

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA



DERIVADOS DE LA TECOMINA (ALCALOIDE
MAS ABUNDANTE DE TECOMA STANS JUSS.) CON
POSIBLE ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE.

T E S I S

SONIA GPE. ZAMORA COSSIO

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

1 9 7 9



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CLAS TESIS 1979

ADQ M.T. ~~368~~ 368

FECHA _____

PROB _____

6 _____



PRESIDENTE: PROF. BERTHA SOTO DE VILLATORO.

VOCAL: PROF. CONSUELO HIDALGO MONDRAGON.

JURADO ASIGNADO
ORIGINALMENTE.

SECRETARIO: PROF. JUAN JOSE MANDOKI W.

1er. SUPLENTE: PROF. JUANA LETICIA RODRIGUEZ.

2do. SUPLENTE: PROF. CRISTINA DIAZ PADILLA.

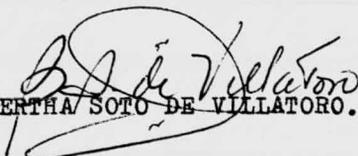
ESTA TESIS SE REALIZO EN EL DEPARTAMENTO DE
FARMACIA Y PRODUCTOS NATURALES DE LA DIVISION
DE ESTUDIOS SUPERIORES DE LA FACULTAD DE -
QUIMICA, U.N.A.M.

SUSTENTANTE



SONIA GUADALUPE ZAMORA COSSIO

ASESOR DEL TEMA



PROF. BERTHA SOTO DE VILLATORO.

A MIS PADRES

Enrique Zamora García y

Flor de Ma. Cossío De Zamora

Con inmenso amor y gratitud eterna.

A MIS HERMANOS

Enrique, Ricardo y Conchita

**Con el cariño que siempre nos
ha unido.**

A LA MAESTRA

Bertha Soto de Villatoro

**A quien debo la dirección de
este trabajo.**

AL H. JURADO EXAMINADOR.

A MI FACULTAD DE QUIMICA.

A MI NOVIO

Guido René Cuevas Lujano

Por su comprensión y cariño.

SUMARIO:

- 1.- Introducción.
- 2.- Parte teórica.
- 3.- Parte experimental.
- 4.- Conclusiones.
- 5.- Bibliografía.

INTRODUCCION

Desde tiempo inmemorial la humanidad se ha visto azotada por una de las enfermedades mas temibles como es la Diabetes, por lo cual los hombres de ciencia no han descansado en la búsqueda de medicamentos que ayuden a controlarla, por lo que se marcó un acontecimiento importante en la historia del tratamiento de la Diabetes con el descubrimiento de la Insulina y posteriormente, con la introducción de agentes hipoglucemiantes orales como son las sulfonilureas.

Dado que las propiedades farmacológicas de una sustancia están condicionadas por sus propiedades fisicoquímicas decidimos encaminar el presente estudio a sintetizar derivados de la Tecomina (alcaloide mas abundante de Tecoma stans Juss.), que fuesen mas activos y mas estables que el alcaloide como base libre, el cual, es un potente agente hipoglucemiante.

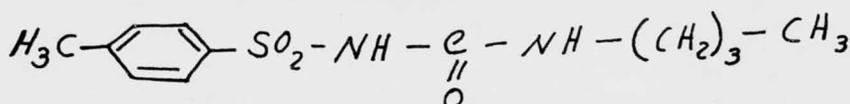
Entre las propiedades fisicoquímicas mas importantes y susceptibles de modificar fácilmente tenemos, la solubilidad en lípidos y agua, que nos dá un determinado coeficiente de distribución lípido/agua, que se ve afectado por la polaridad y el grado de ionización de las sustancias, y por consiguiente influye en su absorción, distribución y eliminación. Por lo tanto, dicho coeficiente debe ser de un valor tal, que favorezca la absorción ó eliminación del compuesto, de tal forma que se obtenga la mayor efectividad.

Como nuestro fármaco es activo por vía oral, y sabemos que tanto la mucosa gástrica como el epitelio del intestino son relativamente permeables a la forma no ionizada de los fármacos, mediante un proceso de difusión simple, es necesario encontrar los derivados que tengan la mayor proba-

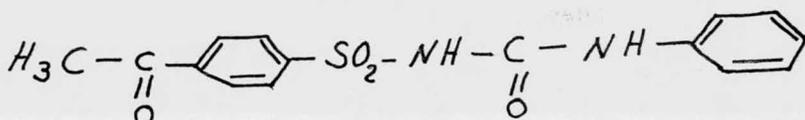
bilidad de reunir estas propiedades, necesarias para poder obtener un compuesto farmacológicamente mas activo y a la vez, poder encontrar posteriormente, la forma farmacéutica más adecuada.

Actualmente se encuentran en el comercio las siguientes sulfonilureas: Tolbutamida, Acetohexamida, Tolazamida y Clorpropamida, las cuales, tienen las siguientes fórmulas estructurales:

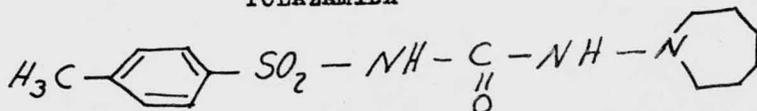
TOLBUTAMIDA



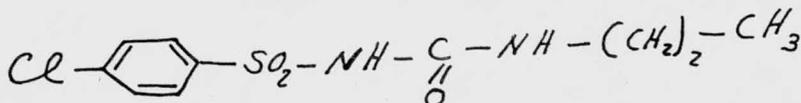
ACETOHEXAMIDA



TOLAZAMIDA



CLORPROPAMIDA



Las sulfonilureas actúan estimulando a las células beta del páncreas a producir insulina, y por lo tanto, estas sustancias son ineficaces en el sujeto humano privado del páncreas y en los pacientes con diabetes juvenil, en los que el páncreas ha perdido la capacidad de secretar insulina.

Las sulfonilureas son absorbidas a través del conducto gastrointestinal, y son eficaces por vía oral. La dife

rencia mas importante entre ellas para uso clínico, está en la duración de la acción, la cual es la siguiente en orden - creciente: Tolbutamida, Acetohexamida, Tolazamida y Clorpropamida.

Tolbutamida: Se descubre en la sangre 30 minutos después de su administración y alcanza la concentración máxima en 3 a 5 horas. El tiempo de actividad media de una sola dosis es de 5 horas.

Acetohexamida: Se absorbe rápidamente y su máxima actividad se observa unas 3 horas después de su ingestión. La duración total de la acción es de 12 a 14 horas, y su tiempo de actividad media es de 80 minutos.

Tolazamida: Se absorbe lentamente, el comienzo de la acción ocurre en 4 a 6 horas y persiste en grado apreciable hasta unas 15 horas después de su administración.

Clorpropamida: Se absorbe rápidamente, no se altera metabólicamente en grado apreciable y se excreta muy lentamente en forma inalterada. El tiempo de actividad media de una sola dosis es de unas 36 horas, o sea, unas 7 veces mas que la de la Tolbutamida.

En general, la probabilidad de éxito con un agente hipoglucemiante oral, guarda una relación inversa con la dosis de insulina requerida para mantener al paciente dentro de límites normales. Cuando la necesidad de insulina excede de 40 unidades diarias, las posibilidades de éxito son relativamente bajas. El candidato adecuado para las sulfonilureas no está determinado por la edad del paciente, sino por la edad en que se presenta la diabetes.

Quando la diabetes se ha presentado durante un lap

so prolongado, responde menos a las sulfonilureas.

Los diabéticos cuya enfermedad es inestable y predispuestos a la cetoacidosis, han empezado por lo regular a sentir su diabetes antes de los 30 años de edad, pero sea - cualquiera la edad del comienzo, en la diabetes cetoacidósica inestable, con las sulfonilureas no se obtiene el conveniente control. Estos pacientes requieren insulina y los intentos para controlarlos con tratamiento oral, están condenados al fracaso.

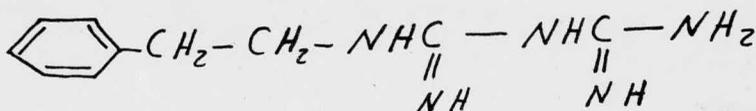
No hay dosificación fija de sulfonilurea aplicable a la diabetes. El tratamiento se guía por la respuesta del paciente, la cual debe ser vigilada con frecuencia por determinaciones químicas del nivel de glucosa en sangre¹⁵, pues - la demanda del medicamento cambia de tiempo en tiempo. Cuando se administra una dosis diaria total mayor que la requerida para mantener al paciente dentro de límites normales, no se observa una mayor actividad hipoglucemiante.

