



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

BIÓLOGIA

ESTUDIO QUÍMICO DE
Tanacetum parthenium (L.) Schultz -Bip

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
BIÓLOGO
PRESENTA
ARTURO ORTIZ APARICIO

DIRECTOR TESIS

M en C. ARTURO EDUARDO CANO FLORES



ABRIL 2010



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.

DEDICATORIAS

A mi Madre Virginia Aparicio Romero[†], le atribuyo todos mis éxitos, y le estoy eternamente agradecido.

A mi papá Arturo Ortiz Saldaña, gracias por su apoyo moral y su enseñanza en la vida.

A mi esposa Adriana López, a mis hijos Ángel y Arturo. Por ser la fuente de mi inspiración y motivación para superarme cada día más.

A mis hermanos Juan Carlos, Teresa, Gloria, Diana, Adriana. Gracias por creer en mí, por ser los mejores amigos.

A mis amigos gracias por su amistad y su comprensión durante todo este tiempo

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM por contribuir a mi desarrollo profesional por otorgarme una gran oportunidad.

Al M. en C. Arturo Eduardo Cano Flores, por brindarme su apoyo y su enseñanza durante todo este tiempo para el desarrollo del proyecto.

A mis sinodales: M. en C. María Sánchez Colín,
Dra. Leonora Sánchez García, Q. Estela Encarnación Jiménez, Biól. Aida Zapata Cruz por su contribución y mejoramiento de este proyecto.

A mis profesores que formaron parte de mi desarrollo académico.

INDICE	Pg.
Notaciones empleadas	1
Resumen	3
1.-Introducción	4
2.-Marco teórico	7
2.1.-Generalidades de la familia de las Compuestas	7
2.2.-Descripción botánica <i>Tanacetum parthenium</i>	7
2.3.-Estudios etnobotánicos	8
2.4.-Estudios químicos	11
2.4.1.-Flavonoides	18
2.4.2.-Lactonas sesquiterpénicas	20
3.-Planteamiento del problema	23
4.-Hipótesis	24
5.-Objetivo	25
5.1.-Objetivos generales	25
5.2.-Objetivos particulares	25
6.-Metodología Experimental de <i>Tanacetum parthenium</i>	26
7.-Resultados y Discusión de Resultados	31
8.-Conclusiones	42
9.-Sugerencias	43
10.-Espectros	44
10.1.-Espectro 1. De RMN- ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) de la santamarina	44
10.2.-Espectro 2. De RMN- ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃ , TMS) de la santamarina	45
10.3.-Espectro 3. De RMN- ¹³ C (Desacoplamiento parcial de ¹³ C) de epóxido de la santamarina	46
10.4.-Espectro 4. De RMN- ¹ H (200 MHz, CDCl ₃ , TMS) del epóxido de la santamarina	47
10.5.-Espectro 5. De RMN- ¹³ C (DEPT) de la 3 α -hidroxireynosina	48
10.6.-Espectro 6. De IR (CHCl ₃) del diacetato de la 3 α -hidroxireynosina	49
10.7.-Espectro 7. De RMN- ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃ , TMS) de diacetato de la 3 α -hidroxireynosina	50
10.8.-Espectro 8. De RMN- ¹³ C (DEPT) del diacetato de la 3 α -hidroxireynosina	51
11.-Bibliografía	52

NOTACIONES EMPLEADAS

AMCPB	Ácido m-cloroperbenzoico
HCl	Ácido clorhídrico
p-TsOH	Ácido p-toluensulfónico
$W_{1/2}$	Amplitud de la señal RMN- ^1H
J	Constante de acoplamiento (Hz)
CDCl_3	Cloroformo deuterado
COSY	Correlación Espectroscópica Bidimensional Homonuclear (RMN- ^1H)
CCF	Cromatografía en Capa Fina
CCP	Cromatografía en Capa Preparativa
CCV	Cromatografía en Columna a Vacío
δ	Desplazamiento químico
EM	Espectrometría de masas
IR.	Espectroscopia de infrarrojo
<i>i</i> -Pr ₂ O	Éter isopropílico
eV	Electrón volts
Ω	Grado de insaturación
IE	Impacto Electrónico
M^+	Ion molecular
λ .	Longitud de onda
p.f	Punto de fusión
m/z.	Relación masa carga
RMN - ^1H	Región Magnética Nuclear de Hidrógeno
$[\alpha]_D^{25}$	Rotación Óptica
RMN - ^{13}C	Región Magnética Nuclear de Carbono
TMS	Tetrametilsilano

Multiplicidad en RMN¹H

<i>c</i>	Cuarteto
<i>d</i>	Doblete
<i>t</i>	Triplete
<i>s</i>	Singulete
<i>m</i>	Multiplete
<i>s a</i>	Singulete amplio
<i>so</i>	Señal obscurecida
()	Numero de estructura
[]	Bibliografía

RESUMEN

Del estudio químico del extracto con Acetato de etilo de las partes aéreas de la especie *Tanacetum parthenium* (L) Schultz Bip, (santamaria), se aislaron como productos mayoritarios de dicho extracto: β -sitosterol (48), estigmasterol (49), ácido oleanólico (46) y ácido ursólico (47); además de una lactona sesquiterpénica, conocida como santamarina (12). Asimismo, se realizó la correlación química de la santamarina (12) a 3 α -hidroxireynosina (44), sustancia previamente informada en la literatura como constituyente de otras especies de *Tanacetum*, familia *Compositae*. La identificación y caracterización de las sustancias se realizó con base en sus propiedades físicas y datos espectroscópicos —IR, RMN-¹H, y RMN-¹³C— y espectrométricas —IE—.

1.-INTRODUCCIÓN

Los reinos vegetal y animal han representado desde siempre recursos decisivos para la supervivencia del ser humano, principalmente con fines alimenticios y terapéuticos. Las múltiples observaciones y numerosas experiencias acumuladas sobre el empleo de dichos recursos, se encuentran determinadas por los límites geográficos, la disponibilidad práctica de los mismos y la filosofía propia que han desarrollado los diferentes grupos étnicos y sociales sobre determinadas especies animales o vegetales. Es importante citar, que el área mesoamericana es una de las pocas en el mundo que cuenta con una gran diversidad biológica, en ella se desarrollaron varias civilizaciones antiguas que poseían un gran conocimiento sobre astronomía, matemáticas, botánica, medicina, entre otras; además de ser un centro de plantas cultivadas¹, las cuales constituyen una gigantesca reserva de genes.

En las últimas décadas, muchos recursos naturales han sido sobreexplotados de manera tal que hacen peligrar no sólo la producción industrial, sino la existencia del mismo recurso y el —equilibrio ecológico mundial— donde los problemas ambientales han pasado a ocupar un sitio relevante en las preocupaciones de las colectividades humanas de diversas regiones del mundo—. Tal es el caso de la vegetación, que durante siglos se consideró como un recurso natural ilimitado cuya explotación a nivel mundial ha alcanzado niveles alarmantes, lo cual ha obligado a la creación de grupos multidisciplinares tendientes a generar un conocimiento integral sobre dichos recursos, donde destaca su aprovechamiento racional y preservación.

Es necesario destacar que casi el 80 por ciento de la biodiversidad de plantas se encuentran en los países del llamado tercer mundo, donde la industria farmacéutica ha centrado sus esfuerzos de colecta en busca de compuestos de origen vegetal y animal que pueden ser útiles para la fabricación de nuevos medicamentos. Es de ahí, donde los bancos de germoplasma extraen material genético para acrecentar sus acervos con el fin de preservar ciertas variedades de plantas cuyos genes puedan ser empleados para obtener un cultivo mejorado. En suma, es en estos países donde se halla, en estado

¹ Los antiguos pueblos mesoamericanos dieron al mundo cerca de 80 especies de plantas cultivadas, como: maíz, chile, aguacate, amaranto, calabaza, cacao, tabaco, vainilla, entre otros

2.-MARCO TEORICO

2.1.- GENERALIDADES DE LA FAMILIA *Asteraceae* (*Compositae*).

La familia *Asteraceae* (*Compositae*) constituye un grupo claramente monofilético en el que se reconocen actualmente cerca de 1500 géneros y unas 23 000 especies. Entre ellas se encuentran desde plantas perfectamente adaptadas a vivir en la zona alpina de las montañas más elevadas, hasta elementos *cactiformes* con metabolismo capaces de sobrevivir en zonas desérticas —*Senecio* y *Kleinia*— Además, la familia comprende plantas de extraordinario interés económico, alimenticio, farmacéutico e industrial, como el girasol (*Helianthus annuus*), artemisinina (*Artemisia annua*), santamaria (*T. parthenium*), manzanilla (*Chamaemelum nobili*) y el guayule (*Partenium argentatum*) [1-2].

Dentro de la tribu Tubiliflora se encuentra *T. parthenium* (L.) Schultz-Bip, conocida como altamisa, hierba de santamaria, o manzanilla grande,¹⁻² la cual es considerada originaria de Europa, adaptada a climas cálidos, semicálidos, semisecos y templados. En altitudes de los 0-100 msnm y de los 1800-2600 msnm. Se cultiva en huertos familiares, crece a orillas de caminos o en terrenos de cultivos, asociada a vegetación perturbada de bosque espinoso, matorralxerófilo, pastizal y bosque mesófilo de montaña, de encino, de pino y mixto de pino-encino [3].

2.2.-DESCRIPCIÓN BOTANICA DE *T. parthenium* (L.) Schultz-Bip

En el esquema 1, se indica la clasificación botánica de *T. parthenium* (L.) Schultz-Bip; la cual es una planta herbácea perenne, muy aromática al estrujarse, hasta 80 cm. de alto,

¹ Otros nombres comunes con los que se conoce a *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip, es hierba santa mastranzo, matlali, manzanilla romana. En el Estado de México se le conoce como: manzanilla (otomí), mientras en Tlaxcala, como caltemesha (nahuatl) [3].

² Los nombres científicos con los que se conoce a *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip: *Crysanthemum parthenium* (L.) Bernh. *Leucatemum parthenium* (L.) Gren y Godron. *Pirethrum parthenium* (L) Sm[4].

pubérula en sus tallos más jóvenes, hojas e involucros; tallos más o menos ramificadas, erectos, hojas bipinnatifidas de contorno elíptico, hasta 8 cm de largo, peciolada; cabezuelas por lo general numerosas en panículas corimbiformes, sobre pedúnculos hasta de 8 cm de largo, involucro subhemisférico, sus brácteas ± 50 , las exteriores lineares, las interiores oblonga, hasta de 4 mm de largo; receptáculo convexo o hemisférico; flores liguladas 10-21 (o más, en algunas formas cultivadas), sus corolas blancas, las láminas oblongas de 2.5-8 mm de largo; flores del disco ± 250 , sus corolas amarillas tubulosas de ± 1.5 mm de largo, aquenios cilíndricos de ± 1.5 mm de largo, provisto de 5-10 costillas, glabros, vilano en forma de corona diminuta [5], ver esquema 2.

Reino. Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Asterales
Familia: Asteraceae
Género: *Tanacetum*.
Especie: *Tanacetum parthenium*
(L.) Schultz Bip



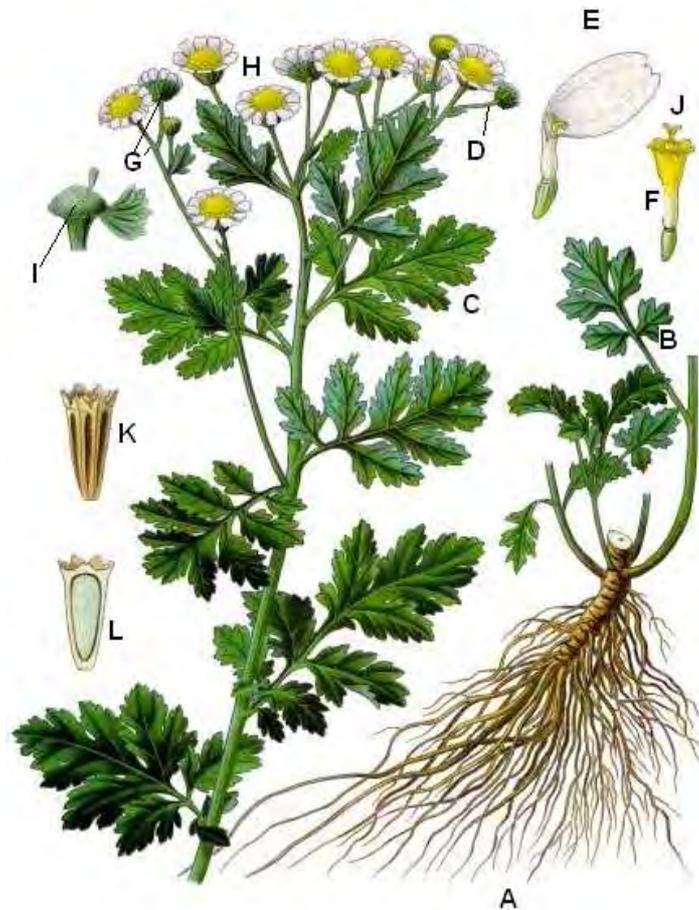
Esquema 1³. *Tanacetum parthenium*, (L.)Schultz-Bip

2.3.-ESTUDIOS ETNOBOTÁNICOS

La santamaría ha sido empleada desde tiempos antiguos por sus propiedades medicinales, El origen del término “*parthenium*” —palabra griega que significa virgen— fue

³ <http://isaisons.free.fr/camomille.htm>

atribuido al escritor Plutarco probablemente debido a su uso como remedio para las dolencias menstruales en las mujeres. Dicha especie vegetal, ha sido usada como febrífugo y para el tratamiento de una amplia gama de enfermedades relacionadas con el aparato digestivo, reproductor femenino y antiinflamatorio —incluyendo la soriasis, dolor de muelas, picaduras de insectos, entre otras— también se ha descrito su uso para el tratamiento de las reumas y limpieza de los riñones [6].



Esquema 2⁴. Estructuras vegetativas de *Tanacetum parthenium*. (L.) Schultz Bip. (A) raíz, (B) tallo; (C) hoja; (D) pedúnculo; (E) flor ligulada; (F) flor del disco; (G) involucre; (H) capitulo; (I) receptáculo; (J) corola; (K) aquenio; (L) vilano.

El uso más frecuente que se registra de la santamaría en México, es para el tratamiento de diversos padecimientos relacionados con el aparato reproductor femenino. En estados como Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Morelos, Tlaxcala, Veracruz, ver esquema (3), se emplea para aliviar trastornos de la menstruación (como emenagogo para facilitar o regularizarla; como antiespasmódico contra la dismenorrea y cólicos

⁴ <http://www.botanical.com/botanical/mgmh/f/feverfew>

menstruales), se toma el cocimiento de las ramas y de las hojas; se ha descrito que el cocimiento de la planta acelera el parto [3].



Esquema 3. Distribución de *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip en la República Mexicana.

Dentro de los usos tradicionales se ha descrito que la infusión de las hojas de la santa maría se puede emplear para los cólicos estomacales, dolor de estomago o intestinal. Para la bilis, el bazo, disentería, dolor de cabeza y reumas; en lavados para irritación de ojos y “ojos chinguiñosos”.

Con menor frecuencia se refiere su uso para el tratamiento de la tosferina; para los resfriados, las hojas se frotran con alcohol en las piernas y como analgésico.

Además se menciona para el tratamiento de la erisipela⁵ en Veracruz y de la “aljorra” en Puebla, esta enfermedad es causada por parásitos intestinales que provocan comezón en el recto, para curarla se utiliza una mezcla de hojas y flores de santamaría molidas con hojas de maistra —*Artemisia absinthium*— que se aplica por vía rectal dos veces al día [3].

⁵ La erisipela es una infección bacteriana aguda de la dermis y la hipodermis causada principalmente por *Streptococcus*.

2.4.-ESTUDIOS QUÍMICOS DE *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip

En la literatura especializada se han dado a conocer algunos de los constituyentes químicos presentes en *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip; donde destacan las lactonas sesquiterpénicas como principales metabolitos secundarios: partenólida (1), secotanapartenólida A (2), artecanina (3), canina (4) y 3 β -hidroxipartenólida (5); además de flavonoides, entre los que se encuentran luteolina (34) y apigenina (35) [4].

El aceite esencial de *T. parthenium* está constituido principalmente por monoterpenos, como: angelato de bornilo (25), alcanfor (26), acetato de crisantenilo (27) y su epímero *cis*-crisanteol (28), y sus ésteres derivados —acetato (29), angelato (30) e isovalerato (31)— junto con los sesquiterpenos, costunólido (6) y su derivado 3 β -hidrocostunólido (7), el éter metílico del ácido cóstico (8), artemorína (9), germacreno D (10), partenólida y sus dos derivados hidroxilados; reynosina (11) y santamarina (12). Las partes aéreas y la raíz contienen compuestos heterocíclicos con oxígeno. La santína (33) se determinó en la planta entera [3].

