

157



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO QUIMICO Y BIOLOGICO  
PRELIMINAR DE LOS FRUTOS DE  
*Parmentiera edulis* (Bignoniaceae)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLGO

P R E S E N T A :

RAYMUNDO SILVA MARTINEZ



MEXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUIMICA

2002

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

# Paginación

# Discontinua

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE**

*Prof. MARIA REYNA GOMEZ GOMEZ*

**VOCAL**

*Prof. MAURO CRUZ MORALES*

**SECRETARIO**

*Prof. MARIA ISABEL AGUILAR LAURENTS*

**PRIMER SUPLENTE**

*Prof. ROGELIO GREGORIO PEREDA MIRANDA*

**SEGUNDO SUPLENTE**

*Prof. BLANCA ESTELA RIVERO CRUZ*

Sitio de realización de la tesis:

LABORATORIO 125, DEL DEPARTAMENTO DE FARMACIA,  
CONJUNTO "E", DIVISION DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE  
QUIMICA, UNAM, CD. UNIVERSITARIA

**ASESOR:**

*Maria Isabel Aguilar L.*

DRA. MARIA ISABEL AGUILAR LAURENTS

**SUSTENTANTE:**

*Silva Martinez Raymundo*

SILVA MARTINEZ RAYMUNDO

Vuestros hijos no son vuestros,  
Son hijos del anhelo de la vida.  
..... Podéis es forzaros por ser como ellos  
mas no intentéis hacerlos como vosotros  
porque la vida no se detiene, ni retrocede  
con el ayer.

*Versa del poema De las niña: "El Profeta"*

## AGRADECIMIENTOS

El trabajo experimental de esta tesis se realizó mediante el apoyo otorgado a través de las siguientes personas y lugares:

A la UNAM, por la oportunidad de permitirme tener un futuro mejor.

A la Facultad de Química, por la formación de hábitos y forjarme una base sólida para representarla con respecto y dignidad.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) mediante el Proyecto IN206900.

A la Q.F.B. Rosa I. del Villar y Q.F.B. Oscar Yañez de la USAI (Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación), F.Q. de la UNAM por el registro de los espectros de RMN de los compuestos obtenidos.

A la Q. Maricela Gutiérrez de la USAI, por el registro de los espectros de I.R.

A la Q. Georgina Duarte L. de la USAI, por el registro de los espectros de masas.

A la Bióloga Gilda Ortiz Calderón y al Sr. Francisco Ramos Marchena del Herbario del Instituto de Biología, UNAM por la identificación de la planta.

Al Q.F.B. Daniel Alonso C. del Centro de Investigación Biomédica del Sur, IMSS por la realización de las pruebas de citotoxicidad.

Al M. en C. Víctor Navarro del Centro de Investigación Biomédica del Sur, IMSS por la realización de las pruebas antimicrobianas.

A los miembros del jurado designado por la revisión del manuscrito de tesis, por sus análisis, comentarios y observaciones.

Por último, deseo agradecer de manera muy especial a la Dra. *MARIA ISABEL AGUILAR LAURENTS* por su guía, enseñanza, apoyo, paciencia, entusiasmo, cariño, experiencia y conocimiento a lo largo de esta tesis, uno de los tantos pilares fundamentales de mi formación profesional.

## DEDICATORIAS

A Dios; por la oportunidad de poder llegar y cumplir un sueño

A mis padres; Raymundo Silva C. y Ledia Martínez S., con todo mi amor y cariño incondicional, les dedico la presente Tesis

A mi hermana; Alejandra Silva M. (la flaca) por los momentos felices en la vida

A mis abuelos donde quieran que estén

A mi familia; Silva y Martínez por su apoyo y el cariño que les tengo a mis tíos (as), primos (as), sobrinos (as), los que están lejos y cerca de uno y los ausentes donde quieran que estén

A mi tía querida; Raquel Zamora G., por el apoyo que me brindo y la oportunidad de seguir adelante en la vida y poder alcanzar un sueño

A mis profesores; quienes he tratado, por su guía, enseñanza, su apoyo y su gran experiencia que recibí de todos aquellos profesores que estuvieron en el trayecto de mis estudios

A mis compañeros; con quienes conocí en los momentos felices y difíciles, así como el personal de todas las instituciones que he llegado a conocer y en particular a la Dra. Elena Gpe. Ramírez por su compañía

A mis amigos; de las generaciones que he tratado, por su compañía y su amistad

A mis mejores amigos; Oswaldo Luis Reyes G., Ricardo Candía P. y José Alberto Cabañas G., por su cariño, por los momentos difíciles, paciencia, entusiasmo, amistad, apoyo, a lo largo de vida, siempre estarán presentes en mi corazón

De igual manera agradecer a todos aquellos que en algún momento de mi vida han sido ejemplo de superación y amistad



## INDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
LISTA DE CUADROS.....	x
LISTA DE ESPECTROS.....	xi
LISTA DE ESQUEMAS.....	xii
LISTA DE FIGURAS.....	xii

## CONTENIDO

### 1. INTRODUCCIÓN

1.1	OBJETIVOS.....	6
1.1.1.	General.....	6
1.1.2.	Particular.....	6

### 2. ANTECEDENTES

2.1	Generalidades de la familia Bignoniaceae.....	8
2.1.1.	Descripción botánica de la familia Bignoniaceae.....	8
2.1.2.	Usos de algunas especies de la familia Bignoniaceae.....	10
2.2	Generalidades de <i>Parmentiera edulis</i> .....	12
2.2.1.	Descripción morfológica, botánica y ecología.....	12
2.2.2.	Etnobotánica y antropología.....	15
2.3	Generalidades de carbohidratos y lípidos.....	16

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1	Material y equipo utilizado.....	19
3.1.1.	Reacción general de acetilación.....	20
3.1.2.	Reacción general de metilación.....	20
3.2	Material vegetal.....	20
3.3	Extracción y fraccionamiento preliminar.....	21
3.4	Determinación de la actividad tóxica en el crustáceo <i>Artemia salina</i> .....	22





3.4.1.	Preparación de los organismos y muestras.....	22
3.4.2.	Bioensayo .....	22
3.5	Determinación de la actividad antimicrobiana por el método bioautográfico.....	23
3.6	Determinación de la Actividad Antimicrobiana (CMI).....	24
3.7	Determinación de la Citotoxicidad en líneas celulares a los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico.....	25
3.8	Análisis Cromatográfico y espectroscópico del Extracto hexánico.....	26
3.8.1.	Aislamiento de la mezcla constituida por los ácidos tetradecanoico (mirístico) (5), hexadecanoico (palmitico) (6), octadecenoico (7) y octadecanoico (estearico) (8).....	28
3.8.1.1.	Metilación de las fracciones primarias 13-22 del extracto hexánico.....	29
3.9	Análisis Cromatográfico y espectroscópico del Extracto clorofórmico.....	30
3.9.1.	Aislamiento de la mezcla constituida por los ácidos palmítico (6) y estearico (8) y por los alcoholes octacosanol (13), 1-triacontanol (14), dotriacontanol (15) y tetratriacontanol (16).....	31
3.9.2.	Identificación del ácido cinámico (17) de la mezcla de la fracción 439-444.....	32
3.10	Análisis Cromatográfico y espectroscópico del Extracto metanólico.....	33
3.10.1.	Aislamiento de $\beta$ -D-glucopiranosido de etilo (18).....	34
3.10.1.1.	Acetilación de la fracción primaria 45-59.....	34
3.10.2.	Elucidación estructural de la mezcla de azúcares constituida por la $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23), $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25) contenidos en la fracción primaria 80-83.....	35
3.10.2.1.	Acetilación de la fracción primaria 80-83 constituida por la mezcla de $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23), $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25).....	35

#### 4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1	Aislamiento de los compuestos del extracto hexánico.....	40
4.1.1	Análisis biológico.....	40
4.1.2	Análisis cromatográfico.....	41
4.1.3	Análisis cromatográfico de gases y espectroscópico.....	41
4.1.4	Análisis cromatográfico de gases y espectroscópico de la fracción 13-24.....	42
4.2	Aislamiento de los compuestos del extracto clorofórmico.....	43
4.2.1	Análisis biológico.....	43
4.2.2	Análisis cromatográfico.....	44



4.2.3	Análisis cromatográfico de gases y espectroscópico de la fracción 21-144.....	44
4.2.4	Análisis cromatográfico de gases y espectroscópico de la fracción 439.....	45
4.3	Aislamiento de los compuestos del extracto metanólico.....	46
4.3.1	Aislamiento de $\beta$ -D-glucopiranosido de etilo (18).....	46
4.3.1.1	Análisis cromatográfico.....	46
4.3.1.2	Análisis cromatográfico y espectroscópico.....	47
4.3.2	Aislamiento de la mezcla de $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23), $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25).....	48
4.3.2.1	Análisis cromatográfico.....	48
4.3.2.2	Análisis cromatográfico de gases y espectroscópico de la fracción 80-83.....	48
5.	CONCLUSIONES.....	51
6.	GLOSARIO.....	54
7.	BIBLIOGRAFIA.....	58
8.	ANEXO (Espectros).....	63



## LISTA DE ABREVIATURAS

>	Mayor que	
<	Menor que	
$\delta$	Desplazamiento químico	
ATCC	American Type Culture Collection	
c	Cuarteto	
Ca	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
Cat/Kat	Origen maya (pepino)	
ccf	Cromatografía de capa fina	
CCP	Cromatografía en columna preparativa	
CDCl <sub>3</sub>	Cloroformo deuterado	
CG-EM	Cromatografía de gases espectrometría de masas	
CL <sub>50</sub>	Concentración letal al 50%	
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria	
CH <sub>2</sub> N <sub>2</sub>	Diazometano	
COSY	Espectroscopia de correlación	
d	Doblete	
D.C.	De Candoli	
dc	Doblete de cuarteto	
dd	Doblete de doble	
ddd	Doblete de doble de doble	
DL <sub>50</sub>    LD <sub>50</sub>	Dosis letal 50%	
Ec	<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922
ED <sub>50</sub>	Dosis efectiva 50%	
EMIE	Espectrometría de masas por impacto electrónico	
eV	Electrón Volt	
Fam.	Familia	
FM	Formula molecular	
FQ	Facultad de Química	
HETCOR	Correlación heteronuclear	
Hex	Hexano	
IDH	Indice de deficiencia de hidrógeno	
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social	
INI	Instituto Nacional Indigenista	
IR	Espectroscopia infrarroja	
J	Constante de acoplamiento	
M <sup>+</sup>	Ion molecular	
m	múltiple	
MHz	Mega Hertz	
m/z	Relación masa carga	
N	Normalidad (número de equivalentes de soluto en 1 litro de disolución)	
OMS	Organización Mundial de la Salud	
<i>P. edulis</i>	<i>Parmentiera edulis</i>	
ppm	Partes por millón	
PROBIT	Programa de Análisis de Probabilidad de Finney	



QFB	Químico Farmacéutico Biológica	
R <sub>r</sub>	Factor de retención	
RMN	Resonancia Magnética Nuclear	
RMN <sup>13</sup> C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13	
RMN <sup>1</sup> H-COSY	Resonancia magnética nuclear protónica de correlación espectroscópica	
RMN <sup>13</sup> C-HETCOR	Resonancia magnética nuclear de carbono 13 heteronuclear	
RMN <sup>1</sup> H	Resonancia magnética nuclear protónica	
s	Singlete	
sa	Singlete ancho	
Sau	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213
Sf	<i>Streptococcus faecalis</i>	ATCC 29212
Sh	<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 11060
t	Triplete	
Tm	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	ATCC 28185
TMS	Tetrametilsilano	
Tr	<i>Trichophyton rubrum</i>	ATCC 28188
t.r.	Tiempo de retención	
UV	Luz de ultravioleta	
v <sub>máx</sub>	Frecuencia máxima	
µg	Microgramo	
µL	Microlitro	

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	Metabolitos secundarios contenidos en algunas especies de la familia Bignoniaceae.....	10
Cuadro 2.	Resultado de la determinación de la actividad tóxica a <i>Artemia salina</i> de los extractos probados.....	22
Cuadro 3.	Resultado de la determinación de la CMI a los extractos probados.....	24
Cuadro 4.	Resultado de la determinación de la citotoxicidad de los extractos probados.....	25
Cuadro 5.	Fraccionamiento obtenido mediante cromatografía en columna del extracto hexánico de <i>P. edulis</i> .....	26
Cuadro 6.	Resultado de la determinación de la actividad antimicrobiana de las fracciones más activas procedentes del fraccionamiento primario del extracto hexánico.....	27
Cuadro 7.	Resultado de la determinación de la citotoxicidad de las fracciones del extracto hexánico...	27
Cuadro 8.	Fraccionamiento obtenido mediante cromatografía en columna del extracto cloroformico de <i>P. edulis</i> .....	30
Cuadro 9.	Fraccionamiento mediante la cromatografía en columna del extracto metanólico de <i>P. edulis</i> .....	33



## LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1. Espectro de IR de la mezcla de los ácidos mirístico (5), palmítico (6), octadecenoico (7) y esteárico (8).....	63
Espectro 2. Espectro de RMN <sup>1</sup> H de la mezcla de los ácidos mirístico (5), palmítico (6), octadecenoico (7) y esteárico (8).....	64
Espectro 3. Espectro de masas por impacto electrónico del ácido mirístico (5).....	65
Espectro 4. Espectro de masas por impacto electrónico del ácido palmítico (6).....	66
Espectro 5. Espectro de masas por impacto electrónico del ácido octadecenoico (7).....	66
Espectro 6. Espectro de masas por impacto electrónico del ácido esteárico (8).....	67
Espectro 7. Espectro de IR de la mezcla de los ésteres metílicos de los ácidos mirístico (9), palmítico (10), octadecenoico (11) y esteárico (12).....	68
Espectro 8. Espectro de RMN <sup>1</sup> H de la mezcla de los ésteres metílicos de los ácidos mirístico (9), palmítico (10), octadecenoico (11) y esteárico (12).....	69
Espectro 9. Espectro de masas por impacto electrónico del éster metílico del ácido tetradecanoico (9).....	70
Espectro 10. Espectro de masas por impacto electrónico del éster metílico del ácido hexadecanoico (10).....	71
Espectro 11. Espectro de masas por impacto electrónico del éster metílico del ácido octadecenoico (11).....	71
Espectro 12. Espectro de masas por impacto electrónico del éster metílico del ácido octadecanoico (12).....	72
Espectro 13. Espectro de IR del extracto clorofórmico.....	73
Espectro 14. Espectro de IR de la fracción 21-144, mezcla de los ácidos palmítico (6), esteárico (8), octacosanol (13), 1-triacontanol (14), dotriacontanol (15) y tetratriacontanol (16).....	74
Espectro 15. Espectro de masas por impacto electrónico del octacosanol (13).....	75
Espectro 16. Espectro de masas por impacto electrónico del 1-triacontanol (14).....	76
Espectro 17. Espectro de masas por impacto electrónico del dotriacontanol (15).....	76
Espectro 18. Espectro de masas por impacto electrónico del tetratriacontanol (16).....	77
Espectro 19. Espectro de IR de la mezcla de la fracción 439-444.....	78
Espectro 20. Espectro de masas por impacto electrónico del ácido cinámico (17).....	79
Espectro 21. Espectro de IR de la mezcla del monosacárido β-D-glucopiranosido de etilo (18).....	80
Espectro 22. Espectro de IR del 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosido de etilo (19).....	81
Espectro 23. Espectro de RMN <sup>1</sup> H 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosido de etilo (18).....	82
Espectro 24. Espectro de masas por impacto electrónico del 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosido de etilo (19).....	83
Espectro 25. Espectro de IR de la mezcla de la fracción primaria 80-83.....	84



Espectro 26. Espectro de IR de la mezcla de $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23), $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25).....	85
Espectro 27. Espectro de RMN <sup>1</sup> H de la mezcla de $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23), $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25).....	86
Espectro 28. Espectro de RMN <sup>13</sup> C de la mezcla de $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23), $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25).....	87
Espectro 29. Espectro de RMN <sup>1</sup> H-COSY de la mezcla de $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23), $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25).....	88
Espectro 30. Espectro de RMN <sup>13</sup> C-HETCOR de la mezcla de $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23), $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25).....	89
Espectro 31. Espectro de masas por impacto electrónico de la $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23).....	90
Espectro 32. Espectro de masas por impacto electrónico de la $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24).....	91
Espectro 33. Espectro de masas por impacto electrónico de la $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25).....	91

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Fórmulas de metabolitos secundarios presentes en las plantas, animales e insectos.....	4
Esquema 2. Procesamiento de los frutos de <i>Parmentiera edulis</i> .....	21

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotografía de las flores de <i>Parmentiera edulis</i> .....	9
Figura 2. Fotografía de <i>Parmentiera edulis</i> .....	13
Figura 3. Mapa con la localización geográfica de <i>Parmentiera edulis</i> en la República Mexicana donde vegeta.....	14
Figura 4. Fotografía de los frutos de <i>Parmentiera edulis</i> .....	13
Figura 5. Fotografía del resultado de la prueba bioautográfica de los extractos cloroformico y hexánico.....	23
Figura 6. Cromatograma de gases de la mezcla de los ácidos mirístico (5), palmítico (6), octadecenoico (7) y esteárico (8).....	65
Figura 7. Cromatograma de gases de la mezcla de los ésteres grasos.....	70
Figura 8. Cromatograma de gases de la mezcla de los ácidos palmítico (6), esteárico (8) y los alcoholes octacosanol (13), 1-triacontanol (14), dotriacontanol (15) y tetratriacontanol (16).....	75
Figura 9. Cromatograma de gases de la mezcla de la fracción 439-444.....	79
Figura 10. Cromatograma de gases del 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosido de etilo (19).....	83
Figura 11. Cromatograma de gases de la mezcla de $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23), $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25).....	90

## 1. INTRODUCCION



## INTRODUCCION

El gran desarrollo de la ciencia y la tecnología y la gran aplicación racional de los conocimientos que se han generado a través del tiempo, han provisto a la humanidad de bases para su progreso y desarrollo en la sociedad y por otra parte es bien cierto que los conocimientos aportados y acumulados generados por el hacer científico, no se aprovechan por completo como recursos regionales de interés en la población en las áreas definidas; es decir, en poder lograr beneficios en sus entornos.

Las plantas medicinales representan un recurso natural muy importante para ser empleados como materias primas de compuestos con actividad biológica. De hecho su uso para el tratamiento y prevención de enfermedades esta descrito en diversas fuentes que datan de varios miles de años por los sumerios, asirios, egipcios, griegos, romanos y aztecas, entre otros.

El estudio químico y biológico de las plantas medicinales ofrece un medio para el descubrimiento de nuevas fuentes de compuestos bioactivos y de obtención de otros, que aunque ya sean conocidos, pueden aislarse en mayor cantidad. Por otra parte, también existe la posibilidad de validar el uso popular de una planta, corroborando mediante estudios científicos una determinada actividad biológica.

En México, la búsqueda de estas materias primas está en pleno desarrollo; desde 1950 la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), tiene un registro de algunas plantas con el principio activo para el uso humano, por ejemplo; la canela, los aceites esenciales de limón, de epazote, el clavo, almidón de maíz, almidón de papa, celulosa, cera blanca de abeja, carragenina etc., pero actualmente no se conocen en su totalidad estos principios activos aunque existen registros de los Estudios de las Plantas Medicinales Mexicanas (IMEPLAM), los esfuerzos para descubrir y desarrollar nuevos fármacos son grandes.

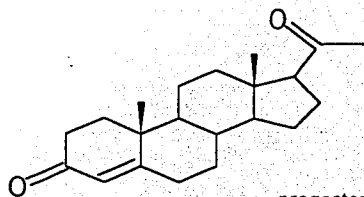




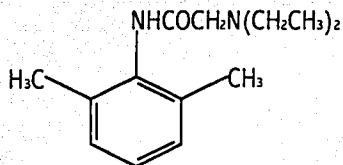
En el desarrollo de esta tesis en particular, mediante el estudio de la planta denominada *Parmentiera edulis*, busca encontrar estos principios activos ó compuestos que ofrecen un gran potencial en la alternativa del uso como fármacos ó en algún campo de la biología, química, medicina, etc., ya que es muy importante la búsqueda de compuestos que puedan ayudar a mejorar la calidad de vida de la humanidad y en general de los seres vivos en este planeta.

La gran dependencia tecnológica de los países en desarrollo, ha generado la disminución en la investigación y aprovechamiento de los recursos naturales propios para lograr explotar racionalmente y conservar estos recursos, producto de la gran biodiversidad en la que se reconoce un potencial, no solo en el presente sino hacia el futuro, y más en manifiesto con relación a la salud humana, donde se busca la conservación de la vida. Actualmente no se dispone de los datos necesarios para precisar el valor de la difusión del uso de las plantas ó de los principios activos de ellas derivados en los sistemas de salud de los distintos países del mundo, sin embargo; la OMS, estima que el 80% de la población mundial principalmente de los países en vías de desarrollo, confía en la medicina tradicional para solucionar necesidades de salud,,y gran parte de las terapias tienen como base las plantas ó sus principios activos.

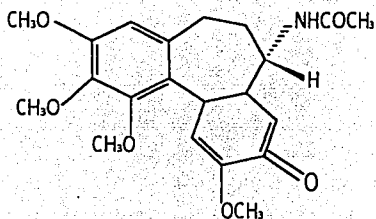
En Estados Unidos de América el 25% de las prescripciones médicas descritas desde 1959 hasta 1980, contienen productos provenientes de plantas como extractos o compuestos activos. En Japón solo el 20% desde 1981 a 1983, y en Alemania el 35 y 40% en los mismos años. Muchos de los productos de origen natural en el área de síntesis, sirven como materia prima. Los fármacos semisintéticos por ejemplo: hormonas esteroidales como la progesterona (1) se obtienen a partir de la diosgenina, los fármacos naturales resultan una gran importancia ya que se pueden sintetizar analogos a ellos con una mayor potencialidad en la actividad biológica, por ejemplo; los anestésicos locales como la benzocaína, la lidocaína (2) y la procaína, se sintetizaron a partir de la cocaína. Otro ejemplo lo presenta la colchicina (3) y los ésteres de acil glucosido (4) (Esquema I).



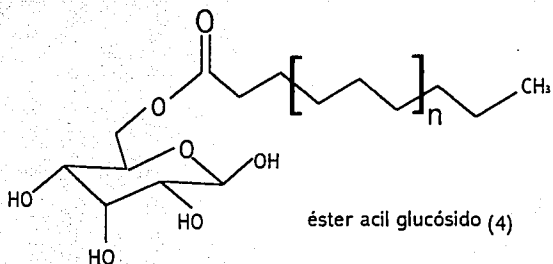
progesterona (1)



lidocaína (2)



colchicina (3)



éster acil glucósido (4)

Esquema 1. Fórmula de metabolitos secundarios presentes en las plantas, animales e insectos.

## 1.1 OBJETIVOS



## OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo general

Determinar la potencialidad antimicrobiana y citotóxica de los frutos de *Parmentiera edulis* para la obtención en su caso, de metabolitos secundarios que puedan tener una aplicación como agentes antiinfecciosos y citotóxicos. Para lograr lo anterior, se proponen los siguientes objetivos particulares:

### 1.1.2 Objetivo particular

1. Investigación bibliográfica de los antecedentes de investigación etnobotánica, química y biológica de *Parmentiera edulis*
2. Preparación de los extractos clorofórmico, hexánico y metanólico de *Parmentiera edulis*
3. Fraccionamiento biodirigido de los extractos del punto anterior empleando análisis con *Artemia salina*, antimicrobianos y de citotoxicidad
4. Aislamiento y caracterización estructural en su caso, de los componentes presentes en las fracciones bioactivas
5. Determinación de la estructura molecular de los compuestos activos por medio de técnicas físicas, químicas, espectroscópicas y espectrométricas

## 2. ANTECEDENTES



## ANTECEDENTES

### 2.1 Generalidades de la familia Bignoniaceae

#### 2.1.1. Descripción botánica de la familia Bignoniaceae

Familia de plantas dicotiledóneas, muy semejante a la de las escrofulariáceas, representada por árboles ó arbustos, volubles, destrorsos ó trepadores con ayuda de zarcillos foliáceos, frecuentemente lianas, con las hojas opuestas, bofoliadas, trifoliadas, pinnado ó palmeado-compuestas, rara vez sencilla, sin estipulas; flores hermafroditas, irregulares, pentámeras, con corolas labiadas ó acampanadas irregulares; cinco estambres casi siempre, de los cuales cuatro son didínamos provistos de antenas biloculares e introrsa, y el restante queda reducido a un filamento delgado; ovario envuelto en su base por un anillo glanduloso, carnoso, bilocular, con dos placentas multiovuladas en cada cavidad; fruto cápsula poliperma loculicida ó septifraga ó siliciforme conteniendo muchas semillas, ordinariamente son un ala membranosa y siempre desprovistas de albumen (Enciclopedia, 1974).

