



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO FITOQUIMICO DE DOS PLANTAS MEXICANAS DEL
GENERO TEPHROSIA, TEPHROSIA SOUSAE TELLEZ Y
TEPHROSIA BELIZENSIS LUNDELL

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

Q U I M I C O

P R E S E N T A :

ISRAEL ACOSTA RODRIGUEZ



MEXICO, D. F.



2004

EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA



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.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Israel Acosta Rodríguez
FECHA: 4 de Febrero del 2004
FIRMA: Israel

Jurado asignado:

Presidente Prof. Helio Flores Ramírez

Vocal Prof. Armando Cabrera Ortiz

Secretario Prof. Federico Gómez Garibay

1er. Suplente Prof. José Serafín Calderón Pardo

2do. Suplente Prof. Andrés Guillermo Martínez Casas

Sitio donde se desarrollo el tema: Departamento de productos naturales, Laboratorio 1 - 4 del Instituto de Química, UNAM.

Asesor de tesis

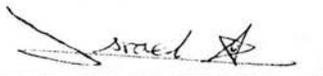
Dr. Federico Gómez Garibay



A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Gómez', written over a horizontal line.

Sustentante

Israel Acosta Rodríguez



A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Israel', written over a horizontal line.

Dedicatorias

A mi madre con todo mi amor, por ser la mujer que siempre ha sido mi ejemplo de lucha en la vida, por toda su paciencia, preocupación y dedicación hacia mí, por todos los desvelos y palabras de aliento, por estar conmigo siempre que la he necesitado.

A mi hijo, por ser el motor de mi vida y la razón de mi existir, quien espero sea mejor que yo como persona y algún día como profesionista, con todo mi amor y cariño para FEDE.

Al hombre que más he admirado en la vida por ser mi ejemplo a seguir, quien siempre ha tenido un minuto para escucharme y un sabio consejo que darme, por haberme permitido trabajar y estudiar a su lado, por brindarme su amistad, pero sobretodo por haberme enseñado todo lo que hoy se, con gran cariño y admiración para mi maestro en la vida el Dr. Federico Gómez Garibay.

A mi amada Yadira por todo su cariño y amor, por estar conmigo en los momentos más difíciles de mi vida, por todas las veces que has creído y confiado en mí, por secar mis lágrimas, pero sobretodo por aprender a escucharme, mil gracias pequeña.

Al Dr. Tirso Ríos Castillo por su amistad y gran sabiduría.

Al profesor Sergio Xolalpa por su amistad y a mis ex alumnos de 5° B (ciclo 2002-2003) de la primaria Cecilio Mijares por todos los hermosos lunes que pase a su lado y por ayudarme a crecer como padre y como persona a cada uno de ellos mil gracias niños.

A Vero la amiga más sincera y honesta que tuve en la Facultad por todas las hermosas platicas pero sobretodo por escucharme.

A la memoria de Doña Maria, Pepe y la Sra. Silvia Alcántara quienes estoy seguro hubieran deseado verme en estos momentos.

Agradecimientos

A mi padre por todo el apoyo económico a lo largo de todos mis estudios.

A la familias Lailsón y Roa Lailsón por su apoyo en la impresión de esta tesis y por todo el cariño y atenciones que de ellas he recibido.

A la vida por haberme permitido conocer a mis compañeros del diplomado “La ciencia en tu escuela” en especial a Maritza, Mary, Fabiola, Magali, Magdalena, Leti, Ofelia, Mario, José, Jacobo, Raúl y Paco y muy en especial a mis profesores Juanita, Martita y Sergio así como todos sus alumnos.

Índice

Introducción	1
Generalidades	3
Actividad Biológica	6
Parte Experimental	17
Parte Teórica	27
Conclusiones	31
Bibliografía	32

Introducción

El avance científico y tecnológico de nuestro tiempo requiere de conocimientos más exactos sobre los recursos naturales disponibles, uno de estos recursos son los vegetales.

Dentro del estudio del área fitoquímica, existe el interés sobre los metabolitos de origen vegetal por las propiedades que han demostrado tener algunas sustancias aisladas de plantas, algunas usadas con fines terapéuticos como en el caso de los esteroides, también ha destacado un grupo de compuestos fenólicos, entre los que se encuentran los flavonoides, los cuales cuentan con una gran cantidad de informes farmacológicos, ofreciendo la posibilidad de ser utilizados en la industria, siendo estos muy abundantes en las siguientes familias de plantas: Poligoláceas, Rutaceas, Umbelíferas, Compuestas y Leguminosas.

Las Leguminosas constituyen una de las tres familias más numerosas de las plantas superiores, superadas únicamente por las Compuestas y Orquídeas. Dicha familia también es una de las más importantes desde el punto de vista económico aportando un amplio número de fuentes alimenticias, medicinales, insecticidas y para la construcción.

Dentro de la familia de las Leguminosas, el género *Tephrosia*, es un grupo de plantas que cuenta con aproximadamente 400 especies, 50 de las cuales se encuentran en México¹.

Estudios químicos realizados al género *Tephrosia* han demostrado entre otros compuestos la presencia de rotenoides y flavonoides, los cuales presentan propiedades biológicas interesantes como: piscicidas, insecticidas, anticancerígenas, anticonceptivas, etc.

México es uno de los países más ricos en cuanto a recursos naturales se refiere, de acuerdo con la posición geográfica del territorio mexicano este cuenta con 18 climas perfectamente definidos de los 32 existentes en el mundo, y de estos 18 climas solo 7 se hallan representados en regiones mayores al 5 % del área total del territorio mexicano. Esto nos hace contar con grandes extensiones de vegetación constituida por una gran variedad de familias y especies, sin embargo de aproximadamente 600,000 especies de plantas existentes solo el 5 % se han estudiado química y farmacológicamente².

Cabe mencionar que nuestro país se ha destacado debido al amplio conocimiento que tiene en cuanto al uso de la medicina tradicional, razón por la cual se desea conocer más sobre las plantas que se utilizan y tratar de obtener los principios activos así como determinar las propiedades curativas que se les confieren.

Por ello con el fin de contribuir al conocimiento estructural de compuestos químicos de origen vegetal para la clasificación taxonómica de la flora mexicana, desde hace más de dos décadas el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México ha realizado el estudio químico de plantas, entre las que se encuentran las del género *Tephrosia*, perteneciente a la familia Leguminosae.

El objetivo de esta obra es realizar por primera vez el estudio fitoquímico de dos *Tephrosias*: *Tephrosia sousae* Téllez y *Tephrosia belizensis* Lundell pertenecientes a la familia de las Leguminosas para llevar a cabo el aislamiento y determinación estructural de los metabolitos secundarios presentes en esta especie.

Generalidades

Dentro del estudio del área fitoquímica, existe el interés sobre los metabolitos de origen vegetal, debido a las propiedades que han demostrado poseer algunas sustancias aisladas de plantas, destacando un grupo de compuestos fenólicos, los flavonoides, los cuales cuentan con una gran cantidad de informes farmacológicos, que ofrecen la posibilidad de ser utilizados en la industria.

Los flavonoides constituyen uno de los grupos más grandes de metabolitos secundarios. De acuerdo con datos estimados por Harborne³ et al, en 1975 había aproximadamente cerca de 2000 – 4000 estructuras conocidas. Se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, principalmente en forma de glicósidos, son característicos en plantas verdes (excepto en algas), se encuentran en casi todas las partes de las plantas como son: hojas, corteza, madera, raíz, semillas y flores.

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que nos protegen del daño de los oxidantes, como los rayos ultravioletas cuya acción aumenta en el verano; la polución ambiental, con la presencia de minerales tóxicos, como el plomo y el mercurio; las sustancias químicas presentes en los alimentos: colorantes, conservadores, etc: como el organismo humano no puede producir estas sustancias químicas debemos obtenerlas de la alimentación o en forma de suplementos.

No son considerados por los nutricionistas como vitaminas, sin embargo los flavonoides actúan protegiendo la salud: limitan la acción de los radicales libres (oxidantes) reduciendo el riesgo de cáncer y enfermedades cardíacas, mejoran los síntomas alérgicos y de artritis, aumentan la actividad de la vitamina C, refuerzan los vasos sanguíneos, bloquean la progresión de las cataratas y los bochornos en la menopausia.

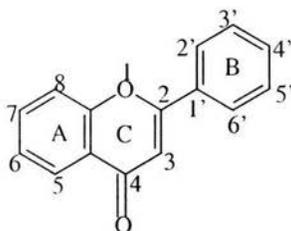
Afortunadamente, no son raros ni exóticos, se encuentran en muchas frutas y vegetales: están presentes en soya, té verde y negro, vino y como también pueden utilizarse en forma de suplementos nutricionales, junto con ciertas vitaminas y minerales.

Los flavonoides no poseen las características de las vitaminas: no son aminas y conforman otro grupo químico, pero por su acción protectora y la imposibilidad del organismo humano de producirla merece ser incorporada al grupo de los nutrientes esenciales⁴.

La gran mayoría son pigmentos responsables de la coloración de numerosas flores, algunos frutos y verduras, del sabor de muchos alimentos y bebidas como el té y el vino. Presentan propiedades antialérgicas, antiinflamatorias, antifúngicas, y anticarcinogénicas entre otras³.

