

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO QUIMICO DE PLANTAS MEXICANAS USADAS EN MEDICINA
TRADICIONAL: Constituyentes de Chenopodium graveolens
Willd, Chenopodium ambrosioides L. y Amphipterygium
adstringens Schiede ex Schlecht

TESIS DE MAESTRIA EN CIENCIAS QUIMICAS
(QUIMICA FARMACEUTICA)

A N D R E S N A V A R R E T E C A S T R O



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

PRESIDENTE

DR. ALFONSO ROMO DE VIVAR

1er. VOCAL

DR. EUGENE A. BRATOEFF T.

SECRETARIO

DR. RAFAEL CASTILLO BOCANEGRA

SUPLENTE

M. EN C. MA. TERESA REGUERO REZA

SUPLENTE

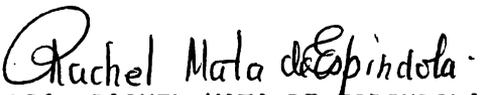
M. EN C. JOSE MANUEL MENDEZ STIVALET

SUSTENTANTE



ANDRES NAVARRETE CASTRO

DIRECTOR DEL TRABAJO



DRA. RACHEL MATA DE ESPINDOLA

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

DEPARTAMENTO DE FARMACIA. DIVISION DE
BIOQUIMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE QUI
MICA. U.N.A.M.

ABSTRACT

As a part of a systematic study on Mexican plants used in Traditional Medicine, it was done the phytochemical investigation of the three different species: Chenopodium graveolens Willd, Chenopodium ambrosioides L., and Amphipterygium adstringens Schiede ex Schlecht.

From the chloroformic extract of the aerial parts of Ch. graveolens it was isolated and characterized ten different compounds: pinocembrine, pinostrobin, chrysin, stigmasterol, stigmast-22-en-3-ol, 3 β -glucosytosterol, geranyl acetate, cryptomeridiol and two new natural products, namely (+) 8 hydroxy-elemol and (+) 8 acetoxi-cryptomeridiol. The presence of the flavanones pinocembrine and pinostrobin might be related with the biological activity of the plant.

From Chenopodium ambrosioides it was only possible to isolate stigmast-22-en-3-ol.

From the hexane extracts of two different collections of the stem bark of A. adstringens, they were isolated and characterized by chemical and spectral means the following compounds: Masticdienonic acid, 3-epi-hydroxymasticdienonic acid, 3 β -hydroxymasticdienonic acid, oleanolic acid, 3-epioleanolic acid, β -sitosterol and a mixture of two different series of anacardic acids. One of the series has lateral chain of 19 carbon atoms and the other has lateral chain of 21 carbon atoms. The members of the latter are new natural products. The presence of Anacardic acids in this plant is of biological and industrial importance.

In addition the pharmacological evaluation of six triterpenic acids structurally related with masticdienonic acid, as hypocholesterolemic agents was performed.

RESUMEN

Como parte de un estudio sistemático sobre plantas mexicanas usadas en medicina tradicional, se realizó el estudio fitoquímico del Chenopodium graveolens Willd, Chenopodium ambrosioides L. y Amphipterygium adstringens Schiede ex Schelecht.

Del extracto clorofórmico de las partes aéreas del Chenopodium graveolens Willd, se aislaron y caracterizaron la pinostrobrina, la pinocembrina, la chrysin, el estigmasterol, el estigmast-22-en-3-ol, el 3β -glucositosterol, el acetato de geranilo, el criptomeridiol y dos nuevos metabolitos secundarios: (+)- 8α -hidroxi-elemol y (+)- 8α -acetoxi-criptomeridiol. El constituyente mayoritario pinostrobrina puede estar relacionado con la actividad biológica de la planta.

Del extracto clorofórmico de Chenopodium ambrosioides, se aisló el estigmast-22-en-3-ol.

Del extracto hexánico de dos lotes de corteza de Amphipterygium adstringens, se aislaron y caracterizaron los ácidos masticadienónico, isomasticadienónico, 3α -hidroximasticadienónico, 3-epi-hidroximasticadienónico, oleanólico, 3-epi-oleanólico, el β -sitosterol y una mezcla de dos series de ácidos anacárdicos con cadenas laterales de 19 y 21 átomos de carbono. Los miembros de la última serie representan nuevos productos naturales. La presencia de ácidos anacárdicos en el cuachalalate es de importancia industrial y biológica.

En forma adicional se realizó la evaluación farmacológica preliminar como agentes hipocolesterolemiantes de seis compuestos triterpénicos relacionados estructuralmente al ácido masticadienónico.

I N D I C E

	Página
LISTA DE TABLAS -----	vi
LISTA DE FIGURAS -----	x
LISTA DE ESQUEMAS -----	xvi
LISTA DE ABREVIACIONES -----	xvii
RESUMEN -----	1
INTRODUCCION -----	2
OBJETIVOS -----	7'
Capítulo I: Constituyentes químicos de <u>Chenopodium</u> <u>graveolens</u> Willd y <u>Chenopodium ambrosioides</u> L. ---	8
1. Generalidades acerca del género <u>Chenopodium</u> -----	8
1.1 Taxonomía y distribución -----	8
1.2 Fitoquímica -----	11
1.3 Importancia biológica y económica -----	12
2. Constituyentes de <u>Chenopodium graveolens</u> Willd (Yerba ba del zorrillo) -----	18

	Página
2.1 Material y métodos -----	18
2.1.1 Material vegetal -----	18
2.1.2 Métodos de extracción y fraccionamiento preliminar -----	18
2.1.3 Aislamiento y purificación de los compues- tos I-X -----	20
2.1.4 Caracterización de los compuestos aislados-	
2.2 Resultados y discusión -----	28
2.2.1 Identificación de la pinostrobin <u>31</u> (Compuesto I) -----	28
2.2.2 Identificación del estigmasterol <u>32</u> (Compuesto II) -----	34
2.2.3 Identificación del estigmast-22-en-3-ol <u>33</u> (Compuesto III) -----	35
2.2.4 Identificación del acetato de geranilo <u>34</u> (Compuesto IV) -----	38
2.2.5 Identificación de la pinocembrina <u>35</u> (Compuesto V) -----	41
2.2.6 Identificación de la chrysin, <u>37</u> (Compuesto VI) -----	47
2.2.7 Identificación del (+)-8 α -hidroxi-elemol <u>40</u> (Compuesto VII) -----	54

	Página
2.2.8 Identificación del (+)-8 α -acetoxi- criptomeridiol <u>41</u> (Compuesto VIII) -----	62
2.2.9 Identificación del criptometidiol -----	69
3. Constituyentes de <u>Chenopodium ambrosioides</u> L. -----	73
3.1 Materiales y métodos -----	73
3.1.1 Material vegetal -----	73
3.1.2 Métodos de extracción, fraccionamiento y separación -----	73
3.2 Resultados y discusión -----	78
3.2.1 Aislamiento e identificación del estigmas- 22-en-3-ol <u>33</u> del <u>Chenopodium ambrosioides</u> -	78
4. Conclusiones -----	79
Capítulo II: CONSTITUYENTES QUIMICOS DE <u>Amphipterygium</u>	
<u>adstringens</u> Schiede ex Schelecht -----	82
1. Generalidades acerca del <u>Amphipterygium adstringens</u> ----	82
1.1 Aspectos taxonómicos de <u>Amphipterygium adstringens</u> -	82
1.2 Fitoquímica -----	83
1.3 Importancia biológica y económica del <u>Amphipterygium</u> <u>adstringens</u> -----	85

	Página
2. Materiales y Métodos -----	86
2.1 Material vegetal -----	86
2.2 Métodos de extracción, fraccionamiento y separación de la primera recolección -----	86
2.2.1 Extracción -----	86
2.2.2 Fraccionamiento preliminar del extracto hexánico (EH-I) -----	88
2.2.3 Aislamiento y purificación de los compues- tos XI-XV del extracto hexánico EH-I -----	88
2.3 Métodos de extracción, fraccionamiento y separación de la segunda recolección -----	92
2.3.1 Extracción -----	92
2.3.2 Fraccionamiento preliminar del extracto hexánico (EH-II) -----	92
2.3.3 Aislamiento y purificación de los compues- tos XVI-XXIII del extracto hexánico EH-II -	95
2.4 Determinación de las constantes físicas y espectroscópicas de los constituyentes -----	99
2.5 Preparación de derivados -----	99
3. Resultados y discusión -----	100
3.1 Identificación del <u>sitosterol</u> , <u>49</u> (Compuesto XII y XVIII) -----	100

| (β-

	Página
3.2 Identificación del ácido masticadienónico <u>45</u> (Compuesto XX) -----	102
3.3 Identificación del ácido isomasticadienónico <u>51</u> (Compuesto XXI, metil éster) -----	110
3.4 Identificación del ácido oleanólico <u>53</u> (Compuesto XV, metil éster) -----	114
3.5 Identificación del ácido 3-epioleanólico, <u>55</u> (Compuesto XIX) -----	116
3.6 Identificación del ácido 3- α -hidroximasticadienónico <u>46</u> (Compuesto XXII) -----	120
3.7 Identificación del ácido 3-epi-hidroximasticadienónico <u>58</u> (Compuesto XXIII) -----	125
3.8 Identificación de los ácidos anacárdicos <u>48</u> (Compuesto XVI, metil éster) -----	129
4. Conclusiones -----	157
PROPOSICIONES PARA CONTINUAR ESTE TRABAJO -----	164
BIBLIOGRAFIA -----	166
APENDICE. Evaluación biológica de triterpenos relacionados estructuralmente con el ácido masticadienónico, como agentes hipocolesterolemiantes -----	178

LISTA DE TABLAS

	Página
TABLA 1. Secciones, subsecciones y especies tipo del género <u>Chenopodium</u> L. -----	9
TABLA 2. Perfil fitoquímico del género <u>Chenopodium</u> -----	13
TABLA 3. Resumen del fraccionamiento vía cromatografía en columna del extracto clorofórmico del <u>Chenopodium graveolens</u> -----	21
TABLA 4. Constantes físicas y espectroscópicas de la pinostrobrina <u>31</u> (Compuesto I) -----	29
TABLA 5. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto IV (acetato de geranilo) -----	39
TABLA 6. Constantes físicas y espectroscópicas del derivado diacetilado del compuesto V (pinocembrina) -----	42
TABLA 7. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto VI (chrysina) y sus derivados acetilado y monometilado -----	48
TABLA 8. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto VII (+)-8 α -hidroxi-elemol -----	55
TABLA 9. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto VIII (+)-8 α -acetoxi-criptomeridiol ---	63

	Página
TABLA 10. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto IX (criptomeridiol) -----	70
TABLA 11. Resumen del fraccionamiento vía cromatografía en columna del extracto clorofórmico del <u>Chenopodium ambrosioides</u> -----	76 /
TABLA 12. Constituyentes del <u>Chenopodium graveolens</u> -----	79 /
TABLA 13. Eluyentes empleados en la separación del extracto hexánico EH-I, de la corteza de <u>A. adstringens</u> --	89
TABLA 14. Eluyentes empleados en la separación del extracto hexánico EH-II, de la corteza de <u>A. adstringens</u> --	94
TABLA 15. Eluyentes empleados en la separación de las fracciones 214-221 metiladas del extracto hexánico EH-II de <u>A. adstringens</u> -----	96
TABLA 16. Compuestos aislados y caracterizados de los extractos hexánicos EH-I y EH-II de la corteza de <u>A. adstringens</u> -----	101 /
TABLA 17. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto XX (ácido masticadienónico) y su éster metílico -----	105
TABLA 18. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto XXI (éster metílico del ácido iso-masticadienónico) -----	111

	Página
TABLA 19. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto XIX (ácido 3-epi-oleanólico y de su derivado metil éster (3-epi-oleanolato de dimetilo) -----	117
TABLA 20 Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto XXII (ác. 3 α -hidroximasticadienónico) y su derivado metil éster -----	121
TABLA 21. Constantes físicas y espectroscópicas para el compuesto XXIII (ác. 3-epi-hidroximasticadienónico) -----	126
TABLA 22. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto XI (ácidos anacárdicos), y sus derivados metilados (Compuesto XVI) y metilado-acetilado (Compuesto XXIV) -----	132
TABLA 23. Características en espectrometría de masas y RMN ^1H de tres ácidos anacárdicos (como ésteres metílicos acetilados) -----	145
TABLA 24. ^{Fragmentos?} Iones principales en el espectro de masas para las series de ácidos anacárdicos metil ésteres XVI y acetilmetil ésteres XXIV -----	149
TABLA 25. Propiedades físicas y espectroscópicas del producto XXV -----	152

Página

TABLA 26. Constituyentes de <u>Amphipterygium adstringens</u> ----	159
TABLA 27. Propiedades físicas y espectroscópicas del ácido instipolinámico -----	160

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Estructura de los metabolitos secundarios del género <u>Chenopodium</u> -----	15
FIGURA 2. Espectro de RMN ^1H de la pinostrobinina (80MHz, CDCl_3) -----	30
FIGURA 3. ESPECTRO DE RMN ^{13}C de la pinostrobinina (100MHz, CDCl_3) -----	31
FIGURA 4. Estructura de la pinostrobinina -----	33
FIGURA 5. Estructura del estigmasterol -----	34
FIGURA 6. Espectro de IR del estigmast-22-en-3-ol -----	36
FIGURA 7. Espectro de RMN ^1H del estigmast-22-en-3-ol (80MHz, CDCl_3) -----	37
FIGURA 8. Estructura del estigmast-22-en-3-ol -----	35
FIGURA 9. Estructura del acetato de geranilo -----	38
FIGURA 10. Espectro de RMN ^1H del acetato de geranilo (CDCl_3 , 80MHz) -----	40
FIGURA 11. Espectro de RMN ^1H del acetato de pinocembrina (100MHz, CDCl_3) -----	43

	Página
FIGURA 12. Posibilidades estructurales para el compuesto V (V-A) -----	44
FIGURA 13. Caracterización de la pinocembrina, a través de su diacetato y por correlación química con el compuesto I -----	46
FIGURA 14. Fragmentación propuesta para la chrysin en espectrometría de masas -----	49
FIGURA 15. Espectro de RMN ^1H de la chrysin (100MHz, piridina- d_5) -----	50
FIGURA 16. Espectro de RMN ^1H del diacetato de la chrysin (100MHz, CDCl_3) -----	51
FIGURA 17. Espectro de RMN ^1H de la tectochrysin (100MHz, CDCl_3) -----	52
FIGURA 18. Estructura de la chrysin y su derivado acetilado (38) y monometilado (39) -----	53
FIGURA 19. Espectro de RMN ^1H del (+)-8 α -hidroxielemol (CDCl_3 , 80MHz) -----	56
FIGURA 20. Espectro de RMN ^{13}C del (+)-8 α -hidroxielemol (DMSO-d_6 , 50MHz) -----	57
FIGURA 21. Estructura del (+)-8 α -hidroxielemol -----	61

	Página
FIGURA 22. Espectro de RMN ^{13}C del (+)-8 α -acetoxi-criptomeridiol -----	64
FIGURA 23. Espectro de RMN ^1H del (+)-8 α -acetoxi-criptomeridiol (CDCl_3 , 80MHz) -----	66
FIGURA 24. Estructura del (+)-8 α -acetoxi-criptomeridiol --	67
FIGURA 25. Espectro de RMN ^1H del criptomeridiol (CDCl_3 , 80MHz) -----	71
FIGURA 26. Estructura del criptomeridiol ==-----	72
FIGURA 27. Estructura del 3 β -glucositosterol -----	72
FIGURA 28. Estructura de los metabolitos secundarios identificados previamente en <u>A. adstringens</u> ---	84
FIGURA 29. Estructura del β -sitosterol -----	102
FIGURA 30. Estructura del ácido masticadienónico <u>45</u> y su éster metílico, <u>50</u> -----	103
FIGURA 31. Espectro de RMN ^1H del ácido masticadienónico (CDCl_3 , 80MHz) -----	106
FIGURA 32. Espectro de RMN ^1H del éster metílico del ácido masticadienónico (CDCl_3 , 80MHz) -----	107
FIGURA 33. Fragmentación propuesta para el ácido masticadienónico -----	108

FIGURA 34. Espectro de RMN ^{13}C del ácido masticadienónico (CDCl_3 , 100MHz) -----	109
FIGURA 35. Espectro de RMN ^1H del éster metílico del ácido isomasticadienónico (CDCl_3 , 80MHz) -----	112
FIGURA 36. Estructura del ácido isomasticadienónico <u>51</u> y de su éster metílico -----	113
FIGURA 37. Estructura del ácido oleanólico <u>53</u> y del oleanolato de metilo <u>54</u> -----	114
FIGURA 38. Espectro de RMN ^1H del oleanolato de metilo (CDCl_3 , 80MHz) -----	115
FIGURA 39. Espectro de RMN ^1H del 3-epi-oleanolato de metilo (CDCl_3 , 80MHz) -----	118
FIGURA 40. Estructura del ácido 3-epi-oleanólico <u>55</u> y su éster metílico <u>56</u> -----	119
FIGURA 41. Estructura del ácido 3α -hidroximasticadienó- nico <u>46</u> y su éster metílico <u>57</u> -----	122

	Página
FIGURA 42. Espectro de RMN ^1H del ácido 3α -hidroximasticadienónico (CDCl_3 , 80MHz) -----	123
FIGURA 43. Espectro de RMN ^1H del éster metílico del ácido 3α -hidroximasticadienónico (CDCl_3 , 80MHz) -----	124
FIGURA 44. Espectro de RMN ^1H del ácido 3-epi-hidroximasticadienónico (CDCl_3 , 80MHz) -----	127
FIGURA 45. Estructura del ácido 3-epi-hidroximasticadienónico -----	128
FIGURA 46. Espectro de masas por IE del compuesto XVI ---	133
FIGURA 47. Espectro de UV del compuesto XVI (CHCl_3) -----	134
FIGURA 48. Espectro de IR del compuesto XVI (película) ---	135
FIGURA 49. Espectro de RMN ^1H del compuesto XVI (CDCl_3 , 60MHz) -----	136
FIGURA 50. Espectro de masas por IE del compuesto XXIV ---	137
FIGURA 51. Espectro de IR del compuesto XXIV (CHCl_3) -----	138
FIGURA 52. Espectro de RMN ^1H del compuesto XXIV (CDCl_3 , 80MHz) -----	139
FIGURA 53. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto XXIV (CDCl_3 , 100MHz) -----	140

/c

	Página
FIGURA 54. Estructuras generales de los ácidos anacárdicos -	142
FIGURA 55. Fragmentación general propuesta para los ésteres metílicos de los ácidos anacárdicos ---	143
FIGURA 56. Fragmentación general propuesta para los ésteres metílicos acetilados de los ácidos anacárdicos-	144
FIGURA 57. Espectro de masas por IQ del compuesto XVI ----	147
FIGURA 58. Cromatograma del compuesto XVI en cromatografía de gases -----	148
FIGURA 59. Espectro de masas por IE del compuesto XXV ----	153
FIGURA 60. Espectro de IR del compuesto XXV (CHCl ₃) -----	154
FIGURA 61. Espectro de RMN ¹ H del compuesto XXV (CDCl ₃ , 80MHz) -----	155
FIGURA 62. Estructura del ácido 6-eicosilsalicílico -----	156
FIGURA 63. Estructura del ácido dihidroisomasticadienónico -----	161

LISTA DE ESQUEMAS

	Página
ESQUEMA 1. Extracción de las partes aéreas del <u>Chenopodium graveolens</u> Willd -----	19
ESQUEMA 2. Extracción de las partes aéreas del <u>Chenopodium</u> <u>ambrosioides</u> L. -----	74
ESQUEMA 3. Primera extracción de <u>A. adstringens</u> , recolec- tado en junio de 1983. -----	87
ESQUEMA 4. Segunda extracción de <u>A. adstringens</u> , recolec- tado en octubre de 1985 -----	93

LISTA DE ABREVIACIONES

Ar :	Anillo bencénico
c :	cuarteto
CDCl_3 :	cloroformo deuterado
d :	doblete
dd :	doble de dobles
ddd :	doble de doble de dobles
D_2O :	agua deuterada
DMSO-d_6 :	Dimetilsulfóxido hexadeuterado
EH-I :	Extracto hexánico I
EH-II :	Extracto hexánico II
EMIE :	Espectro de masas obtenido por impacto electrónico
EMIQ :	Espectro de masas obtenido por ionización química
Fig :	Figura
Hz :	Hertz
IE :	Impacto electrónico
IQ :	Ionización química
IR :	Infrarrojo
J :	Constante de acoplamiento
Jaa :	Constante de acoplamiento axial-axial
Jae :	Constante de acoplamiento axial-ecuatorial
MHz :	Mega Hertz
PF :	Punto de fusión
Piridina- d_5 :	Piridina pentadeuterada

- ppm : partes por millón
- RMN ^1H : Resonancia magnética nuclear de hidrógeno
- RMN ^{13}C : Resonancia magnética nuclear de carbono-13
- s : singulete
- t : triplete
- TMS : Tetrametilsilano
- UV : Ultravioleta

INTRODUCCION

Los problemas de salud en México son los propios de los países en desarrollo, generados principalmente por enfermedades infecciosas y/o parasitarias, la desnutrición, la deficiente higiene ambiental y la limitación en los servicios de salud a un porcentaje mínimo de la población (Lamy y Zolla, 1978). Si sumamos a esto el elevado costo de los medicamentos, entre otras cosas, por la ausencia de una industria farmoquímica propia y el uso inadecuado de los recursos existentes, en conjunto se forma un panorama crítico de la salud en México (Lamy y Zolla, 1978; Estrada, 1985).

Tomando en cuenta lo anterior, se hace evidente la necesidad de encontrar alternativas, en varias direcciones, para mejorar los problemas de salud en México. En este sentido, la Organización Mundial de la Salud (OMS) en su tratado de Alma-Ata de 1978 (OMS, 1978), propone:

1. Que los países en desarrollo como el nuestro, hagan uso de sus recursos naturales y su medicina tradicional para resolver ciertos problemas de salud.

2. Impulsar la investigación multidisciplinaria de la medicina tradicional y de los recursos terapéuticos que utilizan, haciendo partícipes a los practicantes de tal medicina (curanderos, yerberos, parteras, etc.), y establecer lineamientos para su investigación y estu-

dio (Bannerman, 1977; Bannerman, 1980; OMS, 1976; OMS, 1978; ONUDI, 1983; Penso, 1980). En Africa, China y la India se llevaron a cabo algunos programas de este tipo, obteniéndose resultados favorables (Farnsworth, 1980).

A la medicina tradicional, sin intentar darle una definición se la puede entender como un conjunto de conocimientos y prácticas generadas en el seno de la población, transmitidos generacionalmente y que basada en un saber empírico, intenta ofrecer soluciones a las diversas manifestaciones de la enfermedad, buscando propiciar la salud entre la comunidad. Este acervo de conocimientos y prácticas terapéuticas forma parte de la cultura popular y por lo tanto está sujeta a los cambios y el desarrollo de la misma (Lozoya, 1978; Tempesta, 1980; ONUDI, 1983). Se estima que aproximadamente un 75-80% de la población total de los países en desarrollo hace uso de la medicina tradicional para resolver sus problemas de salud (Tempesta, 1980).

Los practicantes de esta medicina hacen uso de los recursos a su alcance: plantas, animales y minerales de la región y con mucha frecuencia su utilización va acompañada de prácticas mágicas y rituales (ONUDI, 1983).

Quizás la importancia de la medicina tradicional se pueda resumir en los tres puntos siguientes:

- 1) Representa un modelo para procurar la salud en forma eficaz para el hombre en su propio ambiente físico.

- 2) Las plantas y animales medicinales usados en medicina tradi-

cional representan fuentes potencialespreciadas para el desarrollo y descubrimiento de nuevos medicamentos.

3) Debido a la reserva natural de numerosas plantas y animales ofrece, en términos económicos, una alternativa para curar numerosas enfermedades a un costo menor.

En el caso particular de México la práctica de la medicina tradicional es bien conocida desde tiempos antiguos. La bibliografía existente es extensa y plantea interesantes investigaciones (Lozoya, 1984). El registro escrito más antiguo sobre plantas medicinales, llamado Códice Badiano, fue escrito en Nahuatl en 1552 por Martín de la Cruz, del Colegio de la Santa Cruz de Tlatelolco, y traducido al latín por otro indígena Xochimilca, Juan Badiano (Heyden, 1983; López, 1971). Este código contiene 185 ilustraciones en color de plantas medicinales y menciona el uso medicinal de 270 especies en total (Estrada, 1985b). Algunos años después (1570-1577) Francisco Hernández (Hernández, 1959), Fray Bernardino de Sahagún (Sahagún, 1969), Francisco Ximénez y otros autores dieron a conocer más de 3500 plantas medicinales. De 1850 a 1952 aparecieron las Farmacopeas, éstas, actualizan los usos de las plantas medicinales más importantes. Destacan también la obra de Francisco del Paso y Troncoso, escrita en 1886 y las investigaciones experimentales del Instituto Médico Nacional (1888-1915) sobre la herbolaria medicinal de México (Lamy y Zolla, 1978). En la actualidad la obra más importante sobre plantas medicinales mexicanas es la del maestro Maximino Martínez (Martínez,

1969), que constituye un catálogo con la clasificación botánica, descripción de las plantas, habitat y usos comunes. Merece mención como fuentes de información más científicas desde el punto de vista botánico, químico y farmacológico sobre plantas medicinales mexicanas, la Revista Medicina Tradicional, las monografías y folletos editados por el entonces Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales (Díaz, 1974, 1976; Lozoya, 1976).

En los últimos diez años se han publicado varios trabajos sobre plantas medicinales de México en artículos, tesis, libros y resúmenes de congresos (Estrada, 1985b).

La medicina tradicional es, entonces una de las alternativas más importantes para resolver algunos de los problemas de salud en México. Pero debe señalarse que su adaptación requiere de grandes esfuerzos de investigación multidisciplinaria.

El estudio multidisciplinario de la medicina tradicional comprende varios aspectos: (a) antropológico; (b) botánico y/o etnobotánico; (c) químico; (d) farmacológico; y (e) clínico.

El aspecto químico es importante debido a que permite conocer los elementos constitutivos de la flora medicinal y permite además el hallazgo de nuevos y/o conocidos agentes medicinales. Los métodos para realizar estudios químicos de plantas medicinales pueden ser:

a) Por medio de estudios fitoquímicos convencionales, mediante los cuales se aíslan y caracterizan los metabolitos de las plantas y posteriormente se someten a ensayos biológicos. Este método tiene

la desventaja de que generalmente se aíslan los metabolitos que se encuentran en cantidades relativamente altas y no necesariamente son los responsables de la actividad biológica.

b) Discriminación farmacológica para una actividad dada de los extractos vegetales en combinación con el estudio químico de las fracciones activas. El fraccionamiento se hace en base a la actividad biológica. Este método tiene la ventaja de que permite el aislamiento de sustancias activas que se encuentran presentes en pequeñas cantidades y que de otra forma probablemente no hubiesen podido ser detectadas, y además resulta mucho más conveniente para el fitoquímico ya que le ahorra el trabajo de aislar un mayor número de compuestos que probablemente no tengan actividad biológica.

Existen numerosas referencias en donde se señala la metodología adecuada para realizar estudios químicos de plantas medicinales (Farkas, 1980; Farnsworth, 1980; Farnsworth y Bingel, 1977; Galeffi, 1980; Fairbairn, 1980; Salemink, 1980).

La investigación química de plantas medicinales es necesaria, ya que generalmente se usan en la medicina tradicional preparados formados por varias plantas, las cuales pueden contener sustancias activas que actúan en forma antagónica o sinérgica y es conveniente caracterizarlas por los múltiples beneficios que se pueden obtener de ellas (Farnsworth, 1980).

Los principales grupos de compuestos químicos a los que pertenece la mayoría de los principios activos aislados de las plantas medi-

cinales, corresponden en primer lugar a los alcaloides, seguido por los sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, esteroides, flavonoides, cumarinas, quinonas y monoterpenos (Farnsworth y Bingel, 1977), aunque también se han identificado como principios activos otros tipos de compuestos como: aminoácidos, naftalenos, lignanos, ácidos fenólicos, isotiocianatos, compuestos alifáticos y carbocíclicos, fenilpropanoides, cianoderivados, tiofenos y xantonas (Pesce, 1977; Farnsworth, y Bingel, 1977; Salemink, 1980).

Los estudios químicos que se han realizado sobre plantas medicinales mexicanas son numerosos, muchos de los cuales no se han realizado en México. Por otra parte, los estudios biológicos sobre las mismas son más escasos y se han realizado generalmente en forma independiente a los estudios químicos. Los estudios que se realizan actualmente sobre plantas medicinales mexicanas en general son aislados, sin continuidad, y las bondades medicinales que se llegan a demostrar en estos estudios son desconocidos por los practicantes y usuarios de este tipo de medicina.

Finalmente es de hacer notar que la gran riqueza y variedad de la flora mexicana, la gran tradición sobre el uso de vegetales con fines curativos, la carencia de una industria farmoquímica propia y las condiciones de los servicios de salud, hacen necesarios los estudios sistemáticos y multidisciplinarios sobre las plantas medicinales mexicanas.

OBJETIVOS

1. OBJETIVOS GENERALES

Considerando lo antes expuesto y como parte de un estudio sistemático de plantas mexicanas usadas en medicina tradicional cuyos objetivos principales son contribuir al conocimiento de la composición química y, en lo posible de la acción biológica de la flora medicinal mexicana, se considero conveniente el estudio fitoquímico de tres plantas ampliamente usadas en medicina popular. Las plantas escogidas para el logro de los objetivos son: Chenopodium graveolens Willd, Chenopodium ambrosioides L y Amphipterygium adstringens Schiede ex Schlecht.

2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

2.1 Recopilar la información botánica, etnobotánica, química y farmacológica de las especies vegetales objeto de estudio.

2.2 Efectuar las operaciones preliminares propias a la preparación de extractos vegetales para cada una de las plantas a ser estudiadas.

2.3 Preparar los extractos vegetales de acuerdo a la metodología convencional.

2.4 Fraccionar los extractos mediante los métodos adecuados.

2.5 Separar y purificar los constituyentes de las diferentes fracciones.

2.6 Identificar mediante métodos químicos y espectroscópicos las sustancias aisladas.

2.7 Correlacionar los resultados obtenidos con la información previamente descrita en la literatura, en cuanto a:

2.7.1 Composición química de las especies estudiadas.

2.7.2 Actividad biológica de las sustancias aisladas y su posible relación con las propiedades medicinales de la planta.

2.8 Proporcionar sugerencias en relación a estudios futuros.

CAPITULO I

CONSTITUYENTES QUIMICOS DE Chenopodium graveolens Willd y Chenopodium ambrosioides L.1. GENERALIDADES ACERCA DEL GENERO Chenopodium.

1.1 TAXONOMIA Y DISTRIBUCION.

El género Chenopodium es cosmopolita y está constituido aproximadamente por unas 200 especies agrupadas en 10 secciones y seis subsecciones. En la Tabla 1 se resumen las diferentes secciones, subsecciones y especies tipo del género Chenopodium (Heywood, 1978).

Desde el punto de vista taxonómico existen pocas monografías del género y dos clásicas están representadas por la de Aellen y Just y por la de Wahl. Ambas proporcionan en forma más o menos detallada la distribución, descripción y claves para la clasificación de las diferentes especies del género (Aellen y Just, 1943; Wahl, 1954).

El Chenopodium graveolens Will (Sección Botryoides, subsección Botrys), se encuentra ampliamente distribuido en el continente americano, desde el sur de los Estados Unidos hasta la Argentina. En México se encuentra en gran parte del territorio en medio de muchos tipos de vegetación (Rzedowski y Rzedowski, 1979).

TABLA 1. Secciones, subsecciones y especies tipo del género Chenopodium L.

SECCION Y SUBSECCION	ESPECIES TIPO
I. <u>Roubieva</u>	<u>Ch. multifidum</u> L; <u>Ch. huamani</u> Ulbrich
II. <u>Orthosporum</u>	<u>Ch. pumilio</u> R. Br.
III. <u>Ambrina</u>	<u>Ch. ambrosioides</u> L.
IV. <u>Botryoides</u>	
1) <u>Botrys</u>	<u>Ch. dissectum</u> standley; <u>Ch. botrys</u> L.; <u>Ch. foetidum</u> Schrad; <u>Ch. graveolens</u> Willd
2) <u>Theloxys</u>	<u>Ch. aristatum</u> L.
V. <u>Degenia</u>	<u>Ch. frigidum</u> Phil; <u>Ch. chenopodioides</u> L.; <u>Ch. macrospermum</u> Hook.
VI. <u>Eublittum</u>	<u>Ch. overi</u> Aellen; <u>Ch. foliosum</u> Aschers; <u>Ch. capitatum</u> L.
VII. <u>Pseudoblittum</u>	<u>Ch. mexicanum</u> Moq; <u>Ch. glaucum</u> L; <u>Ch. rubrum</u> L.
VIII. <u>Thellungia</u>	<u>Ch. antarcticum</u> (Hook. f.)
IX. <u>Agathophyton</u>	<u>Ch. bonus-henricus</u> L; <u>Ch. californicum</u> S. Wats
X. <u>Chenopodia</u>	
1) <u>Lejosperma</u>	<u>Ch. subglabrum</u> S. Wats; <u>Ch. album</u> L.; <u>Ch. urbicum</u> L.
2) <u>Cellulata</u>	<u>Ch. watsoni</u> A. Nelson; <u>Ch. berlandieri</u> Moq <u>Ch. serotinum</u> L; <u>Ch. quinoa</u> Aellen
3) <u>Undata</u>	<u>Ch. murale</u> L; <u>Ch. polyspermum</u> L.
4) <u>Grossefoveata</u>	<u>Ch. hybridum</u> L; <u>Ch. gigantospermum</u> Aellen

Rzedowski, en su libro [\]Flora fanerogámica del Valle de México ^{//} hace la siguiente descripción del Ch. graveolens.

"Hierba anual, erguida, glandulosa, muy olorosa, de 20 a 80 cm. de alto; tallo simple o ramificado, a veces rojizo; peciolo delgado, hojas ovadas u oblongas, de 2 a 6 cm de largo por 1 a 3 cm de ancho, sinuado-pinnatifidas, con los lóbulos oblongos o deltoideos, glabras o algo viscidas en el haz, cubiertas de glándulas amarillas en el envés; inflorescencia de numerosas cimas axilares, dispuestas en largas panículas; flores sésiles en la bifurcación de las ramas laterales y una sola termina en el extremo de cada una de las ramas laterales, flores pediceladas generalmente abortivas, caedizas, sus pedicelos espiniformes; perianto de menos de 1 mm de largo, corniculado en el ápice de los lóbulos, cubierto de glándulas, envolviendo incompletamente el fruto; semilla por lo general horizontal, de 0.5 mm de diámetro, de color café oscuro y con el pericarpo adherente".

y para el Chenopodium ambrosioides L. (Sección Ambrina) la siguiente:

"Hierba anual o perene, erguida o ascendente, fuertemente olorosa, glandulosa, de 40 cm a 1 m de alto; tallo simple o ramificado; hojas pecioladas, oblongas o lanceoladas, de 3 a 10 cm de largo por 1 a 5 cm de ancho, gradualmente reducidas hacia la parte superior, subenteras ó sinuado-dentatas; inflorescencia en forma de espigas con numerosas flores, dispuestas en panícu-

la piramidal, con ó sin hojas interpuestas; perianto de 1 mm de largo, glanduloso, envolviendo el fruto, pericarpo delgado que se desprende fácilmente, glanduloso; semilla horizontal ó vertical, de unos 0.7 mm de diámetro con el margen obtuso, negra brillante y lisa". (Rzedowski y Rzedowski, 1979).

1.2 FITOQUIMICA.

Varias especies de este género han sido investigadas desde el punto de vista fitoquímico. La mayoría de estos trabajos describen:

- a) El estudio del aceite esencial haciendo particular énfasis en el contenido de ascaridol (principio activo antiparasitario) (Nicholaev, 1956; Nicholas, 1955; Takemoto y Nikjama, 1957; Rovesti, 1973; Rostembekova, Goryaev y Dembitskii, 1974, 1975, inter alia).
- b) El contenido de flavonoides (flavonoles) con propósitos quimiota-xonómicos (Crawford, 1975; Arasawa, Minabe, Saeki, Takakuwa y Nakaoki, 1971; Crawford y Evans, 1978; Crawford y Mabry, 1978; Mandich, Barros y Silva, 1982).

También se han reportado el aislamiento y caracterización de betacianinas (Rustembekova, Gorgaev y Gladyshev, 1973; Piatelli e Imperato, 1971); écdiesteroides (Toth, Bathory, Szendrei, Minker y Blazso, 1981; Bathory, Thot, Szendrei y Reish, 1982); glicosidos triterpénicos (Chirva, Chebar, Kintya y Bobeiko, 1971; Bogacheva, Kogan y Libizov, 1972); endoperoxidos monoterpénicos y algunos sesquiterpé-

nos polioxigenados (De Pascual, Bellido y González, 1978a, 1978b y 1980). En la Tabla 2 se resume el perfil fitoquímico del género Chenopodium, indicándose los diferentes tipos de metabolitos secundarios, ejemplos de los mismos, sus fuentes naturales y las referencias correspondientes. Es de hacer notar que en el caso de los monoterpenos solo se hará referencia a los del tipo peróxido por ser los mismos específicos del género.

1.3 IMPORTANCIA BIOLÓGICA Y ECONÓMICA.

Numerosas plantas del género Chenopodium L., son de gran interés por los múltiples beneficios que pueden ser derivados de las mismas. En este sentido, es bien conocido que muchas especies constituyen un recurso alimenticio en algunas regiones del mundo (Tóth, Báthory, Szender, Minker y Blazso, 1981; Martínez, 1969), un ejemplo local está dado por el Chenopodium nuttalliae Safford, comunmente llamado Huauzontle y que ha sido usado como un preciado alimento desde la época de los Aztecas (Wilson y Heiser, 1979). Algunas otras gozan de reputación folklórica como agentes medicinales, en virtud de sus efectos antihelmínticos (Martínez, 1969; Bye, 1985; Bye, 1986; Van Pooijen, 1979; Whid, 1960), anticonceptivos (Mandich, Barros y Silva, 1982; Quezada, 1975), analgésicos y/o antipiréticos (Bye, 1986).

En México el uso como vermífugo de las hojas y las partes aéreas de la "yerba del zorrillo" (Ch. graveolens) y del epazote (Ch. ambrosioides) es bien conocido desde épocas precolombinas (Velázquez, 1979; Bye, 1986; INEA, 1982). Evidencias arqueológicas de coprolitos sugie-

TABLA 2. Perfil fitoquímico del género Chenopodium.

TIPO DE METABOLITOS SECUNDARIO	COMPUESTO*	FUENTE NATURAL	REFERENCIAS
a) Flavonoides (Flavonoles)	Kaenferol <u>1</u>	<u>Ch. fremontii</u> , S.	Crawford y Mabry, 1978
	Quercetina <u>2</u>	<u>Ch. flabellifolium</u> Standley	Crawford y Evans, 1978
	Isorhamnetina <u>3</u>		
	Quercetin-3-O-galactosido <u>4</u>	<u>Ch. santae-clarae</u> L.	Mandich, Barros y Silva 1982
	Quercetin-di-glu-rhamnosa <u>5</u>	<u>Ch. ambrosioides</u> L.	Avasawa, Minabe, Saeki, Takakuwa y Nakaoki, 1971
b) Betacianinas	Betanina <u>6</u>	<u>Ch. botrys</u> L.	Rustem bekova, Goryaev y Gladyshev, 1973
		<u>Ch. urbicum</u> L.	Piatelli e Imperato, 1971
c) Esteroides (Ecdiesteroides)	Polipodina B <u>7</u>	<u>Ch. bonus-henricus</u> L.	Báthory, Tóth, Szendrei y Reisch, 1982
	20-hidroxiecdisona <u>8</u>		
d) Triterpenos (glicosidos)	Saponina <u>9</u>	<u>Ch. anthelminticum</u> L.	Chirva, Cheban, Kintya y Bobeiki, 1971
	Saponina <u>10</u>		
e) Sesquiterpenos - Guaiano	-11-acetoxi-cis-guai-10 (14)-en-14 α -ol <u>11</u>	<u>Ch. botrys</u> L.	De Pascual, Bellido y González, 1978a; 1978b, 1980
	-cis-guai-10-en-4 α , 11- diol <u>12</u>		

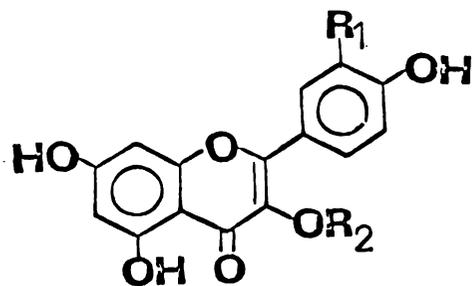
TABLA 2. Perfil fitoquímico del género Chenopodium (Continuación).

TIPO DE METABOLITO SECUNDARIO	EJEMPLOS TIPO*	FUENTE NATURAL	REFERENCIAS
-Eudesmano	6 α -acetoxiselin-4(15)-en-11-ol <u>13</u>		
	selin-4(15)-en-3 β ,11-diol <u>14</u>		
	selin-4(15)-en-3 α ,6 α ,11-triol <u>15</u>		
	selin-4(15)-en-3 β -6 α ,11-triol <u>16</u>		
	6 α -acetoxi-selin-3-en-11-ol-2-ona <u>17</u>		
	4 α -acetoxi-selinan-6 α ,11-diol <u>18</u>		
	selin-3,5-dien-11-ol-2-ona <u>19</u>		
	selin-4-en-3 α ,6 α ,11-triol <u>20</u>		
	selinan-3 α ,4 α ,6 α ,11-tetraol <u>21</u>		
	Selinan-3 β ,4 α ,6 α ,11-tetraol <u>22</u>		
	11-acetoxiselin-4 α -ol <u>23</u>		
	criptomeridiol <u>24</u>		
	-Elemoano	Acetato de elemol <u>25</u>	<u>Ch. botrys</u> L.
Elemol <u>26</u>			
+ botrydiol <u>27</u>			
f) Monoterpenos **	Endoperoxidos de α -felandreno <u>28</u> , <u>19</u>	<u>Ch. multifidum</u> L.	De Pascual, Bellido, Torres, Sastre y Grande 1981
	Ascaridol <u>30</u>	<u>Ch. ambrosioides</u> L.	

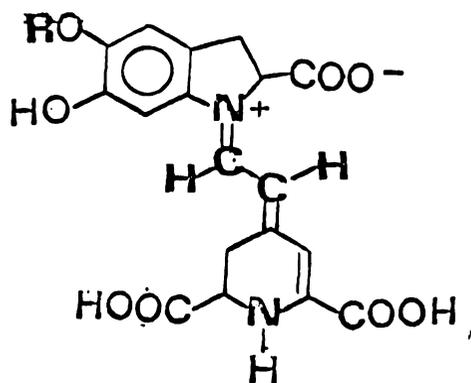
*Los números corresponden a las estructuras de la Figura 1.

**Sólo se consideran los de tipo endoperóxido.

a) Flavonoides (Flavonoles).



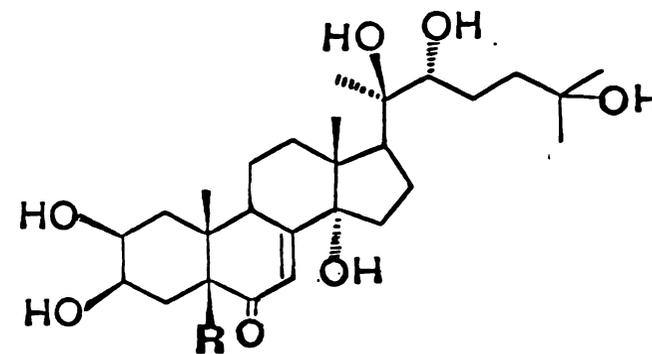
- 1: R₁=H, R₂=H
2: R₁=OH, R₂=H
3: R₁=OCH₃, R₂=H
4: R₁=OH; R₂=galactosa
5: R₁=OH; R₂=diglu-rhamnosa



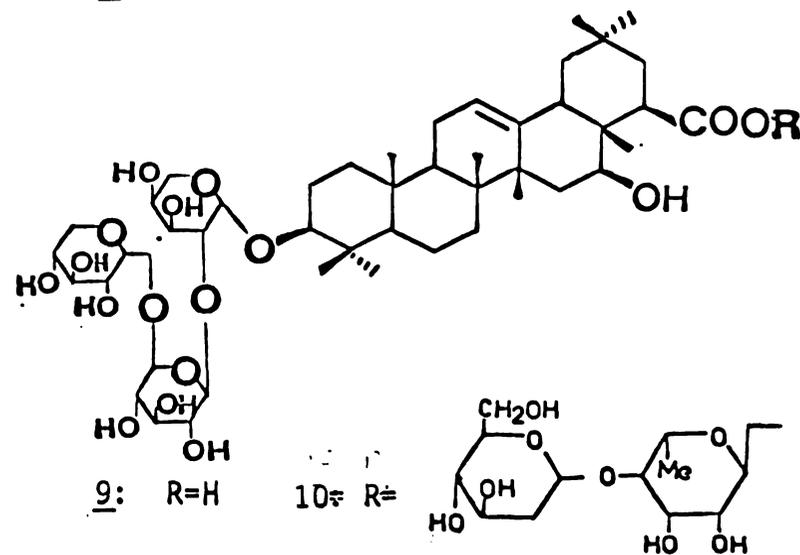
- 6: R=glucosa

b) Betacianinas

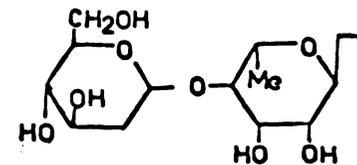
c) Esteroides (Ecdiesteroides).



- 7: R=OH
8: R=H



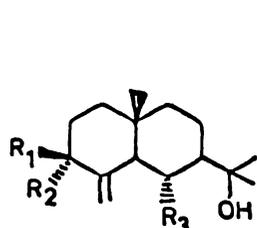
- 9: R=H
10: R=



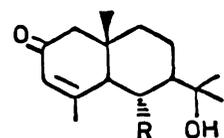
d) Triterpenos (glicosidos)

FIGURA 1. Estructura de los metabolitos secundarios del género Chenopodium.

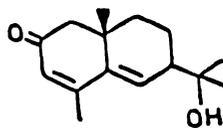
- Eudesmano



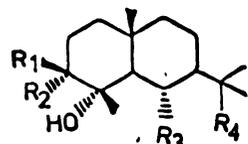
	R ₁	R ₂	R ₃
<u>13</u> :	H	H	OAc
<u>14</u> :	OH	H	H
<u>15</u> :	H	OH	OH
<u>16</u> :	OH	H	OH



17: R=OAc

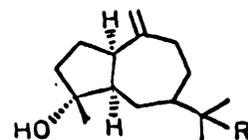


19



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
<u>21</u> :	H	OH	OH	OH
<u>22</u> :	OH	H	OH	OH
<u>23</u> :	H	H	H	OAc
<u>24</u> :	H	H	H	OH

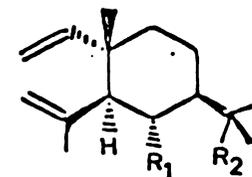
- Guaiano



11: R=OAc

12: R=OH

- Elemano

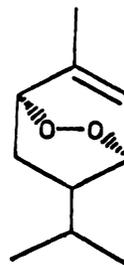


25: R₁=H; R₂=OAc

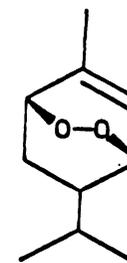
26: R₁=H; R₂=OH

27: R₁=OH; R₂=OH

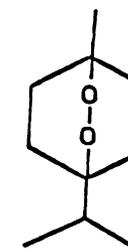
f) Monoterpenos (endoperóxidos)



28



29



30

FIGURA 1. Estructura de los metabolitos secundarios del género Chenopodium. (Continuación).

ren un uso similar en épocas prehistóricas (en Bye, 1986). Actualmente la actividad antihelmíntica de ambas especies es de conocimiento general en toda la República; aun más, estas plantas forman parte de un cuadro básico de drogas vegetales de la O.M.S. para el tratamiento de parasitosis en varios países en desarrollo. (Informe de la ONUDI, ID/295). Además de su actividad vermífuga, es bien conocido en la medicina tradicional mexicana las propiedades abortivas del Ch. ambrosioides (Quezada, 1975).

Finalmente cabe destacar que el epazote posee actividad nematocida en diversos tipos de suelo, lo cual tiene importancia de índole agronómica (Morishita, Tagoimi, Taketsugu, 1978).

Tomando en cuenta lo antes mencionado y dentro de los objetivos generales y específicos previamente establecidos, se considero conveniente efectuar el análisis químico del epazote morado (Ch. ambrosioides L.) y de la yerba del zorrillo (Ch. graveolens Willd).

2. CONSTITUYENTES DE *Chenopodium graveolens* Willd (yerba del zorrillo).

2.1 MATERIALES Y METODOS.

2.1.1 MATERIAL VEGETAL.

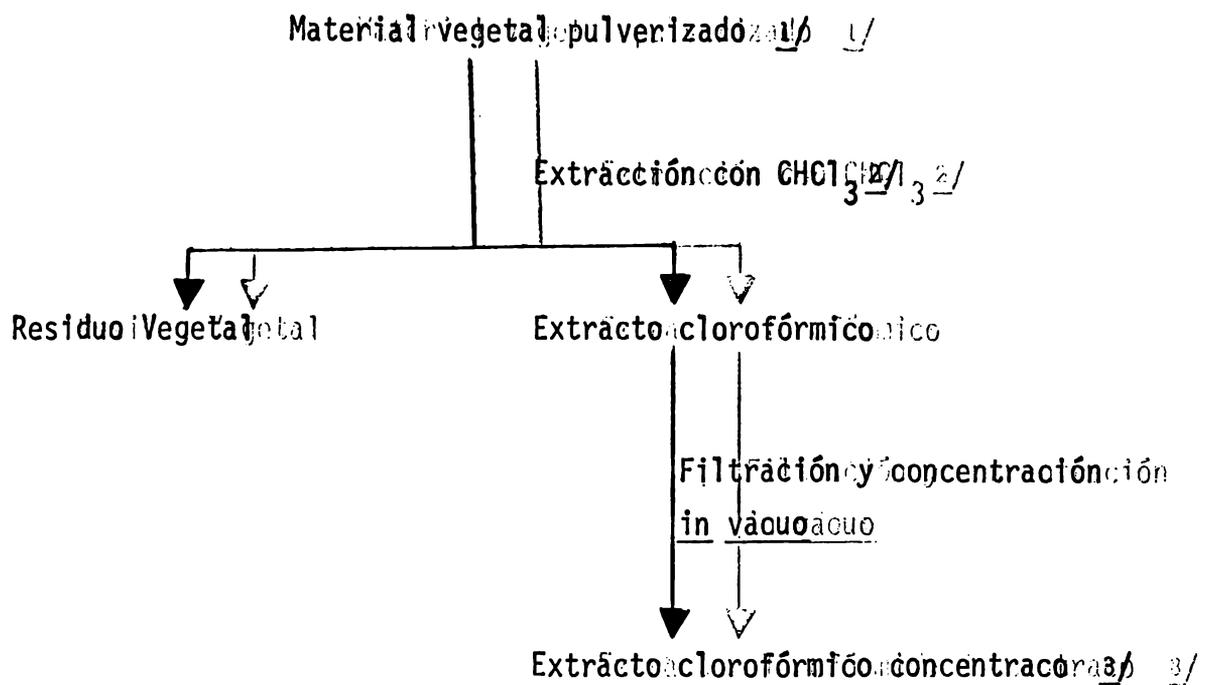
La planta (partes aéreas) fué obtenida a través de una epazote-
ra del Mercado de Sonora, México, D.F. en abril de 1985, y fué identi-
ficada por el Dr. Robert Bye, del Jardín Botánico Exterior, Instituto
de Biología, UNAM. Una muestra de referencia se depositó en el Herba-
rio Nacional (Voucher DGL 1158).

