CUÉLLAR M. J., GINER M. R., RECIO M. C., JUST M. J., MAÑEZ S. and RÍO J. L. 1997. Three New Oleanane Saponins from *Zanha africana*. *J. Nat. Prod.*, **60**, 191-94.
59. D'ABROSCA B., DELLAGRECA M., FIORENTINO A., GOLINO A., MONACO P. and ZARRELLI A. 2006. Isolation and Characterization of New Lignans from The Leaves of *Cestrum parqui*. *Nat. Prod. Res.*, **20**, 293-298.
60. D'ABROSCA B., DELLAGRECA M., FIORENTINO A., MONACO P. and ZARRELLI A. 2004b. Low Molecular Weight Phenols from The Bioactive Fraction of *Cestrum parqui*. *J. Agr. Food Chem.*, **52**, 4101-4108.
61. D'ABROSCA B., DELLA GRECA M., FIORENTINO A., MONACO P., NATALE A., ORIANO P. and ZARRELLI A. 2005. Structural Characterization of Phytotoxic Terpenoides from *Cestrum parqui*. *Phytochemistry*, **66**, 2681-2688.
62. D'ABROSCA B., DELLA GRECA M., FIORENTINO A., MONACO P., ORIANO P. and TEMUSSI F. 2004a. Structure Elucidation and Phytotoxicity of C13 *nor*-Isoprenoid from *Cestrum parqui*. *Phytochemistry*, **65**, 497-505.
63. DAVIN L. B. and LEWIS N. G. 2007. An Historical Perspective On Lignan Biosynthesis: Monolignol, Allylphenol and Hydroxycinnamic Acid Coupling and Downstream Metabolism. *Phytochem. Rev.*, **2**, 257-288.
64. DE ALMEIDA E. M., GOTLIEB O. R., DE SOUSA J. R. and TEIXEIRA M. A. 1974. New Peltogynoids from Three *Peltogyne* Species. *Phytochemistry*, **13**, 1225-228.
65. DE AMORIM A., BORBA H. R. and PEREIRA N. A. 1992. Effect of The Toxic Fraction of *Cestrum axillare* on Mitochondria. *Rev. Bra. Farm.*, **73**, 2-4.

66. DE LUCCA A., BLAND J. M., VIGO C. B., CUSHION M., SELITRENNIKOFF C. P., PETER J. and WALSH T. J. 2002. CAY-1, A Fungicidal Saponin from *Capsicum* sp. Fruit. *Med. Myco.*, **40**, 131-137.
67. DE TOMMASI N., AUTORE G., BELLINO A., PINTO A., PIZZA C., SORRENTINO R. and VENTURELLA P. 2000. Antiproliferative Triterpene Saponins from *Trevesia palmata*. *J. Nat. Prod.*, **63**, 308-314.
68. DÉFAGO G., 1977. Rôle des Saponines 267 dans la Résistance des Plantes aux Maladies Fongiques. *Ver. Schweiz. Bot. Ges.*, **87**, 79-132.
69. DELAUDE C. 1993. Sapindaceae and Their Saponins. *Bull. Soc. Roy. Sci. Lieg.*, **62**, 93-120.
70. DEQUAN L. and LARSEN K., 2003. Phytolaccaceae. **En**, "Flora of China". *Vol. 5*, Wu, Z, Raven, HP, Hong, D. (Ed) Missouri Botanical Garden Press. St. Louis USA. 435-436.
71. DEWICK P. M., 2002. "Medicinal Natural Products". John Wiley and Sons Ltd. England.
72. DIMBI M. Z., WARIN R., DELAUDE C. and HULS R. 1984. Structure de l'Acide Zanhic et de l'Acide Zanhic- γ -lactone, Triterpenoides Nouveaux Isoles de *Zanha golugensis* et de *Ganophyllum giganteum*. *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **93**, 323-328.
73. DOMÍNGUEZ X. A. 1973. "Métodos de Investigación Fitoquímica, 2^a Ed." Editorial Limusa. México.
74. DOMON B. and HOSTETTMANN K. 1984. New Saponins from *Phytolacca dodecandra* L'Herit. *Helv. Chim. Acta*, **67**, 1310-1315.
75. DOMON B., DORSAZ A. C. and HOSTETTMANN K. 1984. High-performance Liquid Chromatography of Oleanane Saponins. *J. Chromat.*, **315**, 441-446.
76. DORSAZ, A. C. and HOSTETTMANN K. 1986. Further Saponins from *Phytolacca dodecandra* L'Herit. *Helv. Chim. Acta*, **69**, 2038-2047.
77. DREWES S. E. and ROUX D. G. 1965. Absolute Configuration of Mopanol, A New Leucoanthocyanidin from *Colophospermum mopane*. *Chem. Commun. C.*, 500-502.

78. DREWES S. E. and ROUX D. G. 1966. Stereochemistry and Biogenesis of Mopanols and Peltogynols and Associated Flavonoids from *Colophospermum mopane*. *J. Chem. Soc. C.*, 1644-1653.
79. DREWES S. E. and ROUX D. G. 1967. Isolation of Mopandin from *Colophospermum mopane* and Interrelation of Flavonoid Components of *Peltogyne* spp. *J. Chem. Soc. C.*, 1407-1410.
80. DREWES E. S., AND MASHIMBYE M. J. 1993. Flavanoids and Triterpenoids from *Cassine papillosa* and The Absolute Configuration of 11, 11-dimethyl-1,3,8,10-tetrahydroxy-9-metoxypeltogynan. *Phytochemistry*, **34**, 1041-1044.
81. ECHENIQUE L., PORLEY C. and FERNANDEZ M. 1942. The Presence of a Saponins *Anal. Asoc. Quim. Farm.*, **45**, 29-31.
82. EL-SOHLY H. N., DANNER S., LI X. C., NIMROD A. C. and CLARK A. M. 1999. New Antimycobacterial Saponin from *Colubrina retusa*. *J. Nat. Prod.*, **62**, 1341-1342.
83. ENRIQUE C. J. 1947. Phytochemical Study of *Cestrum hediondinum* (Yerbasanta). *Rev. Fac. Farm. Bioquim.*, **9**, 77-98.
84. ESCALANTE A. M., SANTECCHIA C. B., LÓPEZ S. N., GATTUSO M. A., RAVELO A. G., MONACHE F. D., SIERRA M. G. N. and ZACCHINO S. A., 2002. Isolation of Antifungal Saponins from *Phytolacca tetramera*, an Argentinean Species in Critic Risk. *J. Ethnopharm.*, **82**, 29-34.
85. ESCHENMOSER A., RUZICKA L., LEGER O. and ARIGONI D., 1955. Zur Kenntnis der Triterpene. 190. Mitteilung. Eine Stereochemische Interpretation der Biogenetischen Isoprenregel bei den Triterpenen. *Helv. Chim. Acta*, **38**, 1890-1904.
86. ESPEJO O., LLAVOT J. C., JUNG H. And GIRAL F. 1982. Spirostanic Diosgenin Precursors from *Discorea composita* Tubers. *Phytochemistry*, **21**, 413-416.
87. FIORENTINO A., DELLA GRECA M., D'ABROSCA B., ORIANO P., GOLINO A., IZZO A., ZARRELLI A. and P. MONACO. 2007. Lignans, Neolignans and Sesquilignans from *Cestrum parqui* l'Her. *Biochem. Syst. Ecol.*, **35**, 392-396.
88. FORESTA P., GHIRARDI O., GABETTA B. and CRISTORI A. 1986. Triterpene Saponins Having Anti-inflammatory, Mucolytic and Antidemic Activities Process for the Preparation Thereof and Pharmaceutical Composition Containing Them. *Eur. Pat.*, **251**, 197.

89. FOUAD M. A., MOHAMED K M., KAMEL M. S., MATSUNAMI K. and OTSUKA H. 2008. Cesdiurins I-III, Steroidal Saponins from *Cestrum diurnum* L. *J. Nat. Med.*, **62**, 168-173.
90. FREILLER M., REZNICEK G., JURONITSCH and KUBELKA W. 1996. New Triterpene Saponins from *Herniaria glabra*. *Helv. Chim. Acta*, **79**, 385-390.
91. FUKUYAMA Y., HASEGAWA T., TODA M., KODAMA M. and OKAZAKI H. 1992. Structures of Americanol A and Isoamericanol A, Having a Neurotopic Property from the Seeds of *Phytolacca Americana*. *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 252-254.
92. GAO H., LIU J., WANG Z. and WANG W. 2009. Phytolacacinoside A, A New Triterpenoid Saponin from *Phytolacca acinosa* Roxb. *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **11**, 433-438.
93. GLOMBITZA K. W., GIELSDORF W., ECKHARDT G. and KOCH M. L. 1975. Triterpenoid Sapogenins from The Fruits of *Phytolacca acinosa*. *Planta Medica*, **27**, 367-371.
94. GONZÁLEZ A. G., HERNÁNDEZ J. C., LEÓN F., PADRÓN J. I., ESTÉVEZ F., QUINTANA J. and BERMEJO, J. 2003. Steroidal Saponins from The Bark of *Dracaena draco* and Their Cytotoxic Activities. *J. Nat. Prod.*, **66**, 793-798.
95. GONZALEZ G. A., BRETON F. J. L.; CASTANEDA J. P., FRAGA B. M. and MORALES A. 1972. Triterpenes of *Phitolacca rivinoides*. *Anal. Quím.*, **68**, 1057-59.
96. GOTLIEB O. G. and DE SOUZA J. R. 1972. Peltoginoids of *Goniorrachis marginata*. *Phytochemistry*, **11**, 2841-2846.
97. GUPTA G. N., CHANDRA G. and NAUTIYAL K. N. 1954. Chemical Examination of Some New Indian Essential Oils. *Perf. Ess. Oil Rec.*, **45**, 80-84.
98. HALIM A. F., COLLINS R. P. and BERIGARI M. S. 1971. Alkaloids Produced by *Cestrum nocturnum* and *Cestrum diurnum*. *Planta Medica*, **20**, 44-49.
99. HARAGUCHI M., MIMAKI Y., MOTIDOME M., MORITA H., TAKEYA K. and SASHIDA Y. 1999. New Polyhydroxylated Steroidal Sapogenin and Saponins from The Leaves of *Cestrum sendtnerianum*. *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 582-584.
100. HARAGUCHI M., MIMAKI Y., MOTIDOME M., MORITA H., TAKEYA K., ITOKAWA H., YOKOSUKA A. and Sashida Y. 2000. Steroidal Saponins from The Leaves of *Cestrum sendtnerianum*. *Phytochemistry*, **55**, 715-720.

