

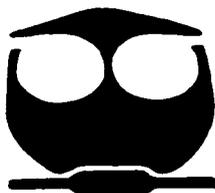


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"COMPUESTOS AROMATICOS BIOACTIVOS DE
Rumex hymenosepalus torr. (Polygonaceae)."

TESIS MANCOMUNADA
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A N :
JOSE ANTONIO GUERRERO ANALCO
SERGIO ISMAEL MARTINEZ LUIS



MEXICO, D. F.

EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

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.

Paginación

Discontinua

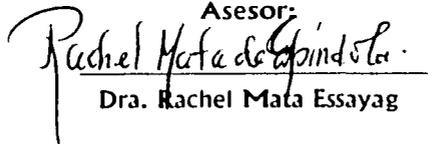
JURADO ASIGNADO

Presidente	Dra. Yolanda Caballero Arroyo
Vocal	Dra. Rachel Mata Essayag
Secretario	Dr. Rogelio Gregorio Pereda Miranda
1er. Suplente	Dra. Martha Lydia Macías Rubalcava
2do. Suplente	M. en C. Isabel del Carmen Rivero Cruz

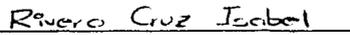
Sitio de realización de la tesis:

Laboratorio 124 del Departamento de Farmacia
Facultad de Química, U.N.A.M.

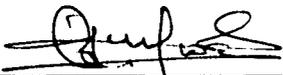
Asesor:


Dra. Rachel Mata Essayag

Supervisor técnico:


M. en C. Isabel Rivero Cruz

Sustentantes:


José Antonio Guerrero Analco


Sergio Israel Martínez Luis

AGRADECIMIENTOS

El trabajo experimental de esta tesis se realizó mediante el apoyo económico del proyecto "Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America" (NIH GRANT 5U01TW/**00316/03).

A los miembros del jurado designado para la revisión del manuscrito de tesis, por sus valiosos comentarios y observaciones, que sin duda enriquecieron la versión final de esta tesis

A la Q.F.B. Marisela Gutierrez, por el registro de los espectros en el IR y de las rotaciones ópticas de varios compuestos; a la Q. Georgina Duarte, por la determinación de los espectros de masas; y al Q.F.B. Oscar Yáñez, por el registro de los espectros de RMN. Todo ellos integrantes de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI), Facultad de Química, UNAM

A la Dra. Rachel Mata Essayag por permitimos formar parte de su equipo de trabajo, por su dedicación y enseñanzas para la realización de este trabajo y por ser un gran ejemplo para nuestra formación profesional.

A las M. en C. Isabel Rivero Cruz y Laura Acevedo Arteaga por la supervisión técnica y por su apoyo durante nuestra estancia en el laboratorio 124.

A todos nuestros compañeros del Laboratorio 124, Conjunto E de la Facultad de Química por su ayuda, convivencia y amistad.

Finalmente a la Universidad Nacional Autónoma de México, donde crecimos en muchos aspectos de nuestra vida, por otorgarnos el valioso tesoro de la educación. Es un orgullo egresar de esta casa de estudios.

DEDICATORIAS

José Antonio (Toño) agradece y dedica:

A Dios:

Por haberme otorgado el maravilloso don de la vida, porque siempre estas conmigo dondequiera que me encuentre, sé tú siempre quien me guíe.

"Nunca se apartará de tu boca este libro de la ley, sino que de día y de noche meditarás en él, para que guardes y hagas conforme a todo lo que en él está escrito; porque entonces harás prosperar tu camino y todo te saldrá bien. Mira que te mando que te esfuerces y seas valiente, no temas ni desmayes, porque Dios estará contigo en dondequiera que vayas"

A la memoria de mi padre: Carlos Cristino Guerrero (q.e.p.d).

Tus palabras y ejemplo serán siempre motivación para seguir luchando en esta vida. "Y tú irás hasta el fin, y reposarás, y te levantarás para recibir tu heredad al fin de los días".

A mi madre: Soledad Analco Ramírez ("Chole").

Tengo tanto que agradecerte mamá, me has cuidado desde que estuve en tu vientre hasta el día de hoy en que lo sigues haciendo, gracias por tu amor, tu amistad y paciencia; son tú y mi familia las personas más importantes en mi vida.

A mis hermanos: Juan Carlos ("Lelo"), María Eugenia ("Bruja"), Norma Elizabeth ("Gorda"), Jorge Alberto ("Toto") y David Benjamín (Bouvierno).

Por su amistad y compañerismo, por todos los hermosos momentos que hemos compartido y porque en los días difíciles hemos permanecido unidos. Papá estaría orgulloso de cada uno de ustedes.

A la memoria de mi hermano: Eloy Hernández Cruz (q.e.p.d).

Porque antes de dormir nos has dado a toda mi familia los dos mejores regalos que jamás alguien otorgó; son ellos hoy razón de lucha y entrega para nosotros.

A mis sobrinos: Karina (Quika) y Enrique (Quike).

Por ser la alegría de nuestras vidas, porque junto con mi madre son el motivo de querer ser mejor día a día.

A mi abuelita: Elvira Cruz Madrigal.

Dios te guarde y te conserve, para que pueda seguir disfrutando de tu presencia "abue".

A Nadia Lizeth Caram Salas:

Porque al conocerte, me conocí a mi mismo y entendí de lo que soy capaz, por tu amistad y paciencia. Gracias y cuidate mucho.

A mi querida Universidad:

Que me permitió ser parte de ella desde los 15 años y me ha dado la oportunidad de conocer a mis mejores amigos y profesores (son ellos ejemplo de profesionalismo).

A Rubí Espinoza Ríos y Roberto Hernández Cruz:

Porque después de tantos años de conocerlos, siguen siendo tan buenos amigos como antes, por su comprensión en los buenos y malos momentos.

A mis amigos:

Los CCN-eros: Uriel, Iván, Juan Carlos, José Luis, Oscar.

Los del grupo 97-03: Italia C., Andrea O., Guadalupe A., Tania B., Tania O., Violeta V., Abel V., Alejandro L. y Carlos S.

Los Q.F.B.s: Miriam E., Mina K., Sergio M., Erik P. y Cesar A.

A todos ellos, gracias por su amistad.

En especial agradezco a la Dra. Rachel Mata Essayag por su ayuda y paciencia durante mi estancia en su laboratorio, por encausar mi formación profesional y permitirme trabajar en beneficio de la sociedad. Gracias.

"Ninguno tenga en poco tu juventud, sino sé ejemplo ... en palabra, conducta, amor, espíritu, fe y pureza." 1. Tim. 4:12.

Sergio Ismael agradece y dedica:

A lo mas grande que Dios de ha dado en la vida: Mis padres Sergio Martínez Glez. y Ma. del Carmen Luis López por todo su apoyo, amor y comprensión. Les doy muchas gracias por haber estado siempre conmigo tanto en las buenas como en las malas, y por todos esos consejos que me ayudaron a salir adelante y superarme.

A mis hermanos: Mario, José Luis, Irene e Iván que siempre han confiado en mí, así como también por la motivación que siempre me han brindado.

A todos los amigos que he tenido durante mi formación profesional que han contribuido en mi preparación, su ayuda ha servido para superarme, y por hacer ameno todo este tiempo.

A José Ruiz, Marco Antonio Glez., Liliana Glez., Miguel Ángel Ruiz, Amelia López y el señor Emilio Glez. por los buenos y malos momentos vividos.

A Carlos Hugo Tondopo y su esposa Sonia por su confianza y amistad brindada.

A todas aquellas personas que en cierta forma hayan contribuido a que este sueño se haga realidad.

Finalmente, quiero dar mi más sincero reconocimiento a la Dra. Rachel Mata por todos los consejos otorgados que sin duda alguna fueron parte importante en mi formación profesional y por todo el apoyo brindado el cual nos dio la confianza para tratar de hacer las cosas mejor. GRACIAS.

La grandeza del hombre esta en su propio ser, lo difícil es encontrarla, siendo uno mismo seguramente que encontraremos el camino más fácil para alcanzarla.

ÍNDICE

	Página
Lista de Cuadros	IV
Lista de Tablas	V
Lista de Espectros	VI
Lista de Figuras	VIII
Lista de Esquemas	VIII
Lista de Abreviaturas	IX
I INTRODUCCIÓN	1
II OBJETIVOS	3
III ANTECEDENTES	4
3.1 Antecedentes botánicos y etnobotánicos de la especie <i>Rumex hymenosepalus</i> Torr.	4
3.2 Antecedentes químicos sobre la especie <i>Rumex hymenosepalus</i> y otras especies del género <i>Rumex</i> .	7
IV PARTE EXPERIMENTAL	17
4.1 Procedimientos generales.	17
4.1.1 Análisis cromatográficos.	17
4.1.2 Determinación de las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de los productos naturales y sus derivados.	17
4.2 Material vegetal.	18
4.3 Determinación de la actividad antimicobacteriana.	19
4.4 Estudio fitoquímico de <i>Rumex hymenosepalus</i> Torr.	19
4.4.1 Preparación del extracto a mediana escala.	19
4.4.2 Fraccionamiento primario del extracto activo total de la raíz de <i>Rumex hymenosepalus</i> .	19

ÍNDICE (continuación)

	Pág
4.4.3 Fraccionamiento secundario de la fracción F001.	19
4.4.4 Aislamiento del crisofanol (4) y la fisiona (5) a partir de la fracción F001-II.	20
4.4.5 Aislamiento del β -sitosterol (30), el resveratrol (28) y la emodina (2) a partir de la fracción F001-V.	21
4.4.6 Aislamiento del resveratrol (28), el piccatanol (36), la (-) epicatequina (24), el (-) 3-galato de epicatequilo (38) y el 4'-O- β -D-glucopiranosido del resveratrol (37).	23
4.4.6.1 Aislamiento del 4'-O- β -D-glucopiranosido del resveratrol (37).	26
4.4.7 Reacciones realizadas para la identificación de los productos 28 y 37.	28
4.4.7.1 Obtención de los derivados acetilados de los productos 28 y 37.	28
4.4.7.2 Reacción de Molish.	29
4.4.7.3 Hidrólisis ácida del compuesto 37.	29
V RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
5.1 Aislamiento de los principios biodinámicos de <i>Rumex hymenosepalus</i> Torr.	30
5.1.1 Caracterización de los compuestos de tipo antraquinona.	31
5.1.2 Caracterización de los compuestos de tipo estilbenoide [resveratrol (28), piccatanol (36), 4'-O- β -D-glucopiranosido del resveratrol (37)].	36
5.1.2.1 Caracterización del resveratrol (28) y piccatanol (36).	36
5.1.2.2 Caracterización del 4'-O- β -D-glucopiranosido del resveratrol (37).	38
5.1.3 Caracterización de la (-) epicatequina (24) y el (-) 3-galato de epicatequilo (38).	42
5.2 Actividad antimicobacteriana de los compuestos aislados.	47

ÍNDICE (continuación)

	Pág
VI RESUMEN Y CONCLUSIONES	49
VII BIBLIOGRAFÍA	51
APÉNDICE (Espectros)	59

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Contenido	Pág
1	Metabolitos secundarios aislados del género <i>Rumex</i> .	8
2	Agentes cromógenos utilizados para los análisis cromatográficos en capa fina.	18
3	Resumen del fraccionamiento secundario de la fracción F001 por cromatografía en columna de gel de sílice obtenida a partir del extracto de las raíces de <i>R. hymenosepalus</i> Torr	21
4	Resumen del fraccionamiento terciario de la fracción F001-II.	22
5	Resumen del fraccionamiento terciario de la fracción F001-V.	23
6	Resumen del fraccionamiento secundario de la fracción F002.	24
7	Resumen del fraccionamiento terciario de la fracción F002-IV.	25
8	Resumen del fraccionamiento terciario de la fracción F002-V.	25
9	Resumen del fraccionamiento terciario de la fracción F002-VI.	26
10	Resumen del fraccionamiento terciario de la fracción F002-IX.	27
11	Resumen del fraccionamiento de la mezcla acetilada de la fracción F002-IX-5-Ac.	28
12	Metabolitos aislados de la especie <i>Rumex hymenosepalus</i> .	32

LISTA DE TABLAS

Tabla	Contenido	Pág
1	Actividad antimicrobacteriana de las fracciones primarias obtenidas a partir del extracto integro de la raiz de <i>R. hymenosepalus</i> .	31
2	Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de las antraquinonas 2, 4 y 5.	34
3	Desplazamientos químicos de RMN- ¹ H (δ_{H}), [300 MHz, CDCl ₃], de las antraquinonas 2, 4 y 5.	35
4	Datos de desplazamientos químicos de RMN- ¹³ C (δ_C), [75 MHz, CDCl ₃] de las antraquinonas 2, 4 y 5.	36
5	Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de los estilbenos 28 y 36.	37
6	Datos de desplazamientos químicos de RMN- ¹ H (δ_{H}), [300 MHz] de los estilbenos 28 y 36.	39
7	Datos de desplazamientos químicos de RMN- ¹³ C (δ_C), [75 MHz, CD ₃ OD] de los estilbenos 28 y 36.	40
8	Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del estilbeno 37.	41
9	Datos de desplazamientos químicos de RMN- ¹ H (δ_{H}), [300 MHz] del estilbeno 37.	43
10	Datos de desplazamientos químicos de RMN- ¹³ C (δ_C), [75 MHz] del estilbeno 37.	44
11	Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la (-) epicatequina (24) y el (-) 3-galato de epicatequilo (38).	45
12	Datos de desplazamientos químicos de RMN- ¹ H (δ_{H}) [300 MHz, CD ₃ OD] de las catequinas 24 y 38.	46
13	Datos de desplazamientos químicos de RMN ¹³ C (δ_C), [75 MHz, CD ₃ OD] de las catequinas 24 y 38.	47

LISTA DE TABLAS (continuación)

Tabla	Contenido	Pág
14	Actividad antimicobacteriana de los compuestos puros aislados <i>R. hymenosepalus</i>	48

LISTA DE ESPECTROS

		Pág
1	Espectro de RMN ¹ H de la emodina (2) [300 MHz, CDCl ₃].	60
1a	Espectro de RMN- ¹ H de la emodina (2) [300 MHz, CDCl ₃ , D ₂ O].	61
2	Espectro de RMN- ¹³ C de la emodina (2) [75 MHz, CDCl ₃].	62
3	Espectro de RMN- ¹ H del crisofanol (4) [300 MHz, CDCl ₃].	63
4	Espectro de RMN- ¹³ C del crisofanol (4) [75 MHz, CDCl ₃].	64
5	Espectro de RMN- ¹ H de la fisciona (5) [300 MHz, CDCl ₃].	65
6	Espectro de RMN- ¹³ C del fisciona (5) [75 MHz, CDCl ₃].	66
7	Espectro de RMN- ¹ H del resveratrol (28) [300 MHz, CD ₃ OD].	67
7a	Espectro de RMN- ¹ H del resveratrol (28) [300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆].	68
7b	Espectro de RMN- ¹ H del derivado acetilado del resveratrol (28-A) [300 MHz, CD ₃ OD].	69
8	Espectro de RMN- ¹³ C del resveratrol (28) [75 MHz, CD ₃ OD].	70
9	Espectro de RMN- ¹ H del piceatanol (36) [300 MHz, CD ₃ OD].	71
9a	Espectro de RMN- ¹ H del piceatanol (36) [300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆].	72
10	Espectro de RMN- ¹³ C del piceatanol (36) [75 MHz, CD ₃ OD].	73

LISTA DE ESPECTROS (continuación)

		Pág
11	Espectro de RMN- ¹ H del 4'- <i>O</i> -β-D-glucopiranosido del resveratrol (37) [300 MHz, CD ₃ OD].	74
11a	Espectro de RMN- ¹ H del 4'- <i>O</i> -β-D-glucopiranosido del resveratrol (37) [300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆].	75
11b	Espectro de RMN- ¹ H del derivado acetilado del 4'- <i>O</i> -β-D-glucopiranosido del resveratrol (37-A) [300 MHz, CDCl ₃].	76
12	Espectro de RMN- ¹³ C del 4'- <i>O</i> -β-D-glucopiranosido del resveratrol (37) [75 MHz, CD ₃ OD].	77
12a	Vista parcial del espectro RMN- ¹³ C bidimensional HETCOR del 4'- <i>O</i> -β-D-glucopiranosido del resveratrol (37) [300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆].	78
12b	Espectro de RMN- ¹³ C del derivado acetilado del 4'- <i>O</i> -β-D-glucopiranosido del resveratrol (37-A) [75 MHz, CDCl ₃].	79
13	Espectro de RMN- ¹ H de la (-) epicatequina (24) [300 MHz, CD ₃ OD].	80
14	Espectro de RMN- ¹³ C de la (-) epicatequina (24) [75 MHz, CD ₃ OD].	81
15	Espectro de RMN- ¹ H del (-) 3-galato de epicatequilo (38) [300 MHz, CD ₃ OD].	82
15a	Espectro de RMN- ¹ H del (-) 3-galato de epicatequilo (38) [300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆].	83
16	Espectro de RMN- ¹³ C del (-) 3-galato de epicatequilo (38) [75 MHz, CD ₃ OD].	84
16a	Espectro de RMN- ¹³ C del (-) 3-galato de epicatequilo (38) [75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆].	85

LISTA DE FIGURAS

Figura	Contenido	Pág.
1	Distribución del género <i>Rumex</i> en el mundo.	5
2	<i>Rumex hymenosepalus</i> Torr. (Polygonaceae).	6

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema	Contenido	Pág.
1	Extracción y fraccionamiento preliminar del extracto total de las raíces de <i>R. hymenosepalus</i> Torr.	20

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
AcOEt	Acetato de etilo
cm	Centimetro
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
COSY	Correlación homonuclear
δ	Desplazamiento químico
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
d	Doblete
dd	Doble de doble
ddd	Doble de doble de doble
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
EMIE	Espectometría de masas por Impacto Electrónico
eV	Electron volts
°C	Grados centígrados
FAB ⁺	Bombardero rápido de átomos modalidad positiva
g	Gramo
HETCOR	Correlación heteronuclear
Hz	Hertz
IR	Infrarrojo
Int. Rel.	Intensidad relativa
M ⁺	Ion molecular
Kg	Kilogramo
L	Litro

LISTA DE ABREVIATURAS (continuación)

Abreviatura	Significado
$v_{\text{máx}}$	Frecuencia máxima
MHz	Megahertz
MeOH	Metanol
CD ₃ OD	Metanol deuterado
mg	Miligramos
mL	Militros
m	Multiplete
ppm	Partes por millón
m/z	Relación masa-carga
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear Protónica
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
s	Singlete
sa	Singlete ancho
TMS	Tetrametilsilano
t	Triplete

I. INTRODUCCION.

El presente trabajo de tesis se generó del proyecto de investigación "Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America", el cual forma parte de un programa de carácter internacional denominado "Internacional Cooperative Biodiversity Group Program" (ICBG). Este programa es patrocinado principalmente por el National Institute of Health (NIH), institución gubernamental de los Estados Unidos de América.

Los objetivos más importantes del programa ICBG (Suffness *et al.*, 1995) son los siguientes:

1. Detectar los recursos naturales renovables en los países en vías de desarrollo y proponer las estrategias metodológicas adecuadas para la conservación de los mismos.
2. Desarrollar las estrategias tanto ecológicas como económicas, para el cultivo de especies vegetales en los países en vías de desarrollo.
3. Fomentar la investigación de los recursos naturales de diferentes regiones del mundo a un bajo costo.
4. Impulsar el establecimiento de nuevas industrias de tipo farmacéutico en los países en vías de desarrollo participantes del programa.
5. Descubrir nuevos fármacos potenciales de origen natural de interés para el tratamiento de enfermedades que ocasionan problemas en vastos sectores de la población mundial.

Los países participantes en el proyecto "Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America" son Estados Unidos de América, Argentina, Chile y México, a través de las siguientes instituciones: En los Estados Unidos la Universidad de Arizona, en donde residen el investigador principal del proyecto, la Compañía BASF, los Laboratorios Wyeth-Ayerst y la Universidad de Illinois. En Argentina, la Universidad Nacional de la Patagonia y el Instituto de Tecnología Agropecuaria, INTA. En Chile, la Universidad Católica y en México la Universidad Nacional Autónoma de México, a través de la Facultad de Química y el Instituto de Biología.

La Facultad de Química, en el marco del convenio realizado con la Universidad de Arizona, realiza las siguientes actividades:

- a) Preparación de extractos vegetales en pequeña escala de las especies seleccionadas por el criterio etnomédico.
- b) Envío de los extractos obtenidos a los laboratorios participantes (Compañía BASF, Laboratorios Wyeth-Ayerst y el Instituto de Investigaciones sobre Tuberculosis, en la Universidad de Illinois) en los Estados Unidos de América para determinar su actividad biológica potencial.
- c) Obtención de los extractos a mediana escala de las especies que resultaron activas en su evaluación preliminar.
- d) Realización del fraccionamiento biodirigido de los extractos activos.
- e) Aislamiento y purificación de los compuestos activos responsables de las actividades biológicas detectadas.
- f) Determinación de la estructura molecular de los principios biodinámicos aislados.

Las actividades arriba enumeradas están enfocadas al descubrimiento de nuevos fármacos a partir de algunas especies medicinales selectas de la República Mexicana.

II. OBJETIVOS.

En el marco del proyecto "Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America" la especie medicinal *Rumex hymenosepalus* Torr. (Polygonaceae) fue seleccionada como una fuente de principios antimicobacterianos. Por lo tanto, el objetivo principal del siguiente trabajo es la realización del estudio fitoquímico biodirigido del extracto íntegro de la raíz de *Rumex hymenosepalus* con la finalidad de obtener los principios antimicobacterianos responsables de la actividad detectada durante el proceso de selección.

