



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**“Estudio químico de cálices de
Physalis solanaceus”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

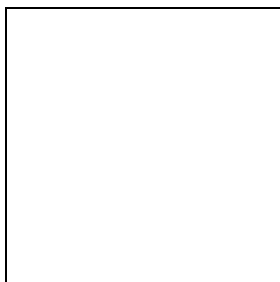
QUÍMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A:

Iris Zuen Hernández Hernández

MÉXICO, D.F.

2009





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Jurado asignado

Presidente:	Prof. José de Jesús García Valdés
Vocal:	Prof. María de Lourdes Osnaya Suárez
Secretario:	Prof. Ana Lidia Pérez Castorena
1° suplente:	Prof. Fernando Cortés Guzmán
2° suplente:	Prof. Lilia del Carmen López Serrano

Sitio donde se desarrollo el tema:

Laboratorio 2-7 departamento de Productos Naturales
Instituto de Química, U.N.A.M.

Asesora

M. en C. Ana L. Pérez Castorena.

Sustentante

Iris Zuen Hernández Hernández.

ÍNDICE

Abreviaturas	1
1. Introducción	2
2. Antecedentes	4
2.1 Familia Solanacea	4
2.2 Género <i>Physalis</i>	5
2.2.1 Composición química	6
2.3 Acilsacarosas	7
2.3.1 Distribución	9
2.3.2 Actividad biológica	10
2.3.3 Usos de las acilsacarosas	10
2.4 Flavonoides	14
2.4.1 Distribución	16
2.4.2 Actividad biológica	16
2.4.3 Usos de los flavonoides	17
2.5 <i>Physalis solanaceus</i>	17
2.5.1 Estudios previos de <i>Physalis solanaceus</i>	18
2.5.2 Estudios previos de cálices de <i>Physalis</i>	20
3 Hipótesis	23
4 Objetivos	23
5 Parte experimental	24

5.1	Diagrama general	24
5.2	Material y equipo	25
5.3	Material vegetal	26
5.4	Extracción del material vegetal	26
5.5	Aislamiento	27
	5.5.1 Extracto de acetato de etilo	27
	5.5.2 Extracto metanólico	31
6	Resultados y discusión	33
7	Resumen y conclusión	49
8	Bibliografía	50
9	Espectros	59



Abreviaturas

a	Señal ancha
c	Cuarteto
m	Multiplete
quint	Quintuplete
s	Singulete
t	Triplete
δ	Desplazamiento químico
CC	Cromatografía en columna
CCD	Cromatografía en capa delgada
COSY	Espectroscopía de correlación homonuclear (correlation spectroscopy)
d	Doblete
dd	Doble de doble
ddd	Doble de doble de doble
DEPT	Incremento de la señal de ^{13}C por transferencia de polarización con la menor distorsión posible (distortionless enhancement of polarization transfer)
EM	Espectrometría de masas
hept	Heptuplete
HMBC	Correlación heteronuclear a enlaces múltiples ($^2\text{J}_{\text{C-H}}$, $^3\text{J}_{\text{C-H}}$) (heteronuclear multiple bond correlation)
HSQC	Correlación cuántica heteronuclear simple ($^1\text{J}_{\text{C-H}}$) (heteronuclear single quantum correlation)
Hz	Hertz
IR	Infrarrojo
J	Constante de acoplamiento
m/z	Relación masa carga
M^+	Ión molecular
RMN	Resonancia Magnética Nuclear



1. INTRODUCCIÓN

Nuestro país posee una gran diversidad biológica y de grupos étnicos, los cuales tienen una forma propia de ver el mundo, esta diversidad ha permitido que se tenga un gran conocimiento de las plantas y en general de los recursos que ofrece el territorio¹. Muchos de estos recursos son utilizados en la alimentación y forman parte de una cultura gastronómica única², pues son endémicos al territorio, un ejemplo de lo anterior son algunas especies pertenecientes al género *Physalis* como *P. phyladelfica*^{3,4} y *P. coztomatl*⁵, que poseen frutos conocidos como tomate verde ó tomatillo y tomate agrio ó también conocidos como tomate amarillo, que son utilizados en la elaboración de salsas muchas veces mezcladas con chiles, ya sea para comerse solas, para acompañar diversos guisados ó para elaborar platillos tradicionales mexicanos como las enchiladas.

También, gran parte de la población mexicana hace uso de estos recursos en la llamada Medicina tradicional ó Herbolaria, práctica muy utilizada tanto por sus efectos benéficos como por su bajo costo¹, en donde varias especies del género *Physalis* se han utilizado para tratar diversos padecimientos⁶.



Cabe mencionar que en el territorio mexicano se encuentran más de la mitad de las especies que conforman al género *Physalis*, por lo que se ha denominado como su centro de diversificación⁷. Una de las especies mexicanas es *Physalis solanaceus*⁸, a la que se le han atribuido diversas propiedades medicinales, principalmente la de disminuir el azúcar en la sangre⁹.

Existen estudios químicos de especies mexicanas, principalmente de hojas y tallos, pero los frutos y cálices se han estudiado con menor frecuencia. Así, de los frutos de *P. angulata*¹⁰, *P. minima*¹¹, *P. philadelphica*¹² y *P. nicandroides*¹³ se han aislado acilsacarosas y withaesteroides (compuestos esteroidales con esqueleto de ergostano altamente oxigenado). Con respecto a los cálices, existen dos estudios, uno de *P. peruviana*¹⁴ donde se describen dos withaesteroides y el otro de *P. chenopodifolia*¹⁵ en el cual se describe la presencia de dos esteroides, un withaesteroide y dos acilsacarosas.

Considerando lo anterior, surgió la inquietud por realizar el estudio químico de los cálices de ***Physalis solanaceus*** para saber si contienen acilsacarosas y withaesteroides y además, contribuir al conocimiento del género. Los resultados así obtenidos sentarán la base para futuras investigaciones que comprueben las actividades o efectos atribuidos a esta planta.



2. ANTECEDENTES

2.1. Familia Solanaceae

La familia Solanaceae se divide en tres subfamilias que comprenden 96 géneros y que agrupan alrededor de 2300 especies. Los miembros de esta familia se localizan principalmente en las zonas tropicales, subtropicales y zonas templadas de América en un intervalo altitudinal de 0 a 3000 m¹⁶.

Algunas de sus especies tienen importancia económica en base al uso que se les da. Ejemplo de lo anterior son los cultivos hortícolas de: *Solanum tuberosum* (conocida como papa), *Physalis philadelphica* (tomate), *Capsicum* spp (chile), *Solanum melongena* (berenjena), *Lycopersicon esculentum* (jitomate), *Capsicum annuum* (pimiento) y *Physalis ixocarpa* (tomatillo)⁷ que son utilizados para la alimentación humana.



2.2 Género *Physalis*

El género *Physalis*, familia *Solanaceae*, contiene 90 especies que se caracterizan por ser plantas herbáceas anuales con flores solitarias y cáliz que encierra completamente al fruto. Las especies de este género se distribuyen en Estados Unidos, Centroamérica, Sudamérica y Las Antillas, siendo México su centro de diversificación, pues más de la mitad de las especies crecen en él; la mayoría de éstas son silvestres y sólo cuatro son cultivadas para el consumo de sus frutos, las cuales son: *P. philadelphica*, *P. peruviana*, *P. grisea* y *P. alkekengi*⁷.

La especie con mayor distribución e importancia económica en México es *Physalis philadelphica* (tomate verde), que junto con *Physalis cotzomatli*⁵ (tomate agrio) son ampliamente utilizadas en la cultura Mexicana, principalmente en la gastronomía, pues muchos platillos tradicionales se acompañan con las salsas que se elaboran de la mezcla de estos frutos con especias y chiles.

Algunas especies del género *Physalis* han sido y siguen siendo utilizadas en la medicina tradicional para curar diversos padecimientos, ejemplos de ello son: *P. philadelphica*, cuyos frutos preparados de diversas maneras han servido para tratar la tos y problemas del tracto



respiratorio, *P. pubescens* cuyas hojas cocidas se aplican para sanar heridas, y *P. nicandroides* cuyas hojas hervidas se usan para baños postpartos^{7,17}.

En otras partes del mundo, algunas especies de *Physalis* también son utilizadas para tratar diversos padecimientos, así, *P. minima* es utilizada en la India para tratar desórdenes del bazo, como diurético y purgante¹⁸ y *P. peruviana* es utilizada en Taiwan para el tratamiento de la malaria, hepatitis, y como diurético¹⁹.

2.2.1. Composición química

Estudios químicos realizados a especies del género *Physalis* muestran que entre los principales metabolitos aislados se encuentran:

- Alcaloides, presentes en raíces²⁰.
- Acilsacarosas, presentes en diversas partes de la planta²¹.
- Derivados esteroideos, principalmente en las partes aéreas^{5,22}.
- Flavonoides²³.



2.3. Acilsacarosas

Las acilsacarosas son ésteres de sacarosa, disacárido formado por glucosa y fructosa. Son compuestos solubles en disolventes orgánicos y su diversidad estructural radica en la posición de los ésteres así como en las características estructurales de los ácidos unidos a la sacarosa²⁴.

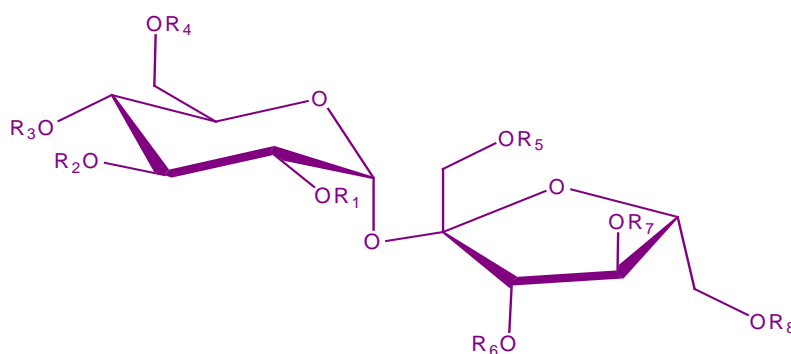


Figura 1. Estructura general de una acilsacarosa

La primera acilsacarosa que se aisló del género *Physalis* fue obtenida de las flores y hojas de *Physalis viscosa*²¹, se trató de una sacarosa diacilada en la glucopiranososa y fue llamada Physalosida A. Esta acilsacarosa presentó actividad antibacteriana contra las bacterias Gram-positivas *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*, pero fue inactiva contra las bacterias Gram-negativas *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*.

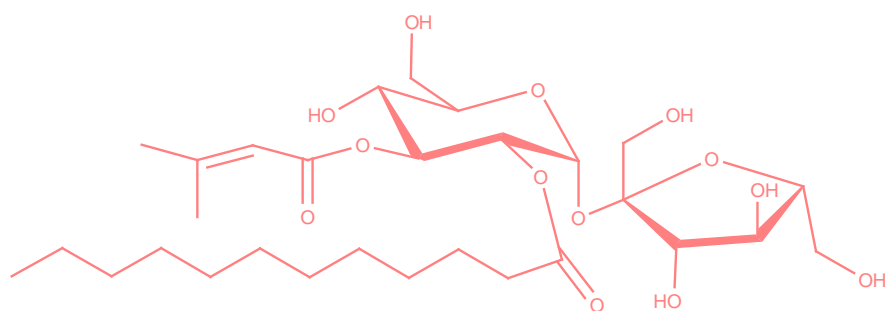
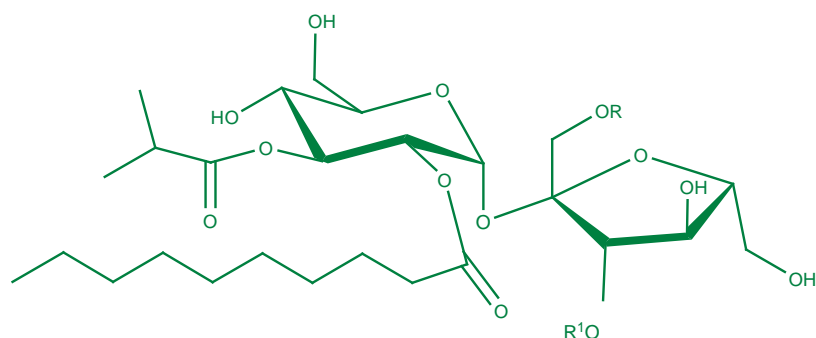


Figura 2. Physalosida A.

Las siguientes acilsacarosas de *Physalis* fueron aisladas de los frutos de ***Physalis nicandroides*¹³**, planta utilizada como insecticida en algunas regiones de México. Se aislaron cinco nuevas acilsacarosas tri y tetraciladas llamadas nicandrosas A, B, C, D y E.



- 1 Nicandrosa A $R=R^1=$ 2-metilbutanoilo
- 2 Nicandrosa B $R=$ Ac, $R^1=$ isobutirilo
- 3 Nicandrosa C $R=$ Ac, $R^1=$ 2-metilbutanoilo
- 4 Nicandrosa D $R=$ H, $R^1=$ isobutirilo
- 5 Nicandrosa E $R=$ H, $R^1=$ 2-metilbutanoilo

Figura 3. Nicandrosas A-E.



2.3.1. Distribución

Estudios hechos a secreciones de miembros de la familia Solanaceae, han revelado que complejos conformados por ésteres de sacarosa y/o glucosa son los componentes no volátiles más abundantes^{25,26}.

Los ésteres de sacarosa y/o de glucosa se han obtenido como componentes de los lípidos de la superficie de *Nicotiana cavicola*²⁴ y de 50 especies de *Nicotiana* que fueron analizadas por HPLC²⁷. Los ácidos que esterifican a la glucosa ó sacarosa son ácidos pequeños: ácido acético, ácido metilpropiónico, ácido metilbutanoico, entre otros. Lo anterior ha hecho suponer que estos glicolípidos son los precursores de los ácidos grasos que abundan en el humo del tabaco y que se encuentran como ésteres de alcoholes alifáticos. También se han encontrado acilsacarosas en especies de los géneros *Lycopersicon*²⁶, *Petunia*²⁸, *Solanum*²⁹ y en algunas especies de las familias Asteraceae, Cannaceae y Polygalaceae¹⁵.



2.3.2. Actividad biológica de acilsacarosas

Aún cuando la actividad biológica de las acilsacarosas no se ha estudiado ampliamente, algunas pruebas han dado como resultado las siguientes actividades:

- Actividad específica contra bacterias Gram (+)²¹.
- Actividad contra pasto granero²⁷.
- Actividad afídica²⁹.
- Actividad contra el crecimiento y germinación de semillas³⁰.

2.3.3. Usos de las acilsacarosas

Al tratarse de moléculas anfifílicas, las acilsacarosas pueden ser usadas en las industrias de: alimentos, fármacos, cosméticos, y como una alternativa de pesticidas naturales que no contaminen. Uno de los usos con mayor importancia es el de sustituto de las grasas convencionales con las que se elaboran los alimentos chatarra, pues al incrementarse el consumo de estos alimentos, aunado a una vida cada vez más sedentaria, ha resultado en un incremento a nivel mundial, tanto de la obesidad como de enfermedades relacionadas con ella.



La industria alimentaria recurre al uso de estos sustitutos (acilsacarosas), ya que presentan propiedades físicas y sensoriales idénticas a las de las grasas pero sin el aporte energético.

El primer sustituto fue patentado por Procter and Gamble como Olean[®], pero llamado por su nombre genérico como Olestra, el cual es una mezcla de sacarosas octa, hepta y hexa esterificadas.

Olestra tiene sabor y características de cocción similares a los de las grasas y aceites tradicionales, pero no contribuye con energía a la dieta, pues no es hidrolizada por las lipasas gástricas y por lo tanto no es absorbido por el tracto gastrointestinal³¹. La FDA (Food and Drug Administration) aprobó en 1996 el uso comercial de Olestra en botanas saladas y picantes. Para su aprobación se realizaron diversos estudios de absorción, en donde se observó que no afectaba la microflora, la movilidad intestinal, el flujo gástrico y electrolitos, además de que la mezcla no es hidrolizada por enzimas o bacterias del colon³². También se ha comprobado que no interfiere en la absorción de anticonceptivos, medicamentos lipofílicos más comúnmente recetados, sólo se ha encontrado que puede interferir con la absorción de las vitaminas A, D, E y K, por lo que el aceite comercial Olean[®] está fortificado con estas vitaminas³².



Los ésteres de sacarosa también pueden ser utilizados como emulsificantes³³ gracias a su carácter ambifílico, además no son tóxicos, no poseen sabor, son inodoros y algunos se digieren en el estómago para dar sacarosa y ácidos grasos. Estos aditivos pueden aplicarse en donde se requiera el uso de un emulsificante con características no iónicas y biodegradable³⁴.

El carácter anfifílico de los agentes emulsionantes se expresa generalmente como el balance hidrofílico/lipofílico (HLB "hydrophilic-lipophilic balance") en una escala de 0 a 20, en donde valores pequeños indican una afinidad por la fase lipídica y por lo tanto promueven emulsiones W/O (agua en aceite). Valores grandes de HLB indican que el agente emulsionante tiene afinidad por la fase acuosa y por lo tanto promueven emulsiones O/W (aceite en agua). En el caso de las acilsacarosas conocidas comercialmente como sucroésteres, valores de HLB grandes indican que estos compuestos son más digeribles³⁵.

