



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO BIOLÓGICAS

DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**“Estudio fitoquímico de *Ceanothus caeruleus* y actividad citotóxica
de derivados triterpénicos tipo *nor-A-lupano*”**

Tesis
que para obtener el Grado de

Doctor en Ciencias Químicas

Presenta:
M. C. José Luis Salvador Hernández

Directores:
Dr. Hugo Alejandro García-Gutiérrez
Dra. Rosa Elva Norma del Río Torres

Morelia, Michoacán.

Julio 2025

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Química Medicinal del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo bajo la dirección del D.C. Hugo Alejandro García Gutiérrez y la D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres. Proyecto realizado con apoyo otorgado por la CIC-UMSNH y la SECIHTI Ciencia Básica (A1-S-47325).

AGRADECIMIENTOS

Ciencia y Tecnología

Secretaría de Ciencia, Humanidades,
Tecnología e Innovación



A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) — Financiamiento parcial (Apoyo No. A1-S-47325) y por el apoyo de la beca No. 227255, otorgada durante mis estudios del Doctorado en Ciencias Químicas en el Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.



A la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Herbario de la Facultad de Biología (EBUM). M.C. Patricia Silva-Sáenz — Identificación de la planta.

En Gran medida agradezco al Instituto de Investigaciones Químico Biológicas y a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo...

Al Dr. Hugo Alejandro García Gutiérrez por su asesoría y permitirme formar parte de su grupo de trabajo.

A la Dra. Rosa Elba del Río Torres por su coasesoría y su apoyo.

Al comité tutorial:

Dr. Judit A. Aviña Verduzco.

Dr. Mario Armando Gómez Hurtado.

Dr. J. Jesús Martín Torres Valencia

Al Dr. Carlos M. Cerda-García-Rojas y al Dr. Pedro Joseph-Nathan[†], así como al Laboratorio de Productos Naturales del CINVESTAV-IPN por las facilidades para las determinaciones de Infrarrojo, Polarimetría, Ultravioleta, Espectrometría de Masa y Resonancia Magnética Nuclear.

A Dios:

Por todas la bendiciones, por acompañarme por la vida y en los momentos difíciles.

DEDICATORIA

A mi familia:

Son la razón de mi vida y el motivo de mi superación.

A mis hermanas:

Gracias por todo su apoyo.

Al D. C. Virgilio Mendoza González:

Por inculcarme el gusto por la ciencia y motivar en mi el estudio de las plantas.

Soñemos, quizá entonces hallaremos la verdad... pero abstengámonos de publicar nuestros sueños antes de haberlos puesto a prueba con la mente despierta.

Friedrich August Kekulé

Tanímu Arhínskua.

Parte de este trabajo se publicó en el artículo:

José L. Salvador-Hernández, Luis J. Calvillo-Carranza, Rosa E. del Río, Joel E. López-Meza, Alejandra Ochoa-Zarzosa, Julio C. Ontiveros-Rodríguez, Carlos M. Cerda-García-Rojas and Hugo A. García-Gutiérrez. Identification of the Main Specialized Metabolites of *Ceanothus caeruleus* and Cytotoxic Effects of A-nor-Lupane Derivatives. *Records of Natural Products*, **2025**, 19 (1), 95-100. DOI: 10.25135/rnp.491.2409.3321

Así como los avances del proyecto fueron presentados en los siguientes eventos académicos:

1. Participación en el “10ª Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica”. **José L. Salvador-Hernández**, Juan J. García-Vanegas, Mario A. Gómez-Hurtado, Luisa U. Román Marín, Juan D. Hernández-Hernández, Rosa E. del Río y Hugo A. García-Gutiérrez. “Estudio por Cromatografía de Gases acoplada a espectrometría de Masa de los Extractos no polares de *Ceanothus caeruleus*”. Del 5 al 9 de mayo de 2014. San Luis Potosí, SLP.
2. Participación en el “9º Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación”. **José L. Salvador-Hernández**, Rosa E. del Río, Luisa U. Román Marín, Juan D. Hernández-Hernández, Hugo A. García-Gutiérrez. “Terpenos de la raíz de *Ceanothus caeruleus*”. Del 16 al 17 de octubre de 2014. Morelia, Mich.
3. Participación en el “Encuentro Nacional de Ciencias Químicas, Dr. Norberto Farfán”. **José L. Salvador-Hernández**, Hugo A. García-Gutiérrez, Rosa E. del Río, Luisa U. Román Marín, Juan D. Hernández-Hernández, Carlos M. Cerda-García-Rojas y Pedro Joseph-Nathan. “Terpenos aislados de *Ceanothus caeruleus*”. Del 25 al 27 de febrero de 2015. Colima, Col.
4. Participación en la “11ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales”. Hugo A. García-Gutiérrez, Luis J. Calvillo-Carranza, **José L. Salvador-Hernández**, Rosa E. del Río. “Obtención de Triterpenos por Hidrólisis Alcalina del Extracto Hexánico de Raíz de *Ceanothus caeruleus*”. Del 20 al 22 de mayo de 2015. San Carlos, Son.

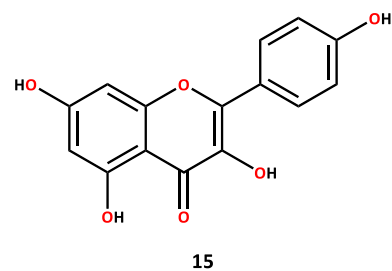
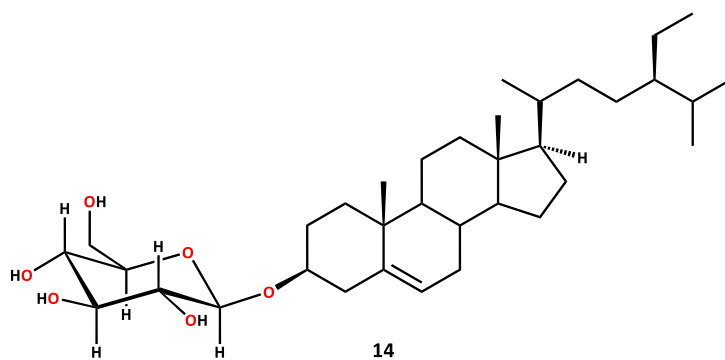
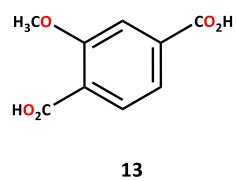
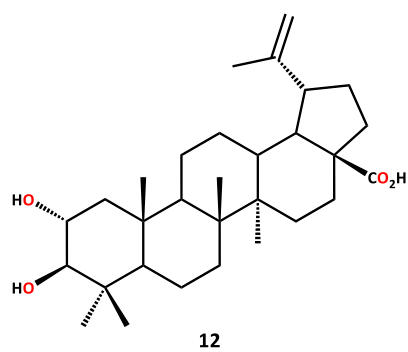
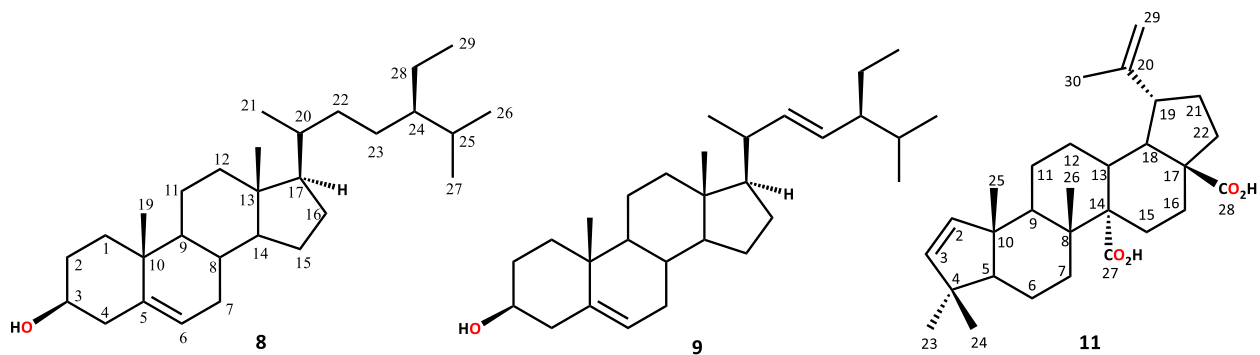
5. Participación en el “10º Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación”. **José L. Salvador-Hernández**, Rosa E. Del Río, Hugo A. García-Gutiérrez. “Fitoquímica de flor y hoja de *Ceanothus caeruleus*”. Del 24 al 25 de septiembre de 2015. Morelia, Mich.
6. Participación en el “50º Congreso Mexicano de Química y 34º Congreso Nacional de Educación Química”. **José L. Salvador-Hernández**, Hugo A. García-Gutiérrez, Rosa E. del Río, Carlos M. Cerda-García-Rojas y Pedro Joseph-Nathan. “Análisis Fitoquímico de Flor y Hoja de *Ceanothus caeruleus*”. Del 7 al 10 de octubre de 2015. Querétaro, Qro.
7. Participación en la “3ª Semana del Posgrado en Ciencias Químicas”. **José L. Salvador-Hernández**, Hugo A. García-Gutiérrez, Juan D. Hernández-Hernández, Luisa U. Román Marín, L. Beiza-Granados, Mario A. Gómez-Hurtado, Rosa E. del Río. “Reactividad Química de Compuestos con Esqueleto Tipo Lupano aislados de *Ceanothus caeruleus*”. El 29 de junio de 2016. Morelia, Mich.
8. Participación en el “II Congreso Internacional y IV Nacional de Químico Farmacobiología”. **José L. Salvador-Hernández**, Rosa E. del Río, L. Beiza-Granados, Hugo A. García-Gutiérrez. “Triterpenos minoritarios de *Ceanothus caeruleus*”. Del 28 de noviembre al 1 de diciembre de 2016. Morelia, Mich.
9. Participación en la “13ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales”. Luis J. Calvillo-Carranza, Hugo A. García-Gutiérrez, **José L. Salvador-Hernández**, Marili Martínez-Cabello, Luis Prado-Villanueva, Ulises D. Silva-Vázquez, Lidia Beiza-Granados, Rosa E. del Río. “Comparación de los rendimientos de los extractos de la raíz de *Ceanothus caeruleus* obtenidos por diferentes métodos”. Del 17 al 20 de mayo de 2017. Morelia, Mich.
10. Participación en la “13ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales”. **José L. Salvador-Hernández**, Hugo A. García-Gutiérrez, Luis J. Calvillo-Carranza, Rosa E. del Río, Lidia Beiza-Granados, Carlos M. Cerda-García-Rojas, Pedro Joseph-Nathan. “Reactividad química del ácido ceanoténico, un triterpeno tipo *nor*-lupano aislado de *Ceanothus caeruleus*”. Del 17 al 20 de mayo de 2017. Morelia, Mich.

ÍNDICE

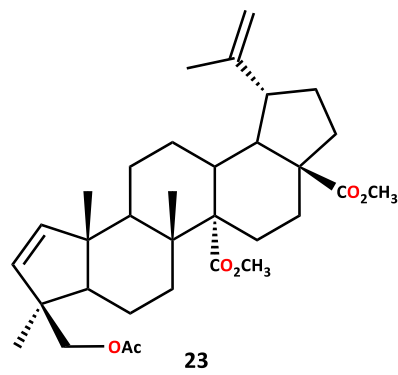
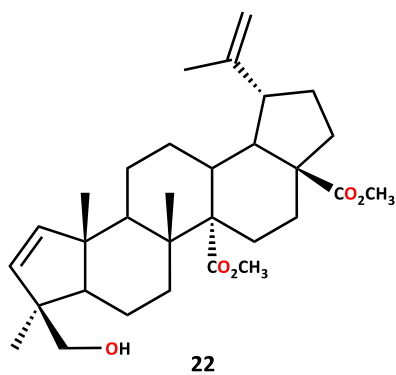
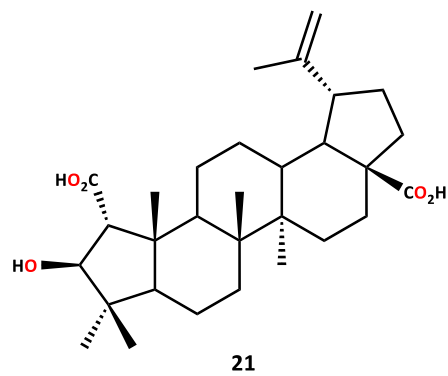
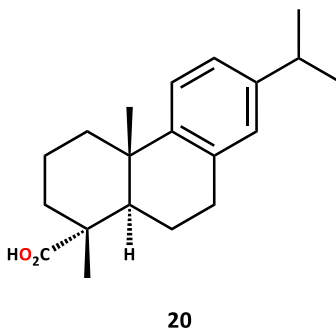
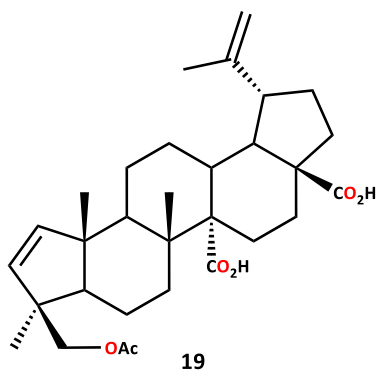
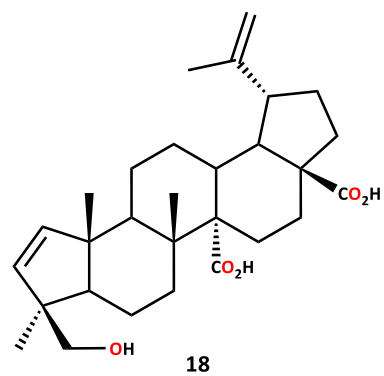
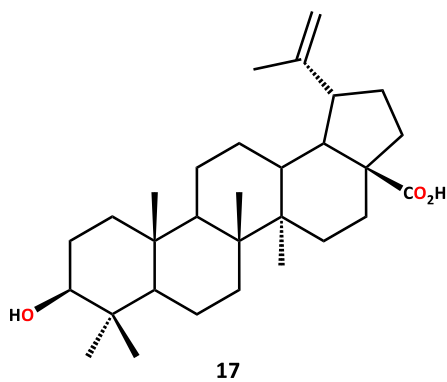
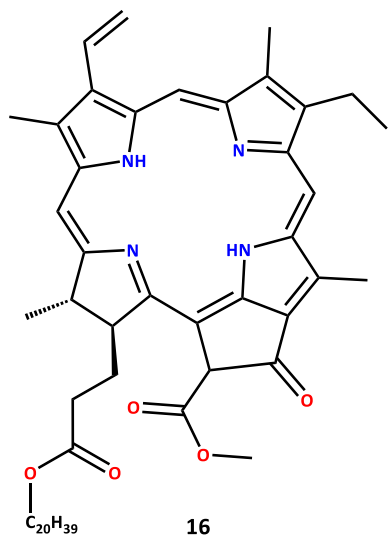
I. Resumen de estructuras.	I
II. Índice de figuras.	III
III. Índice de tabla	VI
IV. Abreviaturas.	VII
1. RESUMEN.	IX
2. ABSTRACT.	IX
3. INTRODUCCIÓN.	1
4. ANTECEDENTES.	4
5. JUSTIFICACIÓN.	7
6. OBJETIVOS.	7
6.1. Objetivo General.	7
6.2. Objetivos Específicos.	7
7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	8
7.1. Extracción de flor, hoja, raíz y tallo de <i>C. caeruleus</i> .	8
7.2. Análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masa de los extractos hexánicos de flor, hoja, raíz y tallo de <i>C. caeruleus</i> .	11
7.2.1. Análisis del extracto de flor.	11
7.2.2. Análisis del extracto de hoja.	13
7.2.3. Análisis del extracto de raíz.	16
7.2.4. Análisis del extracto de tallo.	18
7.3. Metabolitos aislados.	21
7.3.1. Análisis del extracto en cloruro de metileno de flor de <i>C. caeruleus</i> .	21
7.3.1.1. Identificación del β -sitosterol (8) y estigmasterol (9).	22
7.3.1.2. Identificación del ácido ceanoténico (11).	23
7.3.1.3. Identificación del ácido alfitólico (12).	27
7.3.1.4. Identificación del ácido verátrico (ác. 3,4-dimetoxibenzoico, 13).	30
7.3.1.5. Identificación del 3-O- β -D-glucopiranosido- β -sitosterol (14).	33
7.3.2. Análisis del extracto en acetato de etilo de flor.	36
7.3.2.1. Identificación del ácido ceanoténico (11).	36
7.3.2.2. Identificación del kaempferol (15).	36
7.3.2.3. Identificación del 3-O- β -D-glucopiranosido- β -sitosterol (14).	39
7.3.3. Análisis del extracto en cloruro de metileno de hoja.	39
7.3.3.1. Identificación de la feofitina-a (16).	40
7.3.3.2. Identificación del ácido ceanoténico (11).	43
7.3.3.3. Identificación del ácido betulínico (17).	43
7.3.3.4. Identificación del ácido alfitólico (12).	45

7.3.3.5. Identificación del ácido gouánico B (18).	45
7.3.3.6. Identificación del 3- <i>O</i> - β -D-glucopiranosido- β -sitosterol (14).	49
7.3.4. Análisis del extracto en acetato de etilo de hoja.	49
7.3.4.1. Identificación del ácido ceanoténico (11).	50
7.3.4.2. Identificación del acetilgouánico B (19).	50
7.3.4.3. Identificación del 3- <i>O</i> - β -D-glucopiranosido- β -sitosterol (14).	53
7.3.5. Análisis del extracto en cloruro de metileno de la raíz.	54
7.3.5.1. Identificación del ácido dehidroabiético (20).	54
7.3.5.2. Identificación del ácido ceanoténico (11).	56
7.3.5.3. Identificación del ácido ceanótico (21).	56
7.3.6. Análisis del extracto en acetato de etilo de la raíz.	56
7.3.6.1. Identificación del ácido ceanótico (21).	57
7.3.6.2. Identificación del ácido ceanoténico (11), 3- <i>O</i> - β -D-glucopiranosido- β -sitosterol (14) y ácido dehidroabiético (20).	61
7.3.7. Análisis del extracto en cloruro de metileno del tallo.	61
7.3.7.1. Identificación del ácido ceanoténico (11).	62
7.3.7.2. Identificación del ácido ceanótico (21).	62
7.3.7.3. Identificación del ácido alfitólico (12).	62
7.3.7.4. Identificación del ácido gouánico (18).	62
7.3.7.5. Identificación del 3- <i>O</i> - β -D-glucopiranosido- β -sitosterol (14).	62
7.3.7.6. Análisis del extracto en acetato de etilo del tallo.	62
7.3.8. Identificación del ácido ceanoténico (11).	63
7.3.8.1. Identificación del 3- <i>O</i> - β -D-glucopiranosido- β -sitosterol (14).	63
7.4. Obtención de derivados del ácido gouánico (18) y del acetilgouánico B (19).	64
7.4.1. Obtención del derivado dimetilgouanato B (22).	64
7.4.1.1. Obtención del derivado acetildimetilgouanato B (23).	67
7.5. Actividad citotóxica.	71
8. CONCLUSIONES.	73
9. PARTE EXPERIMENTAL.	74
10. BIBLIOGRAFÍA.	89
11. ANEXOS.	96

I. Resumen de estructuras.



I. Resumen de estructuras (cont.)



II. Índice de figuras.

Figura 1.	Estructura de la atropina aislada de <i>Atropa belladonna</i> .	1
Figura 2.	Estructura de la cortisona.	2
Figura 3.	Ejemplos de compuestos aislados de fuentes vegetales.	3
Figura 4.	Alcaloides aislados del género <i>C. caeruleus</i> .	5
Figura 5.	Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 de los extractos hexánicos de tallo por maceración y reflujo de <i>C. caeruleus</i> .	10
Figura 6.	Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 de los extractos hexánicos sucesivos de tallo por reflujo de <i>C. caeruleus</i> .	10
Figura 7.	Espectro de RMN de ^1H del extracto hexánico de flor de <i>C. caeruleus</i> .	11
Figura 8.	Cromatograma del extracto hexánico de flor de <i>C. caeruleus</i> .	12
Figura 9.	Espectro de RMN de ^1H del extracto hexánico de hoja de <i>C. caeruleus</i> .	14
Figura 10.	Cromatograma del extracto hexánico de hoja de <i>C. caeruleus</i> .	15
Figura 11.	Espectro de RMN de ^1H del extracto hexánico de raíz de <i>C. caeruleus</i> .	16
Figura 12.	Cromatograma del extracto crudo hexánico de raíz de <i>C. caeruleus</i> .	17
Figura 13.	Espectro de RMN de ^1H del extracto hexánico de tallo de <i>C. caeruleus</i> .	18
Figura 14.	Cromatograma del extracto hexánico de tallo de <i>C. caeruleus</i> .	19
Figura 15.	Espectro de RMN de ^1H del extracto cloruro de metileno de flor de <i>C. caeruleus</i> .	21
Figura 16.	Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 del β -sitosterol (8) y estigmasterol (9) aislados de flor de <i>C. caeruleus</i> .	22
Figura 17.	Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 del β -sitosterol (8) y estigmasterol (9) aislados de flor de <i>C. caeruleus</i> .	23
Figura 18.	Estructura del lupano (10) y Estructura del ácido ceanoténico (11).	24
Figura 19.	Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz en piridina deuterada del ácido ceanoténico (11) aislado de la flor de <i>C. caeruleus</i> .	24
Figura 20.	Espectro de RMN de ^{13}C a 75 MHz en piridina deuterada del ácido ceanoténico (11) aislado de la flor de <i>C. caeruleus</i> .	26
Figura 21.	Correlaciones significativas de experimentos bidimensionales del ácido ceanoténico (11).	26
Figura 22.	Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz en piridina deuterada del ácido alfitólico (12) aislado de la flor de <i>C. caeruleus</i> .	27
Figura 23.	Espectro de RMN de ^{13}C a 75 MHz en piridina deuterada del ácido alfitólico (12) aislado de la flor de <i>C. caeruleus</i> .	29
Figura 24.	Correlaciones significativas de experimentos bidimensionales del ácido alfitólico (12).	30
Figura 25.	Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz en CDCl_3 del ácido 3,4-dimetoxibenzoico (13) aislado de la flor de <i>C. caeruleus</i> .	31
Figura 26.	Espectro de RMN de ^{13}C a 75 MHz en CDCl_3 del ácido 3,4-dimetoxibenzoico (13) aislado de la flor de <i>C. caeruleus</i> .	32
Figura 27.	Correlaciones significativas de experimentos bidimensionales del ácido 3,4-dimetoxibenzoico (13) aislado de la flor de <i>C. caeruleus</i> .	33

Figura 28.	Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz en piridina deuterada del 3- <i>O</i> - β -D-glucopiranosido- β -sitosterol (14), aislado de la flor de <i>C. caeruleus</i> .	34
Figura 29.	Espectro de RMN de ^{13}C en piridina deuterada del 3- <i>O</i> - β -D-glucopiranosido- β -sitosterol (14), aislado de la flor de <i>C. caeruleus</i> .	35
Figura 30.	Correlaciones significativas de experimentos bidimensionales del 3- <i>O</i> - β -D-glucopiranosido- β -sitosterol (14).	35
Figura 31.	Espectro de RMN de ^1H en acetona deuterada del extracto en acetato de etilo de la flor de <i>C. caeruleus</i> .	36
Figura 32.	Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz en piridina deuterada del kaempferol (15).	38
Figura 33.	Espectro de RMN de ^{13}C a 75 MHz en piridina deuterada del kaempferol (15), aislado de la flor de <i>C. caeruleus</i> .	38
Figura 34.	Correlaciones significativas de experimentos bidimensionales del kaempferol (15) aislado de la flor de <i>C. caeruleus</i> .	39
Figura 35.	Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 del extracto en CH_2Cl_2 de la hoja de <i>C. caeruleus</i> .	40
Figura 36.	Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 de feofitina-a (16) aislado de la hoja de <i>C. caeruleus</i> .	42
Figura 37.	Espectro de RMN de ^{13}C en CDCl_3 de feofitina-a (16) aislado de la hoja de <i>C. caeruleus</i> .	42
Figura 38.	Espectro de RMN de ^1H en acetona deuterada del ácido betulínico (17), aislado de la hoja de <i>C. caeruleus</i> .	44
Figura 39.	Espectro de RMN de ^{13}C en acetona deuterada del ácido betulínico (17), aislado de la hoja de <i>C. caeruleus</i> .	44
Figura 40.	Espectro de RMN de ^1H en piridina deuterada del ácido gouánico B (18), aislado de la hoja de <i>C. caeruleus</i> .	46
Figura 41.	Espectro de RMN de ^{13}C en piridina deuterada del ácido gouánico B (18), aislado de la hoja de <i>C. caeruleus</i> .	47
Figura 42.	Correlaciones significativas de experimentos bidimensionales del ácido gouánico B (18), aislado de la hoja de <i>C. caeruleus</i> .	48
Figura 43.	Espectro de RMN de ^1H en acetona deuterada del extracto en acetato de etilo de la hoja de <i>C. caeruleus</i> .	49
Figura 44.	Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz en piridina deuterada del acetilgouánico B (19), aislado de la hoja de <i>C. caeruleus</i> .	51
Figura 45.	Espectro de RMN de ^{13}C en piridina deuterada del acetilgouánico B (19), aislado de la hoja de <i>C. caeruleus</i> .	52
Figura 46.	Correlaciones significativas de experimentos bidimensionales del acetilgouánico B (19), aislado de la hoja de <i>C. caeruleus</i> .	53
Figura 47.	Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 del extracto en CH_2Cl_2 de la raíz de <i>C. caeruleus</i> .	54
Figura 48.	Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 del ácido dehidroabiético (20) aislado de la raíz de <i>C. caeruleus</i> .	55
Figura 49.	Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 del ácido del dehidroabiético (20) aislado de la raíz de <i>C. caeruleus</i> .	56

Figura 50.	Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en metanol deuterado del extracto en acetato de etilo de la raíz de <i>C. caeruleus</i> .	57
Figura 51.	Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en acetona deuterada del ácido ceanótico (21), aislado de la raíz de <i>C. caeruleus</i> .	58
Figura 52.	Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en acetona deuterada del ácido ceanótico (21), aislado de la raíz de <i>C. caeruleus</i> .	59
Figura 53.	Correlaciones significativas de experimentos bidimensionales del ácido ceanótico (21), aislado de la raíz de <i>C. caeruleus</i> .	60
Figura 54.	Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 del extracto en cloruro de metileno del tallo de <i>C. caeruleus</i> .	61
Figura 55.	Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en metanol deuterado del extracto en acetato de etilo del tallo de <i>C. caeruleus</i> .	63
Figura 56.	Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 del derivado dimetilgouanato B (22).	65
Figura 57.	Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 del derivado dimetilgouanato B (22).	66
Figura 58.	Correlaciones significativas de experimentos bidimensionales del derivado dimetilgouanato B (22).	67
Figura 59.	Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 del derivado acetildimetilgouanato B (23).	68
Figura 60.	Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 del derivado acetildimetilgouanato B (23).	69
Figura 61.	Correlaciones significativas de experimentos bidimensionales del derivado acetildimetilgouanato B (23).	69
Figura 62	Esquema de reacciones para la obtención del derivado acetildimetilgouanato B (23).	70

III. Índice de tablas.

Tabla 1.	Taxonomía de <i>Ceanothus caeruleus</i> .	4
Tabla 2.	Distribución de <i>C. caeruleus</i> en el Estado de Michoacán.	6
Tabla 3.	Rendimientos de los extractos por maceración de flor, hoja, raíz y tallo de <i>C. caeruleus</i> .	8
Tabla 4.	Rendimientos de los extractos por reflujo de tallo de <i>C. caeruleus</i> .	9
Tabla 5.	Compuestos identificados por CG-EM del extracto hexánico de flor de <i>C. caeruleus</i> .	12
Tabla 6.	Compuestos identificados por CG-EM del extracto hexánico de hoja de <i>C. caeruleus</i> .	15
Tabla 7.	Compuestos identificados por CG-EM del extracto hexánico de raíz de <i>C. caeruleus</i> .	17
Tabla 8.	Compuestos identificados por CG-EM del extracto hexánico de tallo de <i>C. caeruleus</i> .	19
Tabla 9.	IC ₅₀ de los compuestos 18 , 19 , 22 y 23 contra las líneas celulares cancerígenas MCF-7, A549, HeLa, y K562 y porcentaje de sobrevivencia de células no cancerígenas bMEC.	71

IV. Abreviaturas.

[α]₃₆₅	Rotación específica medida con lámpara de mercurio a 365 nm
[α]₄₃₆	Rotación específica medida con lámpara de mercurio a 436 nm
[α]₅₄₆	Rotación específica medida con lámpara de mercurio a 546 nm
[α]₅₇₈	Rotación específica medida con lámpara de mercurio a 578 nm
[α]₅₈₉	Rotación específica medida con lámpara de sodio a 589 nm (línea D)
°C	Grados Celsius
Ac₂O	Anhídrido acético
AcOEt	Acetato de etilo
CAS Number	Chemical Abstracts Service Number (Número de Servicio de Resúmenes de Química)
CG	Cromatografía de Gases
COSY	Correlation Spectroscopy (Correlación Espectroscópica)
d	doblete
EIMS	Electronic Impact Mass Spectrometry (Espectrometría de Masas por Impacto electrónico)
eV	Electron volts (electrón Voltios)
g	Gramos
h	horas
HETCOR	Heteronuclear Correlation (Correlación Heteronuclear)
Hex	Hexano
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation (Correlación de enlace múltiple Heteronuclear)
HRESIMS	High-Resolution Electrospray Ionization Mass Spectrometry (Espectrometría de Masas de Ionización por Electroaspersión de Alta Resolución)
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence (Coherencia cuántica Simple heteronuclear)
Hz	Hertz
IC₅₀	Concentración inhibitoria media
Int. Rel.	Intensidad relativa
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
kg	Kilogramos
L	Litros
m	Señal múltiple
<i>m/z</i>	Relación masa/carga
M⁺	Ion molecular
<i>m</i>CPBA	<i>meta</i> -chloroperoxybenzoic acid (Ácido <i>m</i> -cloroperbenzoico)
MeO	Grupo metoxilo
MeOH	Metanol

mg	Miligramos
MHz	Mega Hertz
msnm	Metros sobre el nivel medio del mar
nm	Nanómetros
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (Espectroscopía por Efecto Nuclear Overhauser)
OH	Grupo hidroxilo
piridina-<i>d</i>₅, (C₅D₅N)	Piridina deuterada
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN-¹³C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono trece
RMN-¹H	Resonancia Magnética Nuclear de protón
s	Singulete
t	Triplete
TMS	Tetrametilsilano
TR	Tiempo de retención
uma	Unidades de masa atómica
$\nu_{\max}$	Frecuencia máxima
MTT	Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5,-difenil tetrazolio

1. RESUMEN.

Los extractos en diclorometano (DCM) y acetato de etilo (AcOEt) de *Ceanothus caeruleus* produjeron trece compuestos conocidos, incluyendo un triterpenoide A-nor-lupano identificado como ácido gouánico B (**18**). Adicionalmente, su derivado acetilado, el acetilgouánico B (**19**) se reporta por primera vez como un producto natural. Además, se probó la actividad biológica de los productos naturales **18** y **19** y sus derivados dimetil éster **22** y **23**, contra las líneas celulares cancerosas MCF-7, A549, HeLa y K562. Entre estos, **18** ($IC_{50} = 36.4 \pm 4.0 \mu M$), **19** ($IC_{50} = 21.6 \pm 4.3 \mu M$) y **23** ($IC_{50} = 33.0 \pm 2.0 \mu M$) mostraron una actividad de moderada a buena contra la línea celular K562 con una tasa de supervivencia satisfactoria en células bMEC no cancerosas. Se obtuvieron resultados sobresalientes en las pruebas de citotoxicidad con los triterpenos naturales **18** y **19**, así como con el derivado **23**, debido a su especificidad con las células de leucemia K562.

Palabras clave: *Ceanothus caeruleus*; triterpenoide; compuestos bioactivos; actividad citotóxica; línea celular no cancerosa.

2. ABSTRACT.

The dichloromethane (DCM) and ethyl acetate (EtOAc) extracts of *C. caeruleus* afforded thirteen known compounds, including an A-nor-lupane triterpenoid identified as gouanic acid B (**18**). Additionally, its acetyl derivative, acetyl-gouanic acid B (**19**), is reported here for the first time as a natural product. Furthermore, we tested the bioactivity of natural products **18** and **19** and their dimethyl ester derivatives **22** and **23** against cancer cell lines MCF-7, A549, HeLa, and K562. Among these, compounds **18** ($IC_{50} = 36.4 \pm 4.0 \mu M$), **19** ($IC_{50} = 21.6 \pm 4.3 \mu M$), and **23** ($IC_{50} = 33.0 \pm 2.0 \mu M$) demonstrated moderate to good activity against the K562 cell line while maintaining a satisfactory survival rate in non-cancerous bMEC cells. Notably, the natural triterpenes **18** and **19** and derivative **23** showed remarkable outcomes in cytotoxicity tests due to their specificity against K562 leukemia cells.

Keywords: *Ceanothus caeruleus*; triterpenoid; bioactive compounds; cytotoxicity activity; non-cancerous cell line.

3. INTRODUCCIÓN.

Las plantas son una parte esencial del ecosistema de la tierra, pues realizan funciones vitales en ella. Más aún, constituyen una parte fundamental del hábitat de animales y microorganismos que co-evolucionan de forma conjunta. Además, se conoce desde la antigüedad que las plantas producen una variedad de sustancias, entre las cuales puede haber compuestos perjudiciales para el hombre y/o animales. De hecho, algunas plantas tienen nombres comunes, un ejemplo de esto es la *Atropa belladonna*, conocida como los frutos de la muerte, de la cual se aísla la atropina (**1**), que puede ser empleada como fármaco anticolinérgico (Figura 1).¹⁻³

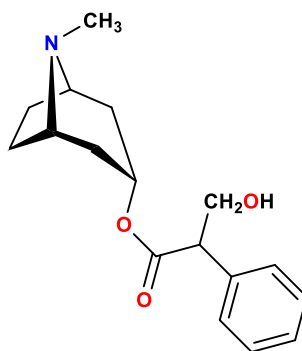


Figura 1. Estructura de la atropina (**1**) aislada de *Atropa belladonna*.

Sin embargo, las plantas no únicamente producen compuestos que pueden ser peligrosos para el humano, sino que también producen una serie de metabolitos secundarios que pueden ser de diversa utilidad para el hombre. Los metabolitos secundarios o especializados son compuestos que no forman parte del metabolismo principal de las plantas y se producen para diversos propósitos como funciones de defensa, reproducción y comunicación en las especies que las producen asegurando su supervivencia. Generalmente ejercen efectos biológicos sobre otros organismos y es por esta razón que han sido la fuente más importante de principios activos. Además, estos compuestos conforman familias químicas, las cuales se combinan para formar compuestos de interés, como son: compuestos fenólicos (flavonoides, antocianinas, taninos, quinonas), isoprenoides (carotenoides, esteroides, terpenoides), y compuestos nitrogenados (alcaloides).²⁻⁶

La importancia de los productos naturales, radica en que son una fuente potencial de principios activos, además estos metabolitos secundarios han sido material de partida para modificaciones químicas y los derivados semisintéticos tengan actividad biológica igual o diferente. En este sentido, a través de la historia es bien sabido que estas estructuras químicas de origen vegetal han sido muy importantes en el descubrimiento de nuevos fármacos, ya que son las que más han contribuido a la farmacoterapia, sobre todo en el tratamiento del cáncer y enfermedades infecciosas, entre otras.⁷⁻⁹ Por otro lado, el cáncer es uno de los problemas de salud más grandes a nivel mundial y una de las principales causas de muerte. Se han reportado por lo menos 36 tipos de cáncer que se diagnostican con frecuencia y que afectan a personas de todas las edades.¹⁰⁻¹¹ A este respecto, en las plantas se pueden encontrar sustancias modelo que potencialmente pueden coadyuvar al bienestar del hombre. Metabolitos especializados con actividad biológica específica, tenemos como ejemplo, México en la década de los cuarenta del siglo pasado, inició la explotación de la diosgenina presente en el barbasco, una planta del género *Dioscorea*, culminando en la producción industrial de hormonas esteroideas [cortisona (**2**)], hormonas sexuales y anticonceptivos (Figura 2).¹²⁻¹⁴

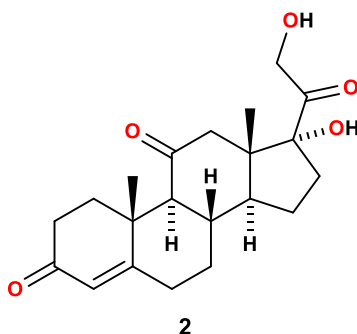


Figura 2. Estructura de la cortisona (**2**).

En reportes más recientes, los productos naturales o sus derivados, son administrados para una gran cantidad de enfermedades o infecciones. Por ejemplo, sólo para el tratamiento el cáncer están indicados 18 medicamentos de origen natural y 43 que son modificaciones de productos naturales (derivados semisintéticos). En total, 69 productos naturales y 286 derivados de estos son administrados en diversas indicaciones médicas.⁹

Ejemplo de lo anterior es el producto natural anticancerígeno paclitaxel (Taxol®), aislado de la corteza del árbol canadiense *Taxus brevifolia* (Tejo del Pacífico) y que fue introducido al mercado en 1993.^{9,15} Así mismo, algunos compuestos triterpénicos de origen natural se encuentran en un desarrollo preclínico como agentes anticancerosos, como lo es el ácido betulínico.¹⁵

Por tal motivo, el estudio y aprovechamiento de los metabolitos especializados es importante y en muchos casos ha sido exitoso no solo en el uso de medicamentos, sino también en la investigación, ejemplos clásicos y específicos tenemos a la parvifolina (**3**) y a la perezona (**4**) aisladas de plantas del género *Perezia* nativas del estado de Michoacán, la parvifolina es un benzocicloocteno aislado de la raíz en grandes rendimientos, mientras que la perezona es una quinona funcionalizada considerada como el primer metabolito especializados aislado en el Nuevo Mundo y a partir de la cual se han realizado numerosos estudios. Otro ejemplo es la rasteviona (**5**), componente mayoritario de las raíces de *Stevia serrata* Cav., especie nativa del estado de Michoacán (Figura 3).¹⁶⁻¹⁸

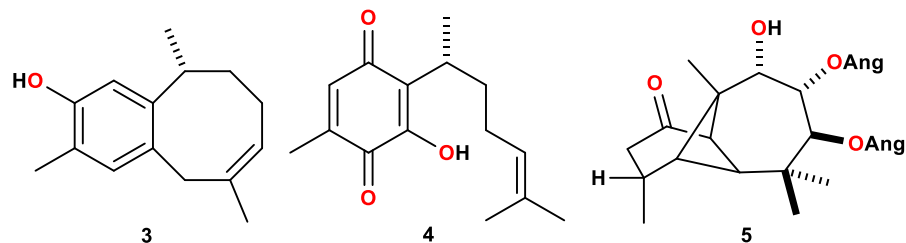


Figura 3. Ejemplos de compuestos aislados de fuentes vegetales.

4. ANTECEDENTES.

La especie vegetal *Ceanothus caeruleus* fue nombrada y clasificada por el botánico español Mariano Lagasca y Segura en 1816. A continuación, se muestra su taxonomía (Tabla 1).^{19,20}

Tabla 1. Taxonomía de *Ceanothus caeruleus*.

	Reino	Plantae
	Subreino	Tracheobionta
	División	Magnoliophyta
	Clase	Magnoliopsida
	Orden	Rosales
	Familia	Rhamnaceae
	Género	<i>Ceanothus</i>
	Especie	<i>caeruleus</i>

El género *Ceanothus* pertenece a la familia Rhamnaceae, la cual comprende alrededor de 44 géneros. Mientras que *Ceanothus* es un género exclusivo del norte de América y de aproximadamente de 55 especies que se distribuyen en Canadá, Estados Unidos de América, México (17 especies) y Guatemala. Son arbustos o pequeños árboles, la mayoría son especies siempreverdes, pero algunas adaptadas a lugares de fríos inviernos son deciduas. Sus flores pueden ser blancas, azules, purpúreas pálidas o rosadas por lo cual muchas especies son ornamentales.^{19,20}

A *Ceanothus americanus* se le conoce como té de Nueva Jersey debido a que sus hojas se usaban como sustituto del “té negro” en la época colonial, para el cual se reporta actividad antiinflamatoria, antiséptica, sedativa, hipotensiva y hemostática entre otras. También estaba indicado contra un sin número de enfermedades o afecciones como adenopatía, apendicitis, asma, cáncer, diabetes, fiebre, dolor de estómago, entre otras.^{21,22} Comúnmente, el género *Ceanothus* es alimento de larvas, las hojas son buen forraje para el ganado como ciervos, los puercoespines se alimentan de sus tallos y semillas. Las hojas son fuente de proteína y el tallo como las hojas tienen un alto contenido de calcio. Otros usos de *Ceanothus* son los medicinales y de alimento en zonas indígenas. *Ceanothus integerrimus* se usaba por los nativos de Norteamérica para tratar a las mujeres que tenían dificultades durante el parto. Otras especies de *Ceanothus* se

han empleado en la medicina tradicional para tratar la hipertensión y aliviar dolores de boca y garganta.^{21,23-29} Existen reportes de alcaloides ciclopeptídicos en especies de *Ceanothus*, específicamente *C. sanguineus*, *C. integerrimus* y *C. americanus*, de este último se han aislado compuestos conocidos como ceanotina D-VII (**6**) y ceanotina E-VIII (**7**) (Figura 4), de *C. velutinus* han extraído ceras y taninos. También se han realizado estudios de *C. crassifolius* y *C. cordulatus* como especies que intervienen en el ciclo del nitrógeno (fijación del N₂).²⁹⁻³¹

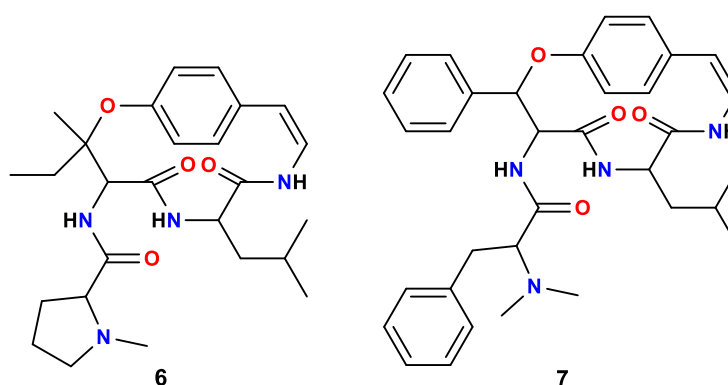


Figura 4. Alcaloides aislados del género *Ceanothus*.

También, el extracto metanólico crudo y compuestos triterpénicos aislados de *C. americanus* mostraron actividad inhibitoria contra varios patógenos orales.³² En este sentido, a través de los años, los compuestos orgánicos en general, puntualmente los triterpenos no han sido la excepción, por lo cual han sido probados como agentes anticancerosos y anti-VIH, mostrando actividad prometedora contra estas enfermedades.³³⁻³⁵ Lo anterior ha motivado el estudio estructural y síntesis de este tipo de moléculas, un claro ejemplo es el lupeol y sus derivados.^{36,37} *Ceanothus caeruleus* es un arbusto o árbol pequeño con ramas delgadas y una altura de entre 0.5-7.5 m, nativo del estado de Michoacán y la especie que principalmente se distribuye en las zonas montañosas de la República Mexicana, a excepción de los estados de Baja california, Baja California Sur, Campeche, Quintana Roo, Nuevo León, Tabasco y Yucatán. En nuestro estado se le ha localizado ampliamente en varios municipios (Tabla 2).²⁰

Tabla 2. Distribución de *Ceanothus caeruleus* en el Estado de Michoacán.

Municipio	Cerro [Localidad]
Purépero	La Alberca
Maravatío	Las Palomas, La Mesa
Tlalpujahua	El Cedral
Cherán	Yaporácutin
Coeneo	[Comanja]
Quiroga	La Acúmara, [Santa Bernardina-Rancho seco]
Morelia	[Dos Teteras-Presa de Morelia]
Paracho	El Águila
Nahuatzen	Huashán
Tingambato	Estacas, Monte Chimilpa, Guicho
Erongarícuaro	[La Zarzamora, San Miguel Ncutzepo, Uricho, Hacienda de charahuén]
Tzintzuntzan	[Col. L. Cárdenas]
Pátzcuaro	El Triángulo, Los Lobos, El Estribo, El Picacho [La Troje]
Salvador Escalante	San Miguel, El Burro [Copándaro]

Es una especie que habita bosque de pino, bosque de encino y vegetación secundaria derivada, entre una altitud de 1800-3200 msnm y florece entre los meses de diciembre a mayo. Comúnmente se le conoce como vara cueruda, tapaculo, huinare, tlaxistle, flor de chaquira, cuaicuastle, jága'n, origan, palo colorado, sayolistle, tnú-yoocó y vara colorada, se reporta su uso ornamental. Además, es usado en la medicina tradicional como antihemética, antigonorréica, antipirética, antisifílica, astringente y tónica. Así como también para tratar enfermedades estomacales, enfermedades venéreas, tratamiento de infecciones bucofaríngeas y desordenes de la presión arterial.^{19,20}

5. JUSTIFICACIÓN.

Ceanothus caeruleus es nativa del Estado de Michoacán. Dado el uso en la medicina tradicional, aunado a una búsqueda bibliográfica rigurosa de la especie, la cual mostró que no existen estudios fitoquímicos de la misma, surge el interés de conocer los metabolitos secundarios presentes en ella para aportar conocimiento científico en el área de los productos naturales.

6. OBJETIVOS.

6.1. Objetivo general.

Realizar el estudio fitoquímico de *Ceanothus caeruleus* mediante el análisis de los extractos orgánicos de sus partes aéreas y raíces, con el fin de identificar los metabolitos presentes, así como su distribución y concentración de cada uno de ellos en cada parte de la planta, y evaluar la actividad citotóxica tanto de los metabolitos naturales como de sus derivados.

