



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS  
QUÍMICAS

“ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LAS PARTES AEREAAS DE *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. Y EVALUACIÓN DE SUS COMPONENTES COMO INHIBIDORES DE CICLINAS DEPENDIENTES DE CINASAS (CDK´s)”

TESIS  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.F.B. FRANCISCO ELIHU BAUTISTA REDONDA



TUTOR: DR. ALFREDO ORTEGA HERNANDEZ

MEXICO D. F.

AÑO: 2008



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **JURADO**

Presidente: Dr. Alfonso Romo de Vivar Romo  
Vocal: Dr. Carlos Martín Cerda García Rojas  
Secretario: M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez  
Primer suplente: Dra. María Yolanda Ríos Gómez  
Segundo suplente: Dra. María Isabel Aguilar Laurents

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Alfredo Ortega por la asesoría brindada como mi tutor en mis estudios de licenciatura y maestría.

Al Dr. Joaquín González Marrero por su ayuda para llevar a cabo la evaluación biológica de los componentes aislados y por invitarme a colaborar con él en su proyecto posdoctoral.

A la M. en C. Emma Maldonado Jiménez por sus valiosos comentarios y sugerencias en la realización de mi trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al Sistema Nacional de Investigadores (SNI) por las becas otorgadas para la realización de este estudio.

Al cuerpo técnico del Instituto de Química por su ayuda en la determinación de espectros, en especial a Isabel Chávez y Nieves Zavala.

# INDICE

	Página
RESUMEN .....	1
INTRODUCCIÓN .....	2
OBJETIVOS .....	4
ANTECEDENTES .....	5
Género <i>Mimosa</i> .....	5
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd.) Poir. ....	5
Descripción .....	5
Usos en la medicina tradicional .....	6
Química .....	7
Flavonoides .....	11
Generalidades .....	11
Clasificación de flavonoides .....	12
Biosíntesis de flavonoides .....	14
Terpenoides .....	17
Generalidades .....	17
Alcaloides .....	18
Generalidades .....	18
Ciclinas dependientes de cinasas (CDK´s) .....	19
PARTE EXPERIMENTAL .....	21
Extracción .....	21
Aislamiento y purificación .....	21
Actividad biológica .....	28

Material y equipo utilizado .....	29
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	30
Flavanonas .....	30
Flavonoles .....	33
Fenoxicromonas .....	37
Actividad biológica .....	41
CONCLUSIONES .....	46
REFERENCIAS .....	47
APÉNDICE (Espectros).....	51

---

## RESUMEN

Las plantas con importancia en la medicina tradicional mexicana, han sido objeto de varios estudios por parte de investigadores en diversas partes del mundo.

La especie *Mimosa tenuiflora* es conocida en la medicina tradicional con el nombre de "Tepezcohuite", la corteza pulverizada de este árbol se utiliza para la formulación de cremas y pomadas, cuya aplicación ayuda a la rápida cicatrización de heridas sobre todo las causadas por quemaduras.

El estudio fitoquímico de las partes aéreas de *M. tenuiflora* condujo al aislamiento de ocho compuestos de tipo flavonoide; dos flavanonas, tres flavonoles y tres 2-fenoxicromonas; la identidad de cada uno de estos compuestos fue verificada por métodos espectroscópicos.

Las posiciones relativas de los grupos OH en el esqueleto de flavonoide de los compuestos aislados fue en los carbonos 5, 6 y 7 del anillo A y mono o dihidroxilaciones en los carbonos 3' y 4' del anillo B.

Los ocho compuestos aislados fueron evaluados como inhibidores de ciclinas dependientes de cinasas (CDK's), este tipo de enzimas son empleadas como blancos moleculares en la búsqueda de nuevos fármacos que pueden ser empleados en la terapéutica moderna contra padecimientos crónico-degenerativos. Las enzimas empleadas para la evaluación de los compuestos aislados fueron: CK1, CDK5, GSK3 y DYRK1A y de los ocho compuestos evaluados sólo el compuesto identificado como 4', 5, 7-Trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona mostró una actividad moderada contra las enzimas DYRK1A y GSK3.

## INTRODUCCION

México es un país con una gran diversidad florística y con una basta serie de conocimientos que constituyen la medicina tradicional, obtenidos a través de la experiencia de varias generaciones en el tratamiento de los distintos padecimientos que han aquejado a nuestros antepasados, por lo que resulta de sumo interés ampliar esa serie de conocimientos y enfocarlos a la búsqueda de nuevos principios activos que puedan tener uso en la terapéutica moderna.

Algunas de la plantas mexicanas en las que se ha tenido éxito en la búsqueda de principios activos son: la valeriana (*Valeriana edulis*) de donde fue aislado el ácido valerénico y que es el compuesto responsable del efecto sedante y relajante que se obtiene al beber una infusión del rizoma de esta planta o tras ingerir el rizoma pulverizado en cápsulas;<sup>1</sup> y la pastora (*Salvia divinorum*) de donde se aisló la salvinatorina A, un diterpeno con afinidad selectiva por el receptor  $\kappa$  opioide y cuya interacción con el receptor produce un efecto psicoactivo que es producido al ingerir una infusión de las hojas de esta planta;<sup>2</sup> pero no menos importancia ha tenido en los últimos años el tepezcohuite, ya que su corteza pulverizada es empleada de manera empírica en la formulación de cosméticos auxiliares de la cicatrización de heridas causadas por quemaduras.

El tepezcohuite es una especie con una amplia distribución en América, que va desde Brasil hasta los estados de Chiapas y Oaxaca en México. En Brasil, *Mimosa tenuiflora* es conocida con el nombre común de "jurema", su corteza se utiliza para preparar una bebida sacramental llamada "vino de jurema". Esta bebida produce un efecto psicoactivo a las personas que la ingieren y es consumida en ritos mágico-religiosos. Recientemente se aisló un alcaloide de tipo indólico de la corteza de *M. tenuiflora*, al cual se atribuye el efecto psicoactivo que causa esta bebida.<sup>3</sup>

Por otra parte, el tepezcohuite es una planta silvestre del suroeste de México y existen varios estudios de la composición química de diferentes partes de esta planta, de donde se han aislado compuestos de tipo flavonoide,<sup>4-6</sup> alcaloide<sup>3,7</sup> y terpenoide;<sup>6, 8-10</sup> en el caso

de los compuestos flavonoides se han aislado las llamadas fenoxicromonas<sup>5</sup>, que son compuestos poco comunes en la naturaleza y con distribución restringida a las familias Compositae,<sup>11</sup> Rosaceae,<sup>11</sup> Berberidaceae<sup>11</sup> y Mimosidae.<sup>11</sup> Existen estudios de la actividad biológica de la 2-fenoxicromona llamada capilarisina, que han mostrado actividad como antioxidante,<sup>12</sup> y como inhibidor de metástasis.<sup>13</sup> Lo anterior sugiere que las fenoxicromonas que han sido aisladas del tepezcohuite deben ser objeto de más estudios para conocer su actividad biológica, ya que son compuestos de gran interés por su estructura poco común.



## OBJETIVOS

Aislar los flavonoides presentes en el extracto acetónico obtenido de las partes aéreas de *Mimosa tenuiflora*, determinar sus estructuras y evaluar su actividad como inhibidores de ciclinas dependientes de cinasas (CDK's).

Analizar las diferencias en los resultados obtenidos de estudios fitoquímicos anteriores y los que se obtengan de este estudio de las partes aéreas de *Mimosa tenuiflora*, para determinar su relación con las condiciones edáficas del sitio de recolección de la planta.

## ANTECEDENTES

### Género *Mimosa*

El género *Mimosa* está constituido aproximadamente por 420 especies y se ha dividido en cinco secciones; cada sección a su vez se subdivide en series. Las secciones del género *Mimosa* son las siguientes:<sup>14</sup>

- ✓ Sección *Mimadenia*. Consta de 4 series.
- ✓ Sección *Batocaulon*. Está constituida por 25 series.
- ✓ Sección *Calothamnos*. No está subdividida en series.
- ✓ Sección *Habbasia*. Está subdividida en 9 series.
- ✓ Sección *Mimosa*. Está conformada por 37 series.

El término *Mimosa* se deriva del español *mimoso*, que quiere decir sensible; en alusión al follaje tigmotáctico que poseen algunas especies de este género.<sup>14</sup>

### *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir.

#### Descripción

La especie *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. pertenece a la familia Fabaceae-Mimosidae, sección *Batocaulon* y pertenece a la serie *Leiocarpae* Benth. del género *Mimosa*.<sup>15</sup> En México, la especie ha recibido varios nombres comunes como son: "tepescahuite", "tepezcohuite", "tepesquehuite".<sup>15</sup> Por otra parte, la etimología del término "Tepezcohuite": "tepetl", cerro y "cuahuitl", árbol, es decir, "árbol del cerro" (figura 1). Sin embargo, desde 1987 se hizo popular en el país el nombre "árbol de la piel".<sup>14</sup> En Honduras, Colombia y Venezuela se conoce con el nombre de "carbón", "carbonal", "cabrera" o "cabrero" y en Brasil es conocida como "calumbi", "jurema" o "jurema preta".<sup>15</sup>

Esta especie ha recibido seis nombres científicos distintos,<sup>15</sup> siendo *Mimosa tenuiflora*<sup>15</sup> el nombre correcto de la especie; sus sinonimias son: *Acacia tenuiflora*, *Mimosa hostilis*, *Mimosa cabrera*, *Mimosa nigra* y *Mimosa limana*. Puede tener forma de arbusto o árbol

de hasta 8 m de altura<sup>16</sup> con hojas alternas compuestas de 6 a 9 pares de pinas, flores blancas en espigas de 6 a 8 cm y sus frutos son vainas oblongas.<sup>17</sup> Con una amplia distribución en América, que va desde Brasil hasta los estados de Chiapas y Oaxaca en México,<sup>16</sup> crece en zonas semiáridas y sus semillas son consumidas por cabras y otros rumiantes.<sup>18</sup> La especie es un recurso de interés cultural y económico.<sup>16</sup> A nivel regional en los estados de Oaxaca y Chiapas, destaca su uso en la construcción de cercas y postería,<sup>16</sup> como combustible,<sup>16</sup> para la recuperación de suelos y vegetación.<sup>16</sup>



Figura 1. *Mimosa tenuiflora*

### Usos en la medicina tradicional

La corteza de *M. tenuiflora* es utilizada como se destaca en la medicina tradicional de México, para ayudar a la cicatrización de heridas causadas por quemaduras,<sup>19</sup> en la prevención de la inflamación<sup>19</sup> y como agente antimicrobiano.<sup>19</sup> En Brasil, como ya se mencionó, la corteza de *Mimosa tenuiflora* es empleada para preparar una bebida sacramental llamada "vino de jurema", por su traducción del portugués (vinho da jurema); que es consumida en ritos mágico-religiosos.<sup>3</sup>

Existen numerosos estudios farmacológicos de diferentes extractos de la corteza de *M. tenuiflora*,<sup>7, 20-23</sup> en donde se destaca: un efecto antimicrobiano del extracto de AcOEt, inducción de la excitabilidad de la musculatura lisa por parte del extracto de BuOH y un efecto hemolítico y hemaglutinante del extracto de MeOH.<sup>7</sup> También se ha evaluado el potencial mutagénico de su corteza.<sup>23</sup> Sin embargo, a la fecha no hay estudios de la actividad biológica de los extractos y componentes aislados de las hojas y flores del tepezcohuite.

Química

La especie *M. tenuiflora* muestra una gran variedad de componentes químicos; de su corteza se han aislado saponinas triterpénicas<sup>8</sup> (figura 2) y alcaloides de tipo indólico<sup>4, 22</sup> (figura 3).

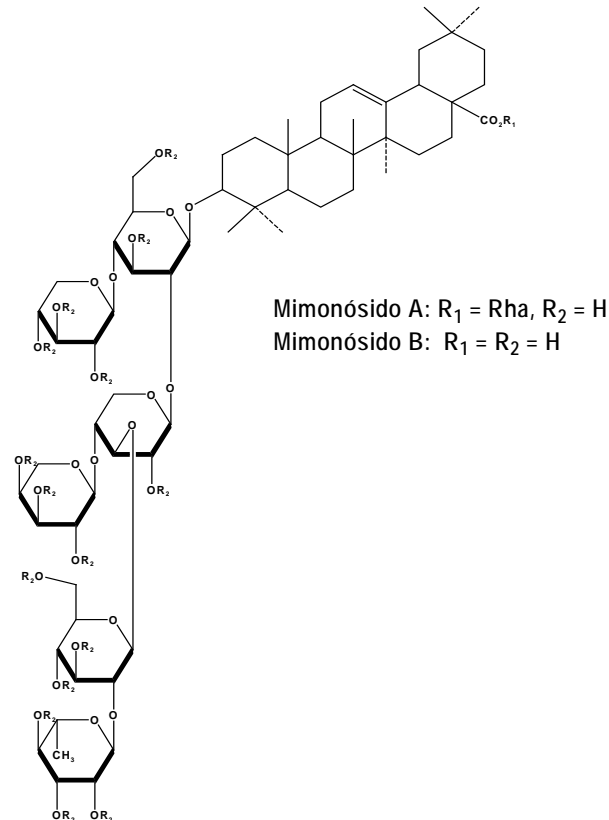


Figura 2. Saponinas triterpénicas aisladas de la corteza de *M. tenuiflora*.<sup>8</sup>

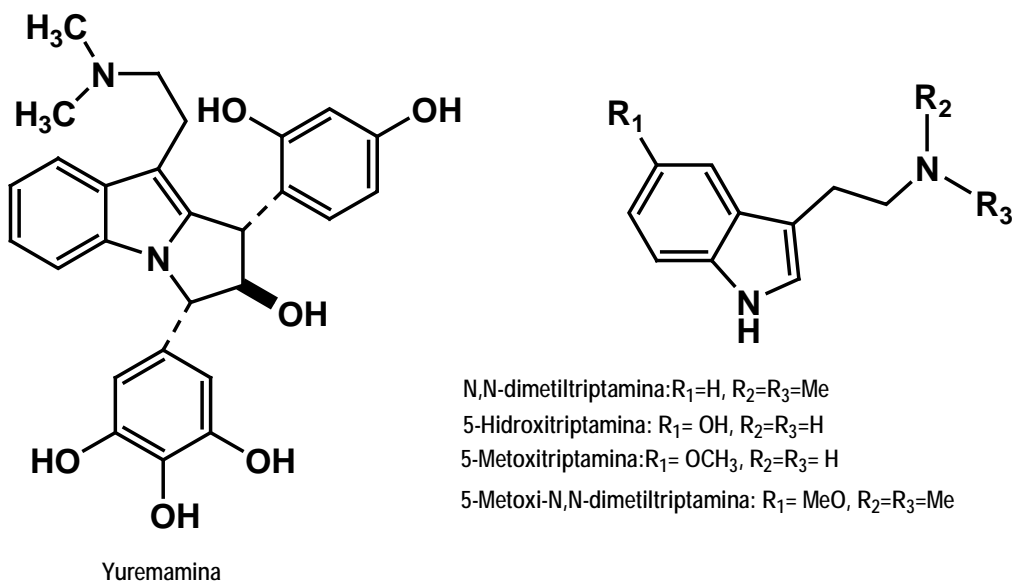
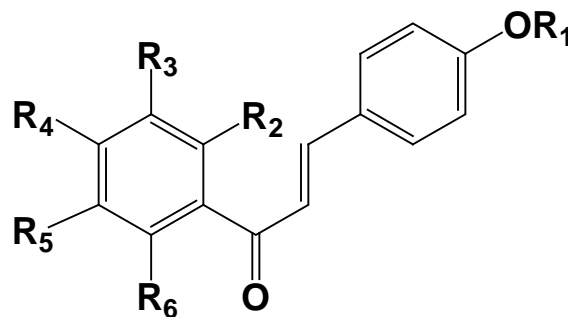


Figura 3. Alcaloides de tipo indólico identificados en la corteza de *M. tenuiflora*.<sup>3</sup>

La composición química de las partes aéreas de *M. tenuiflora* depende de las condiciones edáficas del lugar donde fue recolectada la planta, y de los distintos ejemplares estudiados se han aislado chalconas<sup>4,6</sup> (figura 4), fenoxicromonas<sup>5</sup> (figura 5), flavonas<sup>6</sup> (figura 5), flavanonas<sup>6</sup> (figura 5) y ramnósidos de diterpenos<sup>6,9</sup> (figura 6),



Isoliquiritigenina:  $R_1=OCH_3$ ,  $R_2=R_3=R_4=H$ ,  $R_6=OH$   
 Kukulkanina A:  $R_5=R_6=H$ ,  $R_2=R_4=OH$ ,  $R_1=R_3=OMe$   
 Kukulkanina B:  $R_5=R_6=H$ ,  $R_1=R_2=R_4=OH$ ,  $R_3=OMe$   
 2',6'-Dihidroxi-4,4'-dimetoxichalcona:  $R_1=R_4=OCH_3$ ,  $R_2=R_6=OH$ ,  $R_3=R_5=H$   
 2',4'-Dihidroxi-4-metoxichalcona:  $R_1=OCH_3$ ,  $R_2=R_4=OH$ ,  $R_3=R_5=R_6=H$   
 2',4,5'-Trihidroxichalcona:  $R_1=R_2=R_5=OH$ ,  $R_3=R_4=R_6=H$

Figura 4. Chalconas aisladas de las partes aéreas de *M. tenuiflora*.<sup>4,6</sup>

Las kukulkaninas A y B son chalconas que únicamente han sido aisladas de un espécimen recolectado en el estado de Chiapas,<sup>4</sup> mientras que isoliquiritigenina, 2',6'-dihidroxi-4,4'-dimetoxichalcona, 2',4'-dihidroxi-4-metoxichalcona y 2',4,5'-trihidroxichalcona, son chalconas que se aislaron de un espécimen recolectado en Sao Paulo, Brasil.<sup>6</sup>

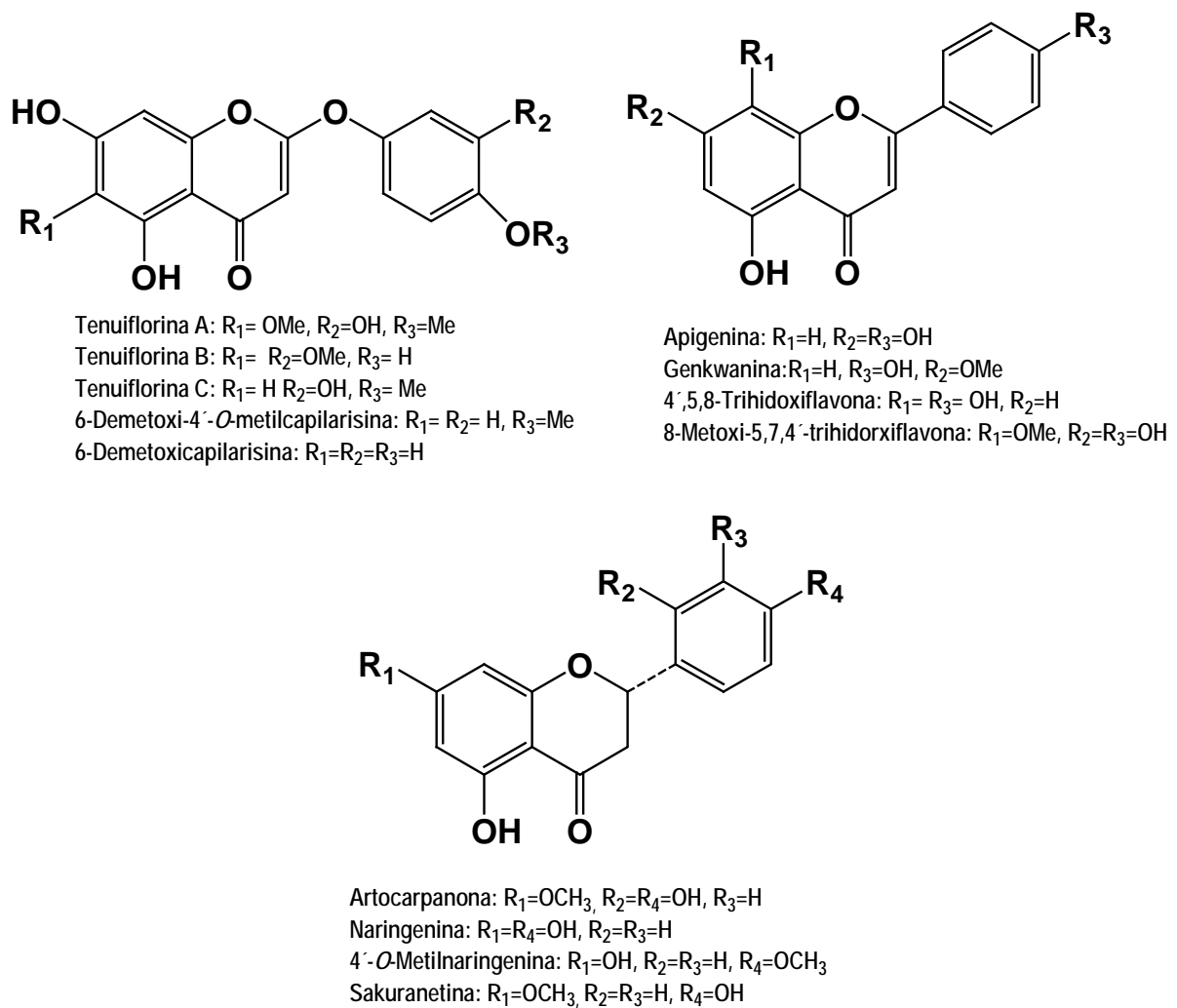
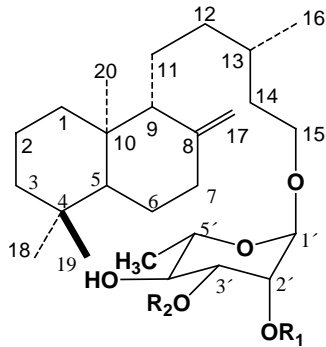


Figura 5. Fenoxicromonas, flavonas y flavanonas aisladas de las partes aéreas de *M. tenuiflora*.<sup>5, 6</sup>

Las fenoxicromonas, por su parte sólo han sido aisladas de un espécimen de *M. tenuiflora* recolectado en el estado de Oaxaca.<sup>5</sup> Las flavonas y flavanonas que se muestran en la figura 5 fueron aisladas del espécimen de Brasil.<sup>6</sup>

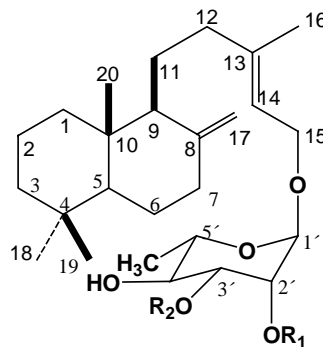
Los ramnósidos de diterpenos se han aislado de especímenes recolectados en Brasil y el estado de Oaxaca en México; las diferencias estructurales de los ramnósidos aislados en ejemplares de *M. tenuiflora* recolectados en Brasil y Oaxaca se muestran en la figura 6 y son las siguientes: los ramnósidos aislados de la especie recolectada en Brasil, tienen una doble ligadura entre los carbonos 8 y 17, también tienen una configuración *S* en el

carbono 13;<sup>6,10</sup> los ramnósidos aislados de la población recolectada en Oaxaca tienen una doble ligadura entre los carbonos 13 y 14 con geometría *E* y tienen una doble ligadura entre los carbonos 8 y 17 (Ramnomimósidos A, C y E) o una doble ligadura entre los carbonos 7 y 8 (Ramnomimósidos B, D y F).<sup>9</sup>



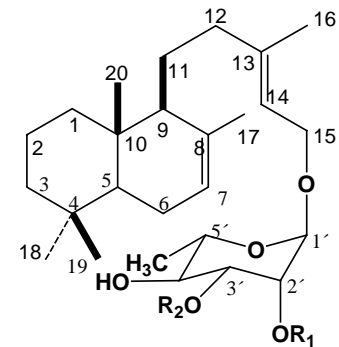
Mimosásido A:  $R_1=R_2=H$   
 Mimosásido B:  $R_1=Ac, R_2=H$   
 Mimosásido C:  $R_1=R_2=Ac$   
 15-*O*-(3'-*O*-Acetil)- $\alpha$ -L-ramnopiranosido  
 de *ent*-8(17)-*labdeno*:  $R_2=Ac, R_1=H$

*M. tenuiflora* (Especimen recolectado  
 en Brasil)



Ramnomimósido A:  $R_1=R_2=H$   
 Ramnomimósido C:  $R_1=Ac, R_2=H$   
 Ramnomimósido E:  $R_1=H, R_2=Ac$

*M. tenuiflora* (Especimen recolectado en Oaxaca)



Ramnomimósido B:  $R_1=R_2=H$   
 Ramnomimósido D:  $R_1=Ac, R_2=H$   
 Ramnomimósido F:  $R_1=H, R_2=Ac$

Figura 6. Glicósidos de diterpenos aislados de las partes aéreas de *M. tenuiflora*.<sup>6, 9-10</sup>

## Flavonoides

### Generalidades

Los flavonoides son un grupo de compuestos de origen natural y presentan un amplio rango de coloraciones que van del color blanco, rojo y hasta el azul.<sup>24</sup> Los flavonoides se encuentran en todas las plantas y le confieren pigmentación a hojas, flores y frutos, rara vez son encontrados en hongos y hasta ahora no han sido reportados en bacterias.<sup>24</sup> Los compuestos de tipo flavonoide en las plantas tienen funciones que van más allá de la simple pigmentación; como son:

- ✓ Dar protección a las plantas de cierto tipo de radiaciones UV.<sup>25</sup>
- ✓ En el caso de las leguminosas se ha observado que la presencia de flavonas en las raíces es fundamental para que ocurra la infección por bacterias del género *Rhizobium* que son las encargadas de la fijación del nitrógeno en las plantas.<sup>26, 27</sup>
- ✓ Proteger a las plantas de bacterias, hongos e insectos.<sup>24</sup>

Los flavonoides son los metabolitos secundarios que se encuentran en mayor cantidad en las plantas,<sup>24</sup> se calcula que en la dieta humana se consume 1 gramo de flavonoides por día,<sup>24</sup> en muchos casos son los responsables del efecto terapéutico de las plantas que son usadas en la medicina tradicional<sup>24</sup> y poseen un amplio espectro de actividades biológicas en organismos ajenos a su fuente natural,<sup>24</sup> por ejemplo:

- ✓ Actividad estrogénica en mamíferos.<sup>28, 29</sup>
- ✓ Actividad antioxidante.<sup>30</sup>
- ✓ Actividad inmunomoduladora en mamíferos.<sup>31</sup>
- ✓ Actividad antiviral.<sup>32</sup>
- ✓ Actividad anticancerígena.<sup>33</sup>



### Clasificación de flavonoides

Los distintos tipos de flavonoides y la numeración de los carbonos del esqueleto fundamental se muestran en la figura 7; están clasificados de acuerdo a su origen biosintético, aunque existen otros criterios para su clasificación:<sup>24</sup>

- ✓ Si el anillo C es saturado o no.
- ✓ La funcionalización del anillo C.
- ✓ El tamaño molecular (monómeros, dímeros, oligómeros, etc).