Otros de los posibles usos de las acilsacarosas en la industria alimentaria son: en la elaboración de chocolates ; en las coberturas de semillas³⁶ pues mejora la resistencia a la oxidación y a la aparición de aglomerados grasos en la superficie; para la reconstitución de la leche con la emulsificación de la grasa; para la elaboración de pan ya que su adición en la masa incrementa el volumen y suavidad de la migaja; en la elaboración de helados para mantener su viscosidad y para hacer



películas o recubrimientos de frutas y verduras pues conservan las características visuales y de palatabilidad, siendo una opción favorable pues no afecta al producto y son biodegradables^{37,38}.

Hoy en día, los sucroésteres están autorizados en Europa como emulgentes para alimentos, número de aditivo E-473³⁹.

En la industria cosmética las acilsacarosas pueden ser empleadas en la elaboración de cremas emolientes y en labiales. En la industria del cuero se utilizan como agentes desengrasantes, dispersantes y emulsionantes en los procesos de ribera y de lavado de cuero previo al recurtido; en la industria papelera actúa como reductor de viscosidad, como agente desengrasante y suavizante del papel además, pueden ser utilizadas como emulsificantes en la elaboración de pastas dentales.

Por último la actividad insecticida⁴⁰ que han presentado alguna acilsacarosas las convierte en una alternativa para la elaboración de insecticidas naturales que sean biodegradables y no dañen el medio ambiente⁴¹.



2.4. Flavonoides

Los flavonoides son un grupo amplio de compuestos fenólicos generados por el metabolismo secundario de los vegetales. Todos los flavonoides presentan la estructura general C₆-C₃-C₆, es decir, dos fenilos unidos a través de una cadena de tres carbonos⁴².

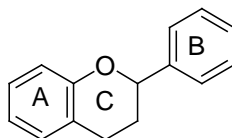


Figura 4. Estructura general de un flavonoide.

Los flavonoides se pueden encontrar unidos a azúcares, siendo los carbohidratos más frecuentes: glucosa, galactosa, ramnosa, arabinosa y xilosa. También, es común obtener a los flavonoides en su forma libre o de aglicona.

Los flavonoides son importantes para las plantas porque además de ser responsables de la coloración de muchas flores, frutos y hojas, intervienen en la polinización atrayendo a los insectos responsables de este proceso.

Los flavonoides se clasifican, dependiendo de la posición del anillo aromático en el benzopirano en tres clases (Figura 5):

- a) Flavonoides (2-fenilbenzopirano)
- b) Isoflavonoides (3-benzopiranos)
- c) Neoflavonoides (4-benzopiranos)

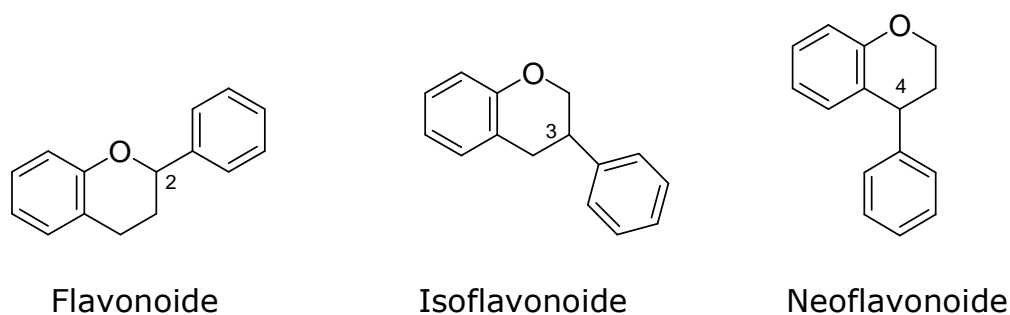


Figura 5. Clasificación de flavonoides.

Dependiendo del grado de oxidación y saturación en el anillo C, los flavonoides se han dividido en los siguientes grupos: flavanos, flavanonas, flavonas, flavonoles y flavanoles (flavan-3-ol y flavan-4-ol)⁴² (Figura 6).

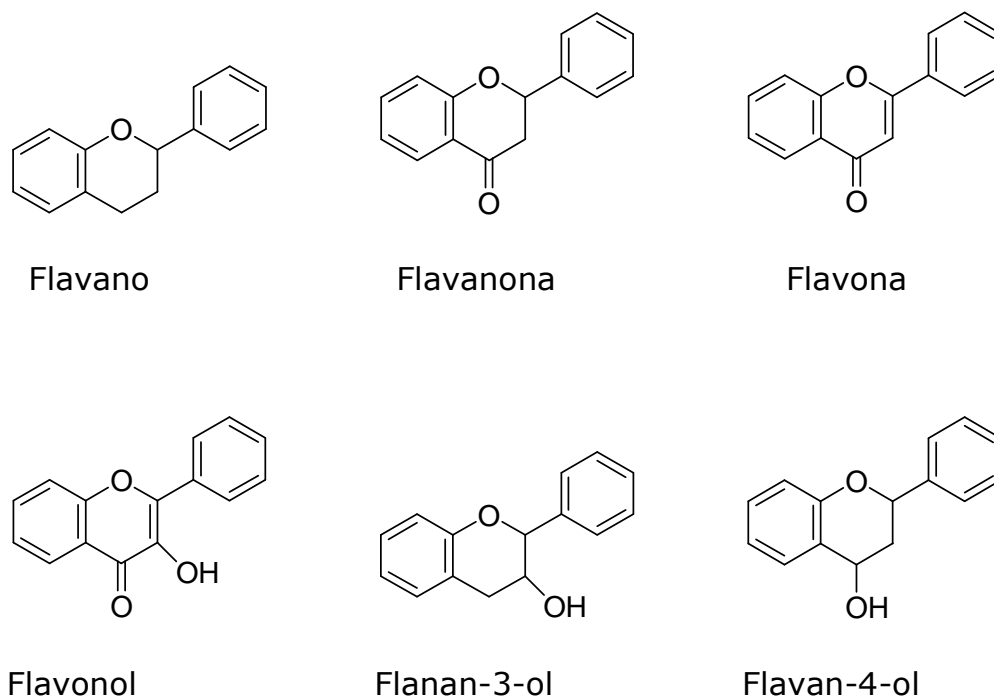


Figura 6. Diferentes tipos de flavonoides.



2.4.1. Distribución

Los flavonoides están ampliamente distribuidos entre los vegetales superiores, siendo las rutáceas, poligonáceas, asteráceas y umbelíferas las principales familias que los contienen. Abundan sobre todo en las partes aéreas jóvenes y más expuestas al sol, como hojas, flores y frutos⁴³.

2.4.2. Actividad biológica

Farmacológicamente, los flavonoides destacan por su baja toxicidad, encontrándose entre sus actividades las siguientes:

- Actividad antioxidante⁴⁴.
- Actividad antimutagénica⁴⁵.
- Actividad antiespasmódica⁴⁶.
- Actividad antiinflamatoria⁴⁷.
- Actividad antimicrobiana⁴⁸.
- Actividad antiprotozoaria⁴⁹.
- Actividad sobre el sistema vascular⁴⁶.



2.4.3. Usos de los flavonoides

Su uso se extiende desde la industria cosmética, la dermofarmacia y farmacia como: venotónicos, agentes para aumentar la fuerza de los capilares sanguíneos, para tratamientos de pieles sensibles, como agentes descongestionantes, para hacer la piel más elástica y como agentes antienvjecimiento, además de usarse para la elaboración de preparaciones nutritivas⁵⁰.

2.5. *Physalis solanaceus*

Physalis solanaceus (Schltdl)/ Axelius, lo mismo que *P. philadelphica* Lam y otras cinco especies, pertenecen a la sección Angulatae y al subgénero Rydbergis.

P. solanaceus es una planta herbácea anual y erecta de hasta 70 cm de alto, con flores solitarias y corola púrpura, su cáliz tiene lóbulos triangulares y cubre al fruto que es una baya de 8 mm de diámetro. *P. solanaceus* crece en zonas perturbadas, cercanas a bosques tropicales caducifolios, matorrales subtropicales y suelos arenosos, sobre todo en zonas secas. Se desarrolla a una altitud desde los 400 hasta los 2000 m, florece y fructifica de junio a octubre⁷. Se distribuye desde el sur de



Estados Unidos hasta Centroamérica, en México la especie se puede encontrar en los estados de Aguascalientes, Chihuahua, Chiapas, Coahuila, Durango, Estado de México, Hidalgo, Jalisco, Nayarit, Michoacán, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Tamaulipas y Veracruz.



Physalis Solanaces
<http://bio.uaq.mx>

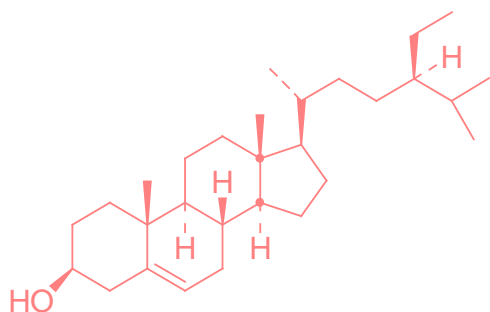
2.5.1. Estudios previos de *Physalis solanaceus*

Existen dos estudios previos de *Physalis solanaceus*, en éstos solo las hojas y los tallos se estudiaron químicamente. En el primero se describen como los componentes mayoritarios del extracto hexánico dos esteroides, β -sistosterol y estigmasterol y del extracto en AcOEt glucósido de β -sitosterol, physalina A, physalina B, physalina D y physalina F⁸.

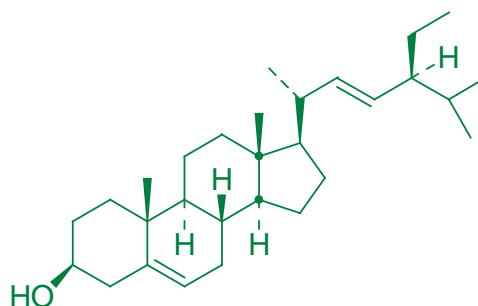
En el segundo estudio también del extracto hexánico se aislaron e identificaron los esteroides β -sistosterol y estigmasterol y cinco physalinas: physalina B, isophysalina B, physalina D, physalina F y



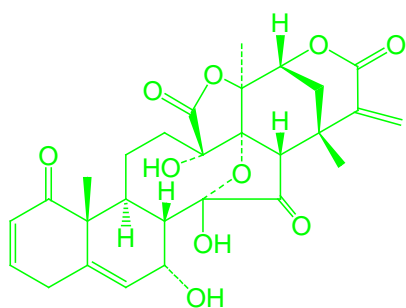
epiphysalina G, además de la triacilsacarosa 3-O-isovaleril-2-O-lauril- α -D-glucopiranosido de 3'-O-isobutiril- β -D-fructofuranosilo⁵¹.



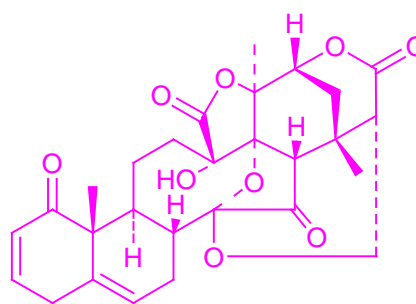
β -sistosterol



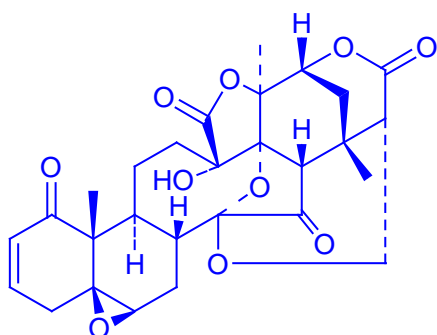
Estigmasterol



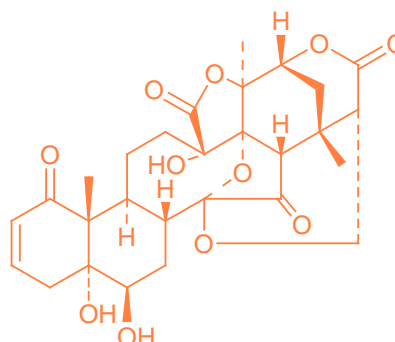
Physalina A



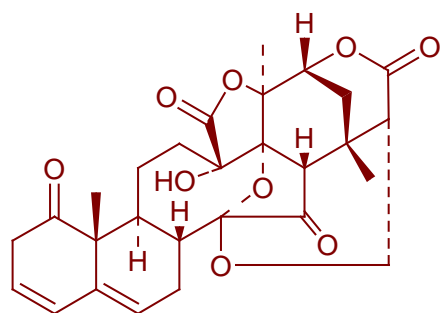
Physalina B



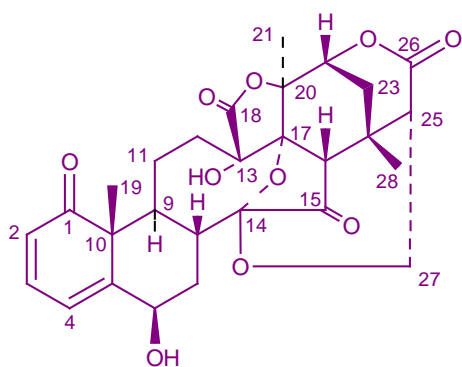
Physalina F



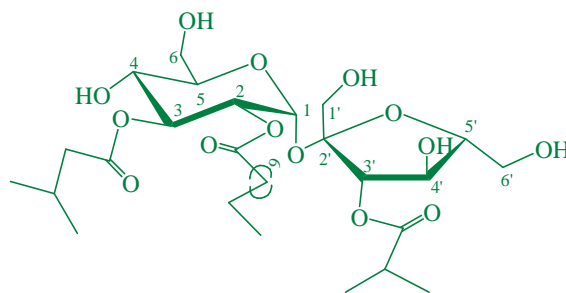
Physalina D



Isophysalina B



Epiphysalina G



3-O-isovaleryl-2-O-lauril- α -D-glucopiranosido de 3'-O-isobutiril- β -D-fructofuranosilo

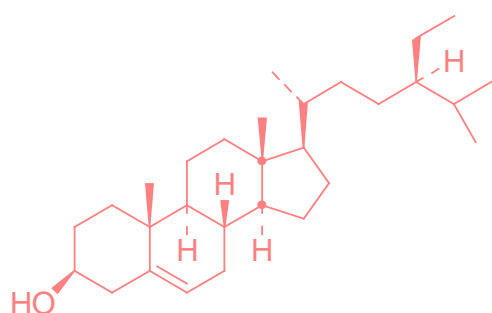
Figura 7. Compuestos aislados de *Physalis solanaceus*.

2.5.2. Estudios previos de cálices de *Physalis*

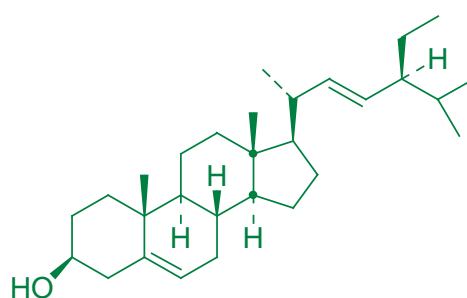
Existen dos estudios químicos de cálices de *Physalis*. Uno de ellos es el realizado a *Physalis chenopodifolia*, en el que del extracto metanólico se aisló una mezcla de β -sistosterol y estigmasterol, la withanólida physachenólida D y las tetraacilsacarosas 2,4-di-O-isobutiril-3-O-(2-



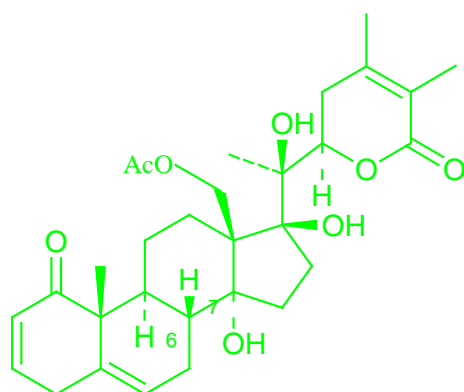
metilbutanoil)- α -D-glucopiranosido de 3'-O-lauril- β -D-fructofuranosilo y 2,3,4-tri-O-isobutiril- α -D-glucopiranosido de 3'-O-lauril- β -D-fructofuranosilo¹⁵. El otro estudio se realizó con los cálices de *P. peruviana* y se obtuvieron de la fracción soluble en diclorometano del extracto acuoso dos withanólidas, 4 β -hidroxiwithanólida E y 28-hidroxiwithanólida E¹⁴.