6.2. Objetivos específicos.

- Obtener los extractos de la flor, hoja, raíz y tallo de *Ceanothus caeruleus* con disolventes en orden ascendente de polaridad: hexano, cloruro de metileno, acetato de etilo y metanol.
- Separar por técnicas cromatográficas los extractos obtenidos de flor, hoja, raíz y tallo de *C. caeruleus*.
- Caracterizar los compuestos aislados mediante las técnicas espectroscópicas de RMN en una y dos dimensiones, Espectrometría de Masa, Infrarrojo, Polarimetría y en caso de que los metabolitos aislados cristalicen de forma adecuada serán sometidos a difracción de rayos-X.
- Realizar pruebas de actividad citotóxica a metabolitos aislados y sus derivados.

7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

7.1. Extracción de flor, hoja, raíz y tallo de *C. caeruleus*.

Los disolventes utilizados fueron hexano, cloruro de metileno (o en su caso cloroformo), acetato de etilo y por último metanol, debido a que se facilita su separación y se puede dar seguimiento más puntual a un determinado metabolito aislado, es decir, una vez aislado conocer su presencia en determinada parte de la planta y su concentración, para un posterior enriquecimiento y una posible utilidad probando su bioactividad o como precursor de modificaciones químicas. Los rendimientos de los extractos realizados fueron bajos a excepción de los extractos metanólicos (Tabla 3). Cabe mencionar que se realizaron tres extracciones por cada disolvente.

Tabla 3. Rendimientos de los extractos por maceración de flor, hoja, raíz y tallo de *C. caeruleus*.

Parte	Peso (g)	Disolvente	Volumen (L)			Rendimiento (g)			Total
			A	B	C	A	B	C	
Flor	140	Hexano	0.80	0.95	1.00	0.5016	0.4463	0.4092	1.36
		CHCl ₃	0.90	1.10	1.10	1.1795	0.3616	0.3467	1.89
		AcOEt	1.20	1.20	1.20	1.7516	1.0175	1.0342	3.80
		MeOH	1.30	1.30	1.30	16.0427	5.3994	3.6520	25.09
Hoja	205	Hexano	1.80	1.80	1.70	1.6770	1.0718	0.3494	3.10
		CH ₂ Cl ₂	1.60	1.50	1.60	3.3642	0.7700	0.3020	4.44
		AcOEt	1.85	1.80	1.90	0.9903	0.5954	0.2761	1.86
		MeOH	1.90	1.90	2.00	23.0759	11.2629	8.8687	43.21
Raíz	365	Hexano	0.80	0.85	0.75	0.8491	0.7680	0.6242	2.24
		CH ₂ Cl ₂	0.60	0.60	0.50	0.5235	0.3030	0.4366	1.29
		AcOEt	0.75	0.70	0.80	0.4488	0.5100	0.2999	1.26
		MeOH	0.70	0.75	0.90	8.3530	7.9852	8.6951	25.03
Tallo	260	Hexano	0.95	0.90	0.80	0.6531	0.1984	0.1912	1.04
		CH ₂ Cl ₂	1.50	1.60	1.50	0.3987	0.3438	0.2434	0.99
		AcOEt	0.80	0.75	0.85	0.0210	0.1832	0.1181	0.32
		MeOH	0.80	0.80	0.85	4.1894	3.7575	3.6559	11.60

Adicionalmente, para reducir el tiempo de extracción y aumentar los rendimientos se utilizó la técnica de extracción por reflujo por 6 h, después de este tiempo se filtró y concentró, en los rendimientos se apreció la mejora de la extracción en cuanto al tiempo y el rendimiento, cabe mencionar que en el caso de la raíz y tallo la extracción por reflujo se inició después de tres maceraciones con hexano, iniciándose la extracción mediante reflujo nuevamente con hexano,

por tal motivo los rendimientos son representativos a partir de la extracción con acetato de etilo (Tabla 4).

Tabla 4. Rendimientos de los extractos por reflujo de flor, hoja, raíz y tallo de *C. caeruleus*.

Parte	Peso (g)	Disolvente	Volumen (L)			Rendimiento (g)			Total
			A	B	C	A	B	C	
Flor	140	Hexano	0.80	0.95	1.00	0.5016	0.4463	0.4092	0.97
		CHCl ₃	0.90	1.10	1.10	1.1795	0.3616	0.3467	1.35
		AcOEt	1.20	1.20	1.20	1.7516	1.0175	1.0342	2.71
		MeOH	1.30	1.30	1.30	16.0427	5.3994	3.6520	17.79
Hoja	200	CH ₂ Cl ₂	1.60	1.60	1.60	1.5908	0.0241	0.0241	2.16
		AcOEt	1.60	1.60	1.60	1.3562	0.4451	0.2553	0.91
		MeOH	1.60	1.60	1.60	17.2400	5.8517	3.3075	21.08
Raíz	105	Hexano	0.50	0.55	0.50	0.516	0.303	0.288	1.05
		CH ₂ Cl ₂	0.55	0.50	0.55	0.132	0.101	0.086	0.30
		AcOEt	0.50	0.50	0.55	0.717	0.589	0.324	1.55
		MeOH	0.55	0.50	0.50	2.519	1.336	1.057	4.68
Tallo	310	Hexano	1.60	1.60	1.60	0.2134	0.1294	0.0708	0.40
		CH ₂ Cl ₂	1.50	1.50	1.70	0.3983	0.2787	0.0942	0.38
		AcOEt	1.70	1.70	1.70	0.2784	0.2059	0.3317	0.12
		MeOH	1.70	1.60	1.70	10.3135	5.9819	5.5671	4.47

Extracción por reflujo después de tres maceraciones con hexano de raíz y tallo. Temperatura de reflujo: Hexano (67 °C), CHCl₃ (61 °C), AcOEt (77 °C), MeOH (65 °C).

Como se mencionó anteriormente, la extracción mediante la técnica de reflujo, se utilizó para reducir el tiempo de extracción y aumentar los rendimientos. Dicha técnica no afectó los metabolitos extraídos (Figura 5), donde se comparó un extracto de tallo mediante maceración y otro mediante reflujo, ambos utilizando hexano como disolvente. Por otro lado, el número de reflujo tampoco afectó el tipo de metabolitos, sólo el rendimiento de estos en la parte de la planta (Figura 6).

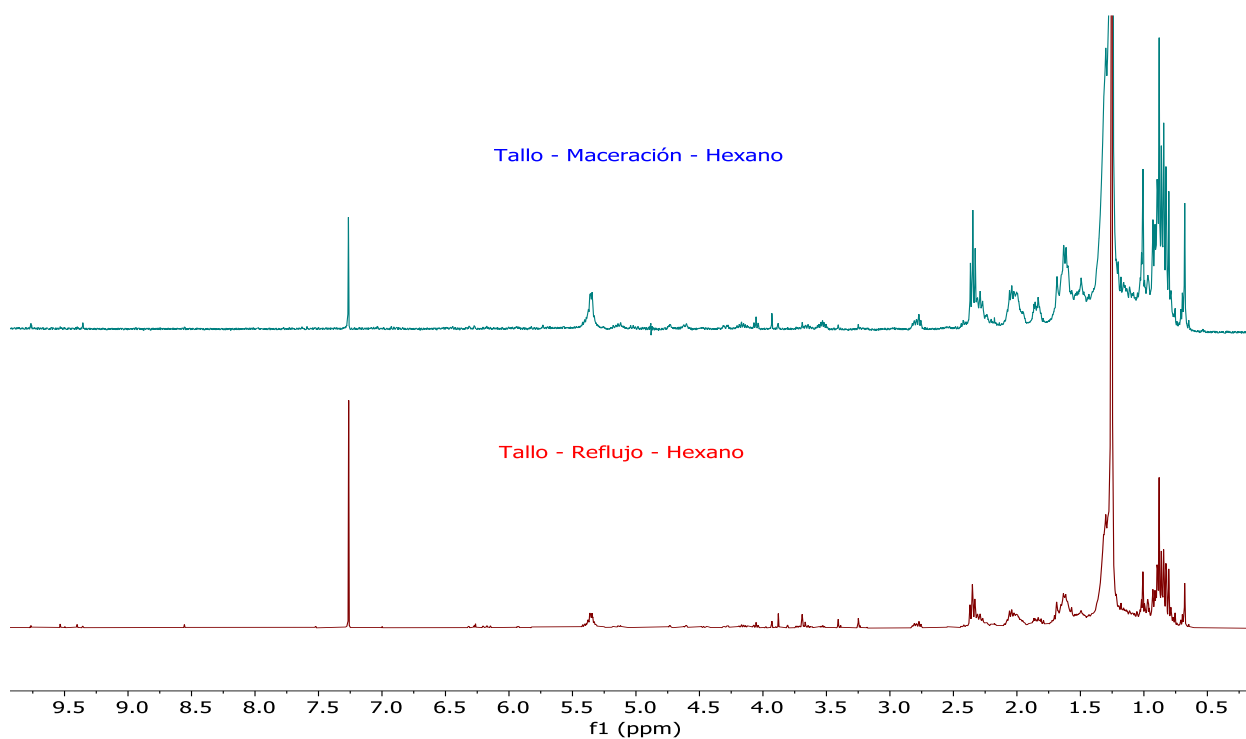


Figura 5. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 de los extractos hexánicos de tallo por maceración y reflujo de *C. caeruleus*.

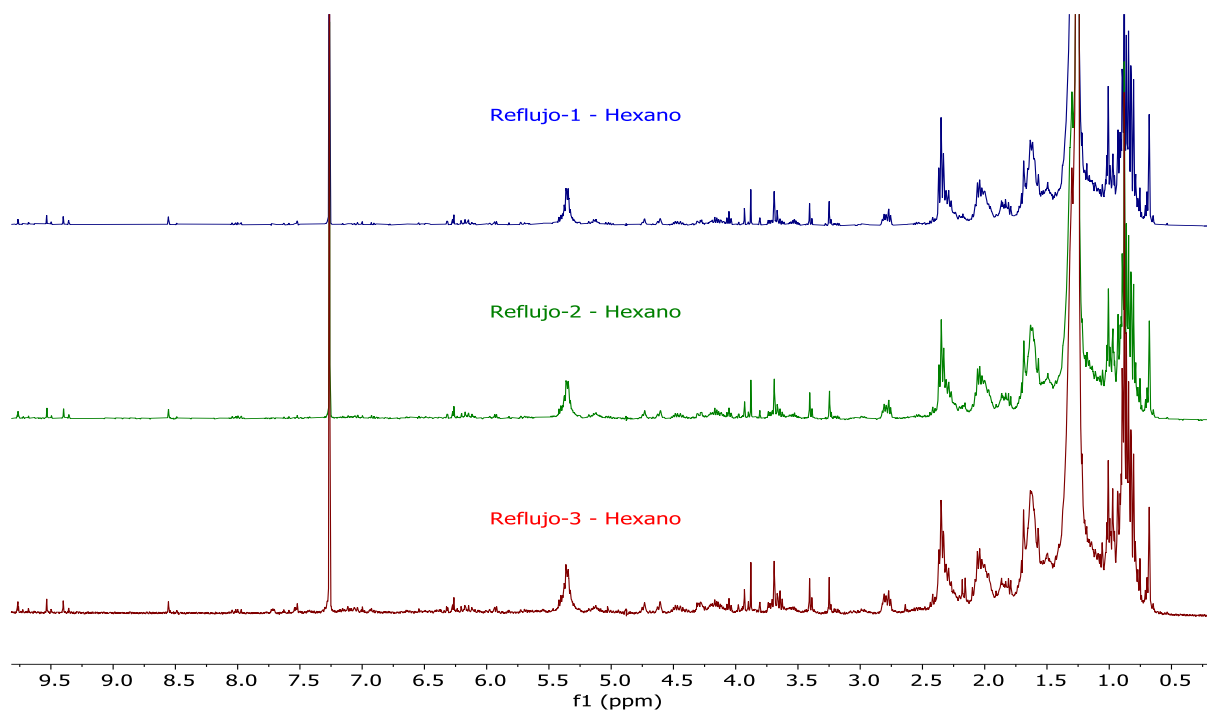


Figura 6. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 de los extractos hexánicos sucesivos de tallo por reflujo de *C. caeruleus*.

El análisis preliminar por RMN de ^1H de los extractos hexánicos, permitió observar la presencia de compuestos terpénicos y ácidos grasos, por lo cual se decidió realizar un estudio por cromatografía de gases y espectrometría de masa.

7.2. Análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masa de los extractos hexánicos de flor, hoja, raíz y tallo de *C. caeruleus*.

7.2.1. Análisis del extracto de flor.

Durante la etapa de evaporación del extracto se observó la formación de cristales, por lo cual se decidió filtrar los cristales y se tomó una muestra del extracto para su análisis se analizó por RMN de ^1H y CG-EM.

En su análisis por RMN de ^1H , muestra básicamente la presencia de compuestos grasos (Figura-7).

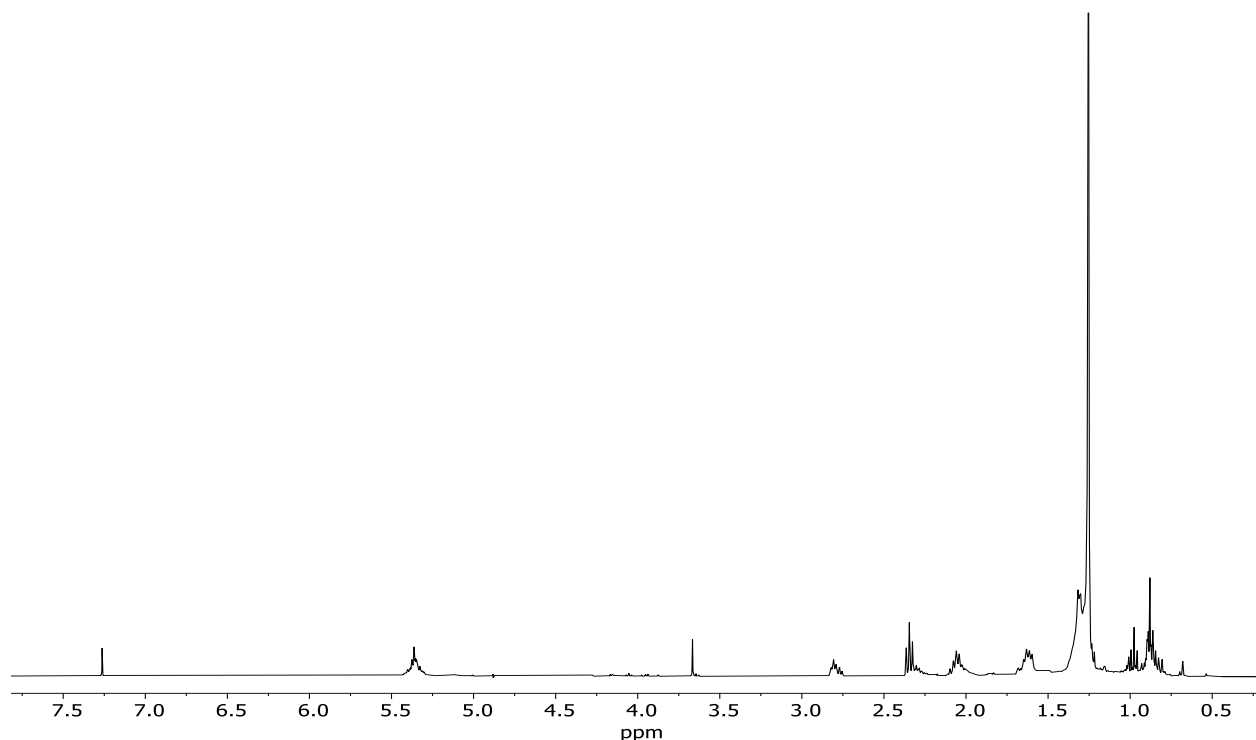


Figura 7. Espectro de RMN de ^1H del extracto hexánico de flor de *C. caeruleus*.

El análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masa muestra más de 49 compuestos (Figura 8), de los cuales se identificaron 19 componentes mayoritarios; 3 compuestos aromáticos [eugenol (0.15%), 3,4-dimetoxibenzaldehído (0.44%) y difenilamina (0.25%)], 2 ácidos grasos [14-metilpentadecanoato de metilo (0.16%) y ácido *n*-Hexadecanoico (1.20%)] y el resto

corresponden a cadenas de hidrocarburos de 17 a 22 átomos de carbono destacando los más abundantes [Heptacosano (13.24%), 2,6,10,14-tetrametil-hexadecano (7.20%), pentacosano (6.27%), nonacosano (5.70 %)], (Tabla 5).

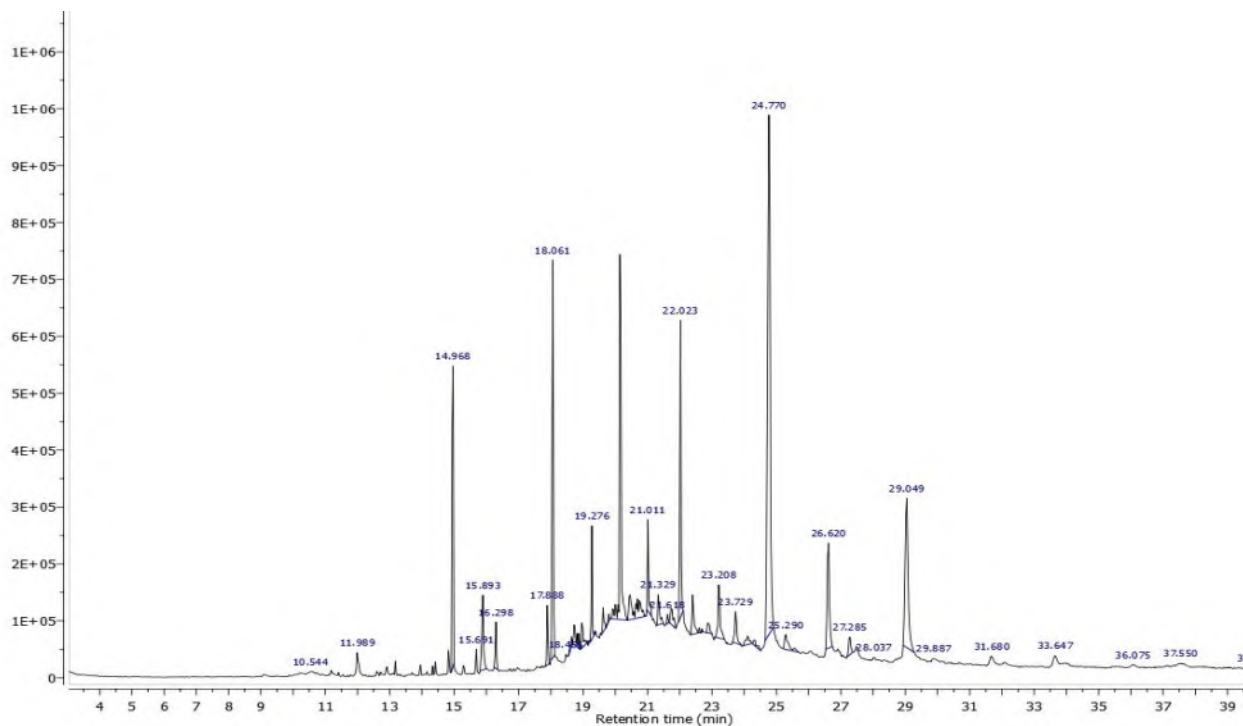
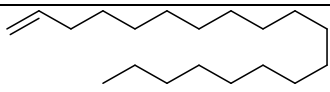
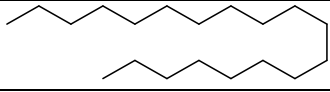
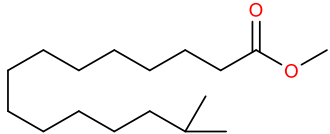
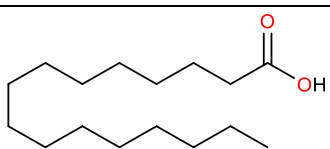
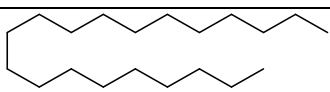
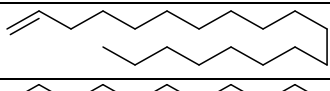
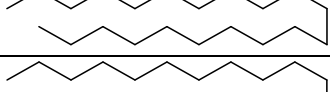
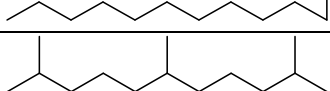
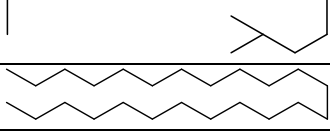
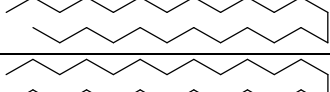
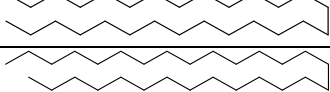
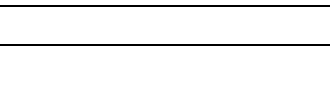
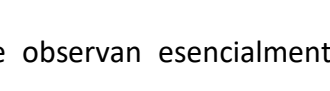


Figura 8. Cromatograma del extracto hexánico de flor de *C. caeruleus*.

Tabla 5. Compuestos identificados por CG-EM del extracto hexánico de flor de *C. caeruleus*.

Nombre	Fórmula	PM	TR (min)	Cali- dad	CAS Number	%	Fórmula estructural
Eugenol	$C_{10}H_{12}O_2$	164	11.18	96	97-53-0	0.15	
3,4-dimetoxi-benzaldehído	$C_9H_{10}O_3$	166	12.05	96	120-14-9	0.44	
Heptadecano	$C_{17}H_{36}$	240	13.18	95	629-78-7	0.17	

1-Nonadeceno	C ₁₉ H ₃₈	266	14.82	99	18435-45-5	0.33	
Nonadecano	C ₁₉ H ₄₀	268	14.97	97	629-92-5	3.20	
14-metilpenta-decanoato de metilo	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	15.29	95	5129-60-2	0.16	
Ácido <i>n</i> -hexa-decanoico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	15.89	99	57-10-3	1.20	
Eicosano	C ₂₀ H ₄₂	282	16.30	98	112-95-8	0.70	
1-Nonadeceno (isómero)	C ₁₉ H ₃₈	266	17.89	99	18435-45-5	0.80	
Heneicosano	C ₂₁ H ₄₄	296	18.06	99	629-94-7	4.36	
Docosano	C ₂₂ H ₄₆	310	19.28	98	629-97-0	1.84	
2,6,10,14-tetrametil-hexadecano	C ₂₀ H ₄₂	282	20.14	96	638-36-8	7.20	
Tetracosano	C ₂₄ H ₅₀	338	21.01	97	646-31-1	4.29	
Pentacosano	C ₂₅ H ₅₂	394	22.02	95	630-02-4	6.27	
Hexacosano	C ₂₆ H ₅₄	366	23.24	96	630-01-3	3.88	
Heptacosano	C ₂₇ H ₅₆	380	24.77	99	593-49-7	13.24	
Octacosano	C ₂₈ H ₅₈	394	26.62	99	630-02-4	3.00	
Nonacosano	C ₂₉ H ₆₀	408	29.05	99	630-03-5	5.70	
Porcentaje de rendimiento						56.9	

7.2.2. Análisis del extracto de hoja.

En el análisis por RMN de ¹H del extracto hexánico de hojas se observan esencialmente compuestos grasos o cadenas de hidrocarburos (Figura 9).

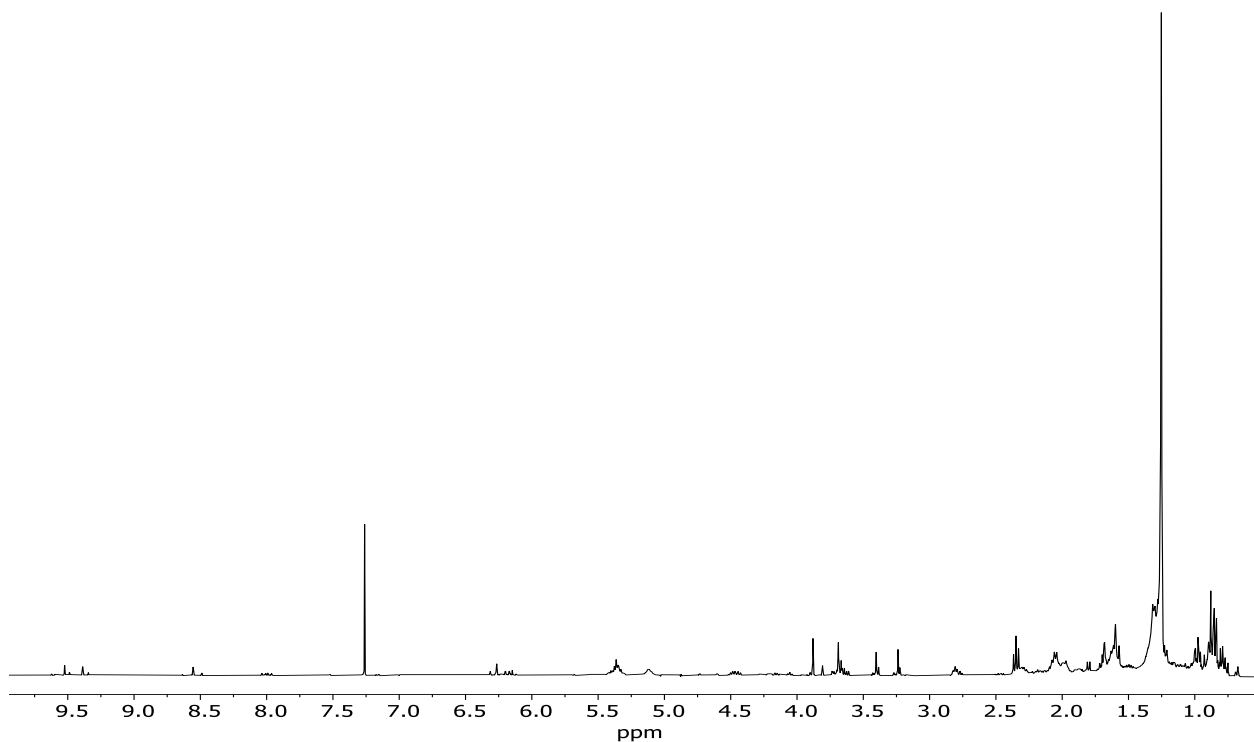


Figura 9. Espectro de RMN de ^1H del extracto hexánico de hoja de *C. caeruleus*.

En el caso del análisis por CG-EM, mostró pocos componentes, pero con concentración significativa, se logró identificar cuatro ácidos grasos [ácido (9Z,12Z,15Z)-octadecatrienoico (16.37%), ácido *n*-hexadecanoico (11.38%), ácido octadecanoico (4.44%) y el ácido (9Z,12Z)-octadecadienoico (2.11%)] y dos cadenas de hidrocarburos mayores a 20 átomos de carbono [Nonacosano (13.84%) y el heptacosano (5.51%)] (Figura 10, Tabla 6).

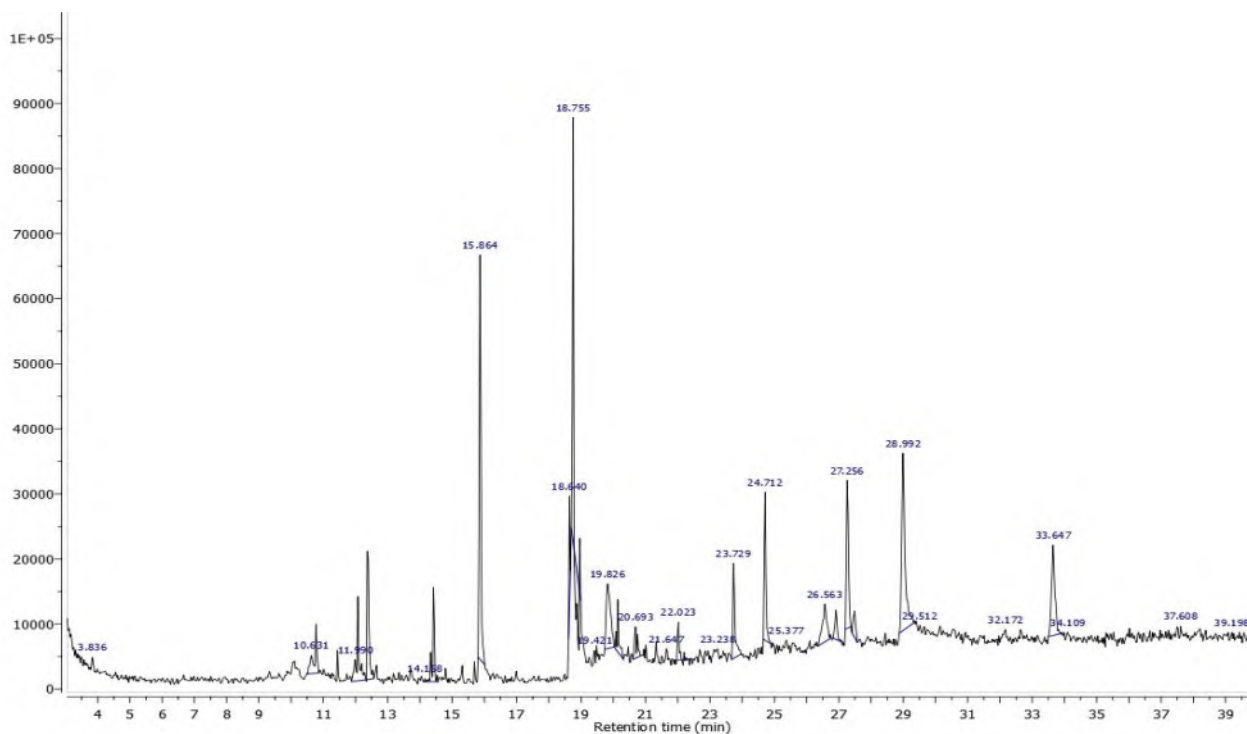
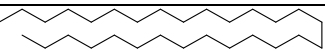


Figura 10. Cromatograma del extracto hexánico de hoja de *C. caeruleus*.

Tabla 6. Compuestos identificados por CG-EM del extracto hexánico de hoja de *C. caeruleus*.

Nombre	Fórmula	PM	TR (min)	Calidad	CAS Number	%	Fórmula estructural
4,4,7a-Trimetil-5,6,7,7a-tetrahydro-1-benzofuran-2(4H)-ona	$C_{11}H_{16}O_2$	180	12.36	97	015356-74-8	3.6	
Ácido <i>n</i> -hexadecanoico	$C_{16}H_{32}O_2$	256	15.86	98	57-10-3	11.3	
Ácido (9Z,12Z)-octadecadienoico	$C_{18}H_{32}O_2$	280	18.64	99	60-33-3	2.11	
Ácido (9Z,12Z,15Z)-octadecatrienoico	$C_{18}H_{30}O_2$	278	18.76	99	463-40-1	16.4	
Ácido octadecanoico	$C_{18}H_{36}O_2$	284	18.96	90	57-11-4	4.44	
Heptacosano	$C_{27}H_{56}$	380	24.71	98	593-49-7	5.51	

Nonacosano	C ₂₉ H ₆₀	408	28.99	95	630-03-5	13.8	
Porcentaje de rendimiento						57.3	

7.2.3. Análisis del extracto de raíz.

El extracto hexánico de raíz se analizó por RMN de ¹H y aunque se observa nuevamente la presencia de compuestos grasos, se observan señales entre 1.50 y 3.00 ppm correspondientes a protones metínicos y metilénicos, se observan señales de compuestos aromáticos entre 6.75 y 8.00 ppm (Figura 11). Estos datos concuerdan con el análisis efectuado por CG-EM, en donde se identificó la presencia de solo tres ácidos grasos [(ácido oleico (6.85%), ácido *n*-hexadecanoico (2.15%) y ácido octadec-9-enoico (ácido *trans*-oleico) (0.88%)] y de varios compuestos aromáticos isoméricos (Figura 12, Tabla 7).

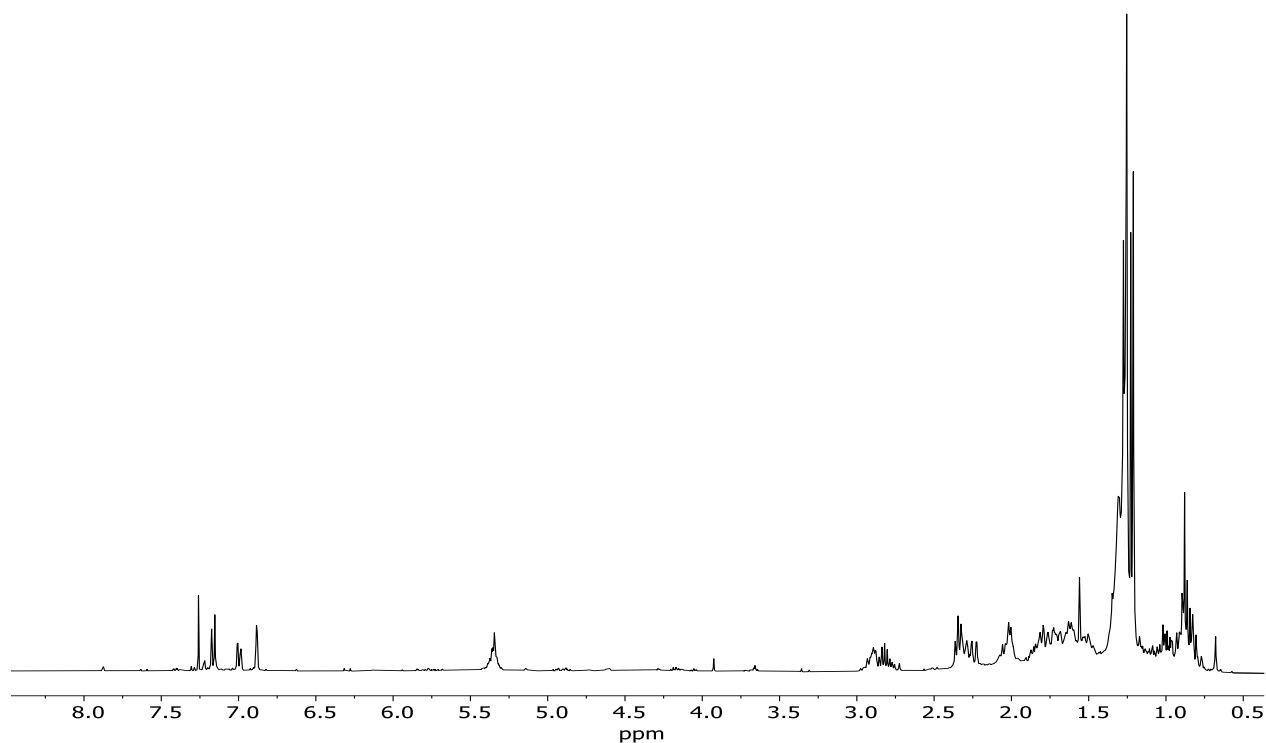


Figura 11. Espectro de RMN de ¹H del extracto hexánico de raíz de *C. caeruleus*.

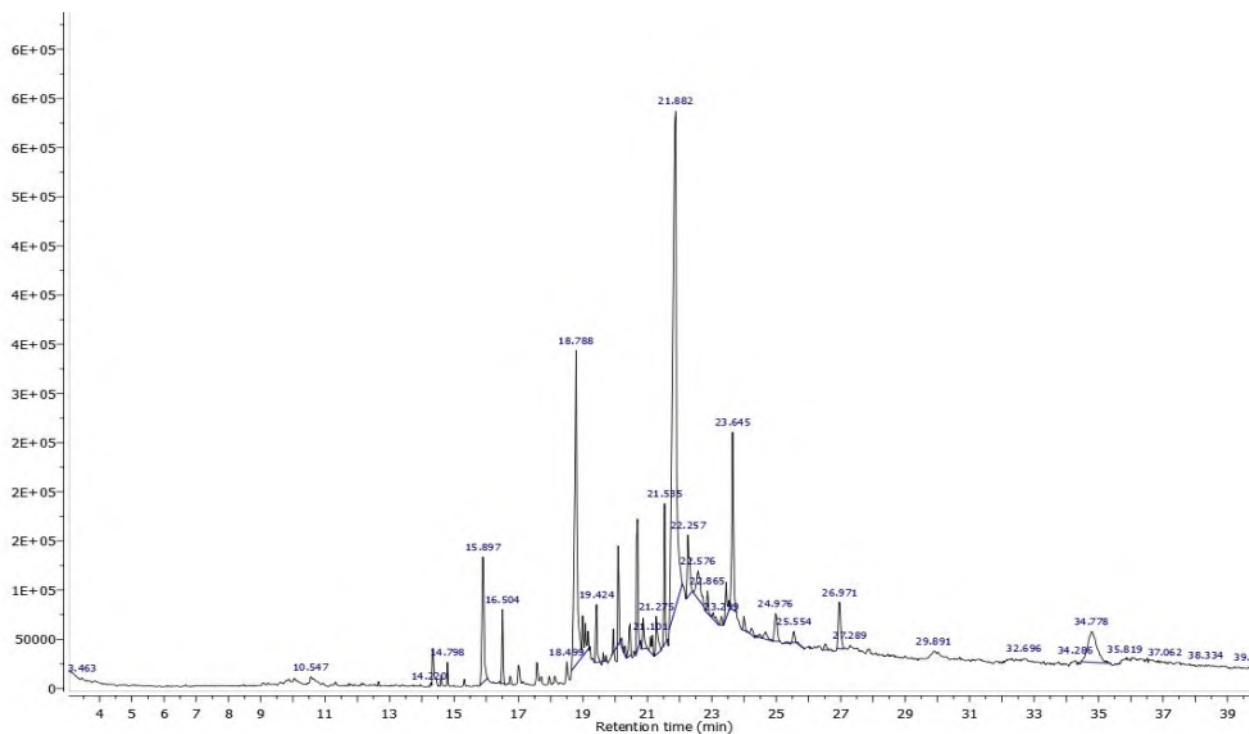


Figura 12. Cromatograma del extracto crudo hexánico de raíz de *C. caeruleus*.

Tabla 7. Compuestos identificados por CG-EM del extracto hexánico de raíz de *C. caeruleus*.

Nombre	Fórmula	PM	TR (min)	Calidad	CAS Number	%	Fórmula estructural
Ácido <i>n</i> -hexadecanoico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	15.93	98	57-10-3	17.37	
Ácido (9Z,12Z)-octadecadienoico	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	18.67	99	60-33-3	4.83	
Ácido oleico	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	18.73	99	112-80-1	5.45	
Ácido octadecanoico	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	18.99	96	57-11-14	9.49	
Heptacosano	C ₂₇ H ₅₆	380	24.72	98	593-49-7	3.41	
Nonacosano	C ₂₉ H ₆₀	408	28.99	99	630-03-5	2.48	
Porcentaje de rendimiento						43.0	

7.2.4. Análisis del extracto de tallo.

Por último, se obtuvo el extracto hexánico del tallo de *C. caeruleus*, el espectro de RMN de ^1H , muestra nuevamente un perfil de compuestos grasos (Figura 13), lo cual se comprueba en el análisis por CG-EM en donde se identificaron como componentes mayoritarios cuatro ácidos grasos [ácido *n*-hexadecanoico (17.37%), ácido octadecanoico (9.49%), ácido oleico (5.45%) y el ácido (9Z,12Z)-octadecadienoico (4.83%) (Figura 14, Tabla 8).

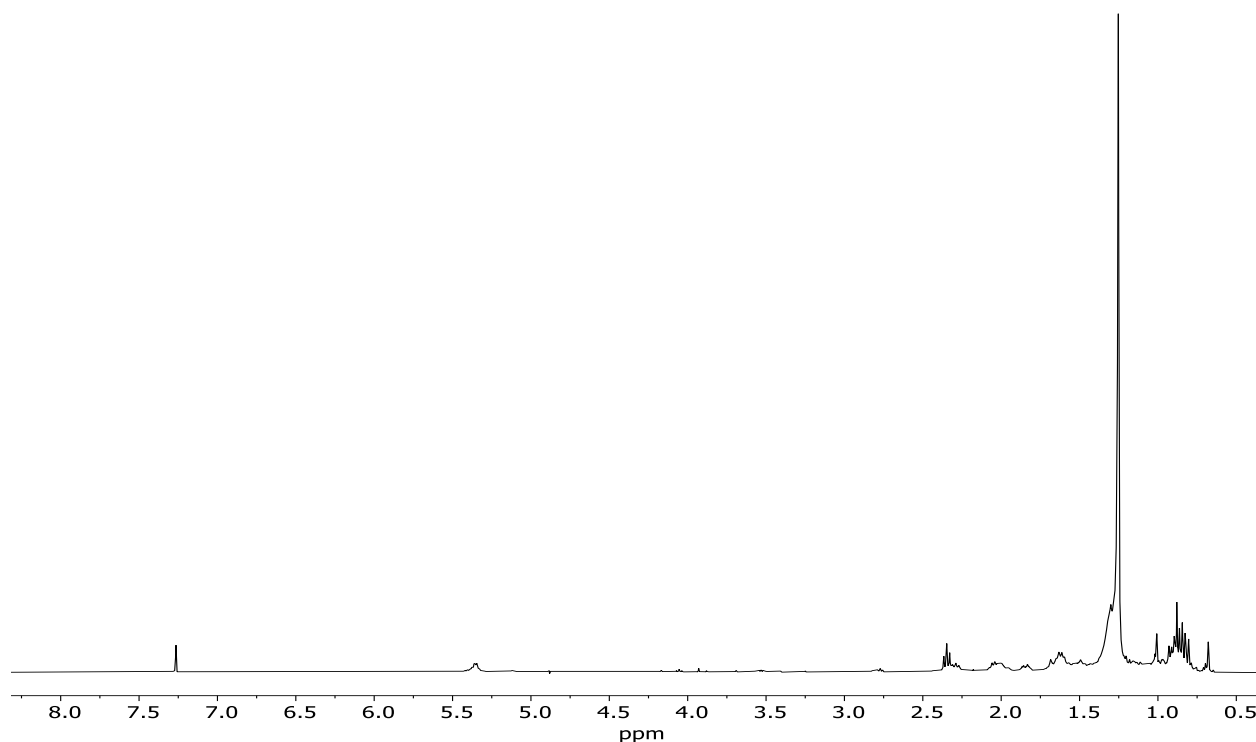


Figura 13. Espectro de RMN de ^1H del extracto hexánico de tallo de *C. caeruleus*.

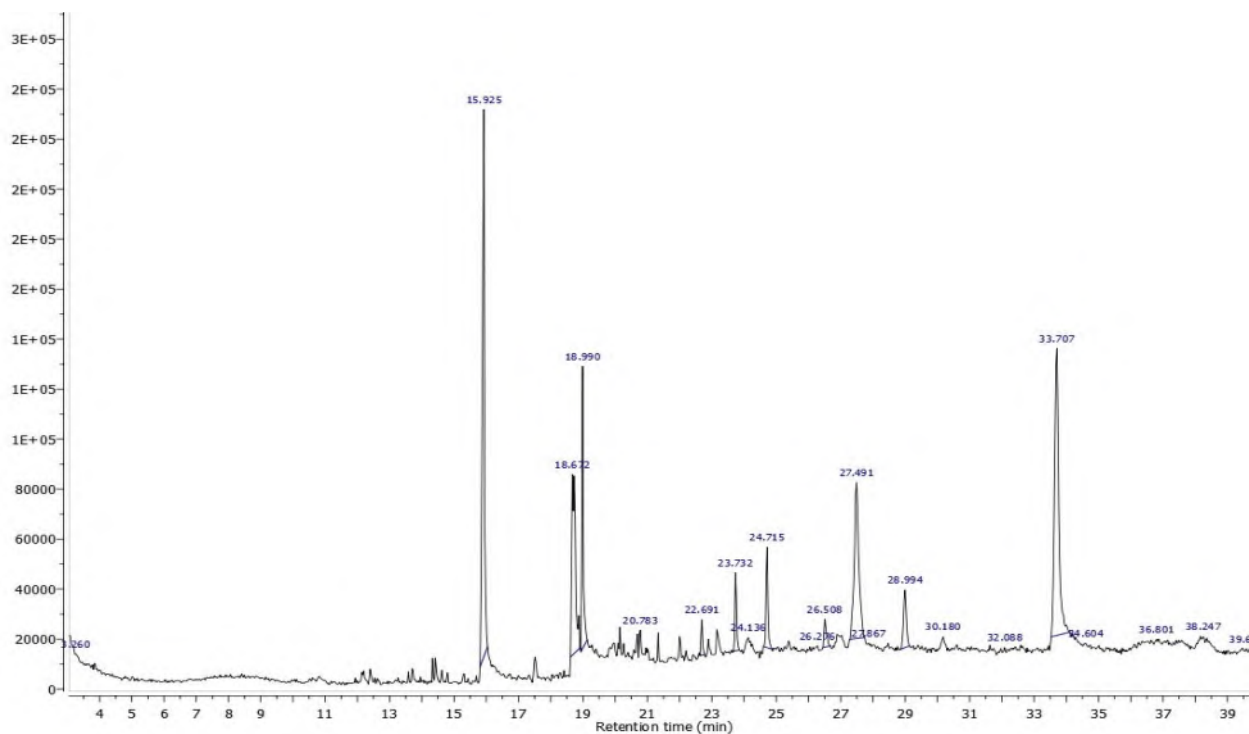
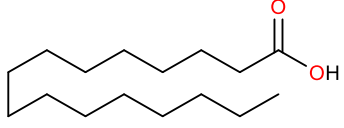
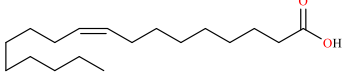
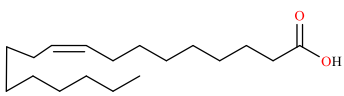
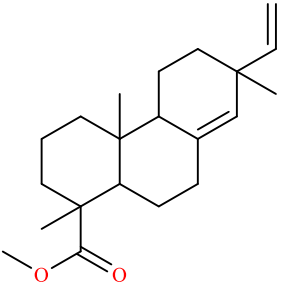
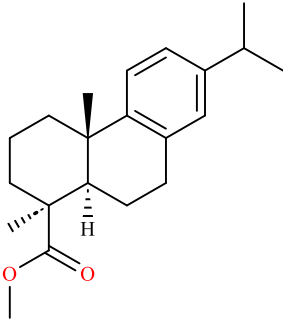
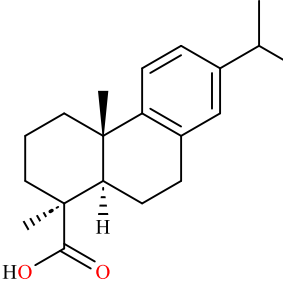
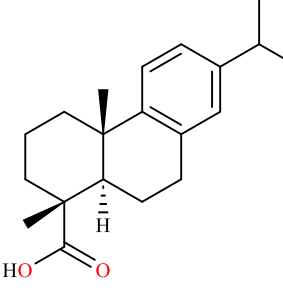
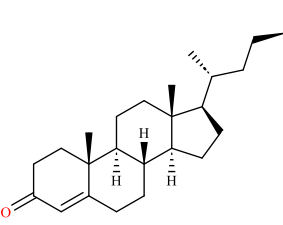


Figura 14. Cromatograma del extracto hexánico de tallo de *C. caeruleus*.