La diabetes leve, no tratada con anterioridad o cuyo requerimiento de insulina es menor de 20 unidades diarias, puede ser tratada en seguida con la dosis ordinaria del agente hipoglucemiante oral elegido, descontinuyendo al mismo - tiempo la insulina. Después se ajusta la dosis, hacia arriba ó hacia abajo, según la respuesta del paciente.

Con el uso de cualquiera de las sulfonilureas puede haber hipoglucemia, pero es más frecuente en los pacientes que toman Clorpropamida. La mayor parte de los trastornos que se producen son atribuibles a los mismos factores que obran en pacientes que reciben insulina como son: dosificación alta e irregular, ingestión retrasada o insuficiente de

alimentos. Entre las sustancias que potencian la acción hipoglucemiante de las sulfonilureas tenemos: el alcohol etílico, los salicilatos, la fenilbutazona, los inhibidores de la monoaminooxidasa y las sulfonamidas.

El otro tipo de agentes hipoglucemiantes orales que se encuentran en el comercio son las biguanidas, de las cuales la Fenformina es el único preparado disponible y cuya fórmula estructural es la siguiente:



El mecanismo de acción de la Fenformina aún no se conoce, puesto que no hay estimulación directa en el páncreas que traería como consecuencia un cambio en la morfología de las células beta, con un aumento de insulina que provocaría como consecuencia, la hipoglucemia.

In vitro, la Fenformina en dosis relativamente grandes, aumenta la utilización de la glucosa por acrecentar la glucólisis anaerobia, pero este efecto no explica la influencia beneficiosa que el agente tiene sobre las aberraciones metabólicas de la diabetes.

In vivo, este fármaco promueve la glucólisis requiriendo la presencia de insulina, tanto si se suministra de fuente endógena (como en el paciente diabético de comienzo en la madurez), como de fuente exógena (como en el diabético propenso a la cetoacidosis).

La Fenformina se absorbe en cantidad suficiente en el conducto gastrointestinal y su acción dura entre 6 y 14 horas. Los sujetos diabéticos con grave insuficiencia renal

ó con insuficiencia cardiaca congestiva no son candidatos -- convenientes para el tratamiento hipoglucemiante oral.

El uso conjunto de sulfonilurea y fenformina resulta eficaz en muchos diabéticos de comienzo en la madurez que no responden a uno solo de los dos agentes orales, pero un paciente que presenta cetoacidosis nunca deberá ser tratado con sulfonilurea sola o con fenformina sola.

Podemos concluir que estos fármacos disminuyen la fijación de la insulina en la sangre y, la inapropiada secreción de insulina por el páncreas del adulto diabético, ambas acciones de fundamental beneficio para el estado de la diabetes.

Debido a estos inconvenientes que hemos señalado, podemos observar que es necesario seguir buscando nuevos medicamentos que sean eficaces para controlar la diabetes.

PARTE TEORICA

La planta vulgarmente llamada "Fronadora", ha sido utilizada por el pueblo mexicano como agente hipoglucemiante desde hace mucho tiempo y fué estudiada primero por Boorsma en 1899², y posteriormente por Hammouda y colaboradores en 1959⁹.

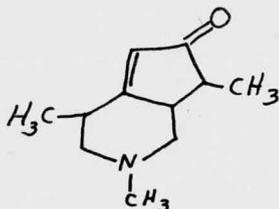
El nombre científico de ésta planta es Tecoma stans Juss. y pertenece a la familia de las Bignoniáceas. Se han aislado de ella los siguientes alcaloides: Tecomina, Tecostanina, 4-noractinidina, N-normetil skitantina, Boshniakina y dos alcaloides que son alcoholes terciarios.

Estos alcaloides fueron aislados de la fracción volátil (punto de ebullición 80 - 120 °C a 1 mm) del extracto

total básico de la planta y fueron separados por una combinación fraccional como picratos, columna cromatográfica sobre Florisil y placa preparativa.

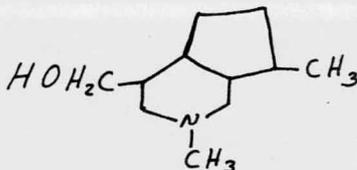
Las fórmulas estructurales de todos ellos y sus -- constantes son las siguientes:

Tecomina:



Alcaloide líquido, inestable, aislado por Y. Hammou da y M.M. Motawi, con punto de ebullición de 125°/0.1 mm, - $[\alpha]_D^{24} - 175^\circ$

Tecostanina:



Este alcaloide fué aislado por Y. Hammouda, M. Plat y J. Le Men. Con $[\alpha]_D^{20} = 0^\circ$. No es hidrogenable catalíticamente.

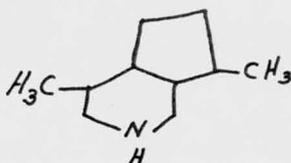
E.M. Dickinson y G. Jones aislaron los siguientes cinco alcaloides:

4-noractinidina:



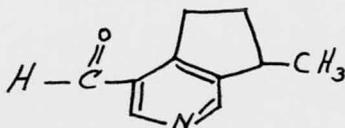
Su picrato tiene un punto de ebullición de 135-137 °C y la base libre tiene $[\alpha]_D^{24} + 3^\circ$.

N-normetil skitantina:



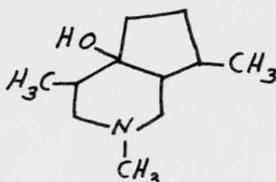
Este alcaloide tiene un punto de ebullición de 125-130 °C/13 mm, $[\alpha]_D^{22} + 35^\circ$ y su picrato tiene un punto de fusión de 179-180 °C.

Boshniakina:

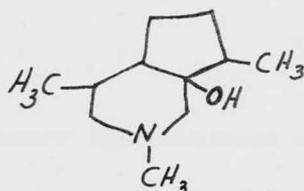


Su semicarbazona tiene un punto de fusión de 217-220 °C.

Alcohol terciario:



Su picrato tiene un punto de fusión de 170-170.5 °C y la base libre regenerada del picrato puro y sublimada a --110 °C/0.25 mm, tiene un punto de ebullición de 91-92 °C.

Alcohol terciario:

La base libre tiene un punto de fusión de 87-94 °C y su yodometilato tiene un punto de fusión de 310-312 °C.

El alcaloide mas abundante de esta planta es la Te comina, que como Citrato ha sido ensayado farmacológicamente, encontrando que como hipoglucemiante oral es cinco veces mas activo que la Tolbutamida, medicamento específico de uso actual, como puede verse en la descripción del efecto antidiabético. Por esta razón, decidimos aislar una cantidad considerable de este alcaloide, con el objeto de sintetizar no so lo el Citrato y comprobar lo informado en la bibliografía⁸, sino obtener derivados con posibilidad de ser mas activos -- aún, que este alcaloide.

DESCRIPCION DEL EFECTO ANTIDIABETICO DE TECOMINA Y TECOSTANINA REPORTADO EN LA BIBLIOGRAFIA.

Las propiedades hipoglucémicas del Citrato de Tecomina y Clorhidrato de Tecostanina sobre el nivel de glucosa en sangre de animales en ayunas, tolerancia a la glucosa, en conejos diabetizados con aloxana y en conejos pancreatetectomizados, se describe en este estudio, el cual fué realizado para determinar las propiedades hipoglucémicas de los dos alcaloides, y para determinar el posible mecanismo por el cual - producen este efecto.

ANIMALES EN AYUNAS.-

Los conejos usados en este estudio ayunaron por 12 a 18 horas antes del experimento.

Los fármacos se disolvieron en solución salina fisiológica y se administraron intravenosamente u oralmente. Los resultados se dan en la siguiente tabla:

TABLA # 1.

NIVEL DE GLUCOSA EN SANGRE, mg/100 ml.