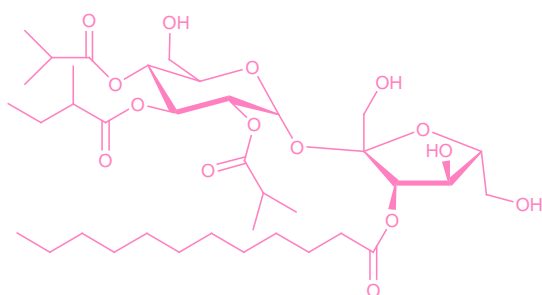
β -sistosterol



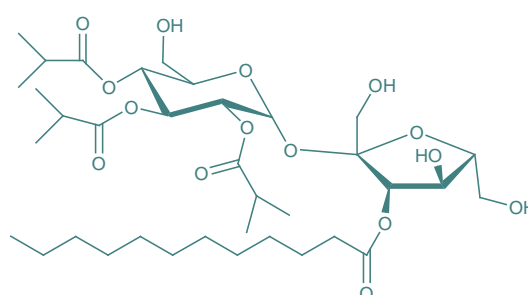
Estigmasterol



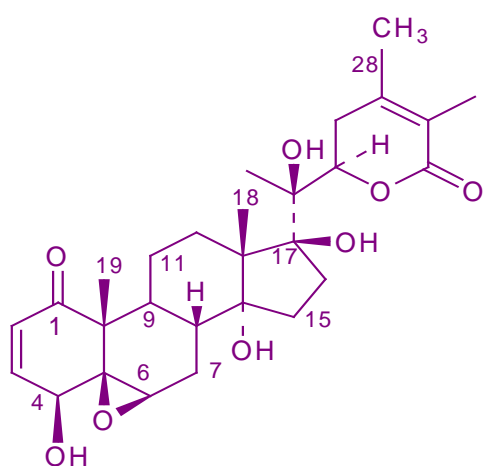
Physachenólida D



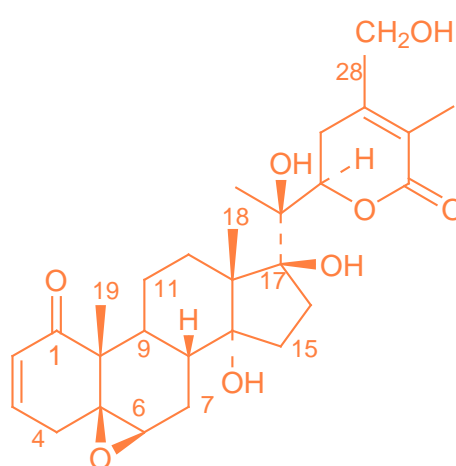
2,4-di-O-isobutiril-3-O-(2-metilbutanoil)- α -D-glucopiranosido de 3'-O-lauril- β -D-fructofuranosilo



2,3,4-tri-O-isobutiril- α -D-glucopiranosido de 3'-O-lauril- β -D-fructofuranosilo



4- β -hidroxiwithanolida E



28-hidroxiwithanolida E

Figura 8. Compuestos aislados de los cálices de *Physalis*.



3. HIPÓTESIS

En base a los estudios químicos de las partes aéreas de *P. solanaceus*^{8,51} y a los realizados a los cálices de *Physalis peruviana*¹⁴ y *P. chenopodifolia*¹⁵ que describen la presencia de esteroides, acilsacarosas y withaesteroides, los cálices de *Physalis solanaceus* deberán contener esteroides, acilsacarosas y withaesteroides.

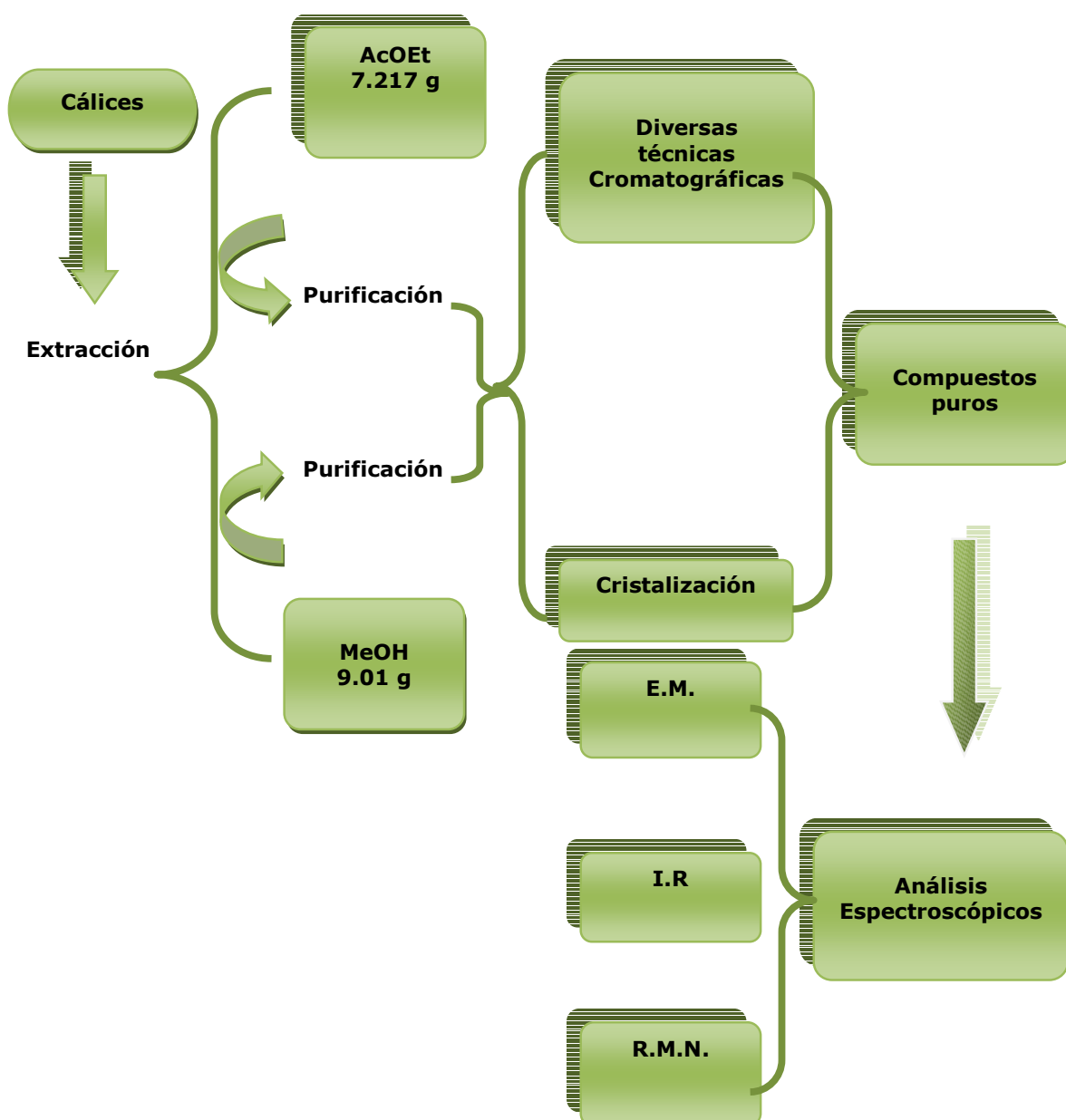
4. OBJETIVOS

- Contribuir al conocimiento químico del género ***Physalis*** a través de la especie ***Physalis solanaceus***.
- Caracterizar los metabolitos secundarios presentes en los cálices de ***Physalis solanaceus***.



5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Diagrama general de la investigación





5.2. Material y equipo

Los análisis de **cromatografía en columna (CC)** se operaron con vacío. Se utilizó como fase estacionaria gel de sílice 60 G UV₂₅₀ Macherey-Nagel en una proporción de 1:20 en relación con la cantidad del sustrato a purificar. Se utilizaron diversos disolventes como fase móvil y éstos se seleccionaron de acuerdo a la mezcla por purificar. Para el seguimiento de las cromatografías en columna se llevaron a cabo **cromatografías en capa delgada (CCD)**, usándose cromatofolios de 4 cm de altura Alugram SIL G100 UV₂₅₀ de 0.25 mm de espesor. Para visualizar las CCD se utilizó una lámpara de luz UV (onda corta 254 nm, onda larga 365 nm) y para revelar se utilizó una solución de sulfato cérico en ácido sulfúrico. Las cromatografías preparativas en placa se llevaron a cabo en placas de 20x20 cm SIL G100 UV₂₅₄ de 1 mm de espesor y en placas SIL G-200 UV₂₅₄ de 2 mm de espesor de gel de sílice. Las cromatografías preparativas en placa de fase reversa se llevaron a cabo en placas de 20x10 cm RP-18 F₂₅₄ MERCK de 1 mm de espesor. Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher Johns. Los espectros en el IR se obtuvieron en un espectrofotómetro Bruker Tensor 27. Los espectros de resonancia magnética nuclear se determinaron a temperatura ambiente en los espectrómetros Varian-Unity 300 (300 MHz para ¹H y 125 MHz para ¹³C), Eclipse JEOL (300



MHz para ^1H y 75 MHz para ^{13}C) y Varian-Inova (500 MHz para ^1H y 125 MHz para ^{13}C). Se utilizó como referencia interna tetrametilsilano (TMS). Los espectro de masas obtenidos por impacto electrónico (IE) se realizaron en un espectrómetro JEOL JMS-AX505HA y los obtenidos por FAB⁺ se realizaron en un espectrómetro JEOL-JMS-SX102A.

5.3. Material vegetal

Physalis solanaceus se recolectó en noviembre del 2002 en el Cerro del Azteca, Querétaro. Después de separar las diversas partes de la planta se obtuvieron 35.92 g de cálices.

5.4. Extracción del material vegetal

Los cálices se extrajeron de manera exhaustiva y consecutiva con AcOEt y MeOH. Después de eliminar los disolventes por destilación a presión reducida en un rotaevaporador, se obtuvieron 7.27 g de extracto de AcOEt y 9.01 g de extracto de MeOH.



5.5. Aislamiento

5.5.1. Extracto de acetato de etilo

Al extracto de acetato de etilo (7.27 g) se le agregó CHCl_3 , Me_2CO y MeOH observándose la presencia de un sólido no soluble en los disolventes orgánicos y soluble en H_2O . Después de filtrar la mezcla, se obtuvieron 462 mg del sólido inorgánico. Al filtrado se le eliminó el disolvente dando 6.80 g de residuo que fue purificado por cromatografía en columna (CC1). La cromatografía fue eluida con CHCl_3 , mezclas de CHCl_3 - MeOH en orden creciente de polaridad y con MeOH . Se obtuvieron 148 fracciones que fueron analizadas por cromatografía en capa delgada y agrupadas considerando la semejanza en su composición. La tabla 1 resume la cromatografía en columna 1 y muestra las fracciones que fueron reunidas.



Tabla 1. Cromatografía en columna 1.

Fracciones	Eluyente	Fracciones reunidas
1-10	CHCl ₃	1-2 , 3-10
11-26	CHCl ₃ -MeOH 98:2	11-15 , 17-32
27-48	CHCl ₃ -MeOH 96:4	33-39 , 40-42
49-61	CHCl ₃ -MeOH 94:6	43-61
62-78	CHCl ₃ -MeOH 90:10	62-66 67-78
79-87	CHCl ₃ -MeOH 85:15	79-108
88-99	CHCl ₃ -MeOH 80:20	
100-107	CHCl ₃ -MeOH 70:30	
108-119	CHCl ₃ -MeOH 60:40	109- 148
120-128	CHCl ₃ -MeOH 50:50	
129-139	CHCl ₃ -MeOH 30:70	
140-148	MeOH	

Las fracciones 17 a 32 (820.6 mg), mezcla A, mostraron a través de su cromatografía en capa delgada que uno de sus componentes se encontraba en mayor cantidad, por lo que una muestra de 12 mg se envió al departamento de RMN y 73.4 mg se purificaron por cromatografía preparativa en capa de fase reversa. La cromatografía se eluyó con MeOH-H₂O 70:30 4 veces, 75:25 2 veces y 85:15 5 veces.



obteniéndose 11.1 mg de un residuo aceitoso, cuya cromatografía analítica en fase reversa mostró que aun se trataba de una mezcla, por lo que se realizó otra cromatografía preparativa en las mismas condiciones que la anterior, de 100 mg de mezcla A. Se obtuvieron 21 mg de un aceite que se analizó junto con los 11.1 mg obtenidos anteriormente, por cromatografía analítica en fase reversa. Ésta mostró que ambas muestras contenían una mezcla de por lo menos dos compuestos. No se encontró ningún sistema de disolventes adecuado para separar los componentes de la mezcla, por lo que se envió una muestra de ella al departamento de cromatografía para su purificación por HPLC.

La fracción 16 (17.1 mg) y las fracciones 33 a 39 (137.3 mg) de la cromatografía en columna 1, también presentaron la mezcla A.

➤ **Aislamiento de 3-O-Isovaleril-2-O-lauril- α -D-glucopiranosido de 3'-O-isobutiril- β -D-fructofuranosilo (1)**

Las fracciones 43 a 61 (1.35 g) fueron purificadas a través de una cromatografía flash en columna (CC2) obteniéndose 149 fracciones de la siguiente manera: fracciones 1 a 105 eluidas con CHCl_3 -MeOH 94:6 y 106 a 149 eluidas con CHCl_3 -MeOH 90:10. Las fracciones 32 a 105 (36.3 mg) se purificaron por cromatografía preparativa en capa que se eluyó



con CH₂Cl₂-MeOH 95:5 2 veces. Del componente principal se obtuvieron 10.1 mg que se enviaron al departamento de RMN. El espectro mostró que se trataba de una mezcla de acilsacarosas la cual fue llamada mezcla B. Las fracciones 110 a 138 (746.6 mg) por cromatografía analítica en fase reversa mostraron contener una mezcla de compuestos y uno de ellos en mayor cantidad. Se tomaron 60 mg de la mezcla y se purificaron por cromatografía preparativa en capa de fase reversa que se eluyó con MeOH-H₂O 75:25 6 veces. Se obtuvieron 11.3 mg de 3-O-isovaleril-2-O-lauril- α -D-glucopiranosido de 3'-O-isobutiril- β -D-fructofuranosilo (**1**) aún sucio. Otros 60 mg de la mezcla presente en la fracciones 110 a 138 se purificaron por cromatografía preparativa en capa de fase reversa eluida con MeOH-H₂O 75:25 3 veces. De esta cromatografía se obtuvieron 22.1 mg de **1** limpio.

➤ **Aislamiento de 3-O-Isobutiril-2-O-lauril- α -D-glucopiranosido de 3'-O-isobutiril- β -D-fructofuranosilo (2)**

Una porción (300 mg) de la mezcla contenida en las fracciones 110 a 138 de la CC2, se purificó por cromatografía preparativa en capa en fase reversa usando como eluyente MeOH-H₂O 75:25 3 veces. De esta purificación se obtuvieron 126 mg del compuesto **1** y 35.6 mg de 3-O-isobutiril-2-O-lauril- α -D-glucopiranosido de 3'-O-isobutiril- β -D-fructo-



furanosilo (**2**) sucio. El compuesto **2** (35.6 mg) con un Rf mayor al del compuesto **1**, se purificó a través de dos cromatografías preparativas sucesivas en capa de fase reversa que se eluyeron con MeOH-H₂O 75:25 9 veces y 70:30 12 veces. Se obtuvieron 4.2 mg del compuesto **1** y 6.3 mg del compuesto **2** limpio.

Las fracciones 40 a 42 (79.5 mg) y las fracciones 62 a 66 (200.6 mg) de la primera cromatografía en columna contienen al compuesto **1** y a la mezcla B.

5.5.2. Extracto metanólico

El extracto de metanol (9.01 g) se disolvió en el menor volumen posible de MeOH observándose al igual que en el caso del extracto en AcOEt un sólido no soluble en disolventes orgánicos. La mezcla se filtró y se eliminó el disolvente al filtrado obteniéndose 6.25 g de un aceite denso que fue purificado por cromatografía en columna (CC3).

La cromatografía fue eluida con CH₂Cl₂ y con mezclas de CH₂Cl₂-MeOH en orden creciente de polaridad. De esta cromatografía se obtuvieron 41 fracciones que fueron agrupadas considerando la semejanza en su composición. La tabla 2 resume la cromatografía en columna 3 y muestra las fracciones que fueron reunidas.



Tabla 2. Cromatografía en columna 3.

Fracciones	Eluyente	Fracciones reunidas
1-6	CH ₂ Cl ₂	
7 a 13	CH ₂ Cl ₂ -MeOH 90:10	3 a 12
14 a 20	CH ₂ Cl ₂ -MeOH 80:20	13 a 16 y 17 a 20
21 a 26	CH ₂ Cl ₂ -MeOH 70:30	21 a 23
27 a 34	CH ₂ Cl ₂ -MeOH 60:40	24 a 41
35 a 41	CH ₂ Cl ₂ -MeOH 50:50	

Las fracciones 17 a 20 (810 mg) se sometieron a una cromatografía en columna (CC4). Se obtuvieron 25 fracciones que fueron eluidas con CH₂Cl₂-MeOH 80:20. Las fracciones 8 a 11 se purificaron por cromatografía en columna con Sephadex (CC5) usando como eluyente MeOH. Se obtuvieron 10 fracciones de las cuáles las fracciones 4 a 6 (54.5 mg) se aplicaron a una placa preparativa que se eluyó una vez con AcOEt-MeOH 70:30, se obtuvieron 28.9 mg de rutina **(3)** sucia.

Las fracciones 21 a 23 (785 mg) de la CC4 se purificaron por cromatografía en columna con Sephadex (CC6) eluida con MeOH. Se obtuvieron 26 fracciones de las cuales 8 a 11 (113.3 mg) presentaron un componente principal, por lo que se reunieron y purificaron por cromatografía en columna (CC7) que se eluyó con CHCl₃-MeOH 75:25.

