

32  
Zey



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

"ESTUDIO FITOQUÍMICO DE Sambucus mexicana  
PROCEDENTE DE TRES REGIONES DE LA SIERRA NORTE DE  
PUEBLA: NAUZONTLA, ZOATECPAN Y PAHUATLAN".

FALLA DE ORIGEN

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA**

**P R E S E N T A:**

**ANA LILIA LASTRA SANTANA**



ASESOR: DR. MARIANO MARTINEZ VAZQUEZ.

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1995



## **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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLÁN  
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el trabajo de tesis: "Estudio fitoquímico de Sambucus mexicana procedente de tres regiones de la sierra Norte de Puebla: Xauzontla, Zoateopan y Pahuatlán".

que presenta la pasante: Ana Lilia Lestra Santana  
con número de cuenta: 8710346-9 para obtener el TÍTULO de:  
Química Farmacéutica Bióloga.

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXÁMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 17 de agosto de 1995

PRESIDENTE	<u>M.en C. René Miranda Ruvalcaba</u>
VOCAL	<u>J.F.B. Elizabeth Toriz García</u>
SECRETARIO	<u>D.C. Mariano Martínez Vázquez</u>
1er. SUPLENTE	<u>M.en C. Guillermo Penierres Carrillo</u>
2do. SUPLENTE	<u>J. Mario Arturo Morales Delgado</u>

*Elizabeth Toriz García*  
17/8/95

*A mis padres con cariño y gratitud infinitos*

*Al doctor Mariano  
con especial agradecimiento por su tiempo y paciencia*

*A la Universidad Nacional Autónoma de México*

**Este trabajo fue realizado en el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México bajo la asesoría del Dr. Mariano Martínez Vázquez, y con una beca proporcionada por la DGAPA bajo el proyecto IN202793.**

## INDICE

	págs.
<b>INTRODUCCIÓN</b>	
<b>1.GENERALIDADES</b>	<b>1</b>
1.1 Descripción de la familia	2
1.2 Descripción del género	3
1.3 Usos de <i>Sambucus</i>	5
1.4 Composición química	8
1.5 Metabolitos primarios vs. metabolitos secundarios	11
1.6 Terpenos	12
1.6.1 Clasificación y biosíntesis	13
1.6.2 Formación de triterpenos pentacíclicos.	15
<b>2.PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>25</b>
2.1 Material vegetal y equipo	25
2.2 Constantes físicas y espectroscópicas	26
2.3 Extracción y aislamiento de productos	26
2.3.1 Región de Zoateopan	29
2.3.2. Preparación de derivados	31
2.3.3. Regiones de Nauzontla y Pahuatlán	33
2.3.4 Reacción con bromo	34
<b>3.DISCUSIÓN</b>	<b>42</b>
3.1 Ácido ursólico	42
3.2 Derivados químicos de ácido ursólico	43
3.3 Ácido oleanólico	49
<b>4.ACTIVIDAD BIOLÓGICA</b>	<b>53</b>
4.1 Actividad de ácido ursólico y oleanólico.	53
<b>5.CONCLUSIONES</b>	<b>56</b>
<b>6.BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>58</b>
<b>APÉNDICE (ESPECTROS)</b>	

## INTRODUCCIÓN

La Sierra Norte de Puebla constituye sin duda un importante potencial de flora regional. Algunos nativos de la zona (chamanes, curanderos, etc.), saben mucho acerca de la vegetación que les rodea, de su dinámica, de su relación con factores ambientales y de su valor indicador en cuanto a posibles aprovechamientos. Estos conocimientos acerca de las plantas medicinales son empíricos y muy antiguos.

Sin embargo, el desarrollo actual del país requiere conocimientos más exactos acerca de los recursos naturales disponibles y uno de éstos recursos es precisamente la cubierta vegetal.

No es sino en años más recientes cuando se nota en México un despliegue de esfuerzos dedicados a estudiar su vegetación en forma sistemática, con la utilización de varios procedimientos tales como la identificación botánica, el aislamiento de constituyentes puros biológicamente activos, responsables de las propiedades de plantas medicinales, así como el estudio del modo de acción de éstos, sus efectos colaterales, toxicidad, etc.

Debe mencionarse que las plantas pueden contener cientos de constituyentes diferentes y entre éstos un compuesto simple (o una serie de sustancias estrechamente relacionadas), es responsable de las propiedades biológicas observadas en extractos crudos.

Por ello, el objetivo principal de este trabajo fué el de integrar los conocimientos químicos, biológicos y de utilización del *Sambucus mexicana*, planta medicinal de la Sierra Norte de Puebla, mediante el aislamiento y caracterización de los posibles principios activos (cuya elucidación estructural se obtuvo a partir de una metodología espectral corrientemente disponible), y estimar si el patrón de utilización por las etnias en las regiones estudiadas (Zoateopan, Nauzontla y Pahuatlan), dada en forma empírica, coincide con la actividad biológica de las sustancias y extractos obtenidos.

Así mismo, como propósito adicional está el señalar lo insuficiente que resulta nuestro conocimiento acerca de la vegetación del país, razón por la cual es necesario estimar un mayor número de estudios de este tipo como guía para asignar prioridades de selección de todas aquellas especies con mayor potencialidad de ser evaluadas en su actividad biológica. En la medida en que éstos conocimientos se difundan entre la población se alcanzará un mayor aprovechamiento de los recursos naturales,

En ese sentido, las plantas medicinales de México pueden ofrecer una clara y económica solución a trastornos de salud comunes, apoyados desde luego en bases científicas estrictas.



## 1. GENERALIDADES

En las últimas décadas ha habido un interés creciente en sustancias de origen vegetal y los compuestos orgánicos aislados de estas han sido usados en la cura de enfermedades, de tal manera que el consumo de plantas medicinales ha sido casi del doble en países industrializados del Oeste de Europa, donde las sustancias derivadas de plantas superiores constituyen aproximadamente el 25% de las medicinas prescritas (8,12). Esta es una de las razones por la cual se estudió el *Sambucus mexicana*, planta medicinal de gran arraigo popular en la Sierra Norte de Puebla.

La clasificación taxonómica de la especie se detalla a continuación según Conquis, Takhtajan y Zimmerman (14):

DIVISIÓN : *magnoliophyta*

SUBDIVISIÓN: *angiospermas*

CLASE : *magnoliatae (dicotyledoneae)*

SUBCLASE: *asteridae*

SUPERORDEN : *lamianae*

ORDEN: *rubiales (dipsacales)*

FAMILIA: *caprifoliace*

GÉNERO: *sambucus*

ESPECIE: *mexicana*

## 1.1 DESCRIPCIÓN DE LA FAMILIA.

La familia *Caprifoliacea* comprende trece géneros, entre ellos están: *Sambucus*, *Lonicera*, *Adoxa*, *Viburnum*, *Symphycarpus*, *Dipelta*, *Abelia*, *Linnacea*, *Kolkwitzia*, *Diervilla*, *Leycesteria*, etc; cuenta con una gran riqueza de especies (400) . En el Valle de México existen cuatro géneros con varias especies, ya que a algunas se les atribuyen propiedades curativas, lo cual ha despertado el interés en materia de investigación Fitoquímica (19).

La familia está distribuida ampliamente en el hemisferio boreal, Este de Asia y muy poco en Sudamérica y Nueva Zelanda (3). Se le encuentra en un tipo de vegetación muy especial conocido como bosque mesófilo de montaña, entre 2,500 y 2,800 m de altitud en sitios protegidos de insolación fuerte y de los vientos, donde la precipitación media anual excede de 1,000 mm y la temperatura en promedio anual varía de 12 a 14 °C. Los suelos son por lo general profundos, ricos en materia orgánica y húmedos durante todo o casi todo el año. El bosque mide de 10 a 25 m de altura, es denso y la mayoría de

sus componentes son de hoja perenne y aunque algunos son caducifolios, la comunidad es verde en toda época del año.

Las especies predominantes varían de un lugar a otro pero prevalecen especies tales como: *Sambucus mexicana*, *Vibornum stenocalyx*, *Abies religiosa* y otras (2).

La familia de las *Caprifoliaceas* se caracteriza por tener el ovario ínfero. Tienen las hojas constantemente opuestas y flores tetrámeras o pentámeras, ora radiada, ora dorsiventrales o asimétricas, en cuyo caso suelen contener un número reducido de estambres y de carpelos.

En las *Caprifoliaceas*, plantas leñosas que suelen carecer de estipulas, encontramos unas veces flores radiadas u otras veces flores dorsiventrales. Por lo regular tienen ovario trilobular o bilobular, en las madreselvas (*Lonicera*), los frutos son bayas, oligospermas, soldadas de dos en dos (bayas dobles), en el Sauco (*Sambucus*), las drupas tienen tres huesos (*monospermas*). El Sauco y los *Viburnum* tienen flores radiadas, reunidas en pleocasios corimbiliformes (21). En el cuadro 1a se muestran algunas características morfológicas de la familia según la especie.

CUADRO 1a. Descripción de la familia *Caprifoliacea* (6).

<i>Caprifoliacea</i>	Especie
°hojas simples, enteras y delgadas	<i>Linnacea</i> , <i>Viburnum</i> , <i>Lonicera</i>
°hojas compuestas por tallos diferenciados	<i>Adoxa</i> , <i>Sambucus</i>

## 1.2. DESCRIPCIÓN DEL GÉNERO.

*Sambucus* es un género ampliamente distribuido en México, ya que se localiza en el Valle de México, Orizaba, Puebla y Sonora, especialmente cultivada. También se conoce en el Este de Texas, Sur de California, América Central, Europa y Asia, donde se sabe de la existencia de cerca de 350 especies diferentes.

A continuación se muestran los caracteres más representativos del género:

Es un arbusto o árbol de corteza suave, gris y escamosa, que crece hasta 4 m. Sus ramas son largas y quebradizas llenas de abundante médula. Las hojas son

grandes, compuestas de unas cinco hojuelas pinnadas, medianas, lanceoladas o ovoidales, de 5 a 15 cm de largo por 2 a 4 cm de ancho. Flores pequeñas, blancas, densamente dispuestas en inflorescencias cimosas o aplanadas.

Su olor es intenso y agradable, los frutos son dulces y carnosos, pequeños casi negros, de unos 3 a 6 cm de diámetro (14,16).

En el cuadro 1b se muestran los caracteres morfológicos de algunas especies de *Sambucus*.

CUADRO 1b. Descripción de algunas especies de *Sambucus* (6).

Descripción	Especie y Nombre Común
°Planta herbácea, estipulas anchas y verdes, hojas con olor a almendra amarga. Frutos negros, yermos flores blancas o rojizas.	<i>S. ebulus</i> (yezgo, matapulgas)
°Flores dispuestas en una especie de racimo compuesto, sobre distintos planos y de aparición interior o simultánea a las hojas, fruto maduro rojo Flores blanquecinas o amarillas.	<i>S. racemosa</i> (Sauco rojo)
°Arbusto o palo de madera suave, hojas compuestas, flores pequeñas y blancas, fruto negro	<i>S. mexicana</i> (Sauco)
°Árbol ó arbusto, estipulas pequeñas o no desarrolladas. Flores dispuestas en una especie de corimbo que se abren casi en un mismo plano, y aparecen antes de las hojas, fruto maduro negro. Flores blancas.	<i>S. nigra</i> (Sauco)

### 1.3. USOS DE SAMBUCUS.

Los merecimientos del *Sambucus* han sido tantos, que el hombre extendió este arbusto por gran parte del globo. Su cultivo, probablemente para aprovechar el fruto como alimenticio, se remonta a los tiempos neolíticos. Los españoles lo llevaron al Nuevo Mundo, donde se halla aclimatado en numerosos países. Incluso en las alturas de los Andes donde el clima es favorable a diversas plantas europeas (9).

En el cuadro 1c pueden observarse varios usos de alguna especie de *Sambucus*

CUADRO 1c. Especies y usos comunes de *Sambucus* (20).

Especie	Lugar	Uso Popular	Nombre Común
<i>S. simpsonii</i>	Cuba y Dominicana	planta para fines medicinales, refriado y fríos, como té	-
<i>S. mexicana</i>	México, Colombia	hierba para la tos, diarrea, calentura, infecciones, quemaduras. La flor es usada como bebida medicinal.	Sauco Sauco blanco
<i>S. oedopola</i>	Guatemala	Las flores se hierven en agua y la infusión alivia catarro y fríos.	saico
<i>S. australis</i>	Argentina	el fruto es comúnmente usado para la fabricación de vino	seco
<i>S. mexicana</i> Var <i>bipinnata</i>	Colombia	usado para catarro y gripe	sauco
<i>S. paruviana</i>	Bolivia	se usa la infusión para sudar	sauco
<i>S. sieboldiana</i>	China	medicina	-
<i>S. williamsii</i>	China	sukinshy, usado para curar torceduras	
<i>S. racemosa</i>	China	purgativo	shan sinku oniu fa shin
<i>S. wightiana</i>	Kashmir	los nativos lo llaman fruto venenoso, pero es comestible.	-
<i>S. nigra</i>	Grecia	enf. respiratorias (emoliente y expectorante), enf. sis. digestivo diarrea, disentería, diurético, laxante.	sambuco
<i>S. ebulus</i>	Italia	en cataplasma contra reumatismo	Ebbio fetente

Las flores de las especies mexicanas son muy usadas y se presume que tienen propiedades análogas a las de la especie europea. Algunos autores mencionan que las hojas son anodinas y algo purgantes, y que promueven el sudor, la orina y el mensturo. Añaden que las bayas son venenosas para las gallinas. Como diurético y expectorante se recomienda el cocimiento de un puñado de flores en 180 g de agua, en dos tomas calientes (14).

Las plantas que han sido usadas en medicina tradicional están más encaminadas a obtener principios farmacológicamente activos, de ahí el interés particular sobre la especie *Sambucus mexicana* (Sauco), de uso potencial en el tratamiento de diversos trastornos por los habitantes de la Sierra Norte de Puebla aunque dicho uso no es exclusivo de esta zona puesto que se encuentra ampliamente difundido a lo largo de toda la República Mexicana y la asignación de nombres comunes es específico del lugar y del dialecto predominante según se observa en el cuadro 1d.

CUADRO 1d. Nombres comunes de la especie *Sambucus mexicana* (14).

NOMBRE	LENGUA	LUGAR
anshiquel	tojolobal	Nte, Comitán Chiapas
azumiatl bishumi	-	Veracruz
yaga zulaque	zapoteca	Oaxaca
cundumbu	tarasca	Michoacán
coyapal	zoque	Chiapas
nitxirza	otomí	Hidalgo
tzirza	otomí	Hidalgo
ocoquihui	-	Chiapas Tapalapa
sauco	-	región central del país
shauc	-	Tuxtla Gutiérrez Chiapas
tsoles-ché	maya	Yucatan
tokxihua	tononaca	Nte. de Puebla
xiicsh	mixtec	Oaxaca
xómet	azteca	Sierra Nte. Puebla
xómetl	azteca	México
yah-cuio	cuicallaca	Oaxaca
yutnucate	mixteca	Oaxaca

El Sauco florece en abril en tierra baja, durante todo el mes de mayo. Sin embargo, en las montañas puede llevar un mes de retraso si no más. Se cría de preferencia en los setos y ribazos de casi todo el país, mayormente en la mitad septentrional, o bien, se encuentra frecuentemente en vegetación secundaria de bosques deciduos y encinares de hojas pequeñas o blandas de las tierras templadas (9).

Es una planta muy común, de cultivo frecuente. A veces está sembrado como un cerco vivo, o bien, en las partes frescas de las tierras calientes (4).

En nuestro país se utilizan de preferencia las flores de sauco, que se recolectan en primavera, durante el mes de mayo en tierra baja, y en junio en las montañas y

tierras del Norte. Las hojas se cortan preferencialmente con un año de antigüedad, también en mayo. La corteza es mejor arrancarla durante la otoñada, escogiendo ramas de un par de años y quitando de ellas la parte externa, ya sea pelándolas o raspándolas hasta que salga lo tierno y vivo, que es de color verdoso de su interior, lo cual se separa y se deseca. Los frutos se colectan, asimismo a fines de verano o en otoño, según las localidades y se saca el jugo cuando se acaban de colectar (9).

#### 1.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA.

En cuanto a composición, la flor de sauco posee pequeñas cantidades de una esencia de consistencia mantecosa, colina, materias tánicas y resinas, azúcar, mucílago y la llamada eldrina, que no es sino rutina, así como los ácidos málico, valerianico y tartárico y un glucósido nitrílico. En las hojas se encuentra otro nucleósido, la sambunigrina, que mediante un fermento parecido a la emulsina produce glucosa, aldehído benílico y una cantidad de ácido cianhídrico de unos 10 mg por cada 100 mg de hojas frescas. Se ha hallado un alcaloide, la sambusina, semejante a la conina.

En la corteza existe también el mismo alcaloide de las hojas, la sambusina y la fitosterina, ácido resínico, flobateno, materias tánicas, los ácidos estéarico y mirístico.

