



25
24

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"**

**ESTUDIO FITOQUIMICO DE PLANTAS MEDICINALES
CON ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE
"ESTUDIO QUIMICO DE *Pseudobombax ellipticum*
(MOCOQUE)".**

**T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO QUIMICO
P R E S E N T A
TORRES MONTEALBAN JONAS**

Director: M. en C. BENITO REYES TREJO



MEXICO, D. F.

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 "ZARAGOZA"
DIRECCION DE LA CARRERA
DE INGENIERIA QUIMICA


OF/082/007/97

C. Jonás Torres Montevalban
P r e s e n t e .

En respuesta a su solicitud de asignación de jurado para el Examen Profesional, le comunico que la Jefatura a mi cargo ha propuesto la siguiente designación:

Presidente: Quím. Fernando A. Cantú Garza
Vocal: M. en C. Benito Reyes Trojo
Secretario: Quím. Yolanda García Rojas
Suplente: M. en C. Cecilia Sugina Matsubara Oda
Suplente: Q.F.I. Ma. del Carmen Niño de Rivera C.

A T E N T A M E N T E
"LO HUMANO EJE DE NUESTRA REFLEXION"
México, D.F., 2 de Abril de 1997



Ing. Magín Enrique Juárez Villar
Director de la Carrera

AGRADECIMIENTOS

A la **Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza"** y a todas las profesoras y profesores de la **Universidad Nacional Autónoma de México**, que han contribuido en mi formación profesional.

A la **Universidad Autónoma Chapingo**, en particular al **Laboratorio de Productos Naturales** del Área de Química, donde fue realizado el presente trabajo, así como a las autoridades de la **Preparatoria Agrícola**, por las facilidades en el desarrollo del mismo.

A los **sinodales de la FES-Zaragoza** que revisaron y enriquecieron el contenido del trabajo.

Agradezco especialmente al **M. en C. Benito Reyes Trejo**, por su gran calidad científica y acertada dirección, así como por su amistad y trato sencillo.

Al **Dr. Andrés Navarrete Castro** por su oportuna crítica y valiosos consejos en la realización del presente trabajo.

Agradezco enormemente a la **Bióloga Priscila Guerra Ramirez** de quien recibí importante apoyo técnico, confianza y motivación.

A mis compañeros **tesistas** del **Laboratorio de Productos Naturales**, por su retroalimentación de conocimientos y por hacer agradables los momentos de trabajo.

A los **comunidades indígenas de México** que nos han enseñado que la "Cultura se encuentra en la Naturaleza" y la tarea es descubrirla mas no destruirla, por lo que es necesario que se respeten los **Derechos sobre Autonomía y Cultura indígena**, y de esta manera conservar el valioso conocimiento que han aportado y aportan al desarrollo de la humanidad.

DEDICATORIA

A mi madre y padre

ATA y FRANCISCO

Por dedicar su vida en proporcionar durante tantos años lo mejor para sus hijos, esperando corresponderles siempre a tan valioso esfuerzo.

A mis Hermanos

Hildeberto

Andrés

Alberto

Guadalupe

Ricardo

Sergio

Francisco

Carlos

Por el espíritu solidario que entre hermanos espero prevalezca siempre.

Al amor de mi vida

Priscila (*Priscilla*)

Con mucho cariño y admiración por su personalidad progresista y de quien he aprendido mucho compartiendo grandes sueños "gracias amiga".

A mis amigos

Por los buenos tiempos, que desde los primeros días de escuela hicieron de mi vida una aventura de conocimientos y experiencias inolvidables, que entre angustias y risas, consignas y música, construimos muchos ideales...

José

*De las montañas
del sureste comenzó
el amanecer dijo
de ser tentación*

*Se atrevieron a tomar
por asalto el cielo azul
es imprescindible una
revolución*

*Es posible que
los quieran engañar
los que hacen
de la hipocresía
su única verdad*

*Hay que arriesgar
lo que se tenga
que arriesgar
los que están muertos
ya no se pueden morir*

*En la obscuridad
una joven mujer gritó
hizo estremecer
a toda la población*

*Nunca un día más entre
el olvido y la explotación
es imprescindible
una revolución*

*El augurio de la
"modernidad"
etnocidio de
una gran nación*

*Son los profetas
del desastre universal
hambre y muerte
su única razón...*

(Maquiza)

Este trabajo de tesis fue realizado en las instalaciones del **Laboratorio de Productos Naturales** del Area de Quimica del Departamento de Preparatoria Agricola de la Universidad Autónoma Chapingo, bajo la direccion del M. en C. **Benito Reyes Trejo**.

INDICE

INDICE GENERAL	Página
INDICE DE ESPECTROS	I
INDICE DE TABLAS	II
INDICE DE FIGURAS	III
INDICE DE GRAFICAS	IV
INDICE DE ESQUEMAS	V
LISTA DE ABREVIATURAS Y SIMBOLOS	
RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
FUNDAMENTO DEL TEMA	7
MÉTODOS DE CARACTERIZACION Y SEPARACION	15
SEPARACIONES CROMATOGRÁFICAS	15
CARACTERIZACION FISICA	15
IDENTIFICACION CON UNA MUESTRA AUTENTICA	15
TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS Y ESPECTROMÉTRICAS	16
GENERALIDADES DE LA PLANTA ESTUDIADA	21
OBJETIVOS	23
HIPOTESIS	24
MATERIAL Y MÉTODO	25
A) PREPARACION DE EXTRACTOS	29
B) FRACCIÓNAMIENTO PRELIMINAR DEL EXTRACTO HEXÁNICO	31
C) FRACCIÓNAMIENTO PRELIMINAR DEL EXTRACTO CLOROFORMICO	31
D) FRACCIÓNAMIENTO PRELIMINAR DEL EXTRACTO ACETÓNICO	32
E) REACCION DE ACETILACION DEL β -(D)-GLUCOSIDO DE β -SITOSTEROL (5)	36
F) CINÉTICA DE LA ACETILACION DE β -SITOSTEROL (3)	38
G) REACCION DE OXIDACION DE β -LUPEOL (2)	40
H) CINÉTICA DE LA ACETILACION DE β -LUPEOL (2)	42
I) REACCION DE LUPENONA (1) CON 2,4-DINITROFENILHIDRAZINA	44
RESULTADOS	46
DISCUSION DE RESULTADOS	
IDENTIFICACION DE LUPENONA (1)	48
IDENTIFICACION DE β -LUPEOL (2)	54
IDENTIFICACION DE β -SITOSTEROL (3)	59
IDENTIFICACION DE AYAPINA (4)	64
IDENTIFICACION DE β -(D)-GLUCOSIDO DE β -SITOSTEROL (5)	75
IDENTIFICACION DEL TETRAACETATO DE β -(D)-GLUCOSIDO DE β -SITOSTEROL (5a)	81
CINÉTICA QUIMICA	85
I - REDUCCION CATALÍTICA (Hidrogenación de lupenona (1))	85
II - COLORIMETRIA (Reacción de lupenona (1) con 2,4-dinitrofenilhidrazina)	87
III - ANALISIS DE MEZCLAS POR RMN- H	92
IIIa - CINÉTICA DE LA ACETILACION DE β -LUPEOL (2)	92
IIIb - CINÉTICA DE LA ACETILACION DE β -SITOSTEROL (3)	94
A) TRATAMIENTO DE LOS DATOS EXPERIMENTALES CONSIDERANDO UNA REACCION DE ORDEN CERO	97
B) TRATAMIENTO DE LOS DATOS EXPERIMENTALES CONSIDERANDO UNA REACCION DE PRIMER ORDEN	100
C) TRATAMIENTO DE LOS DATOS EXPERIMENTALES CONSIDERANDO UNA REACCION DE SEGUINDO ORDEN	103
CONCLUSIONES	107
APENDICE A - Evaluación de ecuaciones de velocidad a partir de datos experimentales	111
APENDICE B - Variables que afectan la velocidad de reacción	117
APENDICE C - Análisis de regresión lineal	121
APENDICE D - Costos de algunos de los compuestos aislados de la corteza de <i>Pseudobombax ellipticum</i> (mocoque)	122
BIBLIOGRAFIA	123

INDICE DE ESPECTROS

ESPECTRO 1.-	Infrarrojo de lupenona (1) en cloroformo.	50
ESPECTRO 2.-	RMN- ¹ H de lupenona (1) (CDCl ₃ , 60 MHz, TMS)	51
ESPECTRO 3.-	Masas de lupenona (1) por impacto electrónico	52
ESPECTRO 3a.-	Masas de 2,4-dinitrofenilhidrazona de lupenona (1a)	53
ESPECTRO 4.-	Infrarrojo de β-lupeol (2) en cloroformo	56
ESPECTRO 5.-	RMN- ¹ H de β-lupeol (2) (CDCl ₃ , 60 MHz, TMS)	57
ESPECTRO 6.-	Masas de β-lupeol (2) por impacto electrónico	58
ESPECTRO 7.-	Infrarrojo de β-sitosterol (3) en cloroformo	61
ESPECTRO 8.-	RMN- ¹ H de β-sitosterol (3) (CDCl ₃ , 300 MHz, TMS)	62
ESPECTRO 9.-	Masas de β-sitosterol (3) por impacto electrónico	63
ESPECTRO 10.-	Infrarrojo de ayapina (4) en cloroformo	69
ESPECTRO 11.-	RMN- ¹ H de ayapina (4) (acetona, 300 MHz, TMS)	70
ESPECTRO 12.-	Ultravioleta de ayapina (4) en cloroformo	71
ESPECTRO 13.-	Masas de ayapina (4) en cloroformo	72
ESPECTRO 14.-	DEPT de ayapina (4) (CDCl ₃ , 300 MHz, TMS)	73
ESPECTRO 14a.-	RMN- ¹³ C de ayapina (4) (CDCl ₃ , 300 MHz, TMS)	74
ESPECTRO 15.-	Infrarrojo de β-(D)-glucósido de β-sitosterol (5) en pastilla de KBr	77
ESPECTRO 16.-	RMN- ¹ H de β-(D)-glucósido de β-sitosterol (5) (DMSO-d ₆ , 300 MHz, TMS)	78
ESPECTRO 17.-	RMN- ¹³ C de β-(D)-glucósido de β-sitosterol (5) (CDCl ₃ , 300 MHz, TMS)	79
ESPECTRO 18.-	DEPT de β-(D)-glucósido de β-sitosterol (5) (CDCl ₃ , 300 MHz, TMS)	80
ESPECTRO 19.-	RMN- ¹ H tetraacetato de β-(D)-glucósido de β-sitosterol (5a) (CDCl ₃ , 300 MHz, TMS)	83
ESPECTRO 20.-	Masas de tetraacetato de β-(D)-glucósido de β-sitosterol (5a) por impacto electrónico	84
ESPECTRO IIa.-	Ultravioleta de 2,4-dinitrofenilhidrazina en cloroformo	89
ESPECTRO IIb.-	Ultravioleta de 2,4-dinitrofenilhidrazona de lupenona (1) en cloroformo	90
ESPECTRO IIc.-	Ultravioleta de un sistema de dos componentes donde hay superposición de señales.	91
ESPECTRO IIIa.-	RMN- ¹ H de la conversión de β-lupeol (2) a acetato de β-lupeol (2a) a diferentes tiempos de reacción (CDCl ₃ , 60 MHz, TMS).	93
ESPECTRO IIIb.-	RMN- ¹ H de la conversión de β-sitosterol (3) a acetato de β-sitosterol (3a) a diferentes tiempos de reacción (CDCl ₃ , 300 MHz, TMS).	96

INDICE DE TABLAS

TABLA	Página
TABLA 1.- Plantas medicinales mexicanas utilizadas como hipoglucemiantes.	5
TABLA 2.- Nomenclatura de terpenos.	7
TABLA 3.- Metabolitos secundarios aislados de la familia de las <i>Bombacaceas</i> .	13
TABLA 4.- Casos nuevos de enfermedades no transmisibles en el país, donde se incluye a la diabetes mellitus hasta la semana 8 de 1996.	14
TABLA 5.- Casos nuevos de enfermedades no transmisibles en el país, donde se incluye a la diabetes mellitus hasta la semana 9 de 1996.	14
TABLA 6.- Plantas medicinales empleadas en la Huasteca Hidalguense como antidiabéticas.	28
TABLA 7.- Resumen del fraccionamiento por columna cromatográfica del extracto hexánico de <i>Pseudobombax ellipticum</i> (Mocoque).	33
TABLA 8.- Resumen del fraccionamiento por columna cromatográfica del extracto clorofórmico de <i>Pseudobombax ellipticum</i> (Mocoque).	34
TABLA 9.- Resumen del fraccionamiento por columna cromatográfica del extracto acetónico de <i>Pseudobombax ellipticum</i> (Mocoque).	35
TABLA 10.- Compuestos aislados de la corteza de <i>Pseudobombax ellipticum</i> .	47
TABLA 10a.- Derivados de los compuestos aislados de la corteza de <i>Pseudobombax ellipticum</i> .	47
TABLA 11.- Constantes espectrométricas y espectroscópicas del compuesto lupenona (1) y 2,4-dinitrofenilhidrazona de lupenona (1a).	49
TABLA 12.- Constantes espectrométricas y espectroscópicas del compuesto β -lupenol (2).	55
TABLA 13.- Constantes espectrométricas y espectroscópicas del compuesto β -sitosterol (3).	60
TABLA 14.- Constantes espectrométricas y espectroscópicas del compuesto ayapina (4).	67
TABLA 14a.- Comparación de los datos de RMN- ¹ H de ayapina (4) con los de moléculas similares (esculetina y scopoletina).	68
TABLA 15.- Constantes espectrométricas y espectroscópicas del compuesto β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5).	76
TABLA 16.- Constantes espectrométricas y espectroscópicas del compuesto tetraacetato de β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5a).	82
TABLA 17.- Diluciones sucesivas para la hidrazina e hidrazona con sus respectivas absorbancias (curva patrón).	88
TABLA 18.- Datos de la conversión de β -sitosterol (3) a acetato de β -sitosterol (3a) (cinética).	95
TABLA A - Conversión de β -sitosterol (3) a acetato de β -sitosterol (3) (orden cero).	98
TABLA A1 - Regresión lineal para el tratamiento de orden cero	98
TABLA B - Conversión de β -sitosterol (3) a acetato de β -sitosterol (3) (primer orden).	101
TABLA B1 - Regresión lineal para el tratamiento de primer orden	101
TABLA C - Conversión de β -sitosterol (3) a acetato de β -sitosterol (3) (segundo orden)	104
TABLA C1 - Regresión lineal para el tratamiento de segundo orden	104

INDICE DE FIGURAS

FIGURA I.- Procedimiento de extracción y obtención de extractos vegetales por maceración.	29
FIGURA II.- Reacción de acetilación de β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5).	36
FIGURA III.- Reacción de acetilación de β -sitosterol (3).	38
FIGURA IV.- Reacción de oxidación de β -lupeol (2).	40
FIGURA V.- Reacción de acetilación de β -lupeol (2).	42
FIGURA VI.- Reacción de lupenona con 2,4-dinitrofenilhidrazina.	44
FIGURA 1.- Estructura de lupenona (1) y de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de lupenona (1a).	48
FIGURA 2.- Estructura de β -lupeol (2) y del acetato de β -lupello (2a).	54
FIGURA 2a.- Estructura del acetato de β -lupello (2a).	54
FIGURA 3.- Estructura de β -sitosterol (3) y del acetato de β -sitosterol (3a).	59
FIGURA 3a.- Estructura del acetato de β -sitosterol (3a).	59
FIGURA A.- Estructura básica de coumarinas.	64
FIGURA B.- Protones H_3 y H_4 en una α -pirona.	65
FIGURA C.- Protones H_6 y H_8 del sistema benzo-coumarínico.	65
FIGURA D.- Fórmula parcial que resulta de combinar las figuras B y C.	65
FIGURA E.- Fórmula parcial que ilustra un dioximetileno.	66
FIGURA F.- Estructura de la ayapina (4) comparada con las estructuras de esculetina y scopoletina.	66
FIGURA 4.- Estructura de la ayapina (4).	66
FIGURA 5.- Estructura de β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5).	75
FIGURA 6.- Estructura del tetraacetato de β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5a).	81
FIGURA IIIa.- Reacción de acetilación de β -lupeol (2) (cinética).	92
FIGURA IIIb.- Reacción de acetilación de β -sitosterol (3) (cinética).	94
FIGURA G.- Moléculas aisladas de la corteza de <i>Pseudobombax ellipticum</i> .	108
FIGURA H.- Reacciones químicas realizadas a los compuestos aislados.	109

INDICE DE GRAFICAS

GRAFICA	Página
GRAFICA 1 - Espectro electromagnético	17
GRAFICA 2 - Región del infrarrojo del espectro electromagnético	18
GRAFICA 3 - Región del ultravioleta del espectro electromagnético	19
GRAFICA 4 - Datos de la conversión de β -sitosterol (3) a acetato de β -sitosterol (3a)	95
GRAFICA A - Gráfica de los resultados del método de integración para la reacción de acetilación de β -sitosterol (3) ,tratamiento de orden cero	99
GRAFICA B - Gráfica de los resultados del método de integración para la reacción de acetilación de β -sitosterol (3) , tratamiento de primer orden	102
GRAFICA C - Gráfica de los resultados del método de integración para la reacción de acetilación de β -sitosterol (3) , tratamiento de segundo orden.	105

INDICE DE ESQUEMAS

ESQUEMA	Página
ESQUEMA 1.- Biosíntesis de terpenos y esteroides.	10
ESQUEMA 1.- Biosíntesis de terpenos y esteroides (continuación)	11
ESQUEMA 2.- Biosíntesis del colesterol.	12
ESQUEMA 3 - Obtención de extractos de la corteza de <i>Pseudobombax ellipticum</i> (vía maceración)	30
ESQUEMA 4.- Reacción de la acetilación de β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5)	37
ESQUEMA 5 - Reacción de acetilación del β -sitosterol (3) (cinética)	39
ESQUEMA 6 - Reacción de oxidación de β -lupeol (2)	41
ESQUEMA 7 - Reacción de acetilación de β -lupeol (2)	43
ESQUEMA 8 - Reacción de lupenona (1) con 2,4-dinitrofenilhidrazina	45
ESQUEMA 9 - Hidrogenador de baja presión.	86

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

ABREVIATURA	DEFINICIÓN
AcO	Acetato
AcOEt	Acetato de etilo
Alic	Alicuota
Anhid Acét	Anhidrido acético
ASTM	American Society for Testing Materials
CCF	Cromatografía en capa fina
CHCl ₃	Cloroformo
CDCl ₃	Cloroformo Deuterado
C _i	Concentración del componente i
C ₀	Concentración inicial
DMSO	Dimetilsulfóxido
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer
eV	electrón-Volt
H ⁺	Ion hidrógeno positivo
Hz	Hertz (ciclo por segundo)
Hg	Mercurio
Hex	Hexano
L	Litros
mM	milimoles
mL	Militros
MHz	1 Megahertz = 1 millón de ciclos por segundo
M	molaridad
M ⁺	Ion molecular
OH	Hidroxilo
P	Fosfato
PP	Pirofosfato
ppm	Partes por millón
Rf	Desplazamiento de muestras en CCF
RMN- ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
RMN- ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono-13
T	Teslas (densidad de flujo magnético)
TMS	Tetrametilsilano
t	Tiempo
t _{1/2}	Tiempo de vida media
UV	Ultravioleta

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS (Continuación)

SIMBOLOS	SIGNIFICADO
K_o	Factor de frecuencia en la ecuación de Arrhenius
k	Constante de velocidad de reacción
δ	Desplazamiento químico en RMN
ϵ	Coefficiente de extinción en Ultravioleta
λ	Absorción en ultravioleta (nonómetros) $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$
V	Volumen
μ	Micras
μm	micrómetro ($1 \mu\text{m} = 10^{-4} \text{ cm}$)
E	Grado de verificación
β	Orden de reacción con respecto a β
α	Orden de reacción con respecto a α
ν	Absorción en infrarrojo (número de onda en cm^{-1}) $\nu = 1/\lambda$. (cm)
a	Moles de A
b	Moles de B
n	Número de moles
c	velocidad de la luz ($3 \cdot 10^{10} \text{ cm/s}$)
d	Diferencial
x	Conversión
h	Constante de Plank ($6.63 \cdot 10^{-27} \text{ erg seg}$)
k	Constante de Boltzmann ($1.38044 \cdot 10^{-16} \text{ erg/grad}$)
R	Constante de los gases ideales ($8.3144 \cdot 10^7 \text{ erg/mol grad}$)
b	Ordenada al origen
m	Pendiente
H	Entalpia
ΔH	Cambio de entalpia
ΔH_r	Cambio de entalpia de reacción
S	Entropia
ΔS	Cambio de entropia
G	Energia libre de Gibbs
ΔG	Cambio de energia libre de Gibbs
E	Energia de activación

RESUMEN

Como parte del programa transdisciplinario "Plantas medicinales" de La Universidad Autónoma Chapingo, se realizó el estudio químico de la corteza de *Pseudobombax ellipticum* (Kunth), planta utilizada en la medicina tradicional como antidiabética.

La planta se muestreo en Tehuetlán municipio de Huejutla en el estado de Hidalgo, lugar donde se conoce como "Mocoque". La corteza seca y molida se llevó a un proceso de maceración con diferentes disolventes (hexano, cloroformo y acetona), del que se obtuvieron los extractos respectivos. Cada extracto se fraccionó en columnas cromatográficas empacadas con sílica gel.

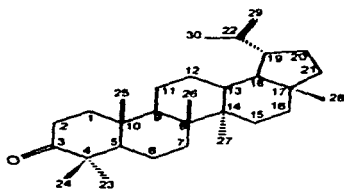
Del análisis realizado a esta planta se aislaron e identificaron: lupenona (1) y β -lupeol (2) del extracto hexánico, β -sitosterol (3) y ayapina (4) del extracto cloroformico, y β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5) del extracto acetónico.

Las sustancias se identificaron por medio de: espectroscopia de infrarrojo, ultravioleta, RMN- ^1H , RMN- ^{13}C , espectrometría de masas, propiedades físicas descritas en la literatura para cada sustancia y comparación con muestra auténtica.

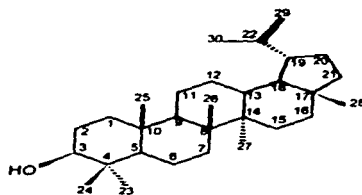
Mediante reacciones químicas se comprobó la identidad del β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5) identificando al derivado como tetraacetato de β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5a), para lupenona (1) se identificó la hidrazona de lupenona (1a), para β -lupeol (2) el acetato de β -lupeol (2a), para β -sitosterol (3) el acetato de β -sitosterol (3a) y se determinó el orden de reacción en la acetilación de β -sitosterol (3) mediante la técnica de análisis de mezclas por RMN- ^1H de donde se obtuvo una correspondencia de los datos experimentales con los de una reacción de segundo orden.

La integración ciencia y tradición es el reflejo del presente trabajo, contribuyendo al conocimiento de la constitución química de las plantas medicinales de México.

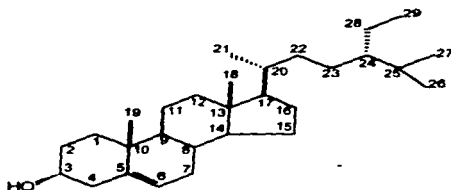
***Transdisciplina:** investigadores de diferentes especialidades y sabios populares que desarrollan el mismo proyecto (Estrada, 1995).



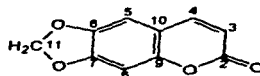
Lupenona (1)



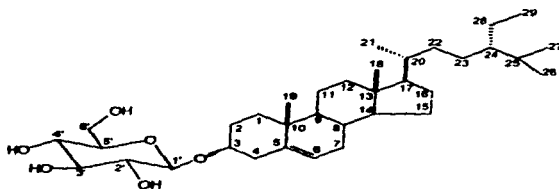
β -lupeol(2)



β -sitosterol (3)



Ayapina (4)



β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5).

Moléculas aisladas de la corteza de *Pseudobombax ellipticum* (mocoque).

INTRODUCCION

Es indudable que en los últimos años la investigación en la química de los productos naturales han concentrado sus esfuerzos en la búsqueda de principios activos presentes en plantas, que puedan ser utilizados en diferentes áreas, tales como; la farmacología, la agricultura, los cosméticos, los alimentos, la medicina, etc., impulsando a los fitoquímicos a aislar y asignar estructuras a un gran número de compuestos que serán utilizados en forma natural o modificada, ya sea para fármacos, colorantes, esencias, herbicidas, insecticidas, o bien materia prima para la síntesis de nuevas moléculas (Navarro, 1991)

Las estrategias científicas en el estudio de productos naturales de plantas medicinales se han desarrollado a la par del avance tecnológico en cuanto a bancos de información, nuevas técnicas de aislamiento e identificación, así como nuevas aplicaciones, impulsadas por las grandes industrias farmacéuticas, de alimentos y cosméticos, principalmente, alertas a los cambios comerciales y culturales que se han producido en los últimos años (Cordell, 1995)

El uso de las plantas medicinales es una de las actividades más antiguas del hombre, en el caso particular de México la práctica de la medicina tradicional tiene sus raíces en la época prehispánica. El *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis* es el registro más antiguo sobre plantas medicinales, que fue escrito en Nahuatl en 1552, por Martín de la Cruz del Colegio de la Santa Cruz de Tlatelolco, y traducido al Latín por otro indígena Xochimilca, Juan Badiano, profesor del Colegio de la Santa Cruz de Tlatelolco (Heyden, 1983; López, 1971). Sin embargo, muy pocas han sido estudiadas bajo condiciones experimentales, debido a que la medicina moderna considera como acientífico o en el mejor de los casos como medicina de segunda categoría a las prácticas tradicionales de curación (Estrada, 1995)

La medicina tradicional, es el conjunto de conocimientos, creencias, prácticas y recursos provenientes de la cultura popular, de lo que hace uso la población del país para resolver, en forma empírica sus problemas de salud, al margen o a pesar de la existencia de una medicina oficial e institucionalizada por el Estado (Lozoya, 1989)

En México con sus imágenes de deshumanización y burocratización de la relación médico-paciente, y de la comercialización descarada de servicios médicos y medicamentos, todo este cuadro de la vida médica de México se ha venido a complicar con otros excesos, que en el caso del México urbano, afectado ahora, por los altos, permanentes e incontrolables índices de contaminación y los serios problemas de drogadicción, pero que permanece yuxtapuesto al México rural, cuyos problemas de salud son otros y donde por ejemplo, la desnutrición, las persistentes endemias y el parasitismo son ya ancestrales. Sin embargo, y como en el pasado, cuando se buscan soluciones al agudo problema de salud en México en vez de mirar hacia el interior de nuestro acervo cultural y hacia los recursos propios del país, se recurre a alternativas y modelos de las "sociedades económicamente satisfechas", aunque paradójicamente se hallen hoy, también volcadas hacia la búsqueda de otras alternativas médico culturales (Lozoya, 1989).

El estudio multidisciplinario de la medicina tradicional comprende varios aspectos: Antropológico, Botánico, Etnobotánico, Económico Farmacológico, Histórico, Psicológico, Médico y por supuesto Químico. La gran variedad de especies vegetales que tiene nuestro país hace necesario realizar los estudios químicos de éstas, ya sea para ayudar a la clasificación de las mismas como para conocer sus propiedades alimenticias, cosméticas etc. En México no se conoce ni le 3% del total de su flora y la explotación irracional de ésta, amenaza con la extinción de una gran variedad de especies, lo que ocasionaría una pérdida importante de material genético para la producción de posibles medicamentos y otras aplicaciones industriales (Navarrete, 1986).

La realidad socioeconómica a la que enfrentan actualmente países en vías de desarrollo como el nuestro, ante políticas inadecuadas, hace prioritaria la investigación interdisciplinaria de los recursos materiales propios (renovables y no renovables) para su aprovechamiento racional (Reyes, 1988).

El estudio fitoquímico hace posible el conocimiento de nuevas sustancias. Sin embargo, si se piensa en explotar dichas sustancias extraídas únicamente de las plantas, llegaría un momento en el cual la cantidad de especie vegetal no sería suficiente para satisfacer la demanda. Es así que se requiere del conocimiento de las estructuras químicas de los compuestos activos (metabolitos secundarios) para lograr en un momento dado su obtención por métodos sintéticos (Estrada, 1995).

Se estima que más del 66% de la población mexicana hace uso de la medicina tradicional para el tratamiento de muchas enfermedades, entre las que se encuentra la diabetes. En la Tabla 1, se enlistan algunas plantas medicinales mexicanas empleadas para aliviar este padecimiento (Gómez y Rodríguez, 1991).

El presente trabajo es parte del Programa de Plantas Medicinales de la Universidad Autónoma Chapingo que destaca una gran variedad de especies vegetales a las que se les atribuyen propiedades anti-diabéticas como es el caso de *Pseudobombax ellipticum*, la Tabla 3 muestra algunos metabolitos secundarios aislados de plantas de la familia de las *Bombacaceas* (De la Vega, 1993). La diabetes en México se encuentra entre las principales causas de muerte en la población adulta. Los censos indican una alta tasa de mortalidad debida a la diabetes, situándola como un verdadero problema de salud pública; la tasa de incidencia de la diabetes ha aumentado considerablemente, en 1922 la tasa era de 2.5 y para 1982 era de 23.0, en 1984 la diabetes mellitus se encontraba entre una de las 20 principales causas de mortalidad, ocupando el 5to. lugar entre personas de 35 a 45 años, el 2do entre las edades de 45 a 55 años, y el 1er. lugar entre personas de 55 años y más (De la Vega, 1993). Las Tablas 4 y 5, muestran los casos nuevos de enfermedades no transmisibles, casos totales acumulados en el país, hasta la semana 8 y 9 de 1996, en las que se incluye la diabetes mellitus (S.N.V.E., 1996).

El estudio multidisciplinario de la medicina tradicional comprende varios aspectos: Antropológico, Botánico, Etnobotánico, Económico Farmacológico, Histórico, Psicológico, Médico y por supuesto Químico. La gran variedad de especies vegetales que tiene nuestro país hace necesario realizar los estudios químicos de éstas, ya sea para ayudar a la clasificación de las mismas como para conocer sus propiedades alimenticias, cosméticas etc. En México no se conoce ni el 3% del total de su flora y la explotación irracional de ésta, amenaza con la extinción de una gran variedad de especies, lo que ocasionaría una pérdida importante de material genético para la producción de posibles medicamentos y otras aplicaciones industriales (Navarrete, 1986).

La realidad socioeconómica a la que enfrentan actualmente países en vías de desarrollo como el nuestro, ante políticas inadecuadas, hace prioritaria la investigación interdisciplinaria de los recursos materiales propios (renovables y no renovables) para su aprovechamiento racional (Reyes, 1988).

El estudio fitoquímico hace posible el conocimiento de nuevas sustancias. Sin embargo, si se pensara en explotar dichas sustancias extraídas únicamente de las plantas, llegaría un momento en el cual la cantidad de especie vegetal no sería suficiente para satisfacer la demanda. Es así que se requiere del conocimiento de las estructuras químicas de los compuestos activos (metabolitos secundarios) para lograr en un momento dado su obtención por métodos sintéticos (Estrada, 1995).

Se estima que más del 66% de la población mexicana hace uso de la medicina tradicional para el tratamiento de muchas enfermedades, entre las que se encuentra la diabetes. En la Tabla 1, se enlistan algunas plantas medicinales mexicanas empleadas para aliviar este padecimiento (Gómez y Rodríguez, 1991).

El presente trabajo es parte del Programa de Plantas Medicinales de la Universidad Autónoma Chapingo que destaca una gran variedad de especies vegetales a las que se les atribuyen propiedades antidiabéticas como es el caso de *Pseudobombax ellipticum*, la Tabla 3 muestra algunos metabolitos secundarios aislados de plantas de la familia de las *Bombacaceas* (De la Vega, 1993). La diabetes en México se encuentra entre las principales causas de muerte en la población adulta. Los censos indican una alta tasa de mortalidad debida a la diabetes, situándola como un verdadero problema de salud pública; la tasa de incidencia de la diabetes ha aumentado considerablemente, en 1922 la tasa era de 2.5 y para 1982 era de 23.0, en 1984 la diabetes mellitus se encontraba entre una de las 20 principales causas de mortalidad, ocupando el 5to. lugar entre personas de 35 a 45 años, el 2do. entre las edades de 45 a 55 años, y el 1er. lugar entre personas de 55 años y más (De la Vega, 1993). Las Tablas 4 y 5, muestran los casos nuevos de enfermedades no transmisibles, casos totales acumulados en el país, hasta la semana 8 y 9 de 1996, en las que se incluye la diabetes mellitus (S.N.V.E., 1996).

