



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE ALGUNOS  
COMPUESTOS FENOLICOS PRESENTES EN  
*Blomia prisca* (SAPINDACEAE)

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
B I O L O G A  
P R E S E N T A :  
MARIA DEL CARMEN MARTINEZ DIAZ



MEXICO, D. F.

2000

2790-20



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**MAT. MARGARITA ELVIRA CHÁVEZ CANO**  
**Jefa de la División de Estudios Profesionales de la**  
**Facultad de Ciencias**  
**Presente**

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

"Aislamiento e identificación de algunos compuestos fenólicos presentes en *Blomia prisca* (Sapindaceae)"

realizado por MARIA DEL CARMEN MARTINEZ DIAZ

con número de cuenta 8732929-6 , pasante de la carrera de BIOLOGIA

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis Propietario	DRA. MARIA ISABEL AGUILAR LAURENTS	<i>Maria Isabel Aguilar L.</i>
Propietario	DRA. YOLANDA CABALLERO ARROYO	<i>Y. Caballero</i>
Propietario	DR. RAFAEL CASTILLO BOCANEGRA	<i>Rafael Castillo B.</i>
Suplente	M. EN C. ANA LIDIA PEREZ CASTORENA	<i>Ana Lidia Pérez Castorena</i>
Suplente	M. EN C. EMMA MALDONADO JIMENEZ	<i>Emma Maldonado J.</i>

*Edna M. Suarez D.*

**Consejo Departamental de BIOLOGIA**  
DRA. EDNA MARIA SUAREZ DIAZ

## DEDICATORIAS

Este es un nuevo esfuerzo, un nuevo logro, un nuevo sueño que dedico con todo mi amor a:

Dios, por ser mi columna más sólida, ejemplo de amor, justicia, honestidad y sabiduría.

A **tí mamita**, por ser la persona más importante, maravillosa, entusiasta, emprendedora y positiva en mi vida así como por recordarme que son los detalles los que hacen la vida más bonita, gracias por darme todo tu apoyo, cariño y amor.

A la memoria de **Abuelita**, por dedicar tus últimos años a educarme, escucharme y esperar con paciencia mis llegadas de la Universidad a la casa sin importar horario.

A la memoria de **tía Celia**, por ser la más cariñosa y comprensiva.

A la memoria de **tío Manuelito**, por ser el tío más bello que pudo regalarme Dios y por enseñarme que todavía existen pureza e inocencia en la gente.

A **tía Carmen**, por relatarme tus peripecias

A **Vero**, por curar mis enfermedades con humildad

A mis Compañeras del laboratorio 1 del Instituto de Química y en particular mi agradecimiento a las Maestras en Ciencias **Luisita Garduño** y **Liliana**, por sus asesorías para dibujar las estructuras de esta tesis.

A mis compañeros del laboratorio 125 del Conjunto E de la Facultad de Química del la UNAM.

A **Griselda** por sus consejos, **Rocío** por ser como eres, a la **Maestra Elenita** y a **Katia**, así como a **Magali** y **Marisol** por sus porras.

A mis queridos y adorados amigos (as) de combate.

A **Bernice Guerrero**, por tener un alma tan grande para compartir momentos y sueños sin límites. Gracias por tus oraciones.

A **Victor Mejía**, por su buena voluntad de prestarme su oído para escucharme e imprimir dos veces el escrito de esta tesis.

A **Erika Salazar**, porque a pesar de la adversidad hemos luchado por defender nuestra

A **Jesús Aguilar**, mejor conocido como **CHUCHO** por ser la persona más inteligente para entender esas máquinas tan sorprendentes y sofisticadas. Gracias por ayudarme a comprender que las computadoras nos ayudan a hacernos la vida más tranquila.

A **Juanita**, porque estás todavía.

A **Anabel**, por sus ubicaciones para no dejar la carrera de Biología y concluirla. "Lo logramos".

A la **Mat. Ernestina**, por tu empeño y atención para apoyarme a estudiar Inglés y Francés fuera del horario de clase. Tuvimos éxito, acredité los dos idiomas.

A la **Biol. Aída Castillo**, por esas clases tan estupendas de Ecología.

A **Ariel Ivann**, por tu entusiasmo para estudiar juntos probabilidad, pues vencimos el temor y acreditamos matemáticas generales I.

A **Fabiola y Margarita** en especial les agradezco que me hayan animado y dedicado su tiempo para repasar algunos temas vistos en clase de organica II.

Y a todos aquellos que en este momento tal vez no pasen por mi memoria les pido una amplia disculpa.

A esos seres llenos de luz, **los niños del Mundo**.

## AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Nacional Autónoma de México**, por darme la oportunidad de tener un futuro mejor.

A la **Dra. Yolanda Caballero** y al **Dr. Rafael Castillo**, por sus inapreciables enseñanzas en clase.

A las **M. en C. Emma Maldonado** y **Ana Lidia Pérez**, por la corrección de esta tesis así como por sus aportaciones para mejorar este trabajo.

Al **M. en C. Esteban Martínez**, por la colecta e identificación taxonómica del material vegetal.

A la **M en C. Rosa María Fonseca**, por facilitar la bibliografía botánica de la familia de las Sapindaceas

Al **Personal de la USAI de la Facultad de Química**, en particular a los siguientes profesores: **Q. Georgina Duarte Lisci**, por el registro de los espectros de masas; a las **Q.F.B. Graciela Chávez** y **Marisela Gutiérrez**, por el registro de los espectros en el UV y en el IR, y a la **Q.F.B. Rosa Isela del Villar Morales**, por el registro de los espectros de resonancia magnética nuclear.

A la **M. en C. Ernestina Cervera**, por haberme dado la oportunidad de entrar a su clase.

Al **Dr. Guillermo Delgado Lamas**, por facilitar los medios para escribir esta tesis.

De una manera muy especial a la **Dra. María Isabel Aguilar Laurents**, por todo su apoyo, entusiasmo, paciencia y cariño para la realización de esta tesis.

## INDICE

	Página
LISTA DE CUADROS	ii
LISTA DE FIGURAS	ii
LISTA DE ESQUEMAS	ii
LISTA DE ESPECTROS	iii
FORMULAS	7
LISTA DE ABREVIATURAS	iv

## CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	1
2. ANTECEDENTES	
2.1 Generalidades de la familia Sapindaceae	3
2.1.1 Descripción botánica de la familia	3
2.1.2 Clasificación botánica de la familia Sapindaceae	3
2.1.3 Usos etnomédicos de algunas especies de la familia Sapindaceae	10
2.2 Generalidades de <i>Blomia prisca</i>	10
2.2.1 Descripción morfológica	10
2.2.2 Clasificación taxonómica	11
2.3 Generalidades de taninos	13
2.3.1 Definición	13
2.3.2 Clasificación	13
3. PARTE EXPERIMENTAL	
3.1 Material y equipo utilizado	16
3.2 Material vegetal	16
3.3 Extracción y fraccionamiento preliminar	16
3.4 Análisis cromatográfico del extracto metanólico	17
3.5 Aislamiento y purificación del éster metílico del ácido gálico (17)	18
3.6 Obtención del derivado éster metílico del ácido 3,4,5-tri- <i>O</i> -acetilgálico (18)	19
3.7 Partición del extracto metanólico con acetato de etilo y agua	20
3.8 Determinación de la actividad tóxica en el crustáceo <i>Artemia salina</i>	21
3.8.1 Preparación de los organismos y muestras	21
3.8.2 Bioensayo	21
4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	
4.1 Aislamiento del éster metílico del ácido gálico (17)	24
4.2 Preparación del derivado tri- <i>O</i> -acetilado (17)	27
4.3 Aislamiento del ácido gálico (19)	29
4.4 Determinación de la actividad tóxica en el crustáceo <i>Artemia salina</i>	32

5. CONCLUSIONES	33
6. BIBLIOGRAFIA	35

#### LISTA DE CUADROS

Cuadro 1	Metabolitos secundarios contenidos en algunos géneros de la familia Sapindaceae	6
Cuadro 2	Clasificación taxonómica de la especie vegetal en estudio	11
Cuadro 3	Fraccionamiento mediante cromatografía en columna del extracto metanólico de <i>Blomia Prisca</i>	17
Cuadro 4	Resultados de la determinación de la actividad tóxica a <i>Artemia salina</i> de los compuestos probados	23
Cuadro 5	Constantes espectroscópicas y espectrométricas del éster metílico del ácido gálico (17).	27
Cuadro 6	Constantes espectroscópicas y espectrométricas del éster metílico del ácido 3,4,5-tri- <i>O</i> -acetilgálico (18)	29
Cuadro 7	Constantes espectroscópicas y espectrométricas del ácido gálico (19).	31

#### LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Mapa con la localización geográfica de <i>Blomia prisca</i> en el Estado de Campeche	12
Figura 2	Posibles arreglos de los sustituyentes con simetría estructural en el anillo bencénico	25
Figura 3	Ester metílico del ácido 3,4,5-tri- <i>O</i> -acetilgálico (18)	27
Figura 4	Acido gálico (19)	30
Figura 5	Fórmula 19a . Acido 2,4,6-trihidroxibenzoico	31

#### LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Fórmulas de los metabolitos secundarios presentes en algunos géneros de la familia Sapindaceae	7
Esquema 2	Estructura de los taninos condensados	14
Esquema 3	Estructura de los taninos hidrolizables	15
Esquema 4	Procesamiento de las partes aéreas de <i>Blomia prisca</i>	18

## LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1	UV del éster metílico del ácido gálico (17)	41
Espectro 2	IR del éster metílico del ácido gálico (17)	42
Espectro 3	RMN <sup>1</sup> H del éster metílico del ácido gálico (17)	43
Espectro 4	RMN <sup>13</sup> C del éster metílico del ácido gálico (17)	44
Espectro 5	RMN <sup>13</sup> C (DEPT) del éster metílico del ácido gálico (17)	45
Espectro 6	EMIE del éster metílico del ácido gálico (17)	46
Espectro 7	IR del éster metílico del ácido 3,4,5-tri- <i>O</i> -acetilgálico (18)	47
Espectro 8	RMN <sup>1</sup> H del éster metílico del ácido 3,4,5-tri- <i>O</i> -acetilgálico (18)	48
Espectro 9	RMN <sup>13</sup> C del éster metílico del ácido 3,4,5-tri- <i>O</i> -acetilgálico (18)	49
Espectro 10	EMIE del éster metílico del ácido 3,4,5-tri- <i>O</i> -acetilgálico (18)	50
Espectro 11	UV del ácido gálico (19)	51
Espectro 12	IR del ácido gálico (19)	52
Espectro 13	RMN <sup>1</sup> H del ácido gálico (19)	53
Espectro 14	RMN <sup>13</sup> C del ácido gálico (19)	54
Espectro 15	EMIE del ácido gálico (19)	55

## LISTA DE ABREVIATURAS.

AcOEt	acetato de etilo
ccf	cromatografía en capa fina
CHCl <sub>3</sub>	cloroformo.
CDCl <sub>3</sub>	cloroformo deuterado
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	diclorometano
cm.	centímetro
<i>J</i>	constante de acoplamiento
CL	concentración letal
CL <sub>50</sub>	concentración letal media
desc.	descompone
δ	desplazamiento químico
d	doblete
dd	doble de doble
EMIE	espectrometría de masas por impacto electrónico
eV	electron Volts
R <sub>f</sub>	factor de retención
FO1	fase orgánica 1
v	frecuencia
°C	grado centígrado
g	gramo
Hz	Hertz
h	horas
IDH	Indice de deficiencia de hidrógeno
IR	infrarrojo
λ	lambda
l	litro
MeOH	metanol
m	metro
mg	miligramo

nm	nanómetros
ppm	partes por millón
PROBIT	Programa de análisis de probabilidad de Finney para calcular la concentración letal media
pf	punto de fusión
RMN <sup>13</sup> C	resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN <sup>13</sup> C-DEPT	resonancia magnética nuclear de carbono 13 con desacoplamiento de los núcleos de hidrógeno
RMN <sup>1</sup> H	resonancia magnética nuclear protónica
α	rotación óptica
s	singulete
sa	singulete ancho
TMS	tetrametilsilano
FeCl <sub>3</sub>	tricloruro férrico
UV	ultravioleta
v/v	volumen sobre volumen

## 1. INTRODUCCION Y OBJETIVOS.

México es un país con gran diversidad biológica. Su posición geográfica lo sitúa en la zona neotropical con especies vegetales de clima tropical cálido pero también de temperatura fría. Por esta situación, nuestro país es vasto en recursos vegetales que contienen constituyentes con uso potencial en los campos de la medicina, la industria química, la agronomía, entre otros. De hecho, las plantas han sido desde hace mucho tiempo fuente de obtención de fármacos, pigmentos, enzimas, fragancias, herbicidas, pesticidas, fertilizantes, etc. Sin embargo, el porcentaje de especies estudiadas desde un punto de vista fitoquímico es relativamente bajo, lo que hace importante el estudio de nuevas especies con contenidos metabólicos potencialmente útiles, para un mejor aprovechamiento de los recursos naturales mexicanos.

Esta tesis, es parte de un proyecto de investigación de plantas localizadas en la región de Kalacmul, en el Estado de Campeche, para obtener información sobre los compuestos químicos, así como encontrar fuentes potenciales de compuestos útiles en el área de la terapéutica. *Blomia prisca*, planta objeto de este estudio, pertenece a un género que recientemente fué reclasificado botánicamente y a la fecha, no existen datos de estudios químicos o biológicos sobre ella.

Los objetivos generales de su estudio son:

- a) obtener principios químicos con posible actividad biológica, y
- b) contribuir al conocimiento de metabolitos de la flora mexicana como un aporte quimiotaxonómico.

Para lograr lo anterior, se plantean los siguientes objetivos específicos en este trabajo:

- 1) aislamiento y elucidación estructural de los metabolitos secundarios presentes en la planta mediante técnicas cromatográficas, espectroscópicas y por sus propiedades físicas, y
- 2) evaluación de una posible toxicidad de los mismos compuestos empleando al crustáceo *Artemia salina* Leach.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Generalidades de la familia Sapindaceae

#### 2.1.1 Descripción botánica de la familia.

La familia Sapindaceae está constituida por árboles pequeños o grandes, frecuentemente leñosos o plantas trepadoras con zarcillos, con savia acuosa; hojas alternas, generalmente persistentes, a menudo sin estípulas y compuestas, más a menudo pinadas o bipinadas, el margen entero o dentado o lobado no tan comúnmente en forma punteada; la mayoría de las veces las flores son polígamo dioicas, regulares o irregulares, con muchos arreglos, generalmente pequeñas y blancas (4 a 5), con sépalos libres (raramente sin éstos o en mayor número) o a veces conados, a menudo desiguales, pero en su mayoría imbricados; con 3 a 5 pétalos o sin ellos, iguales o desiguales, a menudo escamosos o barbados por dentro e imbricados con varios discos completos o incompletos, frecuentemente unilaterales; con 8 estambres, raramente 5 ó 10; comúnmente hipóginos e insertos dentro del disco; filamentos comúnmente alargados, filiformes o subulados, a menudo vellosos; anteras oblongas o lineales, basifijas o versátiles, ovario central o excéntrico, entero, lobulado o partido casi hasta la base, más a menudo trilobular, estilo terminal o basal entre los lóbulos, simple o divididos, derechos o declinados, el estigma por lo común simple; óvulos anátropos campilótropos, o anfitropos, 1 a 2 o raramente más en cada cavidad, fijos al eje, ascendentes; indehiscentes o variadamente dehiscentes, los carpelos a menudo separados (cuando están maduros) de un eje central semillas globosas o comprimidas, ariladas o desnudas, con endospermo; el embrión grueso, a menudo plicado, cotiledones planos, convexos, desiguales, radícula corta inferior.

#### 2.1.2 Clasificación botánica de la familia Sapindaceae.

Esta familia contiene cerca de 40 géneros, ampliamente distribuidos, casi todos, en regiones tropicales del planeta y comprende dos subfamilias, con sus respectivos géneros que a continuación se describen (Hegnauer, 1973). Cabe señalar que al momento de hacer esta clasificación, el género *Blomia* no había sido descrito.

