

00550



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**Estudio Químico de las Semillas de *Nectandra ambigens*
y de las Ramas de *Eysenhardtia subcoriacea*.**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

FERNANDO AUGUSTO NOVILLO LOGROÑO



TUTOR: DR. GUILLERMO DELGADO LAMAS
AÑO: 2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

0220

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA



JURADO ASIGNADO

Presidente	Dr. Manuel Jiménez Estrada	Instituto de Química, UNAM
Vocal	Dr. Marcos Soto Hernández	Colegio de Posgraduados de Chapingo
Secretario	Dra. Rachel Mata Essayag	Facultad de Química, UNAM
Primer Suplente	Dr. Ricardo Reyes Chilpa	Instituto de Química, UNAM
Segundo Suplente	Dra. Yolanda Ríos Gómez	CIQ-UAE Morelos

Lugar donde se realizó la Tesis:

Esta tesis se llevó a cabo en el laboratorio 1-C del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. Guillermo Delgado Lamas.

TUTOR: Dr. Guillermo Delgado Lamas

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Guillermo Delgado Lamas", written over a horizontal line.

SUSTENTANTE: Fernando Augusto Novillo Logroño

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Fernando Augusto Novillo Logroño", written over a horizontal line.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Central del Ecuador por la licencia académica que se permitió otorgarme para llevar a cabo la Maestría en Ciencias Químicas.

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), que a través de Intercambio Académico hizo posible el otorgamiento de una beca para realizar los estudios de Posgrado.

Al Dr. Guillermo Delgado Lamas por su apoyo, asesoría, y confianza que me brindó para la realización de este trabajo los cuales agradezco mucho.

Al personal de la Coordinación en el Posgrado de Ciencias Químicas por su colaboración y apoyo.

A los miembros del jurado. Dr. Manuel Jiménez Estrada, Dr. Marcos Soto Hernández, Dra. Rachel Mata Essayag, Dr. Ricardo Reyes Chilpa, Dra. Yolanda Ríos Gómez, gracias por su aporte en la elaboración de esta tesis.

Al Dr. Raymundo Cea Olivares, Director del Instituto de Química, y al personal académico, técnico y administrativo de la dependencia por el apoyo brindado durante el desarrollo de mi trabajo de investigación.

A mis compañeros del laboratorio 1C del Instituto de Química, Bety, Edgar, Manuel, Arturo, Blanqui, Ale, Lety y Thalina, por la ayuda brindada y quienes también hicieron que mi estancia en México sea inolvidable.

A mi Madre, mis hermanos y en especial a mi hijo Fernando, por su comprensión y el apoyo que siempre recibí, para así terminar con éxito una meta más en mi vida profesional, todo mi amor para ellos.

DEDICATORIA

A la memoria de mi Padre

RESUMEN

Esta investigación se enfoca en el análisis químico de dos especies vegetales, uno seleccionado mediante criterio quimiotaxonómico y el otro con criterio etnomédico.

El primer capítulo se refiere al estudio químico de las semillas de *Nectandra ambigens* (nombre común: laurel chilpatillo); esta especie pertenece a la familia Lauraceae, y es una planta silvestre. También a esta familia pertenece *Persea americana* (aguacate), que es una planta domesticada y se cultiva a gran escala. Del presente trabajo se han determinado las estructuras moleculares de los constituyentes de las semillas de *N. ambigens*, los cuales principalmente, corresponden a triglicéridos derivados de los ácidos palmítico y oleico. Además, se aislaron ácido 8-hidroxi-9*E*-octadecenoico, ácido 8-hidroxi-octadecanoico, una mezcla de ésteres y β -sitosterol. A pesar de que *N. ambigens* y *P. americana* pertenecen a la misma familia no se encontraron similitudes notables entre la composición química de sus semillas.

El segundo capítulo se refiere al estudio químico de las ramas de *Eysenhardtia subcoriacea* (nombre común: palo dulce, familia Fabaceae), empleada en la medicina tradicional como agente antidiabético. De este material vegetal se aislaron, alcohol montanílico, lupeol, mezcla de β -sitosterol y estigmasterol, ácido acetiloleanólico, mezcla de ácidos grasos saturados, ácido betulínico, β -D-glupiranósido de β -sitosterilo, 1D-3-O-metil-*chiro*-inositol y sacarosa. Se realizaron las asignaciones inambiguas de los desplazamientos químicos para cada una de las señales de los núcleos del 1D-3-O-metil-*chiro*-inositol. De acuerdo con las propiedades biológicas informadas en la literatura para las sustancias aisladas, y considerando su abundancia relativa en el material vegetal analizado, puede suponerse que el 1D-3-O-metil-*chiro*-inositol es la sustancia responsable, al menos en parte, de las propiedades hipoglucemiantes con que es conocida esta especie en la medicina tradicional.

ABREVIATURAS

[M] ⁺	ion molecular
ccf	cromatografía en capa fina
d	señal doble
dd	señal doble de doble
ddd	señal doble de doble de doble
dddd	señal doble de doble de doble de doble
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DPPH	Radical 2,2'-difenil-,1,1'-picrilhidracilo
dt	señal doble de triple
EI ⁺	Impacto Electrónico
EM	Espectrometría de Masas
FAB ⁺	Fast Atom Bombard (bombardeo rápido de átomos)
HMBC	Correlación Heteronuclear de Enlace Múltiple
HSQC	Correlación Espectroscópica Heteronuclear
Hz	Hertz
IR	Espectroscopía de infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
m	señal múltiple
<i>m/z</i>	masa/carga
MHz	Megahertz
Pf	punto de fusión
ppm	partes por millón
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
s	señal simple
t	señal triple
td	señal triple de doble
δ	desplazamiento químico

INDICE

Resumen	iii
Abreviaturas	iv
Índice	v
Lista de tablas	viii
Lista de figuras	ix
Objetivos	x
Introducción	1
Capítulo I. Semillas de <i>Nectandra ambigens</i>	3
1.1. Antecedentes	3
1.1.1. Descripción de la familia Lauraceae	3
1.1.2. Ubicación taxonómica y descripción de la especie <i>Nectandra ambigens</i>	3
1.1.3. Antecedentes químicos del género <i>Nectandra</i>	4
1.1.4. Estudio químico de las semillas de <i>Persea americana</i>	9
1.1.5. Descripción y Propiedades de los ácidos grasos	11
1.1.6. Biosíntesis de ácidos grasos	14
1.2. Discusión de resultados	17
1.2.1. Extracto hexánico de la semilla de <i>N. ambigens</i>	17
1.2.2. Extracto CH ₂ Cl ₂ -MeOH (1:1) de la semilla de <i>N. ambigens</i>	22
1.3. Parte experimental	25
1.3.1. Material y Equipo	25
1.3.2. Preparación de extractos de las semillas de <i>Nectandra ambigens</i>	26
1.3.3. Extracto hexánico	26
1.3.4. Extracto de diclorometano-metanol (1:1)	29
1.4. Conclusiones	32

Capítulo II. Ramas de <i>Eysenhardtia subcoriacea</i>	33
2.1. Antecedentes	33
2.1.1. Descripción de la familia Fabaceae	33
2.1.2. Descripción y antecedentes químicos del género <i>Eysenhardtia</i>	33
2.1.3. Generalidades sobre la diabetes	36
2.1.3.1. Clasificación de la diabetes	36
2.1.3.2. Tratamientos actuales para la diabetes	37
2.1.3.3. Productos naturales utilizados como antidiabéticos	38
2.1.4. Triterpenoides	40
2.1.4.1. Ruta biosintética de los triterpenoides	40
2.1.4.2. Actividades biológicas de los triterpenoides	43
2.1.4.3. Carbohidratos en la familia Leguminosae	43
2.1.4.4. Propiedades del D-Pinitol	44
2.1.4.5. Biosíntesis del D-Pinitol	45
2.2. Discusión de resultados	47
2.3. Parte experimental	60
2.4. Conclusiones	66
Referencias	67
Espectros	85
Espectro 1. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de un ester de ácido graso insaturado	85
Espectro 2. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de un ácido graso insaturado	86
Espectro 3. IR (CHCl_3) de un triacilglicérido B	87
Espectro 4. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de un triacilglicérido B	88
Espectro 5. EM (FAB^+ , 70eV) de un triacilglicérido B	89
Espectro 6. GC-EM (EI^+ , 70eV) de ácido palmítico	90
Espectro 7. GC-EM (EI^+ , 70eV) de ácido oleico	91

Espectro 8. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de un éster etílico de un hidroxiácido insaturado	92
Espectro 9. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de un ester de un ácido graso saturado	93
Espectro 10. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) del ester metílico de un ácido graso insaturado	94
Espectro 11. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de β -sitosterol	95
Espectro 12. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de un ácido hidroxiesteárico	96
Espectro 13. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de alcohol montanílico	97
Espectro 14. EM (EI^*) del alcohol montanílico	98
Espectro 15. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de Lupeol	99
Espectro 16. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de Estigmasterol	100
Espectro 17. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) del ácido acetil oleanólico	101
Espectro 18. RMN ^1H (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-d}_6$) de mezcla de ácidos grasos saturados	102
Espectro 19. RMN ^1H (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-d}_6$) de ácido betulínico	103
Espectro 20. IR (KBr) de β -D-glucopiranosido de β -sitosterilo	104
Espectro 21. RMN ^1H (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de β -D-glucopiranosido de β -sitosterilo	105
Espectro 22. RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de β -D-glucopiranosido de β -sitosterilo	106
Espectro 23. IR (KBr) de 1D-3-O-metil- <i>chiro</i> -inositol	107
Espectro 24. RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de 1D-3-O-metil- <i>chiro</i> -inositol	108
Espectro 25. RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de 1D-3-O-metil- <i>chiro</i> -inositol	109
Espectro 26. DEPT (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de 1D-3-O-metil- <i>chiro</i> -inositol	110
Espectro 27. HSQC (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de 1D-3-O-metil- <i>chiro</i> -inositol	111
Espectro 28. HSMC (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de 1D-3-O-metil- <i>chiro</i> -inositol	112
Espectro 29. EM (EI^* , 70eV) de 1D-3-O-metil- <i>chiro</i> -inositol	113
Espectro 30. IR (KBr) de sacarosa	114
Espectro 31. RMN ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) de sacarosa	115
Espectro 32. RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6) de sacarosa	116
Espectro 33. DEPT (75 MHz, DMSO-d_6) de sacarosa	117

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Relación natural de los ácidos grasos	11
Tabla 2. Ácidos saturados de fórmula general $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$	12
Tabla 3. Ácidos grasos insaturados relevantes	13
Tabla 4. Ácidos grasos poliinsaturados, según familias	14
Tabla 5. Rendimiento en la extracción de semilla	26
Tabla 6. Elución de la columna principal del extracto hexánico de <i>N. ambigens</i>	27
Tabla 7. Reunión de las fracciones del extracto de hexano	27
Tabla 8. Elución de la columna principal del extracto $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ (1:1)	29
Tabla 9. Reunión del fraccionamiento primario del extracto $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ (1:1)	29
Tabla 10. Algunas plantas de la familia Fabaceae utilizadas en el tratamiento de la diabetes	40
Tabla 11. Rendimiento en la extracción de ramas de <i>E. subcoriacea</i>	60
Tabla 12. Actividad atrapadora de radicales de varios extractos de <i>E. subcoriacea</i>	60
Tabla 13. Elución de la columna principal del extracto metanólico de <i>E. subcoriacea</i>	61
Tabla 14. Reunión del fraccionamiento primario del extracto metanólico	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ruta biosintética de los ácidos grasos	15
Figura 2. Fórmula parcial de un triacilglicérido	19
Figura 3. Ruta biosintética de los triterpenoides	41
Figura 4. Formación de varias estructuras de Triterpenos	42
Figura 5. Estereoisómeros del inositol	44
Figura 6. Estructura del D-Pinitol	44
Figura 7. Conversión de la D-glucosa a <i>myo</i> -inositol	46
Figura 8. Biosíntesis del <i>myo</i> -inositol a D-pinitol	46
Figura 9. Señales de los hidrógenos vinílicos en el estigmasterol	49
Figura 10. Posición de los tripletes y del grupo metoxilo en el compuesto 91	53
Figura 11. Sistema de acoplamiento en el cual se muestra las señales dobles de dobles	54
Figura 12. Experimento HSQC que muestra la relación $^1J_{C-H}$ en el compuesto 91	55
Figura 13. Experimento HMBC que muestra los enlaces a dos y tres ligaduras	56

OBJETIVOS

A. OBJETIVO GENERAL

Generar conocimiento científico a través del análisis de los resultados derivados del estudio químico de las semillas de *Nectandra ambigens* y de las ramas de *Eysenhardtia subcoriacea*.

B. OBJETIVOS ESPECIFICOS

Preparar los diferentes extractos de *Nectandra ambigens* y de *Eysenhardtia subcoriacea* por medio de una maceración empleando disolventes de diferente polaridad.

Separar, purificar y determinar la estructura molecular de los constituyentes mayoritarios presentes en los extractos, aplicando para ello las diferentes técnicas de separación y purificación convencional, y las técnicas espectroscópicas y espectrométricas necesarias.

Integrar y contextualizar los resultados obtenidos con la información publicada en la literatura.

INTRODUCCION

Los productos naturales son los compuestos químicos que sintetizan los seres vivos, y pueden denominarse metabolitos secundarios a aquellos que dan una propiedad característica a una especie en particular. Aunque las plantas son la fuente más conocida de metabolitos secundarios, las bacterias, los hongos y numerosos organismos marinos son también fuentes importantes de productos naturales [1-3].

En la mayoría de los países del mundo el uso de las plantas medicinales ha perdurado a través de los siglos y es parte de su cultura. El aprovechamiento de dichos recursos vegetales se ha conformado con las múltiples observaciones y numerosas experiencias acumuladas por grupos étnicos y sociales que habitan en cada país, enmarcadas dentro de las condiciones y circunstancias que otorga el ecosistema, el intercambio social, las enfermedades más comunes de la región y la disponibilidad práctica del recurso. De esta manera, ciertas tradiciones han contribuido a la salud y bienestar de diferentes culturas [4].

Se han identificado diversas estrategias que permiten orientar el estudio de las plantas, entre las cuales pueden mencionarse el criterio quimiotaxonómico, al analizar plantas relacionadas filogenéticamente, que presumiblemente contengan metabolitos secundarios relacionados estructuralmente; la estrategia etnomédica, al investigar especies empleadas en la medicina tradicional; la estrategia ecológica, al analizar las interacciones entre los organismos, entre otros criterios de selección. A través de la utilización de estas estrategias se han descubierto numerosos agentes terapéuticos útiles [5, 6].

Los avances en las tecnologías de purificación y determinación estructural de las sustancias orgánicas, así como la implementación reciente de numerosos bioensayos específicos y reproducibles, han ejercido una profunda influencia en la investigación en productos naturales. En particular, ha influido en la búsqueda de sustancias o preparaciones que incidan en la cura de enfermedades, ya que se considera, sin sustento científico, que los productos naturales, como fitofármacos poseen menores efectos secundarios [7].

Esta investigación se refiere al análisis de dos especies vegetales, una seleccionada mediante criterio quimiotaxonómico y la otra con criterio etnomédico.

Así, el presente trabajo está constituido por dos capítulos. El primero se refiere al estudio de *Nectandra ambigens* (nombre común: laurel chilpatillo); esta especie pertenece a la familia Lauraceae, y es una planta silvestre. También pertenece a esta familia *Persea americana* (aguacate), la cual es una planta domesticada y se cultiva a gran escala. Se determinaron las estructuras moleculares de los constituyentes de las semillas de *N. ambigens*, y se compararon con las estructuras químicas informadas para la semilla del aguacate.

El segundo capítulo se refiere al estudio químico de las ramas de *Eysenhardtia subcoriacea* (nombre común: palo dulce, familia Fabaceae), empleada en la medicina tradicional como agente antidiabético.

Considerando que no existen reportes científicos en los cuales se mencionen el aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios de las dos especies vegetales, en este trabajo se pretende contribuir al conocimiento con la generación de información referente para ambas. De esta manera los resultados se integrarán a los ya informados en la literatura, con el objetivo de contribuir al conocimiento químico de los productos naturales de las plantas.

CAPITULO I

Semillas de *Nectandra ambigens*

1.1. ANTECEDENTES

1.1.1. Descripción de la familia Lauraceae

La familia Lauraceae esta formada por árboles y arbustos en su mayoría perennifolios. Es una de las familias más numerosas entre las leñosas y comprende alrededor de 50 géneros y más de 2500 especies. Están ampliamente distribuidas en América y Asia, y crecen principalmente en regiones tropicales y subtropicales. Pertenecen a esta familia especies de gran interés económico como productoras de especias, aceites esenciales, frutos o maderas [8]. Los constituyentes químicos presentes en dicha familia son arilpropanoides, alcaloides, flavonoides y terpenoides [9].

1.1.2. Ubicación taxonómica y descripción de la especie *Nectandra ambigens*

Uno de los géneros de la familia Lauraceae es *Nectandra*; este corresponde a la tribu Cinnamomineae, de la subfamilia Lauroideae. Se conocen alrededor de 320 especies de este género [10], y entre ellas *Nectandra ambigens* (S. F. Blake) C. K. Allen [11, 12]. El nombre común de *N. ambigens* es "laurel chilpatillo" y es un árbol del dosel que se distribuye desde México (Colima, Chiapas, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Tabasco y Veracruz) hasta Honduras y Guatemala. El "laurel chilpatillo" es quizá la especie arbórea que predomina en la reserva de Los Tuxtlas (Veracruz, México). Este árbol alcanza alturas de 20 a 35 m, y hasta 1 m de diámetro en el tronco por arriba de los contrafuertes [13]. Su corteza es característica: de color café oscuro o casi negra cuando se humedece; escamosa, con lenticelas pardas, prominentes, no caedizas, de disposición regular, con segmentos irregulares que se desprenden. La madera es de color amarillo mostaza, de porosidad difusa. Las hojas de esta especie, que se disponen en espiral, son glabras en ambas superficies y de 9-15 cm de largo y 3-6 cm de ancho. Las flores se encuentran en panículas axilares, son hermafroditas, de color rosa pálido y miden 1.8-2.5 mm de largo. Los frutos presentan en la base una cúpula roja, tienen forma

elipsoide, son verdes cuando inmaduros y negros al madurar, y miden 2.5-3.5 cm de largo y 2.3-2.6 cm de ancho. Los frutos producen una sola semilla [14].

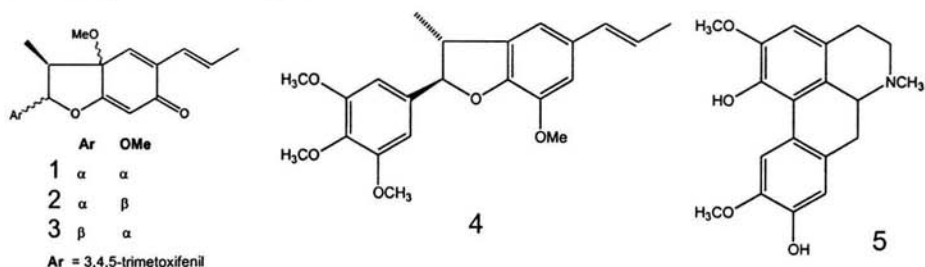
Las semillas de *N. ambigens* tiene un embrión muy pequeño, un endospermo suave, fragante, de color rosa, y están cubiertas por una testa papirácea café pálido y que se desprende fácilmente, con un peso húmedo y seco promedio de 3.8 y 2 g (n=100), respectivamente. La longitud de la semilla presenta una variación notable, con un ámbito de 1.1 – 2.8 cm. Las semillas de *N. ambigens* están sujetas a una considerable depredación por parte de dos invertebrados: el curculiónido *Heilipus albomaculatus* y el escolítido *Pagiocerus frontalis* [15].

1.1.3. Antecedentes químicos del género *Nectandra*

No existen antecedentes publicados sobre los constituyentes químicos de *Nectandra ambigens*. Sin embargo, se han aislado metabolitos secundarios de otras especies de *Nectandra*. A continuación se describen algunos de ellos.

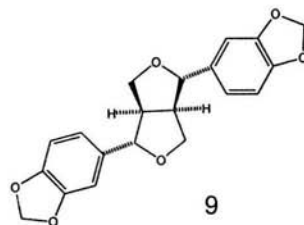
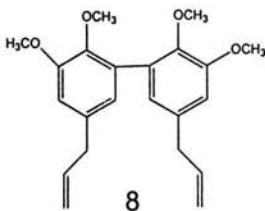
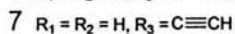
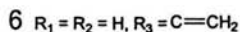
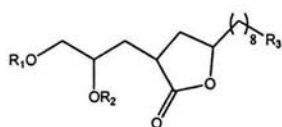
El análisis del tronco de *N. miranda* [16] permitió el aislamiento de neolignan, tales como (2*S*, 3*S*, 3 α *S*)- y (2*S*, 3*S*, 3 α *R*)-5-alil-3 α -metoxi-2-(3', 4', 5'-trimetoxifenil)-3-metil-2, 3, 3 α , 6-tetrahidro-6-oxobenzofurano denominados respectivamente mirandina-A (1) y mirandina-B (2). Además, se informa la presencia de 2-epi-mirandina-A (3) y licarina C (4).

El estudio químico de hojas y troncos de *N. pichurim* [17] permitió el aislamiento del alcaloide (+)-isoboldina (5).

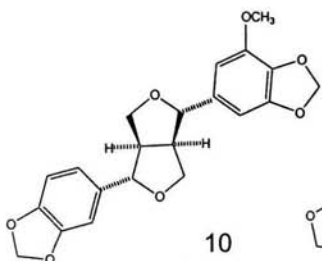


Otra de las especies estudiadas es *N. rubra* [18] y del análisis del tronco se aislaron un alqueno y un alquino, la rubrenólida (6) y rubrinólida (7), respectivamente.

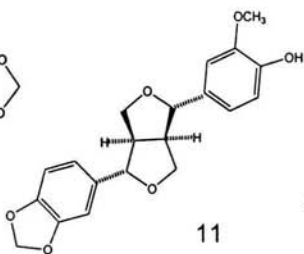
Estudios del tronco de *N. polita* [19], la cual se distribuye en la región de Los Andes, mostraron la presencia de sitosterol, *O*-metileugenol, eugenol, dehidrodieugenol, *O*-metildehidrodieugenol y el di-*O*-metildehidrodieugenol (8).



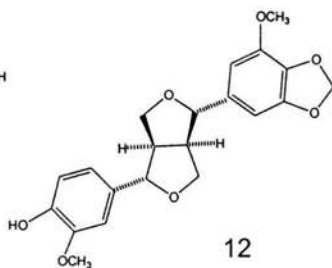
En una muestra de corteza y tronco de *N. turbacensis* [20] se encontraron cuatro furofuranos lignanos y son la (+)-sesamina (9), (+)-demetoxiexcelsina (10), (+)-piperitol (11), (+)-metoxipiperitol (12), y 13.



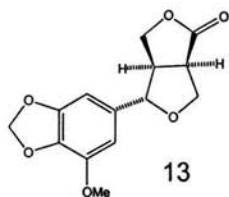
10



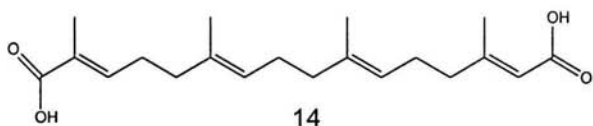
11



12



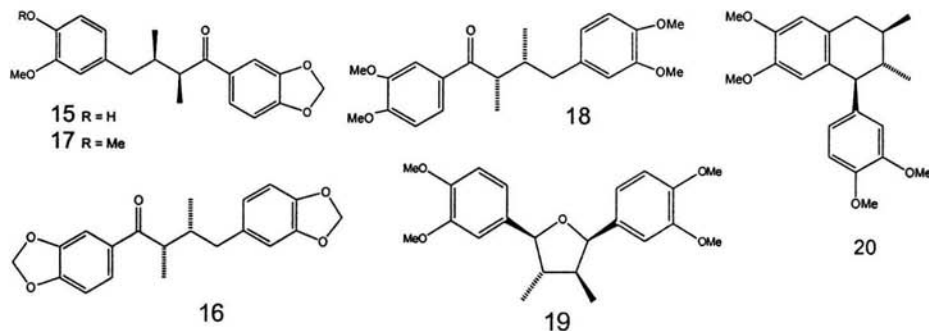
13



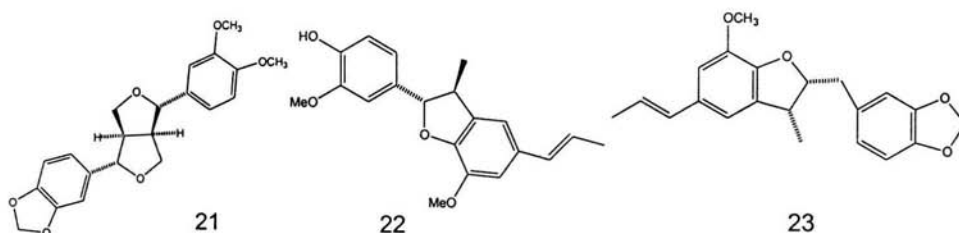
14

Del extracto clorofórmico de *N. puberula* [21] se aisló el ácido 1,6-geranylgeranodioico (14), (8*S*,8'*R*)-4'-hidroxi-3'-metoxi-3,4-metilendioxi-7-oxo-8,8'-neolignano, (+)-saurinona (15), (8*S*,8'*R*)-3,4,3',4'-dimetilendioxi-7-oxo-8,8'-neolignano (16), (8*S*,8'*R*)-3',4'-dimetoxi-3,4-metilendioxi-7-oxo-8,8'-neolignano (17). También se reporta el (7*R*,8*S*,8'*R*)-7-hidroxi-3,4,3',4'-tetrametoxi-8,8'-neolignano (18) con la configuración absoluta corregida, ya que se había descrito en la literatura con

una configuración 8'S. También se reporta sitosterol, sitostenona, veraguensina (19) y (-)-galbulina (20).

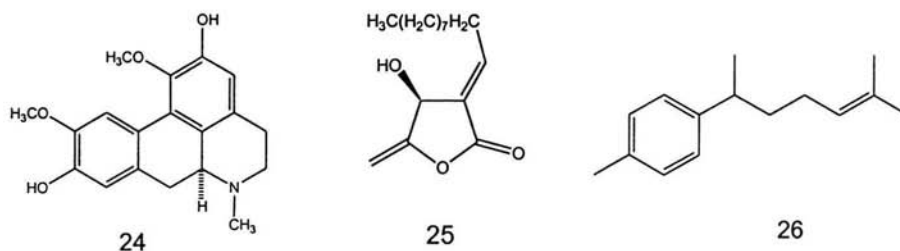


Los extractos etanólicos de los cálices del fruto de *N. amazonum* [22] contienen los lignanos furofuranos, sesamina (9) y *O*-metilpiperinol (21); mientras que el fruto de *N. glabrescens* contiene neolignanos como la licarina-A (22) y licarina-E (23).



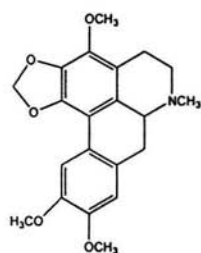
Adicionalmente a la isoboldina (5), se han aislado otro tipo de alcaloides del *Nectandra* spp. Así tenemos que del extracto etanólico de la corteza de *N. ramonensis* [23] se obtuvo el alcaloide aporfínico (+)-boldina (24).

Otra de las especies estudiadas es *N. gardneri* [24]; del extracto etanólico de los frutos, el cual mostró actividad biológica para *Artemia salina*, se aisló la lactona isolancifólida (25) como principio bioactivo.

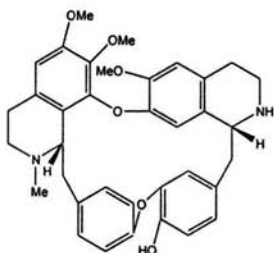


El estudio de los aceites esenciales de *N. elaiophora* obtenidos del tronco [25], permitió establecer que su composición es: 35% α -pineno, 20% de D- β -pineno, 2% de *d,l*-linalol, 12% de *d*- y *d,l*- α -terpinol, 2% de geraniol, trazas de D-carvona, y de 2 a 4% de derivados sesquiterpénicos. También se aisló por primera vez el D- β -curcumeno (**26**) con un rendimiento del 15%.

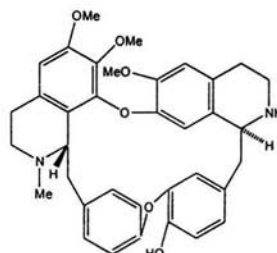
Otro alcaloide aislado fue la Ocoteína (**27**), obtenido a partir, de la corteza del árbol de *N. saligna* (laurel negro) [26].



27

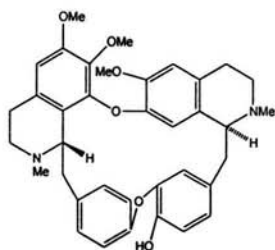


28

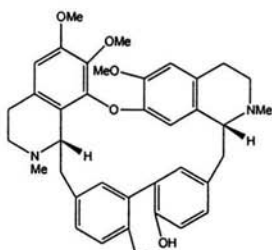


29

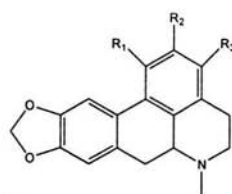
Se han llevado a cabo varios estudios en *Ocotea rodioei* (sinónimo de *Nectandra rodioei*) [27]. De esta especie se aislaron de la corteza varios alcaloides, tales como ocoteamina (**28**), demerarina (**29**), oxiacantina (**30**), rodiasina (**31**), y otros [28, 29].



30



31



32 $R_1 = OH, R_2 = R_3 = OMe, R_4 = H$

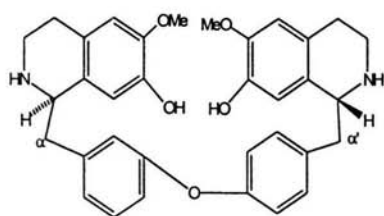
33 $R_1 = OH, R_2 = OMe, R_3 = R_4 = H$

34 $R_1 = R_2 = R_3 = OMe, R_4 = H$

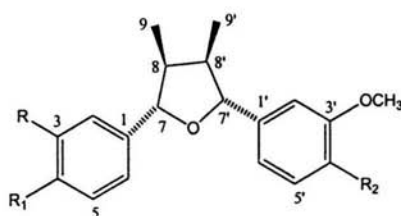
35 $R_1 = R_2 = R_3 = OMe, R_4 = Me$

Cuando se estudió el extracto etanólico de la corteza de *N. sinuata* [30], se aisló el alcaloide 3-metoxi-nordomesticina (**32**). Además, otros alcaloides también fueron reportados: nordomesticina (**33**), norlirioferina (**34**) y 1,2,3,-trimetoxi-9,10-metilendioxidihidroaporfina (**35**).

Un nuevo alcaloide bisbencilisoquinolínico con actividad antiplasmodial, denominado costaricina (**36**), fue aislado del extracto metanólico de la corteza de *N. salicifolia* [31]. Adicionalmente, se aislaron quince alcaloides conocidos de muestras de ramas, hojas y de la raíz de este árbol.

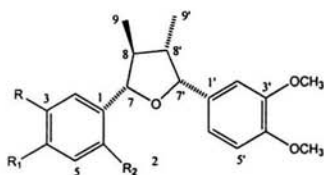


36



37 R = R₁ = OCH₂O, R₂ = OCH₃ **39** R = OCH₃, R₁ = R₂ = OH
38 R = R₁ = R₂ = OCH₃ **43** R = OCH₃, R₁ = OH, R₂ = OCH₃

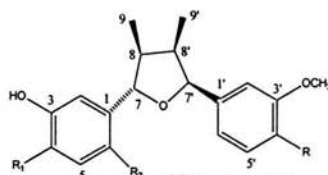
Otra especie estudiada es *N. megapotamica* [32]. La investigación fitoquímica del extracto etanólico de las hojas dio como resultado el aislamiento de once lignanos tetrahidrofuránicos. Por lo que se refiere a la actividad tripanocida *in vitro*, machilina G (**37**) resultó ser activa. Los compuestos galgravina (**38**), nectandrina B (**39**), caloptina (**40**) aristolignina (**41**) y ganschisandrina (**42**) mostraron actividad moderada, mientras que la nectandrina A (**43**) fue inactiva. Los compuestos nuevos que se reportan son nectandrina C (**44**), nectandrina D (**45**) y nectandrina E (**46**).



40 R = R₁ = OCH₂O, R₂ = H

41 R = OCH₃, R₁ = OH, R₂ = H

44 R = R₁ = OCH₃, R₂ = OH



42 R = R₁ = OCH₃

45 R = OCH₃, R₁ = OH

46 R = OH, R₁ = CH₃

Adicionalmente, existen reportes de la evaluación de la actividad biológica de los extractos de algunas especies. El extracto acuoso de *N. salicifolia* resultó ser activo como relajante del músculo liso vascular [33]. El extracto acuoso-etanólico de la corteza y tronco de *N. cuspidata*, presentó actividad antimalárica [34].

Una caracterización química del follaje de *N. ambigens* establece que tiene alto contenido de nitrógeno y los metabolitos secundarios son terpenoides, flavonoides y

taninos [35]. Finalmente, cabe mencionar que se han realizados estudios ecológicos sobre este árbol, en los cuales se establece que las hojas y las plántulas son afectadas por los hongos de las especies *Colletotrichum* sp. y *Phomopsis* sp. [36].

1.1.4. Estudio químico de las semillas de *Persea americana*

El interés por conocer la relación entre plantas domesticadas y silvestres, ha sido objeto de varias investigaciones [37,38]. En el presente estudio se pretende comparar la composición química de las semillas de *N. ambigens* (considerada como planta silvestre) con la de las semillas de *Persea americana* (aguacate), la cual es una planta domesticada de la misma familia y de gran interés comercial [39]. Por lo tanto, a continuación se reseña sucintamente los metabolitos aislados de las semillas de *P. americana*.

Uno de los primeros reportes, donde se analizó el extracto hexánico de la semilla seca *P. americana*, indica que se obtuvo una cera amarilla, la cual dio positiva para esteroides y ácidos orgánicos. Esta, además, inhibió el crecimiento de *Micrococcus pyogenes* y *Sarcina lutea*. El extracto etanólico también inhibió a *S. lutea* y se aislaron carbohidratos y taninos. La parte insoluble en agua, dio resultado positivo para pectinas y después de la hidrólisis, para alcaloides. Cabe mencionar que ratones blancos murieron después de 80-131 horas de haber ingerido semillas secas y de 40-336 horas después de ingerir semillas frescas [40].

Otro estudio posterior hace referencia a la actividad antibiótica de varios extractos (éter de petróleo, éter etílico, etanol, agua) de la semilla de *P. americana* contra *Sarcina lutea* y *Micrococcus pyogenes*, pero fueron inactivos frente a *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, y *Salmonella typhosa* [41].

Del extracto de éter de petróleo de la semilla inmadura de *P. americana* se aislaron compuestos alifáticos de cadena larga C₁₇ (4-ceto-2-hidroxi-1-acetato; 1,2-dihidroxi-4-acetoxi; 1,4-dihidroxi-2-acetoxi), cada uno con un enlace acetilénico terminal. Los dos últimos son considerados los principales responsables del sabor amargo del aguacate [42].

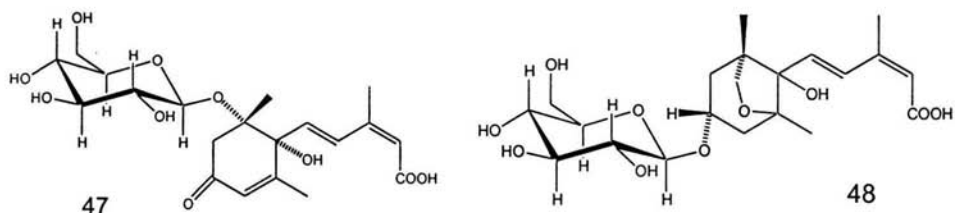
A través de la técnica de cromatografía en papel se demostró la presencia de catequina, *epi*-catequina y 3-leucoantocianidinas, que contribuyen al fenómeno de oscurecimiento del fruto del aguacate al cortarlo [43].

Una serie de compuestos fenólicos, como el dopa (3,4-dihidroxifenilalanina), la dopamina, ácido clorogénico, catecol y ácido cafeico se identificaron en las semillas. El material de la semilla también mostró actividad inhibidora de tripsina [44].

En un estudio sobre la composición de los ácidos grasos obtenido a partir de la semilla de *P. americana*, se determinó que está constituido por ácido 9-ceto-octadec-*cis*-12-enoico, ácido láurico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico y ácido linoleico [45].

El análisis por cromatografía de gases del aceite de la semilla reveló la presencia de 22 a 27 ácidos grasos. El ácido palmítico resultó ser el más abundante de los saturados (20.8%). De los insaturados, lo fue el ácido oleico (15.4%), y de los poliinsaturados el C18:2 y C18:3 con 34.39 y 5.81%, respectivamente [46].

La (+)-catequina y (-)-*epi*-catequina fueron los componentes con mayor actividad antioxidante identificados del extracto metanólico en la semilla de aguacate [47].



Finalmente, en otra investigación, las semillas de aguacate fueron desengrasadas con *n*-hexano y posteriormente extraídas con metanol. De este extracto, se aislaron dos derivados glucosilados del ácido abscísico, el β-D-glucósido del ácido (1'S,6'R)-8'-hidroxiabscísico (47) y al β-D-glucósido del ácido (1'R,3'R,5'R,8'S)-*epi*-dihidrofaseico (48). El compuesto 47 se considera como el intermediario clave en la conversión biosintética de las estructuras del ácido hidroxiaabscísico a los derivados del ácido faseico [48].

1.1.5. Descripción y propiedades de los ácidos grasos

A continuación se describen algunas propiedades de los ácidos grasos y sus derivados.

Los lípidos son definidos como sustancias derivadas de tejidos vivos que pueden ser extraídos o solubilizados en disolventes orgánicos. Las estructuras de los lípidos comprenden desde ácidos monocarboxílicos saturados de cadena larga hasta ácidos muy complejos de estructuras cíclicas con sustituciones oxigenadas en los sitios adyacentes al doble enlace carbono-carbono, los cuales se derivan de la oxidación bioquímica de ácidos grasos poliinsaturados [49].

Los ácidos grasos se encuentran en las células vivas principalmente como acilgliceroles, fosfatidilgliceroles, esfingolípidos, ceras y otros. Algunos datos relevantes se resumen en la tabla 1 [50].

Tabla 1. Relación natural de los ácidos grasos

Especies	Productos de hidrólisis alcalina	Funciones biológicas
Acilgliceroles (glicéridos)	Glicerol y sales de ácidos grasos	Reserva energética
Fosfatidilgliceroles (fosfoglicéridos, fosfátidos)	Ácido L-Glicerol-3-fosfórico y sales de ácidos grasos	Componentes de la membrana celular
Esfingolípidos	Esfingosina o un derivado relacionado, sales de ácidos grasos y otros componentes.	Componentes de la membrana celular
Ceras	Alcoholes esteroidales y sales de ácidos grasos	Recubrimiento para proteger la piel, pelaje, plumas, hojas, insectos

Los ácidos grasos de origen vegetal pueden contener una variedad de otros grupos funcionales, incluyendo enlaces acetilénicos, epoxi, hidroxilo o ceto y anillos de ciclopropano, y esta es una diferencia respecto a los de origen animal, que son

relativamente simples en su estructura. Los ácidos grasos de origen bacteriano usualmente consisten de ácidos monoenoicos y saturados, pero poseen número impar de átomos de carbonos y ramificaciones, entre las más comunes tenemos metilo, ciclopropenilo y ciclopropilo (ácido lactobacílico). Se han encontrado ácidos grasos de alto peso molecular en ciertas especies de bacterias [51].

Los ácidos grasos saturados más comunes son de cadena lineal y número par de carbonos, y contienen de 14 a 20 átomos de carbono, aunque en la naturaleza se han encontrado también con número impar. La tabla 2. contiene una lista de los ácidos grasos saturados más comunes [51].

Tabla 2. Ácidos saturados de fórmula general $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-COOH}$

Nombre químico	Nombre común	Abreviatura
Metanóico	Fórmico	1:0
Etanóico	Acético	2:0
Propanóico	Propiónico	3:0
Butanóico	Butírico	4:0
Pentanóico	Valérico	5:0
Hexanóico	Caproico	6:0
Heptanóico	Enántico	7:0
Octanóico	Caprílico	8:0
Nonanóico	Pelargónico	9:0
Decanóico	Cáprico	10:0
Dodecanóico	Laúrico	12:0
Tetradecanóico	Mirístico	14:0
Hexadecanóico	Palmitico	16:0
Heptadecanóico	Margárico	17:0
Octadecanóico	Esteárico	18:0
Eicosanóico	Araquídico	20:0
Docosanóico	Behénico	22:0
Tetracosanóico	Linocérico	24:0
Hexacosanóico	Cerótico	26:0
Octacosanóico	Montánico	28:0
Triacontanóico	Melísico	30:0
Dotriacontanóico	Lacerótico	32:0

Los ácidos grasos insaturados son de cadena lineal, generalmente con número par de átomos de carbono, que poseen entre 10 a 30 átomos de carbono y contienen un doble enlace, frecuentemente de configuración *cis*. Los ácidos grasos de una

determinada longitud pueden tener el doble enlace en una posición diferente, por lo tanto, se debe especificar la posición y configuración de la misma. En la tabla 3 se enlistan a los ácidos insaturados más importantes [51].

