



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

“CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO FITOQUÍMICO DE *Cordia curassavica*  
(JACQ) ROEMER Y SCHULTES DEL VALLE DE TEHUACÁN CUICATLÁN  
PUEBLA.”

T E S I S  
PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
B I Ó L O G A  
P R E S E N T A:  
AURORA ORDÓÑEZ ROJAS

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. ANA MARÍA GARCÍA BORES

Tlalnepantla, Edo. de México.

2015



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

## **AGRADECIMIENTOS**

*El presente estudio se realizó en el Laboratorio de Fitoquímica de la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO), de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.*

*A la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme la oportunidad de realizar uno de mis más grandes sueños y crecer profesionalmente.*

*A la FES-I, por dejarme estudiar en sus instalaciones y convertirse en mi segundo hogar, en donde tuve la oportunidad de conocer a personas increíbles.*

*Al apoyo financiero brindado por el proyecto PAPIIT DGAPA IG200514*

*A los sinodales que revisaron este trabajo:*

*Dra. Ana María García Bores, por su paciencia, enseñanzas, confianza y apoyo incondicional.*

*Dr. José Guillermo Avila Acevedo, por sus consejos y comentarios tan asertivos.*

*Dra. Claudia Tzasná Hernández Delgado, por el gran apoyo brindado.*

*M. en C. Luis Barbo Hernández Portilla, por su paciencia y apoyo técnico que permitieron la realización de este trabajo.*

*Dr. Ignacio Peñalosa Castro, por sus comentarios y apoyo en la redacción.*

---

**DEDICATORIAS**

*A mis padres Aurora y Saúl por su amor, consejos, comprensión y apoyo incondicional. Gracias a ustedes todo esto fue posible, son mi mayor bendición, ¡los amo!*

*A toda mi familia mis tíos, primos y abuelos, por su apoyo y cariño.*

*A mi tía Guadalupe por tus consejos, regaños, apoyo en los buenos y malos momentos, eres y serás una parte muy importante en mi vida, gracias por creer en mí siempre.*

*A la Dra. Ana María García Bores por brindarme su confianza, amistad y apoyo incondicional. Gracias por orientarme y ayudarme a crecer no sólo de manera profesional sino además de manera personal. Me siento muy afortunada de haber encontrado a alguien como usted en mi camino.*

*Al Dr. José Guillermo Avila Acevedo, por su paciencia, consejos y enseñanzas que nunca olvidaré.*

*A todos mis compañeros universitarios y en especial a mis amigos Jessica, Víctor, Omar, Luis, Canabís, Memo, Noé y Abraham por las vivencias y experiencias que pasamos juntos ¡los quiero!*

---

## DEDICATORIAS

*A mi compañera y amiga Chela por tus consejos, por estar conmigo cuando más lo necesité y por creer en mí, eres una persona increíble.*

*A todos mis compañeros de Laboratorio Marisol, Montse, Erick, Dafne, Betty y Diana, por sus consejos y por motivarme a ser mejor persona cada día.*

*Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado. Un esfuerzo total es una victoria completa.*

*Mahatma Gandhi.*

*El secreto de mi felicidad está en no esforzarse por el placer, sino en encontrar el placer en el esfuerzo.*

*André Gide.*

---

## ÍNDICE GENERAL

<b>I. RESUMEN</b> .....	1
<b>II. INTRODUCCIÓN</b> .....	2
<b>III. MARCO TEÓRICO</b> .....	5
Metabolitos secundarios y sus funciones .....	5
Clasificación de los metabolitos secundarios .....	6
<b>IV. ANTECEDENTES</b> .....	14
<b>V. JUSTIFICACIÓN</b> .....	17
<b>VI. HIPÓTESIS</b> .....	17
<b>VII. PREGUNTA CIENTÍFICA</b> .....	17
<b>VIII. OBJETIVO GENERAL</b> .....	18
<b>IX. OBJETIVOS PARTICULARES</b> .....	18
<b>X. DESCRIPCIÓN Y DISTRUBUCIÓN DE LA PLANTA</b> .....	19
<b>XI. DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO</b> .....	21
<b>XII. MATERIAL Y MÉTODO</b> .....	22
1.- Recolecta del material vegetal .....	23
2.- Extracción .....	23
3.- Separación de los componentes de los extractos .....	23
a) Cromatografía de adsorción en columna abierta (cc).....	23
b) Cromatografía en capa fina (ccf).....	24
c) Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM) .....	24
d) Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC).....	25

---

<b>4.- Determinación de las constantes espectroscópicas de los compuestos aislados</b> .....	26
a) Punto de fusión (p.f) .....	26
b) Infrarrojo (IR) .....	27
c) Resonancia magnética nuclear (RMN) .....	27
<b>XIII. RESULTADOS Y ANÁLISIS</b> .....	29
<b>XIV. DISCUSIÓN</b> .....	46
<b>XV. CONCLUSIONES</b> .....	51
<b>XVI. PERSPECTIVAS</b> .....	53
<b>XVII. ANEXOS</b> .....	54
Anexo I. ....	54
Anexo II. ....	57
<b>XVIII. REFERENCIAS</b> .....	61

---

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Condiciones que favorecen la síntesis activa de metabolitos secundarios .....	6
<b>Figura 2.</b> Estructuras de algunos terpenos con actividad biológica .....	7
<b>Figura 3.</b> Biosíntesis de los policétidos .....	8
<b>Figura 4.</b> Estructura de algunos alcaloides con función biológica .....	9
<b>Figura 5.</b> Síntesis del ácido shikímico .....	10
<b>Figura 6.</b> Estructura de los fenilpropanoides o hidroxicinamatos más comunes .....	11
<b>Figura 7.</b> Estructura química de los diferentes tipos de flavonoides .....	12
<b>Figura 8.</b> <i>Cordia curassavica</i> (Jacq) Roemer y Schultes. ....	19
<b>Figura 9.</b> Distribución mundial del género <i>Cordia</i> .....	20
<b>Figura 10.</b> Estados de la República Mexicana donde se distribuye <i>C. curassavica</i> .....	20
<b>Figura 11.</b> Ubicación geográfica del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla. ....	21
<b>Figura 12.</b> Método utilizado para el estudio fitoquímico de <i>C. curassavica</i> . ....	22
<b>Figura 13.</b> Espectro de IR de la fracción D del extracto hexánico de <i>C. curassavica</i> . ....	32
<b>Figura 14.</b> Espectro de IR de la fracción Y del extracto hexánico de <i>C. curassavica</i> . ....	33
<b>Figura 15.</b> Espectro de IR del precipitado obtenido del extracto hexánico de <i>C. curassavica</i> .....	34
<b>Figura 16.</b> RMN $H^{-1}$ del precipitado del extracto hexánico de <i>C. curassavica</i> . ....	35
<b>Figura 17.</b> RMN $C^{13}$ del precipitado del extracto hexánico de <i>C. curassavica</i> . ....	36
<b>Figura 18.</b> RMN $C^{13}$ del precipitado del extracto hexánico de <i>C. curassavica</i> . ....	37
<b>Figura 19.</b> Espectro de IR del precipitado obtenido del extracto metanólico de <i>C. curassavica</i> . ....	41
<b>Figura 20.</b> RMN $H^{-1}$ del precipitado del extracto metanólico de <i>C. curassavica</i> . ....	42
<b>Figura 21.</b> Cromatograma del extracto metanólico obtenido del HPLC. ....	43
<b>Figura 22.</b> Espectro UV del patrón de ácido gálico .....	44
<b>Figura 23.</b> Espectro UV del extracto metanólico. ....	44
<b>Figura 24.</b> Comparación del Tiempo de retención (TR) del patrón de ácido gálico y el del extracto metanólico de <i>C. curassavica</i> . ....	45

---

**ÍNDICE DE CUAROS**

<b>Cuadro 1.</b> Estudios realizados con el género <i>Cordia</i> .....	14
<b>Cuadro 2.</b> Fraccionamiento del extracto hexánico de <i>Cordia curassavica</i> .....	30
<b>Cuadro 3.</b> Compuestos principales encontrados en la fracción D del extracto hexánico. ....	31
<b>Cuadro 4.</b> Bandas de absorción del precipitado del extracto hexánico. ....	33
<b>Cuadro 5.</b> Desplazamiento y posición de H <sup>1</sup> del precipitado obtenido del extracto hexánico.....	38
<b>Cuadro 6.</b> Desplazamiento y posición de C del precipitado obtenido del extracto hexánico.....	38
<b>Cuadro 7.</b> Fraccionamiento del extracto metanólico de <i>Cordia curassavica</i> . ....	39
<b>Cuadro 8.</b> Bandas de absorción del precipitado del extracto metanólico .....	40

## **ABREVIATURAS UTILIZADAS**

<b>cc</b>	Cromatografía en columna abierta
<b>ccf</b>	Cromatografía en capa fina
<b>CG/EM</b>	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.
<b>COSY</b>	Correlación homonuclear
<b>HPLC</b>	Cromatografía de líquidos de alta resolución.
<b>HSQC</b>	Correlación Heteronuclear
<b>IR</b>	Infrarrojo
<b>p. f</b>	Punto de fusión
<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>RMN</b>	Resonancia magnética nuclear

---

## I. RESUMEN

En México, la medicina herbolaria tradicional es de gran importancia en la cultura de los pueblos y en muchas de las ocasiones se ha convertido en el único sistema utilizado para la restauración de la salud y el tratamiento de diversas enfermedades, ya que presenta ventajas considerables sobre los medicamentos convencionales. El Valle de Tehuacán-Cuicatlán Puebla es una de las zonas semiáridas de gran importancia en nuestro país, debido a la alta riqueza específica, diversidad biológica y endemismos que presenta. Dentro de la gran diversidad de esta reserva, encontramos a *Cordia curassavica*, la cual es una planta utilizada comúnmente por los habitantes de esta región para el tratamiento de enfermedades infecciosas, principalmente problemas gastrointestinales, además de que se ha comprobado su actividad antibacteriana y antifúngica. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es contribuir al conocimiento de la composición química de esta especie y caracterizar los compuestos aislados. Para el estudio fitoquímico que se realizó, primero se llevó a cabo la colecta de material vegetal en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, para posteriormente trasladarlo al laboratorio de Fitoquímica de la UBIPRO-FES-Iztacala y obtener el extracto hexánico y metanólico de las partes aéreas por maceración. El fraccionamiento del extracto hexánico se llevó a cabo mediante cromatografía de adsorción en columna abierta con mezclas de polaridad ascendente hexano-diclorometano. Los extractos y los compuestos fueron analizados por cromatografía en capa fina (ccf), utilizando como agentes cromogénicos el revelado con luz UV a 254 y 366 nm y una solución de sulfato cérico. De la cc realizada con el extracto hexánico se obtuvieron 134 alícuotas de las cuales se reunieron 36 fracciones. Dos de las fracciones fueron sometidas a cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC/MS), de las cuales los compuestos mayoritarios obtenidos fueron: estigmasan-3,5-dieno, estigmasterol, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido mirístico, germacreno D y cariofileno. De acuerdo al espectro de IR de dichas fracciones se pudieron observar bandas de absorción correspondientes a cadenas lineales de CH- pertenecientes a la estructura de ácido grasos. Con respecto al precipitado obtenido del extracto hexánico y analizando los espectros de IR, RMN  $H^{-1}$ , RMN  $C^{13}$ , COSY y HSQC, se pudo elucidar la estructura de dicho compuesto que correspondió al 2', 3', 3, 6, 8 pentametoxi, 5, 7 dihidroxi flavona. Del extracto metanólico, se obtuvo un rendimiento 20.92 g y de su fraccionamiento en cc se obtuvieron 137 alícuotas de las cuales se reunieron 48 fracciones. De igual manera se obtuvo un precipitado de color blanquecino con un punto de fusión mayor a los 280° C del cual se obtuvieron 0.21 g. El espectro de IR de dicho precipitado indicó la presencia de cadenas lineales de CH-, grupos carbonilo, grupos aromáticos y fenoles, así mismo en el espectro de RMN  $H^{-1}$  se identificaron carbonos anoméricos de azúcares junto con un sistema aromático AB, las cuales son estructuras fundamentales del ácido gálico. La presencia de ácido gálico se corroboró con un HPLC de dicho extracto, donde se observó similitud en el espectro de absorción y el tiempo de retención (TR) del patrón utilizado. La producción de ácido gálico en las plantas se relaciona con la producción de taninos hidrolizables.

## II. INTRODUCCIÓN

En México existe una gran diversidad vegetal y cultural lo que ha dado como resultado un amplio uso de las plantas. Aproximadamente el 25% de la población en nuestro país depende de ellas para el tratamiento y la cura de diferentes afecciones (Martínez *et al.*, 2006). La medicina herbolaria tradicional es de gran importancia en la cultura de los pueblos, y en muchas de las ocasiones se ha convertido en el único sistema utilizado para la restauración de la salud y el tratamiento de diversas enfermedades, ya que tiene ventajas considerables sobre los medicamentos convencionales puesto que presentan menos efectos colaterales y mayor accesibilidad para la población (Espinosa, 2008).

Según valores estimados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) cerca del 15% (37,000 especies) de la riqueza florística mundial posee virtudes curativas. Esto nos indica que pueden desarrollarse estudios que generen conocimiento acerca de nuevos metabolitos secundarios que promuevan la fabricación de diferentes fármacos para el tratamiento de diversos padecimientos (Hernández, 2009).

Los metabolitos secundarios son compuestos sintetizados a partir del metabolismo primario y los cuales, podemos clasificar de acuerdo a su estructura química en cumarinas, flavonoides, terpenoides, alcaloides, etc. Estos compuestos se caracterizan por tener bajo peso molecular y poseer gran importancia ecológica al participar en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente (relaciones de simbiosis, atracción de polinizadores, dispersores de semillas o frutos etc.). Por otro lado también hay una síntesis activa de metabolitos secundarios cuando las plantas son expuestas a condiciones adversas, tales como: el ataque de algunos herbívoros o por microorganismos como virus, hongos o bacterias, la competencia con otras especies por espacio, luz, suelo, así como la exposición a la luz solar, entre otros (Sepúlveda *et al.*, 2003).

Los metabolitos secundarios pueden presentar diferentes efectos de acuerdo a su composición y esto les confiere diversas propiedades útiles para el hombre. A su vez, estos compuestos se caracterizan por tener una distribución relativamente restringida, es decir, en muchas de las ocasiones se limita a presentarse en familias, géneros, especies o subespecies (Gros *et al.*, 1985).

El género *Cordia* es el más numeroso dentro de la familia *Boraginaceae* ya que comprende cerca de 325 especies. Es originaria de América austral y la extensión natural de este género abarca una extensa variedad de climas, suelos, elevaciones, además de que en algunos casos crecen asociadas a vegetación perturbada. Está constituido por árboles y arbustos deciduos o siempre-verdes, monóicos, algunas veces dióicos y a menudo con una pubescencia muy áspera (Espinosa, 2008).

Muchas plantas de este género han sido utilizadas en la medicina tradicional debido a las propiedades que presentan, entre las cuales encontramos su efecto antiinflamatorio, expectorante, cicatrizante, astringente y diurético. Diversos estudios se han realizado para conocer más acerca de los compuestos químicos del género *Cordia* (Cuadro 1) y se han aislado varios tipos de metabolitos secundarios, incluyendo triterpenos, flavonoides y naftoquinonas (De Menezes *et al.*, 2006). Sin embargo, no se cuenta con estudios fitoquímicos suficientes, puesto que en general los trabajos realizados se han enfocado principalmente a la identificación de metabolitos con actividad antimicrobiana o antifúngica (Espinosa, 2008).

El Valle de Tehuacán-Cuicatlán Puebla es una de las zonas áridas de mayor importancia en nuestro país debido a la alta riqueza específica, diversidad biológica y endemismos que presenta, además de ser reconocida como uno de los centros mundiales de diversidad de plantas. Dentro de la gran diversidad que se presenta en esta reserva encontramos al género *Cordia*. Las plantas de esta especie son utilizadas comúnmente para el tratamiento de diferentes padecimientos (Miguel, 2010).

Dentro del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, *Cordia curassavica* es comúnmente conocida como “barredor”. Esta especie es originaria de México y presenta una amplia distribución al Norte de Sudamérica, incluidas las islas del Caribe y como planta invasora se ha registrado en Malasia y algunas islas del Pacífico (Espinosa, 2008). En dicha zona, esta planta es comúnmente utilizada para el tratamiento de enfermedades infecciosas, principalmente problemas gastrointestinales. Se ha comprobado su actividad antibacteriana y antifúngica además se ha visto que su composición y concentración de metabolitos secundarios, varía dependiendo de las condiciones geográficas o ambientales en las que ésta se encuentra (Hernández, 2009).

### **III. MARCO TEÓRICO**

#### **a) Metabolitos secundarios y sus funciones.**

Todas las células llevan a cabo procesos metabólicos esenciales para la vida en donde se sintetizan compuestos primordiales como son los aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos. Estos procesos conforman en conjunto el metabolismo primario. Los organismos y específicamente las plantas destinan cierta cantidad de energía a la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas que parecieran no tener una función directa, sin embargo derivan del metabolismo primario (Ávalos *et al.*, 2009).

Se denominan metabolitos secundarios o productos naturales de las plantas a los compuestos químicos que no cumplen funciones esenciales en ellas, ya que no intervienen en el metabolismo primario pero les confieren ventajas selectivas interviniendo en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente (Valares, 2011).

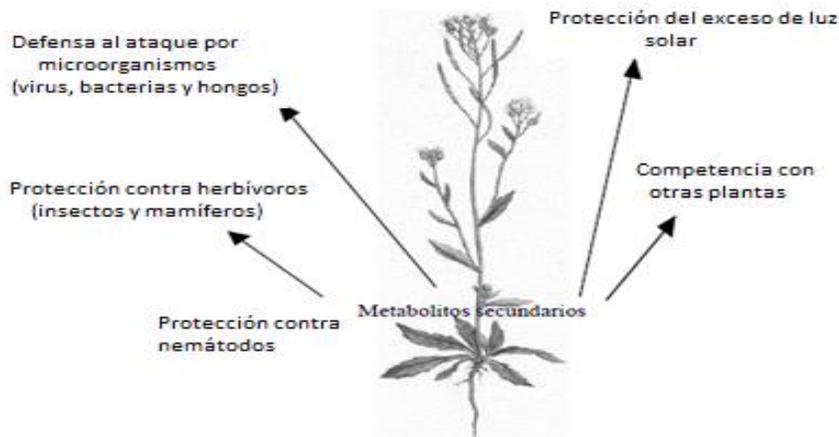
Durante muchos años, el valor adaptativo de los metabolitos secundarios fue desconocido y considerados productos finales de procesos metabólicos sin función específica o directamente como productos de desecho en las plantas. Sin embargo el estudio de dichas moléculas a partir de los siglos XIX y XX, ha permitido comprobar que estos compuestos poseen importancia ecológica y funciones específicas dentro de las plantas (Taiz *et al.*, 2006).

Los metabolitos secundarios son compuestos de bajo peso molecular con distribución restringida que participan en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente, establecimiento de la simbiosis con otros organismos y atracción de insectos polinizadores y dispersores de las semillas y frutos (Ávalos *et al.*, 2009).

La síntesis activa de estos compuestos se induce cuando las plantas son expuestas a condiciones adversas (Figura 1), tales como: presencia de herbívoros, ataque por microorganismos (virus, bacterias y hongos), competencia

con otras plantas por el espacio del suelo, la luz y nutrientes, además como defensa ante la exposición a la luz UV u otro tipo de estrés abiótico (Sepúlveda, 2003).

Aproximadamente 20,000 estructuras de metabolitos secundarios se conocen, las cuales por su composición química son clasificados por algunos autores en nitrogenados y no nitrogenados. La variedad estructural dentro de un mismo grupo de metabolitos secundarios está dada por modificaciones químicas a una estructura básica, originadas por reacciones químicas, tales como la hidroxilación, metilación, epoxidación, malonilación, esterificación y la glucosilación (Wink, 1999).



**Figura 1.** Condiciones que favorecen la síntesis activa de metabolitos secundarios (Sepúlveda, 2003).

### **b) Clasificación de los metabolitos secundarios.**

Los metabolitos secundarios se dividen de acuerdo a su origen metabólico en cinco clases principales: terpenos, policétidos, alcaloides, metabolitos derivados del ácido shikímico y metabolitos de biosíntesis mixta.

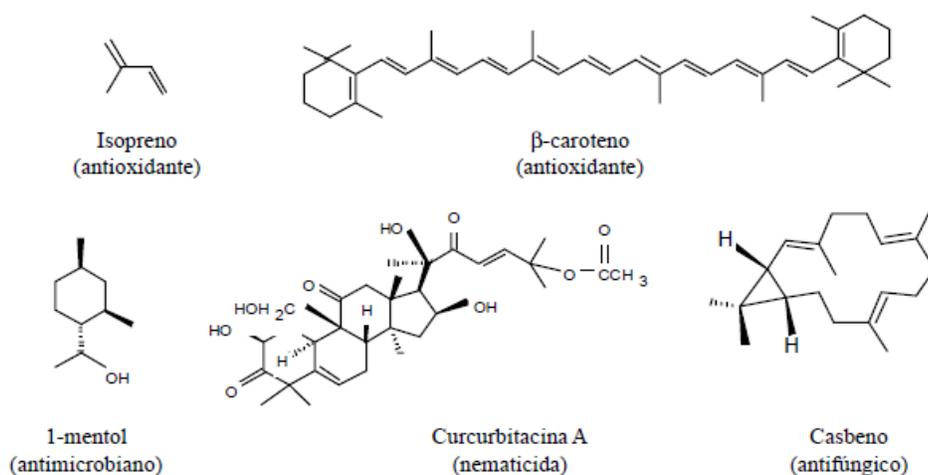
#### ❖ Terpenos.