Se conocen unas 450 especies esparcidas por casi todas las regiones cálidas del globo, pero principalmente en América del sur, de las cuales se conocen dos especies en Panamá y México, una de ellas es la *Parmentiera cerifera* ó el árbol de las bujías (Panamá) con frutos amarillos, colgantes, todo el año y que sirve de pasto muy apetecido por el ganado en tiempo seco y *Parmentiera edulis* (figura 1) con fruto de pepino (México), se emplea para combatir el dolor de riñones, su fruto en el tratamiento de diabetes mellitus y para padecimientos tan diversos como el dolor de cabeza, cálculos biliares, la sordera y la diarrea (Diccionario, 1972).



Figura 1. Fotografía de las flores de *Parmentiera edulis* (WWW.waynesword)

2.1.2. Usos de algunas especies de la familia Bignoniaceae

Cuadro 1. Metabolitos secundarios contenidos en algunas especies de la familia Bignoniaceae

Nombre de la planta	Localización	Usos	Compuestos
<i>Arrabidaea floribunda</i> (Kunth) Loes	Oaxaca y Quintana Roo	Tratamiento para la tos	Desconocido
<i>Arrabidaea vittoralis</i> (Kunth) Standley	Oaxaca		Desconocido
<i>Astrianthus viminalis</i> (Kunth) Baillon	Michoacán y Jalisco	Tratamiento del mal nefrítico, aborto, paludismo, hepatitis, hemorragia	En el tallo y raíz: triterpenos, ácidos oleanólicos y ursólico, inidoides campenósido y 5-hidroxycampenósido y algunos grupos fenólicos, ácido cinámico y p-metoxicinámico
<i>Crescentia alata</i> (Kunth)	Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Sonora y Edo. de México	Afecciones respiratorias, trastornos ginecológicos, problemas de la piel, diarrea, disenteria, indigestión, úlcera, riñón, dolor de oído, insomnio	En el fruto: aceites grasos, pepsina ácida, ácido tánico y pectina. En la flor: dos glucósidos de flavonoide, rutinósido y el glucósido de cianidina
<i>Crescentia cujete</i> L.	América	Tratamiento del asma, bronquitis, tos, gripe y fortalecer el pulmón, trastornos de la matriz, provocar ó acelerar el aborto, dolor de oído, fiebre, vómito	La hoja: ácido cafeico, La semilla: ácido oleico, linoleico, palmítico y esteárico, glucósidos cianogénicos y polifenoles y en la pulpa del fruto: ácido cianhidrico y otros: ácidos cítrico, clorogénicos y tártrico y glucósidos cianogénicos



<i>Cyclista potosina</i> (Schum & Loes) Loes	Quintana Roo, San Luis Potosi y Yucatán		Desconocido
<i>Kigelia pinnata</i>	África		Desconocido
<i>Macfadyena unguis cati</i> (L.) A. Gentry	Oaxaca y Sonora	Inflamación intestinal y disminuye la fiebre muy usados para la mordedura de víbora las partes más usadas de la planta son las ramas y hojas.	Desconocido
<i>Tabebuia rosea</i> (Bertol) D.C.	Oaxaca y Tabasco	Disminuye la calentura, muy empleada la corteza para la disentería y fiebre, inflamación de estómago y reuma	La raíz y el tronco: compuestos quinoides, lapachol y deshidro $\alpha$ y $\beta$ lapachona El tronco: derivados de naftofurandiona, compuestos fenólicos como ácido p-cumárico, monoterpenos isoociósido triterpeno, lupeana y $\beta$ -sitosterol y las flores ácido cafeico, p-hidroxicumárico y ferúlico, flavonoide glucósido y rutinósido de cianidín
<i>Tabebuia chrysantha</i> (Jacq) Nicholson	Originario de Venezuela, Oaxaca y Tabasco	Tratamiento de anemia, dolor abdominal y estreñimiento	Desconocido
<i>Tecoma stans</i> (L.) Juss ex Kunth "la Tronadora"	América	Diabetes, dolor de estómago, disentería, bilis gastritis, anorexia, problemas de hígado, fiebre desinflamación por golpes, analgésico y como tónico en la borrachera y en post-parto, en el tratamiento de la sífilis, trastornos ginecobstétricos	La hoja: alcaloides monoterpénicos actidina, boshniakina, tecomanina, tecostatina y tecostidina, alcaloides del indol, eslantol y triptamina, compuestos: fenólicos como el ácido cafeico, p-cumarico y ferúlico y flavonoide ácido siringico. La flor: flavonoides glucósidos y rutinósido de cianidín



## 2.2 Generalidades de *Parmentiera edulis*

Francisco Hernández, en el siglo XVI (Argueta, 1994) descubre las acciones de esta planta como anticatarral, diurético, para la sordera por el frío; a mediados del siglo XVIII, Ricardo Ossado señala su acción directa sobre la vejiga, siendo muy utilizado para el dolor nefrítico. Ya para el siglo XX, Maximino Martínez refiere los usos como anticatarral, antidiabético, catártico, diurético, para fiebre tifoidea, gastroenteritis, nefritis, otitis externa, sedante, para sordera y lava las vías urinarias, y años después la Sociedad Farmacéutica de México la ha reportado como diurético y para otitis externa, pero en realidad existe muy poca información química existente sobre la planta. De las flores se han aislado los flavonoides  $\beta$ -glucósido y  $\beta$ -rutinosido de cianidina, y en la corteza del tallo la presencia de taninos y  $\beta$ -sitosterol (Argueta, 1994) y recientemente se ha reportado la actividad hipoglucemiante de los frutos en experimentos con ratones (Pérez Gutiérrez, 1998).

### 2.2.1. Descripción morfológica, botánica y ecología

Es una planta originaria de México y Guatemala, habitando en zonas de clima cálido, semicálido y templado, es una especie nativa, cultivada en huertos familiares, en calles ó banquetas, con vegetación circundante de bosques tropicales caducifolio, subcaducifolio y perennifolio, matorral xerófilo, bosque espinoso, bosque mesófilo de montaña y bosque mixto de pino-encino (Argueta, 1994).

Las características de la planta son las siguientes: el árbol de 4 a 9 m (Martínez, 1989) y hasta 15 m de altura (Argueta, 1994), de tronco grueso y leñoso, con numerosas ramas esta protegido por espinas cortas (2 espinas en la base de la hoja), las hojas de 5 folíolos oblongo elípticos y agudos en ambas extremidades, de color verde claro, pecíolos a los lados, las flores son solitarias ó en grupo de color verdoso ó blanquizco de forma irregular de 5 a 8 cm, creciendo directamente del tronco. Los frutos en forma de plátano de 16 a 19 cm por 2 a 5 cm de ancho de color verde rojizo ó amarillento y de gran número de semillas morenas y pequeñas, jugosos con sabor dulce y comestible, que florece en invierno. El árbol de pepino ó árbol espinoso, tiene virtudes que residen en todo él, su fruto es bueno para puchero y ensalada, también para el mal de orina para toda purgación y males nefríticos (Enciclopedia, 1974) (Figura 2).



Figura 2. Fotografía de *Parmentiera edulis* (WWW.holisticopia)

Nombre botánico: *Parmentiera edulis* D.C (Barrera et al., 1976), *Parmentiera aculeata*, *Crescentia edulis* Desv., Moc. & Sessé, *Crescentia aculeata* Kunth, *Crescentia musaecarpa* Zaldivar ex Heller. Fam. *Bignoniaceae*. Nombre vulgar: Guajilote, Cuachilote, Chayote, Chucho, Flor de cuajilote, Guachilote, Huajilote, Palo de cuajilote, Palo de jilote, Pepino de monte, Platanillo (Boronda, 1994; Martínez, 1989). En Tamaulipas y San Luis Potosí: Chote, Tsote' (tenek), Oaxaca: Guetoxiga, Tzon tesa nion (amuzgo), porand xiel (huave), Yucatán y Quintana Roo: Guauhxilotl, Kat (maya), Chiapas: Turi (Villa flores), Morelos: Cuaxiloc, Cuaxilotl (náhuatl), Puebla: Coxilotl, Ixochingo (náhuatl), Chote, pusni ó Puxni (totonaco), Puch (tepehua) (Figura 4). Lugar donde vegeta; Oaxaca, Chiapas, Tabasco, Veracruz (Jalapa), Hidalgo, Morelos, San Luis Potosí, Sinaloa (Argueta, 1994; Martínez, 1989) (figura 3).



Figura 4. Fotografía de los frutos de *Parmentiera edulis* (WWW.desert-tropicals)

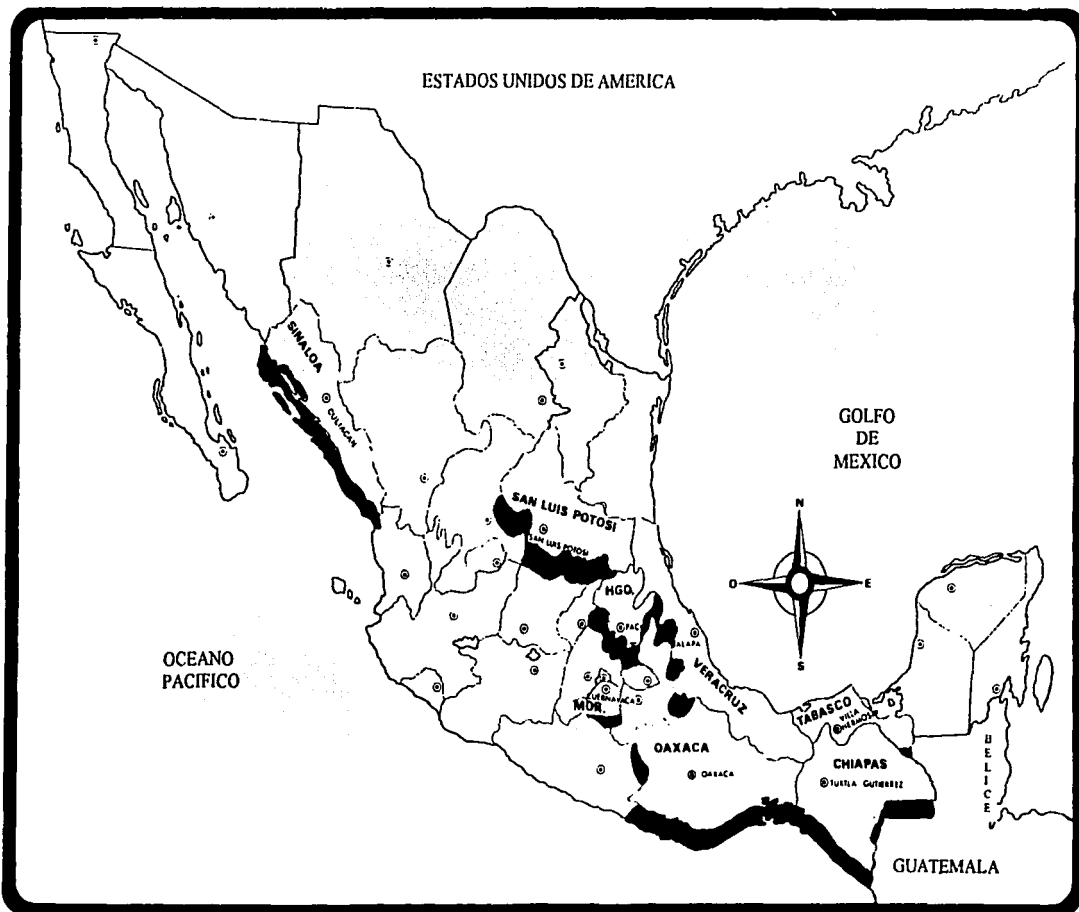


Figura 3. Mapa con la localización geográfica de los estados donde vegeta *Parmentiera edulis* en la República Mexicana (Argueta, 1994)



### 2.2.2. Etnobotánica y antropología

El dolor de riñones es el padecimiento más común en los estados de Hidalgo, Puebla, Distrito Federal y el Estado de México para cual el se emplea el fruto, la raíz ó la corteza, en forma de té. Las partes usadas de la planta en estudio son: hojas, empleadas en infusión ó bien su jugo en casos de inflamación de oído externo ó sordera y como calmante; raíz, la infusión preparada tiene propiedades antidiabéticas (de la misma manera que la "tronadora" ya que pertenece a la misma familia); fruto, se utiliza contra el resfriado y contra la hidropesía tomado el cocimiento (Martínez, 1989).

Se ha utilizado popularmente en el tratamiento de la diabetes mellitus en diversas regiones de los estados de Veracruz, Tabasco, y Chiapas (Pérez Gutiérrez et al., 1998). El preparado de la raíz en forma de té se usa contra hidropesía, del mismo modo que un jarabe hecho con la pulpa del fruto; también se emplea como temperante.

En la homeopatía se usa la corteza contra la fiebre tifoidea y disentería. Las semillas se asan y se comen en el Estado de México, en Veracruz y Quintana Roo, también se come el fruto sancochado y se usa en otros padecimientos de tipo renal como los cálculos en las vías urinarias; en este caso se muele el fruto, se cuele y el extracto se ingiere. Además para el dolor de cabeza se emplea la cocción del fruto con la semilla del melón, sandía y jicaro. No se tiene una preferencia por algunas de las partes, todo depende del padecimiento; por ejemplo, para la tos se ponen a hervir las flores con manzanitas de tejocote y un poco de azúcar, esto se da tibio al paciente durante tres semanas seguidas en ayuno, también se usa en otras enfermedades respiratorias como son: el asma, carrasperas, chichimeca (gripe), catarro, catarro con tos y resfriados. Otras aplicaciones medicinales son: para el espanto, sordera, ataques, fertilidad, diarrea, purificación de la sangre, anticrotalico, antipirético, inflamación de los intestinos, llagas, empacho (causar indigestión), dolor de riñón (cerradas de orines, mal de piedra), purgación quemada, abscesos y también como alimento para el ganado (Argueta, 1994; Boronda, 1994; Martínez, 1979, Martínez, 1989).



### 2.3 Generalidades de carbohidratos y lípidos

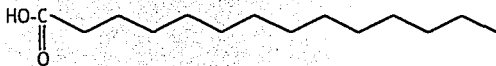
Los frutos de las plantas en general contienen en un 50% de la pulpa lo siguiente; 40-45% agua, 10-20% glicósido y 30% lípidos (Bruneton, 1991). Una pequeña fracción de los glicósidos provenientes del reino vegetal es utilizable para la nutrición humana, ya que por la falta de enzimas apropiadas no pueden ser degradados en sus formas monoméricas, por ejemplo; la celulosa, xilana, pectina etc., la mayoría de estos glucósidos se ingiere como almidones (amilasa y amilopectina), como glucógeno ó como disacáridos (sacarosa, maltosa o lactosa), muy pocos monosacáridos como tales, están presentes en la dieta de origen animal y vegetal.

Los carbohidratos son los compuestos orgánicos más abundantes de las plantas; entre las funciones vitales, se incluyen ser almacenadores de energía química (almidón, glucosa, glucógeno); como componentes de estructuras en las plantas (celulosa) y pared de células bacterianas (mucopolisacáridos) Los mamíferos requieren para su óptimo desarrollo y mantenimiento, pequeñas cantidades de vitamina lipo-soluble y de ácidos grasos insaturados.

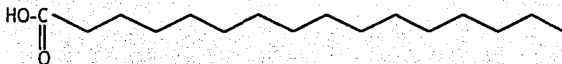
Los lípidos son nutrientes que deben constituir del 30-35% de aporte calórico diario, los ácidos grasos esenciales participan en la constitución de la membrana celular e influyen sobre la permeabilidad; la falta ó carencia de éstos manifiesta varias alteraciones en el cuerpo como son: eritemas o cualquier alteración cutánea, disminución de crecimiento del cuerpo, hipertensión, hipoagregación plaquetaria etc., no se encuentran en la naturaleza como ácidos grasos libres sino en forma de ésteres, conocidos como triglicéridos principalmente de los ácido mirístico ó ácido tetradecanoico ( $C_{14}H_{28}O_2$ ) (5), (el cual este ultimo es usado como suavizante), palmítico ó ácido hexadecanoico ( $C_{16}H_{32}O_2$ ) (6), el cual es muy abundante en la pulpa de las frutas y el ácido esteárico ó ácido octadecanoico ( $C_{18}H_{36}O_2$ ) (8) y de sus derivados insaturados como son: ácido oleico (18:9), ácido linoleico (18:9,12), ácido  $\alpha$ -linolénico (18:9,12,15) y ácido  $\gamma$ -linolénico (18:6,9,12), es muy abundante en la pulpa de las frutas y es muy usado en las dermatosis.



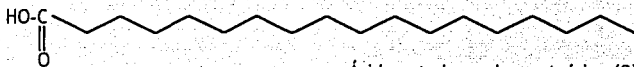
Casi todos los ácidos grasos son usados principalmente como laxantes, purgantes, tienen propiedades colagogas, como vehículos de soluciones inyectables, en tratamiento de la dermatosis, algunas resinas son usadas como aglutinantes de eritrocitos ya que inhiben la síntesis de algunas proteínas y otros aceites son usados en el tratamiento de la lepra como son los ácidos grasos ciclopenténicos.



Ácido tetradecanoico, mirístico (5)



Ácido hexadecanoico, palmítico (6)



Ácido octadecanoico, esteárico (8)

### 3. PARTE EXPERIMENTAL





## PARTE EXPERIMENTAL

### 3.1 Material y Equipo utilizado

Para las cromatografías en columna abierta se utilizó como fase estacionaria gel de sílice 60 (malla 0.063-0.200 mm) Merck. El análisis por cromatografía en placa fina analítico, se llevó a cabo en cromatofolios, Merck Macherey-Nagel placa fina COM Sil 6-200 UV<sub>254</sub>. Como revelador una lámpara de UV Spectroline Modelo CM10 Fluorescence Analysis Cabinet a 254 y 365 nm y solución de Sulfato cérico amoniacal  $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{SO}_4)_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  al 1% en ácido sulfúrico 2N (Stahl, 1969) como agente cromogénico. Las cromatografías preparativas se realizaron en placas Merck de 2 mm, 1 mm y 0.5 mm grosor y una superficie de 20 x 20 cm.

- \* Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher Johns y no están corregidos.
- \* Los espectros en el UV se determinaron en un espectrofotómetro Shimadzu UV 160.
- \* Los espectros en el IR se obtuvieron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 283-B.
- \* Los espectros de RMN se determinaron a 300 ó 400 MHz para el caso de  $^1\text{H}$ , a 50 y 75 MHz para el caso de  $^{13}\text{C}$ . Para esto se utilizaron espectrómetros analíticos Varian XR 300 Varian Unity 500, según el caso. Como disolvente se emplearon  $\text{CDCl}_3$  y acetona deuterada y como referencia interna TMS.
- \* Los espectros de masas se obtuvieron en un espectrómetro de masas Hewlett Packard 5985-B, utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico a 70 eV.



### 3.1.1 Reacción general de acetilación (Shriner et al., 1997)

100 mg de compuesto o fracción se acetilaron con 1 mL de anhídrido acético y 0.3 mL de piridina, con agitación magnética y a temperatura ambiente durante 24 h. Al cabo de este tiempo se añadieron 5.0 g de agua/hielo y se aciduló con HCl al 10%. Se extrajo con 3 porciones de 15 mL cada una de acetato de etilo. La fase orgánica se extrajo con 3 porciones de 5 mL de solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  y finalmente el extracto orgánico se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y por evaporación del disolvente se obtuvieron los componentes acetilados.

### 3.1.2 Reacción general de metilación (Shriner et al., 1997)

Se utiliza una mezcla etérea de diazometano preparada con una solución solución de KOH (5 g de KOH en 7.5 mL de agua destilada), 25 mL de MeOH y 21.9 g de N-metil, N-nitroso, *p*-toluensulfonamida (Diazald-Aldrich) en 45 mL de éter etílico. (NOTA: El  $\text{CH}_2\text{N}_2$  es de coloración amarilla, de descomposición fácil, explosivo, siempre en condiciones de disolución etérea). 3 mg de compuesto o fracción se disolvieron en 3 mL de MeOH adicionando 20 mL de solución etérea de diazometano a temperatura ambiente por 24 h. Al cabo de este tiempo se obtuvieron los componentes metilados.

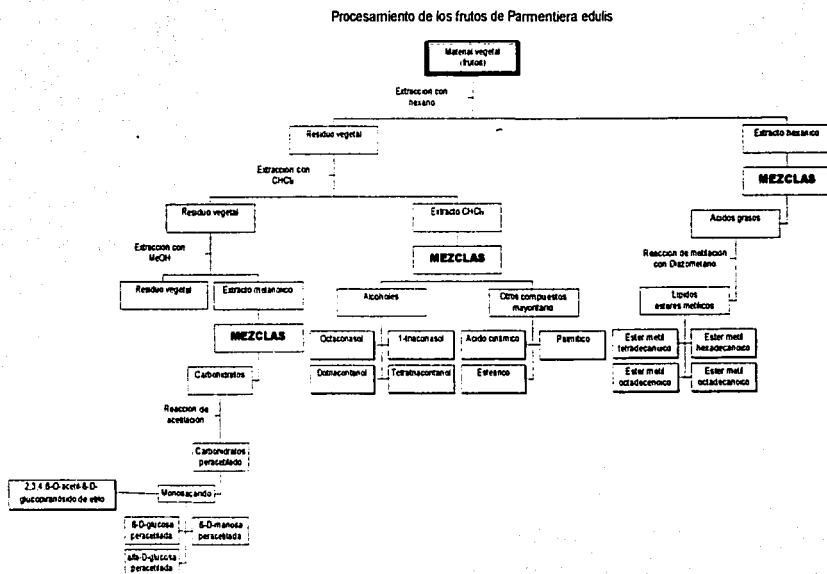
## 3.2 Material Vegetal

El material vegetal empleado en esta tesis se recolectó el 21 de mayo del 2000 en Los Cuajilotes, estado de Morelos en el municipio de Tlayacapan, la identificación de la planta estuvo a cargo de la Bióloga Gilda Ortiz y una muestra del vegetal se conserva en el Herbario Nacional de México (HEXU), en el Instituto de Biología con el No. de registro 1,023,315.



### 3.3 Extracción y Fraccionamiento Preliminar

El material vegetal ( 3.75 Kg de los frutos de *P. edulis*) se cortó en trozos pequeños y se extrajo exhaustivamente a temperatura ambiente con Hexano,  $\text{CHCl}_3$  y MeOH sucesivamente. En los tres casos, el disolvente se eliminó por destilación *in vacuo* obteniéndose los extractos: metanólico 126.47 g, 0.7417 g del extracto hexánico y 0.6247 g del extracto clorofórmico, (Esquema 2).



Esquema 2. Procesamiento de los frutos de *Parmentiera edulis*



### 3.4 Determinación de la actividad tóxica en el crustáceo *Artemia Salina* (McLaughlin et al., 1991; Meyer et al., 1982)

#### 3.4.1. Preparación de los organismos y muestras

Se preparó una solución de agua de mar comercial (38g de medio salino artificial por litro de agua destilada), dentro de un recipiente de vidrio previamente acondicionado con una bomba de oxígeno, un termómetro y una lámpara. Se adicionaron los huevecillos de *Artemia salina* Leach y se dejaron en maduración durante 48 h a 28°C. Al cabo de este tiempo, se disolvieron 20 mg de cada muestra (extracto, fracción ó compuesto puro) en 2 mL de un disolvente adecuado (Cuadro 2). De esta solución, se transfirieron 500, 50 y 5 µL a frascos viales. Posteriormente, se evaporó completamente el disolvente de cada tubo, con corriente de nitrógeno y cada uno de los residuos se aforó a 5 mL con medio salino artificial (Ocean Instant), con lo que se obtuvieron concentraciones de 1000, 100 y 10 µg/mL, respectivamente. La prueba con cada muestra se realizó por triplicado.

