



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE QUÍMICA

ESTUDIO FITOQUÍMICO DEL FRUTO DE

*Crataegus mexicana*

(TEJOCOTE)

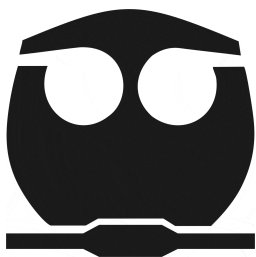
**TESIS**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

**PARIZAD NÚÑEZ CÁZARES**



MÉXICO D.F.

2011



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 ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Arturo Navarro Ocaña

**VOCAL:** José Fausto Rivero Cruz

**SECRETARIO:** Mabel Clara Fragoso Serrano

**1er. SUPLENTE:** José Alberto Rivera Chávez

**2do. SUPLENTE:** Abraham Madariaga Mazón

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**Laboratorio 111, Edificio E, Facultad de Química UNAM**

**ASESOR DEL TEMA**

---

Dr. José Fausto Rivero Cruz

**SUSTENTANTE**

---

Parizad Núñez Cázares

## **AGRADECIMIENTOS**

Esta tesis se realizó con el apoyo económico de los proyectos: PICSA-10-27 otorgado por el Instituto de Ciencia y Tecnología de la Ciudad de México (ICyT); y el IN205709-3 otorgado por el Programa de Apoyo a Proyectos de investigación e Innovación Tecnológica (UNAM– PAPIIT– DGAPA).

Al personal técnico de la USAI de la Facultad de Química; a la Q. Georgina A. Duarte Lisci, a la M. en C. Margarita Guzmán Villanueva y a la M en C. Nuria Esturau Escofet por el registro y análisis de los espectros utilizados en este proyecto.

A los miembros del jurado designado por la revisión del manuscrito de esta tesis.

---

---

	<b>Pág.</b>
Lista de tablas	iv
Lista de diagramas	iv
Lista de figuras	v
Lista de abreviaturas	vii
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES</b>	<b>3</b>
2.1 Nombres comunes	3
2.2 Categoría taxonómica de <i>Crataegus mexicana</i>	3
2.3 Descripción	4
2.3.1 Descripción macroscópica de <i>Crataegus mexicana</i>	4
2.3.2 Descripción microscópica de <i>Crataegus mexicana</i>	5
2.4 Origen del género <i>Crataegus</i>	6
2.5 Distribución de <i>Crataegus mexicana</i>	9
2.6 Historia de <i>Crataegus mexicana</i>	10
2.7 Usos de <i>Crataegus mexicana</i>	12
2.7.1 Etnobotánica	12
2.7.1.1 Formas de dosificación a nivel popular	13
2.7.2 Usos no medicinales	14
2.8 Composición química de flor, fruto, hojas, y raíces del género <i>Crataegus</i>	14
2.9 Farmacología del género <i>Crataegus</i>	18
2.10 Principios activos de <i>Crataegus mexicana</i>	19
2.11 Actividad biológica de la corteza de <i>Crataegus mexicana</i>	20
2.12 Toxicidad de <i>Crataegus mexicana</i>	20
2.13. Análisis cuantitativo de hoja, raíz, fruto y flor	20
2.14 Época de recolecta (frutos)	21
2.15 Aprovechamiento	21
2.16 Comercialización	21

---

---

	<b>Pág.</b>
<b>3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</b>	<b>23</b>
<b>4. PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>25</b>
4.1 Procedimientos generales	25
4.1.1 Análisis cromatográficos	25
4.1.2 Determinación de las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas	25
4.2 Material vegetal	26
4.2.1 Obtención de los frutos	26
4.2.2 Recolección de las hojas y de las flores de <i>Crataegus mexicana</i>	26
4.3 Estudio químico	27
4.3.1 Estudio químico de los frutos de <i>Crataegus</i> <i>mexicana</i>	27
4.3.1.1 Proceso de extracción	27
4.3.1.2 Fraccionamiento primario	27
4.3.1.3 Fraccionamiento secundario	28
4.3.1.4 Obtención de la mezcla de $\alpha$ - y $\beta$ -amirinas a partir de la fracción de C004-VI	28
4.3.1.5 Obtención del ácido oleanólico a partir de la fracción terciaria C004-VII	29
4.3.1.6 Obtención adicional de ácido oleanólico a partir de la fracción terciaria C004-VIII	29
4.3.2 Estudio químico de las hojas y flores de <i>Crataegus</i> <i>mexicana</i>	32
4.3.2.1 Proceso de extracción	32
4.3.2.2 Fraccionamiento primario	32
4.3.2.3 Fraccionamiento secundario	32
4.3.2.4 Fraccionamiento terciario	33

---

	<b>Pág.</b>
4.3.2.5 Obtención de la (-)-epicatequina a partir de H003-IV-2	33
4.3.2.6 Detección de las $\alpha$ - y $\beta$ -amirinas y del ácido oleanólico en los frutos, las hojas y las flores de <i>Crataegus mexicana</i>	35
4.3.2.7 Detección de la (-)-epicatequina, el ácido caféico y el ácido 5-clorogénico, en los frutos, las hojas y las flores de <i>Crataegus mexicana</i>	36
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>38</b>
5.1 Elucidación estructural del ácido oleanólico (C004-VII-1)	38
5.2 Elucidación estructural de la (-)-epicatequina (H003- IV -2)	45
<b>6. RESUMEN Y CONCLUSIONES</b>	<b>52</b>
<b>7. PERSPECTIVAS</b>	<b>54</b>
<b>8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>55</b>

---

**Lista de tablas**

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1.</b> Categoría taxonómica de <i>Crataegus mexicana</i>	3
<b>Tabla 2.</b> Especies del género <i>Crataegus</i> que se emplean en el tratamiento de la hipertensión arterial sistémica y en otros padecimientos	11
<b>Tabla 3.</b> Estructura química de algunos compuestos presentes en el género <i>Crataegus</i>	15
<b>Tabla 4.</b> Estudio de actividad biológica	20
<b>Tabla 5.</b> Análisis cuantitativo de hoja, raíz, fruto, flor	21
<b>Tabla 6.</b> Resumen de las fracciones obtenidas a partir de la fracción C004	28
<b>Tabla 7.</b> Resumen de las fracciones obtenidas a partir de la fracción C004-VII	29
<b>Tabla 8.</b> Resumen de las fracciones obtenidas a partir de la fracción C004-VIII	30
<b>Tabla 9.</b> Resumen de las fracciones obtenidas a partir de la fracción H003	33
<b>Tabla 10.</b> Resumen de las fracciones obtenidas a partir de la fracción H003-IV	33
<b>Tabla 11.</b> Valores de RMN de $^{13}\text{C}$ y $^1\text{H}$ para el ácido oleanólico	44
<b>Tabla 12.</b> Valores de RMN de $^{13}\text{C}$ y $^1\text{H}$ para la (-)-epicatequina	48

**Lista de diagramas**

	<b>Pág.</b>
<b>Diagrama 1.</b> Proceso de extracción y fraccionamiento del extracto total de los frutos de <i>Crataegus mexicana</i>	31
<b>Diagrama 2.</b> Proceso de extracción y fraccionamiento del extracto total de las hojas de <i>Crataegus mexicana</i>	34



## Lista de figuras

	Pág.
<b>Figura 1.</b> <i>Crataegus mexicana</i> . A. rama con hojas, flores y espinas; B. corte longitudinal de la flor; C. rama con frutos	7
<b>Figura 2.</b> <i>Crataegus mexicana</i> Moc & Sessé. (a) árbol, (b) corteza, (c) hojas, (d) flor, (e) fruto, (f) tablilla tangencial, (g) rodaja, (h) corte transversal (5×), (i) corte tangencial (10×) y (j) corte radial (10×).	8
<b>Figura 3.</b> Distribución estimada de <i>C. mexicana</i> Moc & Sessé y <i>C. gracilior</i> Phipps en México	9
<b>Figura 4.</b> Estructura deolean-12-en-28-oato de glucopiranosilo	20
<b>Figura 5.</b> Frutos desecados de <i>Crataegus mexicana</i>	26
<b>Figura 6.</b> (a) Hojas y (b) flores de <i>Crataegus mexicana</i>	27
<b>Figura 7.</b> Placa de HPTLC de gel sílice eluida con hexano-acetato de etilo (70:30) revelada con anisaldehído sulfúrico al 1%. 1= extracto total de las flores; 2= extracto total de las hojas; 3= extracto total de los frutos, 4= fracción de hexano de los frutos; 5= fracción de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> de los frutos; 6= α- y β-amirinas; 7= ácido oleanólico	35
<b>Figura 8.</b> Placa de HPTLC de gel sílice eluida con acetato de etilo-metanol-ácido fórmico (70:30:0.2) y revelada con vainillina sulfúrica al 1%. 1= extracto total de las flores; 2= extracto total de las hojas; 3= extracto total de los frutos, 4= fracción de acetato de etilo; 5= quercetina; 6= (-)-epicatequina; 7= ácido cafeíco; 8= ácido 5-clorogénico	36
<b>Figura 9.</b> Placa de HPTLC de gel sílice eluida con acetato de etilo-metanol-ácido fórmico (70:30:0.2) y revelada con vainillina sulfúrica al 1%. 1= extracto total de las flores; 2= extracto total de las hojas; 3= extracto total de los frutos, 4= fracción de acetato de etilo; 5= quercetina; 6= (-)-epicatequina; 7= ácido cafeíco; 8= ácido 5-clorogénico	37
<b>Figura 10.</b> Espectro de masas del ácido oleanólico	39
<b>Figura 11.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H del ácido oleanólico (400 MHz, Piridina-d <sub>5</sub> )	40

---

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 12.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C del ácido oleanólico (100 MHz, Piridina- <i>d</i> <sub>5</sub> )	41
<b>Figura 13.</b> Espectro de HMBC de una dimensión del ácido oleanólico	42
<b>Figura 14.</b> Espectro de HSQC de una dimensión del ácido oleanólico	43
<b>Figura 15.</b> Espectro de RMN- <sup>1</sup> H de la (-)-epicatequina (MeOH- <i>d</i> <sub>6</sub> , 400 MHz)	46
<b>Figura 16.</b> Espectro de RMN- <sup>13</sup> C de la (-)-epicatequina (MeOH- <i>d</i> <sub>6</sub> , 100 MHz)	47
<b>Figura 17.</b> Estructuras de los compuestos aislados y detectados en las diferentes partes de <i>Crataegus mexicana</i> (frutos, hojas y flores)	51

## Lista de abreviaturas

<b>Abreviatura</b>	<b>Significado</b>
AcOEt	Acetato de etilo
CCA	Cromatografía en columna abierta
CCF	Cromatografía en capa fina
CD <sub>3</sub> OD	Metanol deuterado
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Diclorometano
cm	Centímetros
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	2,2-difenil-1-picril hidrazilo (radical libre)
ECA	Enzima Convertidora de Angiotensina
ECV	Enfermedades Cardiovasculares
eV	Electro volts
Exto.	Extracto
FHEUM	Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos
Fracc.	Fracción
g	Gramos
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Resolución
i.m.	Intramuscular
i.p.	Intraperitoneal
L	Litros
m	Metros
MeOH	Metanol
mg	Miligramos
MHz	Megahertz
mL	Mililitros
mm	Milímetros
msnm	Metros sobre el nivel del mar
nm	Nanómetros
PP	Placa preparativa

---

**Lista de abreviaturas (continuación)**

<b>Abreviatura</b>	<b>Significado</b>
ppm	Partes por millón
RMN- <sup>1</sup> H	Resonancia magnética nuclear protónica
RMNC- <sup>13</sup> C	Resonancia magnética nuclear de carbono trece
Sol.	Soluble
Sust.	Sustancia
TGC	Triglicéridos
Tot.	Total

## 1. INTRODUCCIÓN

*Crataegus mexicana* mejor conocido como tejocote, es un fruto del árbol del mismo nombre, perteneciente a la familia de las rosáceas, nativo de México, (Núñez *et al.*, 2008). Desde la época prehispánica, los frutos del tejocote fueron colectados para consumo y sembrados en huertas de los pueblos indígenas, posteriormente fueron cultivados con fines comerciales. Los frutos de las especies de *Crataegus* son utilizadas en las celebraciones tradicionales de Todos Santos y Navidad, principalmente en la elaboración de bebidas (ponche) y consumo en fresco (dentro de las piñatas). El tejocote, por lo tanto, es una parte importante de la cultura tradicional mexicana (Núñez, 2009). Hasta el siglo XIX, la Sociedad Mexicana de Historia Natural relata el uso del tejocote como diurético y pectoral. A partir del siglo XX, varios autores e instituciones reportan usos medicinales. En México se emplea para el tratamiento de afecciones digestivas, renales, cardíacas, del tracto respiratorio (Argueta *et al.*, 1994), como diurético (Cabrera, 1982), antidiabético (Cedillo, 1990; González, 1981; Martínez, 1980), incluso para adelgazar (Argueta *et al.*, 1994). La droga consiste en la parte externa y protectora de la raíz, flor, hojas y fruto (Hernández, 2008). En la literatura disponible hasta el momento, existen escasos reportes de estudios fitoquímicos de *C. mexicana*. Gracias a ellos se sabe que en raíz, hojas, flores y frutos hay resinas, ceras, taninos, flavonoides, ácidos orgánicos, reductores, principios pépticos, glúcidos y azúcares. Por otra parte, se describe en la flor presencia de aminas terciarias y quercetina, y en la raíz presencia de flavonoides (Owen, 1932). Estudios realizados con los extractos alcohólicos de las hojas, flores, frutos, corteza y raíz, describen la acción cardiotónica sobre corazón aislado de tortuga, la cual consistió en la disminución de la frecuencia y la ampliación de las contracciones cardíacas, se identificó la sustancia activa como crategina (Breton, 1941). Además, los extractos hidroalcohólicos tanto el de raíces como el de hojas presentaron inhibición de la ECA. Los metabolitos presentes en una de las fracciones activas obtenidas del material, era el olean-12-en-28-oato de glucopiranosilo (Hernández, 2008).

La selección de la especie medicinal se realizó considerando que es una de las cien especies medicinales más comercializadas en México con fines curativos, tanto en centros de acopio de hierbas curativas como en mercados, tianguis y otros expendios de drogas crudas y productos herbolarios terminados (Prontuario publicado por Herbolaria Universal 1997; FHEUM, 2001).

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Nombres comunes

*Crataegus mexicana* es una especie nativa de México y es conocida con diferentes nombres comunes, por ejemplo en Chiapas se le llama “*Kanal chiste*”, manzanilla, manzanita, manzanillo, tejocote cimarrón (Argueta *et al.*, 1994); en el Distrito Federal “*texócotl*” del náhuatl que significa “*tetl*”: piedra y “*xocotl*”: fruto ácido “fruto ácido de piedra” (CONABIO, 2011); en el Estado de México “*npeni*” (otomí) (Argueta *et al.*, 1994), “*pedyi*” (lengua mazahua); en Michoacán “*karhasi*”, “*karasa*”, “*karash*”, “*karasu*” (purépecha) (Rzedowski *et al.*, 2005), “*caiasa*”, “*carasu*” (lengua tarasca), manzanilla, manzanita; en Oaxaca: “*pelo-ujij*”, “*yaga-be-lohui*” (lengua zapoteca), “*el-pate-shima-lo*” (lengua chontal) (CONAFOR, 2011), manzanita tejocotera, hierba del tejocote, manzanilla colorada, tejocote chico o criollo, tejolote, texocotl (Márquez, 1999).

### 2.2 Categoría taxonómica de *Crataegus mexicana*

La categoría taxonómica de *C. mexicana* se muestra en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Categoría taxonómica de *Crataegus mexicana* (Hernández, 2008).

Reino:	Plantae
Subreino:	Tracheobionta
Subdivisión:	Spermatophyta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Rosidae
Orden:	Rosales
Familia:	Rosaceae
Subfamilia:	Maloideae
Género:	<i>Crataegus</i>
Especie:	<i>Crataegus mexicana</i>

## 2.3 Descripción

### 2.3.1 Descripción macroscópica de *Crataegus mexicana*

*Crataegus mexicana*, crece en un árbol de 4 a 7(10) m de alto o a veces arbusto, de hoja decidua, por lo común provisto de espinas que a menudo son muy fuertes, hasta de 5(6) cm de largo, en ocasiones parcial o totalmente inerme; tronco hasta de 30 cm de diámetro, ramas café-rojizas, pasando con la edad a grisáceas, las más jóvenes densamente vilosas; estípulas lanceoladas a o blanceoladas, hasta de 1.2 cm de largo y 2 mm de ancho, a veces falcadas o semiovadas y algo más cortas y anchas, con glándulas cortamente estipitadas en el margen, caedizas, peciolos de 5 a 10 mm de largo, más o menos canaliculados en el haz, láminas foliares amplia o estrechamente elípticas a lanceoladas u o blanceoladas, a veces tendiendo a rómbicas, de 3(2.5) a 7.5(9) cm de largo por 1.5(1) a 4(5) cm de ancho, ápice agudo o a veces obtuso a casi redondeado, en ocasiones apiculado, base por lo general cuneada, margen comúnmente serrado hacia la parte superior con dientes glandulíferos y entero hacia el medio o tercio inferior, en las hojas de ramas jóvenes a veces tendiendo a algo lobado (Rzedowski *et al.*, 2005).

