



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

"EXTRACCION DE PEREZONA DE LAS RAICES DE
Acourtia wislizenii"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
JOSE MARTINEZ PEREZ

ASESOR DR. JOSE GUILLERMO PENIERES CARRILLO

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

2002

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN



DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

AT'N: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Extracción de Perezona de las Raíces de Acurtia wislizenii

que presenta el pasante: José Martínez Férrez
con número de cuenta: 8906856-4 para obtener el TÍTULO de:
Químico Farmacéutico Biólogo

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO

ATENTAMENTE.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 23 de Mayo de 2001

PRESIDENTE

Dr. José Guillermo Penieres Carrillo

VOCAL

Q. Mario Arturo Morales Delgado

SECRETARIO

Q.F.B. Virginia Benitez Solis

PRIMER SUPLENTE

Dra. Olivia García Mellado

SEGUNDO SUPLENTE

M.F. Benjamín Velasco Bejarano

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio de investigación de la Sección de Química Orgánica L-121 de la Facultad de Estudios superiores Cuautitlán y en el laboratorio 2-3 del Instituto de Química U.N.A.M., bajo la dirección del Dr. Guillermo Penieres Carrillo

AGRADECIMIENTOS

A mis padres:

José y Catalina, ya que sin su apoyo, comprensión y sobre todo el gran amor que me dan, no hubiera llegado hasta aquí.

A mis hermanas:

Ma. Antonieta, Catalina, Concepción, Ma. Eugenia, Florentina y Josefina, gracias por sus consejos y ayuda que me brindaron.

A mi Tía y Prima:

Dolores y Emilia, gracias por el apoyo que me dieron.

A mis amigos:

Jesús, Caro, Vero, Jorje, Ale y Benja, gracias por su amistad y por todos esos momentos que compartimos y disfrutamos.

*Al Profesor Guillermo
Penieres:*

*Por su dirección, apoyo,
comprensión y sobretodo su
paciencia. Gracias por
brindarme su amistad.*

*A todos mis profesores de
carrera:
Que fueron un gran escalón en
mi formación profesional*

ÍNDICE

1.- Objetivos	1
2.- Introducción	2
3.- Antecedentes	6
3.1.- Panorama Actual	6
3.2.- Aspectos Históricos	7
3.3.- Género <i>Perezia</i>	12
4.- Metabolismo Secundario	21
5.- Generalidades	25
5.1.- Género <i>Acourtia</i>	26
6.- Parte Experimental	29
6.1.- Materiales y Equipos	30
6.2.- Tratamiento de la planta	31
7.- Resultados	32
8.- Discusión de Resultados	35
9.- Conclusiones	37
10.- Referencias	38
11.- Apéndice	45

1. OBJETIVOS

Objetivo general.

- Llevar a cabo el estudio fitoquímico de la raíz de *Acourtia wislizenii* (A. Gray).

Objetivos Particulares.

- Aplicar los conocimientos adquiridos en Química Orgánica para llevar a cabo técnicas de aislamiento, purificación (cromatografía en columna, capa fina y preparativa) y caracterización estructural.
- Aislar y purificar los metabolitos secundarios del extracto etanólico de la raíz de *Acourtia wislizenii* (A.Gray).
- Caracterizar los componentes aislados por técnicas espectroscópicas (Infrarrojo; Resonancia Magnética Nuclear ^1H y ^{13}C y Espectrometría de Masas).
- Llevar a cabo una revisión bibliográfica correspondiente al género *Acourtia*.

2. INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad todos los pueblos primitivos han adquirido información sobre las propiedades medicinales y alimenticias de un gran número de plantas propias de su medio ambiente; estos conocimientos generalmente sólo habían sido delegados a un número particular de individuos: sacerdotes, hechiceros, curanderos, etc., quienes los han transmitido de generación en generación a sus descendientes; sin embargo, pocos dejaron descripciones de utilidad.

Los conocimientos sobre las plantas medicinales de América, fueron transmitidos por los aborígenes a misioneros y viajeros españoles, quienes los immortalizaron en obras como son las de Gonzalo Fernández de Oviedo "De la Natural Historia de las Indias e Islas y Tierra Firme del Mar Océano", publicada en 1535. En esta obra aparece la descripción de muchas plantas medicinales, entre ellas el achiote, guaco, tabaco y cacao.

Como se sabe, uno de los principales legados de las grandes culturas prehispánicas es el uso de las plantas para el tratamiento o prevención de

enfermedades, así como de los principales medios terapéuticos de nuestra medicina tradicional, aclarando que hablar de plantas medicinales no es sinónimo de medicina tradicional, ya que ésta emplea además otras terapéuticas.

Fray Bernardino de Sahagún escribió a fines del siglo XVI su obra "Historia de las Cosas de la Nueva España", en la que menciona un gran número de las plantas empleadas con fines medicinales por los aztecas.

Contemporáneo a los libros mencionados es el que publicó Cristóbal Acosta con el título de "Tratado de las Drogas y Medicinas de las Indias Orientales con Plantas Dibujadas al Vivo". El Manuscrito o Códice Badiano es muy notable por sus dibujos coloridos e información, convirtiéndose así en un auténtico tratado de plantas medicinales, fué escrito en 1552 por el indio xochimilca Martín de la Cruz y traducido del náhuatl al latín por su maestro Juan Badiano. Este trabajo permaneció inédito hasta 1940, año en el que fue traducido al inglés por Emmart y publicado por la Johns Hopkins Press. El Instituto Mexicano del Seguro Social publicó en 1964 una bien documentada edición en castellano.

En el presente siglo se inicia una nueva era en la investigación de los productos naturales. Los nuevos investigadores introducen métodos científicos así como nuevas técnicas de identificación y de estudio, a la vez las publicaciones se hacen con mayor veracidad y se ratifica lo escrito con lo experimental, significando esto la aplicación del método científico en el estudio de los productos naturales.

Nuestro país cuenta con una diversidad botánica y cultural muy rica, así como una tradición alimenticia y medicinal asociada al uso de las plantas que han sido el resultado de la observación y la experimentación eficaz por parte de las comunidades a lo largo de la vida.

Desde siempre, el estudio de las plantas ha sido de gran interés, es por eso que actualmente este campo ha tenido gran auge dada la importancia que representa por sí mismo el uso de productos naturales, siendo éste de gran relevancia, pues tanto la alimentación como el cuidado de la salud son preocupaciones de primera instancia en el desarrollo de las sociedades. Es por eso que, además de muchas otras áreas, el ramo farmacéutico está poniendo gran interés en proyectos de investigación en productos naturales, pues se trata de incrementar el número de metabolitos que presentan acción terapéutica,

desarrollar nuevas técnicas de extracción de los mismos, buscando que éstas sean más redituables o bien modificar las moléculas ya existentes para encontrar algún nuevo efecto terapéutico y descartar efectos adversos, ya que como es bien sabido los efectos adversos son menores cuando el uso es de productos naturales.