Los frutos contienen alrededor de un 80% de agua, pentosanas, azúcar invertido, un poco de aceite de sauco, proteínas, ácido málico, etc (15).



En el cuadro 1e se agrupan algunos resultados de estudios fitoquímicos de varias especies de *Sambucus*. Asimismo, en el cuadro 1f se detallan algunas actividades biológicas que se han observado en las mismas.

CUADRO 1e. Estudio Fitoquímico de algunas especies de *Sambucus*.

Especie	Componentes
<i>S. formosa</i> (52)	palmitato de $\alpha$ -amirina, palmitato de $\beta$ -amirina, sitosterol (hojas frescas).
<i>S. ebulus</i> (56)	glicósidos iridoides, 6-o-aposilebulósido y 7,7-o-dihidroebulósido, $\beta$ -D-glucopiranosil-8-hidroxi-2,6-dimetiloct-2-enoato, flavonoides, flavonas libres.
<i>S. cerulea</i>	ácido abcísico (semillas)
<i>S. nigra</i> (59,57,56,40,45,36)	(flores, aceites y semillas), ácido ursólico, ac. oleanoico, y $\alpha$ -amirina, esteroides, 0.011%, esteroides libres, ácidos grasos, glicósidos, sambicianina, disacárido samblosa, cianidol glucósido, flavonoides totales, flavonas libres, glicósido de flavona, quercetol, kamferol, estigmasterol, Sitosterol, campesterol, quercetina, ac. 20-OHursólico, isoquercitrina, ac. clorogénico, fructosa, taninos, ac. valérico, carotenos, ac. caprifólico.
<i>S. racemosa</i> (63)	ac. betólico, betonina, $\alpha$ -amirina, $\beta$ -sitosterol, alcohol ceril, n-nonaicociano
<i>S. canadensis</i> (41)	Hojas secas alcanos n-nonacosano y n-hentriacontano, sitosterol, estigmasterol, campesterol, palmitato de $\alpha$ y $\beta$ -amirina, ac. ursólico, ac. oleanólico, ac. araquidónico, ac. baldránico, CHOS, carotenos, fibra, glicina, ac. linoleico, ac. linolénico, moronísido, niacina, ac. palmítico, ac. pantolítico, ac. esteárico

CUADRO 1f. Actividad biológica .

Especie	Actividad biológica <i>In Vivo</i> o <i>In Vitro</i>
<i>S. obulus</i> (67)	Inhibición de SNC en animales de laboratorio, diurético, disminución de presión en sangre, antimicrobiano, detección de genotipos A1, O y B. hojas, bayas y ramas tienen efecto en la regeneración de glándulas capilares lo cual promueve el recrecimiento del cabello.
<i>S. nigra</i> (29,58,69,34)	<i>In vitro</i> , relajación de la actividad motora en ileo aislado de rata y reducción del tono muscular, fitohemaglutininas aisladas de la corteza producen cambios en la actividad motora en músculo liso de útero de rata induciendo contracción durante el período de estro. En un estudio efectuado sobre los factores de aglutinación en diversas especies animales se encontró que las fitohemaglutininas de <i>S.</i> fueron particularmente activas con eritrocitos de paloma dicha actividad indica un carácter glicoproteico de las aglutininas de estas plantas . <i>In vivo</i> . Induce crecimiento hiperplástico en intestino delgado en ratas.
<i>S. obubis</i> (55)	Las hojas tienen efecto laxativo en gatos y ratas, las antocianinas (glucósidos antocianínicos) provenientes del extracto con etanol ejercen una acción vasodilatadora en corazón aislado de conejo, así como un efecto sedativo cuando se administran vía IV, una ligera hipotensión y un decremento en la amplitud respiratoria, además, aumenta la resistencia de capilares en ratas deficientes en vitamina P
<i>S. forzosa</i> (50)	Sambuculina A, palmitato de $\alpha$ - y $\beta$ -amirina y ac. oleoico, componentes de las hojas, exhiben fuerte actividad antihepatotóxica, además de ejercer un efecto protector cuando los constituyentes son administrados como productos de benzolación. Aunque se requieren estudios posteriores, el hecho de que los productos de benzolación no muestren un decremento significativo en el tiempo de sedación cuando se administra pentobarbital, sugiere que ejerce cierta actividad depresiva sobre SNC.
<i>S. chinensis</i> (68)	El ac. ursólico, principal componente, puede reducir el nivel de alanina aminotransferasa en suero de ratones.
<i>S. mexicana</i> (27)	extractos de metanol, acetona o n-hexano han demostrado actividad antibacterial contra microorganismos enteropatógenicos, tales como <i>E. coli</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>S. flexneri</i> . Además ejercen un diámetro de inhibición de 6.85+ 0.54 y 14.10+2.06 mm contra <i>P. aeruginosa</i> y <i>S. typhi</i> , respectivamente. Una infusión al 10% que equivale a una dosis de 1 g/kg muestra actividad diurética en ratas además, causa un incremento en la excreción de ac. úrico y baja excreción de electrolitos lo cual indica su posible uso en pacientes cardíacos, ya que como es sabido, el agotamiento de $K^+$ en caso de una elevada excreción, puede reducir la contractibilidad e incrementar la deficiencia cardíaca

## 1.5 METABOLITOS PRIMARIOS VS. METABOLITOS SECUNDARIOS.

Los compuestos orgánicos de fuentes naturales forman un gran grupo conocido como productos naturales o metabolitos secundarios

El estudio del metabolismo implica una comprensión detallada de los procesos involucrados que comienzan con reacciones catalizadas por enzimas, como la fotosíntesis en hojas y diversos compuestos llamados metabolitos primarios, por ejemplo aminoácidos, acetilcoenzima A, ácido mevalónico, azúcares y nucleótidos. El medio energético involucrado en el metabolismo es la coenzima adenosintrifosfato (ATP), la cual sirve como un liberador común de energía y como catalizador de diversas reacciones enzimáticas.

Este intrincado camino de reacciones bioquímicas está referido al metabolismo primario.

Los metabolitos secundarios, sin embargo, se distinguen más precisamente de los primarios por el siguiente criterio: éstos tienen una restringida distribución, siendo encontrados sólo en plantas y microorganismos y frecuentemente son característicos de un género o especie individual además, se forman mediante caminos especializados generados a partir de las vías metabólicas primarias. Los metabolitos primarios, por contraste, tienen una amplia distribución en los organismos vivos y están íntimamente involucrados en los procesos esenciales para la vida.

Así, algunos aminoácidos, acetilcoenzima A, ácido mevalónico e intermediarios, participan en la biosíntesis de los metabolitos secundarios. De ahí la importancia de tratar varios aspectos relacionados con su biosíntesis (12).

Los metabolitos secundarios encontrados en la especie analizada en este trabajo, fueron del grupo de los triterpenos pentacíclicos. Este tipo de compuestos provienen de la ruta sintética del ácido mevalónico, como se muestra más adelante.

#### 1.6. TERPENOS.

Un enorme rango de sustancias presentes en las plantas, animales y microorganismos están constituidas por terpenos, un término usado para indicar a todas aquellas sustancias que tienen en común un origen biosintético. Los terpenos están formados por unidades repetitivas de isopren  ${}^4\text{CH}_2={}^3\text{C}({}^6\text{CH}_3)-{}^2\text{CH}={}^1\text{CH}_2$ , mediante una unión cabeza-cola, ideas que fueron encapsuladas en la llamada regla del isopreno, la cual postula uniones de este tipo de manera regular. Sin embargo, esta relación terpeno-isopreno puede observarse en geraniol,  $\alpha$ -terpineol y  $\alpha$ -cadineno, pero no así en el caso de artemisa cetona o lanosterol, lo que sugiere la existencia de grupos de terpenos cuyo esqueleto puede verse alterado por adición o pérdida de átomos de carbono, mezcla de uno o más enlaces cabeza-cola o bien transposiciones en la molécula (12).

### 1.6.1. CLASIFICACIÓN Y BIOSÍNTESIS

Los terpenos se clasifican en base al número de unidades de isopreno según se observa en el cuadro 1g.

CUADRO 1g. Productos naturales derivados de isopreno activo (13).

Nº unidades de isopreno	Nº C	Nombre ó clase	Principales tipos
1	5	hemiterpenos	isopreno, 3,3dimetil alilalcohol, isopentenol Detectado en H. japonica.
2	10	monoterpenos	aceitesesenciales, p.ej geraniol, timol, iridoides.
3	15	sesquiterpenos	aceitesesenciales: farnesol, bisabolol, lactonas: matricina, ac. abscisico
4	20	diterpenos	ac. diterpénicos en resinas p.ej. ac. abietico, giberelinas, vit A.
5	25	Sesterterpenos	constituyentes de exts. lipídicos insaponificables, opibolina, variabilina.
6	30	triterpenos	escualeno, triterpenos pentacíclicos
7	35	tetraterpenos	carotenoides, xantófilos.
>8	n x 5	politerpenos	solanesol, spadiol, dolicosol, etc.

Todos los terpenos se originan de difosfato de isopentenilo (IPP), el cual es formado a partir de acetilcoenzima A. Un importante intermediario es el ácido mevalónico. El difosfato de isopentenilo es una molécula activada la cual fácilmente comprende

sustitución nucleofílica en el C-1 (cola) y sustitución electrofílica en el doble enlace (cabeza), el cual puede tener una configuración E ó Z.

La polimerización de pirofosfato de isopentenilo (IPP) para la formación de fosfatos de prenilo se inicia con la isomerización de (IPP) a 3,3-pirofosfato de dimetilalilo (DMAPP). Posteriormente, una molécula de DMAPP puede condensar con IPP de manera cabeza-cola para producir pirofosfato de geranilo (GPP). Este tipo de reacción puede repetirse por reacciones adicionales del producto con IPP, obteniéndose una serie de ésteres pirofosfato llamados prenilogos: GPP, pirofosfato de farnesilo (FPP), pirofosfato de geranilgeranilo (GGPP) y pirofosfato de geranilfarnesilo (GFPP), lo que da origen a los diferentes terpenos (fig 1) (13).

Químicamente los terpenos son solubles en lípidos y están localizados en el citoplasma de la célula de la planta. Normalmente son extraídos de tejidos de plantas con éter, cloroformo, hexano,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , y pueden separarse por cromatografía en sílica gel o alúmina usando los mismos solventes.

Un considerable número de funciones han sido adscritas a los terpenos en las plantas, entre éstas se encuentran propiedades como factores reguladores de crecimiento, como en los sesquiterpenos (abscisinas) y diterpenos (giberelinas), la contribución de los carotenos en el colorido de las plantas, terpenos con 40C involucrados en fotosíntesis como pigmentos accesorios, la participación de mono y sesquiterpenos en los olores de las plantas, la interacción entre plantas y animales (aún en estudio), como agentes de comunicación y defensa en los insectos. Finalmente debe mencionarse a ciertos terpenos no volátiles implicados como hormonas sexuales en hongos (11,17).

Los triterpenos forman un gran grupo de sustancias naturales ampliamente distribuidas en el reino vegetal, (probablemente alrededor de 500 triterpenos naturales de estructura establecida). Un importante grupo, el cual incluye el lanosterol, es de origen animal (8).

Los triterpenos son incoloros, cristalinos, con altos puntos de fusión y son sustancias ópticamente activas, lo cual dificulta generalmente su caracterización debido a su reactividad química (11,17). Debido a ello, proveen una excelente base experimental para los principios de análisis conformacional y junto con los esteroides han jugado una parte importante en la fundación de la nueva Química Orgánica (8).

Una prueba de detección para ellos ampliamente usada es la de Liebermann-Burchard, reacción con anhídrido acético y  $H_2SO_4$  conc., la cual produce un color azul verdoso con triterpenos y esteroides.

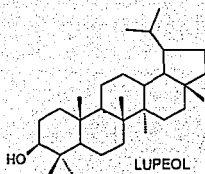
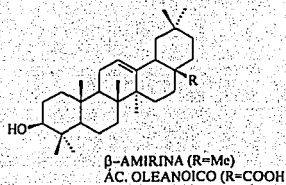
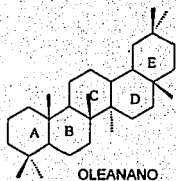
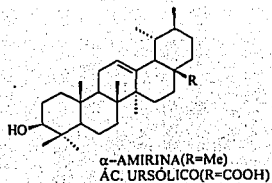
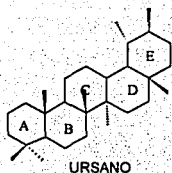
#### 1.6.2.FORMACIÓN DE TRITERPENOS PENTACÍCLICOS.

Además de los triterpenos alifáticos (farnesilo, etc.), los representantes cíclicos de este grupo de productos secundarios aparecen en un gran número de microorganismos.

Los más importantes y ampliamente distribuidos triterpenos son los compuestos pentacíclicos. Estos han sido encontrados en plantas tan primitivas como *Sphagsidos* (17).

Los triterpenos pentacíclicos se dividen en tres subgrupos principales: el del ursano, ejemplificado por la  $\alpha$ -amirina; el del oleanano, ejemplo la  $\beta$ -amirina; y el del lupeol (fig 2).

FIG. I. ANILLOS BÁSICOS DE TRITERPENOS PENTACÍCLICOS . (11,16,17)



En los dos primeros grupos se encuentran sustancias con esqueleto formado por cinco anillos A,B,C,D,E, de seis miembros cada uno, mientras que las de del subgrupo del lupeol se caracterizan por poseer cuatro anillos de seis miembros y uno de cinco (17,11,18).



Todos los miembros conocidos del primer y segundo subgrupo tienen un C-3 oxigenado, usualmente como alcohol o cetona. Ellos son distinguidos de cada uno por insaturaciones, grupos hidroxilo adicionales y frecuentemente grupos carboxilo. Las diferencias estereoquímicas también juegan un papel importante en este grupo (17).

SUBGRUPO DEL URSANO ( $\alpha$ -amirina). La  $\alpha$ -amirina  $C_{30}H_{50}O$  p.f. 186 °C es el principal constituyente del látex del árbol *Brosium galadendron*, las sustancias con este esqueleto son menos frecuentes en la naturaleza que las del subgrupo de la  $\beta$ -amirina.

SUBGRUPO DEL OLEANANO ( $\beta$ -amirina). La  $\beta$ -amirina  $C_{30}H_{50}O$  p.f. 199-200 °C, se obtuvo junto con la  $\alpha$ -amirina de la brea de manila *Canarium luzonicum*. Muchos triterpenos pentacíclicos con este esqueleto se han encontrado en *cactáceas* que usualmente se hallan en forma de glicósidos, por lo que es necesario efectuar una hidrólisis ácida para eliminar los azúcares a los que están unidos. Los triterpenos una vez libres, se separan en forma de ácidos y sales (18).

Estos triterpenos pentacíclicos cuya estructura es del tipo  $\alpha$ - y  $\beta$ -amirina tienen como derivados los ácidos ursólico y oleanólico. Estos compuestos se encuentran principalmente en la cubierta de las hojas, en frutos como manzanas o peras donde quizás ejercen una función protectora como repelente de insectos o contra el ataque microbiológico. También, pueden encontrarse en resinas y látex en los árboles como en el caso de *Euphorbia hevea*, etc (11,17).

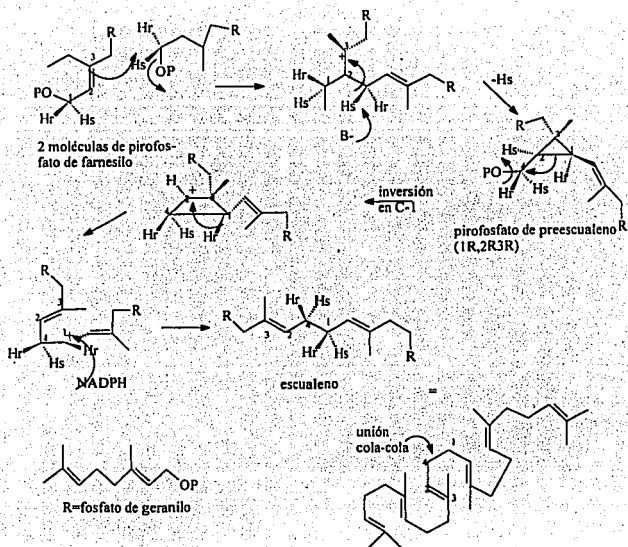
Todos los tipos de triterpenos cíclicos se originan de escualeno. Éste, aislado por primera vez del aceite de hígado de tiburón, puede considerarse con una estructura formada por dos unidades de farnesol. Debido a esto se tiene en la parte central de la molécula una unión irregular de isopreno, donde los grupos farnesilo del escualeno se encuentran en posición *trans*, unidos cola a cola. Este triterpeno es de gran importancia biológica por ser el precursor de los demás triterpenos y esteroides (18).

Durante el proceso de biosíntesis interviene un intermediario, el pirofosfato de preescualeno; cuya formación se detalla en la figura 3. La biosíntesis de éste sigue eventualmente la síntesis de pirofosfato de chisantemilo.