Tabla 8. Compuestos identificados por CG-EM del extracto hexánico de tallo de *C. caeruleus*.

Nombre	Fórmula	PM	TR (min)	Calidad	CAS Number	%	Fórmula estructural
Ácido <i>n</i> -hexadecanoico	$C_{16}H_{32}O_2$	256	15.90	98	57-10-3	2.15	
Ácido oleico	$C_{18}H_{34}O_2$	282	18.80	99	112-80-1	6.85	
Ácid octadec-9-enoico (Ácido <i>cis</i> -oleico)	$C_{18}H_{34}O_2$	282	19.02	96	19-01-37	0.88	

Metilsandaracopimarato	C ₂₁ H ₃₂ O ₂	316	19.94	99	1686-54-0	1.44	
Éster metílico del ácido dehidroabiético	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	314	20.70	93	1235-74-1	2.77	
Ácido dehidroabiético	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	300	21.85	98	1740-19-8	31.91	
Ácido 4- <i>epi</i> dehidroabiético	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	300	22.55	99	5155-70-4	6.44	
Estigmast-4-en-3-ona	C ₂₉ H ₄₈ O	412	34.81	97	1058-61-3	2.65	
Porcentaje de rendimiento						55.09	

Nota: Todos los extractos de flor, hoja, raíz y tallo analizados por CG-EM, fueron comparados con la base de datos NIST-02.³⁸

7.3. Metabolitos aislados.

Después se analizar los extractos hexánicos de *C. caeruleus*, se inició el estudio de los extractos con cloruro de metileno, con la finalidad de aislar los metabolitos presentes.

7.3.1. Análisis del extracto en cloruro de metileno de flor.

Del análisis por RMN de ^1H (Figura-15), se puede observar que disminuyó la cantidad de compuestos grasos, siendo visibles señales de aromáticos, vinílicos, así como protones alifáticos a frecuencias menores.

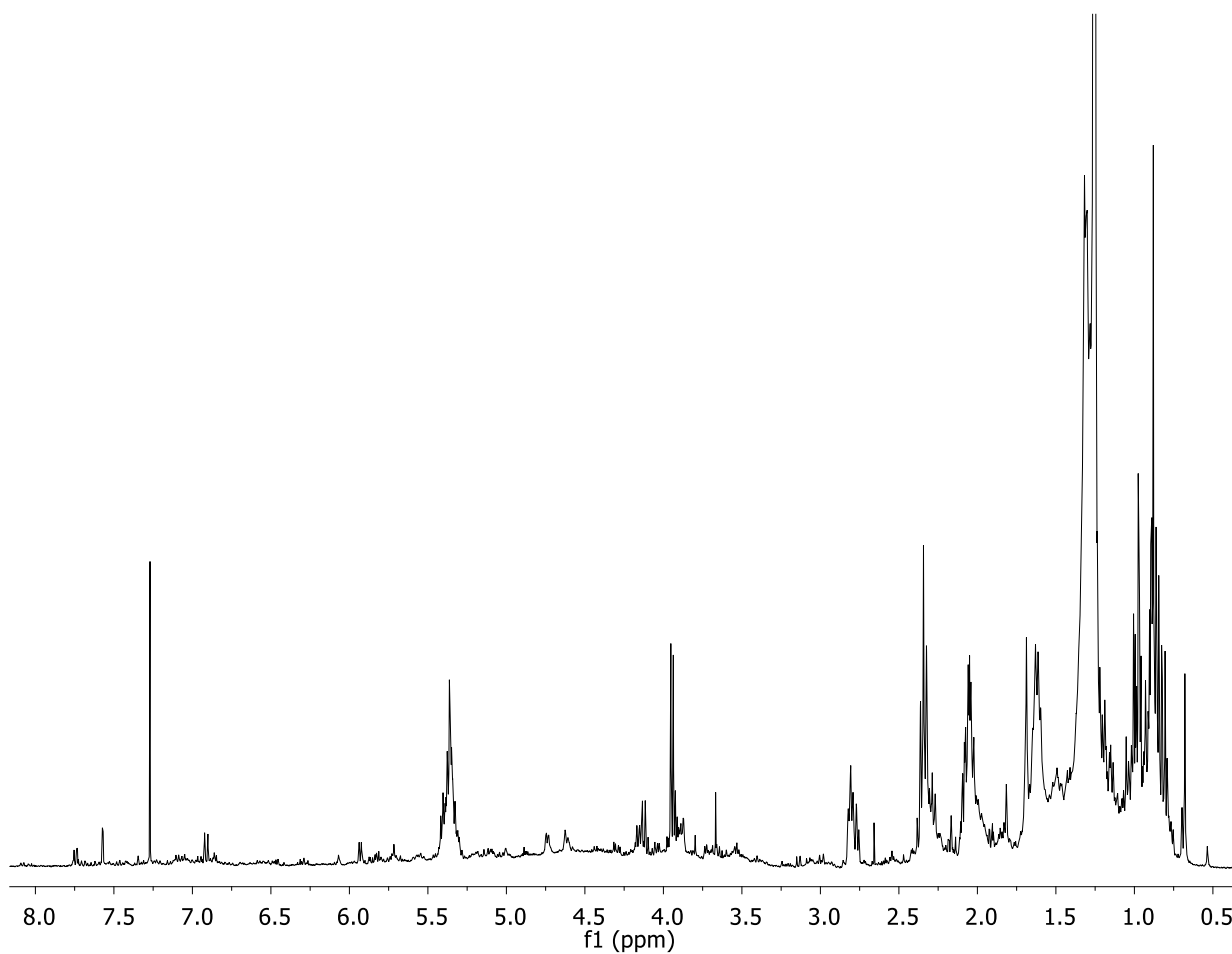


Figura 15. Espectro de RMN de ^1H del extracto cloruro de metileno de flor de *C. caeruleus*.

7.3.1.1. Identificación de la mezcla de β -sitosterol (**8**) y estigmasterol (**9**).

Se inició la separación por cromatografía en columna, de las primeras fracciones eluidas con una polaridad de hexano-acetato de etilo (9:1), se obtuvo en forma de cristales incoloros una mezcla de los compuestos β -sitosterol (**8**) y estigmasterol (**9**), el espectro de RMN de ^1H (Figura 16), muestra 5.35 ppm la señal del protón vinílico en C-6 que integra para los dos protones de ambos compuestos, 5.15 y 5.01 ppm dos señales doble de dobles que integran para un protón cada una y debidas a los protones del doble enlace C22—C23 del estigmasterol, en 3.53 ppm una señal múltiple que integra para dos protones debida al protón base de alcohol en C-3 de ambos compuestos. A frecuencias menores aparecen el resto de las señales características de ambos compuestos, que en la mezcla se encuentra en mayor proporción el β -sitosterol (**8**) (3:1). En lo que respecta a su espectro de RMN de ^{13}C en CDCl_3 (Figura 17), se observa en 140.7 y 121.7 ppm las señales de los carbonos C-5 y C-6 de ambos compuestos, 138.3 y 129.2 ppm las señales de los carbonos del doble enlace C22—C23 del estigmasterol y en 71.8 ppm se observa la señal del carbono C-3 base de alcohol de ambos compuestos, a frecuencias menores se observa el resto de las señales de estos compuestos.^{39,40}

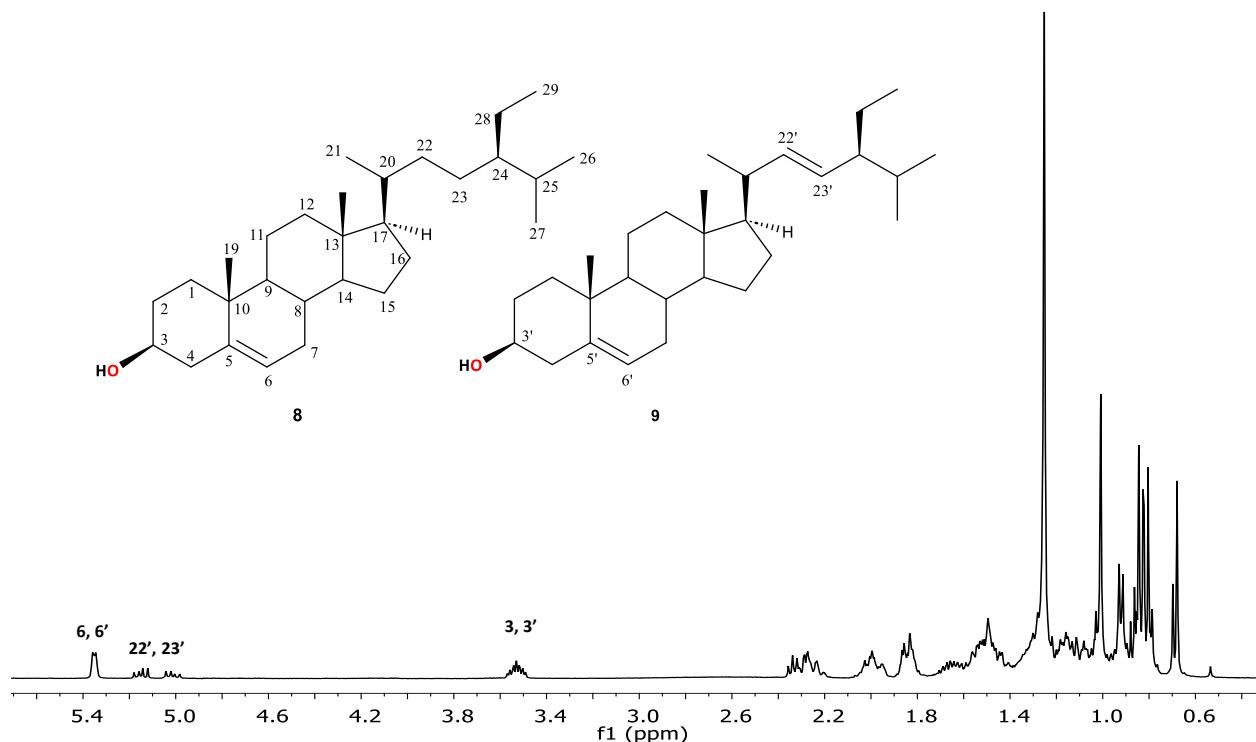


Figura 16. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 de la mezcla de β -sitosterol (**8**) y estigmasterol (**9**).

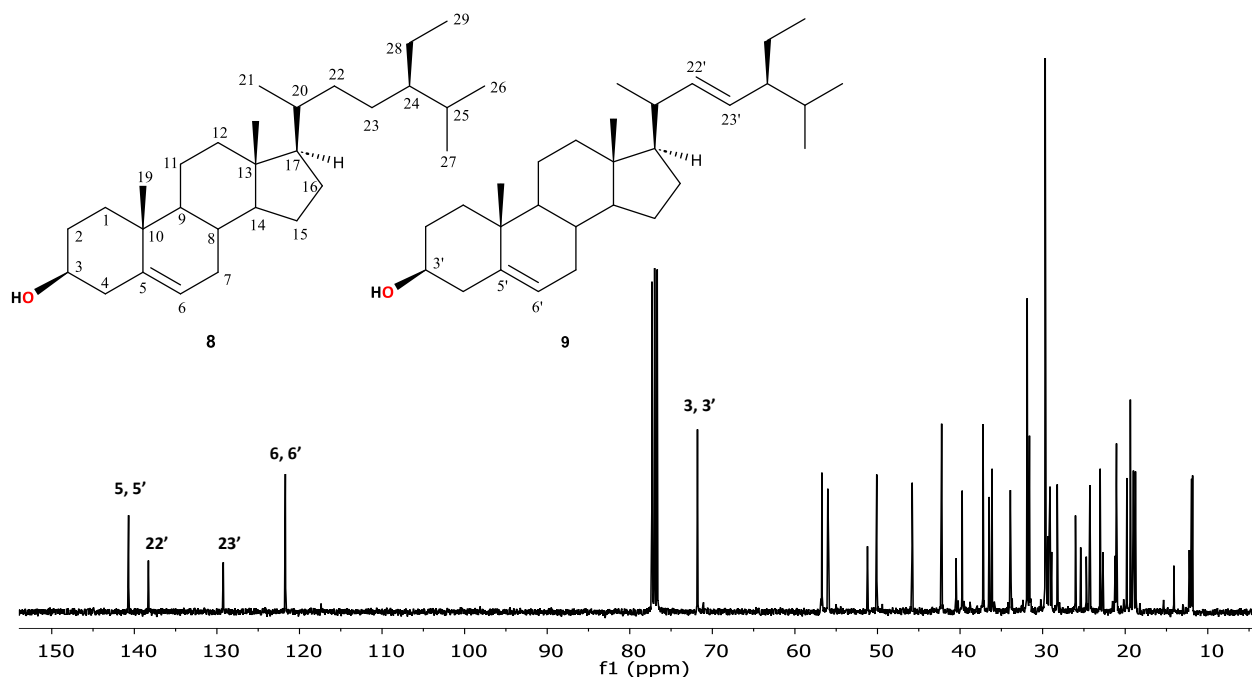


Figura 17. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 de la mezcla de β -sitosterol (**8**) y estigmasterol (**9**).

7.3.1.2. Identificación del ácido ceanoténico (**11**).

De la separación en cromatografía en columna empleando como fase estacionaria gel de sílice, se aisló el tercer compuesto que fue eluido con una polaridad hexano-AcOEt (9:1), en forma de sólido amorfo incoloro, insoluble en cloroformo lo cual dificultó su determinación espectroscópica en este disolvente, al ser parcialmente soluble en acetona y metanol, se realizaron las determinaciones en acetona deuterada y en piridina deuterada. La información espectroscópica mostró señales características para un esqueleto triterpénico pentacíclico tipo lupano (**10**) o A-nor-lupano (Figura 18). Dicho compuesto correspondió al ácido ceanoténico (**11**; Figura 18), su espectro de RMN de ^1H en piridina deuterada (Figura 19), presenta dos señales dobles en 6.08 y 5.46 ppm que integran para un hidrógeno cada una ($J = 5.7 \text{ Hz}$) correspondiente a H-2 y H-3 respectivamente, una señal característica del doble enlace típica en estos compuestos pentacíclicos, en 5.08 y 4.84 ppm dos señales simples anchas que integran para un hidrógeno cada una correspondiente a CH_2 -29, en 3.69 ppm una señal doble de triples ($J = 10.6, 3.5 \text{ Hz}$) correspondiente a H-19, entre 3.10 y 1.10 ppm se observan señales de hidrógenos para grupos

metilenos y metinos, cabe destacar la señal simple que integra para tres hidrógenos en 1.94 ppm correspondiente a un metilo sobre doble ligadura CH₃-30, así como cuatro señales simples que integran para tres hidrógenos cada una en 1.21, 1.01, 0.91 y 0.90 ppm correspondientes a los grupos metilo CH₃-26, CH₃-25, CH₃-24 y CH₃-23 respectivamente.

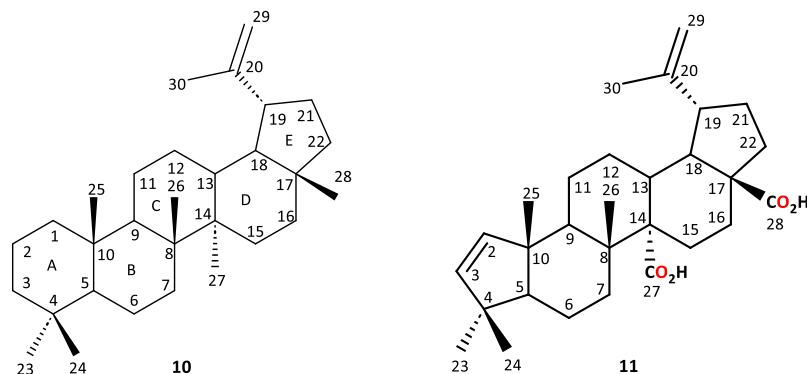


Figura 18. Estructuras del lupano (**10**) y del ácido ceanoténico (**11**).

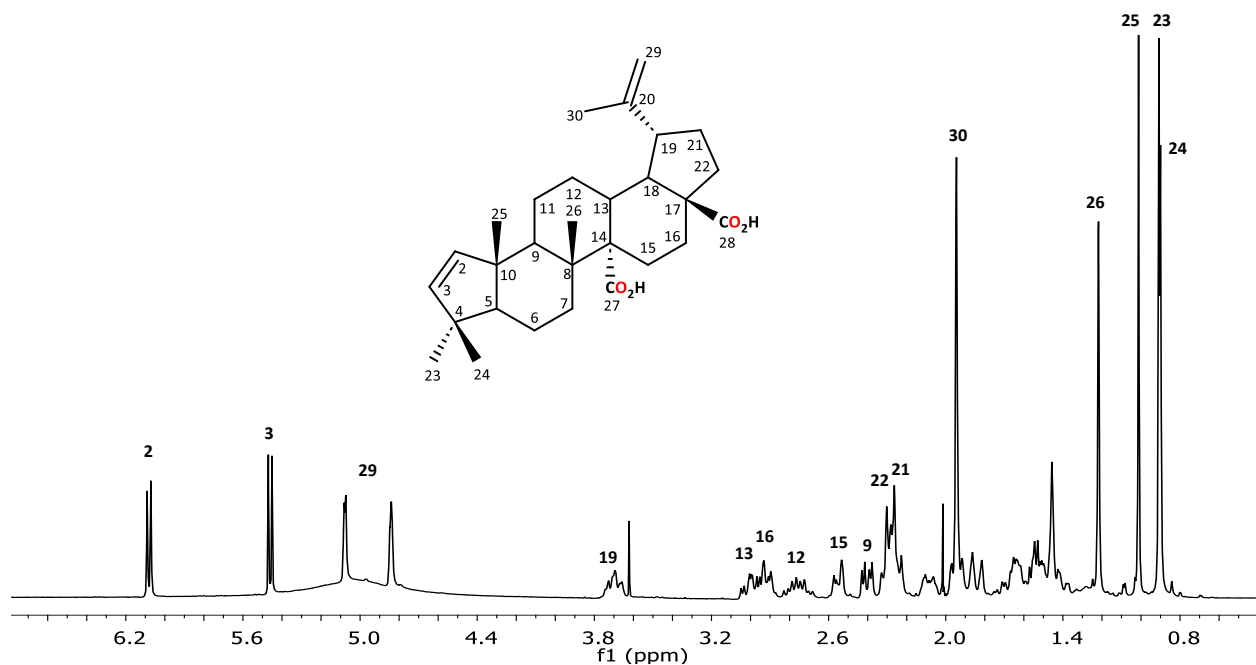


Figura 19. Espectro de RMN de ¹H a 300 MHz en piridina deuterada del ácido ceanoténico (**11**).

En cuanto al espectro de RMN de ¹³C a 75 MHz en piridina deuterada (Figura 20), se observan señales para 29 átomos de carbono, seis señales en la zona *sp*² y 23 señales en la zona *sp*³. De la zona *sp*², dos corresponden a carbonos de carbonilo de ácido carboxílico en 177.6 y 177.2 ppm,

dos señales del doble enlace C-20–C-29 características del esqueleto mencionado anteriormente, en 151.6 y 110.7 ppm, que con ayuda del experimento DEPT se corroboró que la desplazada a frecuencias mayores es debida a un carbono cuaternario y la otra a un carbono metilénico, también se observan dos nuevas señales en 141.6 y 139.5 ppm debidas al doble enlace C-2–C-3. Respecto a la zona de los carbonos sp^3 , las 23 señales restantes, 5 señales de carbonos de metilo, 8 señales de carbono de metilenos, 5 señales de carbonos de metinos y 5 señales de carbonos cuaternarios. En el experimento HSQC, se observa correlación entre la señal doble en 6.08 ppm (H-2) y la señal en ubicada en 141.6 ppm (C-2), la otra señal doble en 5.46 ppm (H-3) correlaciona con la señal de carbono en 139.5 ppm (C-3), las señales del doble enlace en 5.08 y 4.84 ppm (H-29) con el carbono en 110.7 ppm (C-29), la señal correspondiente a la señal múltiple en 3.69 ppm (H-19) con la señal en 48.4 ppm (C-19), la señal múltiple en 2.98 ppm (H-13) correlaciona con la señal en 40.5 ppm (C-13), las señales en 2.91 y 1.92 ppm (H-16) con el carbono en 35.7 ppm (C-16), 2.75 y 2.07 ppm (H-12) con la señal en 26.9 ppm (C-12), 2.55 y 1.94 ppm (H-15) con la señal en 29.2 ppm (C-15), 2.40 ppm (H-9) con la señal en 48.9 ppm (C-9), 2.26 ppm (H-18) con la señal en 52.6 ppm (C-18), 1.46 ppm (H-4) con la señal en 63.4 ppm (C-4), la señal de metilo en 1.94 ppm (H-30) correlaciona con la señal ubicada en 19.6 ppm (C-30), la del metilo en 1.21 ppm (H-26) con la señal en 18.9 ppm (C-26), la del metilo en 1.01 ppm (H-25) con la señal en 20.8 ppm (C-25), la del metilo en 0.91 ppm (H-24) con la señal en 22.0 ppm (C-24) y por último la señal del metilo en 0.90 ppm (H-23) con la señal en 30.0 ppm (C-23). En el experimento HMBC, la señal en 6.08 ppm (H-2) mostró correlaciones con las señales de carbono en 45.2 (C-4), 51.3 (C-10), 63.4 (C-5) y 139.5 ppm (C-3). La señal con en 5.46 ppm (H-3) correlacionó con las señales de en 20.8 (C-25), 45.2 (C-4), 30.0 (C-23), 51.3 (C-10), 63.4 (C-5) y 141.6 ppm (C-2). La señal con en 5.08 y 4.84 ppm (H-29) correlacionó con las señales en 19.6 (C-30), 48.4 (C-19) y 151.6 ppm (C-20). La señal con en 1.46 ppm (H-5) correlacionó con las señales en 30.0 (C-23), 20.8 (C-25), 38.5 (C-7) y 48.9 ppm (C-9). La señal en 2.26 ppm (H-18) correlacionó con las señales en 48.4 (C-19), 56.9 (C-17), 151.6 (C-20) y 179.6 ppm (C-28). La señal con en 2.98 ppm (H-13) correlacionó con las señales en 26.9 (C-12), 52.6 (C-18), 56.9 (C-17), 60.7 (C-14) y 178.9 ppm (C-27). Finalmente, la señal de 1.21 ppm (H-26) correlacionó con las señales en 38.5 (C-7), 42.1 (C-8), 48.9 (C-9) y 60.7 ppm (C-14) (Figura 21).

La estructura correspondiente al ácido ceanoténico (**11**), esqueleto tipo A-*nor*-lupano quedó corroborada mediante las correlaciones de los experimentos HMBC, COSY, NOESY (Figura 21) y por comparación con los datos reportados. Este compuesto fue aislado de *C. americanus* por De Mayo y col. (1962), después fue reportado el aislamiento de este compuesto de varias ramnáceas incluyendo *Ceanothus velutinus*, por Eade R.A. y col. (1969), posteriormente Craig A. R. y col. (1971), Sheng-Jye J. y col. (2004) y por Qing-Han G. y col. (2013).⁴¹⁻⁴⁵

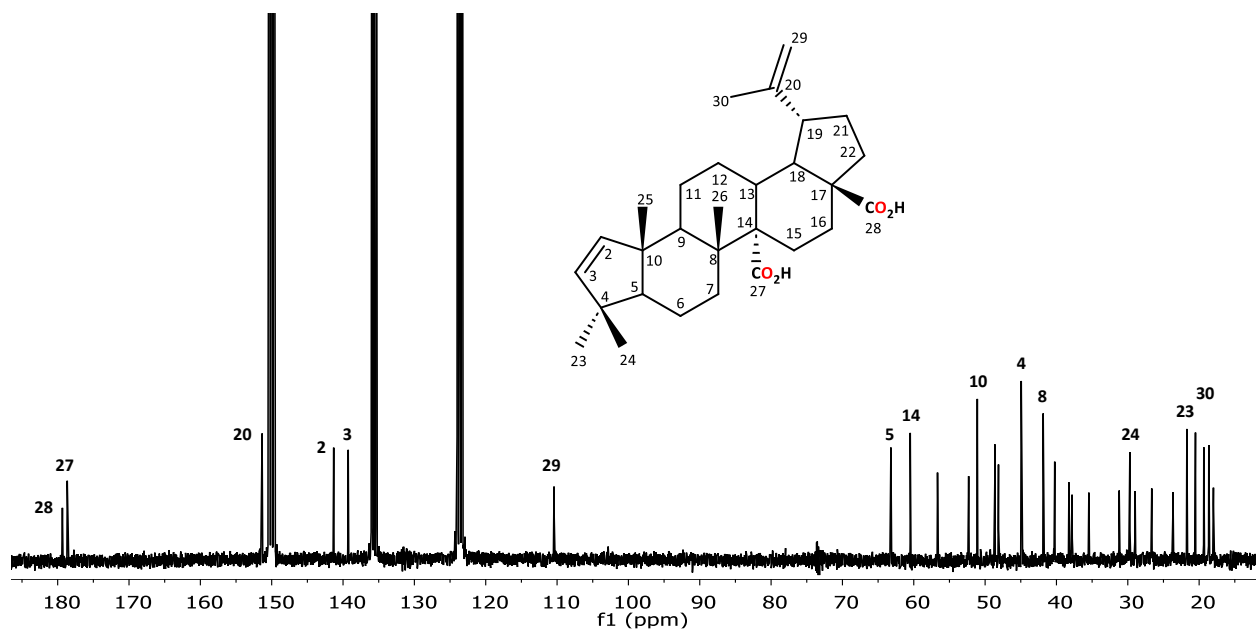


Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C a 7500 MHz en piridina deuterada del ácido ceanoténico (**11**).

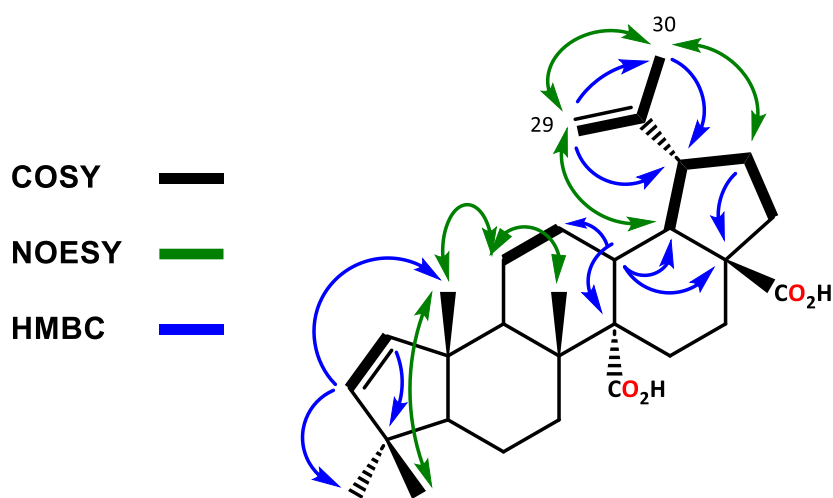


Figura 21. Correlaciones significativas de experimentos en 2D del ácido ceanoténico (**11**).

7.3.1.3. Identificación del ácido alfitólico (**12**).

El cuarto compuesto se obtuvo de la separación por cromatografía en columna eluido con una polaridad de hexano-acetato de etilo (7:3) como cristales amorfos de color blanco-amarillentos poco soluble en cloroformo y parcialmente solubles en acetona y metanol. Su espectro de RMN de ^1H a 300 MHz en piridina deuterada (Figura 22), mostró también las señales características de un esqueleto triterpénico pentacíclico tipo lupano que correspondió al ácido alfitólico, este presenta dos señales simples anchas que integran para un hidrógeno cada una correspondiente a CH_2 -29, se observa una señal múltiple en 4.12 ppm que integra para un hidrógeno correspondiente al protón H-2, otra señal múltiple en 3.55 ppm que integra para un hidrógeno característica del protón H-19 para este tipo de esqueleto, en 3.42 ppm una señal doble que integra para un hidrógeno ($J = 9.4 \text{ Hz}$) debida a H-3, en 2.74 ppm una señal múltiple que integra para un hidrógeno correspondiente a H-13, a frecuencias menores se observan señales de hidrógenos metínicos y metilénicos. En 1.80 ppm una señal simple que integra para tres hidrógenos del metilo sobre doble ligadura (CH_3 -30), en 1.27 (C-23), 1.08 (C-24), 1.07 (C-27), 1.06 (C-26) y 0.93 (C-25) ppm señales simples que integran para tres hidrógenos cada una correspondientes a los cinco metilos terciarios.

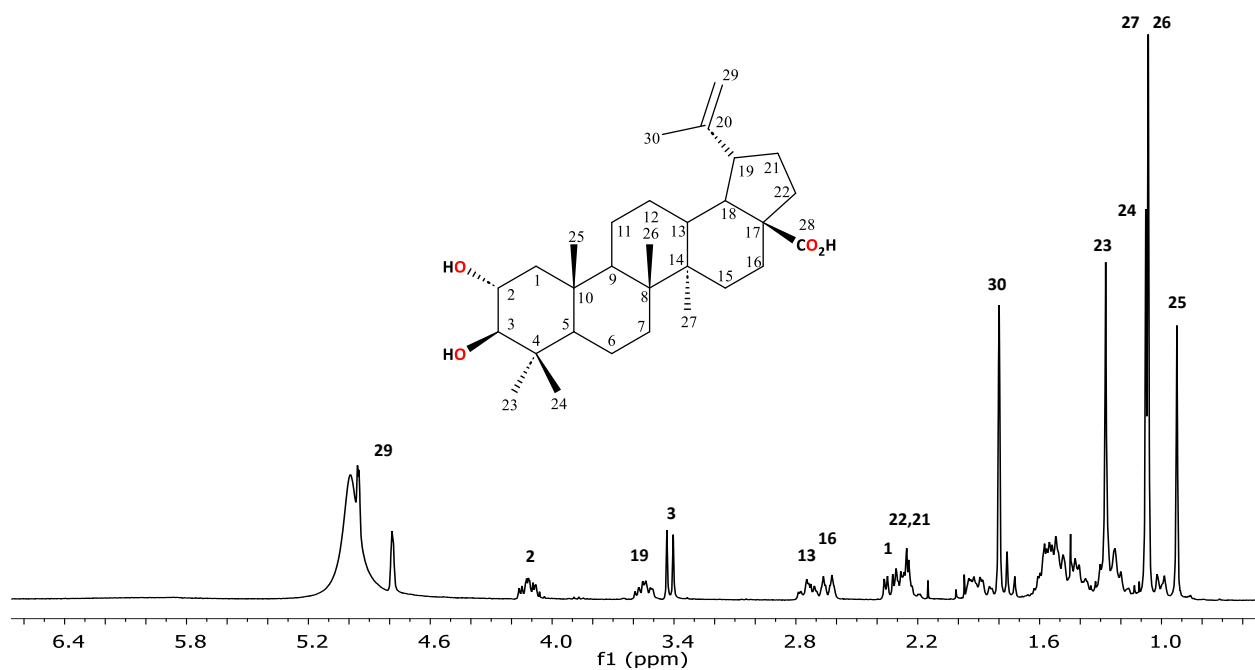


Figura 22. Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz en piridina deuterada del ácido alfitólico (**12**) aislado de la flor de *C. caeruleus*.

El espectro de RMN de ^{13}C para este compuesto (Figura 23), muestra señales para 30 átomos de carbono, se observan 3 señales en la zona sp^2 que corresponden a una señal de carbonilo en 179.2 ppm y las dos señales de los carbonos del doble enlace en C-20–C-29 en 151.7 ppm (C-20) y 110.4 ppm (C-29). La zona sp^3 muestra dos señales base de oxígeno en 84.2 y 69.2 ppm, a frecuencias menores se observan las 25 señales restantes. En cuanto al experimento DEPT, el espectro mostró señales para 6 carbonos de metilos, 10 para carbonos de metileno, 7 de carbonos metínicos y 7 para carbonos cuaternarios. Por otro lado, en el experimento HSQC, se observó correlación entre la señal del doble enlace en 4.95 y 4.78 ppm (H-29) con el carbono en 110.4 ppm (C-29), la señal correspondiente a la señal múltiple en 4.12 ppm (H-2) con la señal en 69.2 ppm (C-2), la señal múltiple en 3.55 ppm (H-19) correlaciona con la señal de carbono en 48.1 ppm (C-19), la señal doble en 3.42 ppm (H-3) correlaciona con la señal en 84.2 ppm (C-3), la señal en 2.34 y 1.27 ppm (H-1) correlaciona con la señal del carbono en 48.6 ppm (C-1), la señal en 2.74 ppm (H-13) correlaciona con el carbono en 38.9 ppm (C-13), las señales en 2.65 y 1.56 ppm (H-16) correlaciona con la señal en 33.2 ppm (C-16), las señales 2.27 y 1.57 ppm (H-22) correlacionan con la señal en 38.0 ppm (C-22), las señales 2.26 y 1.55 ppm (H-21) correlacionan con la señal en 31.6 ppm (C-21), la señal del metilo en 1.80 ppm (H-30) correlaciona con la señal ubicada en 19.8 ppm (C-30), la del metilo en 1.27 ppm (H-23) con la señal en 29.6 ppm (C-23), la del metilo en 1.08 ppm (H-24) con la señal en 17.9 ppm (C-24), las señales de los metilos en 1.07 (H-27) y 1.06 ppm (H-26) correlacionan con las señales en 15.2 ppm (C-27) y 16.8 ppm (C-26), por último la señal del metilo en 0.93 ppm (H-25) con la señal en 18.0 ppm (C-25).

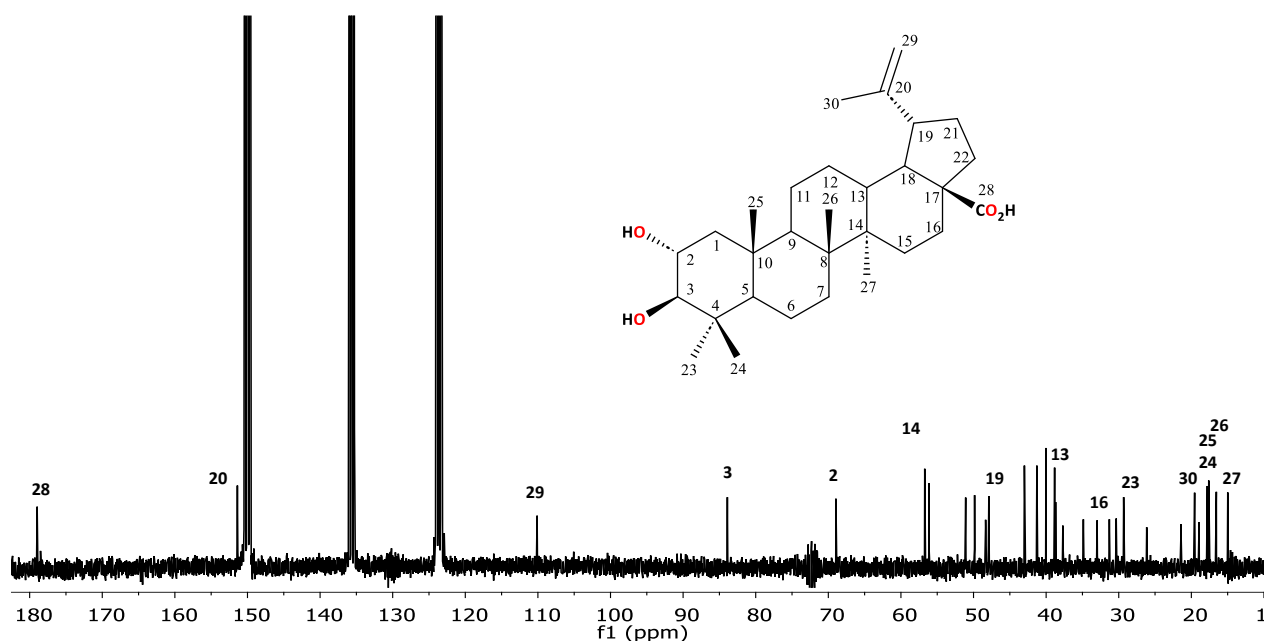


Figura 23. Espectro de RMN de ^{13}C a 300 MHz en piridina deuterada del ácido alfitólico (12) aislado de la flor de *C. caeruleus*.

En el experimento de correlación espectroscópica (COSY), se observó correlación entre la señal múltiple en 4.12 ppm (H-2) con las señales en 2.34 y 1.27 ppm (H-1) y con la señal doble en 3.42 ppm (H-3). La señal múltiple en 3.55 ppm correlaciona con las señales múltiples en 2.26 y 1.55 ppm (H-21) y con la señal en 1.76 ppm (H-18). Se observó también una correlación a larga distancia entre la señal simple del metilo sobre doble ligadura en 1.80 ppm (C-30) y la señal del grupo metileno de esta misma en 4.95 y 4.79 ppm (C-29). En el experimento gHMBC, la señal en 4.95 y 4.78 ppm (H-29) mostró correlaciones con las señales en 19.8 (C-30) y 48.1 ppm (C-19). La señal en 3.42 ppm (H-3) correlacionó con las señales en 17.9 (C-24), 29.6 (C-23), 40.3 (C-4) y 69.2 ppm (C-2). La señal en 1.76 ppm (H-18) correlacionó con las señales en 38.9 (C-13), 48.1 (C-19), 57.0 (C-17) y 179.2 ppm (C-28). La señal en 2.34 y 1.27 ppm (H-1) correlacionó con las señales en 18.0 (C-25), 39.1 (C-10), 56.4 (C-5), 69.2 (C-2) y 84.2 ppm (C-3). La señal en 3.55 ppm (H-19) correlacionó con la señal en 31.6 ppm (C-21). La señal en 1.80 ppm (H-30) correlacionó con las señales en 48.1 (C-19), 110.4 (C-29) y 151.7 ppm (C-20). La señal en 1.06 ppm (H-26) correlacionó con las señales en 35.1 (C-7), 41.5 (C-8), 43.2 (C-14) y 51.3 ppm (C-9) (Figura 24).

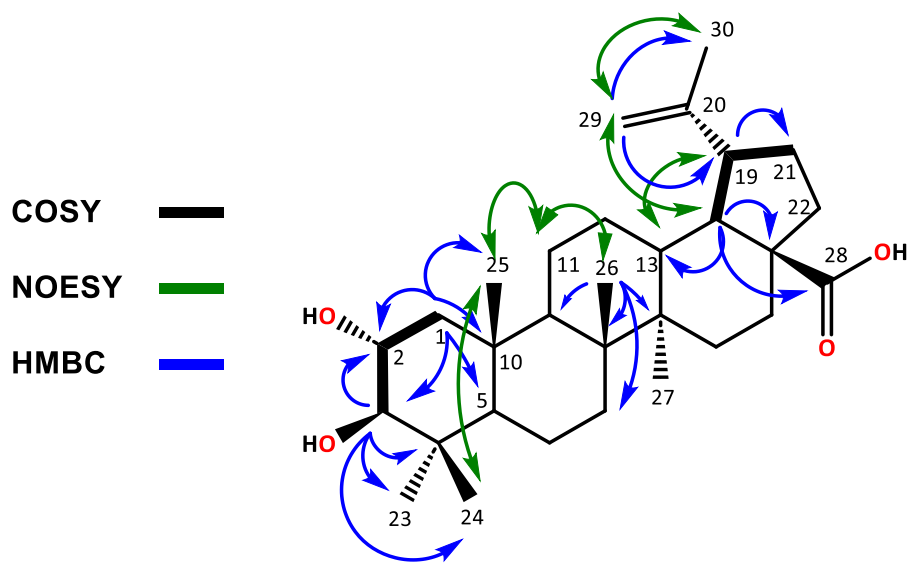


Figura 24. Correlaciones significativas de experimentos bidimensionales del ácido alfitólico (**12**).

La estructura correspondiente al ácido alfitólico, compuesto con esqueleto tipo lupano quedó corroborada mediante las correlaciones en el experimento HMBC y por comparación con los datos reportados. Este compuesto no se había aislado del género *Ceanothus* pero ya se encuentra reportado, aislado de plantas de la familia *Rhamnaceae* (*Ziziphus Jujuba* Mill.), así como de otras familias como *Myrtaceae* (*Ugni molinae* Turcz) y *Nymphaeaceae* (*Nelumbo nucifera* Gaertn).⁴⁵⁻⁴⁷

7.3.1.4. Identificación del ácido verátrico (ácido 3,4-dimetoxibenzoico, **13**).

El quinto compuesto aislado corresponde al obtenido como un sólido amorfo incoloro parcialmente soluble en cloroformo y soluble en acetona y metanol, fue obtenido por cromatografía en columna en las fracciones 9 y 10, las cuales fueron eluidas con hexano-acetato de etilo (1:1). Dicho compuesto correspondió al ácido 3,4-dimetoxibenzoico, también conocido como ácido verátrico, que en el espectro de RMN de ^1H a 300 MHz en cloroformo deuterado (Figura 25), mostró una señal doble de dobles en 7.79 ppm (H-6, $J = 8.8, 2.3$ Hz) que integra para un hidrógeno, en 7.60 ppm una señal doble (H-2, $J = 2.3$ Hz) que integra para un hidrógeno, otra señal doble en 6.93 (H-5, $J = 8.8$ Hz) que también integra para un hidrógeno y por último a frecuencias menores dos señales simples intensas que integran para tres hidrógenos cada una en 3.96 y 3.95 ppm de dos grupos metoxilo. El espectro de RMN de ^{13}C de este compuesto (Figura

26), muestra señales para 9 átomos de carbono, se observan 7 señales en la zona sp^2 que corresponden a una señal de carbonilo en 170.9 ppm, tres señales de carbonos cuaternarios en 153.6 (C-4), 148.6 (C-3) y 121.6 ppm (C-1), tres señales de carbonos metínicos en 124.5 (C-6), 112.3 (C-2) y 110.3 ppm (C-5). La zona sp^3 muestra solamente dos señales base de oxígeno en 56.0 y 55.9 ppm correspondientes a los metoxilos observados en RMN de ^1H . Las anteriores señales fueron corroboradas mediante el experimento DEPT.

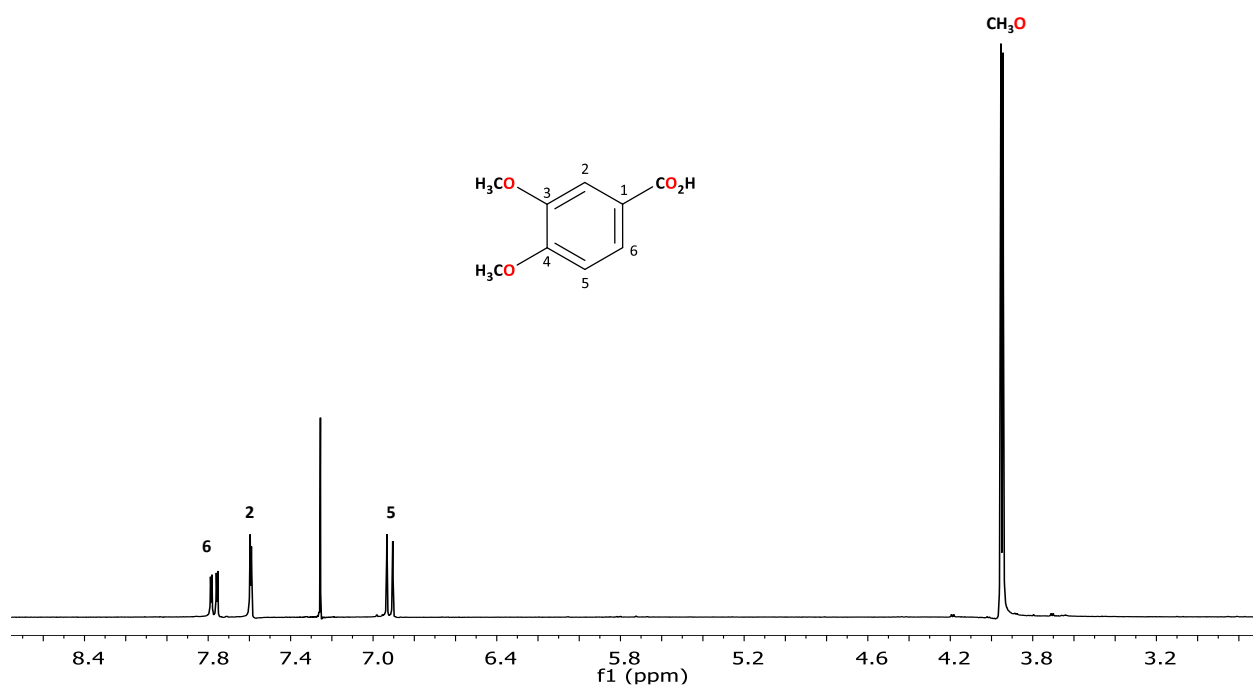


Figura 25. Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz en CDCl_3 del ácido 3,4-dimetoxibenzoico (**13**).