#### 3.4.2. Bioensayo (Teng, 1993)

Se realizó transfiriendo 10 larvas de *Artemia salina* dentro de cada tubo que contenía la muestra por evaluar. Después de 24 h de contacto entre las larvas y la muestra a 28 °C, se contaron los crustáceos sobrevivientes y el resultado se expresó por medio de la CL<sub>50</sub> calculada mediante el programa PROBIT (Liebermann, 1983)

Cuadro 2 Resultado de la determinación de la actividad tóxica a *Artemia salina* de los extractos probados

MUESTRA	Conc [ µg/mL ]	Núm. de Sobrevivientes			Núm. de Muertos			CL <sub>50</sub>
Extracto Metanólico	1000	7/10	9/10	7/10	3/10	1/10	3/10	> 1000
	100	9/10	9/10	10/10	1/10	1/10	0/10	
	10	10/10	10/10	9/10	0/10	0/10	1/10	
Extracto Clorofórmico	1000	0/10	1/10	1/10	10/10	9/10	9/10	275.64
	100	10/10	9/10	8/10	0/10	1/10	2/10	
	10	9/10	10/10	9/10	1/10	0/10	1/10	
Extracto Hexánico	1000	1/10	2/10	2/10	9/10	8/10	8/10	232.93
	100	9/10	9/10	8/10	1/10	1/10	2/10	
	10	9/10	9/10	6/10	1/10	1/10	4/10	



### 3.5 Determinación de la actividad antimicrobiana por el método bioautográfico

El método bioautográfico se realizó sobre placas cromatograficas recubiertas con gel de sílice (sílica gel 60 GF<sub>254</sub>, Merck); en la placa se sembraron 10 mg del extracto hexánico y clorofórmico, posteriormente se efectuó la elución utilizando una mezcla de Hex-AcOEt (4:6). Al cabo del proceso de elución se evaporó el disolvente y la cromatoplaaca se cubrió con 20 mL de una suspensión de agar al 1%, posteriormente la placa se incubó en una atmósfera húmeda a 28°C durante 24, 48 y 72h, transcurrido el tiempo se observaron las zonas de inhibición y se determinó el factor de retención (R<sub>f</sub>) correspondiente (Inove et al., 1992), este procedimiento se realizó por comparación con una placa conteniendo la muestra, eluida en las mismas condiciones y revelada con el agente cromógeno apropiado (Figura 5).



Figura 5. Fotografía del resultado de la prueba bioautográfica de los extractos clorofórmico y hexánico



### 3.6 Determinación de la Actividad Antimicrobiana (CMI)

La actividad antimicrobiana se determinó mediante el cálculo de la CMI, por el método de dilución en agar usando los extractos metanólico, clorofórmico y hexánico frente a las siguientes bacterias: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Shigella sonnei* y los hongos dermatofitos: *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum* y la levadura *Candida albicans*. Como compuestos de referencia de la actividad antimicrobiana se empleó gentamicina para bacterias y nistatina para la levadura. El cuadro 3 resume los resultados de esta prueba.

Cuadro 3. Resultado de la determinación de la CMI a los extractos probados

<i>Parmentiera Edulis</i>	Bacterias. Valores de CMI ( $\mu\text{g/mL}$ )				Hongos. Valores de CMI ( $\mu\text{g/mL}$ )		Levadura. Valores de CMI ( $\mu\text{g/mL}$ )
	E.c.	S.au.	S.f.	S.h.	T.m.	T.r.	C.a.
Extracto Clorofórmico	6	0.375 <sup>a</sup>	6	6	1.5 <sup>a</sup>	< 0.750 <sup>a</sup>	6
Extracto Hexánico	6	0.166 <sup>a</sup>	6	6	1.5 <sup>a</sup>	< 0.750 <sup>a</sup>	6
Extracto Metanólico	> 6	> 6	> 6	> 6	> 6	> 6	> 6
Gentamicina (2-128 $\mu\text{g/mL}$ )	16	8	-	-	-	-	-
Nistatina	-	-	-	-	-	-	20

\* CMI rango de dilución 0.750 - 6  $\mu\text{g/mL}$ , esta debajo de 0.750  $\mu\text{g}$

<sup>a</sup> CMI rango de dilución 0.375 - 6  $\mu\text{g/mL}$



### 3.7 Determinación de la Citotoxicidad en líneas celulares a los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico

La determinación de la actividad citotóxica de los extractos y fracciones se determinó sobre tres líneas celulares derivadas de tumores humanos: adenocarcinoma de colon (HCT-15), carcinoma nasofaríngeo (KB) y carcinoma de ovario (OVCAR) los resultados se expresan en concentraciones efectivas medias  $ED_{50}$   $\mu\text{g/ml}$

Las evaluaciones se realizaron de acuerdo a los protocolos previamente establecidos (Anderson et al., 1991) en el Centro de Investigación Biomédica del Sur, IMSS, en Xochitepec, Morelos, México. Los resultados de este bioensayo se aprecian en el cuadro 4.

Cuadro 4. Resultado de la determinación de la citotoxicidad de los extractos probados.

Extractos	Línea celular $ED_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	OVCAR	HCT-15	KB
Metanólico	> 20	> 20	> 20
Clorofórmico	6.31	25.12	> 20
Hexánico	1.82	15.82	12.02



### 3.8 Análisis Cromatográfico y espectroscópico del Extracto hexánico

0.7 g del extracto hexánico fueron adsorbidos en 0.7 g de gel de sílice y se secaron a temperatura ambiente por 48 h. Posteriormente se aplicaron en una columna cromatográfica de gel de sílice (21.0 g), que se eluyó con una mezcla de Hexano-AcOEt y HCl de polaridad creciente en diversas porciones, obteniéndose un total de 150 fracciones de 20 mL, reuniéndose las que fueron similares cromatográficamente. En el cuadro 5 se resumen el número de fracciones obtenidas y los sistemas de eluyentes empleados para la cromatografía.

Cuadro 5. Fraccionamiento obtenido mediante cromatografía en columna del extracto hexánico de *P. edulis*

Eluyente	Proporción	Fracciones reunidas
Hex	100%	1-11
Hex- AcOEt	90:10	12
Hex- AcOEt	80:20	13
Hex- AcOEt	70:30	14-17
Hex- AcOEt	60:40	18-22
Hex- AcOEt	50:50	23-34
Hex- AcOEt	40:60	35-59
Hex- AcOEt	30:70	60-75
Hex- AcOEt	20:80	76-99
Hex- AcOEt	10:90	100-109
AcOEt	100%	110-124
AcOEt/HCl	100%/2 gotas	125-150





Cuadro 6. Resultado de la determinación de la actividad antimicrobiana de las fracciones más activas procedentes del fraccionamiento primario del extracto hexánico

Extracto Hexánico Fracciones probados	Bacterias. Valores de CMI ( $\mu\text{g/mL}$ )				Levadura. Valores de CMI ( $\mu\text{g/mL}$ )
	Ec	Sau	Sf	Sh	Ca
13	> 2	0.25	1.5	> 2	1.5
14-17	1.5	0.25	1.5	1.5	1.5
23-34	2	0.12	0.25	1.5	1.5
35-59	1.5	0.25	0.25	1.5	1.5
76-99	> 2	0.25	0.25	1.5	1.5
100-109	> 2	0.25	2	1.5	1.5
Gentamicina (2-128 $\mu\text{g/mL}$ )	16	8	-	-	-
Nistatina	-	-	-	-	20

Cuadro 7. Resultado de la determinación de la citotoxicidad de las fracciones del extracto hexánico

Fracciones	Línea celular ( $\text{ED}_{50}$ $\mu\text{g/ml}$ )
	OVCAR
13	30.20
14-17	25.12
18-34	13.18
35-59	10.00
60-75	9.12
76-99	7.60
100-109	15.84



3.8.1 Aislamiento de la mezcla constituida por los ácidos tetradecanoico (mirístico) (5), hexadecanoico (palmítico) (6), octadecenoico (7) y octadecanoico (esteárico) (8)

De las fracciones 13-22 se obtuvo un sólido blanquecino que se caracterizó como una mezcla de ácidos grasos constituidos mayoritariamente por los ácidos mirístico (5), palmítico (6), octadecenoico (7) y esteárico (8). Esta mezcla presentó las siguientes señales espectroscópicas:

IR (Espectro 1)  $\nu_{\max}$  (película): 2910, 2500 (ancha), 2850, 1710, 1462, 1260, 1092, 800 y 720  $\text{cm}^{-1}$

RMN<sup>1</sup>H (Espectro 2) 300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ : 0.88 (3H, t, CH<sub>3</sub>-), 1.26 (s amplio, (-CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>), 1.63 (m, -CH<sub>2</sub>-), 2.01 (m, -CH<sub>2</sub>-C=), 2.34 (t, -CH<sub>2</sub>-CO-), 5.34 (1H, m, -CH=CH-)

CG-EM (Espectro 3) (5). t. r. = 19.00 min,  $m/z$  (%): [M<sup>+</sup>] 228 (67.3), 211 (2.1), 199 (10.8), 185 (60.8), 143 (15.2), 129 (63.0), 115 (17.3), 97 (15.2), 85 (23.9), 73 (100), 60 (71.7), 43 (41.3)

CG-EM (Espectro 4) (6). t. r. = 21.73 min,  $m/z$  (%): [M<sup>+</sup>] 256 (100), 239 (2.1), 227 (15.2), 213 (65.2), 199 (10.8), 185 (26.0), 171 (28.2), 157 (26.0), 143 (13.0), 129 (71.7), 115 (26.0), 97 (28.2), 85 (36.9), 73 (93.4), 60 (89.1), 57 (78.2), 43 (67.3)

CG-EM (Espectro 5) (7). t. r. = 23.10 min,  $m/z$  (%): [M<sup>+</sup>] 282 (13.0), 264 (57.0), 246 (2.8), 235 (3.7), 211 (6.5), 180 (9.3), 165 (8.4), 151 (10.2), 137 (13.0), 125 (22.4), 111 (37.3), 97 (68.2), 83 (80.3), 69 (88.7), 55 (100), 41 (37.3)

CG-EM (Espectro 6) (8). t. r. = 23.30 min,  $m/z$  (%): [M<sup>+</sup>] 284 (100), 267 (1.8), 255 (7.5), 241 (42.4), 199 (10.3), 185 (26.4), 171 (9.4), 157 (3.7), 143 (7.6), 129 (41.5), 115 (12.6), 97 (16.9), 85 (17.9), 73 (59.4), 57 (39.6), 43 (33.0)



## 3.8.1.1 Metilación de las fracciones primarias 13-22 del extracto hexánico

3 mg de las fracciones primarias 13-22 se sometieron a metilación de acuerdo al procedimiento descrito en 3.1.2 resultando un sólido blanquecino, constituido por la mezcla de los ésteres metílicos de los ácidos mirístico (9), palmítico (10), octadecenoico (11) y esteárico (12). Los espectros espectroscópicos y masas respectivos mostraron las siguientes señales:

**IR** (Espectro 7)  $\nu_{\max}$  (película): 3465, 2924; 2853, 1738, 1462, 1435, 1378, 1252, 1171 y  $722 \text{ cm}^{-1}$

**RMN<sup>1</sup>H** (Espectro 8) 300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ : 0.88 (3H, t,  $\text{CH}_3$ -), 1.25 (s amplio,  $(-\text{CH}_2)_n$ ), 1.61 (m,  $-\text{CH}_2-$ ), 2.01 (m,  $-\text{CH}_2-\text{C}=\text{C}-$ ), 2.30 (t,  $-\text{CH}_2-\text{CO}-$ ), 3.66 (1H, s,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-$ )

**CG-EM** (Espectro 9) (9) t. r. = 13.12 min,  $m/z$  (%):  $[\text{M}^+]$  242 (32.2), 211 (22.5), 199 (32.2), 185 (6.4), 171 (3.2), 157 (6.4), 143 (29.0), 129 (9.6), 115 (3.2), 101 (6.4), 87 (93.5), 74 (100), 55 (12.9), 43 (16.1)

**CG-EM** (Espectro 10) (10) t. r. = 15.49 min,  $m/z$  (%):  $[\text{M}^+]$  270 (90.3), 239 (51.6), 227 (74.1), 213 (9.6), 199 (19.3), 185 (22.5), 171 (19.3), 157 (9.6), 143 (74.1), 129 (32.2), 115 (9.6), 97 (19.3), 87 (96.7), 74 (100); 55 (61.2), 43 (48.3)

**CG-EM** (Espectro 11) (11) t. r. = 17.17 min,  $m/z$  (%):  $[\text{M}^+]$  296 (16.1), 278 (1.6), 264 (100), 246 (3.2), 235 (6.4), 194 (3.2), 180 (22.5), 166 (9.6), 152 (12.9), 137 (16.1), 123 (22.5), 111 (29.0), 97 (51.6), 83 (58.0), 69 (61.2), 55 (67.7), 41 (29.0)

**CG-EM** (Espectro 12) (12) t. r. = 17.39 min,  $m/z$  (%):  $[\text{M}^+]$  298 (70.9), 257 (22.6), 255 (58.0), 241 (6.4), 227 (3.2), 213 (9.6), 199 (19.3), 185 (9.6), 171 (3.2), 157 (6.4), 143 (38.7), 129 (12.9), 111 (6.4), 97 (9.6), 87 (67.7), 74 (100), 55 (16.1), 41 (9.6)



### 3.9 Análisis Cromatográfico y espectroscópico del Extracto clorofórmico

El espectro IR del extracto clorofórmico mostró las siguientes señales:

IR (Espectro 13)  $v_{\text{máx}}$  (película): 3389, 2921, 2850, 1744, 1712, 1651, 1600, 1515, 1462, 1377, 1272, 1237, 1159, 1125, 1034 y 720  $\text{cm}^{-1}$

0.57 g del extracto clorofórmico de *P. edulis* fueron adsorbidos en 0.6 g de gel de sílice y secados a medio ambiente por 48 h y posteriormente aplicados en una columna cromatográfica de gel de sílice (17.1 g), se eluyó con una mezcla de Hexano-AcOEt de polaridad creciente, en diversas porciones, obteniéndose un total de 450 fracciones de 20 mL cada una, reuniéndose las que fueron similares cromatográficamente.

En el cuadro 8 se resumen el número de fracciones obtenidas y los sistemas de eluyentes empleados para la cromatografía.

Cuadro 8. Fraccionamiento obtenido mediante cromatografía en columna del extracto clorofórmico de *P. edulis*

Eluyente	Proporción	Fracciones reunidas
Hex	100%	1-9
Hex-CHCl <sub>3</sub>	90:10	10-20
Hex-CHCl <sub>3</sub>	80:20	21-125
Hex-CHCl <sub>3</sub>	70:30	126-180
Hex-CHCl <sub>3</sub>	60:40	181-220
Hex-CHCl <sub>3</sub>	50:50	221-290
Hex-CHCl <sub>3</sub>	40:60	291-388
Hex-CHCl <sub>3</sub>	30:70	389-410
Hex-CHCl <sub>3</sub>	20:80	411-438
Hex-CHCl <sub>3</sub>	10:90	439-444
CHCl <sub>3</sub>	100%	445-450



3.9.1 Aislamiento de la mezcla constituida por los ácidos palmítico (6) y esteárico (8) y por los alcoholes octacosanol (13), 1-triacontanol (14), dotriacontanol (15) y tetratriacontanol (16)

El espectro en el IR de la fracción 21-125 mostró las siguientes señales:

IR (Espectro 14)  $\nu_{\text{máx}}$  (película): 2916, 2848, 1730, 1462, 1377, 1259, 1175, 1096, 758 y 719  $\text{cm}^{-1}$

CG-EM (Espectro 15) (13) t. r. = 30.48 min,  $m/z$  (%):  $[\text{M}^+]$  409 (13.0), 391 (100), 362 (19.5), 334 (8.7), 320 (9.8), 306 (6.5), 278 (6.5), 264 (6.5), 250 (6.5), 236 (6.5), 222 (6.5), 180 (6.5), 166 (6.5), 138 (17.4), 96 (73.9), 82 (93.4), 57 (71.7), 41 (17.4)

CG-EM (Espectro 16) (14) t. r. = 32.85 min,  $m/z$  (%):  $[\text{M}^+]$  437 (11.1), 419 (100), 391 (17.7), 377 (5.5), 362 (6.6), 334 (5.5), 320 (5.5), 292 (5.5), 278 (5.5), 250 (5.5), 236 (5.5), 222 (5.5), 194 (5.5), 180 (5.5), 152 (8.8), 137 (13.3), 110 (24.4), 96 (76.1), 82 (80.0), 57 (60.0), 41 (12.2)

CG-EM (Espectro 17) (15) t. r. = 36.24 min,  $m/z$  (%):  $[\text{M}^+]$  465 (11.1), 447 (100), 419 (15.5), 405 (4.4), 391 (6.6), 362 (8.5), 348 (4.4), 320 (5.5), 292 (4.4), 278 (5.5), 250 (4.4), 236 (5.5), 222 (4.4), 194 (5.5), 180 (4.4), 152 (8.8), 137 (13.3), 111 (11.1), 96 (66.6), 82 (77.7), 57 (60.0), 41 (11.1)

CG-EM (Espectro 18) (16) t. r. = 41.14 min,  $m/z$  (%):  $[\text{M}^+]$  493 (13.0), 475 (100), 447 (13.0), 433 (4.3), 419 (6.5), 391 (4.3), 377 (4.3), 348 (4.3), 334 (4.3), 306 (4.3), 292 (4.3), 278 (4.3), 250 (4.3), 236 (4.3), 222 (4.3), 194 (4.3), 180 (4.3), 152 (4.3), 137 (6.5), 111 (23.9), 96 (63.0), 82 (71.7), 57 (58.7), 41 (8.7)



3.9.1 Aislamiento de la mezcla constituida por los ácidos palmítico (6) y esteárico (8) y por los alcoholes octacosanol (13), 1-triacontanol (14), dotriacontanol (15) y tetratriacontanol (16)

El espectro en el IR de la fracción 21-125 mostró las siguientes señales:

IR (Espectro 14)  $\nu_{\max}$  (película): 2916, 2848, 1730, 1462, 1377, 1259, 1175, 1096, 758 y 719  $\text{cm}^{-1}$

CG-EM (Espectro 15) (13) t. r. = 30.48 min,  $m/z$  (%):  $[\text{M}^+]$  409 (13.0), 391 (100), 362 (19.5), 334 (8.7), 320 (9.8), 306 (6.5), 278 (6.5), 264 (6.5), 250 (6.5), 236 (6.5), 222 (6.5), 180 (6.5), 166 (6.5), 138 (17.4), 96 (73.9), 82 (93.4), 57 (71.7), 41 (17.4)

CG-EM (Espectro 16) (14) t. r. = 32.85 min,  $m/z$  (%):  $[\text{M}^+]$  437 (11.1), 419 (100), 391 (17.7), 377 (5.5), 362 (6.6), 334 (5.5), 320 (5.5), 292 (5.5), 278 (5.5), 250 (5.5), 236 (5.5), 222 (5.5), 194 (5.5), 180 (5.5), 152 (8.8), 137 (13.3), 110 (24.4), 96 (76.1), 82 (80.0), 57 (60.0), 41 (12.2)

CG-EM (Espectro 17) (15) t. r. = 36.24 min,  $m/z$  (%):  $[\text{M}^+]$  465 (11.1), 447 (100), 419 (15.5), 405 (4.4), 391 (6.6), 362 (8.5), 348 (4.4), 320 (5.5), 292 (4.4), 278 (5.5), 250 (4.4), 236 (5.5), 222 (4.4), 194 (5.5), 180 (4.4), 152 (8.8), 137 (13.3), 111 (11.1), 96 (66.6), 82 (77.7), 57 (60.0), 41 (11.1)

CG-EM (Espectro 18) (16) t. r. = 41.14 min,  $m/z$  (%):  $[\text{M}^+]$  493 (13.0), 475 (100), 447 (13.0), 433 (4.3), 419 (6.5), 391 (4.3), 377 (4.3), 348 (4.3), 334 (4.3), 306 (4.3), 292 (4.3), 278 (4.3), 250 (4.3), 236 (4.3), 222 (4.3), 194 (4.3), 180 (4.3), 152 (4.3), 137 (6.5), 111 (23.9), 96 (63.0), 82 (71.7), 57 (58.7), 41 (8.7)



### 3.9.2 Identificación del ácido cinámico (17) de la mezcla de la fracción 439-444

**IR** (Espectro 19)  $\nu_{\text{máx}}$  (película): 2916, 2848, 1730, 1462, 1377, 1259, 1175, 1096, 758  
y  $719 \text{ cm}^{-1}$

**CG-EM** (Espectro 20) (17) t. r. = 14.68 min,  $m/z$  (%):  $[M^+]$  148 (95.6), 147 (100), 131  
( $M^+-OH$ , 26.0), 120 (7.6), 103 ( $M^+-COOH$ , 36.9), 77  
(21.7), 74(43.0), 51 (10.8), 39 (2.1)



### 3.10 Análisis Cromatográfico y espectroscópico del Extracto metanólico

5.0 g del extracto metanólico acuoso fueron extraídos con hexano (25 mL), separándose la fase hexánica (0.75 g). El residuo metanólico (4.24 g) fue adsorbido en 4.3 g de gel de sílice y se secó a medio ambiente por 48 h. Esta mezcla seca fue aplicada en una columna cromatográfica de gel de sílice (127.42 g) y se eluyó con una mezcla de  $\text{CHCl}_3$ -AcOEt y HCl de polaridad creciente, en diversas porciones, obteniéndose un total de 110 fracciones de 100 mL, cada una reuniéndose las que fueron similares cromatográficamente.

En el cuadro 9 se resumen el número de fracciones obtenidas y los sistemas de eluyentes empleados para ellos.

