



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

*“Estudio comparativo para la extracción de
perezona de *Acourtia cordata* empleando fuentes
alternativas de activación”*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO

P R E S E N T A:

PABLO IVÁN MENDOZA SÁNCHEZ

Asesor: Dr. René Miranda Ruvalcaba

Co-Asesor: cDr. René Gerardo Escobedo González

Cuautitlán Izcalli, Estado de México

2017.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Estudio comparativo para la extracción de perezona de Acourtia cordata empleando fuentes alternativas de activación.

Que presenta el pasante: **Pablo Iván Mendoza Sánchez**

Con número de cuenta: **306091726** para obtener el Título de la carrera: **Licenciatura en Química**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 19 de Abril de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. René Miranda Ruvalcaba	
VOCAL	Dr. José Guillermo Penieres Carrillo	
SECRETARIO	Dr. Gabriel Arturo Arroyo Razo	
1er. SUPLENTE	Dr. Benjamín Velasco Bejarano	
2do. SUPLENTE	Dra. María Olivia Noguez Córdova	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga*

El presente trabajo se llevó a cabo bajo la dirección del Doctor René Miranda Ruvalcaba y la supervisión del candidato a Doctor René Gerardo Escobedo González, en el Laboratorio de Estudios sobre Química Verde L-122 de la Sección de Química Orgánica del Departamento de Ciencias Químicas de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campus 1.

Agradecimientos

Se agradece de la manera más sincera a:

La Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, de la Universidad Nacional Autónoma de México, mediante el proyecto PAPIIT IN221514. Sin cuyo apoyo no hubiera sido posible este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, mediante la beca de ayudante de Investigador Nacional III, correspondiente al expediente de ayudante No. 12465.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por haberme formado desde el bachillerato, prosiguiendo con mi carrera profesional. Me ha dado muchas herramientas para desenvolverme, me han dotado con conocimiento, humanidad y fortaleza para ser un buen profesionista.

Agradezco a mi familia, que ha sido el pilar de sostén más valioso que pueda tener. Muchas, muchísimas gracias a Beatriz y a Pablo, mamá y papá, que sin su apoyo moral y económico no hubiera sido posible nada de lo poco o mucho que haya logrado en mi vida. Mi gratitud hacia ustedes es infinita.

A mis hermanitos Danae, Alan. Me han aguantado este tiempo, me han dado palabras de aliento y me han dado el honor de ser de alguna manera ejemplo y guía para ustedes por ser su hermano mayor.

Mis abuelitos Crescencio y Ricarda, por apoyarme moral y económicamente, para mí han sido como mis segundos padres y este logro también les pertenece.

A mi amada novia, mi princesa, mi tesoro, Yazmin. Muchas gracias por tu apoyo en todos los sentidos, tu amor ha sido la luz que ha guiado mi camino y así como me haces volar, me haces poner los pies sobre la tierra. Te amo.

A otros miembros de la familia, que en algún momento me han ayudado en este tormentoso pero muy satisfactorio camino.

Al Doctor René Miranda Ruvalcaba, mi querido mentor y guía en este camino que apenas comienzo. Es mi modelo a seguir y su ejemplo como profesional de la Química me inspira a seguir adelante. Gracias por explicar siempre las cosas con paciencia y humildad. Le estoy en deuda y eternamente agradecido.

Al Dr. Francisco Javier Pérez Flores del laboratorio de espectrometría de masas del Instituto de Química de la UNAM por la realización de los espectros de masas.

Al candidato a Doctor René Escobedo, que me acompañó en este tramo final de mi carrera, y que me fue de gran ayuda para obtener éxito en este proyecto. Pasamos buenos tiempos en este laboratorio L-122. Te extraño, canijo.

A mis compañeros de laboratorio, en especial a Iván, Juanito y Amira, con quienes he pasado ratos muy agradables.

A Cony, que me apoyas y charlas conmigo. El laboratorio se hace más ameno cuando echamos plática. Muchas gracias por darme ideas y aportarme puntos de vista en mis experimentos.

Al Instituto de Química, que me dio la oportunidad de aprender mejor al hacer mi servicio social. Mi estadía fue de gran ayuda para mi formación.

A las profesoras Olivia, Inés, Judith, Pilar y a los profesores Gabriel, Bernardo y Benjamín. La familia de Química Orgánica. Me siento muy a gusto cerca de ustedes.

A mis sinodales, por sus puntos de vista y sus observaciones y correcciones en mi trabajo de tesis, han sido muy valiosas para mí. Muchas gracias.

Dedicatoria

A la Universidad Nacional Autónoma de México, mi alma máter y mi formadora.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, que me inspira a salir adelante sobre las dificultades. Eso he aprendido aquí.

A mis padres, que me han sostenido económica y moralmente. Al fin lo he conseguido, el primero de sus hijos en lograr una carrera. Los amo, con aciertos y errores, pues somos humanos. Mis éxitos se los brindo a ustedes por confiar en mí, a pesar de las decepciones momentáneas decepciones que les haya podido producir.

A mis hermanos, que me inspiran a seguir adelante para servirles de guía y que me puedan seguir y superar. Ese es mi deseo para con ustedes, que si yo subo una montaña, ustedes suban otra el doble de alto. Los amo carnalitos.

A mis abuelos Crescencio y Ricarda, que me apoyaron desde siempre, que desde que me acuerdo me aman como a un hijo. Gracias por esos pasajes que me dieron cuando no había dinero, gracias abuelita por los atoles y cafés con pan que me preparabas y que me llevabas a mi escritorio cuando tenía que trasnochar por la escuela. Me apoyaron cuando más los necesité. Los amo, los adoro. Siempre lo diré: son mis segundos padres.

A mi amada, adorada novia, mi compañera, mi amiga, mi cómplice. Te amo Yazmín. Tu amor me inspira a superarme, a ser mejor y convertirme en ese hombre que quiero ser para ti. Quiero que siempre te sientas orgulloso de mí y poder apoyarte en todos tus sueños, así como tú me has apoyado y motivado para conseguir éste. Te amo.

A mis amigos, quienes recuerdo con más afecto de mi generación, Química 37, quienes son muchos, que si nombro, sería media generación. Ustedes saben quiénes son. También a mis amigos de la generación 36, 38 y 39, así como a mis amigos de otras carreras, los recuerdo con afecto y sé que ustedes también a mí.

A mi hermanita, a ti, Consuelo. Eres mi hermanita, que, aunque no seamos de sangre, somos de corazón hermanos. Muchísimas gracias por tu amistad desde la prepa, y que seguimos manteniendo

A la memoria de la maestra Vicky. La recuerdo con tanto cariño cuando platicaba conmigo en mis épocas más oscuras y tristes. Usted me ayudó mucho, fue muy importante mi fuerza vital para mí. Siempre la admiré.

A las profesoras que considero fueron cruciales para mi formación: Marina Morales, Brígida Camacho y Claudia Briones. Creo que si no me hubiera encontrado con ustedes, tal vez no hubiera acabado mi carrera. Su pasión por la Química me convenció de quedarme. Mi inmensa gratitud y mi trabajo también dedico a ustedes.

En esto resumo mi filosofía y mi modo de vivir:

Reza todo lo que quieras: el cielo no puede escucharte. Eso no va a detener el invierno porque tienes frío, y no hará la Tierra más pequeña porque no quieres caminar tanto. Tú rezas por la lluvia y llueve, pero tu rezo no tiene nada que ver con ello. A veces no rezas por lluvia y llueve de todas formas. ¿Qué dices entonces? Si quieres tener una vida mejor, edúcate y piensa cuidadosamente acerca de las consecuencias de tus acciones.

Xun Zi (312 - 230 AEC)

ÍNDICE

1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	2
2.1 Química verde.....	3
2.2 Los doce principios.....	5
2.3 Métodos alternos para activar una reacción.....	6
2.3.1 Infrarrojo.....	7
2.3.2 Microondas.....	9
2.3.3 Ultrasonido.....	10
2.3.4 Triboquímica.....	11
2.3.5 Química de flujo continuo.....	13
2.3.6 Tratamiento térmico por convección y alta presión.....	15
2.4 Perezona y otros terpenoides presentes en plantas del género <i>Acourtia</i>	17
3. Objetivos.....	20
3.1 Objetivo general.....	20
3.2 Objetivos particulares.....	20
4. Hipótesis.....	20
5. Parte experimental: reactivos, materiales, equipos, metodología.....	21
5.1 Obtención, identificación y tratamiento de los especímenes vegetales.....	21
5.2 Extracciones de perezona.....	23
5.2.1 Metodología general.....	23
5.2.2 Metodologías particulares.....	24
5.3 Separación, purificación e identificación de otros metabolitos secundarios adicionales a la perezona presentes en la raíz de <i>Acourtia cordata</i>	25
6. Resultados y discusión.....	25
6.1 Análisis estadístico de los datos de las extracciones.....	27
6.2 Discusión de los resultados experimentales.....	32
6.3 Comparación de resultados de métodos alternativos vs método clásico.....	37
6.4 Análisis de datos espectroscópicos.....	39
6.4.1 Espectrometría de masas.....	39
6.4.2 Resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C	40
7. Conclusiones.....	46
Referencias.....	47
Créditos por las figuras.....	52
Apéndice.....	54

1. Introducción.

El presente trabajo implica la activación alterna a la mantilla de calentamiento, para la extracción de perezona, conforme con el principio número 6 de la química verde, mediante irradiación con infrarrojo cercano y microondas, así como con el uso de ultrasonido. El estudio se realizó con la raíz de *Acourtia cordata* (anteriormente *Perezia hebeclada*).

La raíz del pipitzáhuac ha sido conocida en México desde la época prehispánica por sus propiedades curativas, que incluyen las antiinflamatorias, laxantes y antiparasitarias, ya que se tiene noticia de que en la medicina tradicional indígena se ha utilizado para el tratamiento de hinchazones y la cicatrización de heridas superficiales. En 1852 el Dr. Leopoldo Río de la Loza, logró aislar la perezona o ácido pipitzahoico, de la raíz del pipitzáhuac, perteneciente al género *Perezia* (actualmente conocido como *Acourtia*).

Entre los principales terpenoides presentes en dicho género vegetal, se encuentran también diversos pipitzoles y perezoles, así como la hidroxiperezona y sus respectivos ésteres de ácidos isovalérico, tíglico y angélico. La sustancia de mayor interés de entre todas ellas es la perezona, pues se ha encontrado que ésta tiene uso como pigmento y que además tiene interesantes propiedades farmacológicas.

Por otro lado, la química verde es una filosofía propuesta por Anastas y Warner en 1998 y está compuesta por un conjunto de doce principios que promueven el desarrollo de procesos de producción y transformación química que, a grandes rasgos, no contaminen, sean seguros y respetuosos con el ambiente y que además aprovechen al máximo y de manera racional los recursos naturales.

Según el principio 6 de la química verde, con respecto a la eficiencia energética, las necesidades energéticas deben ser consideradas en relación a sus impactos ambientales y económicos, buscando minimizar su consumo, por lo cual, con el fin de minimizar los requisitos de energía, se deben buscar alternativas para encontrar nuevas posibilidades y lograr un uso más eficiente de la energía necesaria para llevar a cabo procesos químicos.

Cabe señalar que, para llevar a cabo reacciones químicas dentro del marco de la química verde, se propone el uso de energías alternas a la térmica, tales como la irradiación infrarroja,

microondas, ultrasonido o estrés mecánico (triboquímica), el uso de reactores basados en tubos capilares (química de flujo continuo), así como reactores a alta presión que funcionan mediante calentamiento por convección.

En el presente trabajo se propone, únicamente para la extracción de productos naturales, el uso de infrarrojo, microondas y ultrasonido como fuentes de energía de activación con la intención de realizar un acercamiento verde en lo que respecta a dicho proceso, dadas las potenciales aplicaciones de la perezona como base para el desarrollo de fármacos que actúen contra diversas dolencias humanas.

Según los resultados obtenidos, las extracciones realizadas mediante ultrasonido dieron rendimientos y selectividad más altos, además de que fueron las que menor requerimiento energético tienen con respecto al método térmico convencional, así como también superaron los resultados obtenidos mediante los métodos alternativos de irradiación por infrarrojo y microondas, lo cual concuerda con lo expuesto en la literatura, dado que el fenómeno de cavitación tiene un impacto más profundo y directo en la matriz biológica que contiene al producto natural, mejorando notablemente los rendimientos de extracción, siendo entonces un método con potencial de viabilidad en la aplicación en el mundo real, como en la industria farmacéutica.

2. Antecedentes

La extracción de productos naturales es un procedimiento conocido por diversas culturas alrededor del mundo desde la antigüedad y se conocen formas primitivas de dichos procedimientos por medio de infusiones y maceraciones para tratar diversas condiciones patológicas, lo cual fue logrado mediante ensayo y error para obtener los conocimientos empíricos necesarios¹. La obtención de productos naturales está extendida en muchos grupos humanos de forma ancestral desde hace miles de años y estos conocimientos componen el cuerpo de lo que se denomina como medicina tradicional², que recientemente se ha tomado como punto de partida para, a partir de los principios activos hallados en plantas, animales o minerales incluidos en dicho conocimiento popular, generar alternativas terapéuticas para tratar muchas y diversas condiciones patológicas humanas y/o veterinarias. Este desarrollo

desemboca en forma de fármacos que fungen como antibióticos, analgésicos, antivirales, antifúngicos e inclusive anticancerígenos³, entre otras aplicaciones.

Además de resolver necesidades de salud, los productos naturales son muy utilizados en múltiples aspectos de la vida humana, entre los que destacan directamente la alimentación y diversos aditivos alimenticios como saborizantes, conservadores y colorantes, los pigmentos y tintes, así como los aromas y esencias utilizadas en perfumería y diversos productos de cuidado personal^{4,5}. Todos estos derivados se producen ya a una escala industrial, generando entonces un impacto ambiental cada vez más importante, dado el aumento producido en su demanda año con año.

Es por ello que se ha vuelto importante establecer protocolos novedosos y alternativos para la extracción de los productos naturales y sus principios activos, que reduzcan dicho impacto ambiental y sean, por tanto, más amigables con el medio ambiente, además de generar mayores beneficios económicos a los productores.

2.1 Química verde.

En la sociedad actual que depende de la producción a gran escala y que cubre mercados extensos, es de destacar el hecho que, para producir bienes y servicios, es necesario el uso intensivo de materias primas y la realización de procesos de transformación a gran escala. Desde la Revolución Industrial que comenzó en el siglo XVIII en Europa, se ha incrementado la demanda de materia prima para cubrir procesos cada vez más masivos para satisfacer mercados crecientes. A partir de ese desarrollo, la depredación de ecosistemas y la contaminación de los mismos, debido a la actividad industrial, han aumentado hasta hacer uso irracional de los recursos naturales y provocar deterioro ambiental, a costa de la integridad de muchas especies de seres vivos, entre ellas el ser humano.

Dado tal panorama, se ha vuelto importante realizar un análisis racional de los procesos industriales requeridos, de la utilización de materia prima para los mismos y de las consecuencias que implica en su totalidad la producción de bienes de consumo, por lo que desde finales del siglo pasado, se han hecho esfuerzos para el desarrollo de metodologías nuevas que sustituyan a las existentes, para que sean menos contaminantes, que requieran un

menor uso energético y cuyas materias primas sean inocuas, preferentemente renovables y fácilmente asequibles.

Un ejemplo bastante ilustrativo del requerimiento energético necesario en la industria de la elaboración de productos cosméticos es la perfumería, en la cual se tienen procesos de extracción de las esencias utilizadas, en donde se destina casi el 50% de la energía total del proceso solamente en la extracción de productos naturales.

Aunado a esto, también se utilizan cantidades enormes de disolventes para efectuar dicha tarea, y dado que los metabolitos secundarios de interés se obtienen rendimientos del orden del 1% con respecto al peso seco de materia prima, entonces la extracción se vuelve un proceso oneroso, por lo que es necesario encontrar alternativas sostenibles a largo plazo para volver a dicho proceso más eficiente y menos costoso.⁶

Otro problema se presenta con respecto a los disolventes típicamente utilizados para la extracción de productos naturales, ya que éstos generalmente tienden a ser compuestos orgánicos volátiles o VOCs (en inglés Volatile Organic Compounds), que si bien presentan ventajas, como un poder de disolución alto y bajos puntos de ebullición, su emisión resulta peligrosa al medio ambiente.⁶

Observando estas problemáticas, Paul Anastas y John Warner, científicos al servicio de la Agencia de Protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés), publicaron su revolucionaria obra *Green Chemistry: Theory and Practice*, en donde definen a la química verde como “el empleo de un conjunto de principios que reducen o eliminan el uso o la generación de sustancias peligrosas en el diseño, manufactura y aplicación de productos químicos”⁷, cuya idea principal recae en la frase “benigno por diseño”.

La química verde no se debe considerar por sí misma como una rama de la química, sino más bien como una filosofía de trabajo experimental en la cual la prioridad debe ser disminuir o eliminar riesgos inherentes a la industria química, así como promover una gestión racional de recursos naturales y por ende obtener un beneficio económico y social⁸. No debe confundirse con la química ambiental, cuyo campo de estudio abarca más bien la remediación hecha por el ser humano a su entorno.

2.2 Los doce principios.

De la obra de Anastas y Warner⁷ se pueden enunciar los siguientes principios pertenecientes al protocolo de la química verde:

1. Prevenir o minimizar residuos: es mejor evitar la formación de residuos que tratarlos o limpiarlos después de que se hayan formado.
2. Maximizar la economía atómica: los métodos de síntesis deberían diseñarse para maximizar la incorporación de todos los materiales utilizados en el producto final.
3. Diseñar síntesis químicas menos peligrosas: siempre que sea posible, las metodologías sintéticas deberían diseñarse para usar y generar sustancias con poca o ninguna toxicidad para la salud humana y el medio ambiente.
4. Diseñar químicos y productos más seguros: los productos químicos deberían diseñarse para mantener la eficacia de su función, a la vez que reducen su toxicidad.
5. Emplear disolventes y condiciones de reacción menos peligrosos: el empleo de sustancias auxiliares (como disolventes, agentes de separación, etc.) debería evitarse en lo posible, y ser inocuo cuando se empleen.
6. Incrementar la eficiencia energética: el impacto medioambiental y económico de los requerimientos energéticos debe ser reconocido y minimizado. Los métodos sintéticos deberían aplicarse a presión y temperatura ambiente.
7. Utilizar materias primas renovables: deben utilizarse materias primas renovables siempre que sea técnica y económicamente viable.
8. Evitar derivados químicos: la derivatización innecesaria (grupos bloqueadores, etapas de protección/desprotección, modificaciones temporales) debe evitarse en la medida de lo posible.
9. Privilegiar el uso de catalizadores: los reactivos catalíticos (tan selectivos como sea posible) son superiores a los reactivos estequiométricos.
10. Diseñar sustancias para la degradación: los productos químicos deben diseñarse de forma que al final de su función no persistan en el entorno y se degraden en productos inocuos.

11. Analizar en tiempo real para prevenir contaminación: deben desarrollarse metodologías analíticas que permitan el seguimiento y control de procesos en tiempo real, antes de que se formen sustancias peligrosas.
12. Minimizar el riesgo de potenciales accidentes: las sustancias químicas y las formas en que se usas dichas sustancias en un proceso químico deben escogerse para minimizar el potencial de accidentes químicos, incluyendo vertidos, explosiones e incendios.

Dichos principios deben ser parte de las nuevas metodologías, ya sea total o al menos parcialmente, para considerar un proceso como verde.

En el caso que atañe a la extracción de productos naturales, se busca de preferencia efectuar extracciones más selectivas (principio 1), emplear disolventes que no representen riesgo a la salud o ambiental (principio 5) y también poder aumentar la eficiencia energética (principio 6), para aumentar el beneficio económico y propiciar una disminución en la huella ecológica del proceso y para ello se propondrán entonces metodologías alternas.

2.3 Métodos alternos para activar una reacción

Se conoce el uso de métodos alternos para activar reacciones químicas y actualmente ya existe una variedad de métodos probados para su uso, en lugar de los métodos convencionales, representados por mecheros de gas o más recientemente mantillas de calentamiento que funcionan con una resistencia eléctrica.

La utilización de métodos alternos de activación presenta ventajas frente a los métodos convencionales, entre ellas la disminución del tiempo de reacción, así como el rendimiento y la selectividad de la misma, produciendo así un consecuente ahorro de energía y una disminución de los recursos necesarios para llevar a cabo diversas transformaciones sintéticas que son de interés para los químicos, por lo cual éstos se han constituido como piedra angular en la aplicación de los principios de la química verde. Es por ello que los métodos alternos de activación han adquirido más relevancia en épocas recientes y se explora su aplicación a niveles industriales para muchas y diversas áreas.

Entre las principales energías de activación que se utilizan actualmente se encuentran las irradiaciones de infrarrojo⁹, de microondas¹⁰, así como el ultrasonido¹¹. Las dos primeras son

de carácter electromagnético y la última, mecánico. Asimismo, también se han empleado nuevas tecnologías, como los correspondientes a la triboquímica, los reactores de flujo continuo y los reactores de calentamiento por convección.

Las nuevas tecnologías hacen posible realizar contribuciones para que la química se acerque a un modelo de sostenibilidad, el cual es imperativo alcanzar mediante la colaboración con demás profesionales de la ciencia y tecnología. Entre las innovaciones realizadas gracias a dichas colaboraciones están el aprovechamiento de fenómenos energéticos como las ondas mecánicas, la irradiación electromagnética, y siendo las regiones del espectro electromagnético (**Figura 1**) aprovechadas las correspondientes al infrarrojo y las microondas.