El material vegetal se dejó secar a temperatura ambiente y se
corto en trozos pequeños.

2.1.2 METODOS DE EXTRACCION Y FRACCIONAMIENTO PRELIMINAR.

El material vegetal (3.1 Kg) se extrajo según el procedimien-
to señalado en el Esquema 1.

El total del extracto clorofómico (103.5 g) se fracciona pre-
liminarmente mediante una cromatografía preparativa en columna, uti-
lizando como adsorbente sílica gel (3 Kg, sílica gel G 60 Merck 70-
230 mallas); el proceso de elución se efectuó con hexano, cloroformo
y acetona en diferentes proporciones. Se recogieron un total de
425 fracciones de 500 ml cada una; cada fracción fué analizada por
cromatografía en capa fina, combinándose aquellas cromatográficamen-
te similares. En la Tabla 3 se resumen los sistemas de eluyentes
empleados, el número de fracciones eluidas con cada uno de ellos y



1/ Cantidad de material vegetal, 311 Kg. Kg.

2/ Extracción vía maceración (3 veces por períodos de 3 días cada vez 30 l de cloroformo).).

3/ Cantidad total de extracto 103.50g. 5 g.

ESQUEMA DE LA Extracción de las partes aéreas del Chenopodium graveolens Willd.

las fracciones combinadas.

Los análisis cromatográficos en capa fina, se efectuaron siguiendo las técnicas convencionales, utilizando placas de vidrio recubiertas de gel de sílice (sílica gel 60 GF₂₅₄, Merck). Como agente cromogénico se utilizó una solución reactivo de sulfato cérico en ácido sulfúrico concentrado, y para lograr el desarrollo de color era necesario calentar por dos minutos a 110°C. Como fase móvil se utilizaron varios sistemas de disolventes: benceno, benceno-acetona (en diversas proporciones), benceno-acetato de etilo (en diversas proporciones), hexano-acetato de etilo (en diversas proporciones), acetato de etilo, cloroformo y acetona.

2.1.3 AISLAMIENTO Y PURIFICACION DE LOS COMPUESTOS I-X.

a) De las fracciones 121-146 de la Tabla 3 se obtuvo un polvo cristalino de p.f. = 95°C. Recristalizaciones sucesivas de éter etílico, elevaron el punto de fusión a 100°C. El rendimiento total de este producto fue de 3 g (0.15 de rendimiento) y se denominó compuesto I, 31.

b) Las fracciones 147-214 (6.1 g) de la columna original (Tabla 3); se recromatografiaron en una columna empacada con 100 g de gel de sílice; la elución se inició con hexano y posteriormente con hexano-acetato de etilo (90:10). Se recolectaron 150 fracciones de 100 ml cada una.

De las fracciones 24-29, eluidas con hexano-acetato de etilo 90:10 se obtuvieron 100 mg (0.003% de rendimiento) de un compuesto homo-

TABLA 3. Resumen del fraccionamiento vía cromatografía en columna del extracto clorofórmico del Chenopodium graveolens.

Eluyente	Proporción	No. de fracciones	Fracciones combinadas	Observaciones
Hexano	100%	1 - 32	1 - 14	Descartadas
			15 - 18	Descartadas
			19 - 27	Descartadas
Hexano:Cloroformo	90 : 10	33 - 53	28 - 35	Descartadas
			36 - 44	Descartadas
Hexano:Cloroformo	70 : 30	54 - 82	45 - 63	—
Hexano:Cloroformo	60 : 40	83 - 98	64 - 96	—
Hexano:Cloroformo	50 : 50	99 - 187	*97 - 145	+* Combinadas luego de separar el compuesto 1
Hexano:Cloroformo	25 : 75	188 - 265	147 - 214	+
			215 - 257	+
Cloroformo	100	266 - 310	258 - 271	Descartadas
			272 - 275	Descartadas
			276 - 309	Descartadas

TABLA 3. Resumen del fraccionamiento vía cromatografía en columna del extracto clorofórmico del Chenopodium graveolens. (Continuación).

Eluyente	Proporción	No. de fracciones	Fracciones combinadas	Observaciones
Cloroformo:Acetona	90 : 10	311 - 352	310 - 312	+
			313 - 315	+
			316 - 350	+
Cloroformo:Acetona	80 : 20	353 - 383	351 - 373	+
Cloroformo:Acetona	70 : 30	384 - 411	374 - 405	+
Cloroformo:Acetona	60 : 40	412 - 429	406 - 413	
Cloroformo:Acetona	50 : 50	430 - 445	414 - 448	+
Cloroformo:Acetona	25 : 75	446 - 464		
Acetona	100	465 - 487	449 - 485	—

+ Fracciones estudiadas.

geneo cromatográficamente y de p.f. = 169° (Compuesto II, 32).

De las fracciones 31-39 de esta misma columna se separaron 75 mg (0.0025% de rendimiento) de un polvo blanco de p.f. = 161°C. (Compuesto III, 33).

Finalmente de las fracciones 90-100 se obtuvieron 300 mg (0.01% de rendimiento) aceite incoloro de olor agradable (Compuesto IV, 34).

- c) De las fracciones 310-312 de la Tabla 3 precipitaron 500 mg de un polvo verde-amarillento con p.f. = 90°. (Compuesto V, 35).
- El remanente de esta fracción (4.75 g) se recromatografió en 200 g de gel de sílice, utilizando como eluyentes hexano-cloroformo 1:1, cloroformo, cloroformo con cantidades crecientes de acetato de etilo (95:5, 90:10, 80:20) y acetato de etilo. Se obtuvieron 155 fracciones, de 100 ml cada una.
- Las fracciones 47-51 (2 g) eluidas con cloroformo-acetato de etilo 95:5 se acetilaron con anhídrido acético y piridina 1:1 a temperatura ambiente. Después de procesar la mezcla de reacción se separaron 500 mg de un sólido blanco de p.f. = 105°. (Compuesto V-A acetilado, 36).
- d) De las fracciones 313-315 de la Tabla 3 cristalizaron 1.5 g (0.05% de rendimiento) de un compuesto amarillo de p.f. 275-280°. (Compuesto VI, 37).
- e) Las fracciones 316-350 de la Tabla 3, fueron filtradas sobre carbón activado y tonsil (1:1, 100 g). La solución filtrada se concentró in vacuo obteniéndose 4.34 g de un residuo, el cual fue recromatografiado sobre 150 g de gel de sílice. La elución

se inició con hexano-acetato de etilo 90:10 continuándose con cantidades crecientes de acetato de etilo (80:20, 70:30, 60:40 y 50:50) y finalizando con acetato de etilo. Las fracciones 45-99 (2 g) eluidas con hexano-acetato de etilo 80:20, fueron a su vez cromatografiadas en 80 g de gel de sílice impregnados con nitrato de plata (al 10%) utilizándose como eluyentes cloroformo y cloroformo-acetato de etilo 95:5; de las fracciones 48-64 de esta última columna se obtuvo una masa cristalina de color verde, la cual fue purificada por tratamiento con carbón activado. Luego del proceso de purificación se obtuvo un polvo cristalino de p.f. = 110°C. (Compuesto VII, 38). El rendimiento del compuesto VII fué de 140 mg (0.0045%).

- f) Las fracciones 374-405 (5.51 g) de la columna original (Tabla 3), fueron recromatografiadas en 200 g de gel de sílice. La elución se hizo con cloroformo y cantidades crecientes de acetato de etilo. De las fracciones 134-153 eluidas con cloroformo-Acetato de etilo 97.5:2.5 se obtuvieron 110 mg (0.0036% de rendimiento) de una sustancia con p.f. de 70°C. (Compuesto VIII, 38); de las fracciones 154-169 eluidas con la misma polaridad, se aislaron 90 mg (0.003% del peso seco) de un sólido con p.f. de 130°C. (Compuesto IX, 24).
- g) Las fracciones 414-448 (2.84 g), de la Tabla 3, fueron recromatografiadas en 120 g de gel de sílice, la elución se hizo con acetato de etilo y cantidades crecientes de acetona; se recogieron fracciones de 50 ml. De las fracciones 21-35 eluidas con acetato

de etilo, se aisló un polvo cristalino, que después de recristalizarlo varias veces de éter etílico originó 110 mg (0.0036% de rendimiento) de una sustancia pura de p.f. = 280° (desc.). (Compuesto X, 39)

2.1.4 CARACTERIZACION DE LOS COMPUESTOS AISLADOS.

a) Determinación de las constantes físicas y espectroscópicas.

Los puntos de fusión fueron medidos en un aparato Fisher-Jones y no están corregidos. Los espectros I.R. fueron registrados en un instrumento Nicolet FT-IR 5X de un solo haz, en pastilla KBr o en solución de cloroformo por el señor Alejandro Correa de la Compañía Dupont. Los espectros de RMN ^1H y de RMN ^{13}C se determinaron en un espectrómetro FT-80 Varian utilizando como disolventes CDCl_3 y/o DMSO-d_6 y como referencia interna TMS. Los espectros UV se obtuvieron en un espectrometro de doble haz Hitachi 220 S.

Los espectros de masa fueron obtenidos en un aparato Hitachi Perkin-Elmer RMU 6D en el Instituto de Química de la UNAM. Las rotaciones ópticas fueron determinadas en un polarímetro Perkin-Elmer 241.

Los espectros de RMN ^{13}C de los compuestos VII y VIII fueron realizados en el laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear del Departamento de Química Farmacéutica de la Universidad de Purdue, Indiana, USA.

Los análisis elementales se realizaron en Galbraith Laboratories,

Inc., Knoxville, Tenn., USA.

b) Preparación de derivados.

b1) Acetilaciones: Para formar los derivados acetilados de los productos asilados se empleo 1 ml de anhídrido acético y 1 ml de piridina por cada 100 mg de producto. En todos los casos la mezcla de reacción se dejó por 12 horas a temperatura ambiente. Cuando en el medio de la reacción se formaron productos sólidos, éstos se separaron por filtración y posteriormente se lavaron con éter etílico; en los otros casos se proceso la reacción de manera habitual. (Shriner, Fuson-Curtin, 1980).

A continuación se resumen los compuestos que fueron acetilados, así como los rendimientos y punto de fusión de los compuestos obtenidos.

COMPUESTO	CANTIDAD DEL COMPUESTO	PRODUCTO	CANTIDAD DE PRODUCTO OBTENIDO	PUNTO DE FUSION
VI (37)	100 mg		180 mg	198°C
III (33)	30 mg	III acetilado	15 mg	178-180°C
II (32)	50 mg	II acetilado	40 mg	127°C
X (39)	50 mg	X acetilado	48-5 mg	138-140°C
V (35)	200 mg	V acetilado (36)	140 mg	105°C

b2) Metilación. Para obtener los derivados metilados de los productos aislados se utilizó una solución etérea de diazometano. Por cada 100 mg de producto a metilar se utilizó 20 ml de una solución de diazometano preparada con 4 ml de una solución acuosa de hidróxido de potasio al 50%, 20 ml de éter etílico y 2 g de N-nitroso-N-metil-urea. En todos los casos el producto a metilar se disolvió en 10 ml de etanol ó en 10 ml de éter, y la mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 12 horas.

A continuación se indican los compuestos sometidos a metilación, el rendimiento de los productos obtenidos y sus puntos de fusión:

COMPUESTO	CANTIDAD DEL COMPUESTO	PRODUCTO	CANTIDAD DE PRODUCTO OBTENIDO	PUNTO DE FUSION
VI (37)	100 mg		(100 mg)	177-179°
V (35)	200 mg	I (31)		

2.2 RESULTADOS Y DISCUSION.

Del extracto clorofórmico de las partes aéreas del Ch. graveolens, luego de un fraccionamiento preliminar vía una cromatografía preparativa en columna sobre sílica gel (Tabla 3) y posteriores cromatografías en columna de las fracciones originales sobre sílica gel impregnada o no con NO_3Ag , se obtuvieron 10 metabolitos secundarios: un monoterpenoide (Compuesto IV), tres flavonoides (Compuesto I, V y VI), tres sustancias esteroideas (Compuesto II, III y X) y tres metabolitos sesquiterpenoides (compuesto VII, VIII y IX), dos de los cuales resultaron ser nuevos productos naturales.

2.2.1 IDENTIFICACION DE LA PINOSTROBINA, 31 (Compuesto I).

El compuesto I se obtuvo de las fracciones menos polares de la columna preparativa original en un rendimiento del 0.1%. Las constantes físicas y los datos espectroscópicos utilizados en su identificación se resumen en la Tabla 4.

Su fórmula molecular se estableció como $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_4$ por espectrometría de masas y permite un índice de insaturación de 10.

Los espectros de IR y UV indicaron el carácter aromático del compuesto I, esta información fué confirmada por los espectros RMN ^1H (Figura 2) y de RMN ^{13}C (Figura 3), los cuales presentaban señales típicas para protones (7.4 ppm, 6.1 ppm) y carbonos (168, 164.3, 162.9, 103.3, 92.2 y 94.3 ppm) aromáticos, respectivamente.

TABLA 4. Constantes físicas y espectroscópicas de la pinostrobinina 31, (Compuesto I).

P.f.	100°C
EMIQ m/z (%)	271 (M+1), 100
UV $\lambda_{\text{Max}}^{\text{MeOH}}$ mm (log ϵ):	242 (0.8877), 294 (3.4231)
IR $\nu_{\text{Max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1}	1634, 1570, 1295, 1155, 1085
RMN ^1H (80 MHz, CDCl_3 ppm) (Figura 2)	11(s, 1H, OH), 7.4(s, 5H, H _{2'} -H _{6'}), 6.1(s, 2H, H ₆ -H ₈), 5.37 (dd, 1H, J=11, 5Hz, H ₂), 3.8 (s, 3H, OMe), 3.17 (dd, 1H, J=11, 17Hz, H ₃), 2.77 (dd, 1H, J=17, 5Hz, H ₃).
RMN ^{13}C (20 MHz, CDCl_3 ppm) (Figura 3)	195.7 (s, C-4), 168 (s, C-7), 164.3 (s, C-5), 162.9 (s, C-9), 138.7 (s, C-1'), 128.9 (d, C-3', C-4', C-5'), 126.2 (d, C-2', C-6'), 103.5 (s, C-10), 94.3 (d, C-8), 92.2 (d, C-6), 79.2 (d, C-2), 55.6 (c, MeO), 43.4 (t, C-3).

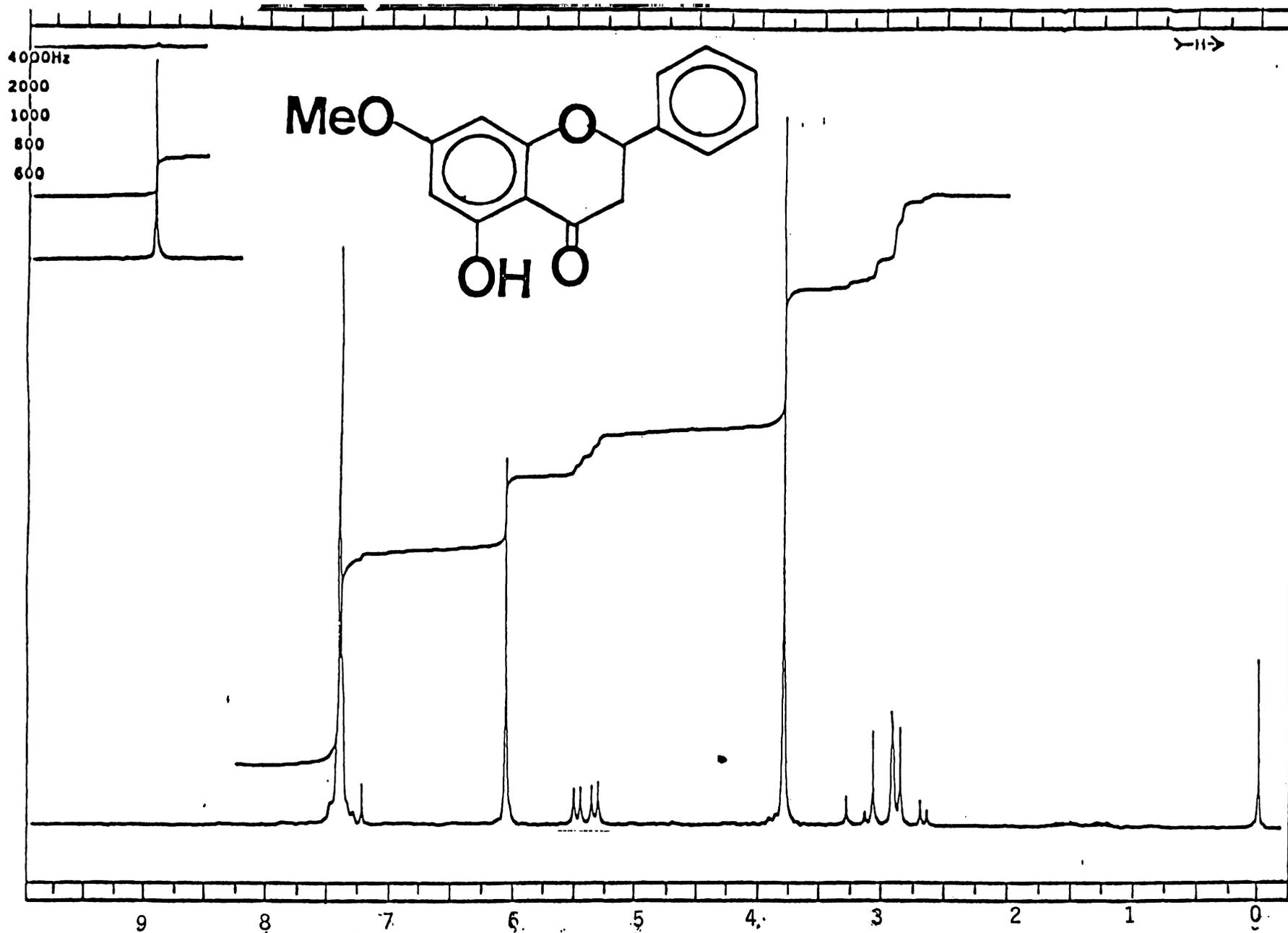


Fig.2. ESPECTRO DE RMN¹H DE LA PINOSTROBINA (80MHz, CDCl₃)

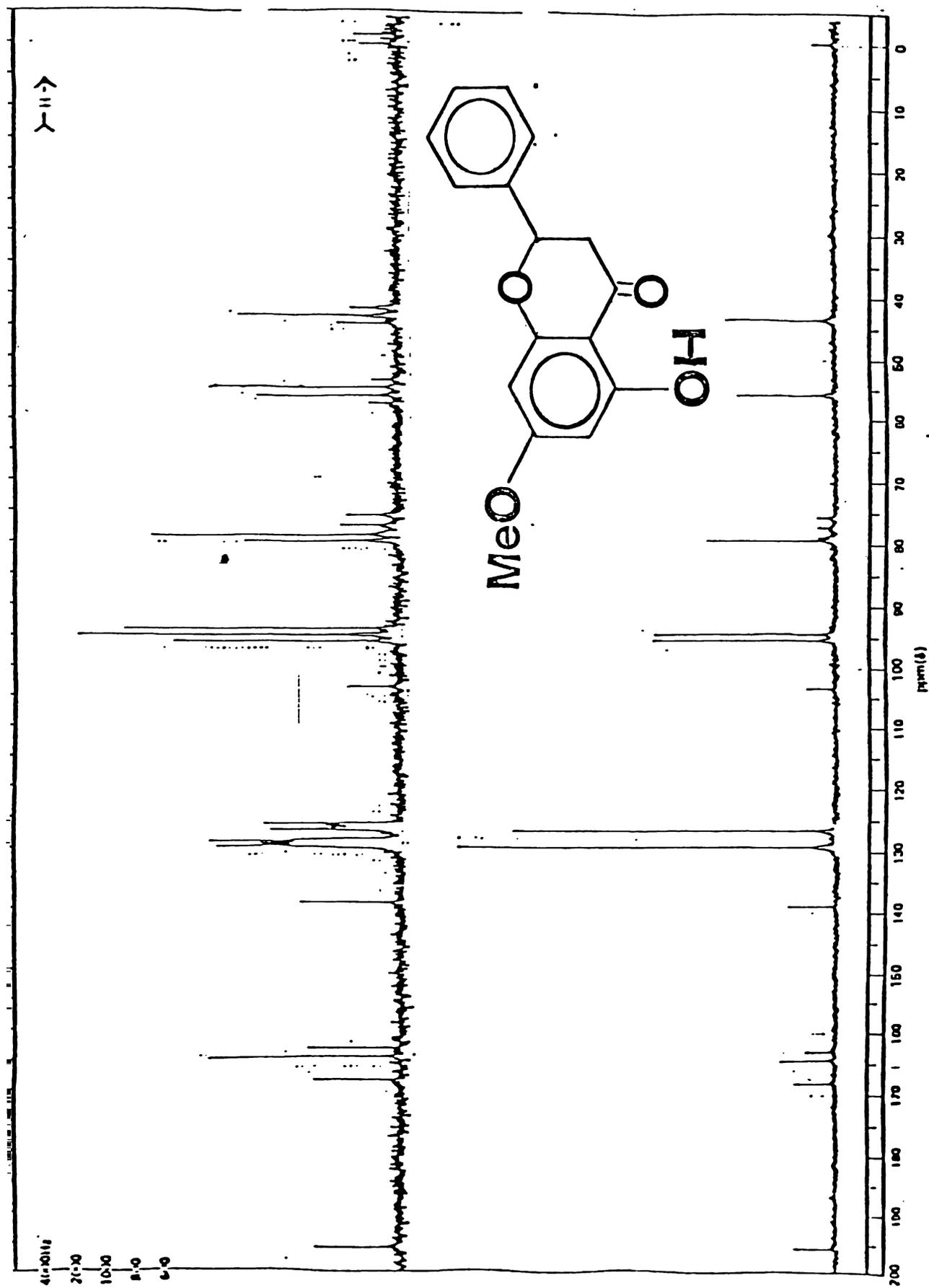


Fig. 3. ESPECTRO DE RMN ^{13}C DE LA PINOSTROBINA (100MHz , CDCl_3)

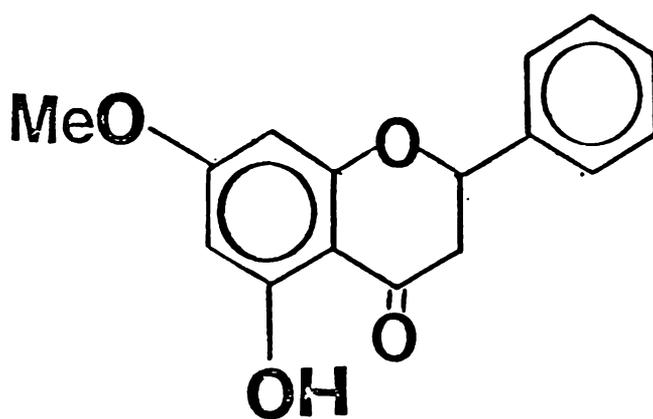
Asimismo la presencia en el espectro de RMN ^1H de tres señales doble de dobles, una entrada a 3.17 ppm ($J = 11,17$ Hz), otra a 2.77 ppm ($J = 17,5$ Hz) y la última a 5.37 ppm ($J = 11,5$ Hz), permitió inferir a priori que el compuesto I era una flavanona. Estas señales representan el sistema ABX típico que conforman los protones H-2, H-3 y H-3' del esqueleto fundamental, y en el cual el grupo fenilo se encuentra α orientado. Por otra parte el singulete a 195.7 ppm (C-4), las señales triple a 43.4 ppm (C-3) y doble a 79.2 ppm (C-2) en el espectro de RM ^{13}C sustentaron aun más esta proporsión.

La ubicación del grupo hidroxilo en C-5 se hizo considerando el desplazamiento químico del protón a 11 ppm (desaparece luego de equilibrar con D_2O) en el espectro de RMN ^1H y el cual es característico para un protón fenólico quelatado con un grupo carbonilo. La ausencia de absorción para hidroxilos y la presencia de absorción observada para el carbonilo de la estructura tipo (1635 cm^{-1}) en el espectro infrarrojo eran consistentes con la anterior propuesta.

La disposición del grupo hidroxilo en C-5, así como el singulete integrado para dos protones a 6.1 ppm (H-6, H-8) en el espectro de RMN ^1H , permitieron colocar el grupo metoxilo (sa 3.80 ppm y ca. 55.6 ppm en los espectros de RMN ^1H y RMN ^{13}C respectivamente) en C-7. Si el metoxilo antes considerado hubiese estado en C-6 ó C-8 no se observaría la equivalencia química de los protones que resuenan a 6.1 ppm (Harbone y Mabry, 1982). Finalmente el singulete integrado para cinco protones en 7.40 ppm permitió inferir que el anillo aromático B de la flavanona era monosustituído.

Considerando lo antes expuesto se pudo establecer la estructura para el compuesto I como la 2-fenil-5-hidroxi-7-metoxi flavanona, conocido comunmente como pinostrobin, y cuya estructura se indica en la Figura 4. Las constantes físicas y algunas espectroscópicas indicadas en la Tabla 4 concuerdan con las previamente reportadas en la literatura (Asakawa, 1970; Wolenweber, y Egger, 1971).

Es de hacer notar que el espectro de RM ^{13}C para este compuesto no se ha descrito previamente en la literatura. Las asignaciones se indican en la Tabla 4 y se hicieron de acuerdo a la teoría del desplazamiento químico (Wehrli y Wirthlin, 1978), comparación con compuestos modelos (Harbone y Mabry, 1982) y en base a la multiplicidad observada en el espectro acoplado (Figura 3).

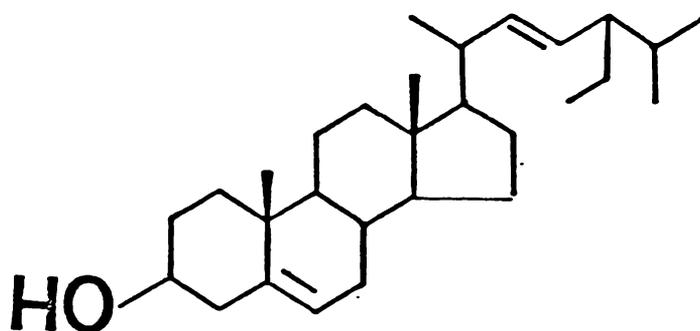


31

FIGURA 4. Estructura de la pinostrobin.

2.2.2 IDENTIFICACION DEL ESTIGMASTEROL, 32, (Compuesto II).

Al recromatografiar las fracciones 147-214 de la Tabla 3 se obtuvieron 100 mg (0.003% del peso seco) del estigmasterol, el cual fue identificado por comparación con una muestra auténtica siguiendo los procedimientos convencionales (comportamiento cromatográfico, punto de fusión, punto de fusión mixto, IR, RMN ^1H , EM y obtención de derivados). En la Figura 5 se indica la estructura del estigmasterol.



32

FIGURA 5. Estructura del estigmasterol.

2.2.3 IDENTIFICACION DEL estigmast-22-en-3-ol, 33, (Compuesto III).

De las mismas fracciones de donde se obtuvo el compuesto II se separaron 75 mg (0.0025% del peso seco) del compuesto III. Los espectros de IR y RMN ^1H (Figuras 6 y 7 respectivamente) mostraron el perfil característico de una sustancia esteroidal.

La comparación de las constantes físicas, espectroscópicas, y del comportamiento cromatográfico en capa fina del derivado acetilado, con aquellas de una muestra auténtica permitieron caracterizar inequívocamente el compuesto III como estigmast-22-en-3-ol, 33, cuya estructura se indica en la Figura 8.

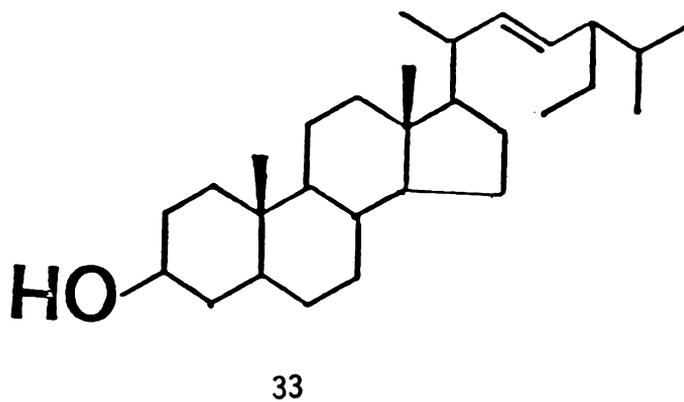
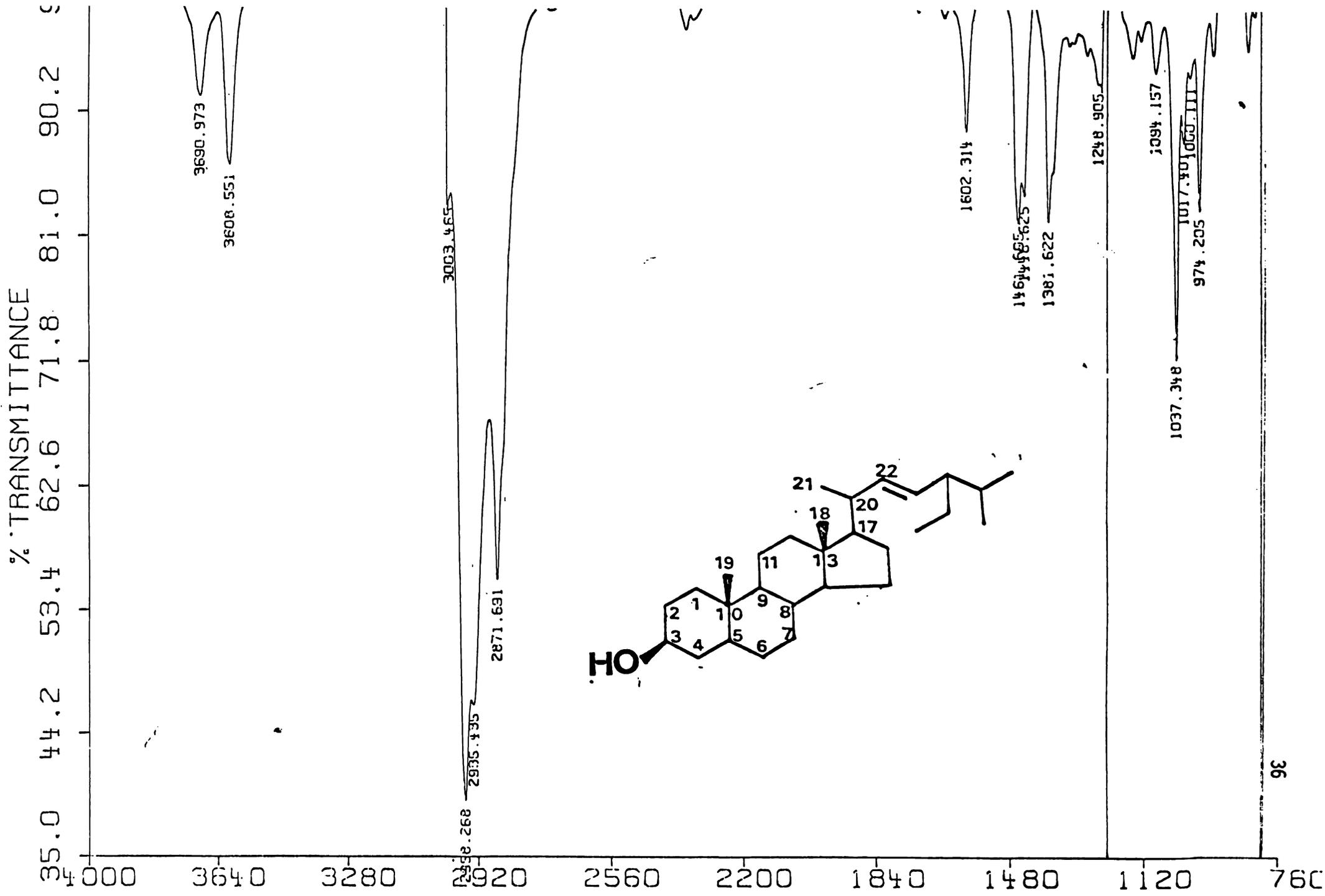


FIGURA 8. Estructura del Estigmast-22-en-3-ol.



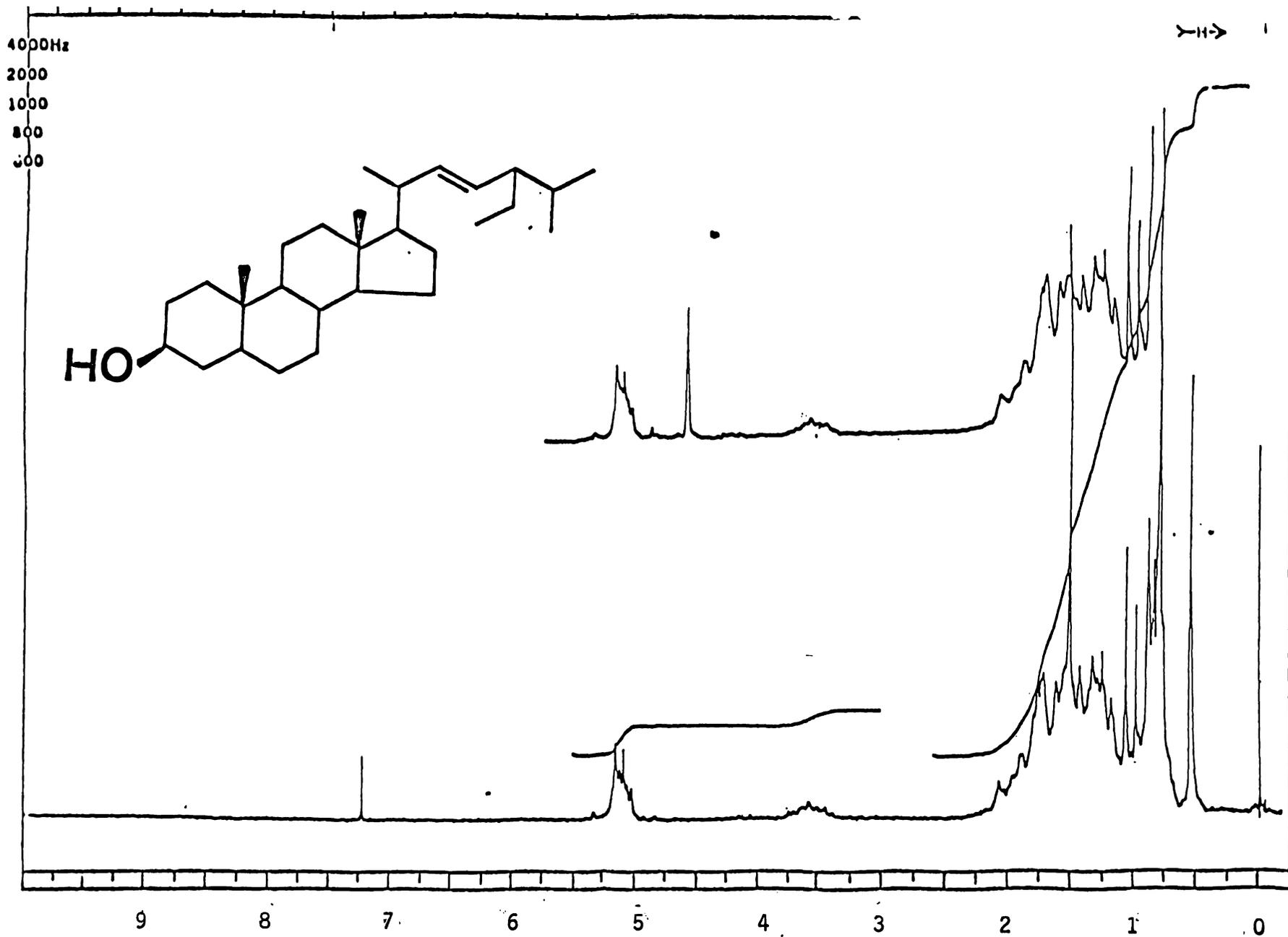
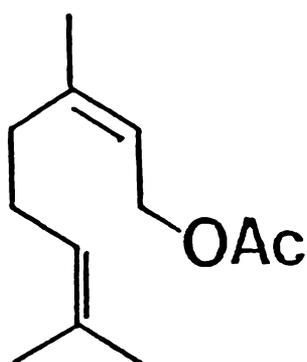


Fig 7. ESPECTRO DE RMN¹H DEL ESTIGMAST-22-EN-3-OL (100MHz, CDC₁₃)

2.2.4 IDENTIFICACION DEL ACETATO DE GERANILO, 34 (Còmpuesto IV).

El compuesto IV, cuya estructura se indica en la Figura 9, se obtuvo como un aceite incoloro de olor agradable y altamente soluble en cloroformo. La cantidad total obtenida de este aceite fue de 300 mg (0.01% del peso seco). Los datos espectroscòpicos empleados en su identificaciòn se resumen en la Tabla 5, y en la Figura 10 se representa su espectro de RMN ^1H . La caracterizaciòn definitiva de este comùn monoterpene se realizò por comparaciòn con una muestra autèntica, siguiendo procedimientos bien establecidos.



34

FIGURA 9. Estructura del acetato de geraniolo.

TABLA 5. Constantes físicas y espectroscópicas del Compuesto IV
(acetato de geranilo).

Propiedad	Resultados
P.f.	(Aceite)
EMIE m/z (%)	196 (M^+ , 5), 136 (M-60,20), 121 (M-60-15, 25), 93 (M-60-43, 20), 85 (33), 81 (33), 69 (C_5H_9 , 72.2), 43 (100), 41 (30).
IR $\nu_{Max}^{CHCl_3}$ cm^{-1}	2960, 2920, 1725, 1240, 1020
RMN 1H (80MHz, $CDCl_3$, ppm) (Figura 10)	5.3 (t, 1H, H-2), 5.1 (m, 1H, H-6), 4.55 (d, J=6Hz, 2H, H-1), 2.01 (s, 3H, Ac), 1.67 (s, 6H, Me-8, Me-9), 1.6 (s, 3H, Me-10).

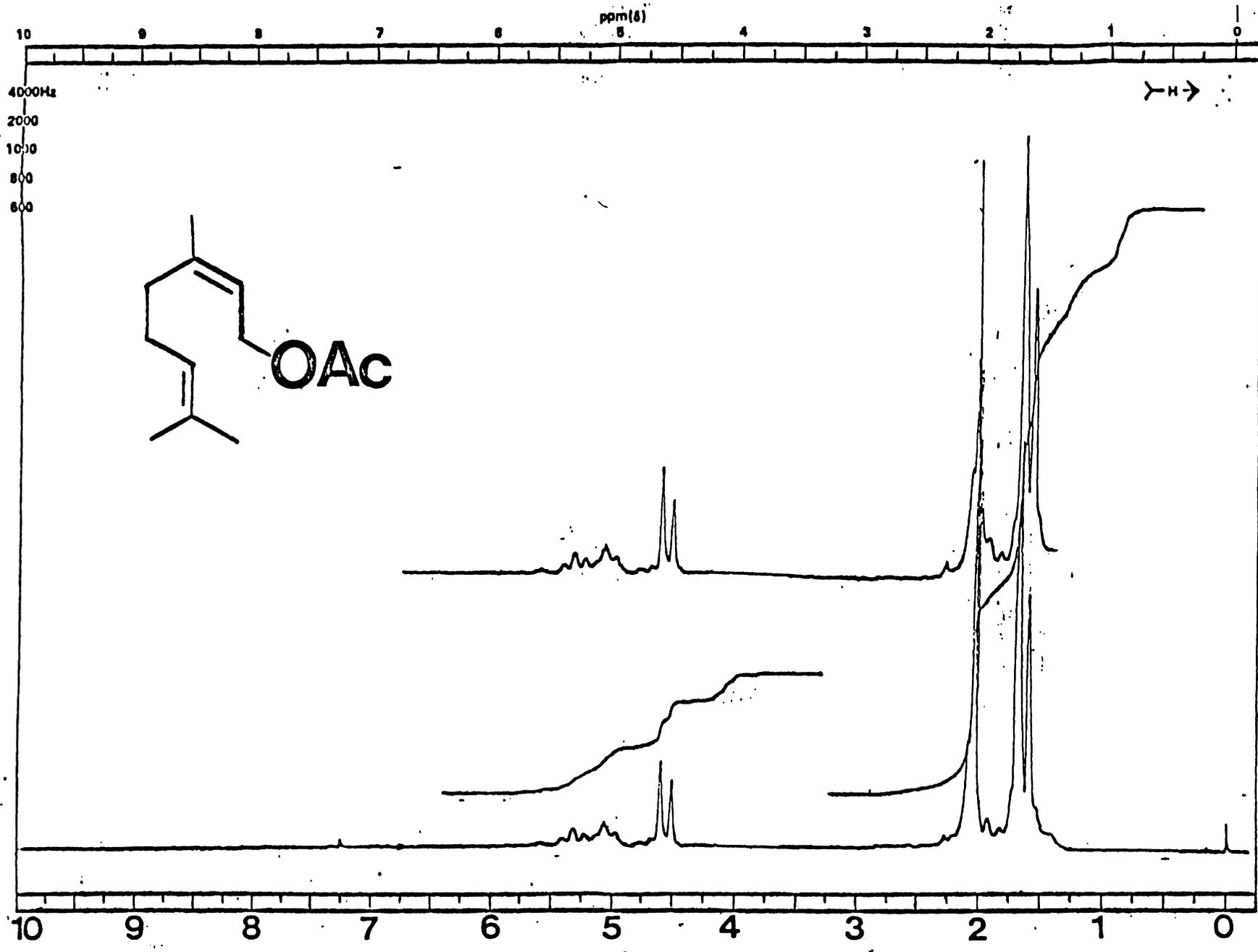


Fig 10 Espectro de RMN 'H del Acetato de geranilo (CDCl₃, 80MHz)

2.2.5 IDENTIFICACION DE LA PINOCEMBRINA, 35, (Compuesto V).

Los múltiples intentos realizados para obtener el compuesto V en forma pura no fueron exitosos y, considerando que en el espectro IR del crudo de las fracciones 310-312 de la columna preparativa original (Tabla 3), no se observaban señales para grupos acetato, pero sí para grupos hidroxilos fenólicos se decidió acetilar la fracción en las condiciones descritas en la sección experimental. Posteriormente una cromatografía en columna del producto de la reacción permitió finalmente separar el compuesto V diacetilado, 36, en forma pura.

Las constantes físicas y los datos espectroscópicos del compuesto V diacetilado se especifican en la Tabla 6.

El espectro masas obtenido por electrón impacto permitió establecer la fórmula molecular como $C_{19}H_{16}O_6$. Su espectro IR mostró bandas para acetato fenólico (1795 cm^{-1}), carbonilo de γ pirona (1710 cm^{-1}) y además indicio el carácter aromático del compuesto (bandas a 1630 cm^{-1} , 1595 cm^{-1}). El espectro de RMN ^1H (Figura 11) resultó ser muy similar al del compuesto I y como características comunes entre ambos espectros se observó lo siguiente:

a) El sistema ABX típico de una flavanona (2.75 dd, $J=17.5\text{Hz}$, H-3; 3.10, dd, $J=77, 11\text{Hz}$, H-3'; 5.47 ppm, dd, $J=11, 5\text{Hz}$, H-2); b) un singulete a 7.4 ppm (asignado a los protones del anillo B en el caso del compuesto I).

Entonces, por analogía con la pinostrobinina, el derivado acetilado V-A debía ser una flavanona con el anillo B no sustituido.

TABLA 6. Constantes físicas y espectroscópicas del derivado diacetilado del compuesto V (pinocembrina).

Propiedad	Resultados
P.f.	105°C
EMIE m/z (%)	340 M ⁺ , (5), 298 (100), 256 (53), 255 (51), 179 (53)
IR v. KBr Max cm ⁻¹	1795, 1710, 1630, 1595, 1450, 1200, 1140, 1040.
RMN ¹ H (80 MHz, CDCl ₃ δ) (Figura 11)	7.4 (s, 5H, H _{2'} -H _{6'}), 6.77 (d, 1H, J=3Hz, H-6), 6.51 (d, 1H, J=3 Hz, H-8), 5.47 (dd, H, J=17,5 Hz, H-2), 3.1 (dd, 1H, J=17,11Hz, H-3), 2.75 (dd, 1H, J=17,5 Hz, H-3'), 2.27 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C}(=\text{O})$), 2.25 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C}(=\text{O})$).

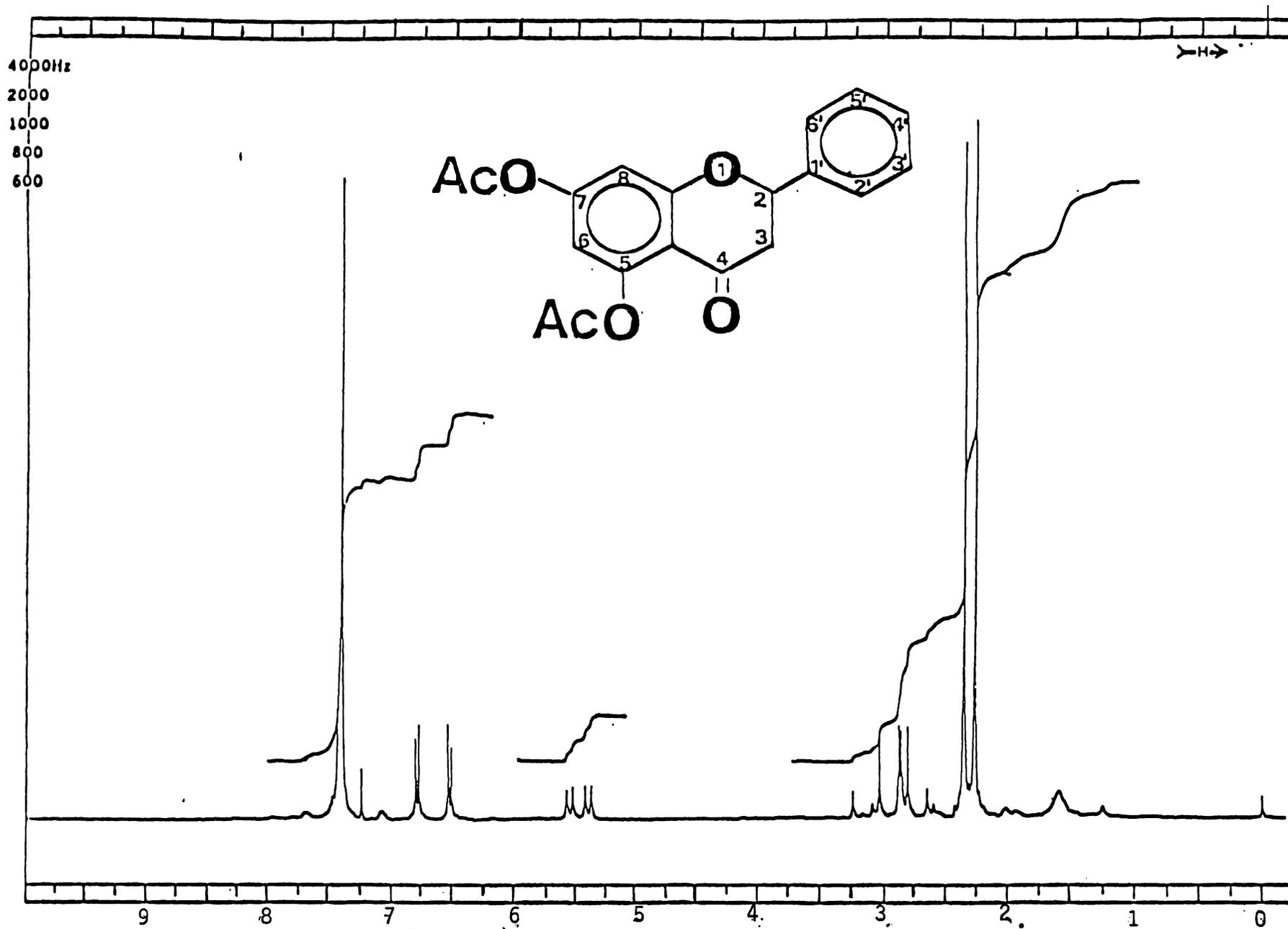


Fig 11 .ESPECTRO DE RMN¹H DEL ACETATO DE PINOCEMBRINA(100MHz,CDCl₃)

Por otra parte, las diferencias entre los espectros de los compuestos I y V acetilado fueron las siguientes: a) ausencia de la señal para un metoxilo a 3.80 ppm en el espectro de V. En su lugar se observaban dos señales para acetatos aromáticos a 2.25 ppm y 2.30 ppm, indicativo del carácter difenólico del producto natural; b) la ausencia del singulete a 6.1 ppm y que correspondían a H-6 y H-8 de la pinostrobina. En su lugar se observaron dos dobletes ($J=3\text{Hz}$) a 6.51 ppm y 6.77 ppm. La diferencia de desplazamiento químico y el valor de la constante de acoplamiento de los dobletes, indicaban que los dos acetoxilos debían estar dispuestos en el anillo A en una relación meta.

Este último requerimiento lo podían satisfacer los dos isómeros A y B indicados en la Figura 12.

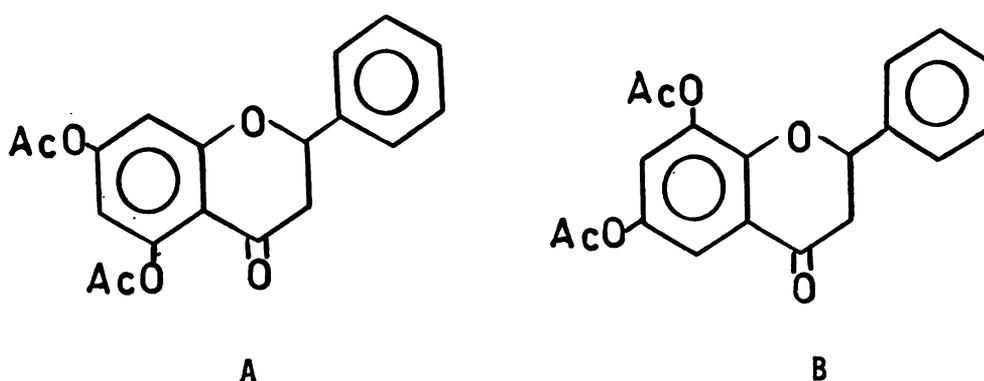


Figura 12. Posibilidades estructurales para el Compuesto V acetilado. (V-A).

La comparación con modelos adecuados (Harborne y Mabry, 1975) y consideraciones de la teoría del desplazamiento químico, permitieron concluir que el isómero A representaba la mejor opción.

La comprobación definitiva del isómero A como estructura correcta se logró por medio de la correlación química del compuesto natural V con la pinostrobinina 31, mediante una metilación con diazometano como se ilustra en la Figura 13.