TABLA 1 - PLANTAS MEDICINALES MEXICANAS UTILIZADAS COMO HIPOGLUCEMIANTES (Gómez y Rodríguez. 1991)

NOMBRE CIENTIFICO	FAMILIA	NOMBRE COMUN
<i>Acrocomia mexicana</i>	Palmáceas	Coyol
<i>Agave ixtli</i>	Amarilidáceas	Caña silvestre
<i>Anacardium occidentale</i>	Anacardiáceas	Marañón
<i>Astianthus viminalis</i>	Bignoniáceas	Ahuejote
<i>Bernoullia flammea</i>	Bombacáceas	Marquesote
<i>Bidens leucantha</i>	Compuestas	Rosilla
<i>Bidens pilosa</i>	Compuestas	Aceitilla
<i>Bignonia Vaguis-cathi</i>	Bignoniáceas	Bejuco
<i>Bixia orellana</i>	Bixáceas	Achiote
<i>Bromelia karatas</i>	Bromeliáceas	Aguama
<i>Brosimum alicastrum</i>	Moráceas	Samarita
<i>Buddleia cordata</i>	logoniáceas	Tepozán
<i>Cacalia decomposita</i>	Compuestas	Matarique
<i>Calamintha macrostema</i>	Labiadas	Tabaquillo
<i>Calea zacatechichi</i>	Compuestas	Ahuapatli
<i>Capraia biflora</i>	Escrufulariáceas	Malvaisco
<i>Cassia occidentalis</i>	Legumiáceas	Frijolillo
<i>Cecropia obtusifolia</i>	Moráceas	Guarumbo
<i>Cnidosc ulus aconitifolius</i>	Euforbiáceas	Mala mujer
<i>Cnidosc ulus chayamansa</i>	Euforbiáceas	Chayamansa
<i>Coutarea latiflora</i>	Rubiáceas	Copalche
<i>Engeron pusillus</i>	Compuestas	Tzitzilx
<i>Eucalyptus globulus</i>	Mirtáceas	Eucalipto
<i>Eysenhardtia polystachia</i>	Legumináceas	Rosilla
<i>Guazama ulmifolia</i>	Esterculiáceas	Aquiche
<i>Gyrocorpus amencanus</i>	Hernadiáceas	Cedro blanco
<i>Hamelia erecta</i>	Rubiáceas	Cacahuapxtle
<i>Hyosyamus niger</i>	Solanáceas	Beleño
<i>Kalanchoe pinnata</i>	Crasuláceas	Tronador
<i>Loeselia mexicana</i>	Polemoniáceas	Huitzitzitzin

TABLA 1.- PLANTAS MEDICINALES MEXICANAS UTILIZADAS COMO HIPOGLUCEMIANTES (Continuación) (Gómez y Rodríguez, 1991).

NOMBRE CIENTIFICO	FAMILIA	NOMBRE COMUN.
<i>Malus communis</i>	Rosáceas	Manzano
<i>Operculina ornithopoda</i>	Convolvuláceas	Makan
<i>Opuntia sp</i>	Cactáceas	Nopal
<i>Pachira aquatica</i>	Bombacaceas	Acamayote
<i>Parmentiera edulis</i>	Bignoniáceas	Cuajilote
<i>Pedilanthus tithymaloides</i>	Euforbiáceas	Candelilla
<i>Physalis ixcarpa</i>	Solanaceas	Tomate
<i>Pistia stratiotes</i>	Aráceas	Lechuguilla
<i>Plantago major</i>	Plantagináceas	Lantén
<i>Plumbago scandens</i>	Plumbagináceas	Denteneria
<i>Pouteria hypoglauca</i>	Saponáceas	Zocoquite
<i>Pseudobombax ellipticum</i>	Bombacáceas	Mocoque
<i>Riphsalis cassutha</i>	Cactáceas	Niguilla
<i>Salpianthus arenanus</i>	Nictagináceas	Catarinita
<i>Sculetana gaumeri</i>	Labiadas	Claudiosa
<i>Sweethia panamensis</i>	Legumináceas	Guayacan
<i>Taraxacum officinale</i>	Compuestas	Amargón
<i>Tecoma stans</i>	Bignoniáceas	Tronadora
<i>Tetramedium hispidum</i>	Acantáceas	Olotillo
<i>Trixis radialis</i>	Compuestas	Falsa árnica
<i>Turnera difusa</i>	Turneráceas	Damiana
<i>Valenana mexicana</i>	Valerianáceas	Extranjera
<i>Valenana officinalis</i>	Valerianáceas	Extranjera
<i>Valeriana edulis</i>	Valerianáceas	Hierba del gato
<i>Verbena cronata</i>	Compuestas	Capitaneja
<i>Zebrina pendula</i>	Comelináceas	Zabrina

FUNDAMENTO DEL TEMA

Las operaciones fitoquímicas aparentan ser relativamente fáciles y simples, más en la práctica, estos procesos se convierten en ciencia y arte, aprendidos por el estudio, la experiencia o por ambos. En los procesos industriales hay que procurar el no extraer sustancias indeseables con el mismo disolvente, de la descomposición a altas temperaturas, de las oxidaciones de las sustancias extraídas, hidrólisis y polimerizaciones y en general de que el proceso sea comercialmente práctico, asegurándose de que la materia prima sea constante, suficiente y segura. El conocimiento de este trabajo, realizado por el experimentador en procesos fitoquímicos, redonda en tres ventajas: el médico dispondrá de una dosificación más exacta, el farmacéutico tendrá una forma farmacéutica (Patentado) más elegante y libre de constituyentes inertes, y el industrial mantendrá una producción constante con costos uniformes (Albornoz, 1980).

Desde la antigüedad los constituyentes de las plantas se concentraban por calefacción suave del material vegetal hasta llegar a un aceite esencial. Posteriormente se comprobó que la destilación por arrastre con vapor era el mejor método para preparar tales aceites. Las investigaciones sobre la constitución química de los aceites esenciales efectuadas durante el siglo XIX condujeron al descubrimiento de varios hidrocarburos isómeros de composición $C_{10}H_{16}$, que recibieron el nombre de terpenos. Nuevas investigaciones revelaron la existencia de terpenos oxigenados, alconoides y cetonas de 15, 20 o 30 átomos de carbono, se desarrolló la siguiente nomenclatura:

CLASE	Numero de átomos de carbono
Monoterpenos	10
Sesquiterpenos	15
Diterpenos	20
Sesterpenos	25
Triterpenos	30
Carotenos	40

TABLA 2 - Nomenclatura de terpenos.

Al irse conociendo las estructuras de un mayor número de terpenos, se hizo patente que prácticamente todos ellos podían bisectarse teóricamente en unidades idénticas de cinco átomos de carbono, con el mismo esqueleto que el hidrocarburo isopreno, C_5H_8 . Este hallazgo condujo a la formulación de la regla del isopreno, que establece que todos los terpenos deben ser divisibles formalmente en unidades de isopreno. Hoy sabemos que los terpenos no se forman realmente en la naturaleza a partir del isopreno, ya que este nunca asido detectado como producto natural. El verdadero precursor universal de todos los terpenos es el "ácido mevalónico" compuesto que fue aislado de la naturaleza hasta 1956. En el Esquema 1, se muestra la biosíntesis de los terpenos. Otros de los productos naturales relacionados con los terpenos son los "esteroides", sustancias que se encuentran en todos los organismos animales y vegetales, los más importantes son los de origen animal que tienen funciones muy importantes. El esteroide animal más abundante es el colesterol, un alcohol cristalino de fórmula $C_{27}H_{46}O$ (Allinger *et al.*, 1979), el Esquema 2, muestra la biosíntesis del colesterol.

Todo este conocimiento fitoquímico acumulado hace posible la identificación de nuevas sustancias además de que constituye una introducción esencial para la investigación en química orgánica. De esta manera se organiza la información sobre las propiedades físicas, espectroscópicas y espectrométricas, complementándolas con reacciones químicas dentro de un procedimiento sistemático de identificación lógica. Las reacciones juegan un papel muy importante dentro de este procedimiento de identificación, ya que una vez que se establece la naturaleza de uno o más de los grupos funcionales presentes en la sustancia desconocida la preparación de un derivado satisfactorio* mediante una reacción química apoyará la identidad de la sustancia desconocida al conocer las constantes físicas y espectroscópicas del derivado (Sheriner *et al.*, 1977).

En este sentido, en las reacciones químicas, como en otros fenómenos, hay reacciones rápidas como explosiones de mezclas combustibles, las reacciones por radicales y algunas precipitaciones de sales insolubles. Otras mas lentas como la oxidación del hierro, así como el enranciamiento del aceite, etc. Otras se verifican a velocidad media, como la combustión de la madera o carbón, en productos naturales la esterificación de algunos alcoholes, etc. La química ha estudiado primero las propiedades de las sustancias, después su composición y luego las leyes que determinan sus propiedades y estructura y, finalmente, las transformaciones de especies químicas. Se ha estudiado la química descriptiva, la química estructural y la termodinámica y finalmente, la cinética química (Chacon *et al.*, 1975).

*Un derivado satisfactorio se debe preparar fácil y rápidamente y en general deben ser sólido y de buen rendimiento, además de poseer propiedades bastante diferente al compuesto original.

De esta manera el ingeniero químico requiere de una ecuación numérica para la velocidad intrínseca y poder diseñar un reactor a escala comercial. Por lo general, la información disponible son los datos a escala de laboratorio de concentraciones en función del tiempo. A partir de esta información es necesario determinar la expresión de la ecuación de velocidad que mejor concuerde con los datos disponibles. Esto casi siempre requiere un procedimiento de prueba y error, comparando varias ecuaciones de velocidad propuestas con los datos. La comparación de la cinética experimental con las ecuaciones de velocidad propuestas pueden llevarse a cabo de dos maneras:

1.- **El método de integración**, que consiste en comparar las concentraciones observadas y estimadas en función del tiempo (t). Al usar este método es necesario integrar la ecuación de velocidad para predecir la relación C , en función del tiempo (t).

2.- **El método diferencial**, requiere de una diferenciación de los datos experimentales de C , en función del tiempo (t), para obtener una velocidad experimental. La velocidad se compara entonces con la obtenida en base a la ecuación de velocidad propuesta.

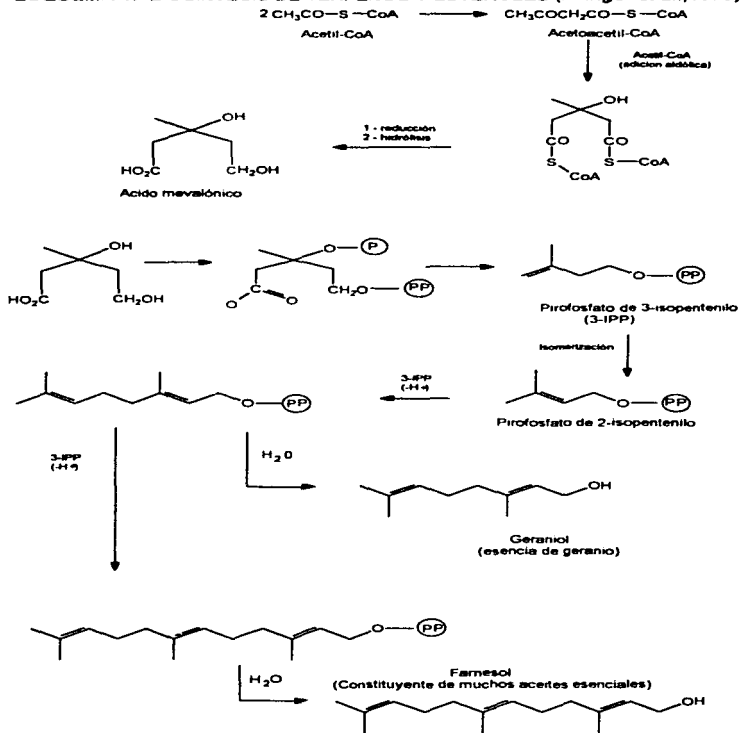
Una ecuación de velocidad satisfactoria no siempre proporciona suficiente información para establecer el mecanismo de la reacción (Smith, 1986).

Por lo tanto es indispensable que los estudiosos de los procesos químicos integren nuevas técnicas y equipos más actualizados en el seguimiento de reacciones químicas como es el caso de la RMN- ^1H . En los estudios fitoquímicos las reacciones de esterificación son muy comunes y el poder determinar la cinética experimental de este tipo de reacciones mediante espectroscopía de RMN- ^1H , es una nueva aplicación de esta técnica que proporciona información precisa para dicho estudio (Gallagher y Gaul, 1996).

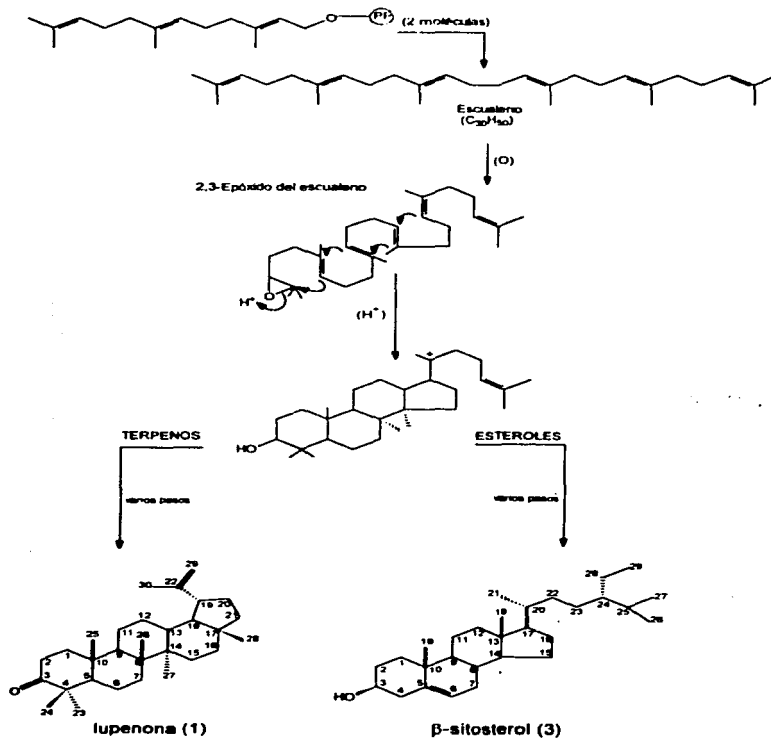
Es por ello necesario ampliar el conocimiento de los recursos con los que cuenta el país. Sabemos que en México existe una gran riqueza de recursos naturales, entre los que se encuentran los vegetales, de los cuales algunos son utilizados como plantas medicinales por diferentes grupos étnicos, que heredaron su uso por las grandiosas culturas que florecieron en nuestros país.

Se han realizado estudios fitoquímicos de muchas especies de la familia de las *Bombacaceas*, de las que podemos destacar especies como *malabancum*, *munguba*, *pentadrum*, entre otras, sin embargo, no se tiene información para el género *Pseudobombax ellipticum*. La Tabla 3, muestra los metabolitos secundarios aislados de plantas de la familia de las *Bombacaceas* (De la Vega, 1993).

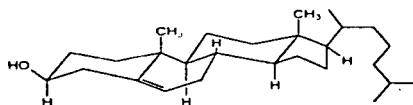
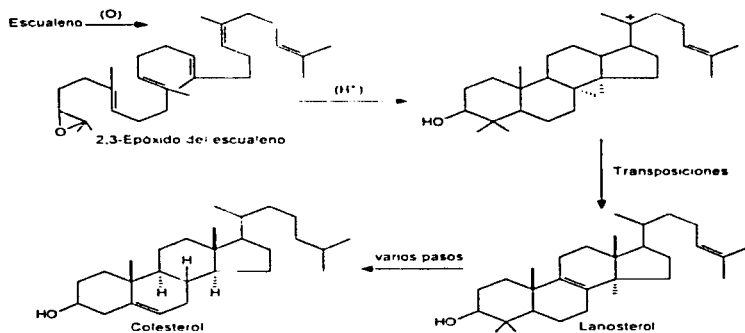
ESQUEMA 1.- BIOSINTESIS DE TERPENOS Y ESTEROLES (Allinger et al., 1979)



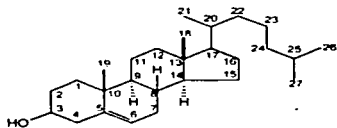
ESQUEMA 1.- BIOSÍNTESIS DE TERPENOS Y ESTEROLES (continuación).



ESQUEMA 2 - BIOSINTESIS DEL COLESTEROL.



Estereoquímica del colesterol



Estructura del colesterol

**TABLA 3 - Metabolitos secundarios aislados de la familia de las *Bombacaceas*
(De la Vega, 1993)**

ESPECIE ESTUDIADA	COMPUESTOS AISLADOS
<i>B. malabaricum</i> GOMA DE TRONCO	<ol style="list-style-type: none"> 1) Taninos, catecol taninos, L-arabinosa, D-galactosa, ác D-galacturónico, trazas de ramnosa 2) La hidrólisis parcial de D-galactosa de 6-O-ác (β-D-galactopiranosasilurónico)-D-galactopiranososa 3) 2,4,6 y -2,3,4-tri y 2,6-di-O-metil-D-ác galactopiranososa 4) Riboflavina y Tiamina 5) 2,3,4,6-tetra-, 6-di y 2,4-di-O-metil-D-galactosa y 2,3,5-tri y 2,5-di-metil-L-arabinosa
FLORES	<ol style="list-style-type: none"> 1) Aminoácidos (lisina, argenina, alanina, ác glutámico, leucina) y azúcares (fructosa, glucosa, galactosa y lactosa) 2) Carbohidratos, proteína cruda, calcio, fósforo y magnesio
SEMILLAS	<ol style="list-style-type: none"> 1) Aminoácidos, grasa y proteína cruda 2) Ac. palmítico, ác Mirístico, ác palmitoleico, ác esteárico, ác oleico, ác linoleico, ác behénico 3) Ac glicerínico, mirístico, palmítico, araquídico, behénico y linoleico Caratenoides, tacoferol, proteínas aminoácidos (alanina, valina, isoleucina, leucina, argenina, glicina y ác aspártico, azúcares
RAIZ	Fosfátidos (cefalinas), taninos, arabinosa, almidón
CORTEZA DE LA RAIZ	Triterpenos como β -lupeol y acetato de β -lupeol, nitrato de potasio
<i>B. munguba</i> SEMILLA	Celulosa, arilciclopropeno, glicerolípidos, triacilglicerol, 1,3-dipalmitoil-2-oleoilglicerol, 1,3-dipalmitoil-2-linoleoilglicerol, 1,3-dipalmitoil-2-ferculoilglicerol
<i>B. pentadrum</i> SEMILLAS	Aminoácidos como caseína, treonina, valina, metionina, isoleucina, fenilalanina, lisina, histidina, argenina, triptofano
<i>B. aquaticum</i> <i>Pseudobombax</i> <i>manguba</i>*	Ac. Palmítico, esteárico, oleico y linoleico Se realizó el estudio referente a la descomposición de nutrientes presentes en las hojas, en presencia de agua (Furch <i>et al.</i> , 1987)
<i>Pseudobombax</i> <i>manguba</i>*	Se encontró, ác. ascórbico en las flores, de las cuales se alimentan los primates y murciélagos salvajes de Panamá (Milton <i>et al.</i> , 1987)
<i>Pseudobombax</i> <i>manguba</i>*	En el estudio realizado se encontró nitrato oxidasa en las hojas (Smirnov <i>et al.</i> , 1984)

Nota: Es importante señalar que para *Pseudobombax ellipticum* no se encontró información bibliográfica referente al estudio fitoquímico

TABLA 4.- Casos nuevos de enfermedades no transmisibles en el país, donde se incluye a la diabetes mellitus hasta la semana 8 de 1996.

ENFERMEDAD	1996	1996	1995
	SEMANAL	ACUMULADO	ACUMULADO
Hipertensión arterial	1,834	18,600	25,501
Diabetes Mellitus	1,079	11,853	18,245
Enfermedades Isquémicas del corazón	210	2,459	2,983
Enfermedades Cerebro vasculares	157	1,555	2,189
Cirrosis Hepática	50	777	1,207
Cancer Cérvico uterino	34	176	241

TABLA 5.- Casos nuevos de enfermedades no transmisibles en el país, donde se incluye a la diabetes mellitus hasta la semana 9 de 1996

ENFERMEDAD	1996	1996	1995
	SEMANAL	ACUMULADO	ACUMULADO
Hipertensión arterial	2,575	22,430	29,601
Diabetes Mellitus	1,641	14,283	20,935
Enfermedades Isquémicas del corazón	321	2,962	3,410
Enfermedades Cerebro vasculares	196	1,824	2,538
Cirrosis Hepática	64	880	1,359
Cancer Cérvico uterino	41	239	263

METODOS DE CARACTERIZACION Y SEPARACION

SEPARACIONES CROMATOGRAFICAS

Todas las separaciones cromatográficas se logran mediante la distribución de los constituyentes de una mezcla entre dos fases, de las cuales una es fija y se llama fase estacionaria, y la otra, que se desplaza, se llama fase móvil. La separación de los componentes se logra debido a que algunas sustancias son retenidas mas fuertemente en la fase estacionaria que otras que, por lo tanto, tienen mayor tendencia a desplazarse en la fase móvil. Conforme se va desarrollando una separación cromatográfica, la zona en que va quedando sustancia da la impresión de estarse moviendo lentamente, a la vez que se va ensanchando. Lo que realmente está ocurriendo es que las moléculas de cada uno de los compuestos están siendo adsorbidas y redisueltas alternativamente entre las fases móvil y estacionaria, y por ello la apariencia de movimiento que se observa a simple vista, cuando se emplean compuestos que tengan color. Los métodos cromatográficos más ampliamente utilizados para fines preparativos en los laboratorios de química orgánica y con frecuencia se complementan son: la cromatografía en capa fina (CCF) y la cromatografía en columna, la primera va proporcionando la información de la eficiencia o, mejor dicho, la efectividad con que la columna va logrando hacer la separación de los constituyentes de una mezcla dada (Joseph-Nathan, 1975).

CARACTERIZACION FISICA

Las propiedades físicas de las sustancias, suministran información muy útil en la elucidación de estructuras. Las propiedades físicas de los productos dependen de la pureza de la muestra; por lo tanto para obtener la máxima utilidad de los datos medidos, las muestras deben tener un alto grado de pureza. Una de las propiedades físicas de mucha utilidad y fácil de determinar, es el punto de fusión. El punto de fusión de un sólido y recíprocamente el punto de congelación de un líquido, se puede definir, como la temperatura a la cual, para una presión dada, las fases sólidas y líquidas están en equilibrio. El aparato para medir puntos de fusión es el aparato de Fisher-Johns, consta de platinas calefactoras, donde una pequeña porción de material se coloca entre dos láminas de vidrio tipo cubre objetos, los cuales se sitúan posteriormente en una base de aluminio calentado eléctricamente. La velocidad del aumento de temperatura se regula y la muestra se observa con la ayuda de una lupa. El aparato Fisher-Johns es adecuado para la determinación de puntos de fusión comprendidos entre 30 y 300 °C (Pasto y Johnson, 1977).

IDENTIFICACION CON MUESTRA AUTENTICA.

Si el compuesto problema está descrito en la literatura y bien caracterizado, para establecer la estructura de dicho compuesto sólo es necesario demostrar que las dos sustancias tienen la misma estructura. Todas las propiedades físicas y químicas de las dos muestras deben ser las mismas. Si no

se puede obtener una muestra auténtica, lo mejor que se puede hacer es demostrar que la muestra problema tiene todas las propiedades mencionadas en la literatura para dicho compuesto. Con los métodos de comparación anteriores es generalmente fácil establecer la identidad de una muestra problema con un compuesto previamente descrito, especialmente si se dispone de una muestra auténtica (Bates y Schaefer, 1977)

TECNICAS ESPECTROSCOPICAS Y ESPECTROMETRICAS

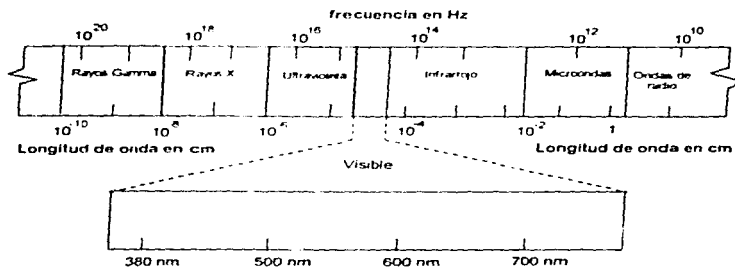
Existen ciertos fenómenos que no es posible observar directamente, por esta razón es necesario un sistema capaz de traducir tal fenómeno en otro claramente observable. Los instrumentos para análisis químico serán entonces los medios, que permitan evaluar características no observables directamente. El perfeccionamiento del análisis instrumental ha seguido una ruta paralela a los descubrimientos en el campo de la electrónica. Se han ideado numerosos sistemas computarizados que proporcionan velocidad, exactitud y simplicidad de manejo. Sin embargo, uno de los problemas que se presenta antes de llevar a cabo este tipo de análisis, es el de elegir el método instrumental adecuado. La elección y combinación dependerá del conocimiento de los principios básicos de los distintos métodos disponibles, sus ventajas y limitaciones. Ninguno de los métodos es definitivo, se complementan entre sí. Todos los métodos requieren de una previa preparación de la muestra, ya sea por disolución para separar componentes o bien preparar pastillas de compuestos o soluciones (Medina, 1995)

El espectro electromagnético, como se muestra en la Gráfica 1, está formado por radiaciones de diferente longitud de onda y frecuencia. De acuerdo con la longitud de onda se forman las diferentes regiones del espectro: Rayos Gamma, Rayos X, Ultravioleta lejano y visible, Infrarrojo, Microondas y Ondas de radio. En función del tipo de radiación que actúe sobre la muestra a analizar, se tendrán distintas respuestas y en consecuencia varios métodos espectroscópicos. Estos métodos se fundamentan en que los materiales, absorben energía del espectro dependiendo de su estructura química. Es decir, los diferentes grupos químicos que forman una molécula absorberán diferentes cantidades de energía y estas variaciones se registran y procesan en sistemas adecuados que convierten dicha información en diagramas llamados espectros.

Algunos de los métodos espectroscópicos más importantes para el análisis de compuestos son:

- | | |
|---|----------------------------------|
| a) Espectroscopia Infrarroja (IR) | Grupos funcionales presentes |
| b) Espectroscopia Ultravioleta (UV) | Naturaleza del sistema conjugado |
| c) Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) | Esqueleto carbono-hidrógeno |
| d) Espectrometría de Masas | Tamaño y fórmula moleculares |

GRAFICA 1.-ESPECTRO ELECTROMAGNETICO (McMurry, 1994)



ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

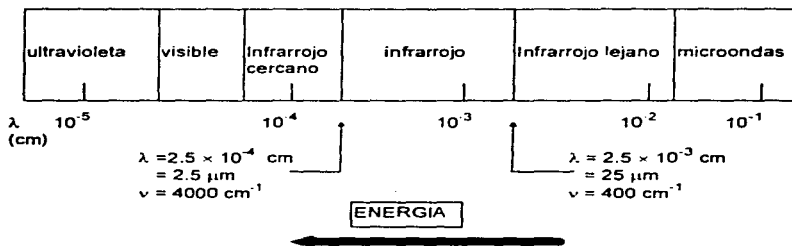
Este es uno de los métodos instrumentales de mayor uso para el análisis de compuestos orgánicos. Los espectros de absorción aparecen cuando las moléculas experimentan transiciones entre estados cuánticos, que corresponden a dos energías internas diferentes. Esta energía o radiación provoca en una molécula estados vibracionales, que hacen que los enlaces entre los átomos se comporten como resortes. El espectro de infrarrojo se considera como una propiedad característica de un compuesto. Con la excepción de isómeros ópticos no hay dos compuestos que tengan curvas de absorción infrarroja idéntica (Medina, 1995).

La región infrarroja del espectro abarca como se muestra en la Gráfica 2, el intervalo que queda justo por debajo del visible (7.8×10^5 cm) hasta aproximadamente 10^2 cm, pero sólo la porción central, desde 2.5×10^3 hasta 2.5×10^4 cm, reviste interés para los químicos orgánicos (McMurry, 1994). La posición de absorción en la región infrarroja general puede expresarse en función de la longitud de onda, (μ) o del número de onda (cm^{-1}) de la luz absorbida. El principio se basa en que sólo el haz infrarrojo con una frecuencia correspondiente a la requerida para aumentar el nivel de energía de un enlace, será absorbido. Es decir, la amplitud de la vibración particular es incrementada repentinamente por una cantidad específica y no de manera gradual. Cuando la muestra es irradiada por un haz infrarrojo cuya frecuencia a medida que la energía es consumida en enlaces diferentes de alargamiento o flexión. El haz transmitido será debilitado y así un registro de la intensidad del haz de infrarrojo transmitido contra la longitud de onda darán una curva mostrando bandas de absorción (Pasto y Johnson, 1977).

Los resultados deben interpretarse a partir de la lectura del espectro, el cual presentará una serie de bandas en diferentes intervalos de absorción. La

localización de cada banda determina los diferentes grupos funcionales presentes en las muestra por lo tanto se podrá definir su estructura tentativa, con la ayuda de patrones de comparación para lograr identificar el material (Dyer, 1978).

GRAFICA 2.-Región del infrarrojo del espectro electromagnético (McMurry, 1994).

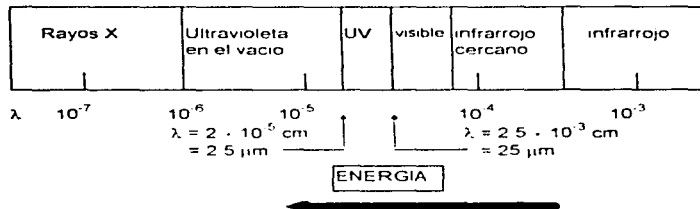


ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA

Este método es utilizado principalmente en el control de calidad para determinaciones cuantitativas de antioxidantes, absorbentes de luz ultravioleta, estabilizadores, tintas y pigmentos. La región del ultravioleta del espectro electromagnético se extiende desde la longitud de onda corta al final del espectro visible (4×10^{-5} cm) hasta 10^{-6} cm, pero el estrecho intervalo de 2×10^{-4} cm a 4×10^{-4} cm es la porción de mayor interés en química orgánica. Las absorciones en esta región suelen medirse en nanómetros, nm ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$). De este modo, el intervalo de ultravioleta de interés se encuentra entre 200 y 400 nm, como se muestra en la Gráfica 3, (McMurry, 1994).

Los espectros de ultravioleta son mas simples que los de infrarrojo ya que presentan sólo algunas bandas de absorción haciéndolos más sencillas de interpretar. Los datos espectrales de absorción pueden presentarse como gráficas de absorbancia o log del coeficiente de extinción ($\log \epsilon$) frente a longitud de onda. Los datos que se obtienen normalmente del espectro ultravioleta, vienen dados por una gráfica de la absorbancia frente a la longitud de onda. Los coeficientes de extinción pueden alcanzar valores entre 10 a 100 000 y por lo tanto generalmente se representan como log de ϵ frente a la longitud de onda (Medina, 1995).