Es pertinente mencionar que las instituciones de educación superior en México han desarrollado investigaciones sobre la flora y fauna de nuestro país. Entre esos centros de educación se encuentra la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-UNAM en donde, en particular, la sección de Química Orgánica se ha caracterizado por el desarrollo de investigaciones de carácter fitoquímico de la flora nacional.^(1,2,3)

3. ANTECEDENTES

3.1 PANORAMA ACTUAL

El aislamiento de metabolitos secundarios de las plantas constituye un proyecto de investigación de gran potencial para las sociedades humanas; la elección de cualquier planta para su estudio da beneficios potenciales en distintas áreas, tales como: Farmacología, Agricultura, Taxonomía, etc. La selección de la planta en la investigación de los productos naturales es, sin duda, el paso más crítico.

El reino de las plantas es sin lugar a dudas considerado como una mina de oro de nuevos compuestos químicos esperando ser descubiertos. La Office of Technology Assesment (OTA) de los Estados Unidos de América estimó que de un aproximado de 500,000 a 750,000 especies de plantas en la tierra, no más del 10 % han sido examinadas en sus componentes químicos. Por otro lado, se sabe que del total de las prescripciones médicas, 25 % son derivados de plantas; adicionalmente, la mayoría de los compuestos puros usados en las

prescripciones son técnica y económicamente difíciles de obtener por métodos sintéticos y, sin embargo, la mayoría son extraídos de plantas.

Recientemente, los constituyentes de las plantas pueden ser aislados o usados directamente como agentes terapéuticos o como materiales de inicio para la síntesis de drogas. De igual manera, también pueden servir como modelos para compuestos activos farmacológicamente en la síntesis de fármacos.⁽⁴⁾

3.2 ASPECTOS HISTÓRICOS

Es interesante hablar de los plantas así como de sus metabolitos o bien de los efectos que éstos pueden tener en la fisiología del ser humano; es así que desde siempre se ha tratado de encontrar técnicas para la extracción de los mismos. Dentro de este campo ha habido un sinnúmero de investigaciones, por lo que es pertinente mencionar que México se ha caracterizado por dar importancia a las investigaciones en esta área y uno de los químicos involucrado en este proceso es el Doctor Pedro Joseph Nathan quién contempla la investigación en química orgánica desde una perspectiva humanista y dice : "Lo

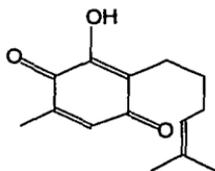
más relevante que uno puede hacer es conservar o mejorar la vida del ser humano sobre el planeta."

Aislar sustancias bioactivas de las plantas contribuye, a corto o largo plazo, al bienestar del hombre y es una de las formas por las cuales la ciencia revierte hacia el país lo que se invierte en ella.

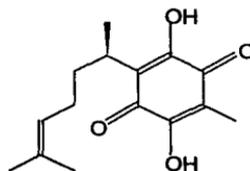
A partir del año 1852 hubo un descubrimiento científico efectuado en México en el área de los productos naturales y se trata concretamente de un sesquiterpeno cuyo aislamiento fue descrito por primera vez por el Doctor Leopoldo Río de la Loza, quien en aquellas épocas lo designó como el ácido pipitzahoico. En uno de sus escritos aparecido en 1852, se describe por primera vez a la perezona diciendo: "Pretendo dar a conocer un nuevo principio inmediato, curioso por su aspecto, y útil por la acción que ejerce sobre el organismo." ⁽⁵⁾

Los primeros resultados analíticos de la perezona fueron publicados en 1855 por Weld llegando a la conclusión que la composición elemental debe ser $C_{15}H_{20}O_3$.

En 1884 Vigener en Bond hace una amplia descripción de la sustancia . En 1885 y 1887 Leather y Anschütz describen la preparación de una serie de nuevos derivados de la molécula; y en 1913 Fichter y sus colaboradores proponen las primeras estructuras para la perezona (I), la hidroxiperezona (II) y perezinona. En 1913 Remfry, en Inglaterra, prepara nuevos derivados cristalinos incluyendo el benzoato de β -pipitzol.



perezona (I)

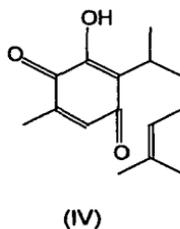
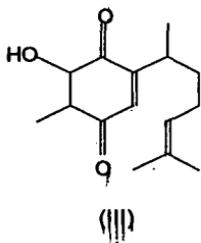


hidroxiperezona (II)

En 1954, en Suiza, Arigony y Heger concluyeron que el centro quiral de la perezona tiene configuración *R*, ya que el ácido dimetilheptánico obtenido de la perezona tiene la misma rotación relativa que el ácido obtenido por oxidación del (+) citronelal.

México ha sido un suelo muy pródigo en especímenes vegetales, ya que por ejemplo, es relativamente fácil aislar ciertos metabolitos de algunas especies en grandes cantidades con poco esfuerzo, tal es el caso de la perezona la cual se extrae fácilmente de la *Perezia cuernavacana*, permitiendo esto que las contribuciones a la química de esta sustancia pueden realizarse la mayoría en nuestro país. Es así que de todas las estructuras manejadas anteriormente en la literatura internacional, la única correcta era la de la hidroxiperezona (II) y las restantes han sido establecidas en México, de 1905 a la fecha.

En 1935 Kogl y Boer ⁽⁵⁾ determinaron que la perezona podría tener cualquiera de las dos estructuras III y IV, y de ellas decidieron que la más probable era la III.

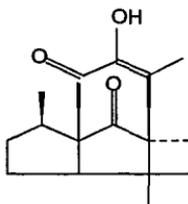


Efectuando algunas reacciones y, sobre todo, utilizando métodos espectrométricos, que no había en esa época, se llegó posteriormente a la conclusión de que la perezona tiene como estructura la número IV. Esto se concluyó a partir de un profundo análisis del espectro de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de la muestra aislada de *P. cuernavacana* ⁽⁷⁾ recolectada en las cercanías de Cuernavaca, Morelos, obtenida de la extracción con hexano, teniendo cristales de color anaranjado y con punto de fusión de 102-103 °C.