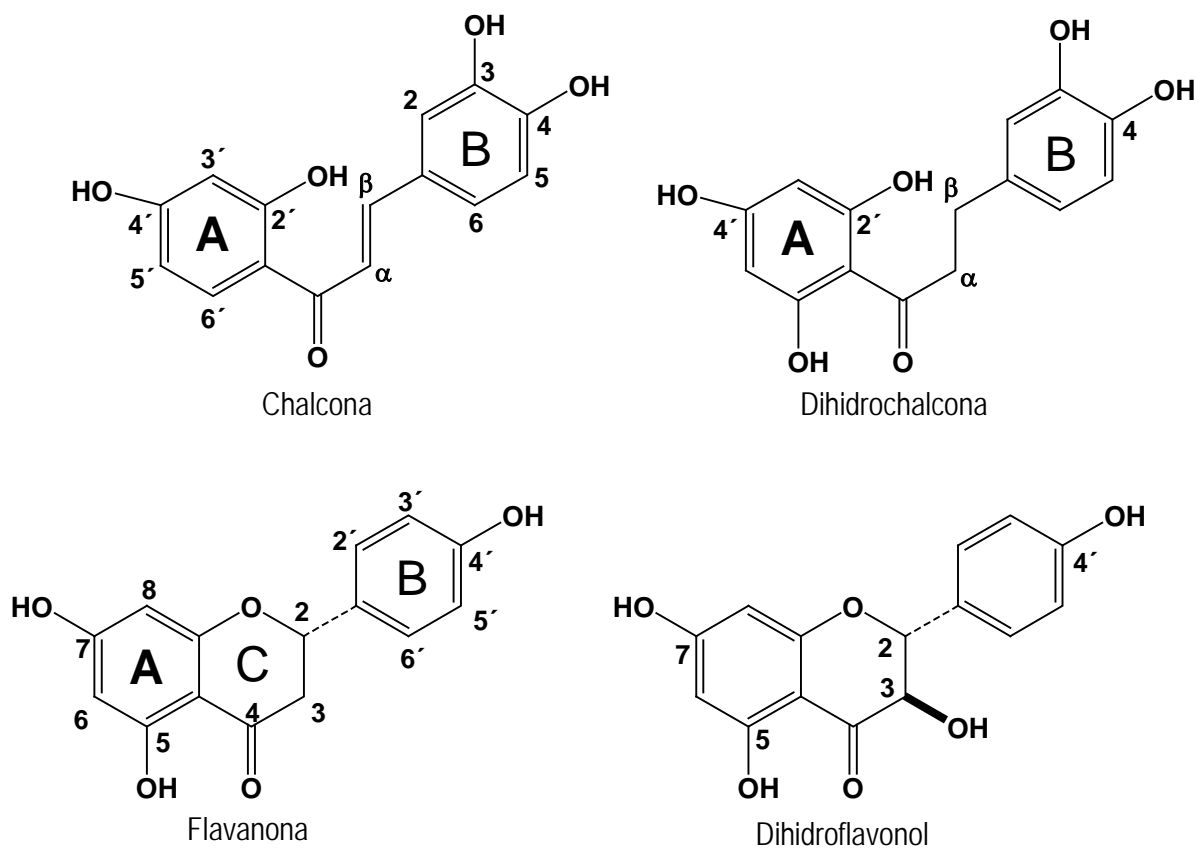


Figura 7. Esqueletos de los distintos tipos de flavonoides.<sup>24</sup>

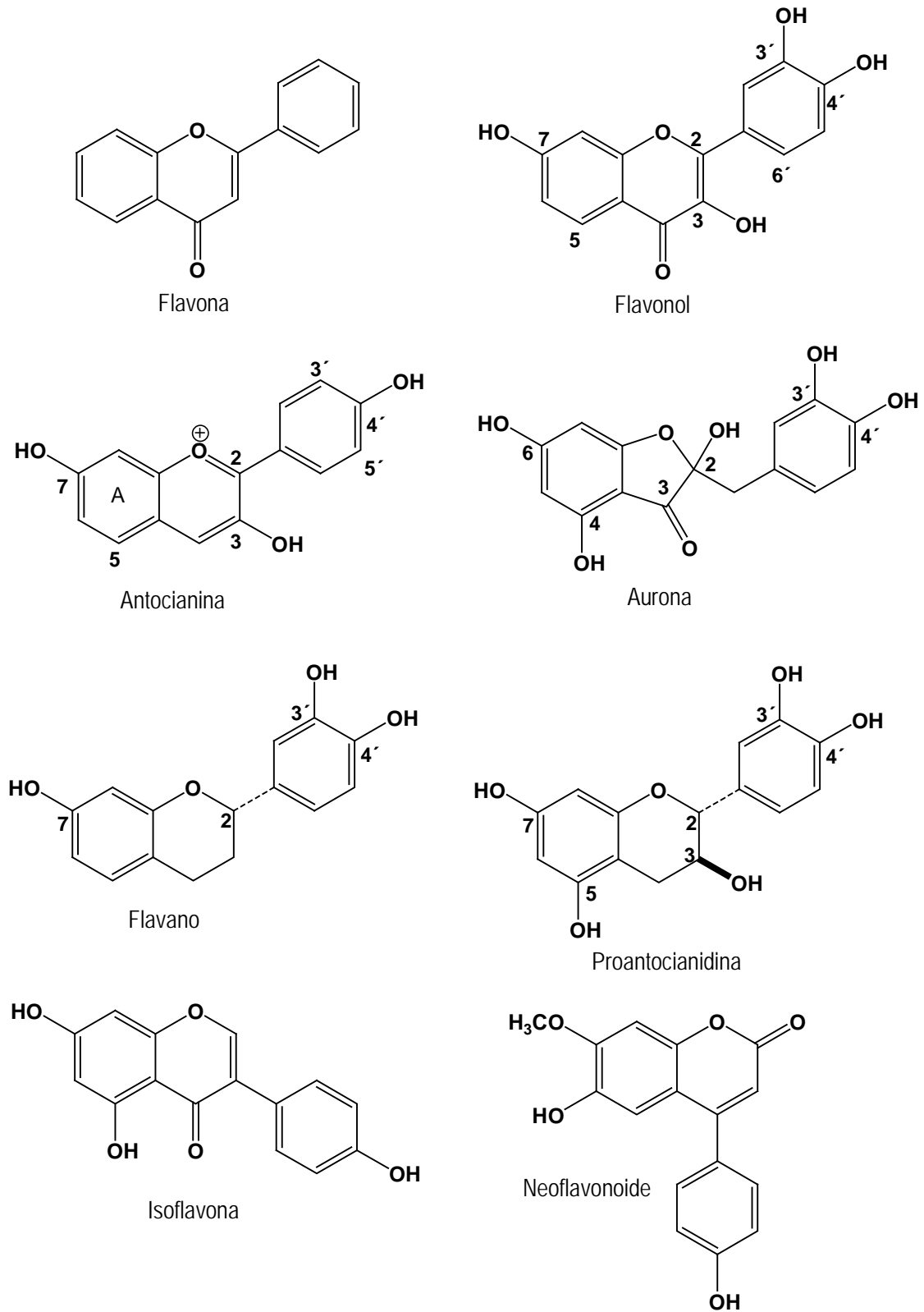


Figura 7. Esqueletos de los distintos tipos de flavonoides (continuación).<sup>24</sup>

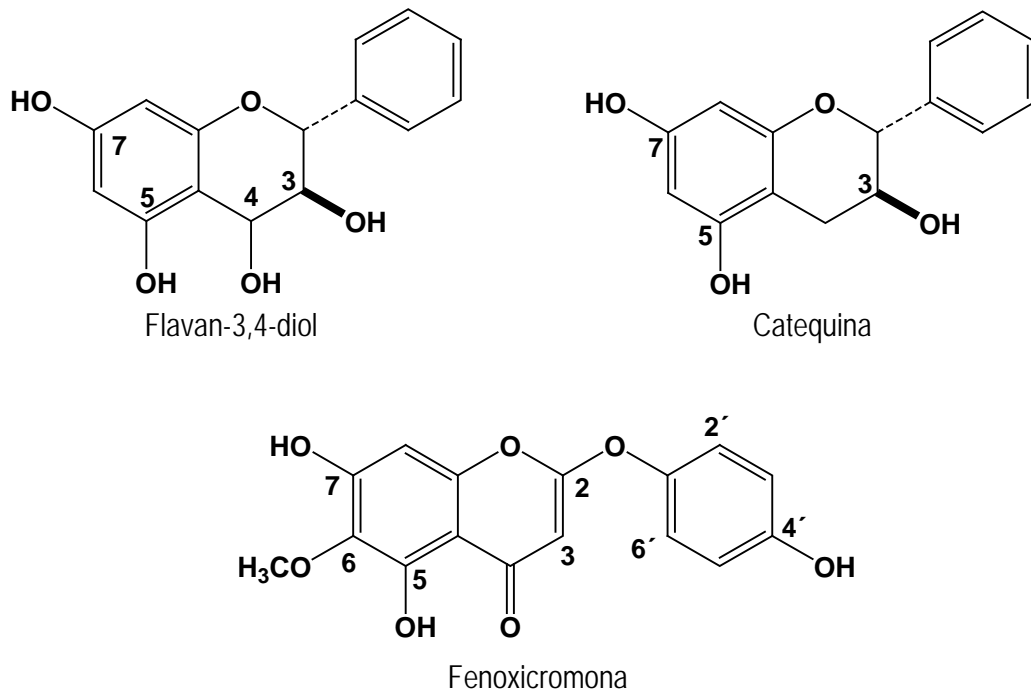


Figura 7. Esqueletos de los distintos tipos de flavonoides (continuación).<sup>24</sup>

### Biosíntesis de flavonoides

Los flavonoides son compuestos que se generan en los organismos que los contienen mediante una biosíntesis mixta; ésta inicia con una unidad de p-cumaroilCoA proveniente de la ruta del ácido shikímico; posteriormente el número de carbonos aumenta por la condensación de tres unidades de malonilCoA que es la unidad de extensión, esta parte de la biogénesis de los flavonoides corresponde a la ruta de policétidos.<sup>34</sup> El anillo A de los flavonoides se forma a través de una reacción tipo Claisen y se aromatiza por medio de reacciones de enolización; este paso es catalizado por la enzima chalcona sintasa, ya que como su nombre lo indica el producto es una chalcona.<sup>34</sup> A partir de la chalcona se originan los distintos tipos de flavonoides conocidos por medio de reacciones de adición tipo Michael, O-metilaciones, oxidaciones y reducciones principalmente.<sup>34, 35</sup> En la figura 8 se muestra la formación de algunos de los distintos flavonoides; por otra parte las fenoxicromonas están relacionadas con los flavonoides y son compuestos poco comunes en la naturaleza, los anillos A y C de su esqueleto están unidos por el anillo B a través de un átomo de oxígeno<sup>36</sup> y la hipótesis más reciente de su biosíntesis se muestra en la figura 9.<sup>37</sup>

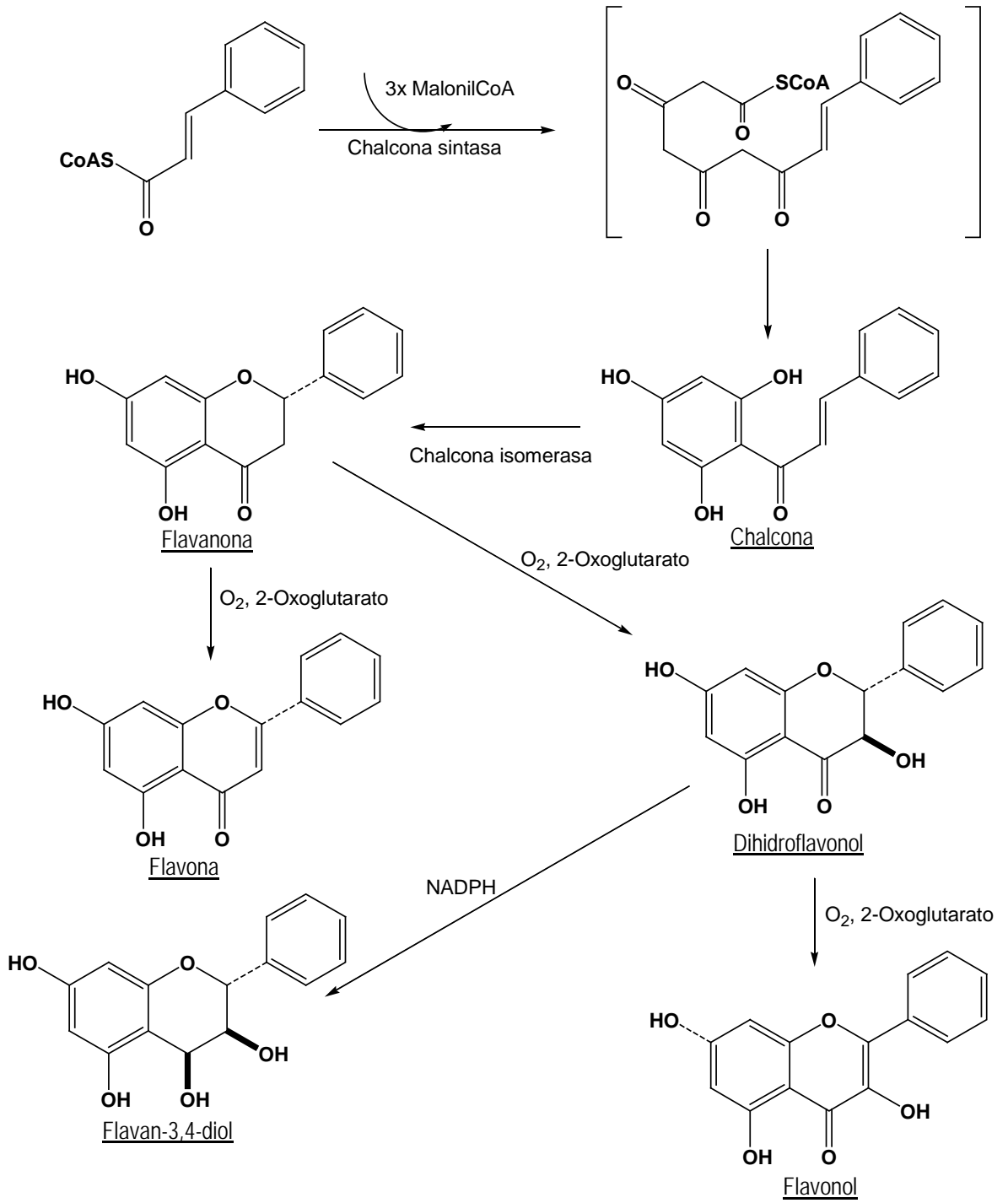


Figura 8. Biosíntesis de flavonoides.<sup>34</sup>

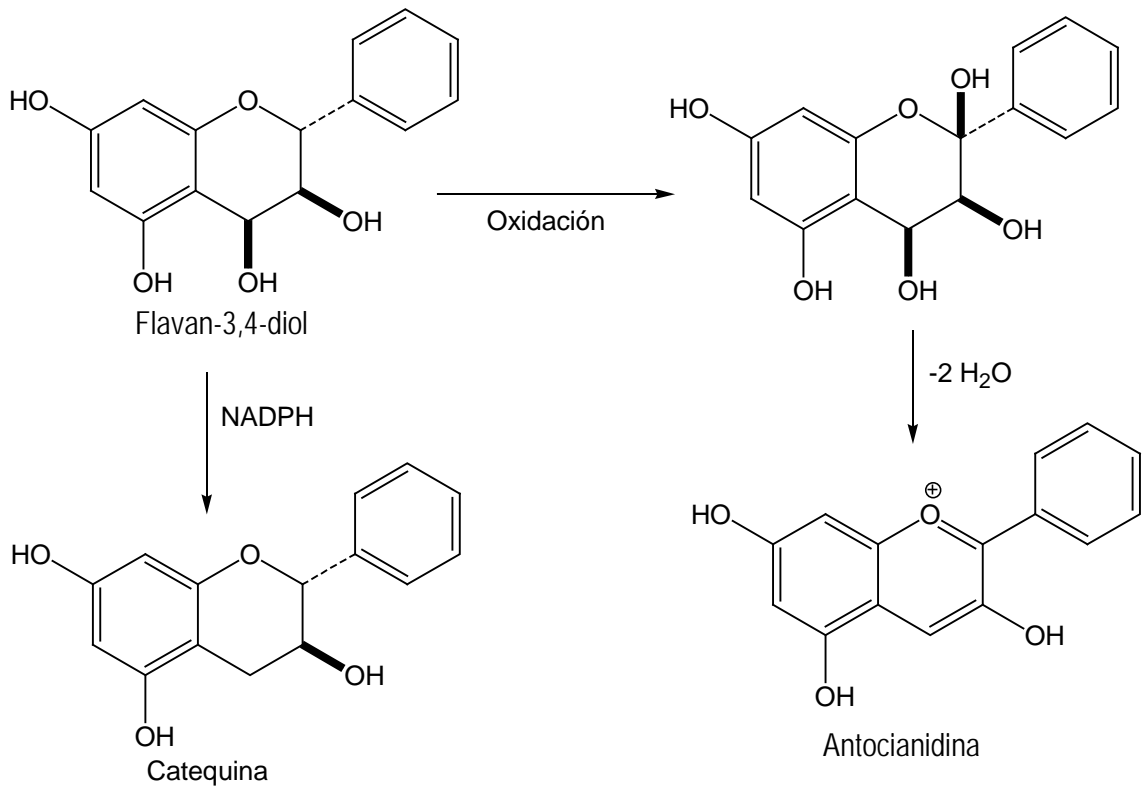


Figura 8. Biosíntesis de flavonoides (continuación).<sup>34</sup>

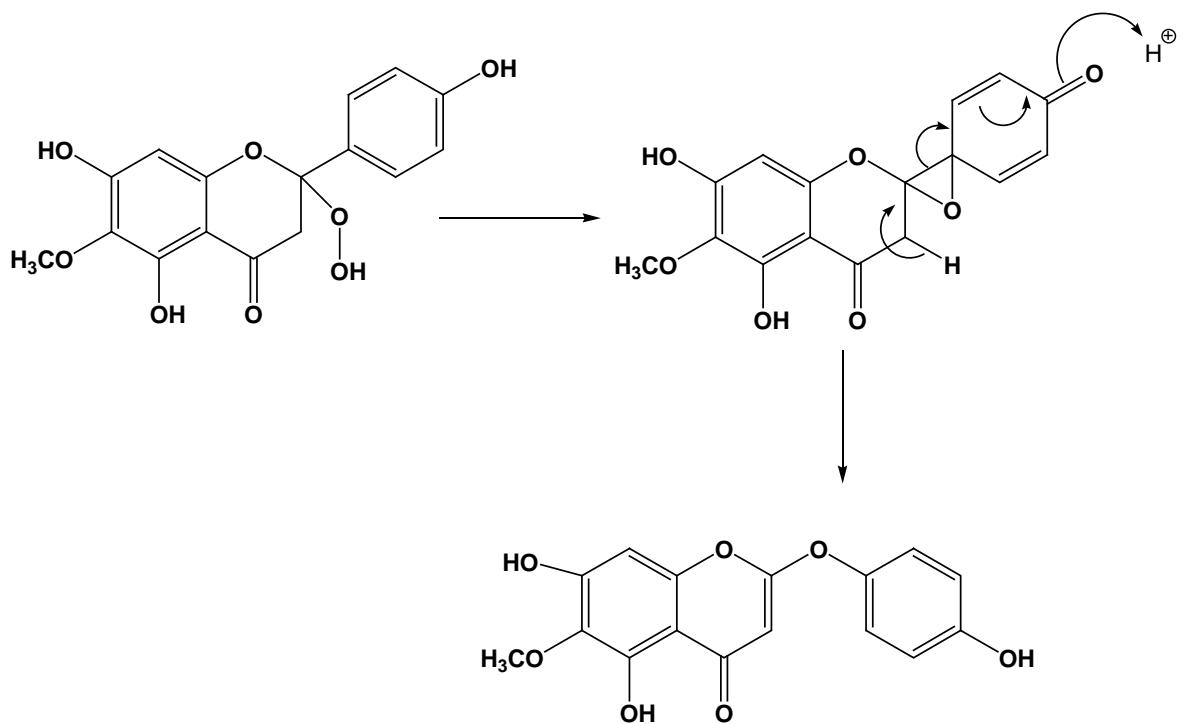


Figura 9. Mecanismo propuesto para la biosíntesis de 2-fenoxicromonas.<sup>37</sup>

## Terpenoides

### Generalidades

Los terpenoides constituyen un amplio grupo de compuestos naturales formados por unidades de isopreno; cada unidad de isopreno posee cinco átomos de carbono.<sup>34</sup> Esta clase de compuestos son biosintetizados en plantas, bacterias y algas;<sup>38</sup> algunas de las funciones que desempeñan los terpenoides en los organismos que los producen pueden ser:

- ✓ Para defenderse de depredadores y patógenos<sup>39</sup>
- ✓ Hormonales<sup>40</sup>
- ✓ Para interactuar con otros organismos (alelopatía)<sup>41</sup>

Los terpenoides también poseen un amplio espectro de actividades biológicas como son:

- ✓ Citotóxica.<sup>37</sup>
- ✓ Anti-inflamatoria.<sup>38</sup>
- ✓ Anti-oxidante.<sup>39</sup>
- ✓ Psicoactiva. <sup>40</sup>
- ✓ Antibacteriana.<sup>41</sup>

## Alcaloides

### Generalidades

Los alcaloides son compuestos nitrogenados de origen natural formados a partir de aminoácidos como la  $\alpha$ -L-fenilalanina,  $\alpha$ -L-ornitina,  $\alpha$ -L-tirosina,  $\alpha$ -L-lisina y el  $\alpha$ -L-triptofano; o por reacciones de aminación de otros sustratos como acetato de fenilalanina, de terpenoides, de esteroides, etc.<sup>34</sup> Los alcaloides son biosintetizados por microorganismos, plantas y animales; el término alcaloide se deriva de la palabra álcali, debido a las propiedades básicas que poseen.<sup>34</sup>

La actividad biológica de los alcaloides depende del tipo de amina que poseen en su estructura y que posteriormente es protonada a amina cuaternaria en el medio fisiológico,<sup>34</sup> algunos de los tipos de actividad biológica que poseen los alcaloides son:

- ✓ Antibiótica.<sup>42</sup>
- ✓ Inhibidora de la angiogénesis.<sup>43</sup>
- ✓ Depresora del sistema nervioso central.<sup>44</sup>
- ✓ Antiviral.<sup>45</sup>
- ✓ Antimalárica.<sup>46</sup>

## Ciclinas dependientes de cinasas (CDK´s)

El estado fisiológico de la célula es controlado por mecanismos de transducción que regulan el balance entre proteínas de tipo cinasa y la actividad de proteínas de tipo fosfatasa.<sup>47</sup> La familia de las cinasas está constituida por aproximadamente 518 tipos y constituyen uno de los modelos biológicos más prometedores para el desarrollo de agentes quimioterapéuticos y de nuevos fármacos. Debido a la existencia de una gran cantidad de evidencias que indican que varias cinasas funcionan de manera irregular en células cancerosas, en padecimientos neurodegenerativos como el Alzheimer o el Parkinson, y en los procesos inflamatorios; se ha llevado a cabo una búsqueda exhaustiva de inhibidores de la activación de tirosina y serina-treonina cinasas, como una propuesta prometedora para el tratamiento de varias de las enfermedades ya mencionadas.<sup>48, 49</sup>

La familia de enzimas de tipo cinasa está constituida en su gran mayoría por serina/treonina cinasas y pueden interactuar con: factores de transcripción, receptores y otras proteínas.<sup>50</sup> Se clasifican en los siguientes grupos de acuerdo al sustrato con el que interactúan.<sup>50</sup>

- ✓ AGC (Adenina Guanidina Cinasas). Considera a las enzimas dependientes de  $AMP_c$  (PKA´s) y  $GMP_c$  (PKC´s).
- ✓ CaMK . Son enzimas dependientes del complejo Calcio-Calmodulina.
- ✓ CMGC. Considera a las ciclinas dependientes de cinasas (CDK´s), cinasas activadas por mitógeno (MAP cinasas), y a las cinasas de tipo glicógeno sintasa (GSK´s).
- ✓ CK1. Son enzimas Casein-cinasas
- ✓ TKL. Son enzimas tipo tirosina cinasas.



En el presente trabajo se hace énfasis en las cinasas del grupo CMGC y CK1 debido a que los compuestos aislados fueron evaluados como inhibidores de ciclinas dependientes de cinasas (CDK5), de cinasas activadas por mitógeno (DYRK1A), de cinasas de tipo glicógeno sintasa (GSK3) y de casein-cinasas (CK1). Estas enzimas en conjunto son conocidas de manera general con el nombre común de CDK´s.

---

## PARTE EXPERIMENTAL

### Extracción

El material vegetal fue recolectado en Marzo de 2007 a 15 km del puerto de Salina Cruz a la orilla de la carretera Oaxaca-Huatulco. Posteriormente la planta fue secada a la sombra a temperatura ambiente por una semana.

Las hojas secas de *Mimosa tenuiflora* fueron molidas (1000 g) y sometidas a extracción por percolación con hexano, acetona y metanol. Se obtuvieron 58.81 g de extracto hexánico, 51.42 g del de acetona y 88.75 g del metanólico.

### Aislamiento y purificación

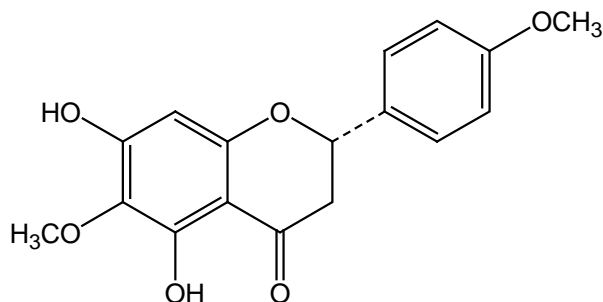
El extracto de acetona (51.42 g) fue sometido a cromatografía en columna (CC) de gel de sílice en una proporción 1:5 y se obtuvieron tres fracciones. Se eluyó con  $\text{CHCl}_3$  (Fr. **A**, 11.44 g), acetona (Fr. **B**, 36.0 g) y acetona/metanol 4:1 (Fr. **C**, 3.64 g).

La fracción **A** (11.44 g) fue sometida a CC con una proporción 1:5 de sílica gel 60 G. Se obtuvieron 12 fracciones; se eluyó con hexano/AcOEt 9:1 (**A1-A10**) y acetona (**A11-A12**).

Las fracciones **A11-A12** fueron reunidas y suspendidas en celita con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; la celita se dejó secar con vacío, posteriormente se percoló con hexano (**a**) y AcOEt (**b**). La fracción **A12b** (0.328 g) fue sometida a CC con sílice 60 G (6 cm x 2.5 cm), se eluyó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /acetona 95:5 (**fr b1**) y acetona (**fr b2**).

La fracción **A12b2** se percoló en una columna de tonsíl (arcilla decolorante) con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , y al concentrar se obtuvo el compuesto **1**, que posteriormente fue purificado por cristalización en un sistema de acetona/hexano. Se aislaron 35.7 mg.

**Compuesto 1.** pf 182-183 °C; IR(pastilla)  $\nu_{\max}$ : 3328, 1650, 1629, 1586, 1517, 1461 $\text{cm}^{-1}$ ; UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) 224nm ( $\epsilon = 8872$ ); RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 1,  $\text{CDCl}_3$ ) y  $^{13}\text{C}$  (Espectro 2,  $\text{CDCl}_3$ ) tabla 1, DC ( $\text{CH}_3\text{OH}$  c  $2.27848 \times 10^{-5}$  M)  $\Delta\epsilon$ : 18.344 (213 nm), -16.069 (290 nm), 4.574 (334 nm); EM-IE 70 eV (Espectro 3),  $m/z$ : 316  $[\text{M}]^+$  (98), 301  $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$  (8), 182  $[\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_5]^+$  (100), 167  $[\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_4]^+$  (67), 134  $[\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}]^+$  (30);  $[\alpha]^{20}_{\text{D}} = -70.6$ .



6-Metoxi-4'-O-metilnaringenina (1)

La fracción **B** del extracto acetónico (36 g) se sometió a CC de sílica gel en una proporción 1:5, usando como eluyente  $\text{CHCl}_3$  (**B1**),  $\text{CHCl}_3$ /acetona 95:5 (**B2**), acetona (**B3**) y MeOH (**B4**).

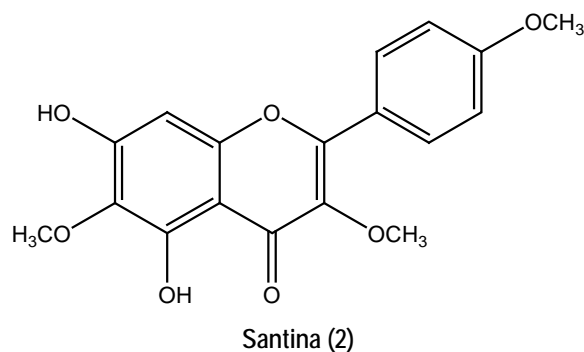
Las fracciones de **B1** y **B2** fueron reunidas para ser sometidas a CC con sílica gel 60 G (11 cm x 8.5 cm), se eluyó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (**B1B2 1-8**),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /acetona 99.5:0.5, (**B1B2 9-41**),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /acetona al 99:1 (**B1B2 42-52**),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /acetona 97:3 (**B1B2 53-59**),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /acetona 95:5 (**B1B2 60-62**),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /acetona 9:1 (**B1B2 63-65**). Las fracciones obtenidas fueron analizadas por c.c.f., y se reunieron las fracciones que mostraron una composición semejante: frs. 1-8 (**B1B2a**), 9-12 (**B1B2b**), 13-15 (**B1B2c**), 16-20 (**B1B2d**), 21(**B1B2e**), 22-25 (**B1B2f**), 26-35 (**B1B2g**), 36-43 (**B1B2h**), 44-49 (**B1B2i**), 50-54 (**B1B2j**), 55-65 (**B1B2k**).

De la fracción **B1B2d** (0.675 g) se obtuvieron 301 mg de un sólido amarillo (**2**) que fue purificado por cristalización en un sistema acetona/hexano. Las aguas madres de la cristalización fueron reunidas y percoladas sobre carbón activado con MeOH. El residuo obtenido (0.369 g) fue sometido a CC de sílica gel 60 G (5 cm x 2 cm) eluida con mezcla de hexano/AcOEt de polaridad ascendente. Se obtuvieron 48 fracciones de la siguiente forma: hexano (**d1-d3**), hexano/AcOEt 95:5 (**d4-d19**), hexano/AcOEt 9:1 (**d20-d36**), hexano/AcOEt 8:2 (**d37-d43**), hexano/AcOEt 1:1 (**d44-d46**), AcOEt (**d47-d48**).

Las fracciones **d6-d16** se reunieron con las fracciones **B1B2c** y **B1B2e** por la similitud en *r<sub>f</sub>* que mostraron los componentes de cada fracción en el análisis de c.c.f. Esta mezcla (0.698 g) fue sometida a CC con sílica gel 60 G (9 cm x 3 cm). Se obtuvieron 14 fracciones eluidas con: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (**fr 1**), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt 190:1 (**frs 2-8**), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt 99:1 (**frs 9-11**), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt 97:3 (**fr 12**) y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt 4:1 (**frs 13-14**).

De las fracciones **2-3** de esta última cromatografía se obtuvieron 16 mg del compuesto **1** y de las fracciones **4-11** se obtuvieron 74 mg del compuesto **2**.

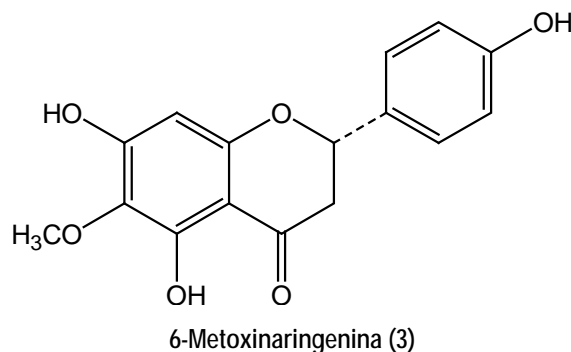
**Compuesto 2.** *mp* 161-163 °C; IR (pastilla)  $\nu_{\max}$ : 3380, 2937, 1653, 1608, 1558, 1469 cm<sup>-1</sup>; UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) 215, 271, 336 nm; RMN <sup>1</sup>H (Espectro 5, DMSO) y <sup>13</sup>C (Espectro 6, DMSO) tabla 2; EM-IE 70 eV (Espectro 6), *m/z*: 344 [M]<sup>+</sup> (100), 329 [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (38), 301 [M-CH<sub>3</sub>-CO]<sup>+</sup> (27), 283 [C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>O<sub>5</sub>]<sup>+</sup>.



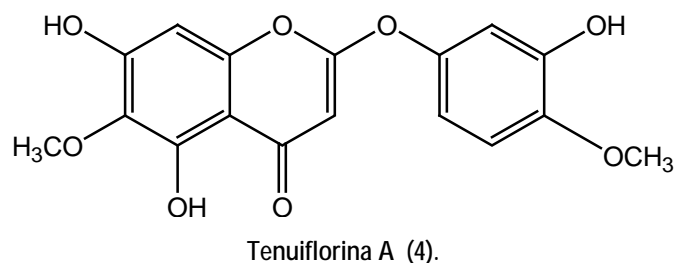
La fracción **B1B2f** (1.213 g) fue sometida a CC (9 cm x 3.5 cm). Se obtuvieron 18 fracciones y fueron eluidas con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (**f1-f13**), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt 190:1 (**f14-f16**) y acetona (**f17-f18**).

Las fracciones **f6-f16** fueron reunidas por el resultado del análisis de c.c.f y se les realizó una nueva CC (7.5 cm x 2.5cm), eluida con hexano/AcOEt/MeOH 90:10:0.5, de donde se obtuvieron 7 fracciones, de las fracciones 4-6 de esta cromatografía se obtuvo una mezcla de los compuestos **3** y **4**, mismos que fueron separados por su diferencia de solubilidad en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> debido a que el compuesto **4** es muy soluble en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y posteriormente fueron cristalizados en un sistema AcOEt/hexano; se obtuvieron 89 mg del compuesto **3** y 80 mg del compuesto **4**.

**Compuesto 3.** pf 215-217 °C; IR (pastilla)  $\nu_{\max}$ : 3510, 3301, 2946, 1637, 1600, 1516  $\text{cm}^{-1}$ ; UV  $\lambda_{\max}$ : 212, 291 nm; RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 9,  $\text{CDCl}_3$ ) y  $^{13}\text{C}$  (Espectro 10,  $\text{CDCl}_3$ ) tabla 1; DC ( $\text{CH}_3\text{OH}$ , c  $2.98013 \times 10^{-5}$  M)  $\Delta\epsilon$ : 10.356 (215), -8.589 (291), 2.698 (334); EM-IE 70 eV (Espectro 9),  $m/z$ : 302  $[\text{M}]^+$  (100), 182  $[\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_5]^+$  (83), 167  $[\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_4]^+$  (68).