Horas des pués de - su admón.	Citrato de Tecomina.		Tecostanina HCl		Tolbutamida.
	Oral. 50 ---mg/Kg---	i.v. 20	Oral 50 ---mg/kg---	i.v. 20	Oral, 250 mg/Kg
0	107.3	98.3	110.0	104.9	100.1
1	100.1	74.3	111.0	83.4	99.1
2	101.3	61.5	102.6	67.7	86.3
3	83.6	55.3	75.3	60.3	79.1
4	64.5	60.7	54.3	59.5	78.6
5	49.7	73.3	59.6	70.1	83.3
6	53.6	80.2	81.1	79.7	89.5
10	92.7	99.3	97.3	101.9	93.3
24	100.7	90.1	95.5	102.3	105.1

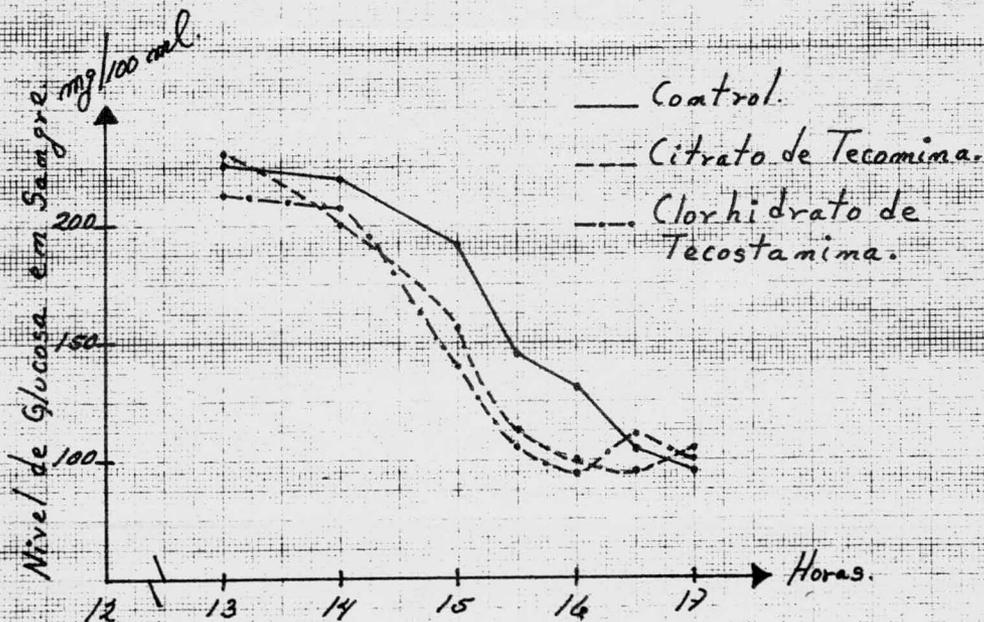
Es claro por la tabla que ambos alcaloides son potentes agentes hipoglucemiantes, produciendo severas reducciones en la glucosa de la sangre de animales en ayuno cuando se administraron dosis de 20 mg/kg intravenosamente ó 50 mg/Kg oralmente. Cuando se administró intravenosamente el efecto hipoglucémico máximo se alcanzó mas pronto que cuando se administró oralmente en altas dosis. Esto es de esperarse ya que los fármacos son absorbidos del tracto gastrointestinal cuando se dan oralmente. La absorción del tracto gastrointestinal se pudo contar por 1 ó 2 horas cuando el fármaco se administró oralmente.

Cuando se administró intravenosamente el efecto alcanzó un máximo sobre la glucosa de la sangre, después de 3 horas y 14 minutos para el Citrato de Tecamina y después de 3 horas y 23 minutos para el Clorhidrato de Tecostanina.

Algunos animales mostraron coma hipoglucémico en - lo máximo del efecto hipoglucémico.

TOLERANCIA A LA GLUCOSA.-

Los conejos usados en este estudio ayunaron por 12 horas antes de empezar el experimento. Los fármacos se disolvieron en solución salina fisiológica, se inyectaron intravenosamente seguidos después de 40 minutos con 3g de glucosa, como una solución al 5%. Los resultados se muestran en la siguiente figura.



RESULTADOS DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA.

Como podemos observar, tanto el Citrato de Tecomina como el Clorhidrato de Tecostanina en la dosis usada de 20 mg/Kg, redujeron el tiempo necesario para que la glucosa de la sangre regrese al nivel normal de cerca de 3.5 a 2.5 horas. Fué estadísticamente significativa la diferencia entre los valores control y los obtenidos con cualquiera de los dos fármacos a las 3.5 horas después de la administración de glucosa.

CONEJOS PANCREATECTOMIZADOS.-

Después de la completa pancreatectomización, los conejos desarrollaron hiperglucemia en 24 horas.

Después de establecer la hiperglucemia y que se produjo la glucosuria, se inyectó intravenosamente 20 mg/Kg de Citrato de Tecomina y 20 mg/Kg de Clorhidrato de Tecostanina. Las muestras de sangre fueron recogidas 3 horas después, ya que las sales alcaloidales dieron un efecto hipoglucémico -- máximo en este lapso, cuando se administraron intravenosamente, (Ver tabla # 1), y se ensayó su contenido de glucosa.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla # 2.

TABLA # 2.

EFFECTO DE ADMINISTRACION INTRAVENOSA DE CITRATO DE TECOMINA Y CLORHIDRATO DE TECOSTANINA SOBRE GLUCOSA EN SANGRE DE CONEJOS PANCREATECTOMIZADOS.

Sustancia administrada.	Dosis mg/Kg	Vía.	Azúcar en sangre, mg/100 ml		
			Inicial	Máxima.	p
Citrato de Tecomina.	20	i.v.	257	238	0.2-0.5
Tecostanina HCl	20	i.v.	301	264	0.1-0.2

Podemos observar en la tabla # 2, que los dos alcaloides no son significativamente efectivos en reducir la glucosa en la sangre de los conejos pancreatectomizados, ya que la diferencia entre los tratados y el control no es estadísticamente significativa.

También se administraron dosis de 50 mg/Kg y fueron capaces de producir reducción estadísticamente significativa en los animales pancreatectomizados.

DIABETES ALOXANICA.-

Conejos diabetizados con aloxana, con glucosa en la sangre arriba de 250 mg/Kg y exhibiendo glucosuria, fueron preparados para este estudio.

Las dos sales alcaloidales se inyectaron intravenosamente disueltas en solución salina isotónica. Tres horas más tarde se colectaron las muestras y se ensayaron para reducción de glucosa. Solamente ocho animales se usaron en este estudio, 4 controles con solución salina y 4 experimentales. Los resultados se dan en la tabla # 3.

Es evidente en la tabla, que tanto el Citrato de Tecomina como el Clorhidrato de Tecostanina, en la dosis diaria de 20 mg/Kg, fueron efectivos en reducir la hiperglucemia producida por aloxana a casi niveles normales.

Debe hacerse hincapié que los cuatro controles murieron después de los 23, 27, 29 y 33 días, posteriores a la administración de aloxana, mientras que los animales del experimento vivieron 45 días después, cuando el experimento se terminó.

TABLA # 3.

EFFECTO DE CITRATO DE TECOMINA Y CLORHIDRATO DE TECOSTANINA SOBRE EL NIVEL DE GLUCOSA EN SANGRE DE CONEJOS DIABETIZADOS CON ALOXANA.

Sustancia administrada.	Conejo número:	Nivel de Glucosa en sangre, mg/100 ml.		<u>Días después de aloxana.</u>		
		Antes de aloxana:	Después de aloxana:	16	22	45
Solución salina (control).	1-4	103.7	275.6	289.7	310.0	131.3
Citrato de Tecomina 20 mg/Kg	5	105.3	270.4	115.0	124.0	131.3
	6	110.3	320.1	107.3	113.4	123.3
Clorhidrato de Tecostanina, - 20 mg/Kg	7	92.7	303.7	100.1	97.2	101.6
	8	99.0	256.4	123.3	139.3	143.1

Los resultados obtenidos en este estudio nos muestran que las sales de Tecomina y Tecostanina, tienen propiedades valiosas como agentes antidiabéticos.

Fueron efectivos oral e intravenosamente con alto margen de seguridad (LD_{50} 300 mg/Kg en ratones), en la dosis usada en el presente estudio.

Desde el punto de vista del mecanismo de acción, los dos alcaloides parecen necesitar un mínimo de células beta activas del páncreas, ya que ambos fueron inactivos en animales pancreatectomizados.

Si observamos las fórmulas de la Tolbutamida, Acetohexamida, Tolazamida, Clorpropamida y en particular la de la Fenformina, vemos que en su molécula se encuentran varios átomos de nitrógeno, por lo que decidimos hacer derivados ta-

les como la oxima y semicarbazona, ya que contábamos con que en la Tecomina existe un grupo carbonilo α, β insaturado responsable de la inestabilidad del alcaloide y que parece que no participa en la actividad, puesto que según la bibliografía consultada, el Clorhidrato de Tecostanina es igualmente activo careciendo este alcaloide de grupo carbonilo.

