

FALLA DE ORIGEN

48
201



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

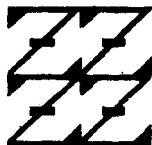
ESTUDIO QUÍMICO DE *Esenbeckia berlandieri ssp.*
berlandieri BAILLON ex HEMSLEY, COMO UNA
CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO QUÍMICO
DEL GÉNERO *Esenbeckia*

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A :
MARCO ANTONIO MENDEZ SAMAYOA

Asesor: Q. Arturo E. Cano Flores



EO HUMANO E. M.
DE NUESTRA REFLEXIÓN

MÉXICO, D. F.

NOVIEMBRE, 1995



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

MI MAS SINCERO AGRADECIMIENTO AL DR. GUILLERMO DELGADO Y AL PERSONAL TECNICO-ACADEMICO DEL INSTITUTO DE QUIMICA DE LA U.N.A.M., POR EL APOYO BRINDADO DURANTE LA REALIZACION DEL PRESENTE TRABAJO.

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZO EN EL LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES L-314 . CAMPO II . F.E.S. - ZARAGOZA.

EL PRESENTE TRABAJO FUE PRESENTADO EN EL XXX CONGRESO DE QUIMICA . NOVIEMBRE, 1994. CANCUN, Q.R.

ESTE TRABAJO ESTA DEDICADO AL PROFESOR

ALEJANDRO RUIZ CANCINO

IN MEMORIAM

**A MIS PADRES
PEDRO MENDEZ Y ELVIA SAMAYOA...**

**A MIS HERMANOS
DANIEL, BEATRIZ Y SANDRA...**

**A MI ESPOSA
FABIOLA...**

**MUCHAS GRACIAS POR SU PACIENCIA,
APOYO Y COMPRENCION...**

**A TODOS AQUELLOS QUIENES DE ALGUNA U OTRA
MANERA , ME AYUDARON A REALIZAR ESTE TRABAJO..**

GRACIAS.

INDICE

A. INDICE	VI
B. NOTACION EMPLEADA	VII
I. INTRODUCCION	1
II. FUNDAMENTACION	5
III. PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA	33
IV. OBJETIVOS	35
V. HIPOTESIS	37
VI. METODOLOGIA	39
-MATERIAL	40
-EQUIPO	41
-SUSTANCIAS	42
VII. DESARROLLO EXPERIMENTAL	43
VIII. ESPECTROS	49
IX. DISCUSION DE RESULTADOS	57
X. CONCLUSIONES	66
XI. BIBLIOGRAFIA	68

NOTACION EMPLEADA

RMN	Resonancia Magnética Nuclear
TMS	Tetra Metil Silano
δ	Desplazamiento Químico (ppm)
J	Constante de Acoplamiento (Hz)
s	singulete
d	Doblete
t	Triplete
c	Cuarteto
v	Número de onda (cm^{-1})
M ⁺	Ión Molecular
m/z	Relación masa-carga
ccf	Cromatografía en capa fina
pf	punto de fusión
UV	Ultravioleta
IR	Infra rojo
[]	Referencia bibliográfica
()	Número de Estructura
ppm	partes por millón

INTRODUCCION

Desde la antigüedad, el hombre ha utilizado los recursos que le brinda la naturaleza para lograr su supervivencia; por ejemplo el uso de los extractos vegetales, sea como infusiones o como té, para curar algunos padecimientos tuvo, en un principio, un fundamento puramente místico y/o religioso; sin embargo, estos conocimientos, adquiridos empíricamente, se han transmitido y enriquecido de generación en generación hasta nuestros días.

Pero, ¿qué tan efectivos son estos extractos vegetales en el tratamiento de las enfermedades?. Se sabe que la quinina es una sustancia antimicrobiana, que fue aislada de la corteza del árbol cinchona, utilizada en Perú para el tratamiento de la malaria [1]; otro ejemplo lo constituyen las hojas de *Digitalis purpurea*, planta utilizada en África como remedio para enfermedades del corazón, que contiene dos glucósidos cardiacos, la digoxina y la digitoxina, ambas reconocidas oficialmente como fármacos en la farmacopea británica [2].

Otro ejemplo de la aplicación de las plantas medicinales, lo constituye una planta tropical de ornato llamada "Margarita de Madagascar", de donde se obtuvieron dos sustancias, vinblastina y vincristina; la primera se utiliza para combatir la enfermedad de Hodgkin, la cual ataca las glándulas linfáticas, al bazo y al hígado, y la segunda se usa contra la leucemia; pero para obtener una onza de sulfato de vincristina se requiere de 12 toneladas de hojas de "Margarita de Madagascar" [1], así que en este tipo de casos se puede recurrir a la síntesis química de las sustancias, donde esta puede ser total o parcial empleando para ello productos naturales y haciendo las transformaciones químicas en algunos grupos funcionales o simplemente por rearreglos a la molécula, como es el caso de la Rifamicina S [3] o de la Tetronasina [4].

En general, las sustancias aisladas de plantas que presentan alguna actividad farmacológica, son los llamados metabolitos secundarios, los cuales se derivan del metabolismo primario de la planta. Sin embargo, no se conoce con certeza el papel que juegan estas sustancias en la planta; en este sentido, se tienen 6 hipótesis, de las cuales la más aceptable es la que dice que los metabolitos secundarios son una forma de adaptación del organismo para sobrevivir, pues los sintetiza con el fin de atraer o de repeler otros organismos ya sea para su consumo o para no ser consumido por ellos [6]. De ahí la importancia por el estudio químico de las plantas, mismo que radica básicamente en el aislamiento y purificación de estos metabolitos secundarios, para después realizar la determinación estructural de los mismos. Con el fin de lograr el aislamiento y purificación de los metabolitos secundarios, se recurre a diferentes técnicas de laboratorio como son la cristalización y/o la cromatografía que es la técnica más utilizada y en la que se han registrado grandes avances tecnológicos, con el fin de optimizar la separación de las sustancias y realizarlo en un menor tiempo; de esta forma, se cuenta con métodos como el de cromatografía centrífuga a contracorriente o cromatografía centrífuga de partición (CPC) [6]; cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC), cromatografía en capa a alta presión (OPLC) y/o combinación entre ellas como por ejemplo OPLC/HPTLC [7], o simplemente modificación en los equipos de HPLC que tienen la capacidad de separar mezclas de alcaloides por ejemplo, que pueden ser estereoisómeros [8].

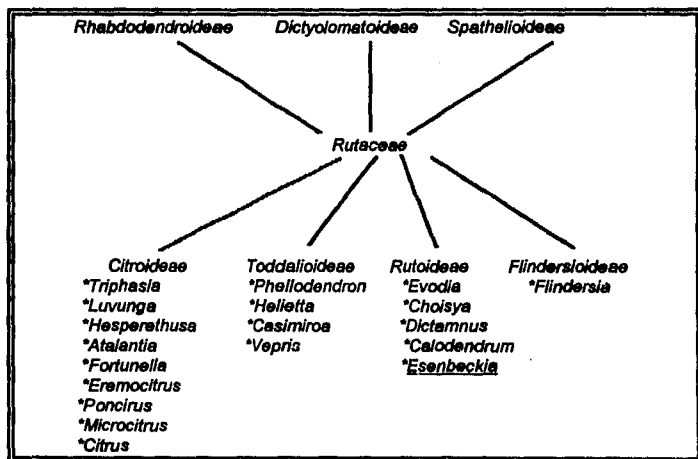
En lo que se refiere a la elucidación estructural, se cuenta con métodos espectroscópicos y espectrométricos, mismos que pueden acoplarse con alguna técnica cromatográfica, tal es el caso de la cromatografía de gases acoplada con la espectrometría de masas (CG/EM). Una de las innovaciones más recientes es la técnica (EM/EM) que tiene la capacidad de identificar sustancias en cantidades del orden de nanogramos, pues utiliza la llamada Espectroscopía de Masas de alta resolución. Otra técnica es el análisis cristalográfico de rayos X, que proporciona información para identificar la estructura del compuesto [7].

Sin duda alguna, la técnica más interesante es la de Resonancia Magnética Nuclear de Protones que también cuenta con innumerables modificaciones para lograr una mayor información, en este rubro se cuenta con técnicas en dos dimensiones como el COSY o la técnica HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Connectivity) y diferentes experimentos que se realizan con la muestra dentro del equipo como la prueba DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), APT (Attached Proton Test), CSCM 1D y SINEPT [9-10], además de los múltiples avances en los mismos equipos que alcanzan una sensibilidad de 600 MHz.

FUNDAMENTACION DEL TEMA

El género *Esenbeckia* pertenece a la familia *Rutaceae*¹ la cual consta aproximadamente de 1500 a 2000 especies que se localizan principalmente en las zonas tropicales de América, Asia y Australia. La división infrafamiliar aceptada para este grupo de plantas indica que esta familia está conformada por 7 subfamilias que incluyen 150 géneros, los cuales se agrupan principalmente en las subfamilias *Rutoideae*, *Toddalioidae* y *Citroideae*, como se muestra en el esquema [11-12].

ESQUEMA I. DIVISION INFRAFAMILIAR ACEPTADA PARA LA FAMILIA
Rutaceae [11].



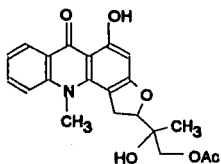
1. Esta familia se constituye por árboles, arbustos y en algunos casos hierbas de gran importancia económica por su producción de cítricos como limones, naranjas, limas, etc. Su nombre viene de la ruda (*Ruta graveolens*) pequeña planta perenne y aromática, que durante siglos se ha venido cultivando en los jardines como planta medicinal para curar la debilidad, los calambres y enfermedades de la matriz.

Prácticamente la gran mayoría de estas especies de Rutaceas contienen aceites esenciales, entre los que se han caracterizado compuestos monoterpénicos y sesquiterpénicos. Una recopilación importante de la información sobre los constituyentes químicos de esta familia, es la presentada por Hegnauer [11], la cual indica que aparte de los aceites esenciales, se encuentran los alcaloides, las cumarinas, los flavonoides, los lignanos y los limonoides como los metabolitos secundarios más frecuentemente caracterizados, tal y como se muestra en la tabla I.

TABLA I. Metabolitos secundarios aislados de la familia Rutaceae.

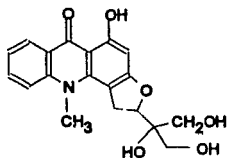
ALCALOIDES.

A) DERIVADOS DE LA ACRIDONA.



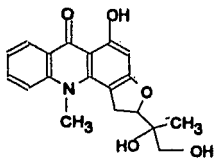
Gravacridondiol acetato

(*Ruta graveolens*, [13])



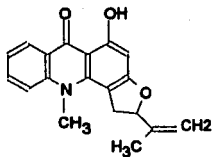
Gravacridontriol

(*Ruta graveolens*, [13])



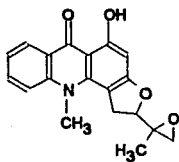
Gravacridondiol

(Ruta graveolens, [13])



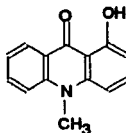
Rutacridona

(Ruta graveolens, [13])



Epóxido de la rutacridona

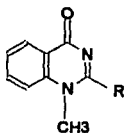
(Ruta graveolens, [13])



1-hidroxi-10-metilacridin-9-(10H)-ona

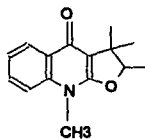
(Ruta graveolens, [13])

B) DERIVADOS DEL ACIDO ANTRANILICO.



