

25
2-j.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

ENEP " ZARAGOZA "

" ESTUDIO QUIMICO DE PLANTAS MEDICINALES MEXICANAS "

Constituyentes de Cecropia obtusifolia

(Guarumbo) y Zanthoxylum liebmaniarum. (Colopahtle)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

P R E S E N T A

JIMENEZ HERNANDEZ SABINO

ASESORES : ANDRES NAVARRETE CASTRO

BENITO REYES TREJO

MEXICO, 1989.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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 está 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.

I N D I C E

	Páginas
LISTA DE TABLAS.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE ESPECTROS.....	vii
LISTA DE ESQUEMAS.....	viii
LISTA DE ABREVIACIONES.....	ix
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
OBJETIVOS.....	7
HIPOTESIS.....	8
CAPITULO I	
CONSTITUYENTES QUIMICOS DE <u>CECROPIA OBTUSIFOLIA</u> (GUARUMBO)	9
1. GENERALIDADES DEL GENERO <u>CECROPIA</u>	9
1.1 Distribución.....	9
1.2 Taxonomía.....	9
1.3 Nombres comunes.....	9
1.4 Fitoquímica.....	10
1.4.1 Metabolitos secundarios del género <u>cecropia</u> que no se conocen sus estructuras químicas y solo - se mencionan.....	10
1.5 Importancia Biológica (usos terapéuticos).....	10
2. MATERIALES Y METODOS.....	15
2.1 Materiales.....	15
2.1.1 Equipo.....	15
2.1.2 Reactivos.....	15
2.1.3 Material de vidrio.....	16
2.2 Material Vegetal.....	17
2.3 Método de extracción y fraccionamiento preliminar..	17

	Páginas
2.3.1 Extracción.....	17
2.3.2 Fraccionamiento preliminar del extracto hexánico.....	17
2.3.3 Fraccionamiento del extracto metanólico.....	21
2.4 Aislamiento y purificación de los compuestos.....	23
3. RESULTADOS Y DISCUSION.....	24
3.1 Identificación del β -sitosterol.....	24
4. CONCLUSIONES.....	26

CAPITULO II

CONSTITUYENTES QUIMICOS DE <u>ZANTHOXYLUM LIEBMANNIANUM</u> (Engl.) P. Wilson (colopahtle).....	27
1. GENERALIDADES DEL GENERO <u>ZANTHOXYLUM</u>	27
1.1 Taxonomía.....	27
1.2 Distribución.....	28
1.3 Fitoquímica.....	28
1.4 Actividad Biológica que presenta el género <u>Zantoxyl- lum</u>	28
2. MATERIALES Y METODOS.....	48
2.1 Material vegetal.....	48
2.2 Método de extracción, fraccionamiento preliminar .. del extracto hexánico.....	48
2.2.1 Método de extracción.....	48
2.2.2 Fraccionamiento preliminar.....	50
2.3. Aislamiento y purificación de los compuestos del ex- tracto hexánico.....	50
2.4 Caracterización de los compuestos aislados.....	52
2.4.1 Determinación de las constantes físicas y espec- troscópicas.....	52
2.4.2 Preparación de derivados y reacciones químicas.....	52

	Páginas
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	54
3.1 Resultados.....	54
3.2 Discusión de resultados.....	55
3.2.1 Identificación de d-(+)-asarina <u>5</u>	55
3.2.2 Identificación de d-(+)-sesamina <u>4</u>	71
3.2.3 Identificación de lupenona <u>94</u>	80
4. CONCLUSIONES.....	97

LISTA DE TABLAS

Páginas

TABLA 1.	Nombres comunes para <u>C. obtusifolia</u> en los diferentes estados de la República Mexicana...	11
TABLA 2.	Metabolitos aislados del género <u>Cecropia</u>	12
TABLA 3.	Usos terapéuticos de la especie de <u>Cecropia</u> ...	13
TABLA 4.	Resumen del fraccionamiento por columna cromatográfica del extracto hexánico de <u>Cecropia Obtusifolia</u>	20
TABLA 5.	Resumen del fraccionamiento por columna cromatográfica del extracto metanólico de <u>Cecropia obtusifolia</u> (guarumbo).....	22
TABLA 6.	Metabolitos secundarios aislados del género -- <u>Zanthoxylum</u>	30-34
TABLA 7.	Actividad Biológica que presenta el género <u>Zanthoxylum</u>	
TABLA 8.	Eluyentes empleados en la separación del extracto hexánico de <u>Z. liebmannianum</u>	51
TABLA 9.	Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto <u>5</u> (asarinina).....	56
TABLA 10.	Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto <u>4</u> (sesamina).....	72
TABLA 11.	Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto <u>98</u> (Lupenona).....	81

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
FIGURA 1. Fórmula parcial del compuesto <u>5</u>	55
FIGURA 2. Estructura del Piperonal en el que el grupo digimetíleno es semejante en su desplazamiento químico con el compuesto <u>5</u>	59
FIGURA 3. Fórmula parcial propuesta para el sistema aromático sustituido.....	59
FIGURA 4. Representación del fragmento pico base m/z 149 que apoya a la fórmula parcial <u>5</u>	61
FIGURA 5. Fórmulas parciales que podrían generar al pico base $C_8H_5O_3^+$	61
FIGURA 6. Fórmula parcial que muestra multiplicidad del protón base de oxígeno y de anillo aromático -- con un protón vecino.....	62
FIGURA 7. Fórmulas parciales ($C_7H_7O_3$) y proyecciones de Newman que muestran la disposición de los hidrógenos situados a 4.75 p.p.m. de su espectro de H^1 rmn.....	63
FIGURA 8. Fragmentos que componen la estructura del compuesto <u>5</u>	64
FIGURA 9. Representación de los fragmentos que podrían explicar la estructura dimérica simétrica del compuesto <u>5</u>	65
FIGURA 10. Forma propuesta en la cual se podría conectar los fragmentos $C_9H_7O_3$	65
FIGURA 11. Fórmulas propuestas del producto natural en discusión.....	66
FIGURA 12. Sistema dioxabicyclo [3,3,0] octano donde se muestran los hidrógenos en la fusión de los anillos.....	66
FIGURA 13. Posibilidades estructurales del compuesto en discusión representando su estereoquímica.....	67
FIGURA 14. Fragmentos característicos del producto natural asarinina <u>5</u>	68
FIGURA 15. Estereoisómeros antípodos de la asarinina <u>5</u> ...	69
FIGURA 16. Estructura de metilendioxfenilo.....	71

FIGURA 17.	Compuestos que como la <u>sesamina 4</u> tienen un núcleo central en su molécula, dos anillos de tetrahidrofurano fusionados.....	76
FIGURA 18.	Fórmula XIV; di-Y - Tactona- de la reacción -- con ácido nítrico (1), y (2) representación del tetrahidrofurano fusionado.....	77
FIGURA 19.	Fórmula parcial XV que representa la unión de - los fragmentos de la fórmula XIV (2) y XIII.....	79
FIGURA 20.	Representación de la d-(+)-sesamina como finalmente se ha establecido.....	79
FIGURA 21.	Possibilidades estructurales que dan pico base - M ⁺ 424,.....	86
FIGURA 22.	Muestra el esqueleto de un triterpeno pentacíclico Lupano y hopano.....	87
FIGURA 23.	Muestra moléculas con esqueleto de lupano <u>108</u> - cuyo pico base es m/z 203.....	87
FIGURA 24.	Fórmula XVI, representación del ion molecular - m/z 203.....	88
FIGURA 25.	Fragmentación del esqueleto de lupano <u>108</u> y hopano <u>109</u>	88
FIGURA 26.	Fragmentos de la estructura del triterpeno, que completa al pico en m/z 203.....	89
FIGURA 27.	Patrón de fragmentación de la ciclohexanona....	90
FIGURA 28.	Fragmentación propuesta para lupenona <u>94</u> que explica el pico base m/z 55.....	91
FIGURA 29.	Muestra la fragmentación de la molécula para -- dar un m/z 381.....	92
FIGURA 30.	Que muestra la fragmentación que explican m/z - 409 y 381 de lupenona <u>94</u>	92
FIGURA 31.	Ensayo con reactivo de Baeyer(KMnO ₄) para detectar insaturación.....	93
FIGURA 32.	Reacción de Lupenona con 2,4- Dinitrofenilhidrazina.....	94
FIGURA 33.	Preparación de la oxima de lupenona.....	95

LISTA DE ESPECTROS

	Páginas
ESPECTRO 1. Espectro de masas de asarinina <u>5</u> por impacto electrónico.....	57
ESPECTRO 2. Espectro de infrarojo de d-(+)-asarinina <u>5</u> - en cloroformo	58
ESPECTRO 3. Espectro de H^{13} de d-(+)-asarinina <u>5</u> en $CDCl_3$	60
ESPECTRO 4. Espectro de masas de d-(+)-sesamina <u>4</u> por impacto electrónico.....	73
ESPECTRO 5. Espectro de infrarojo de d-(+)-sesamina <u>4</u> en cloroformo.....	74
ESPECTRO 6. Espectro de resonancia magnética nuclear de d-(+)-sesamina <u>4</u> en $CDCl_3$	75
ESPECTRO 7. Espectro de masas de Lupenona <u>94</u> por impacto electrónico.....	82
ESPECTRO 8. Espectro de infrarojo de lupenona <u>94</u> en cloroformo	83
ESPECTRO 9. Espectro de resonancia magnética nuclear de lupenona <u>94</u> en $CDCl_3$	84
ESPECTRO 10. Espectro de resonancia magnética nuclear de β -sitosterol en $CDCl_3$	25

LISTA DE ESQUEMAS

	Páginas
ESQUEMA 1. Indica las estructuras químicas de la tabla N ^o . 2.....	14
ESQUEMA 2. Indica el proceso de separación de los extrac- tos de la planta.....	18
ESQUEMA 3. Estructura de los metabolitos secundarios ais- lados del género <i>Zanthoxylum</i>	36-47
ESQUEMA 4. Extracción de hojas de <i>Zanthoxylum liebmannie-</i> <i>num</i>	49
ESQUEMA 5. Esquema de Biogénesis.....	70

LISTA DE ABREVIACIONES

Páginas

CDCl_3	: cloroformo deuterado
d	: doblete
dd	: doblete de doblete
D_2O	: agua deuterada
DMSO	: Dimetilsulfóxido
emie	: Espectro de masas obtenido por impacto electrónico
i.r.	: Infrarojo
$^1\text{H-NMR}$: resonancia magnética nuclear protónica
Fig.	: Figura
Hz	: Hertz
MHz	: Mega Hertz
J	: constante de acoplamiento
pf	: Punto de fusión
ppm	: Partes por millón
TMS	: Tetrametilsilano
cm^{-1}	: centímetro a la -1
Me	: Metilo
AcOEt	: Acetato de etilo
s	: Singulete
m	: multiplete
m/z	: relación masa carga
M^+	: ión molecular
μ	: Micras
$[\alpha]_D^{20}$: rotación óptica en la línea D de sodio a 20°C
τ	: Desplazamiento químico
e	: ecuatorial
a	: axial
V	: mayor que

- v : absorción en infrarojo
-  : movimiento de un par de electrones
-  : movimiento de un electrón
-  : estereoquímica no definida
-  : Representación de un fragmento de masas radical, positivo
- ccf : cromatografía en capa fina
- cf : cloroformo
- Ac : Acetato

RESUMEN

Como parte del programa de plantas medicinales de la Universidad Autónoma Chapingo, se realizó el estudio fitoquímico de hojas de Cecropia obtusifolia y Zanthoxylum liebmannianum.

Las hojas de C. obtusifolia se recolectaron en la Huasteca Hidalguense. Se prepararon y separaron los extractos - hexánico y metanólico. Solo fue posible aislar y caracterizar β -sitosterol del extracto hexánico.

Del extracto hexánico de las hojas de colopahtle (Zanthoxylum liebmannianum) se aislaron dos lignanos diastereoisómeros: d - (+) - sesamina y d - (+) - asarinina; y un triterpene pentacíclico: lupenona, los cuales fueron caracterizados por métodos espectroscópicos y químicos.

El presente trabajo representan una contribución al conocimiento de la constitución química de la flora medicinal mexicana.

INTRODUCCION

Los problemas de Salud en México son los propios de los -- países en desarrollo, generados principalmente por enfermedades infecciosas y/o parasitarias, la desnutrición, la deficiencia de higiene y la limitación de los servicios de salud a un porcentaje mínimo de la población (Lamy y Zolla, 1978)-- Si sumamos a esto el elevado costo de los medicamentos, entre otras causas, por la falta de una industria farmacéutica propia y el uso inadecuado de los recursos existentes, en conjunto se forma un panorama crítico de la Salud en México (Lamy y Zolla, 1978 ; Estrada, 1985; Burbage y Wells, 1983).

Tomando en cuenta lo anterior, se hace evidente la necesidad de encontrar alternativas, en varias direcciones, para mejorar los problemas de Salud en México. En este sentido La Organización Mundial de la Salud (OMS) en su tratado de Alma Ata 1978 (OMS, 1978) propone:

1). Que los países en desarrollo como el nuestro, hagan -- uso de los recursos naturales, y de su medicina tradicional, para resolver algunos problemas de salud.

2). Impulsar la investigación multidisciplinaria de la medicina tradicional y de los recursos terapéuticos que utilizan, haciendo partícipes a los practicantes de tal medicina (curanderos, yerberos, parteros etc...), y establecer lineamientos -- para su investigación y estudio (Bannerman, 1977; Bannerman, 1980).

Se estima que aproximadamente un 75-80% de la población de los países en desarrollo hacen uso de la medicina tradicional para resolver sus problemas de salud (Tempesta, 1980). Los -- practicantes de esta medicina hacen uso de los recursos a su alcance; plantas animales y minerales de la región y con mu--

cha frecuencia su empleo va acompañada de prácticas mágicas y rituales (ONUDI, 1983; Barajas, 1951; de Marfa y Campos, --- 1979).

Quizás la importancia de la medicina tradicional se puede resumir a los tres puntos siguientes:

- 1). Representa un modelo para procurar la salud en forma eficaz, para el hombre en su propio ambiente físico.
- 2). Las plantas medicinales y animales usados en medicina tradicional, representan fuentespreciadas para el desarrollo y descubrimiento de nuevos medicamentos.
- 3). Debido a la reserva natural de numerosas plantas y animales ofrece, en términos económicos, una alternativa para curar numerosas enfermedades a un costo menor --- (ONUDI, 1983; PNUD, 1979).

La medicina tradicional podría ser, una de las alternativas más importantes para resolver algunos de los problemas de Salud en México. Pero debe señalarse que su adaptación, requiere de grandes esfuerzos de investigación sistemática y multidisciplinaria.

El estudio multidisciplinario de la medicina tradicional -- comprende varios aspectos; a) Antropológico; b) Botánico y/ó Etnobotánico; c) Agronómico; d) Químico; e) Farmacológico; -- f) Clínico; g) Económico; h) Histórico, etc...

La gran riqueza y variedad de la flora mexicana, la gran tradición sobre el uso de vegetales con fines curativos, la carencia de una industria farmoquímica propia, la crisis económica actual, las condiciones de los servicios de salud, y en general las características socioeconómicas de los países

en desarrollo como el nuestro (Desnutrición, Analfabetismo, -- Pobreza, Dependencia Externa, etc), entre otros hacen necesarios los estudios sistemáticos y multidisciplinarios, sobre -- las plantas medicinales mexicanas para proporcionar una alter -- nativa viable que resuelva algunos de los problemas de Salud en México.

Las investigaciones que se realizan actualmente sobre plan -- tas medicinales son aisladas, sin continuidad, y las bondades medicinales que se llegan a demostrar en estos trabajos son -- desconocidos por los practicantes y usuarios de este tipo de -- medicina, y por las autoridades sanitarias competentes.

Se estima que hay aproximadamente 3,000 especies de plan -- tas mexicanas registradas como medicinales, de las cuales no se han estudiado ni el 10% en el laboratorio, y desde el punto de vista agronómico está lejos de llegar al 5% (Estrada, 1985)

Como se mencionó antes, el estudio de las plantas medici -- nales (recurso terapéutico más comunmente empleado en medi -- cina tradicional), requiere de estudios multidisciplinarios, -- principalmente de estudios Etnobotánicos, Químicos, Farmacoló -- gicos, Clínicos y Agronómicos. En la Universidad Autónoma -- Chapingo, desde 1979, se realizan estudios Etnobotánicos y -- Agronómicos (Propagación) de plantas medicinales (Estrada, -- 1985) y recientemente estudios fitoquímicos de las mismas -- (Navarrete, Reyes, Aguirre, Sixtos y Estrada, 1986). En lo -- que respecta a estudios de actividad biológica se ha venido -- trabajando en la evaluación sobre la prevención y curación de cálculos biliares con una planta medicinal conocida como yer -- ba del sapo, a nivel de extracto de planta total y de extrac -- tos alcohólicos. (Estrada, 1979; Astudillo, 1983).

En los trabajos de exploración Etnobotánica, que realiza - el M.C. Erick Estrada del Departamento de Fitotecnia de la UACH, utiliza la metodología de "Flujo de Información Bilateral" que consiste en el intercambio de conocimientos y materiales con la gente de los lugares estudiados y en el mercado, la "Entrevista-Compra". Además de hacer partcipe a los practicantes de la medicina tradicional (Curanderos de los pueblos) (Estrada 1985). Esta metodología tiene las características particulares de que los beneficios demostrados en las plantas estudiadas en el laboratorio pueden revertirse a los usuarios y hacerles recomendaciones para optimizar sus propiedades curativas.

El aspecto químico es importante debido a que permite - además el hallazgo de nuevos y/o conocidos agentes medicinales. Los métodos para realizar estudios químicos de las plantas medicinales pueden ser:

a) Por medio de estudios fitoquímicos convencionales, mediante los cuales se aíslan y caracterizan los metabolitos de plantas y posteriormente se someten a ensayos biológicos. - - (Navarrete, 1982; Alpide, Ballesteros y Navarrete, 1984; - - Navarrete, 1986). Este método tiene la desventaja de que generalmente se aíslan los metabolitos que se encuentran en cantidades relativamente altos, y no necesariamente son los responsables de la actividad biológica.

b) Discriminación farmacológica para una actividad de los extractos vegetales en combinación con el estudio químico de las fracciones activas. El fraccionamiento se hace en base a la actividad biológica. Este método tiene la ventaja de que permite el aislamiento de sustancias activas que se encuentran presentes en pequeñas cantidades y que de otra forma probable

mente no hubiesen podido ser detectadas; además resulta mucho más conveniente para el fitoquímico ya que le ahorra el trabajo de aislar un mayor número de compuestos que probablemente no tenga actividad biológica.