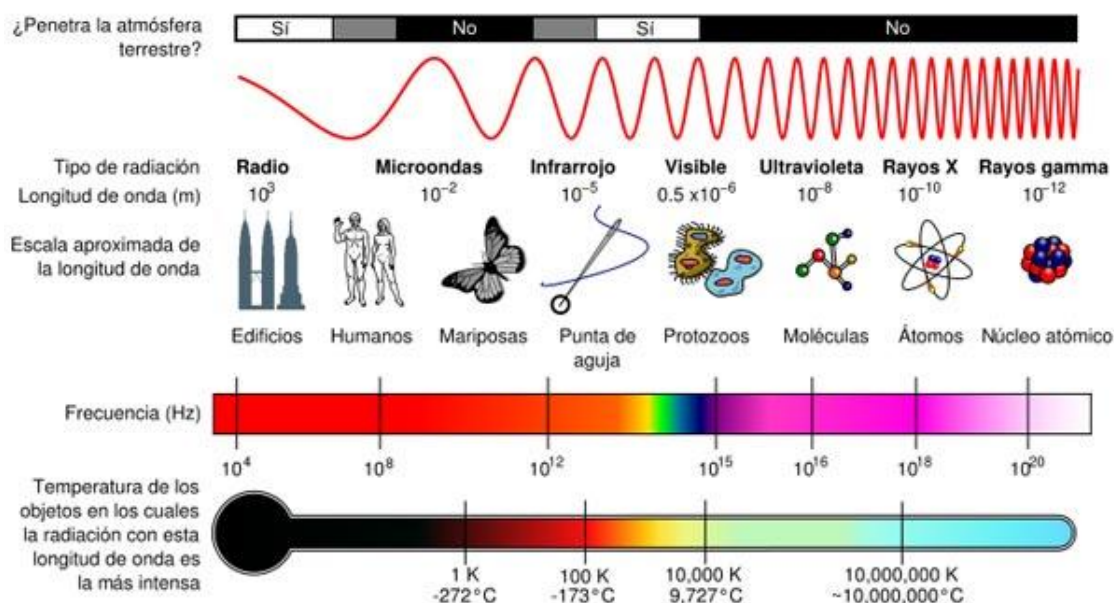


Figura 1: Representación del espectro electromagnético, regiones ionizante y no ionizante

2.3.1 Infrarrojo.

La radiación de infrarrojo (**Figura 2**) es aquella localizada en la región del espectro electromagnético que abarca las longitudes de onda en el intervalo de 10^{-6} a 10^{-4} m. Esta región del espectro se divide a su vez en lejano, térmico (o medio) y cercano¹².

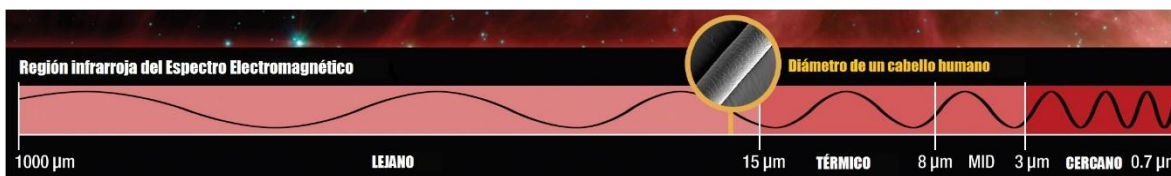


Figura 2: Región del infrarrojo

El fundamento sobre el que se sustenta la acción de este tipo de radiación es que al incidir sobre las moléculas, provoca alteraciones de las vibraciones en los enlaces de las mismas y rotación de las mismas. Este fenómeno es también el que se aprovecha mediante la espectroscopia de infrarrojo, pues cada grupo funcional, ya sea orgánico o inorgánico tiene una frecuencia de vibración característica de los enlaces que lo constituyen, lo que permite su identificación mediante esta técnica espectroscópica.

La energía que se requiere para promover reacciones químicas es mayor que la que se hace incidir en la espectroscopia de infrarrojo, por lo que ésta se encuentra en las regiones térmica y cercana de la región del infrarrojo. Esto se debe a que la radiación de infrarrojo al provocar vibraciones de enlaces, provoca un aumento en la energía cinética molecular, llevando entonces a un aumento de la temperatura.

Los tipos de vibración de enlaces (**Figura 3**), producida por la radiación infrarroja son a) simétrica, b) asimétrica, c) balanceo en plano, d) tijereteo en plano, e) aleteo fuera del plano y f) torsión fuera del plano¹³.

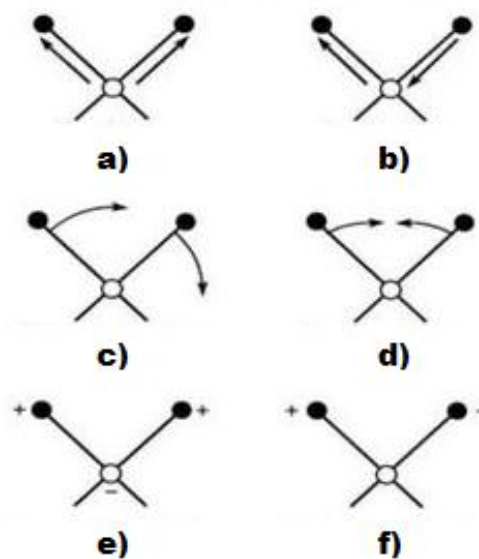


Figura 3: Vibraciones moleculares ocasionadas por la interacción de la radiación de infrarrojo

Se ha encontrado que esta energía de activación es útil para llevar a cabo reacciones como por ejemplo la condensación aldólica, síntesis de Paal-Knorr, síntesis de bases de Schiff, reacción de Biginelli, reacción de Hantzsch y la síntesis de diindolilmetanos, por citar algunos de los más notables⁹.

Este mismo fenómeno de inducción de vibraciones se piensa puede servir para la extracción de productos naturales, al provocar la vibración de las moléculas del producto natural en sí mismo, del disolvente utilizado para dicho fin y/o de la matriz biológica que lo contiene¹³.

2.3.2 Microondas.

Las microondas (**Figura 4**) se localizan en las longitudes de onda que abarcan de 10^{-4} a 10^{-1} m, expresado en términos de su frecuencia como 300 MHz a 300 GHz¹². A diferencia de las ondas de infrarrojo, las cuales actúan de manera intramolecular, las microondas lo hacen de forma intermolecular, ya que provocan la rotación de las moléculas sobre las que incide según su carácter polar al alinearse con la polaridad de la onda, la cual es de carácter alternante¹⁴. Por ello, la efectividad de este método es dependiente de las cualidades dieléctricas del medio sobre el cual actúan las microondas.

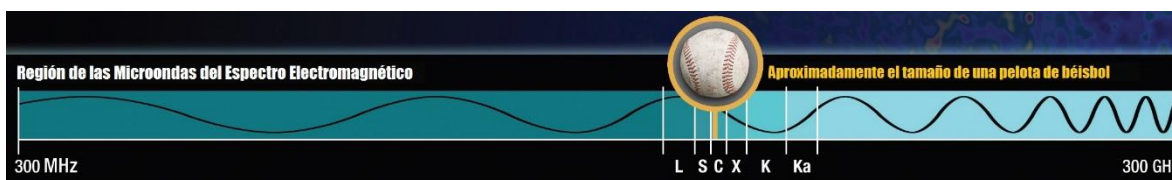


Figura 4: Región de las microondas en el espectro electromagnético

El calentamiento por microondas se diferencia del convencional en que, en este último, se transfiere energía al material sometido a calentamiento mediante convección, irradiación y conducción, mientras que al hacer incidir microondas en algún material dieléctrico, la energía electromagnética transferida se transforma en energía térmica *in situ*, logrando un calentamiento más eficiente y rápido. Este calentamiento rápido es ocasionado por la rotación de las moléculas del material irradiado (**Figura 5**), provocada por la alineación inducida de los dipolos al campo eléctrico de las microondas, ocasionando a su vez colisiones entre las moléculas sometidas a ellas, aumentando la energía cinética molecular y por ende, la temperatura del sistema¹⁵.

Es de esperarse que moléculas polares como el agua respondan bien ante las microondas, pues es conocido su uso en aplicaciones alimenticias al calentar agua y/o cocinar alimentos que la contengan por medio de hornos de microondas caseros e industriales⁸. Este principio se ha utilizado de la misma manera en el laboratorio, pues se han llevado a cabo síntesis

promovidas por microondas, las cuales se caracterizan por una reducción dramática de los tiempos de reacción e inclusive con medios de reacción menos drásticos¹⁶. Ejemplos conocidos son esterificaciones, reacciones de Diels-Alder, hidrólisis o la producción de pigmentos inorgánicos¹⁶, entre otros.

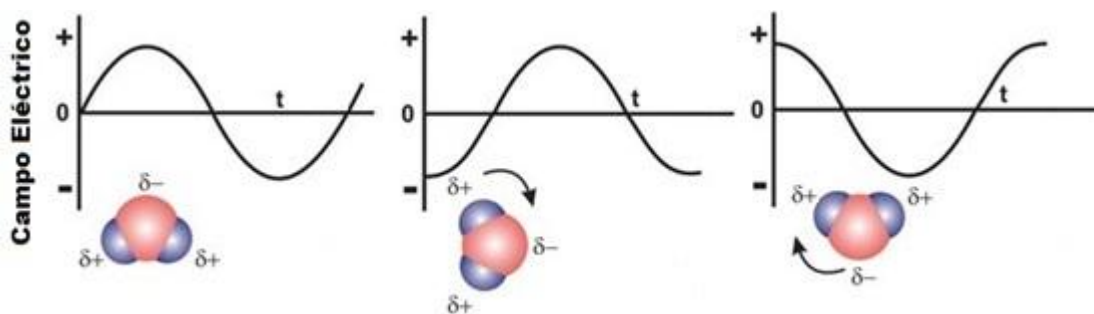


Figura 5: Rotación inducida por las microondas en la molécula de agua

Se puede aprovechar este fenómeno para realizar extracciones de productos naturales en los cuales las moléculas polares que respondan a las microondas sean el disolvente empleado, el producto natural o bien la matriz biológica. Este es un método probado y existen de hecho aparatos comerciales para la extracción de aceites esenciales a nivel laboratorio e industrial, en presencia o ausencia de disolventes ¹⁷.

2.3.3 Ultrasonido.

Las ondas de ultrasonido son ondas de naturaleza mecánica, es decir son ondas de presión que se propagan por un medio de transmisión, que generalmente es un medio sólido, líquido o gaseoso¹⁸, teniendo como peculiaridad que estas ondas tienen una frecuencia superior a las audibles por el ser humano (**Figura 6**). Este método ya tiene aplicaciones médicas y biológicas conocidas, además de que es empleado en la industria para procesos como la soldadura por ultrasonido¹¹. En tiempos recientes se ha utilizado en síntesis orgánica e inorgánica también para promover reacciones químicas, así como en la extracción de productos naturales^{19,20}.

Con respecto a la extracción de productos naturales, el fundamento sobre el cual se basa la acción de las ondas de ultrasonido es el fenómeno de cavitación, por el cual éstas provocan la formación de burbujas de alta presión en la interfaz del disolvente mediante el cual se realiza la extracción y los tejidos de la matriz biológica donde se encuentra el producto

natural, ocasionando a su vez la ruptura de los tejidos animales o vegetales que pueden contener diversas moléculas de interés, logrando que éstas sustancias se liberen de su matriz biológica¹³. El

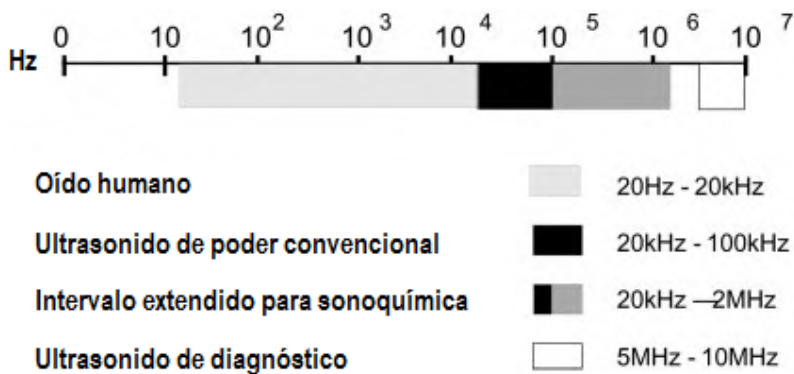


Figura 6: Frecuencias sónicas y ultrasónicas

uso de ondas de ultrasonido se da generalmente en condiciones de extracción más suaves y con menores tiempos de operación que con los métodos convencionales, además de que se han observado mejoras en el rendimiento de las sustancias extraídas²¹. Esto a su vez es provechoso, pues se producen ahorros energéticos y de tiempo, aumentando los beneficios del proceso. Por ello, ya se utiliza de manera industrial para la extracción de sustancias de interés como polifenoles, antocianinas y aceites esenciales de semillas, flores y frutos²¹.

2.3.4. Triboquímica

Desde la antigüedad es conocido que hay sustancias que reaccionan al someterlas a fricción, por ejemplo, en un mortero. Tal es el caso de la obtención de mercurio en el antiguo Egipto, proceso en el cual, la mena llamada cinabrio (HgS) es triturada en presencia de vinagre, obteniendo mercurio libre y puro, siendo ésta la reacción triboquímica más antigua documentada²². También es conocido desde finales del siglo XIX que hay sustancias que actúan distinto cuando se les aplica energía térmica o mecánica²³.

Ya en 1891 Ostwald propuso el nombre de mecanoquímica para nombrar al estudio de las interacciones de las sustancias químicas con fuerzas mecánicas; cabe señalar que también se le conoce como triboquímica, proveniente del griego ‘tribós’ (τριβός) que significa ‘agitación’ y se le considera como una rama de la fisicoquímica²³, sin embargo, el uso de morteros y demás instrumental similar, solo se había limitado para la operación de molienda, trituración y pulverización de materiales.

Existe evidencia que diversas sustancias químicas, al ser sometidas a estrés mecánico, pueden sufrir cambios químicos distintos a los sufridos por sometimiento a energía térmica, como por ejemplo el someter a estiramiento algunas fibras de poliácidos parcialmente neutralizados que son sumergidas en agua, se puede medir una caída en el pH del baño de agua que lo contiene, esto siendo explicado porque el estrés mecánico provoca la liberación de protones²⁴.

Las reacciones activadas por métodos triboquímicos o mecanoquímicos se llevan a cabo en reactores en los cuales la mezcla de reactivos se somete a operaciones de molido y/o pulverizado, de manera similar a los ya conocidos molinos de bolas, en los cuales balines (principalmente de metal) efectúan la operación de molido y/o pulverizado mediante fricción²⁴. Por ejemplo, cuando un material se encuentra atrapado entre dos balines metálicos, la interacción se divide en cuatro estadios, los cuales son la deformación elástica, la deformación plástica, la deformación por cizallamiento y finalmente la fractura, que provoca amorfización, es decir, la ruptura de las estructuras cristalinas, o bien, que provoca reacciones químicas a través de la fricción (**Figura 7**).

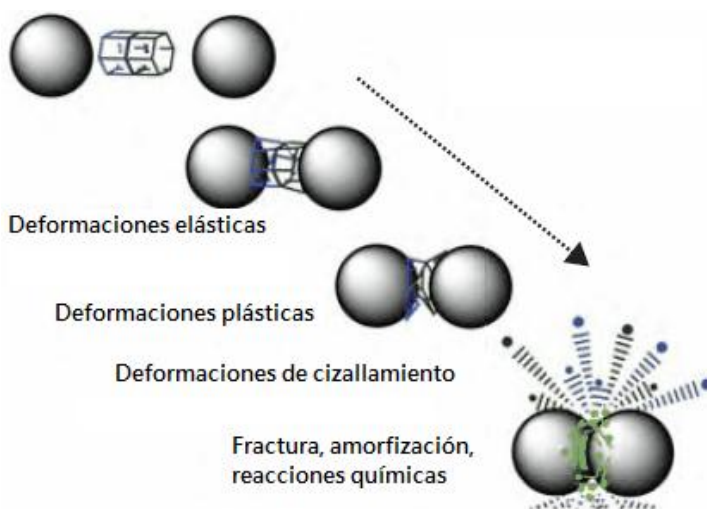


Figura 7: Estadios involucrados en un proceso triboquímico

Dicha fricción se produce sin desgaste de las piezas metálicas y, según se ha propuesto, los electrones en la superficie del metal se liberan y producen una especie de vibraciones acústicas, llamadas fonones, las cuales se disipan en forma de energía térmica, lo cual proporciona energía a la mezcla de reacción para que se active y se produzcan reacciones químicas²⁵.

Este método de activación de reacciones se ha propuesto en el contexto de la química verde, ya que hace prácticamente innecesario el uso de disolventes para llevar a cabo reacciones químicas²⁶, pues como en los métodos convencionales se sabe, el disolvente además de ser

el medio de dispersión homogénea de los reactivos, es el medio de transmisión de energía, como por ejemplo térmica o proveniente de microondas, infrarrojo o ultrasonido²⁶; mientras que en las reacciones triboquímicas la energía de activación es suministrada directamente por la energía cinética producida por el choque y fricción de los balines²⁷, entonces el uso de disolvente se disminuye y/o se restringe exclusivamente a la extracción y purificación final de los compuestos obtenidos al final del proceso²⁷, incidiendo en los principios 1, 5, 6 y 8, ya que los disolventes son el componente mayoritario de los residuos de una síntesis²², además de que la demanda energética de un molino es sensiblemente menor a la de un reactor que funciona con energía térmica, pues se tiene que considerar además la energía utilizada en el enfriamiento como parte global del consumo energético del proceso²⁸, así como disminuir tiempos de reacción e inclusive promover reacciones que no ocurrirían en solución²⁶.

Se conocen ejemplos numerosos de reacciones químicas que tienen como energía de activación la fricción tanto en ausencia como en presencia de disolventes, entre los ejemplos de reacciones útiles en la síntesis orgánica se tienen las condensaciones aldólica²⁹ y de Knoevenagel³⁰, las adiciones azo-Michael³¹, alquilaciones asimétricas de bases de Schiff³², reacciones de Wittig³³, Baylis-Hillman³⁴, Sonogashira³⁵, en las reacciones de acoplamiento cruzado de Mizoroki-Heck³⁶ y Suzuki-Miyaura³⁷, así como en la síntesis de péptidos y amidas³⁸, entre otras, mientras que entre los ejemplos de reacciones inorgánicas están la síntesis de materiales³⁹ o hasta de macrociclos de moléculas orgánicas organometálicas⁴⁰.

2.3.5 Química de flujo continuo

Dentro de las innovaciones en tecnologías auxiliares para la optimización de reacciones químicas, se encuentran los llamados reactores de flujo continuo, en los cuales las reacciones químicas se llevan a cabo en sistemas capilares de circulación de fluidos, a diferencia de los reactores convencionales, los cuales constan de recipientes. A diferencia de los sistemas convencionales de reacción que se describen por medio de operaciones unitarias, los sistemas de reacción de flujo continuo se pueden describir a través de microoperaciones unitarias⁴¹, dado que los procesos se realizan en sistemas en miniatura, y dichos sistemas constan de bombas que envían por medio de tubos capilares los reactivos en solución desde sus respectivos contenedores hacia una cámara de reacción, que además puede comprender o no

una fuente de energía de activación de reacciones químicas, siendo dichas fuentes desde sistemas de calentamiento térmico, por radiación de infrarrojo, ultravioleta o microondas⁴¹, además de incluir un dispositivo de purificación y de análisis para monitorear el proceso en tiempo real (**Figura 8**). Además, cabe señalar que los reactores de flujo continuo al estar formados de sistemas de tubos capilares, pueden funcionar a alta presión, de manera parecida como funciona un sistema capilar de HPLC, lo que aumenta la temperatura de ebullición de los disolventes utilizados, aumentando a su vez la velocidad de reacción⁴².

Estos reactores aventajan también a los convencionales por el hecho que las reacciones se van realizando conforme los reactivos tienen contacto entre sí, aumentando al máximo la superficie de contacto entre ambos⁴¹, además

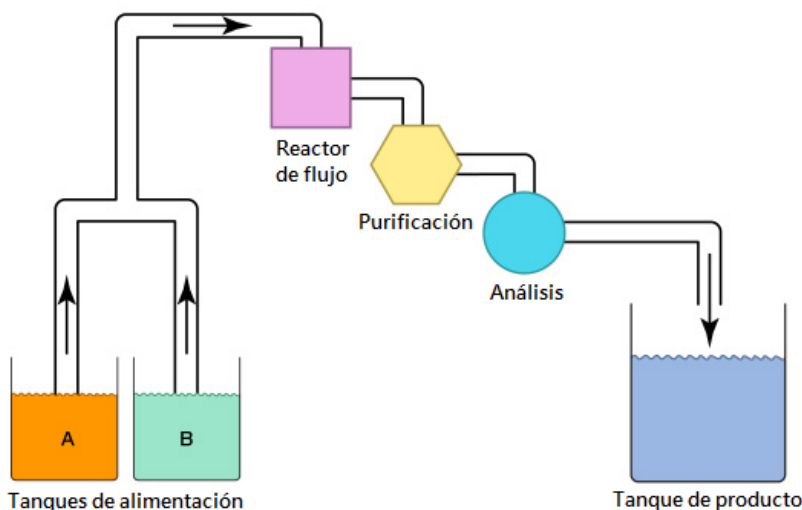


Figura 8: Esquema general de un reactor de flujo continuo

que se pueden variar los factores que afectan la reacción, siendo éstos la presión de bombeo y el diámetro del capilar; a diferencia de los reactores convencionales, en los que la totalidad de los reactivos se mezclan al mismo tiempo, lo que puede ocasionar accidentes y sobre todo si se trata de procesos de tamaño industrial, que pueden ser peligrosos y difíciles de limpiar, mientras que en los reactores de flujo continuo, si ocurre un accidente, no se compromete la totalidad de la mezcla de reacción, por lo cual la pérdida y los riesgos se minimizan potencialmente^{42, 43}, lo cual armoniza con los principios de la química verde.

Se han realizado muchos ejemplos de reacciones químicas, entre ellas las más destacables son aquellas en las que se utilizan reactivos o se obtienen intermediarios peligrosos o inestables, tales como hidrogenaciones, ozonólisis⁴² o en diversas reacciones de síntesis organometálica⁴³.

Sin embargo, una desventaja de estos equipos es que su acceso comercial es aún limitado, por lo que la mayoría de las reacciones químicas que se han reportado utilizando este método, se han realizado en equipos elaborados por los mismos grupos de investigación, utilizando tuberías capilares de equipos de HPLC en desuso, ocasionado esto que a veces los experimentos tengan poca o limitada reproducibilidad⁴².

2.3.6. Tratamiento térmico por convección y alta presión

Un avance tecnológico importante es el surgimiento de reactores, que si bien su fuente de energía de activación de reacciones son resistencias eléctricas, de manera similar a equipos convencionales como mantillas de calentamiento, presentan características que los hacen ventajosos, pues las resistencias eléctricas se han diseñado de tal forma que se pueda realizar un calentamiento lo más inmediato posible, de manera análoga a los reactores asistidos por microondas⁴⁴ (**Figura 9**).

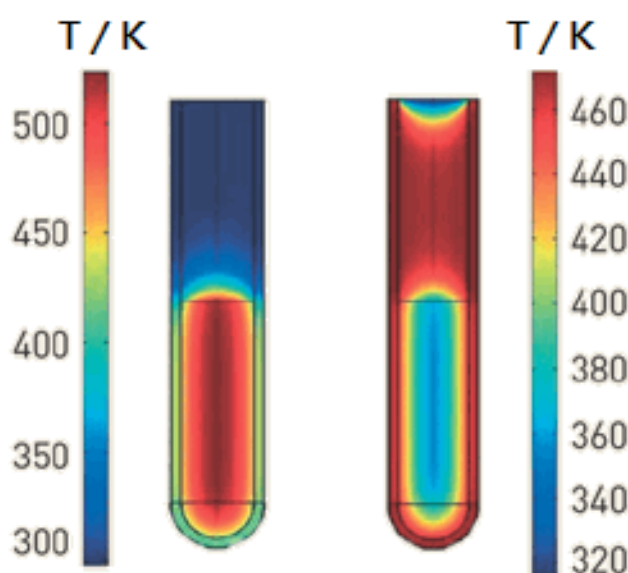


Figura 9: Calentamiento convencional contra calentamiento acelerado

Otra ventaja es que dichos reactores son de recipiente sellado, lo que permite que se generen altas presiones al interior de dicho recipiente, logrando que los puntos de ebullición de los disolventes utilizados se eleven de manera sensible, tanto que los tiempos de reacción se pueden abatir de horas a minutos o inclusive segundos con respecto tanto al método térmico clásico como a otros métodos alternos conocidos⁴⁴.

