



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

65
29

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO QUIMICO BIOLOGICO DE
Nectandra salicifolia (H. B. K.) Nees

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A

MARIA LUISA JIMENEZ ARELLANO



MEXICO, D.F.

.1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Prof. Ofelia Espejo González
VOCAL: Prof. Rafael Castillo Bocanegra
SECRETARIO: Prof. Rafael Rion Arriola
1er SUPLENTE: Prof. Perla Carolina Castañeda López
2do. SUPLENTE: Prof. Lino Joel Reyes Trejo

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA

DEPARTAMENTO DE FARMACIA, FACULTAD DE QUIMICA,
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.

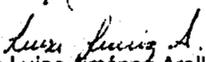
ASESOR DEL TEMA:


Dra. Ofelia Espejo González

SUPERVISOR TECNICO:


M. en C. Alfonso S. Lira Rocha

SUSTENTANTE:


María Luisa Jiménez Arellano

DEDICATORIAS

A Dios:

Por permitirme llegar hasta aquí y porque cada nuevo día me concedes salud y esperanza.

A mis padres:

Elena Arellano y Manuel Jiménez, porque gracias a su amor, apoyo, comprensión y confianza me ayudaron a lograr esta meta.

A mis hermanas y hermanos:

Por brindarme incondicionalmente su amor, confianza y apoyo, con todo mi cariño dedico este trabajo a ustedes.

A mis sobrinos:

Por su alegría de vivir.

A la Dra. Ofelia Espejo:

Agradeciendo de manera muy especial, todo el apoyo, estímulo y valiosos consejos para la elaboración de este trabajo.

Al M. en C. Alfonso Lira:

Por sus enseñanzas, paciencia y apoyo brindados para la realización de esta tesis. Por su amistad.

A mis amigas:

Nancy, Rita, Veronica y Viridiana, por todos los momentos divertidos que pasamos juntas y porque siempre seamos amigas.

A mis amigos y compañeros:

Raúl, Jesús, Susana, Pilar, Xóchitl, Claudia, Guille y al equipo "Complejo 90" por su amistad y por las experiencias compartidas a lo largo de nuestra carrera.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, particularmente a la Facultad de Química por permitir la realización de mis más profundos anhelos.

AGRADECIMIENTOS

Al personal técnico del departamento de espectroscopia de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química y del Instituto de Química por la realización de los espectros de infrarrojo, resonancia magnética nuclear y masas.

A la Dra. Elia Naranjo y al personal que labora en el laboratorio 407-A de la Facultad de Medicina, por su valiosa asesoría y apoyo en la realización de las pruebas biológicas.

A la Srita. Gullermina Cova del programa jóvenes hacia la investigación, por su ayuda en la realización de las Evaluaciones Biológicas.

INDICE

	Página
Lista de Figuras.....	I
Lista de Cuadros	II
Lista de Esquemas y de Espectros	III
Lista de Abreviaturas.....	IV
OBJETIVOS	1
INTRODUCCION	2
GENERALIDADES	3
Contenido químico de las plantas de la familia <i>Lauraceae</i>	7
Biosíntesis de alcaloides isoquinolínicos	12
Farmacología de las plantas de la familia <i>Lauraceae</i>	16
PARTE EXPERIMENTAL	
I.- ESTUDIO QUIMICO. Materiales y Métodos.....	19
Fraccionamiento del extracto hexánico.....	21
Aislamiento del compuesto A	23
Extracción del crudo alcaloideo.....	24
Aislamiento del compuesto B	25
II.- EVALUACION BIOLOGICA PRELIMINAR	
Sistema <i>in vitro</i>	27
Sistema <i>in vivo</i>	33
ANALISIS DE RESULTADOS	
Estudio Químico	36

Compuesto A.....	37
Compuesto B.....	40
Evaluación Biológica Preliminar.....	43
Sistema <i>in vitro</i>	43
Sistema <i>in vivo</i>	45
CONCLUSIONES	46
ESPECTROS	48
BIBLIOGRAFIA	56

Lista de Figuras

Página

Figura 1. Especies pertenecientes al género <i>Nectandra</i>	5
Figura 2. Estructuras químicas de alcaloides isoquinolínicos presentes en la familia <i>Lauraceae</i>	9
Figura 3. Estructuras químicas de compuestos no alcaloideos presentes en la familia <i>Lauraceae</i>	11
Figura 4. Registro de la actividad contráctil del íleo de rata bajo la acción del extracto etanólico de <i>Nectandra salicifolia</i>	31
Figura 5. Registro de la actividad contráctil del íleo de rata bajo la acción de sulfato de atropina.....	32
Figura 6. Estructura química de los compuestos aislados de <i>N. salicifolia</i> (H.B.K.) Nees.....	36
Figura 7. Estructura propuesta para el compuesto A.....	37
Figura 8. Estructura propuesta para el compuesto B.....	41

Lista de Cuadros**Página**

Cuadro 1. Alcaloides isoquinolínicos aislados de varias especies pertenecientes a la familia <i>Lauraceae</i>	8
Cuadro 2. Compuestos no alcaloides presentes en varias especies pertenecientes a la familia <i>Lauraceae</i>	10
Cuadro 3. Usos más importantes de las lauráceas en México.....	18
Cuadro 4. Sistemas de elución para CCF analítica y preparativa.....	20
Cuadro 5. Reveladores para CCF analítica	20
Cuadro 6. Incremento en la polaridad del sistema de elución de la cromatografía en columna	22
Cuadro 7. Resultados de la actividad contráctil del íleo de rata tratado con extracto etanólico de <i>N. salicifolia</i>	28
Cuadro 8. Resultados de la medición del tránsito intestinal en ratones tratados con extracto etanólico de <i>N. salicifolia</i> y/o con sulfato de atropina.....	34

Lista de Esquemas

	Página
Esquema 1. Biosíntesis de isoquinolinas simples.....	14
Esquema 2. Biosíntesis de bencilisoquinolinas y aporfinas.....	15
Esquema 3. Proceso de extracción mediante maceración.....	21
Esquema 4. Proceso de partición ácido-base.....	24
Esquema 5. Patrón de fragmentación del compuesto A (Aizawa, 1974).....	39
Esquema 6. Patrón de fragmentación para el compuesto B.....	42

Lista de Espectros

	Página
Espectro 1. IR del compuesto A.....	49
Espectro 2. RMN- ¹ H del compuesto A.....	50
Espectro 2A. RMN- ¹ H + D ₂ O del compuesto A.....	51
Espectro 3. EM del compuesto A.....	52
Espectro 4. IR del compuesto B.....	53
Espectro 5. RMN- ¹ H del compuesto B.....	54
Espectro 6. EM del compuesto B.....	55

Lista de Abreviaturas

IR	Infrarrojo
RMN- ¹ H	Resonancia magnética nuclear protónica
EM	Espectroscopía de masas
Hz	herz
CDCl ₃	cloroformo deuterado
D ₂ O	agua deuterada
ppm	partes por millón
TMS	trimetilsilano
J	constante de acoplamiento
M ⁺	ión molecular
CCF	cromatografía en capa fina
cm	centímetros
g	gramos
Kg	Kilogramos
mg	miligramos
µg	microgramos
mm	milímetros
ml	mililitros
°C	grados centígrados
UV	ultravioleta
EtoAc	Acetato de etilo
EtOH	etanol

OBJETIVOS

- Aislamiento y caracterización estructural de los compuestos presentes en las hojas de *Nectandra salicifolia* (H. B. K.) Nees.
- Evaluación biológica preliminar de su extracto etanólico

INTRODUCCION

Durante siglos, la humanidad ha utilizado plantas para el tratamiento de enfermedades constituyendo así la medicina tradicional. Estos conocimientos han permitido la investigación de la medicina popular de todo el mundo.

México es uno de los 5 países con mayor diversidad vegetal a nivel mundial, con más de 30,000 especies, después de Brasil, Colombia, Perú y Venezuela y ocupa el segundo lugar en el mundo con cerca de 3,400 especies de uso medicinal después de China con 5,000 plantas medicinales (Estrada, 1995).

Investigaciones etnobotánicas recientes indican que, de la vegetación total del área de influencia de las comunidades, al menos el 50 % tienen algún uso medicinal, por lo que nuestro país puede llegar a tener 15,000 plantas medicinales.

Actualmente se reconoce que las propiedades venenosas o curativas de las plantas dependen básicamente del tipo de sustancias que contienen, de ahí la importancia del conocimiento químico de éstas, siendo el campo de la fitoquímica probablemente uno de los más interesantes de la química orgánica.

Dentro de la familia *Lauraceae* se encuentran géneros que por sus usos medicinales han sido estudiados extensamente, por citar algunos: *Cinnamomum (camphora)* antiespasmódico; *Persea (gratissima)* antidiarreico, anticatarral, emenagogo, antiparasitario y *Persea (americana)* Gaerth) tos, tosferina, bronquitis. Sin embargo, otros géneros de la misma familia no han recibido igual atención.

Considerando importante el conocimiento de la constitución química de otros géneros de la familia *Lauraceae*, el objetivo del presente trabajo es conocer la composición química de las hojas de *Nectandra salicifolia* (H. B. K.) Nees y analizar su posible actividad farmacológica mediante la evaluación biológica preliminar de su extracto etanólico, contribuyendo de esta manera al estudio fitoquímico de las lauráceas.

GENERALIDADES

Entre las plantas angiospermas dicotiledoneas tenemos a la familia *Lauraceae*, comprendidas dentro del orden de las Magnoliales.

Al empezar el siglo XIX las especies de lauráceas científicamente conocidas apenas superaban las cincuenta, aunque eran conocidas desde tiempos remotos ciertos miembros de la familia por sus propiedades medicinales, como por ejemplo: *Cinnamomum camphora* (L.) Sieb, y el laurel (*Laurus nobilis* L.).

Estudios recientes indican que la familia *Lauraceae* posee 32 géneros y unas 2,000-2,500 especies. Son árboles y arbustos tropicales o subtropicales siempre verdes, cortezas casi siempre aromáticas, con olores agradables o penetrantes (desagradables en varias especies de *Nectandras* y *Ocoteas*); sus flores son pequeñas, blancas o amarillas, olorosas, con los pétalos abiertos, hermafroditas, raramente unisexuales.

Entre los géneros comprendidos en las lauráceas están: *Persea* (150 especies), *Ocotea* (500-700 especies, incluyendo *Nectandras*), *Cinnamomum* (250 especies), *Aniba* (40 especies), *Litsea* (400 especies), *Neolitsea* (80 especies), *Lindera* (100 especies), *Cryptocaria* (200-250 especies), *Sassafras* (16 especies), *Actinodaphne* (100 especies), *Licaria* (50 especies) y *Laurus* (2 especies).

El género *Nectandra* fué establecido en 1778 por Rottboll con especímenes y descripciones en el manuscrito de Daniel Rolander, sin embargo es considerada sumamente problemática su clasificación botánica debido a que el campo de variabilidad de sus partes vegetativas es tan amplio que resulta difícil su separación en diferentes especies cuya variación es mínima. Es probable que todos los taxones que la integran, están potencialmente abiertos al juego azaroso de los cambios, los cruzamientos y las mutaciones y por tanto el género *Ocotea* presenta la mayoría de las especies dioicas, mientras en *Nectandra* prevalecen las especies bisexuales. De este modo tendría que estar favorecido el

género *Ocotea* con más oportunidades de fecundación cruzadas, en la aparición de formas intermedias, en vez de *Nectandra*, cuyas "especies" se enlazan unas a otras, en grupos.

En vista de la dificultad para la clasificación del género *Nectandra* encontramos a *Nectandra salicifolia* (H. B. K.) Nees reportada con otros sinónimos como son: *Nectandra sanguinea* Rol ex Rottb, *Ocotea salicifolia* H. B. K., *Ocotea globosa* Cham., *Nectandra exaltata* Gris., *Laurus sanguinea* Sw. Fl. Ind., *Persea sanguinea* Spr. y *Ocotea sanguinea*.

Nectandra salicifolia es un árbol o arbusto pequeño, con las ramitas nuevas blanquecinas estrigoso-tumentulosas, pardas-oscuros, cilíndricas o subcilíndricas. Sus hojas son de formas muy variadas: lanceoladas, elípticas u ovaladas, agudas en ambas extremidades, generalmente desprovistas de vello, con el haz verde brillante y el envés rojizo pálido y menos brillante. Sus flores son blancas o blanco-rosadas, olorosas, hermafroditas, con diámetro aproximado de 10 mm. Sus filamentos son peludos y largos como las anteras. La floración de *Nectandra salicifolia* se presenta especialmente de marzo a junio. Su corteza no tiene sabor y como característica de ésta especie se menciona una frecuente coloración roja o rosada en sus nervios.

