



Universidad Nacional Autónoma de México

Escuela Nacional de Estudios Profesionales

"Zaragoza"

ESTUDIO QUIMICO Y PRUEBAS FARMACOLOGICAS
PRELIMINARES DE LA CORTEZA DE Juliania
adstringens (Cuachalalate).

T E S I S

Que para obtener el título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

P r e s e n t a :

ANDRES NAVARRETE CASTRO

México, D. F.

1982





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

1. INTRODUCCION
2. FUNDAMENTACION DEL TEMA
 - 2.1. Antecedentes
 - 2.2. Generalidades de la planta
 - 2.2.1. Nombres vulgares
 - 2.2.2. Nombres científicos
 - 2.2.3. Distribución geográfica
 - 2.2.4. Propiedades terapéuticas
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA
4. OBJETIVOS
5. HIPOTESIS DE TRABAJO
6. MATERIAL Y METODOS
 - 6.A. Material
 - 6.A.1. Material y equipo para el estudio químico
 - 6.A.2. Material y equipo para el estudio farmacológico
 - 6.B. Métodos
 - 6.B.1. Métodos estudio químico
 - 6.B.2. Métodos estudio farmacológico
7. DESARROLLO
 - 7.1. Consideraciones previas
 - 7.2. Desarrollo del trabajo
8. RESULTADOS
 - 8.A. Resultados del estudio químico
 - 8.B. Resultados de las pruebas farmacológicas
9. DISCUSION DE RESULTADOS
 - 9.A. Discusión de resultados del estudio químico
 - 9.B. Discusión de resultados del estudio farmacológico
10. CONCLUSIONES
11. PROPOSICIONES PARA CONTINUAR ESTE TRABAJO
12. BIBLIOGRAFIA

I. INTRODUCCION

El colesterol es un constituyente normal de los organismos animales, tanto lo pueden ingerir con los alimentos como sintetizarlo en el organismo. Se sabe que todos los tejidos del organismo humano son capaces de sintetizar colesterol a partir de acetatos (1), pero son pocos los órganos y tejidos capaces de degradarlo y eliminarlo. Entre los órganos con mayor capacidad biosintética están el hígado y el intestino, y con una menor capacidad el sistema nervioso central y el tejido placentario (1). Entre los órganos que contribuyen al catabolismo y eliminación del colesterol están, el hígado que es responsable de la transformación de un 80-90% de colesterol en ácidos biliares; las gónadas y las glándulas suprarrenales que lo utilizan para la síntesis de hormonas esteroides; la piel que lo utiliza para sintetizar vitamina D₃ y que también lo excreta como uno de los constituyentes del sebo; el intestino que lo excreta hacia la luz intestinal donde parte es transformado a coprostanol y coprostanona por acción bacteriana (2).

Trastornos en el metabolismo del colesterol ocasionan un estado patológico en el organismo.

El colesterol del plasma en el humano se encuentra dentro de ciertos niveles normales (3), cuando la concentración plasmática del colesterol es mayor a lo normal, se dice que hay un estado de hipercolesterolemia. La importancia de la hipercolesterolemia como factor causal de la aterosclerosis, es aceptada como de excepcional significancia para la mayor parte de los investigadores en este campo. Robert I. Levi (4),

señala que entre los numerosos factores de riesgo para el desarrollo de la aterosclerosis, uno de los más importantes es la asociación entre la concentración de lípidos en sangre y el desarrollo de enfermedad coronaria y que el riesgo de la enfermedad coronaria, está directamente relacionada con la concentración plasmático del colesterol.

Los medicamentos usados actualmente para disminuir la concentración sanguínea de colesterol lo hacen en forma modesta y tienen efectos adversos de consideración (4). El contar con nuevos agentes de mayor eficacia hipocolesterolemiantes y con menores efectos adversos es, consecuentemente, muy necesaria. Este es el propósito del presente trabajo.

2. FUNDAMENTACION DEL TEMA

El interés del estudio de la planta conocida en México con el nombre vulgar de "cuachalalate" se debe a que los habitantes de varias regiones de la República Mexicana, usan el cocimiento de la corteza de esta planta para la disolución de cálculos biliares, y además lo usan de una manera similar a como en Yucatán usan la corteza del Yumel, a la cual se le han comprobado propiedades hipocolesterolemiantes (5), e incluso se ha aislado el principio activo (6). Por otro lado, como se verá en los antecedentes, hay muy poca información acerca de sus - constituyentes químicos y los estudios que se han hecho son poco significativos.

2.1.- Antecedentes

En el libro de Maximino Martínez (7), esta planta está clasificada como planta de la que se conoce su clasificación botánica, pero que no se han comprobado científicamente sus propiedades terapéuticas. Este libro da dos referencias bibliográficas: una que se refiere a su clasificación botánica, hecha en 1923 (8) y otra que se refiere a un estudio químico realizado en el año de 1943, en un trabajo de tesis profesional (9) de la Universidad Autónoma de Guadalajara, en el que se hace un análisis de la corteza del cuachalalate, con determinaciones cualitativas.

En el año de 1954, en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del I.P.N. se realizó otro trabajo de tesis profesional (10) en la cual hace un estudio químico de la corteza del cuachalalate, que consiste en hacer la determinación de humedad, cenizas totales y fibra cruda; así como también hace un estudio sistemático en el cual efectúa una serie de extracciones sucesivas con las siguiente serie de disolventes en el orden en que aparecen: éter de petróleo, éter sulfúrico, alcohol absoluto, alcohol al 70%, agua fría, agua hirviente, agua acidulada, agua alcalina y ácido sulfúrico. En cada tratamiento obtiene un extracto y un residuo que se somete a la acción del disolvente siguiente. A cada extracto le hace pruebas cualitativas simples y sus resultados los reporta en porcentaje de extracto. Como estudio especial, en este trabajo, hace la valoración de taninos usando el método de Carpeni Modificado por Sisley (11), que consiste en precipitar a los taninos como tanato de cinc, por un tratamiento del extracto con acetato de cinc y después de lavar con agua amoniacal, el precipitado se disuelve en ácido sulfúrico y se valora con permanganato de potasio 0.1 N usando como indicador rojo índigo, y según este método 1 ml. de $KmnO_4$ 0.1 N equivale a 4.155 mg de taninos. Usando este método, reporta que la corteza del cuachalalate tien 7.4% de taninos.

En un diccionario del Estado de Guerrero (12) editado en 1942 también mencionan que el cuachalalate tiene un alto contenido de taninos y su uso como astringente.

Después de la tesis de 1954 no se encontró información sobre el cuachalalate en revistas nacionales e internacionales.

A fines de 1979 se presentó una tesis (13) en la Facultad de -- Química, UNAM., en la cual después de mencionar los resultados obteni-- dos en la tesis de 1954, el resto del contenido se refiere únicamente a las propiedades del ácido tánico.

Finalmente en 1979, se menciona el uso del cuachalalate para el tratamiento de cálculos biliares (14).

2.2. Generalidades de la planta

2.2.1.- Nombres vulgares (8) (15)

Esta planta tiene varios nombres vulgares, dados principalmente por los habitantes de los pueblos de las diferentes zonas geográficas - de la República Mexicana en los que vegeta este árbol, estos nombres son: cuachalalate, cuachalalote, quetchalalatl, cuachalala, cuauchalalá, cuauchalalote, cuauchalalatl, metixerán (Michoacán), volador (Puebla), Maceran (Guerrero), yalaquitu (Oaxaca), Muaxalaxlitli (Morelos).

2.2.2.- Nombre científico (8) (15)

Juliania adstringens. Schiecht Linnae. En otras referencias (7), (16), (17) dan el nombre científico como Amphipterygium adstringens.

Descripción de la planta (7) "es un árbol de 6-8 metros, con hojas compuestas sésiles, aserradas, con dientecillos redondeados, casi todas abovadas y cuneadas en la base", el fruto es alargado de 2.5 a 5 cm de largo. La corteza seca es de color rojo ladrillo, de un grosor de 10 a 25 mm.

2.2.3.- Distribución geográfica (7) (17)

Este árbol vegeta en la República Mexicana en la zona que corresponde a los Estados de Nayarit, Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Morelos y Puebla.

2.2.4.- Propiedades terapéuticas.

Todas las propiedades terapéuticas que se le atribuyen a esta planta han sido dados por los habitantes de los pueblos en los que crece, por lo que son tan diversas y todas ellas carecen de una base científica. La corteza del árbol es la única parte de la planta que ha usado para tales fines.

Se le atribuyen propiedades como astringente, en la que se afirma que dicha propiedad es debida a su alto contenido en ácido tánico (10), (13) (13) y que por la misma razón es eficaz como cicatrizante interno y externo.

En el libro de Maximino Martínez (7) se menciona que el cocimiento de la corteza del cuachalalate sirve para endurecer las encías y para lavar heridas; también sirve para la malaria, el cáncer de estómago (19), la fiebre tifoidea y la sífilis.

Uno de los usos que se le da más comúnmente al cocimiento de la corteza del cuachalalate es en el tratamiento de la úlcera gástrica (10).

En el Estado de Guerrero, el cocimiento de la planta se usa para disolver cálculos biliares (14). Como se mencionó anteriormente, todas estas propiedades carecen de bases científicas.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Por lo expuesto anteriormente, podemos observar, que los estudios hechos hasta ahora de las propiedades químicas y terapéuticas del cuachalalate dan muy poca información. Por la parte química, con lo que respecta a la naturaleza de sus componentes, los estudios hechos son poco significativos y en la parte biológica hay una falta total de bases científicas que afirmen o rechacen las propiedades que le atribuyen.

Ahora bien resulta de interés el estudio químico de esta planta para el conocimiento de sus componentes químicos de una manera más clara que los estudios hechos anteriormente, que servirá por un lado, para fines quimiotaxonómicos y por otro lado, el aislar, purificar y definir estructuras de sus componentes, permitirá comprobar o rechazar de una mejor manera las propiedades terapéuticas que se le atribuyen. El estudio se enfoca a la corteza del árbol, ya que es ésta, la parte de la planta que se ha usado para dichos fines terapéuticos.

4. OBJETIVOS

Los objetivos que se persiguen en este estudio son:

1.- Hacer el estudio químico de la corteza del cuachalalate, en la cual se tratará de aislar el mayor número de sustancias posibles, a las cuales se les determinará su estructura química.

2.- Las sustancias identificadas de la corteza del cuachalalate se someterán a un estudio farmacológico preliminar, en el cual se estudiará su efecto sobre los niveles de colesterol sanguíneo.

5. HIPOTESIS DE TRABAJO

Al hacer la extracción e identificación de algunas de las sustancias de la corteza del cuachalalate y probar su acción, con pruebas farmacológicas preliminares sobre los niveles de colesterol sanguíneo, determinaremos cual es el principio activo que le atribuye esta propiedad.

6. MATERIAL Y METODOS

6.A. Material

El material que se requiere para la realización de este trabajo se enlista en seguida:

6.A.1. Material y equipo para el estudio químico

6.A.1.1. Material de laboratorio

1. Columnas de vidrio para cromatografía de 5 diferentes tamaños, en longitud y diámetro (50x5cm, 70x10cm, 80x12 cm, 100x5 cm y 100 x 3 cm).
2. Placas para cromatografía en placa fina de 20x20 cm
3. Matraces de bola de boca esmerilada de: 2000, 1000, 500, 250, 100 y 50 ml. de capacidad, de vidrio "Pyrex"
4. Probetas de vidrio de 1000, 500, 100 y 10 ml. de capacidad
5. Matraces Erlenmeyer de 2000, 1000, 500, 250, 125, 50, 25 y 10 ml de capacidad
6. Matraces Kitasato de 1000, 500 y 250 ml de capacidad
7. Embudos Buchner de diferente capacidad (50, 250, 500 ml)
8. Barras magnéticas para agitación de 5 diferentes tamaños (de 1 a 5 cm)
9. Vasos de precipitado de 1000, 500, 250 y 100 ml de capacidad
10. Espátulas de diferentes tamaños

11. Soportes Universal
12. Pinzas para bureta de 3 dedos
13. Frascos ámbar de vidrio con tapón de rosca de plástico, de 30 ml de capacidad.
14. Frascos de vidrio con tapón de rosca de plástico de 3 ml de capacidad
15. Embudos de extracción de 2000, 1000, 500, 250 y 60 ml de capacidad
16. Embudos de filtración de tallo corto y largo
17. Trampas para vacío
18. Refrigerantes.