Tabla 3. Ácidos grasos insaturados relevantes.

Nombre químico	Nombre común	Abreviatura
<i>cis</i> -9-dodecenóico	lauroleico	12:1 (n-3)
<i>cis</i> -9-tetradecenóico	miristoléico	14: 1(n-5)
<i>trans</i> -3-hexadecenóico	-	16:1*
<i>cis</i> -9-Hexadecenóico	palmitoléico	16: 1(n-7)
<i>cis</i> -6-Octadecenóico	petroselinico	18: 1(n-12)
<i>cis</i> -9-Octadecenóico	oléico	18: 1(n-9)
<i>trans</i> -9-Octadecenóico	elaídico	18: 1*
<i>cis</i> -11-Octadecenóico	<i>cis</i> -vacénico	18:1(n-7)
<i>trans</i> -11-octadecenóico	<i>trans</i> -vacénico	18:1*
<i>cis</i> -9-eicosenóico	gadoléico	20:1(n-11)
<i>cis</i> -11-eiocosenóico	gondoico	20:1(n-9)
<i>cis</i> -13-docosenóico	erúxico	22:1(n-9)
<i>cis</i> -15-tetracosenóico	nervónico	24:1(n-9)

* La nomenclatura (n-x) solamente se usa para ácidos grasos que contienen doble enlace *cis*.

Los ácidos grasos poliinsaturados no conjugados de animales y plantas pueden ser subdivididos en varias familias simples de acuerdo a su derivación biosintética a partir de un ácido graso específico como precursor. Los ácidos en cada familia contienen dos o más dobles enlaces *cis*-, generalmente separados por un grupo metileno simple, y tienen la misma estructura terminal. La tabla 4 muestra una lista de los ácidos grasos poliinsaturados más comunes.

Los ácidos grasos con cadenas ramificadas son comunes en los lípidos bacterianos, pero pueden entrar en la cadena alimenticia y aparecer en los tejidos animales. Generalmente tienen un grupo metilo en el penúltimo (*iso*) o antepenúltimo (*anteiso*) átomo de carbono, aunque se han encontrado ácidos con el grupo metilo en cualquier parte de la cadena (el ácido D-(-)-10-metilesteárico o ácido tuberculoesteárico). Ácidos grasos con varias ramificaciones son los principales constituyentes de las glándulas secretoras de aceites de las aves. El ácido fitánico (ácido 3,7,11,15-tetrametil-hexadecanoico), un metabolito de fitol esta presente en cantidades de trazas en los lípidos del tejido adiposo de los animales. El ácido

micólico y ácidos relacionados se han encontrado en lípidos de ciertas bacterias [51].

Tabla 4. Ácidos grasos poliinsaturados, según familias

Familia	Nombre químico	Nombre común	Abreviatura
n-3	9,12,15-octadecatrienóico	α -linolénico	18:3(n-3)
	6,9,12,15-octadecatetraenóico	estearidónico	18:4(n-3)
	5,8,11,14,17-eicosapentaenóico	-	20:5(n-3)
	4,7,10,13,16,19-docosahexaenóico	-	22:6(n-3)
n-6	9,12-octadecadienóico	linoléico	18:2(n-6)
	6,9,12-octadecatruenóico	γ -Linolénico	18:3(n-6)
	5,8,11,14-eicosatetraenóico	araquidónico	20:4(n-6)
	7,10,13,16-docosatetraenóico	adrénico	22:4(n-6)
n-9	5,8,11-eicosatrienóico	-	20:3(n-9)

Los ácidos con cadenas ramificadas se han encontrado solamente en una especie de planta (*Antirrhinum majus*), pero a menudo se encuentran en pequeñas cantidades en grasas de animales rumiantes. Los ácidos grasos con ciclopropanos, como el ácido lactobacílico (11,12-metileneoctadecanoico), se encuentran en lípidos bacterianos [52].

Además de los ácidos ya mencionados, los lípidos de las plantas presentan una amplia variedad de ácidos grasos inusuales que no se encuentran en el reino animal. Entre los principales podemos mencionar ácido ricinolénico, ácido crepenínico, ácido estercúlico, ácido α -eleosteárico, (+)-ácido vernólico, ácido chaulmoógrico y el ácido laballénico [52].

1.1.6. Biosíntesis de ácidos grasos

Los ácidos grasos son biosintetizados primariamente a partir de unidades de acetil CoA y esta es la razón por la cual los ácidos grasos más comunes tienen número par de átomos de carbono [50].

La biosíntesis de ácidos grasos puede ser considerada una serie compleja de reacciones integradas. Las enzimas claves que tiene que ver en la síntesis *de novo* de los ácidos grasos son la acetil-CoA carboxilasa y la ácido graso sintasa.

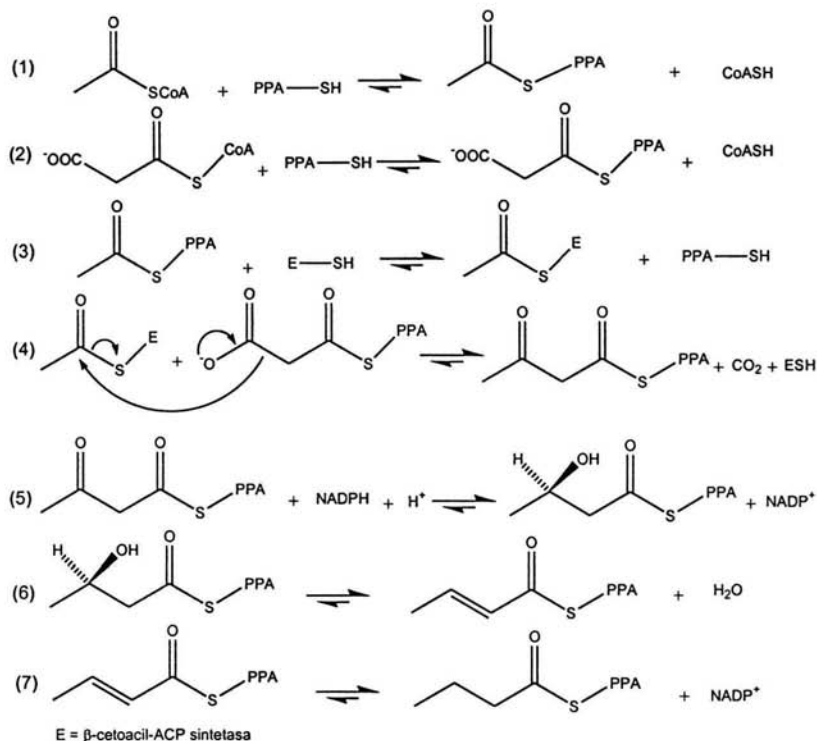


Figura 1. Ruta biosintética de los ácidos grasos.

El esquema de la biosíntesis se muestra en la figura 1 [50], y las diferentes reacciones enzimáticas se describen a continuación. Los grupos acetilo y malonilo, son transferidos de la función tiol de la coenzima A al grupo tiol de la 4'-fosfopanteteina (paso 1 y 2), la misma que es el grupo prostético de una proteína portadora de acilo (PPA), o su equivalente funcional. El grupo acetilo es entonces transferido de este $\text{CH}_3\text{CO-S-PPA}$ a un grupo tiol en la enzima β-cetoacil-PPA sintetasa, y acetoacil-S-PPA formada en una reacción en la cual el malonil-S-PPA se descarboxila (paso 3 y 4), que previamente se incorporó del bicarbonato, y con

ataque del carbanión resultante en el grupo acetilo para desplazar al tiol de la enzima. La descarboxilación en el paso 4 conduce a la síntesis del acetoacetyl-S-PPA. Seguido del paso de la reducción (en el cual forma específicamente 3-(*R*)-hidroxibutiril-S-PPA), deshidratación, y posterior reducción, se forma el butiril-S-PPA; entonces puede tomar el lugar de la acetyl-S-PPA en el paso 3 para la elongación de la cadena.

La repetición de este proceso conduce a la formación de los ácidos palmítico y esteárico en plantas y animales. La elongación para dar cadenas de ácidos más largos, puede, sin embargo, ser efectuada por un sistema mitocondrial que utiliza como la fuente de unidades C₂, la acetyl CoA en un proceso muy similar al reverso de la β -oxidación; o mediante un sistema microsomal, el cual usa malonil CoA.

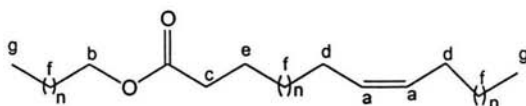
1.2. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La discusión referente a la determinación de la estructura molecular de los compuestos aislados, se realizará de acuerdo al orden de polaridad con que fueron obtenidos.

1.2.1. Extracto hexánico de la semilla de *N. ambigens*

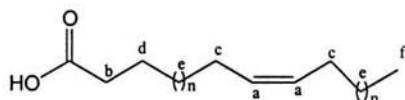
Del fraccionamiento del extracto hexánico en la fracción B (ver la parte experimental) se aisló una sustancia aceitosa. Su espectro de RMN¹H (espectro 1) presenta las siguientes señales: en δ 0.88 se observan un triplete amplio asignado a grupos metilo, que de acuerdo al valor de la integral se podría asignar para dos metilos (H_g en **49**) En δ 1.25 se observa un singulete ancho intenso correspondiente a hidrógenos de metilenos (H_f en **49**), en δ 1.61 una señal de metilenos β a carbonilo como un multiplete ($W_{1/2} = 16$ Hz); en δ 2.01 se observa una señal múltiple ($W_{1/2} = 12$ Hz), que se asigna a hidrógenos alílicos; en δ 2.28 aparece un triplete característico de protones de metilenos geminales a un carbonilo [53], entre δ 4.00 y 4.20 se observan señales superpuestas que corresponden a hidrógenos metilénicos unidos a un oxígeno, presumiblemente al oxígeno etéreo de un éster. La presencia de las señales superpuestas sugiere que existe una mezcla de ésteres alifáticos. Finalmente, en δ 5.34 se observa un multiplete característico de hidrógenos vinílicos de doble enlace *cis*, lo que indica la existencia de este grupo funcional en alguna de las cadenas de los ésteres.

Puesto que se trata de una mezcla, la longitud de la cadena alifática no puede ser deducida por la medición de la integral del área bajo la curva de los metilenos alifáticos (δ 1.25). De acuerdo con lo anterior, se deduce la estructura promedio para un éster de un ácido graso, donde la insaturación puede ubicarse del lado del ácido o del alcohol. Para fines ilustrativos se muestra la estructura **49**.



Mezcla de ésteres de un ácido graso insaturado (49)

De la fracción D se aisló un aceite en cuyo espectro de RMN¹H (espectro 2) se observan en δ 5.34 señales correspondientes a protones vinílicos (H_a en 50), la forma de la señal es múltiple y puede asignarse a un dddd ($J = 11.4, 5.9, 3.5, 2.3$ Hz) de los protones de un doble enlace *cis* disustituido; en δ 2.34 se observa un triplete correspondiente a los hidrógenos de un metileno α a carbonilo (H_b en 50). En δ 2.01 se observa un triplete dobleteado que corresponde a hidrógenos alílicos (H_d en 50); en δ 1.63 una señal de los hidrógenos metilénicos β a un grupo carbonilo; en δ 1.25 y δ 1.31 se observan dos señales simples anchas que corresponden a los metilenos de una cadena alifática. Finalmente, en δ 0.88 se encuentra una señal triplete ($J = 6.5$ Hz) y que corresponde a un metilo terminal de una cadena alifática (H_f en 50). Considerando los datos anteriores se deduce la estructura de un ácido graso insaturado (50), los mismos que concuerdan con los informados en la literatura [54]. De acuerdo con los valores de la integral para cada señal, puede concluirse que se trata de una mezcla de ácidos grasos saturados e insaturados.



Ácido graso insaturado (50)

De la fracción E se aisló una sustancia cerosa que en su espectro IR (espectro 3) muestra bandas de absorción de doble ligadura en 3004 y 720 cm^{-1} , de carbonilo de un éster en 1710 cm^{-1} . Este compuesto presenta una cadena alifática larga, ya que se observan bandas intensas en $2918, 2851$ y 1467 cm^{-1} que son características para metilenos [55].

En el espectro de RMN¹H (espectro 4) se observa un multiplete centrado en δ 5.34; esta señal se asigna para protones vinílicos del ácido graso que esterifica al glicerol,

y en δ 5.26 a la parte H_x del sistema A_2B_2X que forman los hidrógenos del glicerol (Fig. 2). Los hidrógenos de los metilenos del glicerol no son equivalentes y pueden distinguirse cada uno de ellos: así, en δ 4.30 aparece un dd ($J = 4.4, 12$ Hz) que se asigna a los hidrógenos H_a , mientras que en δ 4.14 para los hidrógenos H_b (dd, $J = 5.9, 12$ Hz). La constante de acoplamiento de 12.0 Hz corresponde al acoplamiento *gem*, mientras que las constantes $J = 4.4$ y 5.9 son debidas a su acoplamiento vecinal con el hidrógeno H_x .

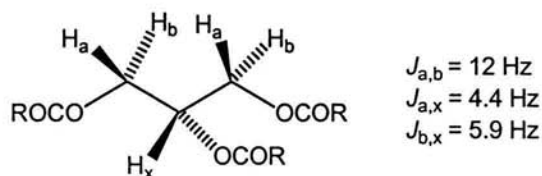


Figura 2. Fórmula parcial de un triacilglicérido

A campo alto se observan las señales para la cadena hidrocarbonada de los ácidos grasos que esterifican al glicerol: en δ 0.88 se observan señales para metilos, en δ 1.25 y 1.30 para metilenos, en δ 1.62 hidrógenos β al grupo carbonilo, en δ 2.01 hidrógenos α a los protones vinílicos y en δ 2.34 y 2.31 dos señales triplete características de hidrógenos α al carbonilo.

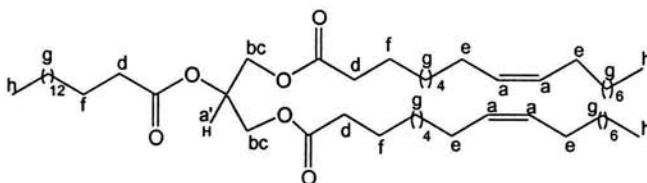
El espectro de masas (espectro 5) registra un grupo de señales cercanas a m/z 604 que probablemente correspondan a fragmentos individuales, producto de la fragmentación de la molécula original, ya que se espera $M^+ > 800$. Así mismo, se observan fragmentaciones secuenciales con pérdidas de 14 uma, lo cual indica la naturaleza hidrocarbonada de los ácidos grasos [56].

Estas evidencias no permiten establecer la naturaleza de las cadenas de ácido graso que forman parte del glicérido. Por lo tanto, para conocer los respectivos ácidos, se procedió a realizar una saponificación del triacilglicérido. Al producto hidrolizado después de su separación se le realizó un análisis de cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas (GC-MS). Los resultados muestran dos picos con tiempos de retención de 21.9 min (espectro 6) y 24.0 min (espectro 7),

por lo que se deduce que uno de los ácidos se repite en la estructura del triacilglicérido.

En el espectro de masas de uno de los productos de hidrólisis (espectro 6) se observan las fragmentaciones típicas para un ácido carboxílico alifático; se observa el ión molecular $[M^+]$ en m/z 256, correspondiente a una fórmula $C_{16}H_{32}O_2$. Se observan fragmentos característicos como m/z 239 $[M-17]^+$ debido a la pérdida de hidroxilo, el pico base que corresponde al fragmento $^+CH_2CH_2COOH$ (m/z 73), y un reordenamiento del tipo McLafferty que conduce al fragmento m/z 60, por la formación de ácido acético. Además, se observan las series características de C_nH_{2n+1} como es el caso de los valores m/z 29, 43, 57, 71, 85 y de C_nH_{2n-1} , con valores m/z de 27, 41, 55. Finalmente, las series $C_nH_{2n-1}O_2$ (m/z 59, 73, 87, 101, 115) y $C_nH_{2n}O_2$ (m/z 60, 74, 88, 102, 116) [55]. De acuerdo con esta información se deduce que uno de los ácidos que incorpora el glicérido es el ácido palmítico.

El espectro de masas del otro producto derivado de la hidrólisis (espectro 7) presenta un ion molecular de m/z 282 para dar una fórmula $C_{18}H_{34}O_2$, el fragmento de m/z 264 corresponde a la pérdida de H_2O , el pico base es m/z 55 debido al fragmento $C_4H_7^+$. Para este caso es más notoria la presencia de fragmentos de la serie C_nH_{2n-1} (27, 41, 55, 69, 83, 97, 111, 125, 139). Los demás fragmentos concuerdan con los del espectro 6, y por lo tanto se deduce la presencia de ácido oleico. Finalmente del análisis del espectro 4 se puede concluir que la presencia de la señal δ 5.26 para H_x (Fig. 2), permite establecer que se trata del triacilglicérido. Estas evidencias permiten establecer la estructura del triacilglicérido B (51).



Triacilglicérido B (51)

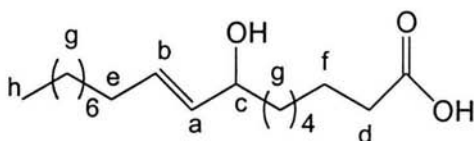
De la fracción G se obtiene un sólido blanco amorfo, y su espectro IR presenta bandas de absorción a 3612 cm^{-1} (O-H, estiramiento) atribuible a la presencia de un

hidroxilo en un alcohol y en 3518 cm^{-1} (COO-H, estiramiento) a un hidroxilo en un ácido.

En su espectro de RMN^1H (espectro 8), muestra dos grupos de señales complejas de hidrógenos vinílicos. Un grupo de ocho señales (dddd) se encuentra en δ 5.61 ($J = 15.3, 6.6, 6.6, 1.4\text{ Hz}$) y el segundo grupo, de cuatro señales, resuena en δ 5.43 (dddd, $J = 15.3, 7.2, 0.9, 0.9\text{ Hz}$). La presencia de señales adicionales superpuestas proporciona evidencia que se trata de una mezcla de sustancias estructuralmente similares. Sin embargo, las señales descritas pueden atribuirse a los hidrógenos de un doble enlace *trans*- flanqueado por un metileno y un metino.

La señal en δ 4.05 puede atribuirse a los hidrógenos de un metileno unido a oxígeno y la señal en δ 3.58 puede asignarse por su desplazamiento químico a un hidrógeno de metino alílico geminal a un hidroxilo.

En δ 2.34 y δ 1.63 se observa la multiplicidad característica de los metilenos α y β al carbonilo, en δ 2.01 se observan los hidrógenos alílicos. Finalmente, la señal en δ 1.31 se asigna a los hidrógenos β a un oxígeno etéreo de un éster, en δ 1.27 se observa un singulete que corresponde a los metilenos de la cadena alifática y en δ 0.88 un triplete para el grupo metilo terminal.

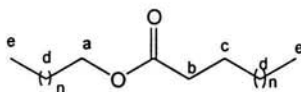


Ácido 8-hidroxi-9*E*-octadecenóico (52)

La presencia de un hidroxilo en la cercanía de la olefina tiende a separar los desplazamientos químicos de los protones vinílicos. El desplazamiento del protón hidroxílico no es constante, su intensidad y la posición puede variar por la formación de enlace de hidrógeno, pero en cambio el desplazamiento químico del protón del metino geminal al hidroxilo es característico (δ 3.58) [ref. 51 pp. 82]. Por estas evidencias, y por el análisis de los valores de la integral, puede concluirse que esta muestra está constituida por una mezcla de dos o más componentes, uno de estos puede tratarse del ácido 8-hidroxi-11*E*-octadecenóico.(52).

1.2.2. Extracto CH₂Cl₂-MeOH (1:1) de la semilla de *N. ambigens*

El proceso de separación del extracto CH₂Cl₂-MeOH (1:1) permitió obtener los siguientes resultados. De la fracción B, se obtiene una mezcla de aceites y ceras. Al adicionar acetato de etilo se observa la formación de un sólido blanco que se separa mediante filtración. Su espectro de RMN¹H (espectro 9) presenta señales que evidencian la presencia de un éster, en δ 4.05 se manifiesta un triplete asignado a los hidrógenos de un metileno geminal a oxígeno, en δ 2.28 se observa un triplete correspondiente a los hidrógenos α a carbonilo y en δ 1.61 se observan los hidrógenos β a carbonilo. En δ 1.25 se observa una señal singulete amplia que corresponde a los metilenos y en δ 0.88 se encuentran señales asignadas a hidrógenos de metilos. Considerando los datos anteriores se puede determinar la estructura promedio de este compuesto como ester de un ácido graso saturado (53), sin especificar la longitud exacta de cada una de las cadenas alifáticas.

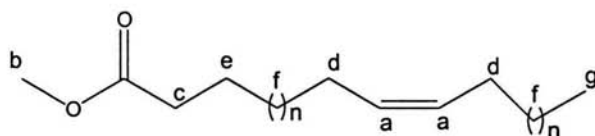


Ester de ácido graso saturado (53)

En esta misma fracción B se obtiene un producto aceitoso. El análisis de la información de sus datos espectroscópicos, permite concluir que se trata del compuesto 51. El análisis respectivo se hizo anteriormente.

Finalmente, en esta fracción B, el constituyente mayoritario fue una sustancia de consistencia aceitosa que en su espectro de RMN¹H (espectro 10) presenta las siguientes evidencias. En δ 5.34 se identifica una señal dddd para el protón vinílico, en δ 3.66 es observable una señal que se asigna para hidrógenos de un metilo unido directamente al oxígeno etéreo del un éster; en δ 2.30 y 2.28 son observable dos tripletes superpuestos, los mismos que son característicos de hidrógenos metilénicos α a un grupo carbonilo y en δ 1.62 la señal de un metileno β a carbonilo. En δ 2.02 se encuentra presente un multiplete que se asigna para los hidrógenos alílicos, en δ 1.25 el singulete para los metilenos de la cadena alifática y en δ 0.88

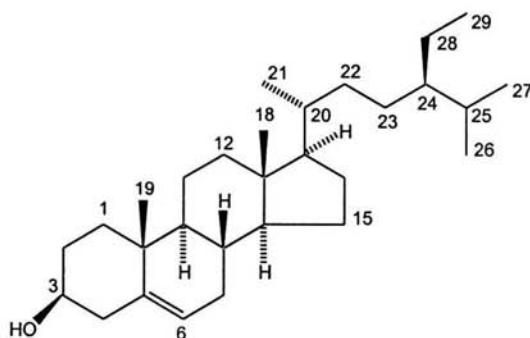
para el grupo metilo. Por estas evidencias, se deduce que esta muestra contiene una mezcla donde uno de los productos corresponde al ester metílico de un ácido graso insaturado (54).



Ester metílico de un ácido graso insaturado (54)

De la fracción C se aisló un sólido cristalino en forma de agujas de pf 135 °C. El espectro de RMN¹H (espectro 11) de este compuesto presenta señales en δ 0.68-1.01 de metilos asignables a un esteroide [57] esta suposición se debe a la señal doble localizada en δ 5.35 característica del hidrógeno vinílico H-6.

Además, se manifiesta una señal múltiple en δ 3.53, que corresponde al hidrógeno geminal a un grupo hidroxilo (H-3). Las señales anteriores muestran una notable similitud con las informadas en la literatura para el β -sitosterol (55) (Aldrich, 1993, 569a), y su identidad fue confirmada por medio de la comparación directa con una muestra auténtica.

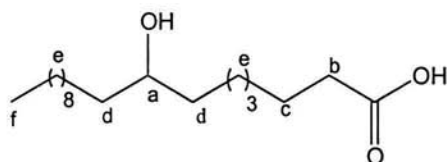


β -sitosterol (55)

En la fracción E se aisló un sólido blanco y su espectro de RMN¹H (espectro 12) presenta una señal a δ 3.58 que integra para un hidrógeno, que se asigna al hidrógeno de un metino, geminal a un hidroxilo, en δ 2.34 se encuentra presente un

triplete que integra para dos hidrógenos y se asigna al metileno α a un grupo carbonilo, en δ 1.63 aparece un multiplete correspondiente a los hidrógenos β al carbonilo y que integra para dos hidrógenos. En δ 1.28 es observable un singulete correspondiente a los metileno de la cadena alifática, la integración bajo la curva de esta señal indica la presencia de 26 hidrógenos por lo que la cadena alifática esta compuesta por 13 metileno, y a campo alto se tiene un triplete centrado en δ 0.88 y que integra para 3 hidrógenos y que corresponde a un metilo terminal de una cadena alifática.

Estas evidencias permiten concluir que se trata de un ácido graso saturado de 18 átomos de carbono, por lo tanto su estructura general será establecida como un derivado del ácido esteárico, por lo tanto se propone la estructura del ácido 8-hidroxiocetadecanóico (56).



Ácido 8-hidroxiocetadecanóico (56)

La falta de homogeneidad cromatográfica del resto de las fracciones impidió la separación de sus constituyentes.

1.3. PARTE EXPERIMENTAL

1.3.1. Material y Equipo

Para la realización de las cromatografías en columna se utilizó como fase estacionaria sílica gel Merck malla 70-230 y 60 GF. Los disolventes utilizados como fase móvil fueron hexano, acetato de etilo, acetona, y metanol, en diferentes proporciones. El análisis por cromatografía en capa fina se efectuó en cromatofolios AL TLC silicagel 60 F₂₅₄ marca Merck. Como reveladores se utilizaron una lámpara de rayos UV Spectroline, modelo ENF-240C (λ de 254 y 365 nm) y una solución de sulfato cérico amoniacal ((NH₄)₄Ce(SO₄)₄) al 1 % en ácido sulfúrico 2N. La cromatografía en capa fina preparativa se realizó en placas preparativas Merck de 2 mm de grosor y una superficie de 20 x 20 cm. Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no fueron corregidos. Las lecturas de rotación óptica fueron determinadas en un espectropolarímetro digital marca JASCO J720. Los espectros de espectroscopía de infrarrojo se obtuvieron en un equipo FT-IR Nicolet Magna 750. Los espectros de espectrometría de masas se obtuvieron en un espectrómetro marca Jeol, modelo JMS-AX505HA, utilizando la técnica de impacto electrónico con un potencial de ionización de 70 eV, y una corriente de ionización de 100 μ A y Jeol modelo JMX-SX102A para la técnica de ionización por bombardeo rápido de átomos (FAB). Los espectros de 1D y 2D de RMN ¹H y ¹³C se obtuvieron en espectrómetros Varian, modelo Unity 300 y Unity plus 500, a 300 y 500 MHz, respectivamente. Se utilizaron como disolventes CDCl₃ y piridina-d₅, en algunos casos se usó DMSO como codisolvente, siendo el estándar interno tetrametilsilano (TMS) para todos los casos. Los valores de desplazamiento químico de los núcleos observados están registrados en ppm. Se recurrió a experimentos bidimensionales de RMN como DEPT, HSQC y HMBC para realizar la asignación de las señales.

1.3.2. Preparación de extractos de las semillas de *Nectandra ambigens*

Las semillas de *N. ambigens* se recolectaron en Octubre de 2002, en la Estación Biológica "Los Tuxtlas" ubicada en el estado de Veracruz, México.

Las semillas secas (1260 g) fueron trituradas en un molino de mano y extraídas a temperatura ambiente por 48 h por maceración sucesiva con hexano, diclorometano:metanol (1:1) y metanol. El disolvente se eliminó a presión reducida en el rotavapor, obteniendo tres extractos, los rendimientos se describen a continuación.

Tabla 5. Rendimiento en la extracción de semilla

Especie	Semillas extraídas (g)	% Extracto hexánico	% Extracto CH ₂ Cl ₂ :CH ₃ OH 1:1	% Extracto metanólico
<i>Nectandra ambigens</i>	1260	3.17	4.92	3.02

Los residuos orgánicos obtenidos en la extracción fueron analizados mediante cromatografía en capa fina, lo cual permitió establecer que los extractos de diclorometano:metanol (1:1) y metanol, son de composición similar.

1.3.3. Extracto hexánico

El extracto hexánico (40 g) fue adsorbido en sílica gel para capa fina (1:1) y aplicado a una columna, empacada con la sílica de las mismas características, de 35 cm de largo y 9 cm de diámetro interno. La elución de la columna se realizó a presión reducida de acuerdo con la técnica informada en la literatura [58]. Se eluyeron fracciones de 300 ml empleando un gradiente de polaridad creciente de hexano-acetato de etilo (Tabla 6).

Estas fracciones, de acuerdo con su similitud cromatográfica, se reunieron en nueve fracciones primarias (A-I), como se indica en la tabla 7, y el rendimiento se calcula de acuerdo al peso de semilla seca utilizada.

Tabla 6. Elución de la columna principal del extracto hexánico de *N. ambigens*

Fracciones	Sistema Elución	Fracciones	Sistema Elución
1-29	Hexano 100%	143-153	Hex:AcOEt 85:15
30-50	Hex:AcOEt 99:1	154-161	Hex:AcOEt 80:20
51-72	Hex:AcOEt 98:2	162-169	Hex:AcOEt 75:25
73-96	Hex:AcOEt 97:3	170-177	Hex:AcOEt 70:30
97-110	Hex:AcOEt 96:4	178-186	Hex:AcOEt 60:40
111-123	Hex:AcOEt 95:5	187-197	Hex:AcOEt 50:50
124-131	Hex:AcOEt 97:3	197-210	AcOEt 100%
132-142	Hex:AcOEt 90:10		

Tabla 7. Reunión de las fracciones del extracto de hexano.

Fracciones	Reunión	Peso, (mg)	Rendimiento, %
1-8	A	407	0.032
9-38	B	1960	0.155
39-54	C	3317	0.263
55-72	D	3149	0.250
73-156	E	22441	1.782
157-184	F	3087	0.245
185-210	G	3138	0.249

De este fraccionamiento se obtuvieron 1.96 g de la fracción B y se determinó la presencia del ester **49**. Los datos se enlistan a continuación:

Pf. 69-72°C.

IR $\nu_{\text{máx.}}$ (CHCl₃) cm⁻¹: 3424, 2923, 2852, 1738, 1464, 1373, 1177, 1034, 723.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 5.34 (m, J = 2.3, 5.6, H_a), 4.12 (c, J = 7.1, H_b), 4.05 (t, J = 6.8, H_b), 2.28 (t, J = 7.9, H_c), 2.01 (d, J = 5.6, H_d), 1.61 (q, J = 7.0, H_e), 1.25, 1.30 (s, H_f), 0.88 (t, J = 6.2, H_g).

La fracción D estaba constituida por el ácido graso insaturado **50**. Sus datos espectroscópicos se enlistan a continuación.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 5.34 (dddd, J = 11.4, 5.9, 3.5, 2.3, H_a), 2.34 (t, J = 7.6, H_b), 2.01 (td, J = 5.6, 12.0, H_c), 1.63 (q, J = 7.0, H_d), 1.26 (s, H_e), 0.88 (t, J = 7.0, H_h)

La fracción E estaba constituida por triglicéridos (**51**) con las siguientes características.

Pf. 33-36 °C

IR $\nu_{\text{máx}}$. (CHCl₃) cm⁻¹: 3004, 2918, 2851, 1709, 1467, 1411, 1292, 938, 720.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 5.34 (dddd, J = 11.2, 5.6, 3.2, 2.3 H_a), 5.26 (m, H_a), 4.30 (dd, J = 4.4, 12, H_b), 4.14 (dd, J = 5.9, 12, H_c), 2.34 (t, J = 7.4, H_d), 2.31 (t, J = 7.6, H_d), 2.01 (d, J = 5.9, H_e), 1.62 (d, J = 7.0, H_f), 1.25 (s, H_g), 0.88 (t, J = 7.0, H_h).

EM, FAB⁺ *m/z* (int. rel.): 604 (28), 578 (29), 552 (8), 339 (12), 313 (7), 265 (10), 239 (10), 123 (10), 95 (40), 69 (64), 55 (100), 41 (85), 29 (30).

GC-MS, EI⁺, *m/z* (int. rel.): 256 [M⁺] (55), 239 (1), 213 (31), 185 (18), 171 (17), 157 (19), 129 (47), 97 (22), 83 (29), 73 (100), 60 (81), 43 (80), 41 (62), 29 (28), 18 (11).

GC-MS, EI⁺, *m/z* (int. rel.): 282 (6), 264 (26), 222 (5), 194 (4), 180 (5), 165 (6), 151 (7), 137 (9), 125 (14), 111 (24), 97 (46), 83 (63), 69 (75), 55 (100), 41 (65), 28 (14), 18 (12).

De la fracción G se obtienen 195 mg de sólido de estructura (**52**) con las siguientes características:

Pf. 67-68 °C

IR $\nu_{\text{máx}}$. (CHCl₃) cm⁻¹: 3612, 3518, 2930, 2857, 1710, 1464, 1289, 1131.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 5.61 (dddd, J = 15.3, 6.6, 6.6, 1.4 H_a), 5.44 (dddd, J = 15.3, 7.2, 0.9, 0.9, H_b), 4.05 (c, J = 6.6), 3.58 (m, H_c), 2.34 (t, J = 7.5, H_d), 2.01 (m, H_e), 1.63 (m, H_f), 1.27 (s, H_g), 0.88 (t, J = 7.2, H_h).

MS, EI⁺, *m/z* (int. rel.): 283 (4), 264 (6), 187 (22), 170 (18), 169 (100), 158 (15), 141 (14), 124 (9), 115 (9), 98 (25), 83 (20), 69 (29), 55 (27), 41 (17), 29 (8).

1.3.4. Extracto de diclorometano-metanol (1:1)

El extracto de diclorometano-metanol (62 g) fue adsorbido en sílica gel para capa fina (1:1) y aplicado a una columna, de 35 cm de largo y 9 cm de diámetro interno empacada con la misma sílica. La elución de la columna se realizó a presión reducida de acuerdo con la técnica informada en la literatura [58]. Se eluyeron fracciones de 500 ml empleando un gradiente de polaridad creciente de hexano-acetato de etilo (Tabla 8).

Estas fracciones de acuerdo con su similitud cromatográfica se reunieron en siete fracciones primarias (A-G) como se indica en la tabla 9

Tabla 8. Elución de la columna principal del extracto CH₂Cl₂:CH₃OH (1:1)

Fracciones	Sistema Elución	Fracciones	Sistema Elución
1-5	Hexano 100%	59-65	Hex:AcOEt 20:80
6-15	Hex:AcOEt 90:10	66-76	AcOEt 100%
16-20	Hex:AcOEt 80:20	77-82	Acetona 100%
21-31	Hex:AcOEt 70:30	83-92	Acetona-MeOH 90:10
32-38	Hex:AcOEt 60:40	93-97	Acetona-MeOH 70:30
39-47	Hex:AcOEt 50:50	98	Acetona-MeOH 50:50
48-53	Hex:AcOEt 40:60	99	Metanol 100%
54-58	Hex:AcOEt 30:70		

Tabla 9. Reunión del fraccionamiento primario del extracto CH₂Cl₂:CH₃OH (1:1)

Fracciones	Reunión	Peso, mg	Rendimiento, %
1-9	A	160	0.013
10-16	B	6948	0.551
17-22	C	3579	0.284
23-31	D	3004	0.238
32-40	E	2588	0.205
41-63	F	5849	0.464
64-78	G	8460	0.671
79-99	H	11831	0.939

En la fracción B se obtienen 6.9 g de una mezcla de aceite y ceras. Al adicionar acetato de etilo se forma un sólido blanco que se separa mediante filtración a presión reducida. Se obtienen 35 mg del sólido **53**.

Pf. 65-66 °C.

IR $\nu_{\text{máx.}}$ (CHCl₃) cm⁻¹: 2927, 2854, 1722, 1465.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 4.05 (t, J = 6.8, H_a), 2.28 (t, J = 7.3, H_b), 1.61 (q, J = 7.0, H_c), 1.25 (s, H_d), 0.88 (t, J = 6.7, H_e)

Finalmente, a partir de la fracción B también se aisló un éster metílico del ácido graso insaturado (**54**). Los datos espectroscópicos son los siguientes:

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 5.34 (dddd, J = 11.4, 5.7, 3.6, 2.1, H_a), 3.66 (s, H_b), 2.30, 2.28 (t, J = 7.5 H_c), 2.02 (m, J = 5.7, 6.9, H_d), 1.62 (q, J = 7.2, H_e), 1.25 (s, H_f), 0.88 (t, J = 7.2, H_g).

En la fracción C se determinó la presencia de β -sitosterol (**55**, 35 mg) como constituyente mayoritario, al realizar una análisis en cromatografía en capa fina, se comparó con una muestra auténtica.

Pf. 135 °C

RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ): 5.35 (d, J = 5.4, H-6), 3.53 (m, H-3), 1.01 (s, H-19), 0.92 (d, J = 6.6, H-21), 0.87 (t, J = 7.0, H-29), 0.84 (d, J = 6.6, H-27), 0.81 (d, J = 6.6, H-26), 0.68 (s, H-18).

De la fracción E se aisló un sólido blanco (99 mg), que por los datos espectroscópicos se deduce la estructura de un ácido graso saturado hidroxilado (**56**). Los datos son los siguientes:

Pf. 79-80 °C

IR $\nu_{\text{máx.}}$ (CHCl₃) cm⁻¹: 3612, 3518, 2930, 2856, 1708, 1464, 1102.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 3.58 (m, H_a), 2.34 (t, J = 7.6, H_b), 1.63 (q, J = 7.0, H_c), 1.42 (s, H_d), 1.28 (s, H_e), 0.88 (t, J = 7.0, H_f).

MS, EI⁺, *m/z* (int. rel.): 300 [M⁺], 283 (2), 264 (3), 187 (11), 170 (12), 169 (100), 158 (8), 141 (7), 129 (7), 115 (8), 98 (15), 83 (14), 69 (20), 55 (18), 41 (8), 28 (4), 18 (16), 17 (3).

1.4. CONCLUSIONES

Del extracto hexánico de la semilla de *N. ambigens* se aislaron triglicéridos B, de los cuales la cadena correspondiente al ácido graso se trata de una de ácido palmítico y dos de ácido oleico. Se identificaron, además, una mezcla de ésteres de ácidos grasos insaturados, ácidos grasos insaturados en su estado libre y el ácido 8-hidroxi-9*E*-octadecenoico.

Del extracto CH₂Cl₂-metanol (1:1) aisló un éster de un ácido graso saturado, triacilglicéridos B de similar composición que del extracto hexánico, un éster metílico de un ácido graso insaturado, β-sistosterol y el ácido 8-hidroxi-octadecanoico.

La comparación entre las estructuras moleculares aisladas hasta este momento de las semillas de *N. ambigens* con las semillas de *P. americana* no sugiere similitudes notables. Sin embargo, es importante reconocer que el estudio de las semillas de *N. ambigens* aun no se ha concluido, ya que es necesario analizar el residuo derivado de la hidrólisis de los extractos polares.

CAPITULO II

Ramas de *Eysenhardtia subcoriacea*

2.1. ANTECEDENTES

2.1.1. Descripción de la familia Fabaceae

La familia Fabaceae (sinónimo: Leguminosae) esta conformada por 650 géneros y aproximadamente 18000 especies y es una de las más importantes desde el punto de vista económico [59,60]. En México, se ha registrado la presencia de 26 tribus, las cuales comprenden 132 géneros y 1710 especies [61].

Las especies de la familia Fabaceae biosintetizan una notoria diversidad de metabolitos secundarios, los cuales muestran una amplia variedad de propiedades biológicas, entre las cuales se pueden mencionar las siguientes: antiparasitaria [62-64], antioxidante [65,66], antiangiogénica [67], citotóxicas [68,69], antimicrobiana [70], mejoran la actividad antibiótica [71,72], bloqueador de los receptores opioides [73, 74], acaricida [75], antimicrobiana [76-78], actividad tripanocida [79], antiinflamatoria [80], antifúngica [81-83], antiviral [84], antimalárica [85,86], antihelmíntica [87,88], antiulcerosa-analgésica [89], y como antiretrovirales (VIH-SIDA) [90], entre otras.

Además, algunas leguminosas son alimentos funcionales, tienen propiedades terapéuticas y fomentan una buena salud. Son fuente de almidones, fibra dietética, proteínas y minerales. Algunas de ellas son usadas tradicionalmente como agentes hipoglucemiantes, son alimentos de bajo índice glucémico y son ricos en antioxidantes [91].