Nectandra salicifolia es abundantísima en México, encontrándola en San Luis Potosí, Oaxaca, Tabasco, Michoacán, Chiapas, Veracruz, Yucatán y Guerrero. También es cultivada en Guatemala, Guayana Francesa, Guayana Holandesa (Rolander), Honduras, Honduras Británica, y tal vez en Venezuela, Colombia, Costa Rica y Jamaica.

Se le conoce con los nombres vulgares de: Aguacate (en Veracruz), Aguacatillo (en Michoacán y Veracruz), Laurel (en Veracruz, Yucatán y Honduras Británica), Picito de Paloma (en México) y Timbersweet (en Honduras Británica).

Las fotos de algunas especies pertenecientes al género *Nectandra* se ilustran en la **figura 1**



N. sanguinea



N. sanguinea



N. membranacea



N. membranacea (=N. pichurim)

Figura 1
Especies pertenecientes al género *Nectandra* (L. Bernardi, 1962)



N. magnoliifolia



N. rectinerva



N. reticulata



N. pallida

Figura 1(continuación)

Contenido químico de las plantas de la familia *Lauraceae*

Desde el punto de vista fitoquímico no está descrito en trabajo previo a *Nectandra salicifolia*; sin embargo, varias especies de la familia *Lauraceae*, incluyendo otras especies de *Nectandras*, han sido investigadas químicamente y la mayoría de estos trabajos describen el aislamiento e identificación de alcaloides del tipo isoquinolínico como principales metabolitos secundarios presentes en esta familia. Dentro de este tipo de compuestos se han aislado bencilisoquinolinas como es el caso de la reticulina; bisbencilisoquinolinas como la seeperina y beeberina aisladas de la especie *N. rodiei*; oxoaporfinas como la ocoténa y roemerina y proaporfinas como el alcaloide glaziovina.

Ejemplos representativos de alcaloides isoquinolínicos, aislados de varias especies pertenecientes a la familia *Lauraceae* y sus fuentes naturales se describen en el **cuadro 1**. Algunas de sus estructuras químicas se ilustran en la **figura 2**.

Además de alcaloides isoquinolínicos, en varias especies comprendidas en la familia *Lauraceae*, se identificaron y caracterizaron compuestos no alcaloideos como neolignanós, esteróles y terpenos.

En el **cuadro 2** se enlistan ejemplos representativos de compuestos no alcaloideos aislados de varias especies de la familia *Lauraceae* y en la **figura 3** se ilustran algunas de sus estructuras químicas.

Cuadro 1

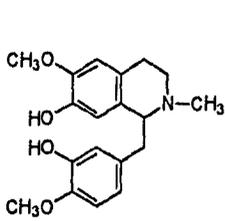
Alcaloides isoquinolínicos aislados de varias especies pertenecientes a la familia *Lauraceae*.

(*Chemical abstracts*, 1949-1994)

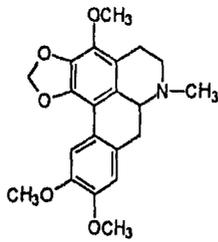
ALCALOIDES	FUENTE NATURAL	REFERENCIA
Talicmina	<i>Ocotea puberula</i>	F. Baralle, <i>et al.</i> , <i>Phytochem.</i> , 12(4), 1973
Ocoteína	<i>Nectandra saligna</i>	F. Baralle, <i>et al.</i> , <i>Lloydia</i> , 1973
	<i>Phoebe porfiria</i> (Gris)	F. Baralle, <i>et al.</i> , <i>Lloydia</i> , 1973
Dehidrocoteína	<i>Ocotea puberula</i>	F. Baralle, <i>et al.</i> , <i>Experientia</i> , 28(8), 1972
Roemerina	<i>Neolitsea serica</i> Blume	R. H. F. Manske, <i>et al.</i> , <i>J. Org. Chem.</i> , 22(429) 1957
	<i>Ocotea rodiaei</i>	P. J. Hearst, <i>J. Org. Chem.</i> , 29(2), 1964
Glaziovina	<i>Ocotea glaziovii</i>	B. Gilbert, <i>et al.</i> , <i>J.A.C.S.</i> , 36(4), 1967
	<i>Nectandra membranaceae</i>	M. Baldwin <i>et al.</i> , <i>J. Chem. Soc. C.</i> , 154, 1967
	<i>Ocotea variabilis</i>	M. P. Cava, <i>et al.</i> <i>Tet. lett.</i> , 46(4647), 1972
Apoglaziovina	<i>Nectandra membranaceae</i>	H. Guinaudeau, <i>et al.</i> , <i>J. Nat. Prod.</i> , 38(1281), 1979
	<i>Ocotea variabilis</i>	M. P. Cava, <i>et al.</i> , <i>Tet. lett.</i> , 46(4647), 1972
Boldina	<i>Nectandra grandiflora</i>	G. L. Von Poser, <i>Int. J. Pharmacogn.</i> , 31(3), 1993
Isoboldina	<i>Nectandra membranaceae</i>	M. Lebouef, <i>et al.</i> , <i>J. Nat. Prod.</i> , 46(761), 1983
	<i>Ocotea caesia</i>	V. J. Yariwake, <i>et al.</i> <i>Phytochem.</i> , 28(12), 1989
Reticulina	<i>Cinnamomum camphora</i>	Tomita-Kozuka, <i>et al.</i> , 1964
	<i>Cryptocarya odorata</i>	Panch <i>et. Seb.</i> , 1965
Menisperina	<i>Cryptocarya triangularis</i>	Cooke-Haynes, 1954
	<i>Cryptocarya angulata</i>	Cooke-Haynes, 1954
Seeperina	<i>Nectandra rodiei</i>	M. F. Groudon, <i>et al.</i> , <i>J. Chem. Soc.</i> 2739, 1960
Beeberina	<i>Nectandra rodiaei</i>	P. J. Hearst, <i>J. Org. Chem.</i> , 29 (2), 1964

Figura 2

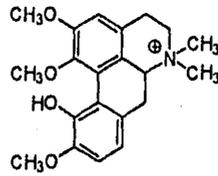
Estructuras químicas de alcaloides isoquinolínicos presentes en la familia
Lauraceae.



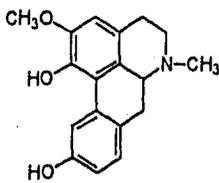
RETICULINA



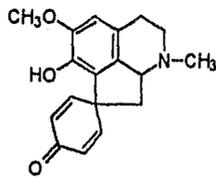
OCOTEINA



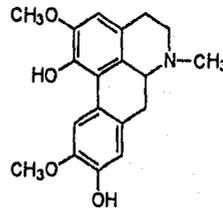
MENISPERINA



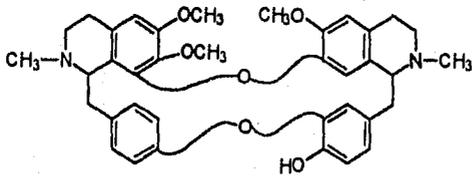
APOGLAZIOVINA



GLAZIOVINA



ISOBOLDINA



SEEPERINA

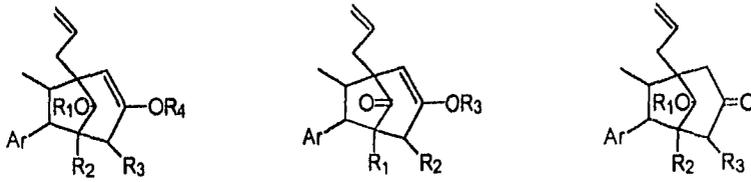
Cuadro 2

Compuestos no alcaloideos presentes en varias especies pertenecientes a la familia *Lauraceae*
(*Chemical Abstracts*, 1949-1994)

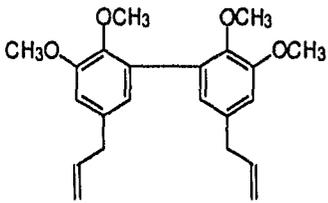
COMPUESTO	FUENTE NATURAL	REFERENCIA
Neolignanos biciclo (3,2,1)octano	<i>Ocotea sp.</i> ("canela parda")	M. Gomes, et al., <i>Phytochem.</i> , 22(1), 1983
	<i>Ocotea porosa</i>	D. J. Yoshida, et al., <i>Phytochem.</i> , 36(2), 1994
	<i>Ocotea catharinensis</i>	M. Haraguchi, et al., <i>Phytochem.</i> , 22(2) 1983
Dehidrodieugenoles	<i>Nectandra polita</i> Nees	M. Suarez, et al., <i>Phytochem.</i> , 22(2), 1983
	<i>Litsea turfosa</i>	D. M. Holloway, et al., <i>Phytochem.</i> , 12, 1973
	<i>Ocotea crymbarum</i>	A. M. P. Díaz, et al., <i>Phytochem.</i> , 19(18), 1980
β -sitosterol	<i>Nectandra polita</i>	M. Suarez, et al., <i>Phytochem.</i> , 22(2), 1983
α -pineno, cineol y safrol	<i>Nectandra falcifolia</i> (Nees)	A. G. Fester, et al., <i>C. A.</i> 55, 21252, 1961
O-metileugenol y eugenol	<i>Nectandra polita</i> (Nees)	M. Suarez, et al., <i>Phytochem.</i> , 22(2), 1983
β -pineno, cineol, terpineol y citral	<i>Laurus nobilis</i>	Nigam, et al., 1960
Linalol	<i>Ocotea pretiosa</i>	Gottlieb, et al., 1960
	<i>Aniba duckei</i>	Gottlieb, et al., 1964
	<i>Cryptocarya moschata</i>	Naves, et al., 1963
	<i>Lindera membranacea</i>	Fujita, et al., 1956

Figura 3

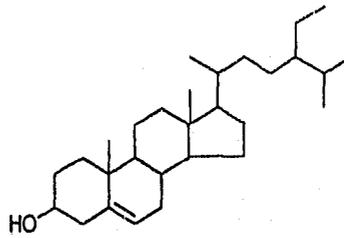
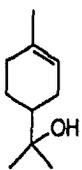
Estructuras químicas de compuestos no alcaloideos presentes en la familia
Lauraceae



NEOLIGNANOS (3,2,1) BICICLO OCTANOIDES



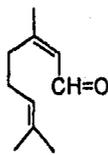
DEHIDRODIEUGENOL

 β -SITOSTEROL

TERPINEOL



CINEOL



CITRAL



LINALOL

Biosíntesis de alcaloides isoquinolínicos

Los alcaloides isoquinolínicos están presentes en numerosas plantas, se han encontrado en cerca de 40 familias. Son comunes en las *Cactaceae*, *Chenopodiaceae*, *Fabaceae*, *Rutaceae*, *Annonaceae*, *Aristolochiaceae*, *Papaveraceae*, *Lauraceae*, etc.

Se han llevado a cabo un número considerable de trabajos empleando precursores marcados para determinar la ruta biosintética, mediante la cual ocurre la formación de alcaloides isoquinolínicos.

La biosíntesis de las isoquinolinas simples ejemplificada en el **esquema 1** muestra la formación de los alcaloides analonidina y analamina presentes en el cactus del peyote. La dopamina originada a partir del α -aminoácido tirosina (Lundström 1971, Herbert 1980), puede ser O-metilada produciendo la 4-hidroxi-3-metoxifeniletilamina (1), la cual experimenta una oxidación produciendo 4,5-dihidroxi-3-metoxifeniletilamina (2), intermediario clave en la formación de mescalina e isoquinolinas. Una segunda metilación puede producirse en el grupo hidroxilo del C-4, formando el compuesto (3), el cual, subsecuentemente forma el anillo de las tetrahidroisoquinolinas dando origen a los alcaloides: analamina (6) y analonidina (7), los cuales han mostrado actividad baja como anticonvulsivos, tranquilizantes y relajantes musculares. Si la metilación de (2) es producida en el grupo hidroxilo del C-5 se forma el compuesto (4), el cual da origen al alucinógeno mescalina (5).

Sin embargo, esta información no es definitiva, ya que se requieren más estudios para establecer rigurosamente la ruta biogenética precisa mediante la cual ocurre la formación de varias isoquinolinas.