FOTOGRAFIA DE LA PLANTA



Tecoma stans Juss.

Esta planta recibe los nombres vulgares de: Tronadora; Hierba de San Nicolás; Flor de San Pedro ó Hierba de - San Pedro; Retama; Nixtamalxóchitl; Trompeta; Hoja de baño; Lluvia de Oro; Kanló ó Xhanlol; Guicbichi ó Tulasúchil y Miñona.

LOCALIZACION.

Se encuentra en varias regiones de México, como son: Sonora, Coahuila, Veracruz, Hidalgo, Morelos, Guerrero, Yucatán, Guanajuato, Nuevo León, San Luis Potosí, Oaxaca y Michoacán.

DESCRIPCION DE LA PLANTA.

Es un arbusto que alcanza algunas veces el tamaño de un árbol pequeño, variando su altura entre 90 centímetros y 7.5 metros. Las hojas pinadas son opuestas y tienen de cinco a trece hojuelas, generalmente dentadas, desde lineal-lanceoladas hasta ovado-lanceoladas, o de forma elíptica. Son glabras, raramente pubescentes o tomentosas y miden unos seis centímetros de largo.

Las flores son monopétalas, de corola amarilla y cáliz quinquepartido, dispuestas en racimos terminales; los estambres son didínamos y uno rudimentario y el estigma bilamelado. El fruto es una cápsula negruzca, de unos quince centímetros de largo y florece de agosto a noviembre.

La parte usada de esta planta son las hojas.

PARTE EXPERIMENTAL

A.- METODO DE OBTENCION.

Con objeto de ensayar el derivado reportado en la bibliografía⁸, procedimos a aislar el alcaloide y esto - se hizo de la siguiente manera:

Las hojas de *Tecoma stans* Juss. (1200 g), previamente secadas y alcalinizadas con 560 ml de una solución acuosa de amoníaco al 3%, se colocaron en un aparato de Soxhlet y se extrajeron con 1170 ml de éter etílico durante 62 horas.

La solución etérea se extrajo sucesivamente cuatro veces con dos litros, 1 litro y dos porciones de 500 ml de una solución acuosa de ácido clorhídrico al 5%. Los líquidos ácidos se reunieron y se lavaron con dos porciones de 300 ml de éter etílico. Posteriormente la solución ácida se alcalinizó hasta pH 9 por adición de 50 ml de amoníaco y nuevamente se extrajo con 1 litro, 500 ml y dos fracciones de 300 ml de éter etílico.

Las soluciones etéreas se reunieron y se lavaron con dos porciones de 300 ml de agua destilada; se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron hasta la obtención de un residuo oleoso que pesó 2.3 g.

Este residuo se disolvió en la menor cantidad de etanol para cromatografiarlo en una columna, utilizando una mezcla de Silicato de Magnesio - Celite (400 g), y usando como eluyente Benceno - Acetato de Etilo 2:1

Se reunieron las fracciones del 21 al 26, se lleva

ron a sequedad y con el residuo oleoso se obtuvo la 2,4 dinitrofenilhidrazona con un Pf = 257 - 259 °C, que correspondía al reportado en la bibliografía¹³.

Como consecuencia del control de estas fracciones en placa fina, observamos que la Tecomina era de polaridad media, por lo que decidimos modificar el método, de manera que nos evitara el uso del éter etílico y teniendo la probabilidad de aislar únicamente la Tecomina y - con un mayor rendimiento.

AISLAMIENTO DEL ALCALOIDE.

Se pusieron 1360 g de planta previamente secada y humedecida con 3.780 l de amoníaco, y se pusieron a extraer con cloroformo (8 l) calentando a reflujo durante 96 horas.

Una vez terminada la extracción se filtró la planta y se procedió a purificar el alcaloide, lo cual, se hizo de la siguiente manera:

El alcaloide se extrajo del extracto clorofórmico con una solución de ácido clorhídrico al 5%. Una vez que se tuvo el alcaloide como clorhidrato, se alcalinizó con amoníaco hasta pH 9 y se extrajo nuevamente con cloroformo. Esta operación se repitió tres veces más; teniendo el cuidado de cerciorarse de que todo el alcaloide pasara a la fase en que lo estábamos extrayendo, ya que de lo contrario al terminar de purificarlo tendríamos un - bajo rendimiento.

Este último extracto clorofórmico que contenía el alcaloide, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se -

concentró la solución en rotavapor hasta que ya no destiló, obteniéndose un líquido color café oscuro de aspecto oleoso que pesó 10.6323 g, lo cual corresponde al -- 0.78% de rendimiento con respecto a la planta.

Para su purificación e identificación se procedió a hacer una destilación a presión reducida, en un cañón pequeño con una rama lateral, en donde se recogió un líquido amarillo claro transparente de aspecto oleoso, que destiló la mayor parte a una temperatura de 125 °C y 0.1 mm de presión, confirmandonos este dato que se trataba del alcaloide Tecomina.

Se obtuvieron de la destilación 3.6432 g de alcaloide puro, lo que corresponde a un rendimiento de 0.26% con respecto al total de la planta.

El alcaloide Tecomina obtenido de la destilación se controló en placa fina de Sílice G con KOH al 5% y se reveló con Dragendorff, presentando un $R_f = 0.76$ en un sistema 3:7 cloroformo/metanol.

Para comprobar que la sustancia destilada era Tecomina, el alcaloide que nos interesaba, procedimos a hacer la 2,4 dinitrofenilhidrazona de Tecomina.

PREPARACION DE LA 2,4 DINITROFENILHIDRAZONA DE TECOMINA.

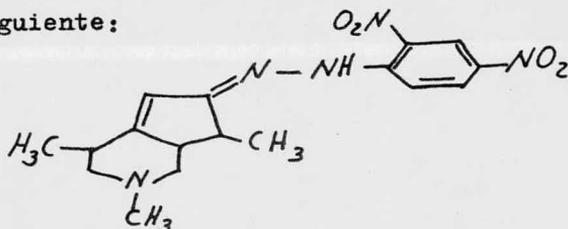
La técnica mediante la cual se obtuvo fué la siguiente:

A 407 mg de 2,4 dinitrofenilhidrazina contenidos en un matraz Erlenmeyer de capacidad adecuada se le añadieron 2 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se adicionó agua (3 ml) gota a gota con agitación, hasta que la diso

lución fué total. A esta solución caliente se le añadieron 10 ml de etanol al 95% y esta solución recientemente preparada se adicionó poco a poco sobre una solución previamente preparada con 338.4 mg del alcaloide puro disueltos en 20 ml de etanol al 95%, teniendo la precaución de que ambas soluciones se encontraran a la misma temperatura. Esta mezcla resultante se dejó reposar a temperatura ambiente y la cristalización ocurrió a los 5 ó 10 minutos.

Esta 2,4 dinitrofenilhidrazona se recrystalizó de etanol al 96% y los cristales amarillos obtenidos tuvieron un Pf de 257 - 259 °C (Pf reportado 260 °C)¹³.

Este derivado fué un artefacto para la comprobación de que el alcaloide aislado es Tecomina y su fórmula estructural es la siguiente:



B. - OBTENCION DEL CITRATO DE TECOMINA.

Este derivado se hizo para tenerlo como referencia durante el estudio farmacológico de los clorhidratos de oxima y semicarbazona de Tecomina, y se hizo de la siguiente manera:

1700 mg del alcaloide puro se disolvieron en la menor cantidad de etanol de 96% y a esta solución se adicionó poco a poco una solución previamente preparada con 1995 mg de ácido cítrico en la menor cantidad de agua. La mezcla recién formada se calentó por unos minutos so-

bre un baño de vapor y se dejó reposar en el refrigerador durante 24 horas, obteniéndose 2.587 g de Citrato de Tecomina.

El citrato recién formado tomó la apariencia de un líquido aceitoso rojizo, el cual se trató de cristalizar por diferentes métodos sin resultados positivos, hasta - que finalmente se obtuvo cromatografiándolo en columna - de Florisil - Celite 1:3

Esta columna se montó con 54.4 g de una mezcla de Florisil - Celite 1:3. La cantidad de Citrato de Tecomina obtenida se disolvió en la menor cantidad de metanol y se colocó en la columna. Esta se eluyó con una mezcla 3:7 cloroformo/metanol.

