

00570



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

---

---

FACULTAD DE QUIMICA

(-) EPI - CATEQUINA, PRINCIPIO CON ACTIVIDAD ANTIPROTOZOARIA *IN VITRO* CONTRA *Entamoeba histolytica* Y *Giardia lamblia* OBTENIDO DE LAS PARTES AEREAS DE *Rubus coriifolius* FOCKE (ROSACEAE).

**T E S I S**

PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRIA EN CIENCIAS QUIMICAS EN  
QUIMICA FARMACEUTICA  
(FARMACIA)

P R E S E N T A:

Q.F.B. ALMA DELIA ALANIS RIOS.



MEXICO, D.F.

284734 2000



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.

## JURADO ASIGNADO

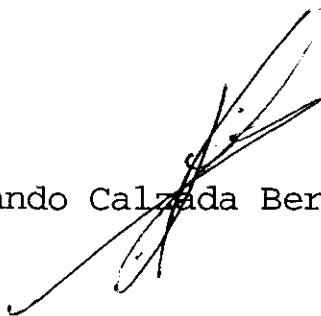
Presidente: Dr. Rafael Castillo Bocanegra  
Vocal: Dr. Roberto Cedillo Rivera  
Secretario: Dr. Rogelio Pereda Miranda  
Primer suplente: Dr. Leovigildo Quijano  
Segundo suplente: Dr. Andrés Navarrete Castro

Sustentante:



Q.F.B. Alma Delia Alanís Ríos

Asesor:



Dr. Fernando Calzada Bermejo

## **Sitio de realización de la tesis**

Unidad de Investigación Médica de Farmacología de  
Productos Naturales, Hospital de Pediatría, CMN S XXI,  
IMSS.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo financiero a través del proyecto 28328 N otorgado para el trabajo experimental, la impresión de esta tesis y la beca mensual.

Agradezco al Dr. Roberto Cedillo Rivera por su cooperación, preocupación y dedicación en obtener los resultados de las pruebas antiprotzoarias conjuntamente con el personal que trabaja en el laboratorio de Parasitología, Hospital de Pediatría, CMN SXXI.

Agradezco a la Q. Mariana Meckes Fisher Jefe de la Unidad de Investigación Médica en Farmacología de Productos Naturales por permitirme laborar en su unidad.

Agradezco a los miembros del jurado designado por aceptar ser los revisores haciéndole al manuscrito valiosos comentarios y observaciones.

Agradezco a todas las personas que de un modo u otro colaboraron en la realización de la tesis.

Agradezco en especial al Dr. Fernando Calzada Bermejo mi asesor de tesis por mostrarme las herramientas necesarias para poder lograr llegar a la meta, por su paciencia, por su apoyo, por dedicarme tiempo, por motivarme a aprender cada día más y por guiarme en el camino de la investigación.

Gracias a Dios por todo lo que hace por mí.

## DEDICATORIAS

A mis hijas Karen Ailed y Yaksi Carolina; esperando que esta tesis les sirva de aliciente para que se superen día con día, las amo.

A mis padres; ya que gracias a su comprensión, ayuda y apoyo he logrado llegar hasta donde estoy, muchas gracias, los quiero mucho.

A mis hermanos; por que de alguna manera me ayudaron a que terminara mi tesis, sigan adelante.

A mis amigas Claudia I., Carmen y Claudia V., siempre contarán conmigo para todo.

A todas las personas que forman y formaron parte de mi vida, gracias.

## INDICE

Lista de Espectros.....	iv
Lista de Esquemas.....	vi
Lista de Figuras.....	vi
Lista de Cuadros.....	vii
Resumen.....	x
Abstract.....	xii
Lista de abreviaturas.....	xiv
<b>I INTRODUCCION.....</b>	<b>1</b>
<b>II ANTECEDENTES.....</b>	<b>10</b>
II.1 Generalidades de <i>Rubus coriifolius</i> Focke.....	10
II.2 Generalidades de los Flavan-3-oles.....	24
<b>III OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>41</b>
III.1 Objetivos particulares.....	41
<b>IV HIPOTESIS.....</b>	<b>42</b>
<b>V PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>43</b>
V.1 Material vegetal.....	43
V.2 Preparación de los extractos vegetales en pequeña escala para el proceso de selección.....	44
V.3 Ensayo biológico.....	45



V.3.1	Protozoarios.....	45
V.3.2	Determinación antiprotozoaria.....	46
V.4	Análisis cromatográfico.....	47
V.5	Preparación del extracto CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH de <i>R.</i> <i>coriifolius</i> .....	49
V.5.1	Fraccionamiento del extracto activo de <i>R.</i> <i>coriifolius</i> .....	49
V.5.2	Separación de la fracción (F4) con mayor actividad contra <i>E. histolytica</i> .....	50
V.5.2.1	Obtención de la (-) epicatequina <b>51</b> y la (+) catequina <b>50</b> .....	53
V.5.2.2	Obtención del nigaichigósido F1 ( <b>5</b> ).....	54
V.5.2.3	Obtención del β-D-glucósido de β-sitosterol <b>36</b> .....	55
V.5.2.4	Obtención de la hiperina <b>302</b> .....	55
V.5.3	Separación de la fracción con mayor actividad (F5) contra <i>G. lamblia</i> .....	56
V.5.3.1	Obtención de la glucosa <b>303</b> .....	58
V.5.3.2	Obtención del ácido gálico <b>304</b> y el ácido elágico <b>305</b> .....	58
V.6	Caracterización de los compuestos aislados.....	59

V.6.1 Equipos utilizados.....	59
V.6.2 Obtención de derivados.....	60
V.6.2.1 Obtención de derivados metilados.....	60
V.6.2.2 Obtención de derivados acetilados.....	61
V.6.2.3 Hidrólisis ácida.....	62
<b>VI RESULTADOS.....</b>	<b>63</b>
VI.1 Estudio fitoquímico de las partes aéreas de <i>R. coriifolius</i> .....	65
VI.2 Identificación de los compuestos aislados de <i>R. coriifolius</i> .....	66
VI.2.1 Identificación de la (-) epicatequina <b>51</b> y la (+) catequina <b>50</b> .....	67
VI.2.2 Identificación del nigaichigósido F1 ( <b>5</b> ).....	78
VI.2.3 Identificación de la hiperina <b>302</b> .....	84
VI.2.4 Identificación del ácido gálico <b>304</b> , el ácido elágico <b>305</b> y el $\beta$ -D-glucósido de $\beta$ -sitosterol <b>36</b> .....	89
VI.3 Resultados obtenidos durante la determinación de la actividad antiprotozoaria del extracto, las fracciones y compuestos aislados de las partes aéreas de <i>Rubus coriifolius</i> .....	94

VII CONCLUSIONES.....	96
VIII APENDICES.....	99
IX BIBLIOGRAFIA.....	128

### Lista de Espectros

Espectro 1. Espectro en el IR de la (-) epicatequina....	73
Espectro 2. Espectro en el IR de la (+) catequina.....	73
Espectro 3. Espectro en el UV de la (-) epicatequina....	74
Espectro 4. Espectro en el UV de la (+) catequina.....	74
Espectro 5. Espectro de Masas modalidad FAB <sup>+</sup> de la (-) epicatequina.....	75
Espectro 6. Espectro de Masas modalidad FAB <sup>+</sup> de la (+) catequina.....	75
Espectro 7. Espectro de RMN <sup>1</sup> H de la (-) epicatequina....	76
Espectro 8. Espectro de RMN <sup>1</sup> H de la (+) catequina.....	76
Espectro 9. Espectro de RMN <sup>13</sup> C de la (-) epicatequina...	77
Espectro 10. Espectro de RMN <sup>13</sup> C de la (+) catequina....	77
Espectro 11. Espectro en el IR del nigaichigósido F1....	82
Espectro 12. Espectro de Masas modalidad FAB <sup>+</sup> del nigaichigósido F1.....	83

Espectro 13. Espectro de RMN <sup>1</sup> H del nigaichigósido F1....	83
Espectro 14. Espectro de RMN <sup>13</sup> C del nigaichigósido F1...	83
Espectro 15. Espectro en el IR de la hiperina .....	86
Espectro 16. Espectro de Masas modalidad FAB <sup>+</sup> de la hiperina.....	86
Espectro 17. Espectro de RMN <sup>1</sup> H de la hiperina.....	87
Espectro 18. Espectro de RMN <sup>13</sup> C de la hiperina.....	87
Espectro 19. Espectro de RMN <sup>1</sup> H del ácido gálico.....	90
Espectro 19a. Espectro de RMN <sup>13</sup> C del ácido gálico.....	90
Espectro 20. Espectro de RMN <sup>1</sup> H del ácido elágico.....	91
Espectro 20a. Espectro de RMN <sup>13</sup> C del ácido elágico.....	91
Espectro 21. Espectro en el IR del β-D-glucósido de β-sitosterol.....	92
Espectro 21a. Espectro de RMN <sup>1</sup> H del β-D-glucósido de β-sitosterol.....	93
Espectro 21b. Espectro de RMN <sup>13</sup> C del β-D-glucósido de β-sitosterol.....	93

## Lista de Esquemas

Esquema 1. Extracción y fraccionamiento del extracto CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH de las partes aéreas de <i>Rubus coriifolius</i> Focke.....	51
--	----

## Lista de Figuras

Figura 1. <i>Rubus coriifolius</i> Focke.....	11
Figura 2. Estructura base de los flavan-3-oles.....	25
Figura 3. Reacción de los flavan-3-oles con ácidos minerales.....	25
Figura 4. Biogénesis de los flavan-3-oles.....	34
Figura 5. Reacción de metilación.....	60
Figura 6. Reacción de acetilación.....	61
Figura 7. Reacción de hidrólisis.....	62

## Lista de Cuadros

Cuadro 1. Fármacos de elección para tratar la amibiasis y la giardiosis.....	3
Cuadro 2. Plantas medicinales utilizadas en los altos de Chiapas para el tratamiento de padecimientos gastrointestinales.....	6
Cuadro 3. Especies de <i>Rubus</i> localizadas en México....	12
Cuadro 4. Compuestos aislados de otras especies del género <i>Rubus</i> .....	14
Cuadro 5. Clasificación de los flavan-3-oles según su patrón de hidroxilación y estereoquímica en los carbonos 2C y 3C.....	26
Cuadro 6. Familias donde se han encontrado flavan-3-oles.....	31
Cuadro 7. Especies selectas de la flora medicinal mexicana que fueron recolectadas para determinar su potencial antiprotozoario.....	44
Cuadro 8. Agentes cromógenos utilizados para los análisis cromatográficos en capa fina.....	48

Cuadro 9. Resumen del fraccionamiento mediante cromatografía en columna abierta de la fracción F4.....	52
Cuadro 10. Compuestos aislados de las fracciones secundarias F4-1/F4-4.....	53
Cuadro 11. Programa de elución utilizado en la CLAR para separar la fracción F4-1.....	54
Cuadro 12. Programa de elución utilizado en la CLAR para separar la fracción F4-4.....	56
Cuadro 13. Resumen del fraccionamiento mediante cromatografía en columna abierta de la fracción F5.....	57
Cuadro 14. Compuestos aislados de las fracciones secundarias (F5-1)/(F5-4).....	57
Cuadro 15. Actividad antiprotozoaria de especies selectas de la flora medicinal mexicana.....	64
Cuadro 16. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la (-) epicatequina <b>51</b> ...	70
Cuadro 17. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la (+) catequina <b>50</b> .....	71

Cuadro 18. Desplazamientos químicos de RMN <sup>1</sup> H y <sup>13</sup> C de la (-) epicatequina <b>51</b> y la (+) catequina <b>50</b> .....	72
Cuadro 19. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del nigaichigósido F1 <b>5</b> .....	81
Cuadro 20. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la hiperina <b>302</b> .....	88
Cuadro 21. Actividad antiprotozoaria <i>in vitro</i> contra <i>E. histolytica</i> y <i>G. lamblia</i> de los compuestos puros.....	95
Cuadro A-1. Compuestos aislados de varias especies de <i>Rubus</i> .....	100
Cuadro A-2. Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales.....	107
Cuadro A-3. Fórmulas de algunos azúcares.....	127



## RESUMEN

Como parte de un estudio de plantas de los Altos de Chiapas utilizadas para tratar problemas gastrointestinales, el presente proyecto de tesis de maestría describe la investigación química y la evaluación del potencial antiprotozoario de los compuestos aislados de la especie *Rubus coriifolius* Focke (Rosaceae).

La selección de la especie vegetal objeto de estudio se realizó con base en los resultados obtenidos en la determinación de la actividad antiprotozoaria *in vitro* contra los trofozoitos de *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia*, de los extractos orgánicos de las seis plantas seleccionadas mediante un criterio etnomédico.

El fraccionamiento biodirigido del extracto obtenido de las partes aéreas de *R. coriifolius*, empleando como bioensayo de seguimiento la actividad antiprotozoaria contra *E. histolytica* y *G. lamblia*, así como técnicas de separación y purificación (la cromatografía en columna abierta y la cromatografía de líquidos de alta resolución), condujeron al aislamiento de dos flavan-3-

Cuadro 18. Desplazamientos químicos de RMN <sup>1</sup> H y <sup>13</sup> C de la (-) epicatequina <b>51</b> y la (+) catequina <b>50</b> .....	72
Cuadro 19. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del nigaichigósido Fl <b>5</b> .....	81
Cuadro 20. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la hiperina <b>302</b> .....	88
Cuadro 21. Actividad antiprotozoaria <i>in vitro</i> contra <i>E. histolytica</i> y <i>G. lamblia</i> de los compuestos puros.....	95
Cuadro A-1. Compuestos aislados de varias especies de <i>Rubus</i> .....	100
Cuadro A-2. Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales.....	107
Cuadro A-3. Fórmulas de algunos azúcares.....	127

oles [(-) epicatequina **51** y (+) catequina **50**], un triterpeno pentacíclico (nigaichigósido F1 **5**), un esteroide ( $\beta$ -D-glucósido de  $\beta$ -sitosterol **36**), un flavonol (hiperina **302**), dos polifenoles (ácido gálico **304** y ácido elágico **305**) y un azúcar (glucosa **303**).

De los ocho compuestos aislados de *R. coriifolius*, la (-) epicatequina fue el compuesto más activo contra ambos protozoarios. Los valores de  $CI_{50}$  calculados a partir de los resultados encontrados fueron de 1.92  $\mu\text{g/mL}$  para *E. histolytica* y de 1.64  $\mu\text{g/mL}$  para *G. lamblia*.

La elucidación estructural de los productos naturales aislados se realizó mediante la aplicación de métodos químicos, espectroscópicos y espectrométricos.

## ABSTRACT

As part of our effort to discover natural products from the highlands of Chiapas plants with a potential use to treat digestive disorders, the chemistry and the antiprotozoal properties of isolated compounds from *Rubus coriifolius* Focke (Rosaceae) were afforded for this thesis.

The selection of this plant was decided after considering the antiprotozoal properties *in vitro* against *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* trophozoites, by organic extract in a previous pharmacological screening with six medicinal plants used in the highlands of Chiapas.

Investigation on the aerial parts of *Rubus coriifolius* led to the isolation of two flavan-3-ols [(*-*) epicatechin **51** and (*+*) catechin **50**], one terpenoid (nigaishigoside F1 **5**), one sterol ( $\beta$ -D-glucoside of  $\beta$ -sitosterol **36**), one flavonol (hyperine **302**), two polyphenols (gallic acid **304** and ellagic acid **305**) and so a sugar (glucose **303**).

The (-) epicatechin was the most active compound against both protozoans ( $IC_{50}$  = 1.92  $\mu$ g/mL for *E. histolytica* and 1.64  $\mu$ g/mL for *G. lamblia*).

The isolated compounds were structurally identified by a combination of chemical and spectroscopic methods.

## Lista de abreviaturas

A-1	Apéndice 1
A-2	Apéndice 2
Ac.	Ácido
Arab	Arabinosa
cm	Centímetro
CI <sub>50</sub>	Concentración inhibitoria del cincuenta porciento
CoA	Coenzima A
CIM	Concentración inhibitoria mínima
CE <sub>50</sub>	Concentración efectiva cincuenta
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución
[ $\alpha$ ]D	Rotación óptica
DC	Dicroísmo circular
DMSO-d <sub>6</sub>	Dimetil sulfóxido deuterado
d	Doblete
dd	Doble de doble
DPN	Diccionario de Productos Naturales
$\delta_C$	Desplazamiento químico de carbono
$\delta_H$	Desplazamiento químico de hidrógeno
EM-FAB- $\gamma^+$	Espectrometría de masas-bombardeo rápido de átomos, negativo o positivo
$\epsilon$	Coefficiente de extensión
<i>et al</i>	Colaboradores
F	Fracción
FM	Fórmula molecular

g	Gramo
G	Galoil
Glu	Glucosa
Gluco	Glucurónido
Gal	Galactosa
Glc	Glicósido
Hz	Herz
IR	Infrarojo
int. rel	Intensidad relativa
$J$	Constante de acoplamiento
Kg	Kilogramo
L	Litro
$\lambda_{\max}$	Longitud de onda máxima
m	Metro
$\mu\text{g/mL}$	Microgramo por mililitro
$\mu\text{M}$	Micromol
M	Mol
$\mu\text{L}$	Microlitro
mm	Milímetro
mg	Miligramo
min	Minuto
m/z	Relación masa carga
$[\text{M}+\text{H}]^+$	Ion molecular más hidrógeno
m	Multiplete
$[\text{M}+\text{Na}]^+$	Ion molecular más sodio
$[\text{M}-\text{glu}]^+$	Ion molecular menos glucosa
MHz	Mega herz
nm	Nanómetro

NP/PEG	Ester del ácido $\beta$ etil amina difenilbórico/ Polietilenglicol
NBA	Alcohol nitrobencílico
PRD <sub>50</sub>	Concentración para reducir las plaquetas a un 50%
ppm	Partes por millón
p.f.	Punto de fusión
PM	Peso molecular
RMN <sup>1</sup> H	Resonancia magnética nuclear protónica
RMN <sup>13</sup> C	Resonancia magnética nuclear de carbono trece
Ram	Ramnosa
Rut	Rutinosa
s	Singulete
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta
uma	Unidades de masa atómica
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana
Xil	Xilosa



## I INTRODUCCION

La disentería amibiana y la giardiosis son enfermedades causadas por los protozoarios intestinales *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia*, respectivamente. Estas enfermedades son propias de países en vías de desarrollo y son causa de altos índices de morbilidad y mortalidad; ambas parasitosis son el resultado de la desnutrición, condiciones sanitarias pobres donde hay hacinamiento y mal manejo de aguas; son más frecuentes en regiones tropicales, climas cálidos y templados (Barreda et al., 1999).

A nivel mundial se considera que del 10 al 20% de la población padece alguna forma de amibiasis, siendo la disentería amibiana o amibiasis intestinal la más importante (Barreda et al., 1999).

En el caso particular de México, durante los dos últimos años 1998-99 se reportaron un promedio de 549,395 casos de amibiasis intestinal, cabe destacar que en la República Mexicana los estados con mayor incidencia de amibiasis son Chiapas, Hidalgo, Estado de México, Puebla,

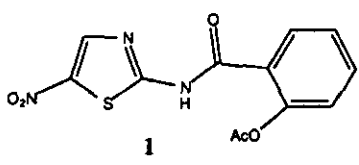
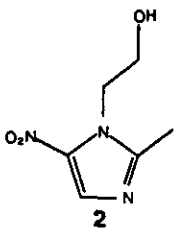
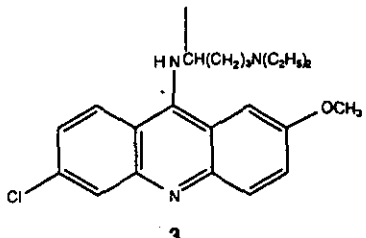
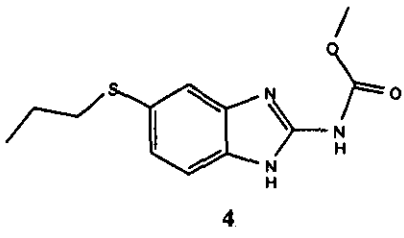
Sinaloa y Veracruz (DGE, 1999; Barreda et al., 1999).

En el caso de la giardiosis se considera una prevalencia que varía entre el 1 y el 50% dependiendo de su localización geográfica, disponibilidad de servicios sanitarios y hábitos higiénicos de la población (Katelaris et al., 1994). En México se reportaron un promedio de 39,497 casos de giardiosis en los dos últimos años y los estados con mayor incidencia son el Distrito Federal, Guerrero, Estado de México, Sinaloa, Veracruz y Yucatán (DGE, 1999; 2000; Barreda et al., 1999).

Para el tratamiento de la amibiasis intestinal y la giardiosis actualmente se usan como fármacos de elección la nitazoxanida **1**, metronidazol **2** y sus derivados. En el caso de la giardiosis además de los mencionados también se usa quinacrina **3** y albendazol **4** (Cuadro 1). Sin embargo, en algunos casos el uso de estos fármacos está condicionado ya que por una parte causan reacciones secundarias que a veces obliga al abandono del tratamiento con el consecuente fracaso terapéutico, y por la otra, se ha descrito que son tóxicos (Romero-Cabello et al., 1995). En el caso particular del metronidazol se sabe que es

potencialmente mutagénico (Shukla y Das, 1988) y hay reportes respecto a la resistencia que desarrollan las cepas de *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica* (Goodman et al., 1990, Koch-Weser y Goldman; 1980, Beck y Davis, 1983; Linquist et al., 1996; Sousa y Poiares, 1999; Wassmann et al., 1999).

Cuadro 1.- Fármacos de elección para tratar la amibiasis y la giardiosis.

Estructura	Estructura
 <p style="text-align: center;">1</p>	 <p style="text-align: center;">2</p>
 <p style="text-align: center;">3</p>	 <p style="text-align: center;">4</p>

Por lo antes expuesto, es importante continuar con la búsqueda de nuevas moléculas antiprotozoarias con

potencial terapéutico, libres de efectos colaterales y útiles para tratar la disentería y la giardiosis.

En este sentido el estudio de las plantas medicinales pueden ser el punto de partida para el hallazgo de compuestos útiles para el desarrollo de nuevos fármacos.

Cabe destacar que en la actualidad se emplean nuevas estrategias apoyadas en una gran variedad de técnicas en la búsqueda de nuevos principios bioactivos (Cordell, 1995; Phillipson, 1995; Cragg et al., 1997; Hostettmann et al., 1997).

En el caso particular de la Unidad de Investigación Médica de Farmacología en Productos Naturales, se manejan algunas líneas de investigación en forma permanente, destacándose en los últimos seis años, la obtención de compuestos con actividad antiprotozoaria a partir de plantas medicinales provenientes de los altos de Chiapas (Alanís, 1996; Calzada et al., 1995; 1998a; 1998b; 1999a; 1999b; Meckes et al., 1995; 1996; 1997; 1999).

Las plantas medicinales investigadas se seleccionaron mediante el criterio etnomédico y el estudio de las mismas se hace por un método fitoquímico biodirigido (Hamburger y

Hostettmann, 1991; Phillipson, 1995; Cordell, 1995; Hostettmann et al., 1997, Mata, 1999; Calzada, 2000).

En las comunidades indígenas tzotziles y tzetzales de los altos de Chiapas, las enfermedades asociadas con procesos diarreicos (diarrea aguda, diarrea con sangre y diarrea con moco) son un problema de salud y son 38 plantas medicinales las que con mayor frecuencia utilizan los pobladores de la zona para tratar este tipo de enfermedades gastrointestinales. Como se puede observar en el Cuadro 2, nueve de estas especies son empleadas para tratar la diarrea con sangre, dos para tratar diarrea aguda, ocho para tratar diarrea con moco y 18 para tratar dolores abdominales (Berlin y Berlin, 1996).

De las 38 de especies mencionadas se destaca a *Rubus corrifolius* debido a que es la sexta planta más utilizada por estas etnias para tratar los padecimientos gastrointestinales (Berlin y Berlin, 1996) y de la cual recientemente se demostraron sus propiedades antiprotozoarias (Calzada et al., 1998a).

Cuadro 2.- Plantas medicinales utilizadas en los altos de Chiapas para el tratamiento de padecimientos gastrointestinales.

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN	USOS	PARTE USADA
<i>Acacia angustissima</i> (Fabaceae)	Timbrillo, Hizache, Me' ja',	Diarrea con sangre y diarrea con moco	Raíz *
<i>Ageratina ligustrina</i> (Asteraceae)	Sakil ch'a te', Xuch'il vomol	Diarrea, dolor de estómago, dolor abdominal e inflamación intestinal	Hoja ***
<i>A. pringlei</i> (Asteraceae)	Pom ch'a te', Ox yoket vomol	Diarrea y dolor abdominal	Hoja **
<i>Allium sativatum</i> (Liliaceae)	Ajo, Axus	Distensión abdominal, tos, hipertensión arterial y desórdenes digestivos	Bulbo ***
<i>Arthrostemum ciliatum</i> (Melastomataceae)	Paj um'wamal, Majk' al aka	Vómito y dolor abdominal	Hoja * tallo
<i>Baccharis serraefolia</i> (Asteraceae)	Valak' xik', Wara xet	Diarrea +	Hoja ***
<i>B. trinervis</i> (Asteraceae)	Valak' xik', Sakil xijch'	Diarrea +	Hoja ***
<i>B. vaccinioides</i> (Asteraceae)	Mes te'	Diarrea con sangre, tos +	Hoja tallo ***
<i>Borreria laevis</i> (Rubiaceae)	Buluk' sit, Ve'el buluk', Votom wamal	Diarrea aguda, diarrea con moco y desnutrición en niños	Hoja** tallo raíz
<i>Byrsonima crassifolia</i> (Malpigiaceae)	Nanche, Latzin, Nantzi' ch'o	Diarrea con sangre, diarrea y para que salgan dientes fuertes	Corteza ***
<i>Calliandra grandiflora</i> (Fabaceae)	Ch'ich'ni', Xaxib pukuj, Tzajal ch'ich'ni'	Diarrea con sangre, infección en boca y dientes, tos y hemorragia en nariz	Raíz*** corteza hojas flores

Etnia donde es utilizada la planta \*Tzetzal, \*\*Tzotzil y \*\*\*Tzotzil y Tzetzal  
+Otros trastornos gastrointestinales.

Cuadro 2.- Plantas medicinales utilizadas en los altos de Chiapas para el tratamiento de padecimientos gastrointestinales (continuación).

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN	USOS	PARTE USADA
<i>C. houstoniana</i> (Fabaceae)	Ch' ich' ni'	Diarrea con sangre infección en boca y dientes, tos y hemorragia en nariz	Raíz*** corteza hojas flores
<i>Chenopodium ambrosioides</i> (Chenopodiaceae)	Epazote, Koko'non, Kajk'an	Expulsar lombrices y diarrea	Hojas*** tallo raíz
<i>Cissampelos pareira</i> (Menispermaceae)	Voy chij momol, Voy chij, Tz'I'lel, Yaxal nich vomol, Kurudina, Kururina	Diarrea con moco, +, trastornos del sistema reproductivo femenino, antihemorrágico, espasmolítico y antihelmíntico	Raíz hoja *
<i>Crataegus pubescens</i> (Rosaceae)	Ch'ix te', K'at'ix	Diarrea con sangre +	Raíz*** hoja corteza
<i>Dahlia imperialis</i> (Asteraceae)	Ch'olov, Ch'oliw Ch'olep	Dolor epigástrico y problemas urinarios	Tallo **
<i>Foeniculum vulgare</i> (Umbelliferae)	Hinojo, Inaja, Injo	Antiespasmódico, digestivo y vermífugo +	Hojas raíz **
<i>Fushia splendens</i> (Onagraceae)	Tzaja nich wamal, Tzaja kampana nichim	Diarrea, tos, escalofrío y edema	Fruto *
<i>Helianthemum glomeratum</i> (Cistaceae)	Tan vomol, Tan bak wamal, K'anal nich wach'	Diarrea, dolor abdominal y expulsar lombrices +	Raíz hoja ***
<i>Lantana camara</i> (Verbenaceae)	Ch'il vet, Ch'il wet, Ch'ilch'il wajch'	Diarrea, tos e infecciones del tracto urinario	Hoja raíz ***
<i>L. hispida</i> (Verbenaceae)	Bick' tal, Ch'ili vet'	Diarrea, tos e infecciones del tracto urinario	Hoja ** raíz

Etnia donde es utilizada la planta \*Tzetzal, \*\*Tzotzil y \*\*\*Tzotzil y Tzetzal  
+Otros trastornos gastrointestinales.

Cuadro 2.- Plantas medicinales utilizadas en los altos de Chiapas para el tratamiento de padecimientos gastrointestinales (continuación).

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN	USOS	PARTE USADA
<i>Lepechinia schiedeana</i> (Labiatae)	Tzotzil vomol, Yaxal jomol, Na p'ilix	Diarrea, dolor abdominal y diarrea aguda +	Hoja **
<i>Lepidium virginicum</i> (Cruciferae)	Panalillo, Pich' tuluk', Sakil jomol	Diarrea con moco dolor abdominal, diarrea y diarrea aguda	Hoja tallo *
<i>Lobelia laxiflora</i> (Campanulaceae)	Tzajal nich wamal Paj nich te', Turesna wamal, Prima najk	Distensión abdominal y diarrea con moco +	Raíz * hoja tallos jóvenes
<i>Micropleura renifolia</i> (Apiaceae)	Kerem vomol, Biki chuch wamal, Bak pox wamal, Yaxal ch'o wamal	Obstrucción intestinal, dolor abdominal, diarrea, distensión abdominal y vómito	Raíz *
<i>Nicotiana tabacum</i> (Solanaceae)	Miy, Moy, Anjel, Bankilal	Dolor abdominal, dolor epigástrico, diarrea y distensión abdominal	Hoja secas ***
<i>Ocimum selloi</i> (Labiatae)	Xulem vomol, Baket chitan wamal, Yax wamal	Dolor abdominal, dolor epigástrico y distensión abdominal	Hoja **
<i>Psidium guajava</i> (Myrtaceae)	Guayaba, Potoj Pata, Potó, Potov	+	Hoja*** raíz corteza
<i>P. guinesse</i> (Myrtaceae)	Pajal potoj, Pata te', Lumil pata, Paxchak'	Diarrea, diarrea con sangre y diarrea con moco	Hoja *** raíz corteza
<i>Rubus coriifolius</i> (Rosaceae)	Zarzamora silvestre, Makum, Makom, Pili zat makum, Tzajal makum	Diarrea, con sangre, con moco, debilidad infección de dientes y garganta +	Raíz Planta entera *

Etnia donde es utilizada la planta \*Tzetzal, \*\*Tzotzil y \*\*\*Tzotzil y Tzetzal  
+Otros trastornos gastrointestinales.



Cuadro 2.- Plantas medicinales utilizadas en los altos de Chiapas para el tratamiento de padecimientos gastrointestinales (continuación).

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN	USOS	PARTE USADA
<i>Smallanthus maculatus</i> (Asteraceae)	K'ail, Balan k'in Mirasol, P'ilix momol, Mukil k'ail, Bik'tal	Dolor abdominal, dolor epigástrico, diarrea y menstruación	Hoja raíz **
<i>Sonchus oleraceus</i> (Asteraceae)	Chicoria, Chikáryo, Kulix pimil	Diarrea con sangre	Raíz **
<i>Stevia ovata</i> (Asteraceae)	Tzajal nich jomol, Ch'ail vomol, Nak'obal us, Ch'a te' nichim	Dolor abdominal, diarrea, contusiones y heridas	Hoja ** tallo raíz
<i>Tagetes filifolia</i> (Asteraceae)	Chamomilo, Manzanilla, Kulentu jos, Tzitz ak wamal	Diarrea, dolor abdominal, vómito, tos y dolor epigástrico	Hoja raíz *
<i>T. lucida</i> (Asteraceae)	Tzitz uch, K'anal nich wamal, Pimento wamal, Perikona vomol	Dolor abdominal, distensión abdominal, tos, diarrea y vómito	Hoja raíz ***
<i>Tithonia diversiflora</i> (Asteraceae)	K'ail, Ch'ajkil, P'ilix, Neek ch'ate', Antzil k'ail	Dolor abdominal, diarrea, tos y para el aire	Hoja *
<i>Verbena carolina</i> (Verbenaceae)	Yax uran, Nich momol, Pem k'ulub, Sakil yaman	Tos, diarrea, diarrea con sangre, con moco y fiebre	Raíz*** tallo hoja
<i>V. litoralis</i> (Verbenaceae)	Berbena, Yaxal tob, Tz'I'lel, Yakan k'ulub wamal	Dolor abdominal, dolor epigástrico, diarrea, diarrea con moco y con sangre	Raíz tallo hoja ***

Etnia donde es utilizada la planta \*Tzetzal, \*\*Tzotzil y \*\*\*Tzotzil y Tzetzal  
+Otros trastornos gastrointestinales.

## II ANTECEDENTES

### II.1 Generalidades de *Rubus coriifolius* Focke.

*Rubus coriifolius* es una planta de la familia Rosaceae, familia constituida por 100 géneros y 2000 especies en el mundo (Evans, 1991). Las plantas de esta familia pueden ser hierbas, arbustos o árboles, a las que en México se les conoce con los nombres de zarzamoras, frambuesas, "Situni", "Coatlamiti" y "Makum".

En particular, el género *Rubus* esta constituido por 250 especies. México cuenta con 28 especies (Cuadro 3); algunas son nativas y el fruto es comestible (Evans, 1991; Berlin y Berlin, 1995; Standley, 1922).

*R. coriifolius* (Figura 1) se encuentra distribuida desde México hasta Guatemala, en México se le localiza en los estados de Michoacán, Veracruz, Morelos y Chiapas. En este último estado la especie crece en las cañadas, en las montañas con clima lluvioso y en los bosques de pinos en zonas de climas templados a 1500-2400 m sobre el nivel del mar (Breedlove, 1986; Standley, 1922).



Figura 1.- *Rubus coriifolius* Focke.

Cuadro 3.- Especies de *Rubus* localizadas en México.

ESPECIES		ESPECIES	
<i>R. pumilus</i>	<i>R. adenotrichus</i>	<i>R. undeanus</i>	<i>R. fagifolius</i>
<i>R. glaucus</i>	<i>R. philyrophyllus</i>	<i>R. abundus</i>	<i>R. cymosus</i>
<i>R. eriocarpus</i>	<i>R. liebmannii</i>	<i>R. nelsonii</i>	<i>R. oligospermus</i>
<i>R. pringlei</i>	<i>R. coriifolius</i>	<i>R. palmeri</i>	<i>R. huministratus</i>
<i>R. strigosus</i>	<i>R. schiedeanus</i>	<i>R. sapidus</i>	<i>R. parviflorus</i>
<i>R. trichomallus</i>	<i>R. macrogongylus</i>	<i>R. alnifolius</i>	<i>R. neomexicanus</i>
<i>R. verae-crucis</i>	<i>R. smithii</i>	<i>R. scandens</i>	<i>R. trilobus</i>

*Rubus coriifolius* es una enredadera con tallos de 10 metros de largo, sus ramas están llenas de espinas, sus hojas son alternadas de cinco hojuelas que se extienden a lo largo (5 a 10 cm) y ancho (3 a 5 cm) del tallo, sus flores son usualmente perfectas racemosas, de color blanco o rosa, el fruto esta constituido por numerosas esferas que nacen de un receptáculo y su color va del rojo al negro, es oblongo de 2.5 cm de largo y 1 cm de ancho.

Los indígenas tzetzales conocen a *R. coriifolius* con los nombres de "MakVm, Tzajal makum, Pili sat makum y Makum", utilizan la raíz para tratar la diarrea con sangre, la planta entera contra la diarrea y la hoja contra la tos. La especie se utiliza con menos frecuencia

para el vómito, la debilidad, la infección de dientes y garganta (Rodríguez, 1996; Berlin y Berlin, 1995).

Estudios farmacológicos del extracto metanólico de *R. coriifolius* han demostrado sus propiedades antiprotozoarias (Calzada et al., 1998a) y antibacterianas (Berlin y Berlin, 1995; Meckes et al., 1995), en el primer caso el extracto resultó activo contra los protozoarios *E. histolytica* y *G. lamblia* con  $CI_{50}$  de 72.42  $\mu\text{g/mL}$  y de 77.82  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. En el segundo caso el extracto demostró efecto inhibitorio contra *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.

Cabría destacar que la decocción de la raíz o la corteza seca de los rizomas de las especies relacionadas *R. eubatos* y *R. nigrobaceus*, respectivamente son mencionadas en la Farmacopea de los Estados Unidos de Norte América y en el índice Merck como agentes antidiarreicos (Standley, 1922; Merck Index, 1989). Las especies *R. sosaeifolius*, *R. tephrodes* y *R. rosifolius* se usan para tratar la diarrea y sólo *R. tephrodes* se utiliza contra la disentería (Perry, 1998; NHI, 1974; Laurence, 1978). A *R. spectabilis*, *R. parviflorus*, *R. idaeus* y *R.*

*ursinus* se les han descrito como agentes para tratar problemas gastrointestinales, antigripales y como sedantes (Haslam, 1989; Hemingway y Laks, 1992).

Desde el punto de vista fitoquímico, la especie *R. coriifolius* no ha sido objeto de estudios previos; sin embargo, de otras especies del género se han aislado e identificado terpenoides, flavonoides, galotaninos, esteroides, cetonas, alcoholes, ácidos carboxílicos, proantocianidinas, polifenoles, un alcaloide y un policétido (Cuadro 4 y Cuadro A-1).

Cuadro 4. Compuestos aislados de otras especies del género *Rubus*.

Número	Nombre	Fuente	Referencia
5	Nigaichigósido F1	<i>R. accuminatus</i> , <i>R. ellipticus</i> , <i>R. imperalis</i> <i>R. microphyllus</i> , <i>R. multibreatus</i> , <i>R. sp.</i> , <i>R. suavissimus</i>	Zhou et al., 1992; Niero et al., 1999; Othani et al., 1991; Seto et al., 1984
6	Traquelosperogenina B	<i>R. accuminatus</i>	Zhou et al., 1992
7	Ácido 2-oxo- pomólico	<i>R.</i> <i>cochinchinensis</i>	Lien et al., 1999

Cuadro 4. Compuestos aislados de otras especies del género *Rubus* (continuación).

Número	Nombre	Fuente	Referencia
8	Ácido torméntico	<i>R. cochinchinensis</i>	Lien et al., 1999
9	Suavisimósido F1	<i>R. cochinchinensis</i> , <i>R. suavissimus</i>	Lien et al., 1999; DPN, 1994
10	2-acetilsuavisimósido F1	<i>R. cochinchinensis</i>	Lien et al., 1999
11	Tormentato de glucosilo	<i>R. ellipticus</i>	Zhou et al., 1992
12	Caji-ichigósido	<i>R. ellipticus</i> , <i>R. trifidus</i>	Zhou et al., 1992
13	Ácido 19- $\alpha$ -hidroxiasiático	<i>R. pinfaensis</i>	Cox et al., 1993; Durham et al., 1994
14	Nigaichigósido F2	<i>R. sp</i>	DPN, 1994
15	Nigaichigósido F3	<i>R. sp</i>	Seto et al., 1984; DPN, 1994
16	Sericósido	<i>R. accuminatus</i> , <i>R. ellipticus</i>	Zhou et al., 1992
17	24-Deoxisericósido	<i>R. ellipticus</i>	Zhou et al., 1992
18	Ácido rubónico	<i>R. moluccanus</i>	DPN, 1994
19	Ácido rubúsico	<i>R. moluccanus</i>	DPN, 1994
20	4-Episericósido	<i>R. multibreatus</i>	Zhou et al., 1992

Cuadro 4. Compuestos aislados de otras especies del género *Rubus* (continuación).