El doble enlace en posición 2,3 de una molécula de pirofosfato de farnesilo es alquilada por otro pirofosfato de farnesilo y su H<sub>s</sub> es eliminado estereoespecíficamente dando lugar a ciclopropano de preescualeno. La formación del ciclopropano de preescualeno es más rápida que su transformación a escualeno en los microsomas, aún más, en ausencia de NADPH el ciclopropano de preescualeno tiende a acumularse, lo cual es consistente con su función de verdadero intermediario.

El ciclopropano sufre una transposición por expansión del anillo hacia C-4 e inversión de configuración en C-1 y se colapsa con el ion carbonio (C-2) del ciclobutil al escualeno lineal *trans* (fig.3).

FIG 3. BIOSÍNTESIS DE ESCUALENO (13,22)



El escualeno puede plegarse en un gran número de formas siendo una de ellas aquella que da origen a un intermediario tetracíclico de conformación silla-silla-bote-silla. Existe también la posibilidad de que la forma *trans*, como naturalmente se encuentra, pueda isomerizarse en un centro olefínico en algún estado de ciclización. En las series de diterpenos y sesquiterpenos las enzimas han demostrado admirablemente su diligencia y aptitud para la construcción de una variedad de

esqueletos, pero sorprendentemente en la multifuncional cadena de escualeno existen pocas variaciones para la serie de triterpenos. Con pocas excepciones los anillos A, B y C son de seis miembros y la ciclización siempre se indica en el doble enlace terminal. Sin embargo hay numerosas modificaciones secundarias como oxidaciones, deshidrogenaciones y otras modificaciones en su estructura (23).

Un hecho concerniente a todos los triterpenos es el grupo OH ecuatorial en el C-3. El proceso principal de esta funcionalidad fue primero formulado como un ataque al doble enlace terminal del OH a algunos equivalentes bioquímicos menos claramente definidos, los cuales provocan la ciclización múltiple (18).

En muchos microorganismos así como en plantas y animales los triterpenos cíclicos son derivados de escualeno 2,3-epóxido, el cual es formado a partir de escualeno por una monooxigenasa. La acción de diferentes escualeno epóxido ciclasas resulta en la formación de diversos tipos de triterpenos cíclicos.

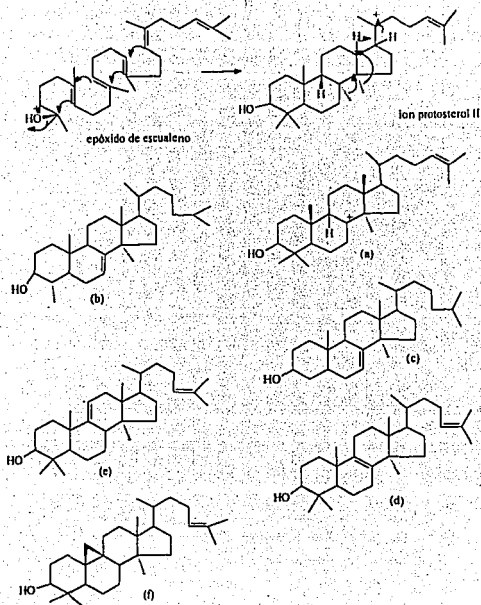
Para los triterpenos pentacíclicos el epóxido de escualeno comienza a ciclarse al ser atacado por un protón dando el intermediario protosterol, cargado positivamente en C-20. Este intermediario inicia una serie de cambios dando lugar a otros grupos, comenzando con una transferencia del protón de C-17 a C-20 en el epóxido de escualeno, seguido de una migración del protón de C-13 a C-17. El carbocación de C-13 da origen a la migración del metilo de C-8 quedando una carga positiva en C-8. Este catión (a) (fig 4), se puede estabilizar

de diferentes maneras dando origen a diferentes triterpenos o esterol, por ejemplo, el ampliamente distribuido lanosterol deriva del óxido de 3S-2,3- escualeno en una

conformación silla-bote-silla-bote, vía la formación de un ion carbonio hipotético prosterol (23).

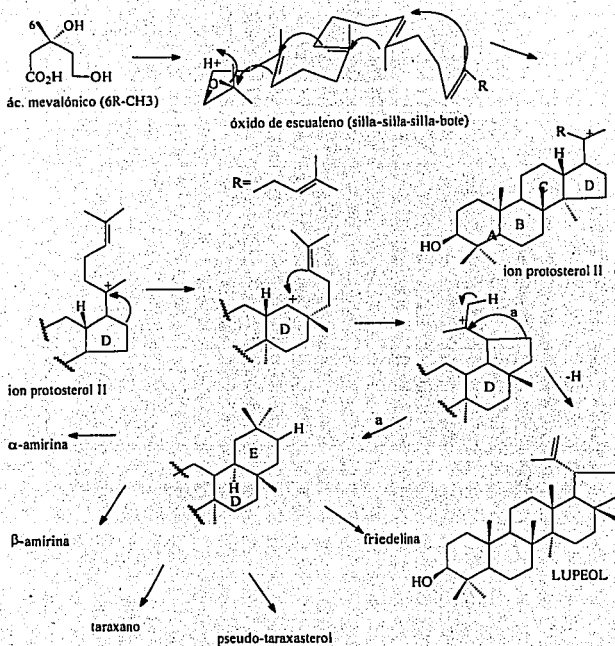
Si se elimina el protón de C-7 dará origen a los triterpenos y esterol como el lofenol (b) ó el shotenol (c). Si el hidrógeno que se elimina es el C-9, dará origen al lanosterol (d), pero si la carga positiva emigra a C-9, podrá dar lugar a la formación de los triterpenos con doble ligadura en C-9, como el parqueol (e); ésta carga también podrá estabilizarse formando un anillo de ciclopropano con el metilo angular de C-10 y producirá triterpenos de tipo cicloartenol (f) (5,9,17) (fig 4).

FIG 4. BIOSÍNTESIS Y EJEMPLOS DE TERPENOS (5,18)



Los triterpenos pentacíclicos se forman al igual que los tetracíclicos a partir de escualeno por medio de un catión, esto es, el protoesterol II, por medio de una expansión del anillo D y ciclización con la cadena lateral R. Si continuamos con la transposición de los anillos D Y F llegamos a lupeol,  $\alpha$  y  $\beta$ -amirina, taraxano, friedelano, pseudotaraxasterol y sus derivados oxigenados (22) (fig 5).

FIG 5. FORMACIÓN DE TRITERPENOS PENTACÍCLICOS (23)..



Los terpenos naturales tienen estructuras cíclicas con uno o más grupos funcionales (hidroxilo, carbonilo, etc). El paso final en la síntesis involucra la ciclización y oxidación, o bien otras modificaciones estructurales (11), pero estos reacomodos no son solamente el resultado de acciones enzimáticas específicas,

sino que también las interacciones 1,3-diaxial y estéricas, así como factores conformacionales y efectos estereoelectrónicos contribuyen a la fuerza directriz de las transposiciones (22).



## 2. PARTE EXPERIMENTAL

### 2.1 MATERIAL VEGETAL Y EQUIPO.

MATERIAL VEGETAL. Muestras de Hojas, flor y fruto de *Sambucus mexicana* fueron recolectados en las regiones de Zoateopan, Nauzontla y Pahuatlan Puebla, México, durante los meses de enero-junio de 1994.

El material fué clasificado en el Herbario Nacional del Instituto de Biología UNAM, con las siguientes claves: FB1462, FB 1543 y FB 1572.

Para el tratamiento y obtención de los productos se contó con el siguiente equipo:

-Rotavapor Buchi 110

-Cromatografías en columna: kieselgel 60 GF254 Merck y sílica gel 60 Merck (medida 70-230A°); capa fina: Ahígram Sil G -200 UV 254.

-Cromatografías en columna: kieselgel 60 GF254 Merck y sílica gel 60 Merck (medida 70-230A°); capa fina: Ahígram Sil G / UV 254 kiesel 60 con indicador fluorescente

-Cromatoplacas: DC Fertigplatten Sil G-200 UV 254

-Revelador sulfato cérico al 1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N, lámpara de luz UV.

## 2.2 CONSTANTES FÍSICAS Y ESPECTROSCÓPICAS.:

Los puntos de fusión se determinaron en aparato Fisher Jones y se reportan sin corregir.

Los espectros de IR se determinaron en un espectrómetro Perkin Elmer 283 empleando la técnica de pastilla y en el espectrómetro Nicolet FT-IR5-SX empleando la técnica de solución. Las absorbancias máximas están dadas en  $\text{cm}^{-1}$

Los espectros de  $^1\text{H}$  RMN se efectuaron en un aparato Varian Geminis a 300 MHz en DMSO (dimetil sulfóxido) y  $\text{CDCl}_3$  (cloroformo deuterado), el desplazamiento químico ( $\delta$ ) se indica en p.p.m. con las siguientes abreviaturas: s (singlete), d (doblete), t (tripleto), q (cuarteto) y dd (doble de doble). La constante de acoplamiento (J) se indica en Hz. Se usó como referencia interna TMS (tetrametil silano).

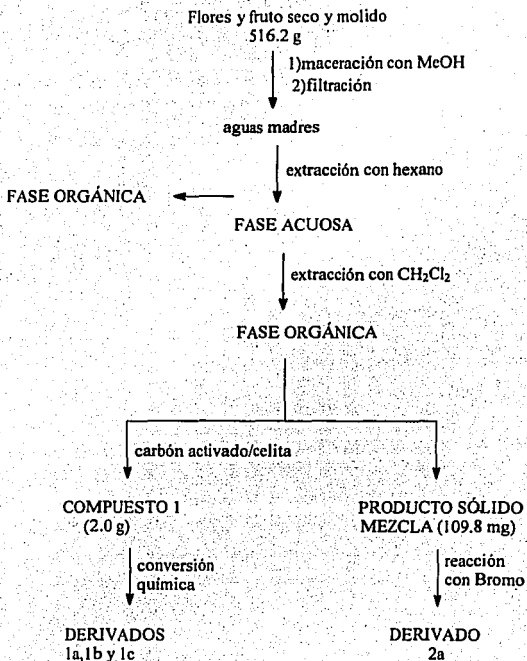
Los espectros de  $^{13}\text{C}$  se realizaron en un aparato Varian 300s.

Los espectros de masas (E.M.) fueron determinados en un espectrómetro Hewlett Packard 5985B mediante las técnicas de impacto electrónico (I.E) y ionización química (I.Q).

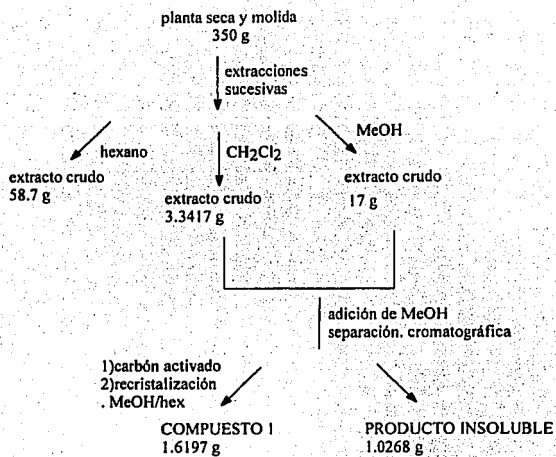
## 2.3 EXTRACCIÓN Y AISLAMIENTO DE PRODUCTOS.

El esquema general de trabajo se muestra en la figura 6.

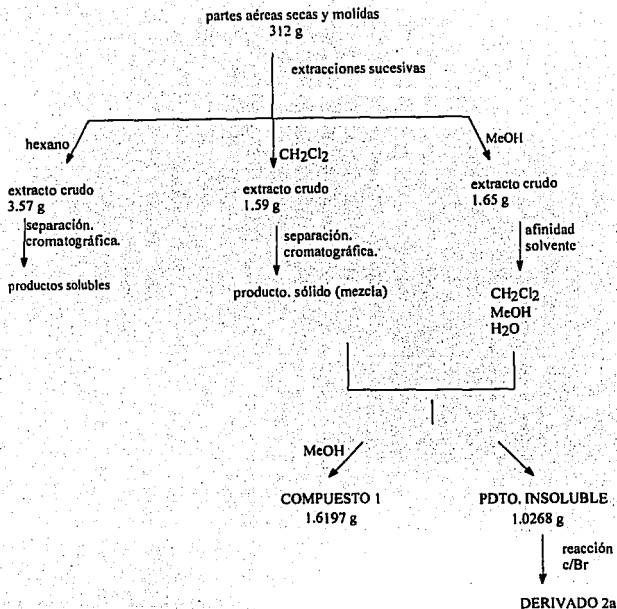
FIG 6. ESTRATEGIA SEGUIDA PARA EL ESTUDIO DE *Sambucus mexicana*  
REGIÓN DE ZOATECPAN.



## REGIÓN DE PAHUATLAN



## REGIÓN DE NAUZONTLA



### 2.3.1. REGIÓN DE ZOATECPAN.

Ácido ursólico (1), a partir de *S. mexicana* de la región de Zoatecpán.

Flores y fruto de *S. mexicana*, secos y molidos (516.2 g) fueron macerados con MeOH durante 24 hrs. Después de la evaporación del solvente se obtuvo un residuo viscoso que al ser tratado con agua y extraído sucesivamente con

$\text{CH}_2\text{Cl}_2$  originó la fracción soluble en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (I) y la fracción soluble en  $\text{H}_2\text{O}$  (II).

La fracción I fue cromatografiada en una columna de silica gel y eluida con hexano/acetato de etilo (prop 3:1). De las fracciones 52 a 82 se aisló un sólido blanco (2000 mg), soluble en MeOH el cual se hizo pasar sobre una columna de carbón activado-celita y se recristalizó con MeOH/Hex. Dicho producto corresponde al ácido ursólico, cuya caracterización se efectuó de acuerdo con las constantes físicas y espectroscópicas que a continuación se describen (espectros N° 1,2y3):

P.F. 280 °C (lit 286-287 °C), R.f. 0.55 (hex/AcOEt 1:1), (ver estructura en la fig. 7).

I.R.(KBr)  $\nu_{\text{máx}}(\text{cm}^{-1})$  3370,2920,2860,1690,1450,1370,1250,1050,990,830.

$^1\text{H}$  RMN 300MHz (DMSO)  $\delta$  ppm 5,15m 1-H, H-12; 3.36 m ,1-H, H-3 ; 8.3 s, 1H, H-28; 2.08 d. H-19; 0.67-1.04 s, 3H,  $\text{CH}_3$  angulares; 4.3, s, 1H, C-OH.

E.M. (I.Q). m/z 470 M+ , 248 p.b. (100%) , 220, 207, 203, 191, 190, 189, 133, 121, 119, 107, 105,95,93,91,83,81,79,77, 69,55,43.

El espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN se asignó en base a sus multiplicidades mediante los experimentos COSY y DEPT; asimismo por comparación con datos reportados en la literatura (tabla 2a) (espectros N° 4,9,14 y 19).

Las señales asignadas según  $^1\text{H}$  RMN se muestran en la tabla 2b.

### 2.3.2. PREPARACIÓN DE DERIVADOS.

El ácido 3-o-acetil ursólico (1a), metil ursolato (1b) y 3-p-Br-benzoil ursólico (1c), fueron preparados a partir de (1) (fig.7). Las asignaciones de  $^{13}\text{C}$  para dichos derivados se muestran en la tabla 2a.

**3-O-ACETIL URSÓLICO (1a).** 507.8 mg de (1) se adicionaron sobre 5 ml de piridina y 5 ml de anhídrido acético, la reacción se mantuvo en reflujo durante 24 hrs. Dicha reacción fue extraída con AcOEt. La fase acuosa fue desechada y la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, posteriormente se evaporó el solvente a presión reducida obteniéndose un producto que fue cromatografiado en sílica gel (columna), mediante un gradiente de elución Hex/AcOEt (75:25) obteniéndose de las fracciones 2 y 3, un compuesto el cual fue recristalizado con Hex/Éter isopropílico, obteniéndose el 3-O-acetilursólico (1a), (101.0 mg), como sólido blanco, soluble en AcOEt, P.f. 267 °C. R.f. 0.68 (1:1 Hex/AcOEt) (espectros N°6,7,8).

I.R. ( $\text{CHCl}_3$ )  $\nu_{\text{máx}}(\text{cm}^{-1})$  3512, 3046, 2949, 2873, 2722, 2698, 2647, 1720, 1692, 1456, 1372, 1255, 1186, 1146, 1097, 1027, 985, 902.

$^1\text{H}$  RMN 300MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) 5.2, m, 1H, H-12; 4.5, dd, 3H, H-3; 2.19, d, H-18; 0.79, 0.86., 0.87, 0.96, 1.08, s, 3H,  $\text{CH}_3$ ; 2.05, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ; 0.86, 0.95, d, 3H,  $\text{CH}_3$ .

E.M. (I.E. y I.Q.) 513 (M+), 638, 594, 592, 438, 423, 391, 389, 369, 300, 287, 248 (100%), 203, 190, 147, 119, 69, 55.

