



121

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

**CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA
DE LAS RESINAS GLICOSÍDICAS PRESENTES
EN LAS SEMILLAS DE *Ipomoea intrapilosa***

TESIS MANCOMUNADA
Que para obtener el título de
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

Presentan:

**GABRIELA BERENICE PÉREZ PUENTE
IVONNE VALLADOS VALLE**

México, D. F.

2002

EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA

TESIS CON
FALLA DE ORDEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado Asignado

Presidente: Dra. Yolanda Caballero Arroyo.
Vocal: Dra. Rachel Mata Essyag.
Secretario: Dr. Rogelio Gregorio Pereda Miranda
1er. Suplente: M. en C. Alfonso Sebastian Lira Rocha
2do. Suplente: Dr. Francisco Hernández Luis

Sitio donde se desarrolló el tema:

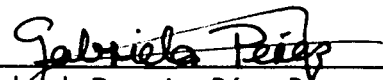
Laboratorio 123
Departamento de Farmacia
Conjunto E
Facultad de Química

Asesor:



Dr. Rogelio Pereda Miranda

Sustentantes:



Gabriela Berenice Pérez Puente



Ivonne Vallados Valle

Agradecemos:

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, UNAM, por el apoyo económico otorgado a través del proyecto IN207300, del cual se proporcionó una beca a Gabriela B. Pérez Puente.

A la Coordinación de Superación Académica, UNAM, por el apoyo otorgado a Ivonne Vallados Valle para realizar este proyecto de tesis a través del subprograma 127.

A la USAI , especialmente a Georgina Duarte por el registro de los espectros de masas y a Oscar Yañez por los espectros de ^1H y ^{13}C .

A las Dras. Yolanda Caballero y Rachel Mata, miembros del H. Jurado revisor, por su valiosa ayuda en la revisión del presente manuscrito.

A nuestro estimado asesor, Dr. Rogelio Pereda, ya que sin su experiencia e infinita paciencia, no hubiese sido posible la realización de este trabajo de tesis.

A la M. en C. Emma Martínez Luna y al Dr. Alexandre Cardoso Taketa por el apoyo proporcionado con tanto cariño para poder llevar a término nuestro proyecto de tesis.

A la D. G. Bertha A. Pérez Puente por su gran aportación en el diseño y elaboración del trabajo escrito de esta tesis.

**A mis padres por su amor y apoyo interminable,
por todos los consejos, por soñar conmigo,
por escucharme siempre y por creer en mi.**

**A mi papá por enseñarme que todo se puede, y si no...
ya veremos como le hacemos.**

**A mi mamá por acompañarme en mis desveladas,
por tener siempre una sonrisa y un tierno abrazo.**

A Carlos y Sebastian, los dos grandes amores de mi vida: mi familia.

**A Carlos por ser el compañero de mi vida,
porque su amor llena mis días,
por estar conmigo en esta aventura,
por enseñarme tantas cosas y a la vez aprender conmigo.**

**A Sebastian, por llenarme de alegría
y darme una nueva ilusión.**

A mis hermanos por dejarme la química a mi.

**A mis tíos Jaime y Susana,
por dejarme ser una hija para ellos.**

**A Gaby porque sin ella este trabajo no sería como es,
porque aunque fue difícil ¡Lo logramos!**

A Angel, César y Lalo...porque soy linda y tierna.

**A mis amigas Ale y Alicia,
porque siempre compartir sinceramente
mis buenos momentos así como los malos.**

A los doneros, por hacer mas divertidos mis ratos libres.

***Dedicado a todas las personas que me han acompañado
a lo largo de mi vida, que me han regalado un poco de
su sabiduría para ser la persona que soy el día de hoy.***

IVONNE

El camino que he recorrido para llegar hasta aquí es largo, en él me he encontrado con mucha gente que me ha acompañado por breves momentos o a lo largo de toda mi vida y nunca podré terminar de agradecer todo lo bueno o malo que han dejado en mí, haciéndome la mujer que soy ahora.

El escribir una dedicatoria nunca es fácil ya que las palabras no siempre pueden expresar todo lo que el corazón contiene, pero es imposible llegar a un momento tan importante en la vida como para no recordar a los que han dejado una profunda huella en mí.

Antes que nada agradezco a **Dios** por permitirme seguir aquí, por darme salud, además de rodearme de tanto amor.

A mi familia por permanecer a mi lado, en las buenas y en las malas, reprendirme cuando era necesario y darme palabras de apoyo cuando mas las necesitaba.

Papiringo eres lo más importante en mi vida.

Rosy gracias por llegar a nuestras vidas, por escucharme tantas veces y sobre todo por reírte conmigo y de mí.

Berthita, se que soy una persona muy difícil, pero siempre has estado a mi lado, a pesar de todo, no se que haría sin ti, te adoro.

Perdita, eres especial para mí.

A mis amigos, tanto los que pasaron breves temporadas conmigo como los que aún lo están o los que acaban de llegar.

Tania y Luis David, siempre estarán en mi corazón.

Paquito, eres un niño maravilloso que me enseñó a ver la vida de una manera muy diferente y gracias a lo cual la he podido disfrutar mas, mil gracias.

La banda de la bardita, **Paty, Susan, Itzhel, Maggy, Oliver**, gracias por mostrarme una manera diferente de hacer las cosas, por su amistad incondicional y por todos los buenos momentos que pasamos juntos.

Bert, Ivonne y Raúl, mil gracias por escucharme y animarme para continuar.

Violeta, Elena, Alejandro y Miguel, gracias por aparecer en mi vida.

Mamá Laura, tus palabras han llegado en los momentos más indicados y gracias a ellas no le temo a lo que esta por venir.

A mis maestros que han iluminado mi camino y compartir todos sus conocimientos.

Federico, Lourdes, Rebeca y Rolando,
gracias por mostrarme de lo que soy capaz,
por hacerme ver lo que quiero ser y
a donde quiero llegar.

A ti ... nunca olvidare todo lo que me enseñaste.

Se que me faltan personas por mencionar pero espero que nunca me falte el afecto para demostrarles cuan importantes son para mi.

*A todos mil gracias,
los quiero de aquí al sol, de regreso y 15 vueltas más.*

Gaby

*Yes ahora cuando, bajo la inclemencia
de los cielos mustios, en la tierra yerma,
el gris cazahuate - cascada de perlas,
cúpula de mármol - sus ramas ondea
en largas guirnaldas, en blancas diademas,
más lleno de flores que el cielo de estrellas.*

*Cazahuate amigo, la fortuna quiera
que andando los años, a tí me parezca,
y de mis cenizas resucite, y sea
mi voz un trasunto de la primavera.*

Y así poco importa que la muerte venga.

**Roberto Cabral del Hoyo
(Poeta zacatecano)**

INDICE

I.	Introducción	6
II.	Antecedentes	11
2.1	La familia Convolvulaceae	11
2.2	El género <i>Ipomea</i>	11
2.3	La especie <i>Ipomea intrapilosa</i>	12
2.4	Resinas glicosídicas en la familia Convolvulaceae	16
III.	Justificación	23
IV.	Objetivos	24
V.	Parte experimental	25
5.1	Procedimientos generales	25
5.1.1	Métodos cromatográficos	25
5.1.2	Determinación de las constantes espectroscópicas y espectrométricas	25
5.2	Material Vegetal	25
5.3	Preparación del extracto de las semillas de <i>Ipomea intrapilosa</i>	26
5.4	Fraccionamiento primario del extracto clorofórmico por cromatografía en columna	26
5.5	Fraccionamiento secundario de la fracción primaria G10 mediante cromatografía en columna abierta	27
5.6	Preparación de derivados	27
5.6.1	Hidrólisis alcalina	27
5.6.2	Reacción de acetilación	27
5.6.3	Reacción de alquilación con diazometano	28
5.6.4	Hidrólisis ácida	28
5.7	Cromatografía líquida de alta resolución	29
5.7.1	Preparación de los disolventes	29
5.7.2	Preparación de las muestras	29
5.7.3	Análisis del derivado 10-III SAM mediante HPLC	30
VI.	Resultados y discusión	31
6.1	Extracción y fraccionamiento	31
6.2	Hidrólisis ácida	32
6.2.1	Identificación de Carbohidratos	32
6.3	Hidrólisis alcalina. Determinación de los ácidos grasos esterificados	33
6.4	Compuesto acetilado-metilado. Análisis y separación mediante HPLC	35
6.5	Elucidación estructural del ácido glicosídico	38
VII.	Conclusiones	46
VIII.	Bibliografía	47

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1	Principales usos dados a las plantas del género <i>Ipomoea</i>	12
Cuadro 2	Principales productos de la hidrólisis de las resinas glicosídicas	17
Cuadro 3	Resumen del fraccionamiento preliminar vía cromatografía en columna abierta del extracto clorofórmico de las semillas de <i>Ipomoea intrapilosa</i>	26
Cuadro 4	Fraccionamiento secundario de GI10 mediante cromatografía en columna abierta.	27
Cuadro 5	Análisis mediante HPLC de la mezcla de carbohidratos	33
Cuadro 6	Resultados obtenidos mediante CG-EM para la fase orgánica obtenida de la hidrólisis ácida de 10-III.	35
Cuadro 7	Desplazamientos químicos (RMN ^1H y ^{13}C) para las señales anoméricas y los grupos metilo de los monosacáridos para iiB.	39
Cuadro 8	Constantes espectroscópicas en la RMN para el compuesto iiB	40
Cuadro 9	Conectividades heteronucleares $^3\text{J}^1\text{H}-^{13}\text{C}$ observadas a través de los experimentos bidimensionales a larga distancia (HMBC)	42

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Ilustración de la raíz de jalapa (*Ipomoea purga*) del Códice Badiano (F.32.r).13
- Figura 2 Cazahuate enano. Zona de Xochitepec, Morelos.14
- Figura 3 Ilustración del Cazahuate en el Códice Badiano (F.9.r).15
- Figura 4 Estructura de las resinas glicosídicas de *Exogonium purga* (*Ipomoea purga*) de acuerdo con Manich y Schuman (1938)18
- Figura 5 Orizabinas, glicolípidos caracterizados en *Ipomoea orizabensis*.19
- Figura 6 Estructura de los glicolípidos caracterizados en *Ipomoea stans*.20
- Figura 7 Tricolorinas A-H aisladas de *Ipomoea tricolor*.21
- Figura 8 Agrupación de las fracciones primarias. Mediante cromatografía en capa fina en gel de sílice; CHCl₃-MeOH (9:1).31
- Figura 9 Diagrama de flujo.32
- Figura 10 Cromatogramas de gases obtenido para la fase orgánica de la hidrólisis alcalina . . .33
- Figura 11 Espectros de masas para los ácidos grasos34
- Figura 12 Cromatogramas obtenidos por HPLC a nivel analítico de los productos iiA y iiB. ...36
- Figura 13 Espectros de RMN ¹H de los productos iiA y iiB (500 MHz, C₅NH₅-d₅).37
- Figura 14 Espectros de RMN ¹³C de los productos iiA y iiB.38
- Figura 15 Expansión de la región entre 4.0 - 5.9 ppm del espectro de RMN bidimensional protónica (COSY) generado por la muestra iiB (500 MHz, C₅H₅N-d₅).41

Figura 16	Expansión de la región entre 4.0 - 5.9 ppm del espectro de RMN bidimensional protónica homonuclear (TOCSY).	42
Figura 17	Espectro de HMBC.	43
Figura 18	Espectro ROESY donde se observa el nOe. Secuencia de glicosidación mostrando las conectividades encontradas	44
Figura 19	Estructura del glicósido aislado.	45

LISTA DE ABREVIATURAS

° C:	grado centígrado
CHCl ₃ :	cloroformo
cm:	centímetro
COSY:	correlation spectroscopy (correlación espectroscópica)
d:	doblete
dd:	doblete de doblete
ddd:	doblete de doblete de doblete
Fuc:	D-fucosa.
g:	gramos
Glu:	D-glucosa
H ₂ O:	agua
HMBC:	heteronuclear multiple bond connectivity
HPLC:	Cromatografía de líquidos de alta resolución
{M} ⁺ :	ión molecular
{M-1} ⁺ :	ión cuasimolecular
MeOH:	metanol
mg:	miligramo
mL:	mililitro
μL:	microlitro
μm:	micrometro
mm:	milímetro
nm:	nanómetro
nOe:	Efecto nuclear de Overhauser
p.f.:	punto de fusión
ppm:	partes por millón
Qui:	D-quinovosa.
RA:	reactivo analítico
Ram:	L-ramnosa
Rf:	factor de retención
RMN ¹³ C:	Resonancia magnética nuclear de Carbono 13
RMN ¹ H:	Resonancia magnética nuclear protónica
ROESY:	Rotating frame nuclear Overhauser effect
s:	señal simple.
ss:	señal sobrepuesta
TOCSY:	Total correlation spectroscopy
t _R :	Tiempo de retención.

I. INTRODUCCIÓN

"Extrañas son las virtudes que derramó la prodiga mano de la naturaleza en piedras, plantas y hierbas"; frase que pone William Shakespeare en la boca de Fray Lorenzo en *Romeo y Julieta*, pero no imaginó que ésta englobara la definición de una de las disciplinas científicas con mayor impacto en la sociedad, como es la Farmacognosia.

Farmacognosia es una ciencia multidisciplinaria cuyo objetivo fundamental es el estudio de los productos naturales con propiedades medicinales, y los principios metodológicos de estudio se aplican a la investigación científica conducente al descubrimiento de principios biodinámicos a partir de fuentes naturales.

Es innegable que las plantas contienen sustancias químicas bioactivas, muchas de las cuales tienen efectos medicinales benéficos. Desde siempre, el hombre ha tratado de encontrar alivio a sus dolencias y ha buscado una respuesta en las plantas, es por ello, que en todo el mundo se ha acumulado un amplio conocimiento de los usos de diversos vegetales en la curación de los males que aquejan a la humanidad.

México tiene miles de especies de plantas las cuales han sido utilizadas continuamente con fines alimenticios, medicinales, rituales y económicos desde tiempos inmemoriales. La efectividad de muchas de las plantas medicinales de uso tradicional se comprueba mediante la persistencia de su empleo por personas con diferentes tradiciones y conceptos etnomédicos. Las plantas medicinales continúan siendo utilizadas en México, tanto en comunidades rurales como urbanas y en todos los niveles socioeconómicos y educativos. La gente utiliza cientos de plantas, sin que hayan sido sometidas a pruebas científicas, para combatir enfermedades que van desde un resfriado hasta el cáncer. Muchas de ellas se pueden adquirir en mercados, donde se ven cientos de petates sobre el suelo o las mesas, con cúmulos de ramas, hojas, hierbas, cortezas, astillas de madera, aceites y semillas. En estos lugares los vendedores son la principal fuente de información médica, pues actúan no sólo como comerciantes sino como médicos y boticarios. Sus conocimientos se basan en la experiencia, en prácticas de ensayo y error con remedios herbolarios y en métodos de uso transmitidos de generación en generación. Los consejos que dan —fundamentados o no— pueden representar la diferencia entre la vida y la muerte en localidades rurales distantes de los centros urbanos con programas de salud pública establecidos. Hoy en día, en los mercados de México todavía se puede encontrar una gran diversidad de plantas medicinales procedentes de todas partes del país (Bye y Linares, 1987).