Es de hacer notar que el derivado diacetilado originado al tratar el producto V con anhídrido acético y piridina fué idéntico al compuesto V-A, (36) acetilado obtenido como se señala en la sección experimental. Este hecho confiere validez a la correlación química con la pinostrobinina antes mencionada.

La información anterior permitió identificar al compuesto V como la 5,7-dihidroxi-flavanona también denominada pinocembrina y cuya fórmula se ilustra en la Figura 13. Al igual que la pinocembrina esta flavanona había sido descrita previamente en dos especies de plantas diferentes (Suga, Iwata y Asakawa, 1972; Nagarajan y Parmar, 1977).

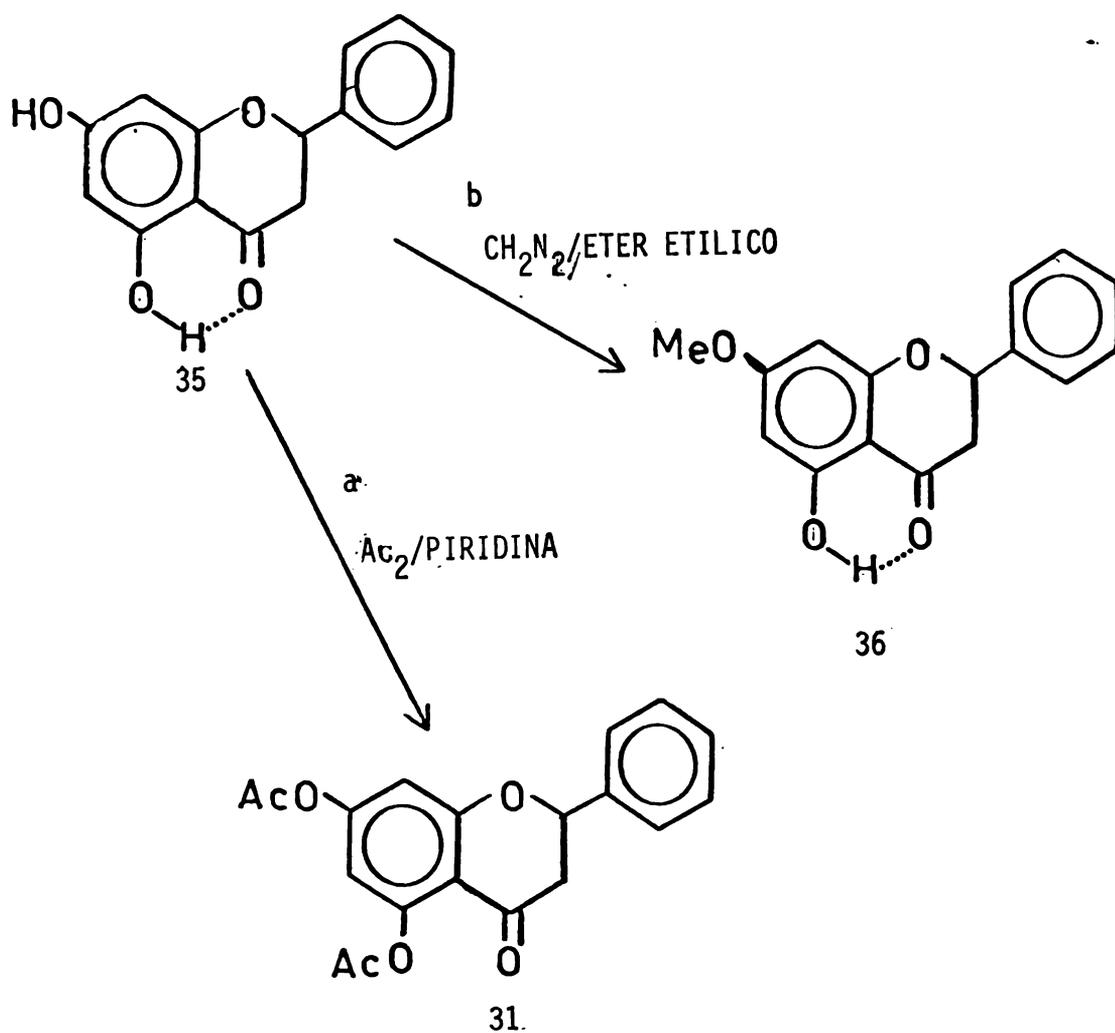


FIGURA 13. Caracterización de la pinocembrina, a través de su diacetato (a) y por correlación química (b), con el compuesto I (pinostrobin).

2.2.6. IDENTIFICACION DE LA CHRYSINA, 37, (COMPUESTO VI).

El compuesto VI, $C_{15}O_4H_{10}$ (espectrometría de masas), se obtuvo como un polvo amarillo, en un rendimiento del 0.05% de la planta seca. En la Tabla 7 se resumen las constantes físicas y espectroscópicas del compuesto VI y de sus derivados diacetilado y monometilado. El comportamiento cromatográfico en capa fina y los espectros UV (Tabla 7) y de masas indicaron en principio que el compuesto VI era una flavona. Aun más, el patrón de fragmentación observado en el último, según se ilustra en la Figura 14, permitió inferir que la flavona era dihidroxilada en el anillo A y sin sustituyentes en el anillo B.

El espectro de RMN 1H en piridina (Figura 15) fué poco informativo, observándose tan solo claramente las señales para dos hidroxilos fenólicos, uno a 5 ppm y el otro a 11 ppm, esta última absorción, como en el caso del compuesto I, es característica del hidroxilo en C-5. El espectro de RMN 1H (Figura 16) del derivado acetilado, (38) confirmó la naturaleza difenólica del compuesto VI, ya que se observaban dos singuletes, cada uno integrado para tres protones, a 2.35 y 2.34 ppm. Por otra parte, las dos señales dobles a 7.57 ppm ($J=3Hz$) y a 6.8 ppm ($J=3Hz$) permitieron establecer que los hidroxilos se encontraban ubicados en las posiciones 5 y 7 del anillo A. Finalmente, en este espectro se observó claramente la señal típica del protón H-3 de la flavona a 6.6 ppm y un multiplete en 7.9 y 7.6 ppm que correspondía a los protones del anillo B.

Los datos antes señalados permitieron identificar al compuesto VI como la 5,7-dihidroxi-flavona, 37, -la chrysin- previamente obtenida

TABLA 7. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto VI (Chrysin) y sus derivados acetilado y monoacetilado.

	COMPUESTO VI (37)	DERIVADO ACETILADO DEL COMPUESTO VI (38)	DERIVADO MONOMETILADO DEL COMPUESTO VI (39)
P. f.	275°C	198°C	177-179°C
EMIE m/z (%)	254 (M+, 100), 253 (90), 226 (20.6), 152 (21.5), 124 (21.9), 105 (5), 102 (7.5), 77 (12).	338 (M+, 100), 296 (37.3), 335 (37.3), 285 (15.2), 254 (100), 43 (11)	268 (M+, 100), 239 (33.1), 225 (20), 138 (25), 95.11 (17.7).
IR γ $\begin{matrix} \text{KBr} \\ \text{Max} \end{matrix}$ cm^{-1}	3445, 1617, 1571, 1453	1760, 1645, 1615, 1590, 1358, 1170, 1130, 897	1655, 1615, 1595, 1350, 1155, 1035, 843
UV λ $\begin{matrix} \text{MeOH} \\ \text{Max} \end{matrix}$ nm	246, 268, 313		
RMN ^1H (100 MHz, CDCl_3 , δ)	Figura 15	7.9-7.6 (m, 5H), 7.57 (d, 1H, J=3Hz, H-6), 6.8 (d, 1H, J=3Hz, H-8), 6.6 (s, 1H, H-3), 2.43 (s, 3H, Ac.), 2.35 (s, 3H, Ac.) (Figura 16)	7.5-8.1 (m, 5H), 6.63 (s, 1H, H-3), 6.4 (d, 1H, J=3Hz, H-8), 6.3 (d, 1H, J=3Hz, H-6), 3.87 (s, 3H, OMe). (Figura 17)

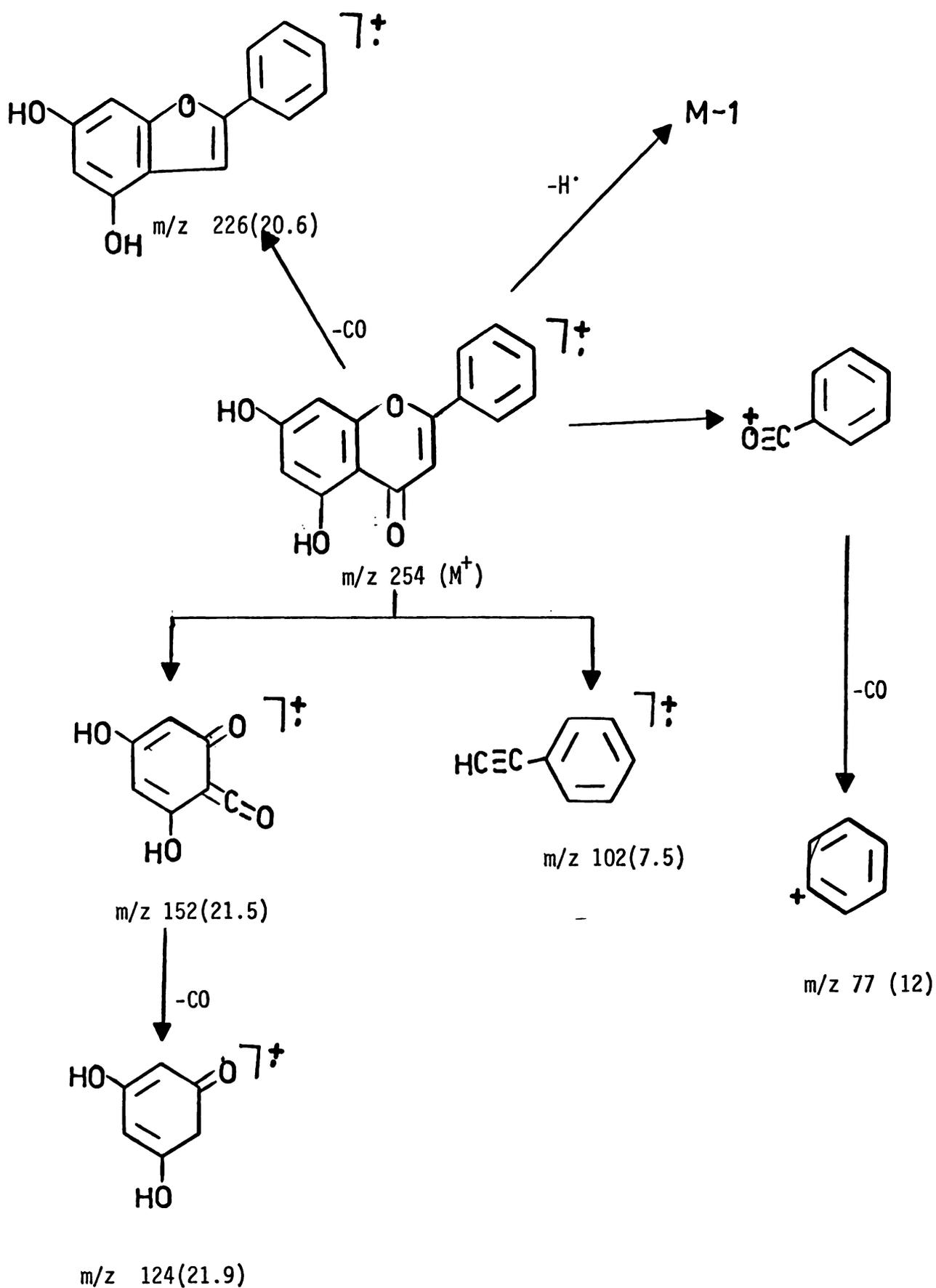


FIGURA 14. Fragmentación propuesta para la Chrysin en espectrometría de masas.

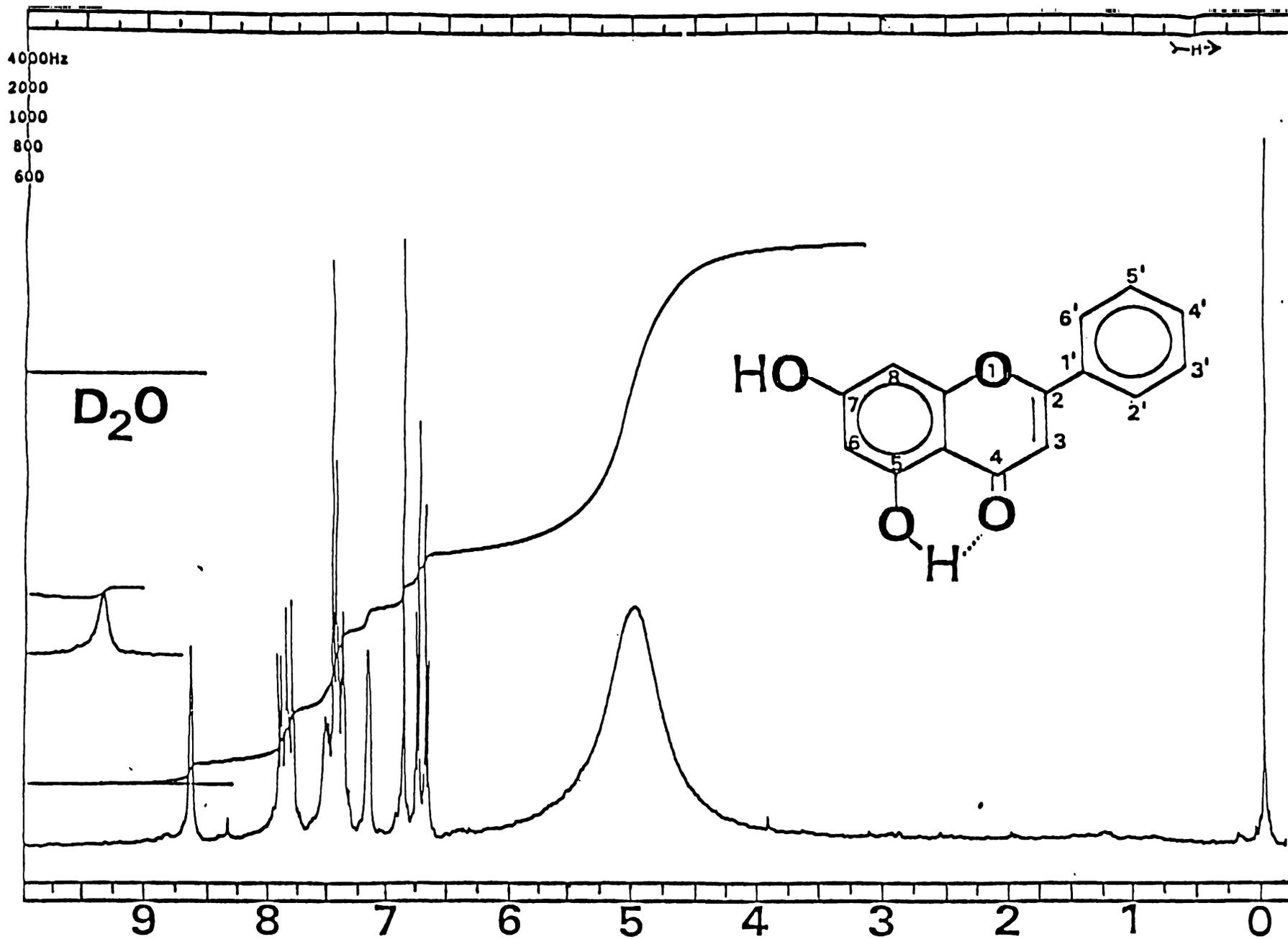


Fig 15: ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA PROTONICA DE LA CHRYSINA (100 MHz, piridina-d₅)

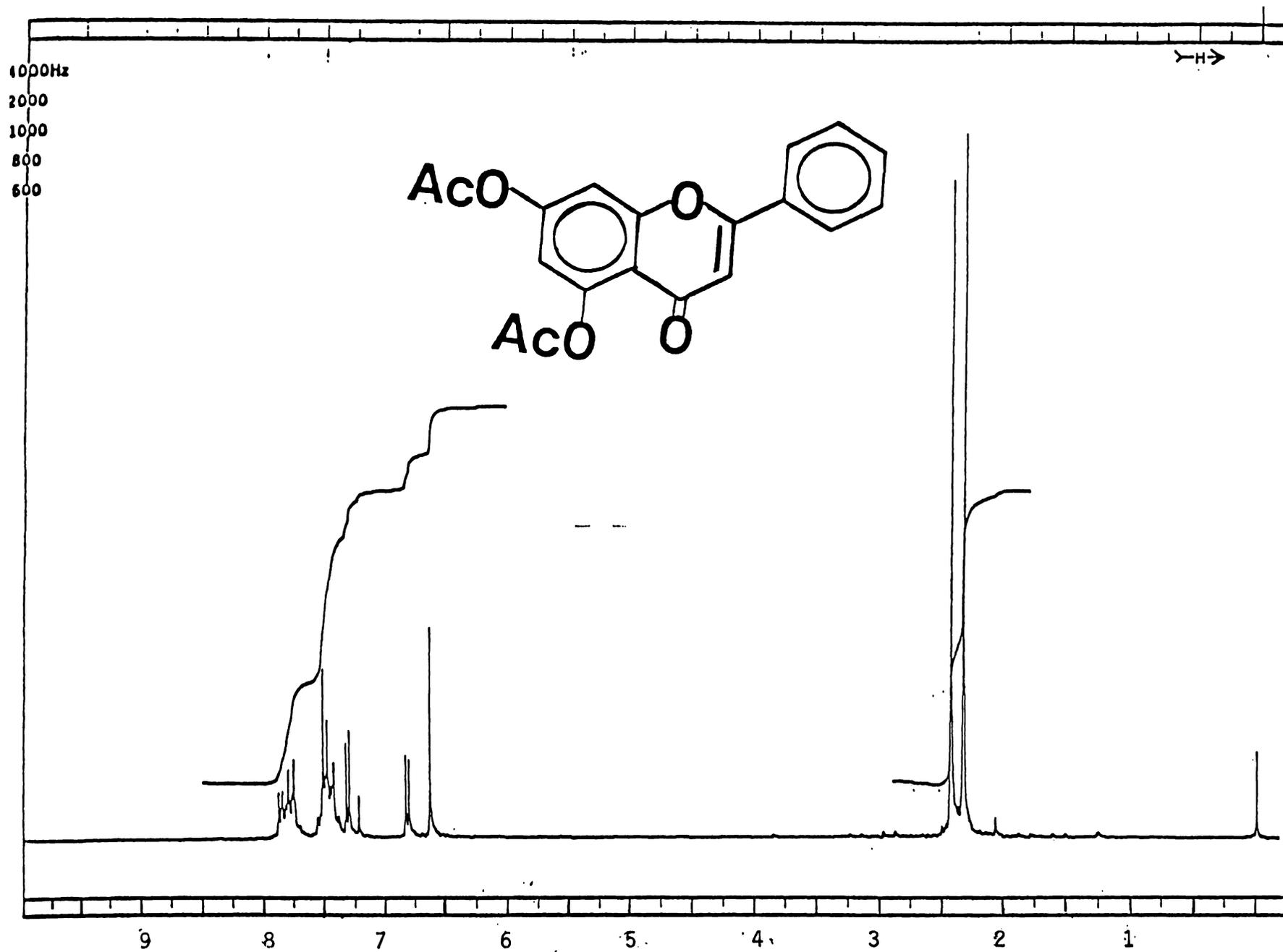


Fig 16: ESPECTRO DE RMN¹H DEL DIACETATO DE LA CHRYSINA (100MHz, CDCl₃).

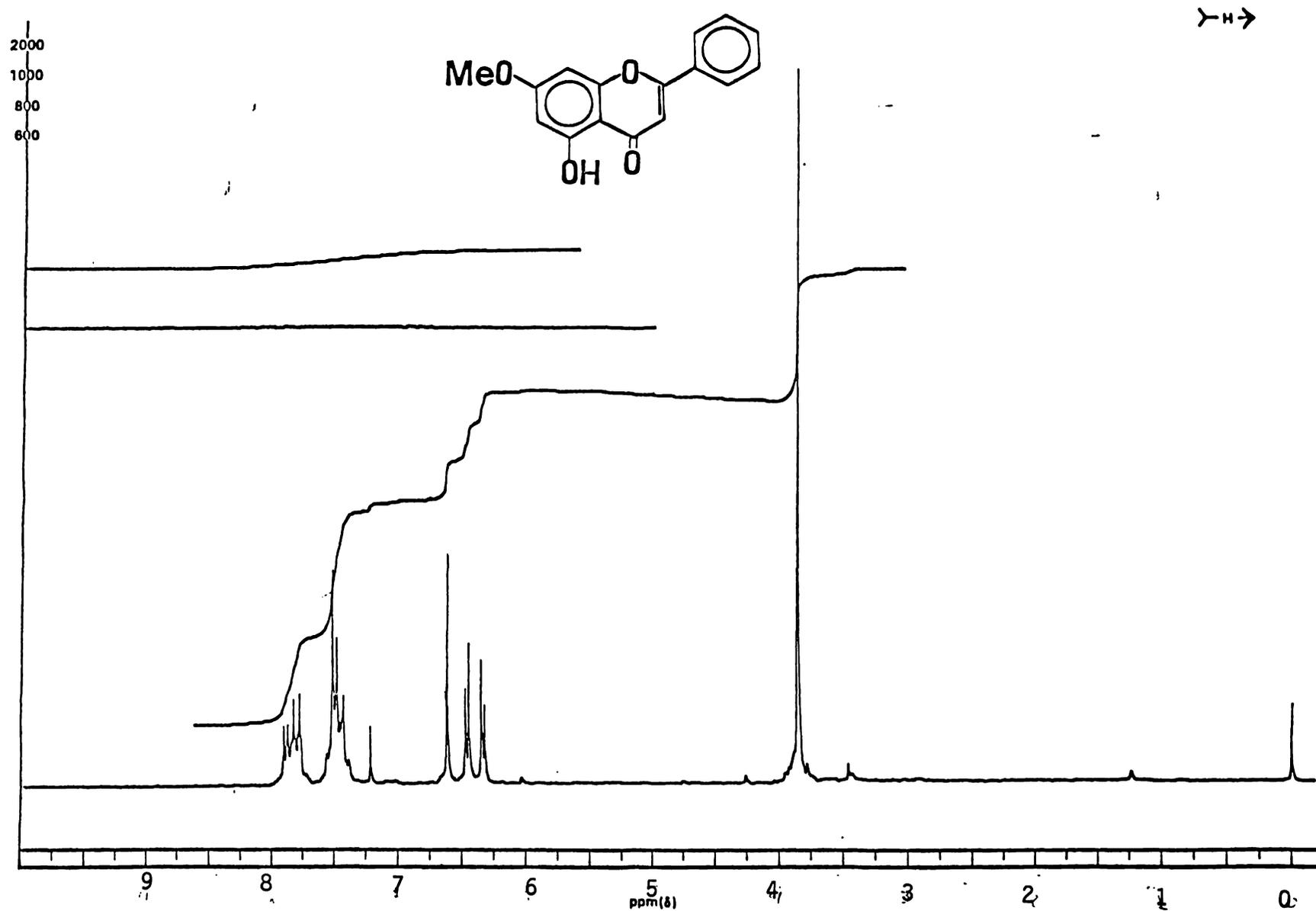


Fig. 17: Espectro de RMN ¹H de la Tectochrysin (100 MHz, CDCl₃)

de otras fuentes naturales (Subramaniau y Nair, 1972; Govindachari, Parthasarathy, Pai y Kalyanaraman, 1968; Harborne, 1967).

Una evidencia adicional en relación a la identidad del Compuesto VI se obtuvo a través de su derivado monometilado, la tecto-chrysin 39. Las constantes físicas y espectroscópicas (Tabla 7 y Fig 17) de este compuesto resultaron idénticas a las descritas en la literatura. (Harborne 1976; Harborne y Mabry 1975 y referencias allí citadas).

En la Figura 18 se indican las estructuras de la chrysin y de sus derivados acetilado y metilado.

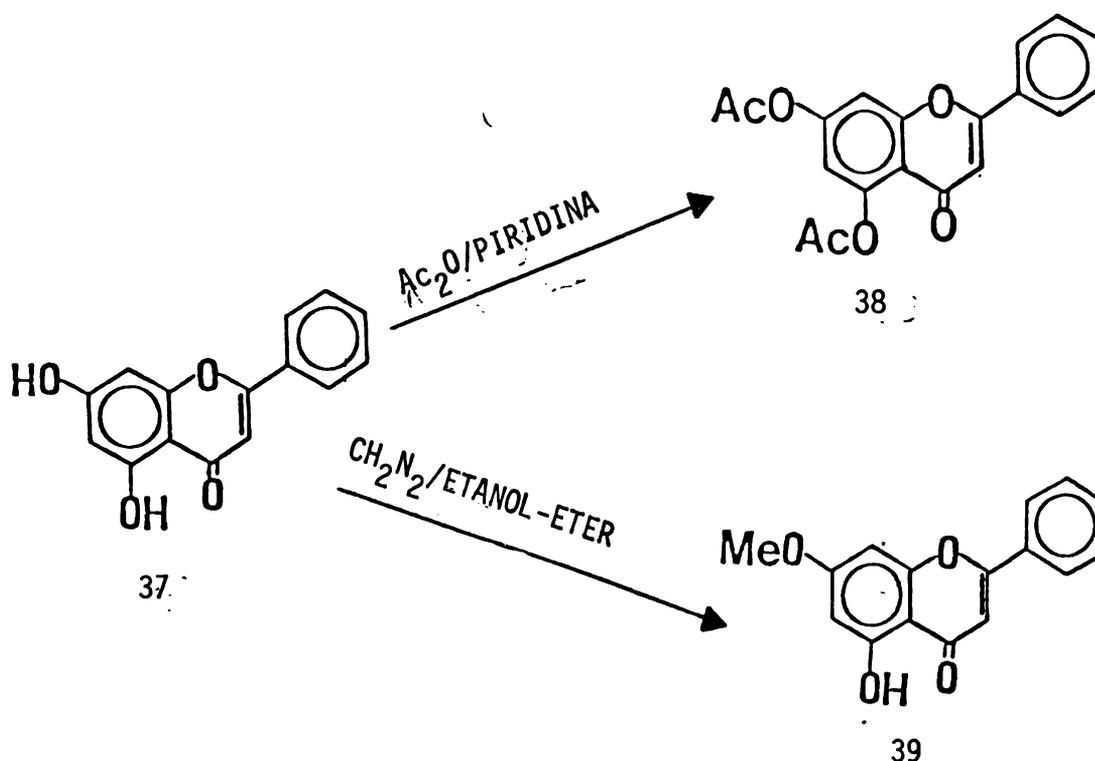


FIGURA 18. Estructura de la Chrysin (37) y sus derivados acetilado (38) y monometilado (39).

2.2.7 IDENTIFICACION DEL (+)-8 α -hidroxi-elemol, 40' (Compuesto VII).

El compuesto VII se obtuvo como un polvo cristalino, ópticamente activo, soluble en cloroformo y poco soluble en acetato de etilo y acetona. La cantidad total obtenida fué de 140 mg (0.0046% del peso seco de la planta). Las constantes físicas y espectroscópicas utilizadas para su caracterización se resumen en la Tabla 8.

Su fórmula molecular se estableció como C₁₅H₂₆O₂ (análisis elemental y EMIQ), que permite un índice de insaturación de tres.

Su espectro IR presentó bandas de absorción características para grupos hidroxilos -secundarios y terciarios- (3605, 3460, 1168, 1048 cm⁻¹), y para insaturaciones olefínicas (3084, 1639 y 898 cm⁻¹); la banda de absorción a 898 cm⁻¹ es característica para una doble ligadura terminal.

Los espectros de masas obtenidos por IQ y EI presentaron dos pérdidas consecutivas de 18 unidades de masa, confirmando la presencia de dos grupos hidroxilos en la molécula { m/z 221 (M+1-18), m/z 203 (M+1-18-18) en el primero; m/z 220 (M-18), m/z 202 (M-18-18) en el segundo }. Otros iones importantes en el espectro de masas de electrón impacto se encontraron a m/z 59 (pico base) y a m/z 43, correspondiendo a los fragmentos | (CH₃)₂ C=OH |⁺ y CH₃-C≡O⁺, respectivamente. Ambos iones resultan de un grupo 2 isopropanol por ruptura del enlace adyacente al grupo hidroxilo (Budzikiewicz, Djerassi y Williams, 1964).

Los espectros de RMN ¹H (Figura 19) y de RMN ¹³C (Figura 20), este último mostrando señales para 15 átomos de carbono en concordancia

TABLA 8. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto VII
 {(+)-8 α -hidroxi-elemol}.

PROPIEDAD	RESULTADOS
P.F.	110°C
$[\alpha]_D^{25}$	+0.01 (0.78, MeOH)
ANALISIS	Calculado para C ₁₅ H ₂₆ O ₂ , C, 75.68%; H, 11.1%. Encontrado C, 75.40%; H, 10.9%
EMIQ m/z (%)	239 {M+1, (4.4)}, 221 (25), 203 (100), 147 (60), 109 (32), 107 (30)
EMIE m/z (%)	223(5), 220 (5), 205(14), 202(151), 162 (10), 157(15), 107(50), 79(58.2), 59(100), 43(92)
IR ν CHCl_3 Max	3605, 3460, 3084, 2973, 1639, 1377, 1168, 1048, 898
UV λ MeOH Max nm (log ϵ)	202 (1.7603)
RMN ^1H (80MHz, CDCl_3 , ppm) (Figura 19)	5.77 (dd, 1H, J=10, 16Hz, H-1'), 4.92 (m, 1H, H-2), 4.90 (m, 1H, H-2), 4.80 (m, 1H, H-3), 4.65 (a, 1H, H-3'), 3.97 (ddd, 1H, J=6,10,10Hz, H-8), 3.15 (s, 2H, 2OH); 1.75 (sa, 3H, CH ₃ -15), 1.31 (s, 3H, CH ₃ -12), 1.26 (s, 3H, CH ₃ -13), 1.03 (s, 3H, CH ₃ -14)
RMN ^{13}C (50MHz, DMSO-d_6 , ppm) (Figura 20)	149.3 (d, C-1), 146.5 (s, C-4), 112.3 (t, C-2), 110.7 (t, C-3), 73.0 (s, C-11), 67.0 (d, C-8), 53.5 (d, C-5), 51.5 (d, C-7), 48.5 (s, C-10), 40.7 (t, C-9), 29.2 (t, C-6), 28.5 (c, C-13), 24.75 (c, C-12), 24.5 (c, C-15), 17.5 (c, C-14)

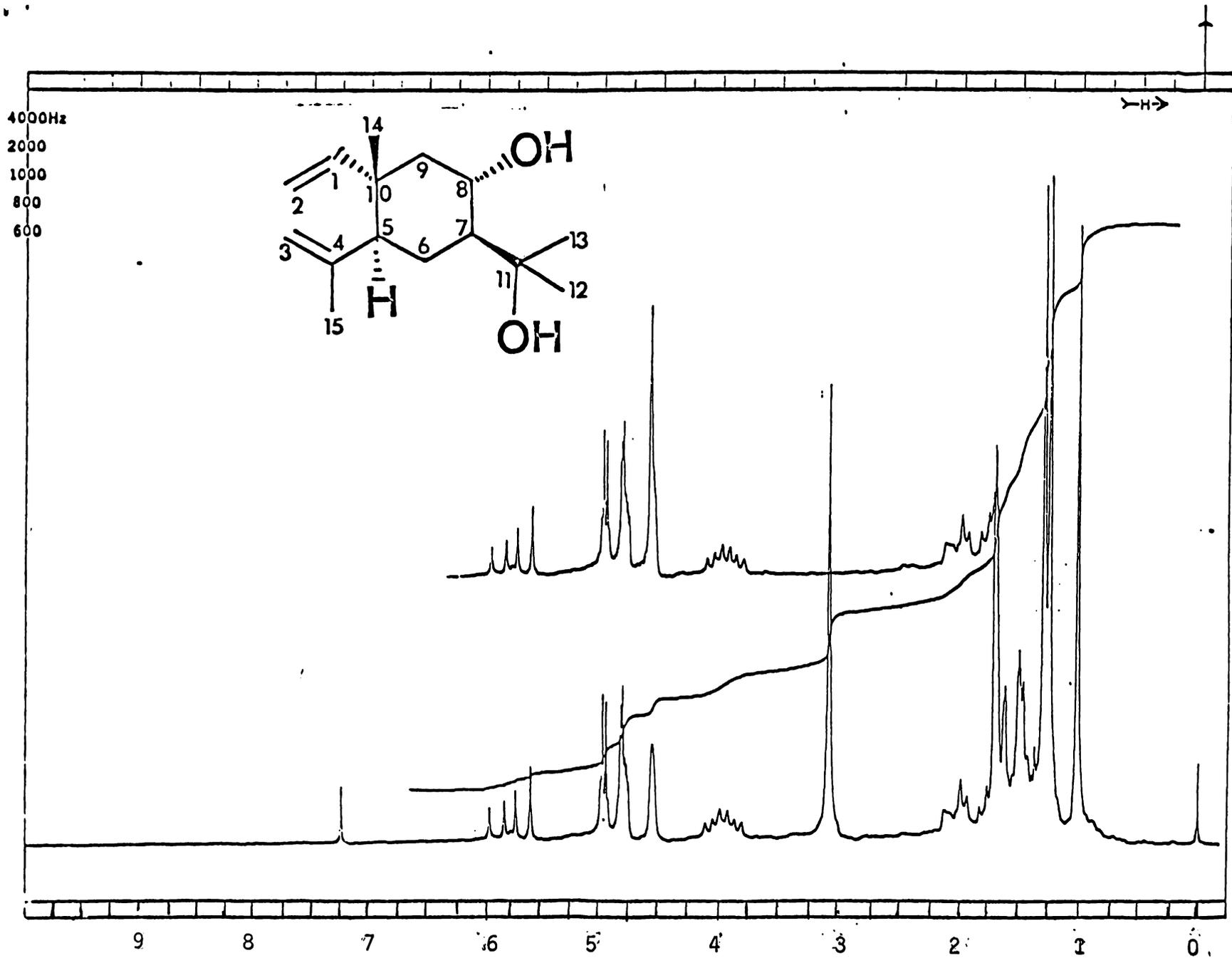


Fig 19. ESPECTRO DE. RMN ^1H . DEL (+)-8 α -HIDROXI-ELEMOL (CDCl_3 , 80MHz).

D. 001 IRS 2100185
 -1-20A IN DMSO; FULLY DCPLD

57.6

ppm

149.3★

112.3★

110.7★

146.5★

53.5

29.2

51.5

67.0

40.7

48.5

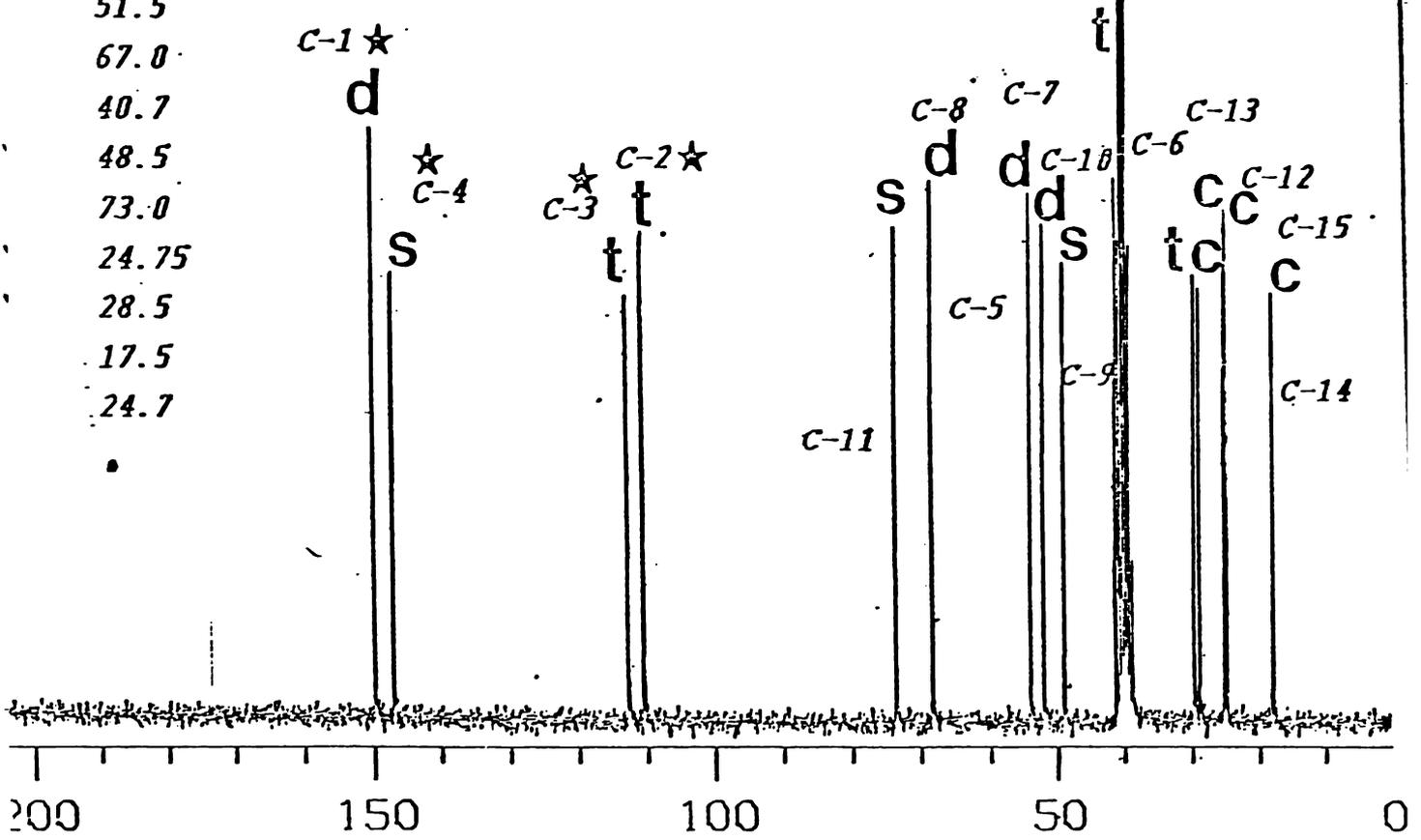
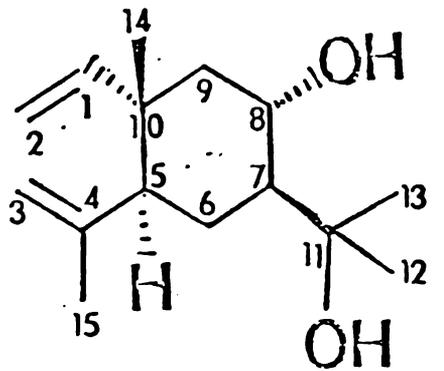
73.0

24.75

28.5

17.5

24.7



ELECTRO DE RMN ^{13}C DEL (+) -8 α - HIDROXI-ELEMOL

(DMSO- d_6 , 50 MHz)

(Fig 20)

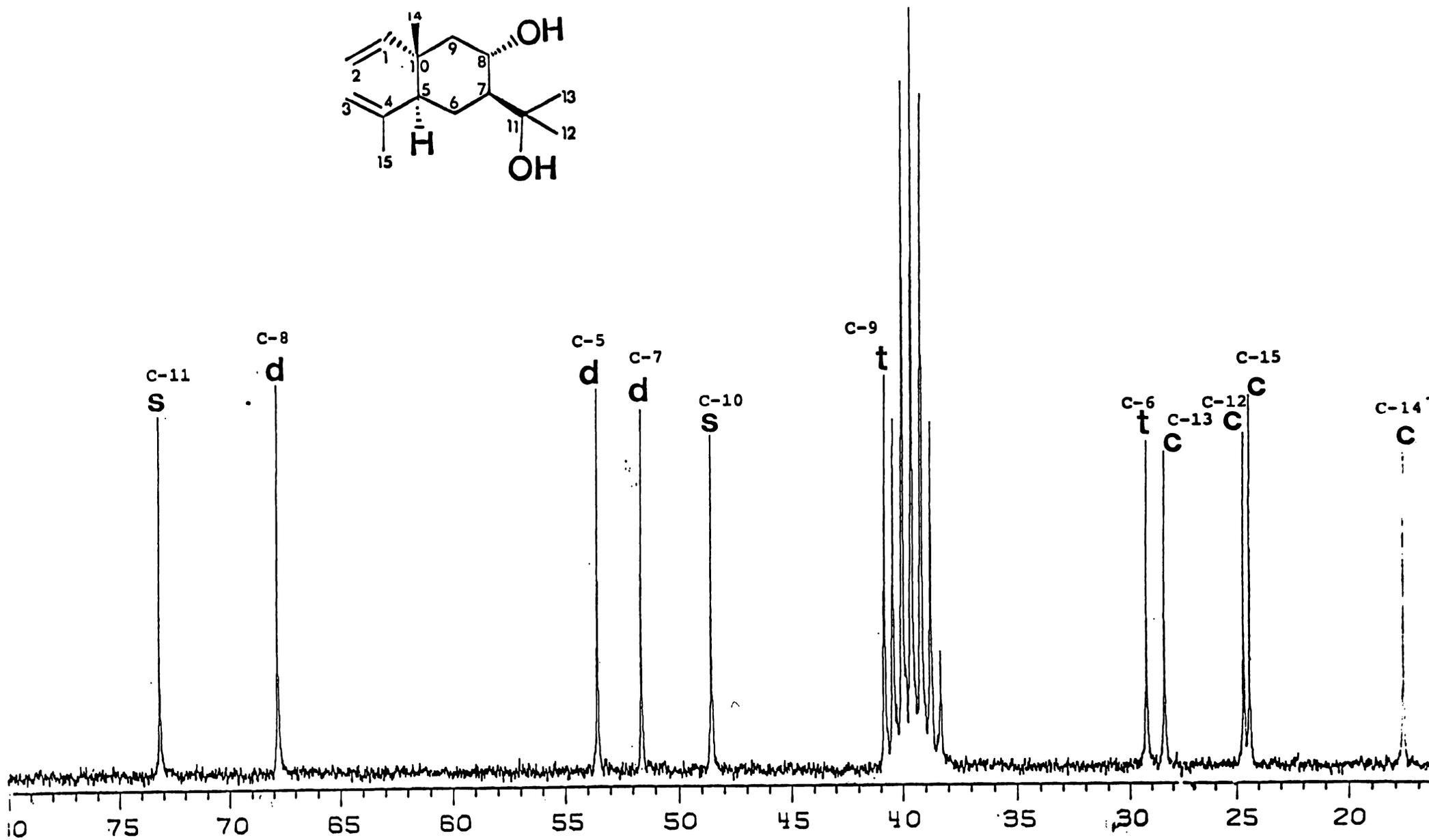
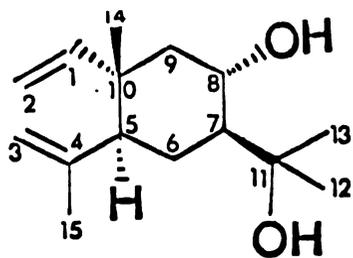


Fig. 20. ESPECTRO DE RMN¹³C DEL (+)-8 -HIDROXI-ELEMOL, AMPLIFICADO DE 10-75ppm (DMSO-d₆, 50MHz)

cia con la fórmula molecular, permitieron inferir que el compuesto VII era un sesquiterpeno-diol del tipo elemeno. Esta conclusión se basó fundamentalmente en las siguientes observaciones:

a) El espectro de RMN ^{13}C de la Figura 20 presentó en la región de carbonos olefínicos cuatro señales a 149.3(d), 146.5(s), 112.3(t) y 110.7(t) ppm; estos valores de desplazamiento químico y multiplicidad en el espectro acoplado son característicos para los carbonos 1, 4, 2 y 3 respectivamente de un elemeno. Por otra parte, en el espectro de RMN ^1H (Figura 18) se observó una señal doble de doble a 5.77 ppm ($J=10,16$ Hz), característicos de una interacción *cis* y *trans* vinílica y que correspondía de modo consistente con el H-1 de un elemeno. Además se observaron otras absorciones múltiples a 4.65, 4.80, 4.90 y 4.92 ppm propias de los protones H-2 y H-3 de la estructura tipo. Finalmente el singulete ancho integrando para tres protones a 1.75 ppm y atribuible al metilo vinílico en C-4 proporcionó una evidencia adicional.

b) Las resonancias a 73 ppm (s) y a 67 ppm (d) en el espectro de RM ^{13}C (Figura 20), demostraron la presencia de dos carbonos unidos a oxígeno, fácilmente asignables a alcoholes terciario y secundario respectivamente y de acuerdo con los resultados de espectrometría de masa (dos pérdidas consecutivas de 18 unidades de masa) y con la existencia de un solo protón carbinólico en el espectro de RMN ^1H (Figura 19) a 3.97 ppm.

La disposición y la estereoquímica del grupo hidroxilo secunda-

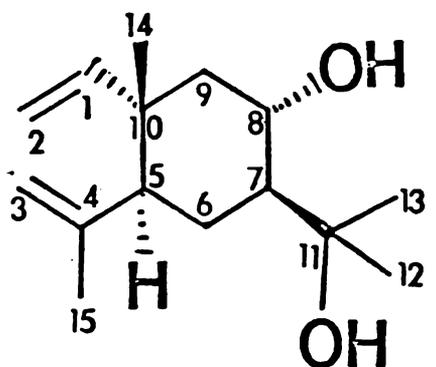
rio en la estructura sesquiterpénica se hizo en base al análisis del patrón de acoplamiento de la señal a 3.97 ppm (ddd, $J=6,10,10$ Hz), el cual es consistente con una relación trans diaxial ($J_{aa}=10$ Hz) del protón carbinólico con dos protones vecinales, y con una relación cis ($J=6$ Hz) con un tercer protón también vecinal. Estas interacciones ^{eran solo} eran solo posibles si el hidroxilo se ubicaba en C-8 y con una orientación α . Por otra parte, la función carbinólica terciaria debía estar en la cadena isopropílica lateral de acuerdo a los resultados del espectro de masas { pico base a m/z 59 indicativo del fragmento $(Me_2-C=OH)^+$ }.

Finalmente los desplazamientos químicos del metilo C-14 (17.5 ppm) en el espectro de RMN ^{13}C y de 1.03 ppm en el espectro de RMN 1H están en concordancia con la orientación β -axial del mismo. Asimismo la disposición de la cadena insaturada en C-5 debía ser β ecuatorial de acuerdo a los desplazamientos químicos observados por los carbonos de dicha cadena. Si la orientación hubiese sido α el desplazamiento del metilo C-15 hubiese aparecido a campo más alto debido a las interacciones de tipo 1-3 trans diaxial (Wehrli, 1978).

Sobre las bases de la discusión previa fué, entonces, posible identificar al compuesto VII como (+)-8 α -hidroxielemol, cuya estructura se indica en la Figura 21. Esta sustancia no ha sido previamente aislada de fuente natural alguna y por consiguiente constituye un nuevo producto natural.

Cabe hacer mención que el resto de las asignaciones de RMN ^{13}C

y RMN ^1H no mencionadas en la anterior discusión se especifican en la Tabla 8. En el caso de las señales de ^{13}C las asignaciones se efectuaron de acuerdo a la teoría del desplazamiento químico y por comparación con modelos adecuados.



40

FIGURA 21. Estructura del (+)-8 α -hidroxielemol.

2.2.8 IDENTIFICACION DEL (+)-8 α -ACETOXI-CRIPTOMERIDIOL 41.

(Compuesto VIII).

El compuesto VIII se obtuvo también como un polvo cristalino en un rendimiento de 0.0036% del peso seco de la planta. En la Tabla 9 se especifican las constantes físicas y espectroscópicas de este compuesto.

Su fórmula molecular fué establecida como C₁₇H₃₀O₄ (por espectrometría de masas). Su espectro de IR mostró bandas características para uno o más hidroxilos (3691, 3597 cm⁻¹) y para acetato (1731 cm⁻¹).

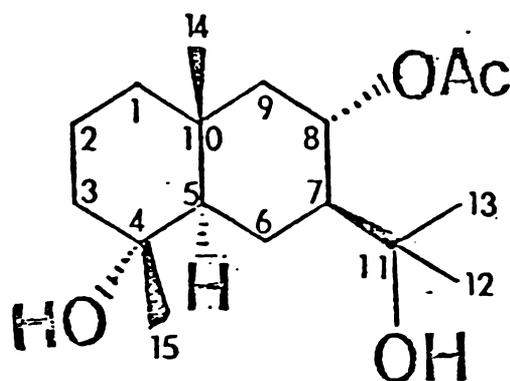
El análisis conjunto de los espectros de masas de IQ. y de los espectros de RMN ¹³C (Figura 22) y RMN ¹H (Figura 23) permitió establecer a priori que el compuesto VIII era el acetato de un diol sesquiterpénico del tipo eudesmano. En el caso del primero se observaron iones importantes a M+1-18 (281), M+1-18-18 (263), M+1-60-18 (221), M+1-60-18-18 (203) y a M+1-18-58-60 (163); las pérdidas consecutivas de dos moléculas de agua y de 60 unidades de masa sugirieron la presencia del diol y de un acetato respectivamente; por otra parte el fragmento a m/z 163 originado tal como se indica en la Figura 24' era indicativo de un eudesmano (Irwin y Geissman, 1973). El espectro de RMN ¹³C (Figura 22) y de RMN ¹H (Figura 23) confirmaron los grupos funcionales y la naturaleza del sesquiterpeno, indicando además:

a) La presencia de dos carbonos carbinólicos terciarios [señales a 70.6(s) y 70.1(s) ppm en el espectro de RMN ¹³C y ausencia de protones base de alcohol en el espectro de RMN ¹H].

TABLA 9. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto VIII
 {(+)-8 α -acetoxi-criptomeridiol}.

