

ÍNDICE DE CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	Metabolitos Secundarios	2
1.2.	Metabolitos Secundarios con Características Farmacológicas.	3
1.3.	Generalidades y Distribución de la Familia Apiaceae.....	3
1.4.	Características Químicas de la Familia Apiaceae	4
1.5.	Importancia Económica de la Familia Apiaceae	5
1.6.	Morfología del Género <i>Azorella</i>	5
1.7.	Usos Económicos y Etnobotánicos del Género <i>Azorella</i>	6
1.8.	Estudio Fitoquímico del Género <i>Azorella</i>	6
1.9.	Biogénesis	11
1.10.	Estudios Biológicos de Diterpenos en <i>Azorella</i>	12
1.10.1.	Actividad antiparasitaria.	12
1.10.2.	Actividad espermicida.....	13
1.10.3.	Actividad antibacteriana.....	13
1.10.4.	Actividad analgésica y antiinflamatoria	14
1.10.5.	Actividad antituberculosa.....	14
1.10.6.	Actividad hipoglicemiante	15

2.	HIPÓTESIS DE TRABAJO	16
3.	OBJETIVOS	17
3.1.	Objetivo general.....	17
3.2.	Objetivos específicos	17
4.	PARTE EXPERIMENTAL	18
4.1.	Equipos e Instrumentos.....	18
4.1.1.	Resonancia Magnética Nuclear (RMN).....	18
4.1.2.	Espectrometría de Masa (MS)	18
4.1.3.	Espectroscopia Infrarroja (IR).	18
4.1.4.	Punto de Fusión (PF)	18
4.2.	Solventes y Reactivos.....	19
4.3.	Técnicas Instrumentales.....	20
4.3.1.	Espectroscopia Infrarrojo (IR)	20
4.3.2.	Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN).....	20
4.3.3.	Espectrometría de Masa (MS)	21
4.4.	Procedimientos.....	21
4.4.1.	Material vegetal e identificación taxonómica.....	21
4.5.	Obtención de los Extractos	24
4.6.	Fraccionamiento de los Extractos y Purificación de los Compuestos.	24
4.7.	Modificaciones Químicas	24
4.7.1.	Hidrólisis del 2-acetoxi-13-hidroxi-mulin-11-eno, IV.	24

4.7.2.	Acetilación de alpinumisoflavona y licoisoflavona A.....	25
4.8.	Actividad Biológica.....	25
4.8.1.	Determinación de la actividad antibacteriana.....	25
4.8.2.	Determinación de fenoles totales.....	26
4.8.3.	Actividad antioxidante.....	27
4.8.4.	Determinación de la actividad inhibitoria AChE y BuChE.....	27
4.8.5.	Ensayo de inhibición plaquetaria.....	28
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
5.1.	<i>Azorella trifurcata</i>	29
5.2.	<i>Azorella spinosa</i>	29
5.3.	Elucidación estructural.....	33
5.3.1.	Compuesto I: 13 α -hidroxiazorellano.....	33
5.3.2.	Compuesto II: ácido mulinólico.....	33
5.3.3.	Compuesto III: 2-acetoxi-mulin-11,13-dieno.....	36
5.3.4.	Compuesto IV: 2-acetoxi-13-hidroxi-mulin-11-eno.....	51
5.3.5.	Derivado de 2-acetoxi-13-hidroxi-mulin-11-eno.....	52
5.3.6.	Compuesto VIII: 2,13-dihidroxi-mulin-11-eno.....	53
5.3.7.	Compuesto V: Lactona de ácido ursólico.....	55
5.3.8.	Compuesto VI y VII: quercetina y 7-hidroxycumarina.....	56
5.4.	<i>Azorella madreporica</i>	57
5.4.1.	Extracción y aislamiento de las flavonas.....	58

5.5.	Elucidación Estructural.....	60
5.5.1.	Compuesto IX: alpinumisoflavona	60
5.5.2.	Compuesto X: licoisoflavona A.....	61
5.5.3.	Compuesto XI: angustona C	62
5.5.4.	Semisíntesis	65
5.6.	Obtención de los Extractos Metanólicos de <i>Azorella monantha</i>	66
5.7.	Actividad Biológica	66
5.7.1.	Actividad antibacteriana	67
5.7.2.	Fenoles totales.....	69
5.7.3.	Actividad antioxidante	70
5.7.4.	Actividad inhibitoria de AChE y BuChE.....	71
5.7.5.	Actividad antiplaquetaria	73
6.	CONCLUSIONES	75
7.	RECOMENDACIONES	77
8.	BIBLIOGRAFIA	78
9.	ANEXOS	86
9.1.	Espectros	87
9.2.	Imágenes de <i>Azorella</i>	122
9.3.	Congresos.....	124
9.4.	Publicaciones	124