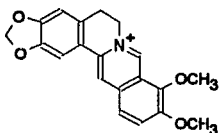
R= -H ;Glicorina (*Glycosmis arborea*, [14])

R= -CH₂-Ph ,Arborina (*Glycosmis arborea*, [14])

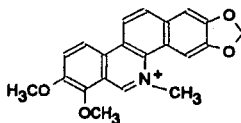


Iflayamina (*Flindersia iffalana*, [15])

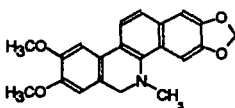
C) DERIVADOS DE LA FENILALANINA.



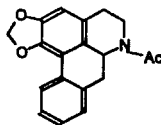
Berberina (*Fagara coco*, [16])



Queletrina (*Fagara coco*, [16])

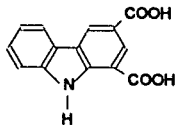


6-Oxnitidina
(*Fagara macrophylla*, [17])

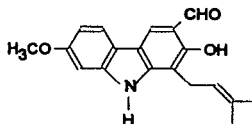


N-Acetilnonaina²
(*Zanthoxylum clavaherculis*, [18])

D) DERIVADOS DEL CARBAZOL.

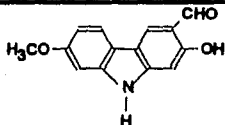


Acido mucosico
(*Murraya koenigii*, [19])



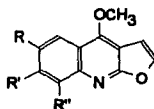
7-Metoxi-heptafilina
(*Clausena heptaphylla*, [19])

2. Sustancia que presenta una gran actividad icterotóxica, [18].



2-hidroxi-3-formil-7-metoxicarbazol³
(*Clausena hamardiana*, [20])

E) FURANOQUINOLINICOS

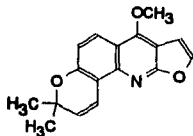


R=R'=R''= H Diclamina (*Comptonella sessilifolia*, [21])

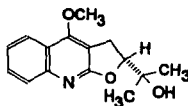
R=H₃CO, R'=R''= H Pteleina (*Comptonella sessilifolia*, [21])

R=R''= H; R'=H₃CO Evoltirina (*Comptonella sessilifolia*, [21])

R=R'= H₃CO; R''= H Kokusaginata (*Comptonella sessilifolia*, [21])



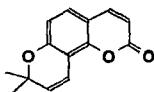
Dutadrupina
(*Comptonella sessilifolia*, [21])



R-(+)-Platidesmina
(*Comptonella sessilifolia*, [21])

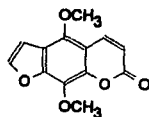
3. Sustancia que presenta actividad anticancerígena, [21].

CUMARINAS.



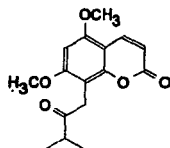
Seselin

(*Severiana buxifolia*, [22])



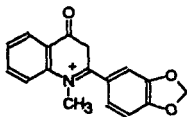
Isopimpinellina

(*Severiana buxifolia*, [22])



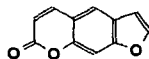
5,7-dimetoxi-8-(3'-metilbutil)cumarina

(*Severiana buxifolia*, [22])



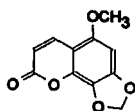
Rutamina

(*Ruta bracteosa*, [23])



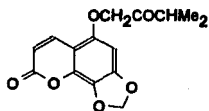
Psoraleno

(*Ruta bracteosa*, [23])



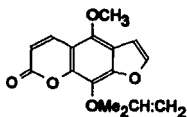
Sabandina

(*Ruta pinnata*, [24])

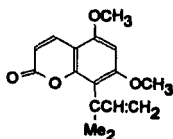


Sabandinona

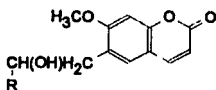
(*Ruta pinnata*, [24])



Furopinarina (*Ruta pinnata*, [24])

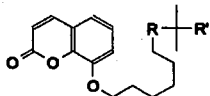


Pinarina (*Ruta pinnata*, [24])



R = C-(Me)=CH₂ Tamarina (*Ruta pinnata*, [25])

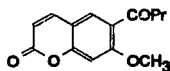
R = C-(Me)₂-O-Et 6-(3'-etoxi-2'hidroxi-3'metilbutil-
- 7-metoksi cumarina (*Ruta pinnata*, [25])



R=R'=O Villosina

R=R'=OH Tenudiol

(*Haplophyllum villosum*, [26])

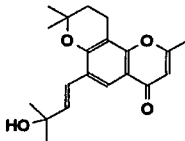


Tenudina

(*Haplophyllum tenue*, [26])

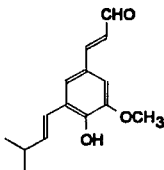
COMPUESTOS FENOLICOS.

A) CROMONAS.



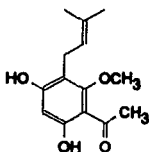
Sorbitolina (*Spatelia sorbitolia*, [27])

B) DERIVADOS C₃-C₆.

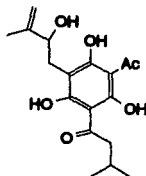


Parvifloral (*Zanthoxylum parviflorum*, [28])

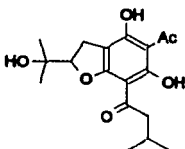
CDERIVADOS DEL FLOROGLUCINOL.



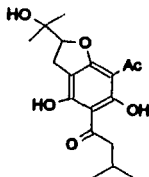
Acronilina
(*Acrnichi laurifolia*, [29])



Sessilifloro⁴
(*Melicope sessiliflora*, [30])



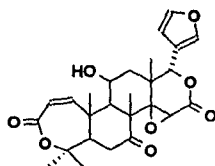
Sessilifloral A⁴
(*Melicope sessiliflora*, [30])



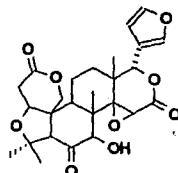
Sessilifloral B⁴
(*Melicope sessiliflora*, [30])

4. Los derivados de los acilforoglucinoses son sustancias comunes en la naturaleza y Birch ha demostrado que estos se originan a partir de un policétido via una reacción de condensación intramolecular tipo Claisen. Recientemente se ha reportado en la literatura el aislamiento de 8 acilforoglucinoses de *Melicope sessiliflora* y *Esenbeckia nesiotica* (*Rutaceae*), los cuales habían sido aislados de plantas pertenecientes a la familia *Astraceae* (*Compositae*) [30,46].

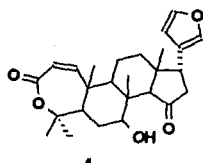
LIMONOIDES.



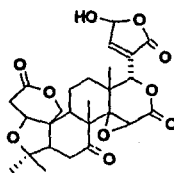
Zepoterina
(*Casimiroa edulis*, [20])



Rutaevina
(*Evodia rutaecarpa*, [20])



Ouabenginona
(*Teclea ouabanguensis*, [31])



Acido rutaevínico
(*Tetradium glabrifolium*, [32])

El estudio químico de la vegetación es una línea de investigación que se ha desarrollado en nuestro país desde hace varias décadas, la cual se ha dirigido a ciertos grupos de plantas definidos por familias. Sin embargo, el diverso carácter estructural de los productos naturales orgánicos, ha generado amplias perspectivas de investigación en varias áreas del conocimiento, lo que ha propiciado estudios interdisciplinarios muy interesantes; aunque en la actualidad existen controversias

sobre el papel específico que desempeñan los metabolitos secundarios⁵ en los propios vegetales.[5,33].

La importancia que reviste el análisis químico de la flora mexicana, reside en que México posee una gran variedad de recursos vegetales; ya que prácticamente todos los grandes tipos de vegetación existentes en el mundo se presentan en él y su distribución a menudo es compleja en función de la amplia variedad de topografía, climas, suelos y usos de la tierra. Sin embargo, el estudio de la flora mexicana es aún muy deficiente y unilateral desde diversos aspectos, (químico, farmacológico, botánico, etnobotánico, clínico, etc.). El desarrollo del país requiere del conocimiento de sus recursos naturales, y especialmente de los renovables para su mejor uso y preservación. Asimismo, el conocimiento de la vegetación y sobre todo de sus interrelaciones ecológicas con los diferentes factores del medio ambiente, constituye hoy en día la base indispensable para el adecuado aprovechamiento y la debida conservación de la flora mexicana.

Dentro de la rica y variada flora mexicana se localiza el género *Esenbeckia*, el cual se encuentra ampliamente distribuido en todo el mundo; aproximadamente se han identificado 30 especies vegetales, 17 de las cuales se localizan en México, en la sierra de Tamaulipas, Michoacán y principalmente en las zonas selváticas y tropicales de los Estados de Veracruz, Guerrero, Oaxaca y Chiapas [34,35].

Los estudios químicos realizados hasta ahora a 12 especies del género *Esenbeckia*, (8 de las cuales son mexicanas) muestran que los limonoides, las furanocumarinas, los alcaloides furanoquinolínicos y los alcaloides derivados de la acridona son los constituyentes principales de este género. (Tabla II)

5. La característica más importante de muchos metabolitos secundarios, es su distribución relativamente restringida en la naturaleza que, en algunos casos, se limita a especies o subespecies únicas, en consecuencia, son una manifestación de la individualidad del organismo que los contiene.

TABLA II. PRINCIPALES CONSTITUYENTES DEL GENERO *ESENBECKIA*

ESPECIE	CONSTITUYENTES	REFERENCIA
<i>E. febrifuga</i> (corteza)	Rutaevina (1) Diosfenol (3) Skimmianina (6) Maculina (10) Flindersianina(11)	[47-48]
<i>E. hartmanii</i> (tallos)	Rutaevina (1) Limonina (2) Diosfenol (3) Skimmianina (6) Maculosidina (7)	[12]
<i>E. litoralis</i> (semillas) (cápsulas de semillas)	Rutaevina (1) Limonina (2) Kokusagina (8) Bergapteno (15) Isopimpinellina (16)	[36]
(hojas y tallo) (corteza)	Kokusagina (8) 1-hidroxi-3-metoxi-N-metilacridona (12) Isopimpinellina (16) 8-hidroxi-bergapteno (17) Imperatorina (18) Felopterina (19) Alloimperatorina (20)	[36]
<i>E. litoralis</i> (raíz)	Dictamina (4) Evolitrina (5) Skimmianina (6) Kokusaginina (9) Maculina (10) Bergapteno (15) Imperatorina (18) Feloptenna (19)	[36]
<i>E. bertandieri</i> (semillas) (cáscara de fruto)	Rutaevina (1) Bergapteno (15)	[36]

TABLA II. CONTINUACION.

ESPECIE	CONSTITUYENTES	REFERENCIA
<i>E. flava</i> (partes aéreas)	Rutaevina (1) Dictamina (4) Evolirina (5) Skimianina (6) Maculosidina (7) Flindersiamina (11) 3,3-diospenteril-N-metil-2,4-quinoidona (13)	[36]
<i>E. pilocarpoides</i> (raíz)	Kokusagina (8) Kokusaginina (9) Maculina (10) Flindersiamina (11) 1-hidroxi-3-metoxi-N-metilacridona (12) Isomaculina (14)	[37]
<i>E. nesiotica</i> (hojas y tallos)	β -sitosterol (21) β -epóxido del cariofileno (22) Fridelina (23) Ester del β -sitosterol (24) (Z,Z,Z,Z,Z,E,E,E)-Decaprenol (25) Lupeol (26) (Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,E,E,E,E)-Tridecaprenol (27) 1-(3-metilbutanol)-3-geraniil-floroglucinol (28) Clovandiol (29) 1-(2-metilpropanol)-3-geraniil-floroglucinol (30)	[46]
<i>E. belizensis</i> (hojas y tallos)	β -sitosterol (21) β -epóxido del cariofileno (22) Fridelina (23) Ester del β -sitosterol (24) (Z,Z,Z,Z,Z,Z,E,E,E)-decaprenol (25) Espatuleno (31) Lupenona (32) Kokusaginina (9) Flindersiamina (11)	[46-55]

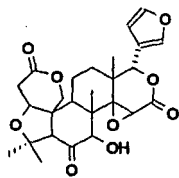
TABLA II. CONTINUACION.