Tiene hojas con láminas romboideo-elípticas a ovadas u oblongas a obavadas, de 3 a 11 cm de largo, por 1 a 5 cm de ancho (Gutiérrez, 1991), con el borde aserrado (Cedillo, 1990), vena media hundida en el haz, prominente en el envés, con 6 a 8 pares de venas laterales evidentes, de textura algo coriácea en la madurez, de color más oscuro en el haz, densamente vilosas por ambas caras, en especial en la juventud en el envés y sobre las nervaduras, pero con tendencia a la glabrescencia con la edad, a veces quedando prácticamente lampiñas con excepción de las nervaduras (Rzedowski *et al.*, 2005).

Inflorescencia corimbiforme, densamente blanco-vilosa, compuesta de 4(3) a 10(12) flores, con frecuencia acompañadas de varias o numerosas brácteas provistas en el margen de glándulas cortamente estipitadas; flores de 1.5 a 2 cm de diámetro; hipantio blanco viloso por fuera, los segmentos del cáliz estrechamente triangulares, de 5 a 7(8) mm de largo, terminados en punta u



ocasionalmente con 2(4) dientes glandulosos en el ápice, de margen por lo general entero, pero en algunos casos con varias glándulas cortamente estipitadas, por lo común densamente vilosos por fuera y por dentro, excepcionalmente glabros por fuera; pétalos blancos, a veces algo teñidos con color de rosa, suborbiculares, cortamente unguiculados, de 8 a 10 mm de largo y casi otro tanto de ancho; estambres alrededor de 20, dispuestos en 2 verticilos de longitud algo desigual, anteras oblongas, de 1 a 1.5(1.7) mm de largo; estilos 3(2) a 5, de los cuales 1 ó 2 pueden estar mal desarrollados (Rzedowski *et al.*, 2005), corola y androceo en el borde del cáliz; el gineceo ínfero constituido por 5 carpelos unidos al eje floral; en cada división del ovario hay dos óvulos ascendentes (Owen, 1932).

El fruto es amarillo-anaranjado, globoso o algo turbinado (Rzedowski *et al.*, 2005), carnosos y secos (Márquez, 1999) de 1.5(1.2) a 2.5(4) cm de diámetro, con frecuencia más o menos viloso, sobre todo en la juventud; lóbulos del cáliz persistentes, núculas 3(1) a 5, lisas, de color café, a menudo trígonas, de 6 a 10 mm de largo (Rzedowski *et al.*, 2005). Usualmente tiene 3 ó 4 semillas, muy duras, de 1 cm de largo, cafés, lisas, con tres costillas (Gutiérrez, 1991), ellas contienen un embrión voluminoso desprovisto de endospermio (Owen, 1932).

### **2.3.2 Descripción microscópica de *Crataegus mexicana***

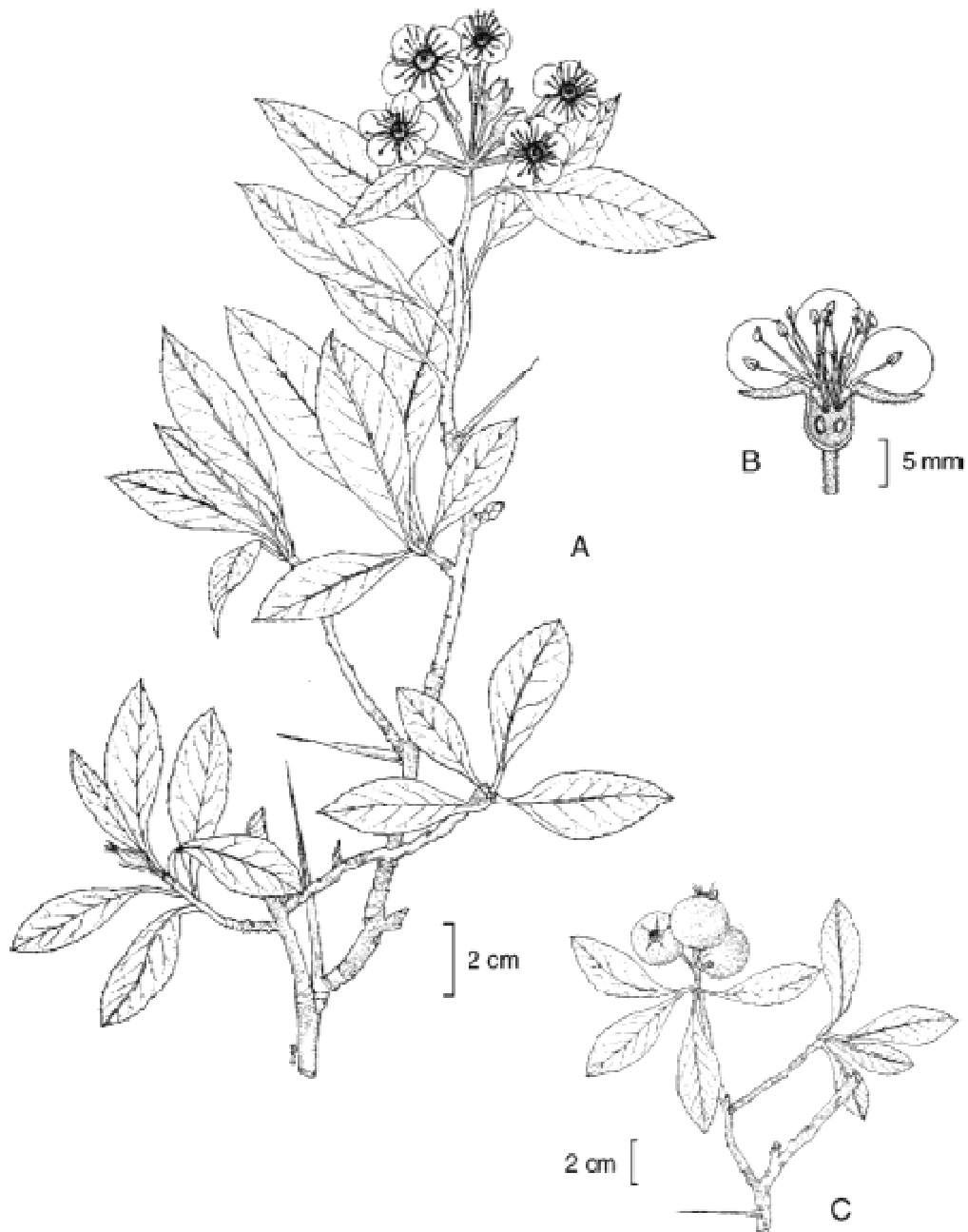
La madera presenta porosidad difusa, la mayoría de los poros son solitarios y pocos son múltiples radiales de 2, son muy numerosos, de contorno oval, de diámetro tangencial pequeño. Los elementos de vaso son medianos, sus paredes presentan punteaduras areoladas alternas, redondas a ovales, la platina de perforación es simple y la pared terminal es oblicua. Algunos presentan gomas. El parénquima axial es apotraqueal difuso agregado. Los radios son pocos, uniseriados, de 8 células de altura y la mayoría son biseriados, numerosos, heterogéneos, muy bajos y finos. Las punteaduras de radio-vaso son semejantes a las intervasculares. Ambos parénquimas presentan gomas y el radial presenta

cristales prismáticos. Las fibras son de tipo fibrotraqueida, de longitud corta, de diámetro fino y de pared delgada (Pérez *et al.*, 2008).

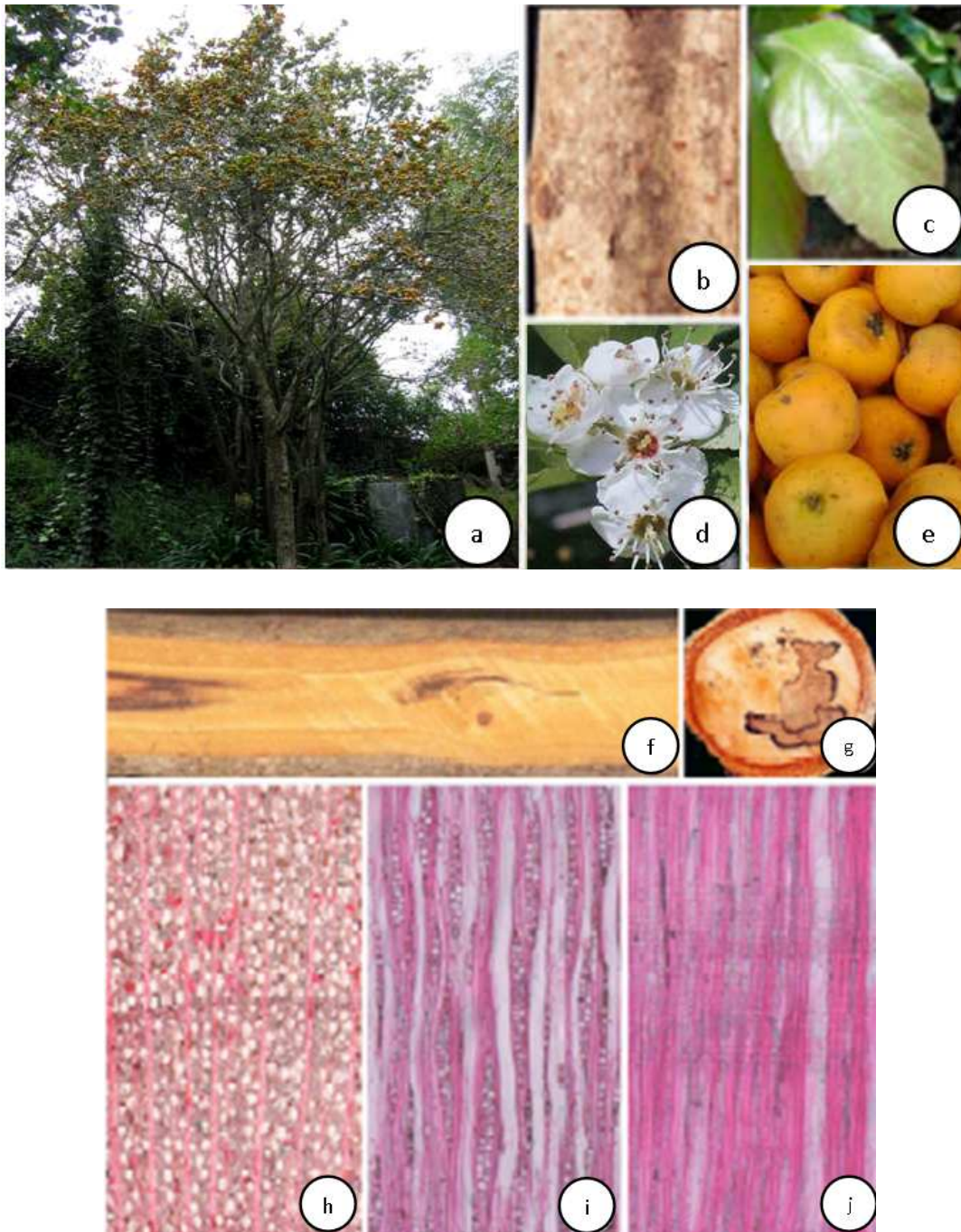
#### 2.4 Origen del género *Crataegus*

Existen aproximadamente 200 especies del género *Crataegus*, las cuales tiene su origen en China y México. Son cultivadas en Asia, Australia, Canadá, México, América Central y Ecuador (Vivar *et al.*, 2005). Se distribuye en todo el mundo, pero sólo en el hemisferio norte (Niño *et al.*, 2009). El género *Crataegus* es el más amplio y taxonómicamente complejo de los géneros de plantas superiores en Estados Unidos de América, se han reportado 13 especies en el norte y centro de México y dos o más especies pueden existir en el sur de México. Phipps y sus colaboradores (2003) reportaron que las especies mexicanas pertenecen a seis diferentes series taxonómicas (*baroussanae*, *greggiana*, *parvifoliae*, *madrenses*, *crus-galli* y *mexicanae*), pero se desconoce la ubicación de la más amplia biodiversidad de *Crataegus* en México (Núñez, 2009).

Adicionalmente, la identificación de ejemplares de este género es problemática, se cometen errores al identificar ejemplares de tejocote como *C. pubescens* (Kunth) Steud. que es un nombre incorrecto desde 1997, siendo correctamente referido como *C. gracilior* Phipps para ciertos especímenes; además, que a partir del trabajo de Eggleston (1909) es conocido que *C. mexicana* DC y *C. pubescens* (*C. gracilior*) son dos especies diferentes, lo que fue desapercibido por los taxónomos mexicanos hasta la reclasificación de Phipps (1997), esto fue ampliamente discutido por Núñez (2008) quien cuestionó la validez de nombres específicos como *C. stipulosa* (Kunth) Steud para especímenes identificados en el sur de México. El nombre común que se da en México para especies del género *Crataegus* es "tejocote" (Núñez, 2009).



**Figura 1.** *Crataegus mexicana*. A. rama con hojas, flores y espinas; B. corte longitudinal de la flor; C. rama con frutos. Ilustrado por Miguel Carmona, excepto el dibujo B, que fue realizado por Rogelio Cárdenas (Rzedowski *et al.*, 2005).



**Figura 2.** *Crataegus mexicana* Moc & Sessé. (a) árbol, (b) corteza, (c) hojas, (d) flor, (e) fruto, (f) tablilla tangencial, (g) rodaja, (h) corte transversal (5×), (i) corte tangencial (10×) y (j) corte radial (10×) (Pérez *et al.*, 2008).

## 2.5 Distribución de *Crataegus mexicana*

Su intervalo altitudinal va de 1200 a 3000 msnm. Habita en laderas de cerros con topografía escarpada y preferentemente en pendientes de 60 %, en barrancas y en las zonas de cultivo. Le favorecen los suelos ácidos y francos, negros, arcillosos, pedregosos de origen sedimentario y volcánico. Se desarrolla en los bosques de *Quercus*, bosque de coníferas, bosque mesófilo de montaña y bosque de *Pinus-Quercus* (SEMARNAT, 2011).

La principal zona de distribución es el Eje Neo-Volcánico desde las zonas altas de Veracruz en frontera con Puebla hasta las zonas montañosas de Jalisco muy cerca de la costa del Océano Pacífico, así como algunos puntos en la Sierra Madre Oriental a la altura de la sierra de Hidalgo y en el sur en la sierra de Oaxaca y unos puntos aislados en Chiapas (Núñez *et al.*, 2008).



**Figura 3.** Distribución estimada de *C. mexicana* Moc & Sessé y *C. gracilior* Phipps en México (Núñez *et al.*, 2008).

## 2.6 Historia de *Crataegus mexicana*

Se sabe que a principios del horizonte preclásico existían pequeños asentamientos en las riveras del lago de Xaltocan que se dedicaban ya a la recolecta de tejocote (Imaz, 1989).

El tejocote también se conoce en Europa en donde se le asigna el nombre de "*Crataegus oxyacantha*" (Aubépiné) teniéndose datos de su historia medicinal desde el tiempo de Dioscórides, dados por el señor Enrique Leclerc, en su artículo "L' aubépiné" (Owen, 1932).

Vicente Cervantes profesor de botánica en la ciudad de México de 1788 a 1829, también hace referencias al tejocote en su "ensayo a la materia vegetal de México" nombrándolo "*Mespilus mexicana*" menciona sus propiedades astringentes (Bulletin of Miscellaneous Information, 1933).

Sesse y Mociño quienes exploraron grandes distritos de México entre 1795 y 1804 lo describen en su "Plantae Novae Hispaniae" como "*Crataegus crus-galli*" o "Texocotl" de los mexicanos. Las describe como "bayas" agridulces, comestibles y principalmente usadas para conservas dulces, ya que se produce una gran cantidad de jalea que, preparada con azúcar es preferida por los indios (Bulletin of Miscellaneous Information, 1933).

Los indios mexicanos tomaban infusiones para curar erupciones en la piel, disminuir la temperatura del cuerpo, particularmente mezclado con capulín (Bulletin of Miscellaneous Information, 1933).