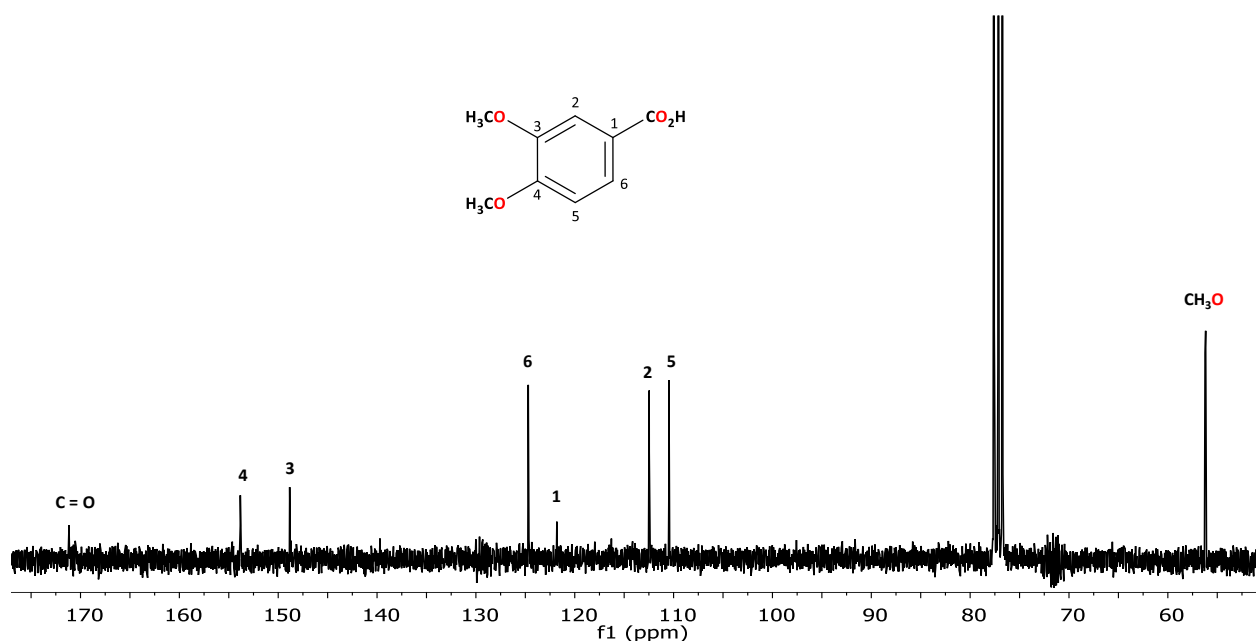


Figura 26. Espectro de RMN de ^{13}C a 75 MHz en CDCl_3 del ácido 3,4-dimetoxibenzoico (**13**).

En el experimento de correlación heteronuclear HSQC, se observó la correlación de la señal doble de dobles en 7.79 (H-6) con la señal de carbono en 124.5 (C-6), la señal doble en 7.60 (H-2) correlaciona con la señal de carbono en 112.3 (C-2), la otra señal doble en 6.93 (H-5) correlaciona con la señal de carbono en 110.3 (C-5) y por último se observó la correlación entre las señales de los grupos metoxilos en 3.96 ($\text{CH}_3\text{O-C4}$) y 3.95 ppm ($\text{CH}_3\text{O-C3}$) con las señales de carbono en 56.0 ($\text{CH}_3\text{O-C4}$) y 55.9 ppm ($\text{CH}_3\text{O-C3}$).

El experimento de correlación espectroscópica (COSY), se observó una correlación fuerte entre la señal con desplazamiento en 6.93 (H-5) con la señal en 7.79 ppm (H-6). Además, se observó una correlación débil a larga distancia entre las señales en 3.96 y 3.95 ppm ($\text{CH}_3\text{-O}$) con las señales en 6.93 (H-5) y 7.60 ppm (H-2). En cuanto al experimento NOESY (Figura 27), Las señales de los grupos metoxilo correlacionan con las señales ubicadas en 7.60 (H-2) y con la ubicada en 6.93 ppm (H-5) (Figura 27).

Por otro lado, en el experimento HMBC, la señal doble de dobles en 7.79 ppm (H-6) muestra correlaciones con las señales de los carbonos en 112.3 (C-2), 153.6 (C-4) y 170.9 ppm (C=O); la señal doble en 7.60 ppm (H-2) correlaciona con las señales de los carbonos en 121.6 (C-1), 124.5 (C-6), 148.6 (C-3), 153.6 (C-4) y 170.9 ppm (C=O). La señal doble en 6.93 ppm (H-5) correlaciona

con las señales de los carbonos en 121.6 (C-1), 148.6 (C-3) y 153.6 ppm (C-4). Por su parte el metoxilo en 3.96 ppm (CH₃O) correlaciona débilmente con la señal del carbono en 110.3 (C-5) y fuertemente con la señal de carbono ubicada en 153.6 ppm (C-4), el otro metoxilo en 3.95 ppm (CH₃O) de igual manera correlaciona débilmente con la señal del carbono en 112.3 (C-2) y fuertemente con la señal en 148.6 ppm (C-3) (Figura 27). Este compuesto ácido 3,4-dimetoxibenzoico ya se encuentra reportado.^{48,49}

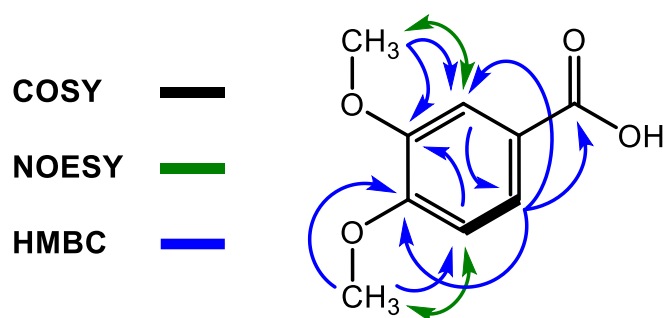


Figura 27. Correlaciones significativas de experimentos bidimensionales del ácido 3,4-dimetoxibenzoico (**13**).

7.3.1.5. Identificación del 3-*O*- β -D-glucopiranosido del β -sitosterol (**14**).

Para la identificación y caracterización del último compuesto aislado del extracto de cloruro de metileno de la flor de *C. caeruleus*, en la fracción 13 eluída con acetato de etilo y obtenido en forma de cristales amorfos incoloros, insolubles en cloroformo y parcialmente solubles en acetona y metanol. Este compuesto correspondió al 3-*O*- β -D-glucopiranosido del β -sitosterol (**14**), para lo cual fue necesaria su determinación espectroscópica en piridina deuterada la cual muestra en su espectro de RMN de ¹H (Figura 28), en 5.37 ppm una señal triple que integra para un hidrógeno característica para el protón vinílico (H-6) del esqueleto del β -sitosterol, en 5.09 ppm una señal doble que integra para un hidrógeno ($J = 7.6$ Hz) señal característica del protón del carbono anomérico de la glucosa (H-1'), en 4.60 ppm y 4.44 ppm dos señales doble de dobles que integran para un hidrógeno cada una ($J = 11.7, 1.8$ Hz) de los protones de la glucosa (H-6'), en 4.32 ppm una señal triple que integra para dos hidrógenos ($J = 4.7$ Hz) (H3'-4'), 4.09 ppm una señal triple ($J = 8.2$ Hz) que integra para un hidrógeno (H-3), 4.00 ppm una señal múltiple que integra para dos hidrógenos de los demás protones base de alcohol de la glucosa (H-2'-5'), entre

2.90 ppm y 0.60 ppm se observan una serie de señales múltiples correspondientes a protones de metinos y metilenos de la aglicona. Sin embargo, se pueden apreciar algunas señales definidas como la debida a una señal doble en 1.01 ppm que integra para tres hidrógenos ($J = 6.5$ Hz) debida al metilo secundario (CH₃-21), 0.88 ppm otra señal doble que integra para seis hidrógenos (CH₃-26-27), en 0.96, 0.85 y 0.68 ppm se observan señales de metilos. En su espectro de RMN de ¹³C en piridina deuterada (Figura 29), muestra un total de 35 señales de carbono, solamente dos señales en la región de los carbonos sp^2 y 33 señales en la región de los carbonos sp^3 . Las señales en 141.4 ppm y 122.4 ppm corresponden a los carbonos del doble enlace de la aglicona (C5-C6), la señal que se encuentra en 103.1 ppm (C-1') y las seis señales observadas entre 62.0 ppm y 82.0 ppm son señales características de la glucosa. Algunas correlaciones en las técnicas bidimensionales como COSY, NOESY y HMBC se muestran en la Figura 30. Como se puede observar en la información espectroscópica, hay una pequeña reminiscencia de 3-*O*- β -D-glucopiranosido del estigmasterol que a pesar haber sido recromatografiada la fracción, no se logró separar. Los datos espectroscópicos para este compuesto corresponden con los reportados.⁵⁰

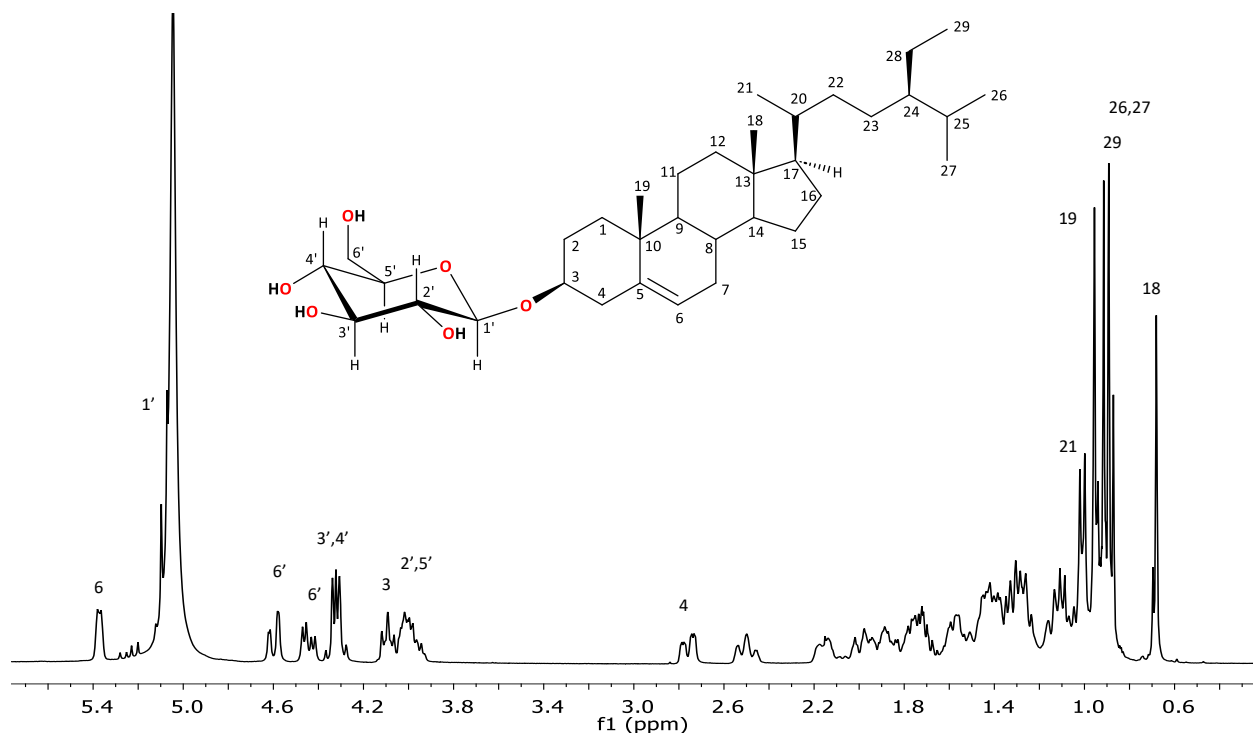


Figura 28. Espectro de RMN de ¹H a 300 MHz en piridina deuterada del 3-*O*- β -D-glucopiranosido del β -sitosterol (**14**).

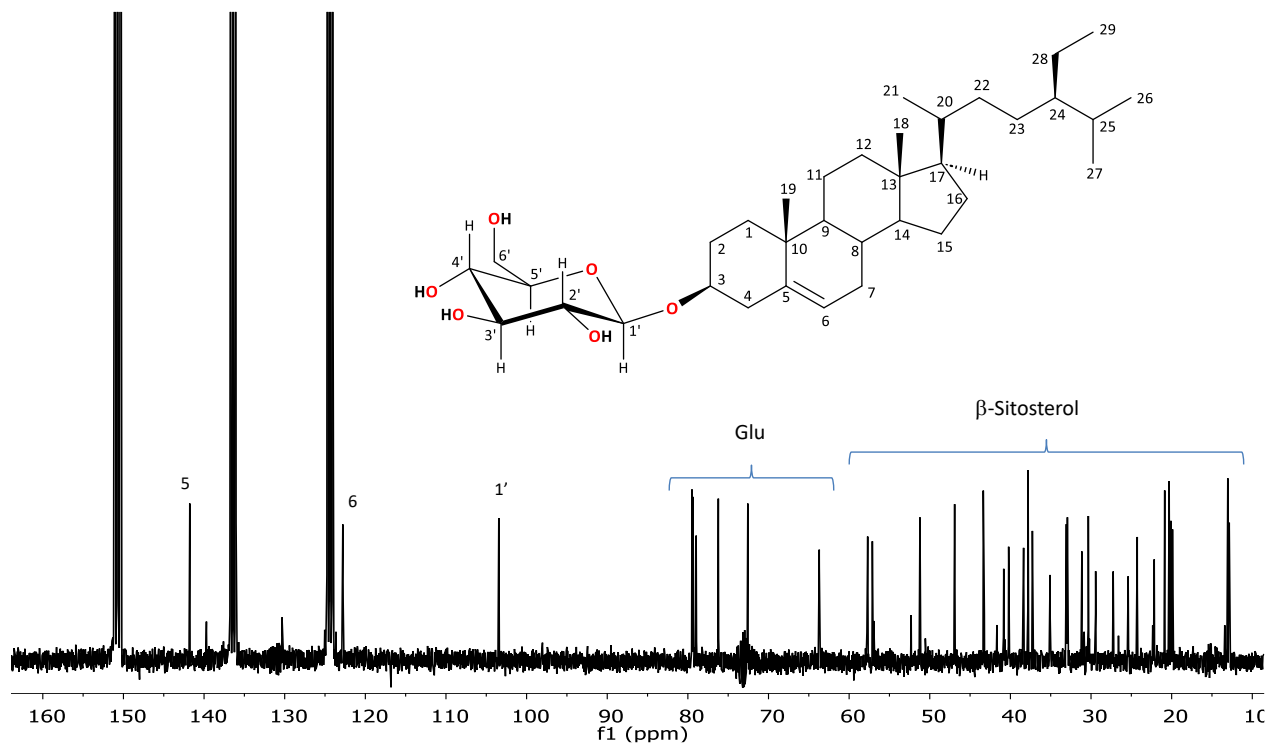


Figura 29. Espectro de RMN de ^{13}C a en piridina deuterada del 3-O- β -D-glucopiranosido del β -sitosterol (14).

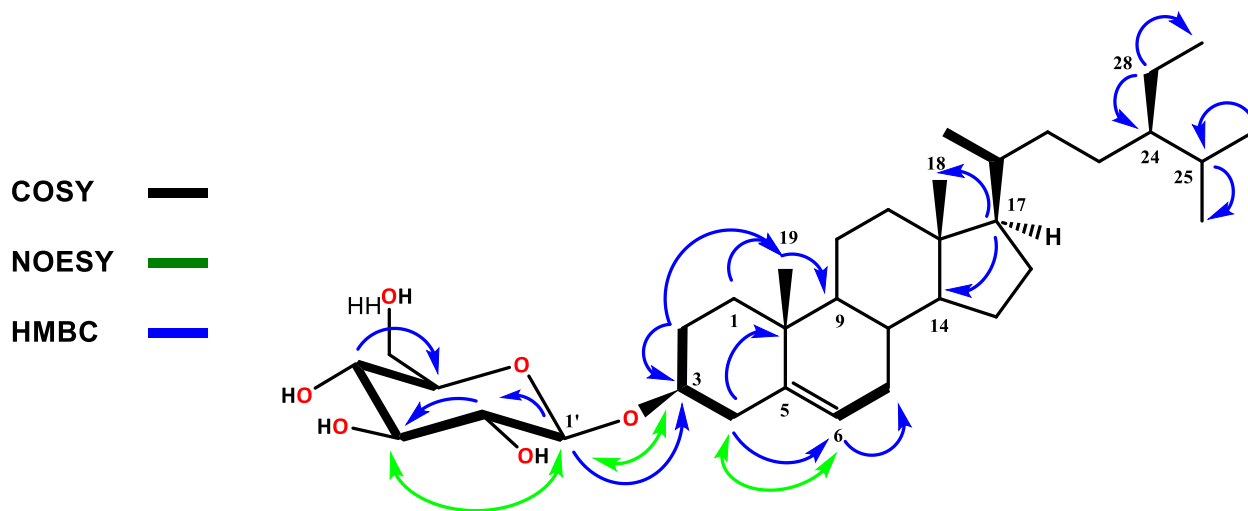


Figura 30. Correlaciones significativas de experimentos bidimensionales del 3-O- β -D-glucopiranosido del β -sitosterol (14).

7.3.2. Análisis del extracto en acetato de etilo de flor.

De la maceración de la flor con acetato de etilo, su análisis por RMN de ^1H (Figura-31), se puede observar que disminuyó considerablemente la cantidad de compuestos grasos, resaltando ahora señales en la región de los aromáticos, señales de dobles enlaces, así como protones de grupos metoxilo y protones alifáticos a frecuencias menores.

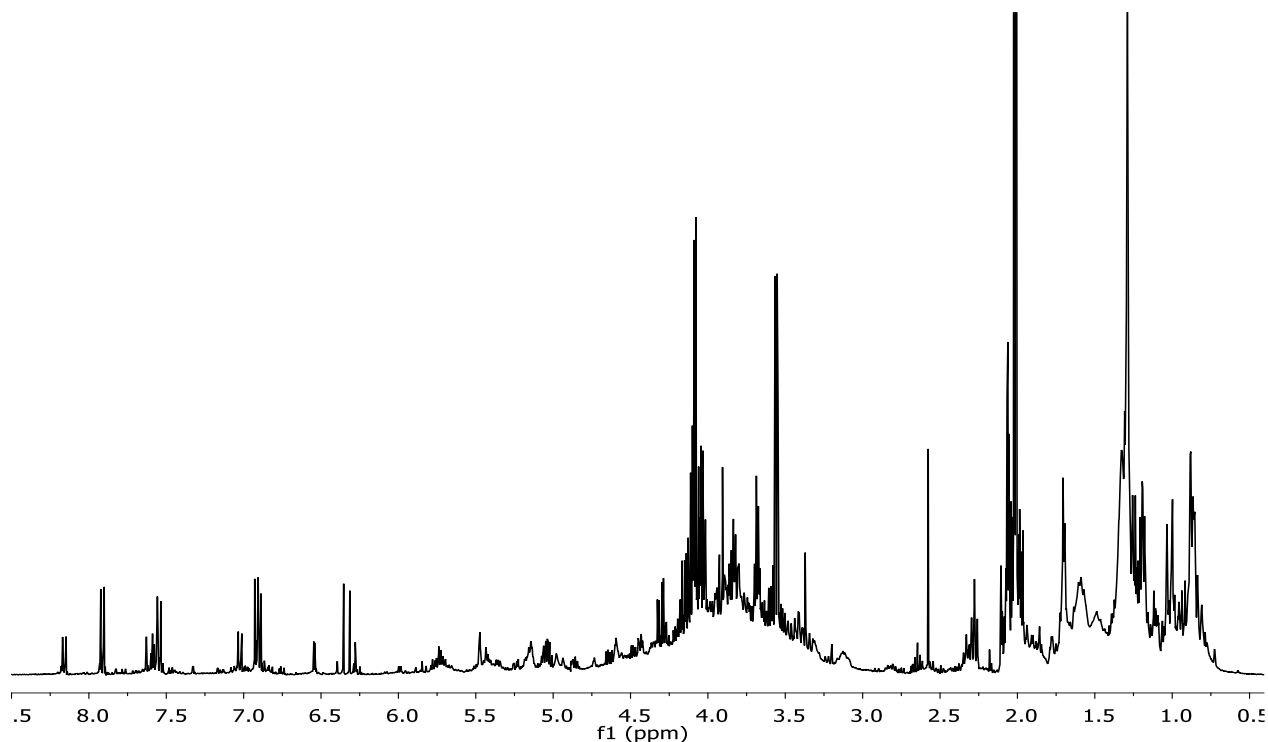


Figura 31. Espectro de RMN de ^1H en acetona deuterada del extracto en acetato de etilo de la flor de *C. caeruleus*.

7.3.2.1. Identificación del ácido ceanoténico (11).

Continuando con el análisis de los extractos, el obtenido de la flor en acetato de etilo se sometió a separación por cromatografía en columna, montada con gel de sílice e iniciando con una polaridad de hexano-AcOEt (4:1). El primer compuesto aislado de este extracto corresponde al ácido ceanoténico (11), obtenido en el anterior extracto con cloruro de metileno de flor.

7.3.2.2. Identificación del kaempferol (15).

El siguiente compuesto aislado en este extracto de flor en acetato de etilo, el cual se obtuvo con una polaridad de hexano-AcOEt (1:1) como un sólido amorfo de color amarillento, parcialmente

soluble en acetona y metanol. Este compuesto correspondió al kaempferol (**15**), el cual presenta en su espectro de RMN de ^1H en piridina deuterada (Figura 32), una señal simple 13.36 ppm indicando la presencia de oxhidrilo formando un puente de hidrógeno debida a HO-C5 y en 12.33 ppm una señal ancha de hidrógenos de grupos hidroxilo, en 8.57 ppm una señal doble ($J = 9.1$ Hz) que integra para dos hidrógenos (H-2', H-6'), en 7.33 ppm otra señal doble ($J = 9.1$ Hz) que también integra para dos hidrógenos (H-3', H-5') indicando la presencia del benceno *p*-sustituido, en 6.86 ppm una señal doble ($J = 2.1$ Hz) que integra para un hidrógeno (H-8) y en 6.77 ppm una señal doble ($J = 2.1$ Hz) que integra para un hidrógeno (H-6) e indicativo de otro sistema bencénico ahora tetrasustituido y debido a la constante de acoplamiento con los hidrógenos en posición *meta*. En su espectro de RMN de ^{13}C (Figura 33), se observan señales para 13 átomos de carbono, todos en la región de los carbonos sp^2 , destacando en 177.8 ppm una señal de carbonilo α,β -insaturado. En su espectro DEPT se puede observar cuatro señales de carbonos metínicos en 131.0 (C-2', C-6'), 116.8 (C-3', C-5'), 99.7 (C-8) y 94.8 ppm (C-6) respectivamente. Las señales restantes corresponden a carbonos cuaternarios. Lo anterior fue corroborado ya que en el experimento HSQC, la señal doble en 8.57 ppm (H-2', H-6') correlaciona con la señal del carbono en 131.0 ppm (C-2', C-6'), la otra señal doble en 7.33 ppm (H-3', H-5') correlaciona con la señal del carbono en 116.8 ppm (C-3', C-5'), mientras que la señal ubicada 6.86 ppm (H-8) correlaciona con la señal del carbono en 94.7 ppm (C-8) y la señal en 6.77 ppm (H-6) correlaciona con la señal del carbono en 99.7 ppm (C-6).

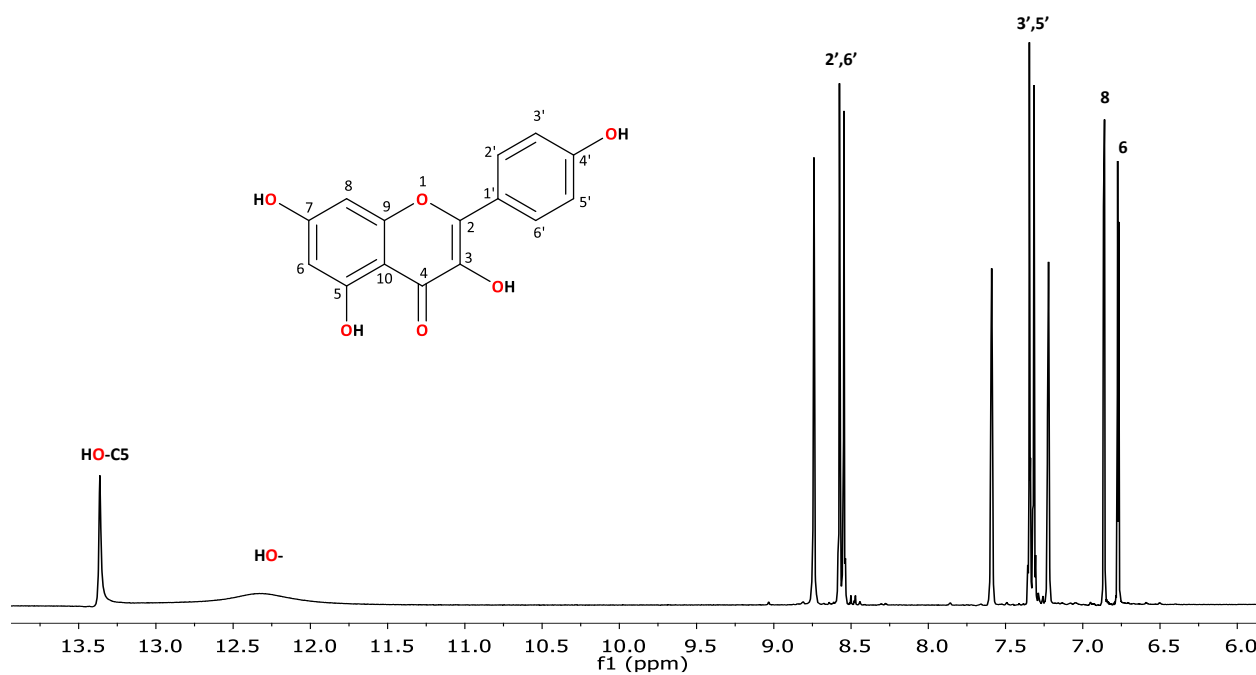


Figura 32. Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz en piridina deuterada del kaempferol (15).

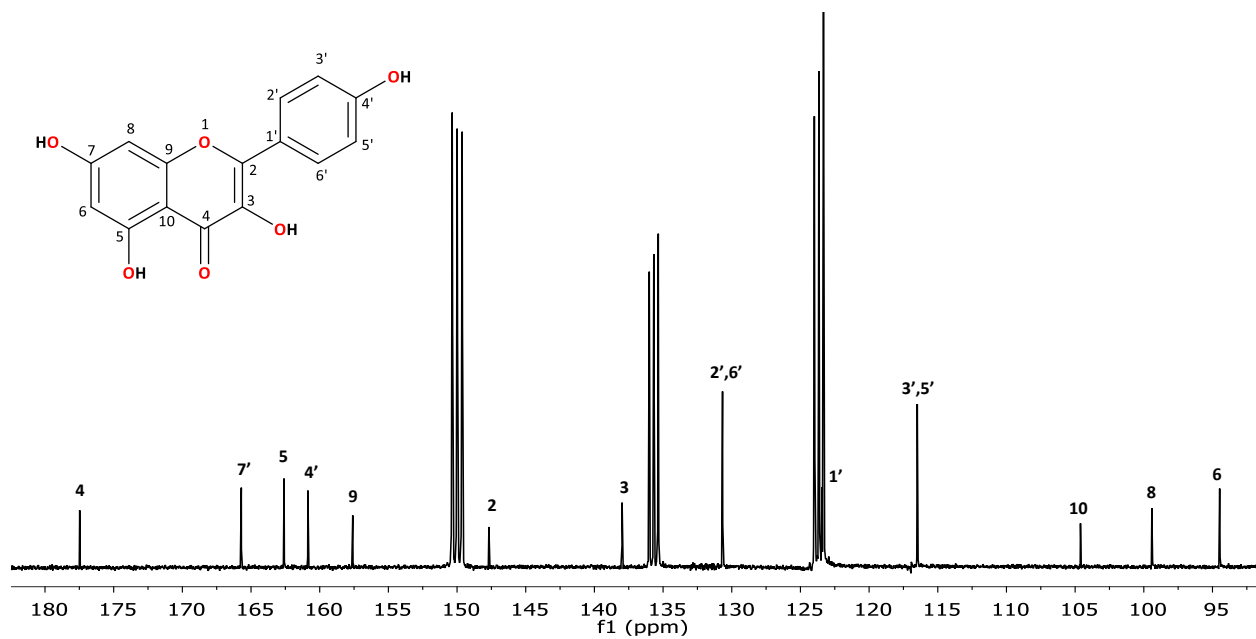


Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C a 75 MHz en piridina deuterada del kaempferol (15).

Las correlaciones observadas en los experimentos COSY y HMBC (Figura 34) son las siguientes: la señal doble en 8.57 ppm (H-2', H-6') correlaciona con las señales de carbono en 116.7 (C-5'), 130.9 (C-2', C-6'), 147.9 (C-2) y 161.1 ppm (C-4'). Por otro lado, la señal doble ubicada en 7.33 ppm (H-3', H-5') correlaciona con las señales en 116.7 (C-3', C-5'), 123.7 (C-1') y 161.7 ppm (C-4'). A frecuencias menores, la señal en 6.86 ppm (H-8) correlaciona con las señales en 94.7 (C-8), 104.9 (C-10), 157.9 (C-9), 166.0 (C-7) y 177.7 ppm (C-4). La señal en 6.77 ppm (H-6) correlaciona con las señales en 94.7 (C-8), 104.9 (C-10), 162.8 (C-5) y 166.0 ppm (C-7). Por último, la señal del grupo hidroxilo en 13.36 ppm (OH) correlaciona con las señales de carbono en 99.7 (C-6), 104.9 (C-10) y 162.8 ppm (C-5). Este compuesto ya se encuentra reportado.⁵¹

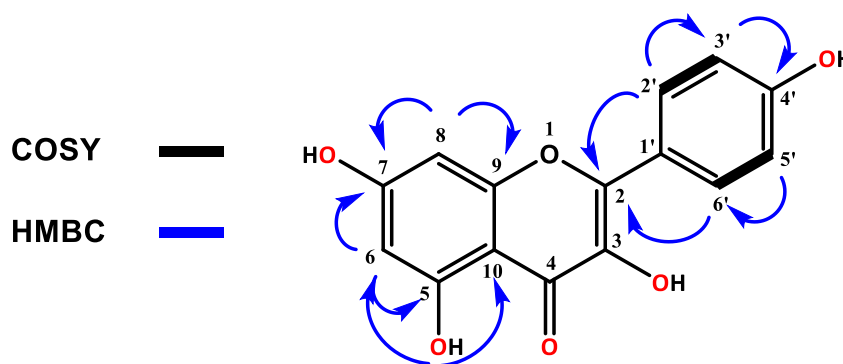


Figura 34. Correlaciones significativas de experimentos bidimensionales del kaempferol (**15**).

7.3.2.3. Identificación del 3-O- β -D-glucopiranosido del β -sitosterol (**14**).

El tercer compuesto aislado en las fracciones 9 y 10 eluido con acetato de etilo, el cual correspondió al 3-O- β -D-glucopiranosido del β -sitosterol (**14**) aislado en el anterior extracto de flor en cloruro de metileno.

7.3.3. Análisis del extracto en cloruro de metileno de hoja de *C. caeruleus*.

Dado que el extracto hexánico de la hoja de *C. caeruleus* mostró en su mayoría compuestos grasos, se decidió continuar con el escrutinio del extracto en cloruro de metileno de la hoja. En el espectro de RMN de ^1H (Figura 35), se observa la presencia de compuestos grasos. Sin embargo, se observan señales características de aldehídos alrededor de 11.20 y 9.00 ppm, señales de

protones aromáticos entre 8.75 y 7.50 ppm, entre 6.75 y 5.50 ppm señales de protones de dobles enlaces, señales de protones de grupos metoxilo entre 4.25 y 3.00 ppm, a frecuencias menores se observan señales pertenecientes a protones metínicos y metilénicos, y por último señales de protones de grupos metilo.

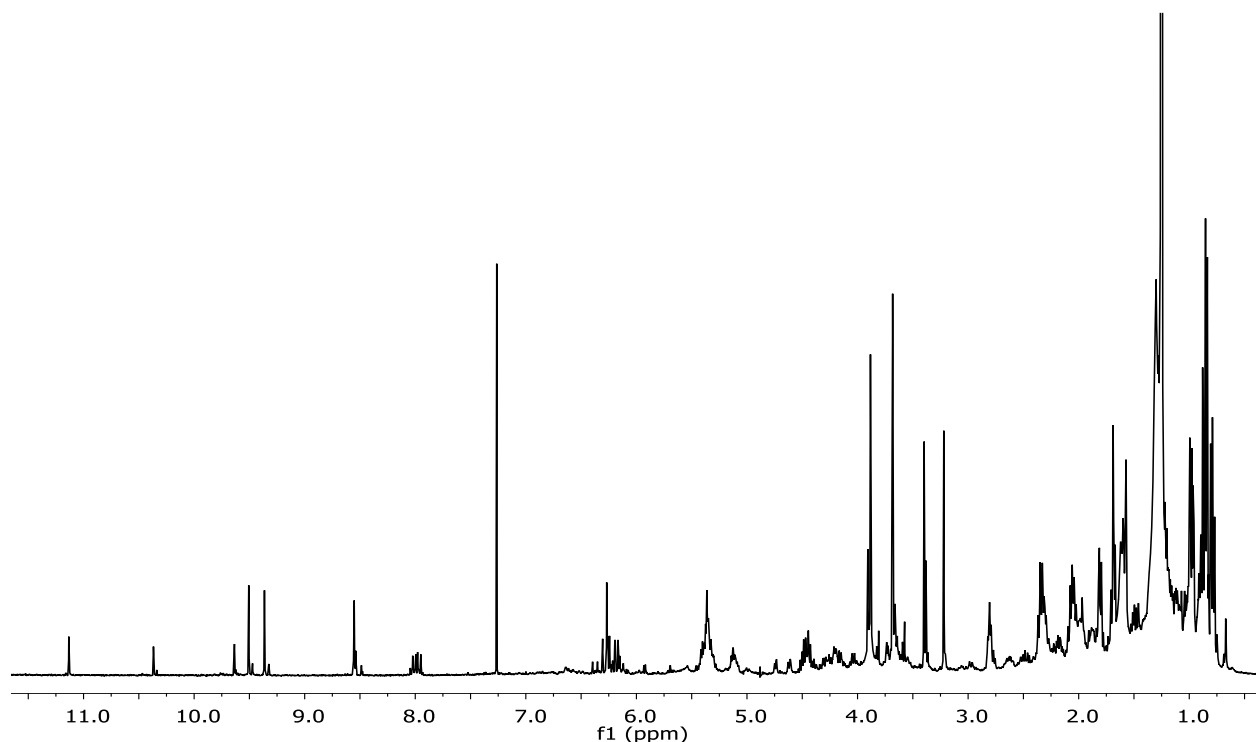


Figura 35. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 del extracto en CH_2Cl_2 de la hoja de *C. caeruleus*.

7.3.3.1. Identificación de la feofitina-a (16).

Dadas las características propias del extracto en cloruro de metileno de la hoja de *C. caeruleus*, es decir, el número y tipos de señales en el espectro de protón, así como su concentración en el extracto, fue sometido a separación por cromatografía en columna usando como fase móvil hexano-acetato de etilo (4:1), de las primeras fracciones (7-11) se obtuvo un aceite de color verde oscuro que en su análisis por cromatografía en capa fina analítica se observa a simple vista (aun sin revelar) presentaba una ligera impureza en la parte superior, se analizó por RMN de protón y se observa dichas impurezas. Se sometió a separación ahora a través de cromatografía en capa fina preparativa con una fase móvil de hexano-acetato de etilo (9.5:0.5) obteniéndose los mismos resultados. Se probaron varios disolventes y varias polaridades, se encontró que en la mezcla de cloroformo-hexano (9.5:0.5) se obtuvieron los mejores resultados, por lo que en esta mezcla se

sometió a separación por cromatografía en columna y después del análisis preliminar por cromatografía en capa fina analítica, de las fracciones 5-11 se aisló el mismo aceite de color verde oscuro, este acetite fue identificado como la feofitina-a, en cuyo espectro de RMN de ^1H en cloroformo deuterado (Figura 36), principalmente se pueden observar tres señales simples en 9.47, 9.32 y 8.55 ppm, que integran para un hidrógeno cada una, debidas a los protones H-10, H-5 y H-20, en 7.96 ppm se observa una señal doble de dobles ($J = 17.8, 11.7 \text{ Hz}$) que integra para un hidrógeno debida al protón H-3¹, 6.28 ppm una señal simple que integra para un hidrógeno debida a H-13², 6.21 ppm una señal doble de dobles ($J = 11.7, 1.8 \text{ Hz}$) que integra para dos hidrógenos debidas a H-3², 5.14 ppm una señal triple ($J = 5.13 \text{ Hz}$) que integra para un hidrógeno debida a H-P2. A campo alto se observan en 3.89, 3.67 y 3.38 ppm tres señales simples que integran para tres hidrógenos cada una debidas a los metilos H-13⁴, H-12¹ y H-2¹. A campo más alto se observan en 0.09 y -1.65 ppm dos señales simples que integran para un hidrógeno cada una debidas a los protones de NH. El espectro de RMN- ^{13}C (Figura 37), mostró un total de 55 señales, 24 señales en la zona sp^2 y 30 señales en la zona sp^3 . El espectro DEPT mostró señales para 11 carbonos metínicos, 15 carbonos metilénicos, 10 carbonos de metilos y 18 carbonos cuaternarios. De los 24 carbonos sp^2 , un carbono corresponde a carbono metilénico de doble enlace, 5 a carbonos metínicos de doble enlace y 18 son carbonos cuaternarios. Respecto a la zona sp^3 , 10 señales corresponden a carbonos de metilo, 14 señales a carbonos de metileno y 6 señales a carbonos metínicos. De acuerdo a la información anterior se corroboró que este compuesto ya está reportado.⁵²⁻⁵⁴

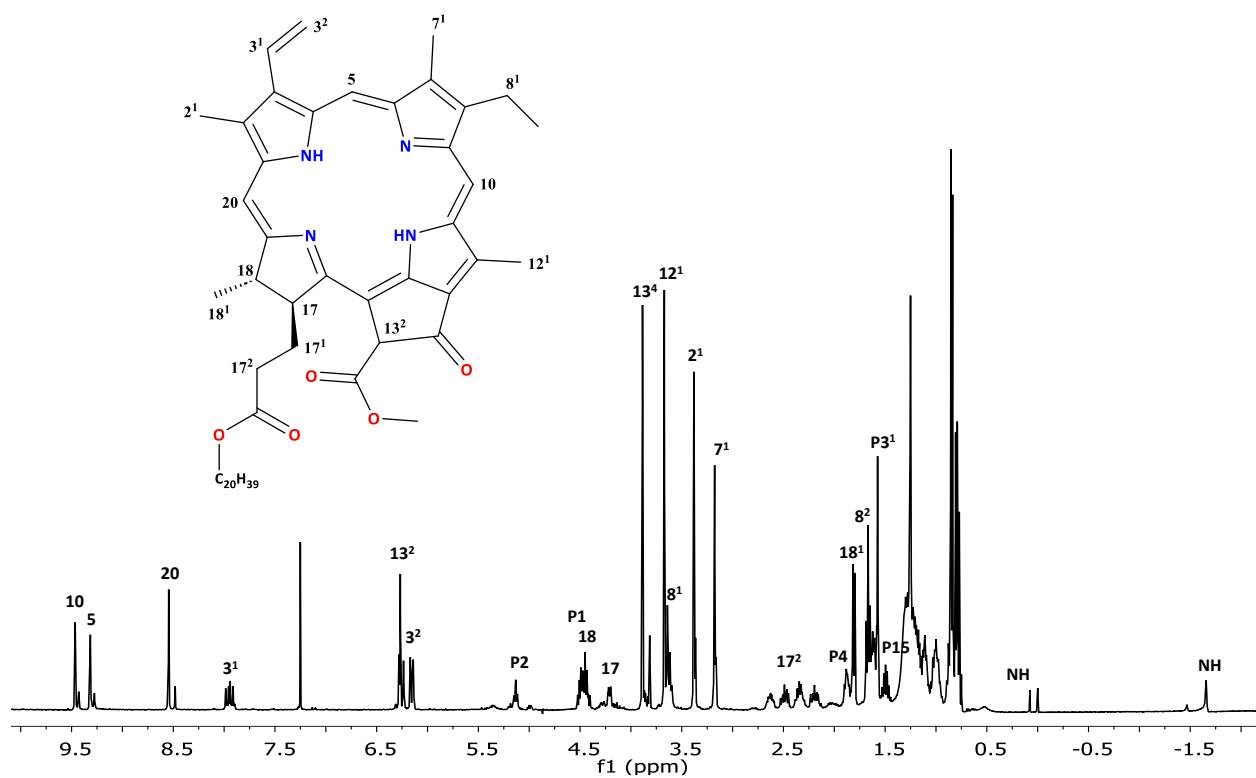


Figura 36. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 de feofitina-a (16).

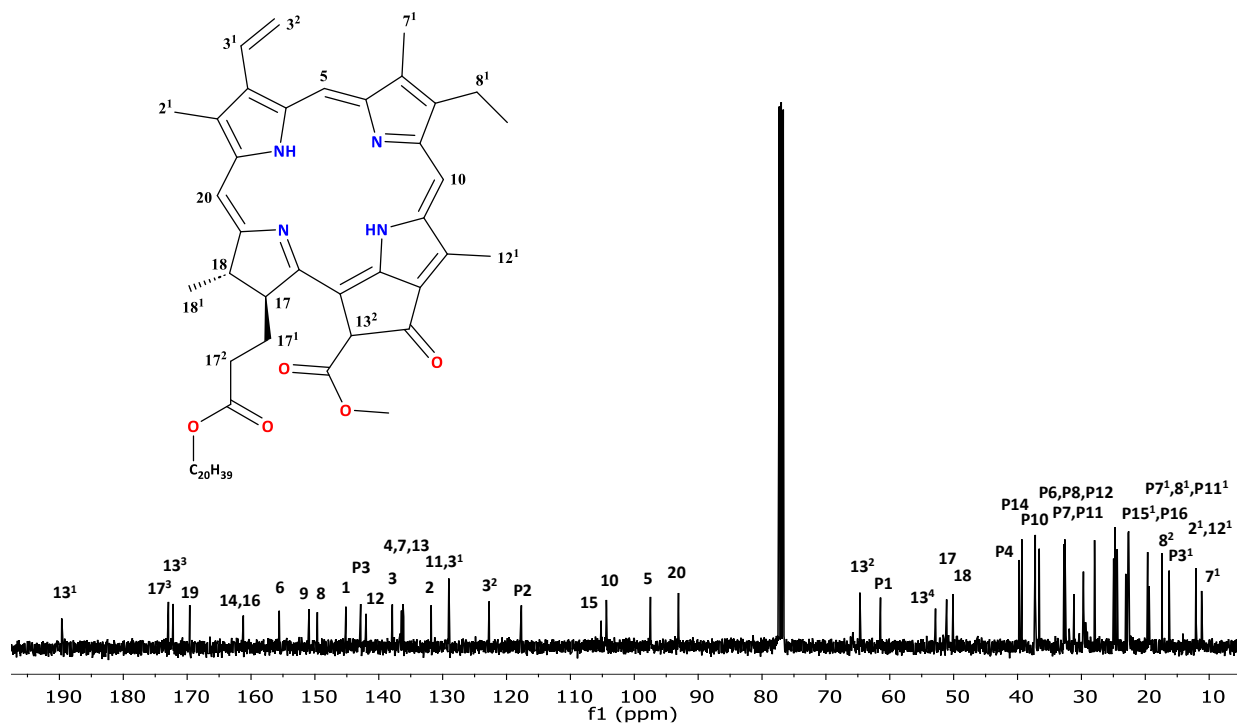


Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C en CDCl_3 de feofitina-a (16).

7.3.3.2. Identificación del ácido ceanoténico (11).

El segundo compuesto aislado eluido con una mezcla de hexano acetato de etilo (4:1), fue el ácido ceanoténico (**11**) aislado con anterioridad en los extractos en cloruro de metileno y acetato de etilo de flor.

7.3.3.3. Identificación del ácido betulínico (17).

El tercer compuesto obtenido fue el ácido betulínico (**17**), el cual presentó en su espectro de RMN de ^1H en acetona deuterada (Figura 38), la señal doble característica del doble enlace de la cadena lateral para triterpenos tipo lupano en 4.72 y 4.59 ppm (H-29), además en 3.12 ppm una señal múltiple que integra para un hidrógeno (H-3), en 3.05 ppm señal múltiple que integra para un hidrógeno (H-19); a campo alto entre 2.50 ppm y 0.80 ppm señales de hidrógenos metínicos y metilénicos. Resalta la señal en 1.70 ppm la señal simple del metilo sobre doble ligadura de la cadena lateral (CH_3 -30), así como la de cinco metilos cuaternarios en 1.02, 0.96 (2), 0.85 y 0.75 ppm. En lo que respecta a su espectro de RMN de ^{13}C (Figura 39), solamente presenta tres señales de carbono en la zona de los sp^2 , la señal del carbonilo en 177.5 (C-28), 151.6 señal del carbono del doble enlace (C-20) y en 110 ppm la señal del otro carbono del doble enlace (C-29). Referente a la zona de los carbonos sp^3 , se observan señales para 27 átomos de carbono, destacando la señal del carbono base de alcohol en 78.5 ppm (C-3); a frecuencias menores se observan el resto de las señales, todas las señales correspondieron con el tipo de carbono en su experimento DEPT, es decir, seis carbonos de metilos, once carbonos de metilenos, seis carbonos metínicos y siete carbonos cuaternarios.⁵⁵⁻⁵⁶

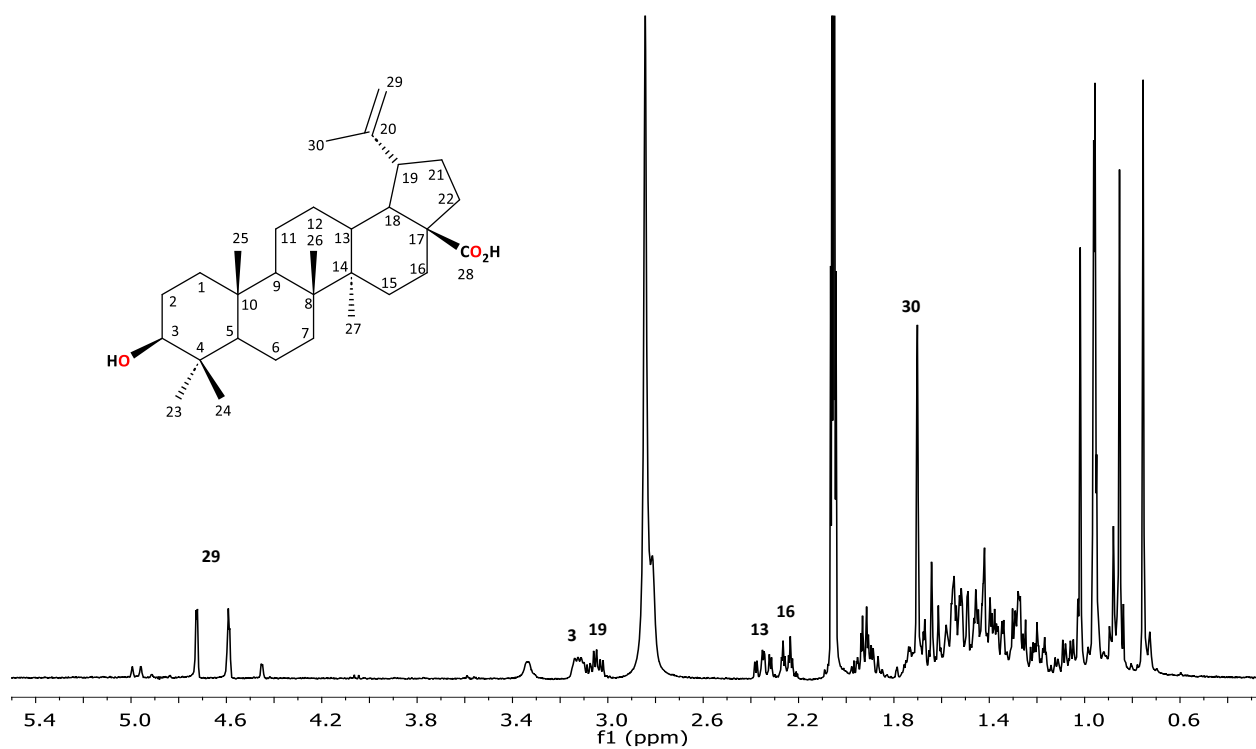


Figura 38. Espectro de RMN de ^1H en acetona deuterada del ácido betulínico (17).