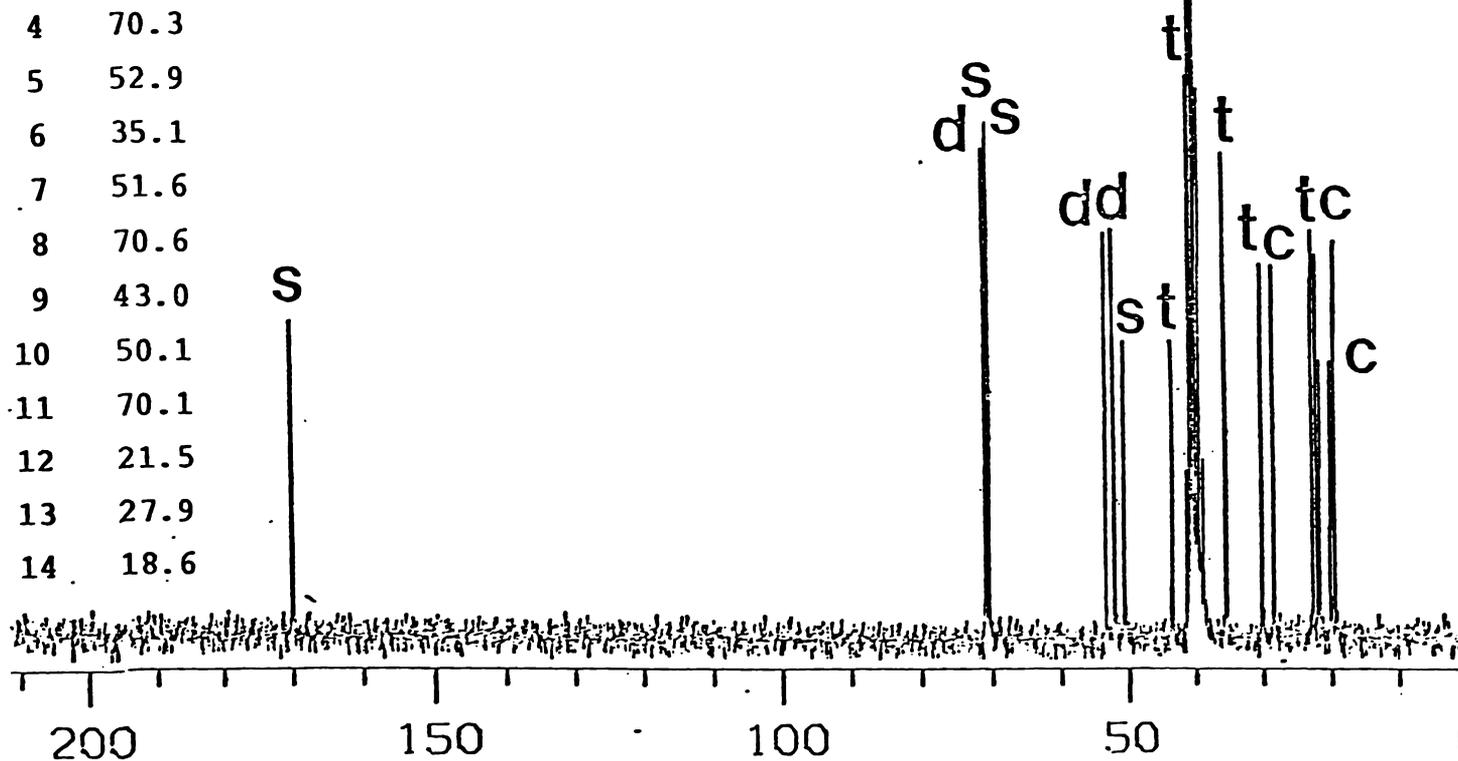
Propiedad	Resultados
P.f.	70°C
$[\alpha]_D^{25}$	+ 0.1 (2, CHCl ₃)
EMIQ, m/z (%)	299 {M+1, (5)}, 281(100), 263(10), 221 (48.9), 163(40).
EMIE, m/z (%)	95.3(12), 59.2(40), 43(100), 41.2(15)
IR $\nu_{\text{Max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm ⁻¹	3691.9, 3567, 3006, 2934, 1731, 1602 1387, 1166, 910
UV $\lambda_{\text{Max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ)	203 (1.74)
RMN ¹ H (80 MHz, CDCl ₃ , ppm) (Figura 23)	5.025 (ddd, 1H, J=6,10,10Hz, H-8), 2.01 (s, 3H, CH ₃ -C=O), 1.9 (2H, 2OH), 1.21 (s, 6H, CH ₃ -12, CH ₃ -13), 1.10 (s, 3H, CH ₃ -15), 0.96 (s, 3H, CH ₃ -14)
RMN ¹³ C (50 MHz, DMSO-d ₆ , ppm) (Figura 22)	169.6 (s, C-16), 70.6 (s, C-4), 70.3 (d, C-8), 70.1 (s, C-11), 52.9 (d, C-5), 51.6 (d, C-7), 50.1 (s, C-10), 43.0 (t, C-9), 40.0 (t, C-1), 35.1 (t, C-6), 29.6 (t, C-3), 27.9 (c, C-17), 22.2 (t, C-2), 21.5 (c, C-12), 21 (c, C-15), 19.5 (c, C-13), 18.6 (c, C-14).

17. 001 DVC 22OCT85
G-i-17A IN DMSO; FULLY DCPLD



C ppm C ppm

1	40.0	15	21
2	22.2	16	169.6
3	29.6	17	19.5
4	70.3		
5	52.9		
6	35.1		
7	51.6		
8	70.6		
9	43.0	S	
10	50.1		
11	70.1		
12	21.5		
13	27.9		
14	18.6		



SPECTRO DE RMN ^{13}C DEL (+)-8 α -ACETOXI-CRIPTOMERIDIOL (DMSO- d_6 , 50 MHz)

(Fig 22)

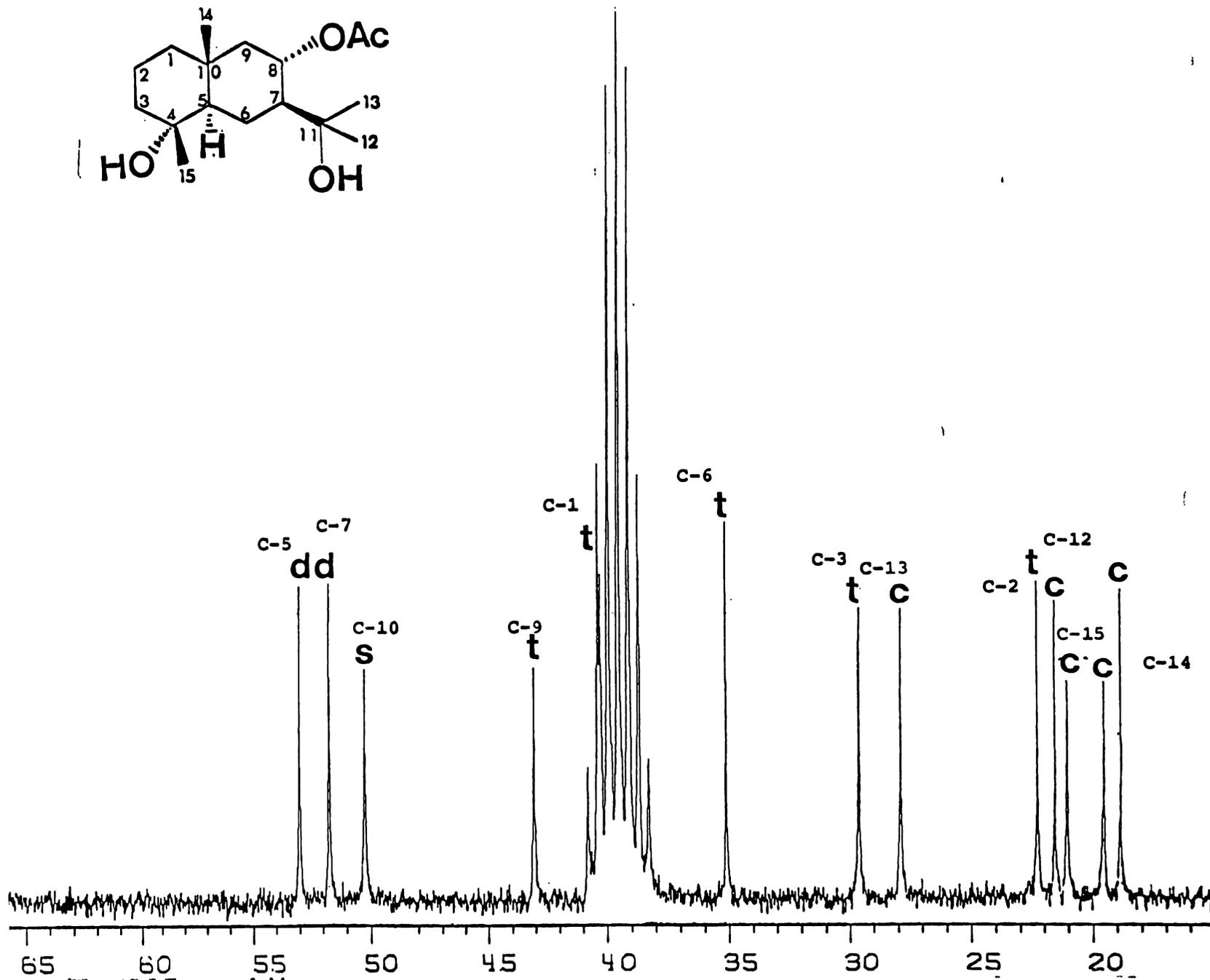
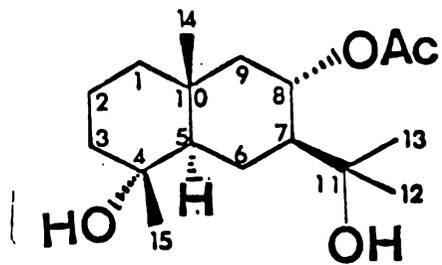
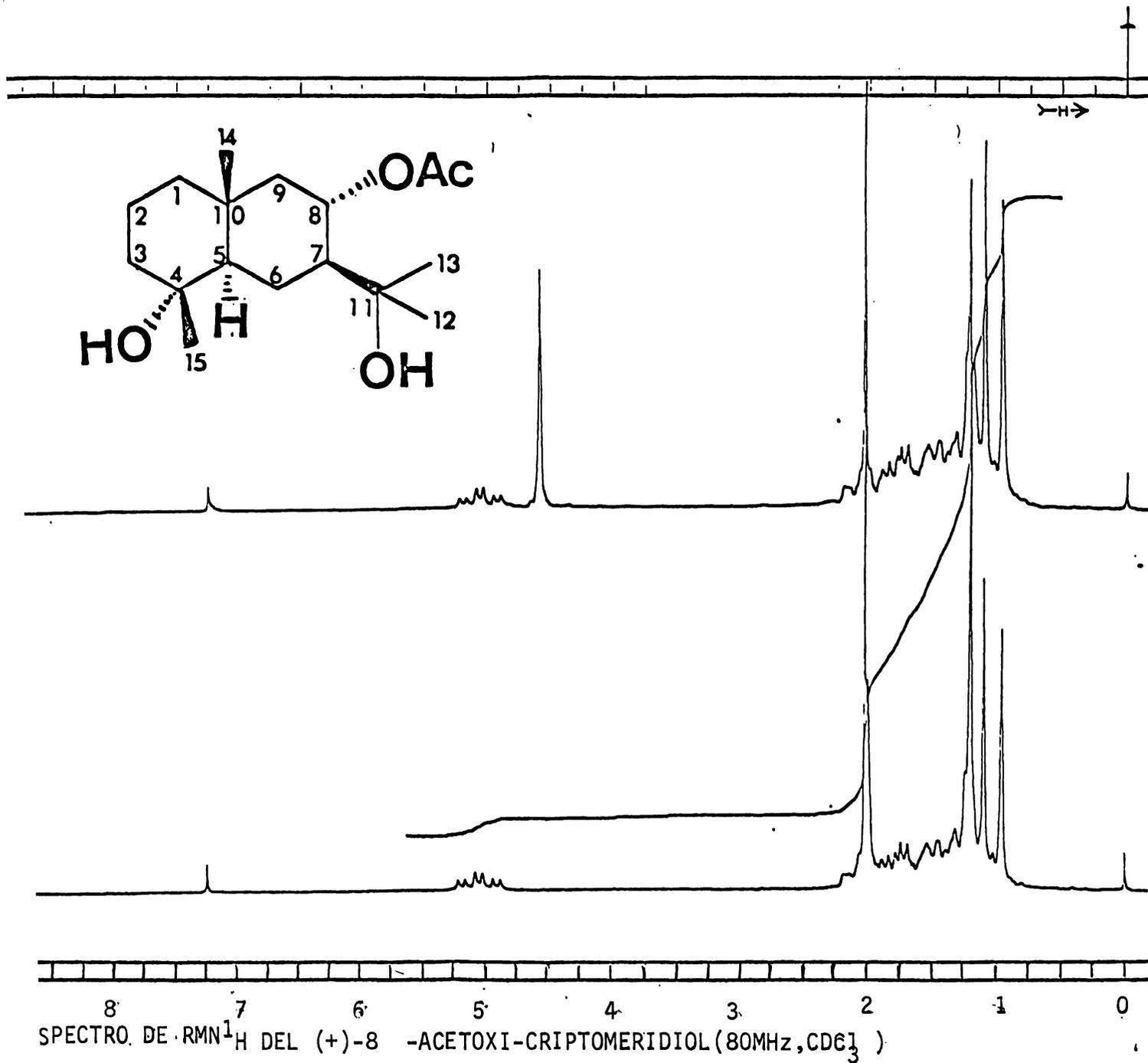


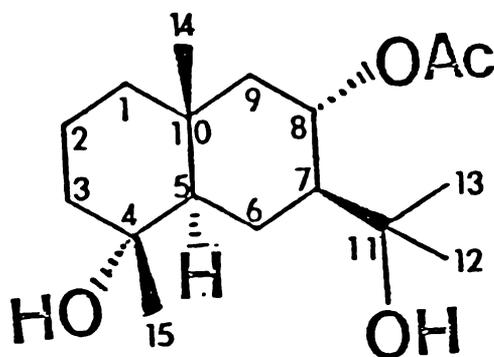
Fig 22. ESPECTRO DE RMN¹³C DEL (+)-8 ACETOXI-CRIPTOMERIDIOL, AMPLIFICADO DE 10-75ppm(DMSO-d₆,50MHz)



b) Presencia de un ester secundario. [resonancia a 70.3(d) ppm. en el espectro de RMN ^{13}C y señal múltiple que integra para un protón a 5.025 ppm en el espectro de RMN ^1H].

c) La disposición y orientación del grupo acetoxi en la posición 8 y α orientado. En este caso al igual que para el compuesto VII, el análisis de primer orden de la señal a 5.025 ppm (ddd, $J=6,10,10$ Hz) fué consistente con la estereoquímica y posición antes señalada. Es de hacer notar que la ubicación del ester en la posición 6 fué descartada en un principio debido, por una parte a la equivalencia química de los protones de los metilos C-12 y C-13, y por la otra a la ausencia de bandas para acetatos asociados en IR (Irwin y Geissman, 1973; De Pascual, Bellido y González, 1978).

En base a la discusión anterior, la estructura del compuesto VIII fué determinada como (+)-8 α -acetoxi-criptomeridiol (Figura 24), el cual no ha sido aislado previamente de alguna fuente natural, por consiguiente constituye un nuevo metabolito secundario.



41

FIGURA 24. Estructura del (+)-8 α -acetoxi-criptomeridiol.

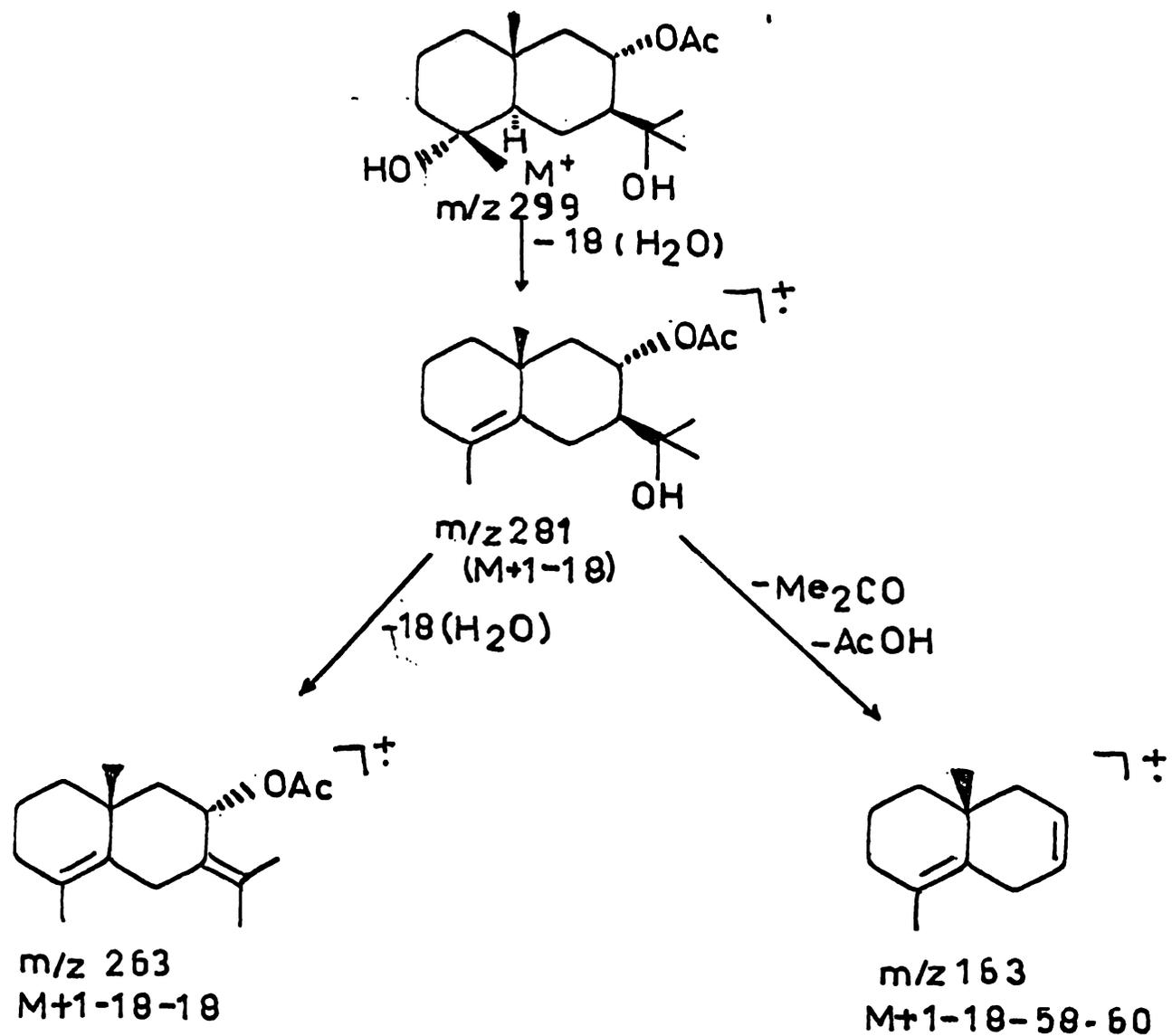


FIGURA 24'. FRAGMENTACION DE (+)-8 α -acetoxi-cryptomeridiol.

2.2.9 IDENTIFICACION DEL CRIPTOMERIDIOL, 42. (Compuesto IX).

De las mismas fracciones de donde se aisló el compuesto VIII, se aislaron 90 mg del compuesto IX (0.003% del peso seco de la planta). Los resultados de sus constantes físicas y espectroscópicas se dan en la Tabla 10.

El espectro de RMN ^1H del compuesto IX (Figura 25) fué muy similar al del compuesto VIII (Figura 23), difiriendo fundamentalmente en la ausencia de la señal para el acetato, tanto de los protones del metilo como de la señal del protón base (señal ddd). En el espectro de masas presentó un ión molecular con 58 unidades de masa menos que el compuesto VIII (m/z 240), los iones M-15 (m/z 225), M-15-18 (m/z 2070, M-18-60 (m/z 162) y las señales características del grupo 2-propanol (m/z 43 y m/z 59). Lo anterior indicó en principio que la estructura del compuesto IX debía ser similar a la del compuesto VIII, pero sin el acetato de la posición 8 α .

Con la información anterior fué posible identificar al compuesto IX como criptomeridiol (Figura 27), cuyas constantes físicas y espectroscópicas son concordantes con las descritas en la literatura para este compuesto (Irwin y Geissman, 1973).

TABLA 10. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto IX.
(Criptomeridiol).

Propiedad	
P.f.	130°C
IR ν CHCl_3 cm^{-1} Max	3590, 2970, 2930, 2860, 2840, 1390, 1380, 905
EMIE m/z (%)	240(0.6), 225(2), 207(10), 182(30), 162(62), 59(100), 43(85)
RMN ^1H (80 MHz, CDCl_3 , δ)	1.6(s, OH), 1.19(s, 6H, CH_3 -12, CH_3 -13), 1.09(s, 3H, CH_3 -15), 0.85(s, 3H, CH_3 -14)

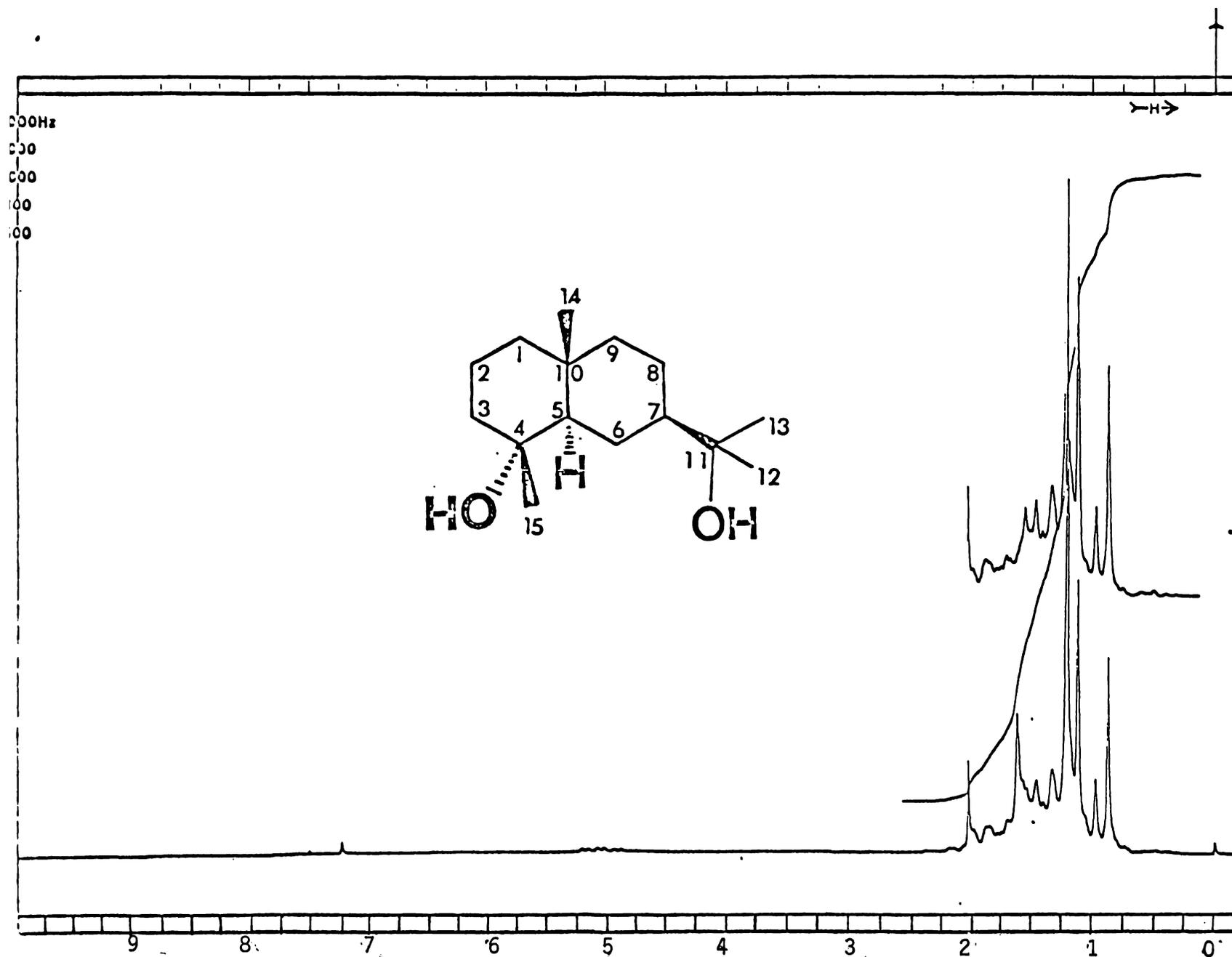
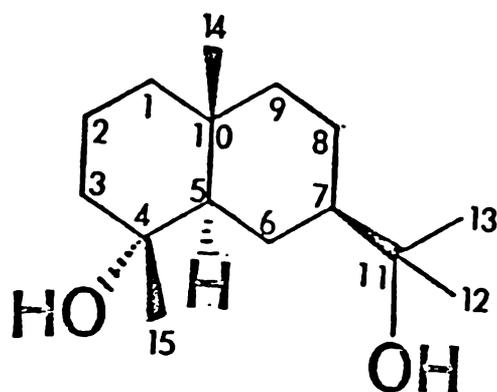


Fig 25. ESPECTRO DE RMN^1H del CRIPTOMERIDIOL (CDCl_3 , 80MHz)



42

FIGURA 26. Estructura del criptomeridiol.

2.2.10 IDENTIFICACION DEL 3β -glucositosterol 43 (Compuesto X).

De las fracciones más polares de la columna inicial (Tabla 3) se aisló el compuesto X con un rendimiento del 0.0036%. El cual fué identificado como 3β -glucositosterol (Figura 28) por comparación de la manera convencional, con una muestra auténtica de este compuesto y de su derivado tetraacetilado.

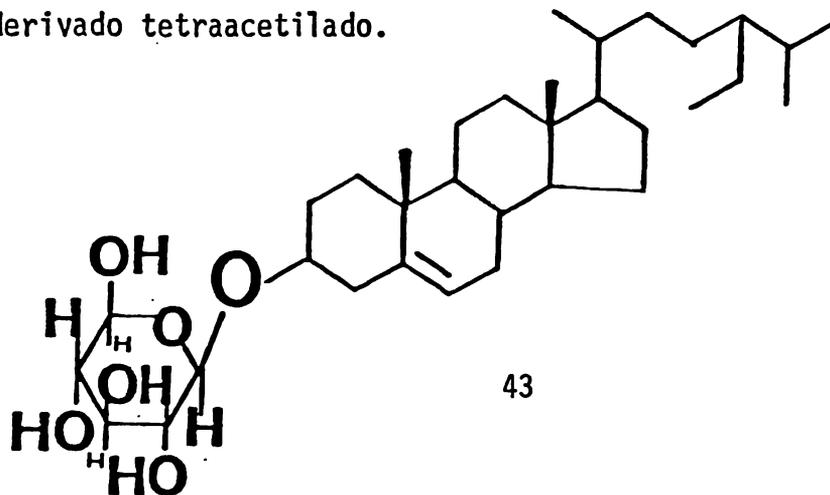


FIGURA 27. Estructura de 3β -glucositosterol.

3. CONSTITUYENTES DE Chenopodium ambrosioides L.

3.1 MATERIALES Y METODOS.

3.1.1 MATERIAL VEGETAL.

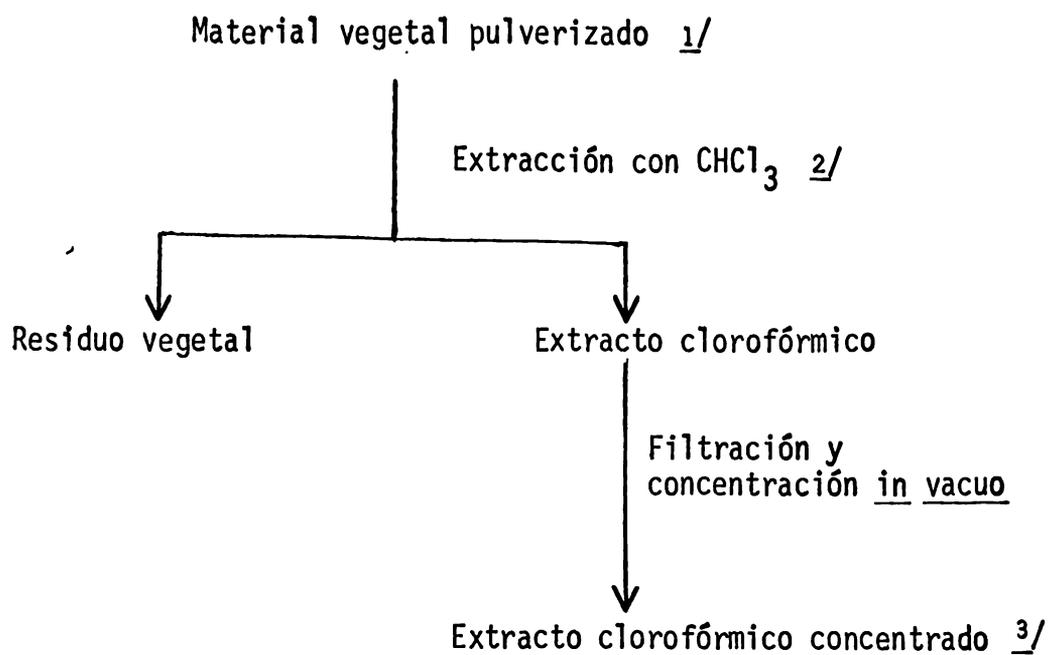
La planta fue recolectada por el Dr. Robert Bye y la Mestra Edelmira Linares el 25 de julio de 1985, en Mamalhuazuca, Municipio de Ozumba, Estado de México. Una muestra de herbario se encuentra depositada en el Jardín Botánico Exterior del Instituto de Biología de la UNAM. (Boucher: Edelmira Linares y Robert Bye 15:300).

Las partes aéreas de la planta se dejaron secar a la sombra por un período de 3 semanas y posteriormente se fraccionaron mecánicamente en trozos pequeños.

3.1.2 METODO DE EXTRACCION, FRACCIONAMIENTO Y SEPARACION.

3.1.2.1 EXTRACCION.

El material vegetal (2.0 Kg) se extrajo según el procedimiento señalado en el Esquema 2.



1/ Cantidad de material vegetal, 2.0 Kg.

2/ Extracción vía maceración (3 veces por períodos de 3 días cada vez 30 l de cloroformo).

3/ Cantidad total de extracto 36.0 g.

ESQUEMA 2. Extracción de las partes aéreas de Chenopodium ambrosioides L.

3.1.2.2 FRACCIONAMIENTO PRELIMINAR.

El total del extracto obtenido (36 g), se redisolvió en un volumen pequeño de cloroformo y se adsorbió en 100 g de gel de sílice (Silica gel Merck, 70-230 mallas). La masa formada por el extracto y el gel de sílice se extendió en un recipiente de 20 X 35 cm y se dejó secar a temperatura ambiente (20°C), por un período de 24 horas. El polvo seco resultante se adicionó a una columna de vidrio (130 x 7.5 cm) previamente empacada por la vía húmeda con 1.0 Kg de gel de sílice. Como eluyentes se emplearon n-hexano, n-hexano-cloroformo, cloroformo-acetato de etilo, acetato de etilo y acetona. Se recogieron un total de 590 fracciones de 500 ml cada una. Cada fracción fue seguida por cromatografía en capa fina, combinándose las fracciones idénticas. En la Tabla 11 se muestran los eluyentes empleados para la separación y el número de fracciones eluidas con cada uno de ellos.

TABLA 11. Resumen del fraccionamiento vía cromatografía en columna del extracto clorofórmico del Chenopodium ambrosioides.

Eluyente	Proporción	No. de fracciones	Fracciones combinadas	Observaciones
Hexano	100%	1-35	1-36	Descartada
Hexano-cloroformo	90:10	35-74	37-58 58-70	Descartada +
Hexano-cloroformo	80:20	75-101	71-80	Descartada
Hexano-cloroformo	70:30	102-144	81-144	Descartada
Hexano-cloroformo	60:40	145-221	145-159 160-169 170-179	*** *** ***
Hexano-cloroformo	50:50	222-357	180-255 256-265 266-269* 270-273* 274-279* 280-284	Descartada Descartada +*Combinada luego de separar El compuesto III (33) Descartada
Hexano-cloroformo	40:60	358-366	285-374	+

TABLA 11. Resumen del fraccionamiento vía cromatografía en columna del extracto clorofórmico del Chenopodium ambrosioides. (Continuación).

Eluyente	Proporción	No. de fracciones	Fracciones combinadas	Observaciones
Cloroformo	100%	367-396	375-421	+
Cloroformo-acetato de etilo	90:10	397-472	422-450	"
Cloroformo-acetato de etilo	80:20	473-486	450-590	Descartada
Cloroformo-acetato de etilo	70:30	487-517	491-590	Descartada
Cloroformo-acetato de etilo	60:40	518-536		
Cloroformo-acetato de etilo	50:50	537-559		
Cloroformo-acetato de etilo	30:70	560-573		
Acetato de etilo	100%	574-584		
Acetona	100%	585-590		

+ Fracciones estudiadas

** Reunidas y recromatografiadas después de pasarlas por carbón activado.

3.2 RESULTADOS Y DISCUSION.

3.2.1 AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DEL ESTIGMAST-22-EN-3-OL, 33 del Chenopodium ambrosioides.

De las fracciones 270-273, se separó un producto cristalino (180 mg) de p.f. 161-162°C. Posteriormente del anterior producto se acetilaron 100 mg con 1 ml de anhídrido acético y 0.5 ml de piridina. Al cabo de 12 horas se formó en la mezcla de reacción un producto cristalino que se separó por filtración y se lavó con éter sulfúrico, obteniéndose 72 mg de un polvo de p.f. 175-176°C. Este producto se identificó como el acetato del estigmast-22-en-3-ol, por comparación en cromatografía, I.R. y RMN 'H con una muestra auténtica. De las fracciones previas (266-269) y posteriores (274-279) se separó más del mismo producto, aislándose un total de 400 mg (0.025% de rendimiento) de Estigmast-22-en-3-ol, en forma pura.

Las fracciones indicadas en la Tabla 11, se recromatografiaron pero no fue posible aislar ningún otro producto a pesar de que se siguió la misma metodología utilizada para el estudio de Ch. graveolens.

4. CONCLUSIONES.

Las conclusiones que se derivan del presente capítulo son las siguientes:

1. Se realizó el estudio fitoquímico de dos especies del género Chenopodium de amplio uso en la medicina tradicional mexicana, Chenopodium graveolens Willd y Chenopodium ambrosioides L.
2. Del extracto clorofórmico de Chenopodium graveolens Willd (Epazote de Zorrillo) se aislaron y caracterizaron tres flavonoides, tres sustancias esteroideas, tres sesquiterpenoides y un monoterpeno.

Los compuestos, sus rendimientos y la categoría estructural a la que pertenecen se resumen en la Tabla 12.



TABLA 12. Constituyentes del Chenopodium graveolens. QUÍMICA D. E. PG.

Compuesto	Categoría estructural	Rendimiento	Número de estructura en el texto
Pinostrobin	Flavonoide (Flavanona)	0.1%	<u>31</u>
Pinocembrina	Flavonoide (flavanona)	0.017%	<u>35</u>
Chrysin	Flavonoide (flavona)	0.05%	<u>37</u>
Stigmasterol	Esteroides	0.003%	<u>32</u>
Stigmas-22-en-3-ol	Esteroides	0.0025%	<u>33</u>
3 β glucositosterol	Esteroides	0.0036%	<u>43</u>
Criptomeridiol	Sesquiterpenoide (Eudesmano)	0.003%	<u>42</u>

TABLA 12. Constituyentes del Chenopodium graveolens. (Continuación).

Compuesto	Categoría estructural	Rendimiento	Número de estructura en el texto
(+) 8 α -acetoxicriptomeridiol	Sesquiterpenoide (Eudesmano)	0.0036%	<u>41</u>
(+) 8 α -hidroxielemolacetato de geranilo	Sesquiterpenoide (Elemeno)	0.0046%	<u>40</u>
	Monoterpeno	0.01%	<u>34</u>

Los sesquiterpenoides 40 y 41 resultaron ser nuevos productos naturales

3. Anteriormente, según se indica en la Tabla 3, varios flavonoles han sido detectados como metabolitos secundarios de varias especies de Chenopodium (Tabla 3); sin embargo, es la primera vez que se describe la presencia de flavonas y flavanonas en este género. Es importante señalar que, todos los flavonoles de Chenopodium están oxigenados en el anillo aromático B. (Crawford, 1975; Arasawa, Minabe, Saeki, Takakuwa y Naka Oki, 1971; Crawford y Evans, 1978; Crawford y Mabry, 1978; Mandich, Barrios y Silva, 1982); sin embargo, los flavonoides encontrados en Chenopodium graveolens carecen de sustituyentes oxigenados en tal anillo. Por otra parte, es importante hacer notar que los nuevos sesquiterpenoides (40 y 41), están sustituidos en la posición 8, mientras que la especie relacionada Ch. botrys posee varios sesquiterpenos con sustituyentes situados en la posición 6 ó 3 (De Pascual, Bellido y Gon-

zález 1980, 1978a, 1978b). Tanto, la ausencia de sustituyentes en el anillo B de los flavonoides así como el patrón de sustitución en los esqueletos sesquiterpénicos pueden ser de importancia quimiotaxonómica.

4. La presencia de la flavanona pinostrobina, a tan alta concentración puede ser de importancia farmacológica y estar relacionada en parte, con el uso popular que tiene la planta como vermífugo. Esta consideración esta basada en el hecho de que algunas flavanonas poseen la propiedad de inhibir el crecimiento larvario.
5. Del extracto clorofórmico de *Chenopodium ambrosioides* L. (Epazote morado) sólo fué posible aislar y caracterizar el estigmast-22-en-3-ol con un rendimiento del 0.025%.

CAPITULO II

CONSTITUYENTES QUIMICOS DE Amphipterygium adstringens

SCHIEDE EX SCHELECHT

1..GENERALIDADES ACERCA DEL Amphipterygium adstringens1.1. ASPECTOS TAXONOMICOS DE Amphipterygium adstringens

El Amphipterygium adstringens Schiede ex Schlecht (Sin. Juliania adstringens Schlecht), es una planta perteneciente a la pequeña familia Julianiaceae, cuyas especies se caracterizan por poseer árboles resinosos. El género, en general es americano y se le consigue desde México hasta el Perú (Heywood, 1978).

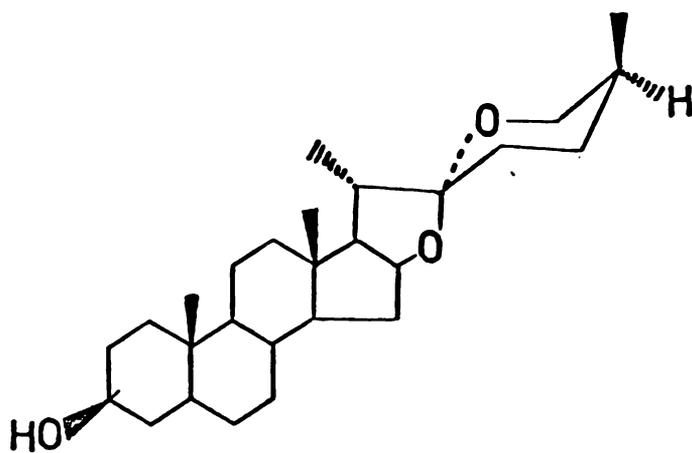
Esta planta conocida como cuachalalate, quetchalalatl o cuachalala es autóctona de México y se encuentra distribuida en los estados de Nayarit, Jalisco, Michoacan, Guerrero, Oaxaca, Morelos y Puebla (Diaz, 1974; Estrada, 1985; Rzedowski, 1978; Martínez, 1969). Estrada en su libro Jardín Botánico de Plantas Medicinales Maximino Martínez, hace la siguiente descripción de la especie:

"Arbol de aproximadamente 8 m de altura, tronco generalmente torcido con pocas ramas, corteza lisa con grandes escamas engrosadas y suberificadas; hojas dispuestas en espiral aglomeradas en las puntas de las ramas; de 6 a 13 cm

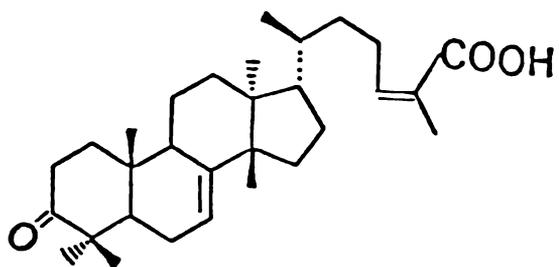
incluyendo el peciolo, compuesto de 3 a 5 foliolos; planta dioica: flores masculinas en panículas aglomeradas hasta 15 cm de largo; flores femeninas solitarias en las axilas de las hojas; florea de mayo a julio en clima cálido-seco; el fruto es una samara seca, indehiscente, fibrosa, sobre pedicelos aplanados y acrescentes hasta formar una especie de ala de 3 a 4 cm de color café-rojizos con una o dos semillas aplanadas de 5 mm de largo" (Estrada, 1985b).

1.2. FITOQUIMICA del Amphyterygium adstringens

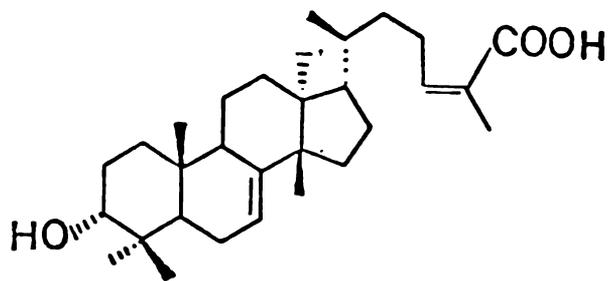
Los estudios fitoquímicos realizados sobre esta planta, son escasos y versan fundamentalmente sobre la corteza del árbol. González et al., detectaron mediante cromatografía en papel y espectroscopía IR la presencia de la sarsa sapogenina, 44 (González y Delgado, 1962). Posteriormente se aislaron y caracterizaron los ácidos masticadienónico, 45, y 3 α -hidroximasticadienónico 46 (Navarrete, 1982) Finalmente Domínguez et al. reportaron la presencia de un ácido triterpénico, el ácido instipolinácico 47. (Domínguez, Franco, García, Porras, Vázquez y Amezcua, 1983). En la Figura 29, se muestra las estructuras de estos metabolitos. Es de hacer notar que sobre otras especies del género no existen reportes fitoquímicos previos.



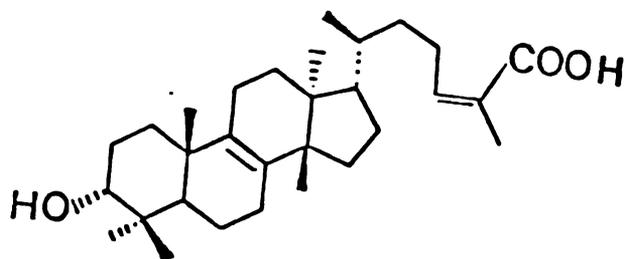
44



45



46



47

Fig. 28. Estructuras de los metabolitos secundarios identificados previamente en A. adstringens

1.3. Importancia biológica y económica del Amphiterygium adstringens.

El cuachalalate es una planta medicinal de uso común, en la República Mexicana; su corteza se expende en la mayoría de los mercados nacionales; y se le atribuyen varias propiedades curativas como son: cicatrizante; calmante; antibiotica; para la disolución de cálculos biliares; agente hipocolesterolemiantes; antifebrifugo; antimalárico; antiinflamatorio, anticancerígeno y antiulceroso, siendo este último el uso más común entre la población (Martínez, 1969, Estrada, 1985b; Díaz, 1976; Navarrete, 1982).

González et al. demostraron la actividad antitumoral de los extractos metanólicos de la corteza mediante ensayos in vivo en ratones con adenocarcinoma mamario (González, McKenna y Delgado, 1962). En otro estudio se comprobó la actividad hipocolesterolemiantes de la corteza via bioensayos en ratas wistar (Navarrete, 1982).

Considerando que el cuachalalate es una planta medicinal mexicana de amplio uso en la medicina tradicional y en base a los objetivos planteados en el Capítulo I, se procedió a reinvestigar esta planta.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. Material vegetal

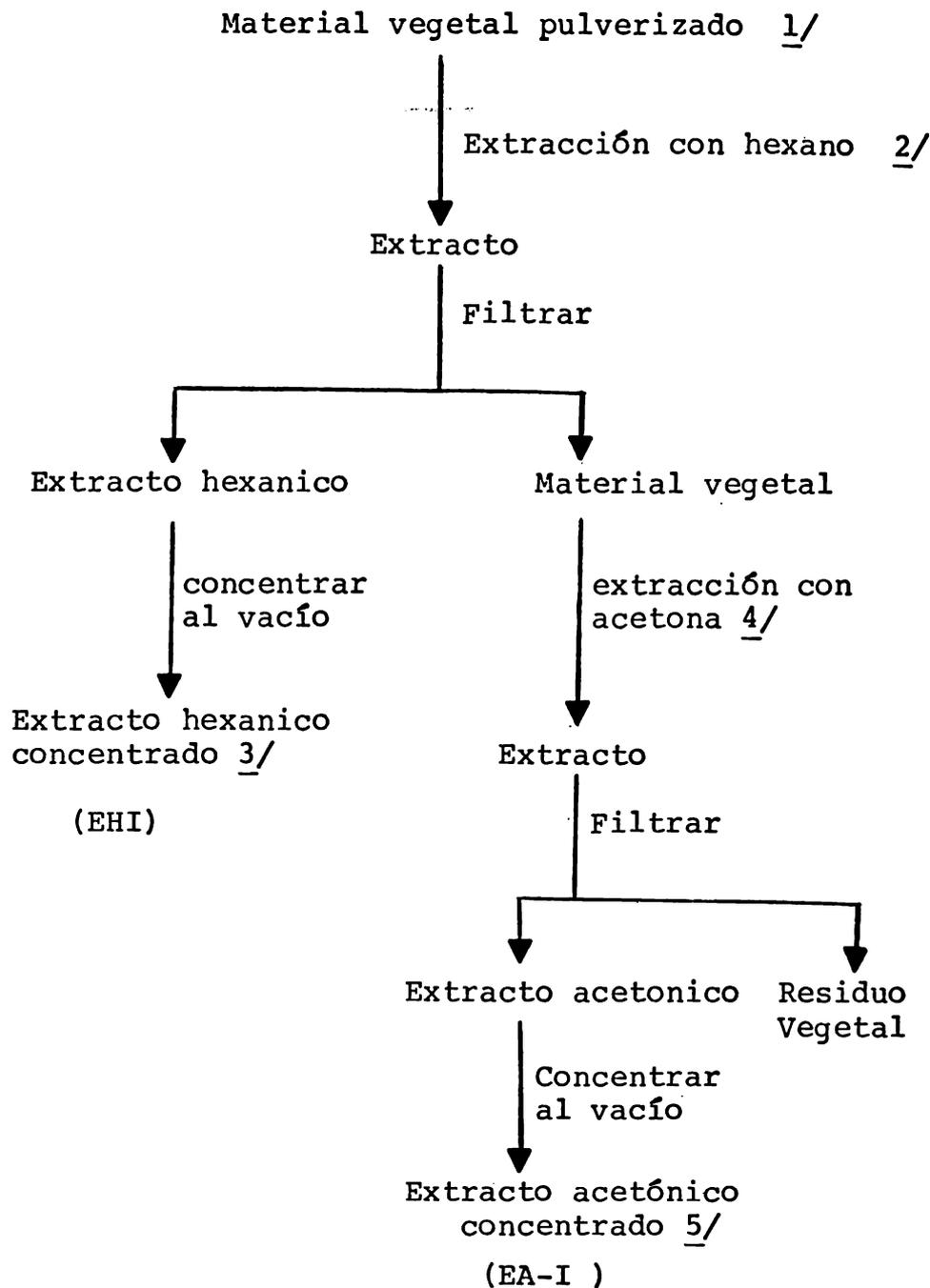
La planta utilizada en este estudio fue recolectada en el cerro "El Amarillo" situado a 6 km de Tianquistengo, Oaxaca. La recolección se hizo en dos periodos, uno en junio de 1983 (Voucher, AN-1) y otro en octubre de 1985. Una muestra de referencia de la segunda recolección se depositó en el Herbario de Plantas Utiles "Efraín Hernández X" de la Universidad Autónoma Chapingo (Voucher No. 198628 "Xolo") y fue identificada por el M. en C. Erick Estrada Lugo del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo.

El material vegetal se secó a la sombra y posteriormente se pulverizó en un molino de cuchillos modelo Wiley⁴. El material de cada recolección se trabajó por separado.

2.2. Métodos de extracción, fraccionamiento y separación de la primera recolección

2.2.1. Extracción

El extracto se preparó con 800 g de corteza seca y pulverizada (recolección de junio de 1983) según el procedimiento señalado en el Esquema 3.



1/ 800 g

2/ Via maceración por periodos de 72 horas utilizando 2.5 l. de hexano

3/ Cantidad total de extracto hexanico (EHI): 29.5g

4/ Via maceración por periodos de 72 horas utilizando 3.0 l. de acetona

5/ Cantidad total del extracto acetónico (EA-II): 36.0g.

FIGURA 3. Primera extracción de A. adstringens, recolectado en junio de 1983.

2.2.2. Fraccionamiento preliminar del extracto hexánico (EH-I)

El total del extracto hexánico EH-I (29.5 g) del esquema 3, se separó a grosso modo mediante una cromatografía preparativa en columna con 850 g de gel de sílice (sílica gel Merck G 60, 70-230 mallas), utilizándose como eluyentes hexano, hexano-acetato de etilo en diferentes proporciones, acetato de etilo y acetona. Se recogieron un total de 160 fracciones de 250 ml cada una. Cada fracción fue seguida por cromatografía en capa fina, combinándose las fracciones idénticas. En la tabla 13 se muestran los eluyentes empleados para la separación el número de fracciones eluidas y combinadas. Los análisis cromatográficos en capa fina se efectuaron de la misma manera que se indicó en la sección experimental del capítulo II.

2.2.3. Aislamiento y purificación de los compuestos XI-XV del Extracto Hexánico (EH-I).

a.- De las fracciones 17-18 de la Tabla 13. Se obtuvieron 42 mg (0.0053% del peso seco) de un polvo blanco amorfo de pf 62-63°C, que se separó por filtración al vacío y se lavó con metanol. A este compuesto se le denominó Compuesto XI, 48.

TABLA 13. Eluyentes empleados en la separación del extracto hexánico EH-I, de la corteza de A. adstringens

ELUYENTE	PROPORCION DE DISOLVENTE	No. DE FRACCIONES	FRACCIONES COMBINADAS	OBSERVACIONES
Hexano	100%	1-13	1-16	Descartada
Hexano Acetato de Etilo	95:05	14-35	17-18	+
Hexano- acetato de etilo	90:10	36-46	19-43 44-48	Descartada +
hexano- acetato de etilo	80:20	47-93	49-59 60-63 64-87	+ Descartada +
Hexano- acetato de etilo	70:30	94-116	80-116	Descartada
Hexano- acetato de etilo	60:40	117-121	117-128	Descartada
Hexano- acetato de etilo	50:50	122-126		
Hexano- acetato de etilo	25:75	127-144	129-143	Descartada
Acetato de etilo	100%	145-153	144-152	Descartada
Acetona	100%	154-160	153-160	Descartada

+Fracciones estudiadas

b.- Las fracciones 44 - 48 (4.2 g) de la columna original (tabla 13) eluidas con hexano - acetato de etilo 80:20, se recromatografiaron sobre 200 g de gel de silice. La elución se inició con hexano y luego con hexano cloroformo en diferentes proporciones; se recogieron un total de 280 fracciones de 125 ml cada una. De las fracciones 96-134 eluidas con hexano-cloroformo 1:1, se separó un sólido que luego de sucesivas lavadas con metanol originó 67 mg de un polvo lustroso (0.0084% del peso seco), de p.f.=133-134°C (compuesto XII, 49).

c.- Las fracciones 49-59 (6.2 g), de la Tabla 13, eluidas también con hexano acetato de etilo 80-20 se adsorbieron en 7.0 g de gel de silice y se recromatografiaron sobre 240.0 g del mismo. El proceso de elución se realizó con cloroformo y cloroformo-acetato de etilo en cantidades crecientes (95:5, 90:10, 70:30 y 50:50). Se recogieron un total de 275 fracciones de 125 ml cada una. Las fracciones 18-111 mostraron las mismas manchas en cromatografía en capa fina, se unieron y después de eliminar el disolvente se obtuvo un residuo de 4.0g. Este residuo se redisolvió en etanol-eter anhidro, se metilo con un exceso de diazometano etereo y se recromatografio en una columna con 200g de gel de silice, usándose como eluyentes cloroformo y cloroformo-acetato de etilo (90:10); se recogieron un total de 97 fracciones de 125 ml cada una. De las frac

ciones 13-16 eluidas con cloroformo se separaron 365.0 mg (0.045% del peso seco), de un polvo blanco cristalino de pf 122-124°C (compuesto XIII, 50)

d.- De las fracciones 64-87 de la columna original (Tabla 13) cristalizaron 830.4 mg de un sólido; luego de sucesivas recristalizaciones en acetona originó un producto de pf = 155°C. El producto anterior mostró dos sustancias predominantes en cromatografía en capa fina.