Desafortunadamente, no es fácil pasar de una planta de uso medicinal a una preparación farmacéutica. Algunas especies de plantas presentan diversas subespecies o variedades y muchas de estas no se han identificado todavía. Además aún conociendo las partes de la planta que poseen la misma composición química, hay que saber exactamente en qué momento recogerlas. La composición química puede variar de la noche a la mañana. También influyen la edad de la planta y hasta lo que crezca a su alrededor. Pero esto no es todo, una planta típica tiene un gran número de moléculas activas. Las sustancias químicas actúan y reaccionan recíprocamente, a veces aumentado, a veces reduciendo su efecto en las células humanas. Actualmente, la fitoterapia llega a utilizar hasta plantas completas para obtener un efecto terapéutico determinado. Sin embargo, la farmacognosia moderna continúa en la búsqueda de elementos activos de las plantas, o metabolitos de éstos, para convertirlos en medicamentos, estandarizar su dosificación y comprobar su toxicidad (Swerdlow, 2000).

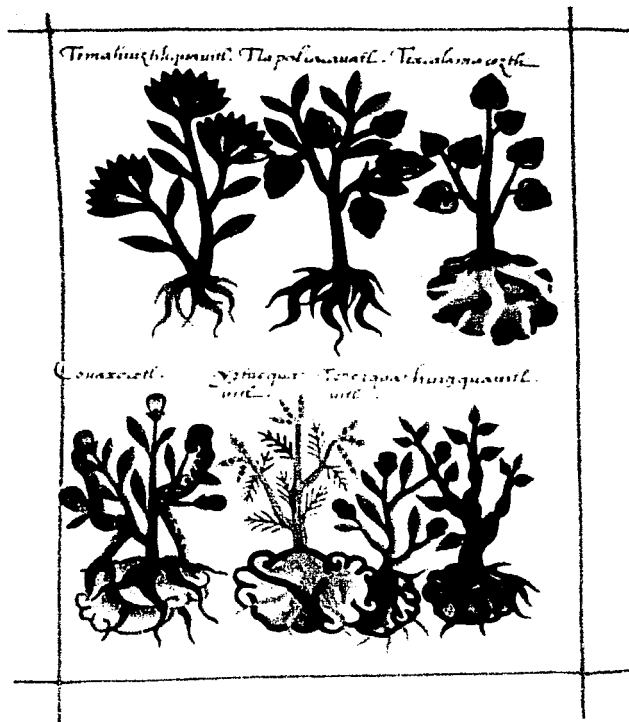


Mercado de Sonora en la Ciudad de México. El mayor centro de comercio de plantas medicinales fuera de los mercados de la China continental.

En nuestro país, el conocimiento de las plantas medicinales de uso actual proviene directamente del periodo de la conquista (1520) y representa la fusión de la cultura occidental europea con la adición, supresión y modificaciones de la materia médica prehispánica de más de quinientos años de antigüedad.

La herbolaria mexicana prehispánica está documentada por tres importantes fuentes: el *Códice De la Cruz – Badiano*, el *Códice Florentino* y la *Historia Natural de la Nueva España*.

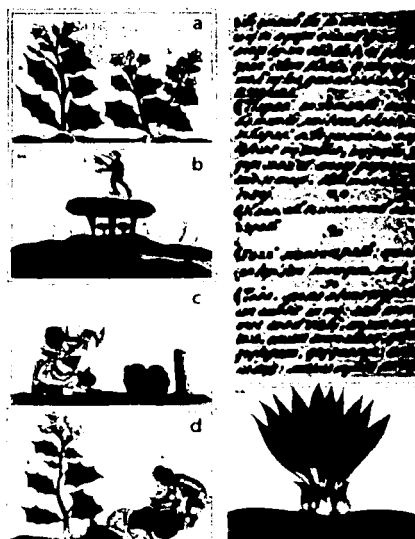
El manuscrito De la Cruz – Badiano, originalmente titulado *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis (Opúsculo de las Yervas Medicinales de los Indios)*, fue dictado en náhuatl por un médico indígena, Martín de la Cruz, quien no tenía un entrenamiento formal en medicina europea y traducido al latín por Juan Badiano, también indígena, alumno del Colegio de Santa Cruz de Tlatelolco, que dominaba el náhuatl, el latín y el español. Se completó en 1552 y fue dado a conocer al mundo moderno en 1939 (Emmett, 1940). Este incluye textos en latín e ilustraciones de las plantas a color hechas por dos o tres jóvenes indígenas alumnos del colegio. Cubre el área general del valle de México e incluye doscientos sesenta y tres nombres de plantas. Se basa en información de primera mano y en la experiencia de un practicante de la salud.



Ilustraciones del Códice Badiano. Plantas medicinales utilizadas para la fatiga. Destaca la representación del árbol del cacao, *tlapokracauatl* (*Theobroma cacao* L.) que constituye la más antigua ilustración de esta planta que se conoce. También destaca el empleo a la manera prehispánica de las serpientes como glifos para indicar el nombre de la planta *coaxacatl* (fruto de serpiente) y el jeroglífico *tecl*, piedra, en relación con las raíces de las plantas (Manuscrito de De la Cruz - Badiano, 1552. F.38.v.).

La *Historia General de las cosas de Nueva España*, también conocida como El *Códice Florentino*, fue compilada bajo la dirección general de Bernardino de Sahagún, un fraile franciscano. El texto fue escrito en español y náhuatl, aunque algunos relatos en náhuatl no tienen su correlato en español, en especial las secciones que tratan sobre el poder embriagante de ciertas plantas. Incluye ilustraciones delineadas y a color que acompañan varias partes del códice. Esta obra está basada en información suministrada por varios nativos, bajo la supervisión de Sahagún, mientras éste vivía en varios conventos del Valle de México. Se realizó durante el periodo de 1558 a 1575, fue editado, censurado y escondido, por las autoridades eclesíásticas, por miedo a que pudiera revivir las creencias nativas. Recién en 1829 estuvo disponible nuevamente.

El texto completo se encuentra en doce libros, de los cuales el onceavo trata de las cosas terrenales y contiene varios capítulos dedicados a plantas medicinales, hierbas y árboles, con un total de cuatrocientos noventa y dos nombres. Representa la información obtenida por un misionero extranjero de informantes indígenas, registrado en español y náhuatl y contiene información sobre aproximadamente doscientas cincuenta plantas medicinales, acompañado por numerosas ilustraciones.



Fragmento del libro "De las yerbas medicinales" que ilustra el uso de plantas para aliviar el dolor: "de ciertas hierbas que emborrachan", debido a sus propiedades alucinógenas (Códice Florentino, lib XI, f. 124v): a) tlápatl = *Datura stramonium*, b) nanacatl = hongos del género *Psilocybe*, c) peyotl = peyote, d) toloa = *Datura* sp.

La *Historia Natural de Nueva España* fue escrita en español por Francisco Hernández, el protomédico del rey Felipe II de España, quien fue comisionado para llevar a cabo una expedición que diera cuenta de las riquezas naturales de la Nueva España. Su información está basada en Informantes, así como en sus experiencias personales en varias partes del Valle de México y en lo que ahora son los estados de México, Puebla, Tlaxcala, Hidalgo, Oaxaca y Michoacán, durante el periodo de 1571 a 1576. Las ilustraciones, realizadas por artistas europeos, fueron adicionadas más tarde. Su extenso trabajo contiene tres mil setenta y seis plantas y estuvo disponible al público en 1651. Es una compilación de conceptos y usos indígenas de las plantas, a través de la mente de un médico europeo profesional, en donde las descripciones terapéuticas de las plantas se originaron según las teorías médicas galénicas.

Las tres fuentes citadas representan distintos niveles de conocimiento, técnicas de obtener información, y diferentes propósitos de investigación. Cubren la misma área geográfica y cultural, además de que se realizaron en periodos similares; sin embargo, se escribieron independientemente una de la otra, sin conocimiento de su existencia y actividades de los autores. Aparentemente todos fueron censurados en cierto grado, aun por los Informantes, los que no revelaron conceptos religiosos indígenas, y por las autoridades de la Iglesia. La información está omitida o incompleta en el caso de algunas plantas, con un significado simbólico para la cultura náhuatl (Bye y Linares, 1987).



Ilustración de la planta medicinal xalxócotl (*Psidium guajava*), la popular guayaba, cuyas hojas, a decir de Hernández, eran empleadas por los Indios para preparar una infusión que, bebida, servía de remedio a las "cámaras" o evacuaciones diarreas. Actualmente se sabe que el efecto antimotilic intestinal se debe a su contenido de *flavonoides*, del cual la quercetina es el principio activo antidiarreico.

En el siglo XVIII llega a México la Real Expedición Botánica de la Nueva España, para conocer e inventariar los recursos vegetales de la colonia, la cual describe las plantas medicinales de México dándoles nombre científico. En 1801 aparece una obra que registra plantas medicinales, denominada *Historia Natural o Jardín Americano*, escrito en el convento de Santa Cruz por Fray Juan Navarro. La cual menciona 510 plantas y su objetivo fue la compilación de un recetario para uso del pueblo.

En el siglo XX, Maximino Martínez escribe una obra titulada *Plantas Medicinales de México* (1933), donde registra la flora medicinal de los principales pueblos autóctonos, rancherías y caceros de México. Esta basado en una recopilación no sistemática de la literatura, así como en encuestas realizadas por maestros rurales, es considerado un libro clásico de las plantas medicinales y ha sido usado para mucho de los textos e ilustraciones de varias guías populares de plantas medicinales.

En las últimas cinco décadas, el desarrollo de nuevos medicamentos ha sido notable, y las plantas han contribuido de manera significativa en este crecimiento, además de constituir la base de los tratamientos médicos tradicionales en los países en vías de desarrollo. Se estima que más de la mitad de la población mundial hace uso de remedios tradicionales, y, aunque su uso es mayor en los países subdesarrollados, hay un interés creciente por parte de los países industrializados en el uso de las plantas con fines curativos, y el regreso a lo natural. Pero hay que recordar que lo más natural no es combatir la enfermedad, sino conservar la salud y prevenir la enfermedad.

II. ANTECEDENTES

2.1 La familia Convolvulaceae

La familia de las convolvuláceas se encuentra ampliamente distribuida en el mundo, siendo especialmente numerosa en las zonas tropicales de Asia y América, particularmente en regiones que presentan temporadas secas. En el mundo se estiman alrededor de 55 géneros y 1650 especies, los géneros más representativos son *Convolvulus* (250 especies), *Ipomoea* (500 especies) y *Cuscuta* (170 especies). Varias especies presentan principios alucinógenos y, en general, en esta familia están representados por alcaloides de tipo indólico, isoquinolínico y tropánico. Además, se han descrito resinas glicosídicas purgantes, ácidos fenólicos y saponinas triterpenoides (Trease and Evans, 2002).

Dentro de las angiospermas, la familia Convolvulaceae representa una de las más grandes y diversas de México, reportándose 15 géneros y aproximadamente 217 especies. El género *Ipomoea* es uno de los mayoritarios, con un grado de endemismo de aproximadamente el 65%, es decir, la relación entre el número de especies presentes en México y el número aproximado de especies en el género (104/160) (McDonald, 1991).

2.2 El género *Ipomoea*

La mayoría de las plantas del género *Ipomoea* no presentan una variación importante en su morfología, siendo que la mayoría de estas plantas son enredaderas con tallos enroscados que alcanzan de 1 a 5 metros, además de presentar flores en forma de campana (Argüeta, 1994). Existen unas cuantas especies como *Ipomoea phillomega* e *Ipomoea santillanii* que se presentan como lianas tropicales y alcanzan alturas de hasta 15 metros. Otras especies como *Ipomoea imperata* e *Ipomoea pescaprae* crecen a iguales longitudes, pero han perdido su capacidad de enroscarse creciendo de manera tendida. Otras especies de las zonas áridas son arbustos perennes leñosos y herbáceos, que crecen hasta un metro. Las especies *Ipomoea arborescens* e *Ipomoea murucoides* crecen en forma de árboles de madera suave y alcanzan de 3 a 9 metros de altura.

Las flores del grupo son típicamente conocidas por su aspecto tubular y sus colores brillantes, generalmente con duración efímera, limitándose a las horas matinales. Durante los meses de otoño, este grupo representa uno de los elementos más conspicuos de la flora mexicana.

Algunas de las especies que conforman al género se consumen en diversas partes del mundo como alimentos; por ejemplo, *Ipomoea batatas* es una especie de reconocido valor nutritivo, ya que su raíz, conocida como camote, es rica en almidón y azúcar (Pereda-Miranda, 1995), mientras que otras se utilizan en la medicina tradicional y forman parte de numerosas farmacopeas herbolarias como remedios tradicionales.

Entre los principales usos de las plantas del género *Ipomoea* se encuentran sus propiedades purgantes (Pereda-Miranda, 1995; Díaz, 1976; Trease y Evans, 2002), siendo el principal exponente *Ipomoea purga*, conocida como raíz de Jalapa, que desde la época prehispánica se utiliza como un poderoso laxante, de amplio comercio en la actualidad (Figura 1). En el centro de México, la raíz de *Ipomoea stans*, mejor conocida como "tumba vaqueros", se usa como catártico, y en el tratamiento de enfermedades del corazón. En la **cuadro 1** se ilustran los principales usos de algunas especies de *Ipomoea* en nuestro país. Probablemente, más de la mitad de las especies de este género tienen un potencial hortícola, muchas de los cuales se encuentran cultivadas en jardines y huertos familiares en gran parte de México, por ejemplo los populares quebraplátos.

Especie	Nombre común	Usos
<i>I. murucoides</i>	Palo del muerto	Contra la parálisis, diurético y contra la hidropesía (Martínez, 1989; Díaz, 1989).
<i>I. purga</i>	Raíz de Jalapa	Purgante, antidisentérico, antiinflamatorio, antiparasitario, astringente, diurético (Díaz, 1976).
<i>I. jalapa</i>	Raíz de Michoacán	Purgante, antipirético (Díaz, 1976).
<i>I. arborescens</i>	Palo blanco	Curación de piquetes de animales venenosos, antiinflamatorio, analgésico, actúa contra la hidropesía (Argueta, 1994).
<i>I. pauciflora</i>		Para su uso en piquetes de araña capulina o en tumores cancerosos (Argueta, 1994).
<i>I. stans</i>	Tumba vaqueros	Contra la inflamación de los riñones, contra los ataques epilépticos y para la bilis (Argueta, 1994; Pereda-Miranda, 1995).
<i>I. batatas</i>	Camote	Producto alimenticio (Martínez, 1987).
<i>I. fistulosa</i>	Amapola, Flor de la mañana	Ampliamente utilizada por sus principios alucinógenos (Martínez, 1987).

CUADRO 1. Principales usos dados a las plantas del género *Ipomoea*.