Número	Nombre	Fuente	Referencia
21	2,5-Dimetil-4-metoxi-2,3-dihidro-3-furanona	<i>R. arctica</i>	Glasby, 1991
22	4-hidroxi-4-metil-2-pentanona	<i>R. arcticus</i>	DPN, 1992
23	Ácido oléico	<i>R. caesius</i>	Darnley et al., 1974
24	Ácido linoléico	<i>R. caesius</i>	Darnley et al., 1974
25	Ácido linolénico	<i>R. caesius</i>	Darnley et al., 1974
26	Gosonósido F1	<i>R. chingii</i> , <i>R. foliolosus</i>	Othani et al., 1991; Seto et al., 1984; DPN, 1994
27	Gosonósido F2	<i>R. chingii</i> <i>R. foliolosus</i>	Othani et al., 1991; Seto et al., 1984; DPN, 1994
28	Gosonósido F3	<i>R. chingii</i> <i>R. foliolosus</i>	Othani et al., 1991; Seto et al., 1984; DPN, 1994
29	Gosonósido F4	<i>R. chingii</i> <i>R. foliolosus</i>	Othani et al., 1991; Seto et al., 1984; DPN, 1994
30	Gosonósido F5	<i>R. chingii</i> <i>R. foliolosus</i>	Othani et al., 1991; Seto et al., 1984; DPN, 1994



Cuadro 4. Compuestos aislados de otras especies del género *Rubus* (continuación).

Número	Nombre	Fuente	Referencia
31	Gosonósido F6	<i>R. chingii</i> <i>R. foliolosus</i>	DPN, 1994
32	Gosonósido F7	<i>R. chingii</i> , <i>R. foliolosus</i>	DPN, 1994
33	Rubusósido	<i>R. chingii</i> , <i>R. foliolosus</i> , <i>R. suavissimus</i>	Othani et al., 1991; DPN, 1994; Glasby, 1974
34	Suaviósido B	<i>R. suavissimus</i>	Othani et al., 1991; DPN, 1994
35	Suaviósido C <sub>1</sub>	<i>R. suavissimus</i>	Othani et al., 1991; DPN, 1994
36	Suaviósido D <sub>1</sub>	<i>R. suavissimus</i>	Othani et al., 1991; DPN, 1994
37	Suaviósido D <sub>2</sub>	<i>R. suavissimus</i>	Othani et al., 1991; DPN, 1994
38	Esteviol-13-O- β-D- glucósido	<i>R. suavissimus</i>	Othani et al., 1991
39	Ácido fupénzico	<i>R. chingii</i>	DPN, 1994
40	Sanguina H6	<i>R. chingii</i> , <i>R. idaeus</i> , <i>R. sp</i>	DPN, 1994
41	Campesterol	<i>R.</i> <i>crataegifolius</i>	Glasby, 1991
42	β-sitosterol	<i>R. crataefolius</i> , <i>R. ellipticus</i>	Glasby, 1991; Zhou et al., 1992
43	β-sitosterol-β- D- glucósido	<i>R. ellipticus</i>	Glasby, 1991;

Cuadro 4. Compuestos aislados de otras especies del género *Rubus* (continuación).

Número	Nombre	Fuente	Referencia
44	Colestanol	<i>R. crataefolius</i>	Glasby, 1991
45	Estigmasterol	<i>R. crataefolius</i>	Glasby, 1991
46	Ácido rubítico	<i>R. ellipticus</i>	Glasby, 1991
47	Ácido rubínico	<i>R. fruticosus</i>	Mukherjee et al., 1984
48	Ester metílico del ácido-7 $\alpha$ -acetiloxi ursólico	<i>R. fruticosus</i>	Darnley, 1974
49	Ácido ursónico	<i>R. fruticosus</i>	DPN, 1994
50	Ácido 19- $\alpha$ -hidroxiursólico	<i>R. suavissimus</i>	Darnley, 1974
51	Octaeicosanol	<i>R. ellipticus</i>	Glasby, 1991
52	Ácido octaeicosanoico	<i>R. ellipticus</i>	Glasby, 1991
53	$\beta$ -1,2,6-trigaloil-D-glucósido	<i>R. fruticosus</i> , <i>R. idaeus</i>	Haddock et al., 1982
54	$\beta$ -pentagaloil-D-glucósido	<i>R. fruticosus</i> , <i>R. idaeus</i>	Haddock et al., 1982
55	Casuarictina	<i>R. fruticosus</i> <i>R. idaeus</i> , <i>R. sp</i>	Haslam, 1989
56	Potentillina	<i>R. fruticosus</i> <i>R. idaeus</i> , <i>R. sp</i>	Hemingway y Laks, 1992
57	Pedunculagina	<i>R. fruticosus</i> <i>R. idaeus</i> , <i>R. sp</i>	Hemingway y Laks, 1992
58	Sanguina H-6	<i>R. fruticosus</i> <i>R. idaeus</i>	Haslam et al., 1989; DPN, 1994

Cuadro 4. Compuestos aislados de otras especies del género *Rubus* (continuación).

Número	Nombre	Fuente	Referencia
59	Catequina-4- $\alpha$ -epicatequina	<i>R. fruticosus</i> <i>R. idaeus</i>	Hemingway y Laks, 1992
60	Procianidina B4	<i>R. fruticosus</i> <i>R. idaeus</i>	Haslam, 1977; Thompson et al., 1972; DPN, 1994
61	(+) Catequina	<i>R. fruticosus</i> <i>R. idaeus</i>	Haslam, 1977; Hemingway, 1992
62	(-) Epicatequina	<i>R. fruticosus</i> <i>R. idaeus</i>	Haslam, 1977
63	Cianidina-3-O-ramnoglucosil-5-O-glucósido	<i>R. fruticosus</i>	DPN, 1994
64	Pelargonidina-3-O-glucosil-2-O-rutinósido	<i>R. idaeus</i>	DPN, 1994
65	Cianidina-3-soforósido	<i>R. sp</i>	DPN, 1994
66	Sambicianina	<i>R. sp</i>	DPN, 1994
67	Cianidina-7-glucósido	<i>R. ulmifolia</i>	DPN, 1994
68	Camperol-3-O-glucósido	<i>R. hirsitus</i>	Masakazu, 1962
69	Rutina	<i>R. idaeus</i>	Darnley et al., 1974
70	Quercetina-3-O- $\beta$ -glucurónido	<i>R. idaeus</i>	Ryan y Coffin, 1971
71	Camperol-3-O- $\beta$ -glucurónido	<i>R. idaeus</i>	Ryan y Coffin, 1971
72	Isoquercitrina	<i>R. idaeus</i>	Darnley, 1974

Cuadro 4. Compuestos aislados de otras especies del género *Rubus* (continuación).

Número	Nombre	Fuente	Referencia
73	Reinoutrina	<i>R. idaeus</i>	Darnley, 1974
74	Astragalina-7-O-xilósido	<i>R. sp</i>	DPN, 1994
75	Hiperina-6''-O-(4-carboxi-3-hidroxi-3-metilbutanoil)	<i>R. sp</i>	DPN, 1994
76	Quercetina-7-O-xilósido	<i>R. sp</i>	DPN, 1994
77	(6 <i>R</i> , 9 <i>R</i> )-3-Oxo- $\alpha$ -ionol-3'-O- $\beta$ -D-glucósido	<i>R. idaeus</i>	Pabst et al., 1992
78	(6 <i>R</i> , 9 <i>S</i> )-3-Oxo- $\alpha$ -ionol-3'-O- $\beta$ -D-glucósido	<i>R. idaeus</i>	Pabst et al., 1992
79	4,7-Megastigmadieno-3,9-diol	<i>R. idaeus</i>	DPN, 1994
80	(6 <i>R</i> , 9 <i>R</i> )- $\alpha$ -Ionol-9-O- $\alpha$ -L-arabinofuranosil-(1->6)- $\beta$ -D-glucósido	<i>R. idaeus</i>	Pabst et al., 1992
81	S-(+)-Linalol-3-O- $\alpha$ -L-arabinofuranosil-(1->6)- $\beta$ -D-glucósido	<i>R. idaeus</i>	Pabst et al., 1993
82	3-Hidroxiflavanona	<i>R. idaeus</i>	Darnley, 1974
83	Di-p-cumaroil putrescina	<i>R. idaeus</i>	DPN, 1994

Cuadro 4. Compuestos aislados de otras especies del género *Rubus* (continuación).

Número	Nombre	Fuente	Referencia
84	Ácido-3-hexenóico	<i>R. idaeus</i>	DPN, 1994
85	4-(4-hidroxifenil)-2-butanona	<i>R. idaeus</i>	DPN, 1994
86	4-[4-O-(β-D-glucosil-6-O-cinamoil-2-O-galoil)-fenil]-2-butanona	<i>R. sp</i>	DPN, 1994
87	4-[4-O-(β-D-glucosil-6-O-p-hidroxicinamoil-2-O-galoil)-fenil]-2-butanona	<i>R. sp</i>	DPN, 1994
88	Pregeijereno	<i>R. rosifolius</i>	Glasby, 1991
89	Rosifoliol	<i>R. rosifolius</i>	Glasby, 1991
90	Ácido nonanóico	<i>R. sp</i>	DPN, 1994
91	Acetato de etilo	<i>R. sp</i>	DPN, 1994
92	Ácido málico	<i>R. sp</i>	Darnley, 1974
93	Ácido isocítrico	<i>R. sp</i>	Darley, 1974
94	Procianidina B8	<i>R. sp</i>	DPN, 1994
95	Salicilato de metilo	<i>R. sp</i>	Darnrey, 1974
96	β-(3,4-Dihidroxifenil)-etanol	<i>R. sp</i>	Darnley, 1974
97	Paniculósido IV	<i>R. suavissimus</i>	Othani et al., 1991;
98	Suaviósido A	<i>R. suavissimus</i>	Othani et al., 1991;
99	Suaviósido A <sub>3</sub>	<i>R. suavissimus</i>	Othani et al., 1991;

Cuadro 4. Compuestos aislados de otras especies del género *Rubus* (continuación).

Número	Nombre	Fuente	Referencia
100	Suaviósido E	<i>R. suavissimus</i>	Othani et al., 1991;
101	Sugerósido	<i>R. suavissimus</i>	DPN, 1994
102	Ácido ursólico	<i>R. crataegifolius</i> , <i>R. ellipticus</i> , <i>R. cochinchinensis</i>	Glasby, 1991; Durham et al., 1994; Lien et al., 1999
103	Ácido euscápico	<i>R. pinfaensis</i>	Durham et al., 1994
104	Suavissimósido F1	<i>R. suavissimus</i>	Gao et al., 1985
105	28- $\beta$ -Glucosil éster del ácido-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,19 $\alpha$ -trihidroxi urs-12-ene-23,28-diólico	<i>R. suavissimus</i>	Gao et al., 1985
106	Ácido-1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,19 $\alpha$ -tetra hidroxiurs-12-en-óico	<i>R. xanthocarpus</i>	Li et al., 1998
107	28-O- $\beta$ -D-Glucosil éster del ácido-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,19 $\alpha$ ,24-tretrahidroxi urs-12-en-28-diólico	<i>R. xanthocarpus</i>	Li et al., 1998
108	28-O- $\beta$ -D-Glucosil éster del ácido-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,19 $\alpha$ -trihidroxi urs-12-en-24-formil-28-óico	<i>R. xanthocarpus</i>	Li et al., 1998

Cuadro 4. Compuestos aislados de otras especies del género *Rubus* (continuación).

Número	Nombre	Fuente	Referencia
109	Ácido-2,3-O-isopropilidenil-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,19 $\alpha$ -trihidroxi urs-12-en-28-óico	<i>R. xanthocarpus</i>	Li et al., 1998
110	Éster metílico del ácido-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,19 $\alpha$ ,23-tetrahidroxi urs-12-en-28-óico	<i>R. xanthocarpus</i>	Li et al., 1998
111	Ácido torméntico	<i>R. xanthocarpus</i>	Li et al., 1998
112	24,28-Dimetil éster del ácido-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,19 $\alpha$ -trihidroxi urs-12-en-óico	<i>R. xanthocarpus</i>	Li et al., 1998
113	24-Metil éster-28-O- $\beta$ -D-glucosil éster del ácido-trihidroxi urs-12-en-óico	<i>R. xanthocarpus</i>	Li et al., 1998
114	Suabiósido F	<i>R. suavissimus</i>	DPN, 1994
115	Suabiósido G	<i>R. suavissimus</i>	DPN, 1994
116	Suabiósido I	<i>R. suavissimus</i>	DPN, 1994
117	Suabiósido H	<i>R. suavissimus</i>	DPN, 1994
118	Suabiósido J	<i>R. suavissimus</i>	DPN, 1994
119	(z)-9,10-Epoxinonacosano	<i>R. thibetanus</i>	Othani et al., 1992 Gaydou et al., 1995

## II.2 Generalidades de los Flavan-3-oles.

Los flavan-3-oles son un grupo de metabolitos secundarios de naturaleza fenólica del tipo  $C_6-C_3-C_6$ , cuya estructura base está constituida por dos anillos bencénicos unidos a través de tres carbonos que forman un anillo pirano. Por conveniencia, los anillos son nombrados con las letras A, B y C; los carbonos de los anillos A y C se indican con números ordinarios y en el caso del anillo B con números primos (Figura 2) (Markham, 1982).

El tratamiento de los flavan-3-oles **120** con ácidos minerales da origen a las antocianidinas **120a** (Figura 3) (Haslam, 1989).

Los flavan-3-oles se clasificaron inicialmente de acuerdo a su patrón de hidroxilación en ocho tipos: prodistenidinas **121**, properlargonidinas **122**, procianidinas **123**, prodelfinidinas **124**, proguibourtinidinas **125**, profisetinidinas **126**, prorrobnetinidinas **127** y promezquitolidinas **128** (Cuadro 4) (Haslam, 1989).



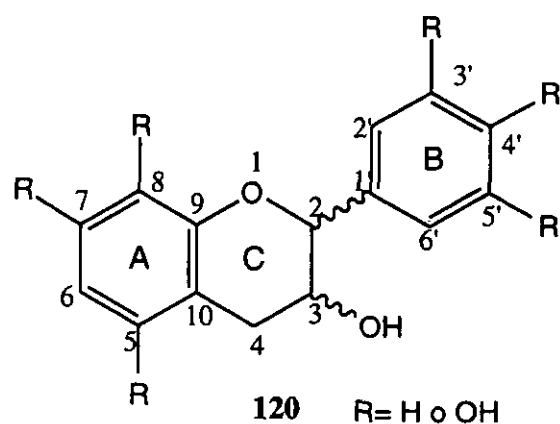


Figura 2.- Estructura base de los flavan-3-oles **120**.

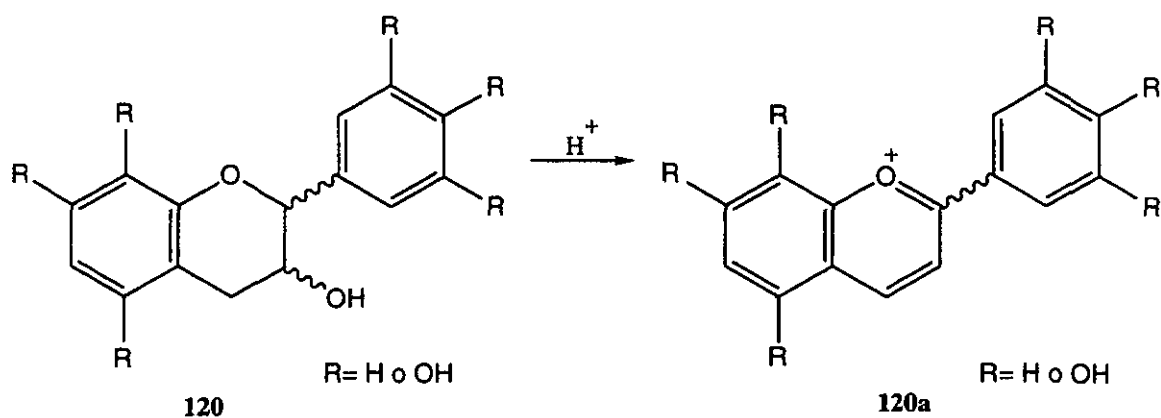
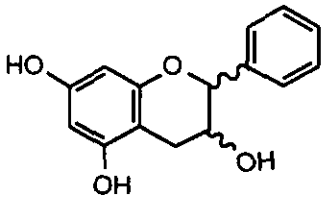
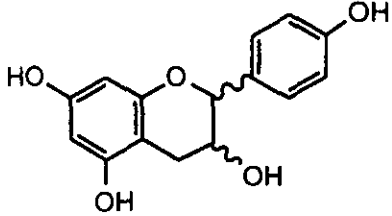
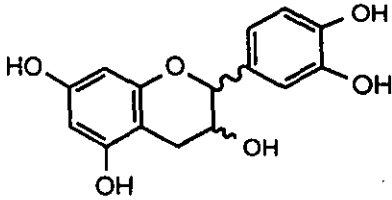
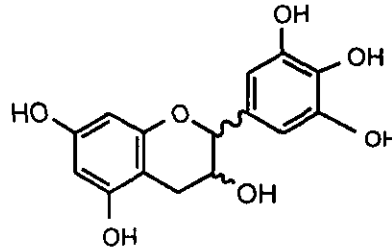
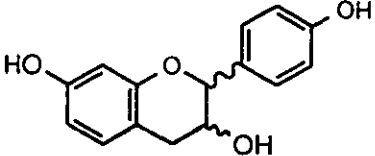
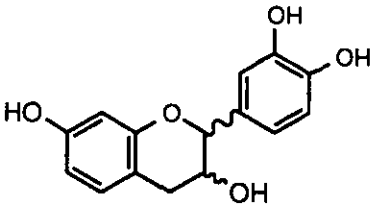
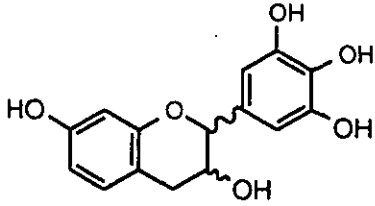
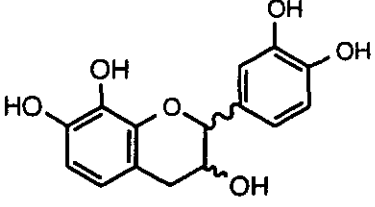


Figura 3.- Reacción de los flavan-3-oles con ácidos minerales.

Cuadro 5.- Clasificación de los flavan-3-oles según su patrón de hidroxilación y estereoquímica en los carbonos 2C y 3C.

Estructura	Tipo /Patrón de hidroxilación	Estereoquímica en 2C y en 3C
	Prodistenidinas <b>121</b> / 3,5,7	Distenina <b>129</b> (2R,3R)
	Propelargonidinas <b>122</b> / 3,5,7,4'	Afzelequina <b>130</b> (2R,3S), entafzelequina <b>131</b> (2S,3R), epiafzelequina <b>132</b> (2R,3R), entepiafzelequina <b>133</b> (2S,3S)
	Procianidinas <b>123</b> / 3,5,7,3',4'	Catequina <b>50</b> (2R,3S), entcatequina <b>134</b> (2S,3R), epicatequina <b>51</b> (2R,3R), entepicatequina <b>135</b> (2S,3S)
	Prodelfinidinas <b>124</b> / 3,5,7,3',4',5'	Galocatequina <b>136</b> (2R,3S), epigalocatequina <b>137</b> (2R,3R)

Cuadro 5.- Clasificación de los flavan-3-oles según su patrón de hidroxilación y estereoquímica en los carbonos 2C y 3C (continuación).

Estructura	Tipo/Patrón de hidroxilación	Estereoquímica en 2C y en 3C
	Proguibourtinidinas <b>125/</b> 3,7,4'	Guibourtinidol <b>138</b> (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ), epiguibourtinidol <b>139</b> (2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> )
	Profisetinidinas <b>126/</b> 3,7,3',4'	Fisetinidol <b>140</b> (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ), entfisetinidol <b>141</b> (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ), epifisetinidol <b>142</b> (2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ), entepifisetinidol <b>143</b> (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> )
	Prorobinetinidinas <b>127/</b> 3,7,3',4',5'	Robinetinidol <b>144</b> (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ), entrobidanol <b>145</b> (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ), epirrobinetinidol <b>146</b> (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ), robidanol <b>147</b> (2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> )
	Promezquitolidinas <b>128/</b> 3,7,8,3',4'	Mezquitol <b>148</b> (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )

En la actualidad estos compuestos se clasifican en 22 clases (Cuadro 5), tomando en cuenta el patrón de hidroxilación y la estereoquímica absoluta de los centros quirales en las posiciones 2 y 3: disteninas, afzelequinas, entafzelequinas, epiafzelequinas, entepiafzelequinas, catequinas, entcatequinas, epicatequinas, entepicatequinas, galocatequinas, epigalocatequinas, guibourtinidoles, epiguibourtinidoles, fisetinidoles, entfisetinidoles, epifisetinidoles, entepifisetinidoles, robinetinidoles, entrobidanoles, epirobinetinidoles, robidanoles y mezquitoles.

Los flavan-3-oles más abundantes en la naturaleza son aquellos con estereoquímica 2*R*; menos frecuentes son los compuestos con estereoquímica 2*S*, para nombrarlos se usa el nombre del flavan-3-ol seguido del sustituyente (Brandon et al., 1982). En el Cuadro A-2 se resumen los 172 flavan-3-oles de origen natural.

De acuerdo con las estructuras ilustradas en el Cuadro A-2, tomando en cuenta el patrón de hidroxilación, las tres clases de flavan-3-oles más abundantes son las procianidinas con 103 compuestos (50-51, 134-135 y 164-

264), las prodelfinidinas con 23 compuestos (136-137 y 265-286) y finalmente, las propelargonidinas con 19 compuestos (130-133 y 149-163).

En la naturaleza se les puede encontrar en forma libre (50-51 y 129-148) o bajo la forma de glicósidos (157-159, 162, 164-166, 169, 172, 178, 183, 184, 187-188, 190, 192, 194, 200-201, 204, 207, 222, 229-230, 240-241, 244, 249-250, 278 y 284).

Los grupos fenólicos comúnmente encontrados pueden estar metilados (149, 163, 171, 180-181, 192, 196, 243-247, 257-258, 267, 274, 277-279, 283-284 y 289-290) o acilados; en este último caso el grupo esterificante más común es el galoil (160, 167, 170, 176-177, 179, 182, 185, 189, 191, 195, 197-199, 209, 235-239, 242, 248, 266, 271-274, 276, 280-282 y 291-292).

Cabría destacar que el anillo aromático A puede estar alquilado en las posiciones 6 (142, 169, 225, 228 y 260-261) y 8 (153, 154-155, 220, 222-227 y 254-258) con una gran variedad de sustituyentes.

Otra posición que puede estar sustituida es la 4, los

compuestos **161**, **253** y **262** tienen un carboximetilo y los compuestos **206-213**, **233**, **238**, **248-250**, **268**, **275**, **285**, **288-290** y **295-296** poseen una unidad fenólica.

Los flavan-3-oles son metabolitos ampliamente distribuidos en el reino vegetal y se han aislado de 51 familias (Cuadro 6).

Para el aislamiento de los flavan-3-oles se emplea básicamente cromatografía en columna y cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), en el primer caso las fases estacionarias empleadas son: sephadex LH-20, celulosa y poliamida (Bonefeld et al., 1986; Weinges, 1964) y en el segundo caso se emplea shandon hypersil (Treutter et al., 1994).

Para la elucidación estructural se utilizan técnicas espectroscópicas (IR, DC, RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  y sus modalidades) (Baek et al., 1994; Bonefeld et al., 1986; Drewes et al., 1992a; Foo, 1981; Luck et al., 1994; Morimoto et al., 1988) y espectrométricas (EM-FAB $^{-Y+}$ ) (Ferreira y Bekker, 1996) apoyados en métodos químicos (metilaciones, acetilaciones y ésteres de Mosher) (Drewes y Taylor, 1994; Ferreira y Bekker, 1996; Hundt et al.,

1990; Luck et al., 1994; Rossouw et al., 1994).

Cuadro 6.- Familias donde se han encontrado flavan-3-oles.

Familia	Referencia	Familia	Referencia
Acaciae	Botha et al., 1981; Viviers et al., 1983; Schaufelberger y Hostettmann, 1983.	Cyatheaceae	Foo y Porter, 1980.
Actinidaceae	Foo y Porter, 1980.	Cupressaceae	Glasby, 1991.
Annonaceae	Glasby, 1991.	Elaeagnaceae	Mori et al., 1987; Nishino et al., 1987.
Betulaceae	Foo y Porter, 1980.	Ephedraceae	Morimoto et al., 1988; Foo y Porter, 1980; Schaufelberger y Hostettmann, 1983.
Caesalpiniaceae	Malan et al., 1996.	Ericaceae	Bae et al., 1994; Ishimaru et al., 1987; Nishimura et al., 1986; Pallenbach et al., 1992; Morimoto et al., 1988.
Caprifoliaceae	Glasby, 1991.	Erythoxylaceae	Bonefeld et al., 1986.
Celastraceae	Drewes y Mashimbye, 1993; Hussein et al., 1999; Rak et al., 1999.	Fagaceae	Brandon et al., 1982; Bae et al., 1994; Ishimaru et al., 1987; Nishimura et al., 1987; Pallenbach et al., 1992.
Cistaceae	Calzada et al., 1998b; Danne et al., 1994; Meckes et al., 1999; Petereit et al., 1991.	Graminaceae	Foo y Porter, 1980.
Crassulaceae	Sakar et al., 1993.	Grossulariaceae	Glasby, 1991.

Cuadro 6.- Familias donde se han encontrado flavan-3-oles  
(continuación).

Familia	Referencia	Familia	Referencia
Hamamelidaceae	Morimoto <i>et al.</i> , 1987, Foo y Porter, 1980; Friedrich y Krüger, 1974; Schaufelberger y Hostettmann, 1983.	Myricaceae	Sun <i>et al.</i> , 1988.
Hippocastanaceae	Morimoto <i>et al.</i> , 1987.	Orchidaceae	Glasby, 1991.
Juglandaceae	Glasby, 1991.	Palmae	Delle <i>et al.</i> , 1972; Ellis <i>et al.</i> , 1983.
Krameriaceae	Scholz y Rimpler, 1989; Schaufelberger y Hostettmann, 1983; Ezaki <i>et al.</i> , 1985.	Pandaceae	García <i>et al.</i> , 1993.
Lauraceae	David <i>et al.</i> , 1994; Morimoto <i>et al.</i> , 1986.	Pinaceae	Foo y Porter, 1980; Foo y Karchesy, 1989a; b; Gupta y Haslam, 1981; Pan y Lundgren, 1995.
Loranthaceae	Glasby, 1991	Podocarpaceae	Foo, 1987; 1989; Polya y Foo, 1994.
Leguminosae	Stobiecki y Popena, 1994; Foo y Porter, 1980; Helsper <i>et al.</i> , 1993; Lee <i>et al.</i> , 1992; Schaufelberger y Hostettmann, 1983; Polya y Foo, 1994.	Polypodiaceae	Baek <i>et al.</i> , 1994; Songqing <i>et al.</i> , 1994.
Mimosaceae	Palazzo de Mello <i>et al.</i> , 1996;	Polygonaceae	Kashiwada <i>et al.</i> , 1986.
Myrtaceae	Foo y Porter, 1980; Tanaka <i>et al.</i> , 1983.	Primulaceae	Glasby, 1991.



Cuadro 6.- Familias donde se han encontrado flavan-3-oles (continuación).

Familia	Referencia	Familia	Referencia
Proteaceae	Foo y Porter, 1980.	Rosaceae	Foo y Porter, 1980; Haslam, 1977; Jacques et al., 1977; Kombal y Glasl, 1995; Tanaka et al., 1983; 1992.
Pteridaceae	Hori et al., 1988.	Saxifragaceae	Koupai-Abyazani y Bohm, 1993.
Rambusiodaceae	Glasby, 1991.	Sapindaceae	Glasby, 1991.
Rhizophoraceae	Drewes y Taylor, 1994; Drewes et al., 1992a; b.	Sterculiaceae	Porter et al., 1991.
Rhamnaceae	Lee et al., 1995.	Salicaceae	Foo y Porter, 1980.
Rhododendraceae	Glasby, 1991.	Theaceae	Nakayama et al., 1993; Schaufelberger y Hostettmann, 1983; Nonaka et al., 1983; Hashimoto et al., 1987; Kakiuchi et al., 1985.
Rubiaceae	Baldé et al., 1991; Schaufelberger y Hostettmann, 1983.	Vitidaceae	Foo et al., 1998; Foo y Porter, 1980.
		Zingiberaceae	Glasby, 1991.

La hipótesis aceptada para la biosíntesis de los flavan-3-oles propone que estos productos son de biogénesis mixta generándose a través de las rutas acetato malonato y ácido siquímico (Figura 4). Tres moléculas de malonil-CoA **297** se condensan con una molécula de 4'-cumaroil-CoA **298**, para dar origen a la chalcona **299**, que

se cicla a la flavanona **300**, la cual se reduce para generar al 3,4- diol **301**, que finalmente se deshidrata para originar el flavan-3-ol **120**.

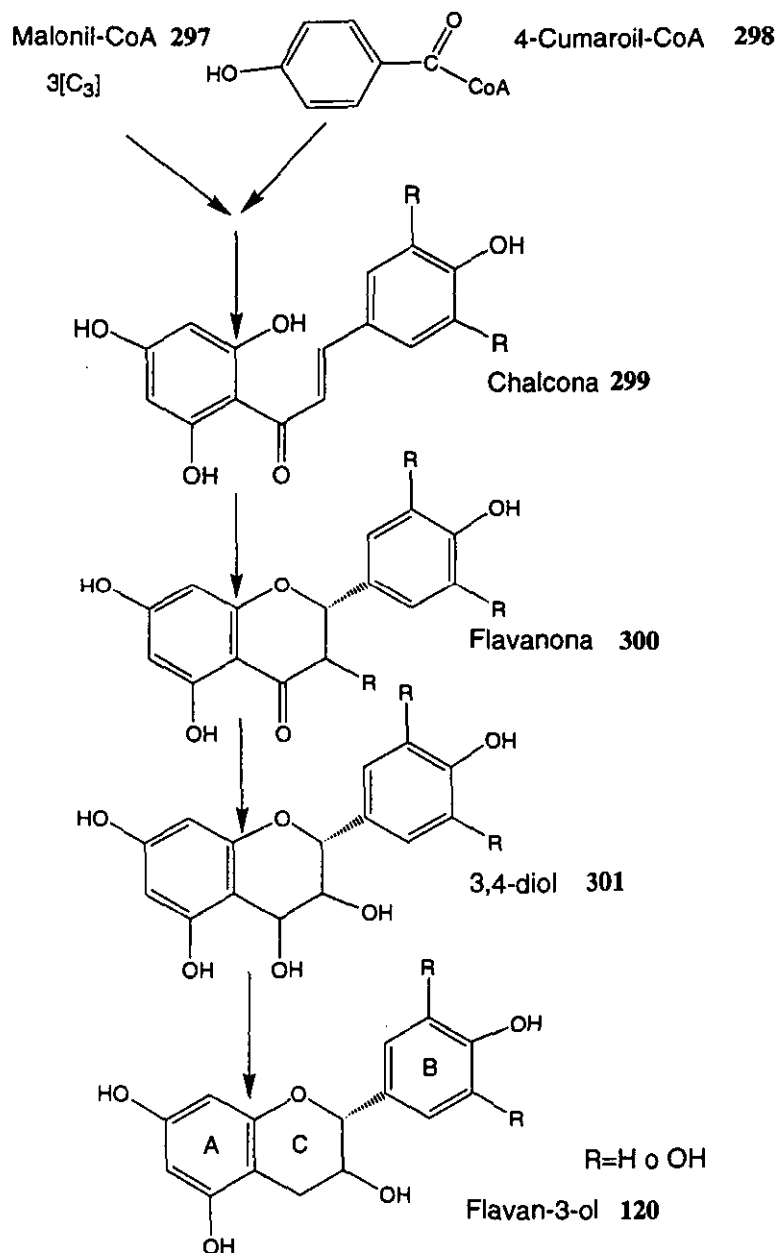


Figura 4.- Biogénesis de los flavan-3-oles.

Los estudios realizados referente a las propiedades farmacológicas de los flavan-3-oles han demostrado sus potencialidades como agentes antibacterianos, antiprotozoarios, antivirales, larvicidas, antioxidantes, herbicidas, antiulcéricos, lipolíticos, antiinflamatorios, antitumorales, antialérgicos, inhibidores de la absorción del etanol y tranquilizantes.

En relación a sus propiedades antibacterianas la (-) epigallocatequina **137** inhibe el crecimiento de *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* y *Porphyromonas gingivalis* (CIM= 50, 100, 50 y 250 µg/mL, respectivamente) (Mori et al., 1987; Nishino et al., 1987; Sakanaka et al., 1996). Adicionalmente, el compuesto **137** inhibe el crecimiento de *Staphylococci* y *Yersinia enterocolitica* (Yam, 1997).

La (-) epicatequina-3-O-galoil **235** y la (-) galocatequina-3-O-galoil **280** inhiben el crecimiento de *Staphylococci*, *Yersinia enterocolitica* y *Porphyromonas gingivalis* (Yam, 1997; Sakanaka et al., 1996). La (+) catequina **50** inhibe el crecimiento de *Xanthomas campestrispu malvacearum* (Hemingway y Lacks, 1992).

Los compuestos (-) epicatequina **51** y (-) epigalocatequina **137** han demostrado ser potentes agentes antiprotozoarios *in vitro* contra los trofozoitos de *Entamoeba histolytica* ( $CI_{50}$  = 1.92 y 6.89  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente) y *Giardia lamblia* ( $CI_{50}$  = 1.64 y 8.06  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente) (Calzada et al., 1999; Meckes et al., 1999).

En lo que se refiere a sus propiedades antivirales, la (+) catequina **50**, la (-) epicatequina **51**, la (-) epicatequina-3-O-galoil **235** y la (+) galocatequina **136** son activos contra el virus VIH-1 ( $CE_{50}$  = 4, 2, 1 y 5  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente) (Mahmood et al., 1993). La (-) epigalocatequina-3-O-galoil **235** y la (+) afzelequina **130** son activos contra el virus *Herpes simplex* ( $PRD_{50}$  = 50 y 45  $\mu\text{M}$ , respectivamente) (Takechi et al., 1985); la (+) catequina **50** es activa contra el virus *Rhizopus solani* (Hemingway y Lacks, 1992) y por último, la (+) afzelequina **130** es activa contra los virus influenza A y B en ambos casos a  $CI_{50}$  = 1  $\mu\text{M}$  (Nakayana et al., 1993).

La (+) catequina **50** es el único flavan-3-ol con

propiedades larvicidas, el compuesto inhibe el crecimiento de las larvas jóvenes de los insectos *Heliothis virescens*, *Helicoverpa zea*, *Spodoptera frugiperda*, *Pectinophora gossypiella* y *Earias vitella* (Hemingway y Lacks, 1992).

En relación a sus propiedades antioxidantes, la (+) catequina **50**, la (-) epicatequina **51**, la (-) epicatequina 3-O-galoil **235** inhiben al radical alquil peróxido en *E. coli* ( $CI_{50}$  = 125, 100 y 70  $\mu$ M, respectivamente) (Nakao et al., 1998). La (+) catequina **50** tiene un coeficiente de actividad antioxidante de 65.41, comparado con el  $\beta$ -caroteno (Gadow et al., 1997). Se ha demostrado que la (+) catequina **50**, la (-) epicatequina **51** y la (-) epigalocatequina **137** deben sus propiedades antioxidantes a la capacidad de inhibir a la enzima xantina oxidasa ( $CI_{50}$  = 1.73, 1.61 y 1.59  $\mu$ M, respectivamente) (Cos et al., 1998). La (-) epigalocatequina-3-O-galoil **266**, la (-) epicatequina-3-O-galoil **235**, la (-) epigalocatequina **136** y la (-) epicatequina **51** inhiben la peroxidación de lípidos (Guo et al., 1996).

En cuanto a sus propiedades herbicidas la (+) afzelequina **130** inhibe en un 28.8 % el crecimiento

radicular de la semilla del durazno a concentraciones de 1000 ppm (Ohigashi et al., 1982).

En lo que se refiere a sus propiedades antiulcéricas la (+) catequina **50** y la (-) epicatequina **51** protegen contra las lesiones gástricas inducidas por el estrés y tienen un porcentaje de inhibición péptica de 13.7 y 9.2, respectivamente (Ezaki et al., 1985).

La (-) epicatequina-3-O-galoil **235** estimula la lipólisis inducida por adrenalina a dosis de 100 µg/mL (Kimura et al., 1983).

La (-) epiafzelequina **132** tiene propiedades antiinflamatorias *in vivo* a concentración de 100 mg/Kg, e inhibe la actividad de la ciclooxigenasa-1 ( $CI_{50} = 15 \mu M$ ) (Rak et al., 1999), la catequina **50** inhibe a la mieloperoxidasa (Sato et al., 1998) y la (-) epigalocatequina-3-O-galoil **266** actúa mejorando el funcionamiento de la retina (Liu y Chiou, 1996).

La (-) epigalocatequina-3-O-galoil **266** es el compuesto que más ha sido estudiado a nivel de enzimas involucradas en los procesos tumorales. El compuesto inhibe a las enzimas urocinasa (Jankun et al., 1997) y

proteína cinasa C (Okuda et al., 1989). La (-) epigallocatequina **137**, inhibe a la transcriptasa reversa (Kakiuchi et al., 1985).

En pruebas *in vivo*, el compuesto **266** ha mostrado propiedades antileucémicas en ratas RBL-2H3 (Matsuo et al., 1997). Además es útil en la leucemia mieloblástica aguda (Asano et al., 1997) e inhibe la carcinogénesis en el tracto digestivo de roedores (Okabe et al., 1999), inhibe el crecimiento del sarcoma S180-dox en murinos (Stammler y Volm, 1997), inhibe el crecimiento de tumores en ratón (Conney et al., 1999; Ito et al., 1999), inhibe el cáncer de colon inducido por azoximetano en las ratas macho a concentración de 1800 ppm (Weisburger et al., 1998) y los tumores inducidos por los ésteres de forbol (Katiyar y Mukhtar, 1997). La (-) epigallocatequina **137** inhibe el sarcoma S180-dox en murinos (Stammler y Volm, 1997),

En pruebas *in vitro* el compuesto **266** inhibe el crecimiento de líneas celulares derivadas de cánceres humanos: de riñón, de estómago, de mama (Okabe et al., 1997; Hibasami et al., 1999; Valcic et al., 1996), de

pulmón (Suganuma *et al.*, 1999), de colon (Stammler y Volm, 1997; Khafif *et al.*, 1988; Valcic *et al.*, 1996) y de células cebadas de pacientes con leucemia (Asano *et al.*, 1997). La (+) galocatequina **136** y la (-) epigalocatequina **137** inhiben el crecimiento de líneas celulares derivadas de cánceres humanos de riñón, colon y mama (Valcic *et al.*, 1996; Stammler y Volm, 1997). La epicatequina **51** aumenta la apoptosis de células de pulmón humano (Suganuma *et al.*, 1999) .