ESPECIE	CONSTITUYENTES	REFERENCIA
<i>E. huertana</i> (hojas y tallos)	Lupeol (26) Fridelina (23) β -epóxido del cariofileno (22) Criptomerdol (33) Isopimpinella (18) Xantoxina (34) Felopterina (19) Bergapteno (15)	[46]
<i>E. leiocarpa</i> (raíz)	Dictamnina (4) Kokusaginina (9) Maculina (10) Flindersiamina (11) 4-metoxi-2-(3'-pentil)quinolina (35) 1,4-dihidro-1-metil-2-(3'-pentil)- quinolin-4-ona (36) 5-isopentenilindol (37) 6-isopentenilindol (38) 7-isopentenilindol (39) Sesamina (40) Marmesina (41) Leiocarpadiol A (42) Leiocarpadiol B (43) 4-isopreniloxi-trans-cinamato de metilo (44) Leiocarpona (45) 1,4-dihidro-5-metoxi-1-metil-2- trideciquinolin-4-ona (46) Annonidina A (47) Annonidina C (48) 7-indolcarbaldehído (49) 7-indolmetanol (50) Leiocarpol (51) Leiocarpadiol (52)	[49-50]
<i>E. pumila</i> (raíz)	Rutina (53)	[51]

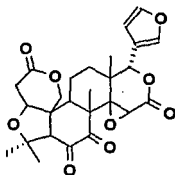
TABLA II. CONTINUACION.

ESPECIE	CONSTITUYENTES	REFERENCIA
<i>E. berlandieri</i> <i>ssp. acapulcensis</i> (partes aéreas)	5-hidroxi-7-metoxi-8-(3",3"-dimetilalil)- flavonona. R' = OMe R" = H (54)	
	5,7-dihidroxi-8-(3",3"-dimetilalil)- flavonona R' = OH R" = H (55)	[52]
	5,4'-dihidroxi-7-metoxi-8-(2",3"- dihidroxi-3"-metil propil)-flavonona (56)	
	5,4'-dihidroxi-7-metoxi-8-(3",3"-dimetilalil) flavonona (57)	

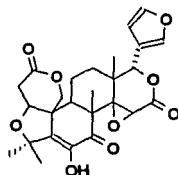
TABLA II. CONTINUACION.



Rutaevina (1)



Limonina (2)



Diosfenol (3)



Dictamina (4) $R_1 = R_2 = R_3 = H$

Evoltrina (5) $R_1 = R_3 = H$ $R_2 = -OCH_3$

Skimmlanina (6) $R_1 = H$ $R_2 = R_3 = -OCH_3$

Maculosidina (7) $R_1 = R_3 = -OCH_3$ $R_2 = H$

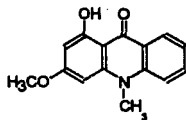
Kokusagina (8) $R_1 = H$ $R_2 = R_3 = O-CH_2-O$

Kokusaginina (9) $R_1 = R_2 = -OCH_3$ $R_3 = H$

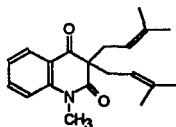
Maculina (10) $R_1 = R_2 = O-CH_2-O$ $R_3 = H$

Flindersiamina (11) $R_1 = R_2 = O-CH_2-O$ $R_3 = -OCH_3$

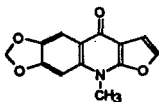
TABLA II. CONTINUACION.



1-hidroxi-3-metoxi-N-metilacridona (12)

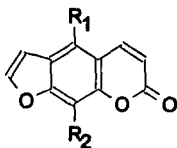


3,3-diisopentenil-N-metil-2,4-quinoldiona (13)



isomaculina (14)

TABLA II. CONTINUACION.



Bergapteno (15) $R_1 = -OCH_3$ $R_2 = H$

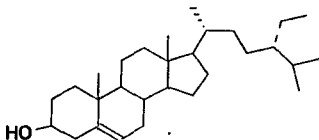
isopimpinelina (16) $R_1 = R_2 = -OCH_3$

8-hidroxibergapteno (17) $R_1 = -OCH_3$ $R_2 = OH$

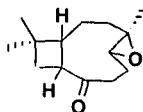
Imperatorina (18) $R_1 = H$ $R_2 = -OCH_2CH=C(CH_3)_2$

Felopterin (19) $R_1 = -OCH_3$ $R_2 = OCH_2CH=C(CH_3)_2$

Alloimperatorina (20) $R_1 = CH_2CH=C(CH_3)_2$ $R_2 = OH$

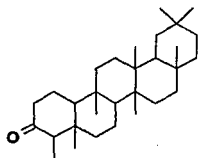


β -sitosterol (21)

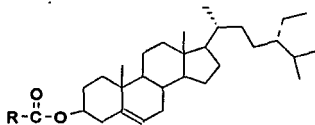


**β -epóxido del
carofileno (22)**

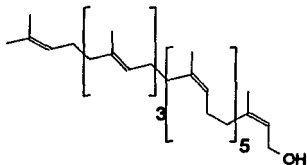
TABLA II. CONTINUACION.



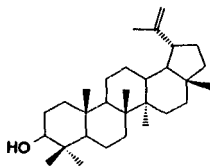
Fridefina (23)



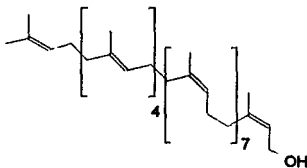
Ester del β -sitosterol (24)



Z,Z,Z,Z,E,E-Decaprenol (25)

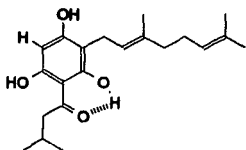


Lupeol (26)

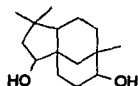


Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,E,E-E-Tridecaprenol (27)

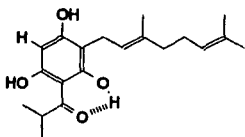
TABLA II. CONTINUACION.



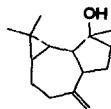
1-(3-Metil butanoli)-3-geranil
floroglucinol (28)



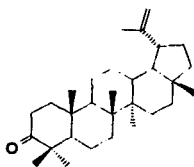
Clovandiol (29)



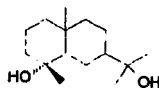
1-(2-metil-propenoli)-3-geranil
floroglucinol (30)



Espatulenol (31)

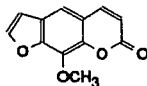


Lupenona (32)

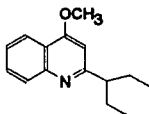


Criptomeridiol (33)

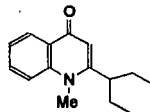
TABLA II. CONTINUACION.



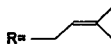
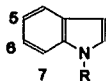
Xantoxina (34)



4-metoxi-2-(3'-pentil)
quinolina (35)



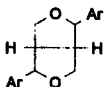
1,4-dihidro-1-metil-
-2-(3'pentil)-quinolin-4-ona (36)



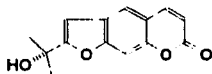
R=C₅ 5-isopentenilindol (37)

R=C₆ 6-isopentenilindol (38)

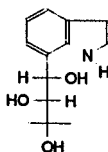
R=C₇ 7-isopentenilindol (39)



Sesamina (40)

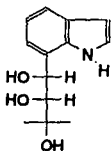


Marmesina (41)

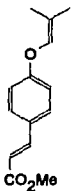


Leiocarpatriol A (42)

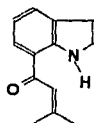
TABLA II. CONTINUACION.



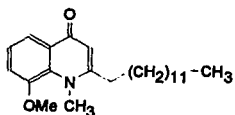
Lelocarpatril B (43)



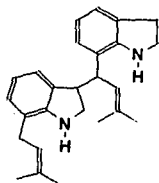
4-isoprenilox-trans-
cinamato de metilo (44)



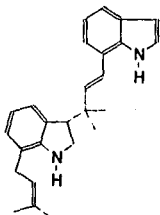
Lelocarpona (45)



1,4-dihidro-5-metoxi-1-metil-
-2-trideciloquinolin-4-ona (46)



Annonidina A (47)



Annonidina C (48)

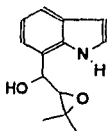


7-Indolcarbaldehido(49)

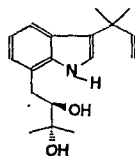


7-Indolmetanol (50)

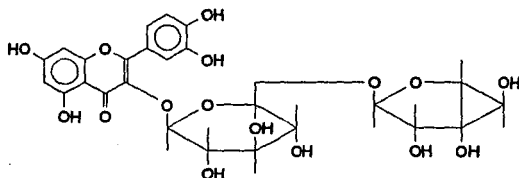
TABLA II. CONTINUACION.



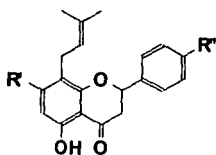
Lelocarpol (51)



Lelocarpadiol (52)



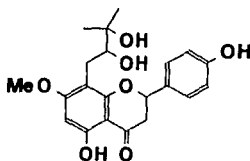
Rutina (53)



(54) R'=OMe R"=H
5-hidroxi-7-metoxi-8-(3",3"-dimetilalil)-flavonona

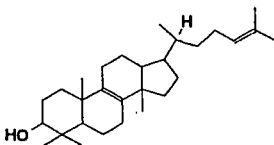
(55) R'=OH R"=H
5,7-dihidroxi-8-(3",3"-dimetilalil)-flavonona

(56) R'=OMe R"=OH
5,4'-dihidroxi-7-metoxi-8-(2",3"-dihidroxi-3-metil propil)-flavonona



(57)
5,4'-dihidroxi-7-metoxi-8-(3",3"-dimetilalil)-flavonona

La información obtenida sobre los diferentes tipos de compuestos químicos característicos de un determinado conjunto o taxón vegetal han ayudado a reforzar algunas clasificaciones taxonómicas⁶; como en el caso de los limonoides⁷, sustancias químicas de 26 átomos de carbono, a los cuales se les considera derivados biogénéticos de los triterpenos: eufol (58) y tirucallol (59), tal como se muestra en el cuadro 1.



(58) Eufol (20; β -H)

(59) Tirucallol (20; α -H)

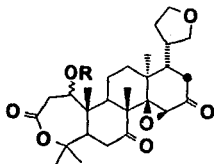
Por otro lado, los alcaloides derivados del ácido antranílico son los metabolitos secundarios característicos de la familia de las Rutaceas, la cual es también rica en derivados que presentan como esqueleto base el de una cumarina; en ambas series de compuestos la adición de varias unidades de isopentilo en posiciones diferentes muestra lo avanzado en que se encuentra esta familia biogénicamente [38].

6. La taxonomía química, quimiotaxonomía o sistemática química, es una rama de la Ciencia que usa los caracteres químicos, en particular los llamados metabolitos secundarios (alcaloides, terpenoides, flavonas, etc.) de un conjunto de organismos para determinar su posición en una clasificación jerarquizada evolutivamente de los seres vivos. [40]

7. Las rutaceas (140 géneros, 130 especies), meláceas (50 géneros, 800 especies) y simaroubáceas (32 géneros, 200 especies) son vegetales en los que se han encontrado principalmente este tipo de sustancias. Específicamente en las semillas de especies pertenecientes al género *Citrus* (*Curatlioides*).