Por otro lado, se ha demostrado la actividad antiinflamatoria de los extractos acetónico y acuoso de las partes aéreas de *T. parthenium* [7]. La actividad espasmolítica de los extractos de santamaría ha mostrado contener alguna de las lactonas 1, 4 y 13. Además, se ha confirmado el efecto inhibitorio en la agregación de plaquetas en sangre humana estimuladas con adrenalina por 1-5. La sustancia 1 y otras lactonas sesquiterpénicas de *T. parthenium*, fueron responsables de la actividad antimicrobiana y de su efecto citotóxico en células cancerosas humanas [3]. En el cuadro 1, se enlistan las sustancias químicas aisladas de diferentes partes de la planta.

Cuadro 1. Sustancias químicas aisladas de diferentes partes de *T. parthenium*

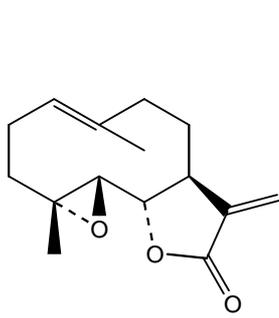
Sustancia química	Especie vegetal	Parte de la planta	Ref. bibliográfica
SESQUITERPENOS			
partenólida (1)	<i>T. parthenium</i>	Hojas, Partes aéreas	[8]
secotanapartenólida A (2)	<i>T. parthenium</i>	Hojas, Partes aéreas	[8,14]
artecanina (3)	<i>T. parthenium</i>	Hojas, Partes aéreas	[8,14]
canina (4)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[8,14]
3 β - hidroxipartenólida (5)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[6]
costunólido (6)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[8,14]
3 β -hidrocostunólida (7)	<i>T. parthenium</i>	Hojas	[8,14]
costato de metilo (8)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[6,14]
artemorina (9)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[6,14]
germacreno D (10)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas hojas	[6,14]
reynosina (11)	<i>T. parthenium</i>	Flor, raíz	[6,14]
santamarina (12)	<i>T. parthenium</i>	Flor, raíz	[6,14]
crisartemina A (13)	<i>T. parthenium</i>	Hojas	[8]
epoxiartemorina (14)	<i>T. parthenium</i>	Hojas	[8]
α -peróxido de la tanapartina (15)	<i>T. parthenium</i>	Hojas, Partes aéreas	[13-14]
secotanapartenólida B (16)	<i>T. parthenium</i>	Hojas, Partes aéreas	[8,14]
3.4- β -epoxi-8-deoxicumambrina (17)	<i>T. parthenium</i>	Flor	[12,14]
epoxisantamarina (18)	<i>T. parthenium</i>	Raíz, flor	[12,14]
3 β -hidroxi-anhidroverlotorina (19)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[13-14]
1 β -hidroxi-10,14-dehidro-1-10H partenólida (20)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[13-14]
4 α , 5 β -epóxido de la anhidroverlotorina (21)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[13-14]
8 α -hidroxiestafiatina (22)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[13-14]
8 α -isobutiriloxiestafiatina (23)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[13-14]
8 α -angeloiloxiestafiatina (24)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[13-14]

Continuación.... **Cuadro 1. Sustancias químicas aisladas de diferentes partes de *T. parthenium*.**

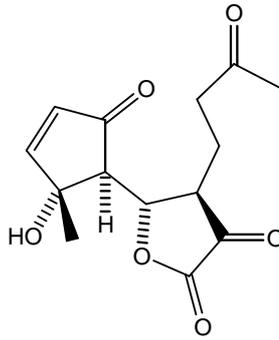
MONOTERPENOS			
angelato de bornilo (25)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[12]
alcanfor (26).	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[6,14]
acetato de crisantenilo (27)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[6]
<i>cis</i> - crisantenol (28)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[6]
acetato del <i>cis</i> -crisantenilo (29)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[6]
angelato del <i>cis</i> -crisantenilo (30)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[6]
isovalerato <i>cis</i> -crisantenilo (31)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[6]
4 β -acetoxicrisantenona (32)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[13,14]
FLAVONOIDES			
santina (33)	<i>T. parthenium</i>	Hojas	[8]
luteolina (34)	<i>T. parthenium</i>	Hojas, flores	[7]
apigenina (35)	<i>T. parthenium</i>	Hojas, flores	[7]
centauridina (36)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[9]
jaceidina (37)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[9]
tanetina (38)	<i>T. parthenium</i>	Hojas, flor	[10,14]
3,7-dimetoxiquercetina (39)	<i>T. parthenium</i>	Hojas, flor	[10,14]
3,7-dimetoxi-6-hidroxikamferol (40)	<i>T. parthenium</i>	Hojas	[10,14]
3, 7, 3-trimetoxiquercetagina (41)	<i>T. parthenium</i>	Hojas, flor	[10,14]
OTROS PRODUCTOS NATURALES			
<i>cis</i> - isovalerato del espirocetal (42)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[13]
<i>trans</i> -isovalerato del espirocetal (43)	<i>T. parthenium</i>	Partes aéreas	[13]

()= numero de estructura

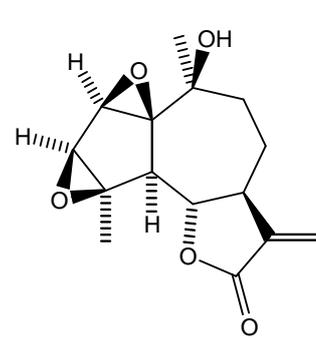
Metabolitos secundarios aisladas de *T. parthenium*



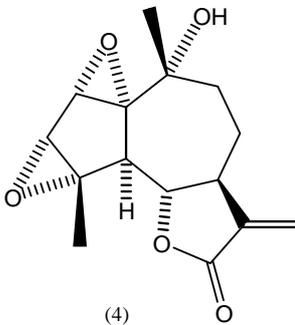
(1)



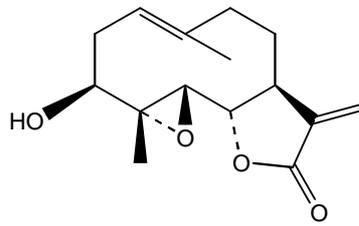
(2)



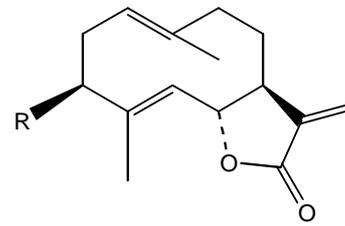
(3)



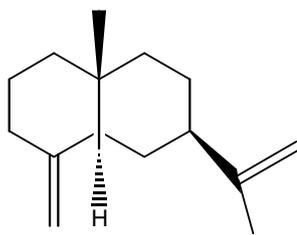
(4)



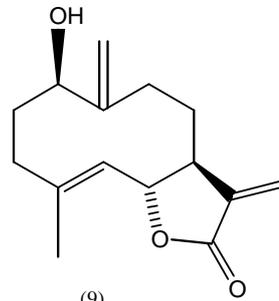
(5)



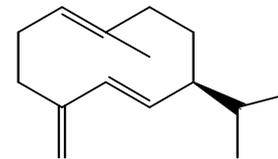
(6)R=H
(7)R=OH



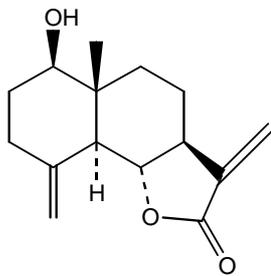
(8)R=COOH



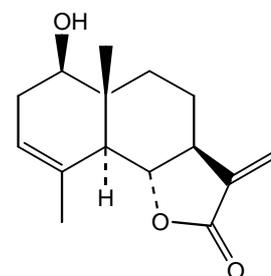
(9)



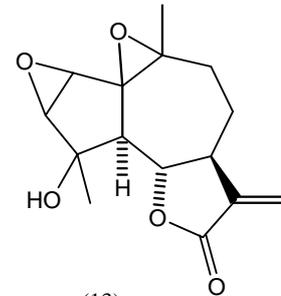
(10)



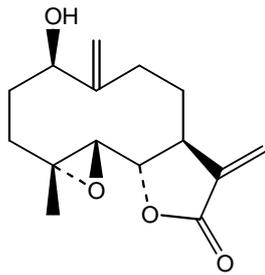
(11)



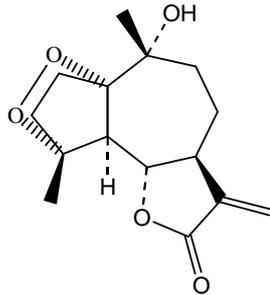
(12)



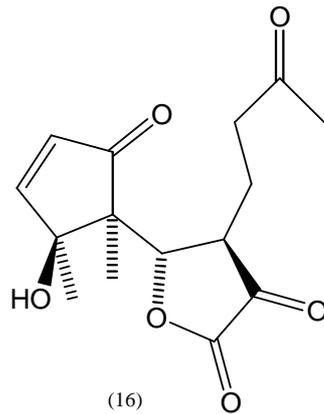
(13)



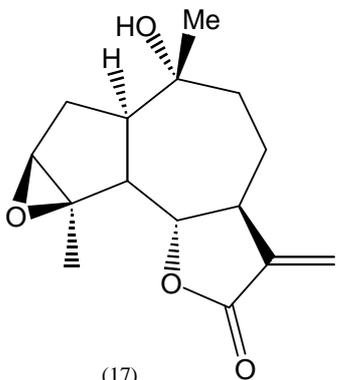
(14)



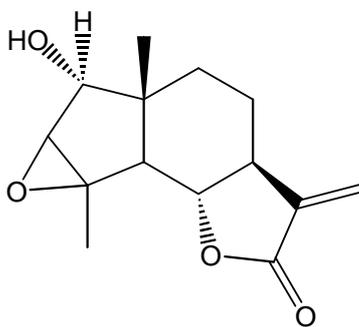
(15)



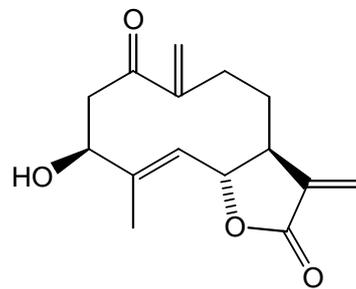
(16)



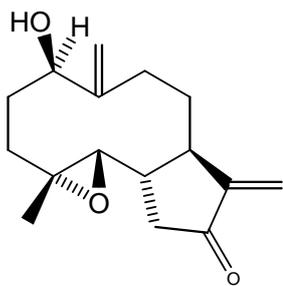
(17)



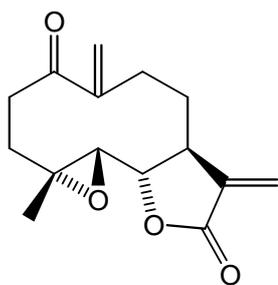
(18)



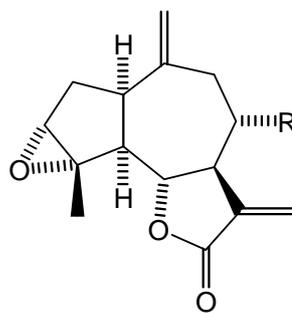
(19)



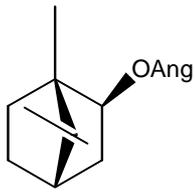
(20)



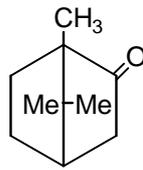
(21)



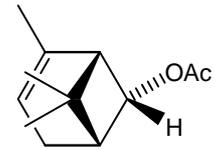
(22)R=OH
 (23)R=O/BU
 (24)R=OAng



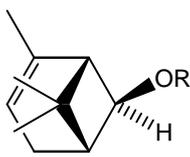
(25)



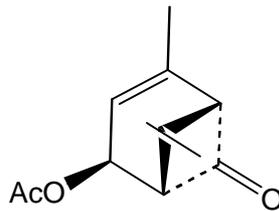
(26)



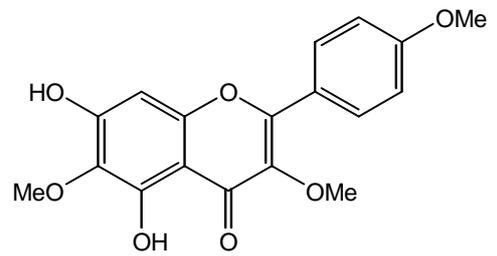
(27)



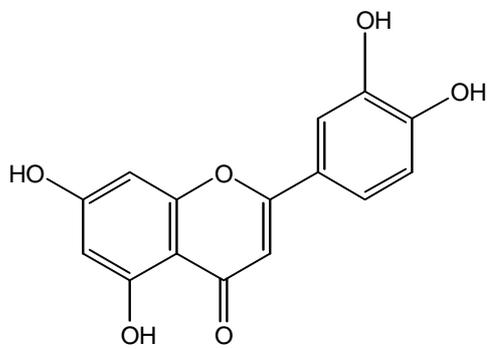
(28)R=H (30)R=Ang
(29)R=Ac (31)R=Val



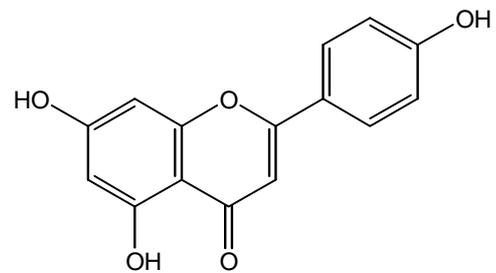
(32)



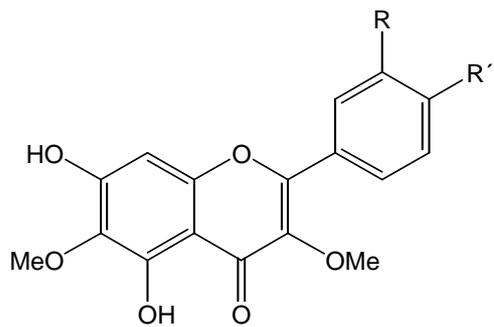
(33) R=H, R'=OMe,



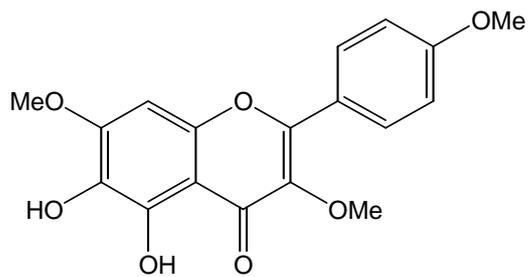
(34)



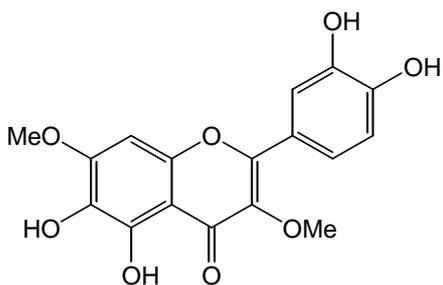
(35)



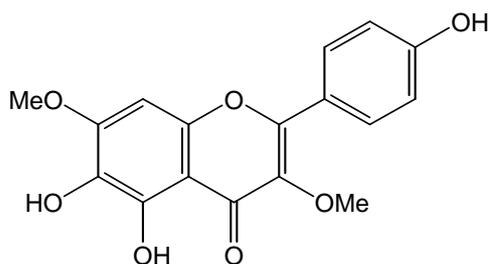
(36) R=OH, R'=OMe
 (37) R=OMe, R'=O



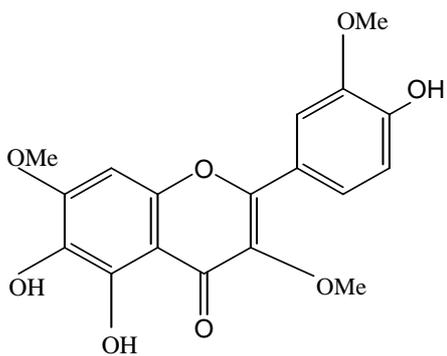
(38)



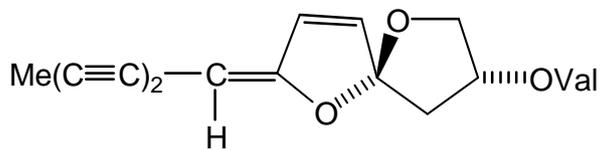
(39)



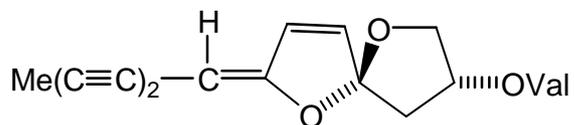
(40)



(41)



(42)



(43)

Con base en la información contenida en el cuadro 1, se puede inferir que *T. parthenium* es una especie rica en lactonas sesquiterpénicas y flavonoides, por lo que a continuación se dará una breve descripción general sobre dichos productos naturales.