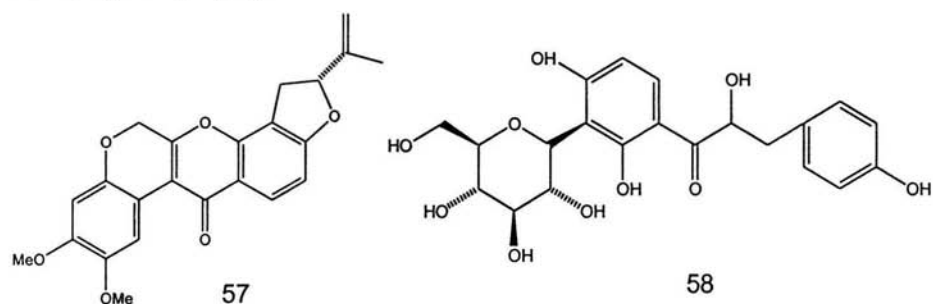
2.1.2. Descripción y Antecedentes Químicos del género *Eysenhardtia*

El género *Eysenhardtia* forma parte de la familia Fabaceae y fue registrada por Kunth en 1823 en el *Nova Genera et Species Plantarum*. Este género contiene aproximadamente 18 especies [92]; incluyendo *Eysenhardtia subcoriacea* Pennell [93].

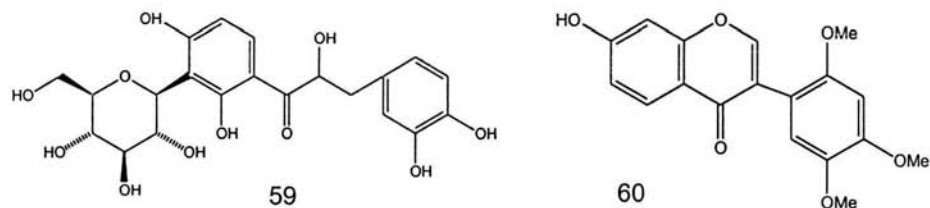
En la bibliografía consultada no se encontraron estudios químicos acerca de *E. subcoriacea*, sin embargo, existen estudios de otras especies del género. Dentro de

Eysenhardtia spp., las más estudiadas han sido *E. polystachya* y *E. texana*. Se han aislado varios compuestos de diferentes partes de la planta, como se describirá a continuación.

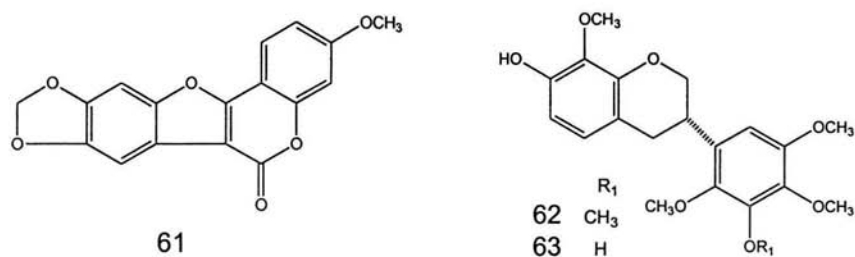
Un glucósido fluorescente, agustlegorretósida, la 3,4-dimetoxi-8,9-metilendioxipterocarpano, dehidrorotenona (57), y β -sitosterol se aislaron de la corteza y tallos de *E. polystachya* [94].



Las coatlina A (58) y B (59) son C-glucosil- α -hidroxidihidrochalconas, que se obtuvieron de *E. polystachya* [95].



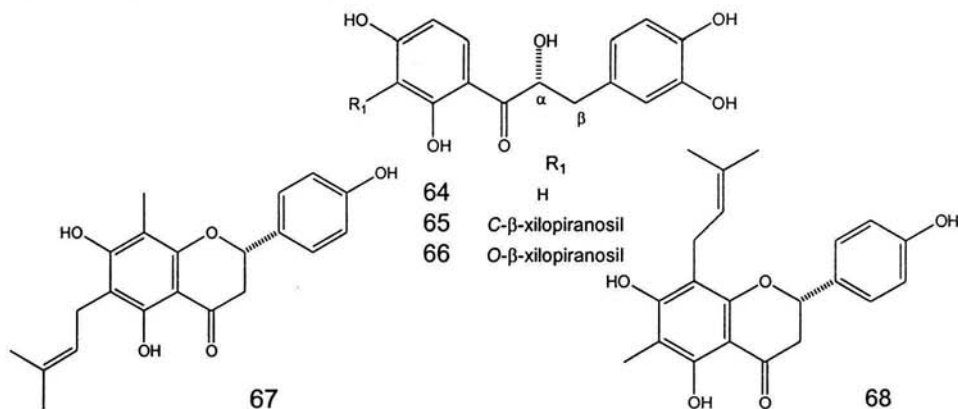
Posteriormente, 7-hidroxi-2',4',5'-trimetoxiisoflavona (60) y 9-metoxi-2,3-metilendioxicumestano (61) se aislaron del tronco y la corteza, respectivamente, de *E. polystachya* [96].



Los isoflavanos identificados como (3S)-7-hidroxi-2',3',4',5',8-pentametoxiisoflavano (**62**) y (3S)-3',7-dihidroxi-2',4',5',8-tetrametoxiisoflavano (**63**) fueron aislados de las ramas y tronco de *E. polystachya* [97], los cuales presentaron actividad citotóxica. Además, se aislaron estigmasterol, isoduartina, cuneatina, 7-hidroxi-2',4',5'-trimetoxiisoflavona y 3,4-dimetoxi-8,9-metilendioxi-pterocarpano.

Tres nuevas C- and O-glicosil- α -hidroxidihidrochalconas y una ya reportada se aislaron de la corteza y tronco de *E. polystachya* [98], los nuevos productos naturales son: (αR)- α ,3,4,2',4'-pentahidroxidihidrochalcona (**64**), (αR)-3'-C- β -D-xilopiranosil- α ,3,4,2',4'-pentahidroxidihidrochalcona (**65**), (αR)-3'-O- β -D-xilopiranosil- α ,3,4,2',4'-pentahidroxidihidrochalcona (**66**) y (αR)-3'-C- β -D-glucopiranosil- α ,3,4,2',4'-pentahidroxidihidrochalcona (coatlina B, **59**). De estas, el compuesto **66** presentó actividad insecticida.

De las partes aéreas de *E. texana* Kunth [99,100] se aislaron flavanonas con actividad antibacteriana y antifúngica. Las estructuras fueron la 4',5,7-trihidroxi-8-metil-6-[3-metil-(2-butenil)]-(2S)-flavanona (**67**) y la 4',5,7-trihidroxi-6-metil-8-[3-metil-(2-butenil)]-(2S)-flavanona (**68**).



Adicionalmente, existen reportes de que extractos de plantas, en la que se incluye a especies de *Eysenhardtia* [101,102], permiten inhibir o restaurar daños de la piel causados por la sequedad, ya que inhiben la disminución del contenido de aminoácidos en la capa de queratina.

2.1.3. Generalidades sobre la diabetes

La diabetes mellitus es un problema de salud pública cada vez mayor y grave en todo el mundo. Este padecimiento se incrementa rápidamente y consume vastas cantidades de recursos en todos los países. En el año 2000 se reportaron alrededor de 150 millones de pacientes y se espera que se incremente a 220 millones en el 2010 [103].

La diabetes mellitus pertenece a un grupo de enfermedades metabólicas caracterizado por la hiperglucemia que resulta de los defectos en la secreción o acción de la insulina, o de ambos. La hiperglucemia crónica de la diabetes esta asociada con daños a largo plazo, tales como disfunción y falla de varios órganos y tejidos, especialmente los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos [104]. Varios procesos patogénicos están involucrados en el desarrollo de la diabetes. Estos oscilan entre la destrucción auto-inmune de las células β del páncreas con consecuente deficiencia de insulina, hasta anormalidades que resultan en resistencia a la acción de la misma. La causa de las anormalidades en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas en la diabetes, es la deficiente acción de la insulina en los tejidos afectados [105].

2.1.3.1. Clasificación de la diabetes

Dentro de la clasificación de la diabetes mellitus y de otras categorías de la regulación de glucosa, se mencionan las siguientes: diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, diabetes mellitus gestacional y otros tipos específicos de diabetes [104,106].

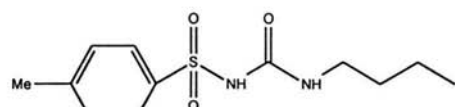
Diabetes tipo 1. Se conoce dos tipos principales, la diabetes mediada por procesos autoinmunes y la diabetes idiopática. La primera está causada por un proceso autoinmune que destruye las células beta del páncreas. La segunda es una enfermedad cuya causa es desconocida, se sabe que los pacientes generalmente sufren deficiencia de insulina y son propensos a la cetoacidosis, pero no existe evidencia de autoinmunidad. La diabetes tipo I constituye entre el 5-10% de los casos totales de la enfermedad y se denomina también diabetes mellitus insulino dependiente (DMID).

Diabetes tipo 2. Puede presentarse por resistencia a la insulina, acompañada de deficiencia relativa en su producción pancreática. Existen probablemente varias causas diferentes de este tipo de diabetes, aunque la etiología específica todavía es desconocida, pero, la destrucción autoinmune de las células beta no ocurre. Constituye entre el 90-95% de los casos totales de la enfermedad, y se la conoce también como diabetes mellitus no insulino dependiente (DMNID).

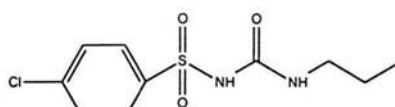
2.1.3.2. Tratamientos actuales para la Diabetes

El tratamiento más común para la diabetes del tipo I implica el suministro de dosis diarias de insulina. Para el tratamiento de la diabetes II las primeras líneas de tratamiento son la dieta y el ejercicio. Dietas bajas en calorías inducen la pérdida de peso y se logra la disminución de la glucosa en plasma, y en algunos casos normaliza los niveles de azúcar en la sangre. La dieta y el ejercicio han demostrado ser eficaces, pero no son ideales. Por lo tanto, es necesaria la administración de agentes hipoglucémicos, como son las sulfonilureas, biguanidinas, tiazolidinedionas, e inhibidores de la α -glucosidasa.

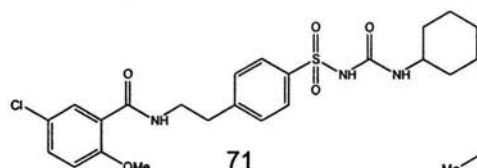
Las sulfonilureas fueron los primeros medicamentos utilizados para el tratamiento de la diabetes; actúan en el páncreas, estimulando la liberación de insulina por las



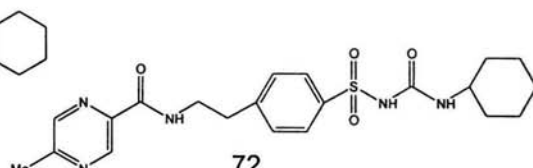
69



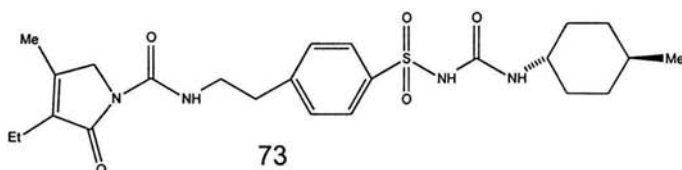
70



71



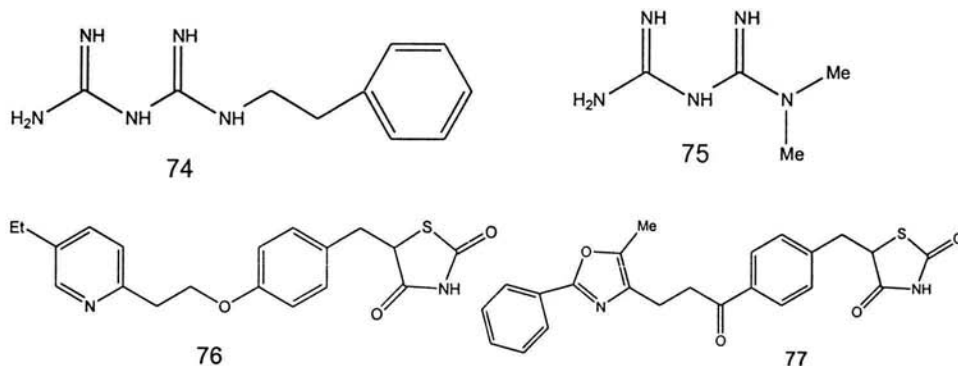
72



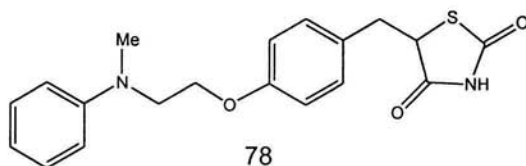
73

células beta y extrahepáticos aumentando los receptores y mejorando el transporte de glucosa mediado por esta hormona. Los fármacos más importantes de este tipo son la tolbutamida (69), la cloropropamida (70), la glibenclamida (71), la glipizida (72), y la glimepirida (73). Uno de los efectos secundarios es que esta asociada a la ganancia de peso, pero el efecto adverso más común es causar hipoglucemias [107].

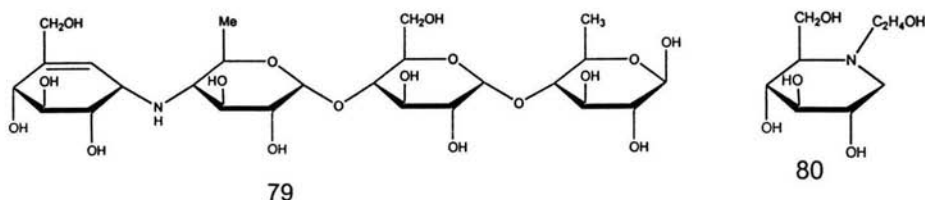
Las biguanidas, que incluyen la fenformina (74) y la metformina (75), fueron introducidos en 1957 como drogas antidiabéticas de tipo oral [108]. La fenformina fue retirada de muchos países debido a su efecto lateral de la acidosis láctica. La metformina es ampliamente usada para la terapia de la diabetes tipo II; disminuye los niveles de glucosa de la sangre sin causar una hipoglucemia repentina o estimular la secreción de insulina.



Las tiazolidinedionas (TZDs) son compuestos anti-hiperglicémicos y poseen efectos antilipidémicos. Las TZDs reducen la resistencia a la insulina, incrementan la disponibilidad de glucosa a ser estimulada por la insulina y mejora el control glicémico. Entre estos podemos mencionar la pioglitazona (76), darglitazona (77), y rosiglitazona (78) [109].



Los inhibidores α -glucosidasa (AGIs) son una clase de fármacos no-sistémicos que no apuntan a defectos pato-fisiológicos específicos en la diabetes tipo II. La enzima está localizada en la frontera de las vellosidades del intestino pequeño y requerida para el paso final en la descomposición de los carbohidratos, tales como almidones, dextrinas, y maltosa a monosacáridos absorbibles. Los inhibidores más utilizados son la acarbosa (**79**) [110] y miglitol (**80**) [111].



2.1.3.3. Productos naturales utilizados como antidiabéticos

Durante mucho tiempo los remedios naturales, y sobre todo las plantas medicinales, han sido el principal recurso de que dispone la mayor parte de la población. Un estudio etnomédico informa de la utilización de aproximadamente 800 especies en el tratamiento de la diabetes a nivel mundial, de las cuales 22% pertenecen a la familia *Fabaceae* [112]. Sin embargo, muy pocas de ellas han sido estudiadas. En la tabla 10, se enlistan algunas especies vegetales de la familia *Fabaceae* empleadas en la medicina tradicional en el tratamiento de la diabetes [113].

Entre las sustancias aisladas de *Fabaceae* que presentan actividad hipoglucémica y antidiabética, podemos mencionar, la desmetilyangonina, su β -D-O-glucósido y su β -D-O-di(1-6)glucósido, aisladas de la corteza de *Acosmium panamense* [114]; la cumarina fraxidina de la partes aéreas de *Teramnus labialis* [115]; la kaempfertrina, aislada de las hojas de *Bauhinia forficata* [116,117]; la fogamina, aislada de las raíces de *Xanthocercis zambesiaca* [118]; la puerarina presente en las raíces de *Pueraria lobata* [119], y el alcaloide N-metilcitisina de *Lygos raetam* Forssk, *L. raetam* var. *sarcocarpa* y *L. Raetam* var. *bovei* [120].

Tabla 10. Algunas plantas de la familia Fabaceae utilizadas en el tratamiento de la diabetes.

Nombre común	Nombre científico	Parte utilizada
Caña fistula	<i>Cassia fistula</i> L.	Fruto
Fenogreco	<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	Fruto
Frijol	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Cáscara del fruto
Frijolillo	<i>Senna occidentalis</i> (L.) Irwin et Barneby	Hojas
Frijolillo	<i>Senna obtusifolia</i> (L.) Irwin & Barneby	Hojas
Frijolillo	<i>Cassia skinneri</i> Benth	Hojas
Guamúchil	<i>Phithecellobium dulce</i> (Roxb.) Benth	Corteza
Guayacán	<i>Lonchocarpus cruentus</i> Lundell	
Huizache	<i>Acacia farnesiana</i> (L.) Willd	Hojas
Mezquite	<i>Prosopis juliflora</i> (Swartz) DC.	Fruto
Palo dulce	<i>Eysanhardtia polistachya</i> (Ort.) Sarg.	Tallo
Pata de vaca	<i>Bauhinia divaricata</i> L.	Hojas
Retama	<i>Crotalaria acapulcensis</i> Cav.	Ramas
Retama	<i>Spartium junceum</i> L.	Ramas
Retama cimarrona	<i>Cassia tomentosa</i> L.	Hojas
Tamarindo	<i>Tamarindus indica</i> L.	Fruto

2.1.4. Triterpenoides

Son sustancias ampliamente distribuidas en la naturaleza formadas por seis unidades de cinco átomos de carbono denominadas isopreno. Estos compuestos son ubicuos en la flora [121].

2.1.4.1. Ruta biosintética de los triterpenoides

Los triterpenoides se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, ya sea como alcoholes, como ésteres o como glucósidos, aunque unos pocos miembros importantes han sido encontrados en los animales, entre los que se puede

mencionar al escualeno, aislado del aceite del hígado del tiburón, y al lanosterol, obtenido de la grasa de la lana.

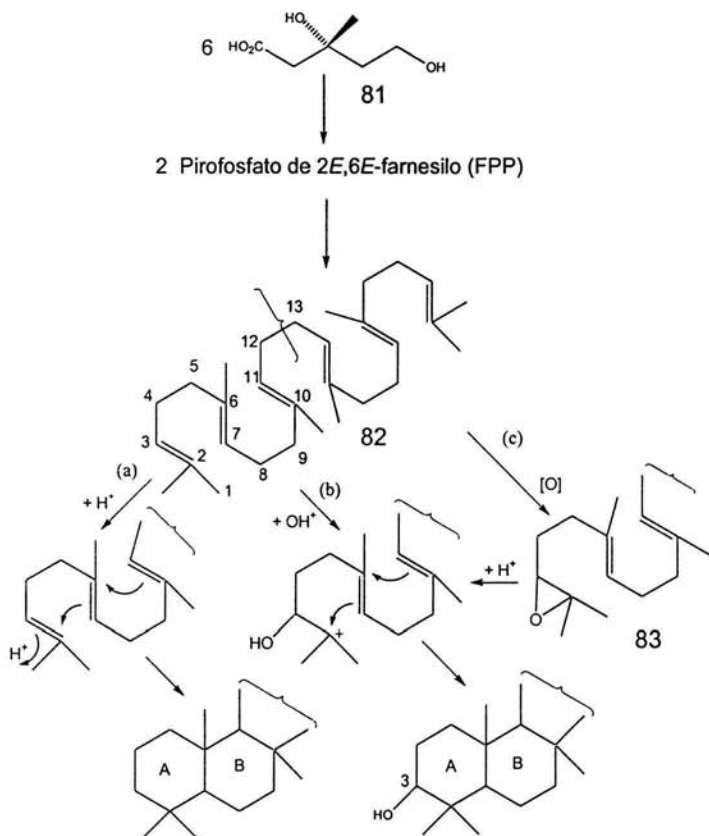


Figura 3. Ruta biosintética de los triterpenoides

Los triterpenos son derivados biogénicos del ácido (+)-mevalónico (AMV, **81**; Fig. 3), se forman a través del escualeno (**82**), y en la mayoría de los casos, del 2,3-epoxiesqualeno (**83**). Existen más de 20 tipos de esqueletos, los cuales se generan por diferentes rutas de formación de enlaces carbono-carbono. La ciclización inicia con la formación de un carbocatión en el carbono terciario del doble enlace terminal de la cadena poliisopreno. Este tipo de ciclización es solo una de las posibilidades, ya que el escualeno es un hidrocarburo insaturado simétrico y no posee la

capacidad de formar un carbocatión mediante la salida de un buen grupo saliente tal como el grupo pirofosfato [122].

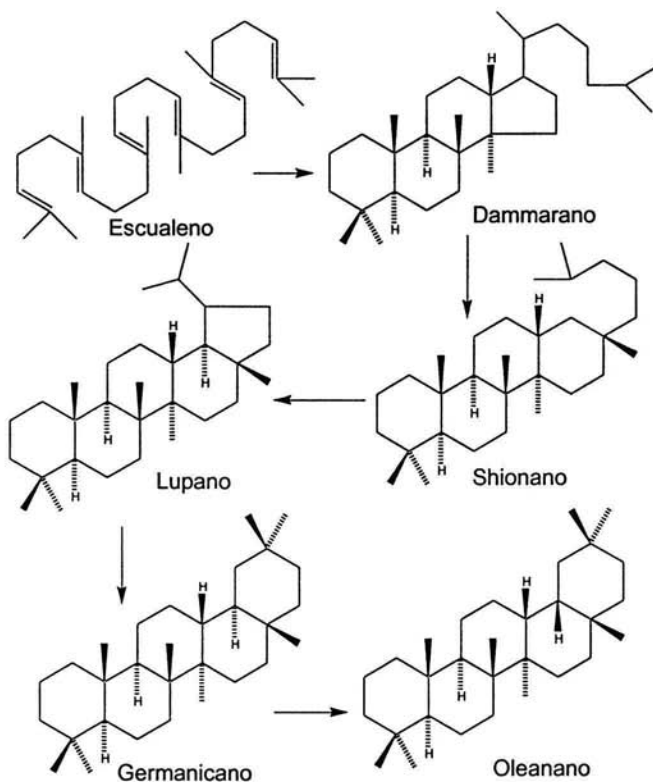


Figura 4. Formación de varias estructuras de Triterpenoides

La ciclización del escualeno puede ser promovida por agentes oxidativos o no oxidativos. El primero conduce a los compuestos cíclicos, con un grupo hidroxilo (o cetónico) en la posición 3 (ruta c), o la epoxidación del doble enlace 2,3 (ruta b), en este caso se genera los 3-hidroxitriterpenos. Por otro lado, en un proceso no oxidativo (ruta a) el ataque del protón (H^+) al doble enlace 2,3 genera la ciclización respectiva obteniéndose de esta manera los triterpenos [122].

En general el mecanismo de formación de las estructuras de los triterpenoides es concertado [122] y genera varios esqueletos, algunos de los cuales se muestran en

la figura 4 [123]. A pesar de la diversidad estructural de los triterpenos, actualmente aún se descubren nuevos esqueletos [124].

2.1.4.2. Actividades biológicas de los Triterpenos

La diversidad estructural y la ubicuidad de los triterpenoides han sido una atracción para la evaluación de sus actividades biológicas. Aunque la aplicación de estos metabolitos secundarios como agentes terapéuticos es muy limitada, se siguen llevando a cabo estudios referentes a la determinación de sus actividades.

Entre las principales se pueden mencionar la actividad anticancerígena y antitumoral [125-134], acción sobre el metabolismo [135-138], y antiinflamatoria [139-144]. Además, ciertos triterpenos tienen actividad en la prevención de daños del hígado [145], como antivirales [146], como agentes hipotensores [147], actividades hemolíticas [148], antiparasitaria [149], hipoglucémica [150], entre muchas otras.

2.1.5. Carbohidratos en la familia Leguminosae

Las leguminosas constituyen la familia que tiene la mayor cantidad de plantas alimenticias, después de las gramíneas. Los oligosacáridos de la familia Leguminosae pueden clasificarse como reductores y no reductores. Los primeros contienen principalmente glucosa, entre estos tenemos al glucósido de glucosa (maltosa). Entre los no reductores se pueden mencionar los disacáridos trehalosa y la sacarosa, y los galactósidos de sacarosa, que son trisacáridos (gentianosa, cestosas, rafinosa), tetrasacáridos (estaquiosa), y oligosacáridos homólogos superiores (verbascosa, ajugosa) [151].

Otro tipo de carbohidratos son los polioles, que son edulcorantes libres de azúcar. Uno de los grupos importantes de los polioles son los ciclitoles. El término ciclitol se designa a los alcoholes alicíclicos, en donde los grupos hidroxilos están unidos a los átomos de carbono del ciclo. Los principales son aquellos que se derivan del ciclohexano, a los cuales se les denomina inositoles [152].

Existen nueve estereoisómeros del inositol [153]: *myo*-, *scyllo*-, *cis*-, *D-chiro*-(+), *L-chiro*-(−), *epi*-, *allo*-, *muco*- y *neo*- (Fig. 5). Cinco estereoisómeros (*myo*-, *scyllo*-, *D*-

chiro-, *L-chiro-* y *neo-*) se han encontrado en la naturaleza y los otros cuatro estereoisómeros (*cis-*, *epi-*, *allo-* y *muco-*) se han sintetizado.

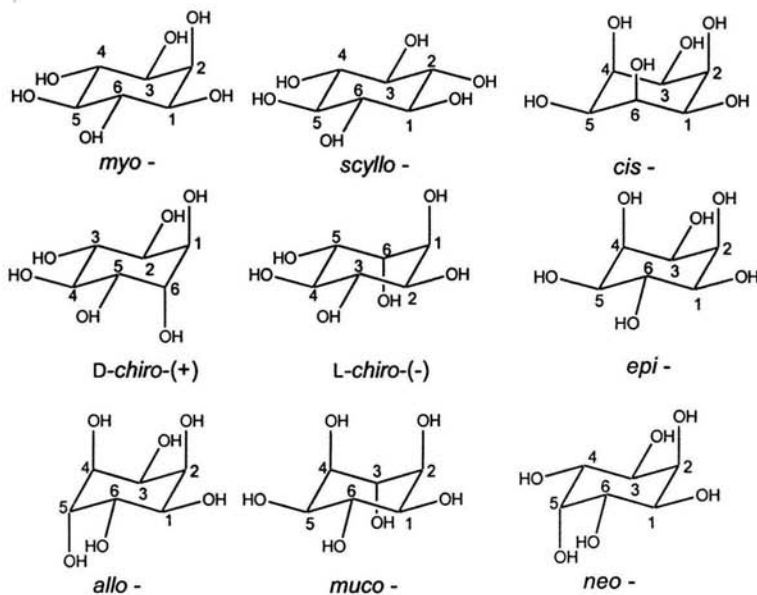


Figura 5. Estereoisómeros del Inositol

2.1.5.1. Propiedades del D-Pinitol

El pinitol (éter monometílico del *d*-inositol) fue descubierto por Berthelot en 1855 en el exudado de *Pinus lambertiana* Dougl (pino dulce). En 1952 la estructura y estereoquímica absoluta fue determinada mediante estudios de degradación [154] y se estableció la estructura ilustrada en la figura 6.

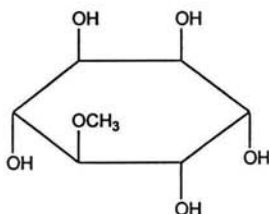


Figura 6. Estructura del D-Pinitol

De acuerdo con el diccionario de productos naturales de Chapman & Hall (I-00170), el D-pinitol corresponde al 3-O-metil-D-*chiro*-inositol. Actualmente y de acuerdo con las recomendaciones de la IUPAC se establece como el 1D-3-O-metil-*chiro*-inositol [155].

El D-pinitol se encuentra en varias leguminosas [156-159], y también se ha identificado en la miel de abeja, siendo el constituyente en mayor proporción con respecto a otros ciclitoles [160]

El D-pinitol también se ha obtenido por síntesis de *cis*-ciclohexan-3,5-dieno-1,2-diol [161-162], y a partir de benceno mediante una oxidación microbiana con *Pseudomonas putida* [163].

Se han llevado a cabo varios estudios sobre las propiedades biológicas de este producto natural. Se ha demostrado que actúa como estimulante alimentario en la mariposa amarilla *Eurema hecabe mandarina* [164], inhibe el crecimiento de las larvas del gusano *Heliothis zea* en la soya [165], y tiene actividad antiinflamatoria [166].

Otro de los aspectos estudiados es la actividad hipoglucémica y antidiabética que fue reportada en 1987 por Narayanan. Se informa que reduce la concentración de glucosa y se usó un modelo de diabetes experimental inducida por aloxano [167]. Investigaciones posteriores permitieron evaluar el efecto del D-pinitol (1D-3-O-metil-*chiro*-inositol) como antidiabético y se dedujo que ejerce un efecto antihiper glucémico, agudo y crónico, en ratones diabetizados con estreptozotocina [168]. Además, se observó que no hay toxicidad atribuible al pinitol en un estudio en sujetos resistentes a la insulina [169].

2.1.5.2. Biosíntesis del D-Pinitol

La conversión de la D-glucosa-6-fosfato a 1L-*myo*-inositol-1-fosfato constituye el primer paso en la biosíntesis del *myo*-inositol (MI). La continuación del proceso metabólico produce otras formas estereoméricas del inositol. Entre estos procesos pueden mencionarse la isomerización y metilación del MI y de los otros isómeros, para formar los O-metil-inositoles (sequoyitol, bornesitol, quebrachitol, pinitol, ononitol, etc.), los cuales participan en la respuesta relacionada al estrés,

almacenaje de las semillas, y producción de glucósidos de inositol tales como galactósidos de pinitol [170].

La conversión biosintética de la D-glucosa a *myo*-inositol involucra tres pasos enzimáticos (Fig. 7). El paso B, que es la ciclización de la D-glucosa-6-P a Ins(3)P1, es el paso importante. El paso C, la pérdida del fosfato, genera a MI.

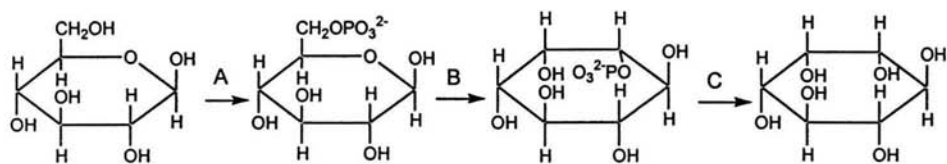


Figura 7. Conversión de la D-glucosa a *myo*-inositol: (A) Hexocinasa, (B) Ins(3) P₁ sintasa, (C) monofosfatasa de *myo*-inositol

La biosíntesis de D-pinitol involucra tres pasos a partir de *myo*-inositol (Fig. 8). En el primer paso esta involucrada la enzima Ins(3)P1 sintasa, y una O-metil transferasa. Posteriormente procede presumiblemente la oxidación selectiva de un alcohol a cetona con subsecuente reducción estereodiferenciada para generar D-pinitol [170].

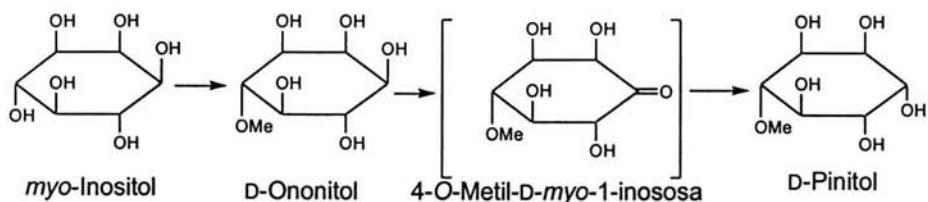


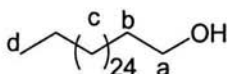
Figura 8. Biosíntesis del *myo*-inositol a D-pinitol
Los paréntesis indican intermediario teórico

2.2. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

De la fracción B se purificó un sólido amorfo, cuyo espectro de IR muestra a 3624 cm^{-1} una banda de absorción que se asigna a un grupo hidroxilo debido al estiramiento del enlace O-H; en 2927 y 2854 cm^{-1} bandas típicas del estiramiento del enlace C-H en los grupos metilo y metileno. Adicionalmente se reconoce una banda en 1465 cm^{-1} que se asigna al estiramiento del enlace C-H de metilenos en posición δ en una cadena alifática.

En el espectro de RMN¹H (espectro 13) se identifica en δ 3.64 una señal triple con una constante de acoplamiento de 6.6 Hz, que corresponde a un grupo metileno α a un grupo hidroxilo y significa que tiene dos hidrógenos vecinos; en δ 1.46 se identifica una señal simple ancha y se asigna a los hidrógenos de un grupo metileno β a un hidroxilo. En δ 1.25 se encuentra presente una señal simple, que se asigna a los grupos metilenos de una cadena alifática. Finalmente, en δ 0.88 es observable un triplete ($^3J_{H-H} = 6.5\text{ Hz}$) el cual corresponde a un grupo metilo de una cadena alifática.

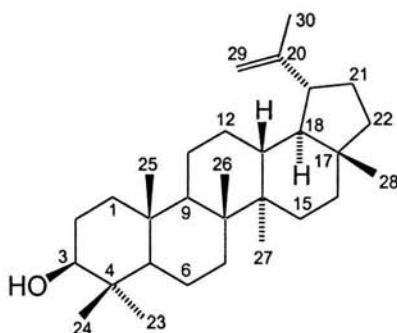
Para confirmar su peso molecular y la posición del grupo hidroxilo, se procede a analizar el espectro de masas (espectro 14), en el cual se encuentra presente el ion molecular (m/z 410) con una intensidad relativa de 90, así como los picos $[M+1]^+$ (m/z 411) y $[M-1]^+$ (m/z 409). Otro fragmento que se presenta es debido a la pérdida de agua $[M-18]^+$ (m/z 392). La serie que se identifica y que generalmente es observable en alcoholes primarios de cadena larga es la eliminación de agua y del alqueno $[M-18-C_nH_{2n}]^+$ (m/z 364, 336, 308, 280...). En adición a lo anterior series C_nH_{2n-1} (m/z 41, 55, 69, 83, 97, 111, 125...) y C_nH_{2n+1} (m/z 43, 57, 71, 85, 99, 113, 127, 141, 155, 169, 183, 197). El pico base es m/z 197 que corresponde al ion $C_{14}H_{29}^+$.



Alcohol montanílico (84)

De acuerdo con las evidencias descritas, el compuesto corresponde a $C_{28}H_{58}O$, se establece que se trata de un alcohol primario y se deduce la estructura del alcohol montanílico (84) [171,172]. La comparación de sus propiedades físicas y espectroscópicas con las informadas, confirman esta deducción.

De esta misma fracción B se aisló un sólido blanco en cuyo espectro de RMN¹H (espectro 15) se reconocen dos señales localizadas en la región de hidrógenos olefínicos: en δ 4.69 se identifica un doble ($J = 2.7$ Hz), y en δ 4.57 un doble de dobles ($J = 1.5, 2.7$ Hz), cada una de las señales integra para un hidrógeno, por lo que se deduce la presencia de un metileno vinílico.



Lupeol (85)

En δ 3.19 se identifica un doble de dobles ($J = 5.4, 10.8$ Hz) que integra para un hidrógeno, y este desplazamiento es característico del oximetino H-3 α en los triterpenos pentacíclicos [173]. El trazo del espectro sugiere que esta sustancia es un triterpeno similar al lupeol, por las evidencias que se describen a continuación. La señal en δ 2.38 se distingue un doble tripleteado ($J = 5.7, 10.8$ Hz) y de acuerdo a la integral equivale a un hidrógeno y se designa para el H-19. En δ 1.68 se registra un singulete, que se asigna para los hidrógenos del metilo vinílico C-30. A partir de estos valores se observa un patrón de señales complejas en las cuales se puede destacar en δ 1.03 un singulete (3H) para H-27, en δ 0.97 también singulete (3H) para H-23, a δ 0.94 otro singulete (3H) para H-26. Finalmente, son observables señales en δ 0.83, 0.79 y 0.76 que equivalen a otros singuletes y cada una integra

para tres hidrógenos y se designan a los hidrógenos en las posiciones 25, 28 y 24, respectivamente. Por la información descrita y comparando con los datos en la literatura [174], se confirma que esta sustancia es el Lupeol (**85**).

De la fracción C se aisló un sólido blanco amorfo y su espectro de RMN¹H (espectro 16) muestra señales características de una mezcla de esteroides. Uno de estos corresponde a β -sitosterol (**55**), cuya elucidación estructural se discutió previamente (página 24). Dos señales adicionales identificadas como doble de dobles, se muestran en la figura 9, las cuales se encuentran centradas en δ 5.15 (J = 8.1, 15 Hz) y 5.01 (J = 9, 15.3) para hidrógenos vinílicos, permitieron caracterizar el segundo componente de la mezcla como estigmasterol (**86**) [175].

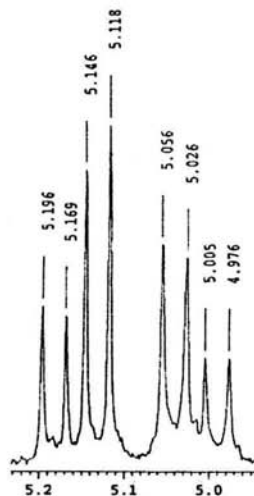
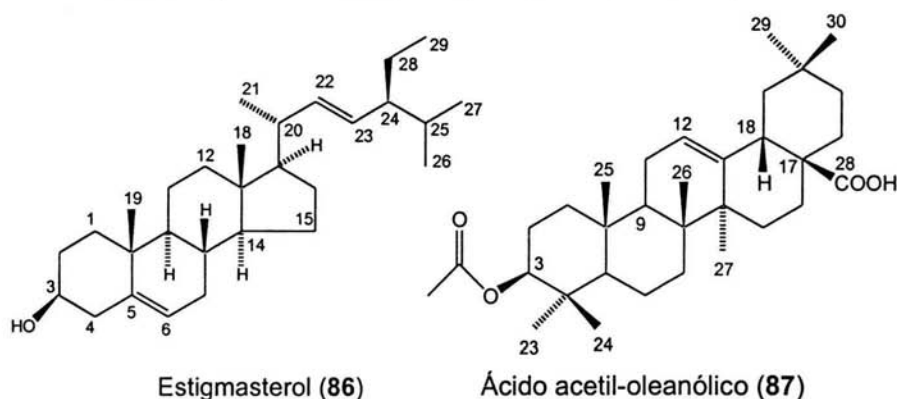


Figura 9. Señales de los hidrógenos vinílicos en el estigmasterol (H-22 y H-23).

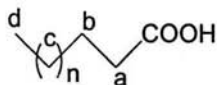
En la fracción F se aisló un sólido blanco que, comparada con una muestra pura y los datos registrados en la literatura [176,177], se deduce que se trata del ácido acetil oleanólico (**87**). En el espectro de RMN¹H (espectro 17) se encuentra presente una señal en δ 5.28 (t, J = 3.3) que integra para un hidrógeno y se le asigna al protón vinílico H-12; en δ 4.50 resuena un triplete (J = 8.1 Hz), que corresponde a un

hidrógeno geminal al grupo acetoxilo y se asigna al protón H-3. Por otro lado, la señal doble de doble en δ 2.82 ($J = 13.2, 3.6$), que integra para un hidrógeno, se asigna al hidrógeno alílico H-18 [178].

En δ 2.05 se localiza un singulete intenso, que corresponde a un metilo α a un grupo carbonilo, es decir, el metilo del grupo acetilo que se encuentra unido en la posición 3. Para los grupos metilos les corresponde las siguientes señales: δ 1.13 (s, 3H) que se asigna al C-27, el singulete simple de δ 0.94 al C-25, en tanto que las señales simples de δ 0.93, δ 0.91, δ 0.87, δ 0.85 y δ 0.75, se relacionan a los metilos localizados en las posiciones C-24, C-23, C-29, C-30 y C-26, respectivamente.