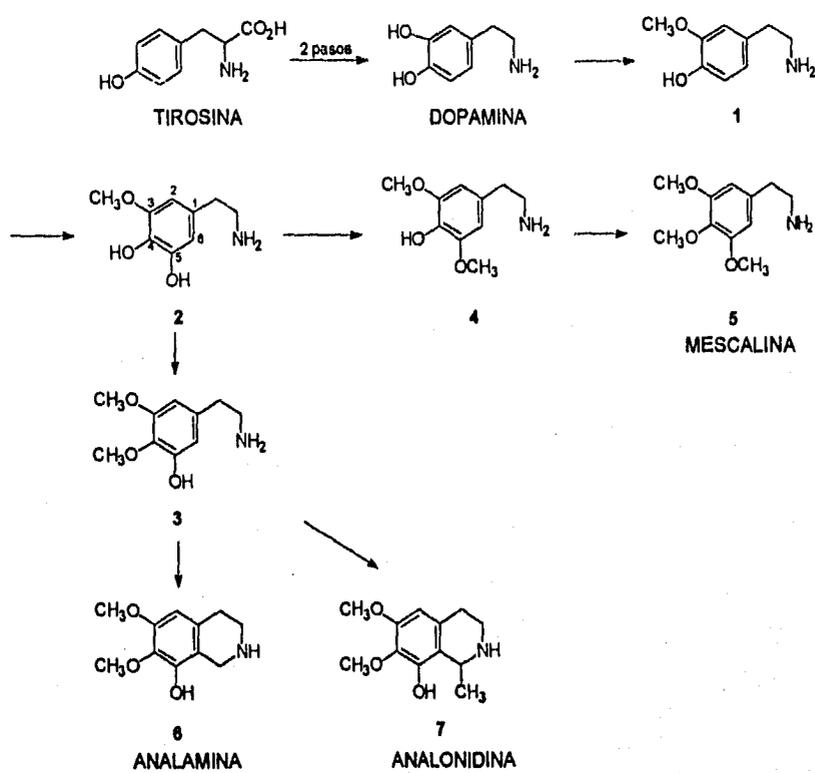
En la biosíntesis de muchos alcaloides bencilisoquinolínicos y aporfínicos, la reticulina es considerado el intermediario clave. En la especie *Papaver*

somniferum se ha encontrado que la N-norlaudanosolina es el precursor de la reticulina y éste a su vez, es el precursor de los alcaloides morfínicos. Por otra parte, algunas aporfinas han sido empleadas como análogos rígidos de la dopamina para estudiar la naturaleza de los receptores dopaminérgicos.

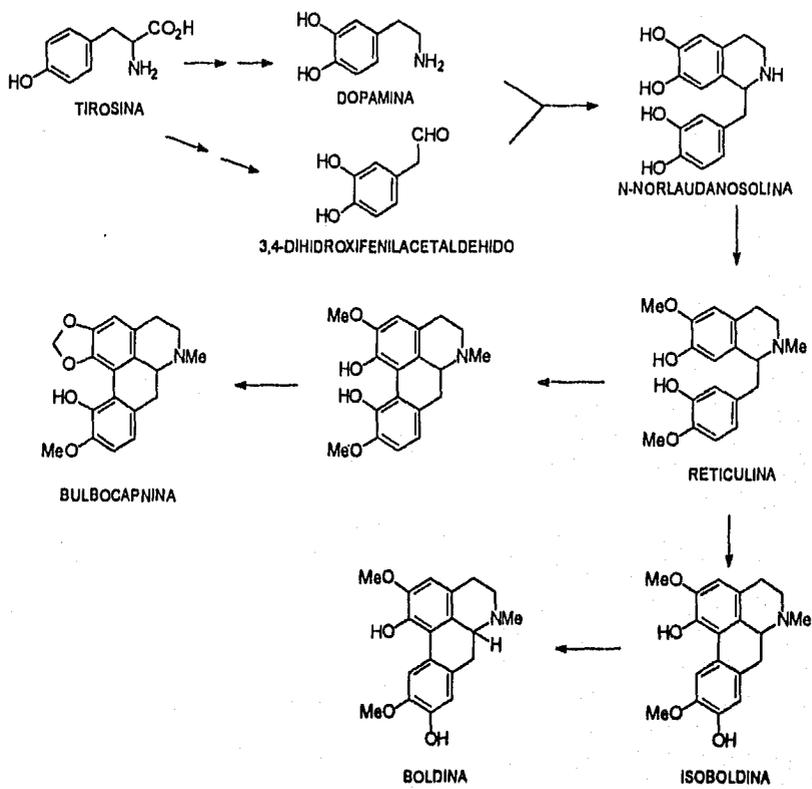
En el **esquema 2** se muestra la biosíntesis de bencilisoquinolinas y aporfinas a partir de la reticulina, la cual es formada a partir de dos moléculas del α -aminoácido tirosina, una de las cuales es utilizada vía dopamina, la otra unidad requerida para la biogénesis es el 3,4-dihidroxifenilacetaldehído (Schumacher et al., 1983).

Los alcaloides aporfínicos, formados a partir de la reticulina, se distinguen por un enlace sencillo entre los dos anillos aromáticos de la bencilisoquinolina; la hipótesis soportada en numerosos experimentos indica que este enlace es introducido por acoplamiento de dos radicales fenólicos (Herbert, 1980).

Esquema 1
Biosíntesis de isoquinolinas simples



Esquema 2
Biosíntesis de bencilisoquinolinas y aporfinas



Farmacología de las plantas de la familia *Lauraceae*

Los alcaloides isoquinolínicos constituyen quizá, el más extenso grupo de alcaloides conocidos, ellos ejercen sus acciones farmacológicas con mayor afinidad en el sistema nervioso central y en músculo liso.

Los alcaloides del opio (*Papaver somniferum*), entre sus diversos usos, son considerados como los agentes antidiarréicos más efectivos ya que producen un efecto constipante muy poderoso; sin embargo su empleo conlleva el riesgo de producir dependencia de tipo narcótico. Esta limitante dió lugar a la búsqueda sistemática de estructuras que mantuvieran la actividad antidiarréica y carecieran de efectos secundarios, ahora se prefieren los opioides sintéticos (difenoxilato y loperamida) para el tratamiento de la diarrea.

Los alcaloides bencilisoquinolínicos como la papaverina tienden a causar relajación. Otros derivados isoquinolínicos estimulan el musculo liso, algunos de estos compuestos estimulan fuertemente el útero otros muestran efectos depresivos en la actividad y tono del tracto gastrointestinal.

La actividad farmacológica de las lauráceas ha sido muy poco estudiada, entre los escasos estudios realizados a algunas especies de estas plantas se pueden citar los siguientes:

El extracto metanólico de *Nectandra pichury* mostró inhibición en la proliferación del protozooario *Entamoeba histolytica* (F. Prado, 1949)

Se demostró la actividad citotóxica del extracto crudo de *Nectandra rigida*, la cual es debida al compuesto aislado dehidroisoeugenol (Le Quesne, 1980).

El alcaloide proaporfínico glaziovina, aislado en las especies *Ocotea glaziovii*, *Nectandra membranaceae* y *Ocotea variabilis* mostró un efecto antidepresivo y ansiolítico (Siphar, 1966).

El alcaloide del tipo bisbencilisoquinolínico, rupununina, aislado del extracto etanólico de la especie *Ocotea rodiei* fué propuesto como contraceptivo, virucida, antimicótico, agente neuroactivo y pesticida (Gorinsky, 1994).

De la corteza de *Nectandra grandiflora* se aislaron cuatro alcaloides aporfínicos: laurólitsina, laurotetanina, boldina e isoboldina, estudios preliminares con el extracto alcaloideo, revelaron actividad antitumoral contra el sarcoma 180 y carcinomas de Ehrlich (Moreno, P. R. H., 1993).

Además, se han reportado numerosos usos en Medicina Tradicional, a plantas pertenecientes a la familia *Lauraceae* (**cuadro 3**) por lo que su investigación fitoquímica y farmacológica representa una contribución importante al conocimiento de su composición química y al mismo tiempo nos permite justificar los usos populares que hasta la fecha se les han atribuido a estas plantas.

Cuadro 3
Usos más importantes de las lauráceas en México
 (Estrada, 1995-Díaz, 1985)

ESPECIE	USOS	PARTE USADA
<i>Cinnamomum camphora</i>	antiespasmódico, antiséptico.	tallos, extracto
<i>Cinnamomum cassia</i>	estimulante.	tallos
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	antiespasmódico, estimulante, tónico.	tallos
<i>Litsea cubeba</i>	antigonorréico, diaforético, diurético, estimulante.	no hay información
<i>Litsea glaucescens</i>	antiespasmódico.	planta entera
<i>Persea gratissima</i>	abscesos, tónico, afrodisíaco, anticatarral, antiescabiático, antidiarreico, antidisentérico, antineurálgico, antipalúdico, antiparasitario, antirreumático, antitumoral, tiña, astringente, cicatrizante, regenerativo, hemostático, contusiones, dermatosis, emenagogo, catártico, sordera.	hoja, fruto, tallos, semilla
<i>Persea longipes</i>	estimulante	hoja
<i>Persea americana</i> var. <i>drymifolia</i> (Schl. et. Cham)	dolor de estómago, soplo del corazón, gases del estómago.	hojas, semilla
<i>Nectandra globosa</i> (Aubl.)	antiabortivo (regula el parto).	hojas tiernas
<i>Sassafras officinale</i>	antidisentérico, carminativo, catártico, diaforético.	extracto, raíz, planta entera

PARTE EXPERIMENTAL

I.- ESTUDIO QUIMICO. Materiales y métodos

El material vegetal del presente estudio se colectó en las inmediaciones de Uxpanapan, Veracruz en el mes de octubre por la Dra. Silvia del Amo R. quien lo identificó como *Nectandra salicifolia* (H. B. K.) Nees. Se depositó una muestra en el herbario del Instituto de Ecología, Jalapa. Ver.

Los disolventes empleados fueron grado técnico, previamente purificados por destilación. Todos los extractos fueron concentrados por destilación a presión reducida. Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Jones y no están corregidos.

Los espectros de infrarrojo se determinaron en un espectrofotómetro Nicolet FT-5SX, en pastilla de KBr y en película; las frecuencias están dadas en cm^{-1} . Los espectros de RMN- ^1H se realizaron en un aparato Varian VXR-300S (200 MHz) empleando como disolvente CDCl_3 y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna; el desplazamiento químico está expresado en ppm, utilizando el parámetro delta (δ). Los espectros de masas se hicieron en un espectrofotómetro Hitachi Perkin-Helmer RMU 6D de doble foco, por ionización química (IQ) e impacto electrónico (IE).

Para los análisis cromatográficos en capa fina analítica y cromatografía preparativa se utilizaron placas de vidrio recubiertas con gel de sílice Merck 60 F₂₅₄ de espesor 0.25 mm y Merck 60 F₂₅₄ de espesor 2.0 mm, respectivamente. Para la cromatografía en columna se empleó gel de sílice 60 de malla 70-230 ASTM. Los sistemas de elución y reveladores se enlistan en los cuadros 4 y 5, respectivamente.

Cuadro 4**Sistemas de elución para CCF analítica y preparativa**

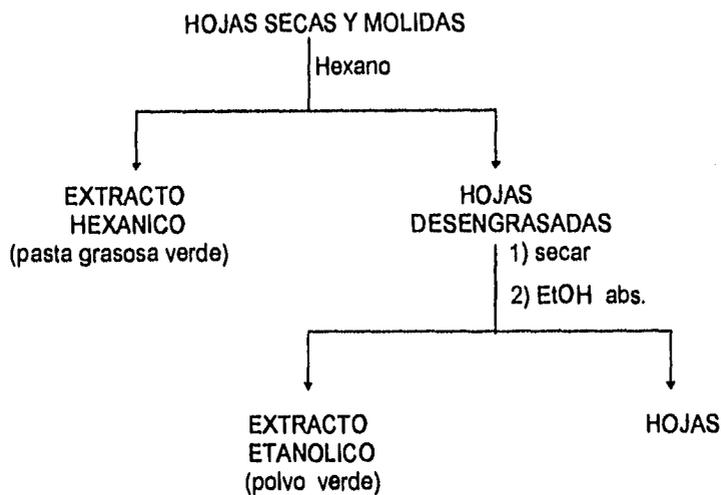
clave	volumen (ml)	disolventes
A	30: 2: cbp 250	CH ₃ OH - NH ₄ OH - CH ₂ Cl ₂
B	90 : 10	Hexano - Acetato de etilo
C	85 : 15	Hexano - Acetato de etilo
D	80 : 20	Hexano - Acetato de etilo
E	90 : 10	CH ₂ Cl ₂ - CH ₃ OH

Cuadro 5**Reveladores para CCF analítica**

1. Reactivo de Dragendorff
2. Sulfato cérico
3. Acido sulfúrico 5N

A las hojas secas y molidas se les realizó una prueba de alcaloides de la siguiente forma: un gramo del material vegetal se maceró en 30 ml de etanol ligeramente caliente durante 30 minutos, se dejó enfriar. De este extracto se realizó una cromatografía en capa fina (CCF) analítica en el sistema de elución A (**cuadro 4**) visualizándose con luz UV tres manchas ($R_{f1}= 0.1$, $R_{f2}= 0.52$ y $R_{f3}=0.85$), pero al revelar esta placa con reactivo de Dragendorff sólo el compuesto con $R_{f2} = 0.52$ dió prueba positiva para alcaloides observándose una mancha color naranja.