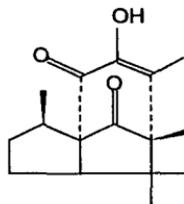
La estructura de la perezona (IV) es deducida fácilmente de su correspondiente espectro de resonancia magnética protónica, en el que se ve que hay un acoplamiento de 1.8 Hz entre la señal doble originada por el metilo quinónico en 2 ppm y la señal cuádruple debida al protón vinílico que aparece en 6.5 ppm. La magnitud de este acoplamiento es característica de un grupo metilo y un protón localizados en la misma doble ligadura.

Desde fines del siglo pasado se sabía que cuando la perezona se calienta en un tubo de ensayo, la sustancia anaranjada original se transforma en un compuesto cristalino blanco, al que se llamó pipitzol. Sin embargo, no fue posible sino hasta 1965 separar a lo que se creyó un solo compuesto en dos sustancias

que se designaron como: α -pipitzol (V) y β -pipitzol (VI) ⁽¹⁰⁾; esta separación fue efectuada por cristalización fraccionada de la mezcla de benzoatos diferentes.



α -pipitzol (V)



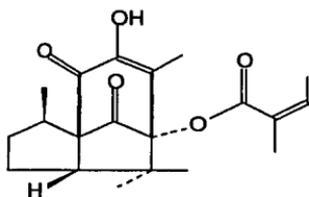
β -pipitzol (VI)

3.3 GÉNERO *Perezia*

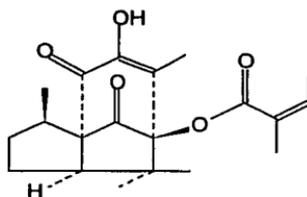
El género *Perezia* es dividido en la sección *Acourtia* ⁽⁶⁾, la cual es abundante en América del Norte y contiene muchas benzoquinonas y cedranólidos, y la sección *Perezia*, la cual crece en Sudamérica y aún no ha sido adecuadamente estudiada. Se han examinado las raíces de *P. multiflora* colectadas en Ecuador de la cual se extrajeron algunas cumarinas.

Hasta 1971 habían sido aislados de diversas especies *Pereziae* solamente perezona (I), hidroxiperezona (II) y el isovalerato de esta última, en el que no se conocía la posición del éster. En un estudio de la raíz de *Perezia* de clasificación

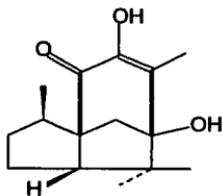
botánica desconocida ya que fue comprada en un mercado de la ciudad de México, fue factible aislar y caracterizar tres nuevos compuestos a los que se designó α , β , y γ -perezol (VIII, IX, X). Afortunadamente estas mismas sustancias fueron aisladas de la raíz de la *Perezia hebeclada* colectadas en las cercanías de la ciudad de México.



α -perezol (VIII)

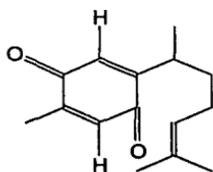


β -perezol (IX)

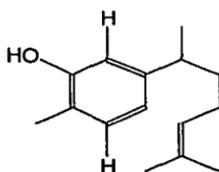


γ -perezol (X)

Un gran número de productos naturales contienen la funcionalidad de quinona, la cual ha demostrado actividad quimioterapéutica; como resultado de la utilidad de estos compuestos se han hecho esfuerzos sintéticos dirigidos hacia métodos que permitan la producción de quinonas naturales o la introducción de la regioselectividad de funcionalidad dentro del sistema quinónico, tales como la isoperezona, hidroxiperezona (II) y cucoquinona (XI), además del sesquiterpeno xantirrizol (XII) a partir de parvifolina.

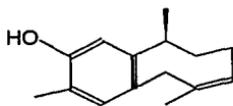


cucoquinona (XI)

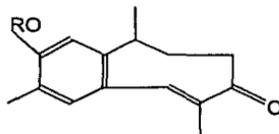


xantirrizol (XII)

La parvifolina (XIII) puede ser isomerizada por catálisis ácida a isoparvifolina (XIV) ⁽⁹⁾, cuya ozonólisis produce un aldehído, el cual es el compuesto clave para preparar sesquiterpenos, puesto que su anillo aromático tiene un grupo metilo opuesto al lado de la cadena.

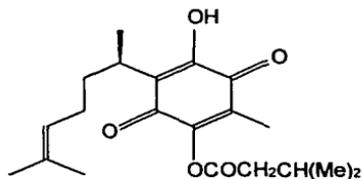


parvifolina (XIII)



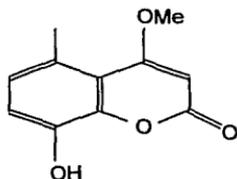
isoparvifolina (XIV)

Hasta la fecha se encuentran descritos en la literatura el aislamiento de la perezona (I) e hidroxiperezona (II) de *Perezia adnata*; la *Perezia alamani* contiene hidroxiperezona y su monoisovalerato, la *P. cuernavacana* produjo perezona y los pipitzoles, en tanto que de la *Perezia hebeclada* ⁽¹⁰⁾ fue factible aislar aparte de estos compuestos a los tres perezoles, por otra parte se demostró que la *Perezia runcinata* colectada en el estado de Nuevo León, contiene monoisovaleratos de hidroxiperezona (XV), además en lugar de perezona como se había encontrado hasta la fecha, ésta contiene el isovalerato de perezona.

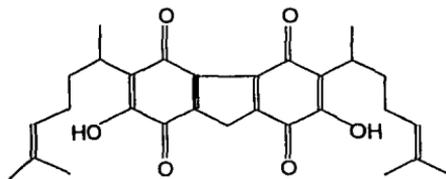


monoisovalerato de hidroxiperezona (XV)

A partir de las raíces de *Perezia alamani* ⁽²⁷⁾ se obtuvo cypereno, ciperona y otros tres compuestos: parvifolina, 8-hidroxiparaflorina (XVI) y diperezona (XVII). Se extrajeron con hexano y fueron identificados por comparación con muestras auténticas aisladas de *P. carpholepis*.



8-hidroxiparaflorina (XVI)

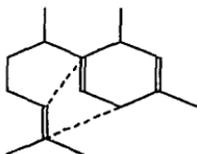


diperezona (XVII)

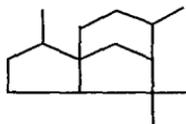
Las muestras fueron identificadas por comparación con muestras auténticas de perezona aislada de *P. cuernavacana* por cromatografía y métodos espectroscópicos comunes.