SUBFAMILIA:

Sapindoideae:

GENEROS

*Allophylus*  
*Blighia*  
*Bridgesia*  
*Cardiospermum*  
*Cupania*  
*Deinbollia*  
*Elatostachys*  
*Guioa*  
*Haplocoelum*  
*Jagera*  
*Lepidopetalum*  
*Lepisanthes*  
*Litchi*  
*Nephelium*  
*Otophora*  
*Pappea*  
*Paullinia*  
*Pometia*  
*Pseudima*  
*Sapindus*  
*Sarcopteryx*  
*Serjania*  
*Trigonachras*  
*Valenzuela*  
*Xanthospermum.*

Dodonaeoideae:

GENEROS

*Dodonaea*  
*Ganophyllum*  
*Harpullia*  
*Koelreuteria*  
*Llagunoa*  
*Magonia*

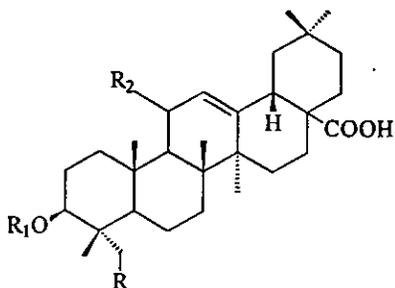
Los estudios químicos efectuados en este grupo de plantas han llevado al aislamiento y caracterización de saponinas, esteroides (Briggs, et al., 1967; Mahato, et al., 1971), diterpenos (Jefferies, et al., 1967; Dawson et al., 1966), triterpenos pentacíclicos, flavonoides (Dawson, et al., 1966; Venkateswara, 1962; Paris et al., 1970), cumarinas (Plouvier, 1968), compuestos cianogénicos (Siegler, et al., 1971), aminoácidos (Fowden, et al., 1969; Sung, et al., 1969; Ellington, et al., 1959), y alcaloides (Johns, et al., 1969).

En el Cuadro 1 se describe la localización geográfica, así como ejemplos de los metabolitos secundarios contenidos en algunos géneros de la familia Sapindaceae.

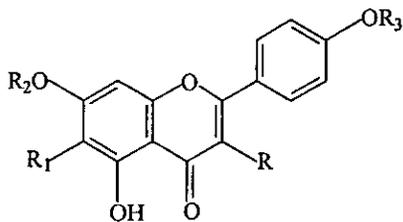
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios contenidos en algunos géneros de la familia Sapindaceae.

NOMBRE DE LA PLANTA	LOCALIZACION	COMPUESTOS
<i>Blighia sapida</i>	Africa	Saponinas de hederagenina (1) y ác oleanólico (2) (Haynes, 1963)
<i>Sapindus emarginatus</i>	India	Saponina de hederagenina (3) (Ramachandra, 1966)
<i>Lithospermum halicacabum</i>	Michoacán, Edo. de México y Durango	Saponinas
<i>Sapindus saponaria</i>	Oaxaca, Sonora y Guerrero	5,7-dihidroxi-4'-metoxiflavona (4), luteosaponinas y taninos; $\alpha$ y $\beta$ -amirina (5 y 6), $\beta$ -sitosterol (7) y hederagenina (1) (Jacobs, 1925)
<i>Serjania triquetra</i>	Puebla, Guerrero, Michoacán y Morelos	Acetato de estigmasterol (8), ácido acetil oleanólico (9), ácido acetil morólico (10), diacetil hederagenina (11), 11- $\alpha$ -hidroperoxidiacetil hederagenina (12) (Chávez, 1991)
<i>Dodonaea viscosa</i>	Sonora, Michoacán y Morelos	Resina ácida, grasa, taninos, flavofenos, mucílago y glucósidos, aceite esencial; triterpenos, dodonósidos A y B, flavonoides, ácido hautriwaico (13), sakuranetina, 6-hidroxicanferol-3,7 dimetil éter (14), el diterpeno <i>ent</i> -15,16-epoxi-9 $\alpha$ H-labda-13(16),14-dien-3 $\beta$ ,8 $\alpha$ -8-diol (15) y el éster para-cumárico del L- myoinositol (1-L-1-O-metil-2-O-acetil-3-p-cumaroil-myoinositol (16) (Castañeda, 1991)

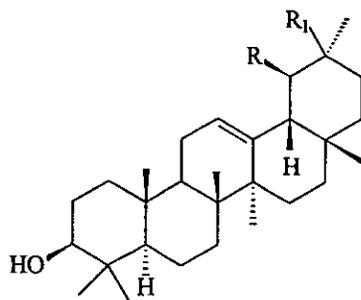
**Esquema 1.** Fórmulas de los metabolitos secundarios presentes en algunos géneros de la familia Sapindaceae.



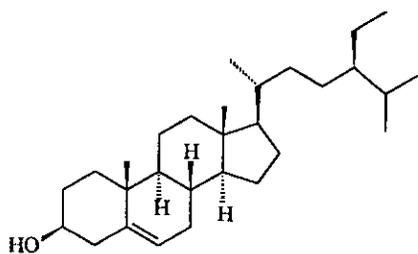
	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
1	-OH	-H	-H
2	-H	-H	-H
3	-OH	-Ram,Xil,Glc	-H
9	-H	-Ac	-H
11	-OAc	-Ac	-H
12	-OAc	-Ac	-OOH



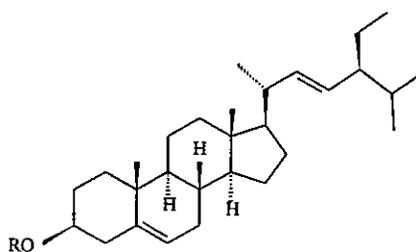
	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
4	-H	-H	-H	-CH <sub>3</sub>
14	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-CH <sub>3</sub>	-H



	R	R <sub>1</sub>
<u>5</u>	-CH <sub>3</sub>	-H
<u>6</u>	-H	-CH <sub>3</sub>

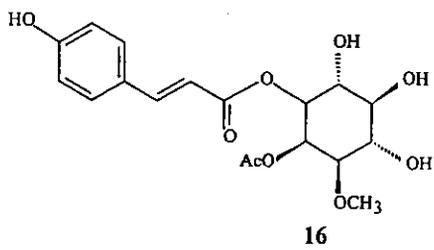
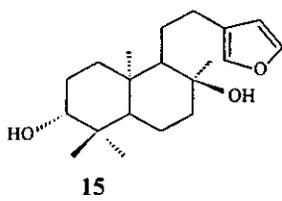
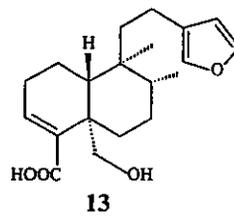
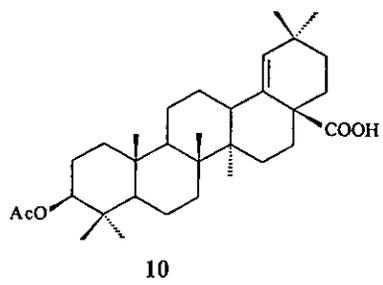


7



8

R = Ac



### 2.1.3 Usos etnomédicos de algunas especies de la familia Sapindaceae

Algunos géneros de esta familia han sido empleados con interés terapéutico dentro de la medicina tradicional mexicana (Gallardo, 1994). Tal es el caso de *Lithospermum halicacabum* L. (alfombrilla), empleada en el estado de Michoacán como agente antiséptico contra la diarrea y en el Estado de México para enfermedades de los ojos, como diurética y por sus propiedades sudoríficas. Por otra parte, los frutos de *Sapindus saponaria* se emplean en el estado de Guerrero para evitar la caída del cabello; también se utilizan para enfermedades reumáticas (Q. Roo), como febrífugos y para padecimientos renales. Las hojas son empleadas para curar llagas y heridas. *Serjania triquetra* se prescribe para padecimientos renales utilizando toda la planta o el tallo en cocimiento; asimismo para la hepatitis o “mal amarillo” y para hemorragias uterinas. *Serjania racemosa* se indica para el tratamiento de diabetes y para problemas renales, como desinflamatorio o diurético. *Dodonaea viscosa* se utiliza en Oaxaca para la infertilidad, menorragia y aborto, y para la recuperación post-parto. *Cupania dentata* es empleada como antiinflamatorio, analgésico y para “el susto” (Dominguez, et al., 1980; Trotin, et al., 1982; Wagner, et al., 1987).

## 2.2 Generalidades de *Blomia prisca*.

### 2.2.1 Descripción morfológica

Arboles hasta de 25 m. de alto, con hojas alternas, peripinnadas, o falsamente imparipinnadas y folíolos subopuestos, enteros. Flores polígamo-dioicas dispuestas en panículas axilares. Cáliz quinquepartido. Corola nula. Disco grueso, crenulado glabro. Estambres 5-6 insertos por dentro del disco, de filamentos libres y anteras introrsas, insertas cerca de la base. Ovario asimétrico, unilocular, tomentuloso. Ovulo único, inserto algo abajo de la mitad de la sutura ventral, ascendente, hemitropo, de rafe ventral. Estigma casi sentado, simple, subcapitado. Fruto muy asimétrico, con el borde ventral mucho más corto que el dorsal, obovoidea, sin arilo, testa druposa, con la parte externa pulposa y la interior coriácea; endospermo nulo; cotiledones gruesos, yuxtapuestos transversalmente, el inferior un poco más pequeño que el superior; radícula doblada, opuesta a la sutura del fruto, dirigida hacia abajo (Miranda, 1953).

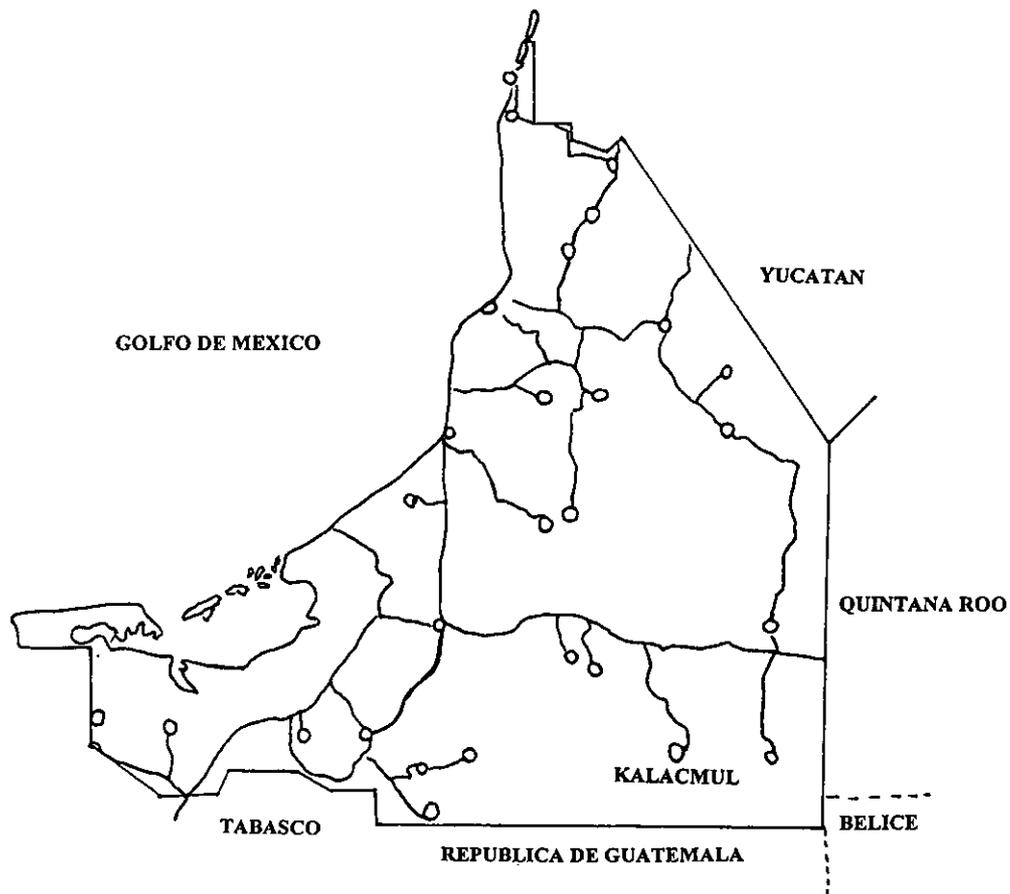
### 2.2.2 Clasificación taxonómica (Cuadro 2).

El género *Blomia* se creó como una segregación del género *Cupania*, de acuerdo a las diferencias morfológicas encontradas por Lundell (1961). Aparentemente el género *Blomia* es cercano a *Cupania* y vegetativamente es difícil de distinguir de éste. Las diferencias radican en la disposición de la radícula, y por el carácter indehiscente de los frutos en *Blomia*, en el cual las semillas quedan en libertad después de la putrefacción de los mismos, y en el caso de *Cupania*, el carácter dehiscente del fruto permite que las semillas se liberen espontáneamente de él una vez que éste madura. El género *Blomia* ha sido dedicado al profesor Frans Blom, incansable explorador de la selva lacandona.

**Cuadro 2.** Clasificación taxonómica de la especie vegetal en estudio según Cronquist (1981).

REINO:	Plantae
DIVISION:	Magnoliophyta
CLASE:	Magnoliopsida
SUBCLASE:	Rosidae
ORDEN:	Sapindales
FAMILIA:	Sapindaceae. (A.L. de Jussieu 1789 nom conser)
GENERO:	<i>Blomia</i>
ESPECIE:	<i>Blomia prisca</i> .

En el mapa contiguo se señala la localización geográfica de *Blomia prisca* en el Estado de Campeche (zona de Kalacmul) (INEGI, 1996).



Localización geográfica de *Blomia prisca* en el Estado de Campeche.

## 2.3 Generalidades de taninos

### 2.3.1 Definición

Históricamente, la importancia de los taninos está ligada a sus propiedades curtientes, es decir, la transformación de la piel fresca en un material impusible: el cuero. Existe el tanino de castaño (*Castanea sp.*) o de roble (*Quercus sp.*) o también taninos de anacardiáceas, de leguminosas o de combretáceas. Algunos de estos taninos se emplean en la actualidad, para la obtención de cueros destinados a usos específicos. El resultado del curtido, es el establecimiento de enlaces entre las moléculas de los taninos y las fibras de colágena de la piel, lo que confiere a la misma una resistencia al agua, al calor y a la abrasión. Esta capacidad de los taninos de combinarse con macromoléculas, explica que dichos compuestos precipiten la celulosa o las pectinas, y la astringencia al precipitar las glucoproteínas salivales (Hendrickson, 1973).

La combinación entre los taninos y las macromoléculas se establece por medio de enlaces de puentes de hidrógeno entre los grupos fenólicos de los taninos y determinados lugares de las proteínas y otros polímeros. Pueden haber otros tipos de enlace, por oxidación de las estructuras a quinonas y establecimiento de enlaces covalentes. Debido a sus propiedades, la definición de los taninos es la de ser “compuestos fenólicos hidrosolubles que tienen un peso molecular comprendido entre 500 y 3000, que presentan junto a las reacciones clásicas de los fenoles, la propiedad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas”.

### 2.3.2 Clasificación

Se distinguen dos grupos de taninos: hidrolizables y condensados, que difieren por su estructura y por su origen biogenético.

Los taninos condensados o proantocianidoles (20) son polímeros de unidades derivadas del flavano (21), la mayoría de las veces, ligadas entre ellas por enlaces en C4-C8; son resistentes a la hidrólisis.