Finalmente del programa de plantas medicinales de la Universidad Autónoma Chapingo, destacan en importancia algunos especímenes vegetales como son: Cecropia obtusifolia y Zanthoxylum liebmannianum, empleados para el tratamiento de diabetes y --- amibiasis respectivamente. Que constituyen un modelo adecuado como punto de partida para tratar de resolver algunos de los principales problemas de salud en México.

OBJETIVOS GENERALES

Tomando en cuenta lo expuesto anteriormente, y conociendo la potencialidad de las plantas medicinales en México, es importante realizar estudios fitoquímicos que contribuyan al conocimiento de los componentes químicos de las plantas. Para el logro de los objetivos que se persiguen se han seleccionado Cecropia obtusifolia y Zantoxylum liebmannianum.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- a). Recopilar la información botánica, etnobotánica, química - farmacológica de las especies vegetales objeto de estudio.
- b). Efectuar las operaciones preliminares propias a la preparación de extractos vegetales para cada una de las plantas a -- ser estudiadas.
- c). Preparar los extractos vegetales de acuerdo a la metodología convencional.
- d) Separar y purificar los constituyentes químicos de las diferentes fracciones de los extractos de las plantas medicinales en estudio.
- e). Identificar mediante métodos químicos y espectroscópicos - las sustancias aisladas.

H I P O T E S I S .

Mediante los procedimientos fitoquímicos convencionales se aislarán y caracterizarán el mayor número posible de metabolitos secundarios de hojas de Zanthoxylum liebmannianum y de Cecropia obtusifolia.

CAPITULO I

CONSTITUYENTES QUIMICOS DE Cecropia obtusifolia.1. Generalidades del Género Cecropia.

1.1 Distribución.

El género Cecropia, se encuentra ampliamente distribuido en las regiones indígenas de América tropical y el sur de China, extendiéndose hasta Malasia (Heywood, 1979; Lazzara y Pizzeti, 1985).

En México se distribuye ampliamente desde Tamahulipas a Yucatán, por el Golfo de México y de Sonora a Chiapas por el Océano Pacífico (Lazzara y Pizzeti, 1985; Guzman 1980; Cabrera 1982).

1.2 Taxonomía.

Las dos especies más conocidas del género Cecropia son: Cecropia obtusifolia y Cecropia peltata.

Este género pertenece a la familia de las Moráceas, su nombre genérico es procedente de Cecrope (divinidad venerada en la antigua Atenas, personificación de los animales sagrados nacidos de la tierra). El atributo específico que se refiere a la familia, alude a la forma de las hojas peltadolobuladas (Lazzara y Pisseti, 1985). En CIQRO describen a la planta como: "Arbusto o árbol de 3-15m de altura; tronco esbelto ramificado o simple, hueco; corteza escamosa; grisacea, produce resina oscura cristalina; con grandes hojas profundamente lobuladas, con el haz verde y el envés cubierto con abundante pelo blanco lanoso; con pequeñas flores agrupadas en densas espigas cilíndricas de color blanco; los frutos son aquenios agregados con una semilla con sabor parecido al hígado". (Cabrera, 1982).

1.3 NOMBRES COMUNES

En la tabla 1, se menciona el lugar y el nombre común con el cual se le conoce.

Se ha encontrado que en algunas monografías, los nombres - comunes para C. obtusifolia y C. peltata son los mismos - - - (Martínez, 1969; del Amo, 1979)

1.4 FITOQUIMICA.

En la tabla 2 se indican los metabolitos secundarios aislados del género Cecropia y las referencias correspondientes.

Puede observarse que los metabolitos secundarios caracterizados corresponden a Cecropia obtusifolia solamente.

1.4.1 Metabolitos secundarios aislados del género Cecropia que no se conocen sus estructuras químicas y solo se mencionan.

En un artículo se describe que C.peltata, contiene alcaloides, esteroides, triterpenos, derivados de hidroxiquinonas, flavonoides y flavonas. (Bulhoes, Castro, Silva, 1946).

En otro trabajo realizado en C. peltata se ha reportado una alta concentración de esteroides. (Correira y Nogueira ; 1960)

1.5 IMPORTANCIA BIOLÓGICA (USOS TERAPÉUTICOS)

En la tabla 3 se presentan los usos terapéuticos de las especies del género Cecropia.

TABLA 1. Nombres comunes* para C. obtusifolia en los diferentes estados de la República Mexicana.

Yucatán;	Koché, X Koché, X Koché-le
Oaxaca;	Chancarro blanco
Chiapas;	Guarumbo, Guarumo
Huasteca Hidalguense;	Guarumbo, Picón, Hormigón
Tabasco;	Guarumbo

* Martínez, 1969.

TABLA 2 METABOLITOS AISLADOS DEL GENERO CECROPIA.

TIPO DE METABOLITO SECUNDARIO	COMPUUESTO	FUENTE NATURAL	REFERENCIA
a) Furanos	5-etoximetilfurfural, <u>1</u> ⁱ	<u>C. obtusifolia</u>	Soto (1975)
b) coumarinas	4-etil-5-(n-3-valeroil-6)-hexahidrocoumarina, <u>2</u> ⁱⁱ	<u>C. obtusifolia</u>	Soto (1975)
c) Ariziridina	1-(2-metil-1-nonen-8-il-aziridina), <u>3</u> ⁱⁱⁱ	<u>C. obtusifolia</u>	Soto (1975)
d) Azúcares	Ramnosa, <u>4</u>	<u>C. obtusifolia</u>	Soto (1975)
	Acetato de β-D-glucosa, <u>5</u> ^{iv}	<u>C. obtusifolia</u>	Soto (1975)
	α-D(+)-Glucosa, <u>6</u>	<u>C. obtusifolia</u>	Soto (1975)
	Xilosa, <u>7</u>	<u>C. obtusifolia</u>	Soto (1975)
e) Terpenos	Estigmasterol, <u>8</u>	<u>C. obtusifolia</u>	Soto (1975)
	Acido Ursólico, <u>9</u>	<u>C. obtusifolia</u>	Correira (1960)

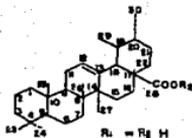
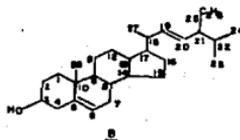
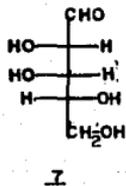
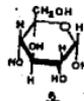
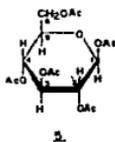
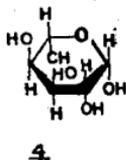
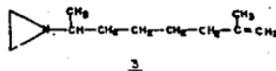
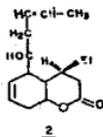
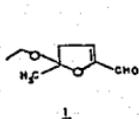
* Los números indican la estructura en el esquema 1.

** Los nombres fueron transcritos de la referencia citada, pero deben nombrarse como:

i) 5 metil-2 Etoxi - 4,5 dihidrofurfural. ii) 4-Etil-5-(3-pentenoil) 3,4,4a,5,8,8a,-hexahidro. coumarina, iii) 7-metil-2-(1-aziridin)-7-octeno. iv) penta acetato de β-D-glucosa

TABLA 3. USOS TERAPEUTICOS DE LAS ESPECIES DE CECROPIA

ESPECIE	U S O S	REFERENCIA
<u>Cecropia peltata</u>	Diferencia de glicógeno en plástidos de una célula de muelerion, caracterización del glucan de -- plástidos como polisacáridos del tipo glicógeno; se extrajeron polisacáridos de <u>C.peltata</u> y se ca racterizaron por métodos enzimáticos, que es si- milar al fitoglicógeno.	Riceon, Fras, 1971
<u>C.obtusifolia</u>	Del extracto etanólico liofilizado de las hojas de esta especie, se reporta que existen efectos cardiovasculares en el extracto estudiado. Efecto hipotensor del extracto etanólico liofi- lizado de <u>C.obtusifolia</u> . Probado en ratas wine- tar. Se ha encontrado en alguna información que se u saron en el tratamiento de la diabetes melitus, asma, mal de sanblin, padecimiento hepático, -- contra obesidad y eliminación de verrugas Esta misma especie, es utilizable contra la hi- dropesía y afecciones del bazo, facilita la --- menstruación y los líquidos.	Vidrio, Reyes, 1976 Cigro, 1982 Guzmán, 1980; Lasza- ra y Piuseti, 1985
<u>C.obtusifolia</u>	Industrialmente se ha hecho uso de las fibras -- en la fabricación del papel. A las fibras de es- ta especie se le han realizado pruebas de resis- tencia, de las cuales se obtuvieron resultados importantes	John, Ameus, 1966.
<u>C.obtusifolia</u>	Los nativos de las diferentes regiones de México y América Latina, lo utilizan de diferentes pro- pósitos: el pelo y el tallo de las hojas le dan el uso semejante al del tabaco. El tallo del ár- bol como tuberías para la conducción del agua y el jujo que produce el tronco del árbol se em- -- plea para elaborar caucho.	Maxon, 1952
<u>C. obtusifolia</u>	De los usos terapéuticos importantes son que: cu ra la diabetes y asma, también se encontró que contra la vejiga en conejo y el leon en caba- yo. Disminuye la presión arterial en perro y -- conejo.	Lozoya, Oberti, Ro- driguez, Chavez En- rriquez, Lozoya, Oc- tega, Vargas, (1977)



Esquema 1.- Indica las estructuras químicas de la tabla No. 2.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1 Materiales.

2.1.1 Equipo

1. Evaporador rotatorio Buchi
2. Parrilla de calentamiento
3. Bomba para vacfo
4. Lámpara de luz ultravioleta
5. Balanza analítica
6. Balanza granotaria
7. Aparato para determinar punto de fusión Buchi
8. Molino de compresión y fricción
9. Espectrómetro de infrarrojo *
10. Espectrómetro de ultravioleta *
11. Espectrómetro de resonancia magnética nuclear*
12. Aparato de Fisher Johns para punto de fusión
13. Polarímetro para determinar la rotación óptica *
14. Espectrómetro de masas.*

2.1.2 Reactivos

1. 4 Kg. de gel sílice de 70-230 mallas (tamaño de partí-
cula 0.063-0.20 mm.), para cromatografía en columna
2. Placas de gel de sílice para cromatografía en capa fi-
na 254.
3. Disolventes orgánicos: hexano, cloroformo, acetona,
acetato de etilo y metanol.
4. Carbonato de sodio, hidróxido de potasio, cloruro de
sodio, sulfato de sodio anhidro.
5. Acido clorhídrico.
6. Hielo y hielo seco
7. 2,4- Dinitrofenil hidrazina

*Las especificaciones se dan en la sección 2.4. del capítulo 11

8. Clorhidrato de hidroxilamina
9. Nitrato de plata
10. Hidróxido de amonio
11. Permanganato de potasio
12. Sulfato cérico amoniacal
13. Acido sulfúrico
14. Reactivo para identificación de alcaloides

2.1.3 Material de Vidrio.

1. Placa para cromatografía en capa fina de 3X8 cm.
2. Columnas de vidrio para cromatografía de 2 tamaños diferentes en diámetro por longitud (10 cm. diámetro, 2.5 mm pared; 7 cm. diámetro, 2.2 mm. pared; 2 cm. diámetro, 2.5mm pared)
3. Vaso de pp. de 1000, 250, 100, 50 y 10 ml. de capacidad
4. Matraces de bola con boca esmerilada de 300 100 ml. de capacidad.
5. Matraces de bola con boca esmerilada de 250, 125 ml. de capacidad.
6. Matraces erlemeyer de 250, 50, 25 ml. de capacidad
7. Matraces Kitazato de 250, 25 ml. de capacidad
8. Embudo de separación de 250, 125, 60 ml. de capacidad
9. Espátula de diferentes tamaños
10. Probetas de 500, 100, 50 y 10 ml. de capacidad
11. Barras magnéticas para agitación, de diferentes tamaños
12. Embudo buchner de diferentes tamaños
13. Embudo de filtración tamaño corto
14. Embudo Hirsch tamaño corto
15. Frasco ámbar, de vidrio, con tapón de rosca de plástico de 3 ml. de capacidad
16. Soporte universal

17. Refrigerantes de diferentes tamaños
18. Pinzas de tres dedos con nuez
19. Trampas para vacío
20. Canastilla de calentamiento
21. Anillos de fierro de diferentes tamaños
22. Vidrios de reloj
23. Capilares para punto de fusión.

2.2 Material Vegetal

La planta (hojas) fue recolectada en la Huasteca Hidalguense cerca de Tehuetlan, el 31 de enero de 1987, y fue identificada por el M.C. Erick Estrada.

El material vegetal fue secado a temperatura ambiente y -- pulverizado en un molino manual. Se recolecto un total de --- 9 Kg. de hoja seca.

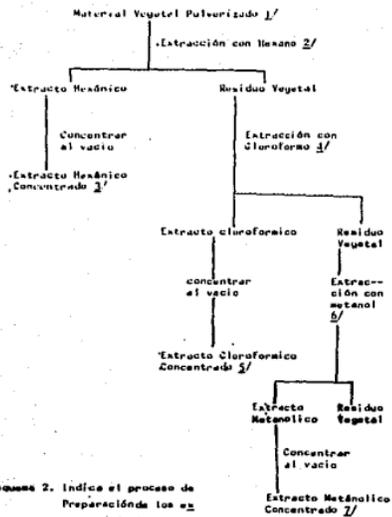
2.3 Método de extracción y fraccionamiento preliminar

2.3.1 Extracción

El material vegetal se extrajo según procedimiento señalado en el esquema 2 ; se usaron 5.1 Kg. de la planta seca molida para preparar 3 extractos con disolventes de menor a mayor polaridad: Hexano; Cloroformo; y Metanol.

2.3.2 Fraccionamiento preliminar del extracto hexánico.

El extracto hexánico se llevó a un análisis cromatográfico en capa fina, el proposito de esto fué para determinar el eluyente que se usaría primeramente en la separación por cromatografía en columna, encontrandose que en la mezcla Hexano-- cloroformo 1:1 la separación de los compuestos fue bien - - -



Descripción de la numeración del esquema 2

- 1/ Cantidad de material vegetal pulverizado 5.1 k.
 2/ Vol. de hexano usado, vfa maceración (14 l.) períodos de 72 hrs.
 3/ Peso de extracto concentrado 63 g.
 4/ Vfa maceración con 10 l. de clorofoma (2 extracciones) - por períodos de 72 hrs.
 5/ Cantidad total de extracto clorofómico: 89.8 g.
 6/ Vfa maceración con 10 l. de metanol (2 extracciones) por períodos de 72 hrs.
 7/ Peso del extracto metanólico concentrado: 47.3 g.

definida.

En total de extracto hexánico (63 g.) se adsorbió en 200g. del gel de sílice 60 tamaño de malla (70-230), se fraccionó - en una columna cromatográfica empacada con 1800 g de gel de sílice tamaño de malla (70-230).

La columna se eluyó con hexano, cloroformo, acetato de etilo, y mezclas de estos en diferentes proporciones. Recogiendo se fracciones de 350 ml. cada una y un total de 765 para todo el extracto, cada fracción se analizó por cromatografía en capa fina (placas de vidrio recubiertas de gel de sílice) y como agente cromogénico se utilizó una solución de Sulfato Cérico amoniacal en ácido sulfúrico concentrado, se calentó en una plancha. También se usó una lámpara de luz ultravioleta para el análisis de las placas cromatográficas. Se combinaron aquellas fracciones similares cromatográficamente.

En la tabla 4 se resume la separación cromatográfica del extracto hexánico. La fase móvil que se utilizó en las cromatoplasmas, fueron disolventes en diferentes proporciones: - hexano, cloroformo, acetato de etilo, acetona, metanol y mezclas de ellos.

Las fracciones 582-583 (5 g.) se recromatografiaron en una columna de 30 g. de gel de sílice. (70-230 malla) adsorbiendo se previamente en 5 g. de sílica gel. Se recogieron 80 fracciones de 40 ml. cada una. Se inició la elución de la columna con cloroformo luego con cloroformo acetato de etilo (en diferentes proporciones) y con acetato de etilo (100%).

Durante el corrimiento de la columna cada fracción se analizó por placa cromatográfica en capa fina.

TABLA No. 4 Resumen del fraccionamiento por columna cromatográfica del extracto hexánico de Cucurbita obtusifolia. (Guarumbo)

ELUYENTE	PROPORCION	No. FRACCIONES	FRACCIONES COMBINADAS	OBSERVACIONES	PESO
Hexano	100%	1 - 11	1 - 11	Sólido Blanco	400 mg
Hexano - Cloroformo	9 : 1	12 - 66	12 - 22	Sólido Blanco	191.9
			23 - 66	Sólido Blanco	548.5
Hexano - Cloroformo	4 : 1	67 - 321	68 - 78	Descartadas	
			79 - 91	Sólido Cristalino Amarillo	102
				Sólido Blanco	
				Sólido Cristalino	
			92 - 205	Sólido Amarillo	2.226 g.
				Sólido Blanco	80
				Sólido Color Naranja	
			92 - 205	Descartadas	
			106 - 227	Sólido Blanco	300
				Sólido Blanco	550
	Sólido Blanco	150			
	Sólido Blanco	300			
	Sólido Blanco	200			
	Sólido Blanco	250			
		224 - 226	Descartadas		
		227 - 237	Sólido Blanco	250	
			Sólido Blanco	80	
		236 - 241	Cristales Blancos		
		242 - 256	Cristales Blancos		
		257 - 323	Descartadas		
		323 - 337	Descartadas		
		338 - 382	Descartadas		
		383 - 430	Descartadas		
		431 - 470	Descartadas		
		471 - 479	Descartadas		
		480 - 503	Descartadas		
		504 - 576	Descartadas		
Cloroformo	1 : 3	510 - 576	577 - 580	Descartadas	
	100%	577 - 620	581 - 583	Recromatografía	
			584 - 620	Descartadas	
Cloroformo - Acetato de etilo	4 : 1	627 - 634	627 - 710	Descartadas	
Acetato de etilo	100%	724 - 765	-----	Descartadas	

2.3.3 Fraccionamiento del extracto metanólico.

Una fracción del extracto metanólico (300 g.) se pasó por una columna cromatográfica, previamente absorbido en 200g. de sílica gel 60 malla 70-230, utilizándose un total de 2000 g. de sílica gel, de las mismas características, como desecante se usó cloruro de sodio. El tamaño de la columna utilizada -- fué de 1.30 m. de largo por 0.1 m. de diámetro.

La columna se corrió con diferentes disolventes: cloroformo, acetato de etilo, metanol y mezclas de ellos en diversas proporciones. Se recogieron un total de 680 fracciones de --- 350 ml. cada una, cada fracción se analizó por cromatografía en capa fina.