Los objetivos particulares planteados para la realización del proyecto son los siguientes:

- ♣ Preparar el extracto íntegro a mediana escala de la raíz de *Rumex hymenosepalus* mediante un proceso de maceración.
- ♣ Realizar el fraccionamiento preliminar biodirigido del extracto total, utilizando un proceso de partición.
- ♣ Separar los constituyentes presentes en las fracciones activas aplicando técnicas cromatográficas convencionales.
- ♣ Caracterizar los compuestos activos obtenidos mediante la aplicación de métodos químicos, espectroscópicos y espectrométricos.
- ♣ Enviar las fracciones y compuestos puros al Instituto de Investigación sobre la Tuberculosis de la Universidad de Illinois en Chicago para determinar el efecto antifímico.

III. ANTECEDENTES.

3.1 Antecedentes botánicos y etnobotánicos de la especie *Rumex hymenosepalus*.

El género *Rumex*, perteneciente a la familia Polygonaceae, contiene aproximadamente 200 especies de distribución cosmopolita (Figura 1), principalmente se encuentra en Brasil, Chile, China, Haití, Irak, Turquía, México y Estados Unidos de América, y la mayor parte del continente Europeo (Allen, 1943; Aplin, 1976). La mayoría de las especies se localizan en lugares cubiertos de hierba, al borde de las carreteras o cerca de dunas de arena y se consideran plantas dañinas porque causan serios problemas en cultivos de importancia económica. Sin embargo, algunas se encuentran distribuidas en los suelos poco fértiles de las zonas desérticas.

Numerosas especies del género *Rumex* han sido utilizadas con fines curativos en las prácticas médicas populares de los lugares donde se distribuyen. Así, los extractos de las raíces de estas plantas se emplean como agentes astringentes, antiescorbúticos, depurativos, laxantes y tonificantes. Además, se emplean para tratar la diarrea (pueden causar o aliviar la diarrea dependiendo de la dosis o el tiempo de recolecta de las plantas), el sangrado del pulmón y varias enfermedades de la sangre. Externamente se utilizan para la cura de enfermedades crónicas de la piel, contra la inflamación y para aliviar heridas, úlceras y otros problemas de la piel. El uso excesivo de algunas especies de este género puede ocasionar trastornos gástricos, dermatitis y náuseas (Hjorth, 1973; Aplin, 1976).

Rumex hymenosepalus Torr. (Figura 2) es una planta herbácea que crece en forma silvestre en lugares desérticos de las llanuras del oeste de California en los Estados Unidos y en el norte de México (en los Estados de Sonora, Chihuahua, Coahuila, Baja California y San Luis Potosí). Esta planta ha sido utilizada medicinalmente por los distintos grupos étnicos de estas zonas y popularmente la designan con diversos nombres, por ejemplo, los Pimas del oeste de California la llamaban canaigre, ruibarbo salvaje, pieplant y siviijil, los Yaqui la conocen como cañagria, raíz del indio, lengua de vaca, yerba colorada, raíz colorada y kauvati. (Bye, 2000).

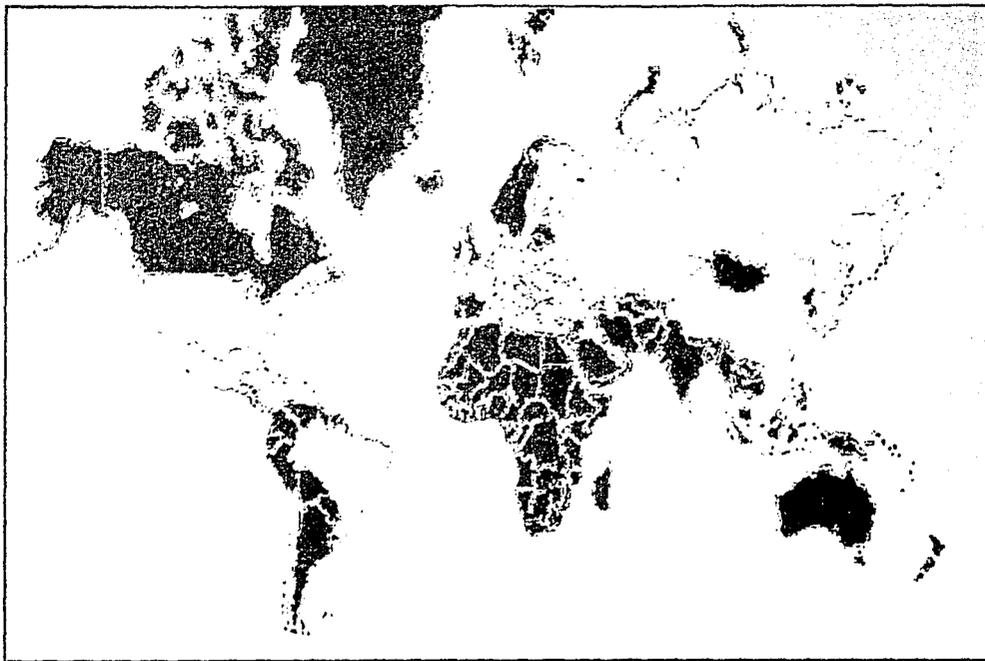


Figura 1. Distribución del género *Rumex* en el mundo (Las regiones se indican en color amarillo).



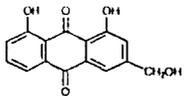
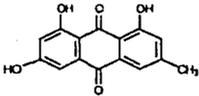
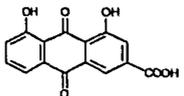
Figura 2. *Rumex hymenosepalus* Torr. (Polygonaceae).

La planta mide entre 30 y 90 cm de altura, las hojas son ovalo-lanceoladas, agudas y de margen algo ondulado; las flores en panojas miden 30 cm de largo; la raíz es tuberosa y mide de 7 a 15 cm de largo por 3 a 6 cm de diámetro. La planta florece de marzo a abril. En San Luis Potosí, las hojas tiernas asadas se emplean para aliviar la fiebre y dolores estomacales; la pulpa de la raíz es utilizada para curtir la piel de animales y como combustible. En Chihuahua la decocción de las raíces es ingerida antes del desayuno para "purificar la sangre". En el suroeste de los Estados Unidos y en el noroeste de México, la raíz seca (molida o cocida) se utiliza para aliviar las heridas en la piel, enfermedades de tipo venéreo, afecciones de la piel, piorrea, enfermedades del estómago, dolores de la garganta y tos (Bye, 2000; Cabrera, 1958). Martínez (1989) en su texto "Las Plantas Medicinales de México" describe que la especie aumenta la diarrea en casos de enteritis. Desde el siglo XIX, en Nuevo México y Sonora se han realizado numerosos intentos para cultivar esta planta con propósitos comerciales, sin embargo, a la fecha este proyecto no ha rendido los frutos esperados.

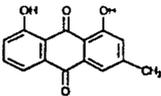
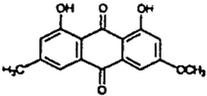
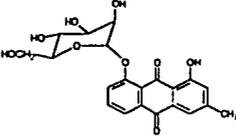
3.2 Antecedentes químicos sobre la especie *Rumex hymenosepalus* Torr. y otras especies del género *Rumex*.

Los estudios químicos realizados sobre varias especies del género *Rumex* han permitido el aislamiento de una gran cantidad de metabolitos secundarios. Los metabolitos aislados y caracterizados en estos estudios incluyen: fenilpropanoides, antraquinonas y compuestos relacionados, naftoquinonas, fenantrenos, taninos, flavonoides de los tipos flavonol, flavona y flavan-3-ol, esteroides, estilbenoides, cumarinas y naftalenos. En el Cuadro 1 se ilustran las estructuras de los compuestos aislados de las especies investigadas a la fecha.

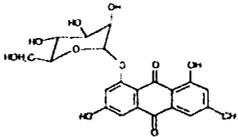
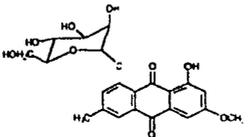
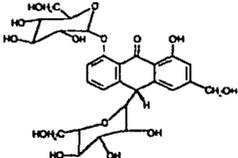
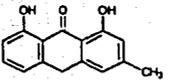
Cuadro 1. Metabolitos secundarios aislados del género *Rumex*.

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
ANTRAQUINONAS		
<i>R. acetosa</i> <i>R. orientalis</i> <i>R. bucephalophorus</i>	 <p style="text-align: center;">Aloe-emodina (1)</p>	Rada <i>et al.</i> , 1972 Rada <i>et al.</i> , 1972 El-Fattah <i>et al.</i> , 1994
<i>R. crispus</i> <i>R. vesicarius</i> <i>R. alpinus</i> <i>R. sanguineus</i> <i>R. flexuosus</i> <i>R. scutatus</i> <i>R. hydrolapathum</i> <i>R. conglomeratus</i> <i>R. hymenosepalus</i> <i>R. orientalis</i> <i>R. wallichii</i> <i>R. dentatus</i> <i>R. obtusifolius</i> <i>R. confertus</i> <i>R. hastatus</i> <i>R. cyprius</i> <i>R. bucephalophorus</i> <i>R. chalepensis</i>	 <p style="text-align: center;">Emodina (2)</p>	Leveau <i>et al.</i> , 1969 Rai <i>et al.</i> , 1970 Krmelova <i>et al.</i> , 1969 Krmelova <i>et al.</i> , 1969 Krmelova <i>et al.</i> , 1969 Krmelova <i>et al.</i> , 1969 Labadie <i>et al.</i> , 1972 Rada <i>et al.</i> , 1972 Rada <i>et al.</i> , 1972 Rada <i>et al.</i> , 1972 Ciulei <i>et al.</i> , 1973 Sayed <i>et al.</i> , 1974 Sayed <i>et al.</i> , 1974 Sayed <i>et al.</i> , 1974 Tiwari <i>et al.</i> , 1980 El-Fattah <i>et al.</i> , 1989 El-Fattah <i>et al.</i> , 1994 Hasan <i>et al.</i> , 1995
<i>R. vesicarius</i>	 <p style="text-align: center;">Reina (3)</p>	Easa <i>et al.</i> , 1995

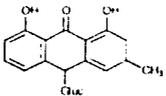
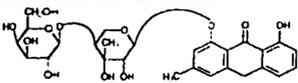
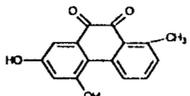
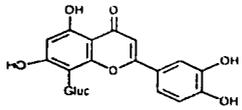
Cuadro 1. Metabolitos secundarios aislados del género *Rumex* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
ANTRAQUINONAS		
<i>R. crispus</i> <i>R. vesicarius</i> <i>R. alpinus</i> <i>R. sanguineus</i> <i>R. flexuosus</i> <i>R. scutatus</i> <i>R. hydrolapathum</i> <i>R. conglomeratus</i> <i>R. hymenosepalus</i> <i>R. orientalis</i> <i>R. wallichii</i> <i>R. dentatus</i> <i>R. obtusifolius</i> <i>R. confertus</i> <i>R. hastatus</i> <i>R. cypricus</i> <i>R. bucephalophorus</i>	 Crisofanol (4)	Leveau <i>et al.</i> , 1969 Rai <i>et al.</i> , 1970 Krmelova <i>et al.</i> , 1969 Krmelova <i>et al.</i> , 1969 Krmelova <i>et al.</i> , 1969 Labadie <i>et al.</i> , 1972 Rada <i>et al.</i> , 1972 Rada <i>et al.</i> , 1972 Rada <i>et al.</i> , 1972 Ciulei <i>et al.</i> , 1973 Sayed <i>et al.</i> , 1974 Sayed <i>et al.</i> , 1974 Sayed <i>et al.</i> , 1974 Tiwari <i>et al.</i> , 1980 El-Fattah <i>et al.</i> , 1989 El-Fattah <i>et al.</i> , 1994
<i>R. crispus</i> <i>R. hydrolapathum</i> <i>R. conglomeratus</i> <i>R. hymenosepalus</i> <i>R. orientalis</i> <i>R. dentatus</i> <i>R. hastatus</i>	 Fisciona (5)	Leveau <i>et al.</i> , 1969 Labadie <i>et al.</i> , 1972 Rada <i>et al.</i> , 1972 Rada <i>et al.</i> , 1972 Rada <i>et al.</i> , 1972 Sayed <i>et al.</i> , 1974 Tiwari <i>et al.</i> , 1980
<i>R. hydrolapathum</i>	 Crisofanol-8-glucosido (6)	Labadie <i>et al.</i> , 1972

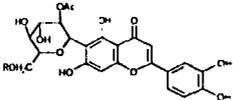
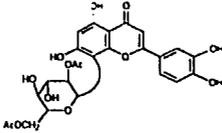
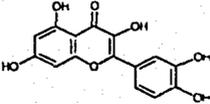
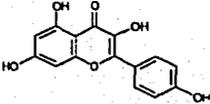
Cuadro 1. Metabolitos secundarios aislados del género *Rumex* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
ANTRAQUINONAS		
<i>R. hydrolapathum</i>	 <p>Emodina-8-glucósido (7)</p>	Labadie <i>et al.</i> , 1972
<i>R. hydrolapathum</i>	 <p>Fisciona-8-glucósido (8)</p>	Labadie <i>et al.</i> , 1972
ANTRONAS		
<i>R. orientalis</i>	 <p>Cascarósido C (9)</p>	Buckingham <i>et al.</i> , 1994
<i>Rumex</i> sp	 <p>1,8-Dihidroxi-3-metil-9-antracena (10)</p>	Buckingham <i>et al.</i> , 1994

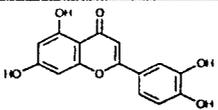
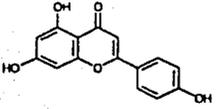
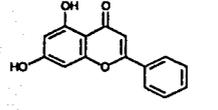
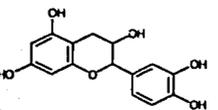
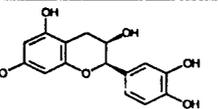
Cuadro 1. Metabolitos secundarios aislados del género *Rumex* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
ANTRONAS		
<i>R. vesicarius</i>	 <p style="text-align: center;">Crisaloina (11)</p>	Buckingham <i>et al.</i> , 1994
<i>R. hastatus</i>	 <p style="text-align: center;">8-Hidroxi-3-metil-antracena-1-O-(4-O-β-D-galactopiranosil)-α-L-ramnopiranosido (12)</p>	Tiwari <i>et al.</i> , 1980
FENANTRENOS		
<i>R. denticulata</i>	 <p style="text-align: center;">5,7-Dihidroxi-1-metil-fenantraquinona (13)</p>	Buckingham <i>et al.</i> , 1994
FLAVONOIDES		
<i>R. cyprius</i>	 <p style="text-align: center;">Orientina (14)</p>	El-Fattah <i>et al.</i> , 1989

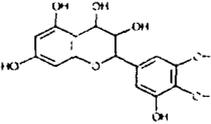
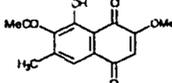
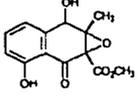
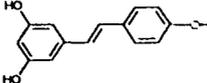
Cuadro 1. Metabolitos secundarios aislados del género *Rumex* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>R. acetosa</i> L.	 <p>I R = Ac II R = H</p> <p>2'',6''-Di-O-acetylisorientina (I) (15) 2''-O-acetylisorientina (II) (16)</p>	Kato <i>et al.</i> , 1990
<i>R. acetosa</i> L.	 <p>2'',6''-Di-O-acetylorientina (17)</p>	Kato <i>et al.</i> , 1990
<i>R. cyprius</i> <i>R. maritimus</i> <i>R. bucephalophorus</i> <i>R. vesicarius</i>	 <p>Quercetin (18)</p>	El-Fattah <i>et al.</i> , 1989 Ahmed <i>et al.</i> , 1991 El-Fattah <i>et al.</i> , 1994 Easa <i>et al.</i> , 1995
<i>R. maritimus</i> <i>R. bucephalophorus</i>	 <p>Camferol (19)</p>	Ahmed <i>et al.</i> , 1991 El-Fattah <i>et al.</i> , 1994

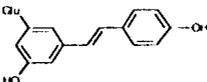
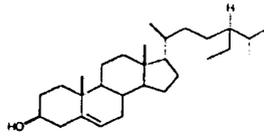
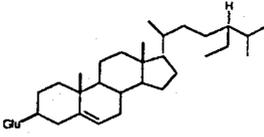
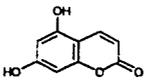
Cuadro 1. Metabolitos secundarios aislados del género *Rumex* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
	FLAVONOIDES	
<i>R. bucephalophorus</i>	 <p style="text-align: center;">Luteolina (20)</p>	El-Fattah <i>et al.</i> 1994
<i>R. vesicarius</i>	 <p style="text-align: center;">Apigenina (21)</p>	Easa <i>et al.</i> , 1995
<i>R. alpinus</i> <i>R. dentatus</i>	 <p style="text-align: center;">Crisina (22)</p>	Sayed <i>et al.</i> , 1974 Sayed <i>et al.</i> , 1974
<i>R. crispus</i> L.	 <p style="text-align: center;">(+)-Catequina (23)</p>	Dabi-Lengiel <i>et al.</i> , 1991
<i>R. crispus</i> L.	 <p style="text-align: center;">(-)-Epicatequina (24)</p>	Dabi-Lengiel <i>et al.</i> , 1991

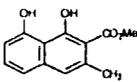
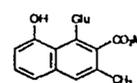
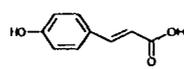
Cuadro 1. Metabolitos secundarios aislados del género *Rumex* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
	FLAVONOIDES	
<i>R. confertus</i>	 <p>Leucodelphinidina (25)</p>	Dzhumagalieva <i>et al.</i> , 1971
	NAFTOQUINONAS	
<i>R. orientalis</i>	 <p>Orientalona (26)</p>	Sharma <i>et al.</i> , 1977
<i>R. japonicus</i>	 <p>(+)-3-Acetil-2-metil-1,5-dihidroxi-2,3-epoxinaftoquinol (27)</p>	Zee <i>et al.</i> , 1998
	ESTILBENOS	
<i>R. gemlini</i>	 <p>Resveratrol (28)</p>	Wang <i>et al.</i> , 1996

Cuadro I. Metabolitos secundarios aislados del género *Rumex* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
ESTILBENOS		
<i>R. gmelin</i>	 <p>3-Glucósido del resveratrol (29)</p>	Wang <i>et al.</i> , 1996
ESTEROIDES		
<i>R. hastatus</i>	 <p>β-Sitosterol (30)</p>	Tiwari <i>et al.</i> , 1980
<i>R. gmelini</i>	 <p>β-D-Glucositosterol (31)</p>	Wang <i>et al.</i> , 1996
CUMARINAS		
<i>R. conglomeratus</i>	 <p>5,7-Dihidroxycumarina (32)</p>	Buckingham <i>et al.</i> , 1994

Cuadro 1. Metabolitos secundarios aislados del género *Rumex* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
NAFTALENOS		
<i>R. alpinus</i> <i>R. japonicus</i>	 <p>Musizina (33)</p>	Bauch <i>et al.</i> , 1975 Houtt <i>et al.</i> , 1977
<i>R. acetosa</i> <i>R. confertus</i> <i>R. crispus</i>	 <p>Nepósido (34)</p>	Bagrii <i>et al.</i> , 1968 Bagrii <i>et al.</i> , 1968 Bagrii <i>et al.</i> , 1968
FENILPROPANOIDES		
<i>R. gmelini</i>	 <p>Ácido <i>p</i>-hidroxicinámico (35)</p>	Wang <i>et al.</i> , 1996

IV. PARTE EXPERIMENTAL.

4.1 Procedimientos Generales.

4.1.1 Análisis Cromatográficos.

Los análisis cromatográficos en columna abierta se realizaron en columnas de vidrio empacadas con gel de sílice Kieselgel 60 Merck (tamaño de partícula, 0.063-0.200 mm, 70-230 mesh ASTM). Los análisis cromatográficos en capa fina (ccf) se efectuaron utilizando placas de aluminio recubiertas con una capa de gel de sílice de 0.25 mm de espesor (sílica gel 60-254, Merck); para visualizar las placas se utilizó una lámpara de luz UV (onda corta 254 nm y onda larga 365 nm) y los agentes cromógenos indicados en el Cuadro 2; en todos los casos para el desarrollo de color las placas se calentaron (-110°C) en una parrilla eléctrica. Las cromatografías preparativas en capa delgada se realizaron en placas de vidrio (20 cm x 20 cm) recubiertas de gel de sílice (60-254, Merck, 0.25 mm de espesor).

4.1.2 Determinación de las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de los productos naturales y sus derivados.

Los puntos de fusión se midieron en un aparato Fisher-Johns y se reportan sin corregir.

Los espectros en el IR (película o pastilla) se registraron en un espectrofotómetro FTIR, marca Perkin-Elmer Modelo 1605. Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica (RMN- ^1H , 300 MHz) y de carbono-13 (RMN- ^{13}C , 75 MHz) se registraron en un aparato Unity-Inova, marca Varian utilizando CDCl_3 , CD_3OD o $\text{DMSO-}d_6$ como disolventes y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

Los análisis de rotación óptica se realizaron en un polarímetro Perkin-Elmer Modelo 241. Los espectros de masas generados por la técnica de impacto electrónico se determinaron en un aparato JEOL JMS-SX102A Hewlett Packard 5890 serie II, mediante introducción directa de la muestra a 70 eV.