101. HARAGUCHI M., MOTIDOME M. and GOTTLIEB O. R. 1988. Triterpenoid Saponins and Flavonol Glycosides from *Phytolacca thyrsoiflora*. ***Phytochemistry*, 27**, 2291-2296.
102. HARALAMPIDIS K., TROJANOSKA M. and OSBOURN E., 2002. Biosynthesis of Triterpenoid Saponins in Plants. ***Adv. In Biochem. Eng. Biotech.*, 75**, 32-47.
103. HARBORNE J. B., 1992. "Phytochemical Methods, 2nd Ed." Chapman and Hall. London.
104. HARRISON M. D. 1985. The Biosynthesis of Triterpenoids and Steroids. ***Nat. Prod. Rep.*, 2**, 525-560.
105. HARRISON M. D. 1988. The Biosynthesis of Triterpenoids, Steroids and Carotenoids. ***Nat. Prod. Rep.*, 5**, 387-415.
106. HARRISON M. D. 1990. The Biosynthesis of Triterpenoids, Steroids and Carotenoids. ***Nat. Prod. Rep.*, 7**, 459-484.
107. HAYASI T. and KUBO M. 1980. Antitumor Compositions Comprising Saponins. ***Chem. Abstr.*, 94**, 7771.
108. HORACIO D. L. C., GRACIELA V. and PEREY A. Z. 2007. Ethnobotanical Study of Medicinal Plants Used by People of Canta, Lima, Peru. ***J. Ethnopharm.*, 111**, 284-294.
109. HOSTETTMANN K. 1989. Plant-derived Molluscicides of Current Importance. **En**, Economic and Medicinal Plant Research. **Vol. 2**. Ed. Wagner H., Hikino H. and Farnsworth N. R. Pag. 73-102. Academic Press. London.
110. HOSTETTMANN K. and MARSTON A., 1995. "Saponins". Cambridge University Press, Cambridge. UK.
111. HOWARD, H. T. C. 1973. Sapogenin and Sugars from Saponins of *Phytolacca octandra*. ***Phytochemistry*, 12**, 2307.
112. HUANG H. C., LIAO S. C., CHANG F. R., KUO Y. H. and WU Y. C. 2003. Molluscicidal Saponins from *Sapindus mukorossi*, Inhibitory Agents of Golden Apple Snails, *Pomacea canaliculata*. ***J. Agr. Food Chem.*, 51**, 4916-4919.

113. HUANG H. C., TSAI W., MORRIS-NATSCHKE S. L., TOKUDA H., LEE K., WU Y. and KUO Y. 2006. Sapinmusaponins F–J, Bioactive Tirucallane-Type Saponins from the Galls of *Sapindus mukorossi*. *J. Nat. Prod.*, **69**, 763–767.
114. HUGHES M. R., MCCAIN T. A., CHANG S. Y., HAUSSLER M. R., VILLAREALE M. and WASSERMAN R. H. 1977. Presence of 1,25-dihydroxyvitamin D₃-glycoside in The Carcinogenic Plant *Cestrum diurnum*. *Nature*, **268**, 347-349.
115. IKEDA T., ANDO J., MIYAZONO A., ZHU X.H., TSUMAGAR H., NOHARA T., YOKOMIZO K. and UYEDA M. 2000. Anti-Herpes Activity of *Solanum* Steroidal Glycosides. *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 363-364.
116. JAYATILAKE G. S., FREEBERG D. R., LIU Z., RICHEIMER S. L., BLAKE M. E., BAILEY D. T., HARIDAS V. and GUTTERMAN J. U. 2003. Isolation and Structures of Avicins D and G: In Vitro Tumor-inhibitory Saponins Derived from *Acacia victoriae*. *J. Nat. Prod.*, **66**, 779-783.
117. JOHNSON A. and SHIMIZU Y. 1974. Phytolaccinic Acid, a New Triterpene from *Phytolacca americana*. *Tetrahedron*, **30**, 2033-2036.
118. JOLLIFFE G., 1982. Phytolacca, A Study of Its Properties and Uses. *Brit. Homoeopat. J.*, **71**, 31-34.
119. JONES A. G. 2002. “Crystallization Process Systems” Botterworth-Heinemann, London.
120. JUST M. J., RECIO M. C., GINER R. M., CUÉLLAR M. J., MÁÑEZ S., BILIA A. R. and RÍOS J. L. 1998. Anti-inflammatory Activity of Unusual Lupane Saponins from *Bupleurum fruticosens*. *Planta Medica*, **64**, 404-407.
121. KALINOWSKA M. and WOJCIECHOWSKI Z. A., 1986. Enzymatic Synthesis of Nuatigenin 3 β -D-glucoside in Oat (*Avena sativa* L.) Leaves. *Phytochemistry*, **25**, 2525-2529.
122. KALINOWSKA M. and WOJCIECHOWSKI Z. A., 1987. Subcellular Localization of UDPG: Nuatigenin Glucosyltransferase in Oat Leaves. *Phytochemistry*, **26**, 353-357.
123. KALINOWSKA M., ZIMOWSKI J., PACZKOWSKI C. and WOJCIECHOWSKI Z. A., 2005. The Formation of Sugar Chains in Triterpenoid Saponins and Glycoalkaloids. *Phytochem. Rev.*, **4**, 237-257.

124. KAMIYA K., TANAKA Y., ENDANG H., UMAR M. and SATAKE T. 2004. Chemical Constituents of *Morinda citrifolia* Fruits, Inhibit Copper-Induced Low Density Lipoprotein Oxidation. *J. Agr. Food. Chem.*, **52**, 5843-5848.
125. KANG S. S. and WOO W. S. 1980. Triterpenes from The Berries of *Phytolacca americana*. *J. Nat. Prod.*, **43**, 510-513.
126. KANG S. S. and WOO W. S. 1991. Phytolaccoside I, A New Saponin from *Phytolacca americana*. *Fitoterapia*, **62**, 532-533.
127. KANG S. S. and WOO W. S., 1987. Two New Saponins from *Phytolacca americana*. *Planta Medica*, **53**, 338-340.
128. KARAWYA M. S., RIZK A. M. HAMMOUDA F. M., DIAB A. M. and AHMED Z. F. 1972. Phytochemical Investigation of Certain *Cestrum* Species Growing In Egypt. Alkaloids and saponins. *Acta Chim. Aca. Scienti. Hung.*, **72**, 317-322.
129. KARAWYA M. S., RIZK A. M., HAMMOUDA F. M., DIAB A. M. and AHMED Z. F. 1971. Phytochemical Investigation of Certain *Cestrum* Species. General Analysis, Lipids, and Triterpenoids. *Planta Medica*, **20**, 363-367.
130. KAWABE N., TOGAMI Y., UENISHI N., RII H. and CHEN S. 1996. Extraction of Anticancer Saponins from *Ypsilandra thibetica*. *Japan Kokai Tokkyo Koho*.
131. KAWASAKI T., KOMORI T., MIYAHARA K. and NOHARA T. 1974. Furostanol Bisglycosides Corresponding to Dioscin and Gracillin. *Chem. Pharm. Bull.*, **9**, 2164-2175.
132. KERESLIDZE E. V., PKHEIDZE T. A. and KEMERTELIDZE E. P. 1970. Steroid Sapogenins from *Cestrum elegans* and *Cestrum parqui*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii.*, **6**, 379.
133. KHALED M. M., MOSTAFA A., FOUAD K. M, MOHAMED S. K. and Hideaki O. 2007. A New Norlignan Glycoside from *Cestrum diurnum* L. *Arkivoc.*, **13**, 63-70.
134. KINTIA P. K., WOJCIECHOWSKI Z. A. and KASPRZYK Z., 1974. Biosynthesis of Oleanolic Acid Glycosides from [2 ¹⁴C] Mevalonate in Germinating Seeds of *Calendula officinalis*. *Bull. Acad. Pol. Sci. Biol.*, **22**, 73-76.