De las raíces de *Perezia hebeclada* (A.gray)⁽¹⁰⁾ se extrajeron los α y β -pipitroles (VI y VII), además se hizo un estudio estructural de la perezona y los pipitroles.

Por otro lado, de la *Perezia longifolia*⁽¹²⁾ se aislaron cypereno, cumereno y parvifolina (XIII), además de parvifolina isovalerato (XIV) todos ellos en buenas rendimientos. Del extracto hexánico de las raíces de *P. longifolia* se aisló una mezcla de color rojizo que por medio de espectroscopia se identificó como una mezcla de curcumeno (XVIII) y cypereno (XIX). La planta fue recolectada cerca de Zamora Michoacán en Julio de 1986 y llevada a la escuela de Biología de la Universidad de Michoacán (Morelia, Michoacán. México), la extracción se llevó acabo con hexano.

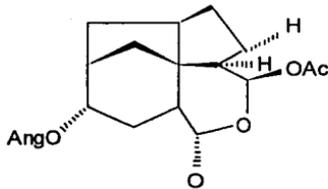


curcumeno (XVIII)



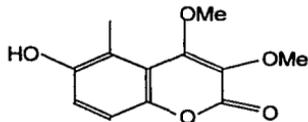
cypereno (XIX)

Con la parte aérea de *P. Multiflora*⁽¹³⁾ se obtuvieron isocedrenos (XX); la planta fue recolectada en Bolivia en febrero de 1987 y depositada en el herbario Nacional de Bolivia, hubo otra muestra la cual también fue de la parte aérea y fue colectada a partir de *P. runcinata* en Apodaca Nuevo León en Julio de 1986 y depositada en el Herbario del Instituto Tecnológico de Monterrey.



isocedreno (XX)

Se encontró que cuatro especies más. *P. lactuoides*, *P. linearis*, *P. lyrata* y *P. mutans* producen solo triterpenos, *P. Nutans* ⁽⁹⁾ también contiene isocedrenos pero en cantidad insuficiente para su identificación. De *P. magalantha* se aislaron isocedrenos, así como cumarinas (XXI) y escopoletina; en todos los casos los isovaleratos no pudieron ser aislados de los correspondientes 2-metilbutiratos; la *P. pedicularifolis* produjo el angelato y el derivado metoxi. La química de las especies de *Perezia* muestran que los isocedrenos son característicos en el genero de la subtribu *Nassauviinae*. La planta fue colectada en Chile y depositada en el Herbario de la Universidad de Concepción en Chile.



cumarina (XXI)

A partir de la parte aérea de *A. nana* se aisló taraxasterilo y lupeol, de la raíz se aisló perezona y el pipitzol epimérico, la co-ocurrencia de isocedrenos, perezona y otros es importante ya que es la primera vez que estos compuestos han sido reportados juntos en especies *Acourtia*.

En recientes comunicaciones se describió el aislamiento de terpenoides a partir de especies de *Perezia* no identificadas, y de *P. hebeclada*. Del extracto hexánico de la raíz de *Perezia sp.* obtenida del mercado local, se purificó por medio de una columna de silica gel obteniéndose pequeñas cantidades de perezona la cual se identificó por comparación con una muestra auténtica.

Del extracto hexánico de las raíces de *P. runcinata* se aisló un aceite rojizo el cual mediante Resonancia Magnética Nuclear muestra la presencia de señales típicas para perezona, además de otras señales. El aceite fue separado mediante cromatografía en perezona-isovalerato y las dos hidroxiperezonas-isovaleratos,

los cuales fueron identificados espectroscópicamente. La *P. runcinata* fue colectada y clasificada por el profesor J. Marroquín de la Universidad de Coahuila.

4. METABOLISMO SECUNDARIO

Los datos disponibles permiten suponer que las formas más primitivas de material con las llamadas características vitales, fueron unicelulares y marinas. Sus componentes químicos debieron ser: minerales, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos sencillos. A lo largo de millones de años han evolucionado aumentando y modificando las sustancias originales; se agrupan y especializan, primero en colonias de seres unicelulares y, después, en conjunto pluricelulares. La especialización condujo a los tejidos, éstos a los órganos, dirigidos todos ellos a la realización armónica y cada vez más eficiente de los llamados procesos vitales. Los organismos, al evolucionar, se dividieron en dos clases: animales y vegetales, ambos conservaron sus principales macromoléculas y las unidades que las forman, proteínas y aminoácidos, polisacáridos y azúcares, lípidos y ácidos grasos, ácidos nucleicos y bases púricas, bases pirimidícas, pentosas y ácido fosfórico, enzimas y coenzimas. Tanto en animales como en vegetales, la energía para los fenómenos vitales proviene de una cadena de oxidaciones y reducciones, en las que se producen sustancias (*metabolitos*) útiles para el crecimiento o reproducción del organismo o inútiles y hasta tóxicas.

Es así que la diferenciación y especialización se enlazan con los metabolismos empleados por el organismo en sus transformaciones de materia y energía (*metabolismo*), por lo que éste experimenta algunas modificaciones, particularmente en la que se refiere a sustancias metabolizables, paso de organismos autotróficos a heterotróficos y elaboración de metabolitos secundarios. En el aspecto externo, las tendencias evolutivas se manifiestan por diferencias morfológicas y fisiológicas, notables en organismos muy distantes y sutiles en los muy próximos; esto permite utilizar la información obtenida, por los bioquímicos, para explicar, en términos de consideraciones biogenéticas, la presencia de un mismo metabolito secundario en las plantas pertenecientes a taxones diferentes (especies, géneros, tribus, etc.) o de metabolitos diferentes en las mismas plantas. También, es importante que al proponer la estructura o la estereoquímica de un metabolito secundario, se discuta su factibilidad en base a su biogénesis, ya que si no hay un mecanismo razonable es probable que la estructura asignada sea incorrecta.

Las hipótesis biogenéticas adquieren más consistencia con el aislamiento de compuestos postulados como intermediarios, en ocasiones en la misma fuente natural, aunque con más frecuencia en otras, ya que muchos de estos

compuestos considerados como metabolitos secundarios son de suma importancia para un gran número de reacciones.

Hay también un refuerzo por la síntesis, en condiciones similares a las de una célula, de estructuras naturales a partir de los intermediarios que se les postularon o más aún, cuando se introduce al vegetal o tejidos del mismo de estos intermediarios conteniendo átomos marcados, se llega al aislamiento de sustancias finales con átomos marcados en los sitios predichos por el esquema biogenético.