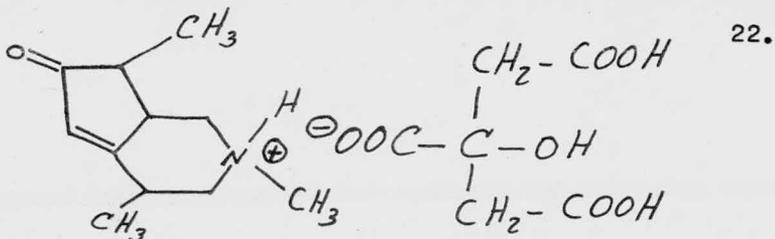
La columna se controló en placa fina con el mismo sistema de disolventes empleado en ella y, obteniéndose el citrato en las fracciones 10 a 20, las cuales eran - de aproximadamente 20 ml.

El Rf obtenido para el citrato fué de 0.64 en un - sistema 3:7 cloroformo/metanol.

El Citrato de Tecomina se recrystalizó en metanol y los cristales obtenidos tuvieron un Pf de 192-195 °C.

Se obtuvieron 766 mg de cristales de Citrato de Tecomina, los que corresponden al 45.0% de rendimiento. A una pequeña muestra de estos cristales se les determinó su espectro de I.R. (Ver apéndice, espectro número 1).

Su fórmula estructural es la siguiente:



C.- OBTENCION DE LA SEMICARBAZONA DE TECOMINA.

Tomando en cuenta que para que un compuesto pueda llegar al sitio en que se desea que ejerza su acción farmacológica es necesario regular su transporte, por diferentes medios como son: Aumento o disminución de volumen, alteración del carácter hidrofílico o de la liposolubilidad, introducción de partes aniónicas o catiónicas ó eliminación de las mismas, cambio de pH, introducción de -- grupos con estructura de hidrocarburos, etc., pensamos en la posibilidad de introducir un grupo acarreador en la molécula del alcaloide por medio de reacciones sobre el grupo carbonilo de ésta, y al mismo tiempo, aumentar su acción y estabilidad, ya que tenemos el antecedente de -- que este grupo no es el responsable de la acción hipoglucemiante, dado que uno de los dos alcaloides de la planta reportados como potentes agentes antidiabéticos no posee dicho grupo carbonilo.

Decidimos así, sintetizar la semicarbazona y oxima del alcaloide, dos derivados completamente diferentes -- desde el punto de vista coeficiente de distribución lípido/agua, pero que a la vez podrían ser mas activos que el Citrato del alcaloide reportado en la bibliografía, -- por la relación de estructura con las sulfonilureas y Fenformina, ya que al formar estos derivados se introducen a la molécula 3 y 1 átomos de nitrógeno respectivamente que van a conferir a dichas moléculas determinadas

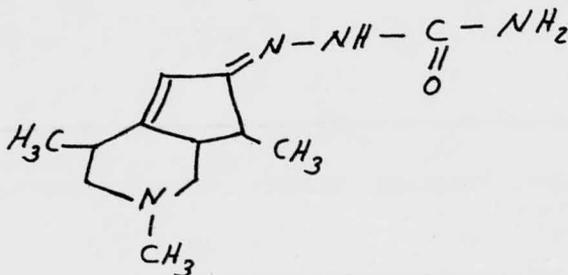
propiedades físicas y fisicoquímicas.

La preparación de este producto se hizo disolviendo 1 ml del alcaloide puro en 10 ml de etanol. Posteriormente se le adicionó agua hasta que la solución estuvo ligeramente turbia y la turbidez se eliminó adicionándole unas gotas de etanol. Entonces se adicionó 1 g de Clorhidrato de Semicarbazida y 1.5 g de acetato de sodio. La mezcla se agitó vigorosamente y se introdujo en un vaso de precipitados con agua caliente y se dejó en él hasta que el agua se enfrió. Después se colocó en un vaso de precipitados con hielo y se rasparon las paredes del matraz con una varilla de vidrio.

Los cristales de semicarbazona así formados se filtraron y se recrystalizaron de etanol al 30%, obteniéndose se 471.3 mg, los cuales corresponden al 45.8% de rendimiento.

El punto de fusión obtenido para éstos cristales - fué de 232-234 °C y asimismo se les determinó su espectro de I.R., el cual se anexa en el apéndice, espectro - número 2.

La fórmula estructural obtenida para el presente - compuesto es la siguiente:



OBTENCION DEL CLORHIDRATO DE LA SEMICARBAZONA DE TECOMINA.

Se procedió a hacer el clorhidrato de la semicarbazona de Tecomina porque en esta forma, sería soluble en agua y podría ser administrada fácilmente en las pruebas farmacológicas; y al mismo tiempo favorecería su absorción.

La técnica para obtener el clorhidrato de la semicarbazona de Tecomina, fué similar a la descrita en el - Giral y Rojahn⁶, y se hizo de la siguiente manera:

La semicarbazona (471.3 mg) se disolvió en la menor cantidad de metanol totalmente anhidro (aproximadamente 50 ml); se le adicionó el ácido clorhídrico concentrado necesario, según cálculos previos (1 ml) y se puso a hervir a reflujo durante 1 hora. Se dejó reposar y en el fondo del matraz precipitaron los cristales del clorhidrato de semicarbazona, los cuales, se filtraron y se dejaron secar.

Se obtuvieron 485 mg de cristales de Clorhidrato de semicarbazona, los que corresponden al 89.12% de rendimiento.

A estos cristales se les determinó su punto de fusión, el cual, fué de 225-227 °C.

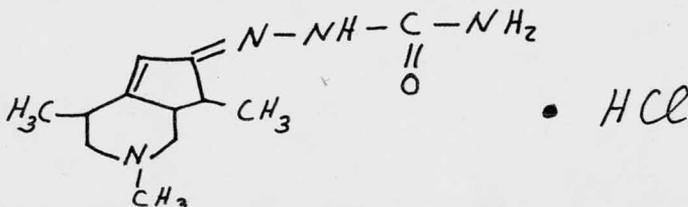
A una pequeña muestra de estos cristales (25 mg), se les mandó a hacer análisis elemental a:

ANALYTISCHE LABORATORIEN.
vorm Alfred Bernhardt
Fritz-Pregl-Strabe 24
5270 Gummersbach 1 Elbach
Germany.

Y los resultados fueron los siguientes:

	% CALCULADO:	% ENCONTRADO:
CARBONO:	52.84	50.03
HIDROGENO:	7.70	5.97
NITROGENO:	20.55	21.40
CLORO:	<u>13.03</u>	<u>13.42</u>
OXIGENO:	5.88	5.68

Con esto comprobamos que la fórmula estructural obtenida para este compuesto es la siguiente:



D.- OBTENCION DE LA OXIMA DE TECOMINA.

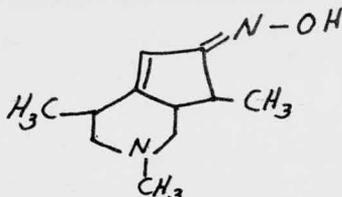
Este derivado se sintetizó de la siguiente forma:

500 mg. de clorhidrato de hidroxilamina se disolvieron en 3 ml de agua; después se añadieron 2 ml de solución de hidróxido de sodio al 10% y 200 mg del alcaloide-puro. Como el alcaloide es insoluble en agua, se añadió a la mezcla el etanol justamente necesario para obtener una solución transparente. La mezcla se calentó sobre un baño de vapor durante 10 minutos y se dejó enfriar en un baño con hielo.

Para acelerar la cristalización se rasparon las paredes del matraz con una varilla de vidrio. Los cristales de oxima recién obtenidos se recrystalizaron de agua; se filtraron; se dejaron secar y se les determinó el punto de fusión, el cual, fué de 177-178 °C.

A este producto también se le determinó su espectro de I.R. (ver apéndice, espectro número 3).

Su fórmula estructural es la siguiente:

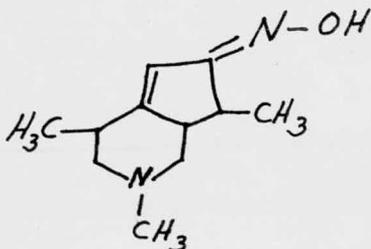


OBTENCIÓN DEL CLORHIDRATO DE LA OXIMA DE TECOMINA.

Con el objeto de ensayar este derivado farmacológicamente, se procedió a obtener el clorhidrato respectivo siguiendo la técnica anteriormente citada⁶.