GRAFICA 3.- Región del UV del espectro electromagnético (McMurry, 1994)



ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR

Espectroscopia de resonancia magnética nuclear significa, núcleos en resonancia en el seno de un campo magnético. Se basa en la detección de los cambios de energía del núcleo atómico de ciertos elementos cuando se someten a un fuerte campo magnético. Se dirige una señal de radio frecuencia al núcleo del elemento que se encuentra en medio de un fuerte campo magnético (1.4 T). Este campo provoca que el núcleo gire sobre su propio eje generando energía y cuando la señal de radiofrecuencia se iguala ocurre una resonancia. Este cambio se efectúa en la zona de las ondas de radio del espectro electromagnético (MHz) (1 megahertz = 1 millón de ciclos por segundo). (Medina, 1995)

La resonancia magnética nuclear, se puede estudiar desde el punto de vista absolutamente teórico, calculando mediante complicados sistemas matemáticos la forma del espectro de una molécula, o de parte de ella. Y por otro lado, también es posible interpretar espectros de RMN por analogía con otros espectros, sin entender realmente el fenómeno que está sucediendo, ninguna de estas dos formas de operar es aconsejable, y por lo tanto, la combinación de éstas es recomendable para la determinación de estructuras. Los usos más frecuentes de la RMN han sido para fines cualitativos de identificar protones con un entorno químico determinado. Por otro lado, también es posible utilizar la RMN como arma analítica cuantitativa, siempre que en el espectro de una mezcla sea posible identificar grupos de protones asignables para cada uno de los componentes de la mezcla. Los usos cuantitativos de la RMN, se han aplicado con buen éxito a casos de control de producciones industriales y recomendado en ensayos de productos farmacéuticos (Nathan y Diaz, 1980)

ESPECTROMETRIA DE MASAS

La espectrometría de masas es básicamente una técnica que permite determinar la masa de una molécula (peso molecular). Además, a menudo proporciona valiosa información estructural acerca de compuestos desconocidos

si se mide la masa de los fragmentos que producen cuando se rompen moléculas de alta energía. Existen varios tipos disponibles de espectrómetros de masa, pero uno de los más comunes es el instrumento de impacto electrónico y sector magnético. Se introduce una pequeña cantidad de muestra al espectrómetro de masa, donde es bombardeado por una corriente de electrones de alta energía. La cantidad exacta de energía de la corriente de electrones varía, pero suele ser de alrededor de 70 electrón-Volt (eV), o 1600 kcal/mol (6700 kJ/mol). Cuando un electrón de alta energía golpea una molécula orgánica extrae de ella un electrón de valencia, formando así un catión radical (catión porque la molécula pierde un electrón, con carga negativa; radical porque la molécula queda con un número impar de electrones).



El bombardeo con electrones transfiere tal cantidad de energía a las moléculas de la muestra que los cationes radicales se fragmentan después de la ionización; se separan en una gran cantidad de porciones más pequeñas, algunas de las cuales retienen un carga positiva mientras que otras son neutras. Los fragmentos pasan después por un campo magnético intenso, el cual las desvía por un tubo curvo conforme a su relación de masa sobre carga (m/z). Los fragmentos neutros no son desviados por el campo magnético y se pierden en las paredes del tubo, pero los fragmentos con carga positiva son separados por el espectrómetro, que los envía a un detector en el cual se registran como picos en las relaciones m/z apropiadas. Puesto que el número de cargas, z , suele ser 1, los picos de relación m/z son simplemente m , la masa del ion de que se trate.

El espectro de masas de un compuesto suele presentarse como una gráfica de barras que en el eje x tiene las unidades de masa (valores de m/z), y en el eje y tienen la intensidad (el número de iones de una relación m/z dada que llegan al detector). Al pico más alto, llamado **pico base**, se le asigna arbitrariamente una intensidad de 100%.

Los patrones de fragmentación de los espectros de masa de moléculas grandes suelen ser complejos, y frecuentemente el ión molecular no es el pico más alto (base) (McMurry, 1994).

GENERALIDADES DE LA PLANTA ESTUDIADA

De acuerdo a la descripción realizada por Pennington y Sarukhan en su libro "Arboles Tropicales de México" las generalidades de *Pseudobombax ellipticum* se dan a continuación (De la Vega, 1993)

Pseudobombax ellipticum (Kunth) Dugand.

- A) SINONIMIA** Bombax ellipticum (este género pertenece a la familia de las bombacáceas)
- B) NOMBRES COMUNES** Amapola (Chis . Camp . Yuc . Q Roo); Xiloxochitl (náhuatl). Bote. Chucté (Chis). Itztámatl (Gro) Pochote (Méx). Yaco de costa. Lele (Costa de Oax . Ver). Xacanol (totonaco, Centro de Ver); Mócoc (huasteco. S.L.P.). Mocoque. Huachilol (Hgo . S.L.P.); Bailador, Bailarina (Oax). Cabello de ángel (Oax). Carolina (Chis). Clavellina, Clavellina roja (Gro). Coquito, Coquito blanco (Oax); Chack'k'uyché (maya, Yuc). Chicochuchi (Gto). Chospó, Sospó (Chis). Chulté (Yuc). Disciplina (Oax); Fuibikú (Chontal, Oax); Gui-gui (Chis). Jiquique (Oax); Li-né (Chinanteco, Oax); Ococ (Chis). Shiushi, Shushgogoc (popolucua, Ver); Tambor, Titique, Tindusa (Oax). Titlamatl (Gro . Ver). Xihuixan (Ver)
- C) FORMA** Arbol o arbusto de hasta 30 m de altura, con el tronco derecho; ramas horizontales y colgantes, copa muy diversa
- D) CORTEZA** Corteza externa lisa amplia y somera o profundamente fisurada en árboles viejos, gris clara y verdosa en manchas o parda, interna de color crema rosado, cambiando rápidamente a pardo, fibrosa, laminada con amplias extensiones de parénquima, grosor total de la corteza de 12 a 30 mm
- E) MADERA** Albura crema muy clara con vasos muy grandes y bandas espaciadas de perénquima apotraqueal. Madera suave
- F) RAMAS JOVENES** Gruesas, verdes, parduzcas con numerosas lenticelas pequeñas y pálidas, glabras, con cicatrices de las estípulas caídas
- G) HOJAS** Yemas de 1 a 1.5 cm, lanceoladas u ovaladas, agudas, cubiertas por numerosas estípulas. Estípulas de 2, ca 1 cm de largo, ovadas, glabras, caedizas. Hojas dispuestas en espiral, aglomeradas en las puntas de las ramas, digitado-compuestas, hojas de 15-40 cm de largo, incluyendo el peciolo foliolos 5, el terminal más grande de 4 - 1.8 a 24 - 14 cm; anchamente elíptico o a veces estrechamente elíptico, con el margen entero, ápice redondeado o truncado, raras veces cortamente acuminado, base aguda, obtusa o truncada, verde amarillentos a verdes oscuros y

brillantes en el haz y verde más pálido y opaco en el envés; glabros, ocasionalmente con escasos pelos estrellados en la nervadura en el envés; hojas jóvenes de color rojo intenso; pecíolos pulvinolos, de 6 a 21 cm de largo, glabros, pejiolulus de 3 a 20 mm de largo con escasos pelos estrellados o glabros. Los árboles de ésta especie pierden las hojas antes de florecer, de diciembre a marzo.

H) FLORES

Solitarias o germinadas, en las axilas de hojas caídas; pedúnculos rojos de 1.5 a 3 cm de largo, gruesos y glabros; flores ligeramente aromáticas, actinomorfas, de 13 a 15 cm de largo; cáliz verde rojizo, de 2 cm de largo, tubular, con el margen truncado, carnosos glabro, con 9 a 10 grandes glándulas nectaríferas en la base de la superficie exterior pétalos rosados en al base morenos en el ápice, o blancos, 5, de 12 a 15 cm de largo, lineares con el ápice redondeado, densamente pubescente con pétalos dentiformes cortos con la superficie exterior, más escasos y mezclados con pétalos cortos y simples en la superficie interior; estambres numerosos de 11 a 12 cm, con los filamentos blancos o rosa intenso en la base, cambiando a blanco puro hacia el ápice, unidos en la base en un tubo carnosos ca 1.2 cm de largo, pubescente en la superficie externa con pétalos simples; ovario súpero, unilocular, multiovular, cónico, glabro casi 1 cm más largo que los estambres, blanco y retorcido en su ápice, estigma simple. Florece de enero a junio

I) FRUTOS

Cápsula de 15 a 25 cm de largo, 5-valvada, 5-surcada, alargada, aguda, verde, con el cáliz persistente; contiene numerosas semillas, ca 6 mm de diámetro, redondeada, rodeada por una masa de pelos sedoso blanco

J) ECOLOGIA

Se presenta en la vertiente del golfo desde San Luis Potosí y Tamaulipas, hasta la Península de Yucatán y en la vertiente del Pacífico, desde Sinaloa hasta Chiapas, crece perfectamente del nivel del mar a unos 500 m de altitud, formando parte de selvas altas perennifolias a medianas subperennifolias y subcaducifolias y bajas caducifolias en suelos preferentemente profundos derivados de materiales calizos o ígneos o metamórficos. Por lo general presentan un rápido crecimiento

DISTRIBUCION

K) USOS

Su madera relativamente suave es de buena calidad para la fabricación de chapas para centros de madera terciada y es usada por los nativos para la fabricación de canoas; la madera presenta dos inconvenientes principales: contenidos muy altos de agua y presencia de resinas que dificultan el proceso de fabricación de chapas. El alto contenido de agua hace un poco difícil el secado de la madera; tiene buenas cualidades para torneado

OBJETIVO GENERAL

El presente estudio tiene como objetivo la extracción, aislamiento, purificación y elucidación de la estructura de los metabolitos secundarios de los extracto Hexánico, Clorofórmico y Acetónico de la corteza de *Pseudobombax ellipticum* (Mocoque), la cual se utiliza en la medicina tradicional como antidiabética.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- 1.- Realizar la investigación bibliográfica en cuanto a generalidades, información botánica, etnobotánica, farmacológica y química de la especie en estudio.
- 2.- Descortezado, secado y molienda de la planta.
- 3.- Preparación del extracto hexánico, clorofórmico y acetónico de acuerdo a la metodología convencional.
- 4.- Separación y purificación de los constituyentes químicos de las diferentes fracciones de los extractos obtenidos por cromatografía en columna.
- 5.- Caracterización y elucidación de las estructuras de los metabolitos secundarios extraídos, mediante propiedades físicas y por métodos espectroscópicos.
- 6.- Realización de una cinética de reacción de alguno de los compuestos aislados.
- 7.- Contribuir al conocimiento químico y a la información que se tiene sobre las plantas medicinales de México.

HIPOTESIS

Mediante los procedimientos fitoquímicos convencionales se aislarán y caracterizarán el mayor número posible de metabolitos secundarios extraídos de la corteza de *Pseudobombax ellipticum*, que serán del tipo triterpénicos y azúcares, como los aislados en géneros pertenecientes a la familia de las *Bombacaceas*.

MATERIAL Y METODO

MATERIAL

A) EQUIPO:

- Evaporador rotatorio Büchi Re-112
- Parrilla de calentamiento.
- Bomba de vacío.
- Lámpara de luz ultravioleta Modelo USV-11 (254 nm).
- Balanza analítica.
- Balanza granataria.
- Molino eléctrico con malla de 5 mm de diámetro.
- Espectrofotómetro de infrarrojo nicoleit FT-55X y Perkin Elmer Mod. 1310.
- Espectrofotómetro de luz ultravioleta.
- Espectrómetro de resonancia magnética nuclear Varian 60A y XL 300, empleando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.
- Espectrómetro de masas Hewlett Packard 5985 B.
- Aparato Fisher Johns para punto de fusión.
- Bombas recirculadoras de agua marca Cooler King 120V. 180-GPH.

B) MATERIAL DE VIDRIO:

- Columnas de vidrio para cromatografía de tres tamaños diferentes en diámetro interno por longitud (3.5 cm x 70 cm; 5 cm x 65 cm; 1.2 cm x 30 cm)
- Vasos de pp. de 1000, 500, 250, 100 y 50 mL de capacidad.
- Matraces de bola con boca esmerilada de 1000, 500, 250, 100 y 50 mL de capacidad.
- Matraces de fondo plano con boca esmerilada de 500 y 250 mL de capacidad.
- Matraces Erlenmeyer de 500, 250, 50 y 25 mL de capacidad.
- Matraces Kitasato de 1000, 250, 25 mL de capacidad.
- Embudos de separación de 500, 250 y 125 mL de capacidad.
- Probetas de 1000, 100 y 10 mL de capacidad.
- Embudos Büchner de diferentes tamaños.
- Embudos de filtración de diferentes tamaños.
- Embudo Hirsch talla corto.
- Espátulas de diferentes tamaños.
- Barras magnéticas para agitación de diferentes tamaños.
- Frascos viales de 10 y 25 mL.
- Soportes universal.
- Refrigerantes rectos y de serpiente.
- Pinzas de 3 dedos con nuez.

- Pinzas para bureta
- Trampas para vacío
- Canastillas de calor tamiento.
- Anillos de hierro de diferentes tamaños.
- Vidrios de reloj.
- Tubos capilares.
- Cubre objetos para determinar punto de fusión.
- Pisetas.
- Aspersores de vidrio.
- Pipetas graduadas de 10, 5 y 1 mL de capacidad.
- Pipetas Pasteur.
- Cámaras de elución.
- Perillas de succión.
- Garrafrones de vidrio de 20 mL de capacidad.
- Jeringa de acero inoxidable de 10 cm³.
- Tapón septum.

C) REACTIVOS:

- 1.- 500 g de gel de sílice de 70-230 mallas ASTM (tamaño de partícula 0.063-0.200 mm)
- 2.- Cromatofolios de aluminio de silicagel 60 F₂₅₄ para cromatografía en capa fina de 20 × 20 cm, con un espesor de capa de 0.2 mm.
- 3.- Disolventes orgánicos: Hexano, Acetato de Etilo, Acetona, Cloroformo y metanol.
- 4.- Sulfato de sodio anhidro.
- 5.- Anhídrido acético.
- 6.- Piridina anhidra.
- 7.- Ácido clorhídrico.
- 8.- Carbonato de sodio.
- 9.- Ácido sulfúrico.
- 10.- Trióxido de cromo.
- 11.- Sulfato cérico amoniacal.
- 12.- Hielo.
- 13.- Agua destilada.
- 14.- Papel pH.
- 15.- Algodón.
- 16.- Papel filtro.
- 17.- Papel filtro Whatman No. 1.
- 18.- Papel aluminio.
- 19.- Parafilm.
- 20.- Cinta adhesiva transparente

D) MATERIAL VEGETAL:

La planta (*Pseudobombax ellipticum*) fue colectada en Abril de 1994 en Tehuetlán, Municipio de Huejutla en el Estado de Hidalgo, lugar donde se le conoce con el nombre de "mocoque". La corteza del tallo seca y molida pesó 3.4 kg. La Tabla 6 muestra las plantas utilizadas como hipoglucemiantes en el estado de Hidalgo.

TABLA 6.- PLANTAS EMPLEADAS EN LA HUASTECA HIDALGUENSE COMO ANTIDIABETICAS (Gómez y Rodríguez, 1991).

NOMBRE CIENTIFICO	FAMILIA	NOMBRE COMUN
<i>Aloe sp</i>	Liliáceas	Zabala
<i>Carica papaya</i>	Caricáceas	Papayo
<i>Cecropia obtusifolia</i>	Moráceas	Picón
<i>Chiodosculus chayamansa</i>	Euforbiáceas	Chayamansa
<i>Coriandrum sativum</i>	Umbelíferáceas	Cilantro
<i>Crotalaria Incana</i>	Legumináceas	Chipil
<i>Croton reflexifolius</i>	Euforbiáceas	Huilocuáhuitl
<i>Eriobotya japonica</i>	Rosáceas	Nispero
<i>Guazuma ulmifolia</i>	Esterculáceas	Aquiche
<i>Hibiscus rosa-synensis</i>	Malváceas	Tulipán
<i>Kalanchoe pinnata</i>	Crasuláceas	Tronador
<i>Marrubium vulgare</i>	Labiadas	Marrubio
<i>Opuntia sp</i>	Cactáceas	Nopal
<i>Parthenociscus quinquefolia</i>	Vitáceas	Guaco
<i>Pouteria hypoglauca</i>	Saponáceas	Zocohuite
<i>Pseudobombax ellipticum</i>	Bombacáceas	Mocoque
<i>Rhispalis cassutha</i>	Cactáceas	Niguilla
<i>Sauravia pnnglei</i>	Sauraviáceas	Picón
<i>Tecoma stans</i>	Bignoniáceas	Sanguinaria

METODO

A) PREPARACION DE EXTRACTOS:

El tronco y las ramas de las plantas fueron descortezados, se cortaron en trozos pequeños y se secó a temperatura ambiente. La planta seca se molió utilizando un molino eléctrico con malla de 5 mm de diámetro.

La planta seca y molida se extrajo por maceración con 13.5 litros de Hexano por 3 días (3 veces). Al recuperar el disolvente se obtuvieron 34 g del extracto hexánico. El residuo vegetal se extrajo con Cloroformo por maceración empleando 12 litros de éste disolvente por 3 días (3 veces). Al recuperar el disolvente se obtuvieron 61.7 g del extracto cloroformico. Finalmente, por último, al mismo residuo vegetal se le extrajo por maceración con 13 litros de Acetona por 3 días (3 veces). Al recuperar el disolvente resultaron 24 g de extracto acetónico. El Esquema 3, muestra el diagrama de flujo de éste procedimiento.

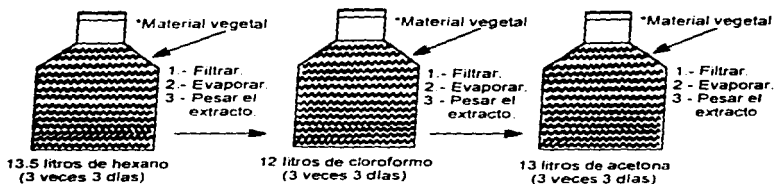
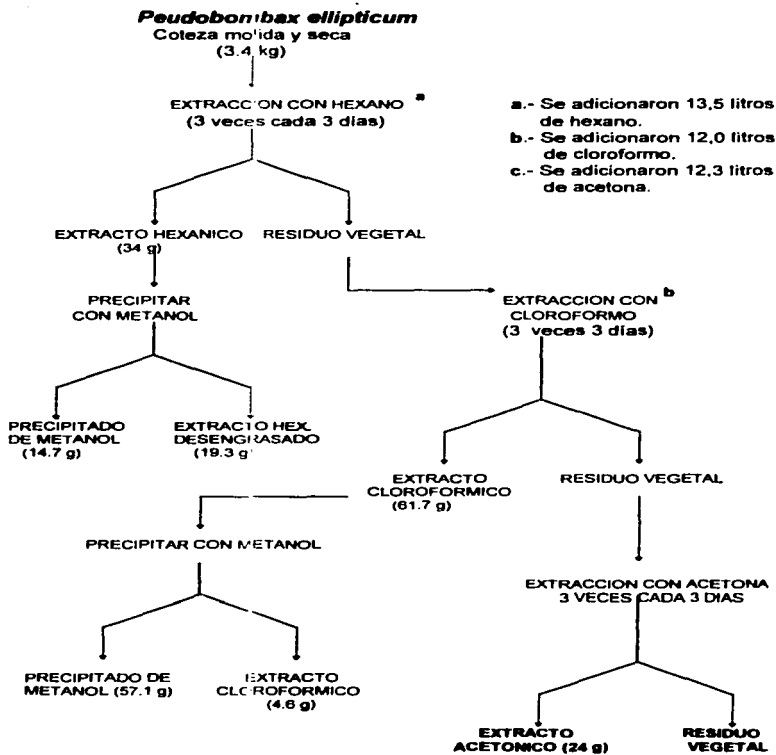


Figura I.- Procedimiento de extracción y obtención de extractos vegetales por maceración

*Es el mismo material vegetal para los 3 extractos (Hexánico, Cloroformico y Acetónico).



B) FRACCIONAMIENTO PRELIMINAR DEL EXTRACTO HEXANICO

El extracto hexánico (34 g) fue precipitado con metanol frío, obteniéndose 14 g del extracto hexánico desengrasado. Este extracto se aplicó a una columna de vidrio (50 cm de diámetro interno por 65 cm de longitud) empacada con 140 g de sílica gel para cromatografía en columna malla 70-230 ASTM (tamaño de partícula de 0.063-0.200 mm) 1:10 respecto a los 14 g de extracto hexánico, la cual se empezó a eluir con hexano y cantidades crecientes de acetato de etilo. Se recogieron fracciones de 125 mL cada una, hasta un total de 150 fracciones. Cada fracción se analizó por cromatografía en capa fina (cromatofolios de aluminio de sílica gel 60 F₂₅₄). Para revelar las placas se utilizó una lámpara de luz ultravioleta (método físico) y un agente cromogénico* rociando sobre la placa y puesta sobre una parrilla eléctrica caliente. Se combinaron aquellas fracciones que mostraron un R_f similar. La fase móvil que se utilizó en las cromatoplasacas, fueron combinaciones de disolventes tales como hexano, acetato de etilo, acetona, cloroformo y metanol, en diferentes proporciones. En la Tabla 7, se muestra el fraccionamiento del extracto hexánico por cromatografía en columna.

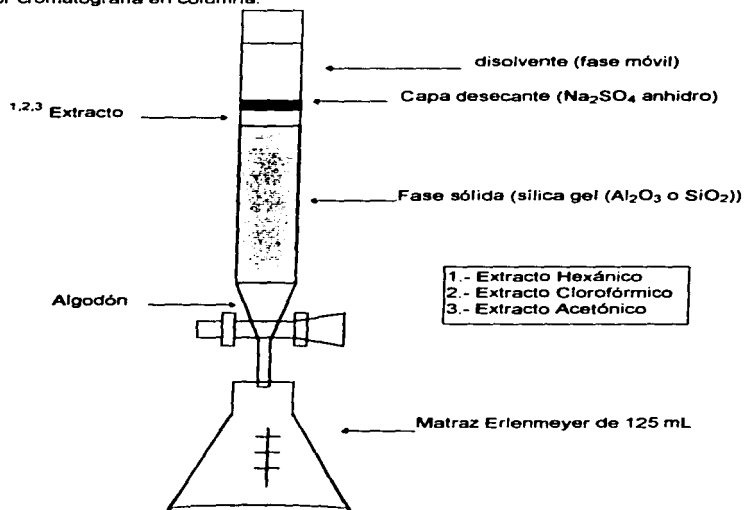
C) FRACCIONAMIENTO PRELIMINAR DEL EXTRACTO CLOROFORMICO.

El extracto cloroformico (61.7 g) fue precipitado con metanol frío, obteniéndose 4.6 g de extracto cloroformico desengrasado. Este extracto se preadsorbió (en relación 1:1) con 4.6 g de sílica gel para columna. El extracto preadsorbido se aplicó a una columna de vidrio (3.5 cm de diámetro interno por 70 cm de longitud) empacada con 92 g de sílica gel para cromatografía en columna, 1:10 respecto a los 9.2 g del extracto cloroformico preadsorbido, la cual se empezó a eluir con hexano, aumentando la polaridad con acetato de etilo, acetona y metanol al 100 %, recogiendo fracciones de 125 mL, cada una, hasta un total de 130 fracciones. Cada fracción se analizó por cromatografía en capa fina de la misma manera que el extracto hexánico. En la Tabla 8, se muestra el fraccionamiento del extracto cloroformico por cromatografía en columna. Se realizó una recromatografía de las fracciones 17, 18 y 19, en una columna de vidrio de 1.5 cm de diámetro interno por 30 cm de longitud, aplicando los 0.5 g de estas fracciones en 5 g de sílica gel para cromatografía en columna. Se recogieron 30 fracciones de 10 mL de cada una, eluyendo la columna con cloroformo.

*Se pesaron 350 g de hielo y se mezclaron con 12 g de sulfato cénico amoniacal (NH₄)₂Co(SO₄)₂, después se adicionaron 25 mL de ácido sulfúrico 2 N. Al final se calentó para disolver completamente.

D) FRACCIONAMIENTO PRELIMINAR DEL EXTRACTO ACETONICO.

El extracto acetónico (24 g) se aplicó a una columna de vidrio (5 cm de diámetro interno por 65 cm de longitud), empacada con 240 g de sílica gel para cromatografía en columna, en relación de peso 1:10 respecto a los 24 g del extracto, la cual se empezó a eluir con hexano, aumentando la polaridad con acetato de etilo, acetona y metanol al 100%, recogiendo fracciones de 125 mL cada una, hasta un total de 435 fracciones. Cada fracción se analizó por cromatografía en capa fina de la misma manera que para el extracto hexánico y clorofórmico. En la Tabla 9, se muestra el fraccionamiento del extracto acetónico por cromatografía en columna.



Cromatografía en columna simple

TABLA 7.- RESUMEN DEL FRACCIONAMIENTO POR COLUMNA CROMATOGRAFICA DEL EXTRACTO HEXANICO DE *Pseudobombax ellipticum* (MOCOQUE)

Eluyente	Proporción	No Fracciones	Fracciones combinadas**	Observaciones
Hexano	100%	1-66	1-4	Descartadas
			5-17	Descartadas
			18-31	Descartadas
			32-40	Descartadas
			41-48	Descartadas
			49-56	Descartadas
			57-66	Descartadas
Hex/AcOEt	9:1	67-111	67-70	Cristales blancos (a)*
			71-74	Cristales blancos (b)*
			75-78	Cristales amarillos (c)*
			79-80	Cristales blancos (d)*
			81-111	Descartadas
Hex/AcOEt	4:1	112-142	112-142	Descartadas
AcOEt	100%	143-160	143-152	Descartadas
			153-160	Cristales amarillos (e)

* Sustancias estudiadas

(a) y (b) se aislaron 2000 mg de Lupenona (1)

(c) y (d) se aislaron 1700 mg de β -lupeol (2)

**Las fracciones que presentaban características similares (Rf igual, color de los cristales, punto de fusión, etc.) son las que se combinaron.

TABLA 8 - RESUMEN DEL FRACCIONAMIENTO POR COLUMNA CROMATOGRÁFICA DEL EXTRACTO CLOROFORMICO DE *Pseudobombax ellipticum* (MOCOQUE)

Eluyente	Proporción	No De Fracciones	Fracciones combinadas**	Observaciones
Hexano	100%	1	1	Descartada
Hex/AcOEt	9:1	2-37	2-3	Descartadas
			4-5	Cristales blancos (a)
			6-7	Descartadas
			8-16	Cristales Blancos (b)*
			17-19	Cristales blancos (c)*
			20-24	Cristales blancos (d)*
			25-37	Descartadas
Hex/AcOEt	4:1	38-48	38-48	Descartadas
Hex/AcOEt	7:3	49-62	49-62	Descartadas
Hex/AcOEt	3:2	63-73	63-73	Descartadas
Hex/AcOEt	1:1	74-84	74-83	Descartadas
			84	Cristales blancos (e)
Hex/AcOEt	2:3	85-90	85-90	Descartadas
AcOEt	100%	91-100	91-100	Descartadas
Acetona	100%	101-110	101-110	Descartadas
Metanol	100%	111-130	111-130	Descartadas

* Sustancias estudiadas

(b) se aislaron 300 mg de β -sitosterol (3).

(c) se recromatografiaron aislándose 20 mg de Ayapina (4).

(d) se aislaron 10 mg de Ayapina (4).

**Las fracciones que presentaban características similares (Rf igual, color de los cristales , punto de fusión, etc.) son las que se combinaron

TABLA 9 - RESUMEN DEL FRACCIONAMIENTO POR COLUMNA CROMATOGRAFICA DEL EXTRACTO ACETONICO DE *Pseudobombax ellipticum* (MOCOQUE)

Eluyente	Proporción	No De Fracciones	Fracciones combinadas**	Observaciones
Hexano	100%	1-10	1-10	Descartadas
Hex/AcOEt	9:1	11-70	11-19	Descartadas
			20-22	Cristales blancos(a)
			23-25	Descartadas
			27	Cristales blancos(b)
			28-70	Descartadas
Hex/AcOEt	4:1	71-86	71-86	Descartadas
Hex/AcOEt	7:3	87-146	87-146	Descartadas
Hex/AcOEt	3:2	147-182	147-156	Descartadas
			157-168	Descartadas
			169-177	Descartadas
			178-182	Descartadas
Hex/AcOEt	1:1	183-229	183-193	Descartadas
			194-197	Descartadas
			198-204	Cristales blancos(c)*
			205-229	Descartadas
Hex/AcoEt	3:7	230-242	230-239	Descartadas
			240-242	Descartadas
AcoEt	100%	243-315	243-244	Descartadas
			245-255	Precipitado que descompon
			256-315	Descartadas
Acetona	100%	316-399	316-399	Descartadas
Metanol	100%	400-435	400-435	Descartadas

*Sustancia estudiada
(c) se aislaron 20 mg de Glucósido de β -sitosterol

**Las fracciones que presentaban características similares (Rf igual, color de los cristales, punto de fusión, etc.) son las que se combinaron.

E) REACCION DE ACETILACION DE β -(D)-GLUCOSIDO DE β -SITOSTEROL (5)

A 20 mg de las fracciones 198-204 del extracto acetónico eluidas con Hex/AcOEt 1:1, se les agregó 1 mL de piridina anhidra y 1 mL de anhídrido acético, a temperatura ambiente. Se verificó el fin de la reacción por cromatografía en capa fina. Posteriormente se le agregó agua y hielo picado en igual proporción. El producto de reacción se separó con 3 extracciones de acetato de etilo y se desechó la fase acuosa. Seguidamente se hicieron 4 lavados de 20 mL de HCl al 10% c/u. Se desechó la fase acuosa y la fase orgánica se lavó con una disolución saturada de bicarbonato de sodio, para posteriormente lavarla con agua y secarla con sulfato de sodio anhidro. Finalmente se concentró y se obtuvieron 14.76 mg (78.8% de rendimiento) de un sólido blanco cristalino soluble en CHCl_3 , AcOEt y acetona, el cual presentó un punto de fusión de 155-157 °C. El Esquema 4, ilustra el procedimiento de esta reacción.

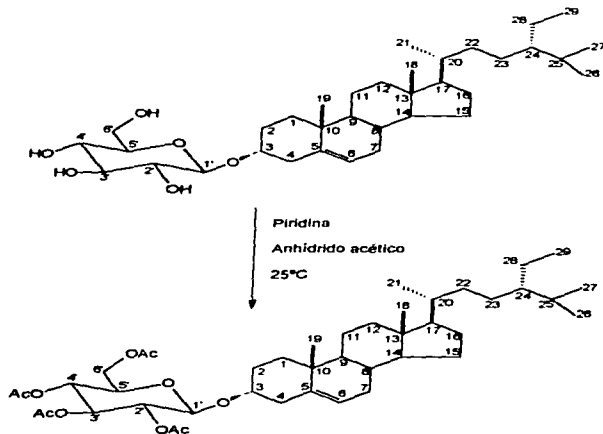


Figura II.- Reacción de acetilación del β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5).

ESQUEMA 4.- REACCION DE ACETILACION DE β -(D)-GLUCOSIDO DE β -SITOSTEROL (5)

β -(D)-GLUCOSIDO DE β -SITOSTEROL (5)

20 mg
materia prima

- 1.- 1 mL de anhídrido acético
1 mL de piridina anhidra*
- 2.- Adicionar hielo
- 3.- Extraer con AcOEt (3 veces)

*El fin de la reacción
se verificó por CCF.

**(1) FASE
ACUOSA**

**FASE
ORGANICA**

Extraer con HCl al 10%
4 veces

**(2) FASE
ACUOSA**

**FASE
ORGANICA**

Lavar con carbonato de sodio
al 10% 3 veces

**(3) FASE
ACUOSA**

**FASE
ORGANICA**

Lavar con agua.

AGUA

Secar con
 Na_2SO_4

**FASE
ORGANICA
(14.76 mg de acetilado)**

**(1), (2) y (3)
Se desecharon**

F) CINÉTICA DE LA ACETILACION DE β -SITOSTEROL (3).

A 300 mg de β -sitosterol (3), se le agregaron 15 mL de anhídrido acético y 5 mL de piridina anhidra, la mezcla contenida en un matraz de fondo cónica con barra magnética para agitación, se mantuvo en sistema cerrado mediante un tapón septum, del cual se tomaron alícuotas de 2 mL por medio de una jeringa. Se tomó una muestra cada 30 minutos, durante 4 horas a temperatura ambiente (Lozano, 1995). Las alícuotas se transfirieron a frascos viales con hielo para parar la reacción. El avance de la reacción se verificó mediante cromatografía en capa fina. El producto de reacción para cada muestra se separó con 3 extracciones de 20 mL de AcOEt cada una. A la fase orgánica se le realizaron 4 lavados con HCl al 10%. Se desechó la fase acuosa y la fase orgánica se lavó con una disolución saturada de bicarbonato de sodio, para posteriormente lavarla nuevamente con agua y secar con sulfato de sodio anhidro. Se concentraron y pesaron los productos obtenidos, en cantidades suficientes para la determinación de su respectivo espectro de RMN-¹H. El Esquema 5, ilustra el procedimiento de esta reacción.