135. KITAGAWA I. KOBAYASHI M., HOIR M. and KYOGOKU Y. 1989. Marine Natural Products. XVIII. Four Lanostane-type Oligoglycosides Bivittosides A, B, C and D from the Okinawan Sea Cucumber *Bohadschia bivittata* Mitsukuri. *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 61-67.
136. KITAGAWA I., TANIYAMA T., NAGAHAMA Y., OKUBO K., YAMAMUCHI F. and YOSHIKAWA M. 1988. Saponin and Sapogenol. XLII. Structures of Acetyl-Soyasaponins A₁, A₂ and A₃, Astringent, Partially Acetylatedbidesmosides of Soyasapogenol A, from American Soybean, the Seeds of *Glycine max* MERRIL. *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2819-2828.
137. KOCHETKOV N. K. and KHORLIN A. J., 1966. Oligoside, ein Neuer Typ von Pflanzenglykosiden. *Arzneimittelforsch.*, **16**, 101-09.
138. KOYSOMBOON S., VAN ALTENA I., KATO S. and CHANTRAPROMMA K. 2006. Antimycobacterial flavonoids from *Derris indica*. *Phytochemistry.*, **67**, 1034-1040.
139. KROOK L., WASSERMAN R. H., SHIVELY J. N., JR. TASHJIAN A.H., BROKKEN T. D. and MORTON J. F. 1975. Hypercalcemia and Calcinosis in Florida Horses: Implication of The Shrub, *Cestrum diurnum*, as The Causative Agent. *Cornell Vet.*, **65**, 26-56.
140. LACAILE-DUBOIS M. A. 2005. Bioactive Saponins With Cancer Related and Immunomodulatory Activity: Recent Developments. **En**, "Studies in Natural Products Chemistry". Atta-ur-Rahmann (Ed.). *Vol. 32*. London, UK.
141. LAMIDI M., DIGIORGIO C., DELMAS F., FAVEL A., EYELE MVE-MBA C., RONDI M. L., OLLIVIER E., NZE-EKEKANG L. and BALANSARD G. 2005. In vitro Cytotoxic, Antileishmanial and Antifungal Activities of Ethnopharmacologically Selected Gabonese Plants. *J. Ethnopharm.*, **102**, 185-190.
142. LAVAUD C., VOUTQUENNE L., MASSIOT G., OLIVIER M., DAS C., LAPRÉVOTE L., SERANI L., DELAUDE C. and BECHIS M. 1998. Saponins from The Stem Bark of *Filicum decipiens*. *Phytochemistry*, **74**, 441-449.
143. LEMMA A. and DUNCAN J., 1970. *J. Parasitol.*, **56**, 213.
144. LI C., ZHENG Y., SUN Y., WU Z. and LIU M. 1988. Studies on The Odoriferous Volatile Constituents of The Flower of *Cestrum nocturnum* L. *You. Huax.*, **8**, 357-361.

145. LI D. W., LEE E. B., KANG S. S., HYUN J. E. and WHANG W. K. 2002. Activity-guided Isolation of Saponins from *Kalopanax pictus* With Anti-inflammatory Activity. *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 900-903.
146. LI G. and HE C. 1998. Extraction of *Phytolacca acinosa* and Its Molluscicidal Effects. *J. Tongji Med. Univ.*, **18**, 69-71.
147. LI X., XU X., WU P., XIE H., HUANG Z., YE W. and WEI X. 2009. Prenylflavonols from The Leaves of *Macaranga sampsonii*. *Chem. Pharm. Bull.*, **57**, 495-498.
148. LIN Y., SHEN C. C., HUANG Y-J and CHANG Y-Y. 2005. Homoflavonoids from *Ophioglossum petiolatum*. *J. Nat. Prod.*, **68**, 381-384.
149. LIU J. 1995. Pharmacology of Oleanolic and Ursolic Acid. *J. Ethnopharm.*, **49**, 57-68.
150. LIU J. 2005. Oleanolic Acid and Ursolic Acid: Research Perspectives. *J. Ethnopharm.*, **100**, 92-94.
151. MACÍAS F. A., GUERRA J. O., SIMONTE A. M., PÉREZ A. J. and NOGUEIRAS C. 2010. Characterization of Three Saponins from a Fraction Using 1D DOSY as a Solvent Signal Supression Tool. Agabrittonosides E-F. Furostane Saponins from *Agave Brittoniana* Trel. spp. *Branchypus*. *Mag. Res. Chem.*, **48**, 350-355.
152. MACKIE A. M., SINGH H. T., OWEN J. M. 1977. Studies On The Distribution, Biosynthesis and Function of Steroidal Saponins in Echinoderms. *Comp. Biochem. Physiol. Part B, Comp. Biochem.*, **56**, 9-14.
153. MAHATO S. B., KANDY A. K. and ROY G. 1992. Review Article Number 67. Triterpenoids. *Phytochemistry*, **31**, 2199-2249.
154. MAHATO S. B. and SUCHARITA S. 1997. Review Article Number 118. Advances in Triterpenoid Research 1990-1994. *Phytochemistry*, **44**, 1185-1236.
155. MALAN E. AND ROUX D. G. 1974. (+) 2,3-Pubeschin, The First Catechin Analogue of Peltogynoids from *Peltogyne pubescens* and *P. venosa*. *Phytochemistry*, **13**, 1575-1579.
156. MARCANO D. and HASEGAWA M., 2002. "Fitoquímica Orgánica". Ed. Torino. U.C.V. Caracas-Venezuela.

157. MARQUARDT F. H. 1978. *Chem. Ind.* (London). 94.
158. MARQUEZ V. C. 1961. Chromatographic Separation of The Alkaloids of *Bulnesia retamo*, *Heliotropium arborescens*, and *Cestrum auriculatum*. *Bol. Soc. Quim. Peru*, **27**, 161-172.
159. MARTÍNEZ M. 1969. "Plantas Medicinales de Mexico" Ed. Botas, Mexico.
160. MCPHEARSON D. D., CORDELL G. A., SOEJART D. D., PEZZUTO J. M. and FONG H. H. 1983. Peltogynoids and Homoisoflavonoids from *Caesalpinia pulcherrima*. *Phytochemistry*, **22**, 2835-2838.
161. MERCIER J. J. and CHEVALIER J. 1914. *Cestrum parqui*. Botanical, Chemical and Physiological Study. *Bull. Sci. Pharm.*, **20**, 584-603.
162. MIKES O. 1979. "Laboratory Handbook of Chromatographic and Allied Methods". Ellis Horwood. Chichester.
163. MIMAKI Y., WATANABE K., ANDO Y., SAKUMA C., SASHIDA Y., FURUYA S. and SAKAGAMI H., 2001. Flavonol Glycosides and Steroidal Saponins from the Leaves of *Cestrum nocturnum* and Their Cytotoxicity. *J. Nat. Prod.*, **64**, 17-22.
164. MIMAKI Y., WATANABE K., SAKAGAMI H. and SASHIDA Y. 2002. Steroidal Glycosides from The Leaves of *Cestrum nocturnum*. *J. Nat. Prod.*, **65**, 1863-1868.
165. MIZUI F., KASAI R., OHTANI K. and TANAKA O. 1988. Saponins from Brans of *Chenopodium quinoa* WILD. II. *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 375-377.
166. MORALES M. A. 1978. El Ácido Serjanico, Un Componente de los Frutos de la *Phytolacca rugosa* Braun & Bouché. *Rev. Lat. Quím.*, **9**, 94-95.
167. MOREAU R. A., WHITAKER B. D. and HICKS K. B. 2002. Phytosterols, Phytostanols, and Their Conjugates in Foods: Structural Diversity, Quantitative Analysis and Health Promoting Uses. *Porg. Lipid. Res.*, **41**, 457-500.
168. MORENO M. and RODRIGUEZ V. M., 1981. Yamolosite B, a Fungistatic Saponin of *Phytolacca octandra*. *Phytochemistry*, **20**, 1446-1447.
169. MORENO-MURILLO B., FAJARDO M. V. and SUAREZ M. M. 2001. Cytotoxicity Screening of Some South American Solanaceae. *Fitoterapia*, **72**, 680-685.