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ubicación taxonómica de las especies estudiadas.....	21
Tabla 2. Datos de colección de las especies vegetales estudiadas.....	23
Tabla 3. Protocolo del ensayo de microdilución para determinar actividad antibacteriana	26
Tabla 4. Protocolo del ensayo de inhibición de la AChE y BuChE	28
Tabla 5. Masa obtenida de los extractos en <i>A. spinosa</i>	29
Tabla 6. Datos espectroscópicos de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN de los compuestos I y II en CDCl_3 , J en Hz.....	35
Tabla 7. Datos espectroscópicos de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN de los compuestos III, IV y VIII en CDCl_3 , J en Hz.	54
Tabla 8. Datos espectroscópicos de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN del compuesto V en CDCl_3 , J en Hz.....	56
Tabla 9. Datos espectroscópicos de ^1H -RMN, ^{13}C -RMN y Dept 135 de los compuestos IX, X y XI en CDCl_3 , δ H y δ C en ppm, J en Hz.	64
Tabla 10. Masa de extractos de <i>Azorella monantha</i>	66
Tabla 11. Actividad antibacteriana de los extractos de <i>Azorella</i>	68
Tabla 12. Actividad antibacteriana de los metabolitos III, IV, VIII, IX-XIII	69
Tabla 13. Contenido de Fenoles totales en los diferentes extractos de <i>Azorella</i>	70
Tabla 14. Actividad Antioxidante en extractos metanólicos de <i>Azorella</i>	71
Tabla 15. Actividad Antioxidante de los diterpenos III, IV, VIII	71
Tabla 16. Actividad inhibitoria de extractos de especies <i>Azorella</i> contra enzimas AChE y BuChE.	73

Tabla 17. Actividad inhibitoria de los compuestos III, IV, VIII contra enzimas AChE y BuChE.	73
Tabla 18. Inhibición de la agregación plaquetaria inducida por ADP.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. ¹ H-RMN del compuesto III, 400 MHz en CDCl ₃	37
Figura 2. ¹³ C-RMN y DEPT-135 del compuesto III, 400 MHz en CDCl ₃	38
Figura 3. HSQC del compuesto III, 400 MHz en CDCl ₃	39
Figura 4. HSQC (expansión) del compuesto III, 400 MHz en CDCl ₃	40
Figura 5. HSQC (expansión) del compuesto III, 400 MHz en CDCl ₃	40
Figura 6. HSQC (expansión) del compuesto III, 400 MHz en CDCl ₃	41
Figura 7. HMBC del compuesto III, 400 MHz en CDCl ₃	43
Figura 9. HMBC (expansión) del compuesto III, 400 MHz en CDCl ₃	45
Figura 11. Espectro NOE del compuesto III, 400 MHz en CDCl ₃	47
Figura 12. Espectro TOCSY del compuesto III, 400 MHz en CDCl ₃	48
Figura 13. Espectro de IR del compuesto III.....	49
Figura 14. Espectro de masas Ms y MsMs del compuesto III.....	50

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Patrón de fragmentación del compuesto III unidades en m/z. **Error! Marcador no definido.**

ÍNDICE DE DIAGRAMAS

Diagrama 1. Fraccionamiento cromatográfico de los extractos de *A. spinosa*..... 32

Diagrama 2. Fraccionamiento cromatográfico de los extractos de *A. madreporica* 59

ABREVIATURAS

AChE	Acetilcolinesterasa
BuChE	Butirilcolinesterasa
br s	Singlete ancho (en relación a RMN)
°C	Grado Celsius
CC	Cromatografía en columna
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CD ₃ OD	Metanol deuterado
CHCl ₃	Cloroformo
d	Doblete (en relación a RMN)
DCM	Diclorometano
DMSO	Dimetilsulfóxido
δ	Desplazamiento químico
EtOH	Etanol
EtOAc	Acetato de etilo
g	gramo
GAE	Ácido gálico

HMBC	Correlación homonuclear a enlaces múltiples
HSQC	Correlación heteronuclear a enlaces simples
Hz	Hertz (para constantes de acoplamiento, en RMN)
IC ₅₀	Concentración inhibitoria del 50%
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento (para RMN)
L	litro
m	Multiplete (en relación a datos de RMN)
MIC	Concentración mínima inhibitoria
mm	milímetro
mM	Concentración milimolar
mg	(milígramo)
MHz	Mega Hertz
MeOH	Metanol
min	minuto
mL	mililitro
MS	Espectro de masas
m.s.n.m	Metro sobre el nivel del mar
m/z	Relación masa/carga (espectroscopía de masas)
nm	nanómetro
NaOH	Hidróxido de sodio

NOE	Efecto nuclear Overhauser
PF	Punto de fusión
PE	Éter de petróleo
ppm	Partes por millón
q	Cuarteto (en relación a datos de RMN)
RMN	Resonancia magnética nuclear
s	Singlete (en relación a datos de RMN)
SD	Desviación estándar
SiO ₂	Sílica gel
t	Triplete (en relación a datos de RMN)
CCF	Cromatografía en capa fina
TMS	Tetrametilsilano
TOCSY	Correlación espectroscópica total
U	Unidades enzimáticas
μg	(microgramo)
μL	(microlitro)
μM	(micromolar)