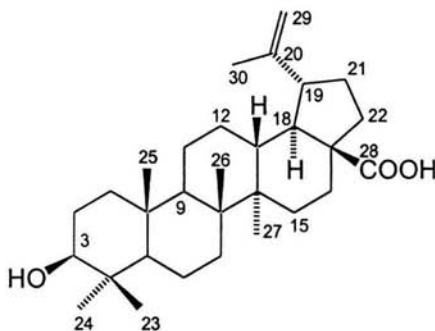


La siguiente sustancia aislada de esta misma fracción fue un sólido amorfo blanco, cuyo espectro de RMN-¹H (espectro 18) muestra una señal en δ 2.28 triplete ($J = 7.3$) asignable a hidrógenos α a carbonilo y el valor de la integral es aproximadamente cuatro hidrógenos; en δ 1.61 se observa un quintuplete ($J = 7.3$) correspondiente a un metileno β al carbonilo y su integral también es aproximadamente cuatro hidrógenos; en δ 1.29 se encuentra presente un singulete asignable a los metilenos de una cadena alifática que en este caso integra para 40 metilenos. Finalmente, a campo alto en δ 0.88 ($J = 6.5$) un triplete que corresponde a un metilo e integra casi para seis hidrógenos, por lo tanto se confirma la presencia de más de un metilo. Esta información permite determinar que se trata de una mezcla de ácidos grasos saturados (88).



Mezcla de ácidos grasos saturados (88)

De la fracción E se separó un sólido amorfo. En el espectro de RMN ^1H (espectro 19) se identifican dos hidrógenos olefinicos, de (δ 4.74, d, $J = 2.1$; δ 4.61, dd, $J = 1.5, 2$) correspondientes a protones geminales. En δ 3.19 se observa un doble de dobles ($J = 5.3, 10.8$ Hz, 1H) que corresponde al hidroximetino H-3 α de un triterpeno. La señal en δ 2.99 se identifica un doble de doble de doble ($J = 4.4, 10.8$ Hz, 1H) la cual se asigna a un hidrógeno alílico, y las señales a campo alto sugieren que esta sustancia es un triterpeno pentacíclico del tipo del ácido betulínico (89).



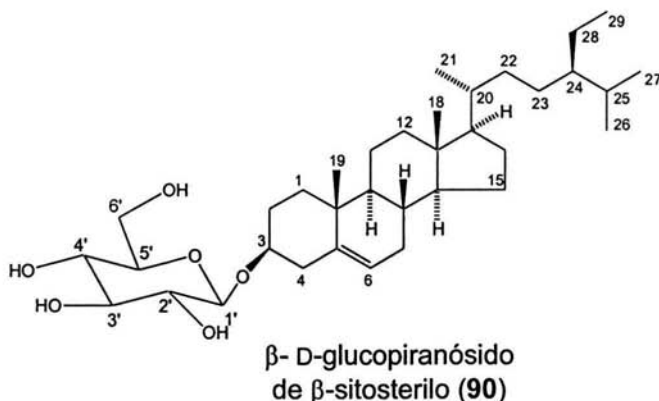
Ácido betulínico (89)

Efectivamente, en δ 1.69 es observable un singulete que se asigna a los hidrógenos de C-30. Entre los valores de δ 0.98 y δ 0.75 se encuentran presentes varios singuletes que equivalen a los diferentes grupos metilos presentes en la estructura. Así se identifican señales en δ 0.98 (H-27), en δ 0.97 (H-26), y en δ 0.94 (H-23). Finalmente, son observables dos señales más, una en δ 0.83 y otra en δ 0.75 y estas también son singuletes que cada una integra para tres hidrógenos y se designan a los hidrógenos en las posiciones C-25 y C-24, respectivamente. La comparación directa con una muestra auténtica confirmó su identidad [179, 180].

En la fracción K se aisló un sólido de color blanco, en cuyo espectro de IR (espectro 20), muestra una banda intensa en la región de los hidroxilos a 3396 cm^{-1} , las bandas de absorción en $2934, 2873\text{ cm}^{-1}$ se asignan al alargamiento del enlace C-H, así como bandas complementarias en 1461 y 1374 cm^{-1} debido a flexiones del enlace. En 1072 y 1024 cm^{-1} se localizan bandas que se asigna alargamiento del enlace C-O [181].

Su espectro de RMN¹H (espectro 21) muestra señales en δ 0.65- δ 0.93 que son características de un estero, y esto se puede corroborar con la presencia de una señal doblete localizada a δ 5.34 para un hidrógeno vinílico que se ubica en C-6 de la estructura [56]. De acuerdo con esta información se puede atribuir la presencia del esqueleto del β -sitosterol.

Por otro lado, son observables señales atribuibles a hidrógenos geminales a hidroxilo, lo que sugiere la presencia de una glucopiranósida, en donde puede asignarse el hidrógeno anomérico (δ 5.05, d, $J = 7.8, H-1'$). En δ 4.57 aparece un doble de doble ($J = 12, 2.6$) que se asigna para uno de los hidrógenos metilénicos (H-6'b), y la posición para el otro hidrógeno se define en δ 4.40 ($J = 12, 5.2$). Además, se identifican otras señales para el azúcar entre δ 4.28 y δ 3.98, los mismos que coinciden con los registrados en la literatura para **90** [182].



De la misma forma, el espectro de RMN¹³C (espectro 22) coincide con los datos reportados para un estero, y de un fragmento de glucopiranósido [183]. Así se distinguen las señales de los carbonos vinílicos en δ 140.9 (C-5) y δ 121.9 (C-6), en

δ 78.1 Hz se observa la señal que pertenece al carbono unido al glucósido (C-3), y en δ 102.6 se designa al carbono anomérico del glucopiranosido (C-1'). Por las evidencias descritas se confirma la estructura del β -D-glucopiranosido de β -sitosterilo (90) [184].

De la fracción L se aisló un sólido blanco amorfo. El espectro de IR (espectro 23) muestra bandas de absorción intensas en la región de los grupos hidroxilo a 3402 y 3316 cm^{-1} , la presencia de una señal débil a 3011 cm^{-1} que se atribuye al estiramiento C-H en anillos de mas de tres carbonos, bandas de absorción a 2952 y 2906 cm^{-1} debido al estiramiento C-H en los éteres. Además, se observan bandas de absorción en las posiciones de 1341 y 1280 cm^{-1} para el estiramiento C-O-C de los éteres, y en 1132 y 1076 cm^{-1} del estiramiento del enlace entre C-O de los alcoholes. Finalmente, son observables bandas complementarias en 1511 y 1454 cm^{-1} debidas a las flexiones de los enlaces C-H en los grupos metino y metilo respectivamente [54].

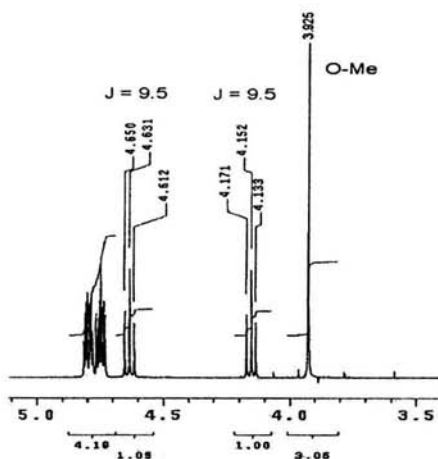


Figura 10. Posición de los triplete y del grupo metoxilo en el compuesto 91.

En el espectro de RMN^1H (espectro 24) se identifica en δ 3.93 un singulete cuya integral corresponde a tres hidrógenos (figura 10). Su desplazamiento químico es de un grupo metilo unido a un oxígeno etéreo.

En δ 4.15 y δ 4.63 se observan (figura 10) dos dobles de dobles, con $J = 9.5$, y cada señal integra para un hidrógeno.

En la figura 11 se muestran las señales entre δ 4.72 y δ 4.81 las cuales integran para cuatro hidrógenos. Estas señales pueden interpretarse como cuatro dobles de dobles, como se ilustra en la figura, por lo que su desplazamiento químico se establece como sigue: en δ 4.73 (dd, 9.5, 3.5), en δ 4.75 (dd, 9.5, 3.5), en δ 4.78 (dd, 3.5, 3.0), y en δ 4.81 (dd, 3.5, 3.0).

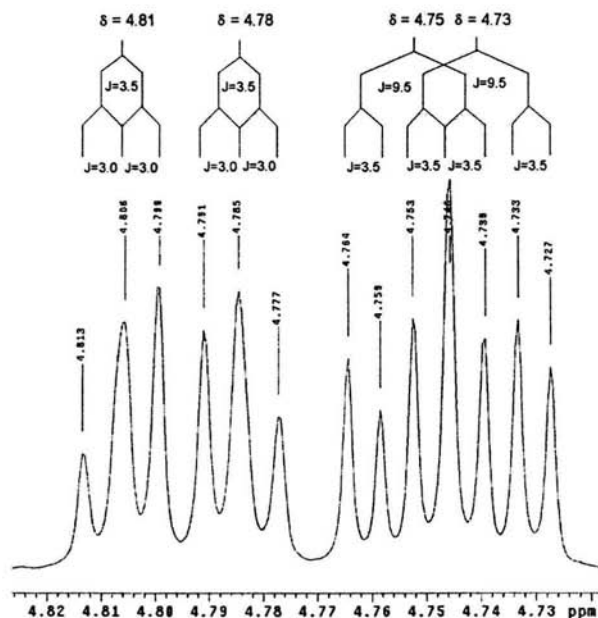


Figura 11. Sistema de acoplamiento en el cual se muestra las señales dobles de dobles

El espectro de RMN¹³C (espectro 25) muestra señales en δ 85.9, δ 74.7, δ 74.2, δ 73.8, δ 73.1, y en δ 72.3. Esta región es característica para carbonos unidos a oxígeno, y la de campo mas bajo se designa al carbono que esta unido directamente al metoxilo. En δ 60.8 se localiza una señal que se asigna para el metilo.

Las correlaciones mostradas en el espectro DEPT (espectro 26) confirman la presencia de un grupo metilo y seis grupos metino.

Las características espectroscópicas permiten deducir la estructura de un ciclohexano hexahidroxilado típico de un ciclitol [185]. Además, de acuerdo con los valores de la constante de acoplamiento, se identifican sistemas ${}^3J_{ax-ax}$, (9.5), ${}^3J_{ax-eq}$ (3.5), y ${}^3J_{eq-eq}$, (3.0).

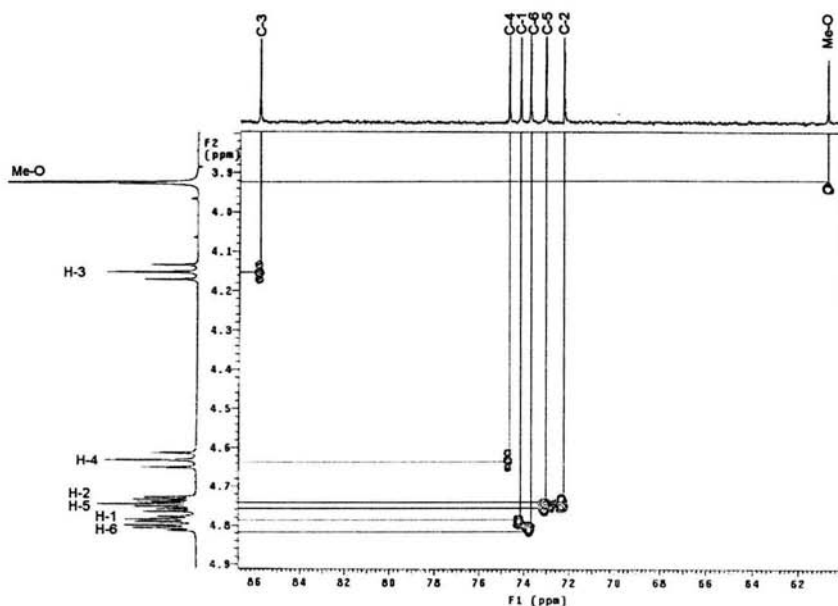


Figura 12. Experimento HSQC que muestra la relación ${}^1J_{C-H}$ en el compuesto **91**.

En la figura 12 se ilustra la asignación que se hizo para las resonancias de los diferentes carbonos e hidrógenos mediante el experimento HSQC (espectro 27). Así, se observa que el carbono del grupo metoxilo (δ 60.8) se enlaza con los hidrógenos ubicados en δ 3.93. El grupo metino que se ubica en δ 85.9 se une al hidrógeno en δ 4.15, otro grupo metino en δ 74.7 con los hidrógenos de la posición en δ 4.63. Finalmente, los otros grupos metino en δ 72.3, δ 73.1, δ 73.8, y δ 74.2, corresponden con los hidrógenos en δ 4.73, δ 4.75, δ 4.81 y δ 4.78, respectivamente.

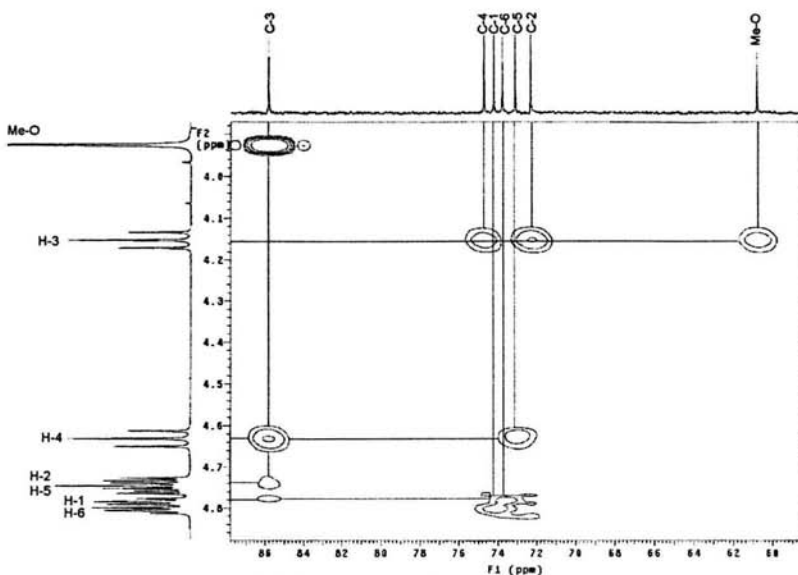
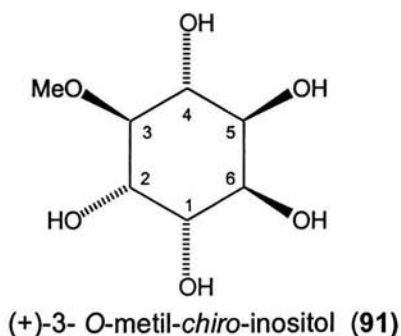
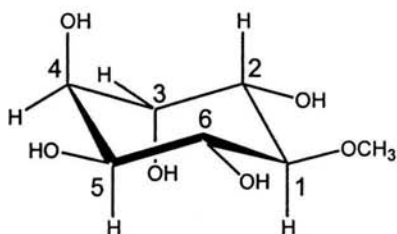


Figura 13. Experimento HMBC que muestra los enlaces a dos y tres ligaduras

En la figura 13 se muestran los resultados del experimento HMBC (espectro 28). En esta figura se muestra que los hidrógenos del grupo metoxilo (δ 3.93) interaccionan a larga distancia con el carbono de un metino (δ 85.9). Por otro lado, los hidrógenos del grupo metino (δ 4.15) interaccionan a larga distancia con los carbonos del metoxilo (δ 60.8) y los metinos en δ 74.7 y δ 72.3. Además, los hidrógenos del grupo metino en δ 4.63 se relaciona a larga distancia ($^2J_{C-H}$) con el grupo metino en δ 85.9 y δ 73.1. Finalmente se puede mencionar la correlación del hidrógeno δ 4.73 con el metino en δ 85.9. De acuerdo con los resultados obtenidos y las evidencias que confirman la asignación de cada una de las señales, se deduce la estructura **91**.



Estudios realizados por Mondal en 1993 sobre el D-(+)-pinitol [186], permitieron establecer la estereoquímica de este producto como el 1*R*-metoxi-2*S*,3*S*,4*S*,5*S*,6*R*-pentahidroxiciclohexano, y la estructura y conformación preferida corresponde al compuesto **92**.

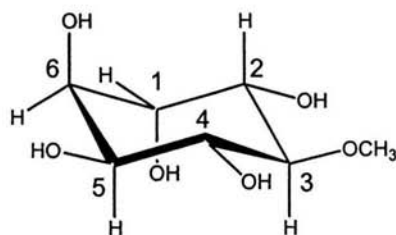


D-(+)-Pinitol (**92**)

Mondal informó los desplazamientos químicos en DMSO- d_6 , del compuesto puro, pero la asignación espectroscópica no se llevó a cabo debido a la superposición de las señales de los hidrógenos. La estructura, estereoquímica y conformación preferida la estableció Mondal mediante el penta-acetil derivado. A pesar de esto, las asignaciones para dos señales no fueron bien establecidas (C-3 y C-6). Es importante notar que existe diferencias en la numeración y nomenclatura de estas sustancias, que ocasionalmente pueden causar confusión.

Afortunadamente, en el presente trabajo se determinó que utilizando C_5D_5N como disolvente, fue posible la asignación inambigua de los valores de desplazamiento químico para cada uno de los carbonos e hidrógenos, así como de las constantes de acoplamiento (ver parte experimental). De acuerdo con estas evidencias y, como se menciona en la literatura [187, 188] la conformación, estructura y nombre corresponde al compuesto **91**.

A pesar de que no se observa el ion molecular en el espectro de masas (espectro 29) se observan las señales a m/z 158 ($M^+ - 2H_2O$), m/z 144 ($M^+ - H_2O - MeOH$) y m/z 73 ($MH^+ - 5H_2O - MeOH$). El pico base se encuentra en m/z 87 ($MH^+ - 6H_2O$). Los datos descritos coinciden con los resultados informados anteriormente [163].

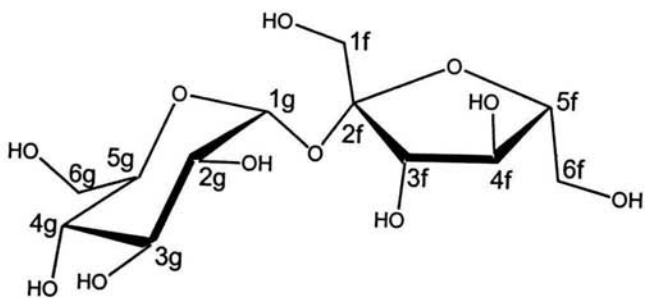


1D-3-O-metil-*chiro*-inositol (91)

En la fracción L también se aisló un compuesto cuyo espectro de IR (espectro 30) muestra bandas de absorción a 3562, 3389, y 3337 cm^{-1} , que corresponden a grupos hidroxilo, por lo que se establece que es un compuesto polihidroxilado. En 2938 y 2906 cm^{-1} se observan bandas de absorción debidas al estiramiento del enlace C-H, en metilenos y metinos. En 1351 cm^{-1} se observa una señal que se asigna al estiramiento del enlace C-O-C, y en 1063 cm^{-1} para el estiramiento C-OH. En el espectro de RMN^1H (espectro 31) son observables señales en valores de desplazamiento químico típicos de hidrógenos geminales a grupos hidroxilos. Así tenemos en δ 5.17 se identifica un singulete, en δ 5.02, δ 4.77, δ 4.74, δ 4.47 se observan dobletes con diferentes valores de J , y en δ 3.87 se tiene un triplete con una constante de acoplamiento 8.1 Hz.

Por otro lado, el espectro de RMN^{13}C (espectro 32) permite establecer la presencia de doce carbonos, y todos se encuentran en la región de núcleos que están unidos directamente a oxígeno. Los valores van desde δ 104 a δ 60.5.

Las correlaciones mostradas en el espectro DEPT (espectro 33) confirman la presencia de un carbono cuaternario, ocho metinos y de tres metilenos. Sobre la base de la información espectroscópica y comparando con los valores de desplazamiento químico en la literatura [189] se establece que el compuesto corresponde a la estructura sacarosa (93).



sacarosa (93)

2.3. PARTE EXPERIMENTAL

Las partes aéreas de *E. subcoriacea* fueron colectadas en Agosto del 2003, en la Cañada de Tolantongo, 22 Km al NE de Ixmiquilpan, Hidalgo, México. Fue clasificada por el Biól. Ramiro Cruz Durán, y los datos de registro son: registro del Biól. Ramiro Cruz Durán No. 1533 (Herbario MEXU) y herbario de la Facultad de Ciencias, UNAM, No. 11322. Las ramas secas fueron trituradas en un molino de mano y extraídas a temperatura ambiente por 48 h con hexano; posteriormente se adicionó diclorometano para obtener el extracto correspondiente y finalmente al residuo se adicionó metanol. El disolvente se eliminó a presión reducida en el rotavapor, obteniendo 210 g de extracto, los rendimientos se describen a continuación (tabla 11):

Tabla 11. Rendimiento en la extracción de ramas de *E. subcoriacea*

Especie	Ramas extraídas (g)	Extracto metanólico (g)	% Extracto metanólico
<i>Eysenhardtia subcoriacea</i>	2700	210	7.78

La actividad antioxidante con DPPH de los extractos fue evaluada [190] y de acuerdo a la tabla 12, el extracto metanólico presentó la mayor actividad atrapadora de radicales.

Tabla 12. Actividad atrapadora de radicales de varios extractos de *E. subcoriacea*

Especie vegetal	Ext. Hexánico	Ext. CH ₂ Cl ₂	Ext. Metanólico
corteza	> 1000 ppm	96.5 ppm ±4.6	9.2 ppm ± 0.06
hojas	> 1000 ppm	>1000	43.5 ppm ± 0.50
ramas	> 1000 ppm	113.5 ± 2.8	39.8 ppm ± 0.50

Una parte del extracto metanólico (105 g) fue adsorbido en celita (1:1) y aplicado a una columna, de 51 cm de largo y 9.5 cm de diámetro interno, empacada con sílica gel. La elución de la columna se realizó a presión reducida de acuerdo con la técnica informada en la literatura [58]. Se eluyeron fracciones de 700 ml empleando un gradiente de polaridad ascendente de hexano-acetato de etilo, y acetona-metanol (Tabla 13).

Tabla 13. Elución de la columna principal del extracto metanólico de *E. subcoriacea*

Fracciones	Sistema Elución	Fracciones	Sistema Elución
1-8	Hexano 100%	87-97	AcOEt 100%
9-15	Hex-AcOEt 90:10	98-105	AcOEt-Acetona 50:50
16-24	Hex-AcOEt 85:15	106-111	Acetona 100%
25-34	Hex-AcOEt 80:20	112-119	Acetona-MeOH 95:5
35-41	Hex-AcOEt 75:25	120-125	Acetona-MeOH 90:10
42-48	Hex-AcOEt 70:30	126-131	Acetona-MeOH 80:20
49-56	Hex-AcOEt 60:40	132-136	Acetona-MeOH 70:30
57-63	Hex-AcOEt 50:50	137-143	Acetona-MeOH 60:40
64-71	Hex-AcOEt 40:60	144-151	Acetona-MeOH 40:60
72-77	Hex-AcOEt 30:70	152-157	Metanol 100%
78-86	Hex-AcOEt 20:80		

Las fracciones fueron reunidas de acuerdo con su similitud cromatográfica, obteniéndose catorce fracciones primarias (A-M), como se indica en la tabla 14.

De este fraccionamiento y con aquellas fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo a diferentes concentraciones, se obtuvieron 235 mg de la fracción B, los cuales fueron disueltos en hexano y cuando se evaporó el solvente, se aislaron 20 mg de un sólido blanco de aspecto ceroso, que corresponde al octacosanol o alcohol montanílico (**84**)

Rf. 0.5, CH₂Cl₂

Pf. 76-78°C, lit [171]: 84-84.5 °C

IR $\nu_{\text{máx}}$. (CHCl₃) cm⁻¹: 3624, 2927, 2854, 1602, 1465.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 3.64 (t, J = 6.6, H_a), 1.46 (s, H_b), 1.25 (s, H_c), 0.88 (t, J = 6.5, H_d)

EM (EI⁺, m/z, int. rel.): [M⁺] 410 (96), 409 (22), 392 (8), 364 (15), 342 (22), 336 (13), 318 (18), 302 (41), 248 (16), 225 (21), 197 (100), 180 (23), 153 (16), 139 (20), 125 (32), 111 (56), 97 (92), 83 (96), 69 (75), 57 (94), 43 (76), 41(38), 29 (12).

Tabla 14. Reunión del fraccionamiento primario del extracto metanólico

Fracciones	Reunión	Peso, mg	Rendimiento, %
1-11	A	1047	0.078
12-16	B	235	0.017
17-23	C	265	0.019
24-28	D	470	0.035
29-32	E	440	0.033
33-41	F	905	0.067
42-52	G	1168	0.043
53-65	H	1046	0.078
66-79	I	920	0.068
80-91	J	675	0.050
92-108	K	2235	0.083
109-136	L	44837	3.322
137-157	M	27537	2.040

De la fracción B también se purificó un sólido blanco con un R_f = 0.5 en CH₂Cl₂, es decir, de valor similar que en el compuesto **84**, por lo que al principio no se pudo establecer que se trataban de productos diferentes. Por diferencia de solubilidad al lavar con hexano y al evaporarse el disolvente se observó un sólido en forma de fibras en las paredes del frasco, obteniéndose 35 mg de Lupeol (**85**)

R_f. 0.5, CH₂Cl₂

Pf. 206-208°C, lit [191]: 210 °C

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 4.69 (d, J = 2.7, H-29), 4.57 (c, J = 1.5, 2.7, H-29), 3.19 (dd, J = 5.4, 10.8, H-3α), 2.38 (dt, J = 5.7, 10.8, H-19), 1.68 (s, H-30), 1.03 (s, H-27), 0.97 (s, H-23), 0.94 (s, H-26), 0.83(s, H-25), 0.79 (s, H-28), 0.76 (s, H-24).

En la fracción C se determinó la presencia de la mezcla (70 mg) de β-sitosterol (**55**) con estigmasterol (**86**) como los constituyentes mayoritarios. Esto se corroboró por los datos espectroscópicos para el compuesto **86**.

Pf: 148-155°C lit [Aldrich, 569B]: 166 °C

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 5.36 (d, J = 5.1, H6), 5.15 (dd, J = 8.1, 15, H-22), 5.01 (dd, J = 9, 15.3, H-23), 3.52 (m, J = 1.2, H-3), 0.68-1.01 (dt, CH₃, CH₂, 6CH₃).

De la fracción D se aislaron 21 mg de ácido acetil-oleanólico (**87**).

Pf. 248-250°C, lit [176]: 256-258 °C

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 5.28 (t, J = 3.3, H-12), 4.50 (t, J = 8.1, H-3), 2.82 (dd, J = 3.6, 3.2, H-18), 2.05 (s, CH₃-COO-), 1.13 (s, H-27), 0.94 (s, H-25), 0.93 (s, H-24), 0.91 (s, H-23), 0.87 (s, H-29), 0.85 (s, H-30), 0.75 (s, H-26)

En esta misma fracción se aisló un sólido (12 mg) cuyas características corresponde a una mezcla de ácidos grasos saturados (**88**).

Pf. 75-76°C

IR $\nu_{\text{máx}}$. (CHCl₃) cm⁻¹: 3518, 2927, 2854, 1708, 1465.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 2.28 (t, J = 7.6, H_a), 1.61 (q, J = 7.3, H_b), 1.25 (s, H_c), 0.88 (t, J = 7, H_d).

De la fracción E, se separa un sólido (151 mg) que al recristalizar de metanol, presenta una apariencia similar al algodón, que corresponde al ácido betulínico (**89**).

Pf. 271-273 °C lit [179]: 275-278 °C

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 4.72 (d, J = 2.1 H-29b), 4.58 (dd, J = 1.5, 2 H-29a), 3.16 (dd, J = 5.3, 10.8, H-3α), 3.04 (dd, J = 4.4, 10.8, H-19), 1.68 (s, H-30), 0.97 (s, H-27), 0.96 (s, H-26), 0.94 (s, H-23), 0.81 (s, H-25), 0.75 (s, H-24).

De la fracción K se aisló un sólido (348 mg) de color blanco, que corresponde al β -D-glucopiranosido de β -sitosterilo (**90**).

Pf. $>280^{\circ}\text{C}$ se descompone.

IR $\nu_{\text{máx}}$ (KBr) cm^{-1} : 3396, 2934, 2873, 1461, 1374, 1072, 1024.

RMN¹H (300 MHz, C₅D₅N, δ), 5.34 (d, J = 5.1 Hz, H-6), 5.21 (dd, J = 15.2, 8.6 Hz, H-22), 5.08 (dd, J = 15.9, 8.1, H-23), 5.05 (d, J = 7.8, H-1'), 4.57 (dd, J = 12.0, 2.6 Hz, H-6'b), 4.40 (dd, J = 12.0, 5.2, H-6'a), 4.28 (t, J = 12.8, H-3'), 4.27 (m, H-4'), 4.00 (t, J = 8.7, H-2'), 3.98 (m, H-5'), 0.98 (d, J = 6.3, CH₃-21), 0.65 (s, CH₃-18).

RMN¹³C (75 MHz, C₅D₅N, δ): 140.9 (C-5), 121.9 (C-6), 102.6 (C-1'), 78.6 (C-5'), 78.5 (C-3'), 78.1 (C-3), 75.4 (C-2'), 71.7 (C-4'), 62.8 (C-6'), 56.9 (C-14), 56.3 (C-17), 50.4 (C-9), 46.1 (C-24), 42.5 (C-13), 39.9 (C-4), 39.4 (C-12), 37.5 (C-1), 37.0 (C-10), (36.4 (C-20), 34.2 (C-22), 32.2 (C-7), 32.1 (C-8), 30.3 (C-2), 29.5 (C-25), 28.6 (C-16), 26.4 (C-23), 24.5 (C-15), 23.4 (C-28), 21.3 (C-11), 20.0 (C-27), 19.4 (C-19), 19.2 (C-26), 19.0 (C-21), 12.2 (C-29), 12.0 (C-18).

En la fracción L se aisló un sólido blanco amorfo (2190 mg), que es insoluble en acetona y ligeramente soluble en metanol. El valor de rotación observada en el polarímetro es $+0.008$ a 589 nm (Na) y su estructura corresponde al 1D-3-O-metil-*chiro*-inositol (**91**).

Pf. 185-186 $^{\circ}\text{C}$ lit. [192]: 187-188 $^{\circ}\text{C}$

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +61.5^{\circ}$ (1.3 mg/ml, H₂O)

IR $\nu_{\text{máx}}$ (KBr) cm^{-1} : 3402, 3316, 3011, 2952, 2906, 1511, 1454, 1341, 1280, 1132, 1076.

RMN¹H (300 MHz, C₅D₅N, δ): 4.81 (dd, J = 3.5, 3.0, H-6), 4.78 (dd, J = 3.5, 3.0, H-1), 4.75 (dd, J = 9.5, 3.5, H-5), 4.73 (dd, J = 9.5, 3.5, H-2), 4.63 (dd, J = 9.5, 9.5, H-4), 4.15 (dd, J = 9.5, 9.5, H-3), 3.93 (s, -OCH₃),

RMN¹³C (125.7MHz, C₅D₅N, δ): 85.9 (C-3), 74.7 (C-4), 74.2 (C-1), 73.8 (C-6), 73.1(C-5), 72.3 (C-2), 60.8 (-OCH₃).

EM (EI⁺, m/z, int. rel.): 158(3), 144 (5), 116(10), 103(15), 87 (100), 73 (76), 60 (20) 57 (12), 28 (12), 18 (7).

En la fracción L, también se aisló un sólido (67 mg) de color amarillento, el cual es insoluble en acetona y su estructura corresponde a la sacarosa (**93**):

Pf. 185-187 °C lit. [193]: 184-185 °C

IR $\nu_{\text{máx.}}$ (KBr) cm^{-1} : 3562, 3389, 3337, 2938, 2906, 1464, 1433, 1351, 1127, 1063, 996, 912, 859.

RMN¹H (300MHz, DMSO-*d*₆, δ): 5.17 (s), 5.15 (d, J = 1.8), 5.02 (d, J = 6.3), 4.77 (d, J = 3.9), 4.74 (d, J = 2.7), 4.72 (s), 4.47 (d, J = 8.1, H-3f), 4.37 (m), 3.87 (t, J = 8.1, H-4f), 3.77 (m), 3.63 (m), 3.55 (m), 3.48 (d, J = 5.1), 3.45 (d, J = 4.5), 3.36 (d, J = 6.6), 3.15 (m).

RMN¹³C (75MHz, DMSO-*d*₆, δ): 104.0 (C-2f), 91.7 (C-1g), 82.6 (C-5f), 77.0 (C-3f), 74.3 (C-4f), 72.9 (C-3g), 72.8 (C-5g), 71.6 (C-2g), 69.9 (C-4g), 62.1 (C-1f), 62.0 (C-6f), 60.5 (C-6g)

2.4. CONCLUSIONES

De las fracciones de baja polaridad se aislaron e identificaron los siguientes compuestos: alcohol montanílico (**84**), mezcla de ácidos grasos saturados (**88**), una mezcla de β -sitosterol (**55**) y estigmasterol (**86**), además, de los triterpenos lupeol (**85**), ácido acetil oleanólico (**87**), y ácido betulínico (**89**).

Por otra parte de las fracciones de alta polaridad se aislaron e identificaron el β -D-glucopiranosido de β -sitosterilo (**90**), 1D-3-O-metil-*chiro*-inositol (**91**) y sacarosa (**93**).

Se realizaron las asignaciones inambiguas de los desplazamientos químicos para cada una de las señales de los núcleos del 1D-3-O-metil-*chiro*-inositol, al utilizar como disolvente C_5D_5N .

De acuerdo con las propiedades biológicas informadas en la literatura para las sustancias aisladas, y considerando su abundancia relativa en el material vegetal analizado, puede suponerse que 1D-3-O-metil-*chiro*-inositol es la sustancia responsable, al menos en parte, de las propiedades hipoglucemiantes con que es reconocida esta especie en la medicina tradicional.

REFERENCIAS

REFERENCIAS

1. Hanson, J. R. *Natural Products: The Secondary Metabolites*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom, **2003**, pp. 1-2.
2. Wink, M. Functions of Plant Secondary Metabolites and their Exploitation in Biotechnology. *Annu. Plant Rev.* **1999**, Vol. 3, pp. 1.
3. Blunt, J. W.; Copp, B. R.; Munro, M.; Northcote, P. T.; Prinsep, M. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* **2003**, *20*, 1-48.
4. Hamburger, M.; Hostettmann, K. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 3864-3874.
5. Espinosa-García, F.; Delgado, G. Relationship between Ecology of Plant Defense and the Prospection of Secondary Metabolites with Potential Medicinal or Agricultural Application. *Rev. Latinoam. Quím.* **1998**, *26*, 13-29.
6. Wani, M. C.; Taylor, H. L.; Wall, M. E.; Coggon, P.; McPhail, A. T. Plant antitumor agents. VI. Isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 2325-2327.
7. Cordell, G. A. Changing strategies in natural products chemistry. *Phytochemistry* **1995**, *40*, 1585-1612.
8. Heo K.; Werff van der, H.; Tobe, H. Embryology and relationship of Lauraceae (Laurales). *Bot. J. Linn. Soc.* **1998**, *126*, 295-322.
9. Gottlieb, O. R. Chemosystematics of the Lauraceae. *Phytochemistry* **1972**, *11*, 1537-1570.
10. Missouri Botanical Garden, Tropics, Nomenclatural Data Base, **2004.**, http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search_vast.
11. Blake, S. F.; Allen, C. K. *J. Arnold. Arbor.* **1945**, *26*, 371-372. en: Missouri Botanical Garden, Trópicos, Nomenclatural Data Base, 2004, http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search_vast.
12. Ibarra-Manríquez, G.; Martínez-Ramos, M.; Oyama, K. Seedling functional types in a lowland rain forest in Mexico. *Am. J. Bot.* **2001**, *88*, 1801-1812. (voucher 2688), <http://ajbsupp.botany.org/v88/ibarra-manriquez.html>.

13. Dirzo, R.; Ibarra-Manríquez, G.; Sánchez-Garduño, C. *Nectandra ambigens* en: Historia Natural de los Tuxtlas, González, E.; Dirzo R.; Vogt, R. C. S y G editores, México D. F. Primera Edición, 1997, pp. 124-129.
14. Ibarra-Manríquez, G. 1985, Estudios preliminares sobre la flora leñosa de la Estación de Biología tropical Los Tuxtlas, Veracruz, México, Tesis Facultad de Ciencias, UNAM, México D. F.
15. Sánchez-Garduño, C. 1995. Ecología de la depredación predispersión en semillas de *Nectandra ambigens* en los Tuxtlas, Veracruz. Tesis Facultad de Ciencias, UNAM, México, D. F.
16. Aiba, C. J.; Gottlieb O. R.; Pagliosa, F. M.; Yoshida, M.; Magalhães, M. T. Neolignans from *Nectandra miranda*. *Phytochemistry* 1977, 16, 745-748.
17. Ferrari G.; Fervidi, O. Occurrence of isoboldine in *Nectandra pichurim*. *Phytochemistry*, 1971, 10, 465-466.
18. Franca, N. C.; Gottlieb O. R.; Coxon, D. T. Rubrenolide and Rubrynlide an Alkene-Alkyne pair from *Nectandra rubra*. *Phytochemistry* 1977, 16, 257-262.
19. Suarez, M.; Bonilla, J.; de Diaz; A.; Achenbach, H. Dehydrodieugenols from *Nectandra polita*. *Phytochemistry* 1983, 22, 609-610.
20. Carvalho de, M. G.; Yoshida, M.; Gottlieb, O. R.; Gottlieb, H. E. Lignans from *Nectandra turbacensis*. *Phytochemistry* 1987, 26, 265-267.
21. Moro, J. C.; Fernandes, J. B.; Vieira, P. C., Yoshida, M.; Gottlieb, O. R., Gottlieb, H. Neolignans from *Nectandra puberula*. *Phytochemistry* 1987, 26, 269-272.
22. Barbosa-Filho, J. M.; Yoshida M.; Gottlieb, O. R. Lignoids from *Nectandra amazonum* and *N. glabrescens*. *Phytochemistry* 1989, 28, 1991.
23. López, J. A.; Barillas, W.; Gomez-Laurito, J.; Lin, F.; Al-Rehaily, A. J.; Sharaf, M., Schiff, P. L. Aporphine Alkaloids of selected species of *Nectandra* and *Ocotea*. *Planta Med.* 1995, 61, 589.
24. Garcez, F. R.; Garcez, W. S.; Martins, M.; Cruz, A. C. A bioactive lactone from *Nectandra gardneri*. *Planta Med.* 1999, 65, 775.

25. Naves, Y. R. Études sur les Matières végétales volatiles-CXVIII(1) Sur l'huile essentielle du Louro Inhamuy (*Nectandra elaiophora* Barb, Rodr.) de l'Amazonie Brésilienne. *Soc. Chim, Mémoires* **1951**, *18*, 987-991.
26. Baralle, F.; Busch, A.; Vernengo, A. Isolation of Ocoteine from *Nectandra saligna* and *Phoebe porfiria*. *J. Nat. Prod.* **1972**, *35*, 300-302.
27. McKennis, H.; Hearst, P. J.; Drisko, R. W.; Roe T.; Alumbaugh, R. Isolation of a tetramethoxylated Alkaloid from Demerara Greenheart. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 245-248.
28. Hearst, P. J. Greenheart Alkaloids. II. Isolation and Characterization of Seven Alkaloids. *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 466-470.
29. Hearst, P. J. Greenheart Alkaloids. III. Seeperine (Ocoteamine) and Demerarine. *J. Org. Chem.* **1968**, *33*, 1229-1231.
30. Castro, O.; Hasbun, C.; Calderón, M. A New Aporphine Alkaloid from *Nectandra sinuata*. *Fitoterapia* **1991**, *62*, 72-73.
31. Böhlke, M.; Guinaudeau, H.; Angerhofer, C. K., Wongpanich, V.; Soejarto, D.; Farnsworth, N. R. Costaricine, a new antiplasmodial bisbenzylisoquinoline alkaloid from *Nectandra salicifolia* trunk bark. *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 576-580.
32. Silva da, A.; Albuquerque, S.; Silva e, M.; Eberlin, M. N.; Tomazela, D.; Bastos, J. K. Tetrahydrofuran Lignans from *Nectandra megapota mica* with Trypanocidal activity. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 42-45.
33. Slish, D. F.; Ueda, H.; Arvigo, R.; Balick, M. J. Ethnobotany in the search for vasoactive herbal medicines. *J. Ethnopharmacol.* **1999**, *66*, 159-165.
34. Muñoz, V.; Sauvain, M.; Bourdy, G.; Callapa, J.; Bergeron, S.; Rojas, I.; Bravo, J. A.; Balderrama, L.; Ortiz, B.; Gimenez, A.; Deharo, E. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach Part I. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Chacobo Indians. *J. Ethnopharmacol.* **2000**, *69*, 127-137.
35. Barajas-Guzmán, G.; Alvarez-Sánchez, J. The relationships between litter fauna and rates of litter decomposition in a tropical rain forest. *Appl. Soil Ecol.* **2003**, *24*, 91-100.