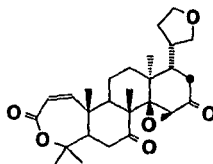
CUADRO 1. DISTRIBUCIÓN DE LIMONOIDES EN EL GENERO *Rutaceae*

GENERO	1	2	3	60	61	62	63	64	65
<i>Citrus</i>		XX		XX	XX	XX	XX	XX	
<i>Poncirus</i>		XX		XX	XX	XX			
<i>Fortunella</i>		XX				XX			
<i>Microcitrus</i>		XX							
<i>Phellodendron</i>		XX				XX			
<i>Casimiroa</i>					XX	XX			
<i>Vepris</i>									XX
<i>Celodendron</i>	XX	XX	XX						
<i>Evodia</i>	XX	XX	XX						
<i>Dictamnus</i>	XX	XX				XX			

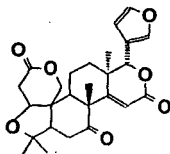


R= OH DIACETILNOMILINA (60)

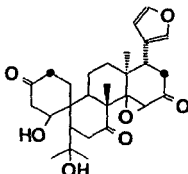
R= OAc NOMILINA (61)



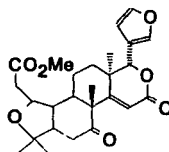
OBACUNONA (62)



DIOXILIMONINA (63)

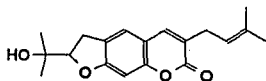


ICHANGINA (64)

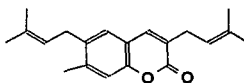


VEPRISONA (65)

Asimismo, se han sugerido implicaciones taxonómicas debido a la presencia de cumarinas en los géneros *Amyris* y *Ruta*. Las 3-(3',3'-dimetilalil)-cumarinas⁸[23] pueden considerarse como marcadores potenciales del género *Amyris*, en tanto que las 3-(1',1'-dimetilalil)-cumarinas[24], son más bien distintivas del género *Ruta*[39]. De acuerdo a lo anterior, (66) [41] y (67) [40] son ejemplos de algunas cumarinas aisladas del género *Amyris*, mientras que (68)[43], (69) [44] y (70) [43] se han encontrado frecuentemente en especies del género *Ruta*.

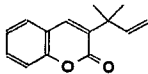


(66)



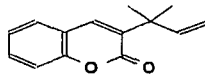
(67) Balsimiferona

(*Amyris balsamifera*, [40])



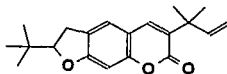
(68) Chalepentina

(*Ruta graveolens*,[41])



(69) Rutacultina

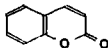
(*Ruta graveolens*,[41])



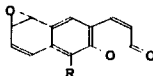
(70) Chalipina

(*Ruta chalepensis*, [43])

8. El término cumarina es aplicado a un gran número de compuestos que poseen el núcleo 2H-1-benzopirán-2-ona (71). Cerca de 200 cumarinas han sido aisladas de plantas pertenecientes a la familia Rutaceae, las cuales parecen derivarse del ácido cinámico a excepción de las que presentan esqueleto del 2H-nafto-[2,3b]-pirán-2-onas (72, 73), cumarinas aisladas de *Zanthoxylum armottianum* [44].



(71)



(72) R=H

(73) R= -OCH₃

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Realizar el estudio químico de *E. berlandieri*, con la finalidad de aislar, purificar, y determinar la estructura molecular de sus constituyentes químicos, empleando para ello técnicas de aislamiento y purificación convencionales, así como técnicas espectroscópicas y espectrométricas que permitan determinar la estructura de estas sustancias, para así contribuir al conocimiento químico de dicho género, el cual se encuentra ampliamente distribuido en la parte sur de nuestro país, con 17 de las 30 especies que se han identificado en todo el mundo. Los resultados obtenidos del presente estudio se integrarán con los ya reportados en la literatura para poder diseñar un perfil químico para el género *Esenbekia*.

OBJETIVOS

- * Aislar y purificar los metabolitos secundarios mayoritarios de *Esenbeckia berlandieri* ssp. *berlandieri* BAILLON ex Hemsley.

- * Caracterizar e identificar los metabolitos secundarios mayoritarios aislados de *Esenbeckia berlandieri*, empleando técnicas espectroscópicas y espectrométricas, así como transformaciones químicas que permitan confirmar la estructura de cada sustancia.

- * Contribuir al conocimiento de los constituyentes químicos del género *Esenbeckia*, para determinar la presencia de metabolitos secundarios que puedan servir como marcadores taxonómicos.

HIPOTESIS

Estudios químicos previos realizados a especies de esta familia han demostrado la presencia de una gran variedad de sustancias. Sin embargo, la característica más distintiva de la familia *Rutaceae* ha sido el aislamiento de alcaloides (derivados del ácido antranílico, de la fenilalanina, del carbazol, del imidazol y los alcaloides indólicos), de la mayoría de los géneros hasta ahora analizados, además de cumarinas, flavonoides libres y en forma de glucósidos, cromonas, acetofenonas y triterpenos tetracíclicos altamente oxidados. Entonces, por medio de la aplicación de las técnicas de purificación, separación y extracción se podrán aislar los metabolitos secundarios mayoritarios de las partes aéreas de *Esenbeckia berlandieri* ssp. *berlandieri*. La caracterización e identificación de dichas sustancias se realizará por medio de técnicas espectroscópicas y espectrométricas (IR, RMN-¹H, RMN-¹³C y EM).

METODOLOGIA

MATERIAL

- Cromatofolios de sílica gel con soporte de aluminio (20 x20) 60 F254.
- Placas de vidrio para CCP con sílica gel 60F254 (20 x20) de 2mm de espesor, y tamaño medio de partícula de 15 μ .
- Columnas de vidrio para cromatografía de diferentes tamaños y diámetros (en función de la cantidad de extracto a separar).
- Material de vidrio básico (pipetas, matraces Erlenmeyer, vasos de precipitados, matraces Kitasato de diferentes capacidades, embudos Büchner, embudos de filtración rápida, etc.)
- Placas con agitación magnética y/o calentamiento.
- Material básico de laboratorio de química orgánica.
- Baño de vapor.
- Matraz bola (50, 100, 250, 500, 1000 ml).
- Pisetas para cada disolvente.
- Canastillas de calentamiento

EQUIPO.

- Balanza analítica Ainsworth mod. 100A
- Balanza semianalítica OHAUS mod. E-400
- Balanza granataria OHAUS (triple beam balance) serie 700
- Aparato Fisher-Johns
- Espectrofotómetro de I.R. Perkin-Elmer mod. 283 y 681
- Espectrofotómetro Nicolet FT IR mod. 5 5X
- Espectrofotómetro UV-Visible Perkin-Elmer mod. 552
- Espectrofotómetro de masas Hewlett Packard 5985 GC/MS system 70 eV
- Espectrómetro de RMN varian VXR-300S
- Rotavapor Yamato RE-47
- Lámpara de luz UV (listed INSA & MEAS 399-J)
- Equipo Soxhlet
- Equipo necesario para destilaciones simples, fraccionadas, y a presión reducida.

SUSTANCIAS.

- Silica gel 60PF₂₅₄ para fines preparativos.
- Celda.
- Carbón activado, tamaño de partícula aproximado de 1.5mm
- Permanganato de potasio.(KMnO₄)
- Hidróxido de sodio.(NaOH)
- Trióxido de cromo.(Cr₂O₃)
- Nitrato cérico de amonio.(NH₄)₂Ce(NO₃)₆
- Bicarbonato de sodio. (NaHCO₃)
- Hexano, Cloroformo, Acetato de etilo, Acetona, Etanol, Eter etílico, Eter isopropílico, Dimetilsulfóxido, Dimetilformamida, propanol.
- Anhídrido acético.(CH₃CO)₂O.
- Piridina.(C₅H₅N).
- Ácidos clorhídrico, sulfúrico y acético. (HCl, H₂SO₄, CH₃COOH)

DESARROLLO EXPERIMENTAL.

La planta *Esenbeckia berlandieri* Baillon ex Hemsley subespecie *berlandieri*, cuyo nombre común es "pedo de jabali"; fue colectada y clasificada por la M. en C. Clara Ramos del Centro de Ecología de la U.N.A.M., en el rancho "La Esperanza" situado a 2 km. del cruceo Tantoco hacia Cd. Valles en el Estado de Veracruz, el 26 de Enero de 1987, Clasificación CH-R-30 del Herbario Nacional MEXU del Instituto de Biología de la U.N.A.M.

Se sometieron a extracción sólido-líquido (percolación) con etanol caliente, 1904.5 gramos de las partes aéreas de *E. berlandieri*; para ello se requirió de una columna de vidrio (8.6 cm x 60 cm) para cromatografía empacada con la planta molida, por donde se pasó el disolvente caliente; dicha operación fue repetida varias veces y por eliminación del disolvente se obtuvo el extracto etanólico.

Posteriormente 229.7 gramos del extracto etanólico se adsorbieron en 250 gramos de celita y se aplicaron en una columna para cromatografía (8.6 cm x 60 cm) a presión reducida [53-55], la cual fue empacada previamente con silica gel para capa fina con una altura aproximada de 20 cm ; el fraccionamiento de la columna se realizó empleando hexano y mezclas de hexano:acetato de etilo de polaridad creciente, obteniéndose 442 fracciones de 500 ml cada una. El seguimiento en el fraccionamiento de la columna se hizo por medio de cromatografía en capa delgada.

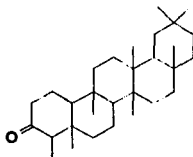
I) DECOLORACION DE LOS ELUATOS OBTENIDOS.

Las fracciones (94-104), (117-131), (176-200) y (240-253), obtenidas al eluir la columna con mezclas de hexano:acetato de etilo de diferente polaridad, fueron sometidas a un proceso de decoloración debido a la gran cantidad de pigmento

presente en cada una de ellas. Para esto se requirió de manera general montar una columna empacada con algodón desengrasado, celita y carbón activado en relación 3:1 respectivamente por un gramo de fracción. Una vez empacada la columna se le hizo pasar varias veces volúmenes pequeños de etanol caliente y acetato de etilo o acetona(generalmente tres veces) y finalmente el residuo previamente disuelto en acetato de etilo o cloroformo. El curso de la decoloración era seguido por cromatografía en capa delgada. Cabe señalar que en las fracciones más polares, debido a la gran cantidad de pigmento presente, el proceso de decoloración resultó ser infructuoso.

En base a la composición de cada una de las fracciones obtenidas, se procedió a estudiar aquellas que mostraron la presencia de sustancias con una mancha bien definida en cromatografía en capa fina.

De las fracciones 40-42, obtenidas al eluir la columna con una mezcla de hexano y acetato de etilo (95:5), se aislaron 240 mg de una sustancia cristalina de color blanco, que presentó un punto de fusión de 245-247°C y que es soluble en hexano y cloroformo, la cual fue identificada como Fridelina (23), triterpeno pentacíclico que presenta como esqueleto base al del oleanano (β -amirina) y que ha sido aislado previamente de *E. nesiotica* [45] y de *E. belizensis* [56].



(23)

Nombre: Fridekina

Formula molecular: $C_{30}H_{50}O$

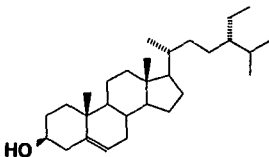
IR ν_{max} ($CHCl_3$, espectro 1) cm^{-1} : 2966, 2867, 1703, 1455 , 1389, 1361, 1192, 1139 y 1110.