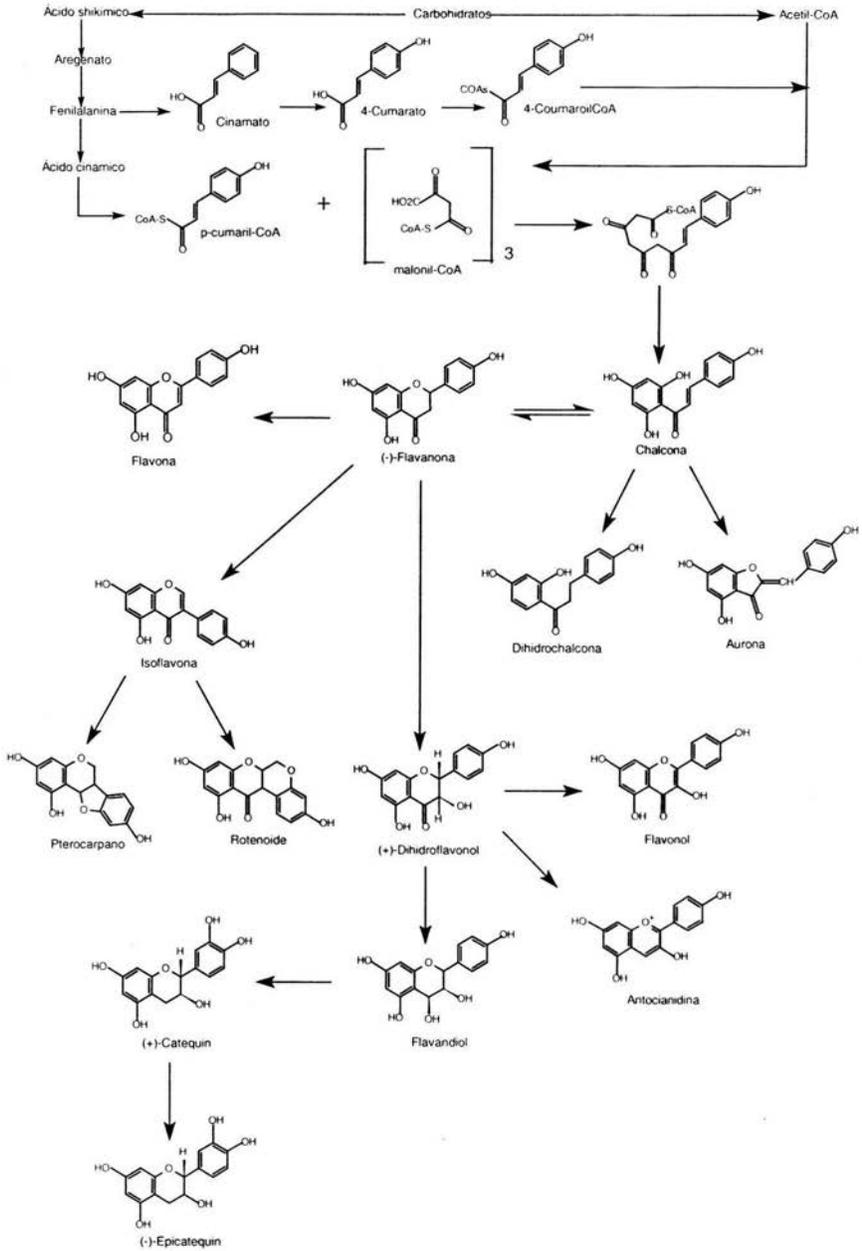
Son compuestos heterocíclicos que tienen como núcleo base a la 2-fenil-4-benzopirona, contienen 15 átomos de carbono en su núcleo base, arreglados en una configuración C₆ - C₃ - C₆, esto es, dos anillos aromáticos (A y C) unidos por 3 átomos de carbono para formar, o no, un tercer anillo (B). Los anillos A y C se enumeran a partir del heteroátomo mediante

un sistema de números ordinarios y el anillo B se enumera a partir de la unión con el núcleo de la benzopirona⁵.



Pese a la gran variedad de formas estructurales que se conocen hasta el momento, los flavonoides presentan una ruta biosintética común que incorpora a 2 precursores, el acetato – malonato y ácido shikimico. El flavonoide inicialmente formado en la biosíntesis es la chalcona y las otras formas obtenidas son derivadas de esta por una gran variedad de transformaciones (ver ruta biogenética)^{5,6}.

Ruta biogénica de los flavonoides



Actividad Biológica

Desde el inicio de la humanidad, el hombre ha buscado en la naturaleza los medios necesarios para subsistir y es precisamente en el reino vegetal donde ha encontrado una ayuda incalculable para vencer muchas enfermedades que padece, por tal motivo en los últimos años, se ha incrementado notablemente el estudio químico de las plantas en las cuales se trata de encontrar, con ayuda de técnicas cromatográficas y espectroscópicas, nuevas sustancias con propiedades biológicas y farmacológicas⁷.

A continuación se mencionan algunas de las actividades biológicas y farmacológicas que presentan los flavonoides:

Actividad antidiarreica

Hacia principios del siglo XIX, uno de los remedios medicinales populares utilizados en Europa Central, para el tratamiento de la diarrea, eran los extractos de *Comptonia peregrina*, en la que se demostró la presencia de los flavonoides galangina (1) y quercetina (2), los cuales suponían estar relacionados directamente con este tipo de actividad medicinal.

Aunque probablemente el primer dato de actividad fisiológica reportado para los flavonoides fue el de Koike⁸ en 1931, en el que demostró evidencia experimental de que los flavonoles: kamferol (3) y morina (4) presentaban actividad diurética.

Actividad antiinflamatoria

En 1936 los Drs. Alberto Szent-Györgyi⁹ observaron que la mezcla de dos flavanonas, llamada citrina, disminuía la permeabilidad y fragilidad capilar en humano, en realidad lo que ellos observaron fueron ciertas manifestaciones patológicas, caracterizadas por el incremento de la permeabilidad o fragilidad de los vasos capilares, que podía ser curado por preparaciones de ácido ascórbico extraído de *Capsicum annum* y *Citrus limun*, sin embargo las preparaciones de ácido ascórbico puro no mostraba el mismo efecto, ellos encontraron que las preparaciones procedentes de los extractos contenían componentes con características de flavonoides por lo cual se le dio el nombre de vitamina P.

Sin embargo el termino vitamina P fue abandonado por que estos flavonoides no podían definirse como tales, por lo que fue preferible designarlos con el calificativo de factor P¹⁰.

Investigaciones subsecuentes en este campo tuvieron como consecuencia cambiar el termino bioflavonoides por el de flavonoides que tienen actividad biológica.

Los flavonoides encontrados en estos extractos fueron: hesperidina (5), naringina (6), una pequeña cantidad de nobiletina (7) y una pentametoxi flavona no identificada¹¹

De Eds¹² en 1968, en un intento por resumir casi un ciento de informes de las investigaciones efectuadas sobre las propiedades fisiológicas de los flavonoides ensayados

para la actividad antiinflamatoria, concluyo que los flavonoides con grupos oxidrilo libres en la posición 3' y 4' ejercen efectos biológicos benéficos por medio de los siguientes mecanismos:

- Quelatan metales y así disminuyen la oxidación del ácido ascórbico;
- Prolongan la acción de la epinefrina por la inhibición de la OMe-transferasa,
- Estimulan el eje adrenal pituitario.

Actividad antihelmíntica

La actividad antihelmíntica fue informada por Shedra¹³ en 1934 en la que demuestra que el flavonol calycóptera (8) muestra esta actividad. Así mismo Laberte¹⁴ en 1967 evaluó 116 chalconas y sus análogos en lombrices intestinales de ratón encontrando que las chalconas más efectivas eran las que presentaban varios grupos oxidrilo.

Actividad antiviral

Los flavonoides también tienen actividad antiviral en células animales, Pusztai en 1936 demostró que la quercetina (2) inhibe el crecimiento del Herpes virus hominis en líneas celulares humanas denominadas HeLa, cuando es inoculada en concentraciones de 300 µg/ml, también se observó que si la quercetina (2) es adicionada previamente, puede inhibir el desarrollo de algunos virus relacionados con enfermedades humanas, mientras que aquellos virus que ya tienen un determinado desarrollo son moderada o completamente resistentes.

Otros flavonoides que también tienen actividad antiviral son: 5, 7, 4'-trihidroxi-8-metoxi flavona (9), el glicosido del 4-hidroxi-3-metoxiflavanol (10), el 3-metoxiquercetin (11) y el kamferol (3).

Actividad estrogénica

En los últimos 60 años se ha observado que ciertas plantas pueden contener sustancias que tienen actividad estrogénica. Esto se descubrió debido a que unos de los principales problemas en Australia desde el año de 1940 había sido la considerable disminución de la reproducción de ovejas, que tuvo como resultado una gran pérdida económica debido a la infertilidad de estos animales, causa que se atribuyó al isoflavano genisteína (12), que estaba presente en la planta silvestre *Trifolium subterraneum*¹⁵ fuente alimentaria de las ovejas.

Posteriormente Fornswoth¹⁶ en 1977 reportó que las isoflavonas con actividad estrogénica eran estructuralmente similares a los estilbestroles por los que muchas otras isoflavonas tales como la biochanina (13) demostraron esta actividad en ensayos realizados en útero de rata, donde se encontró que la más potente de todas era la daidzeína (14).

Actividad antimicrobiana

En 1964 Powers¹⁷ estudio los efectos antimicrobianos sobre 10 especies de bacterias, observándose que de más de 20 flavonoides investigados, entre flavona, chalconas, 24 antocianinas, leucoantocianidas y ácidos fenólicos, ningún compuesto fue exento de actividad inhibitoria hacia uno o más de las especies estudiadas.

Hufford¹⁸ en 1978 menciona que los constituyentes de la *Uvariae chamae* que comprenden diuaretina (15), chamanetina (16) y uravinol (17) muestran actividad anti microbiana para *Staphylococcus aureus*, *Bacilus subtilis* y *Mycobacterium Smegmatis*, con actividad muy similar a la que presenta el sulfato de estreptomina.

Actividad funguicida

La presencia de compuestos fenólicos y la resistencia a infecciones virales y micóticas de diversas plantas, empezó a determinar una relación contenido fenólico – resistencia infecciosa.

La presencia de los glucósidos 4' y 7 de la apigenina (18) estaban relacionados con ocho especies de plantas del género *Pyrus*¹⁹, a la enfermedad denominada “Tizón” causada por los organismos patógenos *Erwinia amylovora*, *Erisoma pircicola* y *Agrobacterium tumefaciens*.