El procedimiento de extracción se realizó vía maceración con hexano y etanol absoluto como se muestra en el **esquema 3**.



Esquema 3

Proceso de extracción mediante maceración

Fraccionamiento del extracto hexánico

Al extracto hexánico se le realizó una percolación con hexano en una columna de vidrio conteniendo Tonsil, como adsorbente, con el propósito de eliminar los pigmentos del extracto.

El fraccionamiento del extracto hexánico (8 g) se realizó disolviendo la muestra en hexano y adicionandola cuidadosamente en una columna de vidrio, (diámetro 7.5 cm , altura 25 cm) previamente empacada con 240 g de gel de sílice humedecida con 300 ml de hexano-acetato de etilo (98:2) y se empezó la elución colectando fracciones de 20 ml de volumen, se aumentó la polaridad del sistema de elución con acetato de etilo.

Cuadro 6

Incremento en la polaridad del sistema de elución de la cromatografía en columna.

Hexano-Acetato de Etilo (%)	Fracciones
98:2	1-28
95:5	29-58
92:8	59-68
90:10	69-82
88:12	83-88
85:15	89-95
80:20	96-112

Se obtuvieron del fraccionamiento del extracto hexánico 112 fracciones siguiendo el desarrollo de la columna por CCF analítica. De la fracción 1 a la 46 se empleó el sistema de elución C y las siguientes fracciones se eluyeron en el sistema D; las placas se visualizaron con luz UV y se revelaron con H₂SO₄ 5N y sulfato cérico.

De acuerdo al análisis por CCF analítica la mayoría de las fracciones contenían sustancias de tipo lipídico, descartándose su estudio; sólo el análisis cromatográfico de las fracciones 92-99 (sistema D, revelador 3) mostraban un compuesto mayoritario por lo que se procedió a su aislamiento.

Aislamiento del compuesto A

Las fracciones 92-99 se unieron y se concentraron a presión reducida obteniendo 600 mg de una pasta cerosa amarilla. De esta muestra se intentó la cristalización del compuesto mayoritario con diferentes disolventes no obteniendo buenos resultados, por lo que se procedió a su purificación usando CCF preparativa. De la aplicación de 100 mg de la muestra (sistema DX2), se obtuvieron 12.5 mg de un sólido amorfo blanco con punto de fusión 130-131 °C al que se denominó compuesto A. Sus constantes espectroscópicas son las siguientes:

IR (pastilla, cm^{-1} , Espectro 1). Señal ancha a 3416, O-H, de 3000-2850 C-H sat., 1470-1430 CH_3 -, CH_2 -, 1395-1365 CH_3 -, 1150-1050, CH-OH.

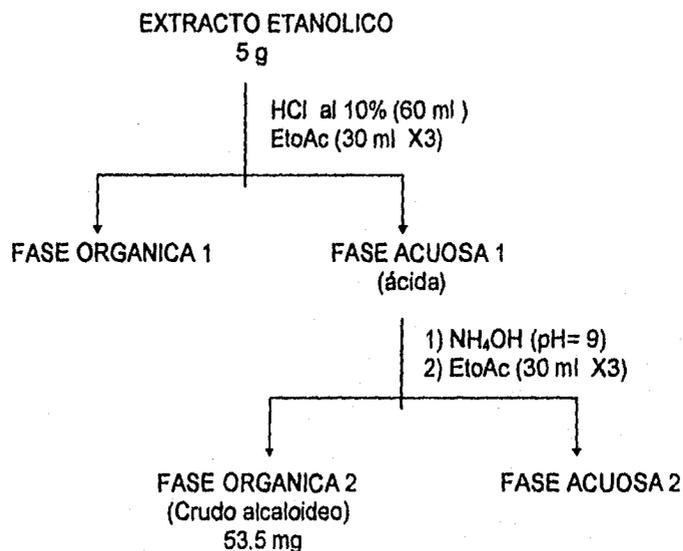
RMN-1H (CDCl_3 , ppm, Espectro 2 y 2A) δ : 5.34-5.31 señal doble, integra para 1H vinílico, 3.56-3.42 multiplete para 1H, 2.40-0.66 varias señales para metilos de isopropilo y metilos angulares, 1.55 señal ancha que intercambia con D_2O .

EM (m/z, intensidad relativa, Espectro 3) 414 (M^+ , 100.0), 399 (28.68), 396 (41.50), 381 (25.31), 329 (32.36), 315 (6.56), 303 (34.86), 273 (26.56), 213 (26.56), 57 (26.14), 43 (28.21).

El compuesto A se comparó por CCF analítica (eluyente D, revelador 3) con una muestra original de β -sitosterol, encontrando que ambos compuestos tenían el mismo Rf y al ser revelados se tenía la misma coloración en ambos.

Extracción del crudo alcaloideo

La obtención del crudo alcaloideo se realizó mediante partición ácido-base del extracto etanólico (ver **esquema 3**) siguiendo la metodología que se presenta a continuación.



Esquema 4

Proceso de partición ácido-base

Se realizó CCF analítica a la Fase Orgánica 1 (sistema A, revelador 1) con el propósito de encontrar algún compuesto que revelara con reactivo de Dragendorff, pero no se observó ninguna mancha color naranja, por lo que se consideró completa la extracción.

El crudo alcaloideo se analizó por CCF analítica (sistema A, revelador 1) visualizándose dos compuestos con luz UV (Rf= 0.55, compuesto B y Rf= 0.40, compuesto C), pero sólo el compuesto B, que se observa mayoritario, revela con reactivo de Dragendorff .

El procedimiento de partición ácido-base se realizó cinco veces utilizando 5 g de extracto etanólico en cada ocasión, obteniendo el crudo alcaloideo en un rendimiento promedio del 1.12 %.

Aislamiento del compuesto B

La purificación del compuesto mayoritario B, se llevo a cabo por medio de CCF preparativa, aplicando 100 mg del crudo alcaloideo y eluyendo en el sistema EX2 (Rf=0.53), se obtuvieron 4.1 mg de un sólido blanco.

El compuesto C no se consiguió aislar en forma pura, ya que en CCF preparativa siempre se obtenía una mezcla de los compuestos B y C debido, tal vez a la gran inestabilidad que presenta este compuesto.

Es importante mencionar que tanto el crudo alcaloideo como el compuesto B presentaban inestabilidad a la luz y al aire por lo que es necesario mantenerlos en ambiente de nitrógeno y en ausencia de luz durante todo el análisis.

Las constantes espectroscópicas para el compuesto B son las siguientes:

IR (pastilla, cm^{-1} , Espectro 4) A 3384 señal ancha para el grupo O-H, 2926 banda de un sistema C-H sat., a 1150-1070, C-O ó C-O-C, a 2848 eter, OCH₃, 1662 banda de un grupo carbonilo C=O.

RMN-1H (CDCl_3 , ppm, Espectro 5) δ : 6.98-6.81 señal doble de dobles (dd) que integra para 2H (J=2.8, J'9.9 Hz), 6.55 hay un singulete que integra para 1H,

6.37-6.25 doble de dobles que integra para 2H ($J=1.8$, $J'=9.9$ Hz), 3.80 singulete que integra para 3H (O-CH₃), 3.46-3.40 señal multiple que integra para 1H, 3.13-2.70 multiplete que integra para 3H, 2.52-2.18 señales multiples que integran para 7H, a 2.35 singulete que integra para 3H (N-CH₃),

EM (Espectro 6, m/z, intensidad relativa) 297 (M^+ , 100.0), 296 (M^+-1 , 59.0), 282 (9.0), 268 (27.1), 254 (33.6), 239 (7.4), 211 (7.0).

II.- EVALUACION BIOLOGICA PRELIMINAR

Para la determinación de actividad biológica preliminar se llevaron a cabo dos estudios con el extracto etanólico de *Nectandra salicifolia*, el primero en un sistema *in vitro* registrando la actividad contráctil del íleo de rata, el segundo estudio se realizó en un sistema *in vivo* midiendo el peristaltismo intestinal en ratones por medio de la prueba de desplazamiento del carbón activado.

Sistema *in vitro*

En este estudio se utilizaron ratas Wistar, machos jóvenes de 180 a 230 g de peso, privadas de alimento durante 24 hrs previas al experimento. Los registros de actividad contráctil del tejido se realizaron en un polígrafo Grass modelo 79D.

Se realizaron pruebas de solubilidad al extracto etanólico de *N. salicifolia*, encontrándose una buena disolución del extracto con una solución al 10 % de dimetilformamida (DMF) en agua.

Las ratas se sacrificaron por dislocación cervical y se les extrajo el íleo, el cual se colocó en una caja Petri con solución Ringer a 37 °C (cuyo pH se ajustó con un potenciómetro Orion 601A y se midió su osmolaridad con un osmómetro Osmette) y con burbujeo de una mezcla de gas carbógeno (95% O₂ y 5% CO₂). Se realizaron cortes al tejido obteniéndose de 4 a 5 segmentos de aproximadamente 1 cm de longitud. Se suturó cada extremo del tejido en forma alterna y se ataron, uno a la base del tapón de la cámara y el otro a un transductor del polígrafo previamente calibrado.

Posterior a la colocación del íleo en la cámara, se adicionó solución Ringer y se oxigenó con gas carbógeno, se dejó estabilizar el tejido durante 45 minutos en condiciones controladas de pH= 7.4, osmolaridad= 240 y temperatura= 37 °C.

A cada fragmento de íleo se le realizó un registro basal (preadministración) durante un lapso de 10 min, al término del cual se adicionó la solución vehículo (DMF 10%) y/o la solución del extracto. La solución vehículo permitió comprobar que éste no produce efecto alguno sobre el tejido. A los otros fragmentos se les adicionaron las soluciones del extracto y se registró la respuesta durante 10 min (postadministración) para cada concentración; considerando que el volumen de la cámara fue de 10 ml de solución Ringer, se obtuvieron concentraciones finales de 64, 128, 256, 512 y 800 µg/ml de extracto etanólico de *N. salicifolia*. Después del registro de cada concentración, el tejido se lavó de 3 a 4 veces con solución Ringer.

Se midió la frecuencia y amplitud de las respuestas del íleo a cada concentración, comparando cada uno de los registros con su registro basal; se determinó el porcentaje de respuesta promedio del tejido con un número de 8 registros (n=8) para cada concentración; en el cuadro 7 se muestran los resultados obtenidos.

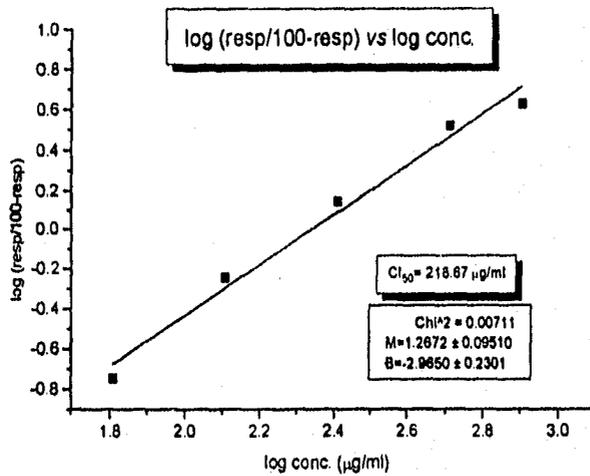
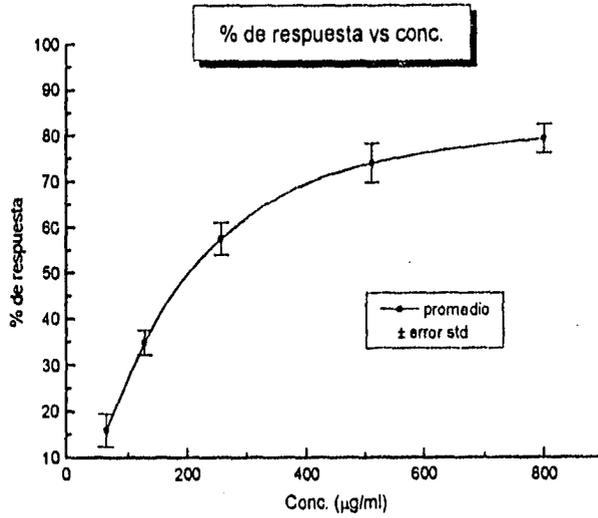
Cuadro 7

Resultados de la actividad contráctil del íleo de rata tratado con extracto etanólico de *N. salicifolia*.