Los terpenos (Figura 2) son un grupo de sustancias químicas de gran interés por su uso tan variado ya que poseen importancia medicinal por sus propiedades anticarcinogénicas, antiulcerosas, antimalariales, antimicrobianas, entre otras.

También son comercialmente interesantes por su uso como aromatizantes en productos alimenticios y cosméticos, además de que favorecen la calidad en algunos productos agrícolas (Ávalos *et al.*, 2009).

Los terpenos se clasifican de acuerdo con el número de unidades de isopreno (C5) que contenga la molécula; de esta manera tenemos a los monoterpenos (C10) formados por dos unidades de isopreno, sesquiterpenos (C15) formados por tres unidades, diterpenos (C20) con cuatro unidades y triterpenos (C30), formados por seis unidades (Sepúlveda *et al.*, 2003).

Los terpenos poseen diversas funciones dentro de las plantas por ejemplo, en combinación con otros compuestos como las oxilipinas y los índoles forman mezclas de compuestos volátiles que funcionan como señales químicas para atraer a los enemigos naturales de insectos herbívoros. También tienen efecto tóxico contra diferentes microorganismos que pudieran dañar la planta, además de proporcionar protección al daño causado por la foto-oxidación, entre otras funciones (Domínguez, 1998).



**Figura 2.** Estructuras de algunos terpenos con actividad biológica (Sepúlveda, 2003).

❖ Policétidos.

Los policétidos provienen de la unión de varias unidades de la acetil coenzima A ( $\text{CH}_3\text{CO-S-CoA}$ ), las cuales pueden reducirse (formando ácidos insaturados o saturados) y experimentar condensación aldólica, además de ciclización interna (Domínguez, 1998).

Los policétidos incluyen a los macrólidos, algunos compuestos cíclicos y algunos aromáticos como las benzoquinonas, naftoquinonas y antraquinonas (Figura 3). Estos compuestos están ampliamente representados por grupos taxonómicos como bacterias y hongos, además de poseer diversas actividades biológicas dentro de las que resaltan sus propiedades antibióticas, citostáticas, citotóxicas, insecticidas y colorantes (Smith, 2001).

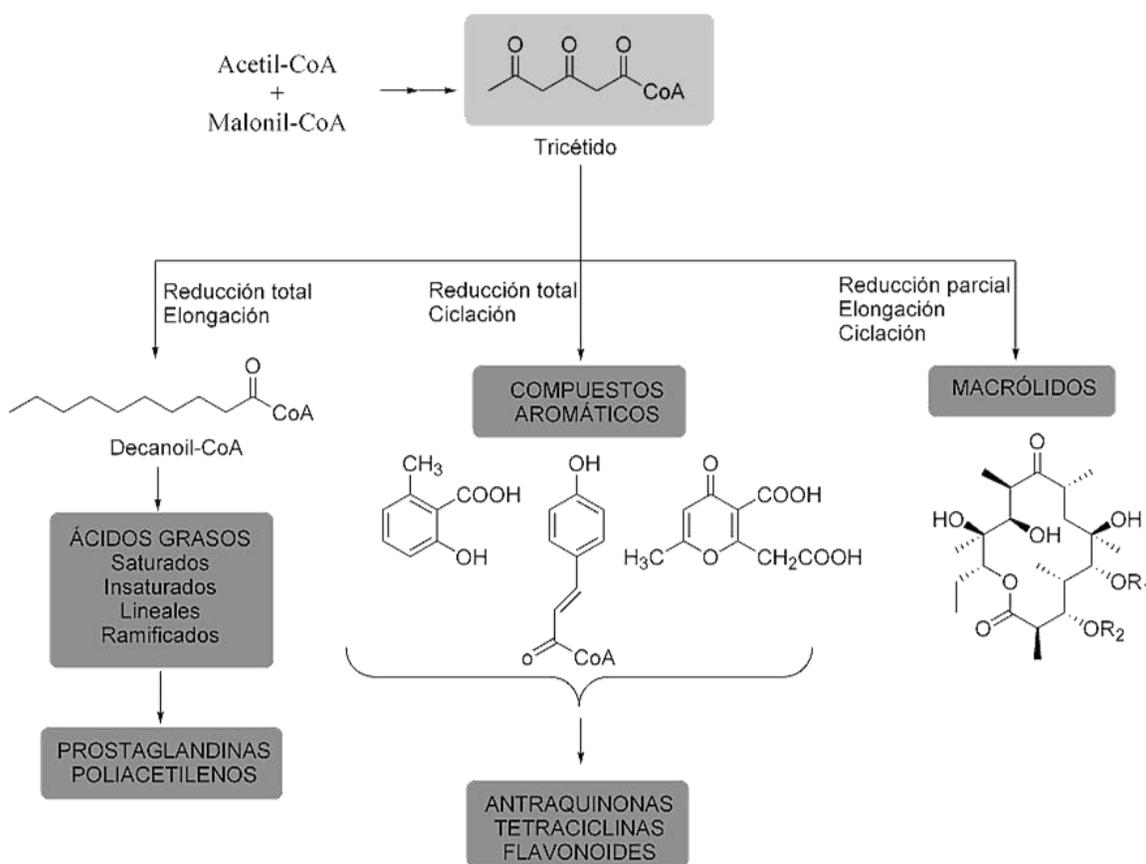
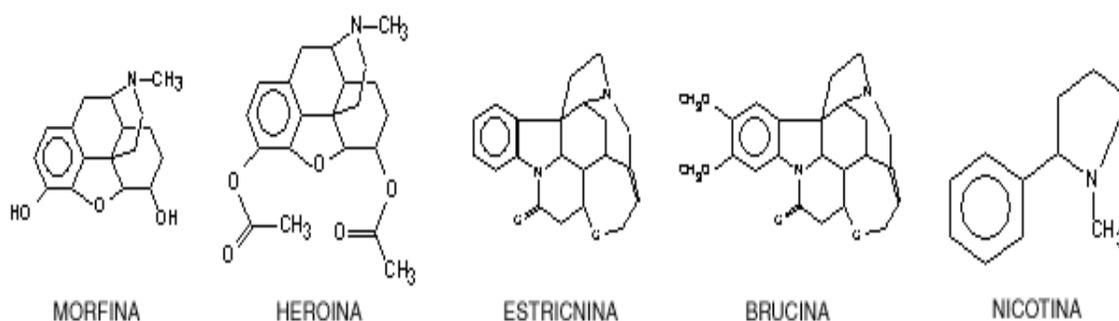


Figura 3. Biosíntesis de los policétidos (Smith, 2001).

❖ Alcaloides.

Los alcaloides son una gran familia de más de 15,000 metabolitos secundarios que tienen en común tres características: son poco solubles en agua, contienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula y exhiben una importante actividad biológica. La mayoría de estos compuestos son heterocíclicos aunque se encuentran también de manera alifática (no cíclica) (Figura 4). Estos compuestos se sintetizan a partir de aminoácidos, tales como el triptófano, tirosina, fenilalanina, lisina, arginina y ornitina, solos o combinados con terpenoides. También se pueden derivar de purinas y del acetato de los policétidos (Ávalos *et al.*, 2009).

El efecto tóxico de los alcaloides radica en su capacidad de bloquear neuroreceptores intermediarios de la transducción de la señal neuronal y canales iónicos de vertebrados e insectos, mientras que sus efectos inhibitorios del crecimiento de microorganismos patógenos están dado por la capacidad de intercalarse con el DNA, de detener la síntesis de proteínas, inducir la apoptosis e inhibir las enzimas del metabolismo de carbohidratos. Además se produce una síntesis activa de estos compuestos en respuesta a heridas de la planta provocadas por insectos depredadores (Sepúlveda *et al.*, 2003).

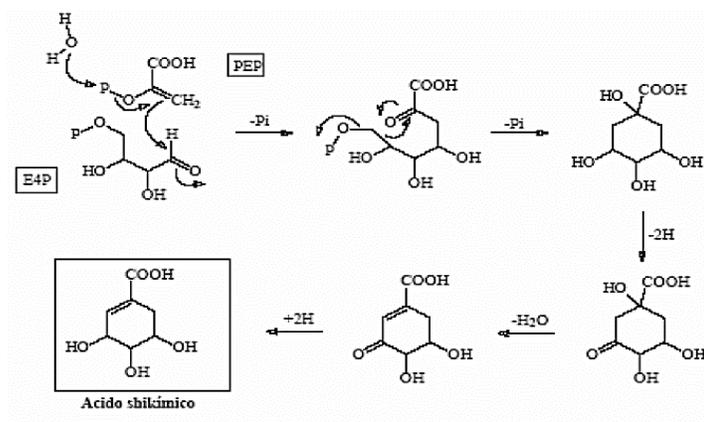


**Figura 4.** Estructura de algunos alcaloides con función biológica (Ávalos *et al.*, 2009).

- ❖ Metabolitos derivados del ácido shikímico (fenilpropanoides simples, cumarinas, lignanos y ligninas).

La ruta del ácido shikímico es responsable de la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos de las plantas. La formación de este compuesto ocurre a partir de precursores de 3 y 4 átomos de carbono como son el ácido fosfoenolpirúvico (PEP) y la eritrosa 4-fosfato (E4P) por una condensación de tipo aldólica, produciendo un compuesto de 7 carbonos (Figura 5).

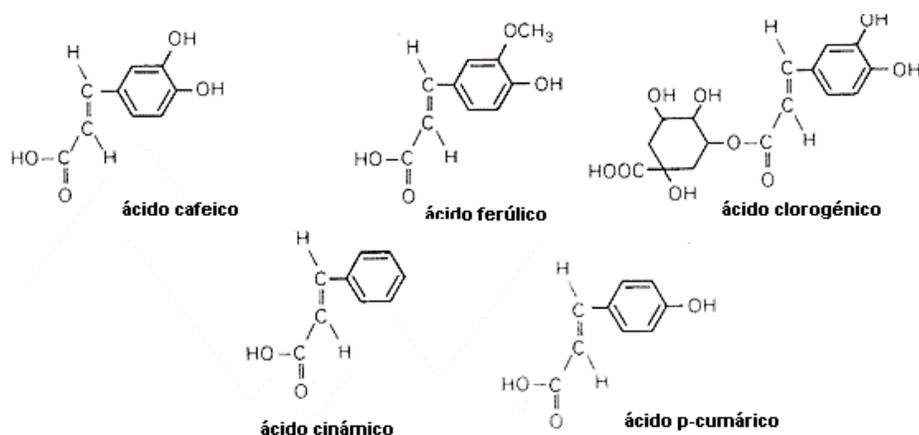
Después de una serie de reacciones se produce el ácido corísmico y el ácido prefénico que constituyen a los precursores de aminoácidos aromáticos como la fenilalanina y la tirosina. Por acción de la enzima fenilalanina-amonioliasa (PAL), se elimina el grupo amino de los aminoácidos aromáticos y se sintetizan los fenilpropanoides, el ácido *trans*-cinámico y ácido *p*-cumárico (Castillo y Woolrich, 2009)



**Figura 5.** Síntesis del ácido shikímico (Castillo y Woolrich, 2009).

Los fenilpropanoides poseen un anillo de benceno (C6) y una cadena lateral de tres carbonos (C3). Los fenilpropanoides simples más comunes son: el ácido cafeíco, ferúlico, cinámico, cumárico y clorogénico. Su principal función en las plantas es la de establecer barreras físicas que frenen la expansión de un patógeno y también la de ejercer una acción protectora a las células vegetales

frente a la producción de especies reactivas de oxígeno como consecuencia de una infección patogénica (Zacarés, 2008).



**Figura 6.** Estructura de los fenilpropanoides o hidroxicinamatos más comunes (Zacarés, 2008).

Las cumarinas se encuentran en plantas superiores y escasos microorganismos. Estos compuestos se originan por lactonización del ácido cumárico y su estructura consiste en un núcleo de benzo-2-pirona o benzo- $\alpha$ -pirona. La propiedad física más importante de las cumarinas es su fluorescencia generada con luz ultravioleta (365 nm), propiedad ampliamente usada para su detección (Arango, 2010). Dentro de las funciones que presentan estos compuestos en la planta podemos destacar que actúan como agentes antimicrobianos y como inhibidores de la germinación, además de que algunas presentan fototoxicidad frente a insectos, ya que al activarse por luz UV bloquean la transcripción y la reparación de DNA provocando la muerte celular (Ávalos *et al.*, 2009).

Los lignanos son oligómeros de gran peso molecular que protegen a la planta de patógenos o bien, actúan como antioxidantes en flores, semillas, hojas y raíces. Estos compuestos tienen en su estructura el esqueleto de dibencilbutano, es decir la fusión por dos carbonos  $\beta$  de la cadena lateral de dos unidades de fenilpropano. Se clasifican como lignanos simples y lignanos cíclicos. Los más conocidos son el secoisolariciresinol y matairesinol (Navarro-Tovar *et al.*, 2011). Las ligninas son polímeros vegetales presentes en todas las plantas vasculares construidos a base de unidades de fenilpropanoides. Es uno de los biopolímeros más abundantes en

las plantas y junto con la celulosa y la hemicelulosa conforma la pared celular de las mimosas (Chávez-Sifontes *et al.*, 2013).

❖ Metabolitos de biosíntesis mixta (flavonoides, estilbenos y taninos).

Para la síntesis de flavonoides y estilbenos se combinan la vía metabólica del ácido shikímico y la del ácido malónico. Los flavonoides tienen un núcleo fenilpropanoide de 15 átomos de carbono, el cual se conforma por 2 anillos de benceno que unidos a través del heterociclo pirano forman el fenilbenzopirano. Posteriormente, por medio de glicosilación, acilación o metilación, el núcleo de 15 átomos genera un escaso número de estructuras básicas del esqueleto de las cuales se deriva la amplia gama de flavonoides como son: flavanonas, flavonoles, flavonas, isoflavonas y antocianinas (Figura 7) (Drago, 2007).

Los flavonoides confieren a las plantas rasgos fenotípicos que las hace atractivas para la polinización como son color de flores, sabor de frutas, aroma, resistencia y protección contra plagas, radiaciones y enfermedades (Ávalos *et al.*, 2009).

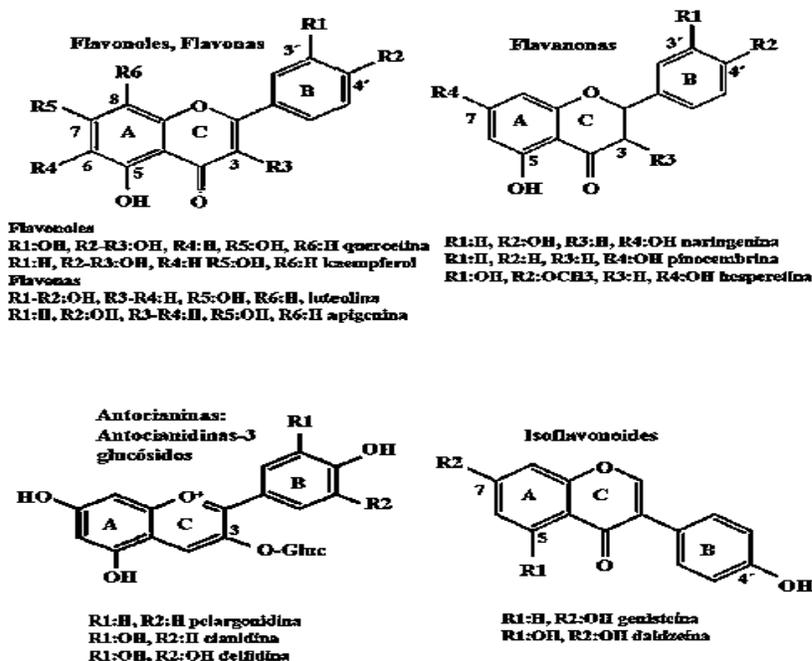


Figura 7. Estructura química de los diferentes tipos de flavonoides (Drago, 2007).

Los estilbenos se forman por la condensación del ácido p-hidroxicinámico con tres moléculas de coenzima A, mediante la acción de una enzima llamada estilbeno sintetasa. Estos metabolitos pueden ser producidos por la planta como respuesta a lesiones y colonización por patógenos microbianos, además de poseer una gran actividad antioxidante y antifúngica. El resveratrol que se encuentra en las plantas como una respuesta defensiva contra infecciones por hongos y otros factores ambientales, es un estilbeno de gran importancia farmacéutica ya que se ha comprobado que posee actividad anti-inflamatoria y antitumoral (Bello, 2009).

Los taninos o polifenoles son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en varios sectores del reino de las plantas superiores y se distinguen por las siguientes cinco características generales: solubilidad en agua, masa molecular entre 500-5000, estructura y carácter polifenólico (12-16 grupos fenólicos y 5-7 anillos aromáticos por cada 1000 unidades de masa molecular relativa), complejación intermolecular (astringencia) y características estructurales (dos motivos estructurales mayores, proantocianidinas o taninos condensados y taninos hidrolizables, más un tercer grupo minoritario, los florotaninos (Isaza, 2007).

Los taninos condensados o proantocianidinas son polímeros de flavanoles, formados por unidades de flavan-3-ol o catequinas unidos entre sí por enlaces carbono – carbono. Se caracterizan por liberar una unidad de antocianidina al ser sometidos a una hidrólisis ácida. Los taninos condensados también son importantes para la medicina ya que ayudan a la curación de heridas y quemaduras (Harborne, 1998).

Los taninos hidrolizables son ésteres derivados de ácido fenólicos (ácido gálico y elágico) unidos con un azúcar (generalmente glucosa) o un polialcohol. La parte fenólica de estos compuestos proviene de la vía shikímica a partir de la forma enol del ácido 3-dehidroshikímico, el cual se transforma en el precursor del ácido gálico (Isaza, 2007). Estos compuestos son de gran interés ya que poseen propiedades antivirales y antitumorales (Harborne, 1998).

#### IV. ANTECEDENTES

En los estudios realizados sobre género *Cordia* en México y otros países en donde se han aislado diferentes compuestos abarcando una gran diversidad de especies (Cuadro 1), se han reportado actividades biológicas importantes como son: antiinflamatoria, antimicrobiana, antiséptica, antiviral, antiulcerogénica, entre otras.

Cuadro 1. Estudios realizados con el género *Cordia*.

Autor y especie estudiada	País	Aportación
Hernández <i>et al.</i> , 2003 <i>C. curassavica</i>	México	Del estudio etnobotánico realizado en Zapotitlán Salinas, Puebla se obtuvo un registro total de 44 plantas de las cuales <i>Cordia curassavica</i> fue una de las más representativas para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales. Se realizaron extractos con metanol, cloroformo y hexano. Además se probó su actividad antimicrobiana contra 14 cepas de bacterias que son las que provocan más comúnmente problemas gastrointestinales a la población en México. El extracto hexánico fue el que mostró actividad antibacteriana contra cepas Gram negativas y Gram positivas.
Carvalho <i>et al.</i> , 2004 <i>C. verbenaceae</i>	Brasil	La composición química y la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las partes aéreas de <i>C. verbenaceae</i> fue evaluada presentando actividad antimicrobiana en bacterias Gram positivas, mientras que las Gram negativas fueron resistentes. Los compuestos principales identificados fueron: $\alpha$ - pineno, <i>trans</i> -cariofileno y aloaromadendrina.
De Menezes <i>et al.</i> , 2006 <i>C. globosa</i>	Brasil	La composición química del aceite esencial de las hojas frescas de <i>C. globosa</i> se obtuvo mediante la técnica de GC-MS. Un total de 23 y 26 constituyentes fueron identificados, para el estadio de floración y fructificación respectivamente. En ambos aceites, los compuestos principales fueron: biclogermacrina y $\beta$ - cariofileno.
Ávila, 2006 <i>C. curassavica</i>	México	Del aceite esencial de <i>C. curassavica</i> se identificaron 12 compuestos por medio de una GC-MS de los cuales, el 83.33% son sesquiterpenos. Los componentes mayoritarios fueron el 4-metil, 4-etenil-3-(1-metil etenil) 1-(1-metil metanol) ciclohexano, seguido del $\beta$ -eudesmol y el espatulenol. Además, se presentó actividad antimicrobiana en cepas de bacteria Gram positivas y Gram negativas.