Todos los análisis indicados anteriormente se efectuaron en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI), Facultad de Química, UNAM.

Cuadro 2. Agentes cromógenos utilizados para los análisis cromatográficos en capa fina.

REACTIVO	COMPOSICIÓN	REFERENCIA
Sulfato cérico	12.0 g de sulfato cérico 22.0 mL de ácido sulfúrico concentrado 350.0 g de hielo picado	Wagner, 1984
Anisaldehído	9.0 mL de etanol 0.5 mL de anisaldehído 0.5 mL de ácido sulfúrico concentrado 1.0 mL de ácido acético	Wagner, 1984
Vainillina	0.5 mL de ácido sulfúrico en 9.5 mL de etanol (Solución 1) 0.1 g de vainillina en 10 mL de etanol (Solución 2)	Wagner, 1984.
Bornträger	KOH al 5% ó 10% en etanol	Wagner, 1984.

4.2 Material Vegetal.

El material vegetal (raíces) utilizado en el presente estudio fue recolectado en Hermosillo Sonora, el 23 de Noviembre de 1999. La identificación de la especie fue realizada por el Dr. Robert Bye, del Jardín Botánico, Instituto de Biología, UNAM. Un ejemplar de referencia (Voucher, Bye 26598) se depositó en la colección etnobotánica del Herbario Nacional (MEXU), Instituto de Biología, UNAM.

El material vegetal fue desecado a temperatura ambiente y la fragmentación se llevó a cabo en un molino Willey Modelo 4.

4.3 Determinación de la actividad antimicrobacteriana.

La actividad antimicrobacteriana del extracto, fracciones y compuestos puros se determinó en el Instituto de Investigaciones sobre la Tuberculosis de la Universidad de Illinois, en Chicago, Illinois, EE.UU., de acuerdo a protocolos previamente establecidos (Cantrell *et al.* 1998) Este mismo ensayo permitió detectar la actividad antifúngica del extracto total de las raíces de *Rumex hymenosepalus* preparado en pequeña escala.

4.4 Estudio fitoquímico de *Rumex hymenosepalus* Torr.

4.4.1 Preparación del extracto activo a mediana escala.

El material vegetal seco y molido (3 Kg) se extrajo sucesivamente con una mezcla de CH_2Cl_2 -MeOH (1:1) y posteriormente con MeOH mediante un proceso de maceración. La solución total se filtró y concentró al vacío para generar 695 g de un extracto viscoso de color rojo.

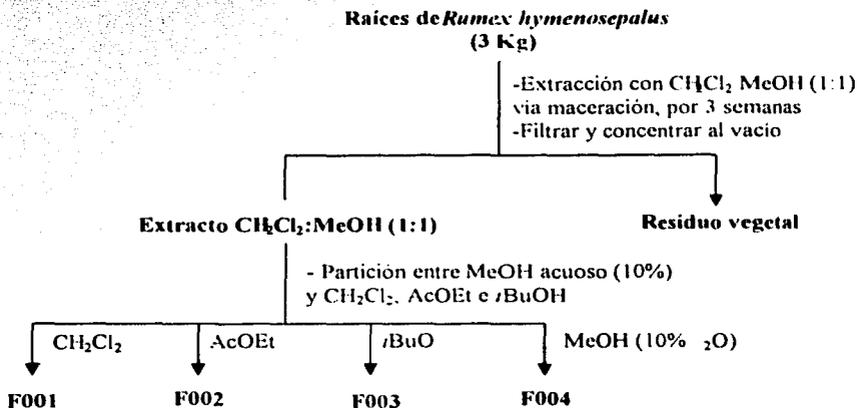
4.4.2 Fraccionamiento primario del extracto activo total de la raíz de *Rumex hymenosepalus* Torr.

El extracto resultante (695 g) se sometió a un fraccionamiento preliminar mediante particiones sucesivas utilizando CH_2Cl_2 , AcOEt, *n*BuOH y MeOH acuoso (10%) En el Esquema 1 se sintetiza el proceso de extracción y fraccionamiento primario del extracto activo de *Rumex hymenosepalus*.

4.4.3 Fraccionamiento secundario de la fracción F001.

La fracción primaria F001 (4.0 g, Esquema 1) fue sometida a un fraccionamiento cromatográfico en una columna de gel de sílice (175 g), utilizando como eluyentes hexano, hexano- CH_2Cl_2 (diversas proporciones de polaridad creciente), CH_2Cl_2 , CH_2Cl_2 -MeOH (diversas

proporciones de polaridad creciente) y MeOH. Este procedimiento generó 215 fracciones de 50 mL cada una, las cuales se combinaron con base en su similitud cromatográfica, obteniéndose siete conjuntos de fracciones secundarias. En el Cuadro 3 se resume el fraccionamiento secundario de la fracción F001.



Esquema 1. Extracción y fraccionamiento preliminar del extracto total de las raíces de *R. hymenosepalus*.

4.4.4 Aislamiento del crisofanol (4) y la fisciona (5) a partir de la fracción F001-II.

La fracción secundaria F001-II (1.0 g, Cuadro 3) fue recromatografiada utilizando una columna abierta empacada con 60 g de gel de sílice y empleando como eluyentes hexano- CH_2Cl_2 (diversas proporciones de polaridad creciente) y CH_2Cl_2 . Este proceso generó un total de 85 fracciones de 20 mL cada una, las cuales se combinaron por su similitud cromatográfica, obteniéndose seis conjuntos de fracciones terciarias. Este proceso se resume en el Cuadro 4.

De las fracciones terciarias F001-II-2 y F001-II-4 (Cuadro 4), cristalizaron de manera espontánea dos sólidos amarillos, con puntos de fusión de 198-200 °C y 199-201 °C, los cuales fueron identificados como el crisofanol (4, 80 mg) y la fisciona (5, 9 mg), respectivamente.

Cuadro 3. Resumen del fraccionamiento secundario de la fracción F001 por cromatografía en columna de gel de sílice obtenida a partir del extracto de las raíces de *R. hymenosepalus*.

Eluyente(s)	Proporción	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave
hexano	100	1-6	1-16	F001-I
hexano-CH ₂ Cl ₂	90:10	7-12	47-109	F001-II
	85:15	13-19	110-126	F001-III
	70:30	20-25	127-163	F001-IV
	60:40	26-31	164-168	F001-V
	50:50	32-103	169-188	F001-VI
	40:60	104-110	189-215	F001-VII
	30:70	111-118		
	20:80	119-126		
10:90	127-134			
CH ₂ Cl ₂	100	135-142		
CH ₂ Cl ₂ -MeOH	99:1	143-150		
	95:5	151-163		
	90:10	164-170		
	80:20	171-176		
	70:30	177-182		
	60:40	183-189		
	50:50	190-195		
	40:60	196-201		
30:70	202-209			
MeOH	100	210-215		

4.4.5 Aislamiento del β -sitosterol (30), el resveratrol (28) y la emodina (2) a partir de la fracción F001-V.

La fracción secundaria F001-V (1.0 g, Cuadro 3) se recromatografió en una columna de gel de sílice (75.0 g). El proceso de elución se llevó a cabo con CH₂Cl₂ y CH₂Cl₂-MeOH en diferentes proporciones de polaridad creciente. Este proceso generó un total de 163 fracciones de 40 mL cada una, las cuales se combinaron con base en su similitud cromatográfica obteniéndose siete conjuntos de fracciones terciarias. Los resultados se resumen en el Cuadro 5.

Cuadro 4. Resumen del fraccionamiento terciario de la fracción F001-II.

Eluyente(s)	Proporción	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave
hexano-CH ₂ Cl ₂	99:1	1-6	1-24	F001-II-1
	95:5	7-12	25-29	F001-II-2
	90:10	13-15	30-38	F001-II-3
	80:20	16-20	39-42	F001-II-4
	70:30	21-25	43-61	F001-II-5
	60:40	26-42	62-85	F001-II-6
	50:50	43-52		
	40:60	53-62		
	30:70	63-68		
	20:80	69-74		
	10:90	75-79		
CH ₂ Cl ₂	100	80-85		

Cromatografías sucesivas en capa fina preparativas de la fracción terciaria F001-V-6 (Cuadro 5), utilizando como sistema de elución CH₂Cl₂-MeOH (95:5), permitieron el aislamiento y la purificación de 300 mg del β-sitosterol (**30**) en forma de un sólido blanco cristalino con punto de fusión de 154-156 °C, y 61 mg de un sólido café claro con un punto de fusión de 259-263 °C identificado como el resveratrol (**28**).

Cromatografías sucesivas en capa fina preparativas de la fracción terciaria F001-V-3 (45 mg, Cuadro 5) utilizando CH₂Cl₂ como sistema de elución, permitieron el aislamiento y purificación de la emodina (**2**, 24 mg), como un sólido anaranjado con un punto de fusión de 159-161 °C, el cual fue identificado por comparación de sus constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas con aquellas de una muestra auténtica aislada de *Guanomyces polythrix* (Macias *et al.*, 2001).

Cuadro 5. Resumen del fraccionamiento terciario de la fracción F001-V.

Eluyente(s)	Proporción	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave
CH ₂ Cl ₂	100	1-78	1-31	F001-V-1
CH ₂ Cl ₂ -MeOH	99:1	79-88	32-43	F001-V-2
	98:2	89-98	44-78	F001-V-3
	97:3	99-124	79-109	F001-V-4
	96:4	125-133	110-123	F001-V-5
	95:5	134-155	124-150	F001-V-6
	90:10	156-163	151-163	F001-V-7

4.4.6 Aislamiento del resveratrol (28), el piceatanol (36), la (-) epicatequina (24), el (-) 3-galato de epicatequilo (38) y el 4'-O-β-D-glucopiranosido del resveratrol (37).

La fracción primaria F002 (230 g. Esquema 1) se cromatógrafió en una columna de gel de sílice (3.75 Kg), empleando como fase móvil hexano-AcOEt (diversas proporciones de polaridad creciente), AcOEt y AcOEt-MeOH (diversas proporciones de polaridad creciente). Este procedimiento generó un total de 181 fracciones de un litro cada una, las cuales se combinaron con base en su similitud cromatográfica, obteniéndose nueve fracciones secundarias. Este proceso se resume en el Cuadro 6. De la fracción secundaria F002-III (Cuadro 6) precipitaron de manera espontánea cantidades adicionales (270 mg) del compuesto **28**.

La fracción secundaria F002-IV (800 mg. Cuadro 6) se recromatógrafió en una columna de gel de sílice (55 g), empleando como sistemas de elución hexano-AcOEt (diversas proporciones de polaridad creciente) y AcOEt; este proceso generó un total de 180 fracciones de 20 mL cada una, las cuales se combinaron con base en su similitud cromatográfica, obteniéndose siete conjuntos de fracciones terciarias. Los resultados de este proceso se resumen en el Cuadro 7.

De la fracción terciaria F002-IV-4 (Cuadro 7) precipitaron de manera espontánea 322.2 mg de un polvo color café claro con punto de fusión de 235-238 °C el cual fue identificado como el piceatanol (**36**).

Cuadro 6. Resumen del fraccionamiento secundario de la fracción F002.

Eluyente(s)	Proporción	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave
hexano-AcOEt	70:30	1-12	1-14	F002-I
	60:40	13-21	15-26	F002-II
	50:50	22-27	27-32	F002-III
	40:60	28-87	33-48	F002-IV
	30:70	88-135	49-53	F002-V
AcOEt	100	136-151	54-64	F002-VI
AcOEt-MeOH	90:10	152-159	65-97	F002-VII
	50:50	160-181	98-107	F002-VIII
			108-181	F002-IX

La fracción secundaria F002-V (1.2 g, Cuadro 6) se recromatografió sobre gel de sílice (60 g); como fase móvil se emplearon los siguientes disolventes: mezclas de hexano-AcOEt (diversas proporciones de polaridad creciente), AcOEt y mezclas de AcOEt-MeOH (diversas proporciones polaridad creciente). Este procedimiento generó un total de 116 fracciones de 20 mL cada una, las cuales se combinaron con base en su similitud cromatográfica, obteniéndose cinco conjuntos de fracciones terciarias. Los resultados de este proceso se resumen en el Cuadro 8.

De la fracción terciaria F002-V-4 (Cuadro 8) precipitaron de manera espontánea 15 mg de un polvo color café con punto de fusión de 290 °C, el cual fue identificado como la (-) epicatequina (**24**) por comparación de sus constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas con las de una muestra auténtica previamente aislada de *Hippocratea excelsa* HBK (Trejo, 2000).

La fracción secundaria F002-VI (8.0 g, Cuadro 6) se recromatografió en una columna de gel de sílice (150 g) y como sistemas de elución se emplearon hexano-AcOEt (diversas proporciones de polaridad creciente), AcOEt, AcOEt-MeOH (diversas proporciones de polaridad creciente) y MeOH. Este procedimiento generó un total de 200 fracciones de 50 mL cada una, las cuales se combinaron con base en su similitud cromatográfica generándose cuatro fracciones terciarias. Los resultados de este proceso se resumen en el Cuadro 9.

Cuadro 7. Resumen del fraccionamiento terciario de la fracción F002-IV.

Eluyente(s)	Proporción	Fraciones	Fraciones combinadas	Clave
hexano-AcOEt	70:30	1-18	1-30	F002-IV-1
	60:40	19-122	31-40	F002-IV-2
	50:50	123-133	41-54	F002-IV-3
	40:60	134-146	55-113	F002-IV-4
	30:70	147-159	114-124	F002-IV-5
	20:80	160-166	125-169	F002-IV-6
	10:90	167-173	170-180	F002-IV-7
AcOEt	100	174-180		

De la fracción terciaria F002-VI-3 (Cuadro 9) precipitaron de manera espontánea 905 mg de un polvo blanco amorfo con punto de fusión de 258-260 °C, el cual se identificó mediante métodos espectroscópicos y espectrométricos como el (-) 3-galato de epicatequilo (38)

Cuadro 8. Resumen del fraccionamiento terciario de la fracción F002-V.

Eluyente(s)	Proporción	Fraciones	Fraciones combinadas	Clave
hexano-AcOEt	50:50	1-31	1-18	F002-V-1
	40:60	32-65	19-36	F002-V-2
	30:70	66-73	37-60	F002-V-3
	80:20	74-85	61-74	F002-V-4
	10:90	86-94	75-116	F002-V-5
AcOEt	100	95-103		
AcOEt-MeOH	90:10	104-112		
	50:50	113-116		

Cuadro 9. Resumen del fraccionamiento terciario de la fracción F002-VI.

Eluyente(s)	Proporción	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave
hexano-AcOEt	50:50	1-13	1-54	F002-VI-1
	40:60	14-142	55-61	F002-VI-2
	30:70	143-154	62-167 168-200	F002-VI-3 F002-VI-4
AcOEt	100	155-160		
AcOEt-MeOH	90:10	161-167		
	50:50	168-174		
MeOH	100	175-200		

4.4.6.1 Aislamiento del 4'-O-β-D-glucopiranosido del resveratrol (37).

De la fracción secundaria F002-IX (Cuadro 6) precipitaron de forma espontánea 45 g de un polvo amorfo color café claro. Una muestra de 25 g de este polvo se cromatografió en una columna de gel de sílice (800 g), empleando como fase móvil CHCl₃, CHCl₃-MeOH (diversas proporciones de polaridad creciente) y MeOH. Este procedimiento generó un total de 154 fracciones de 300 mL cada una, las cuales se combinaron con base en su similitud cromatográfica en ocho fracciones terciarias. Este proceso se resume en el Cuadro 10.

La fracción terciaria F002-IX-5 (Cuadro 10) contenía una mezcla de dos componentes mayoritarios. Para la separación de los mismos se utilizaron dos procedimientos diferentes. En el primero, 300 mg de la fracción F002-IX-5 se recromatografió en una columna de gel de sílice FLASH (50 g), empleando como sistema de elución AcOEt-MeOH (90:10). Este proceso generó tres conjuntos de fracciones cuaternarias. De la fracción cuaternaria F002-IX-5-II precipitaron de manera espontánea 100 mg de un polvo blanco con punto de fusión 246-250 °C, este producto correspondía al 4'-O-β-D-glucopiranosido del resveratrol (37).

Cuadro 10. Resumen del fraccionamiento terciario de la fracción F002-IX.

Eluyente(s)	Proporción	Fraciones	Fraciones combinadas	Clave
CHCl ₃	100	1-8	1-13	F002-IX-1
CHCl ₃ -MeOH	90:10	9-37	14-16	F002-IX-2
	85:15	38-61	17-62	F002-IX-3
	80:20	62-81	63-70	F002-IX-4
	75:25	82-102	71-102	F002-IX-5
	70:30	103-108	103-107	F002-IX-6
	60:40	109-117	108-119	F002-IX-7
	50:50	118-125	120-154	F002-IX-8
	40:60	126-135		
20:80	136-139			
MeOH	100	140-154		

Por otra parte, 500 mg de la fracción F002-IX-5 (Cuadro 10) se acetilaron empleando la metodología indicada en el inciso 4.4.7.1. La fracción acetilada F002-IX-5 se resolvió mediante una cromatografía en una columna de gel de sílice (50 g). El proceso de elución se llevó a cabo con hexano-CHCl₃ (diversas proporciones de polaridad creciente), CHCl₃ y CHCl₃-MeOH (50:50). Se recolectaron un total de 70 fracciones de 20 mL cada una, las cuales se analizaron por cromatografía en capa delgada. Este proceso generó un total de tres fracciones. El Cuadro 11 resume el proceso cromatográfico antes descrito.

De la fracción F002-IX-5-II-Ac (Cuadro 11) precipitaron de manera espontánea 50 mg de un polvo blanco con punto de fusión de 174-176 °C. este producto correspondía al derivado peracetilado del 4'-O-β-D-glucopiranosido del resveratrol (37-A).

Cuadro 11. Resumen del fraccionamiento de la fracción F002-IX-5-Ac.

Eluyente(s)	Proporción	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave
hexano-CHCl ₃	50:50 40:60 30:70 20:80 10:90	1-10 11-15 16-20 21-25 26-40	1-35 36-41 42-70	F002-IX-5-I-Ac F002-IX-5-II-Ac F002-IX-5-III-Ac
CHCl ₃	100	41-49		
CHCl ₃ -MeOH	50:50	50-70		

4.4.7 Reacciones realizadas para la identificación de los productos 28 y 37.

4.4.7.1 Obtención de los derivados acetilados de los productos 28 y 37.

Para obtener los derivados acetilados de los productos 28 y 37, se utilizaron 2 mL de anhídrido acético y 2 mL de piridina por cada 100 mg de muestra. La mezcla de reacción se dejó a temperatura ambiente durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, a la mezcla de reacción se agregaron 20 mL de CH₂Cl₂ y se procedió a extraer con HCl 1N (3 x 20 mL); la fase orgánica remanente se lavó con una disolución saturada de NaHCO₃ (3 x 20 mL) y con agua desionizada (3 x 20 mL). Por último, la fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró al vacío. En los dos casos el residuo resultante correspondió al producto acetilado en forma pura. Los rendimientos fueron los siguientes: en el caso del compuesto 28 se generaron 60 mg y del compuesto 37 23 mg.

4.4.7.2 Reacción de Molish.

Una pequeña cantidad del compuesto **37** se disolvió en 3 mL de agua destilada, se le adicionó 1 mL de una solución de reactivo de α -naftol (10% en etanol), y seguidamente se agregó por las paredes del tubo de ensayo dos gotas de ácido sulfúrico concentrado. observándose una coloración violeta en la interfase de los líquidos; la coloración era indicativa de una prueba positiva para carbohidratos. Se utilizó un control positivo de β -D-glucosa.

4.4.7.3 Hidrólisis ácida del compuesto 37.

A una muestra de 100 mg de la fracción terciaria F002-IX-5 se adicionaron 10 mL de HCl 2N; la disolución resultante se calentó a reflujo durante 1 hora. El curso de la reacción se monitoreó mediante cromatografía en capa fina. Al cabo de la reacción la mezcla se extrajo con AcOEt (3 x 20 mL); posteriormente la fase orgánica se lavó con agua desionizada (3 x 20 mL) y se secó sobre sulfato de sodio anhidro, al eliminar el disolvente se obtuvo un residuo donde se encontraba la aglicona. La cromatografía en capa fina del mismo permitió detectar al resveratrol (**28**) como único componente. Por otra parte, el análisis cromatográfico en capa fina de la fase acuosa permitió la detección de β -D-glucosa como el único azúcar presente.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

5.1 Aislamiento de los principios biodinámicos de *Rumex hymenosepalus* Torr.

La selección primaria de la especie *Rumex hymenosepalus* se realizó con base en el criterio etnomédico, el cual constituye uno de los criterios más importantes para seleccionar materias primas destinadas al descubrimiento de sustancias biológicamente activas (Cox y Balick, 1994; Houghton, 1999; Fabricant y Fransworth, 2001; *inter alia*). Posteriormente, durante la realización de los ensayos biológicos preliminares en los laboratorios subcontratados por el proyecto "Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America", se estableció que esta especie constituye una fuente de productos bioactivos de interés terapéutico. Así, en el Instituto de Investigaciones sobre Tuberculosis de la Universidad de Illinois en Chicago, se estableció que el extracto preparado a partir de las raíces de *Rumex hymenosepalus* inhibe en un 67% el crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis*, agente etiológico de la tuberculosis. El ensayo empleado en esa ocasión fue de tipo radiorespirométrico, específicamente el BACTEC 460 (Cantrell *et al.*, 1998).

