



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

**INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
CENTRO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS**

**Estudio Químico de las Hojas y Tallos de
Mimosa aculeaticarpa var. *biuncifera* (Benth.)**

Barneby

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO

PRESENTA:

CRISTAL CABRERA MIRANDA

DIRECTOR DE TESIS: DR. J. JESÚS MARTÍN TORRES VALENCIA

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	iii
ÍNDICE DE TABLAS	vi
SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	vii
RESUMEN	ix
1. INTRODUCCIÓN	
1.1. Los productos naturales y la medicina	1
1.2. Especies de <i>Mimosa</i>	3
2. ANTECEDENTES	
2.1. Saponinas triterpénicas en especies del género <i>Mimosa</i>	8
2.2. Taninos aislados en especies del género <i>Mimosa</i>	10
2.3. Flavonoides en especies del género <i>Mimosa</i>	12
3. OBJETIVOS	15
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1. Extracto clorofórmico de las hojas de <i>Mimosa aculeaticarpa</i> var. <i>biuncifera</i>	16
4.2. Extracto metanólico de los tallos de <i>Mimosa aculeaticarpa</i> var. <i>biuncifera</i>	23
5. CONCLUSIONES	69
6. PARTE EXPERIMENTAL	
6.1. General	73
6.2. Recolección e identificación de la planta	74
6.3. Obtención de los extractos	75

6.4. Obtención y separación cromatográfica del extracto clorofórmico de las hojas de <i>Mimosa aculeaticarpa</i> var. <i>biuncifera</i>	76
6.5. Obtención y separación mediante cromatografía en columna del extracto metanólico de los tallos de <i>Mimosa aculeaticarpa</i> var. <i>biuncifera</i>	77
7. REFERENCIAS	89
GLOSARIO	94

ÍNDICE DE FIGURAS

1.	<i>Mimosa pudica</i> L.	5
2.	<i>Mimosa tenuiflora</i> Poir (Tepescohuite).	6
3.	Estructura básica de un flavonoide.	13
4.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de escualeno (1) en CDCl_3 .	17
5.	Espectro de RMN de ^{13}C (base de datos de Aldrich) de escualeno en CDCl_3 .	18
6.	Cromatograma del compuesto 1 .	19
7.	Espectro de masas de escualeno (1) (arriba) y espectro de masa de referencia (base de datos Wiley, 138, abajo).	20
8.	Biosíntesis del escualeno y lanosterol.	21
9.	Cromatograma de los eluatos 1-3 de la CC de la fracción acetona del extracto MeOH de los tallos de <i>Mimosa aculeaticarpa</i> var. <i>biuncifera</i> .	25
10.	Espectro de masa del compuesto 2 .	26
11.	Espectro de masa del compuesto 3 .	27
12.	Espectro de masa del compuesto 4 .	28
13.	Espectro de masa del compuesto 5 .	29
14.	Espectro de masa del compuesto 6 .	30
15.	Espectro de masa del compuesto 7 .	31
16.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de lupeol (8) en CDCl_3 .	33
17.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de lupeol (8) en CDCl_3 .	34
18.	Experimento APT (^{13}C) de lupeol (8) en CDCl_3 .	35
19.	Espectro de masas de lupeol (8).	36
20.	Espectro de masa de neofitadieno (9) (arriba) y espectro de masa de referencia (base de datos Wiley, 138, abajo).	39
21.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de (+)-pinitol (10) en D_2O .	41
22.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de una mezcla de (+)-pinitol (10) y α -D-glucosa (11) relación molar (1:3) en D_2O .	42
23.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) a) ácido cafeico (Aldrich) en CDCl_3 -DMSO- d_6 , b) éster metílico del ácido caféico (12) en CDCl_3 .	46

24.	Ampliación del espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del éster metílico del ácido caféico (12) en CDCl_3 .	47
25.	Cromatograma de la fracción B.	49
26.	Espectro de masa del ácido linoléico (13) (arriba) y espectro de masa de referencia (base de datos Wiley, 138, abajo).	50
27.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de galato de metilo (14) en CDCl_3 -DMSO- d_6 (1:1).	52
28.	CCF del galato de metilo obtenido de <i>Mimosa aculeaticarpa</i> var. <i>biuncifera</i> (izquierda y centro) y la muestra estándar aislada de <i>Geranium bellum</i> (derecha).	53
29.	CCF de quercetina aislada de <i>Mimosa aculeaticarpa</i> var. <i>biuncifera</i> (izquierda) y la muestra estándar aislada de <i>Geranium bellum</i> (derecha).	55
30.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de taxifolina (15) en DMSO- d_6 .	57
31.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de taxifolina (15) en DMSO- d_6 .	58
32.	Experimento COSY de taxifolina (15) en DMSO- d_6 .	59
33.	Experimento HMBC de taxifolina (15) en DMSO- d_6 .	60
34.	Experimento HMQC de taxifolina (15) en DMSO- d_6 .	61
35.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de quercetina (16) en DMSO- d_6 .	64
36.	Ampliación del espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de quercetina (16) en DMSO- d_6 .	65
37.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de una muestra auténtica de quercetina en DMSO- d_6 .	66
38.	Parte aérea de <i>Mimosa aculeaticarpa</i> var. <i>biuncifera</i> (Benth.) Barneby.	74
39.	Obtención de los extractos de <i>Mimosa aculeaticarpa</i> var. <i>biuncifera</i> .	75
40.	Tratamiento del extracto MeOH de los tallos de <i>Mimosa aculeaticarpa</i> var. <i>biuncifera</i> .	80
41.	Tratamiento del extracto MeOH de los tallos de <i>Mimosa aculeaticarpa</i> var. <i>biuncifera</i> .	81
42.	Tratamiento de las aguas madres.	82

43. Obtención de la fase de *n*-BuOH del extr. MeOH (tallos) de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera*. 84
44. Extracción con acetona del extr. MeOH de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera* (tallos). 87

ÍNDICE DE TABLAS

1.	Usos de las especies de <i>Mimosa</i> .	4
2.	Datos de RMN de ^1H (400 MHz) y ^{13}C (100 MHz) de lupeol (8), δ en ppm, disolvente CDCl_3 .	37
3.	Datos de RMN de ^1H (400 MHz) de (+)-pinitol (10), δ en ppm, disolvente D_2O .	43
4.	Datos de RMN de ^1H (400 MHz) del éster del ácido caféico (12), δ en ppm, disolvente CDCl_3 .	48
5.	Datos de RMN de ^1H (400 MHz) de galato de metilo (14), δ en ppm, disolvente CDCl_3 -DMSO- d_6 (1:1).	53
6.	Datos espectroscópicos de taxifolina (15), δ en ppm, disolvente DMSO- d_6 .	62
7.	Datos de RMN de ^1H (400 MHz) de quercetina (16), δ en ppm, disolvente DMSO- d_6 .	67

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

a. C.	Antes de Cristo
AcOEt	Acetato de etilo
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
APT	Attached proton test
<i>n</i> -BuOH	1-Butanol
° C	Grados Celsius
CC	Cromatografía en columna
CCF	Cromatografía en capa fina
cm	Centímetro
COSY	Correlation spectroscopy
<i>d</i>	Doble
<i>dd</i>	Doble de dobles
Fig	Figura
g	Gramo
h	Horas
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
Kg	Kilogramo
L	Litro
<i>m</i>	Múltiple
mm	Milimetro
MeOH	Metanol
mg	Miligramo
MHz	Megahertz
min	Minutos
mL	Mililitro
mM	Milimolar
MS	Espectro de masas

mult	Multiplicidad
ppm	Partes por millón
Rf	Relación de frente
RMN de ^1H	Resonancia Magnética de protón
RMN de ^{13}C	Resonancia Magnética de carbono trece
rpm	Revoluciones por minuto
<i>s</i>	Simple
<i>t</i>	Triple
<i>td</i>	Triple de dobles
TMS	Tetrametilsilano
W	Peso
δ	Desplazamiento químico

RESUMEN

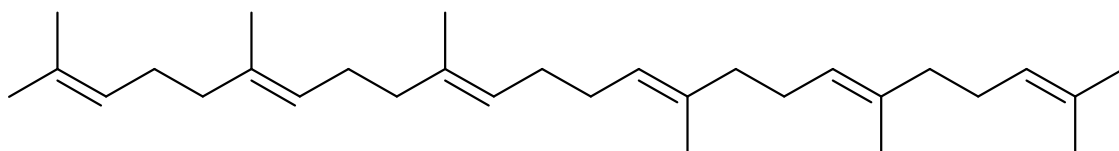
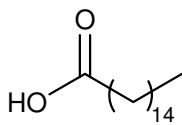
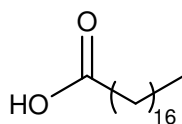
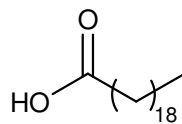
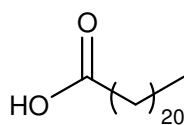
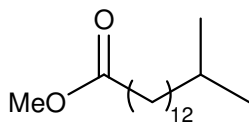
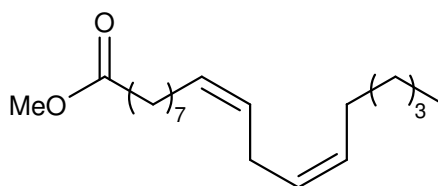
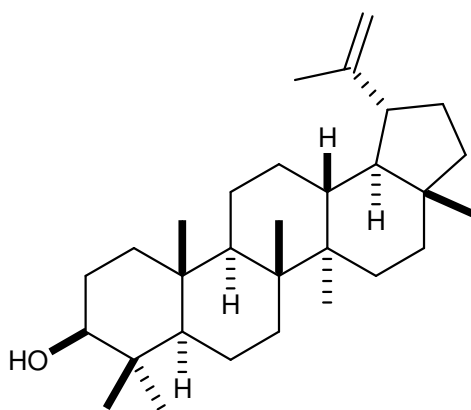
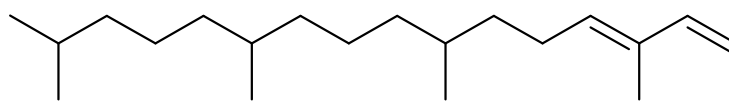
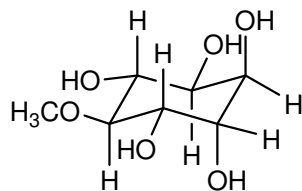
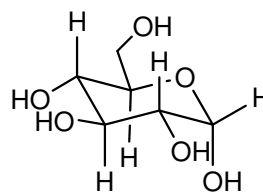
El género *Mimosa* comprende alrededor de 500 especies, el 90 % de las cuales son americanas y el resto se encuentra en África, Asia y Australia. En México es uno de los géneros con mayor número de especies (100-110), de las cuales 60 son consideradas como endémicas.

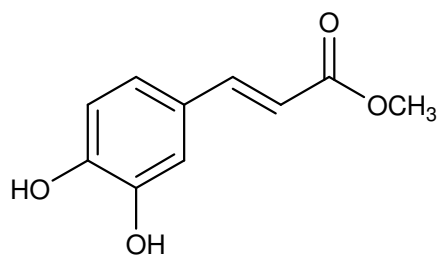
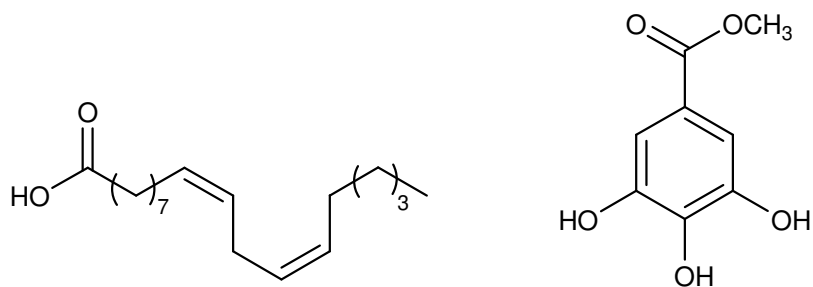
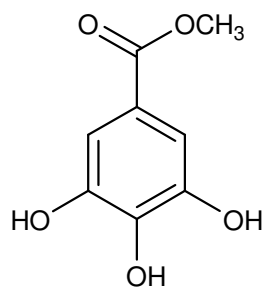
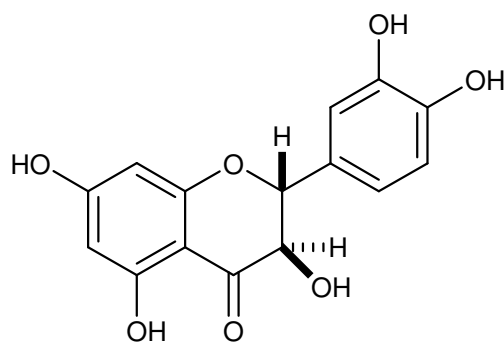
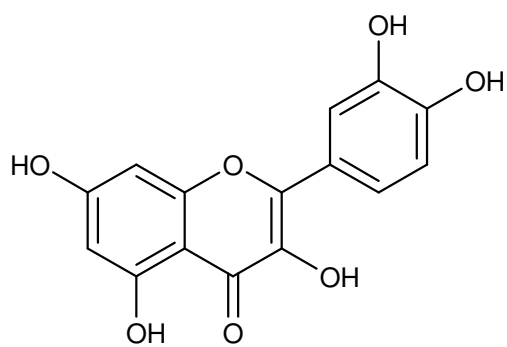
Algunas especies han sido empleadas en el tratamiento de la esterilidad, menstruación irregular, para la fiebre, dolores musculares, dolores de riñón, como antiparasitarios, agentes cicatrizantes, etc.

En este trabajo se presenta el estudio químico de las hojas y tallos de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera* (Benth.) Barneby, mediante diferentes técnicas de separación cromatográfica, lo que dio lugar al aislamiento y caracterización de los compuestos **1-16**. Algunas de estas sustancias presentan actividad biológica importante, como es el caso de los triterpenos **1** y **8**, así como el inositol **10**, el derivado del ácido gálico **14** y los flavonoides **15** y **16**.