36. García-Guzmán, G.; Benitez-Malvido, J. Effect of litter on the incidence of leaf-fungal pathogens and herbivory in seedlings of the tropical tree *Nectandra ambigua*. *J. Trop. Ecol.*, **2003**, *19*, 171-177.
37. Barazani, O.; Cohen, Y.; Fait, A.; Diminshtein, S.; Dudai, N.; Ravid, U.; Putievsky, E.; Friedman, J. Chemotypic differentiation in indigenous populations of *Foeniculum vulgare* var. *vulgare* in Israel. *Biochem. Syst. Ecol.* **2002**, *30*, 721-731.
38. Lee, L. S.; Brooks, L. O.; Homer, L. E.; Rossetto, M.; Henry, R.J.; Baverstock, P. R. Geographic variation in the essential oils and morphology of natural populations of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* **2002**, *30*, 343-360.
39. Silva, J.; Fuentes F.; Richter, H. G.; Álvarez, G.; Sanjuán, R. Estructura de la madera de *Persea americana* var. *guatemalensis* Mill (Hass). *Madera y Bosques* **1999**, *5*, 53-59.
40. Valeri, H.; Gimeno, F. Phytochemical and toxicological study of the fruits of the avocado pear (*Persea americana*). *Rev. Med. Veter. Parasitol.* **1954**, *12*, 131-165.
41. Gallo, P.; Valeri, H. The antibiotic activity of the seed of avocado pear (*Persea americana*). *Rev. Med. Veter. Parasitol.* **1954**, *12*, 125-129.
42. Brown, B. I.; Isolation of unpleasant flavor compounds in the Avocado (*Persea americana*). *J. Agr. Food. Chem.* **1972**, *20*, 753-757.
43. Prabha, T. N.; Patwardhan, M. V. Polyphenols of avocado (*Persea americana*) and their endogenous oxidation. *J. Food Sci. Tech.* **1980**, *17*, 215-217.
44. Ichimaru, D.; Sales, Arlindo M.; Iaderoza, M.; Baldini, V. L. S. Study of antinutritional factors in avocado seeds (*Persea americana* Mill. cv. Wagner). *Coletanea Inst. Tecnol. Alim*, **1982**, *12*, 67-83.
45. Daulatabad, C. D.; Jamkhandi, A. M.; Bhat, G. G. Unusual fatty acid in *Persea americana* (butter fruit) seed oil. *J. Oil Tech. Assoc. India* **1998**, *30*, 71-72.
46. Bora, P. S.; Narain, N.; Rocha; R. V. M.; Queiroz, M. P. Characterization of the oils from the pulp and seeds of avocado. *Grasas y Aceites* **2001**, *52*, 171-174.

47. Matsusaka, Y.; Kawabata, J.; Kasai, T. Antioxidative constituents in avocado (*Persea americana* Mill) seeds. *Nippon Shokuhin Kag. Kog. Kaish.*, **2003**, *50*, 550-552.
48. Ramos, M. R.; Jerz, G.; Villanueva, S.; Lopez-Dellamary, F.; Waibel, R.; Winterhalter, P. Two glucosylated abscisic acid derivatives from avocado seeds (*Persea americana* Mill. Lauraceae cv. Hass). *Phytochemistry* **2004**, *65*, 955-962.
49. Murphy, R. C.; Fiedler, J.; Hevko, J. Analysis of Nonvolatile Lipids by Mass Spectrometry. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 479-526.
50. Hobbs, J. Fatty acids and their derivatives, en: Mann, J.; Davidson, R. S.; Hobbs, J. B.; Banthorpe, D. V.; Harborne, J. B., *Natural Products: Their Chemistry and Biological Significance*, Longman Group, England, 1st Edition, **1994**, pp. 239-287.
51. Christie, W. W. *Lipid Analysis*, Pergamon Press, Oxford, 2nd Edition **1993**, pp.1-16.
52. Christie, W. W., in Gunstone, F. D. *Topics in Lipid Chemistry*, Logos Press, London, **1970**, Vol.1 pp. 1-49.
53. Silverstein, R. M.; Webster, F. X. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, sixth Edition, John Wiley & Sons, Inc. United State, **1998**, pp. 163-166.
54. Pouchert, C. J.; Behnke, J. *The Aldrich Library of ¹³C and ¹H FT NMR Spectra*, 1st Edition; Aldrich chemical Co. Milwaukee, WI, **1993**, Vol. 1, 782, 785.
55. Pretsch, E.; Bühlmann, P.; Affolter, C. *Structure Determination of Organic Compounds*, Third edition, Springer, Germany, **2000**, pp. 50.
56. Budzikiewicz, H.; Djerassi, C.; Williams, D. *Interpretation of mass Spectra of Organic Compounds*, 1st edition, Holden-Day, Inc. San Francisco, United States of America, **1965**, pp.1-17.
57. Thompson, M. J.; Dutky, S. R.; Patterson, G. W.; Gooden V. L. NMR Spectra of C-24 isomeric sterols. *Phytochemistry*, **1972**, *11*, 1781-1790.

58. Coll, J. C.; Bowden, B. F. The Application of Vacuum Liquid Chromatography to the Separation of Terpene Mixtures. *J. Nat. Prod.* **1986**, *49*, 934-936.
59. Watson, L.; Dallwitz, M. J. (1992 onwards), The Families of Flowering Plants: Descriptions, Illustrations, Identification, and Information Retrieval. Version: 14th, **2000**. <http://biodiversity.uno.edu/delta>.
60. Doyle, J. J.; Doyle, J. L.; Ballenger, J. A.; Dickson, E. E.; Kajita, T.; Ohashi, H. A Phylogeny of the Chloroplast Gene *rbcL* in the Leguminosae: Taxonomic Correlations and insights into the Evolution of Nodulation. *Am. J. Bot.* **1997**, *84*, 541-554.
61. Souza, M.; Delgado, A. 1993. Mexican Leguminosae: phytogeography, endemism and origins, pp. 459-511, en. Ramamoorthy, T. P.; Bye, R.; Lot, A.; Fa, J. Biological diversity of Mexico: Origins and Distribution, Oxford University Press, New York, **1993**.
62. Sharma, P.; Rastogi, S.; Bhatnagar, S.; Srivastava, J. K.; Dube, A.; Guru, P. Y.; Kulshrestha, D. K.; Mehrotra, B. N.; Dhawan, B. N. Antileishmanial action of *Tephrosia purpurea* Linn, extract and its fractions against experimental visceral leishmaniasis. *Drug Develop. Res.* **2003**, *60*, 285-293.
63. Muhammad, I.; Li X. C.; Jacob, M. R.; Tekwani, B. L.; Chuck, D.; Ferreira, D. Antimicrobial and antiparasitic (+)-*trans*-Hexahydrodibenzopyrans and analogues from *Machaerium multiflorum*. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 804-809.
64. Beldjoudi, N.; Mambu, L.; Labaïed, M.; Grellier, P.; Ramanitrahasimbola, D.; Rasoanaivo, P.; Martin, M.; Frappier, F. Flavonoids from *Dalbergia louvelii* and their antiplasmodial activity. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1447-1450.
65. Kamara, B. I.; Brandt, E. V.; Ferreira, D.; Joubert E.; Polyphenols from Honeybush Tea (*Cyclopia intermedia*). *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 3874-3879.
66. Lokvam, J.; Coley, P. D.; Kursar, T. A. Cinnamoyl glucosides of catechin and dimeric procyanidins from young leaves of *Inga umbellifera* (Fabaceae). *Phytochemistry* **2004**, *65*, 351-358.

67. Khan, I. A.; Avery, M. A.; Burandt, C. L.; Goins, D. K.; Mikell, J. R.; Nash, T. E.; Azadegan, A.; Walker, L. A. Antigiardial activity of isoflavones from *Dalbergia frutescens* bark. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1414-1416.
68. Cao, S.; Schilling, J. K.; Miller, J. S.; Andriantsiferana, R.; Rasamison, V. E.; Kingston, D. G. Cytotoxic compounds from *Mundulea chapelierii* from the Madagascar rainforest. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 454-456.
69. Zhang, H. Li, X.; Ashendel, C. L.; Chang, C. Bioactive compounds from *Psoralea juncea*. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1244-1248.
70. Graham, J.; Zhang, H.; Pendland, L.; Santarsiero, B.; Mesecar, A.; Cabieses, F.; Farnsworth N. Antimycobacterial naphthopyrones from *Senna obliqua*. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 225-227.
71. Belofsky, G.; Percivill, D.; Lewis, K.; Tegos, G. P.; Ekart J. Phenolic Metabolites of *Dalea versicolor* that enhance Antibiotic Activity against model Pathogenic Bacteria. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 481-484.
72. James, L.; Panter, K. E.; Gaffield, W.; Molyneux, R. J. Biomedical applications of poisonous plant research. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 3211-3230.
73. Belofsky, G.; French, A. N.; Wallace, D. R.; Dodson, S. L. New geranyl stilbenes from *Dalea purpurea* with *in vitro* opioid receptor affinity. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 26-30.
74. Wanjala, C. W.; Majinda, R. T. Two Novel Glucodienoid Alkaloids from *Erythrina latissima* Seeds. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 871-873.
75. Macchioni, F.; Cioni, P. L.; Flamini, G.; Morelli, I.; Perrucci, S.; Franceschi, A.; Macchioni, G.; Ceccarini, L. Acaricidal activity of pine essential oils and their main components against *Tyrophagus putrescentiae*, a stored food mite. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 4586-4588.
76. Koné, W. M.; Atindehou, K.; Terreaux, C.; Hostettmann, K.; Traoré, D.; Dosso, M. Traditional medicine in North Côte-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol.* **2004**, *93*, 43-49.
77. Morel, C. C.; Stermitz, F. R.; Tegos, G.; Lewis, K. Isoflavones as potentiators of antibacterial activity. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 5677-5679.

78. Erasto, P.; Bojase-Moleta, G.; Majinda, R. T. Antimicrobial and antioxidant flavonoids from the root wood of *Bolusanthus speciosus*. *Phytochemistry* **2004**, *65*, 875–880.
79. Torres, D.; Urefia L. D.; Ortega, E.; Capson, T. L.; Cubilla L. Five new cassane diterpenes from *Myrospermum frutescens* with activity against *Trypanosoma cruzi*. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 928-932.
80. Anam, E. M. Anti-inflammatory activity of compounds isolated from the aerial parts of *Abrus precatorius* (Fabaceae). *Phytomedicine* **2001**, *8*, 24-27.
81. Svetaz L., Tapia, A.; Loă, S.; Furlaă, R. L.; Petenatti, E.; Pioli, R.; Schmeda, G.; Zacchino, S.; Antifungal chalcones and new caffeic acid esters from *Zuccagnia punctata* acting against soybean infecting fungi. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 3297-3300.
82. Pacher, T.; Seger, C.; Engelmeier, D.; Vajrodaya, S.; Hofer, O.; Greger, H. Antifungal stilbenoids from *Stemona collinsae*. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 820-827.
83. Prasad, N. R.; Anandi, C.; Balasubramanian, S.; Pugalendi, K. V. Antidermatophytic activity of extracts from *Psoralea corylifolia* (Fabaceae) correlated with the presence of a flavonoid compound. *J. Ethnopharmacol.* **2004**, *91*, 21–24.
84. Jiang, R. W.; Ma, S. C.; Pui-Hay, P. B.; Mak, T. C. New antiviral cassane furanoditerpenes from *Caesalpinia minax*. *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 1266-1272.
85. Muhammad, I.; Li, X. C.; Dunbar, C.; Elsohly, M. A.; Khan, I. A. Antimalarial (+)-*trans*-hexahydrodibenzopyran derivatives from *Machaerium multiflorum*. *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 1322-1325.
86. Karou, D.; Dicko, M. H.; Sanon, S.; Simpore, J.; Traore, A. S. Antimalarial activity of *Sida acuta* Burm. f. (Malvaceae) and *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). *J. Ethnopharmacol.* **2003**, *89*, 291–294.
87. Kumar Kar, P.; Tandon, V.; Saha, N. Anthelmintic efficacy of genistein, the active principle of *Flemingia vestita* (Fabaceae): alterations in the free amino acid pool and ammonia levels in the fluke, *Fasciolopsis buski*. *Parasitol. Int.* **2004**, *in press*.

88. Tandon, V.; Das B.; Saha N. Anthelmintic efficacy of *Flemingia vestita* (Fabaceae): effect of genistein on glycogen metabolism in the cestode, *Raillietina echinobothrida*. *Parasitol. Int.* **2003**, *52*, 179–183.
89. Gonzalez, F. G.; Portela, T. Y.; Stipp, E. J.; Di Stasi, L. C. Antiulcerogenic and analgesic effects of *Maytenus aquifolium*, *Sorocea bomplandii* and *Zolernia ilicifolia*. *J. Ethnopharmacol.* **2001**, *77*, 41–47.
90. Manfredia, K. P.; Vallurupallia, V.; Demidovaa, M.; Kindscherb, K.; Pannell, L. K. Isolation of an anti-HIV diprenylated bibenzyl from *Glycyrrhiza lepidota*. *Phytochemistry* **2001**, *58*, 153–157.
91. Madar Z.; Stark, A. New legume sources as therapeutic agents. *Brit. J. Nutr.* **2002**, *88*, S287.
92. Kunth, *Nov. Gen. Sp.* (quarto ed.), **1823** [1824], 6: 489-491, http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search_vast.
93. Pennell, F. W. *Eysenhardtia*, en: P. A. Rydberg, Fabaceae-Psoraleae, *N. Amer. Fl.*, **1919**, *24*, 34-40, http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search_vast.
94. Dominguez, X. A.; Franco, F.; Diaz Y. Mexican medicinal plants. XXXIV. Rotenoids and a fluorescent compound from *Eysenhardtia polystachya*. *Rev. Latinoamer. Quím.* **1978**, *9*, 209-211.
95. Beltrami, E.; Bernardi de, M.; Fronza, G.; Mellerio, G.; Vidari, G.; Vita-Finzi, P.; Coatline A and B, two C-glucosyl- α -hydroxydihydrochalcones from *Eysenhardtia polystachya*. *Phytochemistry* **1982**, *21*, 2931-2933.
96. Burns, D. T.; Dalgarno, B. G.; Gargan, P. E.; Grimshaw, J. An isoflavone and a coumestan from *Eysenhardtia polystachya*-Robert Boyle's fluorescent acid-base indicator. *Phytochemistry* **1984**, *23*, 167-169.
97. Álvarez, L.; Ríos, M. Y., Esquivel, C.; Chávez, M. I.; Delgado, G.; Aguilar, M. I.; Villarreal, M. L.; Navarro, V. Cytotoxic Isoflavans from *Eysenhardtia polystachya*, *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 767-770.
98. Álvarez, L.; Delgado, G. C- and O-glycosyl- α -hydroxydihydrochalcones from *Eysenhardtia polystachya*. *Phytochemistry* **1999**, *50*, 681-687.

99. Wachter, G.; Hoffmann, J. J.; Furbacher, T.; Blake, M. E.; Timmermann, B. N. Antibacterial and antifungal flavanones from *Eysenhardtia texana*. *Phytochemistry* **1999**, *52*, 1469-1471.
100. Hoffmann, J. J.; Wachter, G.; Gutterman, J. U. Antibacterial and antifungal flavanones from *Eysenhardtia texana*, PCT Int. Appl., International Application Published Under The patent Cooperation Treaty. **2000**, 25 pp.
101. Chika, K.; Tetsuji, H.; Hiroshi, F.; Nobuyoshi, K. Agents for inhibiting or restoring skin damage caused by drying and method of evaluating the same, PCT Int. Appl. **2002**, 60 pp.
102. Chika, K.; Junko, N.; Hiroshi, F.; Tetsuji, H. Herbal extracts for prevention and restoration of the skin injury from drying, Jpn. Kokai Tokkyo Koho **2002**, 8 pp.
103. Zimmet, P.; Alberti, M.; Shaw, J. Global and societal implications of the diabetes epidemic, *Nature* **2001**, *414*, 782-787.
104. American Diabetes Association, Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* **2004**, *27*, S5-S10.
105. Ross, S. A.; Gulve, E. A.; Wang, M. Chemistry and biochemistry of type 2 Diabetes. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1255-1282.
106. American Diabetes Association, Standards of medical care in Diabetes. *Diabetes Care* **2004**, *27*, S15-S35.
107. Feinglos, M. N.; Bethel, M. A.; Oral agent therapy in the treatment of type Diabetes. *Diabetes Care* **1999**, *22*(S3), C61-C64.
108. Bailey, C. J. Biguanides and NIDDM, *Diabetes Care* **1992**, *15*, 755-772.
109. Barnett, D.; Craig, J. G.; Robinson, D. S.; Rogers, M. P. Effect of clofibrate on glucose tolerance in maturity onset diabetes. *Brit. J. Clin. Pharmacol.* **1977**, *4*, 455-458.
110. Clissold, S. P.; Stephen, P.; Edwards, C. Acarbose. A preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential. *Drugs* **1988**, *35*, 214-243.
111. Johnston, P. S.; Feig, P. U.; Coniff, R. F.; Krol, A.; Kelley, D.; Mooradian, A. Chronic treatment of African-American type 2 diabetic patients with α -Glucosidase Inhibition. *Diabetes Care* **1998**, *21*, 416-422.

112. Alarcón, F. J.; Román, R.; Pérez, S.; Aguilar, A.; Contreras, C.; Flores, J. L. Study of the anti-hyperglycaemic effect of plantas used as antidiabetics. *J. Ethnopharmacol.* **1998**, *61*, 101-110.
113. Aguilar, C. A.; Xolalpa, M. S. La herbolaria mexicana en el tratamiento de la diabetes. *Ciencia* **2002**, *53*, 24-35.
114. Andrade, A.; Wiedenfeld, H. Hypoglycemic effect of *Acosmium panamense* bark on streptozotocin diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* **2004**, *90*, 217-220.
115. Fort, D. M.; Rao, K.; Jolad, S. D.; Luo, J.; Carlson, T. J.; King, S. R. Antihyperglycemic activity of *Teramnus labialis* (Fabaceae). *Phytomedicine* **2000**, *6*, 465-467.
116. Silva da, K. L.; Biavatti, M. W.; Leite, S. N.; Yunes, R. A.; Delle, F.; Cechinel, V. Phytochemical and pharmacognosic investigation of *Bauhinia forficata* Link (Leguminosae). *J. Biosciences* **2000**, *55*, 478-480.
117. Sousa de, E.; Zanatta, L.; Seifriz, I.; Creczynski, T.; Pizzolatti, M.; Szpoganicz, B.; Mena F., Hypoglycemic effect and antioxidant potential of kaempferol-3,7-O-(α)-dirhamnoside from *Bauhinia forficata* leaves. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 829-832.
118. Nojima, H.; Kimura, I.; Chen, F.; Sugihara, Y.; Haruno, M. Antihyperglycemic effects of N-containing sugars from *Xanthocercis zambesiaca*, *Morus bombycis*, *Aglaonema treubii*, and *Castanospermum australe* in streptozotocin-diabetic mice. *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 397-400.
119. Hsu, F. L.; Liu, I. M.; Kuo, D. H.; Chen, W. C.; Su, H. C.; Cheng, J. T. Antihyperglycemic effect of puerarin in streptozotocin-induced diabetic rats, *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 788-792.
120. Abdel, O. B.; Abdel H.; Halim, A. F.; Murakoshi, I. Comparative chemical and biological studies of the alkaloidal content of *Lygos* species and varieties growing in Egypt. *Acta Pharmac. Hungarica*, **1997**, *67*, 241-247.
121. Banthorpe, D. V. Terpenoids, en: Mann, J.; Davidson, R.; Hobbs, J.; Banthorpe, D. V.; Harborne, J. B. Natural Products: Their Chemistry and Biological significance. Longman Group, England, 1st Edition, **1994**, pp. 289-358.

122. Manitto, P. Biosynthesis of natural products, Ellis Horwood Limited, England. 1st Edition, **1981**, pp. 266-286.
123. Nakanishi, K.; Goto, T.; Ito, S.; Natori, S.; Nozoe, S. Natural Products Chemistry, Vol.1, Academic Press, Inc., **1974**, pp. 314-316.
124. Mahato, S. B.; Nandy, A. K.; Roy, G.; Triterpenoids. *Phytochemistry* **1992**, *31*, 2199-2249.
125. Ling, H. C.; King, M. L.; Chen, C. F.; Hsu, K. P., Su, M. H.; Lin, M. H. Anticancer effects of nine triterpenol derivatives on human cancer cells. *Zhonghua Yixue Zazhi* **1982**, *29*, 308-315.
126. Nishino, H.; Nishino, A.; Takayasu, J.; Hasegawa, T.; Iwashima, A.; Hirabayashi, K.; Iwata, S.; Shibata, S. Inhibition of the tumor-promoting action of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate by some oleanane-type triterpenoid compounds. *Cancer Research* **1988**, *48*, 5210-5215.
127. Lee, K. H.; Lin, Y. M.; Wu, T. S.; Zhang, D. C.; Yamagishi, T.; Hayashi, T.; Hall, I. H.; Chang, J. J.; Wu, R. Y.; Yang, T. H.; The cytotoxic principles of *Prunella vulgaris*, *Psychotria serpens*, and *Hyptis capitata*: ursolic acid and related derivatives. *Planta Med.* **1988**, *54*, 308-311.
128. Yamagishi, T.; Zhang, D. C.; Chang, J. J.; McPhail, D. R.; McPhail, A. T.; Lee, K. H. Antitumor agents. Part 94. The cytotoxic principles of *Hyptis capitata* and the structures of the new triterpenes hyptatic acid A and B. *Phytochemistry* **1988**, *27*, 3213-3216.
129. Wani, M. C.; Schaumberg, J. P.; Taylor, H. L.; Thompson, J. B.; Wall, M. E. Plant antitumor agents, 19. Novel triterpenes from *Maprounea africana*. *J. Nat. Prod.* **1983**, *46*, 537-543.
130. Cao, S.; Guza, R. C.; Miller, J. S. Andriantsiferana, R.; Rasamison, V. E.; Kingston, D. G. Cytotoxic Triterpenoids from *Acridocarpus vivy* from the Madagascar rain forest. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 986-989.
131. Mutai, C.; Abatis D., Vagias, C.; Moreau, D.; Roussakis, C.; Roussis, V. Cytotoxic lupane-type triterpenoids from *Acacia mellifera*. *Phytochemistry* **2004**, *65*, 1159-1164.

132. Prakash, V. S.; Schilling, J. K.; Miller, J. S.; Andriantsiferana, R.; Rasamison, V. E.; Kingston, D. New cytotoxic terpenoids from the wood of *Vepris punctata* from the Madagascar rainforest. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 895-898.
133. Setzer, W. N.; Setzer, M. C. Plant-derived triterpenoids as potential antineoplastic agents. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2003**, *3*, 540-556.
134. Poumaroux, B. A.; Nour, M.; Tan, K.; Mitaine-Offer, A. C.; Lacaille-Dubois, M. A.; Chauffert, B.; Cave, C. New ursolic and betulinic derivatives as potential cytotoxic agents, *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.* **2003**, *18*, 111-117.
135. Armanini, D.; Karbowski, I.; Krozowski, Z.; Funder, J. W.; Adam, W. R. The mechanism of mineralocorticoid action of carbenoxolone. *Endocrinology* **1982**, *111*, 1683-1686.
136. Rask-Madsen, J.; Bukhave, K.; Madsen, P. E.; Bekker, C. Effect of carbenoxolone on gastric prostaglandin E2 levels in patients with peptic ulcer disease following vagal and pentagastrin stimulation. *Eur. J. Clin. Invest.* **1983**, *13*, 351-356.
137. Komoda, Y.; Shimizu, M.; Sonoda, Y.; Sato, Y. Ganoderic acid and its derivatives as cholesterol synthesis inhibitors. *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 531-533.
138. Sato, Y.; Sonoda, Y. Effects of lanosterol analogs on cholesterol biosynthesis from lanosterol. *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, *29*, 2604-2609.
139. Inoue, H.; Mori, T.; Shibata, S.; Koshihara, Y. Inhibitory effect of glycyrrhetic acid derivatives on arachidonic acid-induced mouse ear oedema. *J. Pharm. Pharmacol.* **1988**, *40*, 272-277.
140. Inoue, H.; Mori, T.; Shibata, S.; Koshihara, Y. Modulation by glycyrrhetic acid derivatives of TPA-induced mouse ear oedema. *Brit. J. Pharmacol.* **1989**, *96*, 204-210.
141. Yesilada, E.; Tanaka, S.; Sezik, E.; Tabata, M. Isolation of an anti-inflammatory principle from the fruit juice of *Ecballium elaterium*. *J. Nat. Prod.* **1988**, *51*, 504-508.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

142. Scholz, D.; Baumann, K.; Grassberger, M.; Wolff-Winiski, B.; Rihs, G.; Walter, H.; Meingassner, J. G. Synthesis of dammarane-type triterpenoids with anti-inflammatory activity in vivo. *Bioor. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 2983-2986.
143. Koul, S.; Razdan, T. K.; Andotra, C. S. Acinospesigenin-A, -B, and -C: three new triterpenoids from *Phytolacca acinosa*. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1121-1123.
144. Singh, S.; Bani, S.; Singh, G. B.; Gupta, B. D.; Banerjee, S. K.; Singh, B. Anti-inflammatory activity of lupeol. *Fitoterapia* **1997**, *68*, 9-16.
145. Ma, X. H.; Zhao, Y. C.; Yin, L.; Han, D. W.; Ji, C. X. Studies on the effect of oleanolic acid on experimental liver injury. *Acta Pharm. Sinica* **1982**, *17*, 93-97.
146. Poehland, B. L.; Carte, B. K.; Francis, T. A.; Hyland, I. J.; Allaudeen, H. S.; Troupe, N. In vitro antiviral activity of dammar resin triterpenoids. *J. Nat. Prod.* **1987**, *50*, 706-713.
147. Filczewski, M.; Kosmala, M.; Oledska, K. Cardiovascular action of a new carbenoxolone derivative. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* **1988**, *40*, 233-239.
148. Prokofeva, N. G.; Anisimov, M. M.; Shentsova, E. B.; Pokhilo, N. D. The hemolytic activity of epoxydammarane triterpenoids. *Planta Medica* **2004**, *70*, 476-478.
149. Torres-Santos, E. C.; Lopes, D.; Rodrigues, R.; Carauta, J. P.; Bandeira, C. A.; Kaplan, M.; Rossi-Bergmann, B. Antileishmanial activity of isolated triterpenoids from *Pourouma guianensis*. *Phytomedicine* **2004**, *11*, 114-120.
150. Miura, T.; Itoh, Y.; Kato, A.; Seino, Y. Hypoglycemic activity and structure-activity relationship of glycosides. *Suzuka Iryo Kagaku Daigaku Kiyō*, **2003**, *10*, 3-7.
151. Courtois, J. E.; Percheron, F. Distribution des Monosaccharides, Oligosaccharides et Polyols en: Harborne, J. B.; Boulter, D.; Turner, B. L. Chemotaxonomy of the Leguminosae. Academic Press, London and New York, **1971**, pp.207-229.

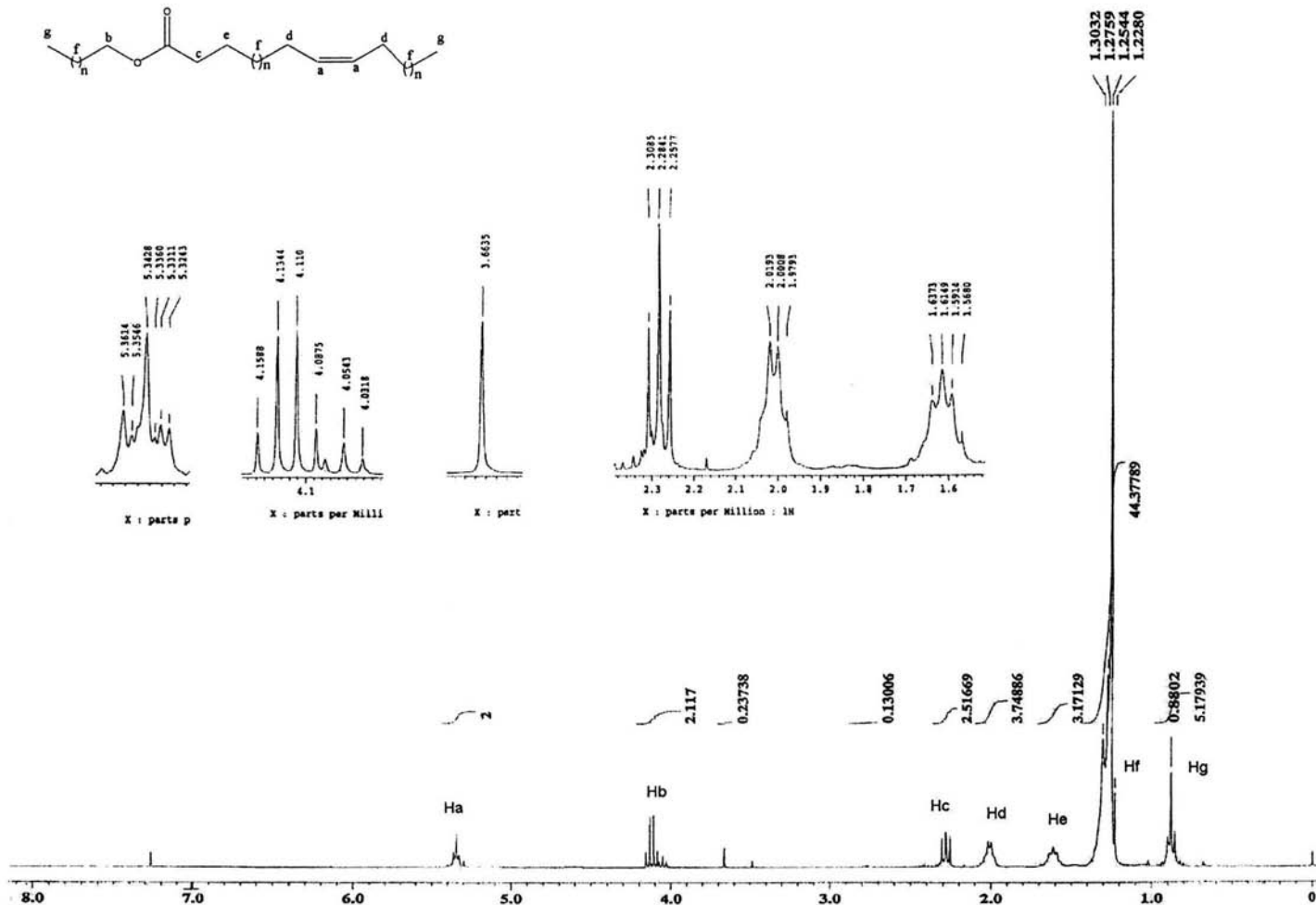
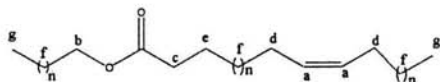
152. Takahashi, H.; Kittaka, H.; Ikegami, S. Novel synthesis of enantiomerically pure natural inositols and their diastereoisomers. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2705-2716.
153. Kwon, Y.; Lee, C.; Chung, S. Facile syntheses of all possible diastereomers of conduritol and various derivatives of inositol stereoisomers in high enantiopurity from *myo*-Inositol. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3327-3338.
154. Anderson, A. B.; MacDonald, D. L.; Fischer, H. O. L. The Structure of Pinitol. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 1479-1480.
155. IUPAC Commission on the Nomenclature of Organic Chemistry (CNOC) and IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (CBN). Nomenclature of cyclitols. Recommendations, 1973, *Biochem. J.*, **1976**, *153*, 23-31.
156. Calle, J.; Rivera A.; Joseph-Nathan, P. Pinitol from the leaves of *Gliricidia sepium*. *Planta medica* **1987**, *53*, 303.
157. Marais, J.; Mueller-Harvey, I.; Vicent, E.; Ferreira, D. Polyphenols, condensed tannins, and other natural products in *Onobrychis viciifolia* (Sainfoin). *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 3440-3447.
158. Pistelli, L.; Giachi, I.; Potenza, D.; Morelli, I. A new isoflavone from *Genista corsica*. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 504-506.
159. Rendig, V. V.; McComb, E. A. Pinitol (5-O-methyl-D-inositol) as a constituent of *Medicago sativa*. *Arch. Biochem. Biophys.* **1962**, *96*, 455-456.
160. Sanz, M. L.; Sanz J.; Martinez-Castro, I. Presence of some cyclitols in honey. *Food Chem.* **2004**, *84*, 133-135.
161. Carless, H.; Billinge J.; Oak, O. Z. Photochemical routes from arenes to inositol intermediates: The photo-oxidation of substituted *cis*-cyclohexa-3,5-diene-1,2-diols. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 3113-3116.
162. Hudlicky, T.; Price, J. D.; Rulin, F.; Tsunoda T. Efficient and enantiodivergent synthesis of (+)- and (-)-Pinitol. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 9439-9440.
163. Ley, S. V.; Sternfeld, F. Microbial oxidation in synthesis: Preparation of (+)- and (-)-Pinitol from Benzene. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 3463-3476.
164. Numata, A.; Hokimoto, K.; Shimada, A.; Yamaguchi, H.; Takaishi, K. Plant constituents biologically active to insects. I. Feeding stimulants for the larvae

- of the yellow butterfly, *Eurema hecabe mandarina*. *Chem. Pharm. Bull.* **1979**, *27*, 602-608.
165. Dreyer, D.; Binder, R.; Chan, B.; Waiss, Jr, A.; Hartwig, E. E.; Beland, G. L. Pinitol, a larval growth inhibitor for *heliiothis zea* in soybeans. *Experientia* **1979**, *35*, 1182-1183.
166. Singh, R. K.; Pandey, B. L.; Tripathi, M.; Pandey, V. B. Anti-inflammatory effect of (+)-pinitol. *Fitoterapia* **2001**, *72*,168-170.
167. Narayanan, C. R.; Joshi, D.; Miyumdar, A. M.; Dhekne, V. Pinitol, a new anti-diabetic compound from the leaves of *Boungainvillea spectabilis*. *Curr. Sci.* **1987**, *56*, 139-141.
168. Bates, S. H.; Jones, R. B.; Bailey, C. J. Insulin-like effect of pinitol. *Brit. J. Pharmacol.* **2000**, *130*, 1944-1948.
169. Davis, A.; Christiansen, M.; Horowitz, J. F.; Klein, S.; Hellerstein, M. K.; Ostlund R. E. Effect of Pinitol treatment on insulin action in subjects with insulin resistance. *Diabetes Care* **2000**, *23*, 1000-1005.
170. Loewus, F. A.; Murthy, P. N. *myo*-Inositol metabolism in plants. *Plant Sci.* **2000**, *150*, 1-19.
171. Spies, J. R.; Drake, N. L. Two Constituents of *Parosela barbata* (Oerst.) Rydb. *J. Am. Chem. Soc.* **1932**, *54*, 2935-2938.
172. Legg, V. H.; Wheeler, R. V. Plant cuticles I. Modern plant cuticles. *J. Chem. Soc.* **1929**, 2444-2449.
173. Reynold, W. F.; Mclean, S.; Poplawski, J.; Enriquez, R. G.; Escobar, L. I.; Leon, I. Total assignment of ¹³C and ¹H spectra of three isomeric triterpenol derivatives by 2D NMR. *Tetrahedron* **1986**, *42*, 3419-3428.
174. Seger, C.; Jandl, B.; Brader, G.; Robien, W.; Hofer, O.; Greger, H. Case studies of CSEARH supported structure elucidation strategies: lupeol and a new germacrane derivative. *Fresen. J. Anal. Chem.* **1997**, *359*, 42-45.
175. Muheirn, L. J. Identification of C-24 alkylated steranes by P.M.R. spectroscopy. *Tetrahedron Lett.* **1973**, *14*, 3175-1378.

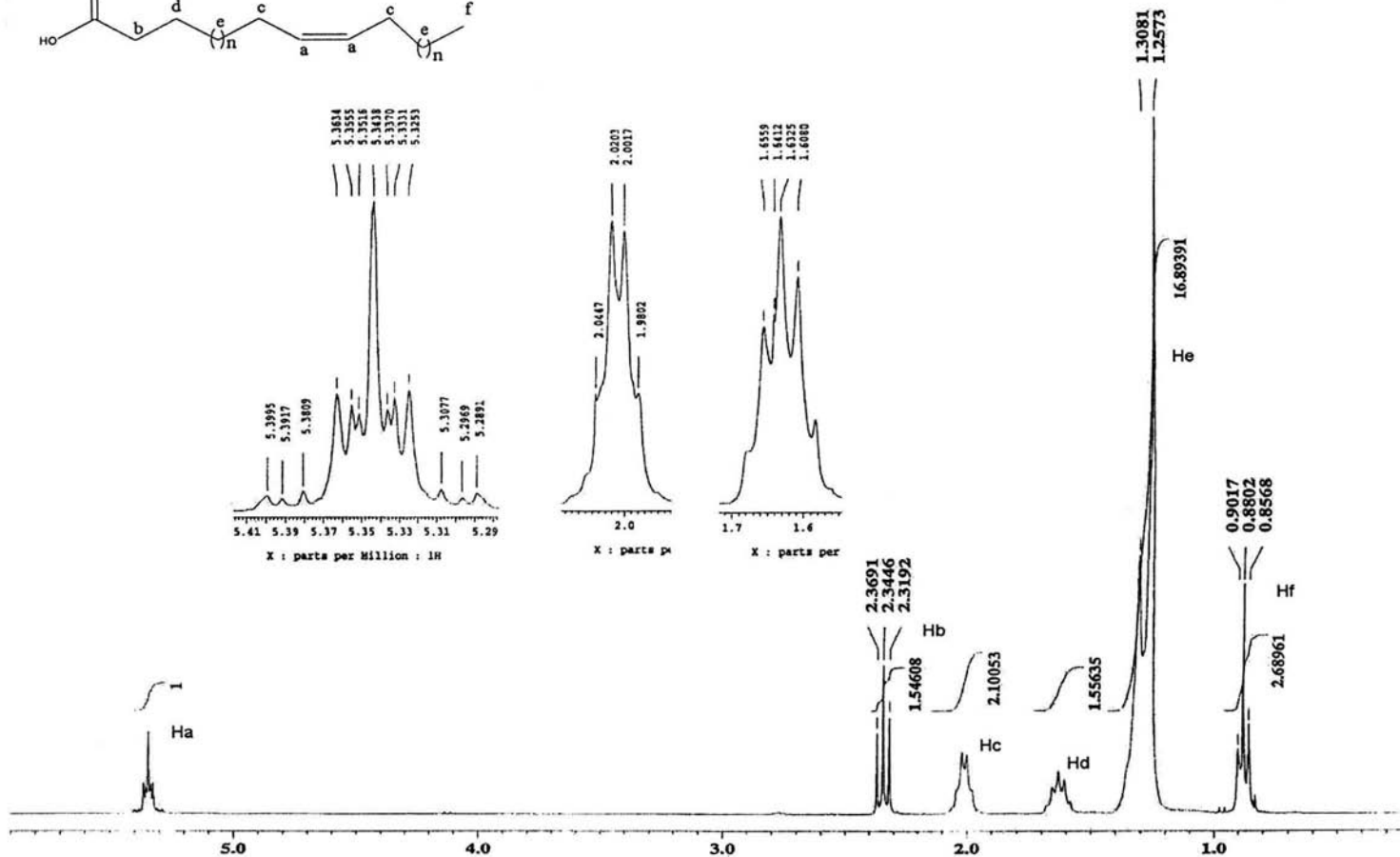
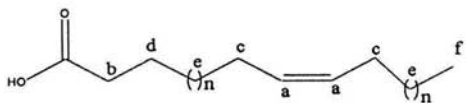
176. Siddiqui, S.; Hafeez, F.; Begum, S.; Siddiqui, B. S. Oleanderol, A New Pentacyclic Triterpene from the Leaves of *Nerium oleander*. *J. Nat. Prod.* **1988**, *51*, 229-233.
177. Magalhães, H.; Arndt, V. H. Triterpenoids isolated from *Machaerium incorruptibile*. *Phytochemistry* **1966**, *5*, 1237-1230.
178. Karliner, J.; Djerassi C. Mass Spectral and Nuclear Magnetic Resonance Studies of Pentacyclic Triterpene Hydrocarbons. *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 1945-1956.
179. Robinson, F. P.; Martel, H. Betulinic Acid from *Arbutus menziesii*. *Phytochemistry* **1970**, *9*, 907-909.
180. Ikuta, A.; Itokawa, H. Triterpenoids of *Paeonia japonica* callus tissue. *Phytochemistry* **1988**, *27*, 2813-2815.
181. Beher, W. T.; Parsons, J.; Baker, G. D. Comparative Value of X-Ray Diffraction and Infrared Spectrophotometry in Identifying Certain Sterols and their Digitonides. *Anal. Chem.* **1957**, *29*, 1147-1151.
182. Han, X. W., Yu, H.; Liu, X. M.; Bao, X.; Yu, B.; Li, C.; Hui, Y. Z. Complete ¹H and ¹³C NMR assignments of diosgenyl saponins. *Magn. Reson. Chem.* **1999**, *37*, 140-144.
183. Iribarren A. M.; Pomilio, A. B. Components of *Bauhinia candicans*. *J. Nat. Prod.* **1983**, *46*, 752-753.
184. Kallianos, A. G.; Shelbourne, F. A.; Means, R. E.; Stevens, R. K.; Lax, R. E.; Mold, J. D. Identification of the D-glucosides of stigmasterol, sitosterol, and campesterol in tobacco and cigaret smoke. *Biochem. J.* **1963**, *87*, 596-600.
185. Calle, J.; Rivera, A.; Joseph-Nathan, P. Pinitol from the leaves of *Gliricidia sepium*. *Planta Medica* **1987**, *53*, 503.
186. Mondal, D. N.; Barik, B. R.; Dey, A. K.; Kundu, A. B.; Banerji, A.; Maiti, S. The Structure and Stereochemistry of D(+)-Pinitol: Application of 2D-NMR Spectroscopy. *J. Indian Chem. Soc.* **1993**, *70*, 651-652.
187. Hart, J. B.; Kröger, L.; Falshaw, A.; Falshaw, R.; Farkas, E.; Thiemb, J.; Win, A. L. Enzyme-catalysed synthesis of galactosylated 1D- and 1L-*chiro*-inositol, 1D-pinitol, *myo*-inositol and selected derivatives using the β -galactosidase

- from the thermophile *Thermoanaerobacter* sp. strain TP6-B1. *Carbohydr. Res.* **2004**, 339, 1857-1871.
188. Dorman, D. E.; Angyal, S. J.; Roberts, J. D. Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. Carbon-13 Spectra of some Inositols and their O-Methylated Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 1351-1354.
 189. Bock, K.; Lemieux, R. U. The Conformational Properties of Sucrose in Aqueous Solution: Intramolecular Hydrogen-Bonding. *Carbohydr. Res.* **1982**, 100, 63-74.
 190. Narváez-Mastache, J.; Novillo, F.; Delgado, G. Resumen C051 Primera Reunión Nacional de Química de Productos Naturales. *Rev. Soc. Quím. Méx.* (Núm. Especial 1), **2004**, 48, 39. La actividad frente al DPPH fue realizada por el M. en C. José. M. Narváez-Mastache.
 191. Ogihara, K.; Higa, M.; Hokama, K.; Suga, T. Triterpenes from the leaves of *Parsonsia laevigata*. *Phytochemistry* **1987**, 26, 783-785.
 192. Lee, L. S.; Morris, N. J. Isolation and Identification of Pinitol from Peanut Flour. *J. Agr. Food Chem.* **1963**, 11, 321-322.
 193. Pietet, A. Sur la synthèse du saccharose. *Helv. Chim. Acta* **1933**, 16, 144-148.