6.A.1.2. Material de consumo

1. 5 Kg. de corteza de cuachalalate (Juliania adstringens)
2. 8 Kg. de gel de sílice de 30-70 mallas para cromatografía en columna.
3. 4 Kg. de gel de sílice de 70-230 mallas para cromatografía placa fina.
4. Disolventes orgánicos: Hexano, Benceno, Acetato de Etilo, Metanol, Cloroformo, Acetona, Piridina.
5. Acidos inorgánicos: Sulfúrico, Clorhídrico, Nítrico, Fosfórico
6. Acido y Anhídrido acético

7. Tubos capilares para punto de fusión
8. Paquete de algodón
9. Cloruro de sodio, Hidróxido de sodio
10. Sulfato cérico
11. Hielo y Hielo seco

6.A.1.3. Equipo para el estudio químico

1. Un evaporador rotatorio
2. Un calentador de vapor
3. Bomba de vacío y Bomba de aire
4. Agitadores magnéticos
5. Lámpara de luz ultravioleta
6. Espectrómetros de infrarrojo, de ultravioleta, de masas y de resonancia magnética nuclear.
7. Aparato para determinar puntos de fusión
8. Polarímetro
9. Molino de martillos

6.A.2. Material y equipo para el estudio farmacológico

6.A.2.1. Material de laboratorio

1. Bureta de 25 ml
2. Matraz erlenmeyer de 100 y 200 ml de capacidad
3. Pipetas graduadas de 10 ml

4. Pipetas volumétricas de 2 y 4 ml
5. Micropipetas de 0.02 ml
6. Tubos capilares de 1.5-2.0 x 100 mm
7. Tubos de centrifuga con tapón esmerilado de 15 ml
8. Tubos de ensaye de 15 x 75 mm

6.A.2.2. Material de consumo

1. Solución estándar de colesterol puro
2. Alcohol etílico absoluto
3. Hidróxido de potasio
4. Hexano
5. Anhídrido acético
6. Tricloroetano

6.A.2.3. Material Biológico

60 ratas macho Wistar adultas

6.A.2.4. Equipo

1. Fluorómetro de Farrand Mod. RF-1268-2C
2. Soplete para cerrar capilares
3. Baño de agua a 40°C y a 80°C
4. Centrifuga
5. Agitador Vortex

6.B. Métodos

6.B.1. Métodos para el estudio químico

a). Separación. - La metodología seguida para la realización del estudio químico de la corteza del cuachalalate es, como primer paso la extracción (22) (23) con varios disolventes de diferente polaridad de la planta pulverizada, para posteriormente cada uno de los extractos obtenidos separarlos por Cromatografía en columna (23), usando como soporte gel de sílice y como eluyentes una serie de disolventes de menor a mayor polaridad y mezclas de ellos. Se reúnen las fracciones de la cromatografía que presenten las mismas manchas en las cromatoplas. Posteriormente las fracciones de mayor cantidad de materia se pasan por una segunda columna de cromatografía y si esto no es suficiente para separar algún producto, las fracciones de mayor cantidad de materia y que presenten el menor número de productos se pasa por Cromatografía en placa fina (23), usando el mejor sistema de eluyentes para favorecer la separación. Una vez corridas las placas de cromatografía, se cortan las bandas que presentan mayor cantidad de producto y se extraen con un disolvente adecuado, que debe tener un bajo punto de ebullición para evaporarlo fácilmente y de esta manera tener separados a los productos de la planta.

b). Purificación.- En la purificación de los productos aislados se usa nuevamente como primer paso, la Cromatografía en capa fina (23) y después la Recristalización (22) (23).

c). Identificación.- Para la identificación de los productos aislados y purificados se usaron los siguientes métodos de identificación. También se determinaron algunos de los parámetros físicos de gran utilidad en la identificación de sustancias como el punto de fusión, rotación específica y su solubilidad.

Para la determinación de la estructura se usaron los métodos espectrométricos siguientes:

- i).- Espectrometría de masas (26) (27) que junto con un Análisis elemental orgánico cualitativo y cuantitativo (22) (23) sirve para determinar la Fórmula molecular.
- ii).- Espectrometría ultravioleta (21) (22) (23) (19) para determinar la longitud de onda máxima (λ max), que junto con la masa molecular se puede calcular el coeficiente de extinción molar (ϵ). Este espectro es útil para demostrar la presencia de ciertos grupos cromóforos, y con esto conocer parte de la estructura del compuesto.
- ii).- Espectrometría infraroja (29), (28), (26), (27). Para determinar la presencia de grupos funcionales en las moléculas en cuestión, mediante la identificación de bandas características a diferentes longitudes de onda. Este espectro nos es de gran ayuda para saber con que grupos funcionales po-

mos trabajar para formar derivados o hacer algunas reacciones características que puedan esclarecer más la estructura del compuesto.

- iv).- Espectrometría de resonancia magnética nuclear (30) (25) (26), (27), se determinaron los espectros de RMN de hidrógeno y C-13, los cuales dan mayor información de la estructura de los compuestos aislados.

6.B.2. Método para el estudio farmacológico.

La metodología usada en el estudio farmacológico para determinar la acción hipocolesterolemiantes de las sustancias extraídas de la corteza del cuachalalate es la siguiente:

- a).- Determinación de la dosis. Para determinar la dosis a usarse de las sustancias extraídas e identificadas de la corteza del cuachalalate, se hará una relación equimolecular con un fármaco cuya acción hipocolesterolemiantes sea conocida, para este estudio se usó el estradiol a una dosis de 10 mg/kg.
- b).- Determinación del efecto hipocolesterolemiantes.
- b.1).- Animal de experimentación. Los animales de experimentación que se usaron para evaluar este efecto fue la rata Wistar macho (32)

b.2.)- Procedimiento de la prueba. Para la determinación del efecto farmacológico se usaron 4 lotes de ratas Wistar macho en grupos de 5 animales cada uno, el lote número 1 se usa como testigo blanco, al cual únicamente se le administra el disolvente empleado; los lotes números 2, 3, son los lotes de prueba, (a los que se les administra las sustancias aisladas de la corteza del árbol) y el lote número 4 es el testigo positivo, (tratado con el fármaco cuya acción hipocolesterolemia se conoce).

El tratamiento consistió en la administración por vía subcutánea de una sola dosis y a las 24 hrs se tomaron muestras de sangre y se cuantificó el colesterol total.

b.3.). Toma de muestra (32). Para la toma de muestras el animal se envuelve en una franela y se le introduce la cola en un vaso de precipitado con agua a 40°C. por un periodo de 3 minutos aproximadamente, para provocar vasodilatación. La cola se seca y se coloca sobre una superficie plana y con una navaja de rasurar se corta una pequeña porción de su parte terminal. La sangre se recoge en tubos capilares, los cuales se llenan por capilaridad hasta un 80% de su capacidad, la parte del capilar que no contenga san

gre se sella con un soplete. Estos capilares se centrifugan por 10 min. a 2000 rpm., introduciéndolos en tubos de ensayo los cuales tienen torundas de algodón en el fondo. De esta manera se obtiene el suero en el cual se hace la determinación de colesterol.

b.4.). Determinación de colesterol total sérico. Para hacer la ideterminación de colesterol se seguirá el micrométodo fluorométrico de Carpenter y colaboradores (33), que consiste en primer lugar en hacer la hidrólisis del colesterol, esterificado con solución alcohólica de hidróxido de potasio; posteriormente se extrae con hexano; se toma una alícuota de la fase hexanoica, la cual contiene el colesterol libre, y posteriormente se evapora en un baño maría a 80°C. El residuo se redisuelve en una mezcla de anhídrido acético-tricloroetano (1:5 v/v). A esta mezcla se le adiciona ácido sulfúrico (0.08 ml. para 0.02 ml. de suero), para el desarrollo de la fluorescencia. Se hace la lectura de la fluorescencia con un fluorómetro de lámpara de mercurio calibrada a 0 y 100 con una solución blanco y un estándar de 200 mg de colesterol por cada 100 ml de disolución. De esta manera los resultados se expresan en mg/ 100 ml de suero.

7. DESARROLLO

7.1. Consideraciones previas

La corteza del cuachalalate usada en este estudio fue molida previamente en un molino de martillos. De esta corteza molida se prepararon 2 extractos, uno de hexano y otro de acetona. La elección de estos disolventes se determinó en una serie de extracciones previas con una pequeña cantidad de corteza y con varios disolventes, siendo en el hexano y en la acetona en los que se obtienen los extractos de mayor cantidad.

Como en la bibliografía no se encontró información acerca de los componentes químicos de la corteza de este árbol, el estudio se enfoca a la separación y caracterización de los componentes que se presentan en mayor proporción.

Para las pruebas farmacológicas en los que se prueba la posible acción hipocolesterolemica de las sustancias aisladas se usaron ratas macho Wistar con un peso corporal entre 125 y 165 g.

7.2. Desarrollo del trabajo

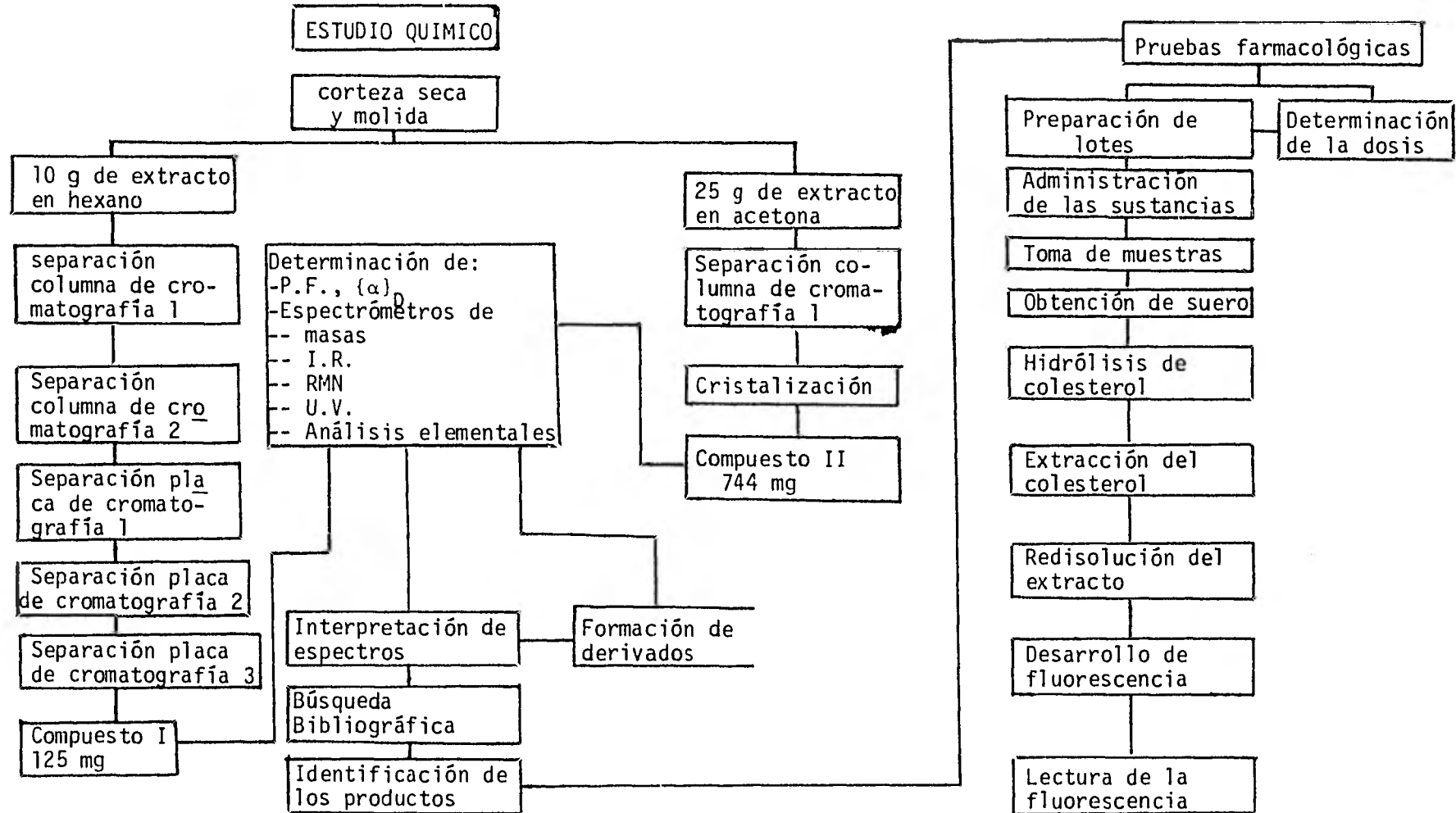
El desarrollo de este trabajo consta de dos partes:

La primera que corresponde al estudio químico de la corteza del cuachalalate y la segunda correspondiente a las pruebas farmacológicas de los compuestos aislados y caracterizados. En el esquema 1 se resume el desarrollo de estas dos partes.

Primeramente se describirá el desarrollo experimental del estudio químico desde la obtención de los extractos, hasta la separación y formación de derivados de los compuestos aislados.

El desarrollo experimental del estudio farmacológico se siguió como se marca en el punto 6.B.2. (Método para el estudio farmacológico), por lo que ya no se repite en esta sección.

DESARROLLO GENERAL DEL TRABAJO



7.2.A.- Desarrollo del estudio químico

Se pesaron 500 g de la corteza del árbol de cuachalalate, molida en un molino de martillos. Primero se calentaron a reflujo con cuatro porciones de 800 ml c/u de hexano, reuniéndose estas cuatro porciones por decantación. Después el residuo se calentó a reflujo con cuatro porciones de 500 ml c/u de acetona, reuniéndose nuevamente estas cuatro porciones. El tiempo de reflujo para cada porción fue de 30 minutos. De esta manera se obtuvieron, después de eliminar el disolvente, 10 g del extracto de hexano y 25 g del extracto de acetona.

a).- Separación del extracto de hexano. Los 10 g de extracto obtenidos con hexano se cromatografiaron en columnas con 300 g de gel de sílice (de 0.2 a 0.5 mm)* empezando a eluir con hexano, aumentando poco a poco la polaridad del eluyente con cantidades cada vez mayores de benceno hasta benceno puro y después mezclas de benceno-acetato de etilo hasta acetato de etilo puro. Las fracciones se recogieron de 500 ml cada una. Las fracciones 60 a 66, correspondientes a la polaridad del eluyente benceno: acetato de etilo 90:10 (v/v), presentan dos manchas grandes en la cromatoplaça revelada con sulfato cérico**, se reunieron estas fracciones y después de eliminar el disolvente y secarlo al vacío se obtuvieron 4 g de residuo verde brillante. Estos 4 g

- - - - -
* En todas las cromatografías en columna se usó la misma gel de sílice 60 de 0.2 a 0.5 mm de la Compañía Merck.

** En el revelado de las cromatoplaças se usó la misma solución de sulfato cérico, y también se observaron las manchas con una lámpara de luz Ultravioleta.

de residuo se cromatografian en 120 g de gel de sílice iniciándose la elución con cloroformo aumentando la polaridad con acetato de etilo hasta acetato de etilo puro. Se recogieron fracciones de 500 ml, al llegar a las fracciones de cloroformo: acetato de etilo 95:5 (V/V), en la cromatoplaqa se observa una mancha muy intensa y otras pequeñas. De esta manera se obtienen 2 g de residuos. Se procedió a la purificación de 1 g de esta en 5 placas de cromatografía preparativas de gel de sílice, corridos en mezcla de benceno-acetato de etilo 80:20 (V/V), en los que se observaron 4 manchas. Al cortar la mancha principal y desechar la cabeza y cola se obtienen 660 mg de producto que en cromatoplaqa muestra impurezas. Los 660 mg se disolvieron y se aplicaron en 4 placas de cromatografía preparativas y nuevamente, al descartar cabeza y cola de la mancha se obtienen 390 mg de un producto cristalino blanco que aún contiene impurezas, que se eliminaron con una última cromatografía en capa fina, obteniéndose finalmente 185 mg de un producto cristalino blanco con p. f 170-171°C.; $[\alpha]_D - 71.52^\circ$ (en cloroformo). Se determinaron los espectros de u.v., I.R., masas y RMN de H, así como también su análisis elemental. Compuesto I.