170. MOTT K. E. 1987. "**Plant Molluscicides**". John Wiley. Chichester.
171. NAGATA T., TUSHIDA T., HAMAYA E., ENOKI N., NANABE S. and NISHINO C. 1985. Camellidins, Antifungal Saponins Isolated from *Camellia japonica*. *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 1181-1186.
172. NAGELS L., VAN DONGEN W. and PARMENTIER F. 1982. Cestric Acid, a Caffeic Acid Ester from *Cestrum euanthes*. *Phytochemistry*, **21**, 743-746.
173. NAKAI M., HARADA M., NAKAHARA K., AKIMOTO K., SHIBATA H., MIKI W. and KISO Y. 2003. Novel Antioxidative Metabolites in Rat Liver With Ingested Sesamin. *J. Agr. Fodd. Chem.*, **51**, 1666-1670.
174. NAVARRO P., GINER R. M., RECIO M. C., MÁÑEZ S., CERDÁ-NICOLÁS, M. and RÍOS, J. L. 2001. In vivo Anti-inflammatory Activity of Saponins from *Bupleurum rotundifolium*. *Life Sci.*, **68**, 1199-1206.
175. NIELSEN S. E., ANTHONI U., CHRISTOPHERSEN C. and CORNETT C. 1995. Triterpenoid Saponins from *Phytolacca rivinoides* and *Phytolacca bogotensis*. *Phytochemistry*, **39**, 625-630.
176. NOHARA T., MIYAHARA K. and KAWASAKI T. 1975. Steroid Saponins and Sapogenins of Underground Parts of *Trillium kamschaticum* PALL II. Pennoge-Kriptogenin 3-O-glycosides and Related Compounds. *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 872-885.
177. NTONIFOR N. N., NGUFOR C. A., KIMBI H. K. and OBEN B. O. 2006. Traditional Use of Mosquito Repellent to Protect Human Against Mosquito and Other Insect Bites in Rural Community of Cameroon. *East African Med. J.*, **83**, 553-558.
178. OSBOURN A. E., 1996. Saponins and Plant Defence – A Soap Story. *Trends Plant Sci.*, **1**, 4-9.
179. PARKHURST R. M., THOMAS D. W. and SKINNER W. A., 1973a. Molluscicidal Saponins of *Phytolacca dodecandra*: Oleanoglycotoxin-A. *Phytochemistry*, **12**, 1437-1442.
180. PARKHURST R. M., THOMAS D. W., ADAMS R. P., MAKHUBU L. P. MTHUPHA B. M. WOLDE-YOHANNES L., MAMO E., HEATH G. E., STOBÆUS J. K. and JONES W. O. 1990. Triterpene Aglycons from Various *Phytolacca dodecandra* Populations. *Phytochemistry*, **29**, 1171-1174.

181. PARKHURST R. M., THOMAS D. W., SKINNER W. A. and CARY, L. W. 1974. Molluscicidal Saponins of *Phytolacca dodecandra*. Lemmatoxin. *Can. J. Chem.*, **52**, 702-705.
182. PARKURST R. M., THOMAS D. W., SKINNER W. A. And CARY L. W. 1973b. Molluscicidal Saponins of *Phytolacca dodecandra*, Lemmatoxin C. *Ind. J. Chem.*, **11**, 1192-1195.
183. PELTER A., WARD R. S., RAO E. V. and SASTRY K. V. 1976. Revised Structures for Pluviatilol, Methyl Pluviatilol and Xanthoxylol. *Tetrahedron*, **32**, 2783-2788.
184. PELTER A. and WARD R. S. 1978. **En**, "Chemistry of Lignanes". Ed. Rao. CBS. Andhra University. Pp. 227-275.
185. POLITIS J. 1948. Distribution of Chlorogenic Acid in Solanaceae and in The Organs of These Plants. *Compt. Rend.*, **226**, 692-693.
186. POWELL J. W. and WHALLEY W. B. 1969. Triterpenoid Saponins from *Phytolacca dodecandra*. *Phytochemistry*, **8**, 2105-2107.
187. PREMA T. P. and RAGHURAMULU N. 1995. Free vitamin D₃ Metabolites in *C. diurnum* Leaves. *Phytochemistry*, **37**, 677-681.
188. RAZDAN T. K., HARKAR S., KACHROO V. and KOUL G. L. 1982. Phytolaccanol and Epiacetylaleuritolic Acid, Two Triterpenoids from *Phytolacca acinosa*. *Phytochemistry*, **21**, 2339-2342.
189. RAZDAN T. K., HARKAR S., KACHROO V., KOUL G. L. and WAIGHT E. S. 1983. Triterpenoids from *Phytolacca acinosa*, Three Oleanane Derivatives. *Phytochemistry*, **22**, 1797-1800.
190. REICHE K. F., 1910. *Cestrum* L. **En**, "Estudios Críticos Sobre la Flora de Chile" *Vol. 5*, 372-73.
191. RODDICK J. G., 1974. The Steroidal Glycoalkaloid α -tomatine. *Phytochemistry*, **13**, 9-25.
192. ROJAS R., BUSTAMANTE B., BAUER J., FERNANDEZ I., ALBAN J. and LOCK O. 2003. Antimicrobial Activity of Selected Peruvian Medicinal Plants. *J. Ethnopharm.*, **88**, 199-204.

193. ROSCA M. and TAMAS M. 1984. Triterpenic Saponins in *Phytolacca americana* L. *Cluj. Med.*, **57**, 378-380.
194. ROY A. R. and CHATTERJEE M. L. 1968. Pharmacological Observations On Saponins from *Cestrum diurnum* and *Cestrum nocturnum*. *Indi. J. Exp. Biol.*, **6**, 160-162.
195. SADGOPAL. 1959. Newer Potential Sources of Indian Essential Oils. *Ind. Chim. Belge.*, **24**, 1345-1348.
196. SAHAGUN F. B. 1959. "Historia General de las Costas de la Nueva España". *Vol. 3*. Ed. Porrita, Mexico.
197. SAJELI A. B. and GOYAL M. 2007. Research and Medicinal Potential of The Genus *Cestrum* (Solanaceae)-A Review. *Pharmacog. Rev.*, **1**, 320-332.
198. SAVOIR R. and TUSCH B. 1967. Triterpenes XIII. Serjanic Acid, A New Triterpene from The Sapindaceae. *Tetrahedron Letters*, **8**, 2129-2130.
199. SEMWAL R. B. and SEMWAL D. K. 2011. Chemical Constituents from The Stem Bark of *Symplocos paniculata* Thunb. With Antimicrobial, Analgesic and Anti-inflammatory Activities *J. Ethnopharm.*, **135**, 78-87.
200. SEO S., YOSHIMURA Y., UOMORI A., TAKEDA K., SETO H., EBIZUKA Y. and SANKAWA U., 1988. Biosynthesis of Triterpenes, Ursolic Acid and Oleanolic Acid in Tissue Cultures of *Rabdosia japonica* Hara fed [5-¹³C²H₂] mevalonolactone and [2-¹³C²H₃] acetate. *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 1740-1745.
201. SHAABAN A. H. and AHMED Z. F. 1959. A New Spermicidal Principle from *Phytolacca americana*. *Gaz. Egypt. Soc. Gynaec. Obst.*, **9**, 27-34.
202. SHARON N., 1982. IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN). Nomenclature of Glycoproteins, Glycopeptides and Peptidoglycans. *Pure Appl. Chem.*, **54**, 1517-22.
203. SHIMADA S. 1969. Antifungal Steroid Glycosides from Sea Cucumber. *Science*, **163**, 1462.
204. SOLIMAN H. S. M. and SOBIEH O. A. 1999. Two Spermicidal Saponins and Two Flavonoids from Berries of *Phytolacca dioica* L. *J. Pharm. Sci.*, **23**, 84-96.
205. SNYDER J and NAKANISHI K. 1981. The Structure of Castanaguyone, A Biisocoumarin Plant Product. *Tetrahedron Letters*, **22**, 5015-5018.

206. SPARG S. G., LIGHT M. E., and VAN STADEN J. 2004. Biological Activities and Distribution of Plant Saponins. *J. Ethnopharm.*, **94**, 219-243.
207. SPENGLER S. and SCHAFFNER W. 1990. Acinospesigenin: A New Triterpene from The Leaves of *Phytolacca acinosa*. *Planta Medica*, **56**, 284-286.
208. SPENGLER S. and SCHAFFNER W. Esculentoside S. A New Saponin from The Leaves of *Phytolacca acinosa*. *Nat. Prod. Lett.*, **2**, 243-247.
209. SPENGLER S. M. 1996. Two Pentacyclic Triterpenes from *Phytolacca dodecandra* Roots. *Phytochemistry*, **43**, 179-182.
210. STEINER M. and HOLTZEM H. 1955. Triterpene und Tritrepen Saponine. **En**, Peach K. and Tracey M. V. (Eds.). "Moderne Methoden der Pflanzanalyse". *Vol 3*. Springer-Verlag. Berlin.
211. STILL W. C., KAHN M. and MITRA A. 1978. Rapid Chromatographic Technique for Preparative Separations With Moderate Resolution. *J. Org. Chem.*, **43**, 2923-2925.
212. STOLZENBERG S. J. and PARKHURST R. M. 1974. Spermicidal Actions of Extracts and Compounds from *Phytolacca dodecandra*. *Contraception*, **2**, 135-143.
213. STRAUSS A. S., SIGRID M. and SCHAFFNER W. 1995. Saponins from Root Cultures of *Phytolacca acinosa*. *Phytochemistry*, **38**, 861-865.
214. STREEFKERK D. G. DE BIE M. J. A. and VLIAGENTHART J. F. G. 1973. Conformational Studies on Pertrimethyl Silyl Derivatives of Some Mono- and Dissacharides By 220 MHz PMR Spectroscopy. *Tetrahedron*, **29**, 833-844.
215. SUGA Y., MARUYAMA Y., KAWANISHI S. and SHOJI J. 1978. Studies on The Constituents of Phytolaccaceous Plants. I. On The Structures of Phytolaccasaponin B, E and G from The Roots of *Phytolacca americana* L. *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 520-525.
216. SULTANOVA N., MAKHMOOR T., YASIN A., ABILOV Z. A., OMURKAMZINOVA V. B., ATTA-U-RAHMAN and CHOUDHARY M. I. 2004. Isotamarixen-A New Antioxidant and Prolyl Endopeptidase-Inhibiting Triterpenoid from *Tamarix hispida*. *Planta Medica*, **70**, 65-67.
217. SUMMON K., RAZDAN T. K. and ANDOTRA C. S. 2003. Acinospesigenin A, B, and C: Three New Triterpenoids from *Phytolacca acinosa*. *J. Nat. Prod.*, **66**, 1121-1123.