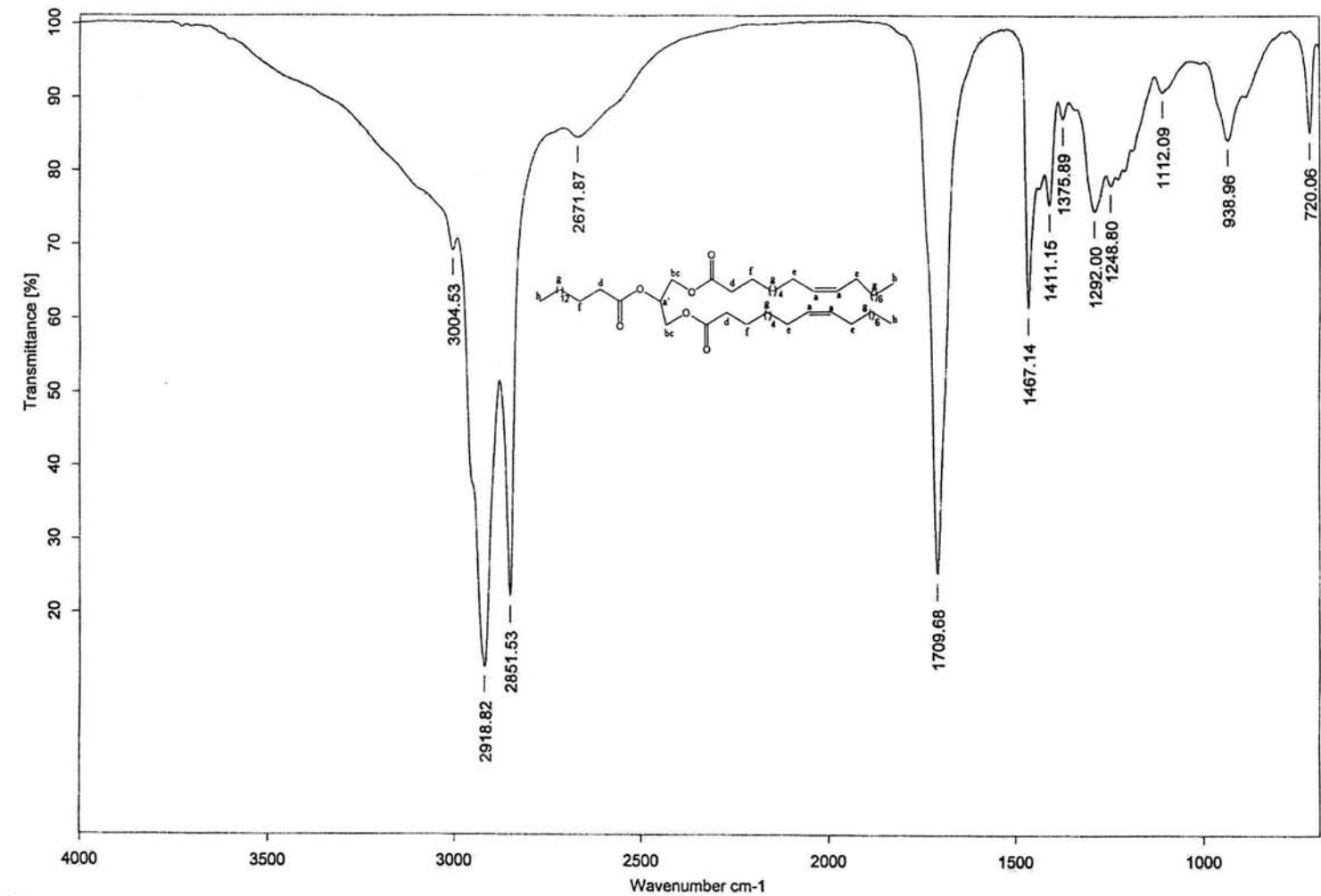
ESPECTROS



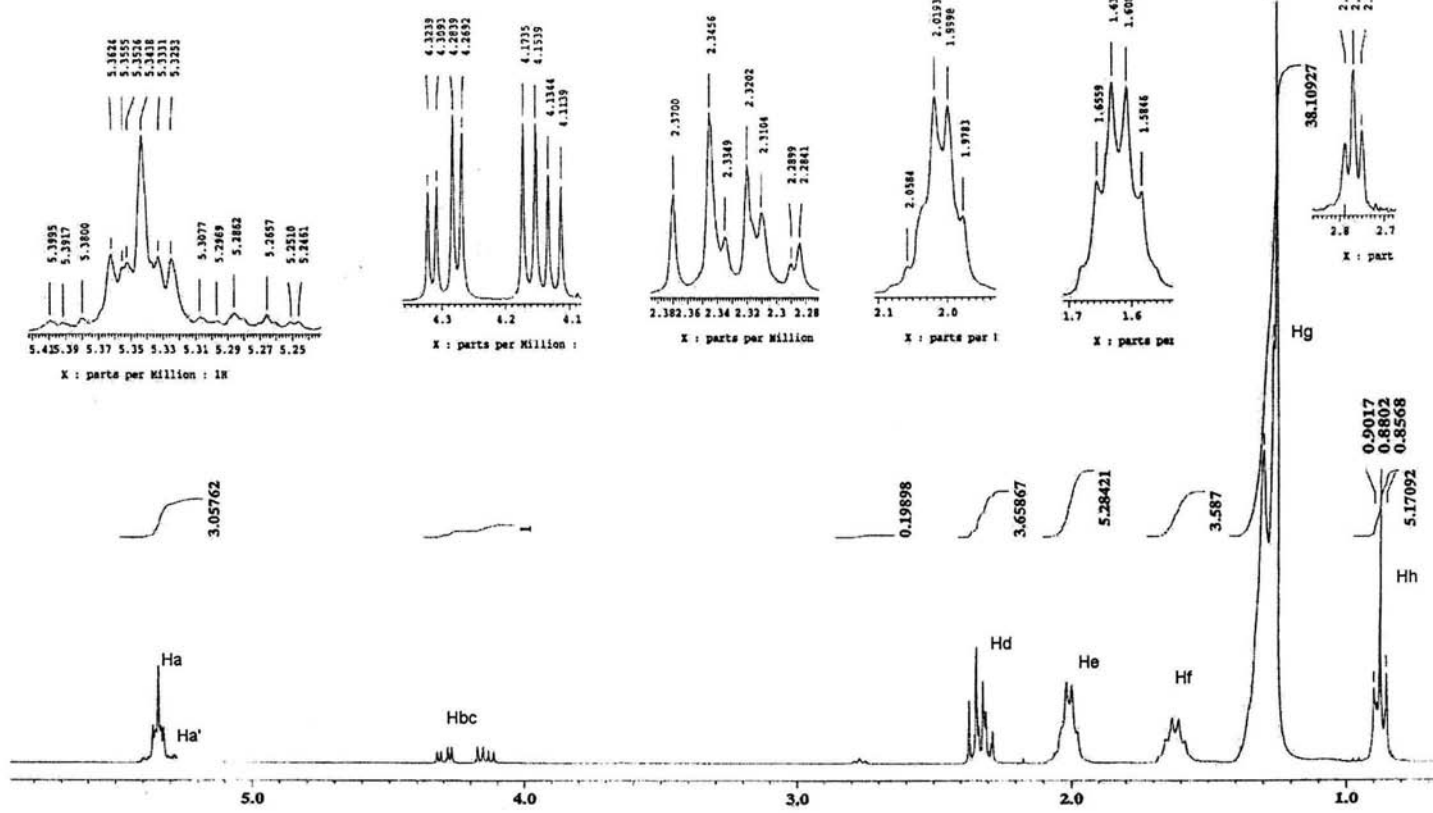
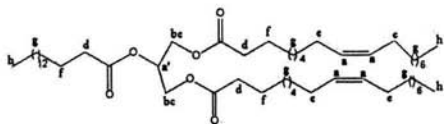
Espectro 1. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de un ester de ácido graso insaturado (49)



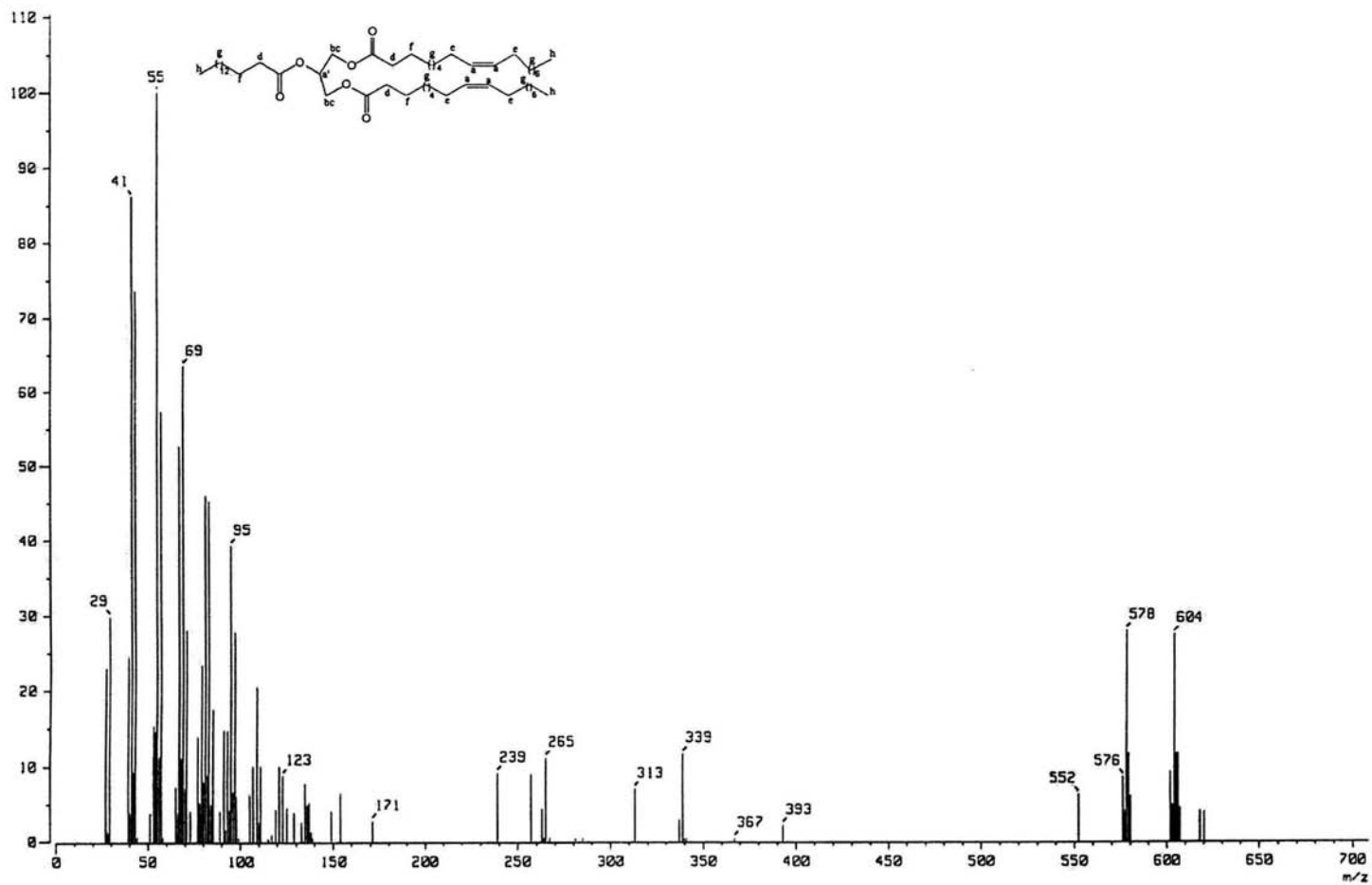
Espectro 2. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de un ácido graso insaturado (50)



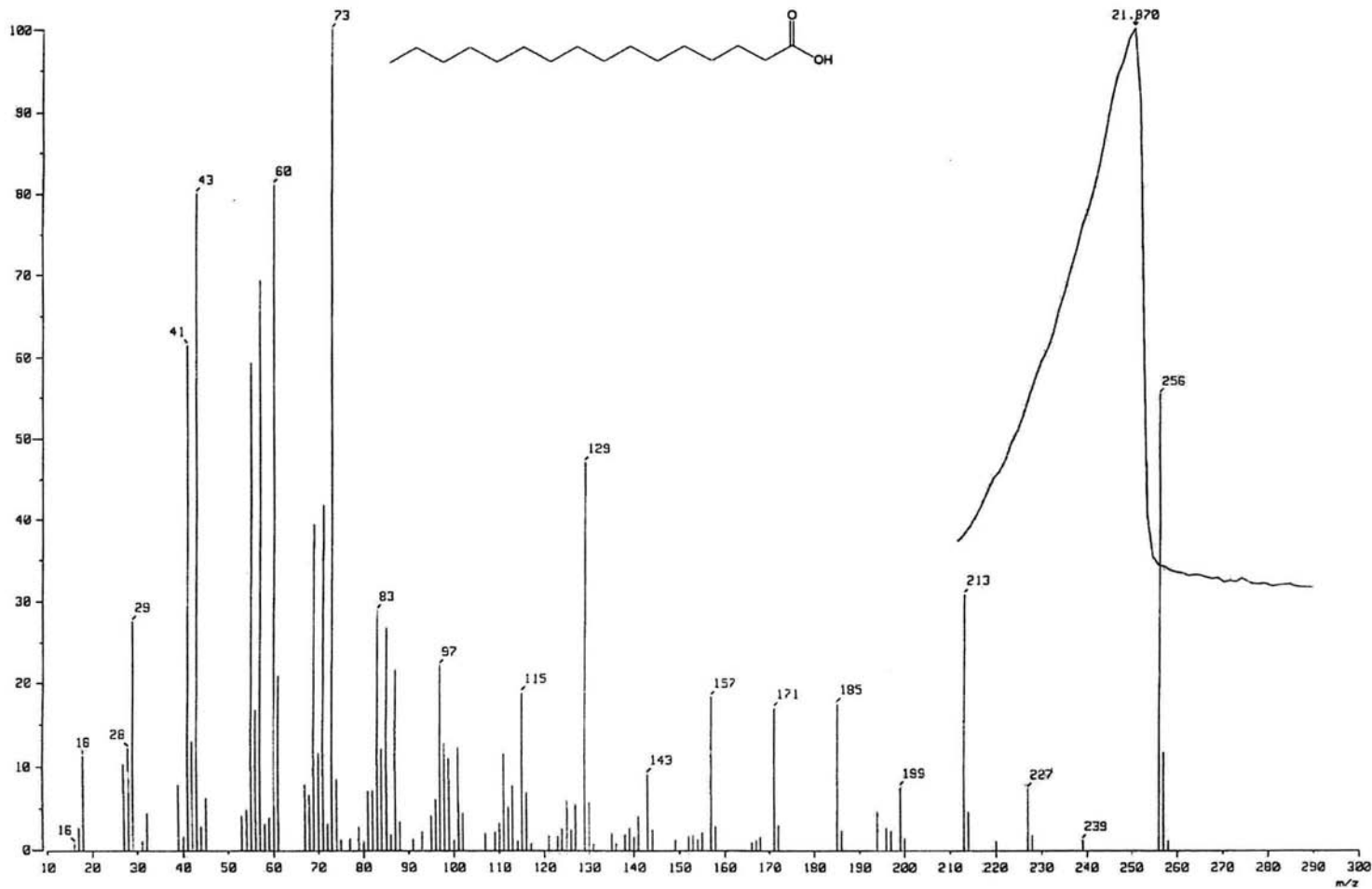
Espectro 3. IR (CHCl₃) de un triacilglicérido B (51)



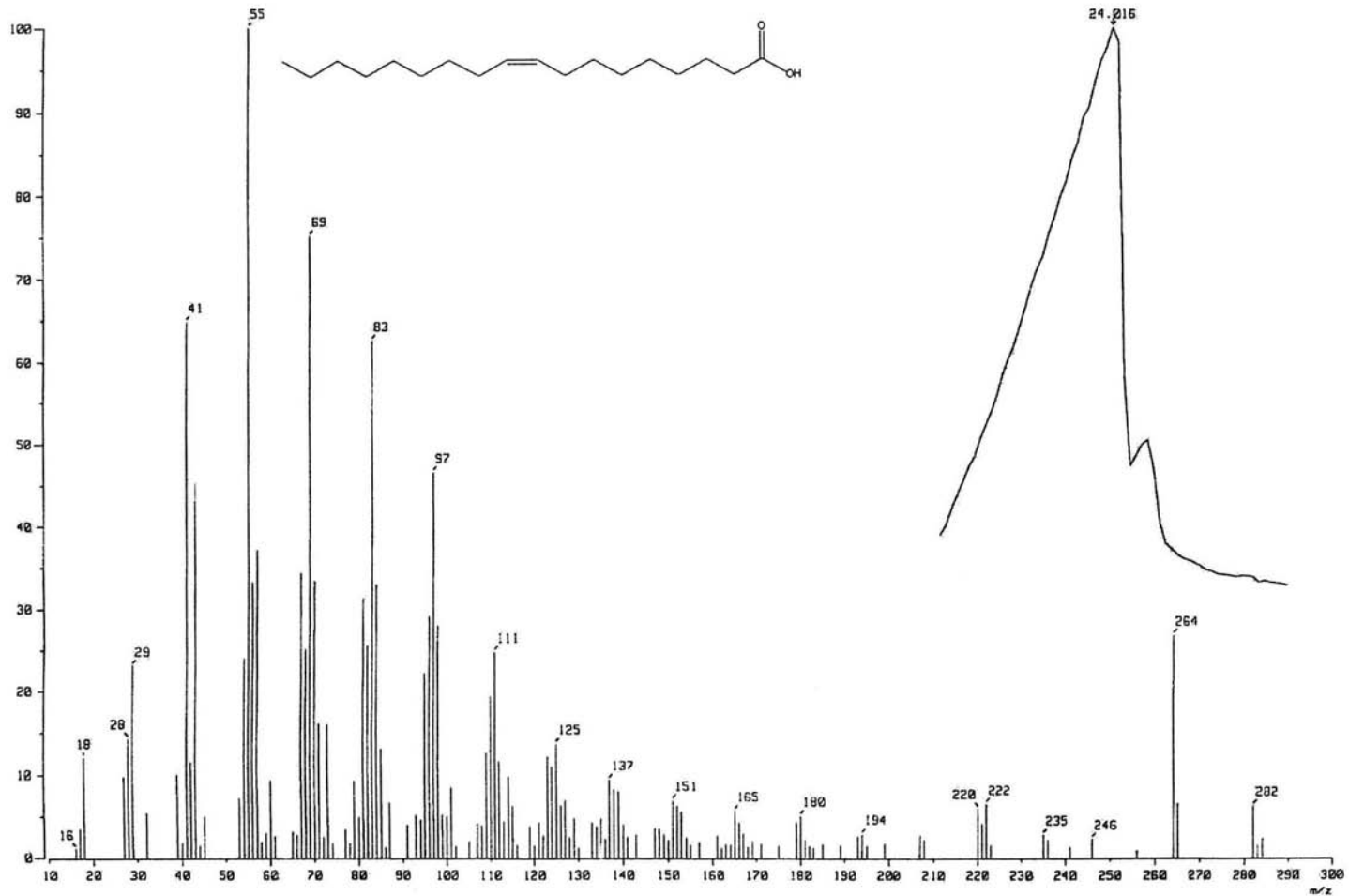
Espectro 4. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) de un triacilglicérido B (51)

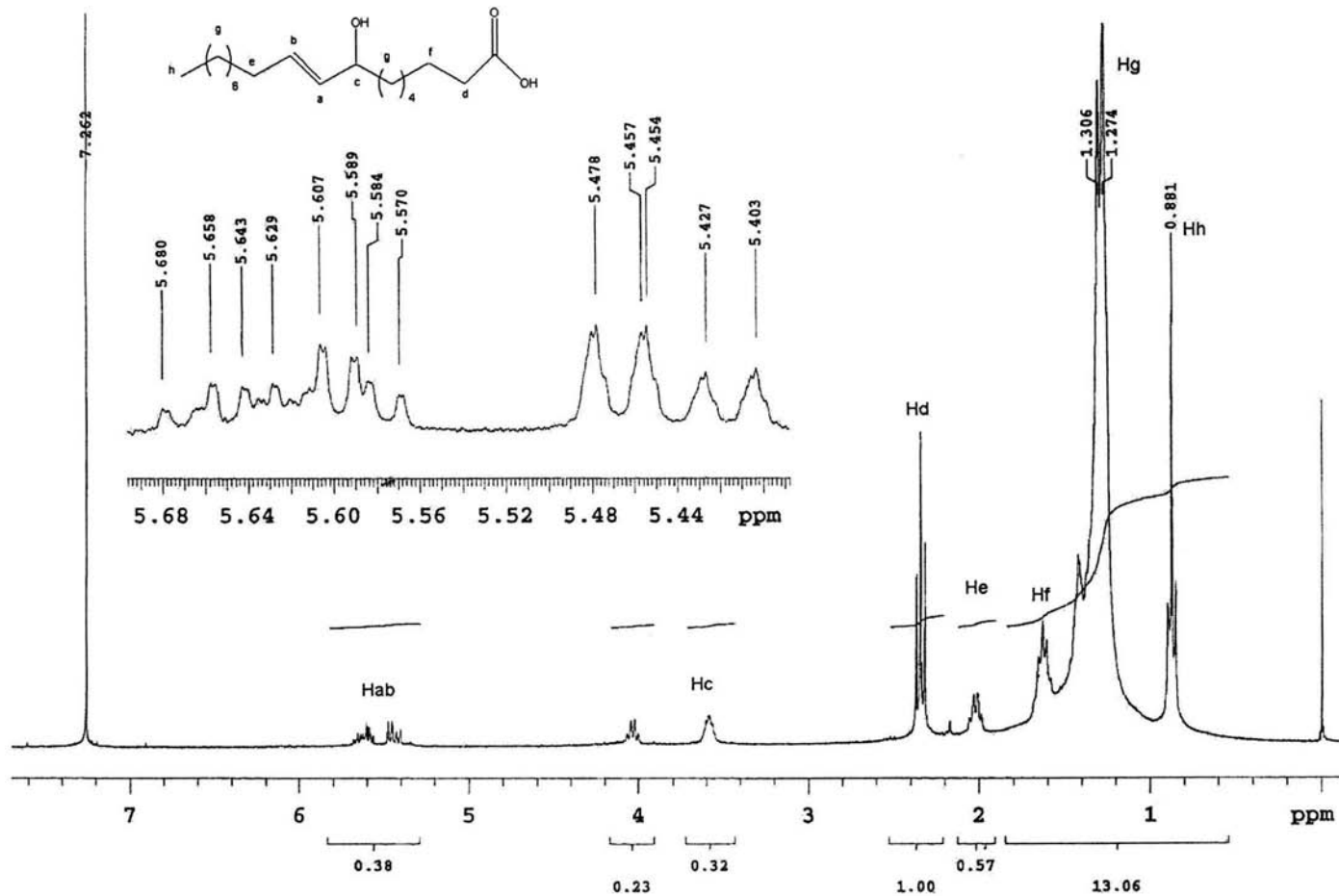


Espectro 5. EM (FAB⁺, 70eV) de un triacilglicérido B (51)

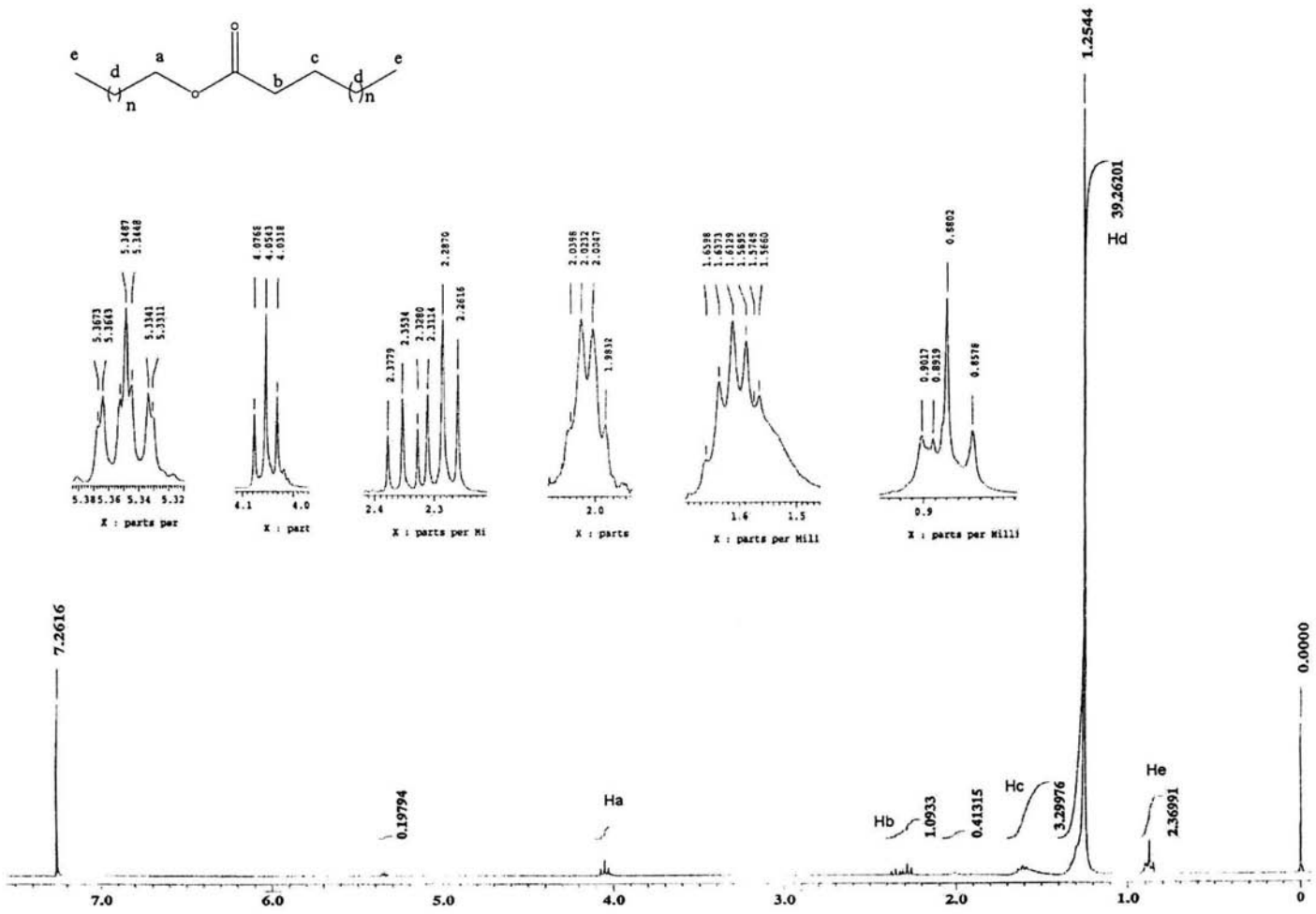
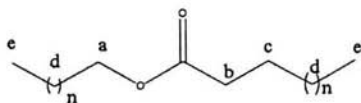


Espectro 6. GC-EM (EI^+ , 70eV) de ácido palmítico

Espectro 7. GC-EM (EI⁺, 70eV) de ácido oléico

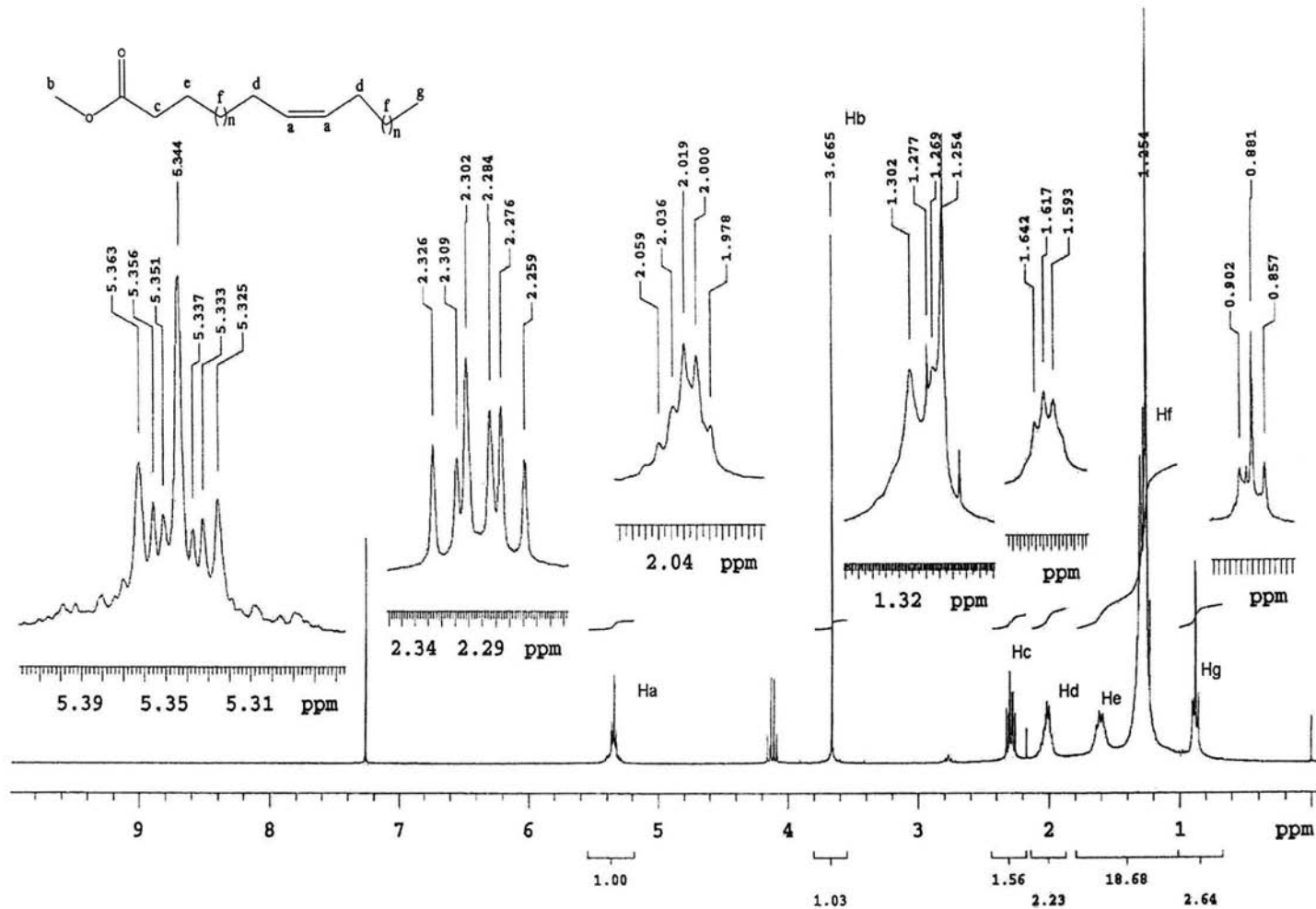


Espectro 8. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) de ácido 8-hidroxi-9E-octadecenóico (52)

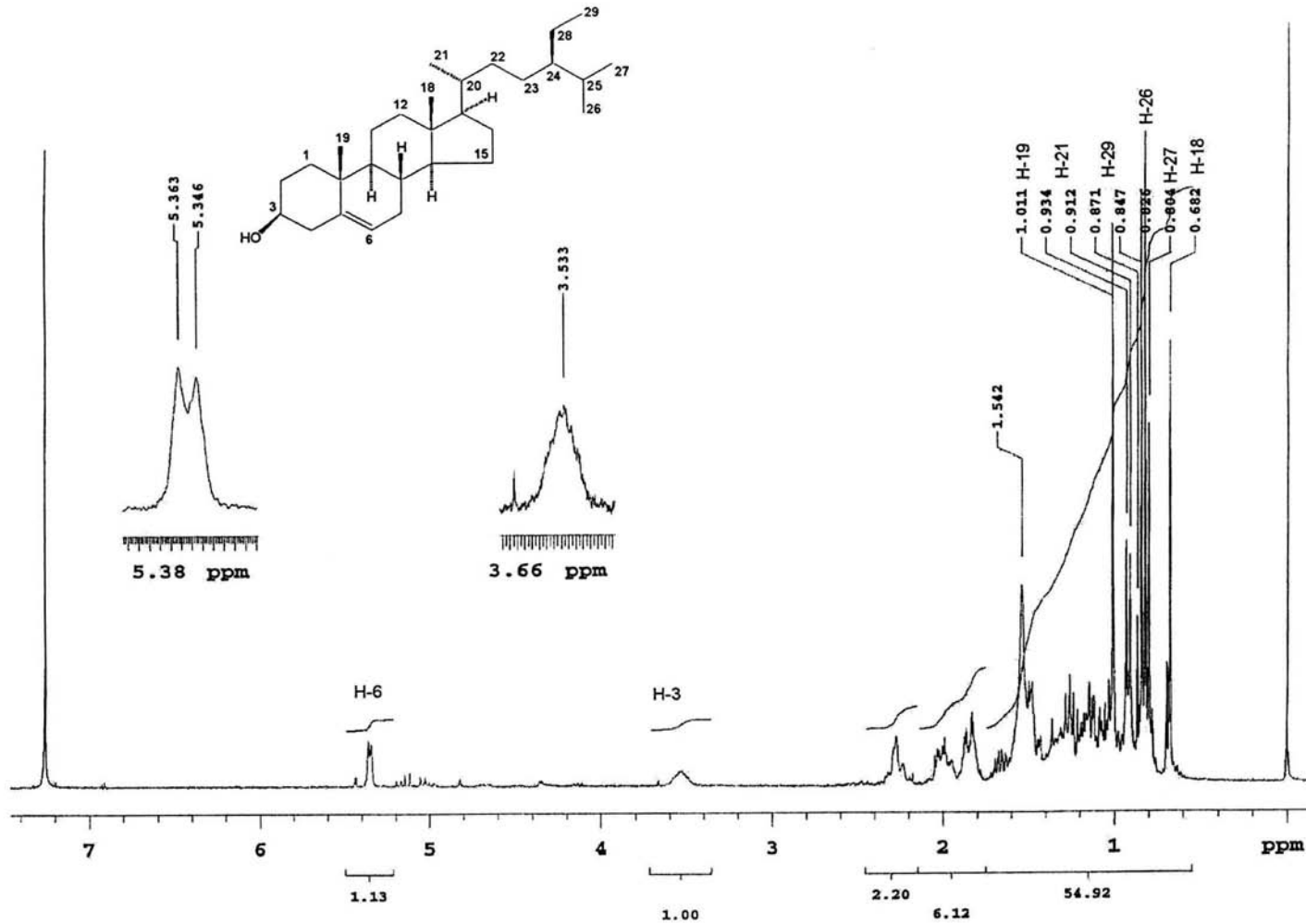


36

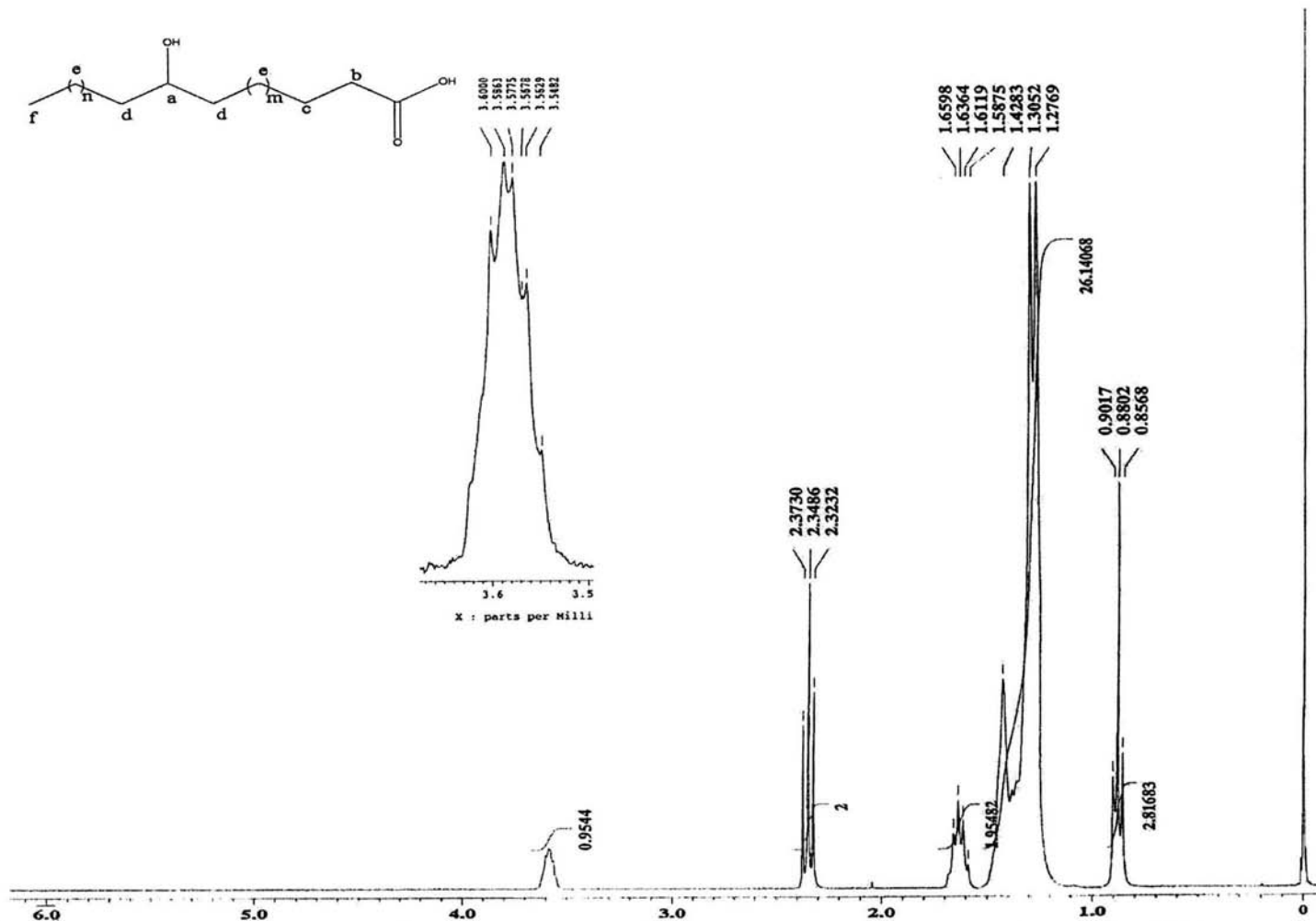
Espectro 9. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de un ester de un ácido graso saturado (53)