Okusa <i>et al.</i> , 2007 <i>C. giletti</i>	Bélgica	El extracto metanólico de las ramas de <i>C. giletti</i> mostraron mayor actividad antimicrobiana, al tener los valores más bajos en cuanto a la concentración mínima inhibitoria (CMI). El extracto con metanol y diclorometano, fueron los que presentaron mayor actividad antioxidante en comparación con otros extractos realizados.
Quispe-Condori <i>et al.</i> , 2008 <i>C. verbenaceae</i>	Brasil	La extracción del compuesto $\beta$ - cariofileno de <i>C. verbenaceae</i> se llevó a cabo por medio de una extracción de fluidos supercríticos. La pureza más alta que se obtuvo, fue la del extracto sometido a una presión de 8 MPa.
Hernández, 2009 <i>C. curassavica</i>	México	La composición química del aceite esencial de <i>C. curassavica</i> en dos zonas de Valle de Tehuacán-Cuicatlán Puebla presentó cambios determinados por la variación espacio-temporal. También se evaluó la actividad antimicrobiana contra 13 cepas de bacterias (Gram positivas y Gram negativas), una levadura y cuatro hongos filamentosos. El aceite obtenido de la época de sequía, presentó mayor inhibición, al presentar actividad en 9 de las 13 cepas, en comparación con el obtenido de la época de lluvias al presentar sólo en 4. Por otro lado no se observó efecto en levaduras, sin embargo fue activo en las 4 cepas de hongos filamentosos. Los compuestos mayoritarios identificados en el aceite fueron 1, 7,7-trimetil-triciclo (2.2.1.0 (2,6)) heptano, seguido del 1,5-dimetil-8-(1-metiletilideno) y el (E, E)-5 ciclodecadieno.
Naseem <i>et al.</i> , 2009 <i>C. macleodii</i>	India	El extracto etanólico de las hojas de <i>C. macleodii</i> posee actividades hepatoprotectoras y disminuye el número de radicales libres. La actividad antioxidante se evaluó por métodos <i>in vitro</i> mientras que la actividad hepatoprotectora fue evaluada en ratas tratadas previamente con tetracloruro de carbono (CCl <sub>4</sub> )
Michielin <i>et al.</i> , 2009 <i>C. verbenaceae</i>	Brasil	La composición química de diferentes extractos de <i>C. verbenaceae</i> obtenidos bajo diferentes métodos mostraron que los compuestos más representativos que pudieron identificarse, fueron: artementina, $\beta$ - sitosterol, $\alpha$ - humuleno y $\beta$ - cariofileno. La actividad inhibitoria en cepas de bacterias Gram positivas fue significativamente mayor en comparación con las Gram negativas.

Miguel, 2010 <i>C. globosa</i>	México	El aceite esencial de <i>C. globosa</i> presentó actividad antimicrobiana. Se identificaron 5 compuestos del aceite, mediante una GC-MS, los cuales fueron: cariofileno, $\alpha$ pineno, $\beta$ pineno, humuleno y epóxido de humuleno. La actividad antimicrobiana se presentó tanto en cepas de bacterias Gram positivas como en Gram negativas.
Parisotto <i>et al.</i> , 2012 <i>C. verbenaceae</i>	Brasil	El extracto de <i>C. verbenaceae</i> obtenido mediante la técnica de fluidos supercríticos presentó actividad antitumoral. Este presentó mayor efecto en comparación con el extracto clásico elaborado con solvente orgánico.

---

## **V. JUSTIFICACIÓN**

En México, la medicina tradicional juega un papel muy importante, ya que el uso de las plantas, se ha convertido en muchas de las ocasiones en el único medio utilizado para la cura y el tratamiento de diversas enfermedades, debido a que poseen ciertas ventajas, en comparación con los medicamentos convencionales. Cerca del 15% de la riqueza florística mundial posee virtudes curativas. En particular, muchas plantas del género *Cordia* han sido utilizadas debido a las propiedades que presentan, entre las cuales encontramos su efecto antiinflamatorio, expectorante, cicatrizante, astringente y diurético.

A pesar de la importancia del género *Cordia*, los estudios fitoquímicos son escasos y la mayoría de los trabajos realizados se han enfocado a la identificación de metabolitos con actividad antimicrobiana o antifúngica de los aceite esenciales. Debido a lo anterior el presente estudio pretende contribuir al conocimiento de los compuestos químicos pertenecientes a la especie *C. curassavica* y de esta manera promover el desarrollo de estudios que generen conocimiento acerca de los metabolitos secundarios de *Cordia*.

## **VI. HIPÓTESIS**

Analizando el extracto hexánico y metanólico de *C. curassavica* y al realizar las pruebas las espectroscópicas correspondientes a los compuestos que pudieran aislarse, se podrá elucidar la estructura química de algunos de sus metabolitos y se tendrá un panorama más amplio en el conocimiento de la composición química de esta especie.

## **VII. PREGUNTA CIENTÍFICA**

¿Cuáles pueden ser algunos de los compuestos químicos no volátiles presentes en el extracto hexánico y metanólico de *C. curassavica*?

## **VIII. OBJETIVO GENERAL**

- Contribuir al conocimiento de la composición química de *Cordia curassavica* del Valle de Tehuacán-Cuicatlán Puebla.

## **IX. OBJETIVOS PARTICULARES**

- Obtener el extracto hexánico y metanólico de *C. curassavica* y determinar su rendimiento.
- Aislar algunos de los componentes químicos del extracto hexánico y metanólico de *C. curassavica* mediante cromatografía de columna abierta (cc).
- Analizar y reunir las fracciones obtenidas de la cromatografía en columna abierta de ambos extractos mediante cromatografía en capa fina para comprobar su pureza.
- Obtener el punto de fusión (p.f) de algunos de los compuestos aislados de ambos extractos.
- Analizar algunas de las fracciones obtenidas del extracto hexánico mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG/EM).
- Analizar el extracto metanólico mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC).
- Elucidar la estructura de los compuestos aislados mediante las pruebas espectroscópicas correspondientes.

## X. DESCRIPCIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE LA PLANTA

***Cordia curassavica*** (Figura 8).

**Reino:** Plantae

**Filo:** Magnoliophyta

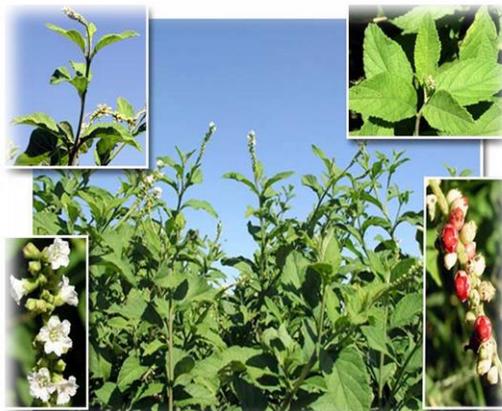
**Clase:** Magnoliopsida

**Orden:** Lamiales

**Familia:** Boraginaceae

**Género:** *Cordia*

**Especie:** *Cordia curassavica* (Jacq) Roemer y Schultes.



**Figura 8.** *Cordia curassavica* (Jacq) Roemer y Schultes.

**Nombre común:** Barredor.

**Otros nombres:** orégano cimarrón, bolita prieta, varita prieta, María Negra, basura prieta, etc.

**Descripción:** *C. curassavica* es un arbusto erecto de hasta 4 m de alto, generalmente más pequeño, cuyas ramas presentan pelillos y glándulas resinosas. Presenta hojas caedizas y alternas que crecen frecuentemente en ramas muy cortas, con formas variables de hasta 16 cm de largo, a veces con pelillos o glándulas y ásperas en la cara superior, margen generalmente aserrado con peciolos muy cortos y con pelillos. Presenta inflorescencias en forma de espigas ubicadas en las puntas de las ramas. Las flores presentan cáliz acampanado de color blanco o blanco-verdusco con la superficie granulosa y con pelillos (CONABIO-Heike, 2009).

**Distribución:** La distribución de *C. curassavica* abarca desde México, del cual es nativa, hasta el norte de Sudamérica, incluidas las islas del Caribe y como planta invasora se ha registrado en Malasia y algunas islas del Pacífico (Figura 9). En México se localiza en los estados de Baja California, Michoacán, Veracruz y Oaxaca, por mencionar algunos (Figura 10) (Espinosa 2008).

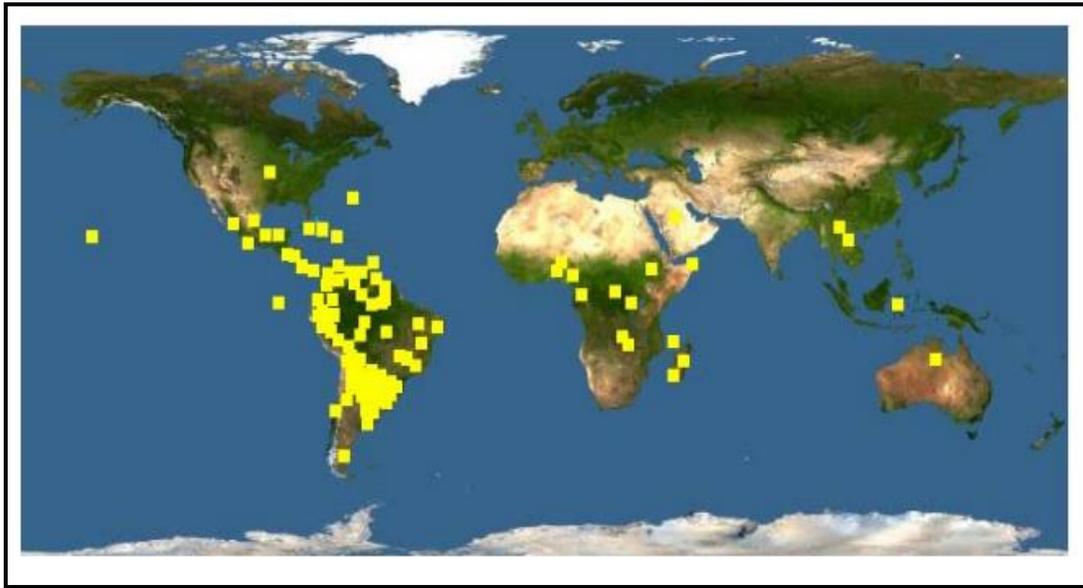


Figura 9. Distribución mundial del género *Cordia*. Los cuadros amarillos indican la presencia de alguna de las especies pertenecientes a este género (Espinosa, 2008).

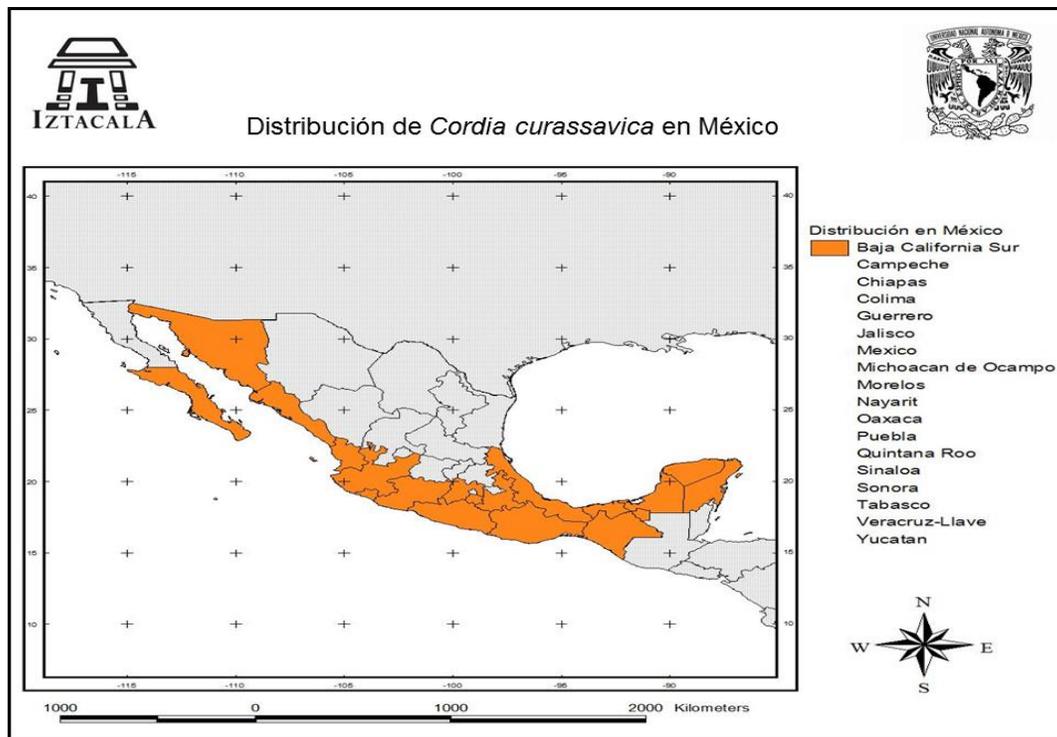
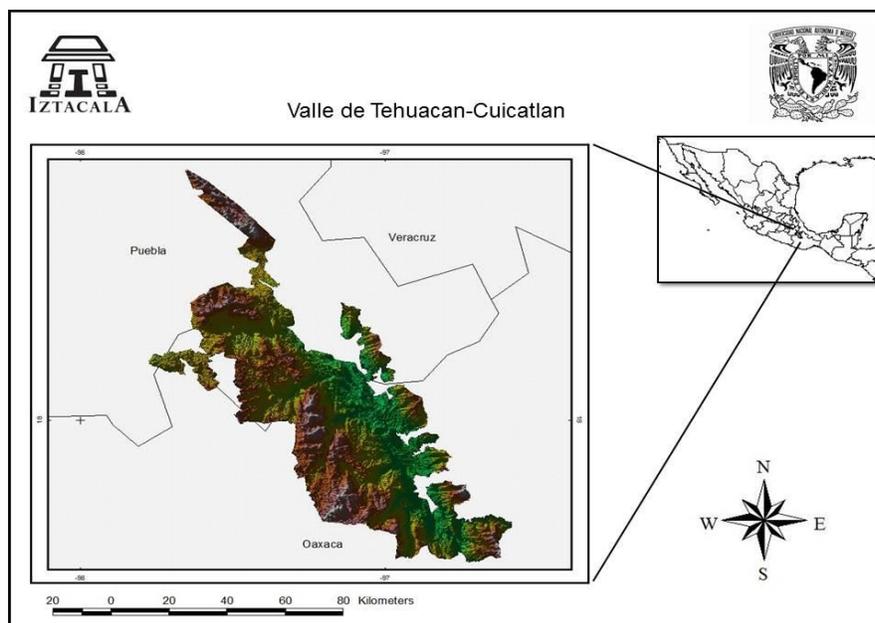


Figura 10. Estados de la República Mexicana donde se distribuye *C. curassavica* (CONABIO, 2009).

## XI. DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO

La comunidad de San Rafael, municipio de Coxcatlán, Puebla se localiza al sureste de Tehuacán, en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Figura 11), entre 18°12' y 18°14' de latitud norte, así como 97°07' y 97°09' de longitud oeste, en un intervalo altitudinal de 957 a 1400 m. El clima es de categoría BS1 (h') w" (w) eg de acuerdo con la clasificación de Köppen, modificada por García (1981). El cual corresponde a un tipo seco o árido con lluvias en verano en los meses de junio y septiembre, con una precipitación media anual de 394.6 mm y temperatura media anual de 22 °C, variando entre 25 °C en abril y mayo, y 18 °C en enero (Canales *et al.*, 2006).

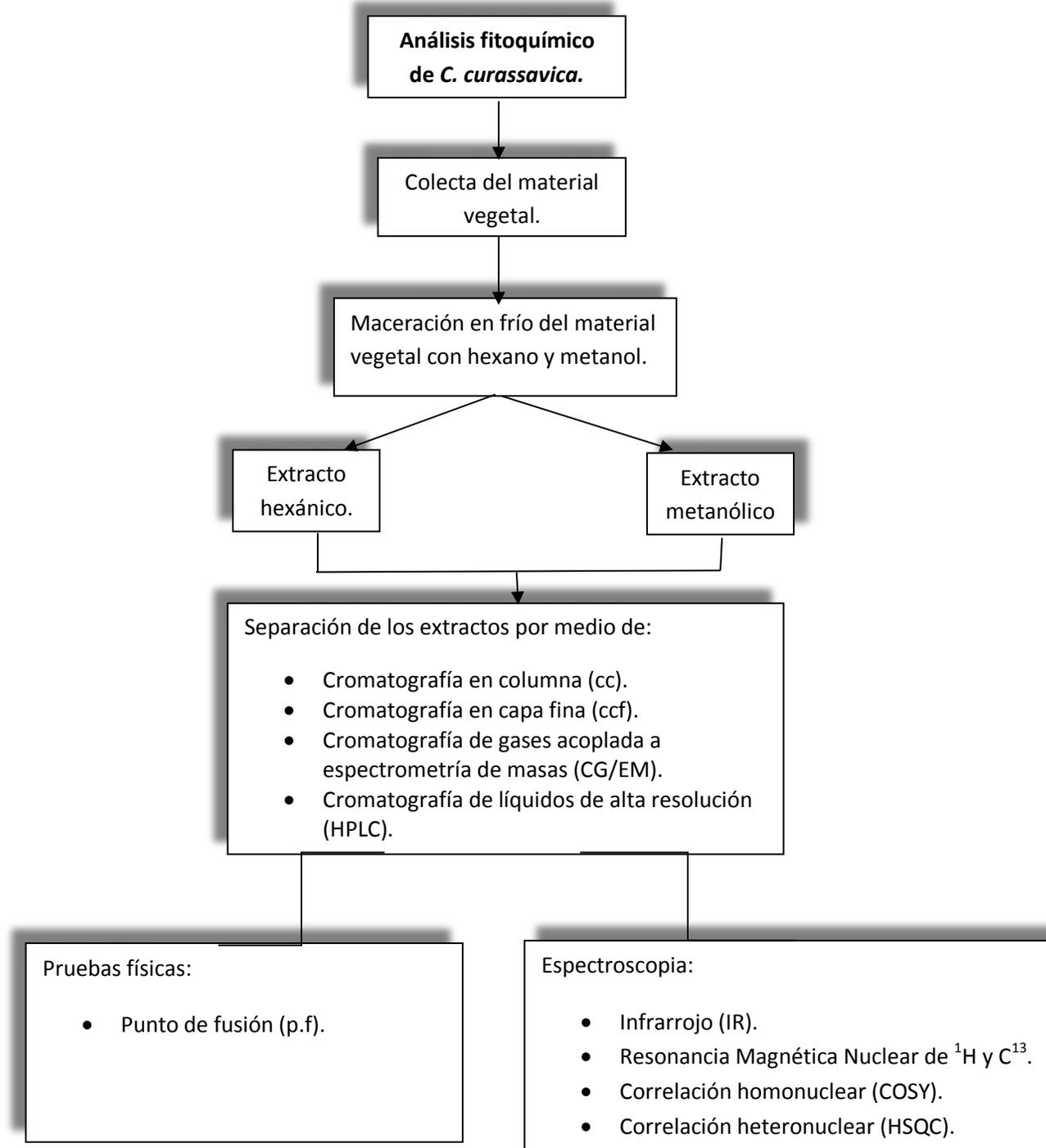
Los suelos son regosol fútrico y xerosol háplico, los cuales soportan vegetación de bosque tropical caducifolio y matorral xerófilo, con especies como *Bursera morelensis*, *B. aptera*, *Pachycereus weberi*, *Opuntia puberula*, *Ceiba aesculifolia* sp., *parvifolia*, *Acacia cochliacantha*, *Escontia chiotilla*, *Neobuxbaumia tetetzo*, *Cephalocereus columna-trajani* y *Agave macroacantha*, entre otras (Albino-García *et al.*, 2011).



**Figura 11.** Ubicación geográfica del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla.

## XII. MATERIAL Y MÉTODO

Para realizar el estudio fitoquímico correspondiente al extracto metanólico y hexánico de *C. curassavica* se llevó a cabo lo siguiente:



**Figura 12.** Método utilizado para el estudio fitoquímico de *C. curassavica*.

### **1.- Recolecta del material vegetal.**

La corteza de *C. curassavica* se colectó en el mes de agosto del 2009 en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán Puebla en la localidad de San Rafael Coxcatlán (número de colecta HCM 60). Una vez en el laboratorio, el material vegetal, se molió y se puso a secar sobre hojas de papel.

### **2.- Extracción.**

Un kg de corteza de *C. curassavica* se maceró en frío con hexano y posteriormente con metanol. Los extractos obtenidos se filtraron y concentraron a presión reducida en un rotavapor Heidolph Mod. Laborota 4000. Este proceso se repitió 3 veces con cada uno de los solventes y posteriormente se colocaron en un recipiente para pesarse y después obtener el rendimiento para cada uno de los extractos.

### **3.- Separación de los componentes de los extractos.**

#### **a) Cromatografía de adsorción en columna abierta (cc).**

La cromatografía en columna abierta (cc) es una variedad de la cromatografía en la que la fase móvil es líquida y pasa a través de una fase estacionaria sólida. Esta técnica consiste en hacer pasar mediante gravedad la fase líquida sobre el soporte sólido retenido en una columna recta generalmente de vidrio, de dimensiones adecuadas, en donde el objetivo es separar un compuesto mediante la recolección de fracciones usando solventes de diferente polaridad (Valcárcel, *et al.*, 1994).

