

110
203



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO QUIMICO PRELIMINAR DE UN
TUMOR ENCONTRADO EN EL RIZOMA
DE CALIBANUS HOOKERII

T E S I S
Que para obtener el Título de
QUIMICA FARMACEUTICA - BIOLOGA
p r e s e n t a

AUREA TERESA RAMIREZ SANTAMARIA



México, D. F.

1994

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.



COLEGIO PROFESIONAL DE
QUÍMICOS DE ESPAÑA

Jurado asignado:

Presidente Prof. María del Carmen Rivera Muñoz

Vocal Prof. Francisco Fernández Noriega

Secretario Prof. Pedro Villanueva González

1er suplente Prof. José Alejandro Baeza Reyes

2ndo. suplente Prof. José Federico del Río Portilla.

Sitio donde se desarrolló el tema:
División de Estudios de Posgrado de la
Facultad de Química, Dpto. de Farmacia
y Productos Naturales.

Asesor del tema: Dra. María del Carmen Rivera Muñoz:

Sustentante: Aurea Teresa Ramírez Santamaría:

DEDICO MUY ESPECIALMENTE EL PRESENTE

A LA RAZÓN DE MI SER; A TI MAMA.

GRACIAS POR TU CONSEJOS, COMPRENSIÓN

Y POR CREER EN MI.

JUNTAS HEMOS CAMINADO Y LLEGADO.

**A ti ÁNGEL por haberme motivado
y ser la causa de muchos de mis
triunfos, gracias por tu alegría.**

**A FRANCISCO JAVIER por todos los momentos
de esta etapa, gracias por tu apoyo.
Siempre tuya.**

**A Oscar, Araceli, Cesar, Alicia y Guillermo
con cariño y respeto, gracias.**

**A mis familiares, amigos y maestros
por ser parte de mi formación.**

**A la Dra. Carmen Rivera un agradecimiento
especial por sus enseñanzas y oportunidades.**

I N D I C E

CAPÍTULOS		PAG.
I	INTRODUCCIÓN	1
II	ANTECEDENTES	3
III	PARTE EXPERIMENTAL	17
IV	DISCUSIÓN Y RESULTADOS	30
V	CONCLUSIONES	59
VI	BIBLIOGRAFÍA	62

CAPITULO I

I
N
T
R
O
D
U
C
C
I
O
N

La planta *Calibanus hookerii*, es nativa del centro de la República Mexicana y se conoce comúnmente como sacamete, se encuentra en los estados de Queretaro, San Luis Potosí y se utiliza como jabón ya que hace abundante espuma con el agua, por lo que llamo la atención para su estudio.

Calibanus hookerii, presenta un alto contenido de saponinas siendo éstas de tipo esteroidal. Las saponinas esteroidales son un grupo muy importante de sustancias que se encuentran en la naturaleza en forma de glúcidos, cuyos aglicones o geninas derivan el ciclo pentanoperhidrofenantreno. Para un glucósido, el nombre o término más apropiado es de heterósido, en el que el prefijo inidca, que la molécula está formada por dos clases diferentes de sustancias y el sufijo hace la referencia que, en una de ellas es un azúcar, al que se le llama radical heterosídico, a la otra fracción del heterósido se le conoce como aglicón. Un grupo muy importante de aglicones por su valor económico y farmacológico, es el de los derivados del ciclo pentanoperhidrofenantreno.

Las saponinas esteroidales, son sustancias que disueltas en agua abaten la tensión superficial y forman abundante espuma, cuando la solución es agitada vigorosamente, en este fenómeno, se basa la identificación preliminar y es la prueba más sencilla de estos compuestos. Algunas saponinas han adquirido últimamente un extraordinario interés por servir de materias primas para la síntesis de hormonas

sexuales.

De la planta *Calibanus hookerii*, de la que en estudios anteriores se han aislado e identificado diferentes compuestos, entre los cuales se encuentran esteróles (colestero β , β -sisterol⁽¹⁾, saponinas, Calibaninas⁽²⁾, diosgeninas⁽¹⁾, Yamogenina⁽¹⁾, Giralgenina⁽³⁾, Cardenagenina⁽⁴⁾, Sapogenina "S9 y Sapogenina B"⁽⁵⁾, azúcares del tejido esponjoso y capa amarilla⁽⁶⁾, ácidos grasos⁽⁷⁾, polímero "Fr" y polímero "Y"⁽⁸⁾.

Uno de los rizomas de *Calibanus hookerii*, presentó un tumor. El presente trabajo describe un estudio químico preliminar a este tumor partiendo de una extracción con varios solventes, hasta obtener un producto puro usando cromatografía.

CAPÍTULO II.

A
N
T
E
C
E
D
E
N
T
E
S

Calibanus hookerii es una planta que crece en zonas áridas y terrenos rocosos. Es de notable curiosidad su tronco subgloboso inmerso en la tierra de raíces muy pequeñas. De un aguado esponjoso, tiene una cubierta externa como corteza de corcho color oscuro, parecido a maderas de roble. (1)

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA:

Nombre común:	Sacametate
Nombre científico:	<i>Calibanus hookerii</i>
Familia:	Liliáceae
Lugar de origen:	San Luis Potosí, Zacatecas e Hidalgo.

Tiene una parte aérea formada por hojas largas parecidas al pasto de 30 a 90 cm de largo y 2.5 cm de ancho de color verde pálido apareciendo en grupos diversos sobre el tronco. Presenta flores dioicas purpúreas, muy pequeñas, arregladas en panícula loto de 20 cm a lo largo y 10 cm a lo ancho.

Los tumores que crecen en la planta son escasos, las causas que lo producen son indeterminadas, sin embargo existen algunas teorías comprobadas; se da información y definición de fitopatología, así como de tumores y su posible formación.

Fitopatología.- Es la rama de las ciencias biológicas, que se encarga del estudio sistematizado de las enfermedades de las plantas. (9)

(Phyton - planta; Patos - enfermedad, sufrimiento; Logos - estudios, conocimientos).

La enfermedad de una planta puede definirse como: Cualquier alteración, producida por un patógeno o algún factor ambiental adverso, afectando la estructura y desarrollo normal de la planta, produciéndose una serie de síntomas.

En el presente estudio, se relaciona al tumor encontrado en el rizoma de una planta de *Calibanus hookerii*.

Existen dos factores que pueden ser la causa de inducir tumores en plantas con mayor frecuencia ⁽⁹⁾, 1) Por microorganismos y 2) A nivel hormonal.

I POR MICROORGANISMOS:

La mayoría de los microorganismos causantes de enfermedades son parásitos o virus. La enfermedad, por lo tanto, involucra el mal funcionamiento de varios procesos fisiológicos en donde el patógeno actúa como:

- a) Succionador de los contenidos de las células huésped.
- b) Alterando el metabolismo de la planta, ya sea por la secreción de toxinas, enzimas u otras sustancias reguladoras.
- c) Bloqueando la translocación de alimentos, nutrimentos, minerales y agua, que son conducidos a través de conductores vasculares.

Visto de esta manera existen dos tipos de enfermedades:

A: Enfermedades por infección: Causadas por hongos, bacterias, virus y viroides, nemátodos, micoplasmas, parásitos y protozoarios.

B: Enfermedad no infecciosa o alteraciones fisiológicas: Causadas por baja o alta temperatura, carencia de oxígeno, carencia o exceso de radiación solar, aires fuertes, deficiencias nutricionales, presencia de minerales tóxicos, acidez o alcalinidad de suelos, toxicidad de pesticidas, etc...

De las anteriores causas que pueden producir fitopatología la más

importante y con mayor frecuencia son las producidas por virus.

A) ENFERMEDADES POR INFECCIÓN:

Fitopatología debidas a VIRUS. Los virus atacan a plantas, animales y al hombre. Hasta hace algún tiempo se pensaba que algunos grupos de organismos (algas, helechos y otras gymnospermas) no eran atacados por virus. Recientemente se han encontrado virus que atacan hongos, espiroplasmas y micoplasmas, las plantas que se propagan asexualmente son más afectadas por virus,⁽¹⁰⁾ al igual que las plantas cultivadas. Los daños por virus varían desde la muerte, producción de tumores hasta prácticamente ningún efecto (latencia).

TIPO DE DAÑO QUE CAUSAN LOS VIRUS:

- i) Directo.- son debido a la multiplicación de virus en la planta y
- ii) Indirecto.- Aquellas que sufre la planta, debido a la predisposición a factores bióticos y abióticos, creada por los virus. Por ejemplo: hay casos en que el virus aumenta la susceptibilidad de la planta a heladas y/o a la producción de tumores.⁽¹¹⁾

VECTORES DE VIRUS EN PLANTAS:

I CONSIDERACIONES GENERALES:

Debemos tener en cuenta que si bien la mayoría de los virus requieren de vector para transmitirse y diseminarse, existen un buen número de virus capaces de transmitirse y diseminarse sin vector (virus del mosaico del

tabaco).

En general un virus que es transmitido por un vector de un grupo taxonómico no es transmitido por otro grupo.

Se han usado varios términos para definir fenómenos encontrados en la descripción y evaluación de relaciones entre virus y vectores, particularmente insectos, algunos de los más usuales son:

a) Virus portados por el estilete.- Virus que son llevados en el estilete y en él se incluyen todos los virus no persistentes.

b) Virus circulativos.- Virus que son ingeridos por el vector pasan a través de la pared del intestino a la hemolinfa, llegando a las partes bucales y siendo inoculados con la saliva pero sin multiplicarse en el vector.

c) Virus propagativos.- Ocurre lo mismo que el virus circulativo, solo que en este caso si hay multiplicación.

Se han encontrado varios tratamientos y fenómenos para la descripción y evaluación de las relaciones entre virus y sus vectores, particularmente insectos, por ejemplo:

Período de adquisición.- Período de tiempo durante el cual un vector libre de virus es puesto en contacto con una planta infectada de virus.

Período de inoculación.- Es el tiempo durante el cual un vector que lleva virus es puesto en contacto con una planta libre de virus.

Período latente o preinfectivo.- Es el tiempo transcurrido desde el inicio de un período de adquisición-alimentación hasta que el vector puede infectar plantas sanas.

Umbral de transmisión.- El tiempo total mínimo que requiere un vector

para adquirir un virus e inocularlo a plantas.

Persistencia.- El tiempo durante el cual un vector permanece inoculativo o infectivo después de haber dejado la fuente de virus.

En base a éstos términos se efectuó una clasificación de relaciones virus-vector como sigue: ⁽¹²⁾ ⁽¹³⁾

i) No persistente.- El virus es transmitido durante pocas horas a 20°C.

ii) Semi-persistente.- Transmisión por 10 a 100 horas a 20°C.

iii) Persistente.- Transmisión por más de 100 horas a 20 °C.

Los términos anteriores complementan la clasificación de los vectores de virus en plantas, dando una clasificación más completa de rango de vectores conocidos de virus y organismos semejantes a virus patógenos de plantas, como lo indica la siguiente relación. ⁽⁹⁾ ver TABLA "A"

Para la investigación en fitopatología, es de interés primario, el control de la adecuada identificación del agente causal, por lo que se tiene que desarrollar toda una metodología para la caracterización del virus, y para el estudio de una serie de aspectos relacionados con el conocimiento del patógeno y el efecto del medio ambiente sobre él, así como las relaciones virus-vector. la epidemiología de la enfermedad y la búsqueda de medidas de control para así, determinar las causas que producen una patología.