Mimosa aculeaticarpa var. *biuncifera* (Benth.) Barneby

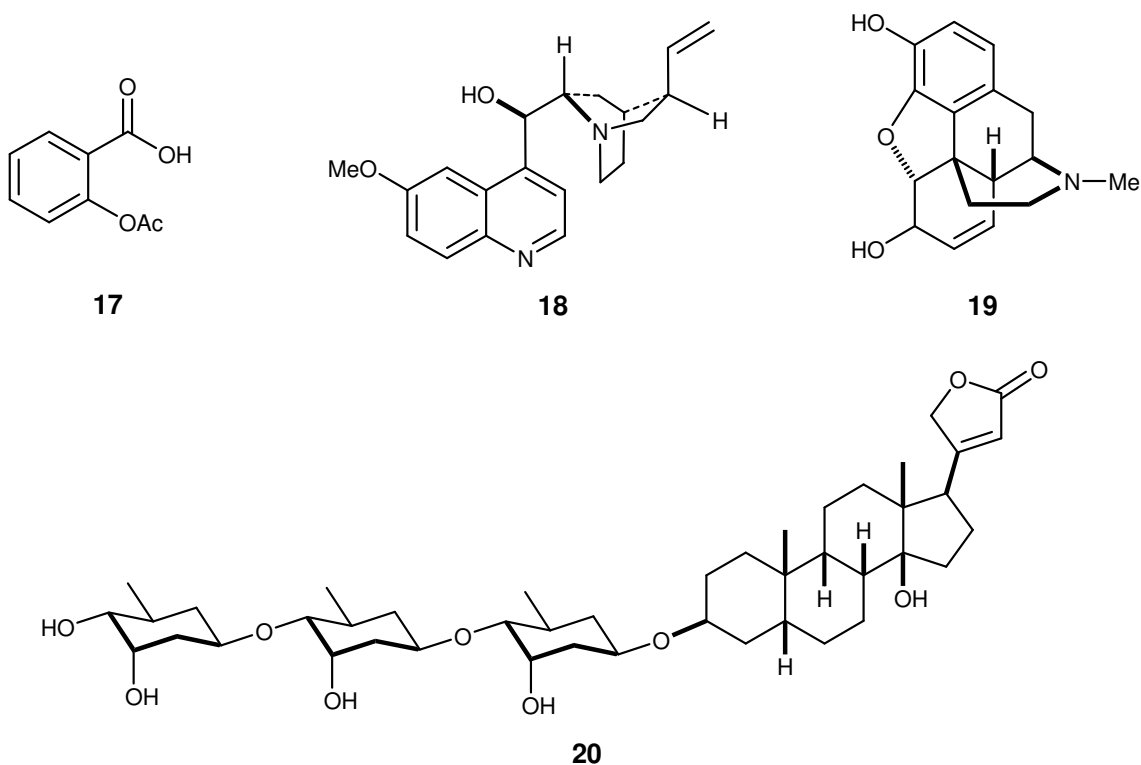
**1****2****3****4****5****6****7****8****9****10****11**

**12****13****14****15****16**

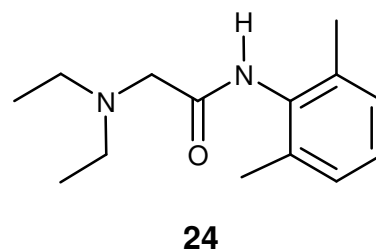
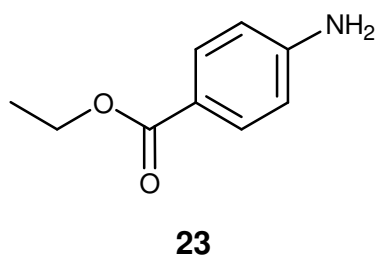
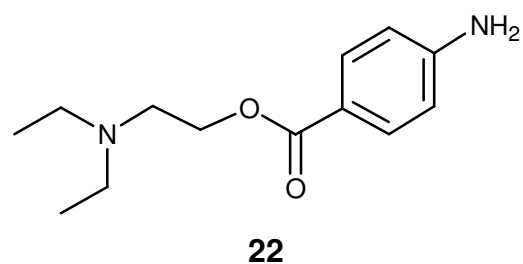
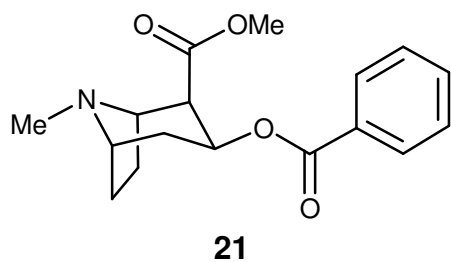
1. INTRODUCCIÓN

1.1. Los productos naturales y la medicina

La investigación sobre productos naturales ha permitido contar con sustancias altamente promisorias para la cura de enfermedades tales como algunos tipos de cáncer, la artritis e infecciones causadas por hongos, bacterias y virus. Por cientos de años los productos naturales y la medicina han estado estrechamente relacionados a través del uso de la medicina tradicional. Los estudios químicos, farmacológicos y clínicos de estas medicinas tradicionales, compuestas principalmente de plantas, fueron las bases de la mayoría de los primeros medicamentos, como por ejemplo la aspirina (**17**), la quinina (**18**), la morfina (**19**) y la digitoxina (**20**).¹



En varias ocasiones las sustancias naturales bioactivas han servido de prototipos para el desarrollo de fármacos eficaces para el control de algún problema en particular, por ejemplo la cocaína (**21**), aislada de las hojas de *Erythroxylon coca*, sirvió como modelo para la síntesis de principios activos como la procaína (**22**), la bezocaína (**23**) y la lidocaína (**24**), los cuales se usan hoy en día como anestésicos locales.²



Actualmente, al menos 119 sustancias químicas, derivadas de 90 especies de plantas, pueden ser consideradas como fármacos importantes y que son usados en uno o más países. De estas 119 sustancias, el 74 % se descubrió como resultado de estudios químicos enfocados en el aislamiento de sustancias activas de las plantas usadas en la medicina tradicional.³

Un estudio en 1993, demostró que la síntesis o diseño de un porcentaje superior al 50 % de la mayoría de los fármacos prescritos en Estados Unidos tuvieron su origen de productos naturales aislados de especies medicinales.³

1.2. Especies de *Mimosa*

El género *Mimosa* (Leguminosae) comprende alrededor de 500 especies de las cuales el 90 % se encuentran en el continente Americano, principalmente en Sudamérica, y el resto en África, Asia y Australia en zonas cálidas y tropicales. En México existen cerca de 110 especies, 60 de las cuales son consideradas endémicas. En el estado de Hidalgo se tienen registradas al menos 8 especies de *Mimosa*, entre ellas *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera* (Benth.) Barneby.⁴

Las especies del género *Mimosa* han sido empleadas en medicina tradicional para el tratamiento de problemas del corazón y pulso débil, infecciones en los ojos,⁵ la migraña, dolor de cabeza, insomnio, diarrea, disentería, la fiebre, hemorroides,⁶ dolores de hígado, dolores de riñón, tos,⁷ contra el reumatismo y fatiga,⁸ y heridas (agente cicatrizante).⁹ En la tabla 1 se enlistan algunas especies que han tenido uso medicinal.⁸

Tabla 1. Uso de las especies de *Mimosa*.⁸

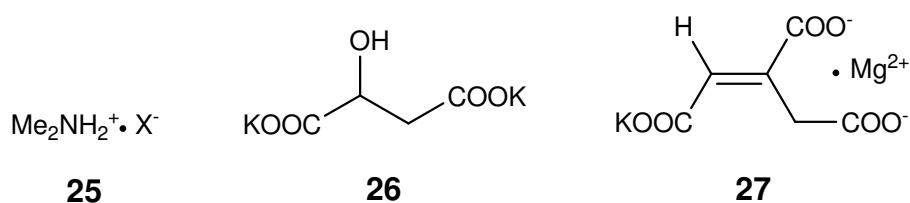
Especie	Forma biológica (m)	Usos									
		C	E	Fo	Fu	Fr	Lf	M	O	R	Sh
* <i>M. aculeaticarpa</i> Ortega	Arbusto (1.5-2.5)			X		X					
* <i>M. adenantheroides</i> (M. Martens & Galeotti) Benth.	Arbusto (1.5-2.0)			X							
<i>M. albida</i> Humb & Bonpl. ex Willd.	Arbusto (0.4-1.5)			→			·X	→			
* <i>M. benthamii</i> J. F. Macbr.	Arbusto/árbol (1.0-6.0)	X			X						→
<i>M. biuncifera</i> Benth.	Arbusto (0.5-1.5)	→		X	X	→	→			→	
** <i>M. brevispicata</i> Britton.	Arbusto (0.6-3.5)			X	X						
** <i>M. calcicola</i> B. L. Rob.	Arbusto (0.3-1.8)			X							
<i>M. distachya</i> Cav.	Arbusto (2.0-2.5)			X	X		X	·→			
* <i>M. lacerata</i> Rose	Arbusto/árbol (0.6-5.0)			X	X						
* <i>M. lactiflua</i> Delile ex Benth.	Arbusto/árbol (1.0-3.0)			X	X			→			
** <i>M. luisana</i> Brandegee.	Arbusto/árbol (1.0-4.5)			X	X		X				
* <i>M. mollis</i> Benth.	Arbusto/árbol (3.0-4.0)			X					→		
* <i>M. polyantha</i> Benth.	Arbusto (1.0-4.0)			X	X		X				
** <i>M. purpussi</i> Brandegee.	Arbusto (0.2-1.0)			X							
** <i>M. texana</i> (A. Gray)	Arbusto/árbol (1.5-3.0)		→	X	X			→			

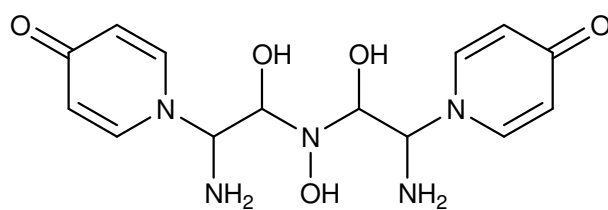
* Especies endémicas de México; ** Especies endémicas del Valle Tehuacán-Cuicatlán; X Usos registrados en el Valle; · BADEPLAM (Banco de información Etnobotánica de Plantas Mexicanas); → Usos registrados fuera del Valle (Camargo- Ricalde, *et al.*, 2001); C = construcción, E = comestible, Fo = forraje, Fu = combustible, Fr = industria peletera, Lf = cerca viviente, M = medicinal, O = ornamental, R = rastrillo, Sh = Fuente de miel.

Las especies del género *Mimosa* presentan un comportamiento interesante, cuando se tocan sus hojas éstas se cierran en un movimiento que a veces es lento en algunas especies y en otras es rápido, lo cual permite el asombro de la persona. A este movimiento de respuesta a un estímulo físico se le conoce como seismonástico. También es conocido que de noche cierran sus hojas y de día las abren, movimiento al cual se le ha llamado nictinástico. *Mimosa pudica* L. (Fig. 1) es tal vez la especie más popular por estos comportamientos y en la actualidad se conocen las sustancias responsables de sus movimientos. A la sal de dimetilamonio (**25**), el *L*-malato de potasio (**26**) y el *trans*-aconitato de magnesio y potasio (**27**) son considerados como los principales metabolitos responsables del movimiento seismonástico, mientras que a la mimopudina (**28**) y el 5-*O*-glucopiranosilgentisiato de potasio (**29**) se les ha atribuido el movimiento nictinástico.¹⁰

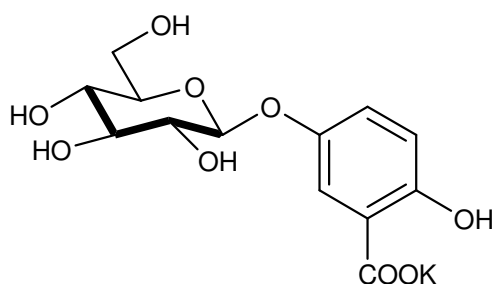


Figura 1. *Mimosa pudica* L.





28



29

En México, la especie más conocida e importante es *Mimosa tenuiflora* Poir (Tepescohuite) (Fig. 2), la cual fue muy empleada para aliviar las quemaduras de la erupción del volcán Chichonal en Chiapas en 1982, en la explosión del gas natural en San Juanico, D.F. en 1984, en el terremoto de 1985 que devastó la ciudad de México y el accidente aéreo en Toluca en 1986. La especie todavía tiene un uso importante como planta medicinal y es común encontrarla en tiendas naturistas o mercados nacionales.⁹



Figura 2. *Mimosa tenuiflora* Poir (Tepescohuite)

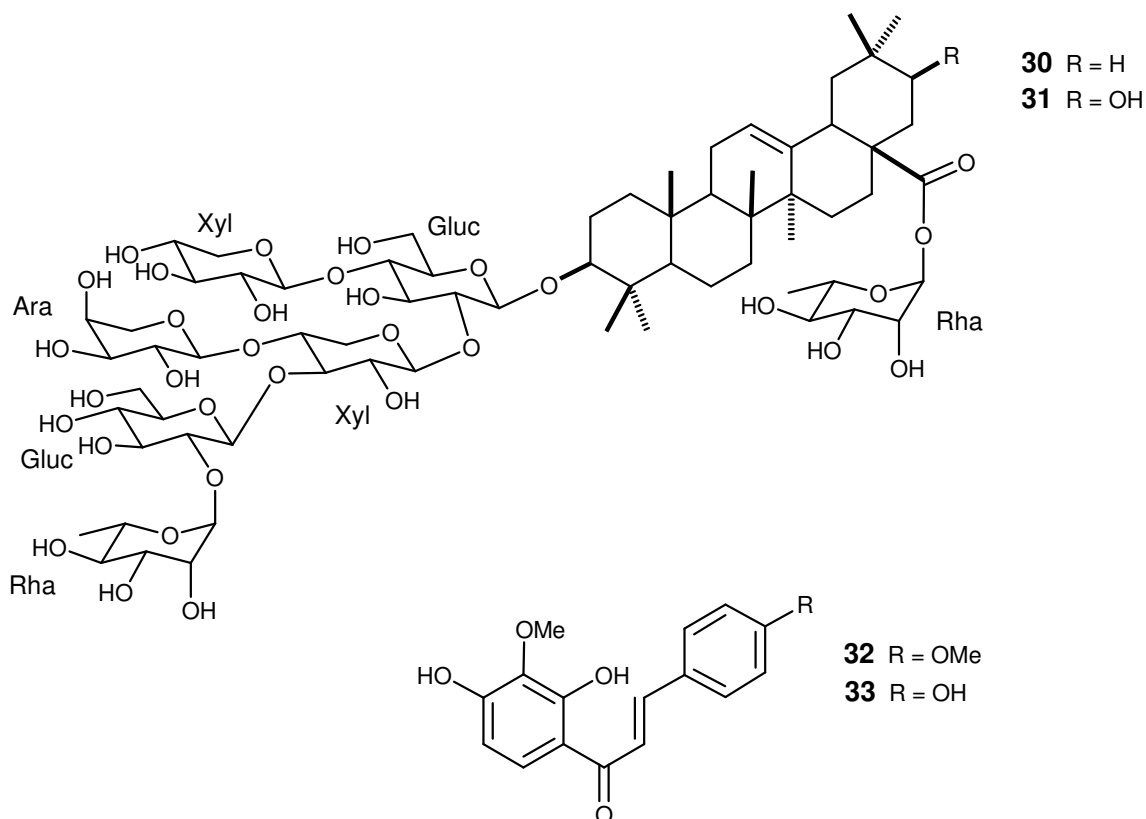
Pocos estudios químicos se han llevado a cabo sobre especies del género *Mimosa* en el mundo. En México, excepto por *M. tenuiflora*,⁹ no se han encontrado estudios químicos sobre las especies mexicanas. En cambio, si se ha estudiado o registrado el uso medicinal de estas especies,⁸ mostrando que poseen importante actividad biológica y representan una fuente natural de sustancias útiles que en un futuro pudiesen emplearse como medicamentos. *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera* es una especie que crece de manera abundante en el estado de Hidalgo y, hasta donde tenemos conocimiento, no ha sido explorada químicamente, por lo cual se decidió llevar a cabo su estudio químico con la finalidad de contribuir a la química de esta especie y a la del género *Mimosa*, así como al conocimiento de sustancias útiles obtenidas de fuentes naturales.

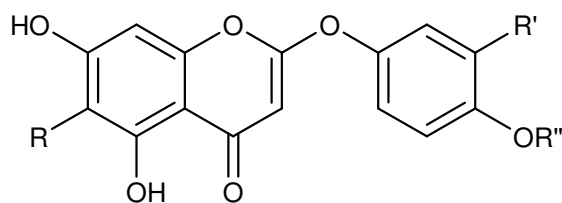
2. ANTECEDENTES

2.1. Saponinas triterpénicas en especies del género *Mimosa*

Los estudios químicos que se han llevado a cabo sobre las especies de *Mimosa* han revelado que saponinas triperpénicas, compuestos fenólicos y flavonoides son sus principales constituyentes.