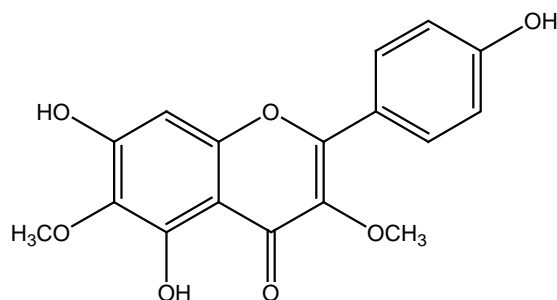
**Compuesto 4.** pf 186-188 °C; IR (pastilla)  $\nu_{\max}$ : 3506, 1662, 1620, 1576, 1494  $\text{cm}^{-1}$ ; UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH): 234 nm, 292 nm; RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 13,  $\text{CDCl}_3$ -DMSO) y  $^{13}\text{C}$  (Espectro 14,  $\text{CDCl}_3$ -DMSO) tabla 3; EM-IE 70 eV (Espectro 11),  $m/z$ : 346  $[\text{M}]^+$  (100), 331  $[\text{M}-\text{CH}_3]$  (45), 328  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$  (27), 303  $[\text{M}-\text{CH}_3-\text{CO}]^+$ .



Las aguas madres de la cristalización de los compuestos 3 y 4 fueron reunidas y sometidas a CC (2 cm x 10 cm), obteniendo 35 fracciones. La columna fue eluida con hexano/AcOEt/MeOH 70:30:2 (1-8), hexano/AcOEt/MeOH 70:30:3 (9-23), hexano/AcOEt/MeOH 50:50:3 (24-31) y hexano/AcOEt/MeOH 50:50:10 (32-35). De las fracciones 17-21 se aisló el compuesto 3 y de las fracciones 23-27 el compuesto 4. Después de cristalizar los compuestos 3 y 4 en un sistema AcOEt/hexano se obtuvieron 44 mg de 3 y 96 mg de 4.

De la fracción **B1B2g** (2.048 g) se obtuvo un sólido, el cual fue separado y disuelto en AcOEt; se cristalizó en un sistema AcOEt/hexano; de donde se aislaron 65 mg del compuesto **5**.

**Compuesto 5.** pf 230-233 °C; IR (pastilla)  $\nu_{\max}$ : 3513, 3111, 1659, 1605, 1566, 1477  $\text{cm}^{-1}$ ; UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH): 214, 271, 314 nm; RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 17, DMSO) y  $^{13}\text{C}$  (Espectro 18, DMSO) tabla 2; EM-IE 70 eV (Espectro 14), 330  $[\text{M}]^+$  (100), 315  $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$  (40), 287  $[\text{M}-\text{CH}_3\text{CO}]^+$  (22).

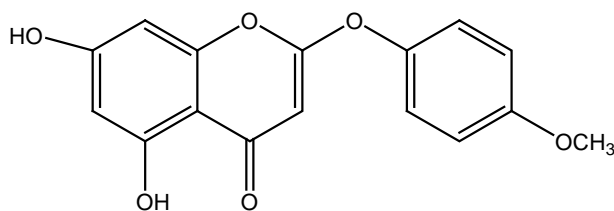


4', 5, 7-trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona (**5**)

El filtrado de la fracción **B1B2g** fue llevado a sequedad y sometido a CC flash con sílica gel 70-230 (15.5 cm x 3 cm), se obtuvieron 50 fracciones; la columna fue eluida con hexano/AcOEt/MeOH 80:20:1.5 (**g1-g33**), hexano/AcOEt/MeOH 70:30:1.5 (**g34-g43**), hexano/AcOEt/MeOH 70:30:5 (**g44-g46**) y AcOEt (**g47-g50**). Las fracciones obtenidas de esta cromatografía fueron reunidas de acuerdo al análisis de c.c.f. de la siguiente forma: **g1-g7**, **g8-g24**, **g25-g34**, **g35-g46**, **g47-g50**.

La fracción **g8-g24** fue triturada y lavada con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y del sólido resultante se aisló el compuesto **6** con un rendimiento de 18 mg.

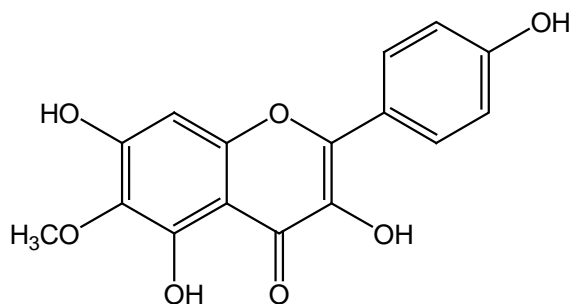
**Compuesto 6.** pf 235-238 °C, UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH): 227, 254, 285 nm; IR  $\nu_{\max}$ : 3500, 2900, 1680, 1630  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 21,  $\text{CDCl}_3$ -DMSO) y  $^{13}\text{C}$  (Espectro 22,  $\text{CDCl}_3$ -DMSO), tabla 3; EM-IE 70 eV  $m/z$ : 300  $[\text{M}]^+$  (100), 148 (55), 120 (25), 92 (16), 77 (19).



6-Desmetoxi-4'-O-metilcapilarisina (6).

En la fracción **g25-g34** se obtuvo una mezcla de los compuestos **4** y **7**; esta mezcla fue lavada con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; el lavado concentrado a sequedad y cristalizado de AcOEt/hexano; de donde se obtuvieron 22 mg del compuesto **4**. Del residuo que resultó insoluble al lavar con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  se obtuvo el compuesto **7** y fue cristalizado en un sistema AcOEt/hexano. Se aisló con un rendimiento de 46 mg.

**Compuesto 7.** pf 278-280 °C; UV  $\lambda_{\text{max}}$  (MeOH): 268, 340 nm; RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 23, DMSO) y  $^{13}\text{C}$  (Espectro 24, DMSO) tabla 2; EM-IE 70 eV,  $m/z$ : 316  $[\text{M}]^+$  (100), 298  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$  (30), 273  $[\text{M}-\text{CH}_3\text{CO}]^+$  (71).



6-Metoxikaempferol (7)

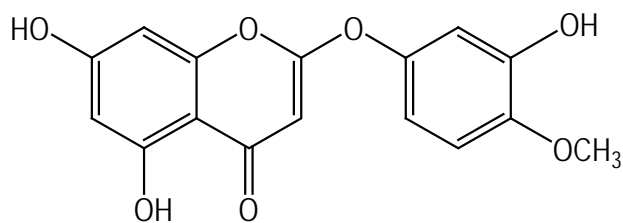
En las fracciones **g35-g46** cristalizó un sólido blanco, los cristales fueron lavados con AcOEt/hexano y filtrados, obteniendo 125 mg del compuesto **4**.

La fracción **B1B2h** (2.9 g) fue lavada con AcOEt, el residuo fue disuelto en AcOEt hirviendo y cristalizado en un sistema AcOEt/hexano, de donde se obtuvieron 980 mg del compuesto **5**. Las aguas madres de la cristalización fueron reunidas con el lavado de AcOEt, se les sometió a c.c. (5.5 cm x 3.5 cm). Se obtuvieron 18 fracciones con el siguiente gradiente:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (**h1-h4**),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /acetona 95:5 (**h5-h13**),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /acetona 9:1

(h14-h17) y acetona (h18). De las fracciones h7-h8 se aislaron 277 mg más del compuesto 7.

En la fracción B1B2i se formó un sólido blanco, se filtró y se lavó con AcOEt de donde se obtuvo el compuesto 8 (69 mg). El filtrado (1.279 g) fue sometido a CC de sílica gel (7 cm x 4 cm). Se obtuvieron 55 fracciones de la columna que fue eluida con hexano/AcOEt/MeOH 80:20:1 (i1-i8), hexano/AcOEt/MeOH 75:25:1 (i9-i40), hexano/AcOEt/MeOH 75:25:2 (i41-i48), hexano/AcOEt/MeOH 75:25:5 (i49-i50), hexano/AcOEt/MeOH 75:25:10 (i51-i55). De las fracciones i12-i13 se obtuvieron 10 mg del compuesto 6. En las fracciones i21-i34 se obtuvieron 279 mg del compuesto 5 y de las fracciones i38-i55 fueron aislados 37 mg del compuesto 8.

**Compuesto 8.** pf 285-287 °C, IR (pastilla)  $\nu_{\max}$ : 3430, 3098, 1656, 1624, 1591, 1567, 1503  $\text{cm}^{-1}$ ; UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH): 231 nm ( $\epsilon = 29512$ ), 288 nm ( $\epsilon = 14791$ ); RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 26, DMSO) y  $^{13}\text{C}$  (Espectro 27,  $\text{CDCl}_3$ -DMSO), tabla 3; EM-IE 70 eV (Espectro 19),  $m/z$ : 316 $[\text{M}]^+$  (100), 301 (1), 287 (4), 273 (2), 245 (2), 195 (5), 164 (22), 153 (28), 149 (8).



Tenuiflorina C (8).



## Actividad biológica

Los ensayos fueron realizados en el laboratorio de ciclo celular a cargo del Dr. Laurent Meijer en la Estación Biológica de Roscoff (Francia) adscrita al Centro Nacional de la Investigación Científica (CNRS).

El ensayo de inhibición de CDK's consiste en usar reguladores del ciclo celular purificados como dianas moleculares y se emplea p34<sup>CDC2</sup>/ciclina B<sup>CDC13</sup>, purificada por cromatografía de afinidad en p9<sup>CKShs</sup>-sefarosa.

La actividad enzimática se ensayó en un buffer tris-HCl a pH 7.5, a una temperatura de 30 °C y se ajustó a una concentración de ATP<sup>32P</sup> de 15 μM en presencia del inhibidor potencial disuelto en 1 % de DMSO e histona H1, con un volumen final de 30 μL (figura 10). Después de 30 minutos de incubación, se tomó una alícuota de 25 μL y se filtró sobre papel de fosfocelulosa Whatman P81, 20 segundos después de la filtración, se lavó el filtrado cinco veces con una disolución de ácido fosfórico en agua al 1 %. Finalmente los papeles con el filtrado se impregnaron con 1 ml de fluido de centelleo para realizar la cuantificación de la inhibición enzimática en un contador de centelleo.

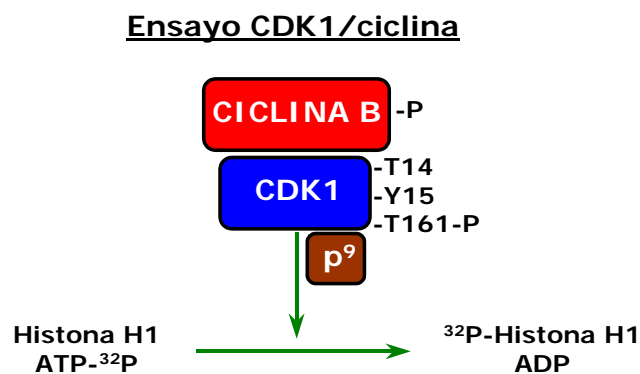


Figura 10. Modelo de búsqueda de inhibidores de ciclinas dependientes de cinasas.

## Material y equipo utilizado

Para realizar el aislamiento por cromatografía en columna se empleó sílica gel Merck 60 G de fase normal y celita como adsorbentes. El punto de fusión se tomó en un aparato Fisher-Johns. Se empleó como revelador sulfato cérico al 3 % en ácido sulfúrico 2N y/o lámpara de UV Spectroline modelo CX-20 a 254 y 366 nm. Los espectros de infrarrojo fueron obtenidos en un equipo Perkin Elmer 343 (película). Los espectros de ultravioleta fueron obtenidos en un aparato Shimadzu UV 160 U empleando MeOH como disolvente. Las curvas de dicroísmo circular se obtuvieron de un espectropolarímetro Jasco Modelo J720 empleando MeOH como disolvente.

Los espectros de masas se determinaron utilizando la técnica de impacto electrónico a 70 eV en un espectrómetro JEOL JMS-AX505HA (baja resolución). Los espectros de RMN:  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT, COSY, HMBC, HSQC, NOESY fueron obtenidos en un equipo Varian Unity Inova 500 MHz, empleando  $\text{CDCl}_3$  y DMSO como disolventes y/o en un equipo Eclipse JEOL 300 MHz.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el estudio fitoquímico de las partes aéreas de *Mimosa tenuiflora* se aislaron 8 compuestos de tipo flavonoide, de tres diferentes clases: dos flavanonas, tres flavonoles y tres fenoxicromonas.

### Flavanonas

Las flavanonas se caracterizan por no tener doble ligadura entre los carbonos 2 y 3 del esqueleto básico. La flavanona **1** fue aislada por cromatografías en columna sucesivas y purificada por cristalización en un sistema acetona/hexano. Se obtuvieron cristales blancos con un rendimiento del 0.0036 % (35.7 mg); su estructura fue determinada por RMN mono y bidimensional.

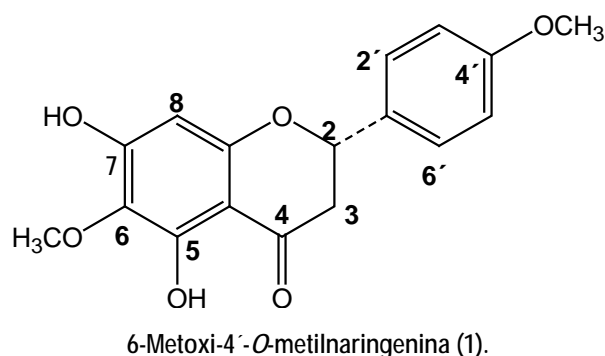
El espectro de masas de **1** (Espectro 4) presenta un ión molecular  $m/z$  316 que es consistente con la fórmula molecular  $C_{17}H_{16}O_6$ , la cual es apoyada por la presencia de 15 señales en el espectro de RMN  $^{13}C$  (Espectro 2).

En el espectro de RMN  $^1H$  (Espectro 1) se observa un sistema ABX, característico de los protones H2, H3 y H3' de las flavanonas con  $\delta = 5.35$  (dd,  $J_{2,3} = 13.0$  y  $J_{2,3'} = 3.0$ ), 3.10 (dd,  $J_{3,3'} = 17.0$ ,  $J_{2,3} = 13.0$ ) y 2.79 ppm (dd,  $J_{3,3'} = 17.0$ ,  $J_{2,3'} = 3.0$ ). La  $J_{2,3'} = 13$  Hz indica una relación *trans* entre H2 y H3, en tanto que la  $J_{2,3} = 3.0$  Hz revela una relación *cis* de H2 y H3'. En el espectro se observan dos dobletes ( $J = 9.0$ ) que integran para dos protones cada uno y se atribuyen a H2', H6' ( $\delta = 7.38$ ) y a H3', H5' ( $\delta = 6.95$ ) de un anillo aromático 1',4'-disustituido (anillo B). El sustituyente en C4' es un grupo metoxilo cuya señal aparece en  $\delta = 3.84$  ppm y correlaciona con C4' ( $\delta = 160.1$  ppm) en el espectro HMBC.

El espectro de RMN  $^1H$  (Espectro 1) muestra 4 señales adicionales. La primera ( $\delta = 6.11$ , s) se atribuye a H8 por su desplazamiento químico y por las correlaciones con

C9 y C10, observadas en el espectro HMBC (Espectro 3). Las señales en  $\delta = 12.19$  y  $6.50$  ppm corresponden a protones fenólicos. La señal en  $\delta = 12.19$  ppm corresponde a un fenol quelatado y es característica de flavonoides con hidroxilo en C5, mientras que la señal que aparece en  $\delta = 6.52$  ppm se asignó al hidroxilo en C7 por las correlaciones con C7 y C8, que mostró en el espectro HMBC (Espectro 3). La señal en  $\delta = 3.95$  ppm (3H) corresponde a un segundo grupo metoxilo que se asignó en C6 ( $\delta = 128.3$ ) por que correlaciona con este carbono en el espectro HMBC (Espectro 3).

De lo anterior se dedujo que la estructura del compuesto **1** corresponde a la de la 6-metoxi-4'-*O*-metilnaringenina, flavanona aislada previamente de *Chromolaena odorata*<sup>52</sup> y cuya configuración absoluta en C2 fue determinada como *S*, debido a que mostró una  $[\alpha]_D^{20} -70.6^\circ$  ya que se ha establecido que las flavanonas levorrotatorias poseen esta configuración.<sup>53</sup>



El compuesto **3** fue aislado por cromatografías sucesivas realizadas al extracto de acetona y fue purificado por cristalización en un sistema AcOEt/hexano; se aisló con un rendimiento del 0.013 % (132.4 mg). El espectro de masas de **3** (Espectro 12) muestra un ión molecular  $m/z$  302 que corresponde con una fórmula molecular  $C_{16}H_{14}O_6$  y difiere con **1** por la ausencia de un grupo metoxilo, la señal de este grupo en el espectro de RMN  $^1H$  (Espectro 9) tiene un  $\delta = 3.87$  ppm (3H) y se asignó a C6 ( $\delta = 128.4$  ppm) por la correlación observada con este carbono en el espectro HMBC (Espectro 11).

Debido a lo anterior y a la comparación de los datos espectroscópicos de RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 9) del compuesto **3** con los reportados en la literatura,<sup>54</sup> se identificó a **3** como la 6-metoxi-naringenina en donde se observa igualdad en las señales descritas, corroborando así su estructura .

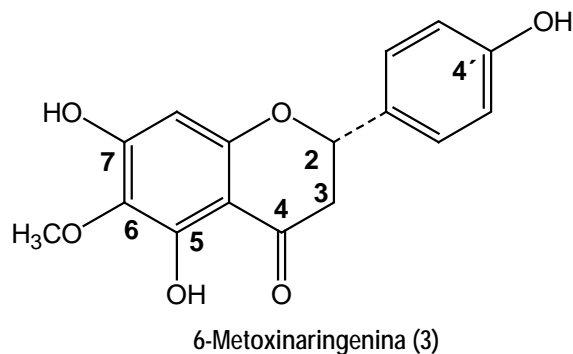


Tabla 1. Datos de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de los compuestos 1 y 3.

C	6-Metoxi-4'- <i>O</i> -metilnaringenina (1) <sup>a</sup>		6- <i>O</i> -Metilnaringenina (3) <sup>b</sup>	
	$^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), m, J (Hz)	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)	$^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), m, J (Hz)	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
2	5.35 dd (13.0, 3.0)	79.1	5.29 dd (13.2, 3.0)	78.7
3	$\alpha$ 3.10 dd (17.0, 13.0)	43.2	3.08 dd (17.1, 13.2)	42.7
	$\beta$ 2.79 dd (17.0, 3.0)		2.74 dd (17.1, 3.0)	
4	-----	196.8	-----	196.3
5	-----	154.3	-----	154.5
6	-----	128.3	-----	128.4
7	-----	157.4	-----	158.1
8	6.11s	94.6	6.08 s	94.6
9	-----	158.7	-----	158.2
10	-----	103.1	-----	102.3
1'	-----	130.4	-----	128.7
2'	7.38 d (9.0)	127.7	7.27 d (8.4)	127.3
3'	6.95 d (9.0)	114.2	6.89 d (8.4)	115.3
4'	-----	160.1	-----	157.3
5'	6.95 d (9.0)	114.2	6.89 d (8.4)	115.3
6'	7.38 d (9.0)	127.7	7.27 d (8.4)	127.3
5-OH	12.19 s	-----	12.17 s	-----
7-OH	6.52 s	-----	-----	-----
6-OCH <sub>3</sub>	3.95 s	61.0	3.87 s	60.3
4'OCH <sub>3</sub>	3.84 s	55.4	-----	-----

<sup>a</sup>Determinado en CDCl<sub>3</sub> a 500 MHz/125 MHz

<sup>b</sup>Determinado en CDCl<sub>3</sub> a 300 MHz/75 MHz.

## Flavonoles

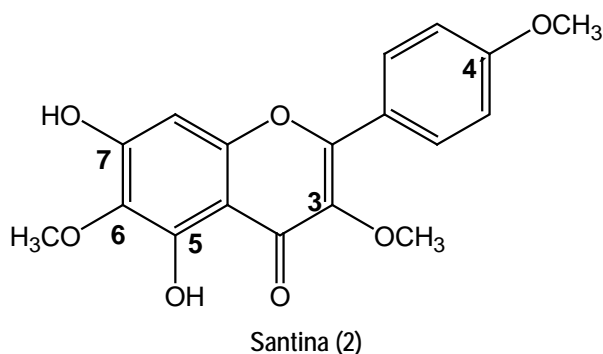
Las flavonoles poseen una doble ligadura entre los carbonos 2,3 y un grupo hidroxilo, metoxilo u *O*-glicósido en el carbono 3 del esqueleto básico; en el presente estudio fitoquímico fueron aislados tres flavonoles identificados como santina (**2**), la 4',5,7-trihidroxi-3,6-dimetoxi-flavona (**5**) y el 6-metoxi-kaempferol (**7**)

El flavonol **2**, se aisló con un rendimiento del 0.038 % (375.2 mg), sus datos espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se muestran en la tabla 2. En su espectro de EM-IE (Espectro 8) se observa un ión molecular con  $m/z$  344, que corresponde con una fórmula molecular  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$  y es sustentada por la presencia de 15 señales en el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Espectro 6).

El espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **2** (Espectro 5) muestra un singulete en  $\delta = 12.71$  ppm, mismo que fue asignado al protón fenólico en C5, cuyo  $\delta$  es característico de flavonoides con un grupo fenol en C5; en 6.55 ppm (1H) se observa un singulete asignado al protón en C8 y el fenol en C5 está en posición *para* a este protón, lo anterior indica que el anillo aromático A está pentasustituido. Las señales en  $\delta = 7.12$  (d,  $J = 9.0$ ) y 8.01 (d,  $J = 9.0$ ) ppm indican la presencia de un anillo aromático 1',4'-disustituido (anillo B) e integran para dos protones cada una. El primer doblete fue asignado a H3' y H5', por su parte el segundo doblete fue asignado a H2' y H6', debido a que en estudios de otros flavonoides con un anillo B 1',4'-disustituido se ha observado que el doblete de los protones sobre C3' y C5' tiene un desplazamiento químico cercano a 7 ppm y el doblete de los protones en C2' y C6' tiene un desplazamiento químico cercano a 8 ppm.

El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 5) muestra 3 señales adicionales en  $\delta = 3.75$  (3H), 3.78 (3H) y 3.85 (3H) ppm que indican la presencia de tres grupos metoxilo en la estructura de **2**. La posición de estos grupos metoxilo fue determinada por las correlaciones heteronucleares C-H a tres ligaduras observadas en espectro del experimento FLOCK (Espectro 7), por lo que el singulete en 3.75 ppm fue asignado al metoxilo en C3, el singulete en 3.78 se asignó al grupo metoxilo en C6 y el singulete en 3.85 ppm se asignó al metoxilo en C4'.

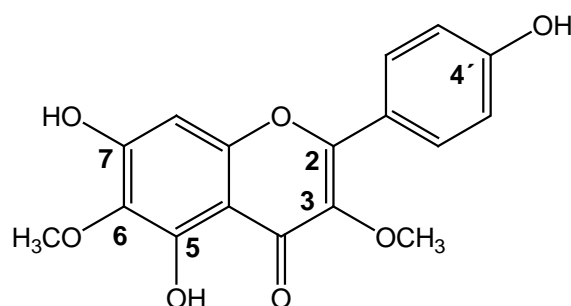
El compuesto **2** se identificó como santina por RMN, así como por la comparación con sus datos espectroscópicos reportados en la literatura.<sup>55</sup>



El compuesto **5** se aisló con un rendimiento del 0.13 % (1325 mg). Su espectro EM-IE (Espectro 20) muestra un ión molecular  $m/z$  330, que es congruente con una fórmula molecular  $C_{17}H_{14}O_7$ , la cual es apoyada por la presencia de 15 señales en su espectro de RMN  $^{13}C$  (Espectro 18).

En el espectro de RMN  $^1H$  de **5** (tabla 2) se observa en 12.77 ppm un singlete (Espectro 17). Éste fue asignado al protón de un grupo hidroxilo en C5, quelatado con el oxígeno del grupo carbonilo sobre C4 y en los flavonoides la presencia de un singlete con un desplazamiento químico cercano a 12 ppm es característica de un OH sobre C5. La señal en  $\delta = 6.53$  (1H) ppm es un singlete que fue asignado al protón en C8, cuyo desplazamiento es característico de protones aromáticos, lo anterior indica que los anillos A y C del compuesto **5** tienen la misma sustitución que **2**, la cual es apoyada por la similitud de sus datos de RMN  $^1H$  (Espectro 17) y  $^{13}C$  (Espectro 18). En el espectro de RMN  $^1H$  (Espectro 17) de **5** presenta una señal menos que en el espectro de RMN  $^1H$  de **2** (Espectro 5) en  $\delta = 3.85$  (s, 3H) ppm, lo que indica la falta de un grupo metoxilo en C4'; lo anterior se apoya por el valor del desplazamiento para C4' (160.2) que es característico de un carbono aromático sustituido con un grupo hidroxilo y es corroborado por las correlaciones mostradas en el espectro HMBC (Espectro 19) de la señal en  $\delta = 3.76$  (s, 3H) con C3 (137.3) y de una segunda señal en  $\delta = 3.78$  (s, 3H) con C6 (131.1).

Debido a lo anterior y a la comparación de los datos espectroscópicos del compuesto 5 con los datos en la literatura,<sup>56</sup> se identificó a 5 como la 4',5,7-trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona.



4',5,7-Trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona (5)

El compuesto 7 fue aislado de la partes aéreas de *M. tenuiflora* con un rendimiento del 0.032 % (323 mg). Su espectro de EM-IE muestra un ión molecular con  $m/z$  316, que corresponde con una fórmula molecular  $C_{16}H_{12}O_7$  y es apoyada por la presencia de 14 señales el espectro de RMN  $^{13}C$  (Espectro 24) que son características de un flavonoide. Sus datos espectroscópicos de RMN  $^1H$  y  $^{13}C$  se muestran en la tabla 3.

En el espectro de RMN  $^1H$  del compuesto 7 (Espectro 23) se observan dos singuletes en 6.53 (1H) y 12.55 (1H) ppm. El primero fue asignado al protón en C8 debido a que aparece en la región de los protones aromáticos, el segundo se asignó, por su desplazamiento, al protón de un grupo hidroxilo en C5. En la región de los protones aromáticos se muestran dos señales en  $\delta = 6.91$  (d,  $J=9.0$ , 2H) y 8.03 (d,  $J= 8.7$ , 2H) ppm; el primer doblete se asignó a los protones en C3' y C5', el segundo singulete por su parte fue asignado a los protones en C2' y C6', debido a que en estudios de otros flavonoides con un anillo B 1',4'-disustituido se ha observado que el doblete de los protones sobre C3' y C5' tiene un desplazamiento químico cercano a 7 ppm y el doblete de los protones en C2' y C6' tiene un desplazamiento químico cercano a 8 ppm. En  $\delta = 3.75$  (3H) ppm se observa un singulete, característico de un grupo metoxilo y su posición estructural fue asignada por la interacción heteronuclear C-H a 3 ligaduras observada en el espectro FLOCK (Espectro 25), debido a que correlaciona con C6 (130.8 ppm).



Lo anterior indica que la estructura de 7 corresponde con la estructura del 6-metoxi-kaempferol.

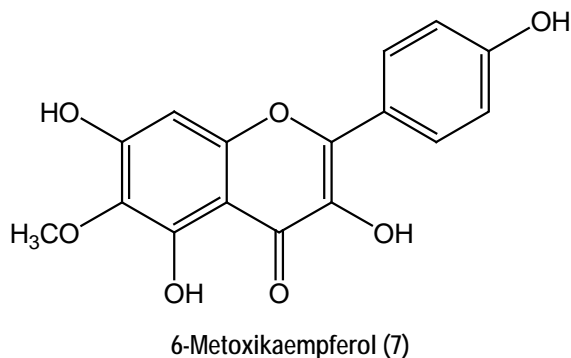


Tabla 2. Datos espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de los compuestos 2, 5 y 7.

C	Santina (2) <sup>a</sup>		4',5,7-trihidroxi-3,6-dimetoxi-flavona (5) <sup>a</sup>		6-metoxi-kaempferol (7) <sup>a</sup>	
	$^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), m, J (Hz)	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)	$^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), m, J (Hz)	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)	$^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), m, J (Hz)	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
2	-----	155.2	-----	155.7	-----	147.0
3	-----	137.6	-----	137.3	-----	135.3
4	-----	178.2	-----	178.3	-----	176.1
5	-----	152.3	-----	152.4	-----	151.7
6	-----	131.2	-----	131.1	-----	130.8
7	-----	151.6	-----	151.7	-----	151.4
8	6.55 s	94.0	6.53 s	94.0	6.53 s	93.8
9	-----	157.4	-----	157.4	-----	157.2
10	-----	104.6	-----	104.6	-----	103.4
1'	-----	122.2	-----	120.6	-----	121.7
2'	8.01 d (9.0)	129.9	7.92 d (9.0)	130.2	8.03 d (9.0)	129.5
3'	7.12 d (9.0)	114.2	6.93 d (9.0)	115.7	6.91 d (9.0)	115.4
4'	-----	161.3	-----	160.2	-----	159.2
5'	7.12 d (9.0)	114.2	6.93 d (9.0)	115.7	6.91 d (9.0)	115.4
6'	8.01 d (9.0)	129.9	7.92 d (9.0)	130.2	8.03 d (9.0)	129.5
5-OH	12.71 s	-----	12.77 s	-----	12.55 s	-----
6-OH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
7-OH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
4'-OH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
3-OCH <sub>3</sub>	3.75 s	59.9	3.76 s	59.7	3.75 s	-----
6-OCH <sub>3</sub>	3.78 s	59.7	3.74 s	60.0	-----	60.0
4'-OCH <sub>3</sub>	3.85 s	55.4	-----	-----	-----	-----

<sup>a</sup>Determinado en DMSO a 300 MHz/ 75/MHz

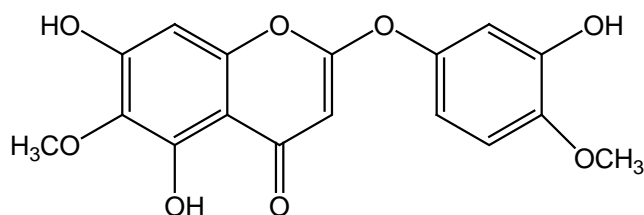
## Fenoxicromonas

Las fenoxicromonas son sustancias consideradas de tipo flavonoide y son las únicas que presentan la característica de que la unión de los anillos C y B esta mediada por un átomo de oxígeno. En el presente estudio fueron aisladas 3 fenoxicromonas que fueron identificadas como tenuiflorina A (**4**), 6-desmetoxi-4'-*O*-metilcapilarisina (**6**) y tenuiflorina C (**8**), 3 de las 5 reportadas en un estudio anterior de *M. tenuiflora*.<sup>5</sup>

La fenoxicromona **4** fue aislada con un rendimiento del 0.032 % (323 mg). El espectro de masas de **4** (Espectro 16) muestra un ión molecular  $m/z$  346, que corresponde con una fórmula molecular  $C_{17}H_{14}O_8$ . En su espectro de RMN de  $^1H$  (Espectro 13) se observa una señal en  $\delta = 5.25$  (s) ppm cuyo desplazamiento es característico de un protón vinílico, asignado en C3 y este protón es característico de todas las fenoxicromonas aisladas hasta la fecha. La presencia de un singulete en  $\delta = 6.47$  (1H) ppm es característica de un protón aromático en C8. Las señales en  $\delta = 6.76$  (d,  $J = 3.0$ ),  $6.87$  (d,  $J = 8.7$ ) ppm y  $6.67$  ppm (dd,  $J = 8.7, 3.0$ ) indicaron una sustitución 1',3',4' en el anillo B, por lo siguiente, el primer doblete fue asignado al protón ya que el valor de su constante de acoplamiento indica la presencia de un protón en posición *meta*, el segundo doblete fue asignado a H5' debido a que presenta una constante de acoplamiento con un protón en posición *orto*; la señal del dd con  $\delta$  en  $6.67$  se asignó a H6'.