El producto cristalino anterior (243.5 mg) se esterificó con un exceso de diazometano y posteriormente se purificó por cromatografía en placa fina. Para ello se emplearon dos placas de 20x20 cm de gel de sílice (sílica gel Merck PF 254; 0.5 mm de espesor) y como fase móvil cloroformo-acetona (90:10). Se obtuvieron 223.3 mg de un compuesto puro en forma de aceite (compuesto XIV, 57). La cantidad total obtenida de la planta del compuesto XIV fueron 738 mg (0.092% del peso seco).

El examen cromatográfico de las aguas madres de cristalización del producto cristalino inicial mostró la presencia, de manera netamente predominante, de una tercera sustancia. Al igual que en el caso anterior, después de haber evaporado el disolvente, se metiló con diazometano. El producto de la esterificación (105 mg) se purificó por cromatografía en placa fina eluida con cloroformo-acetona (90:10) obteniéndose de esta manera 12.6 mg (0.0016% del peso seco) de un producto puro

de $pf = 195^{\circ}C$. (Compuesto XV, 54).

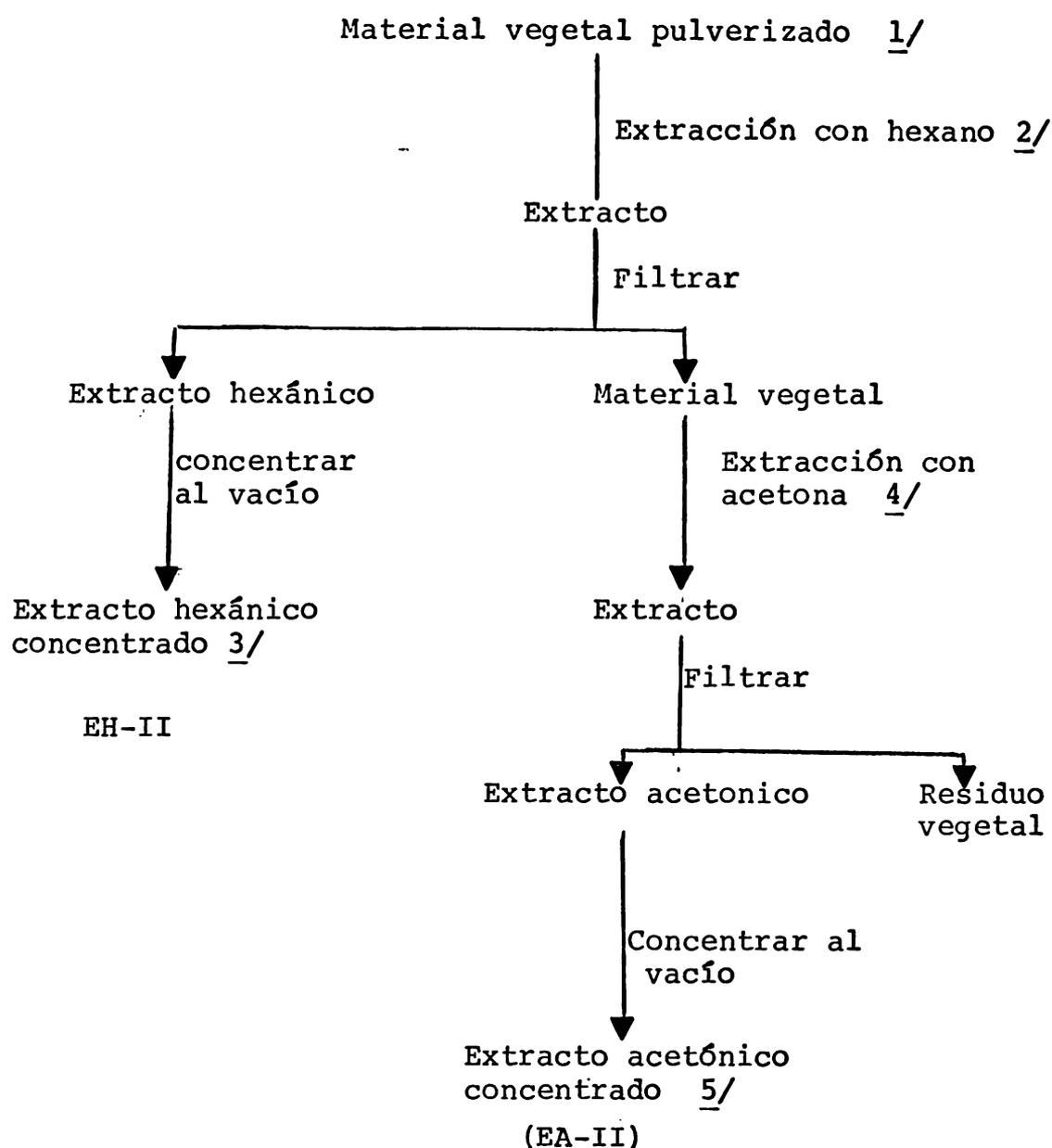
2.3. METODOS DE EXTRACCION, FRACCIONAMIENTO Y SEPARACION DE LA SEGUNDA RECOLECCION

2.3.1. Extracción

3.2. Kg de corteza de cuachalalate seca y pulverizada (recolectada en octubre de 1985) fueron extraídos según el procedimiento señalado en el Esquema 4..

2.3.2. Fraccionamiento preliminar del extracto hexánico (EH-II)

El total del extracto hexánico EH-II (86.0g), disuelto en una mezcla de hexano y cloroformo se adsorbió en 120 g de gel de sílice y se adicionó a una columna empacada con 2.5 kg de gel de sílice (Silica gel G60 Merck, 70-230 mallas,). Para efectuar el proceso de elución se utilizaron los siguientes disolventes: hexano, cloroformo y acetona en diferentes proporciones. Se recogieron un total de 275 fracciones de 500 ml cada una; cada fracción fue analizada por cromatografía en capa fina, combinándose aquellas cromatográficamente similares. En la Tabla 14 se resumen los sistemas de eluyentes y el número de fracciones eluidas con cada uno de ellos.



1/ 3.2 kg.

2/ Via maceración por periodos de 72 horas utilizando 9.0 l de hexano

3/ Cantidad total de extracto hexánico (EH2):86.0g.

4/ Via maceración por periodos de 72 horas utilizando 9.0 l de acetona

5/ Cantidad total de extracto acetónico (EA2):36.0 g.

ESQUEMA 4. Segunda extracción de A. adstringens, recolectada en octubre de 1985.

TABLA. 14. Eluyentes empleados en la separación del extracto Hexánico EH-II de la corteza de A. adstringens

ELUYENTE	Proporción de disolvente	No. de Fracción	Observaciones
Hexano	100:00	1 - 21	
Hexano-Cloroformo	80:20	22 - 38	
Hexano-cloroformo	60:40	37 - 54	Descartadas
Hexano-cloroformo	50:50	55 -139	
Hexano-cloroformo	40:60	140-151	
Hexano-cloroformo	20:80	52 -187	
Cloroformo	100:00	188 - 213	
Cloroformo-acetona	95:05	214 - 221	+
Cloroformo-acetona	90:10	222 - 267	Descartada
Acetona	100:00	268 - 275	++

+ Fracción metilada y recromatografiada

++ Fracción estudiada

En las fracciones 214-221, (Tabla 14) salió el 80% (68.5 g) del extracto EH-II. Para facilitar la posterior resolución de estas fracciones se procedió a metilarlas; para ello se disolvieron en 100 ml de eter etílico y se agregaron 200 ml de solución eterea de diazometano con una concentración teórica de 8.4 g

Posteriormente, estas fracciones se fraccionaron mediante una cromatografía en columna usándose como adsorbente 2.0 kg de gel de sílice desactivada al 10%. Se recogieron un total de 227 fracciones de 500 ml cada una. En la Tabla 15 se muestran los eluyentes empleados para la separación, el número de fracciones eluidas con cada uno de ellos y las fracciones combinadas.

2.3.3. Aislamiento y purificación de los compuestos XVI-XXIII del extracto hexánico EH-II.

a.- De las fracciones 3-6 de la segunda columna (Tabla 15) eluidas con hexano-cloroformo 1:1, se obtuvo un aceite ligeramente amarillo, homogéneo cromatográficamente en 5 sistemas de eluyentes diferentes: (hexano-cloroformo 80:20 y 50:50; hexano-eter 90:10; hexano-acetona 95:5 y hexano-eter-acidoacético 81:18:1; se aislaron 12.98 g (0.40% del peso seco de la planta) y se denominó compuesto XVI, 59).

TABLA 15. Eluyentes empleados en la separación de las fracciones 214-221 metiladas del extracto hexánico EH-II de A. adstringens ✓

ELUYENTE	PROPORCION DE DISOLVENTE	No. DE FRACCIONES	FRACCIONES COMBINADAS	OBSERVACIONES
Hexano-cloroformo	50:50	1-132	1 - 2	Descartada
Hexano-cloroformo	25:75	133-147	3 - 6	+
			7 - 9	Descartada
Cloroformo	100:00	148-167	10 - 11	+
Cloroformo-acetona	97.5:2.5	168-208	12 - 49	Descartada
			50-60	+
Cloroformo-acetona	90:10	209-213	61-133	Descartada
Cloroformo-acetona	75:25	212-221	134-148	+
			149-164	Descartada
Acetona	100:00	222-227	165-206	+

+ Fracciones estudiadas

b.- El combinado de las fracciones 10-11 (Tabla 15) eluidas con hexano-cloroformo 1:1, mostró una substancia prioritaria en cromatografía en capa delgada. Al agregarle hexano precipitó un sólido que se separó por filtración y se lavó con hexano. El total de sólido obtenido fue 243 mg (0.0076 % del peso seco), pf 122-124°C y se denominó compuesto XVII, 50.

c.- De las fracciones 51-60 (Tabla 15) se separaron 412 mg (0.013% de peso seco) de un producto poco denso y lustroso de pf = 133-134°C (compuesto XVIII, 49)

d.-El residuo de las fracciones 134-148, de la segunda columna (Tabla 15) eluidas con hexano-cloroformo (25:75), se disolvió en cloroformo y se filtró a través de una mezcla de tonsil-carbón activado (1:1, 10g); el filtrado se concentró y el residuo (1.34 g) se recromatografió en 40.0 g de gel de sílice. La elución se hizo con hexano (fracciones 1-9), hexano-acetato de etilo 90:10 (fracciones 10-21) y hexano-acetato de etilo 75:25 (fracciones 22-45). En las fracciones 21-25 se observó la formación de un sólido blanco que precipitó con hexano-acetato de etilo 75:25. Este producto se separó por filtración, se lavó con hexano originando 210 mg (0.0066% del peso seco) de un sólido blanco de pf = 280°C (Compuesto XIX, 55).

e.- De las fracciones 165-206 (Tabla 15) se formó un sólido cristalino al reducir el volumen del disolvente. Este sólido se separó por filtración y se lavó primero con metanol y después con eter. De ésta manera se obtuvieron 7.36 g de un sólido cristalino con pf: 175-176°C. (Compuesto XX, 45). Las aguas madres de este compuesto (17.0 g) se recromatografiaron en 350 g de gel de sílice. Se utilizó como eluyente cloroformo. De las fracciones 25-32 de esta columna se precipitó un sólido verde que se redisolvió con cloroformo y se purificó por tratamiento con carbón activado. El residuo obtenido luego de eliminar el disolvente se disolvió en hexano caliente, se concentró un poco, se dejó en reposo y al cabo de 8 horas precipitó un polvo blanco cristalino (986 mg) de pf 140°C. 100 mg de este compuesto se metilaron con un exceso de diazometano en eter; la mezcla de esta reacción se separó por cromatografía preparativa en capa fina utilizando placas de vidrio de 20 x 20 cm cubiertas con gel de sílice. Como resultado del proceso de purificación se obtuvieron 70.0 mg de un polvo cristalino blanco que se recristalizó de metanol hasta punto de fusión constante de 110-112 °C. La cantidad total obtenida de este compuesto (compuesto XXI, 51) fue 690.2 mg (0.023% del peso seco). De las fracciones 33-58 de ésta misma columna se aislaron 2.62 g más del compuesto XX, aislándose finalmente 9.98 g (0.312% del peso seco) de compuesto XX.

f.- En la fracción 268 de la Tabla 14 precipitaron 1.068g de cristales voluminosos (0.033% del peso seco de la planta) de P.f 143-145°C (compuesto XXII, 46).

g.- De las fracciones 270-273 (Tabla 14) precipitó un sólido cristalino (80mg) de p.f. 165°C, el análisis cromatográfico en placa fina mostró la presencia de impurezas. La sustancia se disolvió en cloroformo y se purificó por cromatografía preparativa en capa fina, utilizándose 2 placas de 20 x 20 cm de gel de sílice y como eluyente. Se utilizó una mezcla de cloroformo-acetona (90:10) este proceso permitió separar 58 mg (0.0018% del peso seco) de un compuesto en forma de aceite (Compuesto XXIII, 58).

2.4. DETERMINACION DE LAS CONSTANTES FISICAS Y ESPECTROSCÓPICAS DE LOS CONSTITUYENTES

Los aparatos para obtener las constantes físicas y espectroscópicas de los compuestos aislados fueron los mismos que se utilizaron en el estudio de Ch. groveolen y Ch. ambrosioides y sus características se dieron en el Capítulo II en la sección 2.1.4.a.

2.5. PREPARACION DE DERIVADOS

La metodología empleada para preparar los derivados metilados y acetilados se describió en el Capítulo II sección 2.1.4. b.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

De los extractos hexánicos EH-I y EH-II de la corteza de cuachalalate, después de fraccionarlos preliminarmente por cromatografía preparativa en columna (Tabla 13 y 14) y posteriores cromatografías en columna y en placa fina sobre sílica gel de las fracciones metiladas o no, se obtuvieron cuatro ácidos triterpénicos tetracíclicos, dos ácidos triterpenos pentacíclicos, un esteroI y una mezcla de ácidos anacardicos constituida por dos series con cadenas laterales de 19 y 21 átomos de carbono.

Los compuestos anteriores se aislaron en su forma libre y/o como su ester metílico. En la Tabla 16 se indica los nombres y los números de estos compuestos, así como también el extracto hexánico de donde fueron aislados.

3.1. IDENTIFICACION DEL SITOSTEROL, 49 (COMPUESTO XII y XVIII)

El compuesto XII del extracto EH-I y el compuesto XVIII del extracto hexánico EH-II resultaron ser iguales y fueron identificados como el conocido β -sitosterol (Fig. 29) por comparación con una muestra auténtica. Del extracto EH-I se aislaron 67 mg que corresponde a un rendimiento del 0.0084%, y del extracto EH-II se aislaron 412 mg correspondientes al 0.013% del peso seco de la planta.

TABLA 16. Compuestos aislados y caracterizados de los extractos hexánicos EH-I y EH-II de la corteza de A. adstringens

TIPO DE COMPUESTO	COMPUESTOS	No. de compuesto	
		EXTRACTO EH-I	EXTRACTO EH-II
Triterpenos tetraciclicos	ac. masticadienonico, <u>45</u>	-	XX
	- metil ester, <u>50</u>	XIII	XVII
	ac. isomasticadienónico <u>51</u>	-	-
	- metil ester, <u>52</u>	-	XXI
	ac. 3- α -hidroximasticadienónico <u>46</u>	-	XXII
	-metil ester, <u>57</u>	XIV	-
	ac. 3-epi-hidroximasticadienónico <u>58</u>	-	XXIII
Triterpenos pentaciclicos	ac. oleanolico, <u>53</u>	-	-
	- metil ester, <u>54</u>	XV	-
	ac. epioleanólico, <u>55</u>	-	XIX
Esterol	Sitosterol, <u>49</u>	XII	XVIII
Acidos fenolicos	Acidos anacardicos, <u>48</u>	XI	-
	- metil ester	-	XVI

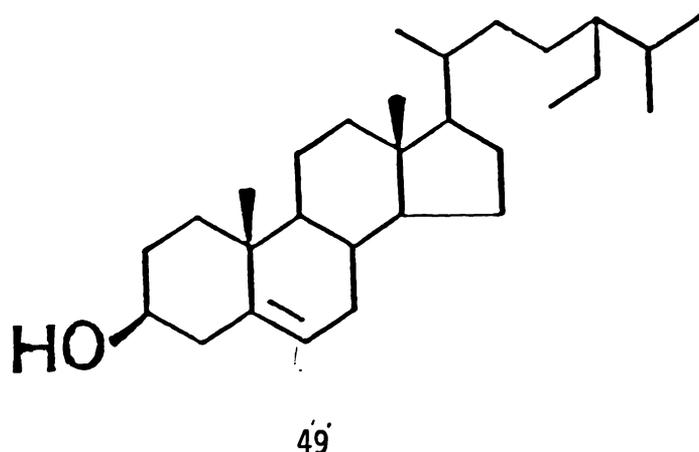


FIGURA. 29. Estructura del β -sitosterol.

3.2. IDENTIFICACION DEL ACIDO MASTICADIENONICO, 45, (Compuesto XX)

El compuesto XX del extracto hexánico EH-II se aisló en un rendimiento del 0.312% (9.98g), con respecto al peso seco de la planta y fue identificado como el ácido masticadienónico (Fig. 30) por comparación de sus constantes físicas y espectroscópicas con las descritas en la literatura. (Seoane, 1956; Kier, Lehn y Ourisson, 1963; Barton y Seoane, 1956; Pozzo-Balbi, Nobile, Scapini y cini, 1976 y 1978; Campello y Marsaioli, 1974; Domínguez, Soriano, Vera y Butrville, 1974; Caputo, Mangoni, Monaco y Palumbo, 1979; Caputo y Mangoni, 1970; Moncaco, Caputo, Palumbo y Mangoni, 1974). El compuesto XIII y compuesto XVII, que se aislaron después de metilar con

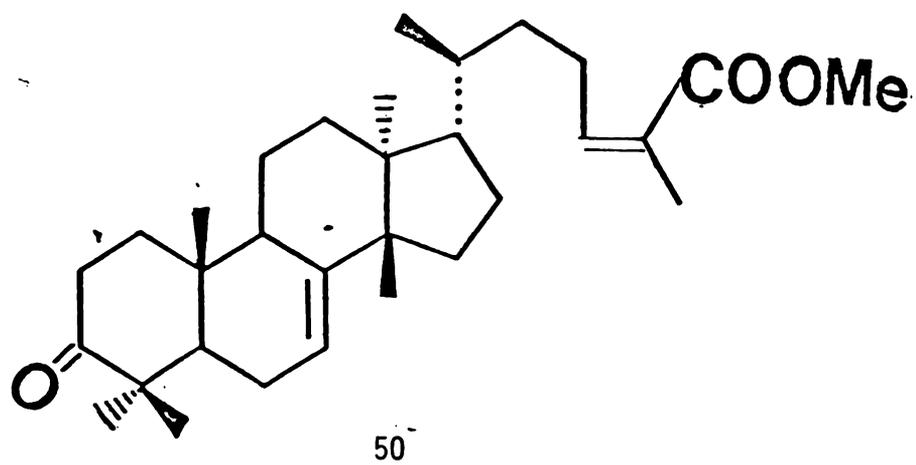
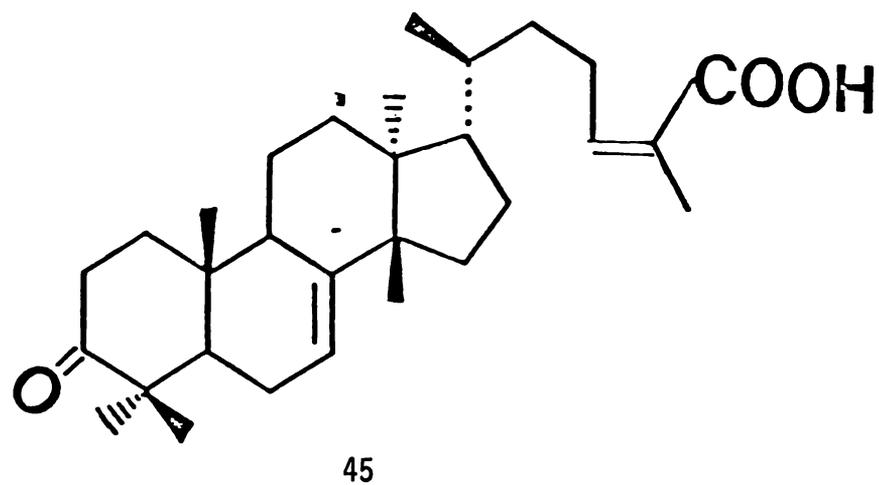


FIGURA 30. Estructura del ácido masticadienónico, 45 y su ester metílico, 50.

diazometano las fracciones 49-59 del extracto hexánico EH-I y 10-11 del extracto hexánico EH-II, fueron identificados como el metil ester del ácido masticadienónico (Fig. 30).

Las constantes físicas y espectroscópicas para el ácido masticadienónico y su derivado metil ester se dan en la Tabla 17.

Los espectros de RMN^1H del ácido masticadienónico y de su ester metílico, se muestran en las Figuras 31 y 32 respectivamente y en la Figura 33 se propone el patrón de fragmentación de acuerdo a los resultados del espectro de masas.

En el espectro de RMN^{13}C del ácido masticadienónico (Fig. 34) se observaron claramente las señales para el carbono carbonílico (216.58 ppm), el carbono carboxílico (173, 39 ppm), los carbonos de los dos dobles enlaces (146.87 (d), 146.01(s), 126.1(s), 117(d) y 23 señales más abajo de 53 ppm, que no fue posible asignar debido a la complejidad que presentó el espectro acoplado con hidrógeno. En total, este espectro presentó 29 señales, lo que indicó que dos de los átomos de carbono presentan el mismo desplazamiento químico, probablemente los gem dimetilos. Cabe señalar que el espectro de RMN^{13}C para el ácido masticadienónico no ha sido descrito previamente en la literatura.

TABLA 17. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto XX (ácido masticadienónico) y de su éster metílico.

PROPIEDAD	Compuesto XX (Acido masticadienónico)	Compuesto XIII y XVII (metil ester del acido masticadienónico)
P. f.	175-176°C	122-124°C
(α) _D	-71°	- 73°
IR ^{KBr} _{max}	3500-2500, 1677, 1705, 1632,1383	2953,1714,1702,1644,1456,1384,1242,1150.
EMIE mz (%)	454 (30), 439 (100), 421 (52.2), 139 (5.5), 113 (22.5), 95 (58.8), 81 (35), 55 (53.3).	468 (17.3), 454 (25) 453 (56.2), 435 (100), 422 (5.0), 421 (17.5), 127 (58.2), 95 (100), 81 (56.2), 67 (67), 55 (91.7)
RMN ¹ _H (CDCl ₃ , 80MHz, ppm)	0.8 (s, 3H, CH ₃ -13), 0.86 (d, J=6Hz, 3H, CH ₃ -20), 0.99 (s, 6H, 2CH ₃ -4) 1.04 (s, 3H, CH ₃ -10), 1.1 (s, 3H, CH ₃ -14), 1.9 (d, J=2Hz, 3H, CH ₃ -25), 5.3 (m, 1H, H-7), 6.05 (m, 1H, H-24). (fig 31)	0.8 (s, 3H, CH ₃ -13), 0.85 (d, J=6Hz, 3H CH ₃ -20), 1.0 (s, 6H, 2CH ₃ -4), 1.05 (s, 3H, CH ₃ -10) 1.1 (s, 3H, CH ₃ -14), 1.9 (d, J=2Hz, 3H, CH ₃ -25) 3.7 (s, 3H, COOCH ₃), 5.3 (m, 1H, H-7) 5.9 (m, 1H, H-24). (fig. 32)
RMN ¹³ _C (CDCl ₃ , 100MHz, ppm)	216.58 (s, C-3), 173.39 (s, COOH), 146.87 (d, c-24) 146.01 (s, c-25), 126.10 (s, c-8), 117 (d, c-7), 52.95, 52.47, 51.26, 48.61, 47.86, 43.64, 38.57, 36.13, 35.09, 34.87, 34.15, 34.01, 33.79, 28.24, 27.45, 26.93, 24.65, 24.45, 21.98, 21.58, 20.47, 18.33, 12.82. (fig. 34)	

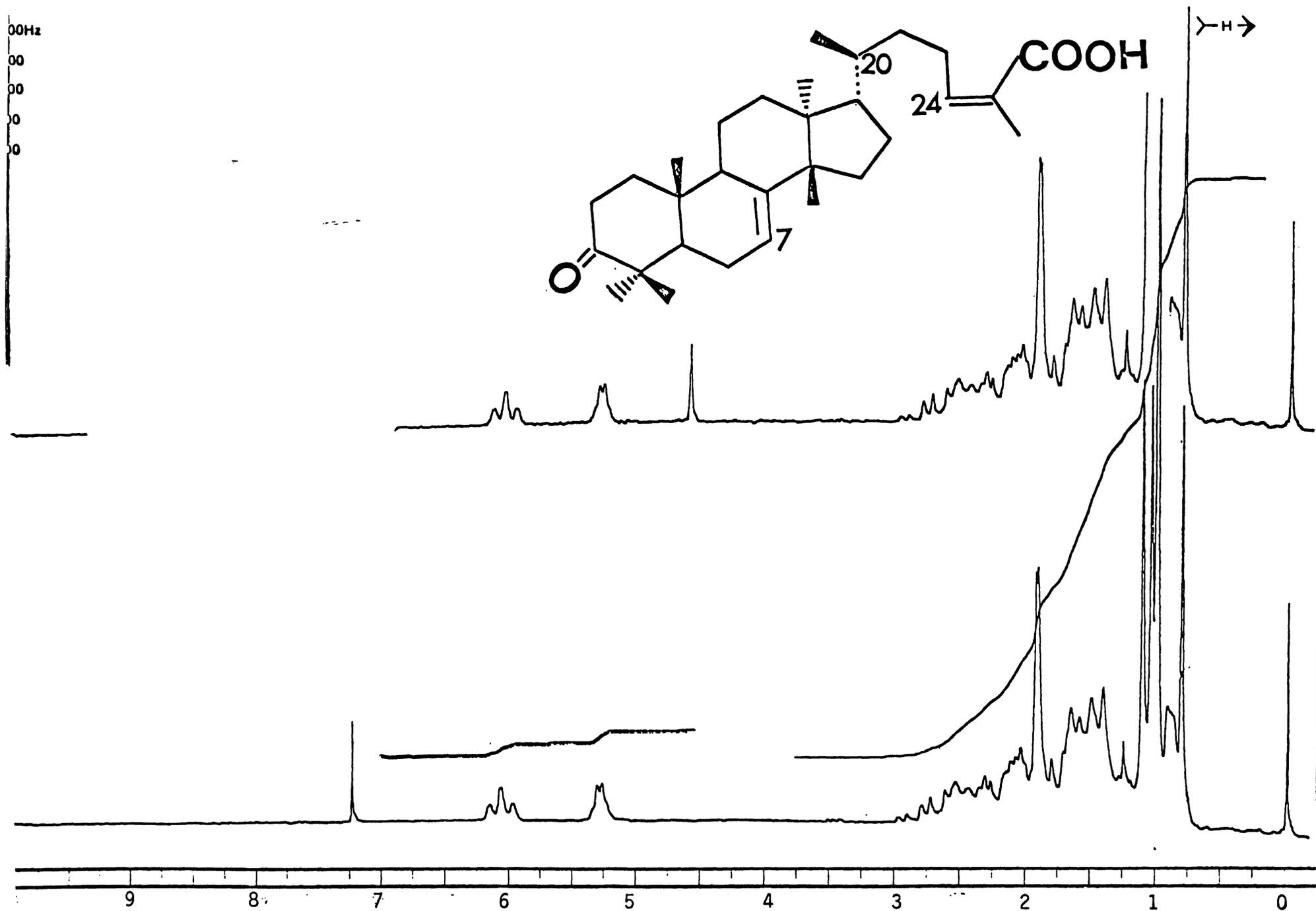


FIGURA 31. ESPECTRO DE RMN ^1H DEL ACIDO MASTICADIENONICO (CDCl $_3$, 80MHz)

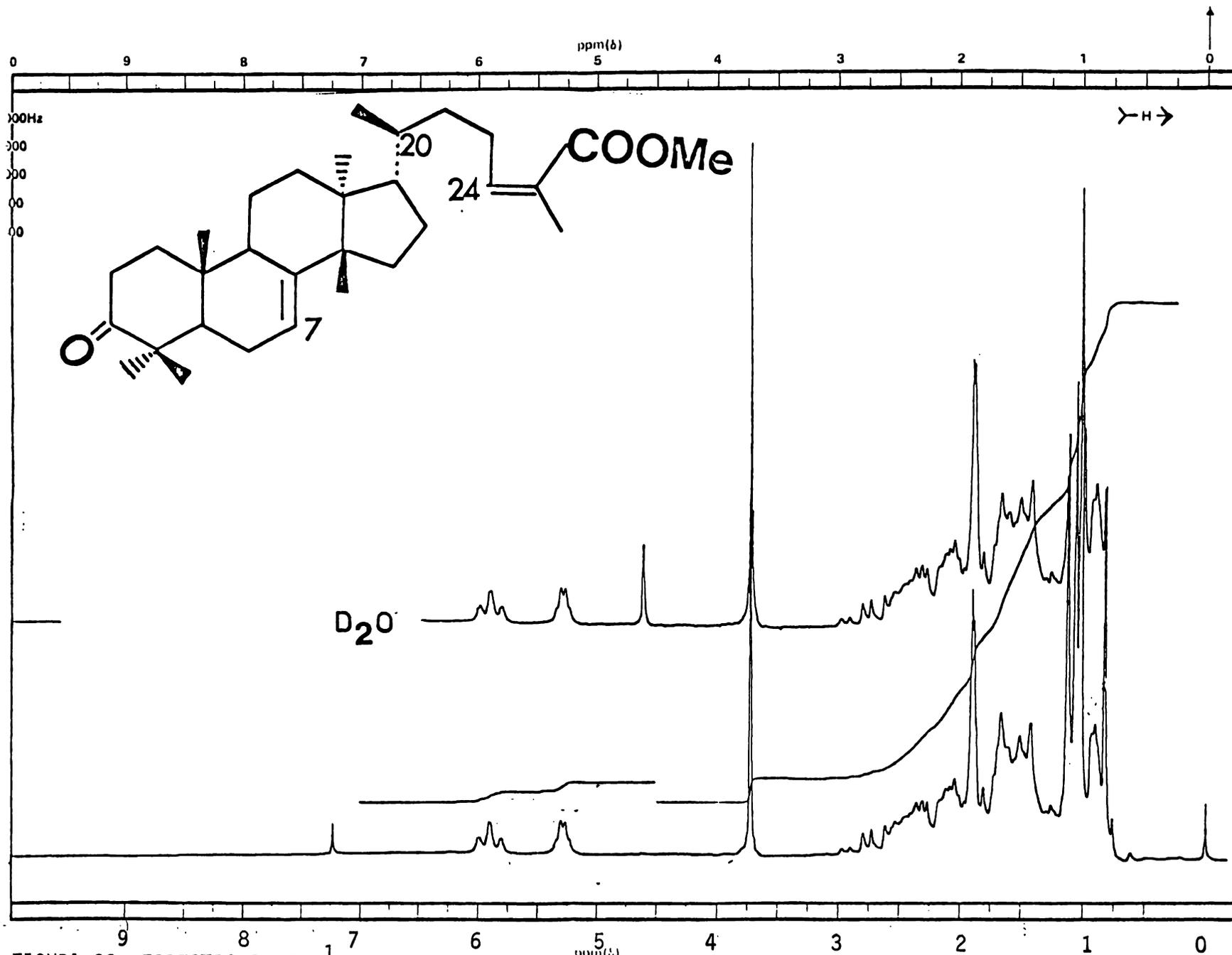


FIGURA 32 .ESPECTRO DE RMN ^1H DEL ESTER METILICO DEL ACIDO MASTICADIENONICO (CDCl_3 , 80MHz)

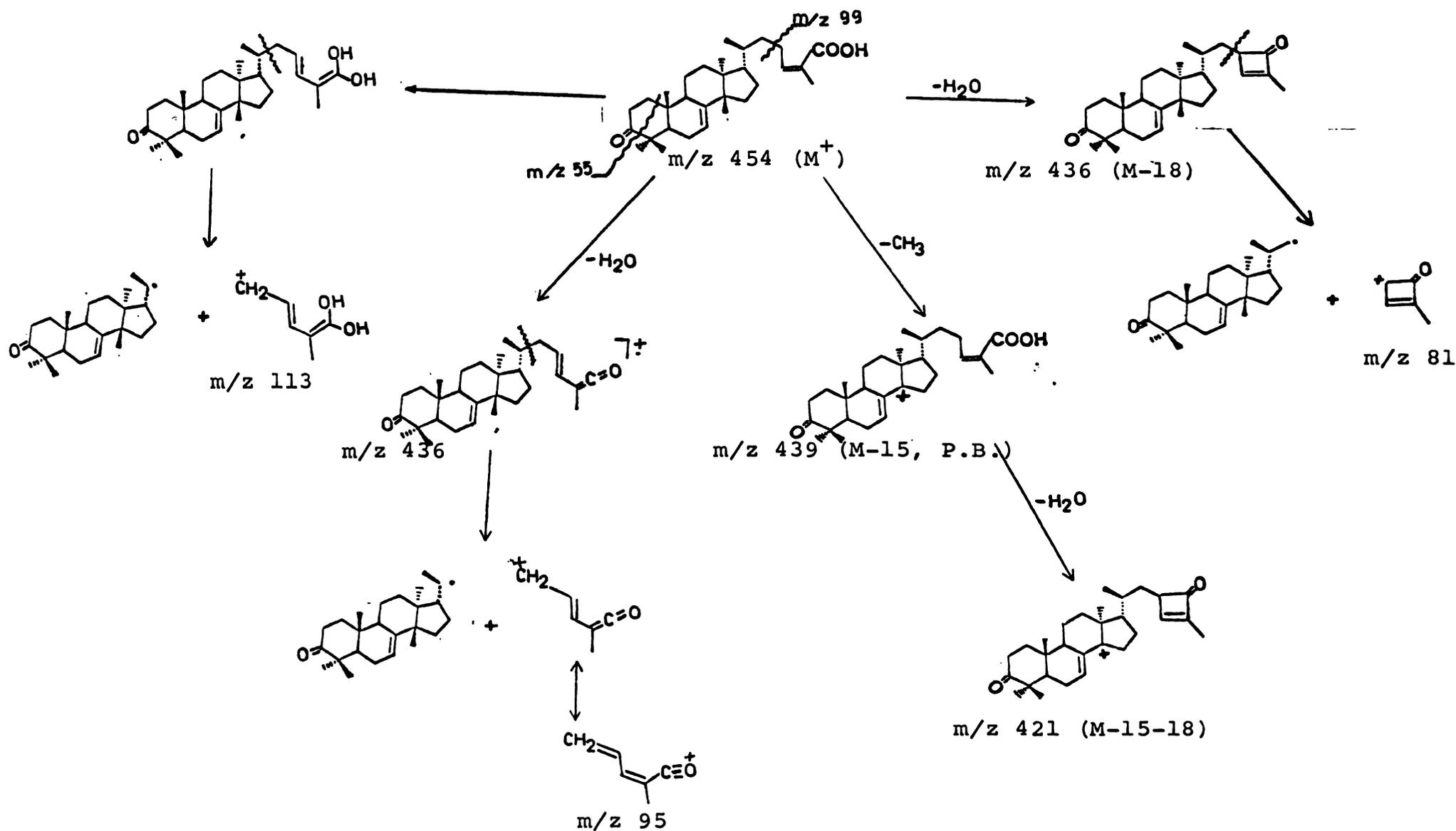
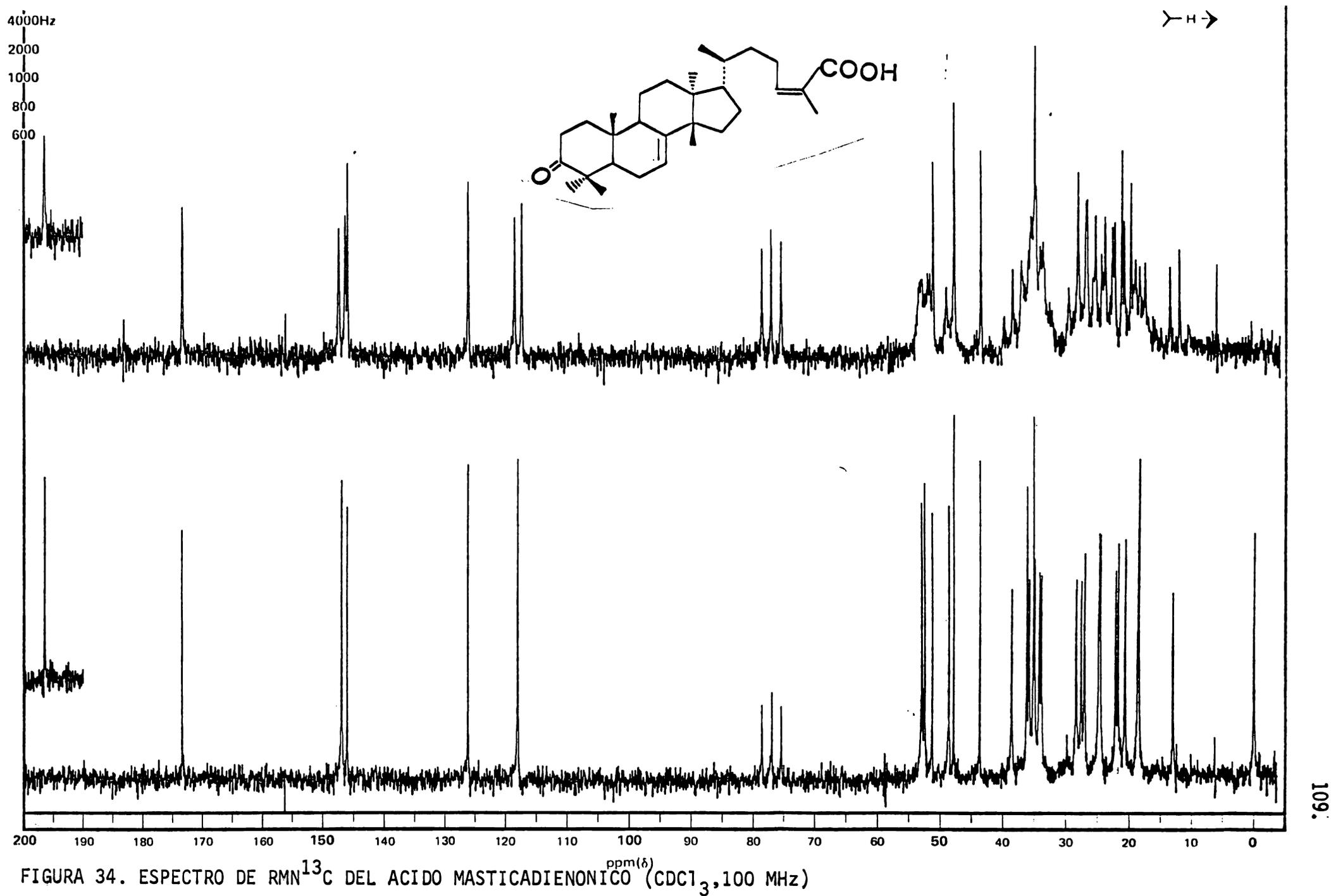


FIGURA 33 . Fragmentación propuesta para el ácido masticadienónico.



3.3. IDENTIFICACION DEL ACIDO ISOMASTICADIENONICO, 51,
(Compuesto XXI, metil ester).

El compuesto XXI se obtuvo de las mismas fracciones del ácido masticadienónico y bajo la forma de ester metílico, en un rendimiento del 0.023% con respecto al peso seco de la planta. Sus constantes físicas y espectroscópicas se resumen en la Tabla 18.

Las características espectroscópicas del compuesto XXI fueron muy parecidas a las del metilester del ácido masticadienónico (Tabla 17). Su espectro IR presentó señales para ester α, β -insaturado ($1714, 1243 \text{ cm}^{-1}$), para carbonilo de cetona en anillo de seis miembros (1702 cm^{-1}) y para grupos gem-dimetilos (1373 cm^{-1}). En el espectro de masas obtenido por impacto electrónico, se observaron las mismas señales que para el metil ester del ácido masticadienónico pero con distinta abundancia. El ion molecular se observó a m/z 468 ($\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_3$) y el pico base a m/z 453 ($\text{M}-\text{CH}_3$). El espectro de RMN^1H (Fig. 35) difería de aquel del metil ester del ácido masticadienónico (Fig. 32), fundamentalmente en la región de los protones vinílicos donde sólo existía una señal a 5.9 ppm, lo cual hizo pensar preliminarmente que la molécula solo poseía un doble enlace; sin embargo, la fórmula molecular requería ocho insaturaciones, de las cuales; cuatro correspondían a la estructura tetracíclica, una al carbonilo de la cetona, una al ester metílico, y otra al doble enlace evidenciado por la RMN^1H , restando entonces un anillo o una doble ligadura. Ante la falta de evidencias para un anillo carbocíclico adicional y la imposibilidad de un epóxido en

TABLA 18. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto XXI
(ester metílico del ácido isomasticadienónico).

PROPIEDAD	RESULTADOS
P.f.	110 - 112°C
EMIE m/z (%)	468.4 (26.4M+), 454 (33.1), 453.4 (100, M-CH ₃) 435 (10.5, n-CH ₃ -H ₂ O), 422 (10), 421 (27.5, M-CH ₃ -CH ₃ OH) 127 (19.0), 95.2 (41.1), 81 (23), 67 (30), 55 (36.1).
IR ν_{\max} CHCl ₃ cm ⁻¹	2954, 1714, 1702, 1643, 1457, 1373, 1242 y 1149.
RMN ¹ H (80MHZ, CDCl ₃ δ) (Fig 35)	0.76 (S, 3H, CH ₃ -13), 0.90 (S, 3H, CH ₃ -14), 1.07 (S, 6H, 2CH ₃ -4) 1.10 (S, 3H, CH ₃ -10), 1.90 (d, J=2, 3H, CH ₃ -25), 3.73 (S, 3H, COOCH ₃), 5.9 (η , 1H, H-24).

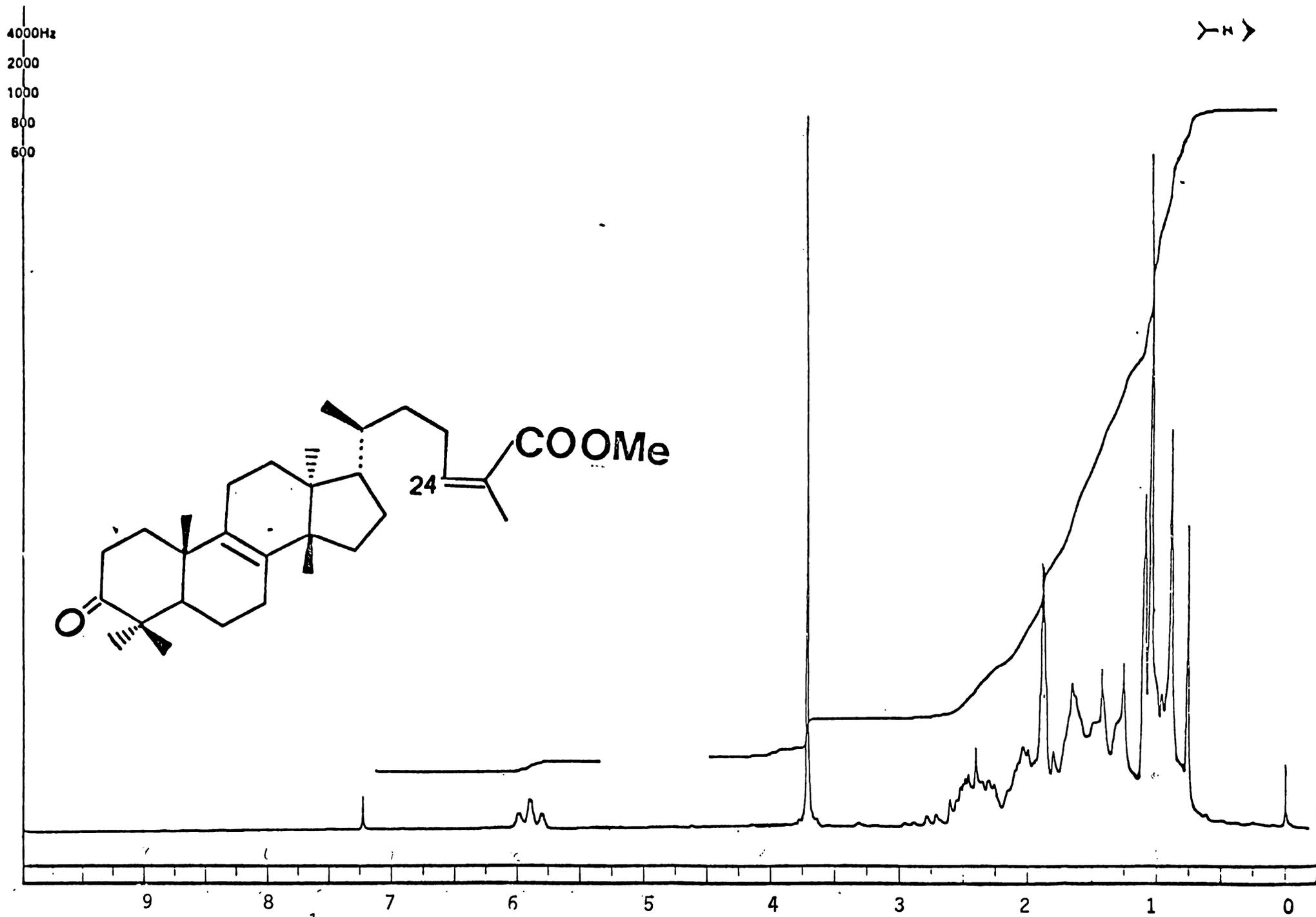


FIGURA 35. ESPECTRO DE RMN ^1H DEL ESTER METILICO DEL ACIDO ISOMASTICADIENONICO (CDCl $_3$ 90 MHz)

la molécula, la otra insaturación debía corresponder a una doble ligadura tetrasustituida. Esta doble ligadura sólo podía estar ubicada en el enlace C-8, C-9 y el pico base (m/z 453) que resulta de la pérdida de un metilo ($M-CH_3$) es consistente con esta disposición (existen dos posibilidades de perder el metilo, el de la posición 10 y el de la posición 14, dando origen a un ion alílico muy estable).

En base a la información anterior fue posible identificar al compuesto XXI como el ester metílico del ácido isomasticadienónico 52 (Fig. 36) y las constantes físicas y espectroscópicas son concordantes con las descritas en la literatura para este compuesto (Caputo y Mangoni, 1970; Pozzo-Balbi, Nobilè, Scapini y Cini, 1976 y 1978).

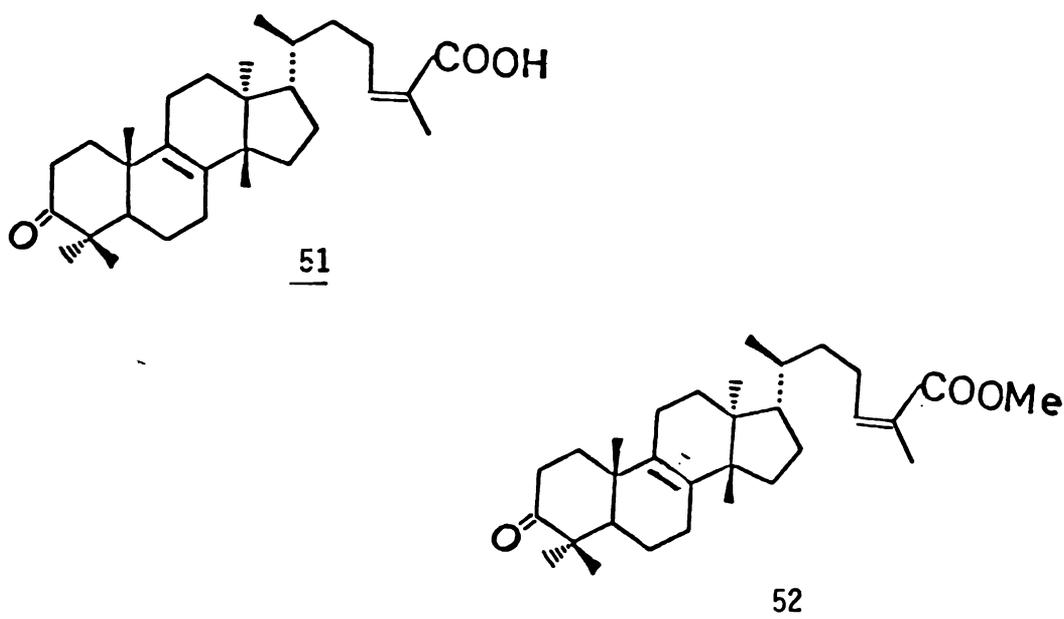


FIGURA 36 Estructura del ácido isomasticadienónico 51, y de su ester metílico 52.

3.4. IDENTIFICACION DEL ACIDO OLEANOLICO 53 (Compuesto XV, metil ester).

El compuesto XV se obtuvo como un polvo cristalino de $pf = 195^{\circ}\text{C}$, en un rendimiento del 0.0016% y fue identificado a través de su ester metílico como el ácido oleanólico 53 (Fig. 37 por comparación con una muestra auténtica (Budzikiewicz, Wilson y Djerassi, 1963; Ogunkoya, 1981; Adesina y Reisch . 1985; Budzikiewicz, Djerassi y Williams, 1964)). En la figura 38 se muestra el espectro de RMN^1H del oleanolato de metilo.

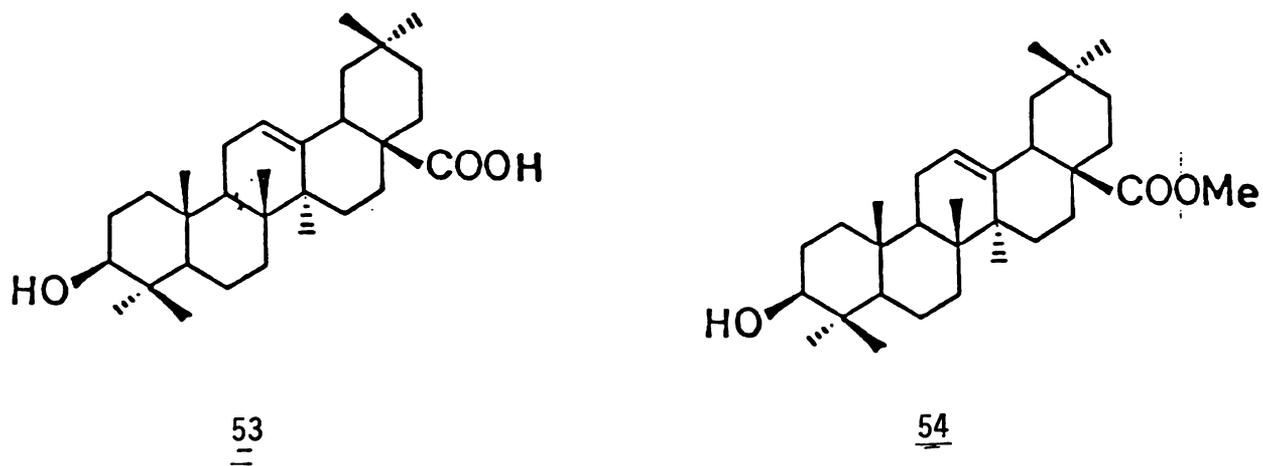


FIGURA 37. Estructura del ácido oleanólico 53 y del oleanolato de metilo 54.