2.4.1.- Flavonoides

Los flavonoides son productos naturales presentes en los vegetales, los cuales protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes como los rayos UV, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos. Se encuentran ampliamente distribuidas en diversas familias vegetales y se pueden localizar en flores, frutos, hojas, tallos y raíz de una planta. Los flavonoides presentan en su estructura química un número variable de grupos fenólicos libres ó metilados. Los grupos fenólicos le confieren su gran capacidad antioxidantes, los cuales actúan a través de la quelación del hierro y otros metales de transición. Por ello desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, influyendo la cardiopatía isquémica, la arterosclerosis o el cáncer.

Sus propiedades antioxidantes radican en su capacidad para atrapar los radicales hidroxilo y superóxido, especie altamente reactivas implicadas en la iniciación de la cadena de peroxidación lipídica; además se ha descrito su capacidad de modificar la síntesis de los eicosanoides —con respuesta antiprostanoïdes y antiinflamatoria— de prevenir la agregación plaquetaria —efectos antitrombótico— y de proteger a las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación [15-17].

Además de su efecto antioxidante, los flavonoides presentan otras actividades biológicas: regulación en el crecimiento celular e inducción de enzimas de detoxificación, tales como las monooxigenasa dependientes del Citocromo P450.

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenil-pirano ($C_6-C_3-C_6$), formados por dos anillos de fenólicos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano; esta estructura básica permite una multitud de patrones de sustitución y variaciones en el anillo C, que pueden originar otras estructuras como se ilustra en la figura 1.

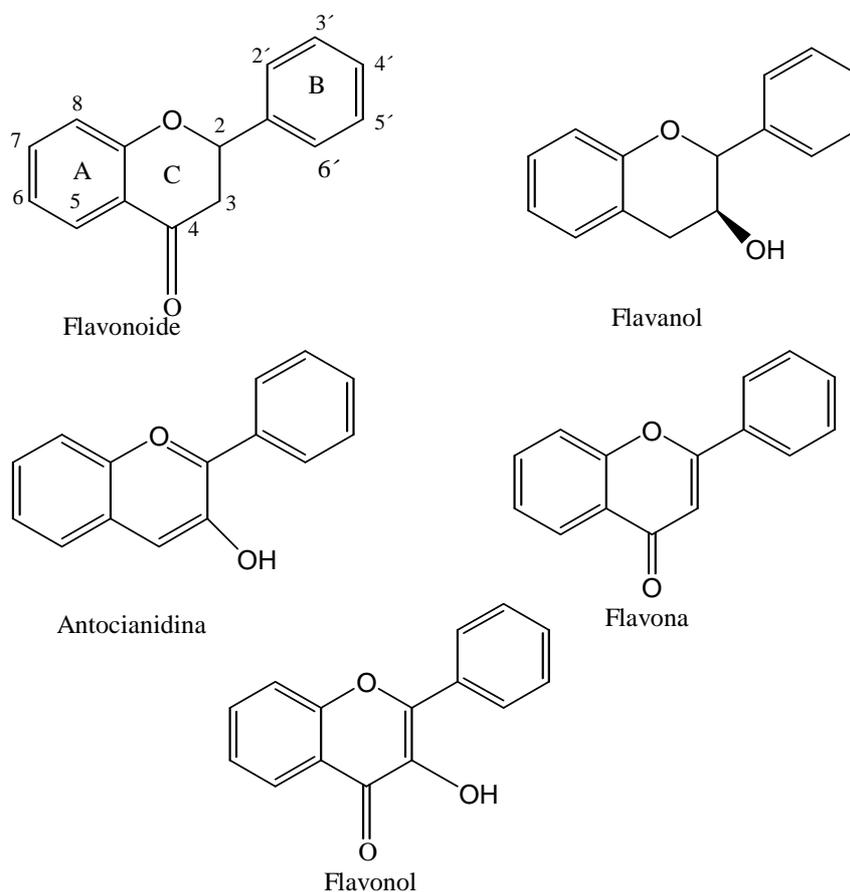


Figura 1. Estructura básicas de los flavonoides

Con base en los estudios de estructura-actividad para diferentes flavonoides, se ha encontrado que son importantes las siguientes variaciones estructurales:

- la presencia en el anillo B de la estructura catecol o dihidroxi.
- la presencia de un doble enlace entre las posiciones C_2-C_3
- la presencia de grupos hidroxilo en posiciones C_3-C_5 . Como ejemplo se puede citar a la quercetina, catequina y diosmetina, ver figura 2

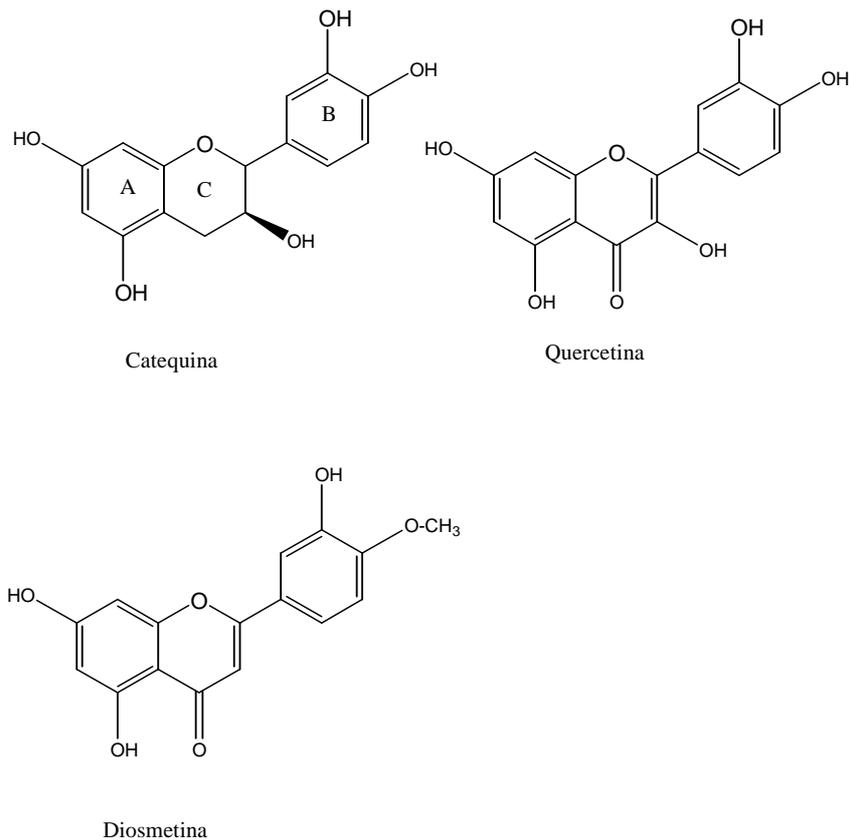


Figura 2. Requerimientos estructurales de los flavonoides para presentar actividad biológica.

A los flavonoles y flavonas se unen azúcares preferentemente en la posiciones C-3 y C-7 del anillo A para formar un O-glicósidos, siendo la glucosa el carbohidrato más frecuentemente encontrado, seguido de la D-galactosa.

2.4.2.-Lactonas sesquiterpénicas (LSs)

Las lactonas sesquiterpénicas (LSs) son un grupo grande y diverso de productos naturales presentes en más de 100 familias de plantas con flores, siendo la familia *Asteraceae* (*Compositae*) una fuente natural importante, ya que a partir de dicha familia se han descrito aproximadamente 3000 LSs, las cuales presentan una diversidad estructural importante. Algunas de estas sustancias se han aislado de especies vegetales utilizadas en la medicina tradicional —*Arnica montana*, *Artemisia annua* y *T. parthenium*— y en algunos casos son los principios activos de dicha especie vegetal.

Las LSs se han aislado a partir de hojas y flores, donde pueden constituir casi el 5%, del contenido de planta seca.

En la literatura se ha descrito que la actividad farmacológica de las LSs, las cuales pueden incluir desde la actividad antimicrobiana, antiviral, antiinflamatoria y antitumoral. El mecanismo molecular propuesto para determinar la actividad biológica de estas sustancias, es por medio del enlace covalente de los grupos sulfhídrico de las proteínas mediante una adición (1,4) sobre la cetona α , β -insaturada. Como resultado se puede inferir que dichas sustancias pueden actuar en procesos biológicos claves, tales como la señalización, la proliferación y la muerte celular por apoptosis; así como la respiración mitocondrial. Todos ellos constituyen las bases moleculares involucradas en la actividad farmacológica de LSs.

Las LSs son terpenoides de 15 átomos de carbono y se pueden clasificar en cuatro grupos: i) germacranólida (anillo 10), ii) eudesmanólida (compuestos bicíclicos 6/6), iii) guayanólidas iv) pseudoguayanólidas (compuestos bicíclicos 5/7). El sufijo ólida indica la presencia del grupo lactona. Todas las lactonas contienen un grupo metilen- γ -lactona con fusión de los anillos C₆-C₇ o C₈-C₉. El término *cis o trans* se refiere a la orientación del anillo de 5 o 7 miembros, ver figura (3)

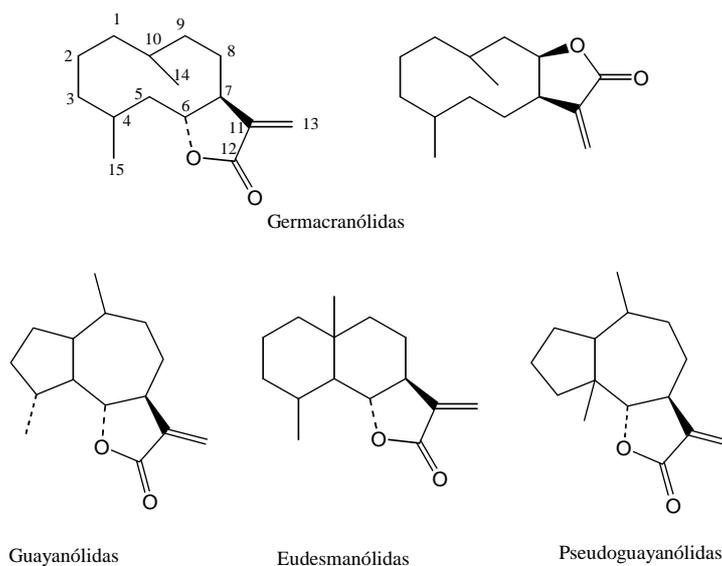


Figura 3. Esqueletos encontrados en las lactonas sesquiterpénicas

En general la bioactividad es mediada por la adición de nucleófilos, a través de su estructura carbonílica α , β -insaturada, tales como la α -metilén γ -lactona o las ciclopentanonas α , β -insaturada. Estos fragmentos estructurales reacciona con nucleófilos especialmente el grupo sulfhídrico de la cisteína por una adición tipo Michael.

Por lo tanto, es ampliamente aceptado que los grupos tioles como la cisteína pueden interactuar por medio de procesos redox en la célula [18].

3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

México ocupa un lugar privilegiado en el panorama mundial de la diversidad biológica, ya que en su territorio se encuentran casi todos los “*biomas*” que existen en el planeta, y en él vive cerca del 10% de las especies de plantas y animales terrestres que se conocen actualmente.

A esta gran riqueza biológica de México, se añade otro de igual valor, que es producto de la interacción de las sociedades humanas que habitan en el territorio mexicano. Es bien conocido que las plantas medicinales representan un componente muy importante en medicina tradicional en todo el mundo. Sin embargo, existe relativamente poca información científica acerca del empleo, composición química, ecología y evaluación biológica de la mayoría de las especies empleadas en la medicina tradicional mexicana.

Con base en lo anterior en el presente proyecto se plantea el estudio químico del extracto crudo con acetato de etilo, de las partes aéreas de *Tanacetum parthenium* (L) Schultz Bip —planta cultivada— para aislar, identificar y caracterizar los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en dicho extracto.

4.-HIPOTESIS

Estudios químicos realizados a diversas especies del género *Tanacetum* sugieren, que dicho género es fuente importante de lactonas sesquiterpénicas y flavonoides. Además se describe la presencia de la partenólida en *Tanacetum parthenium* (L) Schultz Bip, de origen europeo. Por otro lado, se conoce bien que las lactonas sesquiterpénicas presentan una amplia actividad biológica, entre las que sobresale su actividad citotóxica y antioxidante de los flavonoides.

Entonces al realizar el estudio químico del extracto con AcOEt de las partes aéreas de *T. parthenium* (L.) Schultz Bip distribuida en México —especie cultivada— mediante el empleo de técnicas convencionales de purificación y separación se podrán aislar las lactonas sesquiterpénicas y los flavonoides mayoritarios, que permitan evaluar a dicha especie vegetal, como fuente de sustancias biológicamente activas.

5.-OBJETIVOS

5.1.-Objetivo general:

Realizar el estudio químico del extracto crudo con AcOEt de las partes aéreas de *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz, Bip. —planta cultivada— Con la finalidad de aislar y caracterizar los metabolitos secundarios mayoritarios, presentes en dicho extracto.

5.2.-Objetivos particulares:

1.- Realizar la revisión bibliográfica en fuentes especializadas sobre estudios químicos, farmacológicos, toxicológicos, etnobotánicos del género *Tanacetum* y en particular sobre los estudios realizados a la especie *T. parthenium* distribuida en México. —especie cultivada—

2.- Preparación de los extractos crudos a partir del material vegetal seco con disolventes de polaridad creciente n-hexano, acetato de Etilo (AcOEt).

3.- Separación y purificación de los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en el extracto crudo de AcOEt, por medio del empleo de las diferentes técnicas cromatográficas —CCF, CCF preparativa, CCV—

4.-Caracterización e identificación de las sustancias aislados por medios de técnicas espectroscópicas —RMN-¹H, ¹³C, COSY— espectrométricas —IE— propiedades físicas y propiedades ópticas

6.-METODOLOGIA

La planta *Tanacetum parthenium* —planta cultivada— cuyo nombre común es santamaría fue obtenida en el mercado de Sonora D.F. México. El material vegetal fue identificado por el Biólogo Esteban Martínez y la Maestra Clara Ramos del Instituto de Biología de la UNAM, MEXU-481869. Las partes aéreas de santamaría (14 kg) de planta húmeda, fueron secados a temperatura ambiente, para posteriormente realizar extracciones solido-liquido (maceración) con disolventes de polaridad creciente (n-hexano, acetato de etilo y metanol). Para conocer los metabolitos secundarios presentes en el extracto "crudo" de acetato de etilo se procedió como se describe a continuación.

Para la separación cromatográfica del extracto con AcOEt de las partes aéreas de la santamaría, se utilizaron 185 g de extracto crudo el previamente adsorbidos en 235g de silica gel para CCF. Posteriormente el extracto adsorbido se aplicó en una columna (d =6.3 cm y h= 18 cm), para CCV. La columna se eluyó con mezclas de polaridad creciente de n-hexano y acetato de etilo, recogiéndose fracciones de 125 mL.

De la fracción numero 12, obtenida con n-hexano fue recromatografiada por CCV y de las fracciones de la 7-12, se aislaron 34.2 mg (0.018%) de un sólido blanco de pf 133-135°C, soluble en CHCl₃, e insoluble en n-hexano. El cual resultó ser una mezcla de triterpenos conformada por β-sistosterol (48) y estigmasterol (49).

De las fracciones 63-64, obtenidas con una mezcla de n-hexano-AcOEt (70: 30), se aislaron 116.4 mg (0.063%) de un sólido cristalino de punto de fusión 241°C, recristalizado por par de disolventes CH₂Cl₂/*i*-Pr₂O, dicho sólido es soluble en cloroformo, AcOEt y acetona. Con base en sus propiedades físicas y sus constantes espectroscópicas y espectrométricas se logró identificar a la santamarina (**12**) como uno de los compuestos mayoritarios presentes en dicho extracto.

$[\alpha]_{D}^{25} = +79.07$ (c 0.86, CHCl₃).