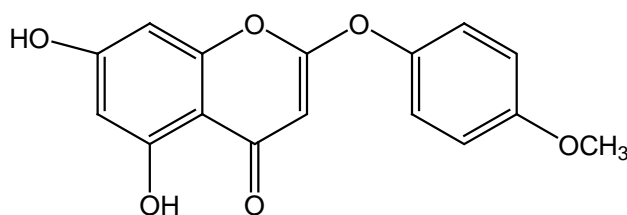
El espectro de RMN  $^1H$  (Espectro 13) del compuesto **4** muestra en  $\delta = 12.92$  ppm un singulete ancho asignado al protón del grupo hidroxilo en C5; en  $\delta 3.92$  (3H) y  $3.95$  (3H) se observan los singuletes que se atribuyen a los protones de dos grupos metoxilo. La posición de estos grupos metoxilo fue determinada por la comparación con los datos espectroscópicos de RMN de  $^1H$  de la tenuiflorina A<sup>5</sup> y por las correlaciones observadas en el espectro FLOCK (Espectro 15). El singulete en  $3.93$  ppm fue asignado al grupo metoxilo sobre C4' ( $\delta = 144.4$ ) y la señal en  $4.01$  ppm se asignó al grupo metoxilo en C6 ( $\delta = 130.8$ ).

La comparación de los datos espectroscópicos de **4** permitió identificar a este producto natural como tenuiflorina A.<sup>5</sup>



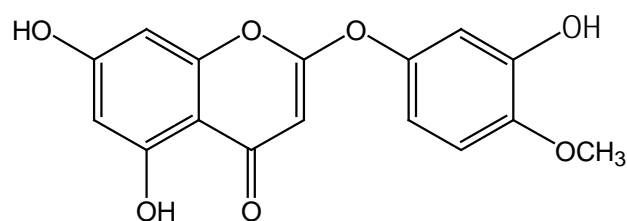
Tenuiflorina A (**4**)

El compuesto **6** fue aislado con un rendimiento en la planta del 0.0027 % (27 mg), en su espectro de RMN <sup>1</sup>H (Espectro 21) se observa un singulete en 5.17 ppm asignado al protón en C3, característico de todas las 2-fenoxicromonas aisladas a la fecha; en 6.96 (J= 9.0) y 7.11 (J= 9.0) ppm se observan dos dobletes con un acoplamiento característico para un anillo aromático 1',4'-disustituido, el primer doblete fue asignado a los protones en C3' y C5'; el segundo doblete fue asignado a los protones en C2' y C6'. En 12.67 (1H) ppm se observa un singulete que se asignó al protón de un grupo hidroxilo en C5 y en 3.84 ppm se observa un singulete que fue asignado al grupo metoxilo en C4' por la comparación de los datos espectroscópicos de **6** (Tabla 3) con los de la 6-desmetoxi-4'-*O*-metilcapilarisina,<sup>5</sup> observando completa correspondencia entre las señales de uno y otro compuesto; debido a lo anterior se identificó a **6** como la 6-desmetoxi-4'-*O*-metilcapilarisina.<sup>5</sup>



6-desmetoxi-4'-*O*-metilcapilarisina (**6**)

El compuesto **8** sólo difiere de **4** por la ausencia de un grupo metoxilo en C6, ya que los espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 21) y  $^{13}\text{C}$  (Espectro 22) son muy similares. Los datos espectroscópicos de RMN  $^1\text{H}$  (tabla 3) de **8** fueron comparados con los datos espectroscópicos de RMN  $^1\text{H}$  de la tenuiflorina C reportados en la literatura,<sup>5</sup> corroborando así su estructura.

Tenuiflorina C (**8**)

Las diferencias encontradas en los resultados del presente estudio con estudios anteriores de *M. tenuiflora*, son las siguientes: el espécimen de este estudio fue recolectado en el estado de Oaxaca, se aislaron tres fenoxicromonas (6-desmetoxi-4'-*O*-metilcapilarisina y las tenuiflorinas A y C), de las cinco que fueron aisladas y reportadas del espécimen recolectado en Oaxaca.<sup>5</sup>

Las flavonas aisladas en el presente son diferentes a las aisladas del ejemplar recolectado en Brasil,<sup>6</sup> por lo que aumenta de cuatro a seis el número de flavonas aisladas en la planta y para el caso de las dos flavanonas aisladas en el presente estudio fueron también dos de las ya aisladas en el espécimen de Brasil,<sup>6</sup> con excepción de la sakuranetina y la artocarpanona.

Es la primera ocasión que se aíslan flavonoles de *M. tenuiflora* y hasta la fecha sólo se han aislado chalconas de los ejemplares recolectados en Brasil<sup>6</sup> y el estado de Chiapas.<sup>4</sup>

Tabla 3. Datos espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de los compuestos 4,6 y 8.

C	Tenuiflorina A (4) <sup>a</sup>		6-desmetoxi-4'-O-metil-capilarisina (6) <sup>b</sup>		Tenuiflorina C (8) <sup>c</sup>	
	$^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), m, J (Hz)	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)	$^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), m, J (Hz)	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)	$^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), m, J (Hz)	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
2	-----	167.5	-----	167.7	-----	167.2
3	5.25 s	86.9	5.17 s	87.3	5.17 s	86.9
4	-----	183.8	-----	183.5	-----	183.0
5	-----	152.3	-----	161.7	-----	161.3
6	-----	130.8	6.30 sa	99.6	6.24 d (2.1)	99.2
7	-----	155.1	-----	163.6	-----	163.8
8	6.47	93.4	6.36 d (1.5)	94.0	6.33 d (2.1)	93.8
9	-----	149.9	-----	155.1	-----	154.9
10	-----	104.0	-----	102.2	-----	101.9
1'	-----	145.4	-----	144.4	-----	144.4
2'	6.76 d (3.0)	107.6	7.11 d (9.0)	121.5	6.74 d (3.0)	108.2
3'	-----	146.8	6.96 d (9.0)	115.0	-----	147.8
4'	-----	144.4	-----	157.8	-----	146.5
5'	6.87 d (8.7)	110.9	6.96 d (9.0)	115.0	6.90 d (9.0)	112.7
6'	6.67 dd (8.7, 3.0)	110.8	7.11 d (9.0)	121.5	6.63 dd (9.0, 3.0)	110.6
6-OMe	3.95 s	60.2	-----	-----	-----	-----
3' o 4'-OMe	3.92 s	55.8	3.84 s	55.4	3.89 s	55.9
5-OH	12.92 s	-----	12.67 s	-----	12.75 s	-----
7-OH	-----	-----	10.10 sa	-----	10.34 sa	-----
3' o 4'-OH	-----	-----	-----	-----	-----	-----

<sup>a</sup>Determinado en  $\text{CDCl}_3$ -DMSO a 300 MHz/75MHz.

## Actividad biológica

La búsqueda de nuevos compuestos que puedan ser empleados en la medicina moderna ha conducido a la evaluación de la actividad de compuestos de origen natural en modelos biológicos. Esta búsqueda se enfoca sobre todo en el desarrollo de tratamientos contra padecimientos crónico-degenerativos, como el cáncer.

Existen estudios donde se muestra que los compuestos de tipo flavonoide son capaces de inhibir enzimas del tipo CDK,<sup>57</sup> las que a su vez son reguladoras del ciclo celular. Se ha observado que al inhibir algunos tipos de CDK's es posible controlar o erradicar cánceres.<sup>57</sup> Los resultados de los ocho compuestos aislados que fueron evaluados como inhibidores de CDK's en cuatro tipos de estas enzimas (DYRK1A, CK1, CDK 5 y GSK3) se observan en la tabla 5 y la gráfica 1.

Tabla 5. Resultados de la inhibición de CDK's de los compuestos aislados.

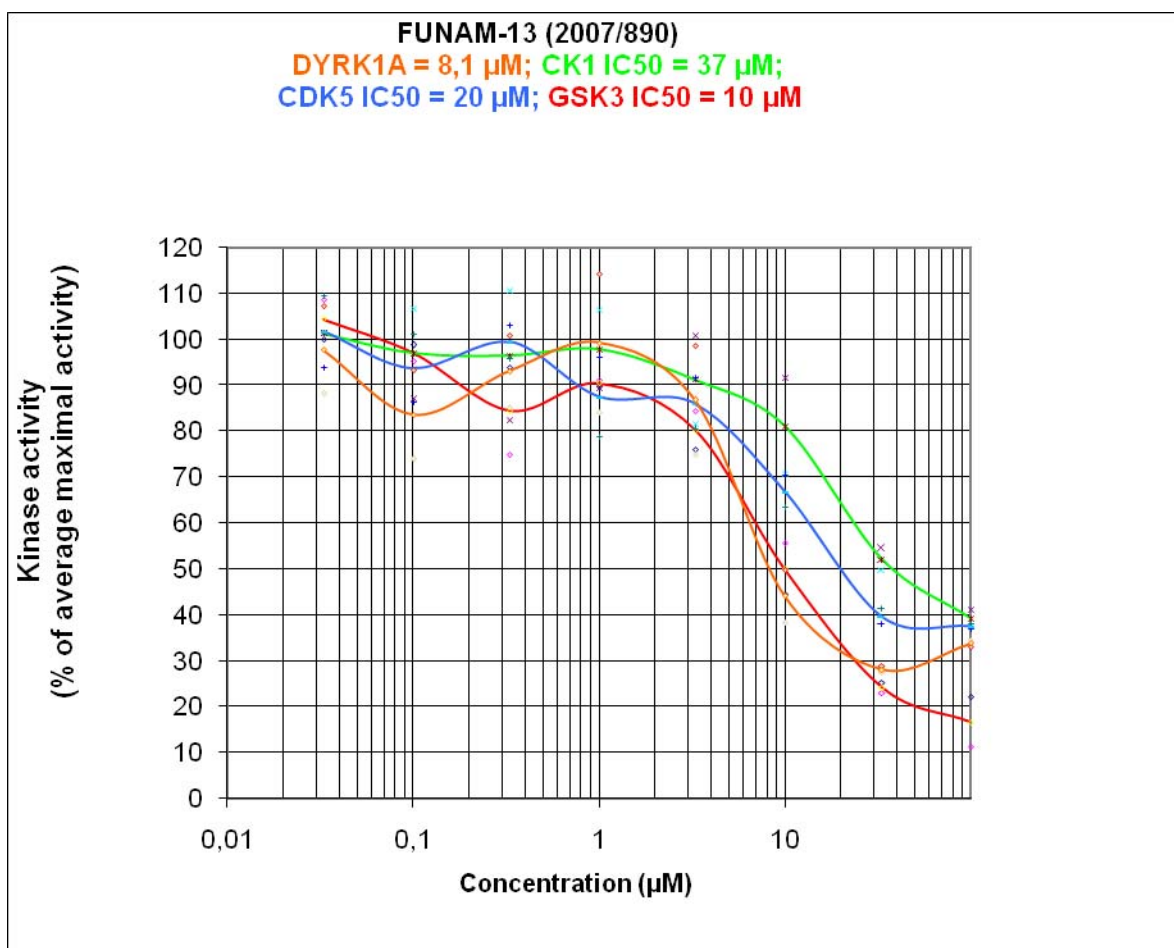
Nombre	Compuesto	IC50 en $\mu\text{M}$			
		DYRK1A	CK1	CDK5	GSK3
6-Metoxi-4'-O-metilnaringenina	1	> 10	> 10	> 10	> 10
Santina	2	> 10	> 10	> 10	> 10
6-O-Metil-naringenina	3	> 10	> 10	> 10	> 10
Tenuiflorina A	4	> 10	> 10	> 10	> 10
4',5,7-Trihidroxi-3,6-dimetoxi-flavona	5	8.1	>10	>10	10
6-Desmetoxi-4'-O-metil-capilarisina	6	> 10	> 10	> 10	> 10
6-Metoxikaempferol	7	> 10	> 10	> 10	> 10
Tenuiflorina C	8	> 10	> 10	> 10	> 10

De los ocho compuestos ensayados sólo el compuesto 5 mostró actividad significativa como inhibidor de dos de las enzimas en un rango que va de 8-10  $\mu\text{M}$ . Lo anterior resulta de interés para continuar con los estudios, ya que las enzimas empleadas son blancos para el desarrollo de nuevos fármacos y agentes quimioterapéuticos en los siguientes padecimientos:

- ✓ DYRK1A. Déficit de memoria en personas con síndrome de Down.<sup>58</sup>
- ✓ CK1. Control del ciclo circadiano en padecimientos cancerosos.<sup>59</sup>
- ✓ CDK5. Alzheimer.<sup>57</sup>
- ✓ GSK3. Enfermedades proliferativas renales como la nefropatía.<sup>60</sup>

Por otra parte, al relacionar la estructura de los compuestos aislados con la actividad obtenida, se puede decir que para tener actividad, el sistema debe ser plano y con un hidroxilo sobre el carbono 4'; esto se muestra al comparar la santina (2) que resultó inactiva y el compuesto 5 que sí mostró actividad. La diferencia entre estos dos compuestos es que la santina tiene un *O*-metilo en lugar del OH sobre C4'.

De la misma forma, al tener un átomo de oxígeno que une a los anillos B y C en los flavonoides la actividad se pierde, como en el caso de las fenoxicromonas. La doble ligadura entre los carbonos 2 y 3 también es fundamental para la actividad, así como la presencia de un grupo metoxilo en C3 en lugar de un OH. La estructura de todos los compuestos aislados y evaluados se encuentra en la figura 8.



Gráfica 1. Inhibición de CDK's del compuesto 5

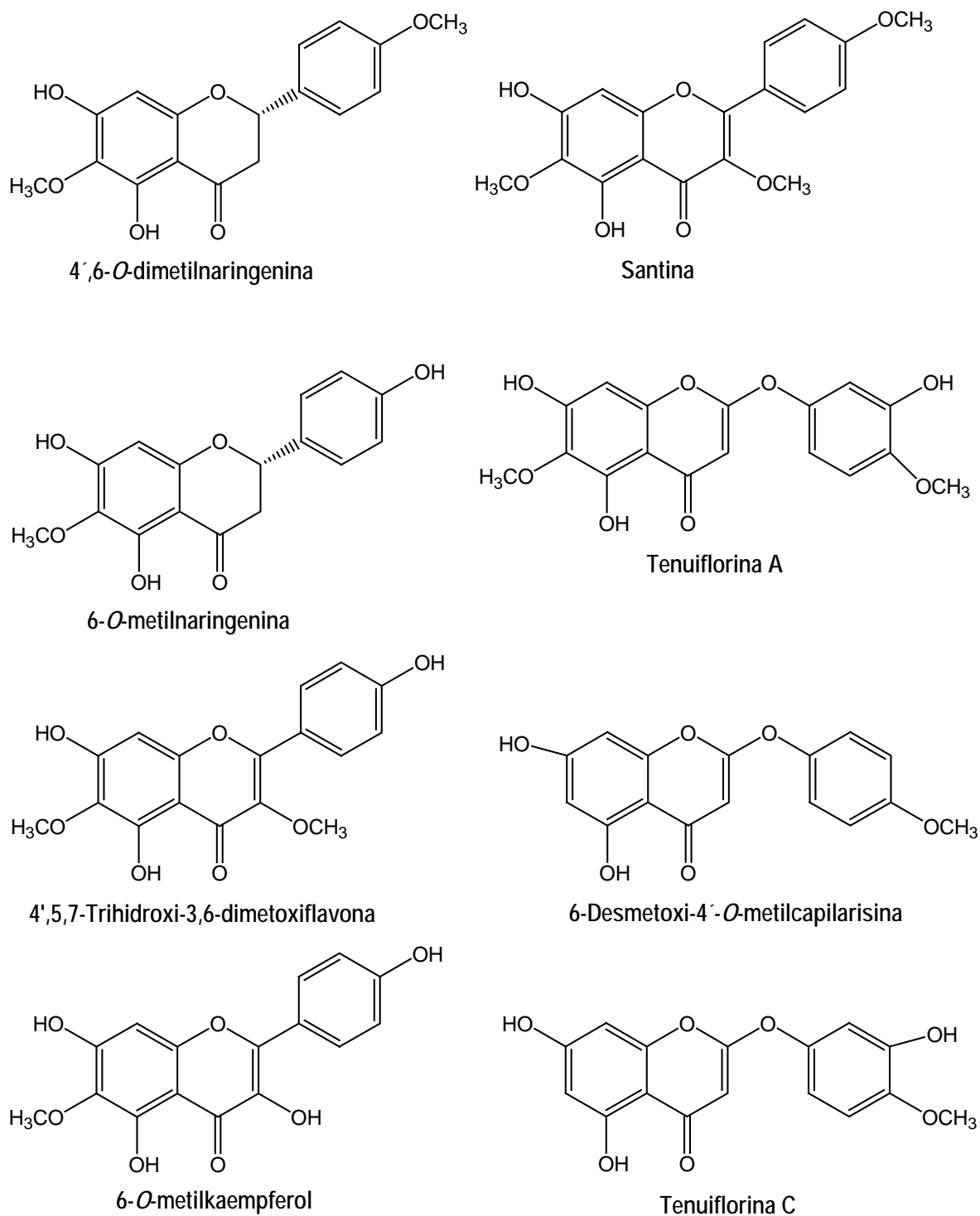


Figura 8. Compuestos aislados y evaluados como inhibidores de CDK's



Algunos compuestos considerados como moléculas líder en la inhibición de CDK's se muestran en la figura 9. El mecanismo de acción propuesto para estos inhibidores de CDK's es por medio de la interacción en el sitio activo de la enzima, formando un complejo enzima-inhibidor estable, esto se logró mediante estudios de co-cristalización del complejo enzima-inhibidor.<sup>61</sup> El intervalo de inhibición de CDK's ( $CI_{50}$ ) de estos cuatro compuestos va de 0.1-25.0  $\mu$ M.<sup>62-64</sup>

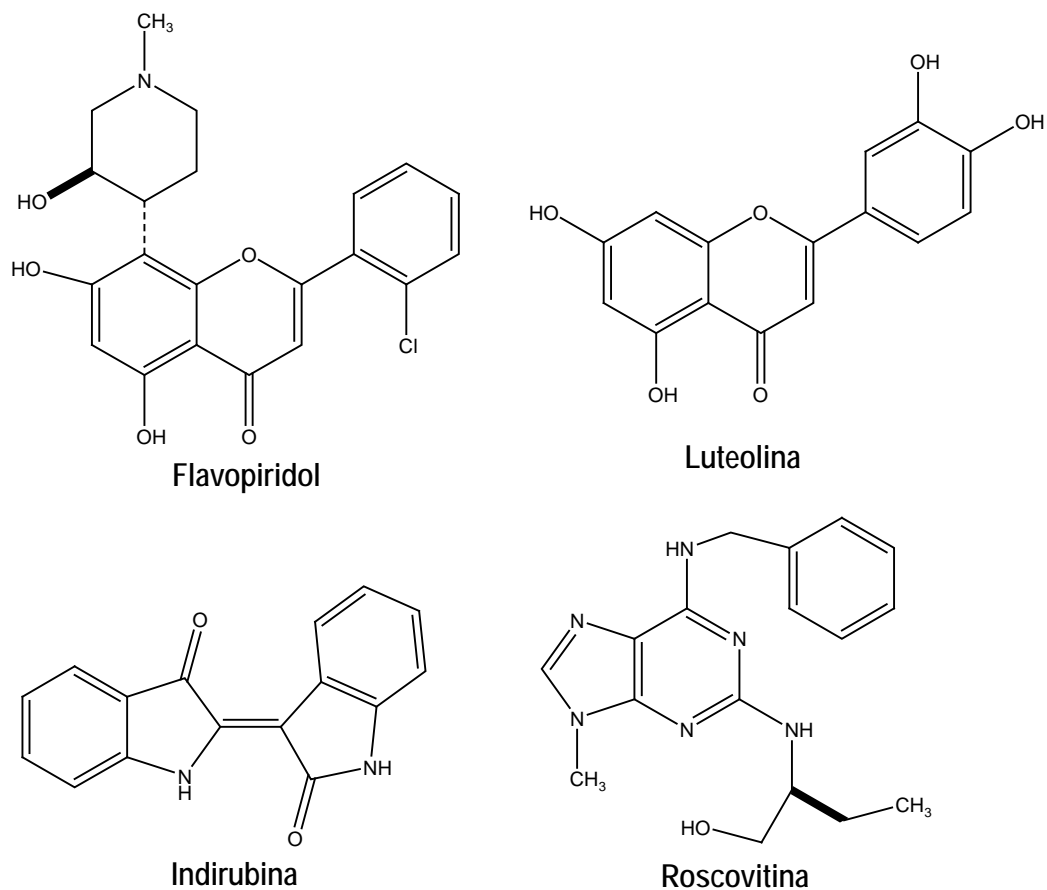


Figura 9. Moléculas líder en la inhibición de CDK's.<sup>65</sup>

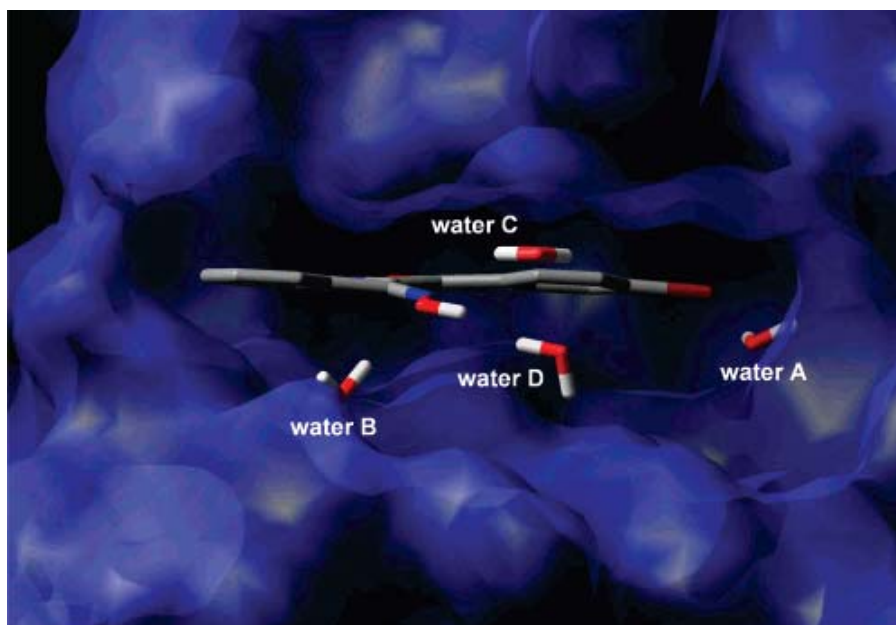


Figura 10. Imagen de la interacción inhibidor-enzima obtenida por cálculos teóricos.<sup>61</sup>

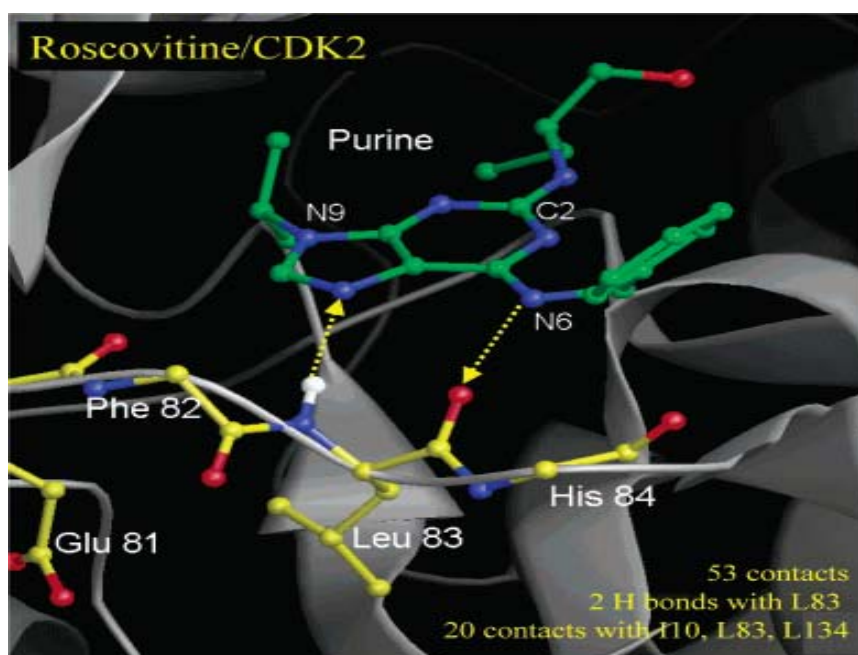


Figura 11. Imagen de la interacción inhibidor-enzima obtenida por co-cristalización.<sup>62</sup>

---

## CONCLUSIONES

En el estudio fitoquímico de las partes aéreas de *Mimosa tenuiflora* fueron aislados ocho compuestos y su estructura fue determinada por métodos espectroscópicos.

De los ocho compuestos aislados se obtuvieron: dos flavanonas, tres flavonoles y tres fenoxicromonas; todos los compuestos aislados son conocidos; no se aislaron chalconas, por lo que hasta ahora sólo han sido aisladas del ejemplar de *M. tenuiflora* recolectado en Chiapas<sup>4</sup> y del ejemplar recolectado en Brasil.<sup>6</sup> Es la primera ocasión que se aislaron flavonoles de la planta y sólo se aislaron tres fenoxicromonas de las cinco reportadas en un estudio anterior.<sup>5</sup>

De acuerdo a los resultados obtenidos existe una diferencia en los componentes químicos de *M. tenuiflora* y depende del sitio de recolección de la planta.

Se realizó por primera vez un estudio de evaluación biológica de las tenuiflorinas A y C; en el ensayo de inhibición de los cuatro tipos de enzimas CDK. De los ocho compuestos aislados que fueron evaluados sólo la 4', 5,7-trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona mostró actividad moderada como inhibidor y se observó que es fundamental en la estructura para inhibir las enzimas CDK un OH sobre el carbono 4', la presencia de la doble ligadura entre los carbonos 2 y 3, así como la presencia de un metoxilo en el carbono 3.

## REFERENCIAS

- 1) Francis A.J.; Dempster R.J.; *Phytomed.* **9**, 273-279, 2002.
- 2) Roth, B. L.; Baner, K.; Westkaemper, R.; Siebert, D.; Rice, k. C.; Steinberg, S.; Ernsberger, P.; Rothman, R.; *PNAS*, **99**, 11934–11939, 2002.
- 3) Vepsäläinen, J.; Auriola, S.; Tukiainen, M.; Ropponen, N.; Callaway, J. C.; *Planta Medica* **71**, 1053-1057, 2005.
- 4) Dominguez, X.; García, S.; *J. Nat. Prod.* **52**, 864-867, 1989.
- 5) León, L.; Maldonado, E.; Cruz, A.; Ortega, A.; *Planta Medica* **70**, 536-539, 2004.
- 6) Ohsaki, A.; Yokoyama, R.; Miyatake, H.; Fukuyama, Y.; *Chem. Pharm. Bull.* **54**, 1728-1729, 2006.
- 7) Meckes-Lozoya, M.; Lozoya, X. y Gonzalez, J. L.; *Arch. Invest. Med.* **21**, 163-169, 1990.
- 8) Jiang, Y.; Massiot, G.; Lavaud, C; Teulon, J. M.; Guéchet, C.; Haag-Berrurier, M.; Anton, R.; *Phytochemistry* **30**, 2357-2360, 1991.
- 9) León, L.; Tesis de Maestría, UNAM, 2001
- 10) Papova, M., Bankova, V., Tsvetkova, I., Naydenski, C., Saliva, M. V. Z.; *Naturforsch C.*, **56**, 1108-1111, 2001.
- 11) Vasilev, S. A.; Garazd, S. A. and Khilya V. P. *Chem. Nat. Comp.*, **42**, 241-253, 2006.
- 12) Chu, Y. C.; Tseng, T.; Hwang, J.; Chou, F. and Wang, C.; *Arch. Toxicol.* **73**, 263-268, 1999.
- 13) Ogasawara, M.; Matsubara, T. and Hideyo S.; *Biol. Pharm. Bull.* **24**, 720-723, 2001.
- 14) Barneby, R.; *Sensitivae Censitae: A description of the genus Mimosa Linnaeus (Mimosaceae) in the New World; Memoirs in the New York Botanical Garden* **65**; 1-835, 1991.
- 15) Camargo-Ricalde, Sara L.; *Rev. Biol. Trop.* **48**, 939-954, 2000.
- 16) Camargo-Ricalde, Sara L.; Grether, Rosaura; *Rev. Biol. Trop.* **46**, 543-554, 1998.

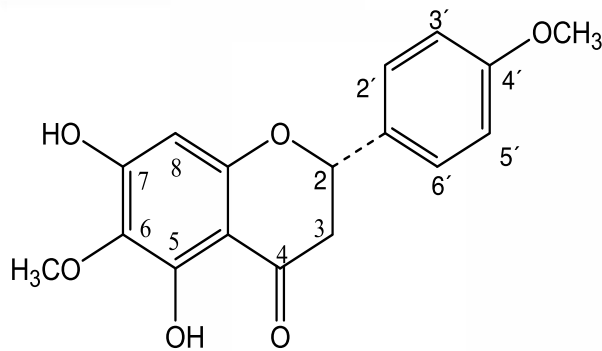
- 17) Lara, F.; Márquez C.; *Plantas Medicinales de México*; UNAM, México, 99-101, 1996.
- 18) Medeiros, R.M.T.; de Figueiredo, A.P.M.; Benício, T.M.A.; Dantas, F.P.M.; Riet-Correa, F. *Toxicon* **51**, 316–319, 2008.
- 19) *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana*, Instituto Nacional Indigenista, Vol. III, México, 1327-1328, 1994.
- 20) Villareal, M. L.; Nicasio, P.; Alonso-Cortés, D.; *Arch. Invest. Med.* **22**, 163-169, 1991.
- 21) Meckes-Lozoya, M.; Lozoya, X.; Gonzalez, J. L. y Martínez, M.; *Arch. Invest. Med.* **21**, 171-174, 1990.
- 22) Meckes-Lozoya, M.; Lozoya, X.; Marles, R.; Soucy-Breau, C.; Tesvarasen, A.; Arnason, J.; *Arch. Invest. Med.* **21**, 175-177, 1990.
- 23) Pimentel, E.; Cruces, M. and Zimmering, S.; *Mut. Res.* **264**, 116-116, 1991.
- 24) Harbone, J.; *The Handbook of Natural Flavonoids*, Vol. I y II, John Wiley & Sons, USA (Vol. I: vii-xii; Vol. II: ix-xvii) 1999.
- 25) Markham, K. R., Tanner, G. J., Caasi-Lit, M., Whitecross, M. I., Nayudu, M., Mitchell, K. A.; *Phytochemistry* **49**, 1913-1919, 1998.
- 26) Bolanos-Vasquez, M., Werner, D.; *Mol. Plant-Microbe Int.* **10**, 339-346, 1997.
- 27) Le Quere, J.-L.; Deakin, J.; Schmeisser, C.; Carlson, W.; Streit, R.; Broughton, J.; Forsberg, L.; *J. Biol. Chem.* **281**, 28981-28992, 2006.
- 28) Zhu, J. T. T.; Choi, R. C. Y; Chu, G. K. Y.; Cheung, A. W. H.; Gao, Q. T.; Li, J.; Jiang, Z. Y.; Dong, T. T. X.; Tsim, K. W. K; *J. Agric. Food Chem.* **55**, 2438-2445, 2007.
- 29) Monteiro, R.; Becker, H.; Azevedo, I.; Calhau, C.; *J. Agric. Food Chem.* **54**, 2938-2943, 2006.
- 30) Benedet, J. A.; Umeda, H.; Shibamoto, T.; *J. Agric. Food Chem.* **55**, 5499-5504, 2007.
- 31) Park, Y. C.; Rimbach, G.; Saliou, C.; Valacchi, G.; Packer, L.; *FEBS Letters* **465**, 93-97, 2000.
- 32) Veljkovic, V.; Mouscadet, J. F.; Veljkovic, N.; Glisic, S.; Debyser, Z.; *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **17**, 1226-1232, 2007.