Con base en los resultados obtenidos a partir de las evaluaciones biológicas preliminares, se decidió llevar a cabo el estudio fitoquímico biodirigido de *Rumex hymenosepalus* con la finalidad de aislar los principios bioactivos. Como ensayo biológico de monitoreo se empleó el mismo que permitió detectar la actividad biológica en el extracto original.

La preparación del extracto activo en gran escala se realizó mediante un proceso de maceración como se indicó en la sección experimental (inciso 4.4.1). Posteriormente, el extracto se fraccionó de manera preliminar mediante particiones sucesivas entre CH_2Cl_2 , AcOEt, *i*BuOH y MeOH acuoso (10%). Este procedimiento permitió la obtención de cuatro fracciones primarias (Esquema 1). Cada una de las fracciones primarias se evaluó mediante el ensayo BACTEC 460 encontrándose los resultados que se resumen en la Tabla 1.

Las fracciones primarias activas F001 y F002 se sometieron a un fraccionamiento secundario por métodos cromatográficos para aislar el o los compuestos activos responsables de la actividad antimicobacteriana (sección experimental 4.4). Así, fue posible aislar tres

antraquinonas [emodina (2), crisofanol (4) y fisciona (5)], un esteroide [β -sitosterol (30)], tres compuestos de tipo estilbenoide [resveratrol (28), piceatanol (36) y 4'-*O*- β -D-glucopiranosido del resveratrol (37)], y dos flavonoides de tipo catequina [(-) epicatequina (24) y (-) 3-galato de epicatequilo (38)]. En el Cuadro 12 se indican las estructuras de los compuestos identificados y sus rendimientos con base en el peso de la droga cruda

Tabla 1. Actividad antimicrobacteriana de las fracciones primarias obtenidas a partir del extracto íntegro de la raíz de *R. hymenosepalus*.

Fracciones primarias evaluadas	Actividad anti-microbacteriana % de inhibición
Extracto íntegro	67
F001	66
F002	70
F003	87
F004	82

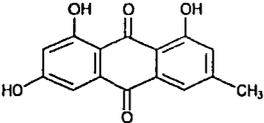
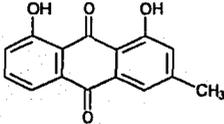
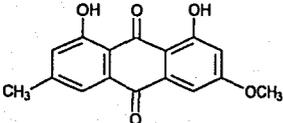
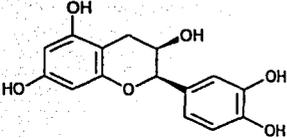
En general, los compuestos aislados se caracterizaron mediante la aplicación de técnicas espectrométricas, espectroscópicas y métodos químicos. A continuación se describe de forma concisa la caracterización de los compuestos.

5.1.1 Caracterización de los compuestos de tipo antraquinona.

Los compuestos 2, 4 y 5 se caracterizaron como las antraquinonas emodina, crisofanol y fisciona, respectivamente. Las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de los tres productos se resumen en las Tablas 2-4.

Los espectros en el IR permiten detectar los principales grupos funcionales presentes en las moléculas y en todos los casos se observaron bandas asociadas con la presencia de grupos carbonilos de quinona ($\sim 1617\text{ cm}^{-1}$), hidroxilo ($\sim 3378\text{ cm}^{-1}$) y con el carácter aromático de los compuestos ($\sim 1476\text{-}1374\text{ cm}^{-1}$).

Cuadro 12. Metabolitos aislados de la especie *Rumex hymenosepalus*.

COMPUESTO	RENDIMIENTO (%)
 <p>(2)</p>	5×10^{-4}
 <p>(4)</p>	2.9×10^{-3}
 <p>(5)</p>	5×10^{-4}
 <p>(24)</p>	9.6×10^{-4}

Cuadro 12. Metabolitos aislados de la especie *Rumex hymenosepalus* (continuación).

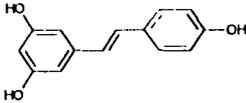
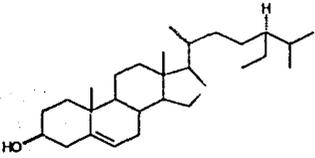
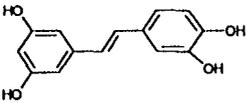
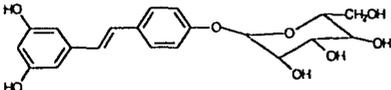
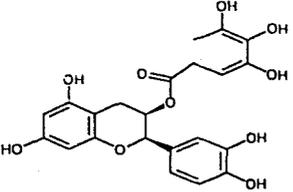
COMPUESTO	RENDIMIENTO (%)
 <p>(28)</p>	1.1×10^{-2}
 <p>(30)</p>	1×10^{-2}
 <p>(36)</p>	1.1×10^{-2}
 <p>(37)</p>	3×10^{-1}
 <p>(38)</p>	3×10^{-2}

Tabla 2. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de las antraquinonas 2, 4 y 5.

Compuesto	emodina (2)	crisofanol (4)	fisciona (5)
Fórmula molecular	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	C ₁₆ H ₁₂ O ₅
Peso molecular	270	254	284
Punto de fusión	159-161 °C	198-200 °C	199-201 °C
IR ν_{max} . (KBr) cm ⁻¹	3378, 1617, 1564, 1267, 1223, 1157, 753	2920, 1627, 1566, 1375, 1271, 1161, 753	3433, 2921, 1630, 1567, 1324, 1227, 1162, 756
EMIE m/z (int. rel.)	270 [M ⁺] (44), 239 (22), 227 (33), 185 (11), 143 (31), 87 (84), 74 (100), 55 (16), 43 (14)	254 [M ⁺] (100), 237 (11), 226 (29), 197 (18), 152 (13), 127 (9), 115 (7)	284 [M ⁺] (100), 255 (11), 241 (10), 213 (6), 185 (4), 128 (6)

Los espectros de masas generados por la técnica de impacto electrónico de las quinonas 2, 4 y 5 presentan iones moleculares en una relación de masa-carga (m/z) de 270, 254 y 284 uma, respectivamente. Estos iones moleculares corresponden a las fórmulas, C₁₅H₁₀O₅, C₁₅H₁₀O₄ y C₁₆H₁₂O₅, respectivamente.

El análisis de los espectros de RMN de los productos confirman la presencia de un núcleo del tipo 1,8-dihidroxi-antraquinona en sus estructuras (Labadie *et al.*, 1972; Rada *et al.*, 1972; Sayed *et al.*, 1974; Tiwari *et al.*, 1980; Dominguez *et al.*, 1991; *inter alia*). En todos los casos, los espectros de RMN presentan las siguientes características:

- 1.- En $\delta_C \sim 192$ y 182 se observan dos señales atribuibles a los carbonilos de la porción quinona del núcleo base.
- 2.- En $\delta_H \sim 12.20$ y 12.10 se observan señales para dos hidroxilos quelatados. Ambas señales desaparecen al equilibrar el espectro con D₂O. La presencia en el espectro de RMN-¹H de estas señales son consistentes con la ubicación de hidroxilos en C-1 y C-8.
- 3.- En $\delta_H \sim 2.45$ se observa un singlete ancho atribuible a un metilo sobre anillo aromático. Esta señal correlaciona en el espectro HETCOR con la absorción en $\delta_C \sim 22$.
- 4.- En la región aromática se aprecian dos conjuntos de señales en $\delta_H \sim 7.10$ y $\delta_H \sim 7.60$ (dd, $J = 1.6$ y 0.9 Hz). Estas señales corresponden a dos hidrogenos aromáticos *meta* relacionados,

orto al grupo metilo en C-3 para el compuesto 4 y orto al grupo metilo en C-6 para los compuestos 2 y 5.

Además de las señales mencionadas, los espectros de la emodina (2) y la fisciona (5) presentan un sistema AB $\{[\delta_{H-2}] 7.37 \text{ (dd, } J=1.5 \text{ Hz, H-4); } \delta_{H-4}] 6.69 \text{ (d, } J=2.4 \text{ Hz, H-2)}\}$ (5) y $[\delta_{H-2}] 7.29 \text{ (d, } J=2.4 \text{ Hz, H-4); } \delta_{H-4}] 6.64 \text{ (d, } J=2.4 \text{ Hz, H-2)}\}$ (2)}. En el caso del crisofanol (4) se observa un sistema ABC $[\delta_{H-5}] 7.29 \text{ (dd, } J=8.4, 1.2 \text{ Hz, H-5 y H-7); } \delta_{H-6}] 7.67 \text{ (dd, } J=8.4, 7.5 \text{ Hz, H-6)}\}$

Por último, la fisciona (5) presenta una señal característica para un grupo metoxilo en δ_{H-3} 3.94 (s). Este singulete correlaciona en el espectro HETCOR con la señal en δ_C 56.1. En el caso de la emodina (2) esta señal se encuentra sustituida por la de un hidroxilo fenólico en δ_{H-7} 10.7.

Tabla 3. Desplazamientos químicos de RMN-¹H (δ_{H-}) [300 MHz, CDCl₃], de las antraquinonas 2, 4 y 5 (Espectros 1, 3, y 5).

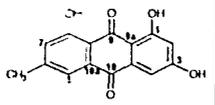
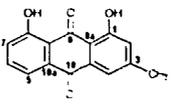
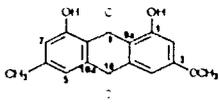
Fórmula Desarrollada	Compuesto		
			
Posición	emodina (2)	crisofanol (4)	fisciona (5)
H-2	6.64 d, 2.4	7.10 dd, 1.65	6.69 d, 2.4
H-4	7.29 dd, 2.4	7.65 m	7.37 d, 2.7
H-5	7.58 dd, 1.65	7.29 dd, 8.4, 1.2	7.63 dd, 1.5
H-6	---	7.67 dd, 8.4, 7.5	---
H-7	7.07 dd, 1.8	7.29 dd, 8.4, 1.2	7.08 dd, 1.8, 0.9
OH-1	12.25 s	12.12 s	12.32 s
OH-6	10.7 s	---	---
OH-8	12.19 s	12.02 s	12.12 s
CH ₃ -3	---	2.47 t, 0.6	---
CH ₃ -6	2.45 sa	---	2.45 s
OCH ₃ -3	---	---	3.94 s

Tabla 4. Datos de desplazamientos químicos de RMN-¹³C (δ_c)' [75 MHz, CDCl₃] de las antraquinonas 2, 4 y 5 (Espectros 2, 4 y 6).

Posición	Compuesto		
	emodina (2)	crisofanol (4)	fisciona (5)
C-1	165.3	162.4	166.5
C-2	109.3	119.9	106.8
C-3	161.7	149.3	162.5
C-4	108.0	124.5	110.3
C-4a	132.7	133.6	135.3
C-5	123.8	124.4	124.5
C-6	147.5	136.9	148.4
C-7	120.4	121.4	121.3
C-8	164.8	162.7	165.2
C-8a	109.3	115.8	110.3
C-9	189.9	192.5	190.8
C-9a	113.1	113.7	113.7
C-10	181.6	182.0	182.0
C-10a	134.8	133.3	133.2
CH ₃ -3	---	22.3	---
CH ₃ -6	21.6	---	22.2
OCH ₃ -6	---	---	56.1

Señales asignadas mediante los espectros HETCOR y comparación con modelos apropiados

Cabe señalar que todos los datos espectroscópicos de los productos **2**, **4** y **5**, se encuentran en armonía con los descritos previamente en la literatura (Labadie *et al.*, 1972; Rada *et al.*, 1972; Sayed *et al.*, 1974; Tiwari *et al.*, 1980; Domínguez *et al.*, 1991; *inter alia*).

5.1.2 Caracterización de los compuestos de tipo estilbenoide [resveratrol (**28**), piceatanol (**36**), 4'-O- β -D-glucopiranosido del resveratrol (**37**)].

5.1.2.1 Caracterización del resveratrol (**28**) y piceatanol (**36**).

Las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de los compuestos **28** y **36** se resumen en las Tablas 5-7.

Los espectros en el IR generados por los productos **28** y **36** presentan bandas de absorción asociadas a grupos hidroxilos ($3200\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$) y para anillos aromáticos ($1500\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$)

Tabla 5. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de los estilbenos **28 y **36**.**

Compuesto	resveratrol (28)	piceatanol (36)
Fórmula molecular	$C_{14}H_{12}O_3$	$C_{14}H_{12}O_4$
Peso molecular	228	244
Punto de fusión	259-263 °C	235-238 °C
IR ν_{max} (KBr) cm^{-1}	3271, 1605, 1586, 1512, 1325, 1152, 965, 831	3509, 3294, 1600, 1518, 1325, 1152, 965, 831
EM m/z (int. rel.)	IE 228 [M ⁺] (100), 181 (14.3), 157 (5.7), 128 (15)	FAB ⁺ 245 [M+H] ⁺ (1 ⁺), 244 [M ⁺] (31), 157 (14), 128 (14), 115 (17)

La fórmula molecular se estableció por espectrometría de masas como $C_{14}H_{12}O_3$ y $C_{14}H_{12}O_4$, respectivamente. Los espectros de RMN unidimensionales (Espectros 7 y 9, Tabla 6), permitieron determinar que los dos compuestos son de naturaleza estilbenoide (Inamori *et al.*, 1984; Gamini *et al.*, 1993; Nyemba *et al.*, 1995; Oleszek *et al.*, 2001). Las características comunes de los espectros de RMN-¹H generados en CD_3OD fueron las siguientes:

1.- En $\delta_{\text{H}} \sim 6.75$ y ~ 6.92 se observan dos dobletes ($J=16.2$ Hz, H- α y H- β) asignables a una doble ligadura disustituída. La magnitud de la constante de acoplamiento permite establecer la configuración *trans* de la misma.

2.- En $\delta_{\text{H}} \sim 6.43$ (d, $J = 2.1$ Hz, H-2 y H-6) y $\delta_{\text{H}} 6.15$ (dd, $J = 2.1$ Hz, H-4) se aprecia un sistema A₂B asignable a tres hidrógenos meta relacionados de un anillo aromático trisustituído y simétrico.

En el caso del producto **28** en la región de los protones aromáticos se observa también un sistema AA'BB' [$\delta_{\text{H}} 7.34$ (ddd, $J=8.7$ y 2.1 Hz, H-2' y H-6') y $\delta_{\text{H}} 6.75$ (ddd, $J=8.7$ y 3.0 Hz, H-3' y H-5')] característico de un anillo aromático *para* sustituido. En el producto natural **36** en lugar de un sistema AA'BB' se observa un sistema de tipo ABX [$\delta_{\text{H}} 6.96$ (d, $J=2.1$ Hz, H-2'), $\delta_{\text{H}} 6.7$ (dd, $J=8.1$, 5.7 y 2.1 Hz, H-3') y $\delta_{\text{H}} 6.82$ (dd, $J=8.1$ y 2.1 Hz, H-6')] diagnóstico de un anillo aromático trisustituído. Así, la diferencia entre los productos **28** y **36** radica en el grado de hidroxilación del anillo B.

Al registrar los espectros de RMN-¹H en DMSO-*d*₆ se confirmó que el estilbenoide **28** contiene tres hidroxilos [δ_{H} 9.20 (s, OH-3,5) y δ_{H} 9.55 (s, OH-4')]; estas señales desaparecen al equilibrar con D₂O] en tanto que el compuesto **36** contiene cuatro de estos grupos. En el caso del compuesto **28** la presencia de los tres grupos se confirmó químicamente mediante la preparación del derivado triacetilado **28-A**. El espectro de RMN-¹H de este producto (Tabla 6) presentó la señal característica para el grupo metilo de la función acetiloxi en δ_{H} 2.3. Así mismo, las señales para los hidrógenos aromáticos se encontraban desplazadas paramagnéticamente [$\Delta\delta_{\text{H}}$ 0.15 (H-2' y H-6'), 0.34 (H-3' y H-5'), 0.68 (H-2 y H-6) y 0.67 (H-4)] con relación al producto natural debido al efecto desprotector ejercido por la función acetiloxi.

Al comparar las señales de ¹³C y ¹H de los productos **28** y **36** con las de una serie de estilbenoides descritos en la literatura se encontró que correspondían exactamente con los del resveratrol (**28**) y piceatanol (**36**), respectivamente (Inamori *et al.*, 1984; Gamini *et al.*, 1993; Nyemba *et al.*, 1995; Oleszek *et al.*, 2001).

El resveratrol (**28**) es una fitoalexina presente en varias especies de la familia Liliaceae, Vitaceae, Leguminosae y Polygonaceae. Previamente el producto **28** se obtuvo de la especie *Rumex gmelini* (Wang *et al.*, 1996); en consecuencia, su aislamiento de *Rumex hymenosepalus* constituye el segundo reporte de su presencia en el género *Rumex*.

5.1.2.2 Caracterización del 4'-O- β -D-glucopiranosido del resveratrol (**37**).

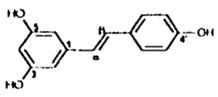
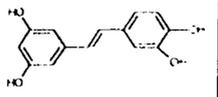
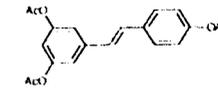
Las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de los compuestos **37** se resumen en las Tablas 8-10. El espectro en el IR generado por este producto presenta bandas de absorción asociadas a grupos hidroxilos (3400-3500 cm⁻¹) y carácter aromático (1600-1500 cm⁻¹). La fórmula molecular se estableció como C₂₀H₂₂O₈ por espectrometría de masas modalidad FAB⁺. El ión pseudomolecular se observó en una relación de *m/z* de 391.

Las características de solubilidad del compuesto **37**, así como su comportamiento frente al reactivo de Molish sugirieron su naturaleza glicosídica. El análisis cromatográfico de los productos obtenidos al tratar una pequeña cantidad del producto natural con HCl 1N confirmaron

su carácter glicosídico. Este análisis se realizó en placas de gel de sílice utilizando como fase móvil los sistemas $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$ (9:1), benceno-AcOH-acetona (17:1:2) y $n\text{-BuOH-AcOH-H}_2\text{O}$ (4:1:5). En todos los casos se detectó glucosa como único carbohidrato presente y una sustancia de menor polaridad que el producto original.

La región aromática de los espectros de RMN del producto 37 es muy similar a la del resveratrol (28). La principal diferencia observada entre los espectros de RMN (Espectro 11 y 12; Tabla 9 y 10) de estos productos naturales esta relacionada con las señales correspondientes a la porción sacárida del producto 37.

Tabla 6. Datos de desplazamientos químicos de RMN- ^1H (δ_{H}) [300 MHz] de los estilbenos 28 y 36 (Espectros 7 y 9).

Formula Desarrollada	Compuesto		
			
Posición	resveratrol (28) *	piceatanol (36) *	derivado triacetilado del resveratrol (28-A) **
2'	7.34 ddd, 8.7, 2.1	6.96 d, 2.1	7.49 ddd 8.4, 2.1
3'	6.75 ddd, 8.7, 2.1	---	7.09 ddd 8.7, 2.1
5'	6.75 ddd, 8.7, 2.1	6.72 dd, 8.1, 5.7, 2.4	7.09 ddd 8.7, 2.1
6'	7.34 ddd, 8.7, 2.1	6.82 dd, 8.1, 2.1	7.49 ddd 8.4, 2.1
2	6.44 d, 2.1	6.42 d, 2.1	7.12 d, 2.1
4	6.15 dd, 2.1, 2.4	6.15 dd, 2.1	6.82 dd, 2.1
6	6.44 d, 2.1	6.42 d, 2.1	7.12 d, 2.1
α	6.79 d, 16.2	6.72 d, 16.2	7.06 d, 16.2
β	6.95 d, 16.2	6.88 d, 16.2	6.96 d, 16.2
$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{-}$ (3, 5 y 4')	---	---	2.3 s

* CD_3OD

** CDCl_3

Tabla 7. Datos de desplazamientos químicos de RMN-¹³C (δ_c)' [75 MHz, CD₃OD] de los estilbenos 28 y 36 [Espectros 8 y 10].

Posición	Compuesto	
	resveratrol (28)	piceatanol (36)
1	141.3	141.3
2	105.8	105.7
3	159.6	159.6
4	102.6	102.6
5	159.6	159.6
6	105.8	105.7
1'	130.4	131.0
2'	128.8	113.8
3'	116.5	146.5
4'	158.4	146.5
5'	116.5	116.4
6'	128.8	120.2
α	127.0	127.0
β	129.4	129.7

* Señales asignadas mediante el espectro HETCOR y comparación con modelos apropiados

Así, en el espectro de RMN-¹³C se aprecian seis señales adicionales en la zona comprendida entre δ_c 68 y 101. Estas señales son consistentes con la presencia en la molécula de un residuo D-glucopiranosil (Harborne *et al.*, 1994). El desplazamiento químico observado para los carbonos sugirió que la glucosa se une a la porción aglicona a través del hidroxilo anomérico.

En el espectro de RMN-¹H se observan, además de las señales ya descritas para el producto 28 las siguientes:

1.- En δ_H 4.87 se aprecia un doblete ($J=7.5$ Hz) atribuible al hidrógeno anomérico del azúcar. El valor de la constante de acoplamiento permite inferir que la orientación de H-1'' es α , en consecuencia el enlace glicosídico es de tipo β .

2.- En δ_H 3.69 y 3.45 se observan las señales diagnósticas para el hidroximetileno de la β -D-glucosa.

3.- En el rango comprendido entre δ_{H} 3.1 y 3.5 se observan las señales para los restantes hidrógenos de la porción sacárida.