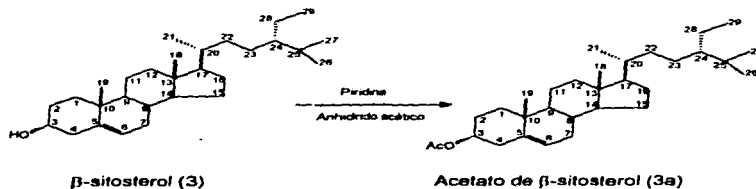
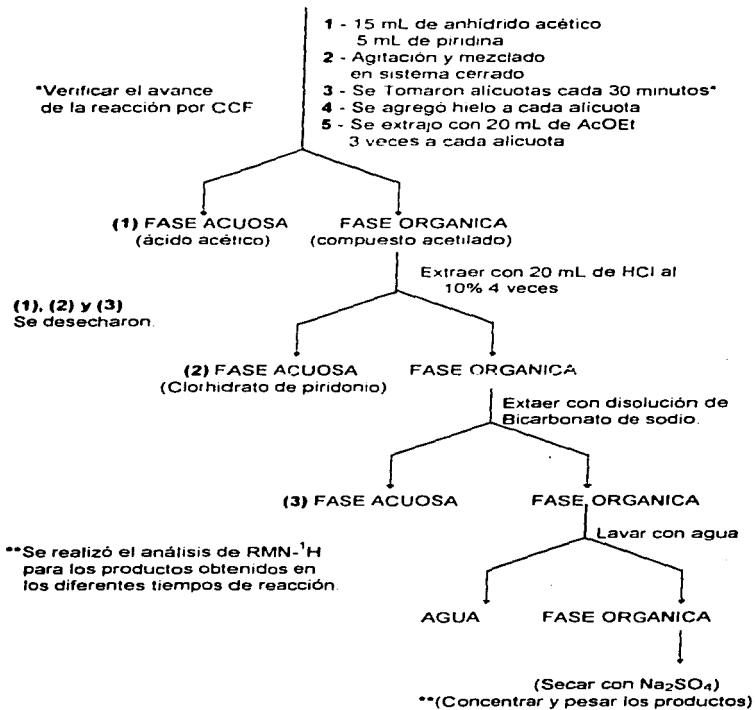


Figura III.- Reacción de acetilación de β -sitosterol (3).

ESQUEMA 5.- REACCION DE ACTILACION DE β -SITOSTEROL (3) (cinética)
 β -sitosterol (3)
 (300 mg de materia prima)



G) REACCION DE OXIDACION DE β -LUPEOL (2).

A 1.5 g de β -lupeol (2) de las fracciones 75-80 obtenidas en el extracto hexánico, se le agregaron 50 mL de acetona libre de 2-propanol para solubilizar y 10 gotas de reactivo de Jones*. Se observó un cambio de coloración en el medio de reacción, de amarillo a verde, se adicionó un ligero exceso del reactivo de Jones hasta que permaneció amarillo el medio de reacción. El curso de la reacción se verificó mediante cromatografía en capa fina: al momento de seguir el avance de la reacción aún no se había consumido el β -lupeol, por lo tanto, se le agregaron otros 20 mL de acetona y 10 gotas de reactivo de Jones. Se evaporó la acetona y se le agregaron 10 mL de agua, se ajustó el pH a neutralidad agregando gotas de Na_2CO_3 al 10%. Posteriormente se extrajo con CHCl_3 3 veces con 15 mL c/u. Posteriormente se lavaron con agua, se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró y pesó. El Esquema 6, ilustra el procedimiento de esta reacción.

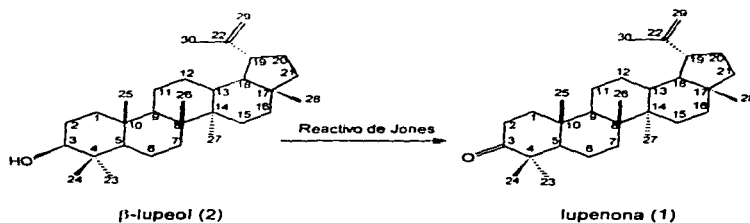
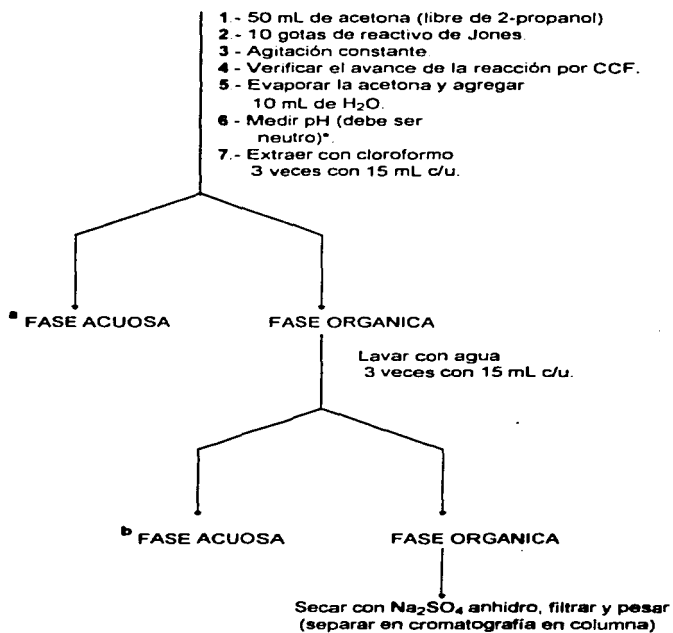


Figura IV.- Reacción de oxidación de β -lupeol (2).

*Reactivo de Jones: Se disuelven 26.72 g de trióxido de cromo en una mezcla de 23 mL de H_2SO_4 concentrado, y 50 g de hielo, después se afóra a 100 mL con agua (Dominguez, 1979).

ESQUEMA 6 - REACCION DE OXIDACION DE β -LUPEOL (2)

β -Lupeol (1.5 g)



*Agregar gota a gota Na₂CO₃ al 10 % para neutralizar.

H) CINÉTICA DE LA REACCIÓN DE ACETILACION DE β -LUPEOL (2).

A 180 mg de β -lupeol (2) de las fracciones 75-80, obtenidas del extracto hexánico, eluidas con Hex/AcOEt 9:1, se le agregaron 1.8 mL de anhídrido acético y 1.8 mL de piridina anhidra, la mezcla contenida en un matraz de fondo cónico con barra magnética para agitación se mantuvo en sistema cerrado mediante un tapón septum, del cual se tomaron alícuotas de 0.6 mL por medio de una jeringa durante diferentes tiempos de la reacción. Las muestras se agregaron en frascos viales con hielo para parar la reacción, el seguimiento de la reacción se verificó mediante cromatografía en capa fina. El producto de reacción para cada muestra se separó con extracciones de 10 mL de AcOEt cada una. A la fase orgánica se le realizaron 4 lavados con 10 mL de HCl al 10% cada una. Se desechó la fase acuosa y la fase orgánica se lavó con una disolución saturada de bicarbonato de sodio, para posteriormente lavarla con agua y seclarla con Na_2SO_4 anhidro. Se concentraron y pesaron los productos obtenidos en cantidades suficientes para la determinación de sus respectivos espectros RMN. ^1H en un equipo de 60 MHz. El Esquema 7, ilustra el procedimiento de esta reacción.

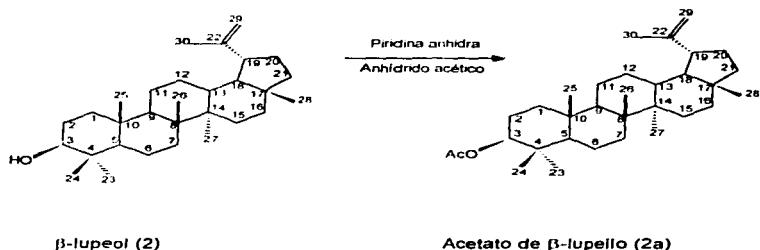
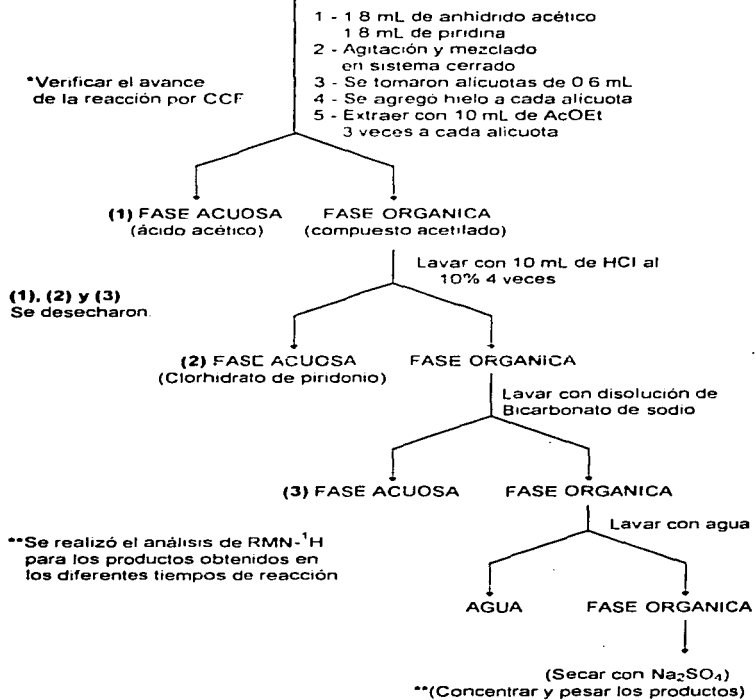


Figura V.- Reacción de acetilación de β -lupeol (2).

ESQUEMA 7.- REACCION DE ACTII ACION DE β -LUPEOL (2) (cinética)
 β -lupeol (2)
 (180 mg de materia prima)



1) REACCION DE LUPENONA (1) CON 2,4-DINITROFENILHIDRAZINA.

Se preparó una disolución de 2,4-dinitrofenilhidrazina de la manera siguiente: A 0,4 g de la 2,4-dinitrofenilhidrazina, contenida en un matraz Erlenmeyer de 25 mL, se le añadieron 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Se adicionó agua (3 mL), gota a gota con agitación, hasta que la disolución fue total. A esta disolución se le añadieron 10 mL de etanol al 95%. Se preparó una disolución de lupenona (1) en etanol disolviendo 0,5 g del compuesto en 20 mL de etanol al 95%. Se adicionó la disolución recientemente preparada de la 2,4-dinitrofenilhidrazina y la mezcla resultante se dejó reposar a temperatura ambiente. Parte de la cristalización de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de lupenona (1a) ocurrió a los 10 minutos, sin embargo, se dejó reposar la mezcla hasta el día siguiente con el fin de que la cristalización sea total*. Se filtró y se lavó con AcOEt, obteniéndose 0,380 g del producto (Shriner *et al.*, 1979). El Esquema 8, ilustra el procedimiento de esta reacción.

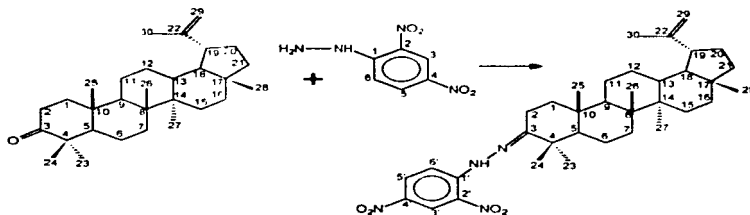
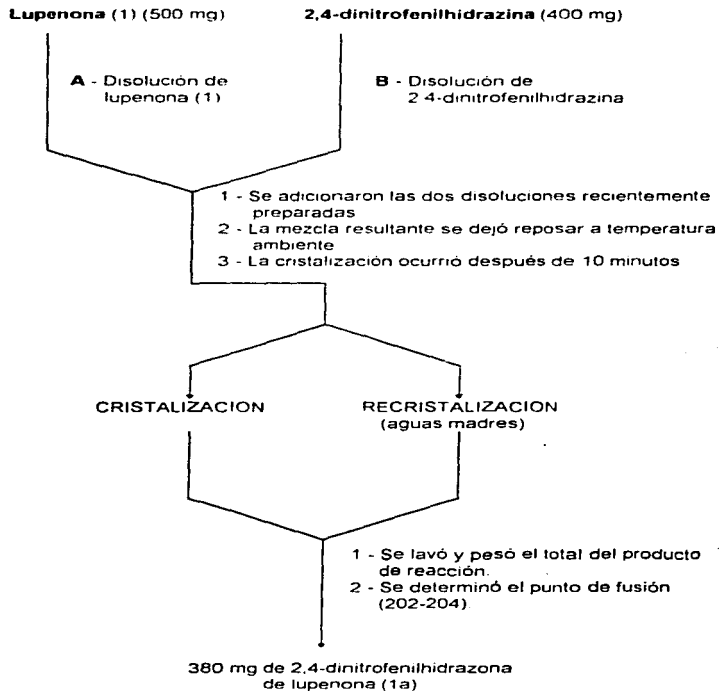


Figura VI.- Reacción de lupenona (1) con 2,4-dinitrofenilhidrazina

*Comunmente la recristalización puede efectuarse de la siguiente manera: La 2,4-dinitrofenilhidrazina en 30 mL de etanol al 95% se calienta sobre baño maría. Si se disuelve inmediatamente, se añade agua lentamente hasta que se llegue al punto de turbidez o hasta que se ha adicionado un máximo de 5 mL de agua. Si la 2,4-dinitrofenilhidrazona no se disuelve, se añade lentamente AcOEt a la mezcla caliente hasta que se logre la disolución. Filtrar y se deja reposar a temperatura ambiente hasta que la cristalización sea total (Aproximadamente 12 horas.) (Shriner *et al.*, 1979).

ESQUEMA 8.- REACCION DE LUPENONA (1) CON 2,4-DINITROFENILHIDRAZINA



RESULTADOS

Del extracto hexánico de la corteza del *Pseudobombax ellipticum*, después de haberlo fraccionado a través de una cromatografía en columna se identificaron dos compuestos, lupenona (1) y β -lupeol (2) triterpenos muy abundantes en la naturaleza que han sido aislados de otras especies de plantas además de las *Bombacaceas*, como en las especies *malabaricum* (De la Vega, 1993), se realizaron reacciones químicas para corroborar su identidad. Análogamente para el extracto clorofórmico, se aislaron dos compuestos; β -sitosterol (3) y ayapina (4), el primero un esteroide ampliamente distribuido en la naturaleza, como el aislado en la especie *malabaricum* (De la Vega, 1993) y la segunda una coumarina aislada en géneros como *Eupatorium* (Murray, 1978), pero que no ha sido aislada del género *Pseudobombax*.

Para el extracto acetónico, se lograron aislar sólidos inestables de los cuales únicamente se pudo caracterizar un compuesto, β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5). Se le realizó una reacción de acetilación, lo que permitió establecer la identidad de esta sustancia identificando al derivado como el tetraacetato de β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5a).

Se determinó el orden (segundo orden) de reacción para la acetilación de β -sitosterol (3), mediante el análisis de mezclas por RMN- ^1H (Gallaher y Gaul, 1996), y el método de integración comparando la cinética experimental con diferentes ecuaciones de velocidad (Smith, 1986).

La identificación y caracterización de los compuestos aislados se realizó mediante el análisis de sus propiedades físicas y espectroscópicas; además de la comparación con muestra auténtica y la preparación de derivados como el acetato de β -sitosterol (3a), el producto de oxidación de β -lupeol (2) que fue la lupenona (1), el acetato de β -lupeol (2a) y la 2,4-dinitrofenilhidrazona de lupenona (1a). Así también, para la cinética, el grado de conversión se determinó mediante RMN- ^1H . En la Tabla 10, se resumen los rendimientos de los compuestos aislados de la corteza de *Pseudobombax ellipticum* y la Tabla 10a, los rendimientos de los derivados.

TABLA 10 - Compuestos aislados de la corteza de *Pseudobombax ellipticum*
(3.4 kg de corteza seca y molida)

COMPUESTO	PESO (mg)	Rendimiento en base al peso del extracto	Rendimiento en base al peso de la corteza	Punto de Fusión (°C)
1 Lupenona (1)	2000	10.360	0.05882	170-172
1 β-lupeol (2)	1700	8.808	0.05000	202-204
2 β-sitosterol (3)	300	6.520	0.00882	134-136
2 Ayapina (4)	30	0.652	0.00088	174-176
3 β-(D)-glucósido de β-sitosterol (5)	20	0.083	0.00058	*Descompone

- (1) EXTRACTO HEXANICO (19.3 g)
 (2) EXTRACTO CLOROFORMICO (4.6 g)
 (3) EXTRACTO ACETONICO (24.0 g)

* Empezo a descomponer a una temperatura de 264 °C. cambiando de cristales blancos a cristales color rojo cobrizo

TABLA 10a - Derivados de los compuestos aislados de la corteza de *Pseudobombax ellipticum*

COMPUESTO	PESO (mg)	Rendimiento en base al peso del extracto	Punto de Fusión (°C)
1 2,4-dinitrofenilhidrazona de lupenona (1a)	380.00	76.00	202-205
2 Acetilado de β-lupeol (2a)	142.00	78.88	174-176
3 Oxidación de β-lupeol (2b)	1213.00	80.86	170-172
4 Acetilado de β-sitosterol (3a)	258.00	86.00	134-136
5 Acetilado de β-(D)-glucósido de β-sitosterol (5a)	14.76	73.80	155-157

- 1) lupenona (1) 0.50 g de materia prima
 2) β-lupeol (2) 0.18 g de materia prima
 3) β-lupeol (2) 1.5 g de materia prima
 4) β-sitosterol (3) 0.30 g de materia prima
 5) β-(D)-glucósido de β-sitosterol (5) 0.02 g de materia prima

DISCUSION DE RESULTADOS

IDENTIFICACION DE LUPENONA (1).

De las fracciones 67-74, obtenidas en la cromatografía en columna del extracto hexánico, eluidas con Hex/AcOEt (9/1), se aislaron 2000 mg de un compuesto blanco cristalino cuyo punto de fusión fue de 170-172 °C. El espectro de IR, Espectro 1, muestra una banda intensa a 1700 cm^{-1} característica de un grupo carbonilo cetónico, así también, se observa otra banda intensa a 1460 cm^{-1} que muestra la presencia de grupos metileno y grupos metilo a 1380 cm^{-1} . Por otro lado el espectro de RMN- ^1H , Espectro 2, se distinguen 7 señales simples e intensas entre δ 0.85 y δ 1.75, que corresponden a 7 metilos, además de dos singuletes anchos a campo bajo en δ 4.65 y δ 1.75 que se asignaron a hidrógenos vinílicos. El espectro de masas por impacto electrónico para esta sustancia, espectro 3, muestra un ión molecular en m/z de 424 (30%), también se visualiza un fragmento en m/z 55(76%), esta fragmentación es característica de icohexanonas (Jiménez, 1989). A partir de los datos anteriores se dedujo la fórmula $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}$, que al comparar directamente sus propiedades físicas y espectroscópicas con una muestra de referencia y las descritas en la literatura Shashi y Ashoke, 1991), se confirmó que se trataba de una sustancia conocida como lupenona (1), Figura 1. Se preparó además la 2,4-dinitrofenilhidrazona de este compuesto (1a), Figura 1, obteniéndose 380 mg, con un punto de fusión de 202-204 °C, el espectro de masas por impacto electrónico para el derivado, espectro 3a, muestra un ión molecular m/z 604 (33%), ($\text{C}_{36}\text{H}_{52}\text{O}_4\text{N}_4$). En la Tabla 1, se describen las características físicas y espectroscópicas de la lupenona (1) de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la lupenona (1a).

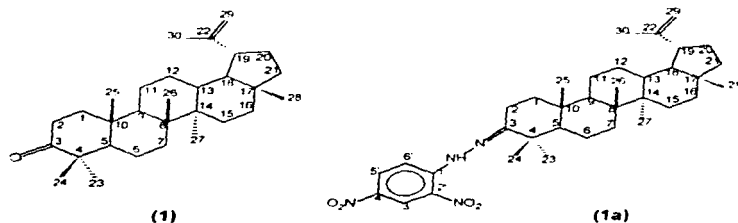
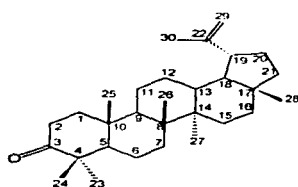


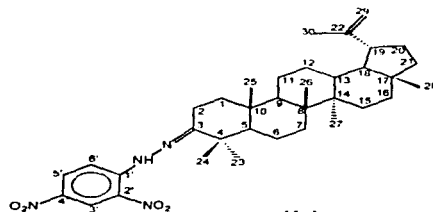
Figura 1.- Estructura de lupenona (1) y 2,4-dinitrofenilhidrazona de lupenona (1a).

TABLA 11.- Constantes espectroscópicas y espectrométricas de los compuestos lupenona (1) y 2,4-dinitrofenilhidrazona de lupenona (1a).

ESPECTRO	PARAMETROS MEDIDOS	RESULTADOS
Infrarrojo	ν_{\max} (cm ⁻¹ , CHCl ₃)	3015, 2940, 1700 1460, 1380, 890
RMN-¹H	δ (60 MHz, CDCl ₃ , TMS)	0.85(3H, s, Me, H-26) 0.95(3H, s, Me, H-25) 1.00(3H, s, Me, H-28) 1.45(1H, s, Me, H-27) 4.65(1H, sa, H-29) 4.75(1H, sa, H-29')
Masas (lupenona (1))	emie(M ⁺ , m/z, % de abund.)	424(M ⁺ , C ₃₀ H ₄₈ O) 314(12%), 245(6%) 105(38%), 149(14%) 109(32%), 55(76%) 41(78%)
Masas (2,4-dinitrofenilhidrazona (1a))	emie(M ⁺ , m/z, % de abund.)	604(M ⁺ , C ₃₆ H ₅₂ O ₄ N ₄) 540(20%), 423(34%) 305(11%), 203(73%) 191(65%), 44(92%)

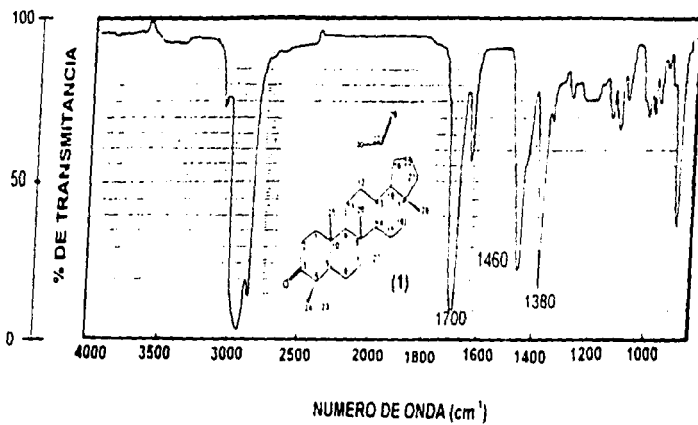


(1)

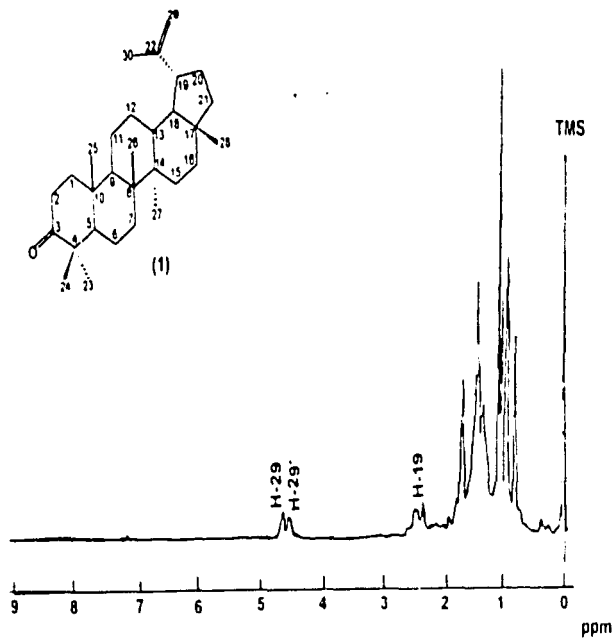


(1a)

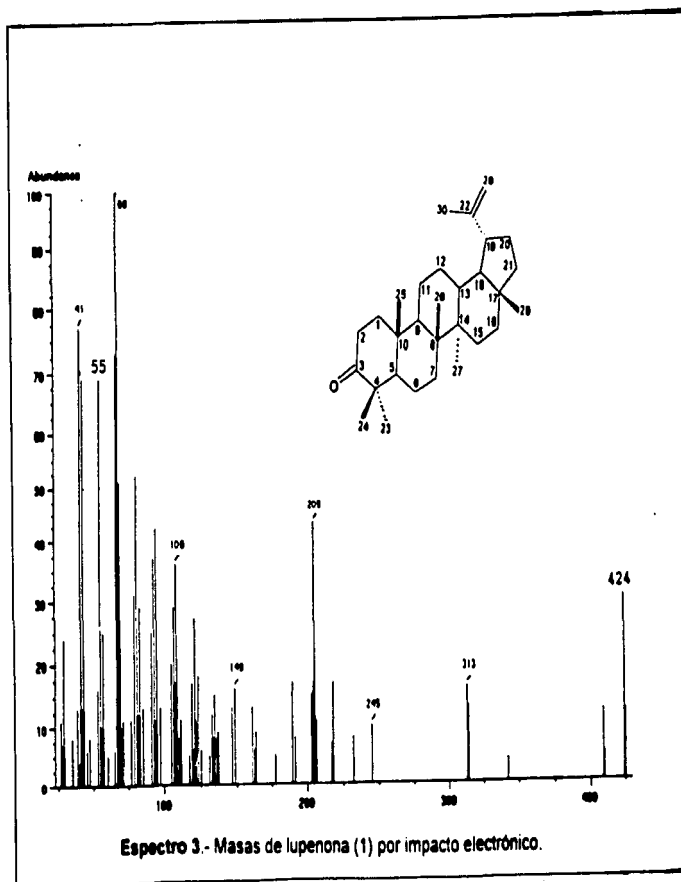
Figura 1.- Estructura de lupenona (1) y 2,4-dinitrofenilhidrazona de lupenona (1a).

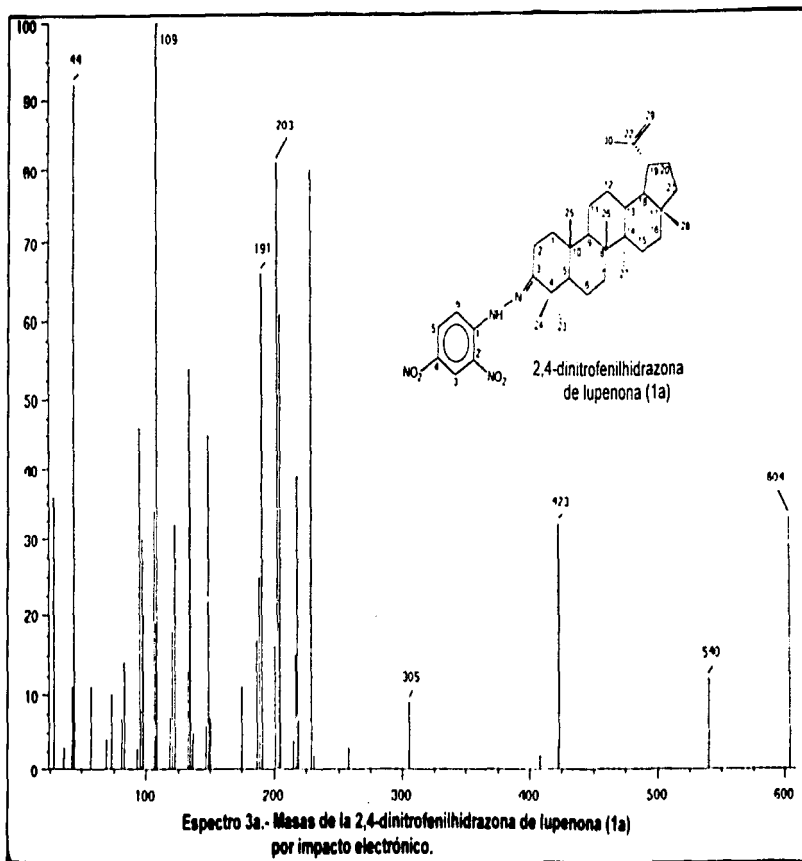


Espectro 1.- Infrarrojo de lupenona (1) en cloroformo.



Espectro 2.-RMN- ^1H de lupenona (1) (CDCl_3 , 60 MHz, TMS).





IDENTIFICACIÓN DE β -LUPEOL (2)

De las fracciones 75-80, obtenidas en la cromatografía en columna del extracto hexánico, eluida con Hex/AcOEt (9/1), se aislaron 1700 mg de un compuesto blanco cristalino cuyo punto de fusión fue de 202-204 °C. El espectro de IR, Espectro 4, muestra la presencia de hidroxilo debido a las bandas de absorción en 3615. Así mismo, en 1460 cm^{-1} se observa una banda típica del grupo metileno; a 1382 cm^{-1} se presenta una señal características para gem-metilos. En el Espectro 5 de RMN- ^1H , se distinguen 7 señales simples entre δ 0.65 y δ 1.75, que corresponden a 7 metilos. Además, en δ 3.20 aparece una señal características de hidrógenos base de alcohol, y en el mismo espectro entre δ 4.4 y δ 4.8, se observan dos singuletes anchos que corresponden a hidrógenos vinílicos. Por otro lado, en el espectro de masas por impacto electrónico para esta sustancia, Espectro 6, se observa un ión molecular m/z de 426, así como fragmentos en m/z 383 y 315. De los datos anteriores se dedujo la fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$, que corresponde a la estructura de β -lupeol, misma que se comparó con una muestra auténtica por cromatografía en capa fina. Al cotejar directamente sus propiedades físicas y espectroscópicas con las descritas en la literatura (Shashi y Ashoke, 1991), se confirmó que se trataba de β -lupeol (2) Figura 2. Se preparó el derivado acetilado en piridina, obteniéndose 142 mg del acetato de β -lupeolo (2a), con un punto de fusión de 213-215 °C, Figura 2, (Trujillo, 1992). Además se realizó una reacción de correlación de esta sustancia, cuando se oxidó con reactivo de Jones para obtener lupenona (Fig. III, Pág. 40). En la Tabla 12, se describen las propiedades físicas y espectroscópicas de β -lupeol (2).

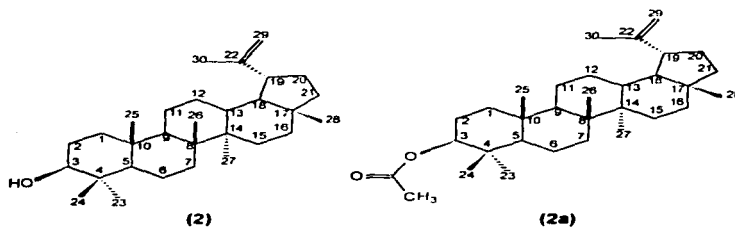


Figura 2.- Estructura de β -lupeol (2) y del acetato de β -lupeolo (2a).

TABLA 12.- Constantes espectroscópicas y espectrométricas del compuesto β -lupeol (2).