Los cristales de la oxima recién obtenidos se disolvieron en la menor cantidad de metanol totalmente anhidro; se le adicionó el ácido clorhídrico concentrado necesario según cálculos previos y esta solución se puso a hervir a reflujo durante 1 hora. Se dejó reposar y en el fondo del matraz precipitaron los cristales del clorhidrato de oxima, los cuales, se filtraron y se dejaron secar.

La fórmula estructural de este clorhidrato de oxima es la siguiente:



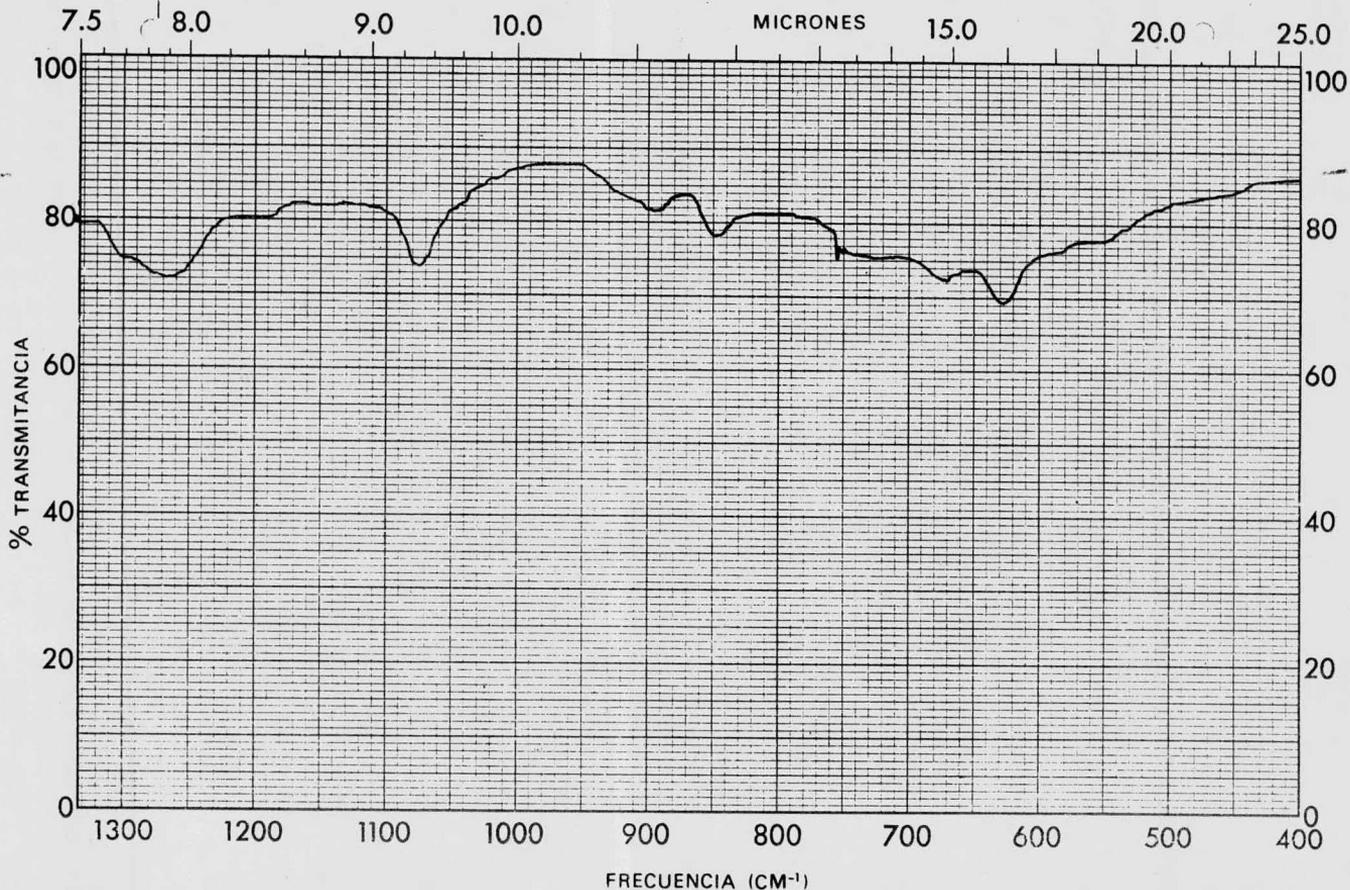
A P E N D I C E



Espectro No. 1

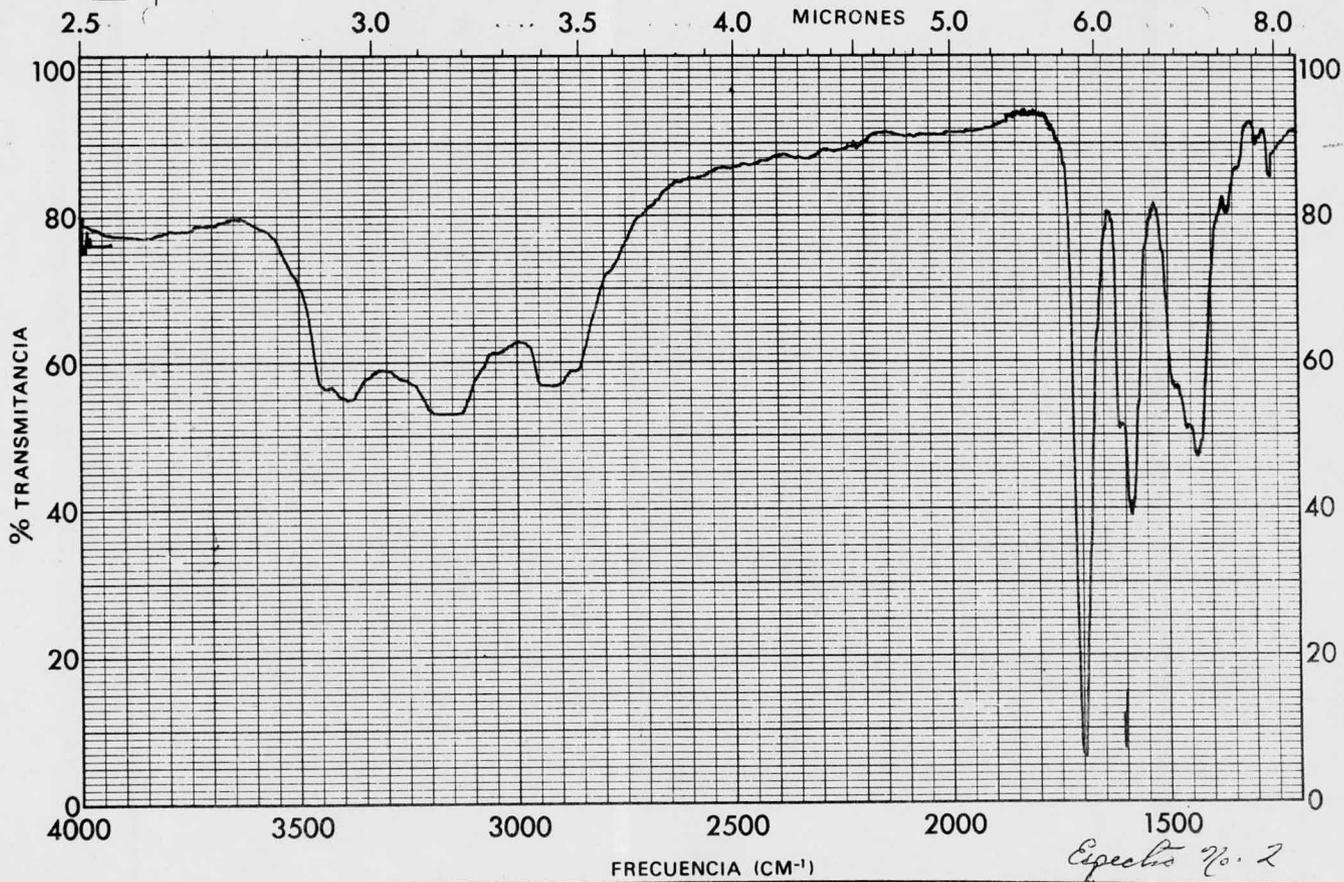


MUESTRA <u>X-34 Cibalo</u>	CURVA N° <u>24481</u>	VEL. DE BARRIDO <u>lento</u>	OPERADOR <u>Ch. del</u>
ORIGEN <u>Sania Zamora C.</u>	CONC. <u>—</u>	RENDIJA <u>02</u>	FECHA <u>17-I-78</u>
SOLVENTE <u>—</u>	ESPESOR DE CELDA <u>—</u>	COMENTARIOS <u>pasilla</u>	
	REFERENCIA <u>—</u>		