El fraccionamiento del extracto metanólico y hexánico se llevó a cabo mediante cc sobre gel de sílice 60 F<sub>254</sub> (tamaño de partícula 0.063-0.200 mm, Merck malla 70-230 ASTM). La fase móvil que se utilizó para cada uno de los extractos se determinó por cromatografía en capa fina (ccf). La columna del extracto hexánico se eluyó con mezclas de polaridad ascendente, hexano-diclorometano reuniendo alícuotas de 50 ml, mientras que para el extracto metanólico se utilizó una mezcla

de acetato de etilo-acetona donde se reunieron alícuotas de 150 ml que posteriormente fueron concentradas a presión reducida en el rotavapor.

**b) Cromatografía en capa fina (ccf).**

La cromatografía en capa fina se basa en la preparación de una capa uniforme de un adsorbente mantenido sobre una placa de vidrio u otro soporte. Los requisitos esenciales son: un adsorbente, placas de vidrio, un dispositivo que mantenga las placas durante la extensión, otro para aplicar la capa de adsorbente, y una cámara en la que se desarrollen las placas cubiertas. La fase móvil es líquida y la fase estacionaria consiste en un sólido. La fase estacionaria será un componente polar y el eluyente será por lo general menos polar que la fase estacionaria, de forma que los componentes que se desplacen con mayor velocidad serán los menos polares (UNAM, 2007).

Las fracciones y los compuestos fueron analizados por ccf mediante cromatofolios de aluminio cubiertos con gel de sílice (Merck 0.2 mm de espesor). Esto permitió hacer un seguimiento en la separación de los extractos y comprobar la pureza de los compuestos obtenidos. Como agentes cromogénicos se utilizaron, el revelado con luz UV a 254 y 366 nm y una solución de sulfato cérico en ácido sulfúrico, que permite la identificación de compuestos orgánicos.

**c) Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM).**

En la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM) la fase móvil es un gas inerte (helio o nitrógeno) y la fase estacionaria es un sólido (cromatografía gas-sólido). En esta técnica se utiliza la espectrometría de masas como método de detección para identificar los compuestos separados en la columna cromatográfica. El espectrómetro de masas está acoplado de modo hermético y directamente a la salida de la columna cromatográfica a través de un capilar (Valcárcel, *et al.*, 1994).

El cromatograma registra los picos de elución de los compuestos a su salida de la columna y sus tiempos de retención. El espectro de masas correspondiente a cada pico de elución permite identificar el pico con un compuesto determinado. La espectrometría de masas consiste en la ionización de moléculas en fase gaseosa y la separación de los iones resultantes de acuerdo a su relación masa/carga ( $m/z$ ). Un haz de electrones colisiona con las moléculas que entran en la cámara de ionización del espectrómetro de masas y paradójicamente les arranca un electrón, dando lugar a diversos fragmentos cargados positivamente. Estos fragmentos son acelerados en un campo electromagnético y llegan al detector (UNAM, 2007).

Para la identificación de los compuestos de algunas de las fracciones obtenidas en la cc del extracto hexánico, las muestras fueron sometidas a un análisis de CG/EM. El equipo utilizado fue un cromatógrafo (Agilent technologies) modelo 6850, cuya columna HP-5MS (Agilent technologies) presenta medidas de 30 m de largo, 0.25 mm de diámetro y película de 0.25  $\mu\text{m}$  que a su vez está acoplada a un espectrómetro de masas (Agilent technologies modelo HP-5MS). El gas utilizado como fase móvil fue helio (He). El tipo de inyección fue Split o manual. La cantidad de muestra que se inyectó fue de 1  $\mu\text{l}$ . El tiempo total de análisis fue de 40 minutos para cada una de las muestras y la identificación de los compuestos se llevó a cabo por medio de la base de datos de la biblioteca NIST, versión 8.0.

#### **d) Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC).**

La cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), presenta grandes ventajas sobre otro tipo de cromatografías ya que su velocidad de elución es mayor, presenta capacidad para separar compuestos termo-lábiles y alta eficiencia. La elución de la muestra puede ser obtenida con disolventes de composición constante (modo isocrático) o con disolventes de composición variable (modo gradiente). Los componentes de los eluidos de la columna pueden ser detectados

por luz ultravioleta, fluorescencia, índice refractario y por detección electroquímica (Anaya *et al.*, 2001).

Esta técnica utiliza una presión elevada para forzar al disolvente a que pase por una columna que contiene partículas muy finas consiguiendo así separaciones de gran resolución. Este sistema consta de un suministro de disolvente, una válvula de inyección de muestra, una columna de alta presión, un detector y un ordenador para controlar el tiempo y visualizar los resultados (Harris, 2007) .

El extracto metanólico se sometió a un análisis de HPLC. Se empleó un equipo Hewlett-Packard modelo 1100 donde se utilizó una columna C<sub>18</sub> (4.6 mm x 250 mm). La fase móvil que se utilizó fue la descrita por Ferreira y col., en el 2013, que consistió en un gradiente de dos soluciones (A y B). La solución A estaba compuesta por agua con ácido acético al 2% y la solución B solo metanol. La composición del gradiente fue 5% de B durante dos minutos y cambió para obtener 25%, 40%, 50%, 60%, 70% y 100% a 10, 20, 30, 40, 50 y 80 minutos respectivamente. Los patrones que se utilizaron en dicha cromatografía fueron: ácido gálico, ácido clorogénico, ácido cafeico, quercitina y naringenina.

#### **4.- Determinación de las constantes físicas y espectroscópicas de los compuestos aislados.**

##### **a) Punto de fusión (p.f)**

Los puntos de fusión (p.f) de los compuestos que pudieron aislarse de ambos extractos se determinaron con un aparato Fisher-Johns. El rango de temperatura que abarca el que equipo es de 0 a 300° C.

### **b) Infrarrojo (IR)**

La espectroscopía infrarroja (IR) es la interacción de la radiación electromagnética de la región infrarroja con la materia. La frecuencia de vibración de las diferentes uniones químicas depende de los átomos involucrados en la vibración y de la constante de fuerza de cada unión, por lo que en un compuesto se tendrán tantas vibraciones diferentes como uniones químicas vibrando a frecuencias diferentes. La unión química vibrando sólo podrá absorber radiación IR, si la vibración provoca un momento dipolo que a su vez vibre a la misma frecuencia de la radiación absorbida. Al medir y expresar gráficamente la energía absorbida por cada unión se obtiene un espectro de IR, de tal modo que, conociendo la energía absorbida se pueda deducir la unión química que está causando esa absorción (Silverstein *et al.*, 1981).

Los compuestos analizados por IR fueron dos precipitados, uno del extracto hexánico y otro del metanólico obtenidos al momento de someterlos a presión reducida para su concentración. Además se analizaron dos de las fracciones (D y Y) obtenidas de la cc del extracto hexánico que presentaron una consistencia aceitosa para posteriormente hacer una comparación junto con los análisis cromatográficos. En el caso de los precipitados se elaboró una pastilla en donde se utilizaron 100 mg de KBr con 5 mg de la muestra. El equipo utilizado fue un espectrómetro de infrarrojo modelo FT-IR Spectrum-2000 (Perkin-Elmer), en donde se analizaron las muestras en un rango e barrido de 4000-600  $\text{cm}^{-1}$  con 8 barridos cada una.

### **c) Resonancia Magnética Nuclear (RMN).**

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) representa básicamente un análisis espectral de absorción. Una muestra puede absorber radiación electromagnética en la región de radiofrecuencia a frecuencias gobernadas por las características de la muestra. La absorción es función de ciertos núcleos en la molécula, generándose una gráfica de las frecuencias de

picos de absorción en función de las intensidades lo que constituye el espectro de dicha técnica (Silverstein *et al.*, 1981).

Los precipitados obtenidos de ambos extractos se sometieron a resonancia magnética nuclear de protón (RMN  $^1\text{H}$ ) y de carbono-13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ), para ello se utilizó un equipo Varian Unity VXR-200s Y Jeol eclipse 300, con frecuencias de 300 y 75.43 MHz respectivamente. Los espectros se obtuvieron usando agua deuterada ( $\text{D}_2\text{O}$ ) y diclorometano ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ), correspondientes a la solubilidad que presentaron los compuestos aislados. Las señales obtenidas en dichos espectros también permitieron llevar a cabo un análisis de COSY (correlación homonuclear) y HSQC (correlación heteronuclear) para la elucidación de las estructuras.

### **XIII. RESULTADOS Y ANÁLISIS**

#### **1.- Extracto hexánico.**

##### **Rendimiento y obtención del extracto.**

El rendimiento del extracto hexánico de *C. curassavica* fue de 2.5 %. Al momento de ser concentrado a presión reducida en el rotavapor se obtuvo un precipitado de color blanquecino, que presentó un punto de fusión de 198°C que se disolvió en diclorometano y del cual se obtuvieron 0.07 g.

##### **Fraccionamiento.**

Posteriormente con este extracto se llevó a cabo una cromatografía de capa fina (ccf) que corrió con una mezcla de hexano y diclorometano a una proporción de 8:2 con la que se observaron el mayor número de bandas, lo que permitió obtener la mezcla de solventes para la cc.

Del fraccionamiento en cc se obtuvieron 134 alícuotas y de acuerdo al patrón cromatográfico, se reunieron 36 fracciones; de las que presentaron algún precipitado o cristal se obtuvo el p.f. Se puede observar que de la mayoría de los compuestos presentan un p.f que va de 84°C a 95°C, a excepción de los compuestos obtenidos de la Fracción X y H1, que muestran valores más altos (Cuadro 2).

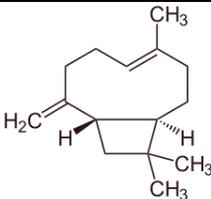
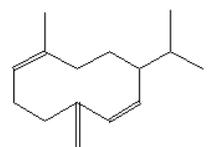
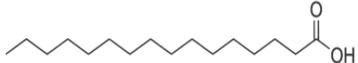
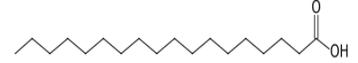
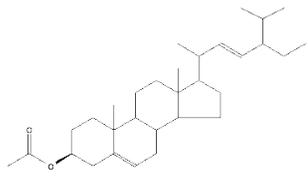
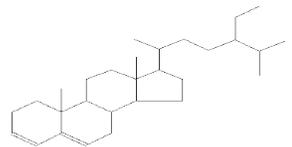
##### **Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG/EM).**

La fracción D presentó una consistencia aceitosa y se sometió a una CG/EM. De los resultados obtenidos se tomaron en cuenta los compuestos mayoritarios (Cuadro 3). El estigmasan-3,5-dieno, estigmasterol, ácido palmítico y ácido esteárico son los compuestos más abundantes.

**Cuadro 2.** Fraccionamiento del extracto hexánico de *C. curassavica*.

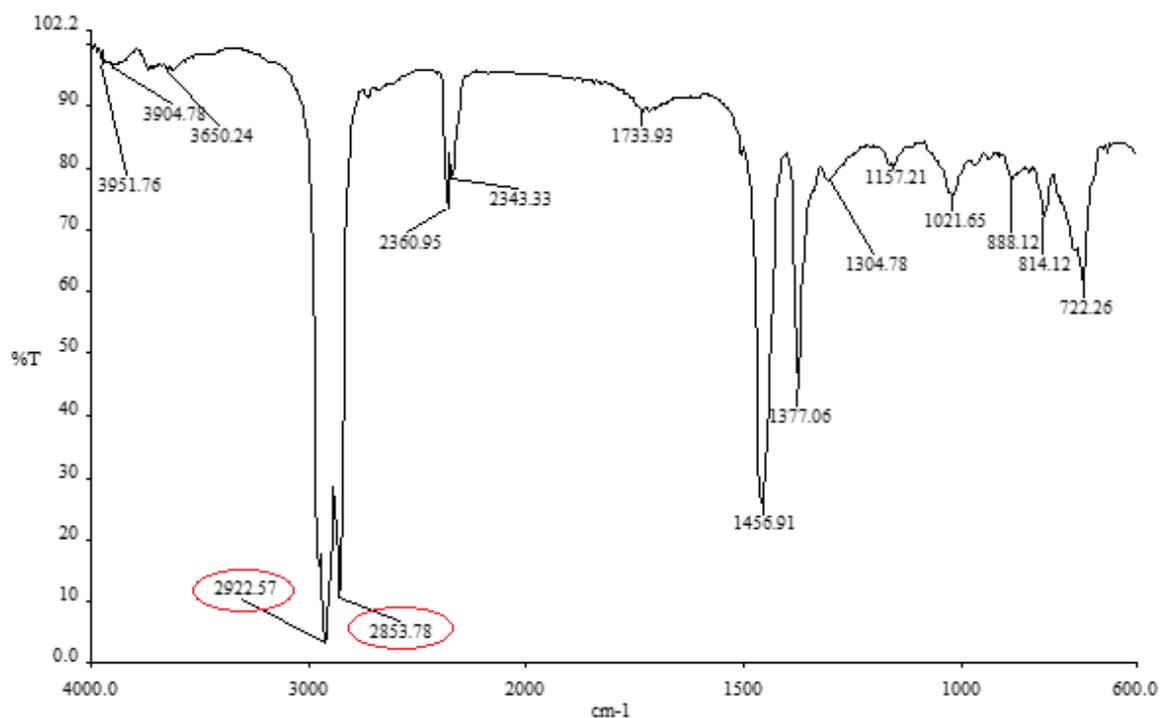
Eluyente	Proporción	Número de alícuotas	Fracciones combinadas	Clave de la fracción	P. f. (°C) de las fracciones con precipitado o cristal
<b>Hexano</b>	100%	1-10	1-3	A	-
			4-10	B	-
<b>Hexano-Diclorometano</b>	95:5	10-31	11-18	C	-
			19-25	D	-
			26-27	E	-
			28-30	F	-
			31	G	84°C
<b>Hexano-Diclorometano</b>	9:1	32-46	32-34-35-36	H	88°C
			33	I	88°C
			37	J	75°C
			38-40	K	-
			41-46	L	-
<b>Hexano-Diclorometano</b>	8:2	47-58	47-53	L	-
			54	M	-
			55-58	N	-
<b>Hexano-Diclorometano</b>	7:3	59-70	59-61	O	-
			62-63	P	-
			64-70	Q	-
<b>Hexano-Diclorometano</b>	6:4	71-85	71-75	R	95°C
			76-78	S	90°C
			79-85	T	93°C
<b>Hexano-Diclorometano</b>	1:1	86-97	86-88	U	90°C
			89-94	V	88°C
			95	W	-
			96-97	X	157°C
<b>Diclorometano</b>	100%	98-108	98	Y	-
			99	Z	-
			100-102	A1	-
			103-108	B1	-
<b>Diclorometano-Metanol</b>	9:1	109	109	C1	-
<b>Metanol-Diclorometano</b>	9:1	110-120	110-111	D1	-
			112-115	E1	-
			116-119	F1	-
			120	G1	-
<b>Metanol</b>	100%	121-131	121-131	H1	Mayor a 198°C
<b>Metanol-Agua</b>	1:1	132	132	I1	-
<b>Agua</b>	100%	133-134	133-134	J1	-

**Cuadro 3.** Compuestos principales encontrados en la fracción D del extracto hexánico.

COMPUESTO	TR	%	FÓRMULA	ESTRUCTURA	PM
Cariofileno	9.747	10.37	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>		204 g/mol
Germacreno D	12.255	1.75	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>		204 g/mol
Ácido mirístico	17.772	3.83	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	 ácido tetradecanoico	228 g/mol
Ácido palmítico	20.409	35.65	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>		256 g/mol
Ácido esteárico	22.706	6.52	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>		284 g/mol
Estigmasterol	31.790	7.76	C <sub>31</sub> H <sub>50</sub> O <sub>2</sub>		454 g/mol
Estigmastan-3,5-dieno	32.040	11.84	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub>		396 g/mol

### **Espectroscopía IR del precipitado y las fracciones D y Y obtenidas del extracto hexánico.**

La fracción D y Y del extracto hexánico al presentaron una consistencia aceitosa y también se sometieron a espectroscopía de IR (Figura 13 y 14). Se puede observar que los espectros de ambas fracciones señalan que se trata de una mezcla, la cual presenta las bandas de absorción más grandes entre los 2800-3100  $\text{cm}^{-1}$ , lo que indica la presencia de metilos y metilenos pertenecientes a ácidos grasos.



**Figura 13.** Espectro de IR de la fracción D del extracto hexánico de *C. curassavica*.

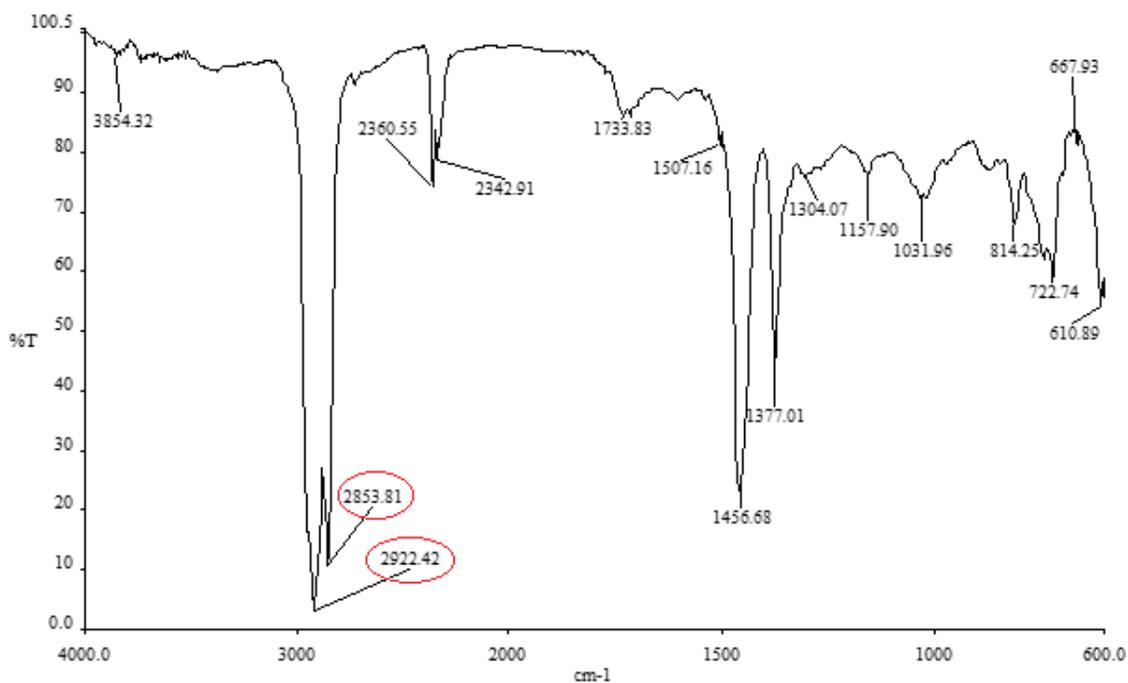


Figura 14. Espectro de IR de la fracción Y del extracto hexánico de *C. curassavica*.

El espectro de IR del precipitado obtenido del extracto hexánico (Figura 15), mostró bandas de absorción en  $2918.22\text{ cm}^{-1}$  que indica la presencia de cadenas lineales de CH,  $1653.20\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a dobles ligaduras y  $1590.09\text{ cm}^{-1}$  que pertenece a grupos aromáticos (Cuadro 4).

Cuadro 4. Bandas de absorción del precipitado del extracto hexánico.

Intervalo $\text{cm}^{-1}$	Grupo funcional
2918.22	CH-
1653.20	Dobles ligaduras
1590.09	Grupos aromáticos

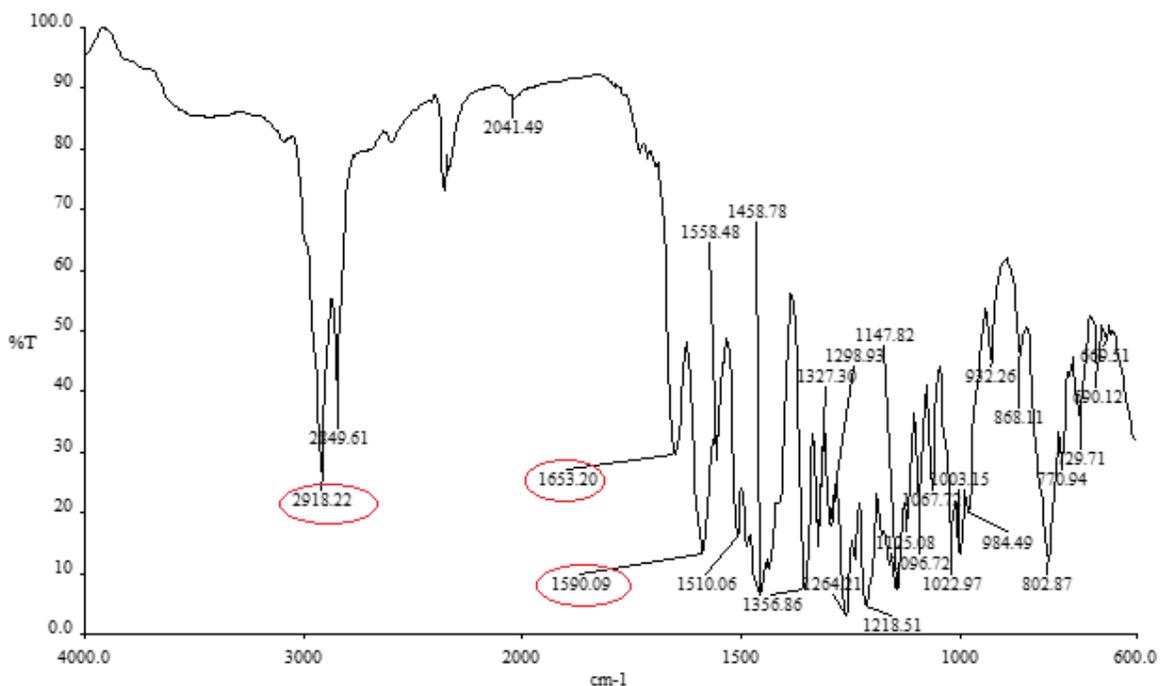


Figura 15. Espectro de IR del precipitado obtenido del extracto hexánico de *C. curassavica*.