METIL URSOLATO (1b). 3.0 g de (1), 22 g de carbonato de potasio anhidro, 35 ml de sulfato de dimetilo y 120 ml de acetona se colocaron en un matraz de 250 ml. Esta mezcla se mantuvo a reflujo durante 2 hrs y posteriormente 3 días en reposo a temperatura ambiente, después de los cuales se efectuó una extracción con AcOEt. Evaporada la fase orgánica a presión reducida, se obtuvo un producto que fue cromatografiado en placa preparativa y eluido en un sistema Hex/AcOEt 3:1, obteniéndose (1b) como sólido blanco cristalino, soluble en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; R.f. 0.70 (1:1 Hex/AcOEt), p.f. 110-111 °C (espectros N° 11,12,13). I.R. ( $\text{CHCl}_3$ ).  $\nu_{\text{máx}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3613, 2948, 2928, 2870, 1717, 1455, 1380, 1307, 1271, 1238, 1168, 1144, 1111, 1089, 1028, 995, 974, 918, 913.

$^1\text{H}$  RMN 300MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) 5.27, m, 1H, H-12; 3.607, s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ; 3.2, 3.5, bm, 2H, OH; 3.17, dd, 3H; 2.205, d, H-18; 1.13, s, 3H; 1.07, s, 3H; 0.98, d, 3H; 0.84, s, 3H; 0.78, s, 3H; 0.74, s, 3H; 0.92, bs, 9H.

EM (IE) 470M+ 437, 4109, 395, 362, 327, 292, 262(p.b.), 203, 189, 133.

ÁCIDO 3-p-Br-BENZOIL URSOLICO (1c). Se mezclaron 405.1 mg de cloruro de ácido p-bromo benzoico y 163.6 mg de (1) en 6 ml de piridina manteniéndose en agitación durante 72 hrs posteriormente se adicionó  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  hasta un volumen de 50 ml y se efectuaron lavados con una solución saturada de bicarbonato de sodio, donde la fase orgánica resultante se concentró a presión reducida. Posteriormente se eliminó la piridina mediante destilación con tolueno.



Finalmente se obtuvieron 143.5 mg de (1c) como sólido café oscuro, soluble en AcOEt. R.f. 0.704 (1:1 Hex/AcOEt), p.f. 160 °C (espectros N°16,17,18).

I.R,  $\nu_{\text{máx}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3519, 3088, 3042, 2952, 2878, 2728, 2649, 2628, 1705, 1591, 1461, 1395, 1367, 1342, 1278, 1173, 1117, 1070, 1011, 967, 913, 847.

$^1\text{H}$  RMN 200 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) 2.16, d, H-18; 0.77, s, 3H; 0.86, s, 3H; 0.87, s, 3H; 0.85, d, 3H; 0.96, s, 3H; 1.10, s, 3H.

EM(EI) 384 M<sup>+</sup>, 383, 356, 354, 284, 256, 255, 228, 200, 183(p.b.), 155.

### 2.3.3. REGIONES DE NAUZONTLA Y PAHUATLAN.

Las partes aéreas de *S. mexicana* procedentes de estas regiones (350 g), fueron secadas a temperatura ambiente y extraídas de manera exhaustiva con disolventes de polaridad baja, media y alta (hexano,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , y MeOH ,respectivamente) obteniéndose así los extractos correspondientes.

Extracto hexánico. Este se concentró en vacío obteniéndose 3.57 g de una pasta oscura viscosa, misma que fue cromatografiada en una columna de sílica gel mediante un sistema Hexano/AcOEt en forma ascendente como fase móvil.

De este extracto, sin embargo, todas las fracciones obtenidas fueron solubles en hexano, razón por la cual no se profundizó en su estudio. Para la región de Pahuatlan éste extracto no fue trabajado.

Los extractos de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y metanol para ambas regiones fueron sometidos a una cromatografía en columna obteniéndose (1) y (2), mismos que fueron trabajados en forma análoga a la descrita anteriormente.

#### 2.3.4. REACCIÓN CON BROMO (43).

Durante la obtención de la fracción I que se menciona al inicio de la parte experimental, precipitó un producto insoluble en MeOH, el cual estaba constituido por una mezcla de (1) y el ácido oleanólico (2), mismo que fue caracterizado de manera indirecta a través de la formación de un derivado.

Esta reacción permite la separación del ácido ursólico del ácido oleanólico gracias a la formación de una lactona a partir de éste último, misma que presenta una polaridad menor (soluble en benceno) permitiendo así la precipitación de (1) en la mezcla de reacción. El procedimiento para su preparación es el siguiente:

Sobre un matraz de bola de 50 ml, el cual se encontraba sobre una cama de hielo, se adicionaron 120 mg de la mezcla insoluble en MeOH, 2.4 ml de anhídrido acético, 60 mg de acetato de sodio, 2.4 ml de EtOH y una solución de bromo en ácido acético en exceso. La reacción se mantuvo en reposo a temperatura ambiente por espacio de una hora durante la cual se formó en la mezcla de reacción un producto sólido que fue filtrado y desechado. Las aguas madres fueron tratadas con una solución de benceno a ebullición, obteniéndose un precipitado de (1) (343.8 mg), cuya caracterización como el ácido ursólico se hizo en base a un análisis espectroscópico.

La fracción soluble en benceno se hizo pasar a través de una columna de alúmina, obteniéndose finalmente la lactona del ácido oleoico (2a) (30 mg) (fig 7), un sólido blanco cristalino soluble en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , R.f. 0.68 (1:1 Hex/AcOet), p.f. 226-228 °C (lit 225-226 °C) (espectros N°20,21,22).

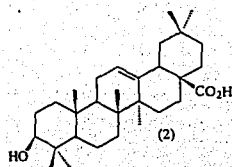
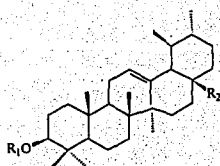
I.R.  $\nu_{\text{máx}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3438, 2960, 2935, 2866, 1768, 1466, 1388, 1359, 1301, 1251, 1210, 1132, 1106, 1077, 1028, 927, 906, 646

$^1\text{H}$  RMN 300MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) 1.44, s, 3H; 1.23, s, 3H; 1.0, s, 6H; 0.91, s, 6H; 0.78, s, 3H.

EM (EI) 536 M+, 534, 501, 437, 409, 391, 247, 207(p.b) 189, 163, 135.

Las estructuras y asignaciones de átomos de carbono para el compuesto (2) y su derivado (2a) se encuentran en la figura 7 y la tabla 2c respectivamente (espectro N°23). Asimismo se muestran las asignaciones de  $^1\text{H}$  RMN en la tabla 2d.

FIG 7. ESTRUCTURAS DE LOS COMPUESTOS 1 Y 2



	$R_1$	$R_2$
1	H	COOH
1a	CH <sub>3</sub> CO	COOH
1b	H	COOMe
1c	BrPhCO	COOH

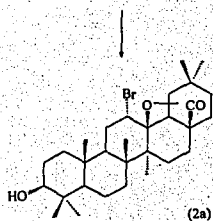


TABLA 2a. Asignaciones de  $^{13}\text{C}$  RMN. COMPUESTO 1 Y DERIVADOS

Nº C	1	1a	1 b	1 c	Reportado para 1 (62)
1	38.94	38.79	38.82	-	38.8
2	27.47	27.64	27.97	27.90	27.3
3	76.77	-	79.02	-	78.8
4	38.20	38.2	38.99	38.2	38.8
5	54.7	55.25	55.17	55.3	55.4
6	17.93	18.12	18.25	-	18.4
7	32.65	33.75	32.92	33.5	38.0
8	39.7	-	39.43	39.7	39.6
9	46.9	47.42	47.52	47.70	47.4
10	38.29	-	36.93	36.90	37.0
11	28.7	23.37	23.30	23.50	23.30
12	124.5	125.68	125.58	125.8	125.4
13	138.1	137.9	138.17	138.0	138.0
14	41.5	-	41.94	41.7	41.90
15	26.91	28.04	28.07	27.90	28.1
16	22.77	23.99	24.17	23.9	24.2
17	48.8	-	48.5	-	48.0
18	52.32	52.41	52.84	52.70	52.80
19	39.05	38.97	39.43	39.0	39.1
20	38.39	38.02	38.56	38.2	38.8
21	30.12	30.56	30.60	30.80	30.70
22	36.4	36.69	36.59	36.90	36.70
23	28.17	27.95	28.07	28.1	28.1
24	15.95	15.53	15.56	15.50	15.50
25	15.12	15.39	15.38	15.5	15.5
26	16.83	16.67	16.98	17.0	16.9
27	23.19	23.58	23.25	23.1	23.3
28	178.1	177.7	178.16	-	177.7
29	16.9	16.58	16.98	17.0	16.9
30	20.96	21.22	21.14	-	21.2
		21.11 (Aco)	51.45 (éster)	165.8(COP h) 125.8(Ph)	

TABLA 2b. Asignaciones de <sup>1</sup>H RMN. Compuesto 1 y derivados (43).

**COMPUESTO 1**

<b>N H</b>	<b>Reportado</b>	<b>Experimental</b>
3	3.19(dd,6.4,9.5)	3.36(dd,6.2,9.6)
12	5.24(t,3.5)	5.15(m,1H)
18	2.20(d,10.8)	2.08(d,10.7)
23	0.78(s,3H)	0.72(s,3H)
24	0.94(s,3H)	0.93(s,3H)
25	0.99(s,3H)	0.98(s,3H)
26	0.81(s,3H)	0.82(s,3H)
27	1.11(s,3H)	1.09(s,3H)
29	0.87(d,6.4)	0.85(d,6.4)
30	0.98(d,6.0)	0.96(d,6.0)

**DERIVADO 1a**

<b>N H</b>	<b>Reportado</b>	<b>Experimental</b>
3	4.5(dd,6.4,9.5)	4.5(dd,7.8,7.7)
12	5.26(t,3.5)	5.20(m 1H)
18	2.19(d,11.1)	2.18(d,11.0)
23	0.79(s,3H)	0.76(s,3H)
24	0.87(s,3H)	0.86(s,3H)
25	0.96(s,3H)	0.95(s,3H)
26	0.86(s,3H)	0.86(s,3H)
27	1.08(s,3H)	1.08(s,3H)
29	0.86(d,6.3)	0.88(d,7.6)
30	0.95(d,5.1)	0.93(d,3.4)
	2.19(s,3H)	2.04(s,3H)

TABLA 2b. Continuación.

**DERIVADO 1b**

<b>N H</b>	<b>Reportado</b>	<b>Experimental</b>
3	3.20(m,1H)	3.20(m,1H)
12	5.24(t,3.7)	5.26(m,1H)
18	2.23(d,10.9)	2.21(d,11.4)
23	0.74(s,3H)	0.74(s,3H)
24	0.92(s,3H)	0.95(s,3H)
25	0.98(s,3H)	0.98(s,3H)
26	0.78(s,3H)	0.78(s,3H)
27	1.08(s,3H)	1.07(s,3H)
29	0.86(s,3H)	0.87(s,3H)
30	0.97(d,9.8)	0.98(d,7.4)
	3.60(s,COOCH <sub>3</sub> )	3.61(s,COOCH <sub>3</sub> )

**DERIVADO 1c**

<b>Nº H</b>	<b>Experimental</b>
3	-
12	5.27(dd,3.74,3.3)
18	4.73(dd,7.8,7.6)
23	0.77(s,3H)
24	0.93(s,3H)
25	1.15(s,3H)
26	0.8(s,3H)
27	1.10(s,3H)
29	0.87(d,3.2)
30	0.98(d,7.4)
	7.75(dd,2.7,2.7)Ph BrCO

TABLA 2c. Asignaciones de  $^{13}\text{C}$  RMN. Compuesto 2a (37,62).

Nº C	Experimental	Reportado para (2a)
1	38.27	38.3
2	27.11	27.16
3	78.69	78.68
4	38.86	38.90
5	55.16	55.16
6	17.64	17.69
7	33.81	33.85
8	39.87	39.92
9	45.5	45.54
10	36.49	36.53
11	29.14	29.18
12	56.45	56.46
13	91.64	91.64
14	42.36	42.41
15	27.48	27.51
16	21.26	21.32
17	43.35	43.37
18	52.3	52.31
19	45.5	45.54
20	30.40	30.43
21	34.58	34.61
22	31.85	31.88
23	27.94	27.97
24	15.36	15.42
25	16.90	16.96
26	19.02	19.07
27	21.08	21.12
28	178.92	178.85
29	33.23	33.27
30	23.51	23.57



TABLA 2d. Asignaciones de  $^1\text{H}$  RMN. Compuesto 2a

NºH	Experimental	Reportado para (2)
3	3.3(m,H)	3.27( dd,4.8,4.5)
12	4.36(m,H)	4.31(dd,2.4,4.2)
23	0.78(3H,s)	0.77(3H,s)
24,25	0.91(6H,s)	0.90(6H,s)
26	1.47(3H,s)	1.44(3H,s)
27	1.23(3H,s)	1.22(3H,s)
29,30	1.0(6H,s)	1.06H,s)

### 3. DISCUSION

#### 3.1 ÁCIDO URSÓLICO.

El ácido ursólico (1), aislado tanto del extracto de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  como del metanólico en un gradiente de elución AcOEt/Hex al 75%, es un sólido blanco que funde a  $280^\circ\text{C}$ , soluble en MeOH con un R.f. 0.55 (1:1 Hex/AcOEt).

El espectro de I.R. muestra una banda en  $3220\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a un grupo OH, las bandas intensas 2920,2860 son debidas al alargamiento del enlace C-H, la banda en 1690 se asignó al carbonilo del ácido y otras más de 1450, 1370 de los metilos.

El patrón de fragmentación deducido a partir del espectro de masas postula un pico base cuya relación m/z es 248 ( $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_2$ ), el ion molecular m/z 456 es para una fórmula condensada  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ , indicando así su naturaleza terpénica.

Además presentó otros fragmentos en m/z 203 ( $\text{C}_{16}\text{H}_{11}$ ), 207 ( $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{O}$ ) y 133 ( $\text{C}_{10}\text{H}_{13}$ ), cuyo mecanismo de fragmentación es a través de una ruptura retro Diels Alder típica. (En la figura 8 se muestran los patrones de fragmentación de (1)).

La pérdida del grupo COOH genera el fragmento 203, que confirma la presencia de éste en el C-17.(fig 8)

El espectro de  $^1\text{H}$  RMN muestra una señal en  $\delta=5.15$  ppm, región de los H vinílicos, cuya integral es para 1H (s). Dicha señal corresponde al H-12.

Los cinco metilos del compuesto que se encuentran sobre carbón saturado se observan como singuletes en el espectro de  $^1\text{H}$  en un rango de 0.86-1.04 ppm.

Las señales a 0.85(3H) y 0.96(3H) ppm se asignaron a los metilos C-29 y C-30

La señal para el ácido se observa en  $\delta=8.3$  ppm y la señal del alcohol se encuentran a 3.36 ppm.

El grupo OH es consistente con una posición ecuatorial en C-3. En base a esto dicho compuesto puede nombrarse como ácido 3  $\beta$ -OH, 12 ursen-28-oico.

El experimento de DEPT en  $^{13}\text{C}$  RMN indicó la presencia de 7  $\text{CH}_3$ , 9  $\text{CH}_2$ , 7  $\text{CH}$ , 6 C, junto con un grupo  $\text{COOH}$ , esto es, treinta átomos de C presentes en la molécula.

### 3.2 DERIVADOS QUÍMICOS DE ÁCIDO URSÓLICO.

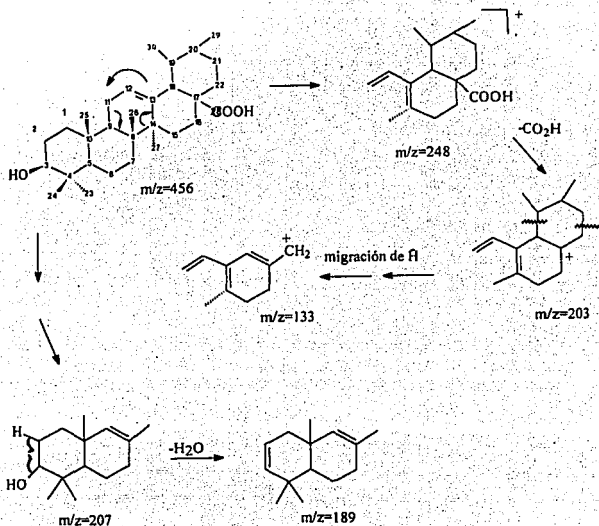
El derivado acetilado (1a), muestra una señal en  $^1\text{H}$  RMN para acetato en 2.05 ppm como (s), integrando para 3H.

La evidencia en I.R. sustenta la formación del carbonilo en C-3 a través de una señal intensa presente en  $1720.2\text{ cm}^{-1}$  y otra señal correspondiente al enlace C-O del acetato en  $1255.783\text{ cm}^{-1}$ .