RMN- 1H (300 MHz, $CDCl_3$, TMS , espectro 2): δ 0.72 (s, 3H, CH_3 -27);
 δ 0.85 (d, 3H, CH_3 -23); δ 0.87 (s, 3H, CH_3 -30); δ 0.90 (s, 3H, CH_3 -29);
 δ 0.95 (s, 3H, CH_3 -24); δ 1.0, 1.18 y 1.25 (s, 9H, CH_3 -25, CH_3 -28 y 28)
 δ 2.25 (c, J= 7 Hz, 1H, H-4); δ 2.42 (dd, J= 5 y 2 Hz, 1H, H-2);
 δ 2.375 (dd, J= 5 y 2, 1H, H-2)

RMN- ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, espectro 3): δ 213.19 (s, C-3); δ 59.47 (d, C-10);
 δ 58.22 (d, C-4); δ 53.10 (d, C-8); δ 42.79 (d, C-18); δ 41.54 (t, C-2)
 δ 38.31 (s, C-13); δ 37.45 (s, C-9); δ 36.01 (t, C-16); δ 35.63 (t, C-11);
 δ 35.35 (t, C-19); δ 35.04 (q, C-30); δ 32.78 (t, C-21); δ 32.43 (t, C-12);
 δ 32.10 (q, C-28); δ 31.79 (q, C-29); δ 30.52 (t, C-15); δ 30.01 (s, C-17);
 δ 28.19 (s, C-20); δ 22.31 (t, C-1); δ 20.29 (q, C-27); δ 18.70 (q, C-26);
 δ 18.26 (t, C-7); δ 17.97 (q, C-25); δ 14.68 (q, C-24); δ 6.86 (q, C-23).

E. M. (I. E., 70 eV) m/z: 426 [M^+] (29), 411 [M^+-CH_3] (7.4), 302 (16), 274 (22),
273 (37), 246 (25), 231 (25), 218 (29), 205 (24), 191 (30), 179 (32),
164 (36), 125 (59), 123 (60), 121 (40), 109 (77), 107 (49), 96 (52),
95 (100), 81 (60), 79 (36), 69 (96), 67 (62), 55 (93), 43 (33), 41 (53).

A partir de las fracciones 65-78, obtenidas al eluir la columna con una mezcla de hexano-acetato de etilo (95:5), se aislaron aproximadamente 100 mg de un sólido blanco de punto de fusión 137°C. Sus propiedades físicas y espectroscópicas permitieron identificar a dicha sustancia como β -sitosterol (21); diterpeno tetracíclico ampliamente distribuido en la naturaleza.



(21)

Nombre: β -sitosterol

Fórmula molecular: $C_{29}H_{49}O$

IR ν_{max} ($CHCl_3$, espectro 4) cm^{-1} : 3810, 2959, 2869, 1464, 1380, 957 y 840.

RMN- 1H (300 MHz, $CDCl_3$, TMS, espectro 5): δ 0.68 (s, 3H, 18- CH_3);

δ 1.01 (s, 3H, 19- CH_3); δ 0.85 (t, 3H, $J=7$ Hz, 29- CH_3); δ 0.92

(d, 3H, $J=7$ Hz, 21- CH_3); δ 0.85 (d, 6H, $J=7$ Hz, 26 y 27- CH_3);

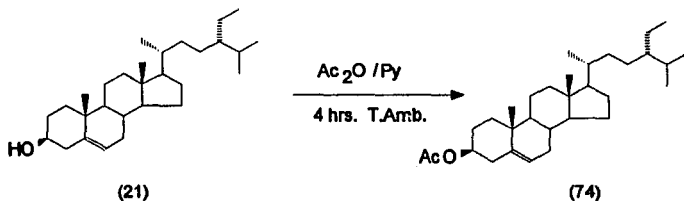
δ 5.4 (dd, 1H, $J=6.6$, 6-H); δ 3.5 (dddd, 1H, $J=11$ y 6 Hz, 3-H);

δ 1.51 (s. a., 1H, -OH).

EM (I.E.) m/z : 414 [M^+], 339 (27.16), 303 (22.22), 273 (29.98), 255 (23.46), 213 (32.10), 63 (22.22), 161 (24.69), 159 (27.16), 145 (37.04), 107 (50.62), 105 (51.85), 97 (34.57), 95 (51.85), 93 (43.21), 91 (51.85), 81 (50.62), 79 (33.33), 71 (39.51), 69 (49.38), 67 (34.57), 57 (68.66), 55 (86.42), 43 (100), 41 (51.85) y 40 (32.10).

Acetato del β -sitosterol.

Se hicieron reaccionar 106.7 mg de β -sitosterol con 5 ml de anhídrido acético en 1.5 ml de piridina a temperatura ambiente; el curso de la reacción se siguió por ccf la cual terminó después de 4 horas, en seguida se le adicionaron 10 ml de agua para posteriormente llevar a cabo la extracción del producto, lo cual se logró por medio de extracciones sucesivas con acetato de etilo. La fase orgánica obtenida se lavó con una solución de HCl al 10%, el exceso de ácido en la fase orgánica fue neutralizado al tratarla con una solución sobresaturada de NaHCO_3 , y cualquier exceso de reactivo presente en el medio se eliminó con lavados de agua; para posteriormente secar la fase orgánica con Na_2SO_4 anhidro, obteniéndose 77 mg (72.16%) de un sólido blanco cristalino, el cual presenta un pf de 114-116°C y al que le corresponde una fórmula molecular $\text{C}_{31}\text{H}_{52}\text{O}_2$ (grados de insaturación= 5).



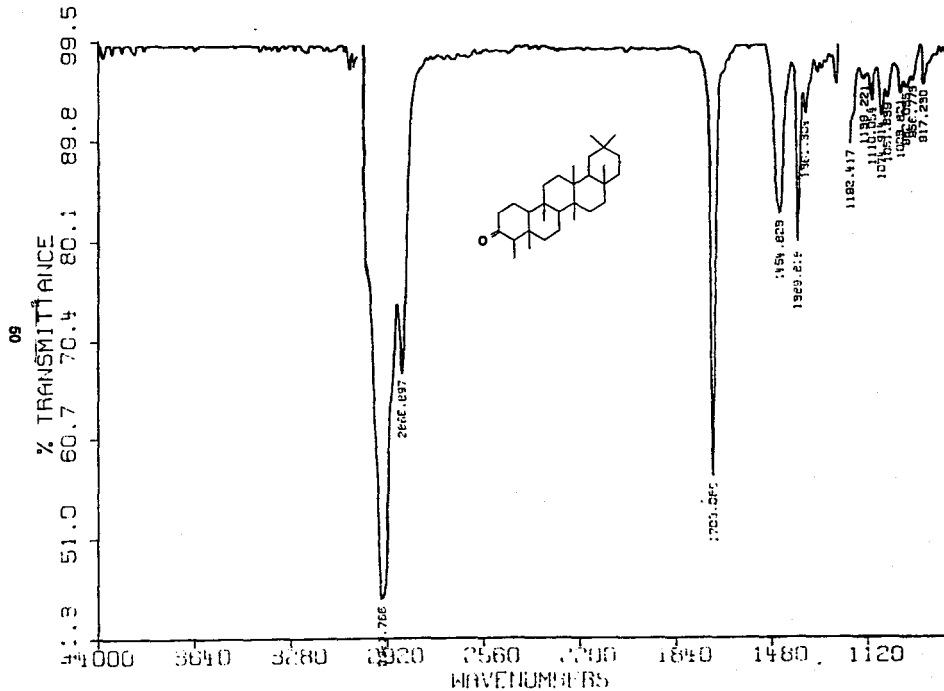
Su identificación se logró por medio de sus constantes espectroscópicas, mostradas en su espectro de RMN- ^1H . La señal en $\delta = 5.33$ (d, 1H, 3Hz) corresponde al H vinílico presente en la posición 6, al hidrógeno geminal al grupo acetato le corresponde la señal en 4.63 ppm, mientras que los H-7 se les asignó la señal doble (d, J=4 Hz) con desplazamiento químico en 2.32 ppm. Las señales correspondientes a los grupos metilo presentes en la molécula, se asignaron de la siguiente manera: δ 2.02 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-CO}$), δ 1.02 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-19}$), δ 0.89 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-21}$), δ 0.89 (2s, 6H, $\text{CH}_3\text{-26}$ y 27) y δ 0.68 (s, 3H). además la identificación se realizó por comparación con una muestra auténtica como referencia.

Con la finalidad de aislar y caracterizar otros metabolitos secundarios se procedió a estudiar otras fracciones que en cromatografía en capa fina mostraban la presencia de otros componentes diferentes a los ya mencionados de una manera muy definida; pero debido a la cantidad de residuo a recromatografiar, a la cantidad tan pequeña de sustancia obtenida después de la recromatografía y en la mayoría de los casos el hecho de encontrarse impura y en poca cantidad no fue posible aislar y caracterizar por técnicas cromatográficas usuales (cromatografía a presión reducida, cromatografía en columna, cromatografía en capa preparativa), ningún otro constituyente.

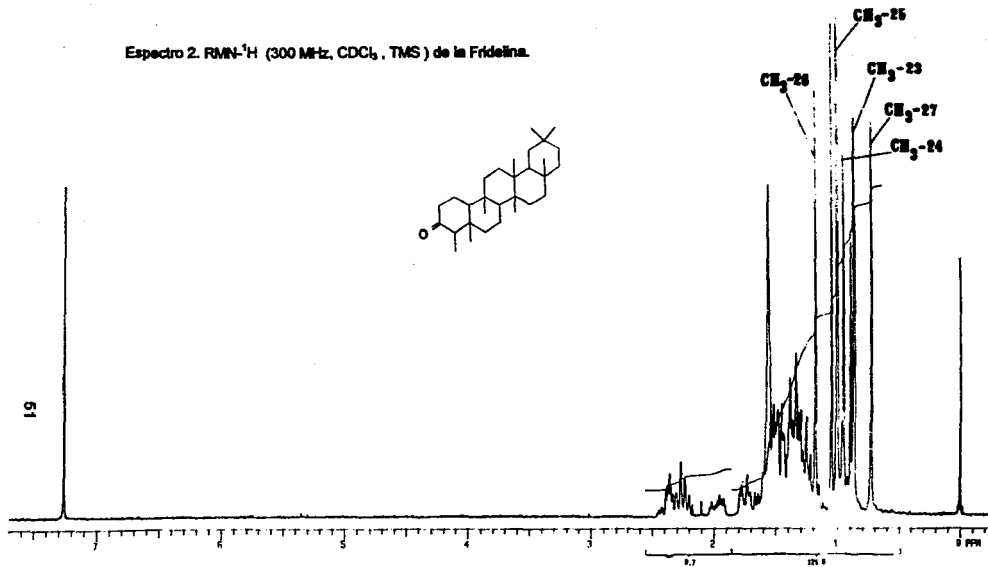
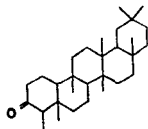
Por otro lado, las fracciones obtenidas con una polaridad mayor a la mezcla hexano:acetato de etilo 85:15 (a partir de la fracción 288), mostraban en ccf estar constituidas de mezclas muy coloridas y de bajo contenido de metabolitos secundarios, ya que se observaban bandas continuas de color café desde el punto de aplicación hasta el frente del eluyente, razón por la cual no se continuó con su estudio.