Para revelar las placas se utilizó una lámpara de luz ultravioleta (método físico) y un agente cromogénico (sulfato cérico amoniacal). Rociado sobre la placa, y puesto sobre una plancha caliente (método químico).

Para la elución de las placas cromatográficas se utilizaron disolventes y mezclas de ellos, como en la técnica de extracto hexánico. Con las placas C.C.F. es posible recoger todas -- aquellas fracciones similares cromatográficamente, en la tabla 5, se muestran las fracciones recogidas las mezclas de -- los eluyentes usados, fracciones que fueron combinadas y los compuestos recogidos del extracto en estudio.

TARLA No. 5 Resumen del Fraccionamiento por columna cromatográfica del extracto metanólico de *Cocropia obtusifolia* (Guarumbo).

LLUYENTE	PROPORCIÓN	No. FRACCIONES	FRACCIONES COMBINADAS	OBSERVACIONES	PESEO EN mg.
Clorofórmico	100%	1 - 80	1 - 66	Descartadas	
			67 - 73	Cristales Blancos	55.8 mg.
CF/AcOEt	9 : 1	81 - 369	71 - 81	Cristales Blancos	
			82 - 149	Descartadas	
			150 - 176	Polvo Verde	234 mg.
			177 - 219	Polvo Verde	320 mg.
			220 - 238	Polvo Blanco	251 mg.
			239	Polvo Amarillo	270 mg.
			240 - 245	Descartadas	
			246	Polvo Cristalino Amarillo	36.8 mg.
			247 - 423	Descartadas	
	100%	421 - 576	424	Polvo Verde Cristalino	82.4 mg.
			425 - 434		
			435 - 436	Polvo Verde	1030 mg.
			440 - 448	Descartadas	
			449 - 463		980 mg.

2.4 Aislamiento y purificación de los compuestos.

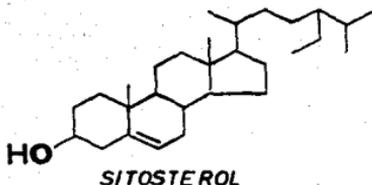
Del extracto hexánico, de las hojas de C. obtusifolia, por medio de una cromatografía en columna sobre gel de sílice - (tabla 4), se aislaron 17 compuestos, de los cuales solo se logró identificar uno de ellos. Los demás compuestos como se mencionó, se aislaron pero no se logró su caracterización, ya que sufren descomposición rápida.

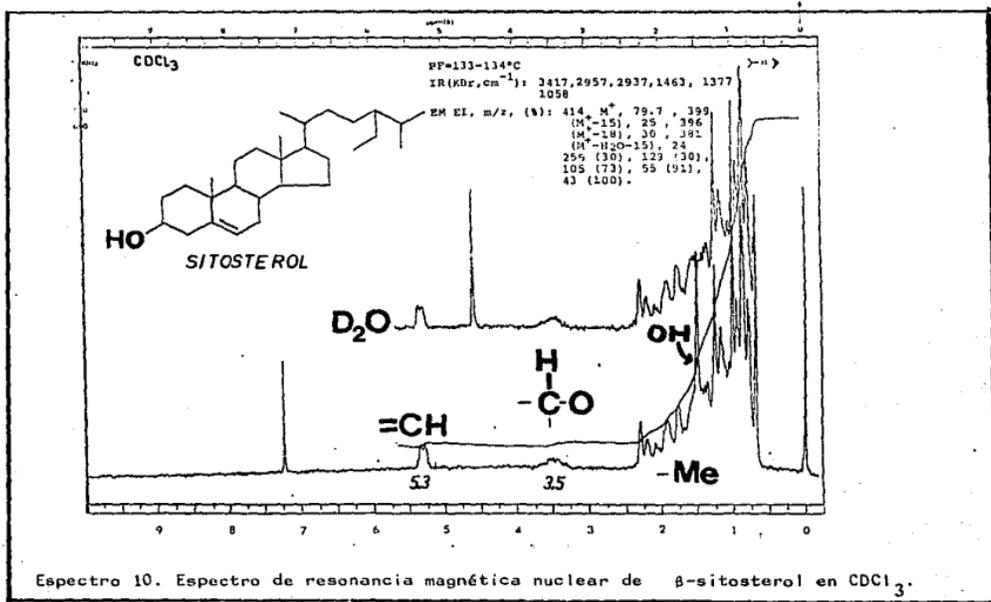
Del extracto metanólico se aislaron sólidos inestables que no fue posible caracterizar.

3. Resultados y Discusión.

3.1 Identificación de β -sitosterol.

Durante la elución de la columna del extracto hexánico, en las fracciones, 206-207 y 227-337, esceptuando 224-226, que se descartó, se obtuvieron 2,045 g. (0.04% en base al peso seco de la planta) de un compuesto cristalino blanco; la cromatografía en capa fina, el punto de fusión los espectros de ir , 1H - nmr (espectro 10) y espectrometría de masas, dieron información inequívoca, para confirmar que se trataba de sitosterol - (Molec. 1, Esquema 3). El cual fue comparada con una muestra auténtica.





4. CONCLUSIONES.

1. Se realizó la investigación fitoquímica de los extractos Hexánico y Metanólico de Cecropia Obtusifolia (Guarumbo) de los cuales se aislaron 27 compuestos que en su mayoría resultaron ser inestables y no fue posible caracterizarlos.
2. Del total de compuestos aislados solo fue posible caracterizar β -sitosterol del extracto hexánico, con un rendimiento del 0.04% en base al peso seco de la planta.

CAPITULO II

CONSTITUYENTES QUÍMICOS DE Zanthoxylum Liebmannianum.1. GENERALIDADES DEL GENERO Zanthoxylum.

1.1 Taxonomía

El género Zanthoxylum comprende alrededor de 900 especies. Este género pertenece a la familia de las rutáceas, la cual está relacionada con cuatro familias; Rutoideae, Todoloidae, Rhabdoideae y Aureniloideae. (Heywood, 1979)

Las especies de Zanthoxylum mas comunes son las siguientes: Z. arborescens, Z. fagara, Z. limoncello y Z. caribeum. (Heywood, 1979)

Una descripción general de Zanthoxylum la hace Maximino -- Martínez como sigue:

"Hay variedad en la forma en que se presenta este género, se puede encontrar como arbusto ó como árbol, el arbusto llega a tener hasta 3m., el árbol va desde 3-4.5m. Los arbustos presentan espinas; hojas imparipinadas, algunos -- con flores pequeñas y frutos foliulados". (Martínez, --- 1969)

La descripción encontrada en la Literatura para Z. liebmannianum señala las siguientes características (Stanley, 1920)

"Es un arbusto o árbol pequeño de 3-4.5 m. de altura, y es con espinas o sin espinas esparcidas, foliolos de 1.3cm. de largo, verde amarillento y granulados, con dientes muy pequeños, semillas negras lustrosas brillantes, Originalmente fue descrito de Sn. Juan del estado de Oaxaca". (Stanley, 1920)

1.2 Distribución

El género Zanthoxylum se encuentra ampliamente distribuido, al sur de América; en Estados Unidos de América, -- Africa y Australia. (Heywood, 1979)

En México se localiza al Norte y Centro de la República -- hasta llegar al sur de Oaxaca, en Michoacán, Hidalgo, Puebla y Chiapas. (Stanley, 1920)

1.3 Fitoquímica

Del género Zanthoxylum se tienen muchos antecedentes Fitoquímicos, en los que se describen una gran variedad de metabolitos secundarios tales como: alcaloides, esteroides, lignanos, amidas ácidas insaturadas, fenilpropanoides, monoterpénos, triterpénos, y sesquiterpénos. En la tabla 6 se muestran los compuestos aislados de este género, la fuente natural de donde proviene, el tipo de metabolito secundario y además la referencia correspondiente, así mismo en el esquema 3, se encuentran las estructuras químicas referidas en la tabla 6. Por otro lado de la corteza del colopahle (Z. Liebmannianum), se tiene un reporte previo en el que se aislaron: un lignano (sesamina), un esteroide (β -sitosterol), un sesquiterpeneo (1- β hidroxijunennol) y una isobutilamida (α -sanshöl) (Navarrete, Reyes, Sixtos, Aguirre, Estrada, 1987)

1.4 Actividad Biológica que presenta el Género Zanthoxylum

Las plantas medicinales, tienen actividad biológica localizada a partir de determinadas partes de su estructura, en la raíz, tallo, hojas, fruto o en corteza.

El género Zanthoxylum presenta actividad biológica en hojas y en corteza.

En la tabla 7, se muestran algunos de los usos terapéuticos que este género presenta.

Tabla 6
METABOLITOS SECUNDARIOS AISLADOS DEL GÉNERO Zanthoxylum

TIPO DE METABOLITO SEC.	COMPUESTO		FUENTE NATURAL	REFERENCIA	
Losterolus	8-aitosterol	1	<u>Zanthoxylum diklanspi</u>	Waterman, (1975)	
			<u>Z. liebmannianum</u>	Navarrate, Royas (1987)	
			<u>Z. miriacantum</u>	Peter, (1975)	
			<u>Z. parvifolium</u>	Waterman, (1975)	
			<u>Z. acanthopodium radix</u>	Ren, Lijaun, Xie, (1986)	
Triterpenos	Lupool	2	<u>Z. parvifolium</u>	Waterman, (1975)	
			<u>Z. rubescens</u>	Waterman, (1975)	
Lignanos	Palotaxina	3	<u>Z. acanthopodium</u>	Cheeriborty (1979)	
			<u>Z. diklanspi</u>	Waterman, (1975)	
	Sesamina	4	<u>Z. liebmannianum</u>	Navarrate, Royas (1987)	
			<u>Z. rubescens</u>	Waterman, (1976)	
			<u>Z. clava-herculina</u>	Rao, Davies, (1980)	
Avarinina		5	<u>Z. clava-herculina</u>	Rao, Davies, (1986)	
			<u>Z. acanthopodium radix</u>	Ren, Lixuan, Xie, (1986)	
	3,4- metil-(3,4-dimetoxi)				
	difenil-furanona	6	<u>Z. oxyphyllum</u>	Tiwari, Masood, (1980)	
	Eudesmina	7	<u>Z. culantrillo</u>	Swinhart, Stermitz (1980)	
Coumarinas	7-O-metil- cedrelopaina		<u>Z. umbelliferone</u>	Kokuro, Misawa, (1981)	
		8			
	Isoubcinol		9	<u>Z. caribaeum</u>	David Dreyer (1980)
				<u>Z. limocello</u>	David Dreyer (1980)
	Auraptén		10	<u>Z. coco</u>	D. Della, (1972)
	pirano(2,3-f)-coumarina (avicolol)			<u>Z. fagara</u>	Dominguez, (1974)
			11		
	Bitacoumarina		12	<u>Z. fagara</u>	David, Dreyer (1980)
	Metilvainillato		13	<u>Z. monoxylum</u>	Hegnauer, (1973)
	dimetilato de la esculaína			<u>Z. williamii</u>	Swinhart, Stermitz (1980)
			14	<u>Z. acanthopodium radix</u>	Ren, Lijun, Xie, (1986)
	Isopimpinellina		15	<u>Z. belicenses</u>	Salem, (1975)

Tabla 6 (Continuación)
 METABOLITOS SECUNDARIOS AISLADOS DEL GÉNERO Zanthoxylum

TIPO DE METABOLITOS SEC.	COMPUESTO	FUENTE NATURAL	REFERENCIA
Amidas	γ -sanshóól 16	<u>Z. ailanthoides</u>	Jacobus, (1982)
Ácidos insaturados	Hidroxi- γ -sanshóól 17	<u>Z. ailanthoides</u>	Jacobus, (1982)
		<u>Z. lichmannianum</u>	Navarro, Reyes, (1987)
		<u>Z. herbaceum</u>	Berhard, (1978)
		<u>Z. integrifolium</u>	Jacobus, (1982)
	α -sanshóól 15	<u>Z. ailanthoides</u>	Ichiro Y., (1981)
	β -sanshóól 19	<u>Z. ailanthoides</u>	Ichiro Y., (1981)
	2S, 4I, 8E, 10E-N-isobutil		
	2, 4, 8, 10-dodecatetraenamido 20	<u>Z. ailanthoides</u>	Ichiro Y., (1981)
Triterpenos Monoterpénicos	1S, 2R, 4S-trihidroxi-p-metano 21	<u>Z. bustrunga</u>	Rhappa, (1976)
	1S, 2R, 4S-trihidroxi-p-metano 22	<u>Z. bustrunga</u>	Rhappa, (1976)
Fenilpropanoides	Cuspidiol 23	<u>Z. cuspidatum</u>	Hisashi, I., (1982)
	Acetato de cuspidiol 24	<u>Z. inerme</u>	Hisashi, (1982)
	Bonifenal 25	<u>Z. inerme</u>	Hisashi, (1982)
	Bonifenolato de metilo 26	<u>Z. inerme</u>	Hisashi, (1982)
Monoterpenos	(-)-Loliolide 27	<u>Z. wutolosum</u>	Adewale, (1985)
	Mentomodiol 28	<u>Z. leppieurii</u>	Ekundayo, (1986)
	α -pineno 29	<u>Z. rigidifolium</u>	Babajide, (1985)
	Terpeno-4-ol 30	<u>Z. leppieurii</u>	Ekundayo, (1986)
	α -felandreno 31	<u>Z. rigidifolium</u>	Babajide, (1985)
	1,5-cineol 32	<u>Z. leppieurii</u>	Ekundayo, (1986)
	Limoneno 33	<u>Z. rigidifolium</u>	Reisch, (1986)
	Acetato de geraniol 34	<u>Z. leppieurii</u>	Ekundayo, (1985)
	Acetato de nerilo 35	<u>Z. leppieurii</u>	Ekundayo, (1985)
	α -tujeno 36	<u>Z. rigidifolium</u>	Babajide, (1985)
	β -pineno 37	<u>Z. leppieurii</u>	Ekundayo, (1986)
	δ -careno 38	<u>Z. rigidifolium</u>	Reisch, (1986)
			Babajide, (1985)

Tabla 6 (Continuación)
 METABOLITOS SECUNARIOS AISLADOS DEL GENERO *Zanclusium*

TIPO DE METABOLITOS SEC.	COMUESTO	FUENTE NATURAL	REFERENCIA	
Sesquiterpenos	Despatuleno	39 <i>Z. leppicourii</i>	Ekundayo, (1986)	
	cariofileno	40 <i>Z. leppicourii</i>	Ekundayo, (1986)	
	luceneno	41 <i>Z. candidifolium</i>	Rosch, (1986)	
		<i>Z. leppicourii</i>	Ekundayo (1986)	
	calidano	42 <i>Z. leppicourii</i>	Ekundayo (1986)	
	Oxido de cariofileno	43 <i>Z. leppicourii</i>	Ekundayo, (1986)	
	D-aromadeceno	44 <i>Z. leppicourii</i>	Ekundayo, (1986)	
	D-lisdol	45 <i>Z. leppicourii</i>	Ekundayo, (1986)	
	a-cadinol	46 <i>Z. leppicourii</i>	Ekundayo, (1986)	
	Sesquiterpenos	1- β -hidroxipinnenol	47 <i>Z. liebmairianum</i>	Navarrete, Rojas (1987)
Alcaloides	2,5-dibenzil-1,4-diantil			
	piperazina	48 <i>Z. arborescens</i>	Jonas Grina (1981)	
	1-metil-3-(2'-feniletil)-			
	2-H, 3H-pirazinol	2,4-	<i>Z. caribaeum</i>	David, Dreyus (1980)
	diona	49 <i>Z. arborescens</i>	David, Dreyus (1980)	
	1-metil-3-(2'-4"metoxifenil)etil-3H, 3H-quinazolin-2,4-diona	50 <i>Z. arborescens</i>	David, Dreyus (1980)	
	skimmiantina	51 <i>Z. siklanqi</i>	Fish, Ibrahim (1975)	
		<i>Z. simlans</i>	Zhang, (1981)	
		<i>Z. culantrillo</i>	Swinhart, Sternitz (1980)	
		<i>Z. belianse</i>	Salem, (1975)	
	Metoxiantin-6-ona	52 <i>Z. caribaeum</i>	Casta, (1967)	
		<i>Z. caribaeum</i>	Salem, (1975)	
	Platidomona	53 <i>Z. belianse</i>	Salem, (1975)	
Alcaloide	Magnoflorina	54 <i>Z. clava-herculis</i>	Fish, Gray, (1975)	
		<i>Z. herbarum</i>	Bernhaid, (1978)	
		<i>Z. culantrillo</i>	Swinhart, Sternitz (1980)	
		<i>Z.</i>		
		<i>Z. fagra</i>	Higuchi, (1967)	
	<i>Z. herbarum</i>	Bernhaid, (1978)		

Tabla b (Continuación)
 METABOLITOS SECUNDARIOS AISLADOS DEL GENERO Zanthoxylum

TIPO DE METABOLITOS SEC.	COMPUESTO	FUENTE NATURAL	REFERENCIA	
Alcaloide		<u>Z. miricacanthum</u>	Peter, G. (1975)	
		<u>Z. punctatum</u>	Hegnauer, (1973)	
		<u>Z. punctatum</u>	Caoio, Anderson, (1979)	
N-metilisocoridina	<u>55</u>	<u>Z. coriaceum</u>	Perini, (1962)	
		<u>Z. coriaceum</u>	Swinehart, Stormitz (1980)	
		<u>Z. fagara</u>	David, Dreyus (1980)	
		<u>Z. punctatum</u>	Caoio, Anderson, (1979)	
Choleritina	<u>56</u>	<u>Z. barburum</u>	Bornhaid, (1978)	
Laurifolina	<u>57</u>	<u>Z. tyamalim</u>	Kuck, Sem. (1967)	
		<u>Z. fagara</u>	Kuck, Sem. (1967)	
Zanthoxypholina (4, 5, 6-trimetoxi, N, N, -dimetil - aporfirium (hidroxido)	<u>58</u>	<u>Z. oxyphyllum</u>	Egeui, (1964)	
Alcaloide	N-metilcoridina	<u>59</u>	<u>Z. punctatum</u>	Hegnauer (1973)
	Flindersina	<u>60</u>	<u>Z. coco</u>	Muñoz (1982)
	S-Metoxiflindersina	<u>61</u>	<u>Z. monophyllum</u>	Fish, (1973)
	Hardenina	<u>62</u>	<u>Z. culmifillo</u>	Caoio, Anderson (1979)
			<u>Z. williamsii</u>	Stormitz, Caoio (1979)
	Zanthophilina	<u>63</u>	<u>Z. monophyllum</u>	Hegnauer, (1973)
	Desmetilzanthophili na	<u>64</u>	<u>Z. monophyllum</u>	Hegnauer, (1973)
			<u>Z. fagara</u>	Kuck, Sem. M. (1967)
	Candicina	<u>65</u>	<u>Z. fagara</u>	Kuck, Sem. M. (1967)
	Sinefrina	<u>66</u>	<u>Z. fagara</u>	Kuck, Sem. M. (1967)
	Tumbucatarina	<u>67</u>	<u>Z. fagara</u>	Kuck, Sem. M. (1967)
	Chelerytrina	<u>68</u>	<u>Z. coriaceum</u>	Swinehart, Stormitz (1980)
			<u>Z. fagara</u>	Kuck, Sem. M. (1967)
			<u>Z. williamsii</u>	Takahashi, Nakagawa (1966)
	Nitidina	<u>69</u>	<u>Z. monophyllum</u>	Hegnauer, (1973)
		<u>Z. fagara</u>	Kuck, Sem. M. (1967)	