Estos nuevos reactores de altas presiones que han sido desarrollados en años recientes son capaces de lograr un sobrecalentamiento de los disolventes utilizados en diversas reacciones. Algunos ejemplos del aumento en el punto de ebullición de los disolventes más comúnmente utilizados en

síntesis orgánica, según el aumento de presión del medio a 20 y 30 bares (1 bar \approx 0.9869 atmósferas) son los siguientes:

Tabla 1: Puntos de ebullición de disolventes comunes desplazados a 20 y 30 bares

Disolvente	Punto de ebullición a 0 m.s.n.m. (°C)	Temperatura límite (°C)	
		A 20 bares	A 30 bares
Éter dietílico	35	150	170
Diclorometano	40	180	200
Acetona	56	170	200
Cloroformo	61	180	210
Metanol	65	160	180
Tetrahidrofurano	66	200	220
Acetato de etilo	77	190	220
Etanol	78	180	200
Benceno	80	210	240
Acetonitrilo	82	210	240
Agua	100	210	230
1,4-Dioxano	101	240	270
Tolueno	111	210	240
Piridina	115	230	250
Ácido acético	118	220	250
Dimetilformamida	153	>300	>300
Sulfóxido de dimetilo	189	-	-

Este sobrecalentamiento provoca que las reacciones químicas se aceleren de manera sensible, pues según se puede deducir de la ecuación de Arrhenius (1), las reacciones químicas se aceleran a razón del doble conforme se aumenta la temperatura 10 °C, por lo que, por ejemplo, una reacción que se lleva a cabo en 2 horas etanol a reflujo (78 °C, a 0 m. s. n. m) se llevaría a cabo en 7.5 minutos a 120 °C, lo cual presenta un ahorro considerable de tiempo y de energía con respecto al método clásico⁴⁵.

$$k = Ae^{\frac{-Ea}{RT}} \quad (1)$$

Cabe señalar que a pesar que las reacciones toman lugar a temperaturas muy elevadas, no se han reportado variaciones notables en cuanto al comportamiento de los reactivos y al proceder de las reacciones⁴⁴, salvo el caso en que los reactivos puedan presentar

comportamientos inestables a temperaturas altas, como por ejemplo el DMSO, que se descompone en la proximidad de su punto de ebullición⁴⁵.

El aceleramiento provocado por el sobrecalentamiento, con respecto a las condiciones de reacción de los métodos convencionales, como por ejemplo el reflujo, es bastante notorio y conforme con las determinaciones experimentales que se han realizado, se pueden resumir en la **Tabla 2**:

Tabla 2: Resumen de la reducción de tiempos de reacción por sobrecalentamiento convectivo

T (°C)	Tiempo										
	1	2	4	6	8	12	24	48	96	172	
20	1	2	4	6	8	12	24	48	96	172	Horas
30	30	1	2	3	4	6	12	24	48	86	
40	15	30	1	1.5	2	3	6	12	24	43	
50	8	15	30	45	1	1.5	3	6	12	22	
60	4	8	15	23	30	45	1.5	3	6	11	
70	2	4	8	11	15	23	45	1.5	3	5	
80	56	2	4	6	8	11	23	45	1.5	3	
90	28	56	2	3	4	6	11	23	45	1	
100	14	28	56	1	2	3	6	11	23	40	Minutos
110	7	14	28	42	56	1	3	6	11	20	
120	4	7	14	21	28	42	1	3	6	10	
130	2	4	7	11	14	21	42	1	3	5	
140	53	2	4	5	7	11	21	42	1	3	
150	26	53	2	3	4	5	11	21	42	1	
160	13	26	53	1	2	3	5	11	21	38	Segundos
170	7	13	26	40	53	1	3	5	11	19	
180	3	7	13	20	26	40	1	3	5	9	
190	2	3	7	10	13	20	40	1	3	5	
200	1	2	3	5	7	10	20	40	1	2	
210		1	2	2	3	5	10	20	40	1	
220			1	1	2	2	5	10	20	35	Segundos
230				1	1	2	5	10	18		
240						1	2	5	9		
250							1	2	4		

Los reactores de calentamiento por convección son nuevos en el mercado, por lo que su estudio se ha limitado a tratamientos experimentales de reacciones ya conocidas a nivel enseñanza⁴⁴.

2.4 Perezona y otros terpenoides presentes en plantas del género *Acourtia*.

La medicina tradicional mexicana comprende siglos de conocimiento ancestral acerca de los usos e indicaciones terapéuticas de plantas, animales y minerales para el tratamiento de muchas enfermedades y malestares. Los conocimientos de ésta se pueden remontar a las civilizaciones que habitaron el actual territorio de la República Mexicana, entre ellas los mayas, mexicas, otomíes, huastecos, tarascos y muchas otras más, aunque la que más

predomina en el centro de la República es la mexicana, pues fue la cultura dominante en el altiplano central mexicano. Un ejemplo notable de los conocimientos de la medicina indígena es el *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*, también conocido como Códice De la Cruz-Badiano, elaborado por el médico indígena Martín De la Cruz y traducido por Juan Badiano, terminado en 1552. Dicho documento, en sus 13 capítulos expone las propiedades terapéuticas de 227 plantas, con ilustraciones de 185 y mención de 64 (hay especies de plantas repetidas) ⁴⁵.

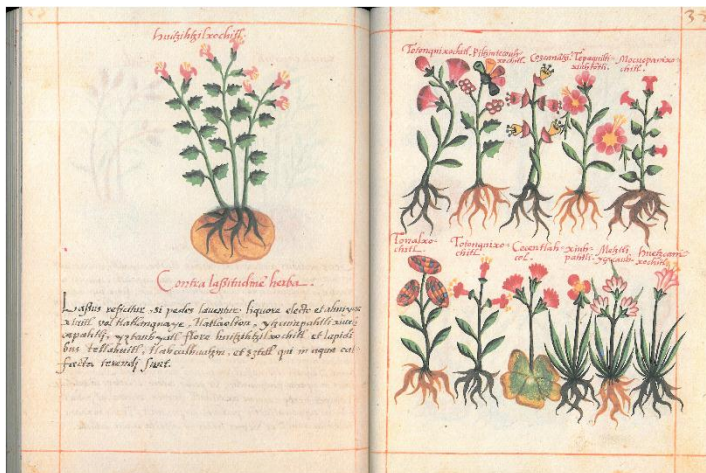


Figura 10: Códice De la Cruz-Badiano

Dentro de las plantas comprendidas en el Códice De la Cruz-Badiano (**Figura 10**), se encuentra el pipitzáhuac o coapatli⁴⁵, que es una planta o más bien, un conjunto de especies vegetales que se clasifican dentro del género *Acourtia*, que a su vez se encuentra en el orden *Asteraceae*. Este género comprende unas 50 especies y se

encuentra desde el sureste de Estados Unidos hasta Honduras⁴⁶ y anteriormente se le consideraba dentro del género *Perezia*⁴⁷. A esta planta se le atribuyen propiedades laxante, antiinflamatoria, así como un buen expectorante⁴⁸.



Figura 11 Dr. Leopoldo Río De la Loza

La especie *Perezia hebeclada* (actualmente *Acourtia cordata*), la cual es probablemente referida en el código De la Cruz-Badiano⁴⁵, es una planta herbácea con espinas, que presenta hojas de color verde oscuro de aspecto aserrado y flores de blancas a rosáceas con cáliz veloso. Crece principalmente en climas templados, como los que se dan en las zonas montañosas del centro de México.

En esta y otras plantas del género *Acourtia* se encuentran diversas sustancias terpenoides, entre ellas la perezona (2-[(1R)-1,5-dimetil-4-hexenil]-3-hidroxi-5-metil-2,5-ciclohexadien-1,4-diona), que es una quinona

sesquiterpénica a la cual se la ha atribuido actividad biológica interesante, pues se ha descrito como antitumoral⁴⁹. Esta sustancia fue aislada en 1852 por el Dr. Leopoldo Río de la Loza (1807-1876) (**Figura 11**), farmacéutico mexicano que trató plantas de pipitzáhuac y mediante extracción alcohólica obtuvo la perezona de forma cristalina⁵⁰, siendo el primer metabolito secundario aislado de un espécimen vegetal en el Nuevo Mundo. Inicialmente identificó erróneamente a la sustancia como ácido pipitzoico por su ligero carácter ácido⁵¹, sin embargo, investigaciones posteriores determinaron que en vez de ser un ácido carboxílico, se trata de una *p*-quinona con un grupo hidroxilo ácido⁵² que era capaz de formar sales metálicas como un fenol, y más adelante se determinó su estereoquímica⁵³ con un centro quiral *R*, sin embargo, la estructura propuesta en 1935 por Kögl⁵² no era del todo correcta, pues un estudio posterior realizado en México determinó finalmente la posición de los sustituyentes del anillo quinónico⁵⁴.

Además de la perezona libre (**I**) y esterificada con ácido isovalérico (**Ia**), en las plantas del género *Acourtia* se han encontrado otros terpenoides, entre ellos la hidroxiperezona, en sus formas libre (**II**) y esterificada con ácidos carboxílicos como angélico (**IIa**) e isovalérico (**IIb**), así como los perezoles (α -**IIIa**, β -**IIIb**, γ -**IIIc**) y los pipitzoles (α -**IVa**, β -**IVb**)⁵⁵ (**Figura 12**).

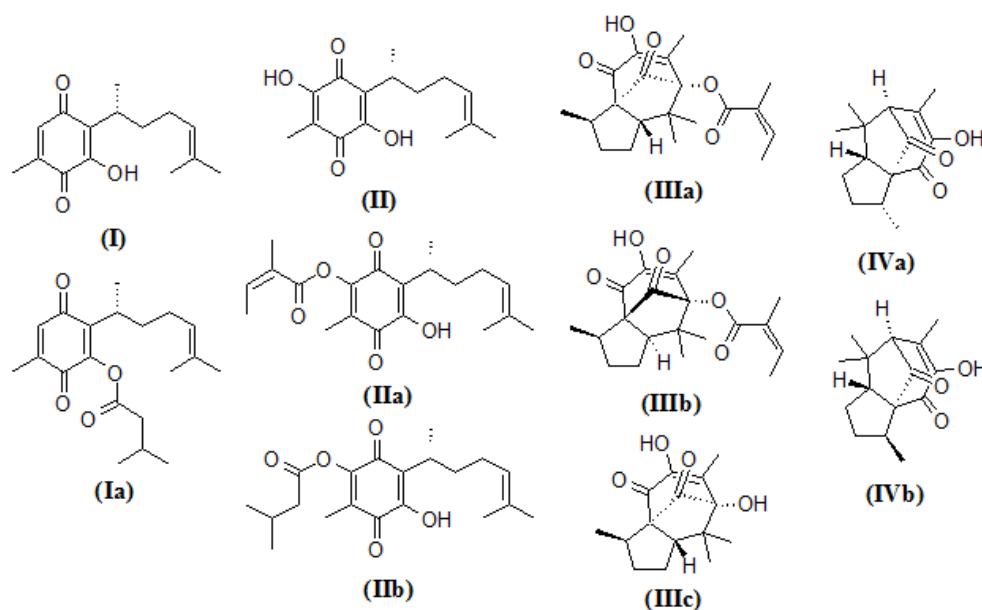


Figura 12: Estructuras de los principales terpenoides encontrados en diversas especies del género *Acourtia*

La mejora en los métodos de extracción de la perezona se ha vuelto relevante debido a sus potenciales propiedades y actividad biológica, pues a pesar de que se ha logrado sintetizar en el laboratorio⁵⁶, se obtienen cantidades bastante grandes de las raíces de las diversas plantas del género *Acourtia*⁵⁰, obtenidas ya sea por recolección de sus ecosistemas o bien, por cultivo en laboratorio⁵⁷.

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

Extraer un producto natural, la perezona, de un espécimen vegetal (*Acourtia cordata*), empleando métodos alternos al térmico clásico, lo anterior como una vía química para contribuir a la sostenibilidad.

3.2 Objetivos particulares

- 1.- Utilizar de manera comparativa irradiaciones electromagnéticas de infrarrojo y microondas, además del ultrasonido y de la mantilla de calentamiento, para la extracción selectiva de la perezona de la raíz de *Acourtia cordata*.
- 2.- Encontrar las condiciones más adecuadas de tiempo, temperatura, y potencia para la extracción de perezona en los equipos empleados.
- 3.- Separar y purificar otros metabolitos secundarios que se puedan encontrar en la raíz de *Acourtia cordata*.
- 4.- Identificar los compuestos aislados por métodos espectroscópicos comunes (resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , así como por espectrometría de masas).
- 5.- Comparar los resultados de extracción obtenidos por los métodos alternativos contra el térmico convencional, con respecto a rendimiento y selectividad.

4. Hipótesis.

Los métodos de activación alternativos por medio de radiación de infrarrojo y de microondas, así como por ultrasonido, han sido utilizados con gran eficacia para llevar a cabo reacciones químicas; por lo tanto, se propone que la extracción de perezona de un espécimen vegetal, es

posible llevarse a cabo mediante dichas fuentes alternativas de activación, para obtener un rendimiento y una selectividad más altos que los obtenidos mediante el método térmico convencional como la mantilla eléctrica de calentamiento.

5. Parte experimental: Reactivos, Materiales, Equipos, Metodología

Se usaron raíces de *Acourtia cordata* y *n*-hexano grado reactivo para las extracciones, así como acetato de etilo para la cromatografía en placa fina y en columna. Para la identificación de posibles ésteres de quinonas se utilizó hidróxido de potasio, agua y metanol para realizar la hidrólisis y obtener las posibles quinonas en su forma libre.

Los equipos utilizados para las extracciones fueron: una mantilla eléctrica marca SEV, un aparato de cocina Flavor wave®, un microondas químico marca CEM®, y un equipo de ultrasonido equipado con baño de agua marca Bransonic modelo 1510R-DTH.

Para la caracterización e identificación se utilizaron un espectrómetro de resonancia magnética nuclear Varian® Mercury-300 de 300 MHz, así como un espectrómetro de masas JEOL® MStation JMS-700.

5.1 Obtención, identificación y tratamiento de los especímenes vegetales.



Figura 13: Especimen de *Acourtia cordata*

Se utilizaron raíces de la planta *Acourtia cordata* (**Figura 13**), recolectada en el Parque Estatal Sierra de Guadalupe (**Figura 14**), ubicado en el municipio de Ecatepec, Estado de México. Las plantas se obtuvieron de una población de dicha especie ubicada por el botánico japonés Eizi Matuda, con coordenadas N 19.61, O 99.1036 (**Figura 15**). La identificación se corroboró con una existente en el Herbario Nacional de México, del Instituto de Biología de la UNAM.

Una vez separada la planta de la raíz, ésta fue extendida sobre papel periódico para ser secada a temperatura ambiente por un periodo de un mes y, una vez ya seca fue molida finamente.



Figura 14: Parque Estatal Sierra de Guadalupe (izquierda); entorno inmediato del espécimen (derecha)

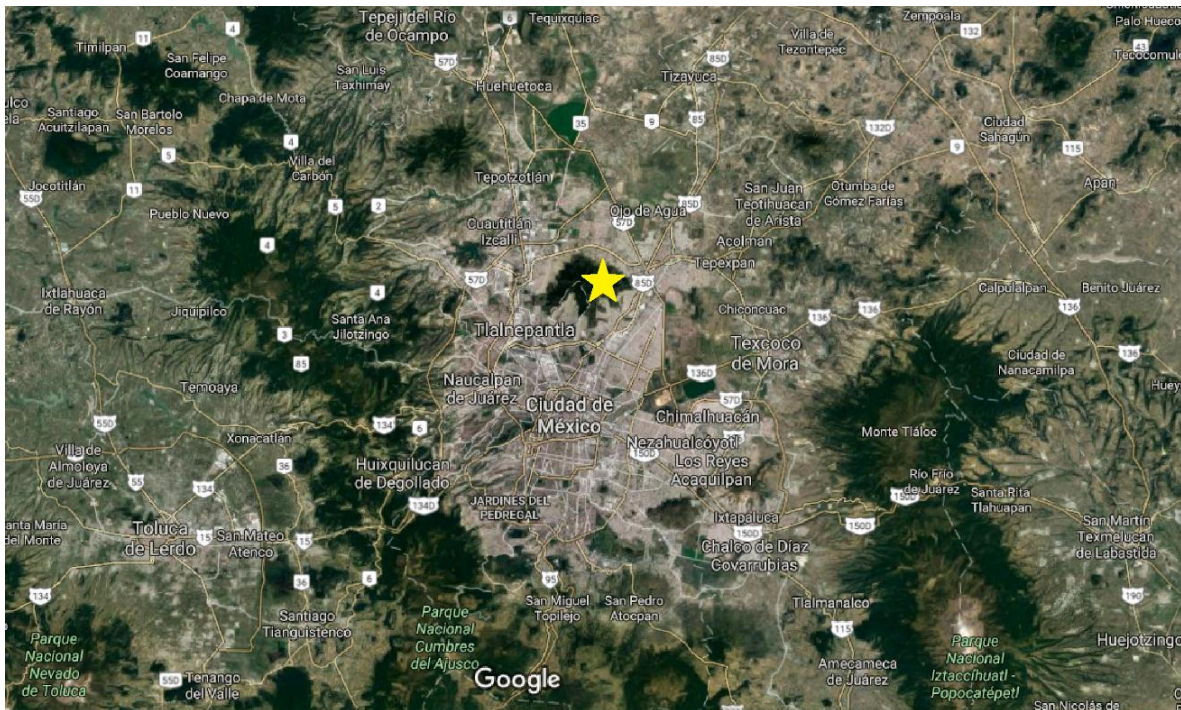


Figura 15: Mapa de localización de las coordenadas de recolección, dentro del Valle de México

5.2 Extracciones de perezona

5.2.1 Metodología general

Se hicieron pruebas de extracción con tres disolventes de distinta polaridad: etanol, acetato de etilo y *n*-hexano, sometiendo 5 gramos de la raíz molida a reflujo por 1 hora con 30 mL del disolvente seleccionado. Se compararon por cromatografía en capa fina (*n*-hexano/acetato de etilo 90:10) los tres extractos con una muestra de perezona como referencia, y se observó que el correspondiente a *n*-hexano contenía perezona, mientras que los extractos obtenidos con etanol y acetato de etilo contenían más compuestos no deseados, por lo que se decidió utilizar *n*-hexano como el disolvente para realizar el estudio comparativo.

Se colocaron 5 g de raíz molida en un matraz de 50 mL una pequeña cantidad con 30 mL de *n*-hexano y se sometió dicha mezcla a los diversos métodos de activación por triplicado: térmico con mantilla, irradiación de infrarrojo, microondas y ultrasonido. Se varió la temperatura, potencia y el tiempo de extracción. Se filtraron los extractos y se evaporó el disolvente utilizado hasta llevar cada extracto a sequedad.

Posteriormente se evaluó la pureza del producto por cromatografía en capa fina con un sistema de elución *n*-hexano/acetato de etilo 90:10 y se comparó la cantidad obtenida en cada método por mediciones de masa, tanto de los extractos en bruto como de la perezona obtenida de los mismos, por medio de recristalización con *n*-hexano. Las extracciones realizadas se agruparon con base en la energía utilizada y se resumen en la **Tabla 3**:

Tabla 3: Resumen de los grupos de los experimentos de extracción

Método	Experimentos
Térmico	T18060
Infrarrojo	IRSS
	IRCS1
	IRCS2
Microondas	MO3050
	MO10050
	MO10060
Ultrasonido	US6030
	US6060

5.2.2 Metodologías particulares:

a) Térmico

-**T18060**: La cantidad de raíz y disolvente indicada anteriormente se sometió a reflujo por 1 hora.

Si bien se hicieron pruebas de variación de tiempo a 3 horas y 5 horas, se pudo observar que tiempos de extracción mayores a 1 hora no presentaban variaciones importantes, por lo que el tiempo de 1 hora se tomó como referencia.

b) Infrarrojo

Las extracciones se dividieron en 3 grupos, para los cuales:

- **IRSS**: Se irradió la raíz seca por 15 minutos, con el equipo irradiando a 121 °C, se dejó reposar por 15 minutos, se le agregó *n*-hexano y se irradió de nuevo por 15 minutos bajo las mismas condiciones, para finalmente dejar reposando por 15 minutos.

- **IRCS1**: Se irradió la mezcla de *n*-hexano y raíz por 15 minutos y se dejó reposar 15 minutos.

- **IRCS2**: Se irradió la mezcla de *n*-hexano y raíz por 30 minutos y se dejó reposar por 30 minutos.

Se decidió no irradiar por más de media hora, pues se pudo observar que a sequedad la raíz se quemaba y con disolvente se corría riesgo de que el disolvente se proyectara.

c) Microondas

Se sometió la mezcla de raíz y disolvente a microondas según los siguientes parámetros:

-**MO3050**: Potencia 30 W, temperatura 50 °C, con 30 segundos de rampa y 3.5 minutos de radiación.

-**MO10050**: Potencia 100 W, temperatura 50 °C, con 30 segundos de rampa y 5 minutos de radiación.

-MO10060: Potencia 100 W, temperatura 60 °C, con 30 segundos de rampa y 10 minutos de radiación.

En el caso de la irradiación con microondas, se decidió trabajar a potencias relativamente bajas y tiempos cortos debido a que se buscó el mayor ahorro de energía, y con temperaturas cercanas al punto de ebullición del *n*-hexano (61°C en el Valle de México).

d) Ultrasonido

Se sometió la mezcla de raíz y disolvente a ultrasonido según los siguientes parámetros:

-US6030: Baño de agua a 60 °C, tiempo de 30 minutos.

-US6060: Baño de agua a 60 °C, tiempo de 60 minutos.

5.3 Separación, purificación e identificación de compuestos adicionales a la perezona presentes en la raíz de *Acourtia cordata*

Una vez realizada la separación de la perezona del extracto por medio de recristalización con *n*-hexano, se obtuvo un residuo aceitoso de color café rojizo, con olor a rancio. Dicho residuo se recolectó de todas las extracciones y se sometió a cromatografía en columna con eluyente *n*-hexano/acetato de etilo 90:10.