Esta propiedad funguicida de los flavonoides ha contribuido a la durabilidad de la madera, esto se ha observado en el Abeto de Douglas, donde la dihidroquercetina (19) constituye un potente antifúngico.

Actividad antitumoral

Dentro del extensivo programa de la búsqueda de compuestos de origen natural que poseen actividad antitumoral, se ha encontrado que algunos flavonoides tales como coumarinas (20), centauredina (21) y lespidin (22), así como también la eupatina (23) de *Eupaterium semiserratum* resultaron ser moderadamente efectivos contra el carcinoma de nasofaringe junto con algunos flavonoles metóxilados de *Baccharis sarathroides*^{20, 21} que también fueron ensayados en carcinoma humano denominado 9KB.

Las recientes investigaciones en el género *Eupatorium*²² han demostrado que los extractos de las fracciones metanólicas al 50 % tienen actividad contra leucemia linfocítica P-388 de ratón en cuyos extractos se encontró la eupatorina (24).

Actividad antihepatotóxica

Las propiedades medicinales que se le venían atribuyendo a los extractos solubles en agua de los frutos del Cardo (*Sylibum marianum*, Compositae) por más de 2000 años, demostraron durante el estudio químico que sus componentes eran una mezcla de lignanos-flavonoles que se denominaron silybina (25), silydianina (26) y silychrystina (27) todos referidos colectivamente como silymarina²³.

La silymarina es uno de los pocos fármacos no inmunosupresores que son efectivos en el tratamiento de las enfermedades del hígado²⁴ especialmente la cirrosis causada por alcohol.

Actividad clastogénica

R. K. Sauhu, et al²⁵, demostraron que la quercetina (2), kamferol (3) y NHDC (28) son clastogénicos (producen rompimiento de genes). Estos compuestos exhiben grandes efectos citotóxicos sobre los eritrocitos de la médula de ratones machos. Los autores sugieren que el mecanismo de mutagenicidad es debido al anillo del flavonoide con un grupo –OH sobre la posición 3, un doble enlace en la posición 2, 3 y el grupo ceto en la posición 4, estructura que permite al protón 3 – OH tautomerizarse al compuesto 3 – ceto.

La actividad clastogénica de estos compuestos ha sido observada en dosis de 100 – 400 mg/kg en ratones machos. La dosis usada de estos flavonoides para el consumo humano, puede no mostrar ningún efecto clastogénico, pero su potencial para inducir alteraciones en los cromosomas a altas concentraciones es de tomarse en cuenta en la formulación de un producto que este destinado para el consumo humano.

Inhibición enzimática

La quercetina (2), la quercitrina (29) y la miricitrina (30), mostraron ser más potentes que los inhibidores previamente conocidos de la aldosa reductasa^{26, 27}. Esta enzima esta implicada en la formación de cataratas, en diabetes y galactosemia. La formación de alcoholes a partir del azúcar, catalizada por la aldosa reductasa, parece ser el iniciador del proceso de cataratas. Debido a que en algunos flavonoides estudiados, la actividad inhibitoria difiere de un compuesto a otro, no es posible hasta el día de hoy determinar con exactitud la relación entre la estructura y la capacidad inhibitoria de un compuesto; sin embargo se pueden establecer algunas generalidades:

- Las flavonas son más potentes que las flavanonas.
- Los éteres de los flavonoides son menos potentes que los correspondientes fenoles
- En los flavonoles, una sustitución orto – dihidroxi, en el anillo B favorece una mayor inhibición que una sustitución meta – dihidroxi.
- La glicosidación tiene diferentes influencias, la 3 – O – glicosidación con un disacárido disminuye la actividad inhibitoria, mientras la 3 – O – glicosidación con L – ramnosa incrementa la actividad inhibitoria y la C – glicosidación no afecta la potencia
- La acilación de la azúcar incrementa la potencia inhibitoria.

T. Nikaído et al²⁸, reportaron que la nobiletina (7) y la iriginina (31) tenían una notable actividad inhibitoria del AMP_c – fosfodiésterasa. El efecto farmacológico de estos

flavonoides. fue estudiado “in vitro” con referencia al transporte de sulfato de bario, observado en el intestino de ratón.

El estudio de las relaciones estructura – actividad, de diferentes flavonoides estudiados, muestran que los polimetoxiflavonoides son generalmente más inhibitorios del AMP_c – fosfodiésterasa que los correspondientes polihidroxifenoles.

Por otro lado, estudios llevados a cabo por Alain Beretz²⁹, demostraron el efecto inhibitorio de la quercetina (2) sobre la agregación plaquetaria y secreción de la serotonina, inducida por ADP, colágena o trombina. La compleja interacción de las plaquetas con los componentes de las paredes del vaso, es el primer paso en la trombosis y la arterioesclerosis. Así parece ser que la quercetina (2) y otros flavonoides pueden presentar interés farmacológico como agentes anti trombóticos.

Yoshiyuki K. et al³⁰, observaron que las raíces secas de *Cutellaria radix*, contenían varios flavonoides, que una vez aislados mostraron un efecto inhibitorio sobre la peroxidación de los lípidos, que en animales superiores es considerada como dañina al hígado.

Mildred K. Buening, et al³¹, mostraron que la adición “in vitro” de la flavona (32), nobiletina (7) y la tangeritina (33), activaron la hidroxilación del benzopirano en los microsomas del hígado humano, mientras que la flavanona (34), Kamferol (3), naringenina (35) y la quercetina (2), inhibieron dicha hidroxilación. El benzopirano fue inoculado en el homogenizado de hígado.

A continuación se citan varios flavonoides con su actividad biológica en la cual se puede apreciar que esta es extremadamente diversa. Además, diferentes flavonoides pueden tener efectos opuestos: aumento o disminución del tono muscular cardíaco; hipotensores o hipertensores sanguíneos; inhibidores o activadores enzimáticos. Así mismo se cita después de la tabla algunos de los flavonoides más estudiados hasta el momento

Compuesto	Actividad biológica
Butina (36)	Piscicida
Calycopterina (8)	Antihelmíntica
Flavona (32)	Bactericida
Galangina (1)	Antidiarreico
Genisteina (12)	Estro génico
Genkwanina (37)	Contracción del útero, relajante muscular, incremento en los movimientos respiratorios
Hesperitina (38)	Disminución del tono muscular cardíaco
Miricetina (39)	Hipertensor sanguíneo, antidiarreico
Naringenina (35)	Hipotensor sanguíneo e incremento en los movimientos respiratorios, antioxidante de grasas, antiinflamatorio
Nobiletina (7)	Fungistático

Quercetina (2)	Anticancerígeno, aumento del tono muscular cardíaco, reducción del tido de la tiroides, potenciación de la epinefrina, protección contra el shock histamínico, espermatocida, espasmolítico, antiviral y antidiarreico
Rutina (40)	Fortificante de los capilares, protección contra rayos x
Silybina (25)	Antihepatotóxico

Hasta hoy se han identificado más de 5,000 flavonoides pero los más estudiados son: los citroflavonoides: quercetina, hesperidina, rutina, naranjina y limonene. A continuación se da la acción biológica de algunos de ellos:

Quercetina: es un flavonoide amarillo-verdoso que está relacionado con las respuestas alérgicas e inflamatorias; tiene efecto antiviral, antitumoral y antioxidante; es recomendado para el asma, inflamaciones intestinales (Síndrome del Colon Irritable), artritis y diabetes; los alimentos que los contienen son: cebollas, manzanas, brócoli, cerezas y uvas.

Harbone³ en 1967 definió a los biflavonoides como dímeros de los flavonoides, los flavonoides comúnmente involucrados son flavonas y flavanonas con patrones de oxigenación en 5, 7 y 4' (y ocasionalmente en 5, 7, 3' y 4'). Los monómeros incorporados en cada biflavonoide pueden ser del mismo ó de diferente tipo y las uniones para su formación pueden variar.

Investigaciones realizadas sobre las **actividades farmacológicas** de los biflavonoides demostraron interesantes usos medicinales entre ellos esta el fármaco denominado "Tebonin" que fue sintetizado por Seshadri³² et al a partir de las hojas de Ginkgo-biloba, este extracto presento tres biflavonoides denominados bilobetina (41), ginkgetina (42) e isoginkgetina (43) el cual presenta las siguientes propiedades:

- Incrementa el flujo sanguíneo y la dilatación vascular, es recomendado para problemas de tipo hormonales, vasculares, fluidez sanguínea y desordenes nutricionales.
- También sirve como cicatrizante de úlceras crónicas vaso-trópicas.
- Ayuda en la deficiencia de la fluidez sanguínea cerebral debido a procesos vasculares cerebro escleróticos, y
- En el caso de presión alta el "Tebonin" ha demostrado tener efectos benéficos.

Otros biflavonoides como el Kolaviron (44), GB1 (45) y GB2 (46) reportados por Iwa, Maurice, M. y aislados de Garcinia Kola³³ tuvieron las siguientes propiedades:

Las tres sustancias reportaron **actividad bactericida** in vitro, antiglicémicas, antiolesterolémicas y protegen contra la fragilidad capilar además el Kolaviron (44) es muy efectivo en la inflamación y en la síntesis de prostangladinas.