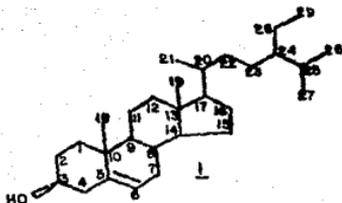
Tabla 6 (Continuación)
 METABOLITOS SECUNDARIOS AISLADOS DEL GENERO Zanthoxylum

TIPO DE METABOLITO SEC.	COMPUESTO	FUENTE NATURAL	REFERENCIA	
Alcaloide		<u>Z. monophyllum</u>	Fish, (1973)	
		<u>Z. parvifolium</u>	Waterman, (1975)	
		<u>Z. punctatum</u>	Waterman, (1973)	
		<u>Z. hirsescens</u>	Kuck, Son, (1967)	
		<u>Z. dipetalum</u>	Fish, Gray (1975)	
	Dihydrochaleritrina	70	<u>Z. nitidum</u>	Yau, (1981)
	N-metilcathadina	71	<u>Z. coriaceum</u>	Swinehart, Sturmitz (1980)
	Argylina	72	<u>Z. coriaceum</u>	Swinehart, Sturmitz (1980)
	Alfileramina	73	<u>Z. coriaceum</u>	Swinehart, Sturmitz (1980)
	Fagaragina	74	<u>Z. monophyllum</u>	Fish, (1973)
			<u>Z. punctatum</u>	Waterman (1973)
			<u>Z. senegalense</u>	Pezuto, John (1983)
	Eduлина	75	<u>Z. williamsii</u>	Takanashi, Nakagawa (1966)
	Culantroamina	76	<u>Z. procerrum</u>	Schöender, (1963)
	Culantroaminol	77	<u>Z. procerrum</u>	Schöender, (1963)
	Zanthoxamida (N-metil-N-winanil 3,4-metilendioxy)- -Fenilacetilamina	78	<u>Z. thomense</u>	Simeray, (1955)
	Decarina	79	<u>Z. thomense</u>	Simeray, (1985)
	Angolina	80	<u>Z. thomense</u>	Simeray, (1985)
	Norechelirtrina	81	<u>Z. thomense</u>	Simeray, (1985)
	Integrifamina	82	<u>Z. integrifolium</u>	Hisashi, (1982)
	Integrifinolona	83	<u>Z. integrifolium</u>	Hisashi, (1982)
	Ferberina	84	<u>Z. coriaceum</u>	Casas, D. (1967)
	Achorina	85	<u>Z. phentaphila</u>	Chartoux, (1954)
β-minkoquinazolina	86	<u>Z. dielsii</u>	Waterman, (1975)	
Qualitibina	87	<u>Z. porrigolium</u>	Waterman, (1975)	
(-) Eduлина	88	<u>Z. simulans</u>	Grims, Sturmitz (1981)	
(+) Ribalina	89	<u>Z. simulans</u>	Grims, Sturmitz (1981)	
(-) Araliopsina	90	<u>Z. simulans</u>	Grims, Sturmitz (1981)	
Lignanosa	γ, γ-Dimetiléter de pluvifal	91	<u>Z. acantopodium radix</u>	Ren, Lisan, Xie, (1986)
	γ, γ-dimetiléter de piperital		<u>Z. acantopodium radix</u>	Ren, Lisan, Xie, (1986)
	Acetonil dihidrochaleri- trina	93	<u>Z. acantopodium radix</u>	Ren, Lisan Xie (1986)

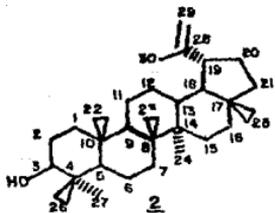
TABLA 7 ACTIVIDAD BIOLÓGICA QUE PRESENTA EL GENERO Zanthoxylum.

ESPECIE	U S O	REFERENCIA
<u>Zanthoxylum liebmanianum</u>	Se han sometido extractos a ensayos para evaluar su efecto amebicida. Estudio que determinó la actividad enzimática -- de <u>Entamoeba histolytica</u> . Se encontró que esta especie tiene actividad sobre dos enzimas; hexoquinasa y fosfoglucomutasa en la ameba. La Undecatetraenamida aislada de corteza de <u>Colo palmifolius</u> posee efecto insecticida en larvas de mosca doméstica. La corteza misma se ha usado como anestésico local.	Ramírez y Montesinos, (1985) Tamayo (1985) Navarrete, (1986)
<u>Z. zanthoxyloide</u>	Se ha reportado que en las raíces existen compuestos con actividad pungente.	Ichiro Yasuda, (1986)
<u>Z. setulosum</u>	Repelente de insectos	Adebole, (1985)
<u>Z. fagara</u>	Del extracto de raíces, se encontró propiedades antimicrobianas. Además devuelve el color al -- agar sangre.	Sofowora, (1971)
<u>Zanthoxylum avicenne</u>	En Hong Kon, lo usan como desinflamatorio de la -- garganta y para la ictericia	Francisco, Fish, (1975)
<u>Z. caribaeum</u>	Astringente, dolor de cabeza, caustico, diarrea, -- entumecimiento de labios y lengua, provoca inflamaciones, para tratar la lepra, reumatismo, dolor, -- neuralgia, vulnerario.	Del Amo, (1981)
<u>Z. fagara</u>	Piurético, epilepsia, flatulencia, resfriado, tóni -- co.	del Amo, (1981)
<u>Z. plicata</u>	Anticonvulsivo, antipirético, eripisela, incordias.	del Amo, (1981)

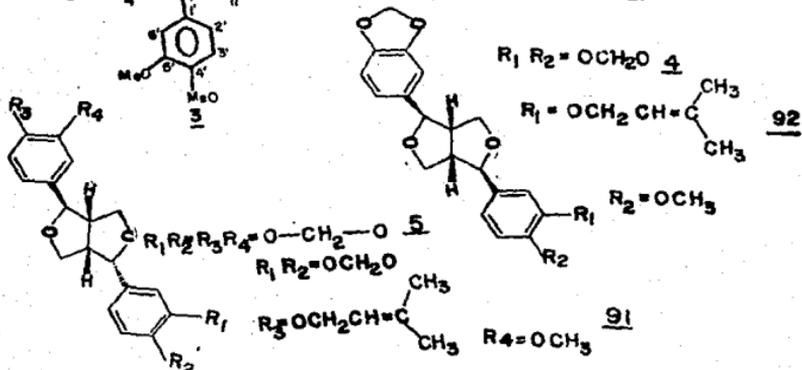
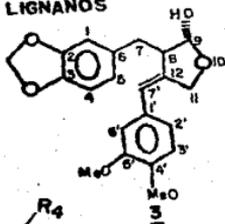
ESTEROLES



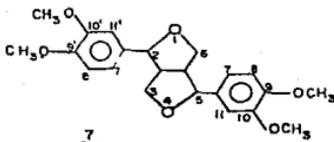
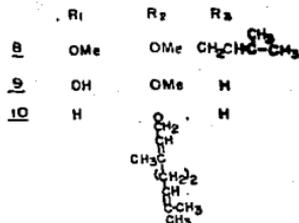
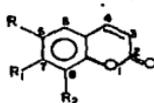
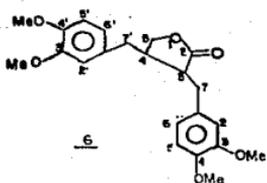
TRITERPENO



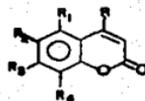
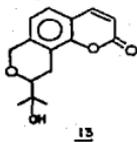
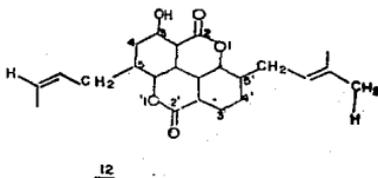
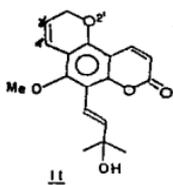
LIGNANOS



Esquema 3. Estructura de los metabolitos secundarios aislados del género Zanthoxylum.

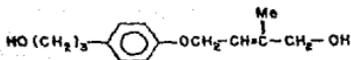
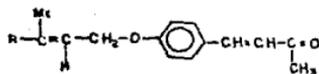
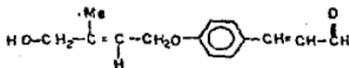
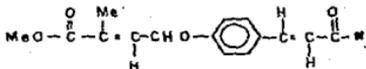


Coumarins

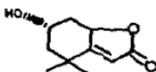
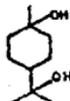
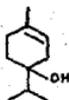
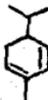
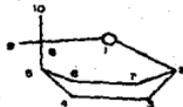


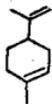
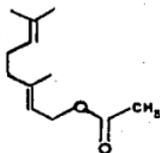
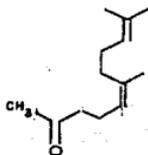
R₁ = R₂ = R₃ = H
 R₄ = R₅ = OCH₃

Fenil Propanoides

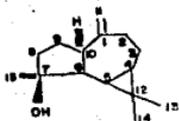
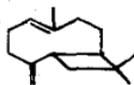
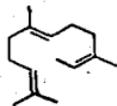
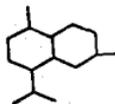
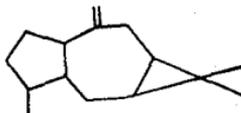
23R = CH₂OH242526

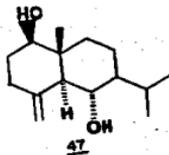
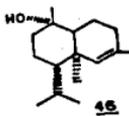
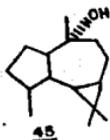
MONOTERPENOS

272829303132

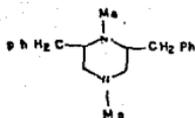
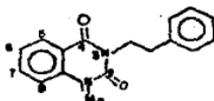
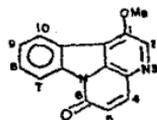
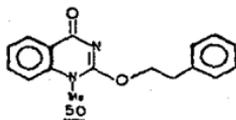
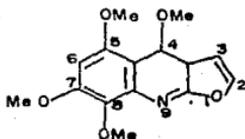
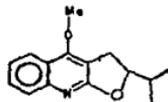
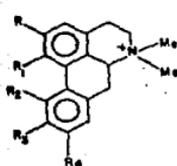
333435363738

Sesquiterpenes

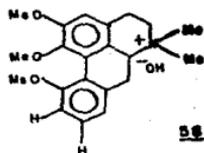
394043414244

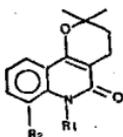


Alcaloides

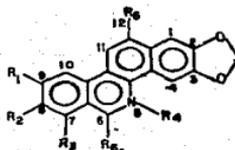
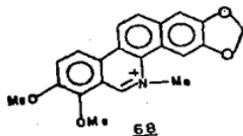
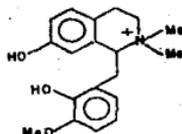
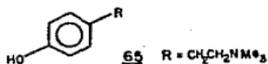
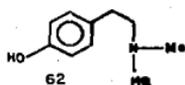
484952505153

	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
<u>54</u>	OMe	H	OH	OMe	H
<u>55</u>	OMe	Me	OH	OMe	H
<u>56</u>	OMe	OH	H	OMe	OMe
<u>57</u>	OMe	OH	H	OMe	OH
<u>59</u>	OMe	OH	OMe	OMe	H

56

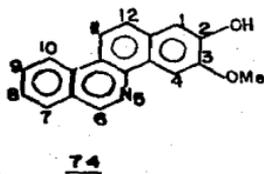
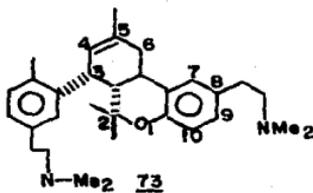
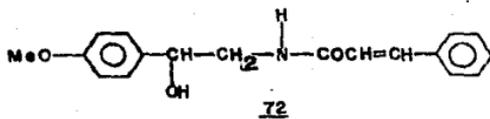
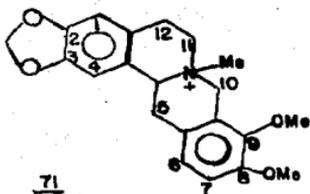


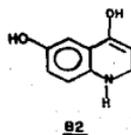
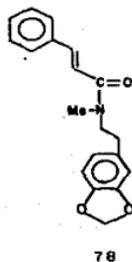
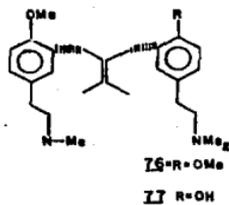
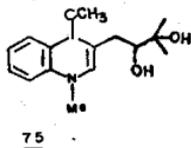
	R ₁	R ₂
<u>60</u>	H	H
<u>61</u>	H	OMe
<u>63</u>	CH ₂ OCOMe	OMe
<u>64</u>	CH ₂ OCOMe	OH



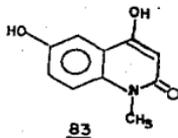
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
<u>69</u>	OMe	OMe	H	Me	H	H
<u>70</u>	H	OMe	OMe	Me	OEt	H
<u>71</u>	H	OH	OMe	H	H	H
<u>80</u>	H	OMe	OMe	Me	H	OMe
<u>81</u>	H	OMe	OMe	H	H	H

* Los metabolitos numerados del 71-78 estan en las Pag. 44 y 45.

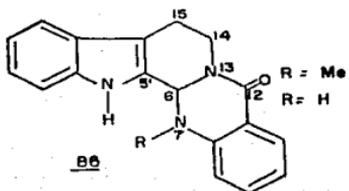
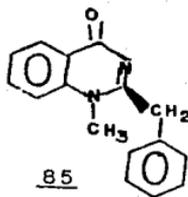
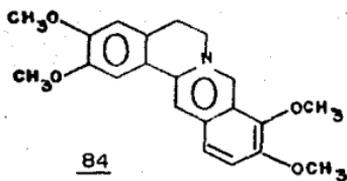


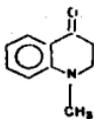
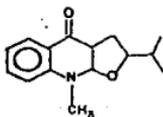


*

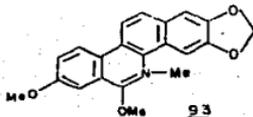


* Para ver la estructura 79-81 pasar a la Pag. 43.

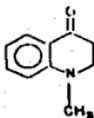
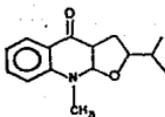


8689

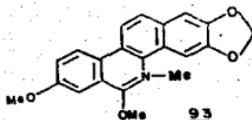
*

93

* Las estructuras 91-92 se localizan en la pag. 36.

8889

4

93

* Las estructuras 91-92 se localizan en la pag. 36.

2. MATERIALES Y METODOS.

2.1 Material vegetal

La planta utilizada en este estudio fue recolectada en Sn. Andrés Cacaloapan, municipio de Tehuacán Puebla, la recolección se hizo en septiembre, 1985. Una muestra de referencia se depositó en el "Herbario de plantas útiles, Efraim Hernández X", de la Universidad Autónoma Chapingo (Xolo-198126) y fue identificada por el M.C. Erick Estrada del departamento de Fitotecnia de la misma Universidad.

El material vegetal se secó a la sombra a temperatura ambiente, luego se pulverizó en un molino manual.

2.2 Método de Extracción, Fraccionamiento preliminar del extracto hexánico.

2.2.1 Método de Extracción.

El material vegetal se extrajo según el procedimiento señalado en el esquema 4.



1/ 2.9 Kg de hojas pulverizadas de Z. liebmannianum.

2/ Se hicieron dos extracciones con 16 litros de hexano con una duración por cada extracción de 3 días.

3/ Cantidad total de extracto hexánico, 02 g.

Esquema 4. Extracción de hojas de Zanthoxylum liebmannianum.

2.2.2 Fraccionamiento preliminar del extracto hexánico.

Del total de extracto hexánico (62g), se tomaron 57g. y se adsorbieron en 70g. de sílica gel 60 tamaño de malla --- (70-230). Luego se procedió a separar por cromatografía en columna empacada con 900g. de gel de sílice 60 (70-230).

La columna se eluyó primero con hexano, después, acetato de etilo y mezclas de ellos en diferentes proporciones, recogiendo un total de 118 fracciones de 200ml. cada una de acuerdo a la tabla 8.

2.3 Aislamiento y purificación de los Compuestos del Extracto hexánico.

a.- Las fracciones 8-14 (5g) eluidas con hexano-acetato de etilo 9:1 se recromatografiaron sobre 60g. de sílica -- gel. La elución se inició con hexano y luego con hexano-acetato de etilo en diferentes proporciones; se recogieron un total de 80 fracciones de 200ml. cada una. De las fracciones -- 32-37 eluidas con hexano-acetato de etilo 49:1 se obtuvieron después de recristalizar en metanol, 800mg. (0.027%) de un -- compuesto cristalino de $PF=169-170^{\circ}C$ compuesto 94.

b.- De las fracciones 15-67 de la columna original (tabla 8) eluidas con hexano-acetato de etilo 9:1, se obtuvieron 350mg. (0.012%) de un compuesto cristalino de $PF=117-118^{\circ}C$ -- compuesto 5.

c.- De las fracciones 93-103 de la columna original -- (tabla 8), eluidas con hexano-Acetato de etilo 9:1 se obtuvieron 1.30g. (0.044%) de un producto cristalino de $PF=117-118^{\circ}C$ compuesto 4.

TABLA 8. Eluyentes empleados en la separación del extracto hexánico del Z. liebmannianum.

ELUYENTE	PROPORCION	No. DE FRACCIONES	FRACCIONES REUNIDAS	OBSERVACIONES
Hexano	100%	1-6	1-6	DESCARTADAS
Hexano-Acetato de etilo	9:1	7-118	7	DESCARTADAS
			8-14	*
			15-67	*
			90-92	*
			93-103	*
			104-118	DESCARTADAS

* Fracciones estudiadas

2.4 Caracterización de los Compuestos Aislados.

Los rendimientos de los compuestos aislados fueron culculados en base al peso seco del material vegetal.