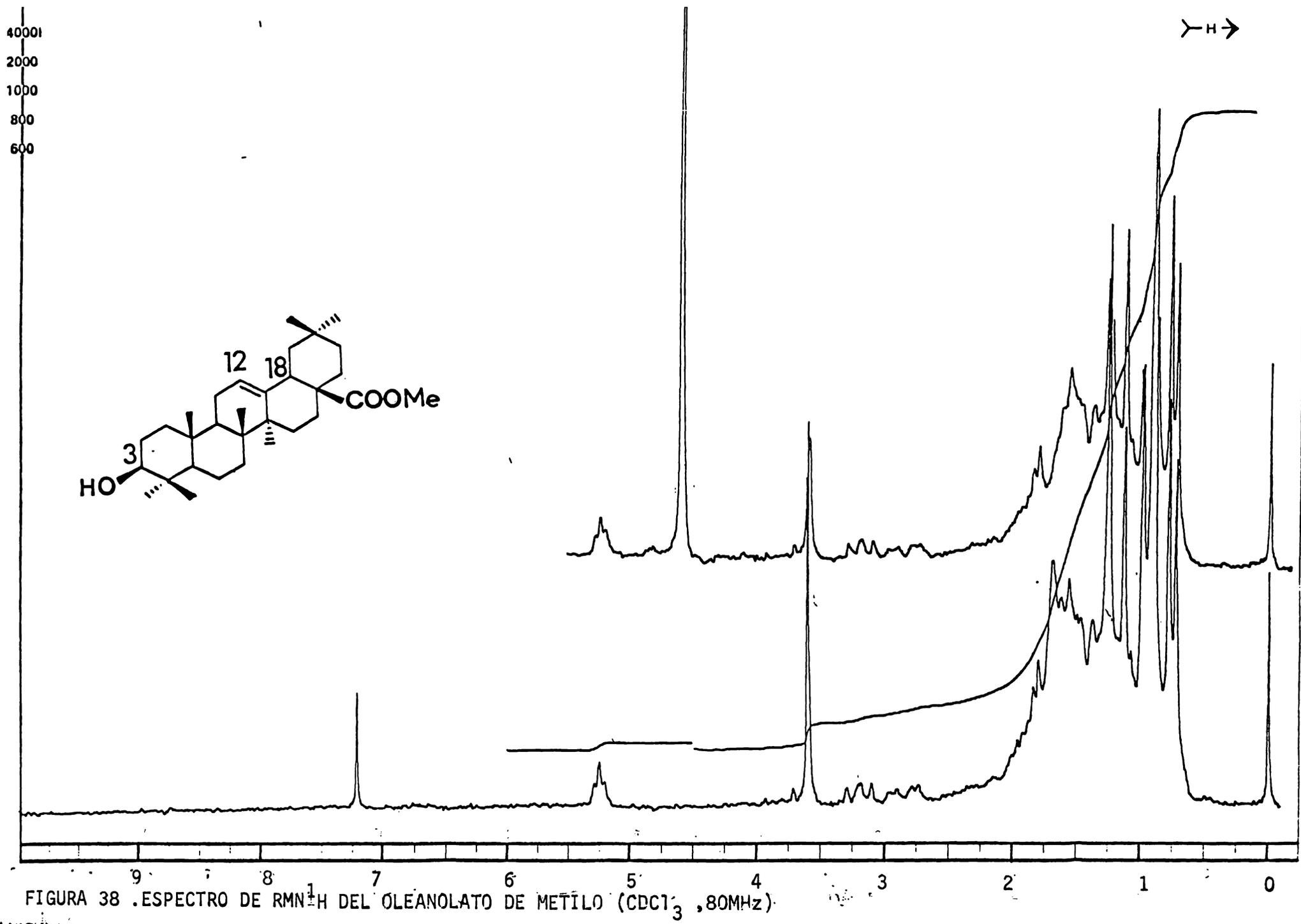


FIGURA 38 .ESPECTRO DE RMN¹H DEL OLEANOLATO DE METILO (CDCl₃ ,80MHZ).

3.5. IDENTIFICACION DEL ACIDO 3-epi-OLEANOLICO, 55

(Compuesto XIX)

Del extracto hexanico EH-II, se aislaron 210 mg del compuesto XIX que corresponde al 0.0066% del peso seco de la planta; En la Tabla 19, se dan las constantes físicas y espectroscópicas de este compuesto. La identificación del compuesto XIX fue hecha a través de su ester metílico para lo cual se metilaron 100 mg del compuesto XIX con un exceso de diazometano etereo, obteniéndose 73 mg de un polvo blanco de punto de fusión 185-187°C. En la Tabla 19 se dan las constantes físicas y espectroscópicas para este derivado metilado, 56.

El espectro de masas del derivado metilado del compuesto XIX mostró señales características para un triterpeno pentacíclico con esqueleto de oleaneno insaturado en la posición 12. El ion abundante a m/z 262 (M-208), resulta del rompimiento de la molecula por una fragmentación Retro-Diels-Alder y el pico base resulta de la eliminación del fragmento COOCH_3 dando origen al ion m/z 203 (M-208-59). (Budzikiewicz, Wilson y Djerassi, 1963; Adesina y Reisch, 1985) En el espectro de RMN'H (Fig. 39) Se observó la presencia de 7 metilos a 0.72, 0.84, 0.89, 0.91 (dos), 0.95 y 1.13 ppm, una señal para el hidróxilo a 1.52 ppm que desaparece después de equilibrarse con D_2O . La señal en

Tabla 19. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto XIX (ácido 3-epi-oleanólico) y su derivado metil ester (3-epi-oleanolato de metilo)

PROPIEDAD	COMPUESTO XIX (ác.3-epi-oleanólico)	Derivado metilado del compuesto XIX 3-epi-oleanolato de metilo
P. f.	280°C	185-187°C
IR KBr max cm^{-1}	3600 - 250, 3621, 1691, 1462, 1384	3427, 1745, 1384, 1068
EMIE m/z (%)		470 (M+, $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_3$, 11.7), 455 (M-15, 1.35), 411 (M-59, 4.9) 410 (M-60, 4.3), 262 (M- 208, RDA, 91.7) 207 (16.2) 203 (M-208- 59, 100), 189 (26), 133 (25)
RMN'H (80 MHz, CDCl_3 ,)	0.72 (S, 3H), 0.80 (S, 3H), 0.87 (S, 3H), 0.92 (S, 6H), 1.12 (S, 3H), 2.85 (m, 1H), 3.4 (Sa, 1H), 5.27 (m, 1H).	0.72 (S, 3H), 0.84 (S, 3H), 0.89 (S, 3H), 0.91 (S, 6H), 0.95 (S, 3H) 1.13 (S, 3H), 1.52 (Sa, 1H, OH), 2.85 (m, 1H), 3.4 (t, 1H), 3.6 (S, 3H), 5.25 (m, 1H). (fig. 39)

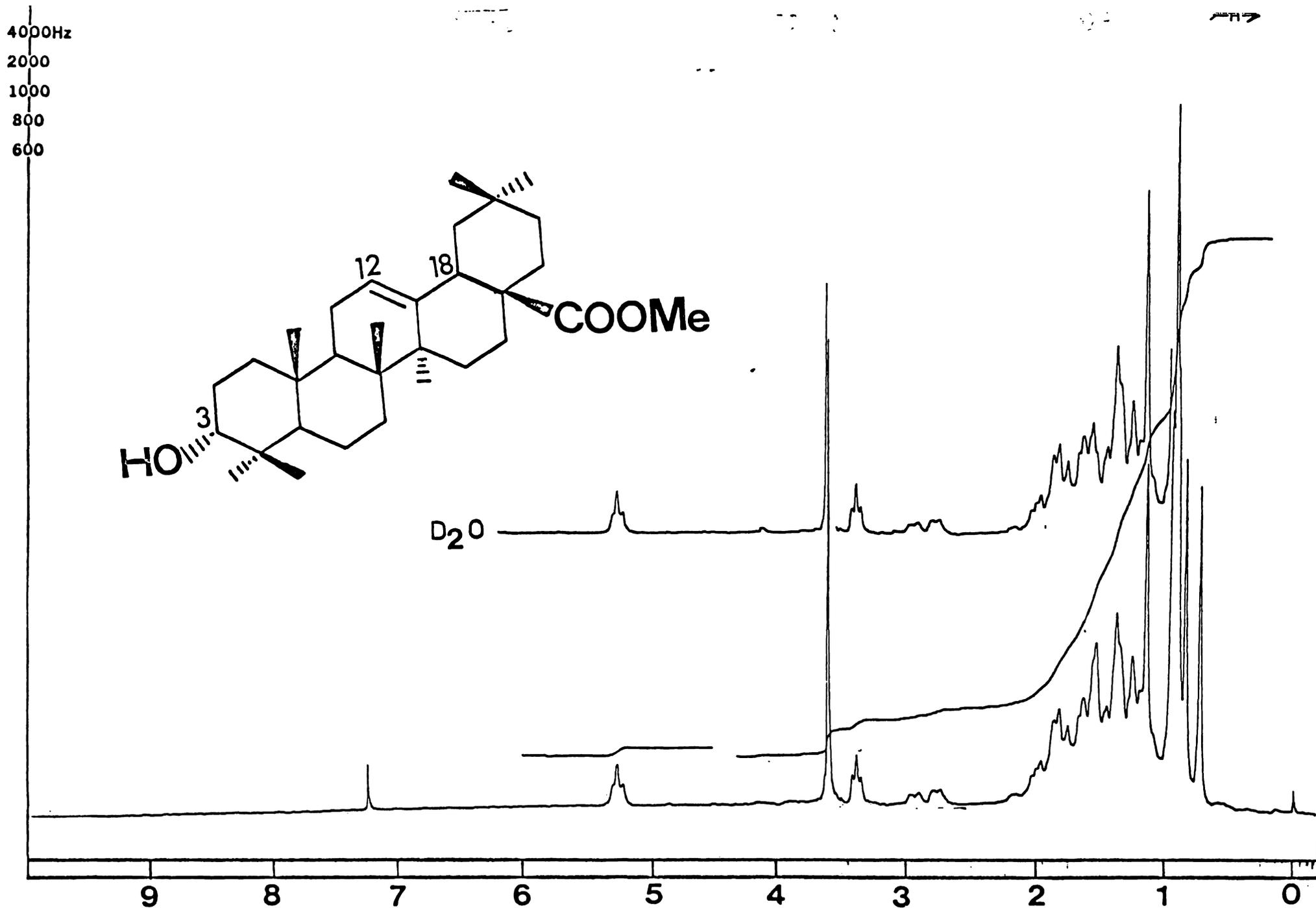


FIGURA 39. ESPECTRO DE RMN¹H DEL 3-epi-OLEANOLATO DE METILO (CDCl₃, 80MHz)

3.4. ppm como triplete indicó la orientación α del hidroxilo. La señal en 3.6 ppm se debe a los protones del metilo del ester. La señal en 5.25 ppm corresponde al protón vinílico de la posición 12 y la señal múltiple en 2.85 ppm al protón de la posición 18. Con la información anterior el compuesto XIX se identificó como el ácido 3-epioleanólico (Fig. 40).

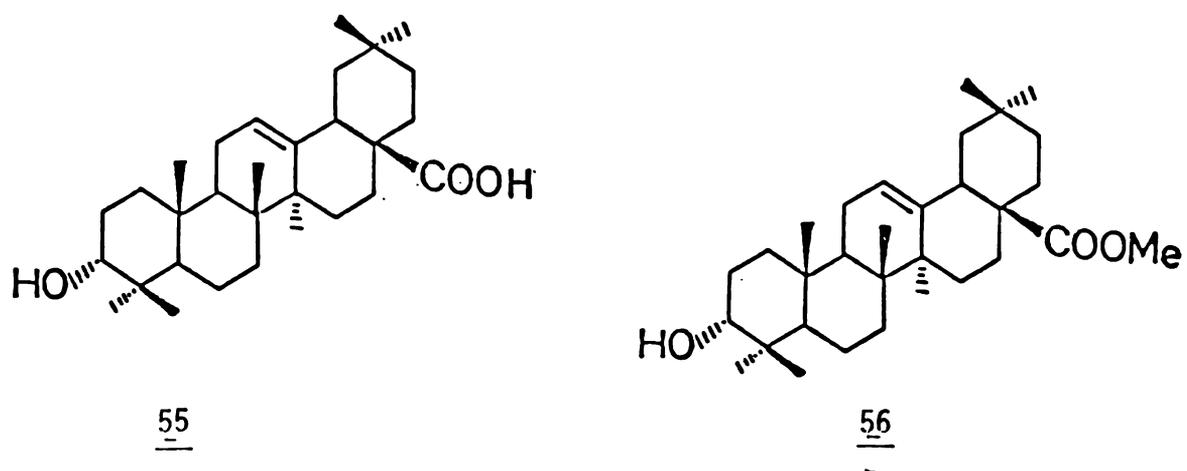


FIGURA 40. Estructura del ácido 3-epioleanólico 55 y su ester metílico 56.

3.6. IDENTIFICACION DEL ACIDO 3 α -HIDROXIMASTI- CADIENONICO 46 (Compuesto XXII)

Del extracto EH-II se aislaron 1.068 g del compuesto XXII, que corresponde al 0.033% del peso seco de la planta. Del extracto EH-I, se aisló el compuesto XXII en la forma de su éster metílico (Compuesto XIV) con un rendimiento del 0.092%. En la Tabla 20 se dan las constantes físicas y espectroscópicas para los compuestos XXII y su derivado metilado.

El compuesto XXII presentó características similares al ácido masticadienónico 45 (Compuesto XX) previamente aislado, y para confirmar su estructura se realizó una correlación química, mediante su oxidación con el complejo anhídrido crómico piridina ($\text{CrO}_3 \cdot 2 \text{C}_5\text{H}_5\text{N}$). El producto de la reacción fue el ácido masticadienónico cuyas constantes físicas y espectroscópicas fueron idénticas a las del ácido masticadienónico aislado de la planta.

Con la información anterior y por comparación de sus propiedades físicas y espectroscópicas con las descritas en la literatura (Campello y Marsaioli, 1974; Kier, Lehn y Ourisson, 1963), fue posible identificar al compuesto XXII como el ácido 3 α -hidroximasticadienónico 46 (Fig. 41).

TABLA 20. Constantes físicas y espectroscópicas para el compuesto XXII (ác. 3 α -hidroximas_ticadienónico) y su derivado metil ester (Compuesto XIV).

PROPIEDAD	COMPUESTO XXII (ác 3 -hidroximasticadienónico)	COMPUESTO XIV (3 -hidroximasti_cadienonato de metilo)
P. f.	143 - 145°C	(Aceite)
IR KBr cm^{-1} max	3500-2500, 1700, 3450, 1065, 1645, 1380.	
CHCl ₃ cm^{-1} max		3623, 1707, 1643, 1367, 1240, 1149, 1074
EMIE m/z (%)	456(19.3), 441(60.7), 424(39), 423(100), 301(12), 139(8), 95(43), 81(31.2), .55(36), 43.2(39)	
RMN ¹ H (80 MHz, CDCl ₃ ,)	0.75(S, 3H, CH ₃ -13), 0.80(S, 3H, CH ₃ - 10) 0.90(S, 6H, 2CH ₃ -4), 0.96(S, 3H, CH ₃ -14, 0.85 (d, J=6Hz, 3H, CH ₃ -20) 1.9(d, J=2Hz, 3H, CH ₃ -25), 3.45(t, 1H, H-3) 5.25(m, 1H, H-7), 6.05(m, 1H, H-24). (Figura 42)	0.75 (S, 3H, CH ₃ -13, 0.80(S, 3H, CH ₃ -10), 0.9(S, 6H, 2CH ₃ -4) 0.96 (S, 3H CH ₃ -14, 1.75(Sa, 1H, OH), 1.88(d, J=2 (Hz, 3H, CH ₃ -25), 3.45 (S, 3H, COOCH ₃), 5.25(m, 1H, H-7), 5.8 (m, 1H, H-24). (Figura 43)

Los espectros de RMN'H del ácido 3 α -hidroximasticadienónico y su ester metílico se muestran en las figuras 42 y 43

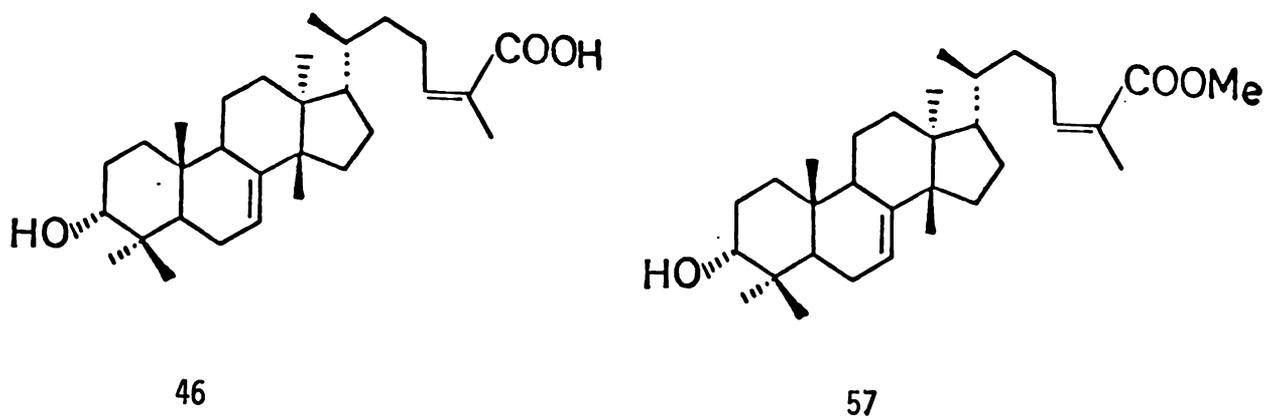


Fig. 41. Estructuras del ácido 3 α -hidroximasticadienónico 46 y su ester metílico 57.

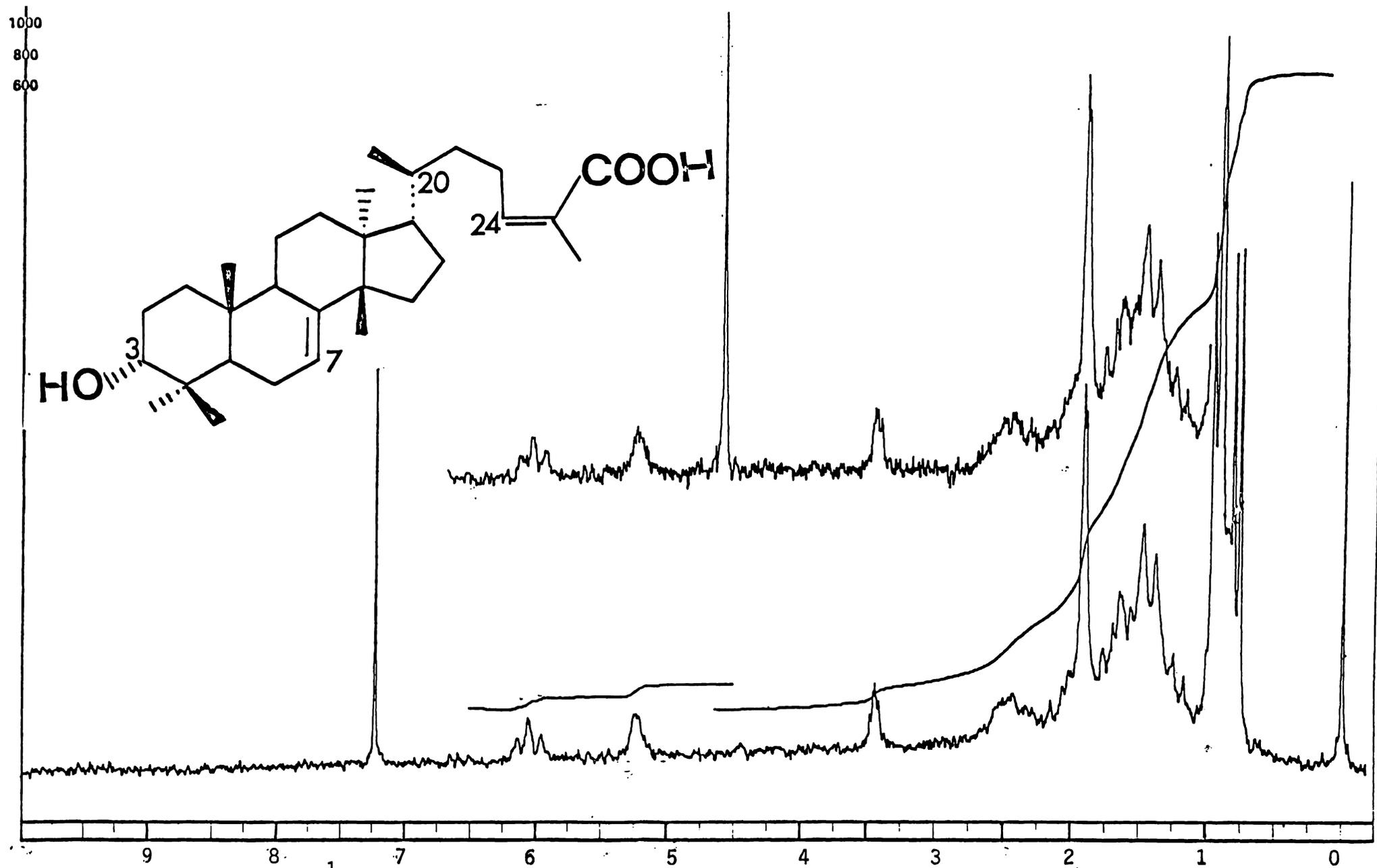


FIGURA 42. ESPECTRO DE RMN¹H DEL ACIDO 3- α -HIDROXIMASTICADIENONICO (CDCl₃, 80MHz)

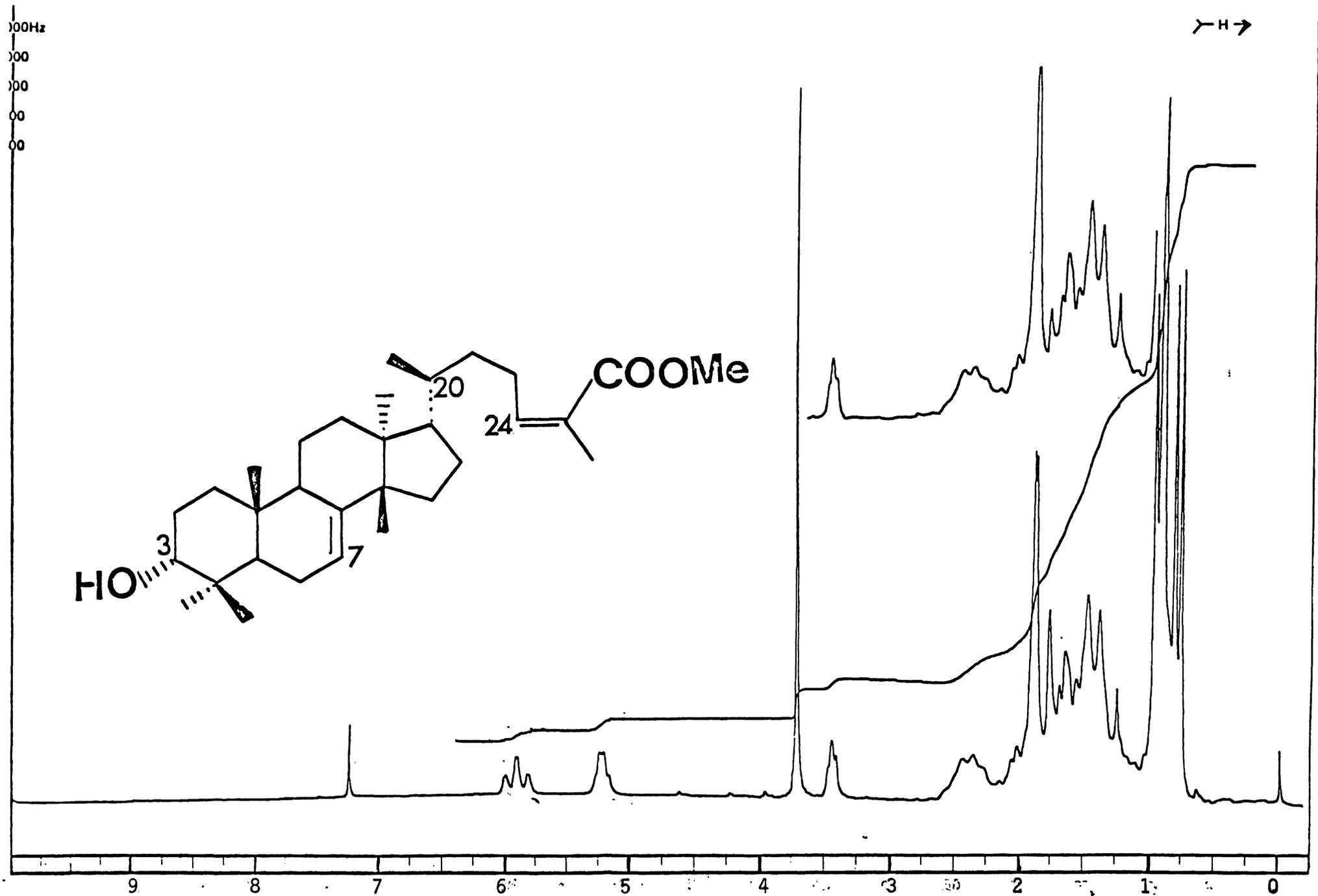


FIGURA 43. ESPECTRO DE RMN ^1H DEL METIL ESTER DEL ACIDO 3 α -HIDROXIMASTICADIENONICO (CDCl_3 , 80MHz)

3.7. IDENTIFICACION DEL ACIDO 3-epi-HIDROXIMASTICADIE- NONICO 58 (Compuesto XXIII)

De las fracciones más polares del extracto hexánico EH-II se aislaron 58 mg del compuesto XXIII (0.0018% del peso seco). En la tabla 21 se dan las constantes físicas y espectroscópicas para este compuesto.

El compuesto XXIII presentó espectros de IR, EMIE y RMN¹H similares a aquellos del ácido 3 α -hidroximasticadienónico (Compuesto XXII). El espectro de RMN¹H (Fig. 44) difería esencialmente por la presencia de una señal doble de dobles ($J=10,5\text{Hz}$) centrada en 3.97 ppm en lugar de la señal triple del protón carbinólico del ácido 3 α -hidroximasticadienónico. Lo anterior indicó que la estructura del compuesto XXIII debía ser el epímero de este último. La disposición axial del protón en 3 permitía una interacción trans diaxial ($J_{aa} = 10 \text{ Hz}$) y otra cis axial-ecuatorial ($J_{ae}=5\text{Hz}$) consistente con el patrón de acoplamiento observado para la señal en 3.97 ppm.

La información anterior permitió postular para el compuesto XXIII la estructura del ácido 3-epi-hidroximasticadienónico 58 (fig. 45), lo cual fue concordante con las

Tabla 21. Constantes físicas y espectroscópicas para el compuesto XXIII (ác 3-epi-hidroxiimasticadienónico).

P r o p i e d a d	R E S U L T A D O S
P.f.	(aceite)
IR KBr cm^{-1} max	3500-2500, 1700, 3450, 1065, 1640, 1380
EMIE m/z (%)	456 (M+, 20), 441 (61), 424 (40), 423 (M-15-18, 100), 301 (10), 139 (8), 95 (45), 81 (32), 55 (37) 43, (40).
RMN ¹ H (60MHz, DMSO-d /CDCl ₃)	0.66 (s, 3H, CH ₃ -13), 0.72 (s, 3H, CH ₃ -10), 0.80 (s, 6H ₂ CH ₃ -4) 0.9 (s, 3H, CH ₃ -14); 1.8 (s, 3H, CH ₃ -25); 3.97 (d, d J=10, 5 H ₇ , 1H, H-3); 4.1 (5.a, 1H OH); 5.2 (s.a, 1H, H-7), 5.85 (m, 1H, H-24).

(Fig 44)

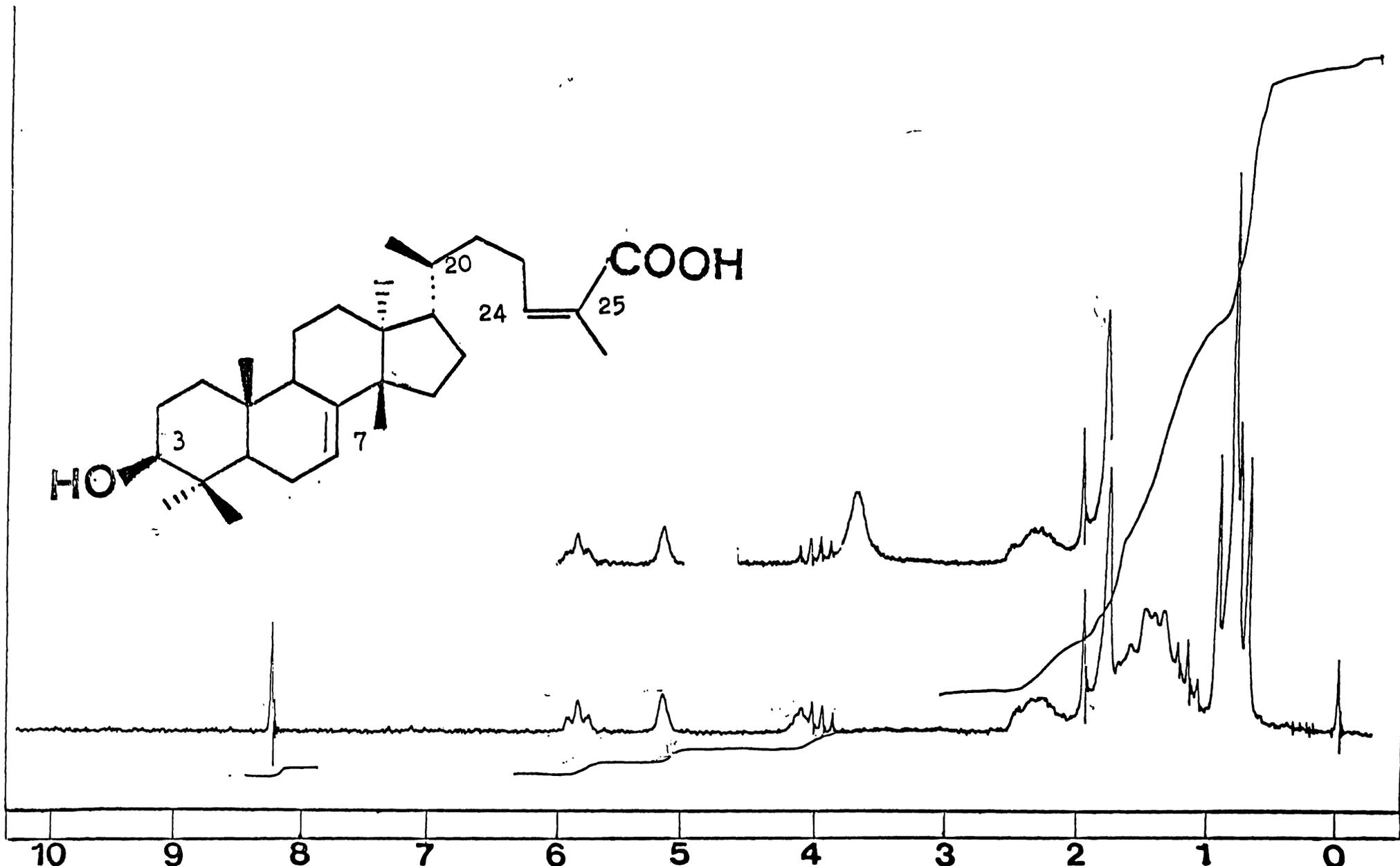
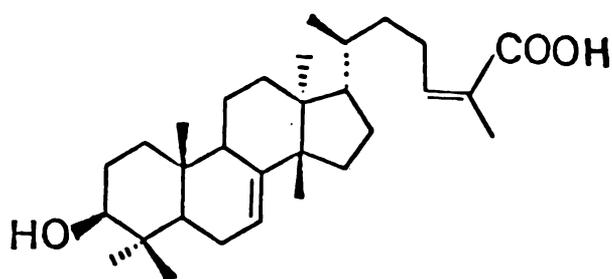


FIGURA 44. ESPECTRO DE RMN¹H DEL ACIDO 3-epi-HIDROXIMASTICADIENONICO (CDCl₃, 80MHz)

propiedades espectroscópicas descritas en la literatura para este compuesto (Caputo y Mangoni, 1970; Kier, Lehn y Ourisson, 1963).



58

Fig. 45. Estructura del ácido 3-epi-hidroximasticadienónico.
58

3.8 IDENTIFICACION DE LOS ACIDOS ANACARDICOS 48 (Compuesto XVI metil ester).

De las fracciones 3-6 (Tabla 15) del extracto hexánico EH-II metiladas con diazometano se obtuvo 12.98 (0.4% del peso seco de la planta) de un aceite (Compuesto XVI) altamente soluble en cloroformo, benceno, acetato de etilo e insoluble en agua. El análisis cromatográfico convencional en capa fina, en cinco sistemas diferentes reveló que el compuesto se encontraba puro, ya que en todos los casos se observó una mancha homogénea al revelar con el agente cromogénico. En la Tabla 22 se resumen las constantes físicas y espectroscópicas para este compuesto.

En el espectro de masas de IE (Fig. 46), se observó el ión molecular a m/z 444, que permitía una fórmula de $C_{29}H_{48}O_3$. También se observaron iones importantes a m/z 412 (M- CH_3OH), m/z 166, m/z 147 y m/z 134.

Los espectros de UV (Fig. 47) y de IR (Fig. 48) indicaron el carácter fenólico del compuesto.

El espectro de RMN 1H (Figura 49) confirmó el carácter aromático del compuesto ya que en la región entre 6.6 y 7.4 ppm se observó un sistema ABC característico de un anillo aromático trisustituido y la presencia de un grupo fenólico quelatado a un carbonilo (11 ppm).

Otras características importantes del espectro fueron las siguientes:

a) Un multiplete en la región olefínica (5.3 ppm); b) un singulete a 3.8 ppm característico de metoxilo de un éster aromático; c) un triplete a 2.8 ppm típico de un metileno a un anillo aromático; d) una señal múltiple a 2.0 ppm; e) una señal muy intensa a 1.2 ppm característico de un compuesto polimetilénico; f) un multiplete a 0.9 ppm.

La acetilación del aceite (Compuesto XVI) con anhídrido acético y puridina en las condiciones usuales originó un derivado (Compuesto XXIV) cuyas características físicas y espectroscópicas se resumen en la Tabla 22.

En el espectro de IR del compuesto XXIV (Fig. 51) desapareció la absorción del hidroxilo fenólico del aceite original (Compuesto XVI) y como características relevantes se observaron bandas a 1767 cm^{-1} (acetato fenólico) y a 1728 cm^{-1} (éster metílico aromático). Los anteriores indicó que el hidróxilo fenólico y el éster metílico del aceite original debían estar en una relación orto, ya que al acetilar, la banda correspondiente al carbonilo del éster metílico se desplazó a frecuencias más altas (ver Fig. 48 y Fig. 51).

El espectro de RMN ^1H (Fig. 52) era muy similar al del compuesto XVI (Fig. 49), difiriendo por una parte por la presencia a 2.25 ppm del singulete típico del metilo del acetato, y por la otra por la ausencia de la señal a 11 ppm y que correspondía al hidroxilo quelatado.

El espectro de RMN ^{13}C (Fig. 53) mostró Número de señales distribuidas de la siguiente forma:

a) En la región de los carbonilos se observaron las señales correspondientes al éster metílico y al éster fenólico (singuletes a 168 y 167 ppm respectivamente).

b) En la región de carbonos aromáticos y olefínicos se observaron claramente ocho señales, seis de las cuales correspondían a un anillo aromático y las dos restantes a carbonos olefínicos. La multiplicidad observada para las señales en el espectro desacoplado (Tabla 22) confirmaron claramente que el anillo aromático era trisustituído y que las olefínicas eran disustituídas.

c) El metoxilo del éster aromático apareció a 51 ppm y el metilo del acetato a 20 ppm.

d) Se observaron además señales para metilenos y metilo correspondiente a un compuesto alquílico de cadena larga.

El espectro de masas del derivado acetilado (Fig. 50), mostró un incremento de 42 unidades de masas en relación al supuesto ión molecular del compuesto XVI.

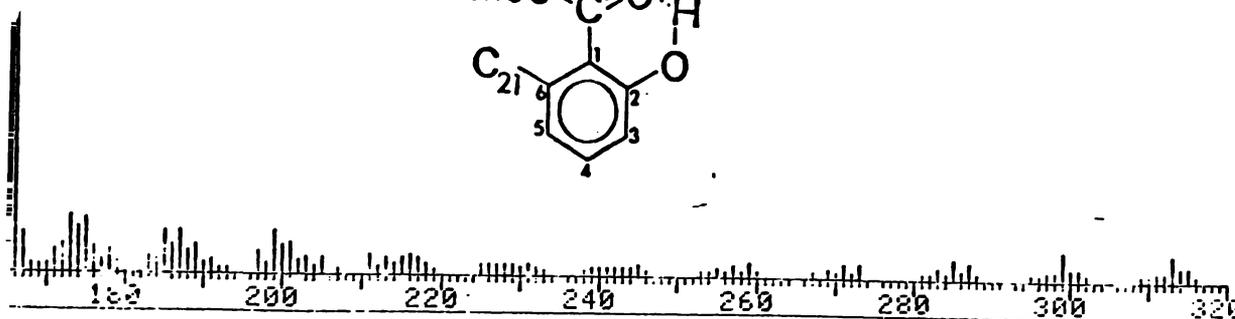
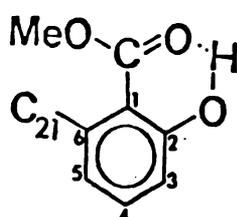
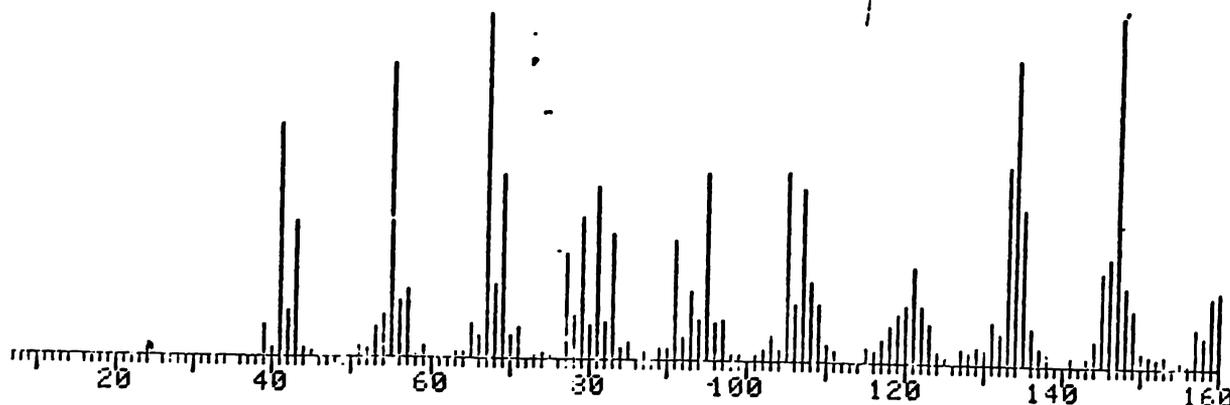
Las evidencias antes señaladas permitieron inferir que el compuesto XVI era derivado del ácido salicílico y que poseía además una cadena alquílica unida al anillo bencénico en base a los tripletes a 2.8 y 2.6 ppm observados en los espectros de RMN ^1H (Figs. 49 y 50) del producto y su derivado acetilado respectivamente.

Considerando la fórmula molecular establecida a priori el largo de la cadena alquílica debía de ser de 21 átomos de carbono y además monoinsaturada.

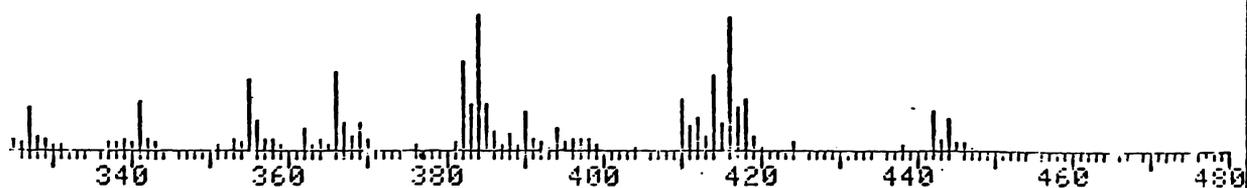
Tabla 22. Constantes físicas y espectroscópicas del compuesto XI (ácidos anacárdicos), y sus derivados metilado (compuesto XVI) y metilado-acetilado. (compuesto XXIV).

PROPIEDAD	COMPUESTO XI	DERIVADO METILADO EL COMPUESTO XI (COMPUESTO XVII)	DERIVADO METILADO Y ACETILADO DEL COMPUESTO XI (compuesto XXIV)
P. f.	62 - 63°C	(aceite)	(aceite)
EMIE m/z (%)	-	444 (M ⁺ , C ₂₉ H ₄₈ O ₃ , 9.6), 412 (M-32), 10), 166 (97.9), 147 (100), 134 (86.9), 67.1 (97.9). (fig. 46)	486 (M ⁺ , C ₃₁ H ₅₀ O ₄ , 1.3), 454 (M-32, 10), 412 (M-32-42, 5), 166 (40), 147 (50.6), 134 (39), 55 (73.1), 43 (100), 41.1 (51.1) (fig. 50)
UV. λ _{max} CHCl ₃ nm (log E)		252 (2.91); 316 (1.30). (fig. 47)	
IR ν _{max} KBr cm ⁻¹	3400-2600, 3200, 2925, 2850, 1685, 1645, 1610, 1570, 1475, 1455, 1170, 1500	3500-2500, 1665, 1608, 1448, 1342, 1314, 1249, 1211, 1166 (fig. 48)	3040, 2930, 2854, 1767, 1728, 1607, 1462, 1433, 1369, 1280, 11, 1069, 955. (fig. 51)
RMN ¹ H (60MHz, CDCl ₃ , ppm)	0.90 (m, CH ₃ -), 1.25 (sa, -CH ₂) 1.7 (m, CH ₂ -c=c) 2.5 (m, CH ₂ Ar) 6.25 (m CH=CH) 6.85 (m, Ar-H) 7.55 (m, Ar-H) 11.2 (s Ar-OH)	0.9 (m, CH ₃) 1.2 (sa, CH ₃) 2.0 (m, CH ₂ -c=c) 2.8 (m, CH ₂ Ar), 3.9 (s, 3H, CH ₃ O) 5.3 (m, CH=CH) 6.75 (m, Ar-H), 7.27 (m, Ar-H), 11 (Ar-OH) (Fig. 49)	0.9 (m, CH ₃) 1.25 (sa-CH ₂) 2.0 (CH ₂ -C=C), 2.25 (s, 3H, CH ₃ -c) 2.6 (m, CH ₂ -Ar), 3.8 (s 3H, CH ₃ O) 5.3 (m, CH=CH) 6.85-7.45 (m, Ar-H). (fig. 52)
RMN ¹³ C (22.6MHz, CDCl ₃ , ppm)			1.68 (s, CH ₃ O) 167 (s, c-CH ₃) 148 (s, C-2) 142 (s, C6) 131 (d, C-4) 130 (d, C-5) 129.9 (d, C=C) 129.4 (d, C=C) 127 (s, C1) 120 (d, C-3) 51 (c, CH ₃ O) 83 (t, CH ₂ Ar) 31 (d, CH ₂ -C=C) 29 (t, CH ₂) 27 (t, CH ₂) 20 (c, CH ₃ C) 14 (c, CH ₃) (fig. 53)

5313 SPECTRUM 46 RETENTION TIME 2.5
 4: 147.1, 100.0 67.1, 97.9 166.2, 97.9 134.2, 86.9
 4: 444.5, 9.6 445.5, 2.5 446.5, 2.2 447.3, 1.1
 PAGE 1 Y = 1.00



5313 SPECTRUM 46 RETENTION TIME 2.5
 T 4: 147.1, 100.0 67.1, 97.9 166.2, 97.9 134.2, 86.9
 4: 444.5, 9.6 445.5, 2.5 446.5, 2.2 447.3, 1.1
 PAGE 2 Y = 1.00



500 520 540 560 580 600 620 640

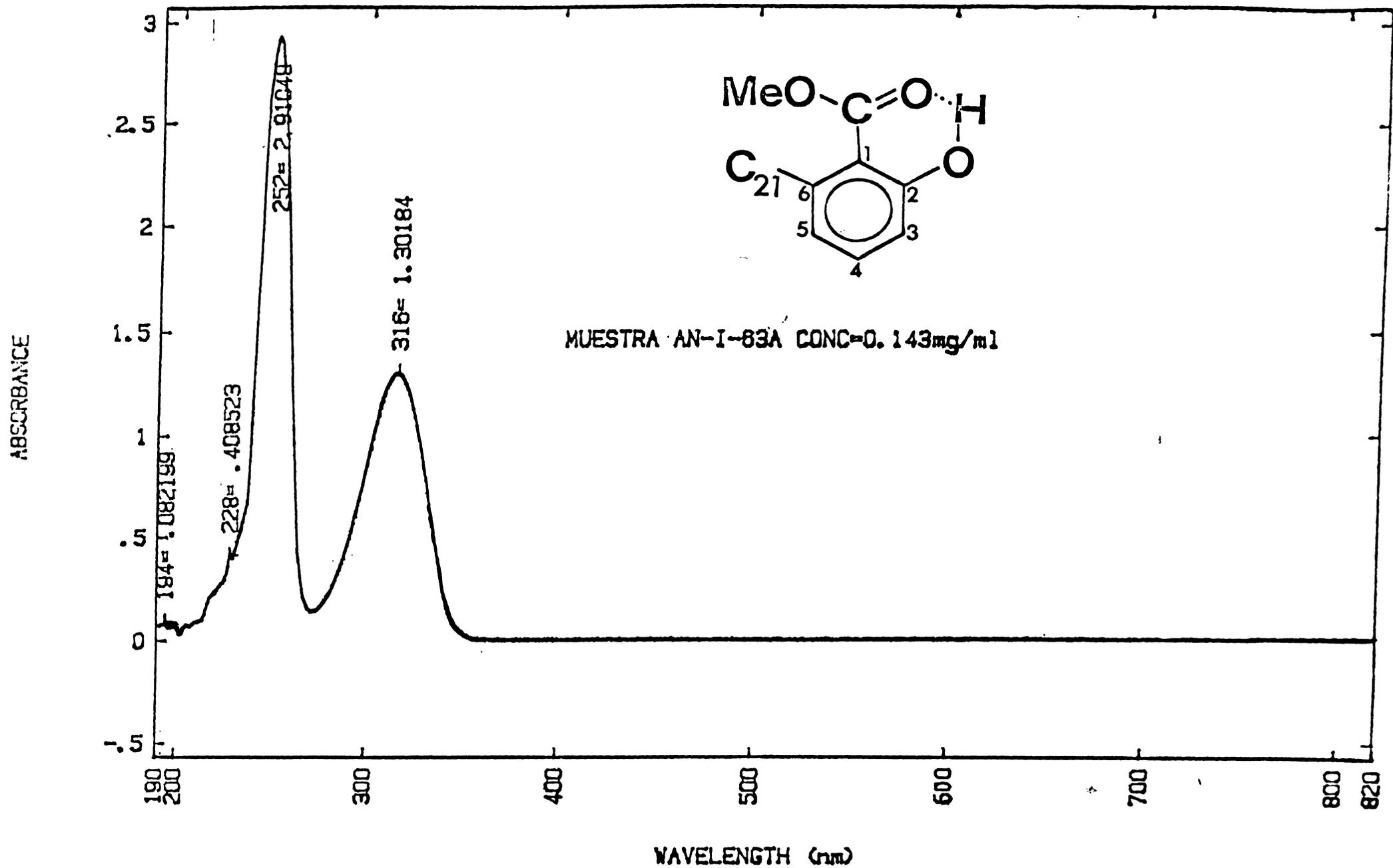


FIGURA 47. ESPECTRO DE UV DEL COMPUESTO XVI (CHCl₃)

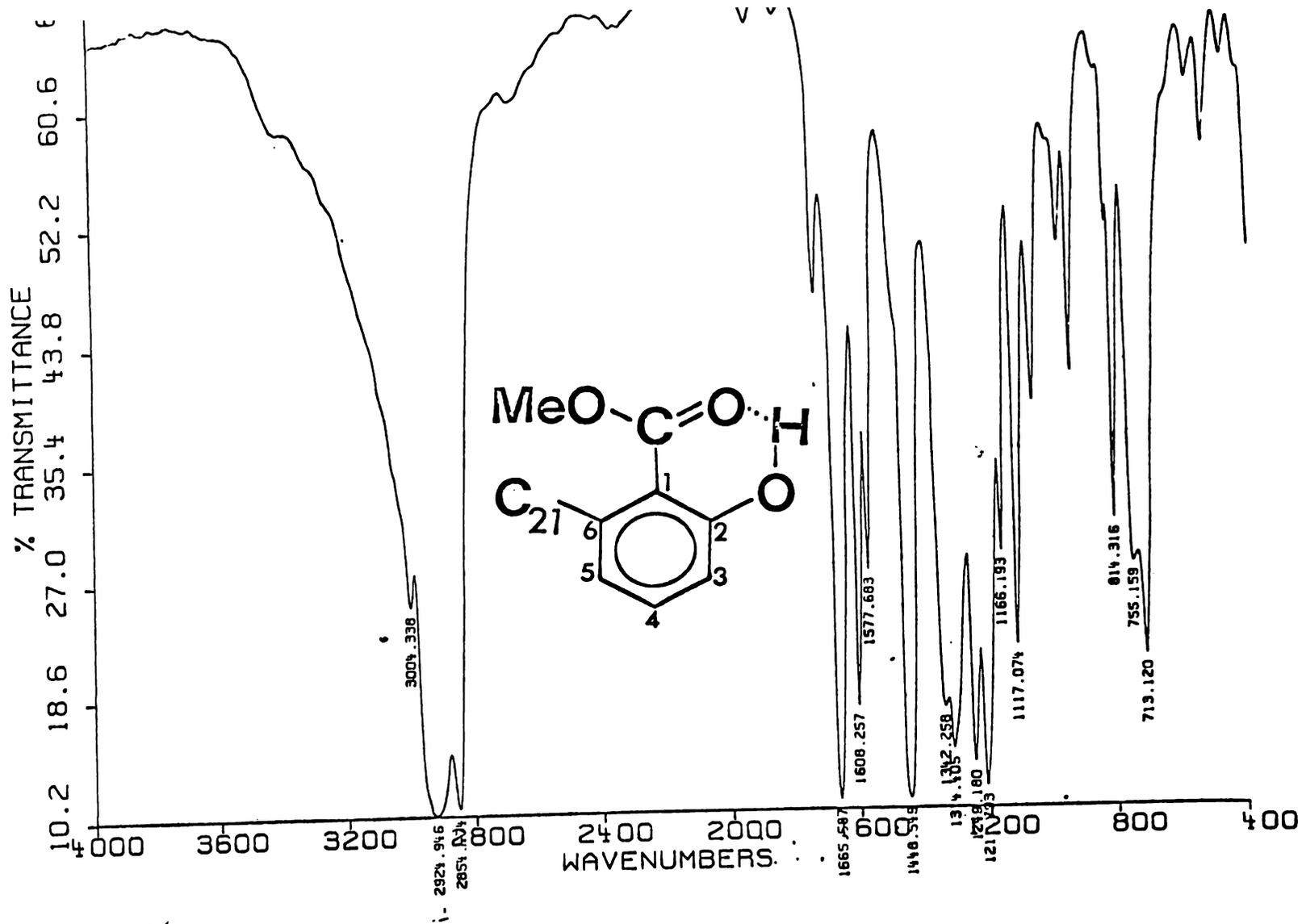


FIGURA 48. ESPECTRO DE IR DEL COMPUESTO XVI (PELICULA)

