

60  
24.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN**

**CONTRIBUCION AL ESTUDIO FITOQUIMICO DE  
*Mimosa albida.***

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**  
P R E S E N T A  
**RUBEN ROBLES LOPEZ**

ASESOR: DR. MARIANO MARTINEZ VAZQUEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1997

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES, CUAUTITLAN  
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

SECRETARÍA DE SALUD  
 SECRETARÍA DE  
 MEDICINA

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

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

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

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Contribución al estudio fitoquímico de *Mimosa albida*  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

que presenta el pasante: Eugen Pobles López  
 con número de cuenta: 8514685-2 para obtener el Título de:  
Químico Farmacéutico Biólogo

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .  
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
 Cuautitlan Izcalli, Edo. de Mex. a 20 de Febrero de 1997

PRESIDENTE	<u>O.F.B. Maricela Noe Martínez</u>	
VOCAL	<u>M. en C. Elizabeth Ioriz García</u>	
SECRETARIO	<u>Dr. Mariano Martínez Vázquez</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>M. en C. Guillermo Penieres Carrillo</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>O. Mario A. Morales Delgado</u>	

*La presente tesis se realizó en el laboratorio L-1  
de la Unidad de Investigación de Plantas Medicinales (UIPM),  
del Instituto de Química, UNAM,  
Bajo la dirección del Dr. Mariano Martínez Vázquez*

*Como parte del proyecto de investigación denominado  
"Estudio comparativo de los caracteres etnobotánicos  
químicos y farmacológicos de las plantas medicinales  
de la Sierra Norte de Puebla"*

*El señor es mi luz y mi salud,  
¿ A quién puedo temer ?  
Amparo de mi vida es el Señor  
¿ de quién puedo temblar ?  
Si me sitúa un ejército contrario,  
mi corazón no teme,  
si se levanta contra mí la guerra  
¡ sin miedo, ¡ confianza  
Porque el me dará asilo en su taberna  
en día de desgracia  
Confía en el Señor, ¡ ánimo arriba !  
espera en el Señor*

*Dedico esta tesis a:*

*Mis padres, por todos los sacrificios, desvelos y angustias, que han sufrido a causa  
mía desde el día en que nací*

*Sinceramente con respeto y cariño a mis amigos*

*QFB Ma. Luisa Torres Báz*  
*y*  
*QFB Ma. Leticia MonteLcón Gutiérrez*

*Gracias por su presencia*

*Al Dr. Mariano Martínez Vázquez, por su paciencia y sus consejos, asimismo, por  
ser para mí realmente un Maestro*

## CONTENIDO

## INTRODUCCIÓN

<b>1. ANTECEDENTES</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1. Terpenos</b> .....	<b>3</b>
1.1.1. Biosíntesis.....	4
1.1.2. Clasificación.....	8
1.1.3. Eriterpenos.....	9
1.1.3.1. Biosíntesis.....	10
<b>1.2. Flavonoides</b> .....	<b>13</b>
1.2.1. Biosíntesis.....	14
<b>1.3. Carbohidratos</b> .....	<b>22</b>
1.3.1. Clasificación.....	23
1.3.2. Ciclitoles.....	32
1.3.2.1. Biosíntesis.....	33

## CONTENIDO

<b>2. PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>34</b>
2.1. Aparatos y material utilizados.....	34
2.2. Material vegetal.....	37
<b>3. DISCUSIÓN</b> .....	<b>44</b>
3.1. Anhidrido <i>p</i> -bromobenzoico.....	44
3.2. $\beta$ -sitosterol.....	46
3.3. Quercitrina-3-O-rhamnosilo.....	46
3.4. 3-O-metil-eter de inositol.....	50
<b>4. CONCLUSIONES</b> .....	<b>53</b>
<b>5. APÉNDICE</b> .....	<b>54</b>
<b>II. ESPECTROS</b> .....	<b>57</b>
<b>6. REFERENCIAS</b> .....	<b>71</b>

## I ABREVIATURAS

Ab. Rel.	Abundancia Relativa
APT	RMN <sup>13</sup> C version Attached Proton Test
AcOEt	Acetato de Etilo
CCF	Cromatografía en Capa Fina
CDCl <sub>3</sub>	Deuterioclorofórmio
CuSO <sub>4</sub>	Sulfato de Cobre
d	Señal Doble
dd	Señal Doble de Doble
δ	Desplazamiento Químico
EM-IE	Espectrometría de Masas por Impacto Electrónico
IR	Espectroscopia de Absorción al Infrarrojo
M <sup>+</sup>	Ion Molecular
m	Señal Múltiple
MHz	Megahertz
mL	mililitros
p.f.	punto de fusión
ppm	partes por millón
RMN <sup>13</sup> C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono trece
RMN <sup>1</sup> H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
TMS	Tetrametilsilano

## INTRODUCCIÓN

Los conocimientos acerca de las propiedades terapéuticas o tóxicas que tienen algunas plantas son muy antiguos, el ser humano los ha recopilado y transmitido de generación en generación de manera verbal o escrita, ejemplo de ello es el famoso *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*.

En México, dentro de la gran diversidad de vegetales que forman el hábitat de la Sierra Norte de Puebla, se encuentra el espécimen *Mimosa albida*, el cual es conocido popularmente con diversos nombres, tales como: Dormilona grande, espina dormilona, vergonzosa, tchaban (totonaco), pinahuitzli (náhua), aja mumi (otomí) y se encuentra regularmente distribuida en Cuetzalan del progreso, Cosquihui, Tepango de Rodríguez y Pahuatlán, así, en Pantepec se usa para la vista nublada, en Pahuatlán se usa para el mal de boca, en Cosquihui para el malestar de riñones y en Tepango contra el sarampión. Es por ello que en el Instituto de Química de la UNAM, se decidió llevar una contribución al estudio fitoquímico de *Mimosa albida* en su parte aérea, con el fin de obtener la suficiente información acerca de su composición química, para de esta manera validar su uso popular.

**OBJETIVO**

Aislamiento y purificación de metabolitos secundarios presentes en *Mimosa albida* mediante técnicas cromatográficas, para una posterior caracterización por medio de métodos espectroscópicos.

## I. ANTECEDENTES

Sin lugar a dudas el reino vegetal posee muchas especies de plantas que contienen sustancias (producto de su metabolismo secundario) de valor medicinal aun por descubrir.

La familia *Leguminosae* consta de una gran variedad de hierbas o plantas leñosas, con las raíces provistas de nudosidades debidas a la simbiosis con las bacterias del género *Rhizobium*, cuenta con más de 550 géneros y unas 15 000 especies repartidas en todo el mundo. Las leguminosas se subdividen en tres subfamilias: *mimosoideae* (mimosoideas), *caesalpinioideae* (caesalpinioideas) y *papilionoideae* (papilionoideas).

En México, así como en América del sur, la subfamilia *mimosoideae* se encuentra ampliamente distribuida<sup>1</sup>. Una especie de esta subfamilia *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir. crece en el sureste de México y popularmente recibe el nombre de Tepescoluinte. Desde hace varios años su corteza ha sido utilizada para el tratamiento de lesiones en la piel<sup>2</sup>. Este material fue usado para aliviar el sufrimiento de víctimas recién nacidas tras la erupción del volcán Chichonal en 1982, la explosión de gas natural de San Juanico en 1984, el sismo de 1985 y en el desastre de una aerolínea en 1986<sup>3</sup>.

Es por esto que en los últimos años esta subfamilia ha despertado gran interés ya que además se le atribuye actividad farmacológica como la mostrada en tejidos aislados de rata y cobayo *in vitro*, los cuales en presencia de bajas concentraciones del extracto butanólico de la corteza presentaron parálisis del peristaltismo intestinal, aumento de la amplitud y frecuencia de contracción del útero y alteraciones en el tono muscular del fundus gástrico, lo cual sugiere la presencia de compuestos con potente actividad biodinámica. Además de poseer actividad bactericida y fungicida, inhibiendo el crecimiento tanto de bacterias gram (+) y gram (-), así como de levaduras y dermatofitos.

Por otra parte, la literatura muestra a esta subfamilia como buena fuente de metabolitos secundarios entre los que se encuentran: saponinas, triterpenos, alcaloides, flavonoides, carbohidratos, etc.<sup>(16)</sup>. El grupo más importante de estos metabolitos por su abundancia así como por su distribución en el reino vegetal es el de los terpenos.

## 1.1 TERPENOS.

Fue bien conocido por muchas centurias que las flores, frutas, hojas y raíces de muchas plantas contienen sustancias volátiles aromáticas a las cuales se les llamó aceites esenciales. El examen químico de los aceites esenciales mostró que ellos consisten en una compleja mezcla de compuestos cíclicos, acíclicos, alicíclicos, aromáticos y heterocíclicos. El término terpeno es usado hoy día para describir a compuestos constituyentes de los aceites esenciales, que contienen carbono e hidrógeno o carbono, hidrógeno y oxígeno, (incluyendo compuestos de origen animal) que cumplen con la regla teórica del isopreno.

### Regla del Isopreno.

El examen de la estructura molecular de terpenos revela que en la gran mayoría de los casos los esqueletos de carbono son múltiplos del 2-metil, 1,3 butadieno (isopreno) y que teóricamente todos los terpenos provienen de la unión cabeza-cola o cola-cabeza de dos o más unidades de isopreno' (fig.1) existiendo algunas anomalías como la unión cabeza-cabeza o cola-cola.

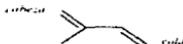


fig. 1 isopreno

El isopreno nunca ha sido encontrado en la naturaleza en forma libre, pero se ha verificado experimentalmente su presencia en productos naturales con la biosíntesis de lanosterol empleando marcadores isotópicos de  $^{14}\text{C}$ , siendo su equivalente biosintético el ácido mevalónico (fig.2), el cual es un derivado de la condensación de tres moléculas de ácido acético, y es el precursor universal de los compuestos terpenoides, dando la unidad isoprenéica por pérdida simultánea de agua y bióxido de carbono<sup>10</sup>.

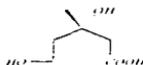
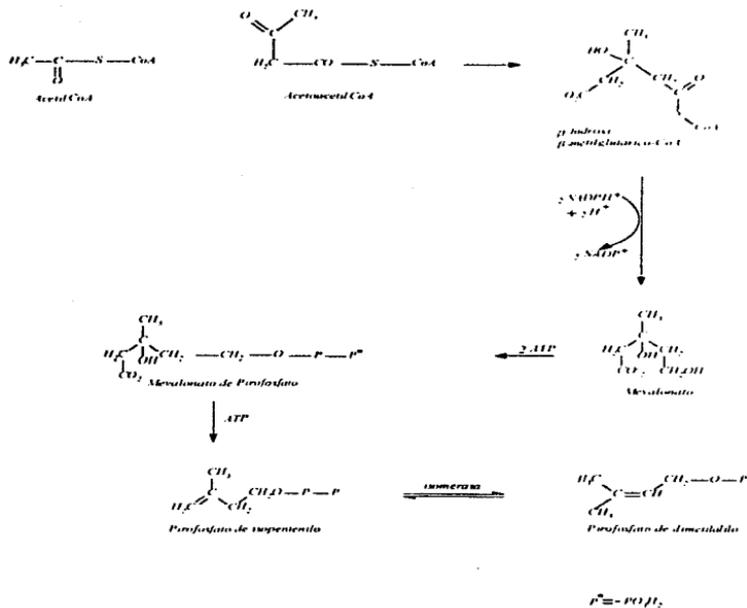


Fig. 2. ácido mevalónico.