2.3 La especie *Ipomoea intrapilosa*

Reino	Vegetal
División	Anthophyta
Clase	Dicotyledoneae
Grupo	Sympetalae
Orden	Tubiflorae
Familia	Convolvulaceae
Género	<i>Ipomoea</i>
Especie	<i>Ipomoea intrapilosa</i> (Lawrence, 1951)
Nombre científico	<i>Ipomoea intrapilosa</i> Rose
Nombre común	Cazahuate

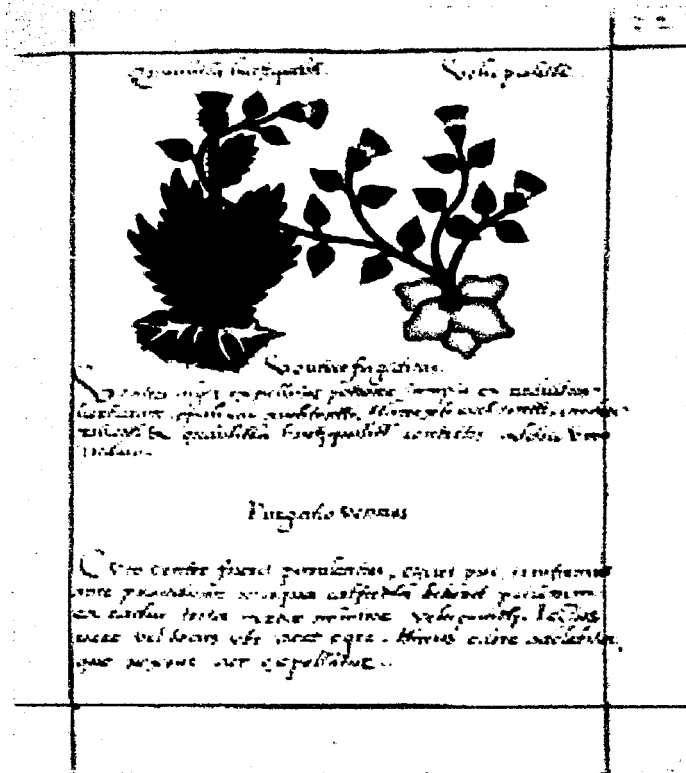


FIGURA 1. Ilustración de la raíz de jalapa (*Ipomoea purga*) del Códice Badiano (F. 32.r).

Ipomoea intrapilosa es un árbol que alcanza una altura de 3 a 8 metros, racemoso, con ramas péndulas y lisas. Posee hojas pecioladas, glabras, con pecíolo delgado y liso de 3 a 6 cm, de lámina elíptica, redonda o truncada en la base, acuminada glabra de 8 a 12 mm, uni o plurífloras; con pedicelos de 1 a 2 cm y sépalos iguales, anchamente ovales, obtusamente agudos de 8 a 12 mm de largo por 5 a 7 mm de ancho, glabros afuera y finalmente blanco pilosos en la parte inferior; su corola es de color blanco de 4 a 5 cm de largo. El fruto se encuentra en una cápsula ovóide de 2 cm de largo, con semillas de 5 a 6 mm con pelos blancos en los ángulos dorsales. Se distribuye a todo lo largo del territorio mexicano desde los estados de Sonora, Sinaloa, Jalisco, Guerrero, Morelos y Oaxaca, hasta el territorio de Guatemala (Matuda, 1963, 1964, 1965). Recibe los nombres de casahuate en Puebla (Figura 2), cazahuate blanco en Jalisco, "lime-quipa-ca-tu-ue" en lengua chontal de Oaxaca, ochote en Zacatecas, pájaro bobo en Oaxaca, Palo blanco, palo bobo, sosote en Jalisco (Martínez, 1987). Además, se ha encontrado que dicha especie posee propiedades analgésicas en sus flores y semillas (Osuna, 1996).

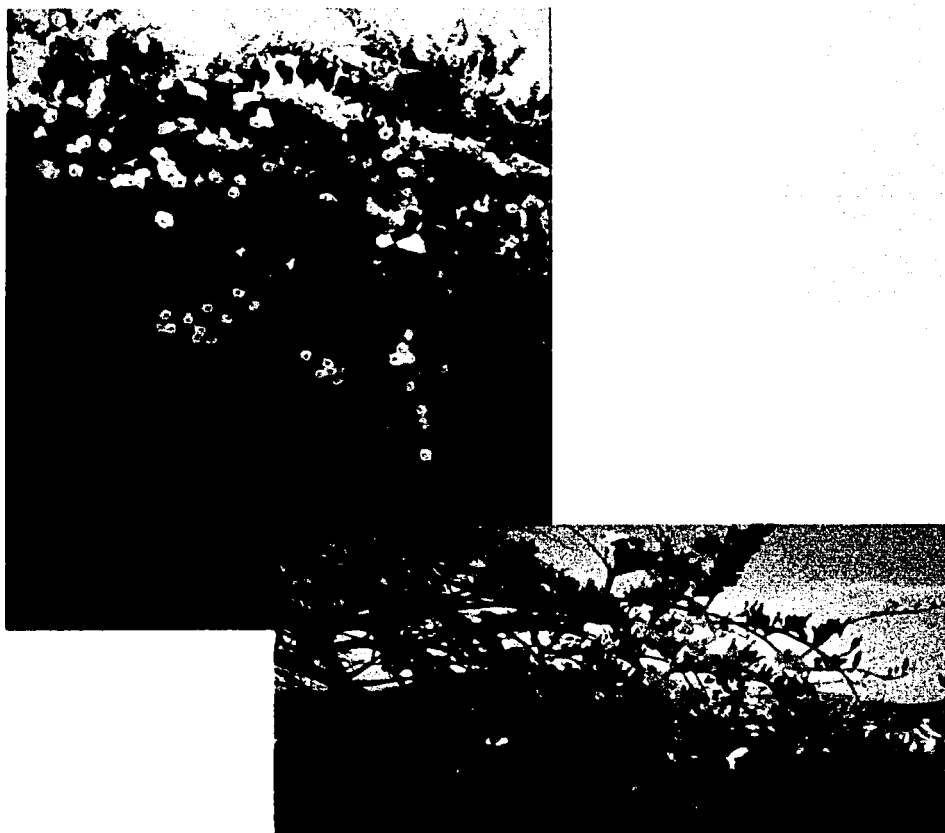


FIGURA 2. Cazahuate enano. Zona de Xochitepec, Morelos.

Ipomoea intrapilosa es un árbol que renueva anualmente su follaje y en la época de floración, desde finales de septiembre hasta principios de enero del año siguiente, se cubre totalmente de flores blancas muy vistosas, resaltando notablemente esta especie en la vegetación del área (Soria, 1985).

La figura 3 corresponde a la planta *xiuhamolli* del Códice De la Cruz - Badiano (*xiuhamolli* = amole o planta que sirve de jabón; *xiuh, xihuilt* = planta; *amolli* = jabón), que se ha interpretado con el nombre variante azteca de cauhzahuatl o cazahuate (*zahuatl* = roñoso; *quauh* = árbol) como se conoce en la actualidad en el estado de Morelos (Miranda y Valdés, 1991). Por la figura parece que se trata de una especie de *Ipomoea* arbórea o arbustiva, pero resulta difícil precisar la especie. Sin embargo, el empleo de la palabra *xiuh* como prefijo en lugar de la palabra terminal *xihuilt* denota particularmente su carácter arbustivo o su tamaño pequeño (Gates, 2000). Las cenizas de una especie de amolillo (*Ipomoea sp.*) se utiliza en la actualidad en Chiapas y

Guatemala como un sustituto del jabón para el lavado de la ropa. En el manuscrito azteca esta planta se recomienda contra la caída del pelo, aplicando la hierba triturada y cocida en orina de perro o de ciervo.

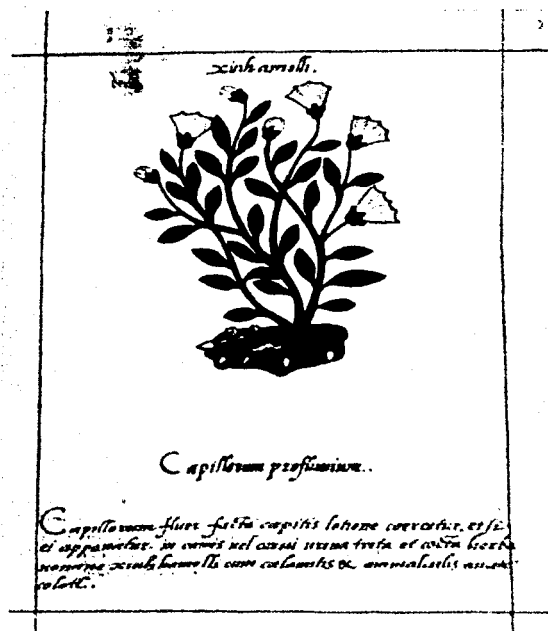


FIGURA 3. Ilustración del Cazahuate en el Códice Badiano (F.9.r.). El símbolo del agua por debajo de las raíces de la planta indica que este arbolillo se nutre del agua profunda durante la época de secas cuando florece.

En las zonas aledañas a Xochitepec, en el estado de Morelos, se acostumbra preparar una infusión a base de las flores del cazahuate y aplicado en forma tópica, se utiliza para combatir el dolor de oídos y dolor reumático. La corteza del árbol masticada, se usa para tratar el dolor de muelas y la quema de la misma, es una práctica conocida entre la población que tiene como propósito ahuyentar a los insectos. Un té preparado a base de la planta completa se emplea con frecuencia en la Tigra, Morelos, para contrarrestar los efectos producidos por la picadura de alacrán. En la localidad de Huitchila, Morelos, la infusión de la planta completa se emplea como antitusígeno.

Los usos de esta especie son diversos; así, en Hueyapan, Morelos, se le atribuye propiedades digestivas y se utiliza para tratar problemas gastrointestinales. En el municipio de Zacatepec, Morelos, el té preparado con las hojas se emplea en la terapia de los padecimientos renales (Banco de Datos, IMSS). En la zona cercana a Cuernavaca se ha reportado el uso de esta planta entre los jóvenes, para inducir estados neurotóxicos.

Los cazahuates (*Ipomoea arborescens*, *Ipomoea murucoides*, *Ipomoea intrapilosa*, etc.) son árboles que se consideran mágicos desde épocas precolombinas, en todo el altiplano mexicano, por el hecho de que florecen en la época de sequías y según creencias populares, anuncian la llegada de las lluvias. Sus flores se usan en la medicina popular aplicadas sobre el cuerpo para tratar padecimientos "del agua y el frío", de manera semejante a como se utilizan los toloaches (*Datura sp.*) (Lozoya, 1999).

2.4 Resinas glicosídicas en la familia Convolvulaceae

Los glicolípidos característicos del género *Ipomoea* (Convolvulaceae) constituyen una serie de oligosacáridos que tienen la particularidad de ser moléculas anfipáticas por la presencia simultánea en su estructura de un núcleo oligosacárido hidrofílico y una porción hidrofóbica constituida por la aglicona. Debido a esta característica estructural, se ha postulado que estos glicolípidos desempeñan un papel importante en la química de la familia de las convolvuláceas (Bah, 1997), ya que un gran número de sus actividades biológicas pueden explicarse como un resultado de su posible acción ionofórica, e.g. la citotoxicidad, misma que provocaría perturbaciones en las membranas celulares (Pereda-Miranda y Hernández-Carlos, 2002).

Se ha descrito que la actividad alucinógena conocida para los miembros del género *Ipomoea*, se debe a la presencia de alcaloides relacionados con el LSD, compuestos característicos de la familia. Por otra parte los compuestos responsables de la actividad alelopática para las especies de *Ipomoea* utilizadas como cultivo de cobertura en las prácticas agrícolas son las resinas glicosídicas las cuales en *Ipomoea stans* han demostrado tener propiedades anticonvulsivas, citotóxicas y efectos vasoactivos (Hernández, 2000). La propiedad medicinal de mayor reconocimiento para esta familia de plantas es el efecto purgante de sus resinas. Un amplio espectro de bondades medicinales adicionales se han descrito en el uso popular para un gran número de estas especies, algunas de las cuales han sido confirmadas mediante experimentación farmacológica (Contreras, 1996).

La naturaleza química y la complejidad estructural de las resinas glicosídicas ha constituido un obstáculo que ha dificultado durante mucho tiempo el aislamiento de sus constituyentes individuales y, por lo tanto, la caracterización de su estructura molecular. Entre los métodos comunes de separación que se han empleado para tratar de resolver las mezclas complejas de oligosacáridos que conforman las resinas de las convolvuláceas se cuenta con los procedimientos de partición líquido-líquido y las técnicas cromatográficas en capa fina y columna. De las particiones, en un principio sólo se obtuvieron dos categorías de resinas, la fracción poco polar y soluble en éter denominada "jalapina" y la insoluble en ese disolvente o "convolvulina", de acuerdo a la clasificación de Mayer (Ono, 1989b).

Las resinas glicosídicas representan un complejo de glicolípidos de alto peso molecular. Por medio de la reacción de saponificación (hidrólisis alcalina), se ha logrado la separación de los ácidos orgánicos de cadena corta volátiles unidos por un enlace de tipo éster al núcleo oligosacárido; la subsecuente hidrólisis ácida libera ácidos grasos hidroxilados y una mezcla de monosacáridos (Figura 3). En el cuadro 2 se enlistan algunos de los productos que con mayor frecuencia se obtienen de los procesos degradativos de las resinas glicosídicas de las convolvuláceas. Cabe destacar que el ácido jalapínico al parecer representa la aglicona que con mayor frecuencia se presenta en las resinas glicosídicas del género *Ipomoea*.

Ácidos volátiles	Ácidos grasos hidroxilados	Azúcares
Ácido acético	7-OH-C ₁₀	D-glucosa
Ácido propiónico	11-OH-C ₁₄ (Ac. Convolvulinólico)	L-ramnosa
Ácido isobutírico	11-OH-C ₁₆ (Ac. Jalapínico)	D-fucosa
Ácido α -metil- β -hidroxibutírico	3,12-di-OH-C ₁₆ (Ac. Operculónico)	D-quinovosa
Ácido α -metilbutírico	3-11-di-OH-C ₁₄ (Ac. Ipurólico)	
Ácido <i>n</i> -isovalérico	Tri-OH-C ₁₄ (Ac. Brasiliólico)	
Ácido tiglico		
Ácido cinámico		

CUADRO 2. Principales productos de la hidrólisis de las resinas glicosídicas.

La determinación de la estructura de las resinas glicosídicas se ha realizado mediante el empleo de técnicas espectroscópicas y espectrométricas para la identificación de las dos porciones principales que se obtienen de la saponificación de los productos naturales: en primer lugar, la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas permite la cuantificación de cada uno de los residuos que esterifican al núcleo oligosacárido a través del análisis de los cromatogramas registrados, en tanto que los espectros generados por impacto electrónico permiten establecer el peso y facilitan la identificación de los ácidos grasos ligados a la porción oligosacárida (Bah, 1997). La secuencia de unión de los monosacáridos se ha determinado por permethylación e identificación de los azúcares metilados y de los acetatos derivados por hidrólisis ácida parcial de los polisacáridos (Okabe y Kawasaki, 1970). El empleo de la cromatografía de líquidos para la identificación de los azúcares generados mediante hidrólisis ácida de las resinas sólo permite establecer la naturaleza de éstos. Por lo tanto, se utiliza la resonancia magnética nuclear de los ácidos glicosídicos y sus derivados peracetilados para confirmar la secuencia de glicosidación (Bah y Pereda-Miranda, 1996).