El siguiente esquema muestra las posibilidades de transmisión de un virus aunque normalmente hay ciclos más sencillos. (Fig. a)

TABLA "A"

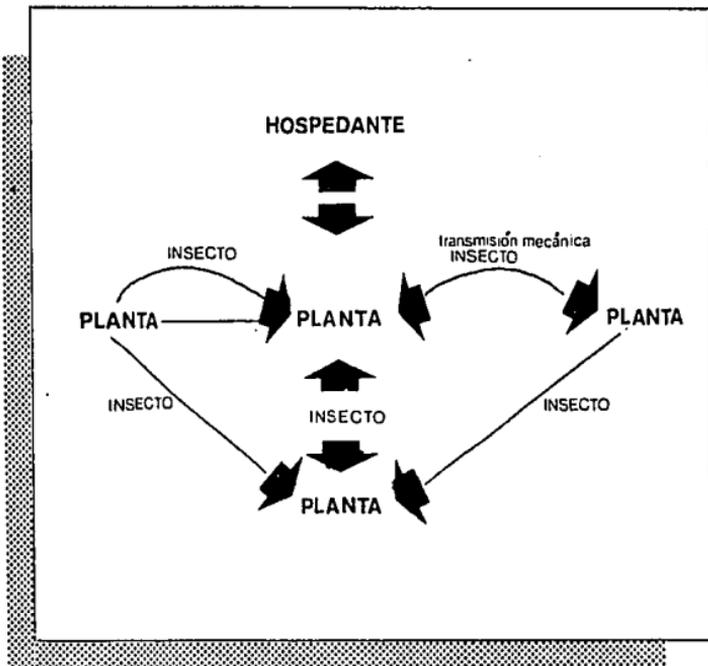
GRUPO TAXONOMICO DEL VECTOR	NO. APROX. DE VECTOR	NO. APROX. VIRUS TRANS.	RELACIONES VIRUS-VECTOR
Aphididae (afidios)	200	32	N.S.P.
Psyllidae (psilidos)	1	1	-
Coccidae (escamas)	15	2	S.
Aleyrodidae (moscas blancas)	3	25	S.P.
Auchenorrhyncha (Chicharritas)	60	35	S.P.
Coleoptera (escarabajos)	30	20	S.P.
Thysanoptera (Thrips)	6	3	P.
Orthoptera	10	6	-
Dermaptera	1	1	-
Dorylamida	20	14	P.
Plasmodiophorales	3	3	P.
Gymnocerata (chinches de encaje)	21	21	P.
Lepidoptera	4	5	-
Eriophidae	8	10	S.P.
Chytridiales	3	6	N.P.

N = No persistente

P = Persistente

S = Semipersistente

Fig. a .- Ciclos que muestran la posibilidad de transmisión de un virus.



B) ENFERMEDADES NO INFECCIOSAS O ALTERACIONES FISIOLÓGICAS.

Muchos insectos y microorganismos que parasitan plantas causan crecimiento anormal, llamado agallas y hasta tumores. Se considera que una planta es sana o normal cuando esta realiza sus funciones fisiológicas con el mejor potencial genético. Estas funciones incluyen la división celular normal, diferenciación y el crecimiento, absorción de agua y minerales, transporte, fotosíntesis, productos elaborados para sus diferentes áreas, síntesis de compuesto, reproducción etc...

Se han visto que el crecimiento de una célula, resulta de un grupo de reacciones químicas en el protoplasma, complejamente balanceada y que la naturaleza de crecimiento anormal varia con las condiciones extremas o de algún otro modo inadecuadas. (14)

El crecimiento anormal de una planta pueden ser dirigidos desde el interior de esta planta, cierto número de híbridos interespecíficos de nicotina (género al que pertenece el tabaco), aparentemente son normales excepto porque presentan tumores. Aquí el equilibrio se ha perdido por alguna razón, algunas de las células que debieron dejar de crecer y madurar en células ordinarias, continúan creciendo, dividiéndose indefinidamente, este fenómeno puede ser causado por sustancias químicas naturales como la gibberalina, citocina entre otras.

REGULADORES DEL CRECIMIENTO DE UNA PLANTA

El crecimiento de una planta es regulada por un pequeño número de componentes naturales, las cuales actúan como hormonas y son generalmente llamados Reguladores del crecimiento.

Los reguladores del crecimiento existen en muy pequeñas concentraciones y son requeridas para la elongación y proliferación de la célula tan precisa como la diferenciación de activación celular.

Los más importantes y estudiados son la auxina, giberlina y citocinas, aunque hay otros componentes como el etileno o sustancias químicas sintéticas e inhibidores del crecimiento que juegan también un papel importante. Varias plantas infectadas por un virus patógeno causan estimulación de las agallas y varias anormalidades morfológicas en órganos de la planta infectada. Tales manifestaciones son muy similares a los síntomas producidos por un desbalance de las sustancias reguladoras de la planta.

AUXINA:

Las auxinas existen en la planta como Ácido Indol - 3 - Acético (AIA). Estas se producen continuamente durante el crecimiento, en los tejidos de la planta, con una concentración aproximada de 5 microgramos/Kg.

El AIA se mueve rápidamente desde los tejidos verdes (jóvenes) hasta los viejos, pero es constantemente destruido por la enzima Ácido Indol -3- acético-oxidasa, esto nos explica la baja concentración que existe de auxina en las plantas.

Los efectos del la AIA son numerosos y modifica la información genética de la planta; ésta es requerida por la célula para su elongación y diferenciación, causa incremento en la respiración de la planta, posiblemente por la activación de sistema de enzima-oxidasa.

La interacción del AIA con otros reguladores como la giberlina y la citocina, actúan en forma sinérgica.

Un incremento de auxina se ha encontrado en plantas infectadas por hongos, virus y bacterias. La infección por una bacteria patógena, causa incremento en la síntesis de AIA así como en tumores libres de bacterias, es decir, que en las células tumorales por si solas son capaces de generar niveles anormales de AIA. Se ha demostrado que los niveles de AIA en un tejido tumoral, son el resultado de incremento directo de la síntesis de AIA, más que el de reducirlo ya que no contiene gran cantidad de enzima AIA-oxidasa. Se ha observado que el incremento de AIA, en células tumorales causan obstrucción y/o división de éstas, una vez que han sido transformadas en células tumorales. Las células por si solas no pueden causar formación de células sanas a células tumorales.

Se piensa que existen sistemas metabólicos no graduados y

otras sustancias que estan involucradas en el principio de inducir a un tumor, aún no conocidas, que alteran en un crecimiento rápido (vesícula tumoral o yema).

Se ha demostrado que algunos virus que infectan a una planta, estimulan la aparición de agallas y haciendo variar su morfología, tales manifestaciones son similares a los síntomas producidos por un desbalance en los reguladores del crecimiento.

En algunas enfermedades virales, la auxina contenida en semillas de plantas infectadas son bajas, en comparación con plantas sanas. A esta conclusión llego Fryer, (14) en su trabajo sobre virus infectantes asociado en la reducción de la concentración de auxina.

La estimulación de las yemas axilares en algunas enfermedades virales pueden ser causadas por una disminución en el nivel de auxina tal, que las yemas crezcan también de alguna forma teratogénica.

En algunas enfermedades virales, la correlación entre el contenido de auxina y los síntomas exhibidos por la planta infectada, no tienen correlación. (15)

GIBERALINA:

Las gibberelinas, son un grupo de compuestos químicos similar a sustancias reguladoras de crecimiento.

Éstas, pueden ser consideradas como constituyentes normales

de las plantas verdes también producidas por algunos microorganismos. Las giberalinas son químicamente diferentes a las auxinas y causan también distintos patrones de crecimiento. Hasta ahora se conocen alrededor de 13 giberalinas y se les encontró en un hongo llamado *Giberella fujikuroi*, que causa enfermedad en la semilla de arroz. De las giberalinas la más conocida es el Ac. Giberálico usualmente designado como GA₃.

Las funciones atribuidas a estos compuestos son numerosas; activa la señal para las enzimas hidrolíticas como la α -amilasa, e induce la síntesis de algunas enzimas incluyendo proteinasas que rompen la reserva proteica del endosperma y libera varios aminoácidos, incluyendo el triptófano. El triptófano es entonces activado por la auxina. La auxina y la giberalina son sinérgicos, acelerando la elongación que causa el AIA, la giberalina también induce a la formación del AIA. El mecanismo de acción de las giberalinas es posiblemente la activación de genes que han sido previamente activados e involucra la síntesis de un nuevo RNAm, el cual induce la síntesis de nuevas enzimas.

CITOCINAS:

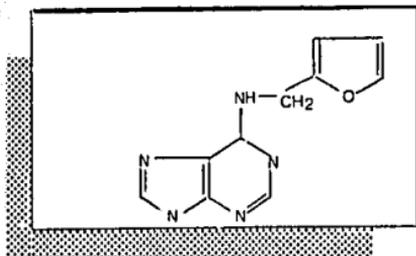
Las citocinas son potentes factores de crecimiento necesarias para el crecimiento y diferenciación de células

vegetales . La adición de citocinas provoca diferentes fenómenos en la célula, por ejemplo: frena la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos, causa inhibición en la secuencia y capacidad de disminuir los aminoácidos y otros químicos a través de la planta. Las citocinas son derivados de la adenina que es un constituyente del DNA y RNA. El primer componente con citocina activa fue identificada y caracterizada químicamente, por zeatina que se aisló de semillas jóvenes de maiz, y N⁻² isopentil-adenosina, que se aisló de las espinacas.

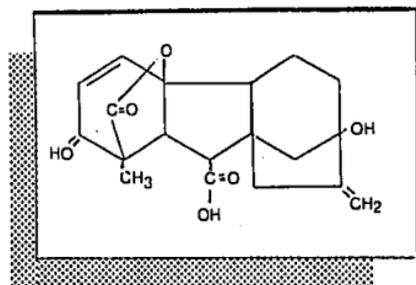
La acción de las citocinas al parecer depende de la presencia de las auxinas, cuando se les adiciona a un cultivo de células citocina, únicamente se expanden pero no se dividen y cuando se les adiciona ambas sustancias (AIA y citocina) actúan complementariamente y entonces la célula crece y se divide.

La relación de la concentración de la citocina está determinada por el tipo de órgano de la planta, para que pueda diferenciarse. A baja concentración se induce la formación de la raíz y a altas concentraciones induce la formación de ramas. El mecanismo de acción de las citocinas es lento y similar al de las giberelinas. Se ha observado que al tratar plantas con citocinas antes de una inoculación con virus reduce el número de infecciones en una lesión local del huésped y reduce la multiplicación del virus. (12,14,15)

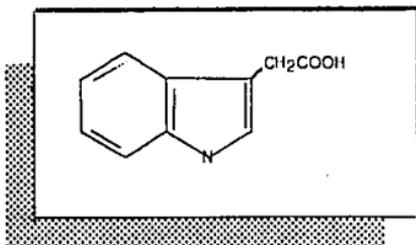
Ác. Indol- 3 - Acético (AIA)
(AUXINA)



Ác. Giberálico (GA₃)
(GIBERALINA)



ZEATINA
(6-furfurilamino-purina)
(CITOCINA)