La (-) epigalocatequina-3-O-galoil **266** disminuye el efecto del metabolismo del EtOH (Kakuda *et al.*, 1996).

Por sus efectos sedantes, la (+) catequina **50** controla el síndrome de la abstinencia provocado por la morfina a dosis de  $8.5 \times 10^{-7}$  M (Capasso *et al.*, 1998).

Por último, en relación a sus propiedades antialérgicas la (-) epigalocatequina **137** y la (+) galocatequina **136** inhiben la secreción de la histamina (Matsuo *et al.*, 1996; Yoshikawa *et al.*, 1996).



### III.- OBJETIVO GENERAL

Obtener y caracterizar estructuralmente nuevos agentes antiprotozoarios de origen natural, útiles para el desarrollo de nuevos fármacos para tratar la disentería amibiana y la giardiosis, a partir del extracto orgánico total de las partes aéreas de *Rubus coriifolius*.

#### III.1.- Objetivos particulares

III.1.1 Realizar la investigación fitoquímica biodirigida del extracto  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$  de *R. coriifolius* empleando como prueba de monitoreo la determinación de la actividad antiprotozoaria *in vitro* contra los trofozoitos de *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia*.

III.1.2 Establecer las estructuras químicas de los compuestos con actividad antiprotozoaria, mediante técnicas espectroscópicas, espectrométricas y reacciones químicas.

#### IV. HIPOTESIS

*Rubus coriifolius* es una especie ampliamente utilizada en las prácticas médicas populares de los Altos de Chiapas para tratar la diarrea con sangre. El extracto  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$  tiene actividad antiprotozoaria *in vitro* contra *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia*, por lo cual es una materia prima idónea para obtener compuestos antiprotozoarios, potencialmente útiles en el tratamiento de la disentería amibiana y la giardiosis.

## V.- PARTE EXPERIMENTAL

### V.1 Material vegetal

Para realizar el proceso de selección, se recolectó el material vegetal fresco de seis especies preseleccionadas basándose en primer lugar en un criterio etnomédico en el cual se tomó en cuenta las propiedades que les atribuyen los pobladores de los altos de Chiapas a un grupo de plantas para el tratamiento de las diarreas con sangre, con moco y agudas (Berlín y Berlín, 1996) y en segundo lugar con base a una discriminación farmacológica empleando la prueba de actividad antiprotozoaria *in vitro* contra *E. histolytica* y *G. lamblia* (Calzada et al., 1998a). La recolección de los vegetales se realizó en los altos de Chiapas. Los ejemplares de referencia se depositaron en el Herbario del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSSM). El proceso de recolección estuvo a cargo de la Bióloga Guadalupe Rodríguez Guillén. En el Cuadro 7 se incluyen las seis especies recolectadas indicándose, familia, nombre científico y parte recolectada (Calzada et al., 1998b).

El material vegetal fresco de *Rubus coriifolius* se recolectó en cantidad suficiente para realizar el estudio fitoquímico biodirigido. Un ejemplar de referencia (Voucher 11874) se depositó en el herbario IMSSM.

Cuadro 7.- Especies selectas de la flora medicinal mexicana que fueron recolectadas para determinar su potencial antiprotozoario.

Espece botánica /Familia	Parte utilizada	Espece botánica /Familia	Parte utilizada
<i>Rubus coriifolius</i> (Rosaceae)	Tallo y hojas	<i>Fuchsia microphylla</i> (Onagraceae)	Tallo y hojas
<i>Cuphea pinetorum</i> (Lythraceae)	Raíz	<i>Parathesis chiapensis</i> (Myristicaceae)	Tallo y hojas
<i>Helianthemum glomeratum</i> (Cistaceae)	Tallo y hojas	<i>Clematis dioica</i> (Ranunculaceae)	Hojas

## V.2 Preparación de los extractos vegetales en pequeña escala para el proceso de selección.

Para la selección de las especies con un potencial antiprotozoario, se prepararon los extractos metanólicos a

partir de 100 gramos de material vegetal seco y molido de cada una de las seis especies preseleccionadas. Se determinó el potencial antiprotozoario de los extractos resultantes mediante la evaluación de su efecto *in vitro* sobre los trofozoitos de *E. histolytica* y *G. lamblia* cultivados de forma axénica.

### **V.3 Ensayo biológico**

El ensayo biológico utilizado para la determinación de la actividad antiprotozoaria *in vitro* del extracto, las fracciones y los compuestos puros se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Cedillo-Rivera y colaboradores (Cedillo-Rivera et al., 1992; 1997; Calzada et al, 1999 a; 1999b; Calzada, 2000). A continuación se describen los aspectos más importantes de la prueba biológica. Esta prueba se utilizó de manera rutinaria a lo largo de todo el proceso fitoquímico.

#### **V.3.1 Protozoarios**

Los microorganismos utilizados para la determinación de la actividad antiprotozoaria fueron *Entamoeba*

*histolytica* (HM1-IMSS) y *Giardia lamblia* (IMSS:0989:1). La cepa de *E. histolytica* se mantuvo en medio TYI-S-33 adicionado con suero bovino al 10 % y la cepa de *G. lamblia* se cultivó en medio TYI-S-33 modificado y enriquecido con suero de ternera al 10 %. Ambas cepas se mantuvieron axénicamente y para el bioensayo se utilizaron los parásitos en fase logarítmica de crecimiento.

### **V.3.2 Determinación antiprotozoaria**

Las muestras a evaluar se disolvieron en 1 mL de DMSO y 19 mL de medio de cultivo TYI-S-33. De la solución resultante se transfirieron 20, 40, 80, 120, y 160  $\mu$ L a cinco tubos de manera independiente cada uno y se aforaron a un volumen de 4 mL con medio de cultivo para obtener una concentración final de 25, 50, 100, 150 y 200  $\mu$ g/mL, respectivamente. Cada concentración se ensayó por duplicado y se repitió un mínimo de tres veces. Se inocularon los tubos con *E. histolytica* o *G. lamblia* con un inóculo de  $6 \times 10^3$  y de  $5 \times 10^4$  trofozoitos/mL, respectivamente. Las muestras se incubaron a 37 °C durante 48 horas. Cada prueba incluyó metronidazol (Sigma) y

emetina (Sigma) como controles positivos, un control (medio de cultivo, DMSO y trofozoitos) y un blanco (medio de cultivo). Se determinó la viabilidad de los trofozoitos mediante cuenta directa al microscopio y se calcularon las concentraciones inhibitorias 50 ( $CI_{50}$ ).

#### **V.4 Análisis cromatográfico**

La cromatografía de adsorción en columna abierta se realizó sobre gel de sílice, (Kieselgel 60 Merck, 0.063-0.200 mm 70-230 mesh ASTM) y la cromatografía de filtración por gel en columna abierta se realizó sobre sephadex LH-20 (Pharmacia). Los análisis cromatográficos en capa fina (CCF) analítica se efectuaron siguiendo las técnicas convencionales, con placas de aluminio recubiertas de gel de sílice (Sílica gel 60 F<sub>254</sub>, Merck) y los agentes cromógenos que se muestran en el Cuadro 8.

La cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) se realizó en un cromatógrafo marca Perkin Elmer 250 Binary LC Pump, equipado con un detector de UV con arreglo de diodos. El control del equipo, la adquisición de los datos, el procesamiento y manipulación de la información

se realizaron utilizando el programa Omega.

La purificación de los compuestos se efectuó empleando una columna semipreparativa fase reversa (Waters, Sepherisorb, S50DS2 de 10 x 250 mm) y la detección a 280 nm.

Cuadro 8.- Agentes cromógenos utilizados para los análisis cromatográficos en capa fina.

Agente cromógeno	Composición	Referencia
Sulfato cérico- H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato cérico 12 g Ac. sulfúrico 22.5 mL Hielo 350 g	Stahl, 1969
Vainilla-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ac. sulfúrico al 5% en etanol 100 mL Vainillina 1 g	Wagner et al., 1984
Tricloruro de Aluminio	Cloruro de aluminio 5 g Agua 100 mL	Markham , 1982
Tricloruro Férrico	Cloruro de fierro III 10 g Agua 100 mL	Wagner et al., 1984
NP/PEG	Ester del ácido β etilamino difenilbórico 1% Polietilenglicol al 5% en etanol	Wagner et al., 1984

Para el desarrollo de color es necesario calentar durante 2 minutos a 110° C.



## **V.5 Preparación del extracto CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH de *R. coriifolius*.**

El proceso de desecación de las partes aéreas de *R. coriifolius* se realizó a temperatura ambiente y a la sombra. El material vegetal seco se molió en un molino manual. El material vegetal molido (1 Kg) se extrajo vía maceración con una mezcla de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH (1:1) (2.5 L x 2) eliminándose el disolvente por destilación a presión reducida, para obtener un total de 40.7 g de un extracto de color verde (Esquema 1).

Una vez obtenido el extracto se le determinó la actividad antiprotozoaria *in vitro* contra *E. histolytica* y *G. lamblia*.

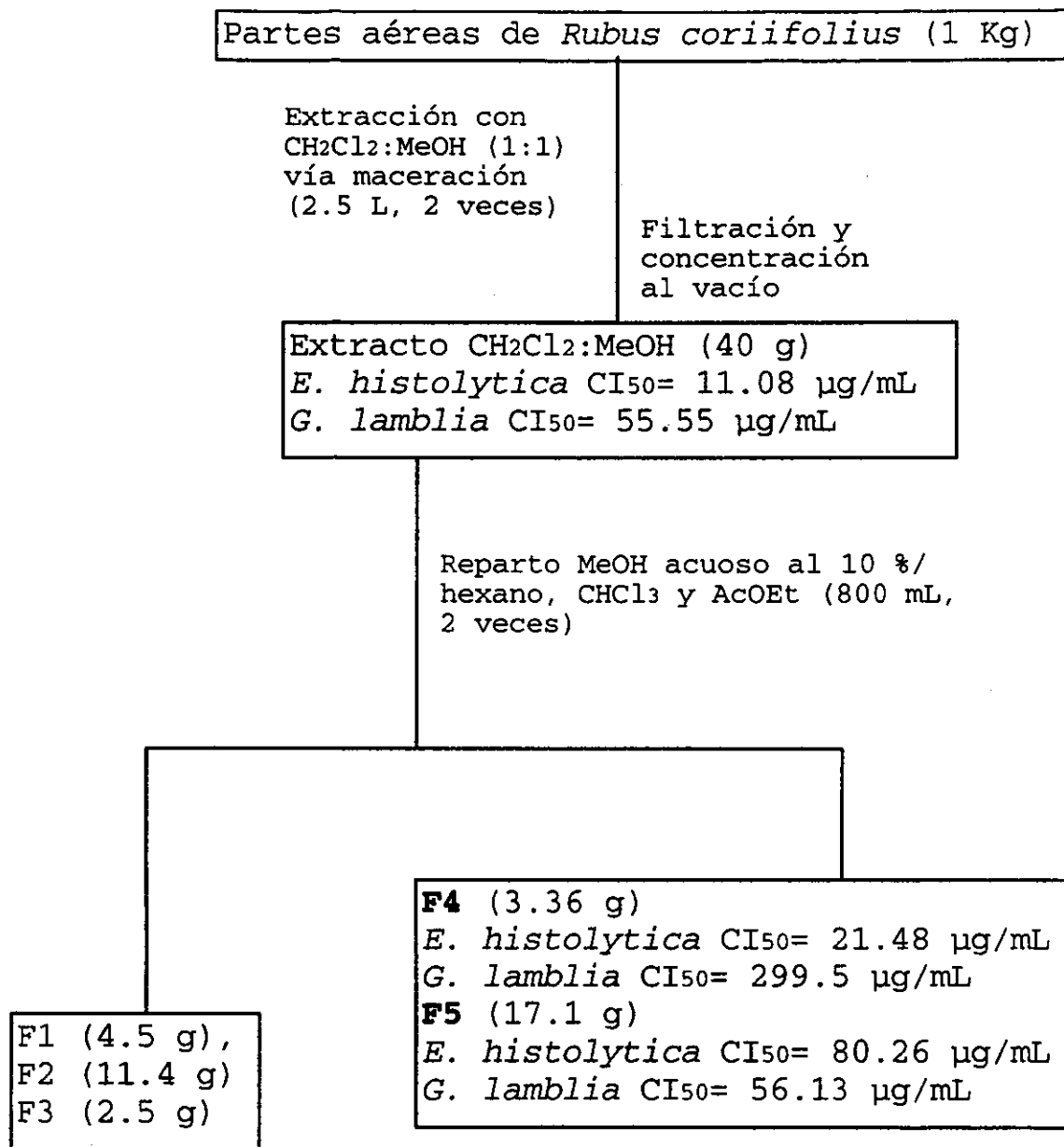
### **V.5.1 Fraccionamiento del extracto activo de *R. coriifolius*.**

Una parte (40 g) del extracto vegetal activo (*E. histolytica*, CI<sub>50</sub> = 11.08 µg/mL y *G. lamblia*, CI<sub>50</sub> = 55.55 µg/mL), se suspendió en metanol acuoso al 10 % (800 mL) y se fraccionó mediante un proceso de partición con hexano,

cloroformo y acetato de etilo; en todos los casos se usaron 800 mL de disolvente y se realizó por duplicado (Esquema 1). Como resultado de este proceso se obtuvieron un total de cinco fracciones (F1-F5): F1 (Hexano, 4.5 g), F2 ( $\text{CHCl}_3$ , 2.5 g), F3 (precipitado, 11.4 g), (*E. histolytica*,  $\text{CI}_{50}$  = 64.61, 160.73 y 72.71  $\mu\text{g/mL}$  y para *G. lamblia*,  $\text{CI}_{50}$  = 111.86, 129.56 y 86.87  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente) F4 (AcOEt, 3.36 g, *E. histolytica*,  $\text{CI}_{50}$  = 21.48  $\mu\text{g/mL}$  y para *G. lamblia*,  $\text{CI}_{50}$  = 299.5  $\mu\text{g/mL}$ ) y F5 (Acuosa, 17.1g, *G. lamblia*,  $\text{CI}_{50}$  = 56.13  $\mu\text{g/mL}$  y para *E. histolytica*,  $\text{CI}_{50}$  = 80.26  $\mu\text{g/mL}$ ).

#### **V.5.2. Separación de la fracción (F4) con mayor actividad contra *E. histolytica*.**

La fracción F4 (3.3 g) se sometió a un fraccionamiento secundario por cromatografía en columna abierta utilizando como fase estacionaria gel de sílice (100 g), la elución se realizó utilizando mezclas de AcOEt-acetona con incrementos de polaridad (1:0; 75:25; 1:1 y 0:1) y acetona



Esquema 1. Extracción y fraccionamiento del extracto CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH de las partes aéreas de *Rubus coriifolius* Focke.

:MeOH (1:0 y 7:3).

Se obtuvieron un total de 273 fracciones de 150 mL cada una, se reunieron aquellas que mostraron una similitud cromatográfica y se concentraron a presión reducida a 40 °C obteniéndose un total de cuatro fracciones secundarias (F4-1/F4-4) (Cuadro 9).

Cuadro 9.- Resumen del fraccionamiento mediante cromatografía en columna abierta de la fracción F4.

Eluyente	Proporción	Número de fracciones	Fracciones combinadas	CI <sub>50</sub> (µg/mL) <i>E. h.</i>	CI <sub>50</sub> (µg/mL) <i>G. l.</i>
AcOEt	100	1-14	1-17= F4-1	103.8	59.5
AcOEt: acetona	75:25	15-73	18-53= F4-2	111.9	123.6
AcOEt: acetona	70:30 60:40 50:50	74-82 83-92 93-100	54-91= F4-3	73.7	72.0
Acetona: MeOH	100:0 90:10 70:30	101-123 124-188 189-273	92-273= F4-4	58.1	160.2

*E. h.* = *Entamoeba histolytica* y *G. l.* = *Giardia lamblia*.

En el Cuadro 10 se resumen las fracciones combinadas y los compuestos obtenidos de las distintas fracciones secundarias (F4-1/F4-4).

Cuadro 10.- Compuestos aislados de las fracciones secundarias F4-1/F4-4.

Fracciones combinadas	Cantidad obtenida (g)	Compuesto obtenido	
F4-1	0.09	(-) Epicatequina	<b>51</b>
		(+) Catequina	<b>50</b>
F4-2	0.71	Nigaichigósido F1	<b>5</b>
F4-3	0.22	$\beta$ -D-glucósido de $\beta$ -sitosterol	<b>36</b>
F4-4	1.04	Hiperina	<b>302</b>

#### V.5.2.1 Obtención de la (-) epicatequina 51 y la (+) catequina 50.

La separación de los flavan 3-oles mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) a partir de la fracción F4-1 (0.07 g) se realizó empleando una columna fase reversa, el método empleado fue de gradientes (Cuadro 11), un flujo de 3.2 mL/minuto, la detección se realizó a 280 nm y el tiempo total de elución fue de 30 minutos.

La (-) epicatequina **51** se aisló como un sólido de color café claro (0.032 g) con un punto de fusión de 240-

244 °C y un tiempo de retención de 14.6 minutos. La (+) catequina **50** se aisló como un sólido de color café claro (0.031 g) con un punto de fusión de 182-185 °C y un tiempo de retención de 10.5 minutos. Ambos compuestos revelaron de color rojo intenso en los análisis de cromatografía en capa fina al utilizar vainillina como agente cromógeno (Markhan, 1982).

Cuadro 11.-Programa de elución utilizado en la CLAR para separar la fracción F4-1.

Fracción	Fase	Tiempo (min)	%A acetónitrilo	%B ácido fórmico 5%
F4-1	0	4	20	80
	1	10	20	80
	2	1	50	50
	3	10	50	50
	4	1	100	0
	5	8	100	0

#### V.5.2.2 Obtención del nigaichigósido F1 (5).

De la fracción F4-2 cristalizó esponáneamente el nigaichigósido F1 **5** (0.061 g) como un sólido en forma de agujas de color café claro y con un punto de fusión de

212-214 °C, el compuesto revela de color azul intenso en los análisis de cromatografía en capa fina al utilizar vainillina (Wagner et al., 1984).

#### **V.5.2.3 Obtención del $\beta$ -D-glucósido de $\beta$ -sitosterol 36.**

De la fracción F4-3 precipitó espontáneamente el  $\beta$ -D-glucósido de  $\beta$ -sitosterol **36** (0.099 g), como un sólido de color blanco, con un punto de fusión de 265 °C, el esteroles revela de color azul en los análisis de cromatografía en capa fina al utilizar vainillina (Wagner et al., 1984).

#### **V.5.2.4 Obtención de la hiperina 302.**

La purificación del compuesto **302** se realizó mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) a partir de la fracción F4-4 (1.0 g), se empleó una columna fase reversa, el método utilizado fue isocrático (Cuadro 12), con un flujo de 3.2 mL/minuto, la detección se realizó a 280 nm y el tiempo total de elución fue de 25 minutos.

La hiperina **302** se aisló como un sólido de color

amarillo (0.031 g) con un punto de fusión de 234-236°C y un tiempo de retención de 3.89 minutos. El flavonoide aislado reveló de color amarillo al revelar con el agente cromógeno NP/PEG (Wagner et al., 1984).

Cuadro 12.-Programa de elución utilizado en la CLAR para separar la fracción F4-4.

Fracción	Fase	Tiempo (min)	%A Acetonitrilo	%B ácido fórmico al 5%
F4-4	0	4	0	100
	1	25	10	90

### V.5.3 Separación de la fracción con mayor actividad (F5) contra *G. lamblia*.

La fracción F5 (10 g) se sometió a un fraccionamiento secundario por cromatografía en columna abierta utilizándose como fase estacionaria sephadex LH 20 (100 g, 16.5 x 4 cm). Los eluyentes utilizados consistieron en mezclas de disolventes con incrementos de polaridad: H<sub>2</sub>O:MeOH (75:25, 50:50, 0:100) y acetona:H<sub>2</sub>O (70:30, 0:100). Se obtuvieron un total de 382 fracciones de 20 mL



cada una, reuniéndose aquellas que mostraron una similitud cromatográfica y así obtener 4 fracciones secundarias: F5-1/F5-4 (Cuadro 13). En el cuadro 14 se resumen los compuestos aislados de la fracción F5.

Cuadro 13.- Resumen del fraccionamiento mediante cromatografía en columna abierta de la fracción F5.

Eluyente	Proporción	Número de fracciones	Fracciones combinadas	CI <sub>50</sub> (µg/mL) E.h	CI <sub>50</sub> (µg/mL) G.l
H <sub>2</sub> O:MeOH	75:25	1-78	1-10, F5-1	77.9	44.1
H <sub>2</sub> O:MeOH	50:50	79-159	11-63, F5-2	112.2	49.2
MeOH	100	160-250	64-135, F5-3	41.8	117.6
Acetona:H <sub>2</sub> O	70:30 00:100	251-271 272-382	136-382, F5-4	88.2	85.19

E.h=Entamoeba histolytica y G.l=Giardia lamblia.

Cuadro 14.- Compuestos aislados de las fracciones secundarias (F5-1) / (F5-4).

Número de fracciones	Fracción secundaria	Cantidad obtenida (g)	Compuesto obtenido
1-10	F5-1	5.07	Glucosa <b>303</b>
11-135	F5-2	2.55	Mezcla <b>303-305</b>
136-382	F5-3	2.21	ácido gálico <b>304</b> ácido elágico <b>305</b>

### **V.5.3.1 Obtención de la glucosa 303.**

De la fracción F5-1 se obtuvo una resina de color café oscuro (5 g) la cual se identificó como glucosa **303** por comparación con una muestra auténtica.

Los análisis de cromatografía en capa fina se realizaron empleando como disolvente una mezcla de AcOEt:MeOH:H<sub>2</sub>O (100:16.5:13.5), el compuesto reveló de color gris -> azul con vainillina (Sthal,1969).

### **V.5.3.2 Obtención del ácido gálico 304 y el ácido elágico 305.**

La fracción F5-4 (1.19 g) se lavó con MeOH y se filtró obteniéndose un sólido de color café oscuro (0.67 mg) con un punto de fusión de 205-209 °C y se identificó como ácido elágico **305**. Del filtrado remanente se obtuvo un sólido de color blanco (0.52 mg) con un punto de fusión de 231-233 °C que se identificó como ácido gálico **304**. Los dos compuestos aislados revelaron de color azul -> grisáceo en los análisis de cromatografía en capa fina al utilizar cloruro férrico como revelador (Wagner et al., 1984).

## V.6 Caracterización de los compuestos aislados

### V.6.1 Equipos utilizados

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

Los espectros en el UV se obtuvieron en un espectrómetro Shimadzu 160 en MeOH.

Los espectros en el IR (pastilla) se midieron en un espectrómetro Perkin Elmer 599.

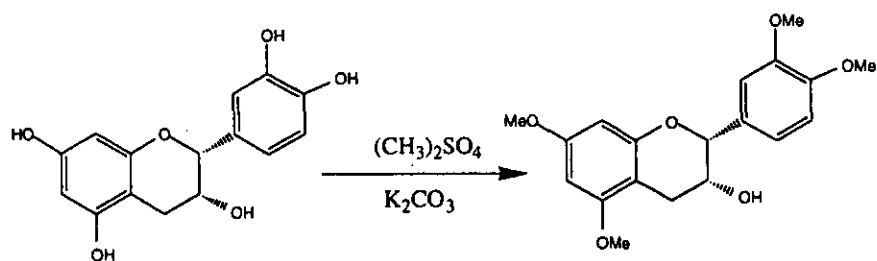
Los espectros de RMN se obtuvieron en los equipos Varian 300 y Bruker DMX500, utilizando  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{DMSO-d}_6$  o  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$  como disolventes y TMS como referencia interna. RMN- $^1\text{H}$  (500 MHz) y RMN- $^{13}\text{C}$  (125 MHz).

Los espectros de masa modalidad  $\text{FAB}^+$  se registraron en un espectrómetro de masas JEOL DX300 utilizando una matriz de glicerol o NBA.

## V.6.2 Obtención de derivados

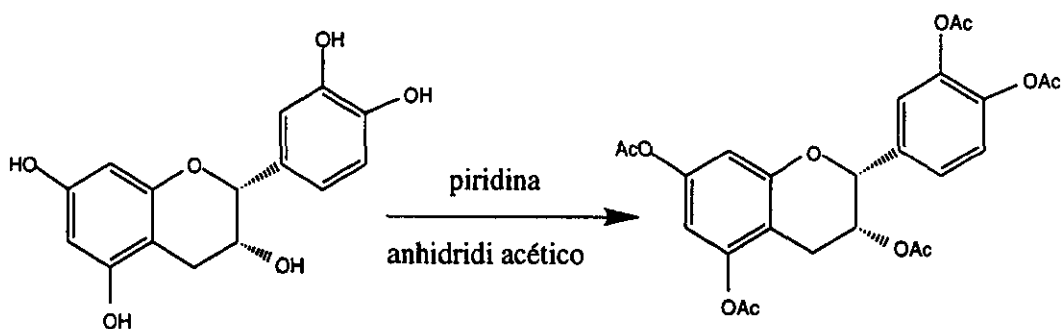
### V.6.2.1 Obtención de derivados metilados

Por cada 25 mg de producto a metilar se utilizaron 65  $\mu\text{L}$  de sulfato de dimetilo  $[(\text{Me})_2\text{SO}_4]$  y 1.4 mg de carbonato de potasio ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ). La muestra se disolvió en 2 mL de acetona y se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 12 horas. Una vez transcurrido el tiempo de reacción se adicionaron 5 mL de cloroformo y 5 mL de agua destilada por 2 veces. La fracción orgánica finalmente se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró *in vacuo* (Calzada, 2000).



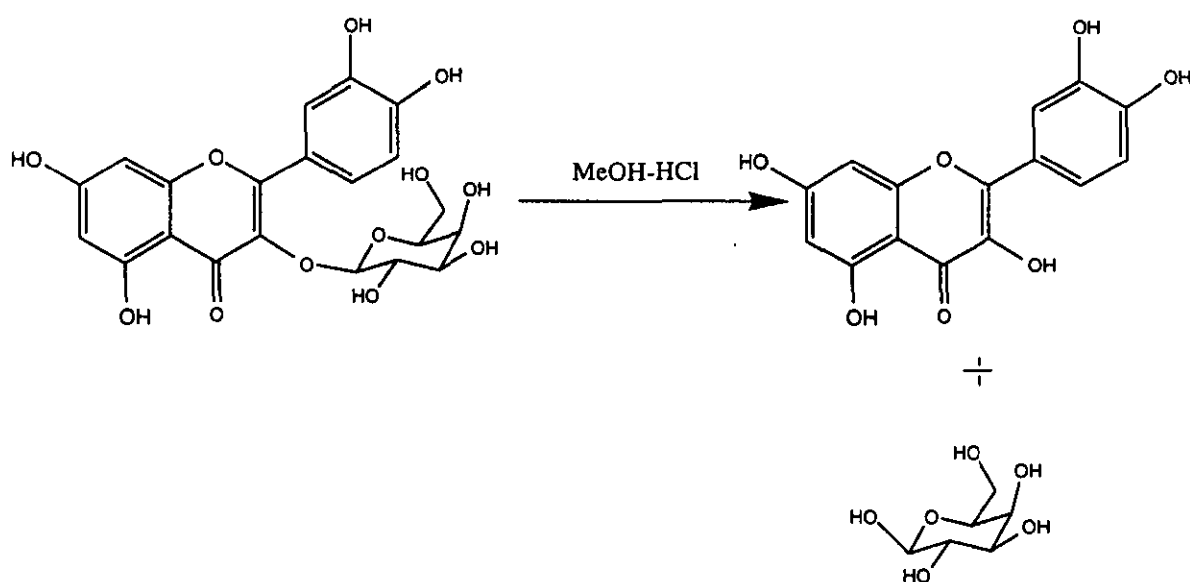
### V.6.2.2 Obtención de derivados acetilados

Se empleó 1 mL de anhídrido acético y 1 mL de piridina por cada 100 mg de muestra. La mezcla de reacción se dejó durante 12 horas a temperatura ambiente y al cabo del tiempo señalado se procesó mediante una partición ácido-base (Markham, 1982).



### V.6.2.3 Hidrólisis ácida

Por cada 3 mg de producto a hidrolizar se utilizaron 0.5 mL de una solución al 5 % de MeOH-HCl. La mezcla de reacción resultante se sometió a reflujo por 3 horas y al cabo del tiempo señalado se procesó mediante una partición ácido-base (Sucharita et al., 1992).



## VI. RESULTADOS

La selección de la especie medicinal *Rubus coriifolius* como fuente para obtener nuevos agentes antiprotozoarios se realizó, en primer lugar, mediante un criterio etnomédico y, en segundo lugar, mediante una discriminación farmacológica.

En la etapa inicial, se analizó la información bibliográfica referente a 41 especies medicinales usadas para tratar padecimientos gastrointestinales en las prácticas médicas populares de los Altos de Chiapas. Con base en este análisis se seleccionaron las especies indicadas en el Cuadro 15.

Una vez realizado el proceso de selección se recolectaron las especies medicinales para determinar sus propiedades antiprotozoarias. La especie que resultó con mejor actividad antiprotozoaria fue seleccionada para su posterior estudio fitoquímico biodirigido.

Cuadro 15.- Actividad antiprotozoaria de especies selectas de la flora medicinal mexicana.

Especie botánica	CI <sub>50</sub> µg/mL	CI <sub>50</sub> µg/mL
	<i>E. histolytica</i>	<i>G. lamblia</i>
<i>Rubus coriifolius</i> (Rosaceae)	<b>72.42</b> (70.15-74.74)	<b>77.82</b> (71.28-84.46)
<i>Cuphea pinetorum</i> (Lythraceae)	73.23 (73.10-74.70)	74.73 (74.90-75.16)
<i>Helianthemum glomeratum</i> (Cistaceae)	158.22 (157.24-159.21)	62.92 (62.86-62.98)
<i>Fuchsia microphylla</i> (Onagraceae)	759.87 (539.24-1080.40)	3513.98 (3413.47-3619.61)
<i>Parathesis chiapensis</i> (Myristicaceae)	1170.68 (1103.76-1245.87)	2643.89 (2573.2-2717.15)
<i>Clematis dioica</i> (Ranunculaceae)	1294.19 (1234.16-1359.39)	549.41 (545.34-553.60)
Metronidazol*	0.04 (0.10-0.03)	0.21 (0.27-0.14)
<i>Castela texana</i> * (Simaroubaceae)	46.84 (47.16-46.51)	189.90 (190.1-189.6)
Emetina*	1.05 (1.04-1.07)	0.42 (0.41-0.42)

\*Control positivo



De acuerdo con los resultados obtenidos en la determinación del potencial antiprotozoario sólo las especies *R. coriifolius* y *Cuphea pinetorum* mostraron actividad significativa contra ambos protozoarios (*E.h*  $CI_{50}$  = 72.42 y 73.25  $\mu\text{g/mL}$  y *G.l*  $CI_{50}$  = 77.82 y 74.73  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente), la especie vegetal *Helianthemum glomeratum* mostró actividad específica contra *G. lamblia* ( $CI_{50}$  = 62.92  $\mu\text{g/mL}$ ).

Con base en los resultados obtenidos en la evaluación antiprotozoaria se seleccionó a la especie *R. coriifolius* para realizar su fraccionamiento biodirigido.

Cabe destacar que de las especies *C. pinetorum* y *Helianthemum glomeratum* ya han sido obtenidos sus compuestos antiprotozoarios (Alanís, 1997; Calzada et al., 1995; 1998; Aguilar, 1998).

#### **VI.1 Estudio fitoquímico de las partes aéreas de *R. coriifolius*.**

El estudio biodirigido mediante la determinación de la actividad antiprotozoaria *in vitro* contra los trofozoitos de *E. histolytica* y *G. lamblia* del extracto  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH de

las partes aéreas de *R. coriifolius* condujo al aislamiento de dos flavan-3-oles [(-) epicatequina **51** (Lee et al., 1995; Baldé et al., 1991) y (+) catequina **50** (Lee et al., 1995; Baldé et al., 1991; Chen et al., 1993)], un triterpeno pentacíclico [nigaichigósido F1 **5** (Seto et al., 1984; Zhuo et al., 1992; Li et al., 1998; Adnyana et al., 2000; Sahpaz et al., 2000)], un esteroide [ $\beta$ -D-glucósido de  $\beta$ -sitosterol **36** (Arrieta, 1997)], un flavonoide [hiperina **302** (Arrieta, 1997; Benini et al., 1992)], un azúcar [glucosa **303** (Sthal, 1969)] y dos polifenoles [(el ácido gálico **304** (Hatano et al., 1990) y el ácido elágico **305** (Yang et al., 1998)].

## **VI.2 Identificación de los compuestos aislados de *R. coriifolius*.**

De manera general, la identificación estructural de los compuestos aislados se realizó mediante la aplicación de métodos químicos, espectroscópicos y espectrométricos.

### VI.2.1 Identificación de la (-) epicatequina 51 y la (+) catequina 50.

Los compuestos **51** y **50** se aislaron como sólidos de color café claro y solubles en MeOH. Los datos físicos, espectroscópicos y espectrométricos de los compuestos **51** y **50** se resumen en los Cuadros 16 y 17.

Los espectros en el IR (Espectro 1 y 2) generados por los compuestos **51** y **50**, fueron similares y presentaron bandas de absorción para grupos hidróxilos (3452 y 3344  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente) y para anillos aromáticos (1624, 1520 y 1621, 1519  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente).

En los espectros en el UV (Espectros 3 y 4) se observa un máximo de absorción alrededor de 279 nm consistente con la presencia de cromóforos fenólicos (Baldé et al., 1991).

Para ambos compuestos su fórmula molecular se estableció como  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6$  por espectrometría de masas modalidad  $\text{FAB}^+$  (Espectro 5 y 6). El ión pseudomolecular se observó en una relación de  $m/z$  291  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

La obtención de derivados pentaacetilados al tratar los compuestos **51** y **50** con anhídrido acético/ piridina, demostró la naturaleza pentahidroxilada de los productos

naturales. Por otro lado, la obtención de derivados tetrametilados al tratar los compuestos **51** y **50** con sulfato de dimetilo confirmó la presencia en cada una de las estructuras de cuatro hidróxilos fenólicos y uno alcohólico.

Los espectros de RMN unidimensionales (Espectro 7 y 8, Cuadro 18), en conjunto con la información anterior permitieron determinar que los compuestos **51** y **50** son flavan-3-oles isoméricos del tipo procianidina ya que se observaron señales para un anillo aromático trisustituido, uno tetrasustituido y las señales características del anillo C de un flavan-3-ol (Chen *et al.*, 1993).

A continuación se describen las características relevantes de los espectros de RMN:

En ambos compuestos (**51** y **50**) se observó un sistema ABX ( $\delta_{\text{H}} = 7.3 \text{ d}$ ,  $6.8 \text{ dd}$ ,  $6.78 \text{ d}$  y  $6.78 \text{ d}$ ,  $6.83 \text{ dd}$ ,  $6.73 \text{ d}$ , respectivamente), que fue asignado a los hidrógenos 2', 5' y 6' del anillo aromático trisustituido. En los dos compuestos también se observó un sistema AB ( $\delta_{\text{H}} = 5.93 \text{ d}$ ,  $5.91 \text{ d}$  y  $5.93 \text{ d}$ ,  $5.85 \text{ d}$ , respectivamente) que se asignó los hidrógenos 8 y 6 del anillo aromático tetrasustituido.

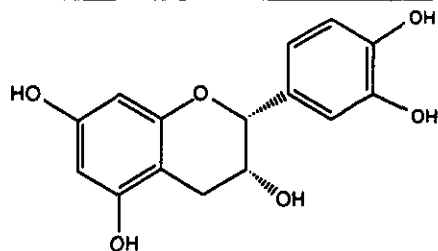
Finalmente, las señales para los hidrógenos 2, 3 y 4 en el caso del compuesto **51** se observaron a  $\delta_{\text{H}} = 4.8, 4.16, 2.86$  y  $2.70$  y en el caso del compuesto **50** se observaron a  $\delta_{\text{H}} = 4.56, 3.97, 2.85$  y  $2.5$ .

La única diferencia observada fue la multiplicidad de la señal asignada al hidrógeno 2 de los compuestos. Lo que permitió establecer que el compuesto **51** es el isómero cis (señal simple ancha) y **50** el isómero trans ( $d, J = 7.5$ ).

Los espectros de RMN<sup>13</sup>C (Espectro 9 y 10) de ambos compuestos, mostraron señales para 15 carbonos (Cuadro 18).

En resumen el análisis anterior y los valores obtenidos en la rotación óptica permitieron establecer la estructura del compuesto **51** como la (-) epicatequina y el compuesto **50** como la (+) catequina (Lee et al., 1995; Baldé et al., 1991; Chen et al., 1993).

Cuadro 16.- Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la (-) epicatequina **51**.



(-) epicatequina **51**

p.f. = 240-244 °C.

P.M. = 290.28 uma EM-FAB<sup>+</sup> (NBA-MeOH).

F.M. = C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>.

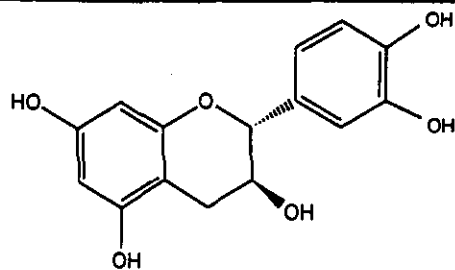
[α]<sub>D</sub> = -54.28 ° (C = 0.35 mg/mL, MeOH).

IR ν<sub>max</sub> (KBr) = 3452, 1624, 1520, 1260, 1143 cm<sup>-1</sup> (Espectro 1).

UV (ε) (MeOH) λ<sub>max</sub> = 279 nm (Espectro 3).

EM-FAB<sup>+</sup>m/z (int.rel) = [M+H]<sup>+</sup> 291 (89) 290 (60), 154 (95), 139 (100), 136 (77) (Espectro 5).

Cuadro 17.- Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la (+) catequina 50.



(+) catequina 50

p.f. = 182-185 °C.

P.M. = 290.28 uma EM-FAB<sup>+</sup> (NBA-MeOH).

F.M. = C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>.

[α]<sub>D</sub> = +9.68 ° (C = 0.31 mg/mL, MeOH).

IR ν<sub>max</sub> (KBr) = 3344, 1621, 1519, 1258, 1145 cm<sup>-1</sup>

(Espectro 2).

UV (ε) (MeOH) λ<sub>max</sub> = 279 nm (Espectro 4).