Conc. (µg/ml)	log conc. (µg/ml)	% resp. promedio	log (resp/100- resp)	Error std. %
64	1.81	15.91	-.075	± 3.54
128	2.10	37.87	-0.24	± 2.66
256	2.41	56.65	0.14	± 3.22
512	2.71	74.19	0.52	± 4.20
800	2.90	77.97	0.63	± 3.01

Los resultados anteriores nos permitieron construir la gráfica porcentaje de respuesta contra concentración (curva dosis-respuesta) y al graficar el logaritmo de $(\text{resp}/100-\text{resp})$ contra el logaritmo de la concentración, se obtuvo una recta a partir de la cual calculamos la concentración de inhibición al 50 %, CI_{50} (gráficas 1 y 2).

En la **figura 4** se muestran las respuestas obtenidas en segmentos de íleo de rata en un sistema *in vitro* con la administración del extracto etanólico de *N. salicifolia* a las concentraciones evaluadas. Para comparar las respuestas obtenidas con el extracto, se utilizó como patrón de referencia sulfato de atropina a las concentraciones de 20, 40, 80 y 160 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ($n=1$) (**figura 5**). Las flechas señalan el momento de la aplicación directa de las soluciones sobre el tejido.



Gráficas 1 y 2

Actividad contráctil del íleo de rata tratado con extracto etanólico
de *N. salicifolia*.

Figura 4

Registro de la actividad contráctil del íleo de rata bajo la acción del extracto etanólico de *Nectandra salicifolia*.

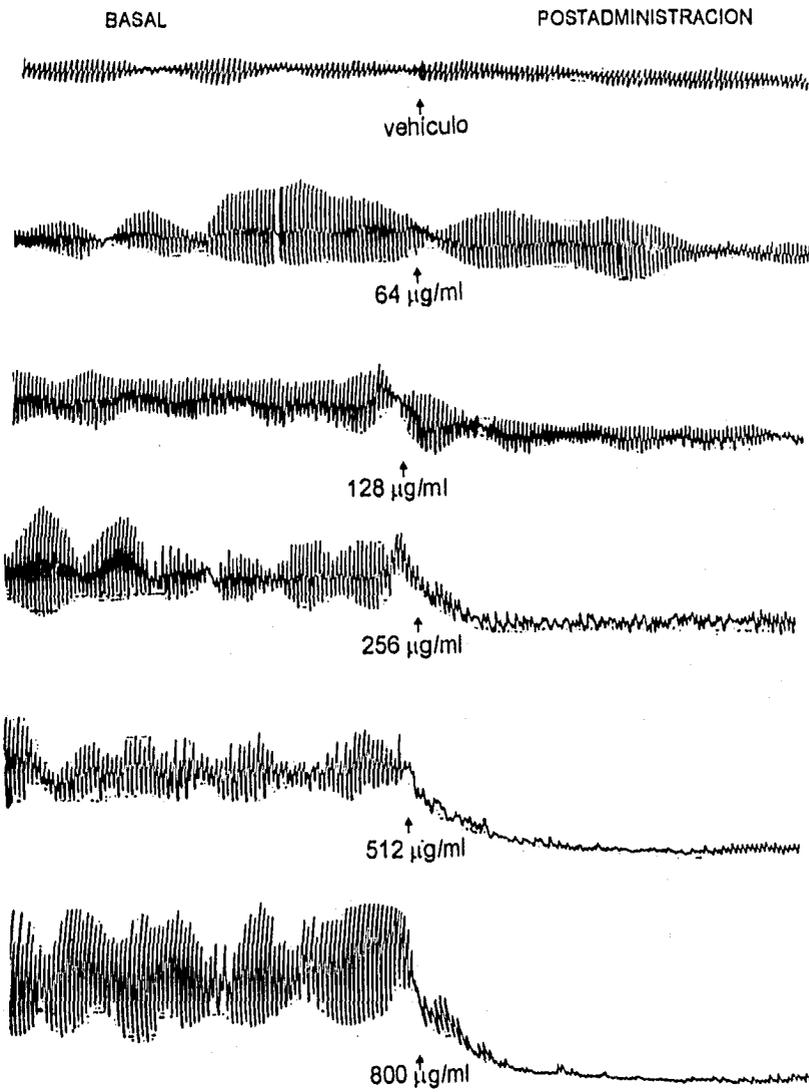
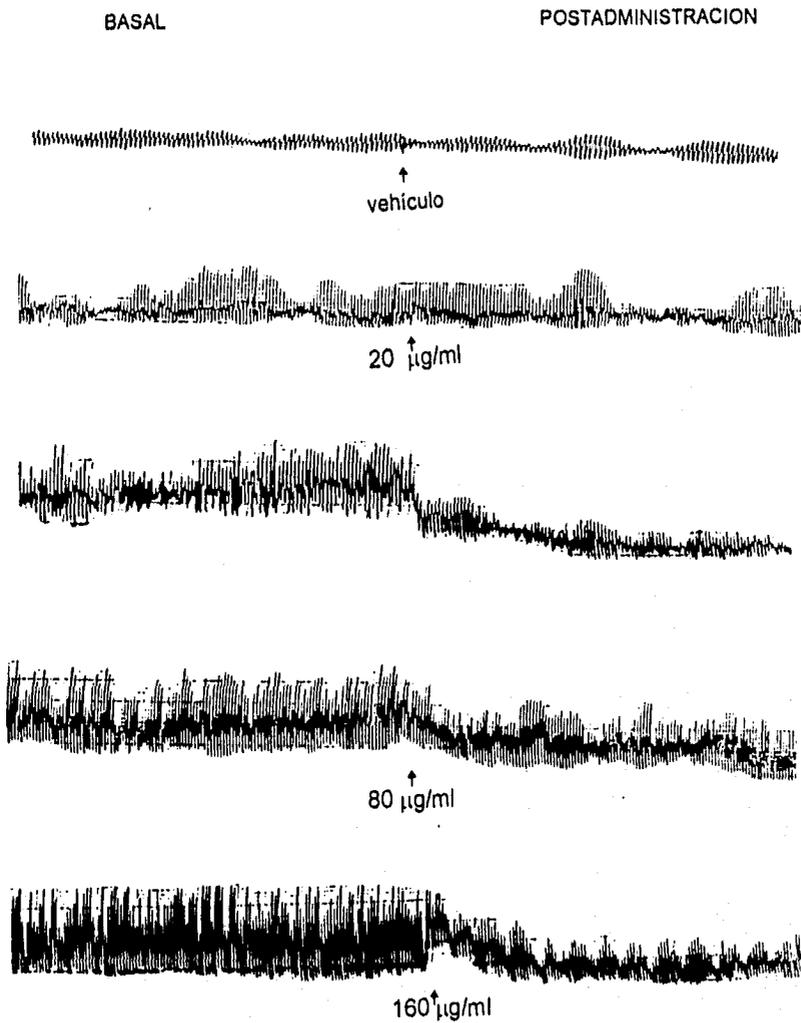


Figura 5

Registro de la actividad contráctil del ileo de rata bajo la acción de sulfato de atropina.



Sistema *in vivo*

La técnica empleada en este estudio es una adaptación de Rodríguez, R. y Villarreal J. E. de la descrita por Macht y Baba-Gose en 1931, la cual consiste en la determinación de actividad antidiarreica en ratones.

En este estudio se utilizaron ratones de la cepa Taconic macho de 20 a 30 g de peso, privados de alimento durante 9-12 hrs previas al experimento.

Los ratones se distribuyeron en tres grupos (n=6):

1. Grupo tratado con solución vehículo, DMF al 10 %, (control).
2. Grupo tratado con extracto etanólico de *N. salicifolia* a las dosis de 2,4,8,16 y 32 mg/Kg.
3. Grupo tratado con Sulfato de Atropina a las dosis de 0.025, 0.25 y 2.5 mg/Kg.

La administración de sulfato de atropina fue con la finalidad de llevar a cabo un efecto antidiarreico seguro, y que a la vez nos sirviera de referencia.

Se administraron por vía oral las soluciones correspondientes a cada grupo, dejando un intervalo de 5 minutos entre cada administración.

15 minutos después de la administración del vehículo o de las sustancias en estudio, se administró a todos los ratones por vía oral una suspensión de carbón (carbón vegetal 5% y goma de tragacanto 5%, disueltos en 100 ml de metilcelulosa 0.2%) a razón de 0.1 ml/10 g de peso del ratón.

A los 30 minutos de la administración de la suspensión de carbón se sacrificaron los animales por dislocación cervical y se extrajo el tejido desde el estómago hasta el ciego.

Se midió la longitud total del intestino y la distancia recorrida por la suspensión de carbón (medida indicativa del tránsito gastrointestinal). Los porcentajes de desplazamiento de la suspensión de carbón para cada dosis se obtuvieron considerando la longitud total del intestino de cada ratón como el 100 % desplazado.

El grupo tratado con vehículo (grupo control), presentó un porcentaje de desplazamiento de la suspensión de carbón mayor que los grupos tratados con extracto y con sulfato de atropina, debido a que éste no modifica el tránsito gastrointestinal de los ratones.

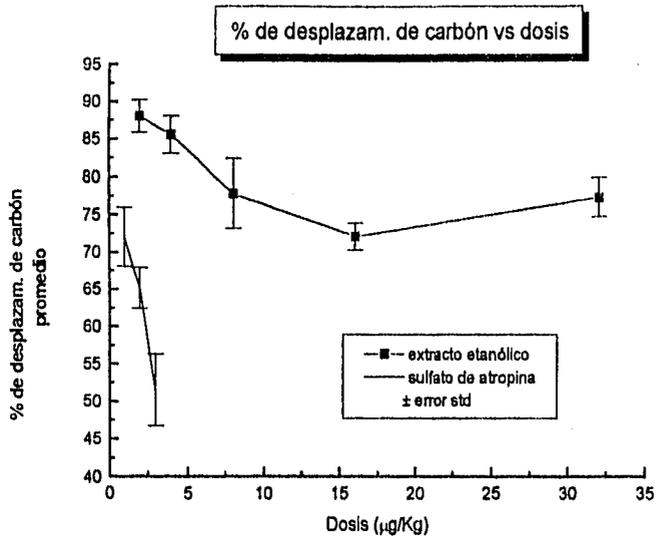
Los resultados obtenidos con la administración del extracto etanólico de *N. salicifolia* y sulfato de atropina a las diferentes dosis se muestran en el **cuadro 8**.

Cuadro 8

Resultados de la medición del tránsito intestinal en ratones tratados con extracto etanólico de *N. salicifolia* y/o con sulfato de atropina.

GRUPO	DOSIS (mg/Kg)	% DE DESPLAZAM. DE CARBON PROMEDIO	ERROR STD (%)
extracto etanólico de <i>N. salicifolia</i>	2	88.05	± 2.14
	4	85.58	± 2.48
	8	77.83	± 4.62
	16	72.11	± 1.82
	32	77.34	± 2.60
Sulfato de atropina	0.025	72.06	± 3.94
	0.25	69.17	± 2.75
	2.5	51.54	± 4.80

En la **gráfica 3** se muestra el porcentaje de desplazamiento de la suspensión de carbón para el extracto etanólico de *N. salicifolia* y para sulfato de atropina a las dosis evaluadas.



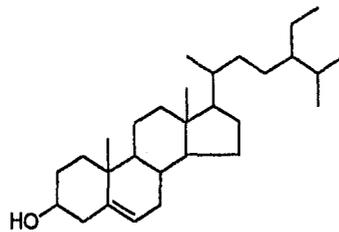
Gráfica No.3

Tránsito intestinal en ratones tratados con extracto etanólico de *N. salicifolia* y/o con sulfato de atropina

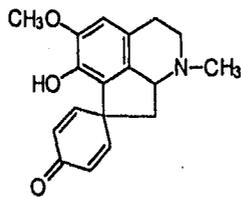
ANALISIS DE RESULTADOS

Estudio Químico

De las hojas de *Nectandra salicifolia* (H. B. K.) Nees se aislaron y caracterizaron dos compuestos. Del extracto hexánico se aisló un esteroide conocido ampliamente, el β -sitosterol (Compuesto A) y del extracto etanólico se aisló el alcaloide proaporfínico glaziovina (compuesto B), aislado previamente en las especies *Ocotea glaziovii*, *Ocotea variabilis* Mart y *Nectandra membranacea*. Sus estructuras químicas son las siguientes.



β -SITOSTEROL



GLAZIOVINA

Figura 6

Estructura química de los compuestos aislados de *N. salicifolia* (H. B. K.) Nees

Compuesto A

Este compuesto se aisló del extracto hexánico de las fracciones 92-99 de la cromatografía en columna, y dado que se encontraba impuro se purificó por CCF preparativa obteniendo un sólido blanco con p. f. de 130-131 °C. El compuesto fue identificado como β -sitosterol por comparación de sus propiedades físicas y espectrocópicas.

IR (Espectro 1) Se observa una señal ancha en 3416 que indica la presencia de un grupo hidroxilo (vibración O-H), lo cual se confirma al ver las señales que aparecen de 1050-1100 correspondientes a la vibración C-O. Varias señales de 3000-2850 nos indica la presencia de metilos y metilenos, las señales de 1470-1430 y 1378 confirman lo anterior.