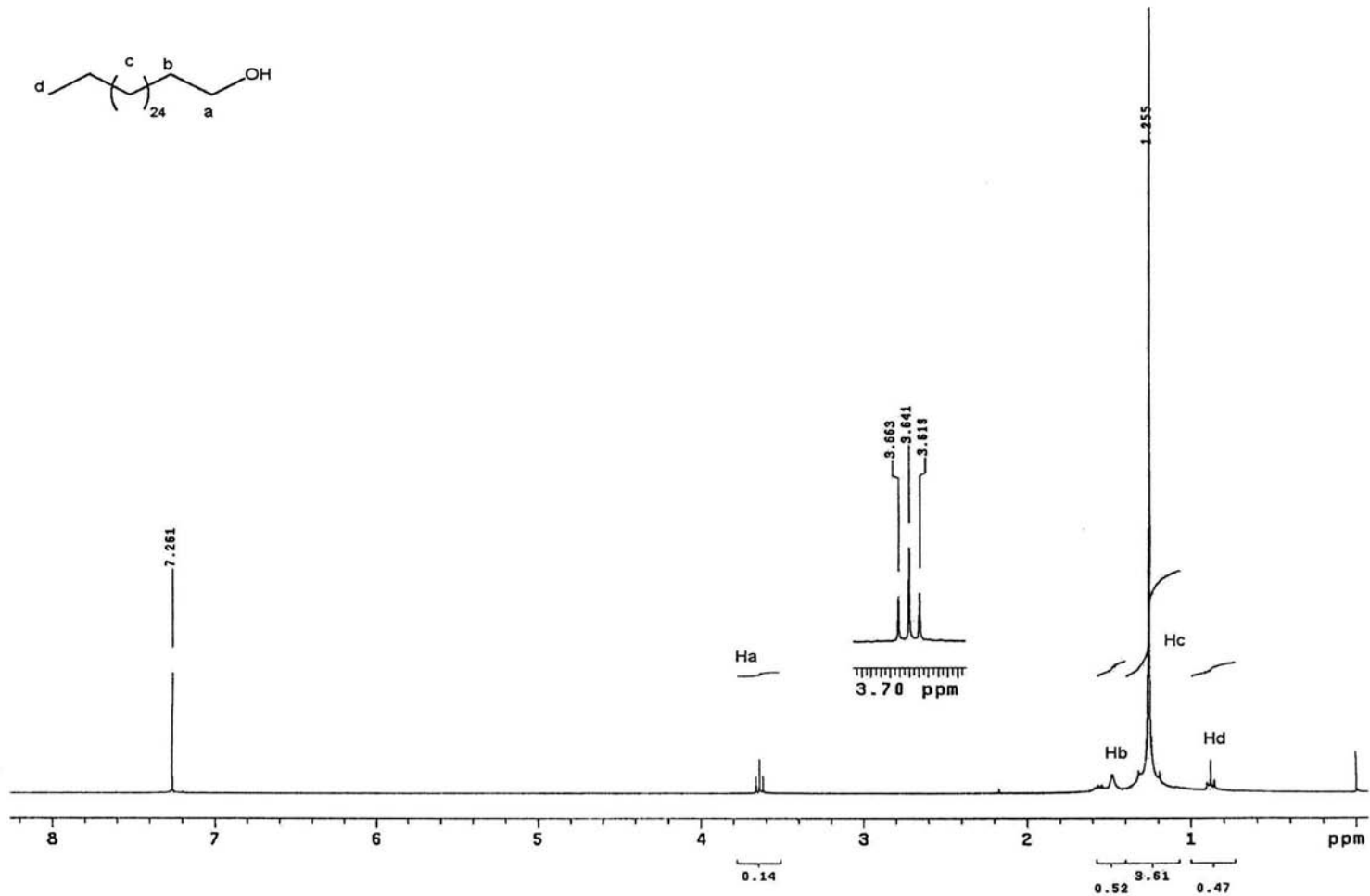
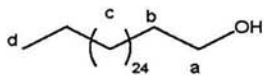
Espectro 10. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) del ester metílico de un ácido graso insaturado (54)



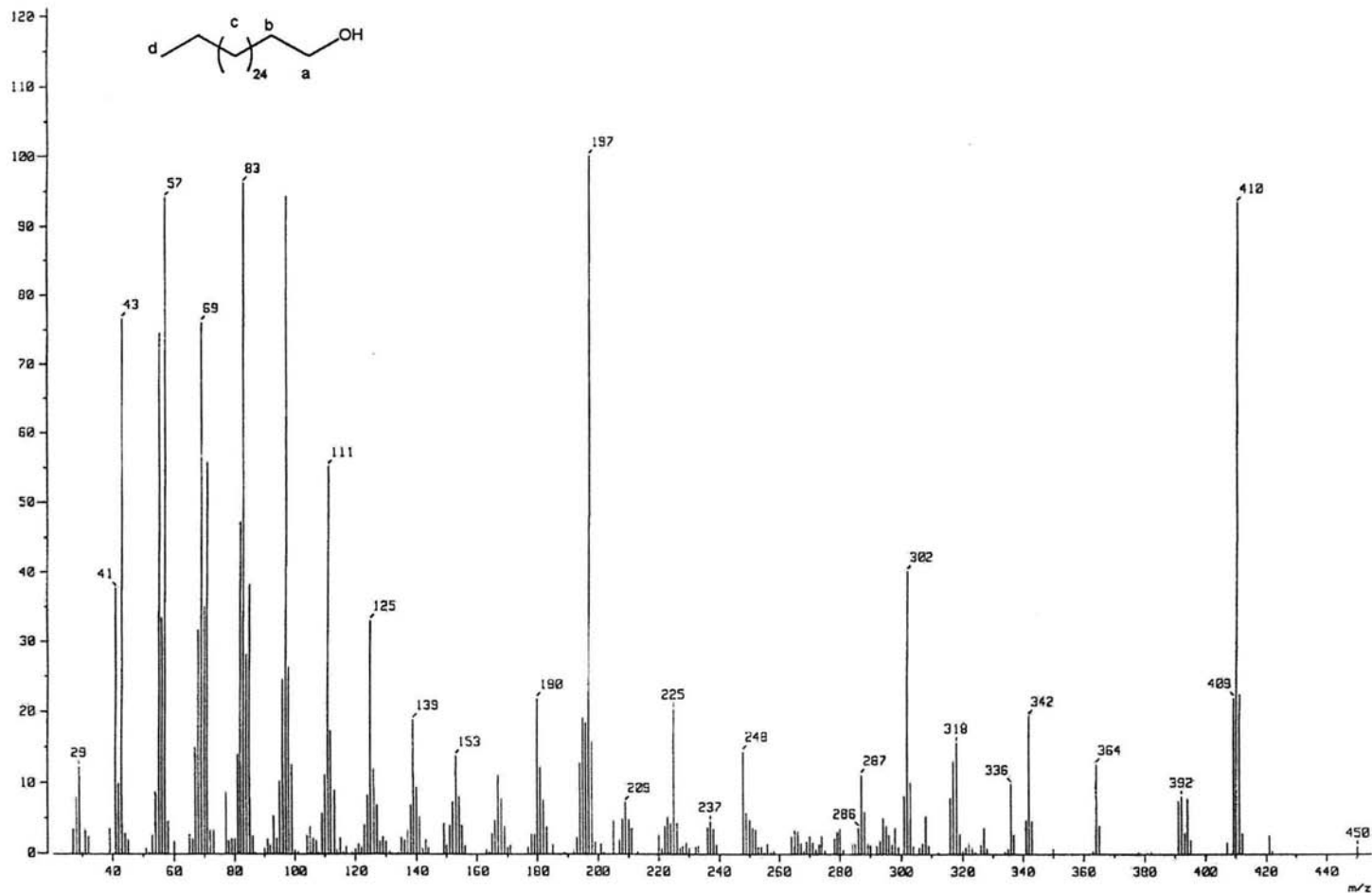
Espectro 11. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de β -sitosterol (55)



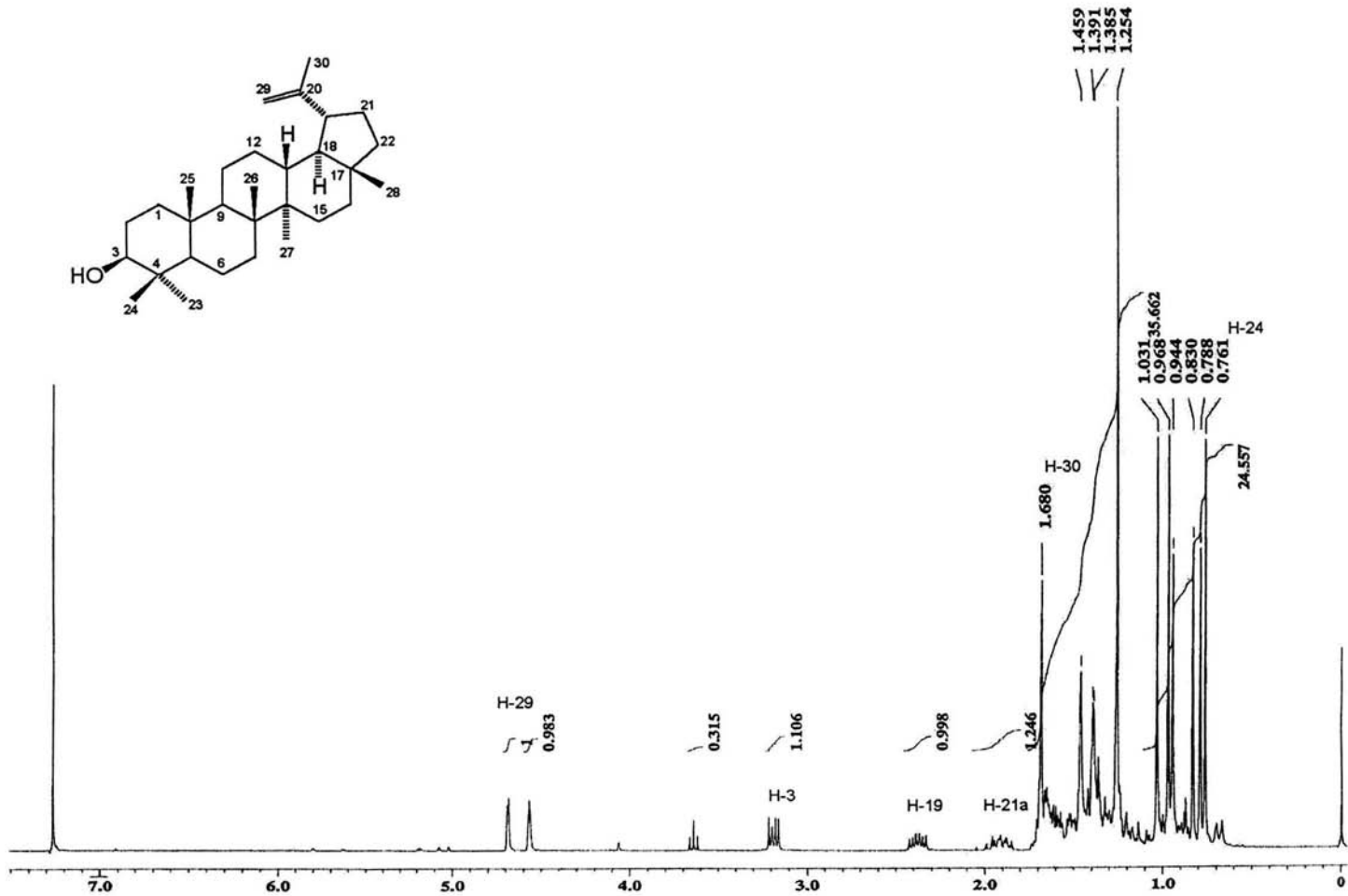
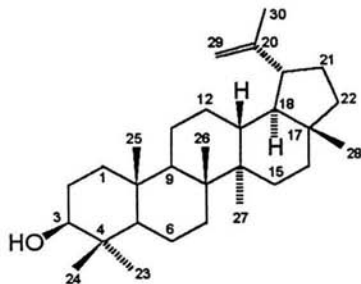
Espectro 12. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de ácido 8-hidroxiocetadecanoico (56)



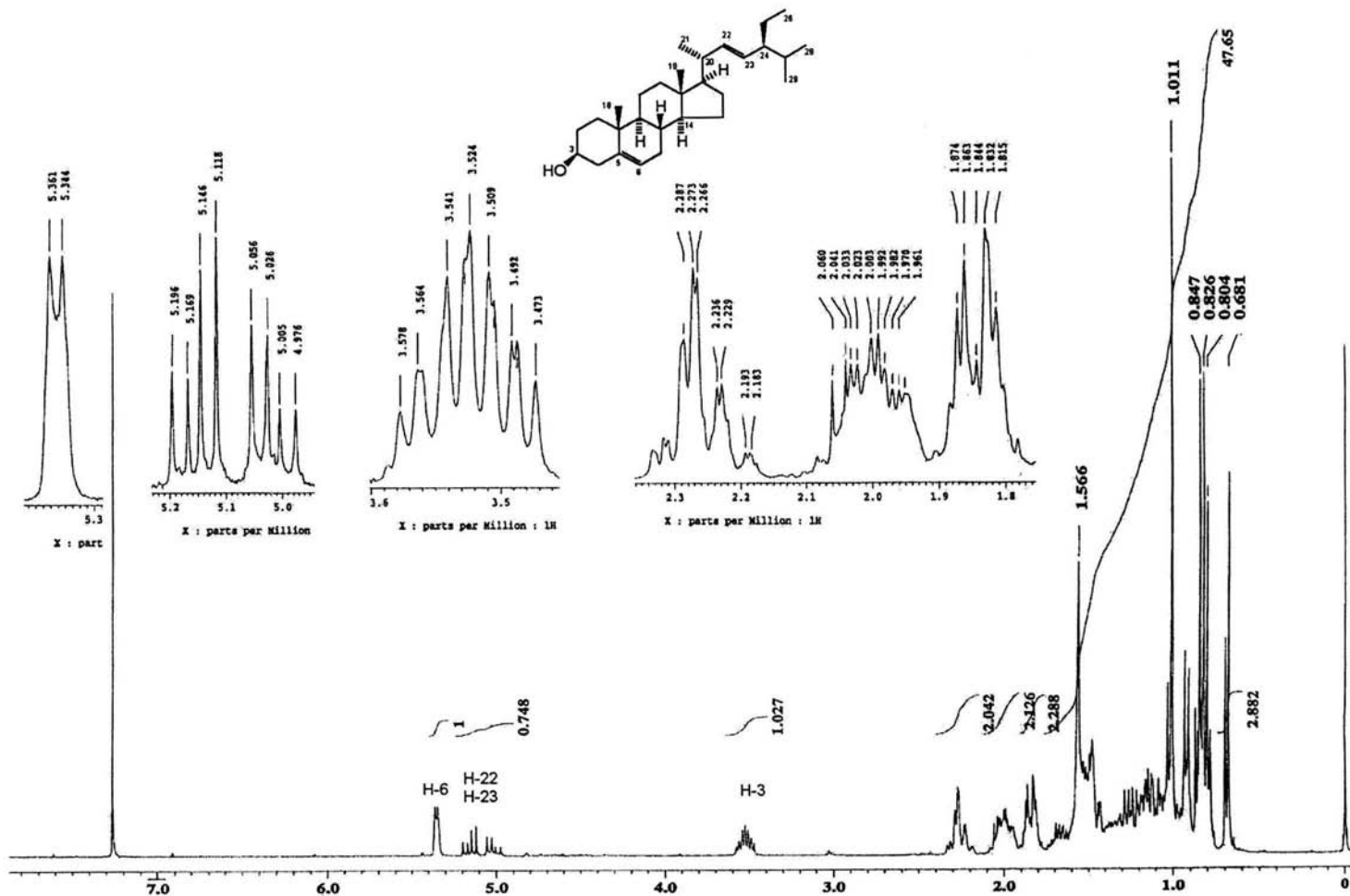
Espectro 13. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) de alcohol montanílico (84)



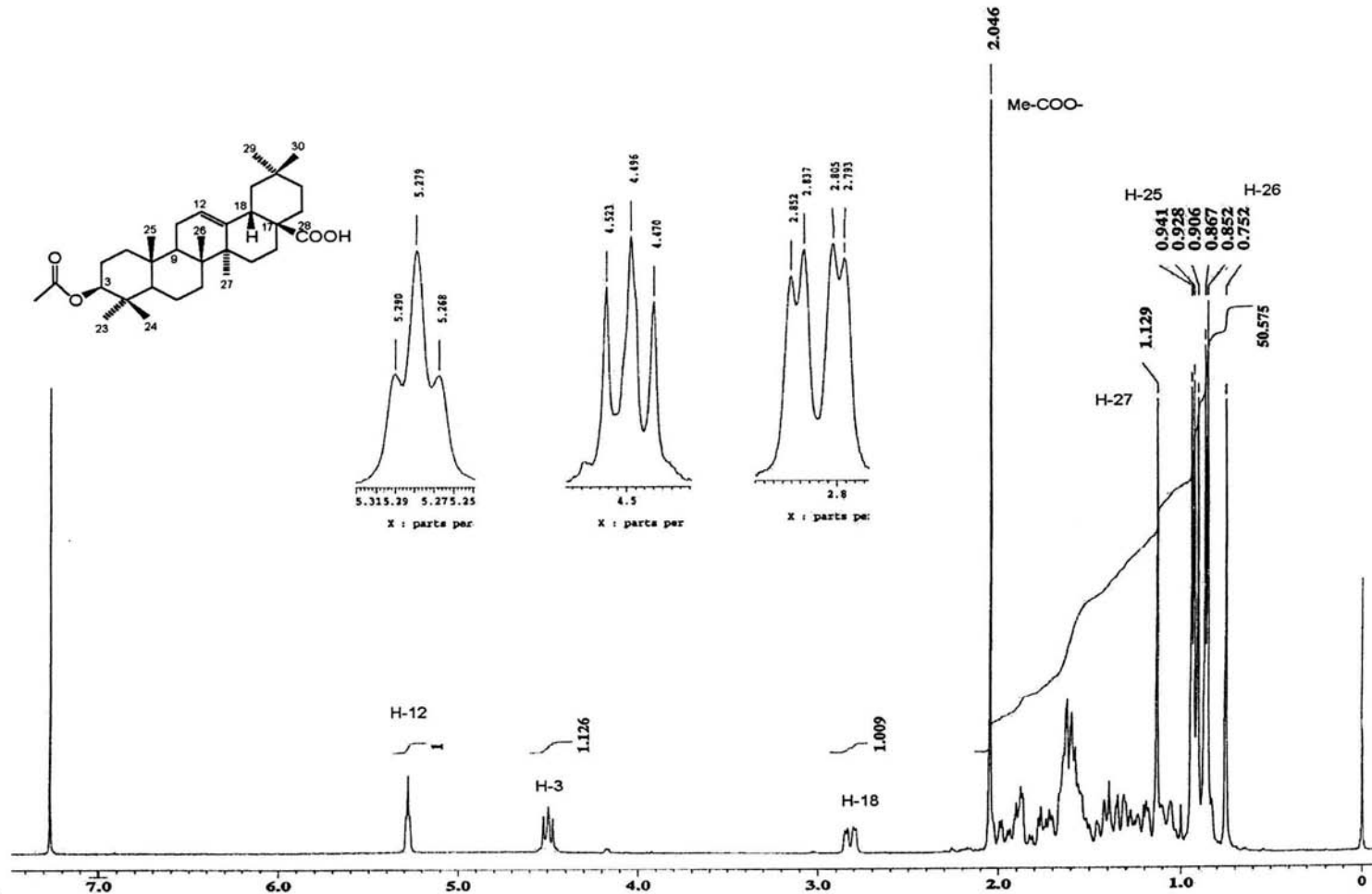
Espectro 14. EM (EI⁺) de alcohol montanílico (84)



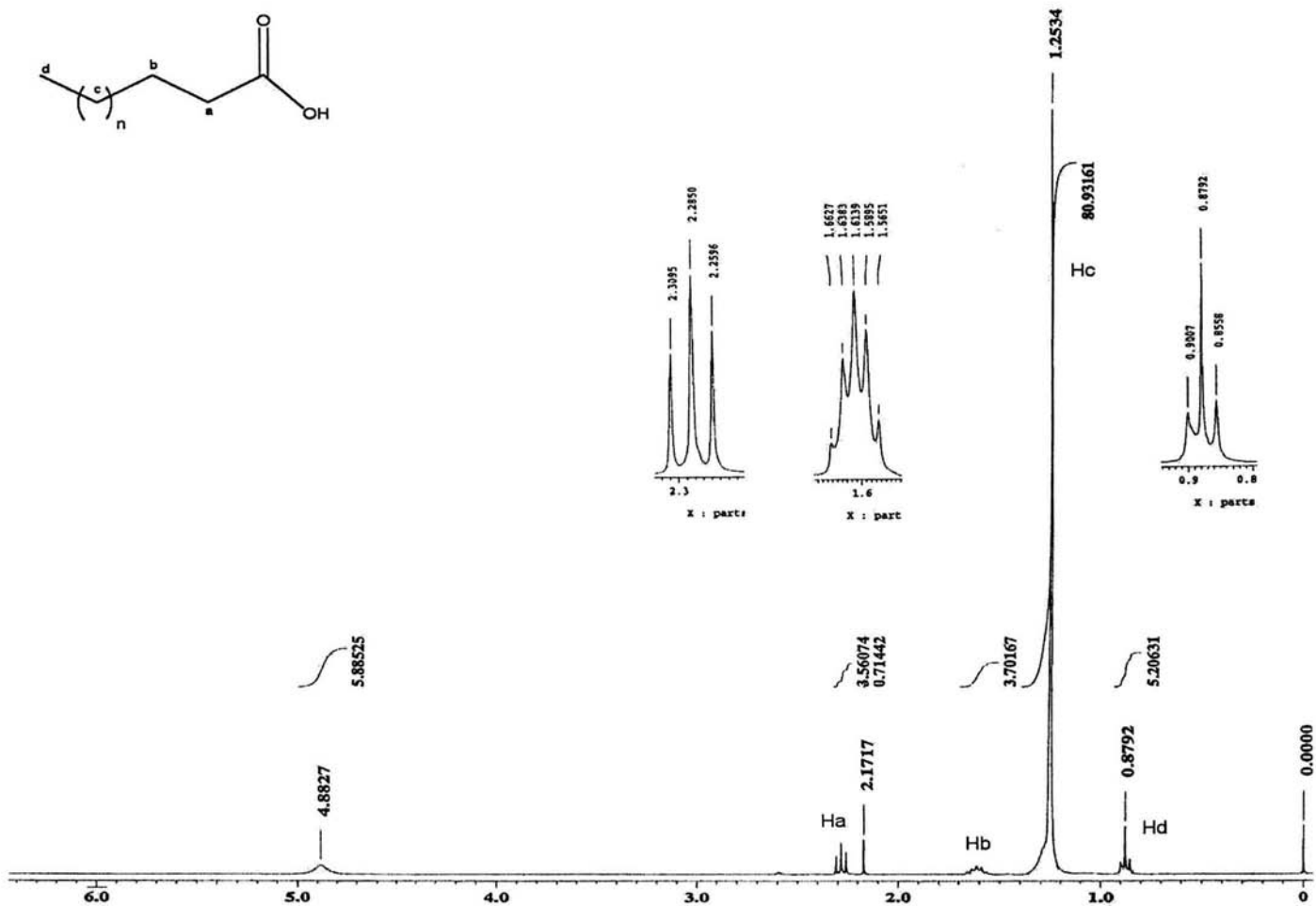
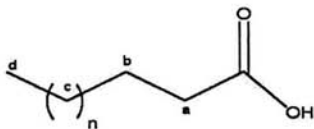
Espectro 15. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de Lupeol (85)



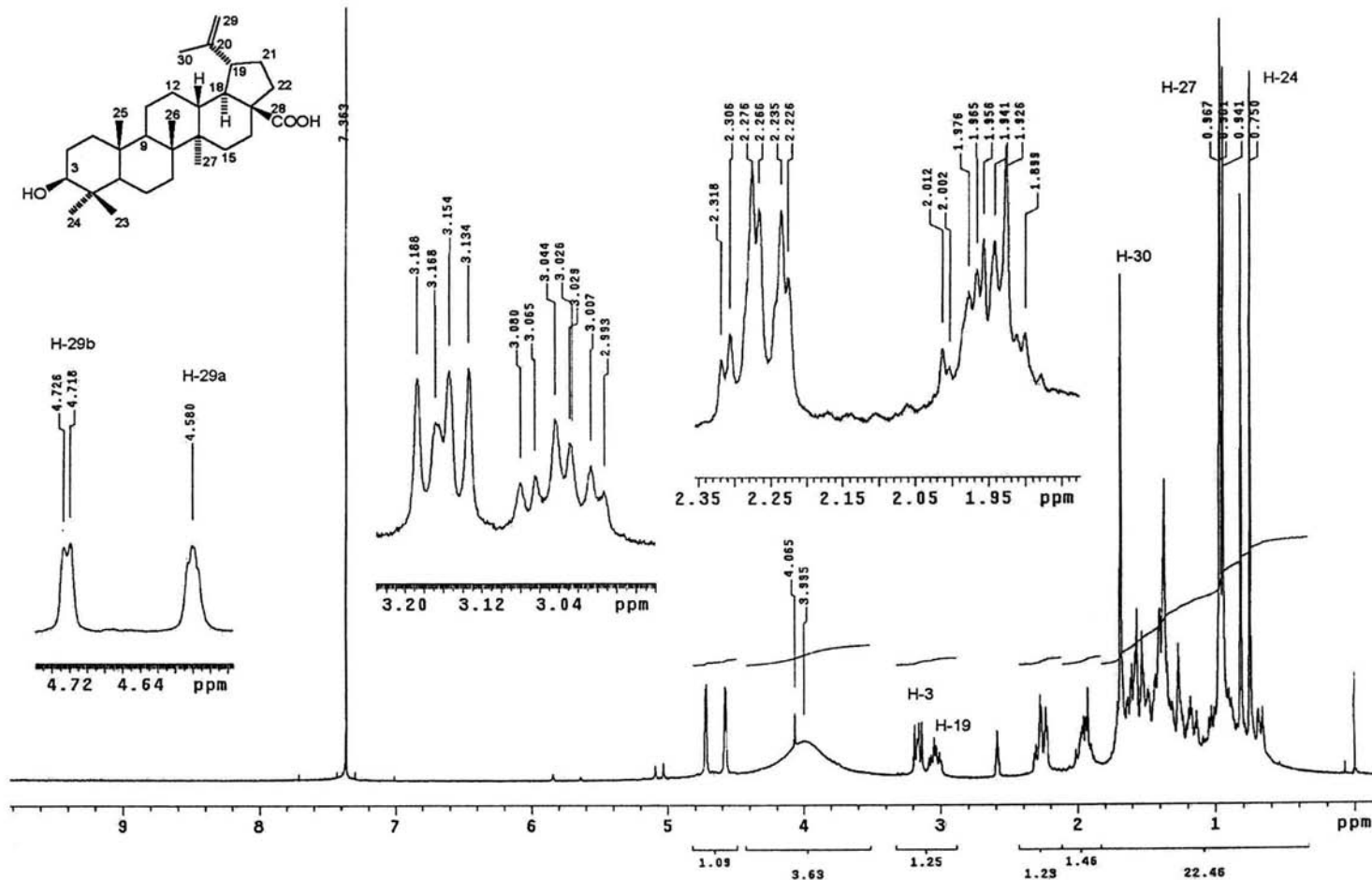
Espectro 16. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de Estigmasterol (86)



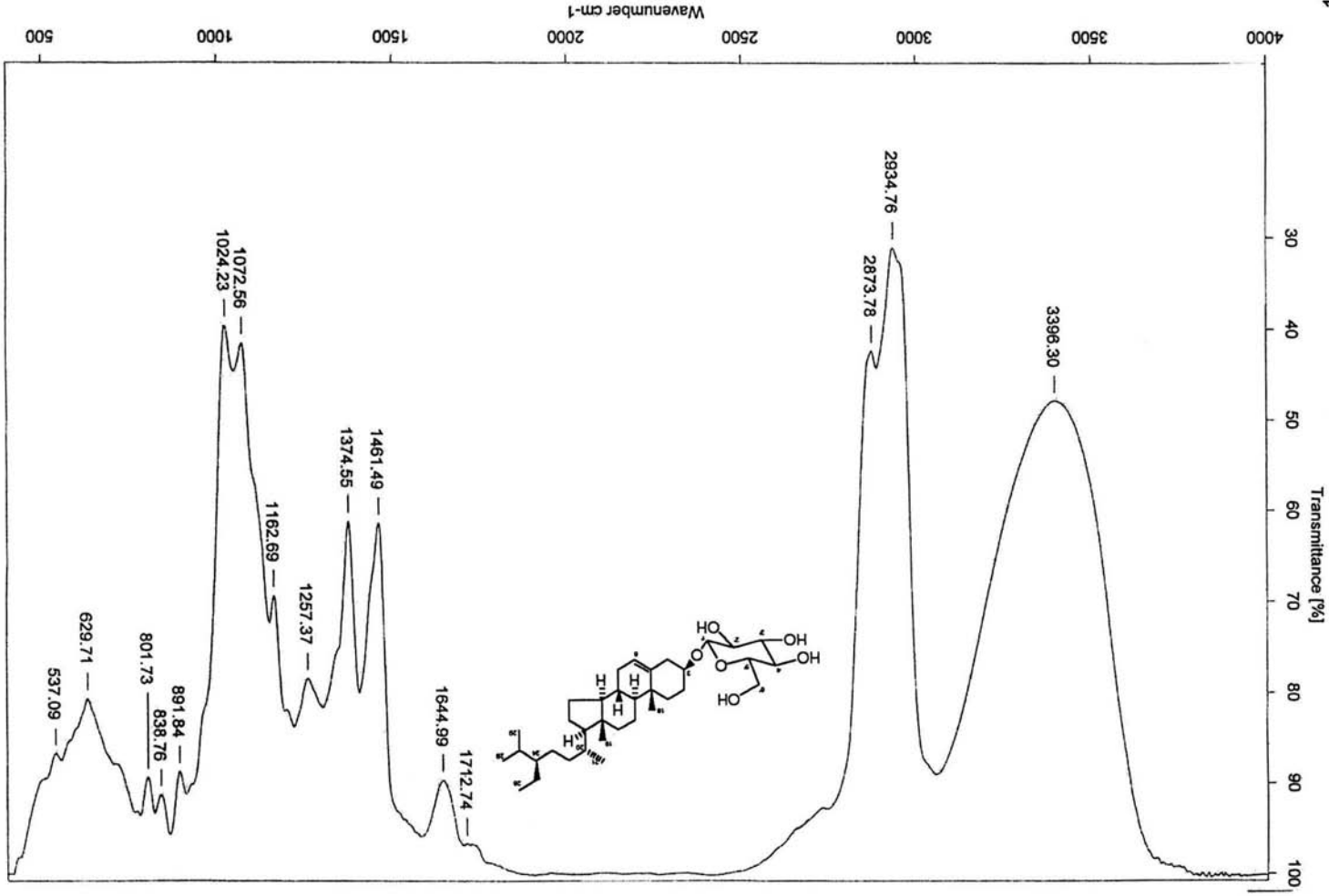
Espectro 17. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de Ácido acetil-oleanólico(87)

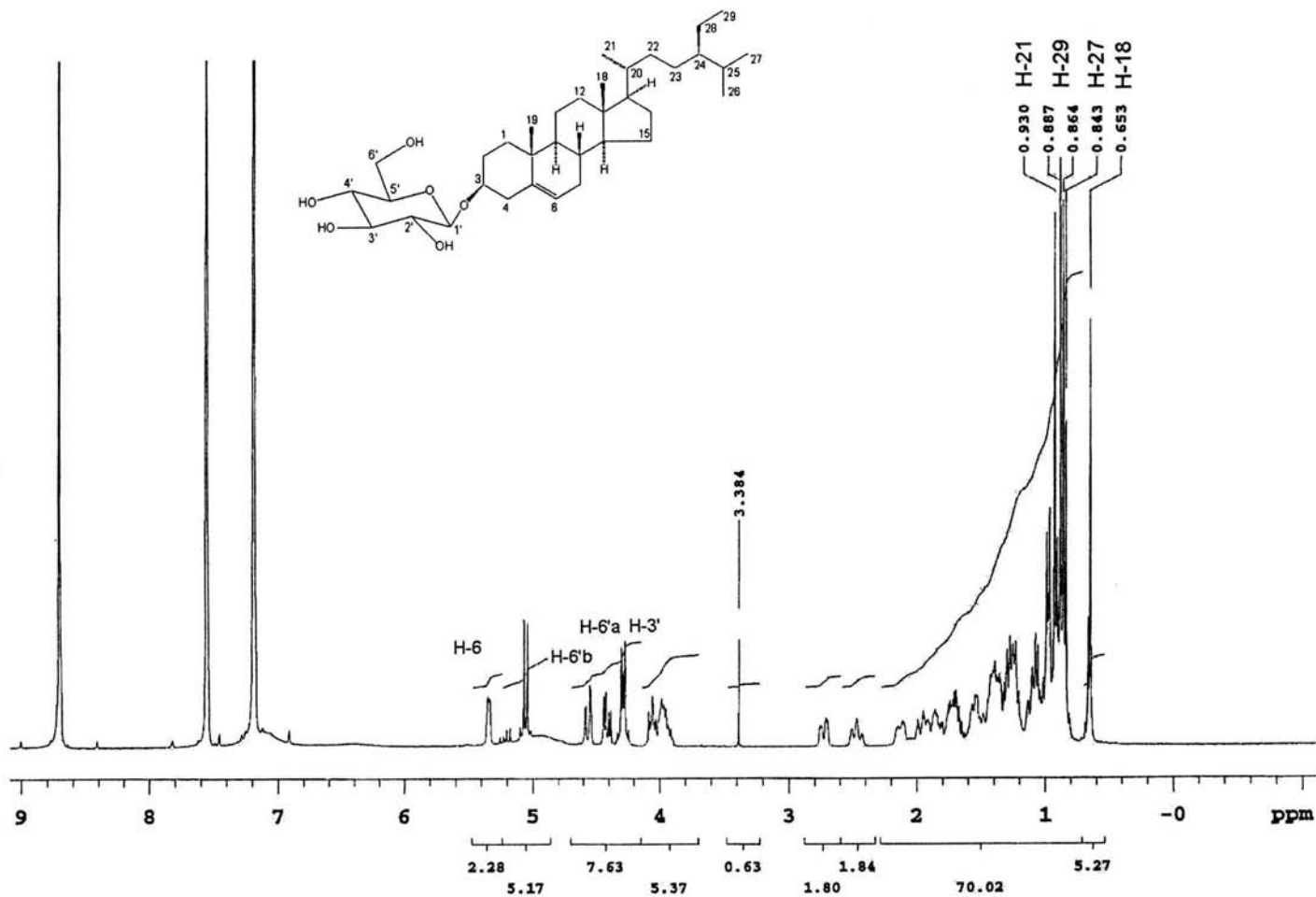


Espectro 18. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de mezcla de ácidos grasos saturados (88)

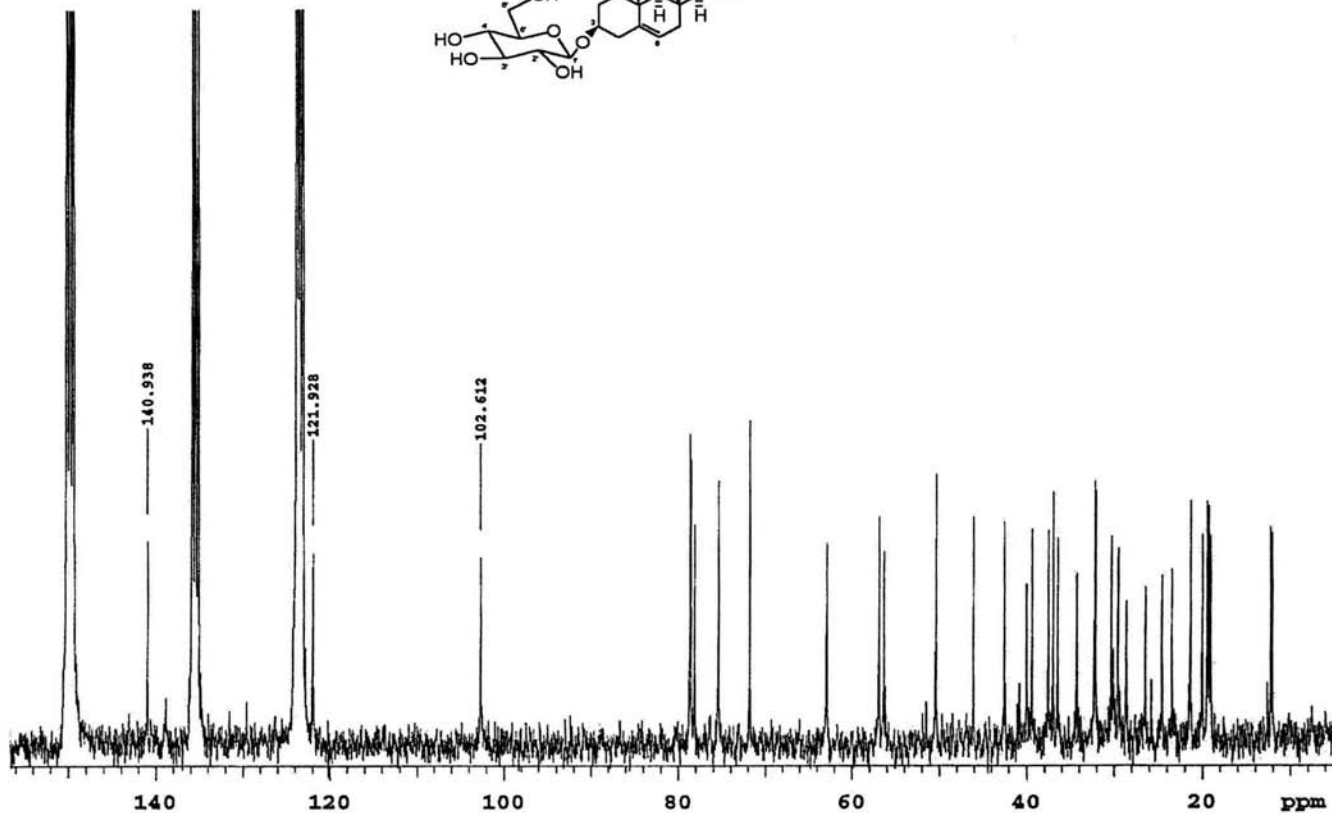
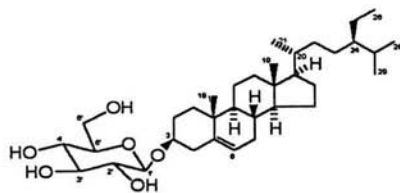


Spectro 19. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃ + DMSO-d₆) de ácido betulínico (89)

Espectro 20. IR (KBr) de β -D-glucopiranosido de β -sitosterilo (90)