### 1.1.1 Biosíntesis.

Se ha encontrado que en la biosíntesis de los terpenos, el ácido mevalónico (ácido 3,5-dihidroxi-3-metilpentanoico) se convierte en el reactivo pirofosfato de isopentenilo o su isómero. Al reaccionar éstos, se forma el pirofosfato de geranilo con el esqueleto de un monoterpeno. La unión de éste con otro pirofosfato de isopentenilo forma el pirofosfato de farnesilo (sesquiterpeno). La unión de este con su isómero alílico origina un triterpeno. La unión similar de pirofosfato de farnesilo con otra de pirofosfato de isopentenilo origina un diterpeno. Las moléculas anteriores se pueden ciclar y oxidar originando muy diversos tipos de compuestos policíclicos, como los triterpenos (tetracíclicos y pentacíclicos) o por eliminación de metilos, el importante grupo de los esteroides<sup>11</sup>. En el esquema 1 se muestra la ruta biogénica para los terpenos.



Esquema 1 Biosíntesis de Terpenos

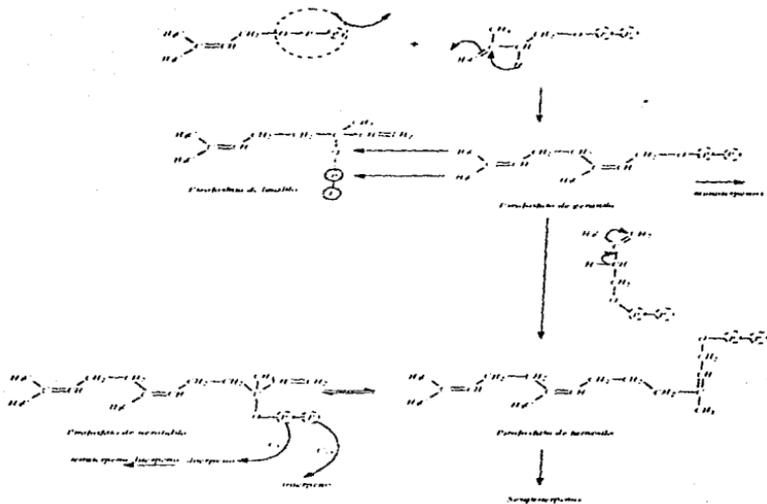


Diagrama de reacción de iniciación y crecimiento de un polímero

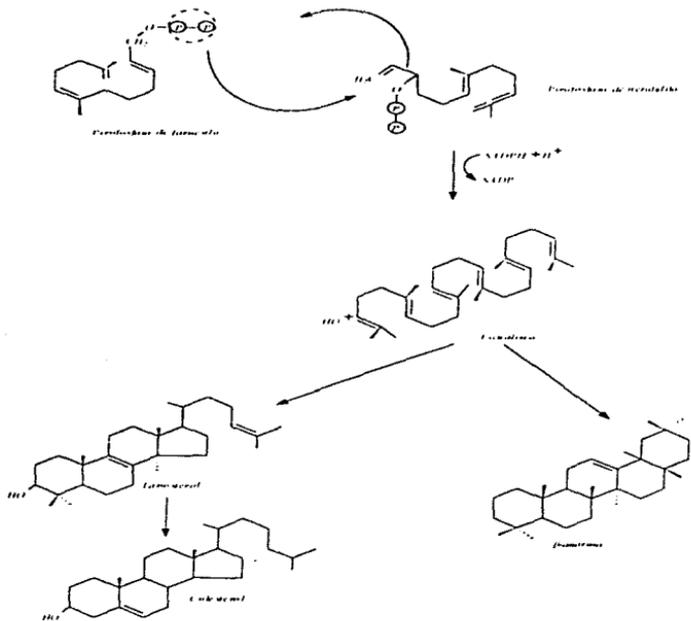


Figura 2. Formación de colesterol

### 1.1.2.1 Clasificación de terpenos.

Los terpenos se clasifican en base al número de unidades de isopreno que constituyen a la molécula, tomando como unidad terpénica a la fracción resultante de la unión de dos moléculas de isopreno, de esta forma los subgrupos se nombran anteponiendo un prefijo (que indica el número de unidades terpénicas de que consta la molécula) a la palabra terpeno. Dicha clasificación se muestra en la tabla 1

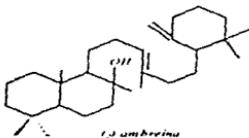
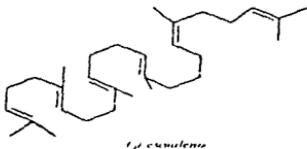
GRUPO	N.C.	N.U.I.	F.C.
Hemiterpenos	5	1	$C_5H_8$
Monoterpenos	10	2	$C_{10}H_{16}$
Sesquiterpenos	15	3	$C_{15}H_{24}$
Diterpenos	20	4	$C_{20}H_{32}$
Sesteterpenos	25	5	$C_{25}H_{40}$
Triterpenos	30	6	$C_{30}H_{48}$
Tetraterpenos	40	7	$C_{40}H_{64}$
Politerpenos	$(5)n$	$n > 8$	$(C_5H_8)_n$

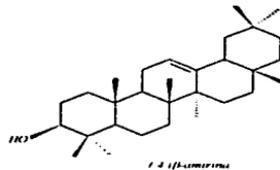
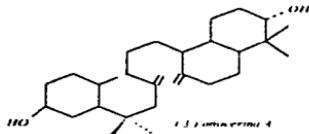
N.C. Número de átomos de carbono  
 N.U.I. Número de unidades de isopreno  
 F.C. Fórmula condensada

Tabla 1. Clasificación de terpenos

**1.1.2 Triterpenos.**

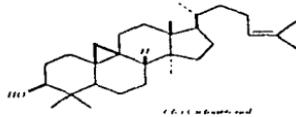
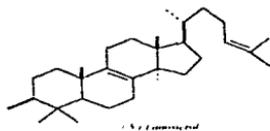
Convencionalmente a los compuestos que tienen un esqueleto de treinta átomos de carbono y que siguen la regla del isopreno se les denomina triterpenos. Estos incluyen a muchos productos naturales de importancia biológica. Algunos son derivados de animales (lanolina, aceites de varios peces etc.), y algunos otros de plantas (saponinas, varias resinas de látex etc.)<sup>12</sup>. Se distinguen cuatro clases: triterpenos de cadena abierta (1), tritercicos (2), tetracíclicos (3) y pentacíclicos (4)<sup>13</sup>. Varios triterpenos o sus derivados tienen actividad fisiológica, en la subclase de triterpenos pentacíclicos por ejemplo, se han aislado cuatro compuestos glicosídicos de las frutas de *Randia dimetorum* los cuales, favorecen la proliferación de linfocitos humanos *in vitro*<sup>14</sup>.





### 1.1.2.2 Biosíntesis.

El hexaeno-escualeno todo *trans* (1) es el precursor biológico inmediato de todos los triterpenos. Su estereoquímica fue establecida en 1954 mediante un examen de difracción de rayos X realizado por Nicolaides y Laves<sup>26</sup>. El escualeno es transformado a lanosterol (5) por medio de la ciclización del epóxido de escualeno terminal. El cicloartenol (6) es el producto de la próxima ciclización del escualeno en plantas y es similarmente formado vía el epóxido de escualeno, como también  $\beta$ -amirina y ácido fusídico, de ello se asume que los otros 3-hidroxi-triterpenos son formados análogamente del epóxido de escualeno. Algunos hidrocarburos pentacíclicos son el resultado de la ciclización iniciada por la protonación terminal del escualeno<sup>15</sup>.



La clara demostración de que el escualeno es el precursor de lanosterol y colesterol elaborada por Van Tamelen, E.E., et al<sup>6</sup> es la base que permite suponer que todos los triterpenos son similarmente derivados del mismo precursor acíclico (todo-*trans*-escualeno) mediante una serie de ciclizaciones concertadas y reacciones de rearrreglo propuestas por la escuela de Zürich<sup>9</sup>.

Las siguientes reglas son los argumentos que sustentan este proceso.

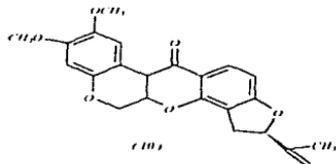
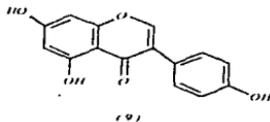
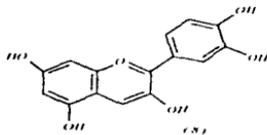
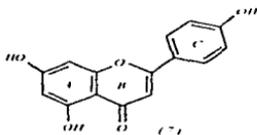
- 1.- Las ciclizaciones proceden todas, de un todo-*trans*-escualeno.
- 2.- Para cada ciclización, la cadena de escualeno es orientada específicamente y plegada hacia adentro con un potencial (equilibrio) silla-bote de los anillos de ciclohexano. El pliegue específico es asumido por el sistema enzimático de ciclización (e.g. escualeno oxidociclasa para la síntesis de lanosterol).

3.- Las ciclizaciones proceden por secuencia de adiciones *trans*-planar a enlaces olefinicos, rearrreglos de Wagner-Meerwein y eliminaciones 1, 2 las cuales se realizan tomando en cuenta las circunstancias estereoelectrónicas óptimas, i.e. cuando los grupos apropiados son *trans* y co-planares.

4.- Todas las transformaciones entre escualeno y el producto final ocurren en secuencia sin parar, i.e. sin la intervención de cualquier intermediario estable formado por pérdida de protón o adición de nucleófilos.

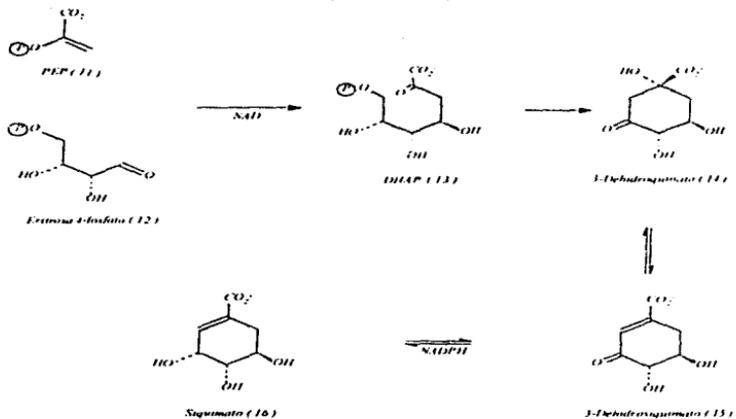
## 1.1.3 FLAVONOIDES.

Los flavonoides son los responsables de la variedad de colores que se encuentran en las plantas y algunos como los rotenoides, son insecticidas. El esqueleto básico de las flavonas (7); puede sufrir hidroxilaciones, O-metilación y formación de glucósidos, así como oxidación del anillo B, como se aprecia en las antocianidinas (8). Algunas otras variaciones están asociadas con el rearrreglo en el anillo B; como en las isoflavonas (9); y rotenonas (10)<sup>6</sup>.



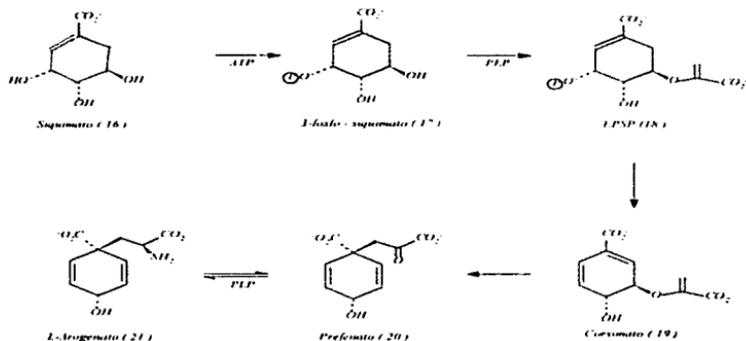
### 1.1.3.1 Biosíntesis

La ruta metabólica del ácido siquímico da lugar a un gran número de compuestos aromáticos relacionados a los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina. Dicha ruta comienza con la condensación del fosfoenolpiruvato (PEP) (11) y 4-fosfato eritrosa (12) para dar origen al 7-fosfato-3-desoxi-D-arabino-heptuloseonato (DHAP) (13), una reacción catalizada por la enzima DHAP sintasa (fosfo-2-deshidro-3-desoxiheptonato-aldosa), la deshidroquinato sintasa cataliza la conversión de DHAP (13) a 3-deshidroquinato (14) mediante una secuencia de reacciones que comprenden una oxidación, una  $\beta$  eliminación, una reducción y una condensación aldólica intramolecular. La deshidratación del 3-deshidroquinato (14) al 3-deshidrosiquimato (15) es catalizada por la 3-deshidroquinasa, a su vez, la siquimato cataliza la reducción reversible del 3-deshidrosiquimato (15) al siquimato (16). En el esquema 2 se ilustra la biosíntesis de Siquimato.