4.- Por último, en δ_{H} 5.33 (d, $J=4.8$ Hz), 5.11 (d, $J=4.5$ Hz), 5.04 (d, $J=5.1$ Hz) y 4.59 (dd, $J=5.7$ Hz) se observan señales para grupos hidroxilo. Estas señales desaparecen al equilibrar el espectro con D_2O .

Tabla 8. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del estilbeno 37.

Compuesto	4'-O- β -D-glucopiranosido del resveratrol (37)	3,5-diacetilstilbeno-4'-O- β -tetraacetil-D-glucopiranosido (37-A)
Fórmula molecular	$C_{20}H_{12}O_8$	$C_{22}H_{14}O_{11}$
Peso molecular	390	642
Punto de fusión	246-250 °C	174-176 °C
IR ν_{max} . (KBr) cm^{-1}	3431, 2913, 1598, 1509, 1238, 1073, 1013, 835.	1757, 1602, 1509, 1369, 1225, 1123, 1067, 1041, 906, 755.
EM- FAB' m/z (int. rel.)	391[M+H] ⁺ (18), 228 (49).	642 [M] ⁺ (30.5), 228 (7.1)

El tratamiento del producto natural 37 con anhídrido acético y piridina, permitió la obtención del derivado peracetilado cuyas constantes físicas y espectroscópicas se resumen en las Tablas 8-10. La obtención de este derivado permitió confirmar la presencia de una unidad de glucosa en la molécula y por otra parte, ubicar el sitio de unión entre el estilbenoide y el hidroxilo anomérico del azúcar. Para establecer este último, se analizaron los desplazamientos químicos de los hidrógenos aromáticos de la porción aglicona del derivado acetilado 37-A y del producto natural 37. Este análisis comparativo permitió establecer que H-2 ($\Delta\delta_{H1}=+0.71$), H-4 ($\Delta\delta_{H1}=+0.69$), y H-6 ($\Delta\delta_{H1}=+0.71$) se encuentran desplazados paramagnéticamente en el derivado acetilado 37-A, en tanto que los desplazamientos químicos de H-2' y H-5' son muy similares en el derivado acetilado y el producto natural. Esta observación es congruente con el establecimiento del enlace glicosídico entre el hidroxilo en la posición 4' del resveratrol y el hidroxilo anomérico

de la β -D-glucosa. De manera adicional, el desplazamiento diamagnético ($\Delta\delta_{H1} = -13.2$) de C-4' en el glicósido en relación al resveratrol (**28**) proporciona una evidencia adicional para apoyar esta propuesta (Harborne, 1975). Con base en estas evidencias, el producto **37** se identificó como el 4'-O- β -D-glucopiranosido del resveratrol, el cual es un glicósido del resveratrol poco común en la naturaleza. Desde el punto de vista quimiotaxonómico es importante destacar que el glicósido **37** se encontró previamente en las especies *Ampelopsis brevipedunculata* (Vitaceae) y *Rheum rhaponticum* (Polygonaceae). Así, el presente trabajo constituye el tercer reporte de este metabolito en la naturaleza (Gorham *et al.*, 1995).

5.1.3 Caracterización de la (-) epicatequina (**24**) y el (-) 3-galato de epicatequilo (**38**).

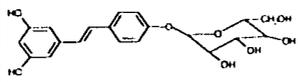
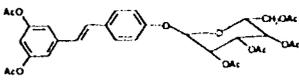
Las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de los compuestos **24** y **38** se resumen en las Tablas 11-13.

Los espectros en el IR generados por los productos **24** y **38** (Tabla 11), presentan bandas de absorción asociadas a grupos hidroxilos ($3300-3500\text{ cm}^{-1}$) y a un anillo aromático ($1650-1500\text{ cm}^{-1}$). En el compuesto **38** se aprecia además una señal para un éster aromático (1727 cm^{-1}). La fórmula molecular se estableció mediante espectrometría de masas modalidad FAB⁻ como $C_{15}H_{14}O_6$ y $C_{22}H_{18}O_{10}$, respectivamente.

Los espectros de RMN (Tablas 11-13) presentan el perfil típico de compuestos de tipo flavan-3-ol (Chen *et al.*, 1993). Las características más importantes de los espectros de RMN del producto **24** son las siguientes:

1.- En δ_{H1} 2.86 (dd, $J=16.8$ y 4.5 Hz) y δ_{H1} 2.72 (dd, $J=17.1$ y 3.0 Hz) se aprecian las señales características del metileno en C-4 de los compuestos de tipo flavan-3-ol. Estas señales correlacionan en el espectro HETCOR con la señal del metileno en δ_C 29.3 y con la señal en δ_{H1} 4.17 (H-3) en el espectro COSY. Esta última señal (H-3) aparece como un multiplete debido al acoplamiento con H-4 y H-2 y es asignable al hidrógeno geminal de la función carbinólica en C-3.

Tabla 9. Datos de desplazamientos químicos de RMN-¹H (δ_{H}) [300 MHz] del estilbena 37 (Espectro 11).

Fórmula Desarrollada	Compuesto	
		
Posición	4'-O- β -D-glucopiranosido del resveratrol (37)*	3,5-diacetilresveratrol-4'-O- β -tetraacetil-D-glucopiranosido (37-A)**
2'	7.5 d, (8.7 Hz)	7.42 dd, (8.7 Hz)
3'	7.0 d, (8.7 Hz)	6.98 d, (8.7 Hz)
5'	7.0 d, (8.7 Hz)	6.98 d, (8.7 Hz)
6'	7.5 d, (8.7 Hz)	7.42 dd, (8.7 Hz)
2	6.40 d, (2.4 Hz)	7.11 d, (2.1 Hz)
4	6.12 t, (2.1 Hz)	6.81 dd, (2.1 Hz)
6	6.40 d, (2.4 Hz)	7.11 d, (2.1 Hz)
α	6.90 d, (15.9 Hz)	6.91 d, (16.5 Hz)
β	6.99 d, (15.9 Hz)	7.04 d, (16.2 Hz)
OH- (3 y 5)	9.23 s	---
CH ₃ CO ₂ - (3 y 5)	---	2.31 s
1''	4.87 d, (7.5 Hz)	5.10 d, (7.5 Hz)
2''	3.30 m	5.2-5.3
3''	3.1-3.5	5.2-5.3
4''	3.1-3.5	5.18 dd, (10.2 Hz)
5''	3.1-3.5	3.88 ddd (9.9, 5.4, 2.4 Hz)
6'' α	3.69 ddd, (10.2, 5.4, 1.5 Hz)	4.3 dd (12.3, 5.4 Hz)
6'' β	3.45 ddd (11.7, 6.0, 6.0 Hz)	4.18 dd (12.3, 2.4 Hz)
OH-2''	5.33 d (4.8 Hz)	---
OH-3''	5.11 d (4.5 Hz)	---
OH-4''	5.04 d (5.1 Hz)	---
OH-6''	4.59 dd (5.7 Hz)	---
CH ₃ CO ₂ - (2''-4'' y 6'')	---	2.09 - 2.04

*DMSO-d₆** CDCl₁

Tabla 10. Datos de desplazamientos químicos de RMN- ^{13}C (δ_{C}) [75 MHz] del estilbeno 37 (Espectro 12).

Posición	Compuesto	
	4'- <i>O</i> - β -D-glucopiranosido del resveratrol (37) *	3,5-diacetilstilbeno-4'- <i>O</i> - β -tetraacetil-D-glucopiranosido (37-A)**
1	139.0	139.6
2	104.5	117.2
3	158.5	151.3
4	102.0	114.2
5	158.5	151.3
6	104.5	117.2
1'	130.8	132.0
2'	127.6	127.9
3'	116.4	116.8
4'	145.2	156.7
5'	116.4	116.8
6'	127.6	127.9
α	127.2	126.1
β	127.4	129.7
1''	100.3	99.0
2''	73.2	71.1 [†]
3''	76.6	72.7 [†]
4''	77.1	68.2
5''	69.7	72.1
6''	60.7	61.9
-CO ₂ CH ₃ (3 y 5)	---	21.1
-CO ₂ CH ₃ (2'', 4'' y 6'')	20.70, 20.64, 20.61, 20.59	---
-CO ₂ CH ₃ (3, 5, 2'', 4'' y 6'')	---	170.5, 170.2, 169.3, 169.2, 169.0

* DMSO- d_6 **CDCl₃

† Señales intercambiables

* Señales asignadas mediante los espectros HETCOR y comparación con modelos apropiados

Tabla 11. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la (-) epicatequina (24) y el (-) 3-galato de epicatequilo (38).

Compuesto	(-) epicatequina (24)	(-) 3-galato de epicatequilo (38)
Fórmula molecular	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀
Peso molecular	290	442
[α] _D ²⁰	[-12]	[-112]
Punto de fusión	180-184 °C	258-260 °C
IR ν _{max} (KBr) cm ⁻¹	3455, 1625, 1519, 1260, 1143.	3535, 3469, 3382, 1613, 1516, 1240, 1146.
EM FAB ⁺ m/z (int. rel.)	[M+H] ⁺ 291 (18), 290 (14), 154 (84), 139 (67), 136 (75)	[M+H] ⁺ 443 (6), 307 (14), 289 (9), 272 (18), 154 (100), 136 (68)

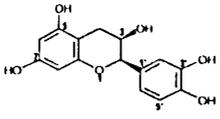
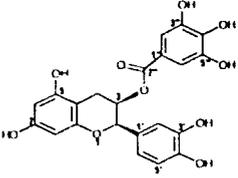
2.- En δ_H 4.81 se observa un singlete ancho que se asigna a H-2. Este singlete correlaciona con la señal en δ_C 67.5 en el espectro HETCOR.

3.- En la región aromática del espectro de RMN-¹H, se observan un sistema ABX [δ_H 6.81 (d, J=1.8 Hz, H-2'), 6.77 (d, J=5.4 Hz, H-5') y 6.73 (dd, J=6.9 y 3.0 Hz, H-6')] y un sistema AB [δ_H 5.93 (d, J=2.4 Hz, H-6) y 5.91 (d, J=2.4 Hz, H-8)]. Estas señales son asignables a los protones de los anillos B y A, respectivamente, de un flavan 3-ol tipo catequina. Las señales del sistema ABX correlacionan con las absorciones en δ_C 119.4 (C-2), 115.3 (C-5) y 115.9 (C-6) en el espectro HETCOR, en tanto que las del sistema AB correlacionan con las señales en δ_C 96.4 (C-6) y 95.9 (C-8).

El patrón de acoplamiento observado para H-2 y H-4, así como el ancho medio (9 Hz) de la señal para H-3 sugieren que los hidrógenos en C-2 y C-3 guardan una relación *cis*. Por otro lado, el valor negativo de la rotación óptica indicó que el producto **24** es la (-) epicatequina. Si la rotación hubiese sido positiva la configuración de los centros quirales hubiesen sido iguales a los de la (+) catequina (Baldé *et al.*, 1991; Lee *et al.*, 1992; Chen *et al.*, 1993).

Los espectros de RMN del compuesto **38** son muy similares a los del compuesto **24**. En este caso la señal del grupo hidroxilo en C-3 se encuentra sustituida por las de un residuo galiloiloxi. En consecuencia la señal de H-3 se encuentra desplazada paramagnéticamente en δ_H

Tabla 12. Datos de desplazamientos químicos de RMN-¹H(δ₁₁) [300 MHz, CD₃OD] de las catequinas 24 y 38 (Espectros 13 y 15).

Fórmula Desarrollada	Compuesto	
		
Posición	(-) epicatequina (24)	(-) 3-galato de epicatequilo (38)
2	4.81 s	5.02 s
3	4.17 m	5.52 m
4 α	2.86 dd, 16.8, 4.5	2.99 dd, 17.4, 4.5
4 β	2.72 dd, 17.1, 3.0	2.84 dd, 17.7, 2.4
6	5.93 d, 2.4	5.96 d, 2.4
8	5.91 d, 2.4	5.95 d, 2.4
2'	6.81 d, 1.8	6.92 d, 2.1
5'	6.77 d, 5.4	6.69 d, 8.1
6'	6.73 dd, 3.0, 6.9	6.80 dd, 8.0, 2.1
2''	---	6.94 s
6''	---	6.94 s

5.52. Las señales del residuo galoiloxi aparecen en δ_{11} 6.94 (s, H-2'' y H-6'') y δ_c 121.5 (C-1''), 110.2 (C2'' y C-6''), 146.3 (C-3''), 139.8 (C-4''), 145.9 (C-5'') y 167.9 (C-7''). El patrón de acoplamiento de H-2 y H-4 fue idéntico al del compuesto 24. De nueva cuenta, el valor negativo de la rotación óptica sugiere que la configuración absoluta en C-2 y C-3 es R.

Con base en estas evidencias el producto 38 se caracterizó como el (-) 3-galato de epicatequilo (Lee *et al.*, 1995), metabolito ampliamente distribuido en el reino vegetal, sin embargo, este trabajo constituye el primer reporte de su presencia en el género *Rumex*.

Tabla 13. Datos de desplazamientos químicos de RMN $^{13}\text{C}^*$ (δ_c) [75 MHz, CD_3OD] de las catequinas 24 y 38 (Espectros 14 y 16).

Posición	Compuesto	
	(-) epicatequina (24)	(-) 3-galato de epicatequilo (38)
2	67.5	78.6
3	79.9	70.0
4	29.3	26.8
5	157.4	157.3
6	96.4	95.9
7	158.0	157.8
8	95.9	96.5
9	157.7	157.8
10	100.1	99.4
1'	132.3	131.4
2'	119.4	115.1
3'	145.9	145.9
4'	145.8	145.9
5'	115.3	116.0
6'	115.9	114.4
1''	---	121.5
2''	---	110.2
3''	---	146.3
4''	---	139.8
5''	---	145.9
6''	---	110.2
7''	---	167.9

^a Señales asignadas mediante los espectros HETCOR y comparación con modelos apropiados

5.2 Actividad antimicrobacteriana de los compuestos aislados.

Los resultados obtenidos de las evaluaciones de los compuestos aislados de las fracciones primarias F001 y F002 se muestran en la Tabla 14 y sólo el resveratrol (**28**), el piceatanol (**36**) y la emodina (**2**) presentaron actividad antifúngica significativa. Al realizar el derivado acetilado del resveratrol, y evaluarlo se observó una mayor actividad que en el producto natural.

Tabla 14. Actividad antimicrobacteriana de los compuestos puros aislados de la especie *R. hymenosepalus*.

Compuestos evaluados	Actividad antimicrobacteriana concentración mínima inhibitoria CMI ($\mu\text{g/ml}$)
emodina (2)	128
crisofanol (4)	>128
fisciona (5)	>128
resveratrol (28)	128
piceatanol (36)	128
4'-O- β -D-glucopiranosido del resveratrol (37)	>128
(-) epicatequina (24)	> 128
(-) 3-galato de epicatequilo (38)	> 128
derivado triacetilado del resveratrol (28-A)	32
rifampina*	0.25

Criterio de actividad: MIC \leq 128 (Cantrell *et al.*, 1998).

*Control positivo.

VI. RESUMEN Y CONCLUSIONES.

i) Los resultados del presente trabajo de investigación corroboran una vez más que la preselección de especies vegetales mediante la aplicación de un criterio etnomédico garantiza la obtención de compuestos bioactivos. Así, el estudio químico biodirigido de un extracto antimicrobacteriano preparado a partir de las raíces de la especie *Rumex hymenosepalus* permitió el aislamiento y caracterización de tres antraquinonas [emodina (**2**), crisofanol (**4**) y fisciona (**5**)], un esteroide [β -sitosterol (**30**)], tres compuestos de tipo estilbenoide [resveratrol (**28**), piceatanol (**36**) y 4'-O- β -D-glucopiranosido del resveratrol (**37**)] y dos compuestos de tipo flavan-3-ol derivados de la catequina [(**-**) epicatequina (**24**) y (**-**) 3-galato de epicatequilo (**38**)]. De todos los compuestos aislados sólo los metabolitos **2**, **28** y **36** presentaron una actividad inhibitoria significativa del crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis*. Las concentraciones mínimas inhibitorias fueron de 128 $\mu\text{g/mL}$ en los tres compuestos. El derivado acetilado del producto **28** presenta una actividad antifúngica mayor que la del producto natural. En este último caso la CIM fue de 32 $\mu\text{g/mL}$.

ii) Esta investigación representa una contribución original al conocimiento de la química de la especie *Rumex hymenosepalus*, planta medicinal ampliamente utilizada en las prácticas médicas populares del norte de México. Aunque las antraquinonas emodina (**2**), crisofanol (**4**) y fisciona (**5**) se habían descrito con anterioridad en la especie (Rada *et al.*, 1972; Dominguez *et al.*, 1991), la presencia del resveratrol (**28**), el 4'-O- β -D-glucopiranosido del resveratrol (**37**), el piceatanol (**36**), la (**-**) epicatequina (**24**) y el (**-**) 3-galato de epicatequilo (**38**) se describen por primera vez en la especie a través de la presente investigación.

iii) La presencia del resveratrol en la especie *Rumex hymenosepalus* podría estar relacionada con sus usos en la medicina tradicional como agente antiséptico, antipirético y analgésico así como para el tratamiento de afecciones de la piel.

En este contexto es bien conocido que el resveratrol (**28**) tiene efectos antiinflamatorios y anticancerígenos. Las propiedades antiinflamatorias y anticancerígenas del resveratrol son atribuidas a la supresión de la síntesis de prostaglandinas por inhibición competitiva en el sitio de unión del ácido araquidónico y la enzima ciclooxigenasa 1 (COX-1) y por la modulación en la expresión del gen de la enzima COX-2 (Jang *et al.*, 1997). Esta actividad inhibidora es relevante en la quimioprevención del cáncer, ya que los eicosanoides son sustancias pro-inflamatorias que estimulan el crecimiento celular del tumor y suprimen el sistema inmune. Sin embargo, el mecanismo por el cual el resveratrol (**28**) inhibe la carcinogénesis no está aun bien definido (Jang *et al.*, 1997). El resveratrol (**28**) además inhibe la agregación plaquetaria y el proceso de coagulación (Pace-Asciak *et al.*, 1985; Bertilli, 1998), y al igual que el piceatanol (**36**), modula el metabolismo de lipoproteínas (Arichi *et al.*, 1982), esta última propiedad podría estar relacionada con el uso de la especie para "purificar la sangre", término que se emplea popularmente para describir a los agentes hipolipidémicos.

La presencia de las antraquinonas emodina (**2**), crisofanol (**4**) y fisciona (**5**) con propiedades purgantes bien conocidas debe estar relacionada con el uso de esta especie como agente purgante.

Por último, la (-) epicatequina con propiedades antiulcéricas, antiinflamatorias, astringentes, antisépticas y antiamibianas comprobadas podría explicar el empleo de la raíz de *Rumex hymenosepalus* para el tratamiento de afecciones estomacales (Calzada, 2000; Lin, 2001)

VII. BIBLIOGRAFIA.

- Aburjai, T. L. (2000) Anti-platelet stilbenes from aerial parts of *Rheum palaestinum*. *Phytochemistry* **55**, 407-410.
- Ahmed, M., Datta, B. K., Rouf, A. S. S. (1991) Anthraquinone, chromone and flavone derivatives from *Rumex maritimus*. *Pharmazie*, **46** (7), 548-549. [Chemical Abstract **116**: 416 (1992)]
- Allen P.H. (1943) Poisonous and injurious plants of Panama. *Amer. J. Trop. Med.* **23**, 3-76.
- Arichi, H., Kimura, Y., Okuda, H., Baba, K., Kozawa, M., and Arichi, S. (1982) Effects of Stilbene components of the roots of *Polygonum cuspidatum* SIEB. et ZUCC On lipid metabolism. *Chem. Pharm. Bull.* **30**, 1766-1770
- Baggers, J.D. (1959) Photodynamic compounds in plants. En: The Pharmacology of Plant Phenolics. Fairbairn, J.W. (ed.). London, Academic Press, 71-79
- Bagrii, O. K., Kurmaz, B. V. (1968) Hydroxy naphthalenes in some species of dock. *Fenol'nye Soedin.*, 89-93. [Chemical Abstract **71**: 68 (1969)]
- Baldé, A. M., Pieters, L. A., Gergely, A., Kolodziej, H., Claeys, M. y Vlietinck, A. J. (1991) A-type proanthocyanidins from stem-bark of *Pavetta owariensis*. *Phytochemistry* **30**, 337-342.
- Bauch, H. J., Labadie, R.P., Leistner, E. (1975) Biosynthesis of nepodin (2-acetyl-3-methylnaphthalene-1,8diol) in *Rumex alpinus*. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1**, 689-692.