Entre los numerosos tipos de sustancias producidas por una planta, se encuentran los alcaloides, los aceites esenciales, terpenoides, glicósidos, flavonoides, y otros, habiendo la posibilidad de encontrarse o no en un determinado vegetal; algunos pueden carecer de función definida en el metabolismo y, por su abundancia o ausencia, proporcionan a una planta características químicas útiles para su clasificación botánica o su aprovechamiento por el hombre.

Si se toma en cuenta los objetivos de la Fitoquímica, todo se limita a la biogénesis de los compuestos secundarios, además de recordar que en las

reacciones participan las enzimas, catalizadores orgánicos complejos muy efectivos y estereoselectivos; por ejemplo: la introducción o eliminación de un grupo CO_2 es fácil con intervención de la tiamina (vitamina B_1), un grupo amino es introducido o substituido por un carbonilo con la participación de la piridoxina o sus derivados, en la hidrogenación o la deshidrogenación intervienen los derivados de la nicotinamida o de la riboflavina (vitamina B_2); además, es fácil la introducción o eliminación de grupos metilo, unidos a un nitrógeno o un oxígeno; pero no la producción de grupos etoxilo o N-etilo.^(14,15)

5. GENERALIDADES

La identificación de un vegetal es indispensable en todo trabajo químico. Para esto se le examina ordenadamente según sus características morfológicas más sobresalientes y, a medida que se va descendiendo en la escala de clasificación, se observan detalles más minuciosos, pasando a caracteres microscópicos y fisiológicos, hasta llegar a la especie en que todos los miembros son prácticamente iguales, aunque si se estudian cuidadosamente, se verán pequeñas variantes que, de tomarse en cuenta, los subdividen aun más hasta llegar al individuo.

Para clasificar a un vegetal los taxónomos han desarrollado un vocabulario inequívoco : Reino, División, Clase, Orden, Familia, Tribu, Género, Especie.

En el sistema binomial, género y especie son vocablos latinizados que se citan juntos, escritos en cursiva o subrayados, primero el género con mayúscula inicial, seguido de la especie con minúscula, y enseguida se menciona al botánico que clasificó la planta.

5.1 GÉNERO *Acourtia*

DATOS DEL ESPÉCIMEN ESTUDIADO

Reino	Vegetal
División	<i>Spermatophyta</i>
Subdivisión	Angiosperma
Clase	<i>Dicotiledoneae</i>
Orden	<i>Synandrae</i>
Familia	<i>Compositae</i>
Tribu	<i>Musitae</i>
Género	<i>Acourtia</i>
Especie	<i>wislizenii</i>

El género *Acourtia* es abundante en América del Sur en la región de los andes; también en Argentina, en la región de Cuyo en la laguna de Horcones, en Ecuador en la ciudad de Quito, en Chile, en Perú, y además en algunos estados de México como Nuevo León, Chihuahua, Michoacán, Coahuila.

Cabe mencionar que actualmente al género *Acourtia* en la bibliografía también se le conoce como *Perezia*.

A continuación se muestra una lista de las distintas especies de *Perezia* así como sus metabolitos correspondientes, que han sido aislados hasta la fecha; además del lugar de recolección en los casos en los cuales se encontró reportado.

PLANTA	LUGAR Y AÑO DE RECOLECCIÓN	METABOLITOS
<i>P. alamanii</i> ^(1,19)	Santiaguito Michoacán 1978	Cypereno, ciperona, parvifolina (XIII), 8- hidroxiparaflorina y diperezona (XVII).
<i>P. hebeclada</i> ⁽³⁾		α y β pipitzoles (VI y VII) , perezona (I) y terpenoides
<i>P. multiflora</i> ⁽⁴⁾	Ecuador-Paramo 1976 Bolivia 1987	3,4,8-trimetoxi-5- metilcumarina isocedrenos (XX)
<i>P. coerullences</i> ⁽¹⁸⁾	Perú 1986	8-hidroxi-4-metoxi-5- metilcumarina (VII).
<i>P. longifolia</i> ⁽⁶⁾	Zamora Michoacán 1986	Cypereno(XIX), cumereno(XVIII), parvifolina (XIII) y su isovalerato(XV)
<i>P. runcinata</i> ⁽¹²⁾	Nvo. León Apodaca 1986. Coahuila	Isocedrenos (XX), perezona(I), isovalerato, hidroxiperezona (II).

PLANTA	LUGAR Y AÑO DE RECOLECCIÓN	METABOLITOS
<i>P. lactuoides</i> ⁽⁹⁾		Triterpenos, isovaleratos
<i>P. linearis</i> ⁽¹¹⁾		Triterpenos, isovaleratos
<i>P. lyrata</i> ⁽¹¹⁾		Triterpenos, isovaleratos
<i>P. nutans</i> ⁽⁹⁾		Triterpenos, isovaleratos, isocedrenos (XX)
<i>P. magalantha</i> ⁽⁹⁾	Chile	Isocedrenos, cumarinas (XXI); escopoletina angelato y su derivado
<i>P. pedicularifolis</i> ⁽¹⁷⁾		metoxi
<i>P. nana</i> ^(23,16)		taxasterilo, lupeol, perezona (I) y pipitzol (VI, VII)
<i>P. cuemavacana</i> ⁽¹⁶⁾		perezona (I)

6. PARTE EXPERIMENTAL

Fecha de recolección:	Octubre de 1995
Lugar:	Sesoguiche, Estado de Chihuahua, México
Parte utilizada:	Raíz
Uso medicinal:	Analgésico estomacal.

Nombre Botánico: *Acourtia wislizenii* (A.Gray) Reveal R.M. King Var. *wislizenii*; clasificación dada por el Biólogo Oswaldo Tellez del Instituto de Biología de la UNAM.

Características físicas: planta de un solo tallo, de altura aprox. 18 cm, con hojas de forma oval o elíptica y bordes finamente dentados de color verde, flor color morada y tipo bilabiada; la raíz de tipo pivote ~~delgada~~.

6.1 MATERIALES Y EQUIPOS

La metodología para cualquier estudio fitoquímico consta de ciertos pasos ya establecidos, tales como: colección, secado, molienda, maceración, extracción, purificación e identificación por métodos espectroscópicos R.M.N. de ^1H y ^{13}C , E. Masas, I.R.

Se empleó la técnica de Cromatografía en Capa Fina utilizando cromatofolios de la marca ALUGRAM SIL G/UV₂₅₄ de 0.25 mm. de espesor.

Para la Resonancia Magnética Nuclear se utilizó un equipo Varian ST200 y 300 Mhz, utilizando como referencia interna el tetrametilsilano y disolventes deuterados.