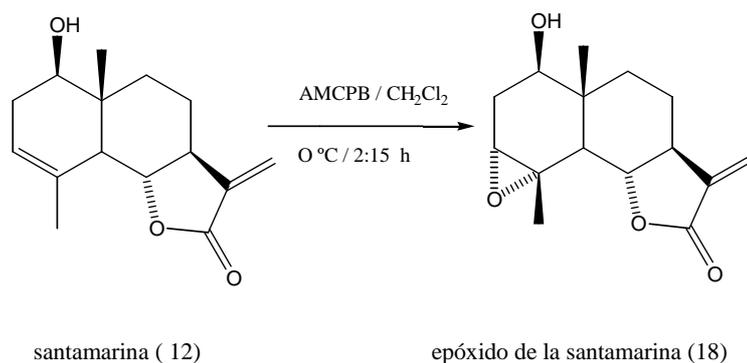
IR v (CHCl₃) cm⁻¹: 3600 y 1768

EM (IE, 70 eV) m/z: 248 [M⁺, 55.70] 152 (59), 119 (28), 107(100), 95 (42), 91(70), 72 (52), 53(61), 43(55), 39(43).

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃,TMS); 3.65 (*dd*, J= 10, 7 Hz, 1H, H-1), 5.30 (*m*, W_{1/2}= 10, Hz, 1H, H-3), 2.06 (*d*, J= 10, 1H, H-5), 3.95 (*dd*, J= 11, 10 Hz, 1H, H-6), 1.37 (*ddd*, J= 12, 6, 3 Hz, 1H, H-7), 5.38 (*d*, J= 3 Hz, 1H, H-13_a), 6.05(*d*, J= 3 Hz, 1H, H-13_b), 0.87 (*s*, 3H, CH₃-14), 1.83 (*sa*,W_{1/2}= 7 Hz, 3H, CH₃-15),

Epóxido de la Santamarina (18).

A 100 mg de santamarina (12) se hicieron reaccionar con 125 mg de ácido *m*-cloroperbenzoico (AMCPB) en 5 mL de CH₂Cl₂ a 0°C, siguiendo el curso de la reacción por CCF. Después de 2.15 h, ver esquema (4). Se adicionaron 25 mL de una solución de KHSO₃ saturada, para eliminar el exceso AMCPB. La fase orgánica resultante se lavó con una solución de NaHCO₃ saturada (3x10mL) hasta su neutralización, seguido de agua (3x10mL). Posteriormente se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró por destilación a presión reducida. Obteniéndose 51.8 mg (64.7 %) de un sólido cristalino de pf. 241°C, cuyas constantes espectroscópicas y espectrométricas, se enlistan a continuación.



Esquema 4. Obtención del epóxido de la santamarina (18) con AMCPB

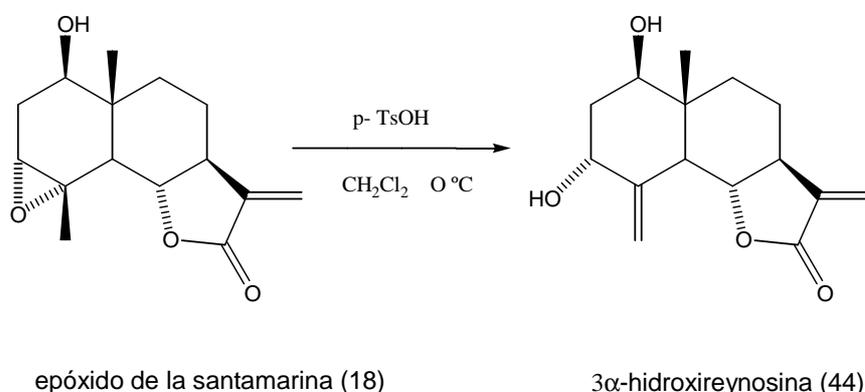
IR v (CHCl₃) cm⁻¹: 3400, 1764, 962

EM (IE, 70 eV) m/z: 264 (M⁺, 3.00), 249 (10.0), 189 (38), 147 (60), 119 (49), 91 (33), 79 (33), 77 (33), 53 (50), 43 (100).

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃,TMS); 3.46 (*dd*, J= 12, 3 Hz, 1H, H-1), 3.04 (*d*, J= 3 Hz, 1H, H-3), 1.92 (*d*, J= 12 Hz, 1H, H-5), 3.93 (*dd*, J= 12 Hz, 1H, H-6), 1.64 (*ddd*, J = 12, 3 Hz, 1H, H-8_β), 2.08 (*m*, 1H, H-8_α), 1.93 (*m*, 1H, H-9_β), 1.26 (*m*, 1H, H-9_α), 6.10 (*d*, J = 3Hz, 1H, H-13_a), 5.44 (*d*, J= 3 Hz, 1H, H-13_b), 0.92 (*s*, 3H, H-14), 1.50 (*s*, 3H, H-15).

Apertura del Epóxido de la santamarina (18):

A 25.4 mg del epóxido de la santamarina (18) se hicieron reaccionar con 4 mg de ácido p-toluensulfónico (p-TsOH) en 10 ml de CH₂Cl₂ a 0°C, siguiendo el curso de la reacción por CCF, ver esquema 5. Después de 4 h de reacción se adicionaron 10 ml de agua y se procedió a la extracción de la mezcla de productos, para lo cual la fase orgánica se lavó con una solución saturada NaHCO₃ (3x10 mL), seguido con agua (3x10mL). Posteriormente se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró por destilación a presión reducida. La mezcla de productos obtenida se purificó por medio de CCV, obteniéndose un compuesto mayoritario que por sus constantes espectroscópicas y espectrométricas resultó ser idéntica a la 3α-hidroxiireynosina, sustancia previamente aislada de las partes aéreas de *Artemisia ludoviciana* spp. *mexicana* [19].



Esquema 5. Apertura *regioselectiva* del epóxido de la santamarina (18) con p-TsOH.

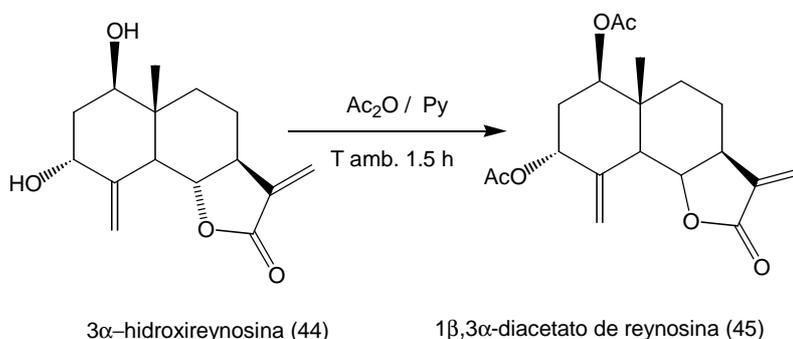
IR v (CHCl₃) cm⁻¹: 3607, 1767

EM (IE, 70 eV) m/z: 246 (M⁺; 24.3), 228 (16.0) 165 (53) 147 (30) 131 (33) 119 (34) 105 (50) 97 (76) 55 (73) 53 (100).

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS); 3.44 (*dd*, J=11, 5 Hz, 1H, H-1), 4.32 (*t*, J= 4 Hz, 1H, H-3) 2.72 (*d*, J=11 Hz, 1H, H-6) 2.50 (*m*, 1H, H-7), 5.38 (*d*, J=3 Hz, 1H, H-13_a) 6.06 (*d*, J=3 Hz, 1H, H-13_b), 4.98 (*sa*, W_{1/2}= 4 Hz, 1H, H-15_a), 5.14 (*sa*, W_{1/2} = 4 Hz, 1H, H-15_b),

Obtención 1 β , 3 α -diacetato de reynosina (47).

A 12.4 mg de 3 α -hidroxireynosina (44) se le adicionó 1 mL de anhídrido acético 0.5 mL de piridina a temperatura ambiente, el curso de la reacción se siguió por CCF, la cual concluyó después de 1.5 h, ver esquema 6; para la recuperación de la mezcla de productos se le adicionaron 10 mL agua fría seguido de extracciones sucesivas con CH₂Cl₂. La fase orgánica obtenida se lavó con una solución HCl al 10 % (3x5 mL), el exceso de ácido en la fase orgánica fue neutralizado al tratarla con una solución sobresaturada de NaHCO₃, (3x5 mL), el exceso de reactivo en el medio se eliminó con agua (3x10 mL), para posteriormente secar la fase orgánica con Na₂SO₄ anhidro, obteniéndose 14.5 mL (86.2) de un producto de consistencia aceitosa que fue caracterizada como 1 β , 3 α -diacetato de reynosina (45).



Esquema 6. Obtención de 1 β ,3 α -diacetato de reynosina a partir (44) con Ac₂O y Py

$[\alpha]_D^{25} = +56.25$ (C 1.60, CHCl₃)

IR ν (CHCl₃) cm⁻¹: 1767, 1732

EM (IE, 70 eV) m/z 228 (6.00), 183 (5), 120 (8), 105 (22), 91 (15), 88 (9), 87 (12), 70 (13), 43 (100).

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS): 5.12 (*dd*, J=12, 6 Hz, 1H, H-1), 1.85 (*dd*, J=12, 3 Hz, 1H, H-2_b), 2.07 (*so.* H-2_a), 5.48 (*t*; J=3 Hz, 1H, H-3), 2.72 (*d*, J=12 Hz, 1H, H-5), 4.02 (*t*, J=12 Hz, 1H, H-6), 2.61 (*dddd*, J=12, 6, 3 Hz, 1H, H-7), 2.07 (*so.*, H-8 _{α}), 1.48 (*dddd*, J=12, 3 Hz, 1H, H-8 _{β}), 1.79 (*m*, H-9 _{β}), 1.62 (*ddd*, J=12, 3 Hz, 1H, H-9 _{α}), 6.10 (*d*, J=3 Hz, 1H, H-13_a), 5.46 (*d*, J=3 Hz, 1H, H-13_b), 0.92 (*s*, 3H, H-14), 5.35 (*sa*, W_{1/2}=3 Hz, 1H, H-15), 5.16 (*d*, J=1.5 Hz, 1H, H-15), 2.12 (*s*, H-16), 2.08 (*s*, H-17).

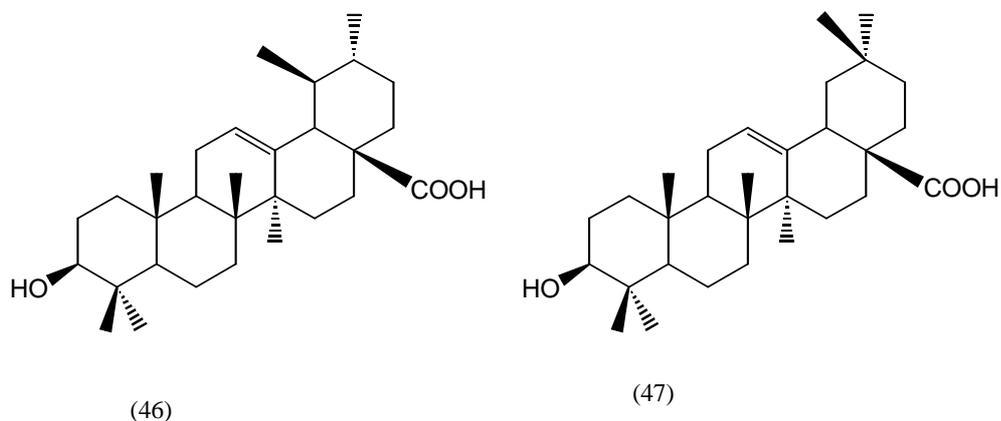
Mezcla de ácido oleanólico (46) y ácido ursólico (47).

De las fracciones de la 90-120 eluidas con una mezcla de n-hexano/AcOEt (50:50) y (40:60), se aislaron 72 mg de una mezcla de ácidos triterpénicos, las cuales no fue posible separar utilizando la metodología convencional. A continuación se detallan sus propiedades físicas y espectroscópicas. La mezcla está constituida de ácido oleanólico y ursólico, la cual es un sólido blanco, con un punto de fusión de 261-264°C; parcialmente soluble en *i*-Pr₂O, n-hexano, CHCl₃, AcOEt a temperatura ambiente y soluble en EtOH y PrOH.

IR v (Nujol) cm⁻¹: 3432, 2924, 2854, 1689, 1462, 1384, 1377, 1366, 1271, 1034.

EM (IE) % 456 (M+ 5), 438 (59.3), 248 (100.0), 203 (39.8), 189 (12.7), 133 (22.8), 69 (15.2), 55 (16.1), 43 (14.4).

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃, + DMSO-d₆) 5.27 (*t*, J = 1.5 Hz, H-12, 1H), 3.21 (*dd*, J = 12 y 6 Hz, H-3, 1H), 2.82 (*dd*, J = 1 y 6 Hz, H-18 1H), oleanólico, 2.24 (*d*, H-18, 1H), ácido ursólico, 1.08 (*s*, CH₃-25, 3H), 1.2 (*s*, CH₃-27, 3H), 0.89 (*s*, CH₃-24, 3H), 0.94 (*s*, CH₃-23, 3H), 0.92 (*s*, CH₃-29, 3H), 0.78 (*s*, CH₃-26, 3H).



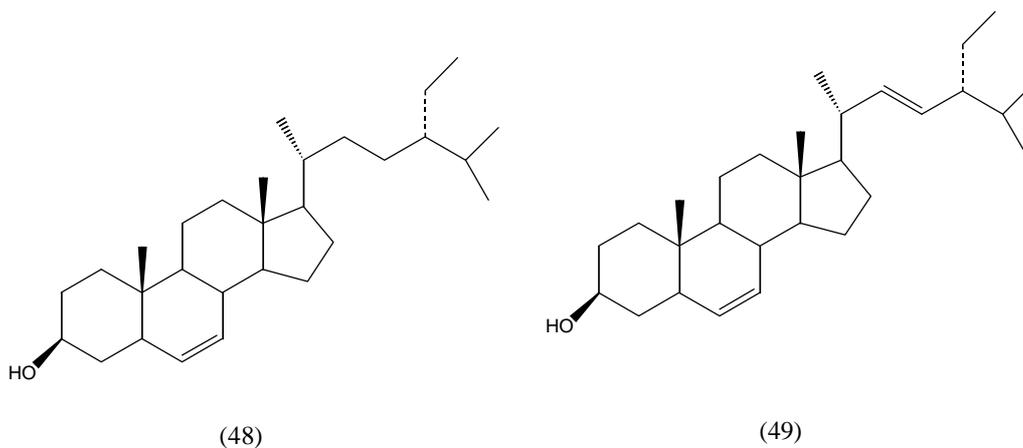
Esquema 7. Fracciones más polares, constituidas por una mezcla de ácidos ursólico y oleanólico,

7.-RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS.

De la separación cromatográfica, del extracto con AcOEt de las partes aéreas de la santamaría, se obtuvo a partir de la fracción 12, 34.2 mg (0.18%) de un sólido blanco, de pf. 133-135°C, en su espectro de IR muestra en 3609 cm^{-1} una banda que sugiere la presencia de un grupo hidroxilo.

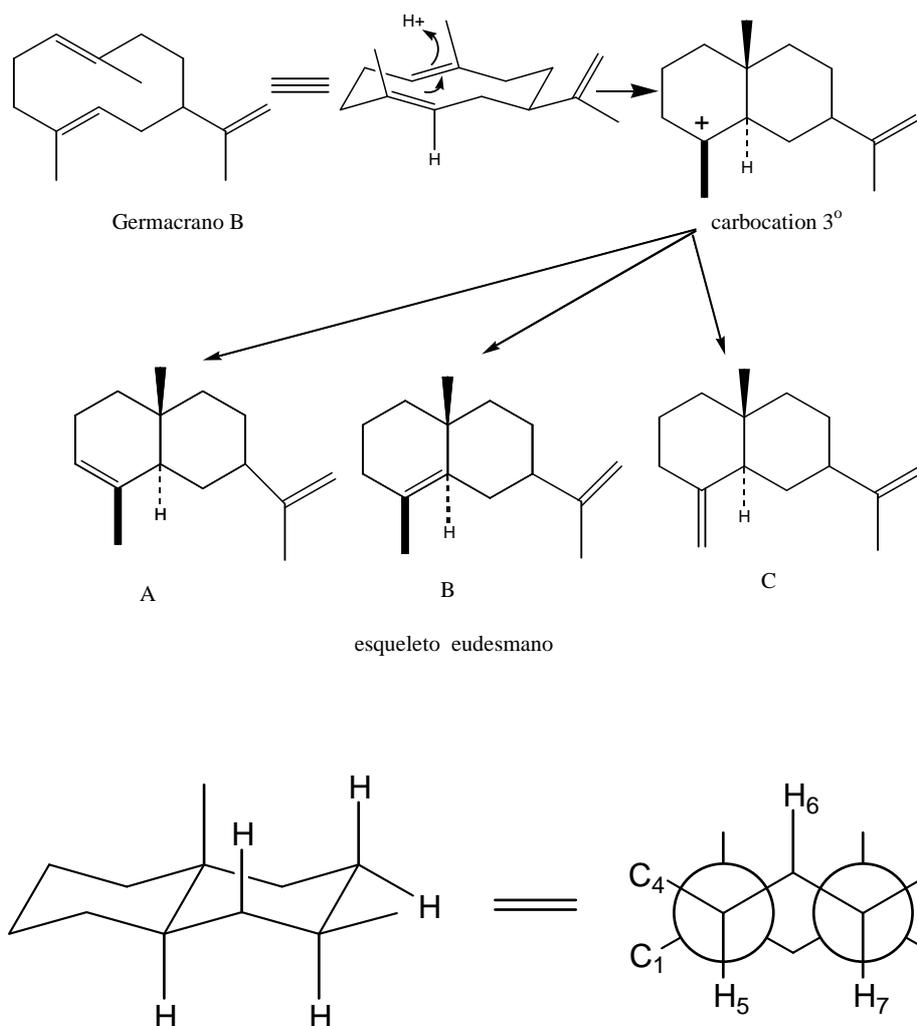
Por otra parte, en su espectro de masas por impacto electrónico presenta un ión molecular a m/z 414 (20.3%), además de los fragmentos de m/z 329 (35%) y 303 (9%), los cuales son característicos de esteroides que presentan una insaturación entre los C_5 - C_6 [20].