El mecanismo de fragmentación de este derivado según se muestra en el espectro de masas, es el mismo que presenta el ácido ursólico es decir, un mecanismo retro Diels Alder pero en este caso ocurre primero la pérdida de 60

unidades de masa correspondientes al grupo acetato, mismo que genera el fragmento de 513 como ion molecular en el compuesto con respecto a (1) (fig8).

FIG 8. MECANISMOS DE FRAGMENTACIÓN POR E.M. COMPUESTOS I y la



La presencia del derivado metílico (1b) se confirmó con una señal presente en 3.607 ppm (3H) en el espectro de <sup>1</sup>H RMN; esto es, un metilo desplazado a campo bajo debido a la disminución en la densidad electrónica por efecto del oxígeno unido a él.

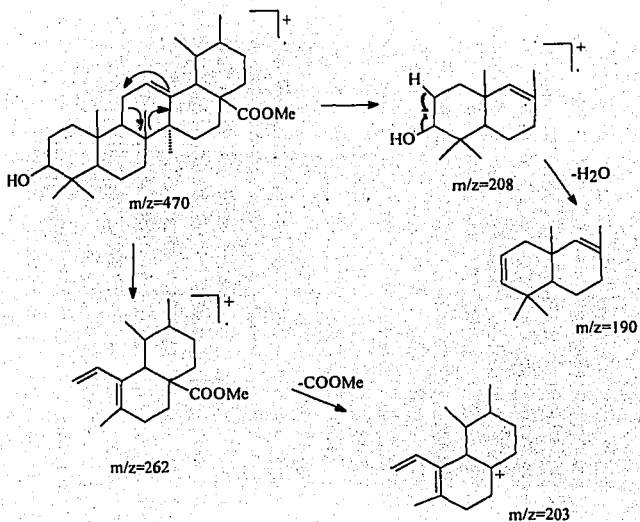
A su vez en el espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN se observaron diferencias de desplazamiento en los carbonos contiguos 19,20 y 22, lo cual indica posibles efectos inductivos o estéricos por parte del grupo éster sobre éstos y confirma su posición en C-28.

Por masas se observa un aumento de catorce unidades de peso molecular (470 con respecto a 456 del compuesto original), el cual corresponde a una fórmula condensada de  $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_3$ .

El proceso operante, según el patrón de fragmentación observado, es un retro Diels Alder en  $\Delta^{12-13}$ , ya que se observan picos característicos de compuestos triterpénicos como son el de  $m/z$  207 y 262 como el pico base (p.b.), mismo que contiene el grupo éster que pierde posteriormente para generar el fragmento de  $m/z$  203.

Sobre dichos fragmentos se originan a su vez una serie de rupturas que conllevan a los picos observados de  $m/z$  362,327,292,133, o bien directamente de la molécula para generar un M-18 (pérdida de  $\text{H}_2\text{O}$ ), M-60 (pérdida de  $\text{HO}(\text{COMe})$ ) mediante rupturas simples (fig 9).

FIG 9. COMPUESTO 1b



A través de la técnica de I.R. se detectó una señal en  $1168.85\text{ cm}^{-1}$  misma que corresponde al enlace C-O de un grupo éster de tipo metílico.

El derivado (1c), el p-Br benzoato, se detectó muy claramente en el espectro de  $^1\text{H}$  RMN a través de una señal simétrica como doble de doble, con un desplazamiento a  $\delta = 7.75\text{ ppm}$ , la cual representa un sistema AA'BB' esto es, al tratarse de un benceno disustituido en posición *para*, presenta 4 hidrógenos observables, dos de los cuales acoplan con su correspondiente par química y

magnéticamente equivalente generando así dos constantes de acoplamiento (uno para cada par) de  $J=2.7\text{Hz}$ .

Por otro lado se corrobora la formación del derivado (1c) al observarse el desplazamiento paramagnético que ejerce el anillo aromático sobre las demás señales (H-12,H-13) en comparación con el compuesto original.

En el espectro de masas se observa cierta inconsistencia respecto al peso molecular esperado de 638 contra 384 observado, sin embargo, esto se explica en base a un mecanismo de fragmentación que los demás derivados no han venido presentando.

En este caso los fragmentos observados se explican mediante rupturas homolíticas consecutivas, que generan primeramente una contracción sobre el anillo A, lo que da origen al fragmento  $m/z$  384, el cual detectó el aparato como máximo, más la contraparte que soporta el anillo aromático y el bromo lo cual es observable por la contribución isotópica de éste (M+2 intenso).

El fragmento 384 sufre diversas modificaciones incluyendo el mecanismo Diels Alder para generar otras especies de  $m/z$  356, 288, 243 y 228 (fig 10).

Alternativamente, rupturas homolíticas inducidas por el oxígeno presente en C-3 generan los fragmentos  $m/z$  200, 183 y 155 (fig 10 continuación).

FIG 10 COMPUESTO 1c.

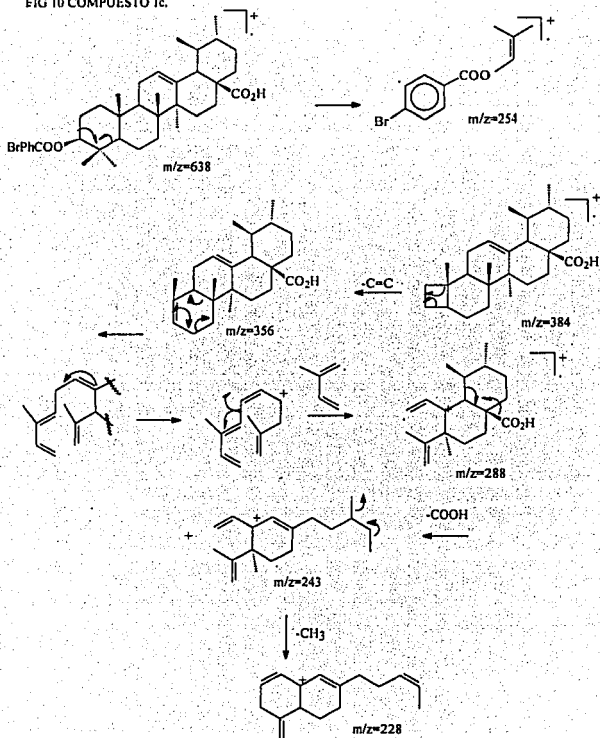
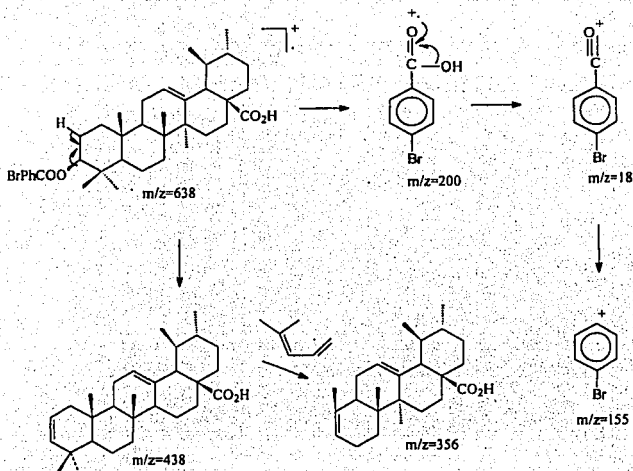




FIG 10.CONTINUACIÓN



### 3.3 ÁCIDO OLEANÓICO.

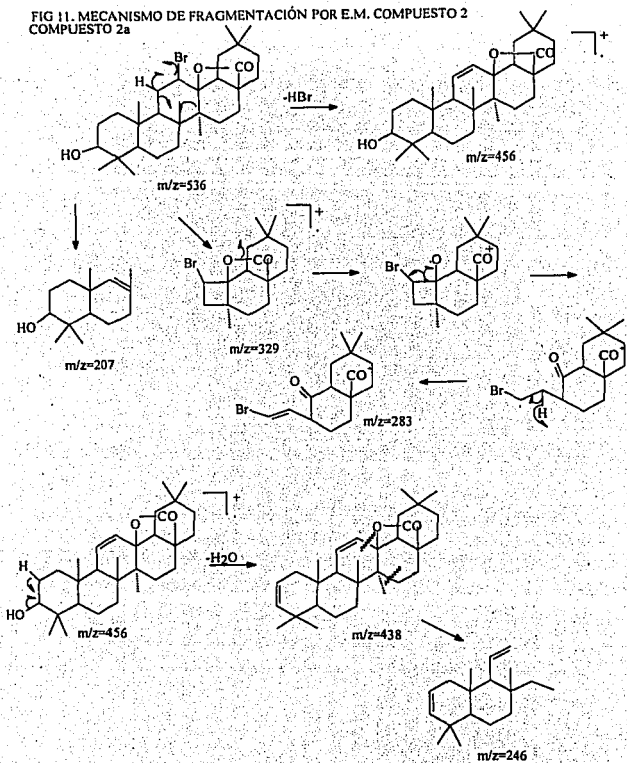
También del extracto en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  como del metanólico se aisló una mezcla insoluble en metanol la cual estaba constituida por ácido ursólico y ácido oleanólico, cuya separación no fue posible por métodos de recristalización o cromatográficos comunes. Por ello fue necesaria la generación de un derivado que permitió corroborar la presencia de ácido oleanólico de una manera indirecta. La bromo  $\gamma$ - lactona (2a) confirma su presencia en I.R. con una señal

en  $1768.28\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al grupo lactona y una señal en  $646.28\text{ cm}^{-1}$  para el enlace C-12-Br.

Cuando se compararon los espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN de (2a) con los datos reportados para (2) pudo observarse un desplazamiento a bajo campo debido a la inserción de bromo en C-12 el cual se observa principalmente en C-11 y C-13 y por el anillo lactónico, lo cual ejerce un marcado desplazamiento en las señales de los anillos D y E.

En  $^{13}\text{C}$  RMN el desplazamiento es debido a un efecto tanto del oxígeno como a un cambio de hibridación del carbono de  $sp^2$  a  $sp^3$  mientras que en los carbonos 17,19,20,21 y 22 pudiera ser debido a efectos estéricos por parte del anillo lactónico, así como la orientación de éste respecto a los mismos. Por espectroscopía de masas (fig 11) se encontró un  $M^+$  536 que coincide con el peso molecular esperado y que corresponde a una fórmula molecular condensada  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3\text{Br}$ . En este caso ya no opera un mecanismo retro Diels Alder puesto que ahora ya no hay doble ligadura en C-12 y C-13. Ésta vez se trata primero de un proceso de eliminación de HBr (fragmento  $m/e$  80) y generación del fragmento de  $m/z$  456, o bien se efectúa una ruptura tipo homolítica en el anillo C que proporciona las especies  $m/e$  207 y 329. En ésta última la contribución isotópica es importante por la presencia de Br y oxígeno. En dicho fragmento de  $m/e$  329, el oxígeno de la lactona induce ruptura  $\alpha$  para dar origen a la porción  $m/z$  283 (fig 11).

FIG 11. MECANISMO DE FRAGMENTACIÓN POR E.M. COMPUESTO 2  
COMPUESTO 2a



Una inspección a las asignaciones de  $^{13}\text{C}$  RMN para los compuestos (1) y (2) revela algunas diferencias interesantes sobre el par isomérico de urs-12-en y un

olean-12-en (visto a través del derivado (2a)), además de los valores de desplazamiento para los carbonos 12 y 13.

Las señales para C-11 y C-27 en (1) aparecen a campos más altos ( $\Delta\delta = 5.48$  y  $2.07$  ppm respectivamente con respecto a (2a)), lo cual puede explicarse debido a un cambio conformacional en el anillo E por efecto de proximidad espacial del metilo en C-29. Dicho cambio en E promueve a su vez un efecto sobre los anillos C y D, lo cual los hace responsables de las diferencias de desplazamiento observados en los carbonos 16,17,21,22,25 y 26 que forman parte de dichos anillos.

## 4. ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS COMPUESTOS OBTENIDOS

La tendencia en la medicina moderna es asimilar los remedios naturales de la práctica común bajo diversas formas, esto hace necesario el justificar su uso terapéutico popular con estudios de actividad biológica a diferentes niveles que requieren un carácter estricto; así como determinar el tipo de compuesto (s) responsable de dicha actividad.

Particularmente sobre el género *Sambucus*, una revisión detallada sobre el mismo permite observar que posee diversas actividades, ya sea *In vivo* o *In vitro* (cuadro If) atribuida a las diferentes especies.

### 4.1 ACTIVIDAD DE ÁC. URSÓLICO Y ÁC. OLEANOICO.

En cuanto a los componentes mayoritarios encontrados en este estudio, la bibliografía señala su participación en actividades que se citan a continuación:

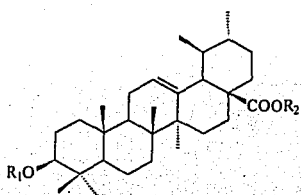
Mediante pruebas de analgesia se ha visto que el ácido ursólico, compuesto activo de muchas especies usadas como remedio en problemas de artritis, hemorragias pulmonar y gástrica entre otras, muestra una actividad inhibitoria en edemas hasta en un 24% con una dosis de 500 mg/Kg en ratas y una inhibición del 31% (dosis 150 mg/Kg) en ratones. Dicha inhibición está relacionada con la actividad de la enzima lipooxigenasa, clave para la generación de leucotrienos a partir del ácido araquidónico, involucrada en procesos inflamatorios.

Se cree que el grupo hidroxilo en C-3 es uno de los factores esenciales en la actividad antiinflamatoria (48,51,65).

El ácido ursólico es un principio citotóxico que ha demostrado actividad antileucémica marginal a una dosis de 50 mg/Kg *In vivo* sobre el crecimiento de células de leucemia linfocítica P-388 (DE<sub>50</sub>=3.15 µg/ml), leucemia linfocítica L-1210 (ED<sub>50</sub>= 4.0 µg/ml), carcinoma de riñón A-549 (DE<sub>50</sub>=4 µg/ml) y células tumorales KB (DE<sub>50</sub>=6,6 µg/ml), colon HCT-( DE<sub>50</sub>=4.5 µg/ml) y mamaria MCF-7 (DE<sub>50</sub>=4.9 µg/ml) (23).

Algunos de sus derivados (2-8) (fig 12), decretan la citotoxicidad y otros (4-8) resultan ser igual o ligeramente más potentes que el ácido ursólico.

FIG 12. ALGUNOS DERIVADOS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA.



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
1	H	H
2	COCH <sub>3</sub>	H
3	H	CH <sub>3</sub>
4	COCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
5	COCHCHCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
6	COCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
7	COCHC(Me) <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>

El ácido ursólico además ha demostrado poseer actividad antiartrítica, antiúlcerosa, hipolipidémica y antiesclerótica (26,47). Además ha demostrado efectos hipoglucemiantes en conejos diabéticos (26).

Los inductores de diferenciación se han asignado como nuevos tipos de agentes anticancerígenos, ya que permiten diferenciar células neoplásicas de las normales.

El ácido oleanólico por su parte, se encuentra presente en muchas especies de plantas con buena actividad; induce la diferenciación de células leucémicas mostrando actividad a concentraciones de  $5 \times 10^{-5}$  M.

Al estudiar la relación estructura actividad se observa que el derivado acetato posee menor pero aún remarcada actividad para suprimir la proliferación celular en una concentración de  $2 \times 10^{-5}$  M, pero incrementa la citotoxicidad en células H-1 (44).

## 5. CONCLUSIONES

Con el fin de ampliar el conocimiento que sobre plantas medicinales se ha desarrollado en México en los últimos tiempos, se procedió al estudio de la especie *Sambucus mexicana* procedente de las regiones de Nauzontla, Zoateopan y Pahuatlán en el estado de Puebla.

La obtención de extractos selectivos de hexano, cloruro de metileno y metanol y su fraccionamiento por técnicas cromatográficas permitió el aislamiento de dos triterpenos pentacíclicos los cuales fueron caracterizados por métodos químicos y espectroscópicos.

De los extractos más polares ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y metanol) se obtuvieron los ácidos ursólico (1) y oleanólico (2) cuyos rendimientos con respecto al peso seco de la planta pueden considerarse altos. Dichos compuestos constituyen un par isomérico, por lo que en el vegetal se obtienen como una mezcla.

Se obtuvieron los derivados químicos acetato (1a), éster metílico (1b) y benzoato (1c) a partir de (1), los cuales también fueron analizados espectroscópicamente con el fin de corroborar la identidad del mismo; y el derivado lactónico (2a) para lograr la separación isomérica.

Aunque no se efectuaron estudios de actividad biológica formales sobre los extractos y sustancias obtenidas en esta especie, previamente se ha reportado



actividad de la misma, principalmente microbiológica y en cuanto a sus componentes ácido ursólico y oleanoico la bibliografía señala su participación como agentes efectivos contra diversos trastornos.

Por lo anterior, y puesto que se encuentran como constituyentes mayoritarios, dichos productos pueden considerarse como principios activos del vegetal lo cual justifica su uso popular.

Los resultados de la presente investigación por lo tanto, permiten considerar a la especie *Sambucus mexicana* como una alternativa terapéutica eficaz, así mismo pone de manifiesto la importancia de realizar y fomentar estudios de este tipo sobre otras especies y géneros mexicanos y dar un nuevo enfoque hacia la búsqueda de formas curativas eficaces, económicas y seguras.