- b).- Separación del extracto de acetona. Los 25 g de extracto obtenidos con acetona se cromatografiaron en 750 g de gel de sílice, empezando a eluir con hexano y aumentando la polaridad poco a poco

primero con benceno hasta benceno puro, continuando con acetato de etilo hasta acetato de etilo puro. Se recogieron fracciones de 500 ml cada una. Al llegar a las fracciones de benceno-acetato de etilo 90:10 (v/v), después de evaporar el disolvente queda un residuo amarillo, que al agregarle acetona y dejarlo en reposo se forman unos cristales blancos, que recrystalizan de acetato de etilo, de esta manera se obtuvieron 744 mg de este producto con p.f. 138-141°C, $[\alpha]_D - 46.4$ (En Metanol). Se le determinaron los espectros de u.v., IR, Masas y RMN de H y C-13, así como también su análisis elemental orgánico. Compuesto II.

c).- Formación de derivados.

c.1.) Formación del éster metílico del Compuesto I. Se ponen 45 mg de producto que se va a metilar suspendidos en 10 ml de éter etílico. El matraz que contiene la mezcla se introduce en un baño de hielo y se adiciona poco a poco la solución etérea de diazometano preparada siguiendo la técnica del Organic Syntheses (34), que consiste en lo siguiente: en un matraz erlenmeyer se colocan 4 ml de solución acuosa de KOH al 50% y 20 ml de éter etílico, la mezcla se enfría a 5°C y se adicionan poco a poco 2 g de N-nitroso-N-metil urea agitando el matraz con movimientos circulares. Una vez terminada la adición, se pasa la mezcla a otro matraz que contiene lentejas de KOH. Esta última operación se repite dos veces.

La reacción del compuesto I con la solución de dióxido de metano se dejó durante toda la noche. Se separó el producto de la reacción por cromatografía en placa fina. Se obtienen 28.3 mg del éster metílico. Producto I a.

c.2.). Formación del éster metílico del Compuesto II. Se siguió el mismo procedimiento que para el compuesto I. sólo que esta vez se usaron 100 mg del compuesto II. Se obtuvieron 77.2 mg del éster metílico. Compuesto II a.

c.3.). Acetilación del compuesto IIa. Los 77.2 mg del compuesto II a se acetilaron adicionándole 1 ml de piridina y 1 ml de anhídrido acético. Se dejó reaccionar por 22 hs. La mezcla de la reacción se vertió en agua fría y se extrajo con acetato de etilo, acidificándolo éste con una solución de HCl al 5% y después lavando con agua. Se secó el disolvente con sulfato de sodio anhidro, se filtró y evaporó, de esta manera se obtuvieron 58.2 mg del producto acetilado, que se purificó en cromatografía en placa fina y dió 45.5 mg de producto puro. Compuesto II b.

c.4.). Oxidación del compuesto II. Con $\text{CrO}_3 \cdot 2 \text{C}_5\text{H}_5\text{N}$. La formación del complejo anhídrido crómico-piridina se hizo siguiendo la técnica descrita por P005 y colaboradores (35). Se midieron 1.20 ml de piridina anhidra, se enfrió en hielo y se agregó poco a poco 0.121 g de CrO_3 manteniendo la temperatura abajo de 10°C . Al terminar la adición se forma un sólido amarillo que corresponde al complejo $\text{CrO}_3 \cdot 2\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$. Este producto se suspen

dió en 3 ml de piridina anhidra y se adicionó a una solución de 122 mg del Compuesto II en 1.2 ml piridina anhidra en un baño de hielo. La reacción se llevó a cabo por un periodo de 24 hrs a temperatura ambiente y con agitación. Al término de este tiempo se agregó a la mezcla de reacción 3 ml de etanol, se agitó por 10 min. y se vertió en agua destilada. Se extrajo con acetato de etilo, se lavó éste con ácido clorhídrico diluído y después con agua. El acetato de etilo se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se cromatografió en placa fina de gel de sílice y se obtuvieron 44.2 mg de un producto cristalino con pf 170-171°C. El espectro de IR de este compuesto es idéntico al espectro de I.R. del Compuesto I.

8. RESULTADOS

8.A. Resultados del estudio químico

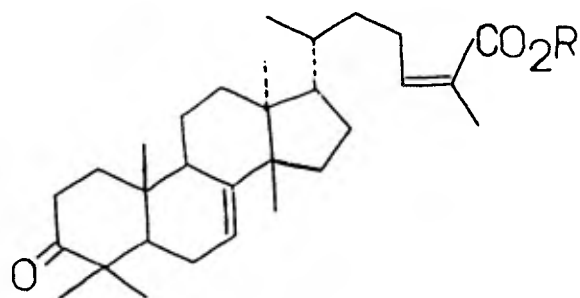
Los resultados de la parte química de este estudio están expresados por las constantes físicas y los datos espectrométricos de los compuestos aislados, que a continuación se describen.

Compuesto I. Este compuesto fue aislado por cromatografía en columna y en placa fina del extracto de hexano y se obtuvieron 185 mg de un producto cristalino blanco con p.f. 170-171°C, $(\alpha)_D -71.5^\circ$. El espectro de Infra Rojo tiene fuertes bandas de absorción a 3500-2500, 1690, 1710, 1635 y 1380 cm^{-1} , que sugieren la presencia de un ácido α , β -insaturado, un carbonilo de una cetona cíclica de seis miembros, dobles enlaces conjugados y metilos germinales. En el espectro de Masas se encuentran señales de m/e y sus porcentajes a 456.3 (1.3%), 455.4 (4.9%), 454.4 (14.3%), 453.4 (1.3%), 439.4 (98.8%), 421.3 (64%), 95 (100%) y 55.1 (48.9%). Se calculó el ion molecular $M^+ = 454.4$ (14.3%), que ajusta para la fórmula $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_3$, y los iones isotópicos $M+1 = 455.4$ y $M+2 = 456.3$, tienen como pico base 95. En el espectro de RMN de Hidrógeno se observaron cuatro señales a 0.82, 1.02, 1.07 y 1.11 ppm que corresponden a la región de desplazamiento de metilo terciarios, un metilo vinílico a 1.95 ppm y dos protones vinílicos a 5.35 y 6.11 ppm. El espectro ultravioleta muestra un máximo a 212 nm. ($\epsilon=7200$).

Compuesto II. Este compuesto se aisló por cromatografía en columna del extracto de acetona y se purificó por recristalización en

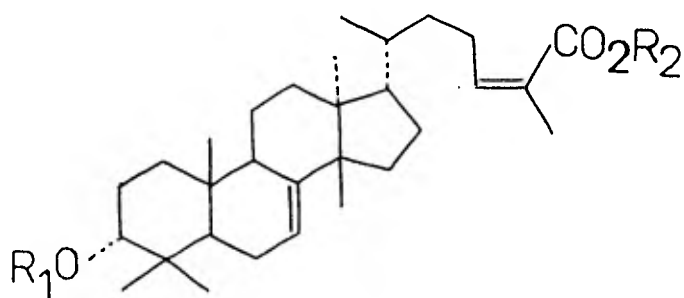
acetato de etilo y se obtuvieron 744 mg de este compuesto con p.f.: 138-141°C (α)_D - 46.4°. El espectro de Infrarrojo muestra fuertes bandas de absorción a 3500-2500, 1690, 3440, 1635 y 1380 cm^{-1} , que sugiere la presencia de un ácido α , β - insaturado, un alcohol, dobles enlaces conjugados y metilos germinales. En el espectro de masas se encuentran señales de m/e y sus porcentajes a 459.8 (0.1%), 458.7 (0.5%), 457.7 (3.4%), 456.7 (9.9%), 441.7 (39.9%), 424.7 (31.3%), 423.7 (100%), y 95.2 (38.7%) identificó el ion molecular $M^+ = 456.7$, que ajusta para la fórmula $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$, los iones isotópico $M+1 = 457.7$ y $M+2 = 458.7$, y como pico base 423.7. En el espectro de RMN de hidrógeno presenta señales a 0.70, 0.77, 0.84 y 0.94 ppm que indican la presencia de metilos, una señal de metilo vinílico a 1.78 ppm, una señal desplazada a 3.4 ppm y dos señales de protones vinílicos a 5.2 y 5.85 ppm. En el espectro de RMN de C-13, se observan señales de frecuencias altas a 168.92, 145.66, 141.52, 127.28, 117.66 y 73.95 ppm y el resto de las señales a menos de 52 ppm. Este espectro indica la presencia de un carbono carboxílico, dos dobles enlaces trisubstituidos y un carbono de un alcohol secundario (36). En el espectro ultra violeta se presenta una $\lambda \text{ max} = 208 \text{ nm}$ ($\epsilon=9500$), característica de un ácido carboxílico α , β - insaturado.

Con el uso de la información anterior de los datos espectrométricos de U.V., I.R., RMN de Hidrógeno y C-13, la fórmula molecular ($\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$) y sus constantes físicas, el compuesto II fue identificado en la literatura (37)(38)(39)(42) como el ácido 3 α -Hidroximasticadienónico (II, fig.1), que por oxidación con el complejo $\text{CrO}_3 \cdot 2\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ produce el compuesto I, identificado como el ácidomasticadienónico (I, Fig.1)(39)(40)(41)(42).



I. R= H: Acido masticadienônico

Ia. R= Me; Masticadienonato de Metilo



II R₁= R₂ = H: Acido 3 α - hidroximasticadienônico.

IIa R₁= H; R₂= Me: 3 α - hidroximasticadienonato de metilo

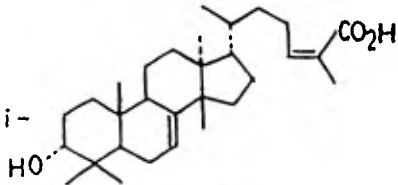
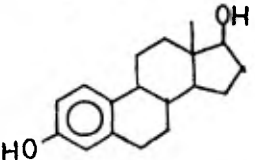
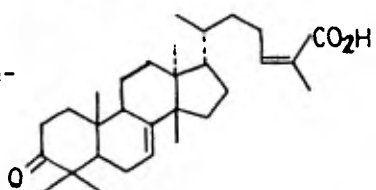
IIb R₁= Ac; R₂= Me: 3 α - acetoximasticadienonato de metilo

Figura 1.

8.B. Resultados de las pruebas farmacológicas

Una vez que las sustancias aisladas de la corteza del árbol de cuachalalate fueron identificadas, el compuesto I como el ácido masticadienónico (I, fig. 1) y el compuesto II como el ácido 3 α - hidroximasticadienónico (II, fig. 1), se procedió a probar su acción como hipocolesterolemiantes en rata macho Wistar normales, empleando el método fluorométrico de Carpenter y colaboradores (33) para cuantificar el colesterol total sérico, después de 24 horas de haber administrado las sustancias en una sola dosis por vía subcutánea. Tomándose el estradiol como testigo positivo. Los resultados de este experimento se presentan en la tabla I.

TABLA 1. Resultados del efecto hipocolesterolémico de los ácidos masticadienónico y 3 α -Hidroxi-masticadienónico, aislados de la corteza del árbol de cuachalalate, probados en ratas Wistar por vía subcutánea

LOTE	TRATAMIENTO	ESTRUCTURA	DOSIS/DIA	h ^a	PESO CORPORAL EN g \pm e.e.m. ^b	CONCENTRACION DE COLESTEROL SERICO mg/100ml \pm e.e.m.	DIFERENCIA	W ^{2c}	VALOR DE "p" ^d
1	Aceite de maíz	-----	1.0ml/100g	5	143 \pm 4.91	63 \pm 7.1	---	---	---
2	Acido 3 α -hidroxi-masticadienónico		17 mg/kg	5	143 \pm 4.55	51 \pm 2.6	-19	0.799	0.076
3	Estradiol		10 mg/kg	5	144 \pm 3.9	43 \pm 3.1	-31	0.724	0.02
4	Acido masticadienónico		17 mg/kg	5	146 \pm 4.43	41 \pm 4.9	-34	0.650	0.02

a: n= número de animales probados

b: e.e.m.= Error estándar de la media

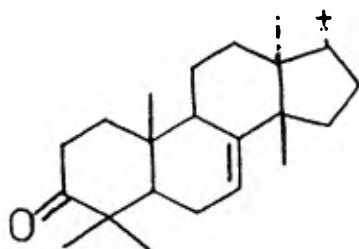
c: W²= Probabilidad de que los resultados se deban al tratamiento

d: p = Probabilidad basada en la prueba "t" de Student, e indica la probabilidad que la diferencia entre dos poblaciones no sea significativa, tomándose como referencia al lote 1.