- 33) Hudson, T. S.; Hartle, D. K.; Hursting, S. D.; Nunez, N. P.; Wang, T. T. Y.; Young, H. A.; Arany, P.; Green, J.E.; *Can. Res.* **67**, 8396-8405, 2007.
- 34) Dewick, P. M.; *Med. Nat. Prod.*, Second Edition, Jhon Wiley & Sons, Chapter 4, England 2002.
- 35) Dewick, P. M.; *NPR* **15**, 17-58, 1998.
- 36) Aisa, H. A.; Zhao, Y.; He C.; *Chem. of Nat. Comp.* **42**, 16-18, 2006.
- 37) Begley, M.; Crombie, L.; London, M.; Savin, J.; Whiting, D.; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 2275-2280, 1987.
- 38) Lichtenthaler, H. K.; *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **50**, 47-65, 1999.
- 39) Cheng, A.; Lou, Y.; Mao, Y.; Lu, S.; Wang L.; Chen, X.; *J. of Int. Plant Biol.* **49**, 179-186, 2007.
- 40) Hedin, P. A.; McKibben, G. H.; Dollar, D. A.; *J. Agric. Food Chem.* **48**, 3673-3676, 2000.
- 41) Barney, J.; Hay, A.; Weston, L.; *J. Chem. Ecol.* **31**, 247-265, 2005.
- 42) Hughes, R. A.; Moody, C. J.; *Angew. Chem.* **46**, 7930-7954, 2007.
- 43) Meketa, M. L.; Weinreb, S. M.; Nakao, Y.; Fusetani, N.; *JOC* **72**, 4892-4899, 2007.
- 44) El Bialy, S. A. A.; Braun, H.; Tietze, L. F.; *Angew. Chem* **43**, 5391-5393, 2004.
- 45) Peng, J.; Hu, J.; Kazi, A. B.; Li, Z.; Avery, M.; Peraud, O.; Hill, R.T.; Franzblau, S.G.; Zhang, F.; Schinazi, R. F.; Wirtz, S. S.; Tharnish, P.; Kelly, M.; Wahyuono, S.; Hamann, M.T.; *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 13382-13386, 2003.
- 46) Karle, J. M.; Bhattacharjee, A. K.; *Bioor. & Med. Chem.* **7**, 1769-1774.
- 47) Bibb, J.; Snyder, G.; Nishi, A.; Yan, Z.; Meijer, L.; Fienberg, A.; Tsai, L.; Kwon, Y.; Giraultk, J. A.; Czernik, A.; Hugarir, R.; Hemmings, H.; Nairn, A.; Greengard, P.; *Nature* **402**, 669-671, 1999.
- 48) Myrianthopoulos, V.; Magiatis, P.; Ferandin, Y.; Skaltsounis, A.; Meijer, L.; Mikros, E.; *J. Med. Chem.* **50**, 4027-4037, 2007.
- 49) Vandromme, L.; Legraverend, M.; Kreimerman, S.; Lozach, O.; Meijer L.; Grierson, S.; *Bioor. & Med. Chem.* **15**, 130-141, 2007.
- 50) Goldsmith, E.; Akella, R.; Min, X.; Zhou, T.; Humphreys J.; *Chem. Rev.* **107**, 5065-5081, 2007.
- 51) Dowd, M. K.; Stevens, E. D.; *J. Carbohydr. Chem.* **21**, 373-383, 2002.

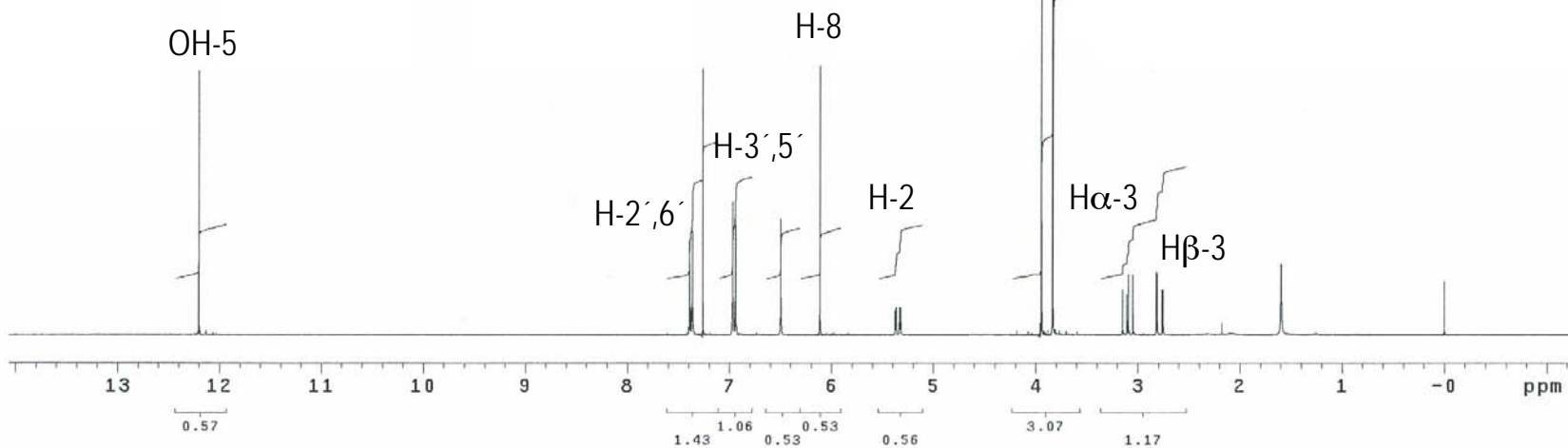
- 52) Pisutthanan, N.; Liawruangrath, B.; Liawruangrath, S.; Bremner, J. B.; *Nat. Prod. Res. A* **20**, 1192-1198, 2006.
- 53) Slade, D.; Ferreira, D.; Marais, J. P. J.; *Phytochemistry* **66**, 2177-2215, 2005.
- 54) Spring, O.; Heil, N.; Vogler, B.; *Phytochemistry* **46**, 1369-1373, 1997.
- 55) Rashid, M.; Armstrong, J. A.; Gray, A.; Waterman P.; *Phytochemistry* **31**, 1265-1269, 1992.
- 56) Williams, C.; Harborne, J.; Geiger, H.; Hoult R.; *Phytochemistry* **51**, 417-423, 1999.
- 57) Zapata-Torres; G.; Opazo, F.; Salgado, C.; Muñoz, J.; Krautwurst, H.; Mascayano, C.; Sepúlveda-Boza, S.; Maccioni, R.; Cassels, B.; *J. Nat. Prod.* **67**, 416-420, 2004.
- 58) Kim, N.; Yoon, J.; Kim, J.; Lee, J.; Chon, Y.; Hwang, I.; Hac, I.; Songc, W.; *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **16**, 3772-3776, 2006.
- 59) Lurisci, I.; Filipski, E.; Reinhardt, J.; Bach, S.; Gianella-Borradori, A.; Lacobelli, S.; Meijer, L.; Lévi, F.; *Can. Res.* **66**, 10720-10728, 2006.
- 60) Soos, T.; Meijer, L.; Nelson, P.; *Drug News Persp.* **19**, 325-328, 2006.
- 61) Bach, S.; Knockaert, M.; Reinhardt, J.; Lozach, O.; Schmitt, S.; Baratte, B.; Koken, M.; Coburn, S.; Tang, L.; Jiang, T.; Liang, D.; Galons, H.; Dierick, J.; Pinna, L.; Meggio, F.; Totzke, F.; Scha"chtele, C.; Lerman, A.; Carnero, A.; Wan, Y.; Gray, N.; Laurent Meijer, *J. Biol. Chem.* **280**, 31208-31219, 2005.
- 62) Vadivelan, S.; Sinha, B.; Irudayam, S.; Jagarlapudi, S.; *J. Chem. Inf. Model.* **47**, 1526-1535, 2007.
- 63) Myrianthopoulos, V.; Magiatis, P.; Ferandin, Y.; Skaltsounis, A.; Meijer, L.; Mikros, E.; *J. Med. Chem.* **50**, 4027-4037, 2007.
- 64) Meijer, L.; Raymond, E.; *Acc. Chem. Res.* **36**, 417-425, 2003.
- 65) [www.sb-roscoff.fr/CyCell/](http://www.sb-roscoff.fr/CyCell/)

# Apéndice

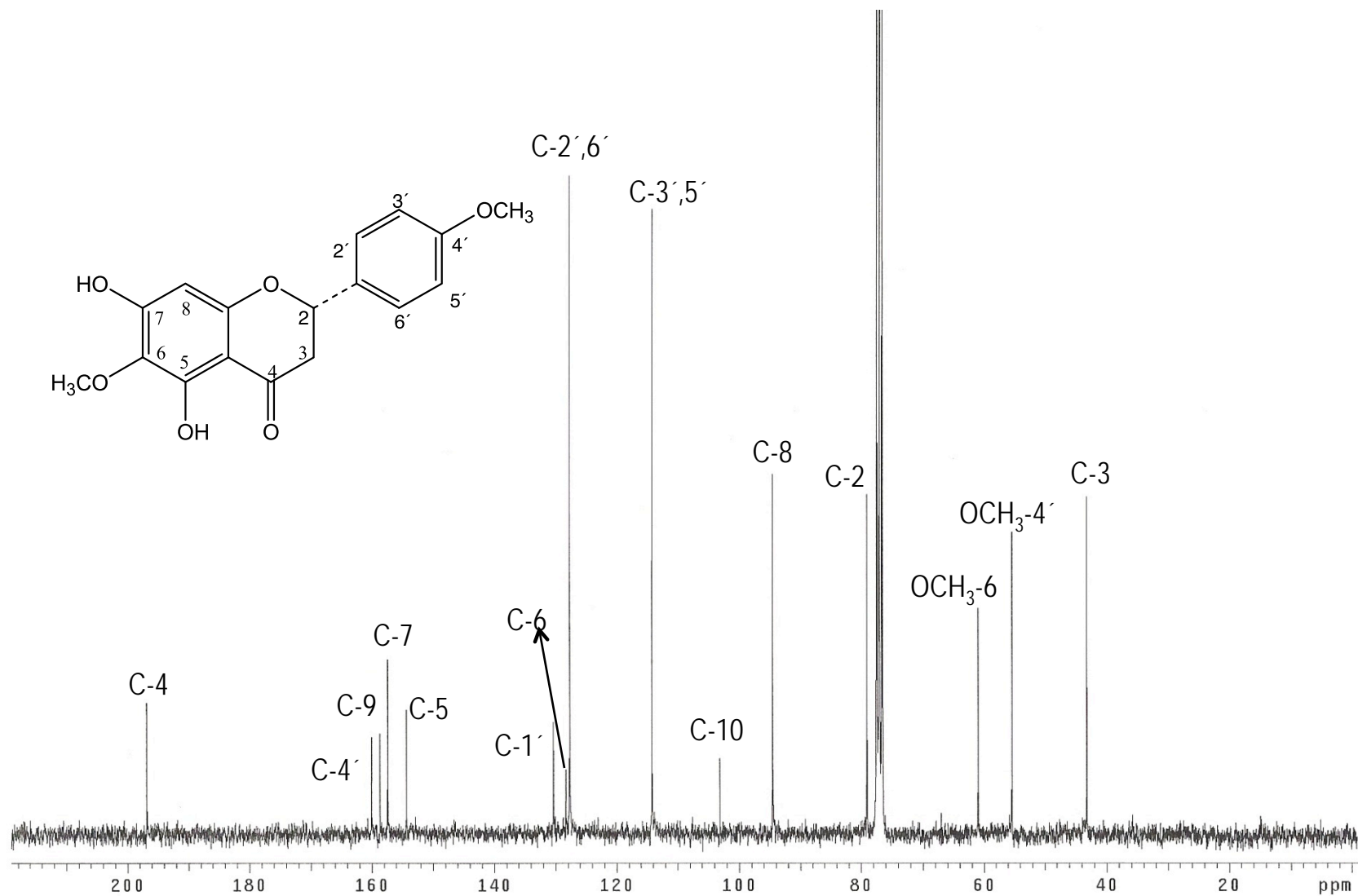




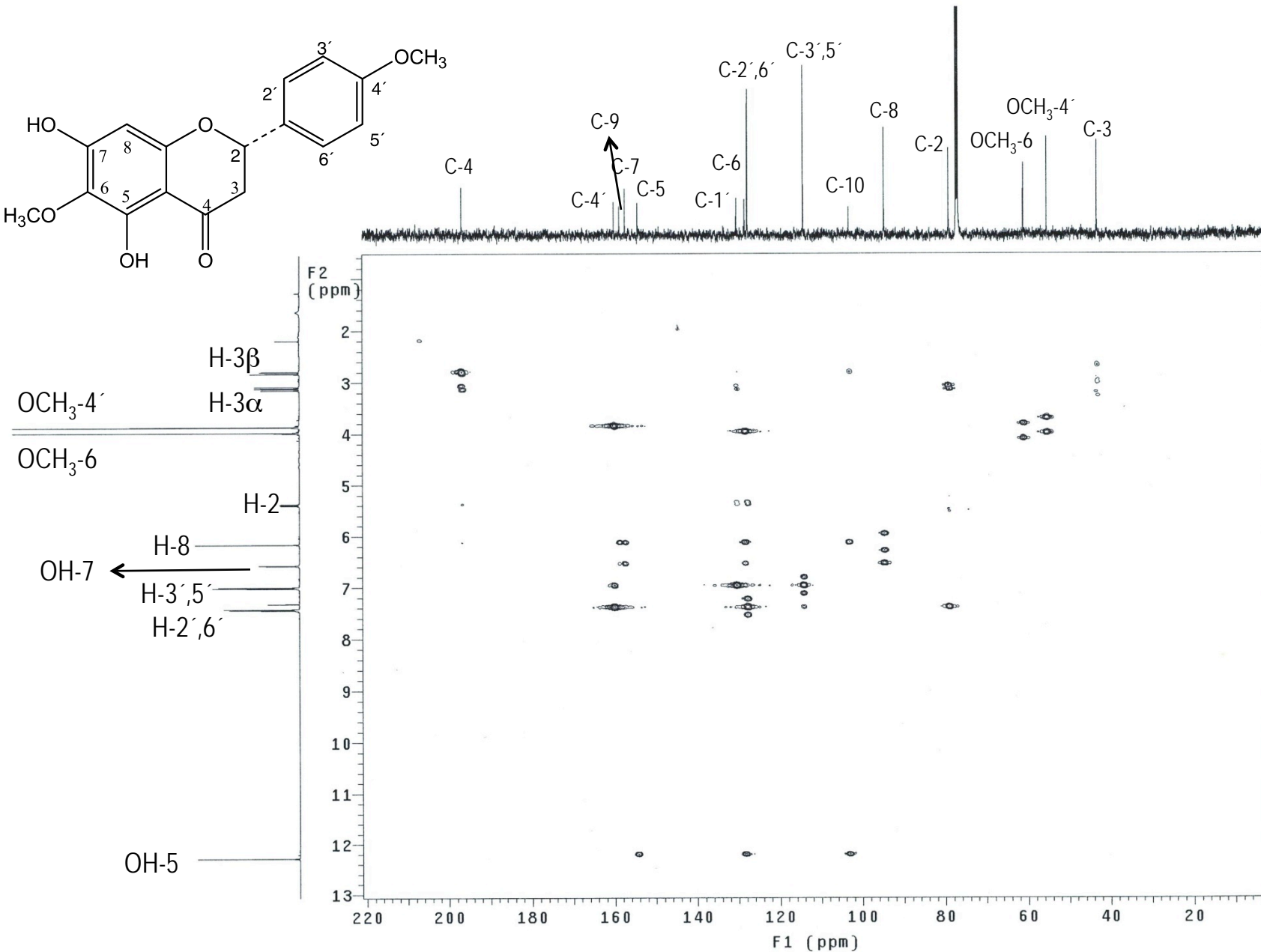
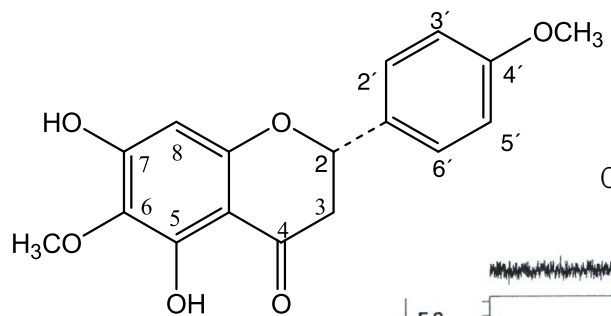
OCH<sub>3</sub>-6 3.945  
 OCH<sub>3</sub>-4' 3.835



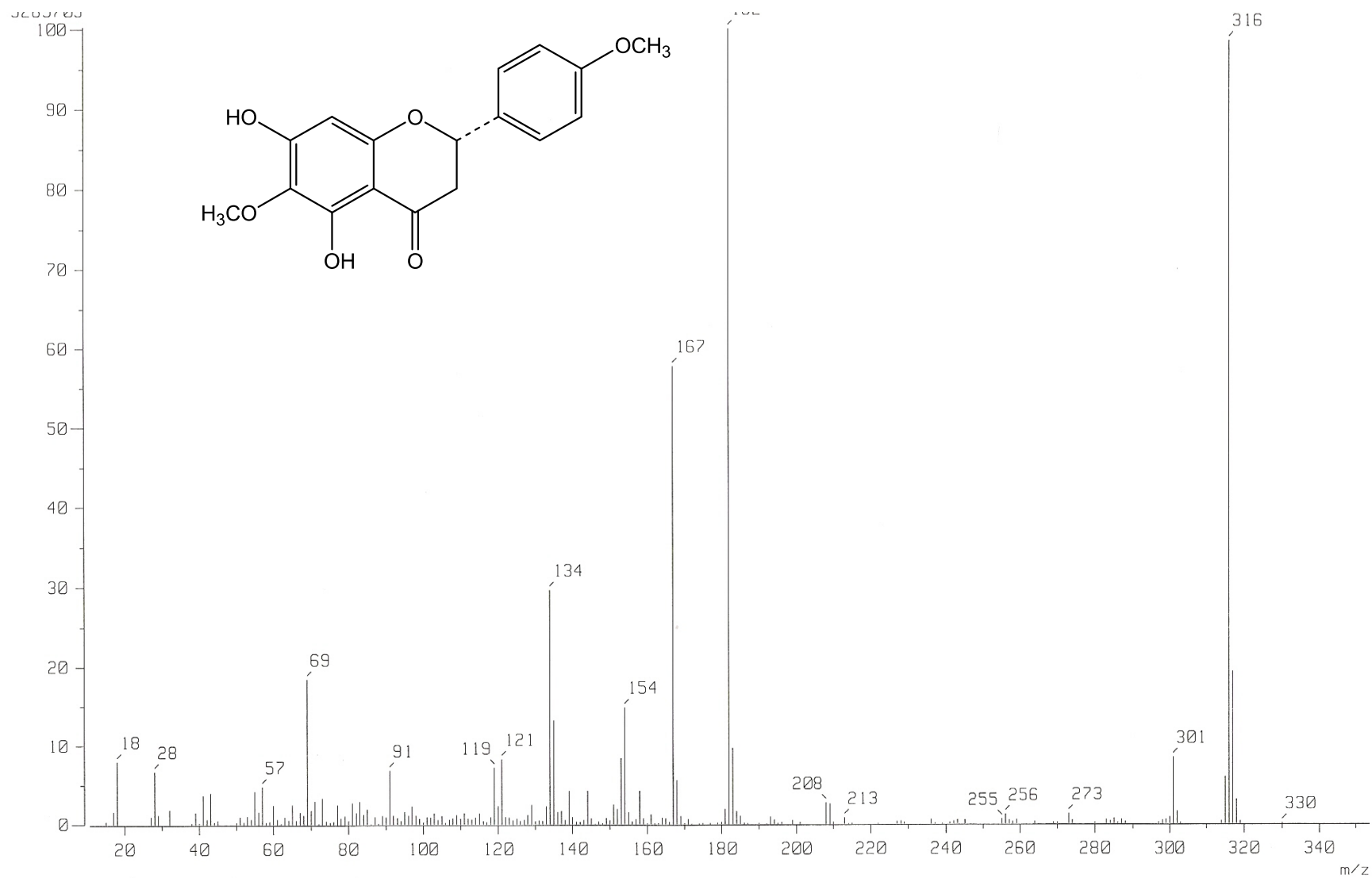
Espectro 1. RMN de <sup>1</sup>H de la 6-Metoxi-4'-*O*-metil-naringenina (1). Obtenido en CDCl<sub>3</sub>.



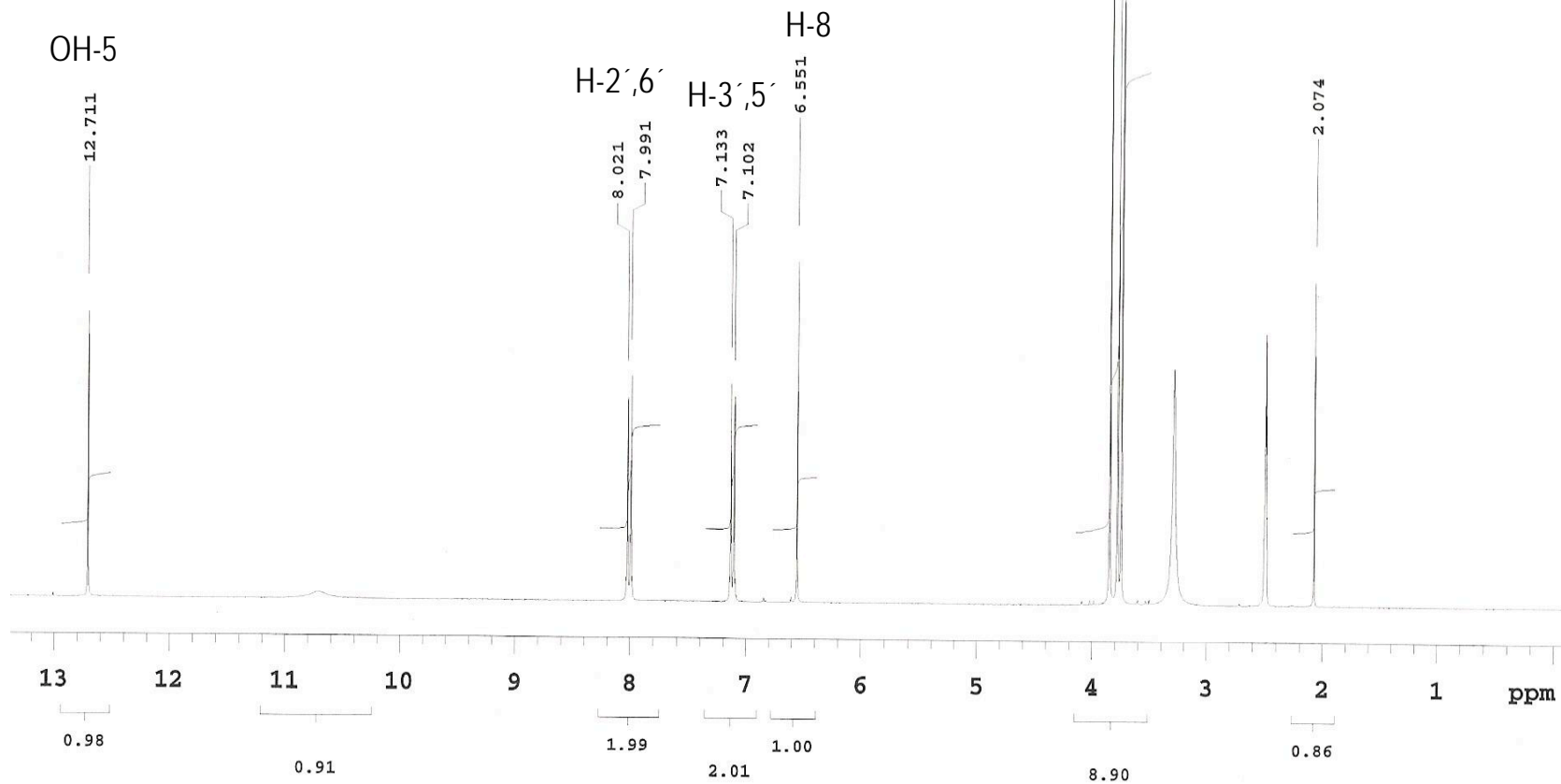
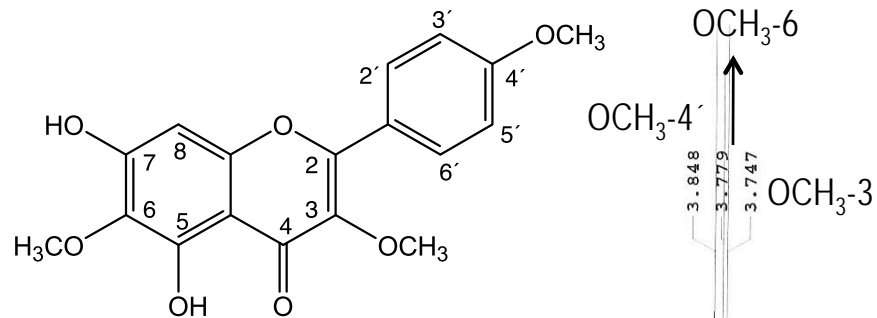
Espectro 2. RMN de  $^{13}\text{C}$  de la 6-Metoxi-4'-*O*-metil-naringenina (1). Obtenido en  $\text{CDCl}_3$ .



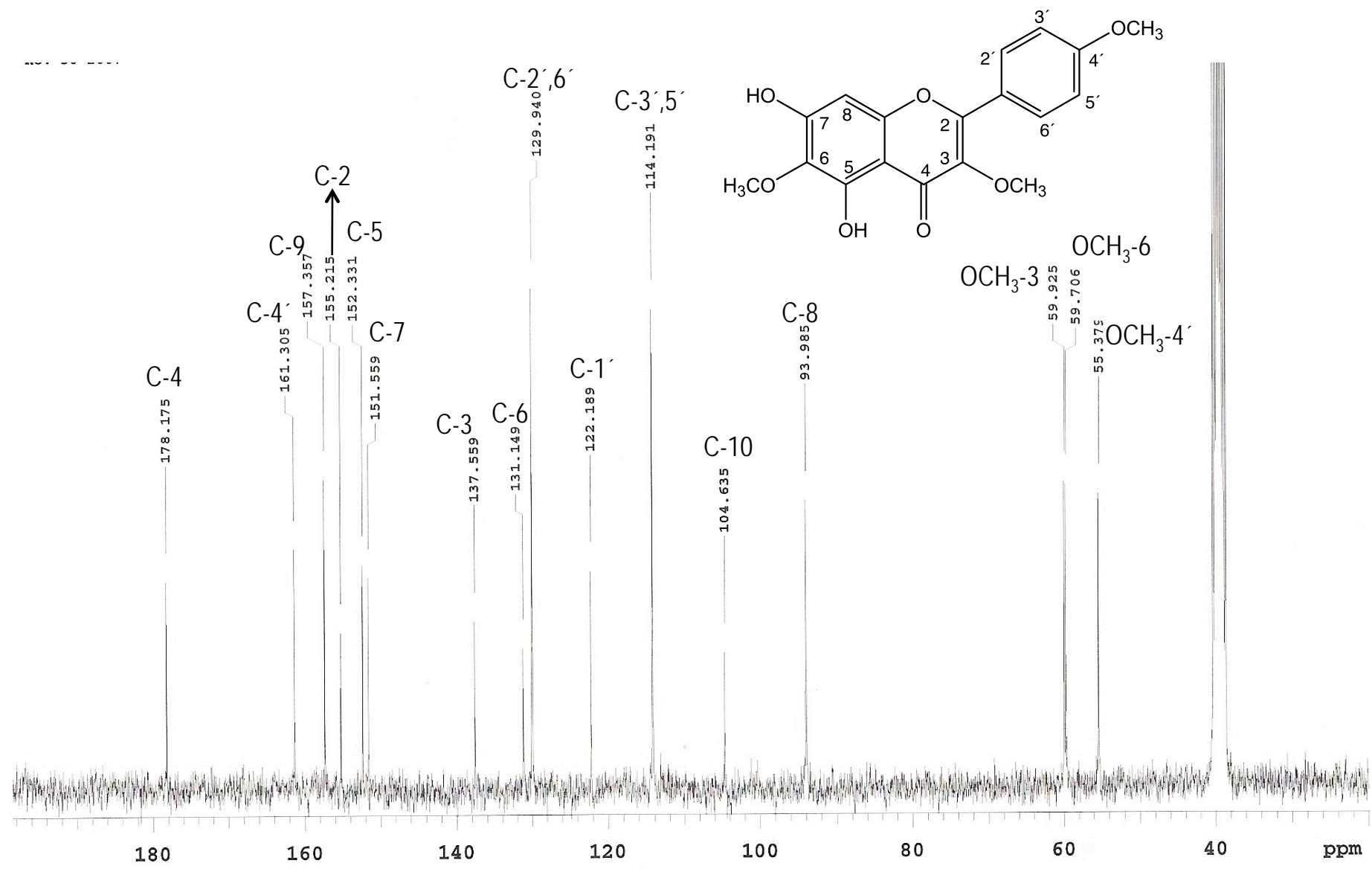
Espectro 3. Experimento HMBC de la 6-Metoxi-4'-*O*-metilnaringenina (1).