## 6. BIBLIOGRAFIA

1. Aguilar, R., et al. Flora fanerogámica del valle de México. Rzedowski. IPN, 1985 pp. 529.
2. Arreguín, S.M. et al. Flora fanerogámica del valle de México. Rzedowski. IPN, México, 1979. pp 47,48
3. Benson, L. Plant classification. 2º Ed. Heath and Co, 1979. pp 332-33.
4. Berlín, B et al. La herbolaria médica Tzetzal-tzotzil en los altos de Chiapas. Vol.1, 1990. Tuxtla Gutierrez, Chis, México. pp145.
5. Bernfeld, P. Biogenesis of natural compounds. Mc. Millan Co, N.Y. 1962.
5. Bernfeld, P. Biogenesis of natural compounds. Mc. Millan Co, N.Y. 1963, pp 264.
6. Bonnier, A. Claves para la determinación de plantas vasculares. Mega, 1º Ed. Barcelona, 1988. pp136-37.
7. Duke. Handbook of medicinal herbs. Press Inc, USA, 1985.
8. Fisher, N. Modern phytochemical methods. Recent advances in phytochemistry Vol. 25. Plenum press N.Y. and London, 1990. pp1-5,176-77.
9. Font Quer. Plantas medicinales. Labor, 1ª Ed. Barcelona, 1988. pp 136-37.
10. Goodwin, T. Recent developments in the biosynthesis of plants. Triterpens: structure, biogenesis and distribution. Vol 6. Press Academi N.Y. 1973.

11. Harborne, J.B. Phytochemical methods. 2ª Ed. Chapman and Hall. USA, 1984.
12. Herbert, R.B. The biosynthesis of secondary metabolites. 2ª Ed. London, N.Y. Chapman and Hall, 189. pp12.
13. Luckner, M. Secondary metabolism in microorganism, plants and animals. 3ª Ed. Springer, Verlag, 1991. pp182-201.
14. Martínez, M. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Fondo de cultura económica, México. 1979.
15. Marzocca, A. Taxonomía vegetal IICA. 1ª Ed. Costa Rica, 1985. pp752-54.
16. Miranda, F. La vegetación de Chiapas. Dept. prensa y turismo. 4ª parte. T.G. CII México, 1952. pp247.
17. Robinson, T. The organic constituents of higher plants. Their chemistry and interationships. 4ª Ed. CORDUS PRESS. 1980. USA.
18. Romo de Vivar, A. Productos naturales de la flora mexicana. Limusa. México, 1985. pp 155-169
19. Science bulletin. Comparative anatomical reserch whitin the geneus *Lonicera*. Morsall W. Univ. of Kansas. Vol. XXII, april 15, 1935.
20. Siri Von Reis. Drugs and foods from little know plants. Harvard Univers. press USA, 1973. pp 291-92.
21. Strasburger, E. et al. Tratado de Botánica. 1ª Ed. Manuel morín, España, 1953.
22. Swain, T. Chemical plant taxonomy. Academi press, N.Y. 1963.

23. Torsell, K. Natural product chemistry. A mechanistic and biosynthetic approach to secondary metabolism. John Wiley and Sons limited. Great Britain, 1993.
24. Yamaguchi, K. Spectral data of natural products. Vol. 1 Elsevier Pub, N.Y. 1970.
25. Asana, Arata, Kondo. Kokai Tokkyo Koho, 22 oct 91 Appl. 90/32, 198, 13 feb 1990.
26. Atta-Ur, Khurshid, J of *Ethnopharmacology*, 26(1989) 1-55.
27. Cáceres, A. Ligia, Fletes. J of *Ethnopharmacology*, 38(1993) 31-38.
28. Ciulei, I., Istudor V et al *Acad Farm* 1990, 46(52), 308-16.
29. Clanay. *Technol* 1979, 4(1), 34-42.
30. De la Hoz, Gonzalez. A61K33/ ou 3dic 1976 Appl 74/1 may 1974.
31. Delaveau, P Lallouette, et al. *Planta Med.* 1980, 40(1), 49-54.
32. Despina Vokou, Katarina and Kokkin. J of *Ethnopharm* 1993(39), 187-196
33. Eberhardt, R. et al. *Z. L. Forsch*, 1985, 181(2), 97-100.
34. Eberhardt. *Mikrochim Acta* 1985, 1(1-2), 55-76.
35. Forni, Martinelli. *Recent methods Anal Quant Struc.* 1976, 9a 2pp.
36. Gigenova, et al. *Khim Prir S oeddim* 1972, 8(1), 3-8.
37. Gonzalez, E, P. *An Nac Cienc Biol. Méx.* 39(1994) 103-108.
38. Goseinova. *Azerb Med Zn.* 1965, 42(6), 29-35.
39. Gross. Lan, *Helv Chim Acta* 1987, 70(1) 91-101.
40. Haensel, R. *Arch Pharm.* 1975, 308(10) 290-2.

41. Inoue, T. *SA Tok. Phytochemistry*, 1975, 14(8), 1871-2.
42. Janicot, M. Laraurie M. et al. *Trav. Soc. Pharm. Montpellier* 1978, 38(2), 173-82.
43. Keith, G.L. Tucker. *Aust. J. Chem.*, 1983, 36 2297-305.
44. Kuoru, U. Takagi, R. et al. *Chem Pharm Bul*, 40(2), 401-405. 1992.
45. Kolodynska, M. *Ann Univ Maria Curi Seet D* 1972, 8(1), 3-8.
46. Kuo-Hsiung, L., Yuh-Mee, L. et al *Planta Medica*. Vol 54 (1988), 308-311.
47. Kuo-Hsiung Lee . *Planta Médica*. (1988), 303-310.
48. Kosuge, T. Yokota, M, et al . *Chem Pharm Bull* 33(12), 5355-5357, (1988).
49. Leifortova. et al. *Acta Fac Pharm.* 1971(20), 57-82.
50. Lin, Chun. Tomne, *Planta Médica*, 1988, 54(3), 223-4.
52. Nakai, Lin Kao-hsiung Hsueh Ko Hsueh Tsa Chin 1986, 2(10), 654-8.
51. Mitsuru, H, Toshio Mori. *Agric Biol Chem*, 54(4), 1990, 1073-1075.
53. Ognyanov, Popov et al. *Riv Ital Essenze Profumi, Piauti off Aromat Syndets.* 1979, 61(3), 114-18.
54. Pasz tai A. Ewen. et al. *Acad. Farm* 1990(56), 14, 531-7.
55. Pourrat, Bastide. *Chim Ther* 1967 2(1), 33-8.
56. Radú, A, Tomas. *M. Farmacia (bucharest)* 1976, 24(1), 9-15.
57. Reichel, L. *Pharmazie* 1977, 32(1), 40-1.
58. Richter, A, *Folia Biol (Krakow)* 1973, 21(1), 9-32.
59. Richter, A. *Folia Biol (Krakow)* 1973, 21(1), 33-48.
60. Richter, et al. *Pharm ztg* 1977, 122(38), 1567-71.

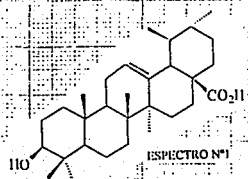
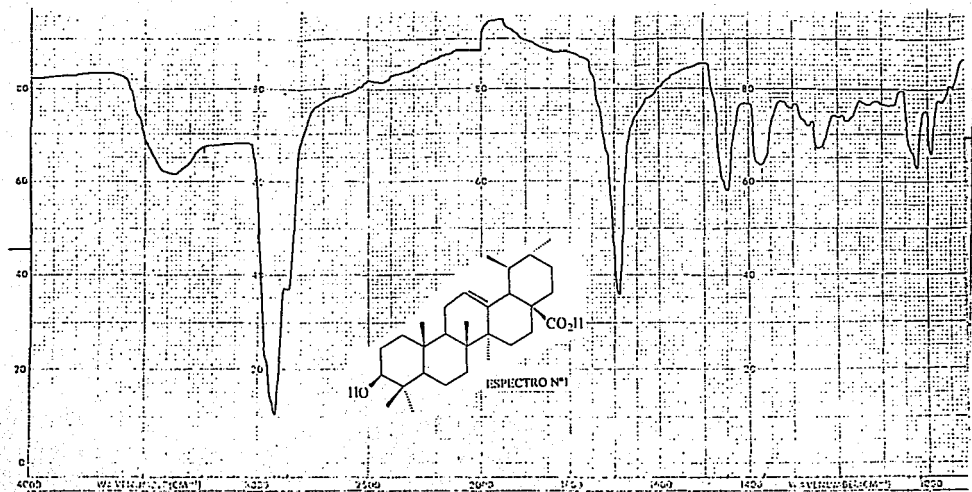
61. Seo.S. Tomita y Tori. *Tetrahedron letters* 1(10),1975 p.7.
62. Shujiro, S, Yutaka,T, J.C.S. *Chem Comn*,1975,954-55.
63. Siegfried H. *Phytochem* 4(5),777-8, 1965.
64. Siegfried *Chember* 98(1),120-5,1965.
65. Simon,A,Najid,A. *Biochimica et Biophysica acta* 1125(1992),68-72.
66. Takahashi,K,kAWAGUCHI,s. et al. *Chem Pharm Bull.* 22(3), 650-53.1994.
67. Vedry A. Clt61k, Julio1,1966. Appl nov 27,1964.
68. Wang Mingshi et al.Nanjing *Yaoxueyuan Xuebao* 1985,16(3),15-17
69. Zarembas, *Folia Biol (Krakow)*. 1973,21(4),391-410.
70. Zhou Zong, Aquino,R. et al. *Planta Médica.* 56(1990), 330-32.

**TESIS SIN PAGINACION**

**COMPLETA LA INFORMACION**

## **Espectros**

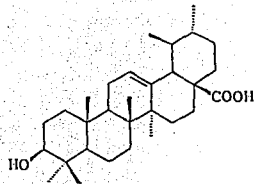




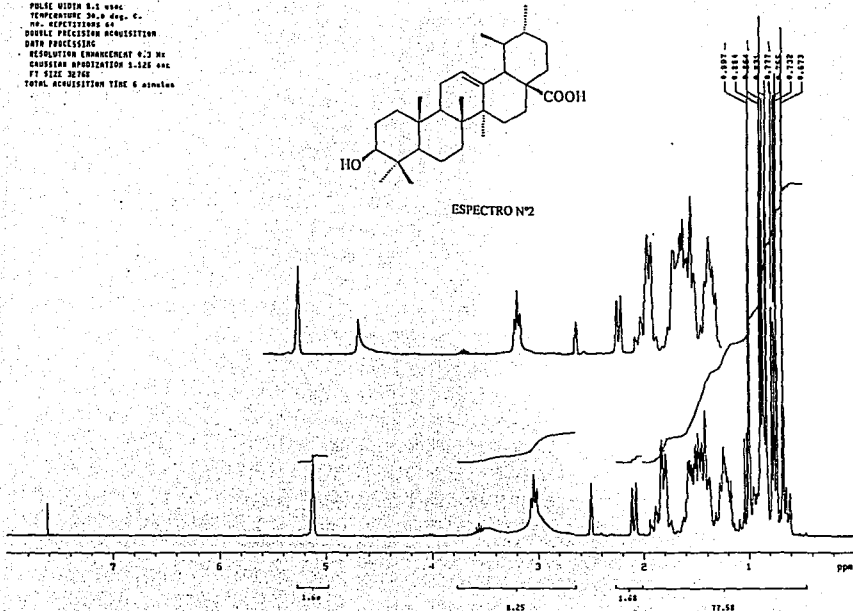
SAMPLE Urs-me ANALYST M. Martínez	REFERENCE 	COMMENTS IDENTIFICACION NITROGENO PREPARACION	FOR <i>Frutilla</i> case.	NO SCALE INSTRUMENT MODEL NO.	RESOLUCION 1.0 1.0000000 1.0000000	SCALE FACT 12 1 2	EXPANSION SINGLE PER SCALE
--	---------------	--	---------------------------------	-------------------------------------	---	----------------------------	----------------------------------

FALLA DE ORIGEN

Univ-Dr. Dr. J. Bertinas RG  
 MASCHIC 41  
 FRECUENCIA 200.012 Mc  
 SPECTRAL WIDTH 4000.0 Mc  
 ACQUISITION TIME 2.752 sec  
 DELAYATION DELAY 2.000 sec  
 PULSE WIDTH 8.1 usec  
 TEMPERATURE 30.0 deg. C.  
 NO. ACQUISITIONS 64  
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION  
 DATA PROCESSING  
 RESOLUTION ENHANCEMENT 0.3 Mc  
 GAUSSIAN MODIFICATION 1.126 usec  
 FT SIZE 32768  
 TOTAL ACQUISITION TIME 6 minutos



ESPECTRO N°2



FALLA DE ORIGEN

Mass Spectrum 1

ta : M/G M

Date : 11 Jun 85 12:21

mplo: Des-He

Ac : Dr-Marciano-M (RSAP)

det : Direct

Ion Mode : FID

scrum type : Regular (PF-Linear)