RMN-¹H (Espectro 2) Señal doble en 5.34-5.31 que integra para un protón y que de acuerdo a su desplazamiento, es un protón vinílico; a 3.56-3.42 se observa un multiplete que integra para un protón, el cual corresponde al protón del carbono 3 de la estructura propuesta; de 2.4 a 0.66 se encuentran varias señales para metilos de un grupo isopropilo y metilos angulares; en 1.55 ppm se observa una señal ancha que intercambia con agua deuterada, D₂O (Espectro 2A). Los datos anteriores concuerdan con los encontrados en la literatura para la molécula del β -sitosterol.

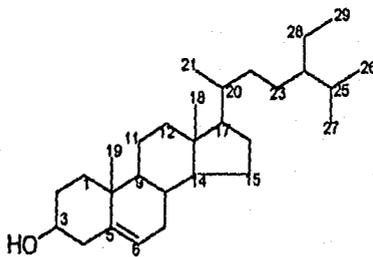


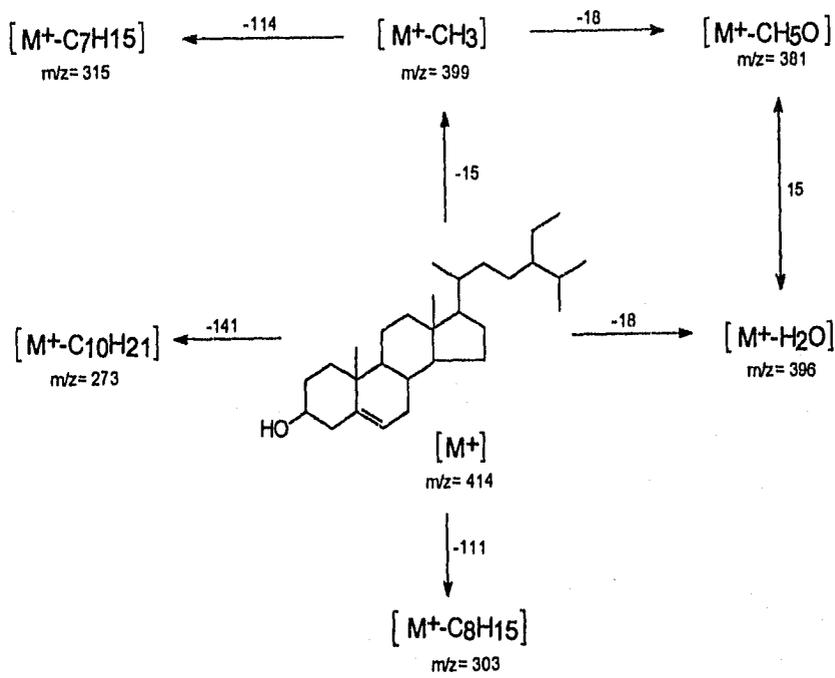
Figura 7

Estructura propuesta para el compuesto A

Su espectro de masas (Espectro 3) presenta un M^+ a 414 (pico del ión molecular) que corresponde al peso molecular del compuesto con fórmula condensada $C_{28}H_{50}O$, los picos significativos de la fragmentación de este compuesto son: $m/z= 396 (M^+-H_2O)$, a $399 (M^+-CH_3)$, $381 (M^+-CH_3O)$, $303 (M^+-C_8H_{15})$, $273 (M^+-C_{10}H_{21})$, $315 (M^+-C_7H_{15})$ (esquema 5).

Además se observa un pico a $m/z=57$ por pérdida de un fragmento $C_4H_9^+$, este pico se fragmenta nuevamente dando un pico a $m/z= 43$ que corresponde al fragmento $C_3H_7^+$. El patrón de fragmentación para el compuesto A concuerda con los datos reportados por Aizawa (1974) para el estructura del β -sitosterol.

El compuesto A purificado, se comparó por CCF analítica (sistema D, revelador 3) con una muestra original de β -sitosterol comprobando que se trataba del mismo compuesto.



Esquema 5
 Patrón de fragmentación del compuesto A (Aizawa, 1974).

Compuesto B

Este compuesto se aisló del crudo alcaloideo previa partición ácido-base del extracto etanólico. Se purificó por cromatografía preparativa, es un sólido amorfo blanco con punto de fusión 176-180 °C. Su caracterización se realizó en base a métodos físicos y espectroscópicos.

IR (Espectro 4). Se observa una señal ancha a 3384 cm^{-1} , vibración O-H correspondiente a un grupo hidroxilo, a 2848 se observa una banda para un éter OCH_3 , lo cual se confirma por las señales a 1150-1070. La señal a 1662 cm^{-1} indica la presencia de un grupo carbonilo.

RMN- ^1H (Espectro 5). Se observa una señal doble de dobles (dd) de 6.98-6.81 que integra para 2H vinílicos ($J=2.8$ y $J'=9.9$ Hz.) asignados a los carbonos 8 y 12 de la estructura propuesta, en 6.55 se observa un singulete (s) que integra para el único protón de tipo aromático, de 6.37-6.25 señal doble de dobles que integra para los protones vinílicos de los carbonos 9 y 11 ($J=1.8$, $J'=9.9$ Hz), a 3.80 ppm se observa un singulete que integra para 3H correspondientes al grupo metoxilo de la molécula (O-CH_3), de 3.46-3.40 se encuentra un multiplete que integra para 1H (asignado a la posición 6a de la estructura propuesta), de 3.13-2.70 se observan señales múltiples que integran para 3H (2 protones asignados al C-5 y un protón del C-4), en 2.52-2.45 hay un multiplete que integra para un protón asignado al C-4, a 2.35 ppm se observa un singulete que integra para los 3 protones del metilo unido al nitrógeno (N-CH_3), señales múltiples de 2.25-2.18 que integran para 3H, dos de los cuales son asignados a la posición 7 la estructura propuesta, el tercer protón corresponde al H del grupo hidroxilo. Los datos encontrados concuerdan con los reportados por B. Gilbert, 1964.

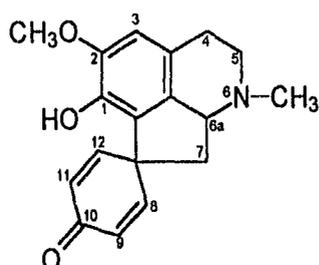
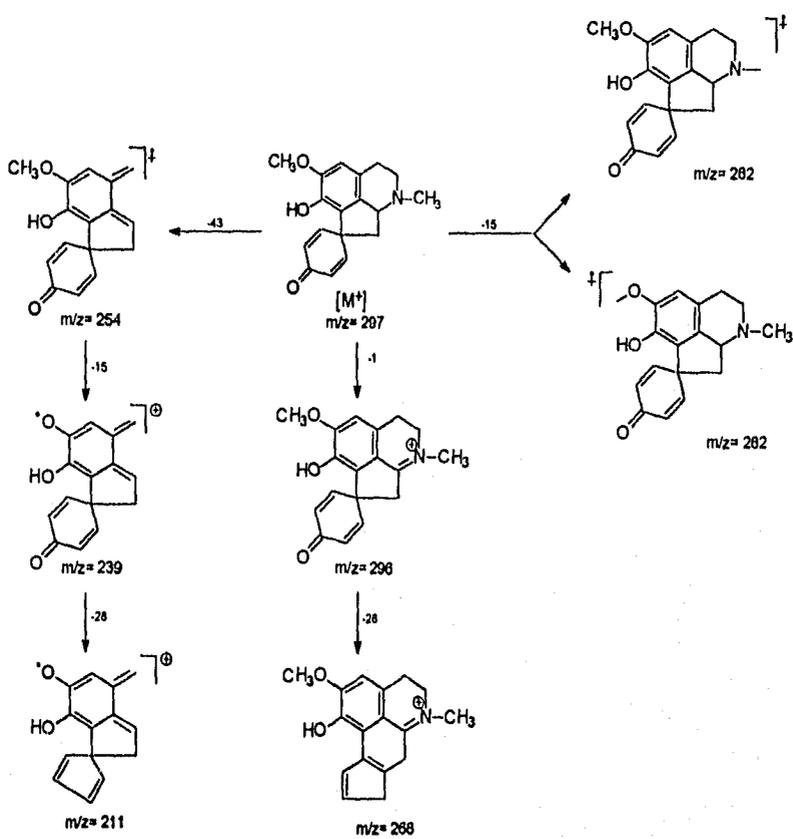


Figura 8

Estructura propuesta para el compuesto B

El espectro de masas (Espectro 6) presenta un M^+ a 297 (pico del ión molecular), que corresponde al peso molecular del compuesto B con fórmula condensada $C_{18}H_{19}NO_3$. De la fragmentación de este compuesto se tienen los siguientes picos: $m/z = 296 (M^+ - H)$, el cual pierde un fragmento de CHO presentando un pico a 268, $m/z = 282 (M^+ - CH_3)$, 254 ($M^+ - CH_2NCH_3$), a 239 ($M^+ - C_3H_8N$) el cual pierde un fragmento de CO presentando un pico en 211, Baldwin, 1967 (Esquema 6).



Esquema 6

Patrón de fragmentación para el compuesto B

Evaluación Biológica Preliminar

El uso popular que se le atribuye al "aguacatillo" (*Nectandra salicifolia*) en los lugares donde es nativo, principalmente en Veracruz y Michoacán, es como antidiarreico; por tanto, los estudios biológicos realizados al extracto etanólico de la planta están encaminados a justificar su empleo como agente antidiarreico en medicina tradicional.

Sistema *In vitro*

El extracto etanólico de *N. salicifolia* se evaluó en un sistema *in vitro* convencional sobre íleo de rata, con la finalidad de establecer la presencia de algún efecto biológico.

Los datos obtenidos en este estudio se muestran en el **cuadro 7**, en el cual se observan las respuestas del tejido, expresadas en porcentaje, en base al 100% de la respuesta basal para cada concentración. Cabe mencionar que las respuestas del tejido a las diferentes concentraciones se obtuvieron en forma independiente y no en forma acumulativa; es decir, con lavados del tejido con solución Ringer entre cada administración.

Los resultados obtenidos muestran que la respuesta de relajación del tejido aumenta en forma gradual conforme aumentamos la concentración del extracto, esto se visualiza de una manera más clara en la **gráfica 1** (curva dosis-respuesta). Además al graficar el logaritmo de $(\text{resp}/100 - \text{resp})$ contra el logaritmo de la concentración se obtiene una recta (gráfica de Hill), a partir de la cual encontramos la concentración de inhibición al 50 %, $CI_{50} = 218.67 \mu\text{g/ml}$ (**gráfica 2**).

Los registros del tejido con la administración de la solución vehículo no presentan cambios en la actividad espontánea del tejido, por lo tanto éste no influye en las respuestas obtenidas en la evaluación del extracto.

Con la administración del extracto se observa una disminución en la amplitud y frecuencia de la actividad del íleo, lo cual se traduce como un efecto de relajación del tejido; este comportamiento se acentúa conforme aumentamos la concentración del extracto hasta presentarse la relajación total del tejido a la máxima concentración, 800 $\mu\text{g/ml}$ (figura 4).

En este estudio se incluyó la evaluación biológica de sulfato de atropina con el propósito de realizar una comparación de la respuesta producida por el extracto etanólico de *N. salicifolia* con una sustancia prototipo en producir efectos de relajación sobre músculo liso.

Los resultados obtenidos con la aplicación de sulfato de atropina (figura 5), exponen un efecto de relajación del íleo a concentraciones más bajas que las evaluadas con el extracto etanólico de la planta, pero debe tomarse en cuenta que en un caso se trata de un extracto crudo y en el otro de una sustancia pura.

La información anterior nos permite proponer que el efecto del extracto etanólico de *N. salicifolia* en íleo de rata puede ser comparable al obtenido en la evaluación de sulfato de atropina, la cual actúa como anticolinérgico, bloqueando los receptores muscarínicos (Goodman, 1991).

Sistema *in vivo*:

El flujo adecuado de nutrientes, elementos de desecho, electrólitos y agua a través del intestino depende de un equilibrio apropiado entre la absorción y secreción de agua y electrólitos por el epitelio intestinal. Dado que el grado de absorción de agua y electrólitos en el intestino es paralelo al tiempo de tránsito gastrointestinal, los trastornos de la motilidad contribuyen a una constipación o diarrea.

El objetivo del tratamiento de la diarrea es aumentar la absorción intestinal de agua mediante la reducción del contenido de electrólitos lumbales (por el aumento de la absorción de Na^+ o la disminución de la secreción de aniones) o mediante la disminución de la motilidad intestinal (favoreciendo así la absorción).