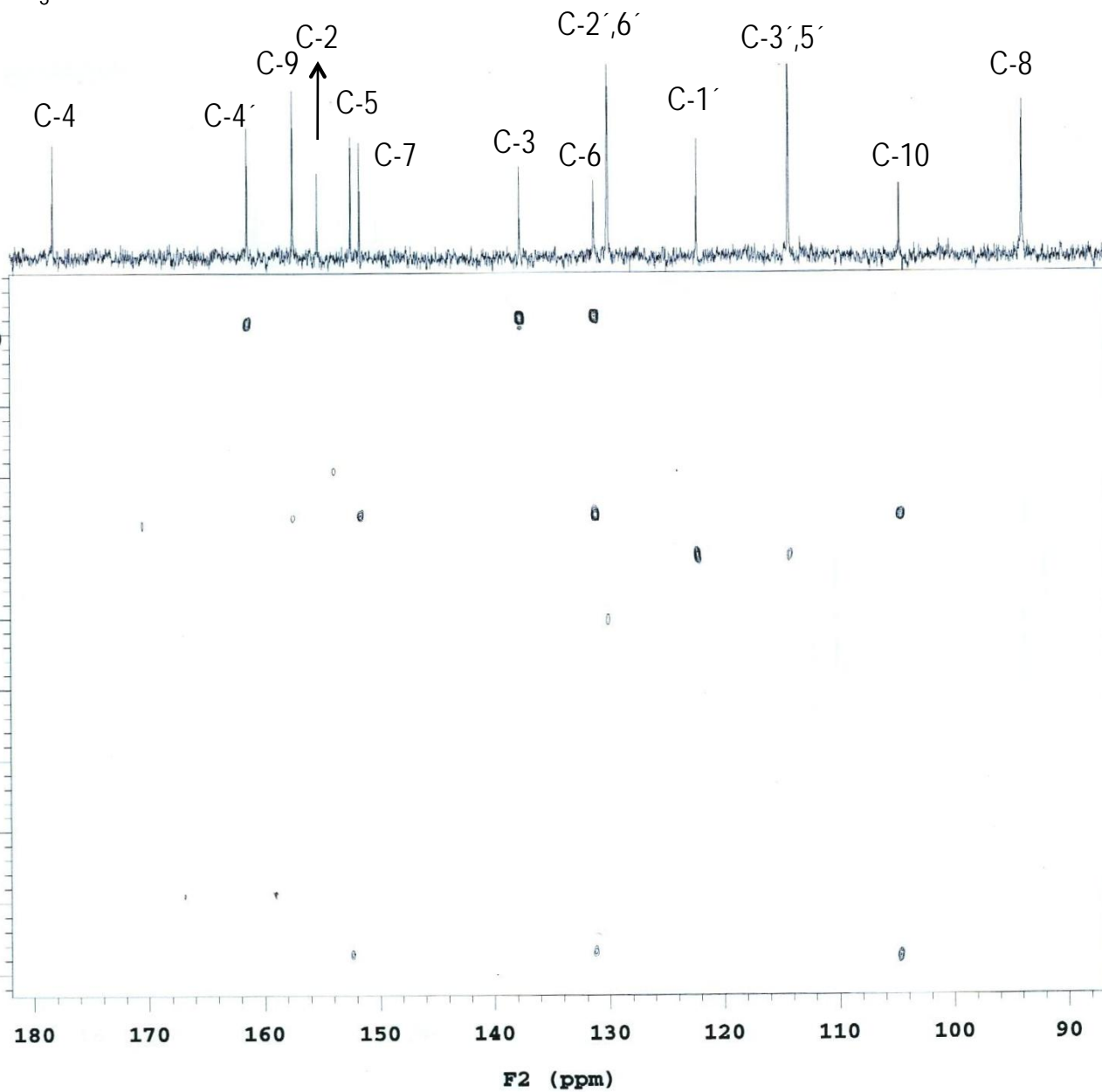
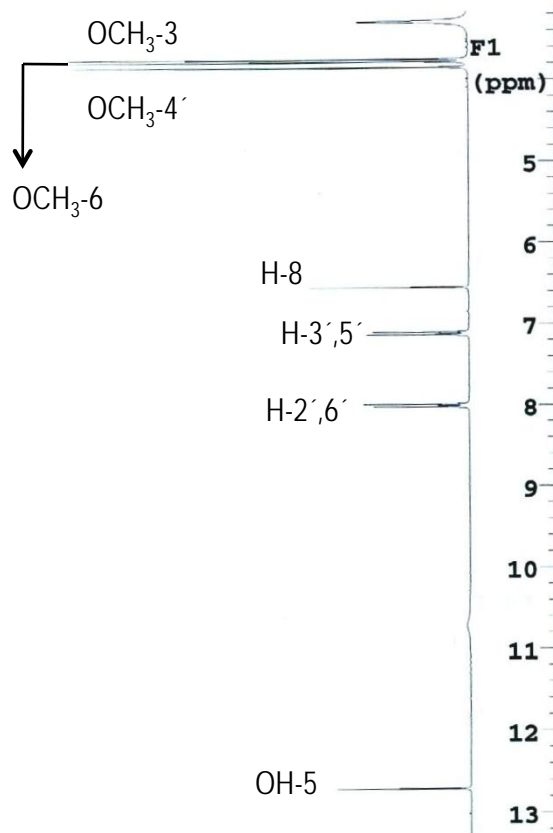
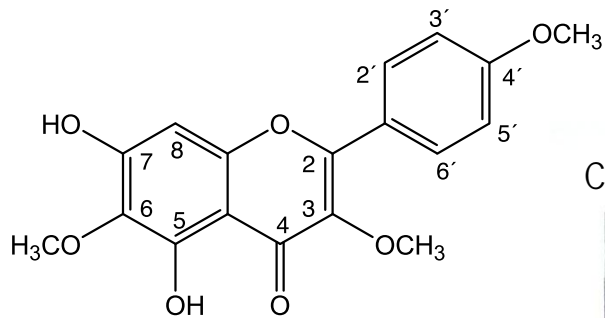
Espectro 4. EM-IE de la 6-Metoxi-4'-*O*-metilnaringenina (1).



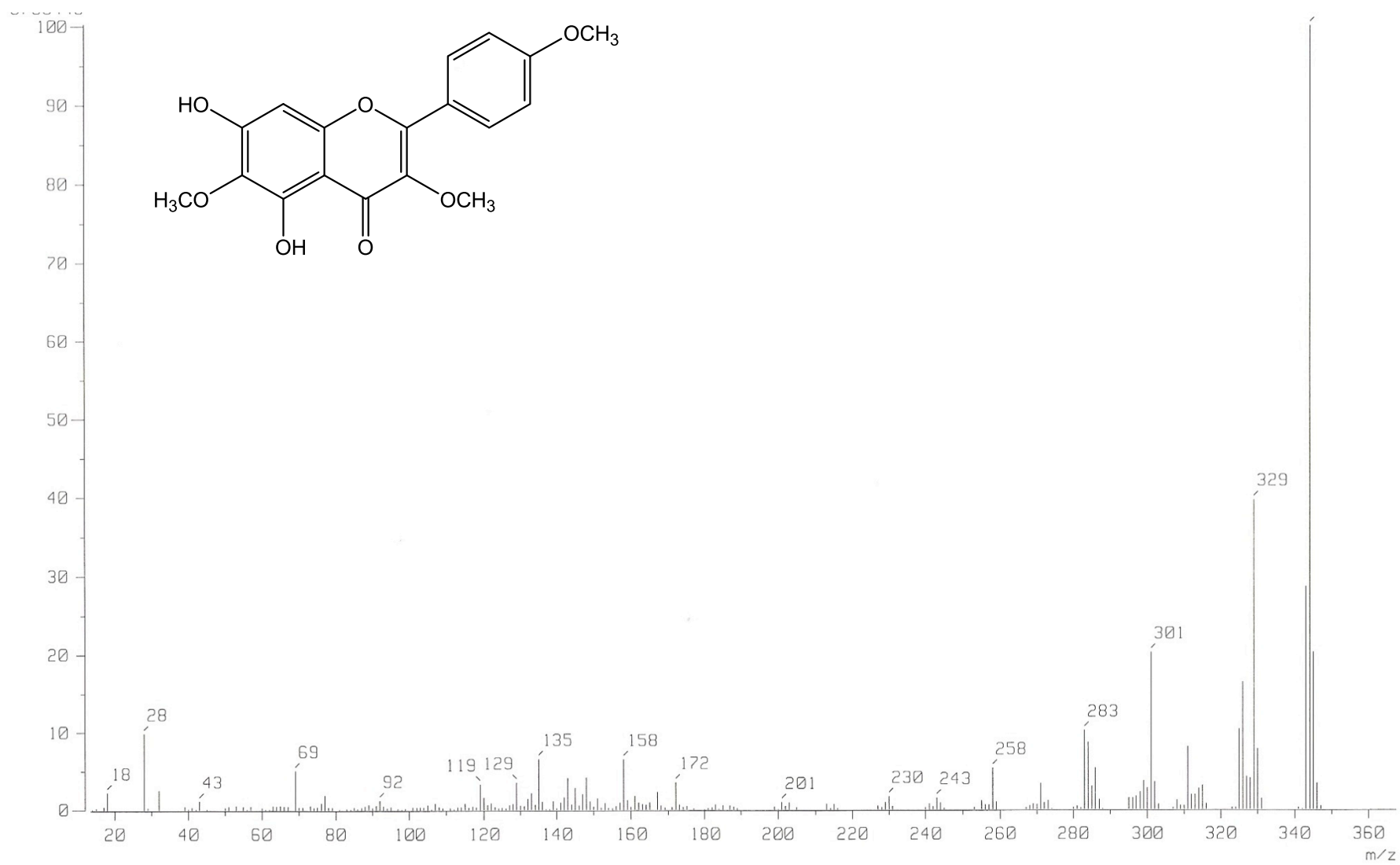
Espectro 5. RMN de <sup>1</sup>H de la santina (2). Obtenido en DMSO.



Espectro 6. RMN de <sup>13</sup>C de la santina (2). Obtenido en DMSO.

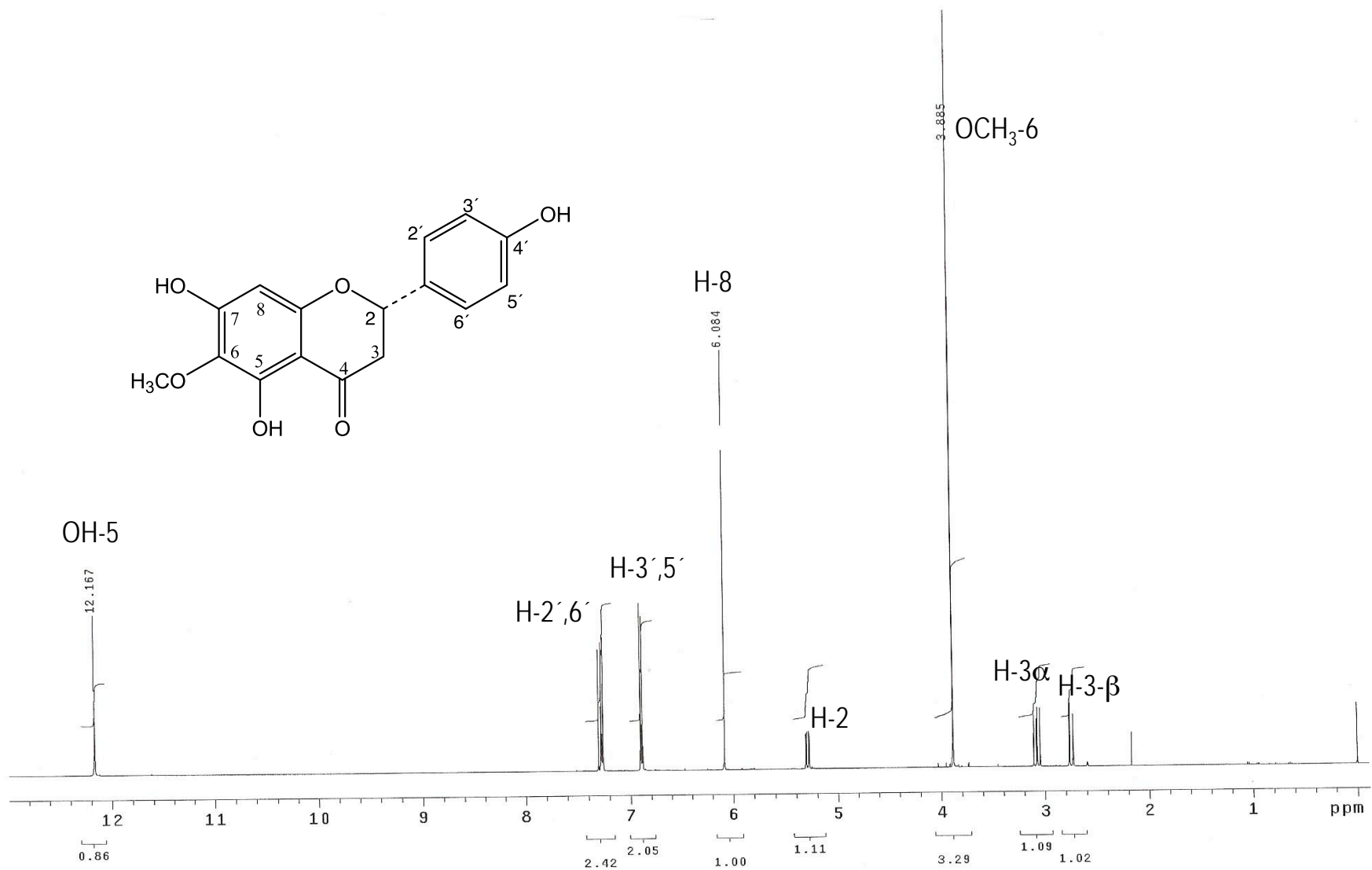


Espectro 7. Experimento FLOCK de la santina (2). Obtenido en DMSO.

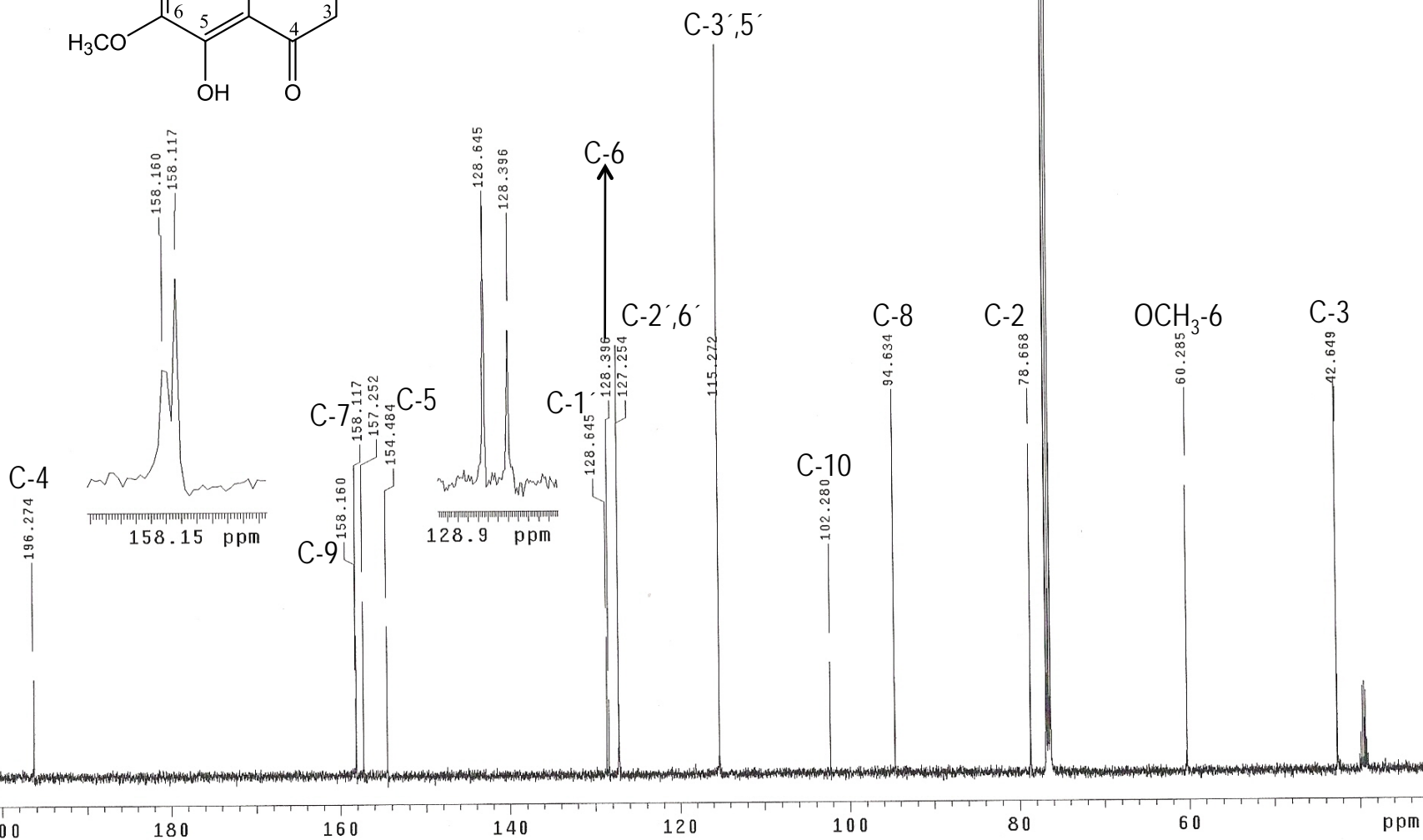
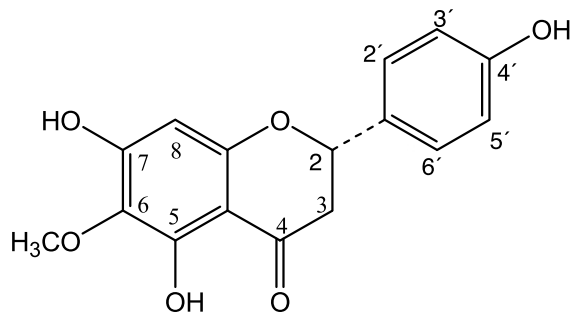


Espectro 8. EM-IE de la santina (2).

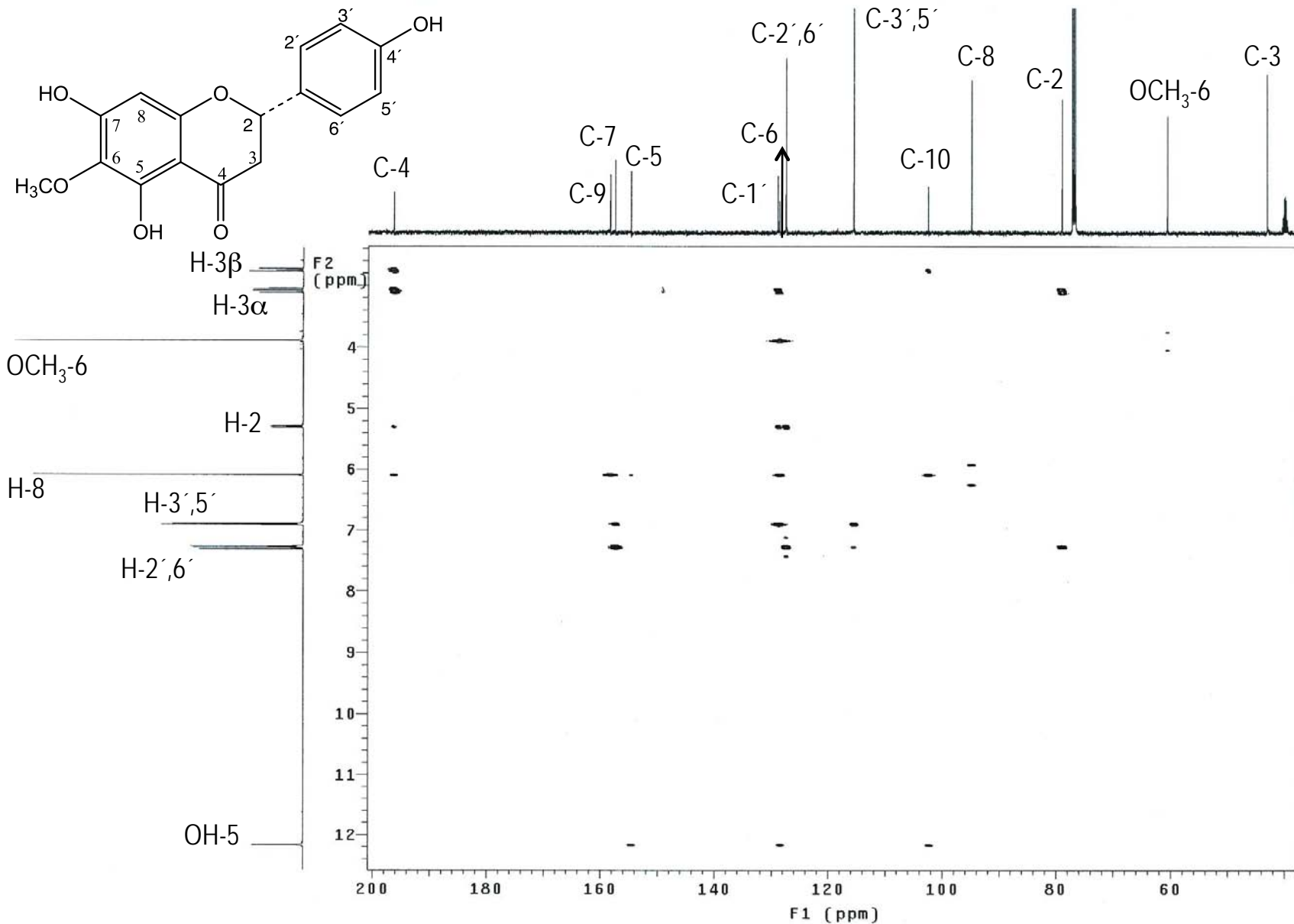




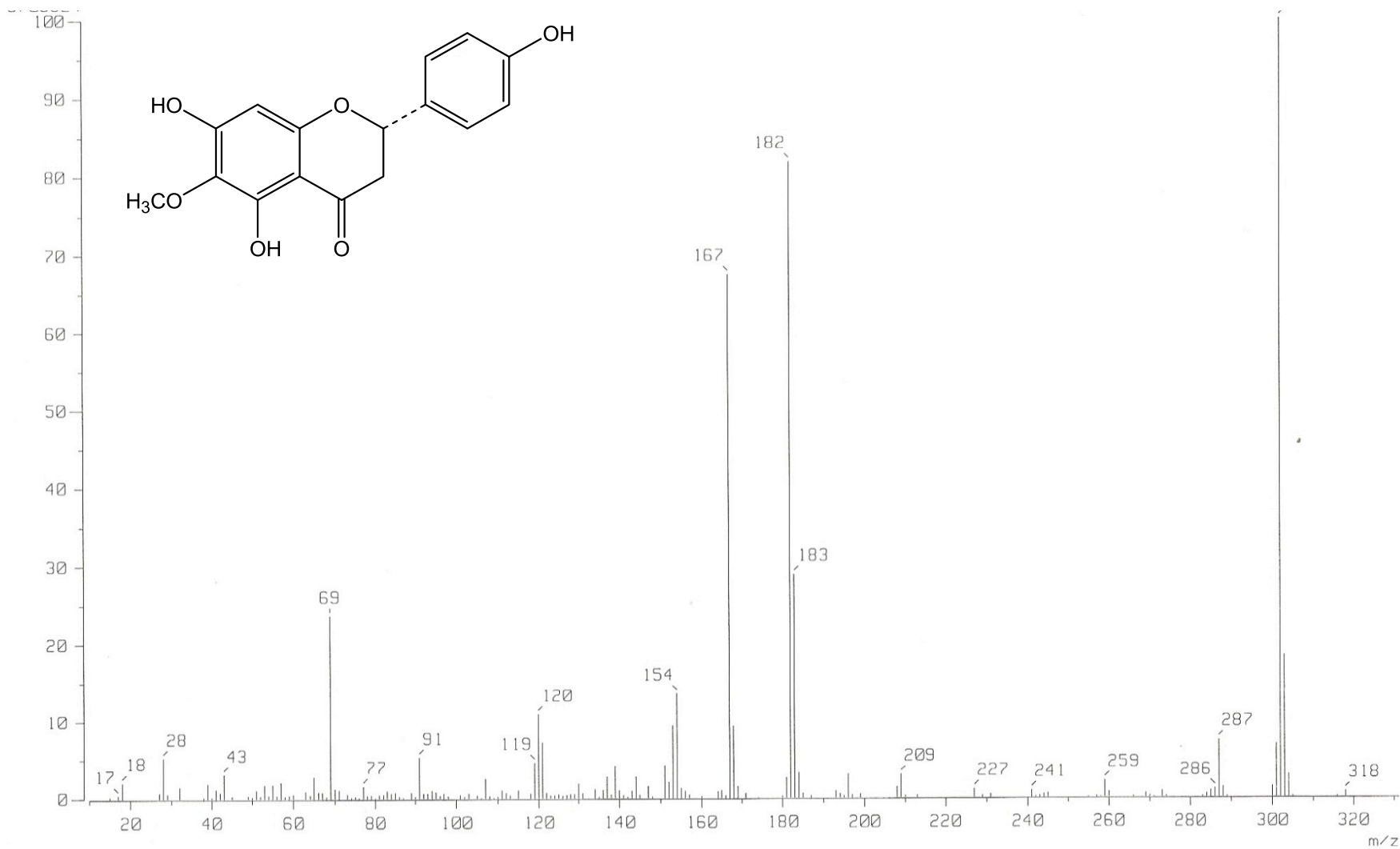
Espectro 9. RMN de la 6-metoxi-naringenina (3). Obtenido en CDCl<sub>3</sub>.



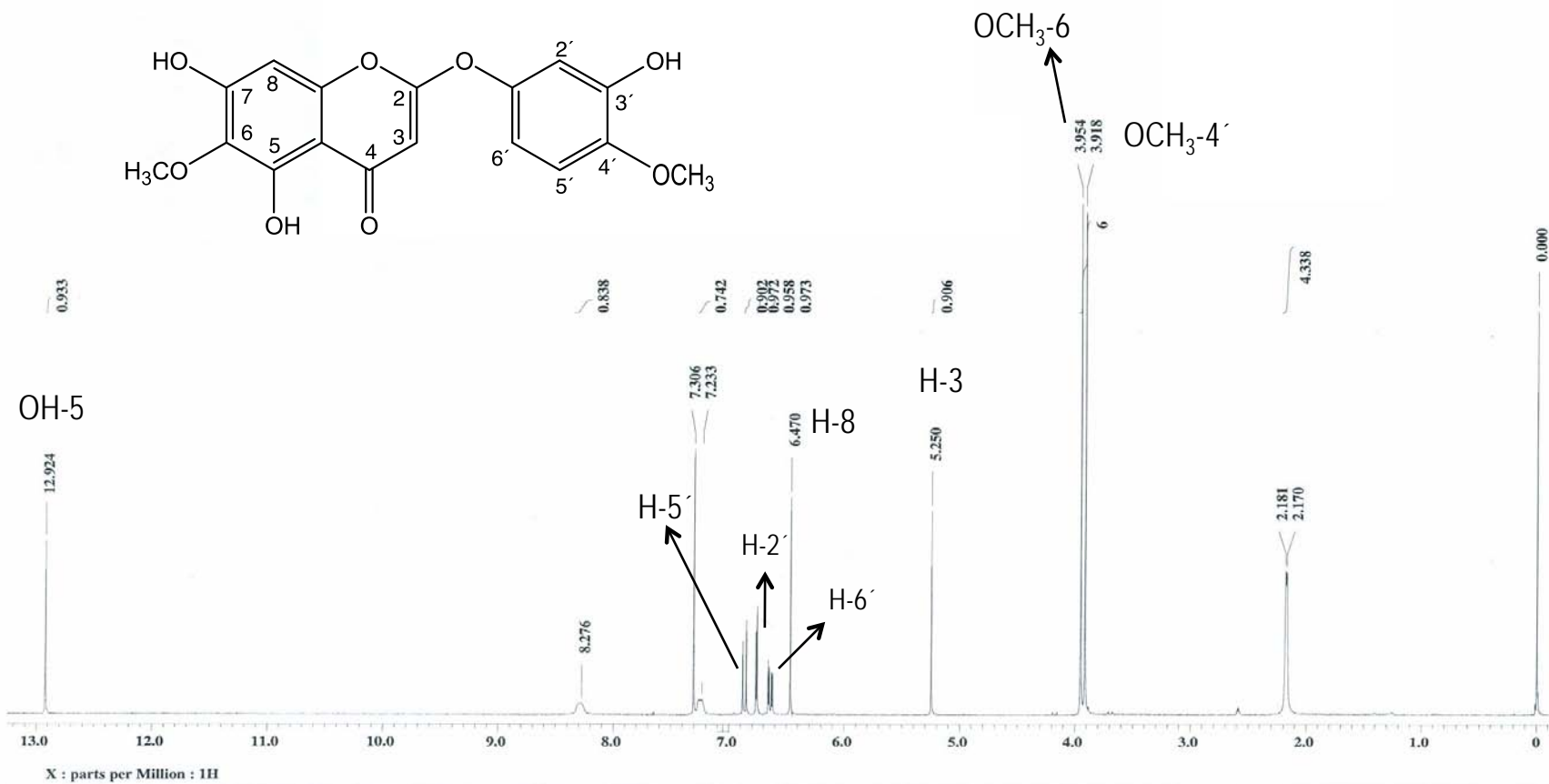
Espectro 10. RMN de  $^{13}\text{C}$  de la 6-metoxi-naringenina (3). Obtenido en  $\text{CDCl}_3$ .



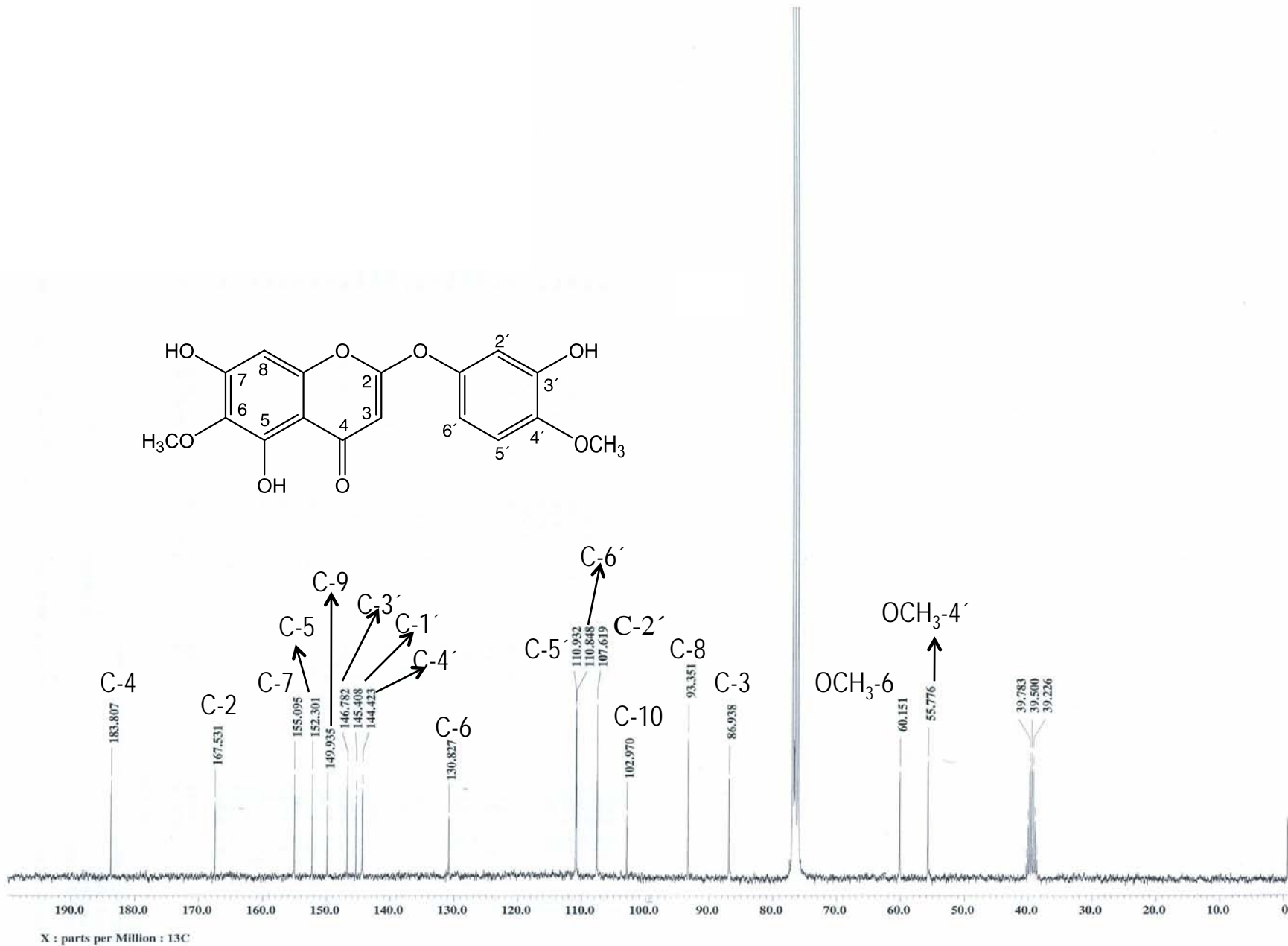
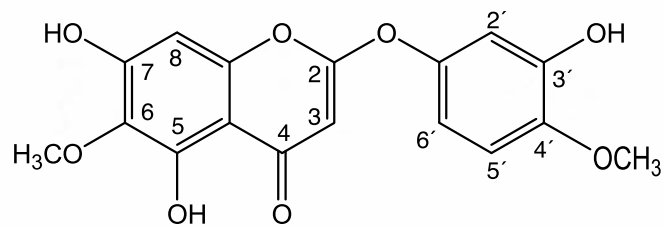
Espectro 11. Experimento HMBC de la 6-metoxi-naringenina (3). Obtenido en CDCl<sub>3</sub>.