ESPECTRO	PARAMETROS MEDIDOS	RESULTADOS
Infrarrojo	ν_{max} (cm^{-1} , CHCl_3)	3615, 2940, 1647 1460, 1382, 886.
RMN- ^1H	δ (60 MHz, CDCl_3 , TMS)	0.65(3H, s, Me, H-26) 0.85(3H, s, Me, H-25) 0.95(3H, s, Me, H-28) 1.20(2H, s, H-23, H-24) 1.45(1H, s, H-27) 3.2(1H, m, H-3) 4.4(1H, sa, H-29) 4.8(1H, sa, H-29')
Masas	m/e (M^+ , m/z, % de abund.)	426 (M^+ , $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$) 383(4%), 315(12%) 189(37%), 161(21%) 107(52%), 43(80%)

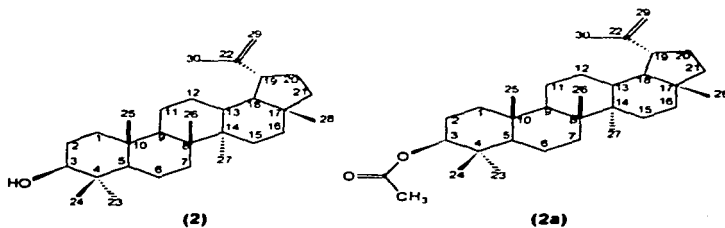
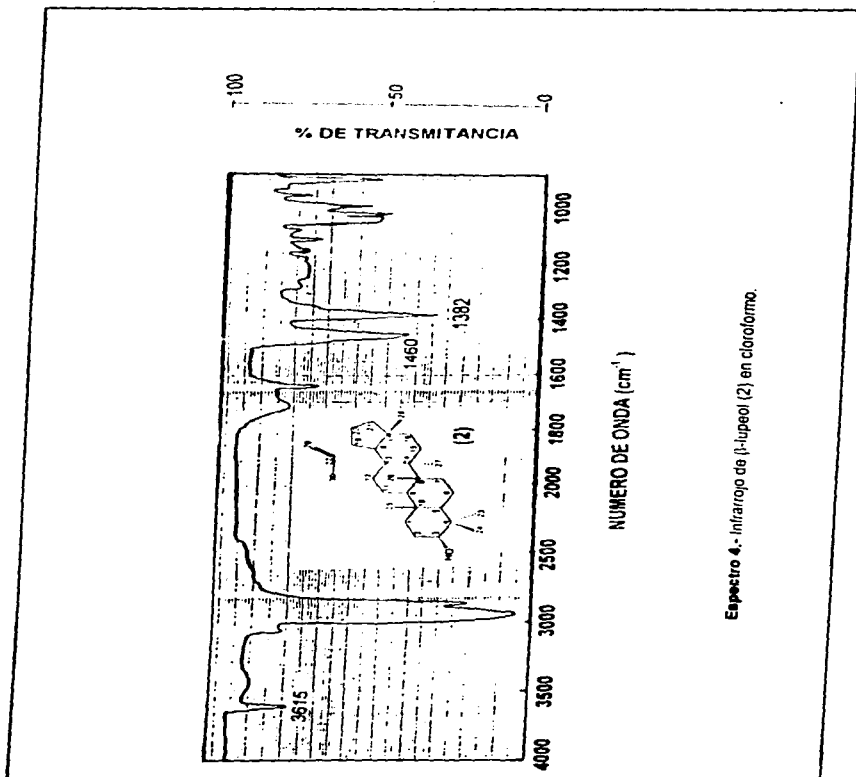
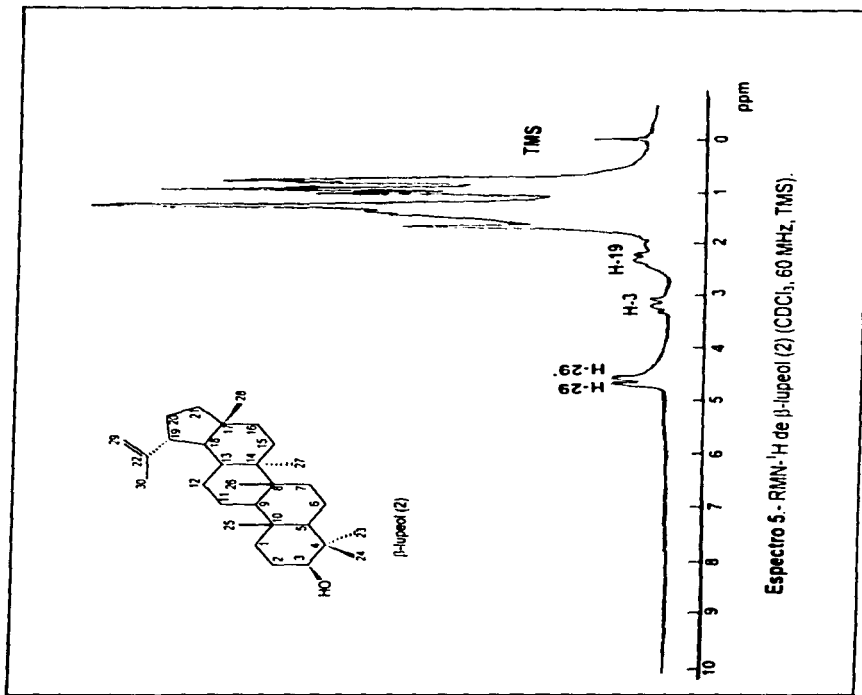
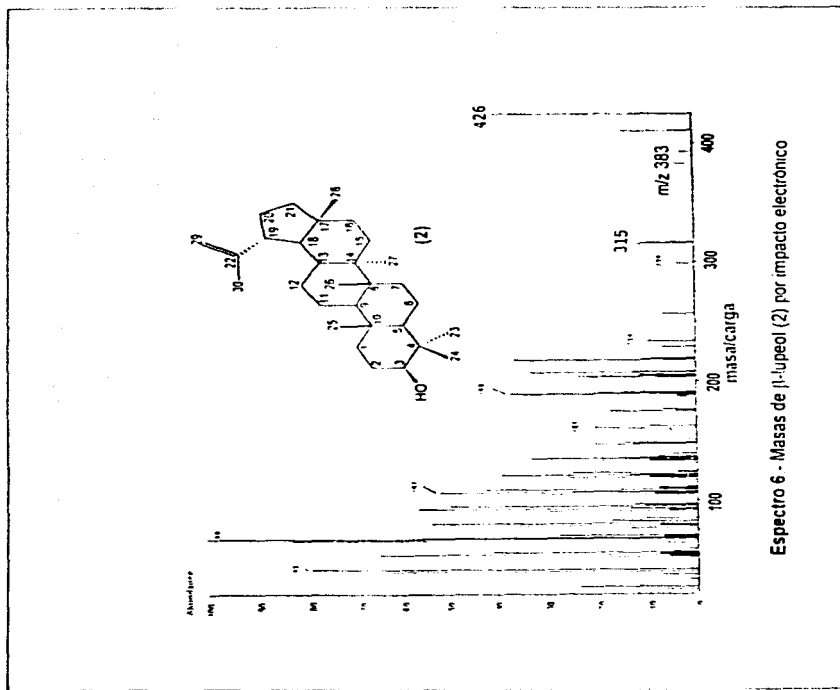


Figura 2.- Estructura de β -lupeol (2) y del acetato de β -lupeol (2a).







Espectro 6 - Masas de 1-lupeol (2) por impacto electrónico

IDENTIFICACION DE β -SITOSTEROL (3).

De las fracciones 8-16 obtenidas en la cromatografía en columna del extracto cloroformico, eluidas con Hex/AcOEt (9/1), se aislaron 300 mg de un compuesto blanco cristalino cuyo punto de fusión fue de 134-136 °C. El espectro de IR. Espectro 7, muestra una banda de absorción en 3610 cm^{-1} debido a la presencia de un grupo hidroxilo. En el espectro de RMN- ^1H , Espectro 8, se observa una señal doble característica de un hidrógeno vinílico entre δ 5.32 y δ 5.33, además de una señal múltiple a δ 3.50 que muestra la presencia de un hidrógeno base de alcohol. Otro conjunto de señales (dos singuletes tres dobletes y un triplete) a campo alto del mismo espectro entre δ 0.70 y δ 1.00, sugirieron que esta sustancia correspondía a un esqueleto de esterol. El espectro de masas por impacto electrónico para esta sustancia, Espectro 9, muestra un ión molecular en m/z de 414, también se visualizan fragmentos en m/z 329 y en m/z 303, característicos de los esterol que presentan una insaturación entre los carbonos 5 y 6 (Lozano, 1995). A partir de los datos anteriores se dedujo la fórmula molecular $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$ correspondiente al β -sitosterol (3), Figura 3, y que comparada con una muestra autentica en cromatografía en capa fina, presenta el mismo Rf. Se preparó el derivado acetilado de esta sustancia al hacerlo reaccionar con anhídrido acético en piridina obteniéndose el acetato de β -sitosterol (3a), Figura 3. En la Tabla 13 se describen las características físicas y espectroscópicas de β -sitosterol (3).

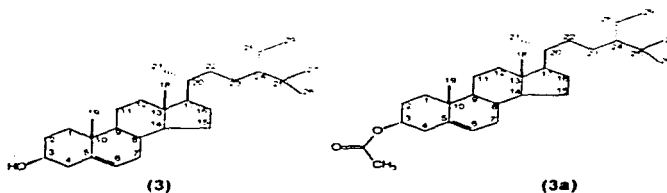


Figura 3 - Estructura de β -sitosterol (3) y acetato de β -sitosterol (3a).

TABLA 13 - Constantes espectroscópicas y espectrométricas del compuesto β -sitosterol (3).

ESPECTRO	PARAMETROS MEDIDOS	RESULTADOS
Infrarrojo	ν_{max} (cm^{-1} , CHCl_3)	3610, 2975, 1465 1356, 1220, 1040 975, 930.
RMN- ^1H	δ (300 MHz, CDCl_3 , TMS)	0.70(3H, s, Me, H-18) 1.00(3H, s, Me, H-19) 3.50(1H, m, H-3) 5.32(1H, sa, H-6)
Masas	erie(M^+ , m/z, % de abund.)	414(M^+ , $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$) 329(16%), 303(12%) 273(8%), 255(9%) 213(13%), 145(12%) 69(29%).

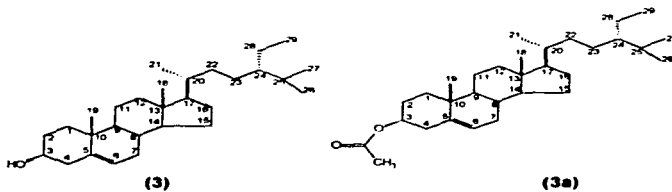
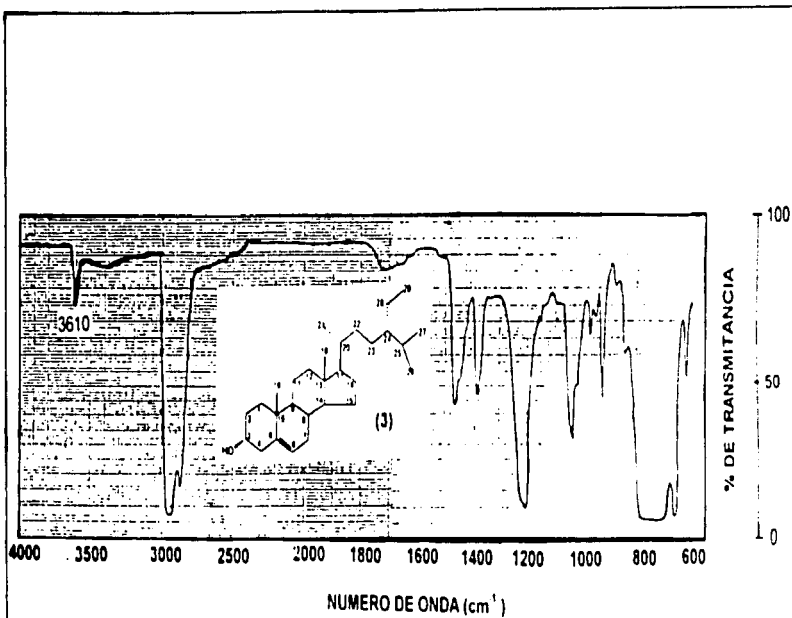
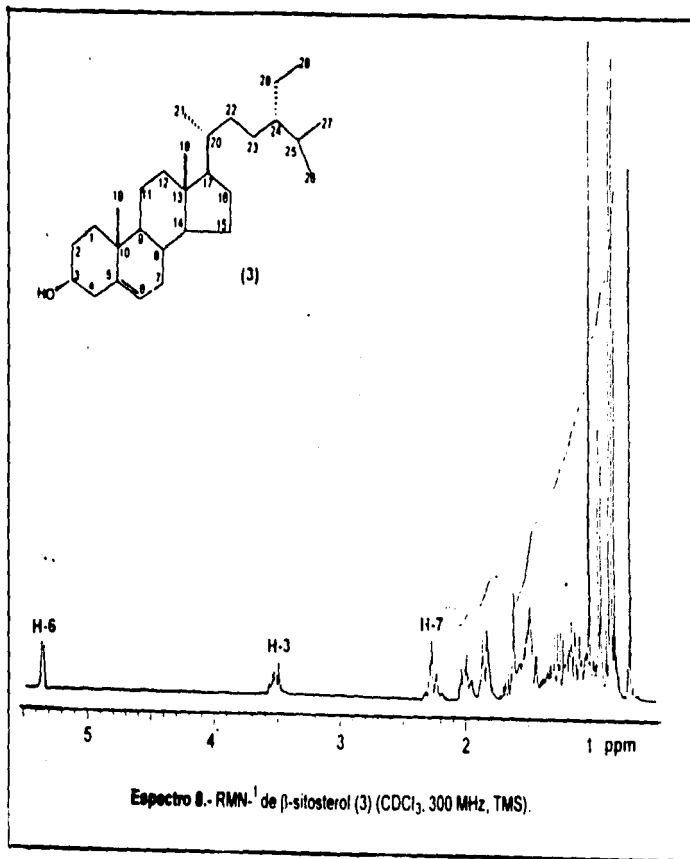
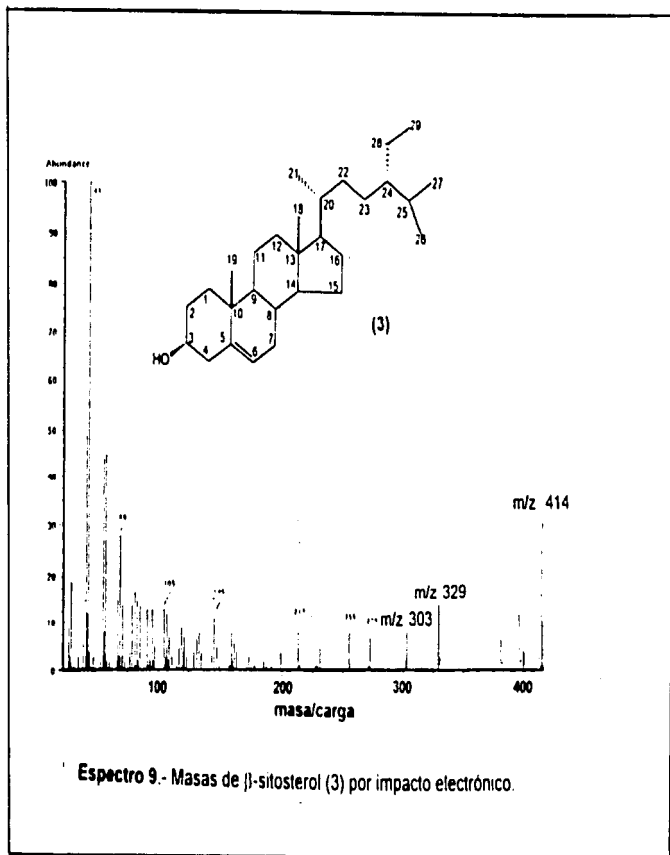


Figura 3.- Estructura de β -sitosterol (3) y acetato de β -sitosterol (3a).



Espectro 7.-Infrarrojo de β -sitosterol (3) en cloroformo.





IDENTIFICACION DE LA AYAPINA (4).

De las fracciones 17-19, obtenidas en la cromatografía en columna del extracto clorofórmico, eluidas con Hex/AcOEt (9:1), se aislaron 10 mg de un compuesto blanco cristalino, y 20 mg más de las fracciones 20-24 que fueron recromatografiadas. El punto de fusión de este compuesto fue 174-176 °C, y al revelarlo a la luz UV dio una fluorescencia morada. El espectro de masas por impacto electrónico, Espectro 13, de esta sustancia, muestra un ión molecular en m/z 190. El espectro de IR, Espectro 10, Muestra una banda intensa a 1722 cm^{-1} característica de un grupo carbonilo que se desplaza a mayor frecuencia por la presencia de un enlace Carbono-Oxígeno. Así también, se observa un núcleo aromático (señales en 1630 , 1580 , 1484 y 1450 cm^{-1}). Las absorciones en el espectro de UV ($\lambda_{\text{máx}}$ 200 nm y $\lambda_{\text{máx}}$ 230 nm) confirman un anillo benzénico tetrasustituido, Espectro 12, que permite proponer como base estructural la de una coumarina, Figura A.

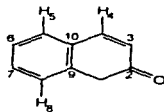


Figura A.- Estructura básica de las coumarinas.

Esta proposición es congruente con la observación experimental de la fluorescencia "morada" que muestra la sustancia al exponer la cromatoplaca analítica a la luz ultravioleta (254 nm), característica de este tipo de sustancias (Garduño, 1986).

Por otra parte, en el espectro de RMN- ^1H en acetona, Espectro 11, se confirman las proposiciones anteriores y permiten establecer la estructura completa de la molécula en base a las siguientes observaciones, (Ziegler, 1987).

-La presencia de protones de la doble ligadura conjugada con el carbonilo de la α -pirona, localizados en δ 6.25(1H, d, J=10 Hz, H₃) y en δ 7.86(1H, d, J=10 Hz, H₄), Figura B.

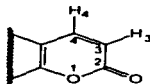


Figura B.- Protones H₃ y H₄ en una α -pirona.

Se observa también otro sistema formado por los protones en disposición *para* de un anillo aromático localizados en δ 6.90(1H, s, H_B) y en δ 7.13(1H, s, H₅), Figura C.

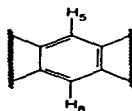


Figura C.- Protones H₅ y H_B del sistema Benzo-coumarínico.

La combinación de los fragmentos deducidos B y C, permiten escribir la fórmula parcial, Figura D.

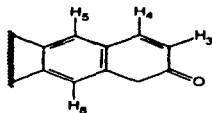


Figura D.- Fórmula parcial que resulta de combinar las figuras B y C.

El desplazamiento químico a campo bajo, por la presencia de los grupos electro-atractores, dan una señal localizada en δ 6.18(2H, s, CH₂) asignada a un dioximetileno como se muestra en la Figura E.

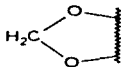


Figura E.- Fórmula parcial que ilustra a un dioximetileno.

Los datos del espectro DEPT, Espectro 14, presenta 5 señales de carbonos protonados que confirman las proposiciones anteriores. La Tabla 14a, compara los datos de RMN-¹³C de la base estructural de la ayapina (4) con los de otras estructuras semejantes (Aldrich, 1993). La Figura F, muestra las estructuras de **esculetina** y **scopoletina** semejantes estructuralmente a la ayapina (4).

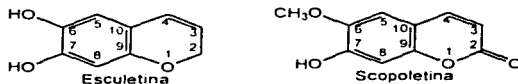


Figura F.- Estructuras de esculetina y scopoletina, semejante a la estructura de la ayapina (4).

De este análisis, se dedujo la fórmula molecular C₁₀H₆O₃, que al comparar sus constantes físicas y espectroscópicas con las de la literatura para coumarinas, se confirmó que la sustancia aislada es la ayapina (4), Figura 4, (Ziegler, 1987). En la Tabla 14, se describen las características físicas y espectroscópicas de la ayapina (4).

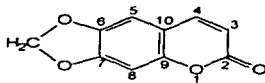


Figura 4.- Estructura de la ayapina (4).

TABLA 14.- Constantes espectroscópicas y espectrométricas del compuesto ayapina (4).

ESPECTRO	PARAMETROS MEDIDOS	RESULTADOS
Infrarrojo	ν_{\max} (cm^{-1} , CHCl_3)	3662, 2926, 2856, 1772, 1630, 1580, 1484, 1450, 1266.
Ultravioleta	λ_{\max} (nm)	200 (log ϵ = 2.84) 230 (log ϵ = 2.54) 340 (log ϵ = 2.30)
RMN- ^{13}C	δ (300 MHz, CDCl_3 , TMS)	161.13(1C, s, O=C-2) 105.02(1C, s, H-C-3) 143.39(1C, s, H-C-4) 113.43(1C, s, H-C-5) 144.91(1C, s, O-C-7) 98.42(1C, s, H-C-8) 151.27(1C, s, CO-9) 112.70(1C, s, C-10) 102.32(1C, s, H ₂ C-11)
RMN- ^1H	δ (300 MHz, acetona, TMS)	6.25(1H, d, H-3) 7.86(1H, d, H-4) 6.90(1H, s, H-8) 7.13(1H, s, H-5) 6.18(2H, s, CH ₂)
Masas	emie(M^+ , m/z, % de abund.)	190(M^+ , $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{O}_4$, 100%) 162(66%), 111(3%) 76(16%), 57(7%).

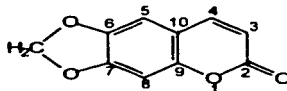


Figura 4.- Estructura de la ayapina (4).

TABLA 14a. - Comparación de los datos de RMN-¹³C de la ayapina (4) con otras moléculas similares (Aldrich, 1993).

No. de C.	AYAPINA (acetona-d ₆)	ESCULETINA (CDCl ₃ +DMSO-d ₆)	SCOPOLETINA (CDCl ₃ +DMSO-d ₆)
2	159.80	160.98	160.73
3	115.80	111.44	109.18
4	142.80	142.77	143.96
5	127.50	112.08	111.61
6	123.80	143.93	145.22
7	131.10	150.24	149.69
8	115.80	102.68	102.93
9	153.30	148.60	151.21
10	118.20	110.76	110.53
11	102.32	-----	56.04

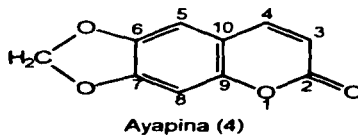
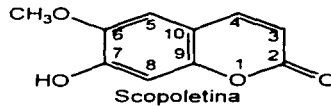
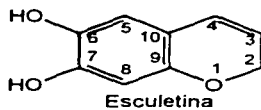
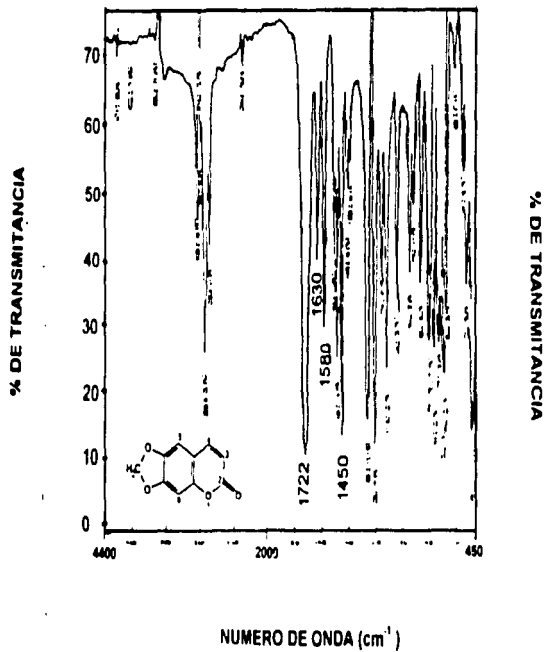
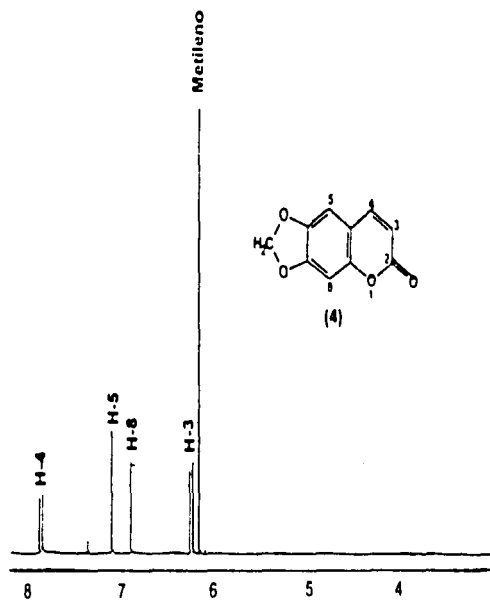


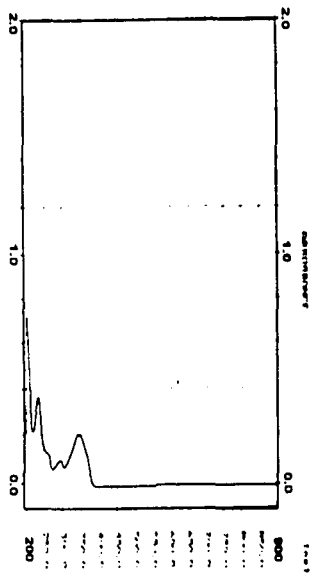
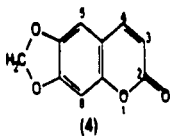
Figura 4a. - Estructura de la ayapina (4) comparada con esculetina y scopoletina.



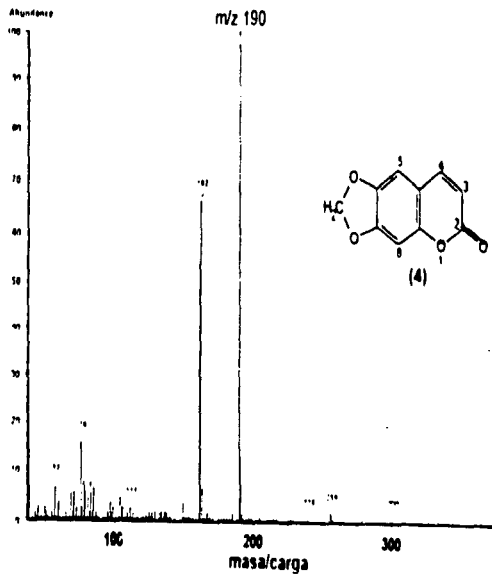
Espectro 10.- Infrarrojo de ayapina (4) en cloroformo.



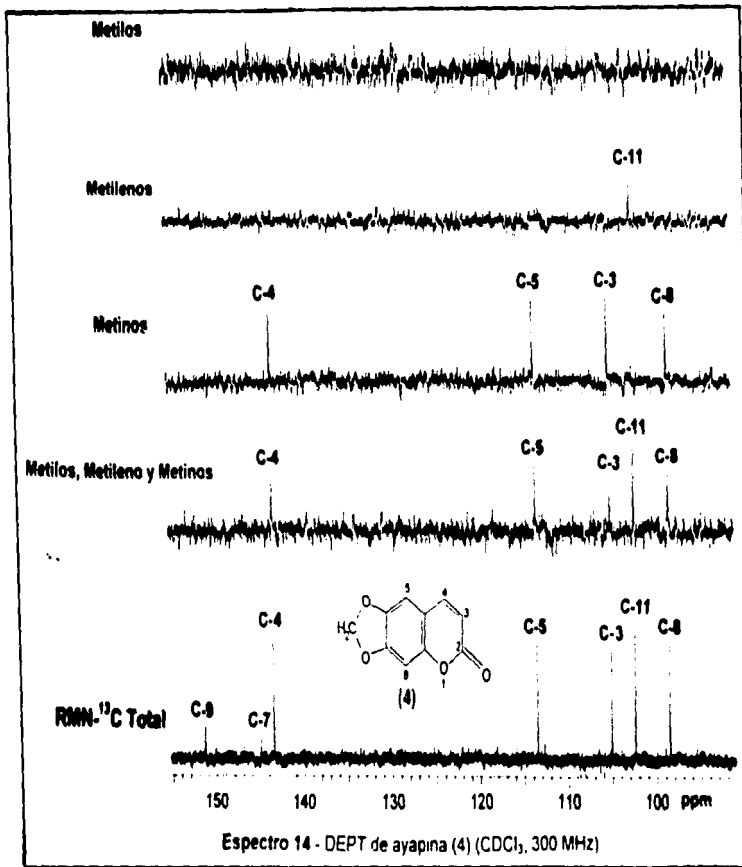
Espectro 11.- RMN- ^1H de ayapina (4) (acetona, 300 MHz, TMS).

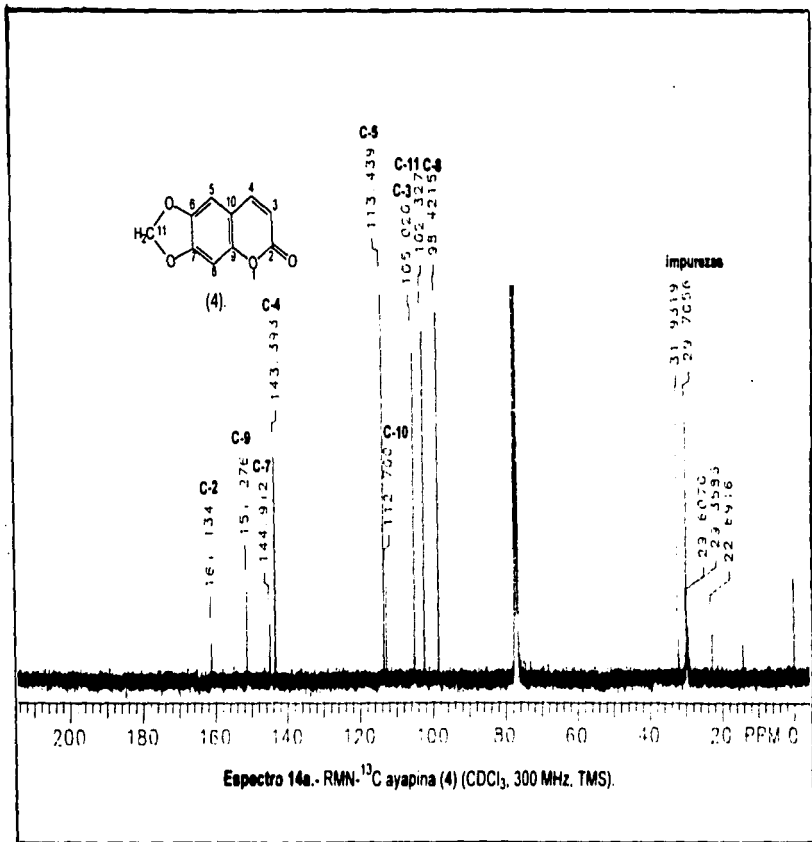


Espectro 12.- Ultravioleta de ayapina (4) en cloroformo.



Espectro 13.- Masas de ayapina (4) por impacto electrónico.





IDENTIFICACION DE β -(D)-GLUCOSIDO DE β -SITOSTEROL (5).

De las fracciones 198-204, obtenidas en la cromatografía en columna del extracto acetónico, eluidas a una polaridad 1:1, Hex/AcOEt, se aislaron 20 mg de un sólido blanco cristalino, que al determinar su punto de fusión empezó a descomponer a una temperatura de 264 °C. En el espectro IR, Espectro 15, se observan bandas de absorción en 3306 cm^{-1} y 1642 cm^{-1} características de un grupo hidroxilo y enlace doble carbono-carbono respectivamente. Lo anterior fue confirmado en el Espectro 16, de RMN- ^1H , en el que se observan señales características para grupos hidroxilo entre δ 2.80 y δ 4.85 además de una señal para hidrógeno vinílico en δ 5.30 y otro grupo de señales entre δ 0.70 y δ 1.00 que corresponde a un esteroil (β -sitosteril) uno de los dos fragmentos que constituye la molécula y otro un azúcar (glucosa), ya que el espectro de RMN- ^{13}C , Espectro 17, se observan 36 señales de átomos de carbono. En el mismo espectro, se observan dos señales en δ 140.4 y δ 121.1, correspondientes a átomos sp^2 , así como siete señales entre δ 60.0 y δ 101.0 para carbonos de base de oxígeno y el resto de señales pertenecen a un esteroil, su espectro DEPT, Espectro 18, presenta 33 señales de carbonos protonados. Con esta información que corresponde a la descrita en la literatura (Salama, *et al.*, 1986) y con la comparación de esta sustancia por CCF con una muestra auténtica, se propuso que la estructura corresponde al β -(D)-glucósido de β -sitosteril (5).

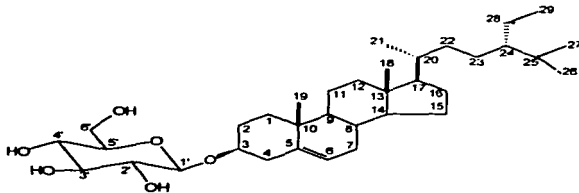


Figura 5.- Estructura de β -(D)-glucósido de β -sitosteril (5).

TABLA 15 - Constantes espectroscópicas y espectrométricas del compuesto β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5).