En este estudio se evaluó el peristaltismo intestinal en un sistema *in vivo* como medida indicativa del tránsito gastrointestinal.

Los resultados obtenidos con la administración de extracto etanólico de *N. salicifolia* a las dosis de 2, 4, 8 y 16 mg/Kg muestran una disminución del porcentaje de desplazamiento de la suspensión de carbón, lo cual se traduce como una reducción en el tránsito gastrointestinal y por tanto disminución en la motilidad gastrointestinal. Sin embargo, a la dosis de 32 mg/kg este efecto se revierte un poco, pero se desconoce si a dosis mayores se produzca un efecto constipante.

En este estudio también se evaluó el peristaltismo intestinal con sulfato de atropina, el cual es empleado como agente antidiarreico, con la finalidad de comparar su efecto con las respuestas mostradas por la administración de extracto etanólico. Los resultados del estudio con sulfato de atropina muestran una disminución más pronunciada en la motilidad del intestino a dosis más bajas (0.025, 0.25 y 2.5 mg/Kg) que las evaluadas con el extracto etanólico de *N. salicifolia* (ver **gráfica 3**), pero como en el experimento anterior, debemos considerar que nosotros evaluamos un extracto crudo y el sulfato de atropina es una sustancia pura.

CONCLUSIONES

Durante el estudio químico realizado a las hojas de *N. salicifolia* (H. B. K.) Nees se aislaron e identificaron dos compuestos. Del extracto hexánico de la planta se aisló, empleando métodos cromatográficos convencionales, un esteroide, el β -sitosterol, caracterizado por comparación de sus propiedades físicas y espectroscópicas. Este compuesto es ampliamente conocido y se considera prácticamente como un esteroide característico del reino vegetal.

Del extracto etanólico se aisló un alcaloide isoquinolínico denominado glaziovina que pertenece al grupo de alcaloides cuyo nombre genérico es el de proaporfina. La caracterización estructural de este compuesto se realizó principalmente por métodos espectroscópicos.

El alcaloide glaziovina se encuentra reportado en la literatura como constituyente de algunas especies pertenecientes a la familia *Lauraceae*; ha sido aislado de *Ocotea glaziovii* (Gilbert, 1964), *Nectandra membranacea* (Baldwin, 1967) y *Ocotea variabilis* (Cava, 1972). Un estudio farmacológico realizado a este compuesto expuso la presencia de actividad antidepresiva y ansiolítica (Siphar, 1966).

Cabe mencionar que en el extracto etanólico se encuentra presente otro compuesto que no fue posible aislar en forma pura y caracterizar estructuralmente, debido tal vez, a su gran inestabilidad.

El estudio biológico del extracto etanólico de *N. salicifolia* realizado en un sistema *in vitro* convencional mostró un efecto de relajación sobre músculo liso (íleo), el cual fue dependiente de la concentración, ya que al aumentar la concentración del extracto se incrementa la respuesta de relajación del tejido; dicho efecto puede ser comparable a la actividad mostrada con la aplicación de sulfato de atropina, el cual actúa como agente anticolinérgico bloqueando los receptores muscarínicos.

La información que nos proporciona la evaluación biológica del extracto etanólico en un sistema *in vivo*, concuerda con lo planteado, ya que se produce una disminución en la motilidad gastrointestinal. En el caso de la administración de sulfato de atropina, el efecto producido es más pronunciado en relación al extracto, por tratarse de una sustancia pura.

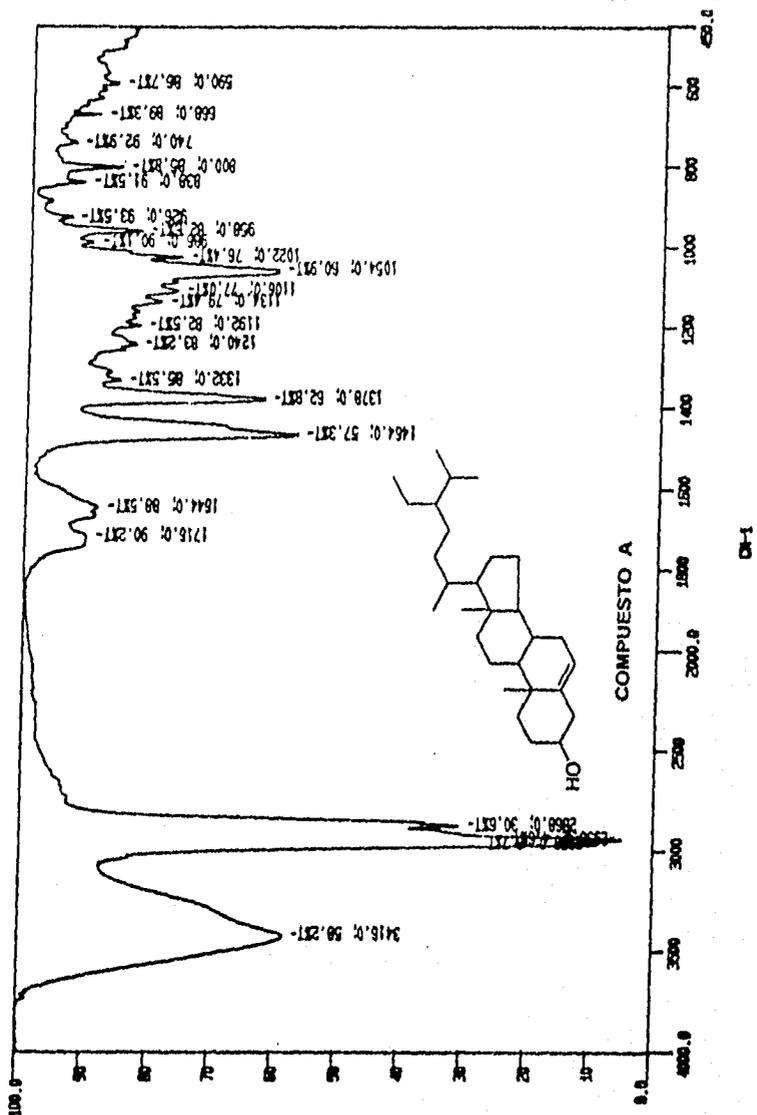
Por lo tanto, el uso popular del "aguacatillo" como agente antidiarreico podría estar justificado.

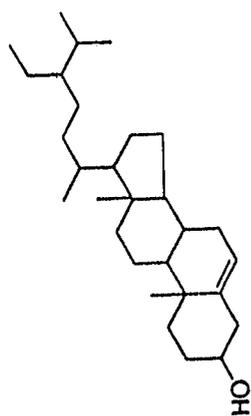
Es importante recordar que en nuestro país una gran parte de la población acude en forma casi exclusiva a la Medicina Tradicional para resolver sus problemas de salud. El estudio químico biológico de *Nectandra salicifolia* (H. B. K.) Nees constituye una contribución al estudio de las especies que hay en México y que son usadas con fines curativos.

ESPECTROS

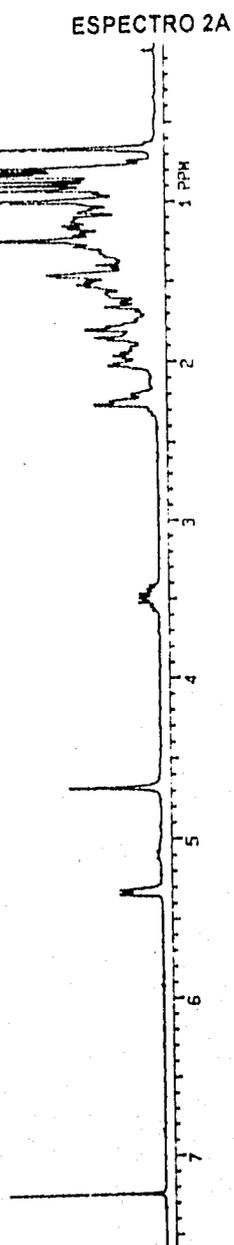
ESTA TESIS HA SIDO
 SALIDA DE LA
 49
 DEL INSTITUTO
 DE INVESTIGACIONES
 QUIMICAS