Hasta el siglo XIX, la Sociedad Mexicana de Historia Natural relata el uso del tejocote como diurético y pectoral. A partir del siglo XX, varios autores e instituciones reportan usos medicinales. El Instituto Médico Nacional lo menciona como diurético. Alfonso Herrera como pectoral y diurético eficaz. Maximino Martínez como antitusígeno y diurético. Luis Cabrera como digitálico, diurético, nefritis y tónico. Finalmente, la Sociedad Farmacéutica de México lo señala como afrodisíaco, diurético y pectoral (Argueta *et al.*, 1994).

En 1932 Owen realizó un análisis químico y un estudio farmacológico. Más tarde en 1941 Breton realizó un estudio similar. En 2009 Hernández realizó una tesis enfocada a la inhibición de la ECA con extracto de *Crataegus mexicana*, en la que logró identificar un compuesto responsable de esta actividad.

Algunos *Crataegus* son descritos en farmacopeas muy antiguas y se emplean como una alternativa para el tratamiento de una variedad de condiciones cardiovasculares; incluyendo angina, hipertensión y arritmias (Hernández, 2008).

**Tabla 2.** Especies del género *Crataegus* que se emplean en el tratamiento de la hipertensión arterial sistémica y en otros padecimientos (Hernández, 2008).

Especie	País de uso	Propiedades y usos	Extractos utilizados y/o estudiados
<i>C. aronia</i>	Israel	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ECV</li> <li>- Cáncer</li> <li>- Diabetes</li> <li>- Antioxidante</li> </ul>	Extracto acuoso de hojas y frutos
<i>C. tanacetifolia</i>	Alemania Turquía	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Insuficiencia cardiaca</li> <li>- Reductor de los niveles de colesterol</li> </ul>	Extracto acuoso de hojas
<i>C. laevigata</i>	Alemania	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Insuficiencia cardiaca severa</li> </ul>	Extracto metanólico de hojas, flores y frutos
<i>C. pinnatifida</i>	Corea China Japón	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Malestares gástricos</li> <li>- Diarrea</li> <li>- Reductor de TGC en la sangre</li> </ul>	Extracto metanólico de frutos maduros
<i>C. oxycantha</i>	Alemania Suiza China	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Insuficiencia cardiaca</li> <li>- Antioxidante</li> <li>- Anti-inflamatorio</li> <li>- Digestivo</li> <li>- Estimulante cardiaco</li> <li>- Hipotensivo</li> <li>- Arrítmico</li> <li>- Diurético</li> <li>- Antihipertensivo</li> </ul>	Extracto etanólico de hojas y frutos
<i>C. monogyne</i>	Lituania	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Antioxidante</li> <li>- ECV</li> <li>- Cardiotónico</li> <li>- Vasodilatador</li> <li>- Hipotensivo</li> </ul>	Extracto etanólico de hojas, flores y frutos

## 2.7 Usos de *Crataegus mexicana*

### 2.7.1 Etnobotánica

*Crataegus mexicana* tiene múltiples usos descritos en la medicina tradicional mexicana, no sustentados en información experimental o clínica, por ejemplo contra la diarrea, como diurético, para malestares gastrointestinales, para tratar la tos, la congestión de pecho y para padecimientos del corazón, además para adelgazar.

1. Afecciones digestivas: Para detener la diarrea (Gutiérrez, 1991), (Argueta *et al.*, 1994). Para enfermedades del aparato digestivo como diarrea, amibas y en caso de disentería (la que se considera muy peligrosa, acompañada de dolores estomacales y vómito) esta enfermedad es denominada popularmente “chi’ ich” (Chiapas). Dolor de abdomen o lombrices (oxiuros) (Argueta *et al.*, 1994).
2. Afecciones del tracto respiratorio: Para la tos (Argueta *et al.*, 1994; Gutiérrez, 1991; Linares, 1991). Para la pulmonía y asma (Argueta *et al.*, 1994).
3. Diurético (Cabrera, 1982).
4. Para los riñones (Gutiérrez, 1991).
5. Antidiabético (Cedillo, 1990; González, 1981; Martínez, 1980).
6. Para la “*kuenesi*” o chipilez (afección exclusiva de la etapa infantil que se presenta cuando la madre se encuentra nuevamente preñada, se caracteriza por llanto continuo de los niños que están irritables, se adelgazan, su piel se torna amarilla y no comen) (Argueta *et al.*, 1994).
7. Para la hidropesía, como aperitivo y desobstruyente (Cabrera, 1982).
8. Para la calentura (SEMARNAT, 2011).



### 2.7.1.1 Formas de dosificación a nivel popular

Para detener la diarrea, se usan dos tejocotes, un pedazo de canela y pasitas, todo en té (Gutiérrez, 1991). Otra forma es utilizar la cocción de las hojas y corteza, administrada por vía oral, además de que sirve para dolor de estómago y en corajes (Argueta *et al.*, 1994). Para el dolor de abdomen o lombrices (oxiuros), se da el té de “manzanilla” con otras yerbas, acompañado de rezos (Argueta *et al.*, 1994). Para uso como diurético se toman las hojas de infusión, en la porción 10 g de hoja para 100 mL de agua, 3 veces al día, antes del desayuno, la comida y la cena. Si se utiliza la raíz, esta acción es más marcada, por esta razón es empleada en las inflamaciones renales y más cuando hay anasarca, es decir cuando los enfermos presentan una hinchazón generalizada en todo el cuerpo, ya sea de origen renal propiamente dicho o cuando tal estado se debe a falta de energía del corazón, al parecer esto también obra reforzando y tonificando el centro circulatorio. Parece que los frutos aumentan en forma notable la energía muscular (Cabrera, 1982). Para afecciones renales la raíz se hierve con varias gotas de limón, y se toma diario durante ocho días hasta que se quite el dolor (Gutiérrez, 1991). También se prepara un té con dos frutos, 1 pedazo de raíz y canela en medio litro de agua, se toma una taza en la mañana y una taza por la tarde (Linares, 1991). Otra forma de preparación, es cocer el tejocote con flor de sauco (*Sambucus mexicana*), ítamo real (*Arracacia aegopodioides*), cáscara de chirimoya (*Annona cherimola*), cáscara de lima (*Citrus limetta*) y ocote (*Pinus sp.*) o simplemente con canela (Argueta *et al.*, 1994). Para la pulmonía y asma, se aprovecha el cocimiento acompañado con eucalipto (*Eucalyptus globulus*), flor de bugambilia (*Bougainvillea spectabilis*), corteza de capulín (*Prunus serotina* spp. capuli), sauco, flor de obelisco y gordolobo, se toma el té antes de cada comida (Argueta *et al.*, 1994). Para el uso como antidiabético, se hace una cocción con la raíz, raíz de nopal y raíz de zarzamora (un pedazo pequeño para 1L de agua), se toma tres veces al día como agua de uso (Cedillo, 1990). Otra forma es tomar la infusión de la raíz con la planta *istactziotzo* (*Piqueria trinervia cav.*) (González, 1981). También se puede cocer 15 g de raíz y 5 g de corteza del tallo en 2 L de

agua, dejando hervir hasta que se reduzca a la mitad y se toman 2 a 3 tazas durante todo el día (Martínez, 1980). Para la hidropesía, como aperitivo y desobstruyente se cuece la raíz. En casos de calentura se toman baños de la planta con leche y jabón “Palmolive” (SEMARNAT, 2011).

### **2.7.2 Usos no medicinales**

Se considera como una especie melífera. La madera es muy dura y compacta, se utiliza como leña y para la elaboración de mangos de herramienta. Los frutos son comestibles, se comen crudos o se preparan en dulces y mermeladas. Una de las características del fruto es su alto contenido de pectina, misma que se utiliza en la industria farmacéutica, textil y siderúrgica, para la elaboración de cosméticos y como coagulante de mermeladas y jaleas; también se utiliza como forraje para cerdos, borregos, conejos y chivos. La flor es utilizada en la producción de miel (CONAFOR, 2011).

Se utiliza en la conservación de suelo y control de la erosión, para reforestar taludes y barrancas en zonas semiáridas, es utilizada como sombra, y refugio de fauna. Su resistencia a enfermedades y su resistencia a condiciones adversas son características importantes para considerarlo en plantaciones de restauración de sitios degradados (CONAFOR, 2011).

Además es utilizado como patrón de semilla para injertar manzano, peral y membrillo (CONAFOR, 2011).

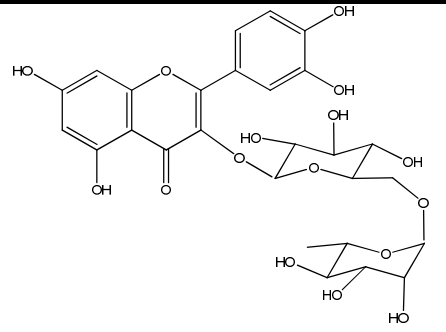
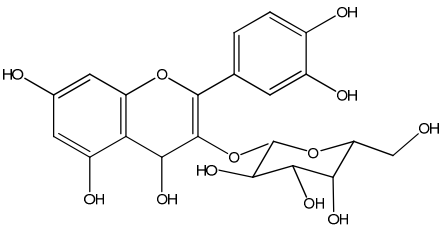
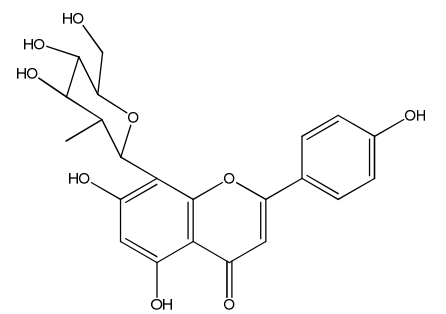
### **2.8 Composición química de flor, fruto, hojas, y raíces del género *Crataegus***

En la literatura disponible hasta el momento, existen escasos estudios fitoquímicos de *C. mexicana*; sin embargo, en las hojas, flores, frutos y raíces de otras especies medicinales de *Crataegus* se han encontrado concentraciones altas de diversos metabolitos secundarios tales como flavonoides, procianidinas oligoméricas de flavanoles, ácidos fenólicos, ácidos triterpénicos, ácidos orgánicos y esteroides, así como (-)-epicatequina y catequina (Hernández, 2008). También contienen una cantidad importante de pectinas, resinas y taninos (Argueta *et al.*,

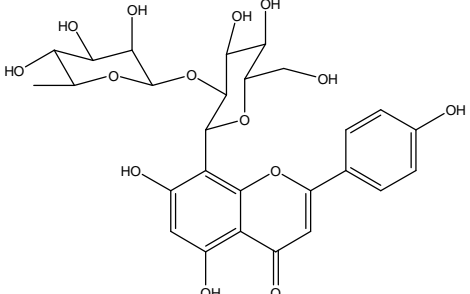
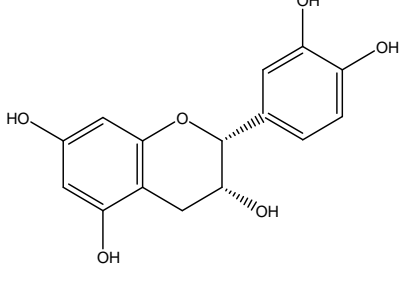
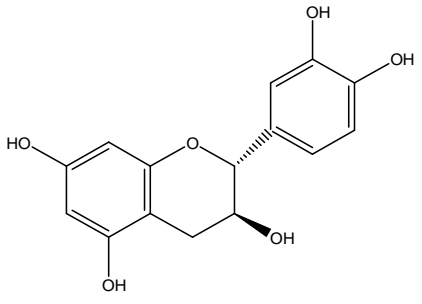
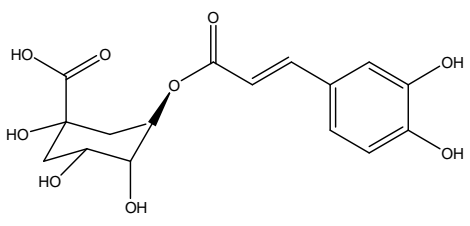
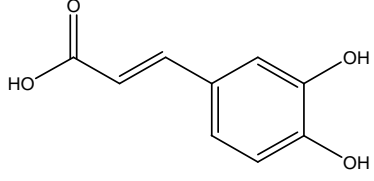
1994). Además se encontró que frutos y flores del género *Crataegus* presentan constituyentes con potencialidad antioxidante, entre ellos los ácidos epicatequino y 5-clorogénico. Por otra parte el fruto es rico en vitamina C, carotenos y sales minerales, entre ellas calcio, fósforo, hierro, y presenta un alto contenido de pectina (Franco *et al.*, 2010).

Por otra parte, se encontró en el extracto de las flores de *C. mexicana*, presencia de aminas terciarias y quercetina (Owen, 1932).

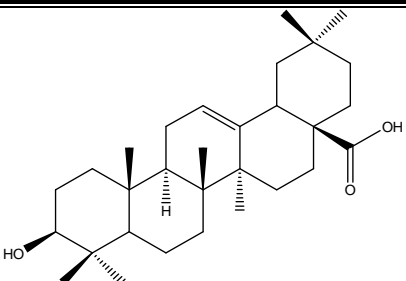
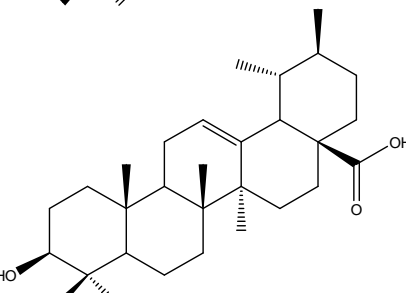
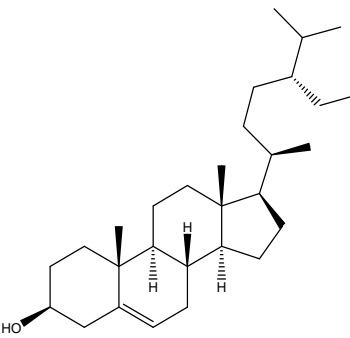
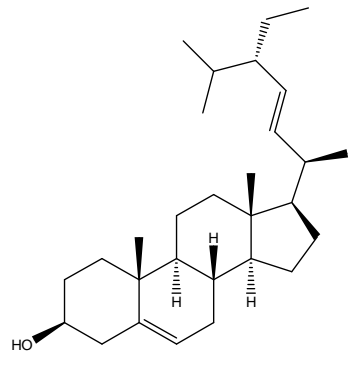
**Tabla 3.** Estructura química de algunos compuestos presentes en el género *Crataegus* (Hernández, 2008).

Estructura	Tipo	Nombre
	Flavonoides	Rutina
	Flavonoides	Hiperósido
	Flavonoides	Vitexina

**Tabla 3.** Estructura química de algunos compuestos presentes en el género *Crataegus* (Hernández, 2008) (Continuación).

Estructura	Tipo	Nombre
	Flavonoides	Ramnosido de vitexina
	Flavonoides	(-)-Epicatequina
	Flavonoides	Catequina
	Ésteres de ácidos	Ácido 5-clorogénico
	Ácidos fenólicos	Ácido cafeico

**Tabla 3.** Estructura química de algunos compuestos presentes en el género *Crataegus* (Hernández, 2008) (continuación).

Estructura	Tipo	Nombre
	Triterpenoides	Ácido oleanólico
	Triterpenoides	Ácido ursólico
	Esteroides	β-Sitosterol
	Esteroides	Estigmasterol

### 2.9 Farmacología del género *Crataegus*

El cocimiento de raíz de tejocote administrado a pasto a siete enfermos con objeto de averiguar su acción diurética, se comprobó esta en algunos de esos casos; pero es de suponerse que esa acción era debido al agua únicamente, pues comparándola con la que se producía con la diuretina, se notaba una gran diferencia a favor de esta última (Anales del Instituto Médico Nacional, 1903).

Owen en 1932 encontró que la administración de 12 gotas del extracto hidroalcohólico de las flores de *C. mexicana*, detiene el corazón de la rana durante la diástole. En un cuyo administrado por vía i.p. 2 gotas induce vasodilatación en los capilares, 3 gotas disminuye los latidos del corazón; además de causarle efecto diurético. 6 gotas de extracto fluido inyectados por la vena marginal de la oreja, le ocasiona una vasodilatación, disminuye los latidos y respiraciones por minuto. Owen trabajo con un voluntario sano y uno enfermo. En el voluntario sano la administración de 10 gotas por vía i.m. disminuyó sus latidos y presión arterial; al voluntario sano con hemetismo cardiaco se le prescribieron 5 gotas 3 veces al día durante una semana, pasado este tiempo al examinarlo, disminuyeron sus latidos y respiraciones por minuto y su presión arterial. Owen concluyó que el extracto hidroalcohólico de la flor de *C. mexicana* es un toni-cardiaco de acción diastólica y de tipo digital, es vasodilatador de acción local y general poco sostenida, es un sedante del sistema nervioso, cardiaco y vascular, y que a grandes dosis es hipnótico, tóxico para el corazón y probablemente diurético.