ESPECTRO	PARAMETROS MEDIDOS	RESULTADOS
Infrarrojo	ν (max cm^{-1} , CHCl_3)	3622, 3416, 2932, 1614, 1536, 1464, 1074.
RMN- ^{13}C	δ (300 MHz, DMSO-d_6 , TMS)	140.4 (1C, s, C-6) 121.1 (1C, s, C-5) 101.0 (1C, s, C-1') 76.0 (1C, s, C-2') 76.7 (1C, s, C-3') 73.4 (1C, s, C-4') 76.9 (1C, s, C-5') 60.0 (1C, s, C-6') 20.0-12.5 (6C, 6s, Me-C-29, Me-C-27, Me-C-26, Me-C-21, Me-C-19, Me-C-18)
RMN- ^1H	δ (300 MHz, DMSO-d_6 , TMS)	5.30 (1H, s, H-6) 4.85 (1H, s, O-H-1') 2.80 (1H, s, O-H-6') 1.00 (3H, s, Me-H-19) 0.70 (3H, s, Me-H-18)

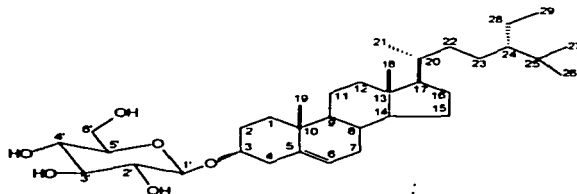
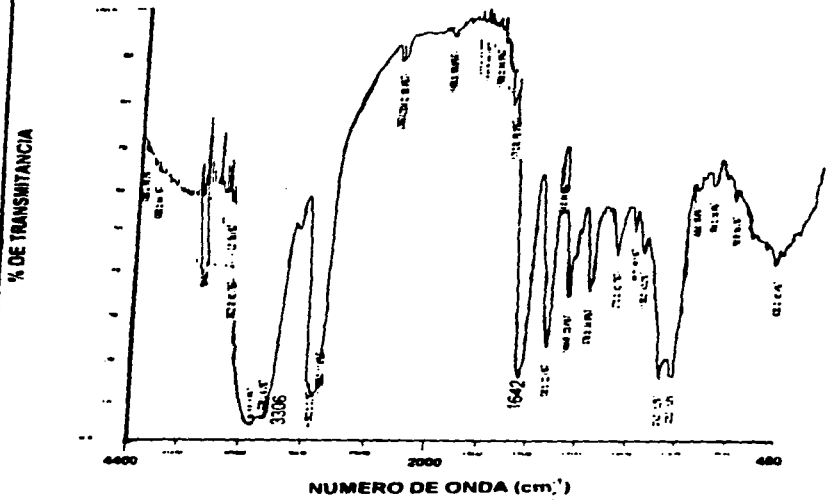
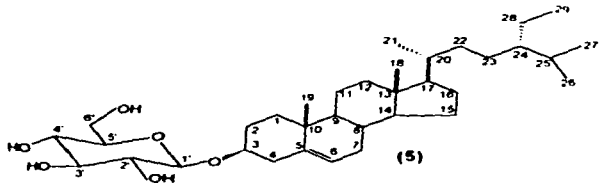
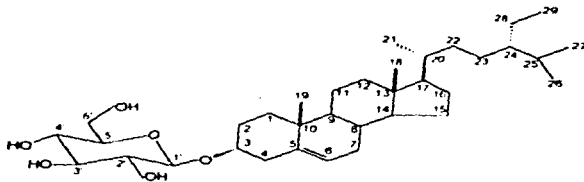


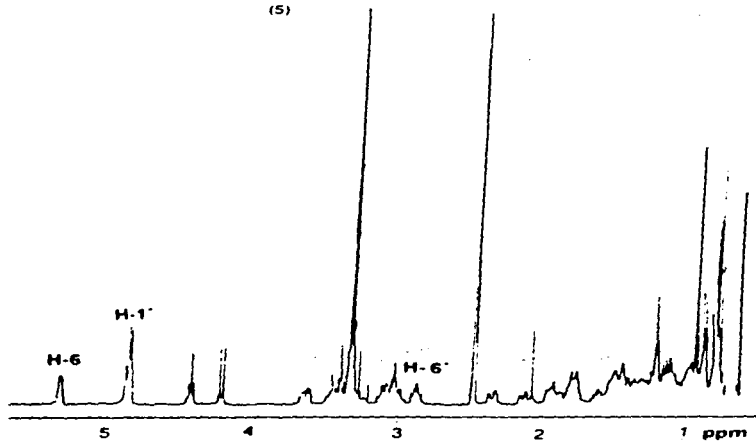
Figura 5.- Estructura de β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5).



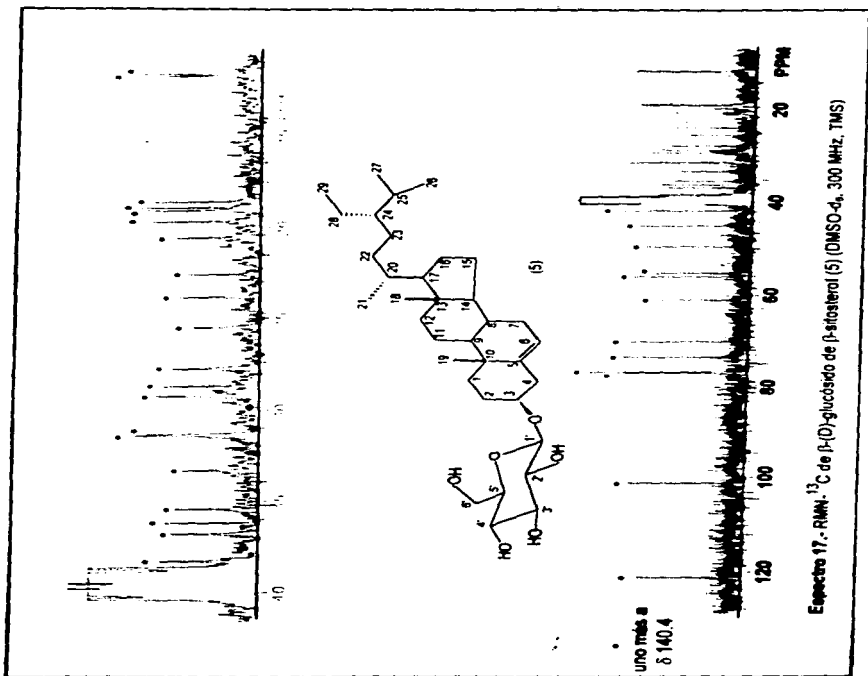
Espectro 15.- Infrarrojo de β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5) en pastilla de KBr.

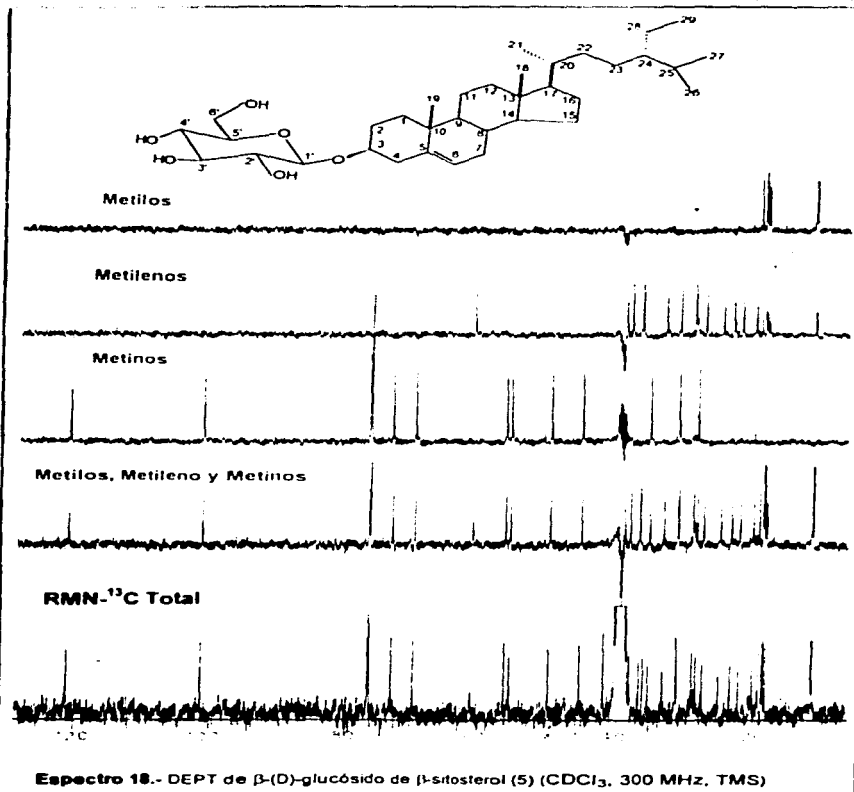


(5)



Espectro 16.- RMN-¹H de β-(D)-glucósido de β-sitosterol (5) (DMSO-*d*₆, 300 MHz, TMS)





IDENTIFICACION DEL TETRAACETATO DEL β -(D)-GLUCOSIDO DE β -SITOSTEROL (5a).

Se realizó una acetilación del β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5) obtenido de las fracciones 198-204 de la cromatografía en columna del extracto acetónico, lo que permitió establecer la identidad de esta sustancia. En el espectro de RMN- 1 H, Espectro 19, se observan cuatro señales simples entre δ 2.0 y δ 2.1, que corresponden a cuatro metilos de acetato. Lo anterior hizo suponer que la molécula posee cuatro grupos hidroxilo que se asignaron a un fragmento de glucosa, ya que en la región de δ 3.6 a δ 5.5 del mismo espectro, se observa un conjunto de señales características para la glucosa acetilada. La molécula de glucosa anterior se supuso estar insertada en la posición C-3 como en la mayoría de los glicósidos naturales. El punto de fusión del derivado resultó semejante al descrito en la literatura, punto de fusión 155-157 °C. (Lozano, 1995). En el espectro de masas se observa un fragmento m/z 396, lo que indica que en las condiciones del espectrómetro de masas a partir del ión molecular (m/z 744, que no se observa), se perdió otro fragmento cuya composición pudiera ser $C_{14}H_{20}O_{10}$ (M-348), lo cual es congruente con una molécula de glucosa tetraacetilada y que forma parte de este producto natural acetilado. Finalmente la comparación con una muestra auténtica de referencia condujo a la identificación inequívoca de esta sustancia como el tetraacetato de β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5a).

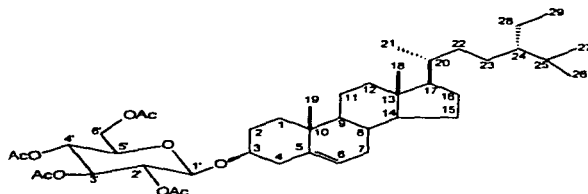


Figura 6.- Estructura del tetraacetato de β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5a).

TABLA 16.- Constantes espectroscópicas y espectrométricas del compuesto tetraacetato de β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5a)

ESPECTRO	PARAMETROS MEDIDOS	RESULTADOS
RMN- ¹ H	δ (300 MHz, CDCl ₃ , TMS)	0.65(3H, s, Me, H-18) 0.85(6H, d, J=7Hz) 0.95(3H, d, J=7Hz) 2.0-2.1(12H, 4s, AcO-H-2', AcO-H-3', AcO-H-4', AcO-H-6') 3.50(1H, m, H-3) 5.36(1H, d, J=8Hz, H-6)
Masas	emie(M ⁺ , m/z, % de abund.)	744(M ⁺ , C ₄₃ H ₆₇ O ₁₀) 396(52%, M ⁺ , C ₁₄ H ₂₀ O ₁₀ : M ⁺ , C ₂₉ H ₄₈) 331(7%), 255(8%), 169(26%), 109(16%), 81(13%).

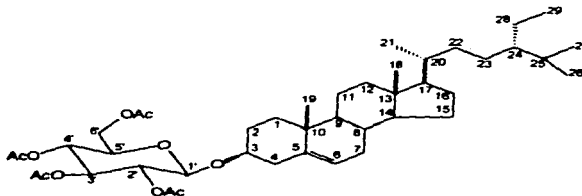
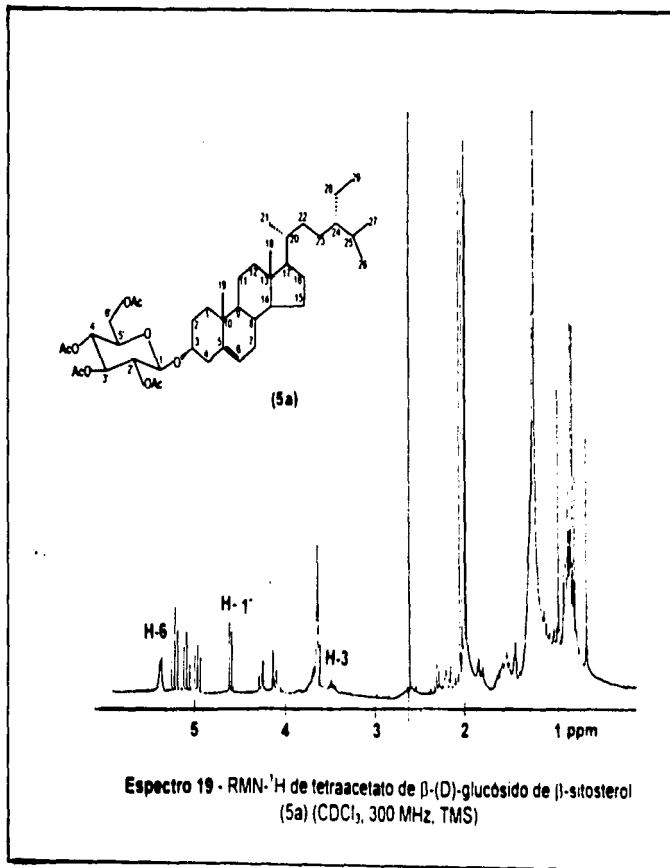
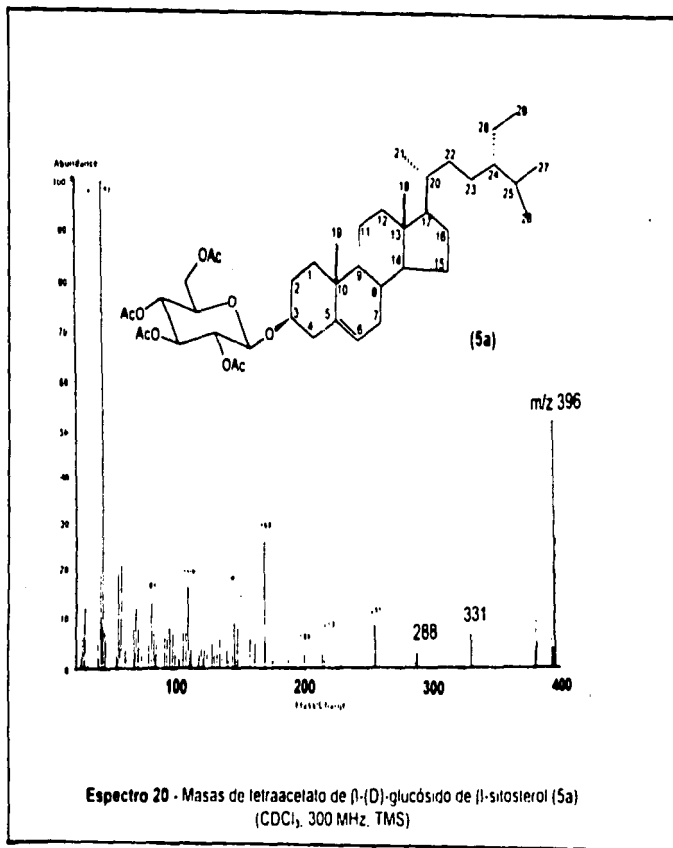


Figura 6.- Estructura del tetraacetato de β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5a).





CINETICA QUIMICA

Uno de los objetivos planteados en el presente trabajo fue el realizar una cinética química a nivel laboratorio, de al menos uno de los metabolitos secundarios aislados de la corteza de *Pseudobombax ellipticum*.

A continuación se presentan los resultados de las técnicas utilizadas para la cinética, considerando que sólo una se adecuó a las condiciones experimentales (materia prima, equipo adecuado y condiciones de operación).

I.- REDUCCION CATALITICA

HIDROGENACIÓN DE LUPENONA (1).

Es conocido que en la industria existen diferentes procesos que involucran hidrogenaciones catalíticas. Entre ellos citar la obtención de grasas y margarinas, las que se llevan a cabo con catalizadores de Ni, a temperaturas que oscilan entre los 150 y 200 °C y presiones de 1.3 y 1.7 atm. Se intentó la hidrogenación de lupenona (1), diseñando con equipo de laboratorio, material prediseñado para tal fin y algunos aditamentos, un hidrogenador como el que se muestra en el Esquema 9, utilizando como catalizador Pd/Pt/C, siguiendo la reacción mediante CCF. La técnica consistió en pasar de lupenona (1) al derivado 22,29-dihidrolupenona (1b), mediante la hidrogenación de la insaturación correspondiente, tomando muestras en el transcurso del tiempo y cuantificar el % de insaturación mediante el método de Wijs, determinando el índice de Yodo (A.O.A.C., 1984).

El proceso consistió, en colocar en un matraz bola de 3 bocas de 125 mL, 100 mg de lupenona (1) disuelta en 5 mL de AcOEt y 25 mg de catalizador (Pd/Pt/C) disuelto en 10 mL de AcOEt una relación 4:1, después de un proceso de pre-absorción del catalizador se siguieron las instrucciones para el uso del hidrogenador que a continuación se mencionan.

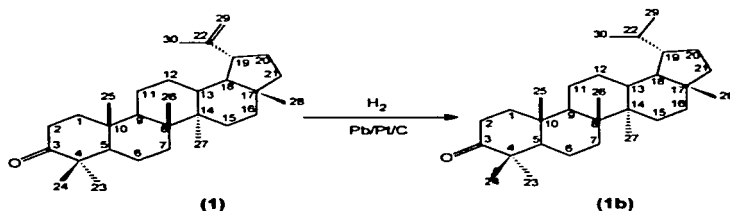
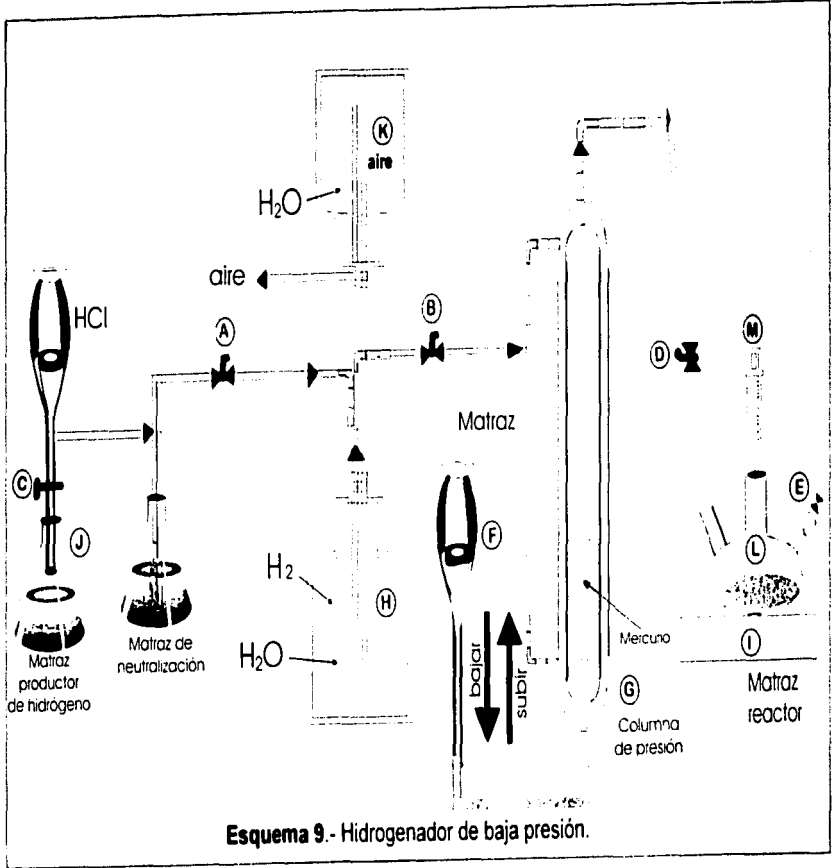


Figura 1a.- Estructura de lupenona (1) y 22,29-dihidrolupenona (1b).



Esquema 9.- Hidrogenador de baja presión.

INSTRUCCIONES PARA EL USO DEL HIDROGENADOR DE BAJA PRESION.

- 1.- Cerrar la llave **C** y abrir las llaves **A**, **B**, **D** y **E**.
- 2.- Subir el embudo **F** con el fin de sacar el aire del sistema.
- 3.- Cerrar la llave **E** y bajar el embudo **F** con el fin de hacer vacío (hasta debajo de la columna **G**).
- 4.- Cerrar **A** y **B**, y abrir **C** cuando se agregue el HCl al matraz kitasato **J**.
- 5.- Cerrar **C** cuando se halla agregado todo el HCl y abrir únicamente **A**, así la presión ejercida por el gas (H_2) que se produce desplaza el agua del recipiente **H**, para posteriormente ser utilizado.
- 6.- Cerrar la llave **A** cuando tenga suficiente H_2 en el recipiente **H**.
- 7.- Encender el agitador **I** y abrir y abrir las válvulas **B** y **D** dejando pasar H_2 al matraz reactor **L**.
- 8.- Permitir que se estabilice el sistema, procurando que los niveles tanto de la columna de mercurio **G** y el embudo **F** sean los mismos.
- 9.- Cerrar **B** y subir el embudo **F** para ejercer presión al matraz reactor **L**, esperando a que bajo estas condiciones de presión y temperatura (25 °C) se lleve a cabo la hidrogenación de la lupenona (1).
- 10.- Tomar una muestra inicial con la jeringa **M** al tiempo inicial (t_0) y mediante CCF verificar el avance de la reacción.

Se tomaron muestras cada 10 minutos durante 3 horas en CCF para observar el avance de la reacción. Se repitió el experimento considerando márgenes de tiempo mayores en la toma de muestras, lapsos de 2, 4, 6 y 12 horas sin llegar a resultados positivos, debido probablemente a que no se alcanzaron las condiciones de presión y temperatura favorables. Cabe mencionar, que aunque sí hubo hidrogenación a las 12 horas, únicamente se observaba por placa cromatográfica analítica un producto de menor polaridad pero en cantidades muy pequeñas lo que dificultó el estudio cinético.

II.- COLORIMETRIA

REACCION DE LUPENONA CON 2,4-DINITROFENILHIDRAZINA.

El principio básico de la mayoría de los métodos cuantitativos de absorción consiste en comparar el grado de absorción (o transmitancia) de la energía radiante a una longitud de onda particular con una disolución de material en cuestión y una serie de soluciones patrón (Willar, 1982). Se utilizó esta técnica debido a que el producto de reacción entre lupenona (1) y 2,4-dinitrofenilhidrazina da como resultado una sustancia colorida, la 2,4-dinitrofenilhidrazona de lupenona (1a).

El proceso se desarrollo de la siguiente manera:

1).- Selección de las longitudes de onda máximas (λ_{max}).

Las longitudes de onda para este análisis se determinó mediante espectroscopia Ultravioleta. Los Espectros IIa y IIb muestran las longitudes de onda máximas para la 2,4-dinitrofenilhidrazina (λ_{max} 350 nm) y para la hidrazona de lupenona (1a) (λ_{max} 388 nm). Ya seleccionadas las λ_{max} 's se tiene asegurado que a estas longitudes de onda, absorberán luz dichas sustancias.

2).- Curva patrón.

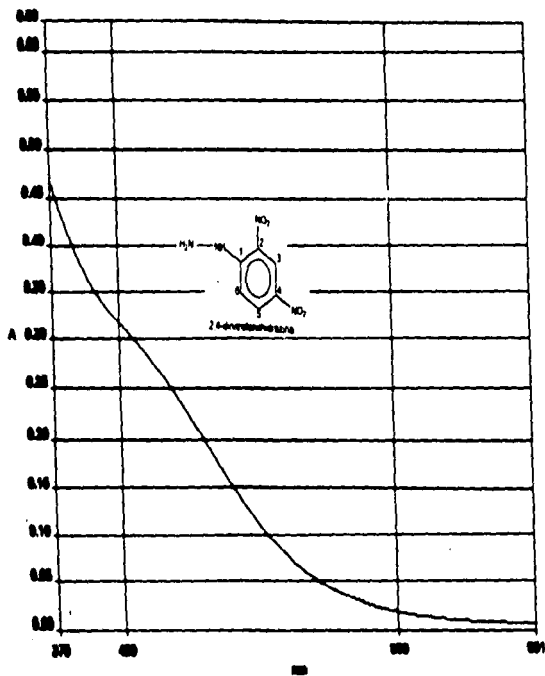
Como se sabe la regla fundamental para este tipo de análisis se basa en la ley de Beer-Lambert, que establece una relación lineal entre absorbancia y concentración de la disolución que es válida a bajas concentraciones ($< 10^{-3}$ M), (Willard, 1982). Por lo cual, se organizaron y numeraron una serie de tubos en disoluciones sucesivas de la hidrazona de lupenona (1a) e Hidrazina, tomando lecturas de absorbancia con sus respectivas longitudes de onda máximas de las dos sustancias, para la construcción de las "curvas patrón", como se muestra en la Tabla 17.

En estos espectros, los Espectros IIa y IIb, se observaron sobreposición de los máximos de absorción. Por lo que su análisis no pudo conducir a datos confiables para la cinética. Se observó que las lecturas para las curvas patrón son muy semejantes entre ambas sustancias absorbentes. El Espectro IIc, muestra un sistema de dos componentes donde si se puede realizar el análisis simultáneo, las flechas indican las longitudes de onda máximas y mínimas

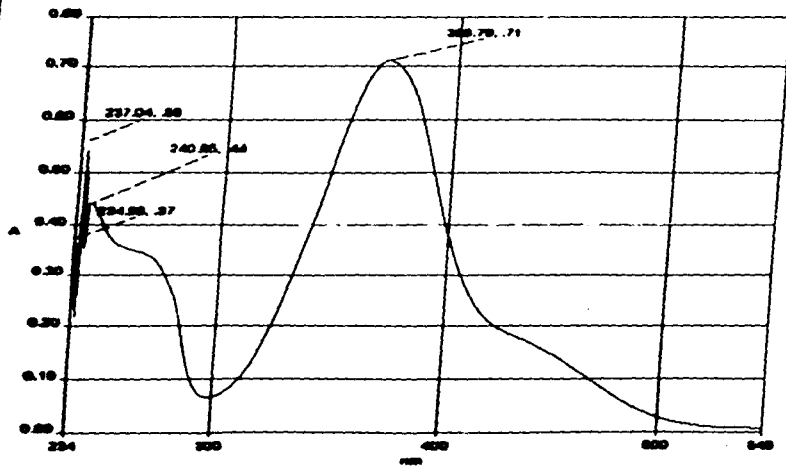
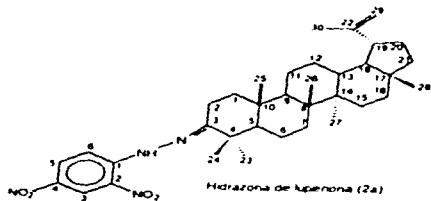
TABLA 17 - Diluciones sucesivas para 2,4-dinitrofenilhidrazina (Hidrazina) e Hidrazona de lupenona (1a) (Hidrazona), con sus respectivas absorbancias.

Concentración (moles/litro) HIDRAZONA	Concentración (moles/litro) HIDRAZINA	absorbancia HIDRAZONA	absorbancia HIDRAZINA	Transmitancia HIDRAZONA	Transmitancia HIDRAZINA
0.00001	0.00001	0.059	0.060	87.5	87.1
0.0005	0.0005	0.100	0.102	79.2	79.0
0.0001	0.0001	0.135	0.137	73.3	73.0
0.005	0.005	0.163	0.163	69.0	69.0
0.001	0.001	0.250	0.232	56.1	58.7
0.05	0.05	0.288	0.258	51.6	55.3

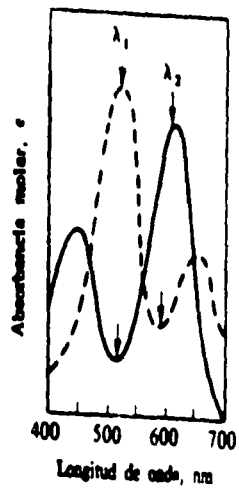
*Se preparó el blanco con 0.1 mL de H₂SO₄, 0.15 mL de H₂O, 0.5 mL de Et-OH y se aforó a 100 mL con AcOEt (todos estos reactivos se utilizaron en la preparación de las muestras).



Espectro Ila - Ultravioleta de 2,4-dinitrofenilhidrazina en cloroformo.



Espectro 11b. - Ultravioleta de hidrazona de lupenona (1a) en cloroformo.



Espectro IIc.- Ultravioleta de un sistema de dos componentes donde no existe superposición de señales (Willard, 1982).

III.- ANALISIS DE MEZCLAS POR RMN-¹H.

IIIa.- CINETICA DE LA REACCION DE ACETILACION DE β -LUPEOL (2).

Tomando como base las aplicaciones cuantitativas de la RMN-¹H se realizó el estudio de la cinética experimental de la reacción de acetilación del β -lupeol (2) (Gallaher y Gaul, 1996). Esta reacción se estudió mediante el muestreo en sistema cerrado a temperatura ambiente (25 °C), mediante la toma de alícuotas de volumen constante y predeterminado. La disolución inicial contenía 180 mg de β -lupeol (2), 1.8 mL de anhídrido acético y 1.8 mL de piridina anhidra, la mezcla contenida en un matraz bola cerrado con un tapón séptum, se tomaron alícuotas de 0.6 mL por medio de una jeringa de vidrio durante 2 horas, 36 minutos, en diferentes tiempos y se adicionaron a frascos viales con hielo para detener el avance de la reacción y así analizar el contenido mediante RMN-¹H en un equipo de 60 MHz.

El análisis de la reacción mediante esta técnica, se basó en que, en 2.05 ppm del Espectro IIIa, aparece una señal que corresponde al metilo de acetato, que indica la formación del producto de reacción, el acetato de β -lupeol (2a) y por lo tanto las áreas de integración para esta señal son proporcionales a su concentración. En este caso, las señales de los hidrógenos base se desplazaron a la zona de hidrógenos vinílicos (δ 4.7) en el derivado acetilado, dificultando con esto el hacer las lecturas de las integrales de cada protón en reactivos y productos. Sin embargo, para realizar el análisis más confiable será necesario tener mejor resolución en el espectro y poder cuantificar tanto un grupo de señales de producto como de reactivo, por lo que se propuso realizar la cinética con un equipo de RMN-¹H de 300 MHz y cambiar la materia prima β -lupeol (2) por β -sitosterol (3), que a continuación se analiza

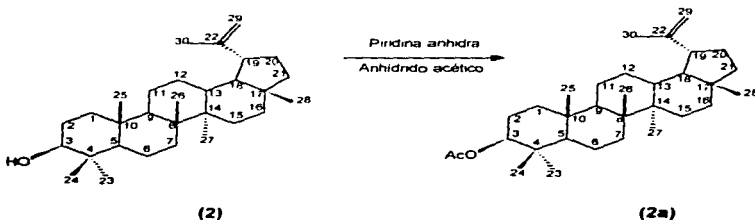
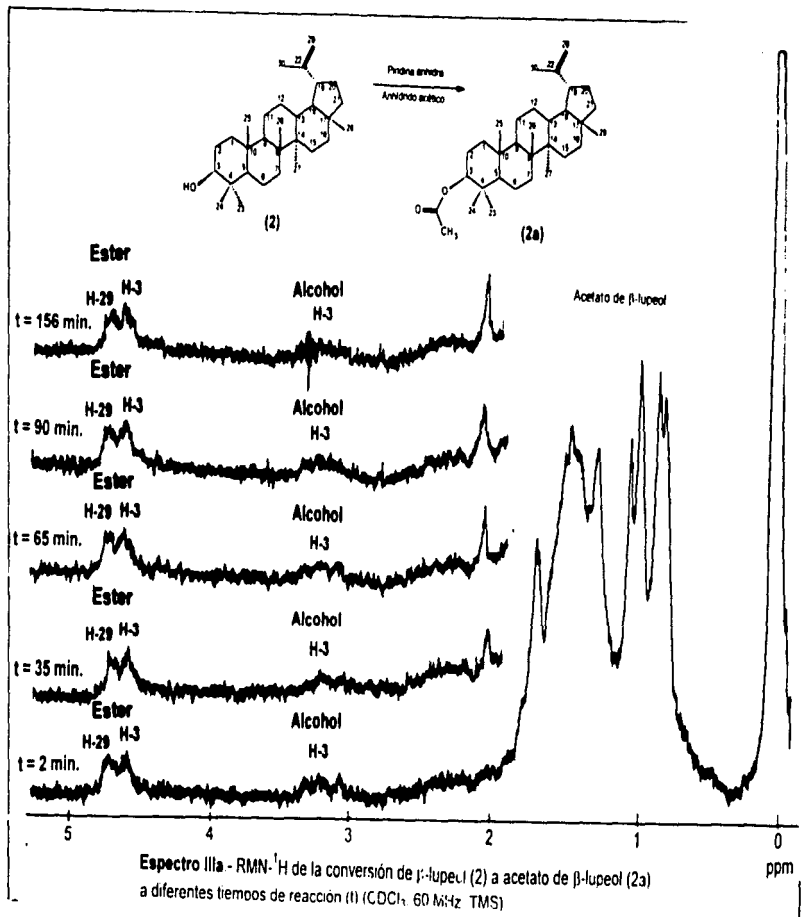


Figura IIIa.- Reacción de acilación de β -lupeol (2).