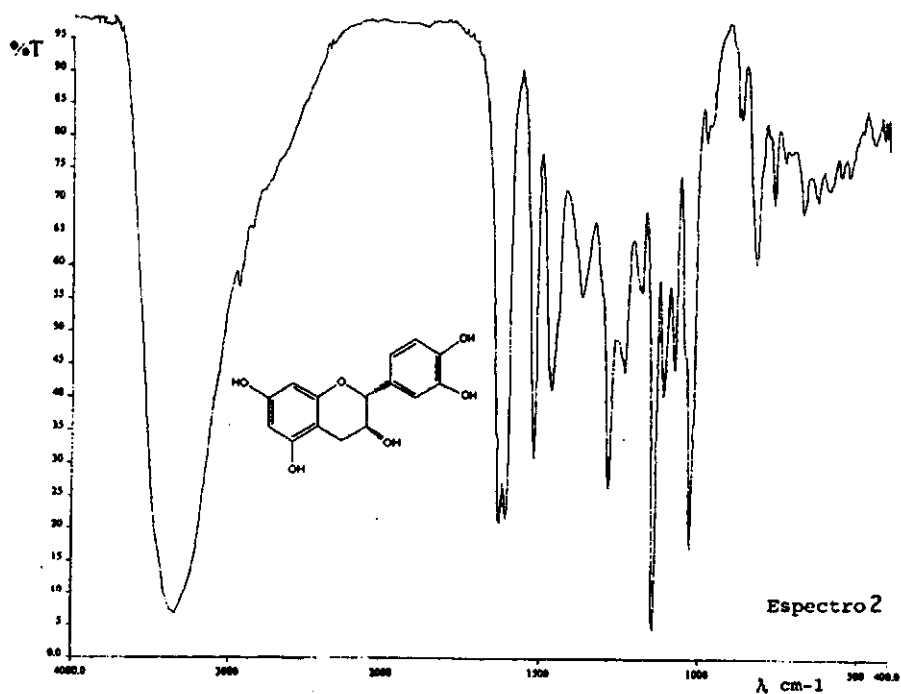
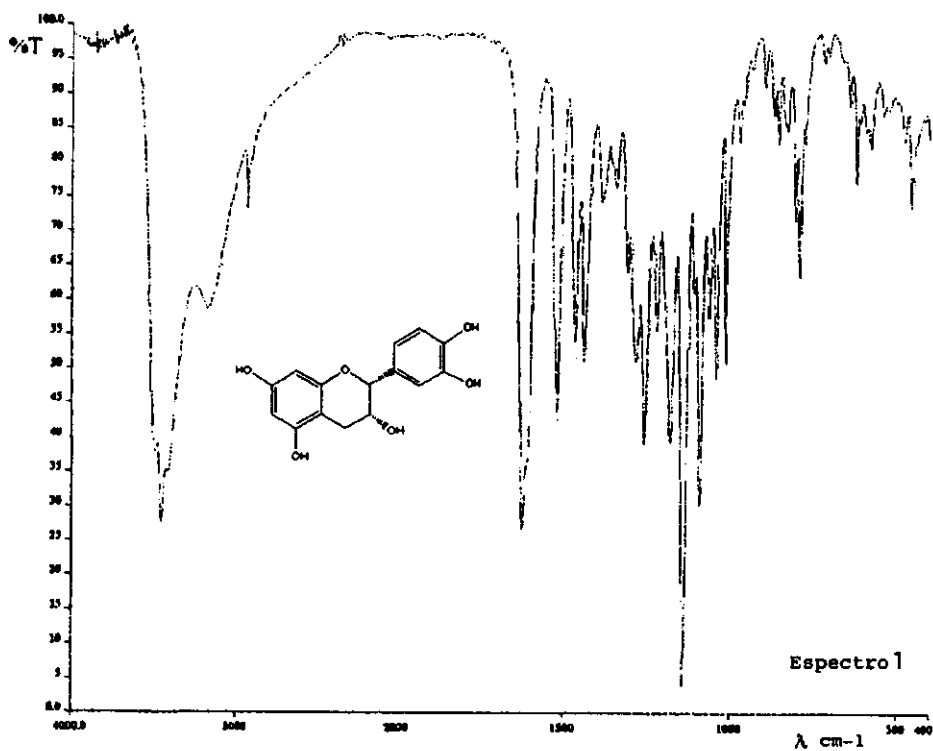
EM-FAB<sup>+</sup>m/z (int.rel) = [M+H]<sup>+</sup> 291 (70), 290 (53), 154 (100), 139 (81) (Espectro 6).

Cuadro 18.- Desplazamientos químicos de RMN<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C \* de la (-) epicatequina **51** y la (+) catequina **50**.

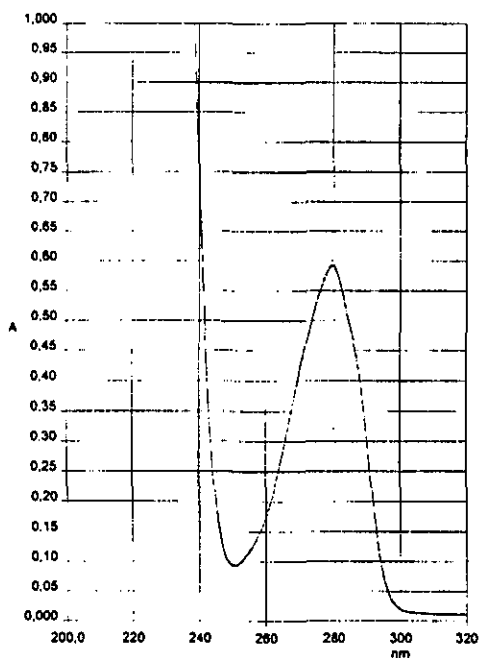
Posición	(-) epicatequina		(+) catequina	
	$\delta_H$	$\delta_C$	$\delta_H$	$\delta_C$
1'	-	132.26	-	132.16
2'	6.96 d (1.7)	115.28	6.83 d (1.8)	116.06
3'	-	145.91	-	146.22
4'	-	145.75	-	146.2
5'	6.78 d (8.7)	115.71	6.69 d (8.1)	115.22
6'	6.81 dd (8.7, 1.7)	119.37	6.71 dd (8.1, 1.8)	120.03
5	-	157.63	-	157.8
6	5.91 d (2.1)	96.33	5.85 d (2.1)	96.23
7	-	157.98	-	156.89
8	5.94 d (2.1)	95.85	5.92 d (2.1)	95.45
9	-	157.35	-	57.56
10	-	100.03	-	100.77
2	4.80 s	79.84	4.56 d (7.5)	82.82
3	4.16 m	67.46	3.97 ddd (16.2, 7.5, 5.4)	68.78
4 $\alpha$	2.86 dd (16.75, 3)	29.26	2.84 dd (16.2, 5.4)	28.51
4 $\beta$	2.70 dd (16.75, 2.5)	29.26	2.5 dd (16.2, 8.4)	28.51

\*MeOH-d<sub>6</sub>, <sup>1</sup>H [300 MHz (*J* en Hz)], <sup>13</sup>C (125 MHz).

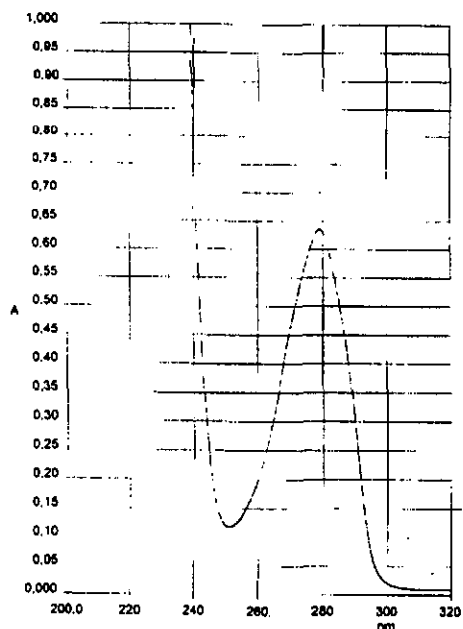
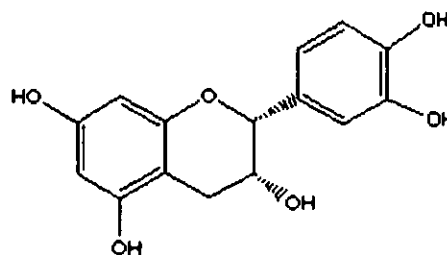




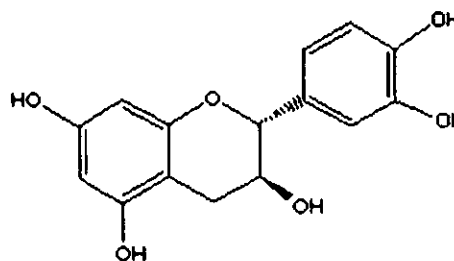
Espectros en el IR de la (-)epicatequina (Espectro 1) y de la (+) catequina (Espectro 2).



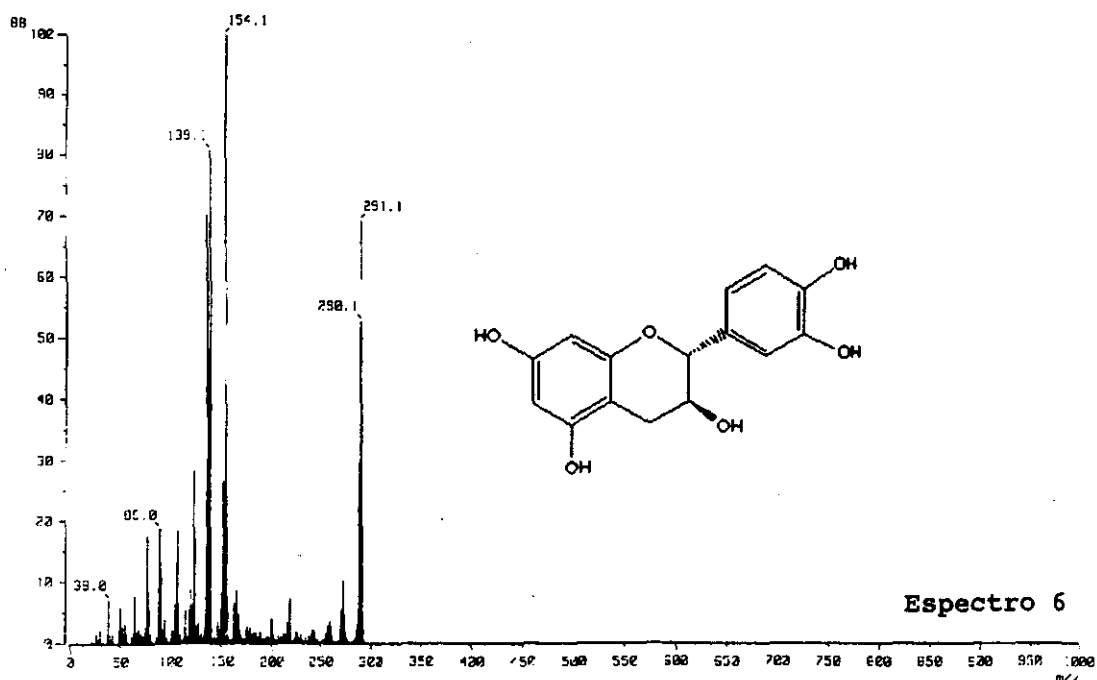
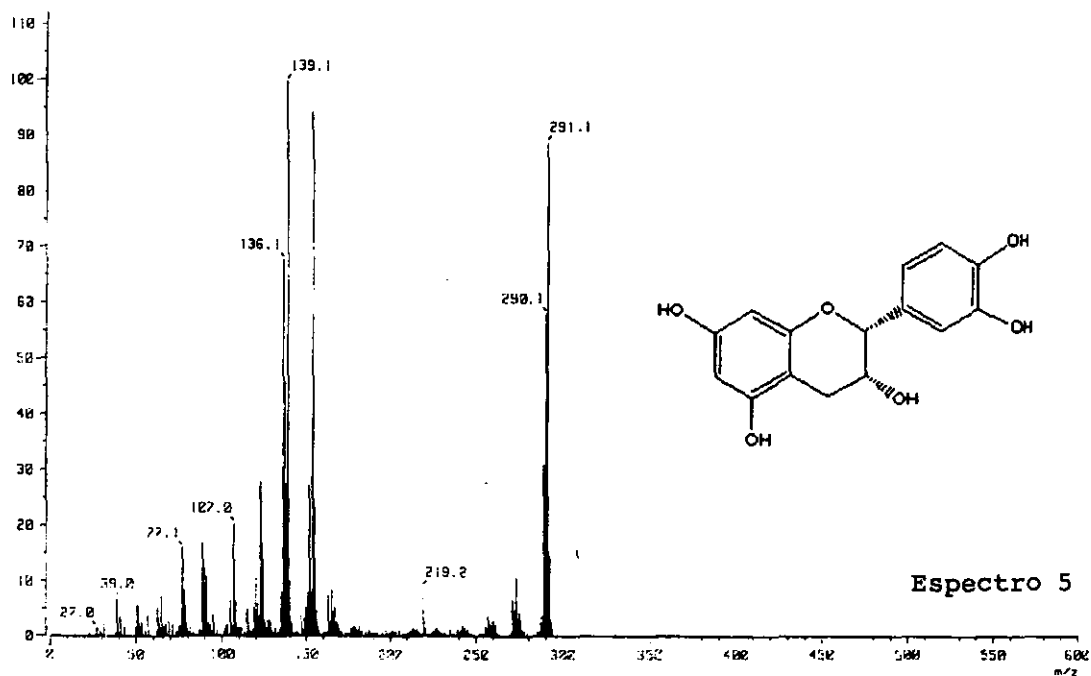
Espectro 3



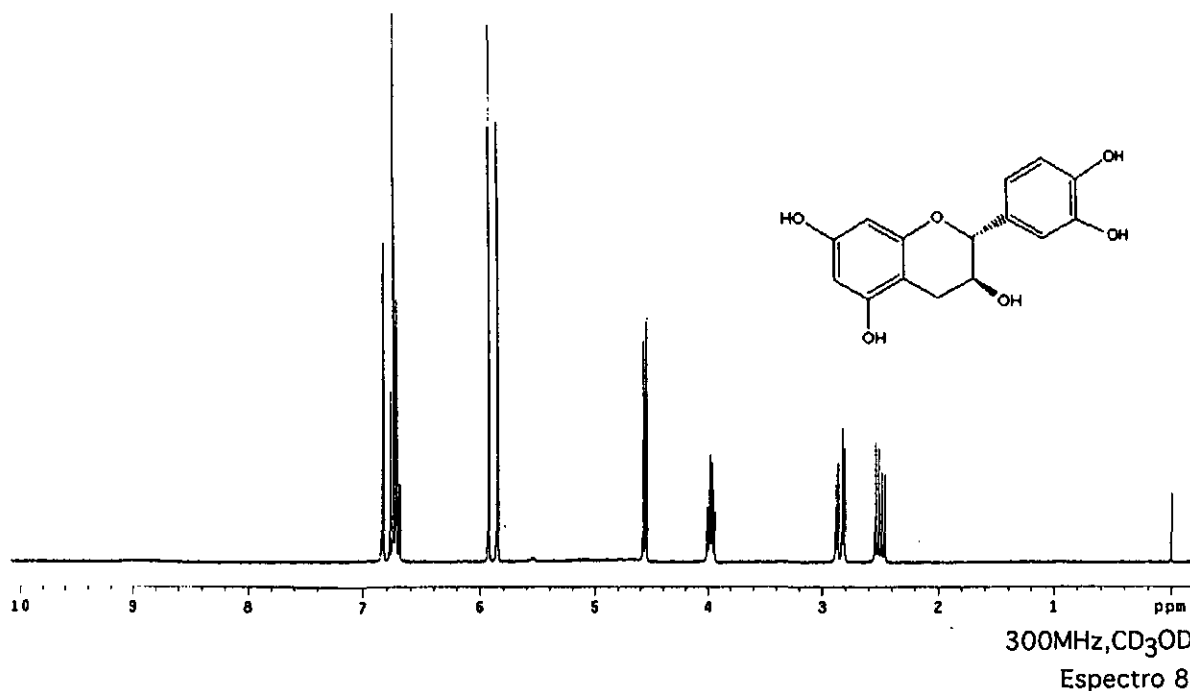
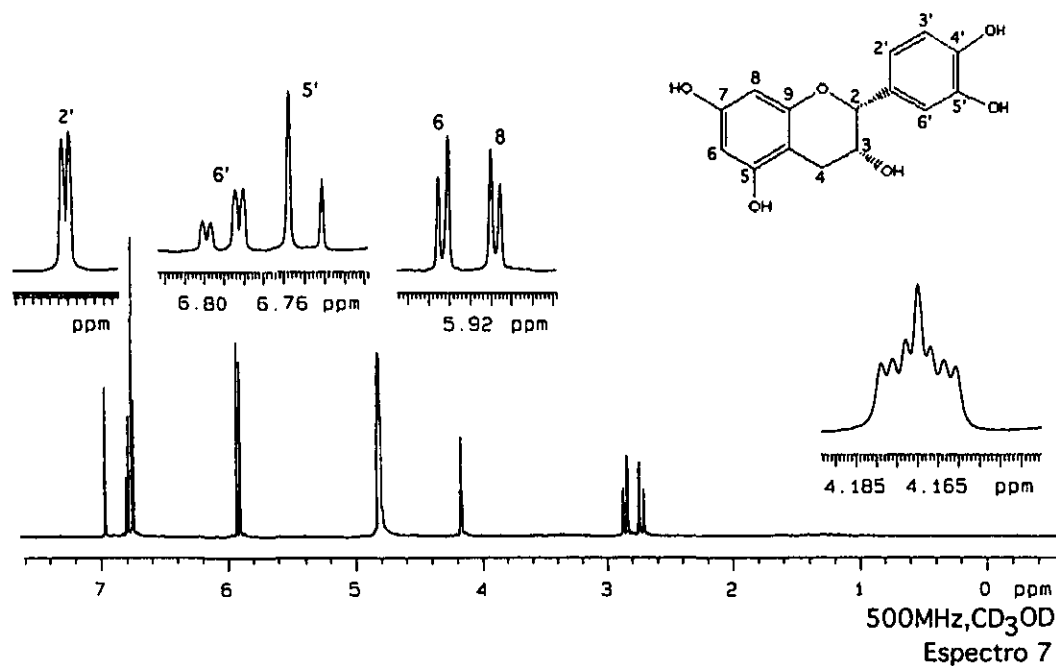
Espectro 4



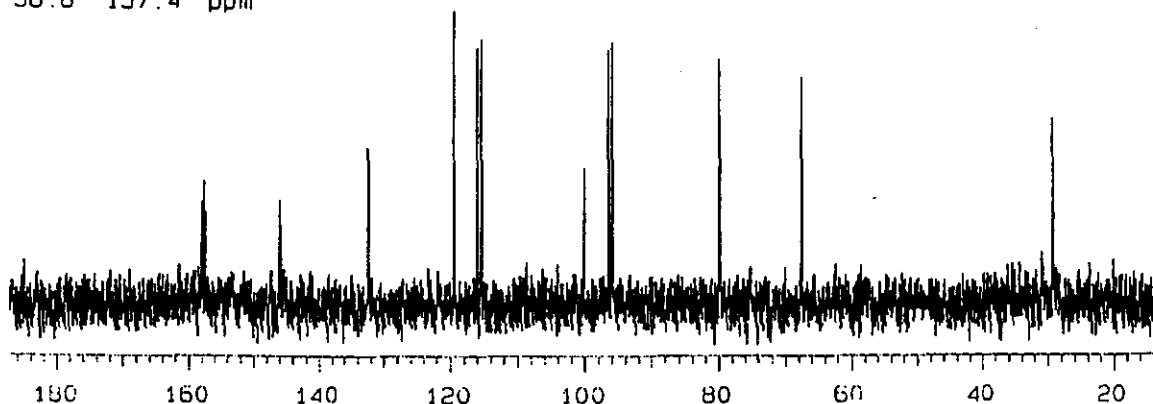
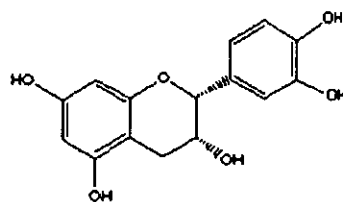
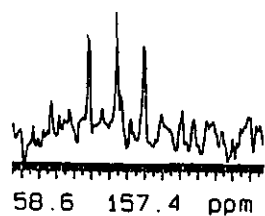
Espectros en el UV de la (-)epicatequina (Espectro 3) y de la (+) catequina (Espectro 4).



Espectros de Masas modalidad FAB<sup>+</sup> de la (-)epicatequina (Espectro 5) y de la (+) catequina (Espectro 6).

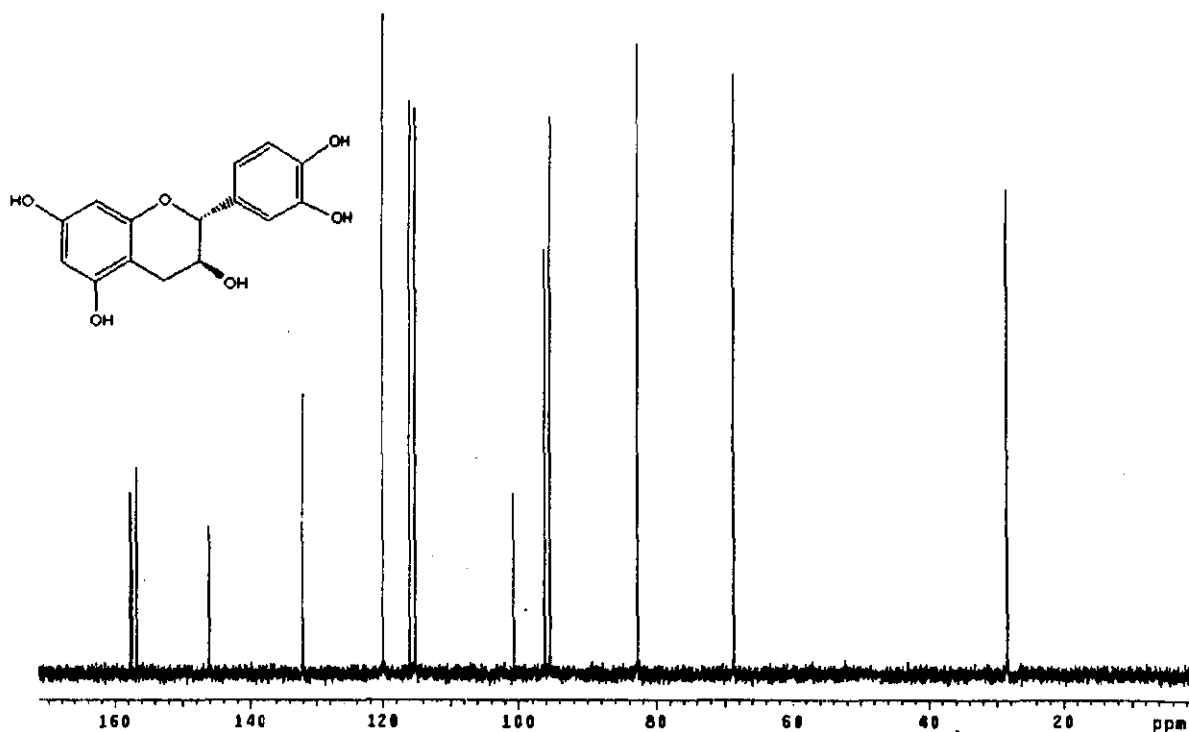


Espectros de RMN<sup>1</sup>H de la (-)epicatequina (Espectro 7) y de la (+) catequina (Espectro 8).



125MHz, CD<sub>3</sub>OD

Espectro 9



125MHz, CD<sub>3</sub>OD

Espectros de RMN<sup>13</sup>C de la (-)epicatequina (Espectro 9) y  
de la (+) catequina (Espectro 10).

## VI.2.2 Identificación del nigaichigósido F1 5.

El compuesto **5** se aisló como un sólido en forma de agujas de color café claro, soluble en MeOH.

Los datos físicos, espectroscópicos y espectrométricos del compuesto **5** se resumen en el Cuadro 19.

El espectro en el IR (Espectro 11) generado por el compuesto **5**, presentó bandas de absorción para grupos hidroxilos ( $3416\text{ cm}^{-1}$ ), para C-H saturado e insaturado ( $2932\text{ cm}^{-1}$ ), para grupo ester ( $1728\text{ cm}^{-1}$ ), para doble enlace trisustituido ( $1628\text{ cm}^{-1}$ ) y para enlace glucosídico ( $1072\text{ cm}^{-1}$ ) (Li et al., 1998).

Su espectro de masas modalidad FAB<sup>+</sup> (Espectro 12) mostró picos en una relación de m/z 689 [M + Na]<sup>+</sup> y 504 [M - glu]<sup>+</sup> consistentes con la fórmula molecular C<sub>36</sub>H<sub>58</sub>O<sub>11</sub> para el compuesto **5**.

La información anterior en conjunto con el análisis de los espectros de RMN (Espectros 13 y 14), permitieron establecer que el compuesto **5** era un terpenoide glicosídico de tipo urseno (Zhuo et al., 1992; Lien et al., 1999; Li et al., 1998).

A continuación se describen las características relevantes de los espectros de RMN:

A  $\delta_H = 2.42$  se observó un singulete característico para el H-18 de un triterpenoide de tipo urseno sustituido con un hidróxilo  $\alpha$  orientado en la posición 19 (Sahpaz et al., 2000; Li et al., 1998). La señal correspondiente para el carbono aparece a  $\delta_C = 54.94$  (C-18) (Sahpaz et al., 2000; Adnyana et al., 2000).

A  $\delta_H = 4.05$  se observó un singulete que se asignó a H-12 del doble enlace trisustituido de un urseno. Las señales para los carbonos del doble enlace aparecen a  $\delta_C = 129.49$  (C-12) y  $139.73$  (C-13) (Li et al., 1998; Sahpaz et al., 2000).

A  $\delta_H = 0.60$  (Me-26),  $0.68$  (Me-24),  $0.83$  (Me-30),  $0.94$  (Me-25),  $1.11$  (Me-29) y  $1.24$  (Me-27) se observaron señales para seis metilos, consistente con el núcleo urseno del compuesto **5** (Sahpaz et al., 2000; Cox et al., 1993).

Los carbonos correspondientes aparecen a  $\delta_C = 17.66$ ,  $13.87$ ,  $16.61$ ,  $16.61$ ,  $27.06$  y  $24.74$ , respectivamente

(Sahpaz et al., 2000).

A  $\delta_C = 178.57$  (C-28), 73.63 (C-19), 66.32 (C-23), 69.70 (C-2) y 78.27 (C-3) se observaron señales para un carbonilo y para cuatro carbonos base de oxígeno, estos últimos consistentes con la naturaleza tetrahidroxilada del compuesto.

Los desplazamientos químicos observados para C-2 y C-3 son congruentes con una estereoquímica  $\alpha$  y  $\beta$  para los hidroxilos en estas posiciones (Adnyana et al., 2000; Li et al., 1998).

A  $\delta_H = 5.22$  se observó una señal doble que fue asignada al H-1' del azúcar y de acuerdo con el valor de la constante de acoplamiento esta debe ser de tipo  $\beta$ .

Las señales correspondientes para los carbonos del azúcar aparecieron a  $\delta_C$  95.76 (C-1'), 73.83 (C-2'), 78.56 (C-3'), 71.09 (C-4'), 78.27 (C-5') y 62.40 (C-6') y están en concordancia con los descritos para la  $\beta$ -glucosa.

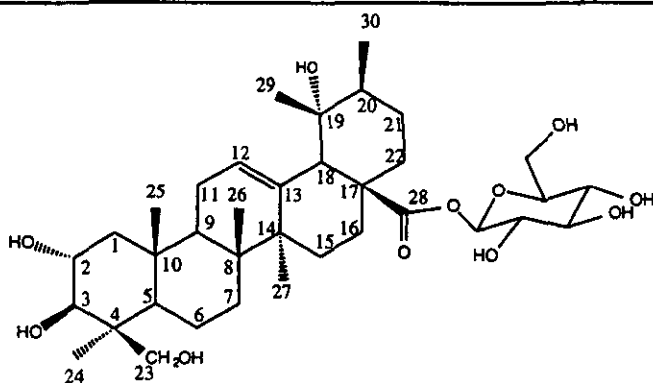
Los desplazamientos químicos observados para el C-28 del terpenoide, el H-1' y el C-1' de la glucosa permitieron conocer que la unión glucosídica es a través del grupo



carboxilo del terpenoide y el carbono anomérico de la glucosa (Durham *et al.*, 1994).

La asignación de la totalidad de las señales de H y C en los espectros se hizo mediante la comparación con los descritos en la literatura.

Cuadro 19.- Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del nigaichigósido F1 5.



nigaichigósido F1 5

p.f. = 212-214 °C.

P.M. = 666.39 uma EM-FAB<sup>+</sup> (NBA-MeOH).

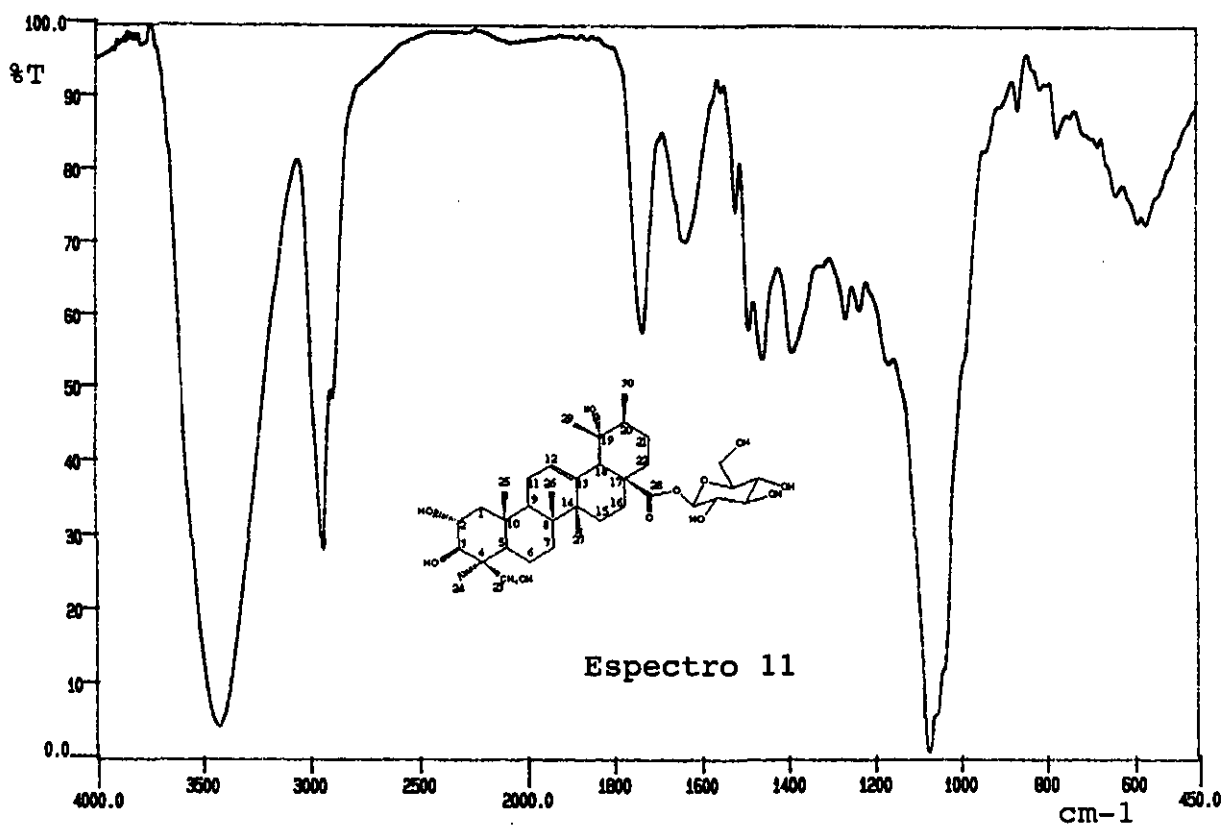
F.M. = C<sub>36</sub>H<sub>58</sub>O<sub>11</sub>.

[α]<sub>D</sub> = +75 ° (C = 0.2 mg/mL, MeOH).

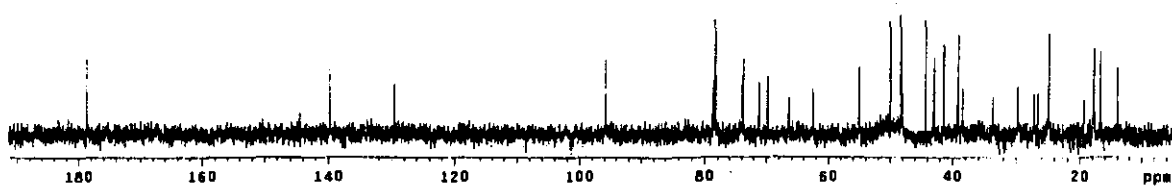
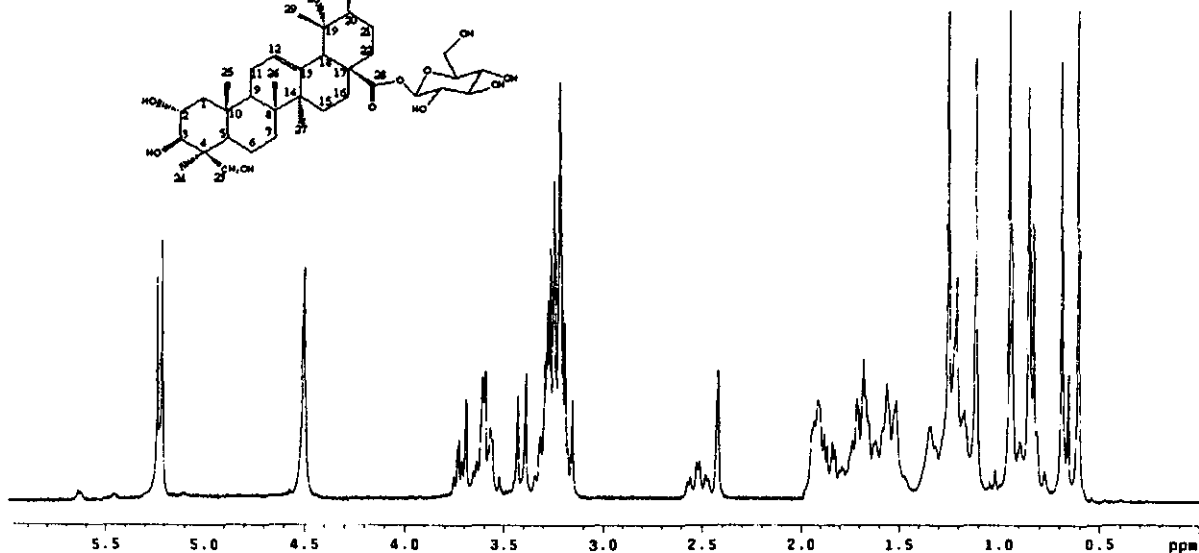
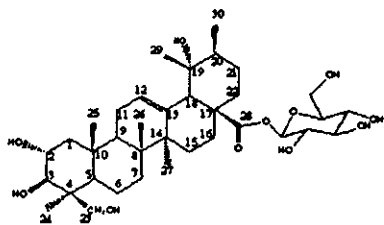
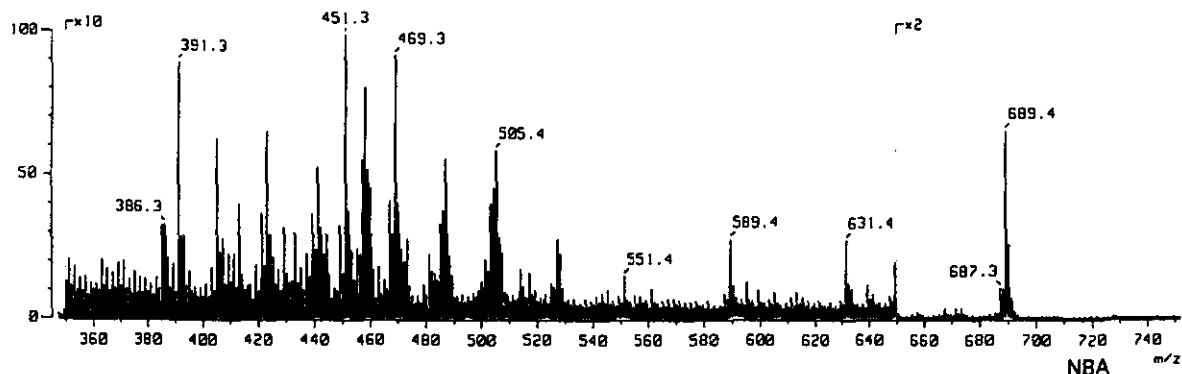
IR ν<sub>max</sub>(KBr) = 3416, 2932, 1728, 1628, 1070 cm<sup>-1</sup> (Espectro 11).

EM-FAB<sup>+</sup>m/z (int.rel) = [M+Na]<sup>+</sup> 689 (64), 631 (28), 505 (60), 469 (92), 451 (100) (Espectro 12).

En resumen las evidencias espectroscópicas y espectrométricas permitieron identificar al compuesto 5 como el nigaichigósido F1 ( Li et al., 1998, Seto et al., 1984).



Espectro en el IR del nigaichigósido (Espectro 11).



Espectros de Masas modalidad FAB<sup>+</sup>, RMN<sup>1</sup>H y RMN<sup>13</sup>C del nigaichigósido (Espectro 12, 13 y 14).

### VI.2.3 Identificación de la hiperina 302.

El compuesto **302** se aisló como un sólido de color amarillo, soluble en MeOH.

El espectro en el IR (Espectro 15) generado por el compuesto **302**, presentó bandas de absorción para grupos hidróxilos ( $3420\text{ cm}^{-1}$ ), para C-H saturados e insaturados ( $2935\text{ cm}^{-1}$ ) y para carbonilo de  $\gamma$  pirona ( $1658\text{ cm}^{-1}$ ).

El espectro de masas modalidad FAB<sup>+</sup> (Espectro 16) mostró señales en una relación de m/z 465 [M+H]<sup>+</sup> consistentes con la fórmula molecular C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>12</sub>.

La información anterior en conjunto con el análisis de los espectros de RMN unidimensionales (Espectro 17 y 18), permitieron determinar que el compuesto **302** es la hiperina (Devon y Scott, 1975). Los datos físicos y espectroscópicos de IR y EM del compuesto **302** se resumen en el Cuadro 20.