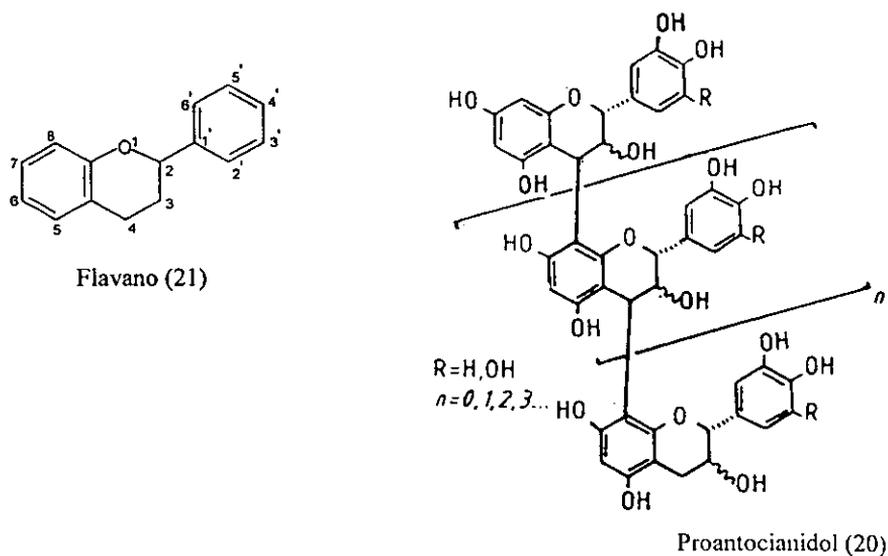
Los taninos hidrolizables (hidrolizados en medio ácido y alcalino, o por vía enzimática) son ésteres de glucosa (o de compuestos semejantes) y de ácidos fenólicos: ácido gálico (19) (taninos gálicos o ácido hexahidroxidifénico) y sus derivados (taninos

elágicos (22)). Estos taninos son característicos de las dicotiledóneas mientras que los taninos condensados se encuentran también en helechos y gimnospermas.

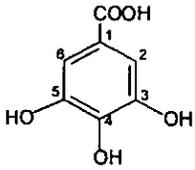
### Acido gálico.

Fué aislado en 1786 por primera vez Scheele de agallas vegetales fermentadas y como se mencionó en párrafos anteriores, está presente en muchos taninos. Se ha empleado en curtiduría, como reactivo analítico en soluciones reveladoras en fotografía y en pruebas para detectar ácidos minerales libres, así como para torio, titanio, cerio y cobre, dihidroxiacetona y alcaloides (Welcher, 1983). La categoría terapéutica descrita para este compuesto en el Merck Index (1996). es como astringente; de hecho, se ha empleado en terapéutica veterinaria como astringente intestinal. Otras actividades informadas en la literatura son: antioxidante (Zadernowski, 1996; Miller, 1996), inhibidora enzimática (Schmeda, 1996), antibacteriana (Richards, 1996; Saxena, 1994), y anti-inflamatoria (Kroes, 1993 ) En las plantas, está relacionado con el fenómeno de inhibición floral en *Kalanchoe Blossfeldiana* (Pryce, 1972). Los taninos gálicos han mostrado actividad antitumoral (Lin, 1996).

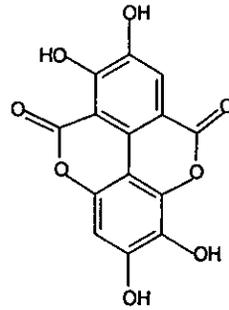
### Esquema 2. Estructura de los taninos condensados.



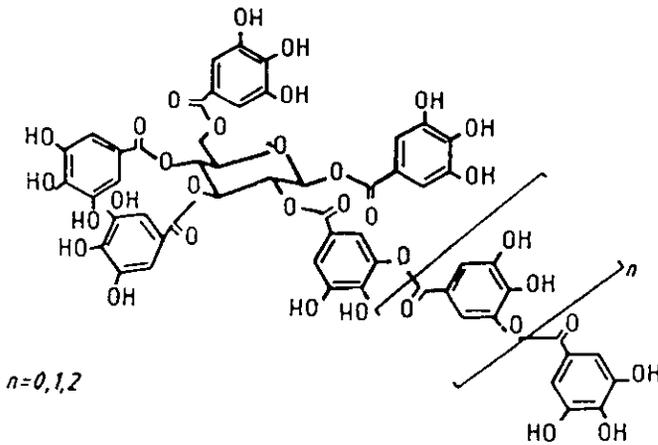
Esquema 3. Estructura de los taninos hidrolizables.



Acido gálico (19)



Acido elágico



$n=0,1,2$

Tanino gálico (22)

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 Material y Equipo utilizado

Para las cromatografías en columna abierta se utilizó como fase estacionaria gel de sílice Merck, malla 230-400, y Kieselgel 60 GF<sub>254</sub>. El análisis por cromatografía en placa fina analítica se llevó a cabo en cromatofolios Alugram Sil G/UV 254. Macherey-Nageel Duren y como reveladores una lámpara UV Spectroline Modelo Ex-20 a 365 y 254 nm de longitud de onda, y solución de sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N (Stahl, 1969). Las cromatografías preparativas se realizaron en placas Merck de 2 mm, 1 mm y 0.5 mm de grosor y una superficie de 20 X 20 cm.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns, y no están corregidos.

Los espectros en el UV se determinaron en un espectrofotómetro Shimadzu UV 160.

Los espectros en el IR se obtuvieron en un espectrofotómetro Pékin-Elmer 283-B.

Los espectros de RMN de 300/75 MHz se obtuvieron en un espectrómetro analítico Varian XR-300, utilizando como disolventes CDCl<sub>3</sub> y acetona deuterada y como referencia interna tetrametilsilano (TMS).

Los espectros de masas se obtuvieron en un espectrómetro Hewlett Packard 5985-B, utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico a 70 eV.

#### 3.2 Material Vegetal.

El material vegetal utilizado en este estudio se recolectó el 17 de Mayo de 1997 en el Municipio de Kalacmul, Estado de Campeche (Fig. 1) a 4 Km al E de Dos Naciones, camino al Civalito. 17° 57' 26" N. 89° 20' 4" W. Elevación 360 m s n m. Selva alta perennifolia. Es un árbol que llega a medir hasta 25 m, con frutos comestibles por el ganado. Fue identificado por el Biólogo Esteban Martínez de la Universidad Nacional Autónoma de México, como *Blomia prisca* (Standley) Lundell. La muestra botánica de referencia se encuentra depositada en el Herbario del Instituto de Biología (MEXU 839521).

#### 3.3 Extracción y Fraccionamiento Preliminar.

El material vegetal (1 Kg de hojas y tallos) se dejó secar a temperatura ambiente y se molió en un molino de cuchillas modelo Wiley y se extrajo exhaustivamente a temperatura

ambiente con hexano,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y metanol. En los tres casos el disolvente se eliminó por destilación *in vacuo* obteniéndose 3.63 g de extracto hexánico, 4.21 g de extracto diclorometánico y 49 g de extracto metanólico.

### 3.4 Análisis Cromatográfico del Extracto Metanólico.

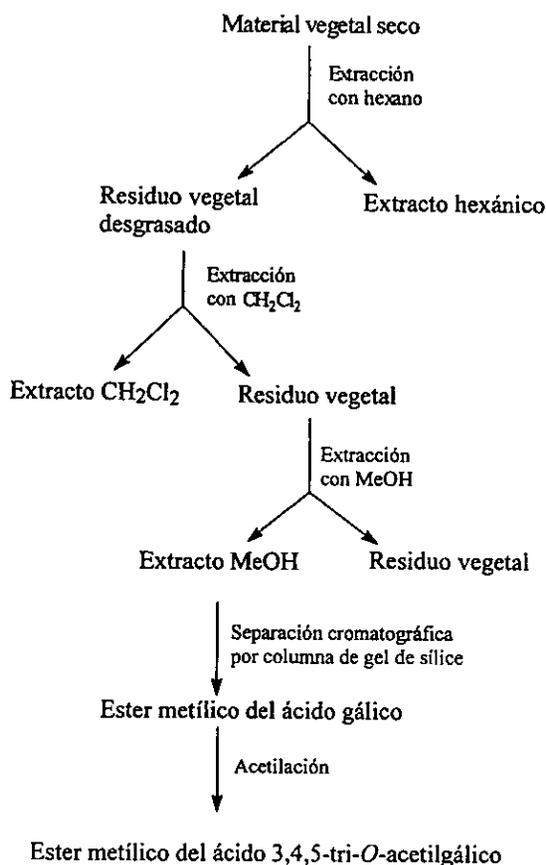
4.18 g del extracto metanólico se fraccionaron mediante cromatografía en columna utilizando como adsorbente gel de sílice (125.4 g). La muestra se aplicó en seco, adsorbida en 4 g de la misma gel y se eluyó con una mezcla de cloroformo-acetona de polaridad creciente (Esquema 1). Se obtuvieron un total de 206 fracciones de 100 ml, cada una reuniéndose las que fueron similares cromatográficamente.

En el Cuadro 3 se resumen el número de fracciones obtenidas y los sistemas de eluyentes empleados para ello.

**Cuadro 3.** Fraccionamiento mediante cromatografía en columna del extracto metanólico de *Blomia prisca*

ELUYENTE	PROPORCION	NUM.DE FRACCIONES
Cloroformo	100%	1-13
$\text{CHCl}_3$ -Acetona	90:10	14-17
$\text{CHCl}_3$ -Acetona	85:15	18-23
$\text{CHCl}_3$ -Acetona	80:20	24-63
$\text{CHCl}_3$ -Acetona	70:30	64-75
$\text{CHCl}_3$ -Acetona	60:40	76-77
$\text{CHCl}_3$ -Acetona	50:50	78-107
$\text{CHCl}_3$ -Acetona	40:60	108-152
$\text{CHCl}_3$ -Acetona	30:70	153-162
$\text{CHCl}_3$ -Acetona	20:80	163-182
Acetona	100%	183-206

Esquema 4. Procesamiento de las partes aéreas de *Blomia prisca*



### 3.5 Aislamiento y purificación del éster metílico del ácido gálico.

Las fracciones del Cuadro 3 fueron agrupadas en nueve subfracciones, de las cuales, en las fracciones 35 a 94 se observó la presencia de un compuesto mayoritario con  $R_f$  de 0.2 ( $\text{CHCl}_3$ -acetona 6:4, v/v) por cromatografía en capa fina. Estas fracciones en conjunto fueron lavadas con cloroformo y el residuo insoluble se cristalizó de cloroformo-acetona, dando como resultado un compuesto en forma de agujas cristalinas (176.7 mg. 4.2 %) que fue identificado como éster metílico del ácido gálico (17), de acuerdo a la comparación de

sus características físicas y espectroscópicas con las reportadas en la literatura química (Sadler, 1961 y 1974).

p. f: 228-240 °C (lit. 201-203°C, Buckingham, 1994).

Fórmula molecular:  $C_8H_8O_5$

UV  $\lambda_{m\acute{a}x}$  (EtOH): 216 ( $\epsilon$ , 4510), 275 nm ( $\epsilon$ , 11 970)

IR  $\nu_{m\acute{a}x}$  (pastilla)  $cm^{-1}$ : 3517, 3367 - 2600 (ancho), 1691, 1617, 1534, 1467, 1442, 1371, 1328, 1261, 1210, 1097, 1053, 1003, 866, 765, 748, 649, 589.

RMN<sup>1</sup>H 300 MHz Acetona-d<sub>6</sub>  $\delta$ : 8.32 (sa, -OH), 7.12 (s, 2H, H-2 y 6), 3.79 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>).

RMN<sup>13</sup>C 75.5 MHz Acetona-d<sub>6</sub>  $\delta$ : 167.3 (-COOH), 146.0 (C-3 y 5), 138.6 (C-4), 121.5 (C-1), 109.6 (C-2 y 6), 51.8 (-OCH<sub>3</sub>).

EMIE m/z (%): 184 [M<sup>+</sup>] (92), 166 (3.6), 153 [M<sup>+</sup>-OCH<sub>3</sub>] (100), 139 (2.2), 97 (2.2), 79 (10.8), 69 (2.2), 51 (12.9), 39 (3.6).

3.6 Obtención del éster metílico del ácido 3,4,5-tri-*O*-acetilgálico (18).

14.7 mg del compuesto (17) fueron sometidos a una reacción de acetilación con anhídrido acético durante 12 horas a temperatura ambiente, obteniéndose 15.6 mg de un producto principal de esta reacción (70% de rendimiento) con R<sub>f</sub> de 0.8 (CHCl<sub>3</sub>/acetona 8:2). El producto de acetilación se caracterizó como el éster metílico del ácido 3,4,5-tri-*O*-acetilgálico (18) por sus siguientes características:

Fórmula molecular:  $C_{14}H_{14}O_8$

Cristales p. f: 116-117 °C (lit. 120-122 °C, Buckingham, 1994)

IR  $\nu_{m\acute{a}x}$  (película): 2953 -2600 (ancho), 1776, 1721, 1617, 1499, 1431, 1372, 1328, 1252, 1190, 1170, 1055, 1013, 909, 857, 818, 768, 535  $cm^{-1}$ .

RMN <sup>1</sup> H	300 MHz CDCl <sub>3</sub> δ: 7.80 (s, 2H, H-2 y 6), 3.91 (s, 3H, -OCH <sub>3</sub> ), 2.31 (s, 3H, -OCOCH <sub>3</sub> ), 2.30 (s, 3H, -OCOCH <sub>3</sub> ).
RMN <sup>13</sup> C	75.5 MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ: 167.6 (CH <sub>3</sub> COO-), 164.8 (-COOH), 143.3 (C-3 y 5), 138.5 (C-4), 128.2 (C-1), 122.2 (C-2 y 6), 52.5 (CH <sub>3</sub> -O), 20.5 (CH <sub>3</sub> CO-).
EMIE	m/z (%): 268 [M <sup>+</sup> ] (10.2), 253 (0.4), 237 (4.6), 226 [M <sup>+</sup> - CH <sub>2</sub> CO-] (47.6), 209 (14), 185 (9.3), 184 [M <sup>+</sup> - 2 x CH <sub>2</sub> CO-] (100), 183 (5.6), 167 (0.4), 153 (13), 125 (2.8), 124 (1.8), 97 (0.9), 79 (0.9), 69 (1.4), 59 (1.4), 43 (51.4), 42 (0.4).

### 3.7 Partición del extracto metanólico con acetato de etilo y agua.

200 ml de agua se adicionaron a 30g de extracto metanólico de *Blomia Prisca* y se extrajeron con AcOEt. Los extractos orgánicos combinados (F.O.1) mostraron la presencia de componentes muy polares por ccf, en el sistema de elución CHCl<sub>3</sub>-acetona 4:6 (v/v). La fase acuosa se aciduló con HCl al 10% hasta alcanzar pH 2 y se calentó a reflujo por 10 hrs. Al cabo de este tiempo se enfrió y extrajo tres veces con AcOEt (800ml). El disolvente orgánico se evaporó obteniéndose una mezcla compleja de compuestos que mostraron por ccf ser más polares que el éster metílico del ácido gálico (17), aislado por ccf del extracto metanólico. Por adición de CHCl<sub>3</sub> se formó un precipitado (521 mg) el cual se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (17.13 g, 70-230 mallas), eluyéndose con mezclas de CHCl<sub>3</sub>-acetona de polaridad creciente. Este procedimiento permitió el aislamiento de 87 mg (1.5 %) de un compuesto cristalino que se oscurece con la luz, con R<sub>f</sub> de 0.5 (CHCl<sub>3</sub>/acetona 3:7) y se identificó como el ácido gálico (19) de acuerdo con las características físicas y espectroscópicas que mostró:

Fórmula molecular: C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>

Cristales, P. f: 233-236 °C (desc.) (235-240 °C desc., lit. Buckingham, 1994).

UV λ<sub>máx</sub> (EtOH): 216 (ε, 25 500), 270 (ε, 9550) nm.