9. DISCUSION DE RESULTADOS

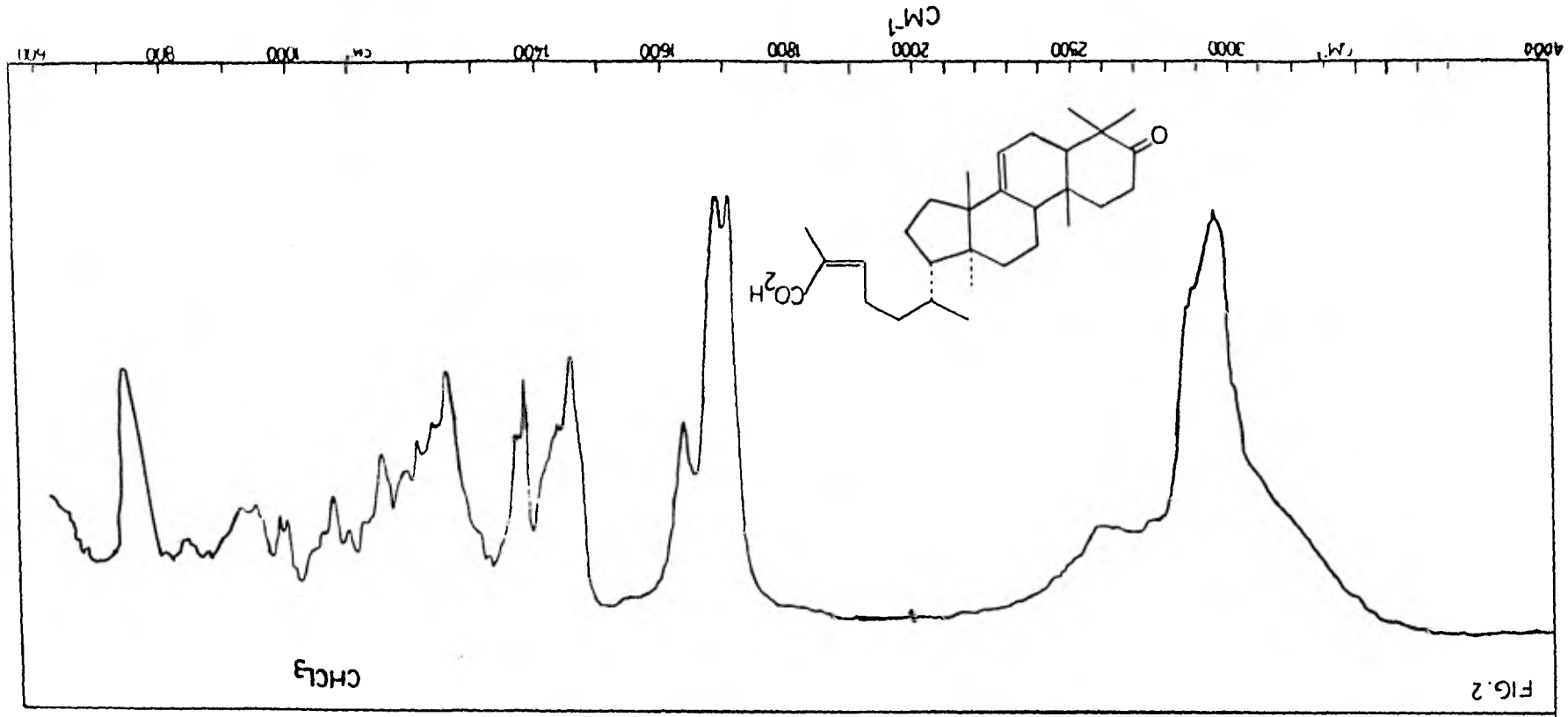
9.A. Discusión de resultados del estudio químico

El ácido masticadienónico o ácido (13 α , 14 β , 17 α , 20S, 24Z)-3-oxolanosta-7, 24 dien-26-oico, en el espectro de Infrarrojo (fig. 2) muestra la banda de absorción ancha de 3500-2500 cm^{-1} correspondiente al alargamiento O-H del ácido carboxílico, la banda a 1710 cm^{-1} corresponde a la cetona de la posición 3, la banda a 1690 cm^{-1} carbono carboxílico α , β - insaturado, la banda a 1635 cm^{-1} indica el doble enlace conjugado, el pico a 1380 señala la presencia de los metilos germinales del carbono 4 de la molécula (29) (26) (27). Por el espectro de Masas señala el ion molecular $M^+ = 454.4$ que se ajusta a la fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_3$, en este mismo espectro se observa una señal m/e a 313 (6%) que es característico del ión en el que se ha perdido la cadena lateral (fig. 3) (43).



m/e = 313

Figura 3



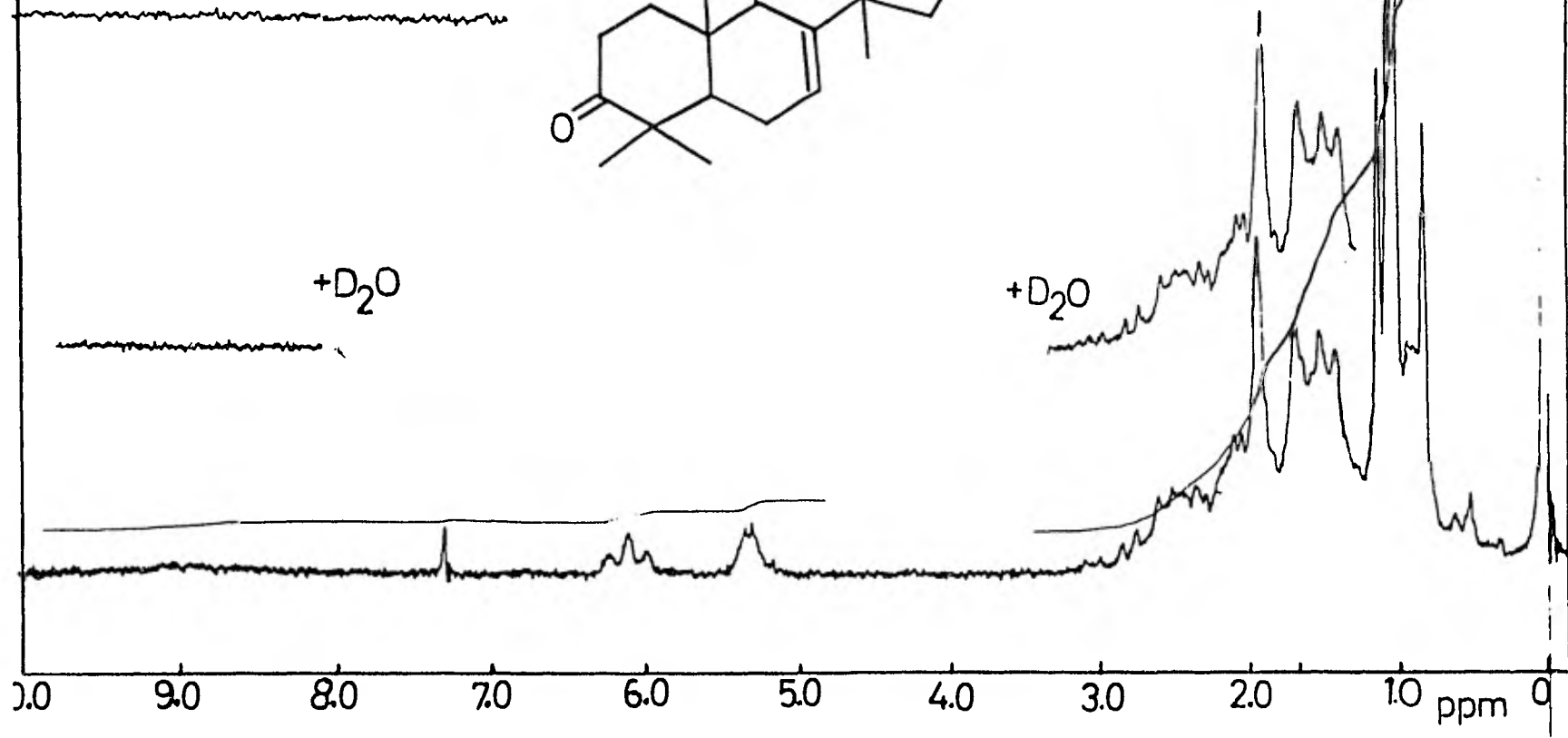
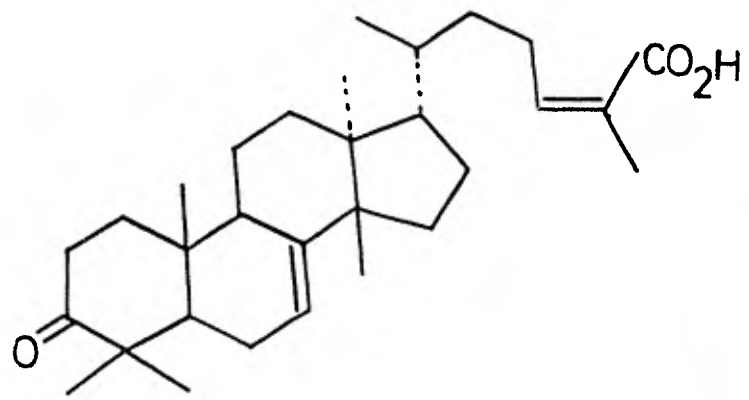
afirmando la estructura tetracíclica con los cinco metilos, el grupo cetónico y el doble enlace. El resto de las señales en este espectro a 439.4 (98.8%), 421.3 (64.1%), 139 (6%), 95.1 (100%) y 55.1 (48.9%) corresponden a los descritos en la literatura (42) para el ácido masticadienónico, con la diferencia que señalan el pico base para 439.4 y no 95.1 como aparece en este espectro.

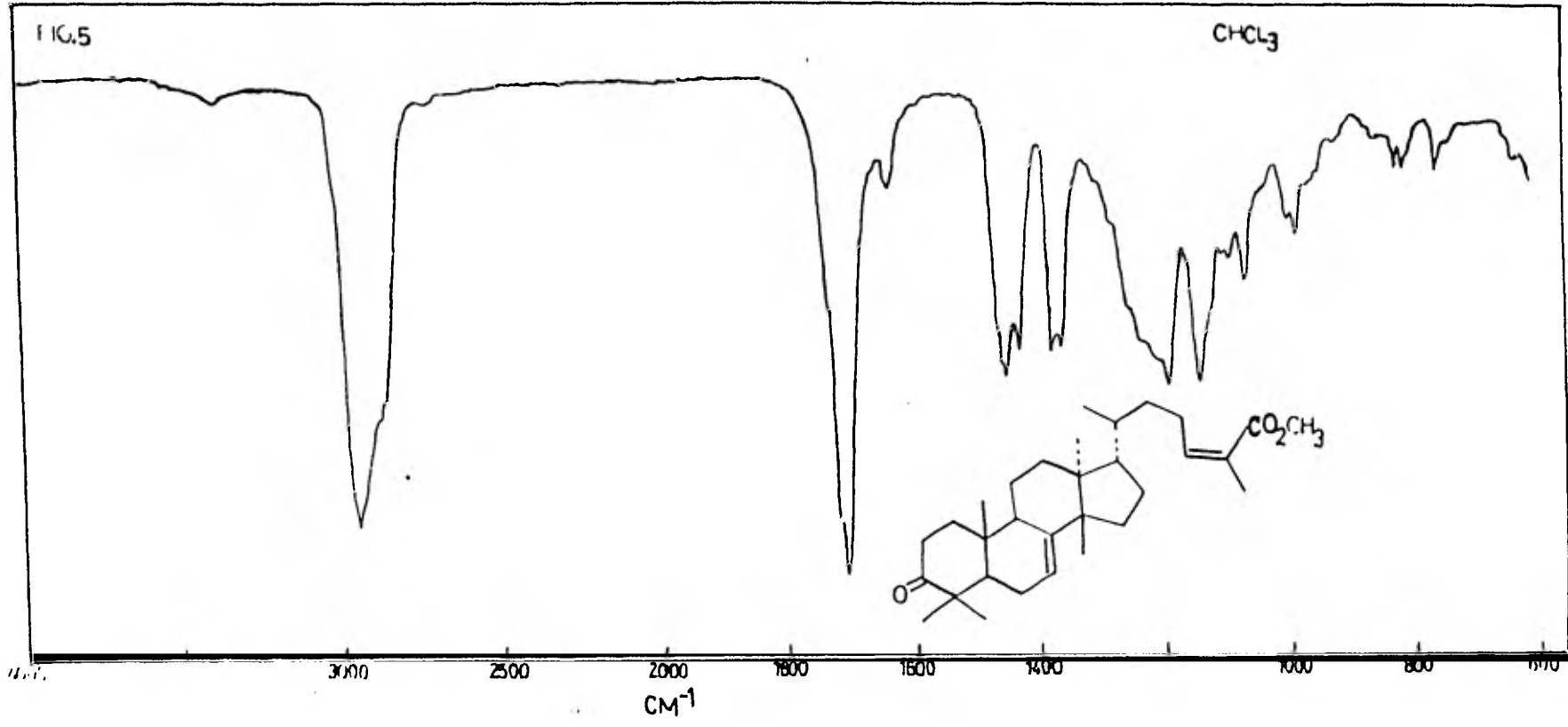
En el espectro de RMN de hidrógeno (fig. 4) se asignaron las señales a los diferentes grupos que aparecen, así las señales a 0.82, 1.07 y 1.11 ppm. se asignaron a los grupos metilos terciarios unidos a los carbonos 13, 10 y 14 respectivamente. La señal a 1.02 ppm se asignó a los metilos germinales. La señal que aparece a 1.95 ppm, se asignó al metilo vinílico unido al carbono 25, a los dos protones vinílicos unidos a los carbonos 7 y 24 asignaron las señales que aparecen a 5.35 y 6.11 ppm. respectivamente. Al metilo unido al carbono 20 se le asignó la señal que presenta dos picos pequeños (un doblete) a 0.92 ppm. Todas las señales que aparecen en este espectro coinciden con las descritas en la literatura (39) (44).

Por esterificación, el ácido masticadienónico con diazometano (CH_2N_2) se obtuvo el masticadienonato de metilo (Ia., fig. 1) que en su espectro de I.R. (fig. 5) muestra dos bandas del estiramiento c-o, una ancha de $1250\text{-}1190\text{ cm}^{-1}$ y otra a 1145 cm^{-1} características de los ésteres. También se observa la desaparición de la banda ancha del estiramiento O-H de los ácidos y el traslapamiento de la señal del c=O

FIG. 4

CDCl₃





del éster conjugado con la de la cetona cíclica, dando un pico intenso a 1710 cm^{-1} (22) (23) (25). La masa molecular obtenida por el espectro de masas fue de 468 que ajusta para la fórmula molecular $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_3$. En el espectro de RMN de hidrógeno (fig. 6) se observa el metilo del éster a 3.74 ppm y se siguen observando el resto de las señales. (26) (27) (25).