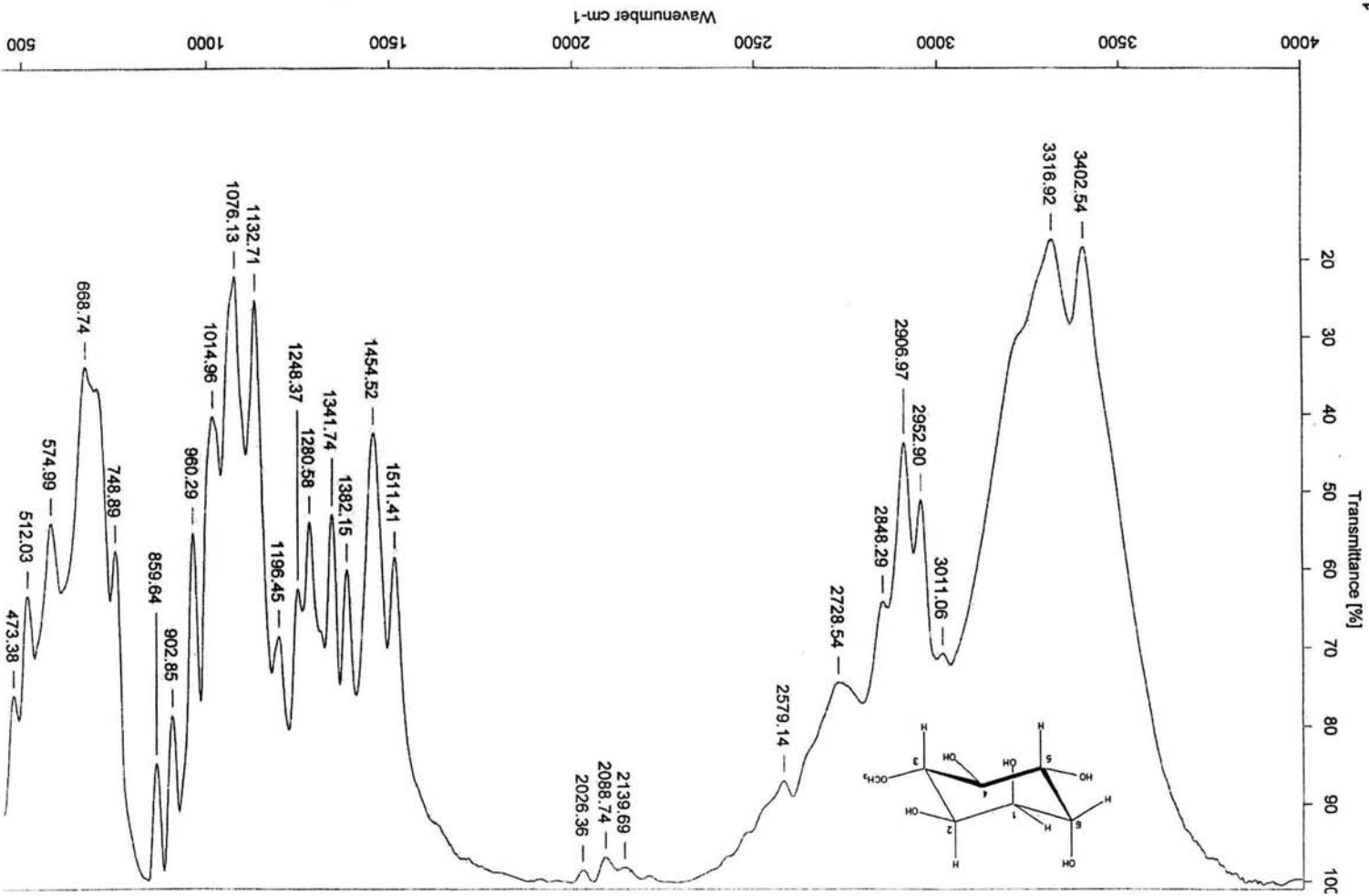
Espectro 21. RMN ^1H (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de β -D-glucopiranosido de β -sitosterilo (90)

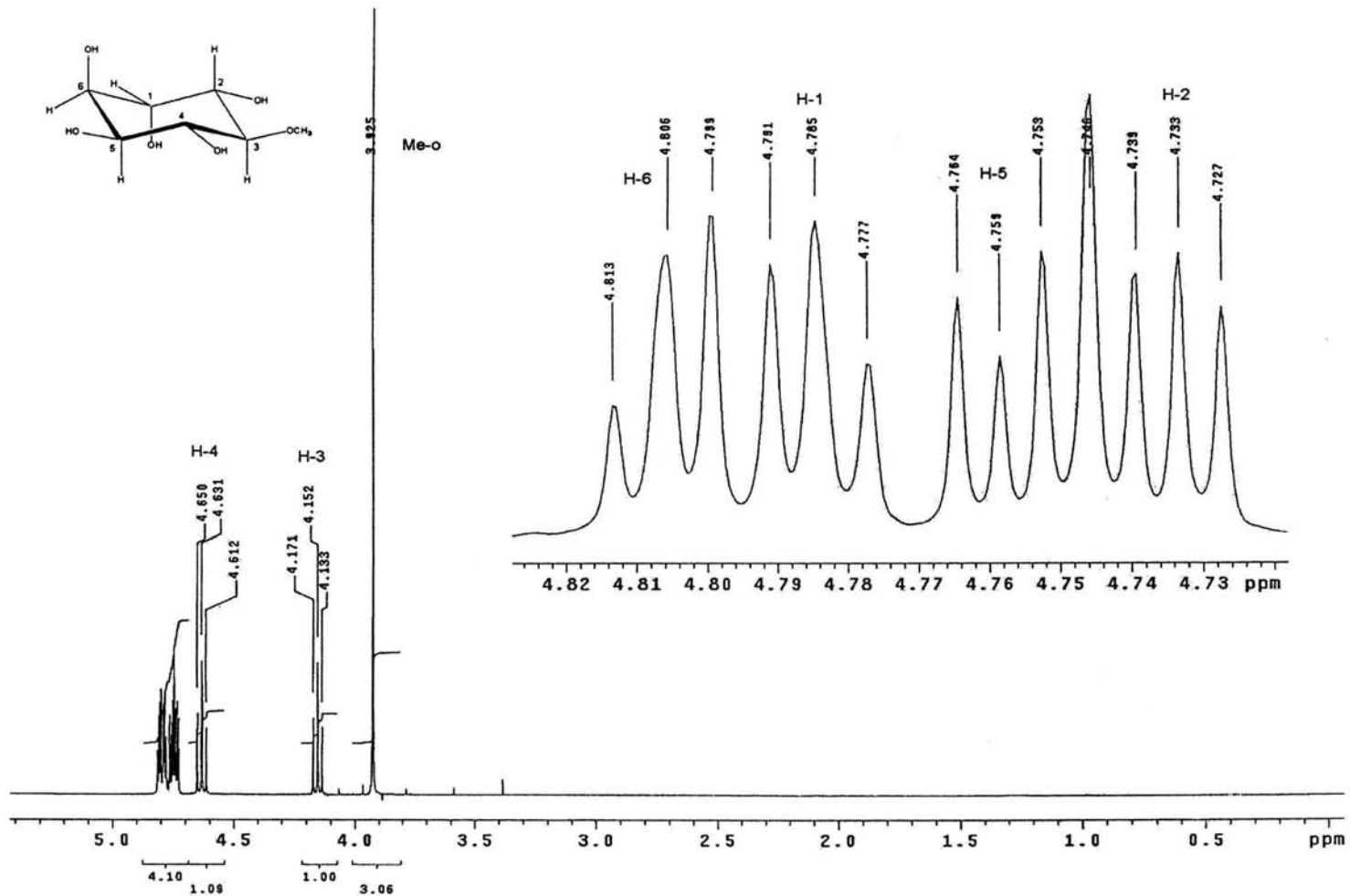
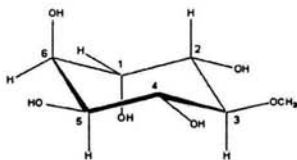


106

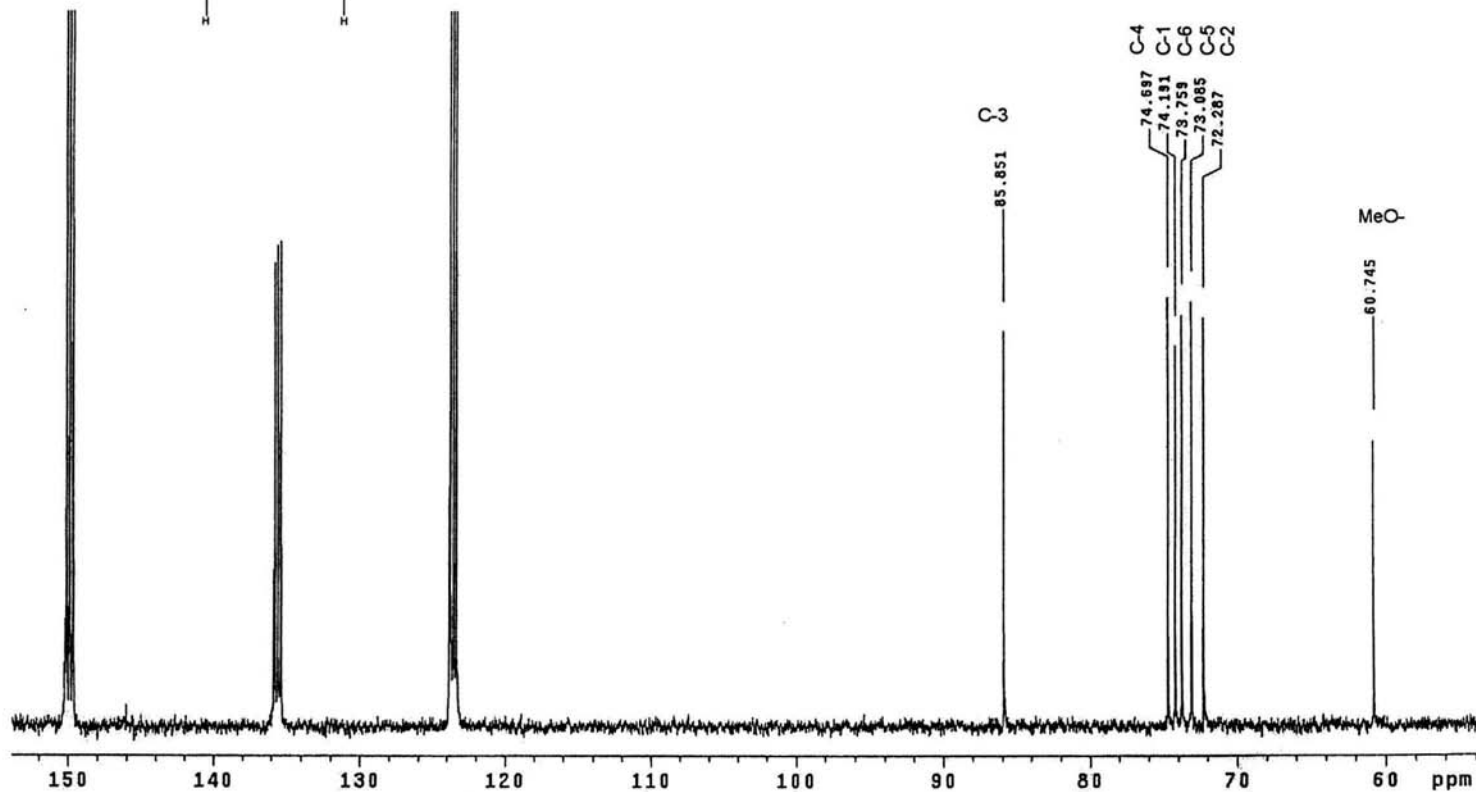
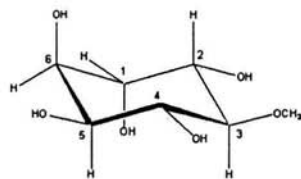
Espectro 22. RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de β -D-glucopiranosido de β -sitosterilo (90)

Espectro 23. IR (KBr) de 1D-3-O-metil-chiro-inositol (91)

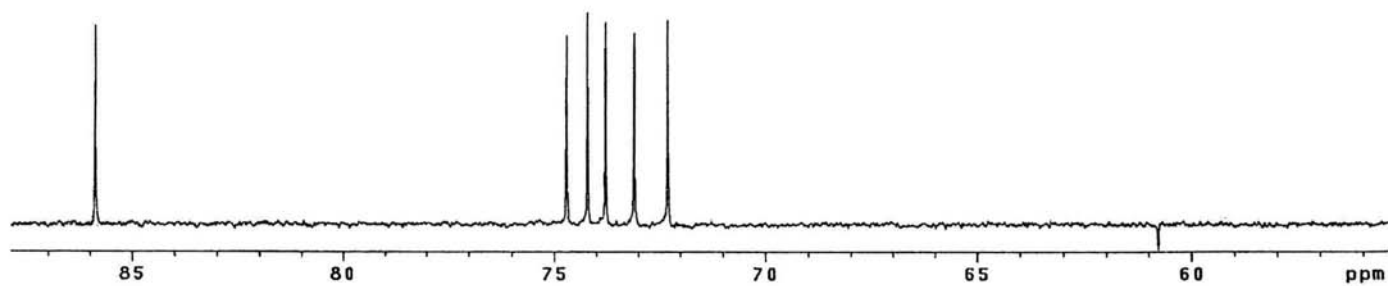
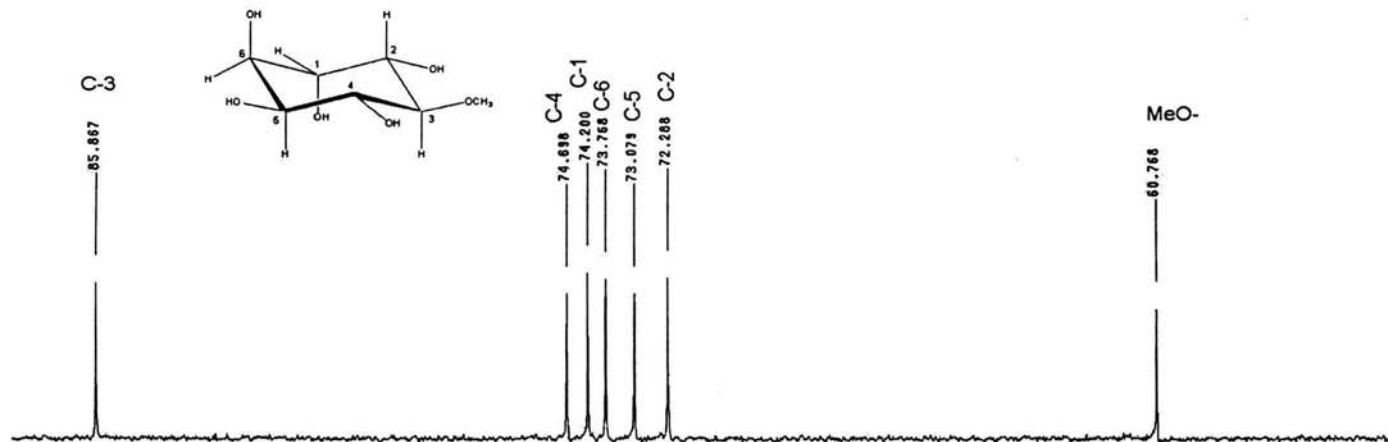




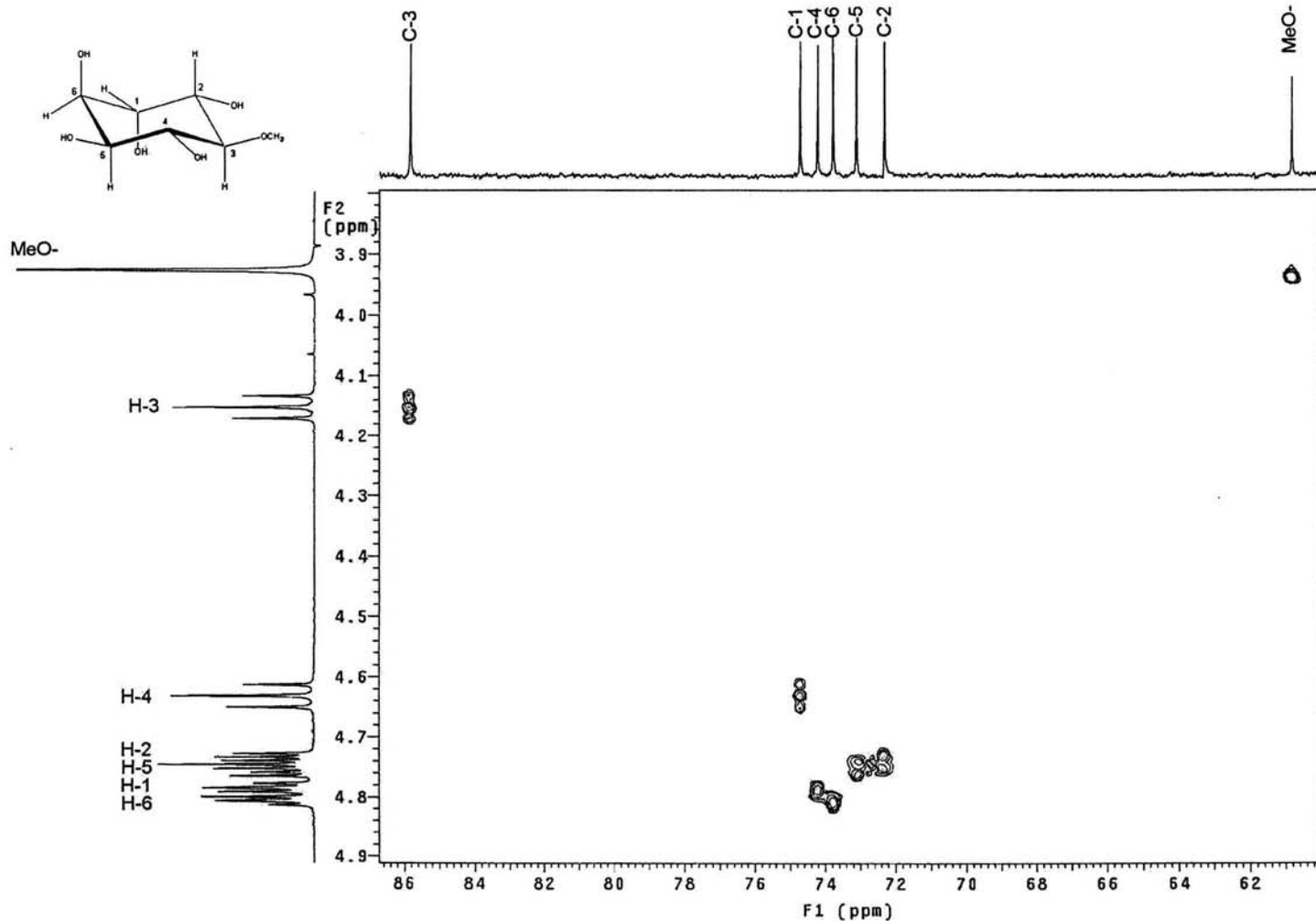
Spectro 24. RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de 1D-3-O-metil-*chiro*-inositol (91)



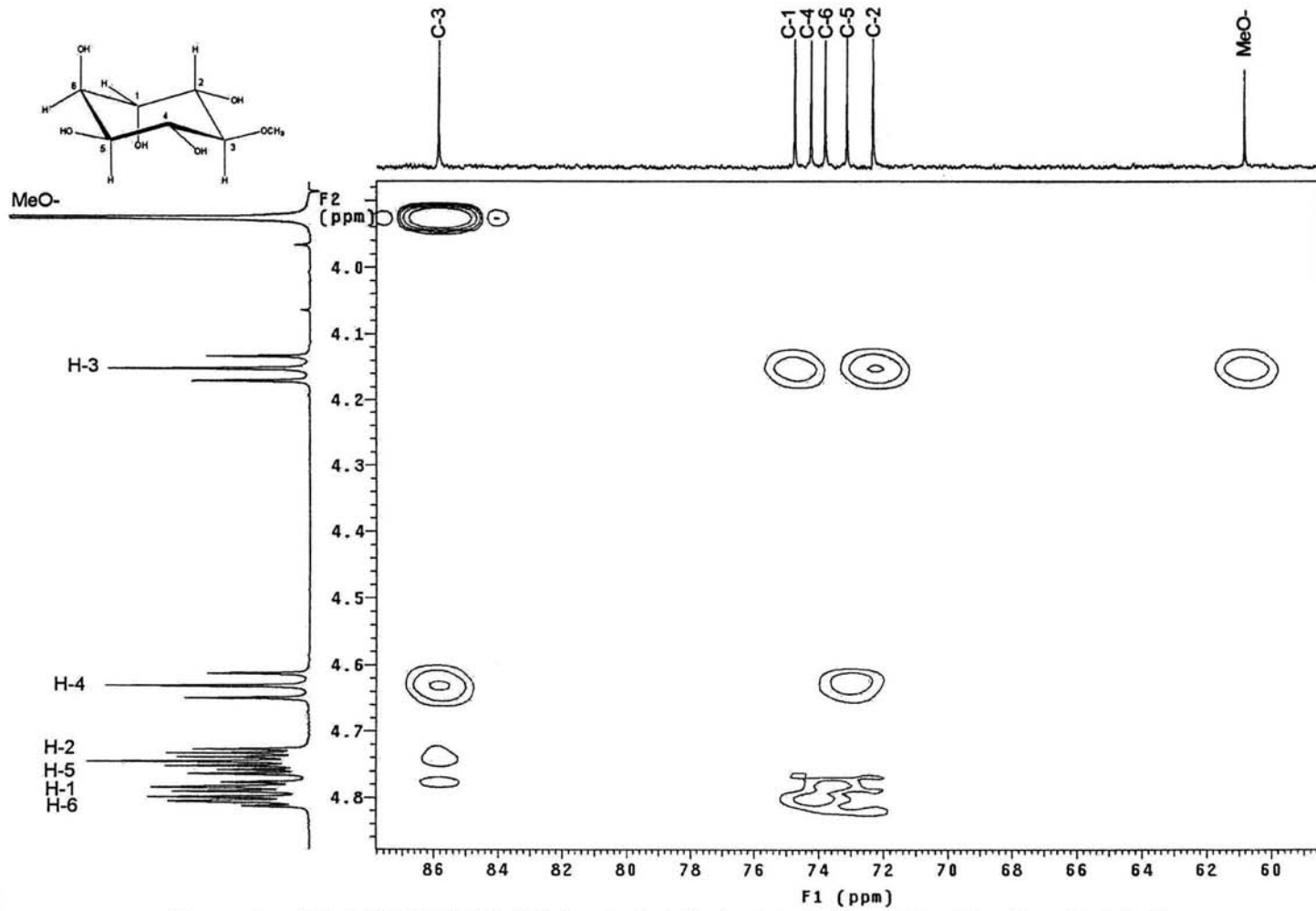
Espectro 25. RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de 1D-3-O-metil-*chiro*-inositol (91)



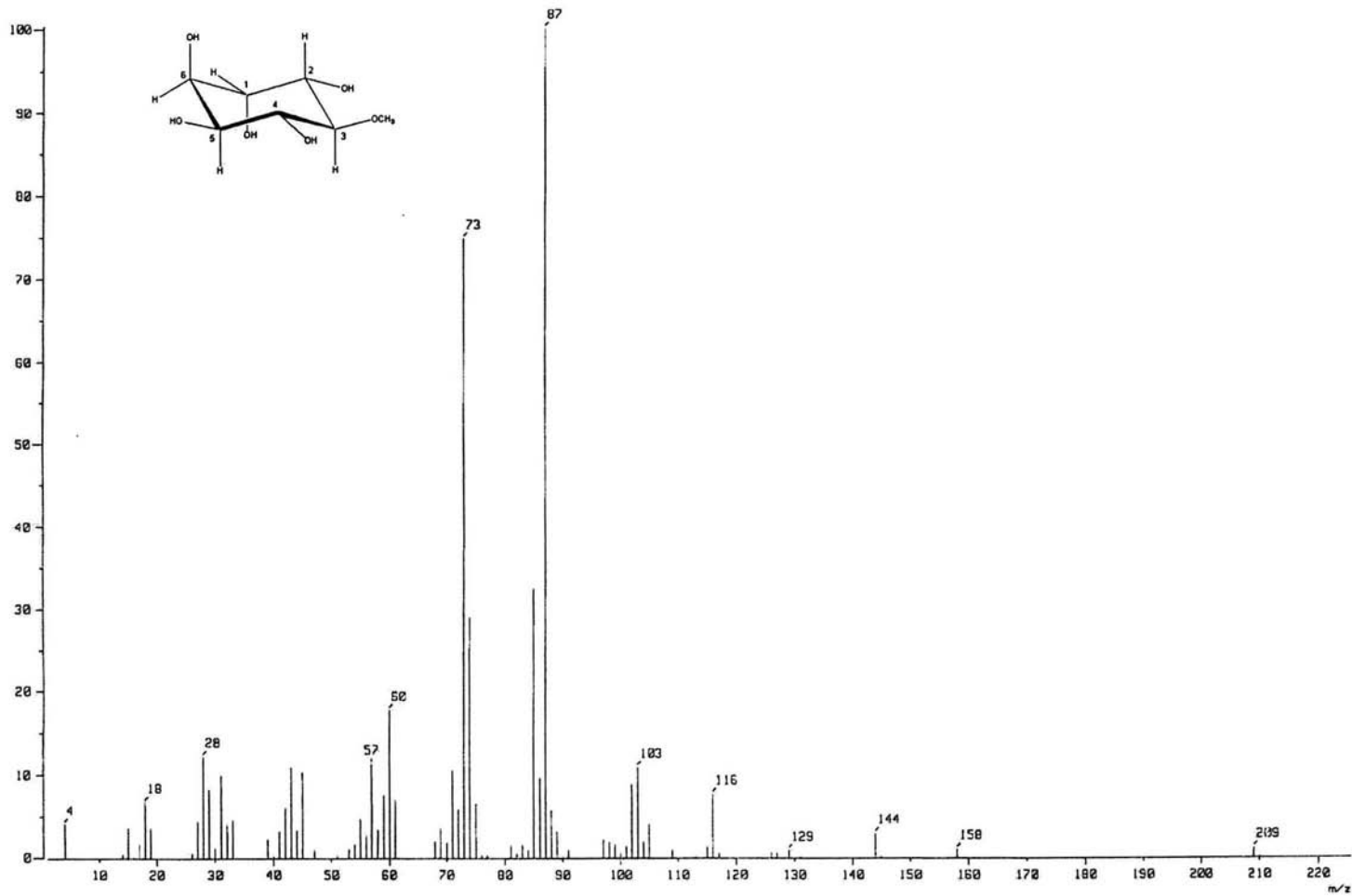
Espectro 26. DEPT (125 MHz, C₅D₅N) de 1D-3-O-metil-*chiro*-inositol (91)



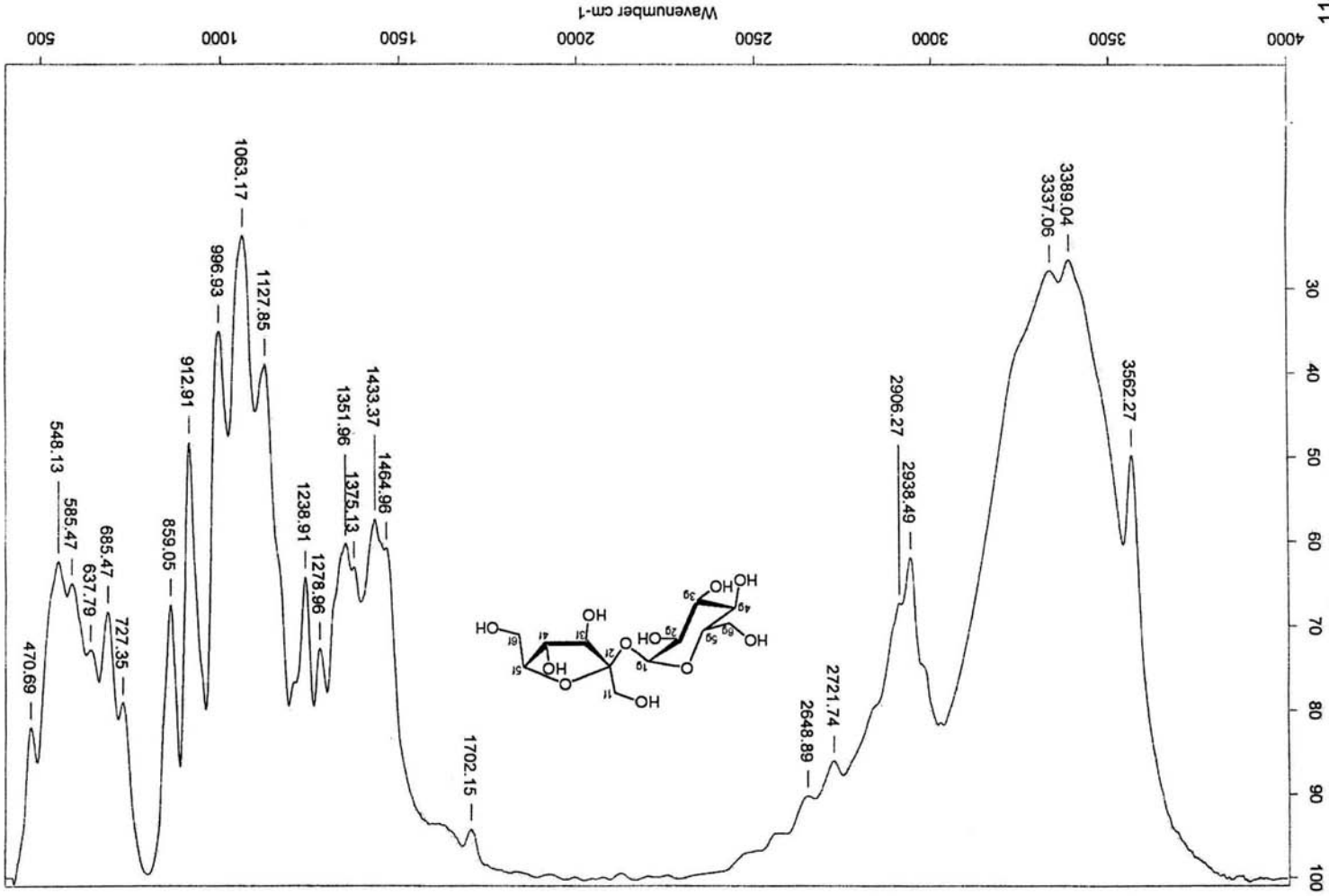
Espectro 27. HSQC (500 MHz, C₅D₅N) de 1D-3-O-metil-*chiro*-inositol (91)

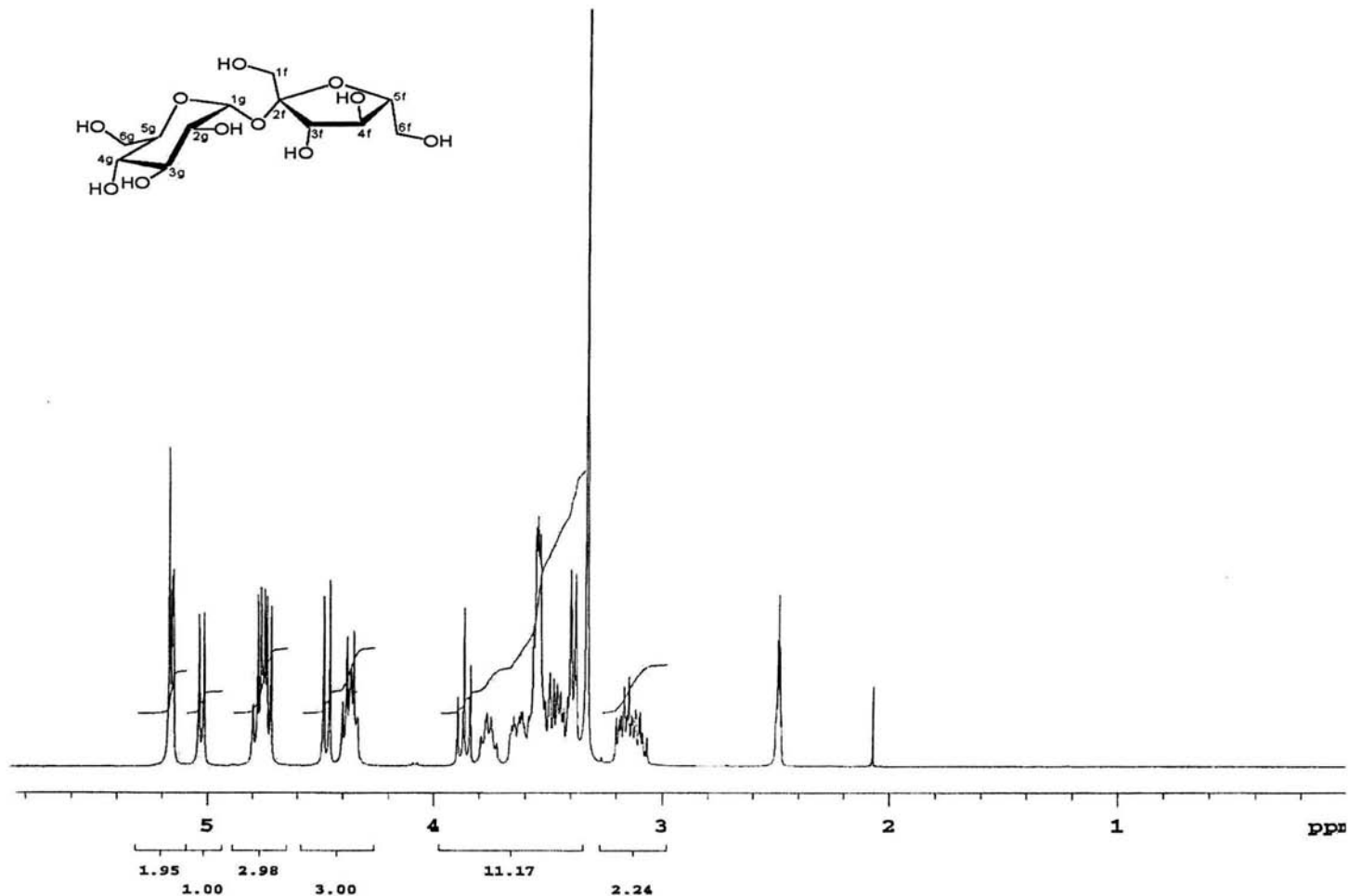
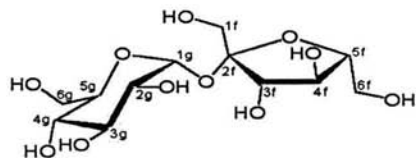


Espectro 28. HMBC (500 MHz, C₅D₅N) de 1D-3-O-metil-*chiro*-inositol (91)

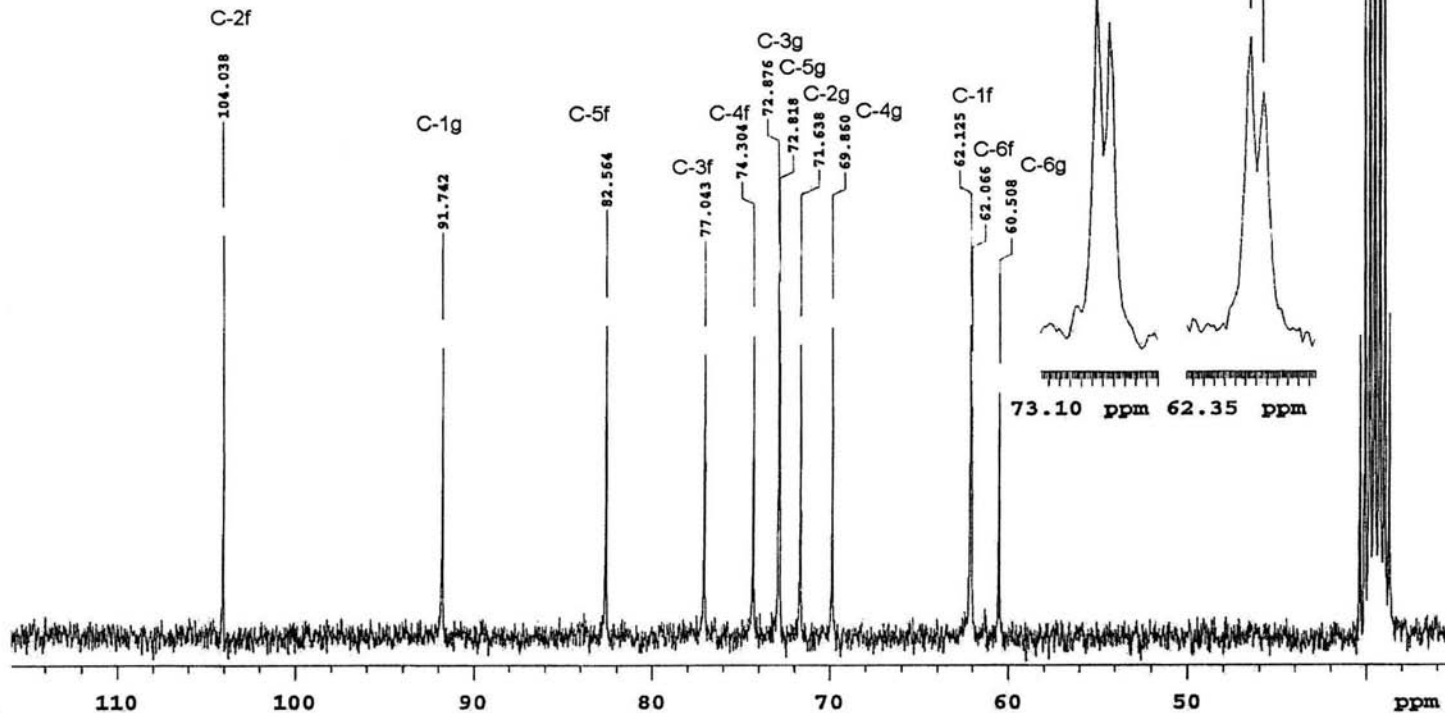
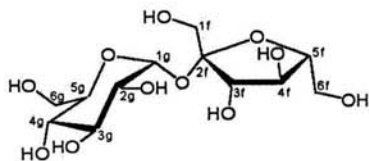


Espectro 29. EM (EI⁺, 70eV) de 1D-3-O-metil-*chiro*-inositol (91)

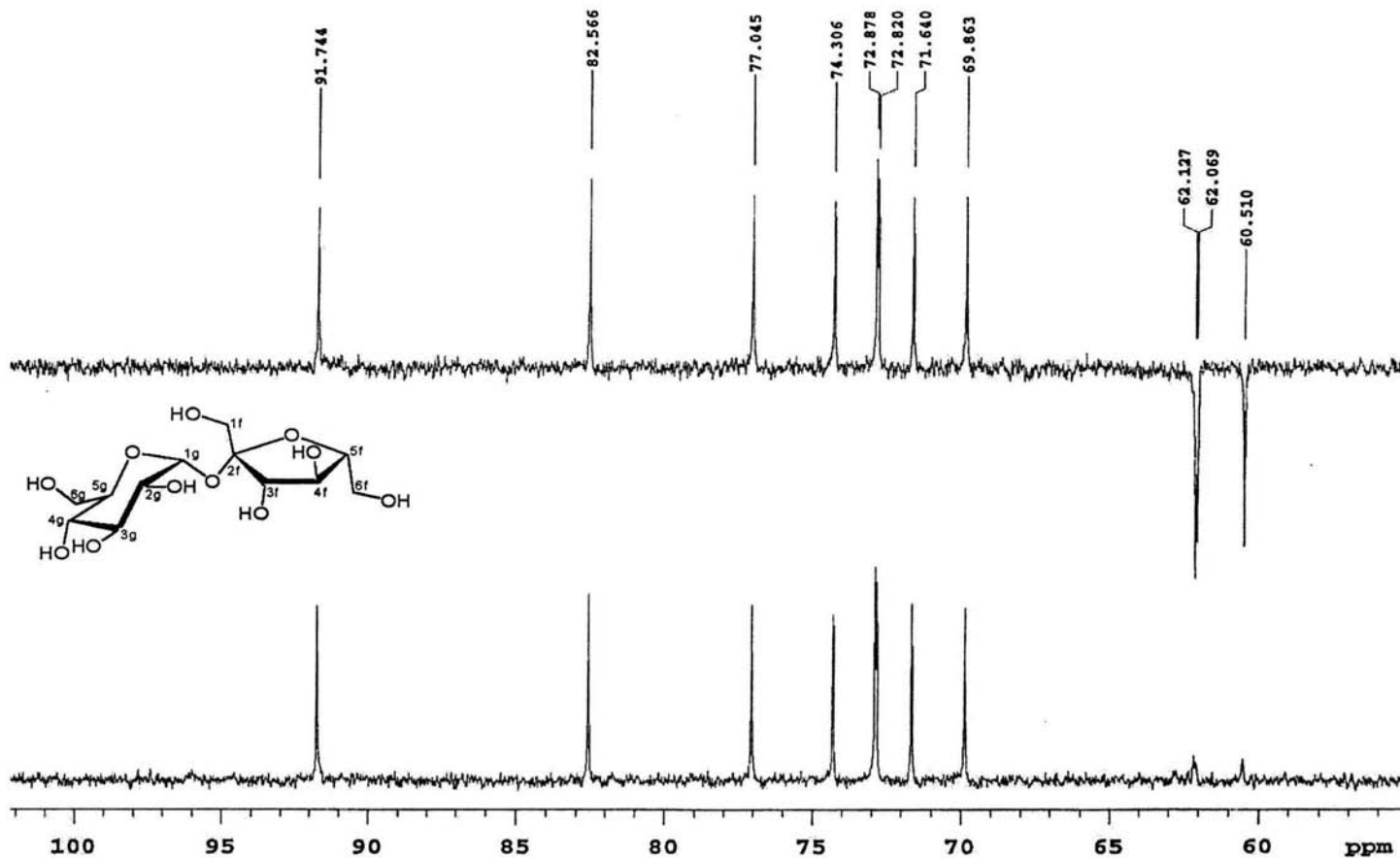




Espectro 31. RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) de sacarosa (93)



Spectro 32. RMN ^{13}C (75.5 MHz, DMSO-d_6) de sacarosa (93)



Espectro 33. DEPT (75.5 MHz, DMSO-d₆) de sacarosa (93)