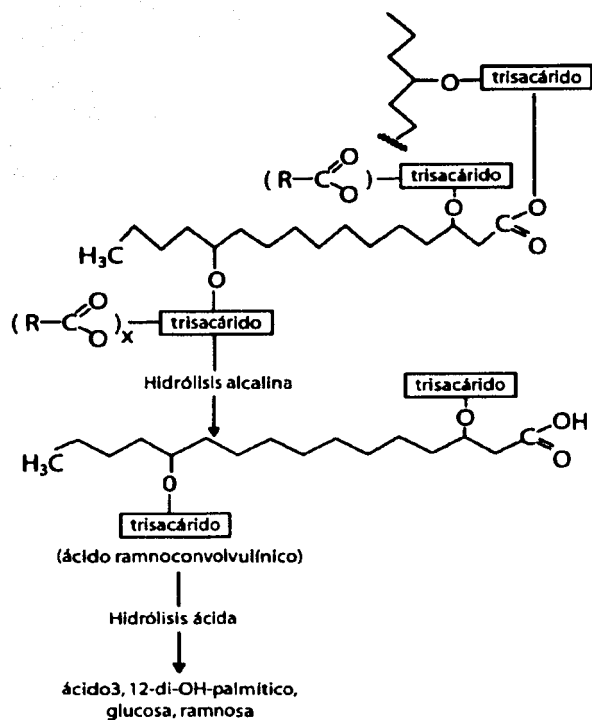
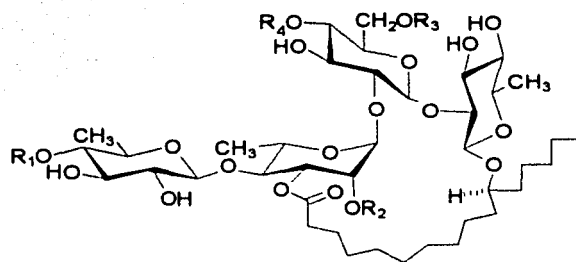


FIGURA 4. Estructura de las resinas glicosídicas de *Exogonium purga* (*Ipomoea purga*) de acuerdo con Mannich y Schuman (1938).

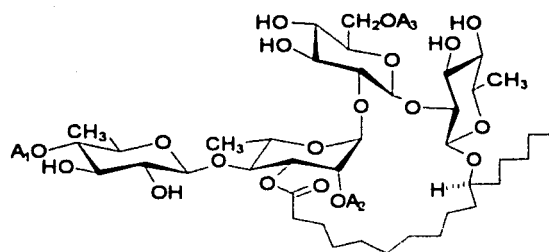
Ipomoea orizabensis, mejor conocida como jalapa de orizaba, contiene una resina con propiedades catárticas, que provoca movimientos peristálticos en el intestino delgado. Esta raíz se ha empleado como laxante desde hace muchos años en nuestro país, otros usos que se han dado a esta planta medicinal son para el tratamiento de la disentería, epilepsia, hidrocefalia, meningitis y tumores (Martínez, 1987). Los remedios caseros se preparan por decocción de aproximadamente 2 cm de raíz en un litro de agua. Los preparados farmacéuticos los encontramos en diferentes presentaciones, ya sea como extractos líquidos alcohólicos, polvos o resinas consumidas individualmente o en combinación con otras plantas medicinales para modificar su efecto terapéutico (Pereda-Miranda, Hernández-Carlos, 2002). De esta planta se aislaron glicolípidos tetrasacáridos denominados orizabinas, las cuales fueron primeramente estudiadas por Noda y colaboradores, quienes encontraron que los constituyentes de las resinas glicosídicas son liposacáridos cuya aglicona se denomina como el ácido jalapínico. El núcleo oligosacárido se encuentra acilado en la mayoría de los casos y se combina con el grupo carboxilo de la aglicona para formar un ester macrocíclico. Las estructuras de las orizabinas, recientemente caracterizadas por Hernández-Carlos (2000), se presentan a continuación.



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
16	tga	mba	H	H
17	H	mba	H	H
18	nla- (-)	mba	H	H
19	H	nla- (-)	mba	H
20	H	mba	nla- (-)	H
22	tga	mba	H	nla- (-)
23	tga	nla- (-)	iba	H
24	tga	nla- (+)	iba	H
25	tga	iba	nla- (-)	H
26	tga	iba	nla- (+)	H
27	tga	nla- (-)	mba	H
28	tga	nla- (+)	mba	H
29	tga	mba	nla- (-)	H
30	tga	mba	nla- (+)	H
31	mba	nla- (-)	mba	H
32	mba	nla- (+)	mba	H
33	mba	mba	nla- (-)	H
34	mba	mba	nla- (+)	H

FIGURA 5. Orizabinas, glicolípidos caracterizados en *Ipomoea orizabensis*.

De *Ipomoea stans*, mejor conocida como "tumba vaqueros", se han caracterizado cuatro glicolípidos (Figura 6), cuyo ácido glicosídico común es el ácido escamónico A (Reynolds, 1995), el cual había sido previamente descrito en *Convolvulus scammonia* (Noda, 1990).



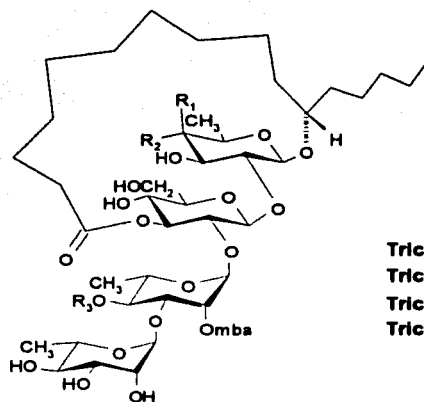
1: A₁=A₂= 2-metilbutanoilo
 A₃= 3-hidroxi-2-metilbutanoilo
 3: A₁= 2-metilpropanoilo
 A₂= 2-metilbutanoilo
 A₃= 3-hidroxi-2-metilbutanoilo

2: A₁=A₂= 2-metilpropanoilo
 A₃= 3-hidroxi-2-metilbutanoilo
 4: A₁= 2-metilbutanoilo
 A₂= 3-metilbutanoilo
 A₃= 3-hidroxi-2-metilbutanoilo.

FIGURA 6. Estructura de los glicolípidos caracterizados en *Ipomoea stans*.

Ipomoea tricolor, conocida con los nombres vulgares de manto de la virgen y quebraplato, es otra planta de la familia Convolvulaceae cuya utilización data de tiempos prehispánicos en México. Las semillas de esta planta se usan como alucinógenos, debido a su alto contenido de alcaloides derivados del ácido lisérgico; además posee la propiedad de suprimir el crecimiento de otras plantas, incluyendo las malezas, por lo que se emplea también en la agricultura tradicional. Este potencial alelopático se encuentra asociado con la presencia de un principio fitotóxico mayoritario denominado como la tricolorina A y sus análogos minoritarios (Pereda-Miranda, 1995; Bah y Pereda-Miranda 1996; Bah y Pereda-Miranda, 1997; Bah, 1997).

De esta planta se han aislado las tricolorinas A-E de la jalapina, parte menos polar de la glicoresina, los compuestos aislados son heterotetrasacáridos lineares que forman un éster macrocíclico con la aglicona, el ácido jalapínico. Esta característica estructural es la más significativa entre los constituyentes individuales de las resinas glicosídicas de la familia (Bah, 1997). De especial interés resulta la estructura de la tricolorina H, la cual representa un hexasacárido de estructura dimérica que contiene ramnosa, fucosa y glucosa como azúcares en su unidad A, mientras que en su unidad B el trisacárido está formado por fucosa, glucosa y quinovosa, siendo el ácido jalapínico la aglicona de ambas porciones.

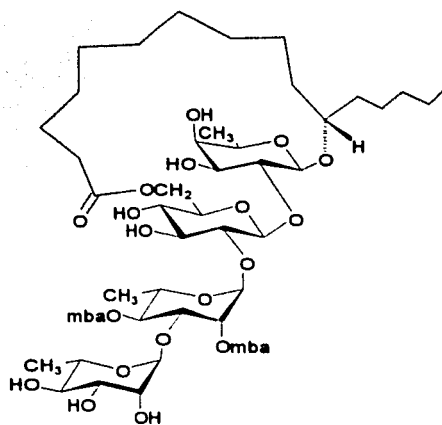
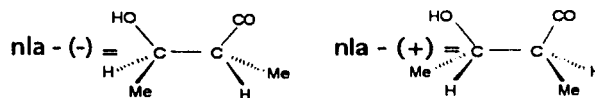
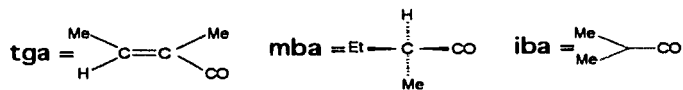


Tricolorina A: $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{mba}$

Tricolorina B: $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{iba}$

Tricolorina C: $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{nla}(-)$

Tricolorina E: $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{mba}$



Tricolorina D

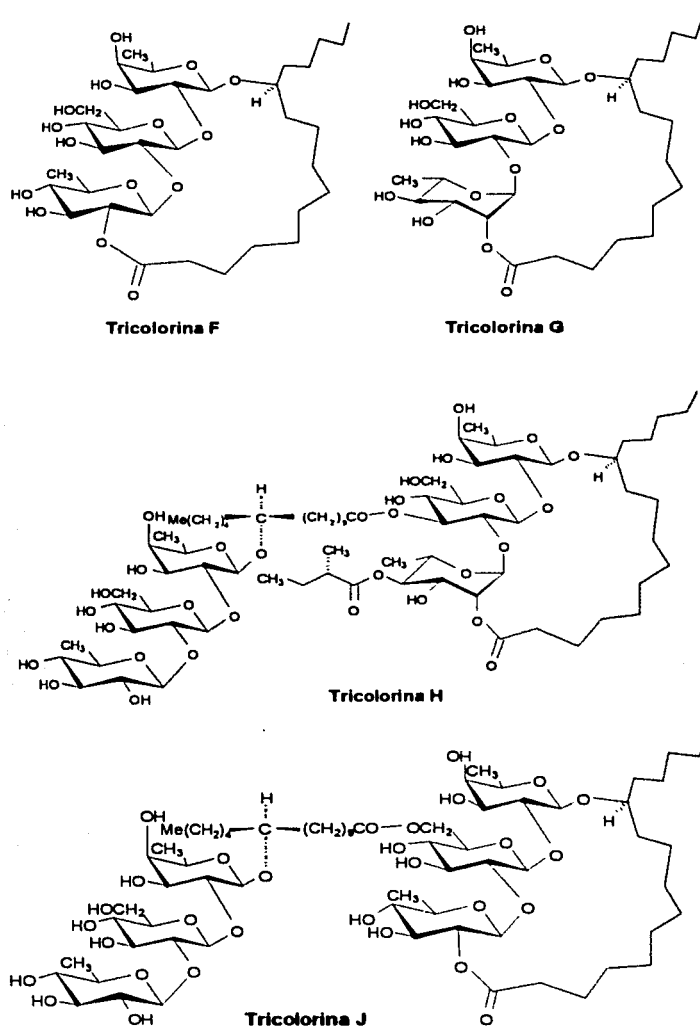


FIGURA 7. Tricolorinas A-J aisladas de *Ipomoea tricolor*.

La importancia del estudio de estas resinas glicosídicas radica en su amplio espectro de actividades, ya que además de ser poderosos catárticos, son agentes antimicrobianos, analgésicos, espasmolíticos, hipotensores, insecticidas, fitotóxicos y citotóxicos (Pereda-Miranda, 1995). En todos estos estudios se encontró que la lactona macrocíclica constituye una característica estructural importante para la actividad de estos compuestos, ya que al hidrolizarse este enlace éster, la actividad biológica desaparece o disminuye considerablemente (Pereda-Miranda, 1995).

III. JUSTIFICACIÓN

Desde la época prehispánica se conocen las propiedades purgantes de los miembros del género *Ipomoea* (Convolvulaceae) y, recientemente, se ha descubierto que poseen además una poderosa actividad citotóxica de posible aplicación terapéutica.

Como parte de un proyecto de investigación interdisciplinario que se conduce en la Facultad de Química, se han publicado estudios sobre la actividad antineoplásica y fitotóxica de varios miembros de esta familia, mismos que han evidenciado el potencial de las convolvuláceas para la búsqueda de nuevos compuestos con aplicación terapéutica y agroquímica debido a su amplio espectro de actividades biológicas (Pereda-Miranda, 1995). Desde este contexto, se eligió para la realización de un estudio fitoquímico, de acuerdo a un criterio quimiotaxonómico, al cacahuete enano (*Ipomoea intrapilosa* Rose). Así, el presente trabajo de investigación plantea la obtención de las resinas glicosídicas solubles en la porción lipofílica del extracto orgánico total y el establecimiento de su composición química mediante el reconocimiento de la estructura del constituyente oligosacárido mayoritario.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Caracterizar la estructura molecular del ácido glicosídico mayoritario generado mediante la hidrólisis alcalina de las resinas glicosídicas presentes en el extracto clorofórmico de *Ipomoea intrapilosa*.

4.2 Objetivos particulares

- 4.2.1 Realizar la extracción de las resinas glicosídicas solubles en cloroformo (Jalapina) a partir del material vegetal.
- 4.2.2 Llevar a cabo el fraccionamiento de la jalapina vía cromatografía en columna abierta.
- 4.2.3 Realizar reacciones degradativas para determinar la composición química de la jalapina.
- 4.2.4 Llevar a cabo la purificación del lipooligosacárido constitutivo de la jalapina, utilizando métodos cromatográficos de alta resolución (HPLC).
- 4.2.5 Caracterizar la estructura del núcleo oligosacárido de las resinas glicosídicas de *Ipomoea intrapilosa* mediante análisis espectroscópico.

V. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Procedimientos generales

5.1.1 Métodos cromatográficos

Los análisis cromatográficos en capa fina se efectuaron de acuerdo con las técnicas convencionales, utilizando placas de aluminio, recubiertas con gel de sílice (sílica gel 60 F₂₅₄, Merck) y diferentes sistemas de elución; como agente revelador se utilizó la mezcla de H₂SO₄-sulfato cérico, utilizando calentamiento sobre una parrilla a 80 °C para desarrollar el color. Para las separaciones cromatográficas en columna abierta se empleó gel de sílice 60 Merck (0.063-0.200 mm) como adsorbente. La cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) se realizó en un cromatógrafo marca Waters (Millipore Corp., Waters Chromatography Division Milford, MA, USA) equipado con un sistema de entrega de disolventes 60E, un refractómetro diferencial modelo 410 y una computadora (Optiplex 466/Le, Dee). El control del equipo, así como la adquisición y el procesamiento de la información se realizaron utilizando el programa Millenium 2000 Software (Waters).

5.1.2 Determinación de las constantes espectroscópicas y espectrométricas

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) ¹H y ¹³C se obtuvieron en un aparato Varian XL-500 y en una unidad Bruker AMX-500, los cuales operaron a una frecuencia de 500 MHz para el registro de los espectros de RMN-¹H y a 125 MHz para los de ¹³C. El registro de los espectros de masas se realizó mediante el bombardeo rápido de átomos (FAB) y, en algunos casos, cuando se trató de una muestra volátil, requirió del acoplamiento de un cromatógrafo de gases marca Hewlett Packard 5890 serie II al espectrómetro de masas modelo JEOL SX-102 A, utilizando la técnica de Impacto electrónico (IE) para lograr la ionización.

5.2 Material Vegetal

Para la obtención de las resinas glicosídicas se emplearon semillas de *Ipomoea intrapilosa* que se recolectaron en el municipio de Xochitepec, Estado de Morelos en enero de 1993.

5.3 Preparación del extracto de las semillas de *Ipomoea intrapilosa*

Las semillas (389.4g) se secaron a temperatura ambiente y se pulverizaron. El material vegetal se maceró exhaustivamente con CHCl_3 y, posteriormente, con MeOH. Al término, cada uno de los extractos se filtró y concentró a sequedad a presión reducida. De esta manera, se obtuvo el extracto clorofórmico con un peso de 55.69 g y el extracto metanólico con un peso de 49.15 g.