Time : 1.25 min

Scan# : 435, 303

Temp : 180.5 deg.C

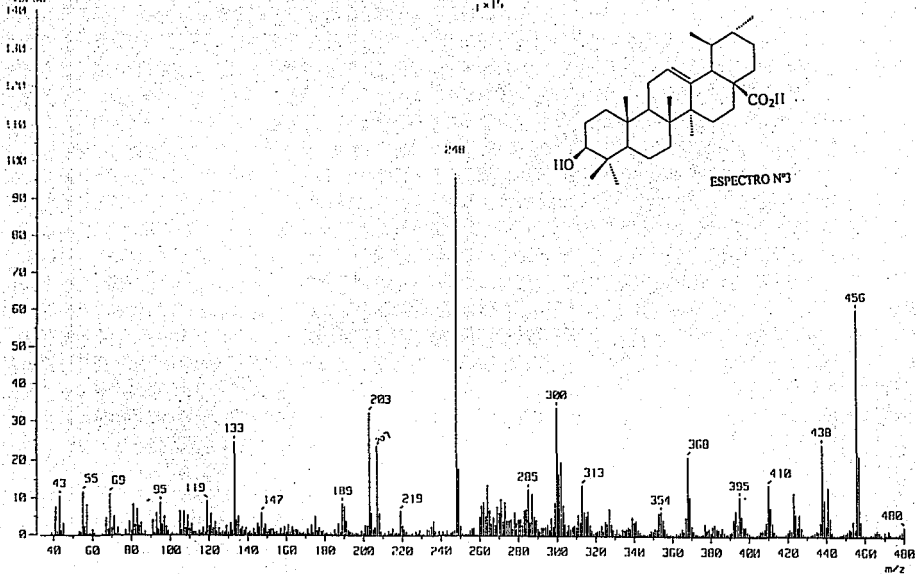
Gain : m/z 250, 18000

Int. : 1767.44

Input m/z range : 33.0000 to 400.0000

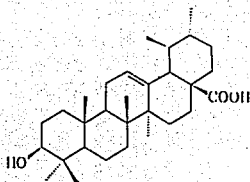
Cut Level : 0.00 %

113756

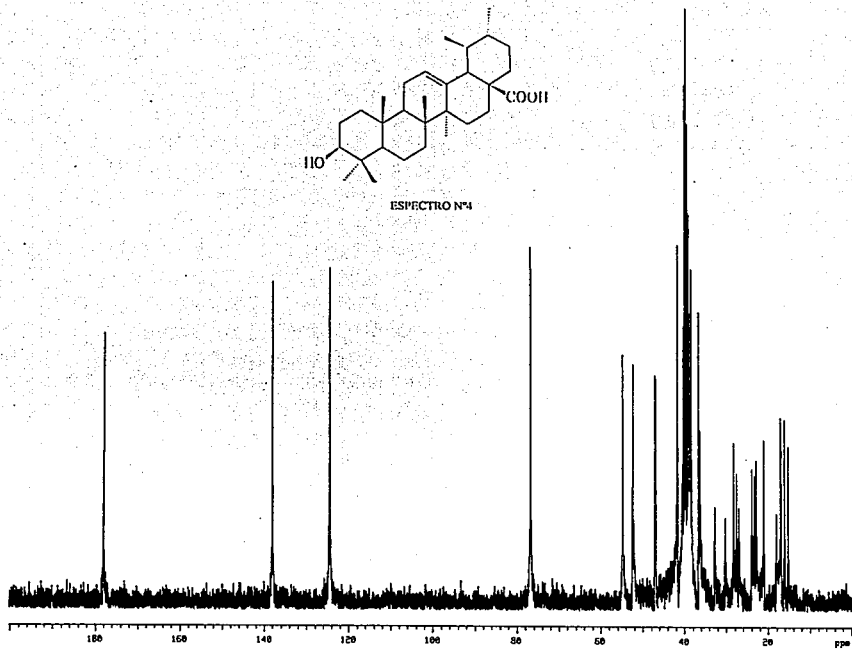


VALLA DE ORIGEN

Univ. de. Maricao Maricao, RC

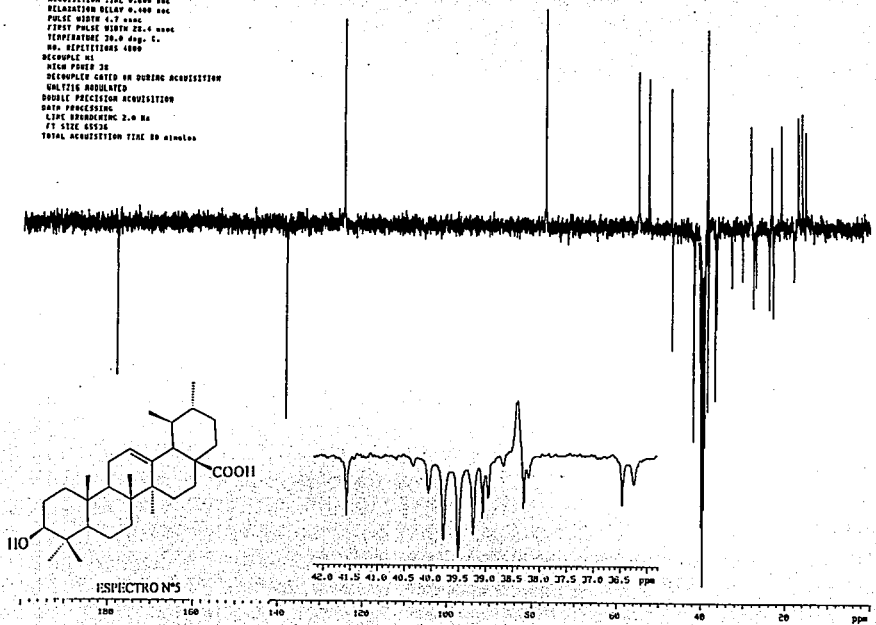


ESPECTRO N°4

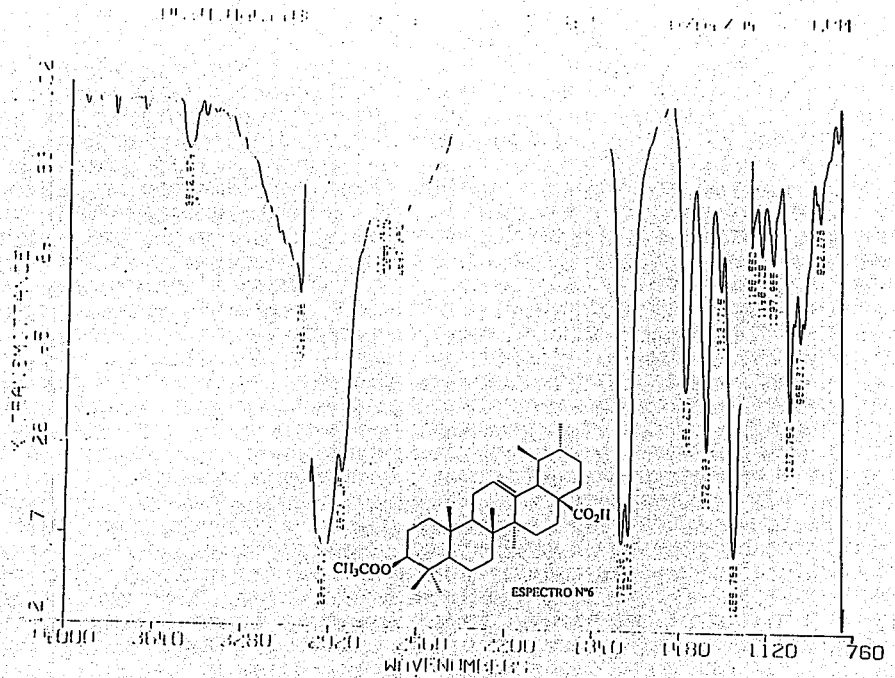


FALLA DE ORIGEN

Mr. Dr. Mariana Martinez EG  
 PULSE SEQUENCE opt  
 NUCLEUS C13  
 FREQUENCY 75.429 MHz  
 SPECTRAL WIDTH 19002.4 Hz  
 ACQUISITION TIME 9.000 sec  
 RELAXATION DELAY 9.100 sec  
 PULSE WIDTH 4.7 msec  
 FIRST PULSE WIDTH 22.6 msec  
 TEMPERATURE 29.9 deg. C.  
 NO. REPEATITIONS 4000  
 DECOUPLE ON  
 HIGH POWER ON  
 DECOUPLER GATED ON DURING ACQUISITION  
 GALTIS MODULATED  
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION  
 DATA PROCESSING  
 LINE SPACING 2.4 Hz  
 FT SIZE 65536  
 TOTAL ACQUISITION TIME 20 minutes

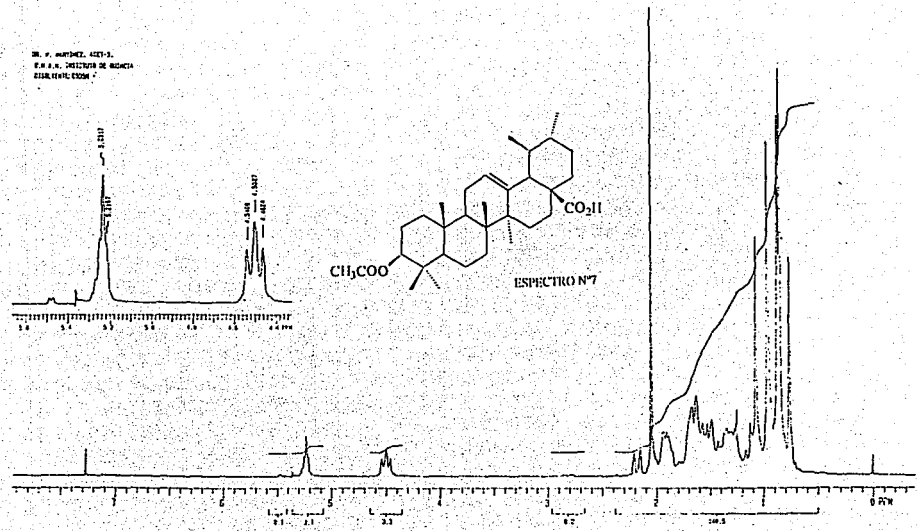


FALLA DE ORIGEN



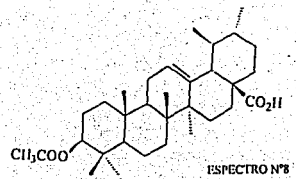
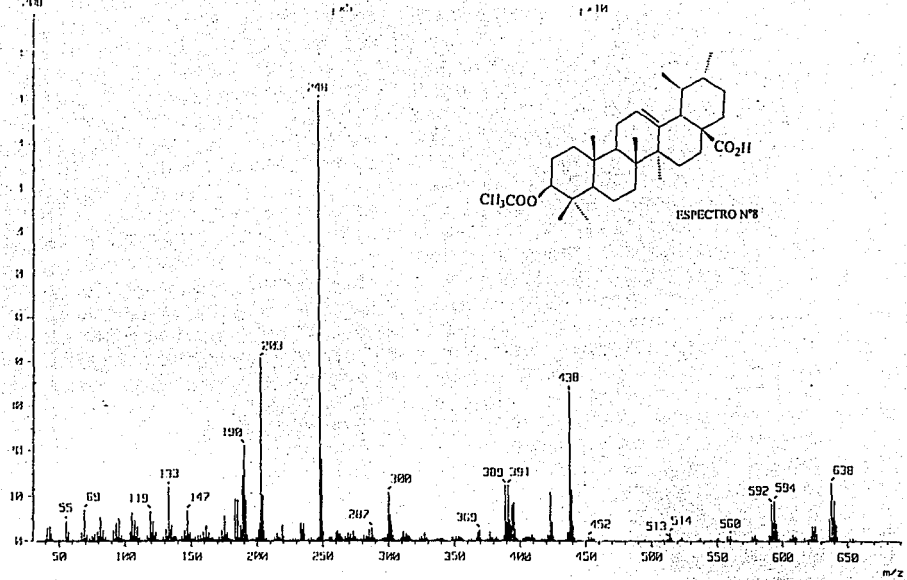
LABORATORIO DE QUÍMICA

DR. P. MARTINEZ, 4521-2.  
I. R. S. A. INSTITUTO DE QUIMICA  
ESTADUAL, COIMBÉ.



FALLA DE ORIGEN

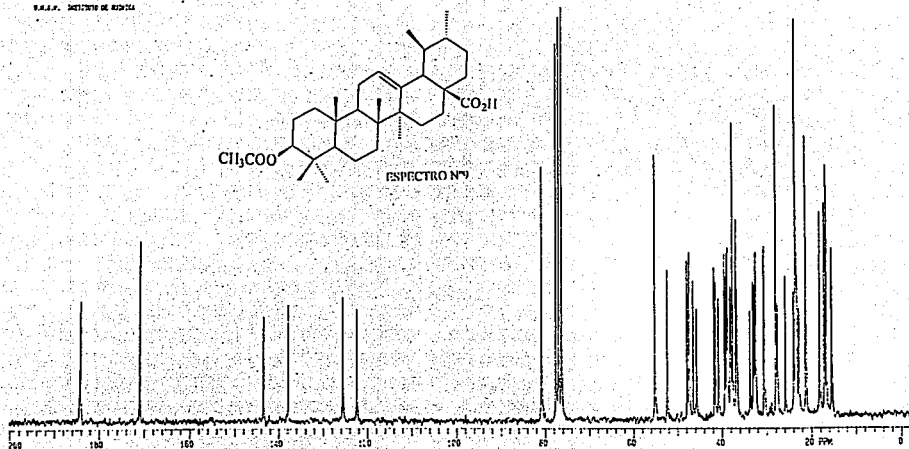
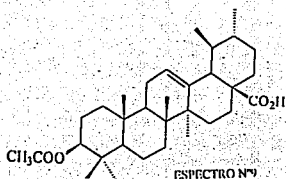
5. 5997 Gram 1  
 : MLJ Marcano  
 : Etat 3  
 : Marcano H (RSAR)  
 : Dipept  
 : Im Mode : FID  
 : run type : Regular (20.1.1984)  
 : 3.10 min : Scan# : (561,711)  
 : m/z 291.0888 : Int. : 1000.67  
 : 4 m/z range : 33.0000 to 1211.2350 : GC Level : 0.00 %



FALLA DE ORIGEN

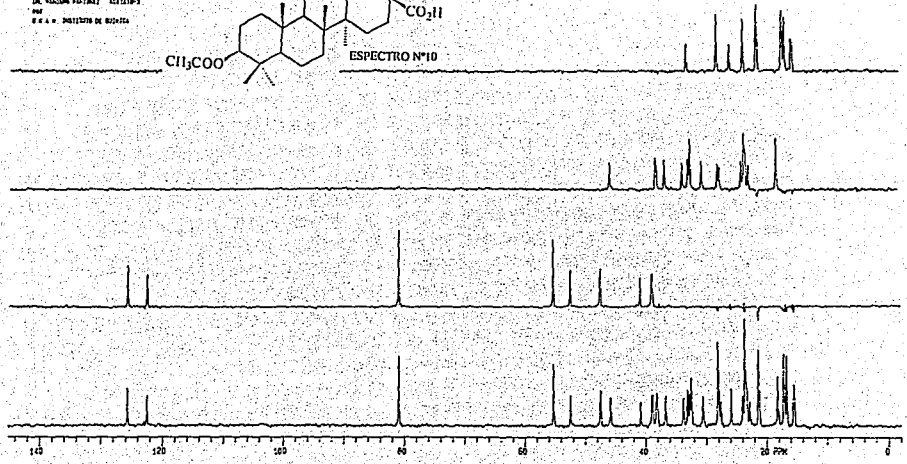
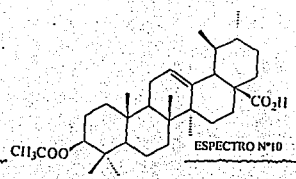


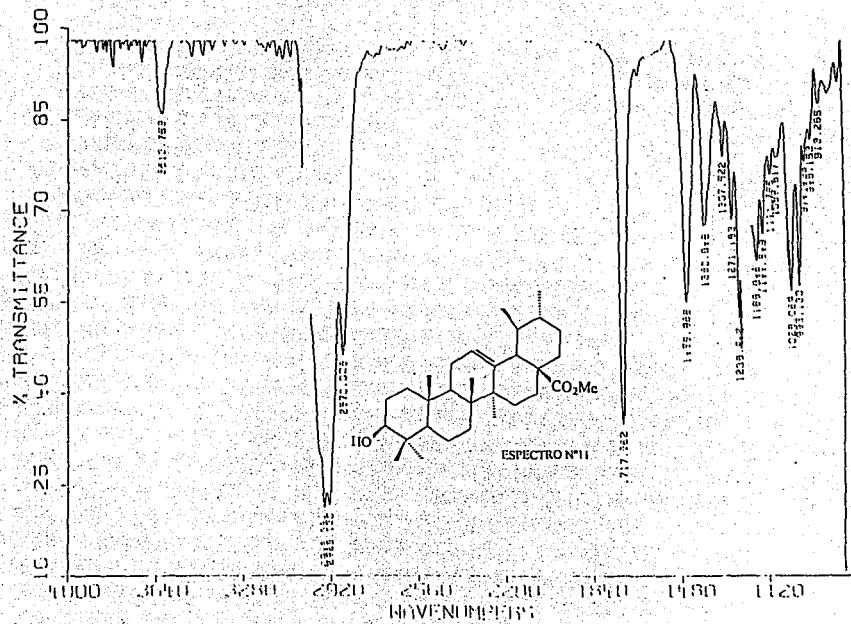
DR. FABIAN MARTINEZ ARIZTUZU  
198  
S.A.I.C. INSTITUTO DE QUÍMICA



FALLA DE ORIGEN

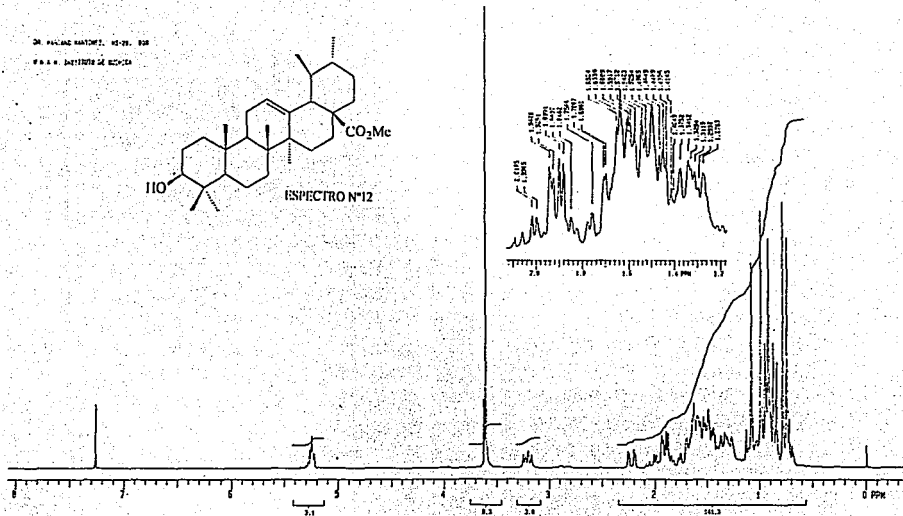
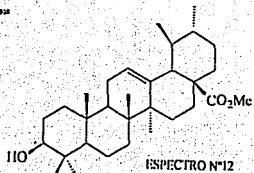
LA. 442508 10/19/67 421517-3  
MAY  
# 4 4 0 2011278 DE 812-314





FALLA DE ORIGEN

DR. WILLIAM HARTMAN, 15-79, 1958  
F. R. I. I. INSTITUTO DE QUÍMICA



FALLA DE ORIGEN

run 3  
Mariano  
Ms-28

Date : 23-May-95 11:00

Mariano-M-FXS05

ct

Ion Mode : EI+

e : Regular (MF-Linear)

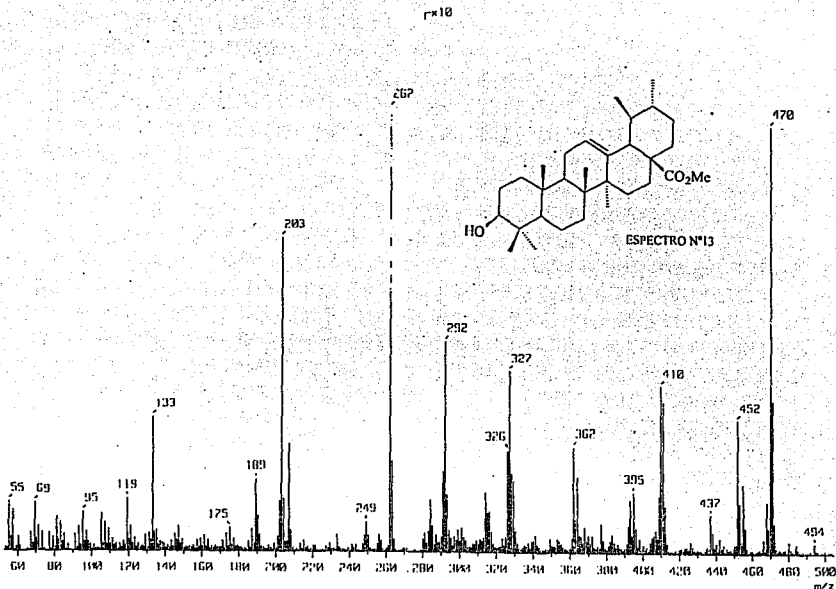
n : Scan# : (24,29)