Breton en 1941 en su trabajo titulado contribución al estudio botánico, químico y farmacodinámico de *C. mexicana* trabajó con extractos alcohólicos de la hoja, flor, fruto, corteza y raíz del tejocote. Encontró que ejercieron acción cardiotónica sobre el corazón aislado de tortuga, la cual consistió en la disminución de la frecuencia y la ampliación de las contracciones cardíacas. Obteniendo mayor efecto con las hojas, seguido de la corteza, flores, raíces y fruto. Se encontró una correlación positiva dosis-actividad. Esta acción se observó en los extractos más activos, aun a diluciones tan altas como 1:1000,000.

Lacaille-Dubois y sus colaboradores (2001), realizaron un estudio en el cual evaluaron plantas usadas en la medicina tradicional de las regiones de Centroamérica, Sudamérica y África. Encontraron que el extracto metanólico de hojas y flores de *Crataegus oxyacantha/monogyna* presenta inhibición de la ECA en un  $33 \pm 2$  % a una concentración 0.33 mg/mL. Encontraron también que una de las fracciones del extracto de acetato de etilo de *C. monyna* y *C. oxyacantha* inhibió a la ECA en un 92 % a una concentración de 0.33 mg/mL, y los compuestos aislados a partir dicho extracto, por sí solos presentaron porcentajes de inhibición desde el 4 hasta el 48 %, a tal concentración.

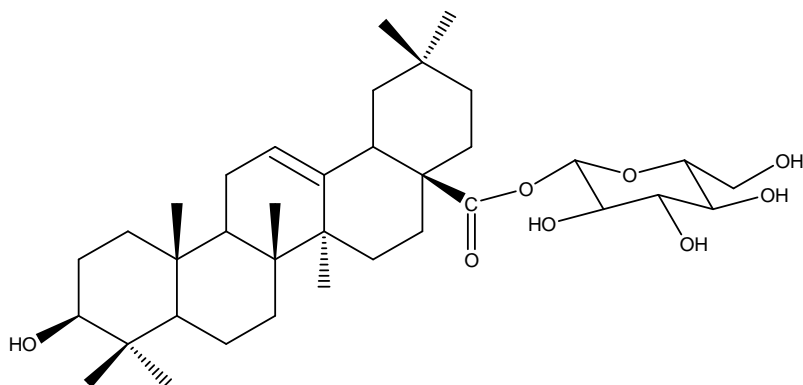
La evaluación del extracto hidroalcohólico de *Crataegus curysipala* Lind mostró una disminución en la presión sistólica y diastólica en pacientes con hipertensión arterial después de tres meses de tratamiento (Hernández 2008).

Hernández en 2008 en su estudio sobre la inhibición de la ECA por *C. mexicana* encontró que dos extractos hidroalcohólicos de *C. mexicana*; tanto el de raíces como el de hojas presentaron inhibición de la ECA. El extracto obtenido de la raíz tuvo un valor más alto de inhibición en comparación con los obtenidos de las hojas. Por lo que el extracto de la raíz fue seleccionado y evaluado a diferentes concentraciones (2, 1 y 0.5 mg/mL) y ninguna de ellas presentó diferencias significativas en el porcentaje de inhibición con respecto a la del control positivo (Lisinopril).

### **2.10 Principios activos de *Crataegus mexicana***

Owen describió que el principio activo del extracto de flor de *Crataegus mexicana* se encontraba en la materia amarga, mas tarde Brenton le dio el nombre de crategina. Mencionó a los taninos también como parte de los principio activo.

Hernández encontró que uno de los metabolitos presentes en una de las fracciones activas obtenidas del material *in vivo*, era el olean-12-en-28-oato de glucopiranosilo.



**Figura 4.** Estructura deolean-12-en-28-oato de glucopiranosilo (Hernández, 2008).

### 2.11 Actividad biológica de la corteza de *Crataegus mexicana*

El único estudio de actividad biológica realizado hasta el momento es el de Cáceres en 1990, los resultados se presentan en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Estudio de actividad biológica (Márquez, 1999).

Parte estudiada	Disolvente	Actividad	Organismo de Prueba	Resultado
Corteza seca	Etanol 50%	Antibacteriana	<i>Salmonella typhosa</i>	Inactiva
Corteza seca	Etanol 50%	Antibacteriana	<i>Shigella flexneri</i>	Inactiva

### 2.12 Toxicidad de *Crataegus mexicana*

La solución al 1% de la crategina produjo un efecto retardador del ritmo cardíaco, en corazón aislado de tortuga, relajamiento muscular a los 25 minutos, arritmia y finalmente parálisis (Breton, 1941).

### 2.13 Análisis cuantitativo de hoja, raíz, fruto y flor

En el análisis cuantitativo realizado por Breton de hoja, raíz, fruto y flor de *C. mexicana* se obtuvieron los resultados que se presentan en la Tabla 5.



**Tabla 5.** Análisis cuantitativo de hoja, raíz, fruto, flor (Breton, 1941).

	Cenizas totales	Exto. Tot. Sol. en éter de petróleo	Exto. Tot. Sol. en éter sulfúrico	Sust. Sol. en alcohol absoluto.	Sust. Sol. a la vez en alcohol y agua	Sust. Sol. en agua
<b>Hojas</b>	7.39%	1.576%	2.998%	4.505%	3.441%	16.50%
<b>Raíz</b>	5.445%	0.385%	0.994%	5.024%	2.064%	8.05%
<b>Fruto</b>	2.532%	0.419%	0.843%	8.350%	7.985%	45.262%
<b>Flor</b>	5.540%	0.940%	1.463%	7.002%	4.261%	9.610%

#### 2.14 Época de recolecta (frutos)

*Crataegus mexicana* florece de enero a abril, aunque los frutos se forman en primavera, maduran hasta noviembre o diciembre (SEMARNAT, 2011).

#### 2.15 Aprovechamiento

Los frutos se recolectan manualmente, entre los meses de noviembre y diciembre. La coloración del fruto debe ser amarillo-rojiza y se obtiene la semilla después de aprovecharlo (SEMARNAT, 2011).

#### 2.16 Comercialización

Este producto llega en camiones a la Central de Abastos de la Ciudad de México para ser distribuido en la periferia e incluso para algunos estados de la República, así como naciones de Centro y Sur América.

Los frutos del tejocote son las estructuras de la planta con mayor comercialización, alcanzan precios que oscilan desde los \$10.00 y \$25.00 por kilogramo (1999), dependiendo de la calidad de los frutos; la cual se determina en función del tamaño y de la apariencia de los mismos (SEMARNAT, 2011).

Se venden en diferentes presentaciones, en puestos fijos de verduras y en tianguis. Además son comprados por pequeñas empresas agroindustriales que se dedican a elaborar ates y conservas (SEMARNAT, 2011).

### 3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

En los últimos años los productos herbolarios han tenido un nuevo auge en el mundo occidental incluyendo a México, debido a que el público general, e incluso algunos expertos los consideran efectivos y con pocos efectos secundarios. El problema es que muchos de estos no tienen suficientes evidencias de su eficacia y seguridad, no cumplen con lo necesario para ser considerados medicamentos y se comercializan como suplementos alimenticios, cometiendo fraudes al consumidor por ineficaces o constituyendo riesgos para la salud por posibles efectos adversos (COFEPRIS, 2005).

En el año 2001 la Secretaría de Salud publicó la primera farmacopea herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos con el objeto de dar a conocer los métodos de análisis y las especificaciones técnicas que deberían de cumplir las plantas y los fitomedicamentos derivados de ellas que se utilicen en la elaboración de medicamentos y remedios herbolarios. Con esto la secretaria de salud deja clara la intención de que la industria farmacéutica cuente con un respaldo que le permita introducir nuevos productos de origen vegetal al mercado bajo condiciones de calidad adecuados para el consumo humano.

Sin embargo, a pesar de la reconocida riqueza herbolaria de nuestro país, la monografía de especies autóctonas o introducidas de uso médico tradicional resultaron muy limitadas en cantidad y calidad, por el simple hecho de que no se dispone de la información suficiente para integrarlas. En consecuencia los centros de investigación en el área de la salud, incluyendo las universidades, deben generar la información necesaria para conformar las monografías de las plantas medicinales más utilizadas en nuestro país.

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo primordial aislar los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en los frutos, las hojas y las flores de la especie medicinal *Crataegus mexicana*. Los resultados obtenidos son parte de la información necesaria para elaborar la monografía de la planta medicinal, la

cual eventualmente puede incorporarse a la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos.

Para cumplir con el objetivo principal se plantearon los siguientes objetivos particulares:

- Realizar la revisión bibliográfica exhaustiva de las diferentes publicaciones sobre la especie medicinal propuesta.
- Preparar los extractos orgánicos de las diferentes partes de la planta utilizando como disolvente de extracción metanol.
- Realizar el fraccionamiento primario de los extractos orgánicos, empleando para ello, métodos cromatográficos convencionales y procesos de partición.
- Aislar los compuestos mayoritarios a partir de las fracciones primarias.
- Establecer la estructura molecular de los metabolitos secundarios aislados mediante la aplicación de técnicas espectroscópicas y espectrométricas contemporáneas.

### **4. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **4.1 Procedimientos generales**

##### **4.1.1 Análisis cromatográficos**

Los análisis de cromatografía de capa fina (CCF) se realizaron según las técnicas convencionales, utilizando diversos sistemas de elución y placas de aluminio de diversas dimensiones, las cuales están recubiertas con gel de sílice (60 F<sub>254</sub> Merck, malla 3.5–7.0 ASTM) de 0.25 mm de espesor. Las placas se visualizaron bajo luz ultravioleta (onda corta, 254 nm y onda larga, 365 nm) y posteriormente fueron reveladas con anisaldehído sulfúrico al 1%, vainillina sulfúrica al 1% o DPPH, seguido de calentamiento (aproximadamente 110°C) hasta la visualización completa de los compuestos. La cromatografía en columna abierta (CCA) se realizó sobre gel de sílice Kieselgel 60 Merck con tamaño de partícula 0.063-0.200 mm, 70-230 mesh ASTM, en columnas de vidrio de diferentes dimensiones y utilizando diversos sistemas de elución.

##### **4.1.2 Determinación de las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas**

Los análisis espectroscópicos y espectrométricos se realizaron en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) en el Edificio B de la Facultad de Química de la UNAM. Los espectros de resonancia magnética nuclear para protón (RMN-<sup>1</sup>H, 400 MHz) y carbono 13 (RMN-<sup>13</sup>C, 100 MHz) se realizaron en un equipo Varian modelo VNMRS. Los espectros de masas se determinaron en un Thermo Electron DFS (Double Focus Sector) introducción directa a 70 eV y bombardeos de átomos rápidos (EM-FAB) mediante la técnica de impacto electrónico (EM/IE). Los espectros se realizaron utilizando CD<sub>3</sub>OD y DMSO-*d*<sub>6</sub> y tetrametilsilano (TMS) como referencia reportando los desplazamientos químicos en ppm.

### 4.2 Material vegetal

#### 4.2.1 Obtención de los frutos

Los frutos de la especie *Crataegus mexicana* utilizados en el estudio fueron adquiridos en el Mercado de Sonora de la Ciudad de México localizado en la delegación Venustiano Carranza en Noviembre de 2009. Una muestra de referencia se depositó en la colección de muestras del Laboratorio 111, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.



**Figura 5.** Frutos desecados de *Crataegus mexicana*.

#### 4.2.2 Recolección de las hojas y de las flores de *Crataegus mexicana*

La recolección de las hojas y de las flores del tejocote, se realizó en San Antonio Tecomitl, Delegación Milpa Alta, Ciudad de México en Marzo de 2011. Una muestra de referencia se depositó en la colección de muestras del Laboratorio 111, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.



**Figura 6.** (a) Hojas y (b) flores de *Crataegus mexicana*.

### **4.3 Estudio químico**

#### **4.3.1 Estudio químico de los frutos de *Crataegus mexicana***

##### **4.3.1.1 Proceso de extracción**

Una porción de 761 g de frutos secos de *C. mexicana* se extrajeron utilizando un proceso de maceración con metanol como disolvente por un período de 3 semanas. Posteriormente el material vegetal se separó por filtración y el extracto resultante se concentró al vacío obteniéndose un sólido café oscuro. El proceso de extracción fue semanal, reutilizando el mismo disolvente.

##### **4.3.1.2 Fraccionamiento primario**

El sólido resultante (207 g) se resuspendió en una mezcla de metanol-agua (80:20), posteriormente fue sometido a un fraccionamiento primario mediante una partición utilizando como disolventes hexano, diclorometano y acetato de etilo, para cada caso 500 mL, repitiendo el procedimiento 3 veces en las condiciones descritas. Las fracciones obtenidas se concentraron al vacío, se denominaron C001 (4.6512 g), C002 (10.1128 g), C003 (26.3341 g). Las fracciones C001 y C002 se combinaron debido a que mostraron similitud cromatográfica. La fracción combinada se le denominó C004 (14.7640 g).

#### 4.3.1.3 Fraccionamiento secundario

A la fracción C004 (14.7640 g) se le sometió a un fraccionamiento secundario mediante cromatografía utilizando una columna al vacío (25 × 7 cm) y (570 mL) gel sílice como adsorbente. El proceso de elución se realizó con mezclas de hexano, acetato de etilo y metanol en polaridad creciente. De este fraccionamiento se obtuvieron 53 fracciones de 500 mL, las cuales se concentraron al vacío por separado. El fraccionamiento fue monitoreado por CCF y las fracciones que presentaban similitud cromatográfica se unieron para formar 15 grupos de fracciones primarias combinadas, las fracciones combinadas C004-I – C004-XV se cromatografiaron y con la finalidad de detectar la presencia de antioxidantes se revelaron con DPPH. Este proceso permitió la detección de antioxidantes en las fracciones C004-XI – C004-XIII.

**Tabla 6.** Resumen de las fracciones obtenidas a partir de la fracción C004.

Sistema de elución	Fracciones reunidas	Clave asignada
Hex:AcOEt:MeOH	1 – 3	C004-I
	4 – 5	C004-II
	6 – 7	C004-III
	8 – 9	C004-IV
	10 – 11	C004-V
	12 – 15	C004-VI
	16 – 19	C004-VII
	20 – 29	C004-VIII
	30 – 31	C004-IX
	32 – 33	C004-X
	34 – 41	C004-XI
	42 – 43	C004-XII
	44 – 47	C004-XIII
	48 – 51	C004-XIV
	52 – 53	C004-XV

#### 4.3.1.4 Obtención de la mezcla de $\alpha$ - y $\beta$ -amirinas a partir de la fracción de C004-VI

La fracción C004-VI (0.2423 g) se sometió a un proceso de cromatografía en capa fina preparativa de sílica gel, para la cual se utilizó como fase móvil ciclohexano–



hexano (70:30). Como resultado de este proceso se obtuvo un sólido amorfo de color blanco, el cual se caracterizó mediante métodos espectroscópicos y espectrométricos como una mezcla de  $\alpha$ - y  $\beta$ -amirinas.

#### 4.3.1.5 Obtención del ácido oleanólico a partir de la fracción terciaria C004-VII

La fracción C004-VII (1.4830 g) se recromatografió en columna abierta (37 × 5 cm) utilizando (340 mL) gel de sílice como adsorbente y como eluyentes mezclas de hexano-acetato de etilo en diferentes proporciones. Como resultado de este proceso se obtuvieron un total de 41 fracciones de 80 mL. El fraccionamiento fue monitoreado por CCF y las fracciones que presentaban similitud cromatográfica se unieron para formar 4 grupos de fracciones terciarias combinadas (C004-VII-1-C004-VII-4). En la fracción C004-VII-1 se observó la formación de un precipitado blanco, al que se le hicieron múltiples lavados. Este compuesto se caracterizó mediante métodos espectroscópicos y espectrométricos como ácido oleanólico.