ASE

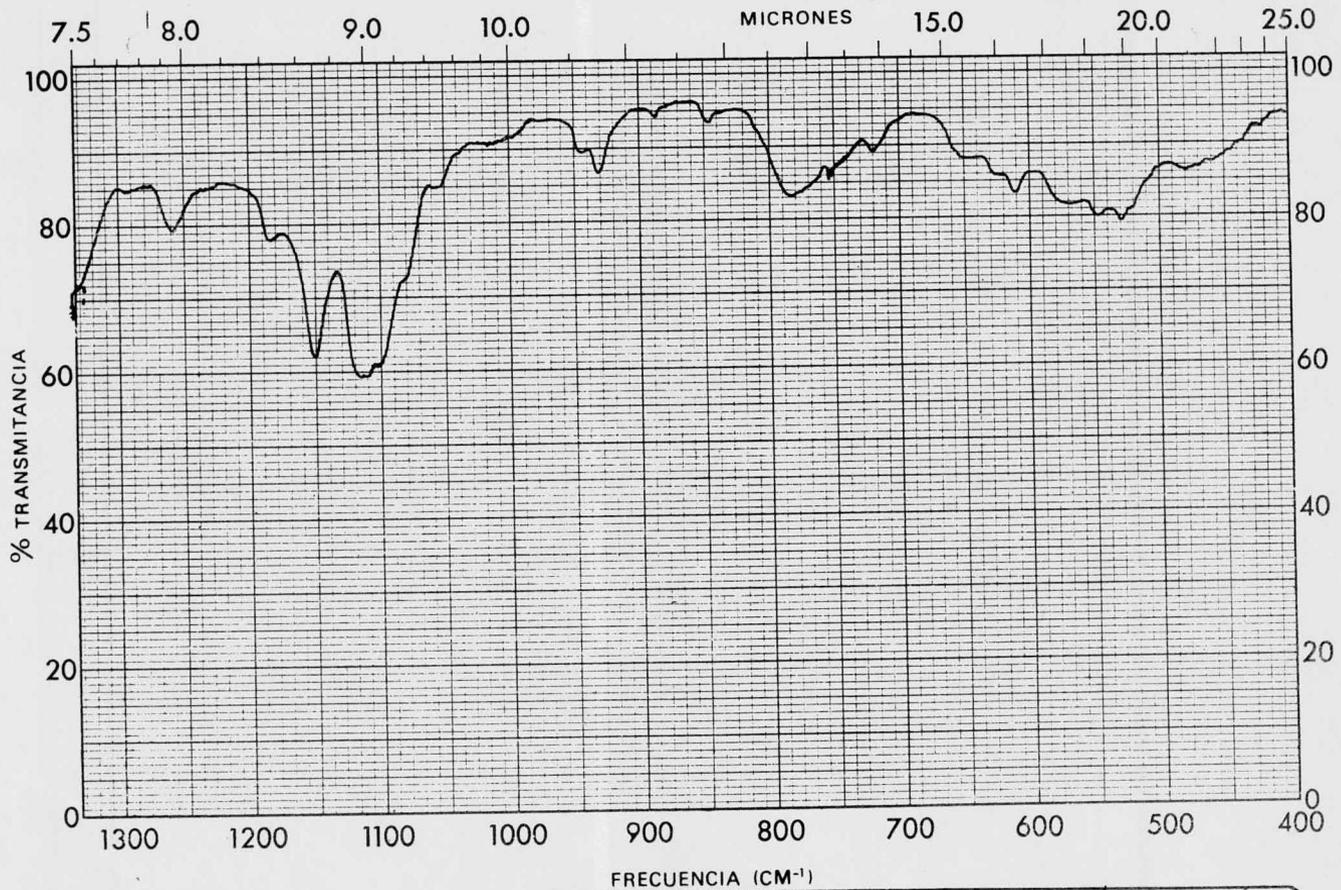
MUESTRA <u>X-34</u>	CURVA Nº <u>24481</u>	VEL. DE BARRIDO <u>caputo</u>	OPERADOR <u>Ch. de la</u>
ORIGEN <u>Sanic Zamora</u>	CONC. <u>—</u>	RENDIJA <u>10</u>	FECHA <u>17-7-78</u>
SOLVENTE	ESPOSOR DE CELDA <u>—</u>	COMENTARIOS <u>pasillo</u>	
	REFERENCIA <u>den</u>		



Espectro No. 2



MUESTRA <u>SPS-3</u>	CURVA N° <u>26062</u>	VEL. DE BARRIDO <u>Auto</u>	OPERADOR <u>lb</u>
<u>Semicarbazona</u>	CONC. <u>—</u>	RENDIJA <u>N</u>	FECHA <u>31/11/51</u>
ORIGEN <u>Samu Samore</u>	ESPOSOR DE CELDA <u>—</u>	COMENTARIOS <u>par-belli</u>	
SOLVENTE <u>—</u>	REFERENCIA <u>am</u>		



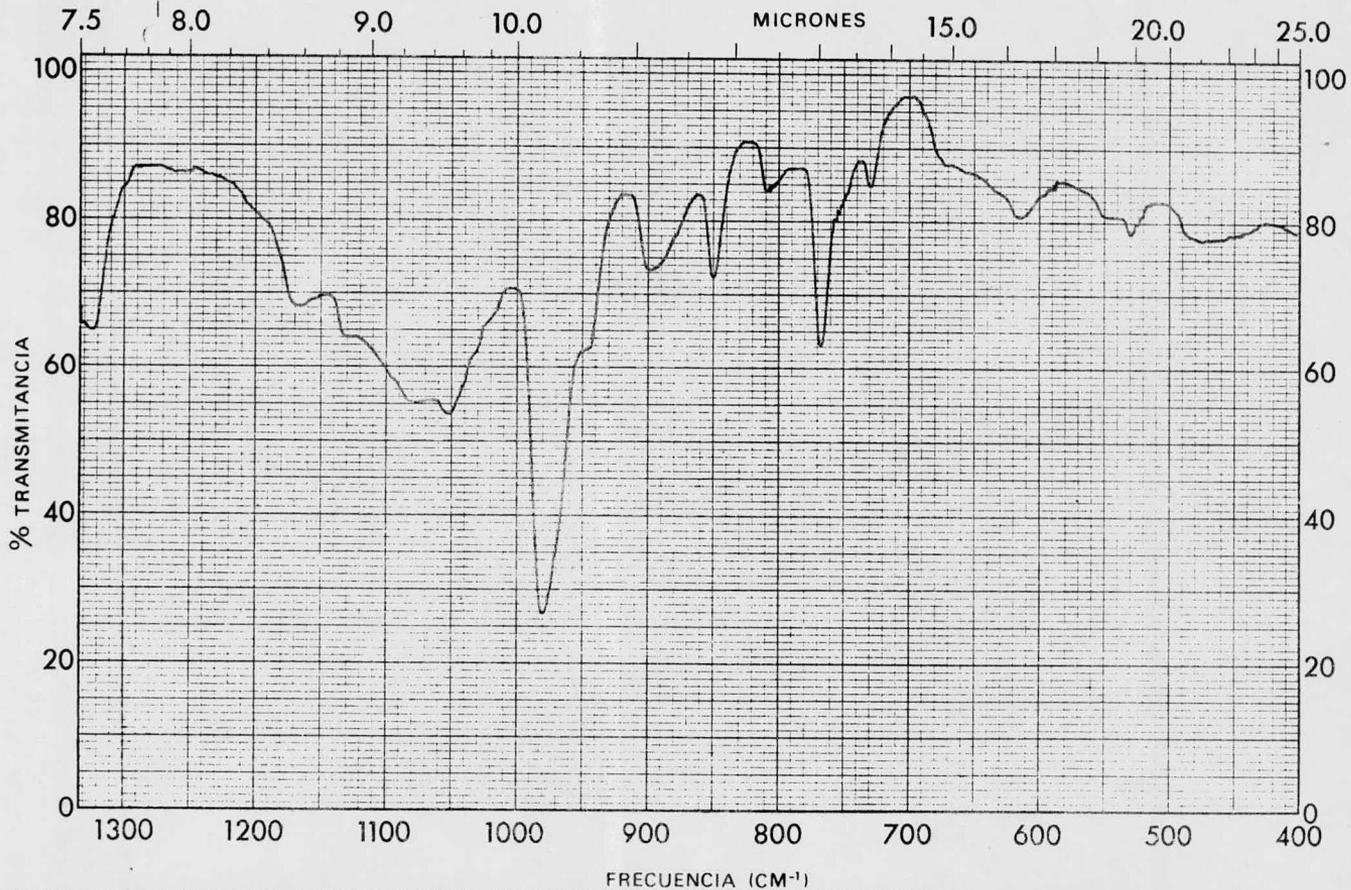
MUESTRA	605-3	CURVA N°	26663	VEL. DE BARRIDO	1000	OPERADOR	Ch.
ORIGEN	Sando Sando	CONC.	—	RENDIJA	10	FECHA	31/10/78
SOLVENTE	—	ESPOSOR DE CELDA	—	COMENTARIOS	papel II		
		REFERENCIA	Min				