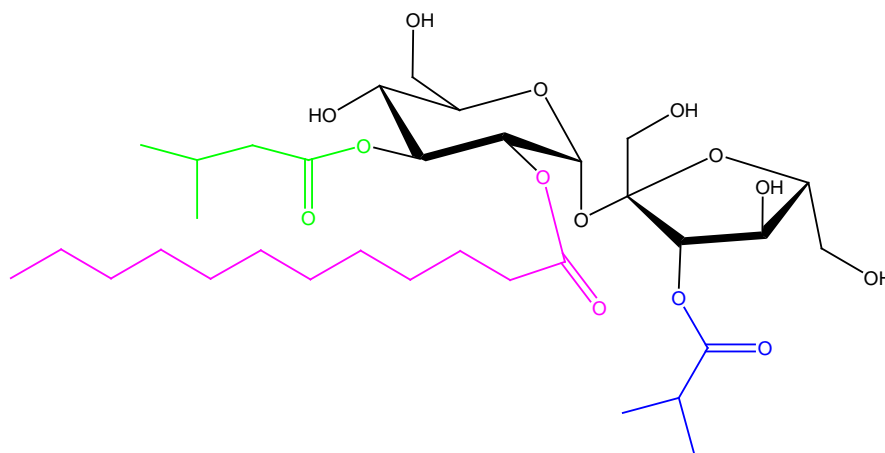


Las fracciones 9 a 19 presentaron un sólido amarillo que fue filtrado y recristalizado en éter isopropílico-acetona obteniéndose 4.7 mg de rutina **(3)**, pf: 190-215°.



6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como resultado del estudio químico del extracto de AcOEt de los cálices de *Physalis solanaceus* se obtuvieron mezclas de acilsacarosas. De la purificación de las mezclas se obtuvieron dos compuestos puros. El análisis de los espectros de RMN mono y bidimensionales, homonucleares y heteronucleares, así como de los espectros de infrarrojo y de espectrometría de masas, permitió caracterizar a estos compuestos como 3-O-isovaleril-2-O-lauril- α -D-glucopiranosido de 3'-O-isobutiril- β -D-fructofuranosilo (**1**) y 3-O-isobutiril-2-O-lauril- α -D-glucopiranosido de 3'-O-isobutiril- β -D-fructofuranosilo (**2**).



1

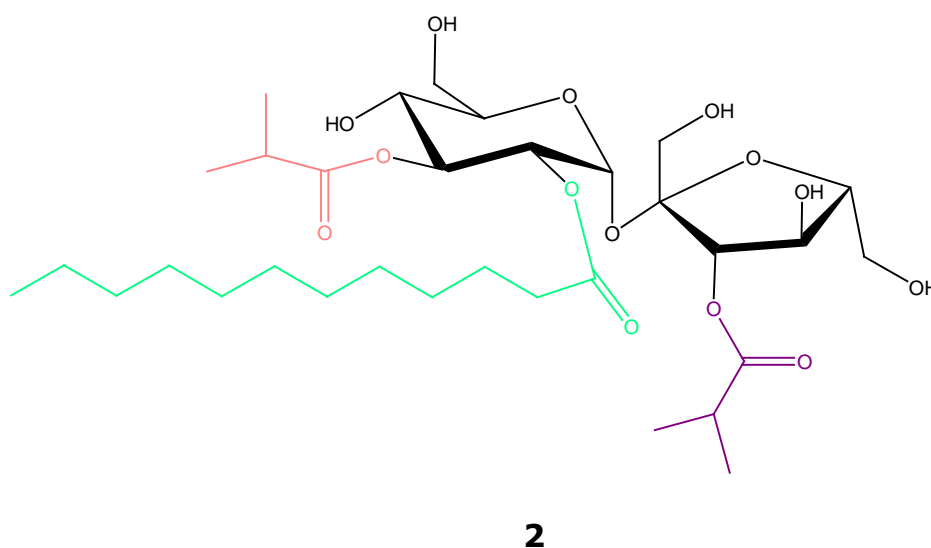


Figura 9. Compuestos **1** y **2**.

➤ **3-O-Isovaleril-2-O-lauril- α -D-glucopiranosido de 3'-O-isobutiril- β -D-fructofuranosilo (1).**

El compuesto **1** mostró en su espectro de IR (espectro 1) bandas de absorción en 3468 y 1736 cm^{-1} las cuales correspondieron a los grupos hidroxilo y a los grupos carbonilo de los ésteres, respectivamente. El espectro de RMN ^1H (espectro 2, tabla 3) presentó una señal doble en δ 5.56 con $J=4$ Hz que correspondió al hidrógeno anomérico (H_1) de la α -glucopiranososa. En el espectro bidimensional homonuclear ^1H - ^1H COSY (Figura 10, espectro 3) se observó el acoplamiento de la señal del hidrógeno anomérico con una señal doble en δ 4.86 ($J=10.5, 3.5$ Hz) que se asignó a H_2 de la glucopiranososa el cual debe ser axial β . En el mismo espectro COSY se observó la interacción entre H_2 y H_3 (δ 5.25, t,



$J=10$ Hz), éste último acoplado con H_4 (δ 3.52, t, $J= 10$ Hz), que a su vez interacciona con un multiplete en δ 4.05 que se asignó a H_5 . El hidrógeno 5 mostró, en el espectro COSY, su interacción con dos hidrógenos (δ 3.97 y δ 3.75) los cuales fueron identificados como aquellos del metileno de C_6 de la glucopiranososa. Cabe mencionar que los desplazamientos a campo bajo de H_2 y H_3 con respecto a los de la sacarosa no esterificada (δ 3.53 y δ 3.73 en D_2O)⁵² indicaron que los alcoholes de estas posiciones se encontraban unidos a grupos acilo.

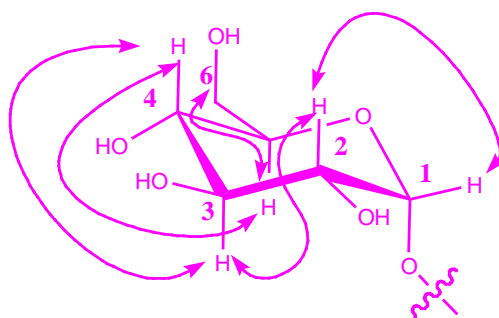


Figura 10. Correlaciones 1H - 1H COSY de la α -D-glucopiranososa del compuesto **1**.

El espectro de RMN ^{13}C (espectro 4) del compuesto **1** mostró las seis señales correspondientes a la unidad de α -D-glucopiranososa (tabla 4), observándose en δ 89.7 la señal del carbono anomérico.

En el espectro de RMN 1H (espectro 2) también se observaron las señales correspondientes a la unidad de β -fructofuranosa presente en la sacarosa. Así, los hidrógenos del carbono 1 se observaron como un



sistema AB en δ 3.58 y 3.49 con una constante de acoplamiento de 12 Hz. La señal de H_{3'} se observó como un doblete en δ 5.18 (J= 8 Hz), desplazamiento químico a campo bajo en relación con aquel descrito para el mismo hidrógeno de la fructofuranosa en la sacarosa (δ 4.19 en D₂O)⁵², lo que indicó su posición gem a un éster.

En el espectro bidimensional homonuclear COSY (Figura 11, espectro 3) se observó el acoplamiento de H_{3'} con H_{4'} (δ 4.55, t, J=8 Hz), de H_{4'} con H_{5'} (δ 3.94, m) y de H_{5'} con los hidrógenos del carbono seis (δ 3.91 y 3.75).

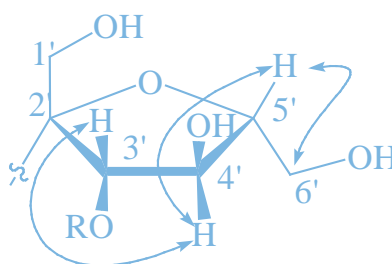


Figura 11. Correlaciones ¹H-¹H COSY del β -D-fructofuranosilo del compuesto **1**.

En el espectro de RMN ¹³C (espectro 4) se observaron las seis señales correspondientes al anillo de β -D-fructofuranosa, localizándose la señal del carbono anomérico en δ 103.8 (tabla 4).

El acilo unido a C₂ de la α -D-glucopiranososa fue identificado como laurilo considerando que en el espectro de RMN ¹H (espectro 2, tabla 3) las



señales de los hidrógenos de la posición 2 del acilo se observaron como dos cuartetos en δ 2.24 y 2.27 acoplados al quintuplete en δ 1.55 ($J=7$ Hz) correspondiente al metileno del carbono 3 lo que se corroboró en el espectro bidimensional ^1H - ^1H COSY (espectro 3). Por su parte los hidrógenos de los carbonos 4 a 11 dieron lugar a una señal simple ancha en δ 1.25 y el metilo terminal se localizó como una señal triple en δ 0.88 ($J=7$ Hz). El espectro de RMN ^{13}C (espectro 4) mostró las señales de los doce carbonos del laurilo⁵³ (tabla 4), presentando en δ 14.1 la señal del metilo terminal y en δ 173 la señal del carbonilo.

El espectro de masas obtenido por la técnica de FAB^+ (espectro 5) mostró el fragmento de m/z 701 correspondiente a $[\text{M} + \text{Na}]^+$ también se observaron los fragmentos de m/z 429, 327 y 183 que correspondieron el primero a $[\text{701}-\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CO}_2\text{H}-(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}-\text{H}]^+$, el segundo a $[\text{429}-(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}_2\text{H}]^+$ y el tercero al grupo acilo del ácido láurico $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CO}]^+$.

La posición del grupo laurilo se estableció al observar en el espectro bidimensional heteronuclear HMBC (espectro 6) el acoplamiento entre C_1 del acilo y el H_2 de la glucosa.

El grupo unido al carbono 3 de la α -D-glucopiranososa fue identificado como isovalerilo considerando lo siguiente: el espectro de RMN ^1H (espectro 2, tabla 3) mostró las señales de los hidrógenos de la posición

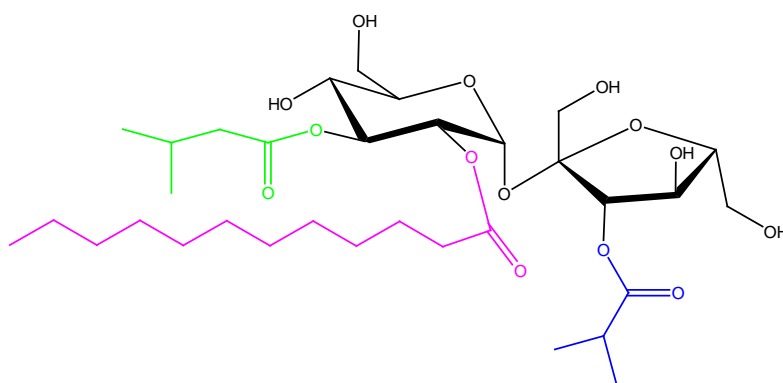


2 del acilo como dos señales doble de doble en δ 2.22 y 2.19 acopladas a un multiplete en δ 2.06 correspondiente al metino del carbono 3 y éste a su vez acoplado a los hidrógenos de los metilos geminales que se mostraron como dos dobletes en δ 0.943 y 0.941. El espectro bidimensional ^1H - ^1H COSY (espectro 3) corroboró lo anterior. El espectro de RMN ^{13}C (espectro 4) mostró las señales de los 5 carbonos del isovalerilo (tabla 2), presentando en δ 22.29 y 22.25 las señales de los metilos y en δ 173.9 la señal del carbonilo. Adicionalmente, el espectro de masas mostró los fragmentos de m/z 85 y 57 correspondientes al isovalerilo $[(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2]^+$ y a la pérdida de CO de este mismo grupo $[(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2]^+$. En el espectro bidimensional HMBC (espectro 6) se observó el acoplamiento del C_1 del acilo con el H_3 de la glucosa, con lo que se confirmó la posición del grupo acilo.

Por último, el grupo unido al carbono 3' de la β -D-frutofuranosa fue identificado como isobutirilo considerando que en el espectro de RMN ^1H (espectro 2, tabla 3) la señal de H_2 del acilo se observó como un heptuplete en δ 2.74 ($J=7$ Hz), y los hidrógenos de los metilos dieron lugar a señales dobles en δ 1.29 y 1.25. En el espectro de RMN ^{13}C (espectro 4) se observaron las señales de los 4 carbonos del isobutirilo (tabla 4), presentándose en δ 19.2 y 18.7 las señales de los metilos y en δ 178.1 la señal del carbonilo.



El espectro bidimensional heteronuclear HMBC (espectro 6) mostró el acoplamiento a tres enlaces del C₁ del acilo con el hidrógeno del carbono 3 de la fructofuranosa. El espectro de masas corroboró la presencia del isobutirilo a través del fragmento de m/z 71 correspondiente a [(CH₃)₂CHCO]⁺. Con lo anterior se estableció que el compuesto **1** corresponde a 3-O-isovaleril-2-O-lauril- α -D-glucopiranosido de 3'-O-isobutiril- β -D-fructofuranosilo.



Cabe mencionar que este compuesto fue aislado anteriormente del extracto hexánico de tallos y hojas de *Physalis solanaceus*⁵¹.



Tabla 3. Datos de RMN ^1H del compuesto **1**, CDCl_3 , 500 MHz (J en Hz).

H	glucopiranososa	fructofuranosa	H	laurilo	isovalerilo	isobutirilo
1	5.56 d (4)	3.58 d (12) 3.49 d (12)	2	2.28 c (7.5) 2.24 c (7.5)	2.22 dd (14.5, 7) 2.19 dd (14.5, 7)	2.74 hept (7)
2	4.86 dd (10,4)		3	1.56 quint a (7)	2.06 m	1.29 d (7)
3	5.25 t (10)	5.18 d (8)	4	1.26 s a	0.943 d (7)	1.25 d (7)
4	3.52 t (10)	4.55 t (8)	5	1.26 s a	0.941 d (7)	
5	4.05 dd a (9.5,8)	3.94 m	6- 11	1.26 s a		
6	3.97 da (10.5) 3.75 m	3.91 da (11.5) 3.75 m	12	0.88 t (7)		

La asignación de las señales se llevó a cabo con la ayuda de los espectros: HSQC y HMBC.



Tabla 4. Datos de RMN ^{13}C del compuesto **1**, CDCl_3 , 125 MHz.

C	glucopiranososa	fructofuranosa	C	laurilo	isovalerilo	isobutirilo
1	89.7 CH	64.2 CH_2	1	173.0 C	173.9 C	178.1 C
2	69.8 CH	103.8 C	2	33.9 CH_2	43.3 CH_2	33.9 CH
3	72.5 CH	80 CH	3	24.6 CH_2	25.7 CH	19.2 CH_3
4	70.9 CH	71 CH	4	29.1 CH_2	22.29 CH_3	18.7 CH_3
5	73.9 CH	82.1 CH	5	29.32 CH_2	22.25 CH_3	
6	62.3 CH_2	60 CH_2	6	29.30 CH_2		
			7	29.4 CH_2		
			8	29.6 CH_2		
			9	31.9 CH_2		
			10	31.9 CH_2		
			11	22.7 CH_2		
			12	14.1 CH_3		

La asignación de las señales se llevó a cabo con la ayuda de los espectros: DEPT, HSQC y HMBC.



➤ **3-O-Isobutiril-2-O-lauril- α -D-glucopiranosido de 3'-O-isobutiril- β -D-fructofuranosilo (2)**

El compuesto **2** presentó datos espectroscópicos (espectros 7 a 11) muy similares a los del compuesto **1**. En el espectro de RMN ^1H (espectro 8, tabla 5) las diferencias consistieron en la presencia de las señales de un grupo isobutirilo (δ 2.56 hept, 1.15 d, 1.13 d) en lugar de aquellas del grupo isovalerilo presente en el compuesto **1**, lo que indicó que la acilsacarosa **2** contenía también tres grupos acilo, un laurilo y dos isobutirilos. La corroboración se obtuvo a través del espectro de masas (FAB) $^+$ que mostró un fragmento de m/z 687 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ correspondiente a la fórmula molecular $\text{C}_{32}\text{H}_{56}\text{O}_{14}$ acorde con la presencia de los grupos acilo antes mencionados unidos a la sacarosa. La posición de los grupos acilo se estableció a través del espectro bidimensional heteronuclear HMBC (espectro 11). En dicho espectro se obtuvo la correlación entre el carbono del carbonilo del laurilo (δ 173.0) y el hidrógeno dos de la glucosa, también entre la señal de carbonilo en δ 178.8 de un isobutirilo y el hidrógeno tres de la glucosa y entre la señal del carbonilo en δ 178.0 del segundo grupo isobutirilo y el hidrógeno tres de la fructosa (Figura 12).