- Bertelli, A. (1998) Modulation effect of Resveratrol, a natural phytoalexin, on endothelial adhesion molecules and intracellular signal transduction. *Pharm. Biol.* **36**, 44-52.
- Buckingham, J., Macdonald, F. M., Bradley, H. M.; (1994) Dictionary of Natural Products. Chapman and Hall, 1st. Edition London, Great Britain 1-4899.
- Bye, R. (2000) Ethnobotanical notes of Dr. Edward Palmer from Western USA and México (1861-1910). Data base, first approximation; Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México. D.F.
- Calzada, F. (2000) Proantocianidinas del tipo A y flavonoles con actividad antiprotozoaria de *Geranium niveum* S. Watson (Geraniaceae) y *Coniza filagmoides* (DC) Hieron (Asteraceae). UNAM, Facultad de Química, México, D.F., Tesis de Doctorado.
- Cantrell, C. L., Fischer, N.H., Urbatsch, L., McGuire, M. S., Franzblau, S. G (1998) Antimycobacterial crude plant extracts from South, Central, and North America. *Phytomedicine* **5**, 137-145.
- Cantua S., S. (ed.). (1993) Estudios sobre el uso de la cañagria (*Rumex hymenosepalus*) como una fuente alternativa de extracto curtiente, almidón y proteína. Hermosillo, Sonora: Universidad de Sonora.
- Chen, H-F., Tanaka, T., Nonaka, G-I., Fujioka, T. y Mihashi, K. (1993) Phenylpropanoid-substituted catechins from *Castanopsis hystrix* and structure revision of cinchonains. *Phytochemistry* **33**, 183-187.
- Ciulei, I., Istudor, Viorica. (1973) Chemical study of the species *Rumex wallichii*. *Farmacía* **21**, 85-88. [Chemical Abstract **79**: 227 (1973)]

- Cox, P. A. y Balick, M. J. (1994) The ethnobotanical approach to drug discovery. *Sci. Amer.* 82-87.
- Dabi-Lengiel, E., Jambor, E., Danos, B., Tetenyi, P. (1991) Chemical composition and biological activity of the *Rumex crispus* L. crop. *Herba Hung.* 30, 91-97. [Chemical Abstract 116: 483 (1992)]
- Domínguez, X. A., Rombold, C., Espinosa, G., García, D. E. (1991) Aislamiento de emodina, crisofanol y fisciaina de las raíces de *Rumex hymenosepalus* Torr. *Rev. Latinoamer. Quim.* 22, 45-46.
- Dzhumagalieva, F. D., Seidakanova, T. A. (1971) Various aspects of the pharmacological action of preparations of polyphenol compounds. *Akad. Nauk Kaz. SSR.* 16, 33-38. [Chemical Abstract 116: 416 (1992)]
- Easa, H. S., Rizk A-F., Hussieny, H. A. (1995) Constituents of plants growing in Qatar Part XXVI. Phytochemical investigation of *Rumex vesicarius*. *Int. J. Chem.* 6, 21-25. [Chemical Abstract 125: 625 (1996)]
- El-Fattah, Hosny Abd. (1989) Anthraquinones and C-flavonoids of *Rumex cyprius* Murb. *Mansoura J. Pharm. Sci.* 6, 141-148. [Chemical Abstract 112: 352 (1990)]
- El-Fattah, H. A., Gohar, A., Hubaishi, A. (1994) Phytochemical investigation of *Rumex lunifolius* trum. *Acta Pharm. Hung.* 64 (3), 83-85. [Chemical Abstract 121: 697 (1994)]
- El-Fattah, H. A., El-Dahmy, S., Abdel-Aal, M., Halim, A. F., Osama B. (1994) Phenolic constituents from *Rumex bucephalophorus* growing in Libya. *Zagazig. J. Pharm. Sci.* 3, 88-91. [Chemical Abstract 121: 636 (1994)]

- El-Fattah, H. A., El-Dahmy, S., Abdel-Aal, M., Halim, A. F., Abdel-Halim, Osama B. (1995) Phenolic compounds from *Rumex bucephalophorus*. *Sci. Pharm.* **63**, 57-64 [Chemical Abstract **123**: 661 (1995)]
- Fabricant, D. S. y Fransworth, N. R. (2001) The value of plants used in Traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives* **109**, 69-74.
- Fairbairn, J. W., El-Muhtadi, F.J. (1972) Chemotaxonomy of anthraquinones in *Rumex*. *Phytochemistry* **11**, 263-268.
- Fairbairn, J. W., El-Muhtadi, F.J. (1972) The biosynthesis and metabolism of anthraquinones in *Rumex obtusifolius*. *Phytochemistry* **11**, 215-219.
- Gorham, J. (1995) The Biochemistry of the Stilbenoids. Ed. Chapman & Hall. London, Great Britain. 1-262.
- Goldberg, D., Hahn, S., Parkes J. (1995) Beyond alcohol: Beverage consumption and cardiovascular mortality. *Clin. Chim. Acta.* **12**, 79-95.
- Hasan, A., Ahmed, I., Jay, M., Voirin, B. (1995) Flavonoid glycosides and an anthraquinone from *Rumex chalepensis*. *Phytochemistry* **39**, 1211-1213.
- Hasan, A., Ahmed, I., Khan, M. A. (1996) A new anthraquinone glycoside from *Rumex chalepensis*. *Phytochemistry* **39**, 140-142.
- Hjorth, N. and Mitchell, J.C. (1973) Polygonum dermatitis. *Contact Dermatitis Newsletter* **15**, 426.
- Houghton, P. J. (1999) Roots of remedies: Plants, people and pharmaceuticals. *Chem. Ind.* **1**, 15-19.

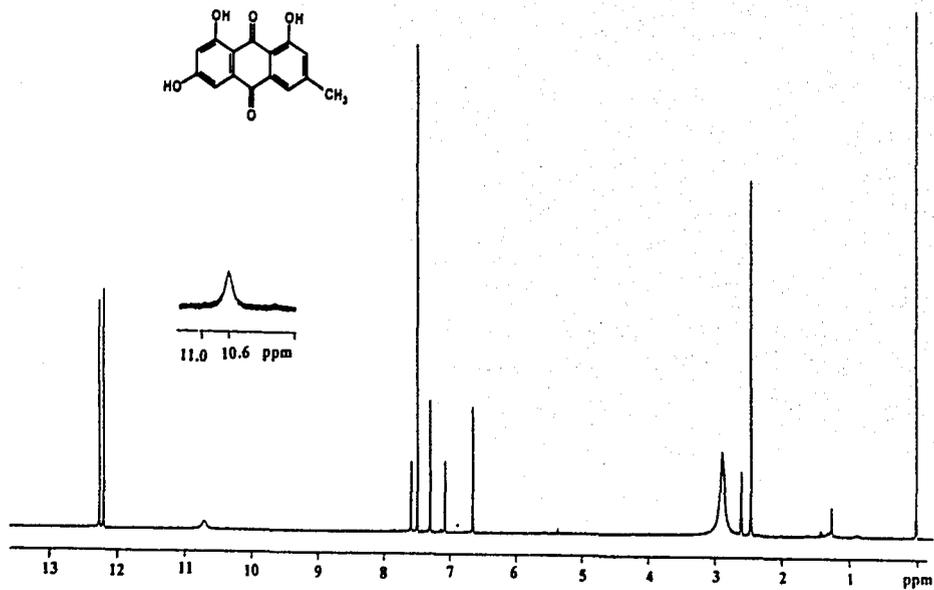
- Houghton, P. (2001) Old yet New Pharmaceuticals from Plants. *J. Chem. Educ.* **78**, 175-184.
- Inamori, Y., Kubo, M., Tsujibo, H., Ogawa, M., Saito, Y., Miki, Y. and Takemura C. (1987) The ichthyotoxicity and coronary vasodilator action of 3,3'-Dihydroxy- α,β -diethylstilbene. *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 887-890.
- Jang, M., Cai, L., Udeani, G.O., Slowing, K. V., Thomas, C.F., Beecher, C., Fong, H., Farnsworth, N., Kinghorn, A.D., Mehta, R., Moon, R., Pezzuto, J.M. (1997) Cancer chemopreventive activity of Resveratrol, a natural product derived from Grapes. *Science* **275**, 218-220.
- Jang, M., Pezzuto, J.M. (1998) Resveratrol blocks eicosanoid production and chemically-induced cellular transformation: implications for cancer chemoprevention. *Pharm. Biol.* **36**, 28-34.
- Jayatilake, G., Jayasuriya, H., Lee, E., Koonchanok, N.M., Geahlen, R. I., Ashendel, C. L., McLaughlin, J. L., Chang, C-J. (1993) Kinase inhibitors from *Polygonum cuspidatum*. *J. Nat. Prod.* **56**, 1805-1810.
- Kato, T., Morita, Y. (1990) C-glycosylflavones with acetyl substitution from *Rumex acetosa* L. *Chem. Pharm. Bull.* **38**, 2277-2280.
- Krmelova, Vera, Starhova, Helena.(1969) Anthraglycosides in some *Rumex* species. *Acta Fac. Pharm.* **17**, 123-126. [Chemical Abstract 74: 97 (1971)]
- Labadie, R. P., Otten, J., Baerheim Svendsen, A. (1972) Anthracene derivatives in *Rumex hydrolapathum*. *Pharm. Weekbl* **107**, 541-547. [Chemical Abstract 77: 181 (1972)]

- Lee, M-W., Morimoto, S., Nonaka, G-I., y Nishioka, I. (1992) Flavan-3-ol gallates and protoanthocyanidins from *Pithecellobium lobatum*. *Phytochemistry* **31**, 2117-2120
- Leveau, A. M., Durand, M. A. (1969) Anthracene derivatives in *Rumex crispus* var major. *C. R. Soc. Biol.* **163**, 2662-2665. [Chemical Abstract **73**: 220 (1970)]
- Lin, J-K., Tsai, S-H. y Lin-Shiau, S-Y. (2001) Antiinflammatory and antitumor effects of flavonoids and flavanoids. *Drugs of Future* **26**, 145-152.
- López Estudillo, R., Hinojosa García, A. (1998) Catálogo de Plantas Medicinales Sonorenses. Hermosillo, Sonora: Universidad de Sonora.
- Macías, M., Ulloa, M., Mata, R. (2000) Phytotoxic Compounds from the New Coprophilous Fungus *Guanomyces polythrix*. *J. Nat. Prod.* **63**, 757-761.
- Manila, E., Talvitie, A., Kolchmainen, E., (1993) Anti-leukaemic compounds derived from stilbenes in *Picea abies* Bark. *Phytochemistry* **33**, 813-816.
- Martínez, M. (1989) *Las plantas medicinales de México*. 6th, México D.F., Ediciones Botas, 56-57.
- Midiwo, J., Rukunga G. (1985) Distribution of anthraquinone pigments in *Rumex* species of Kenya. *Phytochemistry* **24**, 1390-1391.
- Nyemba, A. M., Mpondo, T. N., Kimbu, S. F. y Connolly, J. D. (1995) Stilbene glycosides from *Guibourtia texsmannii*. *Phytochemistry* **39**, 895-898.
- Oleszek, W., Sitek, M., Stochmal A., Piacente, S., Cosimo, P. y Cheeke, P (2001) Resveratrol and other phenolics from the bark of *Yucca schidigera* Roetzl. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 747-752.

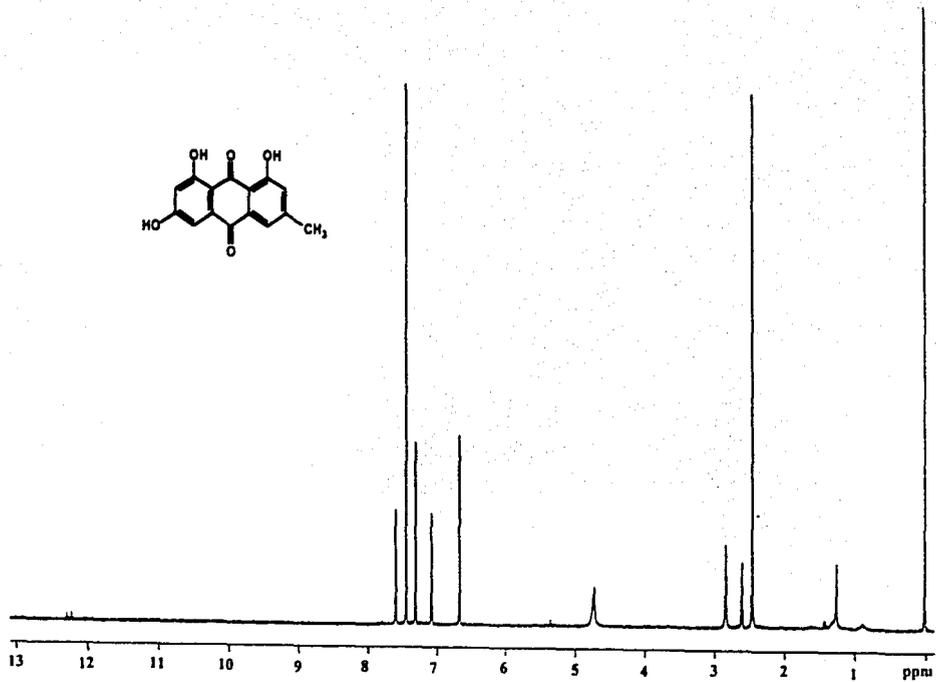
- Pace-Asciak, C. R., Hahn, S., Diamandis E. P., Soleas, G., Goldberg, D. (1995) The red wine phenolics *trans*-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: Implications for protection against coronary heart disease. *Chim. Acta*, **235**, 207-219.
- Rada, K., Brazdova, V. (1972) Anthracene derivatives in *Rumex* species (*R. conglomeratus*, *R. hymenosepalus*, *R. orientalis*). *Cesk Farm*. **21**, 302-305. [Chemical Abstract 78: 238 (1973)]
- Rada, K., Hrochova, V., Sfarhova, H., Brazdova, V (1974) Anthracene derivatives in *Rumex* species (*R. conglomeratus*, *R. hymenosepalus*, *R. orientalis*) *Acta Fac. Pharm.* **25**, 153-175. [Chemical Abstract 82: 252 (1975)]
- Rai, Jagmohan, Thakar, K. A. (1970) Chemical investigation of *Rumex vesticartus*. *Ind. J. Chem.* **8**, 1046-1047. [Chemical Abstract 74: 74 (1971)]
- Sayed, M. Darwish, Balbaa, S.I., Afifi, M. (1974) Anthraquinone content of certain *Rumex* species growing in Egypt. *Egypt. J. Pharm. Sci.* **15**, 1-10. [Chemical Abstract 82: 5 (1975)]
- Sharma, M., Sharma, P., Rangaswami, S. (1977) Orientalone, a new 1,4-naphthoquinone from *Rumex orientalis*. *Ind. J. Chem.* **15B**, 544-545. [Chemical Abstract 87: 372 (1977)]
- Silverstein, R. M., Clayton, B. G. y Morrill, C. T. (1991) Spectrometric Identification of Organic Compounds. John Wiley & Sons, New York 1-411.
- Subbaramaiah, K., Michaluart, P., Chung, W. J., Dannenberg, A.J. (1998) Resveratrol inhibits the expression of cyclooxygenase-2 in human mammary and oral epithelial cells. *Pharm. Biol.* **36**, 35-43.

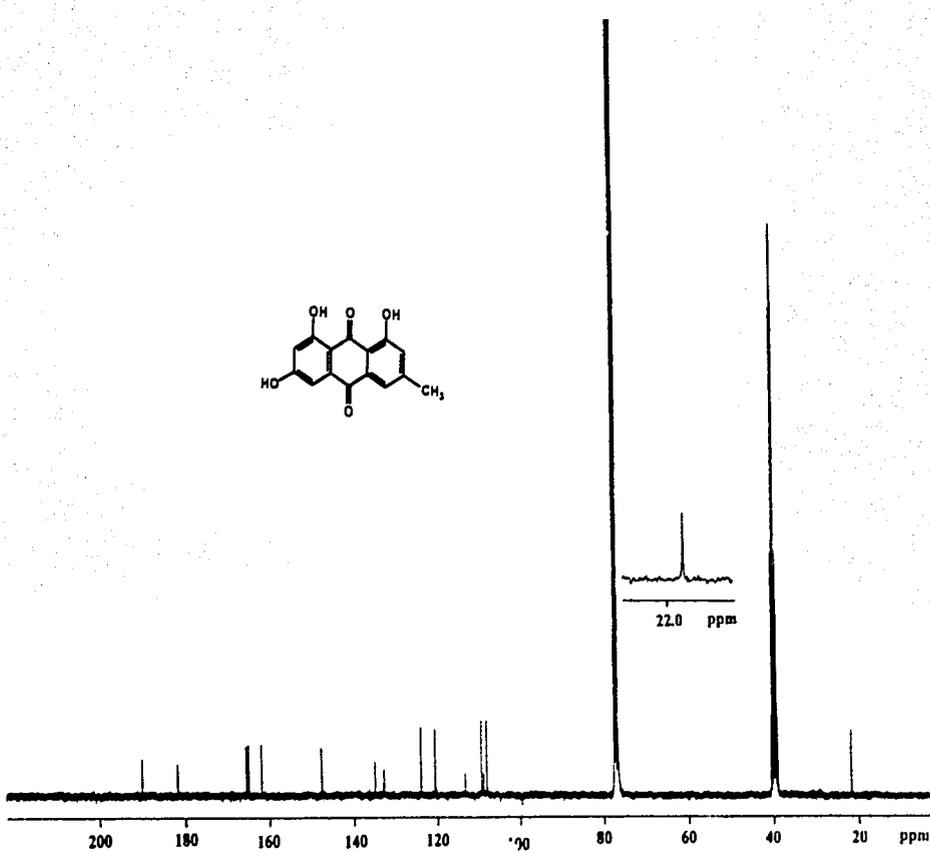
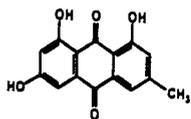
- Suffness, M., Cragg, G., Grever, M., Grifo, F., Johnson, G., Mead, J., Schepartz, S., Venditti, J., Wolpert, M. (1995) The National Cooperative Natural Products Drug Discovery Group (NCNPDDG) and International Cooperative Biodiversity Group (ICBG) Programs. *Inter. J. Pharmacog.* **33**, Suplement, 5-16.
- Steele, V., Wargovich, M., McKee, K., Sharma, S., Wilkinson, B., Wyatt, G., Gao, P., Kelloff, G. (1998) Cancer chemoprevention drug development strategies for resveratrol. *Pharm. Biol.* **36**, 62-68.
- Tamano, M., Koketsu, J. (1982) Isolation of hydroxyanthrones from the roots of *Rumex acetosa* Linn. *Agric. Biol. Chem.* **46**, 1913-1914.
- Tiwari, R. D., Sinha, K. S. (1980) Chemical examination of *Rumex hastatus* D. *Ind. J. Chem.* **19B**, 531-532.
- Trejo, J. L. (1998) Valoración Farmacológica de la actividad gastoprotectora de los constituyentes de *Hippocratea excelsa* H. B. K. UNAM, Facultad de Química, D.F. Tesis de Maestría.
- Wagner, H., Bladt S., Zgainski, E. M. (1984) Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas. Springer-Verlag, New York. 1-320.
- Wang, Z., Cai, X., Kang, Y., Wei, F. (1996) Structure of two compounds from the roots of *Rumex gmelini*. *Zhongcaoyao.* **27**, 714-716. [Chemical Abstract **126**: 325 (1997)]
- Zee, O. P., Kim, D. K., Kwon, H. C., Lee, K. R. (1998) A new epoxy naphthoquinol from *Rumex japonicus*. *Arch. Pharma. Res.* **21**, 485-486 [Chemical Abstract **129**: 394 (1998)]

APÉNDICE
ESPECTROS

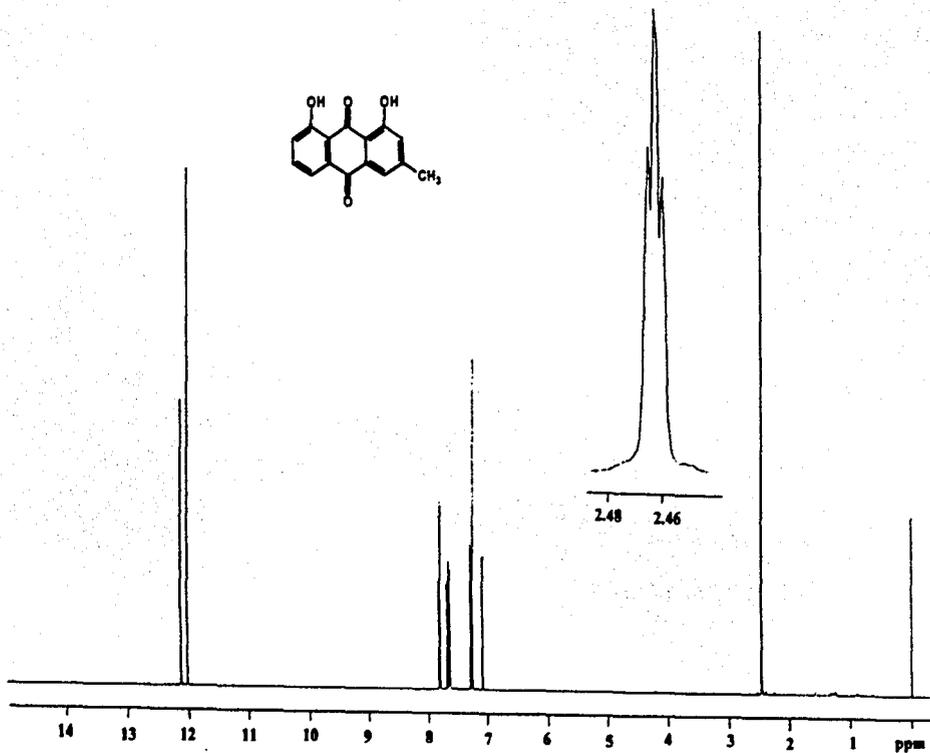


Espectro 1. Espectro de RMN^1H de la emodina (2) (300 MHz, CDCl_3).