ESPECTROS

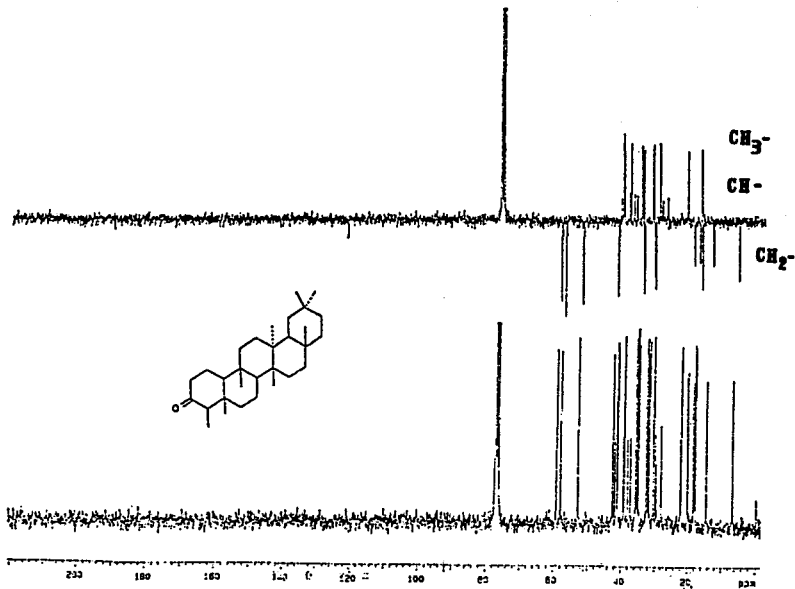
Espectro 1. IR (CHCl₃) de la Fridolina.



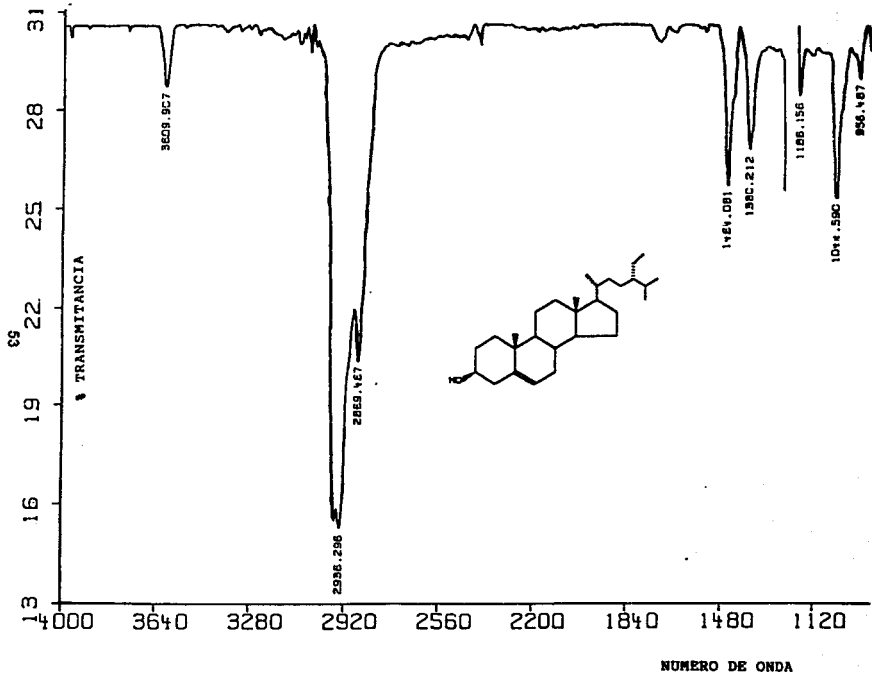
Espectro 2. RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) de la Fridefina.



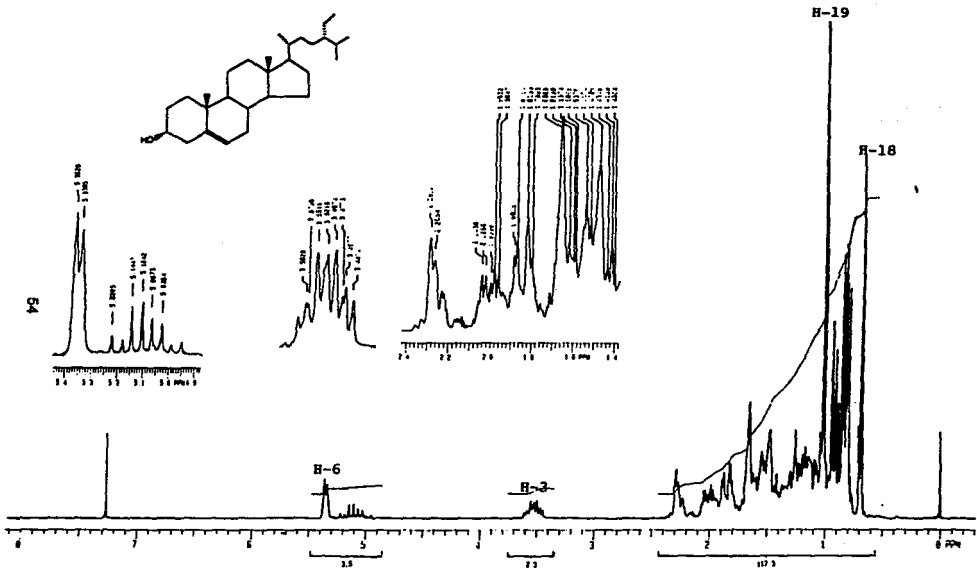
Espectro 3. RMN-¹³C (75 Mhz, CDCl₃) de la Fridelina.



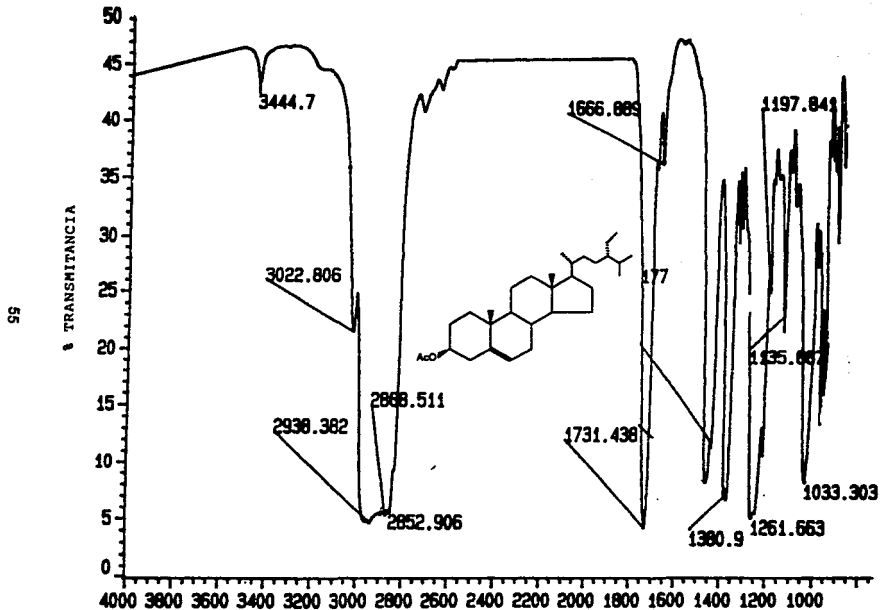
Espectro 4. IR (CHCl₃) del β-sitosterol.



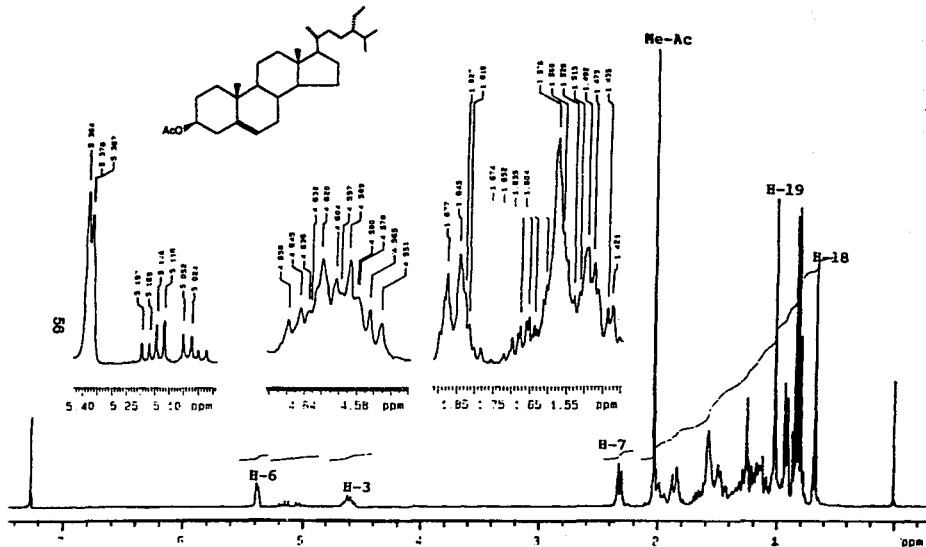
Espectro 5. RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3 , TMS) del β -sitosterol.



Espectro 6. IR (CHCl₃) del derivado acetilado del β-sitosterol.



Espectro 7. RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) del derivado acetilado del β-sitosterol.



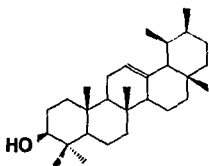
DISCUSION DE RESULTADOS

FRIDELINA.

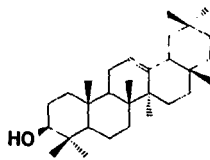
De la fracción 47-50 se aisló un sólido blanco de pf. 254-257°C, el cual presenta un ión molecular en m/z 426, al que le corresponde una fórmula de $C_{30}H_{50}O$ con cinco grados de insaturación.

En su espectro de IR (espectro 1), se observa una banda intensa en 1703 cm^{-1} que puede ser atribuida a un grupo carbonilo de cetona presente en un anillo de 6 miembros. Así mismo se observan las bandas correspondientes a la ν (C-H) y (Csp²-Csp³) en 2943 y 1455 cm^{-1} respectivamente.

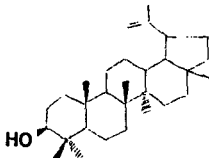
Por otro lado, en su espectro de RMN-¹H (espectro 2) se observan a campo alto 8 señales simples que integran para 3H cada uno y que por su desplazamiento químico pueden asignarse a grupos metilo unido a carbonos cuaternarios, lo que permitió proponer como hipótesis estructural a un triterpeno pentacíclico, los cuales se dividen en 3 subgrupos principales, el ursano, ejemplificado por la α -amirina (74), el oleanano, ejemplo la β -amirina (75) y el del lupeol (26).



α -amirina (74)



β -amirina (75)



Lupeol (26)

En los dos primeros subgrupos se encuentran sustancias con esqueleto formado por 5 anillos de 6 miembros, mientras que los del subgrupo del lupeol se caracterizan por poseer 4 anillos de 6 miembros y uno de cinco.

Los triterpenos pentacíclicos se forman al igual que los tetracíclicos a partir del escualeno por medio del carbocatión (a), como se muestra en el esquema 2, el cual a través de una transposición de hidruro del C-18 al C-19, seguido de la pérdida de un protón del C-13, conlleva a la formación de la α -amirina, mientras que la β -amirina se forma a través de un mismo intermediario, que sufre una transposición del hidruro del C-13 al C-18 seguido de la pérdida de un protón en posición α del C-12.

Así mismo los datos obtenidos del análisis de su espectro de ^{13}C , donde se observan la presencia de 8 metilos, 11 metilenos, 4 metinos, 6 carbonos cuaternarios y un grupo carbonilo de cetona (Espectro 3), y de acuerdo a los desplazamientos químicos mostrado por cada uno de los carbonos, los cuales están de acuerdo con los informados por Gunatilaka y colaboradores [57], tal como se ilustra en la tabla 3 donde se comparan los datos obtenidos experimentalmente contra resultados informados en la bibliografía para dos compuestos que presentan el mismo esqueleto:

Esquema 2. Biogénesis propuesta en la formación de los triterpenos pentacíclicos.