2.4.1 Determinación de las constantes físicas y espec--- troscópicas.

Los puntos de fusión se determinaron en aparato de fisher Johns y en tubo de Thiele y no están corregidos. Las - cromatografías en columna se efectuaron en sílica gel 60 MERCK (70-230 mallas ASTM).

La pureza de los productos y el desarrollo de las fraccio- nes se siguió por cromatoplasmas de sílica gel Merck F-254 uti- lizando como revelador, sulfato cérico amoniacal al 1% en áci- do sulfúrico 2 N.

Los espectros de i.r. se corrieron en un espectrofotómetro nicolet FT-55X ó Parkin Elmer Mod. 28.3 b, los espectros de - ¹H-rmn en un espectrofotómetro varian FT 80A y 60A, empleando Tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los espectros de masas en un espectrómetro Hewlet Packard 5985 B.

Los datos de rotación óptica se determinaron en un polarí- metro digital Jasco Mod. DIP 360.

Se agradece al personal técnico académico del Instituto de Química, de la División de Estudios de Postgrado de la facul- tad de Química y de la ENEP "Zaragoza" de la Universidad Na- cional Autónoma de México, su amable y dedicada cooperación.

2.4.2 Preparación de derivados y reacciones químicas.

Reacción con la 2,4-Dinitrofenilhidrazina.

1. Prueba para cetona.

Del compuesto 94, se pesaron 100mg y se disolvieron

en 2ml de cloroformo, se le agregaron 2ml. de solución de --- 2,4-dinitro fenilhidrazina, se dejó en reposo durante 3 días, - se filtró en un embudo, Buchner, los cristales fueron lavados con metanol (2:30ml), a continuación se procedió a una recristalización con un sistema cloroformo-metanol. El nuevo producto fue comparado por C.C.F., con la materia prima.

II. Reacción con KMnO_4 (Reactivo de Raeyer).

A este compuesto 94, se le hizo una prueba de insaturación con KMnO_4 al 2% (1 a 2), una pequeña muestra de esta -- sustancia orgánica se disolvió en 5ml de cloroformo fue agregado gota a gota (10-15) la solución de permanganato, hasta que permaneció invariable la coloración.

III. Formación de una Oxima.

De este compuesto se pesaron 100mg. y se mezclaron - con 100mg. de clorhidrato de hidroxilamina, a la mezcla se le adicionaron 5ml. de piridina mas 5ml. de etanol absoluto, se reflujó por un período de 2 hrs. en baño de vapor. El compuesto resultante se trituró con 5ml. de agua y fue filtrado en em budo buchner a vacío. Los lavados se realizaron con metanol, la recristalización se llevó a cabo con cloroformo-metanol.

IV. Prueba para aldehídos (Reactivo de Tollens).

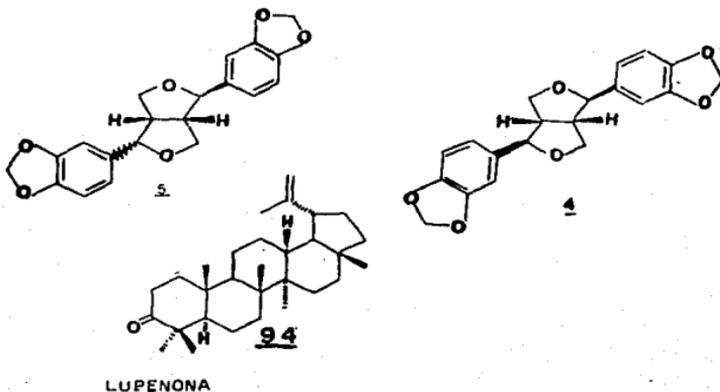
En un tubo de ensayo se tomó una muestra de 30mg. -- del compuesto (94), para probarlo como aldehído, para ello se adicionó medio ml. de reactivo de Tollens gota a gota (preparado un momento antes).

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Resultados.

Del extracto hexánico de las hojas del colopahle, después de haberlo fraccionado a través de una cromatografía en columna (tabla 8), y posteriores cromatografías sucesivas - se identificaron tres compuestos. Dos Lignanos; d(+)-sesamina 4 y 'd(+)-asarinina 5, un triterpeno: lupenona 94. Los lignanos ya se han aislado de otras especies; del género Sesamum, fagara (Perneman, 1986) y del género Zanthoxylum (Waterman, - 1975, 1976'; Renlixuanxie, 1986) específicamente de la especie estudiada (corteza) (Navarrete, Reyes 1987). El triterpeno - Lupenona 94 no ha sido aislado del género Zanthoxylum pero si del género Sesamum.

La identificación y caracterización de los metabolitos aislados se realizó por medio de sus constantes físicas y espectroscópicas así como por la formación de derivados.



3.2 Discusión de resultados.

3.2.1 Identificación de la d(1)-asarina 5

En las fracciones de menor polaridad del cromatograma de elución con hexano acetato de etilo 9:1 (62-67 y 90-92) de la primera columna cromatográfica, cristalizó un compuesto que después de sucesivas recrystalizaciones con hexano-acetato de etilo, dió un compuesto cuyas constantes físicas y espectroscópicas se muestran en la tabla 2. En el espectro de masas (espectro 1), mostró un ion molecular M^+ 354 que calcula para $C_{20}H_{18}O_6$, por otro lado en el espectro de ir (espectro 2) se observa una vibración débil a 1720 cm^{-1} típica de un anillo aromático, además de una banda de fuerte intensidad a 1030 cm^{-1} características de vibración carbono enlazado a oxígeno (C-O), en consecuencia se encontró que el mismo espectro de ir muestra una banda a 790 cm^{-1} y a 925 cm^{-1} estas señales son congruentes con un sistema aromático trisustituido, -1,2,4, (Dyer, 1978). Con los datos anteriores se podría plantear la siguiente fórmula parcial para este compuesto (Fig. 1)

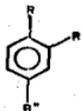
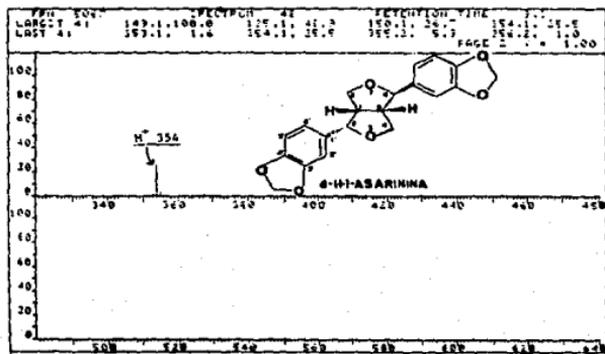
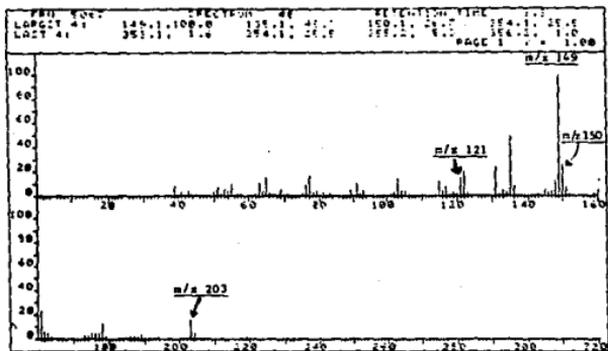


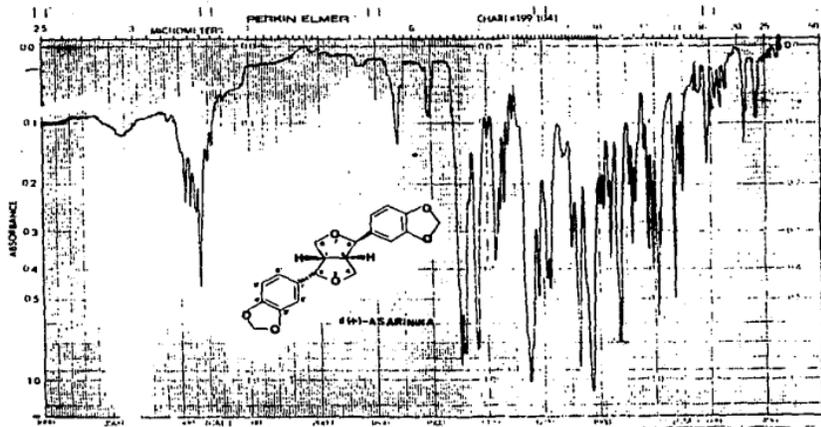
Figura 1. Fórmula parcial del compuesto 5.

TABLA 9. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto 5. (asarinina)

PROPIEDAD	RESULTADOS
ρ -f	117 - 118°C
$\left[\alpha \right]_D^{20}$	+120 (CHCl ₃)
em _a m/z (%)	354 (M ⁺ , 25), 203 (15), 179 (10), 150(26), 149(100), 135(49), 121(15).
i r v $\begin{matrix} \text{CHCl}_3 \\ \text{max} \end{matrix}$ cm ⁻¹	3010, 2985, 1500, 1475, 1435, 1250, 1030, 925, 790, 630, 1720
H ¹ -rnn (60MHzCDCl ₃ , ppm)	2.85 (m, 1H, H-5), 3.3 (m, 2H, H-1, H4e), 3.55 (m, 2H, H-4a, H-8a) 4.15 (d, 1H, J=5Hz, H4e), 4.35 (d, 1H, J=7Hz, H-6), 4.75 (d, 1H, J=7, H-2), 5.93 (s, 4H CH ₂ ) , 6.79 (m, 6H, H-2, H-5, H-6)



Espectro 1. Espectro de masas de asarinina 5 por impacto ---
electrónico.



Espectro 2º Espectro de infrarojo de d-(+)-asarina 5 en cloroformo.

Lo anterior está de acuerdo con lo observado en el espectro de H^1 -rnm (espectro 3) en el que se muestra un conjunto de señales a campo bajo entre 6.73-6.81 p.p.m. y cuya región es característica de protones de tipo aromático, tomándose también en cuenta que dicho conjunto de señales integra para --- tres protones. En el mismo espectro de H^1 -rnm (espectro 3), se encontró una señal a 5.93 p.p.m. que integra para dos protones, dicha señal es adecuada para un sistema de dioximetileno aromático semejante al piperonal 95 (fig. 2).

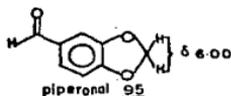


Fig. 2. Estructura del piperonal en que el grupo dioximetileno es semejante en su desplazamiento químico con el compuesto 5.

En consecuencia la fórmula parcial propuesta (fig. 1), se encuentra apoyada por las observaciones anteriores y por lo tanto se podría postular la siguiente fórmula parcial nueva. (fig. 3).

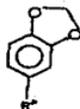
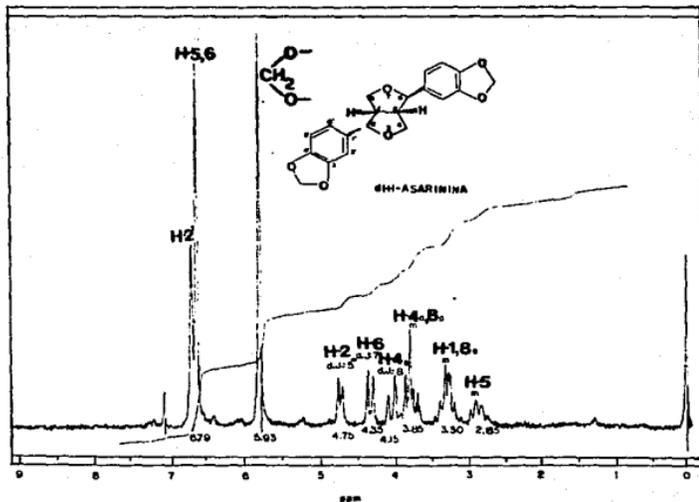


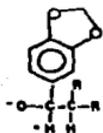
Fig. 3. Fórmula parcial propuesta para el sistema aromático sustituido.



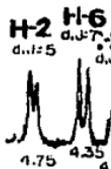
Espectro 3. Espectro de resonancia magnética nuclear de β -(+)-asarina 5 en CDCl_3 .

De las fórmulas parciales I y II, la fórmula I, no es muy adecuada, ya que en el espectro de ir, no aparece banda intensa para grupo carbonilo de cetona en 1715 cm^{-1} , tampoco a 1725 cm^{-1} para aldehídos ni a 1735 cm^{-1} para grupo éster. Por lo que la fórmula parcial II está en concordancia a lo propuesto anteriormente.

Continuando con la discusión, en su espectro de ^1H -rnm. Se distinguió un doblete centrado a 4.75 p.p.m. que integró para un protón, lo cual permitió inferir que correspondía a protón base de oxígeno y de anillo aromático, con un hidrógeno vecino por lo que se propuso la fórmula parcial III (Fig. 6)



Fórmula parcial III

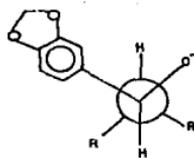
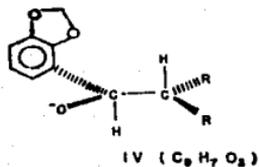


Fórmula Parcial III

Fig. 6. Fórmula parcial que muestra multiplicidad del protón* base de oxígeno y de anillo aromático con un protón vecino.

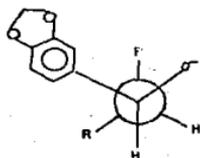
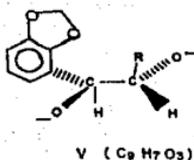
Por otro lado la constante de acoplamiento del protón anterior indicó que está dispuesta de manera trans-diecuatorial con respecto a su hidrógeno vecino, H (el hidrógeno vecino es el que no tiene el asterisco) ya que tal constante de acoplamiento "J" es del orden de los 5Hz. Cuando ambos hidrógenos tuvieran disposición transdialaxial según se representa en las fórmulas parciales IV, V. (Fig. 7) La constante de acoplamiento tendría un valor mayor a los 5Hz debido a un mayor ángulo diedro.

Fórmulas parciales



$$J > 5 \text{ Hz}$$

mayor valor de
ángulo diedro



$$J \approx 5 \text{ Hz}$$

menor valor
de ángulo diedro

Fig. 7. Fórmulas parciales (C₉H₇O₃) y proyecciones de Newman que muestran la disposición de los hidrógenos situados a 4.75 ppm de su espectro de ¹H-rmn.

Si a continuación se resta de la fórmula molecular - - - $C_{20}H_{18}O_6$ el fragmento de fórmula parcial IV, V ($C_9H_7O_3$), resulta un fragmento de fórmula $C_{11}H_{11}O_3$, por lo que la estructura del compuesto se compone de los fragmentos siguientes. (fig. 8)

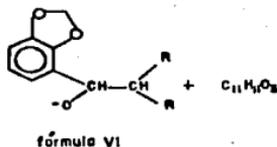


Fig. 8. Fragmentos que componen la estructura del compuesto 5

De otra manera se observa que en el espectro de H^1 -rnm (espectro 3) que la suma de los protones por la integración resulta que existen 9 hidrógenos, sin embargo la fórmula molecular de este compuesto mostrado por el ion molecular de su espectro de masas es $C_{20}H_{18}O_6$, lo que hace suponer que se trata de una estructura dimérica o que existe simetría es decir; que debieran de existir dos residuos de fórmula parcial V y VI y otro residuo que está representado por la fórmula C_2H_4 como muestra en la fig. 9.

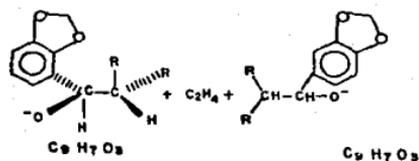
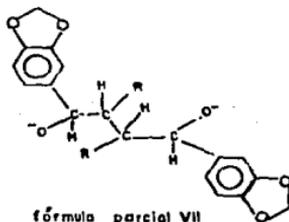


Fig. 9 Representación de los fragmentos que podrían explicar la estructura dimérica-simétrica del compuesto 5.

Se propuso que el residuo de fórmula C_2H_4 debería conectar a los fragmentos de fórmula $C_9H_7O_3$ de acuerdo a las estructuras siguientes (fig. 10). Fórmula (VII)



Fórmula Parcial VII

Fig. 10. Forma propuesta en la cual se podría conectar los fragmentos $C_9H_7O_3$

En consecuencia el fragmento C_2H_4 podría corresponder a -- dos subfragmentos de fórmula $-CH_2-$, en vista de que la molécula

la es dimérica por lo que se podría insertar en los oxígenos de la fórmula parcial V formando enlaces de tipo éter (C-O) ya que de otra manera hidrógeno unido a hidroxilo permitiría observar la vibración en 3400 cm^{-1} en su espectro de infrarrojo, situación que no se presenta en tal espectro, por lo tanto se propusieron las fórmulas VIII, IX. (Fig. 11)

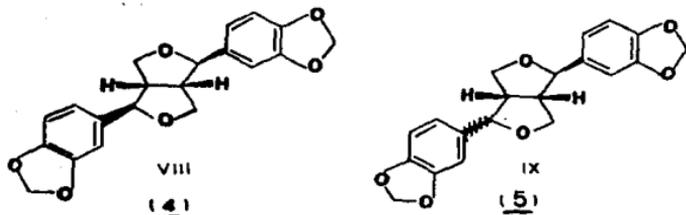


Fig. 11. Fórmulas propuestas del producto natural en discusión.

Las fórmulas anteriores son congruentes con el multiplete -mostrado en 2.85 p.p.m. en su espectro de H^1 -rnm que corresponde al protón localizado en la fusión del sistema dioxabicyclo [3,3,0] octano. (Fig. 12)



Fig. 12. Sistema dioxabicyclo [3,3,0] octano donde se muestran los hidrógenos en la fusión de los anillos.

Sin embargo al analizar el espectro de H^1_{rnm} de este producto natural se observó un doblete adicional a campo bajo, situado a 4.35 p.p.m. que integró para 1-H con una constante de acoplamiento de 7 HZ, típico de relación transdiaxial y que fue asignado a otro protón base de oxígeno y sistema aromático (Fig. 7) lo cual es congruente con la estructura XII, mientras que la estructura XI, dada su simetría, presentaría solamente un doblete para un protón base de oxígeno y anillo aromático, según se aprecia en la figura tridimensional mostrada. (Fig. 13).