Esquema 2 Biosíntesis de Siquimato

La fosforilación del siquimato (16) al 3-fosfato-siquimato (17) es catalizada por la siquimato-quinasa (ATP-siquimato 3- fosforotransferasa) en presencia de ATP. La EPSP-sintasa (3- fosfoquimato 1-carboxiviniltransferasa) cataliza la condensación del siquimato 3-fosfato con PEP para producir el enol éter 3-fosfato-5-enolpiruvilsiquimato (EPSP) (18), la eliminación de ácido fosfórico a partir del EPSP por la enzima corsimato sintasa (5-enolpiruvilsiquimato 3-fosfato liasa) da origen al corsimato (19), la corsimato mutasa cataliza el acomodo análogo a un reacondo de Claisen del corsimato al prefenato (20) finalmente la enzima prefenato aminotransferasa (PLP) cataliza la conversión de prefenato (20) a L-arogenato (21). En el esquema 3 se muestra la biosíntesis de L-arogenato.



Esquema 3 Biosíntesis de L-Arogenato

El origen de los flavanoides muestra a dos precursores directos, el 4-coumaril-CoA y la malonil CoA. La malonil-CoA es sintetizada a partir de acetil-CoA y bióxido de carbono, reacción catalizada por la enzima acetil carboxilasa. La formación de 4-coumarina-CoA es más compleja, ya que está asociada a la vía siquimato-arogenato, la principal ruta para los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina, así la transformación de fenilalanina al trans-cinamato el cual es precursor de 4-coumarina CoA, es catalizada por la enzima fenilalanina amonio-ligasa como un enlace entre el metabolito primario y los

fenilpropanoides. La hidroxilación aromática del *trans*-cinamato es efectuada por la 4-hidroxilasa, mientras que la 4-coumaril-CoA se obtiene por la acción de la enzima 4-coumarato-CoA ligasa.

El paso principal en la biosíntesis de los flavonoides es la condensación de tres moléculas de malonil-CoA con una de 4-coumaril-CoA para producir un intermediario de tipo chalcona (2,2',4',6-tetrahidroxichalcona). La reacción es catalizada por la enzima chalcona sintetasa. Flavonoides, auronas y otros difenilpropanoides son derivados del intermediario chalcona. La transformación por acción estereoespecífica de la enzima chalcona isomerasa provee el flavonoide (2S)-flavanona (como la naringenina).

Transformaciones oxidativas implican un cambio 2,3 anillo, produciendo un intermediario tipo isoflavona (como la genisteína). Esta reacción es catalizada por la enzima isoflavona sintetasa. La introducción de un doble enlace entre C2 y C3 en las flavanonas conduce a una abundante clase de flavonas (como la apigénina). Dos diferentes enzimas son reconocidas como los catalizadores de esta reacción, la dioxigenasa y en función mixta la monooxigenasa. Los dihidroflavanoles son formados por la hidroxilación directa de flavanonas en la posición 3; esta reacción es catalizada por la dioxigenasa, flavanona, 3-hidroxilasa. Los dihidroflavanoles son intermediarios biosintéticos en la formación de flavanoles, catequinas, proantocianidinas y antocianidinas. Los flavanoles son formados por la introducción de un doble enlace entre C-2 y C-3 de los dihidroflavanoles, las enzimas

reconocidas para esta reacción son: la flavanol sintetasa y la dioxigenasa. La reducción del grupo carbonilo en los dihidroflavanoles en la posición 4 da como resultado 2,3-trans-cis-dioles (como las leucoantocianidinas). Estos compuestos son precursores inmediatos para la síntesis de catequinas y proantocianidinas. Las catequinas son sintetizadas de leucoantocianidinas por acción de la enzima flavan-3,4-cis-diol reductasa. Las proantocianidinas son formadas por la condensación de catequinas y leucoantocianidinas. La modificación por hidroxilación en el anillo A y en particular del anillo B, así como la metilación de grupos hidroxilo o bien reacciones de glicosilación y acilación producen la inmensa diversidad de flavonoides encontrados en la naturaleza<sup>19</sup>. En el esquema 4 se muestra la ruta biogénica para los flavonoides.





### 1.1.4 CARBOHIDRATOS.

El origen de la química de los carbohidratos data de las civilizaciones más antiguas, así por ejemplo, la elaboración de cerveza y vino del azúcar del grano de almidón y la uva está bien documentada en las paredes de las antiguas tumbas egipcias.

En el siglo XIX, cuando las fórmulas empíricas de muchos compuestos orgánicos fueron determinadas, fueron descubiertas las de todos los azúcares conocidos hasta ese entonces teniendo la fórmula  $C_n(H_2O)_n$ . De acuerdo con esta fórmula se pensó que este tipo de compuestos eran hidratos de carbono y así fueron llamados carbohidratos.

Hoy día, el uso de la palabra carbohidrato se aplica a un largo número de compuestos orgánicos, monoméricos, oligoméricos y poliméricos, que no necesariamente tienen átomos de hidrógeno y oxígeno en relación 2:1 pero los cuales pueden ser sintetizados o hidrolizados a partir de monosacáridos.

#### **1.1.4.1 Clasificación.**

Los carbohidratos son clasificados de acuerdo a su grado de polimerización en: carbohidratos monoméricos, que incluyen monosacáridos y sus derivados. Tabla 2 y carbohidratos poliméricos, los cuales comprenden oligosacáridos. Tabla 3, polisacáridos Tabla 4, DNA y RNA.

##### **A. Monosacáridos**

Los monosacáridos son polihidroxicetonas los cuales existen con frecuencia en forma de hemiacetales cíclicos. Son divididos en dos grupos: aldosas y cetosas, de acuerdo al grupo funcional que posea su forma acíclica.

##### **B. Oligosacáridos.**

Oligosacáridos y polisacáridos son poliacetates, los cuales tienen respectivamente, como su nombre lo denota ( del griego oligos, pocos; y poli, muchos ) un bajo (  $GP=2-10$  ) y alto (  $GP> 10$  ) grado de polimerización.

Estos compuestos se forman por la unión de monosacáridos enlazados por puentes del oxígeno-acetal y son despolimerizados por hidrólisis para dar uno o más tipos de monosacáridos. Los oligosacáridos se clasifican en base al grado de polimerización en, disacáridos, trisacáridos, tetrasacáridos etc., y de acuerdo a la cadena no oligomérica del grupo funcional del hemiacetal, en aldosas y cetosas.

Los grupos terminales que son convertidos a ácidos carboxílicos por oxidantes suaves son referidos como **reductores** y en contradicción aquellos resistentes a la oxidación son designados como **no-reductores**.

### C. Polisacáridos

Polisacáridos y oligosacáridos son poliméricos en la naturaleza y son estructuralmente similares (ambos son poliacetales que contienen puentes de oxígeno enlazando a las unidades de monosacáridos) pero tienen una marcada diferencia en el grado de polimerización. Son varias las formas de clasificar a los polisacáridos, la clasificación utilizada en la mayoría de los libros de texto de química distingue entre: a) Polisacáridos verdaderos (aquellos de los que por depolimerización se obtiene sólo mono y oligosacáridos y sus derivados: ésteres o éteres) y b) Polisacáridos conjugados (proviene de la unión de polisacáridos con otros polímeros como: péptidos o proteínas). Estos polisacáridos a y b se agrupan en dos clases 1) homopolisacáridos (cuando las unidades monoméricas son de un solo tipo de monosacáridos) y 2) heteropolisacáridos (cuando las unidades monoméricas son de más de un tipo de monosacáridos).

**Derivados.**

Un amplio número de compuestos derivados de carbohidratos, son artificialmente divididos conforme a cierta clasificación; por ejemplo, los antibióticos que contienen carbohidratos constituyen un grupo de complejas moléculas orgánicas de importancia terapéutica. Algunos otros miembros son derivados de monosacáridos y son agrupados dentro de esta clase y separados relativamente de los derivados de oligosacáridos<sup>21</sup>. En la tabla 5 se muestran los más representativos.

ALDOSAS				
Monosacárido	Aldosa	No.de C quirales	Aldofuranosa	Aldopiranosas
Triosa	Aldotriosa	1		
Tetrosa	Aldotetrosa	2	Tetrofuranosa; aldotetrafurano sa.	
Pentosa	Aldopentosa	3	Pentofuranosa; Aldopentofura nosa.	Pentopiranosas; aldopentopiran osa.
Hexosa	Aldohexosa	4	Hexofuranosa; aldohexofurano sa.	Hexopiranosas; aldohexopirano sa.
Heptosa	Aldoheptosa	5	Heptofuranosa aldoheptofuran osa.	Heptopiranosas aldoheptopiran osa.

Tabla 2. Clasificación de monosacáridos

Octosa	Aldo-octosa	6	Octofuranosa; aldo- octofuranosa	Octopiranosas; aldo- octopiranosas
Nonosa	Aldononosa	7	Nonofuranosa; aldononofuranosa	Nonopiranosas; Aldononopiranosas
Decosa	Aldodecosa	8	Decofuranosa; aldodecofurano- sa.	Decopiranosas; aldodecopirano- sa.

Tabla 2 ( cont. ) Clasificación de monosacáridos.

CETOSAS				
Monosacárido	Cetosa	No. de C quiral	Cetofuranosa	Cetopiranosas
Tetrosa	Tetrulosa	1		
Pentosa	Pentulosa	2	Pentulofuranos a	
Hexosa	Hexulosa	3	Hexulofuranos a	Hexulopiranos a
Heptosa	Heptulosa	4	Heptulofuranos a	Heptulopiranos a
Octosa	Octulosa	5	Octulofuranosa	Octulopiranosas
Nonosa	Nonulosa	6	Nonulofuranos a	Nonulopiranos a
Decosa	Deculosa	7	Deculofuranos a	Deculopiranosas

Tabla 2 ( cont ) Clasificación de monosacáridos

REDUCTORES		NO-REDUCTORES	
Homo- oligosacáridos	Hetero- oligosacáridos	Homo- oligosacáridos	Hetero- oligosacáridos
I. Disacáridos			
Maltosa	Lactosa	Trealosa	Sacarosa
4- $\alpha$ -D-Glcp-D-Glc	4- $\beta$ -D-Galp-D-Glc	$\alpha$ -D-Glcp- $\alpha$ -D-	$\beta$ -D-Fruf- $\alpha$ -D-GlcP
Cellobiose	Lactulosa	Glcp Isotrealosa	Isosacarosa
4- $\beta$ -D-Glcp-D-Glc	4- $\beta$ -D-Galp-D-Fru	$\beta$ -D-Glcp- $\beta$ -D-	$\alpha$ -D-Fruf- $\beta$ -D-Glcp
Isomaltosa	Melibiosa	Glcp	
6- $\alpha$ -D-Glcp-D-Glc	6- $\alpha$ -D-Galp-D-Glc		
Gentiobiosa	Turanosa		
6- $\beta$ -D-Glcp-D-Glc	3- $\alpha$ -D-Glcp-D-Fru		

Tabla 3. Clasificación de oligosacáridos.