### Resonancia magnética nuclear (RMN) protónica $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$ del precipitado obtenido del extracto hexánico.

De acuerdo a los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (Figura 16, 17 y 18), a las señales de desplazamiento que se mostraron (Cuadro 5 y 6), y las pruebas de COSY (correlación homonuclear) y HSQC (correlación heteronuclear) (ANEXO I y II) que permitieron observar la relación entre los protones y carbonos de dicha molécula, se pudo determinar que el compuesto presente en el precipitado obtenido del extracto hexánico se trata de un flavonol metoxilado denominado 2', 3', 3', 6, 8-pentametoxi-5, 7-dihidroxi-flavona.

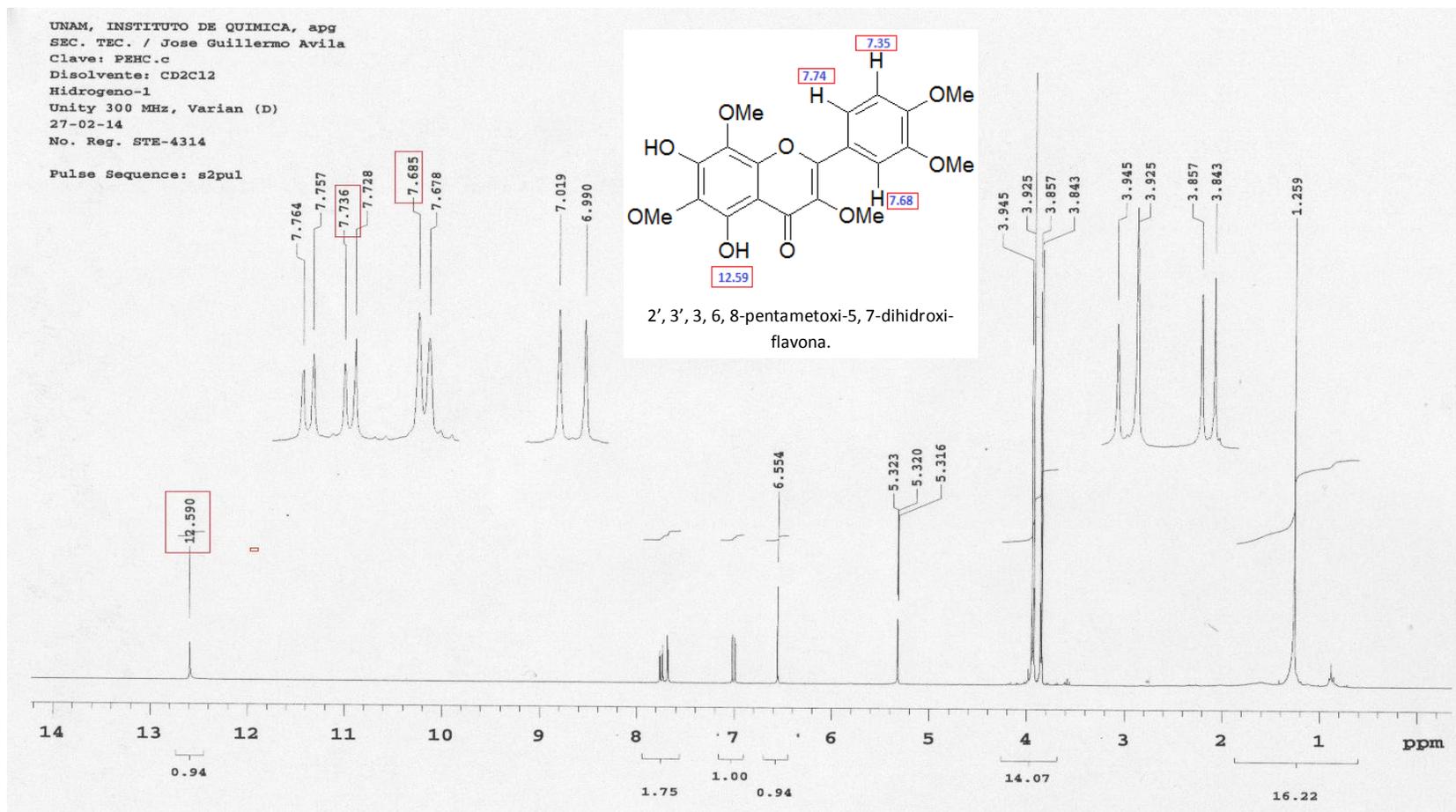
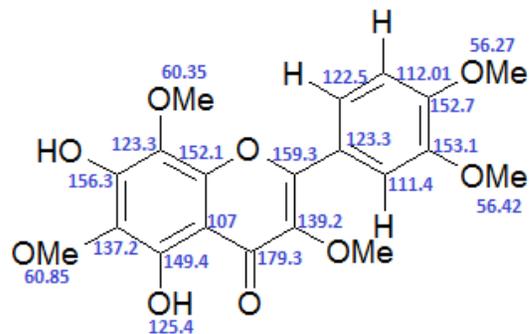


Figura 16. RMN H<sup>1</sup> del precipitado del extracto hexánico de *C. curassavica*, donde se muestran los desplazamientos químicos.

UNAM, INSTITUTO DE QUIMICA, apg  
 SEC. TEC. / Jose Guillermo Avila  
 Clave: FEHC.c  
 Disolvente: CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>  
 Carbono-13  
 Unity 75.430 MHz, Varian (D)  
 28-02-2014  
 No. Reg. STE-4314  
 Pulse Sequence: s2pul



2', 3', 3', 6, 8-pentametoxi-5, 7-dihidroxi-flavona.

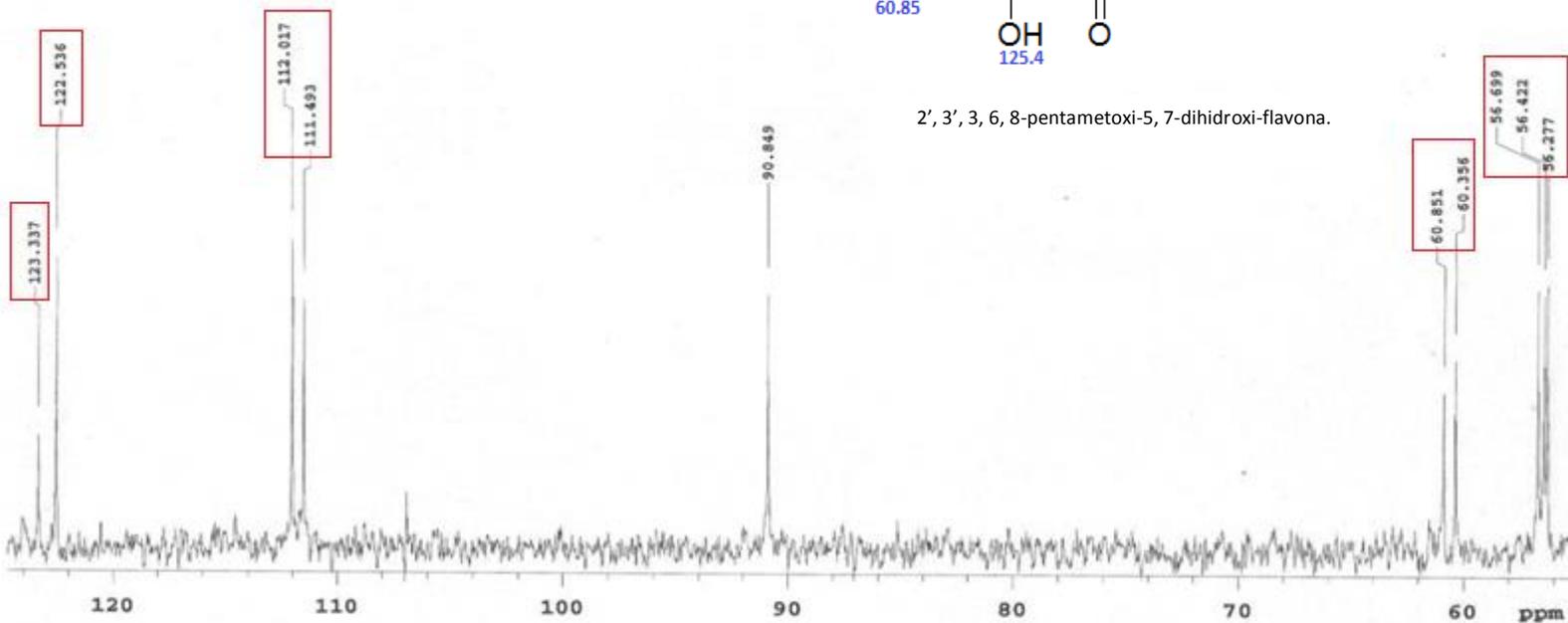


Figura 17. RMN C<sup>13</sup> del precipitado del extracto hexánico de *C. curassavica*, donde se muestran los desplazamientos químicos.



**Cuadro 5.** Desplazamiento y posición de H<sup>-1</sup> del precipitado obtenido del extracto hexánico.

Posición de H <sup>-1</sup> dentro de la molécula	Desplazamiento ( $\delta$ )
H-2'	7.68
H-5'	7.35
H-6'	7.74
OH quelato	12.59
CH <sub>3</sub> O (unido a C-3')	3.94
CH <sub>3</sub> O (unido a C-4')	3.92
CH <sub>3</sub> O (unido a C-3)	3.90
CH <sub>3</sub> O (unido a C-6)	3.85
CH <sub>3</sub> O (unido a C-8)	3.84

**Cuadro 6.** Desplazamiento y posición de C del precipitado obtenido del extracto hexánico.

Posición de C dentro de la molécula	Desplazamiento ( $\delta$ )
2	159.3
3	139.2
4	179.3
5	149.4
6	132.7
7	156.3
8	123.3
9	152.1
10	107.0
1'	123.3
2'	111.4
3'	153.1
4'	152.7
5'	112.01
6'	122.5
CH <sub>3</sub> O (C→6)	60.85
CH <sub>3</sub> O (C→8)	60.35
CH <sub>3</sub> O (C→3)	56.69
CH <sub>3</sub> O (C→3')	56.42
CH <sub>3</sub> O (C→4')	56.27

## 2.- Extracto metanólico.

### Rendimiento y obtención de extracto.

Para el extracto metanólico se llevó a cabo el mismo proceso empleado para el extracto hexánico. Se obtuvo un rendimiento de 2.092 % y se realizó una ccf que corrió con una mezcla de acetato de etilo y acetona a una proporción de 7:3. Del fraccionamiento del extracto en cc se obtuvieron 137 alícuotas de las cuales se reunieron 48 fracciones (Cuadro 7). Se determinó el p.f. de 3 precipitados obtenidos de las fracciones J, C1 y D1 (Cuadro 3), en las cuales se pueden observar que presentan valores mayores a 280°C. De igual manera al momento de ser concentrado a presión reducida se obtuvo un precipitado de color blanquecino, que presentó un punto de fusión mayor a 280° C que se disolvió en metanol y del cual se obtuvieron 0.21 g.

**Cuadro 7.** Fraccionamiento del extracto metanólico de *Cordia curassavica*.

Eluyente	Proporción	Número de alícuotas	Fracciones combinadas	Clave de fracción	P. f. (°C) de las fracciones con precipitado o cristal
Acetato de etilo	100%	9	1	A	-
			2-4	B	-
			5-9	C	-
Acetato de etilo/Acetona	95:5	10	10-12	D	-
			13	E	-
			14-15	F	-
			15-18	G	-
			19	H	-
Acetato de etilo/Acetona	9:1	7	20-26	I	-
Acetato de etilo/Acetona	8:2	8	27-34	J	Mayor a 280°C
Acetato de etilo/Acetona	7:3	9	35-40	K	-
			41-43	L	-
Acetato de etilo/Acetona	6:4	10	44-47	M	-
			48-53	N	-
Acetato de etilo/Acetona	1:1	11	54-60	O	-
			61-64	P	-
Acetona	100%	11	65-71	Q	-
			72	R	-
			73-75	S	-
Acetona/Metanol	9:1	9	76-79	T	-
			80	U	-
			81-82	V	-
			83-84	W	-

<b>Acetona/Metanol</b>	8:2	7	85-87 88 89 90 91	X Y Z A1 B1	- - - - -
<b>Acetona/Metanol</b>	7:3	9	92-93 94-96 97-99 100	C1 D1 E1 F1	Mayor a 280°C Mayor a 280°C
<b>Acetona/Metanol</b>	6:4	10	101-102 103-105 106-107 108-109 110	G1 H1 I1 J1 K1	- - - - -
<b>Acetona/Metanol</b>	1:1	10	111-113 114 115 116-118 119-120	L1 M1 N1 O1 P1	- - - - -
<b>Metanol</b>	100%	12	121-124 125-126 127-131 132	Q1 R1 S1 T1	- - - -
<b>Metanol/Agua</b>	1:1	4	133-136	U1	-
<b>Agua</b>	100%	1	137	V1	-

### Infrarrojo.

El espectro de IR del precipitado obtenido del extracto metanólico (Figura 19), mostró presencia de bandas de absorción en  $3440.21\text{ cm}^{-1}$  que representa una señal de grupos OH,  $3344.85\text{ cm}^{-1}$  que indica la presencia metilos y metilenos (CH-), en  $1714.91\text{ cm}^{-1}$  señal de grupos carbonilo,  $1531.43\text{ cm}^{-1}$  de grupos aromáticos y una banda en  $1185.40\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a fenoles (Cuadro 8). También se observa a  $3344.85\text{ cm}^{-1}$  una señal correspondiente al grupo amino, probablemente perteneciente a una impureza.

**Cuadro 8. Bandas de absorción del precipitado del extracto metanólico.**

Intervalo $\text{cm}^{-1}$	Grupo funcional
3440.21	<b>OH</b>
3344.85	<b>CH-</b>
1714.91	<b>Carbonilo</b>
1531.43	<b>Aromático</b>
1185.40	<b>Fenol</b>

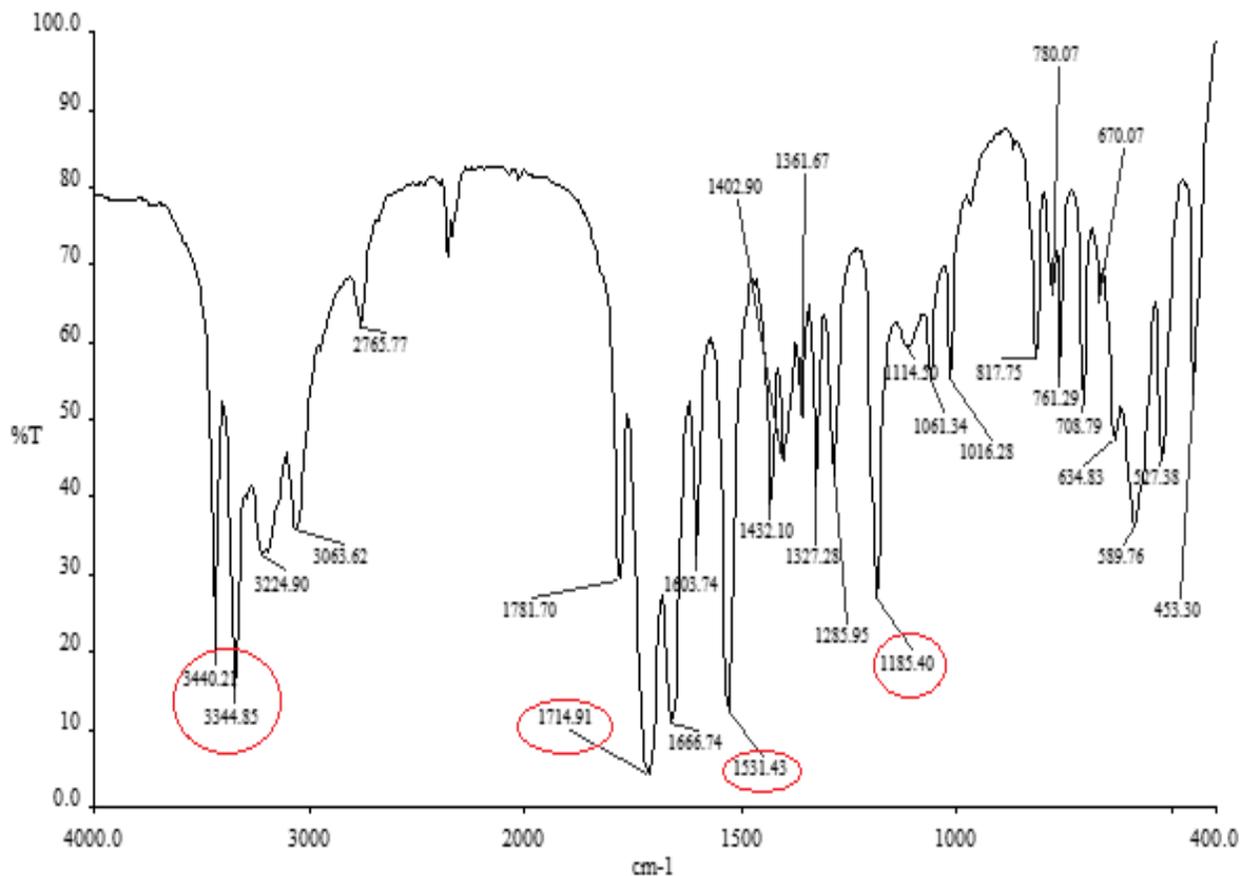
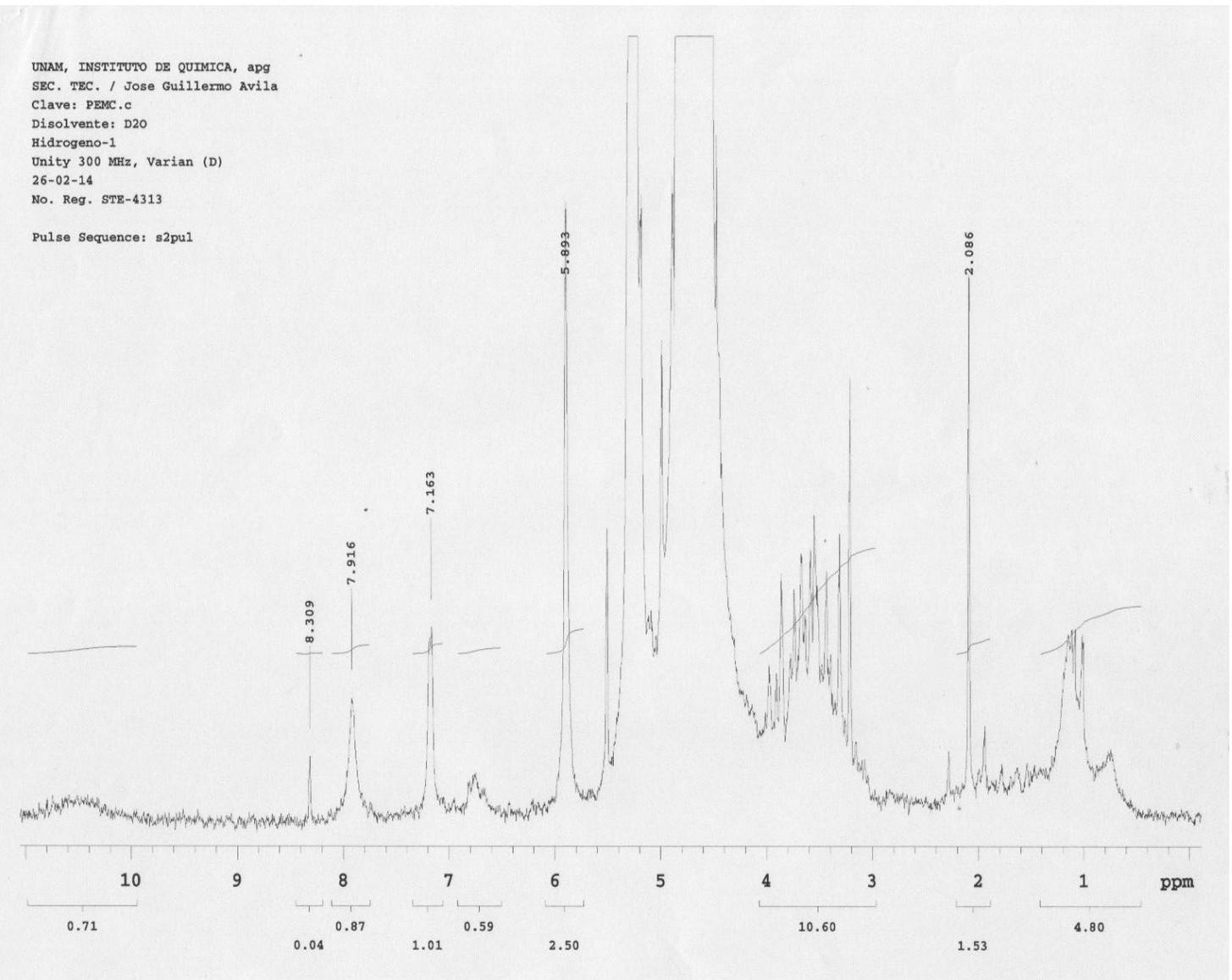


Figura 19. Espectro de IR del precipitado obtenido del extracto metanólico de *C. curassavica*.