CAPÍTULO III

P
A
R
T
E

E
X
P
E
R
I
M
E
N
T
A
L

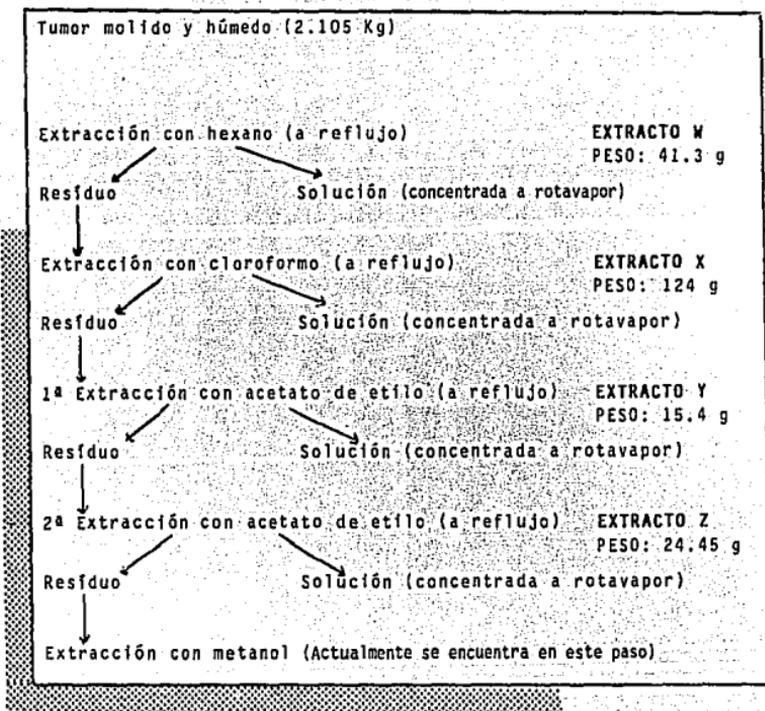
En la recolección de varios ejemplares de la planta de *C. hookerii* en Ojo Caliente, S.L.P. se encontró dentro de un rizoma un tumor que tiene las siguientes características. El peso húmedo es de 2105 g teniendo una consistencia de varias capas concéntricas, duro y quebradizo (a diferencia del tejido normal que es esponjoso y voluminoso). Al tumor molido se le hicieron varias extracciones a reflujo usando diferentes disolventes en orden progresivo, estos fueron hexano, cloroformo, acetato de etilo y metano. Ver Diagrama I

Los espectros de I.R. se corrieron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 599-B. Los espectros de masa se corrieron en un espectrofotómetro Hewlett Packard modelo 5988-a. Y la introducción de la muestra fué directa. Para el presente trabajo se utilizó el extracto de acetato de etilo, en el Diagrama I se describe la extracción realizada al tumor.

La extracción a reflujo con acetato de etilo se efectuó durante 120 horas aproximadamente, se filtro y se obtuvo un residuo y un extracto concentrándose éste en el rotavapor al vacío hasta sequedad, obteniéndose 15.4 g (EXTRACTO Y).

Al residuo se le hizo una segunda extracción durante 120 horas aproximadamente, concentrándose en rotavapor y obteniéndose 24.45 g. (EXTRACTO Z). El residuo continua extrayéndose a reflujo con metanol.

DIAGRAMA I



EXTRACTO Y

Para la separación y purificación de los componentes de este extracto se empleó primero cromatografía en capa fina (c.c.f) con el objeto de encontrar un medio eluyente.

Se emplearon disolventes, desde los menos polares como hexano y benceno, hasta los más polares como cloroformo, acetona, etanol y metanol determinandose así el mejor Rf de las sustancias a ser aisladas. Los extractos Y y Z son solubles en acetato de etilo y en metanol absoluto. El medio más adecuado que se encontró fué AcOEt-CHCl_3 (3:7).

En este medio se montó una columna piloto de cromatografía con 500 g de gel de sílice Merck con tamaño de partícula 0.063-0.200 mm (70-230 mesh ASYM), aplicandose 2.5 g del Extracto Y.

Se recogieron 103 fracciones de 3 ml cada una, estas fracciones se controlaron una de cada 5 (tubo 1, 5, 10 etc...) por c.c.f. se juntaron las que eran iguales, obteniendose 37 nuevas fracciones ver TABLA I.

Para la c.c.f. se empleó como revelador H_2SO_4 5 N, el cual desarrolla colores muy específicos y luz U.V.

De todas las muestras recolectadas se eligieron aquellas en las que se podía contar con una cantidad de 50 a 100 mg del compuesto, con el mejor Rf y la mejor separación de manchas en c.c.f. bidimensional.

Las cantidades obtenidas fueron pequeñas por lo que se sugiere montar otra columna con mayor extracto en futuros ensayos. Se continuó el aislamiento usando cromatografía en capa preparativa (c.c.p.).

Las muestras finalmente seleccionadas fueron:

IV	PESO: 0.300 g.
V	PESO: 0.600 g.
VI	PESO: 0.285 g.
VII	PESO: 0.808 g.
XXVIII	PESO: 0.500 g.
XXIX	PESO: 0.200 g.
XXXIV	PESO: 0.700 g.
XXXIII	PESO: 0.280 g.

*Estas muestras están remarcadas en la TABLA I.

TABLA I

En la siguiente tabla, cada cuadro indica los tubos de muestras que se juntaron y concentraron de la cromatografía en columna del extracto Y. El cuadro remarcado indica cuales muestras se utilizaron para el este extracto.

MUESTRA I Tubo 1 - 30	II 31 - 34 36 - 39	III 35	IV 40 - 75	V 76-140	VI 98 - 89
VII 141-184	VIII 185-200	IX 201-210	X 211-235	XI 236-289	XII 290-330
XIII 331-370	XIV 371-395	XV 396-409	XVI 410-414	XVII 415-460	XVIII 461-510
XIX 511- 537	XX 538-595	XXI 601-603	XXII 596-670	XXIII 671-690	XXIV 691-702
XXV 703-707	XXVI 708-764	XXVII 765-780	XXVIII 781-795	XXIX 797-804	XXX 805-860
XXXI 881-920	XXXII 921-950	XXXIII 951-957	XXXIV 958-965	XXXV 966-979	XXXVI 980-995
XXXVII 996-1013					

Cabe hacer notar que se pudieron haber utilizado otras muestras en las cuales se halló una sola mancha pero la cantidad era mucho menor a 10 mg. y aún presentaban una pequeña estela de impurezas y otras muestras no se definían en una sola mancha y los Rf no se mejoraban al variar los eluyentes.

EXTRACTO Z

Para el segundo extracto, con acetato de etilo se montó una columna con 200 g. de sílica gel (mismas condiciones que la anterior columna) y se aplicó 1 g de muestra en el medio acetato de etilo - cloroformo (3:7).

En esta segunda columna se recolectaron 368 fracciones de 3 ml cada una y se controlaron de cada 5 fracciones por cromatografía en capa fina, obteniéndose 37 nuevas fracciones ver TABLA II.

De este extracto Z las muestras seleccionadas fueron:

a	PESO: 0.200 g.
l	PESO: 0.090 g.
p	PESO: 0.300 g.
s	PESO: 0.240 g.
n	PESO: 0.274 g.

*Marcadas en la TABLA II

TABLA II

En la TABLA II, se indican los tubos concentrados del extracto 2, el cuadro remarcado indica cuales muestras han sido seleccionadas para purificación.

MUESTRA a 1 - 16	b 17 - 18	c 19 - 21	ch 22 - 30	d 31 - 40
e 41 - 52	f 53 - 54	g 55	h 56 - 59	i 60 - 79
j 80	k 81 - 90	l 91 - 114	ll 115 - 124	m 125 - 134
n 135 - 160	ñ 161 - 185	o 186 - 205	p 206 100 ml	q 207 - 230
r 231 - 240	s 241 100 ml	t 242 - 260	u 261 - 285	v 286 - 325
w 326 - 350	x 359 - 360			

Se buscaron los eluyentes adecuados para cada una de las muestras elegidas de los Extracto Y y Z en cromatografía en capa fina.

MUESTRAS	ELUYENTE IDEAL ENCONTRADO
IV, V, VI	Acetato de etilo-Benceno (1:9)
XXVII, XXIX	Acetato de etilo
a	Metanol(2*)
l	Cloroformo-Acetato de etilo (4:6)
n	Cloroformo-Acetato de etilo (4:6)
VII	Cloroformo-Acetato de etilo (4:6)
XXXIV	Acetato de etilo
p	Acetato de etilo
s	Cloroformo-Acetato de etilo (7:3)

(2*) La muestra a, precipitó al agregarle Acetato de Etilo ó cloroformo siendo soluble en Metanol en caliente, precipitando en frío. Se purificó disolviendola en metanol en caliente, filtrándose por algodón y cristalizandose en

frío. los cristales separados de las aguas madres por medio de pipetas Pastur se enviaron junto con las otras muestras a I.R. y espectrometría de masas.

El siguiente paso para purificar los diversos componentes, fué el de realizar cromatografía en capa fina preparativa (c.c.p.) usando como revelador luz U.V. De los extracto Y y Z se seleccionaron 15 muestras ideales, usándose una segunda nomenclatura para identificarlas por ejemplo, de la muestra VII en la placa preparativa se separaron VII f, VII g y VII h pero solo la VII f y VII h se pudieron purificar, comprobándose por c.c.f. bidimensional, Ver TABLA III.

TABLA III

Muestras puras por medio de c.c.p.

MUESTRAS	PESO	ESPECTRO DE MASAS	IR
2a	0.018 g.	No. 1	No. 2
5e	0.010 g.	No. 3a, 3b, 3c	No. 4
7a	0.020 g.	No. 5	
VII f	0.010 g.	No. 6	
VII h	0.020 g.		No. 7
8b	0.0099 g.		No. 8
11c	0.0101 g.		No. 9
4d	0.0150 g.		No. 10

Todas estas muestras se enviaron a espectroscopia de I.R. y/o a espectrometría de masas, siendo 8 las finalmente seleccionadas.

A las muestras XXXII, XXXIV y XXXVII, de la TABLA I Extracto Y, se les busco el medio ideal para la separación de sus componentes, observándose que al poner a la muestra inicial un poco de disolvente para el punto de aplicación en c.c.f. se separaban dos fases al agregar pequeñas cantidades de acetato de etilo y/o cloroformo, existiendo así fases, superior e inferior.

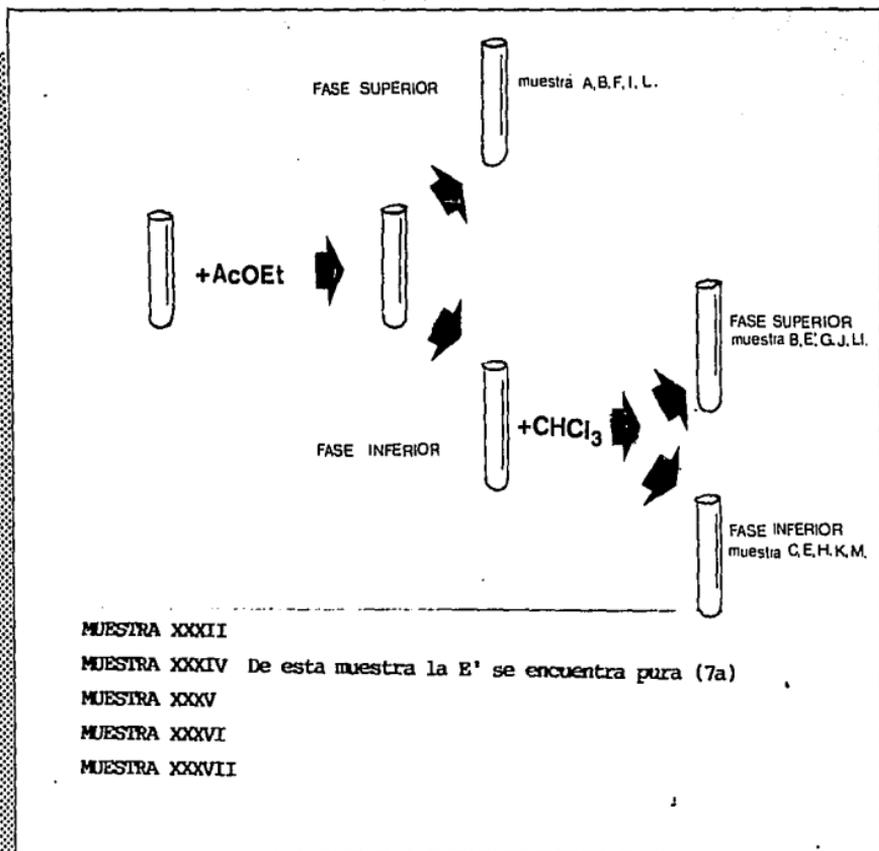
Estas muestras se extrajeron primero con acetato de etilo y después con cloroformo de acuerdo con el DIAGRAMA II, obteniéndose 15 muestras con una nueva nomenclatura que se observa en la TABLA IV.