**Tabla 7.** Resumen de las fracciones obtenidas a partir de la fracción C004-VII.

Sistema de elución	Fracciones reunidas	Clave asignada
Hex:AcOEt	1 – 11	C004-VII-1
	12 – 17	C004-VII-2
	18 – 29	C004-VII-3
	30 – 41	C004-VII-4

#### 4.3.1.6 Obtención adicional de ácido oleanólico a partir de la fracción terciaria C004-VIII

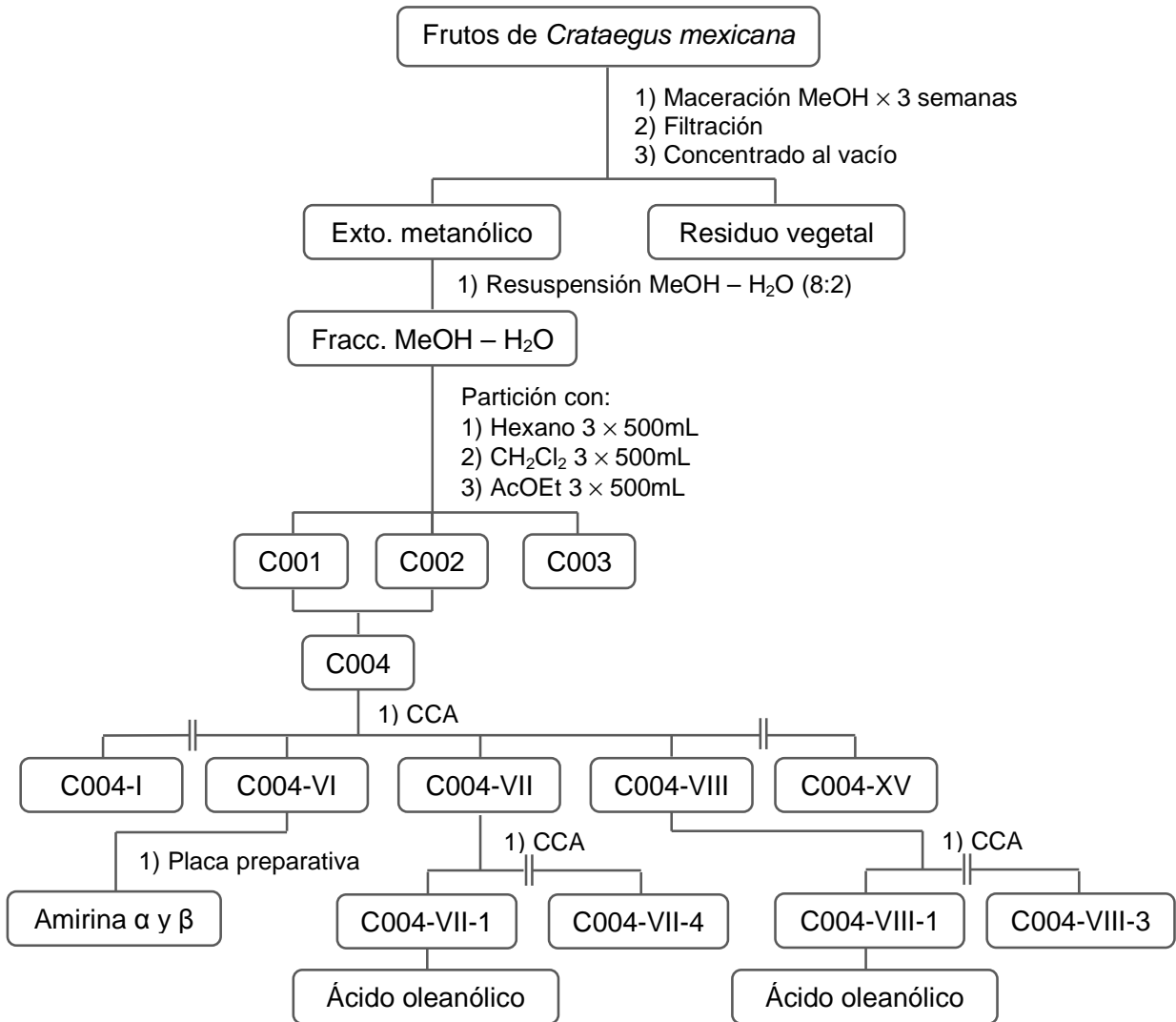
La fracción C004-VIII (1.0750 g) se recromatografió en columna abierta (30 × 2.5 cm) utilizando (175 mL) gel de sílice como adsorbente y como eluyentes mezclas de hexano - acetato de etilo - metanol en diferentes proporciones. Como resultado de este proceso se obtuvieron un total de 44 fracciones de 50mL. El fraccionamiento fue monitoreado por CCF y las fracciones que presentaban similitud cromatográfica se unieron para formar 3 grupos de fracciones terciarias combinadas (C004-VIII-1-C004-VIII-3). En la fracción C004-VIII-1 se observó la

formación de un precipitado blanco, al que se le hicieron múltiples lavados. Este compuesto se caracterizó mediante métodos espectroscópicos y espectrométricos como ácido oleanólico.

**Tabla 8.** Resumen de las fracciones obtenidas a partir de la fracción C004-VIII.

Sistema de elución	Fracciones reunidas	Clave asignada
Hex:AcOEt:MeOH	1 – 16	C004-VIII-1
	17 – 35	C004-VIII-2
	36 – 44	C004-VIII-3

**Diagrama 1.** Proceso de extracción y fraccionamiento del extracto total de los frutos de *Crataegus mexicana*.



### **4.3.2 Estudio químico de las hojas y flores de *Crataegus mexicana***

#### **4.3.2.1 Proceso de extracción**

Las hojas (800 g) y las flores (52 g) se maceraron por separado utilizando metanol como disolvente por un periodo de 24 horas. Posteriormente el material vegetal se separó por filtración, los extractos resultantes se concentraron al vacío, obteniéndose un extracto verde oscuro en el caso de las hojas y un extracto verde claro en el caso de las flores.

#### **4.3.2.2 Fraccionamiento primario**

El extracto total de las hojas (57 g) se resuspendió en una mezcla metanol-agua (90:10) y posteriormente fue sometido a un fraccionamiento primario por partición utilizando como disolventes hexano, diclorometano y acetato de etilo para cada caso 500mL, repitiendo el procedimiento 3 veces en las condiciones descritas. Las fracciones obtenidas se concentraron al vacío, se denominaron H001 (25 g), H002 (7 g), H003 (5 g).

#### **4.3.2.3 Fraccionamiento secundario**

Una porción de la fracción H003 (2 g) se sometió a un proceso cromatográfico utilizando una columna abierta de Sephadex LH-20 (5 × 35 cm) y metanol como eluyente. Como resultado del proceso se obtuvieron un total de 25 fracciones (50 mL) reuniéndose aquellas que mostraron similitud cromatográfica para obtener 10 conjuntos de fracciones secundarias (H003-I-H003-X).

**Tabla 9.** Resumen de las fracciones obtenidas a partir de la fracción H003.

Sistema de elución	Fracciones reunidas	Clave asignada
MeOH	1	H003-I
	2	H003-II
	3	H003-III
	4 – 8	H003-IV
	9 – 10	H003-V
	11 – 13	H003-VI
	14 – 15	H003-VII
	16 – 18	H003-VIII
	19 – 20	H003-XI
	21 – 25	H003-X

#### 4.3.2.4 Fraccionamiento terciario

La fracción H003-IV (0.6001 g) se recromatografió utilizando una columna abierta de Sephadex LH-20 (5 × 35 cm), y metanol como eluyente. Como resultado de este proceso se obtuvieron un total de 7 fracciones (50 mL), reuniéndose aquellas que mostraron similitud cromatográfica para obtener 6 conjuntos de fracciones terciarias (H003-IV-1-H003-IV-6).

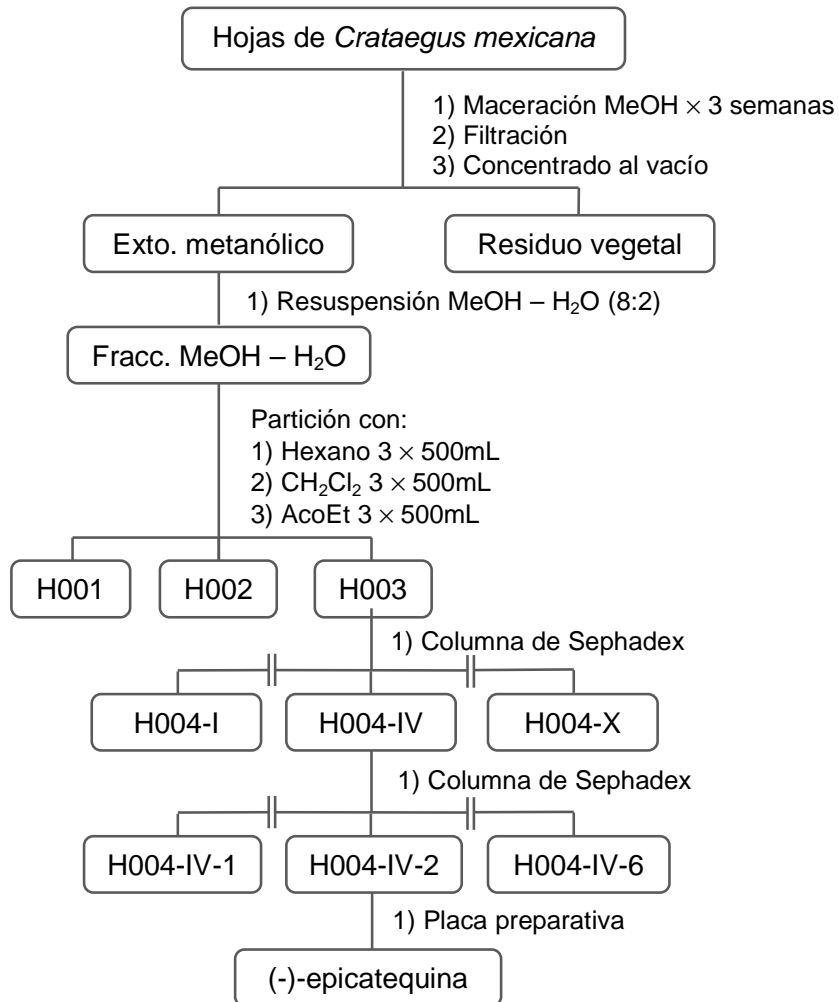
**Tabla 10.** Resumen de las fracciones obtenidas a partir de la fracción H003-IV.

Sistema de elución	Fracciones reunidas	Clave asignada
MeOH	1	H003-IV-1
	2-3	H003-IV-2
	4	H003-IV-3
	5	H003-IV-4
	6	H003-IV-5
	7	H003-IV-6

#### 4.3.2.5 Obtención de la (-)- epicatequina a partir de H003-IV-2

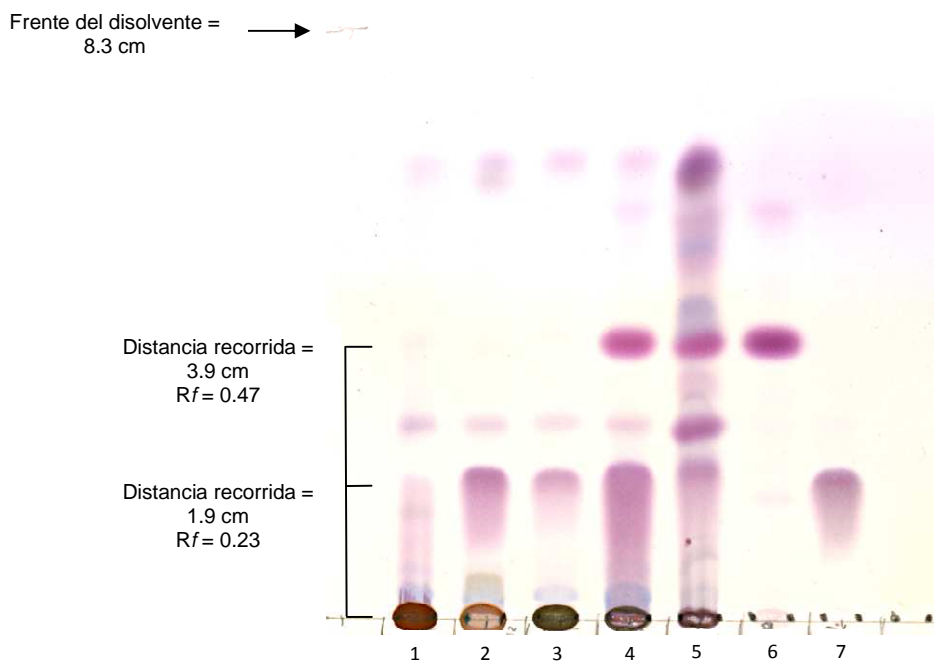
La fracción H003-IV-2 (0.3007 g) se sometió a un proceso de cromatografía en capa fina preparativa de sílica gel, para la cual se utilizó como fase móvil una mezcla de acetato de etilo–metanol (70:30). Como resultado de este proceso se aisló un sólido amorfo de color amarillo claro que se caracterizó mediante métodos espectroscópicos y espectrométricos como (-)-epicatequina.

**Diagrama 2.** Proceso de extracción y fraccionamiento del extracto total de las hojas de *Crataegus mexicana*.



**4.3.2.6 Detección de las  $\alpha$ - y  $\beta$ -amirinas y del ácido oleanólico en los frutos, las hojas y las flores de *Crataegus mexicana***

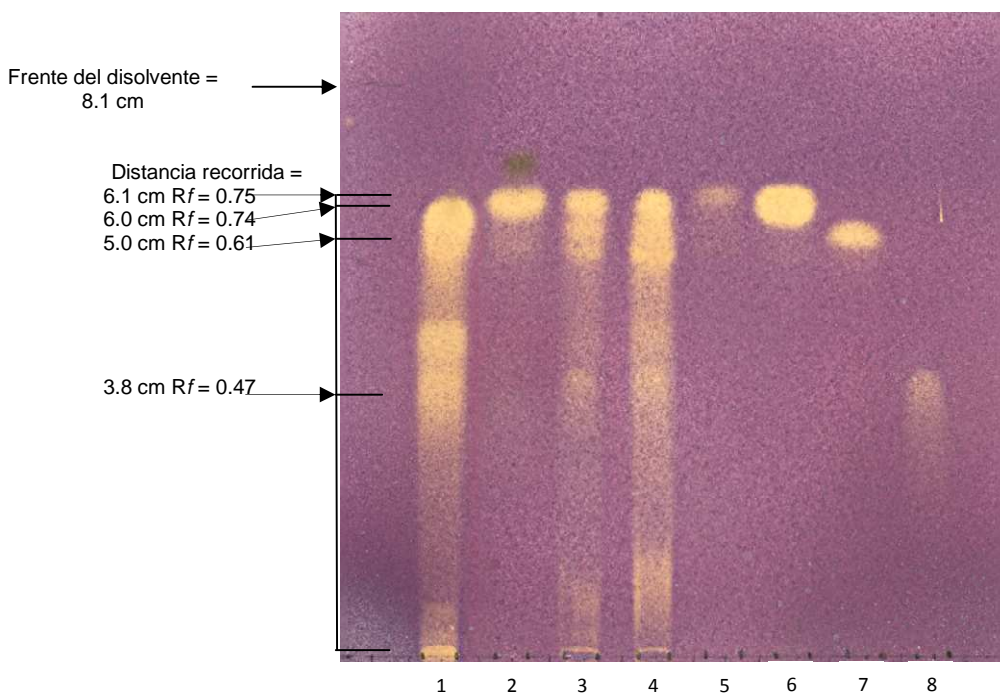
Se realizó una placa de HPTLC gel de sílice con los extractos totales de las flores, las hojas, y los frutos, la fracción de hexano de los frutos, la fracción de diclorometano de los frutos y estándares de la mezcla de  $\alpha$ - y  $\beta$ -amirinas y del ácido oleanólico (Figura 7). La placa comatográfica se eluyó utilizando una mezcla de hexano-acetato de etilo (70:30) y se reveló utilizando como agente cromógeno anisaldehído sulfúrico al 1%.



**Figura 7.** Placa de HPTLC de gel sílice eluida con hexano-acetato de etilo (70:30) revelada con anisaldehído sulfúrico al 1%. 1= extracto total de las flores; 2= extracto total de las hojas; 3= extracto total de los frutos, 4= fracción de hexano de los frutos; 5= fracción de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  de los frutos; 6=  $\alpha$ - y  $\beta$ -amirinas; 7= ácido oleanólico.