Por otra parte, el fragmento de m/z 119 (35%) sugiere -3-esterol- Δ^{5-6} , deduciéndose la fórmula molecular $C_{29}H_{50}O$ ($\Omega=5$). De acuerdo a la descripción anterior y con base en su espectro de RMN- 1H , se determinó que dicho sólido corresponde al β -sitosterol (**48**), el cual se encuentra mezclado con estigmasterol (**49**), metabolitos secundarios ampliamente distribuida en el reino vegetal [21].



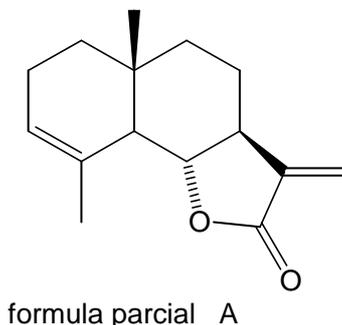
De las **fracciones 63-64**, obtenidas con una mezcla de n-hexano-AcOEt (70:30), se aisló un sólido cristalino de punto de fusión 241°C. En su espectro de EM (IE) presenta un ion molecular de m/z 248 (55.7%), al cual corresponde una fórmula molecular $C_{15}H_{20}O_3$ ($\Omega=6$). En su espectro de IR, se observa una banda que corresponde $\nu(O-H)$ en 3600 cm^{-1} de un grupo hidroxilo y 1768 cm^{-1} para la $\nu(C=O)$ de una γ -lactona del grupo carbonilo α,β -insaturada.

Por otro lado en su espectro RMN¹-H (CDCl₃), ver espectro 1, se observa una señal δ 3.95 (*dd*, *J*= 11, 10 Hz, 1H), lo cual está de acuerdo con lo mostrado con el esquema 8, que se asigna al H_{6 β -axial} del esqueleto de eudesmano, lo cual esta de acuerdo con los desplazamiento químicos de RMN-¹³C ver espectro 2.



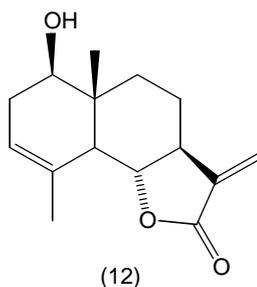
Esquema 8. Formación del esqueleto de eudesmano a partir del germacrano B.

Las señales de δ 0.87 (*s*, 3H, CH₃-14) y 1.83 (*sa*, $W_{1/2} = 7$ Hz, 3H, CH₃-15) corresponden a los metilos unidos a Csp³ y Csp² respectivamente, ver fórmula parcial A.

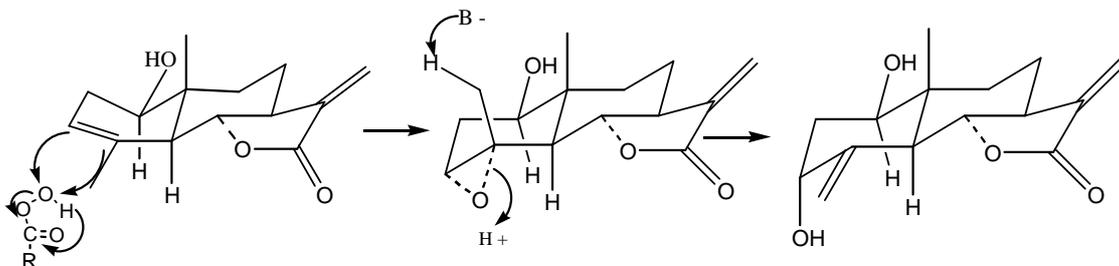


Por otro lado, la señal amplia (*sa*) en δ 5.30 ($W_{1/2} = 10$ Hz), se asignó al hidrógeno vinílico del H-C-3. Además, se observa una señal múltiple (*sm*) centrada en δ 2.06, que se asignó a H-5, y la cual muestra un acoplamiento *trans*-diaxial con H-6 ($J = 12$ Hz); la señal de este núcleo se puede detectar cuando se equilibra D₂O. Lo anterior, permitió ubicar la doble ligadura entre los C-3 y C-4 del anillo A. La señal en δ 2.5 (*ddd*, $J = 12, 6, 3$ Hz) observada, cuando se equilibra con D₂O, corresponde a H-7 _{α} -axial que se acopla con H-6 _{β} -axial y H-8 _{β} -axial. Los hidrógenos alílicos H-13_a (*d*, $J = 3$ Hz, 1H) y H-13_b (*d*, $J = 3$ Hz, 1H) muestran un δ 6.05 y 5.38 respectivamente.

La señal δ 3.65 (*dd*, $J = 10, 7$ Hz, 1H) corresponde al hidrógeno geminal al grupo hidroxilo en el C-1, por su constante de acoplamiento posee una orientación α -axial, dicha señal muestra un acoplamiento con las señales δ 2.06-2.01 que corresponden al H-2. Finalmente las señales en δ 1.67 (*dddd*, $J = 12$ y 3 Hz, 1H) y 1.33 (*ddd*, $J = 12, 3$ Hz, 1H) corresponden a los hidrógenos H-8 _{β} axial y H-9_{axial}; donde H-8 _{β} axial muestra un acoplamiento *trans*-diaxial con los hidrógenos H-7_{axial} y H-9_{axial}, mientras que H-9_{axial}, muestra acoplamiento *trans*-diaxial H8_{ax} H9_{ax}. La integración de los datos descritos anteriormente están de acuerdo con los informados en la literatura para la santamarina (12), lactona sesquiterpénica con esqueleto de eudesmano aislada en *Ambrosia confertiflora* y *Artemisia ludoviciana ssp mexicana*, entre otras [19, 22].



La transformación química de la santamarina (12) con AMCPB permitió la obtención del epóxido de la santamarina de una manera *estereodiferenciada*, como se muestra en el esquema 9; de donde se generó la 3 α -hidroxireynosina (44), cabe señalar que dicha sustancia ha sido aislada previamente de especies vegetales de esta misma familia [22-23].



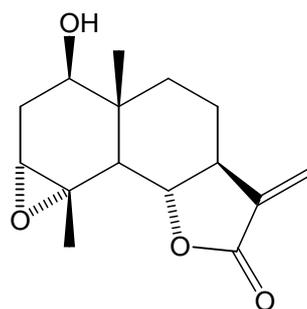
Esquema 9. Obtención de la 3 α -hidroxireynosina (44), a partir de la apertura *estereodiferenciada* epóxido de la santamarina.

La sustancia presentó un pf. 241°C, el cual en su espectro de IR se observó una banda ancha en 3618 cm^{-1} que sugiere la presencia de un grupo hidroxilo y la banda $\nu(\text{C}=\text{O})$ en 1767 cm^{-1} del grupo carbonilo que forma parte de una cetona α,β -insaturada.

En su espectro de masas EM (IE), se corrobora la presencia del anillo del oxirano, al observar un aumento de 16 uma con respecto a **12**, con un ión molecular m/z 264 (3.85%) para una fórmula condensada $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$, lo cual está de acuerdo con el número de carbono observando en su espectro de RMN- ^{13}C ver espectro 3.

En su espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 200 MHz, espectro 4), se distingue una señal en δ 3.93 (*dd*, 1H, J=12 Hz), que corresponde H-6. Dos señales simples δ 0.92 (*s*, 3H) y δ 1.50 (*s*, 3H) sobre C cuaternarios sp³ para los CH₃-14 y CH₃-15. La señal centrada 1.92 (*d*, J=12 Hz, 1H), se asignó a H-5; la señal doble en δ 3.04 (*d*, J = 3 Hz, 1H) corresponde al H-3 geminal al epóxido, lo cual está de acuerdo con su constante de acoplamiento, ya que el H-3 posee una orientación β -ecuatorial. Además de dos señales dobles (*d*) en δ 6.10 y δ 5.44 que corresponden a los H-13_a (*d*, J = 3 Hz, 1H) y H-13_b (*d*, J = 3 Hz, 1H) respectivamente.

Por otro lado, en δ 3.46 (J=12, 3 Hz, 1H) se observa una señal doble de doble (*dd*) que por su constante de acoplamiento corresponde a H-1, el cual se encuentra geminal a un grupo hidroxilo con orientación β -ecuatorial. Las señales *ddd* en δ 1.64 (J = 12, 3 Hz, 1H) corresponde al H-8 _{β axial}, mientras en δ 1.26 aparece un multiplete que puede asignarse a H-9 _{α axial}. Con base en la discusión anterior, se identificó a dicho sólido como la 3,4-epoxisantamarina (**18**).



(18)

La apertura regioselectiva del epóxido de la santamarina (18), generó el alcohol alílico. En su espectro de masa EM (IE), se observa un ion molecular en m/z 264 (24.3) que corresponde a una fórmula molecular C₁₅H₂₀O₄ ($\Omega = 6$).

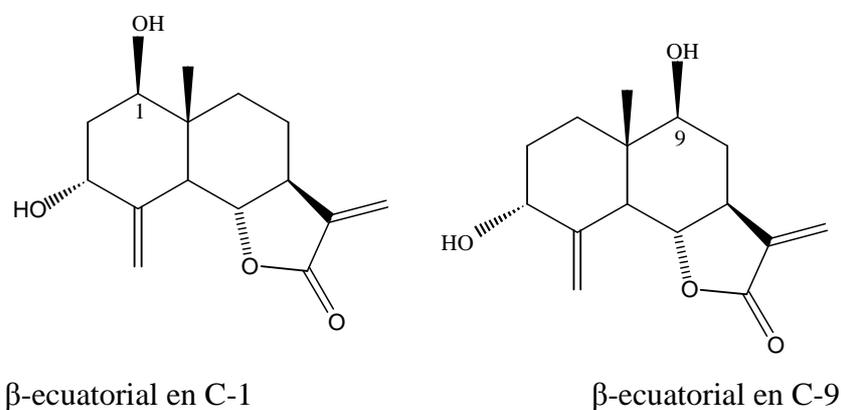
En su espectro de IR, se observan bandas de absorción en 3607 cm⁻¹ que se debe a la presencia ν (O-H), y en 1767 cm⁻¹ ν (C=O) característico de la α -metileno- γ -lactona.

Con base en los datos de su espectro de RMN-¹H (CDCl₃), se observa una señal en δ 3.98 (*t*, J= 11 Hz), es característico de una lactona sesquiterpénica cerrada al C-6, cuyo hidrógeno localizado en esta posición tiene una orientación β -axial y una interacción *trans*-diaxial con H-5 que aparece en δ 2.72 (*d*, J= 11 Hz). Las señales en δ 6.06 (*d*, J= 3H, 1H) y δ

5.38 (*d*, J= 3H, 1H) corresponde a los hidrógenos del metileno *exocíclicos* de la γ -lactona.

Por otro lado, la señal en δ 0.76 (*s*, 3H) corresponde al metilo unido al C-10 y las señales centradas δ 4.98 (*sa*. $W_{1/2}=3$ Hz, 1H) y δ 5.14 (*sa*. $W_{1/2}=3$ Hz, 1H), corresponden al metileno *exocíclico* que se ubica en C-4.

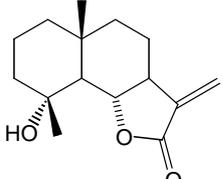
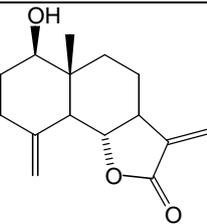
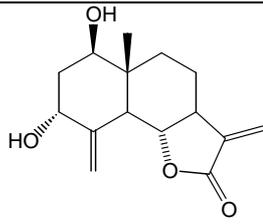
La señal δ 4.32 (*t*, J= 4 Hz, 1H) corresponde al hidrógeno geminal en el C-3, donde se ubica el grupo hidroxilo con una orientación α -axial. Con base en los datos anteriores se pueden proponer dos posibilidades estructurales, en donde los dos grupos hidroxilos tengan diferentes posiciones y configuraciones, como se ilustra en el esquema 10.

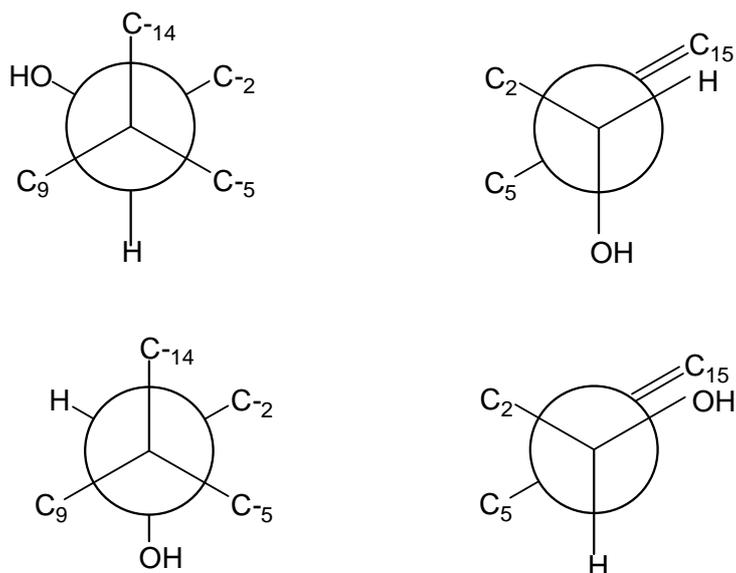


Esquema 10. Posibilidades estructurales de los alcoholes en posiciones (C-1) y (C-9) del esqueleto de eudesmano.

La discriminación estructural se realizó al comparar sus desplazamientos químicos en RMN-¹³C (CDCl₃-DMSO_{d6}), con los informados para la arbusculina A (**50**) y reynosina (**11**), de acuerdo con la cuadro 2, 5 estos resultados permitieron concluir que el producto obtenido de la apertura de (**18**) con *p*-TsOH; es la 3 α -hidroxireynosina (**44**).

Para la asignación del grupo hidroxilo en C-1 con orientación β -ecuatorial fue determinada por los desplazamientos químicos de los C-5, C-9 y C-14, al considera el efecto γ -gauche, como se ilustra en el esquema 11.

CUADRO 2.-Desplazamientos químicos de 4 los compuesto				
C	 Arbusculina A (50)	 Reynosina (11)	 3 α -hidroxi-reynosina (44)	$\Delta\delta$
C-1	40.9 (CH ₂)	78.1 (CH)	72.29 (CH)	5.81
C-2	19.4 (CH ₂)	31.3 (CH ₂)	38.45(CH ₂)	-6.15
C-3	42.8 (CH ₂)	35.7 (CH ₂)	72.71 (CH)	-37.01
C-4	71.5 (C)	142.4 (C)	146.05 (C)	-3.65
C-5**	57.8 (CH)	53.0 (CH)	47.35 (CH)	5.65
C-6	81.3 (CH)	79.6 (CH)	79.57 (CH)	0.03
C-7*	50.7 (CH)	49.6 (CH)	49.64 (CH)	-0.04
C-8*	21.9 (CH ₂)	21.5 (CH ₂)	21.42 (CH ₂)	0.08
C-9**	40 (CH ₂)	33.6 (CH ₂)	35.69 (CH ₂)	-2.09
C-10	37.5 (C)	43.0 (C)	43.29(C)	-0.029
C-11	138.3 (C)	138.1 (C)	139.63 (C)	-1.53
C-12	169.6 (C)	170.5 (C)	170.59 (C)	-0.09
C-13	117.5 (CH ₂)	117.9 (CH ₂)	116.47 (CH ₂)	1.43
C-14**	19.7(CH ₃)	11.7 (CH ₃)	10.77 (CH ₃)	0.93
C-15	24.5 (CH ₃)	110.5 (CH ₂)	111.23 (CH ₂)	-0.73



Esquema 11. Efecto γ -gauche entre los C₅, C₉, C₁₄

Si el grupo hidroxilo es β -ecuatorial (AA) ejerce un efecto de protección sobre el C-9 y C-14, estando de acuerdo con los desplazamientos químicos a campo alto, para la estructura propuesta; no para el C-5 que es *antiperiplanar*. El efecto de protección sobre el C-5, se explica por la disposición α -axial del grupo hidroxilo en el C-3

Otra posibilidad sería cuando sobre C-1 el grupo hidroxilo tiene una orientación α -axial, observándose un efecto de protección sobre el C-5 y C-9, pero no sobre el C-14; lo anterior permitiría situar a un grupo hidroxilo α -axial en C-1 y en C-3 en una orientación β -ecuatorial, lo cual resulta contradictorio para los desplazamiento químicos obtenidos para el compuesto (44), Esto permite corroborar que las orientaciones en C-1 y C-3 de los grupos hidroxilos es β -ecuatorial y α -axial respectivamente.