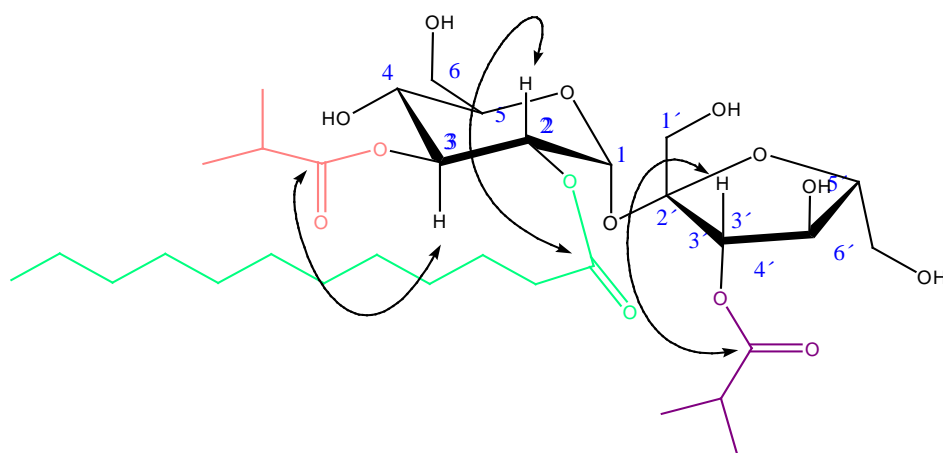
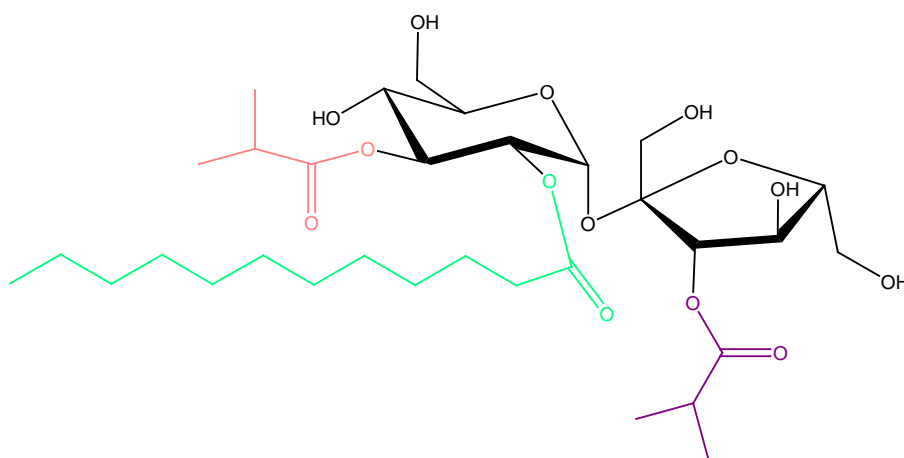


Figura 12. Principales correlaciones heteronucleares HMBC del compuesto **2**.

El espectro de RMN ^{13}C (espectro 9, tabla 6) corroboró la estructura propuesta para el compuesto **2** que corresponde a 3-O-isobutiril-2-O-lauril- α -D-glucopiranosido de 3'-O-isobutiril- β -D-fructofuranosilo.



Cabe mencionar que este compuesto fue aislado en nuestro laboratorio de *Physalis sordida*⁵⁴.



Tabla 5. Datos de RMN ^1H del compuesto **2**, CDCl_3 , 500 MHz (J en Hz)

H	glucopiranososa	fructofuranosa	H	laurilo	isobutirilo	isobutirilo
1	5.55 d (3,5)	3.57 m 3.50 m	2	2.28 dt (16,8) 2.23 dt (16,8)	2.56 hept (7)	2.74 hept (7)
2	4.86 dd (10,3,5)		3	1.55 quint a (7)	1.15 d (7)	1.28 d (7)
3	5.215 dd (10,9,5)	5.19 d (8)	4	1.25 s a	1.13 d (7)	1.25 d (7)
4	3.54 m	4.54 t (8)	5	1.25 s a		
5	4.05 dd a (8,6)	3.93 m	6- 11	1.25 s a		
6	3.97 m 3.75 m	3.96 m 3.75 m	12	0.88 t (7)		

La asignación de las señales se llevó a cabo con la ayuda de los espectros: HSQC y HMBC.



Tabla 6. Datos de RMN ^{13}C del compuesto **2**, CDCl_3 , 125 MHz.

C	glucopiranososa	fructofuranosa	C	laurilo	isobutirilo de Gluc.	isobutirilo de Fruc.
1	89.7 CH	64.2 CH_2	1	173.0 C	177.9 C	178.0 C
2	69.8 CH	103.9 C	2	33.9 CH_2	34.1 CH_2	33.9 CH
3	72.6 CH	79.0 CH	3	24.6 CH_2	18.8 CH_3	19. 2 CH_3
4	69.9 CH	71.2 CH	4	29.1 CH_2	19.0 CH_3	18.7 CH_3
5	73.9 CH	82.2 CH	5	29.2 CH_2		
6	62.2 CH_2	60.1 CH_2	6	29.3 CH_2		
			7	29.4 CH_2		
			8	29.4 CH_2		
			9	29.6 CH_2		
			10	31.9 CH_2		
			11	22.7 CH_2		
			12	14.1 CH_3		

La asignación de las señales se llevó a cabo con la ayuda de los espectros: HSQC y HMBC.



Por otra parte, del extracto de MeOH de los cálices de *Physalis solanaceus* se aisló un sólido amarillo que fue identificado como rutina⁵⁵ **(3)** de la siguiente manera:

➤ **Rutina (3)**

El espectro de RMN ¹H (espectro 12, tabla 7) presentó las señales del anillo B como un sistema ABX, así, H_{2'} se mostró como un doblete ancho en δ 7.66 (J=2 Hz), H_{5'} como un doblete ancho en δ 6.87 (J=8.5 Hz) y H_{6'} como un doble de doble ancho en δ 7.62 (J=8.5, 2 Hz). Respecto a las señales del anillo A éstas se observaron como un sistema AB en δ 6.21 y 6.40 con una constante de acoplamiento de 2 Hz, acorde con la relación meta entre H₆ y H₈.

La rutina está constituida por el flavonol quercetina y rutinósido unido al C₃. El rutinósido es un disacárido formado por una ramnopiranososa enlazada al carbono 6 de una glucopiranososa. El disacárido se une al flavonol a través del alcohol anomérico de la glucosa por lo que en el espectro de resonancia protónica del compuesto **3** dicho hidrógeno se observó como un doblete en δ 5.10 con J=7.5 Hz debido a su acoplamiento axial-axial con el hidrógeno 2'' de la β-glucopiranososa. Los hidrógenos de C_{6''} al que está unido la ramnosa, se observaron como un doblete ancho en δ 3.80 y como doble de doble en δ 3.51 (tabla 7).



En el caso de la α -L-ramnopiranososa, una de las señales que caracteriza a este carbohidrato se observó en δ 1.13 como doblete y correspondió a los hidrógenos del C₆^m. El hidrógeno anomérico H₁^m se observó como un doblete en δ 4.51 con una constante de acoplamiento de 2 Hz de acuerdo con su interacción ecuatorial-ecuatorial con H₂^m. Las señales de los hidrógenos restantes de la glucopiranososa y de la ramnopiranososa se observaron como señales no definidas entre δ 3.2 y 3.5. Una comparación de los datos de RMN ¹H (tabla 7) del compuesto **3** con los descritos en la literatura para rutina⁵⁵ así como la comparación directa con el espectro de RMN ¹H de una muestra auténtica, permitió establecer su identidad como rutina.

Además de lo anterior, se comparó el R_f del compuesto **3** con aquel de una muestra auténtica a través de una CCD de ambas sustancias. También los puntos de fusión fueron comparados lográndose así la corroboración de rutina como el flavonol presente en los cálices de *P. solanaceus*.

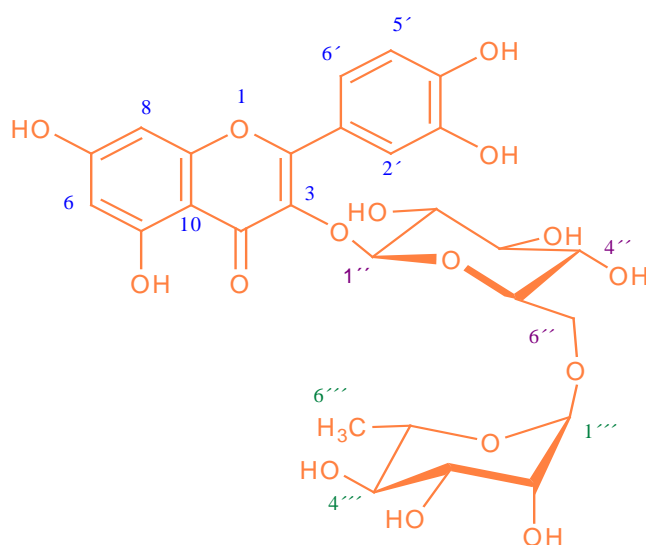


Figura 11. Rutina

Tabla 7. Datos de RMN ^1H del compuesto **3**, CD_3OD , 500 MHz (J en Hz).

H	Flavonol	H	Glucopiranososa	H	Ramnopiranososa
6	6.21 d (2)	1''	5.10 d (7.5)	1'''	4.51 d (2)
8	6.40 d (2)	2''	3.2-3.5 m	2'''	3.62 dd (3.3,2)
2'	7.66 d a (2)	3''	3.2-3.5 m	3'''	3.2-3.5 m
5'	6.87 d a (8.5)	4''	3.2-3.5 m	4'''	3.2-3.5 m
6'	7.62 dd a (8.5,2)	5''	3.2-3.5 m	5'''	3.2-3.5 m
		6''	3.8 d a (10) 3.51 dd (10,3.5)	6'''	1.13 d (6)



7. RESUMEN Y CONCLUSIÓN

Del extracto de AcOEt de los cálices de *Physalis solanaceus* se aislaron 2 triacilsacarosas.

- 3-O-Isovaleril-2-O-lauril- α -D-glucopiranosido de 3'-O-isobutiril- β -D-fructofuranosilo (**1**), antes obtenida del extracto hexánico de hojas y tallos de la misma especie, *P. solanaceus*.
- 3-O-Isobutiril-2-O-lauril- α -D-glucopiranosido de 3'-O-isobutiril- β -D-fructofuranosilo (**2**), aislada previamente de *Physalis sordida*.

Del extracto de MeOH de los cálices de *P. solanaceus* se aisló el glicósido de flavonol rutina (**3**).

El estudio químico descrito en la presente tesis contribuye al conocimiento, desde el punto de vista químico, del género *Physalis*.

En la hipótesis planteada se mencionó que los cálices de *Physalis solanaceus* deberían de contener esteroides, acilsacarosas y withaesteroides. Los resultados obtenidos en la presente tesis indican que los metabolitos de mayor abundancia en los cálices son acilsacarosas, lo que no descarta que esteroides y withaesteroides estén presentes en cantidades tan pequeñas y en mezclas complejas que su aislamiento no haya sido posible.



8. BIBLIOGRAFÍA

1. Valdez A. Herbolaria mexicana. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, segunda edición. México, D.F., **2002**, 107-109.
2. Everhart E., Haynes C., Jauron R. El Huerto Doméstico. **2003**. Guía de Horticultura de Iowa State University PM 1895(S) October.
3. Gu J.-Qiao, Li W., Kang Y.-H., Su B.-N., Fong H. H. S. Minor withanolides from *Physalis philadelphica*: structures, quinone reductase induction activities, and liquid chromatography (LC)-MS-MS Investigation as Artifacts. Chem. Pharm. Bull. **2003**, 51, 530-539.
4. Su B.-N., Misico R., Park E.J., Santarsiero B. D., Mesecar A. D., Fong H. H. S., Pezzuto J. M., Kinghorn A. D. Isolation and characterization of bioactive principles of the leaves and stems of *Physalis philadelphica*. Tetrahedron **2002**, 58, 3453-3466.
5. Pérez-Castorena A. L., Oropeza R. F., Vázquez A. R., Martínez M., Maldonado E. Labdanes and withanolides from *Physalis coztomatl*. J. Nat. Prod. **2006**, 69, 1029-1033.



6. Argueta V. A. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Tomo III. México. Instituto Nacional Indigenista, **1994**: 1350-1351.
7. Vargas P. O., Martínez D. M. y Dávila P. La Familia Solanaceae en Jalisco. El género *Physalis*. Colección flora de Jalisco, No. 16. Instituto de Botánica, Departamento de Botánica y Zoología. Universidad de Guadalajara, **2003**, 1-130.
8. Perez-Castorena A. L., García M., Martínez M., Maldonado E. Physalins from *Physalis solanaceus*. Biochem. Syst. Ecol. **2004**, 32, 1231-1234.
9. Aguilar C. A., Solapa M. S. La herbolaria mexicana en el tratamiento de la diabetes. Ciencia, julio-septiembre **2002**, 24-34.
10. Shingu K., Yahara S., Okabe H., Nohara T. Three new withanolides, physagulins E, F and G from *Physalis angulata* L. Chem. Pharm. Bull. **1992**, 40, 2448-2451.
11. Gupta M., Bagchi A., Sinha S. C., Sahai M., Ray A. B. Fruit constituents in *Physalis minima* var. *indica* and one-step conversion of physalin B to 6-epiphyssalin G acetate. J. Indian Chem. Soc. **1990**, 67, 597-599.
12. Kennelly E. J., Gerhäuser C., Song L. L., Graham J. G., Beecher C. W. W., Pezzuto J. M., Kinghorn A. D. Induction of quinone



-
- reductase by withanolides isolated from *Physalis philadelphica* (Tomatillos). J. Agric. Food Chem. **1997**, 45, 3771-3777.
13. Maldonado E., Torres F. R., Martínez M., Pérez-Castorena A. L. Sucrose esters from the fruits of *Physalis nicandroides* var. *attenuata*. J. Nat. Prod. **2006**, 69, 1511-1513.
 14. Dinan L. N., Sarker S. D, Šik V. 28-Hydroxywithanolide E from *Physalis peruviana*. Phytochemistry **1997**, 44, 509-512.
 15. Barrientos R. L. E. Tesis de Licenciatura. Estudio químico de cálices de *Physalis chenopodifolia*. **2007**. Instituto de Química. UNAM.
 16. D'Arcy, W. G. The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography. In Solanaceae III taxonomy, chemistry and evolution. **1991**, Royal Botanical Garden kew, 75-13.
 17. Aguilar A., Camacho R. J., Chino S., Jacques S., López M. E. Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Información etnobotánica. Redacta S.A. **1994**, 195, 196.
 18. Sahai M. Withaphysalin D, a new withaphysalin from *Physalis minima* Linn. var. *indica*. J. Nat. Prod. **1984**, 47, 527-529.
 19. Wu S.-J., Ng L.-T., Huang Y.-M., Lin D.-L., Wang S.-S., Huang S.-N., Lin C.-C. Antioxidant activities of *Physalis peruviana*. Biol. Pharm. Bull. **2005**, 28, 963-966.



-
20. Basey K., McGaw B. A., Woolley J. G. Phygrine, an alkaloid from *Physalis* species. *Phytochemistry* **1992**, 31, 4173-4176.
 21. Ovenden S. P. B., Yu J., Bernays J., Wan S. S., Christophidis L. J., Sberna G., Tait R. M., Wildman H. G., Lebellier D., Lowther J., Walsh N. G., Meurer-Grimes B. M. Physalosite A, an acylated sucrose ester from *Physalis viscosa*. *J. Nat. Prod.* **2005**, 68, 282-284.
 22. Sinha S. C., Ali A., Bagchi A., Sihai M., Ray A. B. Physalindicanols, New Biogenetic precursors of C₂₈-steroidal lactones from *Physalis minima* var. *indica*. *Planta Med.* **2003**, 53, 55-59.
 23. Elliger C. A., Eash J. A., Waiss J. A. C. Kaempferol and quercetin di- and triglycosides from *Physalis peruviana* leaves. *Biochem. Syst. Ecol.* **1992**, 20, 268.
 24. Ohya I., Sinozaki Y., Tobita T., Takahashi H., Matsuzaki T., Koiwai A. Sucrose esters from the surface lipids of *Nicotiana cavicola*. *Phytochemistry* **1994**, 37, 143-145.
 25. King R. R., Calhoun L. A., Singh R. P., Boucher A. Sucrose esters associated with glandular trichomes of wild *Lycopersicon* species. *Phytochemistry* **1990**, 29, 2115-2118.
 26. King R. R., Calhoun L. A., Singh R. P., Boucher A. Characterization of 2,3,4,3'-tetra-O-acylated sucrose esters



-
- associated with the glandular trichomes of *Lycopersicon typicum*. J. Agric. Food Chem. **1993**, 41, 469-473.
27. Matsuzaki T., Shinozaki Y., Suhara S., Ninomiya M., Shigematsu H., Koiwai A. Isolation of glycolipids from the surface lipids of *Nicotiana bigelovii* and their distribution in *Nicotiana* species. Agric. Biol. Chem. **1989**, 53, 3079-3082.
 28. Ohya I., Shinozaki Y., Tobita T., Takahashi H., Matzusaki T. Sucrose esters from the surface lipids of *Petunia hybrida*. Phytochemistry **1996**, 41, 787-789.
 29. Neal J. J., Tingey W. M., Steffens J. C. Sucrose esters of carboxylic acids in glandular trichomes of *Solanum berthaultii* deter settling and probing by green peach aphid. J. Chem. Ecol. **1990**, 16, 487-490.
 30. Matsuzaki T., Koseki K., Koiwai A. Germination and growth inhibition of surface lipids from *Nicotiana* species, and identification of the sucrose esters. Agric. Biol. Chem. **1998**, 52, 1889-1897.
 31. Bimal C., Guonong Z. Olestra: a solution to food fat? Food Rev. Intern. **2006**, 22, 245-258.
 32. Jandacek R., Kester J., Papa A., Wehmeier P. Olestra formulation and gastrointestinal tract. Lipids **1999**, 34, 771-783.