En otras pruebas realizadas sobre las **actividades farmacológicas y bioquímicas** de los biflavonoides, mostraron interesantes resultados, de los cuales se mencionan algunos:

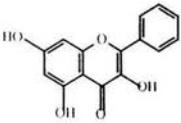
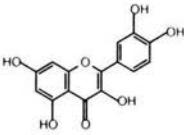
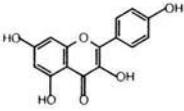
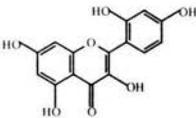
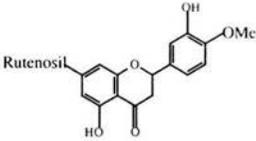
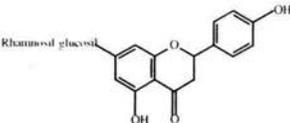
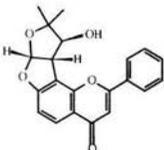
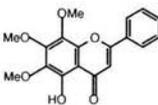
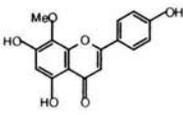
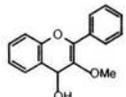
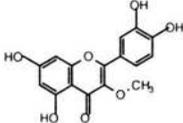
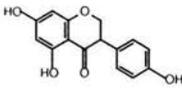
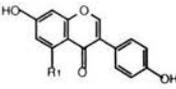
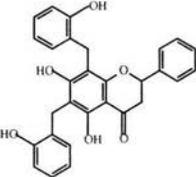
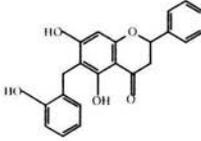
A la Amentoflavona (47)^{34, 35} se le realizaron las siguientes pruebas obteniéndose resultados positivos: espasmolisis, **acción antiespasmogénica** contra prostaglandina, también presento **actividad contra células hepatomáticas**, inhibió el ciclo de la guanosinmonofosfato y el ciclo de la adenosinmonofosfato en células tumorales ascíticas.

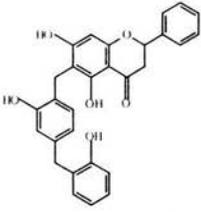
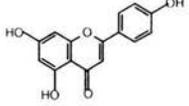
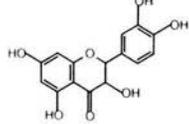
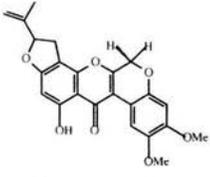
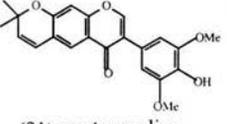
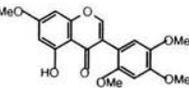
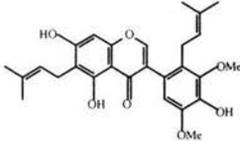
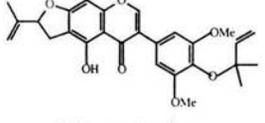
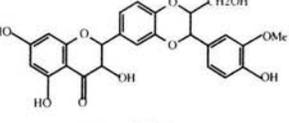
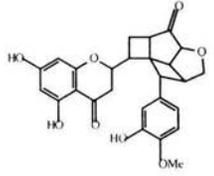
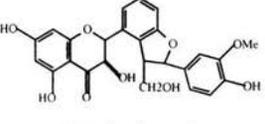
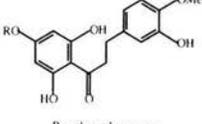
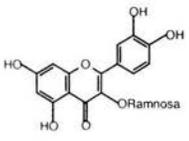
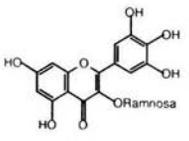
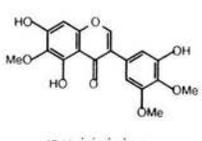
La 7, 7a, 4a - trimetilamentoflavona (48)³⁵ presento únicamente **actividad espasmolítica**.

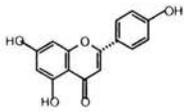
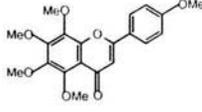
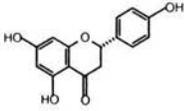
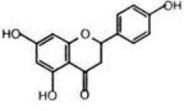
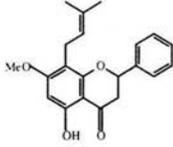
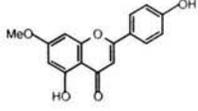
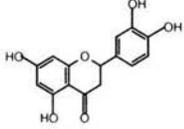
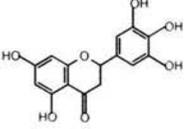
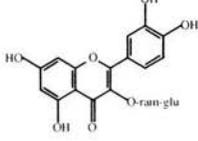
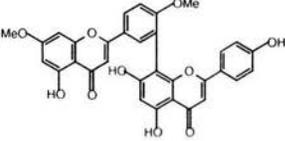
La isoginkgetina (43)³⁶ demostró tener las siguientes propiedades: **acción antiespasmogénica** contra prostaglandina e inhibió células hepatomáticas.

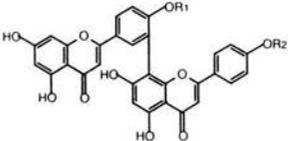
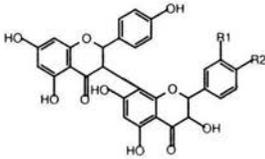
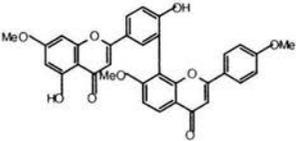
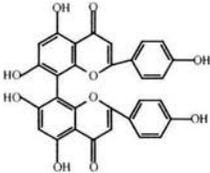
La cupresuflavona (49)³⁷ presentó la **propiedad antibradiquinina**, la cual se describe como: inhibición de la vaso dilatación periférica, inhibición del incremento de la permeabilidad capilar, inhibición del dolor y bloquea la estimulación del músculo liso.

En todas estas pruebas los biflavonoides demostraron tener una mayor actividad que sus contra partes monoméricas

 <p>(1) galangina</p>	 <p>(2) quercetina</p>	 <p>(3) kamferol</p>
 <p>(4) morina</p>	 <p>(5) hesperidina</p>	 <p>(6) naringina</p>
 <p>(7) nobiletina</p>	 <p>(8) calycopterina</p>	 <p>(9) 5,7,4'-trihidroksi-8-metoksiflavon</p>
 <p>(10) 4-hidroksi-3-metoksiflavon</p>	 <p>(11) 3-metoksi de quercetin</p>	 <p>(12) genisteina</p>
 <p>(13) biochanina R1 = OH (14) daidzeina R1 = H</p>	 <p>(15) diuaretina</p>	 <p>(16) chamanetina</p>

 <p>(17) uravinol</p>	 <p>(18) apigenina</p>	 <p>(19) dihidroquercetina</p>
 <p>(20) coumarinas</p>	 <p>(21) centauredina</p>	 <p>(22) lespidin</p>
 <p>(23) eupatina</p>	 <p>(24) eupatorina</p>	 <p>(25) silybina</p>
 <p>(26) silydianina</p>	 <p>(27) silychrystina</p>	 <p>R = glucosil rannosa</p> <p>(28) NHDC</p>
 <p>(29) quercitrina</p>	 <p>(30) miricitrina</p>	 <p>(31) iriginina</p>

 <p>(32) flavona</p>	 <p>(33) tangeritina</p>
 <p>(34) flavanona</p>	 <p>(35) naringenina</p>
 <p>(36) butina</p>	 <p>(37) genkwanina</p>
 <p>(38) hesperitina</p>	 <p>(39) miricetina</p>
 <p>(40) rutina</p>	 <p>(42) ginkgetina</p>

 <p>(41) bilobetina R1 = Me R2 = OH (43) isoginkgetina R1 = R2 = Me (47) amentoflavona R1 = R2 = H</p>	 <p>(44) kolaviron R1 = R2 = H (45) GB1 R1 = OH R2 = H (46) GB2 R1 = R2 = OH</p>
 <p>(48) 7,7a,4a-trimetilamentoflavonaz</p>	 <p>(49) cupresuflavona</p>

PARTE EXPERIMENTAL

Para el estudio fitoquímico de *Tephrosia sousae* Téllez el material botánico fue colectado en Nayarit a 5 km al este del Nevado camino a Real del Zapote. En el bosque de Quercus. El material de estudio es un arbusto de 0.5 – 2.5 m, de flores rosadas.

La planta se dejó secar a temperatura ambiente, separando las hojas y los tallos, obteniendo 253.2 g de hojas y 326.4 g de tallos. Las hojas se trituraron finamente, mientras que el tallo se cortó en trozos pequeños. Se extrajeron por maceración con disolventes orgánicos en orden creciente de polaridad (hexano, diclorometano y metanol). Los extractos se concentraron por destilación al vacío, obteniendo residuos sólidos, pastosos de color verde para las hojas y residuos sólidos pastosos de color café para los tallos, las cantidades obtenidas de los diferentes extractos se presenta a continuación en la tabla indicando el peso de la parte correspondiente.

Extracto	hojas	tallos
Hexano	3.50 g	3.14 g
diclorometano	5.43 g	4.02 g
Metanol	2.70 g	3.80 g

Por cromatografía en Silica – gel (70/230) de los extractos de hexano y diclorometano, se logró aislar e identificar con base en sus constantes físicas y espectroscópicas, así como por comparación de muestras auténticas, los siguientes compuestos: β - Sitosterol (I)³⁸, Stigmasterol (II)³⁸, 7-OMe-glabranina (III)³⁹, 5,7-O-dimetilglabranina (IV)⁴¹, Teprowatsina A (V)⁴², Teprowatsina B (VI)⁴², Quercetol B (VII)⁴⁰ y Tepicanol (VIII)³⁸.

El estudio químico de los diferentes extractos (hexánico, diclorometanólico) de las hojas y tallos de *Tephrosia sousae* Téllez condujo al aislamiento e identificación mediante sus constantes físicas y espectroscópicas, así como por comparación con muestras auténticas de una mezcla de β - Sitosterol (I)³⁸ y Stigmasterol (II)³⁸ así como cinco flavonoides y un biflavonoide ya descritos en la literatura, los cuales resultaron ser: 7-OMe-glabranina (III)³⁹, 5, 7-O- dimetilglabranina (IV)⁴¹ y Quercetol B (VII)⁴⁰ aislados anteriormente de *Tephrosia quercetorum* wood, Teprowatsina A (V)⁴², Teprowatsina B (VI)⁴², aisladas de *Tephrosia watsoniana* y Tepicanol (VIII)³⁸ aislado de *Tephrosia tepicana*.