IR	$\nu_{\text{máx}}$ (pastilla) $\text{cm}^{-1}$ : 3317, 2922, 2852, 1689, 1629, 1549, 1454, 1403, 1346, 1269, 1097, 1046, 866, 766.
RMN <sup>1</sup> H	300 MHz, acetona-d <sub>6</sub> , $\delta$ : 8.6 (s a, -OH), 7.16 (s, 2H, H-2 y 6).
RMN <sup>13</sup> C	75.5 MHz, acetona-d <sub>6</sub> , $\delta$ : 167.7 (-COOH), 145.6 (C-3 y 5), 138.2 (C-4), 121.6 (C-1), 109.6 (C-2 y 6).
EMIE	m/e (%): 170 [M <sup>+</sup> ], (99.29), 153 [M <sup>+</sup> -OH], (100), 135 (8.5), 125 (18.4), 117 (25.4), 107 (38.9), 99 (9.2), 85 (2.8), 79 (12.7), 69 (2.8), 59 (4.9), 51 (7.1), 43 (12.7).

### 3.8 Determinación de la actividad tóxica en el crustáceo *Artemia salina* (McLaughlin et al., 1991).

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

Se preparó una solución de agua de mar comercial (3.8 ml de agua salada por litro), dentro de un recipiente de vidrio previamente acondicionado con una bomba de oxígeno, un termómetro y una lámpara. Se adicionaron los huevecillos de *Artemia salina* Leach y se dejaron en maduración durante 48 hs. Al cabo de este tiempo, se disolvieron 20 mg de cada muestra (extracto, fracción o compuesto puro) en 2ml de un disolvente adecuado (cuadro 4). De esta solución, se transfirieron 500, 50, y 5  $\mu\text{l}$  a frascos viales. Posteriormente, se evaporó completamente el disolvente de cada tubo, con corriente de nitrógeno y cada uno de los residuos se aforó a 5 ml con medio salino artificial (Ocean Instant), con lo que se obtuvieron concentraciones de 1000, 100 y 10  $\mu\text{g/ml}$ , respectivamente. La prueba con cada muestra se realizó por triplicado.

#### 3.8.2 Bioensayo.

Se realizó transfiriendo 10 larvas de *Artemia salina* dentro de cada tubo que contenía la muestra por evaluar. Después de 24 horas de contacto entre las larvas y la muestra a 28° C, se contaron los crustáceos sobrevivientes y el resultado se expresó por medio de la

concentración letal 50 ( $CL_{50}$ ) calculada mediante el Programa de Análisis de Probabilidad de Finney (PROBIT) (Anderson, 1991) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Resultados de la determinación de la actividad tóxica a *Artemia salina* de los compuestos probados.

Muestra	Solubilidad (ml)	µg/ml	Núm. de sobrevivientes			Núm. de muertos			CL <sub>50</sub>
Extracto MeOH	metanol	1000	6/10	6/10	7/10	4/10	4/10	3/10	> 1000
		100	6/10	7/10	6/10	4/10	3/10	4/10	
		10	6/10	6/10	5/10	4/10	4/10	5/10	
Extracto CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	metanol/acetona 1:1	1000	8/10	7/10	7/10	2/10	3/10	3/10	> 1000
		100	8/10	6/10	6/10	2/10	4/10	4/10	
		10	7/10	7/10	9/10	3/10	3/10	1/10	
Extracto hexánico	metanol/acetona 1:1	1000	9/10	10/10	10/10	1/10	0/10	0/10	> 1000
		100	10/10	10/10	10/10	0/10	0/10	0/10	
		10	10/10	10/10	10/10	0/10	0/10	0/10	
Extracto F.O 1	metanol	1000	1/10	1/10	0/10	9/10	9/10	10/10	70
		100	8/10	8/100	5/10	2/10	2/10	5/10	
		10	7/10	7/10	8/10	3/10	3/10	2/10	
Acido gálico	acetona/etanol 1:1	1000	9/10	9/10	9/10	1/10	1/10	1/10	> 1000
		100	9/10	10/10	9/10	2/10	0/10	1/10	
		10	8/10	9/10	7/10	2/10	1/10	3/10	
Ester metílico del ácido gálico	metano/ acetona 1:1	1000	2/10	2/10	0/10	8/10	8/10	10/10	75
		100	6/10	7/10	6/10	4/10	3/10	3/10	
		10	8/10	8/10	7/10	2/10	2/10	3/10	

#### 4. DISCUSION DE LOS RESULTADOS

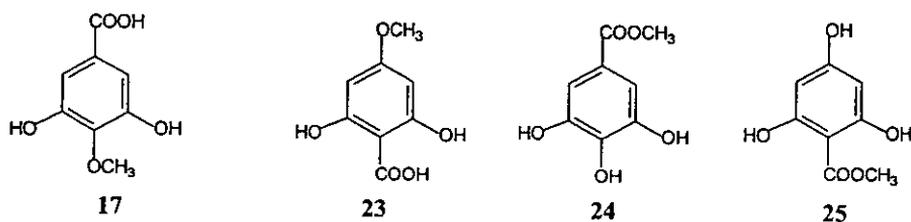
En la literatura no se encontraron reportes previos sobre estudios químicos y/o farmacológicos realizados en *Blomia prisca*, sin embargo, ya que la familia Sapindaceae está constituida por géneros con compuestos químicos biológicamente activos (v. Antecedentes), se realizó el estudio fitoquímico del material vegetal antes mencionado. Para efectuar lo anterior, primeramente se identificó botánicamente la planta, y posteriormente se prepararon los extractos hexánico, de diclorometano y metanólico de las hojas y tallos. Se estudió el extracto metanólico de *Blomia prisca*, ya que éste tuvo un mayor contenido metabólico, hecho observado por ccf. Como seguimiento de una actividad biológica a lo largo de la extracción y fraccionamiento del material vegetal, se empleó la prueba de toxicidad al crustáceo *Artemia salina* Leach.

##### 4.1 Aislamiento del éster metílico del ácido gálico (17)

El extracto metanólico se sometió al proceso de fraccionamiento por cromatografía en columna, separándose por cristalización espontánea un compuesto que presentó un p.f. de 228-240 °C, con absorciones en el espectro UV a 216 y 275 nm (ESPECTRO 1) que evidenciaron en la molécula la presencia de grupos cromofóricos derivados del benceno. Estos mismos se apreciaron al incidir la luz UV sobre el compuesto aplicado a una placa cromatográfica de gel de sílice. En el espectro en el IR (ESPECTRO 2) se apreciaron bandas anchas de absorción a 3517, 3367 y 3200  $\text{cm}^{-1}$  que se asociaron con la presencia de varios grupos oxhidrilo asociados en la molécula; en 1691  $\text{cm}^{-1}$ , se observó una banda de grupo carboxilo que podía ser de ácido o del éster de un ácido aromático con puentes de hidrógeno intramoleculares (Pretsch, 1980). Otra banda observada a 1617  $\text{cm}^{-1}$ , se asignó a la vibración de carbono-carbono doble ligadura de un compuesto aromático. En 2850, 1467 y 1371  $\text{cm}^{-1}$ , se observaron bandas para grupos metilo y en 1053 y 1210  $\text{cm}^{-1}$  bandas anchas para la vibración C-O.

La presencia de un grupo bencénico se confirmó en el espectro de RMN de hidrógeno (ESPECTRO 3) el cual mostró una señal en la zona de los hidrógenos aromáticos, a 7.12 ppm y que integró para 2 hidrógenos; en 8.32 ppm, una señal ancha que desapareció al

adicionar D<sub>2</sub>O, indicó la presencia de oxhidrilos fenólicos, que correlacionó con las absorciones en el IR para estos grupos. En 3.79 ppm, se apreció un singlete que integró para 3 hidrógenos y de acuerdo a su desplazamiento químico se asignó a un grupo metoxilo. El singlete ancho a 3.41 ppm se consideró como humedad en la muestra. Al no encontrarse más señales en este espectro se concluyó que tanto el grupo metoxilo como el carboxilo y oxhidrilos debían estar unidos al anillo bencénico. Por otra parte, la observación de las señales del espectro de <sup>13</sup>C en δ 146 y 109.6 ppm (ESPECTRO 4), confirmó la presencia de funciones oxigenadas en tres de los carbonos del benceno. La localización de los sustituyentes en el anillo se resolvió por la simplicidad de señales del espectro de RMN<sup>1</sup>H observado que denotaba un arreglo simétrico, al existir una sola señal sin acoplamiento para los hidrógenos bencénicos, permitiendo las siguientes posibilidades estructurales (Figura 2).



**Figura 2.** Posibles arreglos de los sustituyentes con simetría estructural en el anillo bencénico.

Las bandas múltiples y anchas observadas en el IR entre 3517 y 3200 sugerían que los grupos oxhidrilo se encontraban asociados dentro de la molécula, como en la estructura 24, y por lo tanto, el metilo debía estar esterificado al carboxilo. La señal observada tanto para 2 de los hidrógenos aromáticos (en RMN-<sup>1</sup>H) como para 2 de los carbonos de los oxhidrilos (en RMN-<sup>13</sup>C) sugiere la equivalencia de estos grupos en el anillo, por lo que éstos (C-H, C-H y C-OH, C-OH), debían estar en posición *meta* entre sí, y la vecindad electrónica de los primeros es uniforme (Figura 2). La localización del grupo carboximetilo vecinal a los 2 hidrógenos bencénicos se confirmó por los desplazamientos químicos calculados en RMN

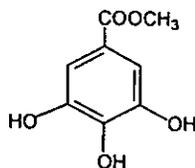
de  $^1\text{H}$  y de  $^{13}\text{C}$  para 17 (Pretsch, et al., 1980), eliminándose la posibilidad de la existencia de 25.

El espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  (ESPECTRO 4) mostró la presencia de 6 señales. El análisis del espectro en su modalidad DEPT ( ESPECTRO 5) indicó señales de un metilo unido a oxígeno ( $\delta$  51.8) y de un carbono protonado ( $\delta$  109.6), en consecuencia, la molécula debía tener 4 carbonos totalmente sustituidos, lo que sumaba 8 carbonos en total en la molécula. De esta manera se concluía que las señales correspondían a un metilo, dos carbonos protonados equivalentes, un carboxilo y 4 carbonos totalmente sustituidos, dos de los cuales eran equivalentes y unidos a un oxígeno.

La señal en  $\delta$  167.3 ppm se asignó al carbono del carboxilo; en  $\delta$  146.0 y 138.6 se establecieron las señales de los carbonos 3, 4 y 5, base de los oxhidrilos; en 121.5 ppm, la señal para el carbono 1, base del grupo carboximetilo y en  $\delta$  109.6 ppm, la señal para los carbonos 2 y 6.

El espectro de masas (ESPECTRO 6) corroboró el peso molecular esperado, y corresponde a una fórmula molecular  $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_5$  que permite 5 insaturaciones. Cabe señalar que el fragmento más estable correspondió al ion por pérdida del grupo metoxilo. De esta manera, se asignó al compuesto la estructura del éster metílico del ácido 3,4,5-trihidroxi benzoico (17) (Cuadro 5) conocido como éster metílico del ácido gálico. Los datos espectroscópicos obtenidos, concuerdan con los encontrados en la literatura para este compuesto (Sadtler 1961 y 1974). Por otra parte, la presencia de este tipo de ácidos es común en plantas que contienen taninos.

**Cuadro 5.** Constantes espectroscópicas y espectrométricas del éster metílico del ácido gálico (17).



UV, $\lambda_{\text{máx}}$ . (EtOH) nm ( $\epsilon$ ) (Espectro 1)	216, 275 ( $\epsilon$ , 4510, 11970)
IR, $\nu_{\text{máx}}$ (pastilla), $\text{cm}^{-1}$ , (Espectro 2)	3517, 3367 (ancho), 2600 (ancho), 1691, 1617, 1534, 1467, 1442, 1371, 1328, 1261, 1210, 1097, 1053, 1003, 866, 765, 748, 649, 589.
$\text{RMN}^1\text{H}$ , 300 MHz Acetona- $\text{d}_6$ (Espectro 3)	$\delta$ : 8.32 (sa, -OHs 3,4,5), 7.12 (s, 2H, H-2 y 6), 3.79 (s, 3H, -OCH <sub>3</sub> ).
$\text{RMN}^{13}\text{C}$ , 75.5 MHz, Acetona- $\text{d}_6$ (Espectro 4)	$\delta$ 167.3 (-COOH), 146.0 (C-3 y 5), 138.6 (C-4), 121.5 (C-1), 109.6 (C-2 y 6), 51.8 (-OCH <sub>3</sub> )
EMIE m/z (%) (Espectro 6)	184 [ $\text{M}^+$ ] (92), 166 (3.6), 153 [ $\text{M}^+ - \text{OCH}_3$ ] (100), 139 (2.2), 125 (0.5), 97 (2.2), 79 (10.8), 69 (2.2), 51 (12.9), 39 (3.6).

#### 4.2 Preparación del derivado tri-*O*-acetilado del compuesto (17)

La acetilación del compuesto 17 por tratamiento con anhídrido acético, confirmó químicamente la presencia de los oxhidrilos fenólicos en la molécula al formarse el correspondiente derivado tri-*O*-acetilado (compuesto 18) (Figura 3).

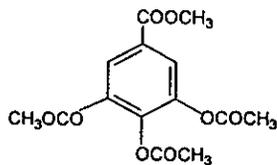
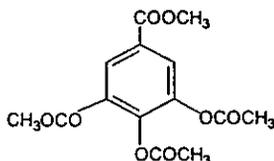


Figura 3. Ester metílico del ácido 3,4,5-tri-*O*-acetilgálico (18)

Las principales diferencias observadas espectroscópicamente con el compuesto 17 fueron la desaparición de las bandas en 3517, 3367 y 2600  $\text{cm}^{-1}$  en el espectro en el IR (ESPECTRO 7), propia de oxhidrilos y la aparición de una banda intensa en 1776  $\text{cm}^{-1}$  del carbonilo de los grupos acetilo. En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (ESPECTRO 8) se observó la aparición de un par de singuletes intensos en  $\delta$  2.31 y  $\delta$  2.30 ppm que integraron para 9 hidrógenos, correspondientes a los metilos de los grupos acetilo, también fué evidente la desaparición del singulete ancho en 8.32 ppm correspondiente a los oxhidrilos del compuesto 17. El espectro de  $^{13}\text{C}$  (ESPECTRO 9) mostró la presencia de una señal intensa en 167.6 y 164.8 ppm para los tres carbonos de los carboxilos adicionales al del éster existente, por otra parte, la señal de los carbonos 2 y 6 se desplazó 12 ppm a campo bajo, localizándose en 122.2 ppm, debido al efecto electrónico paramagnético motivado por los grupos *O*-acetilo vecinos a ellos. Asimismo, se hicieron evidentes las señales para los metilos de los acetilos en 20.5 (C-3 y 5) y 20.1 (C-4) ppm. Finalmente, el espectro de masas (ESPECTRO 10) mostró fragmentaciones en la molécula para la pérdida de tres grupos acetilo y un grupo metoxilo, en  $m/z$  268, 226, 184 y 153 el peso molecular observado para este derivado (310 unidades de masa), permitió el cálculo de una fórmula  $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_8$  con un IDH=8 (Cuadro 6).