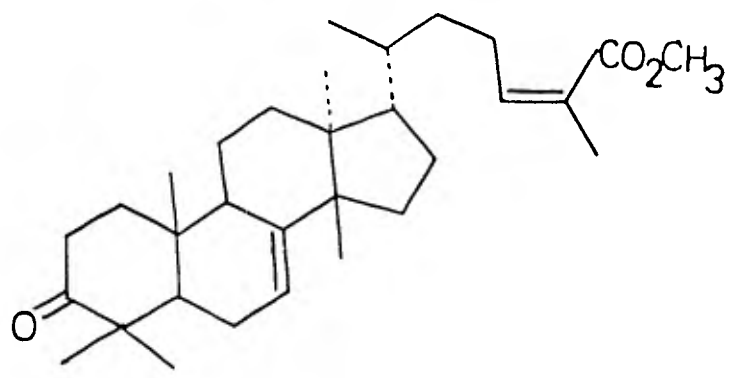
El ácido 3 - α -Hidroximasticadienónico, o ácido (13 α , 14 β 17 α , 20 β 24Z)-3 α -hidroxi-lanosta-7, 24-dien-26 oico, en el espectro de IR. (fig. 7) muestra la banda del alargamiento O-H del alcohol a 3440 cm^{-1} , la del ácido a 3500 a 2500 cm^{-1} traslapada con la banda del alcohol y del alargamiento C-H alifático, también se puede observar la banda del alargamiento c=O conjugado a 1690, la del doble enlace conjugado a 1635 y la de los metilos germinales a 1380. (25) (26) (27) (29) (42).

En el espectro de Masas se identifica la señal del ión molecular $\text{M}^+ = 456.7$ que ajusta para la fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$; el resto de las señales y el pico base, a 423.7 coinciden con los descritos en la literatura para este compuesto (42).

4000Hz
2000
1000
800
600

FIG.6

CDCl₃



+ D₂O

10 9 8 7 6 5 4 3 2 1 ppm 0

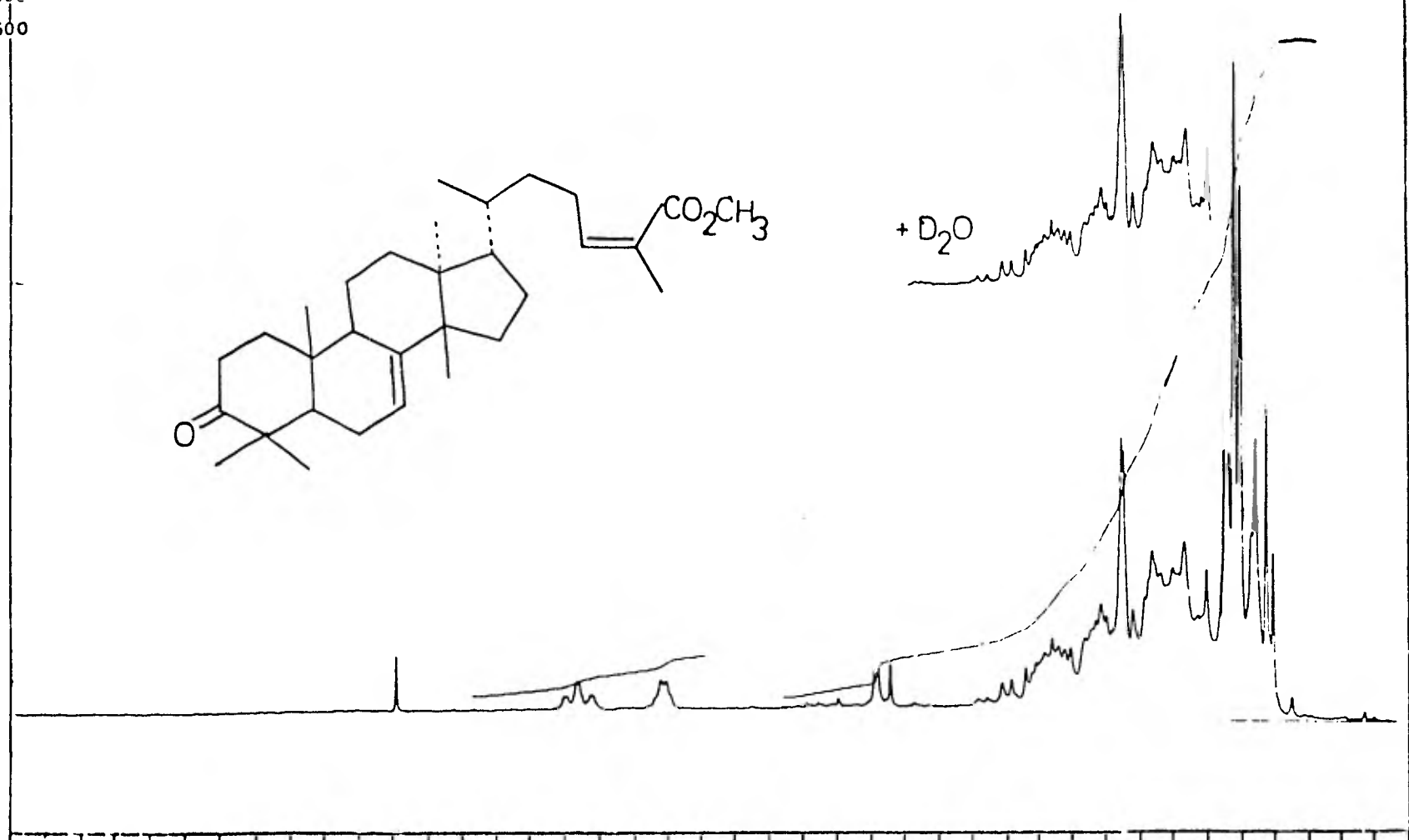
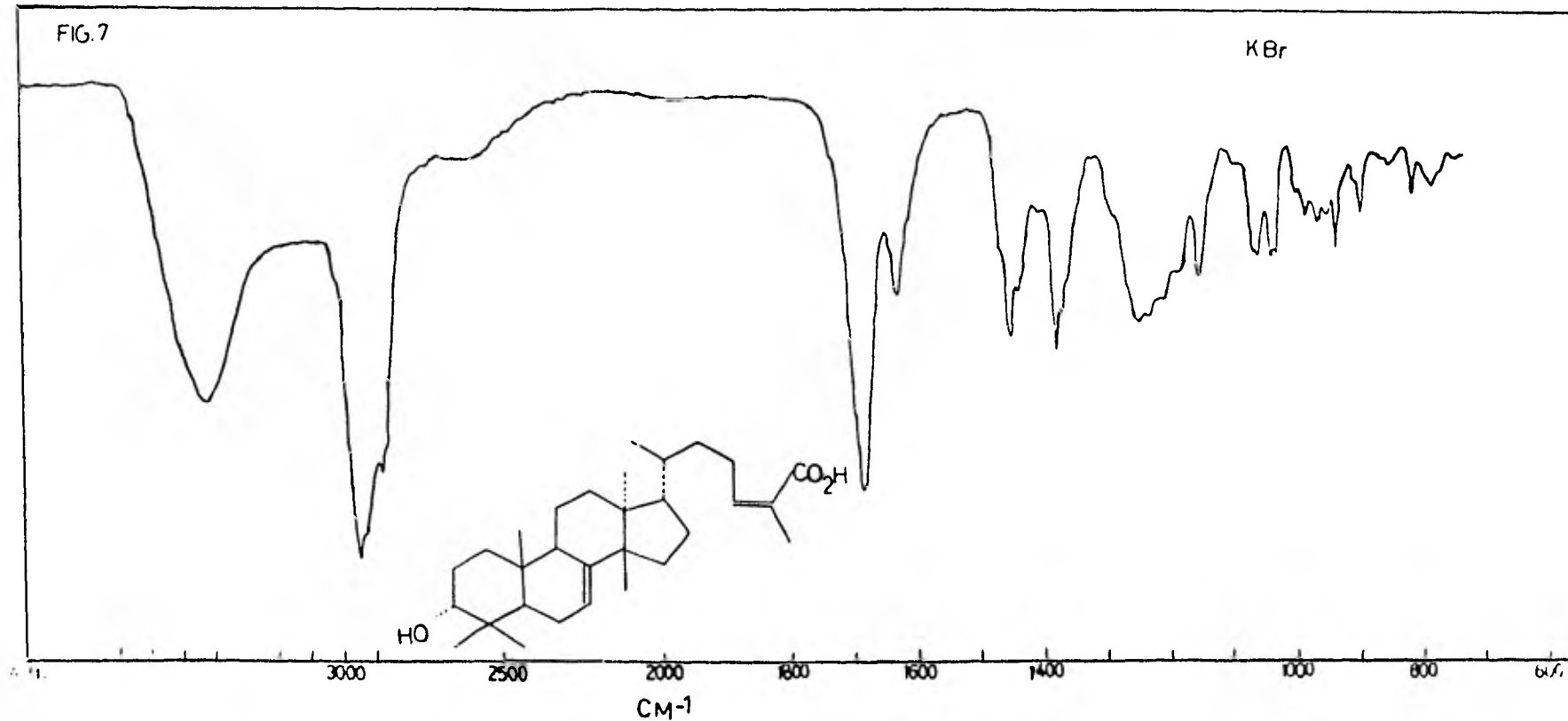


FIG. 7

KBr



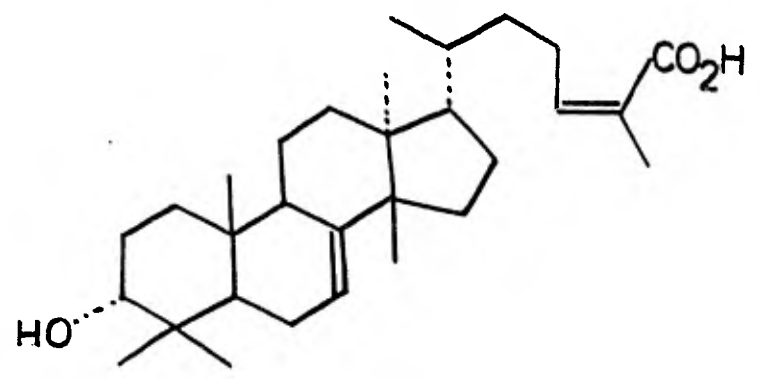
En el espectro de RMN de hidrógeno (fig. 8), se asignaron las señales que aparecen a 0.70, 0.77, y 0.94 ppm a los metilos unidos a los carbonos 13, 20 y 14 respectivamente, la señal que aparece a 0.84 ppm. se asignó a los dos metilos unidos al carbono 4 y al metilo unido al carbono 10; la señal a 1.78 ppm se asignó al metilo vinílico unido al carbono 27, la señal a 3.2 ppm se asignó al hidrógeno unido al carbono 3 y las señales a 5.2 y 5.85 ppm. se asignaron a los dos protones vinílicos unidos al carbono 7 y 24 respectivamente (12) (25) (26) (27). La señal del protón hidroxílico se asignó al pequeño pico que aparece a 1.5 ppm, que al agregarle agua deuterada (D_2O) desaparece, también en el espectro con agua deuterada se observa la señal a 3.76 ppm debido al HOD (agua monodeuterada), que indica la existencia de un intercambio de Hidrógeno con deuterio del D_2O .

En el espectro de RMN de C-13 desacoplado de hidrógenos (fig. 9.A). Se asignó al carbono carboxílico la señal que aparece a 168.92 ppm, la señal a 145.66 ppm al carbono 25 del doble enlace, la señal a 141.52 al carbono 24 del doble enlace, que en el espectro RMN de C-13 acoplado con hidrógeno (fig. 9.B) da un doblete que indica la presencia del hidrógeno vinílico unido a este carbono, la señal a 127.28 ppm se asignó al carbono 8 del otro doble enlace, la señal a 117.66 ppm. se asignó al carbono 7 que en el espectro acoplado con hidrógeno (fig. 9.B) da un doblete indicando la unión con el hi-