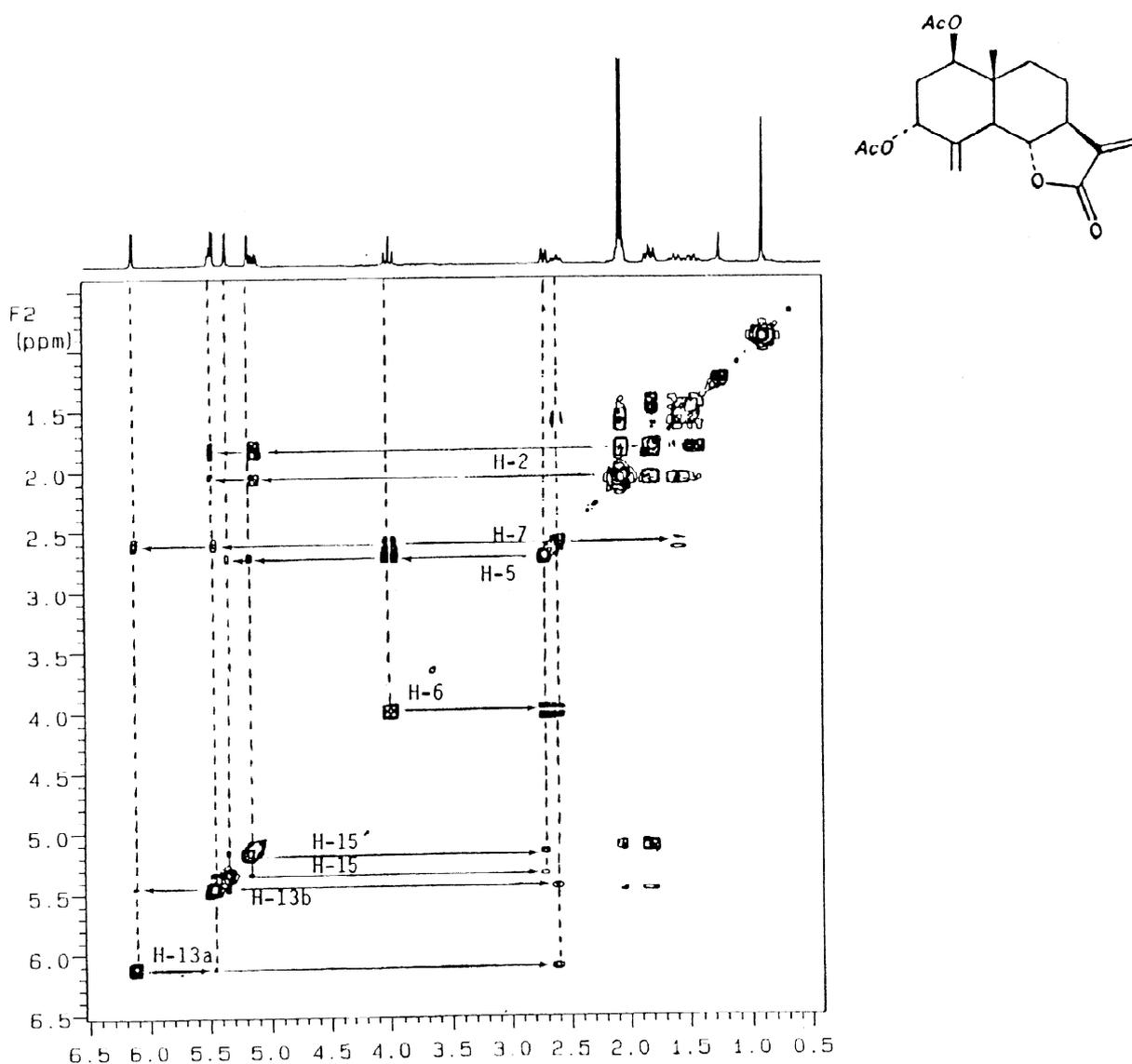
Por otro lado, el 1β , 3α -diacetato de reynosina (45), fue obtenido al hacer reaccionar 12.4 mg de (44) con anhídrido acético y piridina, en su espectro de IR se observa una banda en 1782 cm^{-1} de α -metilen- γ -lactona y 1731 cm^{-1} que se debe $\nu(\text{C}=\text{O})$ del grupo carbonilo del acetato ver espectro 6 de IR. Por otro lado su EM (IE), se observa un ion molecular m/z 230 (6%), con una pérdida de 59 uma por cada acetato, lo cual sugiere que se tiene una fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_6$, lo cual está de acuerdo en el número de carbonos observados en su espectro de RMN- ^{13}C , ver espectro 8.

Con base en los datos de su espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), se observan los hidrógenos H-13_a (δ 6.10, *d*, J=3 Hz, 1H,) y H-13_b (δ 5.46, *d*, J=3 Hz, 1H) que forman parte de la doble ligadura *exocíclica* de la γ -lactona. El esqueleto de eudesmano para este compuesto está de acuerdo con las señales δ 4.02 (*t*, J=12 Hz, 1H) que corresponde a H-6 con una orientación β -axial e interacciones *trans*-diaxiales, con H-5 (*d*, J=12 Hz, 1H) y H-7 (*dddd*, J=12, 6, 3 Hz, 1H). Asimismo se observan dos señales en δ 5.35 (*s* a, W_{1/2}=3 Hz, 1H) y δ 5.16 (*d*, J=1.5 Hz, 1H), las cuales corresponden a la doble ligadura *exocíclica* unida al C-4.

La señal triple de δ 5.48 (J=3 Hz, 1H), corresponde al hidrogeno geminal al grupo acetato y que se localiza en el C-3, dicho hidrógeno muestra una interacción alílica con H-15 y con los hidrógenos de la posición C- 2; por lo tanto la señal doble de doble en δ 5.12 (J=12, 6 Hz, 1H) se asignó a H-1. Dicho hidrógeno muestra en su espectro COSY, una interacción con la señal en δ 1.85 (*dd*, J=12, 3 Hz, 1H) del H-2 β -axial. Las interacciones de los hidrógenos H-13, H-15, H-6, H-7 y H-2 presentes en la molécula, se muestran detalladamente en el esquema 12.

Las señales en δ 2.12 y δ 2.08 se asignaron a los H-16 y H-17 de los grupos acetatos, mientras que la señal en δ 0.92 corresponde a CH₃-14

Las interacción de H-8 β -axial (*dddd*, J=12, 3 Hz, 1H) con H-7 (*dddd*, J=12, 6, 3 Hz, 1H), H-9 α -axial (*ddd*, J=12, 3Hz, 1H) y H-8 α -ec (*s.obs*). Por otro lado, H-9 β -ec (δ 1.62, 1H, *ddd*, J=12, 3Hz), con una disposición α -axial, muestra una interacción geminal con H-9 β -ecuatorial, e interacción *trans*-axiales con H-8 β -axial. El análisis de sus datos espectroscópicos RMN-¹³C, (experimento DEPT, ver espectro 8) permite confirmar que el producto obtenido es el derivado diacetilado de la 3 α -hidroxireynosina (44).



Esquema 12.- Espectro COSY de la 1 β , 3 α -diacetato de reynosina (45).

De las fracciones 150-172, obtenidas al eluir la columna con una mezcla de n-hexano-AcOEt (50:50) se identificaron como constituyentes mayoritarios al ácido oleanólico (46) y ácido ursólico (47), la proporción cada uno de ellos en las diferentes fracciones varió al aumentar la polaridad de la mezcla de elusión.

El espectro IR de dicha mezcla muestra una banda de absorción en 3432 cm^{-1} característica del $\nu(\text{O-H})$, grupo que se comprobó al obtener el derivado acetilado de la

mezcla en cuestión., la presencia del grupo carboxilo fue confirmada por la banda de 3300-2700 cm^{-1} $\nu(\text{O-H})$, y por la banda 1689 cm^{-1} que corresponde $\nu(\text{C=O})$, y finalmente las bandas que corresponden $\text{Csp}^3\text{-H}$, en 1924 y 2853 cm^{-1} .

Por otra parte, en el espectro RMN- ^1H de esta mezcla se observa una señal *triple* (t) en δ 5.27 (1H) que corresponde al H-vinílico del carbono C-12. La señal centrada en δ 3.21 ($J= 12$ y 6 Hz), es para el hidrógeno geminal del C-3. La señal para el H-C₁₈ aparece δ 2.83 (1H), con una multiplicidad doble de doble (*dd*), lo cual sugiere la estructura de un oleanano. En δ 2.24 aparece como una señal doble H-C₁₈ característico del esqueleto del ursano. En la zona de los metilos se observa seis señales simples que corresponden a cada uno de los metilos presentes en dicha estructura: δ 1.2 (C-27), δ 1.08 (C-25), mientras que los singuletes δ 0.98, 0.94, 0.92 y 0.78 corresponden a los metilos C-24, C-29, y C-28 respectivamente, los cuales son características del esqueleto del oleanano, mientras que el ursano presenta una señal para el metilo en C-19 que aparece δ 0.94 y se encuentra obscurecidas por las otras señales de los metilos.

Sus espectros de masas de dicha mezcla presenta un patrón de fragmentación característica de los triterpenos pentacíclico Δ^{12} insaturados. [25-27]

8.-CONCLUSIONES

Se realizó el estudio del extracto con AcOEt de las parte aéreas de la santamaría, de donde se aislaron: la mezcla β -sitosterol (48) y estigmasterol (49), santamarina (12) y la mezcla de ácido oleanólico (46) y ácido ursólico (47), como productos naturales mayoritarios de dicho extracto.

Se realizó la correlación química de la santamarina (12) a 3α -hidroxireynosina (44), por medio de la formación del epóxido de la santamarina (18) y la apertura *esterodiferenciada* del anillo del oxirano con p-TsOH.

Además, se obtuvo el derivado diacetilado de la 3α -hiroxireynosina (45), por medio del cual se pudo corroborar la estructura propuesta.

Por otro lado, del análisis químico previo realizado a una población de *T. parthenium* silvestre, en el laboratorio, se encontró que existe una gran variación, en cuanto al rendimiento de santamarina [116.4 mg en la planta cultivada, mientras en la planta silvestre se aislaron 4 g, con respecto a la cantidad de extracto crudo⁸].

De acuerdo con los resultados obtenidos del presente proyecto y los obtenidos en el estudio químico de *T. parthenium* se puede sugerir *a priori*, que: a) hay una baja diversidad estructural en los productos naturales aislados de la planta cultivada, b) bajos rendimientos en los productos naturales aislados de la planta cultivada; por lo anterior, se descarta como una fuente proveedora de lactonas sesquiterpénicas y flavonoides.

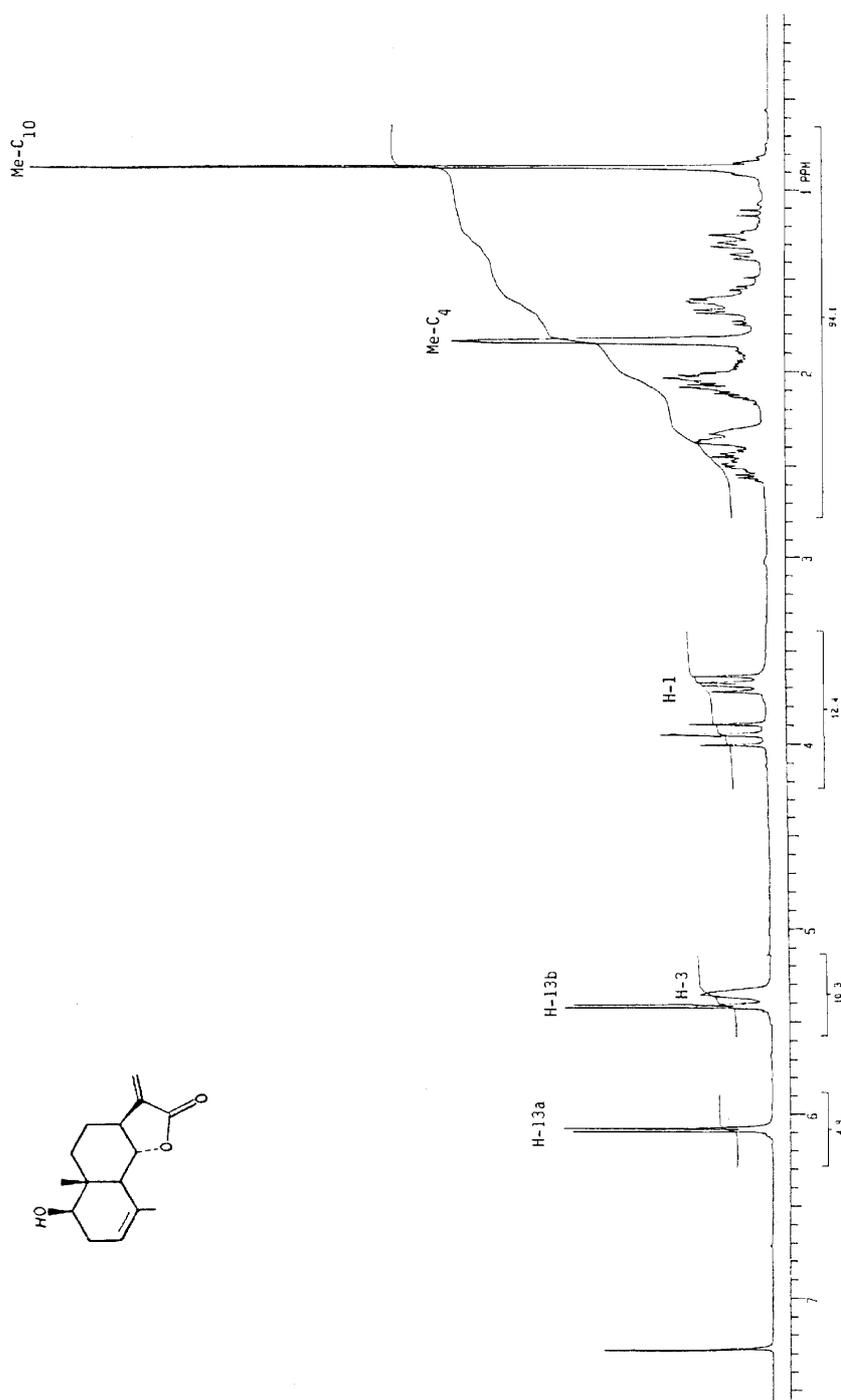
⁸ 4º Reunión Nacional de Investigación en Productos Naturales Guadalajara Jal. México. 2008