De las fracciones eluidas de todos los métodos de extracción, se obtuvieron de forma pura, además de la perezona, otros tres compuestos en proporciones muy similares en todos los extractos, sin embargo, el resto de las fracciones polares, que en conjunto conforman cerca del 5% del extracto, no se lograron identificar plenamente, ya que estos se quedaron retenidos en la columna de cromatografía.

Los tres compuestos puros (A, B y C) se les identificaron por medio de espectrometría de masas y espectroscopía de resonancia magnética nuclear protónica de 300 y 500 MHz y de carbono-13 de 75 MHz (RMN ¹H y ¹³C).

6. Resultados y discusión:

A continuación, se presentan los resultados experimentales obtenidos para cada energía de activación (**Tablas 4 a 7**):

Tabla 4: Extracciones por método térmico convencional

Térmico						
Experimento	Repetición	T / °C	m _{extracto} / g	m _{perezona} / g	% _{en extracto}	% _{en raíz}
T18060	1	61	0.280	0.030	10.71	0.60
	2	61	0.220	0.020	9.09	0.40
	3	61	0.240	0.020	8.33	0.40

Tabla 5: Extracciones por método de irradiación infrarroja

Infrarrojo						
Experimento	Repetición	T / °C	m _{extracto} / g	m _{perezona} / g	% _{en extracto}	% _{en raíz}
IRSS	1	121	0.270	0.030	11.11	0.60
	2	121	0.220	0.025	11.36	0.50
	3	121	0.160	0.020	12.50	0.40
IRCS1	1	121	0.250	0.025	10.00	0.50
	2	121	0.240	0.020	8.33	0.40
	3	121	0.270	0.030	11.11	0.60
IRCS2	1	121	0.390	0.050	12.82	1.0
	2	121	0.300	0.040	13.33	0.80
	3	121	0.310	0.035	16.67	0.70

Tabla 6: Extracciones por método de irradiación con microondas

Microondas						
Experimento	Repetición	T / °C	m _{extracto} / g	m _{perezona} / g	% _{en extracto}	% _{en raíz}
MO10050	1	50	0.220	0.020	9.09	0.40
	2	50	0.200	0.015	7.50	0.30
	3	50	0.200	0.015	7.50	0.30
MO3050	1	50	0.220	0.020	9.09	0.40
	2	50	0.200	0.015	7.50	0.30
	3	50	0.190	0.020	10.53	0.40
MO10060	1	60	0.360	0.025	6.94	0.50
	2	60	0.190	0.020	10.53	0.40
	3	60	0.270	0.025	9.26	0.50

Tabla 7: Extracciones por método de ultrasonido

Ultrasonido						
Experimento	Repetición	T / °C	m _{extracto} / g	m _{perezona} / g	% _{en extracto}	% _{en raíz}
US6030	1	60	0.280	0.030	10.71	0.6
	2	60	0.230	0.030	13.04	0.6
	3	60	0.210	0.025	11.90	0.5
US6060	1	60	0.280	0.040	14.29	0.8
	2	60	0.240	0.035	14.58	0.7
	3	60	0.230	0.035	15.22	0.7

6.1 Análisis estadístico de los datos de las extracciones.

Para determinar cuál o cuáles métodos presentan mayor efectividad para extraer perezona, se realizó la prueba de Tukey, la cual compara pares de medias de valores obtenidos grupalmente para establecer qué medias tienen una diferencia significativa con respecto a las demás. Esta prueba se puede realizar a datos que han tenido un tratamiento estadístico previo como una prueba de hipótesis (H_0 vs. H_1) o un ANOVA (análisis de varianza, en inglés), o bien, a datos crudos⁵⁹.

De este modo, la prueba de Tukey declara dos medias significativamente diferentes si la diferencia absoluta entre ellas excede un valor crítico determinado, el cual se conoce como diferencia honesta significativa (HSD, en inglés) (2).

$$HSD = q_{\alpha}(t, \nu)SE_{\bar{x}} \quad (2)$$

Donde:

HSD = valor crítico o HSD

q_{α} = valor crítico del rango estudentizado según el nivel de significancia (α)

t = número de tratamientos

ν = grados de libertad del error ($t - 1$)

$SE_{\bar{x}}$ = error estándar

Entonces según (2), se puede decir que la prueba de Tukey es positiva si:

$$HSD < |S_{\bar{y}_i}| \quad (3)$$

Donde:

$S_{\bar{y}_i}$ = diferencia entre pares de medias seleccionadas

Concerniente a este trabajo, la prueba de Tukey se realizó a datos crudos, que son los valores promedio del porcentaje de la masa de perezona extraída por recristalización, con respecto a

la masa de raíz de *Acourtia cordata* como del extracto *n*-hexánico, por los distintos métodos, para determinar qué valores medios de cantidad de perezona extraída por los distintos métodos de activación son significativamente diferentes de los demás.

El procedimiento fue el siguiente:

1) Cálculo del error estándar ($SE_{\bar{x}}$)

El primer paso para efectuar dicha prueba es calcular el error estándar, el cual se define como la desviación estándar de la población de valores de una estadística muestral en un muestreo repetido o su estimación, y sirve para medir el error aleatorio en un estadístico informado⁶⁰.

Este cálculo se realiza mediante (4):

$$SE_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (4)$$

Donde:

s = desviación estándar

n = individuos

Los valores obtenidos para cada caso, masa de raíz y masa de extracto hexánico en bruto, en donde $n = 27$ se expresan en la **Tabla 8**:

Tabla 8: Desviaciones estándar

	s	$SE_{\bar{x}}$
% <i>en raíz</i>	0.1728	0.0333
% <i>en extracto</i>	2.5729	0.4952

2) Obtención de la diferencia significativa honesta (*HSD*)

Ya obtenido el valor del error estándar, ahora se calcula el valor crítico contra el que se comparará las diferencias de pares de medias, esto se hace mediante la multiplicación del error estándar por el valor del rango estudentizado, en este caso con respecto a un nivel de significancia, $\alpha = 0.05$. Este valor se obtiene de las tablas de calor de rango estudentizado que están contenidas en la parte final de la mayoría de los libros de estadística y diseño de

experimentos. Las variables t y v son 27 y 26, por lo que el valor de $q_{0.05}(27, 26)$ es 5.82, por lo que el valor de HSD para cada caso se expresa en la **Tabla 9**:

Tabla 9: Diferencias significativas honestas

HSD	
%en raíz	0.1935
%en extracto	2.8818

3) Cálculo de las diferencias absolutas de parejas de medias de tratamiento ($|S_{\bar{y}_i}|$)

Se organizan por pares las medias de tratamiento y se resta una a la otra, como se observa en las **Tablas 10 y 11**:

Tabla 10: Diferencias absolutas de parejas de medias de tratamiento con respecto a la masa de raíz

RAÍZ	Exp.	T18060	IRSC	IRCS1	IRCS2	MO10050	MO3050	MO10060	US6030	US6060
Exp.	\bar{y}	0.47	0.50	0.50	0.83	0.33	0.37	0.47	0.57	0.73
T18060	0.47	0.00	0.003	0.03	0.36	0.14	0.10	0.00	0.10	0.26
IRSC	0.50		0.00	0.00	0.33	0.17	0.13	0.03	0.07	0.23
IRCS1	0.50			0.00	0.33	0.17	0.13	0.03	0.07	0.23
IRCS2	0.83				0.00	0.50	0.46	0.36	0.26	0.10
MO10050	0.33					0.00	0.04	0.14	0.24	0.40
MO3050	0.37						0.00	0.10	0.20	0.36
MO10060	0.47							0.00	0.10	0.26
US6030	0.57								0.00	0.16
US6060	0.73									0.00

Tabla 11: Diferencias absolutas de parejas de medias de tratamiento con respecto a la masa de extracto

EXTRACTO	Exp.	T18060	IRSC	IRCS1	IRCS2	MO10050	MO3050	MO10060	US6030	US6060
Exp.	\bar{y}	9.38	11.66	9.81	14.27	8.03	9.04	8.91	11.89	14.70
T18060	9.38	0.00	2.28	0.43	4.89	1.35	0.34	0.47	2.51	5.32
IRSC	11.66		0.00	1.85	2.61	3.63	2.62	2.75	0.23	3.04
IRCS1	9.81			0.00	4.46	1.78	0.77	0.90	2.08	4.89
IRCS2	14.27				0.00	6.24	5.23	5.36	2.38	0.43
MO10050	8.03					0.00	1.01	0.88	3.86	6.67
MO3050	9.04						0.00	0.13	2.85	5.66
MO10060	8.91							0.00	2.98	5.79
US6030	11.89								0.00	2.81
US6060	14.70									0.00

4) Declaración de la diferencia significativa entre los pares de medias

Ya obtenidos estos valores, entonces se comparan las diferencias absolutas entre las medias de tratamiento y se comparan con el valor crítico obtenido por la *HSD*, resaltando aquellos pares que son mayores.

El método que tenga más diferencias significativas, además de presentar valores medios más altos, será declarado como el más efectivo. En las **Tablas 12 y 13** se resaltan en rojo las diferencias mayores a la *HSD* y en verde aquellos que son menores.

Tabla 12: Declaración de la diferencia significativa entre los pares de medias con respecto a la masa de raíz

RAÍZ	Exp.	T18060	IRSC	IRCS1	IRCS2	MO10050	MO3050	MO10060	US6030	US6060
Exp.	\bar{y}	0.47	0.50	0.50	0.83	0.33	0.37	0.47	0.57	0.73
T18060	0.47	0.00	0.003	0.03	0.36	0.14	0.10	0.00	0.10	0.26
IRSC	0.50		0.00	0.00	0.33	0.17	0.13	0.03	0.07	0.23
IRCS1	0.50			0.00	0.33	0.17	0.13	0.03	0.07	0.23
IRCS2	0.83				0.00	0.50	0.46	0.36	0.26	0.10
MO10050	0.33					0.00	0.04	0.14	0.24	0.40
MO3050	0.37						0.00	0.10	0.20	0.36
MO10060	0.47							0.00	0.10	0.26
US6030	0.57								0.00	0.16
US6060	0.73									0.00

Tabla 13: Declaración de la diferencia significativa entre los pares de medias con respecto a la masa de extracto

EXTRACTO	Exp.	T18060	IRSC	IRCS1	IRCS2	MO10050	MO3050	MO10060	US6030	US6060
Exp.	\bar{y}	9.38	11.66	9.81	14.27	8.03	9.04	8.91	11.89	14.70
T18060	9.38	0.00	2.28	0.43	4.89	1.35	0.34	0.47	2.51	5.32
IRSC	11.66		0.00	1.85	2.61	3.63	2.62	2.75	0.23	3.04
IRCS1	9.81			0.00	4.46	1.78	0.77	0.90	2.08	4.89
IRCS2	14.27				0.00	6.24	5.23	5.36	2.38	0.43
MO10050	8.03					0.00	1.01	0.88	3.86	6.67
MO3050	9.04						0.00	0.13	2.85	5.66
MO10060	8.91							0.00	2.98	5.79
US6030	11.89								0.00	2.81
US6060	14.70									0.00

Entonces, el número de diferencias significativas por tratamiento es el siguiente, expresado para cada caso en la **Tabla 14**:

Se puede observar que los experimentos **IRCS2** y **US6060**, además de presentar medias más altas de extracción, también son los que más diferencias significativas tienen con el resto de la media, por lo que se puede definir que son los que más perezona extraen de la raíz.

En cuanto a selectividad, el experimento **US6060** es el más efectivo, pues tiene más diferencias significativas con respecto a los demás en la masa de perezona comparada con la masa del extracto bruto. El resumen de las medias se puede observar en el **Gráfico 1**, en el que se observa que los experimentos de ultrasonido e infrarrojo tienen rendimientos competitivos.

Tabla 14: Resumen de las diferencias significativas por grupo de extracción

Experimento	# De diferencias significativas	
	Raíz	Extracto
IRSC	2	2
IRCS1	3	2
IRCS2	7	5
MO10050	3	4
MO3050	2	2
MO10060	2	3
US6030	3	3
US6060	6	6
T18060	2	2

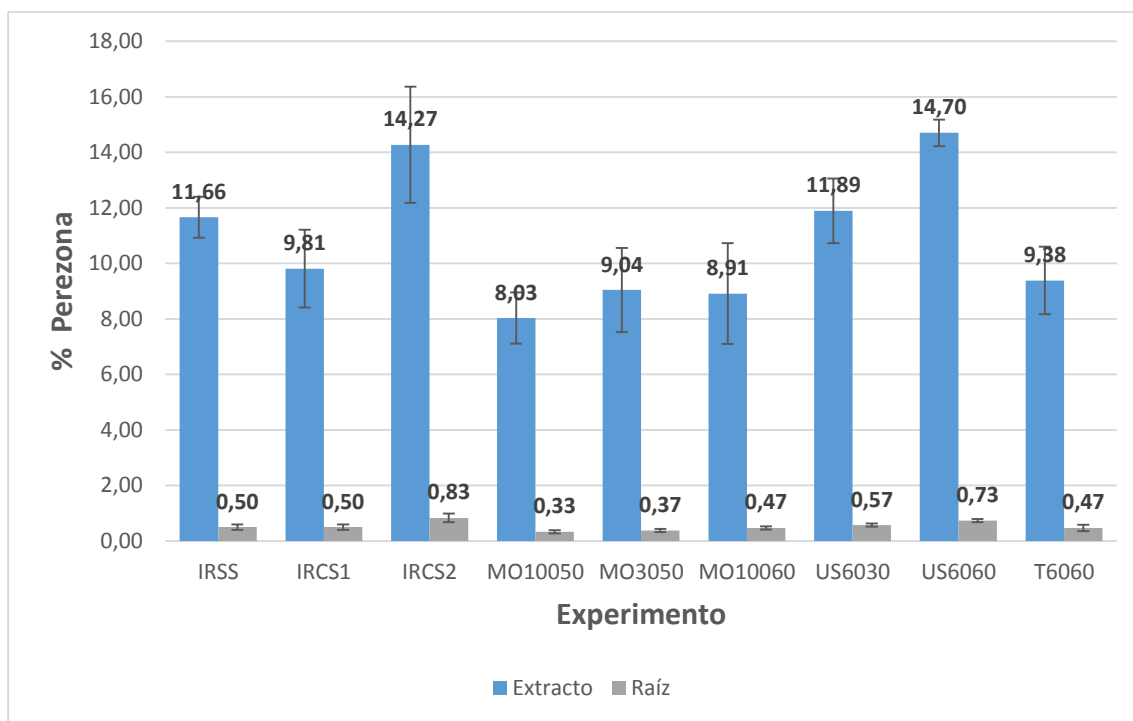


Gráfico 1: Promedios y desviaciones estándar por grupo de extracción con respecto a masas de raíz y de extracto

6.2 Discusión de los resultados experimentales.

Los métodos de irradiación de infrarrojo y de ultrasonido se ha observado que son los que dan los mejores resultados en la extracción de perezona.

En el caso del infrarrojo, esto se puede explicar porque las vibraciones de los enlaces carbono-hidrógeno se presentan en el *n*-hexano (disolvente) y la perezona (solute) y otros compuestos similares encontrados en la raíz de la *A. cordata*, haciendo selectiva su disolución, en lugar de cualquier otro compuesto de naturaleza distinta que se pudiera encontrar presente.

Como se observa en el espectro de infrarrojo del *n*-hexano (**Figura 16**), las vibraciones C-H del *n*-hexano se dan en la región cercana a los 3000 cm^{-1} , al igual que los correspondientes a la perezona (**Figura 17**), en su porción de cadena hidrocarbonada. Tomando en cuenta además la máxima ‘*similia similibus solvuntur*’ (similar disuelve lo similar) y sabiendo que el *n*-hexano y la parte hidrocarbonada de la perezona son similares estructuralmente, entonces

se puede proponer que, bajo las condiciones de irradiación de infrarrojo, éste fenómeno además se acrecienta.

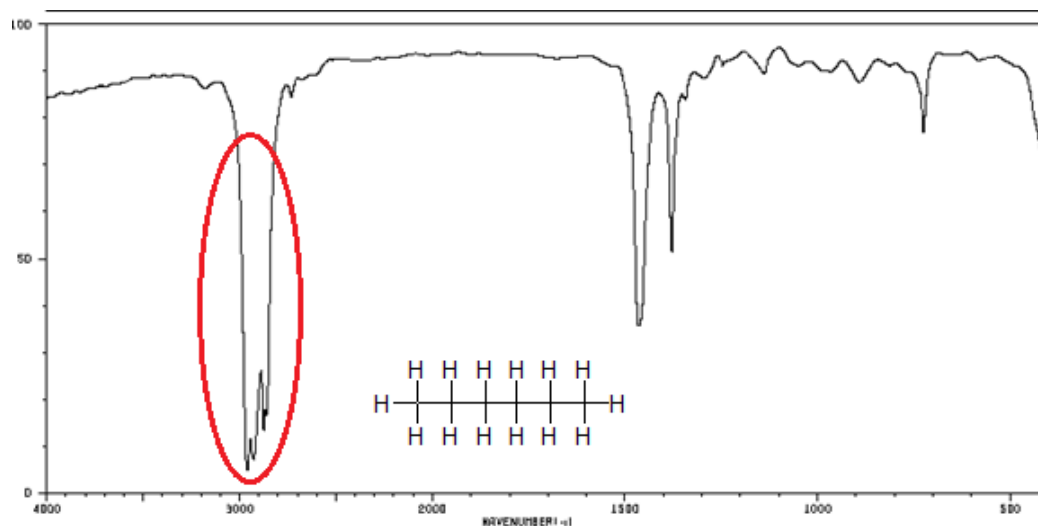


Figura 16: Espectro de infrarrojo, señalando la banda correspondiente al estiramiento C-H alifático

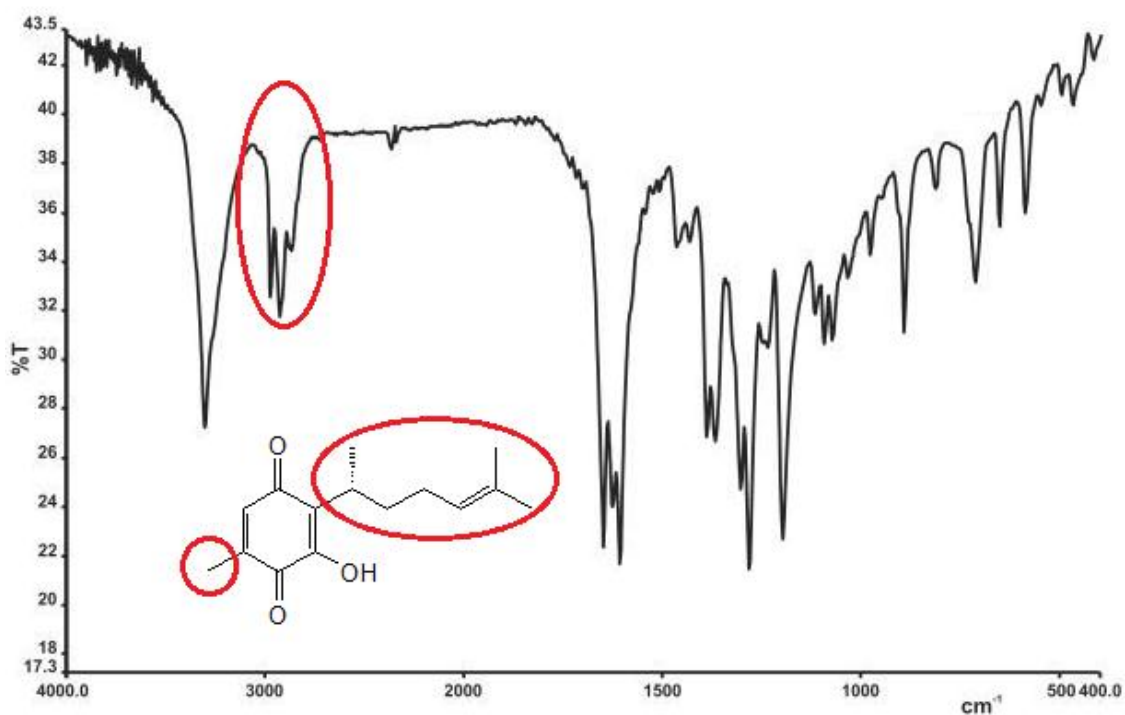


Figura 17: Espectro de infrarrojo de la perezona, resaltando las bandas correspondientes a los estiramientos C-H de la porción de sus cadenas alifáticas laterales

En lo que respecta a las extracciones por medio de ultrasonido, está reportado que esta energía de activación aumenta los rendimientos en la extracción de productos naturales, sin embargo, su mecanismo de acción es distinto a la irradiación de infrarrojo, pues al someter a ultrasonido a la mezcla de extracción, tendrá lugar el fenómeno llamado cavitación (**Figura 18**).

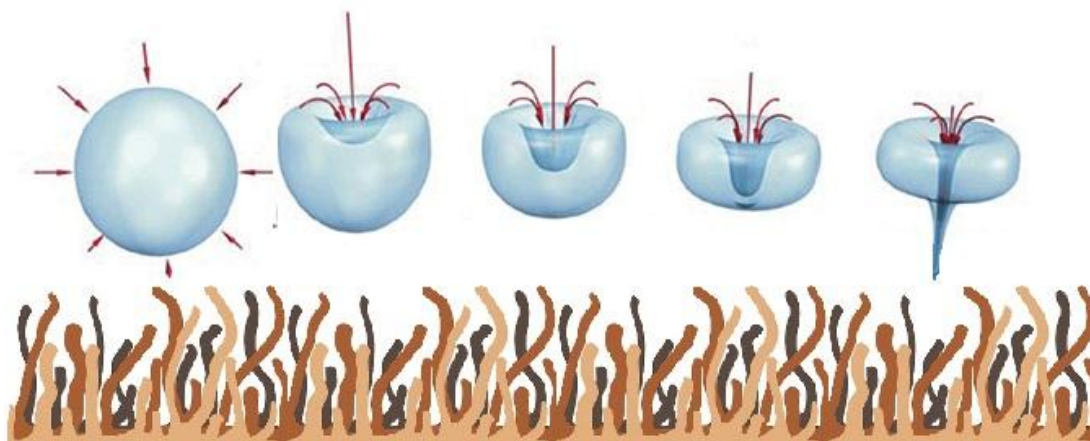


Figura 18: Fenómeno de cavitación, impacto de las burbujas de disolvente contra la superficie de la matriz biológica

En éste, se forman burbujas en el seno del disolvente que se utiliza, y cuando llegan a la superficie de la matriz biológica de donde se extraerá el producto natural, se colapsarán y de este modo transmitirán la energía de las ondas de ultrasonido a los tejidos en los que se encuentra el o los metabolitos secundarios de interés, colapsándolos y finalmente liberando al seno del disolvente dichas sustancias.