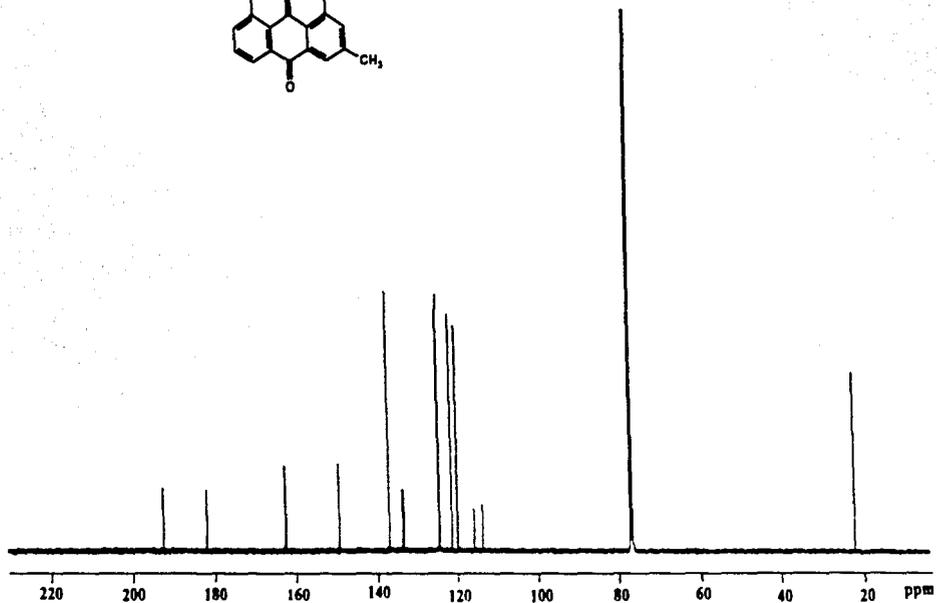
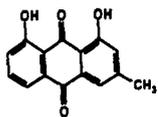
Espectro 1a. Espectro de RMN^1H de la emodina (2) (300 MHz, CDCl_3 , D_2O).



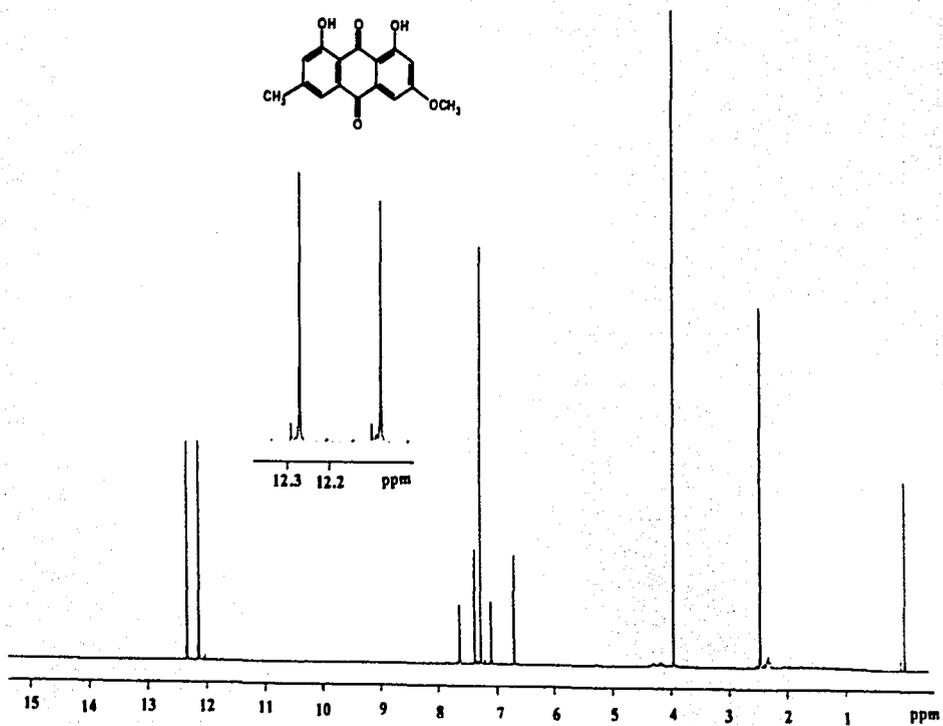
Espectro 2. Espectro de RMN^{13}C de la emodina (2) (75 MHz, CDCl_3).

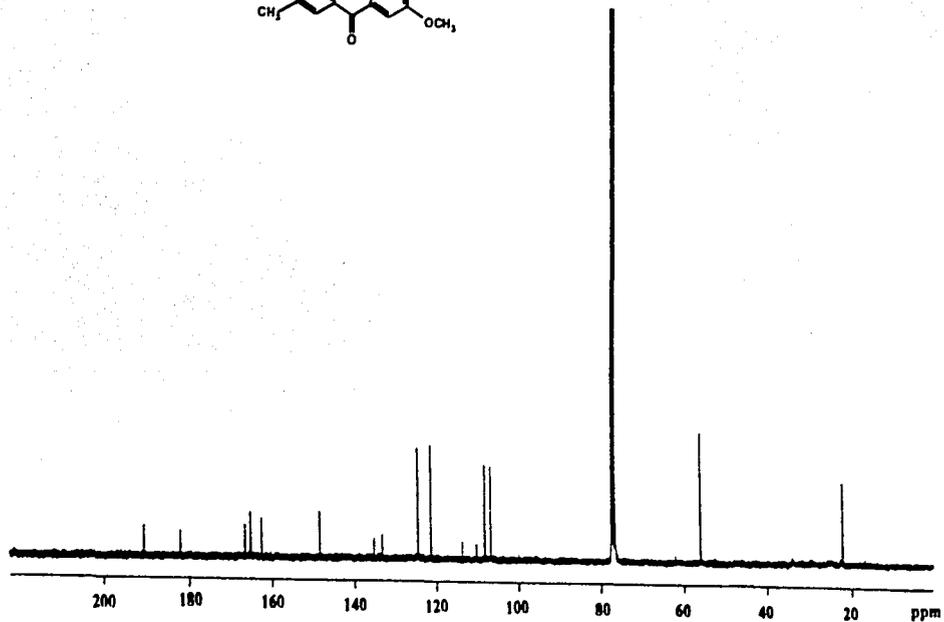
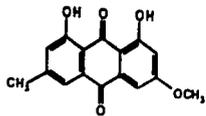


Espectro 3. Espectro de RMN^1H del crisofanol (4) (300 MHz, CDCl_3).

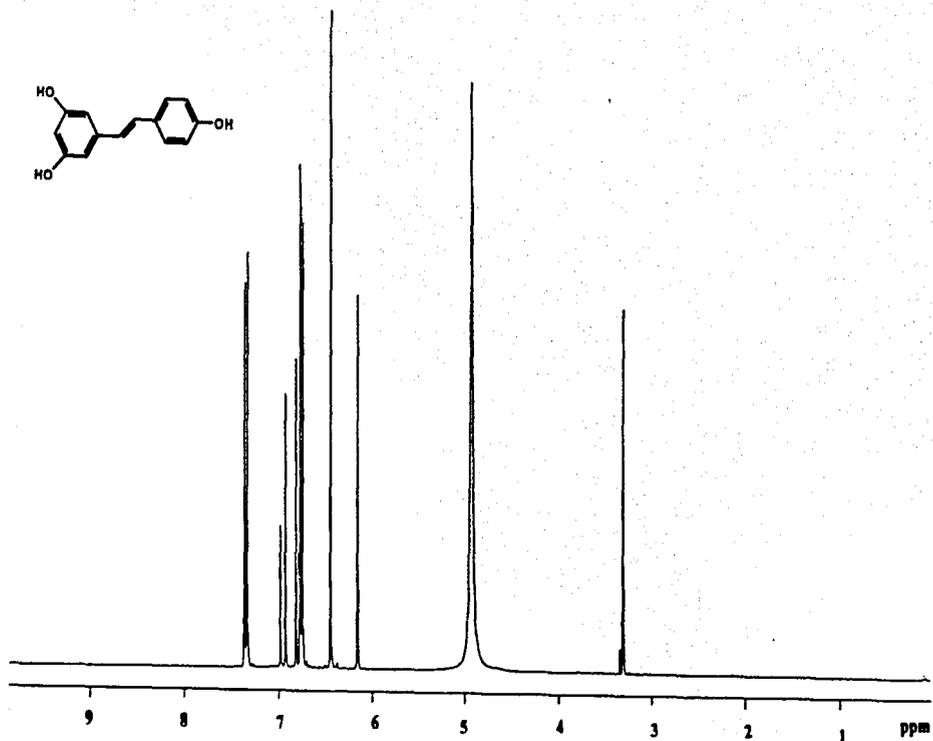
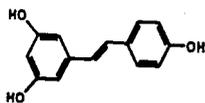


Espectro 4. Espectro de RMN^{13}C del crisofanol (4) (75 MHz, CDCl_3).

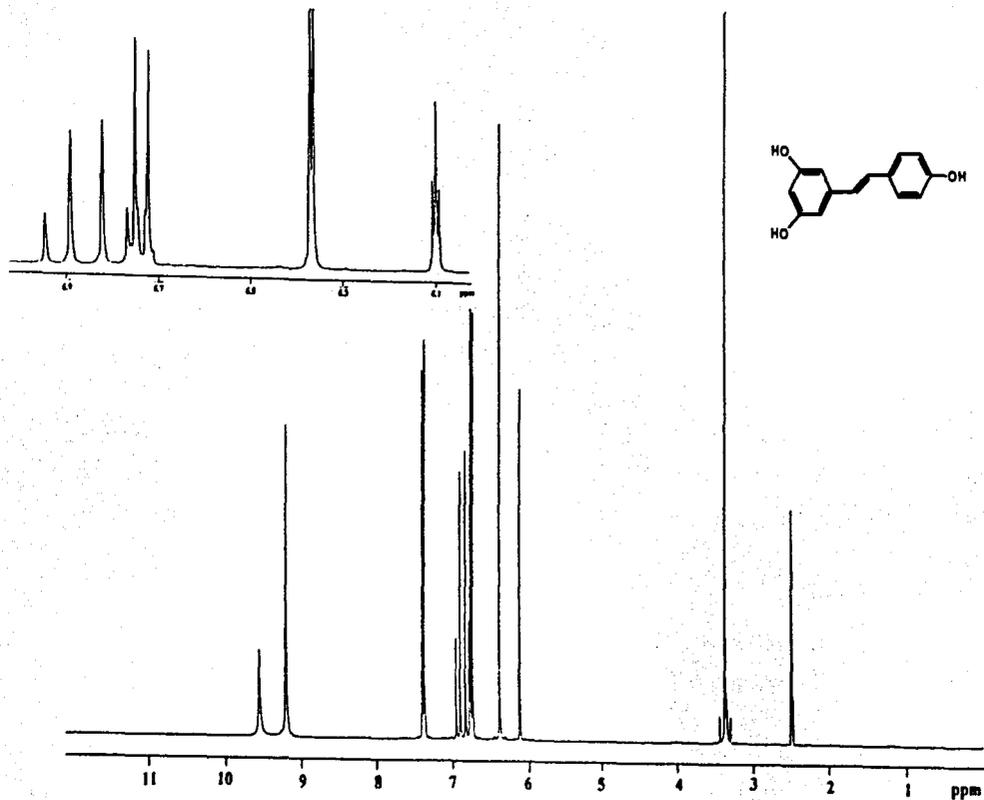
Espectro 5. Espectro de RMN^1H de la fisicina (5) (300 MHz, CDCl_3).

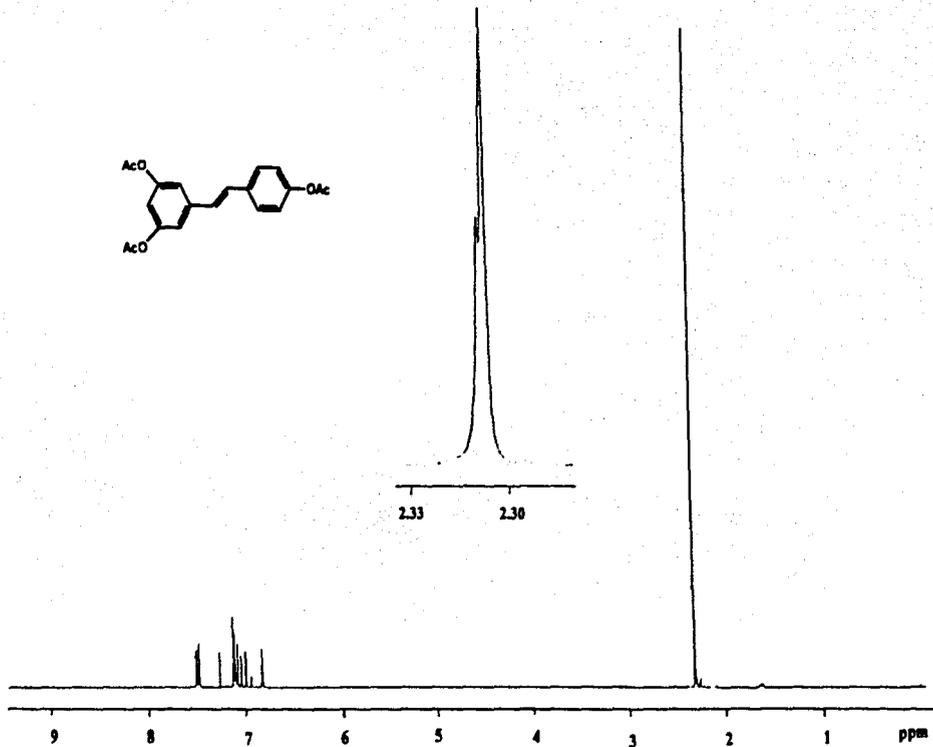


Espectro 6. Espectro de RMN¹³C de la fracción (5) (75 MHz, CDCl₃).

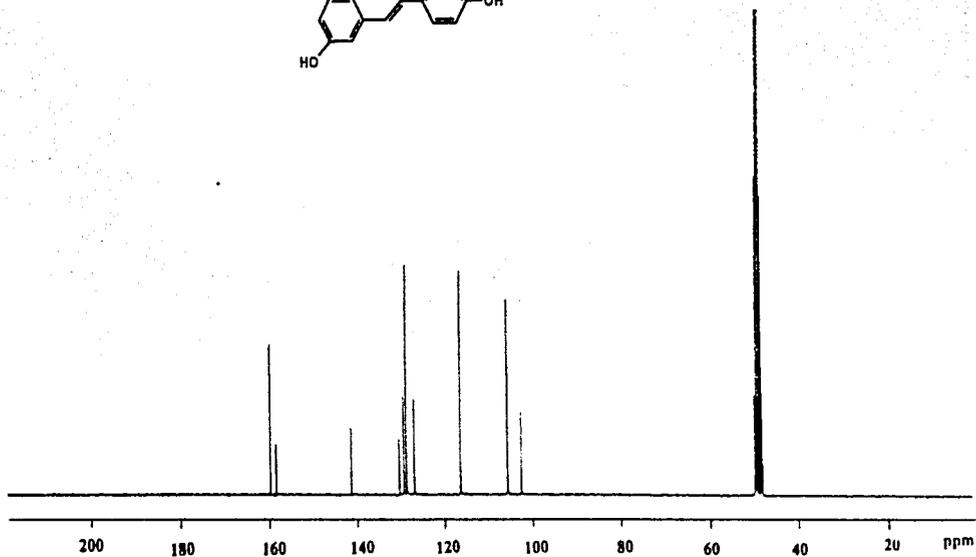
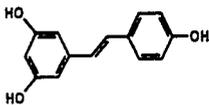


Espectro 7. Espectro de RMN^1H del resveratrol (28) (300 MHz, CD_3OD).

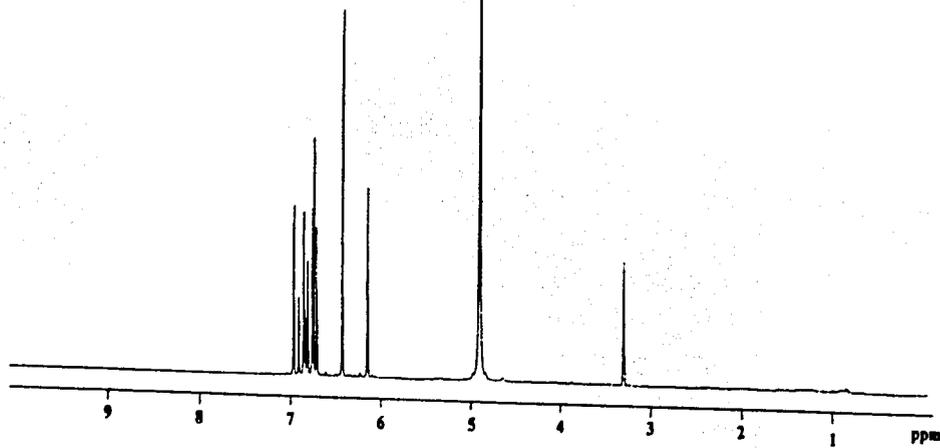
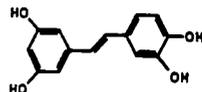
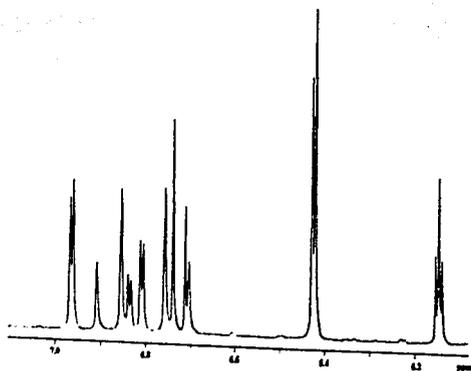
Espectro 7a. Espectro de RMN^1H del resveratrol (28) (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).



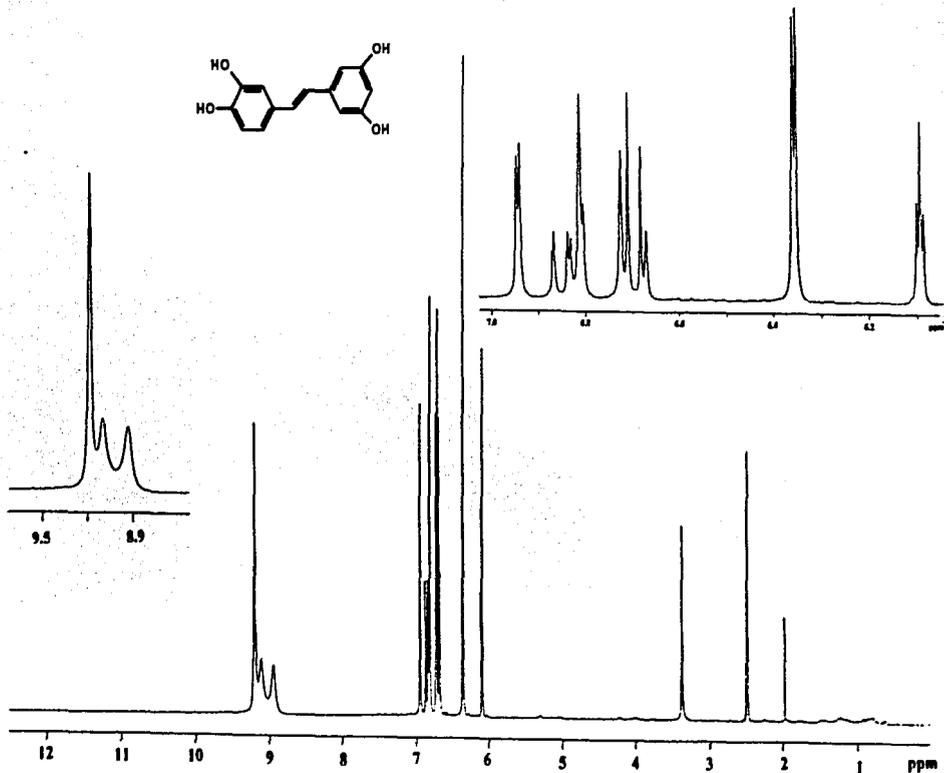
Espectro 7b. Espectro de RMN^1H del derivado acetilado del resveratrol (2B-A) (300 MHz, CD_3OD).



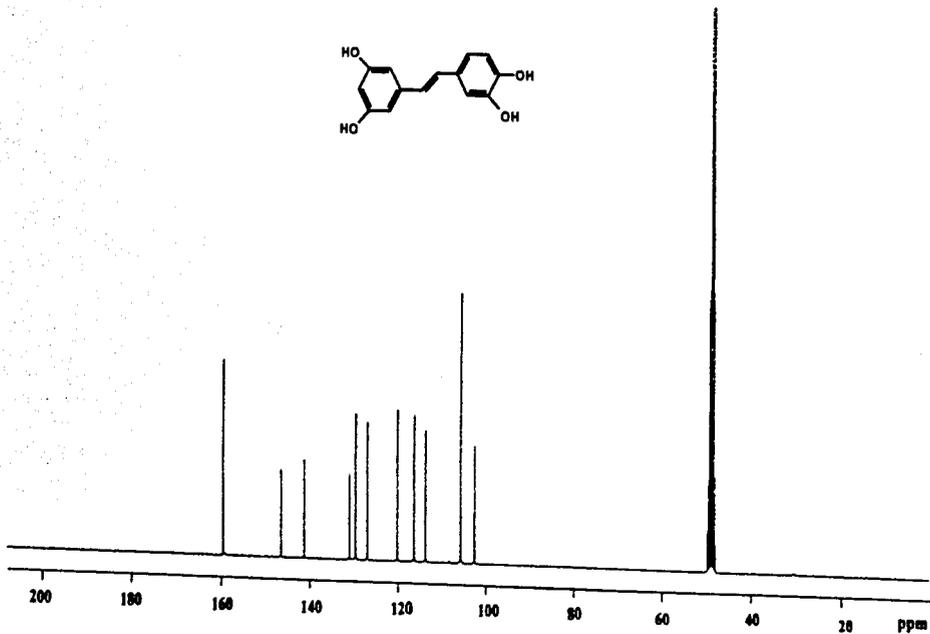
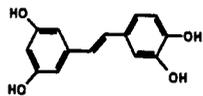
Espectro 8. Espectro de RMN^{13}C del resveratrol (28) (75 MHz, CD_3OD).