9.-SUGERENCIAS

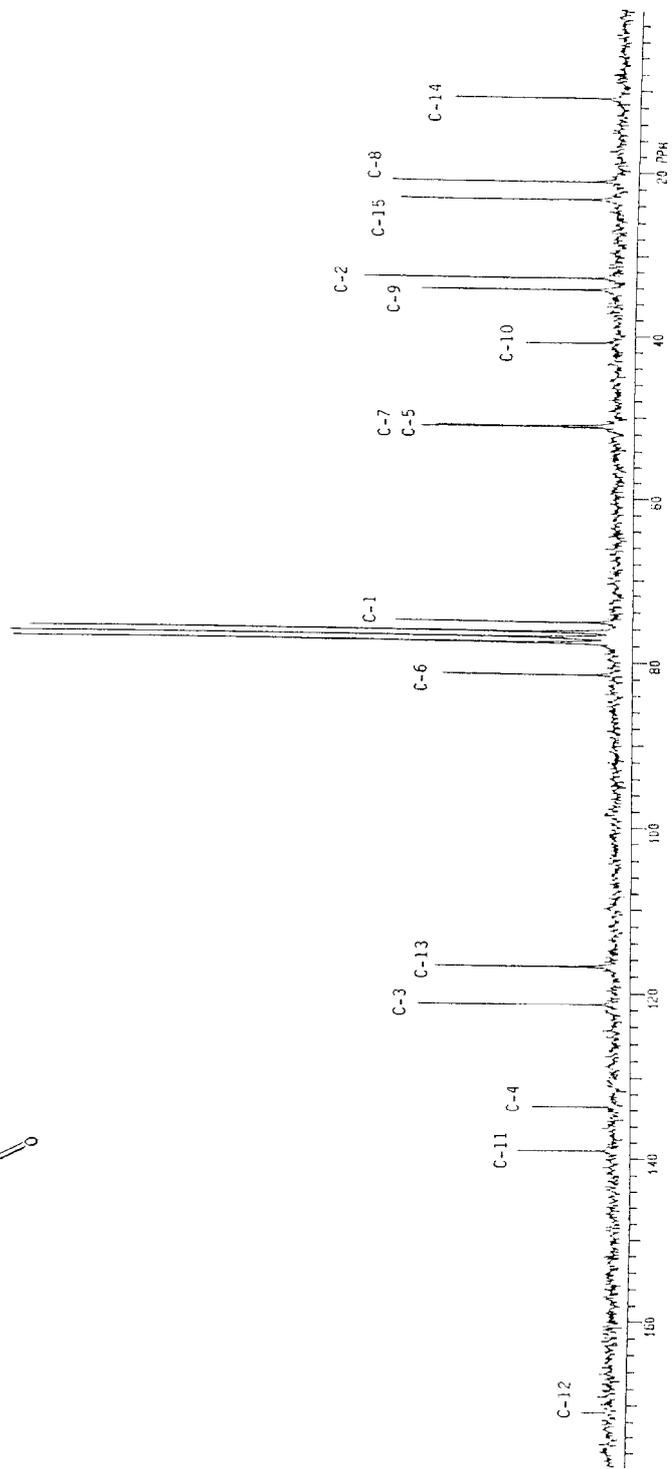
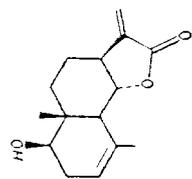
- a) Realizar el análisis químico de los extractos metanólicos de *T. parthenium* cultivada.
- b) Realizar el estudio químico simultáneo de dos poblaciones de *T. parthenium*, planta cultivada y silvestre, empleando la misma metodología en lo que se refiere a la separación y purificación de los productos naturales minoritarios empleando técnicas cromatográficas como HPLC.
- c) Estudiar dos poblaciones de planta silvestre y planta cultivada de diferente localidad para determinar si existe una variación intraespecífica notable entre la planta silvestre y la planta cultivada.
- d) Realizar el cultivo celular de planta cultivada y silvestre que pudieran determinar si las condiciones de cultivo son un factor decisivo en la producción y diversidad estructural del contenido de metabolitos secundarios en ambas poblaciones.
- e) Realizar la actividad biológica —antiinflamatoria y sedante— de los extractos obtenidos de dicha especie vegetal, de acuerdo con la información etnobotánica asociada a dicha especie vegetal.

10.-ESPECTROS

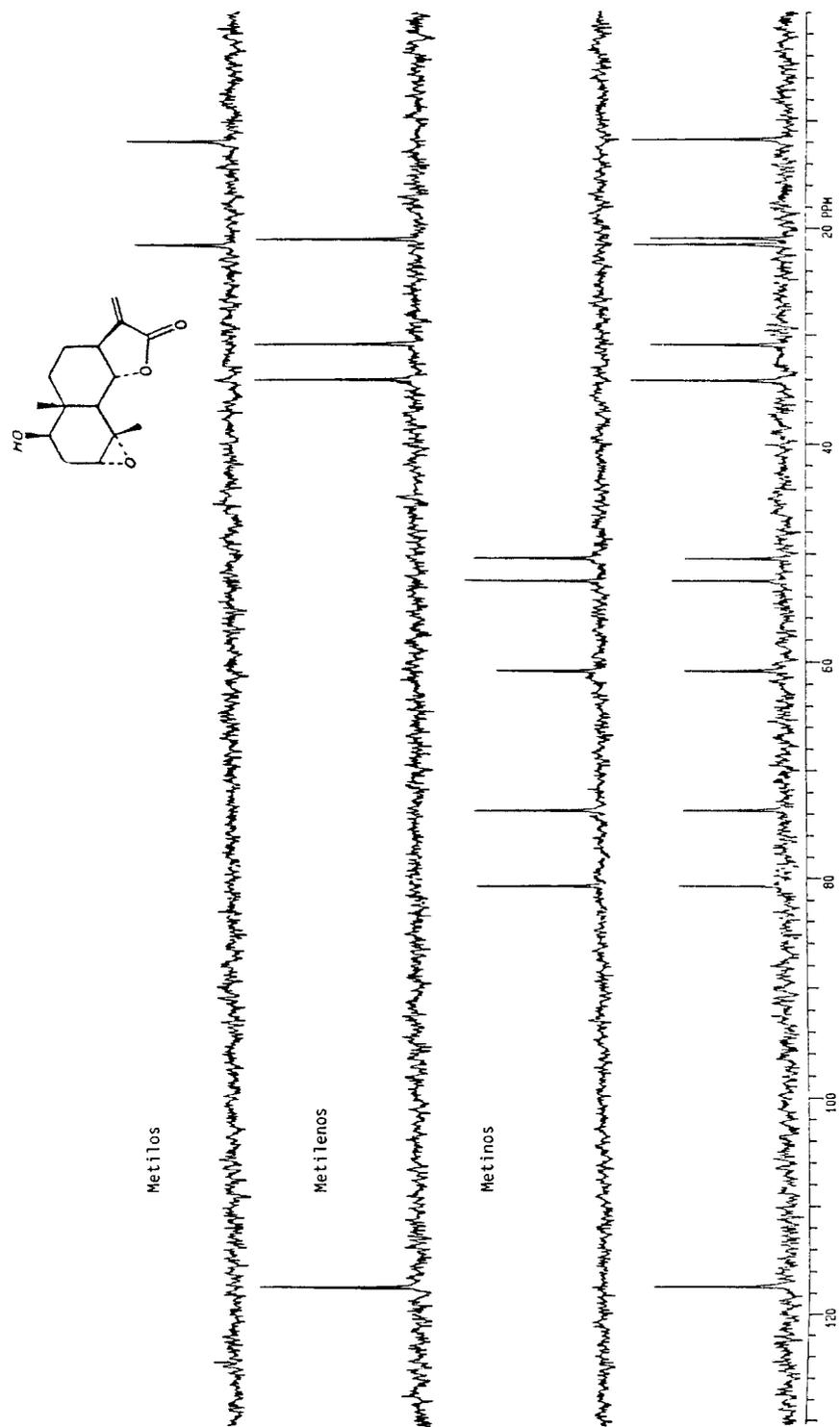
10.1.-Espectro 1. De RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) de la santamarina (12)



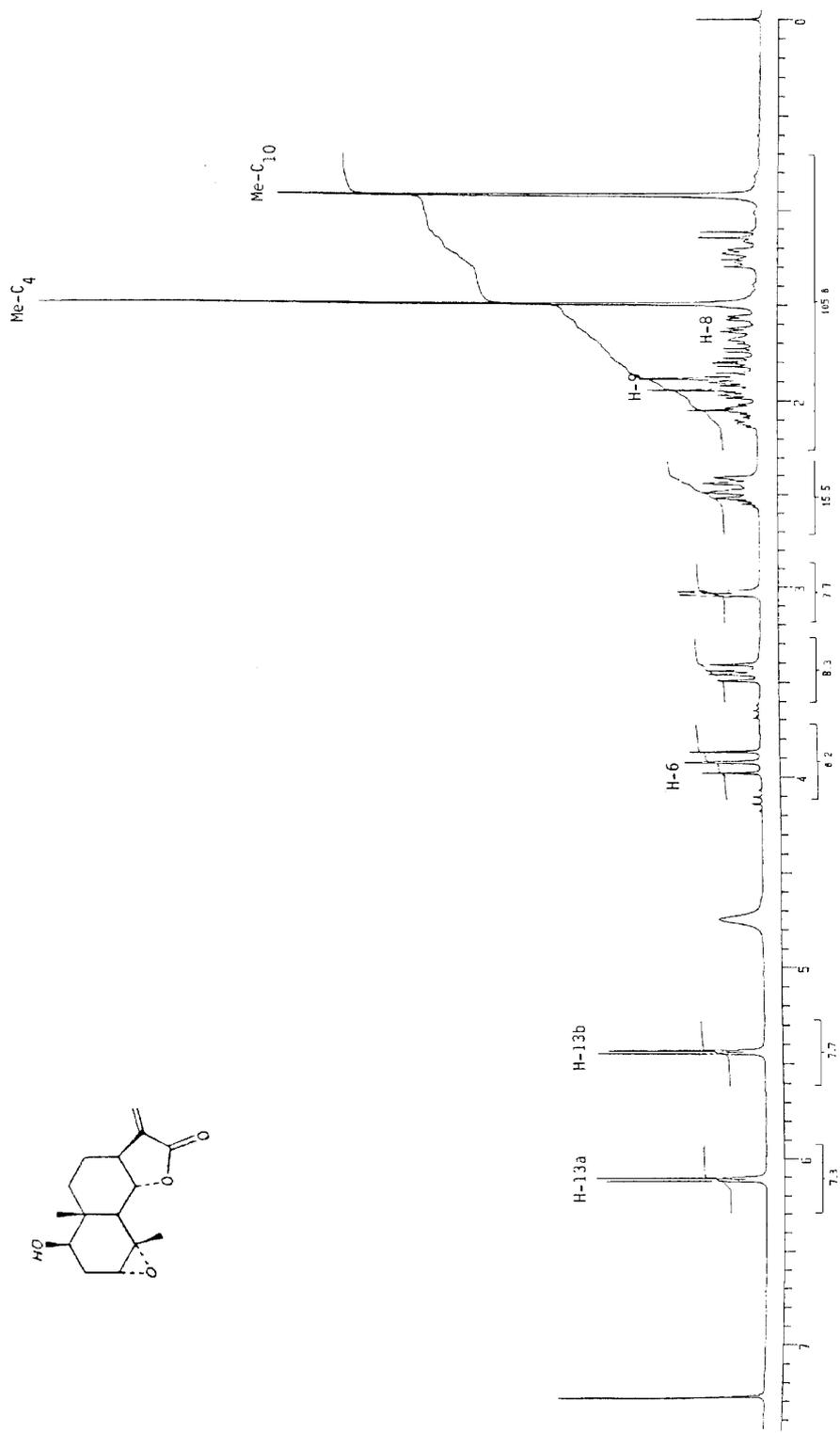
10.2.-Espectro 2. De RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃, TMS) de la santamarina (12)



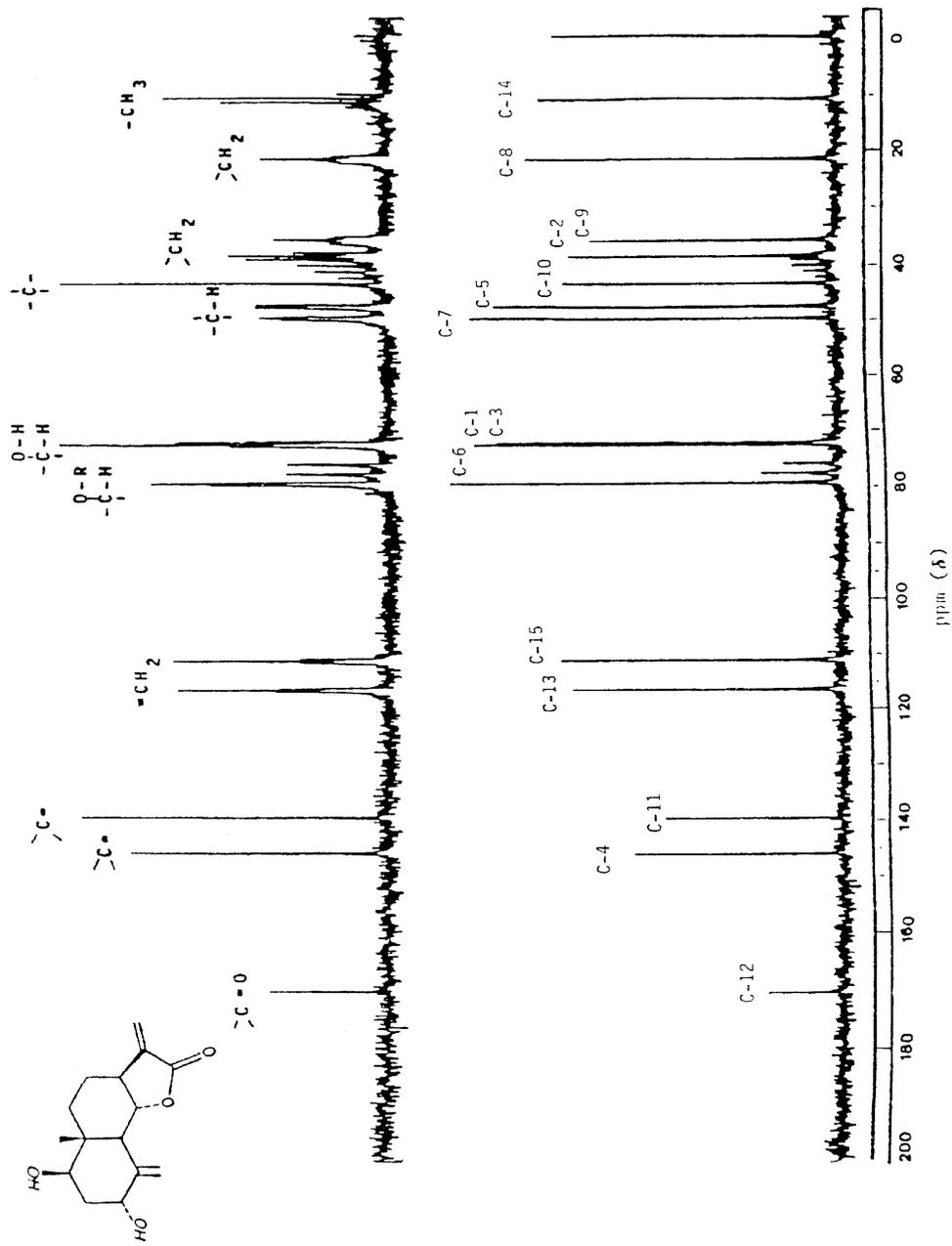
10.3-Espectro 3. De RMN-¹³C (Desacoplamiento parcial de ¹³C) del epóxido de la santamarina (18)