Con respecto a las extracciones con microondas, éstas no se observaron exitosas, pues su rendimiento fue el más bajo, tanto con respecto a masa de raíz como a masa de extracto, es decir, no fueron efectivas ni específicas. Esto se puede explicar con base en la polaridad del *n*-hexano, el cual es transparente a la radiación de microondas, al no tener dipolos en su estructura, tal y como se observa en el siguiente mapa de potenciales electrostáticos (**Figura 19**), en los cuales las regiones con mayor densidad electrónica están coloreadas de rojo

(cargas parciales negativas), mientras las que concentran menos densidad electrónica son de color azul (cargas parciales positivas):

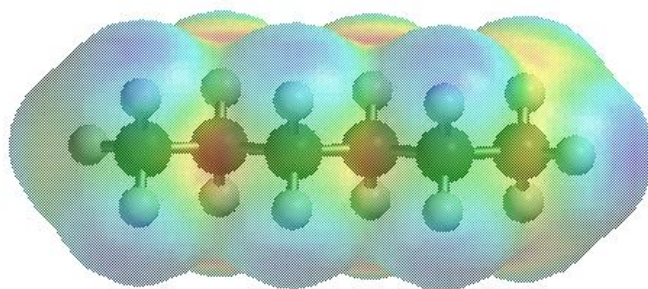


Figura 19: Mapa de potenciales electrostáticos del n-hexano

Por ello, su respuesta es nula ante las microondas, como se observa en el siguiente diagrama que ilustra la respuesta de los dipolos inducidos ante el campo eléctrico de las microondas (**Figura 20**):

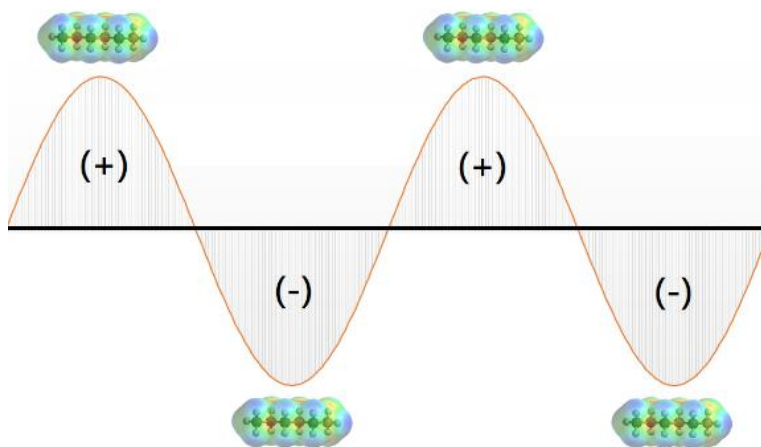


Figura 20: Diagrama de respuesta del n-hexano ante el campo eléctrico de las microondas

Mientras que, aunque como se observa en su mapa de potenciales electrostáticos (**Figura 21**), la perezona es parcialmente polar, dado que contiene porciones que concentran más densidad electrónica, como por ejemplo los oxígenos pertenecientes a los carbonilos de las quinonas y de su grupo oxhidrilo, así como porciones electrodeficientes, como el protón del hidroxilo. Por esto, su respuesta ante el campo eléctrico de las microondas (**Figura 22**) no es

suficiente para provocar una excitación molecular que le permita ser liberada de su matriz biológica.

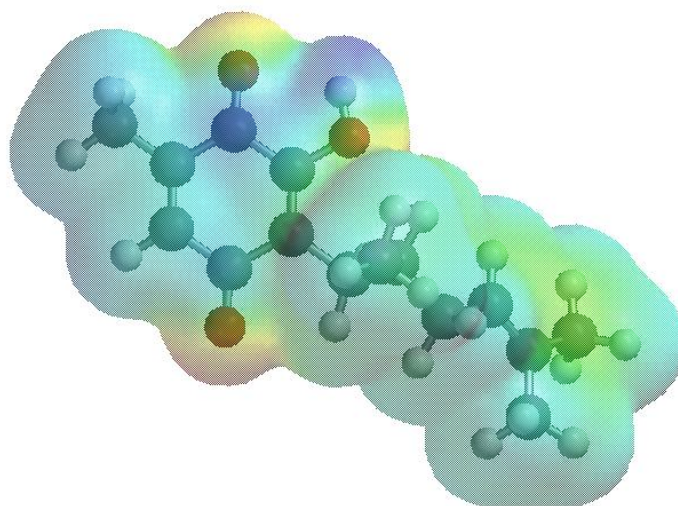


Figura 21: Mapa de potenciales electrostáticos de la perezona

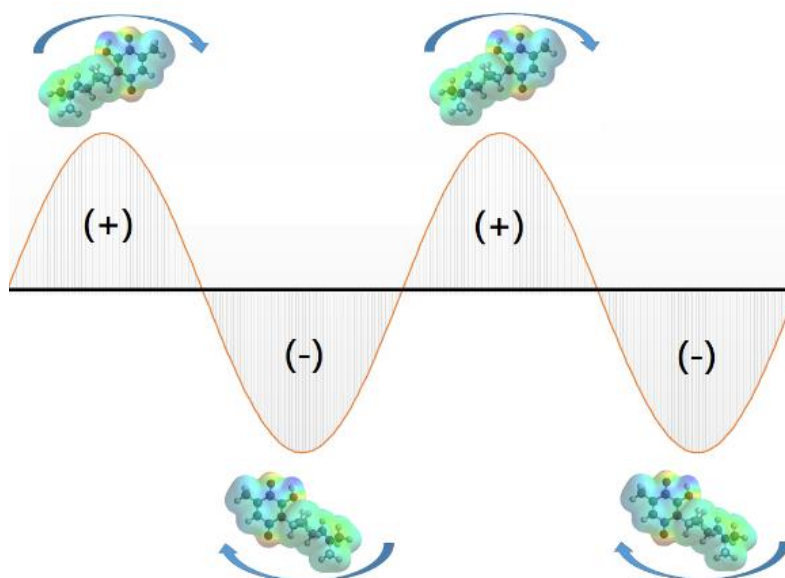


Figura 22: Diagrama de respuesta de la perezona ante el campo eléctrico de las microondas

Con la información anterior se puede entonces deducir que los resultados obtenidos se esperarían de esa manera, pues los rendimientos en la extracción por microondas son afectados tanto por la polaridad del disolvente empleado como la correspondiente a la sustancia de interés, mientras que a las radiaciones de infrarrojo ni ultrasonido, dicho carácter

no les afectaría de manera perceptible, pues de hecho los porcentajes de extracción, como se puede observar en el **Gráfico 1**, como ya se mencionó anteriormente, son similares y competitivos en los métodos de infrarrojo y ultrasonido, siendo parcialmente más consistentes en ultrasonido, ya que tienen una dispersión menor que los obtenidos mediante infrarrojo.

6.3 Comparación de resultados de métodos alternativos vs método clásico.

En este trabajo se ha establecido y comparado la efectividad de cada método de extracción, sin embargo, el objetivo más importante es resaltar las ventajas de los métodos alternativos con respecto al método térmico convencional, dado que se busca incidir en el principio 6 de la química verde, el cual hace hincapié en la eficientización del consumo energético.

Como se ha observado, las energías de irradiación de infrarrojo, microondas y ultrasonido han permitido importantes avances en la síntesis orgánica, pues su uso ha logrado abatir los tiempos de reacción que normalmente se usarían con el método convencional térmico, además de aumentar rendimientos, así como lograr utilizar reactivos y condiciones de reacción menos drásticos y peligrosos. A su vez, el uso y alcance de estas energías y métodos alternos ha sido extendido a la extracción de los principios naturales, presentando también por lo regular mejoras con respecto a los métodos térmicos, que también han sido utilizados por mucho tiempo y son los más difundidos.

Puesto que lo que se busca evidenciar es la ventaja energética de estos métodos, se compara ahora entonces el consumo que cada uno necesita, el cual se expresa en la **Tabla 15**.

El requerimiento energético para cada aparato utilizado, es el reportado en la etiqueta del mismo, el cual está reportado en $W h^{-1}$. El cálculo del consumo en cada experimento se realiza simplemente multiplicando el tiempo de uso por el requerimiento, quedando entonces en Joules la unidad de energía utilizada, simplificando finalmente a KJ. Cabe señalar que en el método de infrarrojo, la irradiación no es continua como con el resto de los métodos, ya que el equipo ejerce ciclos de irradiación de aproximadamente 90 segundos, siendo 30 segundos, es decir la tercera parte del ciclo siendo el tiempo efectivo de irradiación.

Tabla 15: Consumo energético para cada experimento

Método	Experimento	Requerimiento energético / W h ⁻¹	Tiempo de empleo / h	Consumo energético / KJ
Térmico	T18060	152	3	0.456
Infrarrojo	IRSS	1300	0.17	0.217
	IRCS1		0.08	0.108
	IRCS2		0.17	0.217
Microondas	MO3050	30	0.0583	1.749 x10 ⁻³
	MO10050	100	0.0833	8.33 x10 ⁻³
	MO10060	100	0.1667	1.667 x10 ⁻²
Ultrasonido	US6030	160	0.5	0.080
	US6060		1	0.160

Se puede observar que si bien los experimentos realizados con microondas son los que menor consumo energético necesitan, también fueron los que menor efectividad tuvieron para extraer perezona, sin embargo, con respecto a los experimentos de irradiación con infrarrojo y de ultrasonido, a pesar que tuvieron rendimientos similares, se considera que los de ultrasonido, en específico **US6060**, requieren menor energía y tienen mayor rendimiento que todos los de infrarrojo, dado que el experimento que mejor desempeño presentó en infrarrojo (**IRCS2**) tuvo un consumo de 0.217 KJ, mientras que **US6060** tuvo un consumo de 0.160 KJ es decir, 1.35 veces menos.

Esto no representa un ahorro energético significativo, sin embargo, éste ahorro sí es importante si se le compara también con el requerimiento del método térmico convencional **T18060**, que tuvo un consumo de 0.456 KJ, es decir 2.85 veces más que **US6060**.

Cabe señalar que aunque el empleo de ultrasonido emplea menos energía que el infrarrojo, los equipos de ultrasonido representan algunas ventajas técnicas evidentes, como por ejemplo un desgaste más pronunciado de sus partes mecánicas, ya que al igual que la materia prima a tratar, éstas se encuentran sometidas a vibraciones de alta frecuencia, presentando un tiempo de vida útil menor que por ejemplo una lámpara de infrarrojo. Se puede decir entonces que la aplicación de irradiación de infrarrojo y de ultrasonido para la extracción de perezona tiene una eficiencia comparable entre sí y a la vez ambas son más eficientes que los métodos de activación térmica convencional y microondas.

6.4 Análisis de datos espectroscópicos

En la serie de extractos obtenidos, se identificó la presencia de perezona, al realizarles estudios de resonancia magnética nuclear protónica (^1H , vg **Espectro 1**) y de carbono-13 (^{13}C , vg **Espectro 2**), y correlacionando los datos de RMN ^1H y ^{13}C de los crudos de extracción con los de la perezona (^1H -**Espectro 3** y ^{13}C -**Espectro 4**).

Asimismo, se infirió la presencia de un éster de hidroxiperezona, así como un éster de perezona según los datos consultados en la literatura⁶², en este caso referenciada la especie vegetal estudiada como *Perezia hebeclada*. Los principales candidatos de ácidos carboxílicos que se consideraron inicialmente fueron isovalérico, angélico o bien su isómero geométrico, el tíglico, los cuales se encuentran reportados en especies del género *Acourtia*⁵⁶.

Así, del crudo de extracción fueron aislados y purificados además de la perezona, tres compuestos: un aceite rojo (compuesto A), un aceite amarillo (compuesto B) y un sólido cristalino de color naranja con punto de fusión de 124 °C (compuesto C), los cuales fueron posteriormente identificados mediante espectrometría de masas y espectroscopia de RMN ^1H y ^{13}C , y se describen a continuación.

6.4.1 Espectrometría de masas

Compuesto A, **Espectro 5**: muestra picos relevantes en los valores de m/z 346, 264, 247, 182, 83, 55 y 41. El pico m/z 346 corresponde al ion molecular de un mono éster de hidroxiperezona (angélico o tíglico).

Compuesto B, **Espectro 6**: los picos más relevantes fueron m/z 330, 248, 166, 83, 55 y 41. El ion m/z 330 es consistente con el ion molecular de la perezona esterificada con ácido angélico o tíglico. Para este se le realizó un estudio de alta resolución, resultando: congruente para una composición elemental $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_4$ (**Tabla 16**) y con la correlación de una masa calculada de 330.4180 umas y una masa observada de 330.4176 umas, avalados con un error de 1.3 ppm.

Tabla 16: Datos de alta resolución del pico m/z 330

Masa observada	Abundancia relativa (%)	Masa calculada	Error (ppm)	Fórmula	Número de insaturaciones
330.4176	3.35	330.4180	1.3	$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_4$	6

Compuesto C, **Espectro 7**: se presentan picos importantes m/z 264, 182, 55 y 41, entre los cuales m/z 264 es coincidente con el ion molecular de hidroxiperezona. Con respecto al estudio de alta resolución del pico m/z 264, la composición elemental corresponde a $C_{15}H_{20}O_4$ (**Tabla 17**), considerando una masa calculada de 264.1362 umas, correlacionada con una masa observada de 264.1342 umas avalado con un error de 7.2 ppm.

Tabla 17: Datos de alta resolución del pico m/z 264

Masa observada	Abundancia relativa (%)	Masa calculada	Error (ppm)	Fórmula posible	Número de insaturaciones
264.1342	44.47	264.1362	7.2	$C_{15}H_{20}O_4$	5

6.4.2 Resonancia magnética nuclear de 1H y ^{13}C

Para realizar las concordancias en las asignaciones de señales tanto en 1H como en ^{13}C se utilizó la numeración de átomos de la **Figura 23**:

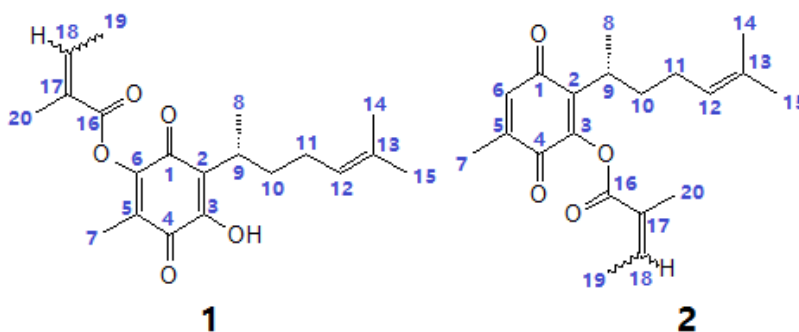


Figura 23: Numeración de los átomos de carbono para derivados de hidroxiperezona (1) y perezona (2)

A su vez, el ácido angélico y el ácido tíglico se numeraron como se muestra en la **Figura 24**:



Ácido (Z)-2-metilbut-2-enoico o ácido angélico

Ácido (E)-2-metilbut-2-enoico o ácido tíglico

Figura 24: Numeración de los átomos de carbono para ácido angélico y ácido tíglico

Se considera importante resaltar que, por estrategia, los carbonos 1, 2, 3, 4 y 5 de los ácidos libres son correlacionados con los carbonos 16, 17, 18, 19 y 20 de los ésteres.

Compuesto A

En la **Tabla 18** se presentan los desplazamientos químicos del compuesto A, obtenidos de su espectro de RMN ^1H (**Espectro 10**), que correlacionan adecuadamente con el **Espectro 8**, identificado como hidroxiperezona en la literatura⁶²:

Tabla 18: Correlación de los desplazamientos químicos de RMN ^1H de la porción del anillo quinónico del compuesto A correlacionados con los de la hidroxiperezona

Protón	Hidroxiperezona	Compuesto A
H-7	2.04, s	2.04, s
H-8	1.06, d	1.07, d
H-9	3.02, m	3.03, m
H-10	1.68, m	1.64, m
H-11	1.89, m	1.94, m
H-12	5.03, t	5.03, t
H-14	1.63, s	1.64, s
H-15	1.52, s	1.53, s
-OH	7.16, s	7.14, s

También se realizó una correlación entre los datos de los espectros de ^{13}C de hidroxiperezona (**Espectro 9**) y el compuesto A (**Espectro 11**), los cuales se presentan de forma resumida en la **Tabla 19**:

Tabla 19: Correlación de los desplazamientos químicos de RMN ^{13}C de la porción del anillo quinónico de hidroxiperezona y el compuesto A

Carbono	δ (ppm)	
	Hidroxiperezona	Compuesto A
C-1	183.55	180.51
C-2	124.45	124.34
C-3	143.16	143.47
C-4	184.33	183.91
C-5	144.63	142.62
C-6	136.03	133.00
C-7	16.39	14.40
C-8	29.89	26.45
C-9	18.56	18.58
C-10	34.47	34.09
C-11	26.83	26.36
C-12	124.40	123.98

C-13	131.20	131.49
C-14	22.77	22.36
C-15	17.59	17.62

Se observa que los desplazamientos químicos de la hidroxiperezona son consistentes a los del compuesto A, por lo que se puede entonces afirmar que el compuesto A es un éster de hidroxiperezona.

A su vez, con base en los desplazamientos químicos de ^1H de los ácidos angélicos y tíglico obtenidos de la literatura⁶¹, y con la numeración de la **Figura 23** se correlacionaron igualmente los protones del residuo de ácido esterificado (**Espectro 10**), presentados de manera resumida en la **Tabla 20**:

Tabla 20: Correlación de los desplazamientos químicos de ^1H del ácido angélico y del ácido tíglico con los del compuesto A

δ (ppm)				
Protón	Ácido angélico	Ácido tíglico	Protón	Compuesto A
H-3	6.23	6.96	H-18	6.33
H-4	2.05	1.76	H-19	2.05
H-5	1.92	1.79	H-20	1.90

Complementariamente, se correlacionaron los datos de desplazamientos químicos de ^{13}C de los ácidos angélico y tíglico obtenidos de la literatura⁶¹ con respecto al espectro de ^{13}C del compuesto A (**Espectro 11**), como se presenta en la **Tabla 21**:

Tabla 21: Correlación de los desplazamientos químicos de ^{13}C del ácido angélico y del ácido tíglico con los del compuesto A

δ (ppm)				
Carbono	Ácido angélico	Ácido tíglico	Carbono	Compuesto A
C-1	173.96	174.48	C-16	170.24
C-2	127.33	127.98	C-17	125.99
C-3	140.87	139.36	C-18	139.72
C-4	15.93	13.83	C-19	15.96
C-5	20.22	10.95	C-20	20.45

En conclusión, los valores de desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C del compuesto A correlacionan apropiadamente con los del ácido angélico y por ende, se identifica al compuesto A como monoangelato de hidroxiperezona⁵⁶.

Compuesto B

Análogamente se identificó al compuesto B, correlacionando:

- a) Los datos obtenidos de su espectro de RMN ^1H (**Espectro 12**) con los de la perezona (**Espectro 3**), tal y como se representa en la **Tabla 22**:

Tabla 22: Correlación de desplazamientos químicos de RMN ^1H de la porción del anillo quinónico de perezona con los del compuesto B

δ (ppm)		
Protón	Perezona	Compuesto B
H-6	6.47, s	6.56, s
H-7	2.06, s	2.05, s
H-8	1.06, d	1.08, d
H-9	3.03, m	2.99, m
H-10	1.69, m	1.63, m
H-11	1.89, m	1.92, m
H-12	5.04, t	5.02, t
H-14	1.64, s	1.63, s
H-15	1.53, s	1.53, s
-OH	7.21, s	-

- b) Se presentan en la **Tabla 23** la correlación de los valores de desplazamiento químico de ^{13}C de la perezona de la literatura⁶² (**Espectro 2**) con respecto a los obtenidos del compuesto B (**Espectro 13**):

Tabla 23: Correlación de los desplazamientos químicos de RMN ^{13}C de la porción del anillo quinónico de perezona con los del compuesto B

δ (ppm)		
Carbono	Perezona	Compuesto B
C-1	194.01	180.72
C-2	124.44	124.03
C-3	144.63	143.76
C-4	203.97	186.87
C-5	143.47	142.43
C-6	135.84	134.11
C-7	14.86	15.27
C-8	29.29	26.55
C-9	18.21	18.63
C-10	34.08	34.68
C-11	26.44	25.69
C-12	124.43	124.02
C-13	127.39	131.97

C-14	22.34	22.41
C-15	17.59	17.67

- c) Los valores de desplazamiento químico del compuesto B tanto de ^1H como de ^{13}C correlacionados con los de perezona coinciden apropiadamente, por lo que se puede afirmar que el compuesto B es un éster de perezona, cuyo residuo de ácido se determinó correlacionando sus valores de desplazamiento químico de ^1H (**Espectro 12**) comparados con los correspondientes a los protones de los ácidos angélico y tíglico obtenidos de la literatura⁶¹, lo que se muestra en la **Tabla 24**:

Tabla 24: Correlación de desplazamientos químicos de ^1H del ácido angélico y del ácido tíglico con los del compuesto B

δ (ppm)				
Protón	Ácido angélico	Ácido tíglico	Protón	Compuesto B
H-3	6.23	6.96	H-18	6.35
H-4	2.05	1.76	H-19	2.06
H-5	1.92	1.79	H-20	2.03

- d) Los datos de desplazamientos químicos de ^{13}C del compuesto B (**Espectro 13**) se correlacionaron con los de la literatura⁶¹ para ácido angélico y tíglico, información vertida en la **Tabla 25**:

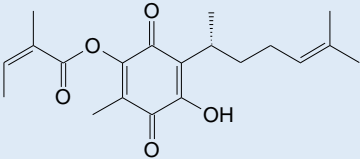
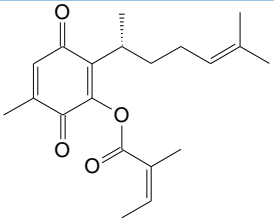
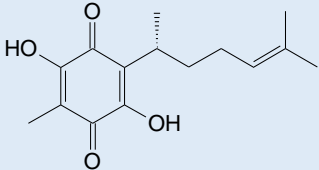
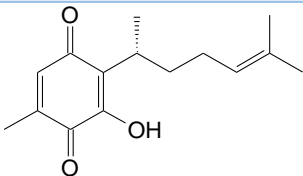
Tabla 25: Correlación de los desplazamientos químicos de ^{13}C del ácido angélico y del ácido tíglico con los del compuesto B

δ (ppm)				
Carbono	Ácido angélico	Ácido tíglico	Carbono	Compuesto B
C-1	173.96	174.48	C-16	170.16
C-2	127.33	127.98	C-17	126.08
C-3	140.87	139.36	C-18	139.92
C-4	15.93	13.83	C-19	15.98
C-5	20.22	10.95	C-20	20.50

En consecuencia, se puede concluir que como consecuencia de los desplazamientos químicos observados en el residuo de ácido carboxílico presentan alta concordancia con los del ácido angélico, por lo que el compuesto A inequívocamente es angelato de perezona.