218. SUZUKI S. and UMEZAWA T. 2003. Biosynthesis of Lignans and Norlignans. *J. Wood. Sci.*, **53**, 273-284.
219. THILBORG S. T., CHRISTENSEN S. B., CORNETT C., OLSEN C. E. and LEMMICH E., 1993. Molluscicidal Saponins from *Phytolacca dodecandra*. *Phytochemistry*, **32**, 1167-1171.
220. TORRES R., MODAK B. and FAINI F. 1988. (25 *R*)-Isonuatigenin, An Unusual Steroidal Sapogenin as Taxonomic Marker in *Cestrum parqui* and *Vestia lycioides*. *Bol. Soc. Chil. Quím.*, **33**, 239-241.
221. TRAN Q. L., TEZUKA Y. and KADOTA S. 2001. New Spirostanol Steroids and Steroidal Saponins from Roots and Rhizomes of *Dracaena angustifolia* and Their Antiproliferative Activity. *J. Nat. Prod.*, **64**, 1127-1132.
222. TREYVAUD V., MARSTON A., DYATMIKO W. and HOSTETTMANN K. 2000. Molluscicidal Saponins from *Phytolacca icosandra*. *Phytochemistry*, **55**, 603-609.
223. TSCHESCHE R. and WULFF G. 1972. Chemie und Biologie der Saponine. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.*, **30**, 462-606.
224. TURNOCK J., COWAN S., WATSON A., BARTHOLOMEW B., BRIGHT C., LATIF Z., SARKER D. S. and NASH R. J. 2001. N-*trans*-feruloyltyramine from Two Species of The Solanaceae. *Biochem. Syst. Ecol.*, **29**, 209-211.
225. VAN DER MERWE J. P., FERREIRA D., BRANT, E. V. and ROUX D. G. 1972. Immediate Biogenetic Precursors of Mopanols and Peltogynols. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **9**, 521-522.
226. VAN HEERDEN F. R., BRANT E. V. and ROUX D. G. 1979. Structure and Synthesis of a Derivative of Fasciculiferin, a Novel Peltogynoid from *Acacia fasciculifera*. *Tetrahedron Letters*, **20**, 4507-4510.
227. VOGEL A. I. 1967. "Practical Organic Chemistry 3rd Edition". Green & Co Ltd. London.
228. WAIBEL R., BENIRSCHKE G., BENIRSCHKE M. and ACHENBACH H. 2003. Sesquiolignans and Other Constituents from The Seeds of *Joannesia princeps*. *Phytochemistry*, **62**, 805-811.

229. WANG L., BAI L., NAGASAWA T., HASEGAWA T., YANG X., SAKAI J. BAI Y., KATAOKA T., OKA S., HIROSE K., TOMIDA A., TAKASHI T., and ANDO M. 2008. Bioactive Triterpene Saponins from the Roots of *Phytolacca Americana*. *J. Nat. Prod.*, **71**, 35-40.
230. WANG Z. and YI Y. 1984. Studies on The Active Principles of The Traditional Chinese drug "Shang Lu" (*Phytolacca esculenta* Van Houtte). II. Isolation and Identification of Esculentoside E and F. *Yaoxue Xuebao*, **19**, 825-829.
231. WELZEL P., JANSEN B. AND DUDDECK H. 1981. *Liebings Ann. Chem.*, 546.
232. WILLIAMS L. A. D., ROSNER H., CONRAD J., MOLLER W., BEIFUSS U., CHIBA K., NKURUNZIZA J. P and KRAUS W. 2002. Selected Secondary Metabolites from The Phytolaccaceae and Their Biological/Pharmaceutical Significance. *Recent Res. Devel. Phytochem.*, **6**, 13-68.
233. WILLIS W. B., 1991. "Laboratory Experiments in Liquid Chromatography". CRC Press. Boca Ratón. USA.
234. WOJCIECHOWSKI Z. A., 1975. Biosynthesis of Oleanolic Acid Glycosides by Subcellular Fraction of *Calendula officinalis* Seedlings. *Phytochemistry*, **14**, 1749-1753.
235. WOJCIECHOWSKI Z. A., 1983. The Biosynthesis of Plant Steryl Glycosides and Saponins. *Biochem. Soc. Trans.*, **11**, 565-568.
236. WOO W. S. 1971. New Triterpene Acid from *Phytolacca esculenta* Possessing Antiinflammatory Action. *Yakhak Hoechi.*, **15**, 99-102.
237. WOO W. S. 1973. Structure of Jaligonic Acid, a New Triterpene from *Phytolacca esculenta*. *Lloydia*, **36**, 326-332.
238. WOO W. S. 1974. Steroids and Pentacyclic Triterpenoids from *Phytolacca americana*. *Phytochemistry*, **13**, 2887-2889.
239. WOO W. S. 1975. Structure of Esculentinic Acid, a New Triterpene from *Phytolacca esculenta*. *Phytochemistry*, **14**, 1885-1888.
240. WOO W. S. 1979. The Constituents of *Phytolacca* Plants. *Soul Taeh. Saeng. Yong. Opjuk.*, **18**, 155-160.
241. WOO W. S. and KANG S. S. 1976. Phytolaccoside B: Triterpene Glucoside from *Phytolacca americana*. *Phytochemistry*, **15**, 1315-1317.

242. WOO W. S. and KANG S. S. 1977. The Structure of Phytolaccoside G. *Yakhak Hoechi.*, **21**, 159-62.
243. WOO W. S. and KANG S. S. 1985. Triterpenoids and Steroids from Seeds of *Phytolacca esculenta*. *Phytochemistry*, **24**, 1116-1117.
244. WOO W. S. and WAGNER H. 1977. 3-Acetylaleuritolic Acid from The Seeds of *Phytolacca americana*. *Phytochemistry*, **16**, 1845-1846.
245. WOO W. S., CHI H. J. and KANG S. S. 1976. Constituents of *Phytolacca* Species. Comparative Examination on Constituents of The Roots of *P. americana*, *P. esculenta* and *P. acinosa*. *Soul Taeh. Saeng. Yong. Opjuk.*, **15**, 107-110.
246. WOO W. S., KANG S. S., SELIGMANN O., CHARI V. M. and WAGNER H. 1980. The Structure of New Lignans from The Seeds of *Phytolacca americana*. *Tetrahedron Letters*, **21**, 4255-4258.
247. WOO W. S., KANG S. S., WAGNER H. and CHARI V. M. 1978. The Structure of Americanin, a New Neolignan from *Phytolacca americana*. *Tetrahedron Letters*, **35**, 3239-3242.
248. WOO W. S., KANG S. S., WAGNER H., SELIGMANN O. and CHARI V. M. 1978. Triterpenoid Saponins from The Roots of *Phytolacca americana*. *Planta Medica*, **34**, 87-92.
249. WOO W. S., SHIN K. H. and KANG S. S. 1976. Constituents of *Phytolacca* Species. I. Antiinflammatory Saponins. *Soul Taeh. Saeng. Yong. Opjuk.*, **15**, 103-106.
250. XIAO K., YI Y. H., WANG Z. Z., TANG H. F., LI Y. Q. and LIN H. W. 1999. A Cytotoxic Triterpene Saponin from The Root Bark of *Aralia dasyphylla*. *J. Nat. Prod.*, **62**, 1030-1032.
251. YAZAKI Y. 1982. Termicidal Extracts from The Wood of *Ganophyllum falcatum* B1. *Holzforschung*, **36**, 249-253.
252. YI Y. 1990. Esculentoside L and K: Two New Saponins from *Phytolacca esculenta*. *Planta Medica*, **56**, 301-303.
253. YI Y. 1991. A Triterpenoid and Its Saponin from *Phytolacca esculenta*. *Phytochemistry*, **30**, 4179-4181.

254. Yi Y. 1992a. A Triterpenoid Saponin from *Phytolacca esculenta*. *Phytochemistry*, **31**, 2552-2554.
255. Yi Y. 1992b. Two New Saponins from The Roots of *Phytolacca esculenta*. *Planta Medica*, **58**, 99-101.
256. Yi Y. H. and HUANG X. 1991. Isolation and Identification of Three New Saponins from “Shanglu” (*Phytolacca esculenta*). *Yaoxue Xuebao*, **25**, 745-749.
257. Yi Y. H. and WANG C. L. 1981. A New Active Saponin from *Phytolacca esculenta*. *Planta Medica*, **55**, 551-552.
258. Yi Y. Z., JUNMING Z. H., ZHANG J. and SU Z. 1995. New Saponins from The Roots of *Phytolacca polyandra*. *J. Nat. Prod.*, **58**, 1880-1882.
259. ZOU G. A., SUZ. H., ZHANG H-W., WANG Y., YANG J-S. and Zou Z-M. 2010. Flavonoids from The Stems of *Croton caudatus* Geisel. var. *tomentosus* Hook. *Molecules*, **15**, 1097-1102.