De *M. tenuiflora* se aislaron las saponinas triterpénicas **30** y **31**¹¹ y las chalconas denominadas kukulkaninas A y B (**32** y **33**).⁹ También de esta especie se obtuvieron las fenoxicromonas **34-36**, cuyas características estructurales son poco comunes.¹²





34 R = OMe, R' = OH, R'' = Me

35 R = R' = OMe, R'' = H

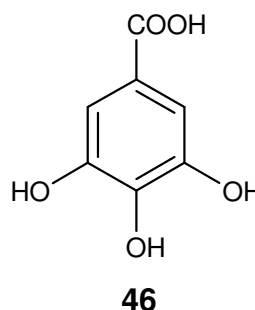
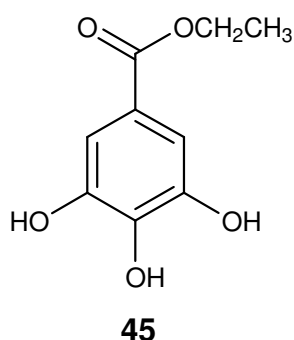
36 R = H, R' = OH, R'' = Me

Las saponinas triterpénicas aisladas de *Mimosa*, son capaces de estimular la proliferación de timocitos y esplendocitos del ratón *in vitro*.¹¹

Las saponinas son glicósidos, que, incluso a bajas concentraciones producen espuma cuando se agitan en una solución acuosa.¹³ Las principales acciones reconocidas para saponinas de diferentes especies son como agentes expectorantes, diurético, hemático, antiestrés, tónicos vigorizante, efecto antiedematoso, antiinflamatorio, antihemorroidal, cicatrizante, antimicrobiano, antivírico, antimicótico, antioxidante y molusquicida. En la industria farmacéutica se emplean como agentes espumantes y emulgentes.¹⁴ Se encuentran en frijoles, lentejas, espinacas, en la avena, el ginseng y en la soja.¹³

2.2. Taninos aislados en especies del género *Mimosa*

Mimosa hamata Willd, es ampliamente distribuida en Pakistán e India, el extracto metanólico de la parte aérea posee propiedades antimicrobianas contra *Salmonella typhosa*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Diplococcus pneumoniae*, *Shigella dysenteriae*, etc. Los estudios realizados por Hussain N., *et al.* demostraron que su actividad fue mayor en comparación con la estreptomicina. De esta especie se lograron purificar y caracterizar el galato de etilo (**45**) y ácido gálico (**46**).¹⁵



La corteza (rica en taninos y otros compuestos) de *Mimosa tenuiflora* se ha utilizado en la industria cosmética en México y otros países como Francia, Italia y Japón.⁸

Los taninos son compuestos polifenólicos, más o menos complejos, de origen vegetal, masa molecular relativamente elevada, hidrosolubles, dando a veces disoluciones coloidales en agua, solubles también en alcohol y en acetona e insolubles en disolventes orgánicos apolares; están presentes en una amplia variedad de especies vegetales, incluyendo entre ellas el sorgo, los chícharos y las semillas de algodón.¹⁶

Las propiedades más interesantes de los taninos se deben a su capacidad de combinarse con diversas sustancias formando complejos. El empleo más antiguo conocido de estas sustancias, es en la industria del curtido; además se emplean también en pinturas y adhesivos.¹⁶

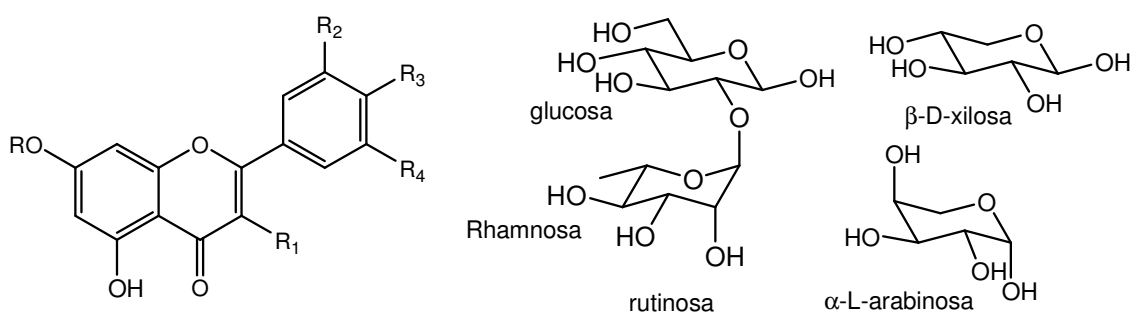
En cuanto a la actividad farmacológica de los taninos podemos destacar sus propiedades astringentes, tanto por vía interna como tópica; por vía interna se emplean como antidiarreicos, favoreciéndose esta actividad por cierto efecto antiséptico, ya que precipitan las enzimas extracelulares secretadas por los microorganismos causantes de las infecciones, lo que hace que sean de utilidad en diarreas infecciosas; poseen también propiedades vasoconstrictoras, por lo que se utilizan tanto interna como tópicamente en el tratamiento de afecciones vasculares como várices o hemorroides y en pequeñas heridas. Su uso tópico está indicado en diversos problemas de la piel, empleándose en ciertas dermatosis así como en cosméticos como tónicos astringentes. Presentan también propiedades antioxidantes, comportándose como captadores de radicales libres.¹⁶

Actúan como inhibidores enzimáticos al precipitar la fracción proteica de las enzimas; también se han utilizado como antídotos en diversos envenenamientos.¹⁶

Los taninos tienen efectos negativos al utilizarlos como fuente alimenticia en animales debido a que reducen la digestión y absorción de varios nutrientes al formar complejos con las proteínas.¹⁷

2.3. Flavonoides en especies del género *Mimosa*

En *Mimosa pigra* y *M. invisa* se han encontrado kaempferol (**47**), apigenina (**48**), acetina (**49**) y los flavonoides glicosidados: 3-rhamnósido de quercetina (**50**), 3-rutinósido de quercetina (**51**), 3,7-dirhamnósido de quercetina (**52**), 3-rhamnósido de kaempferol (**53**), 3,7-dirhamnósido de kaempferol (**54**) y 7-arabinósido de luteolina (**55**). De *M. pudica* y *M. longihirsuta*, se aisló 7-rhamnósido de quercetina (**56**), 3-rutinósido de kaempferol (**57**), 3'-xylósido de luteolina (**58**) y 7-rutinósido de acetina (**59**).¹⁸



	R	R₁	R₂	R₃
47	H	OH	H	OH
48	H	H	H	OH
49	H	H	H	OCH ₃
50	H	O-rhamnosa	OH	OH
51	H	O-rutinosa	OH	OH
52	rhamnosa	O-rhamnosa	OH	OH
53	H	O-rhamnosa	H	OH
54	rhamnosa	O-rhamnosa	H	OH
55	arabinosa	H	OH	OH
56	rhamnosa	OH	OH	OH
57	H	O-rutinosa	H	OH
58	H	H	O-xylosa	OH
59	rutinosa	H	H	OCH ₃

Los flavonoides son un grupo de compuestos polifenólicos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos ($C_6-C_3-C_6$), compuesto por dos anillos fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde 2' al 6' (Fig. 3).¹⁹ Se distribuyen en una extensa variedad de frutas y vegetales, así como en bebidas como té, vino tinto, café, sidra, cocoa y cerveza.^{20, 21}

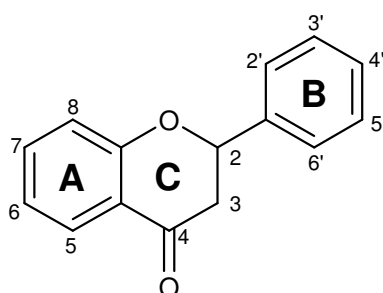


Figura 3. Estructura básica de un flavonoide.

Los flavonoides se encuentran en las plantas generalmente como flavonoides *O*-glicosidados, en el que uno o más grupos hidroxilo de la aglicona están unidos a una azúcar, siendo la D-glucosa el residuo más frecuente. Usualmente están glicosilados las posiciones 7 en flavonas, flavanonas e isoflavonas, las posiciones 3 y 7 en flavonoles y flavanoles. Los 5-*O*-glicósidos son raros para compuestos con un grupo carbonilo en C-4.²²

Se ha demostrado que los flavonoides exhiben actividad antibacterial, antiinflamatoria, antialérgica, antimutagénica, antiviral, antineoplástica, antitrombótica, actividad vasodilatadora, anticancerígena, antimicrobianos, antifúngica, antihipertensiva, entre otras; además poseen una importante capacidad para atrapar iones metálicos transitorios, tales como Fe^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} , catalizar el transporte de electrones y capturar radicales libres.^{19, 22-24}

Por otro lado los flavonoides pueden actuar como un protector de luz en las plantas contra el daño de la radiación UV en hojas jóvenes, así como proveerle resistencia contra agentes patógenos.²⁵

La ingesta de flavonoides puede disminuir el riesgo de arterosclerosis, proteger contra apoplejías, efectos protectores en patologías tales como diabetes mellitus; cáncer de colon, glándula mamaria, ovarios, región gastrointestinal, leucemia, entre otros; cardiopatías; infecciones víricas como rabia, herpes, influenza, polio, etc.; úlceras estomacales y duodenales.^{24, 25}

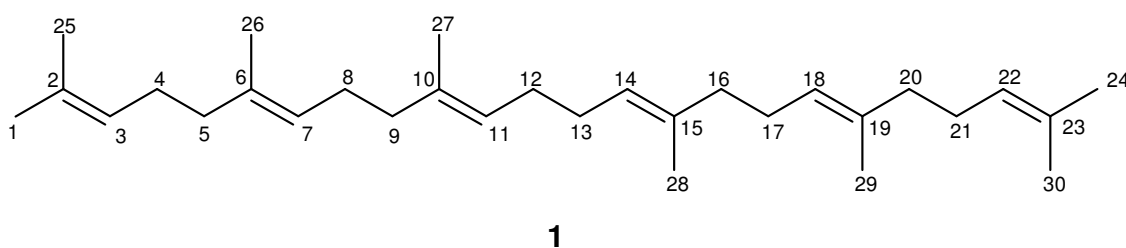
3. OBJETIVOS

- Contribuir al conocimiento de sustancias naturales con actividad biológica relevante y a la composición química del género *Mimosa*.
- Aislar y caracterizar los metabolitos presentes en los extractos de las hojas y los tallos de *Mimosa biuncifera* Benth.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Extracto clorofórmico de las hojas de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera*

La separación mediante cromatografía en columna del extracto CHCl_3 de las hojas de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera*, usando mezclas de hexano- CHCl_3 y CHCl_3 como eluyentes, condujo a la obtención del triterpeno escualeno (**1**), cuya caracterización se llevó a cabo mediante sus datos de RMN, espectrometría de masa y por comparación con datos descritos.⁴¹ En el espectro de ^1H (Fig. 4) se observaron señales entre 5.10 y 5.15 ppm correspondientes a los protones vinílicos 3, 7, 11, 14, 18 y 22, un conjunto de señales múltiples en 1.97-2.09 ppm para los protones 4, 5, 8, 9, 12, 13, 16, 17, 20 y 21, señales simples de los metilos 1 y 24 en 1.68 ppm y las señales respectivas para los metilos 25-30 en 1.60 ppm. El espectro de ^{13}C del catálogo de Aldrich se muestra en la Fig. 5. En el cromatograma de la Fig. 6 se aprecia el pico correspondiente a **1** con un tiempo de retención de 25.48 minutos, en su espectro de masa (Fig. 7) se observó el ion molecular 410 (M^+) correspondiente a su fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{50}$. Con base en estos datos, así como de la comparación de sus espectros con la base de datos de Aldrich y datos de la literatura,²⁶ se confirmó la estructura de este triterpeno (**1**).



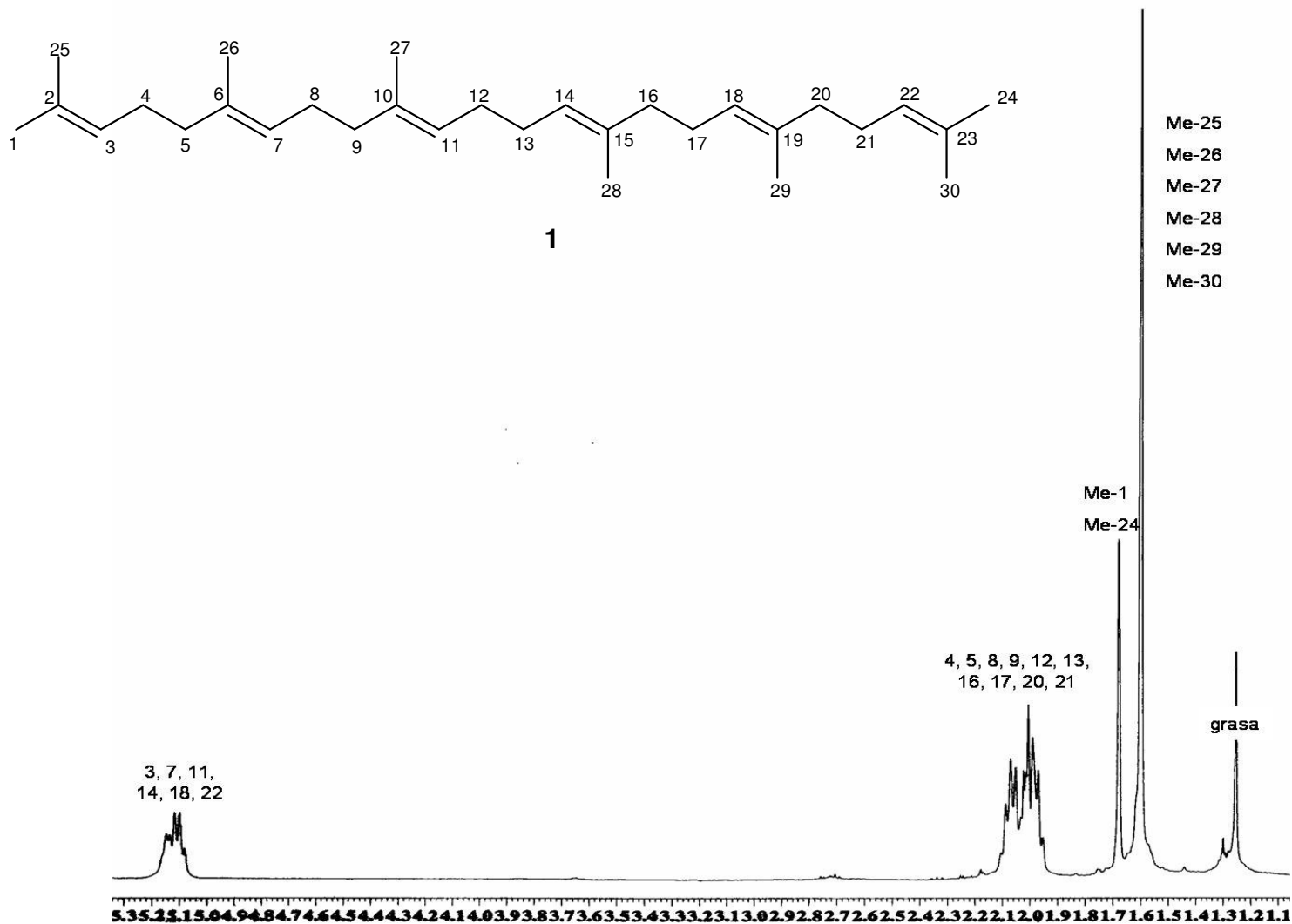


Figura 4. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) de escualeno (1) en CDCl₃.