REDUCTORES		NO-REDUCTORES	
Homo-oligosacárido	Hetero-oligosacárido	Homo-oligosacárido	Hetero-oligosacárido
<b>2. Trisacáridos</b>			
Maltotriosa 4- $\alpha$ -D- Glc-p-maltosa	Mannotriosa 6- $\alpha$ -D- Galp-melibiosa		Rafinosa 6- $\alpha$ -D- Galp-sacarosa
<b>3. Tetrasacáridos</b>			
Maltotetraosa 4- $\alpha$ -D- Glc-p-maltotriosa			Estaquirosa 6- $\alpha$ -D- Galp-rafinosa
<b>4. Pentasacáridos</b>			
<b>5. Hexasacáridos</b>			
<b>6. Heptasacáridos</b>			
<b>7. Octasacáridos</b>			
<b>8. Nonasacáridos</b>			
<b>9. Decasacáridos</b>			
	Oligosacáridos conjugados		Glicolípidos

Glc, glucosa; Gal, galactosa; Fru, fructosa; F, fucanosa; p, piranosa

Tabla 3. ( cont. ) Clasificación de oligosacáridos

HOMOPOLISACÁRIDOS		HETEROPOLISACÁRIDOS	
Lineal	Ramificado	Lineal	Ramificado
Amilosa ( $\alpha$ -D-glucan )	Amilopectina	Mannanas	Gomas
Celulosa ( $\beta$ -D-glucan )	Glicogeno	Xilanos	Mucilagos
Quitina ( D-glucosamina )			Pectinas
			Algina, Agar
		Polisacáridos conjugados	

Tabla 4 Clasificación de polisacáridos

DERIVADO	REPRESENTATIVO
Alcoholes	Ciclitoles
Ésteres	Ésteres de fosfato
Glicósidos	Arbutina
Ácidos	

Tabla 5 Derivados de carbohidratos.

## 1.1.4.2 Ciclitoles.

Dentro de los derivados de los carbohidratos se encuentran los ciclitoles, conocidos como inositol, los cuales son hexahidroxociclohexanos que derivan de la reducción del grupo carbonilo de la D-Glucosa-o-fosfato, del cual existen siete formas meso y un par D-L, dando un total de nueve posibles estereoisómeros (fig.3)

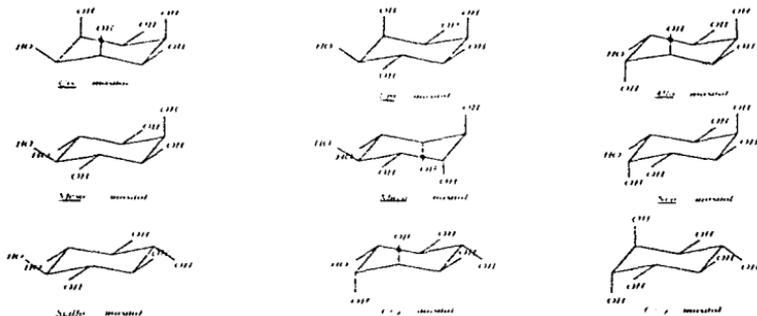


fig. 3 isómeros del inositol

### 1.1.4.3 Biosíntesis.

Los inosítoles, así como compuestos cíclicos relacionados, son formados a partir de la molécula intacta de glucosa, de esta manera el C-1 de la glucosa pasa a ser el C-6 del myo-inositol por medio de la catálisis de la enzima cicloaldolasa, la cual convierte a la D-glucosa-6-fosfato en myo-inositol-1-fosfato. La mayoría de los otros derivados se deben a transformaciones y diferentes ciclizaciones. Aparentemente, en la biosíntesis de inositol existe una pausa imprevista en la vía de los derivados del ácido urónico y de ahí continúa por la vía de la citosa-UDP y la pentosa fosfato.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL.

### 2.1 Aparatos y material utilizados

La separación de metabolitos secundarios fue realizada por cromatografía en columna técnica flash (CF) empleando como fase estacionaria gel de sílice Merck 60-CF<sub>14</sub>.

Para cromatografía en capa fina se utilizaron cromatofolios Alugram Sil G-UV<sub>254</sub>, utilizándose como revelador una solución de sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N y luz UV.

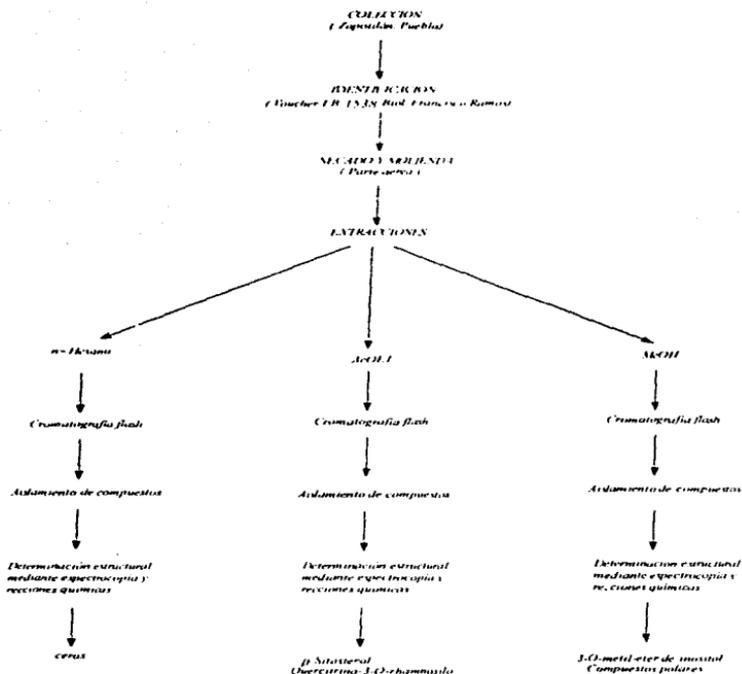
Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Jones y no están corregidos. La espectrofotometría de absorción en el infrarrojo (IR) fue determinada en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 283B y Nicolet S5X.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrogeno (RMN <sup>1</sup>H) y de Carbono trece (RMN <sup>13</sup>C), fueron determinados en un espectrofotómetro Varian Gemini y VXR. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) están dados en ppm, utilizando como referencia interna Tetrametilsilano. La multiplicidad de las señales se expresa: s=singulete, d=doblete, dd=doble de doble, t=triplete, m=multiplete.

Los espectros de masas fueron obtenidos en un espectrómetro de masas Hewlett-Packard 5985 B GCMS System, utilizándose la técnica de ionización por impacto electrónico a 70 eV (EM-IE).

El análisis de difracción de rayos X (RX) fue realizado en un difractómetro Siemens Rm/V utilizando una radiación tipo CuK $\alpha$  ( $\lambda = 1,54178 \text{ \AA}$ ) y monocromador de grafito.

En el esquema 4 se muestra la estrategia seguida para la realización del presente estudio.



Esquema 3

## 2.2 MATERIAL VEGETAL

El espécimen de *Mimosa albida* fue recolectado el 15 de Diciembre de 1993 en los alrededores de Zapotitlán, Puebla. Depositado en el herbario nacional de México, (Voucher FB 1538).

El estudio se efectuó con 250g de la parte aérea del material vegetal previamente secado y molido, el cual fue sometido a una serie de extracciones sucesivas con tres disolventes de polaridad ascendente (n-hexano, AcOEt y MeOH) a temperatura ambiente y concentrados a presión reducida. Dichos extractos se trabajaron por separado para el aislamiento de los metabolitos secundarios.

**Extracto hexánico.**

El extracto hexánico se obtuvo como una pasta verdosa (25.5 g), la cual se sometió a un proceso cromatográfico mediante una columna cuyo soporte fue sílica-gel, la cual fue eluida con mezclas de polaridad ascendente *n*-hexano/AcOEt y reuniéndose aquellas fracciones que presentaban similar *r<sub>f</sub>*, obteniéndose en la mayoría de éstas, hidrocarburos según las bandas de absorción mostradas en el infrarrojo (2850, 2970, 1468 y 1300  $\text{cm}^{-1}$ ), a excepción de las fracciones 38-42 (*n*-hexano/AcOEt 1:1), donde se obtuvo un aceite amarillo cuyo espectro de infrarrojo mostró bandas en la región 3480  $\text{cm}^{-1}$ , lo que indicaba la presencia de grupos OH en la muestra (44.9 mg), por lo que se realizó una reacción de esterificación con el cloruro de *p*-bromobenzoilo (50 mg) en piridina (3 mL), una vez transcurrido el tiempo de reacción (72 hr) se procedió a eliminar el exceso de piridina mediante una solución de  $\text{CuSO}_4$  al 1% (125 mL). Al trabajar la reacción siguiendo esta metodología se obtuvo un producto cristalino (producto 1) con p.f. 209-210  $^{\circ}\text{C}$  que fue identificado, mediante el análisis de sus datos espectroscópicos y físicos (*vide infra*) como el anhídrido *p*-bromobenzoico.

**IR (KBr):** 1786  $\text{cm}^{-1}$  (C=O), 1587  $\text{cm}^{-1}$  (C=C Ar).

**RMN  $^1\text{H}$**  (200 MHz  $\text{C}_6\text{D}_6$ , N-TMS)  $\delta$  ppm, 7.71 (d 2H, H-3 y H-5; J=8.68 Hz), 8.07 (d 2H, H-2 y H-5; J=8.82 Hz).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (C,D,N-TMS): 127.641 (C-3), 127.39 (C-5), 128.125 (C-2), 128.606 (C-6), 132.359 (C-4), 132.611 (C-1), 161.939 (C=O).

**EM-IE** (70 eV)  $m/z$  (% ab. Rel): 384  $\text{M}^+$  (100); 356  $[\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{Br}]^+$  (5); 200  $[\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_2\text{Br}]^+$ , 183  $[\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_2\text{Br}]^+$  (100), 155  $[\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{Br}]^+$  (20), 76  $[\text{C}_6\text{H}_8]^+$  (15.833), 50  $[\text{C}_4\text{H}_6]^+$  (8.33)

#### Extracto de Acetato de etilo.

Se colocaron 10.52g del extracto en una columna cromatográfica, utilizando como soporte sílica-gel la cual se eluyó con mezclas *n*-hexano/AcOEt y AcOEt/MeOH de polaridad ascendente. En las fracciones 59-70 (*n*-hexano/AcOEt 8:2) se aislaron cristales blancos, incoloros con p.f. 119-121  $^{\circ}\text{C}$ . El análisis de sus datos espectroscópicos (*vide infra*) así como la comparación con muestra auténtica permitió identificarlo como  $\beta$ -sitosterol (producto 2).

**RMN  $^1\text{H}$**  (200 Mhz,  $\text{CDCl}_3$ -TMS)  $\delta$  ppm: 5.36 (dddd 1H, H-C=); 3.55 (mc 1H, H-C-OH); 3.4-1.1 (mc  $\text{C}_{17}\text{H}_{33}$ ); 1.1-0.7 (m 15H,  $6\text{CH}_2$ )

**EM-IE** (70 eV)  $m/z$  (% abrel): 414  $\text{M}^+$  (100); 276  $[\text{C}_{26}\text{H}_{46}]^+$  (10.6); 273  $[\text{C}_{25}\text{H}_{42}]^+$  (26); 255  $[\text{C}_{24}\text{H}_{38}]^+$  (33.3); 238  $[\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}]^+$  (10.6); 231  $[\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}]^+$  (18.7); 213  $[\text{C}_{20}\text{H}_{26}]^+$  (41.4); 138  $[\text{C}_9\text{H}_{16}]^+$  (18.77); 120  $[\text{C}_8\text{H}_{14}]^+$  (30)

Una alícuota del extracto de acetato de etilo se cromatógrafió mediante columna empacada con sílica-gel pero eluida con 250 ml. de cada uno de los siguientes sistemas de polaridad ascendente: n-hexano; n-hexano/AcOEt 1:1 y AcOEt (100 %) respectivamente, recolectándose por separado y dejándose reposar todos por espacio de 24 hr. En el sistema n-hexano/AcOEt 1:1 se presentó un precipitado amorfo de color amarillo con p.f. 165-168 °C identificado como Quercitrina-3-O-rhamnosilo (producto 3) mediante la comparación de sus datos espectroscópicos (*vide infra*) con aquellos publicados para tal producto<sup>1</sup>.