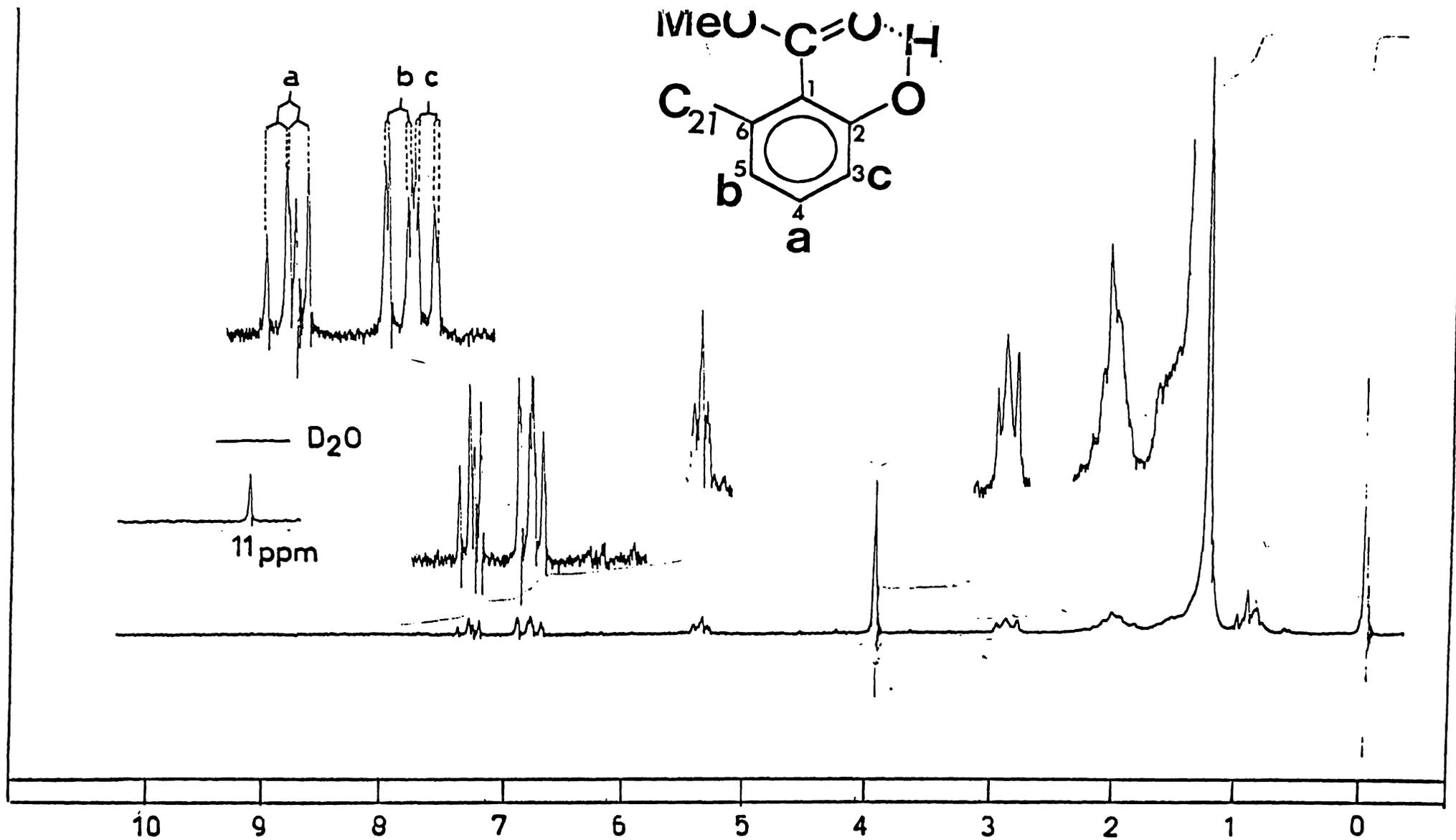
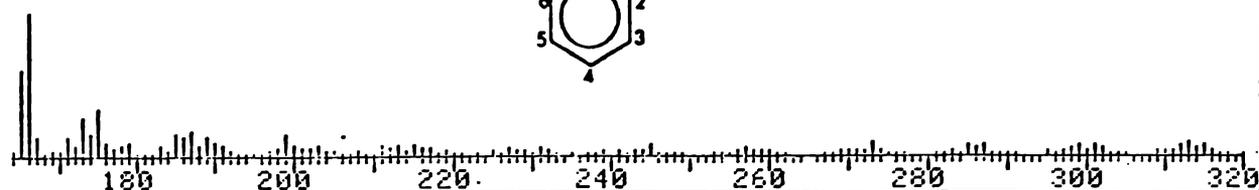
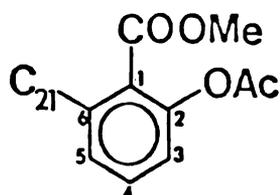
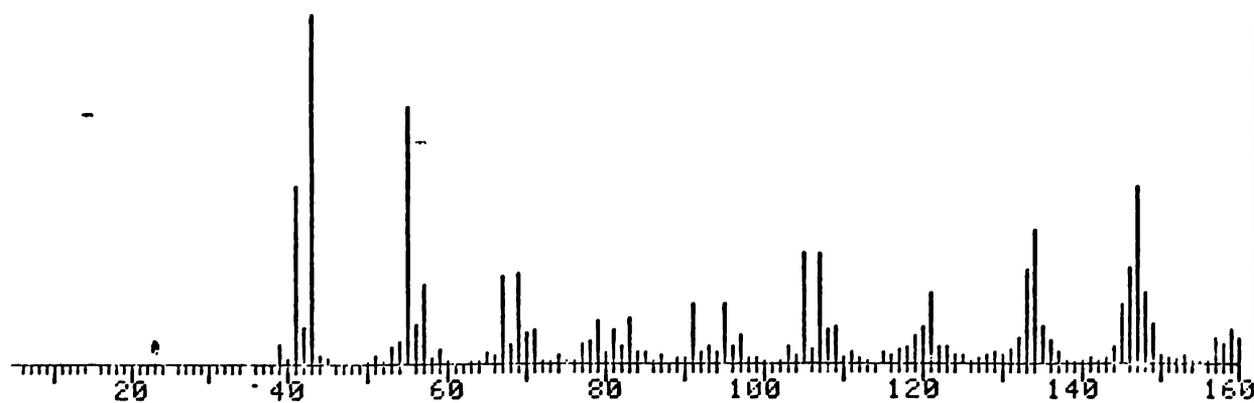


FIGURA 49. ESPECTRO DE RMN¹H DEL COMPUESTO XXVI (CDCl₃, 60MHz)

-405		SPECTRUM 39		RETENTION TIME 2.2	
4:	43.0, 100.0	55.0, 73.1	41.1, 51.1	147.1, 50.6	
1:	474.5, .4	484.4, .4	486.4, 1.3	487.5, .6	
					PAGE 1 Y = 1.00



N 5405		SPECTRUM 39		RETENTION TIME 2.2	
ST 4:	43.0, 100.0	55.0, 73.1	41.1, 51.1	147.1, 50.6	
4:	474.5, .4	484.4, .4	486.4, 1.3	487.5, .6	
					PAGE 2 Y = 2.00

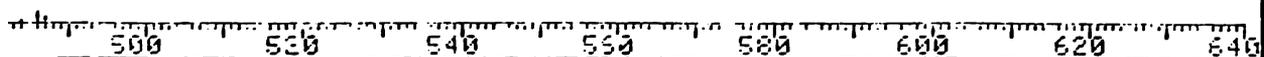
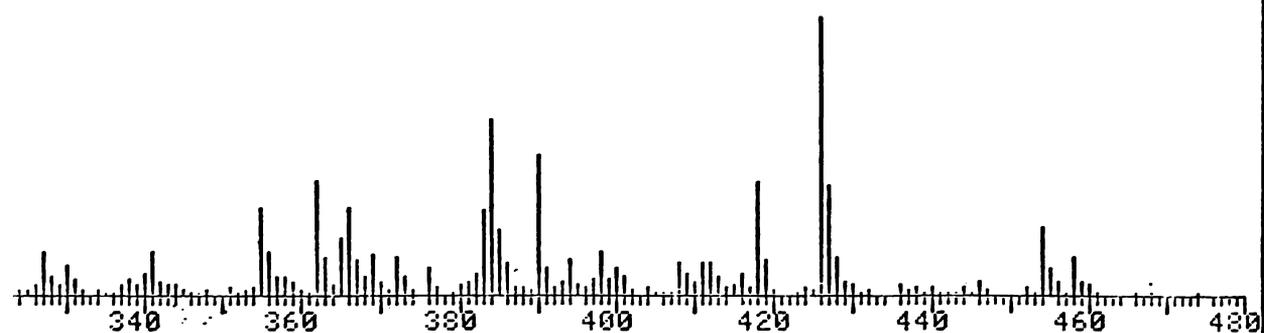


FIGURA 50..ESPECTRO DE MASAS POR IE DEL COMPUESTO XXIV

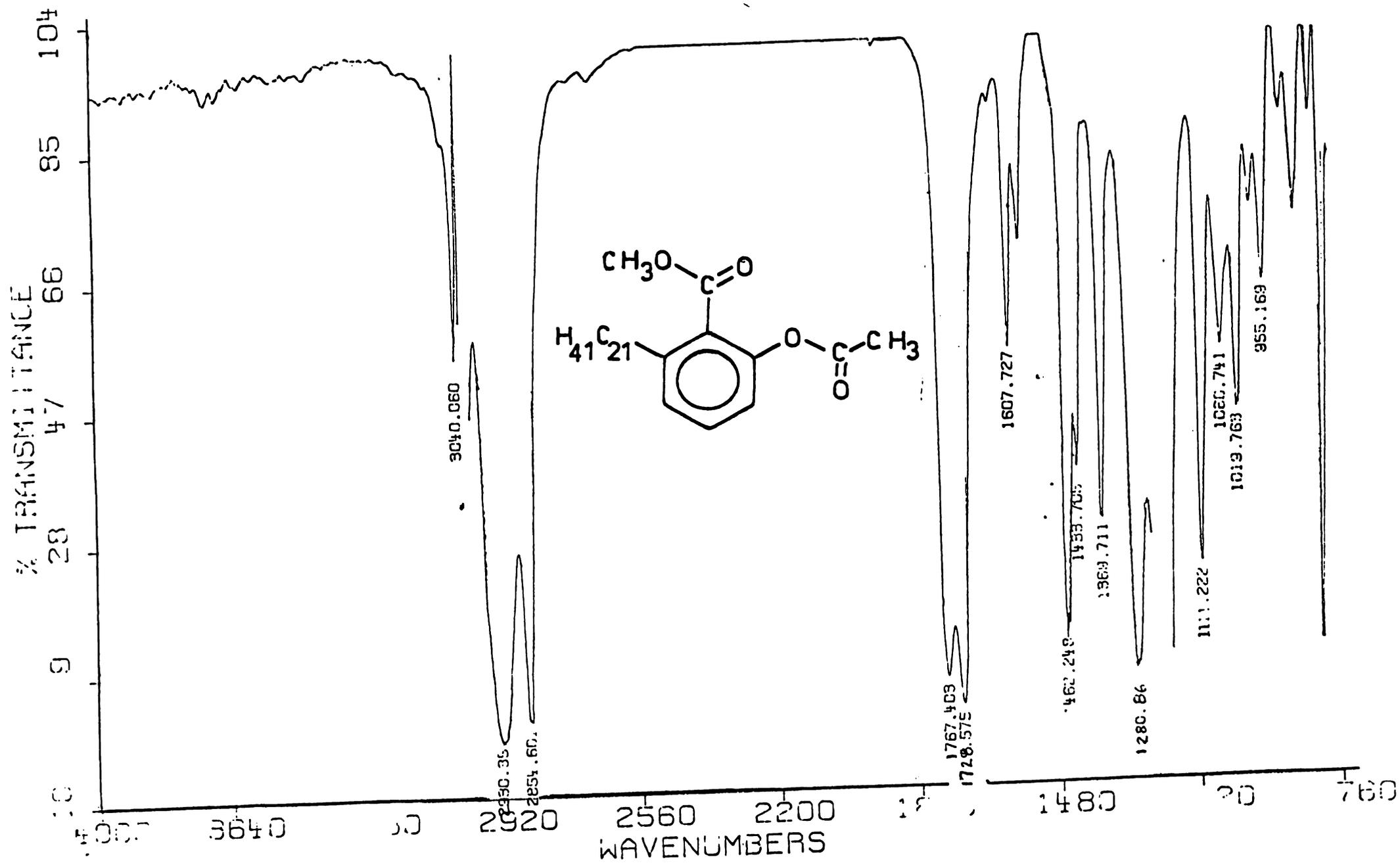


FIGURA 51. ESPECTRO DE IR DEL COMPUESTO XXIV (CHCl_3)

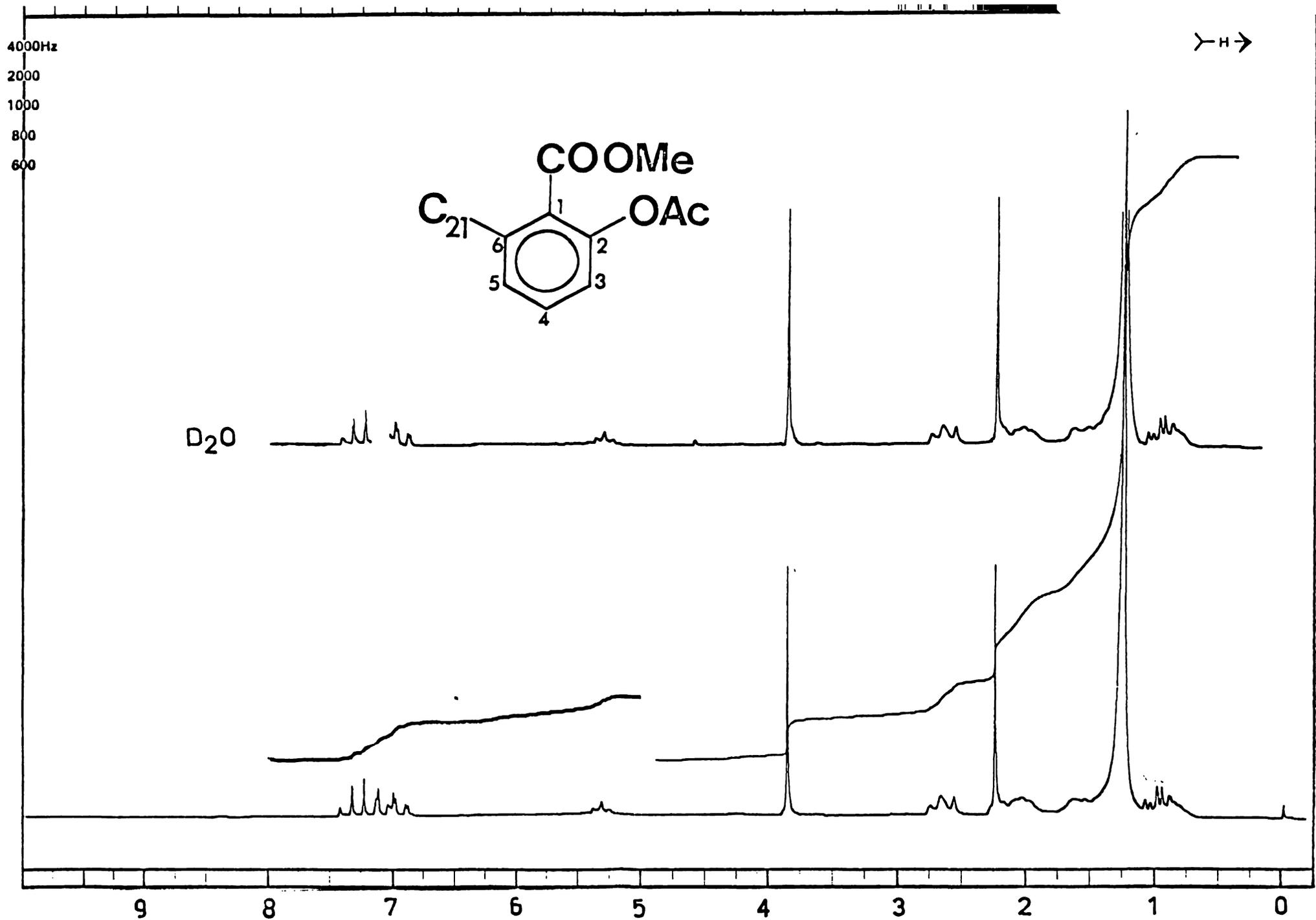


FIGURA 52. ESPECTRO DE RMN¹_H DEL COMPUESTO XXIV (CDCl₃, 80MHz)

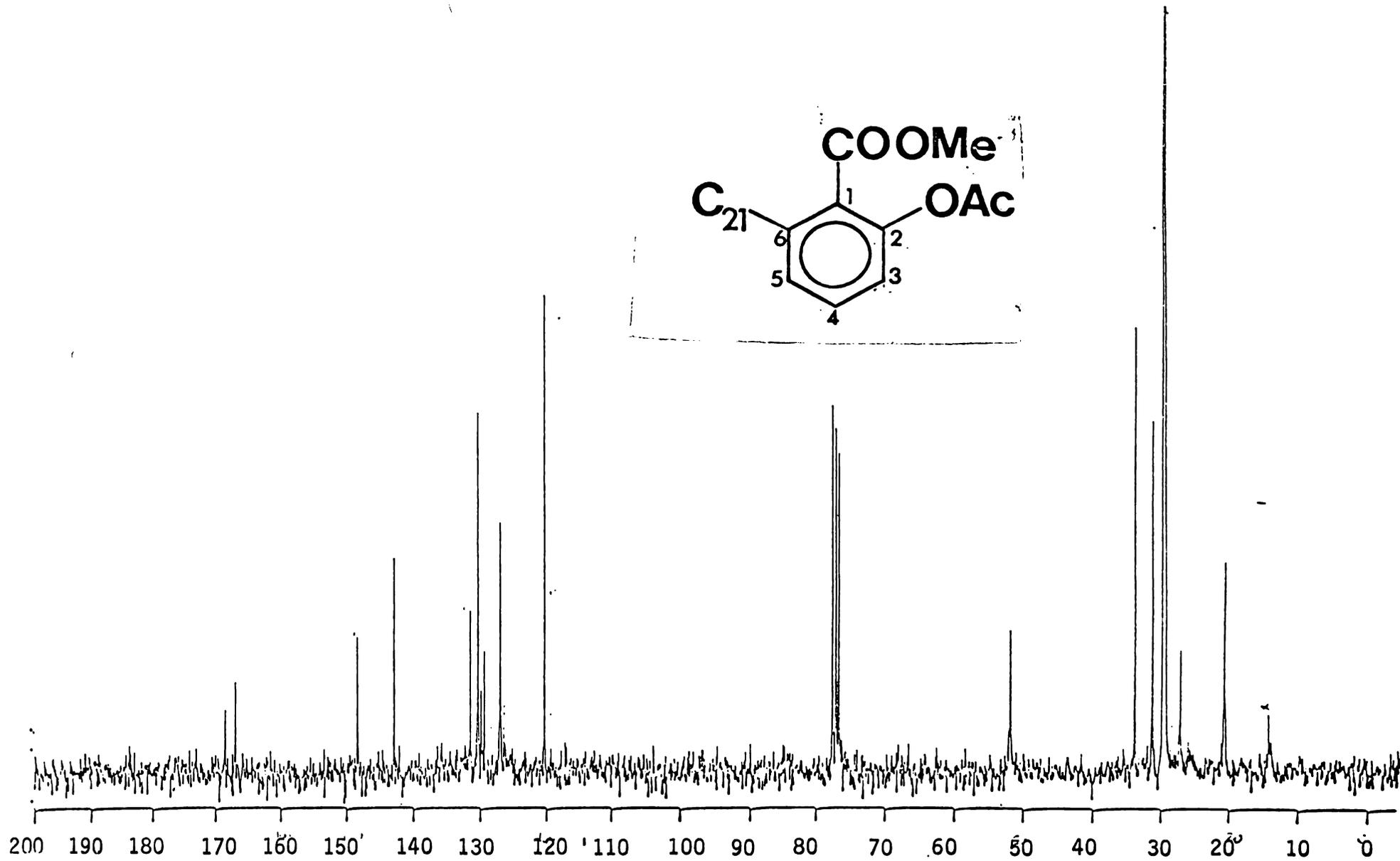
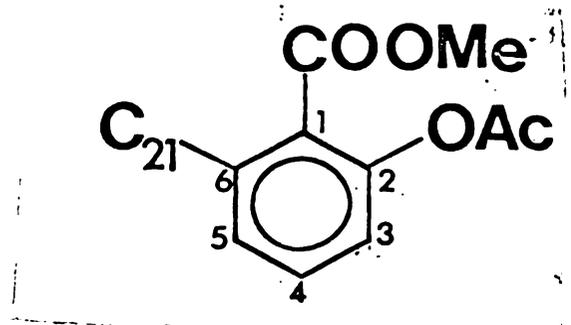


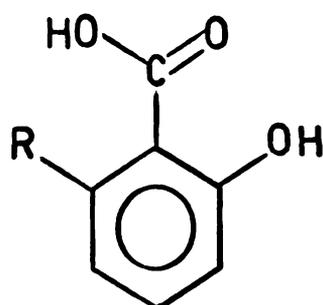
FIGURA 53. ESPECTRO DE RMN¹³C DEL COMPUESTO XXIV(CDCl₃, 22.6MHz)

Las características estructurales previamente descritas permitieron establecer la hipótesis de que el compuesto XVI era un ácido anacárdico. Estos ácidos son poco frecuentes en la naturaleza y presentan las estructuras generales presentadas en la Figura 54.

El análisis detallado del espectro de masas del aceite original y de su derivado acetilado, tal como se ilustra en las Figuras 55 y 56, confirmaron la hipótesis anterior ya que presentaron el patrón de fragmentación característico para este tipo de metabolitos secundarios (Spencer, Tjerks y Kleiman, 1980). Es de hacer notar que el fragmente M-32 (Figuras 55 y 56) es concluyente para ubicar la cadena alquílica lateral orto al grupo carboxílico.

Así mismo los resultados de RMN ^1H eran consistentes con los previamente descritos para este tipo de compuestos. Las características de RMN ^1H y de espectrometría de masas para tres ácidos anacárdicos se resumen en la Tabla 23 y se presentan tan solo con fines comparativos (Spencer, Tjarks y Kleiman, 1980).

El conocimiento previo de que los ácidos anacárdicos generalmente se presentan en la naturaleza bajo la forma de mezclas complejas, no separables por procedimientos cromatográficos de baja resolución y la incongruencia de los resultados de análisis elemental con la fórmula molecular establecida por EMIE, puso en duda que el compuesto XVI fuese un único compuesto. (Boekenoogen, 1967; Gellerman y Schlenk, 1968).



- a: $-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_3$
- b: $-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}_3$
- c: $-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$
- d: $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$
- e: $-(\text{CH}_2)_9-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$
- f: $-(\text{CH}_2)_9-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$
- g: $-(\text{CH}_2)_{11}-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$
- h: $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}_3$
- i: $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$
- j: $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$
- k: $-(\text{CH}_2)_{10}$
- l: $-(\text{CH}_2)_{12}$
- m: $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_3$

FIGURA. 54. Estructuras generales de los ácidos anacárdicos.

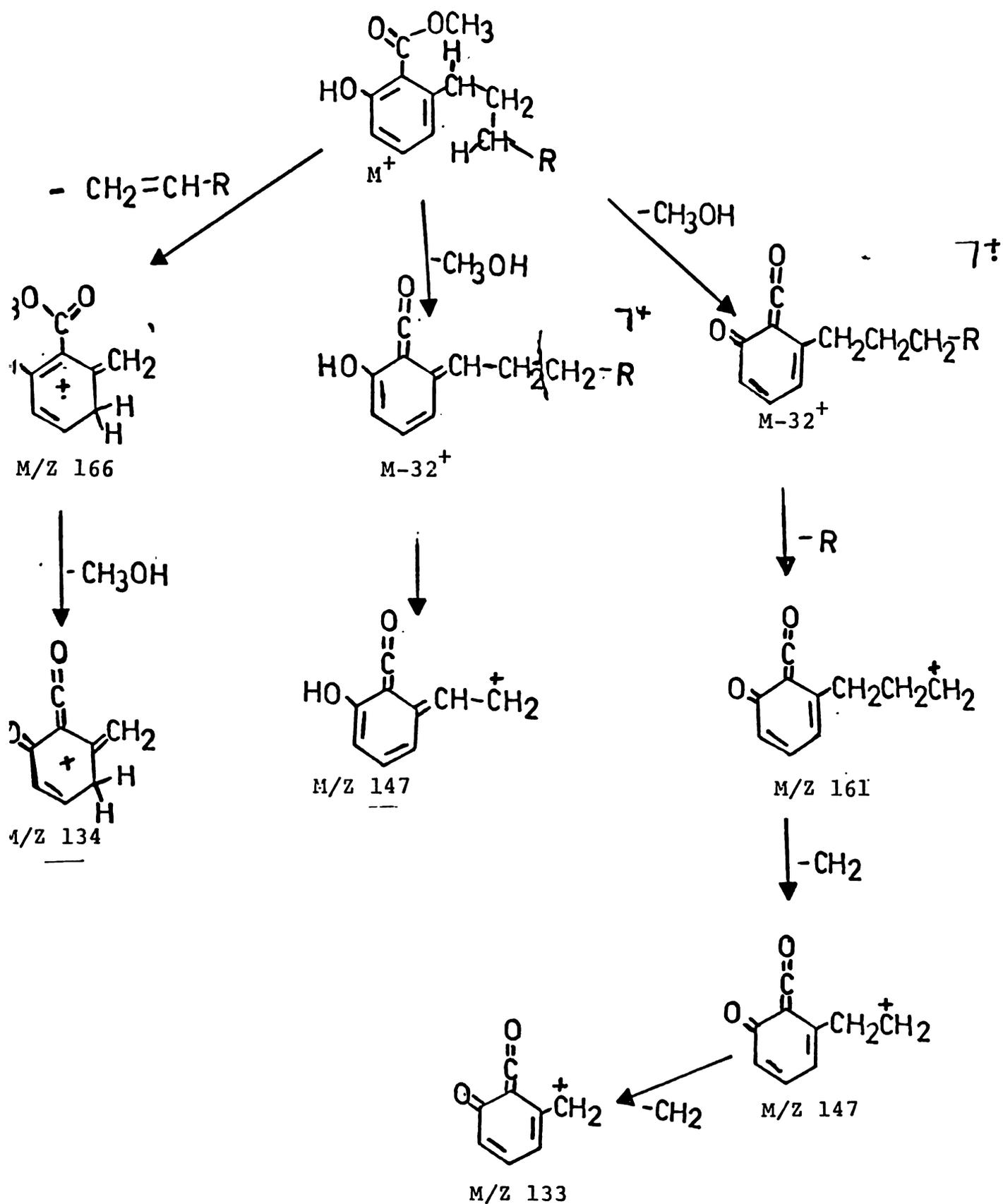


Fig. 55 . Fragmentación general propuesta para los esteres metálicos de los ácidos anacárdicos.

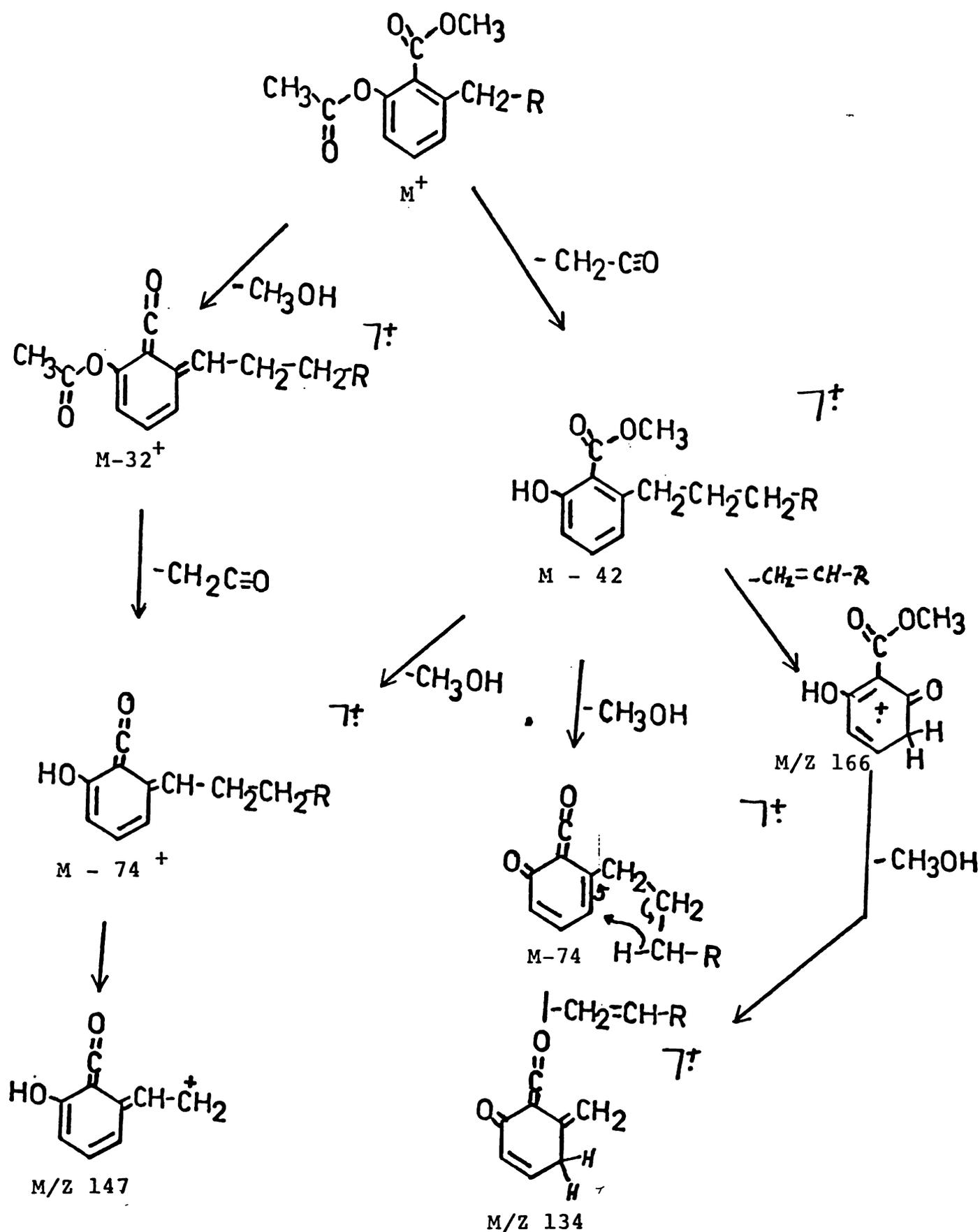
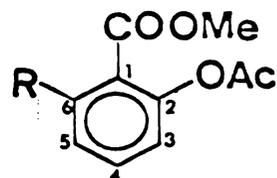


Fig. 56 . Fragmentación general propuesta para los esteres metálicos acetilados de los ácidos anacárdicos.

Tabla 23. Características en espectrometría de masas y RMN¹H de tres ácidos anacárdicos (como ésteres metílicos acetilados)



A. ESPECTROMETRIA DE MASA

R	Posición del doble enlace	Peso molecular	I N T E N S I D A D						
			M+	M-32+	M-42+	M-74+	166	147	134
C ₁₂ H ₂₅	-	376	2	21	100	32	32	35	21
C ₁₅ H ₂₉	9	402	6	37	11	22	41	34	25
C ₁₇ H ₃₃	10	430	7	40	10	25	19	34	22

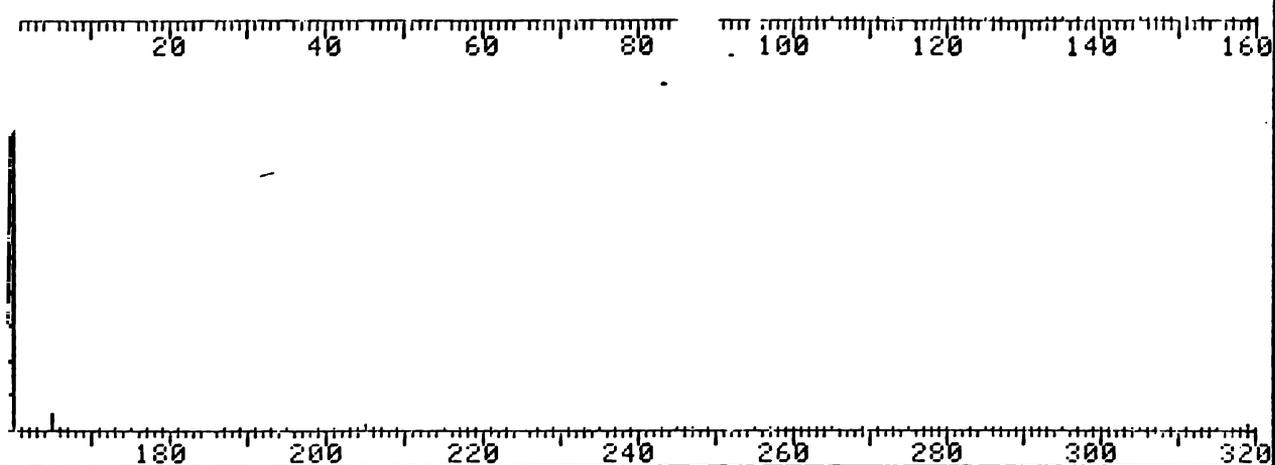
B. RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR PROTONICA (CDCl₃, ppm)

R	CH ₃	CH ₂	CH ₂ -CH ₂ -Ar	CH ₂ -CH=	Ac-	CH ₂ -Ar	COOCH ₃	CH=CH	PROTONES AROMATICOS
C ₁₂ H ₂₅	0.87t	1.25m	1.55m	-	2.2s	2.72t	3.82s	-	6.83, 6.90, 6.99, 7.09, 7.25, 7.33
C ₁₅ H ₂₉	0.88t	1.28m	1.57m	1.95m	2.2 s	2.72t	3.82s	5.28m	6.83, 6.92, 6.99, 7.10, 7.26, 7.33.
C ₁₇ H ₃₃	0.88t	1.30m	1.58m	2.00m	2.2 s	2.66m	3.38s	5.28m	6.83, 6.90, 6.99, 7.08, 7.27, 7.34

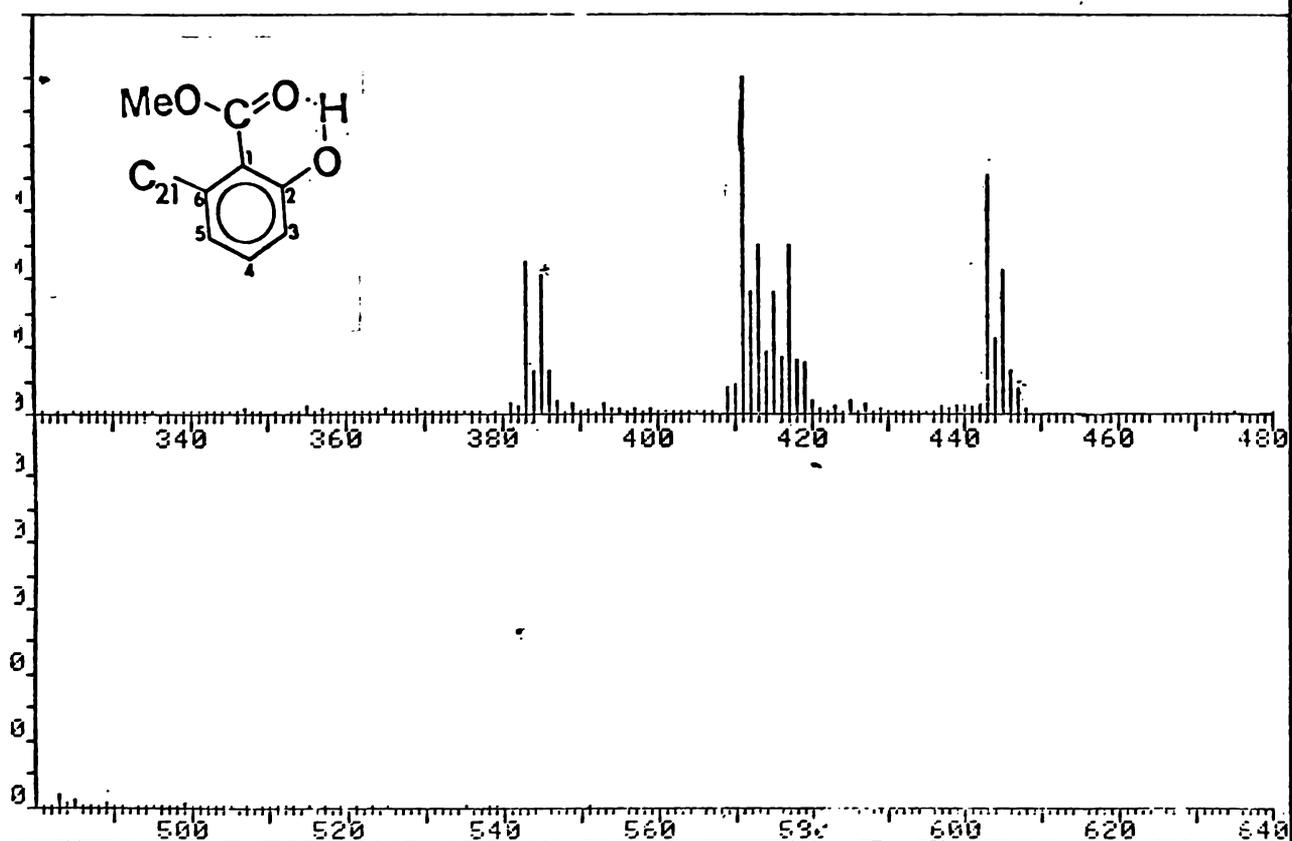
Los análisis de masas por IQ (Fig. 57) y cromatografía de gases preliminar (Fig. 58) definieron ciertamente que el producto estaba constituido por dos series de ácidos anacárdicos. Los resultados de IQ, que se resumen en la Tabla 24 indicaron claramente que el aceite estaba constituido por dos series de ácidos anacardicos con cadenas laterales de 19 y 21 átomos de carbono y que cada serie estaba formada por tres miembros: uno con la cadena lateral saturada, otro con una insaturación y el último con dos insaturaciones en la cadena lateral. Como se observa en la Tabla 24 y en la figura 57, para cada una de las series se encontró el ion molecular $M+1$, el ion $M+1-CH_3OH$ y el ion $M+1-CH_3OH-C_2H_2O$, los cuales se observan normal y exclusivamente en los espectros de IQ de ácidos anacardicos individuales o en mezclas de ellos (Spencer, Tjarks y Kleiman, 1980).

Una vez definida la presencia de dos series de ácidos anacardicos mediante cromatografía de gases y EMIQ, fue posible discriminar los fragmentos característicos para cada uno de sus miembros en los espectros de IE obtenidos originalmente para el aceite y su derivado acetilado, estos resultados se resumen también en la Tabla 24 y en las Figuras 55 y 56.

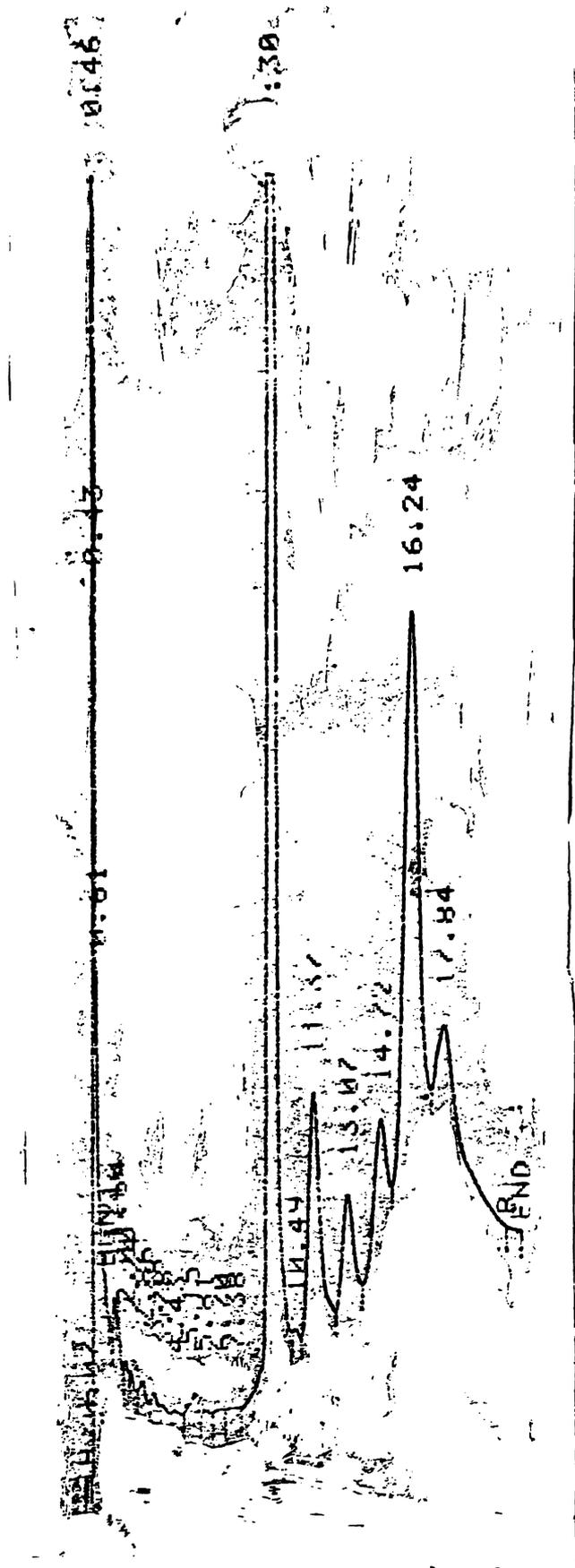
RN 5117 SPECTRUM 209 RETENTION TIME 7.3
 GST 4: 411.4, 100.0 443.4, 70.7 417.3, 49.5 413.4, 49.5
 T 4: 535.5, .1 537.7, .1 539.5, .1 551.4, .1
 PAGE 1 Y = 1.00



FRN 5117 SPECTRUM 209 RETENTION TIME 7.3
 RGST 4: 411.4, 100.0 443.4, 70.7 417.3, 49.5 413.4, 49.5
 ST 4: 535.5, .1 537.7, .1 539.5, .1 551.4, .1
 PAGE 2 Y = 1.00



GURA 57. ESPECTRO DE MASAS POR IQ DEL COMPUESTO XVI



Col OV275

T col 180°, 5°/min 260°

T iny 260°

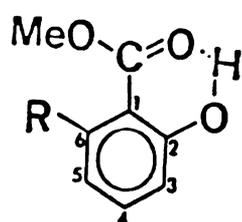
T det 260°

Flujo 30ml/ min

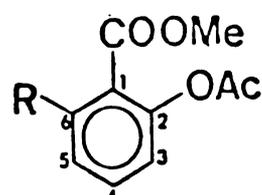
Disuelta en CHCl_3

FIGURA 58. CROMATOGRAMA DEL COMPUESTO XVI EN CROMATOGRAFIA DE GASES

Tabla 24. Iones principales en el espectro de masas para las series de ácidos anacardicos metil esterres XVI y acetil metil esterres XXIV (figura)



XVI



XXIV

R	Metil ester XVI				Acetil Metil ester XXIV			
	EMIE		EMI Q		EMIE			
	M+	M-32	M+1 ⁺	M+1-32	M+	M-32	M-42	M-74
C ₂₁ H ₄₃	446	414	447	415	—	456	446	114
C ₂₁ H ₄₁	444	412	445	413	486	454	444	412
C ₂₁ H ₃₉	442	410	443	411	484	452	442	410
C ₁₉ H ₃₉	418	386	419	387	460	428	418	386
C ₁₉ H ₃₇	416	384	417	385	458	426	416	384
C ₁₉ H ₃₅	414	382	415	383	456	424	414	382

Con la finalidad de resolver la mezcla en sus constituyentes individuales y así poder determinar las posiciones y estereoquímica de las dobles ligaduras en los miembros mono y diinsaturados, se prepararon derivados epoxidados y dihidroxilados, más sin embargo, la no disposición de las columnas adecuadas en el cromatógrafo de gases impidió el logro de este objetivo.

En relación a la estereoquímica de las dobles ligaduras vale la pena comentar que las evidencias proporcionadas por los espectros de RMN^1H de las mezclas (fig. 49 y 52) indicaron que estas deben ser de naturaleza cisoide y lo cual está en concordancia con el hecho de que todos los ácidos anacárdicos conocidos poseen dobles ligaduras de tipo cis (Gellermany Sclenk, 1968; Izzo y Dawson, 1949).

A pesar de los inconvenientes de índole técnico para completar exitosamente este trabajo por el momento, las evidencias de la presente discusión son definitivamente concluyentes para la presencia de dos series ternarias de ácidos anacárdicos con cadenas laterales de 19 y 21 átomos de carbono en la corteza del cuachalalate.

La aseveración anterior fue confirmada definitivamente por los resultados de la hidrogenación del compuesto XVI, el cual dió como producto una mezcla binaria de los ésteres metílicos de los ácidos anacárdicos con cadenas laterales saturados de 19 y 21 átomos de carbono. En la tabla 25 se resumen los resultados de las constantes físicas y espectroscópicas de esta mezcla binaria (producto XXV).

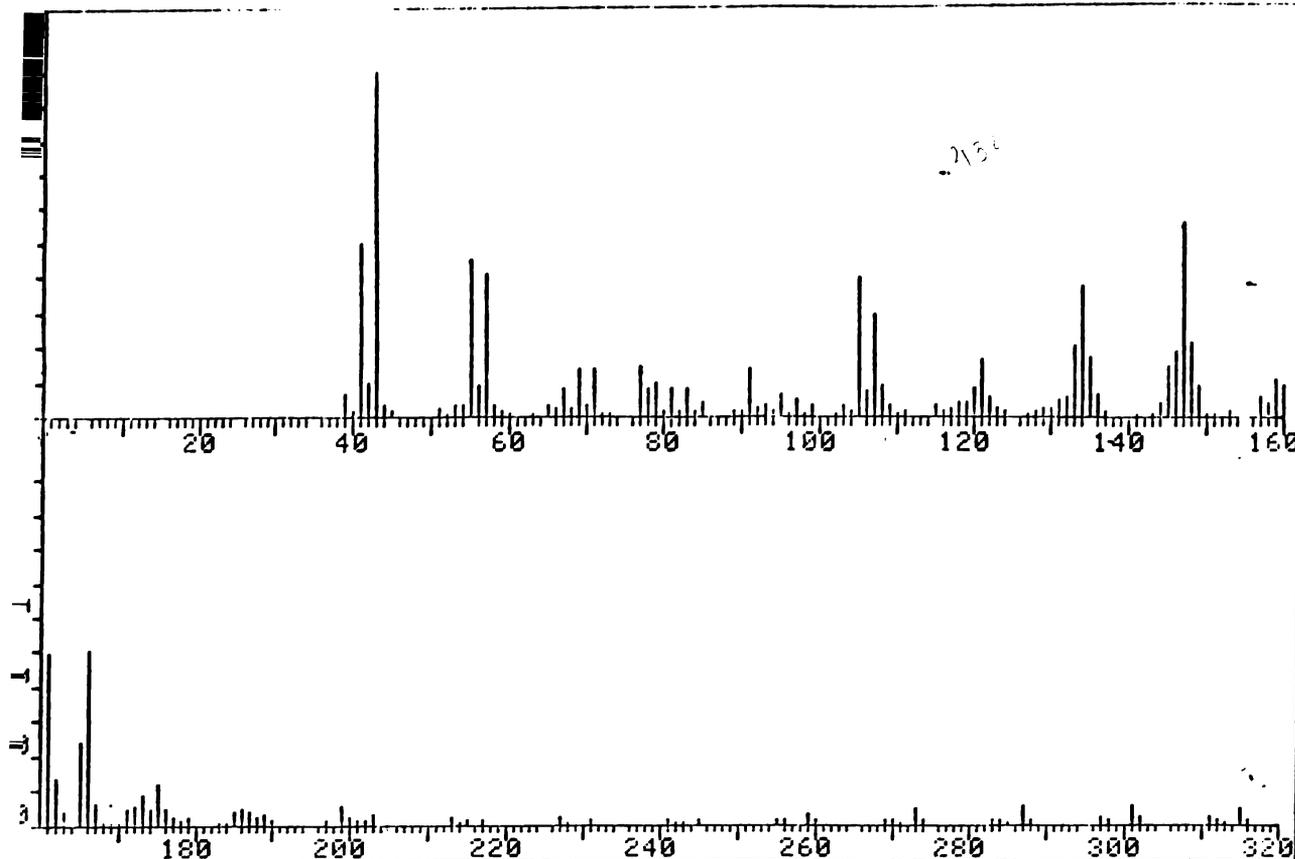
En el espectro de masas (Fig. 59) se observaron los dos iones moleculares a 446 ($C_{29}H_{50}O_3$) para el compuesto con cadena lateral de 21 átomos de carbono y a 418 ($C_{27}H_{46}O_3$) para el compuesto con cadena lateral de 19 átomos de carbono y sus correspondientes iones característicos M-32, así como también los iones a m/z 166, 147 y 134. (ver Tabla 24).

El espectro de RMN¹H (fig. 61) fue concordante con lo anterior, ya que no presentó señales para protones vinílicos ni para protones de metilenos vecinos a dobles enlaces, lo que demostró que los compuestos presentes en la mezcla eran saturados.