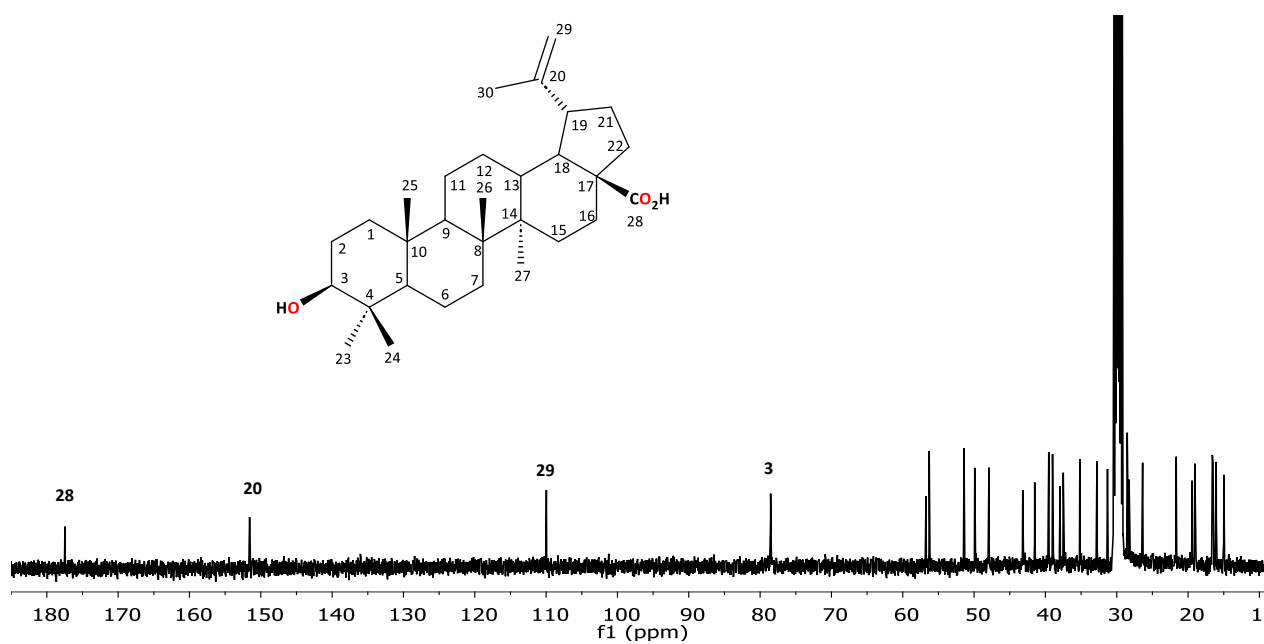


Figura 39. Espectro de RMN de ^{13}C en acetona deuterada del ácido betulínico (17).

7.3.3.4. Identificación del ácido alfitólico (12).

El siguiente compuesto aislado con una polaridad de hexano-acetato de etilo (4:1) corresponde al ácido alfitólico (**12**) aislado previamente en el extracto con cloruro de metileno de flor.

7.3.3.5. Identificación del ácido gouánico B (18).

En lo que se refiere al análisis espectroscópico del quinto compuesto eluido con una polaridad de hexano-acetato de etilo (1:1), se aisló como cristales incoloros amorfos. Este compuesto al igual que los dos compuestos anteriores (ácido ceanoténico y ácido alfitólico) tiene una gran similitud con el ácido ceanótico, pues entre ellos comparten gran parte de su funcionalidad estructural y espectroscópica. El espectro de RMN de ^1H en piridina deuterada de este compuesto que correspondió al ácido gouánico B (**18**) (Figura 40), presenta dos señales dobles que integran cada una para un hidrógeno en 6.24 y 5.81 ppm ($J = 5.9$ Hz), señales que al igual que en el ácido ceanoténico indican la presencia de un doble enlace, dos señales que integran para un hidrógeno cada una en 5.08 y 4.86 ppm que son características del doble enlace en C-20–C-29 del esqueleto pentacíclico, en 3.97 y 3.78 dos señales dobles características de un sistema AB que integran cada una para un hidrógeno (AB, $J = 10.6$ Hz), en 3.70 ppm un multiplete que integra para un hidrógeno y señal característica del protón metínico en C-19, en 3.00 ppm una señal múltiple que integra para un hidrógeno del protón en C-13, entre 2.5 y 0.70 ppm señales de protones metínicos y metilénicos, cabe destacar entre esta misma región la presencia de una señal simple que integra para tres hidrógenos en 1.95 ppm característica del metilo vinílico en C-30 y a campo alto se observan solamente tres señales simples que integran para tres protones cada una pertenecientes metilos cuaternarios en 1.09, 1.06 y 1.02 ppm.

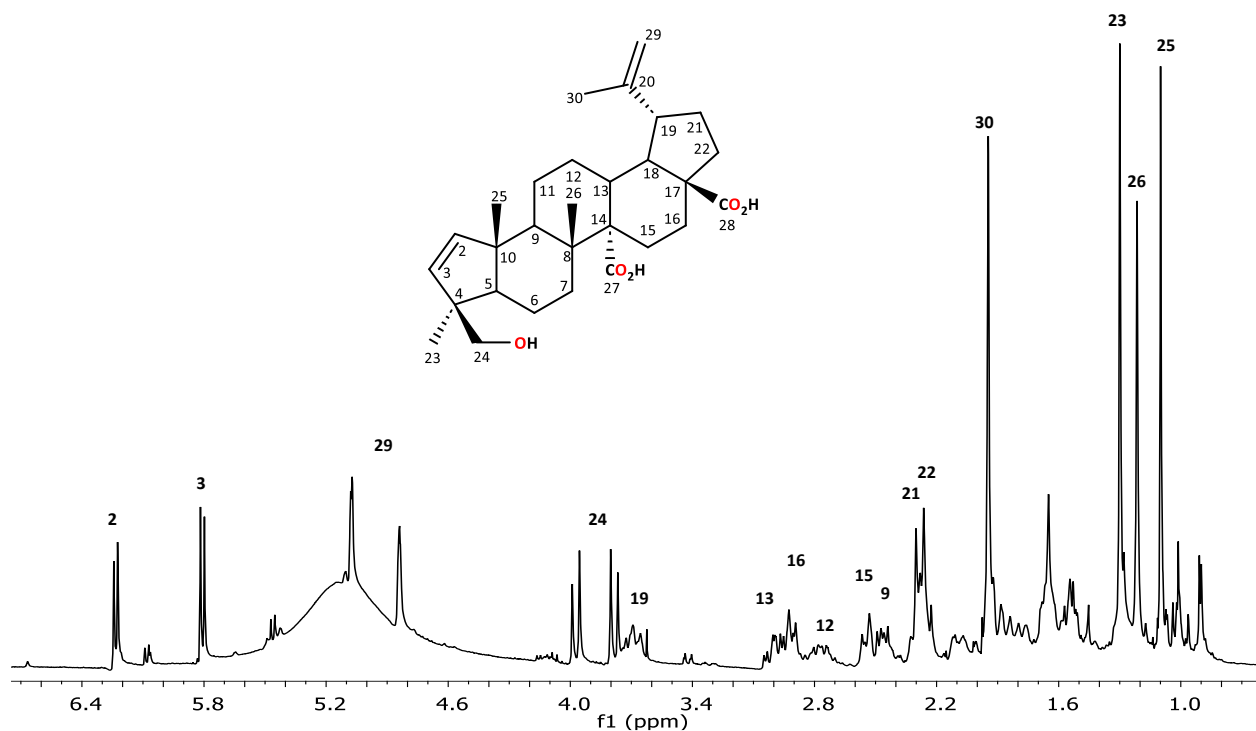


Figura 40. Espectro de RMN de ^1H en piridina deuterada del ácido gouánico B (**18**).

El espectro de RMN de ^{13}C para este compuesto (Figura 41), muestra señales para 29 átomos de carbono, 6 carbonos en la zona sp^2 y 23 carbonos en la zona sp^3 . En comparación con el ácido ceanoténico, la presencia en 3.97 y 3.78 ppm de dos señales dobles (sistema AB), además de la presencia a campo alto de cuatro señales de metilos cuaternarios (incluyendo al metilo vinílico en C-20) en lugar de cinco y la aparición de una nueva señal de carbono en la zona sp^3 en 66.7 ppm, es indicativo de la posible oxidación de uno de ellos, pues a semejanza con el ácido ceanoténico (**11**), se conserva el mismo número de carbonos (29) para el esqueleto pentacíclico.

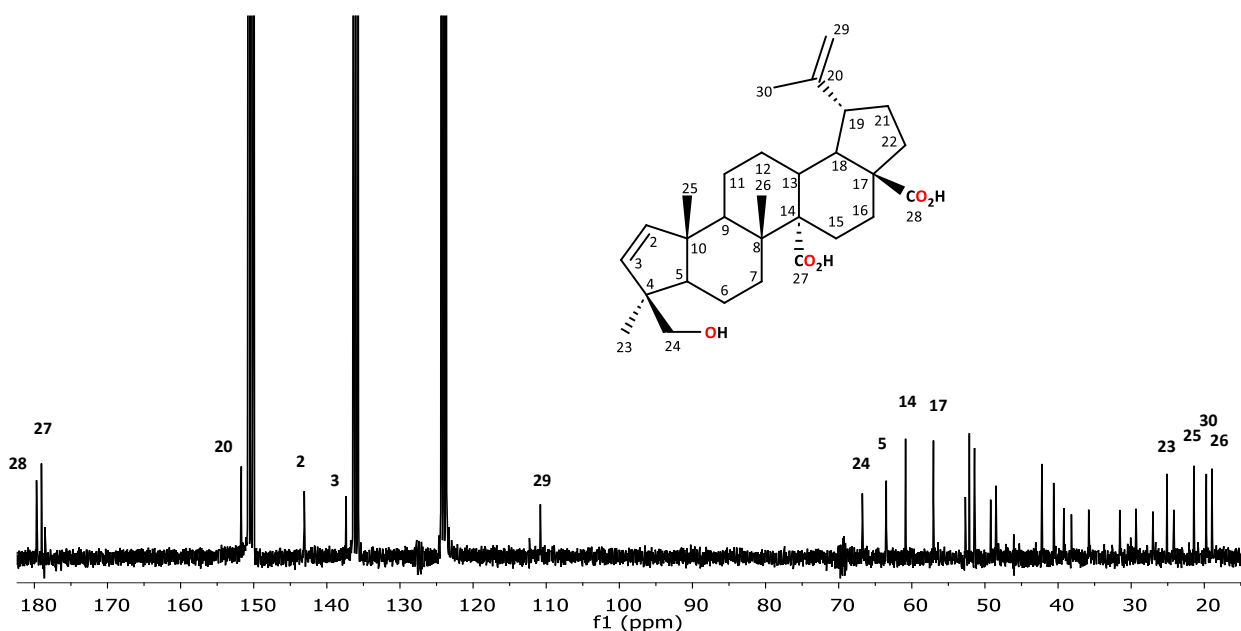


Figura 41. Espectro de RMN de ^{13}C en piridina deuterada del ácido góuanico B (**18**).

Por otro lado, en el experimento HSQC, mostró correlaciones de las señales de los protones del doble enlace del anillo A en 6.24 ppm (H-2) con la ubicada en 143.0 (C-2) y en 5.81 ppm (H-3) con la señal del carbono en 137.2 (C-3), de la misma manera los protones metilénicos del doble enlace de la cadena lateral en 5.08 y 4.86 ppm (H-29) presentan correlación con el carbono en 110.7 (C-29), la señal del metilo sobre la doble ligadura en 1.95 (H-30) correlaciona con la señal de carbono en 19.6 (C-30), la señal del protón base de la cadena lateral en 3.70 (H-19) presenta correlación con el carbono en 48.4 (C-19), la señal del sistema AB de los protones del metileno base del grupo hidroxilo ubicados en 3.97 y 3.78 (H-24) correlacionan con el carbono en 66.7 (C-24). La señal en 3.00 (H-13) correlaciona con la señal en 40.5 (C-13). En relación a las señales de los metilos terciarios estas presentan las siguientes correlaciones, la ubicada en 1.30 (H-23) presenta correlación con la señal de carbono en 25.0 (C-23), la señal del metilo en 1.09 (H-25) presenta correlación con la señal del carbono en 21.3 (C-25) y la señal en 1.21 ppm (H-26) correlaciona con la señal del carbono en 18.8 (C-26). Por otro lado, el experimento gHMBC en piridina deuterada (Figura 42), mostró las siguientes correlaciones, la señal del protón vinílico en 6.24 ppm (H-2) correlaciona con las señales de carbono en 51.3 (C-10), 52.0 (C-4), 63.4 (C-5) y 137.2 ppm (C-3). La señal del otro protón vinílico en 5.81 ppm presenta correlaciones con la señal del metilo terciario en 21.3 (C-25), con el otro metilo terciario en 25.0 (C-23), con la señal de los carbonos

cuaternarios en 51.3 (C-10), 52.0 (C-4) y 63.4 (C-5), por último, con la señal del carbono del doble enlace en 143.0 (C-2). Otras correlaciones importantes son las debidas a la que presenta la señal del grupo metileno del doble enlace de la cadena lateral en 5.08 y 4.86 ppm (H-29) que correlacionan con la señal del carbono del metilo vinílico en 19.6 (C-30) y con la señal del carbono base de la cadena lateral en 48.4 (C-19). La señal del sistema AB del grupo metileno sobre el anillo A con desplazamientos de 3.97 y 3.78 (H-24) presentan correlaciones con las siguientes señales de carbono, con la debida a la del metilo terciario en 25.0 (C-23), con las señales de los carbonos cuaternarios en 52.0 (C-4) y 63.4 (C-5) y por último con la señal del carbono del doble enlace en 137.2 (C-3). La señal del protón base de la cadena lateral ubicada en un desplazamiento químico de 3.70 (H-19), correlaciona con la señal del carbono en 31.5 (C-21) y con la señal del carbono metínico en 40.5 (C-13). La señal del protón metilénico en 2.28 y 1.53 (H-21) correlaciona con las señales del carbono cuaternario base de grupo carboxilo en 56.9 (C-17), con las señales de los carbonos metínicos en 48.4 (C-19) y 52.6 (C-18), además de correlacionar con la señal del carbono del doble enlace de la cadena lateral en 151.6 (C-20). La señal del protón metínico en 3.00 (H-13) correlaciona con la señal del carbono metínico vecino en 52.6 (C-18), correlaciona también con las señales de los carbonos cuaternarios base de grupos carboxilos en 56.9 (C-17) y 60.7 (C-14), así como con la señal del carbono del carboxilo en 178.9 (C-27). Con esta información espectroscópica y algunas correlaciones en los espectros COSY y NOESY (Figura 42), se corrobora la estructura correspondiente al ácido gouánico B (**18**) que ya se encuentra reportado.⁵⁷

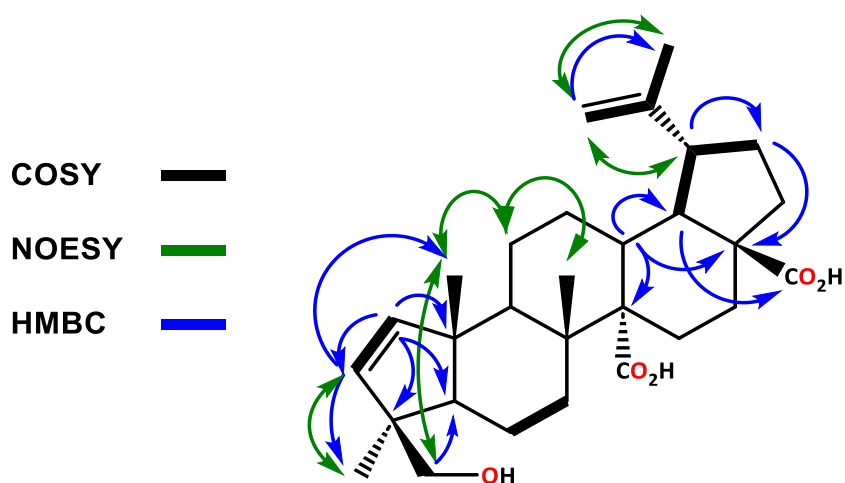


Figura 42. Correlaciones significativas de experimentos bidimensionales del ácido gouánico B (**18**).

7.3.3.6. Identificación del 3-*O*- β -D-glucopiranosido del β -sitosterol (14).

El último compuesto aislado en este extracto de hoja correspondió al 3-*O*- β -D-glucopiranosido del β -sitosterol (**14**) aislado anteriormente, el cual ahora fue eluido con acetona.

7.3.4. Análisis del extracto en acetato de etilo de hoja de *C. caeruleus*.

El extracto en acetato de etilo de la hoja mostró compuestos grasos en menor grado en relación a los extractos anteriores. En el espectro de RMN de ^1H (Figura 43), se observan señales características de compuestos aromáticos entre de 6.00 y 8.00 ppm, entre 6.75 y 5.50 ppm se observan señales de protones de dobles enlaces, señales de protones base de grupos hidroxilo entre 4.25 y 3.00 ppm, a campo más alto se observan señales pertenecientes a protones metínicos y metilénicos, metilos de acetato y por último señales de protones de grupos metilo.

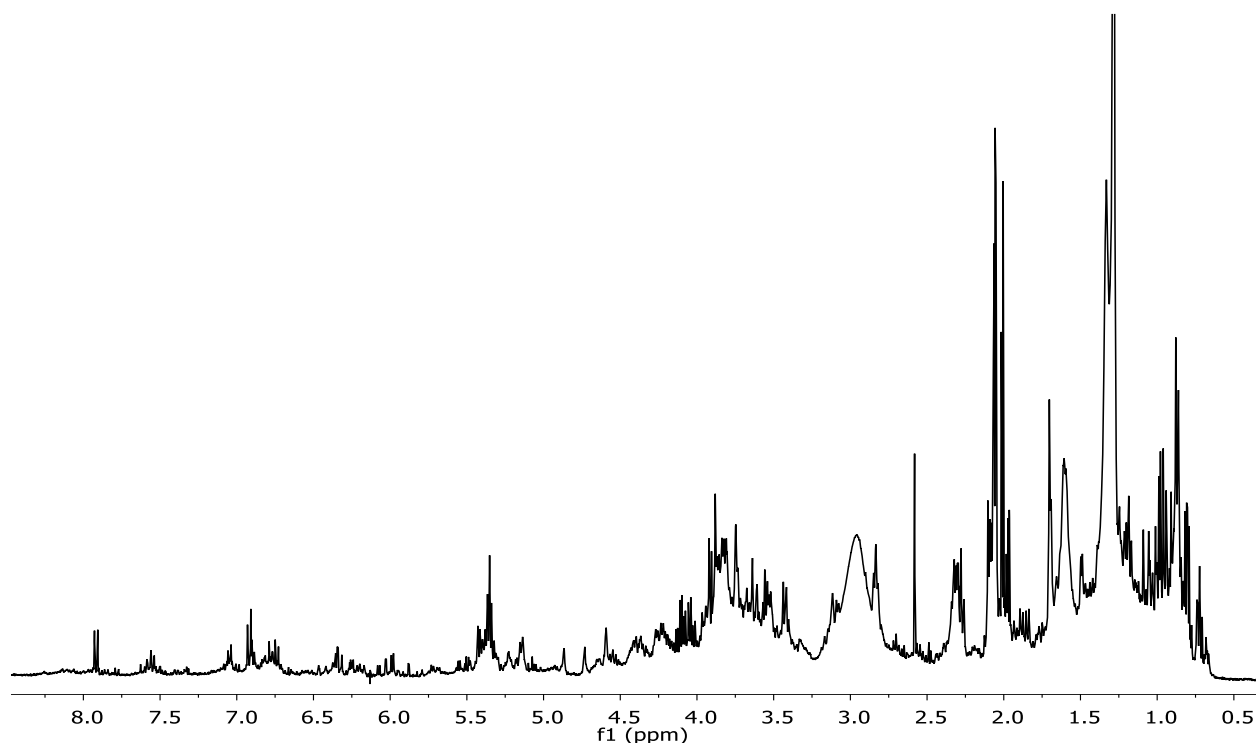


Figura 43. Espectro de RMN de ^1H en acetona deuterada del extracto en acetato de etilo de la hoja de *C. caeruleus*.

7.3.4.1. Identificación del ácido ceanoténico (11).

Referente al extracto de la hoja con acetato de etilo, el análisis espectroscópico del primer compuesto eluido con una polaridad de hexano-acetato de etilo (9:1), este correspondió al ácido ceanoténico (11), aislado previamente en los extractos anteriores de DCM y AcOEt de flor.

7.3.4.2. Identificación del acetilgouánico B (19).

En relación al análisis espectroscópico del segundo compuesto eluido con una polaridad de hexano-acetato de etilo (4:1), el cual se aisló como cristales incoloros amorfos. Este compuesto correspondió al acetilgouánico B, como tal comparten gran parte de su funcionalidad estructural y espectroscópica con el derivado no acetilado. El espectro de RMN de ^1H en piridina deuterada a 300 MHz de este compuesto (Figura 44), presenta una señal doble en 6.20 ppm (H-2, $J = 5.6$ Hz), 5.49 señal doble (H-3, $J = 5.6$ Hz), dos señales simples anchas características del grupo metileno en el esqueleto ceanotano en 5.09 y 4.84 (H-29), en 4.22 y 4.10 (H-24) dos señales dobles características de un sistema AB que cada una integra para un hidrógeno (AB, $J = 10.8$ Hz) correspondientes a H-24, en 3.68 ppm un multiplete que integra para un hidrógeno y señal característica del protón metínico en H-19, en 2.96 ppm una señal múltiple que integra para un hidrógeno del protón H-13, 2.91 y 1.93 ppm señal múltiple que integra para dos hidrógenos debida a H-16, 2.73 y 2.07 ppm señal múltiple que integra para dos hidrógenos debida a H-12, 2.52 y 1.93 ppm señal que integra para dos hidrógenos debidas a H-15, 2.29 y 1.53 ppm señal múltiple que integra para dos hidrógenos debidas a H-22, en 2.38 ppm señal múltiple que integra para un hidrógeno debida a H-9, 2.27 y 1.53 ppm señal múltiple que integra para dos hidrógenos debidas a H-21, 2.24 ppm señal múltiple que integra para un hidrógeno debida a H-18, 2.20 y 1.93 ppm señal múltiple que integra para dos hidrógenos debidas a H-7, 2.04 ppm una señal simple que integra para tres hidrógenos debida al grupo acetato sobre C-24, 1.94 ppm una señal simple que integra para tres hidrógenos debida al metilo H-30, 1.61 ppm señal múltiple que integra para dos hidrógenos debida a H-11, 1.59 y 1.49 ppm señal múltiple que integra para dos hidrógenos debida a H-6, 1.56 ppm señal múltiple que integra para un hidrógeno debida a H-5, 1.18 ppm señal simple que integra para tres hidrógenos debida a H-26, 1.04 ppm señal simple que integra

para tres hidrógenos debida a H-25, 1.02 ppm señal simple que integra para tres hidrógenos debidas a H-23.

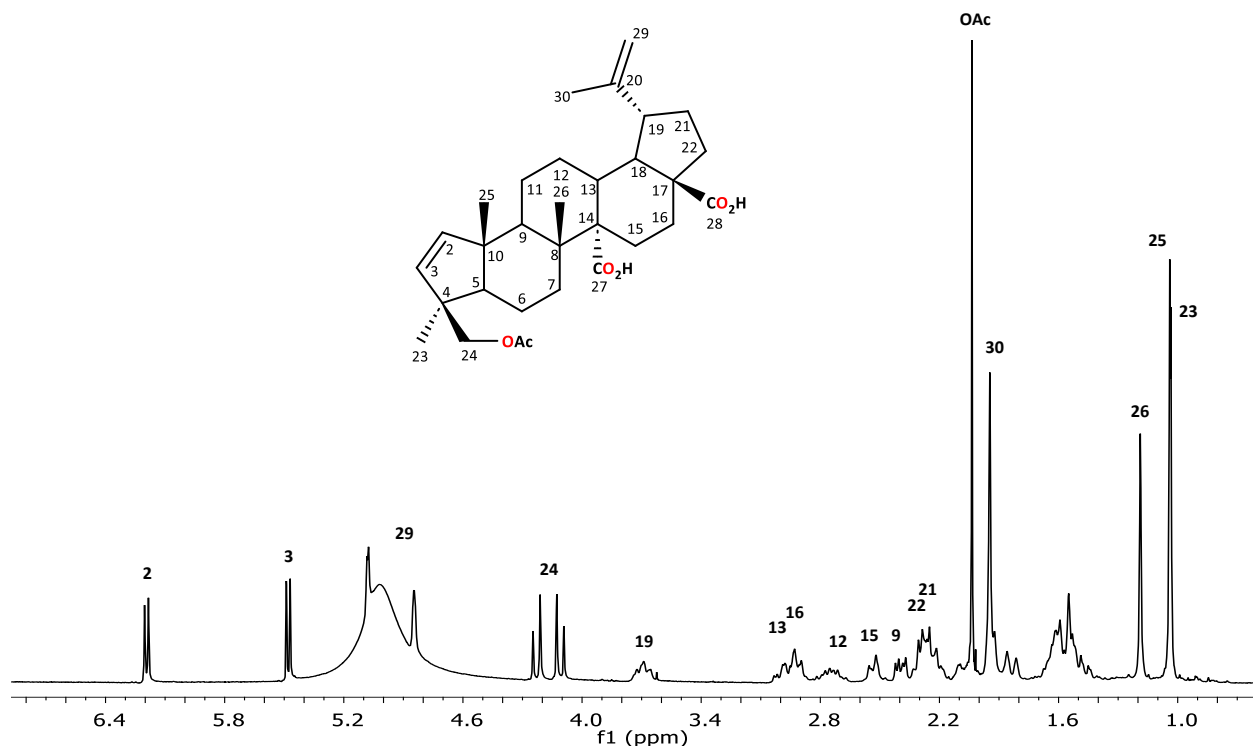


Figura 44. Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz en piridina deuterada del acetilgouánico B (**19**).

El espectro de RMN de ^{13}C en piridina deuterada a 75 MHz (Figura 45), a diferencia del ácido gouánico, este compuesto muestra señales para 31 átomos de carbono, 7 carbonos en la zona sp^2 y 24 carbonos en la zona sp^3 . Destacan en 179.6 ppm la señal del carbono de ácido carboxílico C-28, 178.9 ppm la señal del carbono C-27, mientras que la señal del carbono del nuevo grupo acetato se observa en 171.2 ppm, en esta misma región se observan las señales de los carbonos del doble enlace de la cadena lateral C-20—C-29 en 151.6 y 110.7 ppm respectivamente, mientras que las señales de los carbonos del doble enlace del anillo A C-2 y C-3 se observan en 144.3 y 135.1 ppm. Por otro lado, en la zona sp^3 , destacan las señales de los carbonos C-24 y del metilo del grupo acetato en 68.8 y 21.1 ppm respectivamente. Precisamente en comparación con el ácido gouánico B, la presencia de dos nuevas señales de carbono, una en la zona sp^2 en 171.2 ppm y otra en la zona sp^3 en 21.1 ppm, es indicativo de la acetilación del grupo hidroxilo sobre el carbono C-24 en dicho compuesto.

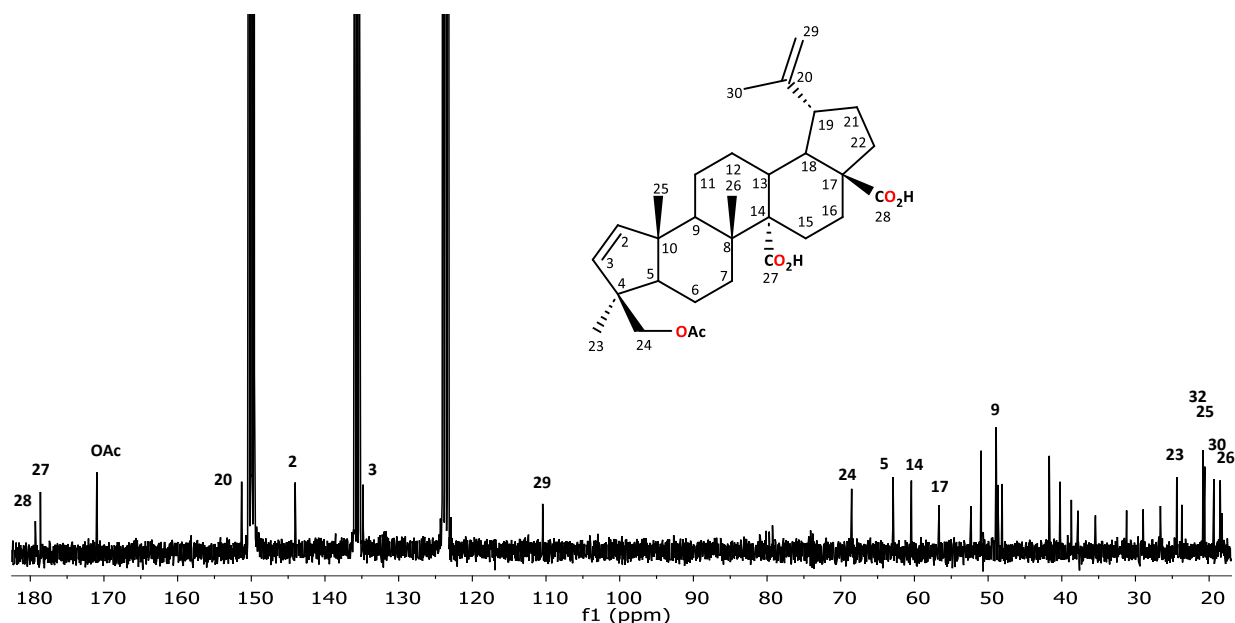


Figura 45. Espectro de RMN de ^{13}C a 75 MHz en piridina deuterada del acetilgouánico B (**19**).

En cuanto al experimento HSQC, se observó correlación de las señales de los protones del doble enlace del anillo A en 6.20 ppm (H-2) con la ubicada en 144.3 (C-2), 5.49 (H-3) con 135.1 (C-3), de la misma manera los protones metilénicos del doble enlace de la cadena lateral en 5.09 y 4.84 (H-29) presentan correlación con el carbono en 110.7 (C-29), la señal del sistema AB de los protones del metileno base del grupo acetato ubicados en 4.22 y 4.10 (H-24) correlacionan con el carbono en 68.8 (C-24). La señal en 3.68 (H-19) correlaciona con la señal en 48.3 (C-19), la señal en 2.96 (H-13) correlaciona con la señal en 40.5 (C-13) y la ubicada en 1.94 (H-30) presenta correlación con la señal de carbono en 19.6 (C-30), principalmente.

En el experimento HMBC en piridina deuterada, mostró las siguientes correlaciones, la señal del protón vinílico en 6.20 ppm (H-2) correlaciona con las señales del carbono cuaternario ubicada en 51.25 (C-10), 49.2 (C-4), 63.2 (C-5) y 135.1 (C-3). La señal del otro protón vinílico en 5.49 (H-3) presenta correlaciones con la señal del metilo terciario en 20.8 (C-25), con el otro metilo terciario en 24.6 (C-23), con la señal de los carbonos cuaternarios en 51.2 (C-10), 49.2 (C-4) y 63.2 (C-5), por último, con la señal del carbono del doble enlace en 144.3 (C-2). Otras correlaciones importantes son las debidas a la que presenta la señal del grupo metileno del doble enlace de la cadena lateral en 5.09 ppm y 4.84 (H-29) que correlacionan con la señal del carbono del metilo

vinílico en 19.6 (C-30) y con la señal del carbono base de la cadena lateral en 48.3 (C-19). La señal del sistema AB del grupo metileno sobre el anillo A con desplazamientos de 4.22 y 4.10 (H-24) presentan correlaciones con las siguientes señales de carbono, con la debida a la del metilo terciario en 24.6 (C-23), 49.2 (C-4), 63.2 (C-5), 135.1 (C-3) y por último con la señal del carbono del carbonilo del acetato en 171.2 (C-31). La señal del protón metínico en 2.96 (H-13) correlaciona con la señal del carbono metínico vecino en 52.6 (C-18), correlaciona también con las señales de los carbonos cuaternarios base de grupos carboxilos en 56.9 (C-17) y 60.7 (C-14), así como con la señal del carbono del carboxilo en 178.9 (C-27). El otro protón metínico ubicado en 2.24 (H-18) correlaciona con las señales de los carbonos en 48.3 (C-19) base de la cadena lateral, con las señales de los carbonos base de los grupos carboxilos en 56.9 (C-17) y 60.7 (C-14), y por último con la señal del carbonilo en 179.6 (C-28). Con esta información espectroscópica y algunas correlaciones observadas en los espectros COSY, NOESY (Figura 46); se corrobora la estructura correspondiente al acetilgouánico B, el cual aún no se encuentra reportado.

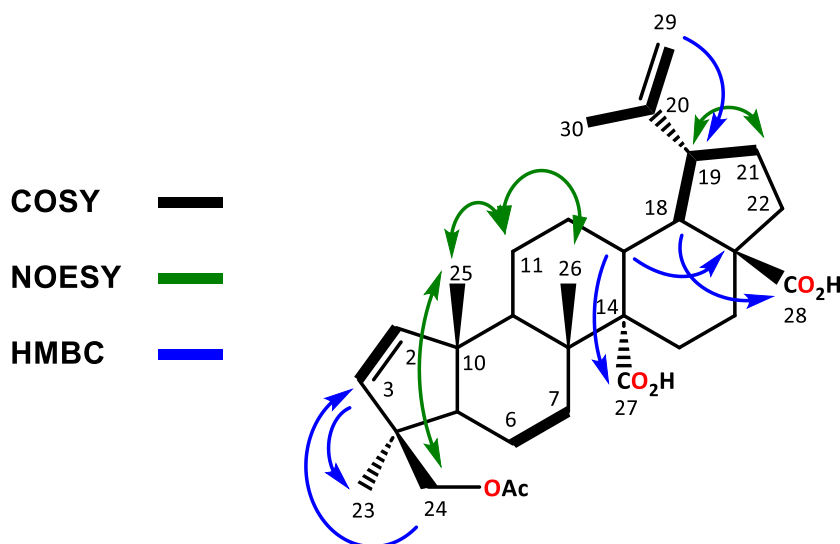


Figura 46. Correlaciones significativas de experimentos 2D del acetilgouánico B (**19**).

7.3.4.3. Identificación del 3-*O*- β -D-glucopiranosido del β -sitosterol (**14**).

El tercer compuesto aislado en este extracto de hoja correspondió al 3-*O*- β -D-glucopiranosido del β -sitosterol (**14**) aislado anteriormente, eluido con acetato de etilo.

7.3.5. Análisis del extracto en cloruro de metileno de la raíz de *C. caeruleus*.

El extracto en cloruro de metileno de la raíz de *C. caeruleus* mostró una gran abundancia de compuestos. En el espectro de RMN de ^1H (Figura 47), se observan pocas, pero ahora bien definidas algunas señales características de compuestos aromáticos entre de 6.75 y 7.50 ppm, entre 6.75 y 5.50 ppm se observan pocas señales de protones de dobles enlaces, señales débiles de protones base de grupos hidroxilo entre 4.25 y 3.00 ppm, a frecuencias menores se observan las características señales pertenecientes a protones metínicos y metilénicos, y por último señales de protones de grupos metilo.

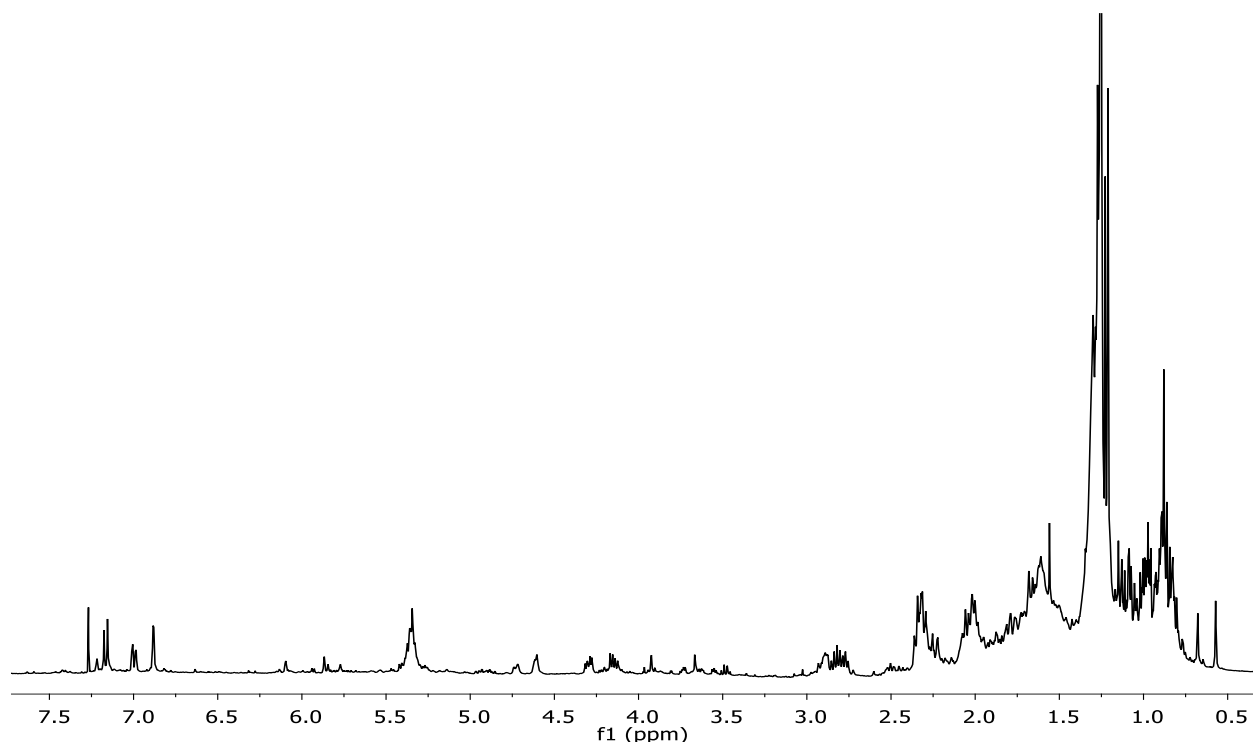


Figura 47. Espectro de RMN de ^1H a 440 MHz en CDCl_3 del extracto en CH_2Cl_2 de la raíz de *C. caeruleus*.

7.3.5.1. Identificación del ácido dehidroabiético (20).

En relación al extracto de la raíz con cloruro de metileno, el análisis espectroscópico del primer compuesto eluido con una polaridad de hexano-acetato de etilo (9:1), correspondió al ácido dehidroabiético (**20**). El espectro de RMN de ^1H (Figura 48), muestra señales de aromáticos en

7.16 ppm una señal doble (H-11, $J = 8.2$ Hz), 6.99 señal doble de dobles (H-12, $J = 8.2, 1.8$ Hz), 6.88 una señal doble (H-14, 1.8 Hz). A frecuencias menores se observa una señal múltiple en 2.89 (H-7), 2.82 una señal múltiple (H-15), entre 2.24 y 1.4 ppm señales de metilenos, en 1.28 ppm una señal simple (H-19), en 1.22 una señal doble (H-16, H-17, $J = 7$ Hz) y por último en aproximadamente 1.21 ppm una señal simple correspondiente a metilo (traslapado, H-20).

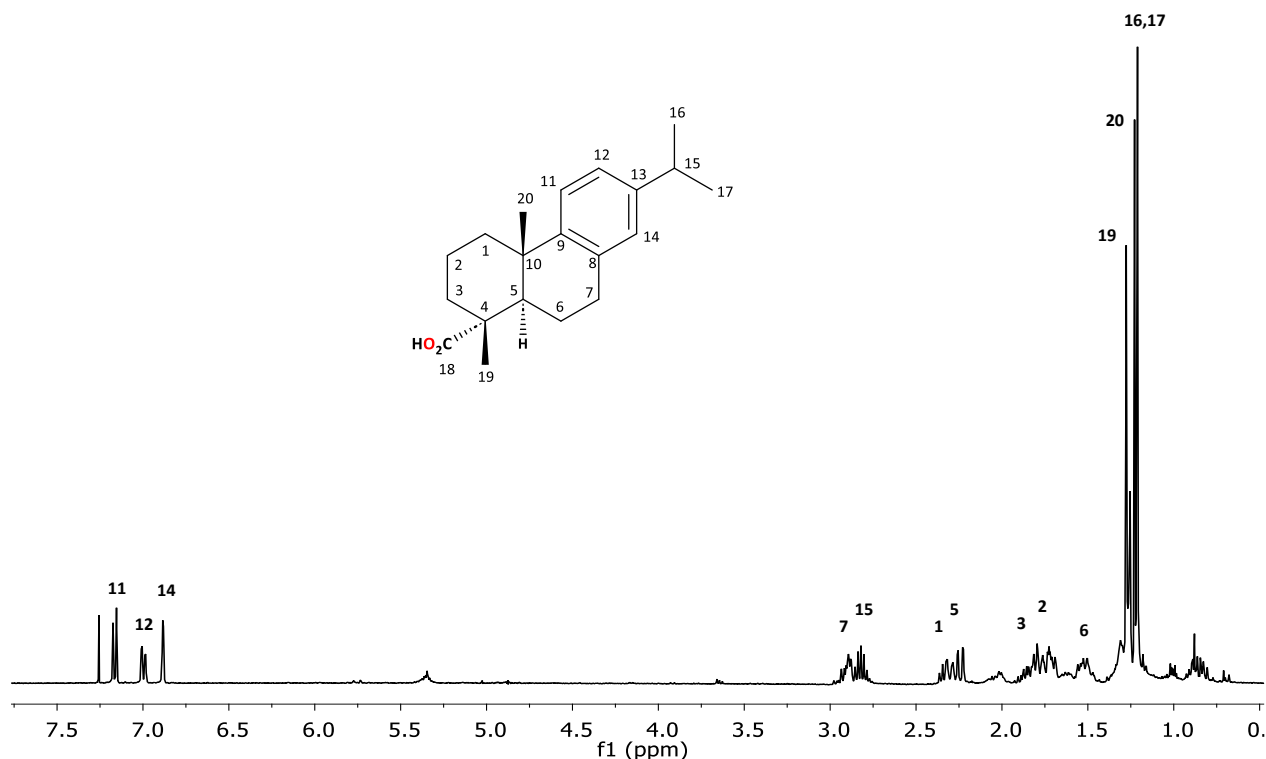


Figura 48. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 del ácido dehidroabiético (**20**).

El espectro de RMN de ^{13}C (Figura 49), muestra un total de 20 señales, en la zona correspondiente a los carbonos sp^2 , una en 184.6 ppm de carbonilo de ácido carboxílico, hay la presencia de seis señales que corresponden a carbonos aromáticos, de los cuales mediante el experimento DEPT tres carbonos son cuaternarios y tres son carbonos metínicos. A frecuencias menores, región sp^3 , el espectro muestra las trece señales restantes, dos carbonos cuaternarios, cinco carbonos de metilenos y cuatro corresponden a metilos. Al completarse la asignación de las señales mediante el experimento HETCOR indican que corresponde al ácido dehidroabiético.⁵⁸

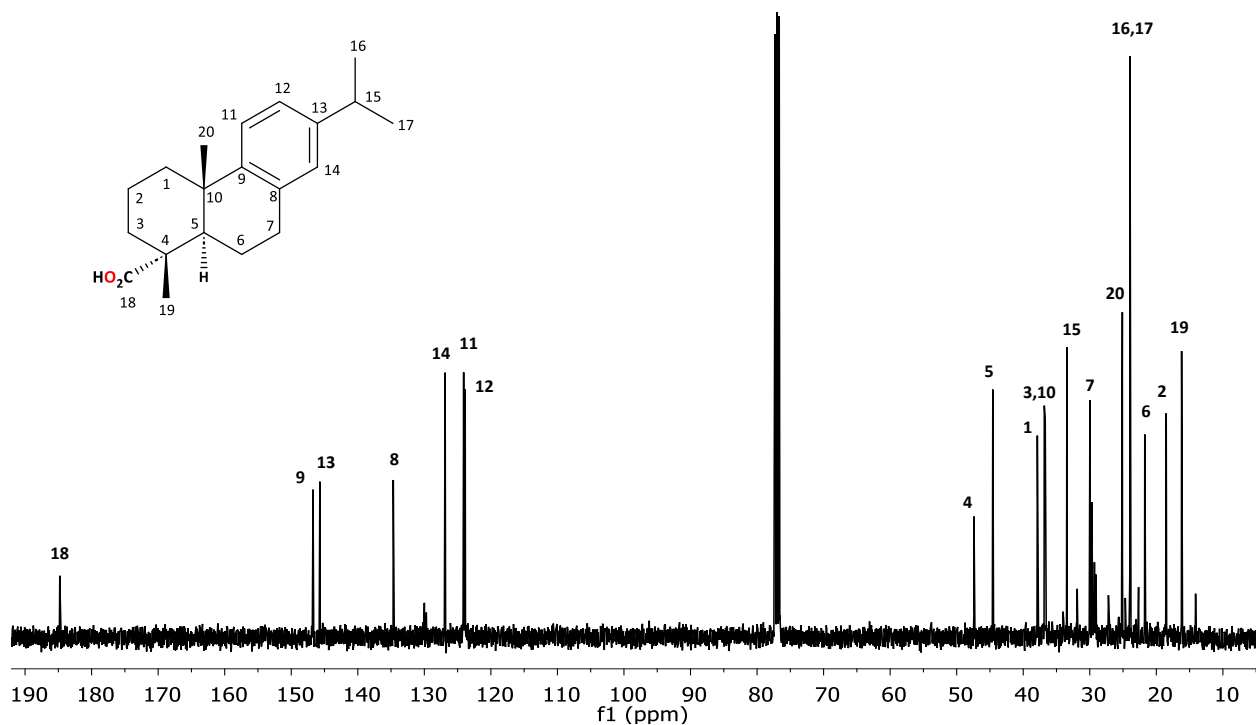


Figura 49. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 del ácido dehidroabiético (**20**).