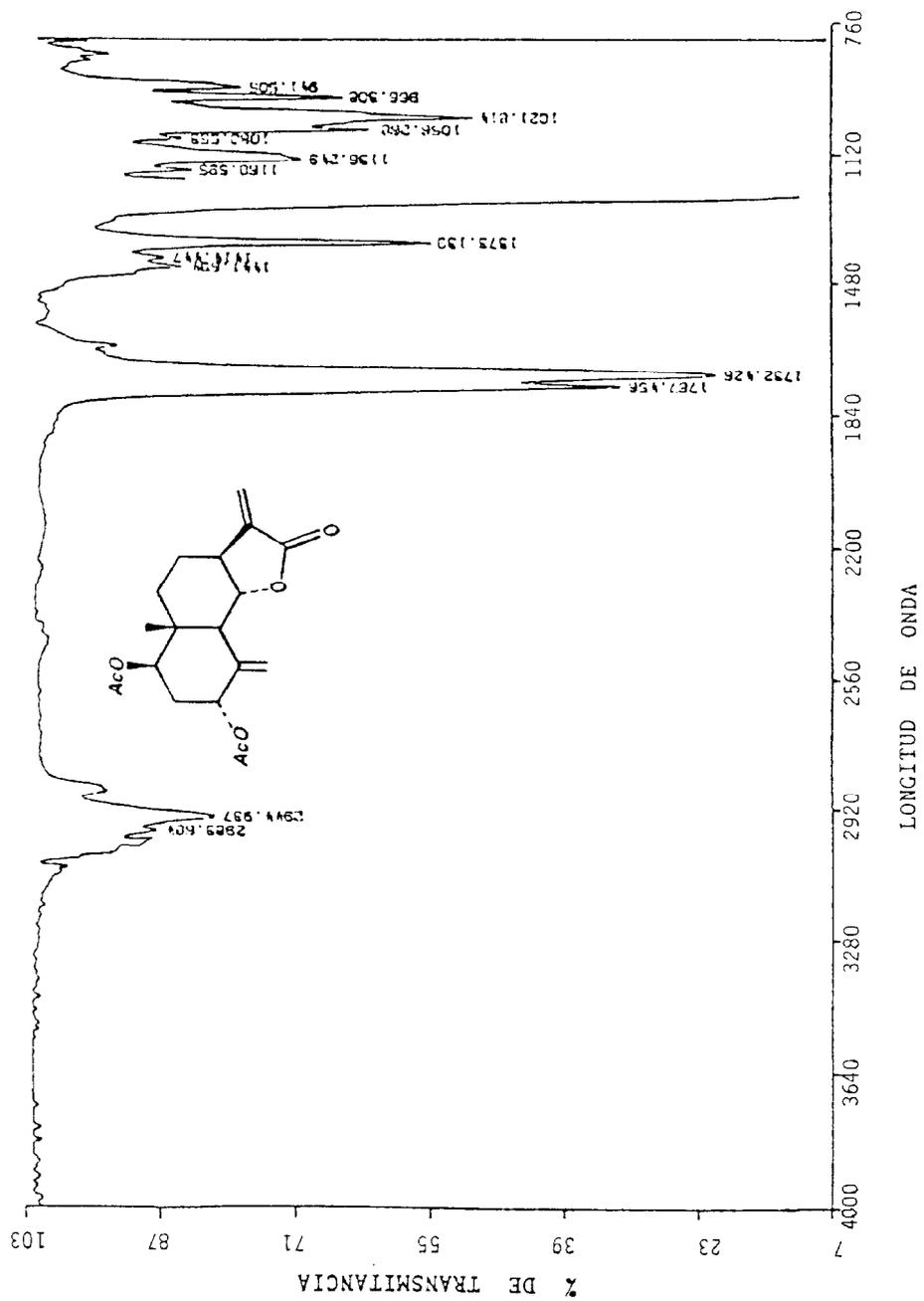
10.4.-Espectro 4. De RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS) del epóxido de la santamarina (18)



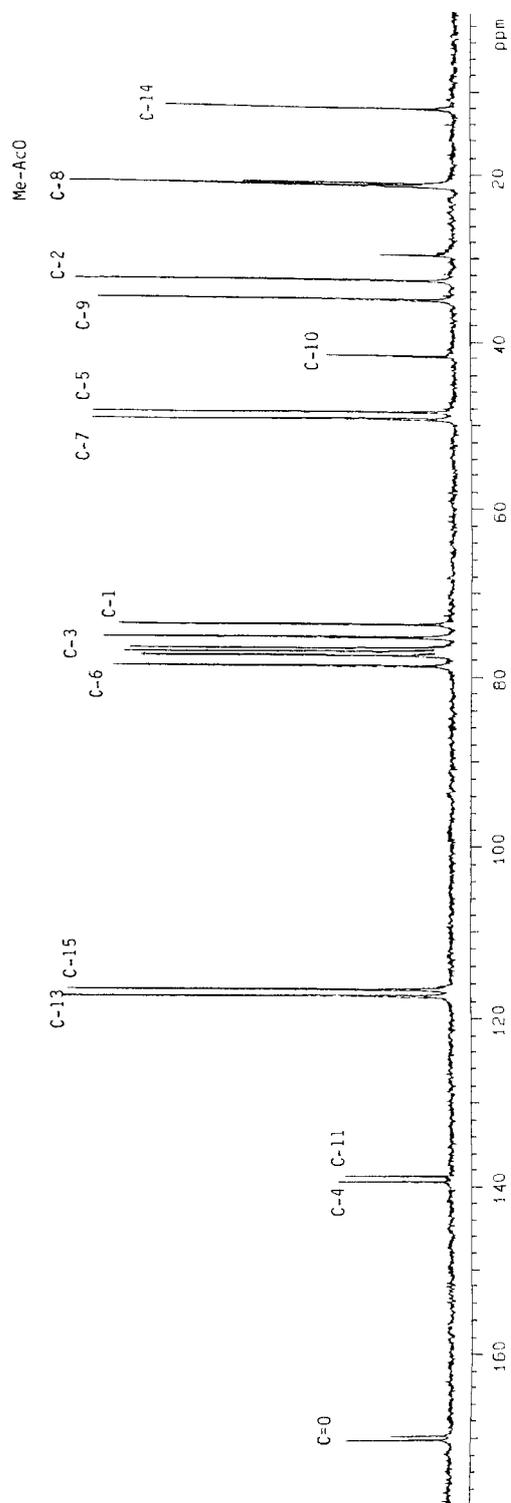
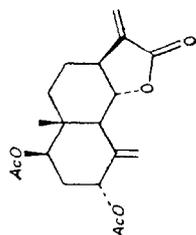
10.5.-Espectro 5. De RMN-¹³C (DEPT) de la 3α-hidroxiyrenosina (44)



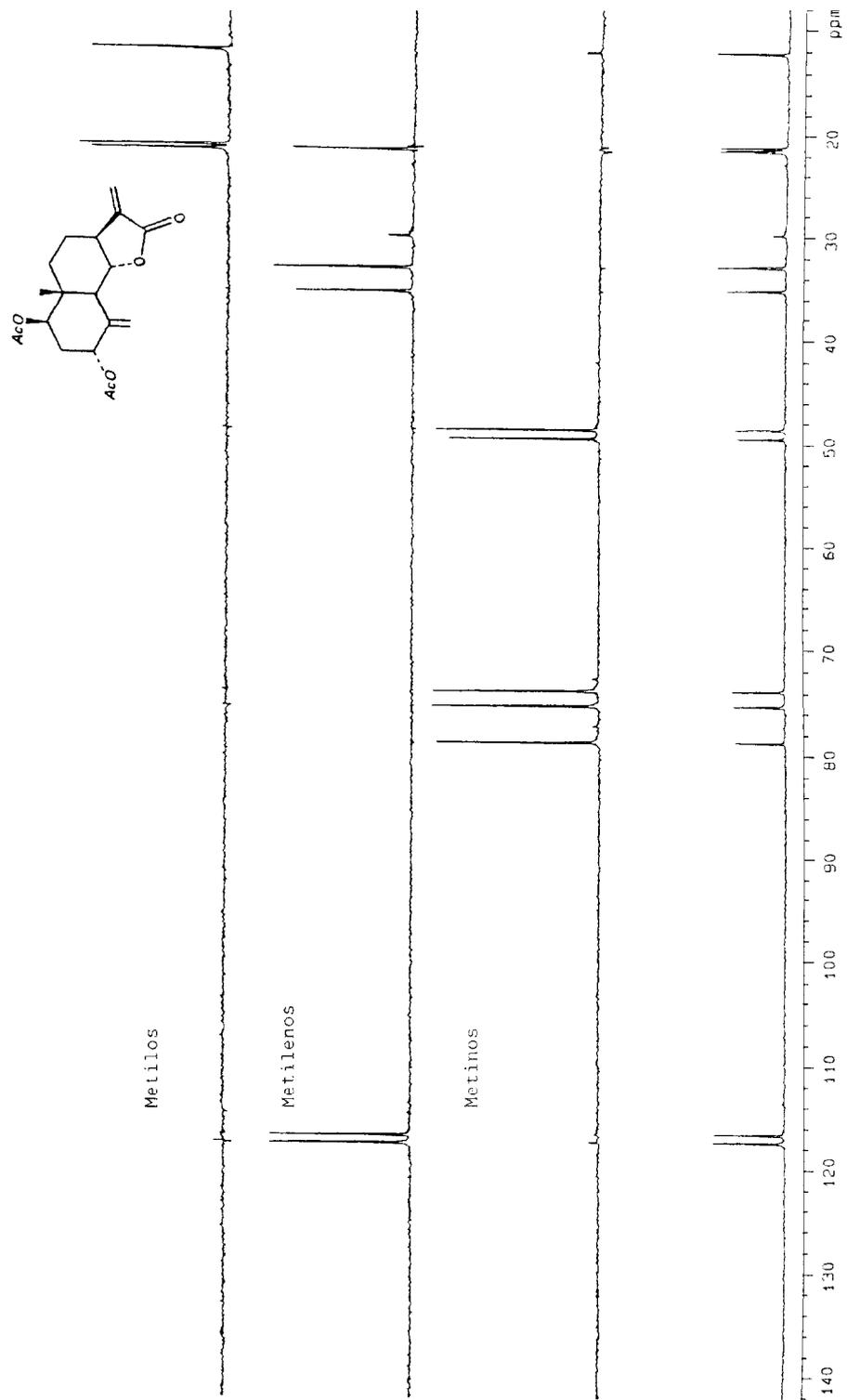
10.6.-Espectro 6. De IR (CHCl₃) del diacetato de la 3 α -hidroxireynosina (45)



10.7.-Espectro 7. De RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃, TMS) del diacetato de la 3 α -hidroxireynosina (45)



10.8.-Espectro 8. De RMN-¹³C (DEPT) del diacetato de la 3 α -hidroxireynosina (45)



11. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Izco, J.; Barreno, E.; Brugués, M.; Costa, M.; (2004) *Botánica*. 2ª ed. Edit. McGraw Hill-Ínteramericana. España, pp. 630-635.
- 2.- Cano, C. G.; (1994) *Taxonomía de Plantas Superiores*. Edit. Trillas, México, pp. 305-09
- 3.- Argueta, A. V.; Cano, A. L.; Rodarte, M.; (1994) Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, Vol. III. Edit. INI. México, pp. 1273-1275.
- 4.- Wickersham, R. M., (2005) The Review of Natural Products. Edit. Factsy Comparisons. 4a ed. USA. pp. 212-216
- 5.- Rzedowski. G. C.; Rzedowski, J.; (2001) Flora Fanerogámica del Valle de México. 2ª. ed., Edit. Instituto de Ecología y CONABIO. Pátzcuaro, Mich., Méx. pp. 929-930.
6. - Knight. W. D., (1995) Feverfew: Chemistry and Biological Activity. *Nat. Prod. Rep.* 12, 271-276.
- 7.- Williams. C. A.; Harborne. B. J.; Geiger. H.; and Hoult, J. R., (1999) The flavonoids of *Tanacetum parthenium* and *T. vulgare* and their anti-inflammatory properties. *Phytochemistry* 51, 417-423.
- 8.- Hewlett. J. M.; Begley. J. M.; Groenewegen, W, A.; (1996) Sesquiterpene lactones from feverfew, *Tanacetum parthenium*: isolation, structural revision, activity against human blood platelet function and implications for migraine therapy. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1, 1979-1986.
- 9.- Long, C. ; Sauleau, P. ; David, B. ; Lavaud. C.; Cassabois, V.; Ausell, F.; Massiot, G., (2004) Bioactive Flavonoids of *Tanacetum parthenium* revisited. *Phytochemistry* 64, 567-569
- 10.-Williams, C.; Hoult, J. R. S.; Harbone, J. B.; Greenham, J.; and Eagles, J., (1995)

A biologically active lipophilic flavonol from *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry* 38, 267-270.

11.- Jean-Pierre, R.; Levesque, J.; and Pousset, J. L. (1992) Extracción and high-performance liquid chromatographic Methods for the γ -lactones parthenolide (*Chrysanthemum parthenium* Bernh), marrubin (*Marrubium vulgare* L.) and artemisinin (*Artemisia annua* L.). *Journal of Chromatography* 605, 124-128.

12.-Milbrodt. M. S. and Wilfried. A., (1997) 3,4- β -epoxy-8-deoxycumambrin B, A Sesquiterpene lactone from *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry* 44, 471 -474.

13. - Bohlmann. F, Zdero, C., (1982). Sesquiterpene lactones and other constituents from *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry* 21, 2543-2549.

14. -Ross A. I., (2001) Medicinal Plants of the World. Editorial, Humana Press Totowa, New Jersey, Vol. 2. pp 397-409.

15.-Yang, K.; Lamprecht, S. A. (2000) Chemoprevention studies of the flavonoids quercetin and rutin in normal and azoxymethane-treated mouse colon. *Carcinogenesis* 21, 1655-1660

16.-Igura, K.; Ohta, T.; Kuroda, Y. and Kaji, K., (2001) Resveratrol and quercetin inhibit angiogenesis *in vitro*. *Cancer Letts* 171, 11-16.

17-Geleijnse, J., M.; Launer, L. J.; Vander Kuip., (2002) Inverse association of tea and flavonoid intakes with incident myocardial infarction: the Rotterdam study. *Am. J. Clin. Nutr.* 75 880-886.

18.- Siyuan Zhang, Yen-Kim Won, Choon-Nam Ong and Han-Ming Shen., (2005) Anti-Cancer potential of sesquiterpen lactones: Bioactivity and molecular mechanism. *Curr. Med. Chem. Anti-Cancer-Agents* 5, 239-249.

- 19.-Ruiz, C. A.; Cano, F. A. and Delgado, G., (1993) Sesquiterpene lactones and flavonoids from *Artemisia ludoviciana ssp mexicana*. *Phytochemistry* 33; 1113-1115.
- 20.-Knights, B. A., (1967) Identification of plant sterol using combined GCL/ MASS Spectrometry. *G. Gas Chromatogr.* 5, 273-282.
- 21.-Jain, T. C. and Banks, C. M., (1968) 22-dihydrostigmasterol from *Saussurea lappa*, *Can. J. Chem.* 46, 2325-2327.
- 22.-Yoshioka, H.; Renol, W.; Fisher, N. H.; Higo, A. and Mabry, J. T., (1970) Sesquiterpene lactones from *Ambrosia confertiflora* (Compositae). *Phytochemistry* 9, 823-832.
- 23.-Romo de Vivar, A. and Jimenez, H. (1965) Structure of Santamarine, a new sesquiterpene lactone. *Tetrahedron* 2, 1741-1745.
- 24- Da Silva, A. J. R.; Garcia, M.; Baker, R. M. and Rabi, J. A., (1981) ¹³C NMR Spectra of Natural Products, Eudesmanolides. *Organic Magnetic Resonance* 16, 234-235.
- 25.-Butzikiewicz, H.; Wilson J.; and Djerassi., C. (1963) Mass Spectrometry in Structural and Stereochemical Problems. XXI: Pentacyclic Triterpenes. *J Am. Chem. Soc.* 85, 3688-3699.
- 26.-Karlinner, A. and Djerassi, C., (1966) Terpenoids. LVII. Mass Spectral and Nuclear Magnetic Resonance Studies of Pentacyclic triterpene Hydrocarbons. *J. Chem. Soc.* 31, 1945-1956.
- 27.-Torsch, B.; Harrison, T.; Djerassi, C. (1963) Terpenoids. LIII. Demonstration of de ring conformational changes in triterpenes of the β -Amyrin class Isolated from *Stryphnodedron coriaceum*. *J. Chem. Soc.* 28, 2300-2394.
- 28.-Schamma, M.; Glick, E. and Mumma, O. R., (1962) The Nuclar Magnetic Resonance spectra of pentacyclic triterpenes. *J. Chem. Soc.* 27, 4512- 4517

- 29.- Márquez C. A., (1999) Plantas medicinales de México. Composición, Usos y actividad biológica. Vol 2. UNAM. pp. 145-146.
- 30- Sabates, R. (1995) La Salud por las Plantas Medicinales y la Medicina Natural Barcelona. España, pp. 9-19.
- 31.- Martínez, Máximo., (1996) Las plantas medicinales de México, 7a ed. Botas, México. pp. 286-287.
- 32.- Fernández, J. P., (1996) Cultivo de plantas medicinales, aromáticas y condimenticias. Omega. Edit. Barcelona, pp 180-181.
- 33.- Barsby, R., W.; Salan,U; Knight, D.W, and Hoult, J. R., (1993) *Feverfew* and vascular smooth muscle, extracts from fresh and dried plants show opposing pharmacological profiles, dependent upon sesquiterpene lactone content. *Planta Medical*. 59, 20 –25.
- 34.-Abad, M. J.; Bermejo, P.; Villar.A., (1993) Anti-inflammatory activity of two flavonoids from *Tanacetum microphyllum*, *J. Nat. Prod.* 56, 1164-1167.
- 35.-Wehrli, F. W. and Wirthlin, T., (1978) Interpretation of C-13 NMR Spectra. Heyden. Great Britain.
- 36.- Nakanishi, L., (1962) Infrared Absorption Spectroscopy. Edit. Holden-Day. Japon
- 37.- Breitmaier, E. and Voelter, W., (1990) Carbon-13 NMR Spectroscopy. High-Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry. 3a ed. Edit. VCH.
- 38.-Carey, F. A., (2006). Química Orgánica. 6ª.ed., Edit. McGrawHill-Interamericana. pp. 58-582.