5.4 Fraccionamiento primario del extracto clorofórmico por cromatografía en columna

El fraccionamiento de los 55.69 g del extracto se llevó a cabo mediante cromatografía en columna abierta, la cual se empacó con 750 g de gel de sílice. Se comenzó la elución con CHCl_3 y se incrementó gradualmente la polaridad con MeOH hasta finalizar con un sistema de elución constituido por la mezcla binaria de CHCl_3 -MeOH (1:1). Se colectaron 97 fracciones de 500 mL cada una. Cada fracción se analizó mediante cromatografía en capa fina y se combinaron todas aquellas que resultaron similares. De esta forma, se generaron 17 fracciones primarias. En el **cuadro 3** se resume el fraccionamiento realizado mediante cromatografía en columna abierta del extracto clorofórmico.

Eluyente	Proporción %	Fracciones	Fracciones combinadas	Claves
CHCl_3	100	1-10	1	GI01
CHCl_3 -MeOH	99:1	11-17	2-5	GI02
CHCl_3 -MeOH	98:2	18-22	6	GI03
CHCl_3 -MeOH	97:3	23-47	7-12	GI04
CHCl_3 -MeOH	96:4	48-52	13-18	GI05
CHCl_3 -MeOH	95:5	53-57	19	GI06
CHCl_3 -MeOH	94:6	58-62	20-34	GI07
CHCl_3 -MeOH	93:7	63-67	35-54	GI08
CHCl_3 -MeOH	92:8	68-72	55-62	GI09
CHCl_3 -MeOH	91:9	73-77	63-78	GI10
CHCl_3 -MeOH	80:20	78-82	79-80	GI11
CHCl_3 -MeOH	70:30	83-87	81-83	GI12
CHCl_3 -MeOH	60:40	88-97	84-85	GI13
			86-87	GI14
			88-89	GI15
			90-91	GI16
			92-97	GI17

CUADRO 3 . Resumen del fraccionamiento preliminar vía cromatografía en columna abierta del extracto clorofórmico de las semillas de *Ipomoea intrapilosa*.

5.5 Fraccionamiento secundario de la fracción primaria G110 mediante cromatografía en columna abierta

La fracción G110 se sometió a un proceso de purificación mediante cromatografía en columna abierta, utilizando 250 g de gel de sílice como adsorbente. El proceso de elución se comenzó con una mezcla de CHCl_3 -MeOH (94:6) y se incrementó gradualmente la polaridad. Se recolectaron 45 fracciones de 50 mL, las cuales se agruparon empleando un criterio cromatográfico (cromatografía en capa fina). El proceso generó un total de ocho fracciones secundarias. El proceso de fraccionamiento se resume en la **cuadro 4**.

Eluyente	Proporción %	Fracciones	Fracciones combinadas	Claves
CHCl_3 -MeOH	94:6	1-6	1-6	10A
CHCl_3 -MeOH	93:7	7-11	7	10B
CHCl_3 -MeOH	92:8	12-16	8	10C
CHCl_3 -MeOH	91:9	17-21	9	10-I
CHCl_3 -MeOH	90:10	22-26	10	10-II
CHCl_3 -MeOH	89:11	27-31	11-17	10-III
CHCl_3 -MeOH	88:12	32-36	18-35	10-IV
CHCl_3 -MeOH	85:15	37-41	36-45	10-V
CHCl_3 -MeOH	80:20	42-45		

CUADRO 4. Fraccionamiento secundario de la fracción G110 mediante cromatografía en columna abierta.

5.6 Preparación de derivados

5.6.1 Hidrólisis alcalina

La fracción 10-III se sometió a una hidrólisis alcalina. A 100 mg de la muestra problema se adicionaron 2 mL de KOH al 5%, la mezcla de reacción se mantuvo en reflujo (95 °C) con agitación durante una hora. Al término de este tiempo, se ajustó el pH a 4 con HCl 4N y, posteriormente, se extrajo con Et_2O (2 x 10 mL). La fase eterea proporcionó una mezcla de ácidos grasos la cual fue analizada por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. La fase acuosa se extrajo de nuevo con *n*-butanol (2 x 10 mL) y se concentró a presión reducida. Posteriormente, la fracción resultante (10-IIIS) se sometió a una reacción de acetilación.

5.6.2 Reacción de acetilación

La fase orgánica (butanólica) obtenida de la hidrólisis alcalina se sometió a una reacción de acetilación. A 100 mg de 10-III S se adicionaron 2 mL de Ac_2O y 2 mL de piridina. Esta mezcla se mantuvo en agitación a temperatura ambiente por 24 horas, al término de las cuales se adicionaron 5 mL de agua a la mezcla de reacción y se continuó la agitación por 5 minutos, posteriormente se adicionaron 10 mL de agua destilada y se procedió a la extracción con AcOEt (3 x 10 mL). La fase orgánica se trató con HCl 1N (2 x 5 mL), seguido de un tratamiento alcalino con una solución saturada de NaHCO_3 (3 x 5 mL) y, por último, se lavó 2 veces con agua destilada (5 mL). La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida (10-III SA).

5.6.3 Reacción de alquilación con diazometano

El producto de la reacción de acetilación (10-III SA) fue sometido a una reacción de alquilación con diazometano para obtener el derivado metilado 10-III SAM.

5.6.3.1 Preparación del diazometano

Una solución de KOH (0.5 g en 1 mL de agua), 2.5 mL de EtOH y 1.5 mL de éter, se hizo reaccionar con *N*-metil-*N*-nitroso-*O*-toluen-sulfonamida (100 mg) en 0.5 mL de éter. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación continua en baño maría (58-60 °C). El CH_2N_2 generado se colectó en 2 mL de éter en baño de hielo.

5.6.3.2 Reacción de alquilación

Se adicionó un exceso de la solución etérea de diazometano a la fracción 10-III SA disuelta en 10 mL de EtOH para llevar a cabo la reacción de alquilación. La adición del agente alquilante se realizó hasta que cesó el desprendimiento de N_2 en el medio de reacción.

5.6.4 Hidrólisis ácida

Se adicionaron 10 mL de HCl 1N a 150 mg de la fracción 10-IIIS, la mezcla se calentó a 90 °C a reflujo durante 5 horas, y posteriormente se diluyó la mezcla con 5 mL de H_2O y se extrajo con Et_2O (3 x 10 mL). La fase etérea proporcionó la aglicona. La fase acuosa se neutralizó con KOH y se extrajo con *n*-butanol (3 x 10 mL). La fase butanólica se lavó con H_2O (2 x 5 mL) y se concentró en el rotaevaporador hasta sequedad total para obtener una mezcla de monosacáridos, la cual se analizó por HPLC en una columna para el análisis de carbohidratos (Waters).

5.6.4.1 Análisis de la mezcla de carbohidratos mediante HPLC. Condiciones instrumentales a nivel analítico

Se realizó el análisis comparativo de los tiempos de retención de la mezcla, con los generados por muestras auténticas de estándares de los azúcares glucosa, ramnosa, fucosa y quinovosa, mediante HPLC empleando una columna estándar para el análisis de carbohidratos. Se realizaron inyecciones de manera independiente para generar el cromatograma correspondiente. Posteriormente, se procedió a una coelución con cada estándar para obtener un perfil general del comportamiento de la mezcla con cada uno de éstos. Las condiciones instrumentales utilizadas fueron las siguientes:

Columna: Waters-análisis de carbohidratos (aminopropilmetilsilicio), diámetro de partícula de 10 µm; 3.9 mm de diámetro interno x 300 mm de longitud.

Fase móvil: Acetonitrilo-Agua (85:15)

Flujo: 1.0 mL/min

Detector: Índice de refracción.

Concentración de la muestra: 15 mg/mL

Volumen de inyección: 20 µL

Sensibilidad: 64 RIU

Tipo de elución: isocrática.

5.7 Cromatografía líquida de alta resolución

5.7.1 Preparación de los disolventes

Como disolvente se empleó la mezcla de acetonitrilo-agua (95:5) grado HPLC, la cual se filtró a través de un filtro Millipore conectado al vacío, empleando una membrana de filtración de fluoruro de polivideno de 0.45 µm. Posteriormente, se desgasificó mediante un burbujeo con un sistema de helio a una velocidad de 100 mL/min durante 15 minutos.

5.7.2 Preparación de las muestras

Todas las muestras de prueba se disolvieron en la fase móvil elegida para su separación y se filtraron cuando fue necesario a través de una unidad de filtración Acrodisc GHP con una membrana de fluoruro de polivideno de 0.45 µm (PALL Gelman Laboratory).

5.7.3 *Análisis del derivado 10-III SAM mediante HPLC*

5.7.3.1 *Condiciones Instrumentales: nivel analítico*

Columna: Symetry® C18; diámetro de partícula 5 µm; 4.6 mm de diámetro interno x 250 mm de longitud (Waters).

Fase móvil: Acetonitrilo - Agua (95:5)

Flujo: 0.6mL/min

Detector: Índice de refracción.

Volumen de inyección: 20 µL

Sensibilidad: 128 RIU

Tipo de elución: Isocrática

5.7.3.2 *Condiciones Instrumentales: nivel preparativo*

Columna: SymetryPrep® C18, tamaño de partícula de 7 µm, 19 mm de diámetro interno x 300 mm de longitud (Waters).

Fase móvil: Acetonitrilo - Agua (95:5)

Flujo: 9 mL/min

Detector: Índice de refracción.

Volumen de inyección: 500 µL

Sensibilidad: 128 RIU

Tipo de elución: Isocrática

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Extracción y fraccionamiento

El procedimiento de extracción realizado a las semillas de *Ipomoea intrapilosa* permitió obtener 55.69 g de extracto clorofórmico (jalapina) y 49.15 g de extracto metanólico (convolvulina). La selección primaria de *Ipomoea intrapilosa* se realizó de acuerdo a un criterio quimiotaxonómico, el cual considera las semejanzas del metabolismo secundario entre las especies filogenéticamente relacionadas (Phillipson, 2001). De manera adicional, la presente investigación aborda por primera ocasión la fitoquímica de un miembro arbóreo de la familia convolvulácea. El extracto clorofórmico se fraccionó de manera preliminar mediante cromatografía en columna abierta sobre gel de sílice utilizando como sistema de elución CHCl_3 -MeOH en polaridad creciente, lo que permitió la obtención de 17 fracciones primarias GI1-GI17 (Inciso 5.4). En la Figura 8 se ilustra el cromatograma generado mediante CCF. Esta técnica permitió el agrupamiento de las fracciones primarias.

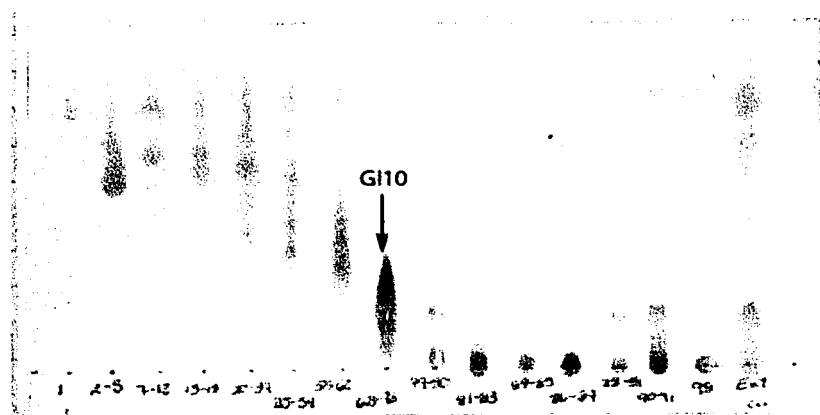


FIGURA 8. Agrupación de las fracciones primarias mediante cromatografía en capa fina en gel de sílice; sistema de elución: CHCl_3 - MeOH (9:1).

La fracción GI10 se sometió a un nuevo fraccionamiento mediante cromatografía en columna abierta y se obtuvieron ocho fracciones secundarias (inciso 5.5), las fracciones 10-I a 10-V. La fracción secundaria 10-III se sometió a una reacción de saponificación con el fin de generar los ácidos glicosídicos derivados de acuerdo a la Figura 9.

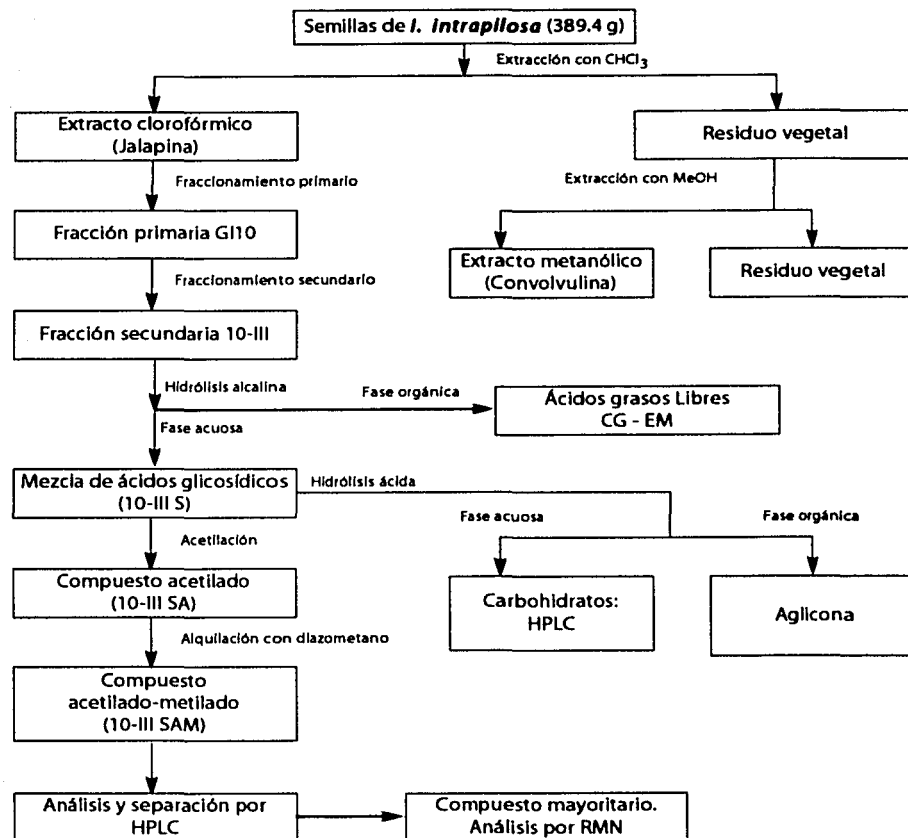


FIGURA 9. Diagrama de flujo

6.2 Hidrólisis ácida

A partir de la hidrólisis ácida de los ácidos glicosídicos podemos obtener en la fase orgánica la aglicona mientras que en la fase acuosa se presenta una mezcla de monosacáridos, lo que permite su identificación.

6.2.1 Identificación de Carbohidratos

La mezcla de carbohidratos, así como los estándares de azúcares utilizados, se analizaron aplicando las condiciones instrumentales especificadas en el apartado 5.6.4.1. Los tiempos de retención se incluyen en la Cuadro 5 tanto para los estándares como para la muestra problema.

Monosacárido	t _{R1}	t _{R2}
L-Ramnosa	5.938	5.884
D-Quinovosa	6.157	6.137
D-Fucosa	7.012	7.231
D-Glucosa	10.520	10.080
Muestra	5.868, 7.716, 10.083	

t_{R1} Corresponde al tiempo de retención que presentaron los estándares al ser analizados individualmente.

t_{R2} Corresponde al tiempo de retención presentado por los estándares en las coeluciones con la muestra.