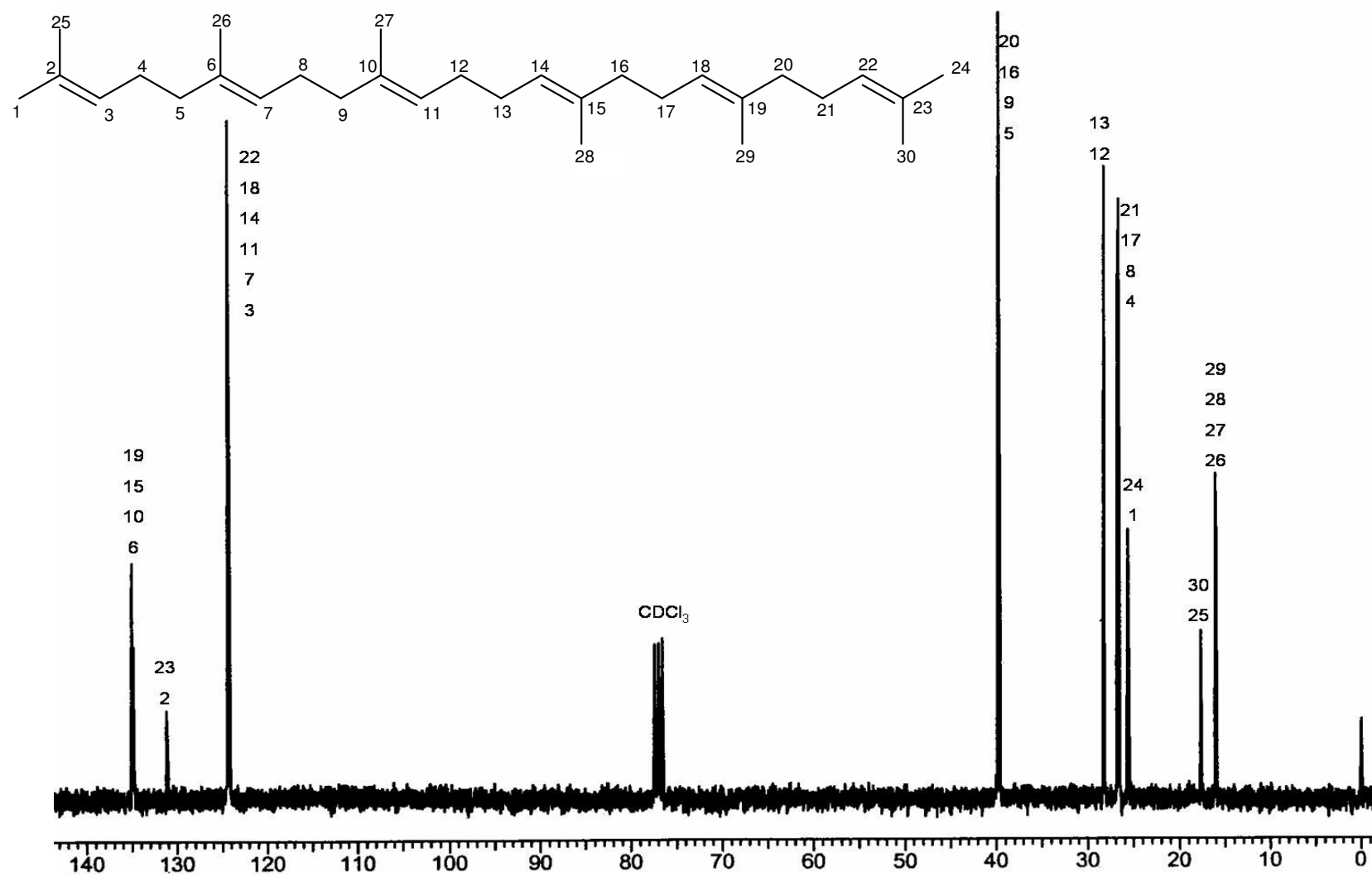


Figura 5. Espectro de RMN de ^{13}C (Base de datos de Aldrich) de escualeno en CDCl_3 .

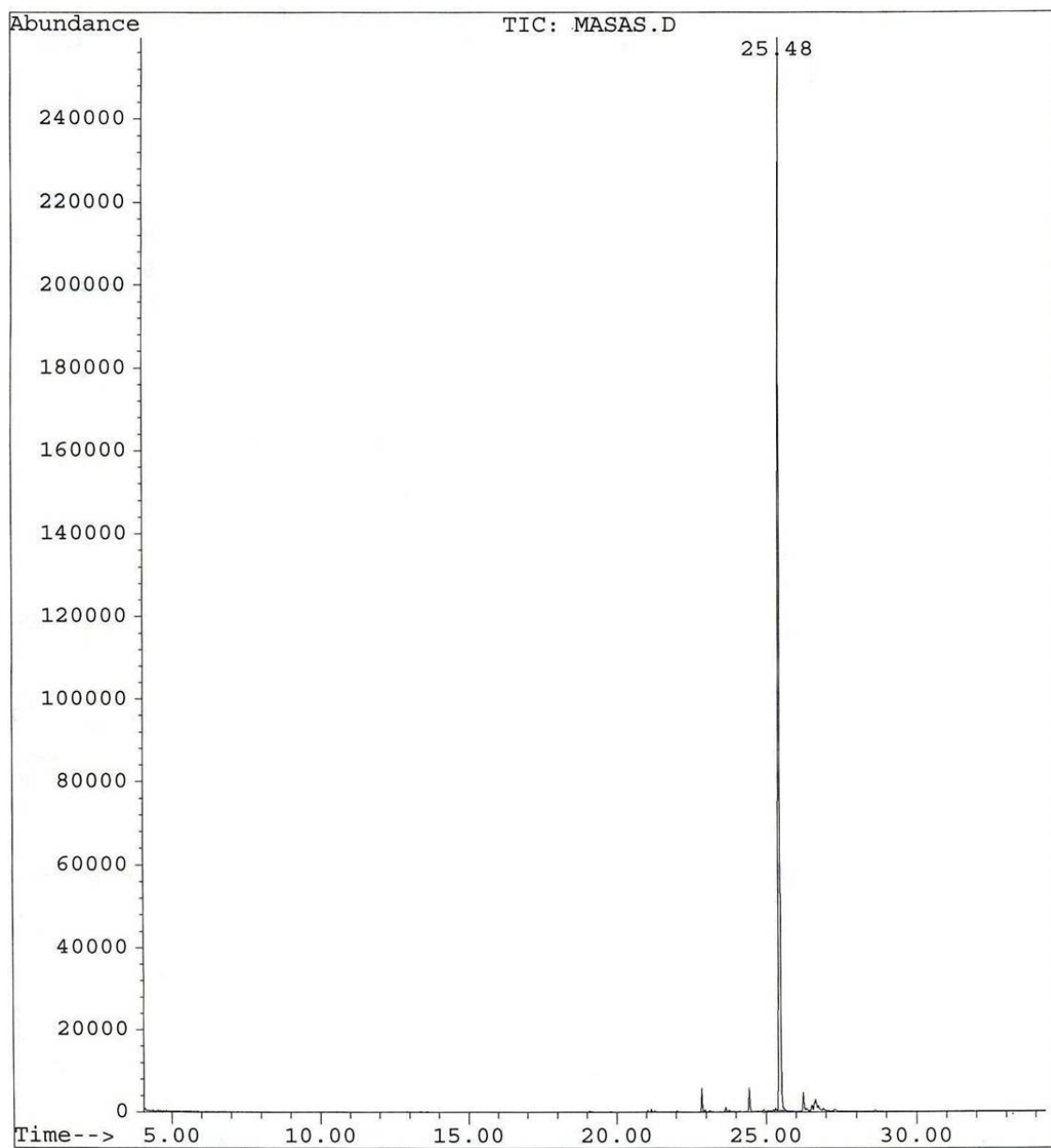


Figura 6. Cromatograma del compuesto 1.

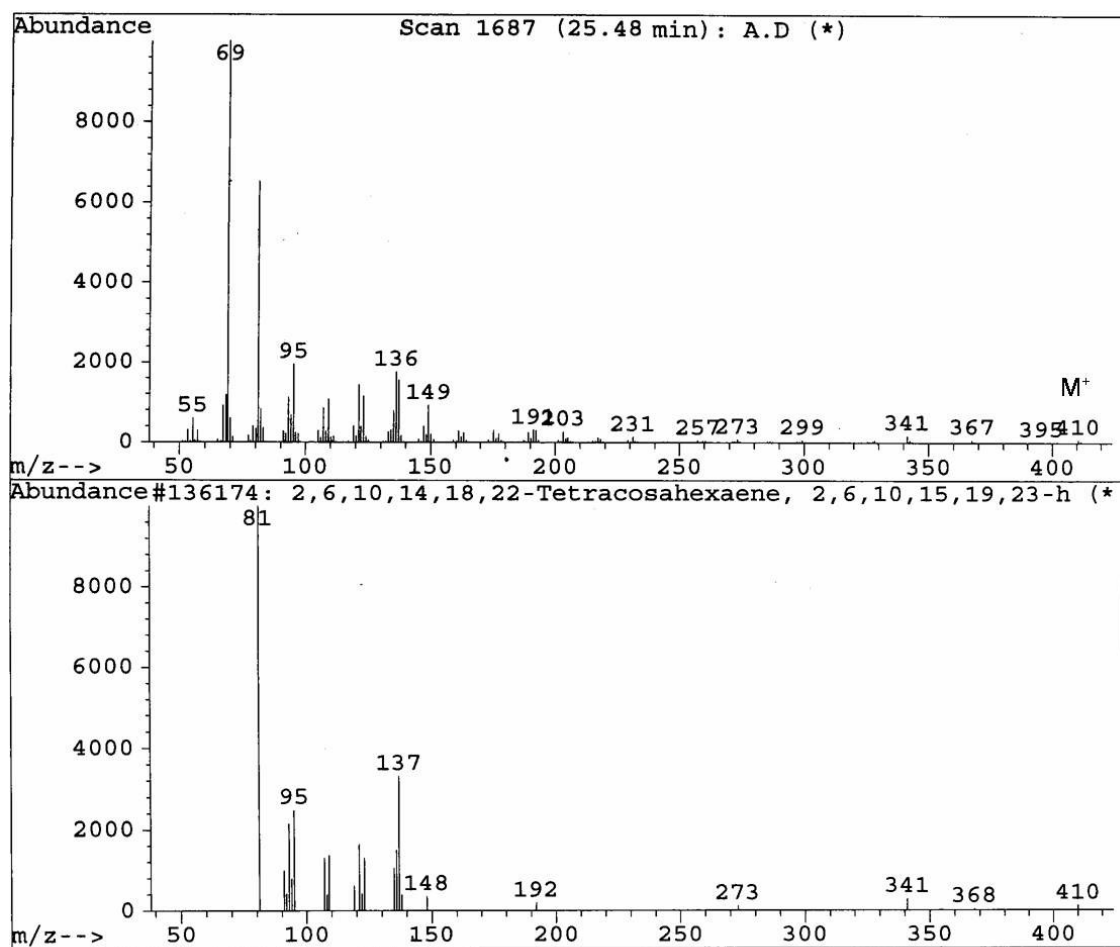
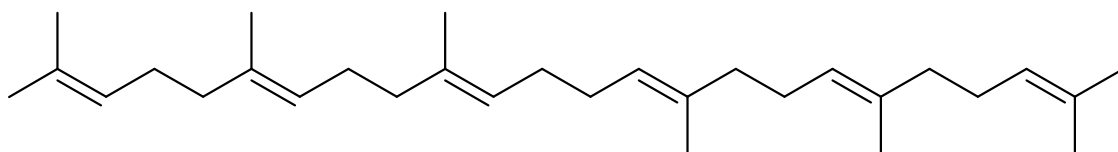


Figura 7. Espectro de masa del escualeno (**1**) (arriba) y espectro de masa de referencia (base de datos Wiley 138, abajo).



1 ($C_{30}H_{50}$ = 410 g/mol)

Entre las fuentes en las que se ha encontrado al escualeno están el aceite de hígado de bacalao, tiburón y ballena; de oliva, germen de trigo, salvado de arroz y en el aceite del grano de amaranto, además de encontrarse en la grasa humana.^{26, 27}

El escualeno es un intermediario clave en la biosíntesis de otros compuestos tetracíclicos o pentacíclicos, tal es el caso del lanosterol, que es un importante triterpeno precursor a su vez de otros esteroides en animales y hongos. Es conocido que el escualeno se genera a partir de dos moléculas de difosfato de farnesilo como se muestra en la Fig. 8.²⁸