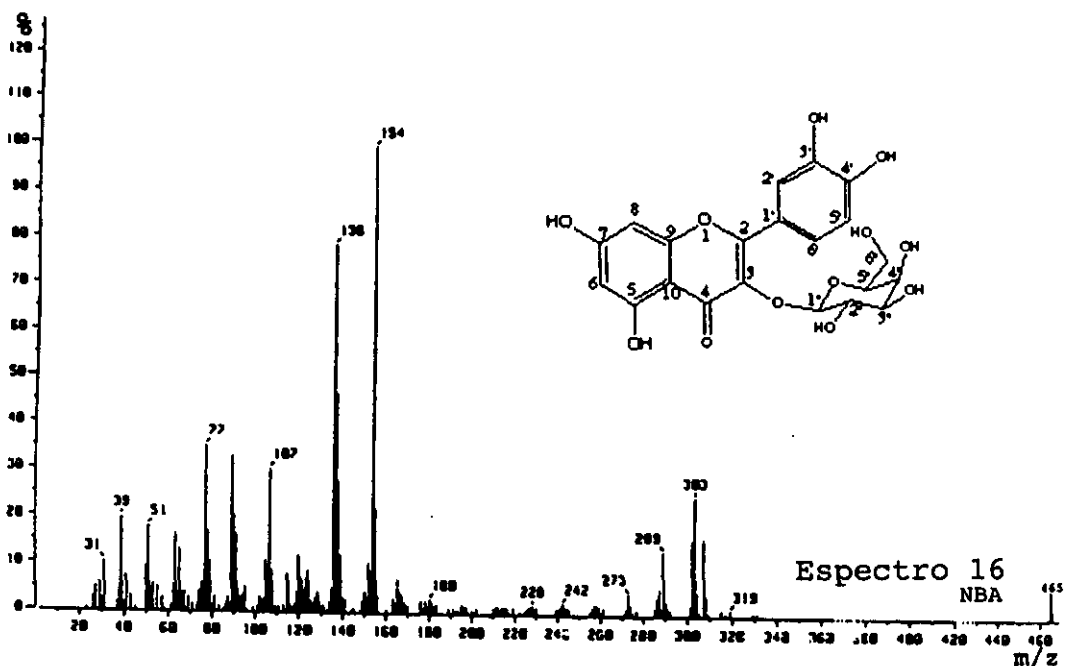
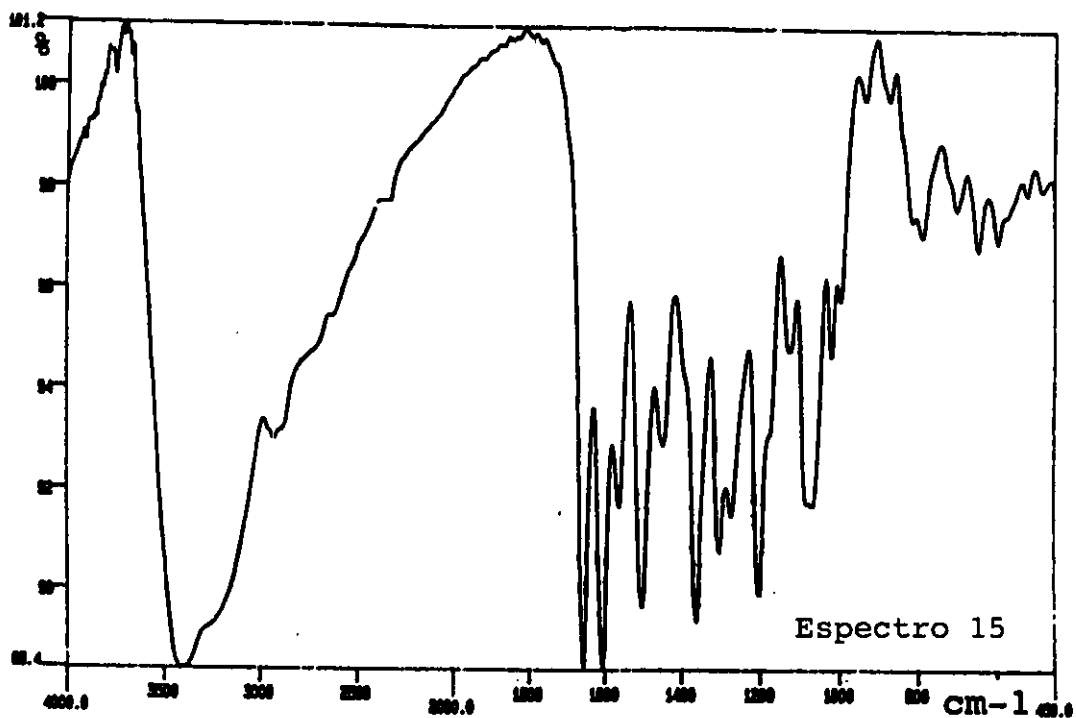
A continuación se describen los datos espectroscópicos de RMN<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, para el compuesto **302**.

Las señales pertenecientes a la aglicona que se identificó como la quercetina se observaron a  $\delta_{\text{H}} = 12.6$

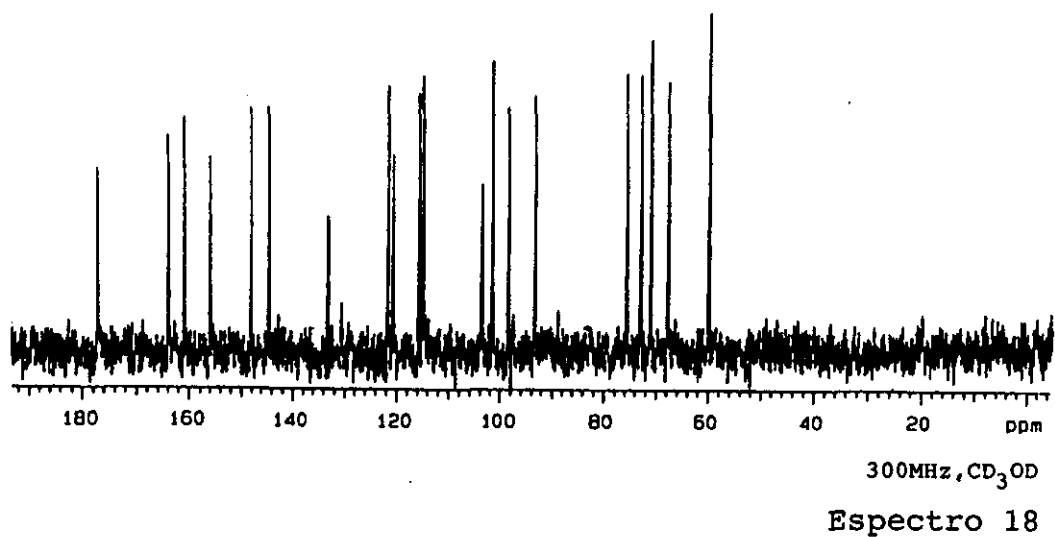
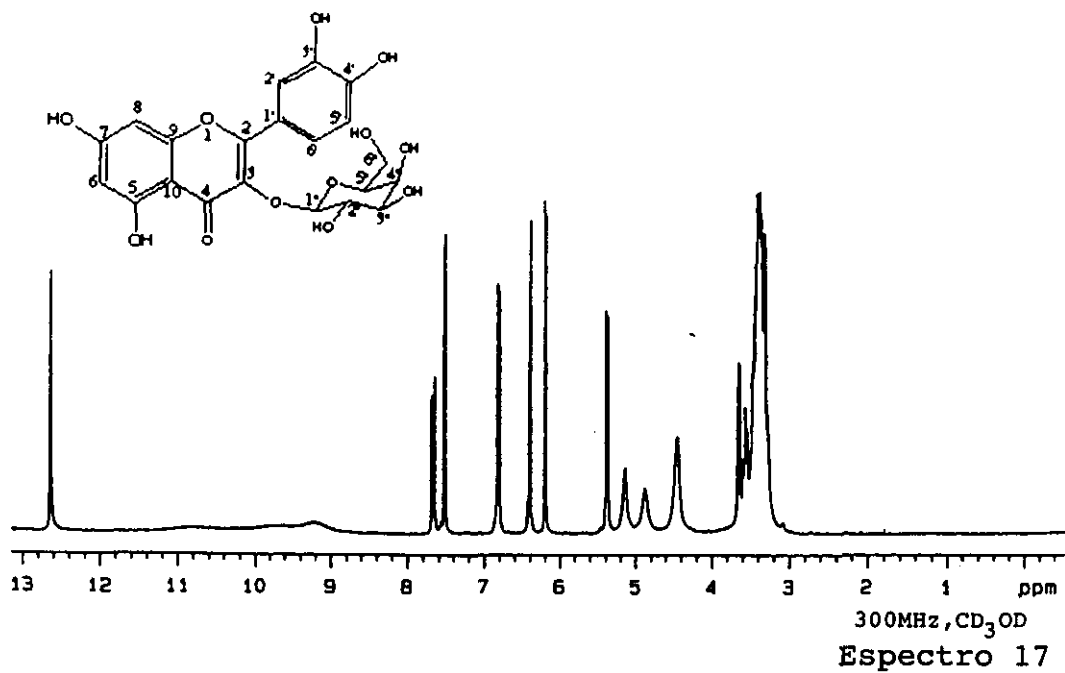
s(OH-5); 7.68 dd (H-6', J= 2.1, 8.4), 7.54 d(H-2', J=2.1), 6.83 d(H-5', J= 8.4), 6.41 d (H-8, J= 2.1), 6.21 d (H-6, J=2.1), en RMN<sup>13</sup>C se observaron señales a  $\delta_c = 177$  (C-4); 164 (C-7); 161 (C-5); 156.3 (C-9); 156.2 (C-2); 148 (C-4); 144 (C-3'); 133 (C-3); 122 (C-6'); 121 (C-1'); 115.9 (C-5'); 115.2 (C-2'); 103 (C-10).

Las señales de la galactosa se observaron a  $\delta_H = 5.39$  d(H-1'', J= 7.5); 3.66-3.27 m (H-2'', 3'', 4'', 5'' y 6''), en RMN<sup>13</sup>C se observaron señales a  $\delta_c = 98$  (C-1''); 93 (C-6); 101 (C-8); 75 (C-5''); 73 (C-2''); 71 (C-4''); 67 (C-3''); 60 (C-6'').

La hidrólisis ácida del compuesto **302** dió como el azúcar componente a la galactosa y como aglicona a la quercetina, las cuales fueron identificadas por cromatografía en capa fina con muestras auténticas.



Espectros en el IR y Masas modalidad FAB<sup>+</sup> de la hiperina  
(Espectros 15 y 16).



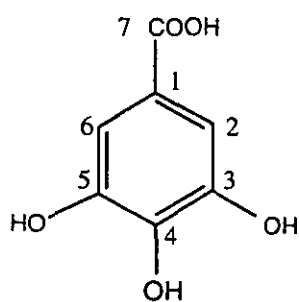
Espectros de RMN<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de la hiperina (Espectros 17 y 18).



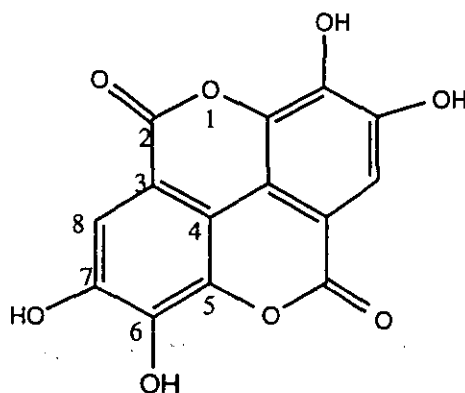


**VI.2.4 Identificación de el ácido gálico 304, el ácido elágico 305 y de el  $\beta$ -D-glucósido de  $\beta$ -sitosterol 36.**

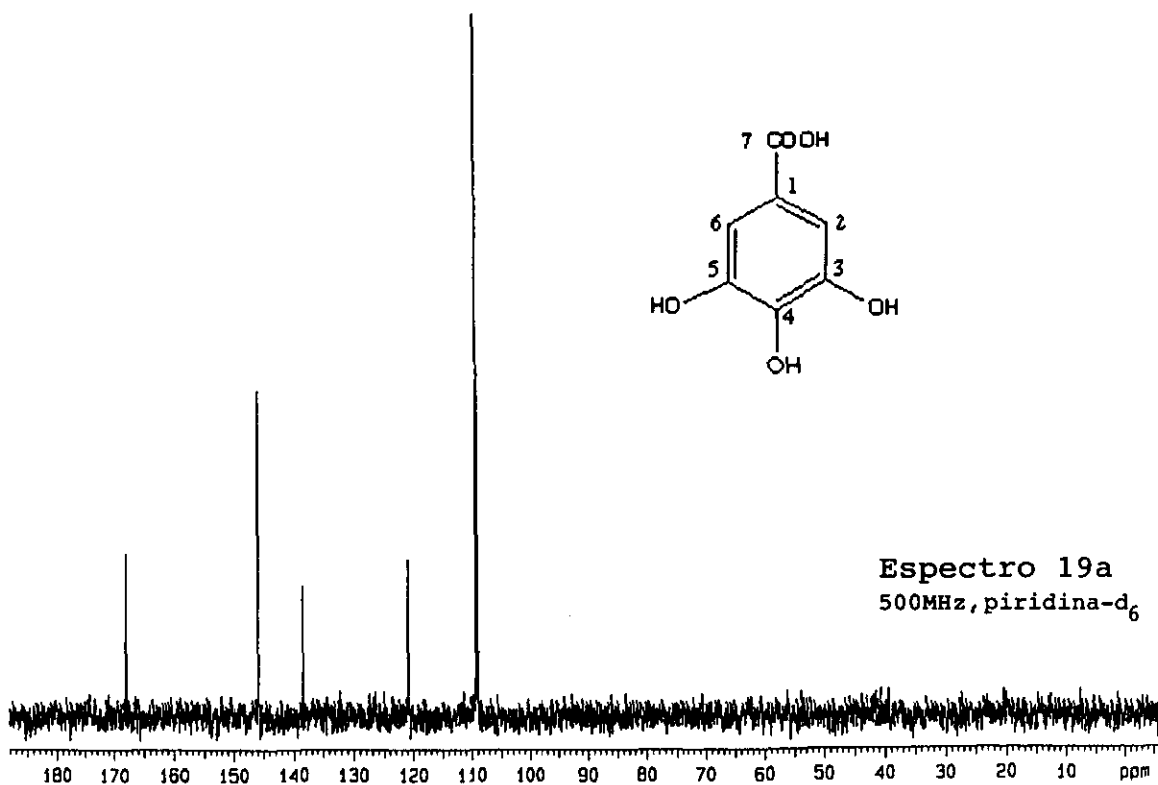
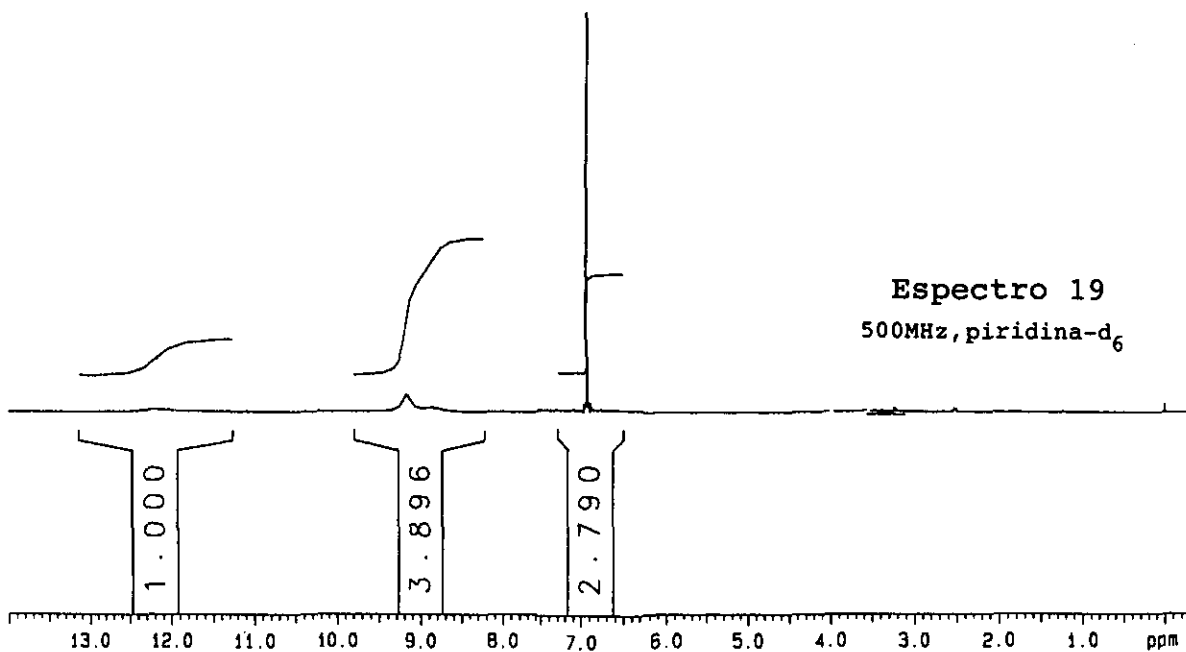
Los compuestos **304**, **305** y **36** se aislaron como sólidos de color blanco, café oscuro y blanco, respectivamente y se identificaron por comparación de los espectros de RMN con los datos descritos en la literatura (Espectro 19, 19a, 20, 20a, 21, 21a y 21b) y por comparación con muestras auténticas como ácido gálico, ácido elágico y  $\beta$ -D-glucósido de  $\beta$ -sitosterol (Hatano et al., 1990; Yang et al., 1998; Arrieta, 1997).



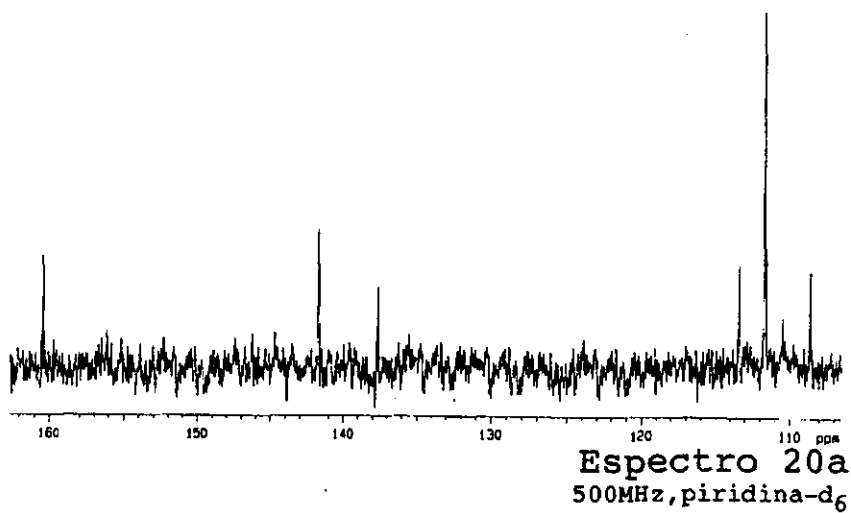
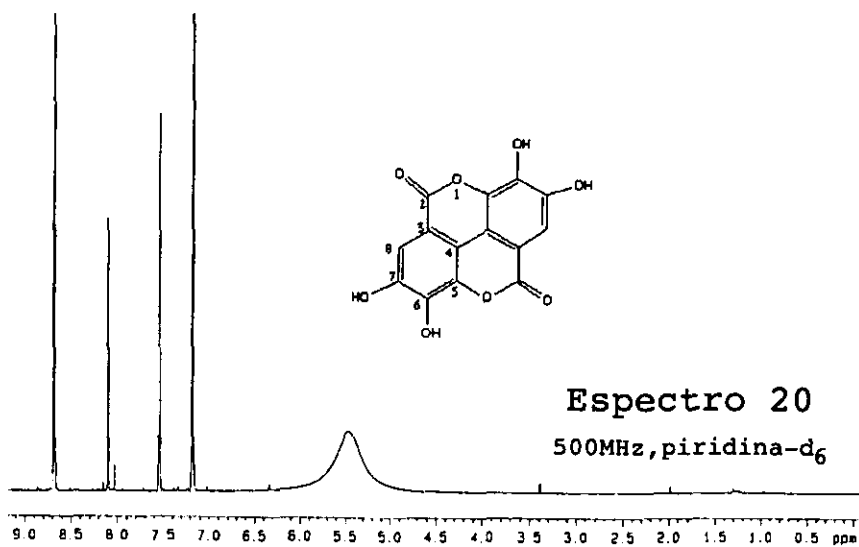
ácido gálico **304**



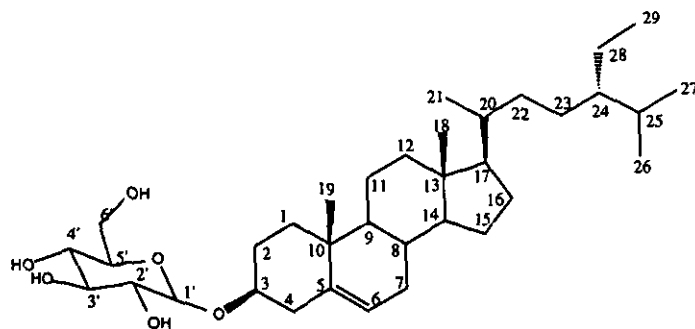
ácido elágico **305**



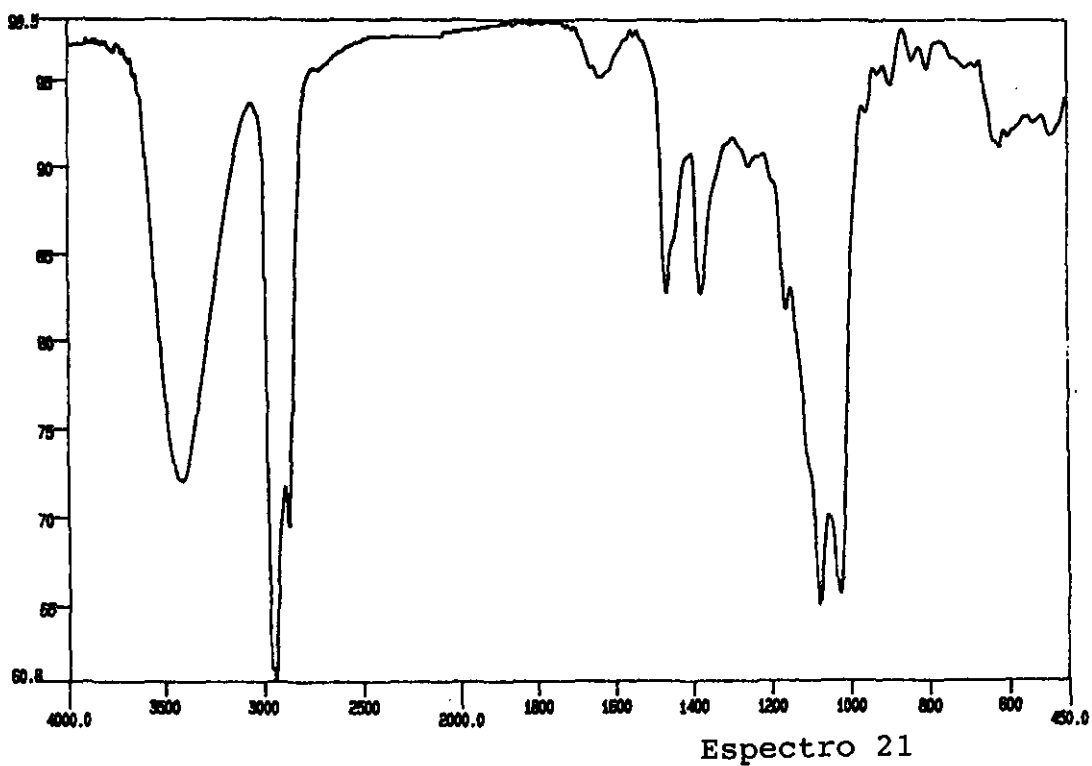
Espectros de RMN<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C del ácido gálico (Espectros 19 y 19a).



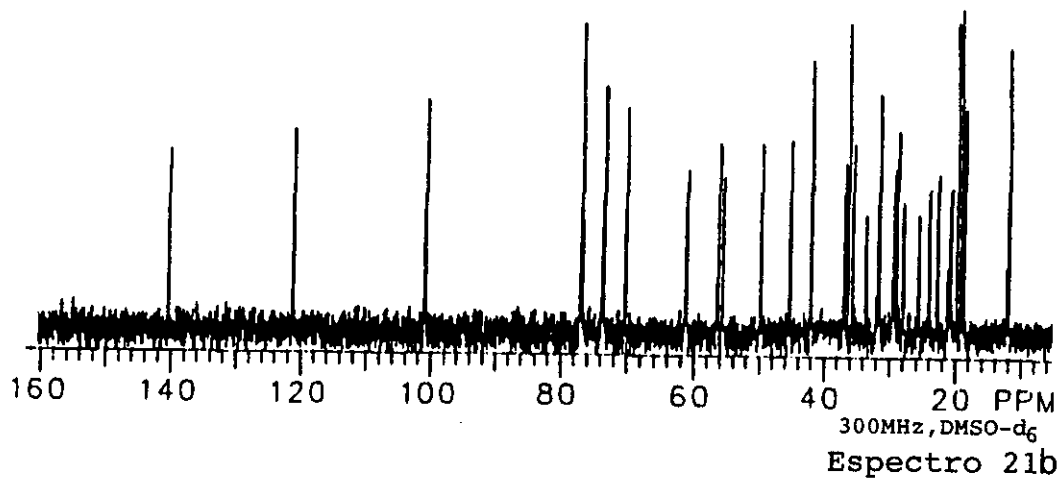
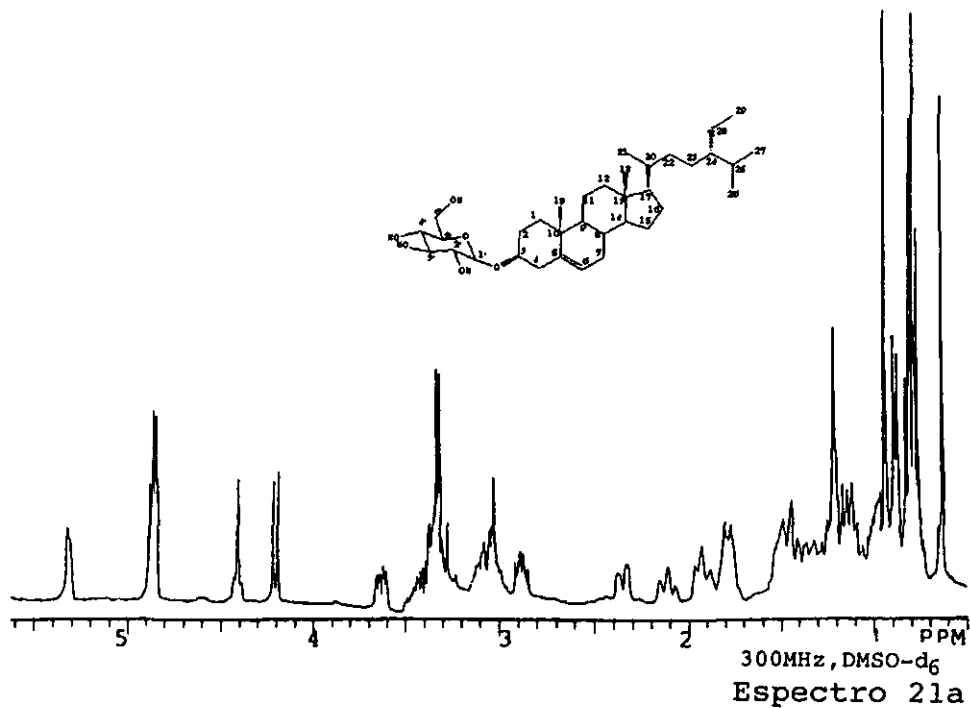
Espectros de RMN<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C del ácido elágico (Espectros 20 y 20a).



$\beta$ -D-glucósido de  $\beta$ -sitosterol 36



Espectro en el IR del  $\beta$ -D-glucósido de  $\beta$ -sitosterol  
(Espectro 21).



Espectros de  $\text{RMN}^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del  $\beta$ -D-glucósido de  $\beta$ -sitosterol  
(Espectros 21a y 21b).

### VI.3 Resultados obtenidos durante la determinación de la actividad antiprotozoaria del extracto, las fracciones y compuestos aislados de las partes aéreas de *Rubus coriifolius*.

De los seis compuestos aislados la (-) epicatequina **51** es el compuesto con mejor actividad antiprotozoaria contra ambos protozoarios ( $CI_{50}$  = 1.92  $\mu\text{g/mL}$  para *E. histolytica* y 1.64  $\mu\text{g/mL}$  para *G. lamblia*). Los compuestos restantes demostraron una actividad moderada contra ambos protozoarios. La 5,7,3',4'-O-tetrametilepicatequina resultó con mejor actividad para los trofozoítos de *G. lamblia* comparada contra la emetina y el metronidazol (Cuadro 21).

Comparando la estructura de la (-) epicatequina con respecto a los fármacos controles utilizados en la terapéutica en ninguno de los casos existe una relación estructural, por lo que se puede proponer a la (-) epicatequina como una molécula prototipo para el desarrollo de nuevos fármacos antiprotozoarios.

Cuadro 21.- Actividad antiprotozoaria *in vitro* contra *E. histolytica* y *G. lamblia* de los compuestos puros.

Muestra	CI <sub>50</sub> µg/mL <i>E histolytica</i>	CI <sub>50</sub> µg/mL <i>G lamblia</i>
(-) epicatequina	<b>1.92</b> (1.97-1.31)	<b>1.64</b> (1.74-1.40)
(+) catequina	65.55 (67.30-62.20)	33.95 (35.10-31.50)
nigaichigósido	111.94 (112.32-111.54)	123.64 (123.77-123.44)
β-D-glucósido de β-sitosterol	82.16 (82.00-82.26)	61.50 (61.10-61.70)
hiperina	143.61 (185.88-110.95)	49.20 (49.31-49.08)
ácido gálico	220.09 (222.1-222.26)	70.32 (70.45-70.20)
ácido elágico	56.55 (56.86-56.22)	24.94 (25.01-24.80)
5,7,3',4'-O-tetrametil epicatequina	49.15 (49.32-49.00)	<b>0.043</b> (0.046-0.040)
3,5,7,3',4'-O-penta acetoil epicatequina	60.40 (60.74-60.07)	18.37 (18.40-18.33)
Emetina	1.05 (1.07-1.04)	0.42 (0.42-0.41)
Metronidazol	0.04 (0.103-0.029)	0.21 (0.27-0.14)

## VII CONCLUSIONES

Los resultados derivados de la evaluación de la actividad antiprotozoaria de las especies *Rubus coriifolius*, *Cuphea pinetorum* y *Helianthemum glomeratum* explican en parte su uso en la medicina tradicional de los Altos de Chiapas como agentes para el tratamiento de trastornos gastrointestinales. Comparando la actividad obtenida para el control positivo, *Castela texana*, los resultados apoyan la hipótesis de encontrar compuestos antiprotozoarios en estas especies (Calzado-Flores et al., 1986).

El estudio fitoquímico biodirigido del extracto  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$  de las partes aéreas de *R. coriifolius*, permitió el aislamiento de dos flavan-3-oles [(-) epicatequina y (+) catequina], un triterpeno pentacíclico (nigaichigósido), un esteroide ( $\beta$ -D-glucosido  $\beta$  sitosterol), un flavonoide (hiperina), dos polifenoles (ácido gálico y ácido elágico) y un azúcar (glucosa).

Los metabolitos aislados de *R. coriifolius* son consistentes con los previamente descritos en el género. En el caso de los polifenoles aislados [(-) epicatequina,



la (+) catequina y el ácido elálgico], su presencia constituye un soporte adicional que explica el uso de las plantas para tratar la diarrea; como sucede con otras especies que contienen este tipo de compuestos (Standley, 1922; Merck Index, 1989; Perry, 1998; NHI, 1974; Laurence, 1978; Tyler, 1994).

Los resultados derivados de esta tesis, así como de los compuestos aislados, constituyen el primer aporte al conocimiento químico y farmacológico de *R. coriifolius*.

Los resultados de la actividad antiprotozoaria demostrada para los polifenoles [(-) epicatequina, (+) catequina y ácido elálgico] son una contribución en el conocimiento de sus propiedades biológicas.

De los seis compuestos aislados de *R. coriifolius*, la (-) epicatequina fue el compuesto con mayor actividad contra los dos protozoarios de prueba. Estos resultados son consistentes con los previamente descritos por Calzada y colaboradores (Calzada *et al.*, 1999a).

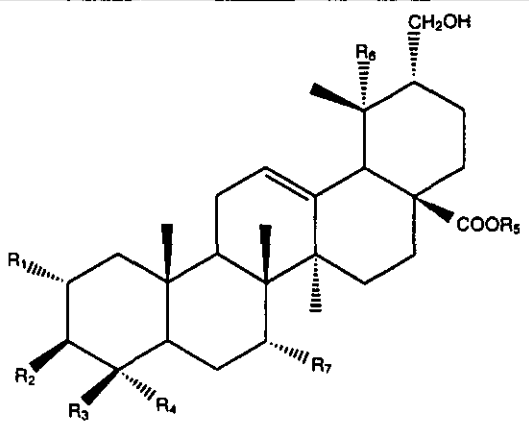
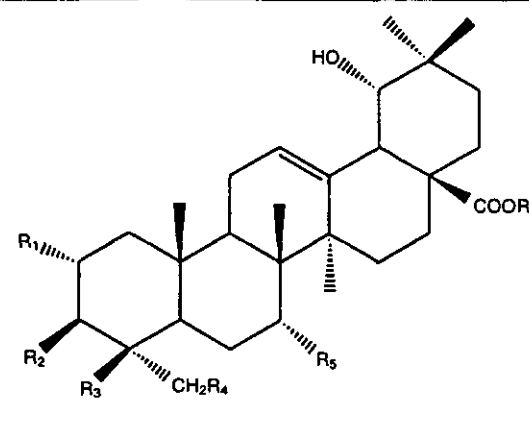
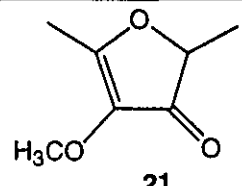
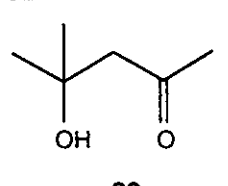
Los resultados de la actividad obtenidos para la (-) epicatequina y la tetrametilepicatequina reafirma las observaciones hechas por Calzada y colaboradores sobre el

núcleo flavan-3-ol como prototipo para el desarrollo de nuevos agentes antientamoeba y anti giardia.

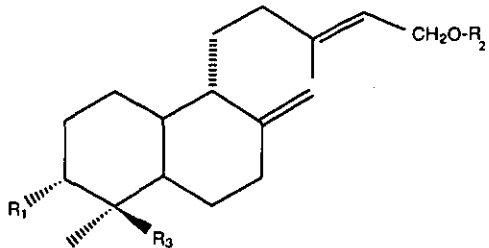
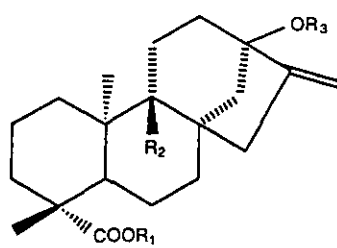
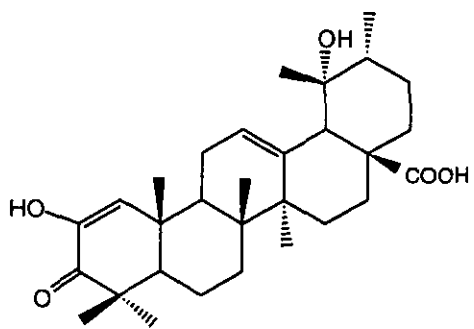
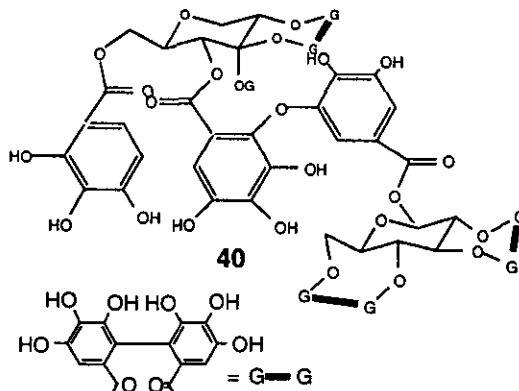
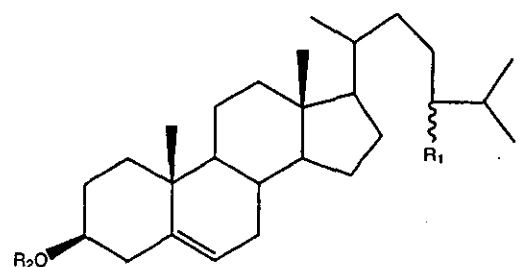
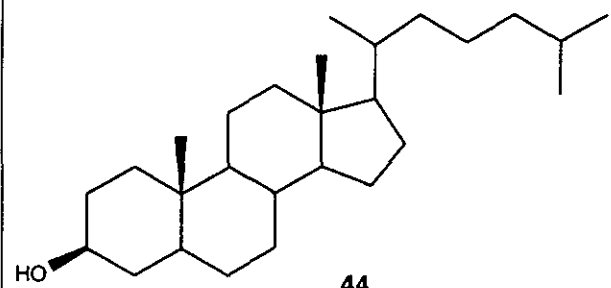
Los resultados permiten concluir que la búsqueda de nuevos compuestos útiles para el desarrollo de nuevos fármacos con un potencial terapéutico a partir de plantas medicinales, debe realizarse de manera multidisciplinaria.

## VIII APENDICES

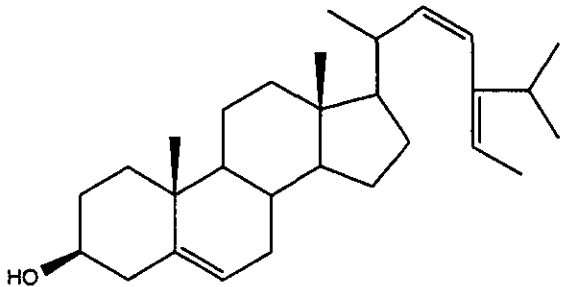
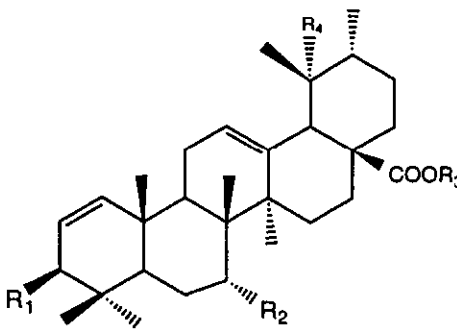
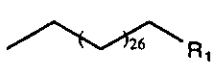
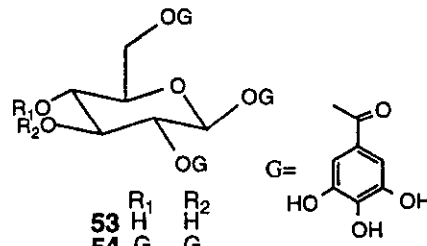
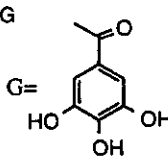
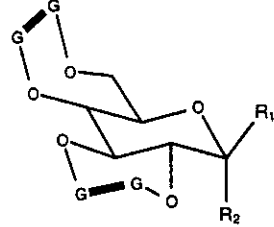
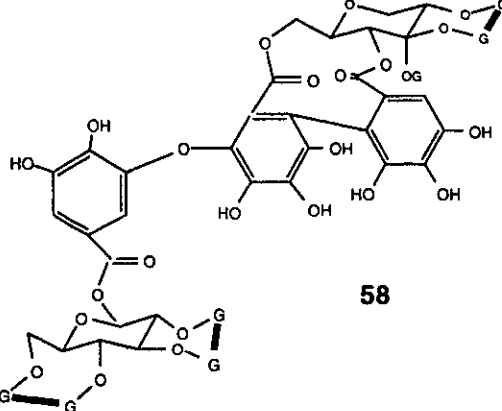
Cuadro A-1.-Compuestos aislados de varias especies de *Rubus*.