### RMN $H^{-1}$ del precipitado obtenido del extracto metanólico.

El espectro de RMN  $H^{-1}$  del precipitado obtenido del extracto metanólico (Figura 20), muestra señales entre 3 y 4 ppm correspondientes a los carbonos anoméricos de azúcares, así como señales en 7.163 y 7.916 ppm, los cuales indican que se trata de un sistema aromático A B. La presencia de dichos grupos funcionales es fundamental en la estructura de taninos hidrolizables.

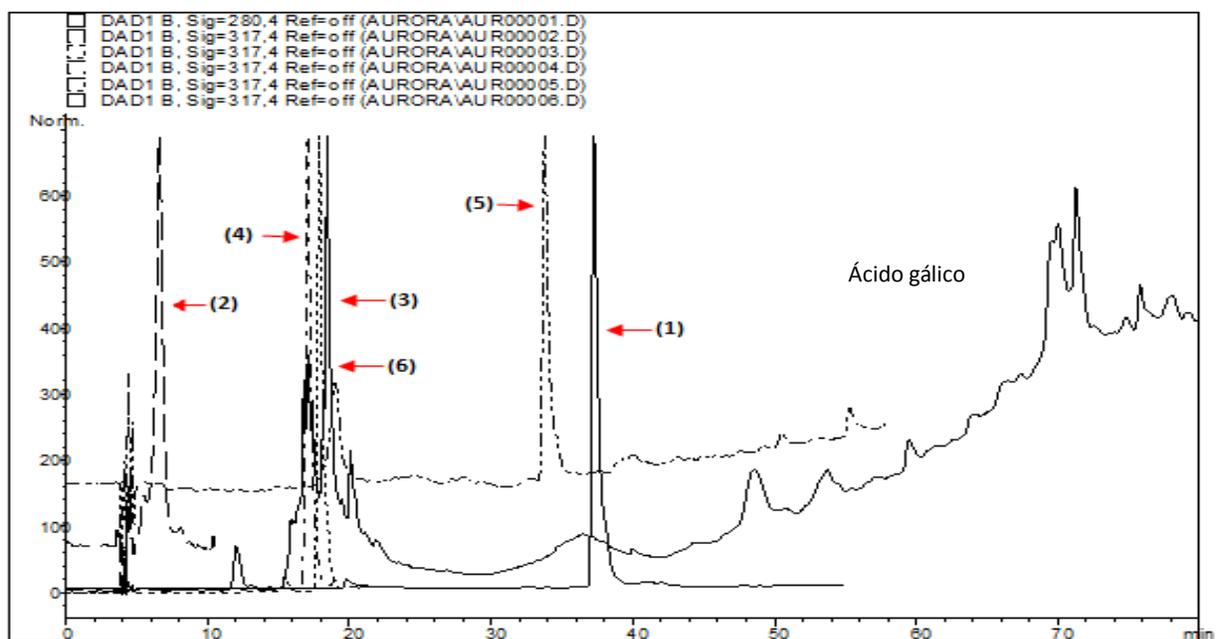


**Figura 20.** RMN  $H^{-1}$  del precipitado obtenido del extracto metanólico de *C. curassavica*.

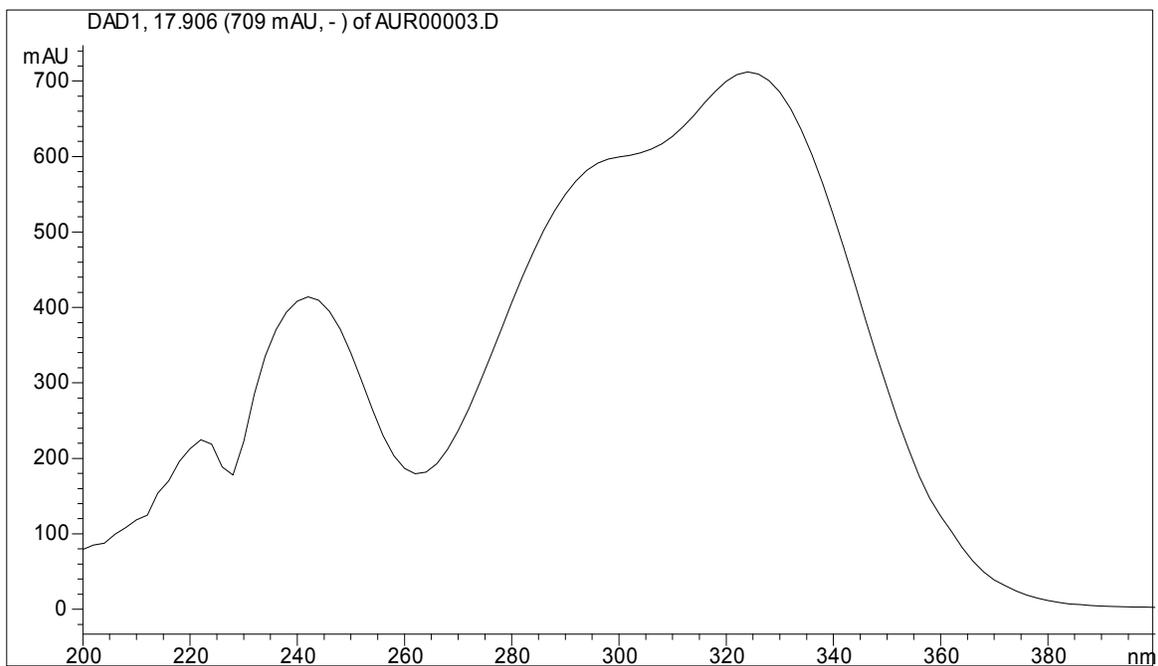
### **Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) del extracto metanólico crudo.**

De acuerdo al cromatograma obtenido del HPLC que se realizó, se puede observar que los tiempos retención (TR) para los patrones utilizados de ácido cafeíco, ácido clorogénico, ácido gálico, naringenina y quercetina fueron de 38 min, 7 min, 18 min, 16 min y 34 min respectivamente. Además el TR del ácido gálico a los 18 min coincidió con el cromatograma correspondiente al extracto metanólico (Figura 21).

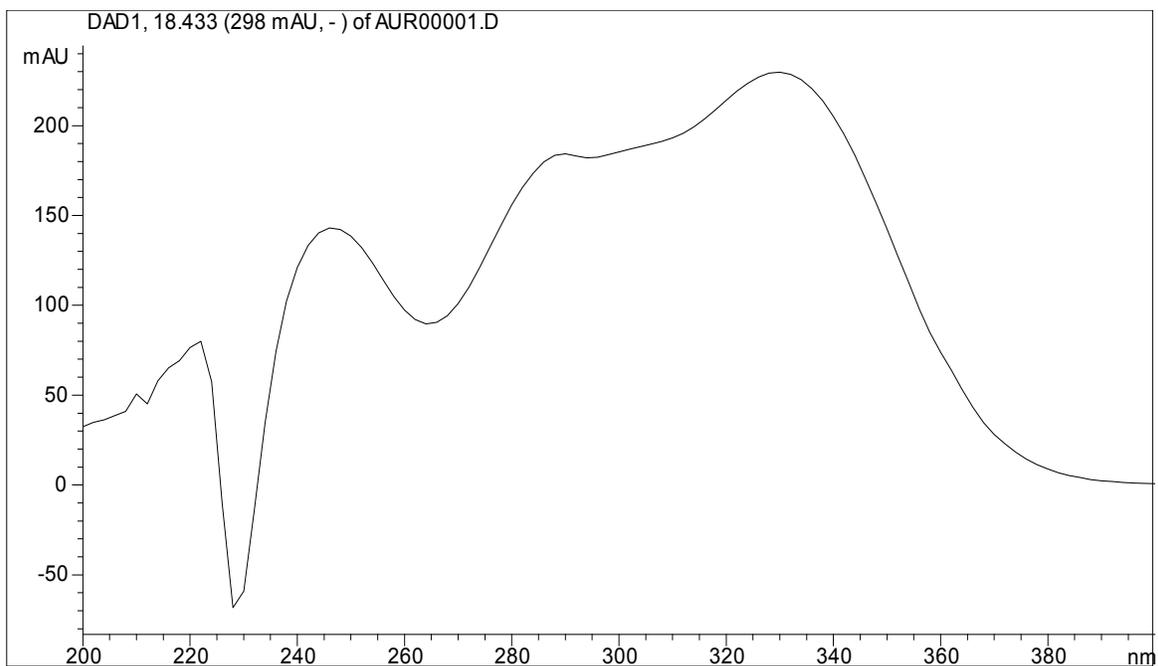
El espectro de absorción del ácido gálico muestra señales a los 242 nm, 298 nm y 234 nm (Figura 22), mientras que las del extracto se presentan entre los 246 nm, 290 nm y 330 nm (Figura 23). Este permite corroborar la presencia de dicho compuesto en el extracto.



**Figura 21.** Cromatograma del extracto metanólico obtenido del HPLC. Los patrones utilizados fueron: (1) ácido cafeíco TR: 38 min, (2) ácido clorogénico TR: 7 min, (3) ácido gálico TR: 18 min, (4) naringenina TR: 16 min y (5) quercetina TR: 34 min. El TR del ácido gálico coincidió con el cromatograma del extracto metanólico (6).

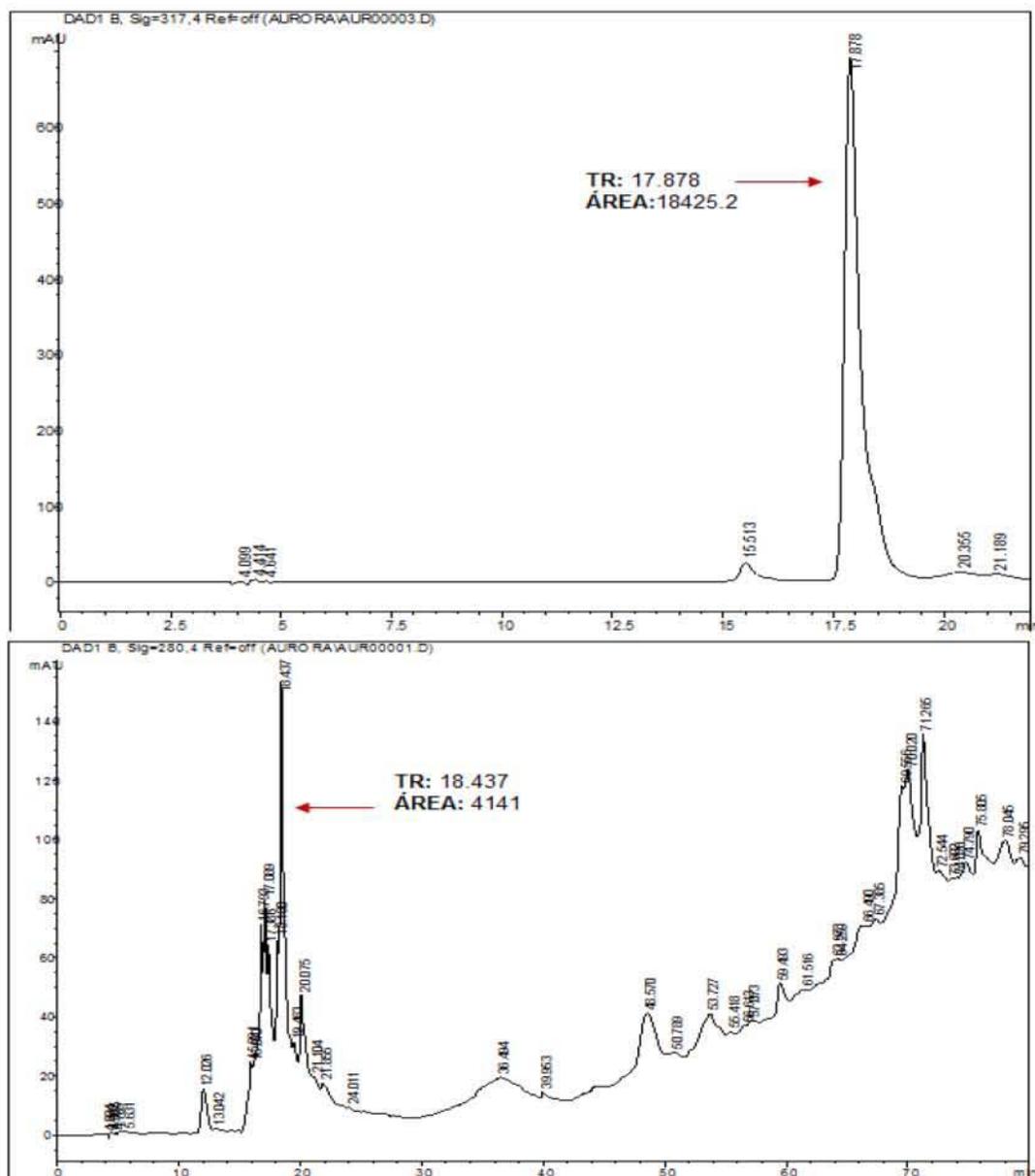


**Figura 22.** Espectro UV del patrón de ácido gálico. Las señales de absorción fueron de 242 nm, 298 nm y 324 nm.



**Figura 23.** Espectro UV del extracto metanólico. Las señales de absorción fueron de 246 nm, 290 nm y 330 nm, comparables con las presentes para el ácido gálico.

De acuerdo al TR y el área que presentó el patrón de ácido gálico y el del extracto metanólico de *C. curassavica* (Figura 24) dentro del cromatograma obtenido del HPLC, se hicieron los cálculos correspondientes para obtener la concentración de ácido gálico que fue de 3.37 mg/g de extracto.



**Figura 24.** Comparación del tiempo de retención (TR) del patrón de ácido gálico (17.878) y el del extracto metanólico de *C. curassavica* (18.437).

#### **XIV. DISCUSIÓN**

*C. curassavica* es una de las especies de las cuales se ha logrado aislar y determinar algunos de los principio activos para el tratamiento de padecimientos provocados por enfermedades gastrointestinales como disentería y diarrea (Miguel, 2010). También se ha reportado su uso en el tratamiento de enfermedades respiratorias y dermatológicas, cuyo efecto se verificó en estudios realizados por Hernández y col. en el 2003 donde se comprobó su actividad antibacteriana sobre bacterias grampositivas y gramnegativas siendo el extracto hexánico el que presentó mayor actividad.

El extracto metanólico presentó un mayor rendimiento (20.92 %) en comparación con el extracto hexánico (2.5 %), ya que es muy probable que las partes aéreas de *C. curassavica* sean ricas en metabolitos de naturaleza polar como ácidos orgánicos, flavonoides, glicósidos y glicósidos fenólicos (Terán, 2006).

Los estudios realizados con *C. curassavica* se han enfocado en la caracterización de los compuestos presentes en el aceite esencial en donde se ha encontrado que los compuestos mayoritarios son principalmente sesquiterpenos, y a los cuales se les atribuye que en sinergia con otros compuestos poseen una potente actividad antimicrobiana. Comparándolos con los resultados obtenidos en la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) de la fracción D obtenida de la cc del extracto hexánico tenemos que se encontraron dos compuestos sesquiterpénicos, el cariofileno y el germacreno D.

Estos dos compuestos estuvieron presentes en los estudios realizados por Miguel en el 2010, quien caracterizó el aceite esencial de *Cordia globosa* del Valle de Tehuacán Cuicatlán y probó su actividad antifúngica y antimicrobiana. Por otro lado, en lo reportado por Hernández y col. en el 2003 y por Ávila en el 2006, estos dos compuestos no estuvieron presentes. Esto puede deberse a diferentes factores, en primer lugar porque se llevó a cabo una caracterización del aceite esencial, mientras que en este estudio se analizaron las fracciones de una cc del extracto hexánico. Además de que pudieron haber intervenido factores como la

parte de la planta utilizada, la temporada del año, la edad de la planta, etc. (Hernández, 2009).

El ácido mirístico, esteárico y palmítico que se presentaron como parte de los compuestos mayoritarios del análisis CG/EM, son ácidos grasos no ramificados de cadena larga, que se encuentran en grandes cantidades en las hojas, semillas o frutos de algunas plantas (Voet *et al.*, 2006). En cuanto a los p.f. que presentaron los precipitados y cristales de las fracciones del extracto hexánico a excepción de la fracción X con 157 °C, y la fracción H1 con un p.f mayor a los 198 °C, en su mayoría estuvieron en un rango de 75 a 95 °C, los cuales podrían corresponder a ceras de cadena lineal que se presentan en forma sólida, las cuales son poco polares y que en general se encuentran en las hojas, ramas y/o troncos contribuyendo a su protección (Weininger y Stermitz, 1988).

Los espectros de IR de las fracciones aceitosas (D y Y), obtenidas del fraccionamiento en cc del extracto hexánico muestran que se presenta una mezcla de ácidos grasos al tener picos de absorción entre los 2800 y 3300  $\text{cm}^{-1}$  en el infrarrojo. Esto coincide con lo obtenido en la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, ya que los compuestos mayoritarios (ácidos grasos), presentan una estructura formada principalmente por uniones CH-

Por otro lado el espectro de IR del precipitado del extracto hexánico del cual se obtuvieron 0.07 g, arrojó que lo grupos funcionales presentes en dicho compuesto son cadenas lineales de CH, dobles ligaduras y anillos aromáticos. Posteriormente se llevó a cabo la RMN  $\text{H}^{-1}$  y RMN  $\text{C}^{13}$ , en donde se pudo corroborar la presencia de dichos grupos. Las señales obtenidas de la resonancia permitieron realizar las pruebas de COSY y HSQC con las que se pudo elucidar la estructura de la molécula la cual se trata de un flavonol denominado 2', 3', 3, 6, 8-pentametoxi-5, 7-dihidroxi-flavona.

A partir de diferentes especies de *Cordia* se han sido aislados triterpenos, flavonoides y otros compuestos fenólicos como los ácidos *p*-hidroxibenzóico, cafeíco, ferúlico y clorogénico, además de alcaloides pirrolizidínicos y otros compuestos nitrogenados, como la alantoína (Ortega, 2006).

Para el género *Cordia* se ha reportado la presencia de diversos flavonoides como la 7,4'-dimetil-narigenina y el eriodictiol aisladas de *C. globosa* por Da Silva y col., en el 2009, y en especial metoxiflavonas como es el caso de *C. cylindrostachya* de donde se aisló la 3, 7,4'-trimetoxi-5-hidroxi-flavona la cual mostró actividad antiinflamatoria (Ortega, 2006).

Los flavonoles pertenecen al grupo de los flavonoides los cuales se caracterizan por ser metabolitos secundarios exclusivamente de origen vegetal distribuidos en algunas plantas que le confieren rasgos fenotípicos que las hace atractivas para la polinización como son color de flores, sabor de frutas, aroma o bien para la resistencia y protección contra plagas, radiaciones y enfermedades (Drago 2007).

Los flavonoles como el 2', 3', 3, 6, 8 pentametoxi, 5, 7 dihidroxi flavona aislado de *C. curassavica* en el presente estudio son polifenoles que destacan por su actividad anti-inflamatoria, antioxidante y antimicrobiana. La sustitución del hidrógeno en el carbono 3 del anillo C de las flavonas por el grupo 3-hidroxilo genera los flavonoles. La biosíntesis de los flavonoles puede ocurrir por una vía directa que implica la reducción por instauración de flavanonas por la FLS (flavonol sintetasa) y una ruta indirecta que radica en la hidroxilación de flavanonas en el carbono 3 del anillo C por la enzima F3H (flavanona 3- $\beta$ -hidroxilasa) para generar dihidroflavonoles que posteriormente son reducidos mediante la insaturación por la FLS para generar flavonoles (Drago 2007).