Cuadro 9. Fraccionamiento mediante la cromatografía en columna del extracto metanólico de *P. edulis*

Eluyente	Proporción	Fracciones reunidas
$\text{CHCl}_3$	100%	1-10
$\text{CHCl}_3$ -AcOEt	90:10	11-27
$\text{CHCl}_3$ -AcOEt	80:20	28-29
$\text{CHCl}_3$ -AcOEt	70:30	30-40
$\text{CHCl}_3$ -AcOEt	60:40	38-39
$\text{CHCl}_3$ -AcOEt	50:50	40-44
$\text{CHCl}_3$ -AcOEt	40:60	45-59
$\text{CHCl}_3$ -AcOEt	30:70	60-79
$\text{CHCl}_3$ -AcOEt	20:80	80-83
$\text{CHCl}_3$ -AcOEt	10:90	84-87
AcOEt	100%	88-91
AcOEt/HCl	100%/ 2 gotas	92-110



3.10.1 Aislamiento de  $\beta$ -D-glucopiranosido de etilo (18)

De las fracciones 45-59 precipitó una mezcla de componentes con  $R_f$ 's muy similares con las siguientes señales en el espectro de IR:

**IR** (Espectro 21)  $\nu_{\max}$  (película): 3382, 2924, 2853, 1700, 1608, 1515, 1457, 1378, 1165, 1075, 774 y 668  $\text{cm}^{-1}$

## 3.10.1.1 Acetilación de la fracción primaria 45-59.

0.6 g de la fracción primaria 45-59, se acetilaron de acuerdo al procedimiento descrito en 3.1.1. resultando un sólido blanco que por ccf empleando un sistema de disolventes con hexano-AcOEt (7:3) presentó 4 manchas, separándose la mayoritaria por el mismo método, con placas de preparativas gel de sílice de 1.0 mm de espesor. El compuesto aislado presenta las siguientes características:

Constantes espectroscópicas y espectrométricas del 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosido de etilo (19)

**FM**  $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$

**Pf** 86-92°C

**IR**

**Espectro 22**  $\nu_{\max}$  (Película): 3439, 2918, 2850, 1755, 1453, 1375, 1224, 1038, 909, 800, 600 y 467  $\text{cm}^{-1}$

**RMN<sup>1</sup>H**

**Espectro 23** 300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ : 5.21 (1H, t,  $J = 9.6$  Hz, H-3), 5.09 (1H, t,  $J = 9.7$  Hz, H-4), 4.98 (1H, dd,  $J_1 = 8.1$  Hz,  $J_2 = 9.6$  Hz, H-2), 4.51 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-1), 4.27 (1H, dd,  $J_1 = 4.8$  Hz,  $J_2 = 12.45$  Hz, H<sub>b</sub>-6), 4.13 (1H, dd,  $J_1 = 2.1$  Hz,  $J_2 = 12.15$  Hz, H<sub>a</sub>-6), 3.91 (1H, dc,  $J_1 = 7.2$  Hz,  $J_2 = 9.8$  Hz,  $-\text{OCH}_2-$ ), 3.69 (1H, ddd,  $J_1 = 2.7$  Hz,  $J_2 = 4.6$  Hz,  $J_3 = 9.9$  Hz, H-5), 3.58 (1H, dc,  $J_1 = 7.2$  Hz,  $J_2 = 9.7$  Hz,  $-\text{OCH}_2-$ ), 2.09 (3H, s,  $\text{CH}_3-\text{CO}-$ ), 2.05 (3H,



s,  $\text{CH}_3\text{-CO-}$ ), 2.02 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{-CO-}$ ), 2.01 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{-CO-}$ ), 1.2 (3H, t,  $J=7.2$  Hz,  $\text{CH}_3$ )

## EMIE

Espectro 24 t. r. = 0.39 min,  $m/z$  (%):  $[\text{M}^+-1]$  375 (0.7), 331 (1.5), 303 (3.0), 289, 256, (1.5), 243 (13.8), 214 (3.0), 200 (10.7), 183 (9.2), 157 (27.7), 141 (30.7), 115 (26.1), 98 (21.5), 81 (27.7), 43 (100)

3.10.2 Elucidación estructural de la mezcla de azúcares constituida por la  $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23),  $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y  $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25) contenidos en la fracción primaria 80-83

Los componentes de las fracciones 80-83 mostraron en el espectro IR las siguientes señales:

IR (Espectro 25)  $\nu_{\text{máx}}$  (película): 3374, 2934, 1641, 1256, 1057, 918, 866, 817, 778, 667 y 632  $\text{cm}^{-1}$

3.10.2.1 Acetilación de la fracción primaria 80-83 constituida por la mezcla de  $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23),  $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y  $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25)

26.7 mg de la fracción primaria 80-83, se acetilaron de acuerdo al procedimiento descrito en 3.1.1. resultando un sólido naranja que por ccf en un sistema de disolventes con  $\text{CHCl}_3$ -Acetona (8:2) y 2 eluciones se separó en 2 manchas, aislándose la mayoritaria por el mismo método, empleando para este propósito placas preparativas de 1.0 mm de espesor. La mezcla aislada presentó las siguientes características:



## Constantes espectroscópicas y espectrométricas de la mezcla de azúcares:

 $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23)FM  $C_{16}H_{22}O_{11}$ 

Pf (mezcla) 169-174 °C

## IR (mezcla)

Espectro 26  $\nu_{\max}$  (película): 2968, 1746, 1433, 1371, 1224, 1079, 1038 y 912  $cm^{-1}$ RMN<sup>1</sup>H (mezcla)Espectro 27 300 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ : 5.72 (1H, d,  $J= 8.1$  Hz, H-1), 5.26 (1H, t,  $J= 9.3$  Hz, H-3), 5.16 (1H, dd,  $J_1= 9.3$  Hz,  $J_2= 8.1$  Hz, H-2), 5.15 (1H, t,  $J= 9.3$  Hz, H-4), 4.29 (1H, dd,  $J_1= 4.5$  Hz,  $J_2= 12.6$  Hz, H<sub>a</sub>-6), 4.13 (1H, dd,  $J_1= 2.1$  Hz,  $J_2= 12.6$  Hz, H<sub>b</sub>-6), 3.84 (1H, ddd,  $J_1= 2.1$ ,  $J_2= 4.5$  Hz,  $J_3= 9.3$  Hz, H-5), 2.101 (3H, s,  $CH_3$ -CO-), 2.100 (3H, s,  $CH_3$ -CO-), 2.049 (3H, s,  $CH_3$ -CO-), 2.034 (3H, s,  $CH_3$ -CO-)RMN<sup>13</sup>C (mezcla)Espectro 28 75 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ : 170.5 (CO), 169.8 (CO), 169.1 (CO), 168.9 (CO), 91.6 (C-1), 72.7 (C-3), 72.6 (C-5), 70.1 (C-4), 67.7 (C-2), 61.4 (C-6), 20.7 ( $CH_3$ -CO-), 20.6 ( $CH_3$ -CO-), 20.5 ( $CH_3$ -CO-)

## EMIE

Espectro 31 t. r. = 16.06 min,  $m/z$  (%): 331 [ $M^+-59$ ] (2.2), 317 (2.2), 288 (0.2), 242 (17.7), 200 (35.5), 157 (66.6), 140 (26.6), 115 (71.1), 43 (100)

 $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24)

FM

 $C_{16}H_{22}O_{11}$ 

Pf (mezcla)

169-174 °C

IR (mezcla)

Espectro 26

 $\nu_{\max}$  (película): 2968, 1746, 1433, 1371, 1224, 1079, 1038 y  
912  $cm^{-1}$ RMN<sup>1</sup>H (mezcla)

Espectro 27

300 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ : 6.33 (1H, d,  $J=3.6$  Hz, H-1), 5.47 (1H, t,  $J=9.6$  Hz, H-3), 5.12 (1H, t,  $J=3.6$  Hz, H-2), 4.19 (1H, dd,  $J_1=4.2$  Hz,  $J_2=12.9$  Hz, H<sub>a</sub>-6), 4.02 (1H, dd,  $J_1=2.4$  Hz,  $J_2=11.7$  Hz, H<sub>b</sub>-6), 2.120 (3H, s,  $CH_3$ -CO-), 2.090 (3H, s,  $CH_3$ -CO-), 2.040 (3H, s,  $CH_3$ -CO-), 2.030 (3H, s,  $CH_3$ -CO-)RMN<sup>13</sup>C (mezcla)

Espectro 28

75 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ : 170.4 ( $\underline{CO}$ ), 170.0 ( $\underline{CO}$ ), 169.6 ( $\underline{CO}$ ), 169.3 ( $\underline{CO}$ ), 89.0 (C-1), 69.7 (C-5), 69.1 (C-3), 69.1 (C-4), 67.8 (C-2), 61.4 (C-6), 20.7 ( $\underline{CH_3}$ -CO-), 20.6 ( $\underline{CH_3}$ -CO-), 20.4 ( $\underline{CH_3}$ -CO-)

EMIE

Espectro 32

t. r. = 15.95 min,  $m/z$  (%): 331 [ $M^+-59$ ] (6.6), 317 (0.2), 271 (1.1), 242 (17.7), 200 (33.3), 157 (62.2), 140 (24.4), 115 (75.5), 98 (40.0), 43 (100) $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25)

FM

 $C_{16}H_{22}O_{11}$ 

Pf (mezcla)

169-174 °C

**IR (mezcla)**

Espectro 26  $\nu_{\text{máx}}$  (película): 2968, 1746, 1433, 1371, 1224, 1079, 1038 y  
912  $\text{cm}^{-1}$

**RMN<sup>1</sup>H (mezcla)**

Espectro 27 300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ : 5.8 (1H, d,  $J = 4.2$  Hz, H-1)

**EMIE**

Espectro 33 t. r. = 15.71 min,  $m/z$  (%): 331 [ $\text{M}^+ - 59$ ] (2.2), 288 (6.6), 275  
(68.8), 233 (15.5), 211 (24.4), 186 (20.0), 169 (26.6), 126 (37.7),  
101 (44.4), 97 (8.8), 43 (100)

## 4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS



## DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

### 4.1 Aislamiento de los compuestos del extracto hexánico

El extracto hexánico significó el 0.02% en peso de los frutos frescos (rendimiento de 0.741 g). El contenido de agua calculado fue del 74%.

#### 4.1.1 Análisis biológico

En el bioensayo de toxicidad al crustáceo *Artemia salina* (Cuadro 2), el extracto presentó una concentración letal media de 232.93  $\mu\text{g/mL}$ , lo que sugiere que sus componentes pudieran tener alguna bioactividad en otros modelos biológicos. De acuerdo a los protocolos internacionales (Anderson et al., 1991) un extracto ó fracción proveniente de una planta se considera con actividad positiva en este bioensayo cuando el valor de la concentración letal media es menor a 1000  $\mu\text{g/mL}$  y en compuestos puros menor a 200  $\mu\text{g/mL}$ .

Dados los resultados anteriores se procedió a la búsqueda de actividad antimicrobiana por parte de este extracto frente a bacterias Gram positivas (*Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus*), Gram negativas (*Streptococcus faecalis* y *Shigella sonnei*), una levadura (*Candida albicans*) y dos dermatofitos (*Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum*). Esta evaluación biológica, se basó en las recomendaciones para el uso de los frutos de *P. edulis* como tratamiento para “dolores del oído interno y resfriados”. Los resultados del análisis preliminar bioautográfico (Figura 5) muestran los halos de inhibición de los componentes de menor polaridad de este extracto y los resultados del cálculo de la concentración mínima inhibitoria destacan a los microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum* con resultados significativos comparados contra los respectivos compuestos de referencia gentamicina (bacterias) y nistatina (levadura y hongos) (Cuadro 3).



La prueba de citotoxicidad del extracto se probó frente a 3 líneas celulares (Cuadro 4). Este bioensayo se realizó debido a que algunos autores han establecido una correlación entre la toxicidad al crustáceo *Artemia salina* y la actividad de citotoxicidad positiva por algunos compuestos (Ghisallati et al, 1993). En este bioensayo, se obtuvo un valor altamente significativo en la línea celular OVCAR (1.82  $\mu\text{g/mL}$ ). Los valores considerados significativamente son menores a 20  $\mu\text{g/mL}$  para extractos ó fracciones y menores a 4  $\mu\text{m/mL}$  para compuestos puros.

#### 4.1.2 Análisis cromatográfico

Los resultados de las pruebas biológicas mencionadas dieron pauta para continuar con el fraccionamiento del extracto en sus componentes en una búsqueda de compuestos puros activos.

El extracto hexánico se fraccionó mediante cromatografía en columna abierta de gel de sílice, de la cual resultaron 150 fracciones que se agruparon de acuerdo a la similitud en su contenido metabólico monitoreado por la cromatografía en capa fina. Algunas de estas fracciones se colectaron en una cantidad insignificante y las mayoritarias se probaron en los mismos bioensayos realizados a los extractos, las fracciones con actividad significativa en la prueba de actividad antimicrobiana se muestran en el cuadro 6 y sus actividades citotóxicas se expresan en el cuadro 7. En este momento se discrimina la actividad citotóxica ya que los valores se encuentran muy por encima del valor inicial calculado para el extracto completo.

#### 4.1.3 Análisis cromatográfico de gases y espectroscópico

Se procedió a aislar los componentes de las fracciones activas en el ensayo antimicrobiano y resultó que en todos los casos las fracciones estaban constituidas por mezclas de ácidos grasos irresolubles por métodos cromatográficos de columna ó placa fina de gel de sílice ya que coeluyeron en los sistemas de disolventes empleados.



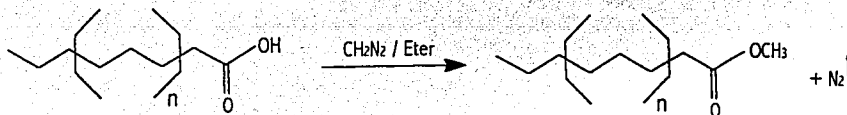


El análisis en el IR (Espectro 1) de la fracción 13-24 mostró la presencia de grupos funcionales hidroxilo, carbono-hidrogeno alifáticos, carboxilo y cadena de metilenos mayor a cuatro. El espectro de RMN<sup>1</sup>H (Espectro 2) mostró la presencia de gran cantidad de grupos metileno (1.26 ppm), un metilo terminal a una cadena (0.88 ppm), hidrógeno alílico (2.01 ppm), hidrógeno vecino a un carbonilo (2.34 ppm) e hidrogeno vinílico. En una intensidad menor se observa un triplete en 3.64 ppm, para un metileno unido a un grupo hidroxilo.

#### 4.1.4 Análisis cromatográfico de gases y espectroscópico de la fracción 13-24

El análisis por CG-EM (Espectros 3, 4, 5, y 6) de la fracción 13-24 reveló la presencia de por lo menos cuatro compuestos que de acuerdo al tipo de fragmentación típica observada en forma de una curva de Gauss y un decaimiento progresivo en la intensidad de las señales adyacentes correspondía a ácidos grasos de cadena larga. Por el peso molecular observado, estos compuestos se identificaron como ácido mirístico (5), ácido palmítico (6), octadecenoico (7) y esteárico (8).

La metilación con diazometano en éter de la fracción 13-24 dio como producto los derivados metilados de los ácidos 13, 14, 15, y 16 (Espectros 15, 16, 17 y 18) corroborando sus estructuras. Lo anterior se comprobó mediante el espectro de RMN<sup>1</sup>H en el que se aprecian además de las señales correspondientes para el metilo terminal de las cadenas alifáticas de los ácidos grasos (0.88 ppm) el singulete ancho de los grupos metileno (1.12 ppm), el multiplete para el metileno  $\beta$  al grupo carbonilo (1.6 ppm), el triplete para el grupo metileno  $\alpha$  al carbonilo, el singulete en 3.62 ppm asignado al grupo metilo del éster, el cromatograma de gases muestra los picos que mediante el espectro de masas correspondiente se asignaron a los compuestos 9, 10, 11 y 12.



Reacción general de metilación de los ácidos grasos con diazometano



La fracción 40-59 mostró un espectro parecido al de la fracción 13-24 que sugirió también la presencia de ácidos grasos. Esto se corroboró por el análisis de CG-EM del producto de metilación de esta fracción al identificar al ácido palmítico (6) como producto mayoritario. Las fracciones resultantes estuvieron constituidas por los mismos ácidos grasos en proporciones diferentes.

#### 4.2 Aislamiento de los compuestos del extracto clorofórmico

El extracto clorofórmico significó el 0.0166 % en peso de los frutos frescos (rendimiento de 0.6247 g). El análisis de espectro IR del extracto clorofórmico sugirió la presencia de grupos funcionales diversos de acuerdo a las señales observadas (Espectro 13), para grupos oxhidrilo de alcoholes, C-H alifáticos y carboxilo de ácidos.

##### 4.2.1 Análisis biológico

Se realizó el bioensayo de toxicidad al crustáceo *Artemia salina* por parte del extracto clorofórmico, dando un resultado de concentración letal media de 275.64  $\mu\text{g/mL}$ , por otra parte el extracto clorofórmico de *P. edulis* mostró actividad positiva en el experimento bioautográfico contra la bacteria Gram positiva *Staphylococcus aureus*, presentando una concentración mínima inhibitoria de 0.375  $\mu\text{g/mL}$  y contra los dermatofitos *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum*, siendo las concentraciones mínimas inhibitorias de 1.5 y por debajo de 0.750  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente (Cuadro 3). Hay que señalar que estos resultados muestran una actividad mayor que la de los dos compuestos de referencia ensayados: gentamicina para bacterias y nistatina para los hongos y la levadura, sugiriendo un contenido metabólico activo contra los microorganismos mencionados.

El análisis de citotoxicidad practicado en el extracto clorofórmico registró actividad significativa en las líneas celulares OVCAR y HCT-15 (colon), siendo los valores de dosis efectiva media 6.31 y 25.12  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente, considerando un valor significativo por debajo de 20  $\mu\text{g/mL}$  (Villarreal et al., 1994) (Cuadro 4).



#### 4.2.2 Análisis cromatográfico

Después del análisis anterior, el extracto clorofórmico se fraccionó en una columna abierta de gel de sílice y el análisis cromatográfico en capa fina y espectroscópico de las fracciones se comentará a continuación:

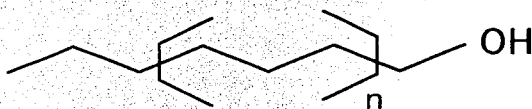
#### 4.2.3 Análisis cromatográfico de gases y espectroscópico de la fracción 21-144

La fracción 21-144 mostró una mancha mayoritaria que no pudo ser separada en sus componentes por posteriores cromatografías en capa fina. El espectro de IR de esta fracción (Espectro 14) mostró absorciones para grupos oxhidrilos, gran cantidad de metilenos y metilos, un grupo carboxilo en  $1730$  y en  $720\text{ cm}^{-1}$  se aprecia la señal que corrobora la presencia de un residuo molecular de más de 4 grupos metileno en un arreglo lineal, el experimento de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas de esta fracción mostró la presencia de ácidos grasos entre los que se identificaron al palmítico (6) y al esteárico (8). Estos compuestos (6 y 8) también estuvieron presentes en el extracto hexánico y se infiere que son los responsables de las actividades antimicrobianas encontradas por el experimento bioautográfico y por las pruebas de dilución a este extracto.

También fue posible encontrar en esta fracción alcoholes alifáticos saturados de cadena larga, mediante el mismo experimento cromatográfico de gases con acoplamiento al espectrómetro de masas, separándose cuatro compuestos que fueron identificados del siguiente modo: los espectros de masas mostraron el patrón de fragmentación típico para hidrocarburos alifáticos de cadena larga donde se aprecia una especie de "campana de Gauss" seguida de una curva descendente de las intensidades de los iones participantes en el espectro. El peso molecular en los cuatro compuestos fue mayor en una unidad de masa debido a que preponderaron los homólogos de fragmentación con una fórmula empírica de  $C_nH_{2n-1}^+$ .



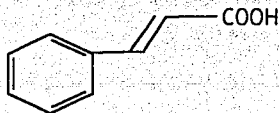
La pérdida de agua del alcohol se observó en todos los casos por el fragmento  $[M^+]-18$  y la serie  $31+14n$  (cuando  $n=24, 26, 28$  y  $30$ ) fue también característica para este tipo de compuestos, también fueron observados los fragmentos en  $m/z$  43 y 57 para las pérdidas de  $C_3H_7^+$  y  $C_4H_9^+$  respectivamente. Lo anterior sugiere que para los cuatro alcoholes mencionados las fórmulas moleculares  $C_{24}H_{58}O$  (13),  $C_{30}H_{62}O$  (14),  $C_{32}H_{66}O$  (15) y  $C_{34}H_{70}O$  (16) las estructuras podrían ser del siguiente tipo:



$n = 24, 26, 28, 30$

#### 4.2.4 Análisis cromatográfico de gases y espectroscópico de la fracción 439

El análisis por CG-EM (Espectro 20) de las subsecuentes fracciones de este mismo extracto mostró la presencia de ácidos grasos, predominantemente el palmítico (6), y en la fracción 439 se encontró al ácido cinámico (17) como componente. Este compuesto se identificó también por comparación de su espectro de masas con una referencia contenida dentro de la base de datos de la biblioteca del espectrómetro de masas.



Ácido cinámico (17)



### 4.3 Aislamiento de los compuestos del extracto metanólico

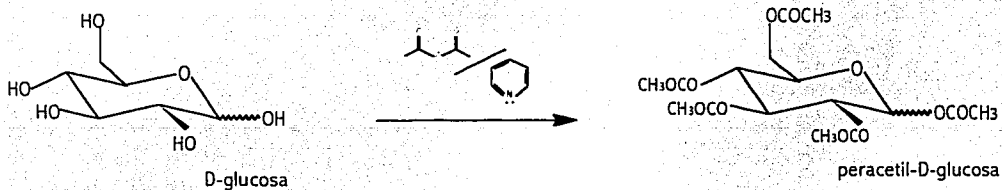
#### 4.3.1 Aislamiento de $\beta$ -D-glucopiranosido de etilo (19)

El extracto metanólico acuoso significó ser el más abundante de los tres extractos (10% de rendimiento), debido a que arrastró gran cantidad de agua que contenían los frutos, misma que no pudo ser eliminada por desecación ya que el material vegetal cambiaba a un color oscuro, tal vez por oxidación de sus componentes.

Posteriormente se realizó una partición con hexano para extraer los componentes de menor polaridad que pudieran haberse arrastrado. El extracto metanólico se secó a temperatura ambiente y presentó por ccf un contenido de compuestos muy polares.

##### 4.3.1.1 Análisis cromatográfico

El extracto se aplicó a una columna cromatográfica de gel de sílice (CCP) que se eluyó con  $\text{CHCl}_3$ -AcOEt. De las fracciones 45-59 se separó un sólido que resulto ser una mezcla de por lo menos cuatro componentes muy polares de acuerdo a la ccf realizada. Por lo anterior se llevó a cabo la acetilación de esta mezcla, purificandose el compuesto de reacción mayoritario por ccf preparativa que se identificó como el 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosido de etilo (19) por las siguientes características; el espectro en el IR mostró la presencia de grupos carbonilo, carbonohidrógeno alifático y carbono-oxígeno por las señales en 2918, 1755, 1453, 1375, 1224 y 1038  $\text{cm}^{-1}$ .



Reacción general de acetilación de los azúcares con anhídrido acético y piridina



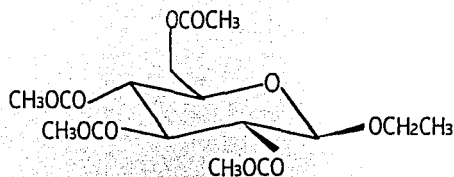
#### 4.3.1.2 Análisis cromatográfico y espectroscópico

El análisis del espectro de RMN<sup>1</sup>H mostró señales para un grupo etilo adyacente a un oxígeno ( $\delta_H$  3.91, 3.58 y 1.2). Las señales para el metileno mencionado se separaron en dos grupos ya que sus hidrógenos no son equivalentes, dando como resultado una señal doble con el protón geminal y ésta se desdobra en un cuarteto por la vecindad con el metilo. De 2.01 a 2.09 se encuentran cuatro singuletes para metilos de acetilo.

También se apreciaron señales para siete hidrógenos unidos cada uno a un carbono base de oxígeno, por los desplazamientos encontrados a 5.21, 5.09, 4.98, 4.51, 4.27, 4.13 y 3.69 ppm. De acuerdo a la multiplicidad observada, se trata de cinco hidrógenos de metinos y un metileno, el doblete en  $\delta_H$  4.51 se asignó a un metino vecino a un oxígeno y a otro metino (CH-1), las tres señales triplete se asignaron a tres metinos que presentan cada uno vecindad con 2 metinos (CH-2, 3 y 4).

El último metino mencionado, de acuerdo a su multiplicidad de doble de dobles de dobles se asignó a un metino vecino a otro metino y a un metileno (CH-5) y a su vez este metileno (-CH<sub>2</sub>-6) presentó una señal doble de dobles. Los valores de constantes de acoplamiento coincidieron con las señales asignadas.

La integración de estos resultados sumó un grupo etilo, cinco metinos y un metileno (todos ellos como se mencionó, como bases de un oxígeno) y cuatro acetilos, lo que suma una fórmula molecular de C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub> que permite un cálculo de IDH de 5. Tomando en consideración los cuatros carbonilos, la quinta insaturación debe corresponder a un ciclo en la molécula, por lo que la estructura de este compuesto debe corresponder al 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosido de etilo (19). El espectro de masas corrobora el peso molecular correspondiente a este producto con la pérdida de un hidrógeno.

2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosido de etilo (19)

4.3.2 Aislamiento de la mezcla de  $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23),  $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y  $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25)

4.3.2.1 Análisis cromatográfico.

De las fracciones primarias 80-83 cristalizó formalmente un sólido el cual estuvo constituido por una mezcla de azúcares con  $R_f$ 's muy cercanos en la cromatografía en capa fina. El espectro de IR de esta mezcla mostró absorciones para grupos hidroxilo ( $3374\text{ cm}^{-1}$ ) en gran intensidad, carbono-hidrogeno alifático ( $2939$  y  $1256\text{ cm}^{-1}$ ) y carbono-oxígeno ( $1057$ ,  $1256\text{ cm}^{-1}$ ). La abundancia de grupos hidroxilos sugirió la presencia de un azúcar por lo que la mezcla se sometió a una reacción de acetilación obteniéndose un sólido de color anaranjado que se purificó por ccf, separándose 2 manchas de las cuales la de mayor polaridad se identificó como una mezcla de los azúcares  $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23),  $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y probable  $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25).

4.3.2.2 Análisis cromatográfico de gases y espectroscópico de la fracción 80-83

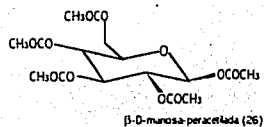
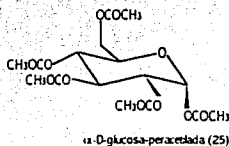
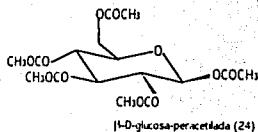
Esta mezcla no pudo ser resuelta en sus tres componentes por los métodos cromatograficos con gel de sílice en placa ó en columna y presentó tres picos en cromatografía de gases (Figura 11). Los pesos moleculares de los tres compuestos observados en el espectro de masas (Espectro 31, 32 y 33) fueron idénticos.