**Cuadro 6** Constantes espectroscópicas y espectrométricas del éster metílico del ácido 3,4,5-tri-*O*-acetilgálico (18)



IR $\nu_{\text{máx}}$ : (película), $\text{cm}^{-1}$ (Espectro 7)	2953 -2600 (ancho), 1776, 1721, 1617, 1499, 1431, 1372, 1328, 1252, 1190, 1170, 1055, 1013, 909, 857, 818, 768, 535.
RMN <sup>1</sup> H, 300 MHz, CDCl <sub>3</sub> , (Espectro 8)	$\delta$ 7.80 (s, 2H, H-2 y 6), 3.91 (s, 3H, -OCH <sub>3</sub> ), 2.31 y 2.3 (2s, 9H, 3 x -OCOCH <sub>3</sub> ).
RMN <sup>13</sup> C, 75.5 MHz, CDCl <sub>3</sub> (Espectro 9)	$\delta$ 167.6 (CH <sub>3</sub> COO- x 2), 166.4 (CH <sub>3</sub> OCO-), 164.8 (CH <sub>3</sub> COO-), 143.3 (C-3 y 5), 138.5 (C-4), 128.2 (C-1), 122.2 (C-2 y 6), 52.5 (CH <sub>3</sub> -O), 20.5 (CH <sub>3</sub> CO-).
EMIE m/z (%) (Espectro 10)	310 [M <sup>+</sup> ], 268, [M <sup>+</sup> -42 (10)], 253 (0.4), 237 (4.6), 226 [M <sup>+</sup> -2X42, 47.6)], 209 (14), 185 (9.3), 184 ([M <sup>+</sup> -3 x CH <sub>2</sub> CO-] (100), 183 (5.6) 167 (0.4), 153 (184 - 31, 13), 125 (2.8), 124 (1.8), 97 (0.9), 79 (0.9), 69 (1.4), 59 (1.4), 43 (51.4), 42 (0.4).

#### 4.3 Aislamiento del ácido gálico.

Se realizó la partición del extracto metanólico, con una mezcla de AcOEt-agua. Este procedimiento se realizó con el objetivo de aislar las agliconas de los glicósidos que pudieran estar presentes en la planta, dados los antecedentes en la literatura (Ramachandra, 1966) de la presencia de este tipo de compuestos en algunos géneros de la familia Sapindaceae. Por tratamiento ácido del extracto acuoso se aisló un sólido amorfo, el cual fué purificado por cromatografía en columna. De este tratamiento se aisló un compuesto cristalino blanco, que oscurece con la luz y que presenta un p. f. de 233-236 °C. Sus

absorciones en el espectro en el UV a 210 y 264 nm (ESPECTRO 11) ponen de manifiesto la presencia de grupos cromofóricos derivados del benceno; en el espectro en el IR (ESPECTRO 12) se apreciaron bandas de absorción en 3317  $\text{cm}^{-1}$  asociadas con la presencia de oxhidrilos en la molécula; de 3200 a 2600  $\text{cm}^{-1}$  una banda muy ancha, que se relaciona con la observada en 1689  $\text{cm}^{-1}$  sugirió la presencia de un grupo carboxilo de ácido. Otras bandas se observaron a 1046, 1097 y 1269  $\text{cm}^{-1}$  para vibraciones de carbono-oxígeno. El espectro de RMN de hidrógeno (ESPECTRO 13), confirmó la presencia de un anillo bencénico al observarse una sola señal en 7.16 ppm que integró para 2 átomos de hidrógeno. En sí, este espectro presentó similitudes con el del ácido 4-metilgálico (17) siendo la principal diferencia, la ausencia de la señal del metilo del metoxilo en la posición 4 (3.79 ppm). Las otras señales observadas son el singulete ancho en 8.6 ppm el cual se asignó a los oxhidrilos fenólicos. Esta señal desapareció por tratamiento con  $\text{D}_2\text{O}$ . La posición exacta de los sustituyentes dentro del anillo se estableció por los desplazamientos químicos calculados en  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  (ESPECTRO 14). Con los datos espectroscópicos obtenidos, se estableció para este compuesto la estructura de la fórmula 19 (Figura 4), que corresponde al ácido 3,4,5-trihidroxi-benzoico, conocido como ácido gálico. La presencia de 19 es común dentro de la estructura de taninos y cabe señalar que su aislamiento es el producto de la hidrólisis de los mismos.

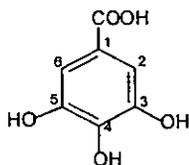


Figura 4. Acido gálico (19)

El espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  mostró la presencia de 5 de las 7 señales esperadas, que se asignaron como sigue: en 167.7 el carbono del carboxilo; en 145.6 las señales de los carbonos 3 y 5; en 138.2, la señal del carbono 4; en 121.6 la señal del carbono 1 en 109.6, la señal para los carbonos 2 y 6. Debe notarse que en este compuesto existe un eje de simetría que permite la equivalencia de las señales para los carbonos 3 y 5, y 2 y 6. Por otra parte, la posibilidad de la existencia de la estructura 19a (Figura 5) para este compuesto se descartó,

por la comparación de los datos espectroscópicos en RMN<sup>1</sup>H y de <sup>13</sup>C observados con los calculados y con los reportados en la literatura (Saxena, 1994).

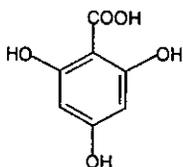
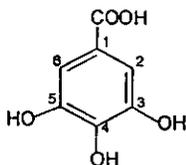


Figura 5. Fórmula 19 a. Acido 2,4,6-trihidroxibenzoico

El espectro de masas (ESPECTRO 15) corroboró el peso molecular esperado, el cual correspondió a una fórmula molecular C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>, que permite 5 insaturaciones.

En el Cuadro 7 se resumen las características espectroscópicas y espectrométricas del ácido gálico.

Cuadro 7. Constantes espectroscópicas y espectrométricas del ácido gálico (19).



UV, λ <sub>máx.</sub> (EtOH) nm (ε) (Espectro 11)	210 (ε, 25 500), 264 (ε, 9550)
IR, ν <sub>máx.</sub> (pastilla) cm <sup>-1</sup> (Espectro 12)	3317, 3200-2600, 2922, 2852, 1689, 1629, 1549, 1454, 1403, 1346, 1269, 1097, 1046, 866, 766.
RMN <sup>1</sup> H, 300 MHz acetona-d <sub>6</sub> (Espectro 13)	δ: 8.6 (s a, -OH 3, 4, 5), 7.16 (s, 2H, H-2 y 6).
RMN <sup>13</sup> C, 75.5 MHz, acetona-d <sub>6</sub> (Espectro 14)	δ: 167.7 (-C=O), 145.6 (C-3 y 5), 138.2 (C-4), 121.6 (C-1), 109.6 (C-2 y 6).
EMIE m/z (%) (Espectro 15)	170 [M <sup>+</sup> ] (99.29), 153 [M <sup>+</sup> -OH, 100], 135 (8.5), 125 (18.4), 117 (25.4), 107 (38.9), 99 (9.2), 85 (2.8), 79 (12.7), 69 (2.8), 59 (4.9), 51 (7.1), 43 (12.7).

#### 4.4 Determinación de la actividad tóxica en el crustáceo *Artemia salina*

La prueba de toxicidad hacia *Artemia salina* no es específica para determinar alguna acción fisiológica particular. Sin embargo, existen en la literatura antecedentes de casos en los cuales se ha observado correlación significativa de actividad con compuestos citotóxicos (Anderson, 1991; Meyer, 1982; Sam, 1993) y con pruebas antipalúdicas (Hostettman, 1982), entre otras actividades. La prueba se considera con actividad tóxica significativa para valores encontrados menores a 1000 ppm para extractos o fracciones, y menores a 200 ppm para compuestos puros (McLaughlin, 1991). El extracto metanólico de *Blomia prisca* presentó una  $CL_{50}$  mayor a 1000 ppm, sin embargo, el éster metílico del ácido gálico, obtenido de esta misma fracción presentó una  $CL_{50}$  de 75 ppm, la que se considera como actividad tóxica al crustáceo.

## 5. CONCLUSIONES

El estudio fitoquímico del extracto metanólico de las hojas y tallos de *Blomia prisca*, derivó en el aislamiento de dos compuestos mayoritarios, uno natural y otro probablemente producto de hidrólisis. Ambas estructuras corresponden al tipo de ácidos fenólicos, los cuales fueron caracterizados como el éster metílico del ácido gálico (17) y el ácido gálico (19), de acuerdo con sus propiedades espectroscópicas, espectrométricas y por la formación del derivado tri-acetilado del éster metílico del ácido gálico.

El éster metílico del ácido gálico (17) fue el producto aislado en mayor proporción (0.2% por peso en seco de hojas y tallos) que el ácido gálico (0.01%).

Los resultados obtenidos en la evaluación de toxicidad hacia *Artemia salina* demostraron actividad positiva en el caso del éster metílico del ácido gálico (17), lo que concuerda con la marcada actividad antibacteriana hacia microorganismos gram positivos y gram negativos reportada por Saxena et al. (1994) para diversos derivados del ácido gálico, entre los cuales, el galato de metilo (17) tuvo la actividad más significativa. Sin embargo, dadas las correlaciones que se han encontrado entre la prueba de toxicidad en *A. salina* y otras pruebas biológicas (Anderson, 1991; Hostettman, 1982; Meyer, 1982; Sam, 1993) este compuesto pudiera tener un potencial farmacológico adicional.

A pesar de que el ácido gálico no presentó actividad positiva en la prueba de toxicidad en *A. salina*, se han demostrado diversas bioactividades para este compuesto (Kroes, 1992).

La actividad positiva en *A. salina* demostrada en la fracción orgánica (F. O. 1, en 3.7) obtenida de la hidrólisis del extracto metanólico, permite la recomendación de su análisis químico, en la búsqueda de algún compuesto bioactivo diferente a los encontrados en este trabajo.

La presencia de ácidos fenólicos derivados del ácido gálico, sugiere la existencia de taninos en esta especie.

## BIBLIOGRAFIA

Anderson, J.E., Goetz, C.M., Suffnes, M. y McLaughlin, J.L. (1991). A blind comparison of simple bench-top bioassays and human tumor cell cytotoxicities as antitumor prescreens. *Phytochemical Analysis*, 2, 107-111.

\*Briggs, L.H., (1967). *New Zeal. J. Sci.* 10, 1097.

\*Buckingham, J.(editor) (1994). Dictionary of Natural Products., Stanford University, Vol 5, 5719.

\*Castañeda, P. C. (1991) Aislamiento e Identificación de un nuevo *ent*-labdano de la *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq (Sapindaceae). Estudio Químico y biológico de *Celaenodendron mexicanum* Stand. (Euforbiaceae). Tesis de Maestría. Facultad de Química, UNAM.3-9, 15.

\*Chávez, M. I., (1991). Aislamiento, determinación estructural, síntesis por relevo y <sup>13</sup>C-RMN de algunos derivados de la beta-amirina. Tesis de Maestría. Facultad de C. Q. de la Universidad de Morelos. 7-11, 18, 25-29,31, 79-85.

\*Cronquist, A. (1981). An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press. New York.. 1262.

\*Dawson, R. M., Jarvis, M. W. Jefferies, P. R., Payne, T. G. and Rosich, R. S., (1966). Acidic Constituents of *Dodonaea lobulata*. *Aust. J. Chem.* 19, 2133.

\*Dominguez, X.; Franco, R.; Cano,G.; Chávez, N.; (1980). *Rev. Latinoam.. Quim.* 14,150.

\*Ellington, E.V., Hassal, C. H., Plimmer, J.R. and Seaforth, C. E., (1959). Amino-Acids and Peptides.Part II. The Constitution of Hypoglycine A. *J. Chem. Soc.* 80.

\*Fowden, L. and Smith, A., (1969). Cyclopropane Aminoacids from *Aesculus* and *Blighia*, *Phytochemistry* 8, 437.

\*Gallardo, M. C. (1994). Atlas de las plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. del. Instituto Nacional Indigenista. Tomo I, 102, 103, 127, 128, 203 y 210. Tomo II, 1062, 1063. Tomo III, 1195.

\*Haynes, L. J., Plimmer, J. R. and Sue-Ho, W. M. (1963). The isolation and identification of hederagenin from Ackee, *Bligia sapida* Koenig (Sapindaceae), *J. Chem. Soc.* 744.

\*Hegnauer R. (1973). Chemotaxonomie Der pflanzen, Sapindaceae. Ed Birkhäuser Verlag. Basel and Stuttgart, 6 271.

\*Hendrickson, J.B. (1973). The Molecules in Nature, 3<sup>rd</sup>. Ed., W.A.Benjamin, INC. 22.

\*Hostettmann, K., Kizu, H. and Tomimori, T. (1982). *Planta Medica* 44, 34.

\*INEGI (1996). Anuario Estadístico del Estado de Campeche. Inegi y el Gobierno del Estado de Campeche. México, 11.

\*Jacobs, J. W. (1925). *Biol. Chem.* 63 621.

\*Jefferies P. R. and Payne, T.G., (1967). Diterpenes of the Carscarillin Group from *Dodonaea spp.*, *Tetrahedron Lett.* 4777.

\*Johns, S. R. and Lamberton, J. A., (1969). Isolation of Simple Acid Amides from *Allophylus cobbe* (Sapindaceae), *Homalium foetidum* (Flacourtiaceae) and from *Aglaia* species (Meliaceae), *Aust. J. Chem* 22 1315.

\*Kroes, B. H.; Van den Berg, A. J. J.; Quarles, H. C., Van Dijk, H., Labadie, R. P. (1993). Anti-inflammatory activity. *Planta Med.* 58 (6), 409-504.

\*Lin, Y., Juan, I., Chen, Y., Liang, Y., Lin, J. (1996). Composition of polyphenols in fresh tea leaves and association of their oxygen-radical-absorbing capacity with antiproliferative actions in fibroblast cells. *J. Agric. Food. Chem.* 44 (6), 1387-1394.

\*Lundell, L. Wrightia. A. (1961). New species, Nomenclatural Changes and New Records for Trees and Shrubs of México and Centro America. *Botanical Journal*.

\*Mahato, S. B. Sahu, N. P. and Chakravarti, R. V. (1971)., Chemical Investigation on the Leaves of *Euphoria longana.*, *Phytochemistry* 10, 2847.

\*McLaughlin, J.L. (1991). Crown Gall, Tumours on potato Discs and Brine Shrimp Lethality: Two simple Bioassays for higher plant screening and Fractionation Methods, in Plant biochemistry. Academic Press, U. S. A. 6, 8-9.

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

\*Miller, N. (1996) The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. Special Publication-R. *Soc. Chem.* 181 (Natural antioxidants and food quality in atherosclerosis and cancer prevention), 256-259.

\*Miranda, F.(1953). Plantas Nuevas o Notables de flora de Chiapas. *Anales del Instituto de Biología*. México, 1 Tomo XXIV, 82-85.

\*Paris, R. R. and Nothis, A. (1970) *Plantes Med. Phytotherapie* 4, 68.

\*Plouvier, V., (1966) *Compt. Rend.* 262 D, 1368.

\*Plouvier, V., (1968) *Compt. Rend.* 267 D, 1883.

\*Pretsch, E.; Clerc, T.; Seibl, J. and Simon, W. (1980). Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos. Editorial Alhambra, España.

\*Pryce, R. J. (1972) Gallic acid as a natural inhibitor of flowering in *Kalanchoe blossfeldiana*. *Phytochemistry*, 11, 1911.

\*Ramachandran A. G. and Sankara S., (1975) Isorhamnetin & Quercetin Glycosides *Dodonaea viscosa* & *Sapindus emarginatus*. *Ind. J. Chem.* 14, 639.

\*Ramachandra, R. L. and Rukmini, C. (1966) Saponin of *Sapindus mukurossi* Vahl. *Ind. J. Chem.* 4, 149.

\*Richards, R., Durham, D., Liu, X. (1994) Antibacterial activity of compounds from *Rubus pinfaensis*. *Planta Medica* 60 (5), 471.

\*Rzedowski, J. (1994). Vegetación de México. Ed. Limusa, México 432.

\*Sadtler, S. (editor) (1961) SadtlerResearch Laboratories, INC. Espectro 21989. Philadelphia, PA.

\*Sadtler, S. (editor) (1974) SadtlerResearch Laboratories, INC. Espectros 17494 y 18796 M Philadelphia, PA.

\*Saxena, G., Mc. Cutcheon, A., Farmer, S., Towers, G., Hancock, R. (1994). Antimicrobial constituents of *Rhus glabra* J. *Ethnopharmacol.* 42 (2), 95.

\*Siegler, D., Seaman, F. and Mabry, T.J., (1971) New Cyanogenetic Lipids from *Ungnadia speciosa*, *Phytochemistry* 10, 485.