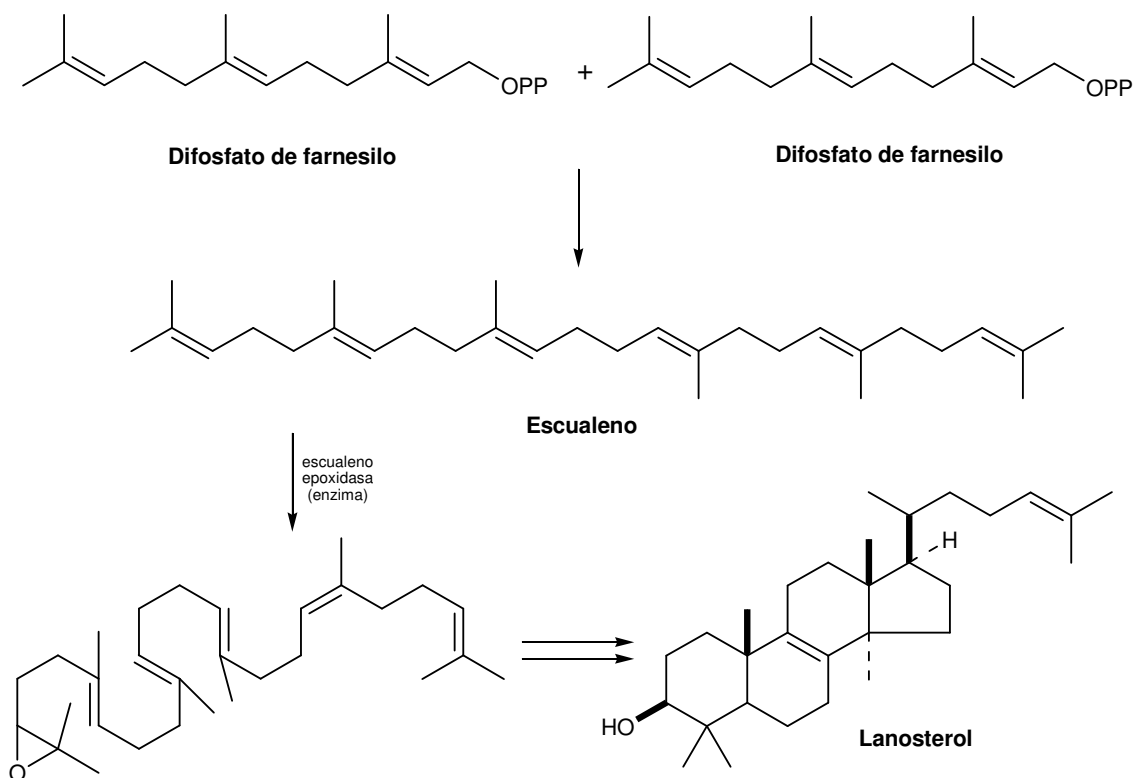


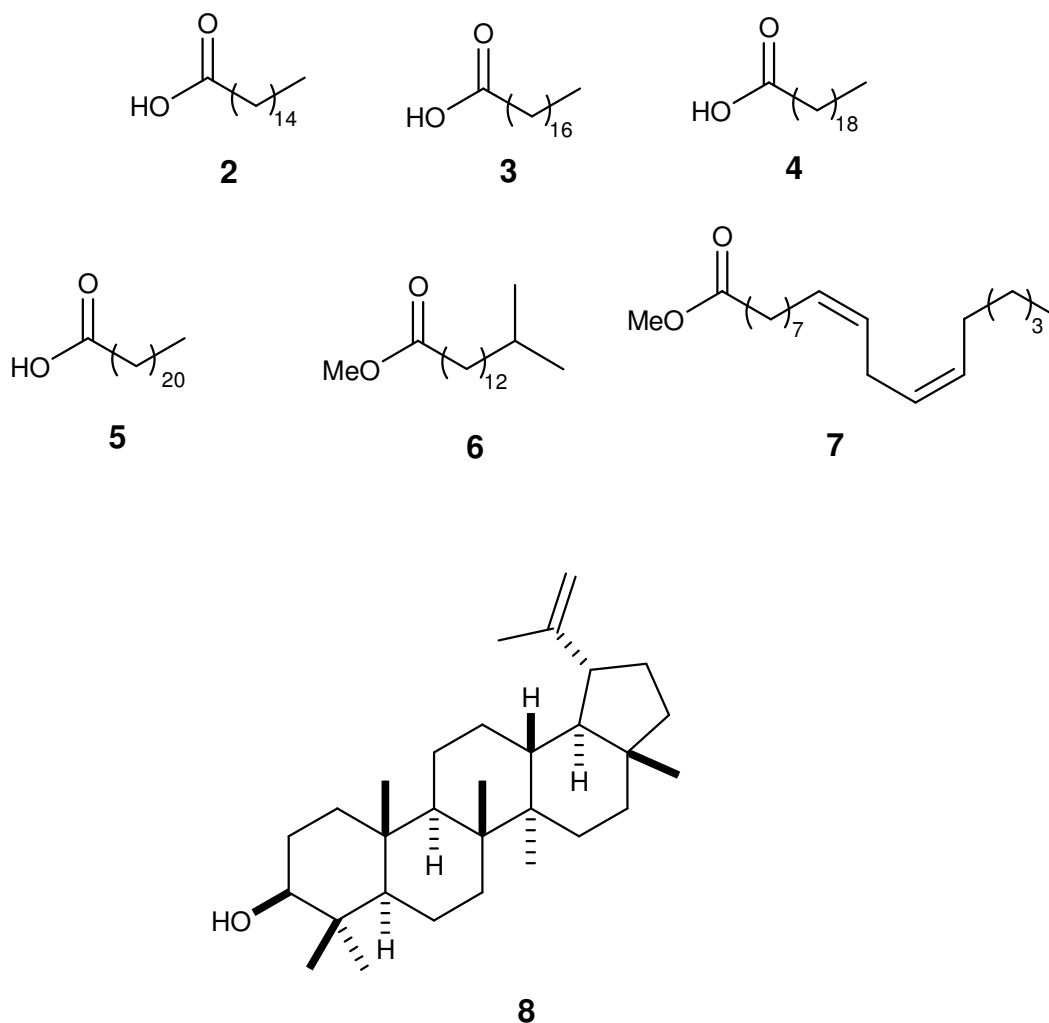
Figura 8. Biosíntesis del escualeno y lanosterol.²⁸

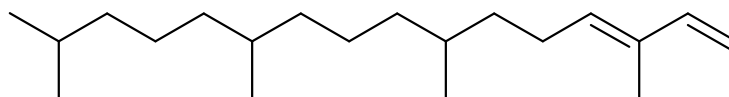
Diversos estudios han demostrado que la aplicación tópica de escualeno ayuda a inhibir la síntesis de compuestos cancerígenos en la piel, así como sustancias promotoras de tumores; en un estudio realizado por V. Rao Ch. *et al.* demostraron que al administrar escualeno como suplemento alimenticio, éste inhibía la formación de lesiones en el colon;²⁹ se ha sugerido además que el escualeno mejora la excreción de compuestos xenobióticos en ratas y ratones y que reduce el nivel de colesterol en el plasma e hígado de ratones,³⁰ además de disminuir la proliferación de células malignas en el pulmón de los ratones.³¹

El escualeno es un ingrediente importante en preparaciones cosméticas debido a su papel fotoprotector, se usa normalmente como agente hidratante o emoliente, también se emplea como fijador de perfume y como lubricante para discos de computadora debido a su termoestabilidad.^{26, 27, 32}

4.2. Extracto metanólico de los tallos de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera*

El extracto metanólico de los tallos se sometió a cromatografía en columna de donde se obtuvieron las fracciones de acetona y MeOH. La separación cromatográfica de la fracción acetona condujo al aislamiento de los ácidos grasos **2-5**, los ésteres **6** y **7**, el triterpeno lupeol (**8**) y el neofitadieno (**9**). La caracterización de estos metabolitos se llevó a cabo mediante sus datos de RMN de ^1H y principalmente por espectrometría de masa y comparación con datos descritos,^{33,34} ya que son sustancias conocidas y comunes en las plantas. Los espectros de masa se compararon con la base de datos Wiley 138, lo cual confirmó la caracterización de los compuestos.





9

El cromatograma de la fracción que contiene los eluatos 1-3 obtenida de la cromatografía en columna de la fracción acetona, se muestra en la Fig. 9, en donde se señalan los picos con tiempos de retención de 12.26, 14.50, 14.93, 17.29, 18.60, 19.40 y 20.26 minutos, cuyas fragmentaciones correspondieron a los iones moleculares (M^+) de los compuestos **2**, **3**, **4**, **6**, **5** y **7**, respectivamente. Sus espectros de masa se presentan en las Fig. 10-15.

Cabe mencionar que en los espectros de masa de los ácidos grasos (**2-5**) no se observó el ion molecular correspondiente a sus pesos moleculares, sino que se observó el ion resultante de su peso molecular menos 60 unidades de masa ($M^+ -60$), esto se debe a que ocurre una fragmentación entre los carbonos β y γ de la molécula, conocido como reordenamiento de McLafferty lo que conduce a un alqueno terminal y a una estructura de 60 unidades de masa. Esto puede explicar porque se observó el ion molecular correspondiente al alqueno terminal y no al del ácido carboxílico.³³

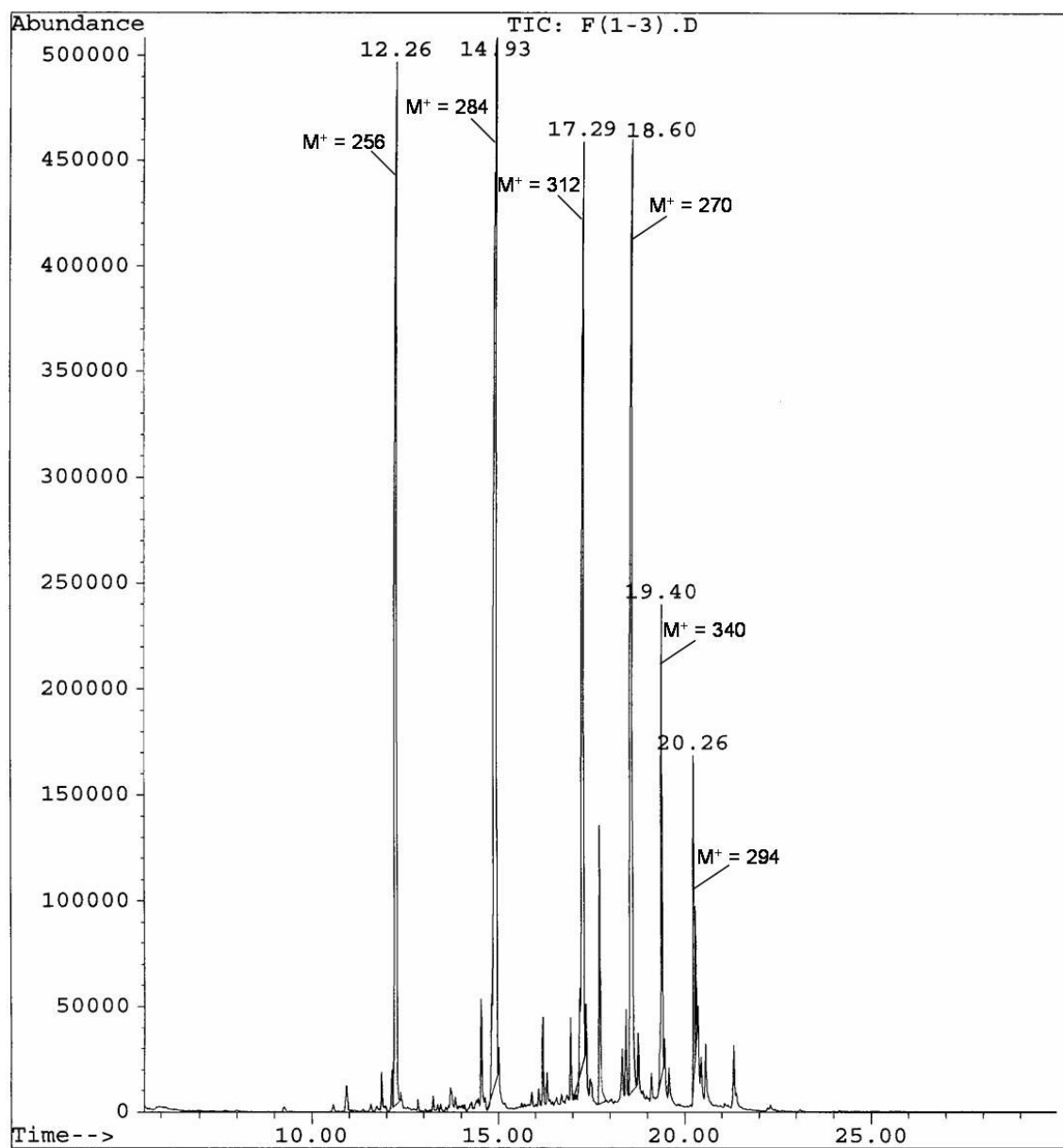


Figura 9. Cromatograma de los eluatos 1-3 de la CC de la fracción acetona del extracto MeOH de los tallos de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera*.

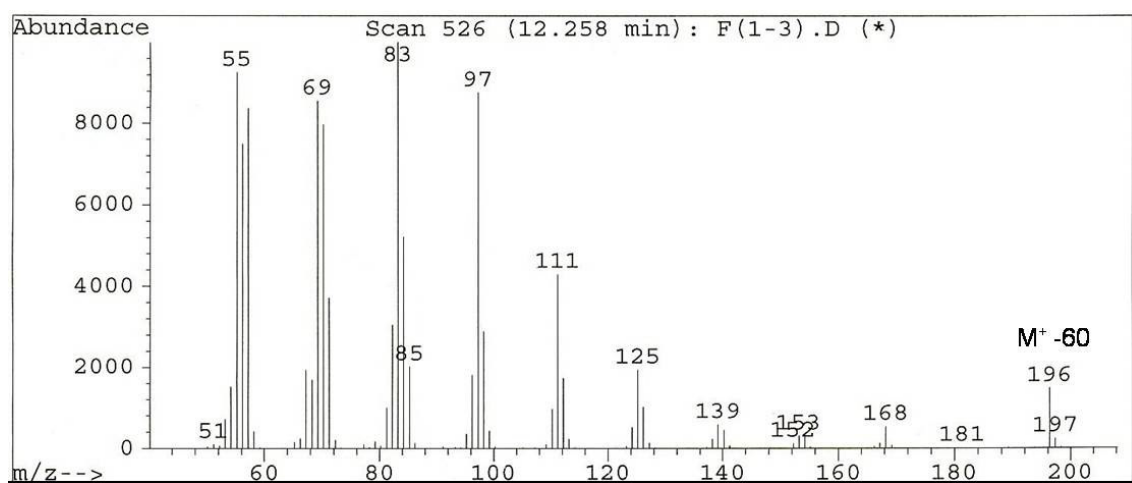
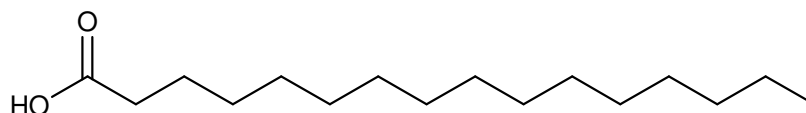


Figura 10. Espectro de masa del compuesto 2.

**2** ($C_{16}H_{32}O_2 = 256$ g/mol)

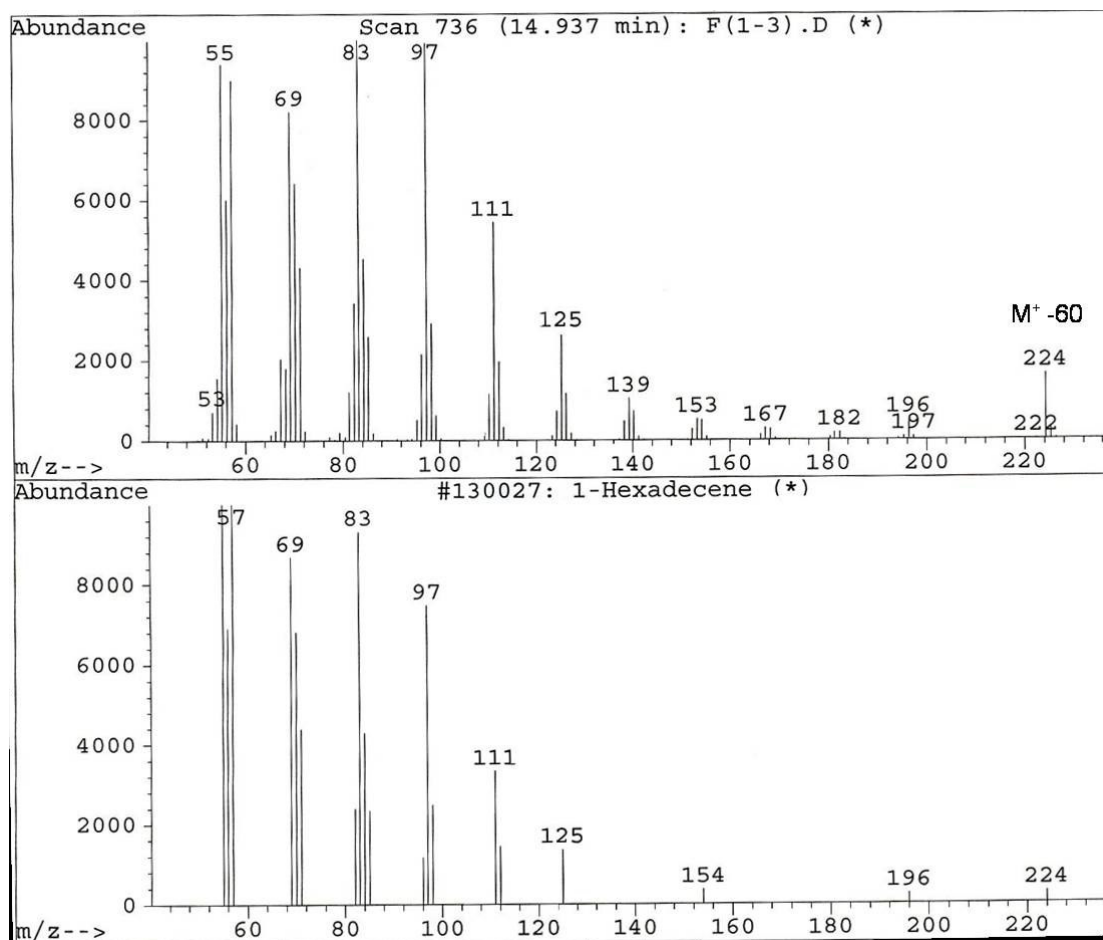
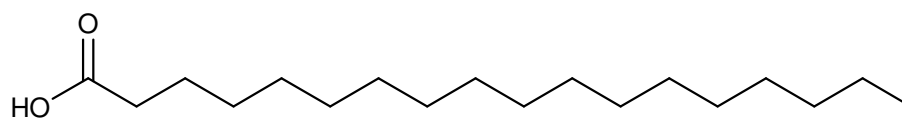


Figura 11. Espectro de masa del compuesto 3.