IIIb.- CINÉTICA DE LA REACCIÓN DE ACETILACIÓN DE β -SITOSTEROL (3).

La reacción en fase líquida entre piridina, anhídrido acético y el β -sitosterol (3), para formar el acetato de β -sitosterol (3a) se realizó en un tiempo aproximado de 4.5 horas, a temperatura ambiente (25 °C) como se ha descrito previamente (Lozano, 1995).

Esta reacción se estudió mediante un muestreo en un sistema cerrado a 25 °C, mediante la toma de alícuotas de volumen conocido y predeterminado. La disolución inicial contenía 300 mg de β -sitosterol (3) en 15 mL de anhídrido acético y 5 mL de piridina anhidra, que corresponde a una concentración de 0.0145 mM de β -sitosterol (3), la mezcla estaba contenida en una matraz bola cerrado con un tapón séptum. Se tomaron alícuotas de 2 mL por medio de una jeringa de vidrio y se pasaron a frascos viales con hielo para detener el avance de la reacción y así realizar el análisis del contenido mediante la técnica de RMN-¹H. (Gallaher y Gaul, 1996).

El análisis de la reacción mediante esta técnica espectroscópica se basó en que, las áreas de integración del protón de la materia prima (β -sitosterol (3)) δ 3.5 del Espectro IIIb, y el protón del producto (acetato de β -sitosterol (3)) δ 4.6 en el mismo espectro, cambian en función de su conversión de reactivo a producto durante la reacción, es decir el área de integración disminuye proporcionalmente de acuerdo a la concentración del reactivo que se ha consumido, mientras que el área de integración para el producto aumenta proporcionalmente de acuerdo a la concentración del producto que se va formando. En la Tabla 18 y la Gráfica 4, se muestran los resultados de la conversión de β -sitosterol (3) a acetato de β -sitosterol (3).

A partir de esta información se realizaron los tratamientos de los datos proporcionados por el análisis espectroscópico, comparando ecuaciones de velocidad de orden cero, uno y dos, como se muestra a continuación. El espectro IIIb, muestra la conversión de la reacción, donde cada sección del espectro (δ 2.4 a δ 5.6) representa el grado de conversión de cada corrida a su respectivo tiempo de reacción (30, 60, 90, 120, 150, *180, *200, *220, *240 y 270 minutos).

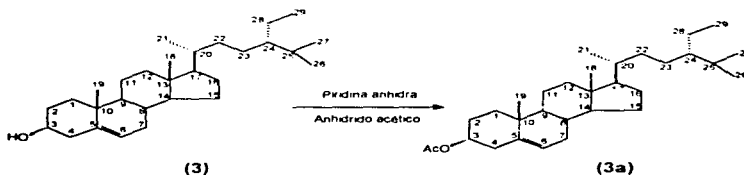


Figura IIIb.- Reacción de acetilación de β -sitosterol (3).

*Se descartaron debido a que sufrieron algunas alteraciones durante el procedimiento.

Gráfica 4.- Datos de la conversión de β -sitosterol (3) a acetato de β -sitosterol (3a).

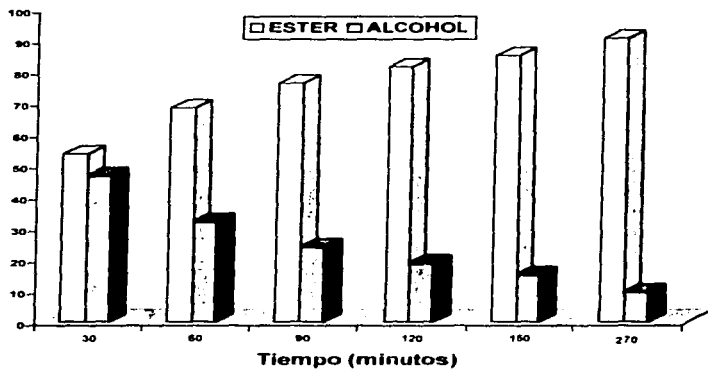
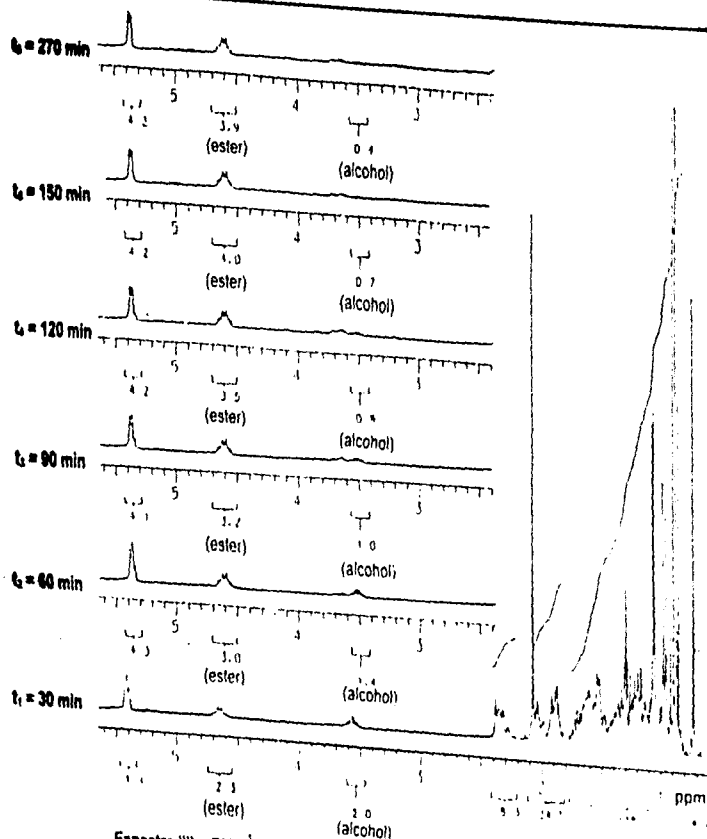


TABLA 18.- Datos de la conversión de β -sitosterol (3) a acetato de β -sitosterol (3a).

Tiempo en minutos (abscisas)	Area de integración del Ester (RMN- ¹ H)	Area de integración del Alcohol (RMN- ¹ H)	Suma de áreas de ambas integrales Ester + Alcohol	% de β -sitosterol que no ha reaccionado (Alcohol) (ordenadas)	% de aparición de acetato β -sitosterol (Ester) (ordenadas)
30	2.3	2.0	4.3	46.5	53.5
60	3.0	1.4	4.4	31.8	68.2
90	3.2	1.0	4.2	23.8	76.2
120	3.5	0.8	4.3	18.6	81.4
150	4.0	0.7	4.7	14.9	85.1
270	3.9	0.4	4.3	9.4	90.6



Espectro IIIb - RMN- ^1H de la conversión de β -sitosterol (3) a acetato de β -sitosterol (2a) a diferentes tiempos de reacción (t) (CDCl_3 , 300 MHz, TMS)

CINETICA DE LA ACETILACION DE β -SITOSTEROL (3).

A) TRATAMIENTO DE LOS DATOS EXPERIMENTALES CONSIDERANDO UNA REACCION DE ORDEN CERO.

Para una reacción de orden cero que significa que la velocidad es independiente de la concentración, la ecuación a densidad constante quedó de la siguiente manera:

$$C_{\beta 0} = 1.45 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$$

$$\frac{dC_{\beta}}{dt} = -k_0 \dots \dots \dots (A)$$

Integrando desde una condición inicial $C_{\beta} = C_{\beta 0}$ se obtiene

$$C_{\beta} - C_{\beta 0} = -k(t - t_0)$$

$$C_{\beta} - C_{\beta 0} = -k_0 t \dots \dots \dots (B)$$

Ilustrando el cálculo para la primera corrida. En la Tabla A, se muestran los datos de la conversión de β -sitosterol (3) a acetato de β -sitosterol (3a), con sus respectivos valores de k_0

$$-k_0 = \frac{6.7425 \times 10^{-6} - 1.45 \times 10^{-5}}{(1800)}$$

$$k_0 = 4.3097 \times 10^{-6} \text{ mol / L s}$$

Puede resultar mas simple medir el tiempo de desaparición de una cierta fracción del reactante, que obtener datos de concentración en función del tiempo.

El método más común consiste en determinar el tiempo requerido para que desaparezca la mitad del reactante. Definiendo esto como $t_{1/2}$, tiempo de vida media, en la Ec. (B) se obtiene que:

$$\text{Si } C_{\beta} = \frac{1}{2} C_{\beta 0} \Rightarrow \text{al tiempo } t = t_{1/2}$$

$$\frac{1}{2} C_{\beta 0} - C_{\beta 0} = k_0 t_{1/2}$$

$$t_{1/2} = \frac{C_{\beta 0}}{2k_0} \dots \dots \dots (C)$$

Los datos de vida media pueden emplearse con la Ec. (C), para evaluar k_0 como otra alternativa.

A continuación se muestran las tablas y gráficas para este tratamiento.

Tabla A. - Resultados de la conversión de β -sitosterol (3) a acetato de β -sitosterol (3a), considerando una reacción de orden cero (25 °C).

Corrida	Tiempo (minutos)	Area de integración de β -sitosterol (3) (RMN- ¹ H)	Area de integración de acetato de β -sitosterol (3a) (RMN- ¹ H)	concentración de β -sitosterol (3) $C_{\beta} \times 10^{-6}$ (mol / L)	$k_0 \times 10^{-8}$ (mol / L · s)
1	30	2.0	2.3	6.7425	4.3097
2	60	1.4	3.0	4.6110	2.7469
3	90	1.0	3.2	3.4510	2.0461
4	120	0.8	3.5	2.6970	1.6393
5	150	0.7	4.0	2.1605	1.3210
6	270	0.4	3.9	1.3630	0.8421

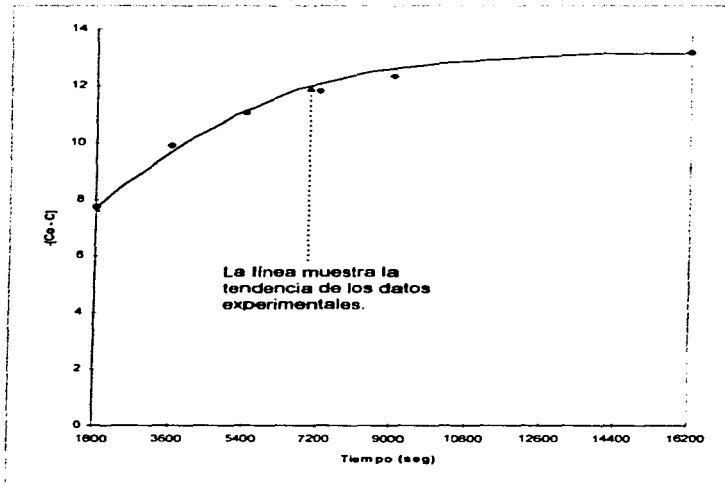
Realizando el análisis de regresión lineal de acuerdo al Apéndice C, para este tratamiento.

Tabla A1. - Tabulación de los datos de regresión lineal para el tratamiento de orden cero de la reacción de acetilación de β -sitosterol (3) a 25°C.

Tiempo (segundos)	Conversión de β -sitosterol (3)	β -sitosterol (3) $C_{\beta} \times 10^{-6}$ (mol / L)	$(C_{\beta} - C_{\beta 0}) \times 10^{-6}$ (mol / L)	$k_0 \times 10^{-9}$ (mol / L · s)
1800	53.5	6.7425	7.7575	4.3097
3600	68.2	4.6110	9.8890	2.7469
5400	76.2	3.4510	11.0490	2.0461
7200	81.4	2.6970	11.8030	1.6393
9000	85.1	2.1605	12.3390	1.3710
16200	90.6	1.3630	13.1370	0.8109

Gráfica A.- Gráfica de los resultados del método de integración para la reacción de acetilación de β -sitosterol (3), tratamiento de orden cero (25°C).

$$-(C_{\beta} - C_{\beta 0}) = -(C - C_0) \times 10^{-6}$$



Del análisis de regresión lineal se obtuvieron los siguientes valores para la ecuación de orden cero, considerando la concentración ($C_{\beta} - C_{\beta 0}$) en función del tiempo (t).

$$b = 8.6033 \times 10^{-6}$$

$$m = 3.3228 \times 10^{-10}$$

$$r = 0.8734 \text{ (coeficiente de correlación alejado de 1.0)}$$

Por lo tanto la ecuación quedó de la siguiente manera:

$$y = (3.3228 \times 10^{-10}) x + 8.6033 \times 10^{-6}$$

B) TRATAMIENTO DE LOS DATOS EXPERIMENTALES CONSIDERANDO UNA REACCION DE PRIMER ORDEN.

Para este sistema de acuerdo a la Ec. (5) del Apéndice A.

$$C_{\beta 1} = 1.45 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$$

$$-\frac{dC_{\beta}}{dt} = k_1 t \dots\dots\dots (A)$$

Integrando desde una condición inicial $C_{\beta} = C_{\beta 0}$ se obtiene

$$-\ln \frac{C_{\beta}}{C_{\beta 0}} = k_1 t \dots\dots\dots (B)$$

La conversión x del β -sitosterol (3) que se ha consumido de acuerdo a la Tabla B es:

$$C_{\beta 0} = \text{mol / L}$$

$$x = \frac{C_{\beta 0} - C_{\beta}}{C_{\beta 0}}$$

ó $C_{\beta} = C_{\beta 0} (1 - x) \dots\dots\dots (C)$

Ilustrando el cálculo para la primera corrida

$$C_{\beta} = 1.45 \times 10^{-5} (1 - 0.535) \\ = 6.7425 \times 10^{-6}$$

Sustituyendo en la Ec. (B), para la primera corrida ($t = 30 \text{ min}$)

$$\ln \frac{1.45 \times 10^{-5}}{6.7425 \times 10^{-6}} = k_1 (30 \times 60) \\ k_1 = 4.2539 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$$

La vida media esta dada por:

$$k_1 t_{1/2} = -\ln(1/2) \dots\dots\dots (D)$$

$$t_{1/2} = (1/k_1) \dots\dots\dots (E)$$

Las Ecs. D y C muestran que la vida media y la fracción de reactante que queda son independientes de la concentración inicial en las reacciones de primer orden.

A continuación se muestran las tablas y gráficas para este tratamiento.

Tabla B.- Resultados de la conversión de β -sitosterol (3) a acetato de β -sitosterol (3a), considerando una reacción de primer orden (25 °C).

Corrida	Tiempo (minutos)	Area de integración de β -sitosterol (3) (RMN- ¹ H)	Area de integración de acetato de β -sitosterol (3a) (RMN- ¹ H)	concentración de β -sitosterol (3) $C_{\beta} \times 10^{-6}$ (mol / L)	$k_1 \times 10^{-3}$ (s ⁻¹)
1	30	2.0	2.3	6.7425	4.2539
2	60	1.4	3.0	4.6110	3.1825
3	90	1.0	3.2	3.4510	2.6583
4	120	0.8	3.5	2.6970	2.3361
5	150	0.7	4.0	2.1605	2.1153
6	270	0.4	3.9	1.3630	1.5156

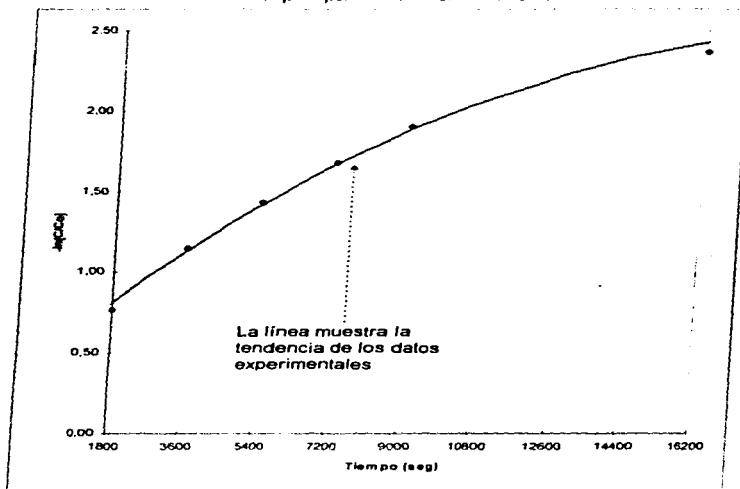
Realizando el análisis de regresión lineal de acuerdo al Apéndice C, para este tratamiento.

Tabla B1.- Tabulación de los datos de regresión lineal para el tratamiento de orden cero de la reacción de acetilación de β -sitosterol (3) a 25°C.

Tiempo (segundos)	Conversión de β -sitosterol (3)	β -sitosterol (3) $C_{\beta} \times 10^{-6}$ (mol / L)	$\ln(C_{\beta 0} / C_{\beta})$	$k_1 \times 10^{-4}$ (s ⁻¹)
1800	53.5	6.7425	0.7657	4.2539
3600	68.2	4.6110	1.1457	3.1825
5400	76.2	3.4510	1.4354	2.6583
7200	81.4	2.6970	1.6820	2.3361
9000	85.1	2.1605	1.9038	2.1153
16200	90.6	1.3630	2.3644	1.4592

Gráfica B.- Gráfica de los resultados del método de integración para la reacción de acetilación de β -sitosterol (3), tratamiento de primer orden (25°C).

$$-\ln(C_{\beta} / C_{\beta 0}) = -\ln(C/C_0) = \ln(C_0/C)$$



Del análisis de regresión lineal se obtuvieron los siguientes valores para la ecuación de primer orden, considerando la concentración $\ln(C_{\beta 0} / C_{\beta})$ en función del tiempo (t).

$$b = 0.7793$$

$$m = 1.0697 \times 10^{-4}$$

$r = 0.9634$ (coeficiente de correlación cercano a 1.0).

Por lo tanto la ecuación quedó de la siguiente manera:

$$y = (1.0697 \times 10^{-4}) x + 0.7793$$

C) TRATAMIENTO DE LOS DATOS EXPERIMENTALES CONSIDERANDO UNA REACCIÓN DE SEGUNDO ORDEN.

Para este sistema de acuerdo a la Ec. (5) del Apéndice A, y se consideró que: por cada mol de β -sitosterol (3), reaccionó una mol de anhídrido acético es decir $a = b = 1$.

$$C_{\beta 0} = 1.45 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$$

Entonces de la Ec. (9), del Apéndice A.

Tipo I. $A + A \rightarrow P$

$$-\frac{dC_{\beta}}{dt} = k_2 C_A^2 \dots \dots \dots (A)$$

Integrando desde una condición inicial $C_{\beta} = C_{\beta 0}$ se obtiene

$$\frac{1}{C_{\beta}} - \frac{1}{C_{\beta 0}} = k_2 t \dots \dots \dots (B)$$

Ilustrando el cálculo para la primera corrida ($t = 30 \text{ min}$).

$$\frac{1}{6.7425 \times 10^{-5}} - \frac{1}{1.45 \times 10^{-5}} = k_2 (30 \times 60)$$

$$k_2 = 440.8190 \text{ L / mol}\cdot\text{s}$$

En términos de vida media se transforma en:

$$t_{1/2} = \frac{1}{k_2 C_{\beta 0}} \dots \dots \dots (D)$$

Nótese que para una reacción de orden cero, $t_{1/2}$ es directamente proporcional a $C_{\beta 0}$; para una reacción de primer orden es independiente de $C_{\beta 0}$, y para una reacción de segundo orden es inversamente proporcional a $C_{\beta 0}$

A continuación se muestran las tablas y gráficas para este tratamiento.

Tabla C.- Resultados de la conversión de β -sitosterol (3) a acetato de β -sitosterol (3a), considerando una reacción de segundo orden (25 °C).

Corrida	Tiempo (minutos)	Area de integración de β -sitosterol (3) (RMN- ¹ H)	Area de integración de acetato de β -sitosterol (3a) (RMN- ¹ H)	concentración de β -sitosterol (3) $C_{\beta} \times 10^{-6}$ (mol / L)	k_2 (L / mol · s)
1	30	2.0	2.3	6.7425	440.819
2	60	1.4	3.0	4.6110	410.331
3	90	1.0	3.2	3.4510	408.819
4	120	0.8	3.5	2.6970	419.100
5	150	0.7	4.0	2.1605	437.700
6	270	0.4	3.9	1.3630	426.096

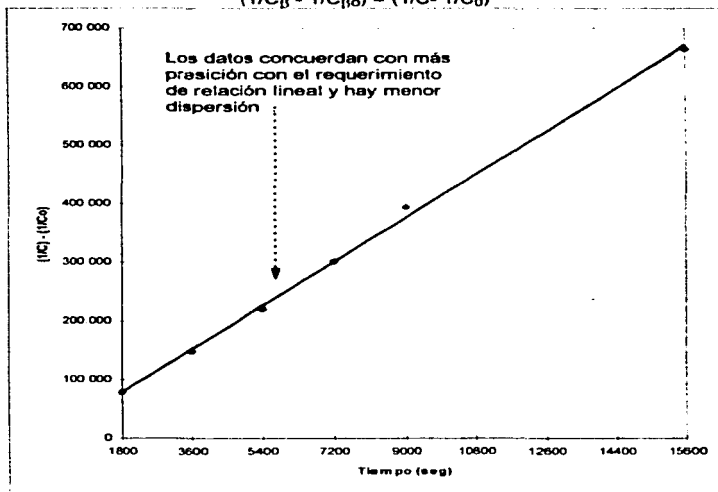
Realizando el análisis de regresión lineal de acuerdo al Apéndice C, para este tratamiento.

Tabla C1.- Tabulación de los datos de regresión lineal para el tratamiento de orden cero de la reacción de acetilación de β -sitosterol (3) a 25°C.

Tiempo (segundos)	Conversión de β -sitosterol (3)	β -sitosterol (3) $C_{\beta} \times 10^{-6}$ (mol / L)	$(1/C_{\beta}) - (1/C_{\beta 0})$ (L / mol)	k_2 (L / mol · s)
1800	53.5	6.7425	79347.423	44.0819
3600	68.2	4.6110	147907.178	41.0853
5400	76.2	3.4510	220805.563	40.8819
7200	81.4	2.6970	301816.833	41.9100
9000	85.1	2.1605	393890.303	43.7700
16200	90.6	1.3630	664710.198	41.0314

Gráfica C.- Gráfica de los resultados del método de integración para la reacción de acetilación de β -sitosterol (3), tratamiento de segundo orden (25°C).

$$(1/C_{\beta} - 1/C_{\beta 0}) = (1/C - 1/C_0)$$



Del análisis de regresión lineal se obtuvieron los siguientes valores para la ecuación de segundo grado, considerando la concentración $[(1/C_{\beta}) - (1/C_{\beta 0})]$, en función del tiempo (t).

$$b = 5135.005$$

$$m = 41.1497$$

$$r = 0.9989 \text{ (mejor coeficiente de correlación, más cercano a 1.0)}$$

Por lo tanto la ecuación quedó de la siguiente manera:

$$y = (41.1497)x + 5135.005$$

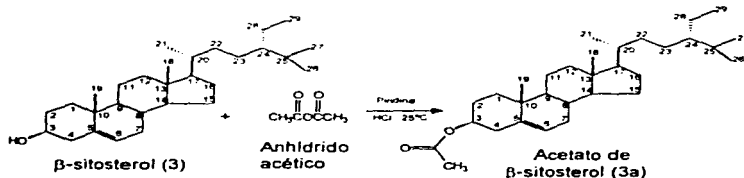
Siendo esta la que mejor representó de manera cuantitativa la transformación de β -sitosterol (3) a su derivado acetilado, el acetato de β -sitosterol (3a).

De acuerdo a los tratamientos anteriores, los valores de k_0 y k_1 muestran una tendencia definida es decir decreciente con respecto al tiempo, no explican satisfactoriamente los datos cinéticos. Los valores de k_2 no solamente son casi iguales, sino que no muestran ninguna tendencia definida y además, su coeficiente de correlación (r) es más cercano a 1.0 que nos acerca a la linealidad.

El método gráfico para explicar el procedimiento de integración, consistió en graficar la función C_{11} expresadas en las Ecs. (B) de cada tratamiento en función de t . Las gráficas resultantes que se muestran (Gráficas A, B y C), confirman la probabilidad de la ecuación de segundo orden, ya que no solamente sucede que los datos concuerdan con más precisión con el requerimiento de relación lineal, sino que hay menos dispersión de los datos experimentales. La pendiente de la curva establece el valor de k_2 . En base a la línea de segundo orden, la pendiente es

$$\text{pendiente} = k_2 = 41.149 \text{ L / mol} \cdot \text{s}$$

En el Apéndice B, se muestran las variables que pueden afectar la velocidad de reacción y la forma de poder evaluar E (Energía de Activación), así como otras propiedades termodinámicas conociendo dos valores de k a dos temperaturas diferentes, o bien si se conocen los valores de estas propiedades termodinámicas y el valor de k a una temperatura dada, es posible calcular esta última constante a otra temperatura, lo cual servirá para complementar el estudios sobre la cinética de esta reacción. Cabe destacar que el costo de la materia prima es un factor a considerar en estudios posteriores*, en el Apéndice D, se muestran los costos de β -sitosterol (3) y de otros compuestos aislados de la corteza de *Pseudobombax ellipticum* (mocoque).



Los ésteres se encuentran entre los compuestos más importantes y difundidos en la naturaleza, los anhídridos se emplean con frecuencia para producir ésteres (Mc.Murry, 1994).

*Las investigaciones experimentales requieren varias repeticiones del mismo experimento, para que las conclusiones tengan un carácter probabilístico y no aleatorio.

CONCLUSIONES

Al realizar el análisis químico de la corteza de *Pseudobombax ellipticum* (mocoque), planta utilizada en la medicina tradicional como antidiabética. Del presente trabajo se aislaron los metabolitos secundarios y mayoritarios por medio de técnicas convencionales de extracción, separación y purificación. El estudio estructural se realizó mediante el análisis de sus propiedades físicas, espectroscópicas, espectrométricas y reacciones químicas; lo que permitió identificar los compuestos aislados. Del extracto hexánico, se aislaron e identificaron dos compuestos de tipo triterpénico: lupenona (1) y β -lupeol (2), muy abundantes en la naturaleza y que han sido aislados en otros géneros; en el caso de las *Bombacáceas* se han aislado en especies como *Malabaricum* (De la Vega, 1993). Del extracto clorofórmico se aislaron e identificaron dos compuestos: β -sitosterol (3) y ayapina (4), el primero un esteroide ampliamente distribuido en la naturaleza y el segundo una coumarina aislada en géneros como *Eupatorium* (Murray, 1978) pero que no ha sido aislada de la familia de las *Bombacáceas*. Del extracto acetónico se lograron aislar sólidos inestables de los cuales únicamente se pudo caracterizar un compuesto el β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5), compuesto que posee actividad hipoglucemiante* (Gómez y Rodríguez, 1991), la Figura G, muestra las estructuras de todos los compuestos aislados de la corteza de *Pseudobombax ellipticum*.

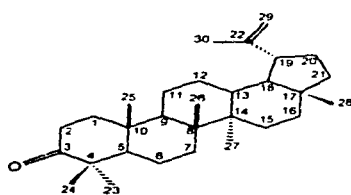
Mediante reacciones químicas se comprobó la identidad de β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5) identificando al derivado como el tetraacetato de β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5a); para lupenona (1) se identificó la hidrazona de lupenona (1a); para β -lupeol (2) el acetato de β -lupeolo (2a) y el producto de oxidación lupenona (1); para el β -sitosterol (3) el acetato de β -sitosterol (3a), la Figura H, muestra las estructuras de todos los compuestos aislados de la corteza de *Pseudobombax ellipticum*.

Al determinar el orden de reacción entre el β -sitosterol (3) y el anhídrido acético en fase líquida mediante la técnica de análisis de mezclas por RMN-¹H (Gallarher y Gaul, 1996), los datos experimentales se compararon con ecuaciones de velocidad de orden cero, primero y segundo, y de estos tratamientos el que mejor se ajustó fue el de segundo orden, el Apéndice A, muestra la manera de como evaluar las ecuaciones de velocidad a partir de datos de laboratorio. Se corroboró el valor de la constante (k) al realizar el análisis de regresión lineal (Apéndice C) para los diferentes tratamientos, obteniéndose un coeficiente de correlación para el de segundo orden de $r = 0.9989$, muy cercano a 1.0, confirmando la probabilidad de la ecuación de segundo orden cumpliendo con mas precisión el requerimiento de la relación lineal, comprobándose esto con la poca dispersión de los datos experimentales.

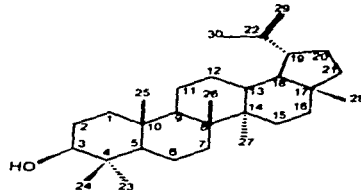
De acuerdo con lo anterior se concluye que los objetivos planteados en este trabajo se cumplieron satisfactoriamente, contribuyendo al conocimiento químico de las plantas medicinales de México.

*Cabe destacar que la mayoría de las sustancias de origen vegetal descritas con marcada acción hipoglucemiante son glicanos, los cuales son complejos de carbohidratos (polisacáridos).

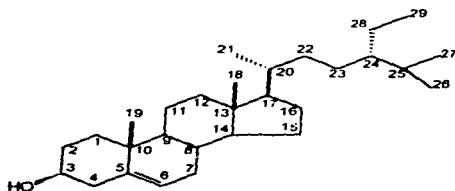
COMPUESTOS AISLADOS



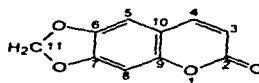
Lupenona (1)



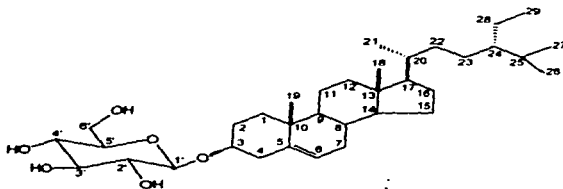
β -lupeol(2)



β -sitosterol (3)



Ayapina (4)

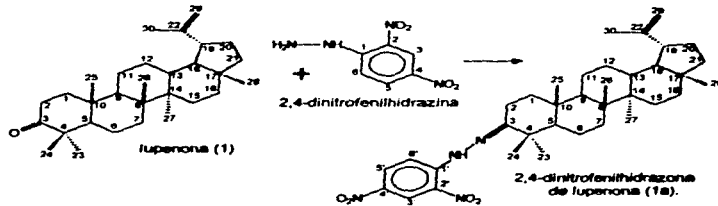


β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5).

Figura G.- Moléculas aisladas de la corteza de *Pseudobombax ellipticum* (mocoque).

REACCIONES QUIMICAS

Reacción de lupenona (1) con 2,4-dinitrofenilhidrazina



Reacción de oxidación de β -lupéol (2)



Reacción de acetilación del β -lupéol (2)

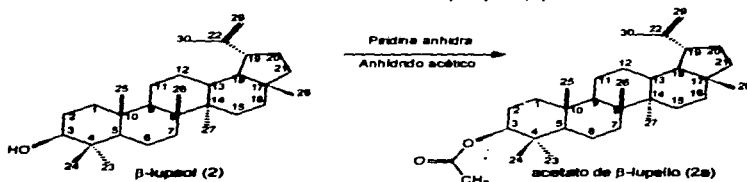
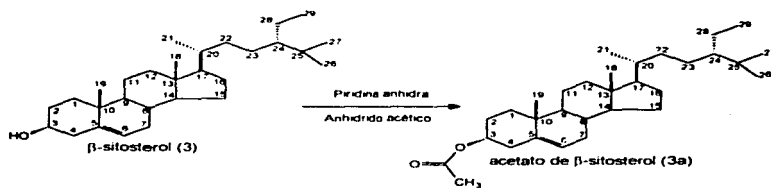


Figura H.- Reacciones químicas realizadas a los compuestos aislados de la corteza de *Pseudobombax ellipticum* (mocoque).