Estructura								Estructura							
															
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	
5	OH	OH	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>3</sub>	Glu	OH	H	16	OH	OH	CH <sub>3</sub>	OH	H	Glu	
6	OH	OH	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>3</sub>	Glu	OH	H	17	OH	OH	CH <sub>3</sub>	H	H	Glu	
7	O	OH	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	OH	H	18	H	O	CH <sub>3</sub>	H	O	H	
8	OH	OH	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	H	19	H	OH	CH <sub>3</sub>	H	OH	H	
9	OH	OH	CH <sub>3</sub>	COOH	Glu	OH	H	20	OH	OH	CH <sub>2</sub> OH	H	H	Glu	
10	OAc	OH	CH <sub>3</sub>	COOH	Glu	H	H								
11	OH	βOH	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Glu	OH	H								
12	OH	αOH	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Glu	OH	H								
13	OH	OH	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OH	Glu	OH	H								
14	OH	αOH	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OH	Glu	OH	H								
15	CH <sub>3</sub> COαOH	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>2</sub> OH	Glu	OH	H								
 <p>21</p>								 <p>22</p>							
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ <p>23</p>								$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ <p>25</p>							
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ <p>24</p>															

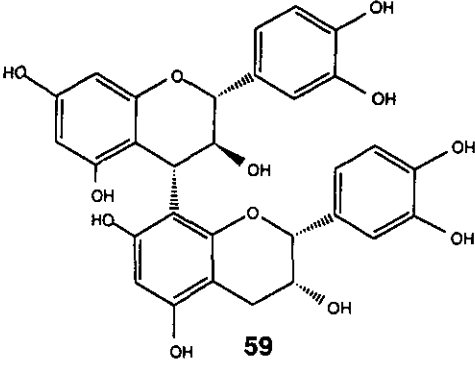
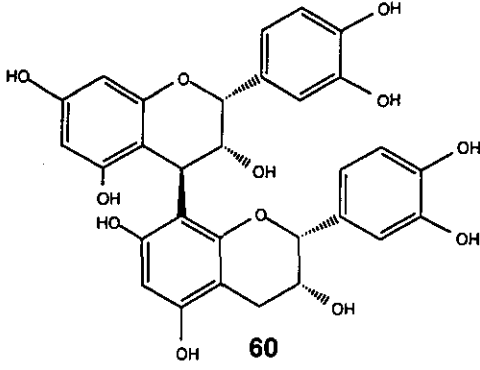
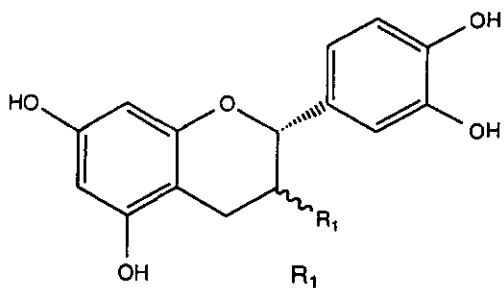
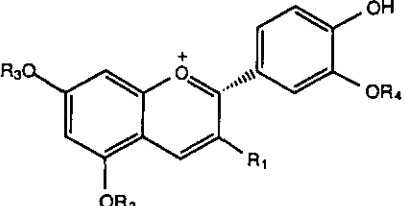
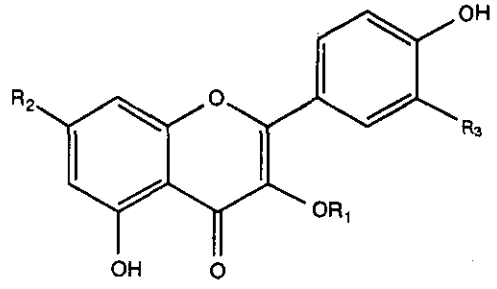
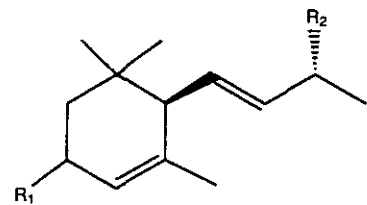
Cuadro A-1.- Compuestos aislados de varias especies de *Rubus* (continuación).

Estructura	Estructura																																																												
 <table data-bbox="257 654 665 858"> <thead> <tr> <th></th> <th>R<sub>1</sub></th> <th>R<sub>2</sub></th> <th>R<sub>3</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>26</td> <td>OH</td> <td>Glu</td> <td>CH<sub>2</sub>OH</td> </tr> <tr> <td>27</td> <td>OH</td> <td>H</td> <td>CH<sub>2</sub>O-Glu</td> </tr> <tr> <td>28</td> <td>H</td> <td>Glu</td> <td>COO-Glu</td> </tr> <tr> <td>29</td> <td>H</td> <td>Glu</td> <td>CH<sub>2</sub>O-Glu</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>OH</td> <td>Glu</td> <td>CH<sub>2</sub>O-Glu</td> </tr> <tr> <td>31</td> <td>OH</td> <td>H</td> <td>CH<sub>2</sub>O-Glu-(6&lt;-1)-Arab</td> </tr> <tr> <td>32</td> <td>OGlu</td> <td>Glu</td> <td>CH<sub>3</sub></td> </tr> </tbody> </table>		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	26	OH	Glu	CH <sub>2</sub> OH	27	OH	H	CH <sub>2</sub> O-Glu	28	H	Glu	COO-Glu	29	H	Glu	CH <sub>2</sub> O-Glu	30	OH	Glu	CH <sub>2</sub> O-Glu	31	OH	H	CH <sub>2</sub> O-Glu-(6<-1)-Arab	32	OGlu	Glu	CH <sub>3</sub>	 <table data-bbox="771 613 1254 817"> <thead> <tr> <th></th> <th>R<sub>1</sub></th> <th>R<sub>2</sub></th> <th>R<sub>3</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>33</td> <td>Glu</td> <td>H</td> <td>Glu</td> </tr> <tr> <td>34</td> <td>Glu</td> <td>OH</td> <td>Glu</td> </tr> <tr> <td>35</td> <td>Glu</td> <td>H</td> <td>Glu-6-trans-p-cumaroil</td> </tr> <tr> <td>36</td> <td>Glu</td> <td>H</td> <td>Glu-6-cafeoil</td> </tr> <tr> <td>37</td> <td>Glu-6-cafeoil</td> <td>H</td> <td>Glu</td> </tr> <tr> <td>38</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>Glu</td> </tr> </tbody> </table>		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	33	Glu	H	Glu	34	Glu	OH	Glu	35	Glu	H	Glu-6-trans-p-cumaroil	36	Glu	H	Glu-6-cafeoil	37	Glu-6-cafeoil	H	Glu	38	H	H	Glu
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>																																																										
26	OH	Glu	CH <sub>2</sub> OH																																																										
27	OH	H	CH <sub>2</sub> O-Glu																																																										
28	H	Glu	COO-Glu																																																										
29	H	Glu	CH <sub>2</sub> O-Glu																																																										
30	OH	Glu	CH <sub>2</sub> O-Glu																																																										
31	OH	H	CH <sub>2</sub> O-Glu-(6<-1)-Arab																																																										
32	OGlu	Glu	CH <sub>3</sub>																																																										
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>																																																										
33	Glu	H	Glu																																																										
34	Glu	OH	Glu																																																										
35	Glu	H	Glu-6-trans-p-cumaroil																																																										
36	Glu	H	Glu-6-cafeoil																																																										
37	Glu-6-cafeoil	H	Glu																																																										
38	H	H	Glu																																																										
 <p data-bbox="393 1195 438 1236">39</p>	 <p data-bbox="967 1113 1013 1154">40</p> <p data-bbox="967 1236 1073 1277">= G-G</p>																																																												
 <table data-bbox="287 1573 483 1686"> <thead> <tr> <th></th> <th>R<sub>1</sub></th> <th>R<sub>2</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>41</td> <td>CH<sub>3</sub></td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>42</td> <td>β C<sub>2</sub>H<sub>5</sub></td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>43</td> <td>β C<sub>2</sub>H<sub>5</sub></td> <td>β Glu</td> </tr> </tbody> </table>		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	41	CH <sub>3</sub>	H	42	β C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	43	β C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	β Glu	 <p data-bbox="1043 1573 1088 1614">44</p>																																																
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>																																																											
41	CH <sub>3</sub>	H																																																											
42	β C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H																																																											
43	β C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	β Glu																																																											

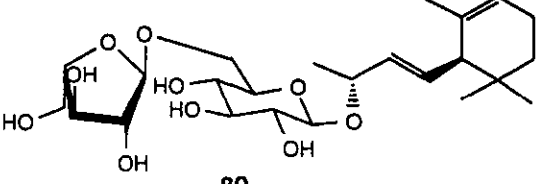
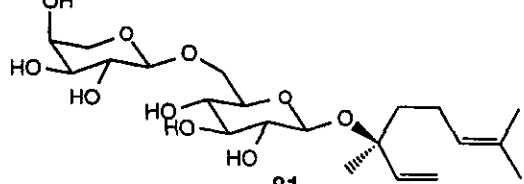
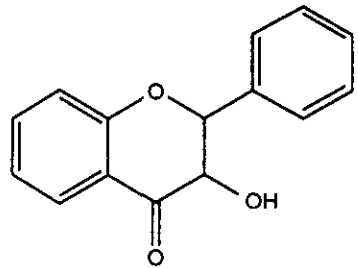
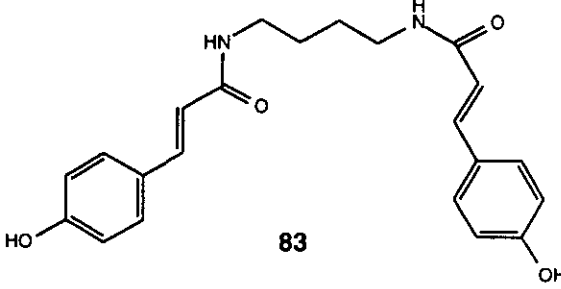
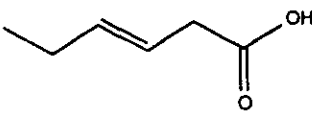
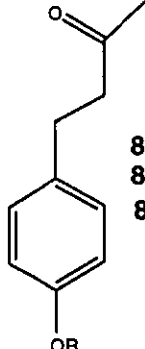
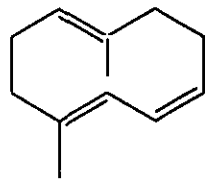
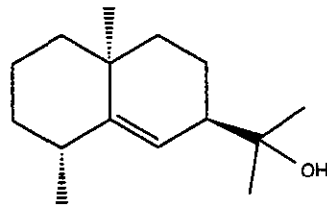
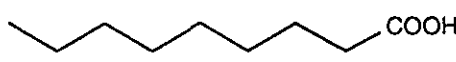
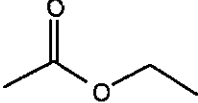
Cuadro A-1.- Compuestos aislados de varias especies de *Rubus* (continuación).

Estructura	Estructura																														
 <p style="text-align: center;"><b>45</b></p>	 <table border="0" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th></th> <th>R<sub>1</sub></th> <th>R<sub>2</sub></th> <th>R<sub>3</sub></th> <th>R<sub>4</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><b>46</b></td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td><b>47</b></td> <td>O</td> <td>OH</td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td><b>48</b></td> <td>OH</td> <td>OAc</td> <td>CH<sub>3</sub></td> <td>H</td> </tr> <tr> <td><b>49</b></td> <td>O</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td><b>50</b></td> <td>OH</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>αOH</td> </tr> </tbody> </table>		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	<b>46</b>	OH	OH	H	H	<b>47</b>	O	OH	H	H	<b>48</b>	OH	OAc	CH <sub>3</sub>	H	<b>49</b>	O	H	H	H	<b>50</b>	OH	H	H	αOH
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>																											
<b>46</b>	OH	OH	H	H																											
<b>47</b>	O	OH	H	H																											
<b>48</b>	OH	OAc	CH <sub>3</sub>	H																											
<b>49</b>	O	H	H	H																											
<b>50</b>	OH	H	H	αOH																											
 <table border="0" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th></th> <th>R<sub>1</sub></th> <th>R<sub>2</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><b>51</b></td> <td>OH</td> <td></td> </tr> <tr> <td><b>52</b></td> <td>COOH</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	<b>51</b>	OH		<b>52</b>	COOH		 <table border="0" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th></th> <th>R<sub>1</sub></th> <th>R<sub>2</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><b>53</b></td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td><b>54</b></td> <td>G</td> <td>G</td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;">G = </p>		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	<b>53</b>	H	H	<b>54</b>	G	G												
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>																													
<b>51</b>	OH																														
<b>52</b>	COOH																														
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>																													
<b>53</b>	H	H																													
<b>54</b>	G	G																													
 <table border="0" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th></th> <th>R<sub>1</sub></th> <th>R<sub>2</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><b>55</b></td> <td>OG</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td><b>56</b></td> <td>H</td> <td>OG</td> </tr> <tr> <td><b>57</b></td> <td>OH</td> <td>H</td> </tr> </tbody> </table>		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	<b>55</b>	OG	H	<b>56</b>	H	OG	<b>57</b>	OH	H	 <p style="text-align: center;"><b>58</b></p>																		
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>																													
<b>55</b>	OG	H																													
<b>56</b>	H	OG																													
<b>57</b>	OH	H																													

Cuadro A-1.- Compuestos aislados de varias especies de *Rubus* (continuación).

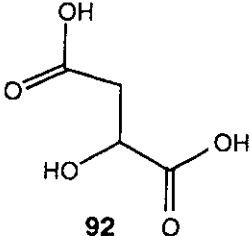
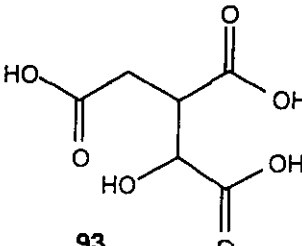
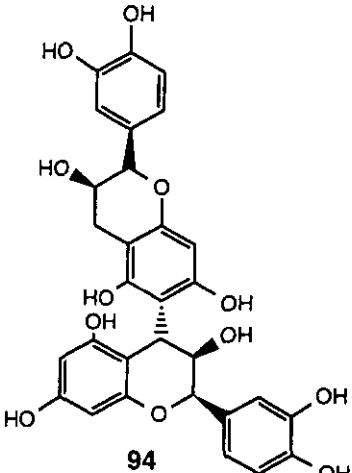
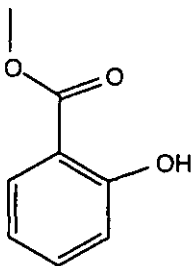
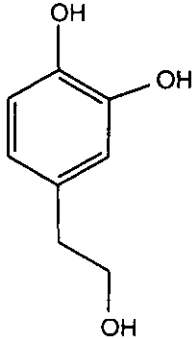
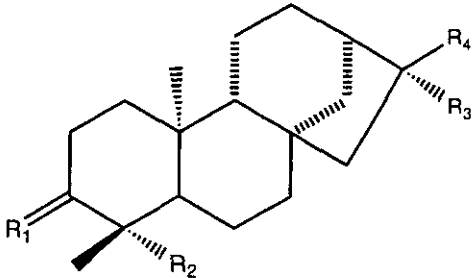
Estructura	Estructura																																						
 <p style="text-align: center;"><b>59</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>60</b></p>																																						
 <p style="text-align: center;"><b>61</b> <math>\beta</math> OH <b>62</b> <math>\alpha</math> OH</p>	 <table border="0" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td style="text-align: center;"><math>R_1</math></td> <td style="text-align: center;"><math>R_2</math></td> <td style="text-align: center;"><math>R_3</math></td> <td style="text-align: center;"><math>R_4</math></td> </tr> <tr> <td><b>63</b> O-ramnosilgluc</td> <td style="text-align: center;">Glu</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">OH</td> </tr> <tr> <td><b>64</b> OGlu(2-1)Glu(6-1)Ram</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">H</td> </tr> <tr> <td><b>65</b> O-soforósido</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">OH</td> </tr> <tr> <td><b>66</b> O-sambubiósido</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">OH</td> </tr> <tr> <td><b>67</b> H</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">Glu</td> <td style="text-align: center;">OH</td> </tr> </table>	$R_1$	$R_2$	$R_3$	$R_4$	<b>63</b> O-ramnosilgluc	Glu	H	OH	<b>64</b> OGlu(2-1)Glu(6-1)Ram	H	H	H	<b>65</b> O-soforósido	H	H	OH	<b>66</b> O-sambubiósido	H	H	OH	<b>67</b> H	H	Glu	OH														
$R_1$	$R_2$	$R_3$	$R_4$																																				
<b>63</b> O-ramnosilgluc	Glu	H	OH																																				
<b>64</b> OGlu(2-1)Glu(6-1)Ram	H	H	H																																				
<b>65</b> O-soforósido	H	H	OH																																				
<b>66</b> O-sambubiósido	H	H	OH																																				
<b>67</b> H	H	Glu	OH																																				
 <table border="0" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td style="text-align: center;"><math>R_1</math></td> <td style="text-align: center;"><math>R_2</math></td> <td style="text-align: center;"><math>R_3</math></td> </tr> <tr> <td><b>68</b> Glu</td> <td style="text-align: center;">OH</td> <td style="text-align: center;">H</td> </tr> <tr> <td><b>69</b> Rut</td> <td style="text-align: center;">OH</td> <td style="text-align: center;">OH</td> </tr> <tr> <td><b>70</b> Gluco</td> <td style="text-align: center;">OH</td> <td style="text-align: center;">OH</td> </tr> <tr> <td><b>71</b> Gluco</td> <td style="text-align: center;">OH</td> <td style="text-align: center;">H</td> </tr> <tr> <td><b>72</b> Glu</td> <td style="text-align: center;">OH</td> <td style="text-align: center;">OH</td> </tr> <tr> <td><b>73</b> Gal</td> <td style="text-align: center;">OH</td> <td style="text-align: center;">OH</td> </tr> <tr> <td><b>74</b> Glu</td> <td style="text-align: center;">Xil</td> <td style="text-align: center;">H</td> </tr> <tr> <td><b>75</b> Gal-CHM*</td> <td style="text-align: center;">OH</td> <td style="text-align: center;">OH</td> </tr> <tr> <td><b>76</b> Xil</td> <td style="text-align: center;">OH</td> <td style="text-align: center;">OH</td> </tr> </table> <p>*6"-O-(4-carboxi-3-hidroxi-3-metil butanoil)</p>	$R_1$	$R_2$	$R_3$	<b>68</b> Glu	OH	H	<b>69</b> Rut	OH	OH	<b>70</b> Gluco	OH	OH	<b>71</b> Gluco	OH	H	<b>72</b> Glu	OH	OH	<b>73</b> Gal	OH	OH	<b>74</b> Glu	Xil	H	<b>75</b> Gal-CHM*	OH	OH	<b>76</b> Xil	OH	OH	 <table border="0" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td style="text-align: center;"><math>R_1</math></td> <td style="text-align: center;"><math>R_2</math></td> </tr> <tr> <td><b>77</b> O</td> <td style="text-align: center;"><math>\alpha</math> OGlu</td> </tr> <tr> <td><b>78</b> O</td> <td style="text-align: center;"><math>\beta</math> OGlu</td> </tr> <tr> <td><b>79</b> <math>\beta</math> OH</td> <td style="text-align: center;"><math>\alpha</math> OH</td> </tr> </table>	$R_1$	$R_2$	<b>77</b> O	$\alpha$ OGlu	<b>78</b> O	$\beta$ OGlu	<b>79</b> $\beta$ OH	$\alpha$ OH
$R_1$	$R_2$	$R_3$																																					
<b>68</b> Glu	OH	H																																					
<b>69</b> Rut	OH	OH																																					
<b>70</b> Gluco	OH	OH																																					
<b>71</b> Gluco	OH	H																																					
<b>72</b> Glu	OH	OH																																					
<b>73</b> Gal	OH	OH																																					
<b>74</b> Glu	Xil	H																																					
<b>75</b> Gal-CHM*	OH	OH																																					
<b>76</b> Xil	OH	OH																																					
$R_1$	$R_2$																																						
<b>77</b> O	$\alpha$ OGlu																																						
<b>78</b> O	$\beta$ OGlu																																						
<b>79</b> $\beta$ OH	$\alpha$ OH																																						

Cuadro A-1.- Compuestos aislados de varias especies de *Rubus* (continuación).

Estructura	Estructura
 <p style="text-align: center;"><b>80</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>81</b></p>
 <p style="text-align: center;"><b>82</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>83</b></p>
 <p style="text-align: center;"><b>84</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>85</b> <math>R_1</math>  <b>86</b> H  <b>87</b> Glu(6-cinamoil-2-galoil)  <b>87</b> Glu(6-p-hidroxicinamoil-2-galoil)</p>
 <p style="text-align: center;"><b>88</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>89</b></p>
 <p style="text-align: center;"><b>90</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>91</b></p>

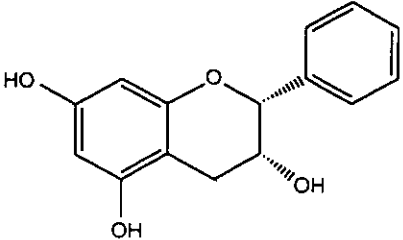
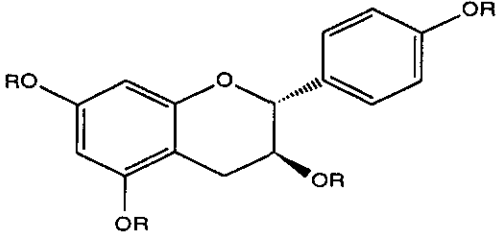
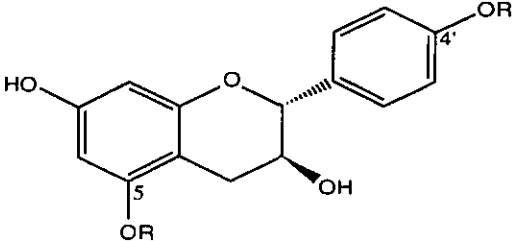
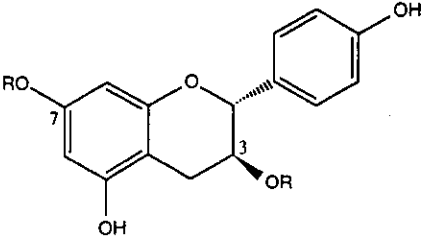


Cuadro A-1.- Compuestos aislados de varias especies de *Rubus* (continuación).

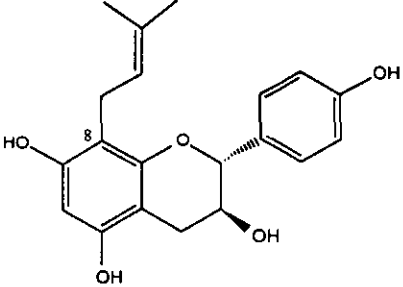
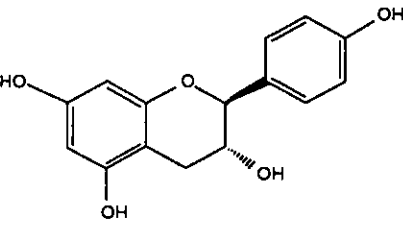
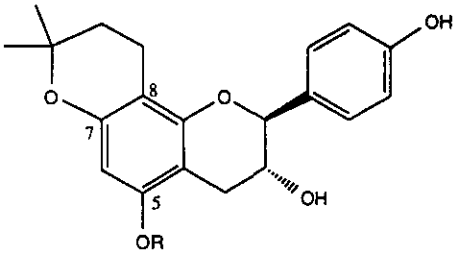
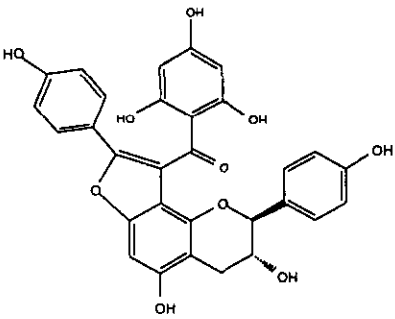
Estructura	Estructura																														
 <p style="text-align: center;"><b>92</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>93</b></p>																														
 <p style="text-align: center;"><b>94</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>95</b></p>																														
 <p style="text-align: center;"><b>96</b></p>	 <table border="1" data-bbox="847 1481 1309 1665"> <thead> <tr> <th></th> <th>R<sub>1</sub></th> <th>R<sub>2</sub></th> <th>R<sub>3</sub></th> <th>R<sub>4</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><b>97</b></td> <td>H<sub>2</sub></td> <td>OH</td> <td>CH<sub>2</sub>OH</td> <td>CO<sub>2</sub>Glu</td> </tr> <tr> <td><b>98</b></td> <td>α OH</td> <td>OH</td> <td>CH<sub>2</sub>OGlu</td> <td>CH<sub>3</sub></td> </tr> <tr> <td><b>99</b></td> <td>O</td> <td>OH</td> <td>CH<sub>2</sub>OGlu</td> <td>CH<sub>3</sub></td> </tr> <tr> <td><b>100</b></td> <td>H<sub>2</sub></td> <td>CH<sub>2</sub>OH</td> <td>OH</td> <td>CO<sub>2</sub>Glu</td> </tr> <tr> <td><b>101</b></td> <td>O</td> <td>OH</td> <td>CH<sub>2</sub>OH</td> <td>CH<sub>3</sub></td> </tr> </tbody> </table>		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	<b>97</b>	H <sub>2</sub>	OH	CH <sub>2</sub> OH	CO <sub>2</sub> Glu	<b>98</b>	α OH	OH	CH <sub>2</sub> OGlu	CH <sub>3</sub>	<b>99</b>	O	OH	CH <sub>2</sub> OGlu	CH <sub>3</sub>	<b>100</b>	H <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> OH	OH	CO <sub>2</sub> Glu	<b>101</b>	O	OH	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>3</sub>
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>																											
<b>97</b>	H <sub>2</sub>	OH	CH <sub>2</sub> OH	CO <sub>2</sub> Glu																											
<b>98</b>	α OH	OH	CH <sub>2</sub> OGlu	CH <sub>3</sub>																											
<b>99</b>	O	OH	CH <sub>2</sub> OGlu	CH <sub>3</sub>																											
<b>100</b>	H <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> OH	OH	CO <sub>2</sub> Glu																											
<b>101</b>	O	OH	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>3</sub>																											



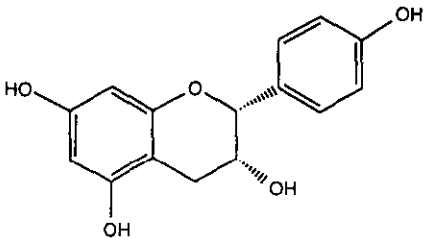
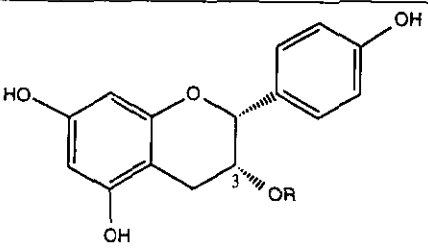
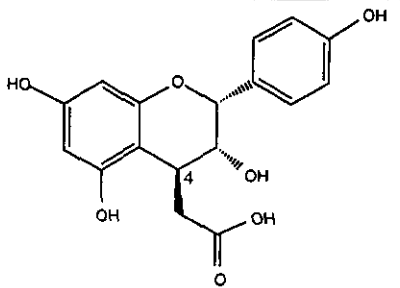
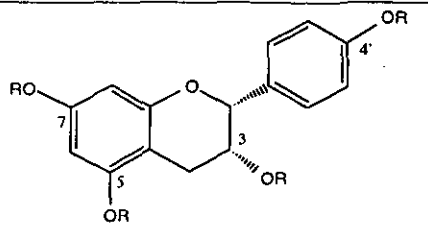
Cuadro A-2.- Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales.

Estructura	Referencia
 <p style="text-align: center;">Distenina <b>129</b></p>	<p>Hori et al., 1988.</p>
 <p style="text-align: center;">(+) Afzelequina <b>130</b></p>	<p>Darnley, 1974; Delle, 1972; Drewes y Taylor, 1994; Malan et al., 1996; Haslam, 1989; Ohigashi et al., 1982; DPN, 1994.</p>
 <p style="text-align: center;">(+) 4',5-Dimetil afzelequina <b>149</b> (+) Afzelequina-4'-O-glucósido <b>150</b></p>	<p>Baek et al., 1994 (<b>150</b>); Ferreira y Bekker, 1996; DPN, 1994.</p>
 <p style="text-align: center;">(+) Afzelequina 7-O-apiofuranósido <b>151</b> (+) Afzelequina 3-O-ramnósido <b>152</b></p>	<p>Ferreira y Bekker, 1996; Haslam, 1989; Herz, 1987; Drewes et al., 1992b; Drewes, 1994a,b (<b>152</b>); DPN, 1994.</p>

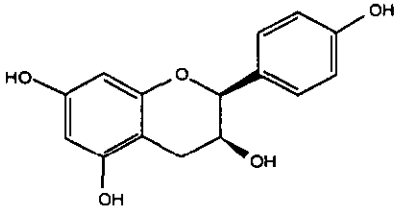
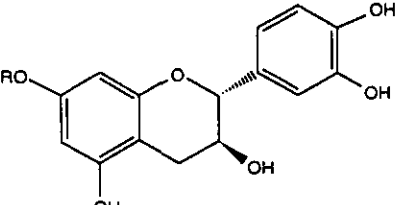
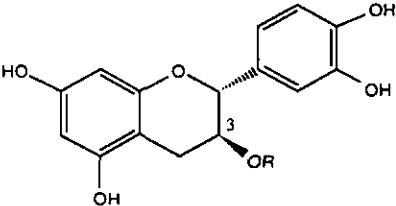
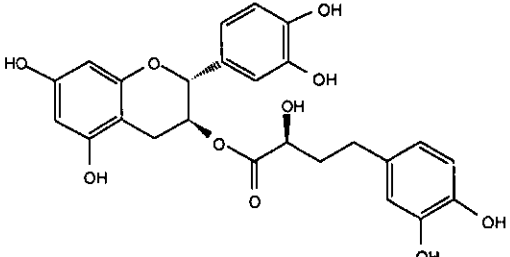
Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

Estructura	Referencia
 <p>3,4',5,7-Tetrahydroxi-8-prenilflavano <b>153</b></p>	Herz, 1987; DPN, 1994.
 <p>Entafzelequina <b>131</b></p>	Delle, 1972.
 <p>7,8-(2'',2''-Dimetilpirano)-3,4',5-trihidroxi-5-O-metilflavano <b>155</b></p>	DPN, 1994; Herz, 1987.
 <p>Dafnodorina B <b>156</b></p>	DPN, 1994.

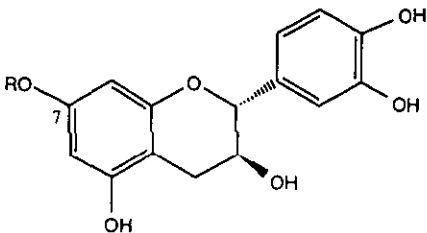
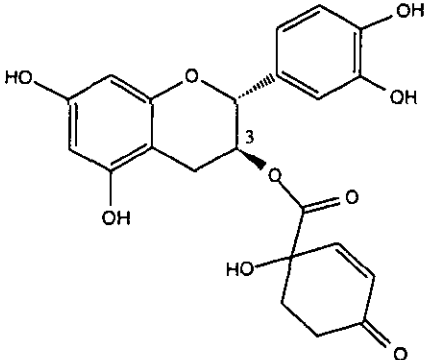
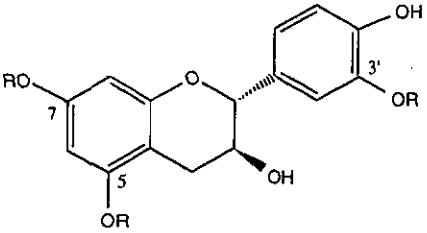
Cuadro A-2. Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

Estructura	Referencia
 <p>(-) Epiafzelequina <b>132</b></p>	<p>Darnley, 1974; Delle, 1972; Haslam et al., 1989; Malan, 1996; Rak et al., 1999; Hikino, 1982; Min 1999; Scholz y Rimpler, 1989.</p>
 <p>(-) Epiafzelequina-3-O-alósido <b>157</b>                  (-) Epiafzelequina-3-O-ramnósido <b>158</b>                  (-) Epiafzelequina-3-O-xilósido <b>159</b>                  (-) Epiafzelequina-3-O-galoil <b>160</b></p>	<p>Darnley, 1974; Delle, 1972; Haslam et al., 1989; Malan, 1996; Rak et al., 1999; Hikino, 1982; Min 1999 (160); Drewes et al., 1992a; b; Drewes y Taylor, 1994; Ferreira y Bekker 1996; Haslam et al., 1989 (157-158); Songq'ng et al., 1994 (157); DPN, 1994.</p>
 <p>(-) Epiafzelequina-4-<math>\beta</math>-carboximetilo <b>161</b></p>	<p>Baek et al., 1994; Ferreira y Bekker, 1996.</p>
 <p>(-) Epiafzelequina-5-O-glucósido <b>162</b>                  (-) 4',5,7-O-Trimetil-3-epiafzelequina <b>163</b></p>	<p>DPN, 1994.</p>

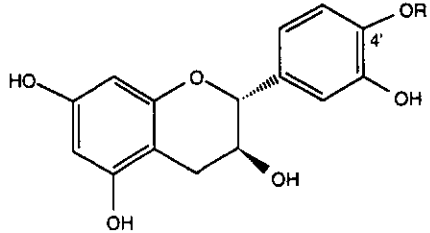
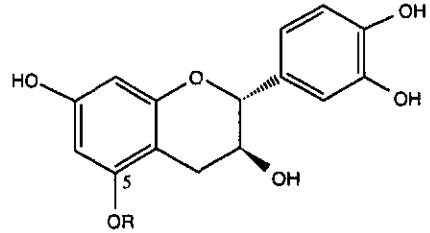
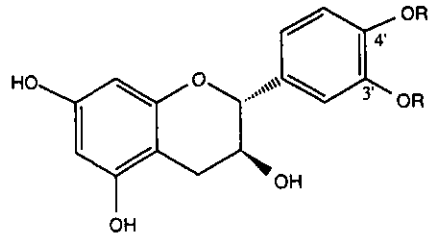
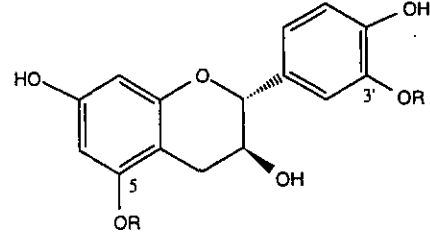
Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

Estructura	Referencia
 <p>Entepiafzelequina <b>133</b></p>	<p>Delle et al., 1972; Ellis et al., 1983; Malan et al., 1996; DPN, 1994.</p>
 <p>(+) Catequina <b>50</b></p>	<p>Bae, et al., 1994; Danne et al., 1994; Gali et al., 1994; Kombal y Glol, 1995; Foo et al., 1998; Lee et al., 1995; Luck et al., 1994; Pan y Ludgren, 1995; Polya, 1994; DPN, 1994.</p>
 <p>(+) Catequina-3-O-rutinósido <b>164</b>                  (+) Catequina-3-O-glucósido <b>165</b>                  (+) Catequina-3-O-ramnósido <b>166</b>                  (+) Catequina-3-O-galoil <b>167</b></p>	<p>Bae, 1994; Ferreira, 1995; Ishimaru et al., 1987; Ferreira y Bekker, 1996 (<b>164-165</b>); Bonefeld et al., 1986 (<b>166</b>); Petereit et al., 1991; Haslam et al., 1989 (<b>167</b>); DPN, 1994.</p>
 <p>Filoflavano <b>168</b></p>	<p>Foo, 1987; 1989; Polya y Foo, 1994.</p>

Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

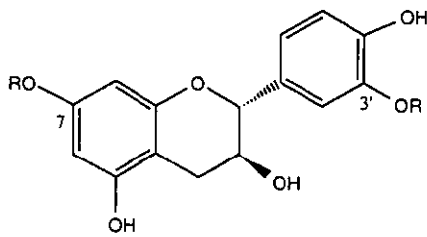
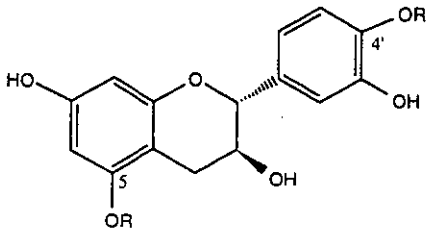
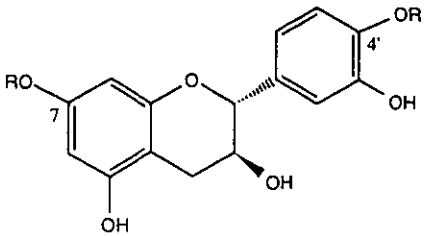
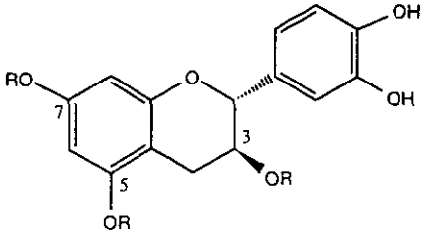
Estructura	Referencia
 <p>(+) Catequina-7-O-xilósido <b>169</b>            (+) Catequina-7-O-galoil <b>170</b>            (+) 7-O-Metil catequina <b>171</b>            (+) Catequina-7-O-glucósido <b>172</b>            (+) Catequina-7-O-apiósido <b>173</b>            (+) Catequina-7-O-arabinofuranósido <b>174</b>            (+) Catequina-7-O-arabinósido <b>175</b></p>	<p>Duskutch, 1973 (<b>169</b>); Tanaka, 1983 (<b>170</b>); Foo Y Karchesy, 1989; Kashiwada et al., 1986; Mahmood et al., 1993 (<b>172</b>); DPN, 1994.</p>
 <p>(+) Catequina-3-O-(1-hidroxi-6-oxo-2-ciclohexen-1-carboxilato) <b>176</b>            (+) Catequina-3-O-(1,6-dihidroxi-2-ciclohexen-1-carboxilato) <b>177</b></p>	<p>Lee et al., 1992; Itsu, 1985; DPN, 1994.</p>
 <p>(+) Catequina-3'-O-glucósido <b>178</b>            (+) Catequina-3'-O-galoil <b>179</b>            (+) 3',5,7-O-Trimetil catequina <b>180</b></p>	<p>Kashiwada et al., 1986 (<b>178</b>); DPN, 1994.</p>

Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

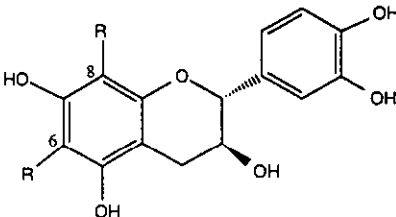
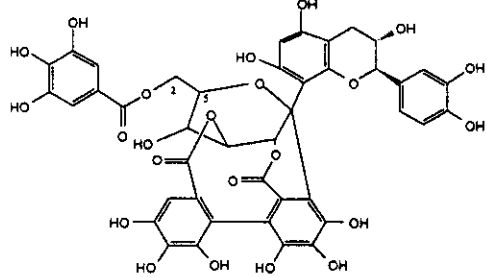
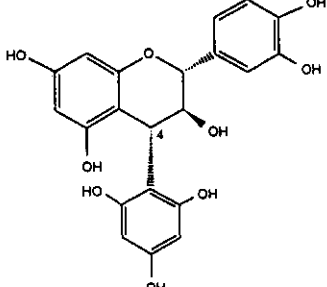
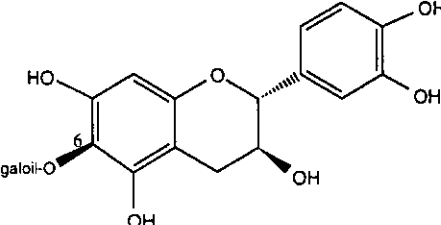
Estructura	Referencia
 <p>(+) 4'-O-Metil catequina <b>181</b>            (+) Catequina-4'-O-galoil <b>182</b>            (+) Catequina-4'-O-glucósido <b>183</b></p>	<p>Kashiwada et al., 1986(<b>183</b>);            Foo y Karshesy, 1989, Lee et al., 1992 (<b>181-182</b>); DPN, 1994.</p>
 <p>(+) Catequina-5-O-glucósido <b>184</b>            (+) Catequina-5-O-galoil <b>185</b>            (+) Catequina-5-O-(6-cumaroil-2-feruloilglucósido) <b>186</b></p>	<p>Kashiwada et al., 1986(<b>184</b>);            DPN, 1994.</p>
 <p>(+) Catequina-3',4'-O-diglucósido <b>187</b></p>	<p>Kashiwada et al., 1986; DPN, 1994.</p>
 <p>(+) Catequina-3',5-O-diglucósido <b>188</b>            (+) Catequina-3',5-O-digaloil <b>189</b></p>	<p>Kashiwada et al., 1986(<b>188</b>);            DPN, 1994.</p>



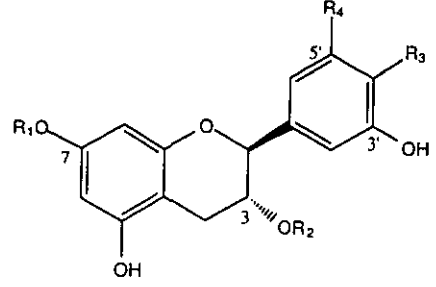
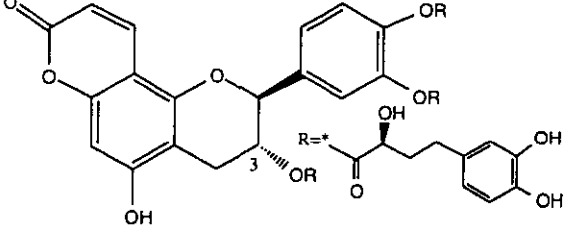
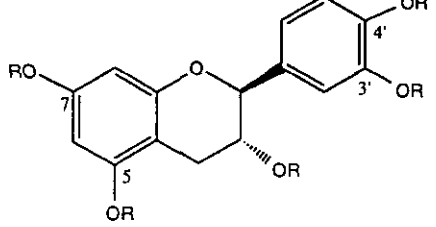
Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

Estructura	Referencia
 <p>(+)Catequina-3',7-<i>O</i>-diglucósido <b>190</b>            (+)Catequina-3',7-<i>O</i>-digaloil <b>191</b>            (+)3'-<i>O</i>-Metil catequina-7-<i>O</i>-glucósido <b>192</b>            (+)4',5,7-<i>O</i>-Trimetilcatequina <b>193</b></p>	<p>Ferreira y Bekker, 1996; Kashiwada et al., 1986(190); Pan y Lundgreen, 1995; Foo y Kashesy, 1989(192); DPN, 1994.</p>
 <p>(+)Catequina-4',5-<i>O</i>-diglucósido <b>194</b>            (+)Catequina-4',5-<i>O</i>-digaloil <b>195</b></p>	<p>Kashiwada et al., 1986(194); DPN, 1994.</p>
 <p>(+) 4',7-<i>O</i>-Dimetil catequina <b>196</b>            (+)Catequina-4',7-<i>O</i>-digaloil <b>197</b></p>	<p>DPN, 1994.</p>
 <p>(+)Catequina-5,7-<i>O</i>-digaloil <b>198</b>            (+)Catequina-3,7-<i>O</i>-digaloil <b>199</b></p>	<p>DPN, 1994.</p>

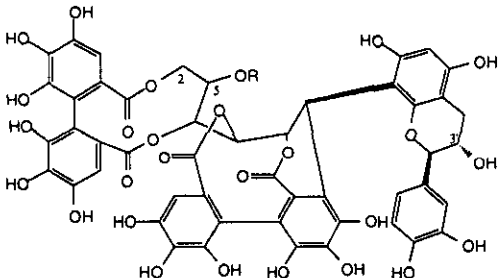
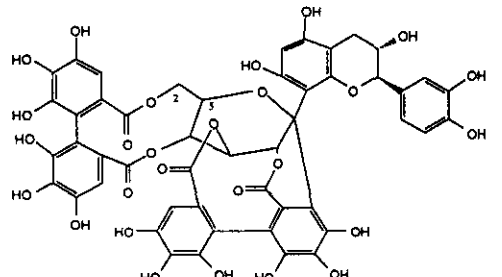
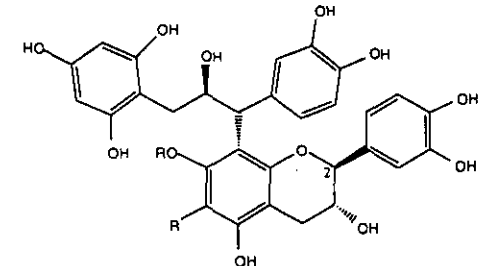
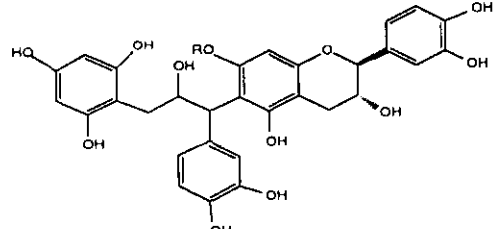
Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

Estructura	Referencia
 <p data-bbox="173 592 831 786">                     (+) Catequina-6-C-glucósido <b>200</b>                      (+) Catequina-8-C-glucósido <b>201</b>                      (+) Catequina-6-(3,3-dimetilalilo) <b>202</b>                      (+) Catequina-8-(3,3-dimetilalilo) <b>203</b> </p>	<p data-bbox="922 367 1338 439">Kashiwada et al., 1986 (200-201); DPN, 1994.</p>
 <p data-bbox="264 1113 793 1154">Estenofinina B <b>205</b></p>	<p data-bbox="914 807 1345 838">Nishimura et al., 1986.</p>
 <p data-bbox="181 1471 839 1512">(+) Catequina (4α-&gt;2) floroglucinol <b>206</b></p>	<p data-bbox="892 1175 1375 1236">Foo, 1989;1981; Kolodziej, 1983; DPN, 1994.</p>
 <p data-bbox="317 1768 710 1808">Estenofilanina B <b>207</b></p>	<p data-bbox="1050 1522 1217 1563">DPN, 1994.</p>

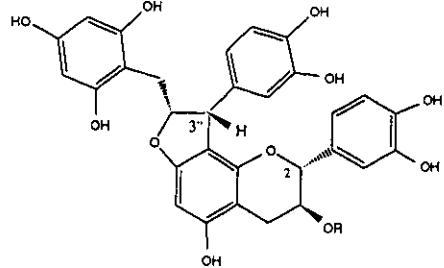
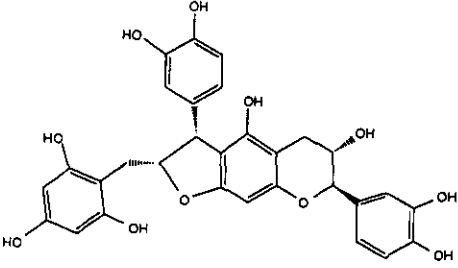
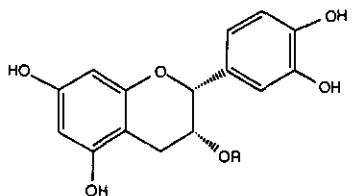
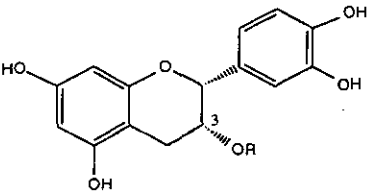
Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

Estructura	Referencia
 <p>Entcatequina (<math>R_{1,2,4}=H</math>) <b>134</b>            Entcatequina-7-O-glucósido (<math>R_2</math> y <math>R_4=H</math>) <b>208</b>            Entcatequina-3-O-galoil (<math>R_1</math> y <math>R_4=H</math>) <b>209</b>            3,3',5,5',7-Pentahidroxi flavano (<math>R_{1-2,3}=H</math> y <math>R_4=OH</math>) <b>210</b></p>	<p>Delle <i>et al.</i>, 1972 (<b>134</b>);            Samaraweera, 1983 (<b>210</b>);            Lee <i>et al.</i>, 1995;            Friedrich, 1970 (<b>134</b>, <b>208</b>            y <b>209</b>); DPN, 1994.</p>
 <p>Filocumarina (<math>R=H</math>) <b>211</b>            Filoflavanina (<math>R=*</math>) <b>212</b></p>	<p>Foo, 1987; 1989.</p>
 <p>4'-O-Metil entcatequina <b>213</b>            4',7-O-Dimetil entcatequina <b>214</b>            5,7-O-Dimetil entcatequina <b>215</b>            3',5,7-O-Trimetil entcatequina <b>216</b>            4',5,7-O-Trimetil entcatequina <b>217</b>            3,3',4',5,7-Pentametil flavano <b>218</b></p>	<p>DPN, 1994.</p>

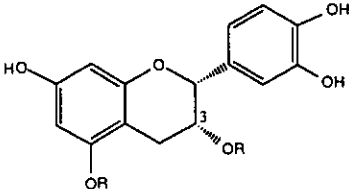
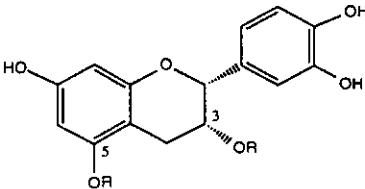
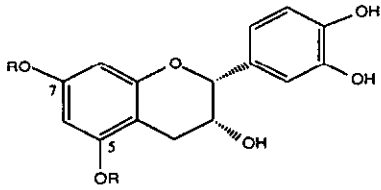
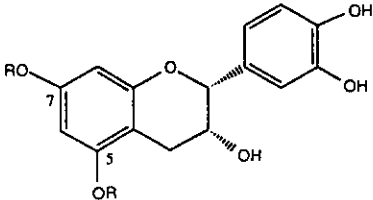
Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

Estructura	Referencia
 <p>Estenofilanina C R=H <b>219</b>            Estenofilanina A [R=5-O-(3,4,5-trihidroxibenzoil)] <b>220</b>            Cameliatanina A (3' epímero de <b>219</b>) <b>221</b></p>	<p>Nonaka, 1985 (<b>219</b>); DPN, 1994.</p>
 <p>Estenofinina A <b>222</b></p>	<p>Nishimura et al., 1986; DPN, 1994.</p>
 <p>Gambirina A<sub>1</sub> <b>223</b>            Gambirina A<sub>2</sub> (2 epímero de <b>223</b>) <b>224</b></p>	<p>DPN, 1994.</p>
 <p>Gambirina A<sub>3</sub> <b>225</b></p>	<p>DPN, 1994.</p>

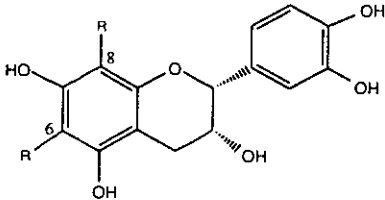
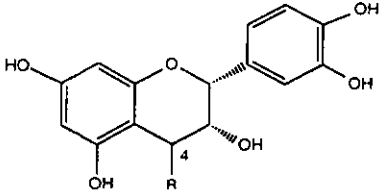
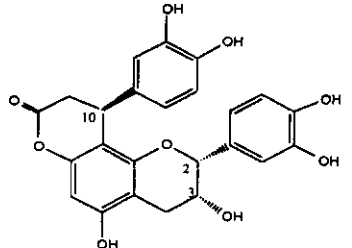
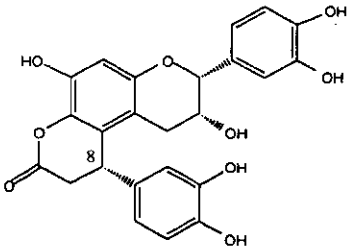
Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

Estructura	Referencia
 <p>Gambirina B<sub>1</sub> <span style="float: right;">226</span>  Gambirina B<sub>2</sub> (2 epímero de 226) <span style="float: right;">227</span></p>	<p>DPN, 1994.</p>
 <p>Gambirina B<sub>3</sub> <span style="float: right;">228</span></p>	<p>DPN, 1994.</p>
 <p>(-) Epicatequina <span style="float: right;">51</span></p>	<p>Bae et al., 1994; David et al., 1994; Koupai-Abyazani y Bohm, 1993; Foo et al., 1998; Foo y Porter, 1980; Gali et al., 1994; Helsper et al., 1993; Lee et al., 1995; Morimoto et al., 1993; DPN, 1994.</p>
 <p>(-)Epicatequina-3-O-alósido <span style="float: right;">229</span>  (-)Epicatequina-3-O-glucósido <span style="float: right;">230</span>  (-)Epicatequina-3-O-(2-cinamoil alósido) <span style="float: right;">231</span>  (-)Epicatequina-3-O-(3-cinamoil alósido) <span style="float: right;">232</span>  (-)Epicatequina-3-O-(4-hidroxibenzoil) <span style="float: right;">233</span>  (-)Epicatequina-3-O-(2-cinamoil alósido) <span style="float: right;">234</span></p>	<p>Ishimaru et al., 1987 (229-230); DPN, 1994.</p>

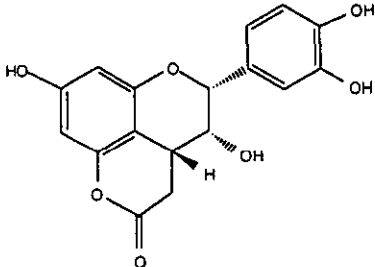
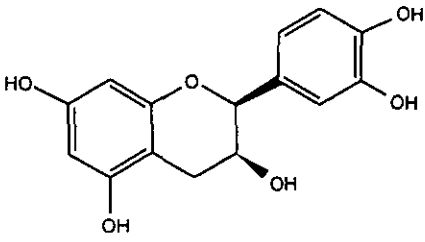
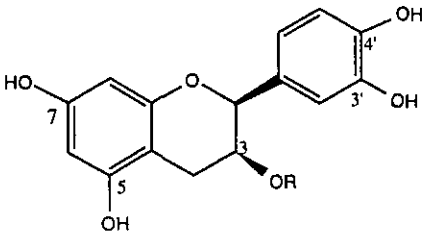
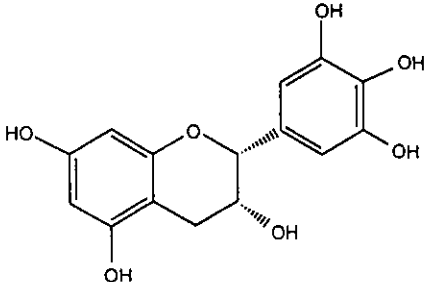
Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

Estructura	Referencia
 <p>(-)Epicatequina-3-O-galoil <b>235</b>                      (-)4-O-Metil epicatequina-3-O-galoil <b>236</b>                      (-)3-O-Metil epicatequina-3-O-galoil <b>237</b>                      (-)Epicatequina-3-O-p-hidroxibenzoato <b>238</b></p>	Pallenbach et al., 1992; Sakar et al., 1993; Takechi et al., 1985 ( <b>235</b> ); Nonaka et al., 1983 ( <b>235, 237</b> ); Hashimoto et al., 1987; Mahmood et al., 1993 ( <b>238</b> ); DPN, 1994.
 <p>(-)Epicatequina-3,5-O-digaloil <b>239</b></p>	Tanaka et al., 1983; DPN, 1994.
 <p>(-)Epicatequina-5-O-glucósido <b>240</b>                      (-)Epicatequina-7-O-glucósido <b>241</b></p>	Foo y Karchesy, 1989 ( <b>241</b> ).
 <p>(-)4-O-Metil epicatequina-3-O-galoil <b>242</b>                      (-)3'-O-Metil epicatequina <b>243</b>                      (-)3'-O-Metil epicatequina-7-O-glucósido <b>244</b>                      (-)3',4'-O-Dimetil epicatequina <b>245</b>                      (-)3',5-O-Dimetil epicatequina <b>246</b>                      (-)3',5,7-O-Trimetil epicatequina <b>247</b>                      (-) Epicatequina-3,4'-bis(3,4,5-trihidroxibenzoil)3,4'-O-digaloil <b>248</b></p>	Hashimoto et al., 1987 ( <b>242</b> ); Pan y Lundgren, 1995 ( <b>244</b> ); DPN, 1994.

Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

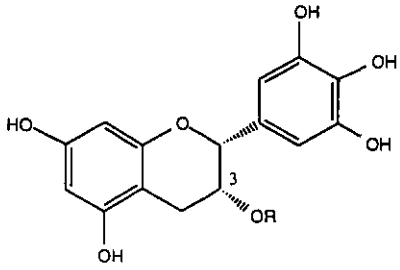
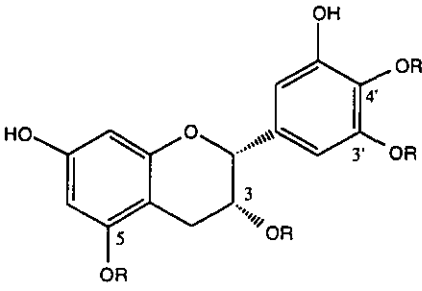
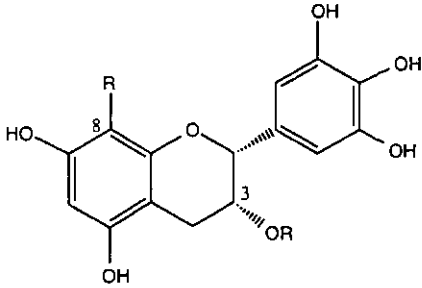
Estructura	Referencia
 <p>(-)Epicatequina-6-glucósido <b>249</b>                  (-)Epicatequina-8-glucósido <b>250</b></p>	<p>Morimoto, 1986.</p>
 <p>(-)Epicatequina (4<math>\alpha</math>-&gt;2) floroglucinol<b>251</b>                  (-)Epicatequina (4<math>\beta</math>-&gt;2) floroglucinol<b>252</b>                  (-)Epicatequina-4<math>\alpha</math>-carboximetilo <b>253</b></p>	<p>Foo, 1981; DPN, 1994.</p>
 <p>Cinchonaina Ia <b>254</b>                  Rincoina Ia (3' epímero de <b>254</b>) <b>255</b>                  Cinchonaina Ib (10 epímero de <b>254</b>) <b>256</b>                  10-Metil cinchonaina <b>257</b>                  10-Metil cinchonaina(epímero de <b>257</b>) <b>258</b>                  Cinchonaina Ia (3,10 epímero de <b>254</b>) <b>259</b></p>	<p>Foo, 1987; 1989; Nonaka, 1985; Stobiecki y Popenda, 1994(<b>257-258</b>); Chen et al., 1993; DPN, 1994.</p>
 <p>Cinchonaina Ic <b>260</b>                  Cinchonaina Id (8 epímero <b>260</b>)<b>261</b></p>	<p>Foo, 1989; Nonaka, 1985; DPN, 1994.</p>

Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

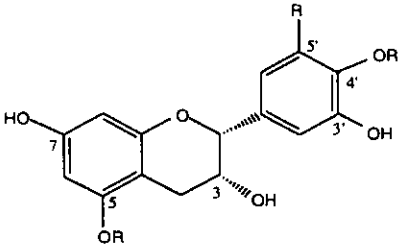
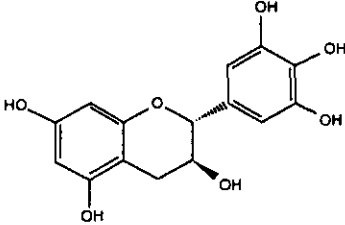
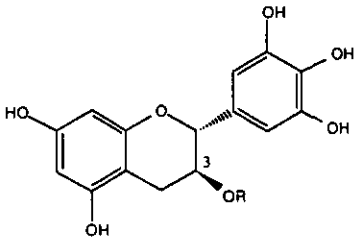
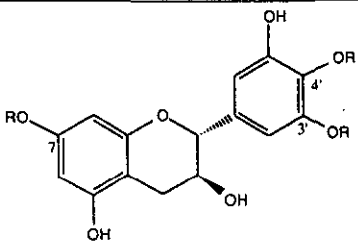
Estructura	Referencia
 <p style="text-align: center;">Driópterina <b>262</b></p>	<p style="text-align: center;">DPN, 1994.</p>
 <p style="text-align: center;">Entepicatequina <b>135</b></p>	<p>Brandon <i>et al.</i>, 1982; Ellis <i>et al.</i>, 1983; Baldé <i>et al.</i>, 1991.</p>
 <p>3-O-[5-(3,4-Dihydroxifenil)-2-hidroxi pentanoilo] <b>263</b> 3-Hidroxi-5,7-O-dimetoxi-3',4'- metilene dioxiflavano <b>264</b></p>	<p style="text-align: center;">DPN, 1994.</p>
 <p style="text-align: center;">(-) Epigalocatequina <b>137</b></p>	<p>Calzada <i>et al.</i>, 1998; Foo y Porter, 1980; Koupai- Abyazani y Bohm, 1993; Helsper <i>et al.</i>, 1993; Lee <i>et al.</i>, 1995; Meckes <i>et al.</i>, 1999; Mori <i>et al.</i>, 1987; Morimoto <i>et al.</i>, 1988; Mahmood <i>et al.</i>, 1993.</p>



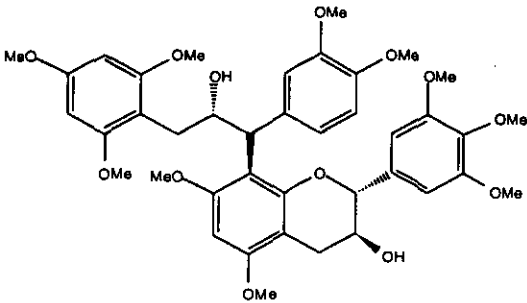
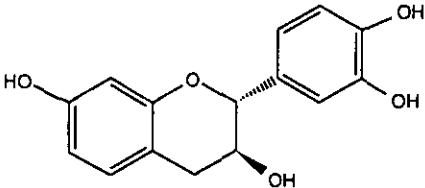
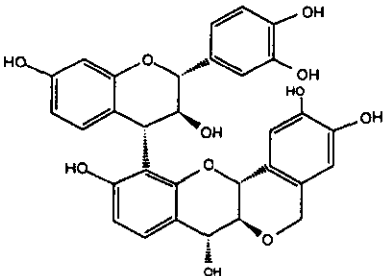
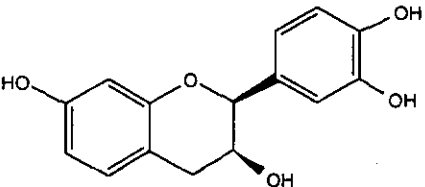
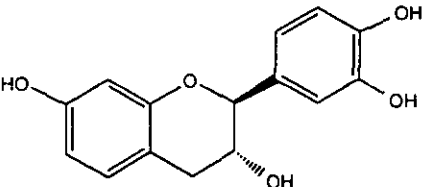
Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

Estructura	Referencia
 <p>(-) Epigallocatequina-3-(4-hidroxi cinamoil) <b>265</b>            (-) Epigallocatequina-3-O-galoil <b>266</b>            (-) Epigallocatequina-3-O-(3-O-metilgaloil) <b>267</b>            (-) Epigallocatequina-3-(4-hidroxi benzoil) <b>268</b>            (-) Epigallocatequina-3-cinamoil <b>269</b>            (-) Epigallocatequina-3-p-cumaroil <b>270</b></p>	<p>Nonaka <i>et al.</i>, 1983 (265-266); Friedrich y Krüger, 1974; Haslam <i>et al.</i>, Kakiuchi <i>et al.</i>, 1985; Lee <i>et al.</i>, 1995; Meckes <i>et al.</i>, 1999; Sun <i>et al.</i>, 1988; Pallenbach <i>et al.</i>, 1992; Nakayama <i>et al.</i>, 1993; Sakar <i>et al.</i>, 1993 (266); Saijo, 1982 (267); Danne <i>et al.</i>, 1994; Palazzo de Mello <i>et al.</i>, 1996 (268); Hashimoto <i>et al.</i>, 1987 (269); DPN, 1994.</p>
 <p>(-) Epigallocatequina-3,3'-O-digaloil <b>271</b>            (-) Epigallocatequina-3,5-O-digaloil <b>272</b>            (-) Epigallocatequina-3,4'-O-digaloil <b>273</b>            (-) 3,5-O-Dimetilepigallocatequina-3-O-galoil <b>274</b>            (-) Epigallocatequina(4-2)-floroglucinol <b>275</b></p>	<p>Coxon, 1972; Tanaka <i>et al.</i>, 1983 (272); Nonaka <i>et al.</i>, 1983 (271-272); Palazzo de Mello <i>et al.</i>, 1996 (274); Foo, 1981 (275); DPN, 1994.</p>
 <p>(-) Epigallocatequina-3-galoil-8-C-ascorbilo <b>276</b></p>	<p>Hashimoto <i>et al.</i>, 1989; DPN, 1994.</p>

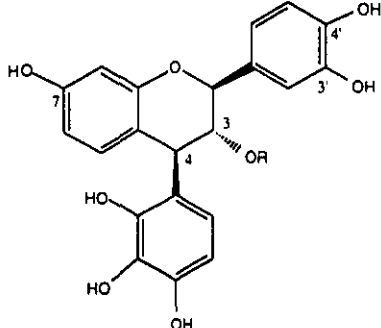
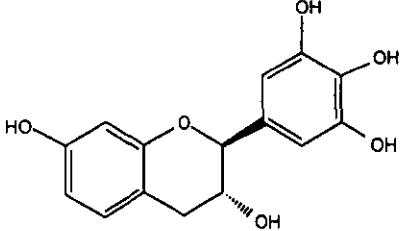
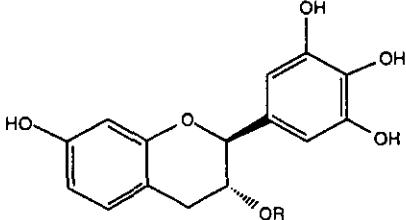
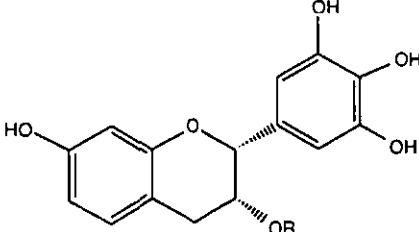
Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

Estructura	Referencia
 <p>(-) 4'-O-Metil epigalocatequina <b>277</b>            (-) Epigalocatequina-4'-O-metil-5-O-glucósido <b>278</b>            3,3',5,5',7-Pentahidroxi-4'-O-metil flavano <b>279</b></p>	<p>Drewes y Mashimbye, 1993 (<b>277</b>); Hussein et al., 1999 (<b>278</b>); Delle, 1967; Anjaneyulu, 1979 (<b>279</b>).</p>
 <p>(+) Galocatequina <b>136</b></p>	<p>Brandon et al., 1982; Cronje et al., 1993; Haslam et al., 1989; Koupai-Abyazani y Bhom, 1993; Kombal y Glasl, 1995; Lee et al., 1995; Morimoto et al., 1988; Mahmood et al., 1993.</p>
 <p>(+) Galocatequina-3-O-galoil <b>280</b></p>	<p>Sakar et al., 1993; Sun, 1988; Petereit et al., 1991.</p>
 <p>(+) Galocatequina-3',7-O-digaloil <b>281</b>            (+) Galocatequina-4',7-O-digaloil <b>282</b>            (+) 4'-O-Metil galocatequina <b>283</b>            (+) 4'-O-Metilgalocatequina-3'-O-glucósido <b>284</b>            (+) Galocatequina (4-2) floroglucinol <b>285</b></p>	<p>Lee, 1992 (<b>281</b>); García et al., 1993 (<b>282</b>); Hussein et al., 1999 (<b>284</b>); Foo, 1981 (<b>285</b>).</p>

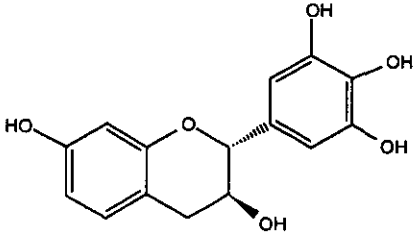
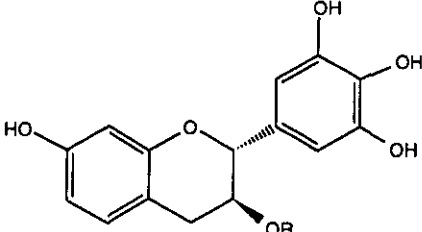
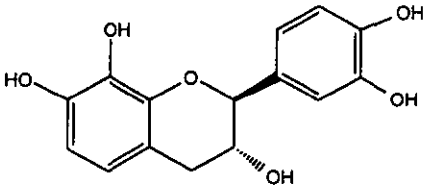
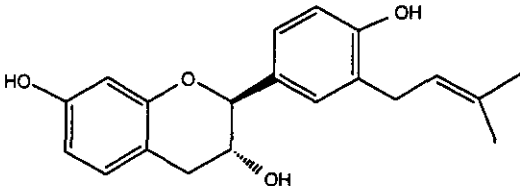
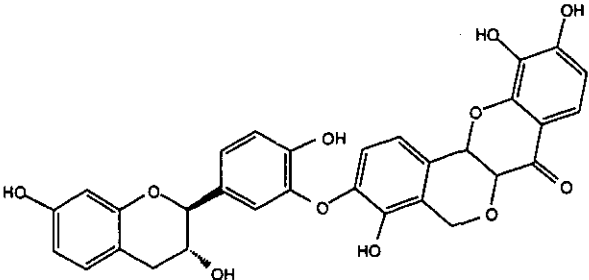
Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

Estructura	Referencia
 <p>Olongomobis flavano B <b>286</b></p>	<p>Hashimoto <i>et al.</i>, 1989.</p>
 <p>(-) Fisetinidol <b>140</b></p>	<p>Darnley, 1974; Haslam, 1989; Rossoaw, 1994; DPN, 1994.</p>
 <p>(-) Fisetinidol (4-&gt;6') peltoginan-4-ol <b>287</b></p>	<p>DPN, 1994.</p>
 <p>(+) Epifisetinidol <b>142</b></p>	<p>Darnley, 1974; Rossoaw <i>et al.</i>, 1994; DPN, 1994.</p>
 <p>(+) Entepifisetinidol <b>143</b></p>	<p>Kipa, 1981.</p>

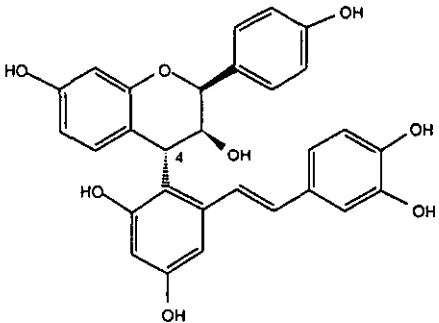
Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

Estructura	Referencia
 <p>3,3',4',7-Tetrahidroxi-4-(2,3,4-trihidroxiénil) flavano <b>288</b>            4-(2,4<i>R</i>-Dihidroxi-3-<i>O</i>-metilfenil)-3,3',4',7-tetra hidroxi flavano <b>289</b>            4-(2,4<i>S</i>-Dihidroxi-3-<i>O</i>-metilfenil)-3,3',4',7-tetra hidroxi flavano <b>290</b></p>	<p>DPN, 1994.</p>
 <p>(-) Robinetinidol <b>144</b></p>	<p>Darnley, 1974; Cronjé et al., 1993; Ferreira, 1996; Haslam, 1989; Viviers et al., 1983; Weinges, 1964.</p>
 <p>(-) Robinetinidol-3-galoil <b>291</b></p>	<p>Bam, 1990.</p>
 <p>(-) Epirrobinetinidol <b>146</b></p>	<p>Cronjé, 1993 Ferreira y Bekker, 1996.</p>

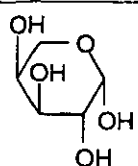
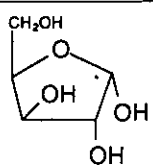
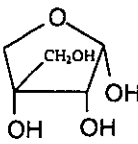
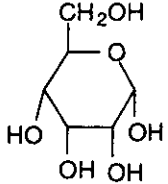
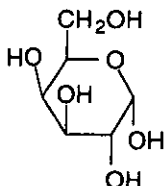
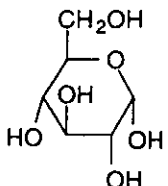
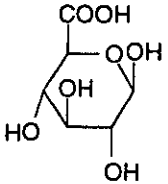
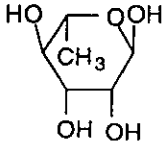
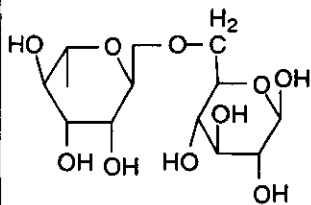
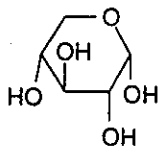
Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

Estructura	Referencia
 <p>(+) Robidanol <b>147</b></p>	<p>DPN, 1994.</p>
 <p>(+) Robidanol-3-galoil <b>292</b></p>	<p>Weinges, 1964; DPN, 1994.</p>
 <p>Mezquitol <b>148</b></p>	<p>Young <i>et al.</i>, 1986; DPN, 1994.</p>
 <p>Brousinol <b>293</b></p>	<p>DPN, 1994.</p>
 <p>Guibourtinidol-(3' -&gt;4')-entepimopanona <b>294</b></p>	<p>DPN, 1994.</p>

Cuadro A-2.-Flavan-3-oles aislados de diferentes fuentes naturales (continuación).

Estructura	Referencia
 <p data-bbox="208 694 846 827">                     Epiguibourtinidol (<math>4\beta\text{-}2</math>)3,3',4',5                      tetrahidroxi estilbeno <b>295</b>                      guibourtinidol (<math>4\alpha\text{-}2</math>)3,3',4',5                      tetrahidroxi estilbeno <b>296</b> </p>	<p data-bbox="1058 363 1247 398">DPN, 1994.</p>

Cuadro A-3.-Fórmulas de algunos azúcares.

Nombre	Fórmula	Nombre	Fórmula
Arabinosa		Arabinofuranósido	
Apiosa		Alosa	
Galactosa		Glucosa	
Glucurónido		Rammosa	
Rutinosa		Xilosa	

## IX BIBLIOGRAFIA

-Adnyana, I. K., Tezuka, Y., Banskota, A. H., Xiong, Q., Qui, K. T. y Kadota, S. (2000). Quadransides I-V, new triterpene glucosides from the seeds of *Combretum quadrangulare*. *Journal Natural Products*, **63**, 496-500.

-Aguilar, O. M. M. (1998). Aislamiento de los compuestos con actividad antimicrobiana de las partes aéreas de *Helianthemum glomeratum* Lag. UNAM, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, México, D.F., Tesis de Licenciatura.

-Alanís, R. A. D. (1996). Estudio fitoquímico del extracto metanólico de la raíz de *Cuphea pinetorum* Benth. UNAM, Facultad de Química, México, D.F., Tesis de Licenciatura.

-Arrieta, J. V. (1997). Estudio fitoquímico y evaluación de la actividad amebicida y giardicida de las hojas de *Zanthoxylum liebmannianum* (Colopahtle). UNAM, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, México, D.F., Tesis de Licenciatura.

-Asano, Y., Okamura, S., Ogo, T., Eto, T., Otsuka, T. y Niho, Y. (1997). Effect of (-) epigallocatechin gallate



on leukemic blast cells from patients with acute myeloblastic leukemia. *Life Science*, **60**,135-142.

-Bae, Y-S., Burger, J. F. W., Steynberg, J. P., Ferreira, D. y Hemingway, R. W. (1994). Flavan and procyanidin glycosides from the bark of *Blackjack oak*. *Phytochemistry*, **35**,473-478.

-Baek, N-I., Kennelly, E. J., Kardono, L. B. S., Tsauri, S., Padmawinata, K., Soejarto, D. D., y Kinghorn, A. D. (1994). Flavonoids and proanthocyanidin from rhizomes of *Selliguea feei*. *Phytochemistry*, **36**,513-518.

-Baldé, A. M., Pieters, L. A., Gergely, A., Kolodziej, H., Claeys, M. y Vlietinck, A. J. (1991). A-type proanthocyanidins from stem-bark of *Pavetta owariensis*. *Phytochemistry*, **30**,337-342.

-Barreda, R. A., Suárez, E. C., Balas, C. S., Acosta, G. A., Rodríguez, A. M., Cabrera, F. O., Padilla, N. R., Orozco, M. E. y Díaz, A. B. (1999). Epidemiología de la amibiasis intestinal 1. Amibiasis cuarta reunión de expertos, SEARLE, Medicina & Mercadotecnia, SA de CV, 1-5.

-Beck, W. B. y Davies, J. E. (1983). Parasitología Médica, 3a edición, editorial Interamericana, México, 6-

118.

-Berlin, B. y Berlin, E. (1996). Medical Ethnobiology of the Highland of Chiapas, Mexico. The gastrointestinal diseases. Princeton University Press, New Jersey.

-Bonefeld, M., Friedrich, H. y Kolodziej, H. (1986). (+)-Catechin 3-rannoside from *Erythoxylum novogranatense*. *Phytochemistry*, **25**,1205-1207.

-Botha, J. J., Ferreira, D. y Roux, D. G. (1981). Synthesis of condensed tannins. Part 4. A direct biomimetic approach to [4,6]-biflavonoids. *Journal Chemical Society Perkin I*, 1235-1245.

-Brandon, M. J., Foo, L. Y., Porter, L. J. y Meredith, P. (1982). Proanthocyanidins of barley and sorghum; composition as a function of maturity of barley ears. *Phytochemistry*, **21**,2953-2957.

-Breedlove, D. E. (1986). Listados Florísticos de México, I-X, Instituto de Biología, UNAM, México.

-Budavari, S. (1989). The Merck Index and encyclopedia of chemicals, Drugs and biologicals. 11 edition, Centennial Edition, 1318.

-Calzada, F., López, R., Meckes, M. y Cedillo-Rivera,

R. (1995). Flavonoids of the aerial parts of *Helianthemum glomeratum*. *International Journal of Pharmacognosy*, **33**, 351-352.

-Calzada, F., Alanís, A. D., Meckes, M., Tapia-Contreras, A. y Cedillo-Rivera, R. (1998 a). *In vitro* susceptibility of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* to some medicinal plants used by the people of Southern Mexico. *Phytotherapy Research*, **12**, 70-72.