Cuadro 5. Análisis mediante HPLC de la mezcla de carbohidratos.

De acuerdo con las áreas calculadas en los cromatogramas para cada uno de los picos, se determinó que el azúcar mayoritario es la D-fucosa, además de presentarse en cantidades minoritarias los monosacáridos L-Ramnosa y D-glucosa.

6.3 Hidrólisis alcalina. Determinación de los ácidos grasos esterificados.

La fase etérea obtenida de la reacción de hidrólisis alcalina se analizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y se obtuvo el cromatograma que se presenta en la Figura 10. El análisis por espectrometría de masas de los picos correspondientes se presenta en el cuadro 6. La identificación de cada uno de los constituyentes de esta mezcla se realizó mediante la comparación de los patrones de fragmentación observados para las señales con los generados por las muestras auténticas.

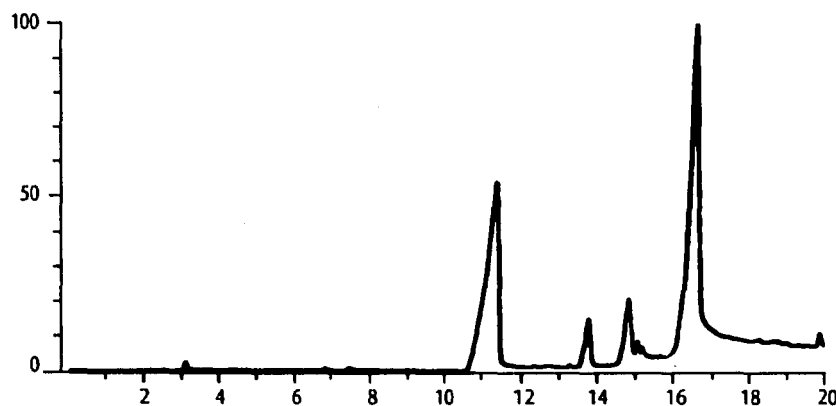


FIGURA 10. Cromatograma de gases obtenido para la fase orgánica de la hidrólisis alcalina.

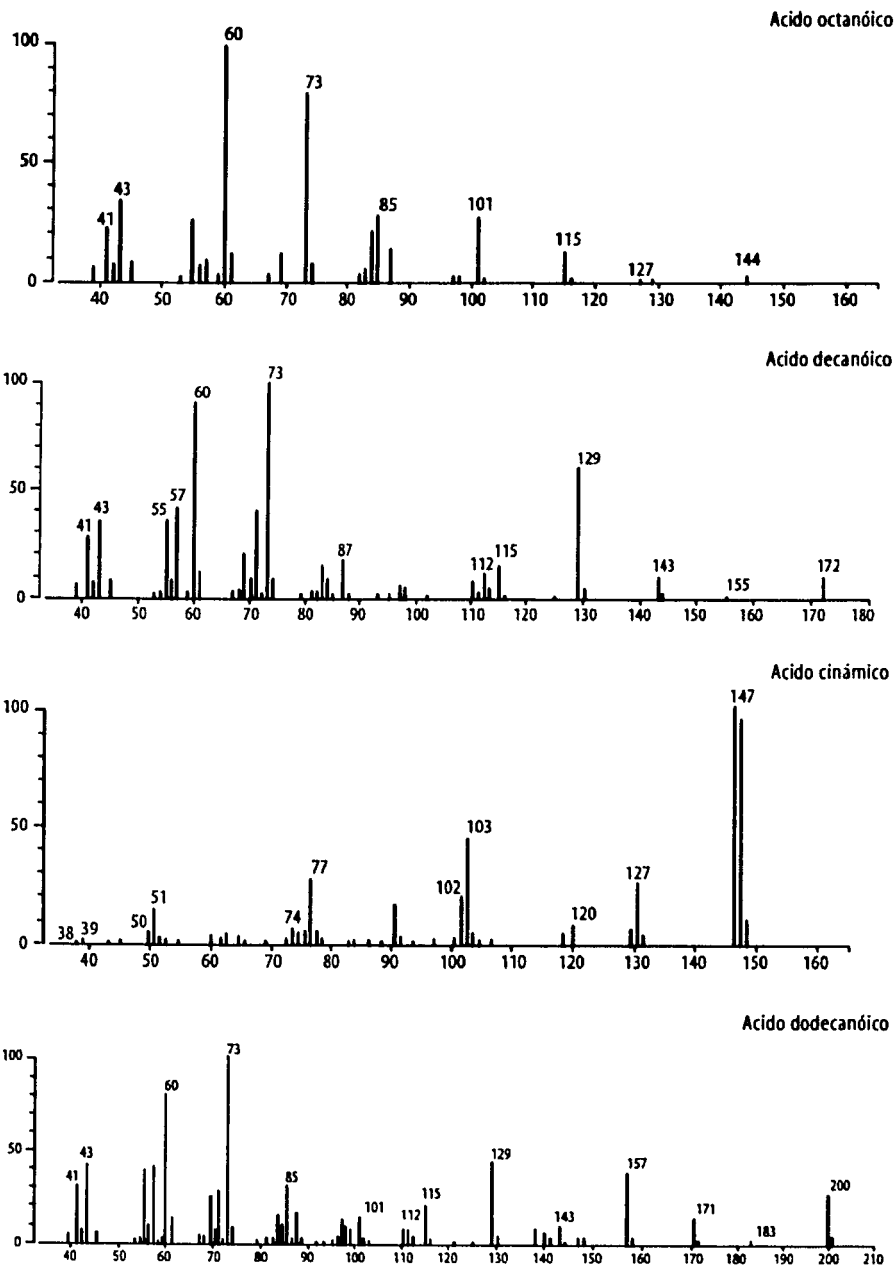


FIGURA 11. Espectros de masas para los ácidos grasos.

t_R (min)		Identificación
11.38	{M}: 144 (5); 127 (5); 115 (18); 101 (28); 85 (28); 73 (80); 60 (100), 43 (38); 41 (20)	Ácido octanóico
13.78	{M}: 172 (12); 155 (3); 143 (12); 129 (62); 115 (15); 112 (12); 87 (20); 73 (100); 60 (90); 57 (40); 43 (35); 41 (30)	Ácido decanóico
14.85	{M}: 148 (90); {M-1} 147 (100); 131 (25); 103 (40); 102 (20); 77 (25); 74 (8); 51 (20); 50 (8); 39 (5); 38 (4)	Ácido cinámico
16.59	{M}: 200 (15); 183 (2); 171 (18); 157 (40); 143 (10); 129 (48); 115 (20); 101 (15); 85 (33); 73 (100); 60 (80); 43 (44); 41 (30)	Ácido dodecanóico

CUADRO 6. Resultados obtenidos mediante CG-EM para la fase orgánica obtenida de la hidrólisis ácida de 10-III.

Estos ácidos se encuentran esterificando a los azúcares de la cadena oligosacárida, al hidrolizar sus enlaces tipo éster, se liberan. El análisis cromatográfico efectuado únicamente permitió su caracterización, sin poder determinar la posición de esterificación del núcleo oligosacárido.

6.4 Compuesto acetilado-metilado. Análisis y separación mediante HPLC

Con el propósito de lograr la purificación del ácido glicosídico mayoritario presente en el extracto clorofórmico de *Ipomoea intrapilosa*, se requirió de la implementación de la técnica de HPLC a nivel analítico y preparativo, la primera permitió determinar las condiciones instrumentales más adecuadas, la segunda, se utilizó con el fin de separar y purificar al derivado mayoritario para su posterior análisis espectroscópico. Los procedimientos a nivel preparativo utilizaron las técnicas de sobrecarga de columna y corte de núcleo, así como el rasurado y el reciclaje de picos (Bah y Pereda-Miranda, 1996).

El producto acetilado metilado (10 III SAM) se analizó mediante RMN para verificar su pureza. Se utilizó la señal centrada en 2.47 ppm como diagnóstica, la cual debería aparecer como un triplete correspondiente al metileno en posición alfa al grupo carbonilo de la aglicona. En este caso dicha señal se encontraba duplicada y, por lo tanto, el producto correspondía a una mezcla de glicósidos cuya purificación se realizó mediante HPLC. La aplicación de esta metodología permitió la separación de dos picos mayoritarios del cromatograma: $t_R = 10.0$ min (IIB) y $t_R = 15.5$ min (IIA) (Figura 12).

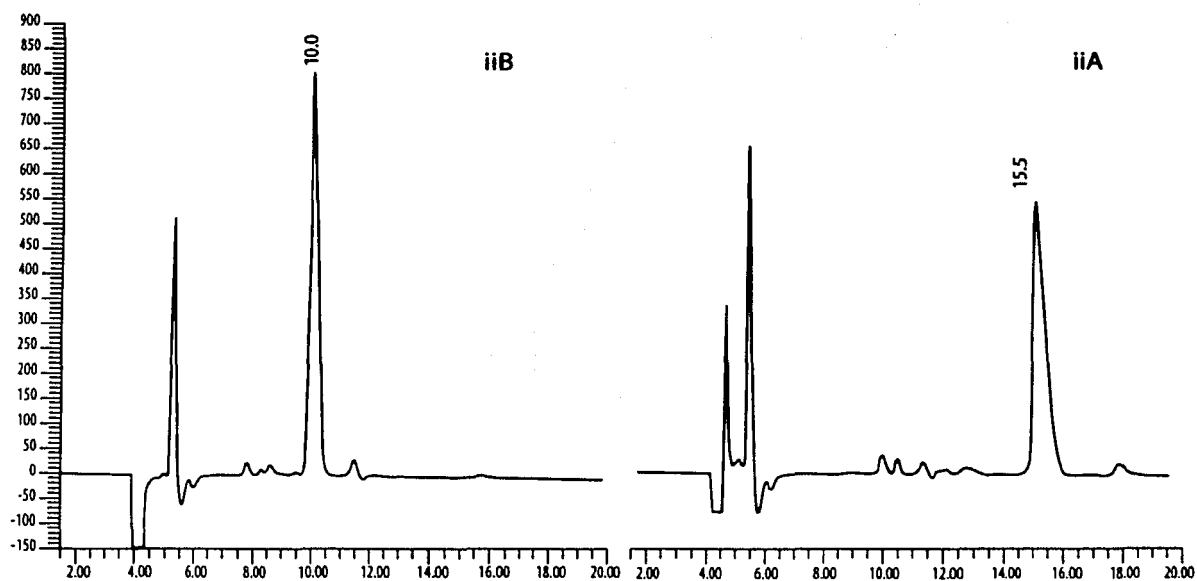
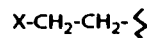
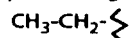


FIGURA 12. Cromatogramas generados mediante HPLC a nivel analítico de los productos iiA y iiB.

La comparación de los espectros de RMN ¹H de los dos productos indicó que el núcleo oligosacárido era idéntico y la diferencia se encontraría en la porción correspondiente a la aglicona (Figura 13).

Las diferencias espectroscópicas que se observan son:

- 1) En el espectro generado por iiA destacan dos señales triples, la primera centrada en 0.83 ppm (3H) y la segunda en 3.98 ppm (2H). Estas señales son características para los siguientes agrupamientos:



y, por lo tanto, permitieron la identificación de un grupo butoxilo (O-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃).

- 2) En el espectro generado por iiB se observó una señal en 3.63 ppm (3H) cuyo desplazamiento químico permitió identificar la presencia de un grupo metoxilo (O-CH₃).

Estos resultados evidenciaron que el compuesto iiA representaba un artefacto de transesterificación que se generó durante el proceso de extracción del producto de saponificación de la fracción 10-III (Sección 5.6.1).

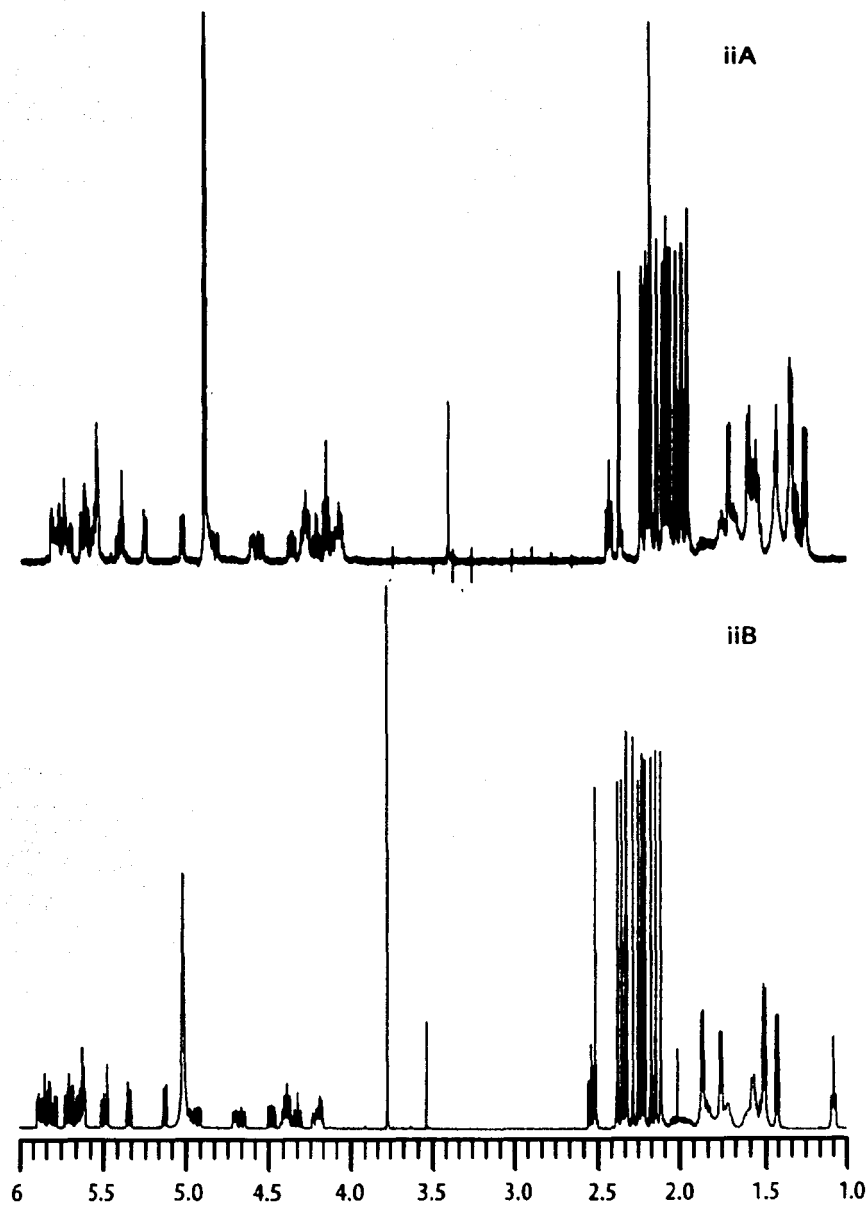


FIGURA 13. Espectros de RMN ^1H de los productos iiA y iiB (500 MHz, $\text{C}_5\text{NH}_5\text{-d}_5$).