-
33. Rodríguez T., Otero M. Uso de un emulsificante a base de ésteres de sacarosa. Revista Tecnológica y de Higiene de Alimentos. Alimentaria. ISSN 0300-5755. **1997**, 81-82.
 34. Cerdeira M. A, Puppo M. C. A, Martini S. B. Herrera M. L. B. Efecto de los esteres de sacarosa en la cinética de cristalización y microestructura de mezclas grasas de bajo contenido de ácidos grasos trans formulados con aceite de girasol. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. **2003**. Universidad de Buenos Aires (UBA).
 35. Weyland M., Hasenhuettl G. L., Hartel R. W. Emulsifiers in confectionery. In Food emulsifiers and their applications, Eds.; Chapman & Hall: New York, **1997**; 235-254.
 36. Paris V., Fernandez G., Lara C., Garcia M. Surface treatments and coatings for cheese and seeds (sunflower and pumpkin) with palmitic, lauric and estearic fatty acid esters with sucrose. World intellectual property organization. WO 2007085668 20070802.
 37. Barrionuevo de Alvarez M. J., Alvarez R. M., Vilches de Farolfi H. Ensayo sobre aplicación de ésteres de sacarosa en ciruelas



-
- (*Prunus domestica*, L.). Braz. J. Food Technol. **2005**, 8, 291-298.
38. Bauchot A. D., John P., Soria Y., Recasens I. Sucrose ester-based coatings formulated with food-compatible antioxidant in the prevention of superficial scald in stored apples J. Am. Soc. Hort. Sc. **1995**, 120, 491-486.
39. Directiva 95/2/CE del Parlamento Europeo y del Consejo: "Aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes". Modificaciones: Directiva 98/72/CE y Directiva 2001/5/CE.
40. Chortyk O., Pomonis G., Johnson A. Synthesis and characterization of insecticidal sucrose esters. J. Agric. Food. Chem. **1996**, 44, 1551-1557.
41. Buta J. G., Lusby W. R., Neal J. W., Waters R. M., Pittarelli J. W. Sucrose esters from *Nicotiana gossei* active against the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. Phytochemistry **1993**, 32, 859-864.
42. Grotewold E. The science of flavonoids. The Ohio State University, Columbus, Ohio, U.S.A. Springer. **2006**,1-4.
43. Tránsito López L. Ma. Fitoterapia. Flavonoides. Ambito farmacéutico. Farmacéutica OFFARM **2002**, VOL 21, NÚM 4.



-
44. Vijayakumar S., Presannakumar G., Vijayalakshmi N. R. Antioxidant activity of banana flavonoids. *Fitoterapia* **2008**, 79, 279-282.
 45. Miyazawa M., Hisama M. Antimutagenic activity of flavonoids from *Chrysanthemum morifolium*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2003**, 67, 2091-2099.
 46. Ghayur M. N., Khan H., Gilani A. H. Antispasmodic. bronchodilator and vasodilator activities of (+)-catechin, a naturally occurring flavonoid. *Arch. Pharm. Res.* **2007**, 30, 970-975.
 47. Kim H. K., Namgoong S. Y., Kim H. P. Antiinflammatory activity of flavonoids: mouse ear edema inhibition. *Arch. Pharm. Res.* **1993**, 16, 18-24.
 48. Tadić V. M., Dobrić S., Marković G. M., Đorđević S. M., Arsić I. A., Menković N. R., Stević T. Anti-inflammatory, gastoprotective, free-radical-scavenging, and antimicrobial activities of hawthorn berries ethanol extract. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 7700-7709.
 49. Fotie J. The antiprotozoan potential of flavonoids. *Pharm. Rev.* **2008**, 2, 6-19.
 50. Mousson P., Falcimaigne A., Ghoul N., Danoux S., Pauly G. Esters of flavonoid with w-substituted C6-C22 fatty acids.

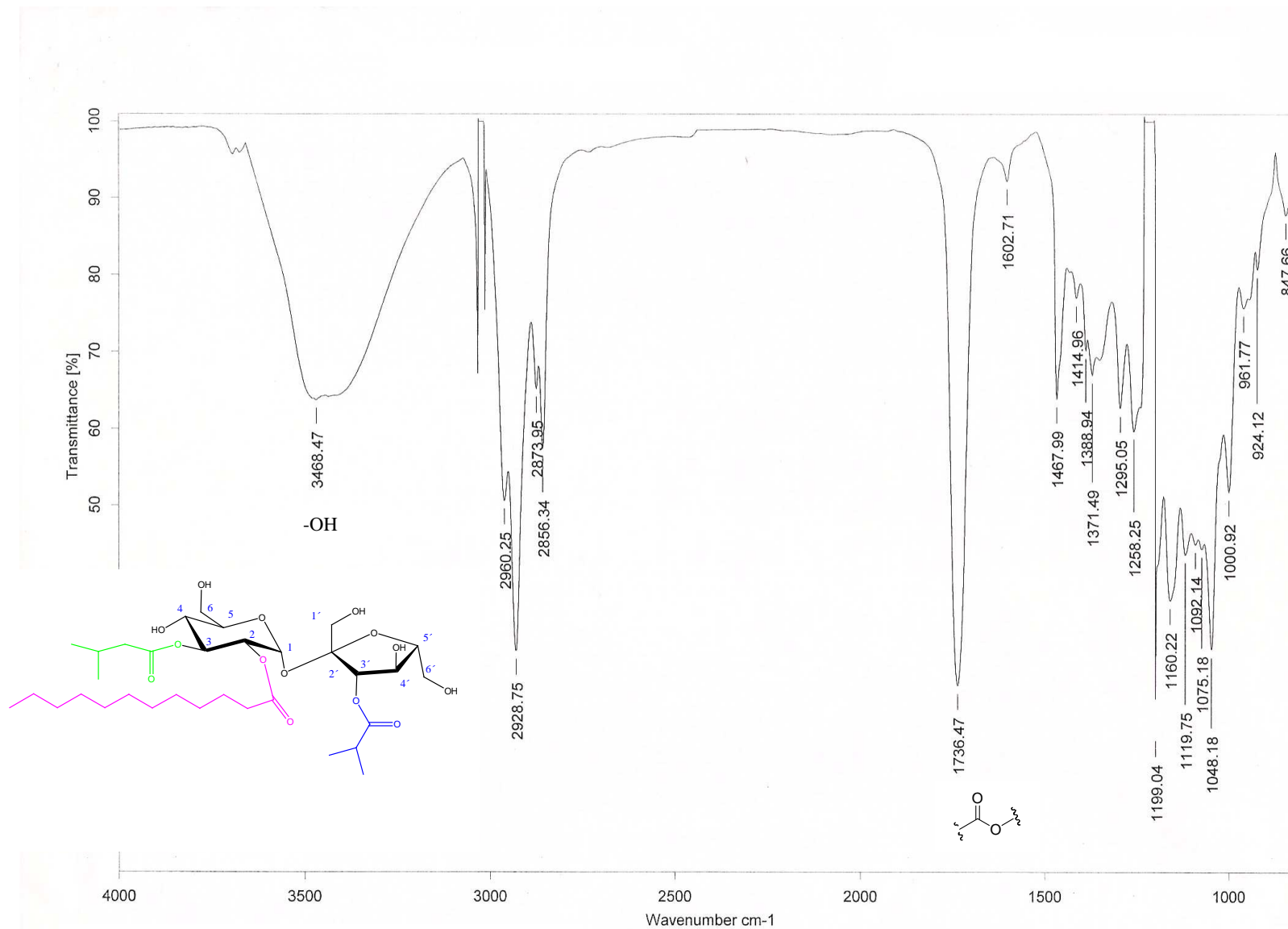


Patent application publication. United States. August 9, **2007**.
Pub. No.: US2007/0184098 A1.

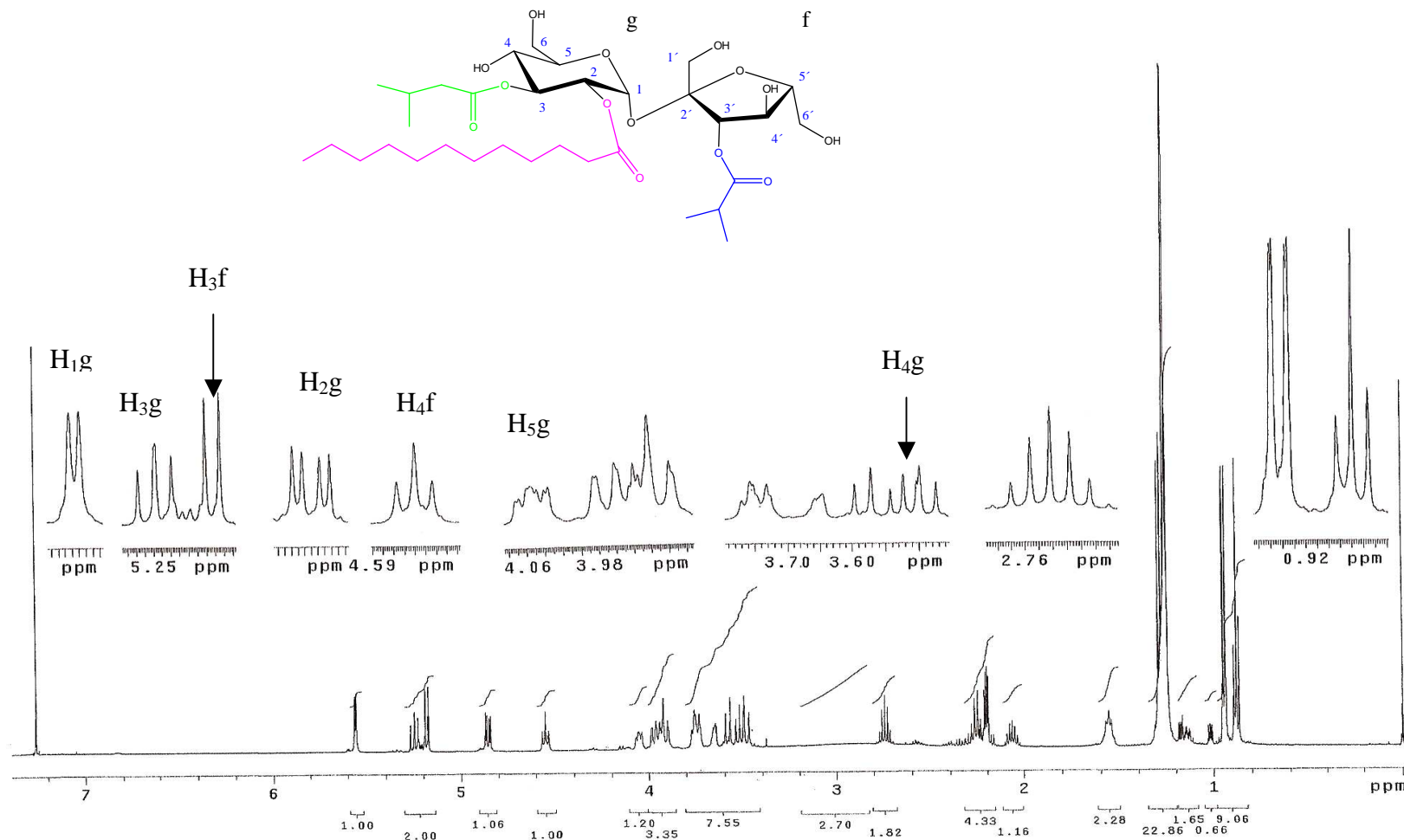
51. Luna S. M. Tesis de Licenciatura. Caracterización de los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hexánico de tallos y hojas de *Physalis solanaceus*. **2006**. Instituto de Química. UNAM.
52. Hervé du Penhoat C., Imberty A., Roques N., Michon V., Mentech J., Descotes G., Pérez S. Conformational behavior of sucrose and its deoxy analogue in water as determined by NMR and molecular modeling. J. Am. Chem. Soc. **1991**, 113, 3720-3727.
53. The Sadtler Standar Spectra. Sadtler Standar Carbon-13 NMR Spectra. USA. Sadtler Research Laboratories, Inc., 1976: Vol 2, 262 C.
54. Pérez-Castorena A. L. Comunicación personal.
55. Han J.-T., Bang M.-H., Chun O.-K., Kim D.-O., Lee C.-Y., Baek N.-I. Flavonol glycosides from the aerial parts of *Aceriphyllum rossii* and their antioxidant activities. Arch. Pharm. Res. **2004**, 27, 390-395.