A cada una de las partes se les hizo la prueba de saponinas, agitando durante 5 minutos 0.1 g aprox. de muestra en tubo de ensayo con 5 ml de agua, si se produce espuma y esta dura más de 10 minutos la prueba de saponinas es positiva (+), si no produce espuma y/o esta dura menos de 1 minuto la prueba de saponinas es negativa o si esta muy ligera, la prueba es negativa(-).

TABLA IV

NUEVA NOMENCLATURA	DISOLVENTE	FASE	MUESTRA ORIGINAL	OBSERVACIONES	PRUEBA SAPONINA
A	AcOEt	sup.	XXXII	Muestra incolora	negativa
B	CHCl ₃	sup.	XXXII		negativa
C	CHCl ₃	inf.	XXXII	Presenta un p.p. de color café	negativa
D	AcOEt	sup.	XXXIV	Formación de cristales	negativa
E'	CHCl ₃	sup.	XXXIV	Formación de cristales blancos	negativa
E	CHCl ₃	inf.	XXXIV		negativa
F	AcOEt	sup.	XXXV		negativa
G	CHCl ₃	sup.	XXXV	Muestra aceitosa; expuesta al aire por largo tiempo no presenta contaminación biológica	positiva +++
H	CHCl ₃	inf.	XXV		negativa
I	AcOEt	sup.	XXVI	Muestra aceitosa; expuesta al aire por largo tiempo no presenta contaminación biológica	negativa
J	CHCl ₃	sup.	XXXVI		negativa
K	CHCl ₃	inf.	XXXVI		negativa
L	AcOEt	sup.	XXXVII		negativa
L1	CHCl ₃	sup.	XXXVII	Muestra aceitosa	negativa
M	CHCl ₃	inf.	XXXVII		negativa

DIAGRAMA II



CAPÍTULO IV

D
I
S
C
U
S
I
O
N
Y
R
E
S
U
L
T
A
D
O
S

Todas las muestras que por cromatografía en capa fina bidimensional presentaron una sola mancha, se enviaron a espectrometría de masas y espectrometría de I.R. si la muestra era suficiente.

Se discutirá cada uno de los compuestos aislados y con los datos de los que se dispone se elucidarán las estructuras en este capítulo.

COMPUESTO 2 a

El espectro de I.R. de este compuesto corrido empleando como solvente cloroformo en película, presenta las siguientes bandas: (ESPECTRO NO. 2)

2921	cm ⁻¹ (s)	C-H alifático
2980	cm ⁻¹ (m)	C-H alifático
2845	cm ⁻¹ (m)	C-H alifático
1256	cm ⁻¹ (s)	-CH ₃
1045	cm ⁻¹ doblete (s)	-CH(CH ₃) ₂
785	cm ⁻¹ (s)	C-(CH ₂) _n C con n ≥ 4

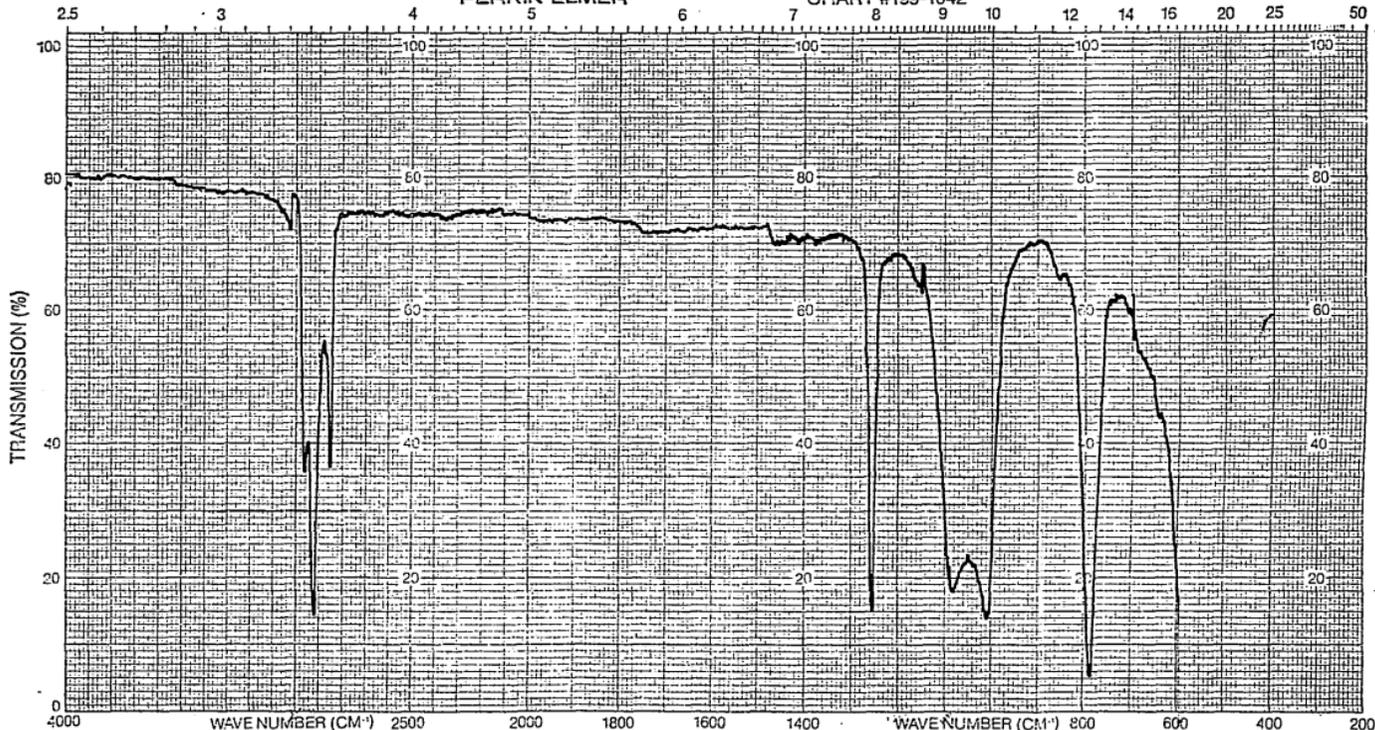
Esta interpretación esta de acuerdo con la bibliografía (16) (17).

Este espectro de masas por ionización química dió como resultado el diagrama de evaporación de la muestra (Fig.b) y el Espectro de Masas No. 2 (ESPECTRO No.1)

ESPECTRO NO. 2

PERKIN-ELMER®

CHART #199-1042



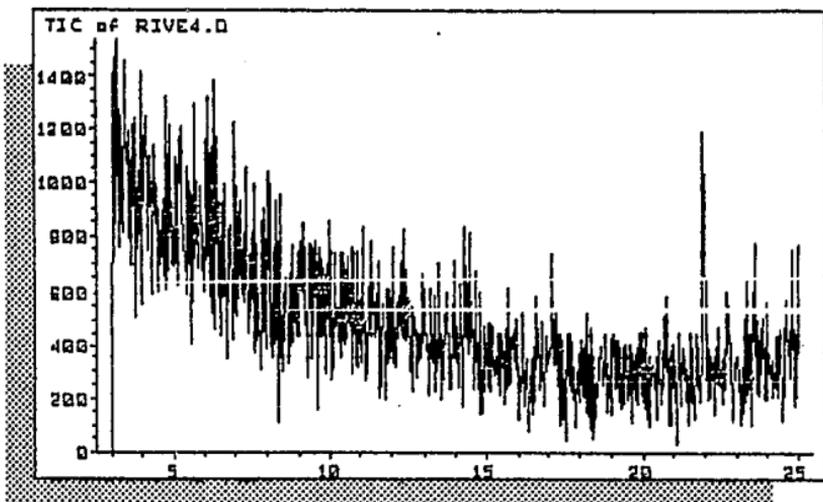
SAMPLE

REF. NO.

1277

ABSCISSA		ORDINATE		SCAN TIME <u>12</u>	REP. SCAN _____ SINGLE BEAM _____
EXPANSION _____	EXPANSION _____	%T _____	ABS _____	MULTIPLIER <u>1</u>	TIME DRIVE _____
SUPPRESSION _____	SUPPRESSION _____	REMARKS <u>amplificado 32 veces.</u>	REMARKS <u>olecula</u>	SLIT PROGRAM <u>N</u>	OPERATOR <u>Impress</u> DATE <u>12-III-91</u>
SAMPLE <u>2a ch*</u>	SAMPLE _____	SOLVENT _____	SOLVENT _____	CONCENTRATION _____	CELL PATH _____
ORIGIN <u>Casa laminas</u>	ORIGIN _____	CONCENTRATION _____	CONCENTRATION _____	CONCENTRATION _____	REFERENCE <u>cu</u>

Fig. b



El ión molecular es $m/z = 372$ y corresponde a un compuesto $C_{27}H_{48}$ de acuerdo a la literatura (18). En estas mismas tablas se encuentran que este compuesto conocido es el colestano. Los principales fragmentos encontrados son:

$m/z = 43, 55, 56, 57, 67, 70, 84, 112, 125, 149, 150,$
 $167, 313$ y 372 .

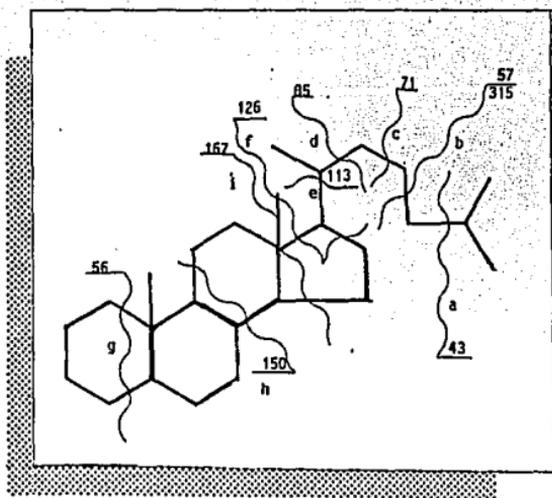
presentando como pico base 149.

En la (Fig. c) se encuentra la fragmentación de la molécula de colestano que explica todos los picos observados en el ESPECTRO No. 2.

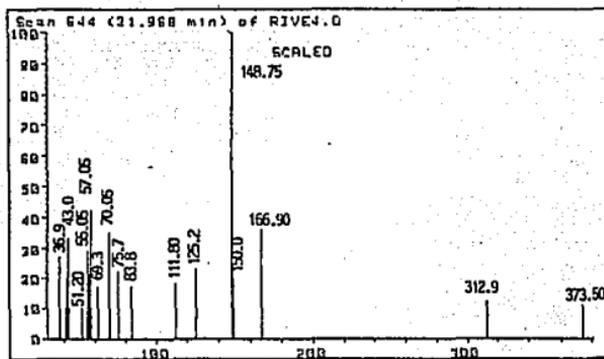
El pico base $m/z = 149$ corresponde a la fragmentación (h) con transferencia de un átomo de hidrógeno(H).

Este proceso es ampliamente conocido y se encuentra en la literatura (16) (19).