7.3.5.2. Identificación del ácido ceanoténico (**11**).

El segundo compuesto eluido con una polaridad de hexano-acetato de etilo (9:1), correspondió al ácido ceanoténico (**11**), se obtuvo en rendimientos muy bajos a nivel de trazas y aislado previamente en extractos anteriores.

7.3.5.3. Identificación del ácido ceanótico (**21**).

El tercer compuesto eluido con una polaridad de hexano-acetato de etilo (7:3), correspondió al ácido ceanótico (**21**), se obtuvo en rendimientos muy bajos a nivel de trazas. Su caracterización completa se realizó mediante el aislamiento en el siguiente extracto.

7.3.6. Análisis del extracto en acetato de etilo de la raíz de *C. caeruleus*.

El extracto en acetato de etilo de la raíz de *C. caeruleus*, analizando el espectro del extracto crudo con AcOEt de raíz, en el espectro de RMN de ^1H (Figura 50), se observó menor abundancia de compuestos grasos, trazas del ácido dehidroabiético, pero además, señales entre 5.00 y 4.50 ppm

correspondientes a protones de doble enlaces, protones base de oxígeno, a campo alto se observan aproximadamente 3.00 y 1.00 ppm se observan señales de probables protones metínicos o metilénicos y por último señales de metilos en 1.60 y 1.70 ppm de metilo vinílico y alrededor de 1.00 ppm se observan señales de metilo.

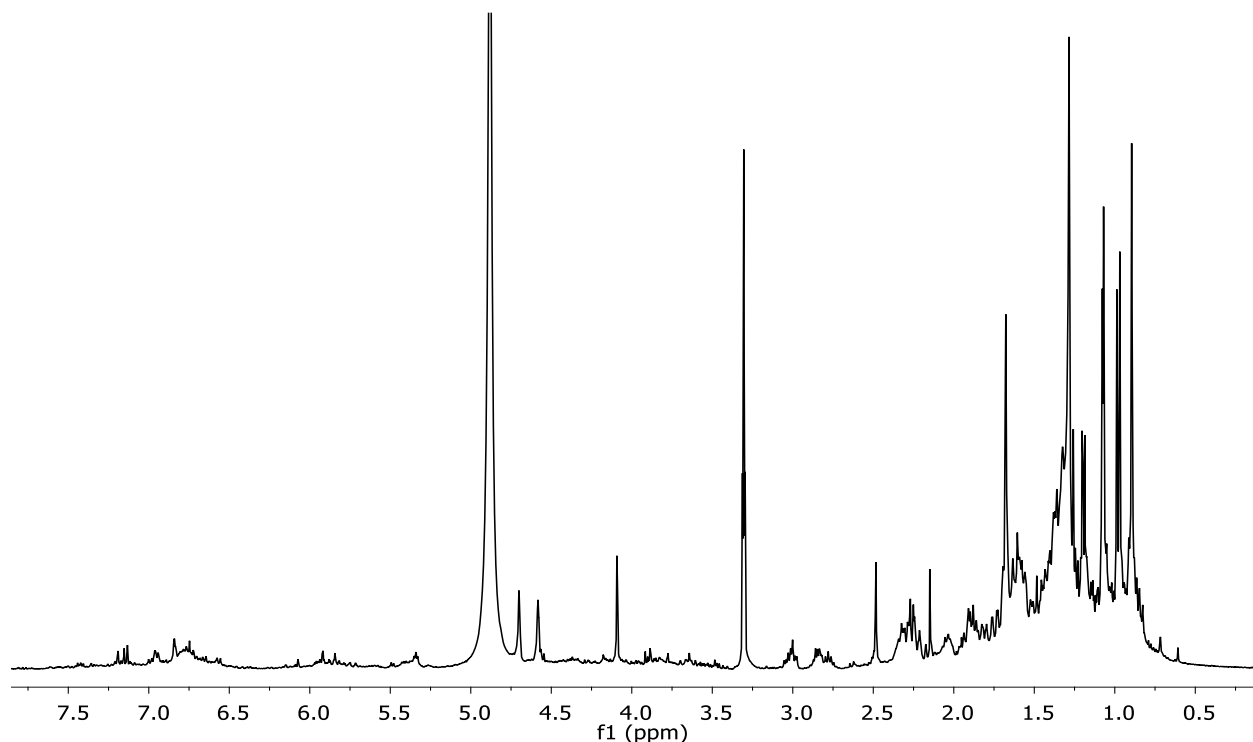


Figura 50. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en metanol deuterado del extracto en acetato de etilo de la raíz de *C. caeruleus*.

7.3.6.1. Identificación del ácido ceanótico (**21**).

Por lo anterior, se decidió someter a separación por cromatografía en columna el extracto de raíz en acetato de etilo, empleando como eluyente hexano-acetato de etilo (7:3) se obtuvo el primer compuesto como un sólido amorfo e incoloro que correspondió al ácido ceanótico (**21**). El espectro de RMN de ^1H (Figura 51), se observan dos señales simples que integran para un hidrógeno cada una en 4.72 y 4.59 ppm (H-29), en 4.15 señal simple que integra para un hidrógeno (H-3), a frecuencias menores se observa en 3.04 una señal múltiple que integra para un hidrógeno (H-19), en 2.53 señal simple que integra para un hidrógeno (H-2), en 2.33 señal múltiple que integra para un hidrógeno (H-13), en 1.69 señal simple que integra para tres

hidrógenos (H-30), entre 1.66-1.52 señales de dos CH y un CH₂, entre 1.52 y 1.0 señales de CH₂, en 1.69, 1.11, 1.08, 0.98, 0.97 y 0.92 ppm cinco señales simples que integran para tres hidrógenos cada uno correspondientes a metilos sobre carbonos cuaternarios (H-25, H-23, H-27, H-26 y H-24, respectivamente).

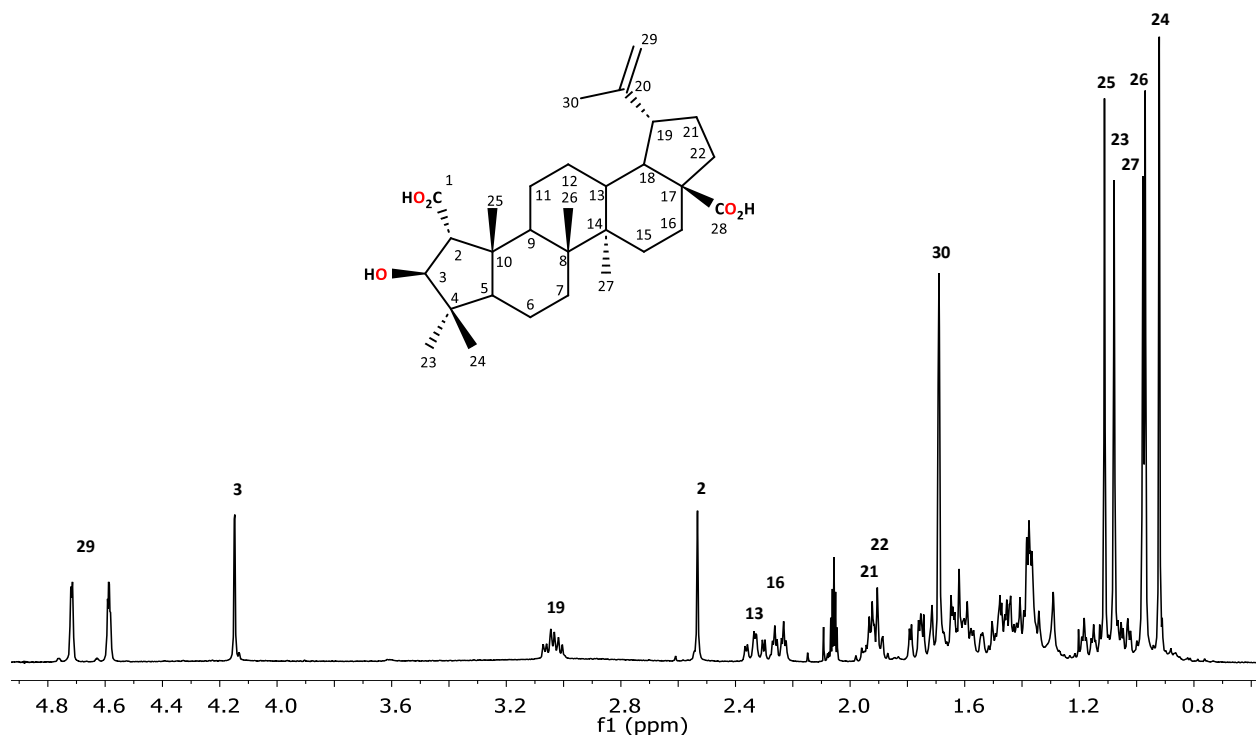


Figura 51. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz en acetona deuterada del ácido ceanótico (**21**).

En cuanto al espectro RMN de ¹³C (Figura 52), se observa un total de 30 señales, cuatro carbonos aparecen en la zona *sp*² y 26 carbonos en la zona *sp*³, se observan dos carbonos correspondientes a señales de carbonilo en 177.5 y 176.4 ppm. El experimento DEPT mostró señales para ocho átomos de carbonos cuaternarios, siete átomos de carbonos metínicos, nueve átomos de carbonos metilénicos y por último seis señales para átomos de carbonos de metilos.

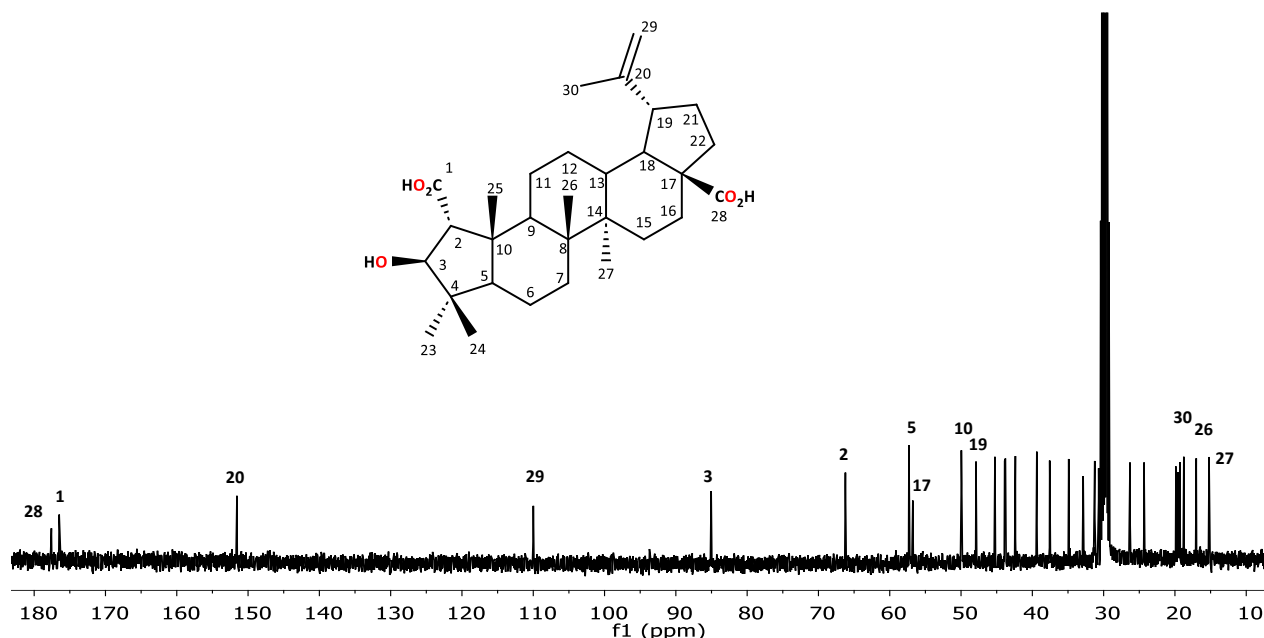


Figura 52. Espectro de RMN de ^{13}C a 400 MHz en acetona deuterada del ácido ceanótico (**21**).

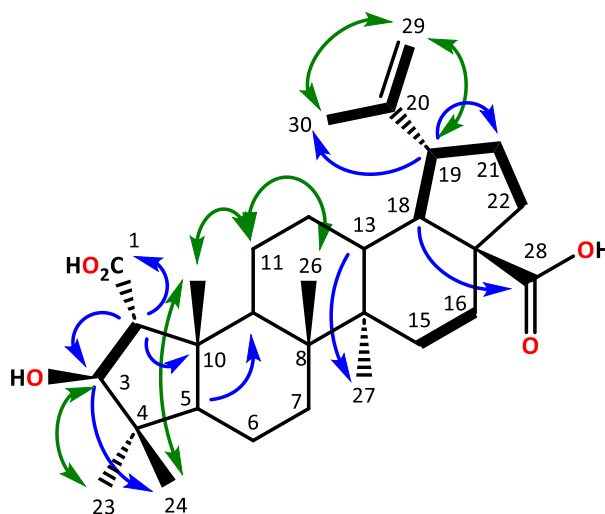
En cuanto al experimento HSQC, se observó correlación de las señales de los protones metilénicos del doble enlace de la cadena lateral en 4.72 y 4.59 ppm (H-29) con la señal de carbono en 109.9 (C-29), señal simple en 4.10 (H-3) con la señal en 84.9 (C-3), la señal múltiple en 3.03 (H-19) con la señal en 47.9 (C-19), la otra señal simple en 2.53 (H-2) con la señal en 66.1 (C-2), la señal en 2.34 (H-13) con la señal en 39.3 (C-13), la señal en 2.24 (H-16) con 32.8 (H-16). A frecuencias menores, la señal simple del metilo en 1.69 (H-30) correlaciona con la señal en 19.5 (C-30), la señal en 1.11 (H-25) con la señal en 18.7 (C-25), 1.08 (H-23) correlaciona con la señal en 31.2 (C-23), 0.98 (H-27) con la señal en 15.1 (C-27), la señal en 0.97 (H-26) con la señal en 17.0 (H-26) y por último la señal en 0.92 ppm (H-24) correlaciona con la señal en 19.8 (C-24).

En el experimento gHMBC en acetona deuterada, mostró las siguientes correlaciones, la señal del doble enlace en 4.72 y 4.59 ppm (H-29) correlaciona con la del metilo sobre el doble enlace ubicada en 19.5 ppm (C-29), con 47.9 (C-19) y con la señal del carbono cuaternario en 151.6 (C-20). La señal simple en 4.14 (H-3) correlaciona con la señal del metilo en 19.8 (C-24), con la señal ubicada en 31.2 (C-23), con la señal del carbono cuaternario en 43.8 (C-4), con la en 57.3 señal (C-5) y con la señal en 176.6 (C-1). La otra señal simple ubicada en 2.53 (H-2) correlaciona con las señales en 18.7 C-25), 43.8 (C-4), 49.8 (C-10), 57.3 (C-5), 84.9 (C-3) y con la señal de carbono en

COSY

NOESY

HMBC



El ácido ceanótico (**21**) fue reportado por primera vez de la raíz de *Ceanothus americanus* por Julian y col. (1938), lo cual fue confirmado por De Mayo y col. (1961) y Mechoulam y col. (1962). También de otras ramnáceas, de *Colubrina granulosa* por Roitman y col. (1978) y de *Paliurus ramosissimus* por Lee y col. (1991, 1992).⁵⁹⁻⁶⁵

7.3.6.2. Identificación del ácido ceanoténico (11), 3-O- β -D-glucopiranosido del β -sitosterol (14) y ácido dehidroabiético (20).

El ácido ceanoténico (11) y el 3-O- β -D-glucopiranosido del β -sitosterol (14) se aislaron previamente en los extractos de flor y hoja, pero en el extracto en acetato de etilo de raíz se aislaron en menor rendimiento. Mientras que el ácido dehidroabiético (20) se aisló en buenos rendimientos en el extracto de DCM y en muy bajos rendimientos en el extracto de la raíz en acetato de etilo.

7.3.7. Análisis del extracto en cloruro de metileno del tallo de *C. caeruleus*.

El extracto en cloruro de metileno de la raíz de *C. caeruleus* presentó bajos rendimientos, consecuentemente los rendimientos de los compuestos aislados en dichos extractos, es de esperarse que también sean bajos. Analizando el espectro del extracto crudo, en el espectro de RMN de ^1H (Figura 54), se observó en mayor abundancia de compuestos grasos, además, señales de compuestos aromáticos, señales correspondientes a protones de doble enlaces, protones base de oxígeno, a campo alto se observan señales de probables protones metínicos o metilénicos y por último señales de metilos.

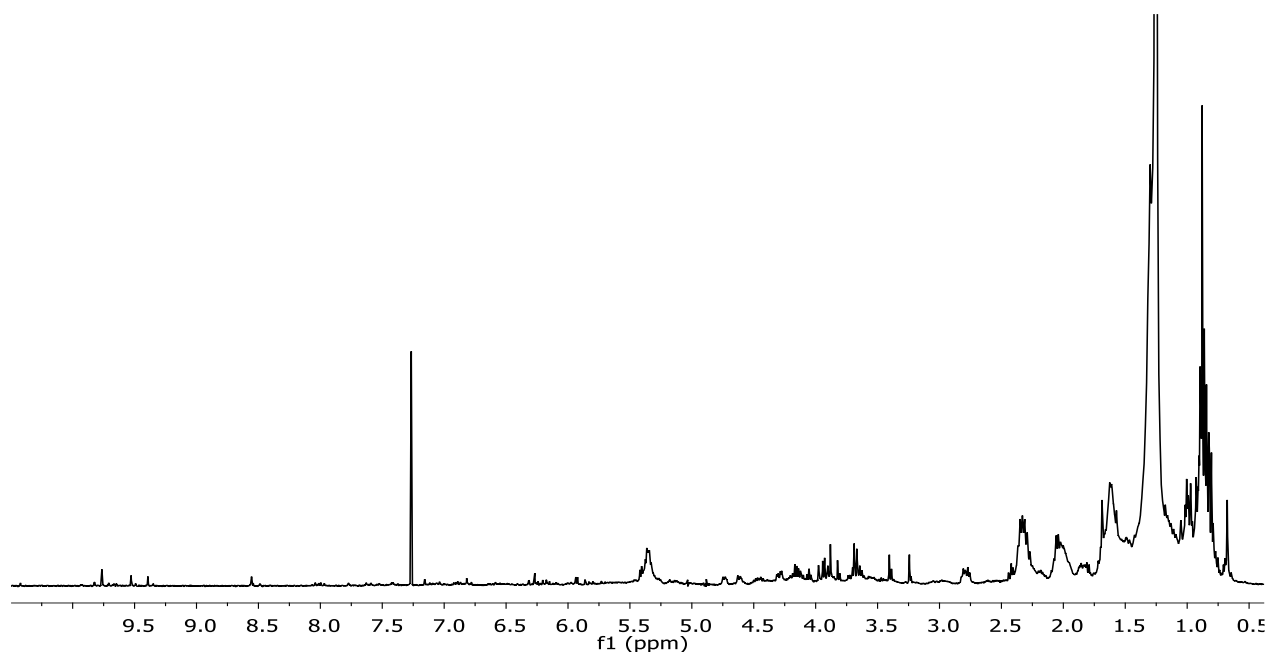


Figura 54. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en cloroformo deuterado del extracto en cloruro de metileno del tallo de *C. caeruleus*.

7.3.7.1. Identificación del ácido ceanoténico (11).

El primer compuesto eluido con una polaridad de hexano-acetato de etilo (9:1), correspondió al ácido ceanoténico (**11**), los datos espectroscópicos corresponden al compuesto aislado previamente en extractos anteriores.

7.3.7.2. Identificación del ácido ceanótico (21).

El segundo compuesto aislado con una polaridad de hexano-acetato de etilo (7:3), correspondió al ácido ceanótico (**21**), aislado previamente en extractos anteriores.

7.3.7.3. Identificación del ácido alfitólico (12).

El tercer compuesto aislado con una polaridad de hexano-acetato de etilo (7:3), correspondió al ácido alfitólico (**12**), aislado previamente en extractos anteriores.

7.3.7.4. Identificación del ácido gouánico (18).

El siguiente compuesto aislado de este extracto con una polaridad de hexano-acetato de etilo (7:3) fue el ácido gouánico (**18**), aislado previamente en el extracto de acetato de etilo de hoja.

7.3.7.5. Identificación del 3-*O*- β -D-glucopiranosido del β -sitosterol (14).

El último compuesto aislado de este extracto fue el 3-*O*- β -D-glucopiranosido del β -sitosterol (**14**), dicho compuesto fue eluido con acetato de etilo y sus datos espectroscópicos corresponden con este compuesto aislado previamente en los extractos anteriores de flor, hoja y raíz.

7.3.7.6. Análisis del extracto en acetato de etilo del tallo de *C. caeruleus*.

Al igual que el extracto en anterior, el extracto en acetato de etilo de la raíz de *C. caeruleus* presentó bajos rendimientos, de la misma forma los rendimientos de los compuestos aislados son muy bajos. Analizando el espectro de RMN de ^1H (Figura 55), se observó en mayor abundancia de compuestos grasos, además, señales muy débiles de compuestos aromáticos, señales

correspondientes a protones de doble enlaces, en mayor abundancia se observan protones base de oxígeno, a campo alto se observan las características señales de probables protones metínicos o metilénicos y por último señales de metilos. En este extracto sólo se aislaron dos compuestos.

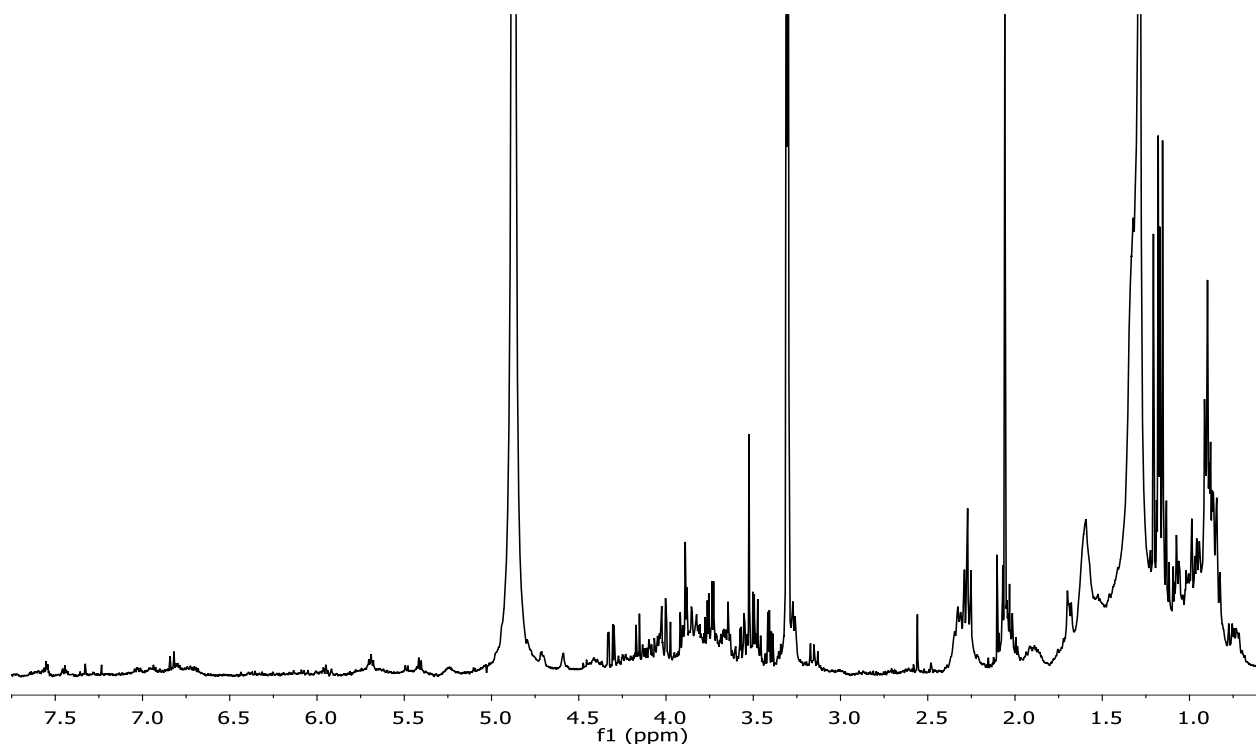


Figura 55. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz en metanol deuterado del extracto en acetato de etilo del tallo de *C. caeruleus*.

7.3.8. Identificación del ácido ceanoténico (11).

El primer compuesto eluido con una polaridad de hexano-acetato de etilo (7:3), correspondió al ácido ceanoténico (**11**), previamente aislado en todos los extractos de esta planta.

7.3.8.1. Identificación del 3-*O*- β -D-glucopiranosido del β -sitosterol (14).

El último compuesto aislado fue el 3-*O*- β -D-glucopiranosido del β -sitosterol (**14**), nuevamente eluido con acetato de etilo, aislado previamente.

7.4 Obtención de derivados del ácido gouánico B (18) y del acetilgouánico B (19).

El aislamiento de compuestos triterpénicos y la obtención de sus derivados semisintéticos es importante, debido a que complementan el estudio los metabolitos secundarios en plantas. La síntesis de este tipo de compuestos se ha realizado, por ejemplo, la síntesis del lupeol por Surendra y Corey en el 2009.³⁷ Estudios de RMN sobre la cadena lateral de este mismo compuesto se han llevado a cabo.³⁶ Y más recientemente, la síntesis y determinación de la configuración absoluta de 19,20-Epoxilupanos por dicroísmo circular vibracional.³⁵ En este sentido (Figura 67), se propone la preparación de derivados tipo A-*nor*-lupano, es decir, derivados del ácido gouánico B y del acetilgouánico B, estos ácidos triterpénicos han sido aislados de las diferentes partes de *C. caeruleus*. Adicionalmente, los compuestos triterpénicos con un grupo carboxílico en la posición C-28 son difíciles de modificar debido al impedimento estérico. Se ha reportado que la fracción del grupo carbonilo es esencial para una mejor actividad antitumoral y se ha demostrado que los ésteres de cadena pequeña aumentan la citotoxicidad. En consecuencia, incluso modificaciones “simples”, como la metilación y la acetilación, pueden mejorar significativamente la actividad biológica de los productos naturales.⁶⁷ Por lo tanto, basándose en la estructura de estos compuestos, se realizaron reacciones de protección de los grupos carboxilos, los compuestos se hicieron reaccionar con diazometano para obtener el diéster dimetilado correspondientes y una acetilación.

7.4.1. Obtención del derivado dimetilgouanato B (22).

En la preparación de derivados, el ácido gouánico B (**18**) se trató con diazometano para obtener un derivado diesterificado. El crudo de reacción se sometió a separación por cromatografía en columna con hexano-acetato de etilo (9:1) como fase móvil. El espectro de RMN de ¹H del derivado dimetil gouánato B (**22**), (Figura 56), muestra en 6.09 y 5.44 ppm las dos señales dobles debidas (H-2 y H-3), 4.75 y 4.64 la señal doble (H-29), 3.69 y 3.67 ppm dos señales simples e intensas que integran para tres hidrógenos cada una en debidas a los metoxilos en C-27 y C-28, 3.56 un sistema AB (H-24), 3.03 señal múltiple (H-19). A frecuencias menores se observan las señales restantes, 1.69 señal simple (H-30) y las señales simples de los tres metilos restantes en 1.11, 1.01 y 0.99 ppm (H-23, H-26 y H-25 respectivamente).

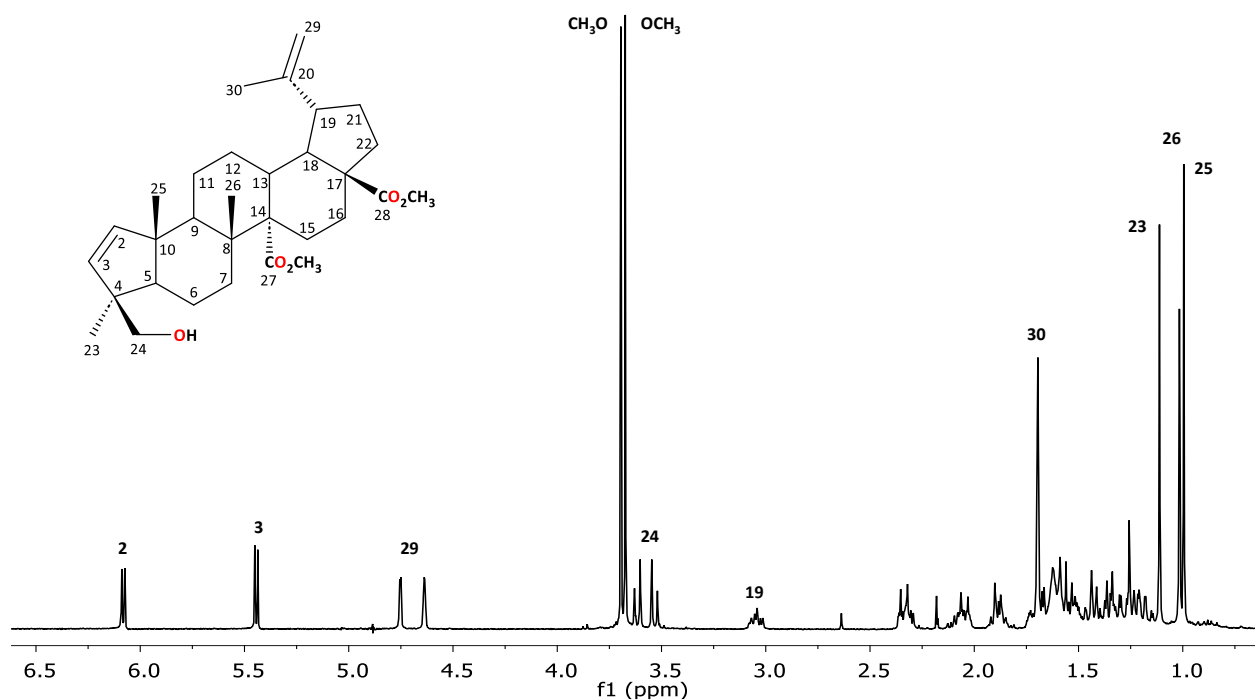


Figura 56. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 del derivado dimetilguanato B (**22**).

En su espectro de RMN de ^{13}C (Figura 57), en la zona de carbonos insaturados, se observan las dos señales de carbonilo de éster en 176.6 y 176.0 ppm, 149.9 (C-20), 143.5 y 134.6 (C-2 y C3), 110.0 (C-29). A frecuencias menores se observan las señales restantes, entre las cuales se encuentra la señal de carbono base de alcohol en 67.3 (C-24), 51.7 y 50.6 ppm las señales de los carbonos de los metoxilos. En el experimento HSQC, se observan correlaciones entre 6.09 ppm (H-2) y 143.5 ppm (C-2), 5.44 (H-3) y 134.6 (C-3), 4.75 y 4.64 (H-29) con 110.0 (C-29), 3.56 (H-24) con 67.3 (C-24), 1.21 (H-5) con 62.1 (C-5), 1.56 (H-18) con 51.7 (C-18), 3.67 (MeO) con 51.4 ppm (MeO—C-28), 3.69 (MeO) con 50.6 (MeO—C-27), 1.67 (H-9) con 48.3 (C-9), 3.03 (H-19) y 46.9 (C-19), 2.32 (H-16) con 39.5 (C-13), 1.60 y 1.43 (H-7) con 38.1 (C-7), 1.89 y 1.34 (H-22) con 36.8 (C-22), 2.33 y 1.19 (H-15) con 34.1 (C-15), 1.88 y 1.35 (H-21) con 27.9 (C-21), 2.05 y 1.27 (H-12) con 27.9 (C-12), 2.07 y 1.72 (H-16) con 25.6 (C-16), 1.11 (H-23) con 23.8 (C-23), 1.52 (H-11) y 23.0 (C-11), 0.99 (H-25) con 20.6 (C-25), 1.69 (H-30) con 18.9 (C-30), 1.01 (H-26) con 18.0 (C-26), 1.58 y 1.40 (H-6) con 17.9 (C-6).

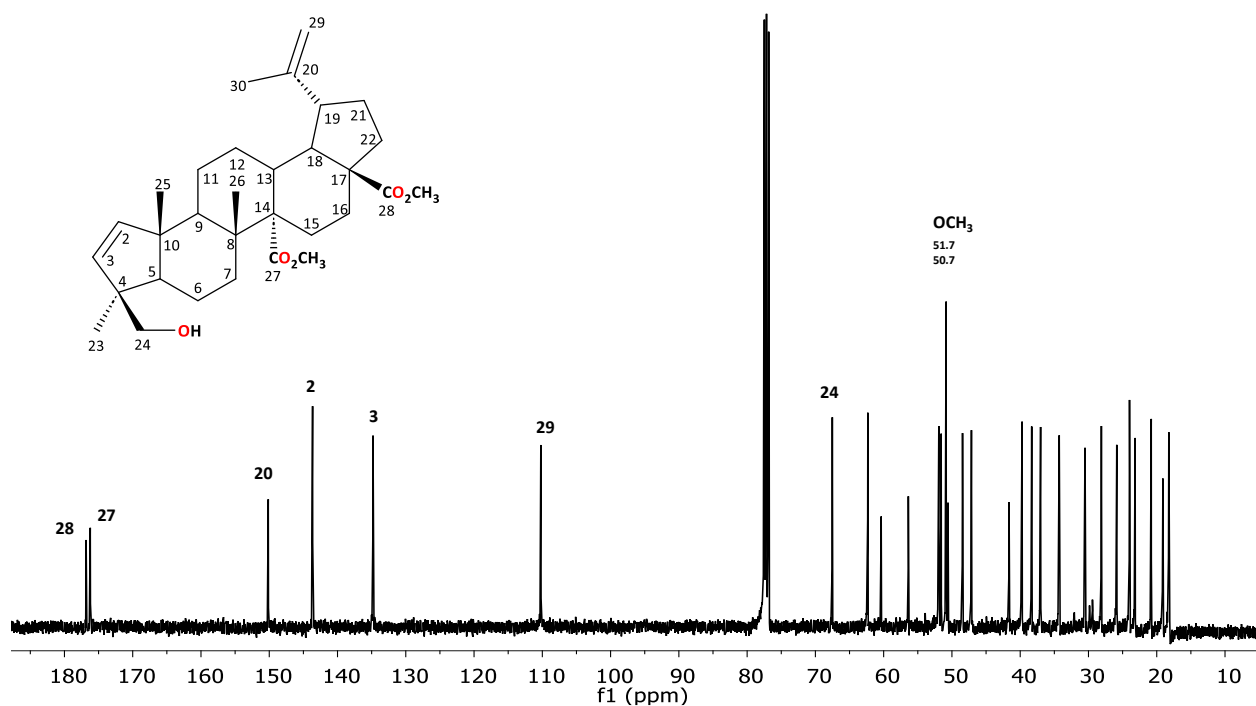


Figura 57. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 del derivado dimetilguanato B (**22**).

En el experimento HMBC, la señal en 6.09 ppm (H-2) mostró correlaciones con las señales en 50.4 (C-10), 50.6 (C-4), 62.1 (C-5) y 134.6 ppm (C-3). La señal en 5.44 (H-3) con 50.4 (C-10), 62.1 (C-5) y 143.5 (C-2). La señal en 4.75 y 4.64 (H-29) con 18.9 (C-30) y 46.9 (C-19). La señal en 3.56 (H-24) con 50.6 (C-4), 62.1 (C-5) y 134.6 (C-3). La señal en 1.21 (H-5) con 20.6 (C-25), 23.8 (C-23), 38.1 (C-7), 50.4 (C-10) y 67.3 (C-24). La señal en 1.56 (H-18) con 46.9 (C-19), 56.2 (C-17), 149.9 (C-20) y 176.6 (C-28). La señal en 3.67 (OMe) mostró correlación con 176.6 (C-28). La señal en 1.67 (H-9) con 18.0 (C-26), 20.6 (C-25), 23.0 (C-11), 41.4 (C-8) y 50.4 (C-10). La señal en 3.03 ppm (H-19) con las señales en 18.9 (C-30), 30.3 (C-21), 51.7 (C-18) y 110.1 ppm (C-29). La señal en 2.32 (H-13) con 27.9 (C-12), 51.7 (C-18) y 60.2 ppm (C-14). La señal en 1.11 ppm (H-23) con 50.6 (C-4), 62.1 (C-5) y 67.3 ppm (C-24). La señal en 1.69 (H-30) con 46.9 (C-19), 110.0 (C-29) y 149.9 ppm (C-20) (Figura 58).

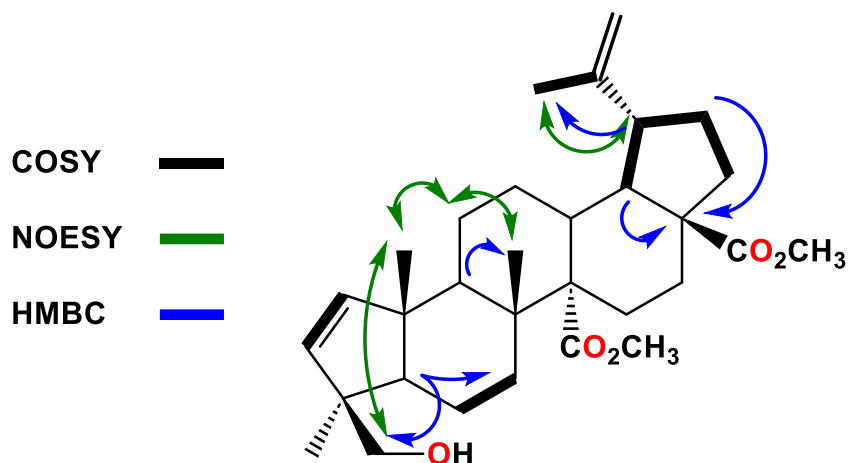


Figura 58. Correlaciones significativas de experimentos 2D del derivado dimetilgouanato B (**29**).

7.4.2. Obtención del derivado acetildimetilgouanato B (**23**).

El derivado metilado (**22**) se hizo reaccionar con anhídrido acético y piridina para obtener el derivado acetildimetilgouanato B (**23**) correspondiente. El crudo de reacción fue sometido a su separación por cromatografía en columna empleando hexano-acetato de etilo (9:1) como eluyente obteniéndose un sólido cristalino, su espectro de RMN de ^1H (Figura 59), presenta la señal en 6.08 (H-2) y 5.40 ppm (H-3), la señal doble en 4.75 y 4.63 ppm (H-29), el desplazamiento a frecuencia mayores de la señal del sistema AB aparece ahora en 4.00 ppm (H-24), la señales simples de los grupos metoxilos se observan en 3.67 y 3.69 ppm (CH_3O), la señal múltiple en 3.05 ppm (H-19). A frecuencias menores se observa la señal intensa del metilo del grupo acetato en 2.04 ppm (AcO), las señales simples e intensas que integran para tres hidrógenos cada una, debidas a los metilos en 1.69 ppm (H-30), 1.08 ppm (H-23), en 1.01 (H-26) y 1.00 ppm (H-25) respectivamente.

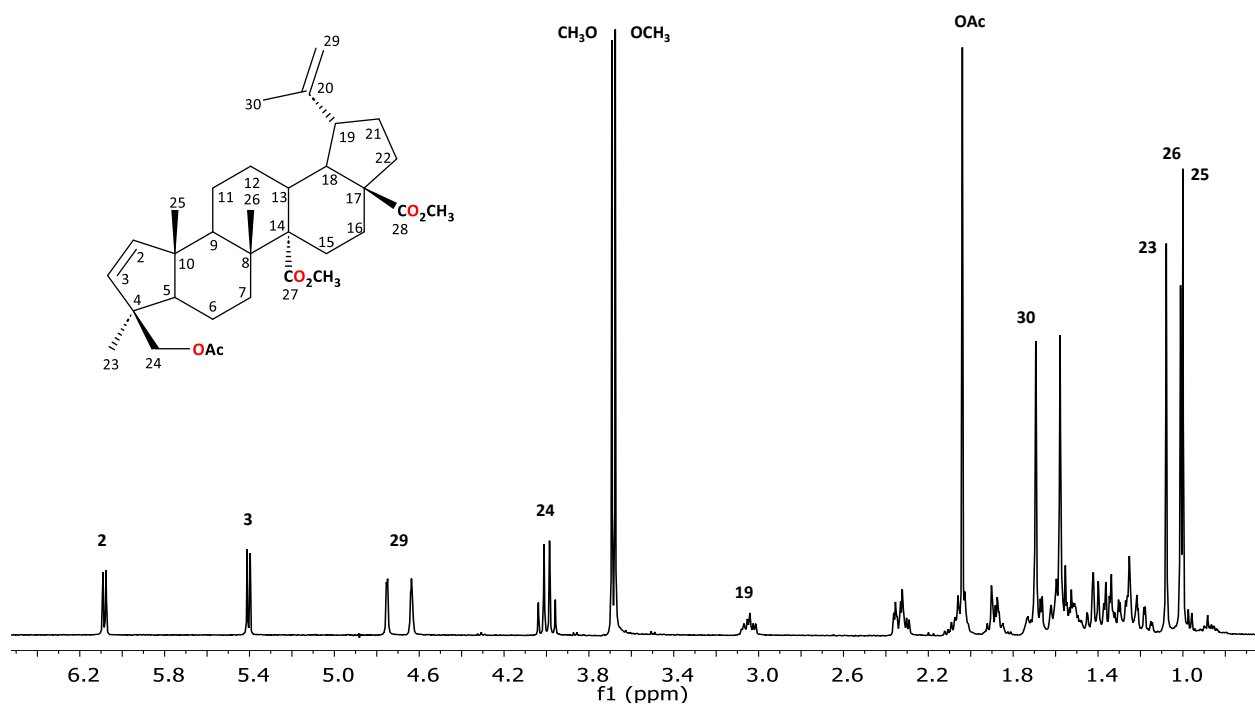


Figura 59. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 del derivado acetildimetilguanato B (**23**).

En relación al espectro de RMN de ^{13}C , (Figura 60), en la zona de carbonos insaturados, se observan las dos señales de carbonilo de éster en 176.7 ppm (C-28), 176.1 (C-27), 171.3 (AcO), 150.0 (C-20), 143.7 (C-2), 134.2 (C-3) y 110.1 ppm (C-29). A frecuencias menores en la zona de los carbonos sp^3 se observan en 68.4 (C-24) y las de los carbonos de los grupos metoxilo en 51.7 (CH_3O) y 50.7 ppm (CH_3O). En el experimento HSQC, se observan las siguientes correlaciones, 6.08 (H-2) y 143.7 ppm (C-2), 5.40 (H-3) y 134.2 (C-3), 4.75 y 4.63 (H-29) con 110.1 (C-29), 4.00 (H-24) y 68.4 (C-24), 1.25 (H-5) y 62.3 (C-5), 1.57 (H-18) y 51.8 (C-18), 3.67 (OMe) y 51.4 ppm (OMe sobre C-28), 3.69 (OMe) y 50.7 ppm (OMe sobre C-27), 1.68 (H-9) y 48.2 (C-9), 3.05 (H-19) y 47.0 (C-19), 1.63 (H-13) y 39.6 (C-13), 1.62 y 1.40 (H-7) con 38.1 ppm (C-7), 1.90 y 1.35 (H-22) con 36.9 ppm (C-22), 2.36 y 2.31 (H-15) con 34.1 (C-15), 1.88 y 1.35 (H-21) con 30.4 (C-21), 2.08 y 2.02 (H-16) con 27.9 (C-16), 2.04 (H-12) y 25.7 (C-12), 1.08 (H-23) y 24.3 (C-23), 1.51 (H-11) y 23.0 ppm (C-11), 2.04 (AcO) y 20.9 ppm (AcO), 1.00 (H-25) y 20.4 (C-25), 1.69 (H-30) y 18.9 (C-30), 1.01 (H-26) y 18.0 (C-26), 1.60 y 1.43 (H-6) con 17.8 ppm (C-6).