4000Hz
2000
1000
800
600

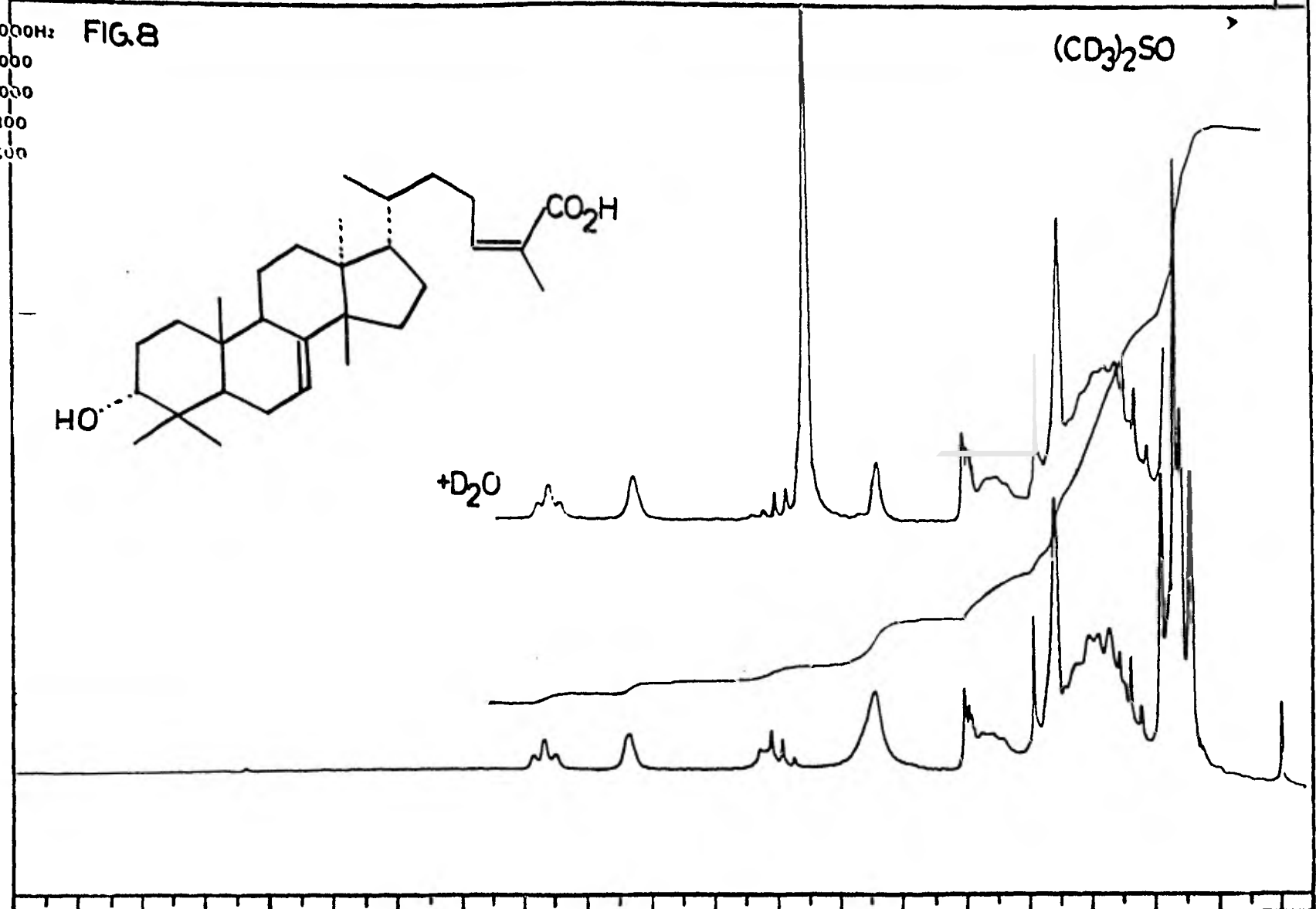
FIG. 8

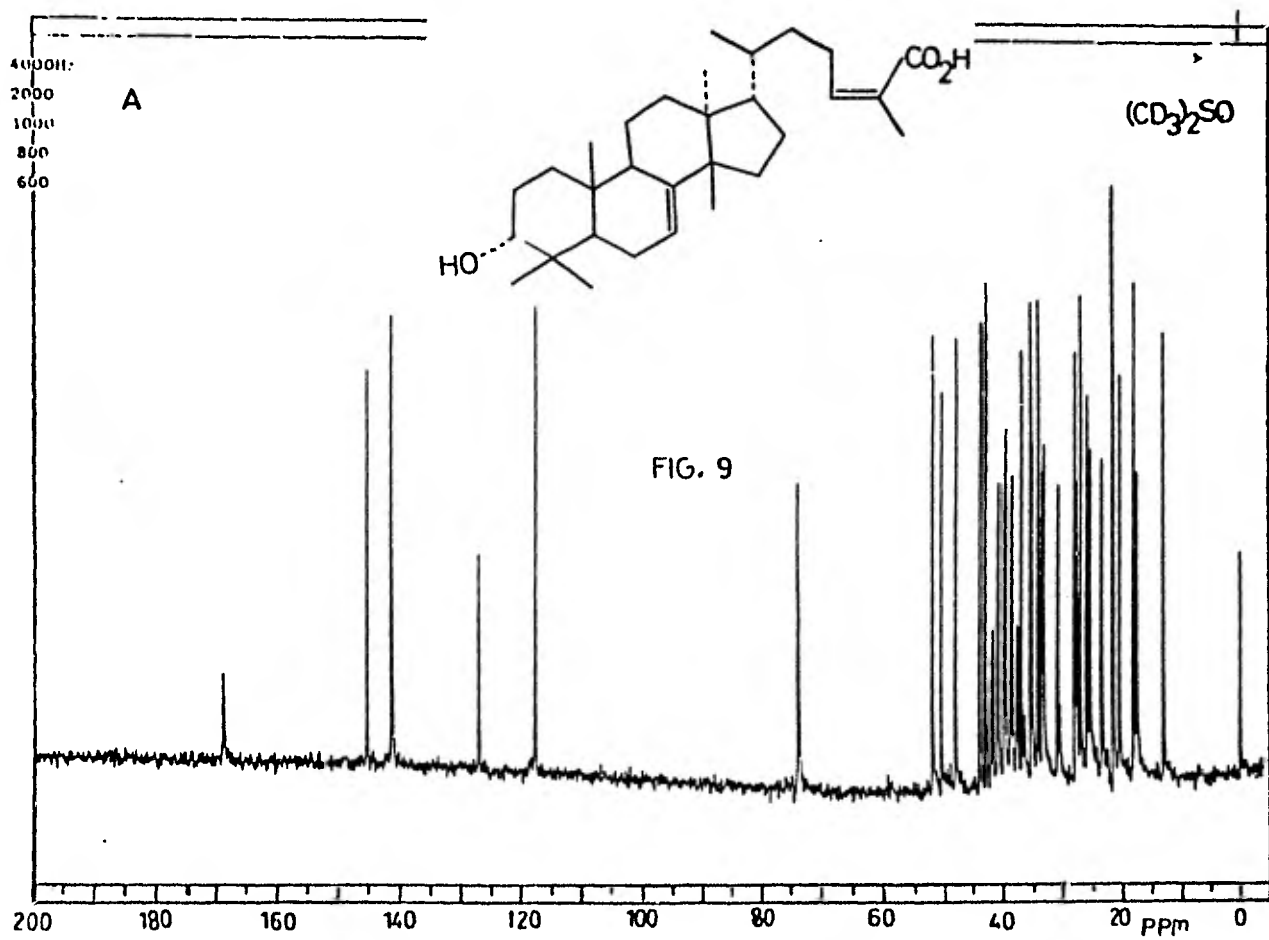
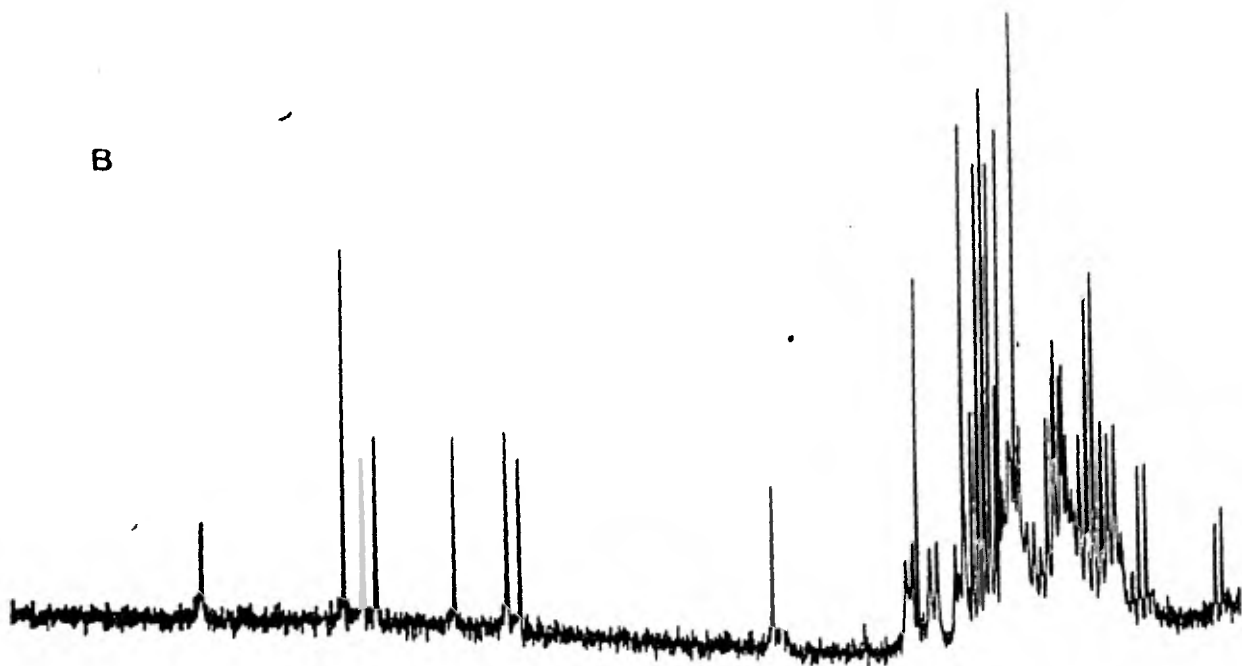
(CD₃)₂SO



+D₂O

10.0 9.0 8.0 7.0 6.0 5.0 4.0 3.0 2.0 1.0 ppm 0

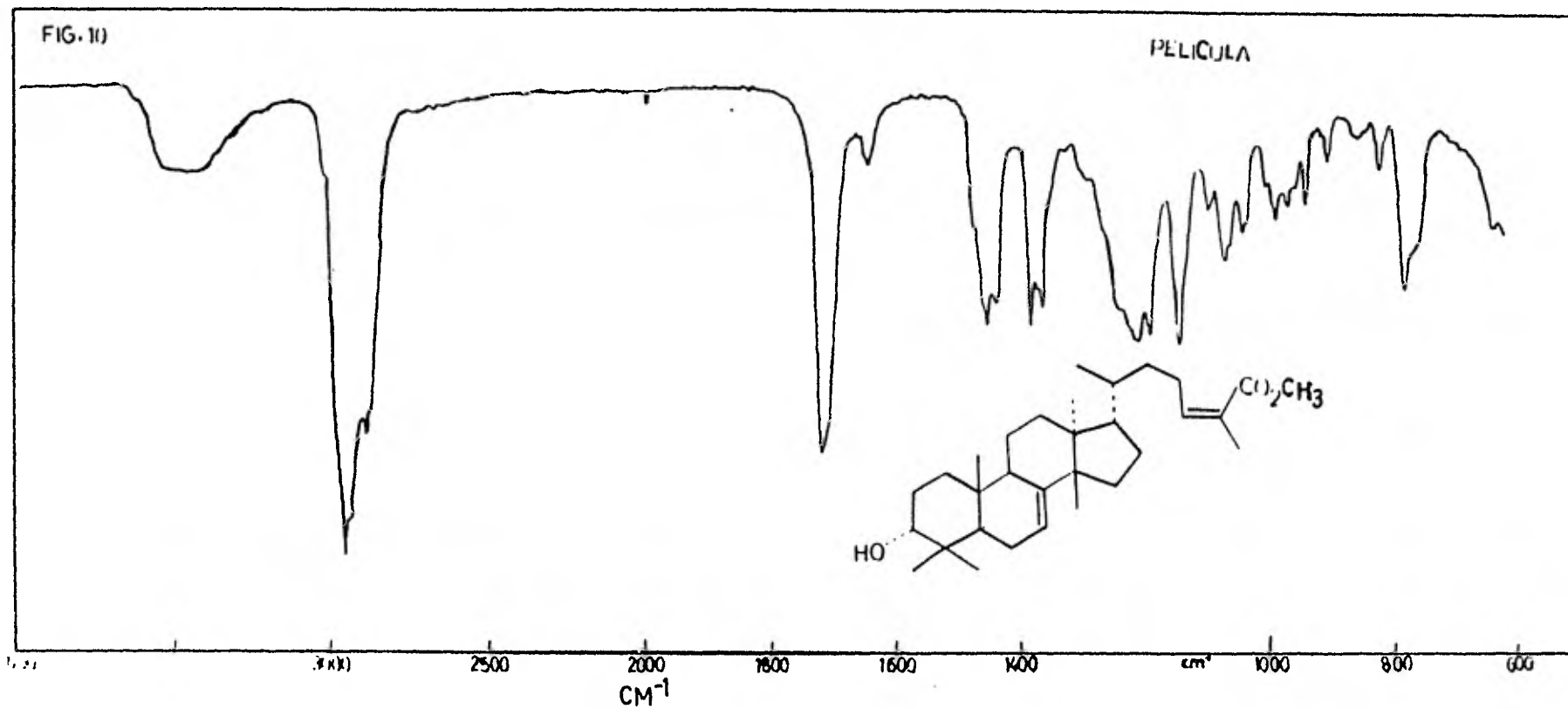




drógeno vinílico, la señal que aparece a 73.95 ppm. se asignó al carbono 3, que por el valor de su desplazamiento químico y por dar un doblete en el espectro de C-13 acoplado con hidrógeno (fig. 9.B), indica la presencia del alcohol secundario alicíclico (36), el resto de las señales corresponden a los carbonos metilénicos y metílicos, que presentan gran dificultad para asignar a cada uno de ellos su señal correspondiente.

El valor de λ max= 208nm en el espectro de u.v. afirma la presencia del ácido α , β - insaturado (25) (26) (27). El punto de fusión de 138-141°C, aunque un poco bajo del descrito en la literatura (39) (42) (45) de 145°C para el ácido 3 α -hidroximasticadienónico, sirve para diferenciarlo de su análogo del ácido 3 β -hidroximasticadienónico que tiene un p.f. de 200-201°C (39).

La reacción del ácido 3 α - hidroximasticadienónico con diazometano CH_2N_2 se hizo inicialmente, cuando aún no se conocía la estructura del ácido, con el propósito de hacerlo reaccionar con el alcohol que aparecía en el espectro de I.R. (fig. 7) para formar el éter metílico, pero al analizar el espectro de I.R. (fig. 10) del producto de la reacción, se observa nuevamente la banda de O-H del alcohol a 3500 cm^{-1} y la aparición de las bandas de los ésteres, la ancha de $1250\text{-}1190\text{ cm}^{-1}$ y la otra a 1150 cm^{-1} (29). Esta reacción fue muy importante en la deducción de la estructura de los compuestos, ya



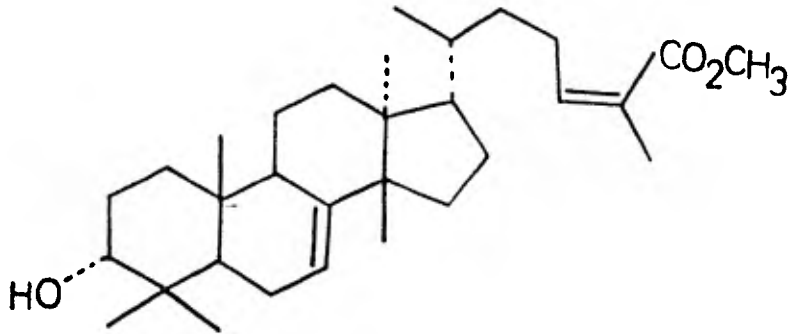
que no era muy clara la presencia del ácido α, β - insaturado. En este mismo espectro se observa la desaparición de la banda O-H del ácido. Se observan claramente la banda C=O del ácido α, β - insaturado a 1715 cm^{-1} , la banda C=C conjugada a 1640 cm^{-1} y la presencia de los metilos germinales a 1380 cm^{-1} (26) (27) (29). En el espectro de RMN de hidrógeno (fig. 11) se observa el pico del metilo del éster a 3.70 ppm. Se puede observar más claramente el triplete del hidrógeno del C-3 centrado a 3.42 ppm, que indica la configuración α del hidróxilo (39). Además se puede ver claramente la señal del protón unido al oxígeno del alcohol a 1.65 ppm, que desaparece al agregar D_2O (26) (27) (44). Estos datos confirman que la reacción del ácido 3 α -hidroximasticadienónico con diazometano (CH_2N_2) forma el 3 - α hidroximasticadienonato de metilo (IIa, fig. 1), que en el espectro de masas señala una masa molecular de 470.9 calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_3$.