La suposición de que la mezcla constaba de tres azúcares se confirmó por las siguientes observaciones: el espectro de RMN<sup>13</sup>C contiene dos señales en la región donde aparecen los carbonos anoméricos de azúcares (91.6 y 89.0 ppm); también se observan 8 señales para carbonilo de acetilo (170.5-168.9 ppm), en el espectro de RMN<sup>1</sup>H, se asignaron las señales dobles en 6.33, 5.80 y 5.72 ppm a tres hidrógenos anoméricos, con constantes de acoplamiento diferentes y que concuerdan para una disposición de hidrógenos anti, syn, syn con los hidrógenos vecinos. El resto de las señales en RMN<sup>1</sup>H, concuerda para un esquema de hidrógenos de azúcares, que incluye señales de hidrógenos unidos a carbonos vecinos a oxígenos en la zona de 5.26-3.84 ppm.

Las constantes de acoplamiento y los espectros COSY y HETCOR, resolvieron la ubicación de las señales debidas a la β-D-glucosa-peracetilada (23) y dado que en la mezcla este compuesto fue mayoritario, sus señales fueron nitidas y fue posible calcular sus constantes de acoplamiento.

Descartando éstas señales de los espectros mencionados fue posible localizar a las de los otros dos azúcares que concordaron en primera instancia con las esperadas para la α-D-glucosa-peracetilada (24). El compuesto minoritario se identificó presuntivamente como β-D-manosa-peracetilada (25) por las siguientes características: el doblete en 5.8 ppm con una constante de acoplamiento de 4.2 Hz fue congruente con una estereoquímica anti entre los hidrógenos 1 y 2; la señal del carbono anomérico de este compuesto coincide con la del anomérico del compuesto 20 y ambas señales mencionadas, con las reportadas en la literatura para este compuesto (Poucharf, et al., 1993). Finalmente, los espectros de masas en los tres casos muestran el ión por pérdida del grupo acetil-oxi [M<sup>+</sup>-59] en m/z 331.





## 5. CONCLUSIONES



## CONCLUSIONES

El análisis químico diferenciado de los extractos orgánicos de los frutos de la planta *Parmentiera edulis* D.C. (nombre común: guajilote), permitió el aislamiento y caracterización estructural de una serie de constituyentes tales como azúcares (monosacáridos), ácidos grasos en forma libre y alcoholes alifáticos de cadena larga. Los ácidos grasos se identificaron también como sus derivados acetilados e incluyeron principalmente al mirístico, palmítico, octadecenoico y esteárico. Como productos minoritarios se detectaron el ácido cinámico y alcoholes alifáticos de cadena larga.

El rendimiento de los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico fué de: 0.019, 0.016 y 10.53% respectivamente y el contenido de humedad de los frutos de *P. edulis* fué alrededor de 74% (entre 40-45%, Bruneton, 1991).

Los extractos que mostraron actividad biológica significativa fueron el hexánico y el clorofórmico, en las pruebas antimicrobianas, de citotoxicidad y contra *Artemia salina* siendo más importante la antifúngica contra los dermatofitos *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum* (CMI 1.5 y 0.750  $\mu\text{g/mL}$ ) y la de citotoxicidad en la línea celular de carcinoma de ovario ( $\text{ED}_{50}$  1.82  $\mu\text{g/mL}$ ) por parte del extracto hexánico. El extracto metanólico fue inactivo.

La estructura de los compuestos se identificó a través de sus características espectroscópicas y espectrométricas y por formación de derivados, como la peracetilglucosa y los ésteres metílicos de los ácidos grasos.

La separación de los ácidos grasos contenidos en las mezclas presentó un problema que eventualmente se resolvería mediante la aplicación de técnicas analíticas instrumentales de alta resolución. Tal tecnología permitiría aislar y caracterizar otras sustancias que pudieran estar presentes en las mezclas aisladas.



Dada la naturaleza de los compuestos identificados, éstos deben ser el producto de hidrólisis durante el proceso de aislamiento, ya que en las plantas, los ácidos grasos generalmente se encuentran esterificados por triglicéridos.

De acuerdo a la investigación bibliográfica realizada, este es el primer estudio fitoquímico sobre los frutos de *P. edulis*.

Los ácidos grasos identificados en *P. edulis* pudieran corresponder a los principios activos referentes a algunas de las propiedades curativas atribuidas a este vegetal, lo que podría sustentarse ya que el ácido undecilénico, un ácido carboxílico de 11 átomos de carbono es el fármaco principal empleado en la terapéutica actual para aliviar infecciones por dermatofitos causantes de tiñas.

Es potencialmente posible el tratamiento y curación de ciertas enfermedades a través de los medicamentos que se pueden formular a partir de las plantas, por lo que es muy importante dentro del medio ambiente, mantener los recursos naturales ó sustituirlos por otros, con conciencia, conocimiento, criterio, moral, ética y el amor a la vida. Los valores anteriores son las armas suficientes para lograr lo que uno esta tratando de realizar tanto en su vida profesional, como en su vida personal.

## 6. GLOSARIO



## GLOSARIO

Abscesos	Médico. Acumulación de pus en tejidos orgánicos
Albumen	Botánico. Tejido de reserva nutritiva que envuelve inmediatamente al embrión de muchas plantas y le sirve de primer alimento
Antera	Botánico. Parte del estambre de las flores que contiene el polen
Bilocular	Botánico. Dícese de la cápsula que tiene dos cavidades
Biodiversidad	Variedad, diferencia, abundancia de los seres vivos
Blanquizzo	Blanquecino
Bofoliada	Espojoso, blando
Caducifolio	Dícese de los árboles y plantas de hoja caduca al empezar la estación desfavorable
Caedizas	Botánico. Dícese de los órganos que no son persistentes
Carraspera	Aspereza en la garganta que enronquece la voz
Carpelo	Botánico. Cada una de las hojas modificada que constituyen en el pistilo
Catártico	Médico. Dícese de los medicamentos purgantes
Colagogo/a	Dícese del medicamento que activa la secreción biliar, purgante
Corola	Botánico. Cubierta interior de la flor completa, generalmente de bellos colores que protege los órganos de la reproducción
Cotiledón	Botánico. Parte de la semilla que rodea al embrión y le proporciona alimento necesario para su desarrollo
Cotiledonea/e	Botánico. Perteneciente al cotiledón
Crucifera	Botánico. Familia de la planta dicotiledónea, hojas espinadas y con pelos unicelulares por lo común con cuatro pétalos en cruz diagonal
Dehiciente	Botánico. Dícese del fruto cuyo pericarpio se abre naturalmente para que salga las semillas
Dehiscencia	Botánico. Manera de abrirse naturalmente las anteras de una flor ó el pericarpio de un fruto, para dar salida al polen ó a la semilla
Destorso	Destrozar
Dicotiledónea	Botánico. Plantas cuyas semillas tienen dos cotiledones



- Didínamo** Botánico. Se dice de las flores de cuatro estambres libres, dos más largos que los otros dos
- Escrofulariácea** Botánico. Plantas dicotiledóneas de hojas alternas, flores en racimos ó en espigas y frutos capsular dehisciente ó en bayas
- Estípula** Botánico. Apéndice foliáceo colocado en los lados del peciolo ó en el ángulo que este forma con el tallo
- Etnobotánica** Botánico. Ciencia que estudia la descripción de las plantas de acuerdo a su uso por los diferentes grupos étnicos
- Foliáceo** Botánico. Perteneciente a las hojas de las plantas || de estructura laminar
- Foliolo** Botánico. Hojuelas de una hoja compuesta
- Güira** Botánico. Árbol bignoniáceo tropical, cuyo fruto globoso de corteza dura, hacen vasijas los campesinos || calabaza (fruto de la calabacera)
- Hidropesía** Patología. Acumulación anormal de humor seroso en cualquier cavidad del cuerpo ó su infiltración en el tejido celular
- Infusión** Farmacia. Acción de extraer de las sustancias orgánicas las partes solubles en el agua caliente
- Introrsa/o** Botánico. Dicese de las anteras, cuyas dehiscencia se verifica hacia el pistilo
- Jícara/a** América. Pequeña vasija hecha del fruto de la güira
- Labiado/a** Botánico. Aplicase a plantas dicotiledóneas de hojas opuestas, cáliz persistente y corola como la albahaca, el romero
- Lóbulo** Botánico. Porción redondeada y saliente de un órgano cualquiera
- Loculida** Cápsula por línea longitudinal según los nervios medios de las hojas
- Nefritico** Perteneciente a los riñones ó inflamación de los riñones
- Oblongo** Más largo que ancho
- Peciolo** Botánico. Pezón de la hoja ó rodillo de la hoja, flor ó fruto de las plantas
- Pentámera/o** Botánico. Dicese de los verticilos formados por cinco piezas y de la flor que tiene corola y cáliz con este carácter
- Perennifolio** Dicese de los árboles y plantas que conservan su follaje todo el año
- Pericarpio** Botánico. Parte exterior del fruto, que cubre las semillas de las plantas
- Pinnado** Botánico. Se dice de la nerviación de la hoja ó del limbo de la



- compuesta, silos nervios secundarios ó las divisiones del limbo ó las foliados están a derecho e izquierdo a lo largo de un nervio medio ó de un pecíolo
- Sancochar/do Cocer la vianda, dejándolo medio cruda y sin sazonar
- Septifraga Dícese de la hiscencia de los frutos sincárpicos con carpelos cerrados si se cortan los tabiques dejando parte en el eje y separándose otra parte en las valvas
- Silicua Botánico. Fruto seco que se abre empezando por abajo en dos valvas caedizas, dejando un falso tabique con muchas semillas a los dos lados de sus dos bordes, es por lo menos cuatro veces más largo que ancho
- Silicuiforme Botánico. Cápsula de la forma silicua pero a la que le faltan algunas de las condiciones de las crucíferas
- Sincárpico Ovario compuesto por carpelos soldados, el fruto casi constituido puede ser seco ó carnososo, indehisciente ó deshiscente
- Temperante Temperar, templar ó calmar
- Trifoliada Se conoce como trébol ó trebol
- Valva Botánico. Cada una de las partes de un fruto que se abre naturalmente a lo largo para dejar al descubierto las semillas
- Verticilo Botánico. Conjunto de órganos análogos y contiguos que están alrededor de un lado
- Vianda Sustento y comida de los racionales || comida que se sirve a la mesa
- Vid Botánico. Planta viácea vivaz de tronco retorcido, hojas partidas en cinco lóbulos puntiagudos, flores verdosas en racimos y cuyo fruto es la uva

## 7. BIBLIOGRAFIA





## BIBLIOGRAFIA

Anderson, J. E., Goetz, C. M. y McLaughlin, J. L., A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassays and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens. *Phytochemical Analysis*, 1991, 2, 107-111

Argueta, V. A., Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Editorial INI, México, 1994, 1, 138, 205, 356, 455, 545-546, 2, 716, 720, 734, 3, 1218, 1246, 1365

Barrera, M. A., Barrera, A.V. y López, F. R.M., Colección Científica Etnología Mexicana Nomenclatura Etnobotánica Maya. Editorial INI, México, 1976, 266

Boronda, M. E., Flora Medicinal Indígena de México. Editorial INI, México, 1994, 1, 650, 2, 1238

Bruneton, J., Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia. Editorial Acribia, (Zaragoza) España, 1991, 3-96

Chávez, D., Acetogeninas de Anonáceas con Estructura Novedosa y Actividad Antineoplásica y Potencial de *Annona purpurea* y *Rollinia mucosa*. Tesis doctoral. Facultad de Química, UNAM, México, 1998, 78

Diccionario Enciclopédico Abreviado. Editorial Espasa-Calpe 7ª Edición, Madrid, 1972, 1, 308, 2, 373 608, 3, 35 296 424, 4, 580, 6, 196, 7, 879

Domínguez, Dr. X. A., Métodos de Investigación Fitoquímica. Editorial Limusa, México, 1979, 13-15

Enciclopedia Universal Ilustrada Europea-Americana. Editorial Espasa-Calpe, Madrid, 1974, 7, 823, 17, 218, 28, 1858, 30, 1363, 55, 390, 56, 486



Fessenden, R.J. & Fessenden, J.S., Química Orgánica. Editorial Iberoamericana, México, 1983, 634-636, 814-851

Ghisalliat, E.L., Chapter 2. Detection and Isolation of Bioactive Natural Products. En: *Bioactive Natural Production*. Eds. Colegate, S. and Molyneux, R. CRC Press, London, 1993, 11-26

Gómez, C. R., Estudio Fitoquímico Complementario del Extracto Metanólico de las Hojas de *Blomia prisca* (Sapindaceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México, 2000, 19, 23, 30

Gutiérrez, M. P., Aislamiento y Caracterización Estructural del Acil Glicosil Esteroles y Otros Constituyentes de *Chenopodium nuttalliae* (Huauzontle). Tesis de Licenciatura. Facultad de ciencias, UNAM, México, 1992, 16, 21

IMSS, FEUM. Editorial IMSS 7ª edición, México, 2000, 1, 172, 474-476, 484, 503, 503, 509, 515

Inove, M., Nishimura, H., Hai-Hang, L. y Mizutani, J., Allelochemicals of polygonum sachalinense FR.SCHM (Polygonaceae) *Journal of Chemical Ecology*, 1992, 1, 1833-1840

Liebermann, H. R., Estimating LD<sub>50</sub> using the Probit Technique: a basic computer program drug *Chemical Toxicology*, 1983, 6, 111-116

Martínez, M., Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas. Editorial Fondo de Cultura Económica, México, 1979, 449

Martínez, M., Las Plantas Medicinales de México. Editorial Botas 6 edición, México, 1989, 91, 561

Mata, Dr. E. R., Curso Teórico de Farmacognosia Material Didáctico 2ª edición. Editorial UNAM. FQ, México, 2000, 4-13



Mata, P. S., Méndez G. D. y colaboradores. Diccionario Enciclopédico de la Medicina Tradicional Mexicana. Editorial INI 1ª edición, México, 1994, 1, 35

McLaughlin J. L., Crown Gall, Tumours on Potato Discs and Brine Shrimp Lethality: Two Simple Bioassays for Higher Plant Screening and Fractionation Methods, in Plant Biochemistry. *Academic Press*, Estados Unidos de América, 1991, 6, 8-9

McMurry, J., Química Orgánica. Editorial Iberoamericana, México, 1994, 776-781

Pérez Gutiérrez, Dra. en C. R. M., Pérez Gutiérrez, M. en C. C., Zavala Sánchez, M. en C. M. A. y Pérez Gutiérrez, Dra. en C. S., Actividad Hipoglucemiante de *Bouvardia terniflora*, *Brickellia veronicaefolia* y *Parmentiera edulis*. *Salud Pública de México*, México, 1998, 40, (4), 354-358

Pouchert, C.J. & Behnke, J., The Aldrich Library of <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H FTNMR Spectra. Edition I, Editorial Aldrich Chemical Company, United States America, 1993, 1, 1056-1058

Meyer, B. M., Ferrigni, N.R., Putnam, J. E., Jacobsen, L.B., Nichols, D. E. y McLaughlin, J. L., Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 1982, 45, 31-34

Shriner, R. L., Fuson, R. C. y Curtin, D. Y., Identificación Sistemática de Compuestos Orgánicos. Editorial Limusa. México, 1997, 269

Stahl, E. and Schorn, P. J., Thin Layer Chromatography-A Laboratory Handbook. Editorial E. Stahl. Springer. Berlin, 1965, 384

Teng, W. S., Bioactive Natural Products: Toxicity Testing Using the Brine Shrimp: *Artemia Salina*. Editorial S. M. Colgate & R.J. Molyneaux, CRC Press, INC. Estados Unidos de América, 1993, 441-457



Villareal, M. L., Alvarez, L., Alonso, D., Navarro, V., García, P. y Delgado, G.,  
Cytotoxic and antimicrobial screening of selected terpenoids from Asteraceae species.  
*Journal of Ethnopharmacology*, 1994, 42, 25-29

[www.botany.hawaii.esu/faculty/cair/bignoni.htm](http://www.botany.hawaii.esu/faculty/cair/bignoni.htm)

[www.desert-tropicals.com/plants/scinames-p.html](http://www.desert-tropicals.com/plants/scinames-p.html)

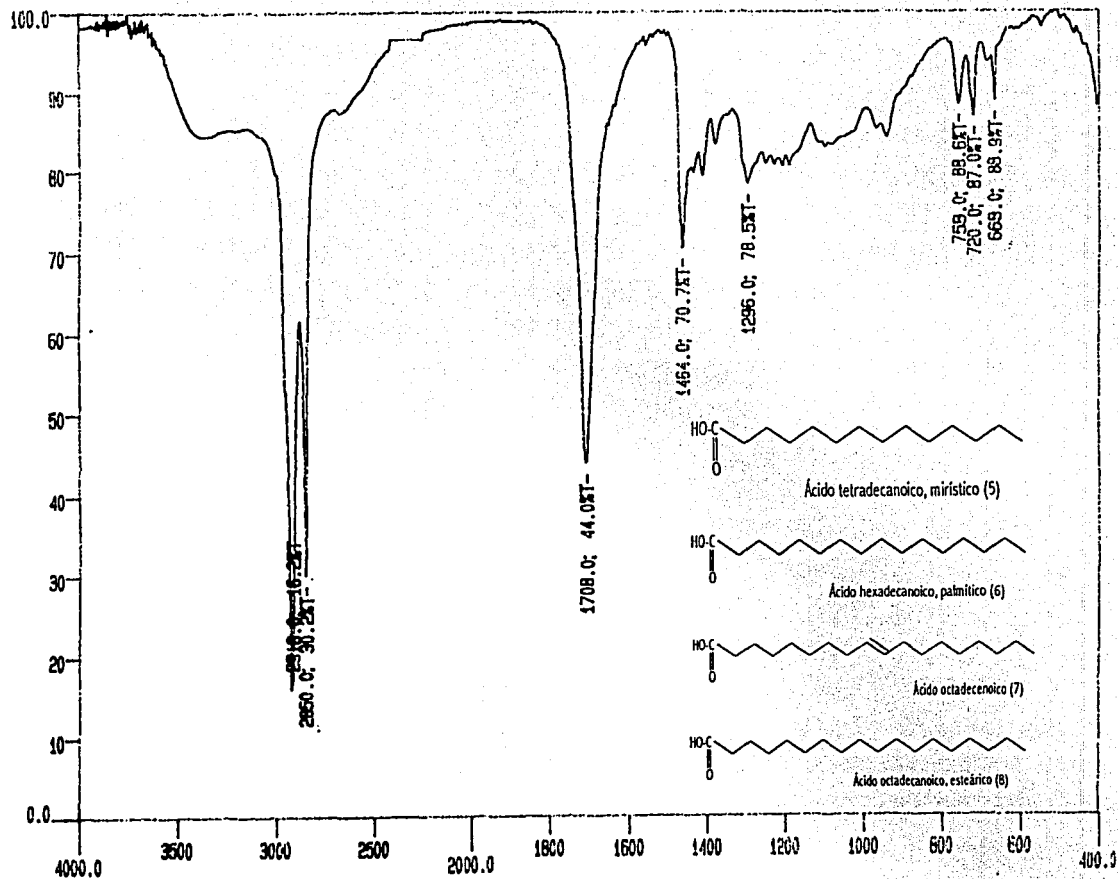
[www.holisticopia.com/herbs.p.htm](http://www.holisticopia.com/herbs.p.htm)

[www.waynesword.pañomar.edu/ecoph26.htm](http://www.waynesword.pañomar.edu/ecoph26.htm)

8. ANEXO

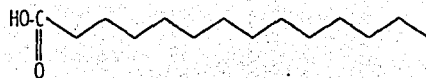
XT

63

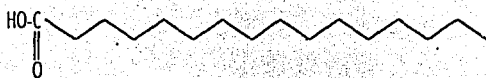


CH-1

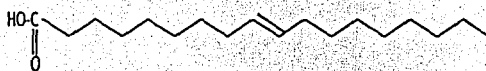
Espectro 1. Espectro de IR (película) de la mezcla de los ácidos mirístico (5), palmítico (6), octadecenoico (7) y esteárico (8)



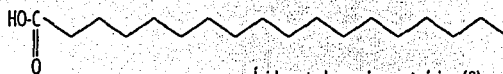
Ácido tetradecanoico, mirístico (5)



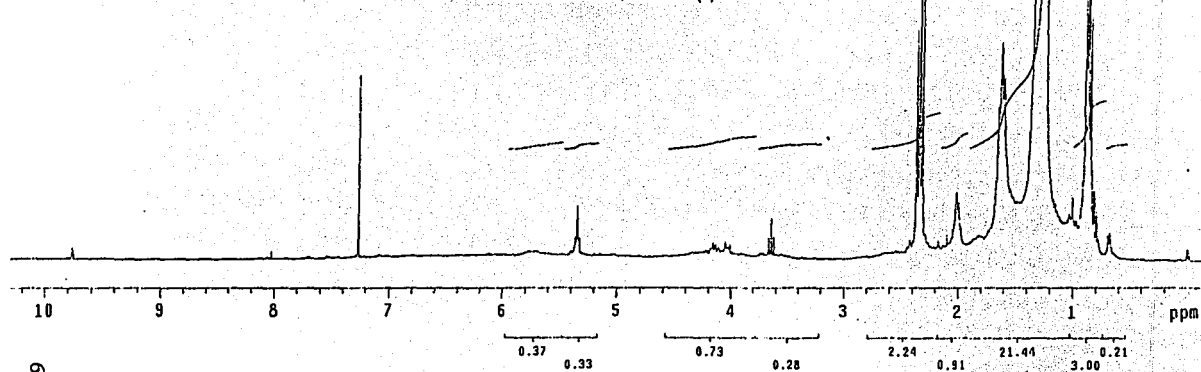
Ácido hexadecanoico, palmítico (6)



Ácido octadecenoico (7)



Ácido octadecanoico, esteárico (8)



Espectro 2. Espectro de RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, TMS) de la mezcla de los ácidos mirístico (5), palmítico (6), octadecenoico (7) y esteárico (8)

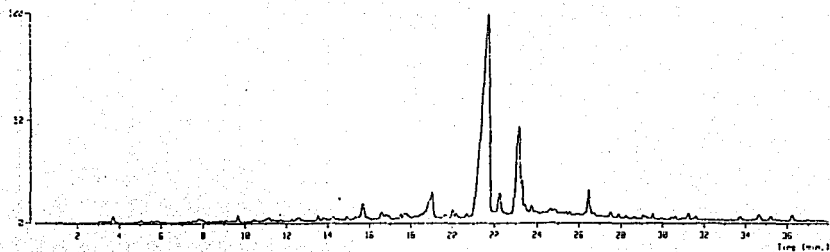
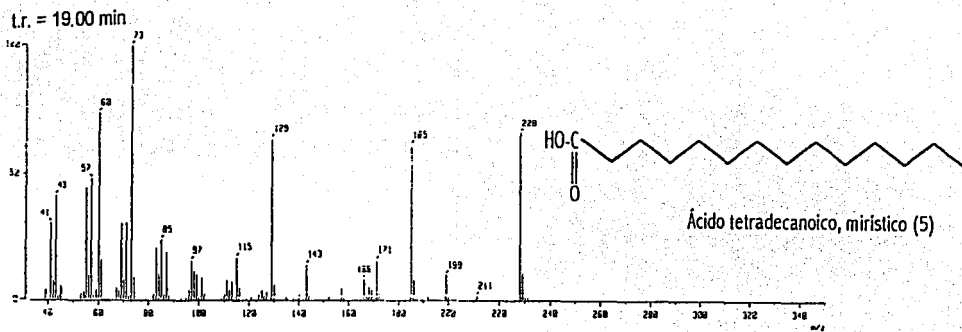
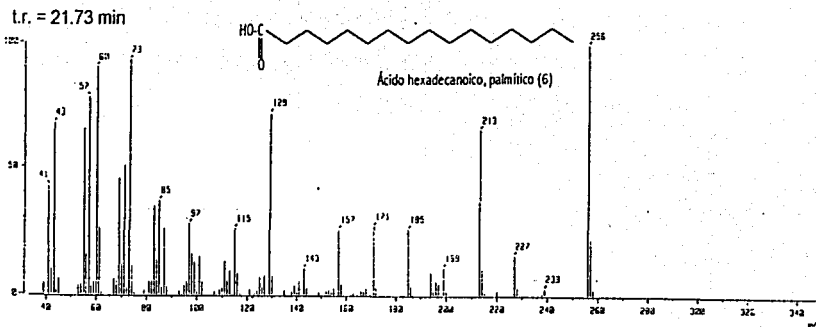