ÍNDICES

ÍNDICE DE FIGURAS

N°	Leyenda	Página
A	Diversidad Estructural de Saponinas.....	...9
B	Glicósidos Más Frecuentes Encontrados en la Naturaleza.....	...10
C	Transformación Enzimática de Saponinas en <i>Hedera helix</i>11
D	Ruta Biosintética del Escualeno.....	...12
E	Ciclación del 2,3-Óxido de Escualeno en la Formación de Esteroides y Triterpenos.....	...13
F	Ciclación del Cation Dammarenilo para la Formación de Triterpenos de la Serie del Oleanano, α -Amirina y β -Amirina.....	...14
G	Formación de Esqueletos de Espirostano y Furostano a partir del Cicloartenol.....	...16
H	Ejemplares Representativos de los Géneros <i>Phytolacca</i> , <i>Cestrum</i> y de la Familia Sapindaceae.....	...26
1A	Espectro FAB-MS del Ácido 3-O- β -glucopiranosil-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1).....	...48
1B	Espectro de RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) del Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil)-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1).....	...50
1C	Espectro de RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) del Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil)-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1).....	...51
1D	Espectro TOCSY (C ₅ D ₅ N) del Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil)-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1).....	...53
1E	Espectro HMQC (C ₅ D ₅ N) del Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil)-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1).....	...54
1F	Espectro HMBC (C ₅ D ₅ N) del Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil)-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1).....	...55
1G	Espectro ROESY (C ₅ D ₅ N) del Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil)-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1).....	...56-7
2A	Espectro HR-ESI-MS del Ácido 3-O-[β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (2).....	...59

2B	Espectro de RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 400 MHz) del Ácido 3-O-[β-D-glucopiranosil (1→2)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (2).....	60
2C	Espectro de RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) del Ácido 3-O-[β-D-glucopiranosil (1→2)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (2).....	62
2D	Espectros ¹ H- ¹ H COSY y TOCSY (C ₅ D ₅ N) del Ácido 3-O-[β-D-glucopiranosil (1→2)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (2).....	64
2E	Espectro HMQC (C ₅ D ₅ N) del Ácido 3-O-[β-D-glucopiranosil (1→2)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (2)..	65
2F	Espectro HMBC (C ₅ D ₅ N) del Ácido 3-O-[β-D-glucopiranosil (1→2)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (2)..	66
3A	Espectro FAB-MS del Ácido 3-O-[β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil], 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (3).....	68
3B	Espectro de RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) del Ácido 3-O-[β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (3).....	69
3C	Espectro de RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) del Ácido 3-O-[β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (3).....	71
3D	Espectros TOCSY y ¹ H- ¹ H COSY (C ₅ D ₅ N) del Ácido 3-O-[β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (3).....	73
3E	Espectro HMQC (C ₅ D ₅ N) del Ácido 3-O-[β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (3)..	74
3F	Espectro HMBC (C ₅ D ₅ N) del Ácido 3-O-[β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (3)..	75
4A	Espectro HR-ESI-MS del Ácido 3-O-[β-D-glucopiranosil (1→3)-β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (4).....	77
4B	Espectro de RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) del Ácido 3-O-[β-D-glucopiranosil (1→3)-β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil], 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (4).....	78

4C	Espectro de RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) del Ácido 3-O-[-β-D-glucopiranosil (1→3)-β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil], 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (4).....	80
4D	Espectros TOCSY y ¹ H- ¹ H COSY (C ₅ D ₅ N) del Ácido 3-O-[-β-D-glucopiranosil (1→3)-β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (4).....	92
4E	Espectro HMQC (C ₅ D ₅ N) del Ácido 3-O-[-β-D-glucopiranosil (1→3)-β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (4).....	83
4F	Espectro HMBC (C ₅ D ₅ N) del Ácido 3-O-[-β-D-glucopiranosil (1→3)-β-D-galactopiranosil (1→3)-β-D-glucopiranosil] 28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico (4).....	84
5A	Espectro Infrarrojo (KBr) del Ácido Spergulagénico (5).....	88
5B	Espectro de RMN- ¹ H (MeOD, 400 MHz) del Ácido Spergulagénico (5).....	89
5C	Espectro de RMN- ¹³ C (MeOD, 100 MHz) del Ácido Spergulagénico (5).....	90
6A	Espectro Infrarrojo (KBr) del Ácido Epiacetilaleuritólico(6).....	92
6B	Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) del Ácido Epiacetilaleuritólico (6).....	93
6C	Espectro de RMN- ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz) del Ácido Epiacetilaleuritólico (6).....	94
7A	Espectro Infrarrojo (KBr) del Americanol A (7).....	96
7B	Espectro de RMN- ¹ H [CO(CD ₃) ₂ , 400 MHz] del Americanol A (7) ..	97
7C	Espectro de RMN- ¹³ C [CO(CD ₃) ₂ , 100 MHz] del Americanol A (7) ..	98
7D	Espectro ¹ H- ¹ H COSY [CO(CD ₃) ₂] del Americanol A (7).....	99
7E	Espectro HSQC [CO(CD ₃) ₂] del Americanol A (7).....	100
7F	Espectro HMBC [CO(CD ₃) ₂] del Americanol A (7).....	101
7A-1	Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) del 3,4,9,9'-Tetraacetilamericanol A (7a).....	102
7B-1	Espectro de RMN- ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz) del 3,4,9,9'-Tetraacetilamericanol A (7a).....	103

7C-1	Espectro NOESY (CDCl ₃) del 3,4,9,9'-Tetraacetil-americanol A (7a).....	...104
8A	Espectro Infrarrojo (KBr) del 3,3'-bis-desmetilpinoresinol (8).....	...107
8B	Espectro de RMN- ¹ H [CO(CD ₃) ₂ , 400 MHz] del 3,3'-bis-desmetilpinoresinol (8).....	...108
8C	Espectro de RMN- ¹³ C [(CO(CD ₃) ₂ , 100 MHz] del 3,3'-bis-desmetilpinoresinol (8).....	...109
8D	Espectro ¹ H- ¹ H COSY [CO(CD ₃) ₂] del 3,3'-bis-desmetilpinoresinol (8).....	...110
8E	Espectro HMQC [CO(CD ₃) ₂] del 3,3'-bis-desmetilpinoresinol (8).....	...111
8F	Espectro HMBC [CO(CD ₃) ₂] del 3,3'-bis-desmetilpinoresinol (8).....	...112
8A-1	Espectro de Masas de Impacto Electrónico (I.E., 70 eV) del 3,3',4,4'-tetraacetil-pinoresinol (8a).....	...113
8B-1	Espectro de RMN- ¹ H [CO(CD ₃) ₂ , 400 MHz] del 3,3',4,4'-tetraacetilpinoresinol (8a).....	...113
8C-1	Espectro de RMN- ¹³ C [CO(CD ₃) ₂ , 400 MHz] del 3,3',4,4'-tetraacetilpinoresinol (8a).....	...114
8D-1	Espectro NOESY [CO(CD ₃) ₂] del 3,3',4,4'-tetraacetil-pinoresinol (8a).....	...115
9A	Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) del 6'-palmitil-Δ ⁷ -stigmastenil-D-acetilglucósido (9).....	...119
9B	Espectro de RMN- ¹³ C (CDCl ₃ , 400 MHz) del 6'-palmitil-Δ ⁷ -stigmastenil-D-acetilglucósido (9).....	...121
9C	Espectro ¹ H- ¹ H COSY (CDCl ₃) del 6'-palmitil-Δ ⁷ -stigmastenil-β-D-acetilglucósido (9).....	...122
9D	Espectro HMQC (CDCl ₃) del 6'-palmitil-Δ ⁷ -stigmastenil-β-D-acetilglucósido (9).....	...123
9E	Espectro HMBC (CDCl ₃) del 6'-palmitil-Δ ⁷ -stigmastenil-β-D-acetilglucósido (9).....	...124

9F	Espectro de Masas de Impacto Electrónico (I.E., 70 eV) del 6'-palmitil- Δ^7 -stigmastenil- β -D-acetilglucósido (9).....	...125
10A	Espectro Infrarrojo (KBr) del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (10).....	...128
10B	Espectro de Masas de Impacto Electrónico (I.E., 70 eV) del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (10).....	...129
10C	Espectro de RMN- ^1H (MeOD, 400 MHz) del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (10).....	...130
10D	Espectro de RMN- ^{13}C (MeOD, 400 MHz) del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (10).....	...132
10E	Espectros ^1H - ^1H COSY y TOCSY (MeOD) del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (10).....	...134
10F	Espectro HMQC (MeOD) del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (10).....	...135
10G	Espectro HMBC (MeOD) del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (10).....	...136
10H	Espectro NOESY (MeOD) del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (10).....	...137
11A	Espectro de RMN- ^1H (MeOD, 400 MHz) del Ácido 3-O-[- α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 2) glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11).....	...140
11B	Espectro de RMN- ^{13}C (MeOD, 100 MHz) del Ácido 3-O-[- α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 2) glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11).....	...142
11C	Espectros ^1H - ^1H COSY y TOCSY (MeOD) del Ácido 3-O-[- α -L-rhamnopiranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11).....	...144
11D	Espectros HMQC (MeOD) del Ácido 3-O-[- α -L-rhamnopiranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11).....	...145
11E	Espectros HMBC (MeOD) del Ácido 3-O-[- α -L-rhamnopiranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11).....	...146