De acuerdo al espectro de IR del precipitado obtenido del extracto metanólico los grupos funcionales presentes en dicha molécula fueron OH, cadenas lineales de CH, grupos carbonilo, grupos aromáticos y fenoles, los cuales nos indicaban muy probablemente la presencia de ácido gálico debido a la identificación de grupos funcionales pertenecientes a su estructura. Posteriormente se realizó la RMN H<sup>1</sup> con la cual se pudo corroborar la presencia de carbonos anoméricos de azúcares y un sistema aromático A B, lo cual indicaba que dicho compuesto se trata de un tanino hidrolizable.

Después al analizar el cromatograma del extracto metanólico obtenido a partir del HPLC, se pudo identificar la presencia de ácido gálico de acuerdo con los picos identificados en el espectro de absorción al ser comparado con el espectro del patrón de dicho compuesto.

Esto coincide por lo reportado por Ferreira y col., en 2013 quienes sometieron el extracto metanólico de hojas de *C. verbenaceae* y la fracción de este mismo a un HPLC, en donde al compararlos con diferentes patrones reportaron la presencia de ácido gálico, ácido cafeico, ácido clorogénico, un compuesto fenólico no identificado, rutina y quercetina. Sin embargo en el presente estudio solo se identificó la presencia de ácido gálico. Esto puede deberse a diferentes factores como la parte de la planta utilizada, los patrones utilizados en el HPLC o las condiciones climáticas y ambientales en la que se desarrolla cada una de las especies.

La producción de ácido gálico se relaciona con la producción de taninos hidrolizables, ya que estos compuestos se producen por una derivación de la vía del ácido shikímico que conduce a la producción de ácido gálico por acción de la enzima dehidroshikimato deshidrogenasa (Isaza *et al.*, 2007). La glucosa es proporcionada por el UDP-glucosa para producir la primera esterificación sobre el carbono anomérico para que a partir de este proceso se deriven los llamados galotaninos y elagitaninos (Isaza *et al.*, 2007).

La producción de taninos hidrolizables dentro de las plantas muestra un pico máximo cuando la tasa de crecimiento de estas disminuye. Sin embargo estos compuestos pueden producirse en mayor cantidad cuando las condiciones ambientales son adversas, es decir, estos metabolitos secundarios cumplen funciones de defensa, ante depredadores (por ejemplo, herbivorismo) o anti microbianas por mencionar algunos ejemplos (Olivas- Aguirre, *et al.* 2015).

Los principales mecanismos de acción que se le atribuyen son la inhibición de enzimas, acciones sobre las membranas (en el caso de los microorganismos) o privación de sustratos (Olivas- Aguirre, *et al.* 2015). Los compuestos fenólicos incluyendo a los taninos, han demostrado en diversos estudios tener propiedades antiinflamatorias, antifúngicas, antimicrobianas y antioxidantes. Además son utilizados para el curtido de pieles por su gran capacidad para acomplejarse con macromoléculas (Ferreira *et al.*, 2013).

## **XV. CONCLUSIONES**

- El rendimiento del extracto metanólico fue mayor en comparación con el obtenido del extracto hexánico.
- La CG/EM de la fracción Y del extracto hexánico indicó la presencia de estigmasan-3,5-dieno, estigmasterol, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido mirístico, germacreno D y cariofileno.
- En el espectro de IR de la fracción D y Y se pudieron observar bandas de absorción correspondientes a cadenas lineales de CH- pertenecientes a la estructura de ácido grasos.
- Del extracto hexánico se obtuvo un precipitado de color blanquecino con un p.f. de 198° C del cual se obtuvieron 0.07 g. El espectro de IR de dicho compuesto indicó la presencia de cadenas lineales de CH-, dobles ligaduras y grupos aromáticos.
- La RMN  $H^{-1}$  y la RMN  $C^{13}$  del precipitado del extracto hexánico, junto con las pruebas de COSY Y HSQC permitió elucidar la estructura presente en dicho compuesto, el cual se trata de un flavonol denominado 2', 3', 3, 6, 8-pentametoxi-5, 7-dihidroxi-flavona.
- Del extracto metanólico de *C. curassavica* se obtuvo un precipitado de color blanquecino con un punto de fusión mayor a los 280° C. En el espectro de RMN  $H^{-1}$  de dicho compuesto se identificaron carbonos anoméricos de azúcares junto con un sistema AB aromático, las cuales son estructuras fundamentales de los taninos hidrolizables.

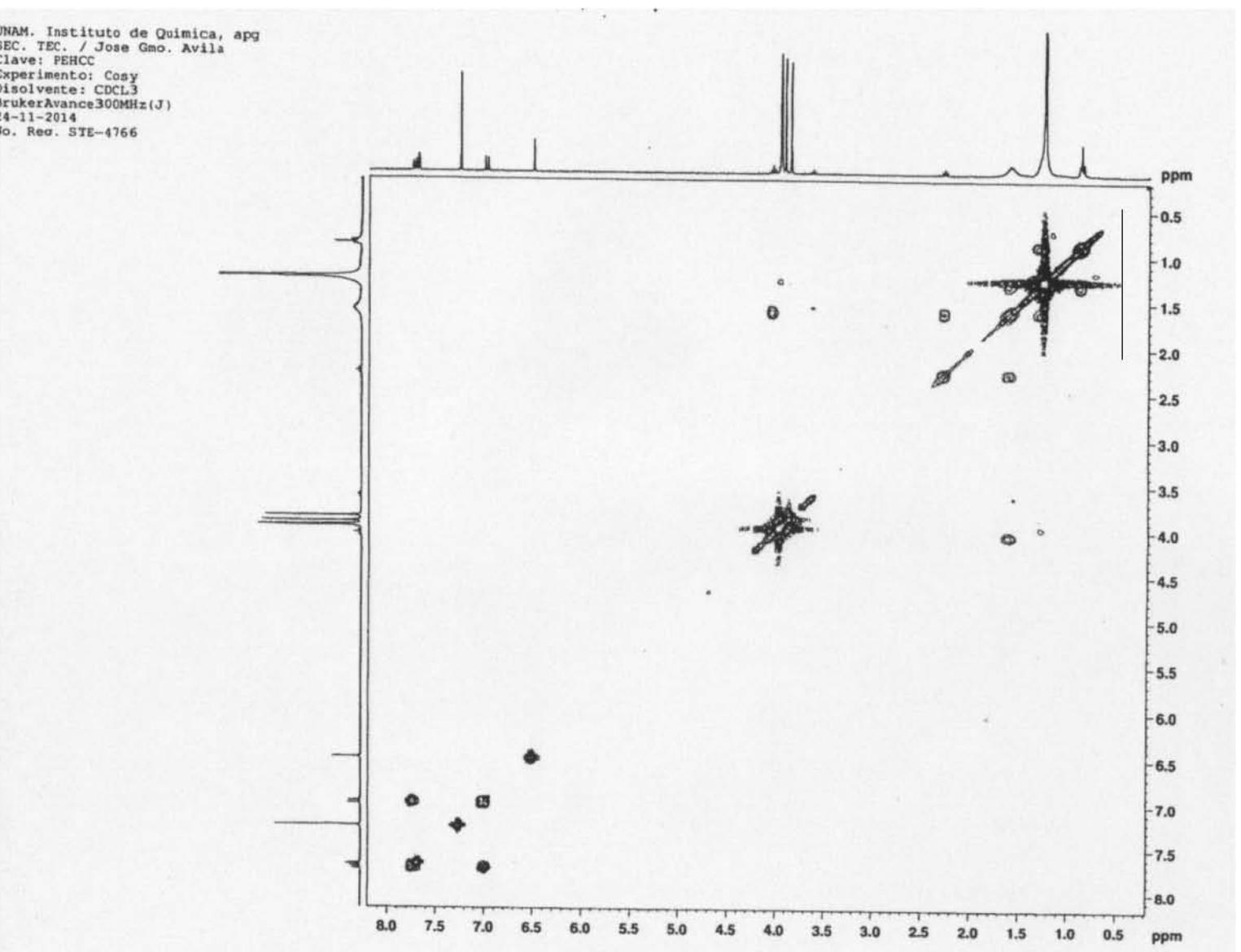
- El espectro de IR del precipitado obtenido del extracto metanólico indicó la presencia de grupos CH-, carbonilo, aromáticos y fenoles. La presencia de ácido gálico se corroboró con un HPLC de dicho extracto, donde se observó similitud en el espectro de absorción y el TR del patrón utilizado.

## **XVI. PERSPECTIVAS**

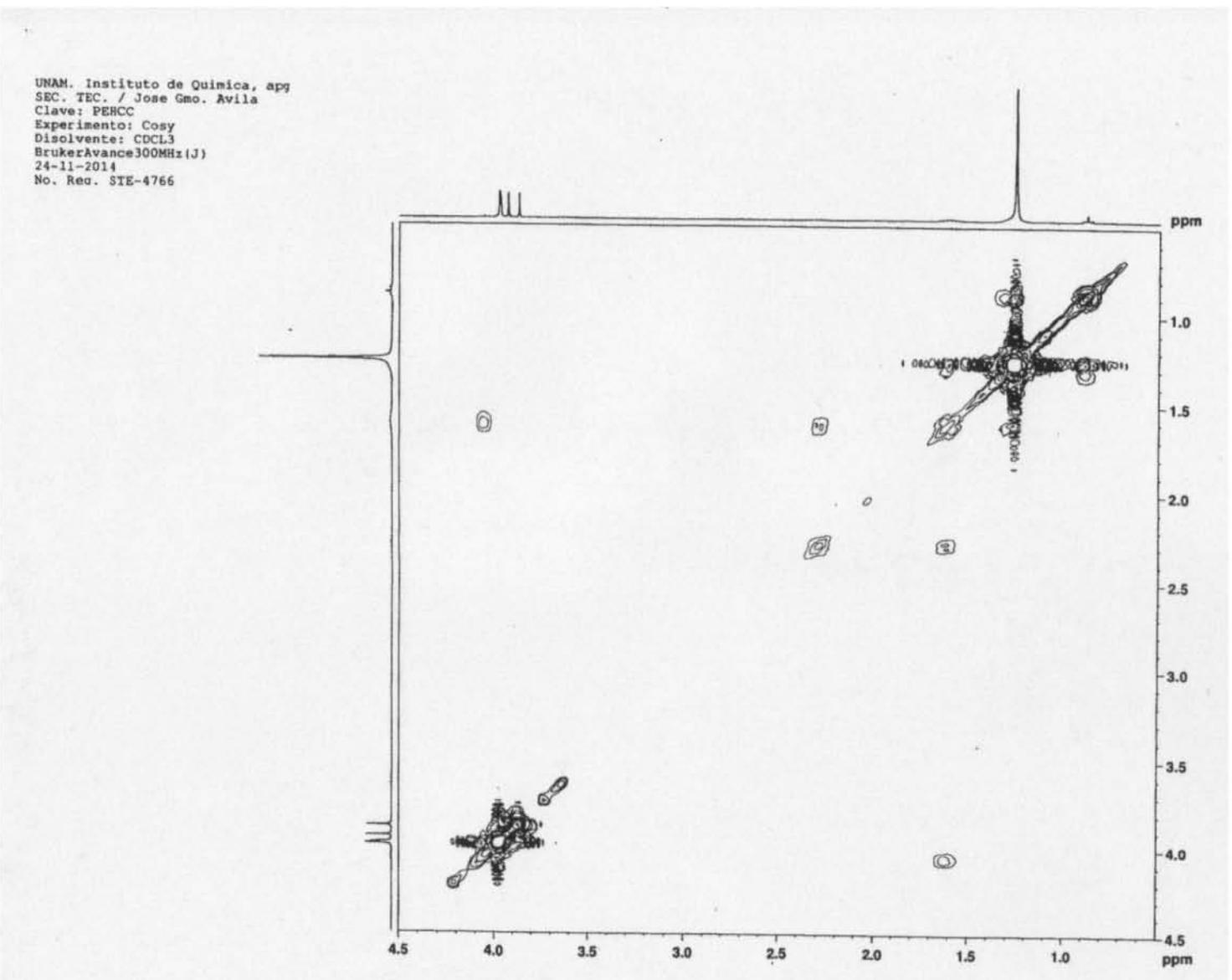
- ❖ Realizar estudios comparativos acerca de la composición química de *C. curassavica* con solventes de alta, media y baja polaridad.
  
- ❖ Realizar estudios comparativos acerca de la composición química de *C. curassavica* utilizando distintas partes de la planta.
  
- ❖ Aislar más compuestos de *C. curassavica* para comparar y relacionar las constantes espectrométricas y espectroscópicas para elucidar su estructura.
  
- ❖ Probar la actividad biológica de los compuestos aislados de *C. curassavica*, basándose en lo reportado por la medicina tradicional y la estructura que dichos compuestos poseen.

**XVII. ANEXOS**

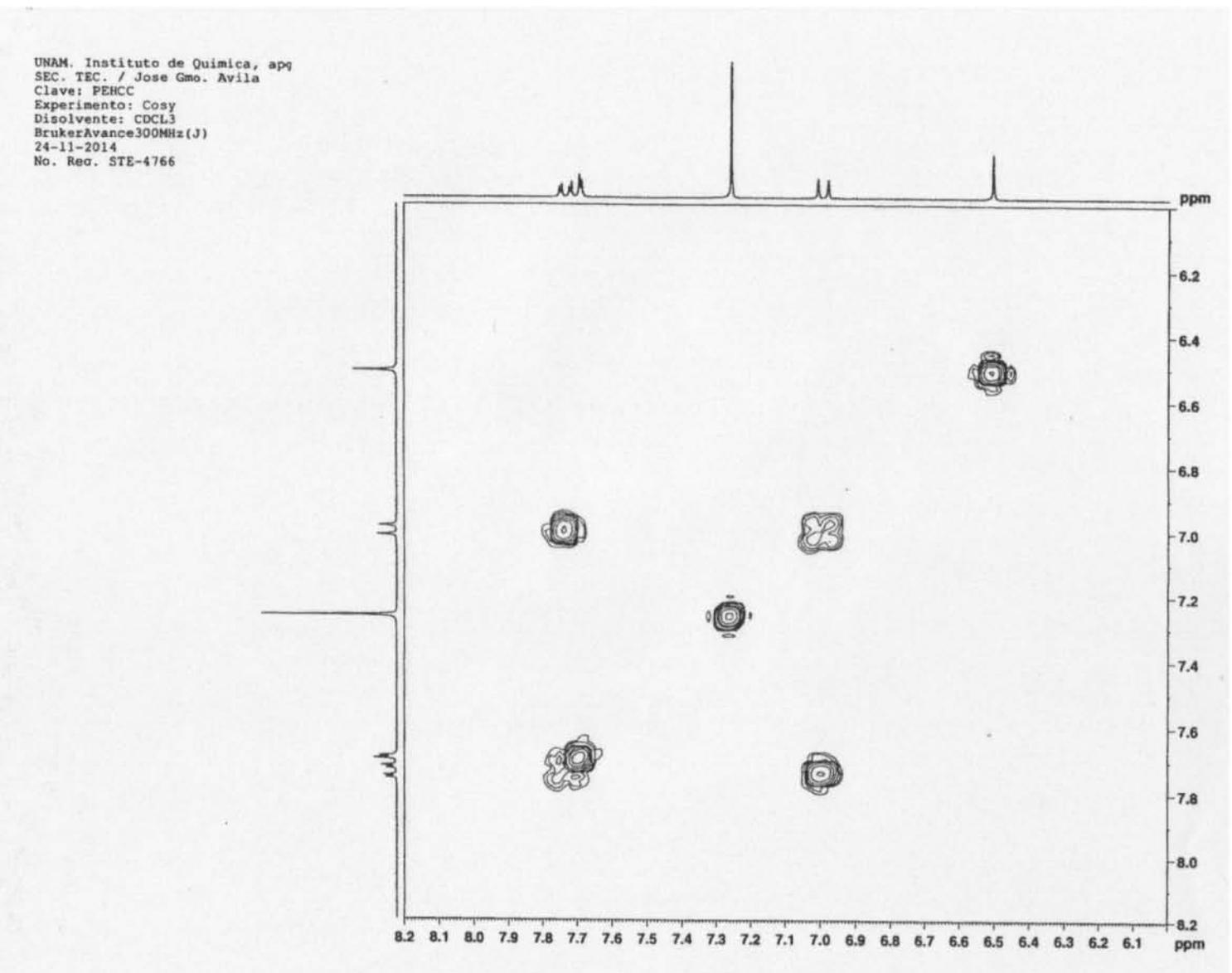
**ANEXO I. COSY del precipitado hexánico de *C. curassavica*.**



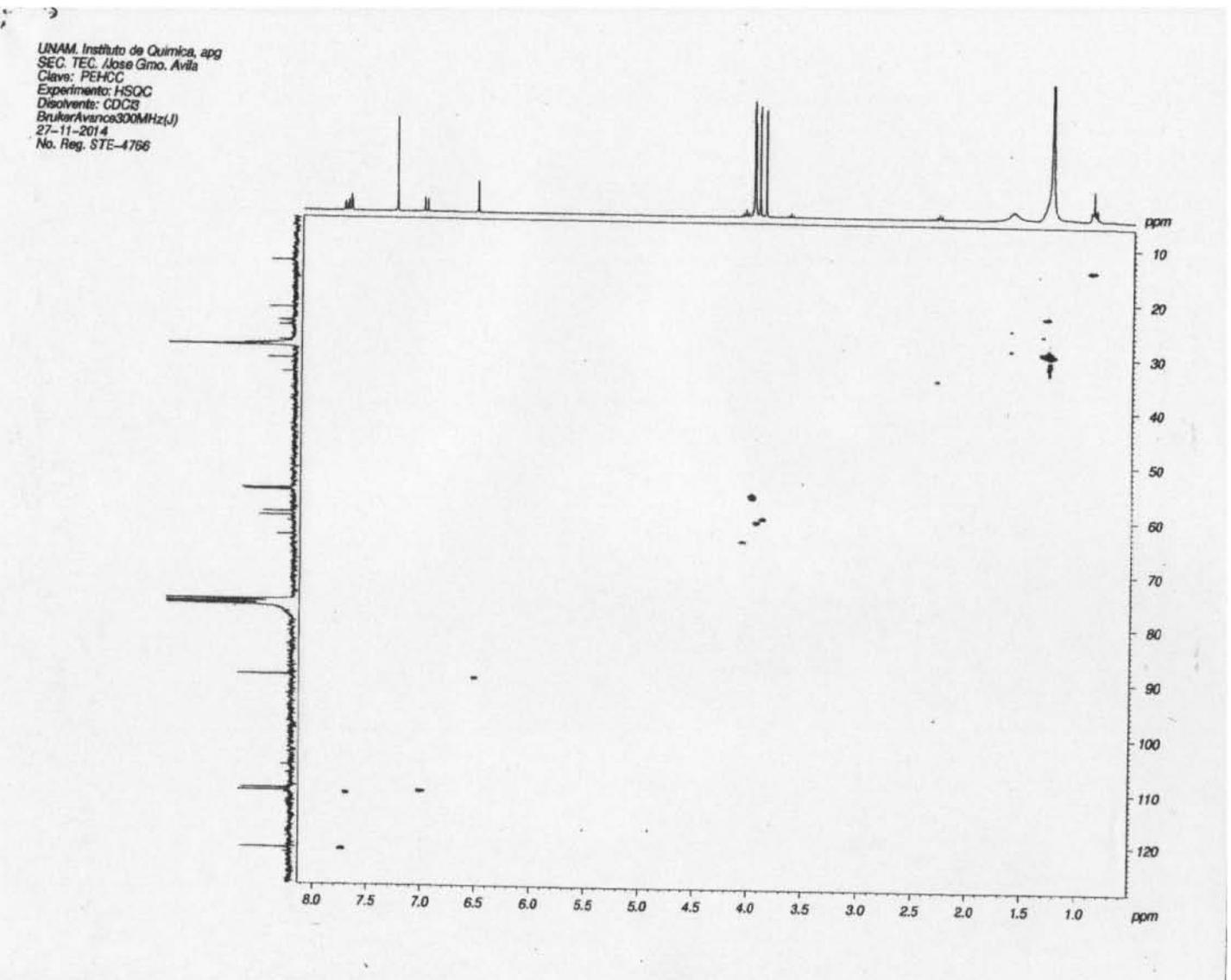
**COSY del precipitado hexánico de *C. curassavica*.**