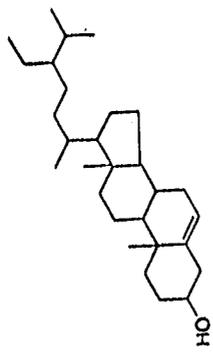
ESPECTRO 1





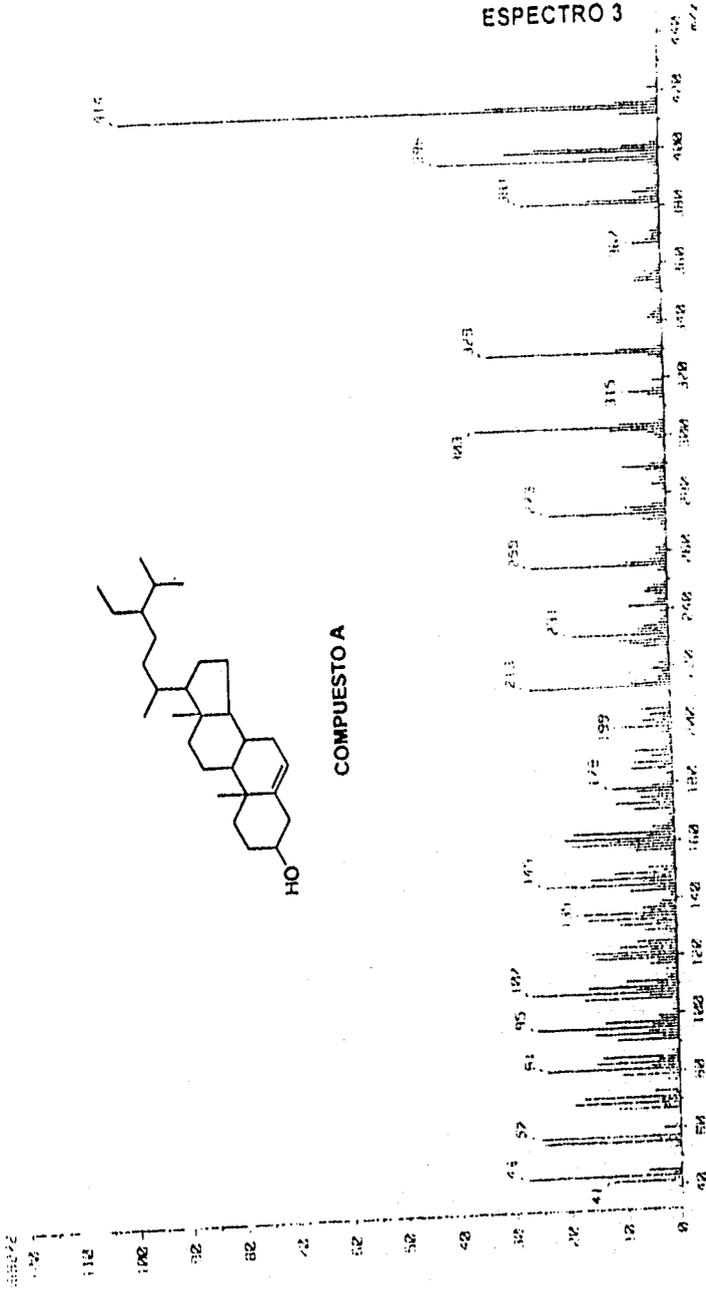
COMPUESTO A

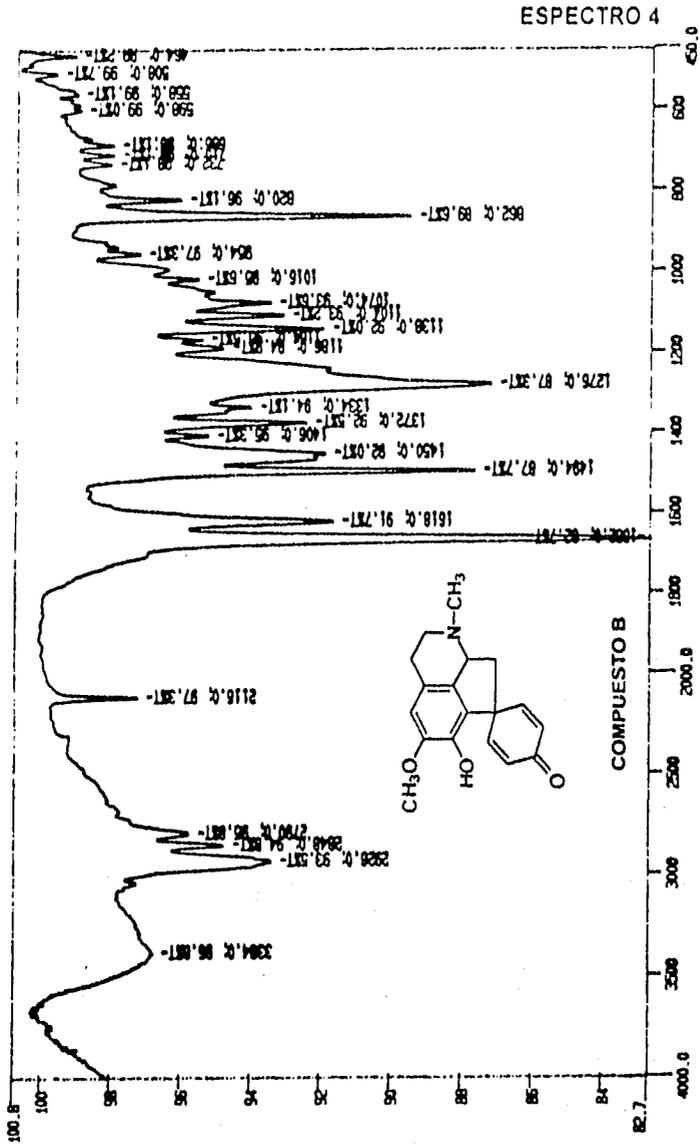




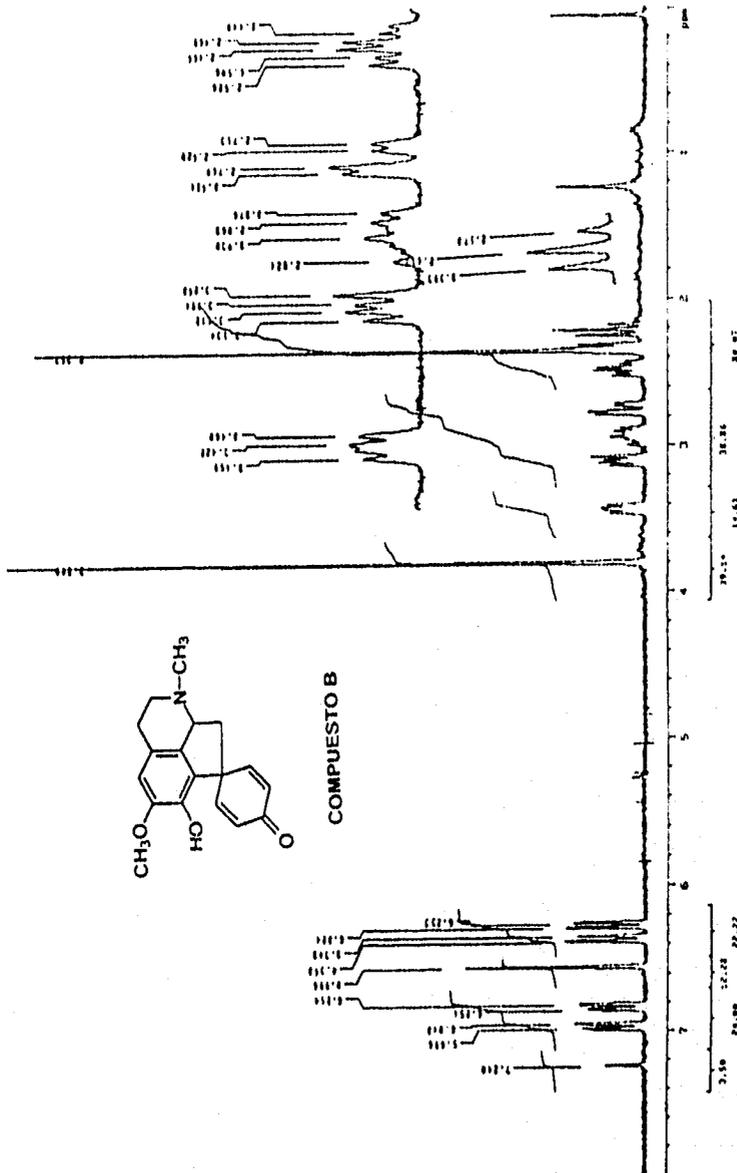
COMPUESTO A

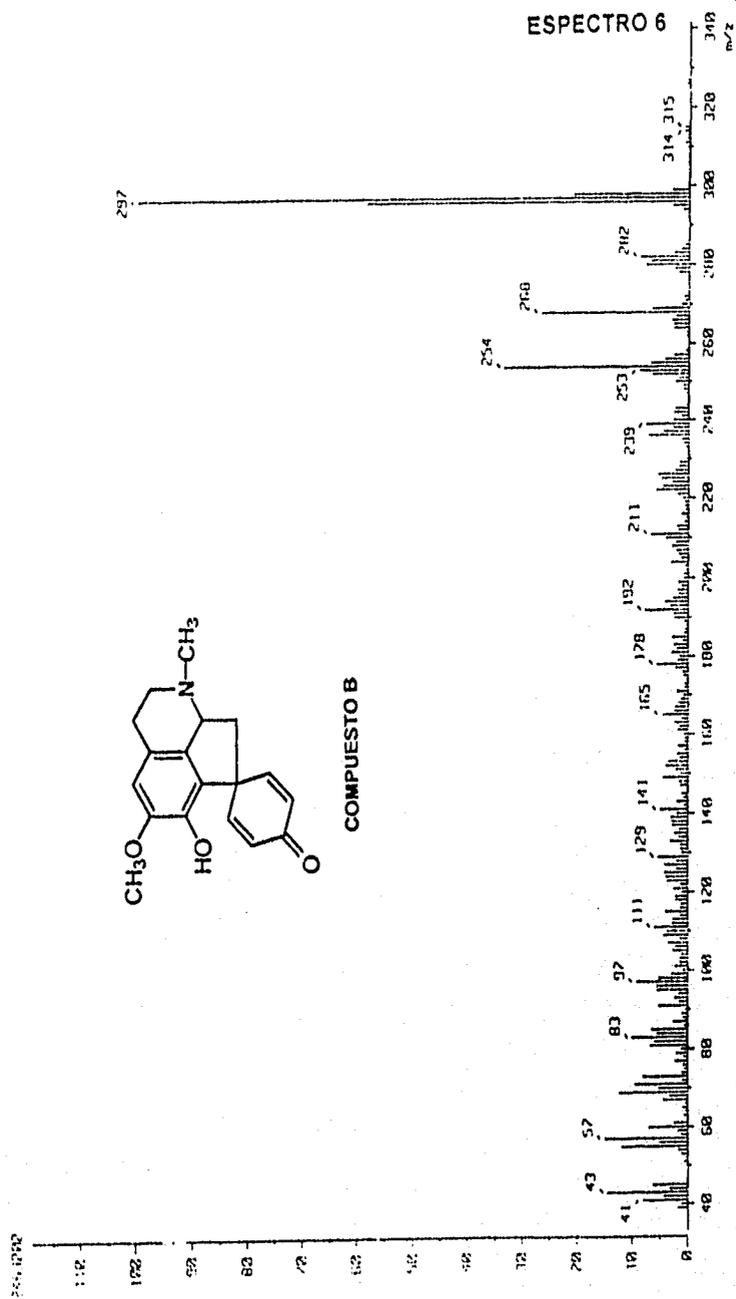
ESPECTRO 3





ESPECTRO 5





BIBLIOGRAFIA

1. Aizawa K., Yoshida S. and Takahashi N., *Org. Mass Spectrometry*, **1974**, 9, 470-479.
2. Allen C. K. *Studies in the Lauraceae*, VI. Preliminary Survey of the Mexican and Central American Species, *J. Arnold Arbor*, vol. XXVI, **1945**.
3. Anderson T. H., *The Plant Alkaloids*. Ed. The Blakiston Company, Philadelphia, 4a. ed., **1945**.
4. Baldwin M., Loudon A. G. and Maccoll A., *J. Chem. Soc (C)*, **1967**, 154-161.
5. Baralle F., Schwarzberg N. and Vernengo M. J., *Phytochem.*, **1972**, 12(4), 948-949.
6. Bernardi L., *Lauráceas*, Fac. Ciencias Forestales, Venezuela, **1962**.
7. Bernauer K. and Hofheinz W., *Fortschr. Chem. Org. Naturst*, **1968**, 26.
8. Brossi A., *The Alkaloids, Chemistry and Pharmacology*, Academic Press Inc., San Diego, California, **1987**, vol. XXXI.
9. Bye R., Estrada E. L., *Recursos Genéticos en Plantas Medicinales de México*, 4a. ed., México, **1992**.
10. Camacho Uribe D., *Estudio Químico de *Aristolochia littoralis**. Tesis de maestría, UNAM, **1991**.
11. Castro O., Rodríguez G., Poveda L., *Fitoterapia*, **1989**, 15(5).
12. Cava M. P., Behforouz M. and Mitchell J., *Tet. Letters*, **1972**, 46, 4647-4649.
13. De Viver A. R., *Productos Naturales de la Flora Mexicana*, Ed. Limusa, México, **1985**.
14. Díaz J. L., *Usos de las Plantas Medicinales de México*, (Monografías Científicas II), IME-PLAM, A. C., México, **1976**.
15. Dos Santos D. and Gilbert B., *Phytochem.*, **1975**, 14(3), 821-822.

16. Estrada L. E., *Plantas Medicinales de México*, Universidad Autónoma de Chapingo, 2a. ed., México, 1995.
17. Ganong W. F., *Fisiología Medica*, Ed. El Manual Moderno S. A. de C. V., 13a. ed., México D. F., 1992.
18. Gilbert B., Gilbert M. E., et. al., *J. Am. Chem. Soc.*, 1964, 86(4), 694-696.
19. Gomes M., Yoshida M., Gottlieb O. R. and Martínez J., *Phytochem*, 1983, 22(1), 269-273.
20. Goodman y Gilman, *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. Ed. Medica Panamericana, 8a. ed., Buenos Aires, 1991.
21. Gorinsky C., *Eur. Pat. Appl. EP. 610,060*, 1994.
22. Gottlieb O. R. and Yoshida M., *Phytochem.*, 1977, 16(7), 1003-1006.
23. Haraguchi M., Motidome M., Yoshida M. and Gottlieb R., *Phytochem.*, 1983, 22(2), 561-563.
24. Hearst P. J., *J. Org. Chem.*, 1964, 29(2), 466-470.
25. Hegnauer R., *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Birkhäuser Verlag Basel, 1966, vol. IV, 350-381.
26. Herbert R. B. Coffey S (de) *Rodd's chemistry of carbon compounds*, 2nd. ed. Elsevier, Amsterdam, 1980.
27. Korolkovas, *Compendio Esencial de Química Farmaceutica*, ed. Reverté, S.A., 2a. ed. España, 1988.
28. Le Quesne P. W., Larrahondo J. E., Raffauf R. F., *J. Nat. Prod.*, 1980, 43(3), 353-359.
29. Lundström J. *Acta Pharm. Suec.* 1971, 8:275-302,.
30. Macht D. I. and Baba-Gose J., *J. Amer. Pharm. Ass.*, 1931, 20, 558-564.
31. Manske R. H. F., *The Alkaloids, Chemistry and Physiology*, Academic Press Inc., New York, 1955, vol. V.

32. Manske R. H. F., *The Alkaloids, Chemistry and Physiology*, Academic Press Inc., New York, **1975**, vol. XV.
33. Moreno P. R. H., Von Poser G. L., Rates S. M. K., Yoshida M., Gottlieb O. R., Souza I. A., *Int. J. Pharmacogn.*, **1993**, 31(3), 6.
34. Phillipson J. D., Roberts M. F. and Zenk M. H. *The Chemistry and Biology of Isoquinoline Alkaloids (Proc. Life Sci.)*, Ed. Springer-Verlag, Alemania, **1985**.
35. Prado F., Jr. *Brasil-med.*, **1949**, 63, 43-45.
36. Rodríguez R. and Villarreal J. E.: Graded quantitation of morphine tolerance and dependence on the same physiological system in the mouse. Committee on problems of drug dependence, **1974**, 453-459.
37. Rzdowski J. y Equihua M. *Flora Atlas Cultura de México*. Ed. SEP-INAH y Grupo Planeta, México, **1987**.
38. Schumacher H. M., Ruffer M., Nagakura N., Zenk M. H., *Planta Med.*, **1983**, 212(22), 48.
39. Shamma M., *The Isoquinoline Alkaloids: Chemistry and Pharmacology*, Academic, New York, **1972**, (Org. Chem. Series, Vol. 25).
40. Shipar S. A., Belg. Pat. 688,814, **1966**.
41. Trease G. E. and Evans W. Ch. *Tratado de Farmacognosia*. Ed. Interamericana S. A. de C. V., 12a. ed., México, **1987**.
42. Van Nueten J. M., P. A. Janssen and Fontaine J., *Life Sci.*, **1976**, 18, 803-809.
43. Vernengo M. J., *Experientia*, **1963**, 19(6), 294-295.