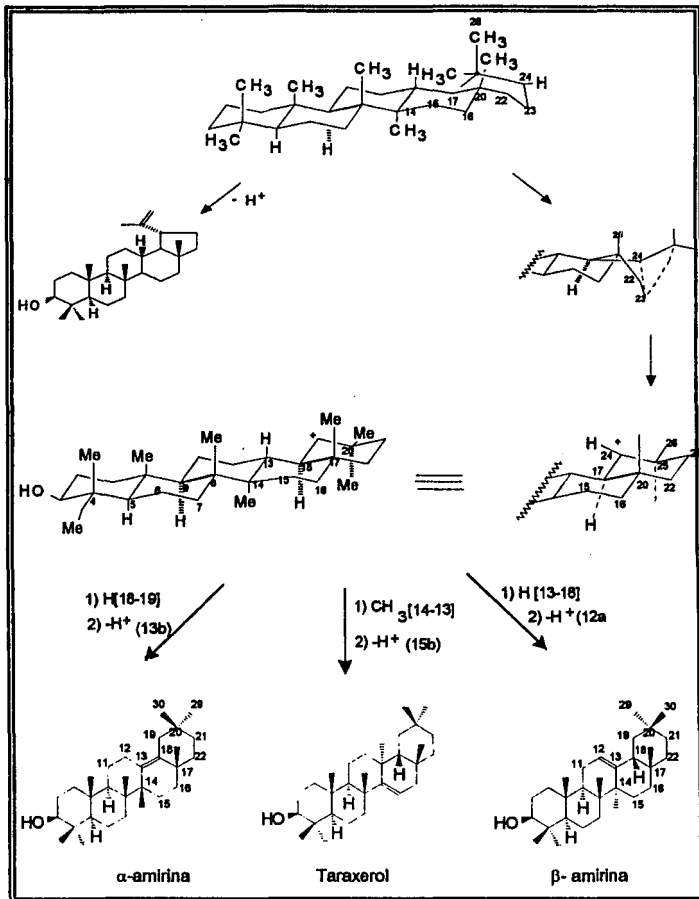
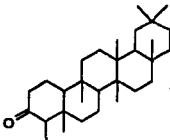
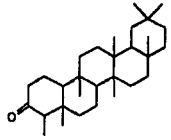
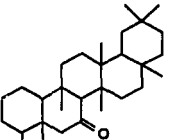
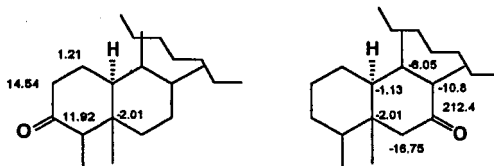


TABLA 3. DATOS COMPARATIVOS DE RMN-¹³C.

	fridelina [57].	fridelina datos experimentales.	A-friedo-olean-7-ona
			
C-1	22.3f	22.31f	21.1f
C-2	41.5f	41.54 f	27.0f
C-3	213.0s	213.19 s	30.2f
C-4	58.2d	58.22d	46.3d
C-5	42.1s	42.09 s	44.1s
C-6	41.3f	41.25 t	58.0f
C-7	18.2f	18.26 t	212.4s
C-8	53.1d	53.10 d	63.9d
C-9	37.4s	37.45 s	43.5s
C-10	59.5d	59.47d	60.6d
C-11	35.6f	35.63 t	35.7f
C-12	32.4f	32.43 t	32.0f
C-13	38.3s	38.31s	39.4s
C-14	39.7s	39.70 s	37.8s
C-15	30.5f	30.52 t	30.7f
C-16	36.0f	36.01 f	36.2f
C-17	30.0s	30.01s	30.2s
C-18	42.8d	42.79 d	42.0d
C-19	35.3f	35.35 t	35.1f
C-20	28.1s	28.19 s	28.2s
C-21	32.8f	32.78 f	33.0f
C-22	39.2f	39.19f	38.9f
C-23	6.8 c	6.88 c	13.8 c
C-24	14.6 c	14.68 c	15.1 c
C-25	17.9 c	17.97 c	19.8 c
C-26	18.6 c	18.70 c	18.4 c
C-27	20.3 c	20.29 c	19.6 c
C-28	32.8 c	32.10 c	32.3 c
C-29	31.8 c	31.79 c	31.7 c
C-30	35.0 c	35.04 c	34.7 c

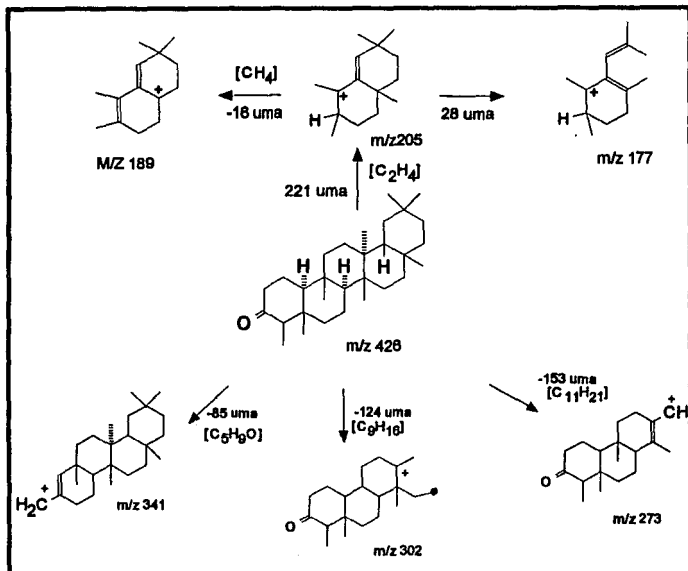
de manera que si se comparan los desplazamientos químicos para ambas sustancias se puede corroborar que el grupo carbonilo de la cetona ejerce un efecto de desprotección sobre los carbonos adyacentes, debido a su capacidad electroattractora; lo cual se indica en la figura 1.

Figura 1.



La posición del grupo carbonilo en el anillo A, queda corroborada en base a la diferencia en el desplazamiento químico de los C-2, C-4 y del grupo metilo en C-4; así como los datos obtenidos de su patrón de fragmentación, el cual se ilustra en el esquema 4, donde se pueden observar los fragmentos en m/z 341, 302 (16%), 273 (37%), 205 (24%), 204, 203, 189 y 177 [59], lo cual permitió caracterizar e identificar a la sustancia aislada de *E. bertandieri ssp bertandieri* como la fridelina, sustancia aislada de otras especies de *Esenbeckia* [45-47].

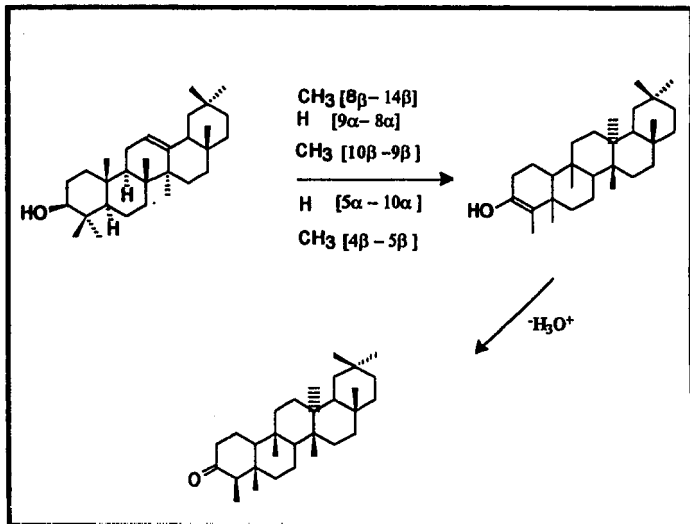
Esquema 4. Patrón de fragmentación de la fridelina propuesto por Courtney and Shannon [58].



Corey y Ursprung suponen que β -amirina es el precursor biológico de la fridelina, como se ilustra en el esquema 5, mediante una serie de transformaciones 1, 2 de grupos metilo y de hidrógeno.

Un fuerte apoyo a la citada teoría constituye el hecho de haberse logrado la transposición inversa, los cuales son iniciados por una gran diversidad de ácidos [61].

Esquema 5. Transformación química en medio ácido de la β -amirina a Frideina.



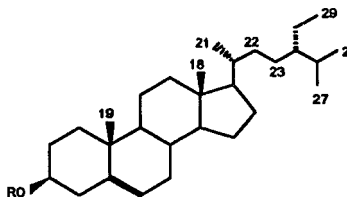
β -sitosterol.

A partir de la fracción 65-78 (que fue eluida con una mezcla de n-hexano-Acetato de Etilo (95:5) , se aisló un sólido blanco, que en su espectro de IR (Espectro 4) muestra en 3608 cm^{-1} una banda que indica la presencia de un grupo hidroxilo.

Por otra parte, en el espectro de masas por impacto electrónico, presenta un ión molecular a m/z 414, (20.3%); además las señales a m/z 329 (35%) y a 309, son fragmentos característicos de esteroides que presentan una insaturación entre los C_5-C_6 [82]; mientras que la señal a m/z 119 (35%) sugiere un Δ^5 -3-esterol [83].

En su espectro de RMN- ^1H en CDCl_3 (espectro 5), se observa una señal centrada en δ 5.4 (dd, 1H, $J=6.8\text{ Hz}$) que corresponde al hidrógeno vinílico de la posición 6. La señal correspondiente a H-3 geminal al hidroxilo se localiza en 3.5 ppm (dddd, $J=11$ y 6 Hz). Mientras que las señales en δ 0.88 (s) y δ 1.01 (s) le corresponden a los CH_3 -18 y CH_3 -19 respectivamente , los 4 grupos metilo restantes de los 6 que presenta la molécula aparecen entre 1.00-0.70 ppm (Esquema 6). Lo anterior permitió concluir que la sustancia aislada era el β -sitosterol, lo cual se corroboró por medio de ccf y por medio de la obtención de su derivado acetilado (74).

Esquema 6.



(21) β -sitosterol R= H

(74) Acetato del β -sitosterol R= Ac

CONCLUSIONES

A partir del extracto etanólico de las partes aéreas de *Esenbeckia berlandieri* ssp. *berlandieri*, se lograron aislar e identificar a dos sustancias que generalmente se encuentran presentes en el reino vegetal.

De la fracción 47-50, se aislaron 240 mg de un triterpeno pentacíclico aislado de otras especies del mismo género, la cual fue caracterizada e identificada por medio de sus propiedades físicas, constantes espectroscópicas y espectrométricas, como la Frideína.

De la fracción 65-78 se aislaron 100 mg de β -sitosterol, el cual posee un peso molecular de 413 g/mol y una fórmula molecular $C_{28}H_{48}O$, el que fue identificado en base a sus constantes espectroscópicas y espectrométricas descritas en la literatura, y además por la obtención de su derivado acetilado.

Los resultados obtenidos del presente estudio, aunados a los ya informados en la literatura especializada permitirán delinear el perfil químico de este grupo de plantas y así contribuir al conocimiento de los constituyentes químicos de dicho género, el cual se encuentra ampliamente distribuido en nuestro país.

De acuerdo con todo lo anterior, se concluye que los objetivos planteados fueron alcanzados en su totalidad y la hipótesis propuesta se acepta como verdadera; sugiriendo el estudio químico de otras partes de la planta (raíz, semilla y corteza) y del extracto acuoso de las partes aéreas, con la finalidad de determinar su posible aprovechamiento como fuente de sustancias novedosas desde el punto de vista químico y/o de sustancias que presenten una actividad biológica.