Cromatografía del extracto de hexánico

Del extracto hexánico se tomaron 2.5 g, se disolvieron en hexano y se colocaron en una columna empacada con 25 g de sílica-gel (70/230), se eluyó con hexano y mezclas de hexano/CH₂Cl₂, CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/AcOEt, AcOEt/MeOH. Se obtuvieron fracciones de 100 ml cada una, a las cuales se les eliminó el disolvente por destilación a presión reducida.

De las fracciones 1 – 5 se logró obtener una mezcla de β - Sitosterol (I)³⁸ y Stigmasterol (II)³⁸ y tres flavonoides denominados 7-OMe-glabranina (III)³⁹, aislada de las fracciones 2 – 52 y 101 – 105, Quercetol B (VII)⁴⁰ aislado de las fracciones 63 – 77 y 5, 7-O-dimetilglabranina (IV)⁴¹, aislada de las fracciones 100 – 154 y un biflavonoide denominado Tepicanol (VIII)³⁸.

Aislamiento del Tepicanol (VIII)³⁸

De las primeras fracciones eluidas con hexano, se obtuvo un compuesto que al ser recristalizado de hexano resulto ser un sólido cristalino en forma de agujas anchas (41 mg) cuyo p.f es de 148 – 150° C, de acuerdo con sus constantes físicas y espectroscópicas se determino que se trataba del biflavonoide denominado Tepicanol (VIII)³⁸, sus datos espectroscópicos son los siguientes:

p.f. 148 – 150° C

U.V. λ_{\max} MeOH nm (ϵ) 208 (174799), 270 (3264)

IR ν_{\max} cm^{-1} : 3034 (C=C-H), 1606 (C=O aromático) 1216 (C-O)

EMIE m/z : C₄₄H₅₀O₇ (3.3 %), C₂₂H₂₄O₃ (27 %), C₂₂H₂₆O₄ (43.3 %), [354 – CH₃OH] (29 %), [322 – H] (73 %), [354 – H₂O] (43.3 %), [354 – C₈H₈] (16 %), [354 – C₁₄H₁₇O₄] (28 %), [336 – CH₃OH] (5 %).

RMN ¹H (200 MHz, CDCL₃), PPM: 1.55 s (6H, H-10 Y H-11), 1.85 m (2H, H-3), 3.15 d (2H, J = 7 Hz, H-7), 3.57 s (3H,H-5), 3.76 s (3H, H-7), 4.7 t (1H, J = 3 Hz, H-4), 5.1 t (1H, H-8), 5.33 dd (1H, J = 12 Hz y 3 Hz, H-2), 6.05 s (1H, H-6) y 7.4 m (5H).

Aislamiento de la 7-OMe-glabranina (III)³⁹

De las fracciones 2-52 eluidas con hexano, fue posible aislar por cromatografía en placa preparativa (2mm), un sólido cristalino (4.1 mg) en forma de agujas blancas, cuyo p.f es de 121 – 123° C, de acuerdo con sus constantes físicas y espectroscópicas se determino que se trataba del compuesto denominado 7-OMe-glabranina (III)³⁹, así como por comparación con muestra autentica, sus datos espectroscópicos son los siguientes:

p.f. 121 – 123° C.

U.V. λ_{\max} MeOH nm (ϵ) 203 (3408), 288 (1514), 335 (385).

IR ν_{\max} cm^{-1} : 3603 (OH), 2971 y 2917 (C-H), 1634 (C=O), 1585 y 1445 (aromático), 1374 (CH₃), 1270 (C-O).

EMIE m/z: C₂₁H₂₂O₄ 338 [M]⁺ (100 %), C₂₀H₁₉O₄ (56%), C₁₂H₁₁O₄ (50%), C₁₁H₁₁O₄ (25%), C₁₈H₁₅O₄ ó C₁₉H₁₉O₃ (21%), C₆H₅ (7%).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3), PPM: 12.13 (s, OH), 6.1 (s, H-6'), 5.43 (ddd, H-2), 5.14 (t, H-8'), 3.8 (s, OMe), 3.2 (d, H-7'), 2.9 (ddd, H-3), 1.6 (s, H-10' y H-11').

Aislamiento de Quercetol B (VII)⁴⁰

Las fracciones 63 – 77 eluidas con una mezcla de hexano/ CH_2Cl_2 (95:5), se reunieron y se sometieron a separación por placa preparativa (2mm). Se logró aislar un aceite viscoso de color amarillo, el cual de acuerdo a sus constantes físicas y espectroscópicas así como por comparación con muestra autentica resulto ser Quercetol B (VII)⁴⁰ (26.4 mg) cuyos datos espectroscópicos se describen a continuación:

U.V. λ_{max} MeOH nm (ϵ) 206 (61435) y 270 (1265).

I.R. (CHCl_3) V_{max} cm^{-1} : 3031(C-H, aromático), 1606 (C=C, aromático), 1365 (C – H, de metilos) y 1123 y 1119 (C-O).

EMIE m/z: 368 $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_4$ (17.5 %), $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{O}_4$ (5 %), $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{O}_3$ (65 %), $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_3$ (47.5 %), $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_3$ (36 %), $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$ (15 %), $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_4$ (13.75 %), $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_3$ (23.75 %), C_8H_8 (55 %), C_7H_7 $[\text{M}]^+$ 100%, $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}$ (86.6 %).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3), PPM: 5.29 dd (1H, J = 4, y 12 Hz, H – 2), 2.34 m (2H, H – 3), 4.54 (1H, H – 4), 6.12 s (1H, H-6), 7.39 m (5H, Ar.), 3.26 dd (2H, J = 7Hz, H7'), 5.1 t (1H, J = 7, H – 8'), 1.62 s (6H, CH_3 , Gem), 3.46 s (3H, -O-, $-\text{CH}_3$), 3.81 s y 3.85 (6H, Ar – O – CH_3).

Aislamiento de la 5,7-O-dimetilglabranina (IV)⁴¹

De las fracciones 100 -154 eluidas con, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ (1:1) y AcOEt fue posible aislar por cromatografía en placa preparativa (2mm), dos compuestos, el primer compuesto fue el identificado como 7-OMe-glbranina (III)³⁹, y el segundo compuesto que se logro aislar fue un aceite amarillo (16.7 mg), con p.f de 84 – 85° C, la cual se identifico como 5, 7-O-dimetilglabranina (IV)⁴¹, cuyos datos espectroscópicos se describen a continuación:

p.f. 84 – 85° C

I.R. (CHCl_3) V_{max} cm^{-1} : 2990 (C-H aromático), 2920 (C-H alifático), 1670 (C=O), 1660 y 1580 (C=C aromático), 1340 (C-H de metilos), 1245 Y 1215 (C-O).

EMIE m/z: ($\text{MC}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_4$) (68%), (MCH_3) (10%), $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_4$ (20%), $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{O}_4$ (98%), $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{O}_3$ (65%), $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{O}_3$ (100%), $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{O}_3$ (45%), C_8H_8 (30%).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3), PPM: 1.65 s, (6H, CH_3 gem), 3.27 d (2H, J = 7 Hz, H-7') 3.9 s (3H, OMe), 3.93 s (3H, OMe), 5.4 dd (H, J = 4 y 7 12Hz, 2H), 5.13 t (H, J=6 Hz, H-8'), 6.15 s (H, H-6), 7.4 m (5H, H's, anillo B).

Cromatografía del extracto diclorometanólico

Del extracto diclorometanólico se tomaron 3.5 g y se disolvieron en diclorometano y se colocaron en una columna empacada con 25 g de sílica-gel (70/230). Se eluyó con hexano y mezclas de hexano/CH₂Cl₂, CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/AcOEt, AcOEt/MeOH. De donde se obtuvieron fracciones de 100 ml cada una, a las cuales se les eliminó el disolvente por destilación a presión reducida.

De las fracciones eluidas con hexano fue posible aislar dos flavonoides denominados Tephrowsina A (V)⁴² (10.1 mg) y Tephrowsina B (VI)⁴² (31 mg) los cuales se determinaron de acuerdo a sus constantes físicas y espectroscópicas.

Aislamiento de Tephrowsina A (V)⁴²

De las fracciones 34 a la 42 se disolvieron con hexano observando la precipitación de unos sólidos blancos, los cuales fueron recristalizados de metanol, obteniendo un sólido cristalino (10.1 mg), p.f. 62 – 64 °C, de acuerdo a sus constantes físicas y espectroscópicas se determinó que este compuesto es la Tephrowsina A (V)⁴², sus datos espectroscópicos se describen a continuación.

p.f. 62 – 64 °C.

U.V. λ_{\max} MeOH, nm (ϵ) 205 (32081), 269 (1307).

I.R. (CHCl₃) ν_{\max} cm⁻¹: 3470 (OH), 3004, 1616 y 1500 (C=C, aromático), 1370 (-C-H), 1210 y 1120 (C-O).

EMIE m/z: C₂₂H₂₀O₄ (71.5 %), C₂₂H₂₄O₃ (7.5 %), C₂₀H₁₇O₃, C₁₄H₁₈O₄, C₁₃H₁₃O₄, C₁₃H₁₃O₄ - C-O, C₈H₈.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃), PPM: 5.15 dd (1H, J = 3 y 12 Hz, H-2), 2.2 m (2H, H-3), 5.0 dd (1H, J = 3 y 4 Hz, H-4), 6.12 s (1H, H-6), 7.36 brm (5H, aromático), 3.92 d (2H, J = 7, H-7), 5.1 obsc. (1H, H-8'), 1.65 s (3H, H-10'), 1.63 s (3H, H-11'), 3.86 y 3.83 (-OMe).