Fig. c



ESPECTRO NO. 1



Scan 644 (21.968 min) of RIVE4.0

CLAVE MUESTRA ZA

n/z	abund.	n/z	abund.	n/z	abund.	n/z	abund.
36.90	27	55.05	29	70.05	35	148.75	100
48.75	10	56.20	21	75.70	22	150.00	20
41.90	20	57.05	42	83.80	17	166.90	36
43.00	33	61.80	17	111.80	18	312.90	12
51.20	10	69.30	19	125.20	23	373.50	11
54.20	9	69.70	22				

Otro fragmento importante en esta molécula es $m/z = 112$ que corresponde a la pérdida de la cadena lateral del colestano con transferencia de un átomo de hidrógeno (fragmentación e)

MUESTRA 5e

La muestra 5e presenta en espectroscopía de I.R. las siguientes bandas ESPECTRO No. 4.

2910	cm^{-1}	(s)	C-H alifático
2980	cm^{-1}	(m)	C-H alifático
1730	cm^{-1}	(s)	C=O
1250	cm^{-1}	(m)	C-O (Stretching)
790	cm^{-1}		C-(CH ₂) _n C con $n \geq 4$

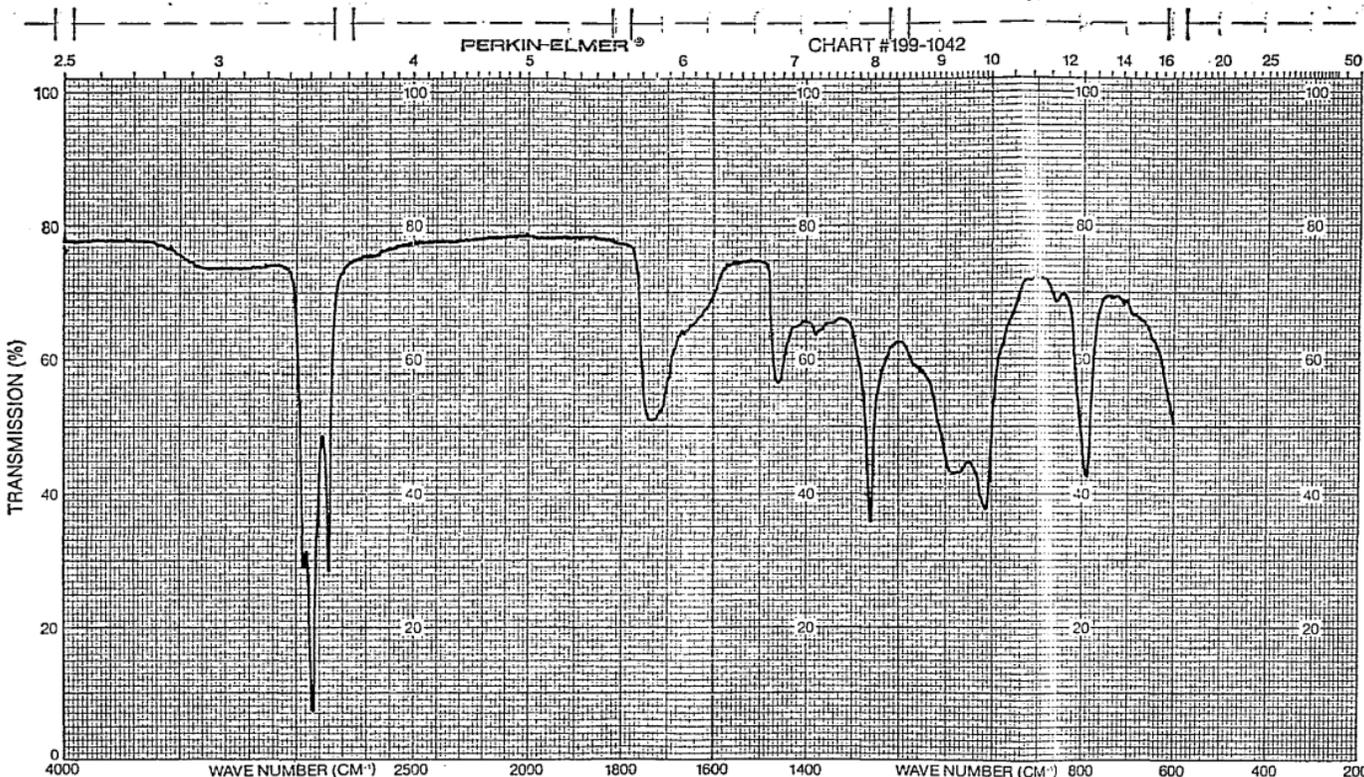
La banda en 1730 cm^{-1} (m) que debería presentarse como una banda fuerte aparece como banda mediana debido a que la muestra corresponde a una mezcla de compuestos como se comprueba en el diagrama de evaporación obtenido al correr el espectro de masas de ionización química (Fig. d).

Aquí se observó que por lo menos hay dos componentes, se obtuvieron tres espectros de masas a tiempos:

3.561 min.	ESPECTRO No. 3a
9.319 min.	ESPECTRO No. 3b
10.575 min.	ESPECTRO No. 3c

PERKIN-ELMER

CHART #199-1042



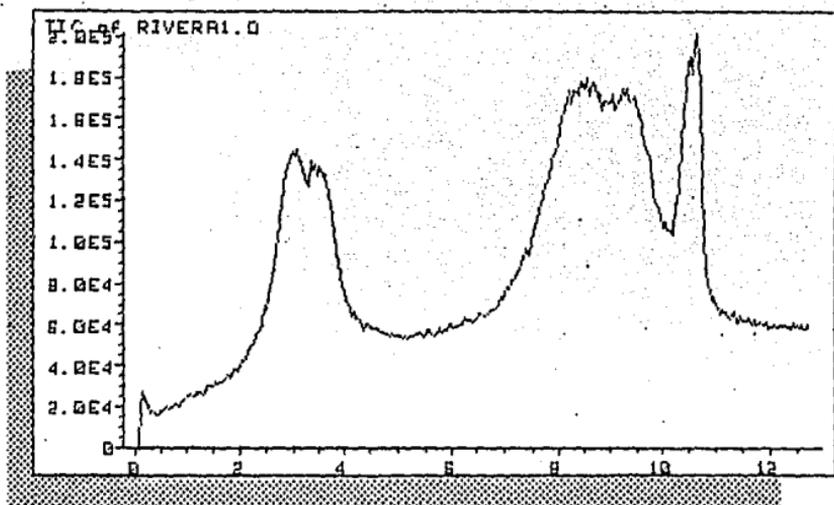
SAMPLE

REP. NO

1848

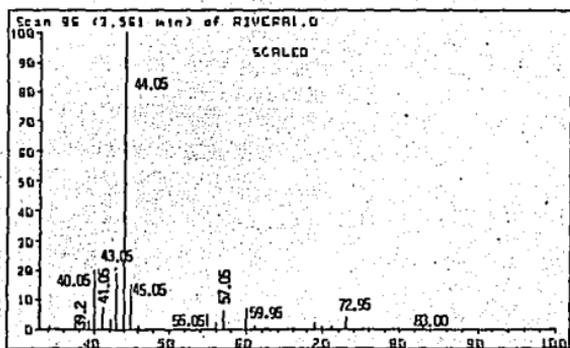
ABSCISSA		ORDINATE		SCAN TIME <u>12</u>	REP. SCAN _____ SINGLE BEAM _____
EXPANSION _____		EXPANSION _____		MULTIPLIER _____	TIME DRIVE _____
SUPPRESSION _____		%T _____ ABS _____		SLIT PROGRAM <u>N</u>	OPERATOR <u>Amper</u> DATE _____
SAMPLE <u>5e ch *</u>		REMARKS <u>calculo</u>		SOLVENT _____	CELL PATH _____
ORIGIN <u>Quina Pimies</u>		<u>amplificado 19 veces</u>		CONCENTRATION _____	REFERENCE <u>air</u>

Fig. d



El ESPECTRO NO. 3a corresponde a un compuesto de ión molecular $M = 72$. El fragmento $m/z = 83$ corresponde al pico base conocido para el cloroformo y esto se explica puesto que la muestra se recuperó de la solución cloroformica empleada en el espectro de I.R.

ESPECTRO No. 3a

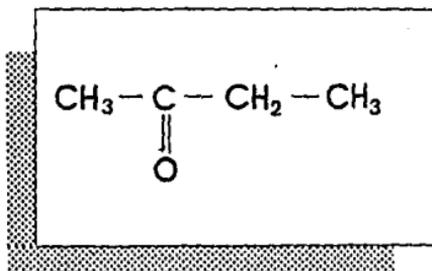


Scan 96 (3.561 min) of RIVERAI.D
5 e INT.DIRECTA

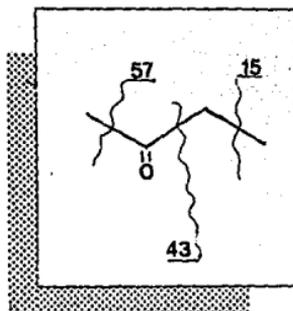
m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.
34.05	1	43.05	19	56.05	2	69.95	1
39.20	3	44.05	100	57.05	6	71.05	1
40.05	20	45.05	15	59.95	7	72.95	4
41.05	7	46.05	1	61.05	1	83.00	1
42.20	3	55.05	5	69.05	2		

La estructura del compuesto 3a es:

BUTANONA 2:



La fragmentación corresponde a lo reportado en la literatura (16).

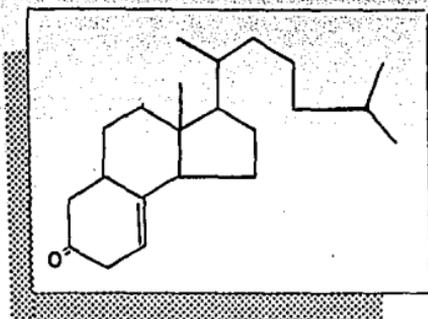


Los espectros de masas obtenidos en los tiempos 9.3 y 10.57 min. corresponden al mismo compuesto ya que tienen la misma fragmentación y presentan las mismas intensidades relativas ESPECTRO No. 3b y 3c.

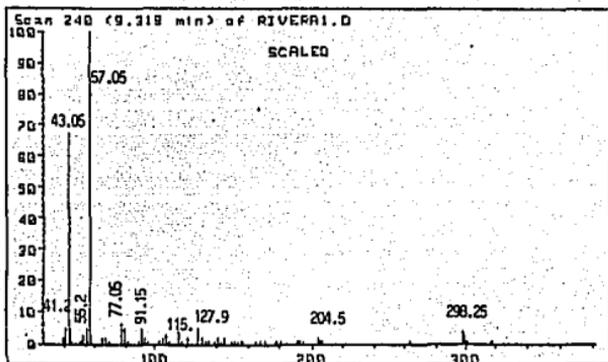
Este fenómeno se observa frecuentemente en los compuestos ya que el diagrama de evaporación no presenta un solo pico sino que puede ser una gráfica compleja como las que se observa para este compuesto, desde el minuto 8 y hasta el minuto 11. Esto está descrito en la literatura (16).

El compuesto tiene un ión molecular 316 y pierde fácilmente un fragmento de $m/z = 115$ al mismo tiempo que presenta un pico base 57 y la fragmentación 43.