\*Schmeda-Hirschmann, G; Zuñiga, J.; Dutra-Behrens, M.; Habermehl, G. (1996) Xanthine oxidase inhibitory activity of flavonoids and tannins from *Hexachlamys edulis* (Myrtaceae) *Phytother. Res.* 10(3), 260.

\*Stahl, E. and Schorn, P. J., (1965).en Thin Layer Chromatography-A Laboratory Handbook (editado por E. Stahl), Springer, Berlin, 384.

\*Sam, T. W. (1993) Bioactive Natural Products. Detection, Isolation and Structural Determination. Cap. 18, Ed. Colegate, Molyneux. CRC press,441.

\*Standley C.P. and Steyermark A. J. (1949). Flora de Guatemala Part IV (24). Fieldiana Botany Chicago Natural History Museum, 440.

\*Sung, N.L., Fowden, L., Millington, D.S. and Sheppard, R. C., (1969). Acetylenic Aminoacids from *Euphoria longana* *Phytochemistry* 8 1227.

\*Takahashi, T. and Imamura, H. (1966). Naturally occurring 4-O-methylgallic acid in *Poupartia axillaris* King et Prain. *Agr. Biol. Chem.* 30 (6), 617-618.

\*The Merck Index, (1996) 12ª Edición, Merck &Co. Inc., N. Jersey, 4364.

\*Trotin, F.; Benzanger, B.; Pinkas, M.; Robelet, A. (1972) *Ann pharm Fr.* 30 (7-8), 555.

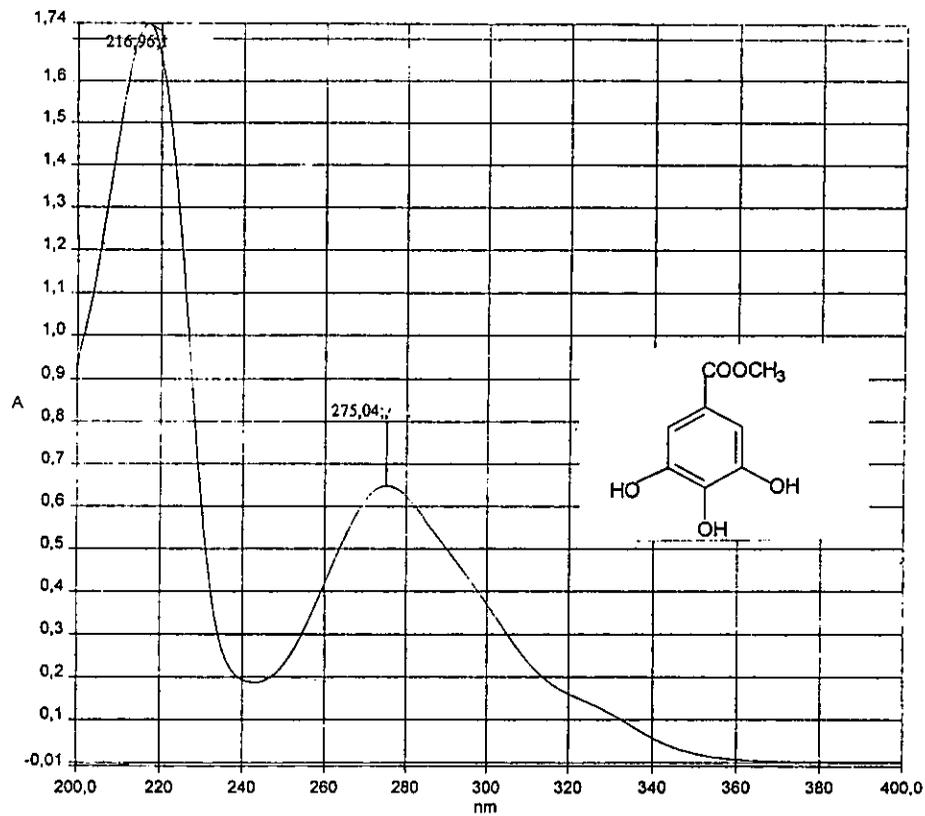
\*Venkateswara, R. K. (1962) *Indian Chem. Soc.* 39,561.

\*Wagner, H.; Ludwig C.; Grotjahn, L.; Khan, M. (1987) *Phytochemistry*, 26 (3),.697.

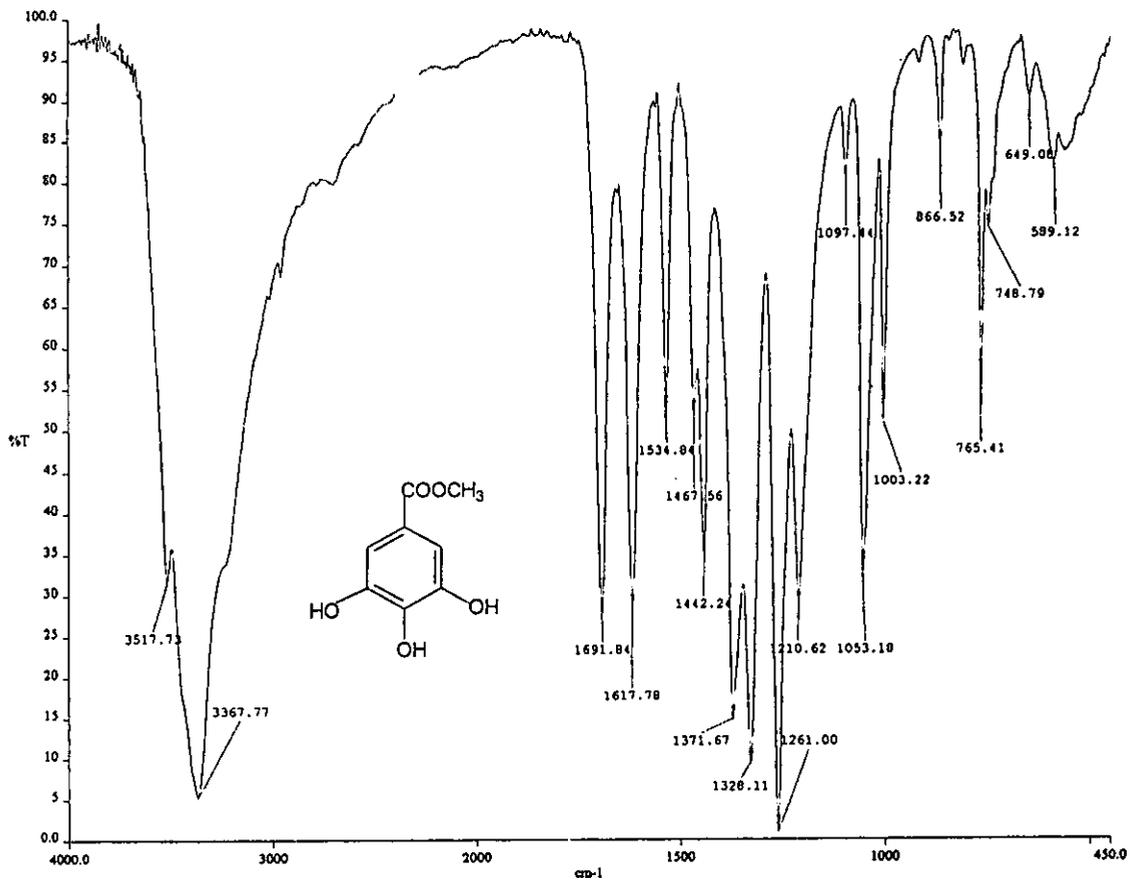
\*Welcher, J. (1983). In Dictionary of Organic Compounds . Fifth Edition. 1° Suplemento. Chapman and Hall, N. York, 559.

\*Wrightia, A. (1961). New species, Nomenclatural Changes and New Records for trees and shrubs of México and Central America. *Botanical. Journal.* Ed. Botanical Journal Longworth University press in Dallas. 1 (3).

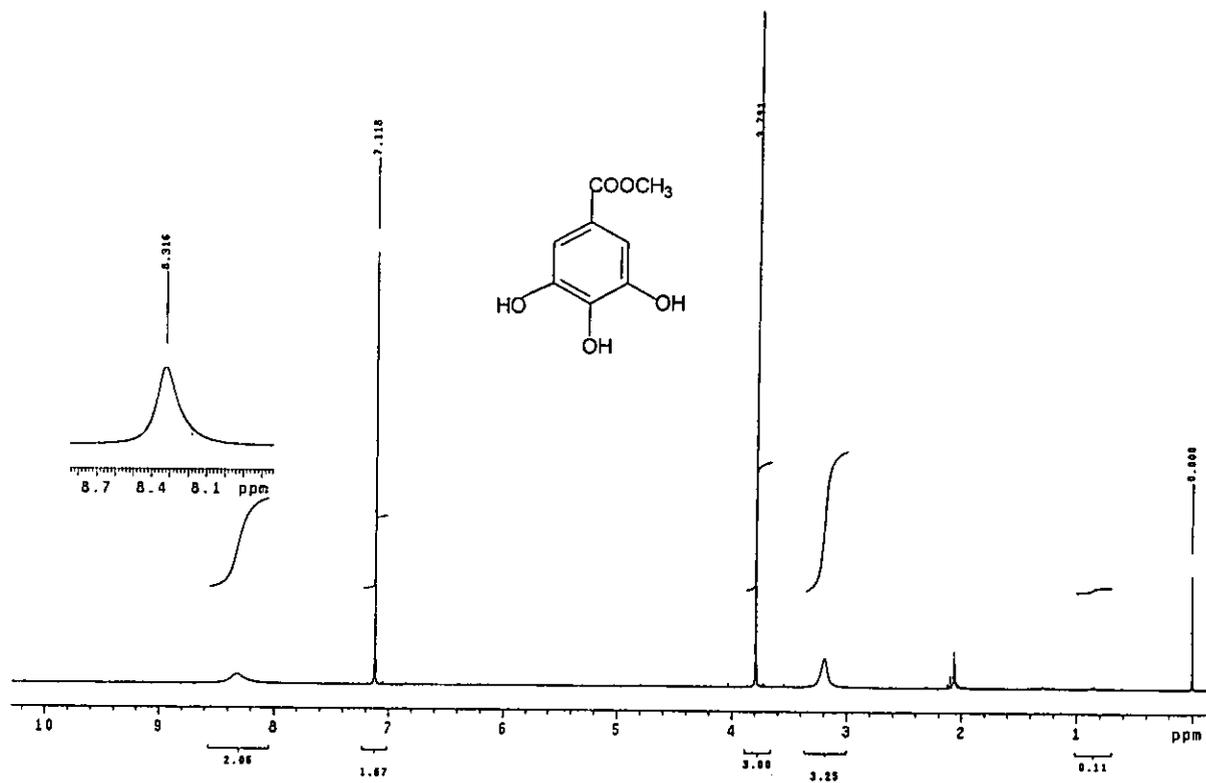
\*Zadernowski, R; Nowak, H. and Koropka, P. (1996) I. Effect of heating on the antioxidative activity of rapessed and evening primrose extracts. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 5(2), 125.



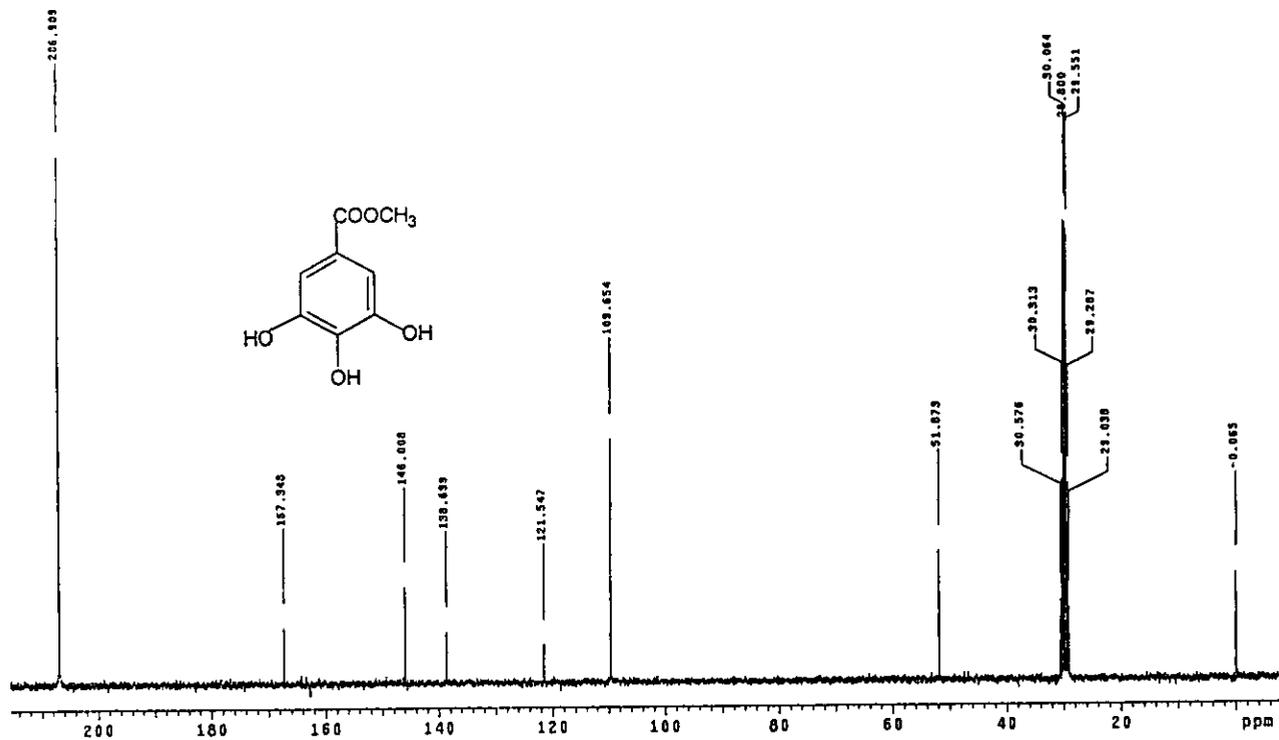
**Espectro 1.** Espectro en el UV del éster metílico del ácido gálico (17).



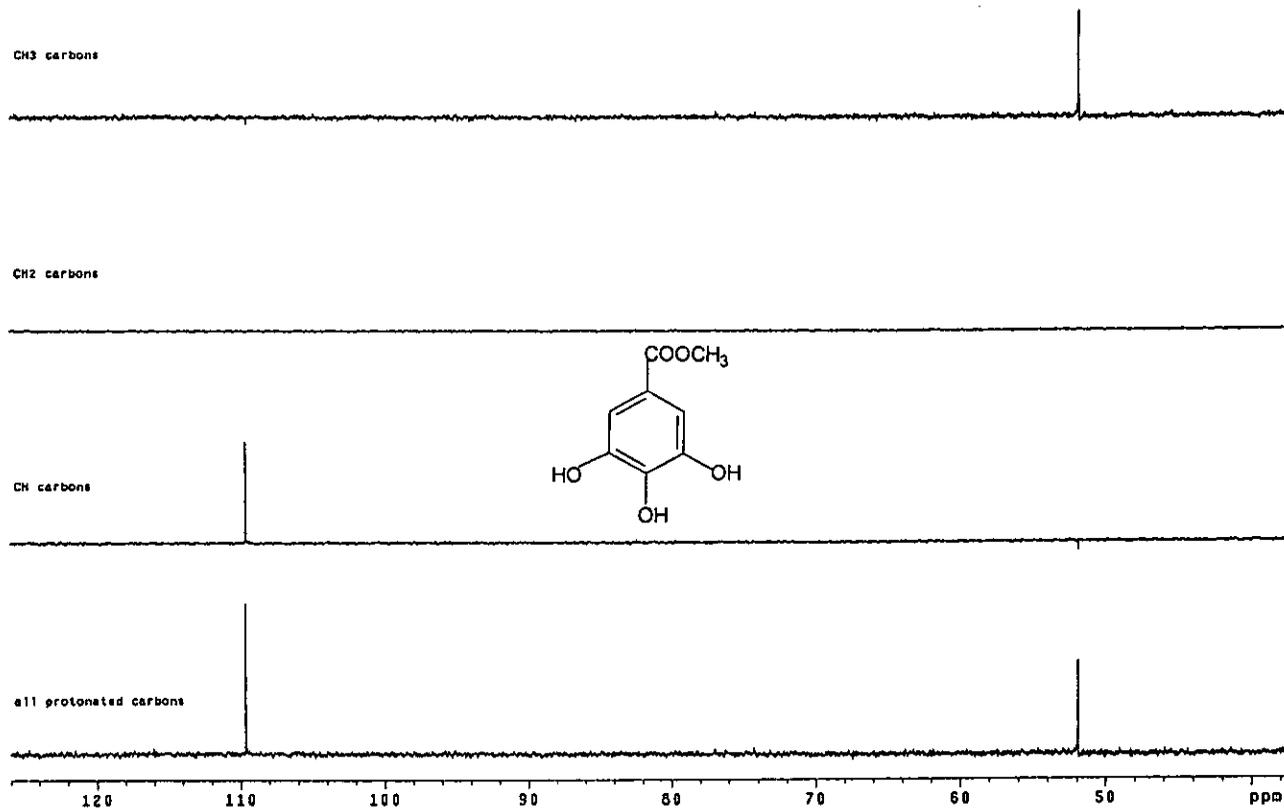
**Espectro 2.** Espectro en el IR del éster metílico del ácido gálico (17).