Temp : 40.7 deg.C

Int. : 872.99

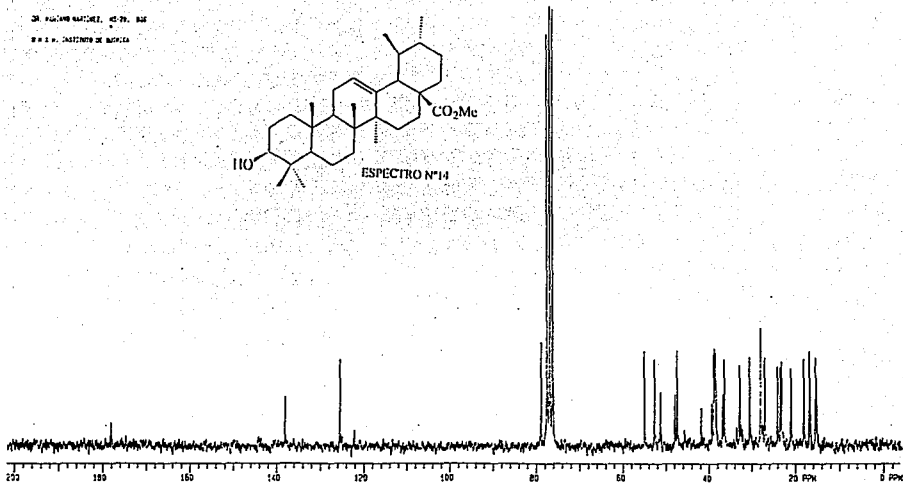
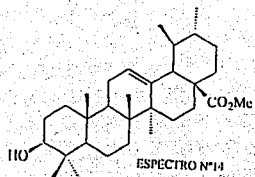
Range : 33.0000 to 504.9270

Cut Level : 0.00 %



FALLA DE ORIGEN

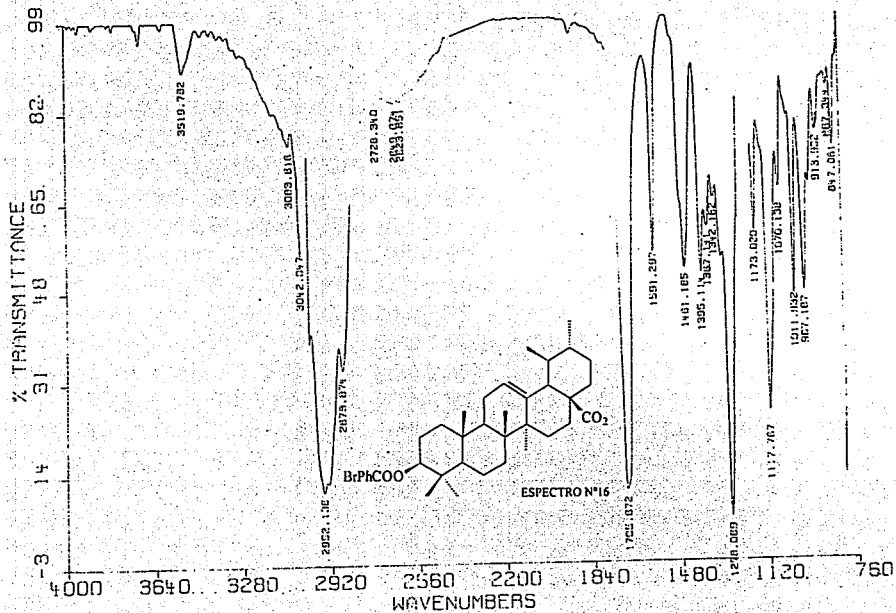
DR. FRANCISCO MARTÍNEZ, 45-79, 842  
M. I. P., INSTITUTO DE QUÍMICA



FALLA DE ORIGEN



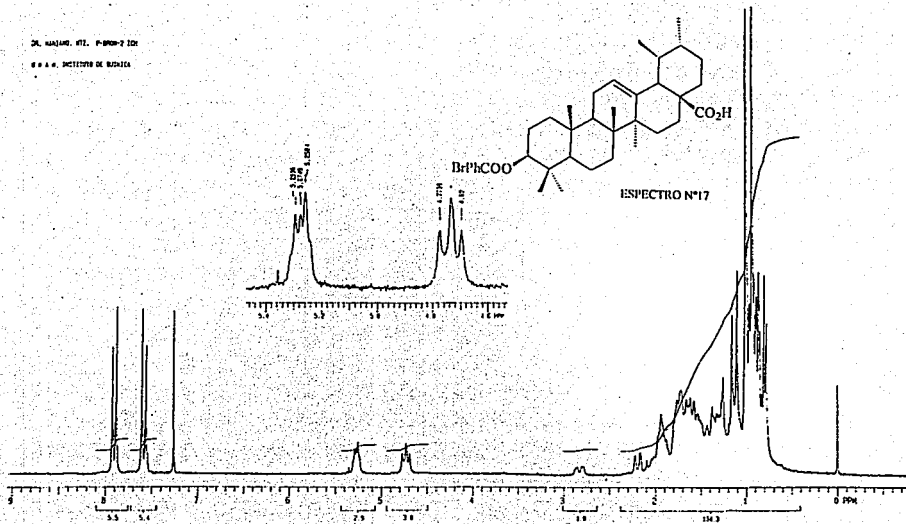
DR. M. MARTINEZ. P-TRAU-2 SOL/CHCL3. 23/05/94 RPM.



FALLA DE ORIGEN



DR. RAJANO, ATE. P-8000-2 ICH  
C. A. S. INSTITUTO DE QUÍMICA



FALLA DE ORIGEN

m. 1

Date : 23 May 95 11:21

: 28

no. H 10556

Ion Mode : FID

: Regular (M<sup>+</sup> linear)

Scan# : (21,25)

Temp : 30.4 deg.C

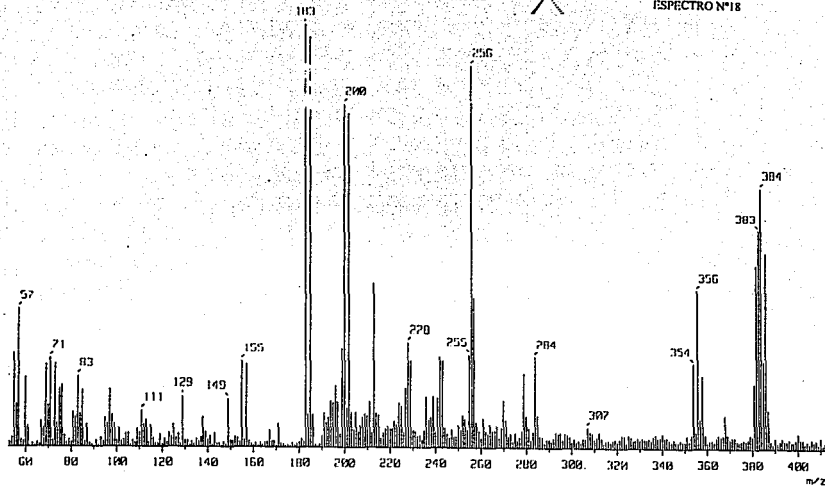
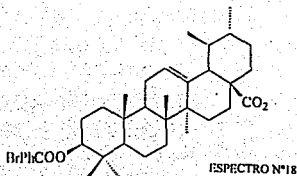
3000

Int. : 224.37

age : 33.0000 to 412.2440

Gas Level : 0.004 %

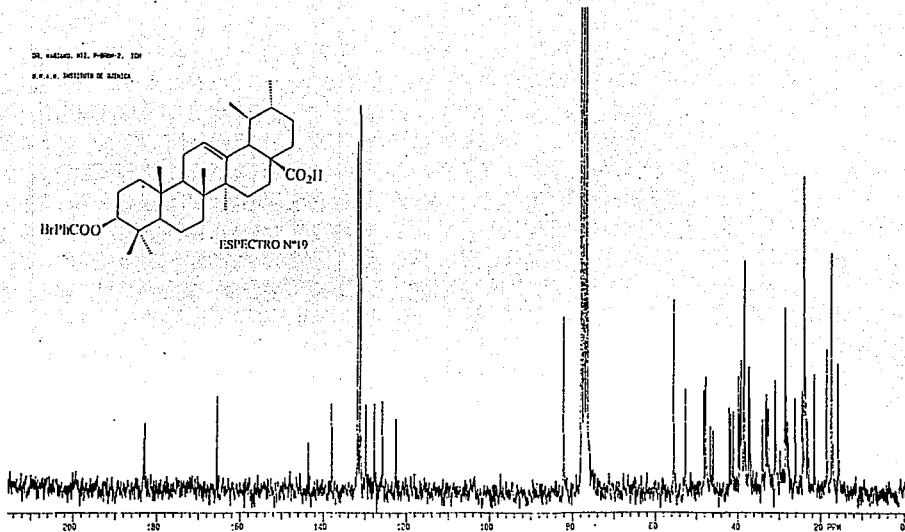
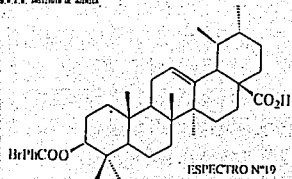
1 x11



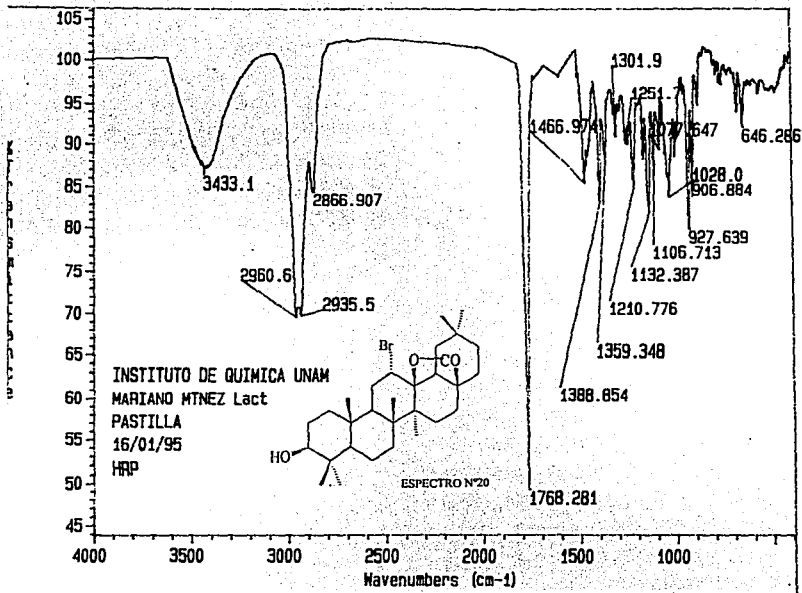
FALLA DE ORIGEN

DR. MARIANO DEL P. BARRAL, 1971

M. P. I. I. INSTITUTO DE QUÍMICA



FALLA DE ORIGEN



FALLA DE URGEN



Spectrum 1

Latona

Date : 23 May 95 12:28

IR: Mariani M 10505

Direct

Ion Mode : FID

Scan Type : Regular (FF-Linear)

30 min

Scan# : 435,44

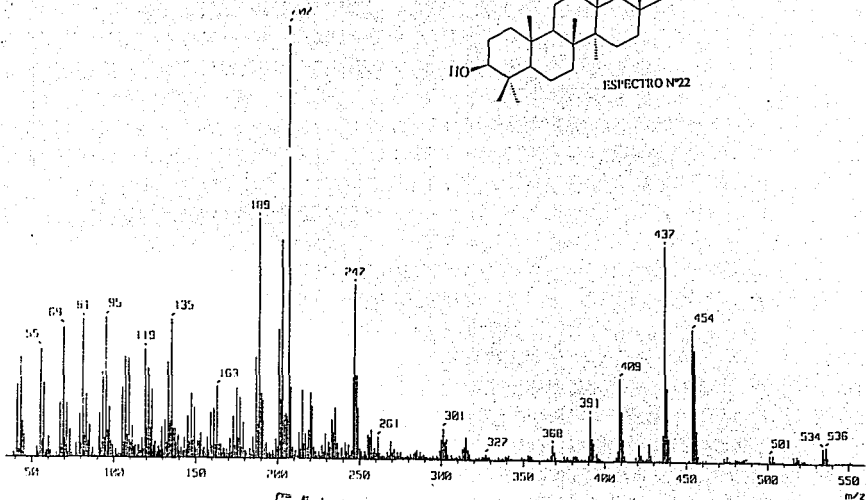
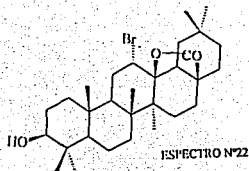
Temp : 70.0 deg.C

Flow : 207.8581

Int. : 395.36

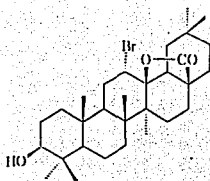
m/z range : 37.0000 to 559.7000

Gain Level : 0.00 %

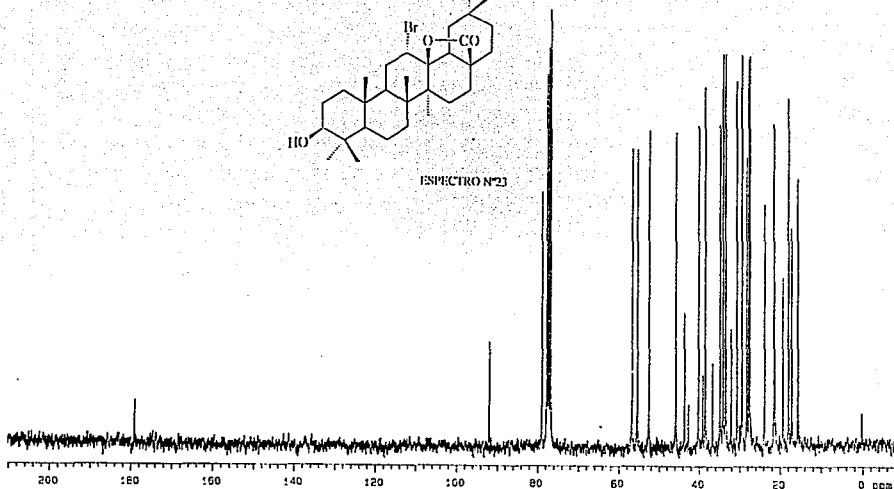


EMMA DE OPIOFA

U.S.A. - Instituto de Químico. ICM  
Dr. Mariano, P.S. Ins-Lesl

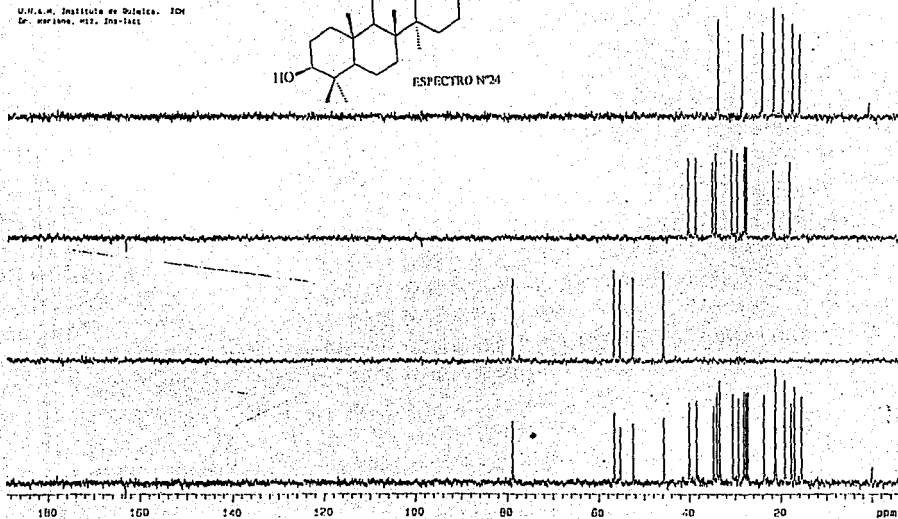
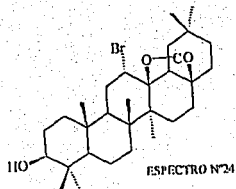


ESPECTRO N°23



FALLA DE ORIGEN

U.N.A.M. Instituto de Químico. ICM  
Dr. Mariano, 112, Ins-1111



FALLA DE ORIGEN