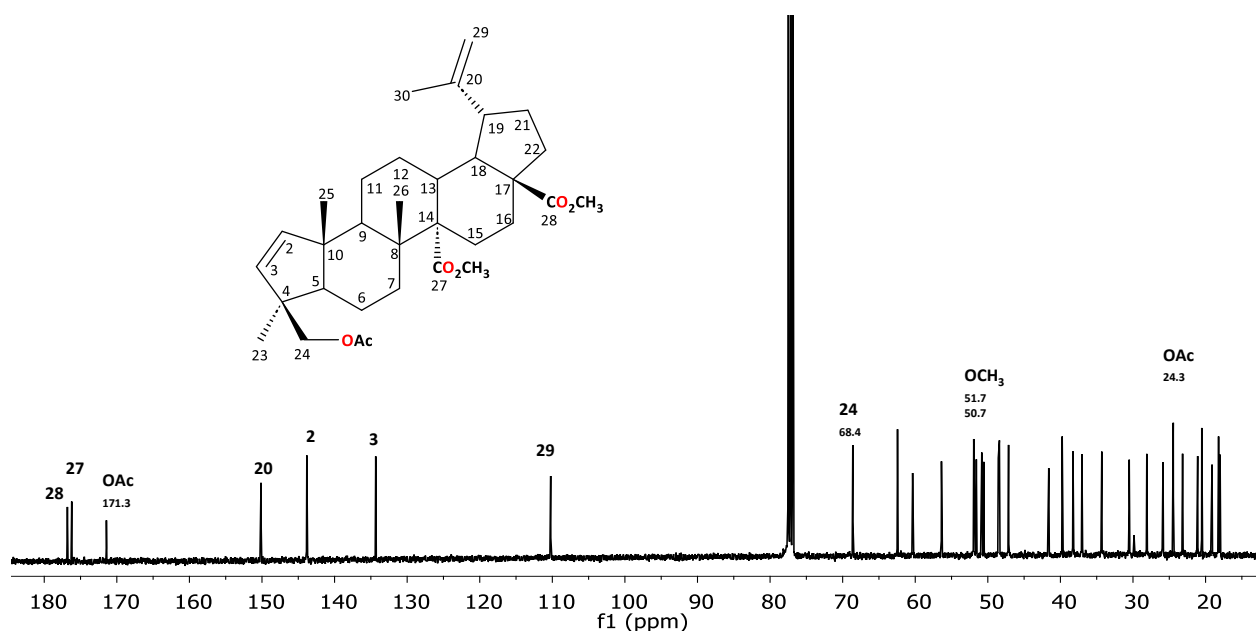


Figura 60. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 del derivado acetildimetilgouanato B (**23**).

En el experimento HMBC, la señal en 6.08 ppm (H-2) mostró correlaciones con las señales en 48.4 (C-4), 50.4 (C-10), 62.3 (C-5) y 134.6 ppm (C-3). La señal en 5.40 (H-3) con 48.4 (C-4), 50.4 (C-10), 62.3 (C-5) y 143.7 ppm (C-2). La señal en 4.75 y 4.63 (H-29) con 18.9 (C-30) y 47.0 ppm (C-19). La señal en 4.00 (H-24) con 24.3 (C-23), 48.4 (C-4), 62.3 (C-5), 134.2 (C-3) y 171.3 ppm (AcO). La señal en 3.67 ppm (OMe) con 176.6 ppm (C-28). La señal en 3.69 ppm (OMe) con 176.1 ppm (C-27). La señal en 2.04 (OAc) con 171.3 ppm (OAc). La señal en 1.00 (H-25) con 50.4 (C-10), 60.2 (C-14), 62.3 (C-5) y 143.7 ppm (C-2). La señal en 1.69 (H-30) con 47.0 (C-19), 110.1 (C-29) y 150.0 ppm (C-20). La señal en 1.01 ppm (H-26) con 39.6 (C-13), 48.2 (C-9), 50.4 (C-10) y 60.2 (C-14) (Figura 61).

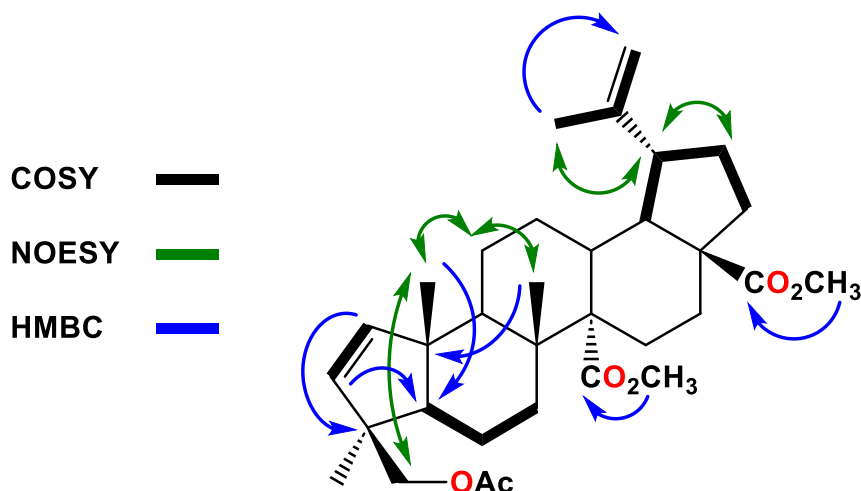


Figura 61. Correlaciones significativas de experimentos bidimensionales del derivado acetildimetilgouanato B (**23**).

Adicionalmente, el derivado anterior (**23**) se obtuvo a partir del ácido gouánico B (**18**) primeramente haciendo reaccionar éste con anhídrido acético y posteriormente realizando una reacción de metilación con diazometano (Figura 62). Sin embargo, la mejor ruta para llegar a este derivado (**23**) es primeramente realizando la metilación y posteriormente la acetilación, ya que se obtienen mejores rendimientos por esta vía.

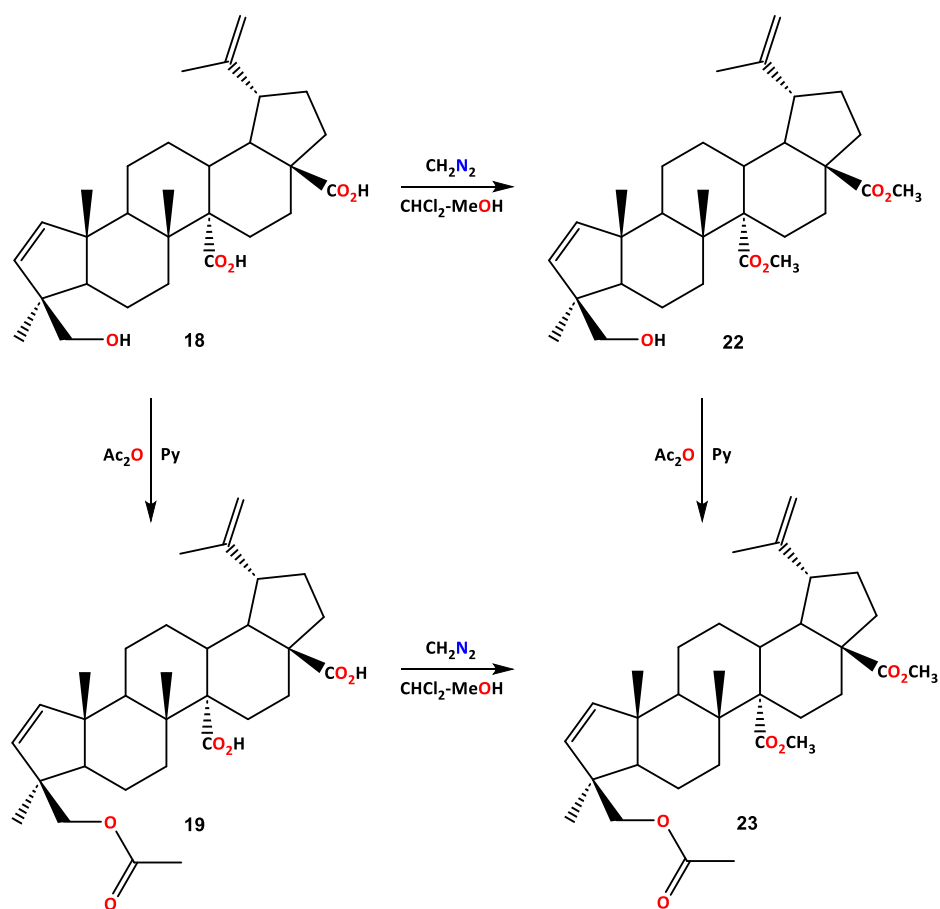


Figura 62. Esquema de reacciones para la obtención del derivado acetildimetilgouanato B (**23**).

7.5. Actividad citotóxica.

Debido a que los tipos de cáncer más comunes son cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer cervicouterino y leucemia; se evaluó la capacidad citotóxica contra líneas celulares cancerosas MCF-7 (mama), A549 (pulmón), HeLa (cérvix) y K562 (leucemia); dos productos naturales, el ácido gouánico B (**18**), el acetilgouánico B (**19**) y sus respectivos derivados metilados (**22**) y (**23**) respectivamente (Tabla 9).

Tabla 9. IC₅₀ de los compuestos **18**, **19**, **22** y **23** contra líneas celulares cancerosas MCF-7, A549, HeLa, y K562 y porcentaje de sobrevivencia de células no cancerosas bMEC.

	μM				bMEC ^a	
	MCF-7 ^a	A549 ^a	HeLa ^a	K562 ^a	CT ^b	sobrevivencia (%)
18	>50	>50	>50	36.4 ± 4.0	40	88
19	>50	>50	>50	21.6 ± 4.3	26	89
22	>50	>50	18.3 ± 2.4	7.1 ± 1.8	21	35
23	>50	>50	>50	33.0 ± 2.0	35	92

^a Experimentos se llevaron a cabo por triplicado.

^b Concentración evaluada (CT) para experimentos de sobrevivencia en bMEC se obtuvieron por adición de IC₅₀ + SE para cada línea celular, CT = IC₅₀ + SE.

Estos resultados mostraron que los cuatro compuestos tienen valores de IC₅₀ mayores a 50 μM para las líneas celulares MCF-7 y A549. Para la línea celular HeLa se observó la misma tendencia para tres compuestos, excepto para el ácido **22** con un valor de IC₅₀ de 18.3 μM. En lo que respecta a la línea celular K562, el ácido gouánico B (**18**) y el derivado **23** mostraron valores de IC₅₀ de 36.4 y 33.0 μM respectivamente. En esta misma línea celular, el producto natural el acetilgouánico (**19**) mostró una buena IC₅₀ con un valor de 21.6 μM, mientras que el ácido **22** mostró una mejor IC₅₀ con un valor de 7.1 μM. La tasa de supervivencia en porcentaje de células epiteliales mamarias de bovino (bMECs) tratadas con el derivado **23** fue bajo (35%), pero las células tratadas

con el producto natural **19** mostraron una tasa de supervivencia aceptable (89%). Cabe mencionar que, en todos los ensayos, para cada línea celular no cancerosa bMEC, la concentración ensayada (CT) en las células normales fue más alta que las correspondientes IC_{50} , específicamente, la CT se obtuvo adicionando el valor correspondiente IC_{50} a su valor SE. Por lo tanto, para los compuestos **18**, **22**, **19** y **23**, la CT fue de 40, 21, 26 y 35 μM , respectivamente. Notablemente, el porcentaje de supervivencia de las células no cancerosas (bMEC) tratadas con **18**, **19** y **23** fue de 88, 89 y 92%, respectivamente. Así mismo, estos tres triterpenos mostraron citotoxicidad selectiva sobre las células mielógenas de leucemia, pero no mostraron actividad contra las otras tres líneas celulares probadas.

8. CONCLUSIONES

Se aislaron trece productos naturales conocidos de los extractos orgánicos de *Ceanothus caeruleus*, además del ácido acetilgouánico B (**19**) el cual es reportado por primera vez como un producto natural.

Los compuestos presentes en la mayor parte de la planta *C. caeruleus*, fueron el ácido ceanoténico (**11**) y el glucósido del β -sitosterol (**14**), ausentes solamente en el extracto de AcOEt de hoja y DCM de raíz respectivamente.

Los compuestos **18**, **19** y **23** no mostraron actividad contra células cancerosas de mama, pulmón y cervical. Mientras que el derivado dimetiléster **22** mostró actividad contra células cancerosas cervical y leucemia. Sin embargo, los resultados con células normales no fueron satisfactorios.

Los resultados más significativos en las pruebas de citotoxicidad se obtuvieron con los triterpenos naturales **18**, **19** y el derivado **23**, debido a que fueron específicos contra células leucémicas K562.

Es importante señalar que transformaciones simples de grupos funcionales, como es el caso del derivado **23**, pueden conducir a compuestos con propiedades biológicas interesantes y prometedoras.

9. PARTE EXPERIMENTAL

9.1 Colecta y procesamiento de flor, hoja, raíz y tallo de *Ceanothus caeruleus*.

Se colectó la planta (*Ceanothus caeruleus*) (Figura 117) en el mirador (cerro del Estribo), en Pátzcuaro, Michoacán, México, coordenadas: (19°30'52.5"N, 101°38'36.8"W, 2348 msnm) y en la carretera Pátzcuaro-Apatzingán coordenadas: (19°29'38.0"N, 101°35'22.4"W, 2290 msnm) Estado de Michoacán, México. Los especímenes fueron identificados por la M.C. Patricia Silva-Sáenz y depositados en el herbario de la Facultad de Biología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México, con número de Folio (Vaucher) EBUM-3658.



Figura 117. Colecta de la planta de *Ceanothus caeruleus*.

Se separaron las partes de la planta, [flor (en su caso), hoja, raíz y tallo] y se dejó secar a la sombra por quince días (Figura 118 y 119).



Figura 118. Separado de flor y hoja de *Ceanothus caeruleus*.

Pasado este tiempo, la raíz y los tallos se fraccionaron a una longitud aproximada de 2-4 cm, la raíz adicionalmente se seccionó a lo largo, lo más delgado posible (Figura 17). Después de tener los tallos y los trozos de raíz fraccionados se procedió a molerlos por separado en un molino marca Micron (modelo K20F, HP = 7.5.), quedando partículas finas de aserrín (Figura 120).



Figura 119. Separado y fraccionado de tallo y raíz de *Ceanothus caeruleus*.



Figura 120. Aserrín de tallo y raíz de *Ceanothus caeruleus*.

Una vez seco el material vegetal de flor, hoja, raíz y tallo de *C. caeruleus*, se procedió a iniciar la extracción por el método de maceraciones sucesivas con disolventes orgánicos en orden de polaridad ascendente (hexano, cloruro de metileno, y acetato de etilo) (Figura 121).



Figura 121. Extracción por maceración de flor, hoja, raíz y tallo de *Ceanothus caeruleus*.

9.2 Obtención de extractos hexánicos flor, hoja, raíz y tallo de *Ceanothus caeruleus*.

El material vegetal colectado, flores, hojas, raíz y tallo se dejó secar por aproximadamente dos semanas, pasado este tiempo los tallos y la raíz se seccionaron y después se molieron para posteriormente iniciar su extracción. Los extractos de las diferentes partes de la planta fueron obtenidos por maceraciones (o reflujo) sucesivas con disolvente en orden de polaridad ascendente. Debido al excesivo contenido de compuestos grasos, se inició la separación de los extractos a partir del tratamiento con cloruro de metileno. Los rendimientos de los extractos se observan en las tablas 2 y 3.

El análisis por RMN de ^1H de todos los extractos hexánicos de todas las partes de la planta mostró como compuestos mayoritarios a cadenas de hidrocarburos y ácidos grasos. Estos extractos fueron analizados por CG-EM.

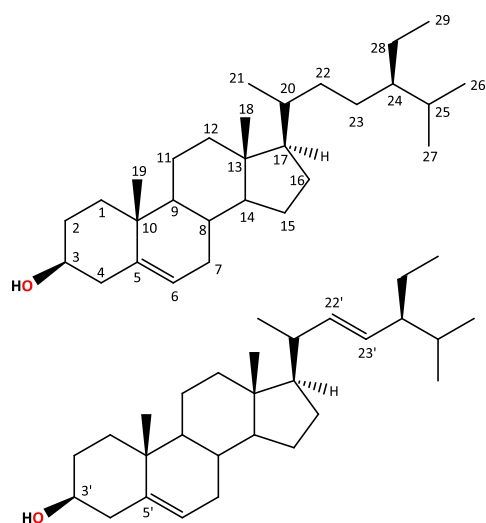
9.3 Separación de los metabolitos de extractos en cloruro de metileno y en acetato de etilo.

Todos los extractos en cloruro de metileno y acetato de etilo de las partes de la planta fueron sometidos a separación por métodos cromatográficos. La elución, parte de la planta y el rendimiento de cada metabolito aislado se muestra en la tabla 8.

Las rotaciones ópticas fueron medidas en acetona o cloroformo en un polarímetro Perkin-Elmer 341 (Perkin-Elmer, Norwalk, Connecticut, USA). Los espectros de resonancia magnética nuclear se determinaron en MeOH (d_4), acetona (d_6), piridina (d_5) o CHCl_3 (d) (Sigma-Aldrich, Massachusetts, USA) y TMS como referencia interna, en un espectrómetro Varian Mercury Plus a 400 MHz para ^1H y 100 MHz para ^{13}C y en un espectrómetro Varian Mercury a 300 MHz para ^1H y 75 MHz para ^{13}C . Los espectros de masa de baja resolución se determinaron por impacto electrónico a 70 eV en un espectrómetro de masas Thermo Scientific ISQ LT (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) y los espectros de masa de alta resolución en un espectrómetro Agilent LCTOF (Agilent Corp., California, USA) y en un espectrómetro de masa Bruker MaXis-Impact ESI(+)-QqTOF (Bruker Daltonics, Bremen, Germany), usando ionización vía electrospray y determinados usando un método TOF. Los espectros de Infrarrojo se determinaron en un espectrofotómetro BUCK Scientific 500. Las separaciones de los compuestos se realizaron mediante cromatografía en columna utilizando gel de sílice Merk 60 (70–230 mesh ASTM, Merck,

Darmstadt, Germany). Todos los disolventes utilizados para la extracción y cromatografía fueron adquiridos de Pochteca, Ciudad de México, México y destilados para su uso.

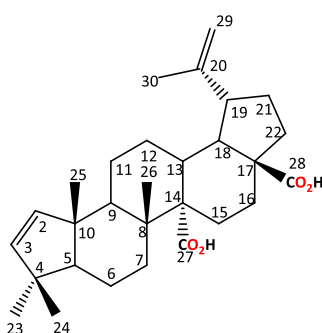
β -sitosterol (8) y stigmasterol (9). Se aislaron por cromatografía en columna (Hex-AcOEt, 9:1,



0.74%), como cristales incoloros en forma de aguja. RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 5.35 (1H, ta, H-6-6'), 5.14 (1H, m, H-22'), 5.01 (1H, ta, H-23'), 3.52 (1H, m, H-3-3'), 1.00 (3H, s, H-19-19'), 0.92 (3H, d, H-21-21'), 0.83 (3H, d, H-26-26'), 0.81 (3H, d, H-27-27'), 0.68 (3H, s, H-18-18'). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ 140.7 (C-5,5'), 138.3 (C-22'), 129.2 (C-23'), 121.7 (C-6,6'), 71.8 (C-3,3'), 56.8 (C-14,14'), 56.0 (C-17,17'), 51.2 (C-24'), 50.1 (C-9,9'), 45.8 (C-24), 42.3 (C-4,4'), 11.8 (C-29,29'). EIMS m/z (int. rel.): 414 $[\text{M}]^+$ (48), 396 (34), 394 (8), 329 (21), 255 (41), 213 (39), 145 (51), 81

(66), 57 (76), 55 (100).

Ácido ceanoténico (11). Se aisló por cromatografía en columna (Hex-AcOEt, 9:1, 3.68%), como

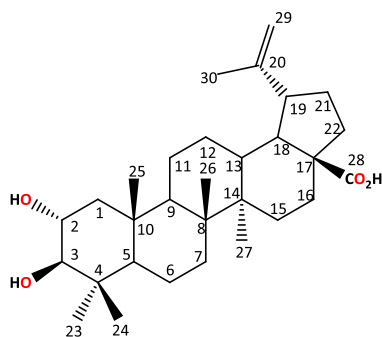


cristales incoloros amorfos. $[\alpha]_{589} = +29$, $[\alpha]_{578} = +30$, $[\alpha]_{546} = +34$, $[\alpha]_{436} = +64$, $[\alpha]_{365} = +114$ (c 1.5 mg, Acetona 1 mL). IR (KBr) ν_{max} 2,650-3,300 cm^{-1} banda ancha de OH de ácido carboxílico. 2,948, 2,924 y 2,863 cm^{-1} bandas de estiramiento de -H alifáticos. 1,684 cm^{-1} banda de estiramiento de grupo carbonilo. RMN de ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300 MHz) δ 6.08 (1H, d, H-2), 5.46 (1H, d, H-3), 5.08 y 4.84 (2H, d, H-29), 3.69 (1H, M, H-19), 2.98 (1H, M, H-13), 6.08 (1H, d, H-2), 2.91 y 1.92 (2H, m, H-

16), 2.75 y 2.07 (2H, m, H-12), 2.55 y 1.94 (2H, m, H-15), 2.29 y 1.53 (2H, m, H-22), 2.27 y 1.52 (2H, m, H-21), 2.26 (1H, m, H-18), 2.26 y 1.84 (2H, m, H-7), 2.40 (1H, m, H-9), 1.94 (3H, s, H-30), 1.62 (2H, m, H-11), 1.46 (1H, m, H-5), 1.44 (2H, m, H-6), 1.21 (3H, s, H-26), 1.01 (3H, s, H-25), 0.91 (3H, s, H-24), 0.90 (3H, s, H-23). RMN de ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 75 MHz) δ 179.6 (C-28), 178.9 (C-27), 151.6 (C-20), 141.6 (C-2), 139.5 (C-3), 110.7 (C-29), 63.4 (C-5), 60.7 (C-14), 56.9 (C-17), 52.6 (C-18), 51.3

(C-10), 48.9 (C-9), 48.4 (C-19), 45.2 (C-4), 42.1 (C-8), 40.5 (C-13), 38.5 (C-7), 38.1 (C-22), 35.7 (C-16), 31.5 (C-21), 30.0 (C-23), 29.2 (C-15), 26.9 (C-12), 23.9 (C-11), 22.0 (C-24), 20.8 (C-25), 19.6 (C-30), 18.9 (C-26), 18.2 (C-6). EIMS m/z (int. rel.): 454 $[M]^+$ (8), 439 (19), 393 (38), 371 (94), 325 (18), 279 (18), 175 (100), 107 (90).

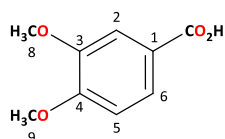
Ácido alfitólico (12). Se aisló por cromatografía en columna (Hex-AcOEt, 7:3, 5.15%), como



cristales incoloros amorfos. $[\alpha]_{589} = -3$, $[\alpha]_{578} = -2$, $[\alpha]_{546} = -4$, $[\alpha]_{436} = -5$, $[\alpha]_{365} = 0$ (c 2.9 mg, Acetona 1 mL). IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3,438-2,600 cm^{-1} banda ancha de OH de ácido carboxílico y de alcohol, 2,940 y 2,865 cm^{-1} bandas de estiramiento de C-H alifáticos, 1,686 cm^{-1} banda de estiramiento de grupo carbonilo. RMN de ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300 MHz) δ 4.95 y 4.78 (2H, d, H-29), 4.12 (1H, m, H-2), 3.55 (1H, m, H-19), 3.42 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3), 2.74 (1H, m, H-13),

2.65 y 1.56 (2H, m, H-16), 2.34 y 1.27 (2H, m, H-1), 2.27 y 1.57 (2H, m, H-22), 2.26 y 1.55 (2H, m, H-21), 1.94 y 1.23 (2H, m, H-12), 1.90 y 1.27 (2H, m, H-15), 1.80 (3H, s, H-30), 1.76 (1H, m, H-18), 1.57 y 1.43 (2H, m, H-6), 1.52 y 1.26 (2H, m, H-11), 1.51 (1H, m, H-9), 1.43 (2H, m, H-7), 1.27 (3H, s, H-23), 1.08 (3H, s, H-24), 1.07 (3H, s, H-27), 1.06 (3H, s, H-26), 1.01 (1H, m, H-5), 0.93 (3H, s, H-25). RMN de ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 75 MHz) δ 179.2 (C-28), 151.7 (C-20), 110.4 (C-29), 84.2 (C-3), 69.2 (C-2), 57.0 (C-17), 56.4 (C-5), 51.3 (C-9), 50.1 (C-18), 48.6 (C-1), 48.1 (C-19), 43.2 (C-14), 41.5 (C-8), 40.3 (C-4), 39.1 (C-10), 38.9 (C-13), 38.0 (C-22), 35.1 (C-7), 33.2 (C-16), 31.6 (C-21), 30.6 (C-15), 29.6 (C-23), 26.4 (C-12), 21.7 (C-11), 19.8 (C-30), 19.2 (C-6), 18.0 (C-25), 17.9 (C-24), 16.8 (C-26), 15.2 (C-27). EIMS m/z (int. rel.): 472 $[M]^+$ (6), 454 (7), 426 (16), 408 (14), 248 (66), 205 (83), 189 (99), 95 (92), 81 (84), 69 (88), 55 (100).

Ácido 3,4-dimetoxibenzoico (13). Se aisló por cromatografía en columna (Hex-AcOEt, 1:1, 4.42%),

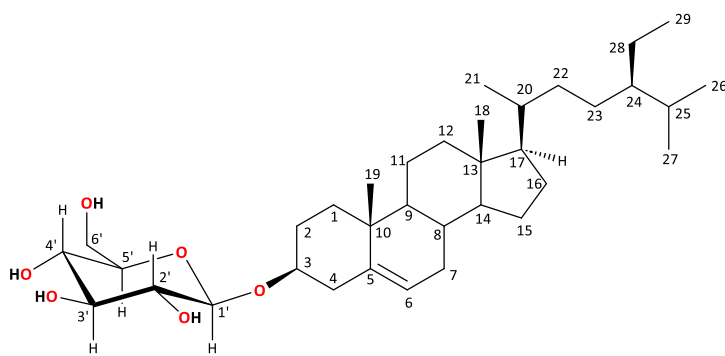


como cristales incoloros amorfos. RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.79 (1H, dd, $J = 2.3, 8.8$ Hz, H-6), 7.60 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-2), 6.93 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5), 3.96 (3H, s, H-9), 3.95 (3H, s, H-8). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ 170.9

(C=O), 153.6 (C-4), 148.6 (C-3), 124.5 (C-6), 121.6 (C-1), 112.3 (C-2), 110.3 (C-5), 56.0 ($\text{CH}_3\text{O-C4}$),

55.9 (CH₃O-C3). EIMS m/z (int. rel.): 182 [M]⁺ (100), 167 (30), 165 (6), 149 (5), 139 (5), 121 (14), 111 (17), 95 (13), 77 (22).

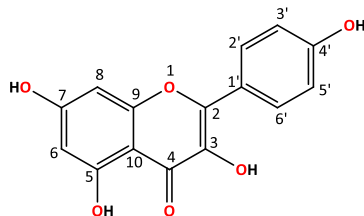
Glucósido del β -sitosterol (14). Se aisló por cromatografía en columna (AcOEt, 2.14%), como



cristales incoloros amorfos. RMN de ¹H (C₅D₅N, 300 MHz) δ 5.37 (1H, ta, H-6), 5.09 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1'), 4.60 y 4.44 (1H, dd, J = 11.7, 1.8 Hz, H-6'), 4.32 (2H, t, J = 4.7 Hz, H-3', H-4'), 4.09 (1H, t, J = 8.2 Hz, H-3), 4.00 (2H, m, H-2', H-5'), entre 2.90-0.60 ppm señales múltiples

correspondientes a protones de metinos y metilenos de la aglicona. 1.01 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-21), 0.88 (6H, d, H-26, H-27), en 0.96, 0.85 y 0.68 ppm se observan señales de metilos. RMN de ¹³C (C₅D₅N, 75 MHz) muestra un total de 35 señales de carbono, solamente dos señales en la región de los carbonos sp^2 y 33 señales en la región de los carbonos sp^3 . Las señales en 141.4 ppm y 122.4 ppm corresponden a los carbonos del doble enlace de la aglicona (C-5–C-6), la señal que se encuentra en 103.1 ppm (C-1') y las seis señales observadas entre 62.0 ppm y 82.0 ppm son señales características de la glucosa. EIMS m/z (int. rel.): 576 [M]⁺ (0.01), 473 (0.03), 428 (2), 412 (7), 396 (23), 381 (7), 255 (16), 211 (20), 69 (73), 57 (100), 55 (87).

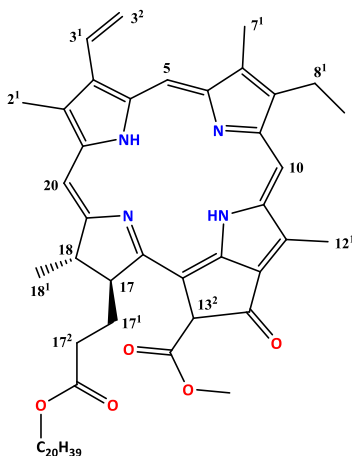
Kaempferol (15). Se aisló por cromatografía en columna como sólido amorfo de color amarillento.



RMN de ¹H (C₅D₅N, 300 MHz) δ 13.36 (1H, s, HO-C-5), 12.33 (3H, sa, HO-C-3 HO-C-, HO-C-7), 8.57 (2H, d, J = 9.1 Hz, H-2', H-6'), 7.33 (2H, d, J = 9.1 Hz, H-3', H-5'), 6.86 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-8), 6.77 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6). RMN de ¹³C (C₅D₅N, 75 MHz) δ 177.7 (C-4), 166.0 (C-7), 162.8 (C-5), 161.1 (C-4'), 157.9 (C-9), 147.9 (C-2), 138.2 (C-3),

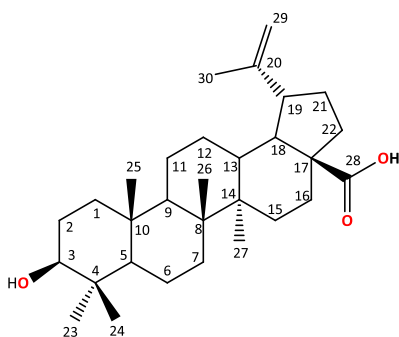
130.9 (C-2', C6'), 123.7 (C-1'), 116.7 (C-3', C-5'), 104.9 (C-10), 99.7 (C-6), 94.7 (C-8). EIMS m/z (int. rel.): 286 [M]⁺ (100), 285 (48), 258 (15), 229 (14), 213 (8), 184 (4), 143 (13), 121 (31), 93 (11), 69 (16), 65 (11).

Feofitina-a (16). Se aisló por cromatografía en columna como sólido amorfo de color verde-



amarillento. RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 9.47 (1H, s, H-10), 9.32 (1H, s, H-5), 8.55 (1H, s, H-20), 7.96 (1H, dd, J = 17.8, 11.7, H-3¹), 6.28 (1H, s, H-13²), 6.21 (2H, dd, J = 11.7, 1.8 Hz, H-3²), 5.14 (1H, t, J = 5.13 Hz, H-P2), 4.50 (2H, m, H-P1), 4.46 (1H, d, H-18), 4.22 (1H, m, H-17), 3.89 (3H, s, H-13⁴), 3.67 (3H, s, H-12¹), 3.63 (2H, m, H-8¹), 3.38 (3H, s, H-2¹), 3.18 (3H, s, H-7¹), 2.50 (2H, m, H-17²), 1.89 (2H, m, H-P4), 1.82 (3H, d, H-18¹), 1.68 (3H, t, H-8²), 1.58 (3H, s, H-P3¹), 1.50 (1H, m, H-P15), 0.85 (6H, s, H-P15¹, H-P16, H-P12, H-P7, H-P11, H-P17¹, H-P5, H-P9, H-P13), 0.81 (3H, d, H-P7¹), 0.79 (3H, d, H-P11¹), 1.40-0.92 (2H, m, H-P14, H-P10, H-P8, H-P6). 0.09 (1H, s, NH), -1.65 (1H, s, NH). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ 189.6 (C-13¹), 172.9 (C-17³), 172.2 (C-13³), 169.6 (C-19), 161.2 (C-16), 155.6 (C-6), 150.9 (C-9), 149.6 (C-8), 145.1 (C-1), 142.8 (C-P3), 142.0 (C-12), 137.8 (C-3), 136.4 (C-4), 136.2 (C-7), 136.1 (C-13), 131.8 (C-2), 129.0 (C-11), 129.0 (C-3¹), 122.7 (C-3²), 117.6 (C-P2), 105.1 (C-15), 104.3 (C-10), 97.4 (C-5), 93.0 (C-20), 64.6 (C-13²), 61.4 (C-P1), 52.8 (C-13⁴), 51.1 (C-17), 50.0 (C-18), 39.7 (C-P4), 39.3 (C-P14), 37.3 (C-P10), 37.3 (C-P8), 37.2 (C-P6), 36.6 (C-P12), 32.7 (C-P7), 32.5 (C-P11), 31.1 (C-17²), 29.7 (C-17¹), 27.9 (C-15), 24.9 (C-P5), 24.7 (C-P9), 24.3 (C-P13), 23.0 (C-18¹), 22.6 (C-P15¹), 22.6 (C-P16), 19.6 (C-P7¹), 19.6 (C-P11¹), 19.3 (C-8¹), 17.3 (C-8²), 16.2 (C-P3¹), 12.0 (C-12¹), 12.0 (C-2¹), 11.1 (C-7¹).

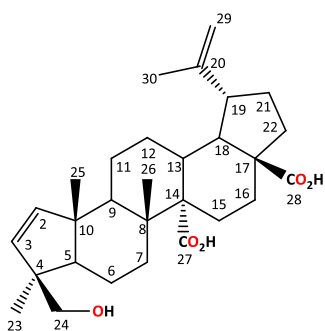
Ácido betulínico (17). Se aisló por cromatografía en columna como cristales incoloros. RMN de



^1H (Acetona deuterada, 400 MHz) 4.72 y 4.59 (2H, d, H-29), 3.12 (1H, m, H-3), 3.05 (1H, m, H-19), 1.70 (3H, s, H-30), 1.02 (3H, s, H-26), 0.96 (3H, s, H-23), 0.95 (3H, s, H-27), 0.85 (3H, s, H-25), 0.75 (3H, s, H-24). RMN de ^{13}C (Acetona deuterada, 100 MHz) δ 177.4 (C-28), 151.5 (C-20), 109.9 (C-29), 78.5 (C-3), 56.7 (C-17), 56.3 (C-5), 51.4 (C-9), 49.9 (C-18), 47.9 (C-19), 43.1 (C-14), 41.5 (C-8), 39.6 (C-4), 39.5 (C-1), 39.0 (C-13), 37.9 (C-10), 37.5 (C-7), 35.1 (C-22), 32.7 (C-15), 31.3 (C-

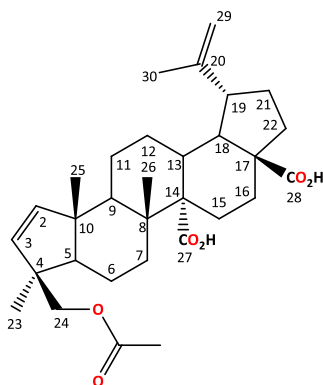
16), 30.4 (C-21), 28.5 (C-23), 28.2 (C-2), 26.3 (C-12), 21.6 (C-11), 19.4 (C-30), 19.0 (C-6), 16.6 (C-26), 16.5 (C-25), 16.0 (C-24), 14.9 (C-27). EIMS m/z (int. rel.): 456 $[M]^+$ (12), 438 (11), 423 (6), 395 (11), 248 (44), 207 (49), 189 (100), 107 (50), 81 (52), 55 (43).

Ácido gouánico B (18). Se aisló por cromatografía en columna como cristales incoloros amorfos.



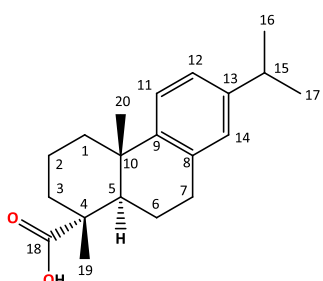
$[\alpha]_{589} = +44$, $[\alpha]_{578} = +46$, $[\alpha]_{546} = +53$, $[\alpha]_{436} = +97$, $[\alpha]_{365} = (LE)$. (c 8 mg, Acetona 1 mL). IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3,400-2,649 cm^{-1} banda ancha de OH de ácido carboxílico y de alcohol, 2,881 y 2,865 cm^{-1} bandas de estiramiento de C-H alifáticos, 1,689 cm^{-1} banda de estiramiento de grupo carbonilo. RMN de ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300 MHz) δ 6.24 (1H, d, $J = 5.9$ Hz, H-2), 5.81 (1H, d, $J = 5.9$ Hz, H-3), 5.08 y 4.86 (1H, d, $J = 70.9$ Hz, H-29), 3.97 y 3.78 (2H, AB, $J = 10.6$ Hz, H-24), 3.70 (1H, m, H-19), 3.00 (1H, m, H-13), 2.92 y 1.24 (2H, m, H-16), 2.77 y 2.09 (2H, m, H-12), 2.55 y 1.94 (2H, m, H-15), 2.45 (1H, m, H-9), 2.29 y 1.54 (2H, m, H-22), 2.28 y 1.86 (2H, m, H-7), 2.28 y 1.53 (2H, m, H-21), 2.26 (1H, m, H-18), 1.95 (3H, s, H-30), 1.77 y 1.65 (2H, m, H-6), 1.66 (2H, m, H-11), 1.64 (1H, m, H-5), 1.30 (3H, s, H-23), 1.21 (3H, s, H-26), 1.09 (3H, s, H-25). RMN de ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 75 MHz) δ 179.6 (C-28), 178.9 (C-27), 151.6 (C-20), 143.0 (C-2), 137.2 (C-3), 110.7 (C-29), 66.7 (C-24), 63.4 (C-5), 60.7 (C-14), 56.9 (C-17), 52.6 (C-18), 52.0 (C-4), 51.3 (C-10), 49.1 (C-9), 48.4 (C-19), 42.1 (C-8), 40.5 (C-13), 39.1 (C-7), 38.1 (C-22), 35.7 (C-16), 31.5 (C-21), 29.2 (C-15), 26.9 (C-12), 25.0 (C-23), 24.0 (C-11), 21.3 (C-25), 19.6 (C-30), 18.8 (C-26), 18.5 (C-6). EIMS m/z (int. rel.): 470 $[M]^+$ (0.4), 452 (3), 439 (28), 406 (7), 393 (25), 371 (29), 248 (43), 203 (45), 173 (57), 119 (69), 107 (100), 91 (73).

Acetilgouánico B (19). Se aisló por cromatografía en columna como cristales incoloros amorfos.



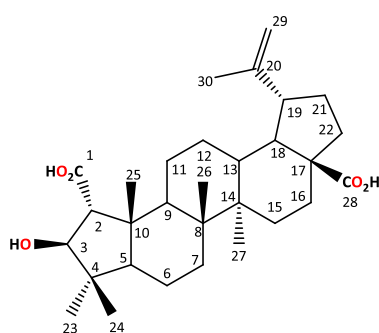
$[\alpha]_{589} = +60$, $[\alpha]_{578} = +62$, $[\alpha]_{546} = +72$, $[\alpha]_{436} = +129$, $[\alpha]_{365} = +220$. (c 2.6 mg, Acetona 1 mL). IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3,450-2,650 cm^{-1} banda ancha de OH de ácido carboxílico, 2,942 y 2,869 cm^{-1} bandas de estiramiento de C-H alifáticos. 1,739 y 1,687 cm^{-1} bandas de estiramiento de grupos carbonilos. RMN de ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300 MHz) δ 6.20 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-2), 5.49 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-3), 5.09 y 4.84 (2H, 2s, H-29), 4.22 y 4.10 (2H, AB, $J = 10.8$ Hz, H-24), 3.68 (1H, m, H-19), 2.96 (1H, m, H-13), 2.91 y 1.93 (2H, m, H-16), 2.73 y 2.07 (2H, m, H-12), 2.52 y 1.93 (2H, m, H-15), 2.29 y 1.53 (2H, m, H-22), 2.38 (1H, m, H-9), 2.27 y 1.53 (2H, m, H-21), 2.24 (1H, m, H-18), 2.20 y 1.93 (2H, m, H-7), 2.04 (3H, s, OAc), 1.94 (3H, s, H-30), 1.61 (2H, m, H-11), 1.59 y 1.49 (2H, m, H-6), 1.56 (1H, m, H-5), 1.18 (3H, s, H-26), 1.04 (3H, s, H-25), 1.02 (3H, s, H-23). RMN de ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 75 MHz) δ 179.6 (C-28), 178.9 (C-27), 171.2 (C-31), 151.6 (C-20), 144.3 (C-2), 135.1 (C-3), 110.7 (C-29), 68.8 (C-24), 63.2 (C-5), 60.7 (C-14), 56.9 (C-17), 52.6 (C-18), 51.2 (C-10), 49.2 (C-4), 48.9 (C-9), 48.3 (C-19), 42.0 (C-8), 40.5 (C-13), 39.0 (C-7), 38.1 (C-22), 35.7 (C-16), 31.5 (C-21), 29.2 (C-15), 26.9 (C-12), 24.6 (C-23), 24.0 (C-11), 21.1 (C-32), 20.8 (C-25), 19.6 (C-30), 18.7 (C-26), 18.5 (C-6). EIMS m/z (int. rel.): 512 $[\text{M}]^+$ (0.4), 452 (4), 439 (17), 393 (16), 371 (54), 325 (12), 173 (100), 119 (82), 107 (84), 105 (81), 91 (59).

Ácido dehidroabiético (20). Se aisló por cromatografía en columna como cristales incoloros. RMN



de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.16 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-11), 6.99 (1H, dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz, H-12), 6.88 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-114), 2.89 (2H, m, H-7), 2.82 (1H, m, H-15), 2.32 y 1.50 (2H, m, H-1), 2.24 (1H, m, H-5), 1.86 y 1.69 (2H, m, H-3), 1.73 (2H, m, H-2), 1.55 (2H, m, H-6), 1.21 (6H, d, H-16, H-17), 1.28 (3H, s, H-19), 1.23 (3H, s, H-20). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ 184.8 (C-18), 146.7 (C-9), 145.7 (C-13), 134.6 (C-8), 126.9 (C-14), 124.1 (C-11), 123.8 (C-12), 47.4 (C-4), 44.5 (C-5), 37.8 (C-1), 36.8 (C-3), 36.7 (C-10), 33.4 (C-15), 29.9 (C-7), 25.1 (C-20), 23.9 (C-16), 23.9 (C-17), 21.7 (C-6), 18.5 (C-2), 16.2 (C-19). EIMS m/z (int. rel.): 300 $[\text{M}]^+$ (35), 286 (22), 285 (100), 240 (21), 239 (99), 197 (32), 141 (23), 43 (32).

Ácido ceanótico (21). Se aisló por cromatografía en columna como cristales incoloros amorfos.



$[\alpha]_{589} = +36$, $[\alpha]_{578} = +37$, $[\alpha]_{546} = +42$, $[\alpha]_{436} = +74$, $[\alpha]_{365} = +122$.

(c 5.3 mg, Metanol 1 mL). RMN de ¹H (Acetona-*d*₆, 300 MHz) δ 6.24 (1H, d, *J* = 5.9 Hz, H-2), 4.72 y 4.59 (2H, 2s, H-29), 4.14 (1H, s, H-3), 3.03 (1H, m, H-19), 2.53 (1H, s, H-2), 2.34 (1H, m, H-13), 2.24 y 1.46 (2H, m, H-16), 1.92 y 1.38 (2H, m, H-21), 1.91 y 1.48 (2H, m, H-22), 1.79 (1H, m, H-9), 1.73 (1H, m, H-5), 1.69 (3H, s, H-30), 1.65

y 1.04 (2H, m, H-12), 1.62 (1H, m, H-18), 1.60 y 1.45 (2H, m, H-11), 1.55 y 1.17 (2H, m, H-15), 1.38 (2H, m, H-6), 1.37 (2H, m, H-7), 1.11 (3H, s, H-25), 1.08 (3H, s, H-23), 0.98 (3H, s, H-27), 0.97 (3H, s, H-26), 0.92 (3H, s, H-24). RMN de ¹³C (Acetona-*d*₆, 75 MHz) δ 177.7 (C-28), 176.6 (C-1), 151.6 (C-20), 109.9 (C-29), 84.9 (C-3), 66.1 (C-2), 57.3 (C-5), 56.7 (C-17), 49.9 (C-18), 49.8 (C-10), 47.9 (C-19), 45.1 (C-9), 43.8 (C-4), 43.7 (C-14), 42.3 (C-8), 39.3 (C-13), 37.5 (C-22), 34.8 (C-7), 32.8 (C-16), 31.3 (C-21), 31.2 (C-23), 30.6 (C-15), 26.2 (C-12), 24.3 (C-11), 19.8 (C-24), 19.5 (C-30), 19.3 (C-6), 18.7 (C-25), 17.0 (C-26), 15.1 (C-27). EIMS *m/z* (int. rel.): 486 [M]⁺ (5), 468 (10), 450 (8), 440 (13), 422 (9), 379 (5), 248 (59), 219 (61), 189 (70), 175 (79), 121 (94), 81 (82), 55 (100).

9.4 Obtención de derivados.

9.4.1 Reacción con diazometano.

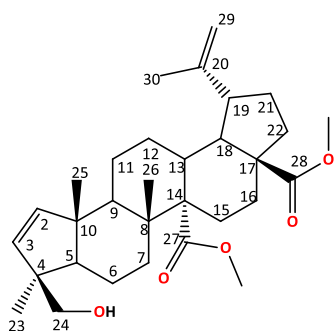
Procedimiento general de metilación. La muestra se disuelve con una mezcla de cloruro de metileno-metanol (1:1), se enfría en baño de hielo. En un matraz se colocan 3 mL de CH₂Cl₂, se añaden 2 mL de KOH (40%) y la mezcla se enfría en baño de hielo (4-5°C). Posteriormente se añade lentamente en pequeñas porciones nitrosometilurea y se agita lentamente durante 5-10 min, se transvasa a un embudo de separación. La capa orgánica (amarilla) se separa y rápidamente se vuelve a poner en el baño de hielo por 2-3 min. Por último, se adiciona lentamente la solución amarilla del diazometano formado a la muestra a reaccionar, previamente disuelta y fría. Con agitación suave, ambas disoluciones permanecen frías en el baño de hielo. Una vez que se adiciona todo el diazometano, se coloca en el refrigerador (4°C) por 12 h (si es necesario). Pasado este tiempo la muestra se lleva a sequedad en rotavapor con presión reducida,

posteriormente se disuelve en acetato de etilo y se lava tres veces con agua destilada. Se seca con sulfato de sodio anhidro y se concentra nuevamente en rotavapor con presión reducida.