Espectro No. 3



MUESTRA	<i>Y 26</i>	CURVA N°	<i>26003</i>	VEL. DE BARRIDO	<i>Auto</i>	OPERADOR	<i>A</i>
	<i>Oficina</i>	CONC.	<i>—</i>	RENDIJA	<i>N</i>	FECHA	<i>27/III/78</i>
ORIGEN	<i>Santa Juana</i>	ESPEJOR DE CELDA	<i>—</i>	COMENTARIOS	<i>pasillo</i>		
SOLVENTE		REFERENCIA	<i>—</i>				



MUESTRA <u>Y 26</u>	CURVA N° <u>26003</u>	VEL. DE BARRIDO <u>mp</u>	OPERADOR <u>Ch</u>
<u>Opima</u>	CONC. <u>—</u>	RENDIJA <u>N</u>	FECHA <u>27/11/78</u>
ORIGEN <u>Sonia Zamora</u>	ESPOSOR DE CELDA <u>—</u>	COMENTARIOS <u>pastilla</u>	
SOLVENTE <u>—</u>	REFERENCIA <u>me</u>		

INTERPRETACION DE LOS ESPECTROS DE INFRA ROJO.Espectro # 1. Citrato de Tecomina.

En la región de $3650 - 2300 \text{ cm}^{-1}$ presenta una banda longitudinal de intensidad fuerte característica del grupo $-OH$ (de alcohol y de ácido), y dentro de esta banda se encuentra incluida la de los alcanos, ya que la absorción se termina hasta 2300 cm^{-1} .

En la región de 1600 cm^{-1} presenta una banda longitudinal de intensidad fuerte característica del grupo carboxilo (de sal de ácido carboxílico).

En la región de 1425 cm^{-1} aparece una banda de deformación de intensidad fuerte característica de alqueño trsustituído, unido a un grupo fuertemente electronegativo.

En la región de 1250 cm^{-1} presenta una banda longitudinal de intensidad débil característica de $-C-O$.

En la región de 1265 cm^{-1} presenta una banda de deformación de intensidad media, característica del grupo metileno.

Espectro # 2. Semicarbazona de Tecomina.

En la región de 3390 cm^{-1} presenta una banda longitudinal de intensidad media característica del enlace $-N-H$.

En la región de 3150 cm^{-1} aparece una banda longitudinal de intensidad media característica del grupo $-CO-NH_2$.

En la región de 2925 cm^{-1} aparece una banda longitudinal también, de intensidad media característica del enla

En la región de 1500 cm^{-1} aparece una banda de deformación de intensidad media característica de amina terciaria.

En la región de 1450 cm^{-1} presenta una banda de deformación asimétrica de intensidad media característica de $-\text{CH}_2-$.

En la región de 1380 cm^{-1} aparece una banda de deformación simétrica, de intensidad débil característica del grupo $-\text{CH}_3$.

En la región de 1325 cm^{-1} presenta una banda de deformación de intensidad débil característica de $-\text{C}-\text{N}$. En la región de 1050 cm^{-1} aparece una banda de deformación, de intensidad media característica de $-\text{C}-\text{N}$.

En la región de 980 cm^{-1} presenta una banda de deformación de intensidad fuerte característica del grupo $=\text{N}-\text{O}$ y en la región de 900 cm^{-1} presenta una banda longitudinal de intensidad débil característica de $\text{C}-\text{C}$.

CONCLUSIONES

El aislamiento del alcaloide Tecomina, el más abundante de Tecoma stans Juss. y cuya actividad hipoglucemiante ha sido comprobada, se hizo por dos métodos; el primero es - el reportado por la bibliografía y el segundo fué el modificado por nosotros, con el cual se obtuvo mejor rendimiento.

Se identificó la Tecomina aislada por destilación a vacío; correspondiendo perfectamente su punto de ebullición 125 °C a 0.1 mm de presión y mediante el derivado que se encuentra en la bibliografía, la 2,4 dinitrofenilhidrazona con $Pf = 257-259$ °C.

Se hizo la síntesis de derivados que se piensa pudieran tener mayor actividad que el alcaloide aislado, tales como la oxima y la semicarbazona, que se convirtieron en clorhidratos con el objeto de hacerlos solubles en agua y se pudieran ensayar farmacológicamente.

Se sintetizó el Citrato de Tecomina para comprobar el hecho que informa la bibliografía, sobre que la actividad hipoglucemiante es cinco veces mayor que la Tolbutamida, el agente hipoglucemiante oral que se emplea actualmente.

Para usar como patrón la Tolbutamida, hubo necesidad de convertirla en Tolbutamida Sódica, y así llevar a cabo el ensayo farmacológico de todos estos productos.

Como resultado de la observación de las constantes de los derivados podemos decir que se encontraba otro alcaloide mezclado con la Tecomina. Este alcaloide lo separamos por destilación fraccionada y se encuentra en estudio para la comprobación de su estructura.

Los estudios farmacológicos de estos productos se iniciarán próximamente en el Departamento de Farmacología - de la Facultad de Medicina.

BIBLIOGRAFIA

- 1).- American Medical Association, New Drugs. A.M.A. Chicago, Illinois, U.S.A. (1965). Págs. 373, 374, 381 - 383.
- 2).- Boorsma, G.E., Meded. Lands' Plantent 18, 39 (1897); ibid, 31, 136 (1899).
- 3).- Dickinson, E.M. and Jones, G., Tetrahedron, 1969, 25, (1523).
- 4).- Drill, V.A. Farmacología Médica. La Prensa Médica Mexicana. México (1973). Págs. 1267 - 1293.
- 5).- Dyer, R.J. Aplicaciones de Espectroscopía de Absorción en Compuestos Orgánicos. Prentice/Hall Internacional. España (1973).
- 6).- Giral, F. y Rojahn, C.A. Productos Químicos y Farmacéuticos. Editorial Atlante, S.A. México (1956). Págs. 213 - 217.
- 7).- Goodman, D.S., and Gilman A. Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Nueva Editorial Interamericana, S.A. México, 1974. Págs. 1316 - 1335.
- 8).- Hammouda, Y. and Amer, S., J. Pharm. Sc., 1966, 55, (1452).
- 9).- Hammouda, Y. and Motawi, M.M., Chem. Abstr., 1960, 54, 21646 c.
- 10).- Hammouda, Y., Plat, M. and Le Men, J., Ann. Pharm. fr., 1963, 21, (699).
- 11).- Hammouda, Y., Plat, M.M. and Le Men, J., Bull. Soc. Chim. France. 1963, (2802).
- 12).- Hegnauer, R. Chemotaxonomie der Pflanzen. Band 3. Birkhauser Verlag Basel. 1964. Druck: Werner & Bischoff AG Base. Págs. 268 - 281.
- 13).- Hidalgo y M., M. del C., Aspectos Bioquímicos de Interés Farmacológico. Compañía Editorial Continental, S.A. México. 1977.
- 14).- Jones, G., Fales, H.M. and Wildman, G., Tetrahedron Letters, 1963, 6, (397).

- 15).- Lynch, M.J., Raphael, S.A., Mellor, L.D., Spare, P.D. e Inwood, M.J.H. Métodos de Laboratorio. Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. México (1976). Págs. 426-444.
- 16).- O'Gorman, H. Plantas y Flores de México. U.N.A.M. Dirección General de Publicaciones. México (1963). Págs. 80-81.
- 17).- Shriner, R.L., Fuson, R.C. and Curtin, D.Y., Identificación Sistemática de Compuestos Orgánicos. Limusa - Wiley, S.A. México (1966). Págs. 275, 276, 311 y 312.

TESIS EN UN DIA

Tesis por computadora

consúltenos sin compromiso
presupuestos gratis

Odontología 57 Local 2-A
Tel. 548-33-44