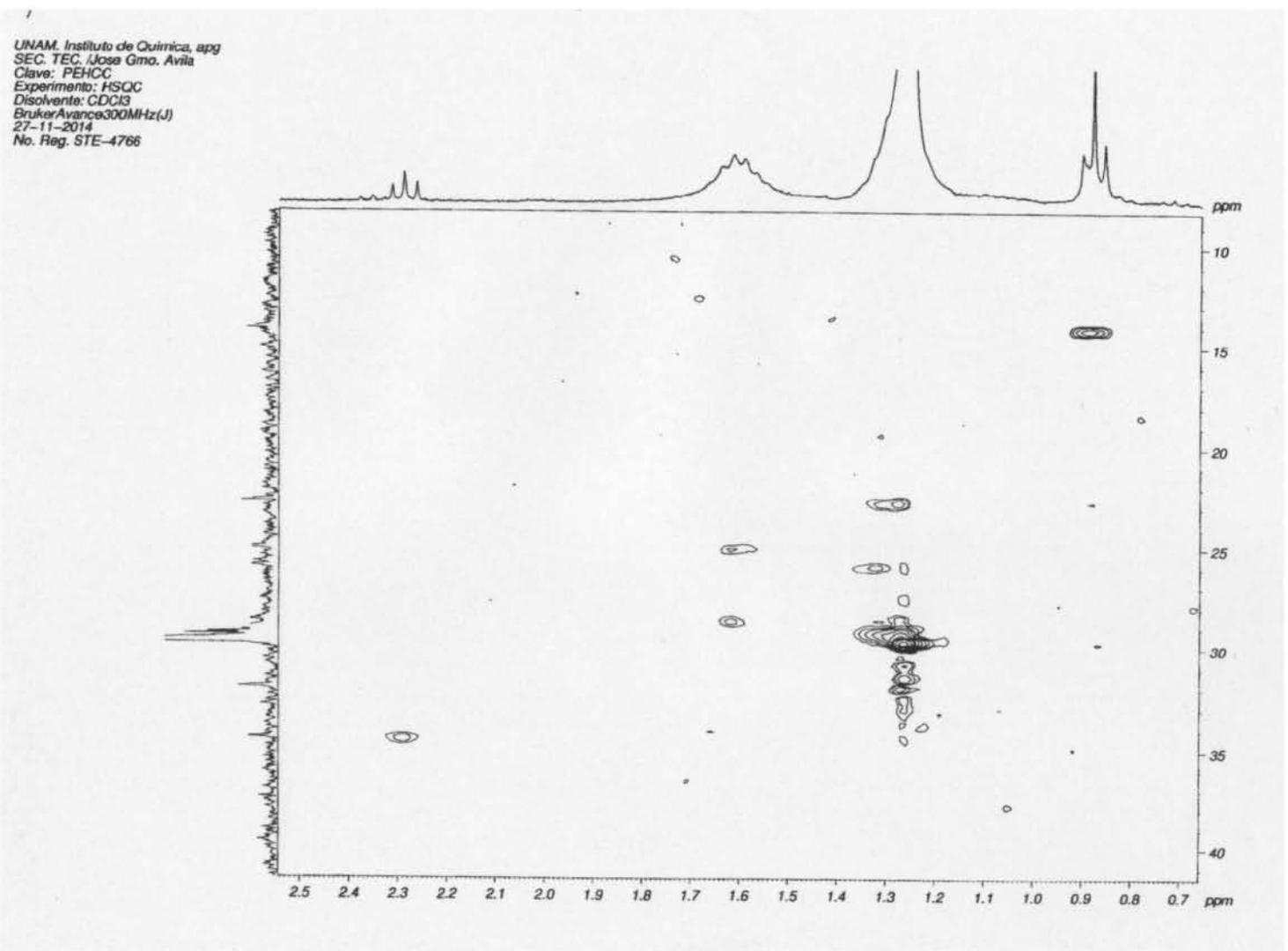
**COSY del precipitado hexánico de C. curassavica.**



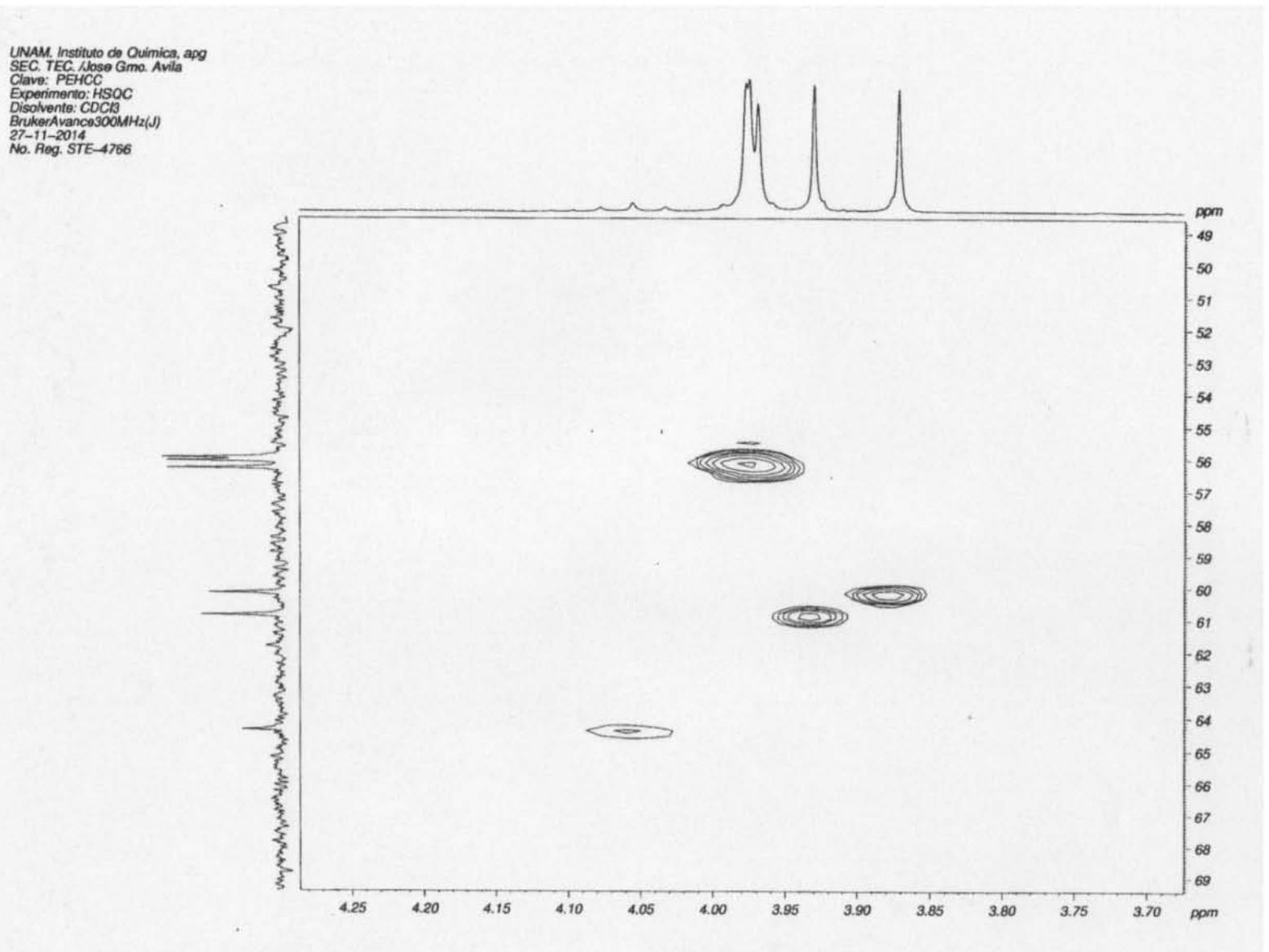
**ANEXO II. HSQC del precipitado hexánico de C. curassavica.**



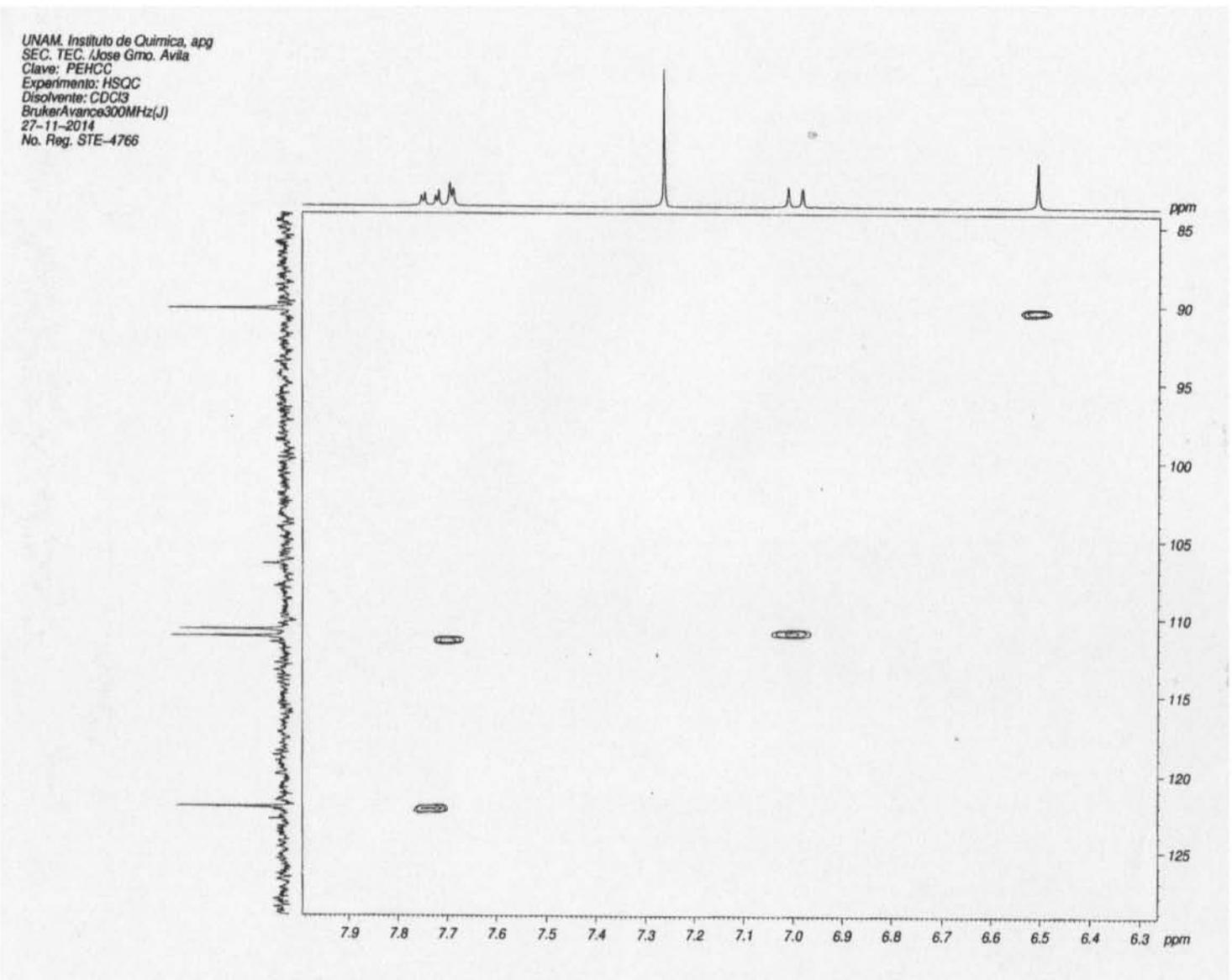
**HSQC del precipitado hexánico de C. curassavica.**



**HSQC del precipitado hexánico de C. curassavica.**



HSQC del precipitado hexánico de *C. curassavica*.



## XVIII. REFERENCIAS

- ❖ Albino-García C., Cervantes H., López M., Ríos Casanova L. y Lira R. 2011. Patrones de diversidad y aspectos etnobotánicos de las plantas arvenses del Valle de Tehuacán Cuicatlán: el caso de San Rafael, municipio de Coxcatlán, Puebla. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 82: 1005-1019.
- ❖ Anaya L. A., Espinosa- García F. y Cruz-Ortega R. 2001. Relaciones químicas entre organismos: aspectos básicos y perspectivas de su aplicación. 1ª ed. México. Editorial Plaza y Valdés. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ecología. 737 pp.
- ❖ Arango A. G. J. 2010. Introducción al metabolismo secundario. Compuestos derivados del ácido shikímico. Universidad de Antioquia. Facultad de Química Farmacéutica. 34-35 pp.
- ❖ Ávalos G. A., Pérez-Urrutia C. E. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. Serie de Fisiología Vegetal. 2 (3): 119-145.
- ❖ Ávila, O. 2006. Composición y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Cordia curassavica* (Jacq) Roemer & Schultes: Boraginaceae (Barredor). Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. 57 pp.
- ❖ Bello R. C. 2009. Comparación de dos estilbenos como filtros solares. Tesis de Licenciatura en Biología Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. 46 pp.
- ❖ Canales M. M., Hernández D. T., Caballero N. J., Romo de Vivar R. A., Durán D. A. y Lira S. R. 2006. Análisis cuantitativo del conocimiento tradicional de las plantas medicinales en San Rafael Coxcatlán, Valle de Tehuacán Cuicatlán, Puebla, México. *Acta Botánica Mexicana*. 75: 21-45 pp.
- ❖ Carvalho, P. M., Rodríguez. R. F. O., Sawaya, A. C. H. F., Márquez, M. O. M. y Shimizu, M. T. 2004. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Cordia verbenaceae*. *D. C. Journal of Ethnopharmacology*. 95: 297-301 pp.
- ❖ Castillo G. D. y Woolrich Z. N. L. 2009. Identificación química de compuestos fenólicos por cromatografía de HPLC con detector de UV de extractos etanólicos de propóleos recolectados en la zona de Córdoba-Orizaba. Tesis de Ingeniería Química. Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Químicas. 82 pp.

- ❖ Chávez-Sifontes M. & Domine E. 2013. Lignina, estructura y aplicaciones: métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial. Avances en Ciencias e Ingeniería. Avances en Ciencias e Ingeniería. (4) pp. 15-46.
- ❖ Da Silva S. A., Agra M. de F., Tavares J. F., Da- Cunha E. V. L., Barbosa-Filho J. M. y Da Silva M. S. 2009. Flavanonas de las partes aéreas de *Cordia globosa* (Jacq.) Kunth, Boraginaceae. Revista Brasileña de Farmacognosia. 20(5): 682-685 pp.
- ❖ De Menezes A. S. E. J., Lemos, G. L. T., Silveira, R. E. y Pessoa, L. D. O. 2006. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oil from leaves of *Cordia globosa* (Jacq.) H. B. K. from Northeastern Brazil. Journal of Essential Oil Research. 18: 253-255 pp.
- ❖ Domínguez X. A. 1999. Métodos de Investigación Fitoquímica. 2ª ed. Editorial Limusa. México. 47 pp.
- ❖ Drago S. M. E. 2007. Flavonoides recombinates de importancia farmacéutica. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. 38 (4). pp. 42-47.
- ❖ Espinosa, A. S. 2008. Género *Cordia*: Etnobotánica, fitoquímica y actividades biológicas. Tesina de Licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. 32 pp.
- ❖ Ferreira M. E. F., Ferreira A. E., Sousa S. B., Sobral de Souza C. E., De Alencar F. J. V., Lima Santos de Lavor A. K., Gomes F. F., Ferreira de L. L., Vereira dos Santos. F. A., Neves P. F. S., Viana C. A., Augustin B. A., De Aquino S. R., Linde A. M., Texeira de R. J. B. Alencar M. I. R., Douglas M. H. y Martins da Costa. J. G. 2013. Actividad biológica y caracterización química de *Cordia verbenaceae* D. C., como herramienta para validar su uso etnobiológico. Rev. Evidencia Basada en la Medicina Alternativa y Complementaria. 7 pp.
- ❖ Gros, G. E., Pomillo, A., Seldes, A. y Burton G. 1985. Introducción al estudio de los productos naturales. Secretaría General de los Estados Americanos. Programa de Desarrollo Científico y Tecnológico, Washington. 147 pp.
- ❖ Harborne J. B. 1998. Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis. Ed. Champan and Hall. Londres Inglaterra. 90-96 pp.
- ❖ Harris, C. D. 2007. Análisis químico cuantitativo. 3ª ed. (6ª ed. Original). Editorial Reverté. Barcelona, España. 674 pp.

- ❖ Heike V. 2009. Malezas de México. CONABIO.  
<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/boraginaceae/cordiacurassavica/fichas/pagina1.htm>) fecha de consulta:6 de Febrero del 2015.
- ❖ Hernández, M. M. D. 2009. Variación espacio-temporal de la composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Cordia curassavica* (Jacq) Roemer y Schultes: Boraginaceae (Barredor), en dos zonas del Valle de Tehuacán Cuicatlán, Puebla. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. 94 pp.
- ❖ Hernández, T., Canales, M., Avila, J. G., Durán, A., Caballero, J., Romo de Vivar y Lira, R. 2003. Ethnobotany and antibacterial activity of some plants use in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (México). Journal of Ethnopharmacology. 88: 181-188 pp.
- ❖ Isaza. M. J. H. 2007. Taninos o polifenoles vegetales. Scientia Et Technia. 13 (33). pp. 13-18.
- ❖ Michielin, Z. M. E., Salvador, A. A., Riehl S. A. C., Smânia Jr. A., Smânia A. F. E. y Ferreira S. R. S. 2009. Chemical composition and antibacterial activity of *Cordia verbenaceae* extracts obtained by different methods. Bioresource Technology. 100: 6615-6623 pp.
- ❖ Martínez, M. D., Alvarado, F. R., Mendoza, C. M. y Basurto, P. F. 2006. Plantas medicinales de cuatro mercados del estado de Puebla, México. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 79: 79-87 pp.
- ❖ Miguel, E. M. I. 2010. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Cordia globosa* (Jacq) Kunth. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. 74 pp.
- ❖ Naseem, N. Q., Bhanudansh, S. K., Nadeem, A. L. y Majid, A. H. 2009. Antioxidant and hepatoprotective activity of *Cordia macleodii* leaves. Saudi Pharmaceutical Journal. 17: 299-302 pp.
- ❖ Navarro-Tovar G., Leyva E., Loredó-Carrillo S. E., Santos D. M. S. 2011. Biosíntesis y actividad biológica de fitoestrógenos y fitoesteroides. Boletín de la Sociedad Química de México. 5(2,3) 35-43 pp.
- ❖ Okusa, N. P., Penge, O., Devleeschouwer, M. y Duez, P. 2007. Direct and indirect antimicrobial effects and antioxidant activity of *Cordia gilletti* De Wild (*Boraginaceae*). Journal of Ethnopharmacology. 112: 476-481.

- ❖ Olivas-Aguirre F. J., Wall-Medrano. A., González-Aguilar G. A., López-Díaz j. A., Álvarez-Parrilla E., De la Rosa L. A. y Ramos-Jiménez A. 2015. Taninos hidrolizables: bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nutrición Hospitalaria*. vol. 31, núm. 1. pp. 55-66.
- ❖ Ortega F. G. J. 2006. Estudio químico y evaluación farmacológica de la especie *Cordia cylindrostachya*. Tesis de Doctorado en Química. Universidad de Zulia. Facultad Experimental de Ciencias. 124 pp.
- ❖ Parisotto, B. E., Michielin, Z. M. E., Biscaro, F., Ferreira, S. R. S., Filho, W. D. y Pedrosa, C. R. 2012. The antitumor activity of extracts from *Cordia verbenaceae* D.C. obtained by supercritical fluid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*. 61: 101-107 pp.
- ❖ Quispe-Condori, S., Foglio, A. M., Rosa, V. T. P. y Meireles, A. M. A. 2008. Obtaining  $\beta$ -caryophyllene from *Cordia verbenaceae* de Candolle by supercritical fluid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*. 46: 27-32 pp.
- ❖ Sepúlveda, J. G., Porta, D. H. y Rocha, S. M. 2003. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 3 (21): 355-363 pp.
- ❖ Silverstein R. M., Clayton B. G. y Morrill C. T. 1981. Identificación espectrométrica de compuestos orgánicos. Ed. Diana. México. 85-90 pp.
- ❖ Smith. 2001. Síntesis orgánica. 2ª edición. WCB. McGraw-Hill.
- ❖ Taiz I., Lincoln L. y Geiger E. 2006. Secondary Metabolites and Plant Defense. *Plant Physiology*. Capítulo 13.
- ❖ Terán, C. B. 2006. Actividad antimicrobiana y antifúngica de *Cordia curassavica* (Jacq) Roemer y Shultes (barredor). Tesis de Licenciatura de Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM. 60 pp.
- ❖ Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). 2007. Técnicas cromatográficas. Química Instrumental II. Facultad de Química.
- ❖ Valares, M.C. Variación del metabolismo secundario en plantas debida al genotipo y al ambiente. Tesis de Doctorado en Ciencias. Universidad de Extremadura. 216 pp.
- ❖ Valcárcel C. M. y Gómez H. A. 1994. Técnicas Analíticas de Separación. Ed. Reverté. Barcelona, España. 779 pp.

- ❖ Voet D. y Voet J. G. 2004. Bioquímica. 3ª ed. Ed. Panamericana. 398-399 pp.
- ❖ Weininger, S.J. y Stermitz, F. 1988. Química Orgánica. Ed. Reverté. Barcelona, España. pp. 77-78.
- ❖ Wink, M. 1999. Introduction: Biochemistry, role and biotechnology of secondary metabolites. pp. 1-17. In: M. Wink M. (ed.). Biochemistry of Plant Secondary Metabolism. Annual Plant Reviews. Sheffield Academic Press Ltd. London, UK. 374 pp.
- ❖ Zacarés S. L. 2008. Nuevas aportaciones al metabolismo secundario del tomate. Identificación y estudio de moléculas implicadas en respuesta a la infección con *Pseudomonas syringae pv. tomato*. Tesis de Doctorado para Ingeniería en Agronomía. Universidad Politécnica de Valencia. 37-38 pp.