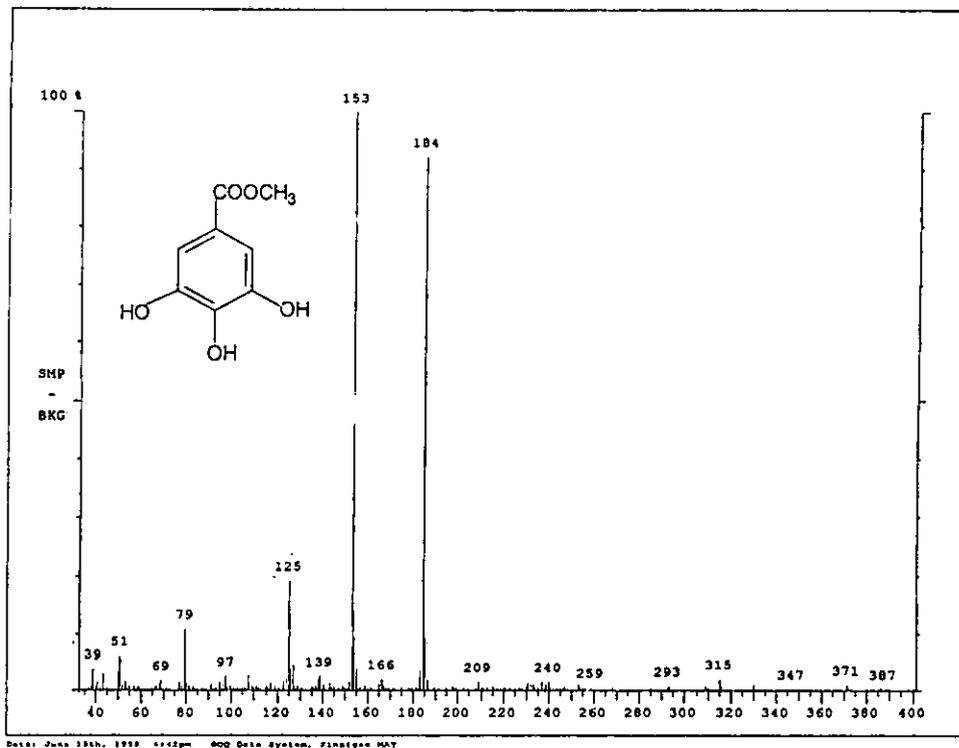
**Espectro 3.** Espectro de RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, acetona-d<sub>6</sub>) del éster metílico del ácido gálico (17).



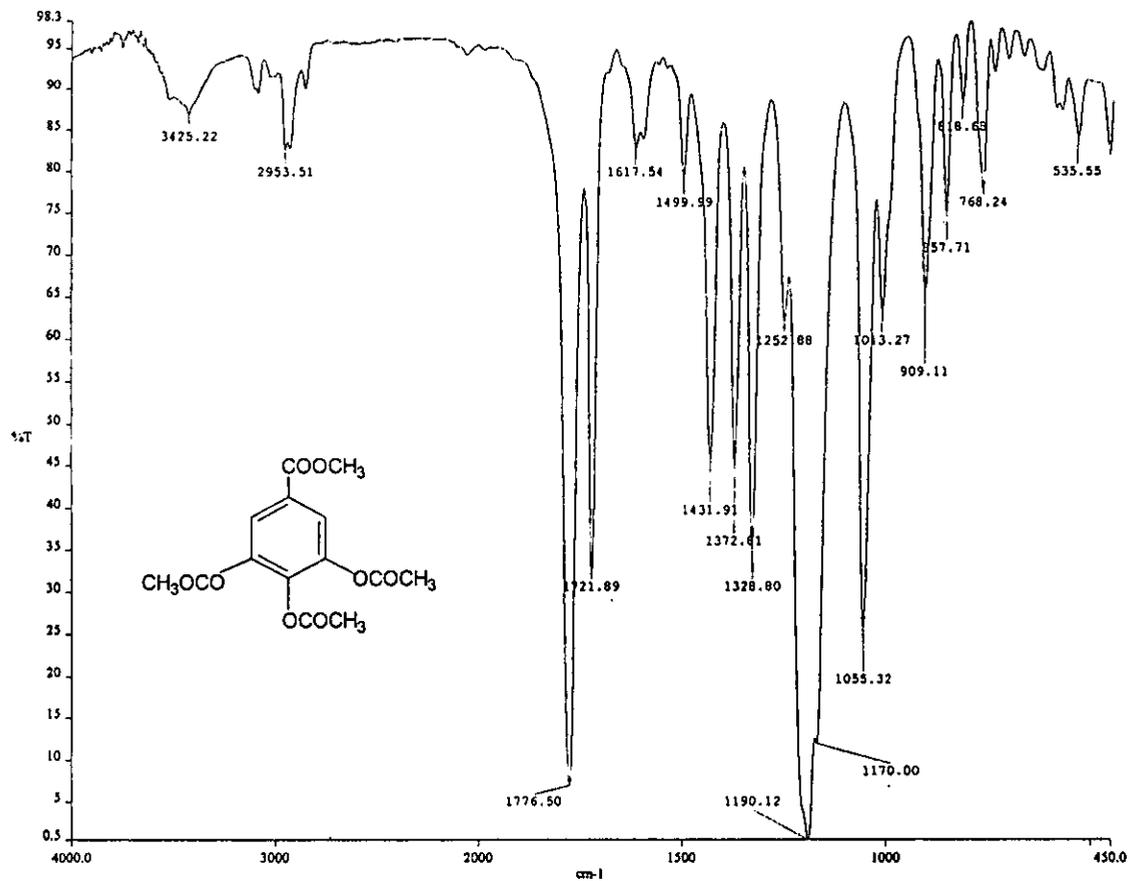
**Espectro 4.** Espectro de RMN<sup>13</sup>C (75.5 MHz, acetona-d<sub>6</sub>) del éster metílico del ácido gálico (17).



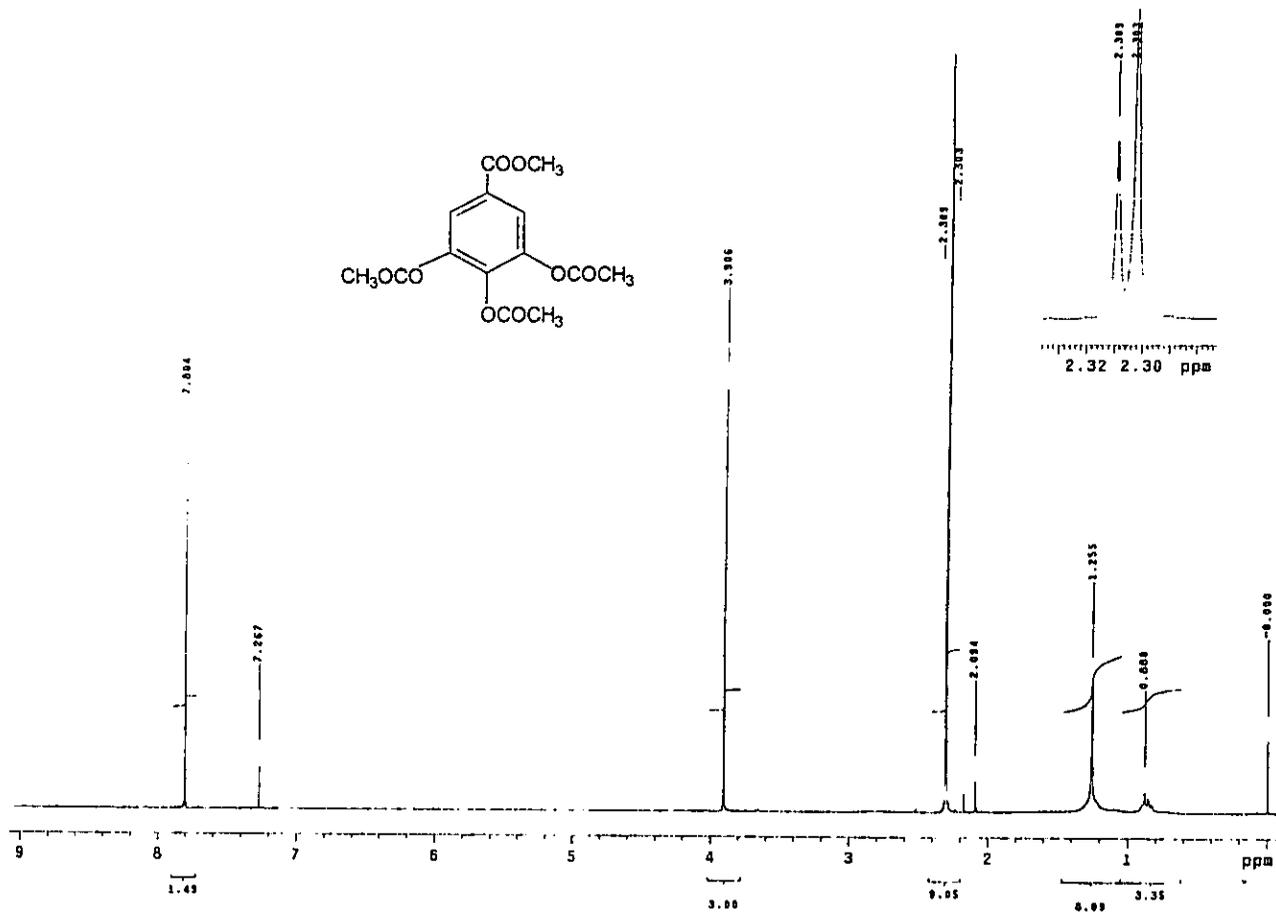
**Espectro 5.** Espectro de RMN<sup>13</sup>C (DEPT) (75.5 MHz, acetona-d<sub>6</sub>) del éster metílico del ácido gálico (17).



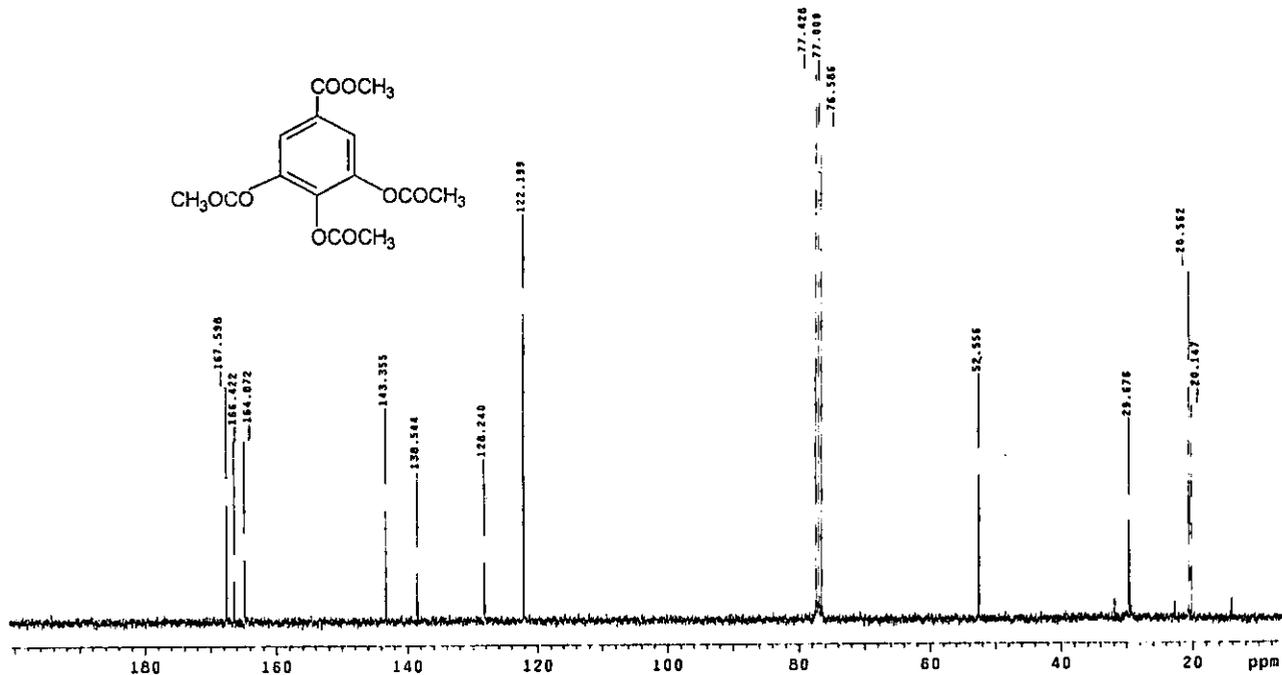
**Espectro 6.** Espectro de masas del éster metílico del ácido gálico (17).



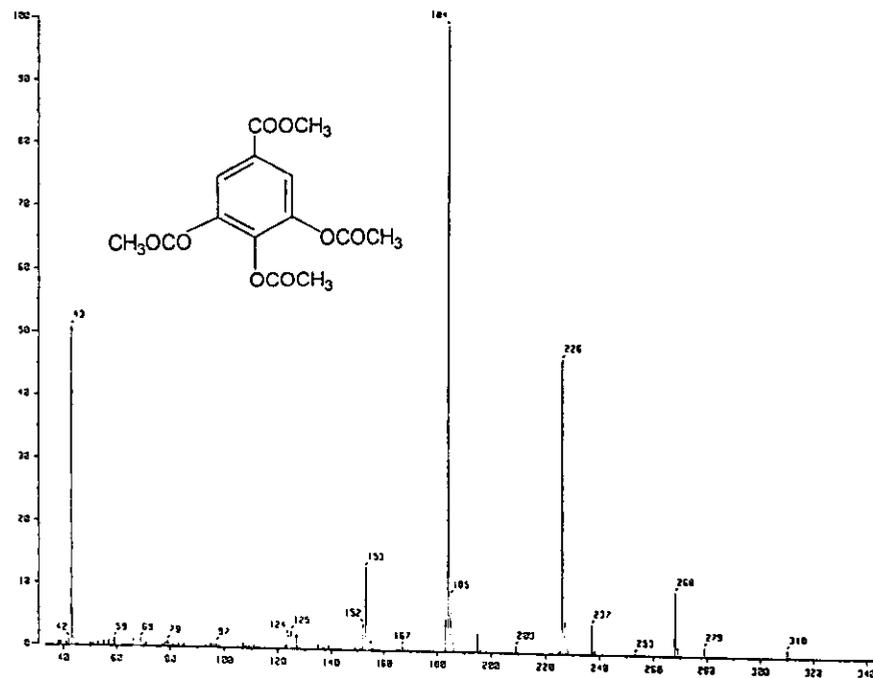
Espectro 7. Espectro en el IR del éster metílico del ácido 3,4,5-tri-*O*-acetil-gálico (18).