Esto indicándonos que está presente la cadena lateral de 113 de tipo de la cadena de colestano. Así mismo los fragmentos 191, 178, 165, 155 y 141 indican un compuesto policíclico y corresponden a las fragmentaciones conocidas para estos compuestos puede proponerse la siguiente estructura Fig. e



ESPECTRO No. 3b

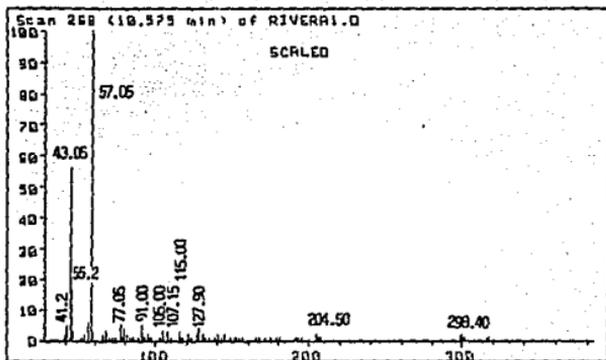


Scan 240 (9.319 min) of RIVERA1.D

5 a INT.DIRECTA

m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.
39.05	2	81.05	1	135.00	1	180.55	1
40.05	2	89.00	1	138.95	1	190.65	1
41.20	5	91.15	5	141.05	2	191.15	1
43.05	67	92.25	1	142.55	1	192.65	1
44.05	5	93.15	2	142.95	1	194.50	1
45.05	1	95.00	1	144.95	2	204.50	2
51.05	1	102.15	1	148.95	1	205.40	1
52.05	1	103.00	1	151.80	1	206.50	1
53.05	3	105.00	2	152.95	1	207.40	1
55.20	5	107.00	3	154.80	1	263.45	1
57.05	100	109.00	1	156.70	1	298.25	4
58.05	3	115.00	4	164.80	1	299.15	3
65.05	2	116.90	1	167.55	1	300.25	1
67.05	2	121.00	2	170.55	1	301.25	1
69.05	1	127.90	5	177.80	1	316.25	1
77.05	6	131.00	2	178.55	1	317.15	1
79.05	5	132.90	1				

ESPCTRO No. 3c



Scan 268 (10.575 min) of RIVERA1.D

5 * INT.DIRECTA

m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.
39.20	2	81.05	2	126.90	2	170.70	1
40.05	4	83.25	1	127.90	4	174.70	1
41.20	5	85.15	1	131.00	2	178.55	1
43.05	56	89.15	1	131.65	1	180.55	1
44.05	17	91.00	5	133.00	1	190.65	1
45.20	3	92.00	1	134.90	1	191.50	1
51.05	1	93.00	1	138.00	1	192.50	1
53.05	2	95.00	2	140.95	2	194.65	1
55.20	6	97.15	1	142.45	1	204.50	2
57.05	100	103.00	1	142.80	1	205.25	1
58.05	3	105.00	3	144.95	2	206.40	1
65.05	2	107.15	3	148.95	1	207.40	1
67.05	3	109.00	1	151.00	1	298.40	2
69.05	1	115.00	3	152.00	1	299.15	2
71.05	1	116.00	1	154.00	1	300.15	1
73.05	1	117.00	1	156.00	1	301.25	1
77.05	5	121.00	2	164.95	1	316.25	1
78.20	1	123.00	1	166.00	1	317.15	1
79.05	4						

La cetona cíclica en anillo de 6 carbonos comprueba los fragmentos 55, 57, 107 y 165. Así mismo esta estructura esta de acuerdo con el fragmento $m/z = 204$. Todas estas fragmentaciones se identifican claramente en la Fig f y g.

Fig.f

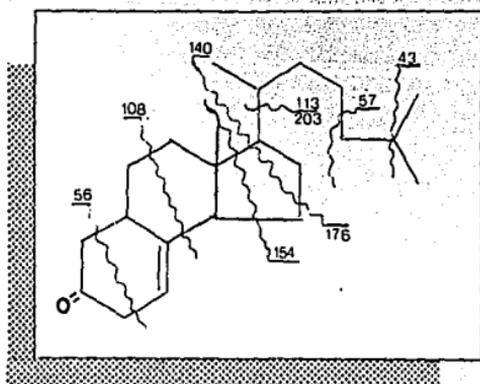
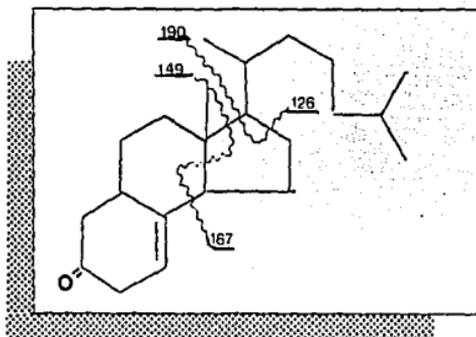


Fig.g



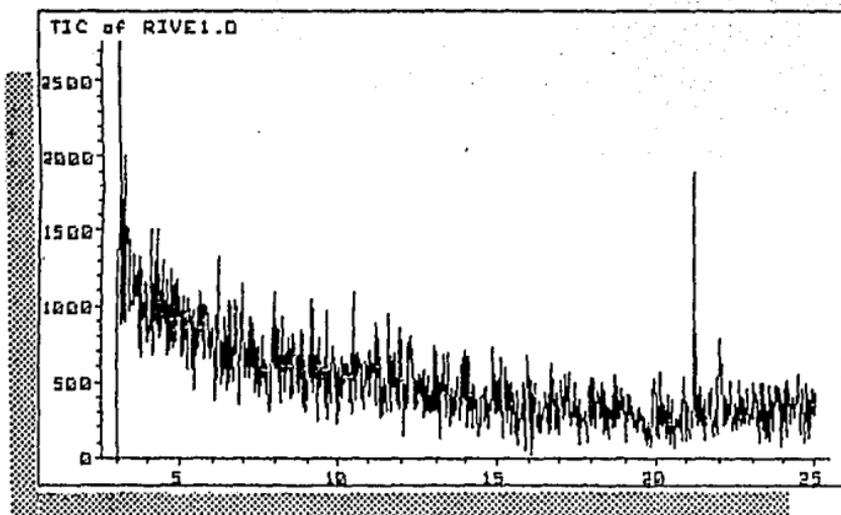
La fragmentación de este compuesto está de acuerdo con lo esperado para dicha estructura y con lo publicado de compuestos policíclicos (16).

La cetona elucidada para el compuesto 5e del espectro No. 3b y No. 3c corresponde a la fórmula $C_{22}H_{36}O$ (19).

COMPUESTO 7a

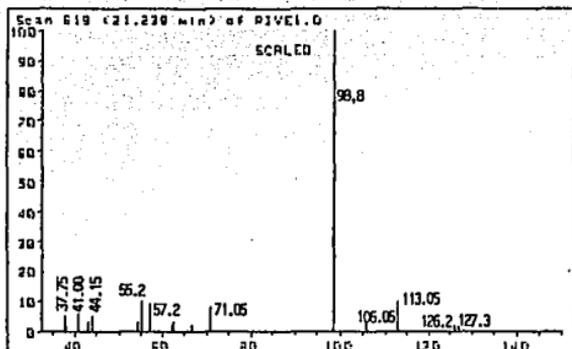
El diagrama de evaporación de la muestra introducida en el espectrómetro de masas por ionización química da la siguiente figura (Fig.h).

Fig. h



El espectro de masas obtenido fué el ESPECTRO No. 5 y corresponde a un compuesto de cadena abierta con un doble enlace de acuerdo a los principales fragmentos encontrados.

ESPECTRO No. 5

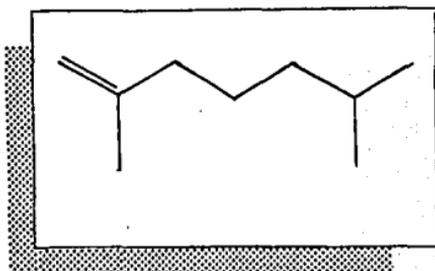


Scan 619 (21.238 min) of RIVE1.0
CLAVE MUESTRA 7A

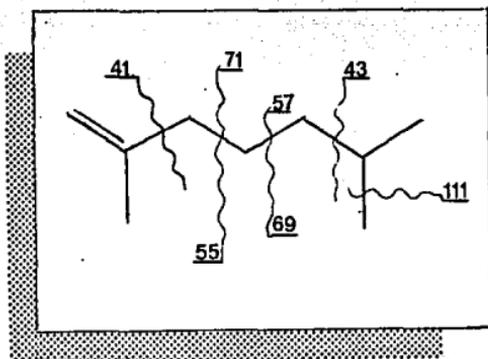
m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.
37.75	5	54.20	3	62.70	3	105.05	3
38.25	2	54.55	3	65.95	2	113.05	10
41.00	6	55.20	10	71.05	6	126.20	2
43.15	3	57.20	9	99.80	100	127.30	2
44.15	5	62.30	2				

La estructura es la siguiente y corresponde al 2-6 dimetil hepteno. (Fig.i)

Fig.i



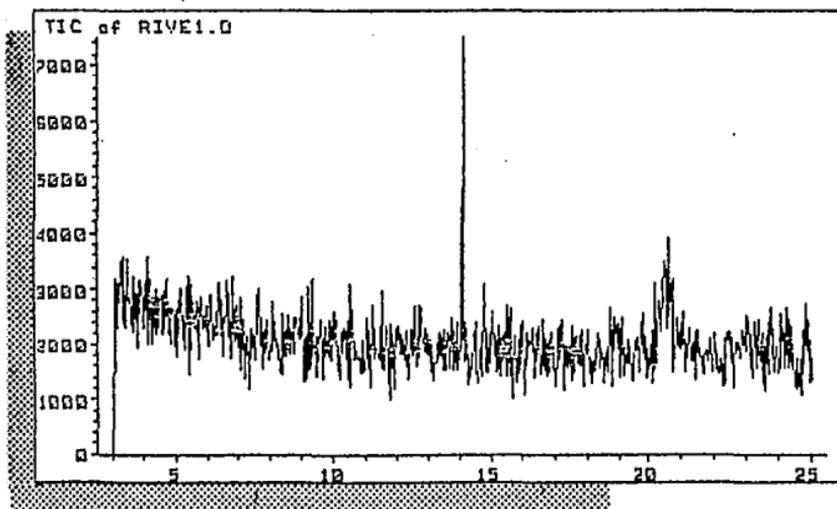
Los principales fragmentos encontrados para esta muestra son: $m/z = 41, 55, 71, 69, 57, 43, 111$. siendo su pico base 98.8.



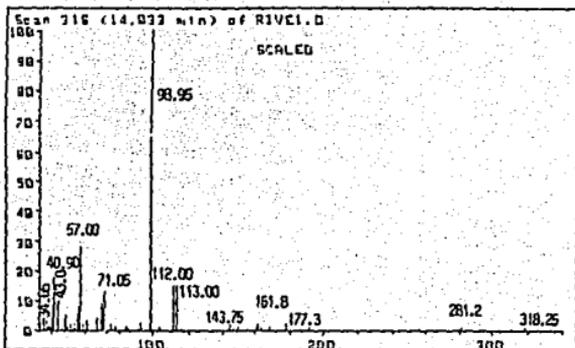
COMPUESTO VIIF

Se corrió el espectro de masas por impacto electrónico de esta muestra obteniéndose el diagrama de evaporación (Fig.j) y el correspondiente espectro de masas de la muestra evaporada a los 14.033 min. (ESPECTRO No. 6).