-Calzada, F., Meckes, M., Cedillo-Rivera, R., Tapia-Contreras, A. y Mata, R. (1998b). Screening of Mexican medicinal plants for antiprotozoal activity. *Pharmaceutical Biology*, **36**, 305-309.

-Calzada, F., Meckes, M. y Cedillo-Rivera, R. (1999 a). Antiamoebic and anti giardial activity of plant flavonoids. *Planta Medica*, **65**, 78-80.

-Calzada, F., Cerda-García-Rojas, C. M., Meckes, M., Cedillo-Rivera, R., Bye, R. y Mata, R. (1999b). Geranins A and B, new antiprotozoal A-type proantocianidins from *Geranium niveum*. *Journal Natural Products*, **62**, 705-709.

-Calzada, F. (2000). Proantocianidinas del tipo A y flavonoles con actividad antiprotozoaria de *Geranium*

niveum S. Watson (Geraniaceae) y *Coniza filaginoides* (DC) Hieron (Asteraceae). UNAM, Facultad de Química, México, D.F., Tesis de Doctorado.

-Calzado-Flores, C. C., Segura-Luna, J. J., Domínguez, X. A. Y García-González, S. (1986). Castela texana: cernimiento de su actividad antiamebiana. *Archivo de Investigación Médica*, **17**,127-134.

-Capasso, A., Piacente, S., Pizza, C. y Sorrentino, L. (1998). Flavonoids reduce morphine withdrawal *in vitro*. *Journal of Pharmacy & Pharmacology*, **50**,561-564.

-Cedillo-Rivera, R. y Muñoz, O. (1992). *In vitro* susceptibility of *Giardia lamblia* to albendazole, mebendazole and the other chemotherapeutic agents. *Journal Medical Microbiology*. **37**,221-224.

-Cedillo-Rivera, R., Tapia-Contreras, A., Torres, J. y Muñoz, O. (1997). *In vitro* susceptibility of *Entamoeba histolytica* to fluoroquinolones, nitrofurans and other antiamebic agents. *Archives of Medical Research*, **28**,suppl. S295-S297.

-Chen, H-F., Tanaka, T., Nonaka, G-I., Fujioka, T. y Mihashi, K. (1993). Phenylpropanoid-substituted catechins

from *Castanopsis hystrix* and structure revision of cinchonans. *Phytochemistry*, **33**,183-187.

-Conney, A. H., Lu, Y., Lou, Y., Xie, J. y Huang, M. (1999). Inhibitory effect of green and black tea on tumor growth. *Proceeding of the Society for Experimental Biology & Medicine*, **220**,229-233.

-Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J. P., Cimanga, K., Poel, B. V., Pieters, L., Vlietinck, A. J. y Vanden, D. B. (1998). Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of Natural Product*, **61**,71-76.

-Cordell, G. A. (1995). Changing strategies in natural products chemistry. *Phytochemistry*, **40**,1585-1612.

-Cox, P., Durham, D., Liu, X. y Michael, E. (1993). Molecular structures of four triterpenoids. X-ray crystallographic analysis of methyl 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,23 $\alpha$ -triacetoxy-19 $\alpha$ -hidroxiurs-12-en-28 $\beta$ -oate. *Journal of Crystallographic and Spectroscopic Research*, **23**,779-783.

-Cragg, G. M., Newman, D. J. y Snader, K. M. (1997). Natural products in drug discovery and development.

*Journal of Natural Products*, **60**,52-60.

-Cronjé, A., Steynberg, J. P., Brandt, E. V., Young, D. A. y Ferreira, D. (1993). Oligomeric flavonoids. Part 16. Novel prorobinetinidins and the first A-type proanthocyanidin with a 5-deoxy A- and a 3,4-*cis* C-ring from the Maiden investigation of commercial wattle bark extract. *Journal Chemical Society Perkin Trans 1*, 2467-2477.

-Danne, A., Petereit, F. y Nahrstedt, A. (1994). Flavan-3-ols, prodelfhinidins and further polyphenols from *Cistus salvifolius*. *Phytochemistry*, **37**,2,533-538.

-Darnley, R. G. (1974). Chemotaxonomy of flowering plants. ed. Mc Gill-Queen's, 1,559-561.

-David, J. M., Yoshida, M. y Gottlieb, O. R. (1994). Phenylpropanoid-catechins from bark of *Ocotea porosa*. *Phytochemistry*, **35**,545-546.

-Delle, F. M., Ferrari, F., Poce-Tucci., A. y Marini-Bettolo, G. B. (1972). Catechins with (+)-*epi*-configuration in nature. *Phytochemistry*, **11**,2333-2335.

-D. G. E., Dirección general de estadística. Sistema único de información para la vigilancia epidemiológica.

1999; 2000. file://www.ssa.gob.mx/epide/sem 21/cua8.1.html

-D. P. N., Dictionary of Natural Products. (1994).  
Chapman & Hall Chemical Data Base. London, **1-5**.

-Drewes, S. E., Taylor, C. W., Cunningham, A. B.,  
Ferreira, D., Steenkamp, J. A. y Mouton C. H. L. (1992).  
Epi-afzelechin-(4 $\beta$ ->8,2 $\beta$ ->0->7)-ent-afzelechin from  
*Cassipourea gerrardii*. *Phytochemistry*, **31**,2491-2494.

-Drewes, S. E., Taylor, C. W. y Cunningham, A. B.  
(1992a). (+)-Afzelechin 3-rhamnoside from *Cassipourea*  
*gerrardii*. *Phytochemistry*, **31**,1073-1075.

-Drewes, S.E. y Taylor, C. W. (1994). Methylated A-  
type proanthocyanidins and related metabolites from  
*Cassipourea gummiflua*. *Phytochemistry*, **37**,551-555.

-Drewes, S. E. y Mashimbye, M. J. (1993). Flavanoids  
and triterpenoids from *Cassine papillosa* and the absolute  
configuration of 11,11-dimethyl-1,3,8,10-tetra-hydroxy-9-  
methoxypeltogynan. *Phytochemistry*, **32**,1041-1044.

-Durham, D. G., Liu, X. y Richards, R. M. E. (1994). A  
triterpene from *Rubus pinfaensis*. *Phytochemistry*, **36**,  
1469-1472.

-Durham, D. G., Liu, X. I. y Richards, M. E. (1996).

Unsaturated E-ring triterpenes from *Rubus pinfaensis*.  
*Phytochemistry*, **42**,505-508.

-Ellis, Ch. J., Foo, L. Y. y Porter, L. J. (1983).  
Enantiomerism: A characteristic of the proanthocyanidin  
chemistry of the monocotyledonae. *Phytochemistry*, **22**,483-  
487.

-Evans, W. Ch. (1991). Trease y Evans. Farmacognosia,  
13 edición, Interamericana. Mc Graw-Hill, 197-198.

-Ezaki, N., Kato, M., Takizawa, N., Morimoto, S.,  
Nonaka, G. y Nishioka, I. (1985). Pharmacological studies  
on *Linderae umbellatae* Ramus, IV. Effects of condensed  
tannin related compounds on peptic activity and stress-  
induced gastric lesions in mice. *Planta Medica*, 34-38.

-Ferreira, D. y Bekker, R. (1996). Oligomeric  
proanthocyanidins: Naturally occurring O-heterocycles,  
*Natural Product Reports*, 411-433.

-Ferreira, D., Steynberg, J. P., Roux, D. G. y Brandt,  
E. V. (1992). Diversity of structure and function in  
oligomeric flavonoids. *Tetrahedron*, **48**,1743-1803.

-Fletcher, A. C., Porter, L. J., Haslam, E. y Gupta,  
R. I. (1977). Plant proanthocyanidins. Part 3.



Conformational and configurational studies of natural procyanidins. *Journal Chemical Society Perkin I*, 1628-1637.

-Foo, L. Y. y Porter, L. J. (1980). The phytochemistry of proanthocyanidin polymers. *Phytochemistry*, **19**,1747-1754.

-Foo, L. Y. y Porter, L. J. (1978). Prodelphinidin polymers: Definition of structural units. *Journal Chemical Society Perkin I*, 1186-1190.

-Foo, L. Y., Lu, Y. y Wong, H. (1998). Biphenyl-linked biflavonoids from *Grape pomace*. *Phytochemistry*, **47**,1137-1140.

-Foo, L. Y. y Karchesy, J. J. (1989a). Polyphenolic glycosides from Douglas fir inner bark. *Phytochemistry*, **28**,1237-1240.

-Foo, L. Y. y Karchesy, J. J. (1989b). Procyanidin dimers and trimers from Douglas fir inner bark. *Phytochemistry*, **28**,1743-1747.

-Foo, L. Y. (1987). Phenylpropanoid derivates of catechin, epicatechin and phylloflavan from *Phyllocladus trichomanoides*. *Phytochemistry*, **26**,12825-2830.

-Foo, L.Y. (1989). Flavanocoumarins and flavanophenylpropanoids from *Phyllocladus trichomanoides*. *Phytochemistry*, **28**,2477-2481.

-Foo, L.Y. (1981). Proanthocyanidins: Gross chemical structures by infra-red spectra. *Phytochemistry*, **20**,1397-1402.

-Friedrich, V. H. y Krüger, N. (1974). New investigations on the tannin of *Hamamelis* L. The tannin of the bark of *H. virginiana*. *Planta Medica*, **25**,138-148.

-Gadow, A. V., Joubert, E. y Hansmann, Ch. F. (1997). Comparison of the antioxidant activity of Aspalathin with that of other plant phenols of Rooibos tea (*Aspalathus linearis*),  $\alpha$ -tocopherol, BHT, and BHA. *Journal Agriculture Food Chemistry*, **45**,632-638.

-Gali, H. U., Perchellet, E. M., Gao, X. M., Karchesy, J. J. y Perchellet, J. P. (1994). Comparison of the inhibitory effects of monomeric, dimeric, and trimeric procyanidins on the biochemical markers of skin tumor promotion in mouse epidermis *in vivo*. *Planta Medica*, **60**,235-239.

-Ganguly, S. N. (1970). Rubitic acid; new triterpene

acid from *Rubus fruticosus*. *Chemistry Indian*, **26**,869-70.

-Gao, F., Chen, F-H., Tanaka, T., Kasai, R., Seto, T. Y Tanaka, O. (1985).  $19\alpha$ -Hydroursane-type triterpene glucosyl esters from the roots of *Rubus suavissimus* S. Lee. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, **33**,37-40.

-García, J., Massoma, T., Morin, C., Mpondo, T. N. y Nyassé, B. (1993). 4'-O-Methylgallocathechin from *Panda oleosa*. *Phytochemistry*, **32**,1626-1628.

-Gaydou, E. M., Bombarda, I., Faure, R. y Wollenweber, E. (1995). A long-chain epoxide from stem wax of *Rubus thibetanus*. *Phytochemistry*, **40**,601-602.

-Glasby, J. S. (1991). Dictionary of plants containing secondary metabolites, Taylor & Francis, London, 278

-Goodman, L. G., Rall, W. T., Nies, A. S. y Taylor, P. (1990). The pharmacological basis of therapeutics. Pergamon Press. 8 edición, 999.

-Guo, Q., Zhao, B., Li, M., Shen, S. y Xin, W. (1996). Studies on protective mechanisms of four components of green tea polyphenols against lipid peroxidation in synaptosomes. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1304**,210-222.

-Gupta, R. K. y Haslam, E. (1981). Plant

proanthocyanidins. Part 7. Prodelphinidins from *Pinus sylvestris*. *Journal Chemical Society Perkin I*, 1148-1150.

-Haddock, E. A., Gupta, R. K., Al-Shafi, S. M. K., Layden, K., Haslam, E. y Magnolato, D. (1982). The metabolism of gallic acid and hexahydroxydiphenic acid in plants: biogenetic and molecular taxonomic considerations. *Phytochemistry*, **21**,1049-1062.

-Hamburger, M. y Hostettmann, K. (1991). Bioactivity in plants: The link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry*, **30**,3864-3874.

-Hashimoto, F., Nonaka, G. y Nishioka, I. (1987). Tannins and related compounds. LVI. Isolation of four new acylated flavan-3-ols from *Oolong* tea. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, **35**,611-616.

-Hashimoto, F., Nonaka, G. y Nishioka, I. (1989). Tannins and related compounds. XC. 8-C-Ascorbyl (-)-epigallocatechin-3-O-gallate and novel dimeric flavan-3-ols, Oolonghomobisflavans A and B, from *Oolong* tea. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, **37**,3255-3263.

-Haslam, E. (1977). Symmetry and promiscuity in procyanidin biochemistry. *Phytochemistry*, **16**,1625-1640.

-Haslam, E. y Cai, Y. (1994). Plant polyphenols (vegetable tannins): gallic acid metabolism *Natural Product Reports*, 41-66.

-Haslam, E. (1989). Chemistry & Pharmacology of Natural Products. Plant polyphenols, vegetable tannins revisited. ed. Cambridge University Press, Cambridge, U.S.A.

-Haslam, E., Lilley, T. H., Cai, Y., Martin, R. y Magnolato, D. (1989). Traditional herbal medicines. The role of polyphenols. *Planta Medica*, **55**,1-8.

-Hatano, T., Ogawa, N., Yasuhara, T. y Okuda, T. (1990). Tannins of Rosaceous plants. VIII. Hydrolyzable tannin monomers having a valoneoyl group from flower petals of *Rosa rugosa* Thunb. *Pharmaceutical Society of Japan*, **38**,3308-3313.

-Helsper, J. P. F. G., Kolodziej, H., Hoogendijk, J. M. y Norel, A. V. (1993) Characterization and trypsin inhibitor activity of proanthocyanidins from *Vicia faba*. *Phytochemistry*, **34**,1255-1260.

-Hemingway, R. W. y Laks, P. E. (1992). Plant polyphenols. ed. Plenum Press, New York, 772-775.

-Hemingway, R. W. y Karchesy, J. J. (1989). Chemistry

and significance of condensed tannins. ed. Plenum Press, New York.

-Hibasami, H., Komiya, T., Achiwa, Y., Ohnishi, K., Kojima, T., Nakanishi, K., Akashi, K. y Hara, Y. (1998). Induction of apoptosis in human stomach cancer cells by green tea catechins. *Oncology Reports*, **5**,527-529.

-Hori, K., Satake, T., Saiki, Y., Murakami, T. y Chen, Ch-M. (1988). Chemical and chemotaxonomical studies of filices. LXXVII. Isolation and structure of novel catechin and proanthocyanidins from *Dennstaedtia distenta* Moore. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, **36**,4301-4306.

-Hostettmann, K., Wolfender, J. L. y Rodríguez, S. (1997). Rapid detection and subsequent isolation of bioactive constituents of crude plant extracts. *Planta Medica*, **63**,2-10.

-Hundt, H. K. L., y Roux, D. G. (1981). Synthesis of condensed tannins. Part 3. Chemical shifts for determining the 6- and 8-bonding positions of 'terminal' (+)-catechin units. *Journal Chemical Society Perkin I*, 1227-1233.

-Hundt, H. K. L., Burger, J. F. W., Steynberg, J. P., Steenkamp, J. A. y Ferreira, D. (1990). Absolute

configurations of flavan-3-ols and 4-arylflavan-3-ols via modified Mosher's method. *Tetrahedron Letters*, **31**,5073-5076.

-Hussein, G., Nakamura, N., Meselhy, M. R. y Hattori, M. (1999). Phenolics from *Maytenus senegalensis*. *Phytochemistry*, **50**,689-694.

-Ibasami, H., Komiya, T., Achiwa, Y., Ohnishi, K., Kojima, T., Nakanishi, K., Akashi, K. y Hara, Y. (1988). Induction of apoptosis in human stomach cancer cells by green tea catechins. *Oncology Reports*, **5**,527-529.

-Ishimaru, K., Nonaka, G. y Nishioka, I. (1987). Flavan-3-ol and procyanidin glycosides from *Quercus miyagii*. *Phytochemistry*, **26**,1167-1170.

-Ito, H., Miyake, M., Nishitani, E., Mori, K., Hatano, T., Okuda, T., Konoshima, T., Takasaki, M., Kozuka, M., Mukainaka, T., Tokuda, H., Nishino, H. y Yoshida, T. (1999). Antitumor promoting activity of polyphenols from *Cowania mexicana* and *Coleogyne ramosissima*. *Cancer Letters*, **143**,5-13.

-Jankun, J., Selman, S. H. y Swiercz, R. (1997). Why drinking green tea could prevent cancer. *Nature*, **387**,561.

-Jaques, D., Opie, C. T., Porter, L. J. y Haslam, E. (1977). Plant proanthocyanidins. Part 4. Biosynthesis of procyanidins and observations on the metabolism of cyanidin in plants. *Journal Chemical Society Perkin I*. 1637-1643.

-Kakegawa, H., Matsumoto, H., Endo, K., Satoh, T., Nonaka, G-I. y Nishioka, I. (1985). Inhibitory effects of tannins on hyaluronidase activation and on the degranulation from rat mesentery mast cells. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, **33**,5079-5082.

-Kakiuchi, N., Hattori, M. y Namba, T. (1985). Inhibitory effect of tannins on reverse transcriptase from RNA tumor virus. *Journal of Natural Products*, **48**,614-621.

-Kakuda, T., Sakane, I., Takihara, T., Tsukamoto, S., Kanegae, T. y Nagoya, T. (1996). Effects of tea (*Camellia sinensis*) chemical compounds on ethanol metabolism in ICR mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **60**,1450-1454.

-Kashiwada, Y., Nonaka, G-I. y Nishioka, I. (1986). Tannins and related compounds. XLV. Rhuibarb. (5). Isolation and characterization of flavan-3-ol and procyanidin glucosides. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*,



34,3208-3222.

-Katelaris, P. H., Naeem, A. y Farthing, M. J. G. (1994). Activity of metronidazole, azithromycin and three benzimidazoles on *Giardia lamblia* growth and attachment to a human intestinal cell lines. *Aliment Pharmacology Therapy*, **8**,187-192.

-Katiyar, S. K. y Mukhtar, H. (1997). Inhibition of forbol ester tumor promoter 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate caused inflammatory responses in SENCAR mouse skin by black tea polyphenols. *Carcinogenesis*, **18**,1911-1916.

-Khabibullaeva, L. A. y Khazanovich, R. L. (1972). Phytochemical study of raspberry leaves. *Mater Yubileinoi Resp Nauchn Konf Farm*. Septiembre, 98-99.

-Khafif, A., Schantz, S. P., Al-Rawi, M., Edelstein, D. y Sacks, P. G. (1988). Green tea regulates cell cycle progression in oral leukoplakia. *Head & Neck*, **20**,528-534.

-Kimura, Y., Okuda, H., Okuda, T., Yoshida, T., Hatano, T. y Arichi, S. (1983). Studies on the activities of tannins and related compounds of medicinal plants and drugs. II. Effects of various tannins and related compounds on adrenaline-induced lipolysis in fat cells.

*Chemical Pharmaceutical Bolletín*, **31**,7,2497-2500.

-Koch-Weser, J. M. D. y Golman, P.M. D. (1980). Drug therapy. *The New England Journal Medicine*, **20**,1212-1918.

-Kolodziej, H. (1986). Synthesis and characterization of procyanidin dimers as their peracetates and octamethyl ether diacetates. *Phytochemistry*, **25**,5,1209-1215.

-Kombal, R. y Glasl, H. (1995). Flavan-3-ols and flavonoids from *Potentilla anserina*. *Planta Medica*, **61**, 484.

-Koupai-Abyazani, M. R. y Bohm, B. A. (1993). The condensed tannins of *Leptarrhena pyrolifolia*. *Phytochemistry*, **33**,1485-1487.

-Laurence. (1978). Common bee weeds of Trinidad y Tobago. *J. Agric. Soc. Of Trinidad y Tobago*. 76:147-162.  
Medicinal plants of west indies. 1981. USA. Edward S. Ayenuu V.2, *Reference Publications*, Inc.

-Lee, M-W., Morimoto, S., Nonaka, G-I. y Nishioka, I. (1992). Flavan-3-ol gallates and proanthocyanidins from *Pithecellobium lobatum*. *Phytochemistry*, **31**,2117-2120.

-Lee, S-S., Wang, J-S. y Chen, K. Ch-S. (1995). Chemical constituents from the roots of *Ziziphus jujuba*

Mill var. *spinosa* (I). *Journal of the Chinese Chemical Society*, **42**,77-82.

-Li, B-Z., Wang, B-G. y Jia, Z-J. (1998). Pentacyclic triterpenoids from *Rubus xanthocarpus*. *Phytochemistry*, **49**,2477-2481.

-Lien, T. P., Kamperdick, C., Sung, T. V. y Adam, G. (1999). Triterpenes from *Rubus cochinchinensis*. *Phytochemistry*, **50**,463-465.

-Liu, S. X. y Chiou, G. C. (1996). Effects of Chinese herbal products on mammalian retinal functions. *Journal Ocul. Pharmacol. Ther.*, **12**,377-386.

-Lindquist, H. (1996). *Microbiology Drugs Resistance*, **2**, 433-434.

-Luck, G., Liao, H., Murray, N. J., Grimmer, H. R., Warminski, E. E., Williamson, M. P., Lilley, T. H. y Haslam, E. (1994). Polyphenols, astringency and proline-rich proteins. *Phytochemistry*, **37**,357-371.

-Mahmood, N., Pizza, C., Aquino, R., De Tommasi, N., Piacente, S., Colman, S., Burke, A. y Hay, A. J. (1993). Inhibition of HIV infection by flavonoids. *Antiviral Research*, **22**,189-199.

-Malan, E., Swinny, E., Ferreira, D. y Steynberg, P. (1996). The structure and synthesis of proguibourtinidins from *Cassia abbreviata*. *Phytochemistry*, **41**,1209-1213.

-Markham, K. R. (1982). Introduction to the flavonoids. Techniques of flavonoid identification. ed, Academic Press, London, 1-3.

-Masakazu A. (1962). Components of the flower petals of *Rosa multiflora* and *Rubus hirsitus*. *Yakugaku Zasshi*, **82**,771-773.

-Mata, R. E. (1999). Curso Farmacognosia (Teoría). Información general. Facultad de Química. UNAM.

-Matsuo, N., Yamada, K., Yamashita, K., Shoji, K., Mori, M. y Sugano, M. (1996). Inhibitory effect of tea polyphenols on histamine and leukotriene 84 release from rat peritoneal exudate cells. *In vitro Cell. Dev. Biol. Anim.*, **32**,340-344.

-Matsuo, N., Yamada, K., Shoji, K., Mori, M. y Sugano, M. (1997). Effect of tea polyphenols on histamine release from rat basophilic leukemia (RBL-2H3) cells: the structure-inhibitory activity relationship. *Allergy*, **52**,58-64.

-Meckes, M., Calzada, F., Tapia-Contreras, A. y Cedillo-Rivera, R. (1999). Antiprotozoal properties of *Helianthemum glomeratum*. *Phytotherapy Research*, **13**,102-105.

-Meckes, M., Torres, J., Calzada, F., Carmolinga, M., Lemus, H. y Rodríguez, G. (1997). Antibacterial properties of *Helianthemum glomeratum*, a plant used in Maya traditional medicine to treat diarrhoea. *Phytotherapy Research*, **11**,128-131.

-Meckes, M., Calzada, F., Tortoriello, J., González, J. L. y Martínez, M. (1996). Terpenoids isolated from *Psidium guajava* hexane extract with depressant activity on central nervous system. *Phytotherapy Research*, **10**,600-603.

-Meckes, M., Villarreal Ma. L., Tortoriello, J. Berlin, B. y Berlin, E. A. (1995). A microbiological evaluation of medicinal plants used by the maya people of southern Mexico. *Phytotherapy Research*, **9**,244-250.

-Merck Index. (1989) 11<sup>ava</sup> edición, Merck & CO., Inc. U.S.A.

-Mori, A., Nishino, Ch., Enoki, N. y Tawata, S. (1987). Antibacterial activity and mode of action of plant

flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*, **28**,2231-2234.

-Morimoto, S., Nonaka, G-I. y Nishioka, I. (1988). Tannins and related compounds. LX. Isolation and characterization of proanthocyanidins with a doubly-linked unit from *Vaccinium vitis-idaea* L. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*. **36**,33-38.

-Morimoto, S., Nonaka, G-I. y Nishioka, I. (1987). Tannins and related compounds. LIX. Aesculitannins, novel proanthocyanidins with a doubly-linked structures from *Aesculus hippocastanum* L. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*. **35**,4717-4729.

-Morimoto, S., Nonaka, G-I. y Nishioka, I. (1986). Tannins and related compounds. XXXVIII. Isolation and characterization of flavan-3-ol glucosides and procyanidins oligomers from *Cassia* bark (*Cinnamomum cassia* Blume). *Chemical Pharmaceutical Bulletin*. **34**,633-642.

-Mukherjee, M., Gahatak, K. L., Ganguly, S. N. y Antoulas, S. (1984). Rubinic acid, a triterpene acid from *Rubus fruticosus*. *Phytochemistry*, **23**,2581-2582.

-Nakao, M., Takio, S. y Ono, K. (1998). Alkil peroxyyl

radical-scavenging activity of catechins. *Phytochemistry*, **49**,2379-2382.

-Nakayama, M., Suzuki, K., Toda, M., Okubo, S., Hara, Y. y Shimamura, T. (1993). Inhibition of the infectivity of influenza virus by tea polyphenols. *Antiviral Research*, **21**,289-299.

-N. H. I. (1974). A barefoot Doctor's manual  
9Traduction0 John E. Fogarty International Center.  
National Institutes of Health, Washington, D.C. DHEW  
Publication N. (NIH), 76-695.

-Niero, R., Cechinel Filho, V., Souza, M. M.,  
Montanari, J. L., Yunes, R. A. y Delle Monache, F. (1999).  
Antinociceptive activity of Niga-ichigoside F<sub>1</sub> from *Rubus  
imperialis*. *Journal Natural Products*, **62**,1145-1146.

-Nishimura, H., Nonaka, G. y Nishioka, I. (1986).  
Tannins and related compounds. XLVI: Isolation and  
structures of Stenophynins A and B, novel tannins from  
*Quercus stenophylla* Makino. *Chemical Pharmaceutical  
Bulletin*, **34**,3223-3227.

-Nishino, Ch., Enoki, N., Tawata, S., Mori, A.,  
Kobayashi, K. y Fukushima, M. (1987). Antibacterial

activity of flavonoids against *Staphylococcus epidermis*, a skin bacterium. *Agric. Biol. Chem.*, **51**,139-143.

-Nonaka, G-I., Kawahara, O. y Nishioka, I. (1983). Tannins and related compounds. XV. A new class of dimeric flavan-3-ol gallates, Theasinensins A and B, and proanthocyanidin gallates from green tea leaf. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, **31**,3906-3914.

-Ohigashi, H., Minami, S., Fukui, H., Koshimizu, K., Mizutani, F., Sugiura, A. y Tomana, T. (1982). Flavonols, as plant growth inhibitors from roots of peach, *Prunus persica* Batsh. cv. 'Hakuto'. *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 2555-2561.

-Ohtani, K., Yang, C., Miyajima, C., Zhou, J. y Tanaka, O. (1991). Labdano-type diterpene glycosides from fruits of *Rubus foliolosus*. *Chemistry Pharmaceutical Bulletin*, **39**,2443-2445.

-Ohtani, K., Aikawa, Y., Kasai, R., Chou, W., Yamasaki, K. y Tanaka, O. (1992). Minor diterpene glycosides from sweet leaves of *Rubus suavissimus*. *Phytochemistry*, **31**,1553-1559.

-Okabe, S., Suganoma, M., Hayashi, M., Sueoka, E.,



Komori, A. y Fujiki, H. (1997). Mechanism of growth inhibition of human lung cancer cell line, PC-9, by tea polyphenols. *Japanese Journal of Cancer Research*, **88**,639-643.

-Okabe, S., Ochiai, Y., Aida, M., Park, K., Kim, S.J., Nomura, T., Suganoma, M. y Fujiki, H. (1999). Mechanistic aspects of green tea as a cancer preventive: effect of components on human stomach cancer cell lines. *Japanese Journal of Cancer Research*, **90**,733-739.

-Pabst, A., Barron, D., Semon, E. y Schreier, P. (1992 a). Two diastereomeric 3-oxo- $\alpha$ -ionol  $\beta$ -D-glucosides from raspberry fruit. *Phytochemistry*, **31**,1649-1652.

-Pabst, A., Barron, D., Semon, E. y Schreier, P. (1992 b). An  $\alpha$ -ionol disaccharide glycoside from raspberry fruit. *Phytochemistry*, **31**,2043-2046.

-Pabst, A., Barron, D., Semon, E. y Schreier, P. (1993). Isolation of a novel linalool disaccharide glycoside from raspberry fruit. *Tetrahedron Letters*, **32**, 4885-4888.

-Palazzo de Mello, J., Petereit, F. y Nahrstedt, A. (1996). Flavan-3-ols and prodelphinidins from

*Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry*, **41**,807-813.

-Pallenbach, E., Sholz, E., König, M. y Rimpler, H. (1993). Proanthocyanidins from *Quercus petraea* Bark. *Planta Medica*, **59**,264-268.

-Pan, H. y Lundgren, N. (1995). Phenolic extractives from root bark of *Picea abies*. *Phytochemistry*, **39**,1423-1428.

-Petereit, F., Kolodziej, H. y Nahrstedt, A. (1991). Flavan-3-ols and proanthocyanidins from *Cistus incanus*. *Phytochemistry*, **30**,981-985.

-Perry, L. M. (1980). Medicinal plants of east and southeast Asia. MIT Press Cambridge, Mass, 620.

-Phillipson, D. J. (1995). A matter of some sensitivity. *Phytochemistry*, **38**,1319-1343.

-Polya, G. M. y Foo, L. Y. (1994). Inhibition of eukaryote signal-regulated protein kinases by plant-derived catechin-related compounds. *Phytochemistry*, **35**, 1399-1405.

-Porter, L. J., Ma, Z. y Chan, B. G. (1991). Cacao procyanidins: Major flavanoids and identification of some minor metabolites. *Phytochemistry*, **30**,1657-1663.

-Porter, L. J., Newman, R. H., Foo, L. Y. y Wong, H. (1982). Polymeric proanthocyanidins.  $^{13}\text{C}$  N.M.R. Studies of procyanidins. *Journal Chemical Society Perkin I*, 1217-1221.

-Rak, K. M., Yeon, B. H., Lim, H-S., Kang, B-S., Oh, G-J., Lee, J., Kang, S-H., Soon, K. L., Seup, J. R. y Kim, Y. (1999). (-)-Epiafzelechin: Cyclooxygenase-1 inhibitor and anti-inflammatory agent from aerial parts of *Celastrus orbiculatus*. *Planta Medica*, 65,460-407.

-Rodríguez, G.G. (1996). Junio-Agosto. Muestras de herbario, *Herbario del IMSS*. 11874.

-Romero-Cabello, R., Robert, L., Muñoz-García, R. y Tanaka, J. (1995). Estudio aleatorio para comparar seguridad y eficacia de albendazol y metronidazol en el tratamiento de giardiasis en niños. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 37,315-323.

-Rossouw, W., Hundt, A. F., Steenkamp, J. A. y Ferreira, D. (1994). Oligomeric flavanoids. Part 17. Absolute configurations of flavan-3-ols and 4-arylflavan-3-ols via the Mosher method. *Tetrahedron*, 50,12477-12488.

-Ryan, J. J. y Coffin, D. E. (1971). Flavonol

glucuronides from red raspberry *Rubus idaeus* (Rosaceae). *Phytochemistry*, **10**,1675-1677.

-Sahpaz, S., Gupta, M. P. y Hostettmann, K. (2000). Triterpene saponins from *Randia formosa*. *Phytochemistry*, **54**,77-84.

-Sakanaka, S., Aizawa, M., Kim, M. y Yamamoto, T. (1996). Inhibitory effects of green tea polyphenols on growth and cellular adherence of an oral bacterium, *Porphyromonas gingivalis*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **60**,745-749.

-Sakar, M. K., Petereit, F. y Nahrstedt, A. (1993). Two phloroglucinol glucosides, flavan gallates and flavonol glycosides from *Sedum sediforme* flowers. *Phytochemistry*, **33**,171-174.

-Sato, K., Kanazawa, A., Ota, N., Nakamura, T. y Fujimoto, K. (1998). Dietary supplementation of catechins and alpha-tocopherol accelerates the healing of trinitrobenzene sulfonic acid- induced ulcerative colitis in rats. *Journal of Nutritional Science & Vitaminology*, **44**,769-778.

-Schaufelberger, O. y Hostettmann, K. (1983). On the

molluscicidal activity of tannin containing plants. *Plant Research Medica*, 105-107.

-Scholz, E. y Rimpler, H. (1989). Proanthocyanidins from *Krameria trianda* root. *Planta Medica*, **55**,379-384.

-Seto, T., Tanaka, T., Tanaka, O. y Naruhashi, N. (1984).  $\beta$ -glucosil esters of 19 $\alpha$ -hidroursolic acid derivatives in leaves of *Rubus* species. *Phytochemistry*, **23**,2829-2834.

-Shukla, S.C. y Das, S.R. (1988). Cure of amoebiasis by seed powder of *Cassia fistula*. *International Journal of Crude Drug Research*, **26**,141-144.

-Songqing, L., Zhuoyin, X. y Rui, F. (1994). A flavanol glycoside from *Drynaria propinqua*. *Phytochemistry*, **35**,1595-1596.

-Sousa, M. C. y Poiares, D. S. (1999). A new method for assessing metronidazole susceptibility of *Giardia lamblia* trophozoites. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy*, **43**,2939-2942.

-Stahl, E. (1969). Thin layer chromatography, A *Laboratory Handbook*. Spring-Verlag, New York.

-Stammler, J. y Volm, M. (1997). Green tea catechins

(EGCG and EGC) have modulating effects on the activity of doxorubicin in drug-resistant cell lines. *Anticancer Drugs*, **8**,265-268.

-Standley, Paul C. (1997). Trees and strubs of Mexico, Bulletin of the United States National Museum, parte 1-2, (octubre 11,1920 a julio 14,1922), **23**,328-331.

-Stobiecki, M. y Popenda, M. (1994). Flavan-3-ols from seeds of *Lupinus angustifolius*. *Phytochemistry*, **37**,6,1707-1711.

-Sucharita, S., Niranjana, P. S. y Shashi, B. M. (1992). Flavonol glycosides from *Calotropis gigantea*. *Phytochemistry*, **31**,2929-2921.

-Suganuma, M., Okabe, S., Kai, Y., Sueoka, N., Sueoka, E. y Fujiki, H. (1999). Synergistic effects of (-) epigallocatechin gallate with (-)epicatechin, sulindac, or tamoxifen on cancer-preventive activity in the human lung cancer cell line PC-9. *Cancer Research*, **59**,44-47.

-Sun, D., Zhao, Z., Wong, H. y Foo, L.Y. (1988). Tannins and other phenolics from *Myrica esculenta* Bark. *Phytochemistry*, **27**,579-583.

-Takechi, M., Tnaka, Y., Takehara, M., Nonaka, G. y

Nishioka, I. (1985). Structure and antiherpetic activity among the tannins. *Phytochemistry*, **24**,2245-2250.

-Tanaka, T., Nonaka, G-I., y Nishioka, I. (1983). 7-O-Galloyl-(+)-catechin and 3-O-galloyiprocyanidin B-3 from *Sanguisorba officinalis*. *Phytochemistry*, **22**,2575-2578.

-Tanaka, T., Ishida, N., Ishimatsu, M., Nonaka, G-I., y Nishioka, I. (1992). Tannins and related compounds. CXVI. Six new complex tannins, guajavins, psidinins and psiguavin from the bark of *Psidium guajava* L. *Chemical Pharmaceutic*, 2092-2098.

-Tanner. (1998). *PCT Int Appl WO 98 07, 812, 21/Aug/96. 116pp.*

-Thompson, R. S., Jaqcques, D., Haslam, E. y Tanner, R. J. N. (1972). Plant proanthocyanidins. Part I. Introduction; the isolation, structure, and distribution in nature of plant procyanidins. *Journal Chemical Society Perkin I*, 1387-1399.

-Treutter, D., Santos-Buelga, C., Gutmann, M. y Kolodziej, H. (1994). Identification of flavan-3-ols and procyanidins by high-performance liquid chromatography and chemical reaction detection. *Journal of Chromatography A*.

667,290-297.

-Tyler, V. E. (1994). Herbs of Choice. The therapeutic use of phytomedicinals. Pharmaceutical Products Press. New York, 51-53.

-Valcic, S., Timmermann, B. N., Alberts, D. S., Wachter, G. A., Krutzsch, M., Wymer, J. y Guillen, J. M. (1996). Inhibitory effect of six green tea catechins and caffeine on the growth of four selected human tumor cell lines. *Anticancer Drugs*, 7,461-468.

-Verhaeren, E. y Lemli, J. (1986). The effect of gallotannins and (+)-catechin on the stimulated fluid secretion on the colon, following a rhein perfusion in guinea pigs. *Planta Medica*, 269-272.

-Viviers, P. M., Botha, J. J., Ferreira, D. y Roux, D.G. (1983). Synthesis of condensed tannins. Part 7. Angular [4,6:4,8]-prorobinetinidin triflavanoids from Black wattle ('Mimosa') bark extract. *Journal Chemical Society Perkin Trans. I*, 17-22.

-Wagner, H., Bladt, S. y Zgainski, E. M. (1984). Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York Tokyo.



-Wassmann, C., Helberg, A., Tannich, E. y Bruchhaus, I. (1999). Metronidazole resistance in the protozoan parasite *Entamoeba histolytica* is associated with increased expression of iron-containing superoxido dismutase and peroxiredoxin and decreased expression of ferredoxin 1 and flavin reductasa. *Journal of Biological Chemistry*, **37**,26051-26056.

-Weinges, K. (1964). The ocurrence of catechins in fruits. *Phytochemistry*, **3**,263-266.

-Weisburger, J. H., Riverson, A., Aliaga, C., Reinhardt, J., Kelloff, G. J., Boone, C. W., Steele, V. E., Balentine, D. A., Pittman, B. y Zang, E. (1998). Effect of tea extracts, polyphenols, and epigallocatechin gallate on azoxymethane induced colon cancer. *Proceedings of the Society for Experimental Biology & Medicine*, **217**,104-108.

-Yam, Y. S., Shah, S. y Hamilton-Miller, J. M. (1997). Microbiological activity of whole and fractionated crude extracts of tea (*Camellia sinensis*) and of tea components. *FEMS. Microbiol. Letters*, **152**,1,169-174.

-Yang, S-W., Zhuo, B-N., Wisse, J. H., Evans, R., Van

der Werff, H., Miller, J. S. y Kingston, D. G. I. (1998). Three new ellagic acid derivatives from the bark of *Eschweilera coriacea* from the Suriname rainforest. *Journal Natural Products*, **61**,901-906.

-Yoshikawa, M., Murakami, T., Ueda, T., Matsuda, H., Yamahara, J. y Murakami, N. (1996). Bioactive saponins and glycosides IV. Four methyl-migrated 16,17 seco-dammarane triterpene glycosides from Chinese natural medicine. *Chemical Pharmaceutical Bulletin Tokio*, **44**,1736-1743.

-Zhou, X., Kasai, R., Ohtani, K., Tanaka, O. y Yamasaki, C. (1992). Oleanane and ursane glucosides from *Rubus* species. *Phytochemistry*, **31**,3642-3644.