REACCIONES QUÍMICAS (continuación).

Reacción de acetilación β -sitosterol (3)



Reacción de acetilación del β -(D)-glucósido de β -sitosterol (5)

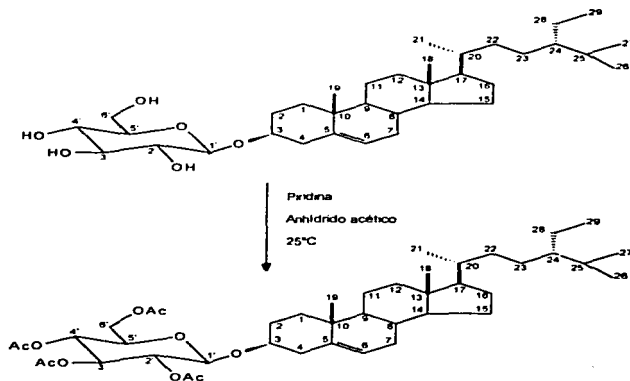


Figura H.- Reacciones químicas realizadas a los compuestos aislados de la corteza de *Pseudobombax ellipticum* (mocoque).

APENDICE A.- Evaluación de ecuaciones de velocidad a partir de datos de laboratorio.

Los primeros investigadores de la cinética encontraron que existen relaciones simples entre las velocidades de reacción y las concentraciones de los reactantes. De esta forma, Berthelot y St. Gilles* descubrieron que la velocidad de esterificación entre el etanol y el ácido acético era proporcional a la primera potencia de la concentración de etanol y a la primera potencia de la concentración de ácido acético. Se dice entonces que la velocidad es de primer orden con respecto a cada reactante. En términos generales, suponga que la velocidad de desaparición de A por medio de la reacción irreversible



es

$$r_A = - \frac{dC_A}{dt} = k C_A^\alpha C_B^\beta \dots \dots \dots (1)$$

Entonces α es el orden de la reacción con respecto a A, y β es el orden con respecto a B. La constante de proporcionalidad k, llamada constante de la velocidad de reacción, es independiente de la concentración. No es necesario que el orden y la estequiometría coincidan, esto es, α no es necesariamente igual a α y β a b.

1.-Método de integración:

Consiste en comparar las concentraciones observadas y estimadas en función del tiempo. Al usar este método es necesario integrar la ecuación de velocidad para predecir la relación de C_i en función del tiempo t.

2.- Método de diferenciación:

Requiere una diferenciación de los datos experimentales de C_i en función del tiempo t, para tener una velocidad experimental. La velocidad se compara entonces con la obtenida en base a la ecuación de velocidad propuesta.

Ecuaciones concentración-tiempo para una sola reacción irreversible

ORDEN CERO. El orden cero significa la velocidad es independiente de la concentración, puede presentarse en dos situaciones: cuando la velocidad es intrínsecamente independiente de la concentración y cuando la especie es de tal manera abundante que su concentración es prácticamente constante durante la reacción. En este último caso, es imposible detectar la dependencia de la velocidad con respecto a la concentración, y prevalece un orden cero aparente.

*M. Berthelot y L. P. St. Gilles, *Ann. Phys.*, **63**, 385 (1862).

$$-\frac{dC_A}{dt} = k_0 \dots \dots \dots (2)$$

Integrando desde una condición inicial $C_A = C_{A0}$ se obtiene

$$C_A - C_{A0} = -k_0 t \dots \dots \dots (3)$$

Este resultado muestra que la característica distintiva de una reacción de orden cero consiste en que la concentración del reactante disminuye linealmente con el tiempo. La Ec (3) puede usarse con mediciones de concentración en función del tiempo, para determinar si la reacción es de orden cero y evaluar k . Si participan dos reactantes, A y B, se pueden efectuar experimentos con A estando en gran exceso, de tal manera que la ecuación de velocidad sea independiente de C_A . Se procede entonces a variar la concentración de B para determinar el orden con respecto a este reactante. Este procedimiento sirve para cancelar el efecto de la concentración de uno de los reactantes y poder estudiar el otro.

Puede resultar más simple medir el tiempo de desaparición de una cierta fracción del reactante que obtener datos de concentración en función del tiempo. El método más común consiste en determinar el tiempo requerido para que desaparezca la mitad del reactante. Definiendo esta vida como $t_{1/2}$, de la Ec (3) se obtiene que:

$$(1/2)C_{A0} - C_{A0} = k_0 t_{1/2}$$

$$t_{1/2} = \frac{C_{A0}}{2k_0} \dots \dots \dots (4)$$

Los datos de vida media pueden emplearse con la Ec. (4) para evaluar k_0 como otra alternativa.

PRIMER ORDEN. Partiendo de la siguiente Ec. (1) para una velocidad de primer orden es

$$-\frac{dC_A}{dt} = k_1 C_A \dots \dots \dots (5)$$

Si la condición inicial es $C_A = C_{A0}$, la integración nos da

$$-\ln \frac{C_A}{(C_A)_0} = k_1 t \dots \dots \dots (6)$$

Este resultado muestra que la relación lineal entre $\ln C_A / (C_A)_0$ y t sugiere una reacción de primer orden. La vida media está dada por

$$k_1 t_{1/2} = -\ln(1/2) \dots \dots \dots (7)$$

$$t_{1/2} = (1/k_1) \ln 2 \dots \dots \dots (8)$$

Las Ecs. 6 y 7 muestran que la vida media y la fracción de reactante que queda son independientes de la concentración inicial en las reacciones de primer orden.

SEGUNDO ORDEN. Existen dos tipos de reacciones de segundo orden:

Tipo I. $A + A \rightarrow P$

$$-\frac{dC_A}{dt} = k_2 \cdot C_A^2 \dots \dots \dots (9)$$

Tipo II. $A + B \rightarrow P$

$$-\frac{dC_A}{dt} = k_2 \cdot C_A \cdot C_B \dots \dots \dots (10)$$

Para el tipo I, la integración de la Ec. (9) nos da

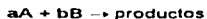
$$\frac{1}{C_A} - \frac{1}{(C_A)_0} = k_2 t \dots \dots \dots (11)$$

En términos de vida media se transforma en

$$t_{1/2} = \frac{1}{k_2 (C_A)_0} \dots \dots \dots (12)$$

Nótese que para una reacción de orden cero, $t_{1/2}$ es directamente proporcional a $(C_A)_0$; para una reacción de primer orden es independiente de $(C_A)_0$, y para una reacción de segundo orden es inversamente proporcional a $(C_A)_0$.

Para el tipo II. Examinaremos primero el caso en que el orden y la estequiometría no concuerdan. Es decir, la velocidad es de segundo orden pero reaccionan a moles de A y b moles de B (a y b \neq 1) de acuerdo a la ecuación:



Supongamos que al tiempo cero el número de moles de A y B son $(n_A)_0$ y $(n_B)_0$. introduciendo el grado de verificación de la reacción ξ , el número de moles en cualquier momento está dado por (Nota. el grado de verificación se define mas adelante)

$$n_A = (n_A)_0 - a\xi \quad \dots \dots \dots (13)$$

y

$$n_B = (n_B)_0 - b\xi \quad \dots \dots \dots (14)$$

Si consideramos que la concentración sólo cambia debido a que cambia el número de moles (esto es. el volumen es constante), las ecuaciones anteriores pueden escribirse en términos de concentraciones como.

$$C_A = (C_A)_0 - (a/V)\xi; \quad C_B = (C_B)_0 - (b/V)\xi; \quad \dots \dots \dots (15)$$

$$\frac{dC_A}{dt} = - \frac{a}{V} \frac{d\xi}{dt} \quad \dots \dots \dots (16)$$

Sustituyendo estas expresiones en las Ec. (10)

$$-\frac{a}{V} \frac{d\xi}{dt} = k_2 \left[(C_A)_0 - (a/V)\xi \right] \cdot \left[(C_B)_0 - (b/V)\xi \right] \quad \dots \dots \dots (17)$$

Integrando desde $\xi = 0$ hasta $t = 0$, y reemplazando ξ por C_A y C_B por medio de las Ecs. (15) y (16), se obtiene

$$\int \frac{1}{(C_B)_0 - (a/b)(C_A)} \left| \frac{C_B}{C_A} - \ln \frac{(C_B)_0}{(C_A)_0} \right| = k_2 t \quad \dots \dots \dots (18)$$

Puesto que C_B esta relacionado con C_A por medio de las Ecs. (15) y (16), la Ec. (17) puede expresarse en términos de C_A únicamente. El resultado es

$$\frac{1}{(C_B)_0 - (a/b)(C_A)_0} \ln \left| \frac{1}{C_A} \left[(C_B)_0 - (a/b) \{ (C_A)_0 - C_A \} \right] \right| - \ln \frac{(C_B)_0}{(C_A)_0} = k_2 t \quad \dots \dots \dots (19)$$

Si las concentraciones iniciales guardan una relación estequiométrica, $(C_B)_0 = (a/b)(C_A)_0$, y la Ec. (10) se transforma en

$$\frac{dC_A}{dt} = -\frac{b}{V} \frac{d\xi}{dt} = -k_2 \left[(C_A)_0 - (a/V)\xi \right]^2 = -\frac{a}{b} k_2 C_A^2 \quad (20)$$

Esta expresión de velocidad es la misma que la Ec. (9) para el tipo I, excepto que la constante de velocidad está multiplicada por b/a . por analogía con la Ec. (11), la solución es

$$\frac{1}{(C_A)_0} - \frac{1}{(C_A)} = -\frac{a}{b} k_2 t \quad (21)$$

Cuando $(C_B)_0 = (C_A)_0$ y $a = b = 1$, una reacción de segundo orden de tipo II es idéntica al tipo I y la solución esta por la Ec. (11).

Los datos de concentración-tiempo pueden analizarse fácilmente para determinar si se trata de una cinética de segundo orden. Para el tipo Y (o tipo II con proporciones iniciales de A y B estequiométricas), la Ec. (11) indica que los datos deben predecir una línea recta al trazar una gráfica de $1/C_A$ en función del tiempo (t). Para el tipo II, la Ec. (18) muestra que una gráfica de $\log C_B/C_A$ en función del tiempo (t) debe ser lineal. En este caso, la pendiente $[(C_{B0} - b/a)C_A]k_2$ será positiva o negativa, dependiendo de los coeficientes estequiométricos a y b y de las concentraciones iniciales.

Grado de verificación (ξ)

Considerece la reacción general homogénea



y suponga y suponga que inicialmente hay $(n_A)_0$ moles de A, $(n_B)_0$ moles de B, etc. La velocidad de cambio de las moles de una especie química está relacionada con la de cualquier otra por medio de la estequiometría de la reacción. De esta forma

$$-\frac{1}{a} \frac{dn_A}{dt} = -\frac{1}{b} \frac{dn_B}{dt} = \frac{1}{c} \frac{dn_C}{dt} = \frac{1}{d} \frac{dn_D}{dt} \quad (B)$$

definiendo el grado de verificación de la reacción como

$$-\frac{d\xi}{dt} = \frac{-dn_A}{a} = \frac{-dn_B}{b} = \frac{dn_C}{c} = \frac{dn_D}{d} = \frac{dn_i}{v_i} \quad (C)$$

donde v_i es el coeficiente estequiométrico de la especie y . Si se refiere a un reactante, v_i es negativa y para un producto es positiva. Sustituyendo los valores de dn_i en la ecuación genera

$$r_i = \frac{v_i d\xi}{V dt} \dots (D)$$

o bien

$$\frac{r_i}{v_i} = \frac{1 d\xi}{V dt} \dots (E)$$

Este resultado muestra que la velocidad dividida entre el número estequiométrico es independiente de la selección del reactante o producto para y . En base a la Ec. (D), esta relación r_i/v_i puede expresarse en términos de concentración como

$$\frac{r_i}{v_i} = \frac{1 dC}{V dt} \dots (F)$$

La Ec. (F) es una forma útil para mantener consistencia en la comparación de valores de velocidad, pues r_i/v_i es igual para todas las especies químicas participantes en la reacción.

El grado de verificación de la reacción está relacionado con la conversión x . Esta última cantidad se define como la fracción de reactante que reacciona. De esta manera, la conversión de la especie A para la Ec. (A) es

$$x_A = \frac{(n_A)_0 - (n_A)}{n_{A0}} \dots (G)$$

Si la Ec. (C) se integra desde $\xi = 0$, $n_i = (n_i)_0$

$$n_i - (n_i)_0 = v_i (\xi - 0) = v_i \xi \dots (H)$$

Aplicando la Ec. (H) al reactante A,

$$n_A - (n_A)_0 = a \xi \dots (H)$$

Sustituyendo $n_A - (n_A)_0$ en la Ec. (G) se obtiene

$$x_A = \frac{a \xi}{(n_A)_0} \dots (I)$$

Notese que ξ tiene unidades de moles, mientras que la conversión x es adimensional.

APENDICE B.- VARIABLES QUE AFECTAN A LA VELOCIDAD DE REACCION.

La velocidad de una reacción puede ser afectada por diversas variables. En los sistemas homogéneos las variables son la temperatura, la presión y la composición, mientras que en los sistemas heterogéneos, como están presentes más de una fase, el problema será más complejo.

En todos los casos considerando, si la reacción consta de varias etapas en serie, la etapa más lenta de la serie es la que ejerce la mayor influencia y se puede decir que es la etapa controlante. Un problema importante es determinar que variables afectan a cada una de estas etapas y en que grado; solamente cuando se conoce la magnitud de cada factor tenemos una representación clara del efecto de estas variables sobre la velocidad de reacción, y cuando se dispone de esta información se puede extrapolar estas velocidades a condiciones nuevas.

TEMPERATURA EN LA ECUACION CINETICA.

Para muchas reacciones y, en particular para reacciones elementales, la expresión de velocidad puede escribirse como producto de un factor dependiente de la temperatura por otro dependiente de la composición:

$$r_i = f_1(\text{temperatura}) \cdot f_2(\text{composición}) \\ = k \cdot f_2$$

Para la inmensa mayoría de estas reacciones se ha encontrado que el factor dependiente de la temperatura se ajusta a la ecuación de Arrhenius.

$$k = k_0 e^{-E_a/RT} \dots\dots\dots(1)$$

en donde

k_0 se denomina factor de frecuencia
 E_a es la energía de activación de la reacción

Esta expresión se ajusta bien a los datos experimentales en un amplio rango de temperaturas y es una aproximación adecuada para el estudio del efecto de la temperatura sobre la ecuación cinética.

Según la termodinámica:

La influencia de la temperatura sobre la constante de equilibrio en reacciones elementales reversibles, viene dada por la ecuación de Van't Hoff.

$$\frac{d(\ln k)}{dt} = \frac{\Delta H_r}{RT^2} \dots\dots\dots(2)$$

Como para $K = k_1/k_2$

Se puede escribir la relación de Van't Hoff en la forma

$$\frac{d(\ln k_1)}{dt} - \frac{d(\ln k_2)}{dt} = \frac{\Delta H_r}{RT^2} \dots\dots\dots(3)$$

$$\frac{d(\ln k_1)}{dt} = \frac{E_1}{RT^2} \quad \text{y} \quad \frac{d(\ln k_2)}{dt} = \frac{E_2}{RT^2} \dots\dots\dots(4)$$

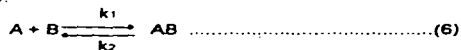
donde $E_1 - E_2 = \Delta H_r \dots\dots\dots(5)$

Por lo tanto se supone que los términos energéticos son independientes de la temperatura. Puede integrarse la Ec.(4) para dar la Ec.(1) de la ley de Arrhenius.

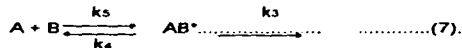
A partir del estado de transición:

Una explicación más detallada de por que los reactantes se transforman en productos, viene dada por la teoría del estado de transición. Según esta teoría, los reactantes se combinan para formar productos intermedios inestables denominados complejos activos, que después se descompondrán espontáneamente dando los productos. Supone también que, en todo momento, están en equilibrio las concentraciones de los reactantes con los del complejo activado y que la velocidad de descomposición del complejo es la misma para todas las reacciones.

Esta velocidad viene dada por kT/h , siendo k la constante de Boltzmann y $h = 6,63 \times 10^{-27}$ erg.seg, la constante de Plank. Así, para la reacción elemental directa de la reacción reversible:



tenemos el siguiente equilibrio básico



$$K^*c = \frac{K_3}{k_4} \frac{[AB^*]}{[A][B]}$$

y

$$k_3 = \frac{kT}{h}$$

La velocidad de la reacción directa observada es, por lo tanto

$r_{AB, \text{ directa}} = (\text{concentración del complejo activado}) \cdot (\text{velocidad de descomposición del complejo activado})$

$$= \frac{kT}{h} [A B^*]$$

$$= \frac{kT}{h} k^* c_A c_B \dots \dots \dots (8)$$

Expresando la constante de equilibrio del complejo activado en función de la energía libre:

$$\Delta G^* = \Delta H^* - T\Delta S^* = -RT \ln k^* \dots \dots \dots (9)$$

o bien

$$k^* = e^{-\Delta G^*/RT} = e^{-\Delta H^*/RT + \Delta S^*/R} \dots \dots \dots (10)$$

la velocidad será:

$$r_{AB, \text{ directa}} = \frac{kT}{h} e^{-\Delta H^*/RT + \Delta S^*/R} c_A c_B \dots \dots \dots (11)$$

Teóricamente ΔS^* y ΔH^* varían muy poco con la temperatura.

De estas ecuaciones se puede realizar un análisis de la cinética mas completo. Se tratará de relacionar ΔH^* con la energía de activación E_a de Arrhenius, definiendo una relación basada en argumentos de analogía termodinámica, así, para líquidos y sólidos:

$$E_a = \Delta H^* + RT \dots \dots \dots (12)$$

para gases,

$$E_a = \Delta H^* - (\text{molecularidad} - 1) RT$$

Con estas definiciones la diferencia entre E_a y ΔH^* es en todo caso pequeña (del orden de RT).

Arrhenius, fue el primero en señalar que la variación de las constantes de velocidad con la temperatura se representa por una ecuación análoga a la usada por las constantes de equilibrio simplificada de la Ec.(4).

$$\frac{d(\ln k)}{dt} = \frac{E_a}{RT^2} \dots\dots\dots(13)$$

En esta ecuación, k es la constante de velocidad de la reacción, T la temperatura absoluta, R la constante de los gases ideales y E_a la energía de activación.

La forma integrada de la Ec. (13)

$$\ln k = - \frac{E_a}{RT} + C' \dots\dots\dots(14)$$

Análogamente si dividimos la Ec. (9) entre T

$$\frac{\Delta H - T\Delta S}{T} = \frac{R T \ln k}{T}$$

queda

$$\frac{\Delta H}{T} - \Delta S = - R \ln k \dots\dots\dots(15)$$

De las Ecs. (13) y (15), resulta evidente que tan pronto se conozcan dos valores de k, a dos temperaturas diferentes, es posible evaluar E_a o ΔH, o bien si, si se tiene el valor de éstos y el de k a una temperatura dada, es posible calcular esta última constante a otra temperatura.

Para comprobar la validez de estas ecuaciones se puede graficar ln k contra 1/T debe dar una línea recta con pendiente (-E_a/R) o (-ΔH/R), cuya intersección con el eje de las "y" proporciona el valor de la (C') o (ΔS/R), por lo tanto si al graficar se halla una línea recta, queda confirmada su validez.

APENDICE C.- ANALISIS DE REGRESIÓN LINEAL.

$$(y = mx + b)$$

El registro de la información experimental, proporciona una ayuda visual para comprender un conjunto de datos obtenidos al estudiar experimentalmente un fenómeno. Además proporciona información al predecir un valor no determinado experimentalmente y ayuda a comprender lo que sucederá más allá de los valores obtenidos.

En la expresión matemática de la ecuación de la línea recta, m es la pendiente o ángulo de inclinación y b , la ordenada al origen. Esta ecuación es importante por que a menudo representa una proporcionalidad directa y resulta fácil predecir, sea por interpolación o extrapolación, datos experimentales. Para calcular esta expresión se requiere realizar el siguiente análisis.

De la fórmula $y = mx + b$ el término constante, b y el valor de la pendiente m se calculan usando las siguientes formulas.

$$b = \frac{\sum y - m \cdot \sum x}{n}$$

donde n es el número de pares de datos

$$m = \frac{n \cdot \sum xy - \sum x \cdot \sum y}{n \cdot \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

Para estimar valores de y y x basados en la fórmula de regresión lineal se pueden usar las siguientes fórmulas.

$$y = mx + b \qquad x = \frac{y - b}{m}$$

Por último, el coeficiente de correlación r para éste análisis puede calcularse de la siguiente manera.

$$r = \frac{n \cdot \sum xy - \sum x \cdot \sum y}{[(n \cdot \sum x^2 - (\sum x)^2)(n \cdot \sum y^2 - (\sum y)^2)]^{1/2}}$$

APENDICE D.- Costos de algunos de los compuestos aislados de *Pseudobombax ellipticum*.

Compuesto	Pureza	No. De Ref. del Chemical Abstracts	Referencia del Merck index	Origen	Unidad	Precio (Dólares)	Ref.	Sinonimia
β-sitosterol	50%	83-46-5	11,8496		5 g	\$ 7.70	2	a) 22,23-dihydrostigmasterol.
					100 g	\$ 30.80		b) 5-Stigmasten-3β-ol.
					500 g	\$ 83.80		c) α-dihydrofucosterol
	97%			Soya	1 mg	\$ 29.80	1	d) 24β-Ethylcholesterol
					5 mg	\$ 94.70		
					10 mg	\$ 170.40		
	95%			Sintético	10 mg	\$ 55.80	1	
					25 mg	\$ 110.80		
					100 mg	\$ 307.20		
	60%			Frijol de soya	10 g	\$ 8.50	1	
				25 g	\$ 10.30			
				100 g	\$ 32.40			
β-lupeol		545-47-1			25 mg	\$ 40.00	1	a) Fagarasterol
					100 mg	\$ 111.80		b) 3β-Hydroxy-20(29)-lupene
					250 mg	\$ 223.30		c) 20(29)-lupen-3β-ol
					1 g	\$ 620.40		
Coumarina (estructura Básica)		91-64-5	11,2563		50 g	\$ 7.30	1,2	
					100 g	\$ 11.80		
					500 g	\$ 46.25		

122

1.- SIGMA CHEMICAL COMPANY, Sigma-Aldrich. (1996). "Bioquímicos, Compuestos Orgánicos y Reactivos de Diagnóstico", S.A. de C.V. México D. F., Pág. 652 y 940.

2.- ALDRICH CHEMICAL Co., Inc. (1996). "Catálogo de Productos Químicos", S.A. de C.V., México D.F., Pág. 1324

BIBLIOGRAFIA

- ALBORNOZ, A. M.. (1980). "Productos Naturales, Sustancias y Drogas Extraídas de las plantas", Publicaciones de la Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela; Pág. 40-41.
- ALDRICH Library of ^{13}C and ^1H FTNMR Spectra (1993). Charles J. Pouchert, Jacquelyn Behnke, Edition I, U.S.A., Aldrich Chemical Company, Inc., Pág. 1314.
- ALLIGER L., Cava P., De Jongh C., Johnson R., Lebel A. y Stevens L. (1979). "Química Orgánica", 2a. Edición, Tomo II, Edit. Reverté, S.A. México, Pág. 1045-1062.
- A.O.A.C., (1984). "Official Methods of Analysis". Pág. 506-507, 1007.
- ARORA; S. K. y Sing, M., (1967). "Fractionation of fatty of *Salvia malabarica* by cristalization with urea and reverse phase chromatography", Oil Technol. 1, Pág. 1-3.
- BANNERMAN, H. R., (1979). "La medicina tradicional en el programa de la OMS". Crónica de la OMS. 31, 11, Pág. 479-480.
- BANNERMAN, H. R., (1980). "Organization and cooperation for development of studies of plant used in traditional medicine: Some guide lines for research and studies of ethnopharmacology". 2, Pág. 189.
- BATES, B. R. y Schaefer, P. J. (1977). Técnicas de investigación en Química Orgánica. Edit. Prentice/Hall International. Madrid, España. Pág. 34-89.
- CHACON, G. y Amador P. M. (1975). "Cinética, Equilibrio y Catálisis", ANUIES, Edit. Edicol, México, Pág. 13-15.
- CORDELL, G. A. (1995). "Changing Strategies in Natural Products Chemistry", Phytochemistry, Vol. 40, . No. 6, Pág. 1585-1612.

- DE LA VEGA, H. M. (1993). "Evaluación de la actividad Hipoglucemiante Antihiper glucémica y Antidiabética de *Pseudobombax ellipticum* (Kunth) Dugand (mocoque) en varios modelos experimentales en ratas Wistar". Tesis Profesional. Químico Farmacéutico Biólogo. ENEP-Zaragoza. UNAM.
- DE MARIA y CAMPOS, T. (1979). "Los animales en la medicina tradicional Mesoamericana". Anales de Antropología XVI. Universidad Nacional Autónoma de México.
- DOMINGUEZ, X. A., (1979). "Métodos de investigación fitoquímica". Edit. Limusa, México.
- DYER John R., (1978). "Aplicaciones de espectroscopia de absorción en compuestos orgánicos", Trad. (Juan A. Garbarino), Edit. Prentice/Hall International, Pág. 165-191.
- ESTRADA, L. E. (1995). "Lecturas para el Diplomado Internacional de Plantas Medicinales de México". Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Fitotecnia, Programa Universitario de Plantas Medicinales, Programa Nacional de Etnobotánica, Centro de Agroforestería para el Desarrollo Sostenible, "a. Edición, Pág. 10-16.
- FANGHANEL, S. G., Sánchez L. y Valle M. (1983) "La Diabetes Mellitus" Rev. Fac. Med: UNAM, México, Vol. 26, Pág. 259.
- FURCH, K, Junk W. J., Campos *et al.*, Verch. (1987). Int. Theor. Angem Limnol, 23 (2), p. 642-646.
- GALLARHER, N. T. y Gaul A. D. (1996). "The esterification of Trifluoroacetic Acid, a Variable Temperature NMR Kinetic Study, Journal of Chemical Education, Vol. 73, No. 5, Pág. 465-467.
- GARDUÑO, R. J., (1986). "Aislamiento y determinación de la estructura molecular de los metabolitos secundarios de *Arracacia nelsonii* C & R (UNBELLIFERAE)". Tesis de Lic. Q.F.B: Fac. De Química, UNAM, México.
- GOMEZ, P. M. y Rodríguez, R. M., (1991). "Evaluación de la actividad Hipoglucemiante de plantas medicinales utilizadas como antidiabéticas en la Huasteca Hidalguense". Tesis de Licenciatura, Q.F.B., FES-Zaragoza, UNAM, México.

- HEYDEN, D. (1983). "Mitología y Simbolismo de la flora en el México Prehispánico. Universidad Nacional Autónoma de México.
- JIMENEZ, H. S., (1989). "Estudio Químico de Plantas Medicinales Mexicanas. Constituyentes de *Cecropia obtusifolia* (Guarumbo) y *Zanthoxylum liebmaniarum* (Colopatlle)". Tesis de Lic. de Q.F.B., FES-Zaragoza, UNAM, México.
- JOSEPH-NATHAN, P. (1975). "Separaciones Cromatográficas. ANUIES, Edit. Edicol, S.A., México.
- LEYVA, H. A., (1978). "Extracción de aceite esencial de menta a partir del torongil *Satureja Mexicana*. Tesis de Lic. Ingeniería química. Fac. de Química, UNAM, México.
- LOPEZ, A. A., (1971). Textos de Medicina Nahuatl. Sep-Setentas, Secretaría de Educación Pública, México.
- LOZANO, V. J., (1985). "Estudio Químico de *Croton niveus* Planta Medicinal Endémica de México". Tesis de Lic. Q.F.B., FES-Zaragoza, UNAM, México.
- LOZOYA, X. (1989). "La medicina tradicional en la realidad político-social de México". Instituto Mexicano del Seguro Social, México. Ciencias, 11, Pág. 27-33.
- MCMURRY, J., (1994). "Química Orgánica". Grupo Editorial Iberoamérica, S.A. de C.V., México, Pág. 401-418.
- MEDINA; P. R., (1995). "Estudio de Propiedades Físicas de la mezclas Polipropileno-Etileno-Acetato de vinilo por adición de un Peróxido. Tesis de Lic. Ingeniería Química, FES-Zaragoza, UNAM.
- MOLTON, K. y Jenness R. (1987). *Expeientia*, 1987, 43 (3), Pág. 339-342.
- MONTERRAT, G., Gómez A. y Nuñez A.,(1988). "la Etnobotánica. Profesores de la Facultad de Ciencias, UNAM, México, Ciencias, Vol.13, Pág. 59-63.
- MURRAY, R. D. H., Méndez J. y Brown S. A. (1982). "The Natural Coumarine, Occurrence, Chemistry and Biochemistry". John Wiley & Sons L.T.D. Chichester-New York, Brisbane-Toronto-Singapore.

- NATHAN, P. J. y Díaz, T. E. (1970).** "Introducción a la Resonancia Magnética Nuclear, Edit. Limusa, México.
- NAVARRETE, C. A., (1986).** "Estudio químico de plantas medicinales usadas en medicina tradicional". Tesis de Maestría en Ciencias Químicas, Fac. Química. UNAM, México.
- NAVARRO, O. A., (1991).** "Empleo de productos naturales como fuentes de intermediarios sintéticos (Boschnalosido). Tesis de Maestría en Ciencias Químicas, Fac. Química, UNAM; México.
- PASTO, J. D; y Johnson R. C., (1977).** "Determinación de Estructuras Orgánicas. 1a. Edición en español de Reverté, S.A. Barcelona, España, Pág.91-118.
- REYES, T. B., (1988).** "Aislamiento y Elucidación Estructural de Metabolitos Secundarios (con actividad Farmacológica Potencial) de *Pluchea symphytifolia* y *Senecio andrieuxii* (Compositae)". Tesis de Maestría en Ciencias Químicas (Química Orgánica). Fac. De Ciencias Químicas e Industriales División de Estudios de Posgrado, UAEM, México.
- SALAMA, A. M., Polo, A. E., Contreras, C. R. y Maldonado L., (1986).**"Revista Colombiana de Ciencias Químicas Farmacéuticas, Pág. 15-79.
- SHASHI B. M. y ASHOKE K. N., (1991).** "Triterpenoid Saponins Discovered Between 1987 and 1989". *Phytochemistry*, Vol. 30, No. 5, Pág. 1357-1390.
- SHRINER, L. R., Fuson C. R. y Curtin Y. D., (1977).** "Identificación sistemática de compuestos orgánicos", Edit. Limusa, México Pág. 249-252.
- SMIRNOFF, N. Toddp and Stewart G. R. (1984).** *Ann Bot.* 54 (3), p. 336-374.
- SMITH, J. M. (1986).**"Ingeniería de la Cinética Química". Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V., México, Pág. 88-95.
- S.N.V.E. (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica), (1996).** *Epidemiología Sistema Unico de Información*, Núm. 10, Vol. 13, semana 10 y 11.

- STERNHELL, S. y Kalman J. R., (1988).** "Organic Structures From Spectra. Jhon Wiley & Sons L.T.D. New York.
- TEMPESTA, E., (1980).** "Evaluation of local resources in traditional medicine". J. of Ethnopharmacology 2, Pág. 163-166.
- TRUJILLO, S. J., (1992).**"Agliconas Flavonoides de *Stevia Connata* y Terpenoides de *Verbesina greenmannii*". Tesis de Lic. Q.F.B., E.Q.F.B., U.M.S.N.H., México.
- WILLARD, H. H., Lynne L. M. y John A. D. (1974).**"Métodos Instrumentales de Análisis". Cia. Edit. Continental, S.A. de C.V., México, Pág. 103-115.
- ZAFRA, P.,(1979).**"Una técnica alternativa es la que emplea RMN-¹H para cuantificar el porcentaje de insaturación. Tesis Lic. Químico, Fac. Química, UNAM, México.
- ZIEGLER; T., Möhler, F. y Effenberger, F., (1987).** "Eine einfache Synthese Von Cumarinen. Chem. Ber. 120, Pág. 373- 378.