IR (KBr)  $\nu$  máx.: 3325  $\text{cm}^{-1}$  (banda ancha OH), 1655  $\text{cm}^{-1}$  (C=O), 1605  $\text{cm}^{-1}$  (C=C Ar).

RMN  $^1\text{H}$  (200 Mhz DMSO- $d_6$ -FMS)  $\delta$  ppm: 0.95 (d 3H, CH<sub>3</sub>), 3.2 (sa 1H, H-5), 3.25 (s 1H, H-3), 3.29 (s 1H, H-4), 4.12 (s 1H, H-2), 5.35 (s 1H, H-1), 6.19 (s 1H, H-6), 6.35 (s 1H, H-8), 6.9 (s 1H, H-5'), 7.25 (dd, 1H, H-6'), 7.35 (dd 1H, H-2').

RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO)  $\delta$  ppm: 177.861 (C-4), 163.877 (C-7), 161.221 (C-5), 157.259 (C-2, 9), 156.666 (C-2,9), 147.958 (C-4'), 144.603 (C-3'), 134.459 (C-3), 121.241 (C-1', 6'), 115.955 (C-2',5'), 115.332 (C-2',5'), 104.512 (C-10), 101.513 (C-1'), 98.688 (C-6), 93.651 (C-8), 71.577 (C-4'), 70.640 (C-2',3',5'), 17.164 (C-6').

**Extracto Metanólico.**

El extracto se hizo pasar a través de una columna de carbón activado-celita, utilizando metanol caliente como disolvente, se concentró a presión reducida y se colocó en una columna cromatográfica empacada con sílica-gel para su separación y purificación, la cual se eluyó con sistemas de polaridad ascendente *n*-hexano/AcOEt; AcOEt/MeOH, específicamente en las fracciones 16-20 (AcOEt/MeOH 1:1) se obtuvo un precipitado el cual, se recrystalizó de MeOH, obteniendo cristales incoloros transparentes con p.f: 189-191 °C. El análisis de sus datos espectroscópicos permitió identificarlo como 3-O-metil-éter de inositol (producto 4).

**IR** (KBr)  $\nu$  máx. : 3400  $\text{cm}^{-1}$  (banda de OH), 2909  $\text{cm}^{-1}$  (C-H).

**RMN  $^1\text{H}$**  (200 Mhz. DMSO- $\text{TMS}$ ) $\delta$  ppm : 2.99 (dd 1H, H-1), 3.37 (s 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.25-3.55 (mc 5H, OH), 4.33-4.79 (m 5H, CH).

**EM-IE** (70 eV)  $m/z$  (% a. rel.): 194  $\text{M}^+$  [ $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_6$ ] $^+$  (5) , 116 [ $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$ ] $^+$  (73), 87 [ $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ] $^+$  (100), 44 [ $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ ] $^+$  (8).

**Acetilación del 3-O-metil-éter de inositol (4).**

La reacción de acetilación del producto 4, se llevó a cabo disolviendo 50 mg de 4 en 0.5 mL de piridina, a esta solución se le adicionó 0.5 mL de anhídrido acético. La reacción se dejó 48 hrs en una temperatura de 48-50° C. Pasado este tiempo la reacción se trabajó de manera usual, produciendo 48 mg de producto acetilado.

El análisis de sus datos espectroscópicos (*vide infra*) permitió identificarlo como el peracetato de 4.

I.R. (CHCl<sub>3</sub>) v máx. : 2941. cm<sup>-1</sup> (C-H), 1754. cm<sup>-1</sup> (carbonilo de acetato).

RMN <sup>1</sup>H (200 Mhz. CDCl<sub>3</sub>-TMS) δ ppm : 1.95-2.12 (4s 15H, 5×OCOCH<sub>3</sub>), 3.47 (s 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.63 (dd H-3, J=9.00 Hz y J=10.03 Hz), 5.21 (dd H-2, J= 2.38 y J=10.08 Hz), 5.21 (dd H-5, J= 2.76 Hz y J=10.38 Hz), 5.32 (m 2H, H-2 y H-5).

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>-TMS) δ ppm : 168.96; 169.17; 169.62; 169.99 (OCOCH<sub>3</sub>), 78.56 (C-3), 70.91 (C-1) 69.20 (C-6), 67.56 (C-5), 67.48 (C-2), 60.59 (CCH<sub>3</sub>), 20.74, 20.58 (OCOCH<sub>3</sub>).

EM-IE (70 eV) m/z (% a. rel.): 404 M<sup>+</sup> (0.83) , 242 [C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup> (10.83), 182[C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup> (72.5), 140 [C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (75), 43[C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O]<sup>+</sup> (100).

La estereoestructura de **4** fue confirmada mediante un estudio de difracción de rayos X (fig.4).

**Difracción de rayos X** : Tamaño 0.52X0.16X0.14, monoclinico con dimensiones de celda unitaria de:  $a=12.917(4) \text{ \AA}$ ;  $b=13.9996(4) \text{ \AA}$ ;  $c=5.862(2) \text{ \AA}$ ,  $\beta=97.610(0)^\circ$ , volumen de  $1050.56(6) \text{ \AA}^3$ , densidad (calc.)  $1.367 \text{ Mg/m}^3$ , coeficiente de absorción  $1.006 \text{ mm}^{-1}$

**R.O.:**  $[\alpha]_D^{25} = +58.39^\circ$

## 3. DISCUSIÓN

3.1 Anhídrido *p*-bromobenzoico.

Como producto de la reacción de esterificación con el cloruro de *p*-bromobenzoilo en piridina, realizada a las fracciones 38-42 (*n*-hexano/AcOEt 1:1), provenientes de la columna cromatográfica del extracto de *n*-hexano, las cuales mostraron en IR banda de grupos alcohol, se obtuvieron cristales incoloros transparentes p *f*: 209-210 °C; el cual fue identificado por sus propiedades espectroscópicas. Así en el espectro de absorción de infrarrojo (espectro 1) resaltan las señales en 1786.946  $\text{cm}^{-1}$  característica del grupo carbonilo y 1587.279  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a la unión C-C. Por otra parte en el espectro de masas (espectro 2) se observa la presencia de M<sup>+</sup> 384 lo cual aunado a los datos obtenidos de los espectros de RMN <sup>1</sup>H (espectro 3) y RMN <sup>13</sup>C (espectro 4) (*vide infra*) nos indujo a pensar que la reacción de esterificación no se había llevado a cabo y que debido a la forma como se trabajó el residuo se había obtenido el anhídrido del ácido *p*-bromobenzoico de acorde con lo publicado<sup>12</sup>.



De esta manera del espectro de RMN <sup>1</sup>H (200 Mhz C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>,N-TMS) destacan las señales de un sistema AA'BB' a  $\delta$ : 8.07 ppm (*J*: 8.82 Hz) y  $\delta$ : 7.71 ppm (*J*: 8.68 Hz), las cuales se asignaron a los protones aromáticos de los dos anillos benzenicos del residuo *p*-bromobenzoilo de la molécula. Por otra parte en el espectro de RMN <sup>13</sup>C, sólo se observan cinco átomos de carbono diferentes en la molécula, por lo cual se propuso la

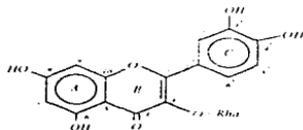
presencia de átomos de carbono equivalentes para los dos anillos bencénicos induciéndonos a pensar que la conformación en el espacio que presenta la molécula es de tipo transoide por ser esta la más estable. De esta manera, la señal que aparece en  $\delta$ -161.93 ppm fue signada inequívocamente a los dos grupos carbonilo de la molécula asimismo, la señal que se encuentra en  $\delta$ -132.61 ppm se asigna a los cuatro átomos de carbono localizados en las posiciones *orto* a los grupos carbonilo de los anillos bencénicos el cual provoca un desplazamiento hacia campos más bajos, en comparación con los átomos de carbono que se encuentran *orto* al átomo de bromo y cuya señal asignada aparece en  $\delta$ -132.36 ppm. A su vez, debido a la conformación transoide de la molécula, los átomos de carbono *ipso* al carbonilo y bromo, no presentan el mismo desplazamiento para los dos anillos bencénicos, así la señal asignada a los carbonos del grupo carbonilo en el anillo A aparece en  $\delta$ -127.93 ppm mientras que en el anillo B aparece en  $\delta$ -127.64 ppm, las cuales se encuentran desplazadas hacia campos más altos en comparación con las señales asignadas a los átomos de carbono base de bromo que aparecen en  $\delta$ -128.6 ppm para el anillo A y  $\delta$ -128.12 ppm para el del anillo B. Respecto al espectro de masas el  $M^+$  fue detectado, observándose también los fragmentos  $m/z$  200 correspondiente al ion  $C_7H_5O_2Br$ ,  $m/z$  184 correspondiente a  $C_7H_4OBr$ ,  $m/z$  156 el cual corresponde al ion  $C_7H_4Br$ ,  $m/z$  76 para un fragmento de  $C_2H_2$  proveniente de la pérdida de bromo, constatando de esta manera la presencia del mismo dentro de la molécula. Por lo antes expuesto el producto 1 fue identificado como el anhídrido *p*-bromobenzoico.

### 3.2. $\beta$ -sitosterol.

De la columna cromatográfica del extracto de acetato de etilo, específicamente en las fracciones 59-70 (n-hexano/AcOEt 1:1), se aisló  $\beta$ -sitosterol (esterol muy común en los vegetales); como cristales blancos p.f. 119-121 °C, producto natural que se identificó por comparación de sus propiedades físicas con muestra auténtica y datos espectroscópicos publicados.

### 3.3. Quercitrina-3-O-rhamnosilo.

También del extracto de AcOEt se aisló una sustancia amorfa de color amarillo con p.f. 165-168 °C, cuyo espectro de infrarrojo (espectro 5) exhibe una banda ancha en 3325.11  $\text{cm}^{-1}$  característica del grupo OH, en la región 1655  $\text{cm}^{-1}$  se encuentra una banda característica del grupo carbonilo de una cetona y en 1605  $\text{cm}^{-1}$  se observan bandas correspondientes a la unión C=C características para compuestos aromáticos. A su vez, el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (espectro 6) muestra señales acordes a la presencia de un compuesto flavonoide sustituido, tanto por los datos obtenidos del espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  así como los del espectro de I.R., los cuales son consistentes para este tipo de compuestos



Debido a que en conjunto los anillos A, B y C del esqueleto base de las flavonas contienen quince átomos de carbono, se dedujo la presencia de un glicósido que aportará los cinco átomos de carbono restantes, ya que es común encontrar a este tipo de compuestos como sustituyentes en los compuestos flavonoides. De esta manera en el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  la señal que aparece en  $\delta$  177.86 ppm fue asignada al carbono en C-4, las señales que se encuentran en  $\delta$  163.87 ppm,  $\delta$  161.22 ppm se asignaron a los carbonos C-7 y C-5, respectivamente, debido a la protección por parte de los grupos hidroxilo que se encuentran en los átomos de carbono vecinos en el caso de C-7, y los grupos hidroxilo y carbonilo presentes en los átomos de carbono vecinos a C-5. Por otra parte las señales que se encuentran en  $\delta$  147.95 ppm y  $\delta$  144.60 ppm se asignaron a C-3' y C-4'. Así mismo, la señal característica del átomo de carbono anómico C-1" se ubica a  $\delta$  = 101.51 ppm, desplazamiento significativamente localizado a campo bajo en comparación con las señales de los demás átomos de carbono constituyentes de la rhamnosa, debido a que forma parte del cetil del residuo rhamnósido. Finalmente, en la región  $\delta$ =17.16 ppm aparece la señal asignada a el C-6" que corresponde al carbono del grupo metilo del glicósido. En la tabla 6 se muestran los valores de las señales asignadas a los diferentes carbonos presentes en el producto 3. Por otra parte, en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 7) aparece en  $\delta$  0.95 ppm una señal d la cual se asignó a los protones del grupo metilo de la rhamnosa. En la región  $\delta$  3.2-5.35 ppm se observan varias señales que fueron asignadas a los protones H-1", H-2", H-3", H-4" y H-5"; por otra parte en  $\delta$  6.19 y  $\delta$ =6.35 ppm se observan dos señales d correspondientes a protones aromáticos, que fueron asignadas a los protones H-6 y H-8. En  $\delta$  6.9 ppm aparece una señal dd la cual se asignó al protón H-5', por otro lado en  $\delta$  7.25 ppm y  $\delta$  7.35 ppm se encuentran otras dos señales dd que se asignaron a los protones H-6' y H-2' respectivamente.