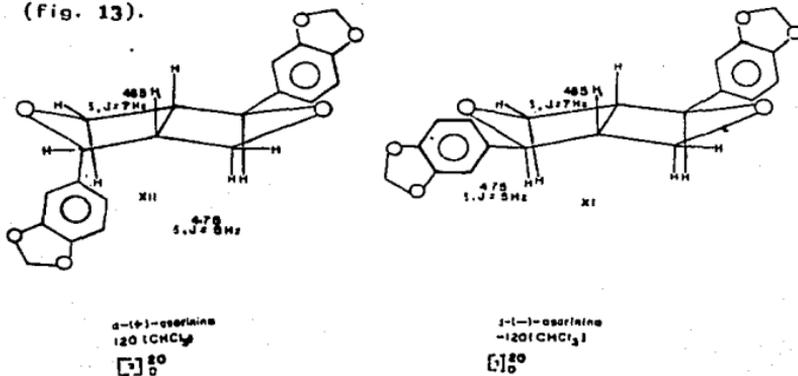


Fig. 13. Posibilidades estructurales del compuesto en discusión representando su estereoquímica.

La estructura de asarina 5, se apoya en su espectro de masas, en el que se distinguieron los fragmentos siguientes: (fig. 14)

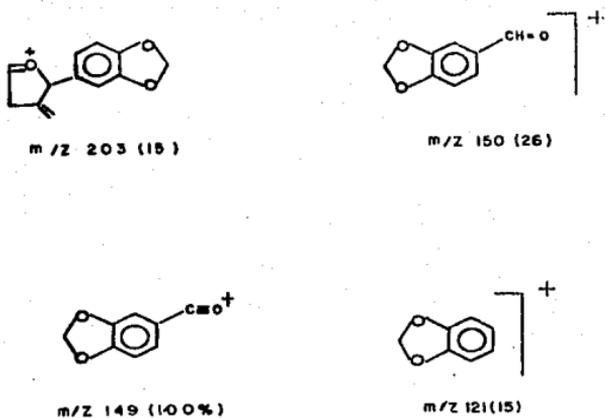


Fig. 14. Fragmentos característicos del producto natural - asarinina 5.

Sin embargo existen dos estereoisómeros de asarinina 5, - los cuales pueden distinguirse por su dato de rotación óptica según se muestra en la (figura 15)

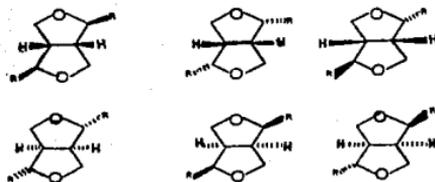
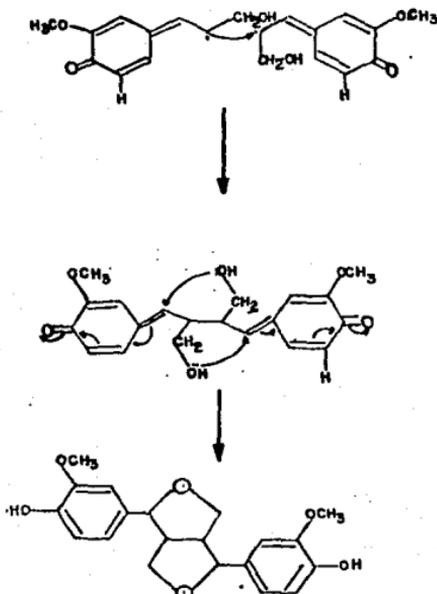


Fig. 15: Esteroisómeros antípodos de la sesamina 5.

La biogénesis de productos naturales apoya también el arreglo y disposición de estos compuestos ya que se producen por distintas rutas biogénéticas que pueden ser: acetogénesis o - por vía fenilalanina. (Esquema 5)

La discusión anterior así como los argumentos, figuras e implicaciones, serán utilizados como base para la elucidación estructural de d(+)- sesamina un lignano conocido que será -- descrito posteriormente.

ESQUEMA 5: ESQUEMA DE RIÓGENESIS

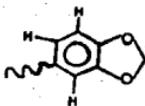


Finalmente el resultado de la rotación óptica $[\alpha]_D^{20} = +120^\circ$ de este compuesto demuestra que se trataba de la $d(+)$ -asarini na 5 y al revisar la literatura especializada (Ren, Lixuan, Xie, 1986) se encontraron datos que concuerdan con el producto natural discutido

3.2.2 Identificación de d-(+)-sesamina 4

De las fracciones 93-103 eluidas con hexano acetato de etilo 9:1 precipitaron 1.3 g (0.044%) de un compuesto cristalino cuyas constantes físicas y espectroscópicas se resumen en la tabla 10.

El espectro de masas obtenido por impacto electrónico (Espectro 4), permitió establecer la fórmula molecular para este compuesto como $C_{20}H_{18}O_6$. Tanto el espectro de masas (espectro 4) como el espectro de infrarrojo (espectro 5) de este compuesto, fueron similares, a los espectros de asarinina (espectro 1, 2). La señal a 6.76 p.p.m. en el espectro de H^1 -rnm (espectro 6) que integra para 3 protones aromáticos, así como la señal a 5.9 p.p.m. del sistema dioximetileno (i.r. vibración a 1245 cm^{-1}) indica la presencia de un metilendioxifenilo (Fig. 16) en la estructura del compuesto.

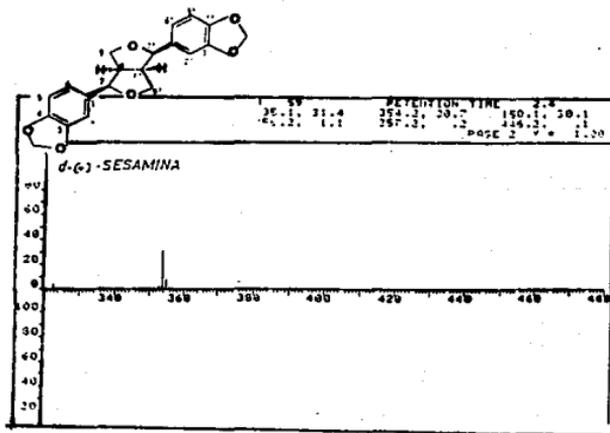
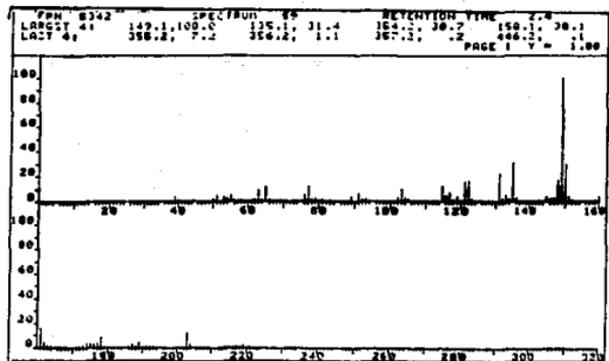


Fórmula XIII

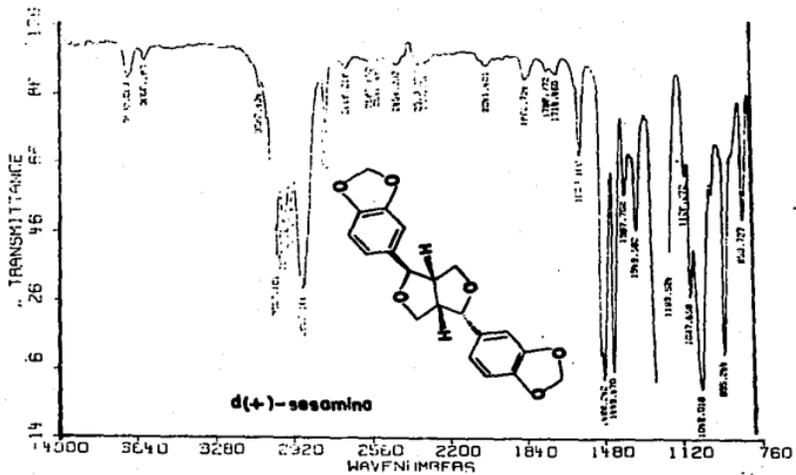
Fig. 16 Estructura de metilendioxifenilo.

TABLA 10. CONSTANTES FISICAS Y ESPECTROSCOPICAS DEL COMPUESTO 4 SESAMINA.

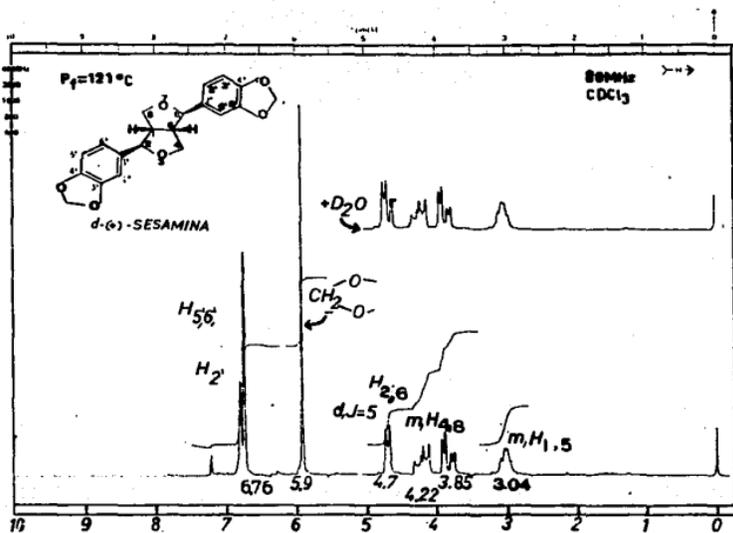
PROPIEDAD	RESULTADOS
p f	117 - 118°C
$[\alpha]_D^{20}$	+68° (CHCl ₃)
em em/z (̄)	354 (M ⁺ , 25), 203 (12.5), 179 (10), 150 (30), 149(100), 135(49), 121(17).
i. r. $\nu_{\max}^{CHCl_3}$ cm ⁻¹	3022, 3010, 2881, 1488, 1245, 1041, 935, 810.
H ¹ rnm. 60 MHz, CDCl ₃ p. p. m.	3.04(m, 2H, H-5 H-1), 3.85 (dd, 2H, J= 4,9 Hz, H4e), 4.22 (dd, 2H, J=8 HZ, H-8a), 4.70(d, 2H, H-8e J=5Hz, H-2 H-6). 5.90 (s, 4H, CH ₂), 6.76(m, 6H, H-2', H-5; H-6)



Espectro 4. Espectro de masas de *d(+)*-sesamina 4 por impacto electrónico.



Espectro 5. Espectro de infrarojo de d-(+)-susamina \downarrow en cloroformo.



Espectro 6. Espectro de resonancia magnética nuclear de $d-(+)$ -sesamina 4 en CDCl_3 .

Para hacer una comparación con otros compuestos semejantes se encontró en la literatura, algunas moléculas que poseen - además de la fórmula XIII, un anillo de tetrahidrofurano fu- sionado como sesangolina 98 (Jones, 1962), y asarinina 5 (dis- cutida en este mismo trabajo), pinorosinol 97 y eudesmina 96.

Todos los metabolitos antes mencionados, en su núcleo cen- tral tienen la fórmula condensada $C_6H_8O_2$ (fig. 17) todos ellos

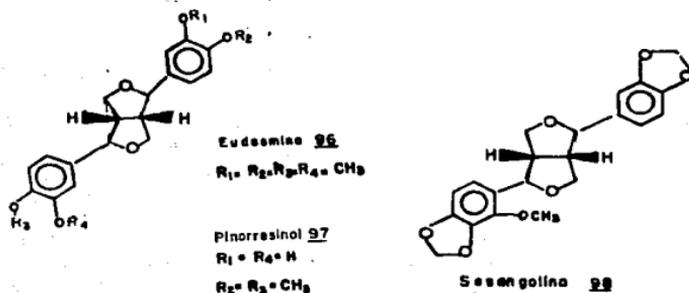
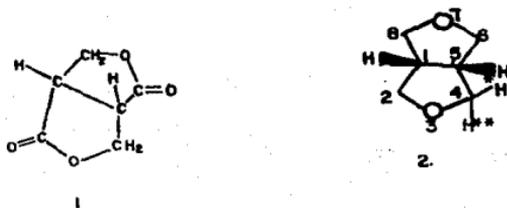


Fig. 17. Compuestos que como la sesamina 4 tienen un nú- cleo central en su molécula dos anillos de tetra- hidrofurano fusionados.

con grupos fenilos sustituyentes en la posición 2,4 ó 4,8. -- Los autores originales establecieron la estructura por medio de una oxidación con ácido nítrico (Jones, 1962), de estos -- compuestos resultaron una di- γ -lactona- ópticamente activa del ácido- α , β - bis (hidroximetil)-succínico (fig. 18) fórmula XIV (1), los grupos OXO, quedan localizados en los átomos de carbono en los que originalmente se encontraban los anillos aromáticos. Erdtman y Gripenberg (1947), han señalado que los hidrógenos 1 y 5 deban tener configuración cis, ya que una -- configuración trans de XIV (1) debería dar una molécula simétrica, que no es el caso.



fórmula XIV (1) y (2)

Fig. 18. Fórmula XIV; di- γ -lactona- de la reacción con -- ácido nítrico (1), y (2) representación del tetra hidrofurano fusionado.

La resonancia magnética nuclear H^1 -rnm (espectro 6) para -- ayudar a la elucidación de la molécula XIV (2) Fig. 18, proporciona la siguiente información: a campo bajo a 4.7 p.p.m. se observa un doblete que integra para un protón, este protón puede ser H-2 ó H-6 de la figura 18, fórmula XIV(2), el protón del carbono C-1, muestra a 3.04 p.p.m. una señal que se puede interpretar como un doblete de doblete. Así mismo los protones sobre C-4, se localizan en el espectro a 3.85 p.p.m. como dos dobletes, lo que sucede aquí es que los dos protones tienen un ambiente químico diferente, por la disposición esteoquímica del protón con doble asterisco (Fig. 18 XIV (2)) se observa el doblete más desplazado que el protón con un asterisco, que se encuentra en la figura citada anteriormente.

Con respecto a la molécula de la asarinina 5, discutida en el punto anterior en este mismo trabajo, al comparar el espectro de H^1 -rnm, se encontró que en la sesamina 4 existe un doblete a 385 p.p.m. que no se localiza en la asarinina, por -- otro lado se ha descrito, que el metabolito de asarinina es -- un isómero asimétrico de la sesamina 4 (Jones , 1962). Así -- mismo el ion molecular observado en M^+ 354(31.2%) que calcula para $C_{20}H_{18}O_6$ confirma lo anterior asumiendo que la d(+)- sesamina es estereoisómero de la d(+)-asarinina; apoyándose en la discusión del punto 3.2.1 (pag. 55). Lo que resta es unir los fragmentos de la figura 16 fórmula XIII y la figura 18 -- fórmula XIV(2) en la posición que se indica. Y se representa en la figura 19. (Fórmula parcial XV)

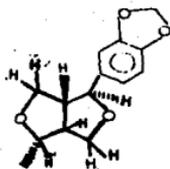


Fig. 19. Fórmula parcial XV que representa la unión de los fragmentos de la fórmula XIV (2) y XIII.

Finalmente solo faltaría el fragmento $C_7H_5O_2$ el cual calcula para una molécula semejante a la fórmula propuesta en la (Fig. 16). Pero como el espectro de H^1 min indica que se trata de una molécula dimérica bajo argumentos análogos en los descritos en la pag. 66 (Fig. 11), puede finalmente establecerse y formularse la molécula d-(+)-sesamina como se muestra en la (Fig. 20) lo cual es congruente con el dato de rotación óptica $[\alpha] + 68^\circ$. (Betto, Casimovi, 1988)

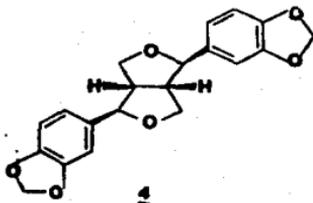


Fig. 20. Representación de la d-(+)-sesamina como finalmente se ha establecido.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

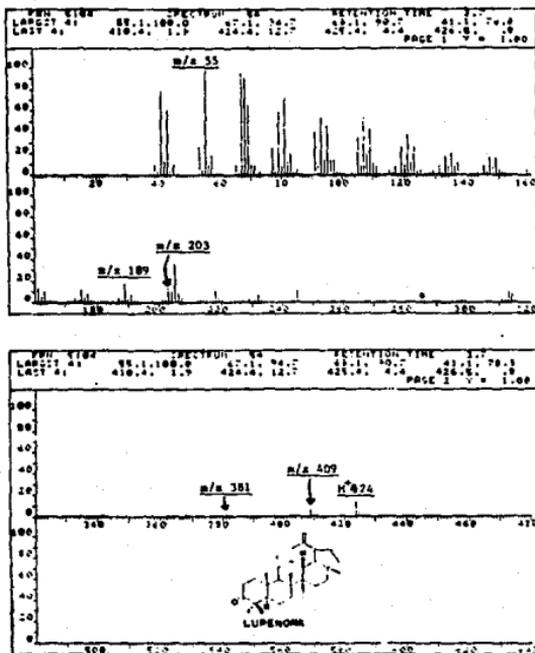
3.2.3 Identificación de la Lupenona 24.

De la recromatografía de la fracción 8-14 (aguas madres), en la polaridad hexano-Acetato de etilo (1:4) se aisló un compuesto cristalino blanco cuyo punto de fusión fué 170-172°C. En la tabla 11 se resúmen las constantes físicas y espectroscópicas para este compuesto. El ion molecular resultante del compuesto antes mencionado dió un M^+ 424(12%) dado por su espectro de masas (espectro 7) que calcula para - - - $C_{30}H_{48}O$, al analizar el espectro ir (espectro 8), muestra una banda intensa a 1698cm^{-1} (5.9μ) que es característico de un grupo carbonilo cetónico de ciclohexanona. Así mismo a 1458cm^{-1} se observó otra banda típica de grupo metileno, a 1382cm^{-1} , del mismo espectro, presentó señal para metilos.

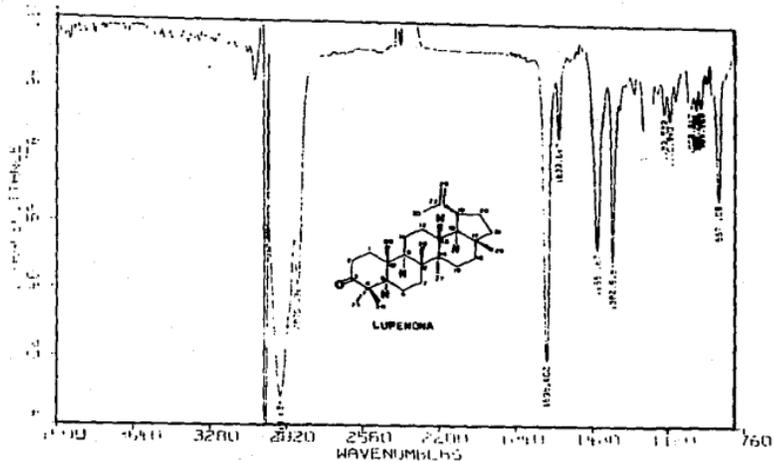
El peso molecular obtenido por espectrometría de masas - - - (M^+ , 424) y las vibraciones en su espectro de ir permitieron sugerir una serie de posibilidades estructurales de acuerdo a los datos descritos para productos naturales conocidos y estos se muestran en la fig. 21.