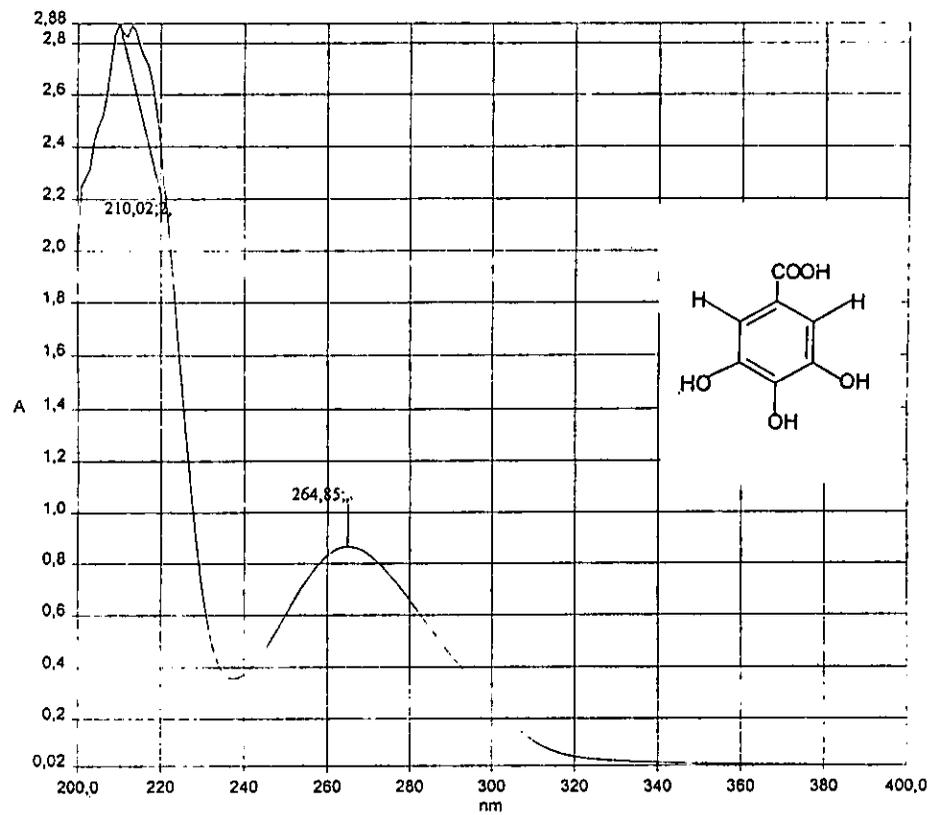
**Espectro 8.** Espectro de RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del éster metílico del ácido 3,4,5-tri-*O*-acetil-gálico (18).



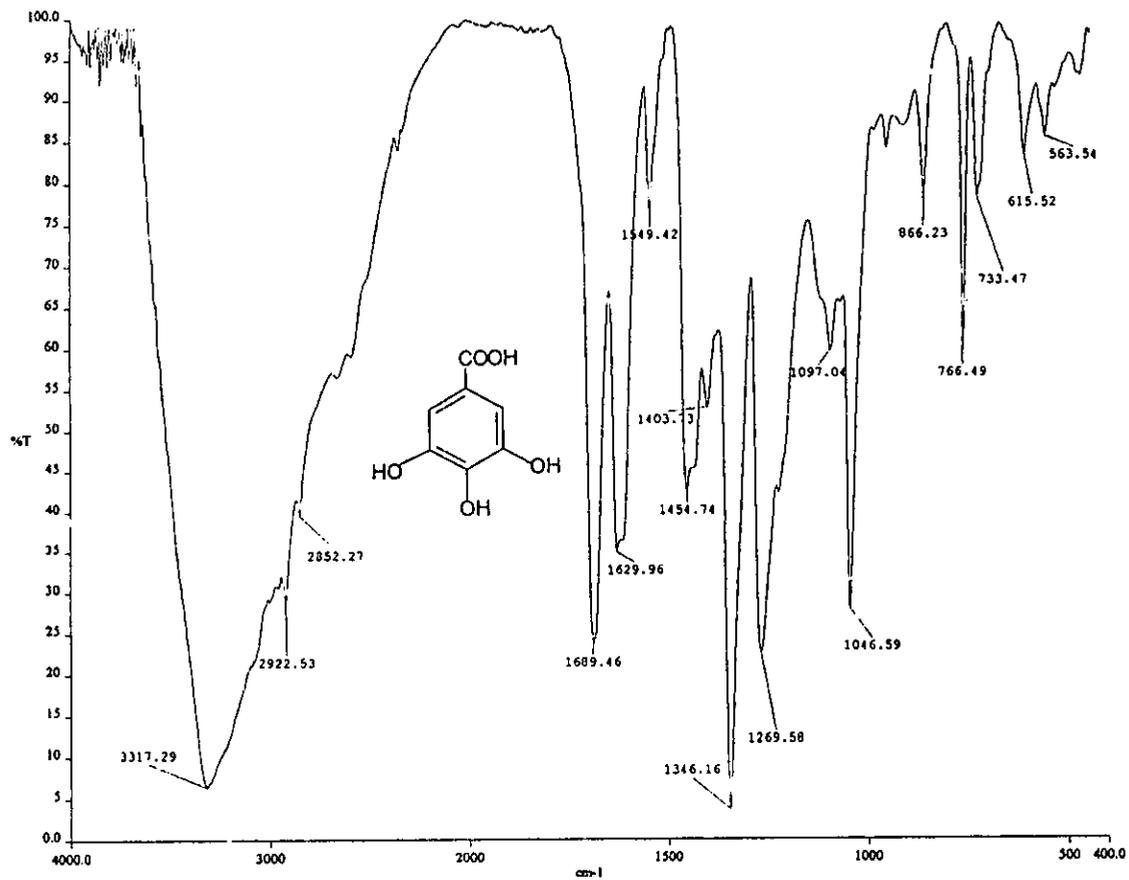
Espectro 9. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del éster metílico del ácido 3,4,5-tri-*O*-acetil-gálico (18).



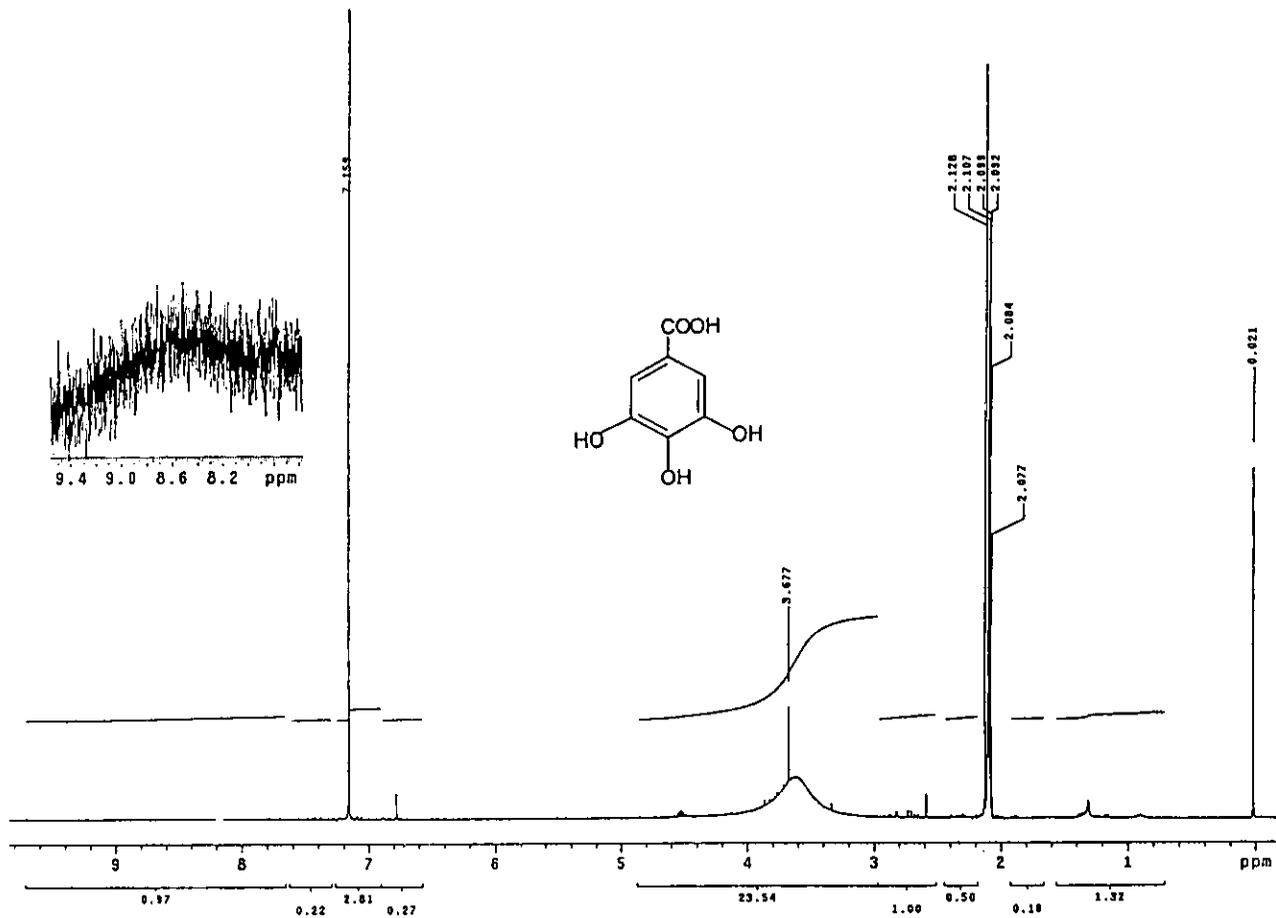
Espectro 10. Espectro de masas del éster metílico del ácido 3,4,5-tri-*O*-acetil-gálico (18).



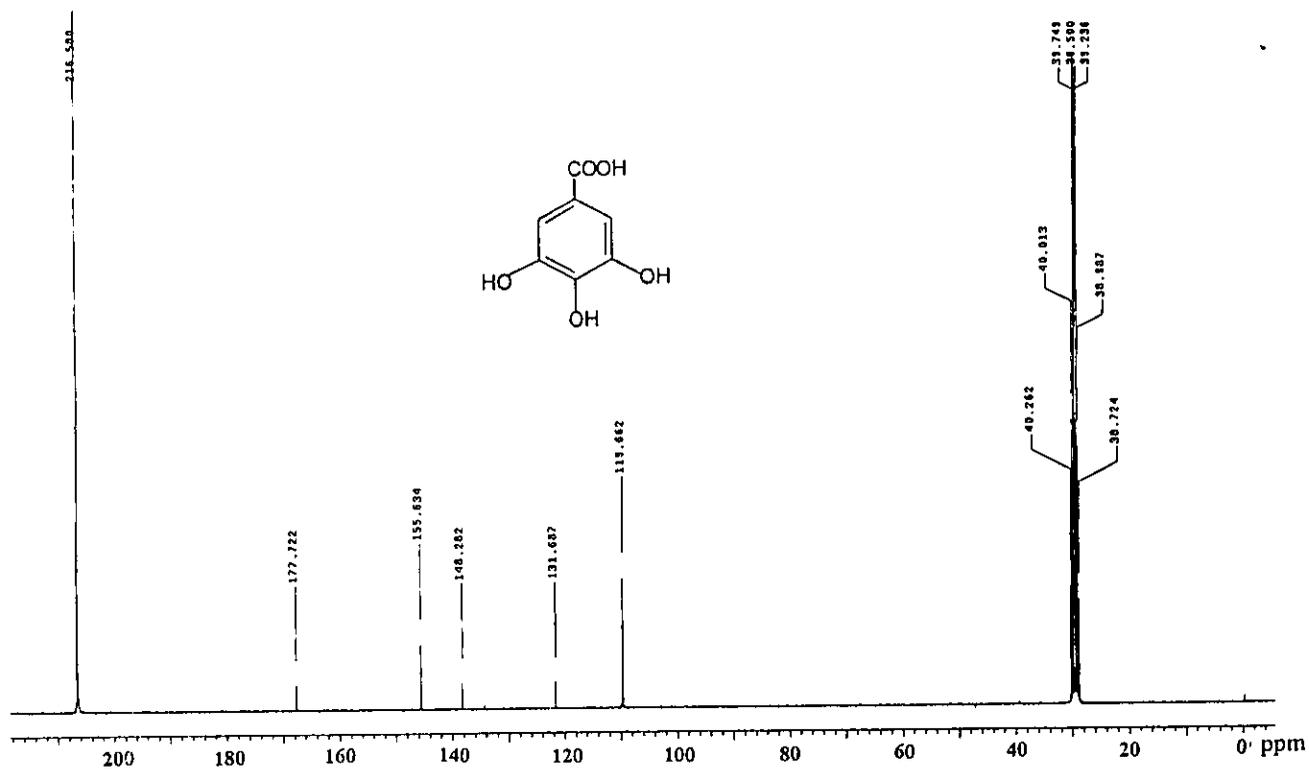
**Espectro 11.** Espectro en el UV del ácido gálico (19).



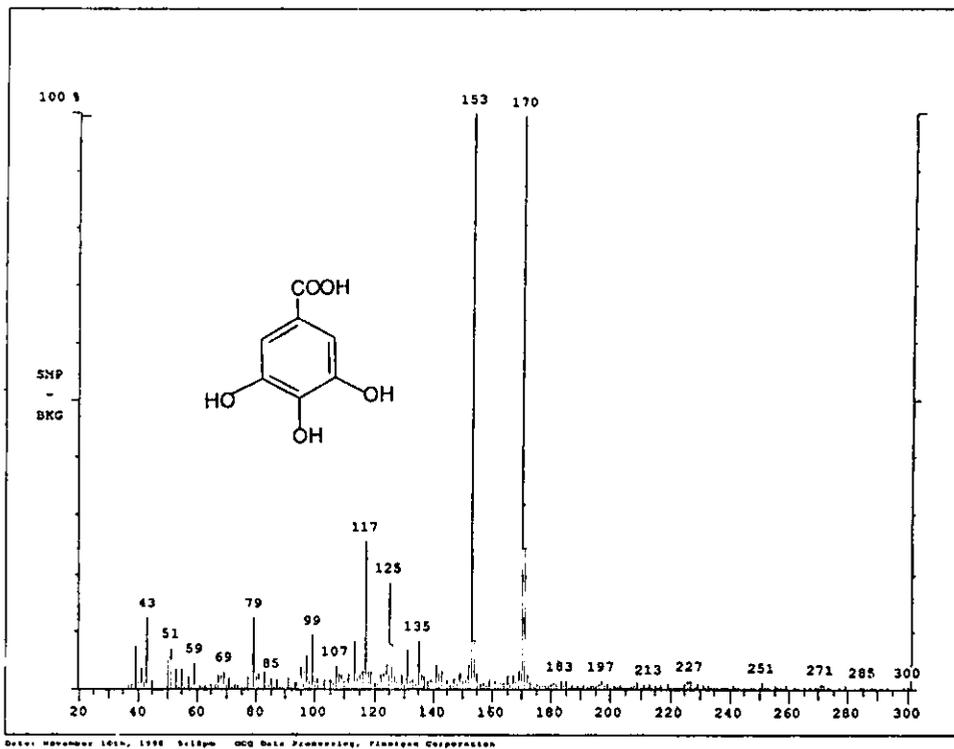
**Espectro 12.** Espectro en el IR del ácido gálico (19).



**Espectro 13.** Espectro de RMN $^1\text{H}$  (300 MHz, acetona- $d_6$ ) del ácido gálico (19).



Espectro 14. Espectro de RMN<sup>13</sup>C (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) del ácido gálico (19).



Espectro 15. Espectro de masas del ácido gálico (19).