Para la Espectrometría de Masas también se utilizó un equipo Hewlett Packard modelo 5958B.

La Espectroscopía de Infrarrojo se realizó con un equipo Perkin Elmer 238B, empleando la técnica en pastilla de KBr.

6.2 TRATAMIENTO DE LA PLANTA

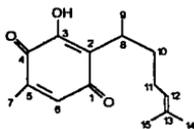
El secado se hizo exponiendo las muestras al sol aproximadamente por una semana, una vez seca se separó la raíz y se molió en un molino de rodillos.

La maceración se hizo en etanol, se filtró por gravedad y se concentró en un rotavapor verificando el proceso de mayor obtención del metabolito por Cromatografía en Capa Fina y revelado con vapores de yodo.

Se hizo una primera purificación por medio de cromatografía en columna (se uso silica gel marca Merck, malla 70-230), utilizando como eluyente una mezcla 80:20 hexano/acetato de etilo, en varias fracciones se observó la formación de cristales de color amarillo-rojizo brillante, una vez obtenidas estas fracciones se juntaron y se hizo una segunda purificación mediante cromatografía en capa preparativa (marca Merck) usando el mismo eluyente, los cristales obtenidos fueron recrystalizados con etanol acuoso al 20% para obtener el producto de mayor pureza.

La muestra se caracterizó mediante espectroscopía de I.R., Masas, R.M.N. ^{13}C y ^1H .

7. RESULTADOS



Infrarrojo (I.R.- Espectro 1): 3305 cm^{-1} (O-H libre), 1649 y 1626 cm^{-1} (C=O), 1609 cm^{-1} (C=C).

Espectrometría de Masas (Espectro 2): $M^+ = 248$ ($\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3$), 166 (C_6H_{10}).

Resonancia Magnética Nuclear ^1H (ppm – Espectro 3): 8.85 (s,1H) O-H; 6.481 (q,1H) H_6 ; 5.055 (m,1H) H_{12} ; 3.06 (m,1H) H_8 ; 2.000 (d,3H) CH_3 ; 1.85 (m,4H) 10 y 11 - CH_2 ; 1.600 (s,3H) 14 ó 15 - CH_3 ; 1.496 (s,3H) 15 ó 14- CH_3 ; 1.170 (d,3H) 9 - CH_3 .

En Resonancia Magnética Nuclear de carbono se hizo una correlación de los valores obtenidos con los reportados en la bibliografía ⁽²⁾, observando señales muy semejantes en ambos casos como se aprecia en la siguiente tabla.

Resonancia Magnética Nuclear ¹³C (ppm).

#C	REPORTADO	OBTENIDO
C ₁	187.1	188.115
C ₂	124.3	125.457
C ₃	150.9	153.165
C ₄	184.0	184.772
C ₅	140.3	141.912
C ₆	135.6	135.661
C ₇	14.6	14.664
C ₈	29.3	29.800
C ₉	18.2	18.663
C ₁₀	34.1	34.879
C ₁₁	26.6	27.334
C ₁₂	124.3	124.507
C ₁₃	131.1	131.480
C ₁₄	17.5	17.635
C ₁₅	25.6	25.822

Es pertinente mencionar que durante el trabajo experimental no fue posible purificar otros metabolitos en cantidad suficiente para llevar a cabo su cuantificación y caracterización estructural, corroborando de esta manera que la perezona fue el metabolito mayoritario en la extracción.

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el espectro de Infrarrojo (Espectro 1), se observa una banda en 3305 cm^{-1} característica de un grupo OH libre, a 1649 y 1626 cm^{-1} se encuentran bandas correspondientes al grupo funcional cetona, y en 1609 cm^{-1} la banda asignada a los grupos alqueno.

En el espectro correspondiente a la Espectrometría de Masas (Espectro 2), se observa un fragmento de 248m/z que corresponde al ión molecular, y otro fragmento a 166m/z como pico base.

En Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (Espectro 3), se aprecia una señal simple a 8.85 ppm que integra para 1H correspondiente al hidrógeno del grupo OH, a 6.481 ppm aparece una señal cuádruple que integra para 1H asignada a H_β ; en 5.055 ppm hay una señal múltiple que integra para 1H correspondiendo a el H_{12} ; a 3.060 ppm se encuentra una señal múltiple que integra para 1H y que se asigna a H_β ; en 2.000 ppm vemos una señal doble que integra a 3H correspondiente a metilo en 7; a 1.850 ppm se detecta una señal

múltiple que integra para H asignada a los metilenos en 10 y 11; en 1.600 ppm tenemos una señal simple que integra a 3H y es asignada al metilo 14 ó 15; a 1.496 ppm identificamos una señal simple que integra a 3H correspondiente al metilo 15 ó 14; y en 1.170 ppm una señal doble que integra para 3H y se asigna al metilo en 9.

9. CONCLUSIONES

- Del extracto etanólico de las raíces de *Acourtia wislizenii* se extrajo la perezona como metabolito mayoritario.
- Se aportó al acervo químico de la flora nacional una importante investigación fitoquímica para este espécimen ya que hasta la fecha no hay ningún estudio reportado.
- Consideramos necesario continuar con el estudio químico de *Acourtia wislizenii* para llevar acabo transformaciones químicas con el metabolito obtenido (perezona).
- Se sugiere realizar un estudio ulterior, manejando una cantidad mayor de el extracto etanólico de las raíz de *Acourtia wislizenii*.

10. REFERENCIAS

- 1.- F. Fernández, "Historia Natural de la Nueva España", UNAM, México 1959.
- 2.- M. del C. Anzures y Bolaños, "Importancia de las plantas medicinales en la historia de México". Taller de la herbolaria en México; UNAM, México, 17-20, 1989.
- 3.- G. Edward Trease, "Farmacognosia", Ed. Continental, México D.F. 219-230, 1984.
- 4.- M. Denise, A. Mikita; *Journal Of Chemical Education*. "The chemist source for the identification of useful natural products"; 1987. **64(4)**, 328-332.

5.- F. Walls, M. Salmón; J. Padilla, P. Joseph-Nathan and J. Romo. "Structure of Perezone" Boletín del Instituto de Química. Nat. Univ. México, D.F. Bol. Inst. Quím. UNAM 17, 3-5 (1965).

6.- I.H. Sánchez , S. Mendoza, M. Calderón, M.I. Larraza, and H. J. Flores, *J.Org. Chem.*, "Total synthesis of (+/-) Perezone". 1985; 50; 5077-5079, Inst. Quim. UNAM.