Desafortunadamente la cantidad del producto no fue suficiente para realizar estudios espectroscópicos más completos. Sin embargo, los datos espectroscópicos obtenidos fueron más que suficientes para identificar este producto como Quercitrina-3-O-rhamnosilo, mediante la comparación de los datos espectroscópicos obtenidos con aquellos publicados para esta molécula<sup>10</sup>.

#### 3.4. 3-O-metil-éter de inositol.

De la columna cromatográfica del extracto metanólico, se aisló de las fracciones 16-20 (AcOEt/MeOH 1:1) el producto **4** el cual presentó un p.f. 189-191 °C, cuyo espectro de absorción de infrarrojo (espectro 8) mostró una banda en 3400.73  $\text{cm}^{-1}$  característica del grupo OH y en 2909.72  $\text{cm}^{-1}$  una banda característica de la unión C-H.

Por otra parte el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  en su versión AP1 muestra la presencia de siete metinos, lo cual aunado a los datos obtenidos del espectro de RMN  $^1\text{H}$ , nos indujeron a pensar en la presencia de un hexahidroxociclohexano monosustituido ya que todos los datos son consistentes para ello; de esta manera en lo que respecta a el RMN  $^1\text{H}$  (espectro 9) presenta en  $\delta$  3.37 ppm una señal s característica de un grupo O-metilo en  $\delta$  2.99 ppm una señal dd la cual se asignó al protón base del mismo, y en la región  $\delta$  3.25-3.62 ppm se observa una señal múltiple compleja debida a los grupos OH que contiene la molécula la cual desapareció al agregar  $\text{D}_2\text{O}$  a la muestra.

No. De carbono	Desplazamiento químico $\delta$ ( ppm ) datos experimentales	Desplazamiento químico $\delta$ ( ppm ) datos publicados
2*	157.2	157.5
3	134.4	134.6
4	177.8	178.0
5	161.2	161.6
6	98.6	99.0
7	163.8	164.4
8	93.6	93.9
9*	156.6	156.7
10	104.5	104.5
2**	115.9	116.1
3'	144.6	145.4
4'	147.9	148.7
5**	115.3	115.9
6'	121.2	121.2
1''	101.5	102.2
2***	70.6	70.8
3'***	70.3	70.4
4''	71.5	71.7
6''	17.1	17.8

Tabla 6. Datos de RMN  $^{13}\text{C}$  de 3.

\*, \*\*, \*\*\*: Asignación intercambiable

Finalmente en la región  $\delta=4.33-4.72$  ppm se observa la presencia de tres señales d y una señal dd que integran en conjunto para cinco protones; mientras que en la versión APT del espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  sobresalen las señales en  $\delta=59.71$  ppm y  $\delta=83.85$  ppm las cuales se asignaron al carbono del grupo metilo y al carbono base del OMe respectivamente. Constatando la correcta proposición estructural por la detección en el espectro de masas de  $M^+ 194$  (espectro 10). Como resultado de la reacción de acetilación que se efectuó a dicho producto se obtuvieron cristales blancos con  $p.f. 78-80$  °C (producto 5), sobresaliendo en su respectivo espectro de IR (espectro 11) una banda adicional en la región  $1754.69$   $\text{cm}^{-1}$  la cual pone de manifiesto la presencia del grupo carbonilo del acetato, lo cual se ve ratificado por el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 12) en el que aparecen cuatro señales s adicionales en  $\delta=1.95$  ppm,  $\delta=2.00$  ppm,  $\delta=2.05$  ppm que integran para tres protones cada una y  $\delta=2.12$  ppm que integra para seis protones, las cuales fueron asignadas a quince protones de cinco grupos metilo, de donde se deduce la obtención del derivado per-acetilado, ya que también cabe mencionar la desaparición de la señal múltiple compleja que había sido asignada a los grupos OH, asimismo, se aprecia claramente el desplazamiento hacia campos más bajos de la señal asignada a el protón H-3 base del OMe debido al efecto electrónico y estérico como consecuencia de la introducción de los grupos acetato; de esta manera aparece como una señal dd que integra para un protón en la región  $\delta=3.63$  ppm con  $J=10.03$  Hz y  $J=9.00$  Hz debido a su interacción de tipo *trans*-axial con los protones H-2 y H-6, a la vez en  $\delta=5.38$  ppm aparece otra señal dd que integra para un protón la cual fue asignada a H-4 con  $J=10.34$  Hz y  $J=14.89$  debido su interacción *trans*-axial con H-3 y H-5; asimismo, en  $\delta=5.21$  ppm se encuentran dos señales dd que integran para un protón cada una y fueron asignadas a H-2 con  $J=10.08$  Hz y  $J=2.88$  Hz que son debidas a la interacción que tiene este protón de tipo *trans*-axial con H-3 y *cis*-eq. con H-1.

A su vez, la otra señal dd fue asignada a H-5 cuyas  $J=10.38$  Hz y  $J=2.76$  Hz son producto de las interacciones *trans*-axial con H-4 y *cis*-ec. con H-6, respectivamente. Finalmente, en  $\delta=5.32$  ppm aparece una señal múltiple que integra para dos protones la cual fue asignada a los protones H-2 y H-6, ya que ambos núcleos se encuentran bajo el mismo ambiente de protección. Por lo que respecta a el espectro de RMN  $^{13}C$  (espectro 13) en la tabla 7 se muestran los desplazamientos de las señales de los diferentes átomos de carbono presentes en el producto 5 sobresaliendo las señales en  $\delta=169.99$  ppm,  $\delta=169.62$  ppm,  $\delta=169.17$  ppm,  $\delta=168.96$  correspondientes a los grupos carbonilo y  $\delta=78.56$  ppm correspondiente a C-3 base de OMe. Aunado a los datos anteriores en el espectro de masas (espectro 14) se detectó la presencia de M 404 el cual es congruente con el peso molecular, sobresaliendo los fragmentos de  $m/z$  243 producto de la pérdida de  $2C_2H_3COOH + C_2H_3CO$ ,  $m/z$  182 proveniente de la pérdida de  $C_2H_3COOH$  y finalmente el fragmento  $m/z$  43 ruptura característica del ion acetyl ( $C_2H_3O$ ).

Por medio de los estudios de difracción de rayos X y rotación óptica realizados al producto 4 éste fue identificado como 3-O-metil-D-quirro-inositol.

No de carbono	Desplazamiento químico $\delta$ ( ppm ) datos experimentales	Desplazamiento químico $\delta$ ( ppm ) datos publicados
1	70.91	70.8
2*	67.48	67.5
3	78.56	78.5
4	70.72	70.7
5*	67.56	67.5
6	69.20	69.2

Tabla 7 datos de RMN  $^{13}\text{C}$  de 5.

\* asignación incierta.

#### 4. CONCLUSIONES

Como resultado del trabajo experimental se logró el aislamiento y elucidación estructural de los productos naturales conocidos como:  $\beta$ - sitosterol, 3-O- metil- éter de inositol y Quercitrina -3-O-rhamnosilo.

-  $\beta$ - sitosterol, esteroil muy común en los vegetales, perteneciente al grupo de los triterpenos, los cuales ocupan un papel importante en el esquema biogénico de triterpenoides y esteroides.

- 3-O-metil-éter de inositol, cuya estereoestructura se determinó mediante un análisis de difracción de rayos X, corroborando posteriormente por análisis espectroscópico, el cual es un derivado del inositol, siendo el más importante de éstos el *myo*-inositol, ya que se le atribuyen funciones intracelulares como mensajero secundario.

- Quercitrina-3-O-rhamnosilo; flavonoide ampliamente distribuido en las leguminosas, que de acuerdo con una revisión bibliográfica exhaustiva, es la primera vez que se aísla del género *Mimosa*

## 5. APÉNDICE

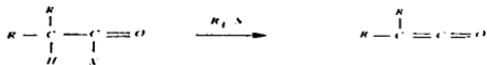
Se ha mencionado , como una adecuada manera de eliminar la piridina del seno de algunas reacciones, por ejemplo la acetilación, mediante un lavado con una solución de  $\text{CuSO}_4$  al 1%. Sin embargo, en el caso de reacciones con cloruros de acilo no es conveniente la utilización de esta técnica para dicho fin, ya que se ha demostrado que la piridina reacciona con el cloruro de acilo inalterado, formando la respectiva sal y ésta a su vez en presencia de agua produce el respectivo anhídrido de ácido. Así, Minunni preparó anhídrido benzoico con un rendimiento del 78% a partir de la mezcla de cloruro de benzoilo y piridina con agua, formulando la reacción como:



Wedekind sugirió la formación de un radical equivalente a una cetena a partir del haluro de acilo.



lo cual es factible ya que éstas pueden ser preparadas a partir de haluros de acilo con aminas terciarias.



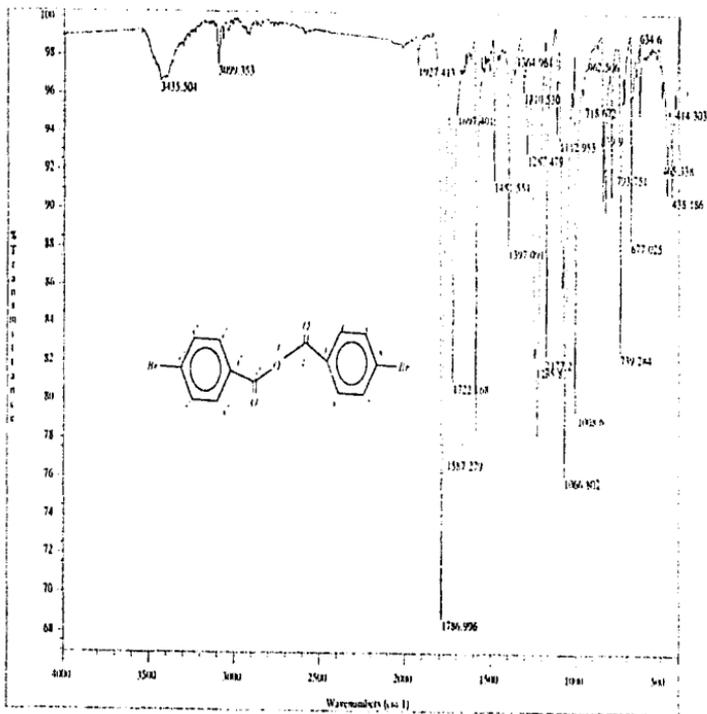
Por otra parte, Ipatieff y Friedman sugirieron que la formación de anhídridos a partir de un haluro de acilo con piridina, proviene de la reacción del haluro de acilo con ácido ( el cual puede estar presente como una impureza en el haluro de acilo, o es formado de éste por hidrólisis ). La preparación de anhídridos a partir de la reacción de un haluro de acilo y un ácido, en presencia de una base, es un procedimiento bien establecido y de amplia aplicación hoy día.

H. Adkins y E. Thompson<sup>24</sup> demostraron que los mayores rendimientos en la preparación de anhídridos, son obtenidos cuando la mezcla de reacción del cloruro de acilo y la amina, se encuentra libre de agua o ácido, mediante la formación del compuesto adicional postulado por Minunni e hidrolizando éste con 1 1/2 mol de agua por mol de haluro de acilo.