A continuación, en la **Tabla 26**, se presentan los compuestos obtenidos durante las extracciones: estructuras, características físicas, porcentajes promedios.

Tabla 26: Resumen de los compuestos extraídos e identificados

Compuesto	Características físicas	Punto de fusión (°C)	Estructura	% en extr.
Monoangelato de hidroxiperezona	Aceite viscoso de color rojo	N. A.		50
Angelato de perezona	Aceite viscoso de color amarillo	N.A.		25
Hidroxiperezona	Sólido cristalino de color naranja	124-125		10
Perezona	Sólido cristalino de color amarillo	103-104		10

7. Conclusiones.

- a) Se logró extraer perezona de las raíces de *Acourtia cordata* por medio de fuentes de activación alternas al calentamiento térmico convencional y se demostró la efectividad y selectividad de la radiación de infrarrojo y de ultrasonido, mientras que las microondas no fueron útiles.
- b) El menor consumo energético fue representado por el uso el ultrasonido, lo que incide en el principio 6 de la química verde el cual versa acerca de la eficiencia energética.
- c) Así mismo, se consiguió identificar otras tres quinonas sesquiterpénicas que se encontraron en el extracto de raíz en una proporción mucho mayor que la perezona (10%): la hidroxiperezona (10%), el monoangelato de hidroxiperezona (50%) y el angelato de perezona (25%), las cuales se sabe según la literatura, se encuentran en las raíces de diversas especies del género *Acourtia*.
- d) Se logró establecer un precedente a futuras metodologías de trabajo experimental en la extracción de productos naturales, las cuales se encuentren dentro del marco de la química verde.
- e) El presente trabajo logra así la premisa de utilizar efectivamente las energías alternas para extraer sustancias que puedan servir como posibles principios activos con actividad farmacológica para tratar diversas condiciones patológicas en humanos o animales.
- f) Proponer el uso de energías alternas para procesos industriales que la requieran, para lograr un impacto ecológico menor de éstos.
- g) Explorar asimismo nuevas opciones alternas de extracción de perezona como la triboquímica o la tecnología de reactores de flujo continuo.
- h) Las moléculas aisladas además de la perezona se estudiarán más a fondo para establecer nuevas familias de posibles sustancias que puedan convertirse en fármacos con actividad, la cual está aún por determinar.

Referencias.

1. Shah, N. B.; Seth, A. K. (2010). *Textbook of Pharmacognosy and Phytochemistry*. New Delhi, India: Elsevier.
2. Newman, D. J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M. (2000). The influence of natural products upon drugdiscovery. *Natural Product Reports*, 17, 215-234.
3. Cragg, G. M.; Newman, D. J.; Snader, K. M. (1997). Natural Products in Drug Discovery and Development. *Journal of Natural Products*, 60, 52-60.
4. Cavalcanti, R. N.; Forster-Carneiro, T.; Gomes, M. T. M. S.; Rostagno, M. A.; Prado, J. M.; Meireles, M. A. A. (Autores); Mauricio A. Rostagno and Juliana M. Prado (Editores) (2013). *Natural Product Extraction: Principles and Applications, Chapter 1: Uses and Applications of Extracts from Natural Sources. RSC Green Chemistry Series No. 21*. Dorchester, Reino Unido: RSC Publishing.
5. Chemat, F.; Strube, J. (2015). *Green Extraction of Natural Products: Theory and Practice*. Weinheim, Alemania: Wiley-VCH Verlag.
6. Abert-Vian, M.; Chemat, F. (2014). *Alternative Solvents for Natural Products Extraction*. Berlin, Alemania: Springer Heidelberg.
7. Anastas, P. T.; Warner, J. C. (1998). *Green Chemistry: Theory and Practice*. New York, Estados Unidos: Oxford University Press.
8. Marteel-Parrish, A. E.; Abraham, M. A. (2013). *Green Chemistry and Engineering: A Pathway to Sustainability*. New Jersey, Estados Unidos: John Wiley & Sons.
9. Escobedo, R.; Miranda, R. y Martinez J. (2016). Infrared irradiation: Toward green chemistry, a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 453-479.
10. Tierney, J. P.; Lidström, P. (2005). *Microwave assisted organic synthesis*. Boca Raton, Estados Unidos de América: CRC Press.
11. Mason, T. J.; Lorimer, J. P. (2002). *Applied Sonochemistry: Uses of Power Ultrasound in Chemistry and Processing*. Weinheim, Alemania: Wiley-VCH Verlag.
12. Butcher, G. (2010). *Tour of the Electromagnetic Spectrum*. National Aeronautics and Space Administration (NASA). Estados Unidos.
13. Shirsath, S. R.; Sonawane, S. H.; Gogate, P. R. (2012). Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations—A review of current status. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 53, 10-23.

14. Bilecka, I.; Niederberger, M. (2010). Microwave chemistry for inorganic nanomaterials synthesis. *Nanoscale*, 8, 1358-1374.
15. Thostenson, E. T.; Chow, T. W. (1999). Microwave processing: fundamentals and applications. *Composites: Part A*, 30, 1055-1071.
16. Doble, M.; Kruthiventi, A. K. (2007). *Green Chemistry and Processes*. Burlington, Massachussets, Estados Unidos: Elsevier Academic Press.
17. Chemat, F.; Albert-Vian, M.; Cravotto, G. (2012). Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 8515-8627.
18. Sillanpää, Mika; Pham, T.; Shrestha, R. A. (2011). *Ultrasound Technology in Green Chemistry*. Springer Briefs in Green Chemistry for Sustainability,
19. Esclapez, M. D.; García-Pérez, J. V.; Mulet, A; Cárcel, J. A. (2011). Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products. *Food Engineering Reviews*, 3, 108-120.
20. Mason, T. J.; Chemat, F.; Vinatrou, M. (2011). The Extraction of Natural Products using Ultrasound or Microwaves. *Current Organic Chemistry*, 15, 237-247.
21. Vilku, K.; Mawson, R.; Simons, L.; Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry — A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 161–169
22. James, S. L.; Adams, C. J.; Bolm, C. ; Braga, D.; Collier, P.; Friscic, T.; Grepioni, F.; Harris, K. D. M.; Hyett, G.; Jones, W.; Krebs, A.; Mack, J.; Maini, L. ; Orpen, A. G.; Parkin, I. P.; Shearouse, W. C.; Steed, J. W.; Waddell, D. C. (2012). Mechanochemistry: opportunities for new and cleaner synthesis. *Chemical Society Reviews*, 41, 413–447.
23. Todres, Z. V. (2006). *Organic Mechanochemistry and Its Practical Applications*. Boca Raton, Estados Unidos de América: CRC Press.
24. Bisio, G.; Cartesegna, M., Rubatto, G., Bistolfi, F. (2003). Thermodynamic Analysis of Mechanochemical Processes. *Chemical Engineering Communications*, 190, 177-196.
25. Momose, Y.; Iwashita, M. (2004). Surface analysis of metals using tribostimulated electron emission. *Surface and Interface Analysis*, 36, 1241-1245.
26. Lemonick, S. (2016). *Let's Be Realistic About Mechanochemistry*. 2016, octubre 10, de Forbes. Sitio web: <http://www.forbes.com/sites/samlemonick/2016/07/29/lets-be-realistic-about-mechanochemistry/#597821806056>
27. Lim, X. Z. (2016). *Making Chemistry Greener*. The New York Times, D3.

28. Baig, R. B. N.; Varma, R. S. (2012). Alternative energy input: mechanochemical, microwave and ultrasound-assisted organic synthesis. *Chemical Society Reviews*, 41, 1559–1584.
29. Heintz, A. S.; Gonzales, J. E.; Fink, M. J.; Mitchell, B. S. (2009). Catalyzed self-aldol reaction of valeraldehyde via a mechanochemical method. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 304, 117–120.
30. Trotzki, R.; Hoffmann, M. M.; Ondruschk, B. (2008). Studies on the solvent-free and waste-free Knoevenagel condensation. *Green Chemistry*, 10, 767–772.
31. Li, Y. J.; Cao, Y. W.; Xu, F. S.; Fang, W. M.; Yu, W. B.; Jia, J. H.; Gao, J. R. (2012). Solvent and catalyst free azo-Michael addition under high-speed vibration milling. *Science China Chemistry*, 55, 1252–1256.
32. Cincic, D.; Kaitner, B. (2011). Schiff base derived from 2-hydroxy-1-naphthaldehyde and liquid-assisted mechanochemical synthesis of its isostructural Cu(II) and Co(II) complexes. *CrystEngComm*, 13, 4351–4357.
33. Wang, Z. (2009). *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*. Hoboken, Estados Unidos de América: John Wiley & Sons.
34. Mack, J.; Shumba, M. (2007). Rate enhancement of the Morita–Baylis–Hillman reaction through mechanochemistry. *Green Chemistry*, 9, 328–330.
35. Kozell, V.; McLaughlin, M.; Strappaveccia, G.; Santoro, S.; Bivona, L. A.; Aprile, C.; Gruttadauria, M.; Vaccaro, L. (2016). A Sustainable Approach to Waste-Minimized Sonogashira Cross-Coupling Reaction Based on Recoverable/Reusable heterogeneous Catalytic/Base System and Acetonitrile Azeotrope. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, Article ASAP.
36. Declerck, V.; Colacino, E.; Bantreil, X.; Martinez, J.; Lamaty, F. (2012). Poly(ethylene glycol) as reaction medium for mild Mizoroki–Heck reaction in a ball-mill. *Chemical Communications*, 48, 11778–11780.
37. Schneider, F; Stolle, A.; Ondruschka, B.; Hopf, Henning (2009). The Suzuki-Miyaura Reaction under Mechanochemical Conditions. *Organic Process Research & Development*, 13, 44–48.
38. Métro, T.-X.; Bonnamour, J.; Reidon, T.; Sarpoulet, J.; Martinez, J. (2012). *Chemical Communications*, 48, 11781–11783.

39. Friscic, T. (2010). New opportunities for materials synthesis using mechanochemistry. *Journal of Materials Chemistry*, 20, 7599-7605.
40. Pascu, M.; Ruggi, A.; Scopelliti, R.; Severin, K. (2013). Synthesis of borasiloxane-based macrocycles by multicomponent condensation reactions in solution or in a ball mill. *Chemical Communications*, 49, 45-47.
41. Mawatari, K.; Kazoe, Y.; Aota, A.; Tsukahara, T.; Sato, K.; Kitamori, T. (2011). Microflow Systems for Chemical Synthesis and Analysis: Approaches to Full Integration of Chemical Process. *Journal of Flow Chemistry*, 1, 3-12.
42. Glasnov, T. (2016). *Continuous-Flow Chemistry in the Research Laboratory*. Basel, Suiza: Springer International Publishing Switzerland AG.
43. Noël, T. (2016). *Organometallic Flow Chemistry*. Basel, Suiza: Springer International Publishing Switzerland AG.
44. Pichler, G. (2016). *Heiße Chemie*. octubre 13, 2016, de Karl-Frazens-Universität Graz. Sitio web: <https://chemie.uni-graz.at/de/neuigkeiten/detail/article/heisse-chemie-2/>
45. Obermayer, D.; Kreamsner, J. M.; Stadler, A. (2016). *Minutes, Not Hours!: A practical guide to high-speed organic synthesis in microwave reactors*. Graz, Austria: Anton Paar GmbH.
46. Arévalo-Hernández, A. (1996). *La botánica náhuatl, sus aplicaciones médicas, enteogénicas y toponímicas* (Tesis de licenciatura). Universidad de Guadalajara, Zapopan, Jalisco, México.
47. Rzedowski, G.C. de; J. Rzedowski y colaboradores (2001). *Flora Fanerogámica del Valle de México. 2ª Edición*. Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán, México.
48. Bacigalupi, R. (1931). A monograph of the genus *Perezia*, section *Acourtia*. *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University*. 97: 1-81.
49. De la Cruz, M.; Badiano, J. (1552). *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*. Colegio de Santa Cruz de Tlatelolco.
50. Georgantea, P.; Ioannou, E., Evain-Bana, E.; Bagrel, D.; Martinet, N.; Vagias, C.; Roussis, V. (2016). Sesquiterpenes with inhibitory activity against CDC25 phosphatases from the soft coral *Pseudopterogorgia rigida*. *Tetrahedron*, 72, 3262-3269.
51. Joseph-Nathan, P. (1974). La química de la perezona como homenaje al doctor Leopoldo Río de la Loza en el centenario de su fallecimiento. *Revista de la Sociedad Química de México*, 18, 226-241

52. De la Loza, L. (1852). *Disertación presentada a la Academia de Medicina*, México, octubre 30.
53. Kögl, F. y Boer, A. G. (1935). Über der Konstitution des Perezons. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, 54(10), 779-794.
54. Arigoni, D.; Jeger, O. (1935). Über die absolute Konfiguration des Zingiberens. *Helvetica Chimica Acta*, 37, 881-883.
55. Walls, F; Salmón, M; Padilla, J.; Joseph-Nathan, P.; Romo, J. (1965). La estructura de la perezona. *Boletín del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México*, 17, 3-15.
56. Joseph-Natan, P; González, M. P; Rodríguez, V. M. (1972). Terpenoids of *Perezia hebeclada*. *Phytochemistry*, 11, 1803-1808.
57. Yamaguchi, K. (1942). *Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 62, 491.
58. Gómez-Serrano, G.; Cristiani-Urbina, E.; y Villegas-Garrido, T. L. (2012). Time-dependent perezone production in different culture systems of *Acourtia cordata*. *Central European Journal of Biology*, 7, 507-518.
59. Montgomery, D. C. (1991). *Design and analysis of experiments*. John Wiley and Sons, Inc., New York, Estados Unidos de América.
60. Box, G. E. P.; Hunter, W. G.; Hunter, J. S. (1999). *Estadística para investigadores, Introducción al diseño de experimentos, análisis de datos y construcción de modelos*. Editorial Reverté: Barcelona, España.
61. Nathan-Joseph, P.; Wesenser, J. R.; Günther, H. (1984). A Two-Dimensional NMR Study of Angelic and Tiglic Acid. *Organic Magnetic Resonance*, 22, 190-191.
62. Zepeda, L. G.; Burgueño-Tapia, E.; Pérez-Hernández, N.; Cuevas, G.; Joseph-Nathan, P. (2013). NMR-based conformational analysis of perezone and analogues. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 51, 245-250.

Créditos por las Figuras

Figura 1: http://www.espectrometria.com/espectro_electromagnetico. Recuperado el 1 de octubre de 2016.

Figura 2: Traducción de Butcher, G. (2010). *Tour of the Electromagnetic Spectrum*. National Aeronautics and Space Administration (NASA). Estados Unidos.

Figura 3: https://luz.izt.uam.mx/wiki/index.php/Firmas_espectroscopicas. Recuperado el 2 de octubre de 2016.

Figura 4: Traducción de Butcher, G. (2010). *Tour of the Electromagnetic Spectrum*. National Aeronautics and Space Administration (NASA). Estados Unidos.

Figura 5: Elaboración propia

Figura 6: Traducción de <http://www.sonochemistry.info/introduction.htm>. Recuperado el 5 de octubre de 2016.

Figura 7: Traducción de https://ninithi.com/topdown_methods/. Recuperado el 5 de octubre de 2016.

Figura 8: Traducción de <https://www.britannica.com/science/physical-science-Year-In-Review-2013>. Recuperado el 8 de octubre de 2016.

Figura 9: Obermayer, D.; Kremsner, J. M.; Stadler, A. (2016). *Minutes, Not Hours! A practical guide to high-speed organic synthesis in microwave reactors*. Graz, Austria: Anton Paar GmbH.

Figura 10: A partir de la versión electrónica del *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*, disponible gracias al Instituto Nacional de Antropología e Historia, México. Recuperado el 15 de octubre de 2016.

Figura 11: <https://www.elsiglodetorreon.com.mx/noticia/867153.rio-de-la-loza-un-parteaguas-en-la-ciencia-mexicana.html>. Recuperado el 3 de noviembre de 2016.

Figura 12: Elaboración propia

Figura 13: Elaboración propia

Figura 14: Elaboración propia

Figura 15: Elaboración propia

Figura 16: <https://employees.csbsju.edu/cschaller/Principles%20Chem/structure%20determination/IRHydrocarbon.htm>. Recuperado el 10 de noviembre de 2016.

Figura 17: Gómez-Serrano, G.; Cristiani-Urbina, E.; y Villegas-Garrido, T. L. (2012). Time-dependent perezone production in different culture systems of *Acourtia cordata*. *Central European Journal of Biology*, 7, 507-518.

Figura 18: Elaboración propia

Figura 19: Elaboración propia

Figura 20: Elaboración propia

Figura 21: Elaboración propia

Figura 22: Elaboración propia

Figura 23: Elaboración propia

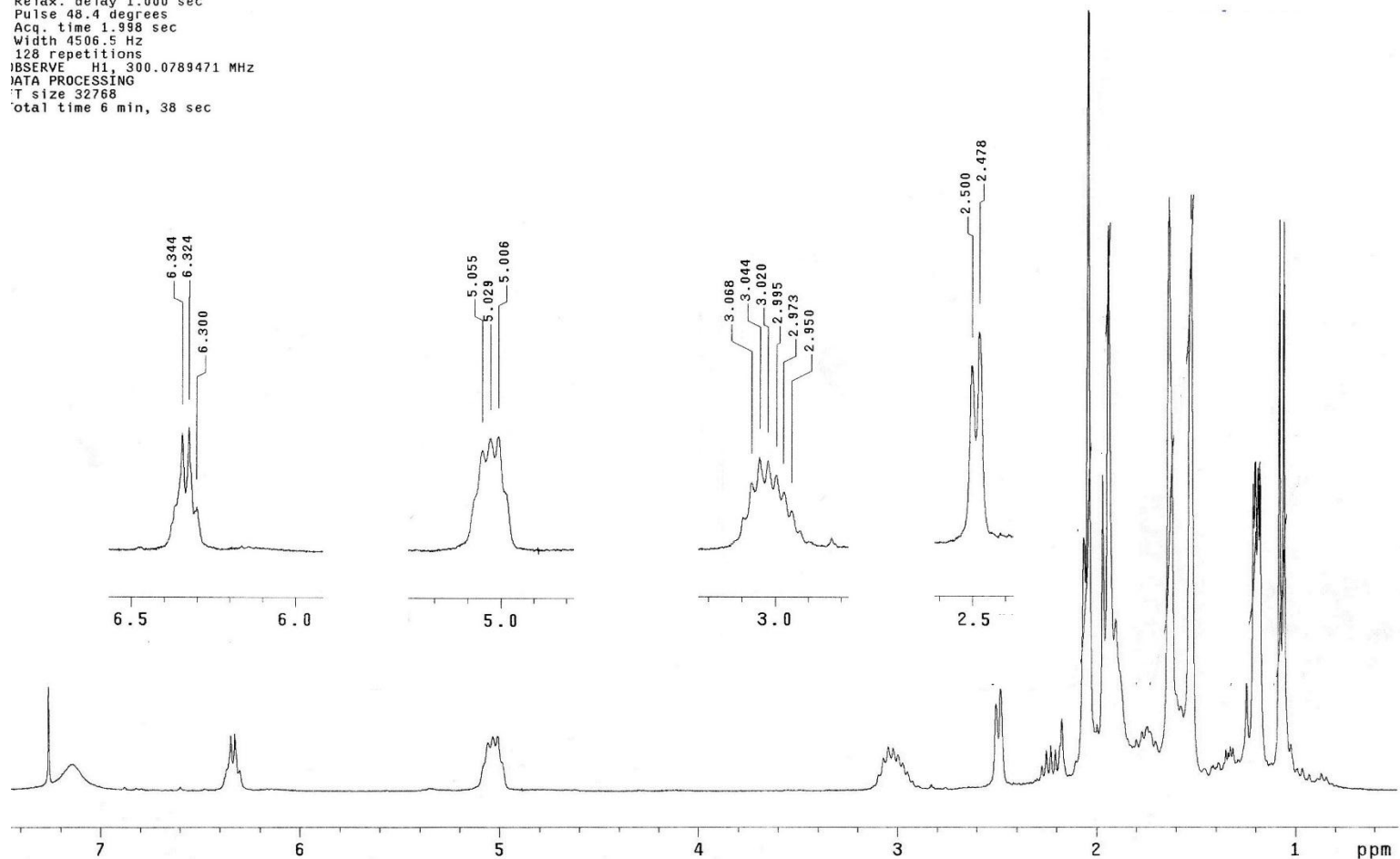
Figura 24: Elaboración propia

9. Apéndice.

ESPECTROS

Solvent: CDCl₃
Ambient temperature
Mercury-300BB "mercury300"

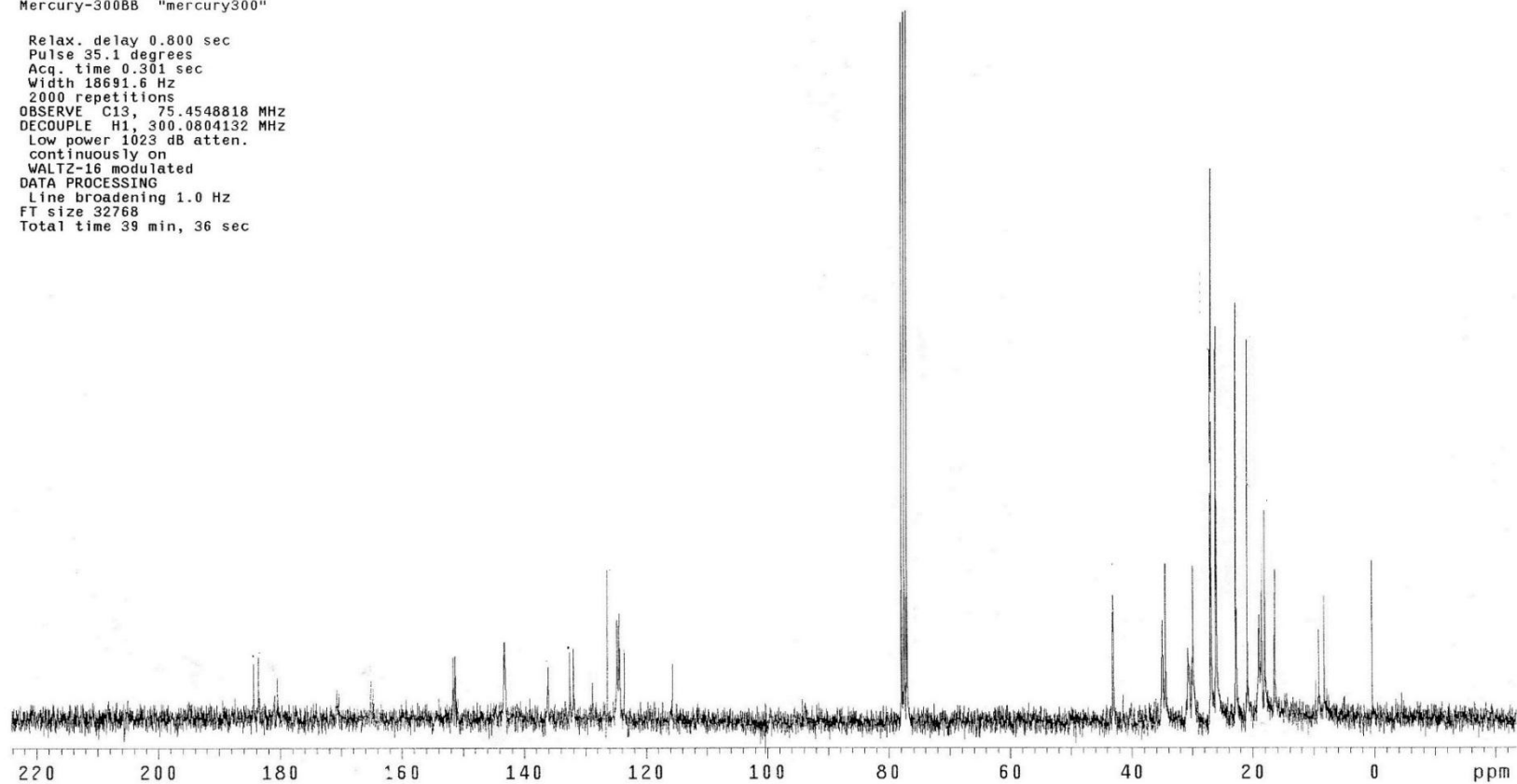
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 48.4 degrees
Acq. time 1.998 sec
Width 4506.5 Hz
128 repetitions
OBSERVE H1, 300.0789471 MHz
DATA PROCESSING
T size 32768
Total time 6 min, 38 sec