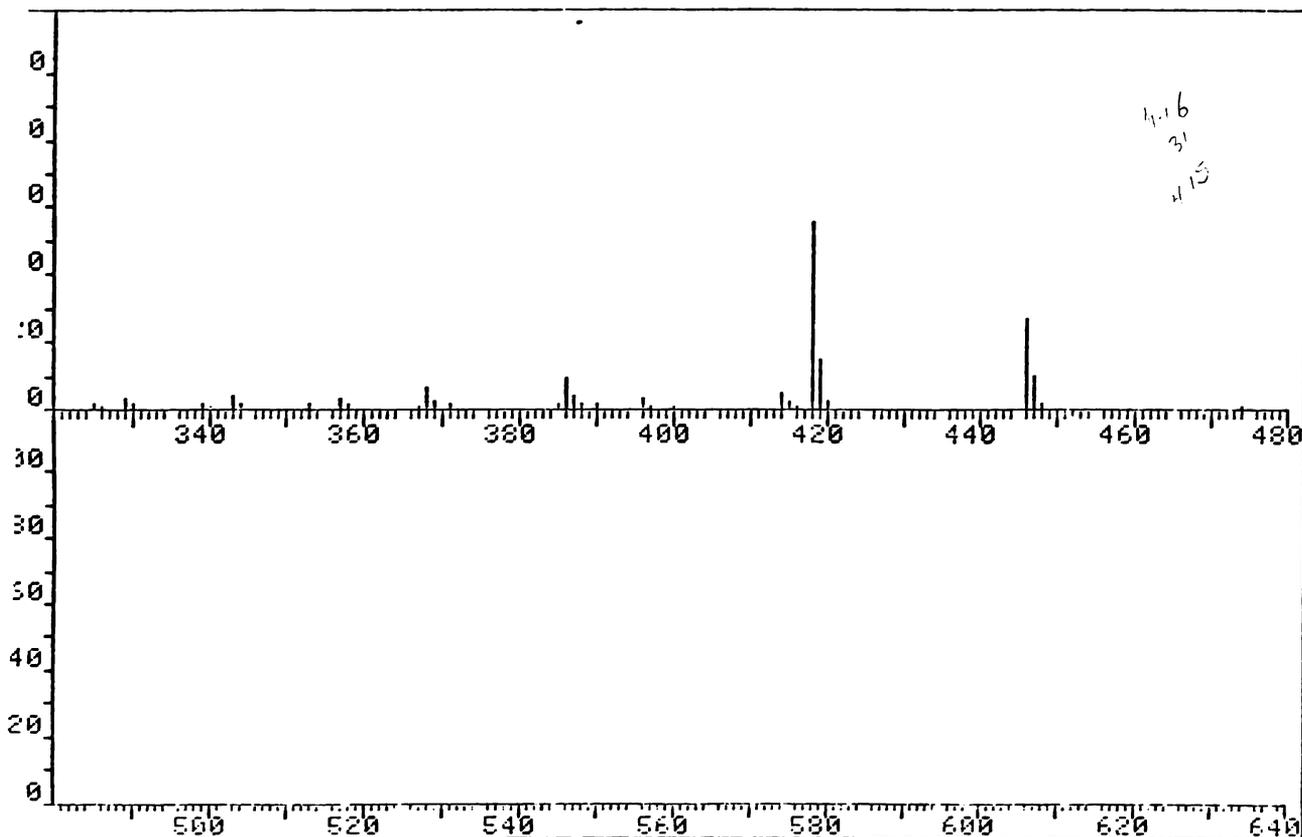
Tabla 25. Propiedades físicas y espectroscópicas del producto XXV.

PROPIEDAD	
P.f.	40°C
EMIE m/z (%) (fig. 59)	446 (M_1^+ , $C_{29}H_{50}O_3$, 26.7), 414 ($M_1 - CH_3OH$, 5), 418 (M_2^+ , $C_{27}H_{46}O_3$, 55.1), 386 ($M_2^+ - CH_3OH$, 10.3), 166 (25), 147 (54.6), 134 (40), 43 (100), 42 (50.0)
IR ν max $CHCl_3$ cm^{-1} (fig. 60)	3600-2600, 1663, 1608, 1450, 1347, 1315, 1250, 1166, 1120
RMN 1H (80MH ₂ , CDCl ₃ , ppm) (fig. 61)	0.87 (t, CH ₃), 1.25 (m, -CH ₂ -), 1.55 (m; CH ₂ -CH ₂ -Ar), 2.72 (t, CH ₂ -Ar), 2.82 (s, COOCH ₃), 6.83-7.35 (m, H-Ar).

FRN 5003 SPECTRUM 76 RETENTION TIME 5.1
 ARGST 4: 43.2, 100.0 418.5, 55.1 147.2, 54.6 41.2, 50.0
 AST 4: 446.6, 6.7 447.6, 10.0 448.6, 1.6 474.6, 1.1
 PAGE 1 Y = 1.00



FRN 5003 SPECTRUM 76 RETENTION TIME 5.1
 ARGST 4: 43.2, 100.0 418.5, 55.1 147.2, 54.6 41.2, 50.0
 AST 4: 446.6, 26.7 447.6, 10.0 448.6, 1.6 474.6, 1.1
 PAGE 2 Y = 1.00



GURA 59. ESPECTRO DE MASAS POR IE DEL COMPUESTO XXV

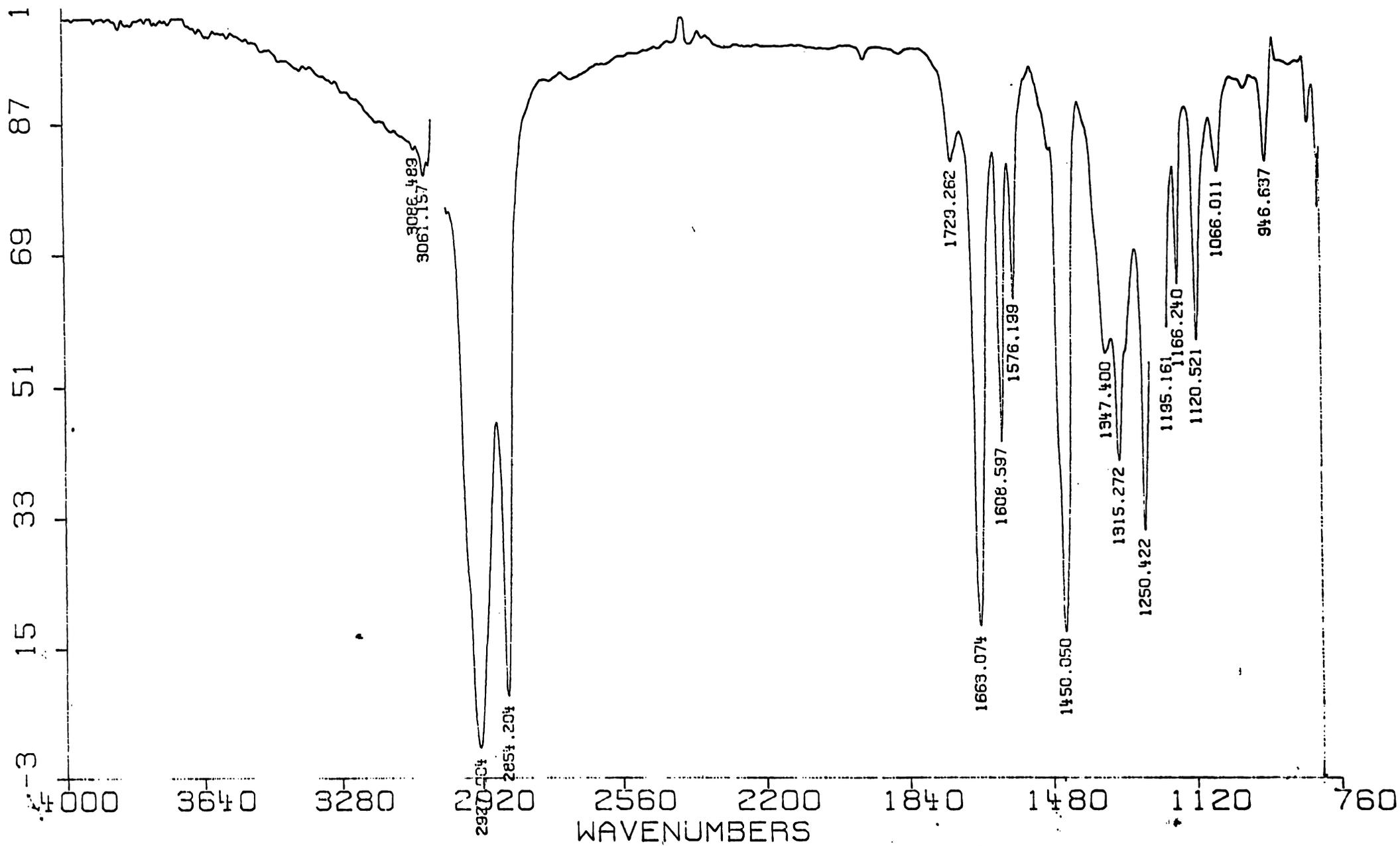


FIGURA 60. ESPECTRO DE IR DEL COMPUESTO XXV(CHCl₃)

FIGURA 61. ESPECTRO DE RMN¹H DEL COMPUESTO XXV(CDCl₃,80MHz)

Con respecto a la serie de 21 átomos de carbono es de hacer notar que sus miembros representan nuevos productos naturales, ya que anteriormente solo se han reportado ácidos anacárdicos con cadenas laterales de 11, 13, 15, 17 y 19 átomos de carbono (Boekenoogen, 1967; Adawadkar y Elsohly, 1981; Hamkes, Durrani y Tyman, 1980). La ausencia de evidencias para ramificaciones en la cadena lateral en los espectros de RMN ^1H y de masas, así como las evidencias antes señaladas, permiten inequívocamente identificar al miembro saturado de la serie C_{21} (Fig. 62) como el ácido 6-eicosil-salicílico.

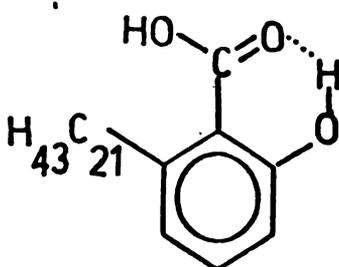


FIGURA 62. Estructura del ácido 6-eicosil-salicílico.

Es de hacer notar que este raro grupo de productos naturales se biosintetizan a partir de la acetil-CoA y de la molonil-CoA por la ruta del acetato malonato (Boeknoogen, 1967).

CONCLUSIONES

Las conclusiones que se pueden derivar del presente capítulo son las siguientes:

1. Se realizó el estudio fitoquímico de dos lotes de cuachalalate (Amphipterygium adstringens Schiede ex Schlecht) procedentes del mismo sitio pero de distinto período de recolección. En general se obtuvieron los mismos compuestos en ambos lotes.

2. De los extractos hexánicos EH-I y EH-II de la corteza de cuachalalate se aislaron y caracterizaron cuatro ácidos triterpénicos tetracíclicos, dos ácidos triterpénicos pentacíclicos, un estero1 y dos series de ácidos anacárdicos con cadenas laterales de 19 y 21 átomos de carbono. Los compuestos, sus rendimientos en cada extracto y la categoría estructural a la que pertenecen se resumen en la Tabla 26.

La serie de ácidos anacárdicos de 21 átomos de carbono resultaron ser nuevos productos naturales. Esto último constituye el punto relevante del estudio de esta planta, ya que los ácidos anacardicos industrialmente se utilizan en la fabricación de lacas, pegamentos y, en la elaboración de los colorantes y polímeros (Hankes, Durrani y Tyman, 1980; Hagashi, Kato, Miyamoto y Yoshida, 1983; Boekenoogen, 1967). Desde el punto de vista biológico los ácidos anacárdicos poseen diversas actividades tales como: antibiótica, fungicida y antiinflamatoria (Adawadkar y el Sohly, 1981) y molusquícida (Sullivan, Richards, Lloyd y Krishna, 1982).

3. Al igual que en un estudio previo los constituyentes mayoritarias fueron los ácidos masticadienónico y 3 α -hidroximasticadienónico. El ácido instipolinácico previamente reportado por Domínguez et al. no pudo ser aislado en este estudio. En relación a este último ácido, vale la pena hacer destacar que las propiedades espectroscópicas descritas para el mismo y que se resumen en la Tabla 27 no son concordantes con la estructura propuesta 47 (Fig. 28). Por ejemplo, en el espectro de RMN¹H se describen señales para ocho metilos tres protones vinílicos y dos bases de

Tabla 26. Constituyentes del Amphipterygium adstringens

Compuesto	Categoría estructural	Rendimiento		No. de estructura en el texto
		EH-I	EH-II	
Acido Masticadienónico	Triterpeno tetracíclico	0.045%	0.312%	45
Acido Isomasticadienónico	Triterpeno tetracíclico	--	0.023%	51
Acido 3 α -hidroximasticadienónico	Triterpeno tetracíclico	0.092%	0.033%	57
Acido 3-epi-hidroximasticadienónico	Triterpeno tetracíclico	-	0.0018%	58
Acido oleanólico	Triterpeno pentacíclico	0.0016%	-	53
Acido epioleanólico	Triterpeno pentacíclico	-	0.0066%	54
β -sitosterol	Esterol	0.0084%	0.013%	49
Acidos anacárdicos	Acido alquilfenólico	0.0053%	0.40%	48

Tabla 27. Propiedades físicas y espectroscópicas del ácido instipolínico. (Domínguez, X.A. et al. Rev. Lat. Quim. 14(2), 99-100 (1983)

P R O P I E D A D	R E S U L T A D O S
. f:	166 - 167°C
V ETOH max	(ε =19060)
R ν KBr max cm ⁻¹	3400 (OH), 2990-2880 (CH,CH ₂ ,CH ₃), 1690 (COOH), 1620 (c=c), 1380-1370 (gem (CH ₃) ₂ C), 1290-1170 (C-O) 970, 900 (c=c)
RMN ¹ H (ppm 400MHz)	0.94 (3H,s), 0.96 (3H,s), 1.06(3H,s), 1.08(3H,d, J=6Hz), 1.10 (3H,s), 1.21(3H,s), 1.26(3H,s), 1.86 (3H,s), 2.03 (2H,m), 2.27 (H,ddd), 2.41 (H,m), 2.53 (H,m), 2.86 (H,t), 3.47 (H,d,d) 3.64 (H,dd), 5.27 (H, ancha), 5.68 (1H,m), 6.39 (1H,d). señal para 8 metilos, 3 protones vinílicos, dos bases de hidroxilo
RMN ¹³ C (ppm)	168.7 (s), 145.6(s), 141.5(d), 127.2(s), 117.6(d), 73.9(d), 52.2(d), 50.8 (s,t) 48.2, 43.8, 34.2, 33.5, 30.9, 27.9, 27.6, 27, 25.8, 25.3, 23.4, 21.6, 20.4, 18.0, 17.5(s), 12.8(d). (señal para 24 átomos de carbono)

hidroxilos (Domínguez, Frando, García, Porras, Vázquez y Amezcua, 1983), a pesar de que en la estructura propuesta hay solamente siete metilos, un protón vinílico y una base de hidróxilo; además se propone que el mencionado compuesto es el isomero geométrico Z del ácido dihidroisomasticadienónico (Fig. 63), lo cual obviamente es incorrecto ya que estudios de difracción de rayos X demostraron que el ácido dihidroisomasticadienónico tiene una configuración Z (Pozzo-balbi, Nobile, Scapini y Cini, 1976).

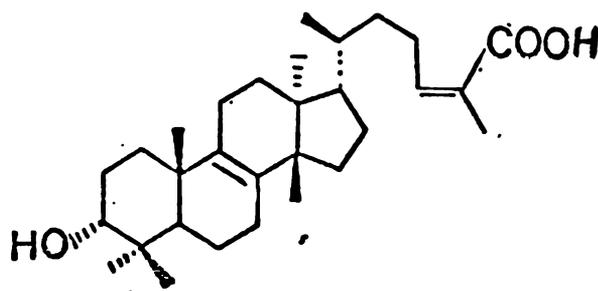


Fig. 63. Estructura del ácido dihidroisomasticadienónico.

Curiosamente las propiedades espectroscópicas del ácido instipolinácico (Tabla 27) coincidieron con las mismas de la mezcla cristalina de donde se obtuvo el ácido 3 α -hidroximasticadienónico; tal como se menciona en la sección experimental el análisis cromatográfico en placa fina (usando gel de sílice impregnada con nitrato de plata) de esa mezcla cristalina, reveló la presencia de tres sustancias diferentes. Estas observaciones en conjunto, por una parte con la discrepancia entre las propiedades espectroscópicas descritas para el ácido instipolinácico y la estructura propuesta, y por la otra con el desconocimiento de la configuración correcta de la doble ligadura de la cadena lateral del ácido dihidroisomasticadienónico, permiten concluir que la elucidación estructural descrita para el ácido instipolinácico está basado sobre evidencias poco claras y, que además el nombre de ácido Instipolinácico debe desaparecer de la literatura, puesto que la estructura tal como la proponen los autores corresponde realmente a la del ácido 3 α -dihidroisomasticadienónico (Pozzo-bulbi, Nobile, Scapini y Cini, 1976).

4. La existencia de ácidos anacárdicos en la corteza del cuachalalate es de importancia industrial y biológica, y muy posiblemente las actividades antibiótica, antipirética y antiinflamatoria que se le atribuyen a esta planta sean debidas a la presencia de este tipo de compuestos.

5. La presencia de ácidos anacárdicos en la naturaleza estaba restringida a tres familias, las Anacardaceae, la Gingkoaceae y la Miristicaceae. Ahora el cuachalate, un miembro de la familia Julianiaceae constituye una nueva fuente natural para estos productos. Resulta interesante mencionar que tanto los ácidos anacárdicos como los triterpenos de tipo tirucalano son metabolitos comunes a las familias de las Anacardaceae y de las Julianiaceae, las cuales se sabe están relacionadas filogenéticamente (Heywood, 1978).

PROPOSICIONES PARA CONTINUAR ESTE TRABAJO

1. Para el Chenopodium graveolens Wild (epázote de zorrillo) se recomienda hacer el análisis del aceite esencial, para determinar, fundamentalmente, la presencia o ausencia del ascaridol.
2. Hacer la investigación fitoquímica de otras colecciones de Ch. graveolens a fin de analizar las variaciones ontogénicas y de estudiar en forma más detallada el contenido de metabolitos secundarios (los resultados de estos estudios podrían ser de importancia quimiotaxonómica).
3. Hacer la evaluación biológica como agentes anti-parasitarios de los favonoides encontrados en este estudio.
4. Realizar nuevamente el estudio fitoquímico de Ch. ambrosioides L. (epazote morado), con la finalidad de aislar mayor número de metabolitos secundarios.
5. Hacer la separación mediante cromatografía de gases de la mezcla de ácidos anacárdicos para determinar la estructura de la cadena lateral de cada uno de estos. Este estudio se inicio formando derivados dihidroxilados con OsO_4

y epoxidados con ácido perbenzóico. También se puede efectuar esta separación por cromatografía de líquidos a alta presión (HPLC).

6. Actualmente está en progreso la evaluación de la mezcla mediante la técnica de espectrometría de masas/espectrometría de masas (MIKES) que permitirá analizar y caracterizar individualmente cada uno de los constituyentes de la mezcla.

7. Realizar la evaluación como antibióticos de cada uno de los ácidos anacardicos de las series de 19 y 21 átomos de carbono y establecer relación de estructura química actividad biológica.

8. Efectuar el estudio en detalle de los extractos acetónicos de la corteza de cuachalalate, sobre todo en la parte de mayor polaridad, ya que los extractos acetónicos obtenidos (EA-I y EA-II) mostraron constituyentes comunes con los extractos hexánicos estudiados y es precisamente en la parte más polar en donde se diferencian.

BIBLIOGRAFIA

- Adawadkar, P.D. y El Sohly, M.A. (1981). Isolation, purification and antimicrobial activity of anacardic acids from *Ginkgo biloba* fruits. *Fitoterapia*, 52(3) pp 129-135 (En C.A.: 97:52394 d, 1982).
- Adesina, S.K. y Reisch, J. (1985). A triterpenoid glycoside from *Tetrapleura tetraptera* fruit. *Phytochemistry*. 24; pp 3003-3006.
- Alva Ixtlilxóchitl, D. de. (1952). Obras Históricas. Vol. II. Historia chichimeca. Editora Nacional. México.
- Arasawa, M., Minabe, N., Saeki, R., Takakuwa, T. y Nakaoki, T. (1971). *Yakugaku Zasshi*, 91, 522 (En C.A. (1971), 75, 59801 p).
- Asakawa, Y. (1970). *Bull. Chem. Soc. Japan*. 43:2223.
- Astudillo, V.A. (1983). Análisis químico de *Eryngium heterophyllum*. Engelmann, y búsqueda del principio activo en el control de cálculos biliares inducidos en Hamster dorado (*Mesocricetus auratus*). Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. pp 5-6.
- Ballesteros, U.N.E. y Alpide, N.P. (1984). Aislamiento y evaluación farmacológica preliminar de ácidos triterpénicos de semillas de *Schinus molle* (Pirul). Tesis profesional. Químico Farmacéutico Biólogo. ENEP-Zaragoza. UNAM.
- Bannerman, H. (1977). La medicina tradicional en el programa de la OMS. *Crónica de la OMS*, 31,11, Ginebra, Suiza. pp 479-480.
- Bannerman, H.R. (1980). Organization and cooperation for development of studies on plants used in traditional medicine: some guide lines for research and studies. *J. of Ethnopharmacology*. 2, pp 189-192.

- Barajas, C.L.E. (1951). Los animales usados en la medicina popular mexicana. México. Imprenta Universitaria.
- Barton, D.H.R. y Seoane, E. (1956). Triterpenoids. Part XXII. The constitution and stereochemistry of Masticadienonic Acid. J. Chem. Soc., pp 4150-4157.
- Bathory, M.; Toth, I., Szendrei, K. y Reisch, J. (1982) Ecdysteroids in *Spinacia oleracea* and *Chenopodium bonus-Henricus*. Phytochemistry. 21, pp 236-238.
- Bernardi, B. (1980). An antropological approach: the problem of plants in traditional medicine. J. of Ethnopharmacology. 2, pp 95-98.
- Boekenoogen, H.A. (1967). Straight chains of carbon atoms in Nature. Chem. Ind. (London) pp 387-397.
- Bogacheva, N.G., Kogan, L.M. y Libizov, N.I., (1972). Triterpenoid glycosides from *Chenopodium ambrosioides* Khim priro. Soedin 3, pp 395 (En C.A. 77, 162003V, 1972).
- Budzikiewicz, H., Djerassi, C. y Williams, D.H., (1964). Structure elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry, Holden-Day, San Francisco.
- Budzikiewicz, H., Willson, J.M. y Djerassi C. (1963). Mass Spectra of Pentacyclic Triterpenes. J. Am. Chem. Soc. 85, pp 3688-3692.
- Burbage, L. y Wells, J. (1983). Plantas medicinales: incremento de las perspectivas en la industria farmacéutica. Forum de Comercio Internacional Vol. 19, No. 2, pp 26-32.
- Bye, R. (1985). (Comunicación personal) Instituto de Biología UNAM.
- Campello, J.P. y Marsaoli, A.J. (1974). Triterpenes of *Schinus terebenthifolius*. Phytochemistry; 13, pp 659-660.

- Capasso, F., Balestrieri, B. y Mascolo, N. (1980). Actualidad de las plantas medicinales. *Medicina Tradicional III*, (10), pp 53-61.
- Caputo, R. y Mangoni, L. (1970). Acidi triterpenici dalle galle di *Pistacia terebintus*. *Gazz. Chim. Ital.* 100, pp 317-325.
- Caputo, R., Mangoni, L., Mónaco, P. y Palumbo G. (1979). Triterpenes from the galls of *Pistacia palestina*. *Phytochemistry*, 18, pp 896-898.
- Chirva, V., Chebar, P.L., Kintya, P.K. y Bobeiko, V. A. (1971). Structure of triterpenoid glycosides from *Chenopodium anthelminticum* roots. *KHIM. Prir. Soedin.* 7(1), pp 27-30.
- Crawford, D.J. (1975). *Brittonia* 27: 279.
- Crawford, D.J. y Evans, K.A. (1978). The affinities of *Chenopodium flabellifolium* (Chenopodiaceae): evidence from seed coat surface and flavonoid chemistry. *Brittonia* 30(3), pp 313-318.
- Crawford, D.J. y Mabry, T.J. (1978). Flavonoid chemistry of *Chenopodium fremontii*. Intraspecific variation and systematic implications at the interspecific level. *Biochem. Syst. Ecol.* 6, pp 189-197.
- De María y Campos, T. (1979). Los animales en la medicina tradicional mesoamericana. *Anales de Antropología XVI*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- De Pascual, T.J., Bellido, I.S. y González, M.S., (1978a). Componentes de chenopodiáceas. I sesquiterpenos del *Chenopodium botrys*, L. *An. Quim.* 74: pp 91-96.
- De Pascual, T.J., Bellido, I.S. y González, M.S., (1978b). *An. Quim.* 74, pp 1975.

- De Pascual, T.J., Bellido, I.S. y González, M.S., (1980).
Chenopodiaceae components: Polioxigenated sesqui-
terpenes from *Chenopodium botrys*, *Tetrahedron*, 36,
pp 371-376.
- Domínguez, X.A., Soriano M., Vera, C. y Butruille, D. (1974).
L'acide masticadienonique de *Pistacia mexicana*. *Phy-
tochemistry*. 13, pp 656.
- Domínguez, X.A., Franco, R., García, S., Porras, M.E., Váz-
ques, G. y Amezcua, B. (1983). Plantas medicina-
les mexicanas XLVIII. Estructura del ácido Instipo-
lináico separado de la corteza del cuachalalate
(*Amphipterygium adstringens*). *Rev. Latinoamer. Quim.*
14, pp 99-100.
- Enriquez, R. (1978). La química y el estudio de las plan-
tas medicinales. *Medicina tradicional II* (5), pp
37-46.
- Estrada, L.E. (1985). Avances en las investigaciones so-
bre plantas medicinales en la Universidad Autónoma
Chapingo y Colegio de Postgraduados, Chapingo Esta-
do de México. Mimeógrafo. Departamento de Fitotec-
nia, Sección Plantas Medicinales Universidad Autóno-
ma Chapingo.
- Estrada, L.E. (1986^{5p}). Jardín Botánico de Plantas Medicina-
les. Maximino Martínez. Universidad Autónoma Cha-
pingo. Departamento de Fitotecnia pp 20-21.
- Fairbairn, J.W. (1980). Perspectives in research on the
active principles of tradicional herbal medicine.
A botanical Aproach: identification and supply of
herbs. *J. of Ethnopharmacology* 2, pp 99-104.
- Farkas, L. (1980). Active principles of plants of tradi-
cional medicine as models of new drugs. *J. of ethno-
pharmacology*, 2, pp 145-148.
- Farnsworth, N.S. (1980), The development of pharmacologi-
cal and chemical research for application to tradi-
cional medicine in development countries. *J. of
Ethnopharmacology* 2, pp 173-181.

- Farnsworth, N.S. y Bingel, A.S. (1977). Problems and prospects of discovering new drugs from higher plants by pharmacological screening. En Wagner, H. y Wolff P. (Ed.). New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity. Springer-verlag berlin Heidenberg New York. pp 1-23.
- Galeffi, C. (1980). New trends in the separation of active principles from plants. J. Ethnopharmacology. 2, pp 129-134.
- González, E.E. y Delgado, J.N. Phytochemical Investigation of *Amphipterygium adstringens*. J. Pharm. Sci. 51, pp 786-790.
- González, E.E., McKenna, G.F. y Delgado, J.N. (1962). Anticancer activity of *Amphipterygium adstringens*. J. Pharm. Sci. 51, pp 901-905.
- Govindachari, T.R., Parthasarathy, P.C., Pai, B.R. y Kalyanaraman, P.S., (1968), Tetrahedron, 24: 7027.
- Hankes, A.J., Durrani, A.A. y Tyman, J.P. (1980). Polymer used for production of bonded materials. Eur. Pat. Appl. 15,761 (Cl C08 G8/18), 17 sep 1980. Brit. Appl 79/8.451, 09 Mar 1979. 23 pp, (En C.A. 93:24 0530 m, 1980).
- Harborne, J.B., (1967). Comparative Biochemistry of the Flavonoids, A.P., London.
- Harborne, J.B. y Mabry, T.J. (Ed), (1982). The Flavonoids, Advances in Research, Chapman and Hall, London, N.Y.
- Hayashi, T., Kato, H., Miyamoto, A. y Yoshida, M. (1983). Color developer and a recording unit having a layer of the color developer. U.S.U.S. 4, 374671 (Cl, 106-21; C 09/D11/00). 22 Feb 1983. JP. Appl. 70/83, 651. 24 Sep 1970; 6 pp. (En C.A.: 98: 189032Z, 1983).

- Heyden, D. (1983). Mitología y simbolismo de la flora en el México prehispánico. Universidad Nacional Autónoma de México, p 174.
- Hopkins, J. y Scheimann, F. (1971). *Phytochemistry*, 10, pp 1956-1961.
- Instituto Nacional para la Educación de los Adultos (INEA), (1982). Como aliviarse de la pansa. Subdirección de Promoción cultural en la Medio Rural. Ed. Arbol, México.
- Irwin, M.A. y Geissman, T.A., (1973). Sesquiterpene alcohols from *Artemisia pygmaea*. *Phytochemistry*, 12, pp 849- 852.
- Kier, L.B., Lehn, J.M. y Ourisson, G. (1963). Résonance magnétique nucléaire de produits naturels (IV). Structure et Stéréochimie de la térébinthone et du schinol. *Bull. Soc. Chim. Fr.* pp 911-912.
- Lamy, Ph. y Zolla, C. (1978). La etnobotánica en relación con los problemas de la salud en México. *Medicina Tradicional II* (5), 19-35.
- López, A.A. (1971). Textos de Medicina Náhuatl, Setentas, Secretaría de Educación Pública, México.
- Lozoya, X. (1978). Editorial. A manera de introducción. *Medicina Tradicional II* (5), pp 3-10.
- Lozoya, X. y Lozoya, M., (1982). Flora Medicinal de México. Primera parte: Plantas indígenas. Instituto Mexicano del Seguro Social, México. pp 31.
- Mandich, L.M., Barros, C. y Silva, M. (1982). Búsqueda de plantas chilenas con actividad antifertilidad. Relación química biológica. *Bol. Soc. Chil. Quim.* 27 (2), pp. 175-177.
- Martínez, M. (1969). Plantas medicinales de México. Editorial Botas, México.

- Mónaco, P., Caputo, R., Palumbo, G. y Mangoni, L. (1974). Triterpene components of gall on the leaves of *Pistacia terebinthus*, produced by *Pemphigus semilunarius*. *Phytochemistry*, 13, pp 1992-1993.
- Morishita, T., Tagoimi, T., Matsuzaka, T. y Taketsugu. (1978). (Ch. i. kari Kogyo Co. Ltd). Japan 7747, 013 (Cl. AOIN9/08) 29 Nov 1977 Appl 73/143, 634, 24 del 1973 (En C.A. 88:100366J, 1978).
- Nagarajan, G.R. y Parmar, V.S., (1977). *Planta médica*. 32:50.
- Navarrete, C.A. (1982). Estudio químico y pruebas farmacológicas preliminares de la corteza de *Juliania adstringens* (cuachalalate). Tesis profesional. Químico Farmacéutico Biólogo. ENEP Zaragoza. UNAM.
- Nicholaev, A.G. (1956). *Uchenye Zap. Kishiniev Univ.* 28: 83 (En C.A. 52:20902 (1958)).
- Nicholas, H.J. (1955). *J. Am. Chem. Soc.* 77, pp 495.
- Ogunkoya, L. (1981). Application of mass spectrometry in structural problems in triterpenes. *Phytochemistry*. 20, pp 121-126.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (1978). Informe de la conferencia Internacional sobre atención primaria de salud. Alma-Ata, URSS, 6-12 de septiembre de 1978. pp 1-7.
- Organización Mundial de la Salud. (OMS). (1976). Programa de Promoción y Desarrollo de la Medicina Tradicional. *Medicina Tradicional I* (1). pp 71-73.
- Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial (ONUDI). (1983). Desarrollo de fármacos basados en plantas medicinales. Segunda consulta de la Industria Farmacéutica Budapest, Hungría, 21-25 de noviembre 1983. ONUDI ID/WG 393/11. pp 1-24.
- Pearson, S. y Mc Gavack, T. (1953). Rapid procedure for the determination of serum cholesterol. *J. Clin. Endocrinology*, 12, pp 1245.

- Penso, G. (1980). The role of WOH in la selection and characterization of medicinal plants (vegetable drugs). *J. of Ethnopharmacology*, 2. pp 183-188.
- Pesce, E. (1977). Productos farmacéuticos de plantas medicinales. *Medicina tradicional I.* (4). pp 5-21.
- Piatelli, M. e Imperato, J. (1971). Betacyanins of some chenopodiaceae. *Phytochemistry* 10. pp 3133-3134.
- PNUD. (1979). (Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo). Coperación económica y técnica en el sector farmacéutico. Informe general del proyecto INT/009/A/01/99. Guayana.
- Pozzo-Balbi, T., Nobile, L., Scapini, G. y Cini, M. (1976). Triterpenoid ketoacids from *Schinus molle* L. Gazz. Chem. Ital, 106. pp 785-789.
- Pozzo-Balbi, T., Nobile, L., Scapini, G. y Cini, M. (1978). The triterpenoid acid of shinus molle, phytochemistry, 17. pp 2107-2110.
- Pretsch, E., Clere, T., Seibl, J. y Simon, W. (1980). Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos. Alhambra, España. pp 51-104.
- Rovesti, P. (1973). Riv. Ital. Essenz. Prof., Piante offic., 45, 31.
- Rustembekova, G.B., Goryaev, M.I. y Dembitskii, A.D. (1974). Substances contained in essential oils 58 Hydrocarbons of Jerusalem Oak (*Chenopodium botrys*). SSR. Ser Khim. 24(1). pp 47-51. (En C.A. 84, 21980 u, 1976).
- Rustembekova, G.B., Goryaev, M.I. y Gladyshev, P.P. (1973). Isolation of betaine from *Chenopodium botrys*. KHIM prir Soedin. 9(4). pp 569. (En C.A. 80, 63782 d, 1974).

- Rustembekova, G.B., Goryaev, M.I., Krotova, G.I. y Dembitskii, A.D. (1975). Essential oils of tucuman province. Essence of *Chenopodium pumilio*. Essenze Deriv. Agrum. 45(1). pp 12-18. (En C.A. 84, 35173V, 1976).
- Salemink, C.A. (1980). Problems involved in structure determination of active principles of plants used in traditional medicine: extraction, separation and determination of characteristics of active principles. J. of ethnopharmacology 2, pp 135-143.
- Sánchez, R., Lerdo de Tejada, A. y González, V. (1980). Acción hipocolesterolemizante de *Gautteria gauneri*. Medicina tradicional III (9). pp 22-26.
- Schultes, R.E. (1980). El legado de la medicina popular. En Thomson, W.A. (Ed). Guía práctica ilustrada de las plantas medicinales Editorial Blume, España. pp 137-149.
- Secane, E. (1956). Further Crystalline Constituents of Gum Mastic. J. Chem. Soc. pp 4158-4160.
- Silverstein, R.M., Bassler, G.C. y Morroll, T.C. (1980). Identificación espectrométrica de compuestos orgánicos. Editorial Diana, México. pp 17-84.
- Solís, A. de. (1968). Historia de la conquista de México "Sepan Cuantos", No. 89. Editorial Porrúa, México. pp 171-172.
- Spencer, G.F., Tjarks, L.W. y Keliman, R. (1980). Alkil and phenylalkyl anacardic acids from *Knema elegans* seed oil. J. Nat. Prod., 43(6). pp 724-730.
- Subramanian, S.A. y Nair, A.G.R. (1972). Curr. Sci. 41: 62.
- Suga, T., Iwata, N. y Asakawa, Y. (1972). Bull. Chem. Soc. Japan, 45:2058.

- Sullivan, J.T., Richards, C.S., Lloid, H.A. y Krishna. G. (1982). Anacardic acid: molluscicide in Cashew nut shell liquid. *Plant. Med.*, 44(3). pp 175-177. (En C.A. 97:2222a, 1982).
- Susplugas, C., Balansard, G. y Rosi, J.C. (1980). Evidence of antihelmintic action of aerial parts from *Inula viscosa* Ait. Attribution to a sesquiterpenic acid of this activity. *Acta horticulturae*. 96. pp 19-33.
- Takemoto, T. y Nikjiama, T. (1957). *J. Pharm. Soc. Japan*. 77, 1157.
- Tempesta, E. (1980). Evaluation of local resources in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 2. pp 163-166.
- Toth, I., Bathory M., Szender K., Minker, E. y Blazzo, G. (1981). Ecdysteroids in chenopodiaceae. *Chenopodium album*. *Fitoterapia*. 52(2). pp 77-80.
- Van poojen, A.M. (1970). Pharmacohistorical studies. CXXXV. Boldo and Chenopodium, *Prarm. Tijdschr. Belg.* 47(9). pp. 191-197. (En C.A. 74-67632d, 1971).
- Viesca, T.C. (1977). La medicina tradicional mexicana. Sus raíces prehispánicas. *Medicina tradicional II* (3). pp 43-48.
- Viesca, T.C. (1978). El papel de la historia y la antropología en el estudio de las medicinas tradicionales mexicanas. *Medicina tradicional II* (5), pp 11-18.
- Wahid, M.A. y Samiullah. (1960). Standaritation of active principles of indigenous pharmacopoeial drugs found in west pakistan. *J. Sci. India Res.* 3, pp. 228-230. (En C.A. 58-1301 e, 1963).
- Wilson, H.D. y Heiser, C.B. (1979). The origin and evolutionary relationships of "Huauzontle" (*Chenopodium nuttalliae* Safford) domesticated chenopod of México. *Amer. J. Bot.* 66(2). pp. 198-206.

- Wollenweber, E. y Egger, K. (1971). *Phytochemistry*, 10. 225.
- Zárate, A.M.A. (1984). Germinación de dos especies medicinales: cuachalalate (*Amphipterygium adstringens*) y chaparro amargoso (*Castela tortuosa*). Tesis. Ing. Agrónomo Fitotecnista. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 59 pp.
- BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTARIA
- Bye, R. (1986). Medicinal Plants of the Sierra Madre: Comparative Study of Tarahumara and Mexican Market Plants. *Economic Botany* 40(1), pp. 103-124.
- De Pascual, T.J., Bellido, I.S., Torres, C., Sastre, B.A. y Grande (1981). Phellandrene endoperoxides from the essential oil of *Chenopodium multifidum*. *Phytochemistry* 20, pp. 163-165.
- Díaz, G.J.L. (1974) Índice y sinonimia de las plantas medicinales de México. IMEPLAM, México, pp. 138-138.
- Díaz, G.J.L. (1976). Uso de las plantas medicinales de México. Monografías científicas II. IMEPLAM. Méx.
- Harborne, J.B., Mabry, T.J. y Mabry, H. (1975). *The Flavonoids*. Chapman and Hall.
- Hernandez F. (1959). *Historia Natural de Nueva España*. Obras Completas UNAM. México 4 volúmenes.
- Heywood, V.H. (Ed.). (1978). *Flowering plants of the world*. Oxford University Press. Oxfor.
- Lozoya, L.X. (Ed.) (1976). Estado actual del conocimiento en plantas medicinales mexicanas. IMEPLAM. México.
- Quezada, N. (1975). Métodos Anticonceptivos y abortivos tradicionales. *Anales de Antropología*. Instituto de Investigaciones Antropológicas UNAM. México. pp. 223-242.
- Rzedowski, J. (1978). *Vegetación de México*. LIMUSA, México. pp. 210.
- Rzedowski, J. y Rzedowski, G.C. (1979). *Flora Fanerogámica del Valle de México*. CECSA. México. pp. 186-144.

- Sahagún, F.B. (1969). Historia General de las Casas de Nueva España. Editorial Porrúa, México, 4 volúmenes
- Shriner, R.L., Fuson, R.C. y Curtin, D. y (1980) Identificación sistemática de compuestos orgánicos. LIMUSA, México.
- Velázquez, M.X. (1979). Epazote (Chenopodium ambrosioides L.) Medicina Tradicional II (6), Fascículo.
- Wehrli, F.W. y T. Wirthlin (1978). Interpretation of carbon-13NMR Spectra, Hayden. and Son Ltd.
- Lozoya, X. 1984. Bibliografía básica sobre Herbolaria Medicinal de México. Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología.

APENDICE

EVALUACION BIOLOGICA DE TRITERPENOS RELACIONADOS ESTRUCTU-
RALMENTE CON EL ACIDO MASTICADIENÓNICO, COMO AGENTES HIPO
COLESTEROLEMIANTE

EVALUACION BIOLOGICA DE TRITERPENOS RELACIONADOS ESTRUCTURAL-
MENTE CON EL ACIDO MASTICADIENONICO COMO AGENTE HIPOCOLESTE-
ROLEMIANTE

En un estudio previo (Navarrete, 1982) se demostró el efecto hipocolesterolemiante del ácido masticadienónico en ratas, por lo que muy posiblemente esté compuesto sea el principio activo de la actividad hipocolesterolemiante de la corteza de cuachalalate.

Con el propósito de evaluar la actividad biológica de moléculas similares al ácido masticadienónico, se procedió a evaluar seis compuestos triterpenicos adicionales, el ácido 3-epi-isomasticadienónico (I), ácido isomasticadienónico (II), ácido 3 β -elemónico (III), metil ester del ácido isomasticadienónico (IV), metil ester del ácido isomasticadienónico (V) y metil ester del ácido 3-epi-isomasticadienónico (VI), cuyos estructuras se muestran en las figuras A1 y A2. y todos fueron aislados del Schinus molle L. (Ballesteros y Alpide, 1984).

Para realizar la evaluación farmacológica de los triterpenos (I-IV) como agentes hipocolesterolemiantes se formaron grupos de 6 animales cada uno (rata cepa C₂ZV) si-

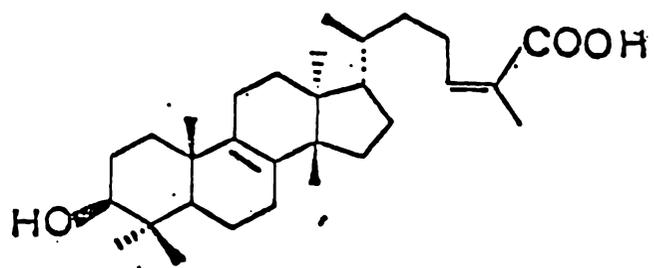
guiendo un diseño completamente al azar. Se corrieron dos experimentos (A y B) usando como testigo positivo valeriato de estradiol y, como blanco aceite de maíz (inyectable). La administración se hizo por vía subcutánea. La variable de respuesta fue la concentración de colesterol total sérico dada en mg/100 ml. La cuantificación de colesterol total sérico se determinó a las 24 horas de la administración mediante el método descrito por Pearson y Mc Gavack (1953). El valerato de estradiol (testigo positivo) se administró a una dosis de 13 mg/kg de peso y los compuestos probados se administraron a una dosis equimolecular con respecto al valerato del estradiol disueltos en aceite de maíz.

En el experimento A se evaluaron los compuestos I al IV, y los resultados se presentan en la tabla A1. El análisis de varianza y la separación de medias se da en la tabla A2. Los resultados anteriores muestran que sólo el compuesto IV (metil éster del ác. isomasticadienónálico) muestra un ligero efecto hipocolesterolemia al bajar los niveles de colesterol en un 10% con respecto al lote control. (Lote A1).

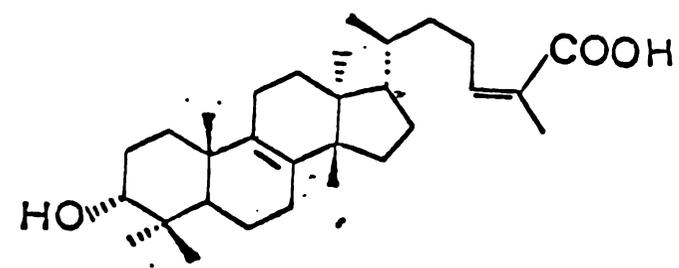
En el experimento B se evaluaron los compuestos IV, V y VI y los resultados se muestran en la tabla A3. El

análisis de varianza y la separación de medias se muestra en la tabla A4. En este experimento nuevamente el compuesto IV baja un 10% los niveles de colesterol.

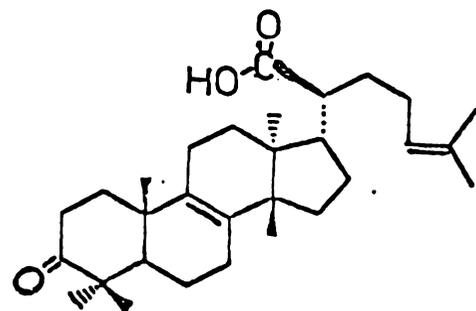
Los experimentos anteriores muestran que cambios en la estructura del ácido masticadienónico si modifican su acción hipocolesterolemianta pues sólo el compuesto IV (metil ester del Ac. isomasticadienónico), muestra un ligero efecto hipocolesterolemianta, y el resto de los compuestos probados tienen un comportamiento similar al efecto que causa el aceite de maíz (vehículo). Los resultados anteriores no son suficientes para establecer una relación estructura-actividad, pero si mostraron que los cambios estructurales modifican la acción biológica hipocolesterolemianta del ácido masticadienónico.



I. ác 3-epi-isomasticadienónico

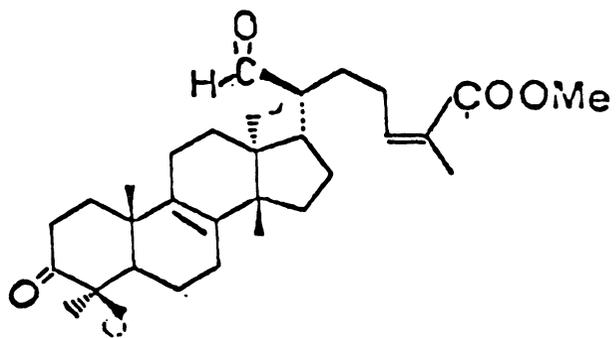


II. Acido isomasticadienónico

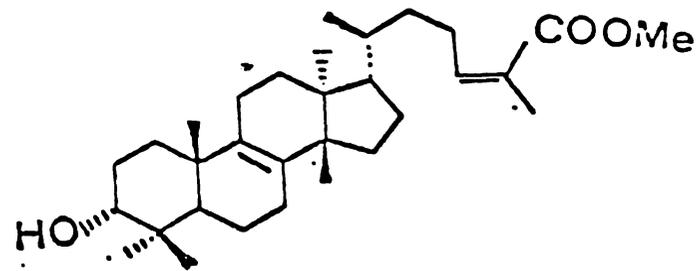


III. Ac. β elemonico

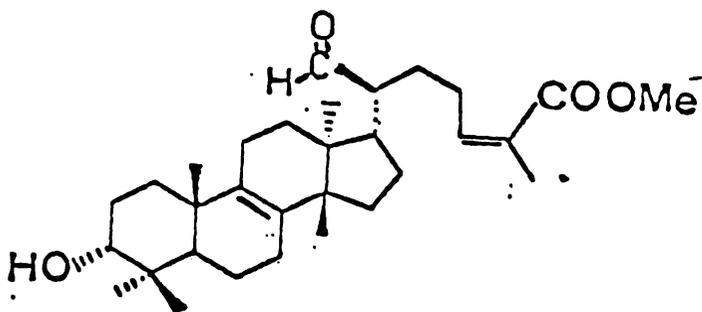
Fig. A1. Estructura de los triterpenos I, II y III evaluados como hipocolesterolemiantes.



IV. Metil ester del ácido isomasticadienoná-
lico.



V. Metil ester del ácido isomas-
ticadienólico



VI. Metil ester del ácido 3-epi-isomasticadienolálico

Fig. A2. Estructura de los tritérpenos IV, V y VI evaluados como agentes hipoco-
lesterolemiantes.

EXPERIMENTO A

Tabla A1. Niveles de Colesterol total serico (mg/100 ml).

TRATAMIENTOS:	A ₂	A ₇	A ₆	A ₁	A ₃	A ₅	A ₄
COMPUESTO*	Testigo (V.E.)	IV	III	Blanco (a. maíz)	Ref. (s.t.)	II	I
	78.8	101.05	108.03	120.13	110.05	87.87	114.08
	106.01	102.94	119.12	125.17	114.08	119.12	130.21
	85.85	106.01	98.96	110.97	108.03	125.17	137.26
	88.88	104.00	126.17	114.08	116.09	139.28	120.13
	82.83	100.05	125.17	96.94	120.13	108.03	116.09
		98.96	96.94		119.12	114.08	121.13
Conc. media de	88.47	102.17	112.39	113.44	114.58	115.59	113.45
Colesterol (C.V.)**	(10.6)	(2.3)	(11.8)	(8.4)	(3.8)	(13.6)	(8.4)

- * Compuesto
- 1: ac. 3-epi-isomasticadienólico
 - II: ác. isomasticadienólico
 - III: ác. β -elemónico
 - IV: metil ester del ácido isomasticadienonálico
 - V.E.: Valerato de estradiol

** (C.V.) = Coeficiente de variación = (DE/media) (100)

Tabla A2. ANALISIS DE VARIANZA DEL EXPERIMENTO A

Modelo: $y_{ij} = \mu_i + \tau_i + \epsilon_j(i)$

Hipotesis: $H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$ y

$H_a =$ al menos una es diferente

Fuente de variación	g.l	s.c.	c.m.	Fobs.	Freq. (0.05)
Tratamientos (Ti)	6	3815.78	635.96	5.29	2.39
Error (Ej (i))	33	3965.13	120.55		

Como Fobs Freq: no se acepta H_0 .

Separación de medias*

A₂ A₇ A₆ A₁ A₃ A₅ A₄

* Por la mínima diferencia significativa, contrastes ortogonales y la prueba de Tuckey

** A₇ = Comp IV metil ester del ác. isomasticadienonálico disminuye 10% los niveles de colesterol.

EXPERIMENTO B

Tabla A3. Niveles de Colesterol Total Serico (mg/100 ml).

TRATAMIENTO	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅
Compuesto*	IV	V	VI	Testigo (V.E.)	Blanco (a. maíz)
	84.86	97.89	107.91	63.82	81.86
	80.87	99.89	87.87	67.83	86.87
	78.85	71.84	95.89	61.82	86.87
	80.37	112.92	94.88	56.81	91.88
	80.87	104.90	83.86	61.82	97.89
Conc. media de	81.16	97.48	94.08	62.42	89.07
colesterol (C.V.)**	(2.4)	(14.19)	(8.7)	(5.7)	(6.0)

* Compuesto: IV: metil éster del ác. isomasticadienonálico

V: metil éster del ác. isomasticadienólico

VI: metil éster del ác. 3-epi-iso-masticadienolálico

** (C.V.) = Coeficiente de variación = (DE/media) (100)

Tabla A4. Análisis de varianza del experimento B.

Modelo: $Y_{ij} = u_i + T_i + E_j (i)$

$H_0 = u_1 = u_2 = u_3 = u_4 = u_5$

$H_a =$ al menos una es diferente

Fuente de variación	g.l.	s.c.	c.m.	Fobs	Freq. (0.05)
Tratamientos (T_i)	4	3812.7	953.175	11.83	2.27
Error ($E_j (i)$)	20	1615.13	80.756		

Como Fobs Freq.: . no se acepta H_0 .

Separación de medias*

B₄ B₁** B₅ B₃ B₂

* Por la MDS, contrastes ortogonales y la prueba de Tuckey

** B₁: comp IV, baja nuevamente 10% los niveles de colesterol.