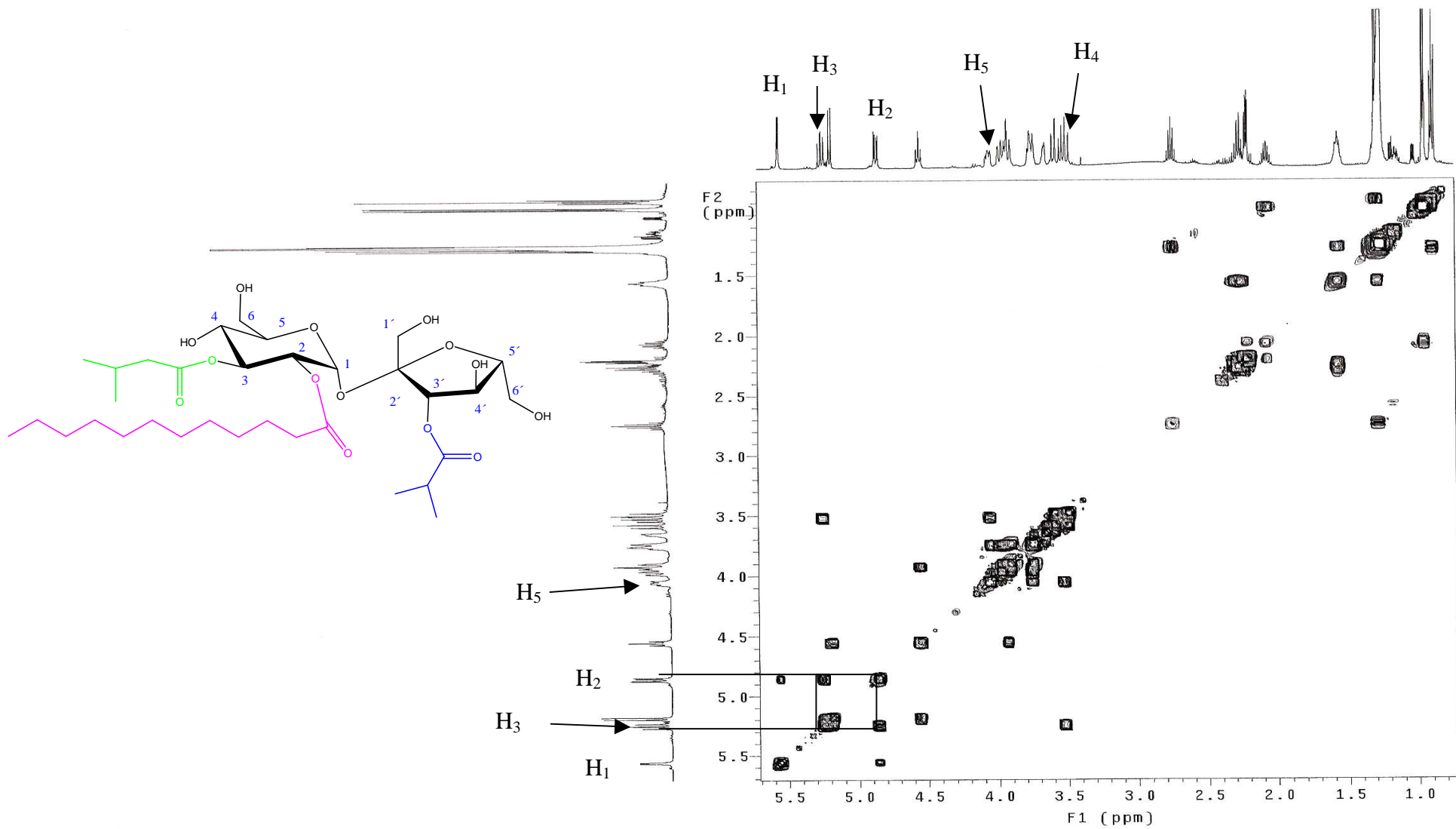
9. ESPECTROS



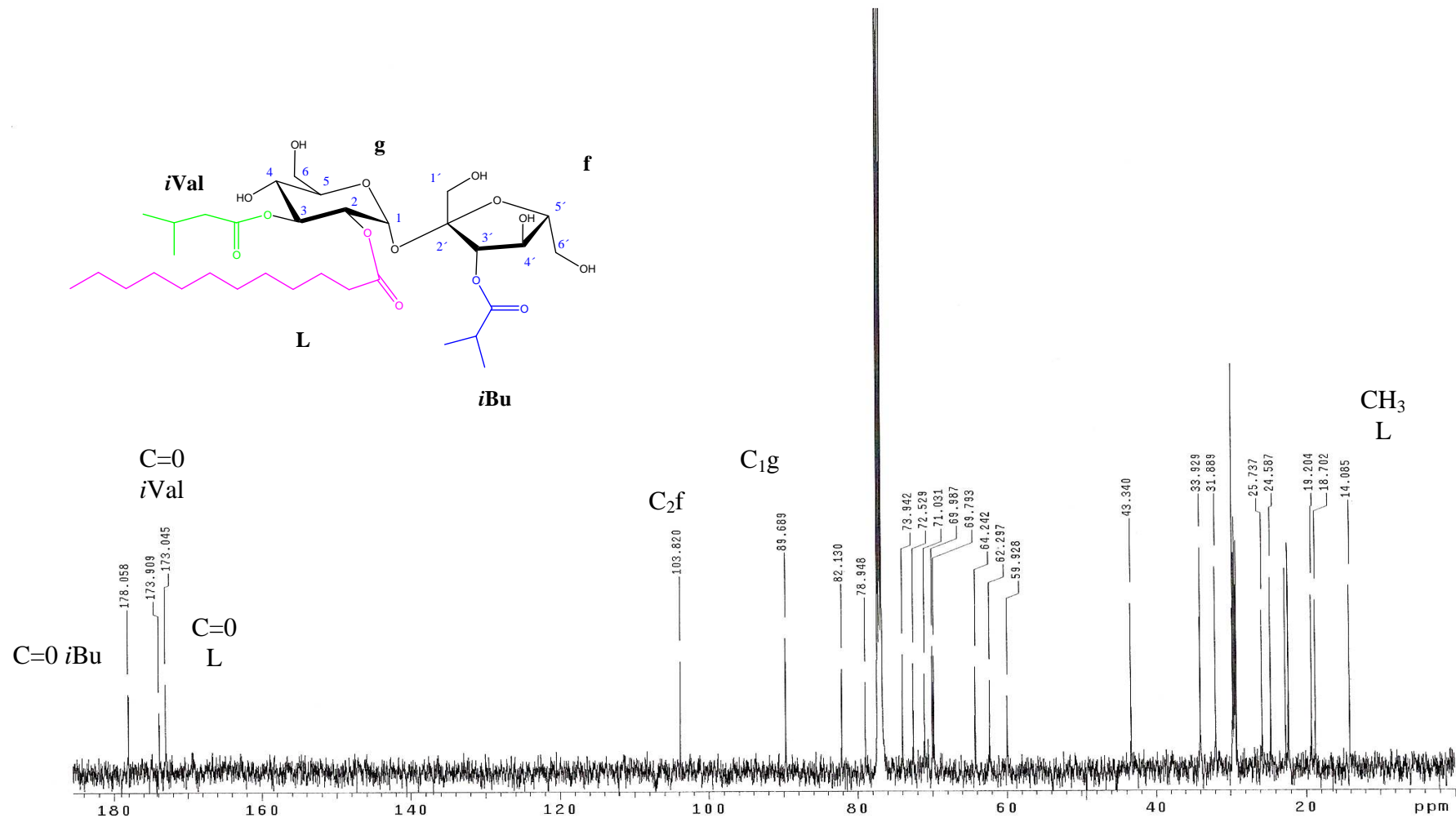
Espectro 1. IR del compuesto **1**, CDCl₃



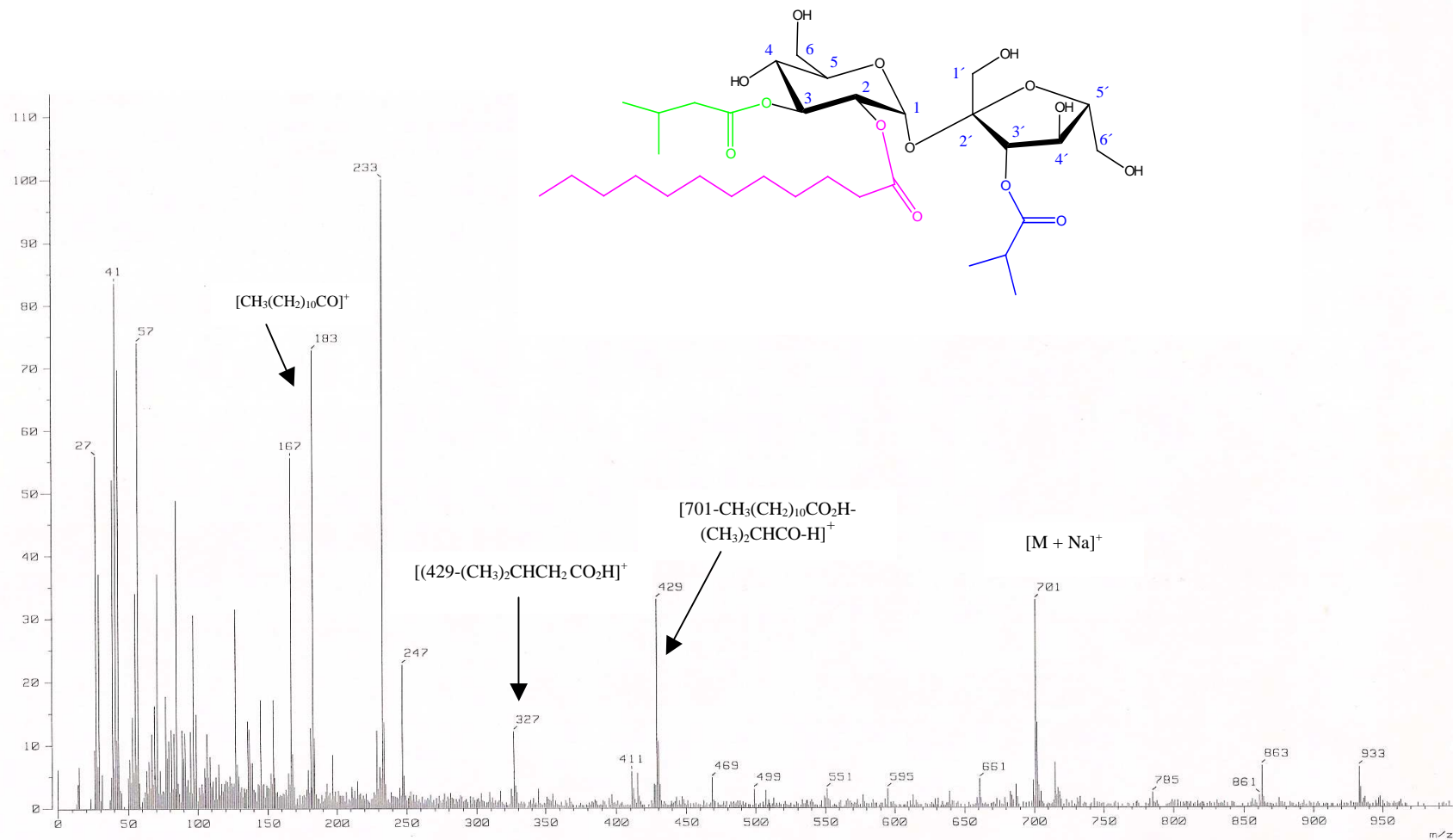
Espectro 2. RMN ¹H del compuesto **1**, CDCl₃



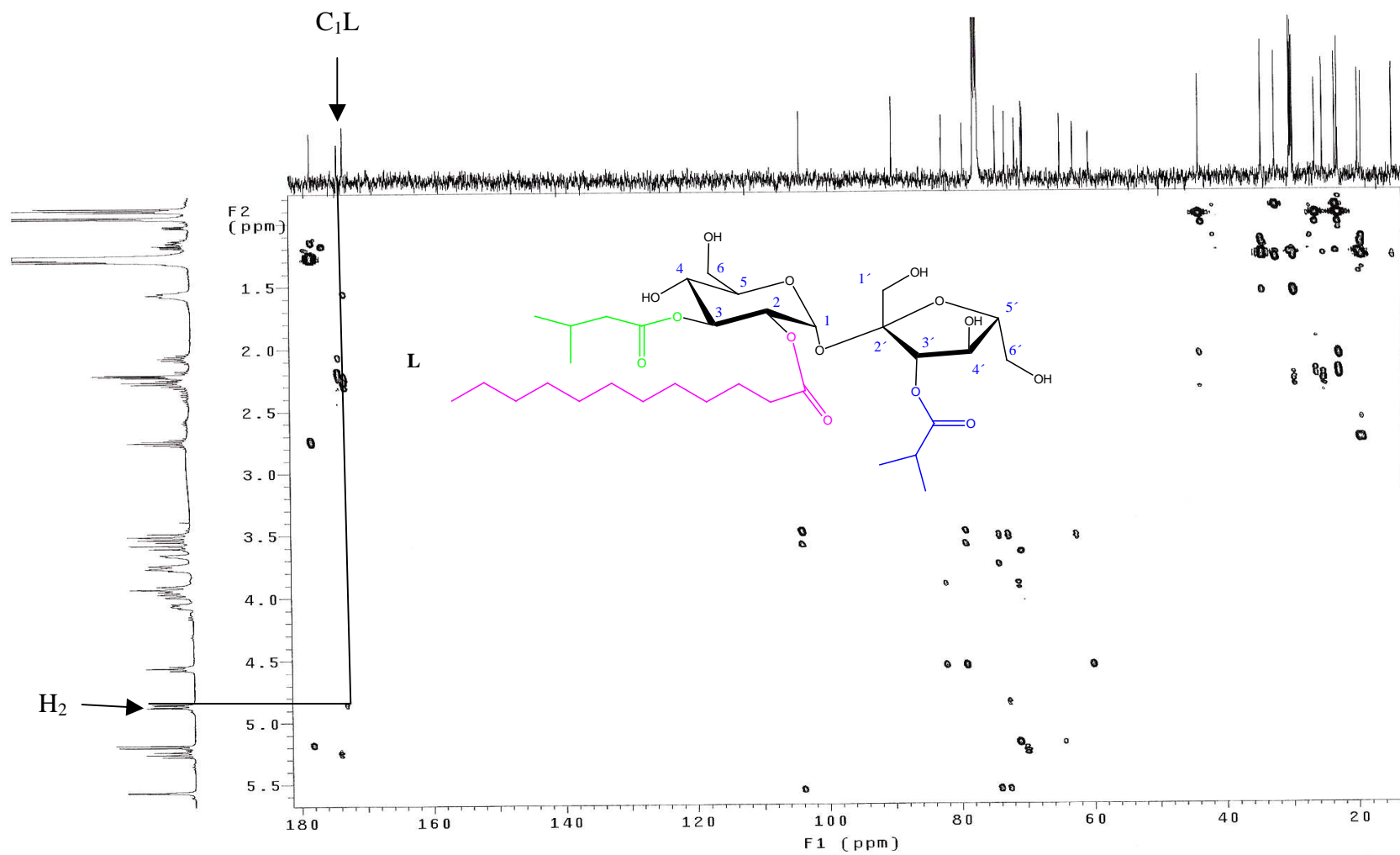
Espectro 3. ^1H - ^1H COSY del compuesto **1**, CDCl_3



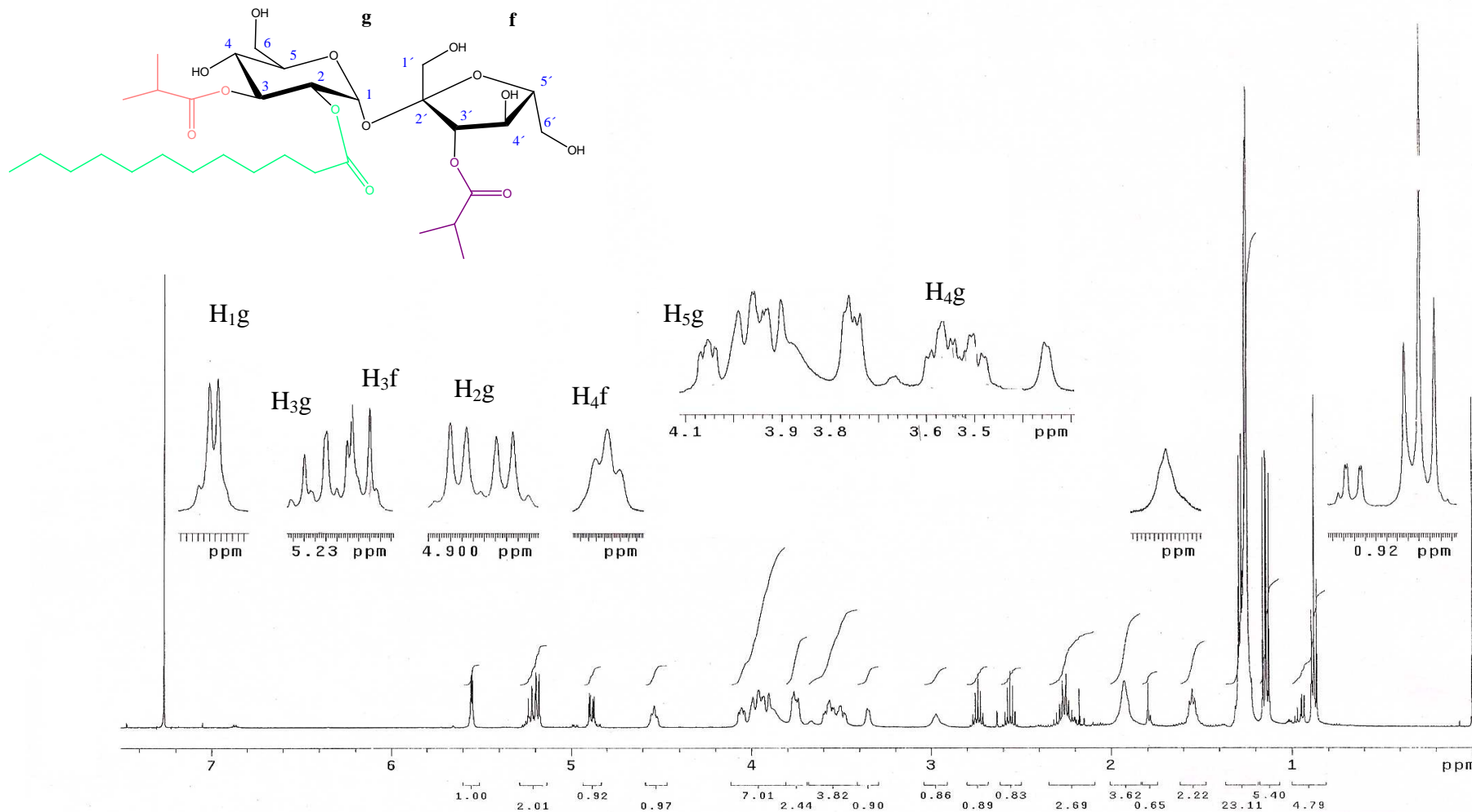
Espectro 4. RMN ^{13}C del compuesto **1**, CDCl₃



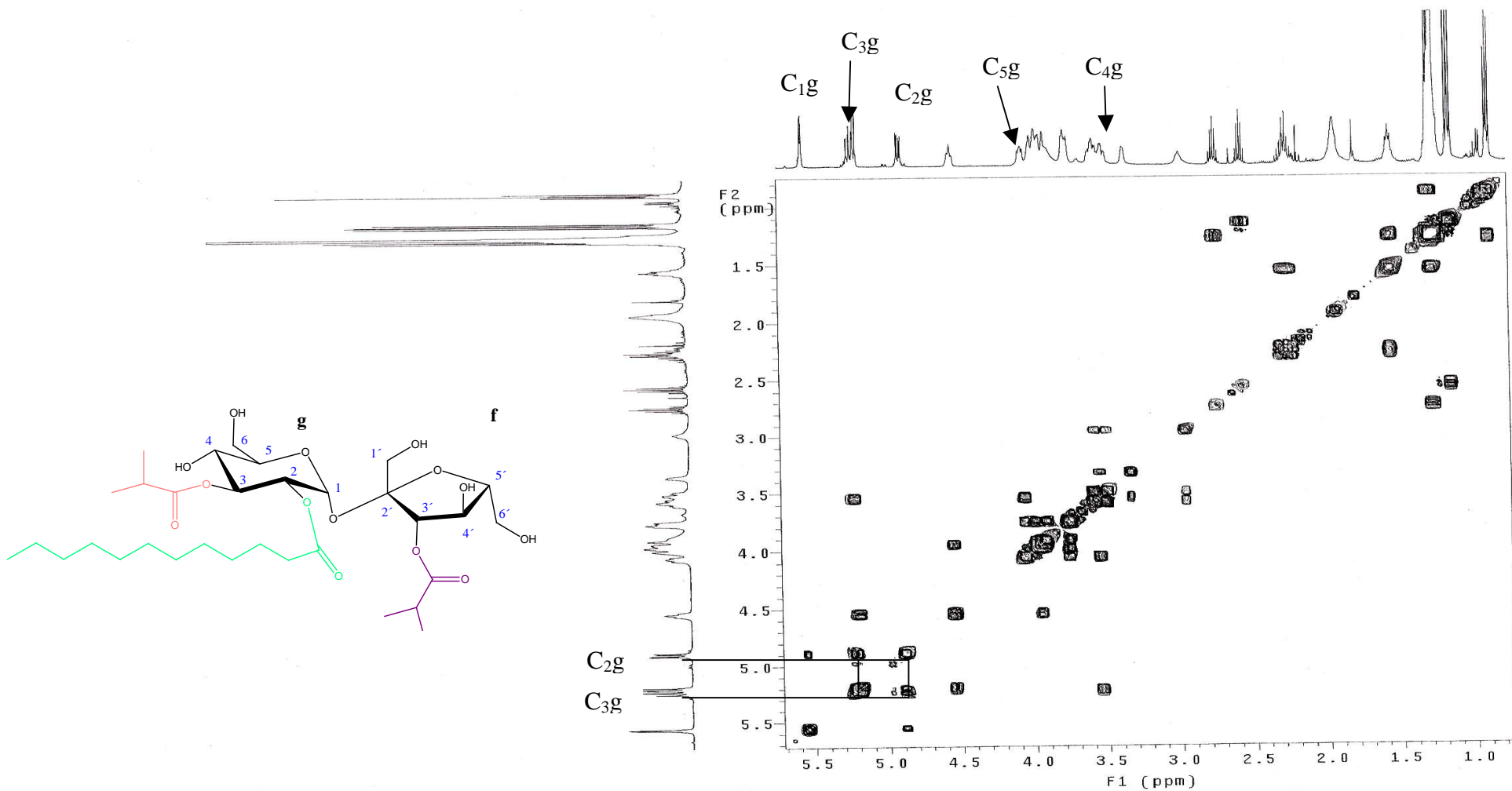
Espectro 5. EM-FAB⁺ del compuesto **1**.