TABLA 11. CONSTANTES FISICAS Y ESPECTROSCOPICAS DEL COMPUESTO 94 LUPENONA

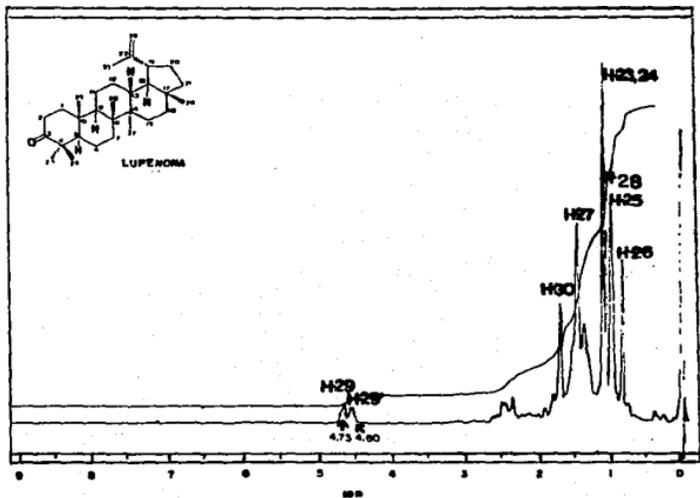
PROPIEDAD	RESULTADOS
PF.	170°C - 172°C
$\left[\alpha \right]_D^{20}$	67° (CHCl ₃)
emie m/z (%)	424 (M, C ₃₀ H ₄₈ O, 12.7) 409 (6%), 381 (5%), 189 (37%), 203 (37%), 191 (8%), 55 (100%), 67 (94%), 68 (91%), -- 41 (79%).
i. r. ν $\begin{matrix} \text{CHCl}_3 \\ \text{cm}^{-1} \\ \text{max} \end{matrix}$	3013, 2943, 1698, 1458, 1352, 887,
H ² -rnm 60 MHz, C DCI ₃ p.p.m.	0.86(S, H-26), 0.95(S, H-25), 1.02(S, H-28), 1.06(S, 6H, H-23, 24) 1.43(S, H-27); 1.66(S, H-30), 4.60(S.A., H-29), 4.73(S.A., H-29)



Espectro 7. Espectro de masas de lupenona 94 por impacto electrónico.



Espectro 8. Espectro de infrarojo de lupenona 94 en cloroformo.



Espectro 9. Espectro de resonancia magnético nuclear ¹³C de lupenona 94 en CDCl₃.

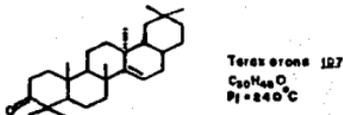
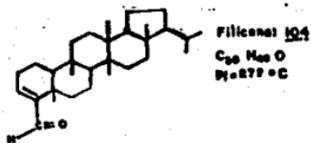
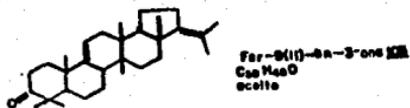
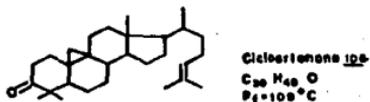
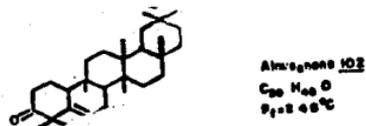
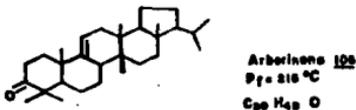
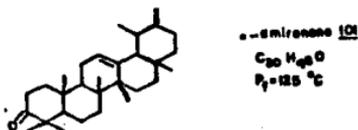
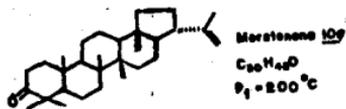
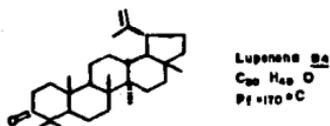
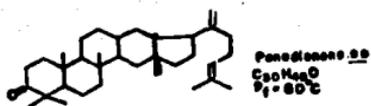


Fig. 21. Posibilidades estructurales que dan ion molecular $M^+ 424$.

De las posibilidades estructurales anteriores (Fig. 21), - Pamadienona 99, mostraría tres señales para protones vinílicos en sus espectros H^1 rmn, cosa que no se observa en el espectro de resonancia del producto natural en discusión así como por su punto de fusión (pf=80°C) no correspondería al mismo (pf=170-172°C). Así mismo, α -amirenona, 101, alnusenona 102 Fern-9(11)-en-3-ona 103, filicenal 104, arborinona 105, y taraxerona 107, mostraría un triplete cada una en la región de protones vinílicos de su espectro de H^1 rmn, cosa que no se presenta en el espectro de resonancia de este producto natural, por otro lado cicloartenona 106, presentaría un multiplete en la misma región de protones vinílicos. En contraste el espectro de H^1 rmn de este producto natural muestra dos singuletes anchos a 4.60 y 4.73, por lo que las posibilidades estructurales se circunscriben a dos; Morotenona 100 y lupenona 94, tales estructuras se apoyan en su espectro de masa (espectro m/z) donde se observan fragmentos típicos de triterpenos -- pentacíclicos m/z 205 y m/z 189 de lupano 108 y hopano 109 -- fragmentados por un arreglo retrodiels-alder. Sin embargo el punto de fusión de Morotenona 107 es muy alto comparado con el de este producto natural por lo que se discutirá en función del esqueleto de Lupano.

Así se infirió que se trataba de un triterpeno pentacíclico del tipo del lupano o de hopano, de tal forma que presentarían todos ellos un esqueleto como el que se muestra en la (fig.22)

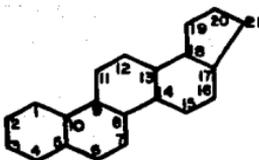


Fig. 22. Que muestra el esqueleto de un triterpeno pentacíclico Lupano u hopano.

Por otro lado el espectro de H^1 rnm (espectro 9), entre --- 0.65-1.5 p.p.m. pueden distinguirse seis señales alargadas -- las cuales presentan a 7 metilos que son los que se encuen--- tran en esqueletos de Lupenona y Morotenona.

Se ha considerado con esta clase de moléculas, por ejemplo cada uno de los compuestos de la fig. 23, los cuales muestran un fragmento, pico base en m/z 203, el que podría deberse a - un ión de fórmula XVI (fig. 24).



Fig. 23. Muestra moléculas con esqueleto de lupano 108 cu y o pico base es m/z 203.

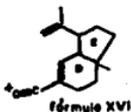


Fig. 24 Fórmula XVI, representación del ion molecular m/z - 203.

En este sentido se postuló que el ion de la fig. 24 fórmula XVI, pudo originarse de la fisión entre C-8 a C-14 y de C-12 a C-13; como se vería en la (fig. 25), fórmula XVII, XVIII, XIX. En cada caso se encontraron datos de los anillos D y E, de -- los triterpenos pentacíclicos (fig. 22-23) o en la serie de -- Lupano y hopano (fig. 25). (Ogonkoya, 1981)

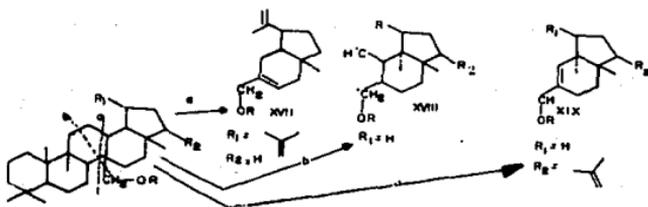
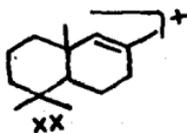
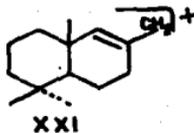


Fig. 25. Fragmentación del esqueleto de Lupano 108 y hopano 109.

Al fisionar en C-9 a C-11 y C-8 a C-14, se completa la estructura. Encontrándose anillo A y B del triterpeno pentacíclico y con ello da el pico en m/z 192 y 191 respectivamente.



m/z 192



m/z 191

Fig. 26. Fragmentos de la estructura del triterpeno, que completa los picos en m/z 191 y 192.

Por otro lado la ruptura que proporciona el pico base de la Lupenona 94 (Fig. 21), produce el fragmento m/z 55, esta fragmentación es característica de ciclohexanonas (Fig. 27).

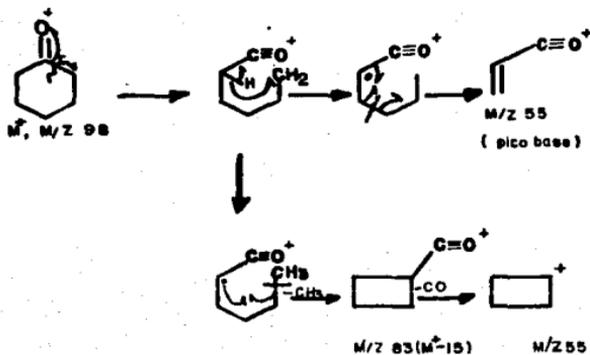


Fig. 27. Patrón de fragmentación de la ciclohexanona.

En consecuencia tal patrón de fragmentación debe sugerirse para Lupenona 94 como se muestra en la fig. 28.

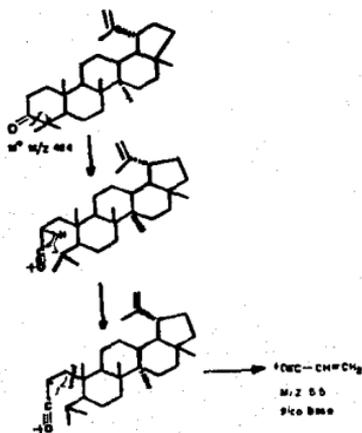


Fig. 28. Fragmentación propuesta para Lupenona 94 que explica el pico base m/z 55.

En el emie para Lupenona aparecen los fragmentos m/z 381 y m/z 409 que se forman a partir de la fórmula XXII, congruentes con la fragmentación de ciclohexanonas. (Figura 29)

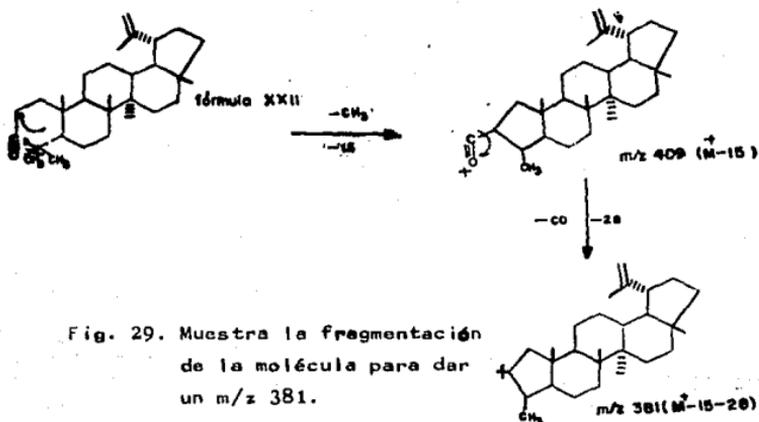


Fig. 29. Muestra la fragmentación de la molécula para dar un m/z 381.

Así mismo, el pico m/z 381 puede formularse por otra ruta propuesta. (Figura 30)

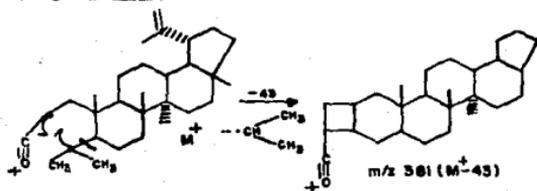


Fig. 30. Que muestran la fragmentación que explican m/z 381 de lupenona 94.

Complementariamente, se realizaron algunas pruebas químicas para grupos funcionales, que consistieron en:

- a) Se efectuó un ensayo con el reactivo de Baeyer ($KMnO_4$) para detectar insaturación en la molécula de acuerdo a la reacción mostrada en la fig. 31.

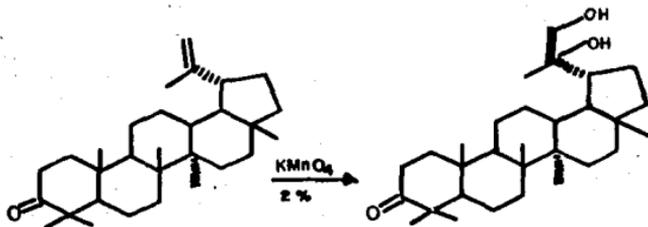


Fig. 31. Ensayo con reactivo de Baeyer ($KMnO_4$) para detectar insaturación.

Resultando positiva, por lo que se infirió que este producto natural contenía insaturación ($C=C$)

- b) Por otra vía se apoyó la presencia de grupo carbonilo, por que se observó un precipitado al tratar el producto natural con 2,4-Dinitrofenilhidrazina de acuerdo al siguiente procedimiento.

Se pesaron 100mg del producto natural y se disolvieron en 2ml de cloroformo, se adicionaron 2ml de 2,4-Dinitrofenil hidrazina y despues del tratamiento usual se obtuvieron 140mg. del producto de condensación (95.5%) cuyo punto de fusión --- (202°C)correspondió al reportado para el derivado de Lupenona (pf.202-204°C) . La reacción anterior se describe en la Figura 32.

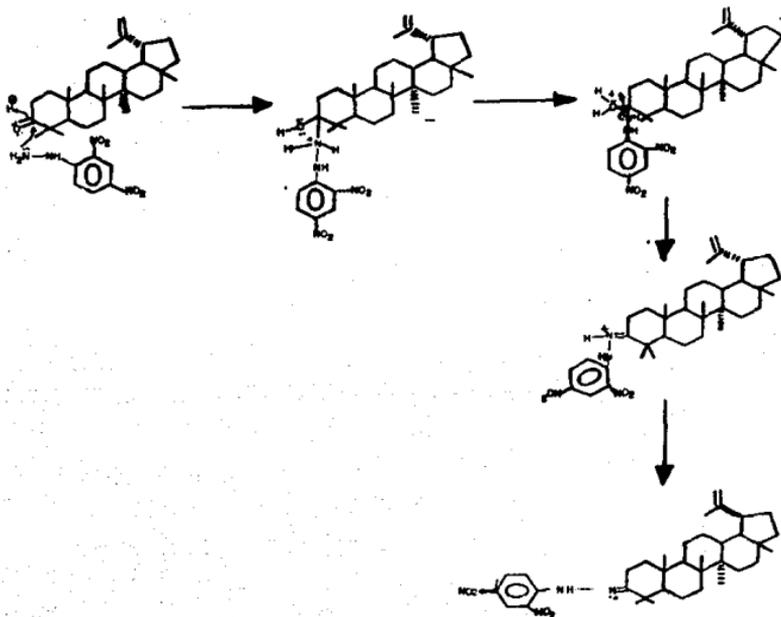


Fig. 32.Reacción de Lupenona con 2,4,Dinitrofenilhidrazina

c) También se realizó una prueba para aldehídos con el reactivo de Tollens la cual resultó negativa.

d) Finalmente se preparó la oxima de Lupenona cuyo producto no está descrito, según el siguiente procedimiento.

Se pesaron 100 mg de Lupenona y se mezclaron con 100 mg de clorhidrato de hidroxilamina, a la mezcla se le adicionaron 5 ml de piridina más 5 ml de etanol absoluto. Luego de haber completado el procedimiento se obtuvieron 80 mg. del producto (77.3%) resultando un punto de fusión 250-252°C. la reacción anterior se describe en la fig. 33.

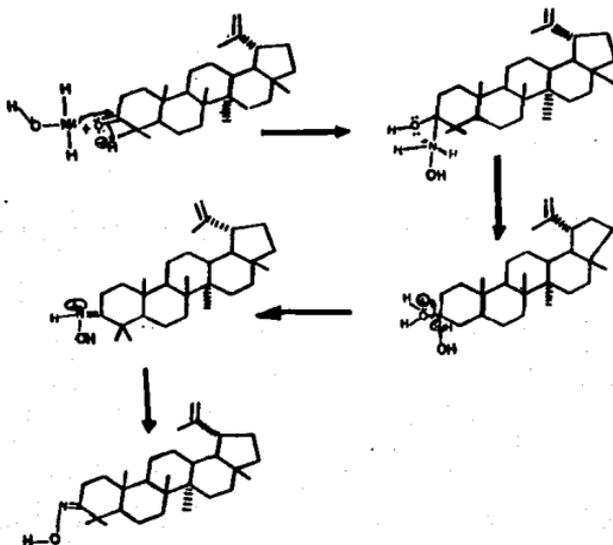
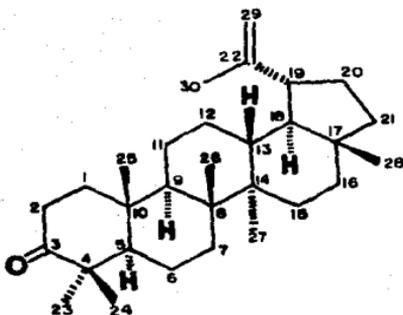


fig. 33. Preparación de la oxima de Lupenona.

La estructura así deducida correspondió a Lupenona compuesto que anteriormente había sido caracterizado como producto natural aislado de Cascia siamea lam. (Charttejee, 1966)



Lupenona 94

4.- CONCLUSIONES

Del presente capítulo se derivan las siguientes conclusiones.

- 1.- Se realizó el estudio fitoquímico de una de las especies del género Zanthoxylum, Z. liebmannianum.
- 2.- Del extracto hexánico de las hojas del Zanthoxylum liebmannianum se aislaron y caracterizaron dos lignanos y un triterpéno. Los lignanos fueron d-(+)-asarina con un rendimiento de (0.012%) 350 mg y d-(+)-sesamina con un rendimiento de (0.044%) 1.3 g del triterpéno lupenona se obtuvo -- 800 mg. (0.027%)
- 3.- Los lignanos aislados son metabolitos frecuentes en el género Zanthoxylum, aunque también son constituyentes de otros géneros tales como: Artemisia, (Reto, Gabriele, Gradolini y Menichini, 1988) y Sesamum, (Jones, Beroza y Becker, 1962). Por otro lado el triterpéno lupenona no se había aislado de este género, aunque se encuentra relacionado con lupeol aislado de Zanthoxylum flavum. Por lo que constituye una diferencia importante desde el punto de vista quimiotaxonomico ya que refuerza su clasificación botánica.
- 4.- El lignano sesamina es un metabolito muy importante ya que éste presenta actividad sinérgica con los insecticidas de tipo piretrinas lo cual es ya importante desde el punto de vista económico y biológico.