9.4.2 Reacción de acetilación.

Procedimiento general de acetilación. La muestra se disolvió con 1 mL de piridina en un matraz Erlenmeyer de 20 mL. Posteriormente se añade 1.5 mL de Ac₂O (anhídrido acético) y se dejó reaccionar en baño de vapor por 12 h. Pasado este tiempo la muestra se vertió sobre hielo y se extrajo con acetato de etilo, posteriormente lavó con agua destilada, después se lavó tres veces con una solución de HCl (10%), nuevamente con agua destilada. Después se lavó con una solución saturada de bicarbonato de sodio y por último nuevamente con agua destilada. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró en rotavapor con presión reducida.

Dimetilgouanato (22). El ácido gouánico (18) (65 mg) se hizo reaccionar con diazometano

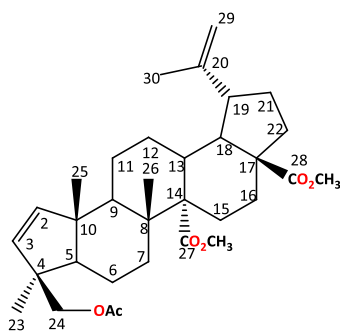


obtenido de *N*-nitrosometilurea (200 mg), se obtuvo 70.6 mg de crudo de reacción, el cual fue sometido a separación por cromatografía en columna utilizando hexano-acetato de etilo (9:1) como fase móvil. Se obtuvo un sólido incoloro amorfo, 41 mg (60 %) del derivado metilado correspondiente. $[\alpha]_{589} = +38$, $[\alpha]_{578} = +40$, $[\alpha]_{546} = +46$, $[\alpha]_{436} = +83$, $[\alpha]_{365} = +142$. (c 8.2 mg, Cloroformo 1 mL).

IR (CHCl₃) $\nu_{\max}$ 3,612 cm⁻¹ banda de estiramiento de OH, 2,946 y 2,864 cm⁻¹ bandas de estiramiento de C-H alifáticos, 1,709 cm⁻¹ bandas de estiramiento de grupos carbonilos. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ 6.09 (1H, d, *J* = 5.8 Hz, H-2), 5.44 (1H, d, *J* = 5.8 Hz, H-3), 4.75 y 4.64 (2H, d, *J* = 34.0 Hz, H-29), 3.69 (3H, s, OMe), 3.67 (3H, s, OMe), 3.56 (2H, AB, *J* = 10.8 Hz, H-24), 3.03 (1H, m, H-19), 2.33 y 1.19 (2H, m, H-15), 2.32 (1H, m, H-13), 2.07 y 1.72 (2H, m, H-16), 2.05 y 1.27 (2H, m, H-12), 1.89 y 1.34 (2H, m, H-22), 1.89 y 1.35 (2H, m, H-21), 1.69 (3H, s, H-30), 1.67 (1H, m, H-9), 1.60 y 1.43 (2H, m, H-7), 1.58 y 1.40 (2H, m, H-6), 1.56 (1H, m, H-18), 1.52 (2H, m, H-11), 1.21 (1H, m, H-5), 1.11 (3H, s, H-23), 1.01 (3H, s, H-26), 0.99 (3H, s, H-25). RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ 176.6 (C-28), 176.0 (C-27), 149.9 (C-20), 143.5 (C-2), 134.6 (C-3), 110.0 (C-29), 67.3 (C-24), 62.1 (C-5), 60.2 (C-14), 56.2 (C-17), 51.7 (C-18), 51.4 (OMe), 50.6 (OMe), 50.6 (C-4), 50.4 (C-10), 48.3 (C-9), 46.9 (C-19), 41.4 (C-8), 39.5 (C-13), 38.1 (C-7), 36.8 (C-22), 34.1

(C-15), 30.3 (C-21), 27.9 (C-12), 25.6 (C-16), 23.8 (C-23), 23.0 (C-11), 20.6 (C-25), 18.9 (C-30), 18.0 (C-26), 17.9 (C-6). EIMS m/z (int. rel.): 498 $[M]^+$ (0.2), 483 (0.2), 467 (7), 407 (10), 399 (24), 279 (10), 247 (8), 173 (38), 79 (100), 77 (52). HRESIMS m/z 499.3427 (calcd for $C_{31}H_{47}O_5 + H$, 499.3418).

Acetildimetilgouanato (**23**).



El acetildimetilgouanato (**29**), (75 mg) se hizo reaccionar con anhídrido acético, se obtuvo 78.3 mg de crudo de reacción, el cual se separó por cromatografía en columna empleando como eluyente hexano-acetato de etilo (9:1), se obtuvo 49 mg (60%) de un sólido cristalino. $[\alpha]_{589} = +40$, $[\alpha]_{578} = +41$, $[\alpha]_{546} = +47$, $[\alpha]_{436} = +86$, $[\alpha]_{365} = +145$. (c 1.7 mg, Cloroformo 1 mL). IR (CHCl₃) $\nu_{\max}$ 2,944 y 2,864 cm^{-1} bandas de estiramiento de C-H alifáticos, 1,717 cm^{-1} bandas de

estiramiento de grupos carbonilos. RMN de ^1H (CDCl₃, 300 MHz) δ 6.08 (1H, d, $J = 5.8$ Hz, H-2), 5.40 (1H, d, $J = 5.8$ Hz, H-3), 4.75 y 4.63 (2H, d, $J = 34.0$ Hz, H-29), 4.00 (2H, AB, $J = 10.8$ Hz, H-24), 3.69 (3H, s, OMe), 3.67 (3H, s, OMe), 3.05 (1H, m, H-19), 2.36 y 2.31 (2H, m, H-16), 2.08 y 2.02 (2H, m, H-15), 2.04 (2H, m, H-12), 2.04 (3H, s, OAc), 1.90 y 1.35 (2H, m, H-22), 1.88 y 1.37 (2H, m, H-21), 1.69 (3H, s, H-30), 1.68 (1H, m, H-9), 1.63 (1H, m, H-13), 1.60 y 1.43 (2H, m, H-6), 1.62 y 1.40 (2H, m, H-7), 1.57 (1H, m, H-18), 1.51 (2H, m, H-11), 1.25 (1H, m, H-5), 1.08 (3H, s, H-23), 1.01 (3H, s, H-26), 1.00 (3H, s, H-25). RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) δ 176.7 (C-28), 176.1 (C-27), 171.3 (OAc), 150.0 (C-20), 143.7 (C-2), 134.2 (C-3), 110.1 (C-29), 68.4 (C-24), 62.3 (C-5), 60.2 (C-14), 56.2 (C-17), 51.8 (C-18), 51.4 (OMe), 50.7 (OMe), 50.4 (C-10), 48.4 (C-4), 48.2 (C-9), 47.0 (C-19), 41.4 (C-8), 39.6 (C-13), 38.1 (C-7), 36.9 (C-22), 34.1 (C-16), 30.4 (C-21), 27.9 (C-15), 25.7 (C-12), 24.3 (C-23), 23.0 (C-11), 20.9 (OAc), 20.4 (C-25), 18.9 (C-30), 18.0 (C-26), 17.8 (C-6). EIMS m/z (int. rel.): 320 $[M]^+$ (1). HRESIMS m/z 541.3527 (calcd for $C_{33}H_{48}O_6 + H$, 541.3524).

9.5 Bioensayos.

9.5.1. Cultivos celulares.

Las líneas celulares de cáncer humano se obtuvieron de la colección de cultivos tipo americano. En este trabajo se utilizaron líneas celulares de tumor de mama MCF-7, línea celular de cáncer cervical HeLa, línea celular de cáncer de pulmón A549 y la línea de leucemia mieloide crónica K562. Células adherentes (MCF-7, HeLa y A549) fueron cultivadas en un Medio Águila

Modificado de Dulbecco/Mezcla de nutriente F-12 Ham (DMEM-F-12, Sigma, St. Louis, Missouri, MO, USA) adicionado con suero fetal bovino al 5% (Corning Inc., Corning New York, NY, USA), suero fetal de ternera al 5%, 100 U/mL de penicilina estreptomina (Gibco), anfotericina B y cultivadas en una atmósfera de CO₂ al 5% y 37°C. Las células K562 fueron cultivadas en un medio RPMI-1640 (Sigma, St. Louis, Missouri, MO, USA) adicionado con 12.5% de suero fetal bovino (Biowest), 100 U/mL de penicilina y estreptomina (Gibco), anfotericina B, L-glutamina 1% (Gibco), piruvato 0.5% (Gibco) y cultivada en una atmósfera de CO₂ al 5% y 37°C.

Las células epiteliales mamarias de bovino (bMECs) se aislaron de tejido alveolar de las ubres de vacas lactantes sanas (sacrificadas para la producción de carne. bMEC se cultivaron en deslizadores de cubierta de vidrio tipo I de colágeno (Sigma, St. Louis, Missouri, MO, USA)) para alcanzar una confluencia del 70-80% y en experimentos que no tenían más de 8 pasajes. bMECs fueron cultivadas en un Medio Águila Modificado de Dulbecco/Mezcla de nutriente F-12 Ham (DMEM-F-12, Sigma, St. Louis, Missouri, MO, USA) y adicionado con 10% de suero fetal de ternera (Eq-uitech Bio), 10 µg/mL insulina (Sigma, St. Louis, Missouri, MO, USA), 5 µg/mL hidrocortisona (Sigma, St. Louis, Missouri, MO, USA), 100 U/mL penicilina, 100 µg/mL estreptomina y 1 µg/mL anfotericina B (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) y cultivada en una atmósfera de CO₂ al 5% y 37°C.

9.5.2. Ensayos de viabilidad por MTT.

La viabilidad celular se llevó a cabo por ensayos con bromuro 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeeniltetrazolio (MTT, Sigma, St. Louis, Missouri, MO, USA) después de 24 h de tratamiento con el compuesto. Las líneas celulares se cultivaron a una densidad de 10000 células para MCF-7, A549, HeLa, and bMEC y 2000 células para K562 por pocillo en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos (Corning Inc., Corning New York, NY, USA). Las células MCF-7, A549, HeLa, y bMEC se sincronizaron por inanición utilizando un medio sin suplemento durante 24 h; cada línea celular de trató con vehículo (etanol), actinomicina D y compuestos (desde 50 µM o menos). El MTT se realizó adicionando 10 µL MTT (5 mg/mL) con 90 µL de medio sin suplemento y se incubó por 4 h en una atmósfera de CO₂ al 5% y 37°C, el medio se retiró cuidadosamente y los cristales de formazan se disolvieron con 100 µL de una mezcla de isopropanol:HCl 1 M (19:1), la absorbancia se registró a una longitud de onda de 595 nm con un espectrofotómetro de centelleo Varioskan Flash F-5017520 (Thermo Scientific 3001-2120). Los experimentos se llevaron a cabo por

triplicado ($n = 3$) y estandarizada con el vehículo (etanol), donde el resultado se reporta como porcentaje de células viables en comparación con el vehículo. La concentración inhibitoria media IC50 se calculó utilizando el GraphPad Prism 8 software, donde se implementó la función de ajuste de suavizado de curvas Fit Spline.

10. BIBLIOGRAFÍA.

1. Harborne J. B. & Baxter H. *Dictionary of plant Toxins*. John Wiley & Sons, **2005**. ISBN: 978-0-471-95107-0
2. Harborne J. B. *Phytochemical Methods. A guide to modern techniques of plants analysis*. Third Edition. Chapman & Hall. **1998**. ISBN: 978-0-412-57260-9
3. Ikan R. *Selected topics in the Chemistry of natural Products*. World Scientific. **2008**. ISBN: 978-981-270-569-3
4. Ikan R. *Natural Products. A laboratory Guide*. Second Edition. Academic Press. **1991**. ISBN: 0-12-370551-7
5. Harborne J. B. & Baxter H. *Phytochemical Dictionary*. John Wiley & Sons. **1998**. ISBN: 9780429204609
6. Dewick P. M. *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic approach*. John Wiley & Sons. Third Edition. **2009**. doi: 10.1002/9780470742761
7. Narasimha R. Y., Navya K. T., Thota P., Jyothi P., Kumar G. A. Chemoenzymatic total synthesis of cryptocaryalactone natural products. *Tetrahedron Letters*. **2018**, 59, 160-162. doi: 10.1016/j.tetlet.2017.12.014
8. Atanasov A. G., Zotchev S. B., Dirsch V. M., The International Natural Product Sciences Taskforce and Supuran C. T. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nature Reviews*. **2021**, 20, 200-216. doi: 10.1038/s41573-020-00114-z
9. Newman D. J., Cragg G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *J. Nat. Prod.* **2020**, 83, 770-803. doi: 10.1021/acs.jnatprod.9b01285
10. Sung, H.; Ferlay, J.; Siegel, R. L.; Laversanne, M.; Soerjomataram, I.; Bray, F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J. Clin.* **2021**, 71, 209–249. doi: 10.3322/caac.21660
11. Valencia-Chan, L. S.; Moreno-Lorenzana, D.; Ceballos-Cruz, J. J.; Peraza-Sánchez, S. R.; Chávez-González, A.; Moo-Puc, R. E. Apoptotic and cell cycle effects of triterpenes isolated from *Phoradendron wattii* on leukemia cell lines. *Molecules*. **2022**, 27, 5616. doi: 10.3390/molecules27175616

12. Shi J., Manolikakes G., Yeh C-H., Guerrero C. A., Shenvi R. A., Shigehisa H., Baran P. S. Scalable Synthesis of Cortistatin A and Related Structures. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**. 133, 8014-8027. doi: 10.1021/ja202103e
13. Waizel-Bucay J. El uso tradicional de las especies del género *Dioscorea*. *Revista de Fitoterapia*. **2009**, 9, 53-67. ISSN: 1576-0952
14. Cooper R., Nicola G. *Natural Products Chemistry*. Sources, Separations and Structures. CRC Taylor & Francis. **2015**. doi: 10.1201/b17244
15. Colegate S. M., Molyneux R. J. *Bioactive natural Products*. Detection, Isolation and Structural Determination. CRC Press, 2a. Edition. **2007**. doi: 10.1201/9781420006889
16. García E., Mendoza V., Guzmán J. A. Sesquiterpenes from *Perezia longifolia*. *J. Nat. Prod.* **1988**, 51, 150-151. doi: 10.1021/np50055a024
17. Escobedo-González R., Mendoza P., Nicolás-Vázquez M. I., Hernández-Rodríguez M., Martínez J., Miranda Ruvalcaba R. A Timeline of Perezone, the First Isolated Secondary Metabolite in the New World, Covering the Period from 1852 to 2020. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.*, **2021**, 116: 67-133. doi: 10.1007/978-3-030-80560-9_3
18. Román L. U., del Río R. E., Hernández J. D., Joseph-Nathan P., Zabel V., and Watson W. H. Structure, chemistry and stereochemistry of rastevione, a sesquiterpenoid from the genus *Stevia*. *Tetrahedron*, **1981**, 37, 2769-2778. doi: 10.1016/S0040-4020(01)92344-0
19. Argueta, A., Cano Asseleih, L. M., Rodarte García, M. E. (1994). *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana* (No. C QK 99. M6. A84 1994). ISBN: 9789682973253
20. Fernández N. R. Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. Familia Rhamnaceae, Fascículo 43. Instituto de Ecología A.C., Centro Regional del Bajío Pátzcuaro, Michoacán, México. 1996. ISSN 0188-5170.
21. Servis R. E., Kosak A. I., Tschesche R., Froberg E., Fehlhaber H. W. Ceanothus alkaloids. II. Peptide Alkaloids from *Ceanothus americanus* L. (Rhamnaceae). *J. Am. Chem. Soc.*, **1969**, 91, 5619-5624. doi: 10.1021/ja01048a032
22. Duke J. A., Bogenschutz-Godwin M. J., Duke P-A. K. *Handbook of Medicinal Herbs*. CRC Press, 2a. Edition. **2002**. doi: 10.1201/9781420040463

23. Lagarias J. C., Goff D., Rapoport H. Cyclopeptide Alkaloids. Phencyclopeptines from *Ceanothus sanguineus*. *J. Nat. Prod.*, **1979**, 42. 663-668. doi: 10.1021/np50006a013
24. Lagarias J. C., Goff D., Klein K. K., Rapoport H. Cyclopeptide Alkaloids. Phencyclopeptines from the Polymorphic Species *Ceanothus integerrimus*. *J. Nat. Prod.*, **1979**, 42. 220-227. doi: 10.1021/np50002a013
25. Klein F. K., Rapoport H. *Ceanothus* Alkaloids. Americine. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, 90, 2398-2404. doi: 10.1021/ja01011a033
26. Warnhoff E. W., Ma J. C. N., Reynolds-Warnhoff P. Ceanothine-B, a naturally Occurring Oxazacyclononadiene. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, 87, 4198-4199. doi: 10.1021/ja01096a041
27. Scalione C. C., Blakemore H. S. *Ceanothus velutinus* (snow brush) as source of wax and tannin. *J. Ind. & Eng. Chem.* **1916**, 8, 411-413. doi: 10.1021/i500005a006
28. Riggan P. J., Lockwood R. N., Lopez E. N. Deposition and Processing of Airborne Nitrogen Pollutants in Mediterranean-Type Ecosystems of Southern California. *Environ. Sci. Technol.*, **1985**, 19, 781-789. doi: 10.1021/es00139a003
29. Das K. C., Farmer W. J., Weinstein B. Phytochemical Studies. IX. A new Flavone, Velutin. *J. Org. Chem.*, **1970**, 35, 3989-3990. doi: 10.1021/jo00836a101
30. Laskin A., Smith J. S., Laskin J. Molecular Characterization of Nitrogen-Containing Organic Compounds in Biomass Burning Aerosols Using High-Resolution Mass Spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* **2009**, 43, 3764-3771. doi: 10.1021/es803456n
31. Oakley B. B., North M. P., Franklin J. F. The effects of fire on soil nitrogen associated with patches of the actinorhizal shrub *Ceanothus cordulatus*. *Plant and Soil*. **2003**, 254, 35-46. doi: 10.1023/A:1024994914639
32. Li Xing-Cong, Cai L., Wu C. D. Antimicrobial compounds from *Ceanothus americanus* against oral pathogens. *Phytochemistry*, **1997**, 1, 97-102. doi: 10.1016/s0031-9422(97)00222-7
33. Ren, Y.; Kinghorn, D. Natural Product Triterpenoids and Their Semi-Synthetic Derivatives with Potential Anticancer Activity. *Planta Med.* **2019**, 85, 802-814. doi: 10.1055/a-0832-2383

34. Gill, B. S.; Kumar, S.; Navgeet. Triterpenes in Cancer: Significance and Their Influence. *Mol Biol Rep.* **2016**, 43, 881-896. doi: 10.1007/s11033-016-4032-9
35. Gutiérrez-Nicolás F, Gordillo-Román B, Oberti JC, Estévez-Braun A, Ravelo AG, Joseph-Nathan P. Synthesis and anti-HIV activity of lupane and olean-18-ene derivatives. Absolute configuration of 19,20-epoxylupanes by VCD. *J Nat Prod.* **2012**, 75(4):669-76. doi: 10.1021/np200910u
36. Burns D., Reynolds W. F., Buchanan G., Reese P. B., Enriquez R. G. Assignment of ^1H and ^{13}C spectra and investigation of hindered side-chain rotation in lupeol derivatives. *Magn. Reson. Chem.*, **2000**, 38, 488–493. doi: 10.1002/1097-458X(200007)38:7<488::AID-MRC704>3.0.CO;2-G
37. Surendra K, Corey E. J. A short enantioselective total synthesis of the fundamental pentacyclic triterpene lupeol. *J Am Chem Soc.* **2009**, 131(39), 13928-9. doi: 10.1021/ja906335u
38. The identification of the components was based on comparison of their mass spectra with those reported in the database: The NIST Mass Spectral Search Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library Version 2.0, 2011 (National Institute of Standards and Technology Mass Spectral Database).
39. Kamboj A.; Kumar S. A. Isolation of stigmasterol and β -sitosterol from petroleum ether extract of aerial parts of *Ageratum conyzoides* (Asteraceae). *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, **2011**, 3, 94-96. ISSN: 0975-1491
40. Koay Y. C.; Wong O. H.; Eldeen I. M. S.; Asmawi M. Z. Chemical Constituents and Biological Activities of *Strobilanthes crispus* L. *Rec. Nat. Prod.*, **2013**, 7, 59-64.
41. De Mayo P., Starratt N. Terpenoids II. Ceanothenic acid: A C_{29} A-norlupane derivative. *Can. J. Chem.*, **1962**, 40, 1632-1641. doi: 10.1139/v62-247
42. Eade R. A., Ellis J., Harper P., and Simes J. J. H. Jingullic Acid, A Triterpene of the Lupane Series Containing a C-28 $\rightarrow$ 19-Lactone Group. *Chem. Commun.*, **1969**, 579-580. doi: 10.1039/C29690000579

43. Craig A. R., Das K. C., Farmer W. J., Yu-Yin L., Wai-Kuan W. and Weinstein B. Rhamnaceae. Constituents of the leaves and root bark of *C. velutinus*. *Phytochemistry*, **1971**, 10, 908. doi: 10.1016/S0031-9422(00)97178-4
44. Sheng-Jye J., Chung-Hsiung C., Jih-Hwa G., Chun-Nan L. and Shoei-Sheng L. Flavonol Glycosides and Cytotoxic Triterpenoids from *Alphitonia philippinensis*. *J. Chinese Chem. Soc.*, **2004**, 51, 827-834. doi: 10.1002/jccs.200400124
45. Qing-Han G., Chun-Sen W., and Min Wang. Q. *J. Agric. Food Chem.*, **2013**, 61, 3351-3363. doi.org/10.1021/jf4007032
46. Ki H. K., Sang W. C., Shi Y. R., Sang U. C., and Kang R. L. Phytochemical constituents of *Nelumbo nucifera*. *Natural Product Sciences*, **2009**, 15, 90-95.
47. Aguirre M. C., Delporte C., Backhouse N., Erazo S., Letelier E., Cassels B. K., Silva X., Alegría S. and Negrete R. Topical-inflammatory activity of 2a-hydroxy pentacyclic triterpene acids from leaves of *U. molinae*. *Bio. & Med. Chem.* **2006**, 14, 5673–5677. doi:10.1016/j.bmc.2006.04.021
48. Exner O., Fiedler P., Budesinsky M. Conformation and Steric Effects in Mono- and Dimethoxybenzoic Acids. *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 3513-3518. doi: 10.1021/jo982282f
49. Pouchert C. J., Behnke J. The Aldrich Library of ¹³C and ¹H FT-NMR Spectra. **1993**, 2, 1110. ISBN: 978-0-94163334-5
50. Faizi S., Ali M., Saleem R., Irfanullah and Bibi S. Spectral Assignments and Reference Data. Complete ¹H and ¹³C NMR assignments of stigma-5-en-3-O-β-glucoside and its acetyl derivative. *Magn. Reson. Chem.*, **2001**, 39, 399-405. doi: 10.1002/mrc.855
51. Wawer I., Zielinska A. ¹³C CP/MAS NMR studies of flavonoids. *Magn. Reson. Chem.*, **2001**, 39, 374-380. doi: 10.1002/mrc.871
52. Kavakka J. S., Heikkinen S., Kilpeäinen I., Mattila M., Lipsanen H., and Helaja J. Noncovalent Attachment of *pyro*-pheophorbide *a* to a carbon nanotube. *Chem. Commun.*, **2007**, 519-521. doi: 10.1039/b611461j
53. Nikkonen T., Haavikko R. and Helaja J. Hydrogen bond driven self-assembled C2-symmetric chlorine syn dimmers; unorthodox models for chlorophyll 'special pair' in photosynthetic reaction centres. *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, 7, 2046-2052. doi: 10.1039/b819764d

54. Kavakka J. S., Heikkinen S., Kilpeäinen I., Tkachenko N. V. and Helaja J. Zn *pyro*-pheophorbide α -fulleronicotinic dyad; supramolecular self-assembled donor-acceptor system for photoinduced charge separation. *Chem. Commun.*, **2009**, 758-760. doi: 10.1039/B817701E
55. Sholichin M., Yamasaki K., Kasai R., and Tanaka O. ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance of Lipane-Type Triterpenes, Lupeol, Betulin and Betulinic acid. *Chem. Pharm. Bull.*, **1980**, 28 (3), 1006-1008. doi: 10.1248/cpb.28.1006
56. Peng C., Bodenhausen G., Qiu S., Fong H. H. S., Farnsworth N. R., Yuan S., and Zheng C. Computer-Assisted Structure Elucidation: Application of CISOC-SES to the Resonance Assignment and Structure Generation of Betulinic acid. *Magn. Reson. Chem.*, **1998**, 36, 267-278. doi: 10.1002/(SICI)1097-458X(199804)36:4<267::AID-OMR256>3.0.CO;2-6
57. Giacomelli S. R., Maldaner G., Stücker C., Marasciulo C., Schmidt J., Wessjohann L., Dalco I. I., Morel A. F. Triterpenoids from *Gouania ulmifolia*. *Planta Med.* **2007**; 73, 499-501. doi: 10.1055/s-2007-967166
58. Van Beek T. A., Claassen F. W., Dorado J., Godejohann M., Sierra-Alvarez R., and Wijnberg J. B. P. A. Fungal Biotransformation Products of Dehydroabietic acid. *J. Nat. Prod.*, **2007**, 70, 154-159. doi: 10.1021/np060325e
59. Julian P. L., Josef P., Dawson R. The Constituents of *Ceanothus americanus*. I. Ceanothic Acid. *J. Am. Chem. Soc.*, **1938**, 60, 77-79. doi: 10.1021/ja01268a024
60. De Mayo P., Sattarratt N. The constitution of Ceanothic acid, a ring-contracted triterpenoid. *Tetrahedron Letters*, **1961**, 2, 259-262. doi: 10.1016/S0040-4039(01)84057-0
61. De Mayo P., Sattarratt N. Terpenoids I. The constitution and stereochemistry of Ceanothic acid. *Can. J. Chem.*, **1962**, 40, 788-795. doi: 10.1139/v62-116
62. Mechoulam R. The Structure of Ceanothic acid. *J. Org. Chem.*, **1962**, 27, 4070-4073. doi: 10.1021/jo01058a517
63. Roitman J. N. and Jurd L. Triterpenoid and phenolic constituents of *Colubrine granulose*. *Phytochemistry*, **1978**, 17, 491-494. doi: 10.1016/S0031-9422(00)89345-0
64. Shoei-Sheng L., Su W-C, and Liu K. C. Two new triterpene glucosides from *Paliurus ramosissimus*. *J. Nat. Prod.*, **1991**, 54, 615-618. doi: 10.1021/np50074a047

65. Shoei-Sheng L., Cheng-Jen L., and Karin C. Liu. Two triterpenes from *Paliurus ramosissimus*. *J. Nat Prod.*, **1992**, 55, 602-606. doi: 10.1021/np50083a007
66. Yagi A., Okamura N., Haraguchi Y., Noda K., and Nishioka I. Studies on the Constituents of Zizyphi Fructus. I. Structure of Three New *p*-Coumaroylates of Alphitolic Acid. *Chem. Pharm. Bull.*, **1978**, 29, 1798-1802. doi: 10.1248/cpb.26.1798
67. B. Siewert, E. Pianowski and R. Csuk . Esters and amides of maslinic acid trigger apoptosis in human tumor cells and alter their mode or action with respect to the substitution pattern at C-28. *Eur. J. Med. Chem.*, **2013**, 70, 259-272. doi: 10.1016/j.ejmech.2013.10.016
68. Shoei-Sheng L., Bih-Jing Y., and Kuang-Chao W. Microbial Transformation of Ceanothic acid and Derivatives by Mycobacterium sp. (NRRL B-3805). *J. Chinese Chem. Soc.*, **1992**, 40 (2), 213-216. doi: 10.1002/jccs.199300032
69. Takeoka G., Dao L., Teranishi R., Wong R., Flessa S., Harden L., Edwards R. Identification of Three Triterpenoids in Almond Hulls. *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, 48, 3437-3439. doi: 10.1021/jf9908289

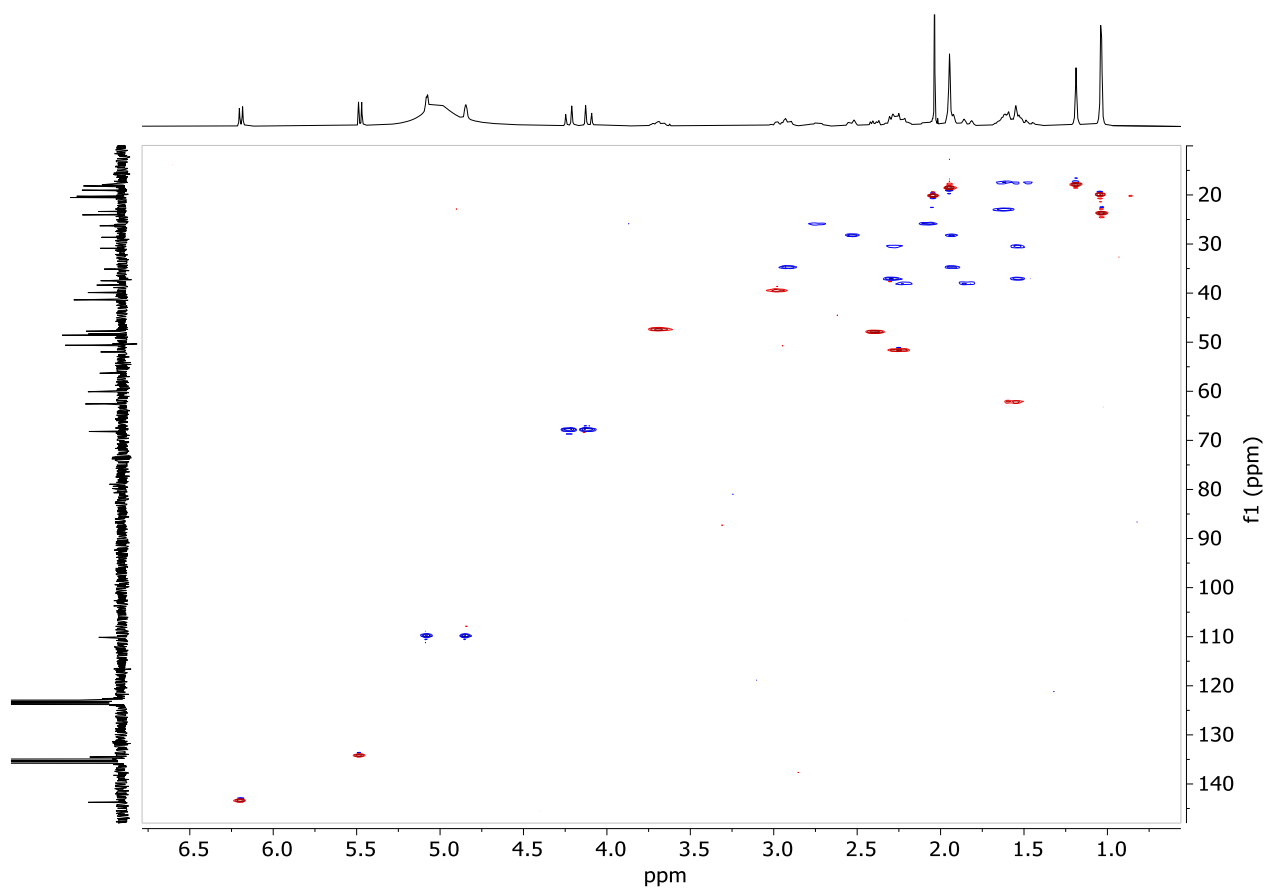
11. ANEXOS.

Anexo 1. Distribución de compuestos aislados en *C. caeruleus*, elución en cromatografía en columna y rendimiento.

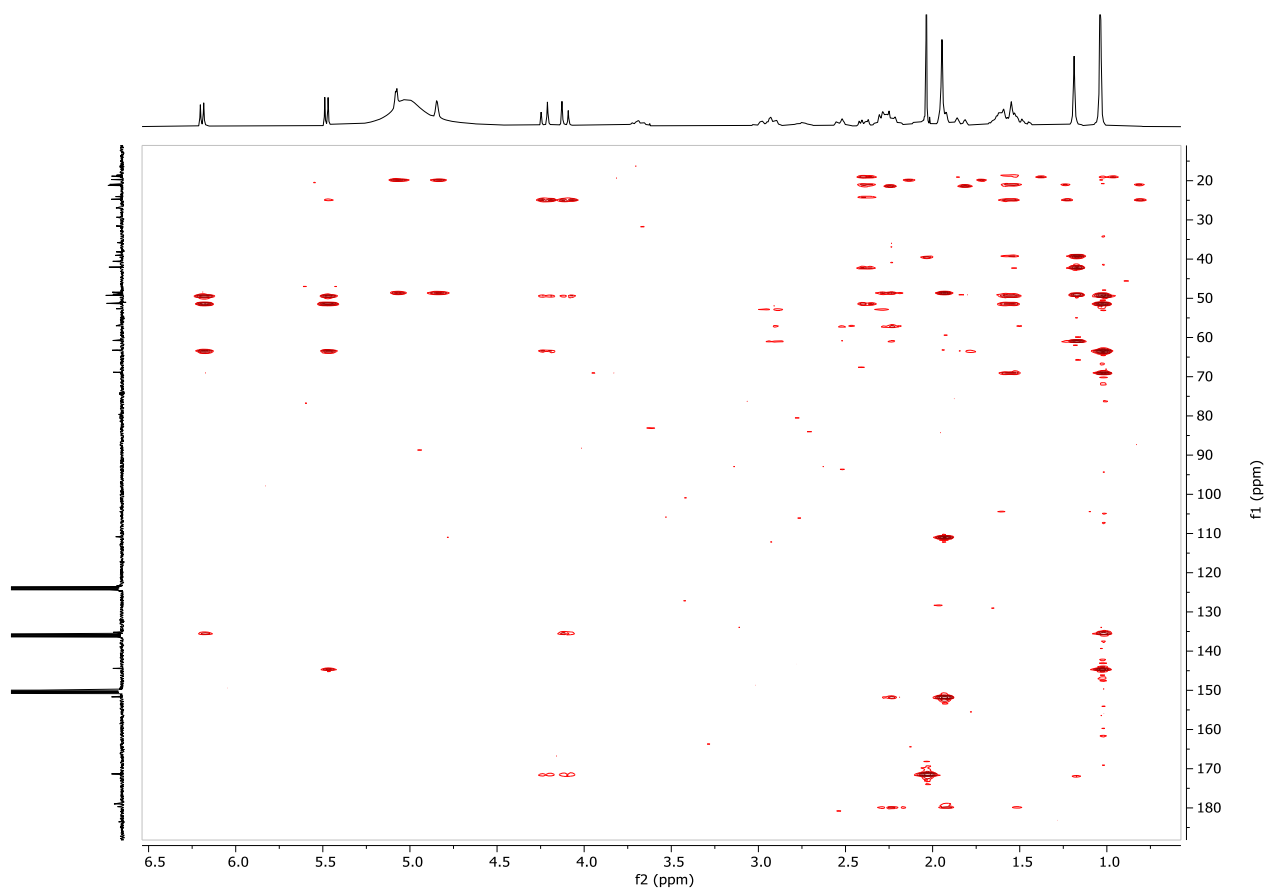
Compuesto	Flores ^a	Flores ^b	Hojas ^a	Hojas ^b	Raíces ^c	Raíces ^d	Tallos ^c	Tallos ^d
8	Hex:EtOAc (9:1) (0.74%)	—	—	—	—	—	—	—
9	Hex:EtOAc (9:1) (0.74%)	—	—	—	—	—	—	—
10	Hex:EtOAc (9:1) (3.68%)	Hex:EtOAc (8:2) (0.42%)	Hex:EtOAc (8:2) (2.64%)	—	Hex:EtOAc (9:1) (Tz)	Hex:EtOAc (7:3) (Tz)	Hex_EtOAc (9:1) (2.09%)	Hex:EtOAc (7:3) (6%)
11	Hex:EtOAc (7:3) (5.15%)	—	Hex:EtOAc (8:2) (5.51%)	—	—	—	Hex-EtOAc (7:3) (1.12%)	—
12	Hex:EtOAc (1:1) (4.42%)	—	—	—	—	—	—	—
13	EtOAc (2.14%)	EtOAc (0.77%)	EtOAc (1.98%)	EtOAc (3.28%)	—	EtOAc (Tz)	EtOAc (4.68%)	EtOAc (6.5%)
14	—	Hex:EtOAc (1:1) (0.85%)	—	—	—	—	—	—
15	—	—	Hex:EtOAc (8:2) (10%)	—	—	—	—	—
16	—	—	Hex:EtOAc (8:2) (0.66%)	—	—	—	—	—
17	—	—	Hex:EtOAc (1:1) (1.98%)	—	—	—	Hex:EtOAc (7:3) (0.75%)	—
18	—	—	—	Hex:EtOAc (8:2) EtOAc (1.39%)	—	—	—	—
19	—	—	—	—	Hex:EtOAc (9:1) (22.86%)	Hex:EtOAc (7:3) (Tz)	—	—
20	—	—	—	—	Hex:EtOAc (7:3) (Tz)	Hex:EtOAc (7:3) (21.35%)	Hex:EtOAc (7:3) (1%)	—
21	—	—	—	—	—	—	Hex:EtOAc (7:3) (1.12%)	—

^a Extracto de diclorometano obtenido por maceración. ^b Extracto de acetato de etilo obtenido por maceración.

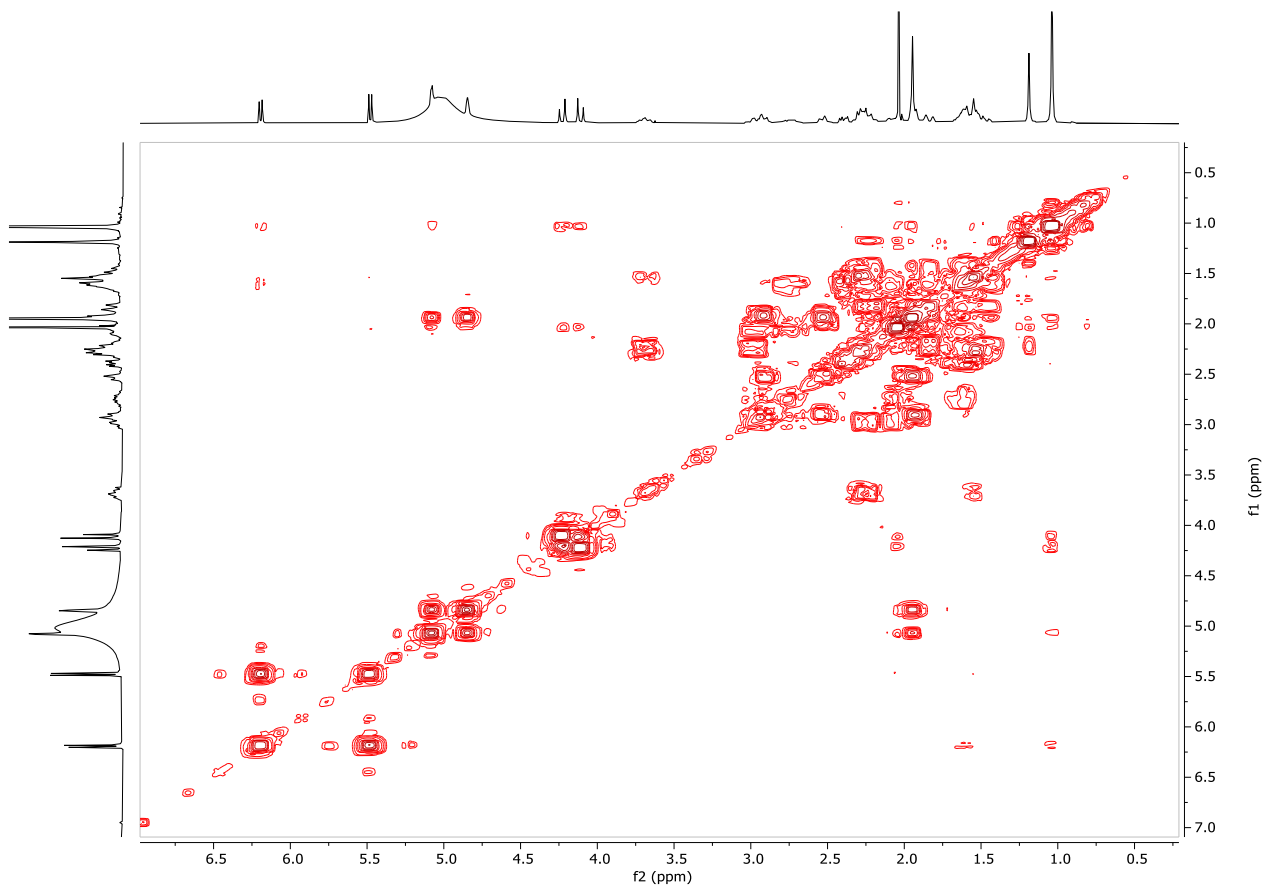
^c Extracto de diclorometano obtenido por reflujo. ^d Extracto de acetato de etilo obtenido por reflujo. Tz = Trazas



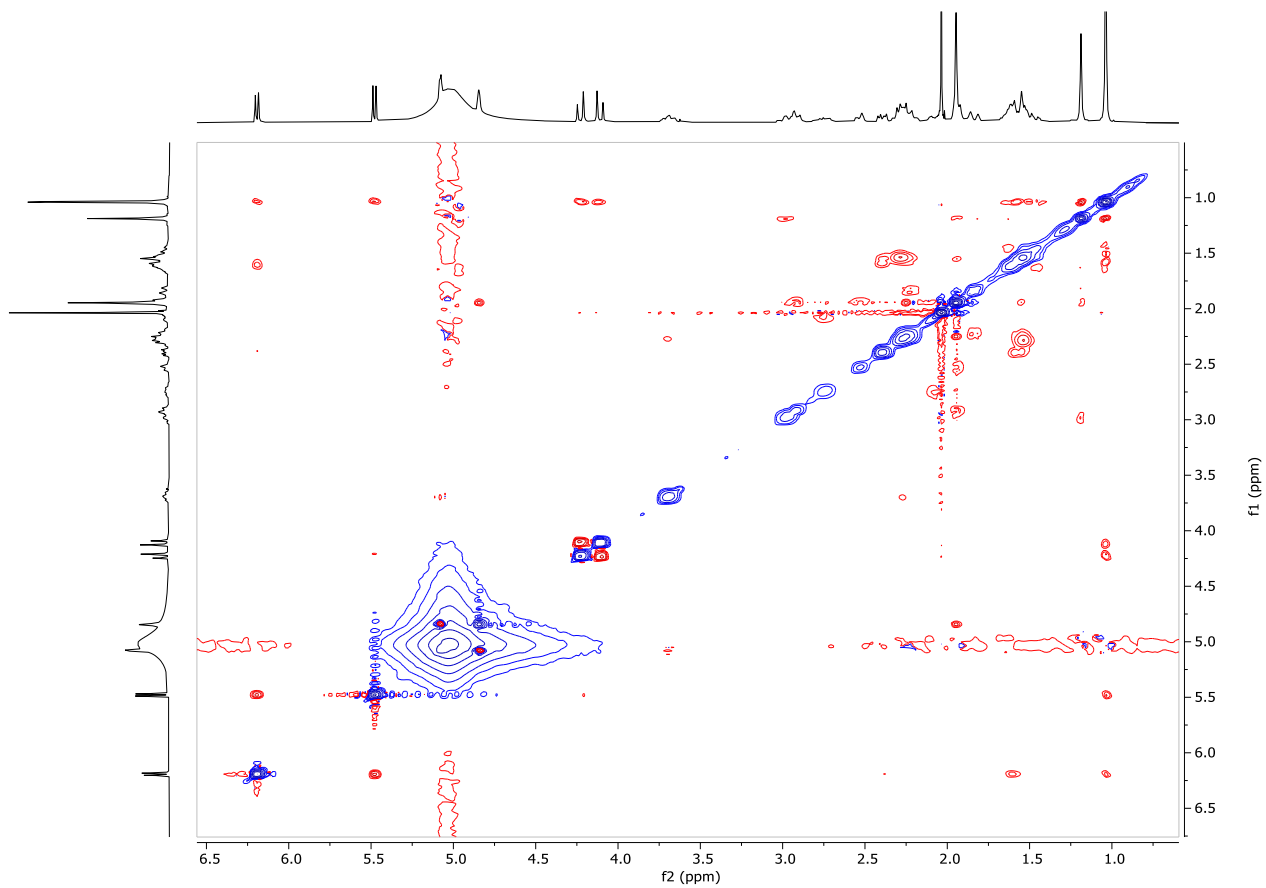
Anexo 2. Espectro de HSQC en piridina-*d*₅ del acetilgouánico B (**19**).



Anexo 3. Espectro de HMBC en piridina- d_5 del acetilgouánico B (**19**).



Anexo 4. Espectro de COSY en piridina- d_5 del acetilgouánico B (**19**).



Anexo 5. Espectro de NOESY en piridina- d_5 del acetilgouánico B (**19**).

José Luis Salvador Hernández

Estudio fitoquímico de Ceanothus caeruleus y actividad citotóxica de derivados triterpénicos tipo no

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::3117:470278490

Fecha de entrega

27 jun 2025, 5:53 p.m. GMT-6

Fecha de descarga

27 jun 2025, 5:56 p.m. GMT-6

Nombre de archivo

Estudio fitoquímico de Ceanothus caeruleus y actividad citotóxica de derivados triterpénicos tip....pdf

Tamaño de archivo

5.1 MB

118 Páginas

28.255 Palabras

129.729 Caracteres

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	Doctorado en Ciencias Químicas	
Título del trabajo	Estudio fitoquímico de <i>Ceanothus caeruleus</i> y actividad citotóxica de derivados triterpénicos tipo <i>nor-A-lupano</i>	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	M. C. José Luis Salvador Hernández	jose.salvador@umich.mx
Director	Dr. Hugo Alejandro García-Gutiérrez	hgarcia@umich.mx
Codirector	Dra. Rosa Elva Norma del Río Torres	norma.del.rio@umich.mx
Coordinador del programa	Dr. Juan Pablo García Merinos	doc.ciencias.quimicas@umich.mx

Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	No	

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	No	
Traducción a otra lengua	No	
Revisión y corrección de estilo	No	
Análisis de datos	No	
Búsqueda y organización de información	No	
Formateo de las referencias bibliográficas	No	
Generación de contenido multimedia	No	
Otro	No	

Datos del solicitante	
Nombre y firma	MC. José Luis Salvador Hernández 
Lugar y fecha	Morelia, Mich., a 17 de junio de 2025