**3** ($C_{18}H_{36}O_2 = 284 \text{ g/mol}$)

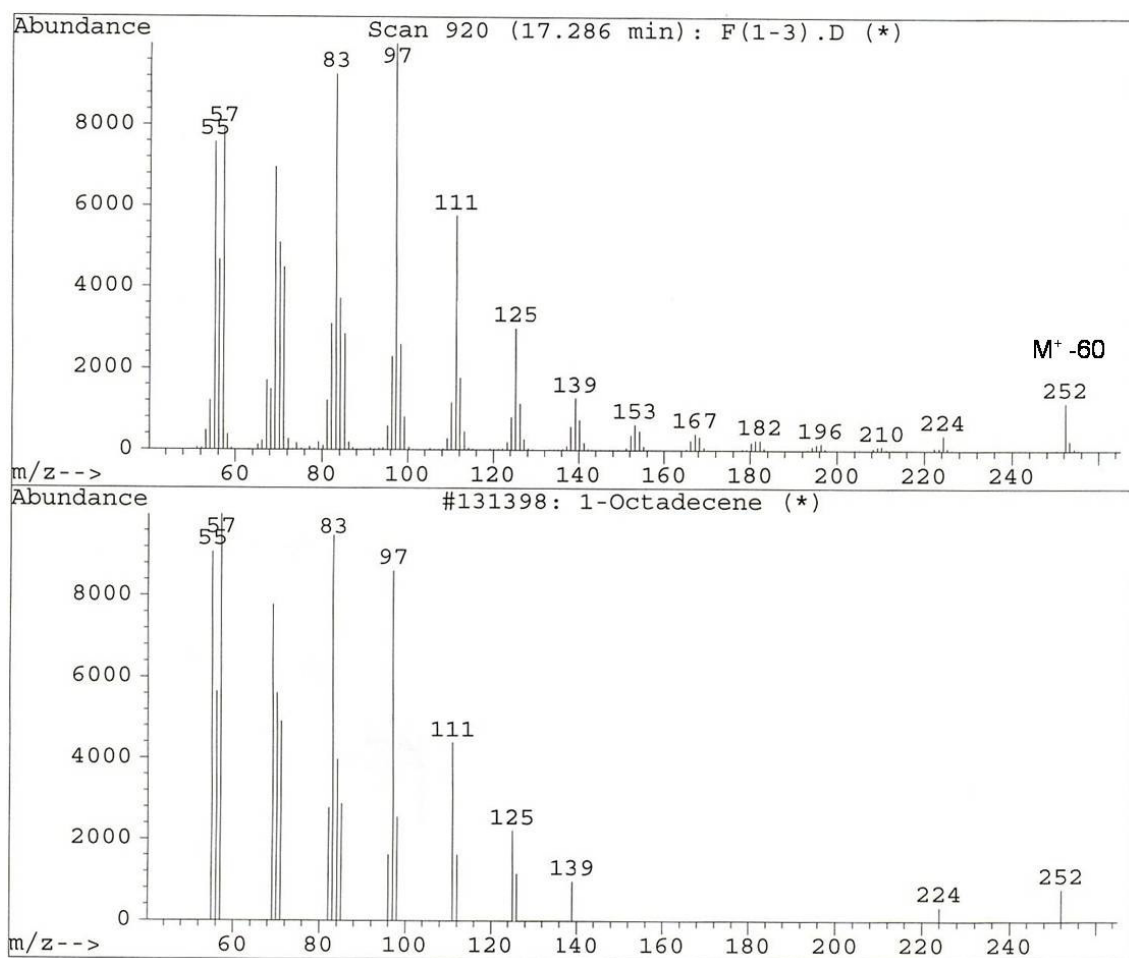
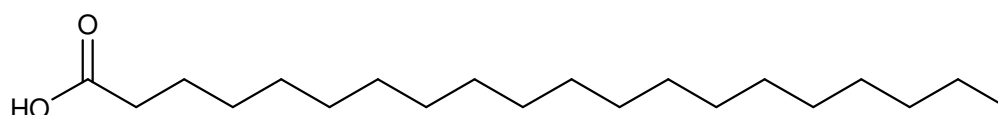


Figura 12. Espectro de masa del compuesto 4.

**4** (C₂₀H₄₀O₂ = 312 g/mol)

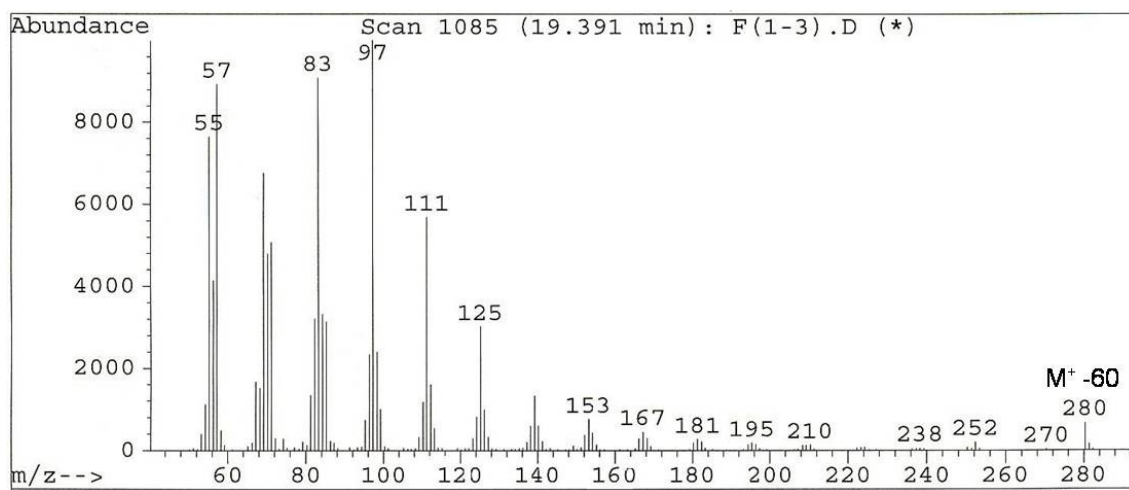
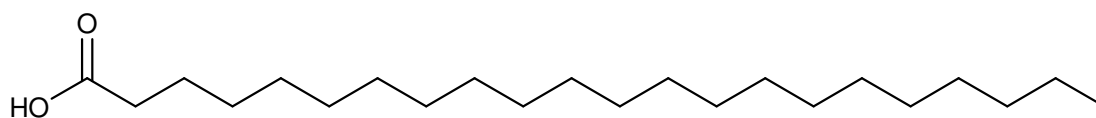


Figura 13. Espectro de masa del compuesto 5.

**5** ($C_{22}H_{44}O_2 = 340 \text{ g/mol}$)

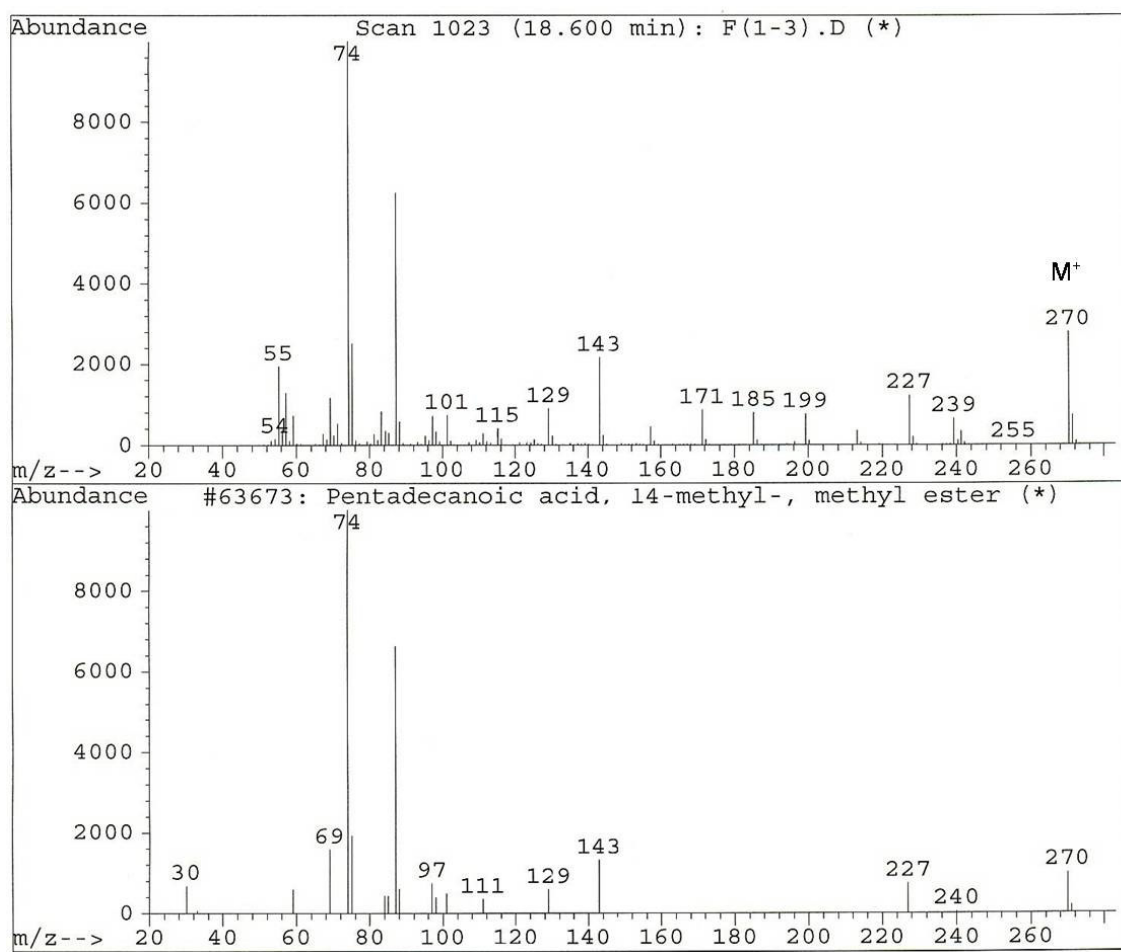
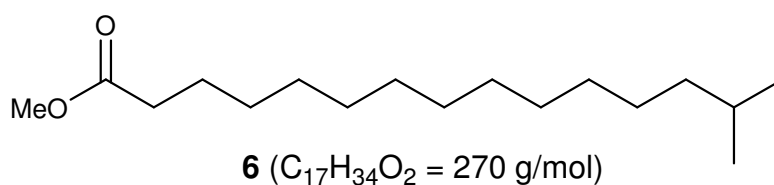


Figura 14. Espectro de masa del compuesto 6.



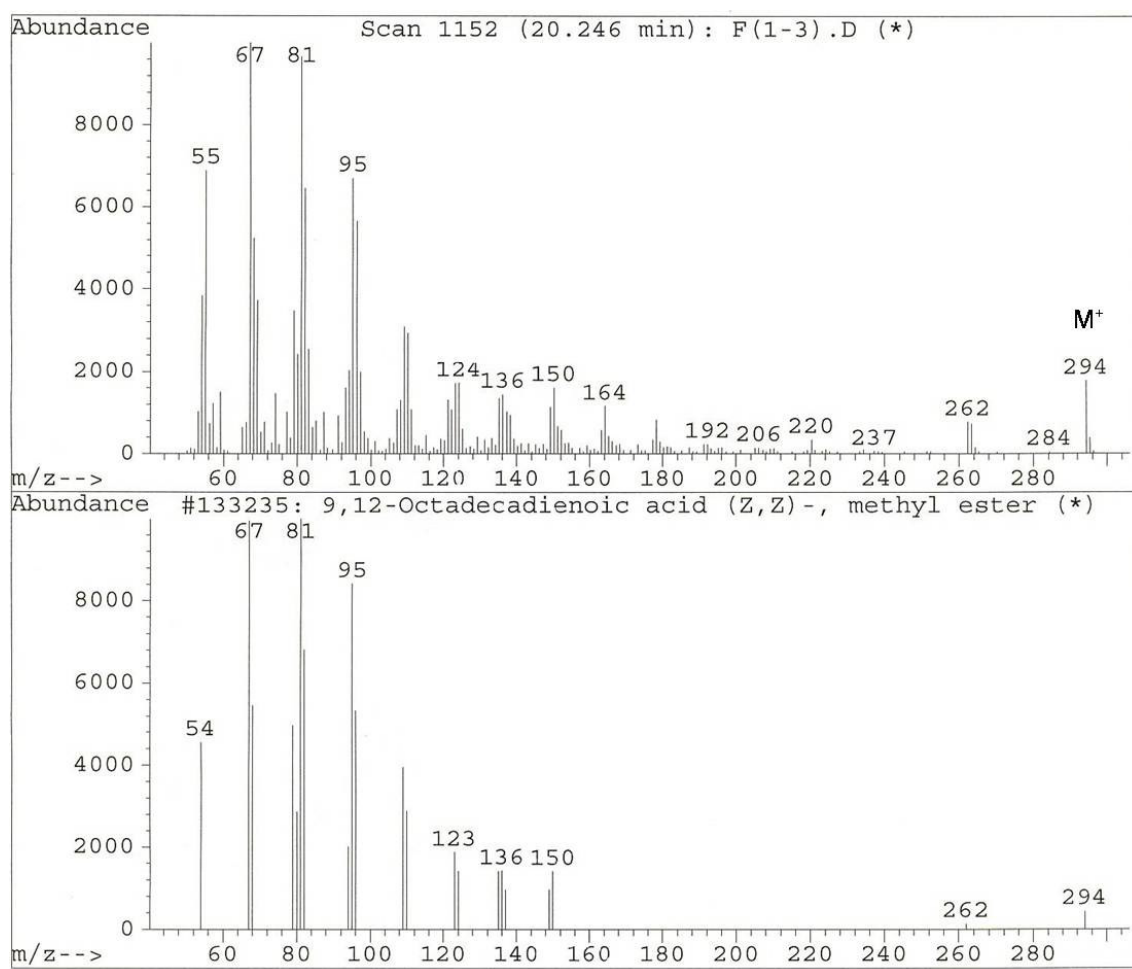
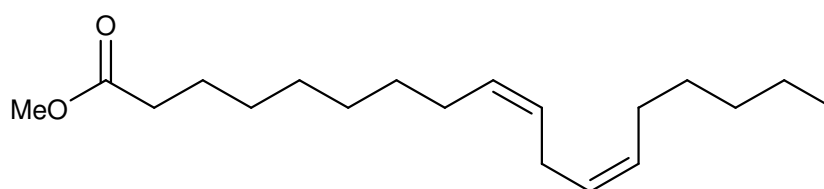
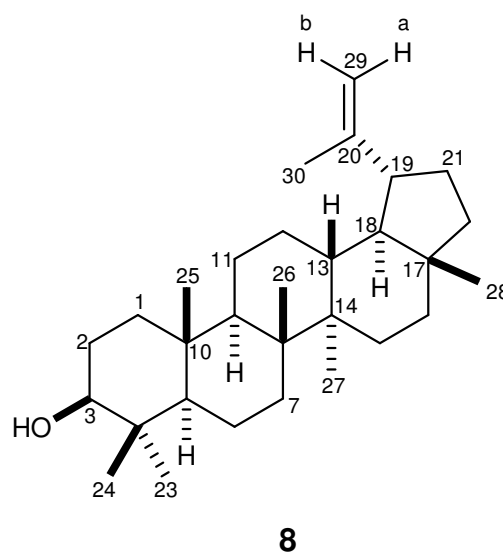


Figura 15. Espectro de masa del compuesto 7.