Figura 6. Cromatograma de gases de la mezcla de los ácidos mirístico (5), palmítico (6), octadecenoico (7) y esteárico (8)

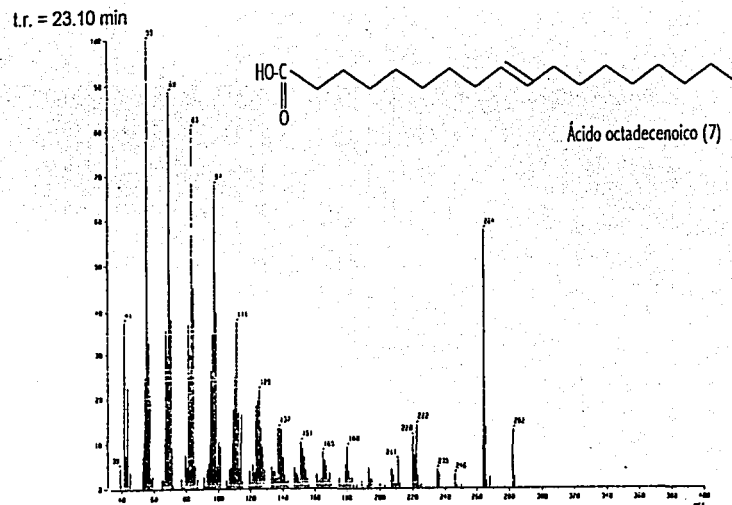


Espectro 3. Espectro de masas por impacto electrónico del ácido mirístico (5)



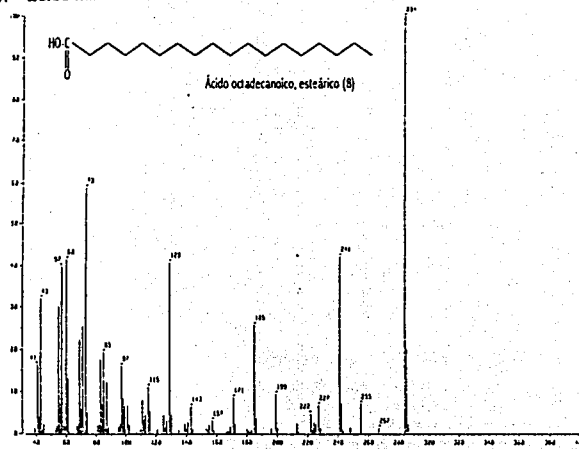


Spectro 4. Espectro de masas por impacto electrónico del ácido palmítico (6)

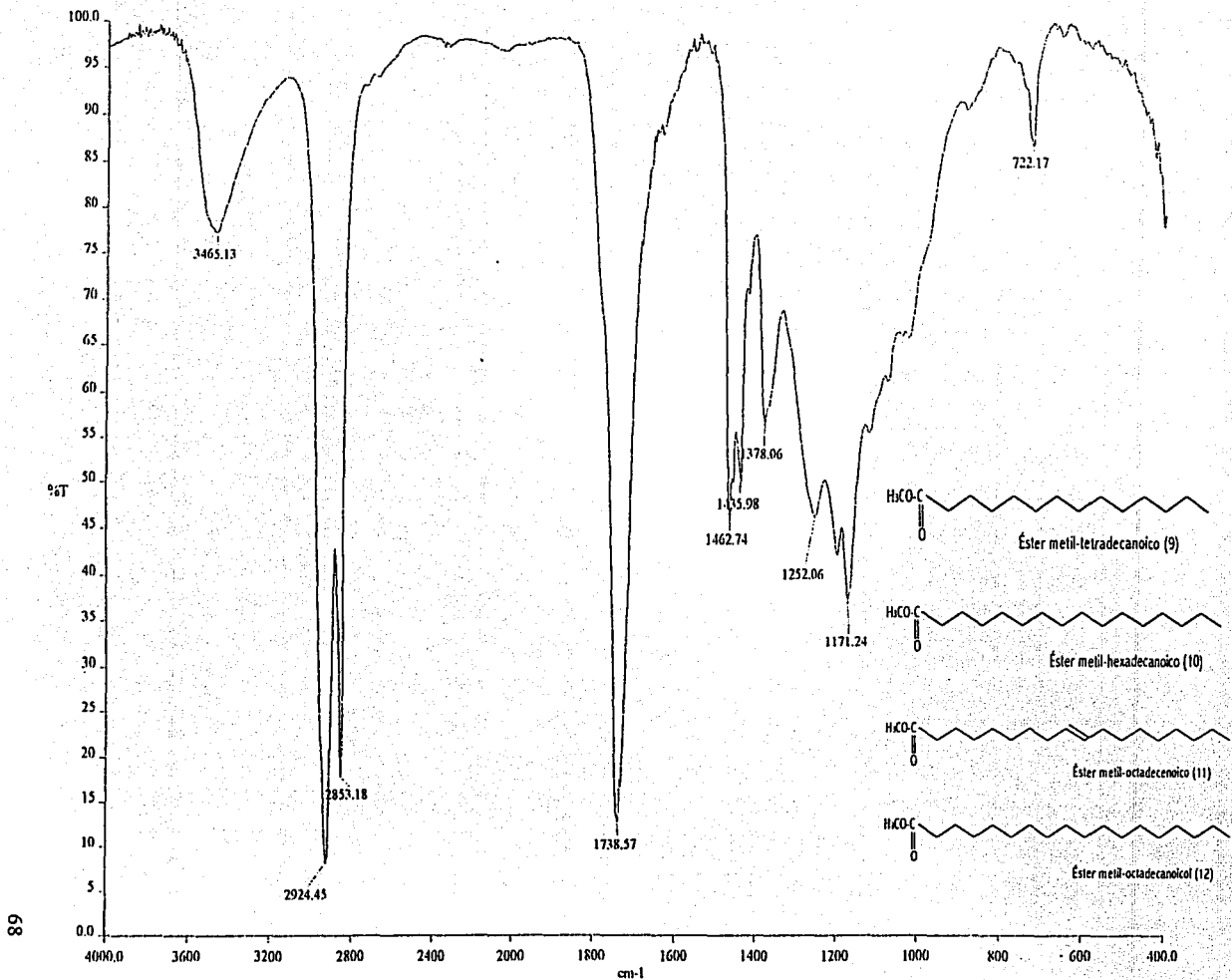


Spectro 5. Espectro de masas por impacto electrónico del ácido octadecenoico (7)

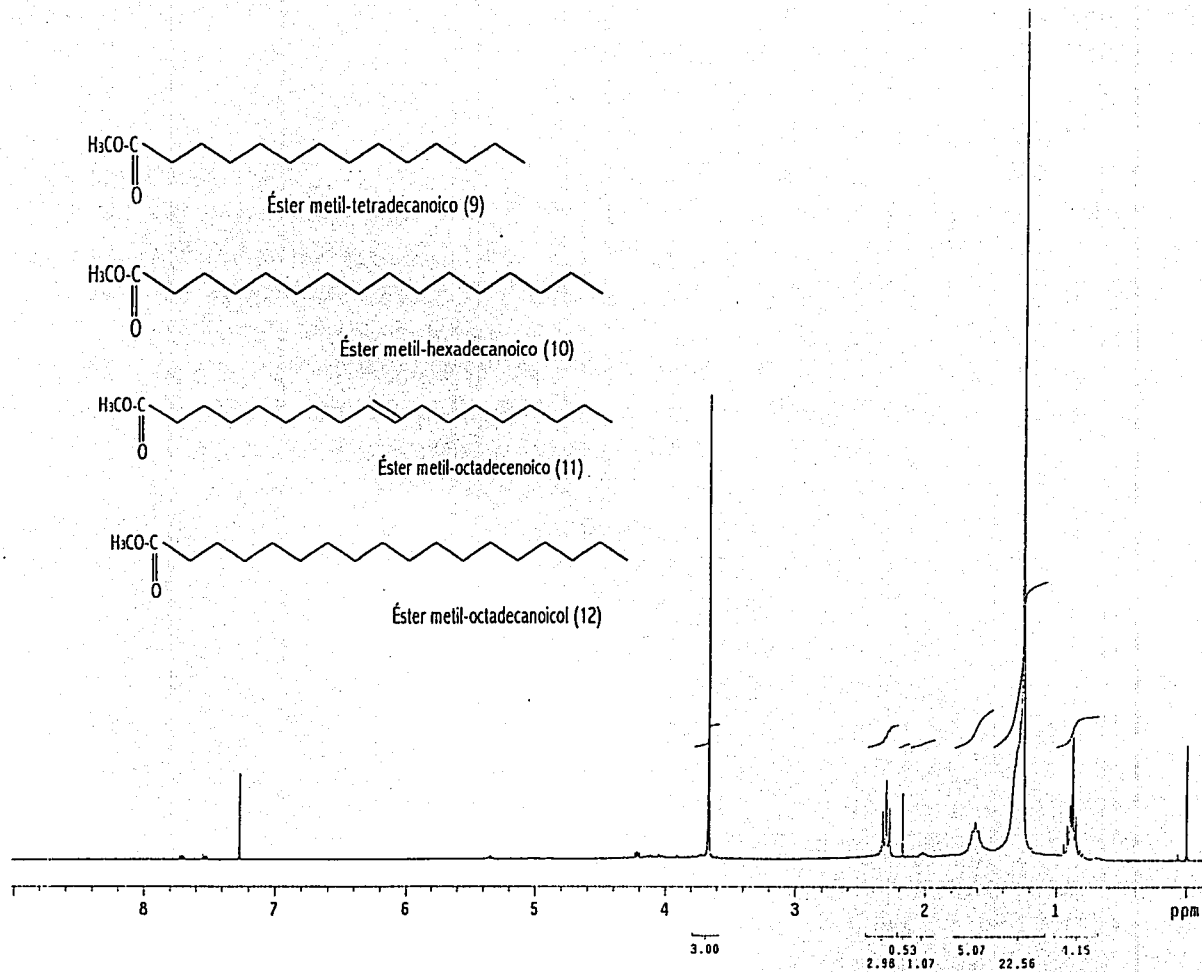
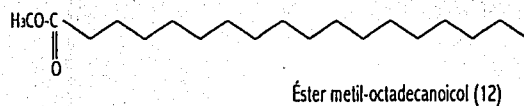
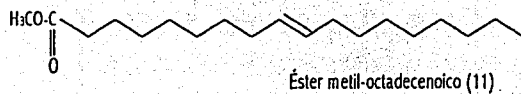
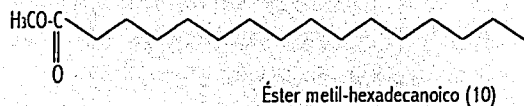
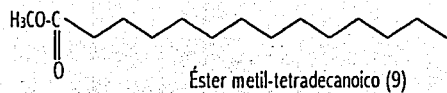
t.r. = 23.30 min



Espectro 6. Espectro de masa modalidad impacto electrónico del ácido esteárico (8)



Espectro 7. Espectro de IR (película) de la mezcla de los ésteres metílicos de los ácidos mirístico (9), palmítico (10), octadecenoico (11) y esteárico (12)



8 Espectro 8. Espectro de RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, TMS) de la mezcla de los ésteres metílicos de los ácidos mirístico (9), palmítico (10), octadecenoico (11) y esteárico (12)

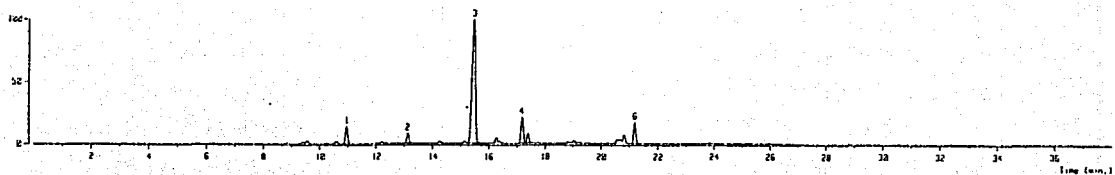
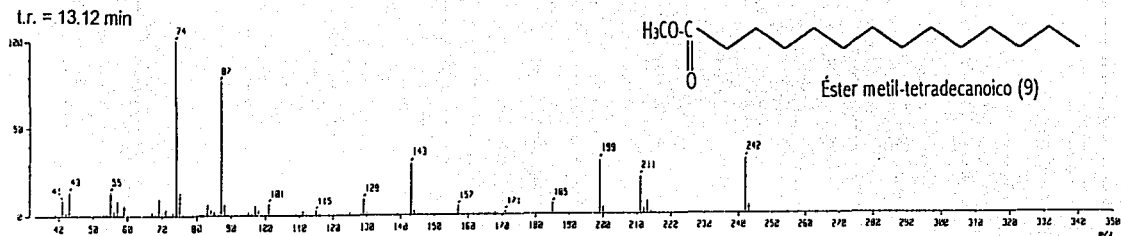
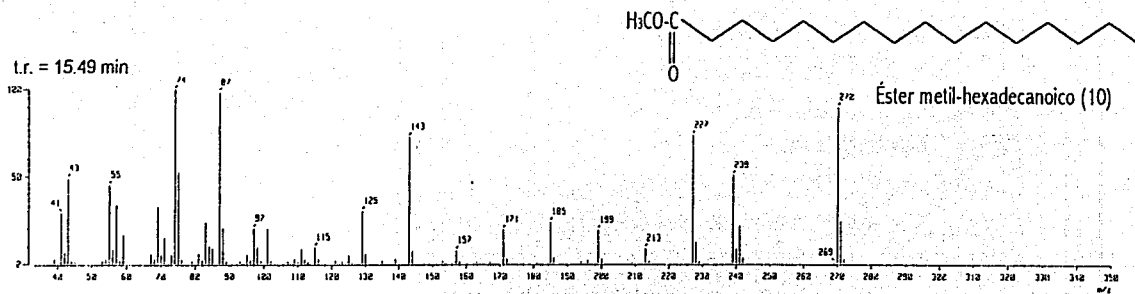


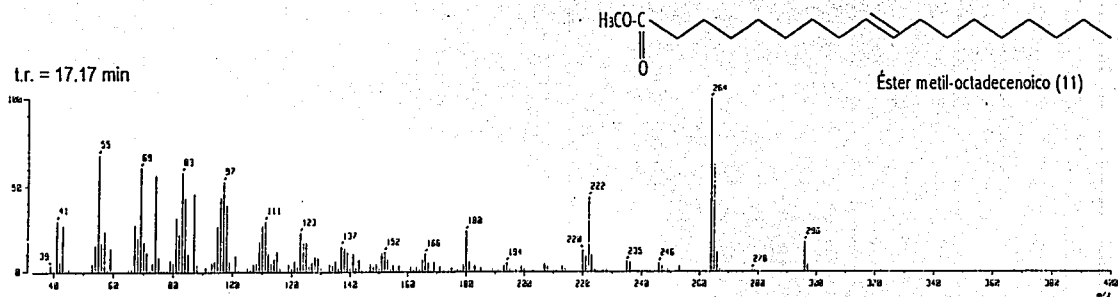
Figura 7. Cromatograma de gases de la mezcla de los ésteres grasos



Espectro 9. Espectro de masas por impacto electrónico del éster metílico del ácido tetradecanoico (9)

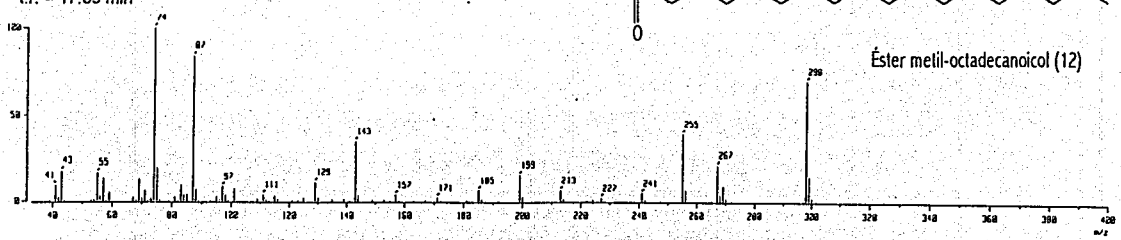


Espectro 10. Espectro de masas por impacto electrónico del éster metílico del ácido hexadecanoico (10)

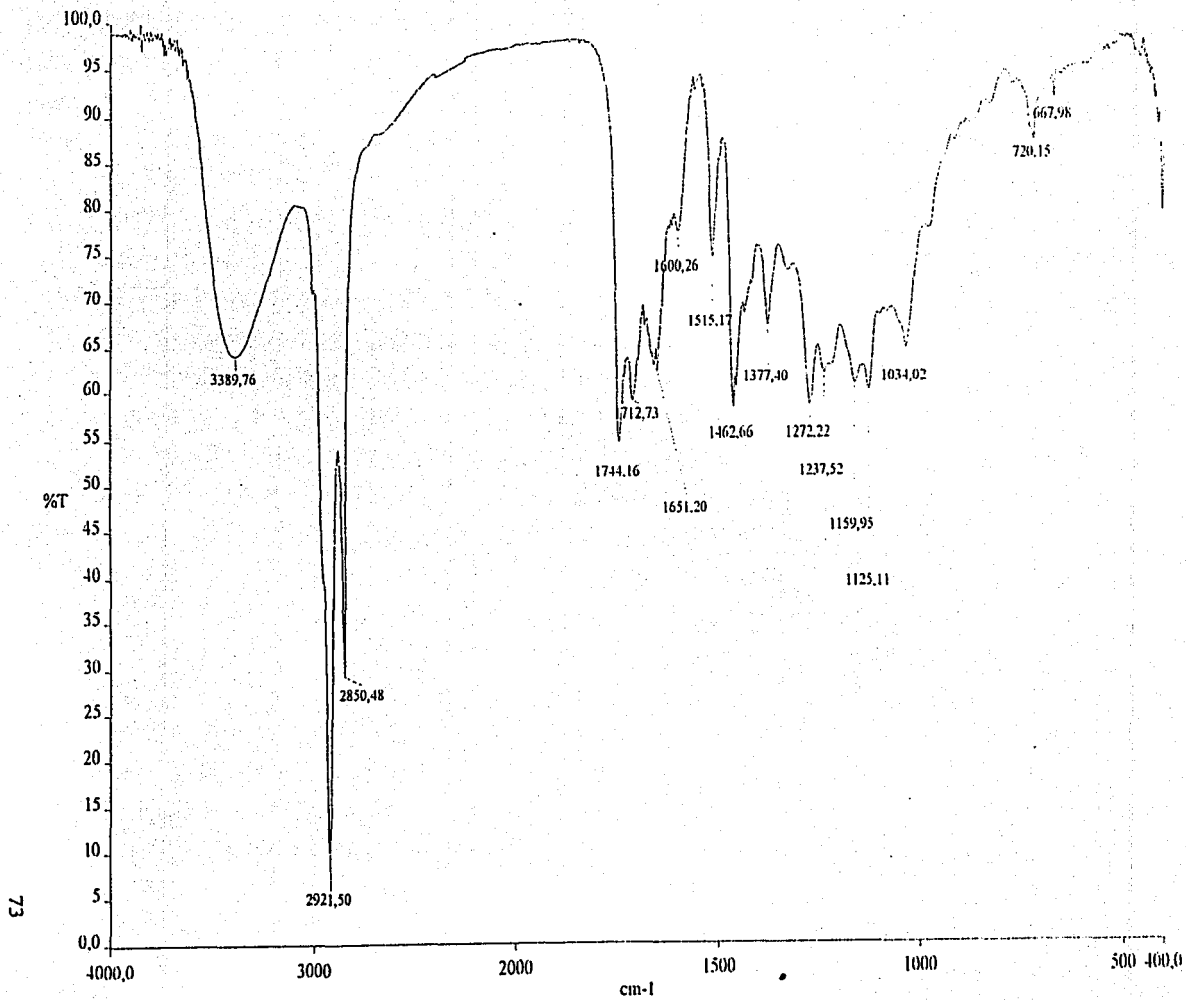


Espectro 11. Espectro de masas por impacto electrónico del éster metílico del ácido octadecenoico (11)

t.r. = 17.39 min

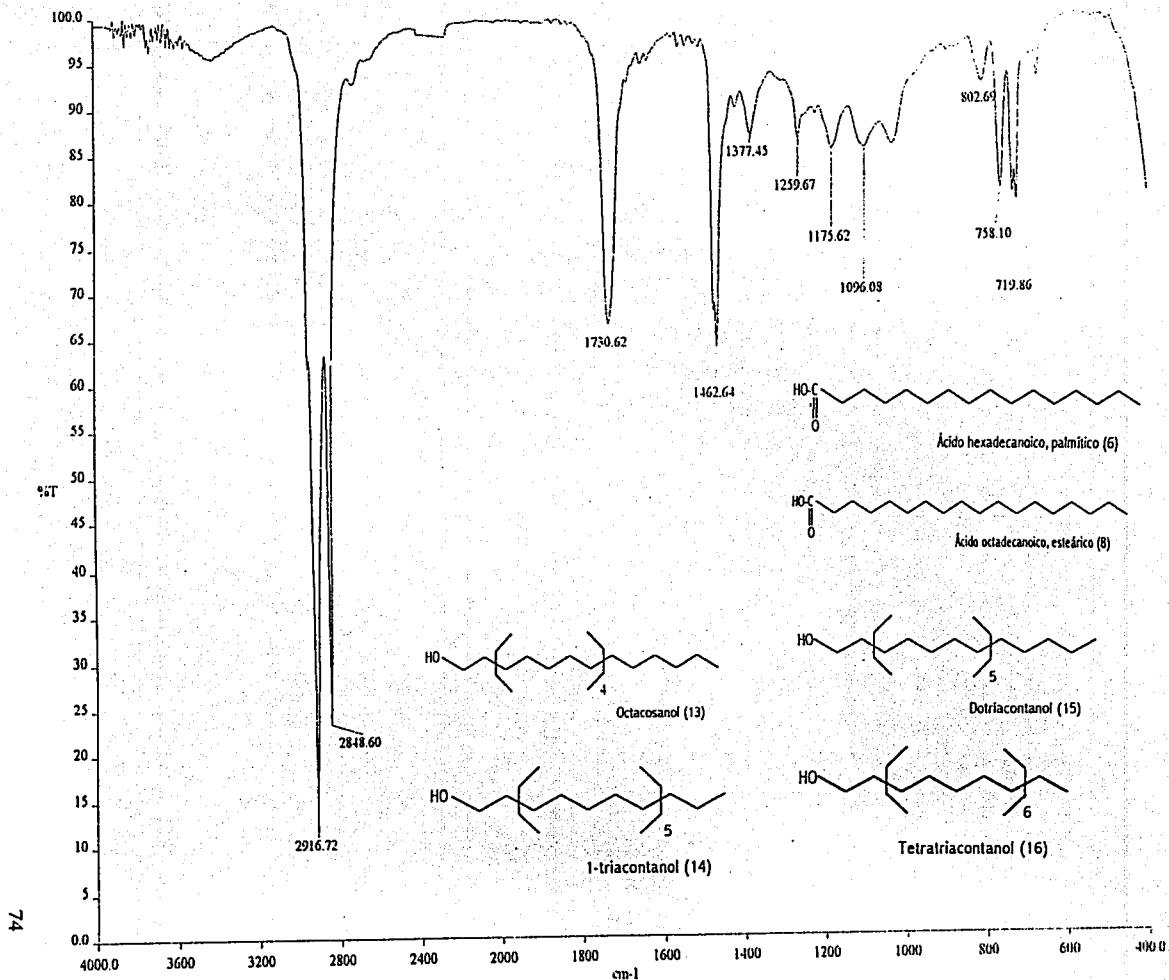


Espectro 12. Espectro de masas por impacto electrónico del éster metílico del ácido octadecanoico (12)



Espectro 13. Espectro de IR (película) del extracto clorofórmico





Espectro 14. Espectro de IR (película) de la fracción 21-144, mezcla de los ácidos palmítico (6), esteárico (8), octacosanol (13), 1-triacontanol (14), dotriacontanol (15) y tetratriacontanol (16)