Aislamiento de Tephrowsina B (VI)⁴²

De la fracción 16 eluida con hexano, fue posible aislar un aceite viscoso de color amarillo, de muy fácil descomposición (31 mg), de acuerdo a sus constantes físicas y espectroscópicas se determinó que este compuesto es la Tephrowsina B (VI)⁴², sus datos espectroscópicos se describen a continuación.

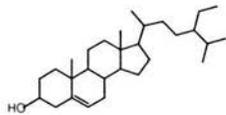
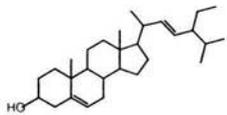
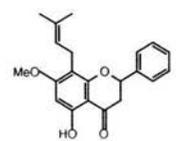
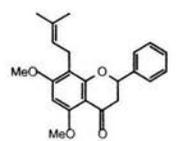
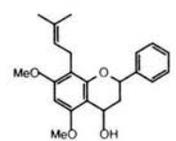
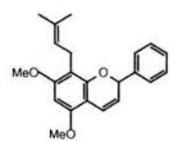
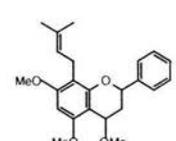
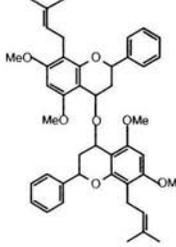
U.V. λ_{\max} MeOH nm (ϵ) 208 (3500), 245 (1325), 295 (840).

I.R (CHCl₃) V_{\max} cm⁻¹ 3004, 1616 (C=C, aromático).

EMIE m/z: C₂₂H₂₄O₃ (40 %), C₂₁H₂₁O₃ (40 %), C₁₈H₁₇O₃ (10 %), C₇H₅O [M]⁺ (100 %).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): 5.8 dd (1H, J = 3 y 4, Hz, H-2), 5.62 dd (1H, J = 4 y 10 Hz, H-3), 6.79 dd (1H, J = 3 y 10 Hz, H-4), 6 s (1H, H-6), 7.3 brm (5H, aromático), 4.31 d (2H, J = 7 Hz, H-7'), 5.05 tq (1H, J-7Hz, H-8'), 1.63 s (3H, H-10'), 1.57 s (3H, H-11'), 3.77 s (-OMe).

Compuestos aislados de *Tephrosia sousae* Téllez

 <p>(I) β - Sitosterol</p>	 <p>(II) Stigmasterol</p>
 <p>(III) 7-OMe-glabranina</p>	 <p>(IV) 5, 7-O-dimetil-glabranina</p>
 <p>(V) Tephrowatsina A</p>	 <p>(VI) Tephrowatsina B</p>
 <p>(VII) Quercetol B</p>	 <p>(VIII) Tepicanol</p>

PARTE EXPERIMENTAL

Para el estudio fitoquímico de *Tephrosia belizensis* Lundell el material botánico fue colectado en el estado de Oaxaca. El material de estudio es una planta perenne perteneciente a la familia de las Leguminosas.

La parte aérea de la planta (1.135 Kg.) se dejó secar a temperatura ambiente, separando las hojas y los tallos, obteniendo 708.5 g de hojas y 426.5 g de tallos. Las hojas se trituraron finamente, mientras que el tallo se cortó en trozos pequeños. Se extrajeron por maceración con disolventes orgánicos en orden creciente de polaridad de la siguiente manera hexano (12 l) por 24 horas, posteriormente con diclorometano (12 l) y por último con metanol (12 l). Los extractos se concentraron por destilación al vacío, obteniendo residuos sólidos, pastosos de color verde para las hojas y residuos sólidos pastosos de color café para los tallos, las cantidades obtenidas de los diferentes extractos se presenta a continuación en la tabla indicando el peso de la parte correspondiente.

Extracto	hojas	tallos
Hexano	6.55 g	4.14 g
diclorometano	9.86 g	8.02 g
Metanol	5.20 g	4.80 g

Por cromatografía en Silica – gel (70/230) de los extractos de hexano y diclorometano se logró aislar e identificar con base en sus constantes físicas y espectroscópicas, así como por comparación de muestras auténticas, los siguientes compuestos ya descritos en la literatura: β – Sitosterol (I)³⁸, Stigmasterol (II)³⁸, mezcla de Rotenona (IX)⁴³ – Deguelina (X)⁴³, 5-Ome-obovatina (XI)⁴⁴, Quercetina (XII)⁴⁴ y Lupeol (XIII)⁴⁵.

Cromatografía del extracto de hexánico

Del extracto hexánico se tomaron 4.5 g, se disolvieron en hexano y se colocaron en una columna empacada con 35 g de silica-gel (70/230). Se eluyó con hexano y mezclas de hexano/CH₂Cl₂, CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/AcOEt, AcOEt/MeOH. Se obtuvieron fracciones de 100 ml cada una, a las cuales se les eliminó el disolvente por destilación a presión reducida.

De las fracciones eluidas con hexano fue posible aislar, dos flavonoides denominados 5-Ome-obovatina (XI)⁴⁴, aislada de las fracciones 5 – 15 y 19 – 25, Quercetina (XII)⁴⁴, aislada de las fracciones 10 – 20 y una mezcla de dos rotenoides Rotenona (IX)⁴³ – Deguelina (X)⁴³ aislada de las fracciones 63 – 77 y 91 – 105.

Aislamiento de la 5-Ome-obovatina (XI)⁴⁴

De las fracciones 5 – 15 eluidas con hexano, y las fracciones 19 – 25 eluidas con una mezcla de hexano/CH₂Cl₂ (90/10) fue posible aislar por cromatografía en placa preparativa

(2mm), un sólido blanco (6.3 mg) cuyo p.f es de 138- 140° C, de acuerdo con sus constantes físicas y espectroscópicas se identificó como 5-OMe-obovatina (XI)⁴⁴, sus datos espectroscópicos son los siguientes:

p.f 138 – 140° C

U.V. λ_{max} MeOH nm (ϵ) 206 (36507.6), 263 (50400), 270 (62400), 292 (13792.2), 343 (4959.03)

IR ν_{max} cm^{-1} : 1670 (C=C), 1630 y 1660 (C=C aromático), 1390 (C-H de metilos), 1140 y 1160 (C-O).

EMIE m/z : 332 (M $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_4$) 10 %, 317 (M- CH_3) 20 %, 218 ($\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_4$) 12 %, 217 ($\text{C}_{12}\text{H}_9\text{O}_4$) 100 %, 104 (C_8H_8) 5 %.

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3), PPM: 1.45 (3H, s, CH_3), 2.48 (3H, s, CH_3), 2.88 (2H, m, H-3), 3.88 (3H, s, Ome), 5.39 (H, dd, J = 6 y 12 Hz, H-2), 5.5 (H, d, J = 12 Hz, H-8'), 6.1 (H, s, h-6), 6.6 (H,d, J = 12 Hz, H-7'), 7.4 (5H, m, H's de anillo B).

Aislamiento de la Quercetina (XII)⁴⁴

De las fracciones 16 – 20 eluidas con una mezcla de hexano/ CH_2Cl_2 (90/10) fue posible aislar por cromatografía en placa preparativa (2mm), un sólido blanco (6.3 mg) cuyo p.f es de 138- 140° C, de acuerdo con sus constantes físicas y espectroscópicas se identificó como Quercetina (XII)⁴⁴, sus datos espectroscópicos son los siguientes:

p.f 138 – 140° C

IR ν_{max} cm^{-1} : 3400 – 3200 (OH), 2950 (C=C), 1630 (C=C aromático), 1660 (C=O), 1390 (C-H de metilos), 1140 y 1160 (C-O).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3), PPM: 12.45 (OH), 6.20 (H-6, d, J = 2.1 Hz), 6.42(H-8, d, J = 2.1 Hz), 7.69 (H- 2', d, J = 2.1), 6.90 (H-5', d, J = 8.5 Hz), 7.55 (H-6', dd, J = 2.1, 8.5 Hz).

Aislamiento de la Rotenona (IX)⁴³

De las fracciones 63 – 77 y 91 – 105 eluidas con una mezcla $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ (1:1), se obtuvo un sólido cristalino de color amarillo con p. f. = 154 – 156° C de acuerdo con sus constantes físicas y espectroscópicas se determino que se trataba del compuesto denominado Rotenona (IX)⁴³ así como por comparación con muestra autentica.

p.f 154 – 156° C

IR ν_{max} cm^{-1} : 2920 (C – H), 1670 (C=C), 1630 (C=C aromático), 1660 (C=O), 1390 (C-H de metilos), 1140 y 1160 (C-O).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3), PPM: 1.75 (3H, s, CH_3), 2.95 (dd, H - 2), 3.3 (dd, H - 13), 3.75 (s, OCH_3), 3.8 (s, OCH_3), 4.15 (d, H - 9), 4.6 (d, H - 7), 4.9 (s, H - 6), 5.07 (s, H - 12), 5.2 (t, H - 5), 6.4 (s, H - 4), 6.45 (d, H - 10), 6.8 (s, H - 1), 7.83 (d, H - 11)

Aislamiento de la Deguelina (X)⁴³

De las fracciones 63 - 77 y 91 - 105 eluidas con $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ (1:1), se obtuvo un sólido cristalino de color amarillo con p. f. = 154 - 156° C de acuerdo con sus constantes físicas y espectroscópicas se determinó que se trataba del compuesto denominado Deguelina (X)⁴³ así como por comparación con muestra auténtica.

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3), PPM: 1.4 (3H, s, CH_3), 1.45 (3H, s, CH_3), 3.7 (3H, s, OCH_3), 3.75 (3H, s, OCH_3), 4.25 (s, H - 9), 4.5 (d, H - 7), 4.8 (t, H - 6), 5.5 (d, H - 5), 6.45 (s, H - 13), 6.5 (dd, H - 4), 6.75 (s, H - 10), 7.25 (s, H - 1), 7.70 (d, H - 11)

IR ν_{max} cm^{-1} : 2920 y 2960 (C - H), 1670 (C=C), 1730 y 1660 (C=C aromático), 1590 (C=O), 1390 (C-H de metilos), 1140 y 1160 (C-O).