6.5 Elucidación estructural del ácido glicosídico.

El registro de los espectros unidimensionales de ^1H y ^{13}C del ácido glicosídico acetilado fue el primer paso para obtener una información general acerca de su estructura. Los desplazamientos químicos alrededor de 98-100 ppm en el espectro de ^{13}C correspondientes a los carbonos anoméricos, permitieron establecer el número de unidades monosacáridas presentes en el núcleo (Figura 14). Estas zona mostró cinco señales anoméricas y, por lo tanto, la presencia de cinco monosacáridos en la muestra. Otra señal característica en el espectro de ^{13}C es la que aparece alrededor de 61.7 ppm, la cual corresponde al hidroximetileno de la glucosa. La señal presente en la región de 174 ppm justifica la presencia del grupo carbonilo correspondiente al ácido glicosídico que conforma la aglicona (11-hidroxihexadecanoico).

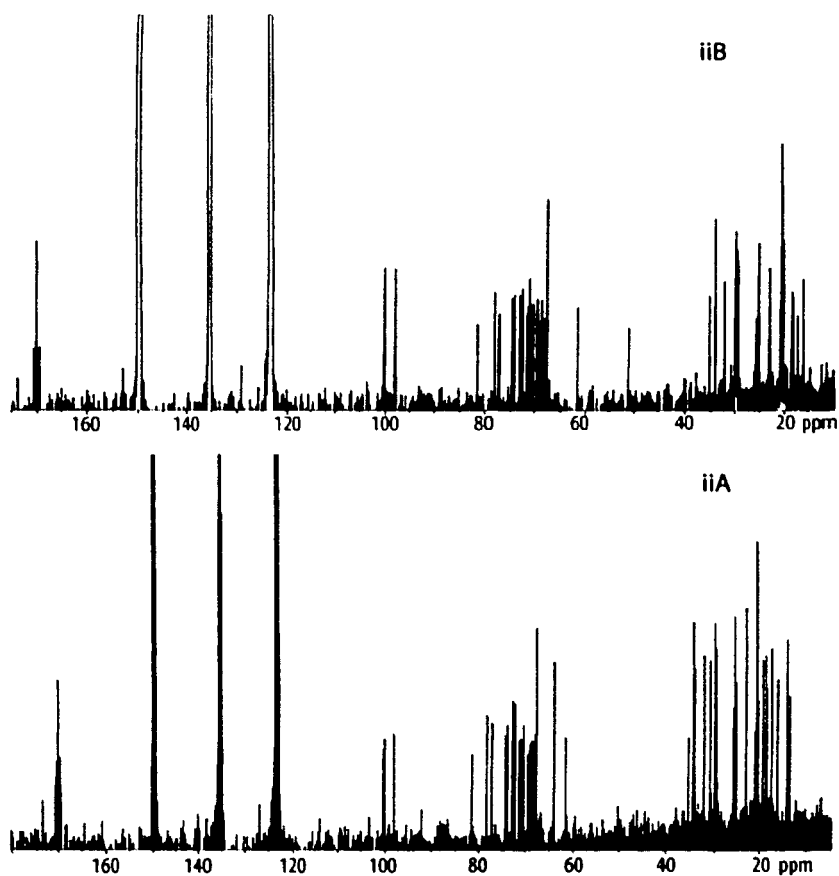


FIGURA 14. Espectros de RMN ^{13}C de los productos iiA y iiB.

El análisis del espectro de RMN ¹H (Figura 13) reveló la presencia de cinco señales dobles correspondientes a los protones anoméricos, lo cual confirmó la presencia de cinco unidades monosacáridas en la molécula, como se había propuesto con base en el número de señales observadas para los carbonos anoméricos. Las cuatro señales dobles presentes entre 1.2–1.7 ppm son características de grupos metilos de 6–desoxihexosas; lo que confirmó que de los cinco monosacáridos presentes, cuatro corresponden a metilpentosas (Cuadro 10). Estos resultados son congruentes con los obtenidos durante el análisis de carbohidratos mediante HPLC, en donde se identificó a la fucosa como el monosacárido constitutivo mayoritario, a la ramnosa como la metilpentosa minoritaria y a la glucosa como la hexosa presente en el oligosacárido (sección 5.6.4.1).

Carbohidrato	¹ H (ppm)	¹³ C (ppm)	H-6 (ppm)
Glucosa	5.2 (7.8)	100.4	
Fucosa'	5.0 (7.7)	100.2	1.3 (6.2)
Fucosa"	5.4 *	100.4	1.6 (5.7)
Fucosa'''	5.7 (7.8)	98.2	1.2 (6.4)
Ramnosa	5.5 *	98.1	1.7 (6.2)

*Señales sobrepuestas en el espectro.

En las columnas ¹H (ppm) y H-6 (ppm) se presenta el desplazamiento químico, y entre paréntesis la constante de acoplamiento en Hz.

CUADRO 7. Desplazamientos químicos (RMN ¹H y ¹³C) para las señales anoméricas y los grupos metilo de los monosacáridos para IIB.

El auxilio de las técnicas espectroscópicas bidimensionales en RMN (COSY, TOCSY) permitió la asignación de cada uno de los protones que conforman las unidades monosacáridas individuales (Cuadro 11) y, con ello, resolver la zona tan compleja producida por la sobreposición de los protones de los grupos metinos (4.0–5.7 ppm).

CUADRO 8. Constantes espectroscópicas en la RMN para el compuesto IIB.

Posición	DEPT	δC	ΔH	
Glu-1	CH	100.4	5.2 (7.8)	d
Glu-2	CH	72.4	5.4 (7.8)	t
Glu-3	CH	73.0	5.7 (9.5)	t
Glu-4	CH	68.6	5.5 (10.1,9.5)	dd
Glu-5	CH	72.8	4.1 (10.1,3.1,3.1)	ddd
Glu-6	CH ₂	61.7	4.53 (12.5,2.3)	dd
			4.80 (12.4,3.3)	dd
Fuc'-1	CH	100.2	5.0 (7.8)	d
Fuc'-2	CH	74.2	4.3 (10.1,7.7)	dd
Fuc'-3	CH	74.7	5.4 *	
Fuc'-4	CH	71.1	5.6 *	
Fuc'-5	CH	68.1	4.3 *	
Fuc'-6	CH ₃	17.5	1.3 (6.2)	d
Fuc''-1	CH	100.5	5.4 *	
Fuc''-2	CH	72.5	5.5 *	
Fuc''-3	CH	77.4	4.6 (8.2,3.6)	dd
Fuc''-4	CH	77.5	4.3 *	
Fuc''-5	CH	67.7	4.3 *	
Fuc''-6	CH ₃	18.7	1.6 (5.7)	d
Fuc'''-1	CH	98.2	5.7 (7.8)	d
Fuc'''-2	CH	69.4	5.7 (10.3,7.8)	dd
Fuc'''-3	CH	71.5	5.6 (3.0)	d
Fuc'''-4	CH	71.3	5.8 (3.3)	t
Fuc'''-5	CH	69.1	4.1 (6.4)	d
Fuc'''-6	CH ₃	16.3	1.3 (6.4)	d
Ram-1	CH	98.1	5.5 *	
Ram-2	CH	71.0	5.6 (3.5,1.7)	dd
Ram-3	CH	70.4	5.8 (9.8,3.5)	dd
Ram-4	CH	81.6	4.2 (9.7)	t
Ram-5	CH	67.7	4.9(9.8,6.1)	dd
Ram-6	CH ₃	18.4	1.7 (6.2)	d
Aglicona-1	C=O	174.0		
Aglicona-11	CH	78.4	4.1	
Aglicona-OCH ₃	CH ₃	51.2	3.6	

En la columna ΔH se presenta el desplazamiento químico y entre paréntesis la constante de acoplamiento en Hz.

* Indica que sobreposición de señales.

d (doblete) dd (doblete de doblete) ddd (doblete de doblete de doblete) t (triplete).

La Figura 15 (COSY) muestra los cuadros de conectividades establecidos para los protones pertenecientes al núcleo de glucosa mismos que ilustran el procedimiento de análisis realizado con estos experimentos de RMN, que en conjunto con los experimentos TOCSY (Figura 16) permitieron la asignación inequívoca de cada una de las señales pertenecientes a las unidades monosacáridas individuales del núcleo oligosacárido. De acuerdo con las conectividades establecidas mediante las interacciones vecinales ^1H - ^1H se estableció la presencia de tres monosacáridos con el núcleo de fucosa.

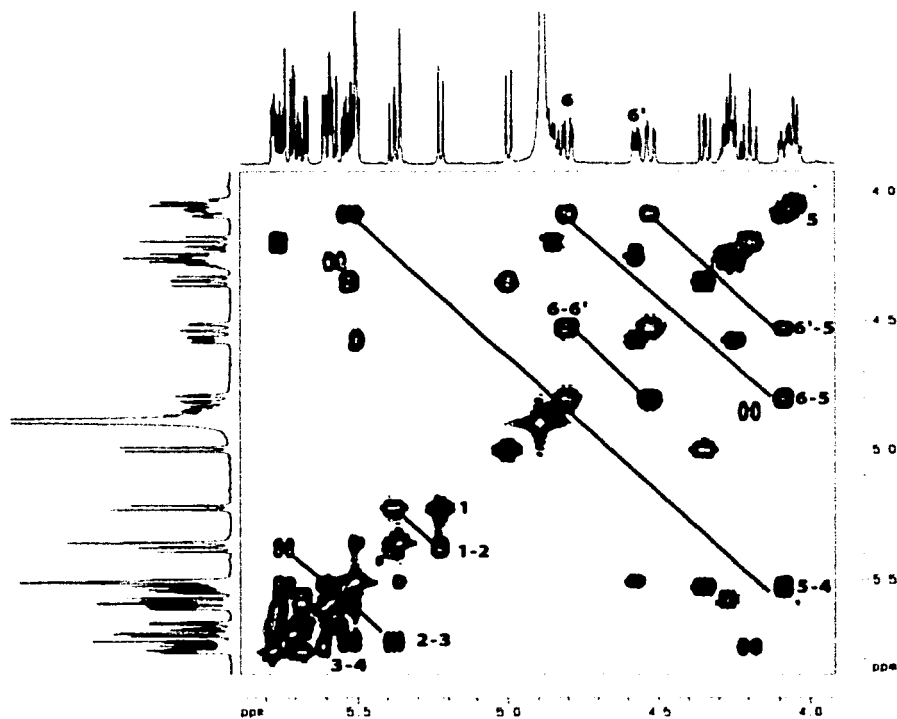


FIGURA 15. Expansión de la región entre 4.0 - 5.9 ppm del espectro de RMN bidimensional protónica (COSY) generado por la muestra IIB (500 MHz, $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}-d_5$).

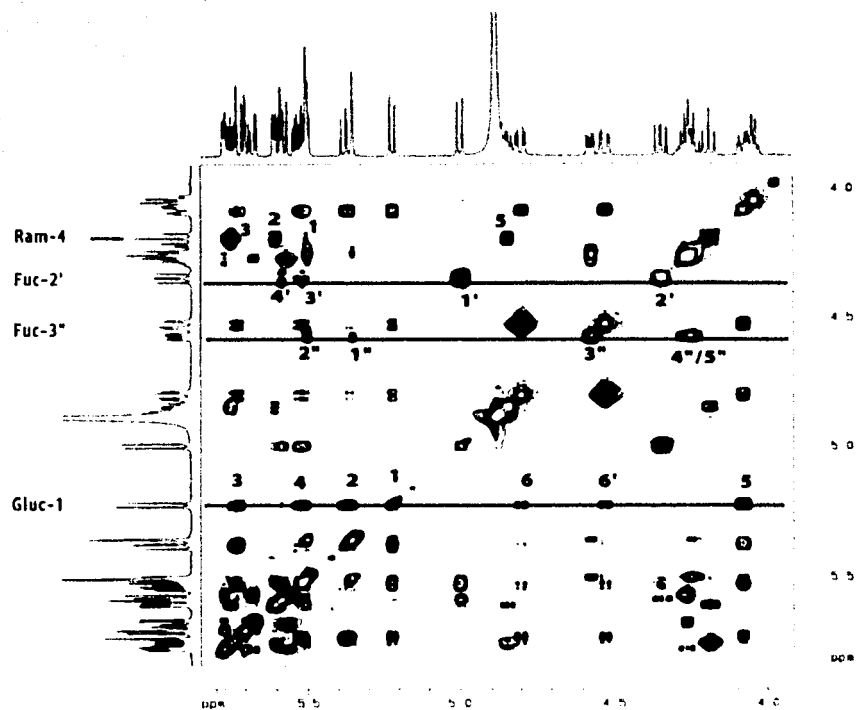


FIGURA 16. Expansión de la región entre 4.0 - 5.9 ppm del espectro de RMN bidimensional protónica homonuclear (TOCSY).

Con el propósito de establecer la secuencia de glicosidación se analizaron las interacciones heteronucleares C-H a larga distancia (${}^3J_{CH}$) registradas en los experimentos HMBC (Cuadro 9). Las principales conectividades se ilustran en la figura 17.

Conectividad ${}^3J^{13}C$	Conectividad ${}^3J^{13}C-H$
H-2 _{fuc'} (4.34ppm)-C-1 _{ram} (98.1ppm)	C-1 _{aglicona} (78.4ppm)-H-1 _{fuc'} (5.0ppm)
	C-4 _{ram} (81.6ppm)-H-1 _{fuc'} (5.4ppm)
	C-3 _{fuc'} (77.4ppm)-H-1 _{glu} (5.2ppm)
	C-4 _{fuc'} (77.5ppm)-H-1 _{fuc'} (5.7ppm)

CUADRO 9. Conectividades heteronucleares ${}^3J^{13}C$ observadas a través de los experimentos bidimensionales a larga distancia (HMBC).

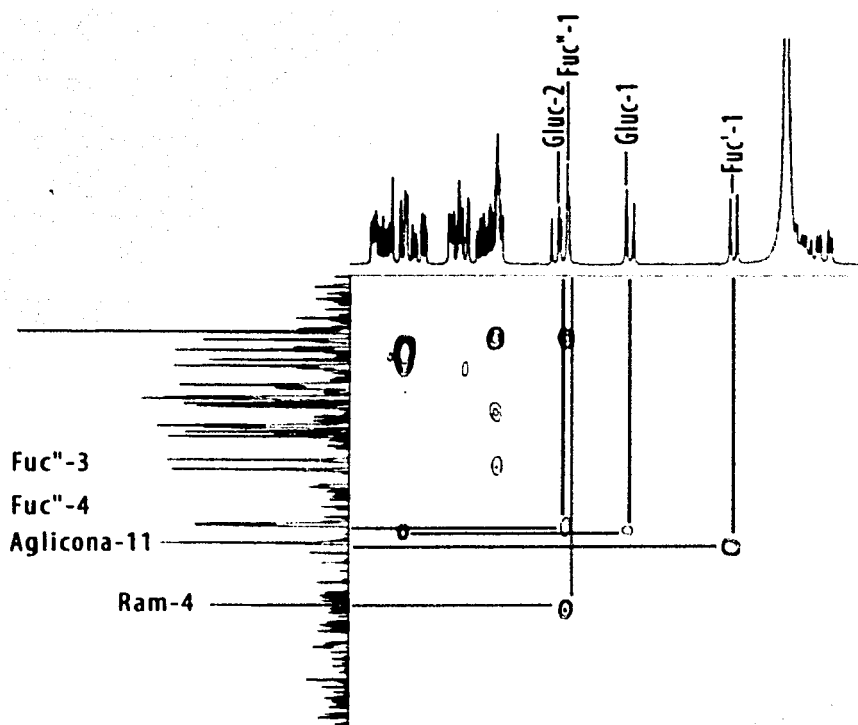


FIGURA 17. Espectro de HMBC.