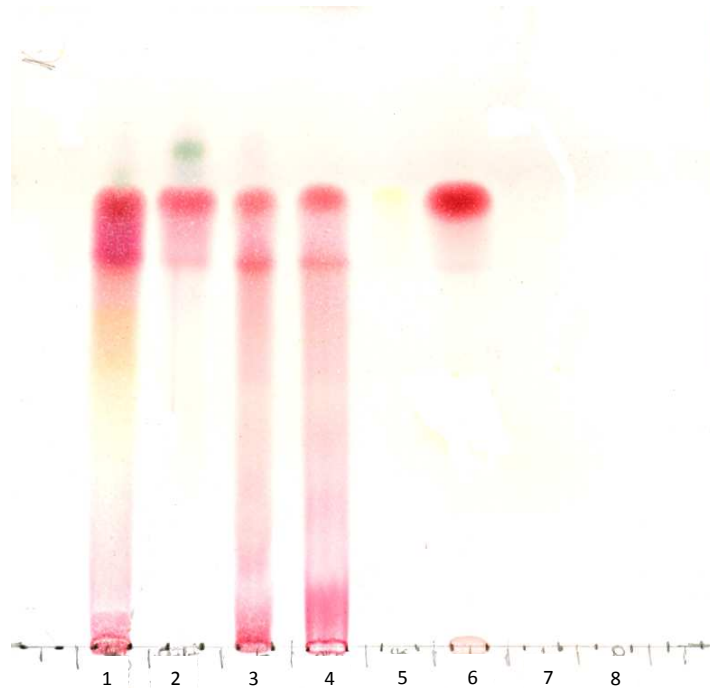
#### 4.3.2.7 Detección de la (-)-epicatequina, el ácido cafeico y el ácido 5-clorogénico, en los frutos, las hojas y las flores de *Crataegus mexicana*

Con la finalidad de detectar a la (-)-epicatequina, el ácido cafeico y el ácido 5-clorogénico, en los frutos, las hojas y las flores del tejocote se realizaron dos placas cromatográficas adicionales utilizando los extractos totales de los frutos, las hojas y las flores, y los estándares de quercetina, (-)-epicatequina, ácido cafeico y ácido 5-clorogénico. Durante el proceso ambas placas cromatográficas se eluyeron utilizando una mezcla de acetato de etilo-metanol-ácido fórmico (70:30:0.2). Las placas se revelaron utilizando como agentes cromógenos DPPH y vainillina sulfúrica al 1%, respectivamente.



**Figura 8.** Placa de HPTLC de gel sílice eluida con acetato de etilo-metanol-ácido fórmico (70:30:0.2) y revelada con vainillina sulfúrica al 1%. 1= extracto total de las flores; 2= extracto total de las hojas; 3= extracto total de los frutos, 4= fracción de acetato de etilo; 5= quercetina; 6= (-)-epicatequina; 7= ácido cafeico; 8= ácido 5-clorogénico.



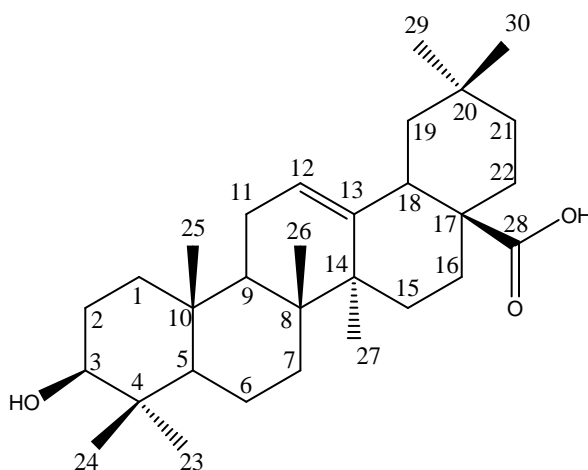


**Figura 9.** Placa de HPTLC de gel sílice eluida con acetato de etilo-metanol-ácido fórmico (70:30:0.2) y revelada con vainillina sulfúrica al 1%. 1= extracto total de las flores; 2= extracto total de las hojas; 3= extracto total de los frutos, 4= fracción de acetato de etilo; 5= quercetina; 6= (-)-epicatequina; 7= ácido cafeico; 8= ácido 5-clorogénico.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Elucidación estructural del ácido oleanólico (C004-VII-1)

El compuesto C004-VII-1, se aisló como un polvo blanco soluble en una mezcla diclorometano-metanol en caliente y en piridina. La fórmula molecular del compuesto se estableció como  $C_{30}H_{48}O_3$  con base a la espectrometría de masas (Figura 10) y a los espectros de RMN (Figura 11 y Figura 12). En esta última el ión molecular se encuentra en una relación masa carga de  $m/z$  456.



EMIE  $m/z$  (intensidad relativa): 456 ( $M^+$ ) (1), 438 (3), 411 (5), 410 (16), 392 (17), 377 (7), 349 (2), 323 (1), 300 (4), 281 (3), 255 (7), 249 (27), 248 (100), 239 (11), 219 (17), 207 (35), 203 (93), 189 (68), 175 (29), 173 (20), 147(25), 133(76), 119(41), 105 (31), 95 (25), 93(21).

RMN- $^1H$  (Piridina- $d_5$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm):  $\delta$ 0.84 (3H, s,  $CH_3$ -26), 0.91 (3H, s,  $CH_3$ -24), 0.98 (3H, s,  $CH_3$ -23), 1.01 (3H, s,  $CH_3$ -25), 1.18 (3H, s,  $CH_3$ -30), 1.20 (3H, s,  $CH_3$ -27), 2.59 (1H, d,  $J=8.0$ , H-18), 3.40 (1H, m, H-3), 5.44 (1H, t,  $J=1$ , H-12)

RMN- $^{13}C$  (Piridina- $d_5$ , 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 16.2 (C-25), 17.0 (C-24), 17.9 (C-26), 18.0 (C-6), 19.3 (C-16), 21.9 (C-11), 24.4 (C-30), 25.4 (C-15), 28.6 (C-2), 29.2 (C-23), 29.3 (C-20), 30.5 (C-21), 31.5 (C-29), 34.1 (C-7), 37.9 (C-10), 39.9 (C-1), 40.5

(C-4), 43.0 (C-14), 48.5 (C-8 y C-17), 54.0 (C-9), 56.3 (C-5), 78.6 (C-3), 126.1 (C-12), 139.8 (C-13), 180.4 (C-28)

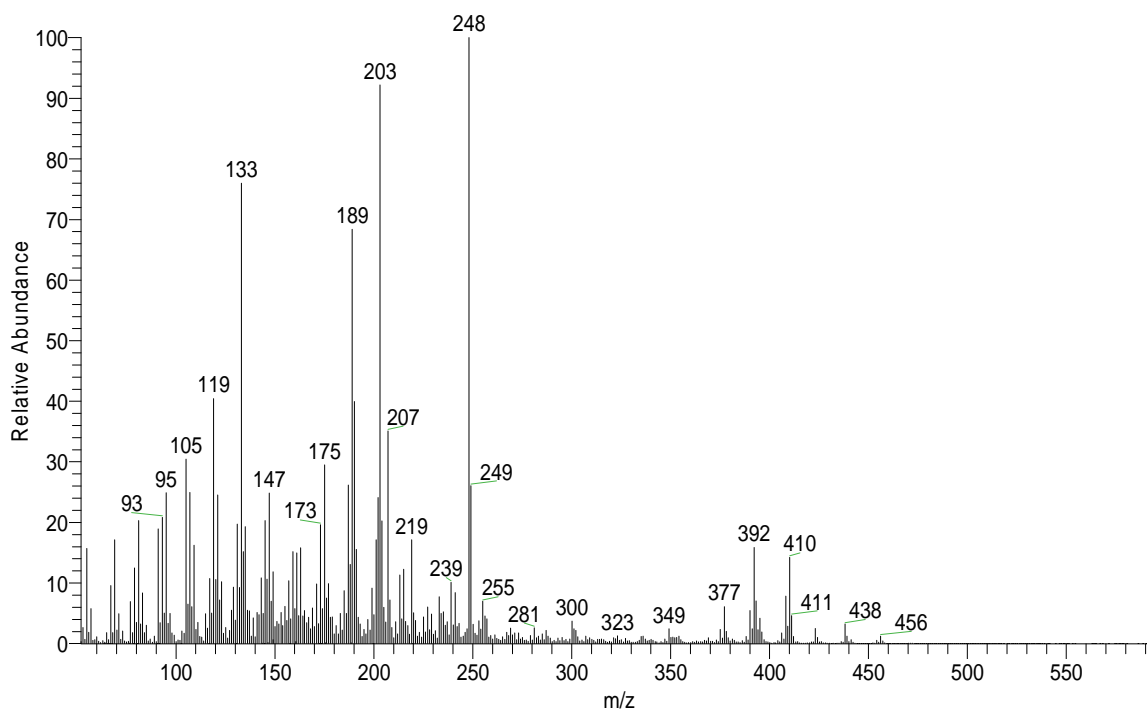


Figura 10. Espectro de masas del ácido oleanólico.

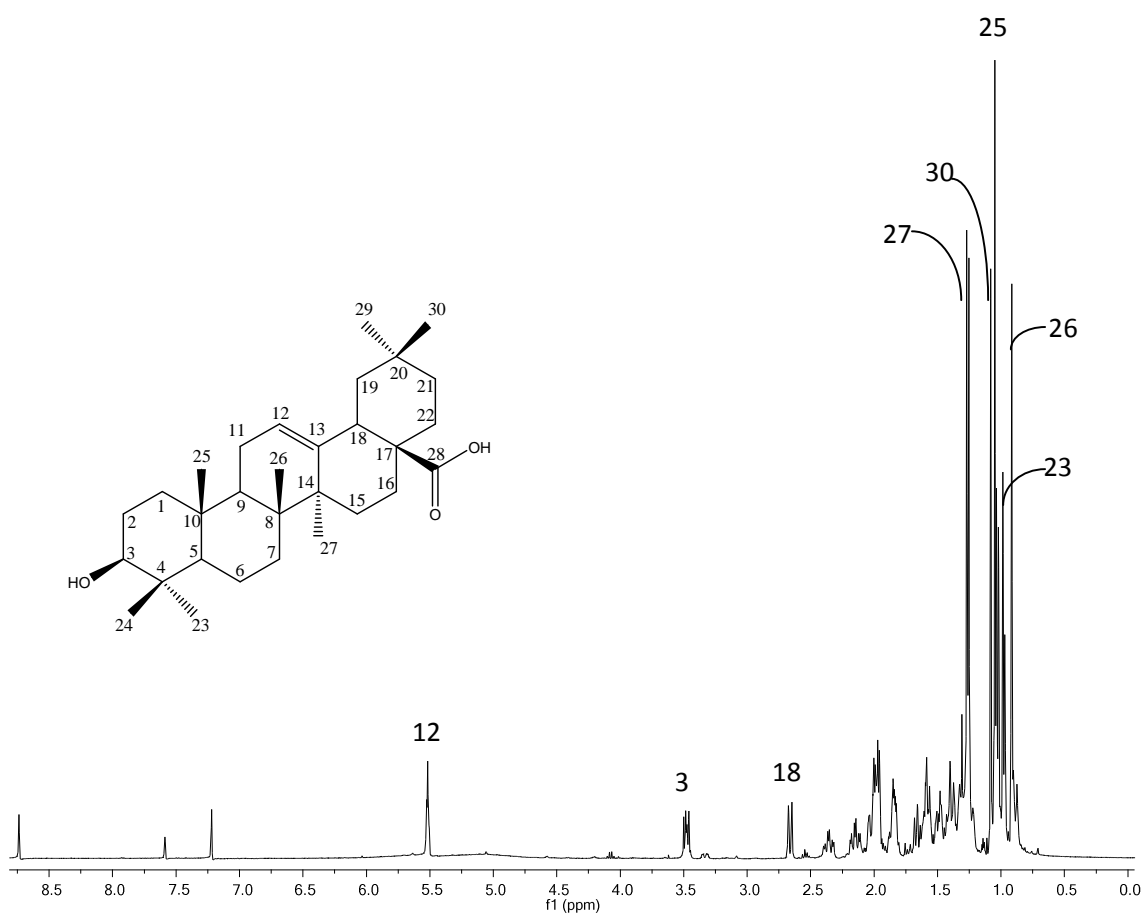


Figura 11. Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  del ácido oleanólico (400 MHz, Piridina- $d_5$ ).

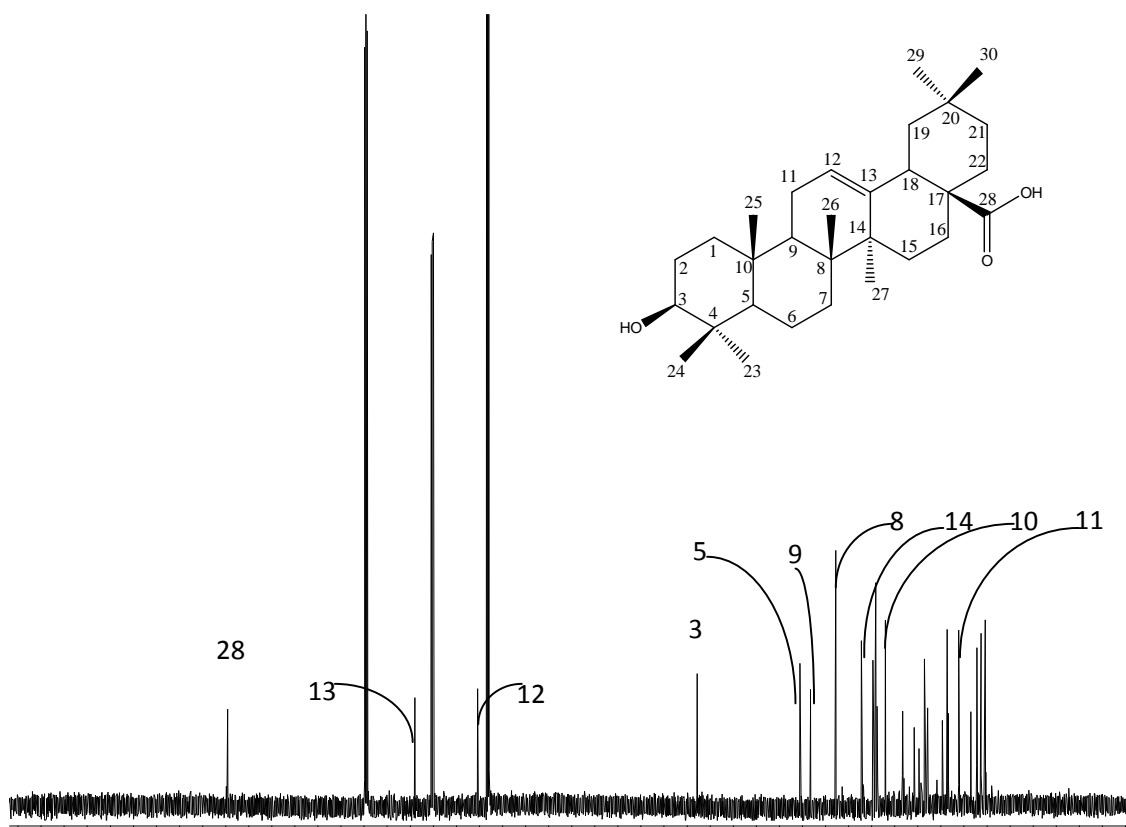


Figura 12. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$  del ácido oleanólico (100 MHz, Piridina- $d_5$ ).

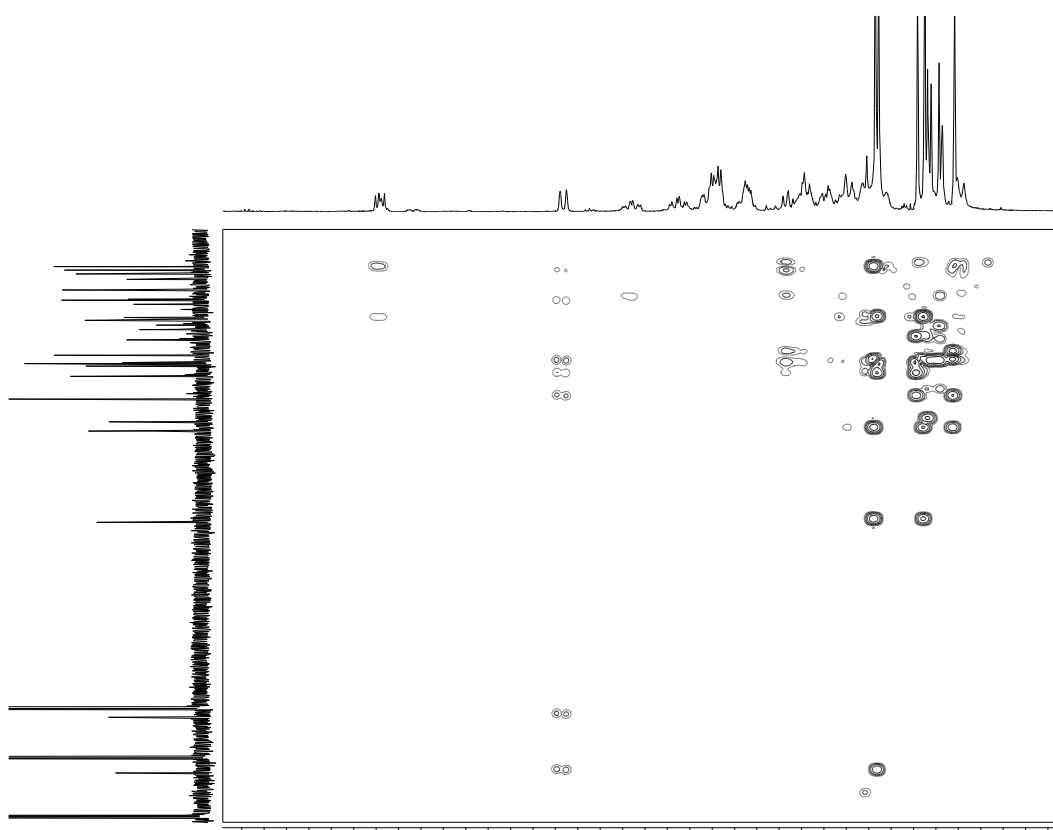


Figura 13. Espectro de HMBC de una dimensión del ácido oleanólico.