Cromatografía del extracto diclorometanólico

Del extracto diclorometanólico se tomaron 5 g, se disolvieron en diclorometano y se colocaron en una columna empacada con 30 g de sílica-gel (70/230). Se eluyó con hexano y mezclas de hexano/ CH_2Cl_2 , CH_2Cl_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$, AcOEt/MeOH . De donde se obtuvieron fracciones de 100 ml cada una, a las cuales se les eliminó el disolvente por destilación a presión reducida.

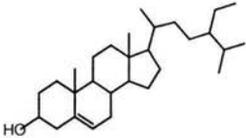
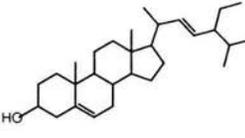
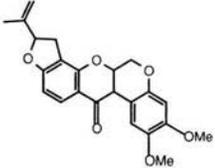
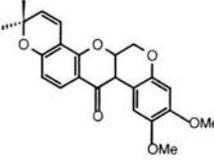
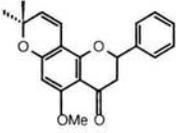
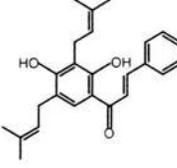
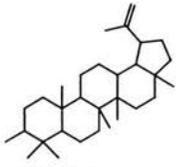
De las fracciones 1 - 5 eluidas con hexano fue posible aislar una mezcla de esteroides β - Sitosterol (I)³⁸ y Stigmasterol (II)³⁸, de las fracciones 63 - 69 eluidas con una mezcla hexano/ CH_2Cl_2 (60/40) se aisló un triterpeno llamado Lupeol (XIII)⁴⁵.

Así mismo se logró aislar nuevamente 5-OMe-obovatina (XI)⁴⁴, Quercetina (XII)⁴⁴, y mezcla de Rotenona (IX)⁴³ - Deguelina (X)⁴³, de diferentes fracciones las cuales fueron trabajadas de la forma antes descrita para el extracto de hexano.

Aislamiento del Lupeol (XIII)⁴⁵

Por cromatografía en placa preparativa un sólido cristalino (24 mg) de color blanco con p.f = 197 - 198° C de acuerdo con sus constantes físicas y espectroscópicas se determinó que se trataba del compuesto denominado Lupeol (XIII)⁴⁵ así como por comparación con muestra auténtica.
p.f. 197 - 198° C

Compuestos aislados de *Tephrosia belizensis* Lundell

 <p>(I) β - Sitosterol</p>	 <p>(II) Stigmasterol</p>
 <p>(IX) Rotenona</p>	 <p>(X) Deguelina</p>
 <p>(XI) 5-O-Me-obovatina</p>	 <p>(XII) Quercetina</p>
 <p>(XIII) Lupeol</p>	

PARTE TEÓRICA

Tephrosia sousae Téllez

Tephrosia sousae Téllez es un arbusto de 0.5 – 2.5 m de altura, con flores rosadas.

El ejemplar estudiado en el presente trabajo fue colectado en Nayarit a 5 Km. al este del Nevado camino a Real del Zapote, en el bosque de Quercus.

La parte aérea de la planta (hojas y tallos) se dejó secar a temperatura ambiente, posteriormente se extrajo con hexano, diclorometano y metanol; a los extractos se les eliminó el disolvente por destilación al vacío, obteniendo residuos de color verde para hojas y café para tallos.

Por cromatografía en columna y placa preparativa en sílica gel de los extractos de hexano y diclorometano se logró aislar e identificar con base en sus constantes físicas y espectroscópicas: una mezcla de esteroides β - Sitosterol (I)³⁸ y Stigmasterol (II)³⁸, cinco flavonoides los cuales son 7-OMe-glabranina (III)³⁹, 5,7,-O-dimetilglabranina (IV)⁴¹, Tephrowatsina A (V)⁴², Tephrowatsina B (VI)⁴² y Quercetol B (VII)⁴⁰, así como un biflavonide denominado Tepicanol (VIII)³⁸.

Tephrosia belizensis Lundell

Tephrosia belizensis Lundell es una planta perenne postrada de hojas rosas.

El ejemplar estudiado en el presente trabajo fue colectado en el estado de Oaxaca.

La parte aérea de la planta (hojas y tallos) se dejó secar a temperatura ambiente, posteriormente se extrajo con hexano, diclorometano y metanol; a los extractos se les eliminó el disolvente por destilación al vacío, obteniendo residuos pastosos de color verde para hojas y residuos de color café para los tallos.

Por cromatografía en columna y placa preparativa en sílica gel de los extractos de hexano, diclorometano y metanol se logró aislar e identificar con base en sus constantes físicas y espectroscópicas: una mezcla de esteroides β - Sitosterol (I)³⁸ y Stigmasterol (II)³⁸, una mezcla de rotenoides Rotenona (IX)⁴³ - Deguelina (X)⁴³, un flavonoide la 5-OMe-obovatina (XI)⁴⁴, una chalcona la Quercetina (XII)⁴⁴ y un triterpeno llamado Lupeol (XIII)⁴⁵.

TEPICANOL (VIII)³⁸

El Tepicanol (VIII)³⁸ resulto ser un sólido cristalino con p.f. de 138 – 140 °C, el cual mostró reacción positiva ante la prueba de Shinoda, (Mg + HCl y Zn + HCl).

Al analizar el espectro de IR del Tepicanol (VIII)³⁸ observamos que no muestra la banda de absorción característica del grupo carbonilo de flavonas o flavanomas, observando en 3034 cm⁻¹ la absorción del enlace C = C – H, en 1606 cm⁻¹ para C = C aromático y en 1216 para enlaces C – O.

El espectro de UV del Tepicanol (VIII)³⁸ a semejanza con los del Quercetol B (VII)⁴⁰ y Tephrowsina A (V)⁴² presenta dos máximos de absorción en 208 nm (ε 174799) y 270 nm (ε 3264) este último máximo de absorción sugiere un sistema aromático no conjugado.

La magnitud del coeficiente de extinción molar observada para el Tepicanol (VIII)³⁸ es más del doble que las observadas para el Quercetol B (VII)⁴⁰ y Tephrowsina A (V)⁴² (ver tabla 1) sugiere la posibilidad de que el Tepicanol (VIII)³⁸ es una molécula dimerica o biflavonoide.

Compuesto	λ max nm	(ε) en MeOH
Quercetol B (VII) ⁴⁰	206 (81169)	270 (1490)
Tephrowsina A (V) ⁴²	205 (66003)	269 (1490)
Tepicanol (VIII) ³⁸	208 (174799)	270 (3264)

Tabla 1

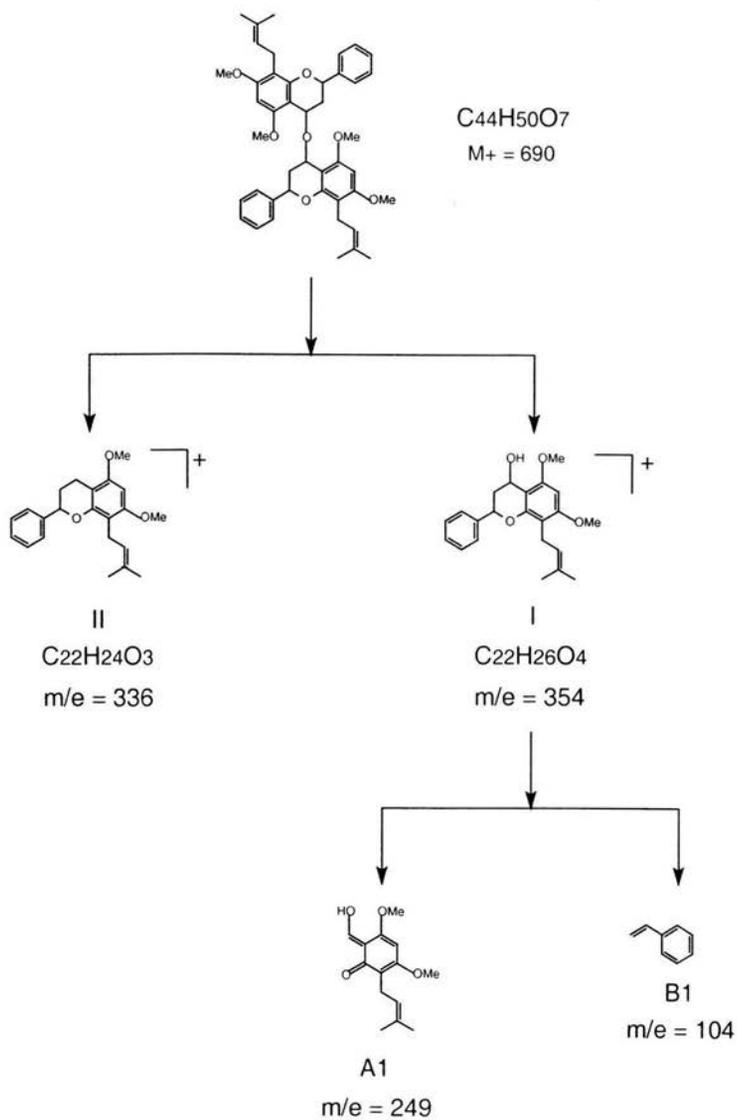
El análisis del espectro de RMN ¹H del Tepicanol (VIII)³⁸ presentó señales similares a las del Quercetol B (VII)⁴⁰, sugiriendo así la posibilidad de que las estructuras de ambos compuestos pueden estar íntimamente relacionados.