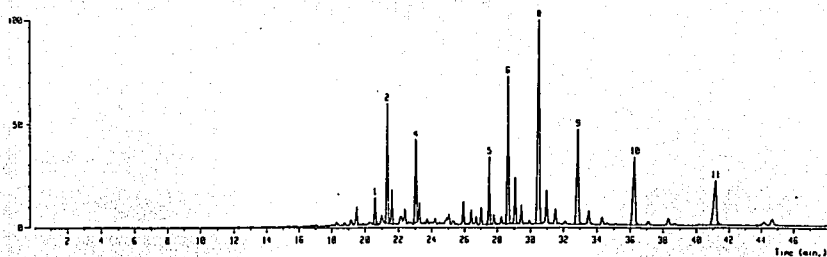
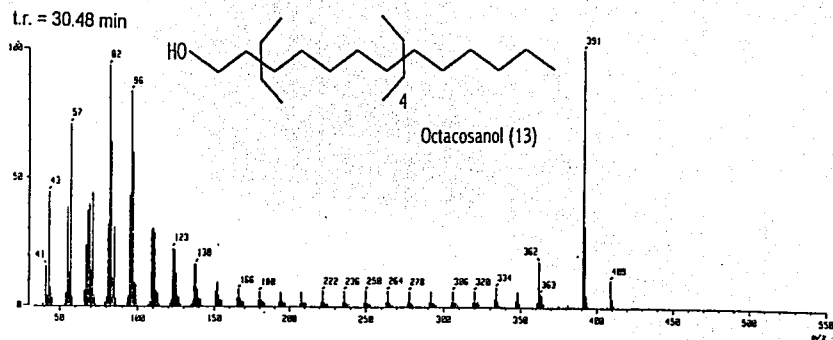
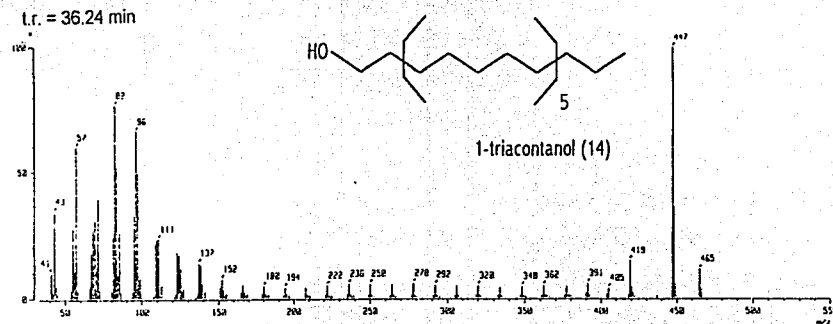


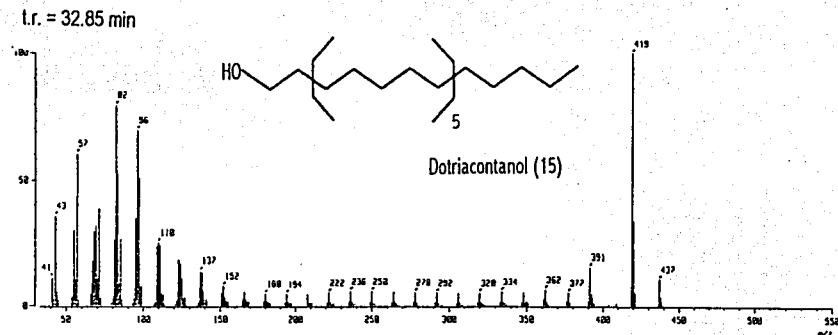
Figura 8. Cromatograma de gases de la mezcla de los ácidos palmítico (6), esteárico (8) y los alcoholes octacosanol (13), 1-triacontanol (14), dotriacontanol (15) y tetratriacontanol (16)



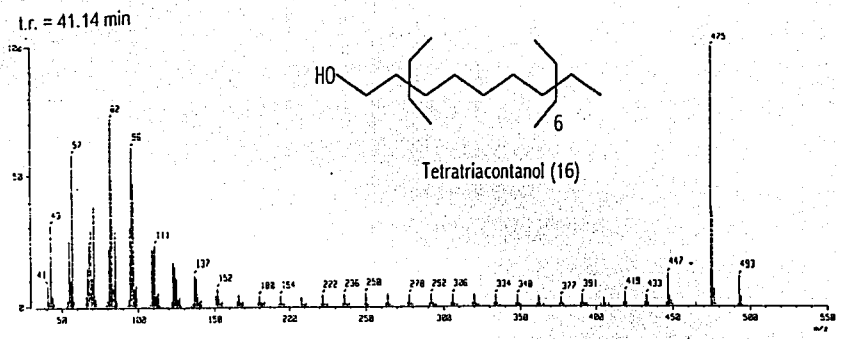
Espectro 15. Espectro de masas por impacto electrónico del octacosanol (13)



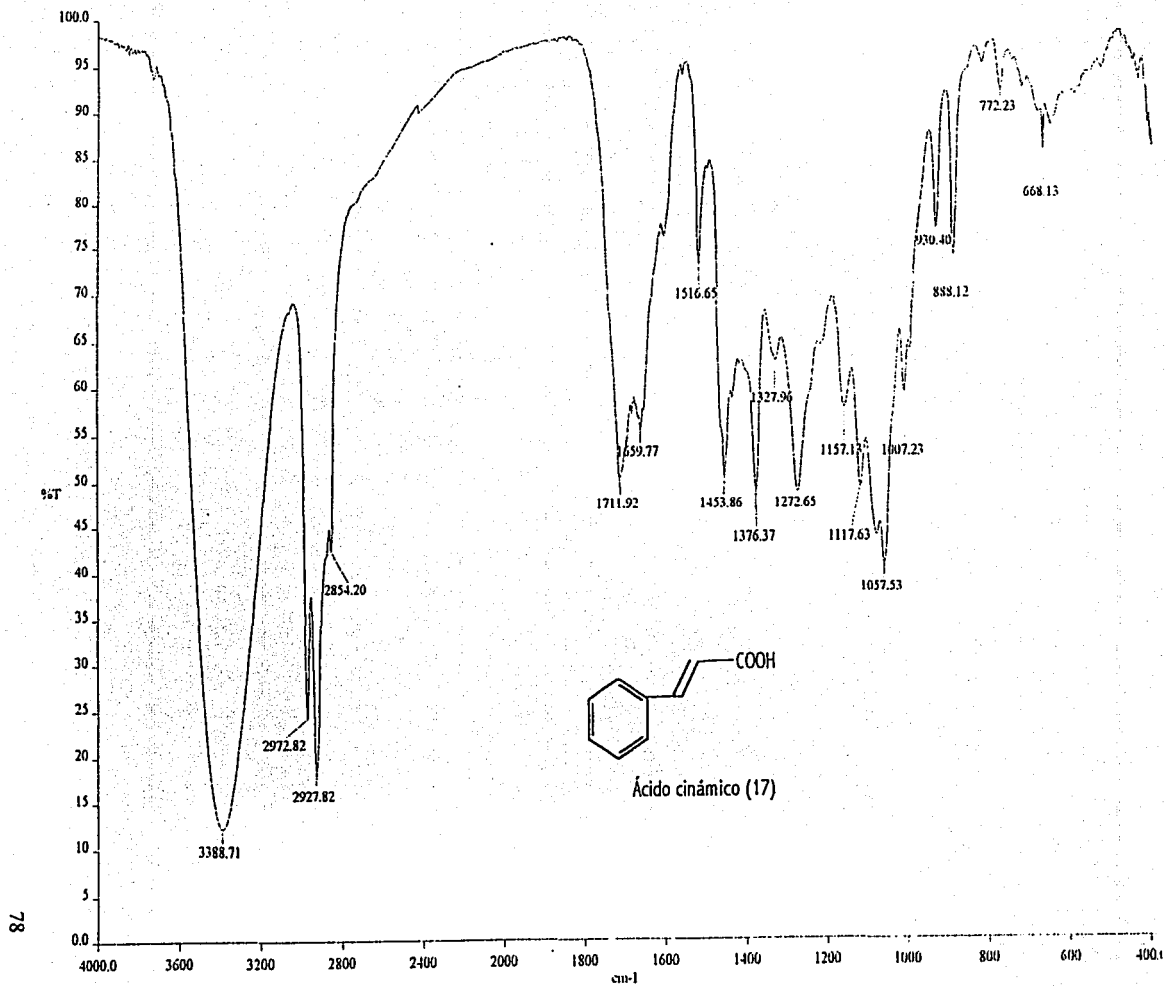
Espectro 16. Espectro de masas por impacto electrónico del 1-triacontanol (14)



Espectro 17. Espectro de masas por impacto electrónico del dotriacontanol (15)



Espectro 18. Espectro de masas por impacto electrónico del tetraatriacontanol (16)



Espectro 19. Espectro de IR (película) de la mezcla de la fracción 439-444

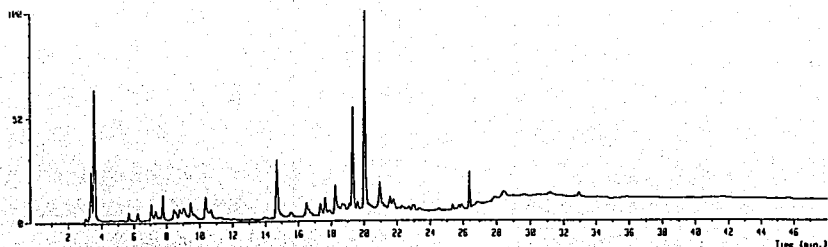
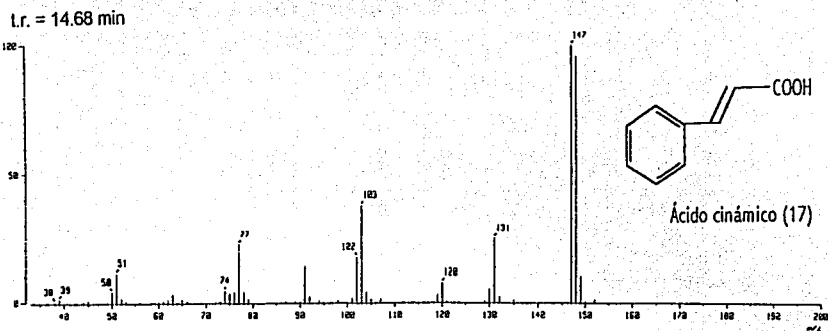
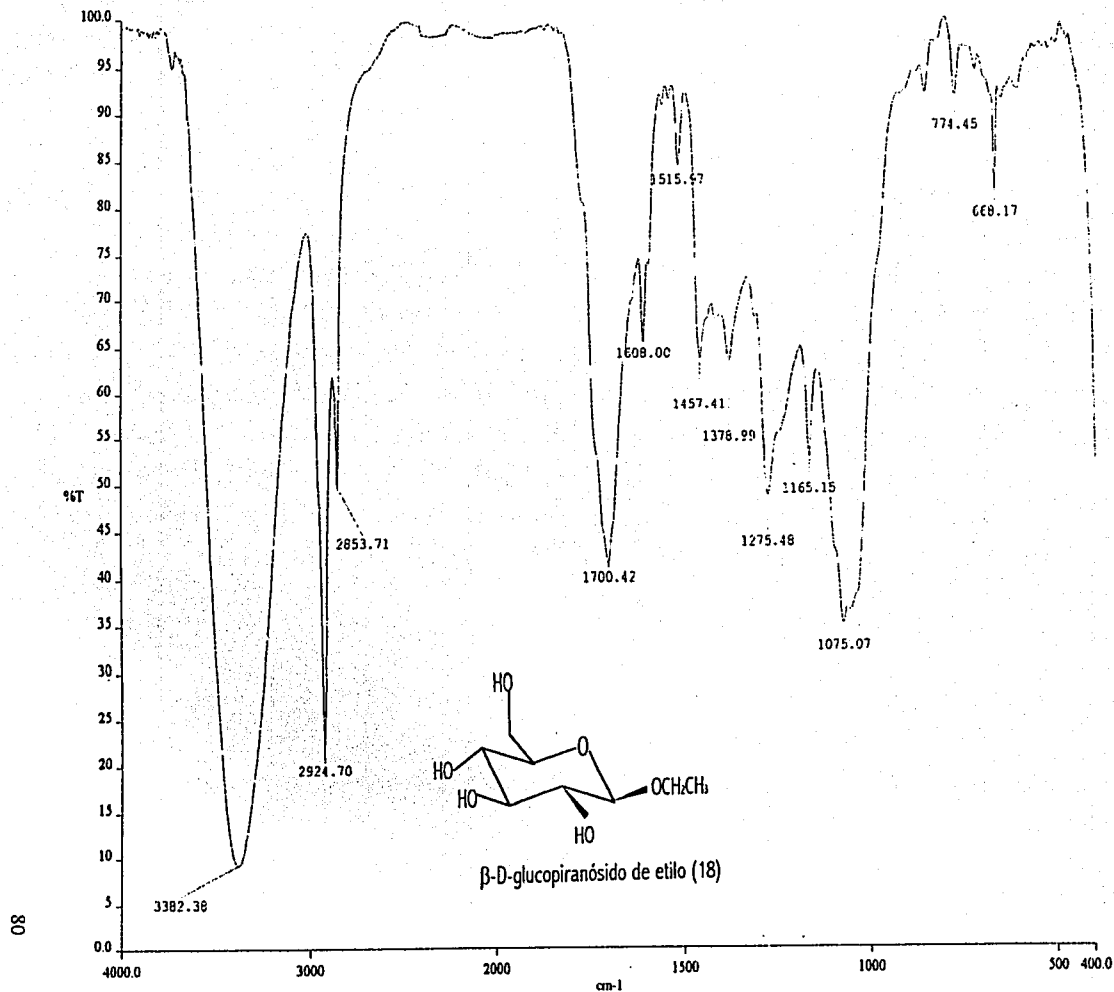


Figura 9. Cromatograma de gases de la mezcla de la fracción 439-444

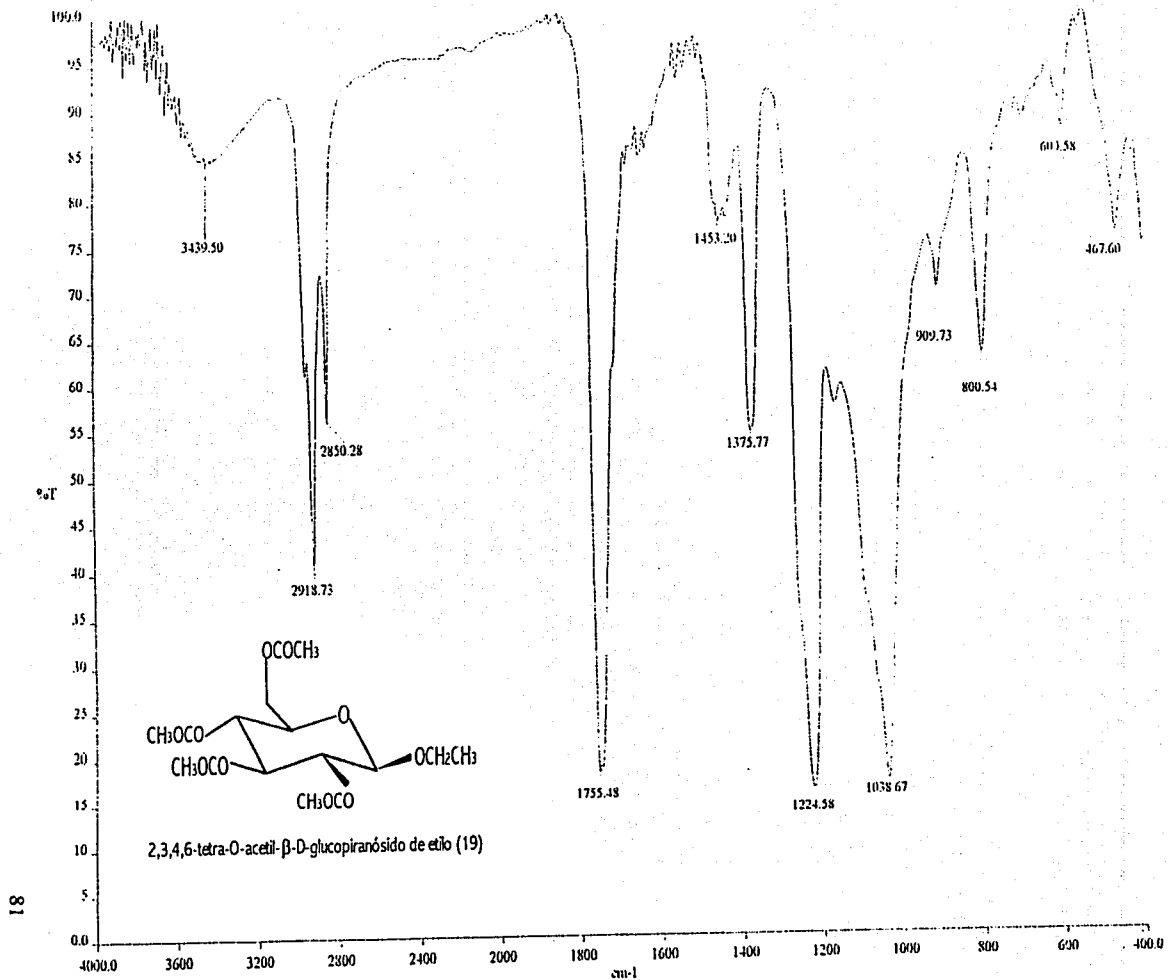


Espectro 20. Espectro de masas por impacto electrónico del ácido cinámico (17)

INSTITUTO VIAL  
 LABORATORIO VIAL

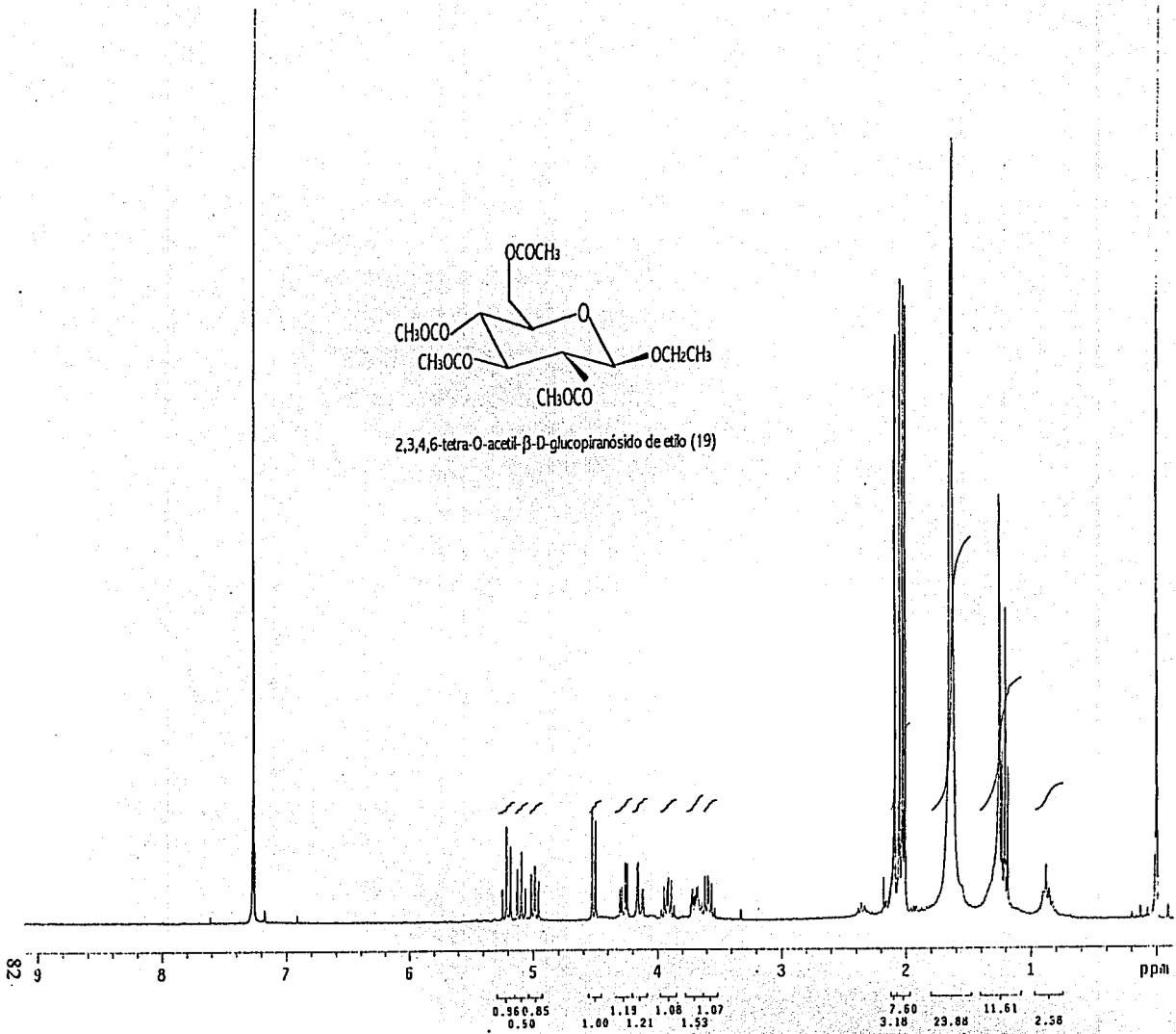


Espectro 21. Espectro de IR (película) de la mezcla del monosacárido β-D-glucopiranosido de etilo (18)



Espectro 22. Espectro de IR (película) del 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosido de etilo (19)





Espectro 23. Espectro de RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosido de etilo (19)

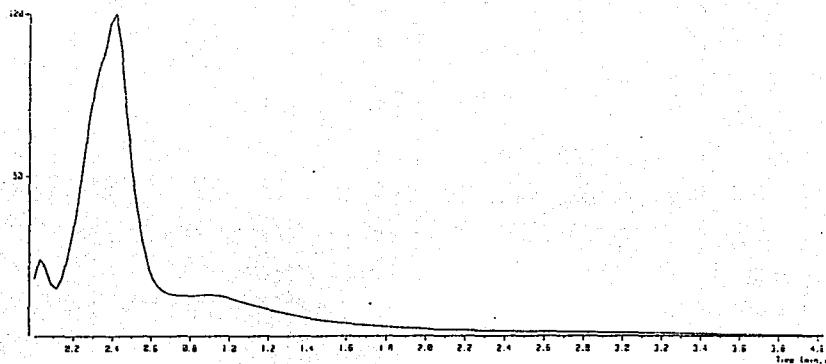
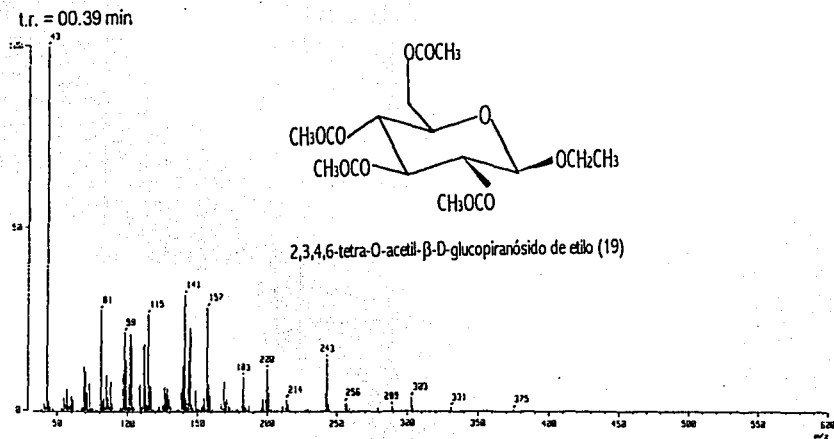
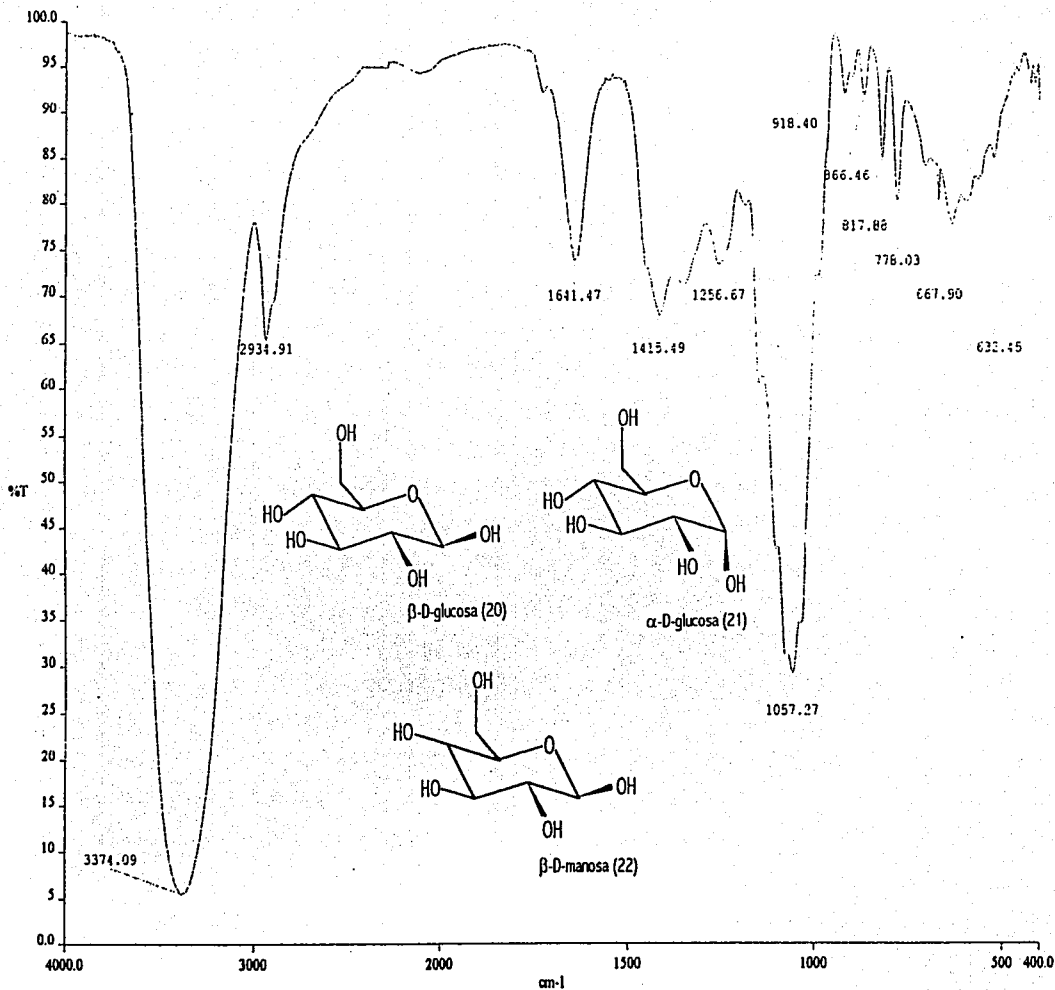