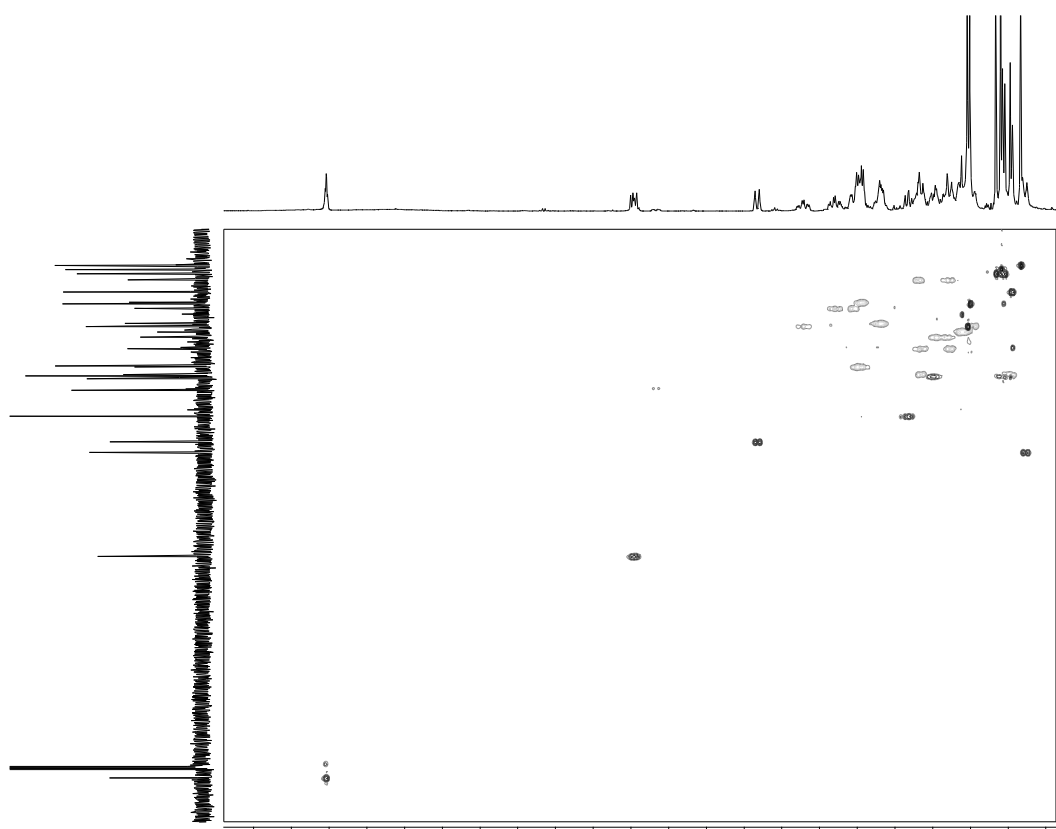


Figura 14. Espectro de HSQC de una dimensión del ácido oleanólico.

**Tabla 11.** Valores de RMN de  $^{13}\text{C}$  y  $^1\text{H}$  para el ácido oleanólico.

Posición	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) <sup>a</sup>	$^1\text{H}$ ( $\delta$ ) <sup>a</sup>
1	39.9	---
2	28.6	---
3-OH	78.6	---
4	40.5	---
5	56.3	---
6	18.0	---
7	34.1	---
8	48.5	---
9	54.0	---
10	37.9	---
11	21.9	---
12	126.1	5.44 (1H, t, $J=1$ )
13	139.8	---
14	43.0	---
15	25.4	---
16	19.3	---
17	29.3	---
18	30.5	2.59 (1H, d, $J=8.0$ )
19	---	---
20	29.3	---
21	30.5	---
22	---	---
23	29.2	0.98 (3H, s)
24	17.0	0.91 (3H, s)
25	16.2	1.01 (3H, s)
26	17.9	0.84 (3H, s)
27	---	1.20 (3H, s)
28-COOH	180.4	---
29	31.5	---
30	24.4	1.18 (3H, s)

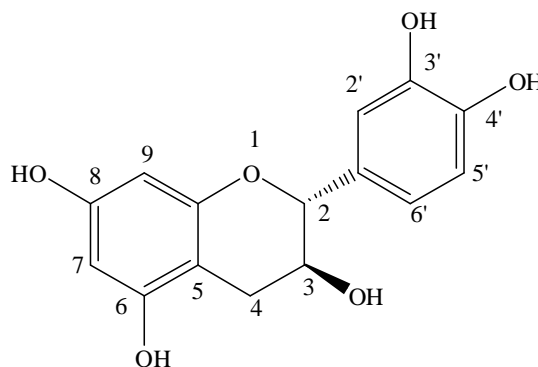
<sup>a</sup>100 MHz, Piridina- $d_5$ ; <sup>b</sup>400 MHz, Piridina- $d_5$

Con base en las evidencias presentadas, el compuesto C004-VII-1 se identificó como el ácido oleanólico.



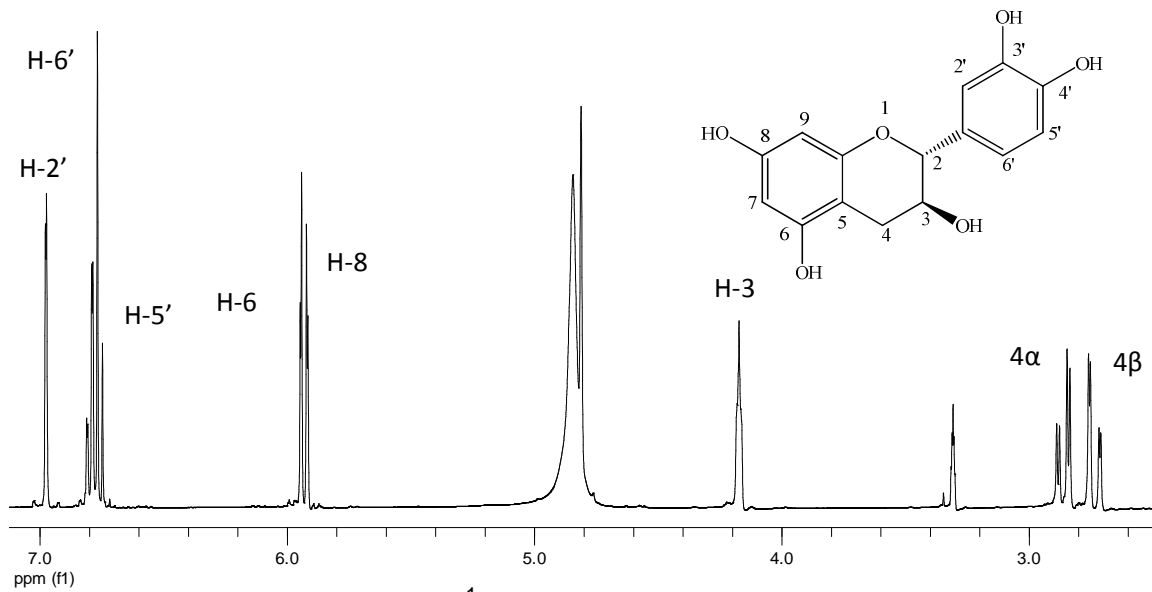
## 5.2 Elucidación estructural de la (-)-epicatequina (H003- IV -2)

El compuesto H003-IV-2, se aisló como un polvo amarillo claro soluble en metanol. La fórmula molecular del compuesto se estableció como  $C_{15}H_{14}O_6$  con base a los espectros de RMN (Figura 15 y Figura 16).

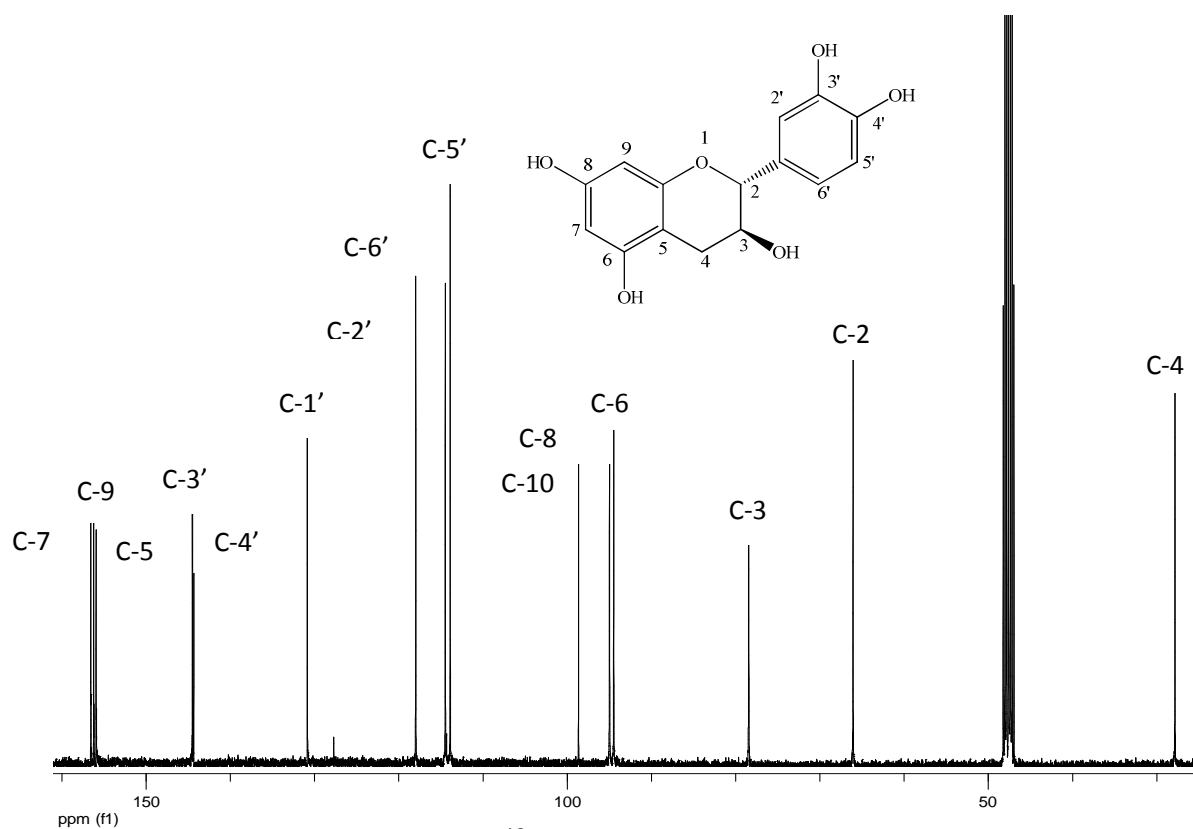


RMN- $^1H$  (MeOH- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm):  $\delta$ 4.81 (s, H-2); 4.17 (m, H-13); 5.95 (d,  $J=2.4$ , H-6); 5.92 (d,  $J=2.4$ , H-8); 6.98 (d,  $J=2.0$  H-2'); 6.76 (d,  $J=8.0$ , H-5'); 6.81 (dd,  $J=8.0, 2.0$ , H-6'), H-4 $\alpha$  ( $J=16.4, 3.6$ ), H-4 $\beta$  ( $J=16.4, 3.6$ ).

RMN- $^{13}C$  (MeOH- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 156.56 (C-7), 156.22 (C-9), 155.93 (C-5), 144.50 (C-3'), 144.34 (C-4'), 130.85 (C-1'), 117.98 (C-2'), 114.47 (C-6'), 113.89 (C-5'), 98.66 (C-10), 94.97 (C-6), 78.45 (C-3), 78.43 (C-3), 66.06 (C-2), 27.83 (C-4).



**Figura 15.** Espectro de RMN- $^1\text{H}$  de la (-)-epicatequina (MeOH- $d_6$ , 400 MHz).



**Figura 16.** Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de la (-)-epicatequina (MeOH-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz).

**Tabla 12.** Valores de RMN de  $^{13}\text{C}$  y  $^1\text{H}$  para la (-)-epicatequina.

Posición	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) <sup>a</sup>	$^1\text{H}$ ( $\delta$ ) <sup>a</sup>
1-O	---	---
1'	130.85	---
2	66.06	27.83 (s)
2'	117.98	6.98 (d, $J=2.0$ )
3-OH	78.45	---
3'-OH	144.50	---
4	27.83	H- $\alpha$ ( $J=16.4, 3.6$ ), H- $\beta$ ( $J=16.4, 3.6$ ).
4'-OH	144.34	---
5	155.93	---
5'	113.89	6.76 (d, $J=8.0$ )
6-OH	94.97	5.95 (d, $J=2.4$ )
6'	114.47	6.81 (dd, $J=8.0, 2.0$ )
7	156.56	4.17 (m)
8-OH	---	5.92 (d, $J=2.4$ )
9	156.22	---
10	98.66	---

<sup>a</sup>100 MHz, MeOH- $d_6$ ; <sup>b</sup>400 MHz, MeOH- $d_6$

Con base en las evidencias presentadas, el compuesto H003- IV -2 se identificó como el flavan-3-ol (-)-epicatequina.

El tejocote es un árbol cuyas hojas, frutos, raíces, corteza y flores son ampliamente utilizados en México para tratar un gran número de afecciones, sin embargo, a pesar de ello existen escasos estudios acerca de su composición química y propiedades medicinales. Por estas razones se decidió llevar a cabo la realización de este proyecto.

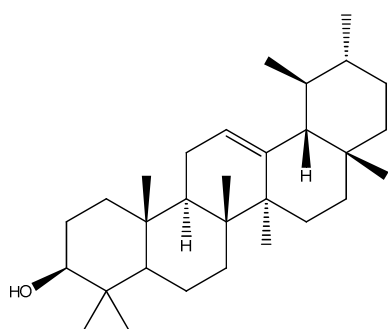
La preparación del extracto de los frutos de *C. mexicana* se realizó mediante un proceso de maceración tal como se indicó en la parte experimental (4.3.1.1). Posteriormente, el extracto resultante se sometió a un fraccionamiento primario por partición utilizando como disolventes hexano, diclorometano y acetato de etilo. De este fraccionamiento se obtuvo la fracción C004, la cual fue sometida a sucesivas cromatografías. Este proceso permitió aislar y determinar la estructura química de los triterpenoides, ácido oleanólico y una mezcla de  $\alpha$ - y  $\beta$ -amirinas (Figura 17). Los compuestos fueron caracterizados por comparación de sus constantes espectroscópicas y espectrométricas con aquellas reportadas en la literatura (Mahato *et al.*, 1994) y por comparación directa con muestras auténticas.

Por otra parte, se prepararon los extractos a partir de las hojas y de las flores siguiendo una estrategia similar a la descrita para los frutos de *C. mexicana*. El extracto total de las hojas se sometió a un fraccionamiento primario por partición utilizando como disolventes hexano, diclorometano y acetato de etilo. Como resultado de este proceso se obtuvo la fracción H003, la cual fue sometida a sucesivas cromatografías. Este proceso permitió aislar y determinar la estructura química del flavan-3-ol (-)-epicatequina (Figura 17). Este compuesto fue caracterizado por comparación de sus constantes espectroscópicas y espectrométricas con aquellas reportadas en la literatura (Bejar *et al.*, 2007) y por comparación directa con muestras auténticas.