Fig. j



ESPECTRO No. 6



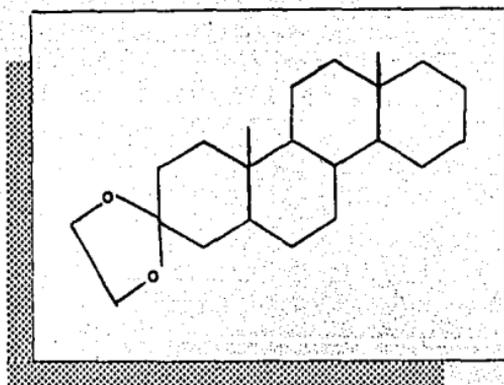
Scan 315 (14.033 min) of RIVE1.D

VII-F

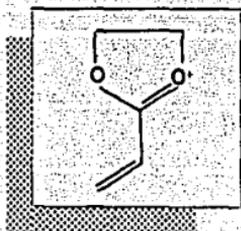
m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.
34.65	4	48.75	1	69.95	7	143.75	2
36.50	3	50.40	2	71.05	13	148.75	1
37.50	1	53.15	3	75.55	2	151.05	1
37.90	2	55.00	6	77.70	1	151.80	2
38.90	1	56.00	0	84.00	1	163.45	1
39.90	4	57.00	20	92.95	2	160.30	1
40.90	10	58.00	2	98.95	100	177.30	2
43.00	10	60.90	3	104.20	1	198.95	1
47.65	5	66.95	4	112.00	15	281.20	1
47.90	5	69.20	9	113.00	15	318.25	1

Este compuesto se conoce y se encuentra reportado en la literatura (20) y corresponde al etilen cetal de la 5 - α androstan -3- ona. (Fig. k)

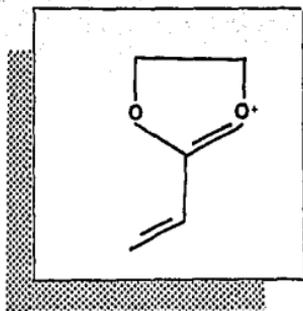
Fig. k



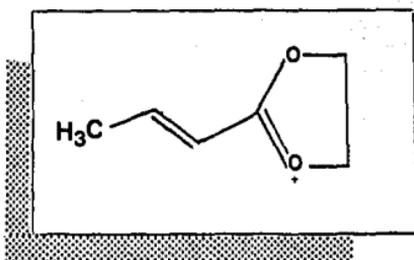
El pico base del ESPECTRO No. 6 encontrado y el espectro encontrado en la literatura es $m/z = 99$ y corresponde a:



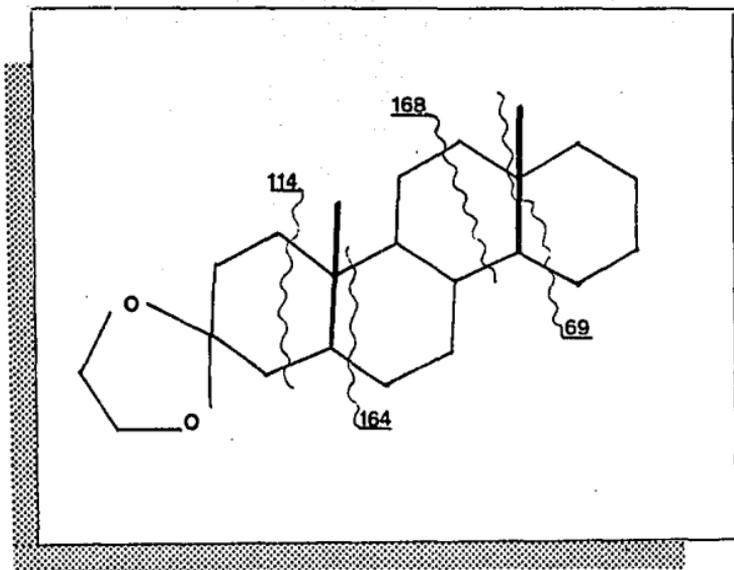
$m/z = 112$ que es uno de los siguientes picos más interesantes corresponde a:



Y $m/z = 113$ corresponde a:



Los fragmentos más importantes se explican en la siguiente figura:



De las muestra VIIh, 8b, 14c y 4d solo se realizó espectrometría en I.R. De la muestra VIIh que pertenece al ESPECTRO No. 7 se puede notar los principales grupos funcionales que tienen las siguientes bandas importantes que son:

2929	cm ⁻¹ (s)	C-H alifático
2859	cm ⁻¹ (s)	C-H stretching(st)
1740	cm ⁻¹ (m)	C=O grupo cetónico
1640	cm ⁻¹ (m)	C=C
1260	cm ⁻¹ (m)	-CH ₃ y/o CH ₂

De la muestra 8b, ESPECTRO No.8 las bandas principales fueron:

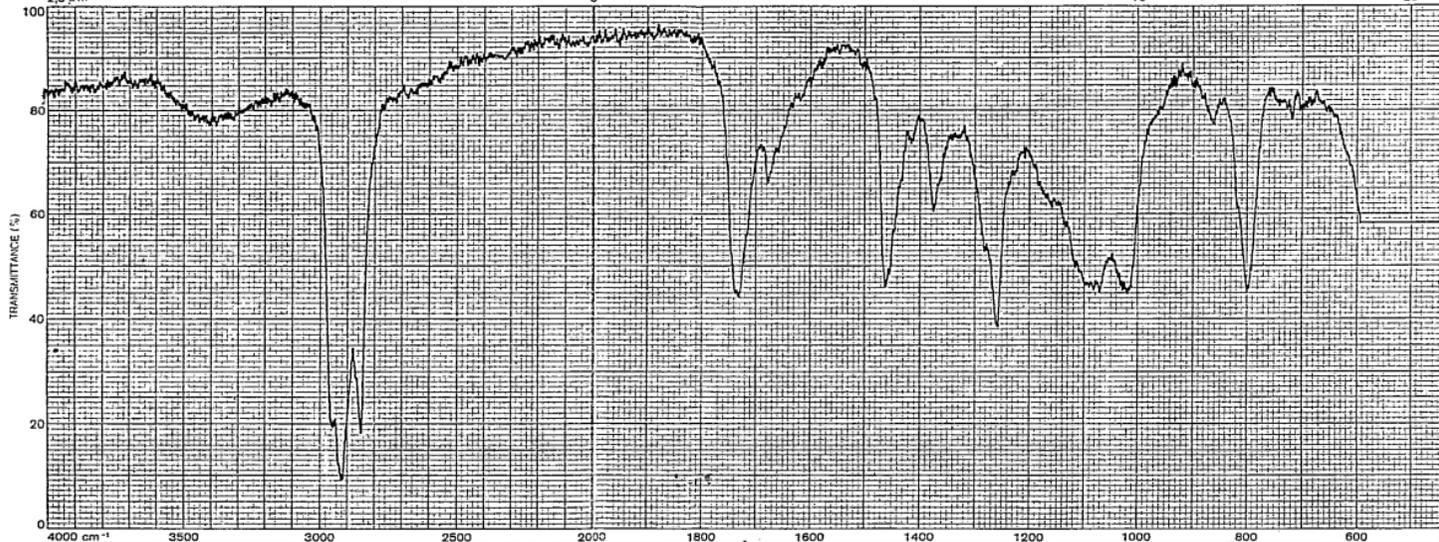
2929	cm ⁻¹ (s)	C-H alifático
2860	cm ⁻¹ (m)	C-H alifático
1750	cm ⁻¹	C=O grupo cetónico
1260	cm ⁻¹ (m)	C-O stretching(alargamiento y acortamiento).

En la muestra 14c se pueden apreciar las siguientes bandas en el ESPECTRO No.9.

3400	cm ⁻¹ (s)	-OH
2910	cm ⁻¹ (s)	C-H alifático
2830	cm ⁻¹ (s)	C-H alifático
1730	cm ⁻¹ (s)	C=O
1450 y 1380	cm ⁻¹	Metilos y/o metilenos

E S P E C T R O N O . 7

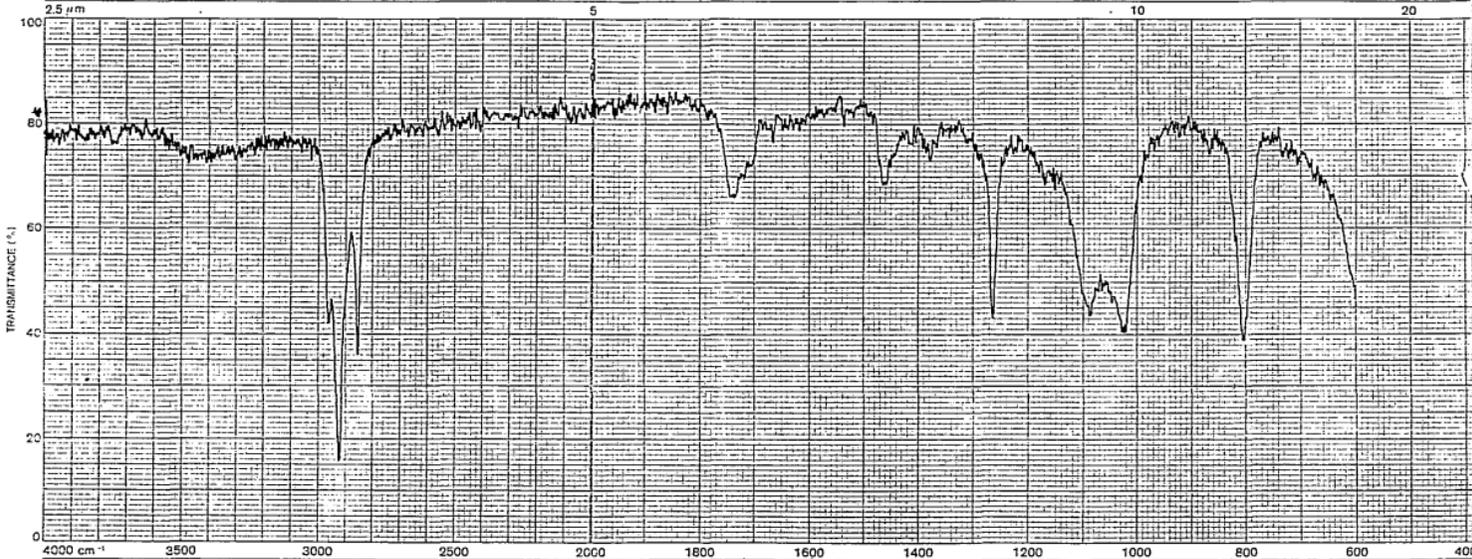
SPECTRASET MODE	SINGLE BEAM FIXED RESPONSE AUTO SMOOTH	SCAN TIME 20 MINS	RESPONSE 1 2 3 4 5	cm ⁻¹ EXP 100 SLITWIDTH	% T EXP BACK OFF	REMARKS
	X		X			



SAMPLE VII h C. h # Aurea Remissa	TECHNIQUE Perleuk	PATHLENGTH	OPERATOR Chick	PYE UNICAM L CAMBRIDGE E
	REFERENCE disc	CONCENTRATION	DATE 12-15-60	
			REF No 203	PART No 64174

E S P E C T R O N O . 8

SPECTRASET MODE	SINGLE BEAM FIXED RESPONSE AUTO SMOOTH	SCAN TIME MINS	1	RESPONSE	2	3	4	cm ⁻¹ EXP	1	T EXP	BACK OFF	REMARKS
-----------------	--	-------------------	---	----------	---	---	---	----------------------	---	-------	----------	---------