Ahora nosotros, mostramos las ventajas de utilizar  $\text{CuSO}_4$  al 1% en la obtención de anhídridos de acilo a partir del complejo haluro de acilo-piridina, de acuerdo con el siguiente procedimiento:

0.25 mmol de Cl-p-bromobenzoilo se disolvieron en 0.024 mmol de piridina, añadiendo posteriormente 20 ml. de  $\text{AcOEt}$  a la mezcla, con lo cual se produjo instantáneamente precipitación de un sólido blanco, el cual presumiblemente era el compuesto adicional postulado por Minunni, a continuación se procedió a realizar una serie de extracciones al sistema haluro de acilo-piridina +  $\text{AcOEt}$  con una solución de  $\text{CuSO}_4$  al 1% con el fin de hidrolizar al compuesto adicional y eliminar la piridina del seno de la reacción. Una vez finalizadas las extracciones la fase orgánica se seco con sulfato de sodio anhidro y se concentro a presión reducida, obteniendo 25 mg de producto cristalino con  $p.f = 214-215$  °C, con un rendimiento de 56.4% del teórico. De esta manera, se abre el campo para futuros estudios sobre ésta metodología para la preparación de anhídridos, en busca de la adecuada cantidad de piridina que debe contener la mezcla para la formación del compuesto adicional, ya que el reactivo limitante en la formación del anhídrido es directamente el compuesto adicional, y éste a su vez depende de la cantidad exacta de piridina para la formación del mismo, ya que H. Adkins, et al demostraron que un exceso de piridina en la mezcla es desventajoso y se refleja en un bajo rendimiento.

Espectro I



ESPECTROS

[ Mass Spectrum ]

Date : Martinez-Ma

Date : 01-Feb-99 11:27

Sample : 27613

Note : D-Martinez-Martinez-11025

Inlet : Direct

Ion Mode : E1+

Spectrum Type : Key (ar [95]-Linear)