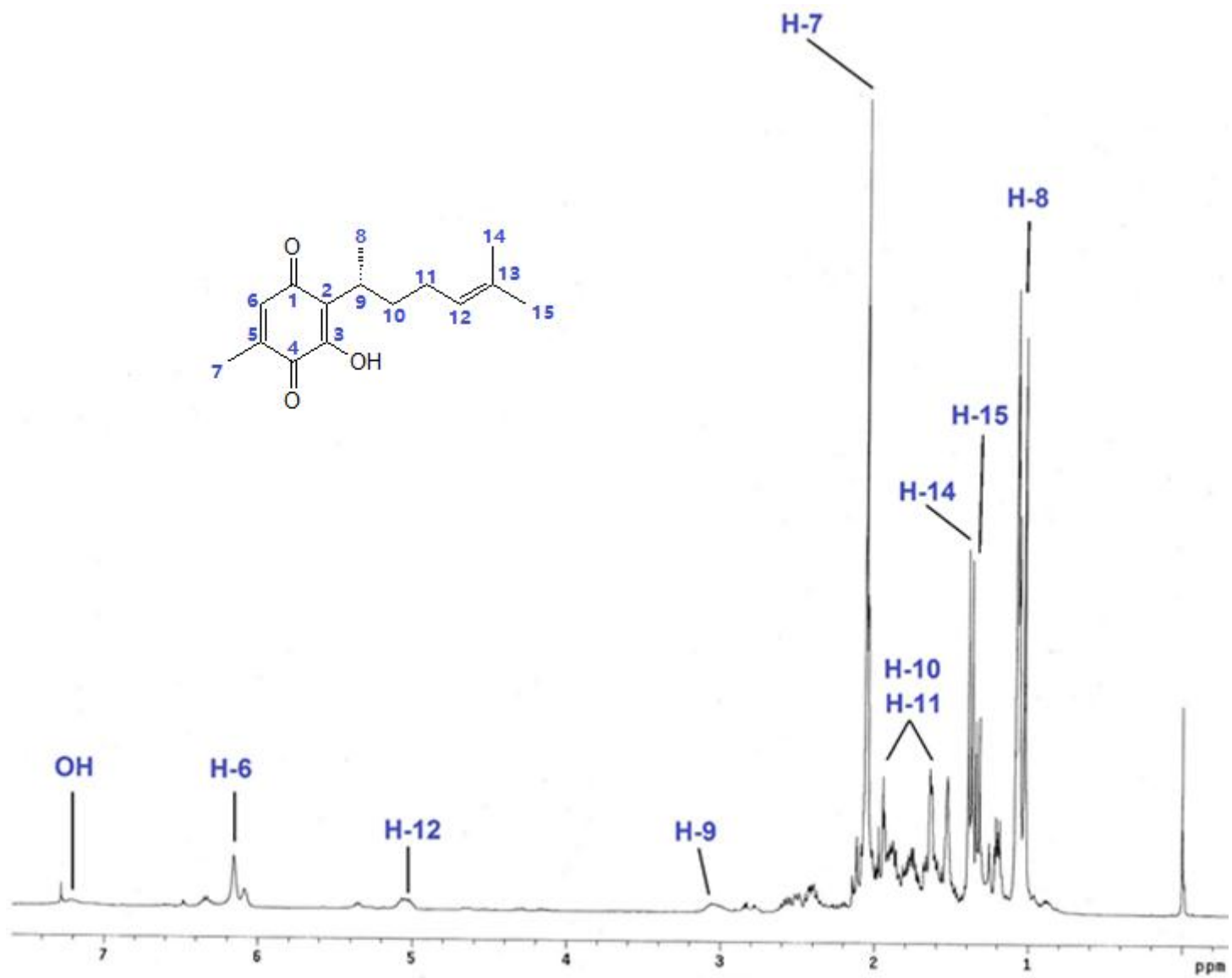
Espectro 1: RMN ¹H a 300 MHz del crudo del extracto n-hexánico en CDCl₃

Solvent: CDC13
Ambient temperature
Mercury-300BB "mercury300"

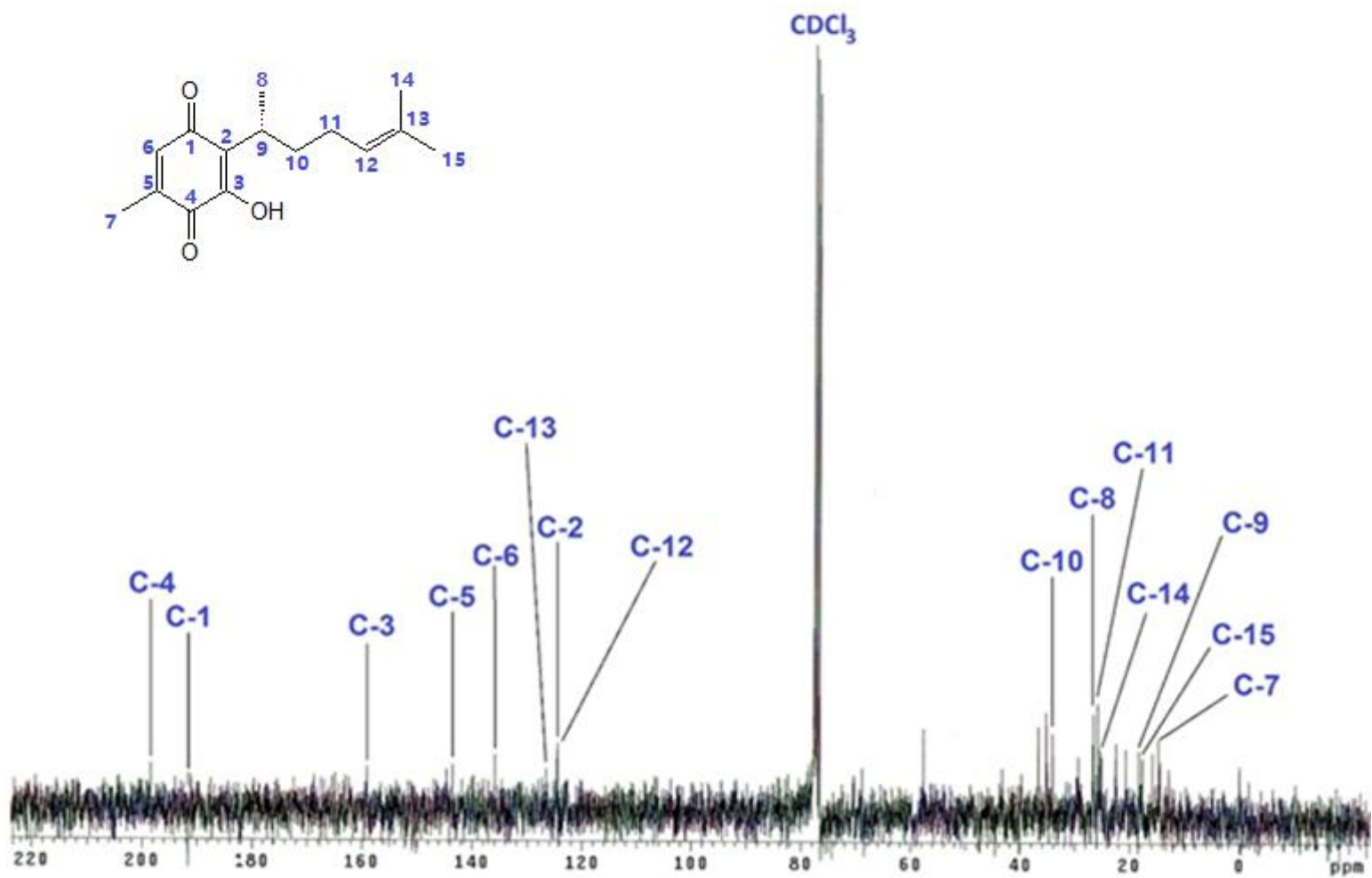
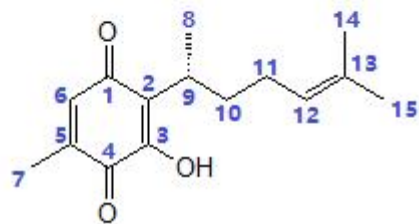
Relax. delay 0.800 sec
Pulse 35.1 degrees
Acq. time 0.301 sec
Width 18691.6 Hz
2000 repetitions
OBSERVE C13, 75.4548818 MHz
DECOUPLE H1, 300.0804132 MHz
Low power 1023 dB atten.
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 32768
Total time 39 min, 36 sec



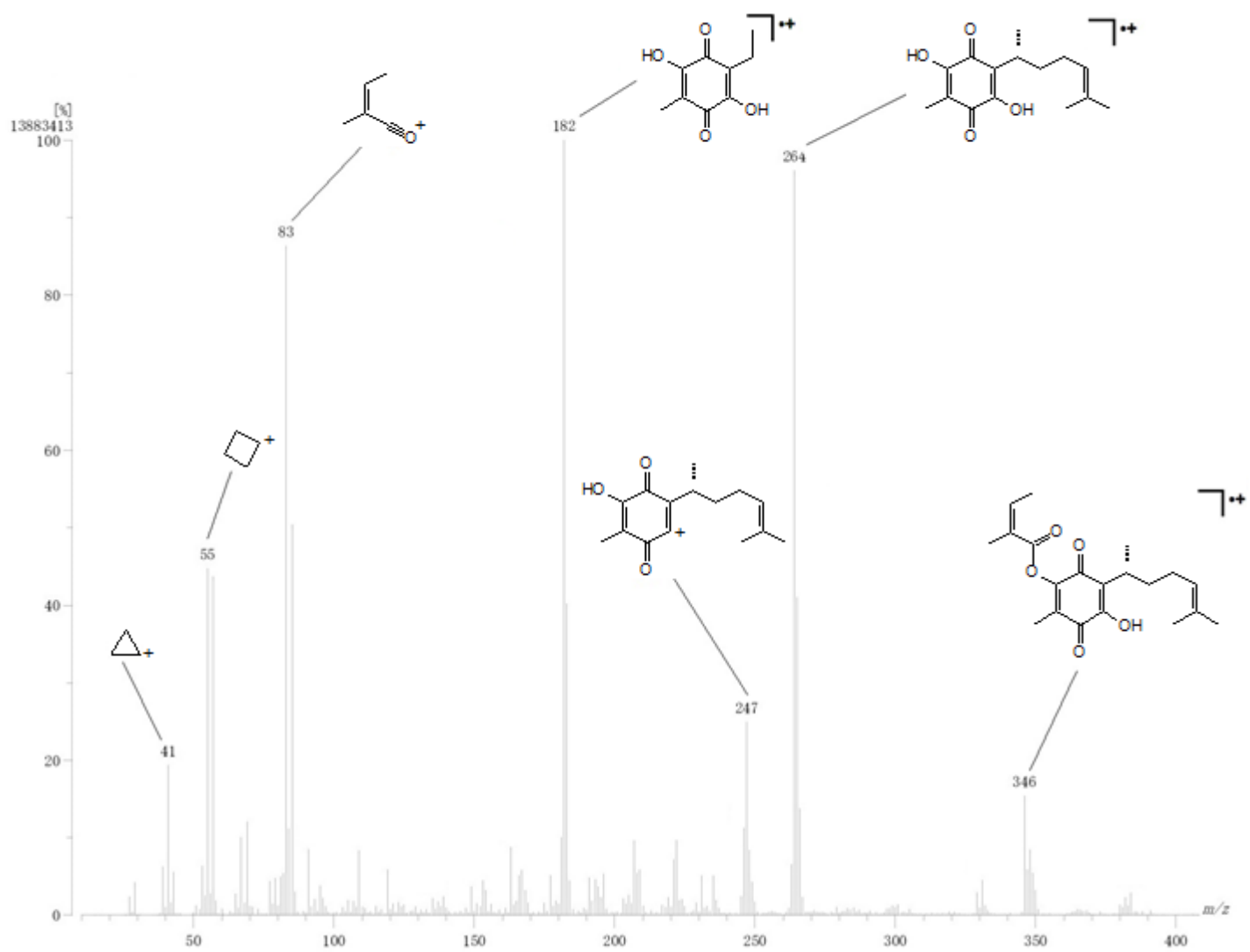
Espectro 2: RMN ¹³C a 75 MHz del crudo del extracto n-hexánico en CDCl₃



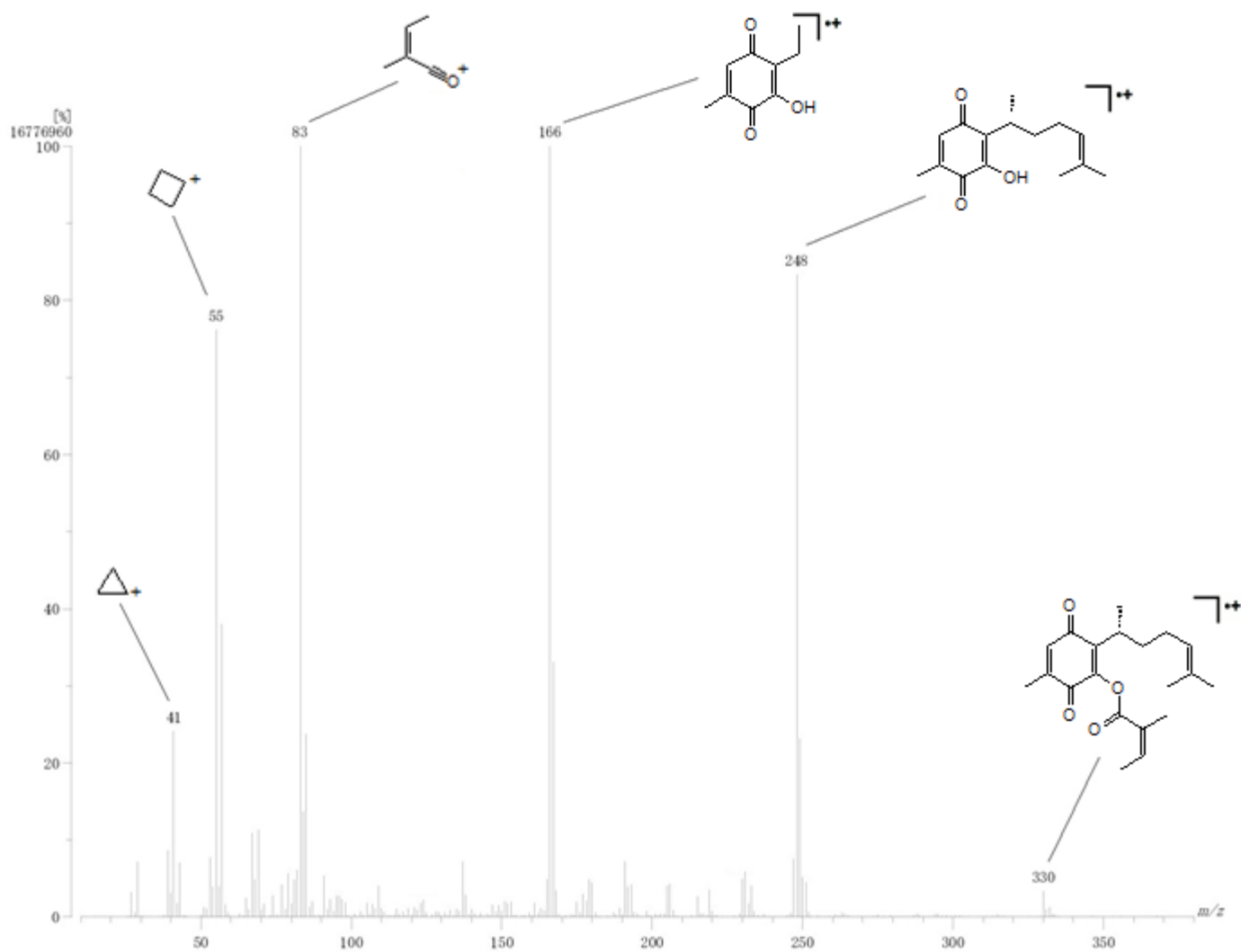
Espectro 3: RMN ¹H a 300 MHz de perezona en CDCl₃



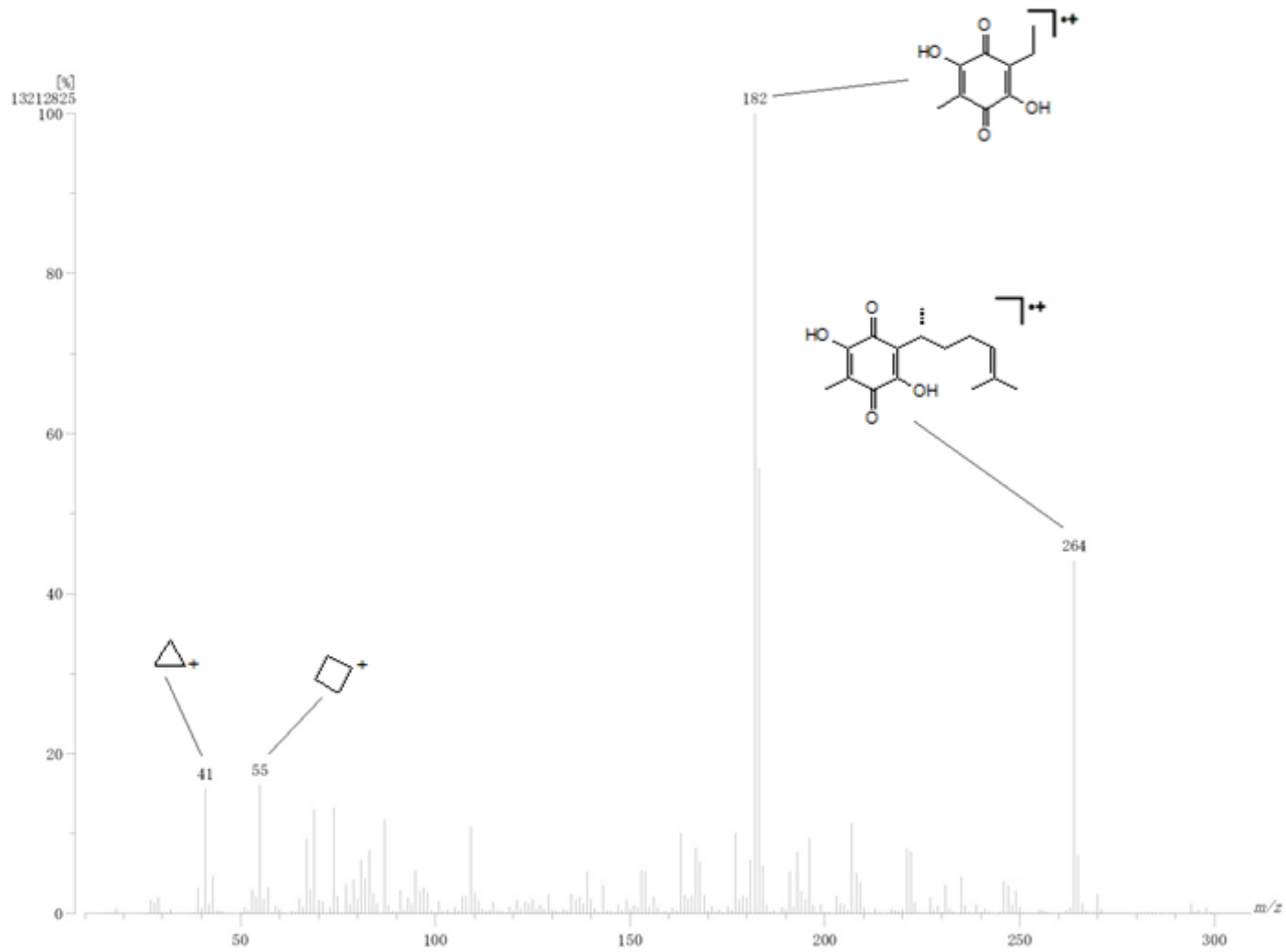
Espectro 4: RMN ¹³C a 75 MHz de perezona en CDCl₃