La acetilación con anhídrido acético en piridina del 3 α - hidroximasticadienonato de metilo (IIa, fig. 1) condujo a la formación del 3 α - acetoximasticadienonato de metilo (II_b, fig. 1), que en el espectro de I.R. (fig. 12) se observa una fuerte banda a 1240 cm^{-1} - correspondiente al estiramiento C-O de los dos ésteres, las bandas del estiramiento C=O de los dos ésteres se encuentran traslapadas, distinguiéndose ligeramente la banda del éster α, β - insaturado a 1615 cm^{-1} y la del acetoxi a 1625 cm^{-1} (29). En el espectro de RMN (fig. 13) se ve el metilo unido al oxígeno del éster α, β - insaturado a 3.69 ppm y el metilo del acetilo a 2.02 ppm, (26) (27) (44) también se observa el desplazamiento del hidrógeno unido al carbono 3 hasta 4.62 ppm y la

4000Hz
2000
1000
800
600

FIG. 11

CDCl₃ →



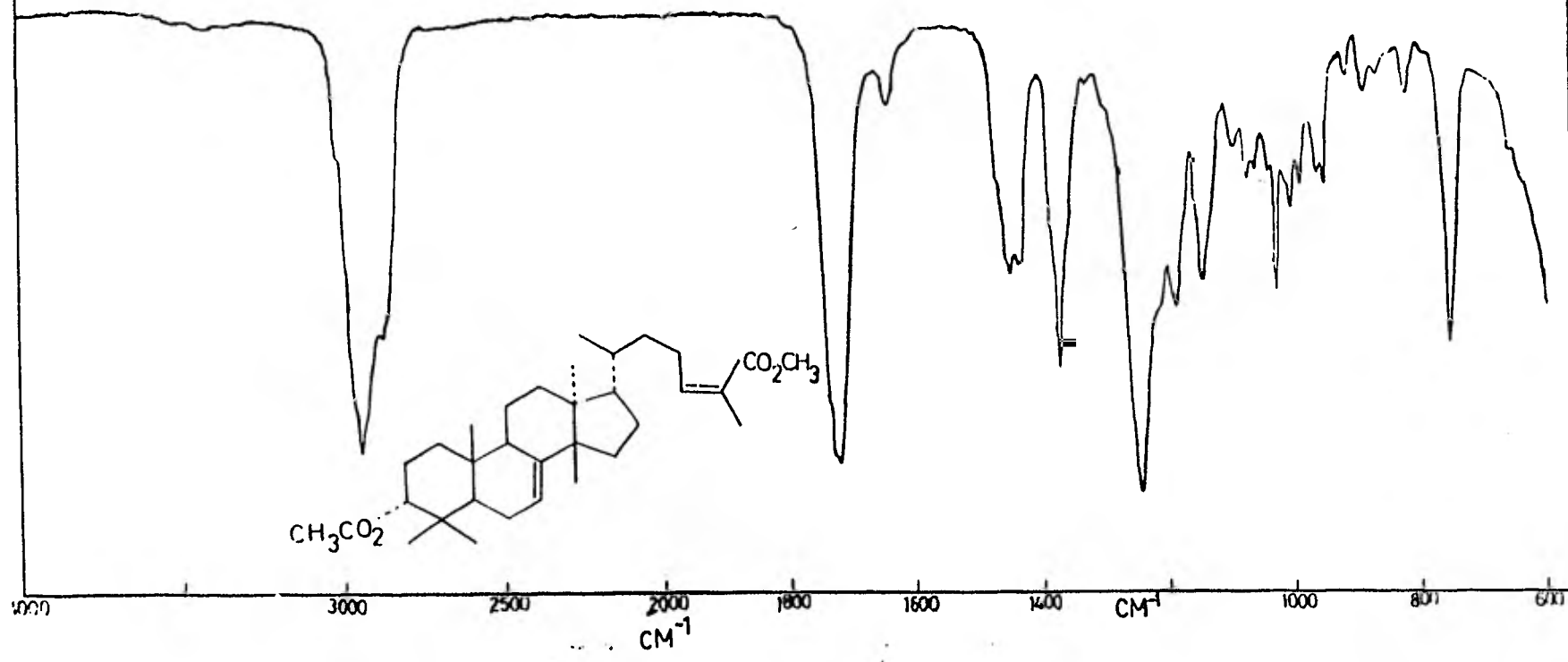
+ D₂O

10.0 9.0 8.0 7.0 6.0 5.0 4.0 3.0 2.0 1.0 ppm 0

1000
500
0

FIG.12

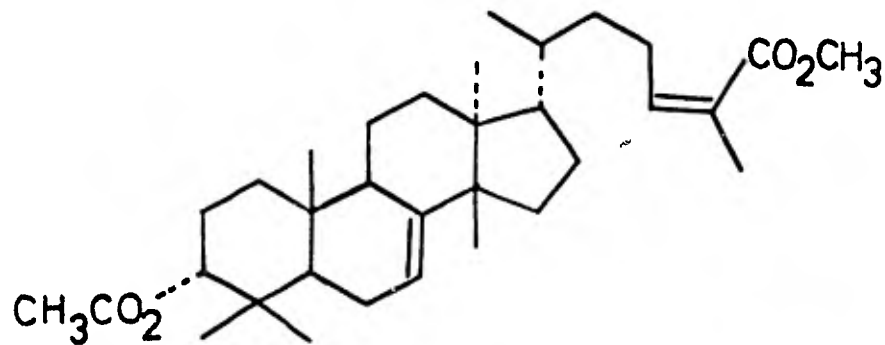
PELICULA



4000Hz
2000
1000
800
600

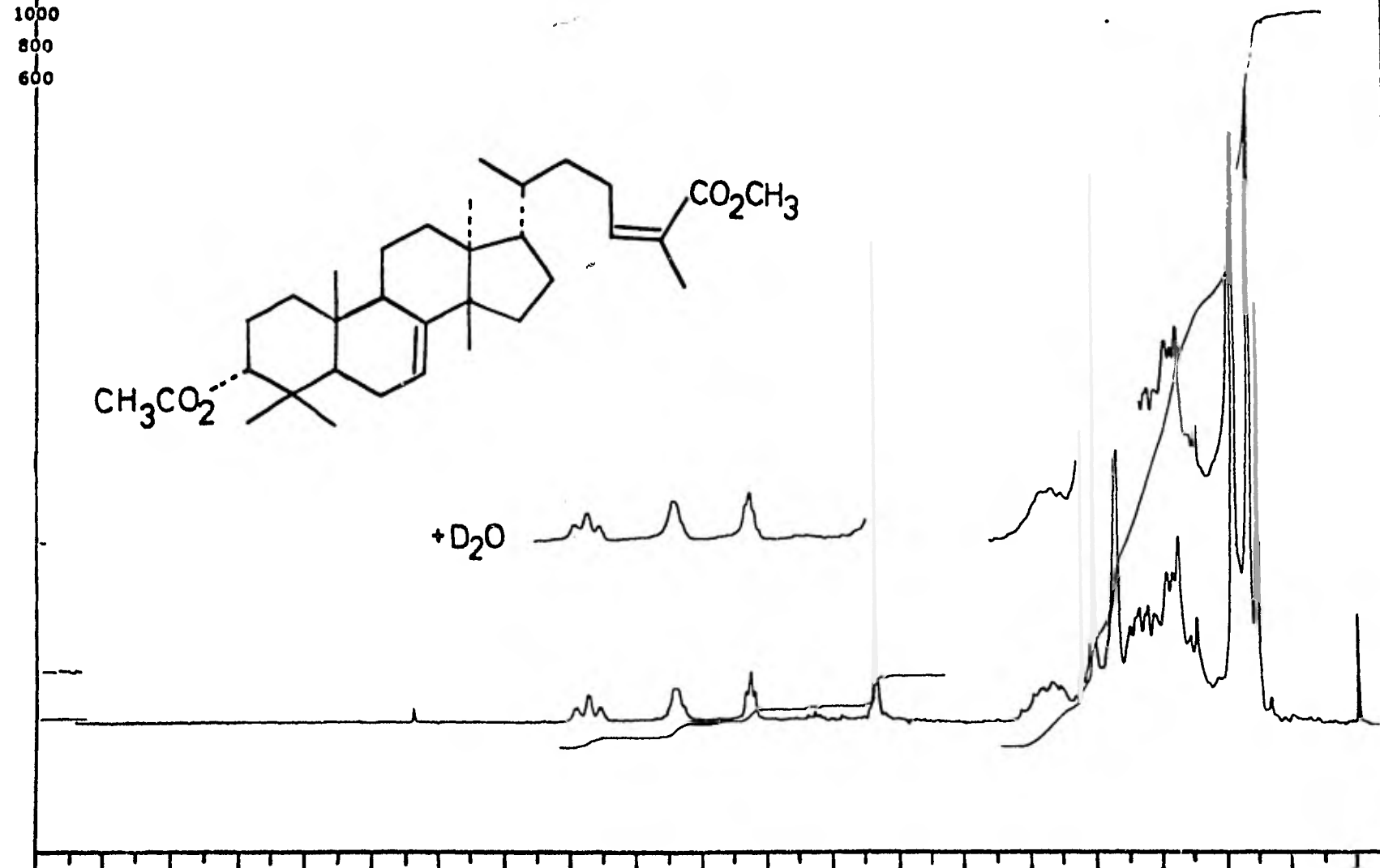
FIG.13

CDCl₃ →



+D₂O

10.0 9.0 8.0 7.0 6.0 5.0 4.0 3.0 2.0 1.0 0



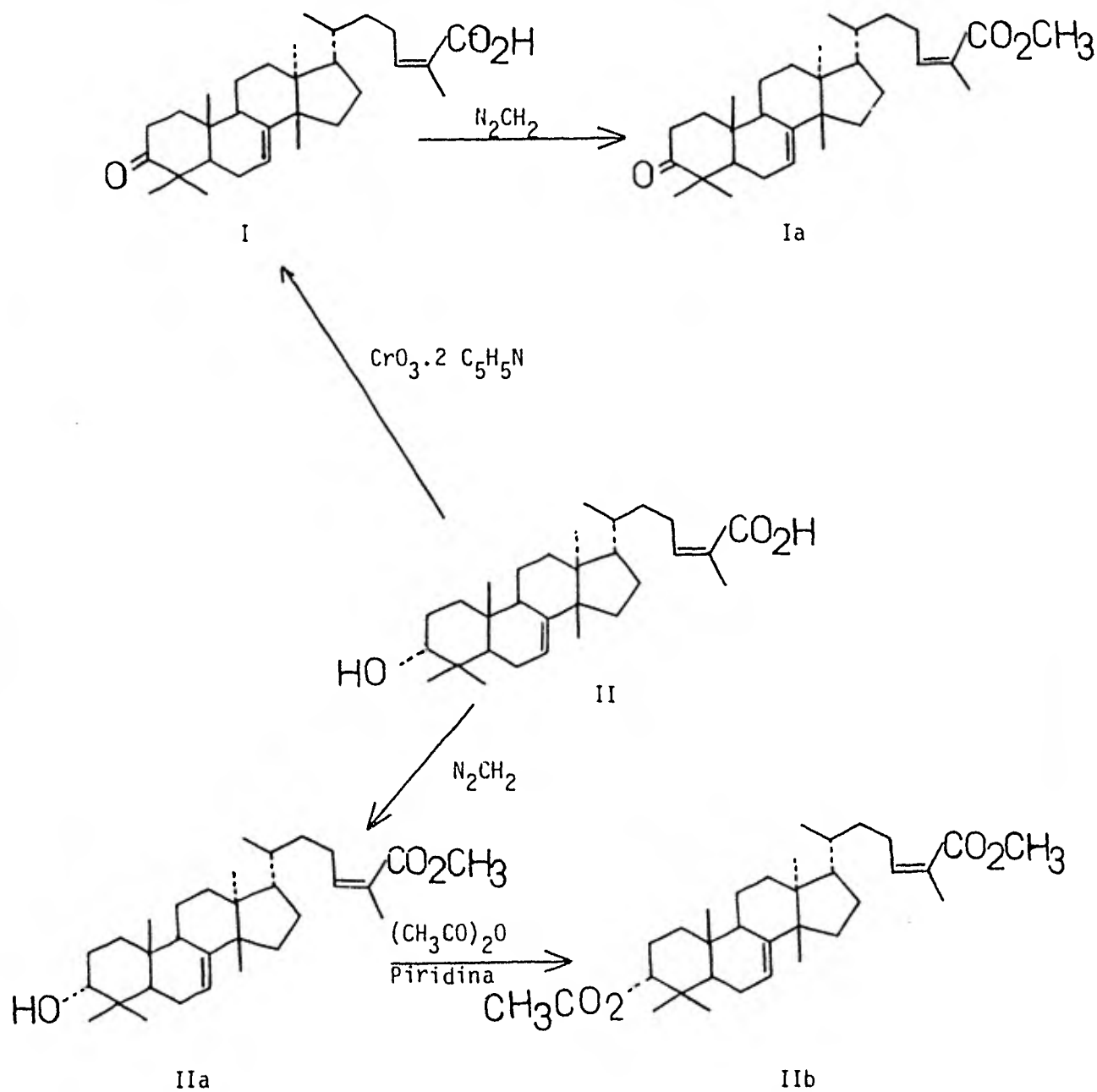
desaparición de la banda del protón del alcohol. Este compuesto da una masa molecular de 512.8 en el espectro de masas que se ajusta a la fórmula molecular $C_{33}H_{52}O_4$.