7.- P. Joseph-Nathan, M. González, G. García, H. Barrios; *Tetrahedron*. "Further studies on hidroxiperezone derivatives" Dep. Quim. Cent, Invest. Estud. Avanzados, Instituto Politécnico Nacional, México. 1974. 30 (18), 3461-4.

8.- P. Joseph-Nathan, J.Hidalgo, D. Abramo-Bruno. *Phytochemistry*. "A new coumarin from *Perezia multiflora*". Centro de Estudios Avanzados del Politécnico Nacional., México. 1978. 17(3),583-4.

9.- T. García , E. Domínguez, and J. Romo; "Isolation of hidroxiperezona from *Perezia alamanii*" Bol. Inst. Quím. Univ. UNAM, 1965.17, 16-18.

10.- P. Joseph-Nathan, P. González, V. Rodríguez, P. Joseph-Nathan. "Terpenoids of *Perezia hebeclada*". Depto. de Quim. del Centro de Inv. de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, México, **1977-1981**, **11(5)**, 1803-8.

11.- P. Joseph-Nathan, E. Guerrero, *Journal of Natural Products*. "Coumarins from *Perezia carthamoides*". Fac. Quim. Bioquim. Farm. Univ. Nac. de San Luis, 5700 San Luis Argentina. **1987**, **50(2)** 334.

12.- G. García, V. Mendoza, B. Guzmán, *Journal of Natural Products*. "Sesquiterpenes from *Perezia Longifolia*". Inst. Inv. Quim. Biol. Univ. Mich. de Sn. Nicolas de Hidalgo, Morelia, México. **1988**, **51(1)**, 150-1.

13.- C. Zdero, F. Bohlmann, J. Solomon, X. A. Dominguez. *Phytochemistry*. "Further isocedrene derivatives and other constituents from *Perezia species*". Inst. Org. Chem. Tech. Univ. Berlin, d-1000 Berlin, 12 Fed. Rep. Ger. **1988**, **27(3)**, 894-53.

14.- E. García, V. Mendoza, A. Guzmán. *Journal of Natural Products*. "Perezone and related sesquiterpenes from *parvifoline*". Inst. Inv. Quim. Biol. Univ. Mich. de Sn. Nicolas de Hidalgo, Morelia, México. **1987**, **50**(6), 1055-8.

15.- J. Jakypovic, M. Bittner, F. Bohlmann. *Phytochemistry*. "Isocedrene derivatives and other compounds from chilean *Perezia species*". Inst. Org. Chem. Tech. Univ. Berlin. D-1000 Berlin, 12 Fed. Rep. Ger. **1989**, **28**(7) 1887-90.

16.- P. Joseph-Nathan, G. García, V. Mendoza. *Phytochemistry*. "Quinones from *Perezia runcinata*", Depto. de Quim. del Centro de Inv. de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, México. **1977**, **16**(7), 1086-7.

17.- Lothar K. *Arch. Pharm.* "Drug collection from Bolivia, systematically, anatomically and chemically examined". **1936**; 274, 343-69.

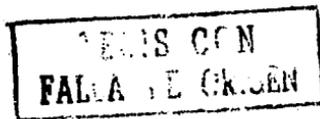
18.- Ankeny, Lowa J. *Invertebr. Pathol.* "Recurrence of the microsporidian *Perezia pyraustae* in the european corn borer, *ostrinia nubilalis*, reared on diet containing fumidil, Agric. Res. Serv.", **1971**, **17**(2), 243-6.

19.- Lothar K. "New types of sesquiterpenes from the subtribe nassauviinae". Symp. Pap. IUPAC Int. Symp. Chem. Nat. Prod., 11th 1978, 4(part2), 171-9.

20.- Syvertsen , James Patrick . Avail Univ. Microfilms Int. Order No. 77-25, 077. From Diss. Abstr. "The development and use of a mathematical model to describe the effects of leaf angle an shading on thenet carbon dioxide exchange of Perezia nana". New Mexico State Univ. Las Cruces N. Mex. 84 pp. Int. B-1977, (5), 2024.

21.- Enriquez, R. Ortega, J. Lozaya, X. J. *Ethnopharmacol.* "Active components in Perezia roots"., Mex. Inst. Res. Med. Plants; Third World Cent. Econ. Soc. Stud., México.1980, 2(4),389-93.

22.- Salazar C., Salked J. *Ethnopharmacol.* "Isolation and identification of two triterpenes from Perezia coerullescens wedd". Lock de U., O. ; Dep. Cienc. Pontificia Univ. Catol. Peru, Peru. Bol. Soc. Quim. Perú , 1982, 48(3), 139-47.



23.- Ferdinand, Zdero, Christa,. *Phytochemistry*. "Naturally occurring terpene derivatives part 88, constituents of tribe *Mutisiae Bolhmann*" Inst. Org., Chem. Tech. Univ. Berlin, Berlin Ger. **1977**, **16(2)** 239-42.

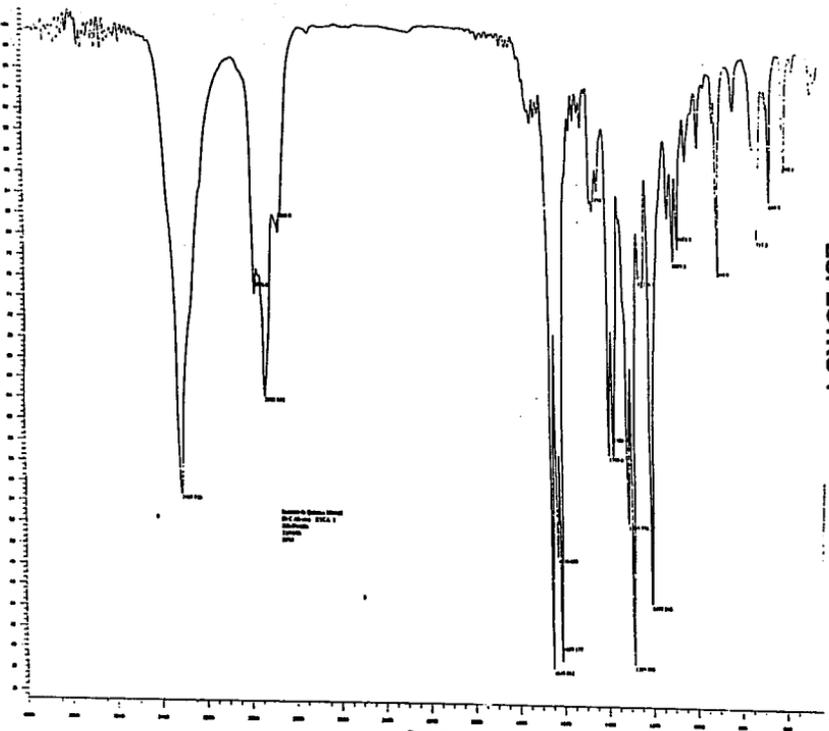
24.- Ferdinand, Zdero, Christa,. *Phytochemistry*. "Naturally occurring terpene derivatives 155, new sesquiterpenes with an anomalous carbon skeleton from the tribe *Mutisiae*" Inst. Org., Chem. Tech Univ. Berlin, Berlin Ger. **1979**, **112(2)** 427-32.