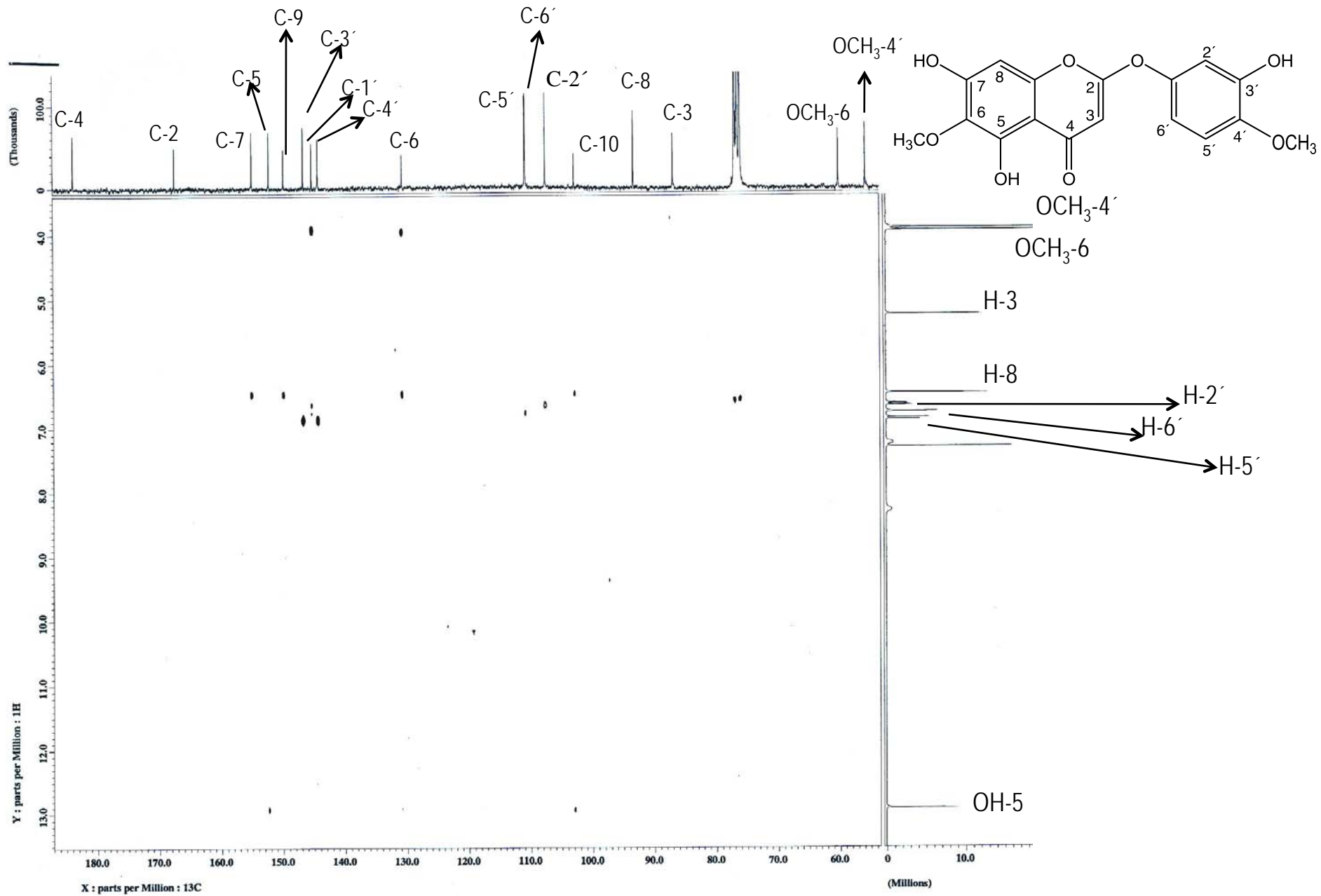
Espectro 12. EM-IE de la 6-metoxi-naringenina (3).



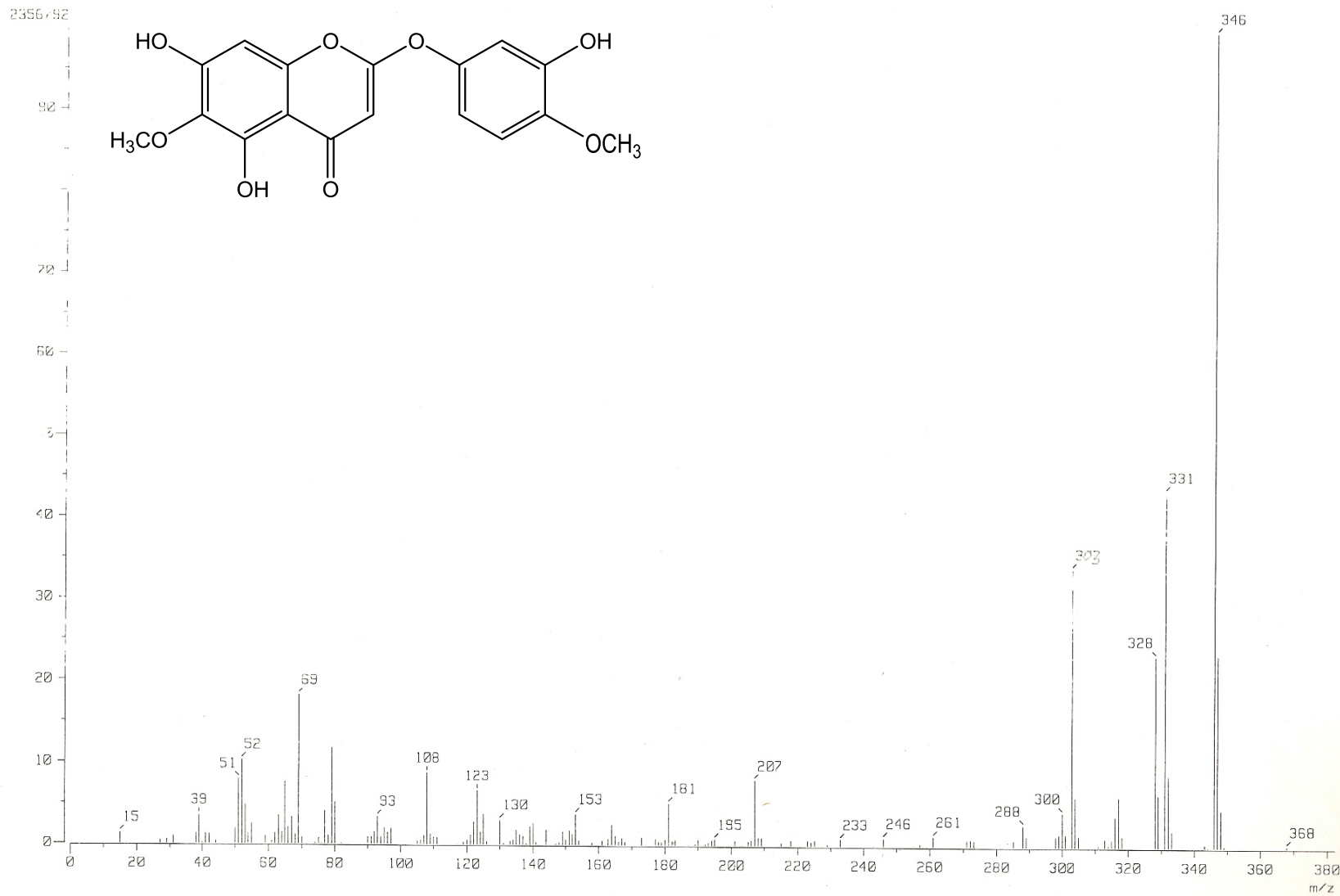
Espectro 13. RMN de <sup>1</sup>H de la tenuiflorina A (4). Obtenido en DMSO-CDCl<sub>3</sub>.



Espectro 14. RMN de <sup>13</sup>C de la tenuiflorina A (4). Obtenido en DMSO-CDCl<sub>3</sub>.

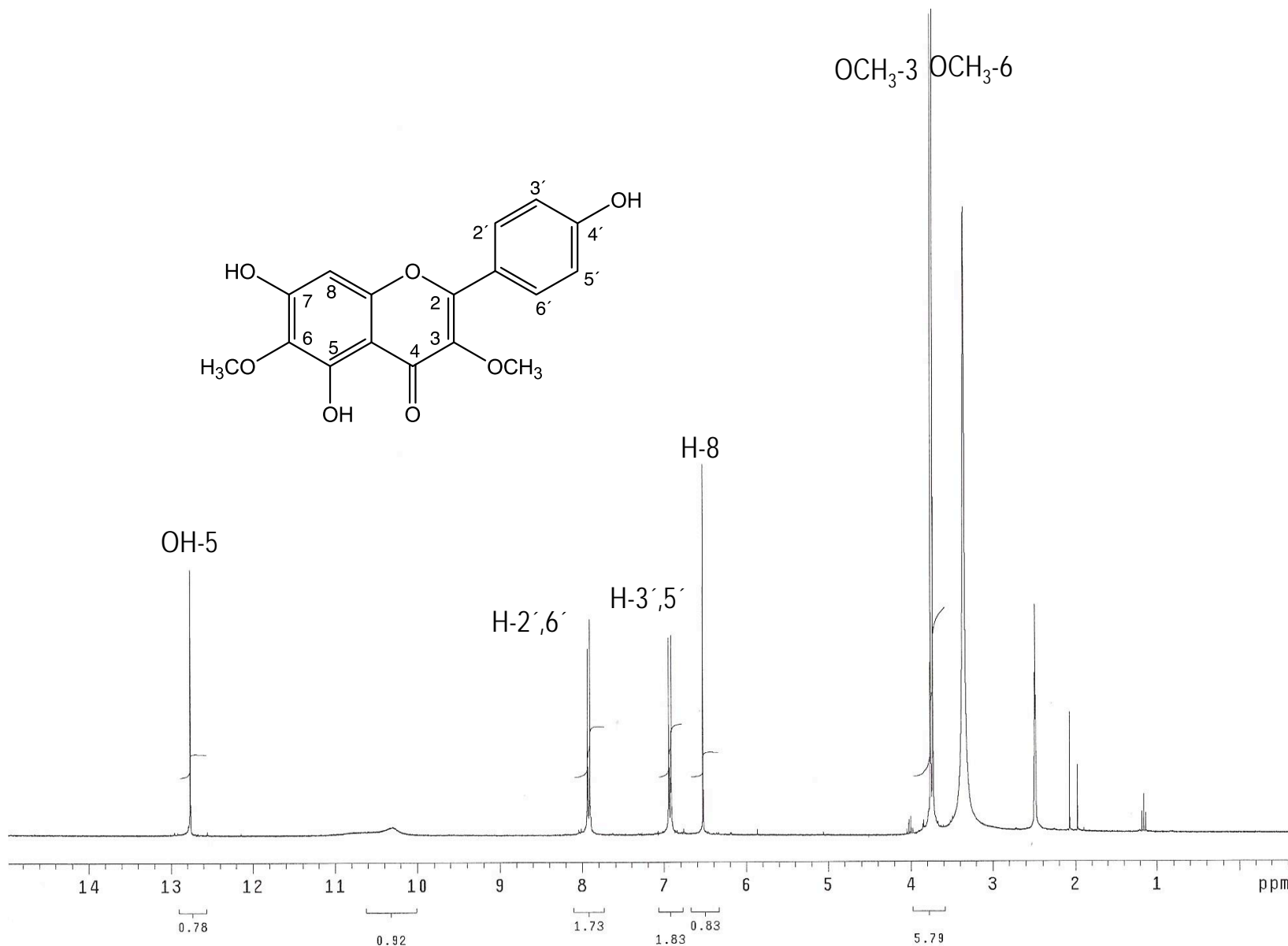


Espectro 15. Experimento FLOCK de la tenuiflorina A (4). Obtenido en CDCl<sub>3</sub>.

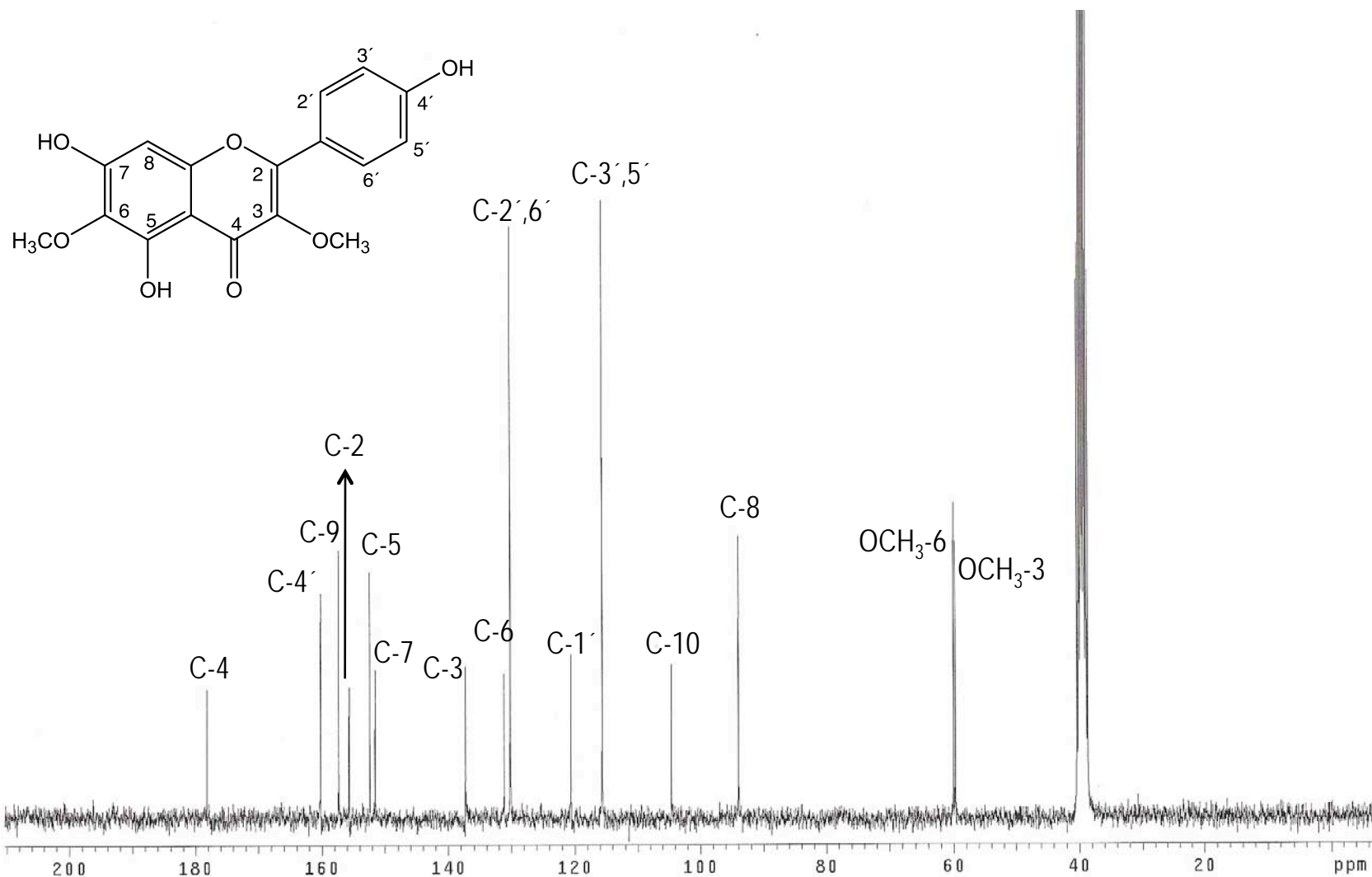


Espectro 16. EM-IE de la tenuiflorina A (4).

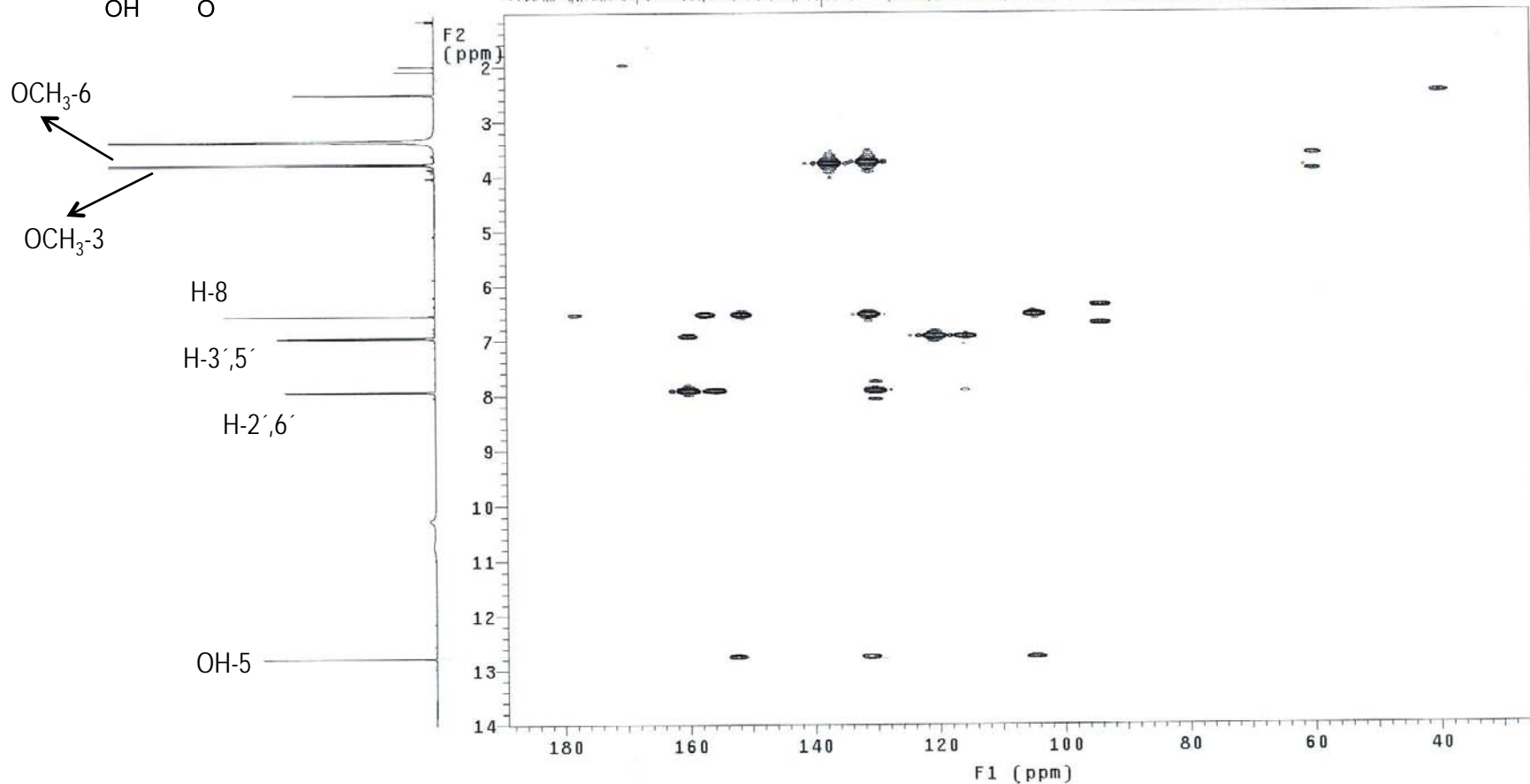
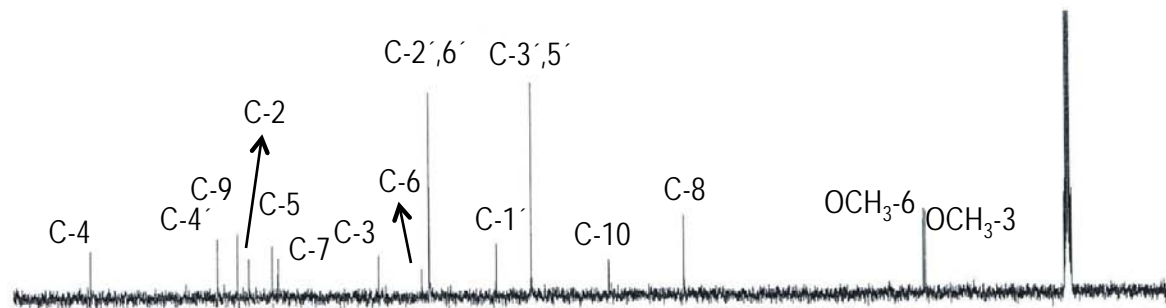
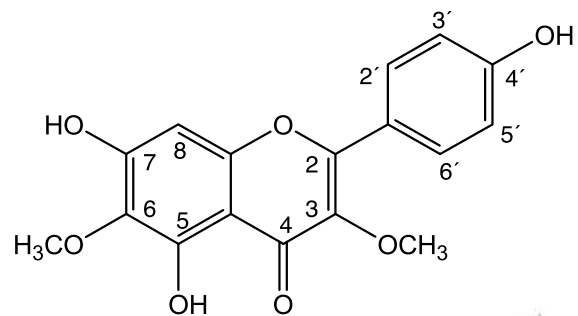




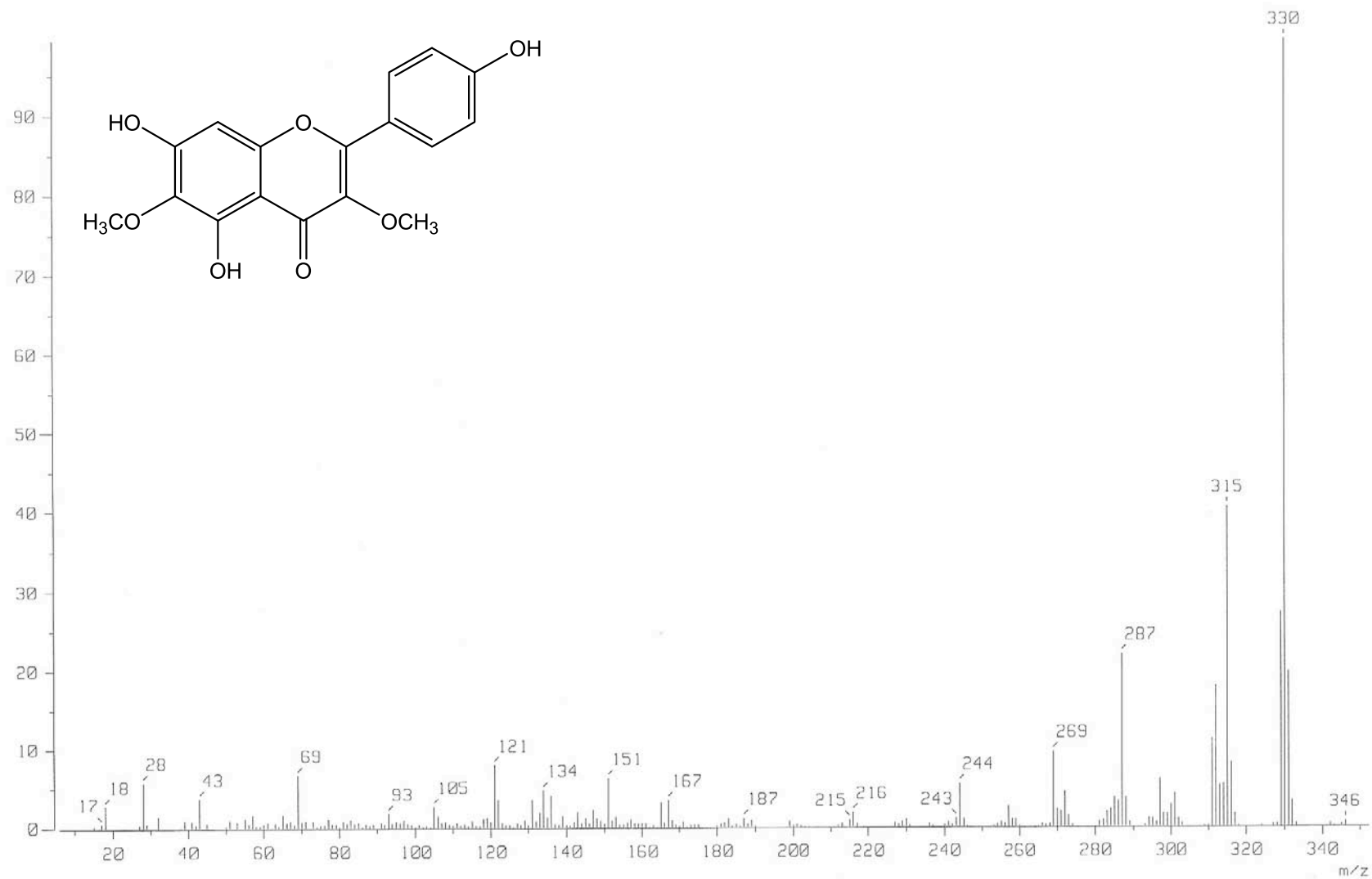
Espectro 17. RMN de <sup>1</sup>H de la 4',5,7-Trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona (5). Obtenido en DMSO.



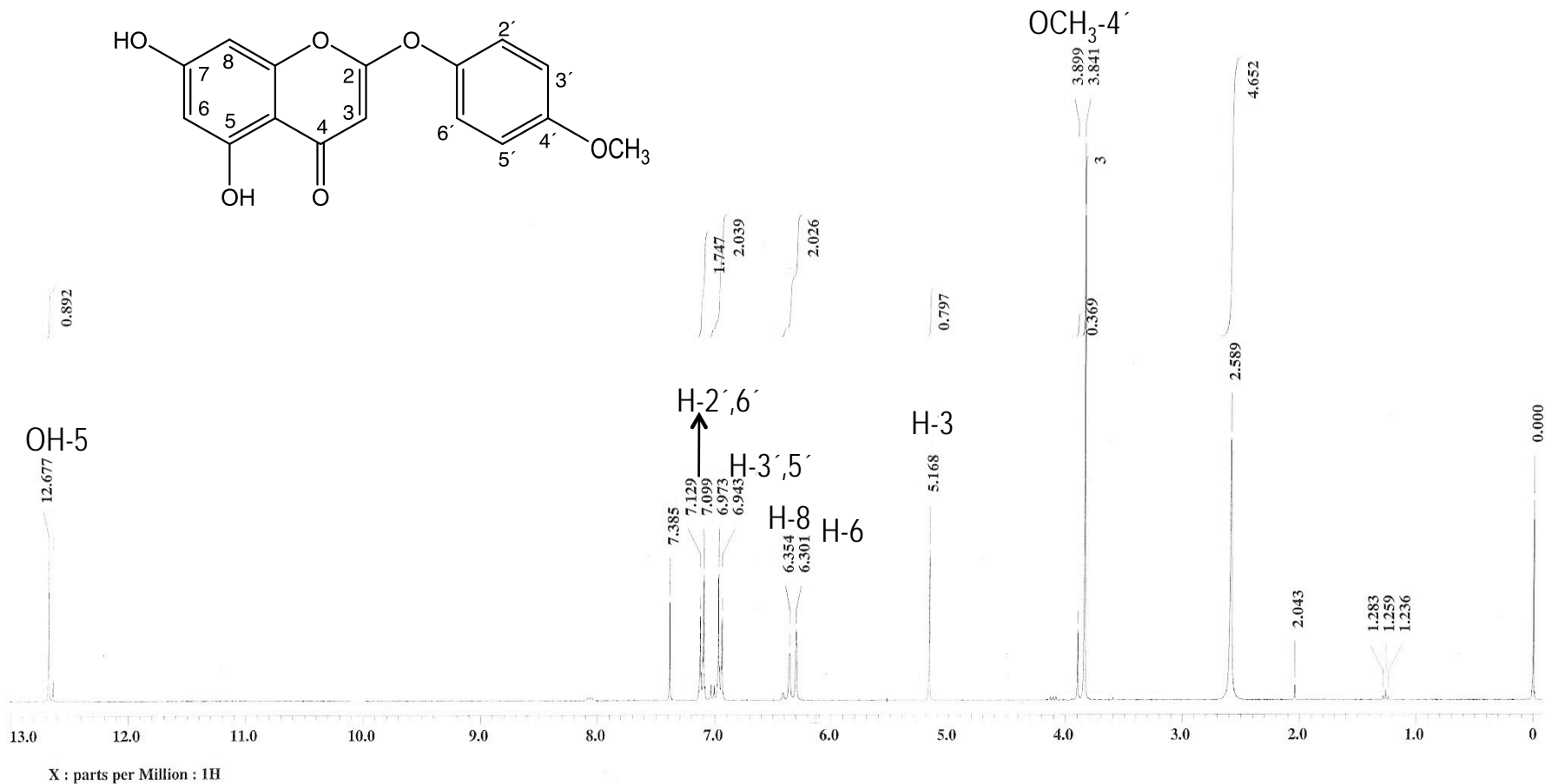
Espectro 18. RMN de  $^{13}\text{C}$  de la 4',5,7-Trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona (5). Obtenido en DMSO.