Así en 7.4 ppm se observa una señal múltiple que integra para 5H, dicha señal se asigno al anillo aromático B del esqueleto de un flavonoide, en la región de los protones vinílicos, a 5.1 ppm se aprecia una señal triple (1H, J = 8 Hz), que junto con una señal simple en 1.15 ppm integra para 6H sugiriendo así la presencia de un grupo γ γ - dimetil alilo, en 1.85 ppm se observa una señal múltiple, la cual se asigno a los protones presentes en el C – 3. En la región de los protones aromáticos, en 6.05 ppm presentó una señal simple cuya posición y multiplicidad están de acuerdo para un protón aislado, el cual debe estar vecino a dos grupos electronegativos, dichos grupos deben ser dos metoxilos, porque en 3.76 ppm y en 3.57 ppm se observaron dos señales simples que integran cada una para tres protones respectivamente. En 5.3 ppm se presento una señal característica para el protón del C – 2 del esqueleto de un flavonoide en forma de un doble de doble (J = 12 Hz y J = 3 Hz), ésta señal junto con un triplete en 4.9 ppm (1H, J = 3 Hz) la cual fue asignada al protón del C - 4 sugiere que el Tepicanol (VIII)³⁸ es un 4 – alcoxiflavonoide. Finalmente la constante de

acoplamiento observada para el protón del C - 4 ($J = 3$ Hz) a semejanza con Tephrowsina A (V)⁴² y Quercetol B (VII)⁴⁰ nos permitió darle una orientación β a dicho alcoxido.

La interpretación del espectro de masas nos permitió comprobar que la estructura del Tepicanol (VIII)³⁸ debido a que presento un ión molecular en m/e 690 el cual esta de acuerdo con la formula $[C_{44}H_{50}O_7]^+$, además de observarse los fragmentos de m/e 354 $[C_{22}H_{26}O_4]^+$ y m/e 336 $[C_{22}H_{24}O_3]^+$ los cuales nos permitieron comprobar que el Tepicanol (VIII)³⁸ es un compuesto dimérico. Dicha fragmentación es acorde para un biflavonoide con una unión aril - éter porque sigue el patrón de fragmentación típico para de este tipo de compuestos, formando así los iones I y II (ver esquema) producto de la ruptura del enlace éter, donde estos últimos siguen el patrón de fragmentación típico de flavonoides dando lugar a los fragmentos originados por una ruptura retro Diels - Alder a través de la cual se originan los fragmentos A1 y B1.

Esquema de fragmentación del Tepicanol (VIII)³⁸



Conclusiones

En el presente trabajo se describe el estudio fitoquímico de dos plantas del género *Tephrosia*, *Tephrosia sousae* Téllez y *Tephrosia belizensis* Lundell pertenecientes a la familia de las Leguminosas, las cuales fueron colectadas en los estados de Nayarit y Oaxaca respectivamente.

De los extractos hexánicos de tallos y hojas de *Tephrosia sousae* Téllez se aisló e identificó por sus constantes físicas y espectroscópicas, así como también por el método de comparación con muestra auténtica, tres flavonoides: 7-OMe-glabranina (III)³⁹, 5,7-O-dimetilglabranina (IV)⁴¹ y Quercetol B (VII)⁴⁰ aislados anteriormente de *Tephrosia quercetorum* wood, y un biflavonoide denominado Tepicanol (VIII)³⁸, así mismo una mezcla de esteroides compuestos por β -Sitosterol (I)³⁸ y Stigmasterol (II)³⁸.

De los extractos diclorometánico de tallos y hojas de *Tephrosia sousae* Téllez se aisló e identificó por sus constantes físicas y espectroscópicas, así como también por el método de comparación con muestra auténtica, dos flavonoides denominados: Tephrowatsina A (V)⁴² y Tephrowatsina B (VI)⁴² aislados anteriormente de *Tephrosia watsoniana*.

De los diferentes extractos de *Tephrosia belizensis* Lundell se aislaron e identificaron por sus constantes físicas y espectroscópicas los siguientes compuestos, ya descritos en la literatura: mezcla de β -Sitosterol (I)³⁸ y Stigmasterol (II)³⁸, Lupeol (XIII)⁴⁵, dos flavonoides: 5-OMe-obovatina (XI)⁴⁴, Quercetina (XII)⁴⁴ así como una mezcla de dos rotenoides Rotenona (IX)⁴³ - Deguelina (X)⁴³.

Bibliografía

- 1.- Harbone J.B., Boulter D. And Turner B.L., Chemotaxonomy of the Leguminosae. Academic press. London 1971, p. 1 – 7.
- 2.- Jiménez Maria, *Estudio fitoquímico de tephrosia microcarpa* Tesis profesional de Químico UNAM 1989
- 3.- Harbone, Heller Werner and Forkman Gert. The flavonoids advances in research since 1986 Ed. Chapman and Hall.
- 4.- <http://www.medicinanaturista.com.ar/articulos/alimentacion/flavonoides.htm>
- 5.- Markham K. R. Techniques of flavonoid identification. Academic Press Inc. London 1982.
- 6.- Harbone, Comparative phytochemistry. Academic press, London 1962.
- 7.-Wong, Phytochemistry 1966, 5 463.
- 8.- H. Koike., Chem. Abst. 1931, 25 3395.
- 9.- S. Rusnyak, A. Szent – Györgyi., Nature, London, 1936, 27 138.
- 10.- Gómez Garibay Federico, PLANTAS MEXICANAS, género *Tephrosia*. México 2001, p. 16.
- 11.- L. Freeman, A. J. Merritt. Science 1936, 139 344.
- 12.- De Eds, M. Flurkin and G. H. Srutz., Comprehensive Biochemistry, Elsevier Publishing Co. Amsterdam, 1968, 20, 127.
- 13.- A. N. Ratnagiriswaran., K. B. Shedra and K. Venka Toraman., Biochem. J. 1934, 28 1964.
- 14.- Laberte, R. Campbell D ande Bruderlein F., J. Pharm. Sci. 1967, 2, 37.
- 15.- J. D. Bigger and D. H. Curnow., Biochem. J. 1954, 58 278.
- 16.- N. R. Fornsworth., A.S. Bingel and G.A. Cardell., J. Pharm. Sci. 1975, 64 717.
- 17.- Powers J. J., Proc Forth International Symposium on Food Microbiology (coterborg, Sweden), 1954, 59-75.
- 18.- D. Charles Hufford., Llodia. 1978, 2, 41.

- 19.- J. S. Chalise, M. N. Wostwood, Phytochemistry, 1972, 2, 37.
- 20.- G. J. Martin., Science. 1953, 117, 363.
- 21.- S. M. Kupchan, C. W. Siegel and J.R. Knox., J.Org. Chem. 1969, 34, 1460.
- 22.- S. M. Kupchan and E. Bauerschmidt., Phytochemistry. 1971, 10, 664.
- 23.- R. H. Doberstein, M. Tin Wa, and H.H. S. Fung., Jour. Pharm. Sci. 1976, 66, 600.
- 24.- H. Warner, U. Seligman and M. Seitz., Tetrahedron Lett. 1971, 1895.
- 25.- R. K. Sauhu, R. Basu and A Sharma., Mutation Research, 1981, 89, 69.
- 26.- S. D. Varma, I. Mikani and J. H. Kinoshita., Science, 1975, 188, 1215.
- 27.- A. B. Segelman, F. P. Segelman, S.D. Varma, H. Wagner and O. Seligman., J. Pharm. Sci. 1977, 66, 1358.
- 28.- T. Nikaido, T. Ohmoto, U. Sankawa and K. Totsuka., Planta Médica, 1982, 46, 162.
- 29.- A. Beretz, A. Stierle, R. Antón and J.P Cazenave., Biochemical Pharmacology. 1982, 31, 3597.
- 30.- Y. Kimura, H. Okuda, T. Tani and S. Arichi., Chem. Pharm. Bull. 1982, 30 (5) 1792.
- 31.- M. K. Buening, R. L. Chang, M. T. Huang, J.G. Fortner, A.W. Wood, and A. H. Conney., Cancer Research 1981, 41, 67.
- 32.- Seshadri, Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. Chapman and Hall. 1982, 505
- 33.- Iwa, M. Maurice. Chem. Abs. 1968, 105, 35161.
- 34.- Rucskstuh, M. Beretz, A., Anton., R. And Landry Biochem. Pharmacol. 1979, 28, 535.
- 35.- L. Horhammer, H. Warner and H. Reinhardt, Z. Naturforsh 1967, 22B, 768.
- 36.- Joly M. Beck J.P. Haag Berrvier, M. and Antor. Planta med. 1980, 39, 230.
- 37.- Natarajan, S. Murti, V.V.S., Seshadri, T.R. and Ramaswamia, A.S., Curr. Sci. 1970 39, 533.
- 38.- Olivares Maria, Estudio fitoquímico de Tephrosia tepicana, Tesis profesional de Q.I., Universidad Autónoma de Morelos, 1989.
- 39.- Jayaraman I, A. Ghan and H. A. Khan Phytochemistry, 1980, 19, 1267.

- 40.- Gómez G. F., R. Reyes Ch, L. Quijano, J. Calderon and T. Rios., Phytochemistry, 1990, 29 (2) 459.
- 41.- Jayaraman, I, Ghanim A and Khan H.A, Phytochemistry, 1980, 19, 1267.
- 42.- Gómez G. F., L. Quijano, J. Calderon. S. Morales and T. Rios., Phytochemistry. 1988, 27 (9) 2971.
- 43.- G. Srimannarayana and N.V Subba rao, J. Indian. Chem. Soc., 1974, 51, 83.
- 44.- Yuh-Lin Chen, Yei-Shung Wang, Yun-Lian Lin., Katsura Munakata and Keiichi Otha., Agric. Biol Chem 1978, 42, 2431 – 2432.
- 45.- S. K. Talapatra, D. S. Bhar and B Talapatra, Phytochemistry, 1974, 13 (1), 284.