B I B L I O G R A F I A

- Adewina, S.K., (1986)., Further Novel Constituents of Zanthoxylum Zanthoxyloides Roots and pericarps. J. Nat. -- Prod. 49 (4) pp. 715.
- Adewole, L., Okunade. D.F., (1985)., (-)-Liololide, An Ant-Repelent Compound from Zanthoxylum setulosum. J. Nat. Prod. 48 (3)
- Aguilar, I.G., (1984)., Aislamiento del compuesto con actividad hipotensora de C. obtusifolia. Tesis de Licenciatura Q.F.B. Facultad de Química UNAM México.
- Amo, R., Silvia, del (1979)., Plantas medicinales del Edo. de Veracruz. Inst. Nal. de Rec. Bióticos, Xalapa Veracruz. México.
- Astudillo, V.A., (1983)., Análisis químico de Eryngium heterophyllum Engelman, y búsqueda del principio activo en el control de cálculos biliares inducidos en Hamster dorado (Mesocricetus auratus) Tesis de Maestría Botánica Colegio de Postgraduados Chapingo México.
- Reto, P., Casinovi, C.G., Gabriele., R., Gradolini, G., Menichini., (1988)., Estudio Sistemático de los componentes monores de la Artemisia urborascens L. (compositae) de Calabria. Rev. Latinoamericana. Quim. 19 (1) pp.40.
- Babajide, P., El-Alfy, T., (1985)., Volatile oils of Zanthoxylum rigidifolium and Zanthoxylum guilletii. Fitoterapia LVI, (4) pp. 240.
- Bannerman, H., (1977)., La medicina tradicional en el programa de la OMS. Crónica de la OMS, 31, 11, Ginebra, Suiza. pp. 479.

- Bannerman, H. R., (1980)., Organization and cooperation for development of studies of plant used in traditional medicine: Some guide lines for research and studies. J. of Ethnopharmacology. 2, pp. 189.
- Ballesteros, H. y Alpide, N.P., (1984)., Aislamiento y evaluación farmacológica preliminar de ácidos triterpénicos de semillas de Schinus molle (pirul). Tesis profesional. Químico Farmacéutico Biólogo ENEP "ZARAGOZA" -- UNAM. México.
- Barajas, C. L.E., (1951)., Los animales usados en la medicina popular Mexicana. México Imprenta Universitaria.
- Bernheid, H.O., (1978)., Alkaloids and other compounds of Z. berberu, Helv. Chim. Acta 61 pp. 2269
- Bulhoes, Castro, G.C., Silvia., (1946)., Phytochemical screening of plants native to North Heaster Brazil. Am. -- Fac. Quim. Universidad. Fed. Penabuco 15 pp. 3940.
- Burbage, L. And Wells, J., (1983)., Plantas medicinales: Incremento de las perspectivas en la Industria Farmacéutica Internacional 19 (2) pp. 26
- Cabrera, E., Cano., (1982)., Imágenes de la flora Quintanarroense ed. Inst. Biol. UNAM, CIQRO, Q. ROO. México
- Caolo, P.M., Anderson, P. And Stermitz, F.R., (1979)., Z. Puntatum Wahl. The cristal and molecular structure of -- isoalfileramine dihidrobromide. Tetrahedron 35 (1942)
- Casan, D.D., Sojo, C.M., (1967)., Caracterization of Zanthoxylum caribaeum. J. Chem. Soc. 6 pp. 2155.
- Chakraborty, D.P., Sroy., Sinha, S.P., (1979)., Padiotoxin and Germination inhibitin lignan from Z. acanthopodium -- D.C. Chemistry and Industry 19 (19) pp. 667.

- Chartterjee, R., Mukherjee, S.K., Shimany, R., Charjee., (1966).
J. Ind. Chem. Soc. 43 (63).
- Chartterjee, A., Majandar, G.S., (1954)., Alkaloids of glucosam
is Penthaphyla (Retz. D.C. Part. 1). J. of. Am. Chem.
Soc. 76 pp. 2459.
- Correia, A., Nogueira, L., (1960)., Preliminary phytochemical
Study of comopogen citratus. Garcia Horta 8 (3) - - -
pp. 629. Chem. Abat. 61 (9) 1960. 12325 g.
- Cramer, J.C., (1920-1928)., Washington Goverment Printing, ----
pp. 503.
- De Marfa y Campos, T., (1979)., Los animales en la medicina --
tradicional Mexicana - Anales de Antropología XVI. --
Universidad Nacional Autónoma de México.
- Della, C.D., Marcano, M., (1972)., Neutral compounds and alka-
loids. Phytochemistry of Zanthoxylum ocumarencs. ----
J. Chem. Soc. 11 pp. 1531.
- Domínguez, X.A., Renavides, C., (1974)., Zanthoxylum fagara o-
Z. Pterota Phytochemistry 19 pp. 630.
- Domínguez, X.O., (1979)., Métodos de Investigación Fitoquímica
Ed. Limusa, México.
- David, L., Dreyes. Brenner, R.C., (1980)., Alkaloids of some me-
xican Zanthoxylum species. Phytochemistry 19 (5) ---
pp. 935.
- Dyer, J.R., (1978)., Aplicaciones de espectroscopía de absor-
ción en compuestos orgánicos. Trad. (Juan A. Garbari-
no), Ed. Prentice / Hall International.
- Egeui, K., Tiaari, P., (1964)., Study of root of Z. oxyphyllum
J. Ind. Chem. Soc. 41 pp. 857.

- Ekundayo, P., Oguntimeint, B., Adeoye, A., (1986)., Volatile -
Constituents of the esencial oils of Zanthoxylum le-
prieurii. Fitoterapia LVII 4 pp. 267.
- Edtman, H. and Gripenberg., J., (1942)., Acta. Chim. Scand. 1
(71)
- Estrada, L.E., (1979)., Estudio biológico y cotejo experimen-
tal de la Yerba del wapo (Eryngium heterophyllum En-
gelm) en la prevención y curación de los cálculos bi-
liares inducido en el Jamster dorado (Mesonictus ara-
tus). Tesis de Maestría Centro de Botánica. Colegio -
de Postgraduados. México.
- Estrada, L.E., (1985)., Avances en las investigaciones sobre -
plantas medicinales en la Universidad Autónoma Chapin-
go, Edo. de México, Mimeógrafo. Departamento de Fito-
técnica, Sección Plantas Medicinales. Universidad Au-
tónoma Chapingo.
- Fish, F.A., Gray, I., Watterman, P., (1975)., Coumarin and lig-
nans from the bark of Zanthoxylum avicennae. Phytoche-
mistry 14 pp. 841.
- Fish, F. Watterman, P.G., (1973)., Taxon 22 pp. 177.
- Fish, F.A., Gray, I., Watterman, P.G. and in Part. Donachie, F.
(1975)., Alkaloids and coumarins from North American
Zanthoxylum species. J. Nat. Prod. 38 (3) pp. 268.

- Grina, J.A. and Stermitz, F.R., (1981)., (2S,5S)-2,5-dibenzil-1,4-dimetildimetilpiperazine a novel alkaloid from -- Zanthoxylum arborescens Tet. Lett. 22 (52). pp.5257.
- Guzman, D.J., (1980)., Especies útiles de la flora salvadoreña Edit. Dirección de Publicaciones el Salvador pp. 92-94.
- Heynauer, R., (1973)., Zanthoxylum punctatum, magnoflorina Chg mo taxonomic. Der Flasen 6 pp. 231.
- Heywood, V.H.,ed.(1978,1979) ., Flowering Plants of the world University Press. London.
- Higuchi, T., Ito, Y., (1967)., Chemical Propieties of milled - Wood ligning of grases. phytochemistry. 6 pp. 1531.
- Hisashi, I., Kazuo, K., IH-Sheng, C., (1982)., Estudios on the chemical constituents of Z. integrifoliolum. Chem --- Pharm. Bull. 30 (6) pp. 1992.
- Hisashi., Iahi., Tsutomu, I , (1982)., Estudios on the Chemical constituents of rutaceus. J. Chem. Soc. Perkins Trans I. pp. 2051.
- Ichiro, Y., Takeyda, K., (1981)., Two new pungent principles - isolated from the pericarps of Z. ailaintoides. Chem. Pharm. Bull 29 (6) pp. 1791.
- Ichiro, Y., Koichi, T., Hitokawa, H., (1982)., Distribution of unsaturated alifatic acid amides in japanese Zanthoxy- lum species. Phytochemistry 21 (6) pp. 1295.
- Jacobus, J.B., Phillip, M., Viviers, D.F., Roux, D.G., (1982)- Condensed Tanins: Competing nucleophilic centers in - biomimetic condensation Reaction. Phytochemistry 21 - (6) pp. 1289.

- Jones, W.A., Beroza, M., Becker, E.d., (1962)., Isolation and - structure of sesangolin, a constituents of Sesamun angolense (Welw). J. Org. Chem. 27 pp. 3232.
- Jonas, A. Grina and Stermitz, Fis., (1981)., (2S,5S) 2,5-dibenzil-1,4-dimethyl-piperazina a novel alkaloid from --- Zanthoxylum arborescens. Tet. Lett. 22 (52) pp. 5257.
- Kokwaro, J.O., Misana, L., (1983)., Research on African medicinal Plants coumarins from Z. usambarense. Planta médica 47 (4) pp. 251.
- Kornel, S., (1965)., Cecropia a possibility from pulp, in paper development in tropical areas. Indian pulp paper 20 - (2) pp. 145.
- Kuck, S. M., Albónico, A. M., Deuloteu and Escalante, M.G., --- (1967), Alkaloides from Argentina fagara species. Phytochemistry 6 pp. 1541.
- Lamy, Ph., Zolla, C., (1978)., La etnobotánica en relación con los problemas de la salud en México: Medicina tradicional 11 (5) pp. 19-35.
- Lazzara, P., Pizzetti, M., (1985)., Guía de árboles, Etid. grijalbo pp. 90-91 España.
- Lozoya, L.X., Oberti, S.S., Rodríguez, R.D., Velázquez, M.X., Chavez, S.A., Enríquez, L.R., (1977)., Medicina tradicional 1 (3) pp. 5-21.
- Manito, P., (1981)., Biosintesis of Natural Product. Ed. Ellis Horwood Limited N.Y.
- Martínez, M., (1969)., Plantas Medicinales de México. Ed. Botas, México.

- Martínez, M., (1979).. Plantas Mexicanas, nombres vulgares y científicos. Ed. Fondo de Cultura Económica, México.
- Maxon, Y., Pillow., (1952).. Length of fiber in certain Yucatan hardwoods. Tappl 35 pp. 328 Chem Abst. 46 (1952) 7323c.
- Muñoz, A. M., Torres, R., (1982).. Auriapten and flindersine from Zanthoxylum coco. J. Nat. Prod. 45 pp. 367.
- Najjar, S., Geofrey, A., (1982).. Alkaloids and coumarins from Zanthoxylum belizense. Phytochemistry 14 pp. 2309-2310.
- Navarrete, C.A., (1986).. Estudio Químico de las plantas medicinales usadas en medicina tradicional. Tesis de -- Maestría en Ciencias Químicas, Fac. Química. UNAM.
- Navarrete, C.A., Reyes, T.B., Aguirre, E., y Estrada, E., (1987), Estudio Químico de Zanthoxylum liebmannianum (colopahle), XVI Simposium internacional de química de productos naturales Monterrey N. León México, 28-30 abril pp. 3-7.
- Navarrete, C.A., (1982).. Estudio Químico y pruebas farmacológicas preliminares de la corteza de Juliana adstringens (Cuachalalate), Tesis de Licenciatura Q.F.B. - ENEP "Zaragoza".
- Organización Mundial de la salud. (OMS), (1978).. Informe de -- la conferencia internacional sobre atención primaria de salud. Alma-Ata, URS, 6-12 de septiembre de 1978 pp. 1-7.

- Organización de las Naciones Unidas para el desarrollo industrial (ONUDI), (1983), Desarrollo de fármacos basados en Plantas medicinales. Segunda consulta de la industria farmacéutica, Budapest, Hungría, 21-25 de Nov. 1983. (ONUDI ID/WG/393/11 pp. 1-24
- Ogunkoya, L., (1981)., Application of mass spectrometry in --- structural problems in triterpenes. *Phytochemistry*, 20 pp. 121-126.
- Overboek, V., Veléz, L., (1947)., Weed control in Puerto Rico - with, 2,4 D Inst. Agr. Tropical Univ. Puerto Rico 1 (37). pp. 2195 Chem Abst. 41 5-6, (1947)
- Peineman., (1986)., Description of structure of sesamin, Arch.-Pharm 234 pp. 238.
- Perins, J., (1862)., Alkaloids from Z. caribaeum. J. Chem. Soc. 15. pp. 338.
- Peter, G. Waterman., (1975)., Alkaloids from the root bark of Z. myriacantum. *Phytochemistry* 14 pp. 2530.
- Pezzuto J.M., Antosiak S.K., (1983). Interaction of the antileukemic Alkaloid 2-hidroxy-3,8,9-trimetoxy-5-metil-benzo-(c)-Phenantridina.
- PNUD., (1979)., Programa de las Naciones Unidas para el desarrollo Cooperación económica y técnica en el sector farmacéutico. Informe general del proyecto --- INT/009/A/01/Guayana.
- Raigosa, E., Jaime., Reynold., (1971)., Photosintesis in maize in C. Peltata. Torrialba 21 (3) pp. 331-5 Chem-Abst. 23137 H. 76 (11) 201 (1972).

- Ramirez, Z.R., Montesinos, J., G., (1985)., Estudio químico y --
pruebas farmacológicas preliminares de Zanthoxylum
liebmannianum (colopahitle). Tesis de Licenciatura.
ENEP "Zaragoza" UNAM. México.
- Rao, K.V., Davies, R., (1986)., The ichtiotoxic principles -
of Zanthoxylum clava-herculis J. of. Nat. Prod. 49
(2) pp. 340.
- Rhapa, R.T., Dha, K.L., (1976)., A new monoterpenetriol from
Zanthoxylum budrunga. Phytochemistry 15 pp. 1568.
- Ren, Limuan, X., (1986)., Zhong caoyan 17 (5) pp. 1936
- Reisch, J., Dieter, B., (1986)., Constituents of Fagara macro--
phyla and Zanthoxylum rigidifolium. pericarps. J.of
Nat. Prod. 49 (6) pp. 1169.
- Schöerder, D.R., (1968)., Two Alkaloids optically active. J.-
of. Nat. Prod. 45 pp. 367.
- Salem, N.G., Cordell, A. y Farnsworth, N.R., (1975)., Alkaloids
and coumarins from Zanthoxylum belisance phytoche-
mistry 14 pp. 2309.
- Simeray, J., Chamount, P., (1985)., Zanthoxamidas: and aroma--
tic amide from Zanthoxylum thomense phytochemistry
11 (24) pp. 2720.
- Soto, H.R., (1975)., Contribución al estudio químico de C. ob-
tusifolia . Tesis de Licenciatura Química UNAM. Mé-
xico.
- Stermitz, R.F., Caolo, M.A., (1979)., Alfileramine: A new Zan-
thoxylum alkaloid structurally related to tetrahe--
drocannabinol. Tetrahedron 35 pp. 1487.

- Stanley, P.C., (1920)., Trees and shrubs of México. Washington Government printing office. pp. 503.
- Soto, H.R., (1978)., Investigación fitoquímica de C. obtusifolia Tesis de maestría en Ciencias Químicas. Fac. Química. UNAM. México.
- Sofowora, A.E., (1971)., Reversal of skinning and cremation in - Erythrocytes by the root of fagara zanthoxyloides -- Lloydia 34 (4) pp. 383.
- Swinehart, J.A., Stermitz, F.R., (1980)., Bishordenyl terpene alkaloids and other constituents of Z. cullantrillo and Z. coriaceum. Phytochemistry 19 pp. 1219.
- Swinehart, J.A., Stermitz, F.R. (1980)., Alkaloids and other constituents of. Z. williamsii, Z. monophyllum and - Z. fagara. Phytochemistry 19 (7-9) pp. 1469.
- Takahashi, K., Nakagawa, K., (1966)., Studies on constituents of medicinal plants. The stereochemistry of plawlo-misen inopawllowin. Chem Pharm. Bull. 14 pp. 641.
- Tamayo, A.D., (1985)., Determinación de la actividad enzimática de Entomahoba histolítica después de adicionar "colopachtle" (Z. liebmannianum) Tesis de Licenciatura Q.F.B. ENEP "Zaragoza" UNAM. México.
- Tompesta, E., (1980)., Evaluation of local resources in traditional medicine. J. of. Ethnopharmacology 2 pp.163.
- Tiwari, K.P., Masood, M., Pandey, A., (1980)., 3,4-Bis-(4',4"-dimetoxi phenil metil)- dihidrofuran-2-ona from --- Zanthoxylum oxyphyllum. Indian, J. Chem. Sect. 19 B (3) pp. 241.
- Vidrio, H., Reyes, J., (1982)., Hypotensive activity of Cecropia obtusifolia J. Pharm. Sci. 71 (4) pp. 475.

- Watterman, P.G., Fish, F., (1975).. Alkaloids and Triterpenes and Lignans from the bark of Z. diklaueri. Phytochemistry 14 pp. 2094
- Watterman, P.G., (1975).. Alkaloids From the root bark of --- Z. myriacantum. phytochemistry 14 pp. 2530.
- Watterman, P.G., (1973).., Taxon 22 pp. 177.
- Watterman, P.G., (1976).., Alkaloids and coumarins from Zanthoxylum fravum dihidronutaecarpine, a novel indol-quinazoline alkaloids. Phytochemistry 15 pp. 578.
- Watterman. P.G., (1976).., Chemiosistematics in the rutaceae -- comparative studie on the alkaloid of Zanthoxylum -- leprieurii, Z. rubescens Biochem. Syst. Ecol. 4 (4) -
- Yao, H.Y., (1981).., Tung Pao. 16 (2) pp. 48. Chem.Abst. 99773u.
- Zhing, Ch., Teng, L., (1981).., Estudios on the chemical constituents of the Zanthoxylum simulans, skimianine, (-)-Eduline (-)-ribaline, (-)-araliopsine. Yao Xue Xuebao 16 (5) pp. 394.