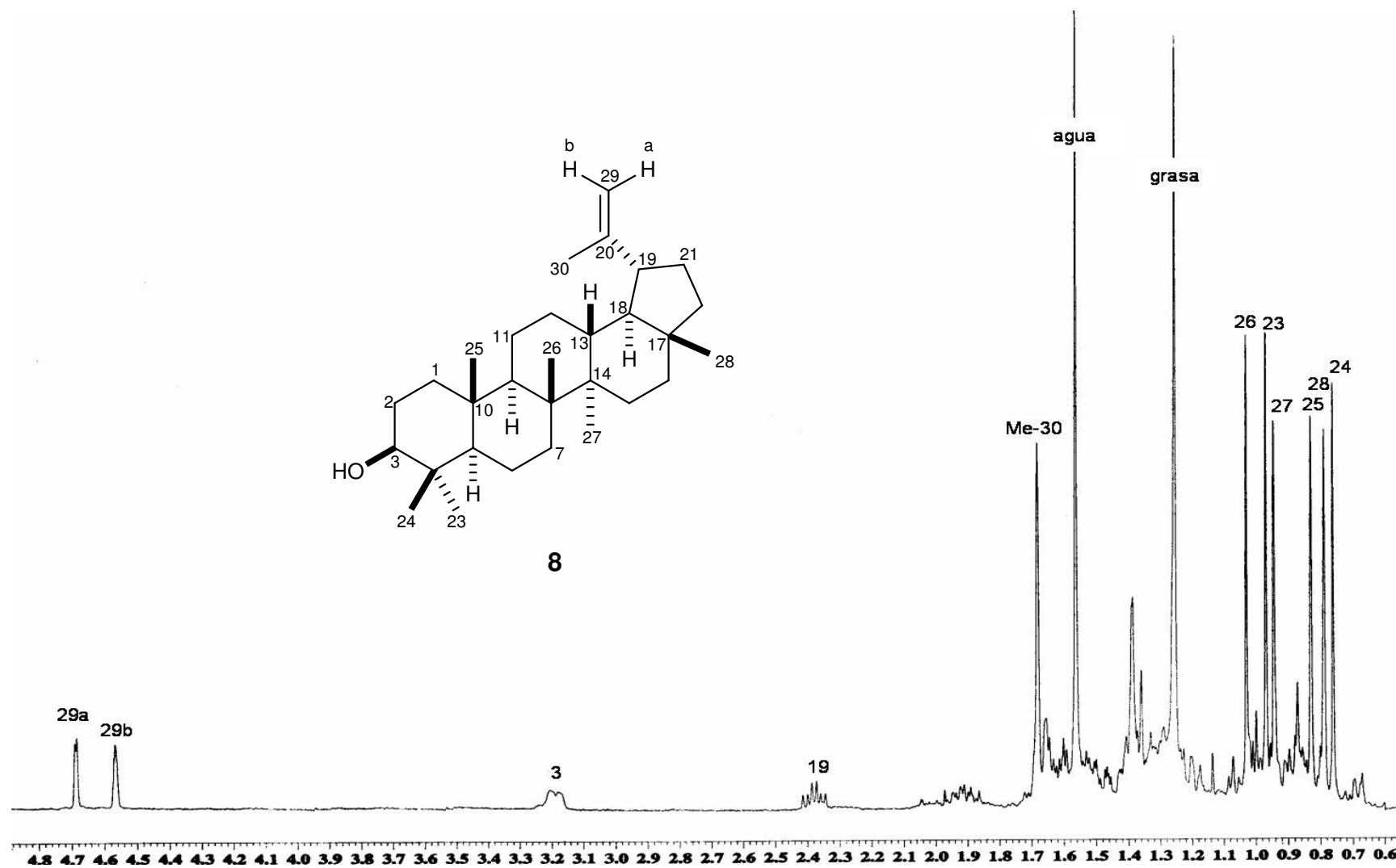
**7** ($C_{19}H_{34}O_2 = 294$ g/mol)

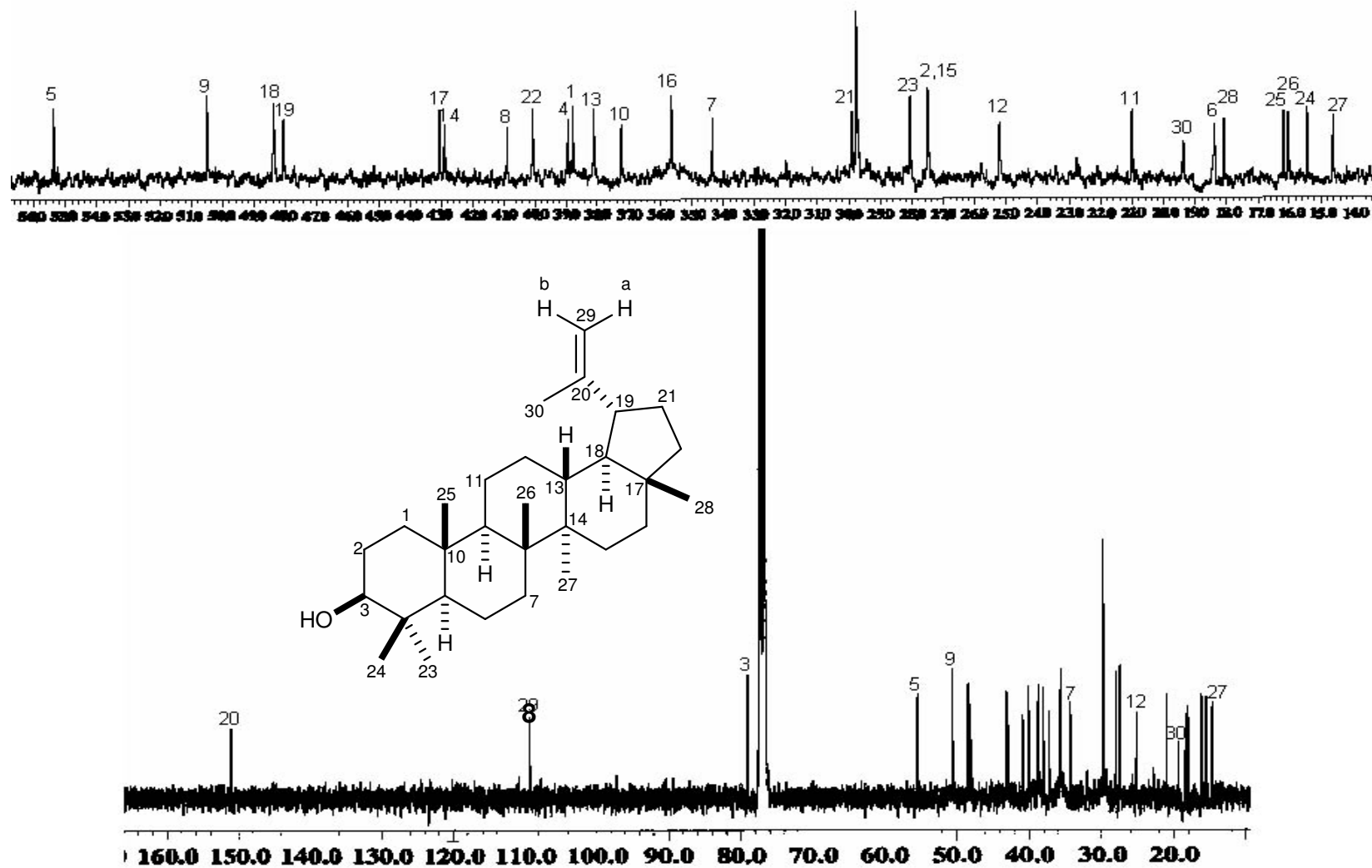
Como se mencionó ya, la separación cromatográfica de la fracción acetona también condujo al aislamiento del triterpeno conocido como lupeol (**8**), cuya caracterización se hizo mediante sus datos espectroscópicos. En su espectro de ^1H (Fig. 16, Tabla 2) se observó en 4.69 ppm una señal doble $J = 2.4$ Hz del protón vinílico 29a, en 4.57 ppm una señal doble $J = 2.4$ Hz para el protón 29b, en 3.19 ppm una señal múltiple que correspondió al protón 3 base de OH, en 2.38 ppm una señal

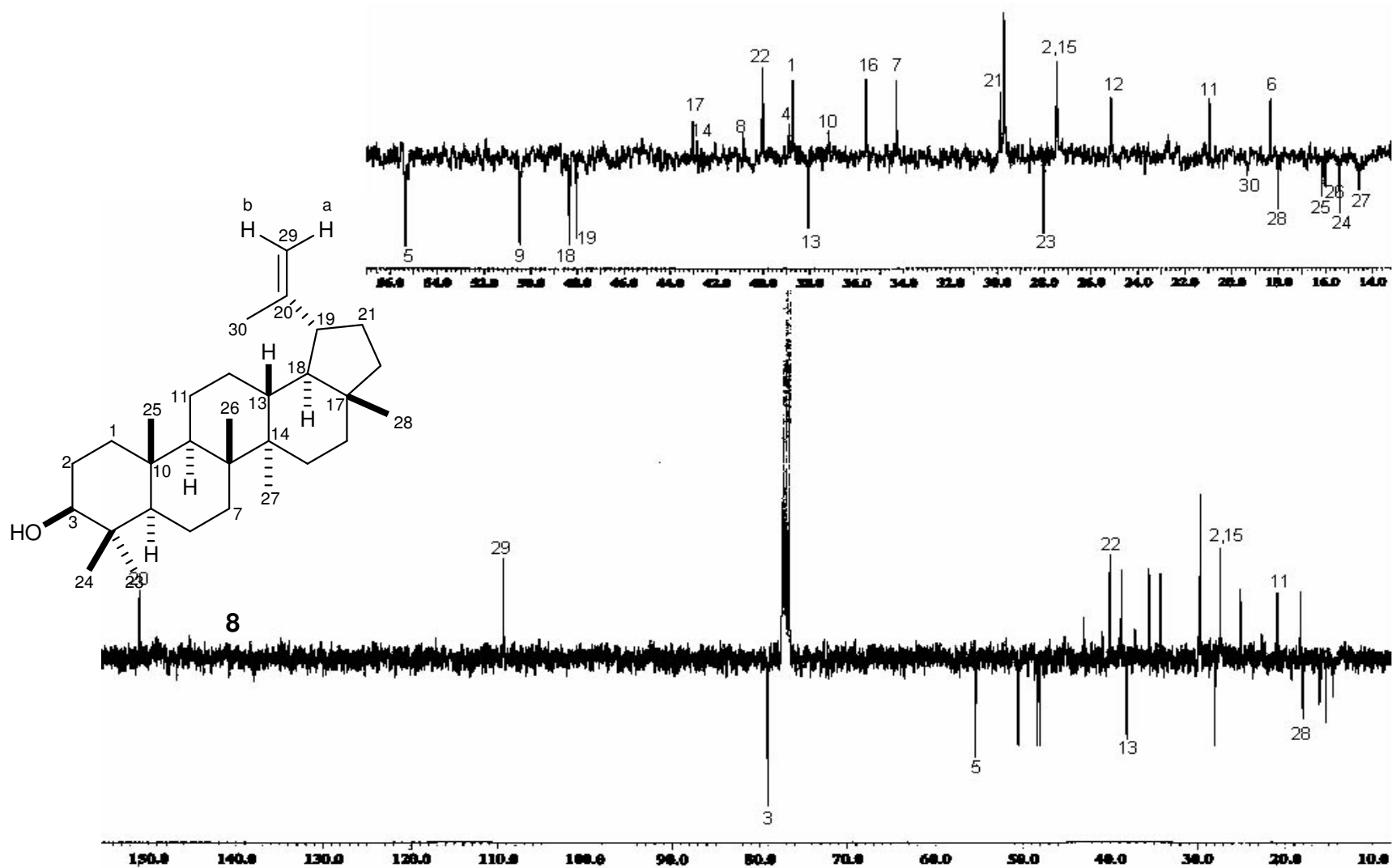


triple de dobles ($J = 11.4, 5.7$ Hz) para H-19, las señales simples de los grupos metilo de la molécula se observaron en 1.68 ppm (Me-30), 1.03 ppm (Me-26), 0.97 ppm (Me-23), 0.94 ppm (Me-27), 0.83 ppm (Me-25), 0.79 ppm (Me-28) y 0.76 ppm para Me-24.

La asignación del espectro de RMN de ^{13}C (Fig. 17, Tabla 2) se llevó a cabo con la ayuda de datos descritos.³⁴ En la Fig. 18 se presenta el experimento APT (^{13}C) y en la Fig. 19 se muestra el espectro de masa de este compuesto.

Figura 16. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de lupeol (8) en CDCl_3 .

Figura 17. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de lupeol (8) en CDCl_3 .

Figura 18. Experimento APT (^{13}C) de lupeol (8) en CDCl_3 .