12A	Espectro de Masas de Impacto Electrónico (I.E., 70 eV) de la Icosandrina A (12).....	...148
12B	Espectro Infrarrojo (KBr) de la Icosandrina A(12).....	...149
12C	Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) de la Icosandrina A (12)150
12D	Espectro de RMN- ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz) de la Icosandrina A (12).....	...151
12E	Espectro de ¹ H- ¹ H COSY (CDCl ₃), de la Icosandrina A (12).....	...152
12F	Espectro de HMQC (CDCl ₃), de la Icosandrina A (12).....	...154
12G	Espectro de HMBC (CDCl ₃), de la Icosandrina A (12).....	...155
13A	Espectro FAB-MS de los Ácidos Ursólico (13) y Oleanólico (13a).....	...161
13B	Espectro de RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) de la Mezcla de Ácido Ursólico (13) y Oleanólico (13a).....	...162
14A	Espectro FAB-MS de la Pennogenina 3-O-[α-L-rhamnopiranosil (1→2)-α-L-rhamnopiranosil (1→4)]-β-D-glucopiranosido (14)....	...164
14B	Espectro de RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) de la Pennogenina 3-O-[α-L-rhamnopiranosil (1→2)-α-L-rhamnopiranosil (1→4)]-β-D-glucopiranosido (14).....	...166
14C	Espectro de RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) de la Pennogenina 3-O-[α-L-rhamnopiranosil (1→2)-α-L-rhamnopiranosil (1→4)]-β-D-glucopiranosido (14).....	...168
14D	Espectro COSY (C ₅ D ₅ N) de la Pennogenina 3-O-[α-L-rhamnopiranosil (1→2)-α-L-rhamnopiranosil (1→4)]-β-D-glucopiranosido (14).....	...169
14E	Espectro TOCSY (C ₅ D ₅ N) de la Pennogenina 3-O-[α-L-rhamnopiranosil (1→2)-α-L-rhamnopiranosil (1→4)]-β-D-glucopiranosido (14).....	...170
14F	Espectro HMQC (C ₅ D ₅ N) de la Pennogenina 3-O-[α-L-rhamnopiranosil (1→2)-α-L-rhamnopiranosil (1→4)]-β-D-glucopiranosido (14).....	...171
14G	Espectro HMBC (C ₅ D ₅ N) de la Pennogenina 3-O-[α-L-rhamnopiranosil (1→2)-α-L-rhamnopiranosil (1→4)]-β-D-glucopiranosido (14).....	...172

14H	Espectro ROESY (C ₅ D ₅ N) de la Pennogenina 3-O-[α-L-rhamnopyranosil (1→2)-α-L-rhamnopyranosil (1→4)]-β-D-glucopiranosido (14).....	...173
15A	Espectro FAB-MS del β-chacotriosil-(25 <i>R</i> , 26 <i>R</i>)-3β,17α,26-trihidróxi-5-espirosteno (15).....	...175
15B	Espectro de RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) del β-chacotriosil-(25 <i>R</i> , 26 <i>R</i>)-3β,17α,26-trihidróxi-5-espirosteno (15).....	...176
15C	Espectro de RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) del β-chacotriosil-(25 <i>R</i> , 26 <i>R</i>)-3β,17α,26-trihidróxi-5-espirosteno (15).....	...178
15D	Espectro TOCSY (C ₅ D ₅ N) del β-chacotriosil-(25 <i>R</i> , 26 <i>R</i>)-3β,17α,26-trihidróxi-5-espirosteno (15).....	...179
15E	Espectro HMQC (C ₅ D ₅ N) del β-chacotriosil-(25 <i>R</i> , 26 <i>R</i>)-3β,17α,26-trihidróxi-5-espirosteno (15).....	...180
15F	Espectro HMBC (C ₅ D ₅ N) del β-chacotriosil-(25 <i>R</i> , 26 <i>R</i>)-3β,17α,26-trihidróxi-5-espirosteno (15).....	...181
15G	Espectro ROESY (C ₅ D ₅ N) del β-chacotriosil-(25 <i>R</i> , 26 <i>R</i>)-3β,17α,26-trihidróxi-5-espirosteno (15).....	...182
16A	Espectro FAB-MS de la Metil-protodioscina (16).....	...184
16B	Espectro de RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) de la Metil-protodioscina (16).....	...185
16C	Espectro de RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) de la Metil-protodioscina (16).....	...187
16D	Espectro TOCSY (C ₅ D ₅ N) de la Metil-protodioscina (16).....	...189
16E	Espectro HMQC (C ₅ D ₅ N) de la Metil-protodioscina (16).....	...190
16F	Espectro HMBC (C ₅ D ₅ N) de la Metil-protodioscina (16).....	...191
16G	Espectro ROESY (C ₅ D ₅ N) de la Metil-protodioscina (16).....	...192
17A	Espectro FAB-MS del β-chacotriosil (22, 25 <i>R</i>)-3β, 17α, 22, 26-tetarhidróxi-5-furosten-26-O-β-glucopiranosido (17).....	...194
17B	Espectro de RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) del β-chacotriosil (22, 25 <i>R</i>)-3β, 17α, 22, 26-tetarhidróxi-5-furosten- 26-O- β-glucopiranosido (17).....	...195

17C	Espectro de RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) del β-chacotriosil (22, 25 <i>R</i>)-3β, 17α, 22, 26-tetarhidróxi-5-furosten-26-O-β-glucopiranosido (17).....	...197
17D	Espectro HMQC (C ₅ D ₅ N) del β-chacotriosil (22, 25 <i>R</i>)-3β, 17α, 22, 26-tetarhidróxi-5-furosten-26-O-β-glucopiranosido (17).....	...199
17E	Espectro HMQC (C ₅ D ₅ N) del β-chacotriosil (22, 25 <i>R</i>)-3β, 17α, 22, 26-tetarhidróxi-5-furosten-26-O-β-glucopiranosido (17).....	...200
17F	Espectro HMBC (C ₅ D ₅ N) del β-chacotriosil (22, 25 <i>R</i>)-3β, 17α, 22, 26-tetarhidróxi-5-furosten-26-O-β-glucopiranosido (17).....	...201
18A	Espectro FAB-MS de la Protodioscina (18) y el Metil-proto-Pb (19).....	...203
18B	Espectro de RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) de la Protodioscina (18) y el Metil-proto-Pb (19).....	...204
18C	Espectro de RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) de la Protodioscina (18) y el Metil-proto-Pb (19).....	...206
18D	Espectro TOCSY (C ₅ D ₅ N) de la Protodioscina (18) y el Metil-proto-Pb (19).....	...208
18E	Espectro HMQC (C ₅ D ₅ N) de la Protodioscina (18) y el Metil-proto-Pb (19).....	...209
18F	Espectro HMBC (C ₅ D ₅ N) de la Protodioscina (18) y el Metil-proto-Pb (19).....	...210
20A	Espectro FAB-MS del 3-O-(2,4,4-tri-α-L-rhamnopiranosil-β-D-glucopiranosil) (25 <i>R</i>)-3β, 22, 26-tri-hidróxi-5-furosten-26-O-β-D-glucopiranosido (20).....	...216
20B	Espectro de RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) del 3-O-(2,4,4-tri-α-L-rhamnopiranosil-β-D-glucopiranosil) (25 <i>R</i>)-3β, 22, 26-tri-hidróxi-5-furosten-26-O-β-D-glucopiranosido (20).....	...217
20C	Espectro de RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) del 3-O-(2,4,4-tri-α-L-rhamnopiranosil-β-D-glucopiranosil) (25 <i>R</i>)-3β, 22, 26-tri-hidróxi-5-furosten-26-O-β-D-glucopiranosido (20).....	...219
20D	Espectro TOCSY del 3-O-(2,4,4-tri-α-L-rhamnopiranosil-β-D-glucopiranosil) (25 <i>R</i>)-3β, 22, 26-tri-hidróxi-5-furosten-26-O-β-D-glucopiranosido (20).....	...221

20E	Espectro HMQC del 3-O-(2,4,4-tri- α -L-rhamnopiranosil- β -D-glucopiranosil) (25R)-3 β , 22, 26-tri-hidróxi-5-furosten-26-O- β -D-glucopiranosido (20).....	...222
20F	Espectro HMBC del 3-O-(2,4,4-tri- α -L-rhamnopiranosil- β -D-glucopiranosil) (25R)-3 β , 22, 26-tri-hidróxi-5-furosten-26-O- β -D-glucopiranosido (20).....	...223
21A	Espectro FAB-MS del Ácido 28-O-{ β -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zanhico (21).....	...227
21B	Espectro de RMN- ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 600 MHz) del Ácido 28-O-{ β -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zanhico (21).....	...228
21C	Espectro de RMN- ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 150 MHz) del Ácido 28-O-{ β -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zanhico (21).....	...231
21D	Espectro COSY y TOCSY del Ácido 28-O-{ β -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zanhico (21).....	...234
21E	Espectro HSQC del Ácido 28-O-{ β -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zanhico (21).....	...235
21F	Espectro HMBC del Ácido 28-O-{ β -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zanhico (21).....	...236
21G	Espectro ROESY del Ácido 28-O-{ β -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zanhico (21).....	...237
22A	Espectro FAB-MS del Ácido 28-O-{ β -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (22).....	...239
22B	Espectro de RMN- ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 600 MHz) del Ácido 28-O-{ β -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (22).....	...240