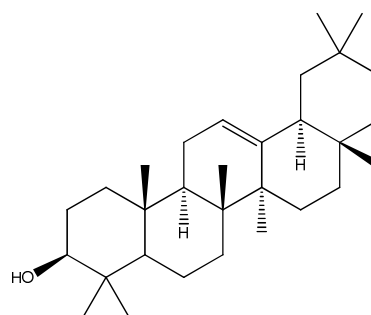
Posteriormente, con la finalidad de detectar en los frutos, las hojas y las flores de *C. mexicana* el ácido oleanólico y la mezcla de  $\alpha$ - y  $\beta$ -amirinas se realizó una placa de HPTLC, tal como se describe en la parte experimental (4.3.2.6). Esta

placa permitió la detección de la mezcla de  $\alpha$ - y  $\beta$ -amirinas en el extracto total de los frutos al ser comparado con el estándar de  $\alpha$ - y  $\beta$ -amirinas ( $R_f = 0.47$ ). Es importante mencionar que además de coincidir en el valor de  $R_f$ , la mezcla de amirinas presentó un color púrpura característico al ser revelada con anisaldehído sulfúrico (Martelanc *et al.*, 2009). Por otra parte, el ácido oleanólico se detectó en los extractos totales a partir de los frutos, las flores y las hojas, el valor del  $R_f$  del estándar fue de 0.23 en este sistema de elución y una coloración violeta (Martelanc *et al.*, 2009). En la Figura 7 se muestra la placa cromatográfica que ilustra los resultados descritos previamente.

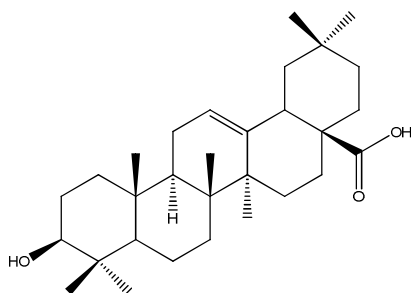
Por otra parte, con la finalidad de detectar la presencia de compuestos antioxidantes del tipo de la quercetina, la (-)-epicatequina, el ácido cafeico y el ácido 5-clorogénico se realizaron dos placas cromatográficas eluidas como se describe en la parte experimental (4.3.2.7). Una de las placas fue revelada utilizando el radical 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH). Esta placa permitió la detección de la (-)-epicatequina ( $R_f = 0.71$ ), el ácido cafeico ( $R_f = 0.64$ ), y el ácido 5-clorogénico ( $R_f = 0.47$ ). En la Figura 8 se muestra la placa cromatográfica que ilustra los resultados descritos previamente. La segunda placa fue revelada con el agente cromógeno vainillina sulfúrica al 1% permitiendo detectar la presencia del flavan-3-ol (-)-epicatequina. En la Figura 9 se muestra la placa cromatográfica que ilustra los resultados descritos previamente. Por último es importante mencionar que no se pudo corroborar la presencia de la quercetina en ninguno de los extractos como ha sido descrito previamente (Owen, 1932). En la Figura 17 se muestran las estructuras de los compuestos aislados y detectados en las diferentes partes de *Crataegus mexicana* (frutos, hojas y flores).



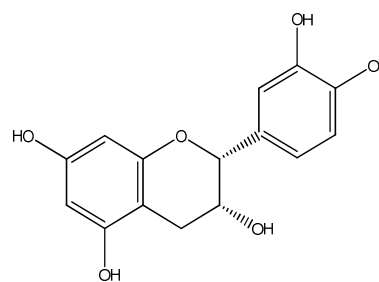
$\alpha$ -amirina (1)



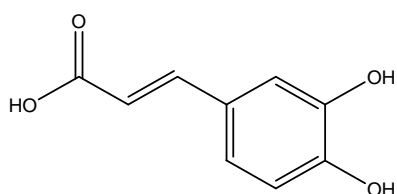
$\beta$ -amirina (2)



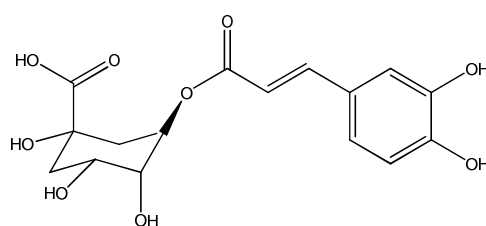
ácido oleanólico (3)



(-)-epicatequina (4)



ácido cafeico (5)



ácido 5-clorogénico (6)

**Figura 17.** Estructuras de los compuestos aislados y detectados en las diferentes partes de *Crataegus mexicana* (frutos, hojas y flores).

### 6. RESUMEN Y CONCLUSIONES

1. El estudio fitoquímico del extracto metanólico preparado a partir de los frutos de *C. mexicana* permitió el aislamiento y caracterización de la mezcla de las  $\alpha$ -(1) y  $\beta$ -(2)amirinas, y del ácido oleanólico (3) además de la detección del flavan-3-ol (-)-epicatequina (4), el ácido cafeico (5) y el ácido 5-clorogénico (6).
2. El estudio fitoquímico del extracto metanólico preparado a partir de las hojas de *C. mexicana* permitió el aislamiento y caracterización del flavan-3-ol (-)-epicatequina (4), además de la detección del ácido oleanólico (3), el ácido cafeico (5) y el ácido 5-clorogénico (6). Estos compuestos también fueron detectados en el extracto metanólico de las flores.
3. Este trabajo de investigación representa una contribución original al estudio de la química de *C. mexicana*. Es importante mencionar que el ácido oleanólico (3), el flavan-3-ol (-)-epicatequina (4), el ácido cafeico (5), y el ácido 5-clorogénico (6), han sido previamente encontrados en otras especies del género *Crataegus* (Hernández, 2008). Por otra parte, el aislamiento de la mezcla de las  $\alpha$ -(1) y  $\beta$ -(2)amirinas representa una de las primeras descripciones sobre su presencia en este género.
4. La presencia de la mezcla de  $\alpha$ -(1) y  $\beta$ -(2)amirinas en los frutos de *C. mexicana* explica de manera parcial algunas de las propiedades que posee esta especie. Ya que esta mezcla de compuestos posee efectos hepatoprotectores (Oliveira *et al*, 2005) y antinociceptivos (Otuki *et al*, 2004).
5. Por otra parte, la presencia del ácido oleanólico (3) en las hojas, las flores y los frutos de *C. mexicana* explica de manera parcial algunas de las propiedades que posee esta especie. El ácido oleanólico (3) posee efectos hepatoprotectores, antiinflamatorios, antitumorales, antimutagénicos, antiulcéricos, anticariogénicos y antihiperlipidémicos (Liu *et al*, 1995). Además, posee actividades antihipertensivas, antioxidantes, hipoglucemiantes, (Somova *et al*, 2003), e inmunorregulatorias (Li *et al*, 2002). Otras investigaciones describen su efecto inhibitorio sobre la formación de tumores, hematopoyesis e inmunocompetencia lo cual lo hace un candidato para el tratamiento del cáncer. Estudios recientes describen su capacidad para disminuir el daño en el tejido hematopoyético



después de la radioterapia (Hsu *et al.*, 2003). Este triterpeno posee también actividad antimicrobiana, y un amplio espectro de actividad antifúngica especialmente contra la cepa de *Candida glabrata* (Liu *et al.*, 1995), e inhibe además la replicación del VIH-1 en células H9 con infección aguda (Kashiwada *et al.*, 1998). Otras actividades relevantes del ácido oleanólico (**3**) son la protección contra ciclofosfamida y la disminución del daño de los cromosomas inducidos por este mismo compuesto. Por último, se le atribuye actividad antifertilidad y se le ha demostrado actividad inhibitoria de la testosterona 5 $\alpha$  –reductasa (Liu *et al.*, 1995).

6. La presencia de la (-)-epicatequina (**4**) en las hojas, flores y frutos de *C. mexicana* explica algunas de las propiedades de esta especie ya que este flavan-3-ol posee actividades antiulcéricas, antiinflamatorias, astringentes y amebicidas (Calzada, 2000). Por otra parte, estudios recientes han demostrado que inhibe de manera significativa los infartos cerebrales y el padecimiento de déficit neurológico, sugiriendo su efecto protector sobre las neuronas contra el estrés oxidativo (Shah *et al.*, 2010). Por último, se ha demostrado que induce el desacoplamiento de la enzima ONSe (óxido nítrico sintasa endotelial), de la caveolina-1 y su asociación con la calmodulina-1 (Ramírez *et al.*, 2010).

## 7. PERSPECTIVAS

- Continuar el estudio de las fracciones secundarias de los frutos y de las hojas de *C. mexicana* que no lograron ser analizadas en el presente proyecto con la finalidad de aislar y purificar compuestos minoritarios.
- Determinar los efectos hipoglucemiantes, cardiovasculares, antiulcéricos e antiinflamatorios de los extractos, fracciones y compuestos puros derivados de los frutos y las hojas.
- Desarrollar un método analítico por HPLC que permita cuantificar los principios activos en los extractos de tejocote.
- Realizar los estudios químicos conducentes a determinar la composición química de las flores, la raíz y la corteza de la raíz de *C. mexicana* ya que estas partes son empleadas para el tratamiento de diferentes padecimientos en la medicina tradicional mexicana.

### 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anales del Instituto Médico Nacional. (1903). Tomo V. México. pp.66.
- Argueta, V., Cano, A. 1941 Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Instituto Nacional Indigenista. México DF. pp.1322-1323.
- Bejar, E., Malone, M. (1993). Pharmacological and chemical screening of *Byrsonima crassifolia*, a medicinal tree from Mexico, Part I. *Journal of Ethnopharmacology* 39: 141-158.
- Breton, R. 1941. Contribución al estudio botánico, químico y farmacodinámico de *Crataegus mexicana*. Tesis de Doctorado, Facultad de Ciencias UNAM. México DF. pp.66.
- Bulletin of Miscellaneous Information (Royal Gardens, Kew). 1933. The Mexican Hawthorn (*Crataegus pubescens* H.B.K.). 8: 289-298.
- Cabrera, L. 1982. Plantas curativas de México. Libro – México – Editores S. de R.L. México DF. Cuarta Edición. pp. 52.
- Calzada, F. 2000. Proantocianinas de tipo A y flavonoides con actividad antiprotozoaria de *Geranium niveum* S. Watson (Geraniceae) y *Conyza filagoides* (D.C.) Hieron (Asteraceae). Tesis de Doctorado, Facultad de Química UNAM. México DF. pp.20.
- Cedillo, E. 1990. Plantas útiles del Municipio de Tepoztlán, Morelos. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias UNAM. México DF. pp. 272 – 273.
- COFEPRIS. 2005. Hacia una política farmacéutica integral para México. Secretaria de Salud. México DF.
- Franco, O., Aguirre, S., Morales, E., González A., Gutiérrez F. 2010. Caracterización morfológica y bioquímica de frutos de tejocote (*Crataegus mexicana* DC.) de Lerma y Ocoyoacac. *Ciencia ergo sum*. 17(1): 61-66.
- González, J. 1981. Ecología Humana y Etnobotánica de un pueblo campesino de la Sierra de Nevada, Santa Catarina del Monte, Edo. de México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias UNAM. México DF. pp. 226.

- Gutiérrez, M. 1991. Plantas Medicinales de San Lucas el Grande, Estado de Puebla. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias UNAM. México DF. pp.31.
- Hernández, E. 2008. Inhibición de la Enzima Convertidora de Angiotensina por extractos de *Crataegus mexicana* Moc. Sessé silvestre y micropropagada. Tesis de Maestría, Departamento de Biotecnología del Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, IPN. México DF. pp.79.
- Hsu, H., Yangb, J., Linb, C. 1996. Effects of oleanolic acid and ursolic acid on inhibiting tumor growth and enhancing the recovery of hematopoietic system postirradiation in mice. *Cancer Letters*, 3: 7- 13.
- Imaz, M. 1989. Historia natural del Valle de México. *Revista Ciencias*. 15:15 - 21.
- Kashiwada, Y., Wang, H., Nagao, T., Kitanaka, S., Yasuda, I., Fujioka, T., Yamagishi, T., Cosentino, L., Kozuka, M., Okabe, H., Ikeshiro, Y., Hu, C., Yeh, E., Lee, K., Anti-AIDS Agents. 30. Anti-HIV Activity of Oleanolic Acid, Pomolic Acid, and Structurally Related Triterpenoids, *J. Nat. Prod.* 61: 1090-1095.
- Li, J., Guo, W., Yang, Q., Yang. 2002. Effects of ursolic acid and oleanolic acid on human colon carcinoma cell line HCT15. *World Journal of Gastroenterology*. 8(3): 493-495.
- Linares M. 1991. Flora útil de dos localidades del municipio de Tecali de Herrera, Puebla. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias UNAM. México DF. pp. 140.
- Liu, J. 1995. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *Journal of Ethnopharmacology*. 49:57-68.
- Martelanc, M., Vovk, I., Simonovska, B. 2009. Separation And identification of some common isomeric plant triterpenoids by thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1216: 6662-6670.

- Mahato, S., Kundu, A. (1994) CNMR Spectra of Pentacyclic Triterpenoids – A Compilation and some Salient Features. *Phytochemistry*. 37(6):1517-1575.
- Márquez, C. 1999. Plantas medicinales de México: composición, usos y actividad biológica. UNAM. Primera Edición. México DF. pp.157.
- Martínez, I. 1980. Etnobotánica mexicana: plantas popularmente usadas para el tratamiento de la diabetes. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias UNAM. México DF. pp. 50 – 51.
- Nieto, R., Pérez, S., Núñez, C., Martínez, J., González, F. 2009. Seed and endocarp traits as markers of the biodiversity of regional sources of germplasm of tejocote (*Crataegus spp.*) from Central and Southern Mexico. *Scientia horticultrae*. 121: 166 - 170
- Núñez, C., Áreas prioritarias para coleccionar germoplasma de (*Crataegus L.*) en México con base en la diversidad y riqueza de especies. 2009. *Agricultura Técnica en México*. 35(3):333-338.
- Núñez, C., Nieto, R., Barrientos, F., Segura, S., Sahagún, J., González, F. 2008. Distribución y caracterización eco-climática del género *Crataegus L.* (Rosaceae, SUBFAM. Maloideae) en México. Serie horticultura, *Revista Chapingo*. 14(2): 177-184.
- Oliveira, F., Chaves, M., Almeida, F., Lima, R., Silva, R., Maia, J., Brito, G., Santos, F., Satnarayana, V. 2005. Protective effect of  $\alpha$  and  $\beta$  amyrin, a triterpene mixture from *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. trunk wood resin, against acetaminophen-induced liver injury in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, Science Direct. 98: 103–108.
- Otuki, M., Ferreira, J., Lima, F., Meyre, C., Malheiros, A., Muller, L., Cani, G., Santos, A., Yunes, R., Calixto, J. 2005. Antinociceptive Properties of Mixture of  $\alpha$  Amyrin and  $\beta$  Amyrin Triterpenes: Evidence for Participation of Protein Kinase C and Protein Kinase A Pathway. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 313(1): 310 – 318.
- Owen, C. 1932. Estudio del “*Crataegus mexicana*” Tejocote. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Químicas UNAM. México DF. pp. 37.

- Pérez, C., Mendoza, M., Ceja, J., Pacheco, L. 2008. Anatomía de la madera de cinco especies de la familia Rosaceae. *Madera y Bosques*. 14(1): 81 – 105.
- Ramírez, I., Maya, L., Ceballos, G., Villarreal, F. 2010. (-)-Epicatechin Activation of Endothelial Cell Endothelial Nitric Oxide Synthase, Nitric Oxide, and Related Signaling Pathways. *Hypertension American Heart Association*. 55: 1398-1405.
- Rzedowski, J., Calderón, G. 2005. Flora del bajío y regiones adyacentes. México Michoacán. pp.49
- Shah, Z., Li, R., Ahmad, A., Kensler, T., Yamamoto, M., Biswal, S., Dore, S. 2010. The flavanol (-)-epicatechin prevents stroke damage through the Nrf2/HO1 pathway. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 30: 1951–1961.
- Somova, L., Nadar, A., Rammanan, P., Shode F. 2003. Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acids in experimental hypertension. *Phytomedicine*. 10: 115–121.
- Vivar, M., Salazar, J., Calva, G., Ramos, E. 2005. Extraction, thermal stability and kinetic behavior of pectinmethylesterase from hawthorn (*Crataegus pubescens*) fruit. *LWT*. 40: 278 – 284.
- <http://www.conafor.gob.mx/portal/docs/secciones/reforestacion/Fichas%20Tecnicas/Crataegus%20mexicana.pdf> Consultada en febrero de 2011
- [http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info\\_especies/arboles/doctos/59-rosac1m.pdf](http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/59-rosac1m.pdf) Consultada en febrero de 2011
- [http://www.semarnat.gob.mx/informacionambiental/Publicacion/Manual\\_Climate%20Templado-Frío.pdf](http://www.semarnat.gob.mx/informacionambiental/Publicacion/Manual_Climate%20Templado-Frío.pdf) Consultada en febrero de 2011