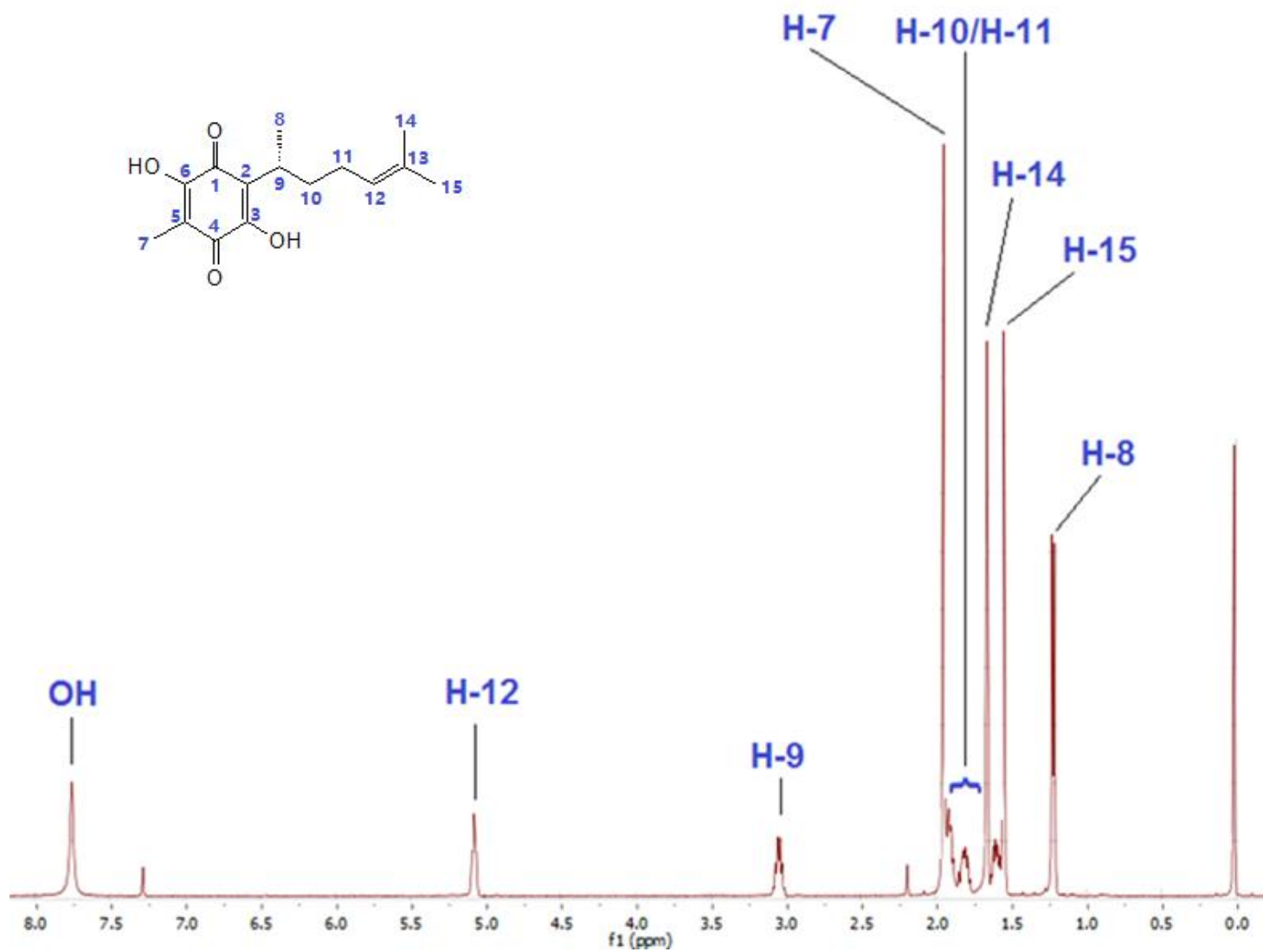
***Espectro 5: Espectro de masas por Impacto Electrónico a 70 eV del compuesto A
(monoangelato de hidroxiperezona)***



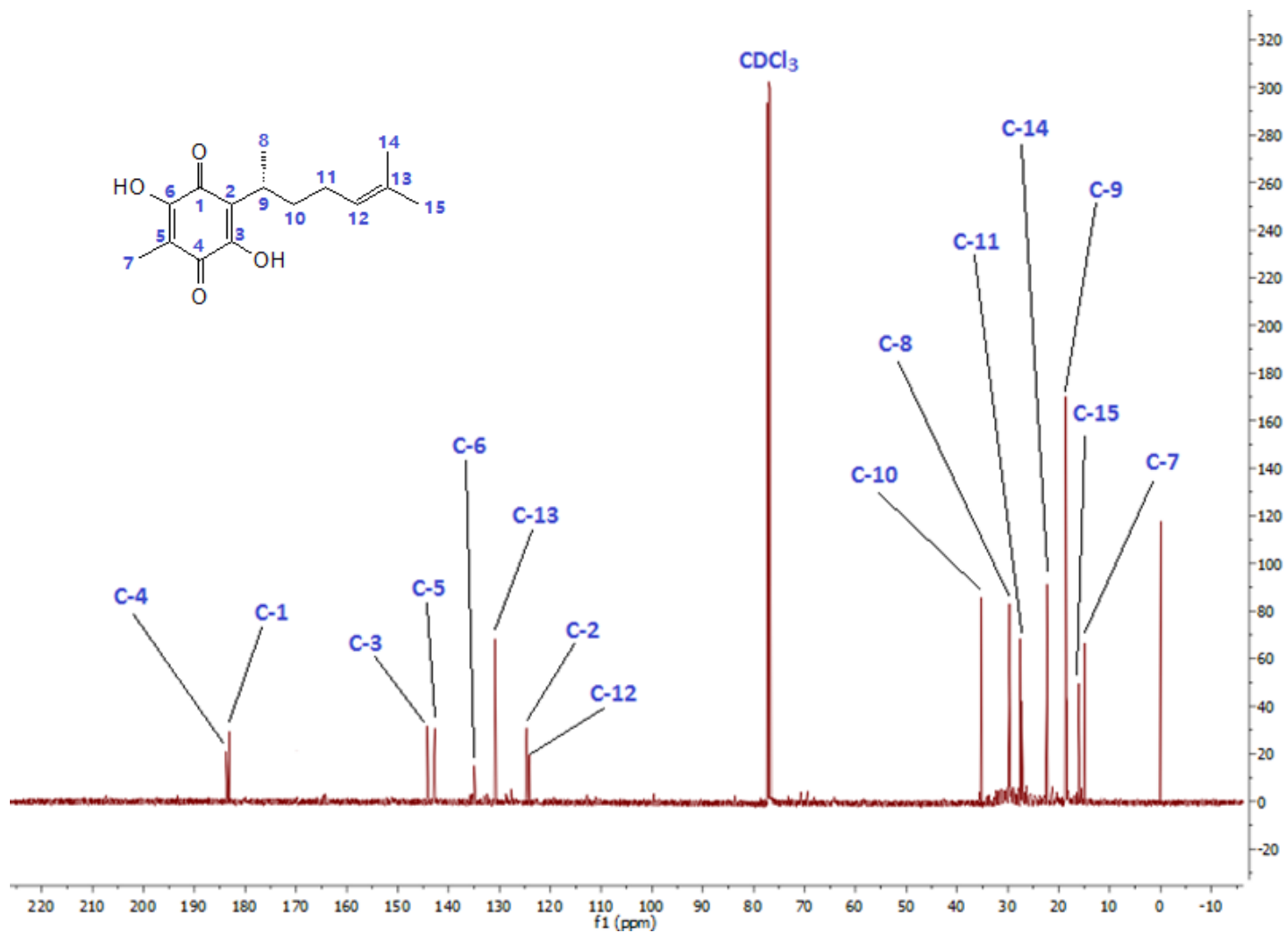
Espectro 6: Espectro de masas por Impacto Electrónico a 70 eV del compuesto B (angelato de perezona)



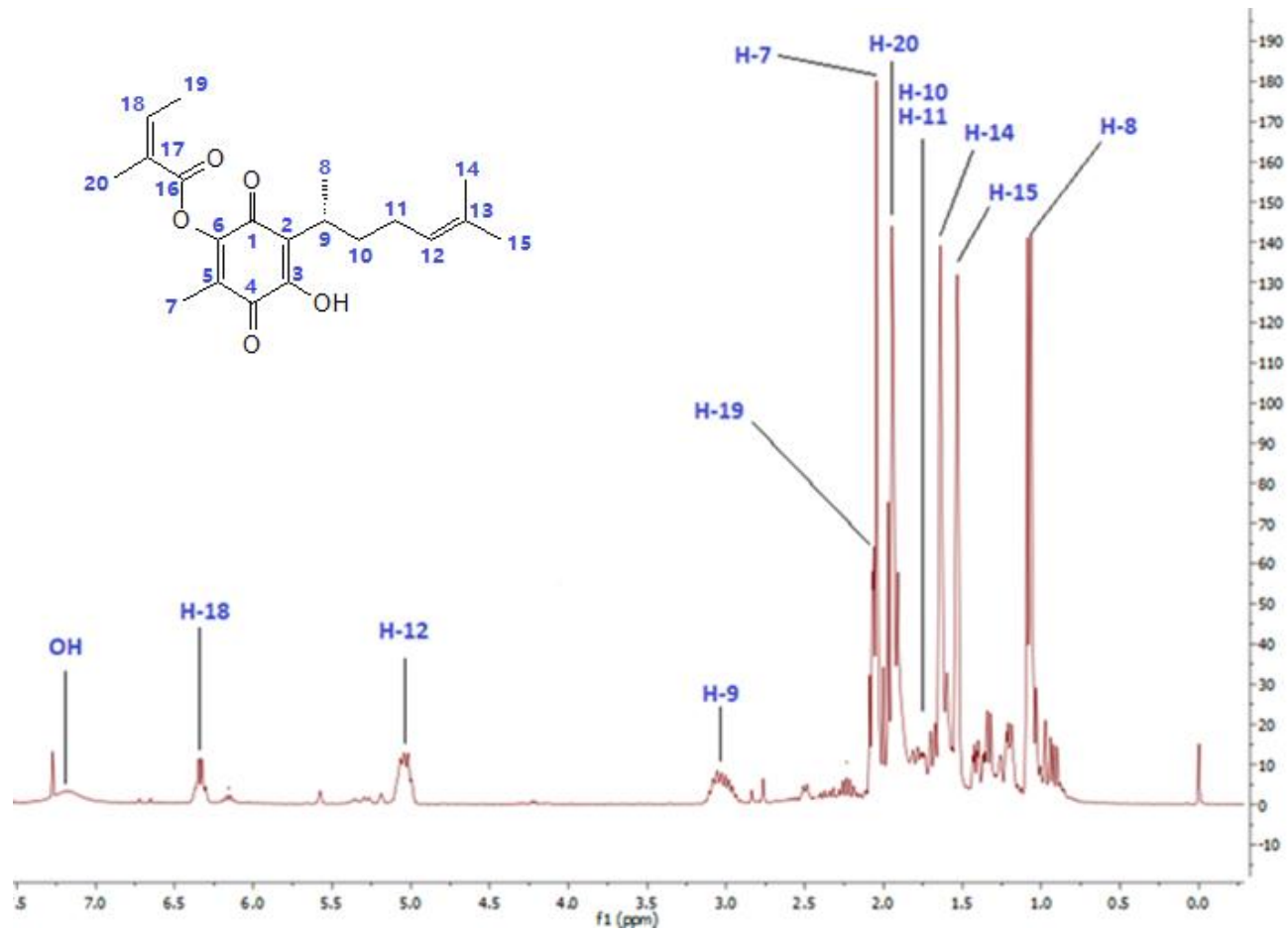
**Espectro 7: Espectro de masas por Impacto Electrónico a 70 eV del compuesto C
(hidroxiperezona)**



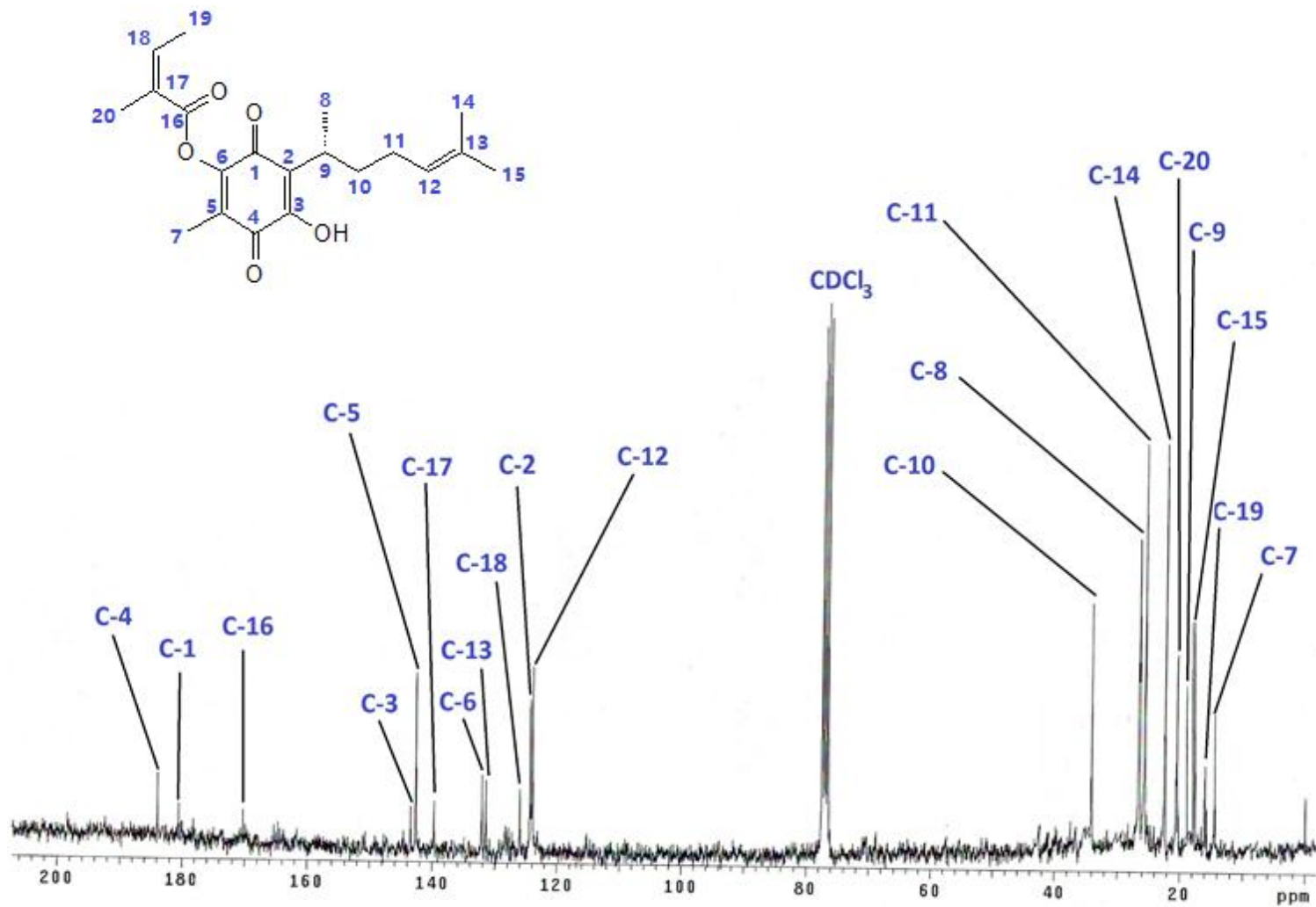
Espectro 8: RMN ¹H a 500 MHz de hidroxiperezona (compuesto C) en CDCl₃ con asignación de señales



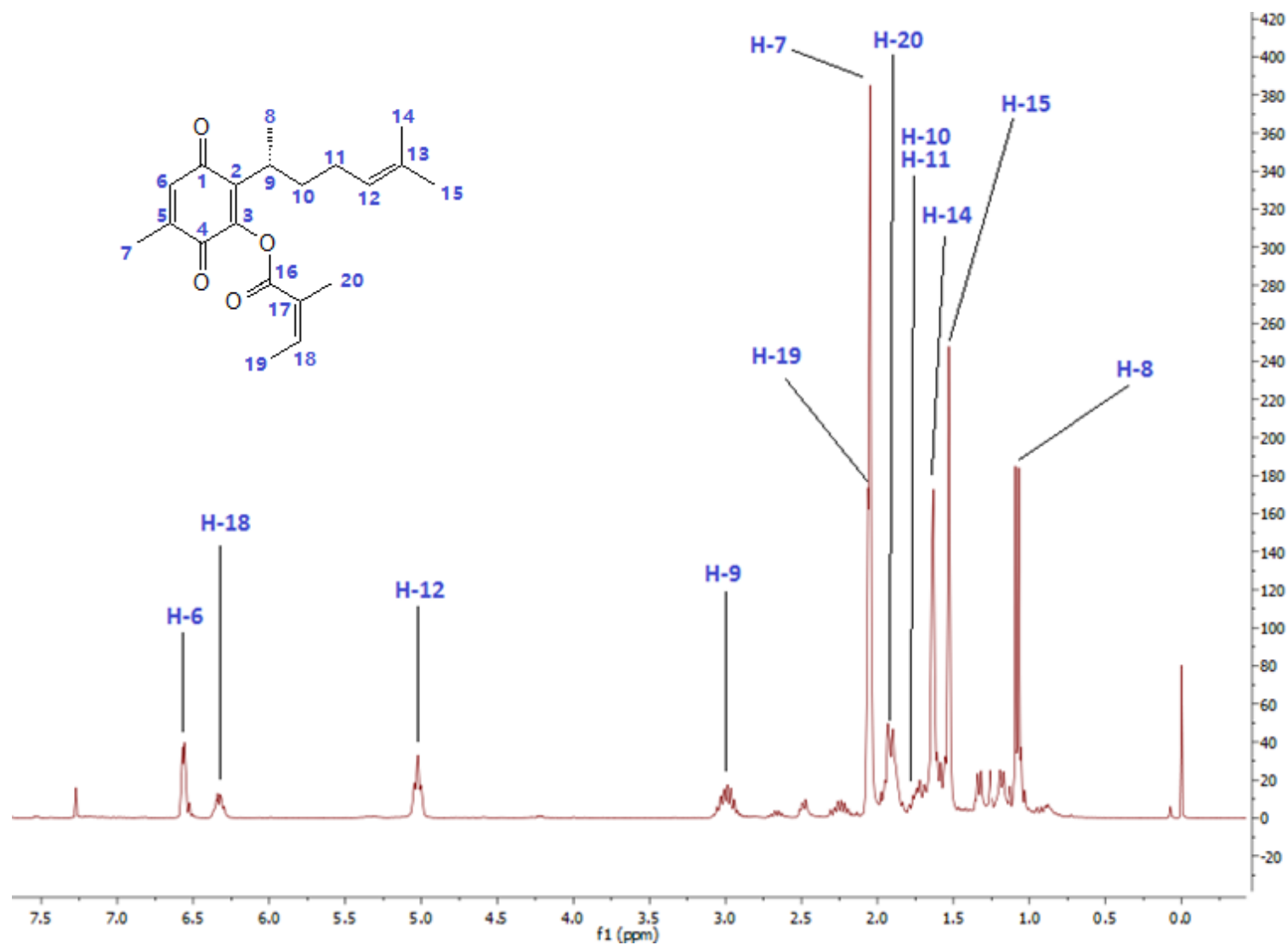
Espectro 9: RMN ¹H a 100 MHz de hidroxiperezona (compuesto C) en CDCl₃ con asignación de señales



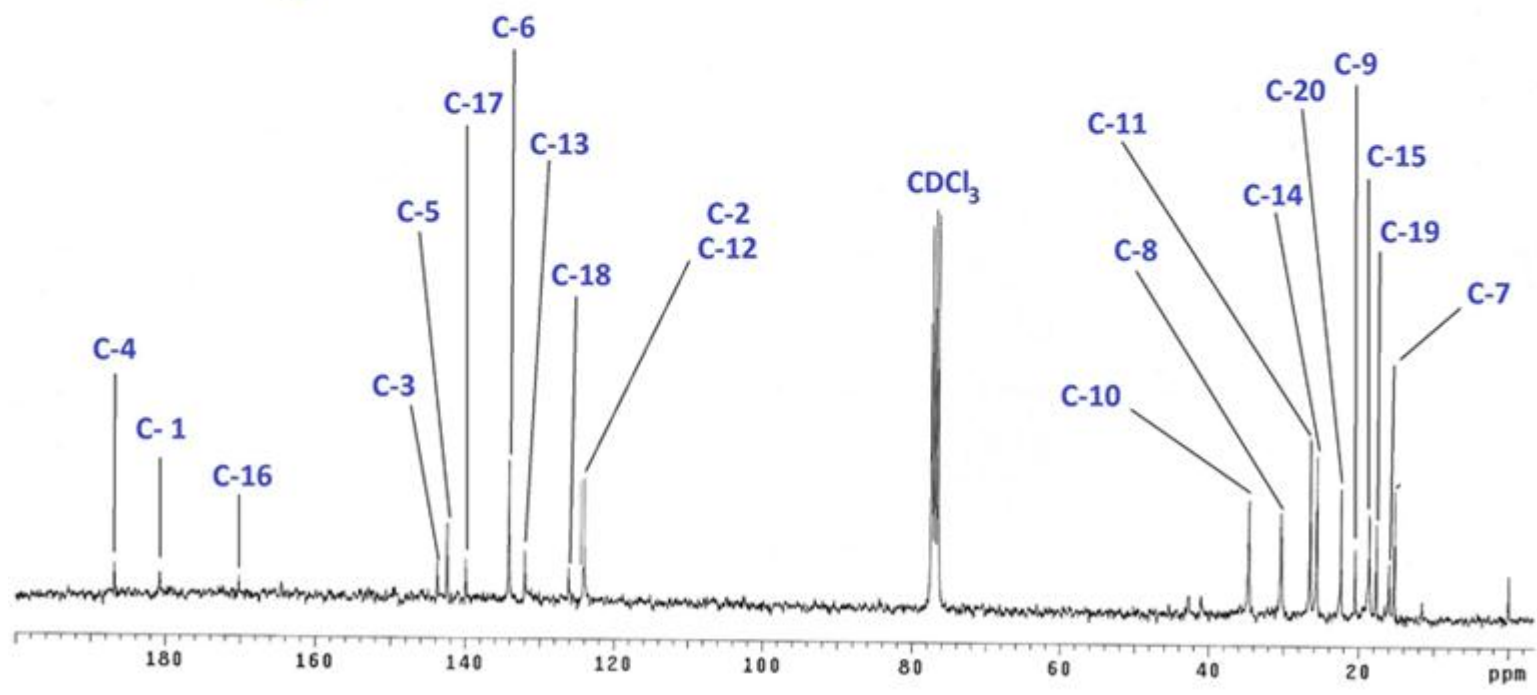
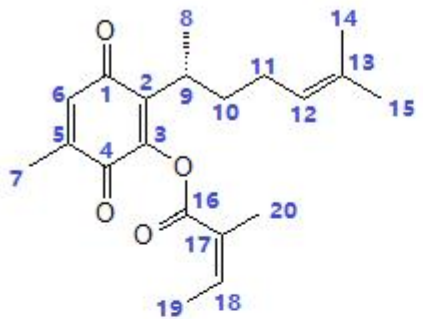
Espectro 10: RMN ^1H a 500 MHz de monoangelato de hidroxiperezona (compuesto A) en CDCl_3 con asignación de señales



Espectro 11: RMN ¹³C a 75 MHz de monoacetato de hidroxiperezona (compuesto A) en CDCl₃ con asignación de señales



Espectro 12: RMN ¹H a 500 MHz de angelato de perezona (compuesto B) en CDCl₃ con asignación de señales



Espectro 13: RMN ¹³C a 75 MHz de angelato de perezona (compuesto B) en CDCl₃ con asignación de señales