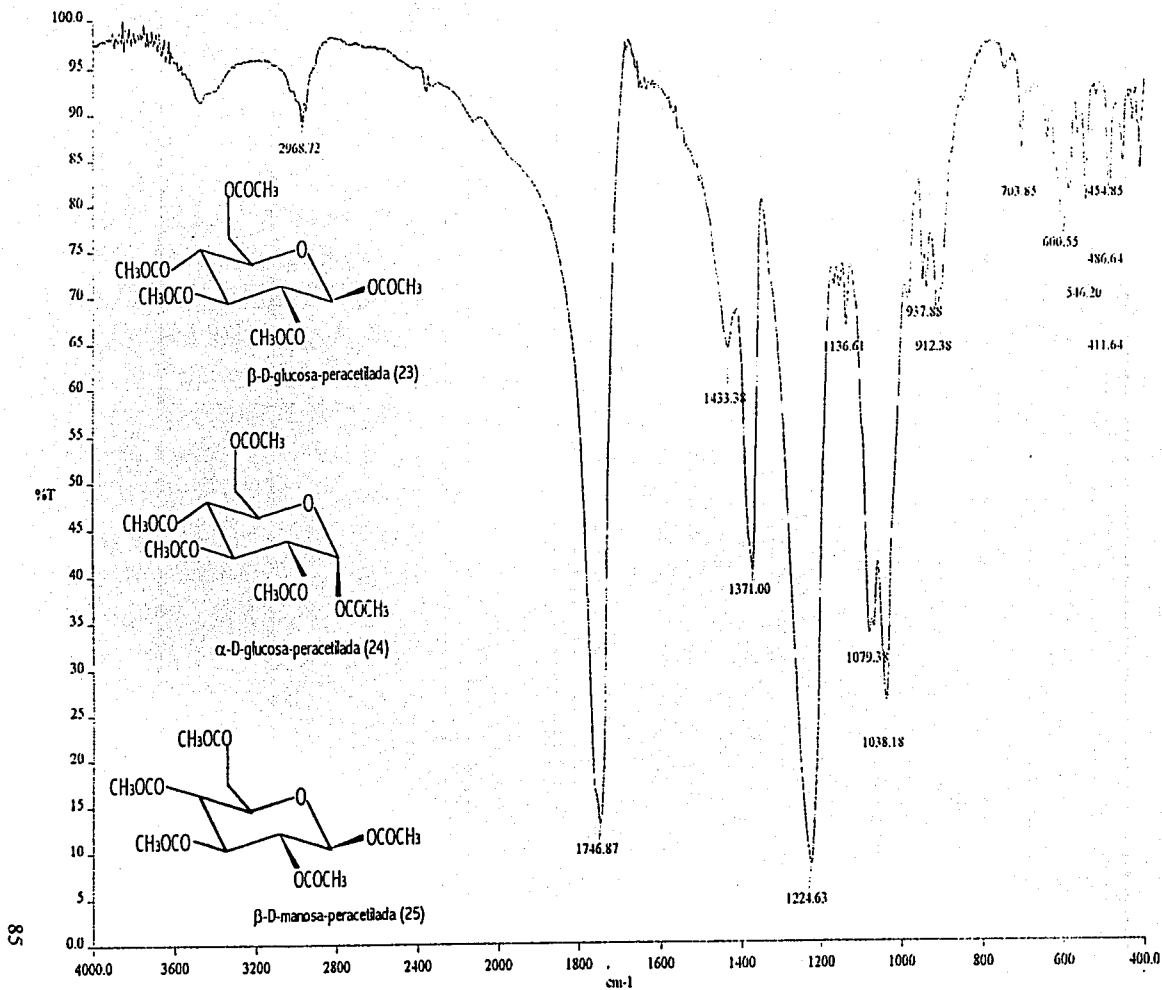
Figura 10. Cromatograma de gases del 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosido de etilo (19)



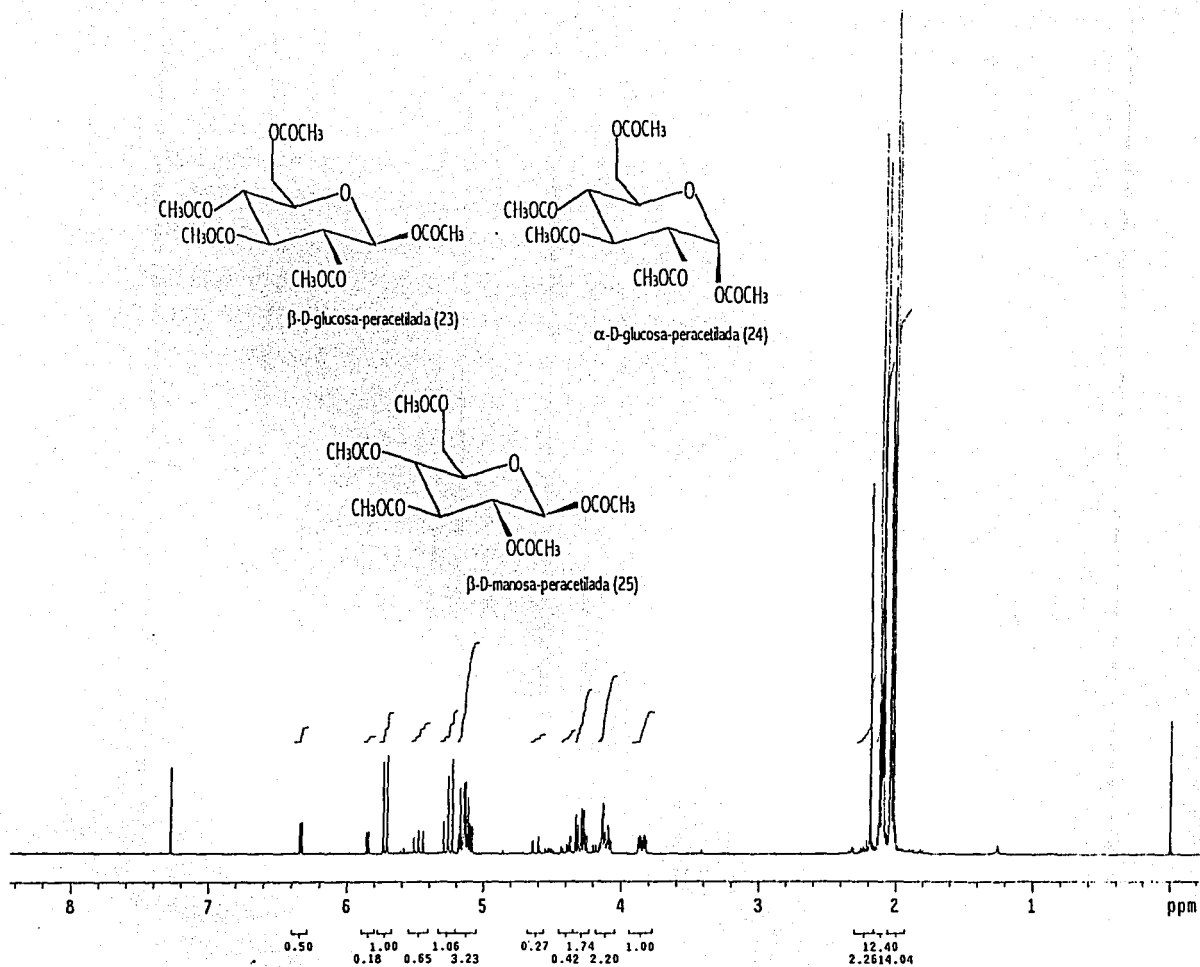
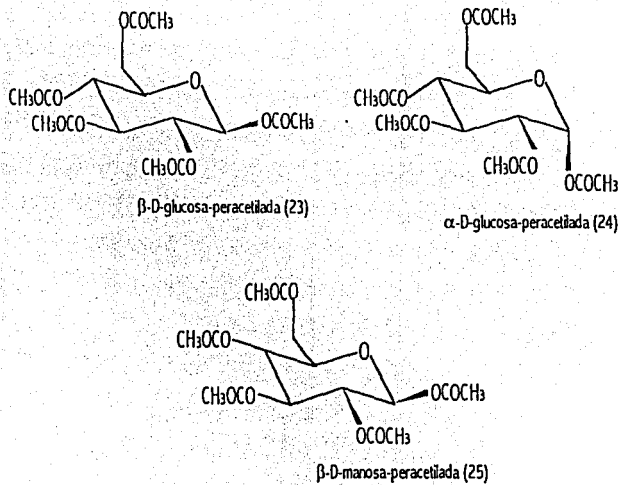
Espectro 24. Espectro de masas por impacto electrónico del 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosido de etilo (19)



Espectro 25. Espectro de IR (película) de la mezcla de la fracción primaria 80-83

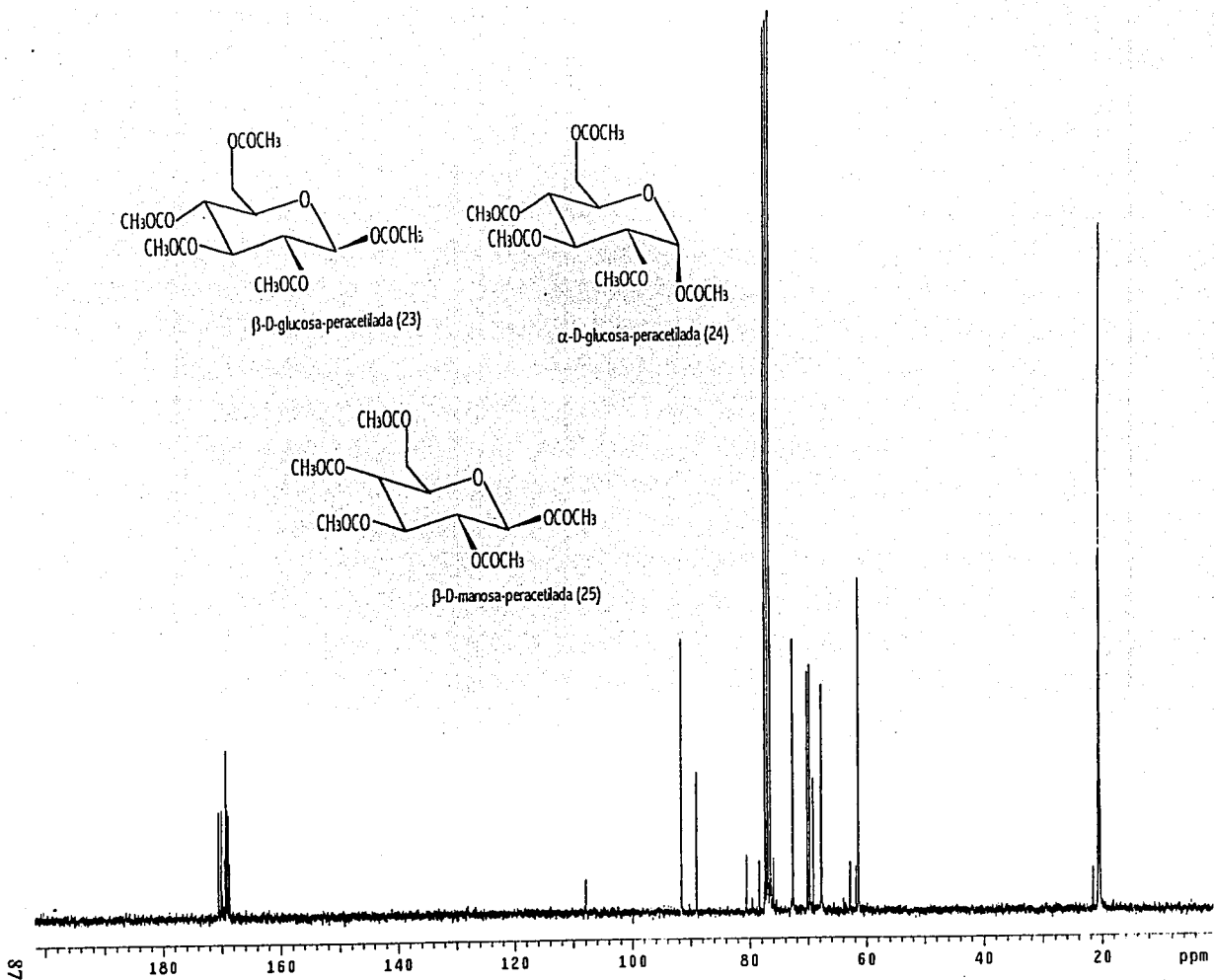
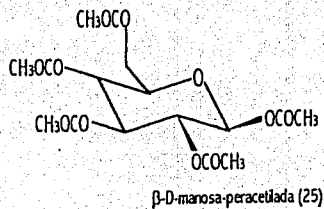
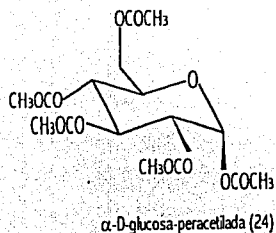
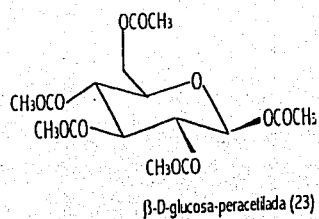


Espectro 26. Espectro de IR (película) de la mezcla de β-D-glucosa-peracetilada (23), α-D-glucosa-peracetilada (24) y β-D-manosa-peracetilada (25)

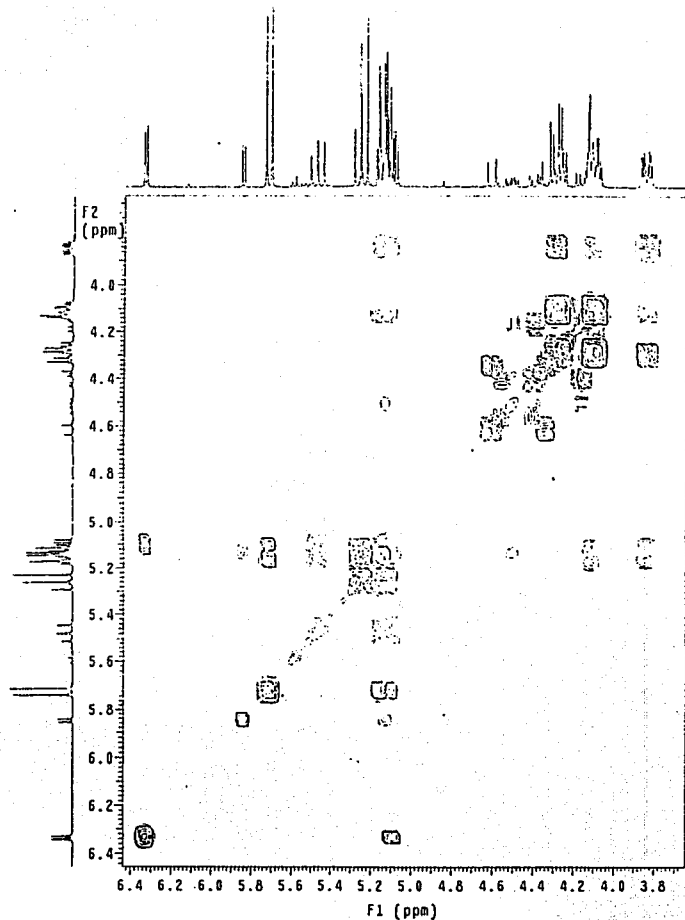
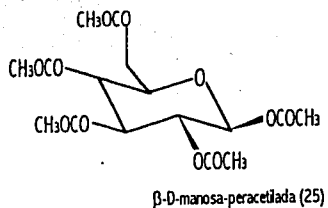
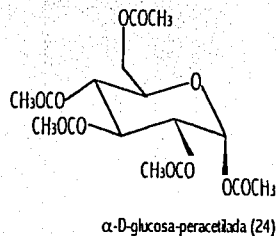
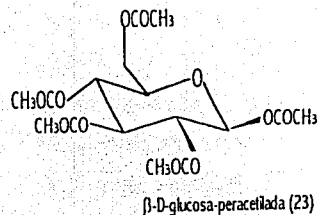


98

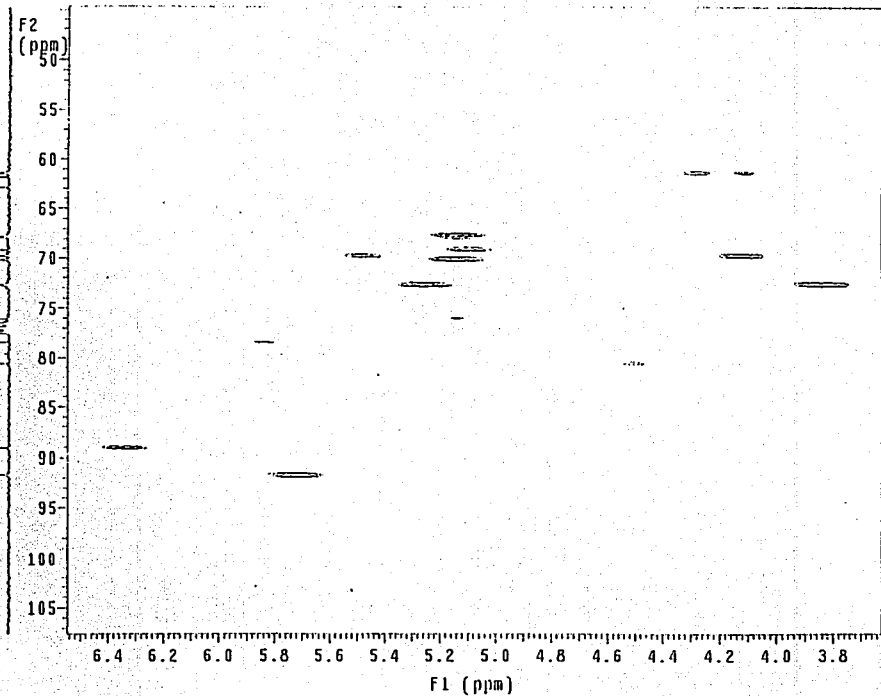
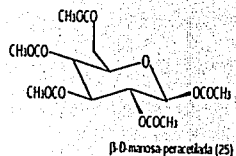
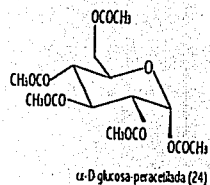
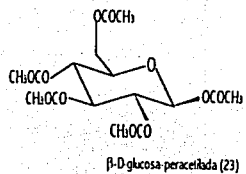
Espectro 27. Espectro de RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de la mezcla de  $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23),  $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y  $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25)



Espectro 28. Espectro de RMN<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de la mezcla de  $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23),  $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y  $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25)



Espectro 29. Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H-COSY}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de la mezcla de  $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23),  $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y  $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25)



Espectro 30. Espectro de RMN<sup>13</sup>C-HETCOR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de la mezcla de  $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23),  $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y  $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25)



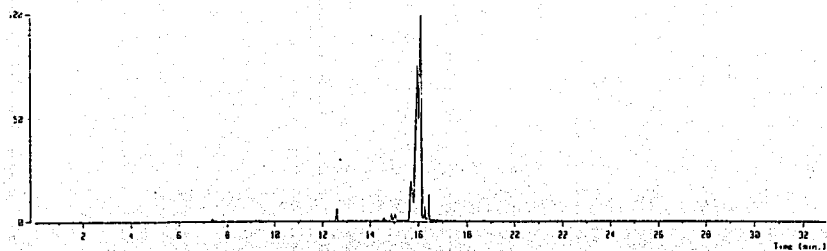
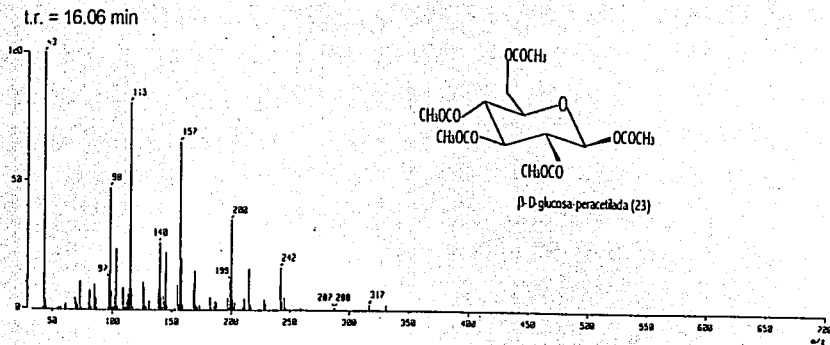
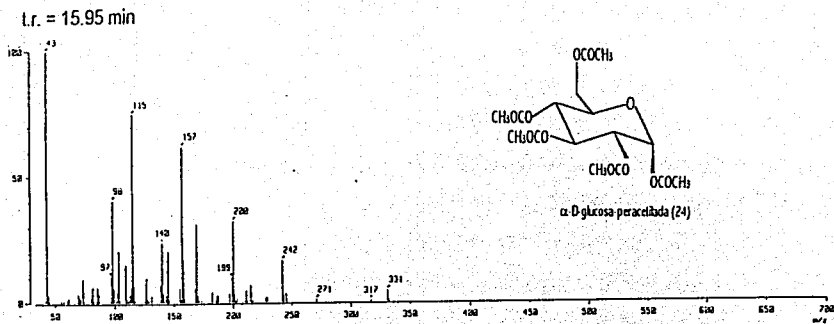


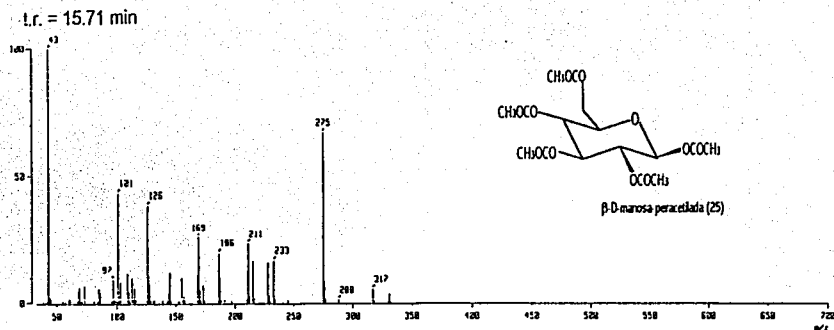
Figura 11. Cromatograma de gases de la mezcla de  $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23),  $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24) y  $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25)



Espectro 31. Espectro de masas por impacto electrónico de la  $\beta$ -D-glucosa-peracetilada (23)



Espectro 32. Espectro de masas por impacto electrónico de la  $\alpha$ -D-glucosa-peracetilada (24)



Espectro 33. Espectro de masas por impacto electrónico de la  $\beta$ -D-manosa-peracetilada (25)