BIBLIOGRAFIA

1. Aikman, L.; "Nature's gift to medicine". *National Geographic*. 420. (1974).
2. Sotheeswaran, S. "Herbal Medicine. The scientific evidence". *J. Chem. Ed.* **69**, 444, (1992).
3. Yamaguchi, M.;"New methodologies for the synthesis of natural Products". *Pure & Appl. Chem.* **61** , 413, (1989).
4. Ley, S.V.;"Recent developments in natural product synthesis". *Pure & Appl. Chem.* **61**, 401, (1989).
5. Williams, D. H.;" Why are Secondary metabolites (Natural Products) biosynthesized ?" *J. Nat. Prod.*, **52** ,1189, (1989).
6. Marston, A. and Hostettman, K.; "Applications of centrifugal countercurrent chromatography in the separation of natural products". *Planta Medica*. **54**, 558, (1988).
7. Tyler, V. E.; Medicinal Plant Research:1953-1987. *Planta Medica* ,**54**, 95,(1988).
8. Jian, Z. , Zhen, T and Zhi-cen, L.;"Simultaneous determination of six alkaloids in *Ephedrae Herba* by High Performance Liquid Chromatography". *Planta Medica*. **54**, 69, (1988).
9. Seto, H.;" Structural studies of natural products by new NMR Techniques. *Pure & Appl. Chem.* **61**, 365, (1989).
10. Hamburger, M. O. and Cordell, G. A.;"¹H- and ¹³C-NMR spectroscopic studies of selected quassinoids". *Planta Medica*, **54**, 352. (1988)

11. Hegnaüer, R.; *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Vol.7. Ed. Birkhäuser Verlag Basel. London, 174, (1973).
12. Dreyer, D. L., Pickering, V. M., and Cohan, P.; "Distribution of limonoids in the *Rutaceae*.", *Phytochemistry*. 11, 705. (1972).
13. Paulini, H., Reiner, W. Klefer J., et al." Gravacridondiol acetate. A new dihidrofuro-acridone alkaloid from *Ruta graveolens*". *Planta Medica*. 57, 82, (1991).
14. Pakrashi, S.C. and Bhattacharyya J. " Studies In Indian Medicinal plants XIV. Interrelationships among the quinazoline alkaloids from *Glycosmis arborea*". *Tetrahedron*. 24, 1. (1968).
15. Bosson, J.A. Rasmussen, M. Ritchie, E. et al.; " The chemical constituents of Australian *Flindersia* species". *Aust. J. Chem.* 16, 480. (1963).
16. Kuck, A. M. Alabonico, S.M. Deukoteu, V., et al;"Alkaloids from argentinian *Fagara* species". *Phytochemistry*. 6, 1541. (1967).
17. Wall, M. E. Wani, M.C. and Taylor, H." Plant antitumor agents, 27. Isolation, structure and structure activity relationships of alkaloids from *Fagara macrophylla*" *J. Nat. Prod* ,50, 1095. (1987)
18. Rao, K. V. and Davies, R.; The Ichthyotoxic principles of *Zanthoxylum clava-herculis* ". *J. Nat. Prod.* ,49 340. (1986)
19. Chowdhury, B.K and Chakraborty D P. ." Mukoic acid the first carbazol carboxylic acid from a plant source". *Phytochemistry*. 10, 1967 (1971).

20. Chaichantipiyuth, C., Pummangura, S., Naowsaran, K., et al.;"Two new bioactive carbazole alkaloids from the root bark of *Clausena harmandiana*". *J. Nat. Prod.* **51**, 1285,(1988).
21. Puset, J. , Lopez, J. L., Pais, M., et al.;"Isolation and 2D NRM studies of alkaloids from *Comptonella sessilifolia*". *Planta Medica.* **57**, 153, (1991).
22. Dreyer, D.L.;"Chemotaxonomy of the *Rutaceae* II. Extractives of *Severiana buxifolia* (Poir) ten.". *Tetrahedron.* **23**, 4613. (1967).
23. Gonzalez, G.A. ; Estevez,R.R.;Diaz, C.E. "New sources of natural coumarins. XXVII. Preliminary study of coumarins and alkaloids of *Ruta bracteosa*. *Ann Quim.* **70** . 281, (1974).
24. Gonzalez, A.G. , Estevez, R. and Jaraiz, I. " Structure of sabandinin and other coumarins isolated from the roots of *Ruta pinnata*". *Phytochemistry.* **10**. 1621, (1971).
25. Gonzalez G.A. Estevez, R.R., Rivero, E.M. New sources of natural coumarins Part 34 . Two new coumarins from *Ruta pinnata*. *Phytochemistry.* **16** ,2033, (1977).
26. Aysheu, A.Z. Isaev, N.Y., Kerimov, Y.B. *Khim. Priir. Soedin* , 800, (1980). C.A. **94** (21-22) . 338, (1981)
27. Chan, W.R.;Taylor, D.R.; Willis, C.R. Structure of sorbifolin, a chromone from *Sphatelia sorbifolia* *J Chem Soc. (C)* 2540, (1967). C.A **88**. 2089, (1968).
28. Diment, J. A. . Ritchie, E. and Taylor W.C.. " The chemical constituents of Australian *Zanthoxylum* species III. The constituents of *Z. parviflorum* Benth. The structure of parvifloral" *Aust J Chem.* **20**. 565-573. (1967).

29. Hirose, Y.; "Studies on components of *Evodia fructus* III. Structure of rutaevina and dehydrolimonin". *Chem. Pharm. Bull.* **19**, 1268, (1971).
30. Chan, J.A., Shults, E. A., Carr, S.A., et al. ; "Phloroglucinols from the plant *Melicope sessiliflora* (rutaceae)". *J. Org. Chem.* **54**, 2098, (1989).
31. Ayafor, J.F., and Okogun, J.I. ;" Isolation and identification of three new phenolic furoquinoline alkaloids from *Teclea verdoorniana* Exell and *Mendonca* (rutaceae)" *J. Chem. Soc. Pekin Trans I* . 909, (1982).
32. Ming, K. Ng., Waterman, P.G., Gray, A.I., et al.; "Limonoids alkaloids and a coumarin from the root and stem barks of *Tetradium glabrifolium*". *J. Nat. Prod.* **60**, 1160, (1987).
33. Gros, G.E. et al.; *Introducción al Estudio de los Productos Naturales*. O.E.A. Washington. (1985).
34. Ramos, C. , Martínez , E.: Centro de Ecología de la U.N.A.M. Comunicación Personal.
35. Kaastra, R.C. ;" New taxa and combinations in *Rutaceae*". *Acta Bot. Neerl.* **28**,(6), 471, (1977).
36. Dreyer, D.L. ;"Alkaloids, limonoids and furanocoumarins from three mexican *Esenbeckia* species". *Phytochemistry.* **19**, 941, (1980).
37. Bevalot, F., Fournet, A., Moretti, C. et al.;" Alkaloids from *Esenbeckia pilocarpoides*" *Planta Medica.* **50**, 522,(1984).
38. Jensen, S.R. Nielsen, B.J. Dahlgren, R. Use of chemistry in plant classification ; *Rev. Latinoamer. Quim. Suppl* **1**. 66, (1989).

39. Burke, B.A., and Philip, S.; " Amyris of Jamaica. Coumarins of *Amyris elemifera* D.C. (Rutaceae)". *Heterocycles*. 897, (1981).
40. Burke, A. B. and Perkins, H.;" Coumarins from *Amyris balsmifera*. *Phytochemistry* . 18, 1073, (1979).
41. Kuffner, F., Nikiforov, A. and Schulz, G.;" Uber das Rutolid". *Monatshette fur Chemie*. 104, 911, (1973). C.A. 79, 343, 1973.
42. Castillo, J.B., Rodriguez, L.F. and Secundino, M. ;" Augustifolin, a coumarin from *Ruta augustifolia*" *Phytochemistry*, 27, 650, (1984).
43. Ulubelen, A. and Terem, B.; " Alkaloids and coumarins from root of *Ruta chalepensis*" . *Phytochemistry*. 27, 650. (1988).
44. Ishii, H.; Hosoya, K. ; Ishikawa, T. et al. Chemical constituents of rutaceous plants XX. Chemical constituents of *Xanthoxylum amottianum*. *Chem. Pharm. Bull.* 20, 860, (1972). C.A. 81, 165, (1974).
45. Rios, M. Y. and Delgado, G. ; "Poliprenols and acylphloroglucinols from *Esenbeckia nesiotica*". *Phytochemistry*. 31 , 349, (1992).
46. Delgado, G.; *Phytochemistry*. en prensa.
47. Vitagliano, J.C. and Comin, J. ;" studies on Argentine plants XXVIII. Alkaloids from *Esenbeckia febrifuga* Juss.". *Anales Asoc. Quim. Argentina*. 58, 59, (1970).
48. Vitagliano, J.C. and Comin, J. " Studies on Argentine plants XXIX. Limonoids from *Esenbeckia febrifuga* Juss and *Helieta longifoliata* Brit. *Anales Asoc. Quim. Argentina*. 58 ,273, (1970).

49. Monache, F. D., Monache, G. D., Moraes e Souza, M. A., et al; "Isopentenylindole derivatives and other components of *Esenbekia leiocarpa*. *Gazzetta Chimica Italiana*, 435,(1989).
50. Monache, F.D. and Benedetto, R.; ". "E. leiocarpa:11^a further components. *Gazzetta Chimica Italiana*, 387, (1990).
51. Kubo, I.; "Recent applications of counter-current chromatography to the isolation of bioactive natural products". *Journal of Chromatography*. 538, 187, (1991).
52. Rodríguez, C. S. Aislamiento y elucidación estructural de los metabolitos secundarios de *Esenbeckia berlandieri* ssp. *acapulcensis* (rose). FES-Zaragoza. (UNAM). Mexico D.F. 1995.
53. Coll, J. C. and Bowdu, B. F. ;The application of vaccum liquid chromatography to the separation of terpene mixtures" *J.Nat. Prod.*; 49,934,(1988).
54. Targett, N.M., Klicoyne, J. P. and Green, B;" Vacuum liquid chromatography: An alternative to common chromatographic methods." *J. Org: Chem.*, 44, 4962-4964, (1979).
55. Clark, S. W. , Kahn, M. and Mitra, A.;" Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution." *J. Org. Chem.* , 43, 2923, (1978).
56. Rios, M. Y. and Delgado, G.;" Terpenoids and alkaloids from *E. belizensis* spontaneous oxidation of furoquinoline alkaloids", *Journal Natural Products*, 55, 1307-1309,(1992).

57. Gunatliaka, A. I., Dhammika, Nanayallara, N.P. and Wazeer, M.I. ^{13}C NMR Spectra of some D: A friedo-olananes. *Phytochemistry* .22 901, (1983).
58. Shannon, J.S. and McDonald, G.C. ; Studies in mass spectrometry triterpenoids: Structure assignment to friedelan-Y-one an derivatives. *Tetrahedron Letters* . 13.173, (1967).
59. Budzikiewicz, H., Wilson, J.M. and Djerassi, C. Mass spectrometry in structural and Stereochemical Problems. XXXII. Pentacyclic Triterpenos. *J. Am Chem. Soc.* 85 3688, (1963).
60. Corey, E.J. and Ursprung, J.J. The structures of the triterpenes friedelin and cerin. *J. Am. Chem. Soc.* 78, 5041, (1956).
61. Estrada, H.; Estudio de la *E. huertana* var. *procumbens*, del *pedilantus Caltratus* y del *P. tehuacanus*. *Bol. Ins. Quim. U.N.A.M.* XI, 15, (1959).
62. Knights, B. A. ; Identification of plant sterol using combined GLC/Mass Spectrometry. *J. Gas Chromatography*. 273. (1967).
63. Jain, T.C. and Banks, C. M. ; 22-dihydrostigmasterol from *Janssurma lappa*. *Can. J. Chem.* 46, 2323, (1968).