De manera adicional, para confirmar la secuencia de glicosidación se observaron los efectos nucleares de Overhauser (nOe) que establecen los protones que participan en el enlace glicosídico, es decir, el protón anomérico y el protón geminal al oxígeno etéreo del enlace glicosídico (Figura 18). Este experimento fue de vital importancia para establecer el enlace glicosídico entre la fucosa^{C-3} y la glucosa C-1 a través del nOe observado entre fucosa^{H-3} (4.6 ppm) y glucosa H-1 (5.2 ppm). De esta manera se descartó la posibilidad alternativa de glicosidación D-fucopiranosil (1→3)-D-fucopiranosido.

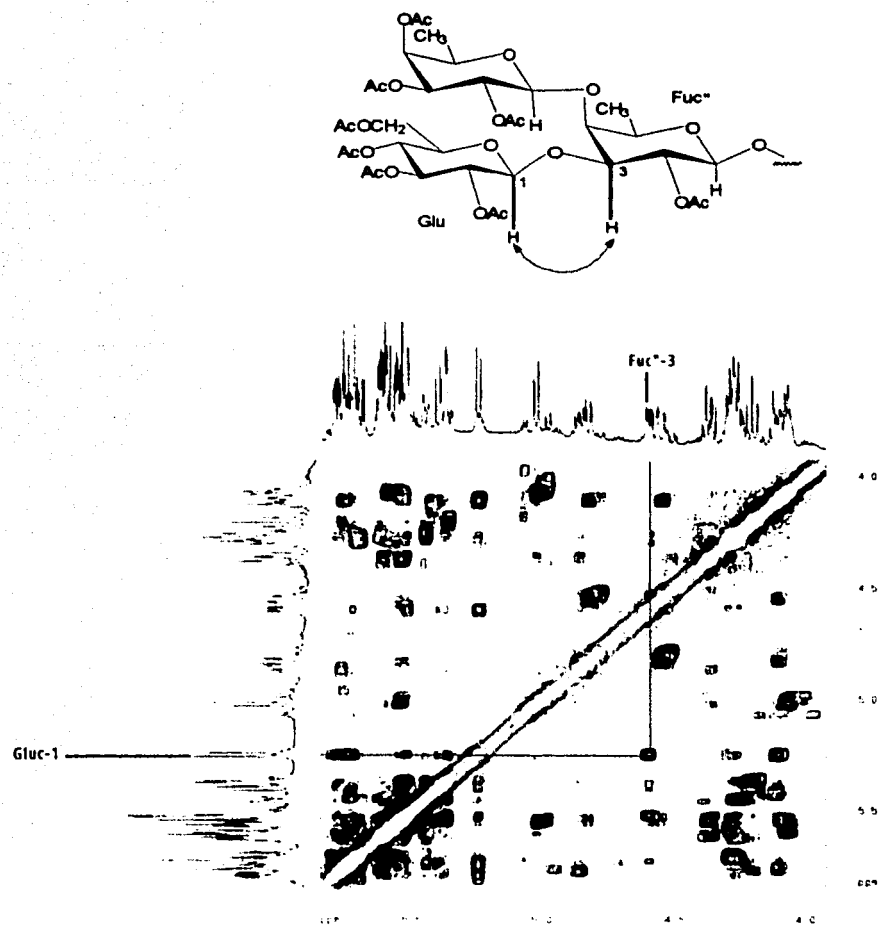


FIGURA 18. Espectro ROESY donde se observa el nOe.

Los resultados anteriores permitieron establecer la estructura del ácido glicosídico constitutivo de las resinas de la especie *Ipomea intrapilosa* como el 11-*O*- β -D- glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*-[*O*- β -D-fucopiranosil(1 \rightarrow 4)] β -D-fucopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)-*O*- β -D-fucopiranosido del ácido (115)-11-hidroxihexadecanoico.

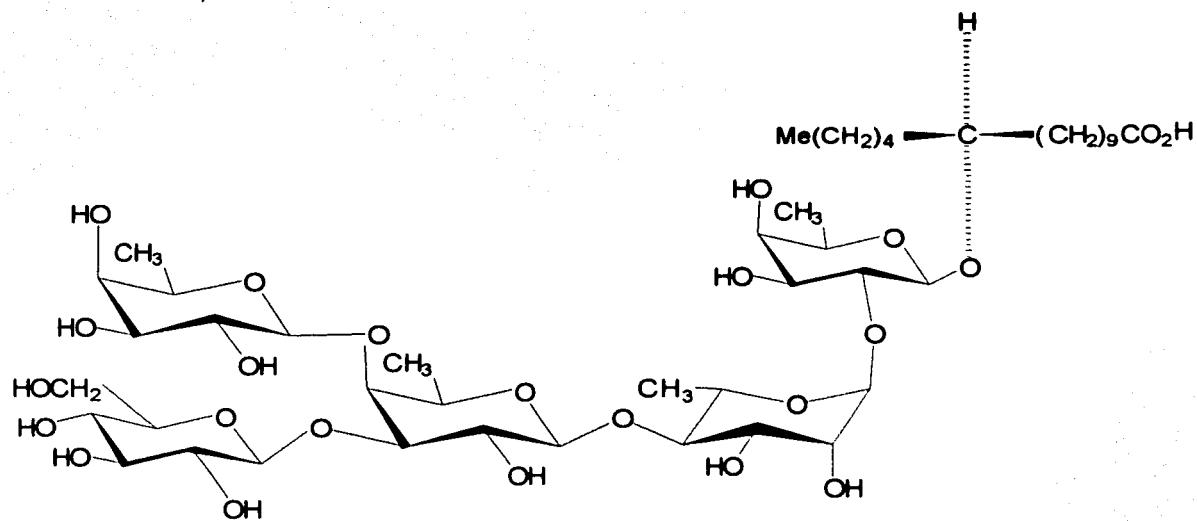


FIGURA 19. Estructura del glicósido aislado.

VII. CONCLUSIONES

Con el trabajo experimental realizado se logró aislar e identificar el núcleo lipooligosacárido constitutivo de las resinas glicosídicas presentes en *Ipomoea intrapilosa*, el cual se caracterizó como el: 11-O-β-D-glucopiranosil-(1→3)-O-[O-β-D-fucopiranosil (1 → 4)] β-D-fucopiranosil-(1 → 4)-O-α-L-ramnopiranosil-(1→2)-O-β-D-fucopiranosido del ácido (11S) -11-hidroxihexadecanoico. Resta por determinar las posiciones de esterificación de los ácidos grasos identificados mediante CG - EM, así como la posición de lactonización de la aglicona en el núcleo oligosacárido.

Este compuesto, a pesar de contener un núcleo oligosacárido, fue aislado de la jalapina, parte de menor polaridad de las resinas, debido a que los ácidos grasos identificados se encuentran esterificando a dicho núcleo en diversas posiciones. Así, se disminuye la polaridad de la molécula total.

Con lo anterior se comprobó que el cacahuate enano contiene resinas glicosídicas con posible aplicación terapéutica y agroquímica, como ya ha sido reportado para otros miembros de esta familia. La presente disertación constituye la primera investigación fitoquímica de un miembro arbóreo de la familia de las convolvuláceas y, el aislamiento de resinas glicosídicas, a partir de las semillas de la especie estudiada, confirma la validez del criterio quimiotaxonomico para la obtención de principios biodinámicos.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- **Argueta, A.** (1994). Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Instituto Nacional Indigenista. Biblioteca de la Medicina Tradicional Mexicana. México.
- **Bah, M.** (1997) Aplicación de la resonancia magnética nuclear y la espectrometría de masas (FAB) de alta resolución en la elucidación estructural de las tricolorinas A-J, oligosacáridos aislados de las resinas de *Ipomoea tricolor* (Convolvulaceae). Tesis Doctoral. Facultad de Química, UNAM, México, 292 pp.
- **Bah, M. y Pereda-Miranda, R.** (1996) Detailed FAB-Mass spectrometry and high resolution NMR investigations of tricolorins A-E, individual oligosacharides from the resins of *Ipomoea tricolor*. **Tetrahedron** 52, 13063-13080.
- **Bah, M. y Pereda-Miranda, R.** (1997) Isolation and structural characterization of new glycolipid ester type dimers from the resin of *Ipomoea tricolor* (Convolvulaceae). **Tetrahedron** 53, 9007-9022.
- **Banco de Datos IMSS** (1983 - 1985) Encuesta Nacional sobre Medicina Tradicional. Programa IMSS - COPLAMAR. Centro Investigación Biomédica del Sur. IMSS. Xochitepec, Mor.
- **Baytelman, B.** (1993) Acerca de Plantas y de curanderos. Instituto Nacional de Antropología e Historia. México. 452 pp.
- **Bye R. y Linares M. E.** (1987). Usos pasados y presentes de algunas plantas medicinales encontradas en los mercados mexicanos. **América Indígena**, vol. XLVII, num. 2, abril - junio.
- **Contreras C. M., Chacón, L. y Enriquez, R.G.** (1996) Anticonvulsant properties of *Ipomoea stans*. **Phytomedicine** 3, 41-44.
- **Cox, P.A. y Balick, M. J.** (1994) The ethnobotanical approach to drug discovery. **Scientific American**, 82-87.
- **Díaz, J. L.** (1976) Índice y Sinonimia de las Plantas Medicinales de México. Monografías Científicas I. Instituto Mexicano para el estudio de las plantas medicinales A.C. IME PLAM. México.
- **Díaz, J.L.** (1976) Usos De Las Plantas Medicinales De México. Monografías Científicas II. Instituto Mexicano Para El Estudio De Las Plantas Medicinales A.C. IME PLAM. México.

- **Emmart, E.W. (1940)** The Badianus manuscript (Cosex Barberini, latin 241) Vatican Library. An Aztec Herbal of 1552. The Johns Hopkins Press: Baltimore, pp. 341.
- **Encarnación D., Rosalba y Agúndez E., Jorge. (1995).** Medicina Tradicional de Baja California Sur. **Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas**, 26, 25-44.
- **FONT QUER. (1973)** Diccionario de Botánica. Editorial Labor. España.
- **Gates, W. (2000)** An aztec herbal. The classic codex of 1552. Dover Publication, New York, pp. 122.
- **Hamburger, M. y Hoslettmann, K. (1991).** Bioactivity in plants, the link between phytochemistry and medicine. **Phytochemistry**, 30, 3864-3874.
- **Hernández, B. (2000)** Caracterización de la composición química de las resinas glicosídicas de dos miembros representativos del complejo mexicano de jalapas, especies de convolvuláceas con propiedades purgantes, como una evidencia para distinguir entre la auténtica raíz de jalapa y sus adulterantes. Tesis doctoral. Facultad de Química, UNAM.
- **Hernández, B., Bye, R. y Pereda-Miranda, R. (1999)** Orizabins V-VIII, Tetrasaccharide Glycolipids from the Mexican Scammony Root (*Ipomoea orizabensis*). **Journal of Natural Products**, 62, 1096-1100.
- **Lara F. y Márquez, C. (1996)** Plantas Medicinales de México. Composición, usos y actividad biológica. UNAM. México.
- **Lara, F., Márquez, C., Esquivel, B. y Mata, R. (1999).** Plantas Medicinales de México II. UNAM. México.
- **Lawrence, G.M.H. (1951)** Taxonomy of vascular plants. McMillan, New York, pp. 823.
- **Lozaya, X. (1999)** Un paraíso de plantas medicinales. **Arqueología Mexicana**, 39, 14 - 21.
- **Mannich, C. y Schumann, P. (1938)** Jalap Resins and its principal constituent, convolvullin. **Archiv der Pharmazie** 276, 211-226.
- **Matuda, E. (1963)** El género *Ipomoea* en México. **An. Inst. Biol. México**. Vol 34:85 - 145.
- **Matuda, E. (1964)** El género *Ipomoea* en México. **An. Inst. Biol. México**. Vol 35:45 - 76.
- **Matuda, E. (1965)** El género *Ipomoea* en México. **An. Inst. Biol. México**. Vol 36:83 - 106.

- **Martínez, M.** (1987). Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México.
- **Martínez, M.** (1989) Las plantas medicinales de México. Ediciones Botas. México.
- **McDonnald, A.** (1991) Origin and Diversity of Mexican Convolvulaceae. **Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México. Sec. Bot.** 62 (1):65-82.
- **Miranda, F. y Valdés, J.** (1991) Comentarios Botánicos. En: Libellus de Medicinalibus Indorum Aerbus. Manuscrito Azteca de 1552. De la Cruz, M. Según traducción latina de Badiano, J. Fondo de Cultura Económica. Instituto Mexicano del Seguro Social: México, pp. 110.
- **Noda, N., Kogetsu, H., Kawasaki, T. y Miyahara, K.** (1990) Scammonins I and II, the resin glycosides of *Radix scammoniae* from *Convolvulus scammonia*. **Phytochemistry** 29, 3565-3569.
- **Okabe, H., Kawasaki, T. y Nakatsuka, I.** (1971) Studies on resin glycosides, I. Reinvestigation of the components of pharbitin, a resin glycoside of the seeds of *Pharbitis nil choisy*. **Chem. Pharm. Bull.** 19, 1144-1149.
- **Osuna L. y Ponce-Monter, H.** (1996) Effect of *Ipomoea intrapilosa* methanol extract on the serotonergic response in rat uterus. **Phytotherapy Research** 10, 257-259.
- **Osuna L.** (1994) Efecto del extracto metanólico de *Ipomea intrapilosa* (Rose) sobre la respuesta serotoninérgica en útero de rata. Tesis de Maestría. UAEM, México, 72 pp.
- **Ono, M., Kawasaki, T. y Miyahara, K.** (1989b) Glycosides V. Identification and characterization of the component organic and glycosidic acids of the ether-soluble crude resin glycosides "jalapín" from *Rhizoma jalapae braziliensis* (Roots of *Ipomoea operculata*). **Chem. Pharm. Bull.** 37 3209-3213.
- **Pereda-Miranda, R.** (1995) Bioactive Natural Products from traditionally used Mexican Plants. En J. T. Arnason (Ed). *Phytochemistry of Medicinal Plants*. Plenum press, New York, pp. 83-112.
- **Pereda-Miranda, R. y Hernández-Carlos, B.** (2002) HPLC isolation and structural elucidation of diastereomeric niloyl ester tetrasaccharides from mexican scammony root. **Tetrahedron**, 58, 3145-3154.
- **Phillipson, J. D.** (2001). *Phytochemistry and medicinal plants*. **Phytochemistry**, 56, 237-243.

- **Reynolds, W. F. y Enriquez, R. G.** (1995). Isolation and characterization of cytotoxic and antimicrobial tetrasaccharide glycosides from *Ipomoea stans*. *Journal of Natural Products* 58, 1730-1734.
- **Soria, R. G.** (1985) Flora de Morelos. Descripción de especies vegetales de la selva baja del Cañón de Lobos. Municipio de Yautepec. Serie de Ciencias Naturales y de la Salud. UAEM, 44 - 48.
- **Swordlow, J. L.** (2000). Remedio Natural. National Geographic, April, 98-117.
- **Trease, G. E. y Evans, W. C.** (2002). Pharmacognosy. 15th ed. WB Saunders, USA.
- **Wagner, H.** (1973) The chemistry of resin glycosides of the Convolvulaceae family. *Novel Symposium*. 25, 235-240.