La oxidación del ácido 3 α -hidroximasticadienónico (II, fig.1) con el complejo $CrO_3 \cdot 2 C_5H_5N$ (32) (43) condujo a la formación del ácido masticadienónico (I, fig. 1), cuyos valores de $[\alpha]_D = -71.5$, p.f. = 170-171°C y los espectros de masas, I.R. y RMN de H fueron idénticos a los del ácido masticadienónico aislados de la planta.

En el esquema 2. se resumen las reacciones efectuadas con los compuestos aislados.

El ácido masticadienónico y el ácido 3 α -hidroximasticadienónico fueron encontrados por vez primera en la goma mastica, de *Pistacia lentiscus* (40) (45) en 1956, posteriormente en la planta *Schinus terebinthefolius* en 1962 (41) (46) (39) (42). En 1970 en la *Pisticia terebinthus*, de la familia de las anacardaceas (50). En 1974 de *Pisticia mexicana* (51) y en 1978 de *Shinus molle* (44).

ESQUEMA DE REACCIONES



9.B. Discusión de los resultados del estudio farmacológico

En la tabla 1, en la columna de concentración de colesterol sérico, podemos observar una disminución de la concentración en los lotes 2,3 y 4, respecto al lote 1 que fue tomado como lote control. El lote 2 que fue tratado con el ácido 3 α -hidroximasticadienónico presentó una disminución del 19%, el lote 4 que fue tratado con el ácido masticadienónico presentó una disminución del 34% semejante a la disminución que presentó el lote 3 que fue tratado con el estradiol del 31%.

En la misma tabla, el valor de w^2 que nos expresa la probabilidad de que los resultados se deban al tratamiento, para el lote 2 fue del 80%, para el lote 3 del 72% y para el lote 4 de 65% son de aceptación.

Los valores de "p", de la última columna de la tabla, nos expresa el nivel de significancia de los resultados, y nos indica que la disminución debida a la presencia del ácido 3 α -hidroximasticadienónico (lote 2), es poco significativo, mientras que la disminución de los niveles de colesterol debidos a la presencia del ácido masticadienónico es significativo, con un valor de $p= 0.02$. Este mismo valor de significancia se obtiene para el lote testigo positivo (lote 3) al cual se le administró estradiol.

10. CONCLUSIONES

Las conclusiones que se deducen del presente trabajo son las siguientes:

- Se aislaron de la corteza del árbol de cuachalalate (Juliania adstringens), el ácido 3 α - hidroximasticadienónico y el ácido masticadienónico, que se identificaron por métodos espectrométricos. En un ensayo farmacológico preliminar en rata Wistar, el ácido masticadienónico presentó un efecto hipocolesteremiante estadísticamente significativo.
- Es la primera vez que estos dos ácidos son aislados de la corteza del cuachalalate y al mismo tiempo son las primeras sustancias identificadas en esta planta.
- Los datos que en la literatura se han descrito del ácido masticadienónico son todos ellos fitoquímicos y la propiedad hipocolesteremiante es observada por primera vez.
- Se comprueba el efecto hipocolesteremiante de la corteza del árbol de cuachalalate.
- El ácido masticadienónico puede constituir una alternativa como fármaco en el tratamiento de la aterosclerosis, enfermedad de suma importancia por el alto índice de muertes del que es responsable.

11. PROPOSICIONES PARA CONTINUAR ESTE TRABAJO

Este trabajo abre un sin número de posibilidades para continuar, tanto por la parte química como por la parte farmacológica.

Por la parte química, se puede continuar mejorando el método de extracción de las sustancias aisladas, así como también continuando la investigación para ver, si hay en la corteza, otras sustancias que puedan tener interés. Otra posibilidad de continuar el estudio químico es estudiar las otras partes de la planta como el fruto o las hojas tanto para ver si tiene un mayor contenido de las sustancias aisladas como para buscar otras sustancias de interés. Una posibilidad más es la de hacer transformaciones y formación de derivados del ácido masticadienónico y probar su acción biológica.

Por la parte biológica faltan muchos estudios, ya que lo que se hizo fue identificar la acción hipocolesterolemiantes del ácido masticadienónico. Pero falta entre muchas otras cosas determinar su DE_{50} , DL_{50} , estudio de toxicidad, investigar si tiene efecto estrogénicos. Repetir los estudios en varias especies de animales, hacer estudios bioquímicos para saber a que nivel actúa, si en la síntesis o en el catabolismo del colesterol.

Para el caso del ácido 3α -hidroximasticadienónico es necesario repetir el experimento ya que sí se observa el efecto hipocolesterolémico pero estadísticamente no es significativo.

Después de hacer la investigación biológica básica, se puede empezar la investigación farmacéutica y biofarmacéutica para saber en etapas preclínicas con animales superiores y en el hombre, la mejor forma farmacéutica para que ejerza su acción adecuadamente.

De estos mismos estudios se van a desencadenar muchos otros trabajos, que son necesarios en el desarrollo de nuevos fármacos y medicamentos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Van, Leusden H. y Vिलlee C.A. The De Novo synthesis of sterols and steroids from acetate by preparations of human term placenta. *Steroids*, (1965), Vol. 6. pp: 31-45.
- 2.- Díaz, Zagoya J.C., Castañeda A.H. y Ramírez R.S. El Metabolismo del colesterol: Estudio de un caso de hiperlipoproteíemia familiar. *Temas Bioquímicos de Actualidad*. --- UNAM. México 1978. pp:15-29.
- 3.- Lin, I.M. y Chen K.K., Cholesterol and Its Relation to Atherosclerosis. *Fortschritt der Arzneimittel forschung. Progress in Drug Research. Progrés des recherches pharmaceutiques*. Vol. I. 1959. pp: 127-159.
- 4.- Goodman, L.S. and Gilman A. *The pharmacologica Basis of therapeutics*. Sixth Edition, Macmillan Publishing Co. Inc. - N.Y. 1980.
- 5.- Sánchez, Resendiz J., Lerdo de Tejada, A., González Vite, J., Guzmán R., Tinoco A. y Karchemer S. Acción hipocolesterolémiante de Gutteria gauneri *Med. Trad.* 9, 22, 1980.
- 6.- Enriquez, R.G., Chavez M.A. y Jauregui, J.F. Propenylbenzenes - from Gutteria gauneri, *Phytochemistry* 19,....., 1980.
- 7.- Martínez, M. *Las plantas medicinales de México*. 4a. edición, - Ediciones BCTAS. México 1959. pp: 404-404.
- 8.- Standley, P.C. *Contributions from U.S.N.H.* 23, Parte tercera -- Washington D.C. 1923 pp: 673.
- 9.- Aceves, Alvarez Elodia. Análisis químico de la corteza del cuachalala, plantas medicinales de México, México 1943, Tesis Universidad Autónoma de Guadalajara.
- 10.- Méndez, Saldaña Amaceli. Estudio Químico de la corteza de Juliana adstringens. *Schiechtlinnae* (Cuachalalate) México - 1974, Tesis Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N.

- 11.- Allen "Comercial organic análisis, 5a. edición. The Blakis-ton Company Philadelphia, Vol. V. pp: 514.
- 12.- López, General Héctor F. Diccionario geográfico histórico, biográfico y lingüístico del Estado de Guerrero, Ed. - Porrúa, S.A. Mèx. 1942.
- 13.- Cortés, Ramírez Pedro. Estudio bibliográfico de la planta denominada Cuachalalate desde el punto de vista de la toxicología. México 1979. Tesis Facultad de química, UNAM.
- 14.- Estrada, Lugo Erik. Estudio biológico y cotejo experimental de la yerba del sapo (Eryngium heterophyllum engelm) en la prevención y curación de los cálculos biliares inducidos en el Jamster dorado (Mesonicetus auratus). Tesis de Maestría. México 1979. Colegio de Postgraduados, Chapingo, Méx.
- 15.- Díaz, Gómez José Luis. Índice y sinonimia de las plantas medicinales de México. IMEPLAM, México 1974. pp: 138-138.
- 16.- Martínez, M. Catálogo alfabético de Nombres vulgares y científicos de plantas que existen en México. Secretaría de Agricultura y Fomento México. Imprenta de la Dirección de Estudios Biológicos. México 1923. pp: 169.
- 17.- Rzedowski, Jerzy. Vegetación de México. LIMUSA. México 1978. pp: 210.
- 18.- Nueva farmacopea Mexicana de la Sociedad Farmacéutica-Mexicana. U.N.F.C.C. 5a. edición. Editorial cultura, México 1925. - pp: 228.
- 19.- Díaz, Gómez José Luis. Uso de las plantas medicinales de México. Monografías científicas II. IMEPLAN. México 1976.

- 20.- Goodman, L.S. y Gilman, A. The pharmacological basis of the-
rapeutics. 5a. edición. Macmillan. New York 1975.
- 21.- DiPalma, J.R. Drill. Farmacología Médica. 2a. edición. La -
Prensa Médica Mexicana. México 1978. pp: 1300-1317.
- 22.- Shrainer, R.L., Fuson, R.C. y Curtin, D.Y. Identificación sis-
temática de compuestos orgánicos, editorial LIMUSA. Méxi-
co 1977.
- 23.- Bates, R.B. y Schaefer, J.P. Técnicas de Investigación en quí-
mica orgánica. Editorial Prentice/Hall Internacional. Es-
paña 1977.
- 24.- Stahl, E. Thin-Layer Chromatography-A. Laboratory Handbook. --
Academic Press. Inc. New York. 1965.
- 25.- Dyer, J.R. Aplicaciones de espectroscopía de absorción en com-
puestos orgánicos. Editorial Prentice/Hall. InternacionaL.
España 1973.
- 26.- Silvestein, R.M. y Blassler, G.C. Spectrometric Identificati^on
of Organic Compounds. 2a. Ed. John Willey & Sons Inc. New
York 1967.
- 27.- Pavia, D.L., Lampman, G.M. y Kriz, G.S. Introduction to spectros-
copy: A guide for students of organic chemistry. W.B. Saun-
ders Company. USA. 1979.
- 28.- Nakanishi, K. Infrared Absorption Spectroscopy-Practical, Hol--
denDay. San Francisco 1962.
- 29.- Bellamy, L.J. The infrared spectra of complex organix molecules.
2a. Ed. John Wiley & Sons, Inc. New York.. 1958.
- 30.- Joseph-Nathan P. y Díaz, E. Introducción a la resonancia magné-
tica nuclear. Editorial LIMUSA-Willey, S.A. México 1970.

- 31.- Stout, G.H. y Jensen, L.H., X ray structure determination. The Macmillan Co. New York. 1968.
- 32.- Reyes, Vega Ma. de la Luz. La acción de diversos estrógenos sintéticos sobre la colesterolemia de la rata. Tesis. Facultad de química. UNAM. 1970.
- 33.- Carpenter, K.J., A. Gotsis and D.M. Hegsted. Estimation of total cholesterol us serum by micromethod. Clin Chem. - 1957. 3. 233-238.
- 34.- Organic Syntheses, Vol. II, pp: 165-165, 1943.
- 35.- Poos, G.I., Arth, G.E., Beyler, R.F. y Sarett, L.H. Approaches to the total Synthesis of Adrenal Steroids. J. Am. Chem. Soc. 75, pp: 422-429, 1953.
- 36.- Johnson, L.F. y Jankowski. Carbon-13 NMR Spectra. A collection of assigned Coded. and Indexed Spectra. John Wiley and Sons USA 1972.
- 37.- Devon, T.K. y Scott, A.I. Handbook of naturally occurring compounds. Vol. II. Academic Press. New York. 1972.
- 38.- Yamaguchi, K. Spectral data of natural products. Elsevier Pub. Co. New York. 1970.
- 39.- Kier, L.B., Lehn, J.M. y Ourisson G. Résonance magnétique nucléaire de produits naturels (IV). Structure et stéréochimie de la térébinthone et du schinol. Bull. Soc. Chim. Fr. 1963. pp: 911-912.
- 40.- Seoane, E. Further Crystalline Constituents of Gum Mastic. J. Chem. Soc. 1956, pp: 4158-4160.
- 41.- Kaista, K.K. y Kier, L.B. Structural Studies on Therebinthona from Schinus Terebinthefolius. J. Pharm. Sci. 1962, 51, -- pp: 245-24B.

- 42.- Campello, J.P. y Marsaidi, A.J. Triterpenes of *Schinus terebinthifolius*. *Phytochemistry*, 1974, Vol. 13. pp: 659-660.
- 43.- Domínguez, X.A. *Métodos de Investigación Fitoquímica*, Editorial LIMUSA. México 1979. pp: 184-184.
- 44.- Pozzo-Balbi T., Nobile L., Scapini, G. y Cini M. The Triterpenoid Acid of *Schinus molle*. *Phytochemistry*, 1978, -- Vol. 17, pp: 2107-2110.
- 45.- Borton, D.H.R. y Seoane, E. Triterpenoids. Part XXII. The Constitution and Stereochemistry of Masticadienonic Acid. *J. Chem. Soc.* 1956, IV. pp: 4150-4157.
- 46.- Kaista, K.K. y Kier, L.B. Structural Studies on the Triterpenes of *Schinus terebinthifolius* *J. Pharm Sci.* 1962, 51. pp: 1136-1139.
- 47.- Gyton, A.C. *Tratado de Fisiología Médica*, 5a. edición, Editorial Interamericana, México 1977. pp: 912-921.
- 48.- Kagan, A., Kannel, B., Dawber, T.R. y Revotskie, N. The Coronary Profile. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 97, pp: 883-894, - 1963.
- 49.- Kannel, W.B., Dawber, T.R., Kagan, A., Revotskie N. y Stokes J. Factors of risk in the development of coronary heart disease. Six years follow-up experience. *Ann. Internal. Med.* - 55, pp: 33-50, 1961.
- 50.- Monaco, P., Caputo, R., Palumbo, G. y Mangoni, L. Triterpene components of Galls on the leaves of *pistacia terebinthus*. *Phytochemistry*, 1974, Vol. 13. pp: 1992-1993.
- 51.- Domínguez, X.A., Soriano, M., Vera, C. y Butruille, D. L'acide Masticadienonique de *Pistacia mexicana*. *Phytochemistry*, -- 1974, Vol. 13, pp: 656-656.