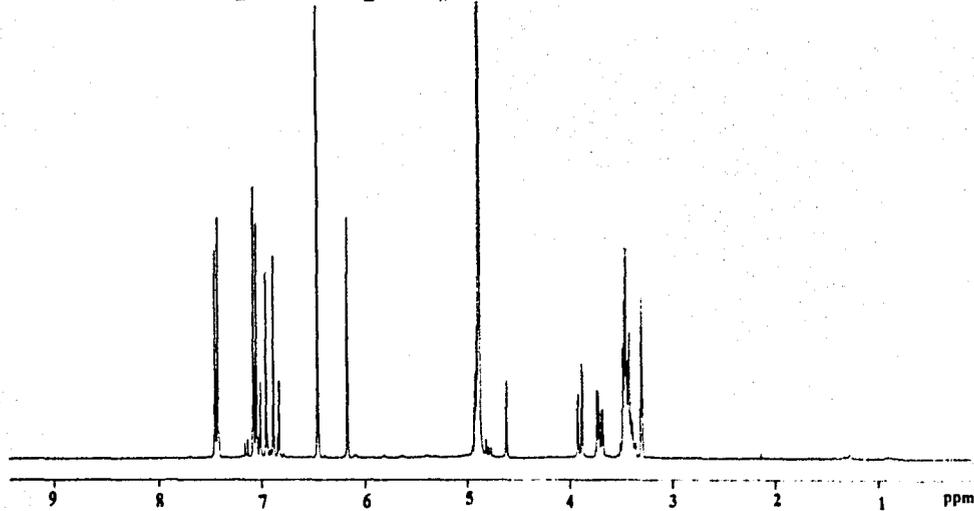
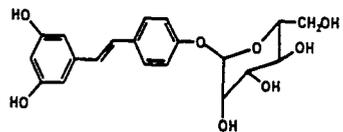
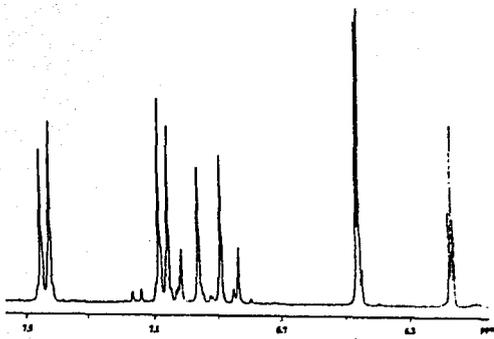
Espectro 9. Espectro de RMN¹H del picetanol (36) (300 MHz, CD₃OD).



Espectro 9a. Espectro de RMN^1H del picatanol (36) (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

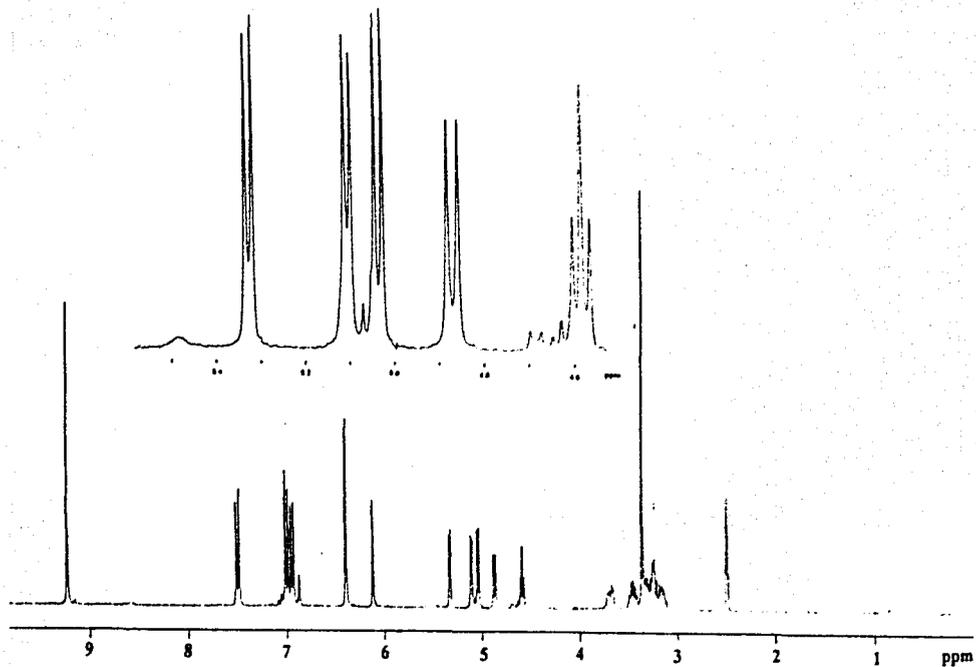
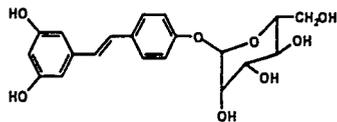


Espectro 10. Espectro de RMN^{13}C del picatanol (36) (75 MHz, CD_3OD).

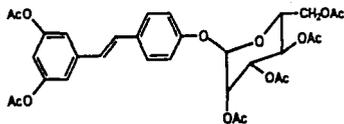


74

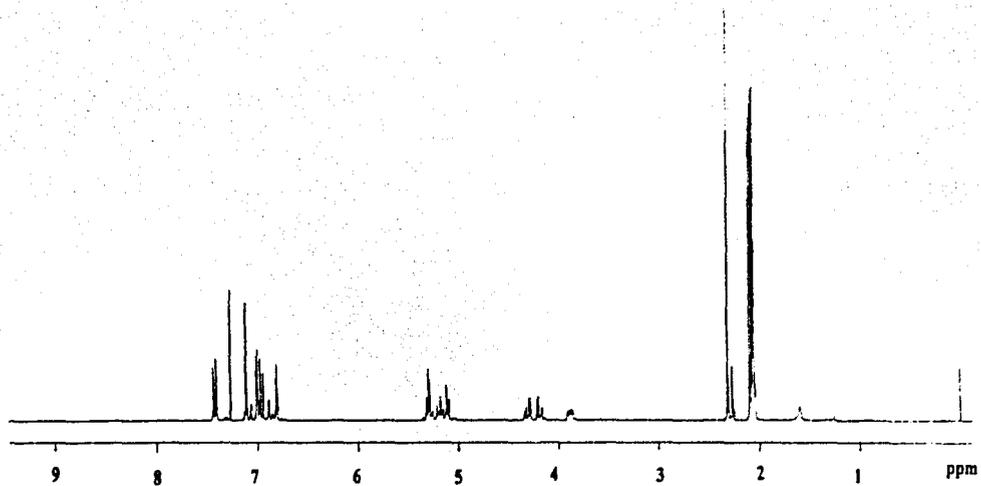
Espectro 11. Espectro de RMN¹H del 4'-O-β-D-glucopiranosido del resveratrol (37) (300 MHz, CD₃OD).



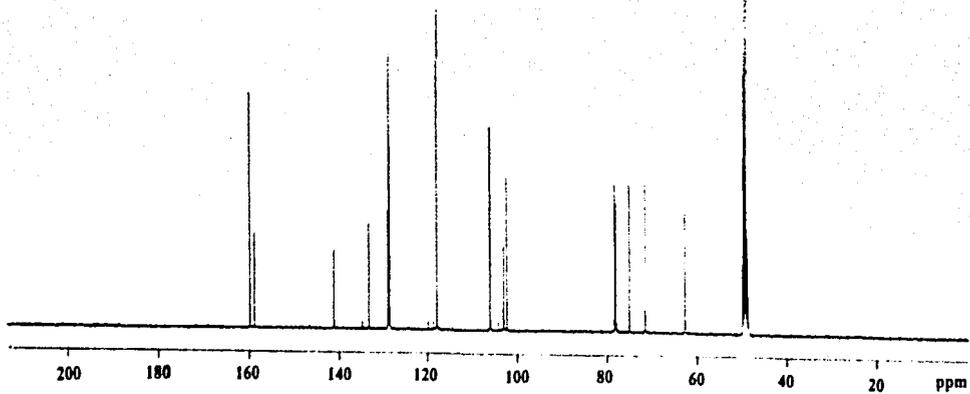
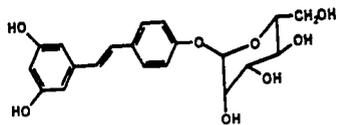
Espetro 11a. Espetro de RMN¹H del 4'-O-β-D-glucopiranosido del resveratrol (37) (300 MHz, DMSO-*d*₆).



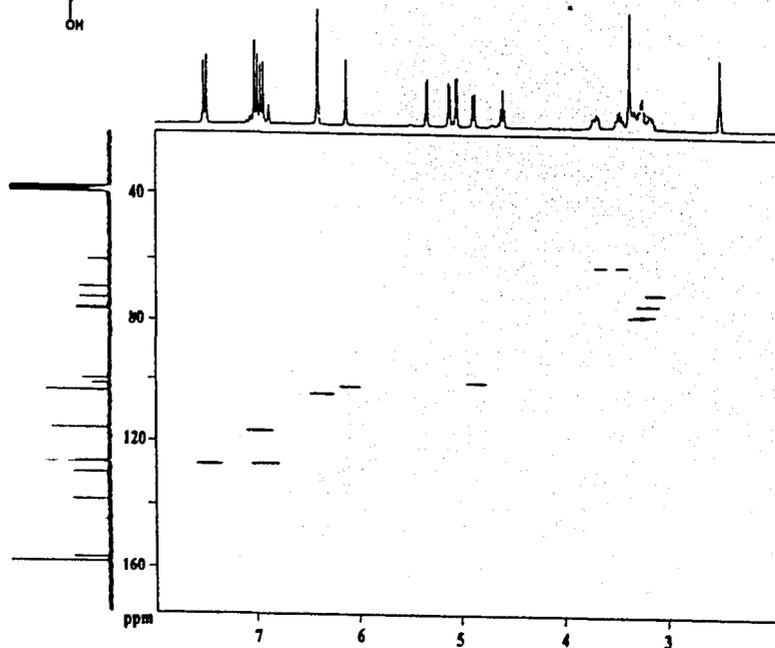
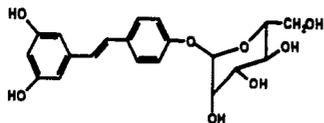
76



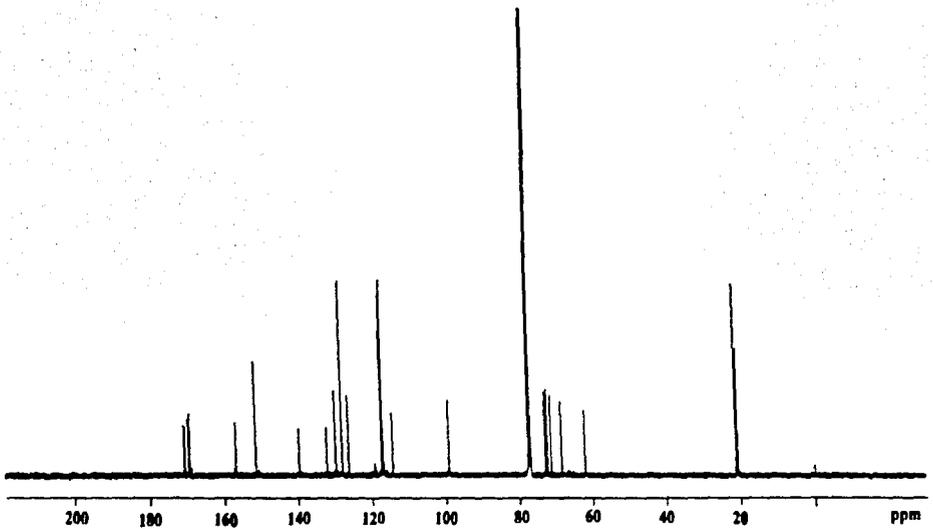
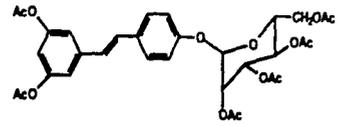
Espectro 11b. Espectro de RMN¹H del derivado acetilado del 4'-O-β-D-glucopiranosido del resveratrol (37-A)
300 MHz, CDCl₃.



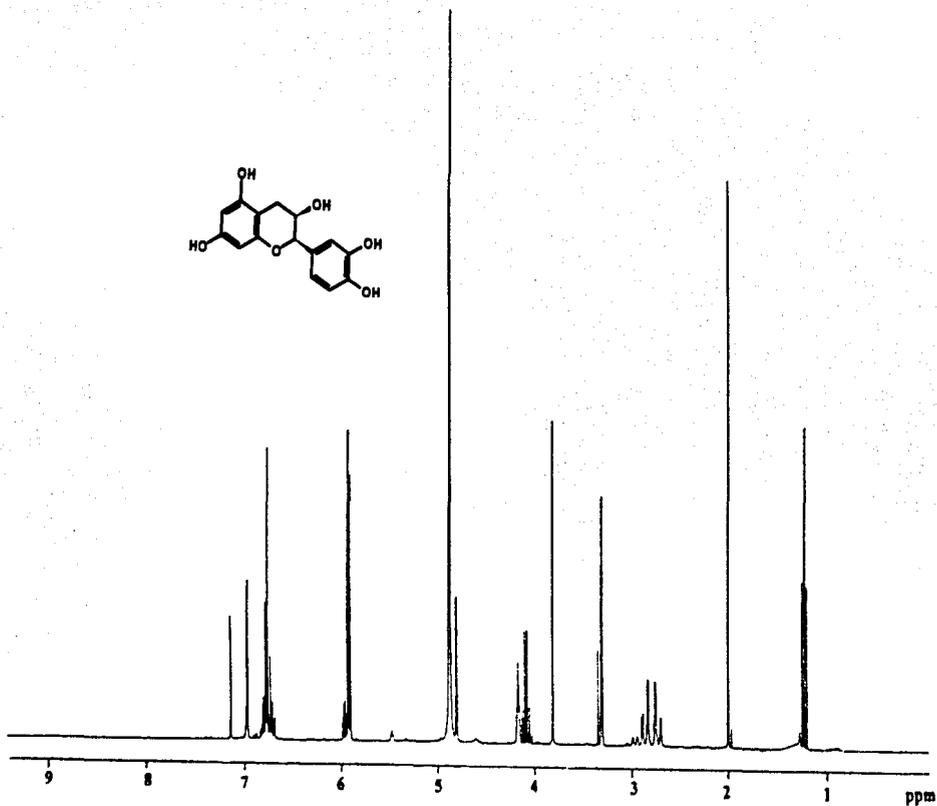
Espectro 12. Espectro de RMN ^{13}C del 4'-O-β-D-glucopiranosido del resveratrol (37) (75 MHz, CD $_3$ OD).



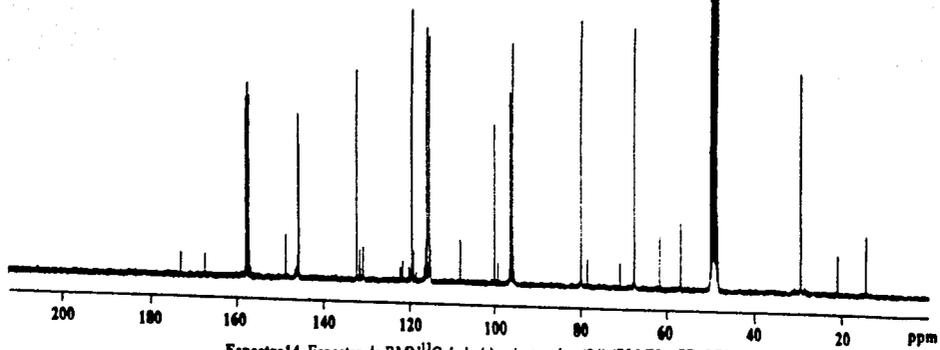
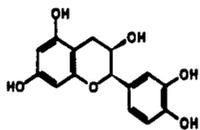
Espectro 12a. Vista parcial del espectro de RMN¹³C bidimensional HETCOR del 4'-O-β-D-glucopiranosido del resveratrol (37) (75 MHz, DMSO-d₆).



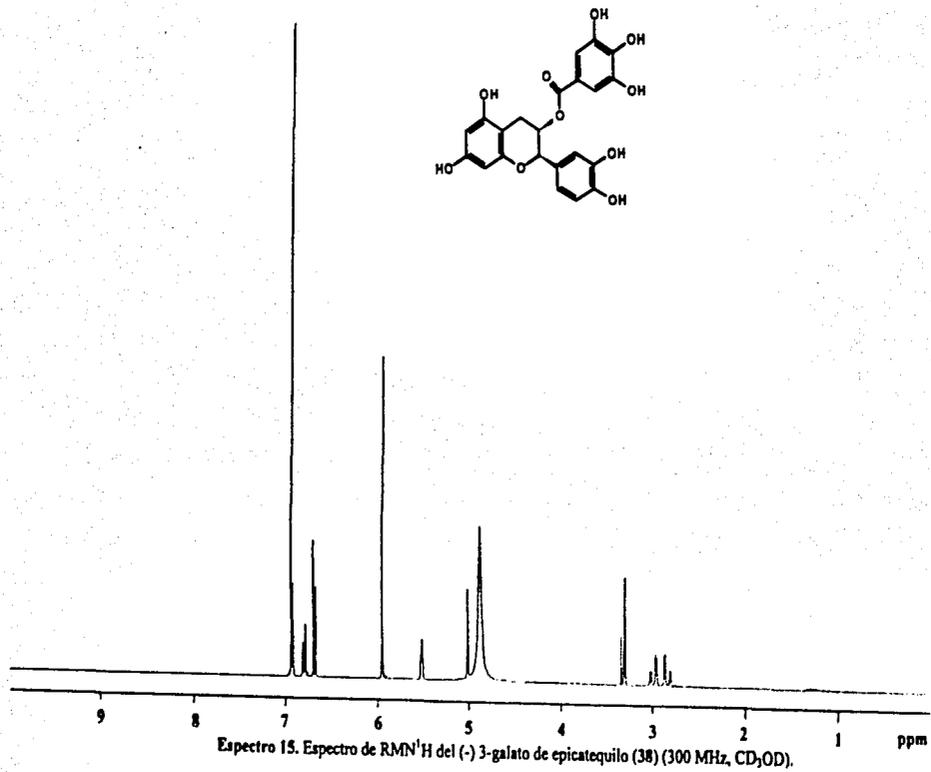
Espectro 12b, Espectro de RMN¹³C del derivado acetilado del 4'-O-β-D-glucopiranosido del resveratrol (37-A) (75 MHz, CDCl₃).

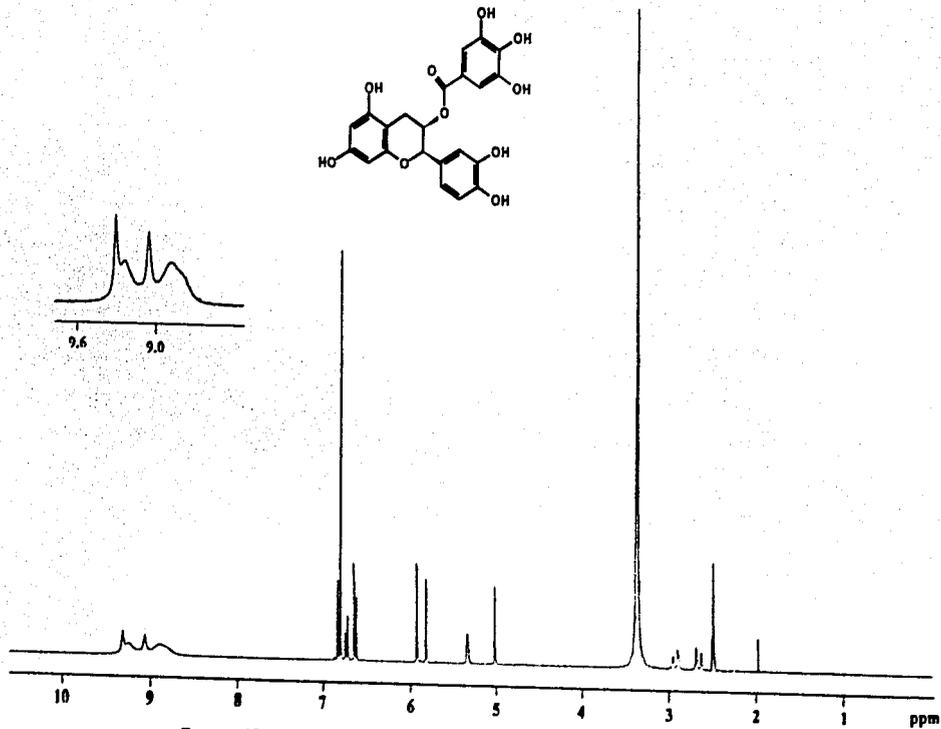


Espectro 13. Espectro de RMN¹H de la (-)-epicatequina (24) (300 MHz, CD₃OD).



Espectro 14. Espectro de RMN^{13}C de la (-) epicatequina (24) (75 MHz, CD_3OD).





Espectro 15a. Espectro de RMN^1H del (-) 3-galato de epicatequilo (38) (300 MHz, $\text{DMSO-}d_4$).