25.- Ferdinand, Zdero, Christa, King, M. Robert, Robinson, Harold. *Phytochemistry* ."Naturally occurring terpene derivatives 2, new perezone from *Acourtia thurberi*". Inst. Org., Chem. Tech. Univ. Berlin, Berlin 12 Rp Fed. Ger. **1979**, **18(11)**, 1894-5.

26.- P. Joseph-Nathan, D. Hernández. *Phytochemistry*. "Coumarin and terpenoids from *Perezia alamanii* var. *oolepis*"", Depto. de Química del Centro de Investigaciones de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional; **1982(5)**, 1129-1132.

27.- C. Zdero, F. Bohlmann, H. Sanchez, X. A. Dominguez.
Phytochemistry. "Isocedrene derivatives and other constituents from *Acourtia*
nana". Inst. Org. Chem. Tech. Univ. Berlin. D-1000 Berlin, 12 Fed. Rep. Ger.
1991, 30(8), 2695-7.

ESPECTRO 1



[Mass_Spectrum]

Data : Alvarez-C

Sample: RYCA-1

Note : Dr-Cecilio-Alvarez-NX505

Inlet : Direct

Spectrum type : Regular [MF-Linear]

RI : 0.33 min

Scan# : (9,12)

BP : m/z 166.0000

Int. : 1599.98

Output m/z range : 33.0000 to 300.6460

20517054

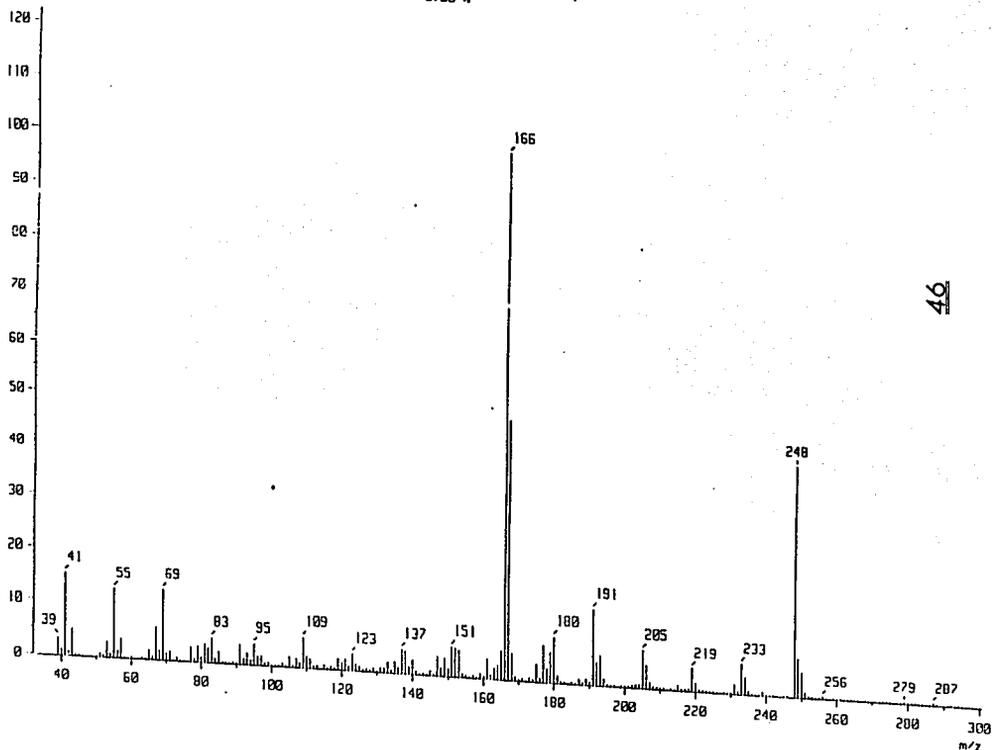
Date : 26-Mar-96 09:56

Ion Mode : E1+

Temp : 30.7 deg.C

Cut Level : 0.00 %

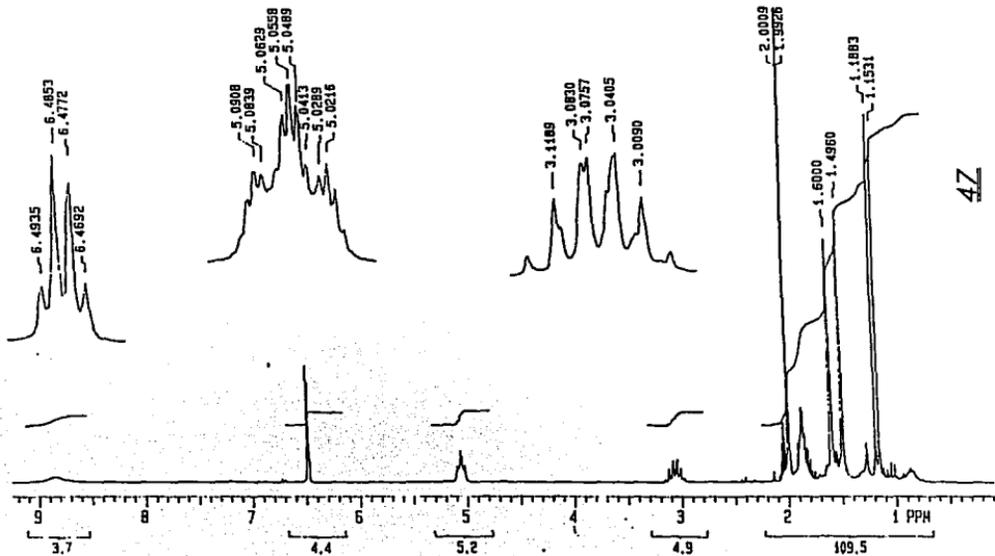
ESPECTRO 2



46

C ALVAREZ RYCA-1 IR

ESPECTRO 3



4Z