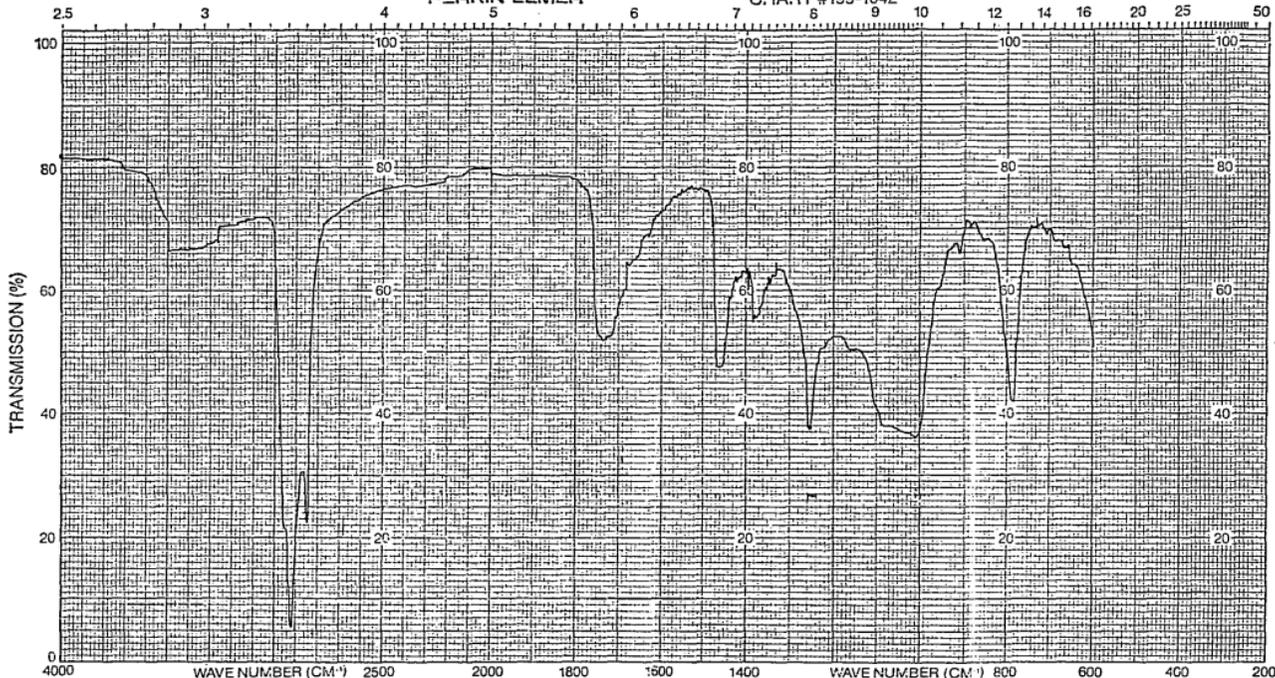


SAMPLE	86 C-h. *	TECHNIQUE	pellet	PATHLENGTH		OPERATOR	Umpf	PYE UNICAM LTD
	Quina Pamine	REFERENCE	oil	CONCENTRATION		DATE	7-11-90	CAMBRIDGE ENGLAND
						REF No	1047	PART No 841749

ESPECTRO NO. 9

PERKIN-ELMER®

CHART #199-1042



ABSCISSA		ORDINATE		SCAN TIME <u>12</u>	REP. SCAN _____	SINGLE BEAM _____
EXPANSION _____		EXPANSION _____		MULTIPLIER <u>1</u>	TIME DRIVE _____	
SUPPRESSION _____		%T _____ ABS _____		SPLIT PROGRAM _____	OPERATOR <u>Amparo</u>	DATE <u>11-17-91</u>
SAMPLE <u>1/2 c Ch *</u>	REMARKS <u>película</u>			SOLVENT _____	CELL PATH _____	
ORIGIN <u>Clusia Ramirez</u>	<u>amplificado 15 veces</u>			CONCENTRATION _____	REFERENCE <u>air</u>	

SAMPLE

REF. NO.

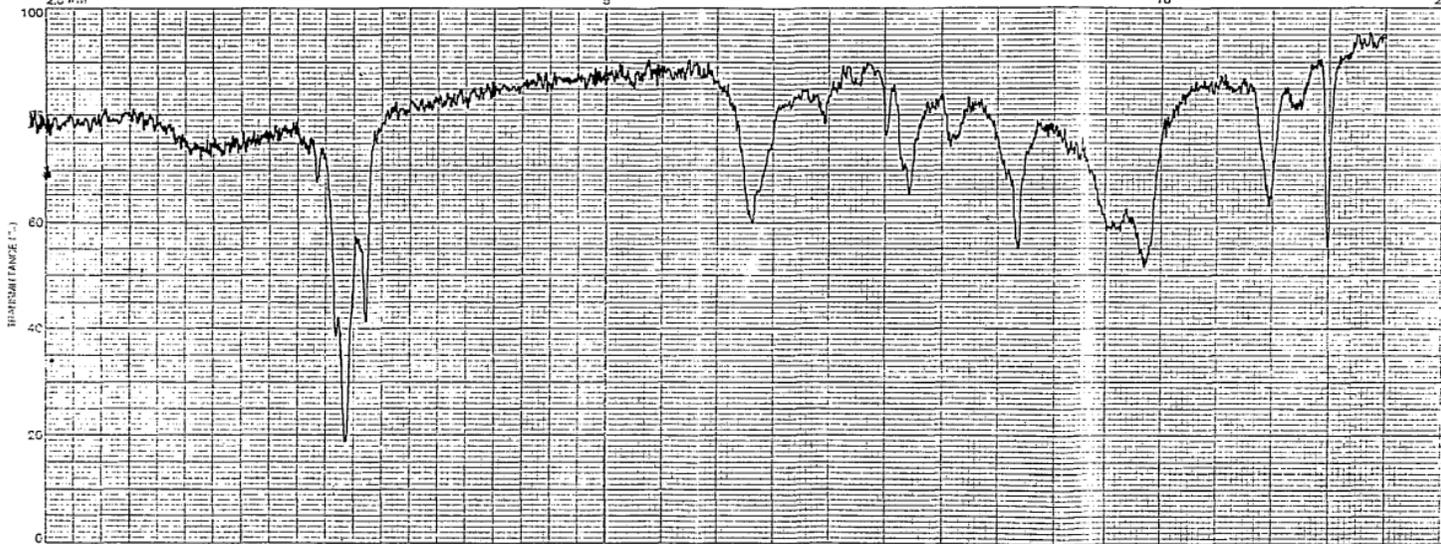
1211

Y la muestra 4d pertenece al ESPECTRO No. 10 las bandas que aparecen son:

2850	cm	(m)	C-H alifático
2910	cm	(m)	C-H alifático
1730	cm		Metilos y/o metilenos

ESPECTRO NO. 10

SPECTRASET MODE	SINGLE BEAM FIXED RESPONSE AUTO SMOOTH	SCAN TIME MINS	1	RESPONSE 2 3 4	cm ⁻¹ EXP SLITV. CT-	T EXP BACK OFF	REMARKS
2.5 μm			5				10



4000 cm ⁻¹	3500	3000	2500	2000	1600	1400	1200	1000	800	600
SAMPLE	4d ch * Dura Rámirez			TECHNIQUE	potencia	PATHLENGTH	---	OPERATOR	Chapa	PYE UNIC
				REFERENCE	all	CONCENTRATION	---	DATE	9-XI-90	CAMERON
								REF No	1048	PART No

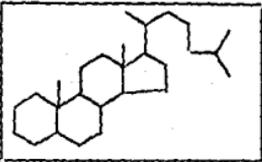
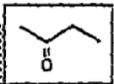
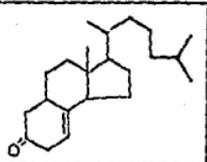
CAPITULO V

C
O
N
C
L
U
S
I
O
N
E
S

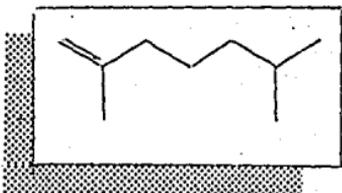
De un tumor encontrado en un rizoma de *Calibanus hookerii* de peso húmedo de 2105 g se hicieron varias extracciones sucesivas a reflujo, usando hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol respectivamente.

Del extracto de acetato de etilo, se aislaron y purificaron 8 compuestos que por cromatografía en capa fina bidimensional presentaron una sola mancha.

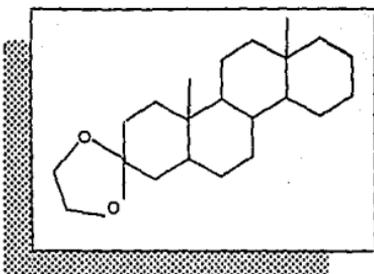
Se elucidaron las estructuras de 5 compuestos por espectrometría de masas y espectroscopía de I.R. como el siguiente enlistado:

	NOMBRE	FÓRMULA
1.-	Colestano	
2.-	Butanona 2	
3.-	Cetona cíclica	

4.- 2-6 dimetil hepteno



5.- cetal de la 5- alfa androstan - 3 - ona



Las cantidades obtenidas fueron muy pequeñas por lo que se recomienda que se aislen nuevamente estos compuestos en mayor cantidad siguiendo el diagrama de extracción y purificación de esta tesis y se hagan los estudios de Resonancia Magnética Nuclear de protones, Carbono 13 e I.R. y/o Espectroscopia de Masas a los que no se les pudo realizar, para elucidar completamente la estereoquímica de las moléculas y confirmar las estructuras propuestas y determinar sus puntos de fusión.

Las estructuras elucidadas son de gran interés, pues son estructuras esteroidales encontradas en Productos Naturales (Ref. 20). Se propone que en futuros ensayos se continúe estudiando los demás extractos de este tumor ya que, surgirían cosas más interesantes que ayudarían a entender el metabolismo de los tumores en plantas y se podría comparar con todos los compuestos que se han aislado de plantas sanas.

CAPÍTULO VI

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

- (1).- Rebollar M., "Contribución al estudio químico de *Calibanus hookerii*", Tesis de la licenciatura en QFB, FQ, UNAM, 1976.
- (2).- Giral F., Rivera., "Calibagenina". *Phytochemistry*, 14, 793 (1975).
- (3).- Rivera C., "Giralgenin, New Steroidal Sapogenin", *Memorias del X Congreso Internacional de Química de Productos Naturales*, Monterrey N.L., México, 28-30 abril 1983.
- (4).- Marker R.E., "Estudio de Síntesis de la Testosterona a partir de la Zarzaparrilla" *Report of State Collage de Pennsylvania, EUA, 1940.*
- (5).- Pérez C.G., "Nueva sapogenina aislada de *Calibanus hookerii* e identificada por cromatografía de gases", Tesis de Licenciatura en Química UNAM, 1975.
- (6).- Sánchez O.A.R, Valdés A.I., "Estudio preliminar de la corteza y raíces de una especie del género *Calibanus*" Tesis de Licenciatura en QI, UAP, 1982.
- (7).- Rivera Carmen, Comunicación Personal, 1990.
- (8).- Polímeros en la Naturaleza, *Rev. Sociedad Química de México*, 29(4), 219, (1985).
- (9).- Roberts D. Boothroyd Carl, "Fundamentals of Plant Pathology", Freeman and Company, USA, Sn Fco. 1972.
- (10).- Pedroza, A. "Fitopatología", UACH, 1983.
- (11).- Mathews, "Plant Virology", Student Edition, Academic Press, N.Y., 1970.

- (12).- D. Noordan Pudoc "Identification of Plant Viruses", Pudoc, Wageningen, 1973, pag.19-27.
- (13).- Agrios George N., "Plant Pathology". Academic Press, N.Y., 1969, pag.69-86.
- (14).- Fryer J., "Plant Growth Substance", Academic Press, N.Y., 1972.
- (15).- Tarr S.AJ., "Principles of Plant pathology", Mc Millan, London, 1972, pag.79-203.
- (16).- Seibl H., "Massen Spektrometrie", Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt, 1970.
- (17).- Pretsch, Clerc, Sibil, Simon, Tabellen Zur, Struktur Aufklärung Organischer Verbindungen, Springer Verlag, Berlin, 1976.
- (18).- Fred. W. Mc Lafferty, "Interpretación de los Espectros de Masa" Ed. Reverte, S.A., 1969.
- (19).- A. Cornu and R. Masset, "Compilation of Mass Spectral data" Index de Spectres de Masse, Second Edition, Volume 1, England, 1975.
- (20).- Budzikiewicz, Djerassi, Williams, "Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry" Vol 2, Steroids Terpenoids Sugars and Miscellaneous classes, Holden-Day INC. Sn. Fco. London, Amsterdam, 1964, pag. 25.