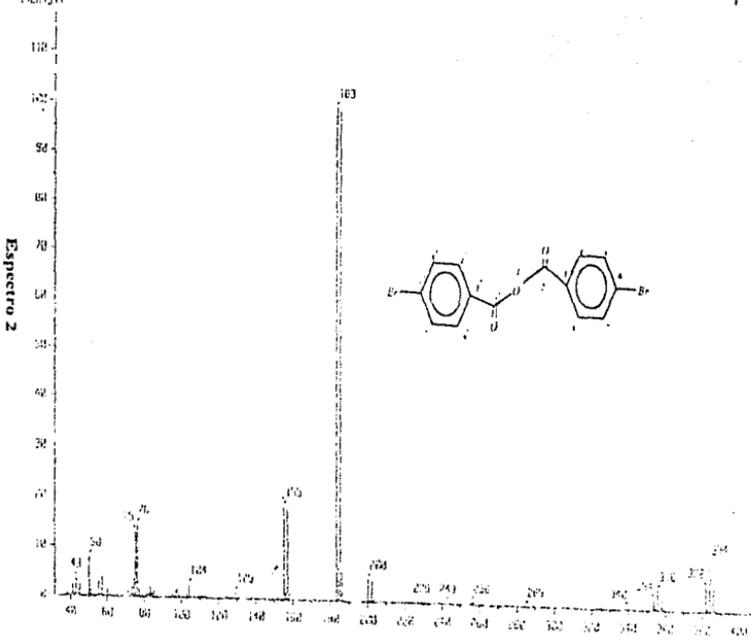
RT : 0.00 min Scan : 412, 131

Temp : 4.00 deg.C

SP : 162.0000 Int. : 1194.00

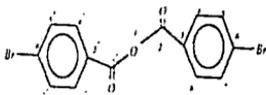
Output file range : 0.0000 to 497.0150

Cut Level : 2.00 %

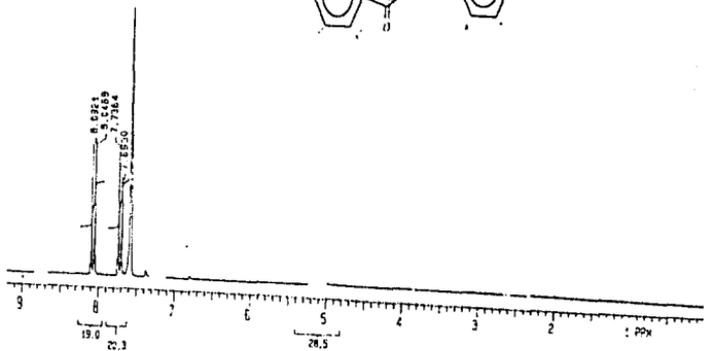


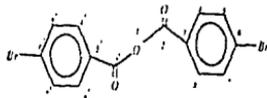
ESPECTROS

IR SPECTRUM OF 4-BROMOBENZYL 4-FLUOROBENZOATE



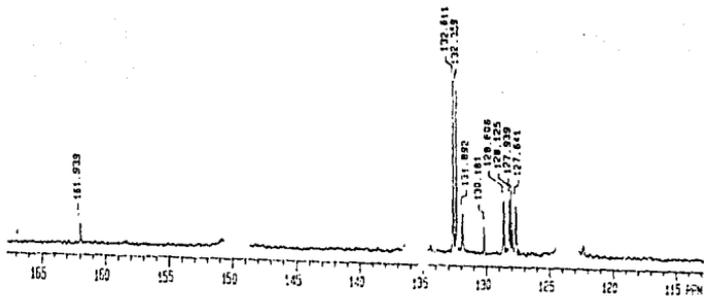
Spectrum 1

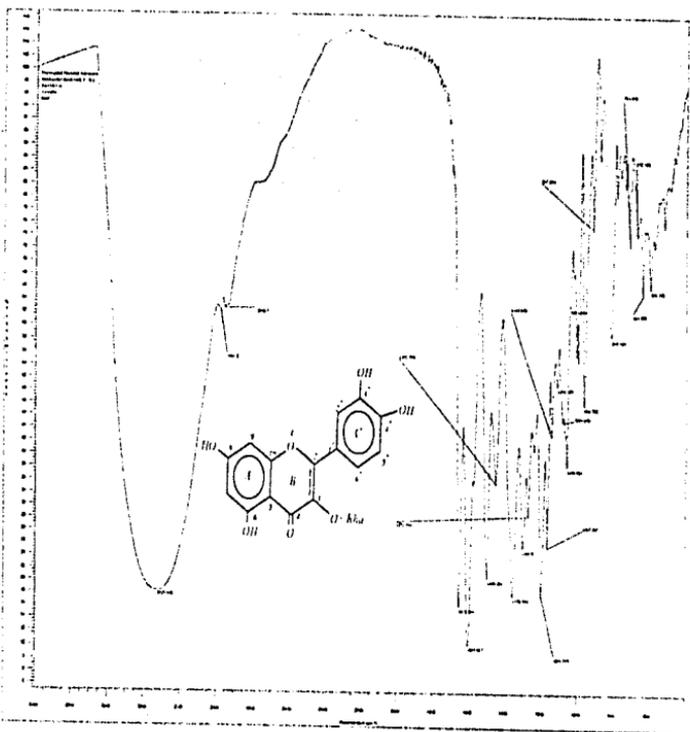


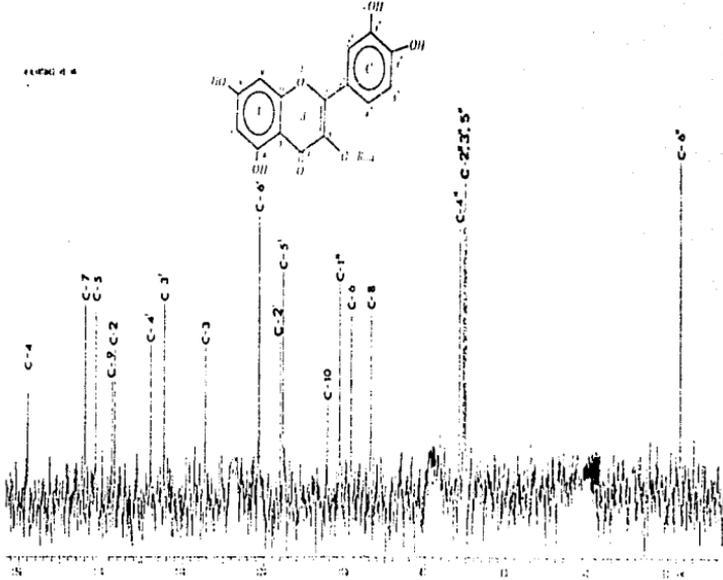


KURCANDI WIZI 242081 141

Espectru 4



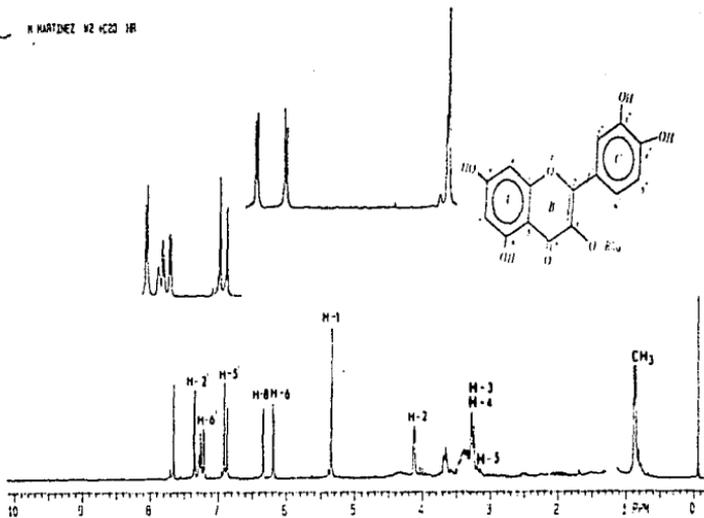




Espectro 6

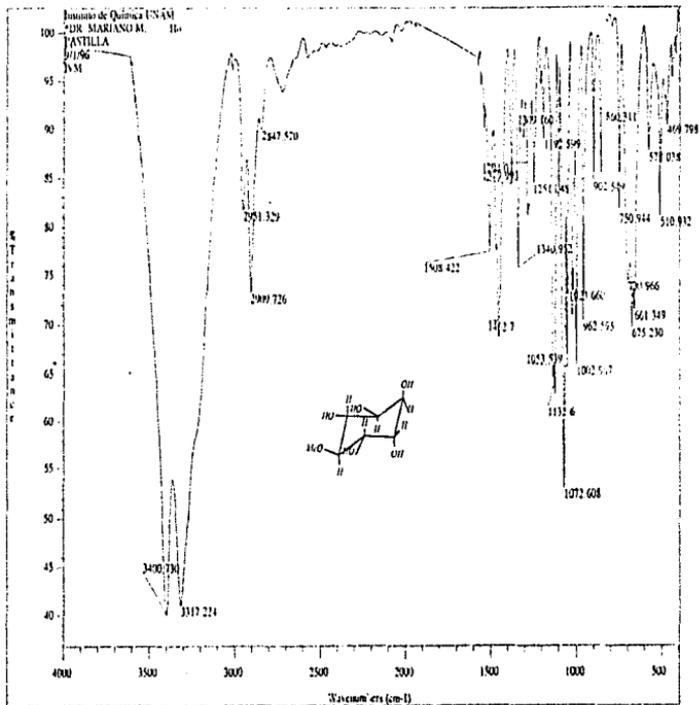
M. MARTINEZ X2 K20 IR

Espectro 7



ESPECTROS

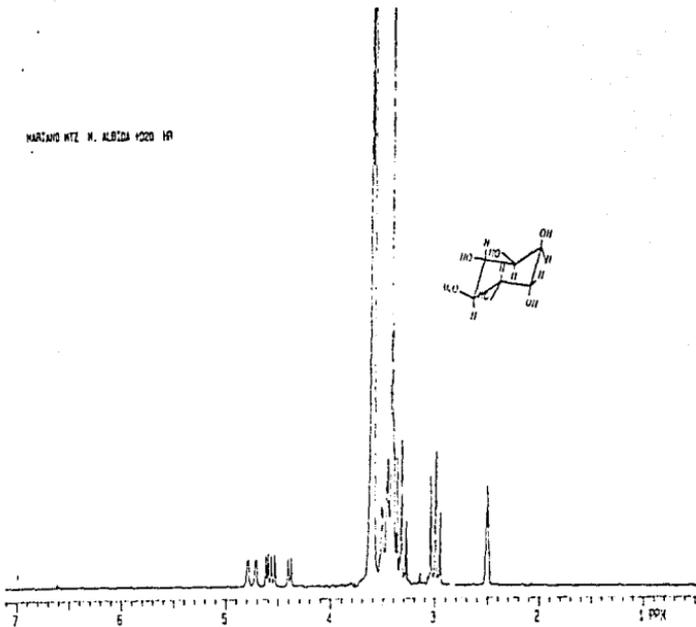
Espectro 8



ESPECTROS

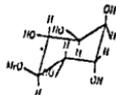
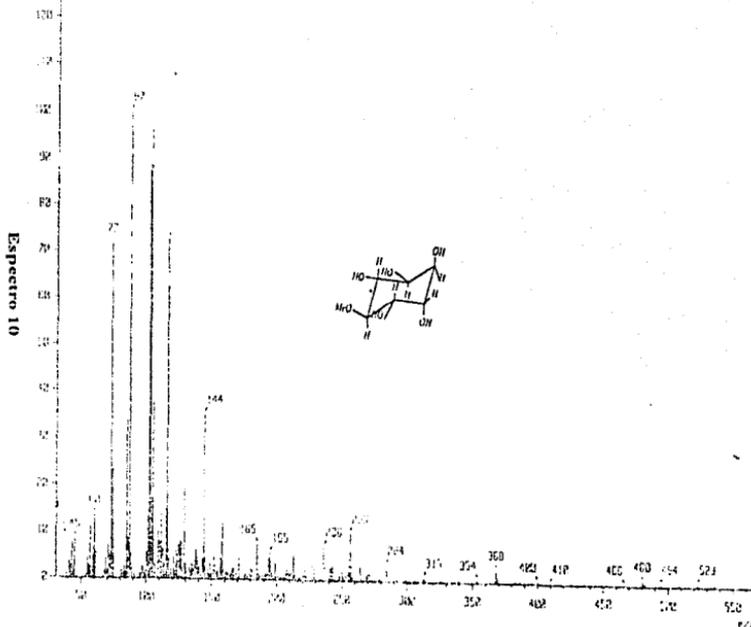
MARIANO HIZ. N. ALBIDA 4220 1R

Espectro 9

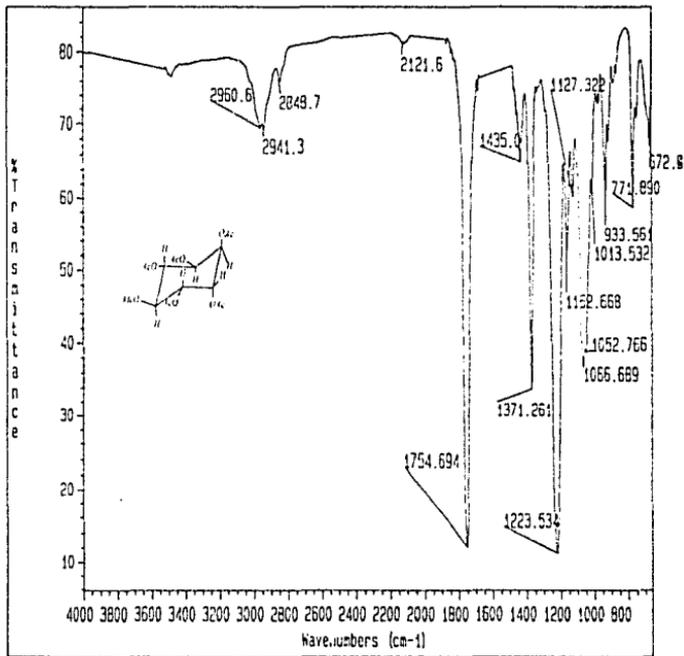


ESPECTROS

Mass Spectrum 1  
 Date : 11-14-95 12:36  
 Sample :  
 Name : D-Narasin-MANOS  
 Inlet : Direct Ion Mode : EI+  
 Spectrum Type : Regular (MF-Lines)  
 RT : 3.000 min Scan : 413,231 Temp : 40.2 deg.C  
 BP : 0.2 (kV) Det. : 100.15  
 Output range : 0.0000 to 100.0000 Gain : 0.0000  
 11749237

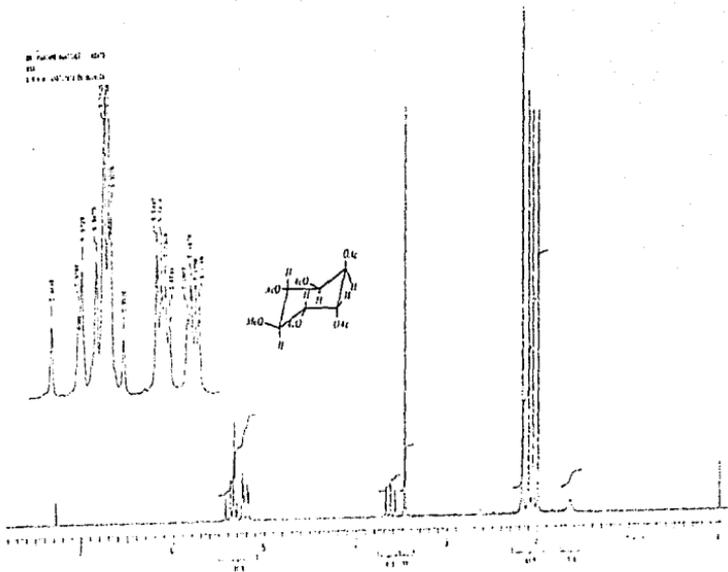


Espectro II



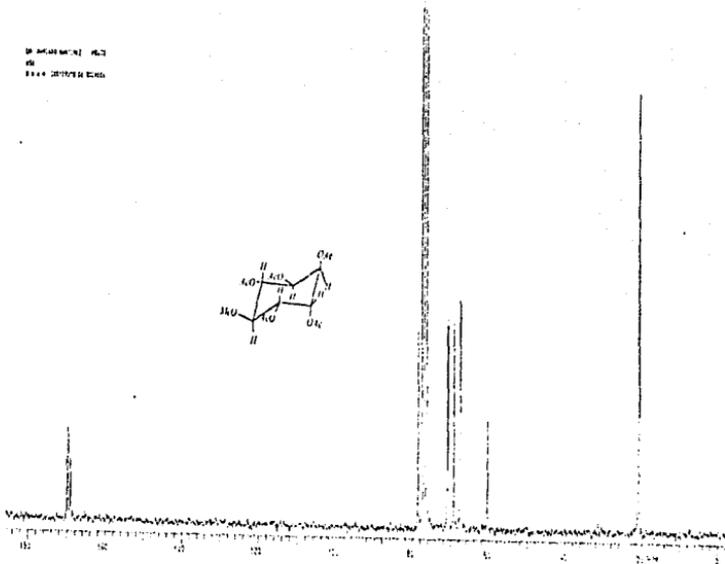
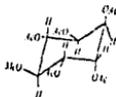
ESPECTROS

Espectro 12



DE ANÁLISIS QUÍMICO  
CIB  
P.O. BOX 4, CENTRO DE CIENCIAS

Espectro 13



ESPECTROS

69  
ESTA TESTA NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

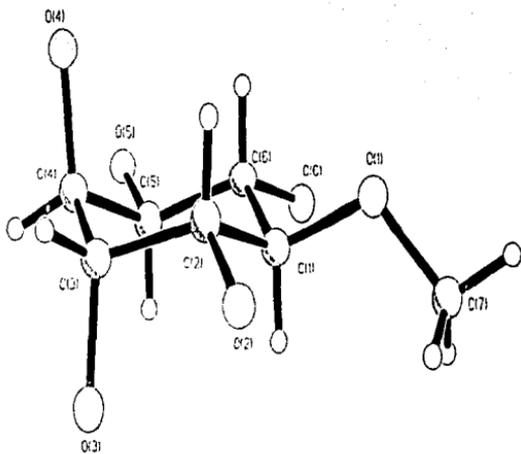


Figura 4

## 6. REFERENCIAS

- 1.- De la Cruz, M., *Libellus de Medicinallibus Indorum Herbis*, Ed. Fondo de Cultura Económica, México, 1991.
- 2.- Martínez, Alfaro M. A.; Evangelista, O. V. et al; *Catálogo de plantas útiles de la sierra norte de Puebla, México*, Cuadernos 27 IBUNAM (1995), 170-180.
- 3.- Sánchez, O., *La flora del valle de México*, México, D.F., Ed. LA PRENSA (1984), 197-198.
- 4.- Yuling Jiang, Georges Massiot, et al; *Phytochemistry*, **30**, 2357-2360 (1991).
- 5.- Lozoya, X.; Navarro, V.; Arnason, J.T.; Kourany, E. *Arch. Invest. Méd.*, **87-93** (1989).
- 6.- Domínguez, Norge A.; García G. Sergio; et al. *Journal of Natural Products*, **52**, 864-867, (1989).
- 7.- Meckes-Lozoya, M; Lozoya, X., González, J.L.; Martínez, M. *Arch. Invest. Méd.*, 175-177 (1990).
- 8.- A.R. Pinder, *The Chemistry of the terpenes*, Ed. John Wiley and Sons Inc. New York (1960), 5-6.
- 9.- Torres Báez, Ma. Luisa, Contribución fitoquímica de la raíz de *Salvia reptans Jacq* *Estudio Microbiológico de sus Metabolitos Secundarios*, FES-C, UNAM. Tesis de Licenciatura, (1995).

- 10.- López Bueno José J.; *Estudio fitoquímico de Machaeranthera tanacetifolia*, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Tesis de Licenciatura (1996).
- 11.- Domínguez, Xorge A., *Métodos de Investigación Fitoquímica*. Ed. Limusa, México D.F., (1985), 51-53.
- 12.- J.P. Mathiew & G. Ourisson, *Óptica Rotatory Power of Triterpenoids*. Ed. Pergamon Press (1958).
- 13.- A.Romo de Vivar, *Productos Naturales de la Flora Mexicana*, Ed. Limusa, México, D.F. (1993), 155-158.
- 14.- Dubois, M.A., Benze, S., & Wagner, H. *New Biologically Active Triterpene Saponins from Randia dimictorum*. *Planta Méd.* **56**,(1990).
- 15.- D.V. Binthorpe, et al; *Chemistry of Terpenes and Terpenoids*. Ed. Academic Press, Londres (1972), 209-213.
- 16.-Van Tamelen, E.E., Willet, J.R., Clayton, R.B. & Lord K. E. *J Amer Chem Soc.* **88**, 4752 (1966).
- 17.- John, H. Richards & James, B. Hendrickson, *Biosynthesis of terpenes,steroids and acetogenins*, W. A. Benjamin INC. New York (1964), 264-265.
- 18.-B. Herbert, Richard, *The Biosynthesis of Secondary Metabolites*, Chapman & Hall (1989), 111-113.

- 19.- J. B. Harborne, *The Flavonoids*, Chapman & Hall LTD. Londres (1988), 641-650.
- 20.- Nicolaides, N. & Laves, F. *J. Amer. Chem. Soc.* **76** 2596 (1954).
- 21.- Hassan, S. El Khadem, *Carbohydrate Chemistry, Monosacharides and other oligomers*, Academic Press, (1980).
- 22.- Trevor, R., *The Organic Constituents of Higher Plants*, Ed. Cardus Press, Amherst, Mass. (1980), 13-14.
- 23.- T.J. Mabry et al; *The Systematic Identification of Flavonoids*, Ed. Springer-Verlag, New York (1970), 290-298.
- 24.- Valencia Islas Norma A. *Formación de derivados de Horminona y su ensayo microbiológico*. FES-C, UNAM Tesis de Licenciatura (1995).
- 25.- H. Adkins & Quentin E. Thompson, *J. Amer. Chem. Soc.*, 2242-2244 (1949).