22C	Espectro de RMN- ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 150 MHz) del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (22).....	...242
22D	Espectro COSY y TOCSY (C ₅ D ₅ N) del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (22).....	...244
22E	Espectro HMQC (C ₅ D ₅ N) del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (22).....	...245
22F	Espectro ROESY (C ₅ D ₅ N) del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (22).....	...246
23A	Espectro FAB-MS del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetil-fucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (23).....	...248
23B	Espectro de RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetil-fucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (23).....	...249
23C	Espectro de RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetil-fucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (23).....	...251
23D	Espectros COSY y TOCSY (C ₅ D ₅ N) del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetil-fucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (23).....	...253
23E	Espectros HMQC (C ₅ D ₅ N) del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetil-fucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (23).....	...254
23F	Espectros ROESY (C ₅ D ₅ N) del Ácido 28-O- $\{\beta$ -D-4-O-acetil-fucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (23).....	...255

ÍNDICE DE TABLAS

N°	Leyenda	Página
A	Estudios Fitoquímicos Concernientes al Aislamiento de Saponinas Triterpénicas en Especies de <i>Phytolacca</i>30
B	Estudios Fitoquímicos de Diversos Metabolitos Secundarios en Especies de <i>Phytolacca</i>31
C	Estudios Fitoquímicos Concernientes al Aislamiento de Saponinas Esteroidales en Especies de <i>Cestrum</i>34
D	Estudios Fitoquímicos de Diversos Metabolitos Secundarios en Especies de <i>Cestrum</i>35
1B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) del Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil) -28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1).....	...50-1
1C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) del Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil) -28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (1).....	...52
2B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) del Ácido 3-O-[β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (2).....	...60-1
2C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 100 MHz) del Ácido 3-O-[β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil] 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (2).....	...62-3
3B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) del Ácido 3-O-[β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil], 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (3).....	...66-7
3C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 100 MHz) de la Genina del Ácido 3-O-[β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil], 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (3).....	...71-2
4B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) del Ácido 3-O-[β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil], 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (4).....	...78-9

4C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) del Ácido 3-O-[- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopirano-sil], 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (4)80-1
5A	Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr), del Ácido Spergulagénico (5).....	...88
5B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (MeOD, 400 MHz) del Ácido Spergulagénico (5).....	...89
5C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (MeOD, 100 MHz) del Ácido Spergulagénico (5).....	...90
6A	Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr), del Ácido Epiacetilaleuritólico (6).....	...92
6B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) del Ácido Epiacetilaleuritólico (6).....	...93
6C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz) del Ácido Epiacetilaleuritólico (6).....	...94
7A	Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr), del Americanol A (7).....	...96
7B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H [CO(CD ₃) ₂ , 400 MHz] del Americanol A (7).....	...97
7C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C [CO(CD ₃) ₂ , 100 MHz] del Americanol A (7).....	...98
7A-1	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) del 3,4,9,9'-Tetraacetil-americanol A (7a).....	...102
7B-1	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz) del 3,4,9,9'-Tetraacetil-americanol A (7a).....	...103
8A	Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr), del 3,3'- <i>bis</i> -desmetilpinoresinol (8).....	...107
8B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (CO(CD ₃) ₂ , 400 MHz) del 3,3'- <i>bis</i> -desmetilpinoresinol (8).....	...108
8C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (CO(CD ₃) ₂ , 100 MHz) del 3,3'- <i>bis</i> -desmetilpinoresinol (8).....	...109

8B-1	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) del 3,3',4,4'-tetraacetil-pinoresinol (8a).....	...114
8C-1	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz) del 3,3',4,4'-tetraacetil-pinoresinol (8a).....	...114
9A	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) del 6'-palmitil- Δ^7 -stigmastenil- β -D-acetilglucósido (9).....	...119
9B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz) del 6'-palmitil- Δ^7 -stigmastenil- β -D-acetilglucósido (9).....	...121-2
10A	Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr), del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (10).....	...128
10C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (MeOD, 400 MHz) del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11).....	...130-1
10D	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (MeOD, 100 MHz) del Ácido 3-O-(β -D-2-acetoxiglucopiranosil) 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11).....	...132-3
11A	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (MeOD, 400 MHz) del Ácido 3-O-[- α -L-rhamno-piranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil], 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11).....	...140-1
11B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (MeOD, 100 MHz) del Ácido 3-O-[- α -L-rhamno-piranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil], 28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico (11).....	...142-3
12B	Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr), de la Icosandrina A (12).....	...149
12C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) de la Icosandrina A (12).....	...150
12D	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz) de la Icosandrina A (12).....	...151
13B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) de la Mezcla de Ácido Ursólico (13) y Oleanólico (13a).....	...162

14B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) de la Pennogenina 3-O-[α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopiranosido (14).....	...166-7
14C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) de la Pennogenina 3-O-[α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopiranosido (14).....	...168-9
15B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) del β -chacotriosil-(25 <i>R</i> , 26 <i>R</i>)-3 β ,17 α ,26-trihidróxi-5-espirosteno (15).....	...176-7
15C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) del β -chacotriosil-(25 <i>R</i> , 26 <i>R</i>)-3 β ,17 α ,26-trihidróxi-5-espirosteno (15).....	...178-9
16B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) de la Metil-protodioscina (16).....	...185
16C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) de la Metil-protodioscina (16).....	...187-8
17B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) del β -chacotriosil (22, 25 <i>R</i>)-3 β , 17 α , 22, 26-tetarhidróxi-5-furosten-26-O- β -glucopiranosido (17).....	...195-6
17C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) del β -chacotriosil (22, 25 <i>R</i>)-3 β , 17 α , 22, 26-tetarhidróxi-5-furosten-26-O- β -glucopiranosido (17).....	...197-8
18B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) de la Protodioscina (18).....	...204-5
18B-1	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) del Metil-proto-Pb (19).....	...211-2
18C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) de la Protodioscina (18).....	...206-7
18C-1	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) del Metil-proto-Pb (19).....	...212-3
20B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) del 3-O-(2,4,4-tri- α -L-rhamnopiranosil- β -D-glucopiranosil) (25 <i>R</i>)-3 β , 22, 26-tri-hidróxi-5-furosten-26-O- β -D-glucopiranosido (20).....	...217-8

20C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) del 3-O-(2,4,4-tri- α -L-rhamnopiranosil- β -D-glucopiranosil) (25R)-3 β , 22, 26-tri-hidróxi-5-furosten-26-O- β -D-glucopiranosido (20).....	...219
21B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 600 MHz) del Ácido 28-O-{ β -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zhanico (21).....	...228-9
21C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 150 MHz) del Ácido 28-O-{ β -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- β -D-glucoronopiranosil-zhanico (21).....	...231-2
22B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N, 600 MHz) del Ácido 28-O-{ β -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (22).....	...240-1
22C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 150 MHz) del Ácido 28-O-{ β -D-4-O-acetilfucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (22).....	...242-3
23B	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹ H (C ₅ D ₅ N,600 MHz) del Ácido 28-O-{ β -D-4-O-acetil-fucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (23).....	...249
23C	Desplazamientos Químicos (δ) en el RMN- ¹³ C (C ₅ D ₅ N,150 MHz) del Ácido 28-O-{ β -D-4-O-acetil-fucopiranosil [(1 \rightarrow 2)- β -D-glucoronopiranosil] (1 \rightarrow 3)- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil}-3-O- α -L-rhamnopiranosil-zanhico (23).....	...251-2

ÍNDICE DE ESQUEMAS

N°	Leyenda	Página
I	Procedimiento General Empleado en el Aislamiento, Separación y Purificación de las Saponinas de <i>Phytolacca rugosa</i> , <i>Cestrum ruizteranianum</i> y <i>Ganophyllum giganteum</i>40

II	Procedimiento General Empleado en el Aislamiento, Separación y Purificación de Metabolitos Secundarios de los frutos de <i>Phytolacca icosandra</i>41
III	Aislamiento y Purificación de Saponinas Triterpénicas de los Frutos de <i>Phytolacca rugosa</i> Braun & Bouché.....	...47
IV	Aislamiento y Purificación de Metabolitos Secundarios de los Frutos de <i>Phytolacca icosandra</i> L.....	...87
V	Aislamiento y Purificación de Saponinas Esteroidales de los Frutos de <i>Cestrum ruizteranianum</i> Benitez & D'Arcy.....	...160
VI	Aislamiento y Purificación de Saponinas Esteroidales de la Corteza de <i>Ganophyllum giganteum</i> (A. Chev) Hauman.....	...221

ÍNDICE DE CUADROS

N°	Leyenda	Página
I	Productos Aislados de los Frutos de <i>Phytolacca rugosa</i> , <i>Phytolacca icosandra</i> , <i>Cestrum ruizteranianum</i> y <i>Ganophyllum giganteum</i>42-5