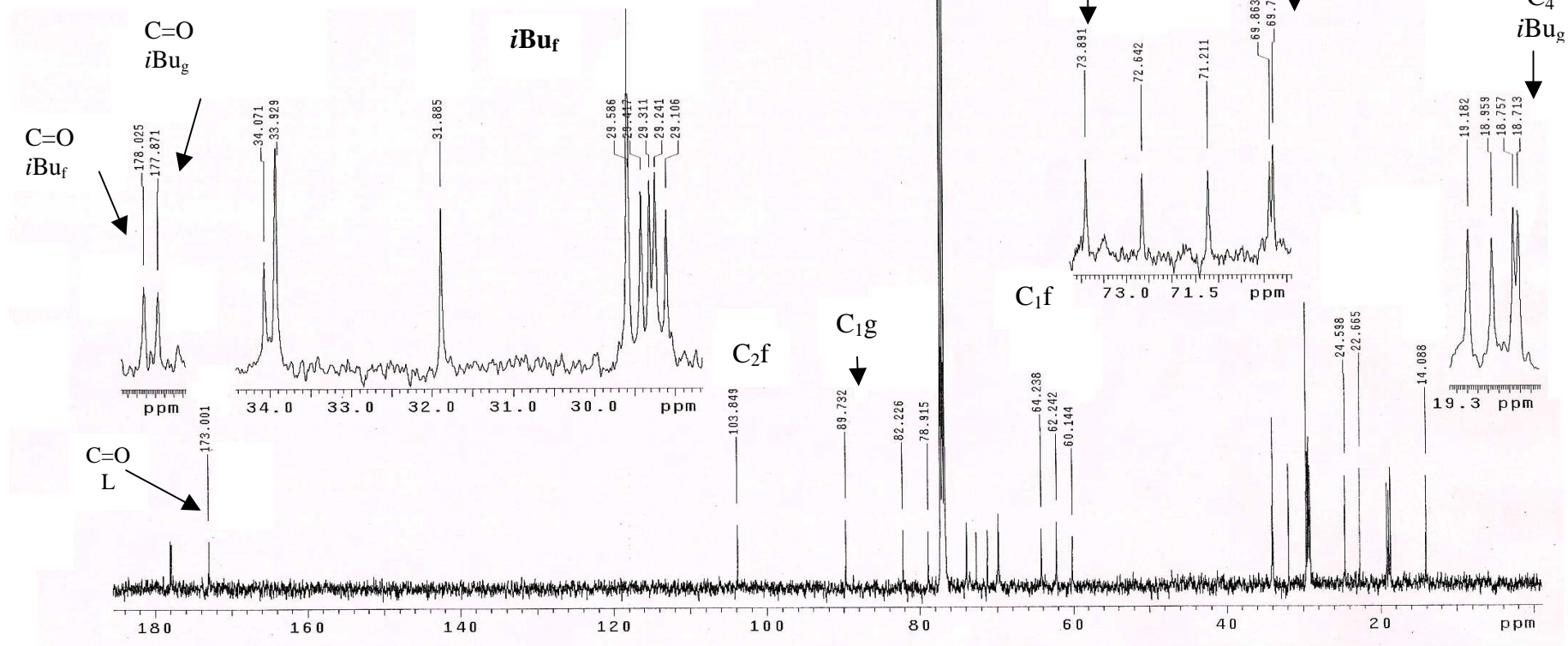
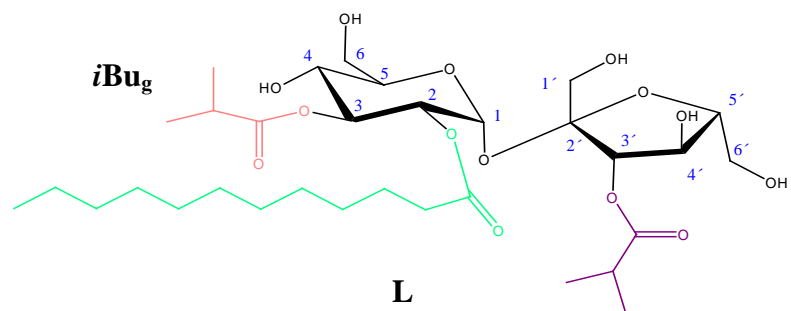
Espectro 6. HMBC del compuesto **1**, CDCl_3



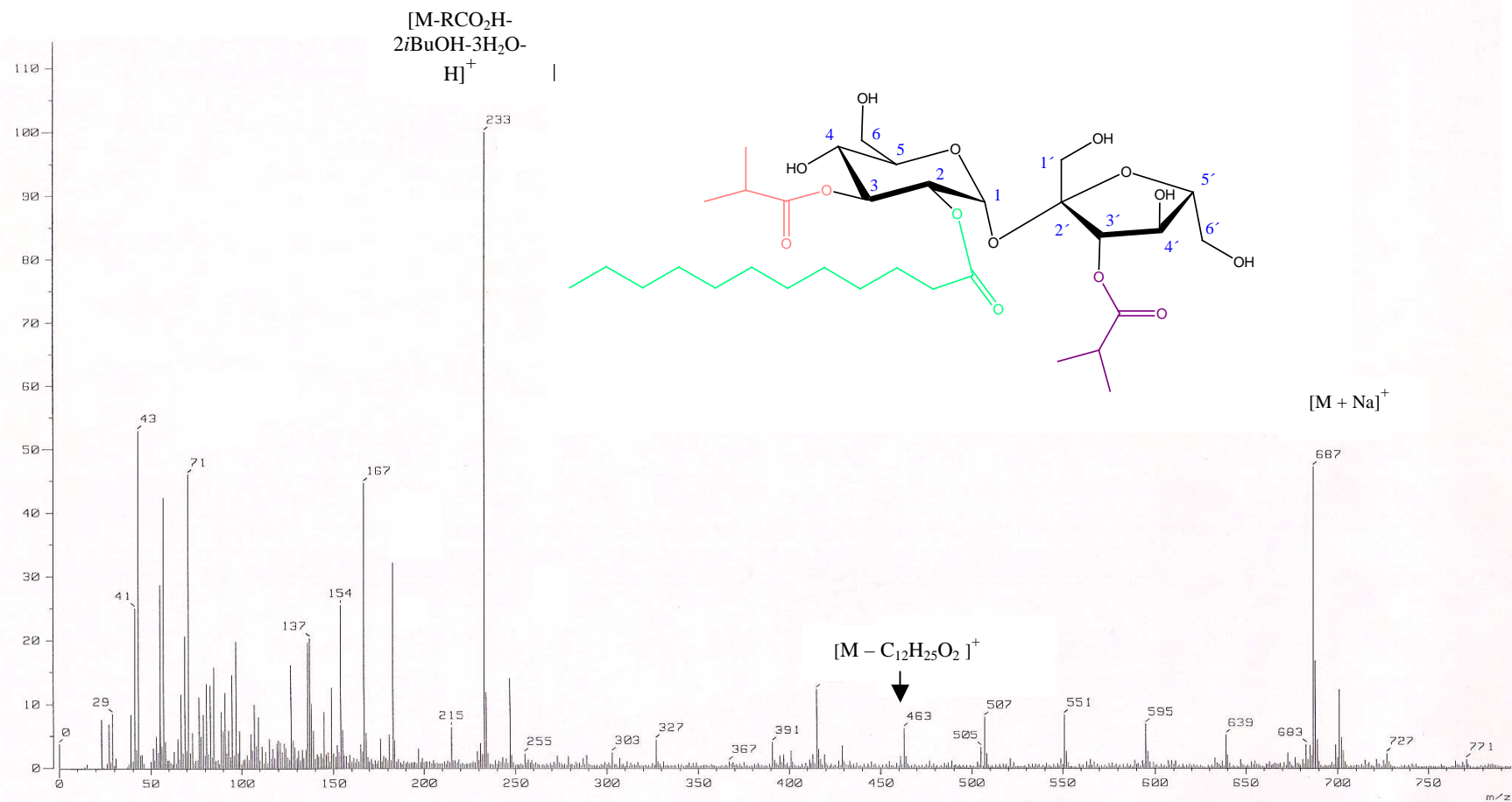
Espectro 7. RMN ^1H del compuesto **2**, CDCl_3



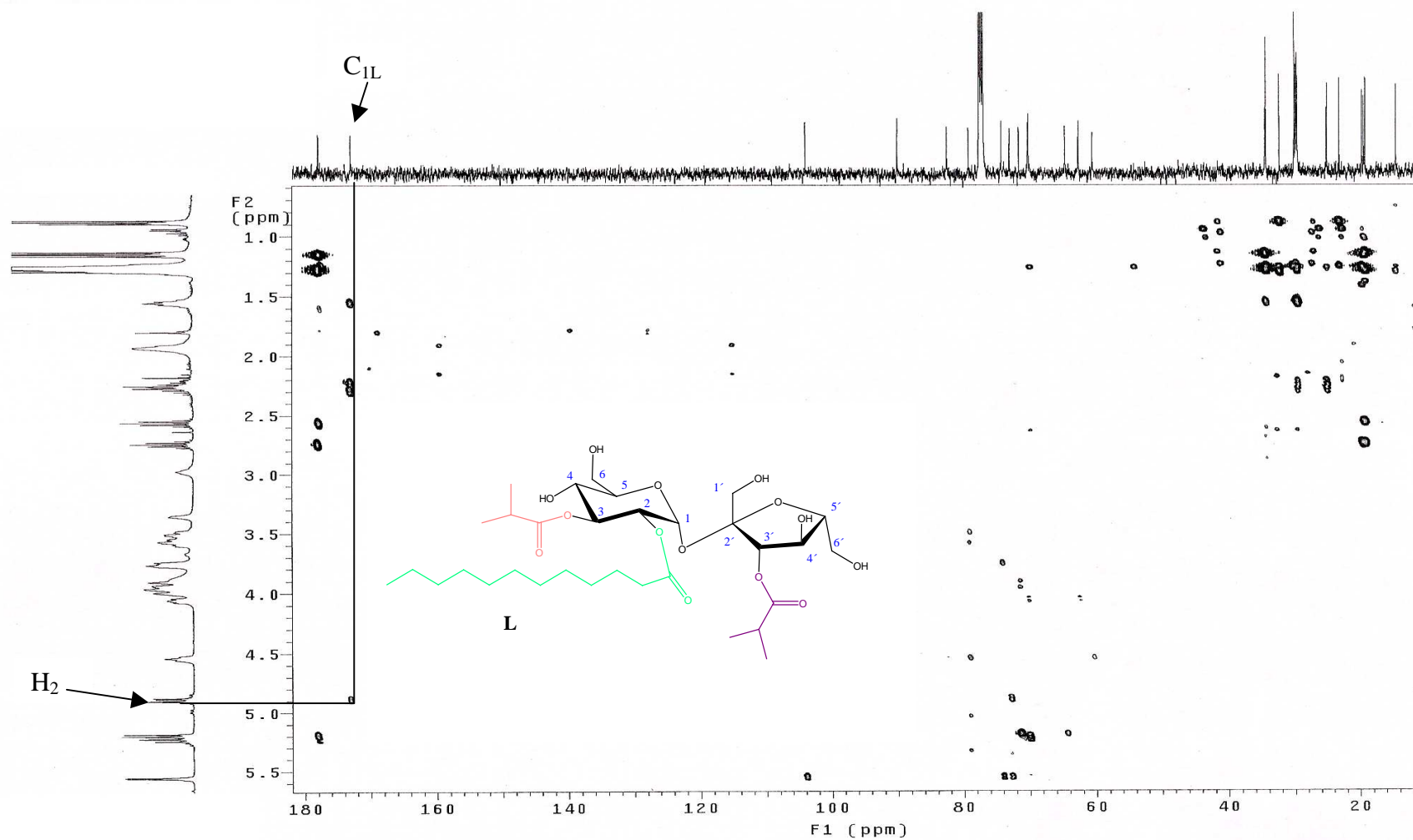
Espectro 8. ^1H - ^1H COSY del compuesto **2**, CDCl_3



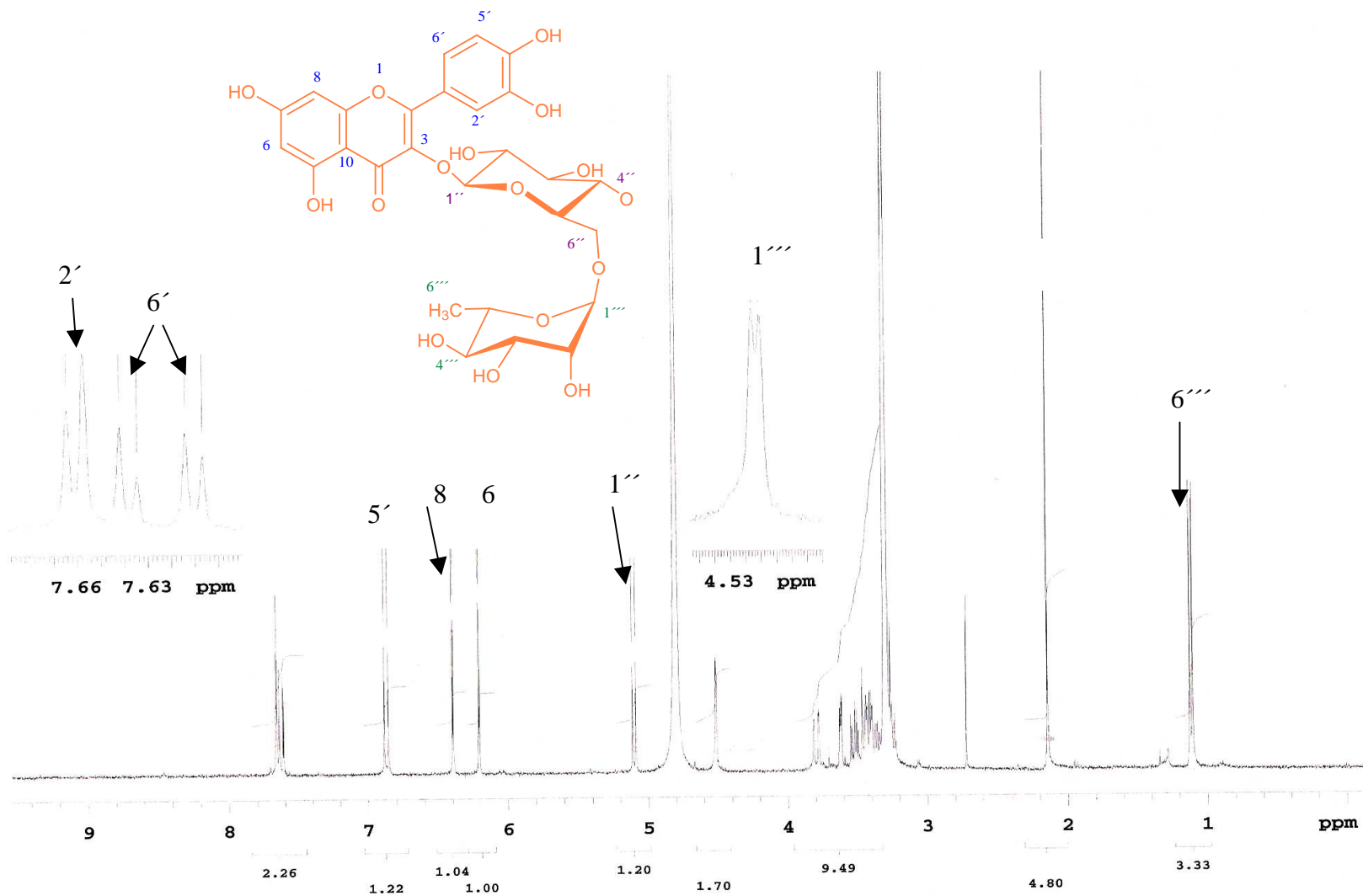
Espectro 9. RMN ¹³C del compuesto **2**, CDCl₃



Espectro 10. EM-FAB⁺ del compuesto **2**.



Espectro 11. HMBC del compuesto **2**, CDCl_3



Espectro 12. RMN ¹H del compuesto **3**, CD₃OD.