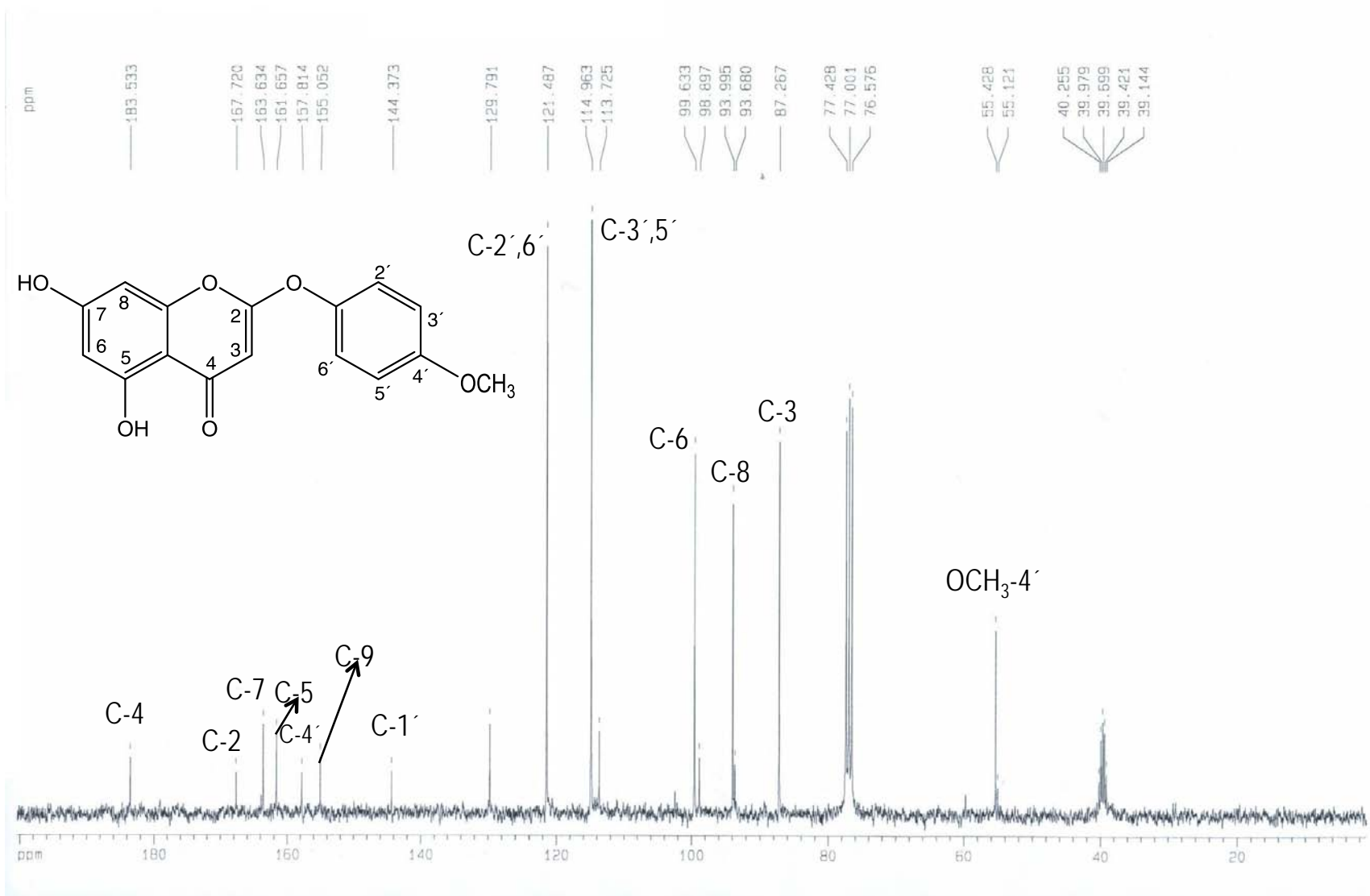
Espectro 19. Experimento HMBC de la 4',5,7-Trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona (5). Obtenido en DMSO.



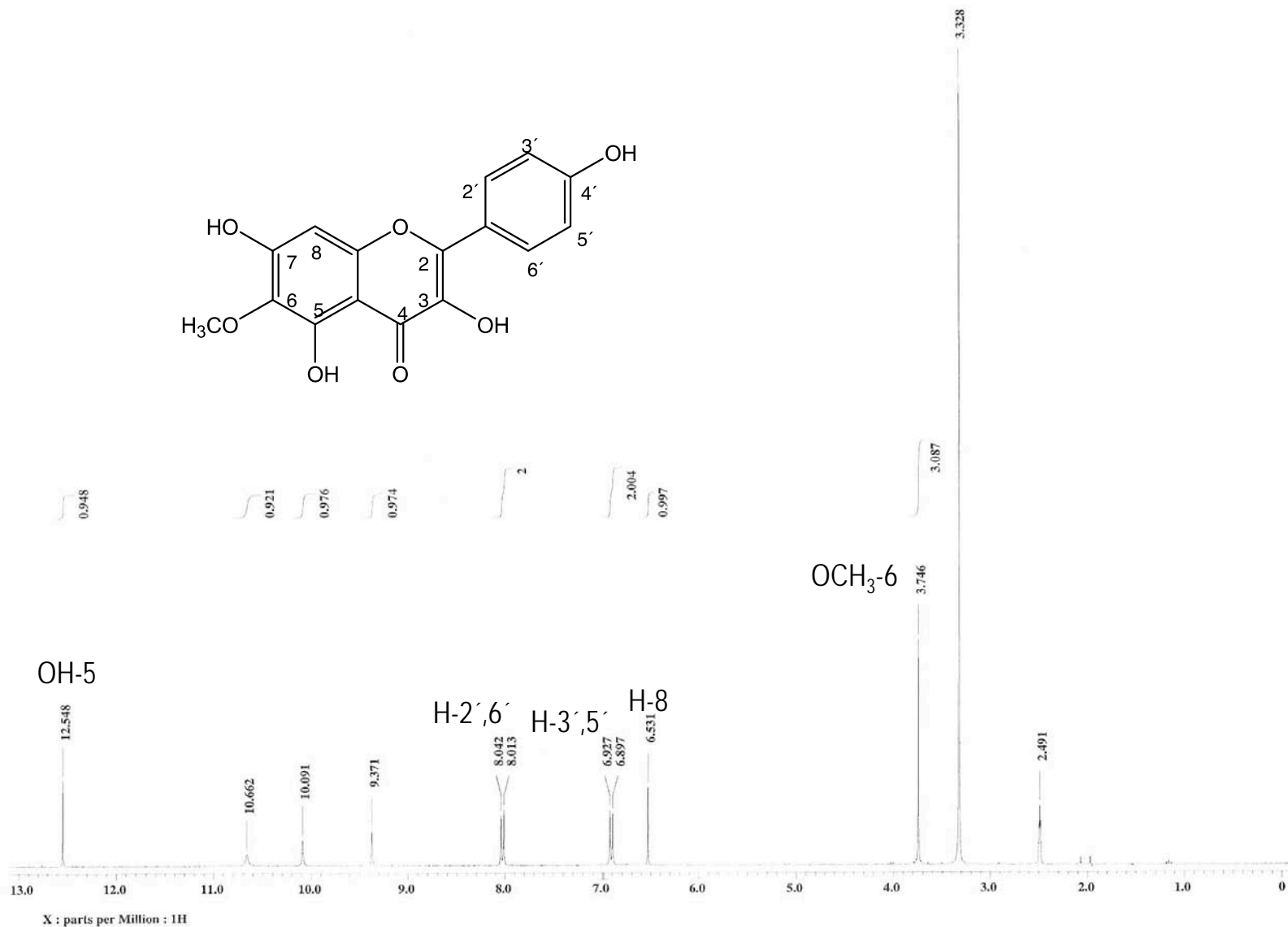
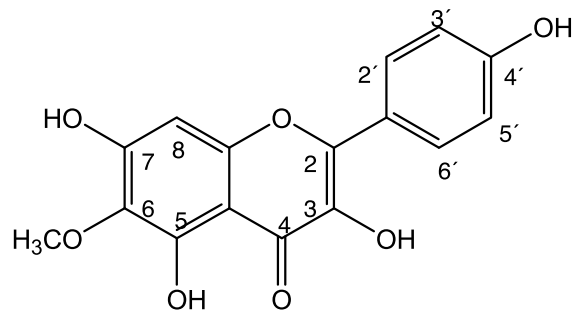
Espectro 20. EM-IE de la 4',5,7-Trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona (5)



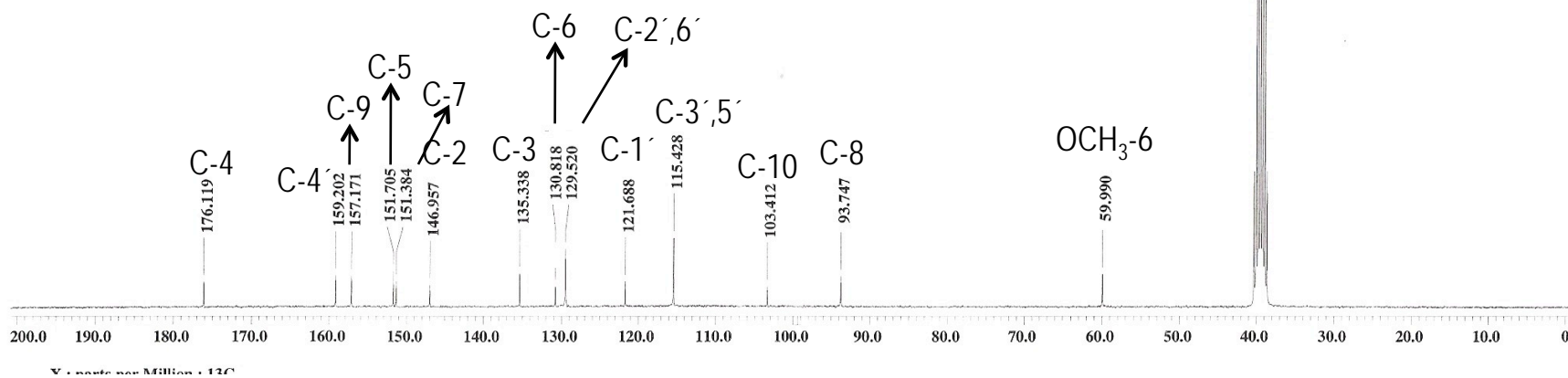
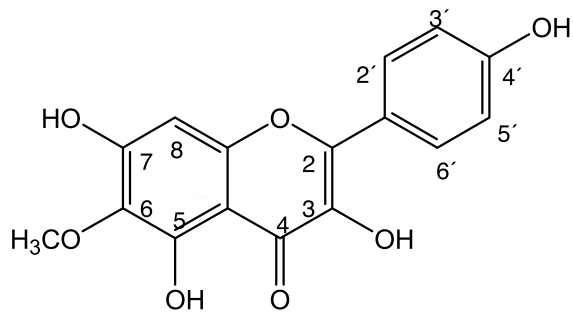
Espectro 21. RMN de  $^1\text{H}$  de la 6-Desmetoxi-4'-O-metil-capilarisina (6). Obtenido en  $\text{CDCl}_3$ -DMSO.



Espectro 22. RMN de  $^{13}\text{C}$  de la 6-Desmetoxi-4'-O-metil-capilarisina (6). Obtenido en  $\text{CDCl}_3$ -DMSO.

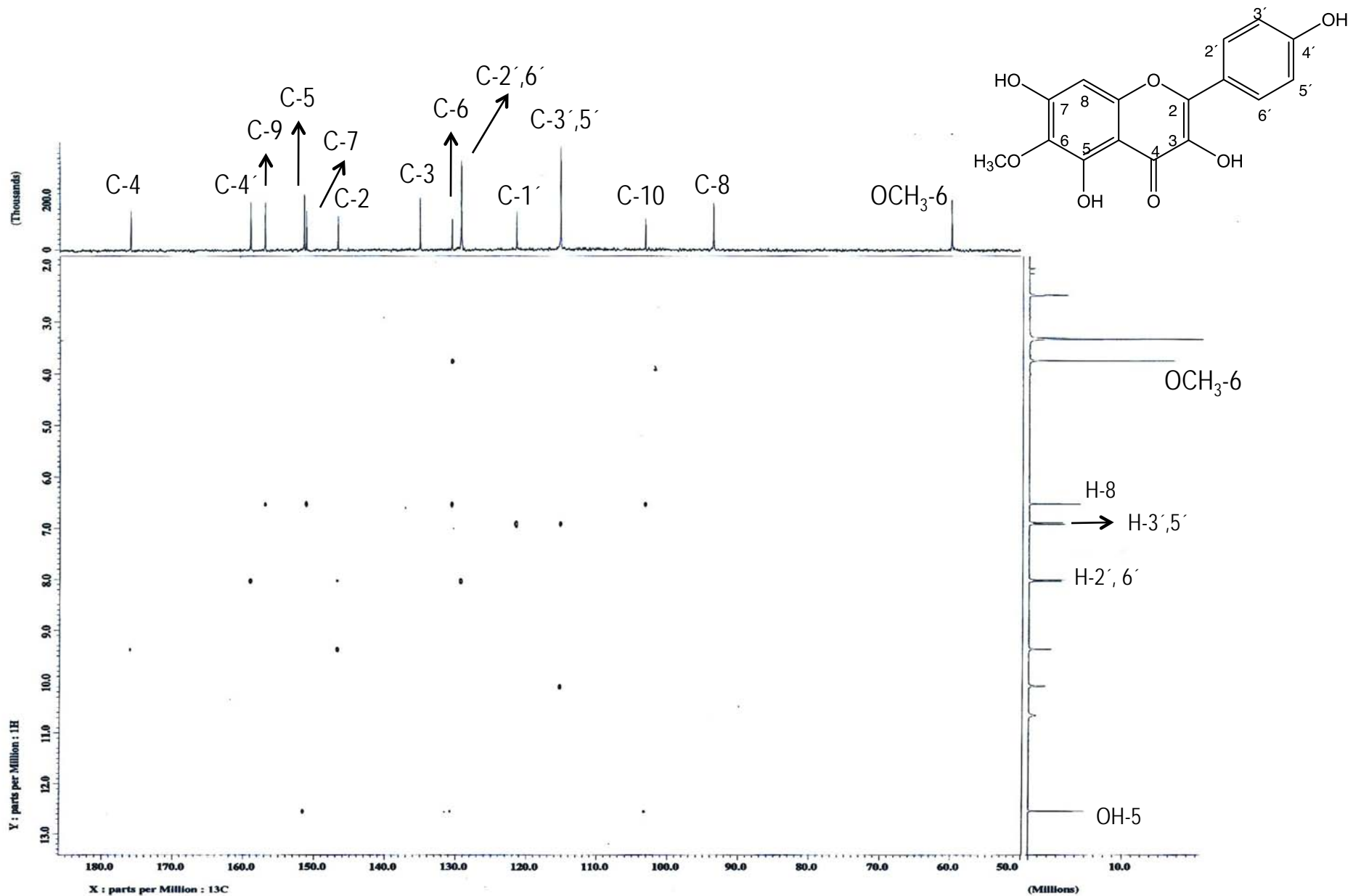


Espectro 23. RMN de <sup>1</sup>H del 6-Metoxi-kaempferol (7). Obtenido en DMSO.

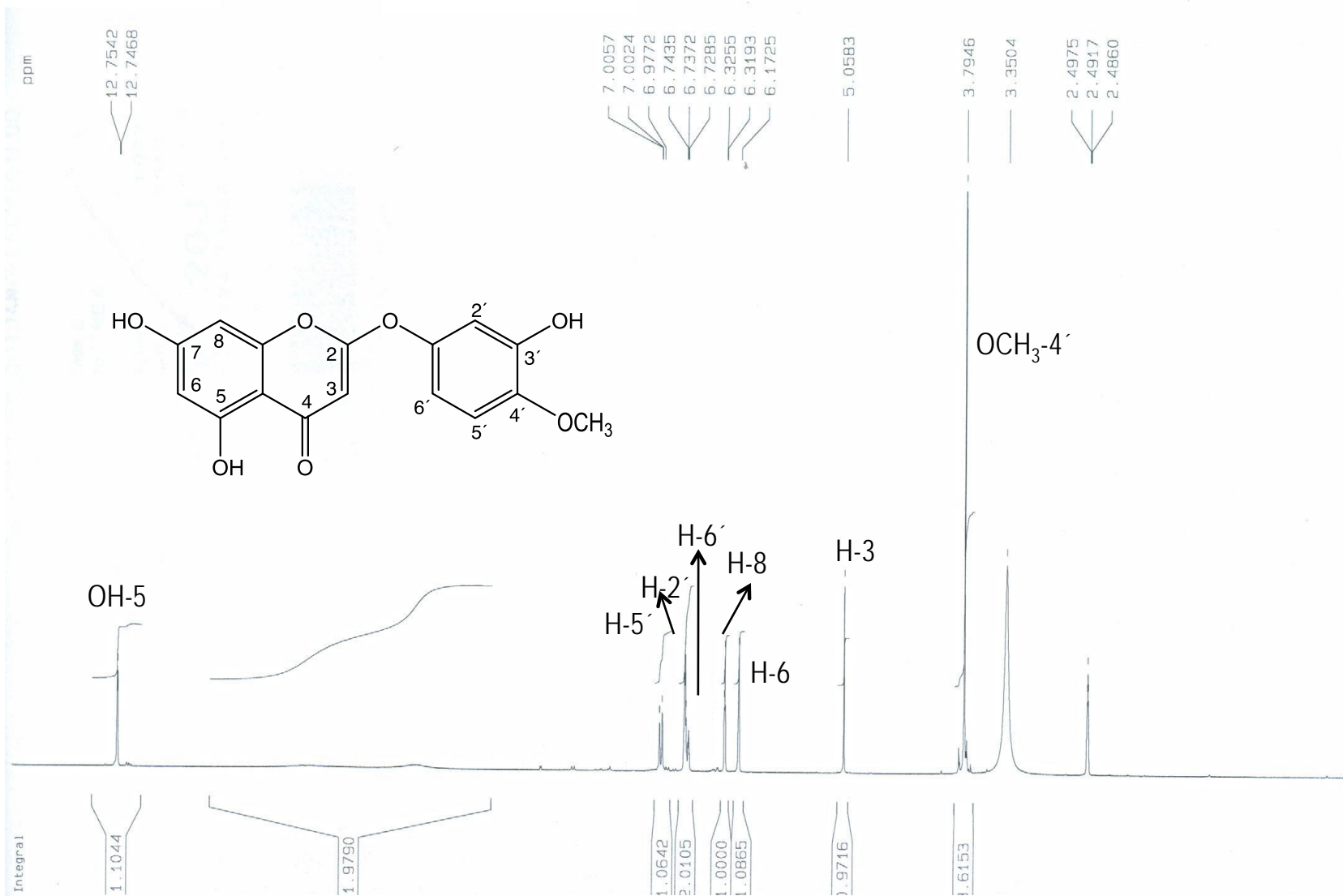


Espectro 24. RMN de  $^{13}\text{C}$  del 6-Metoxi-kaempferol (7). Obtenido en DMSO.

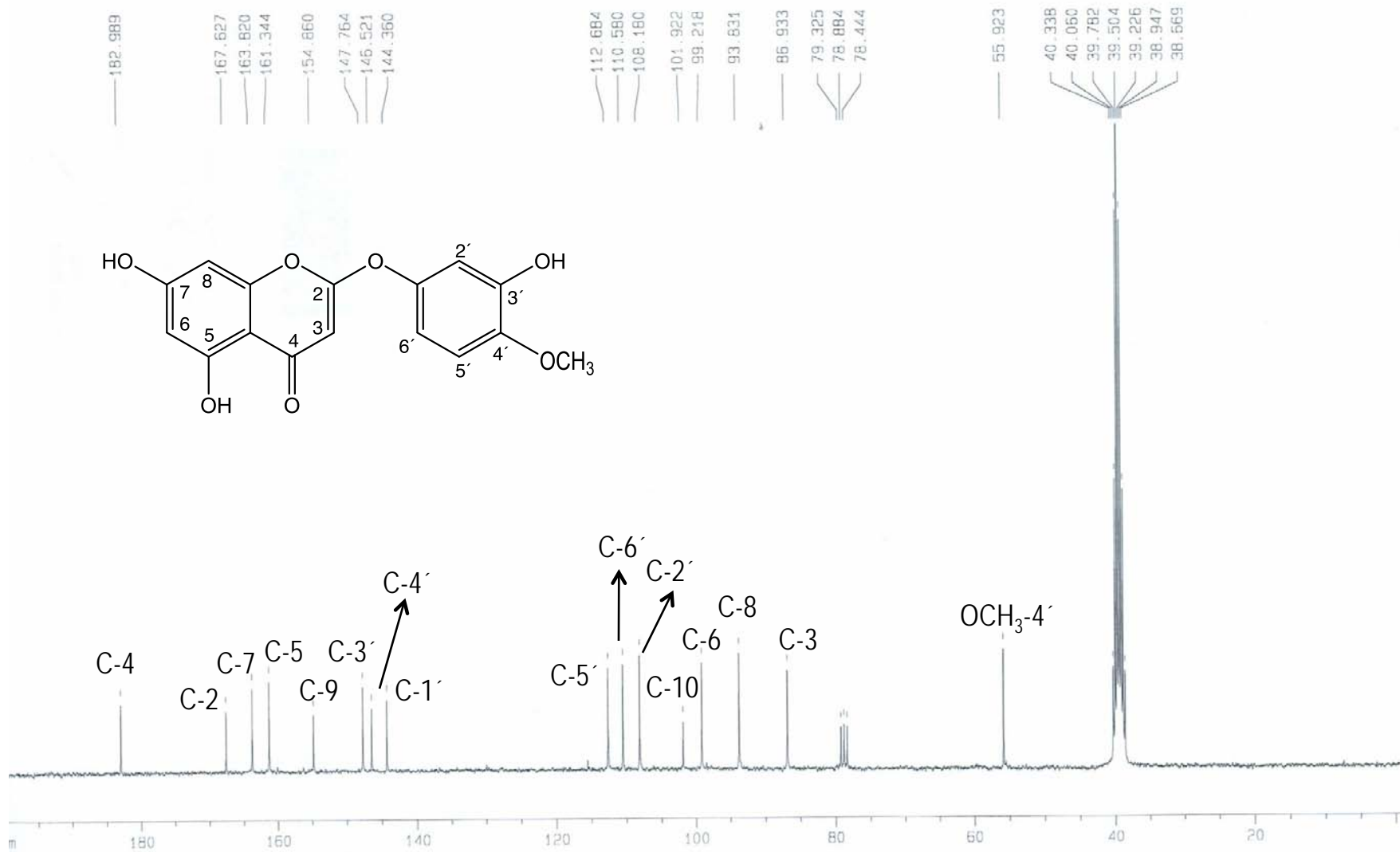




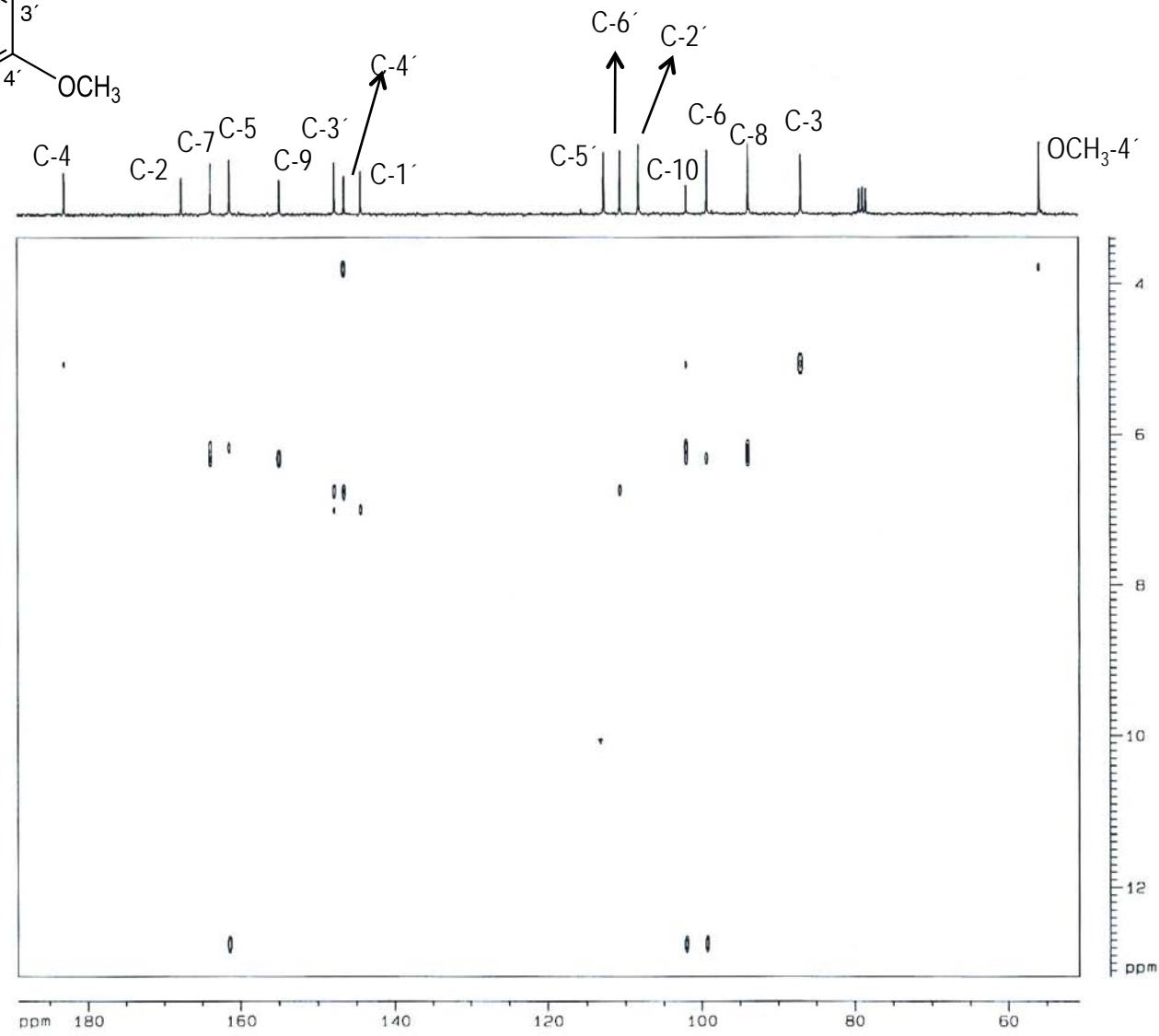
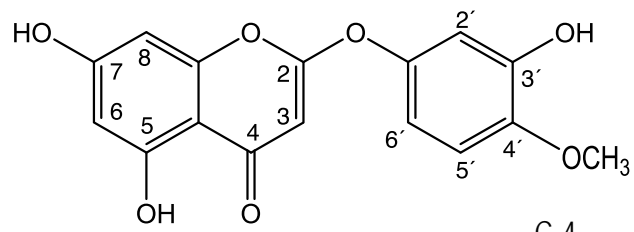
Espectro 25. Experimento FLOCK del 6-Metoxi-kaempferol (7). Obtenido en DMSO.



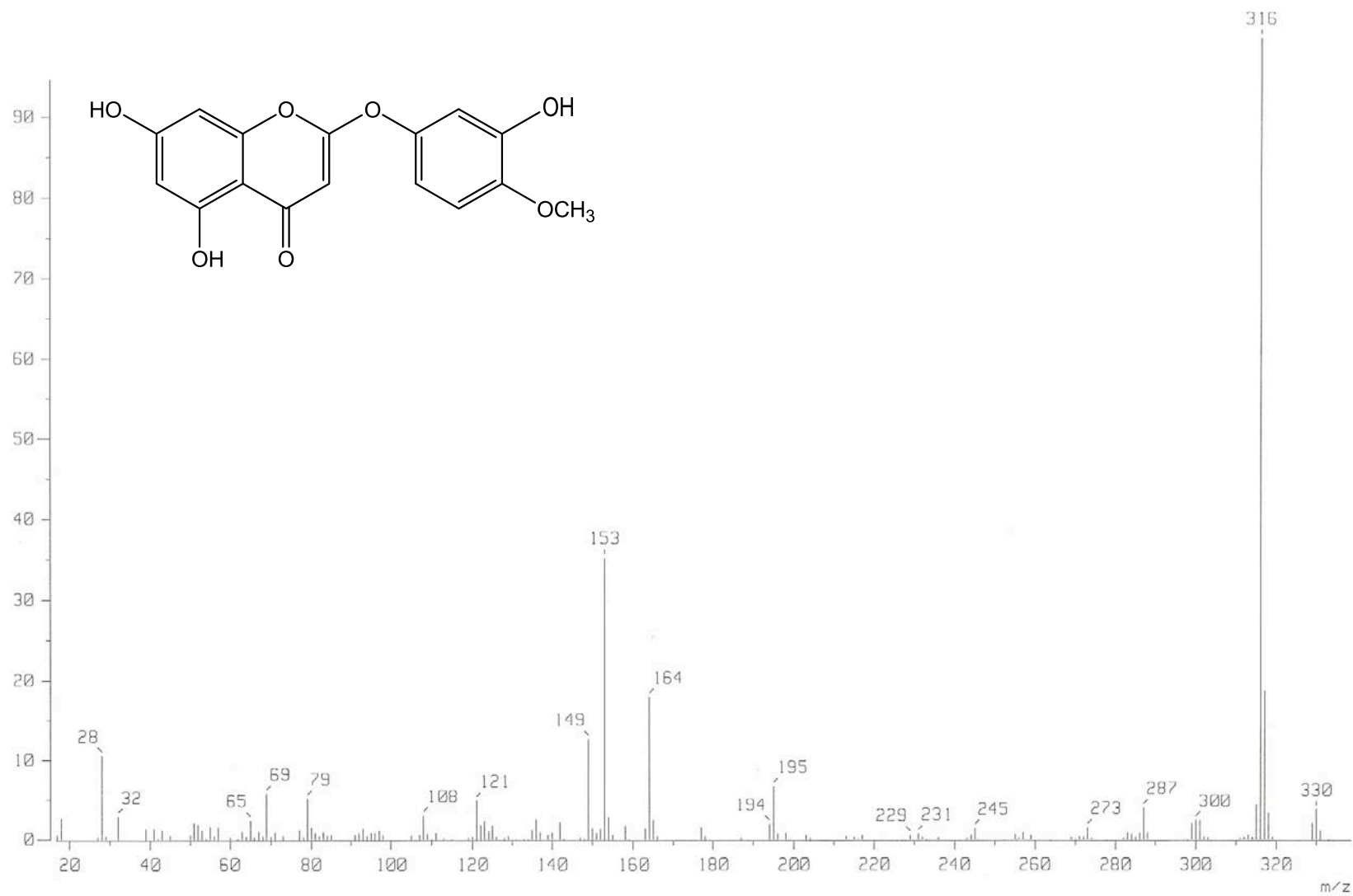
Espectro 26. RMN de <sup>1</sup>H de la Tenuiflorina C (8). Obtenido en CDCl<sub>3</sub>-DMSO.



Espectro 27. RMN de <sup>13</sup>C de la Tenuiflorina C (8). Obtenido en CDCl<sub>3</sub>-DMSO.



Espectro 28. Experimento FLOCK de la Tenuiflorina C (8). Obtenido en  $\text{CDCl}_3\text{-DMSO}$ .



Espectro 29. EM-IE de la Tenuiflorina C (9)