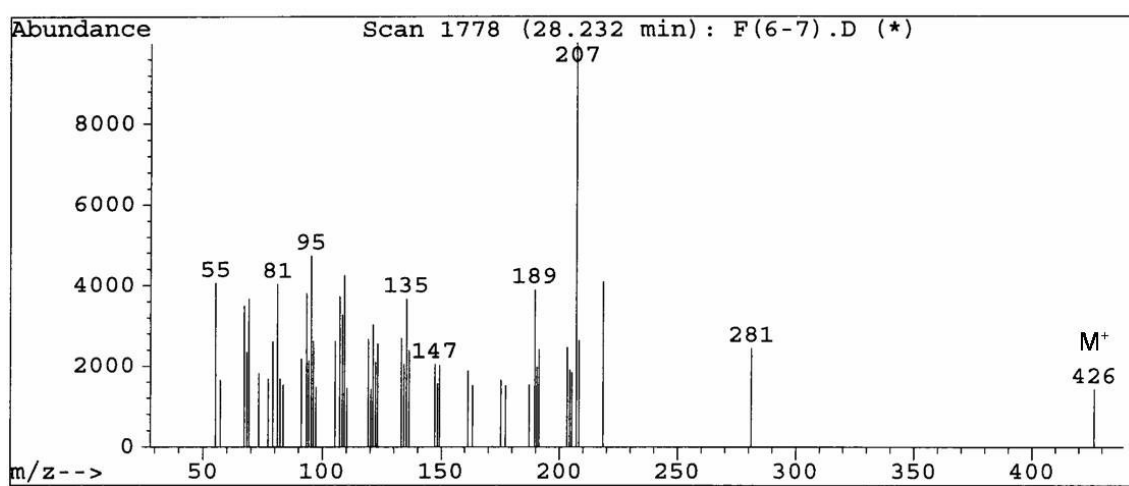
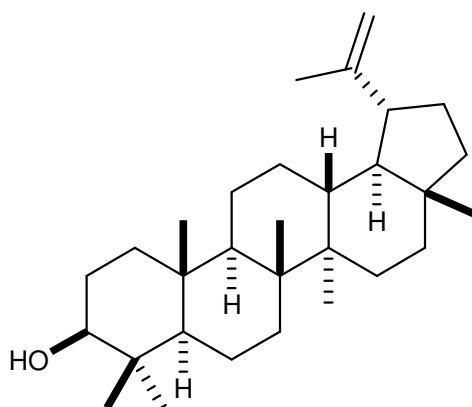


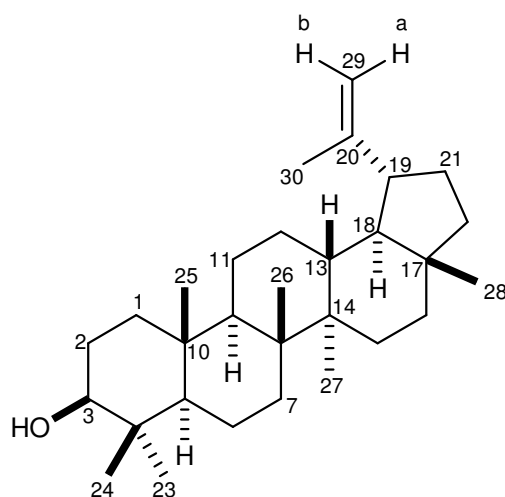
Figura 19. Espectro de masa de lupeol (8).



8 ($C_{30}H_{50}O = 426 \text{ g/mol}$)

Tabla 2. Datos de RMN de ^1H (400 MHz) y ^{13}C (100 MHz) de lupeol (**8**), δ en ppm, disolvente CDCl_3 .

H	$\delta_{\text{H}}/\text{ppm}$ (H;mult; J/Hz)	C	$\delta_{\text{C}}/\text{ppm}$	C	$\delta_{\text{C}}/\text{ppm}$
3	3.19 (1H; <i>m</i>)	1	38.78	16	35.65
19	2.38 (1H; <i>td</i> ; 11.4, 5.7)	2	27.515	17	43.075
23	0.97 (3H; <i>s</i>)	3	79.08	18	48.37
24	0.76 (3H; <i>s</i>)	4	38.93	19	48.06
25	0.83 (3H; <i>s</i>)	5	55.37	20	151.05
26	1.03 (3H; <i>s</i>)	6	18.39	21	29.92
27	0.94 (3H; <i>s</i>)	7	34.35	22	40.07
28	0.79 (3H; <i>s</i>)	8	40.90	23	28.06
29a	4.69 (1H; <i>d</i> ; 2.4)	9	50.51	24	15.43
29b	4.57 (1H; <i>d</i> ; 2.4)	10	37.24	25	16.19
30	1.68 (3H; <i>s</i>)	11	21.00	26	16.05
		12	25.21	27	14.62
		13	38.12	28	18.07
		14	42.91	29	109.38
		15	27.515	30	19.40



8

El lupeol es un triterpeno presente en las frutas (como la oliva, mango, fresas, uvas e higos) y en vegetales.³⁵ Posee fuerte actividad antioxidante, por ejemplo previene la peroxidación de la membrana de las células rojas de la sangre. Administrado de forma oral o intraperitoneal en dosis de 25-200 mg/Kg muestra acción antiinflamatoria en inflamaciones agudas y crónicas en ratas y ratones, su administración no causa actividad ulcerogénica en el estómago; mostró actividad antiartrítica en ratas tratadas con 50 mg/Kg. También posee actividad antimutagénica, antimalaria y antitumoral en la carcinogénesis de la piel del ratón.³⁵⁻³⁸

En un estudio realizado por Ziegler H. *et al.*, comprobaron, mediante ensayos de sensibilidad que el lupeol muestra inhibición *in vitro* contra *Plasmodium falciparum*.³⁶

Este compuesto también actúa como un potente inhibidor de las proteínas kinasa y serina proteasa e inhibe la actividad de la topoisomerasa II del ADN, blanco para la quimioterapia anticancerígena.³⁵

Adicionalmente, se ha demostrado que el lupeol induce diferenciación e inhibe el crecimiento celular del melanoma del ratón y las células de leucemia del humano.⁵⁰ En el estudio realizado por Aratanechemuge Y. *et al.*, demostraron que el lupeol induce apoptosis que resulta en la supresión de la proliferación de células de la leucemia humana (HL-60).³⁹

Saleem M. *et al.*, realizaron un estudio reciente en el que se observó que el lupeol causa apoptosis de las células del cáncer de próstata.³⁵

En la Fig. 20 se muestra el espectro de masa de otra de las fracciones de la separación cromatográfica de la fracción acetona del extracto MeOH de los tallos, donde el pico con tiempo de retención de 18.20 minutos correspondió al neofitadieno (**9**), que se comparó con la base de datos Wiley 138.

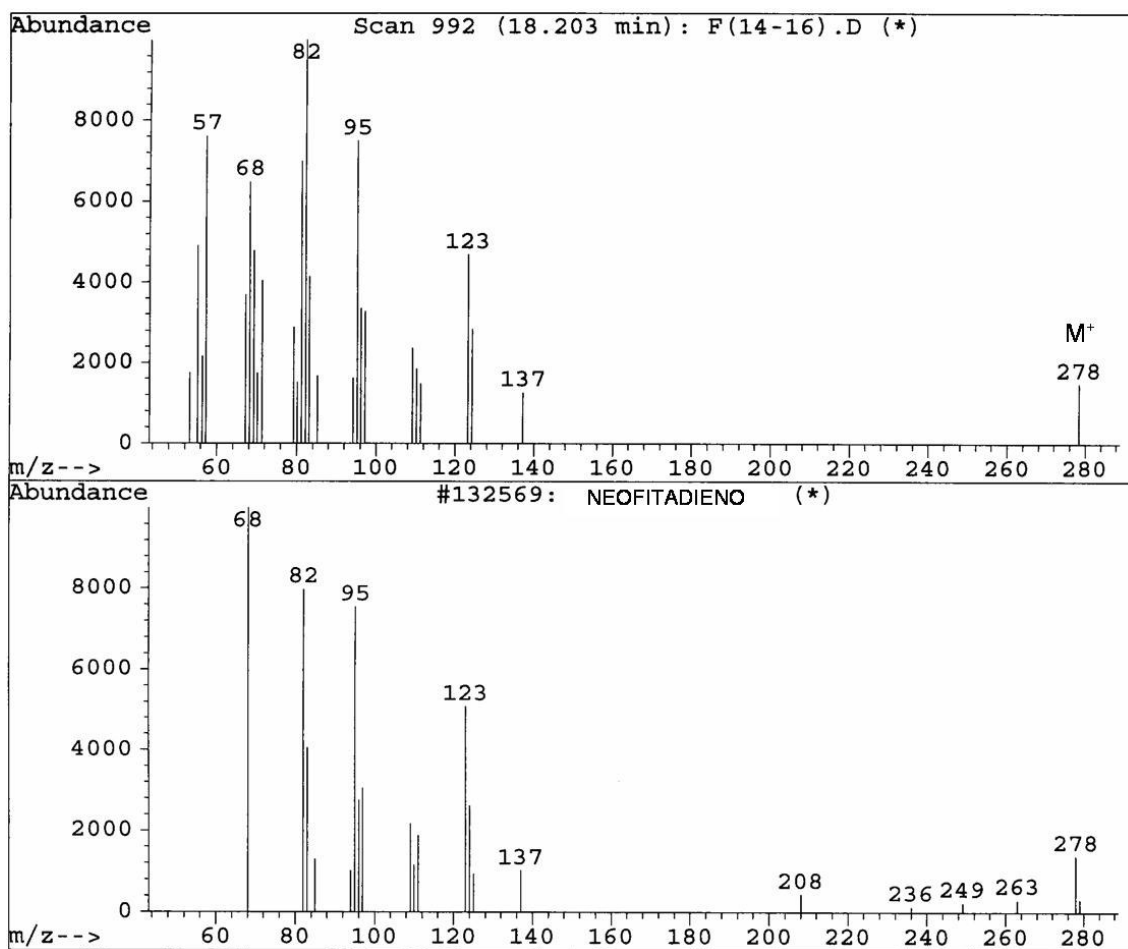
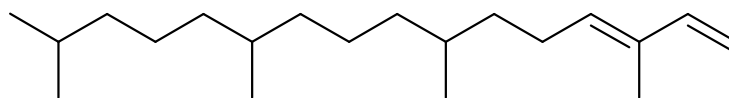
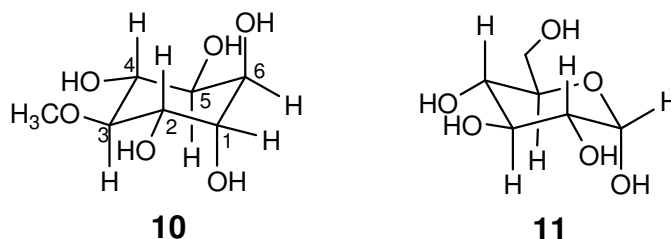


Figura 20. Espectro de masa de neofitadieno (**9**) (arriba) y espectro de masa de referencia (base de datos Wiley 138, abajo).



9 (C₂₀H₃₈ = 278 g/mol)

La separación mediante cromatografía en columna de la fracción de MeOH del extracto MeOH de los tallos, llevó al aislamiento de los ácidos grasos **4** y **5**, (+)-pinitol (**10**) y una mezcla de **10** y carbohidratos, entre ellos la α -D-glucosa (**11**). La caracterización de estas sustancias se hizo principalmente por RMN y comparación con datos descritos.³³



El compuesto **10** se caracterizó mediante RMN de ^1H (Fig. 21, Tabla 3) en el cual se observó una señal múltiple en 3.96 ppm para H-6 y H-1, una señal doble de dobles ($J = 8.0, 2.9$ Hz) en 3.77 ppm para H-2, una señal doble de dobles ($J = 9.9, 2.9$ Hz) en 3.72 ppm para H-5, una señal triple ($J = 9.5$ Hz) en 3.61 ppm para H-4, una señal simple del OCH_3 en 3.56 ppm y una señal triple ($J = 9.5$ Hz) en 3.30 ppm para H-3.

En la Fig. 22 se muestra el espectro de ^1H de la mezcla de **10** y α -D-glucosa (**11**), en donde se puede apreciar la señal doble en 5.38 ppm correspondiente al hidrógeno anomérico en la posición 1 de la glucosa. La constante de acoplamiento de esta señal ($J = 4.0$ Hz) indicó que se trataba del isómero α .

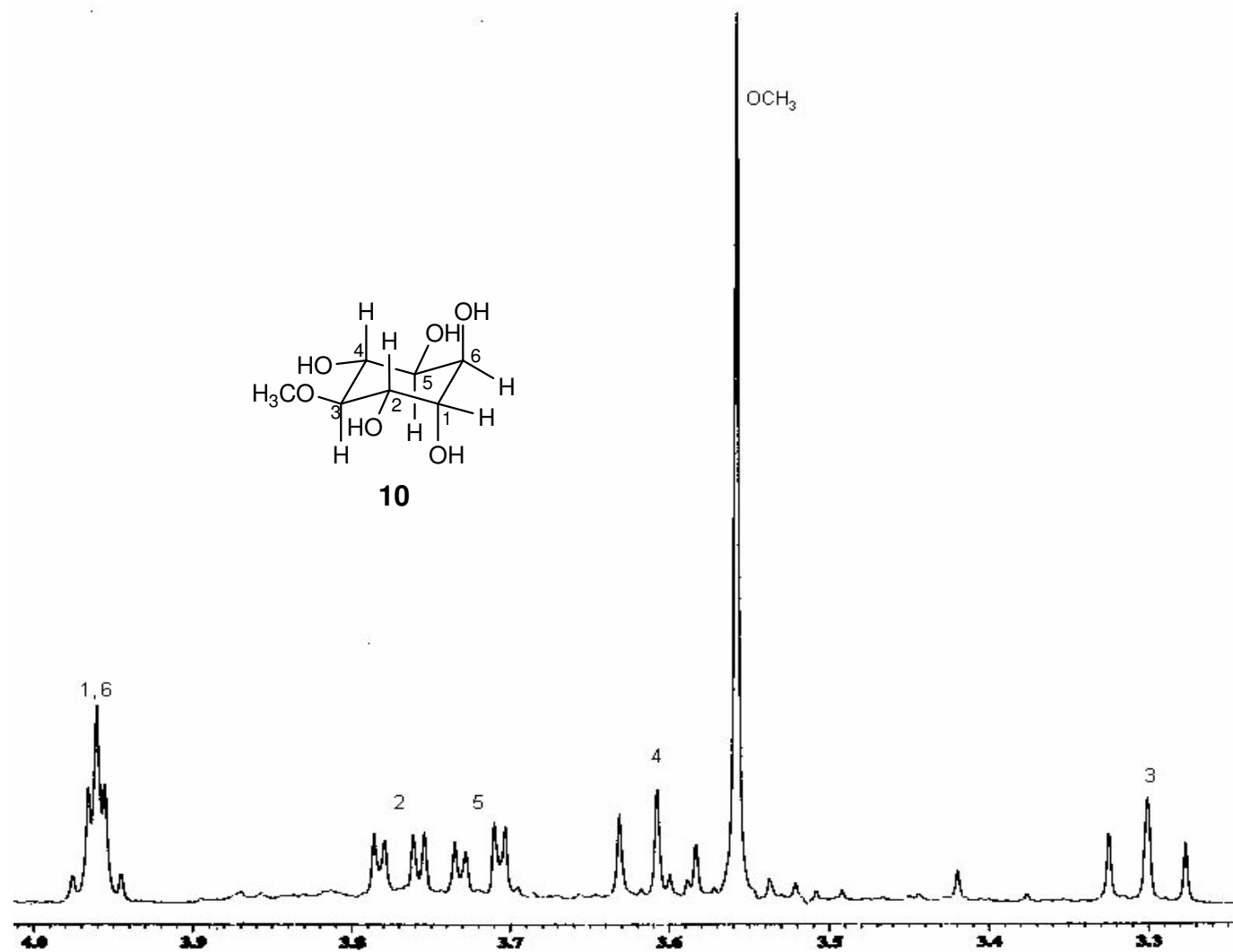


Figura 21. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de (+)-pinitol (**10**) en D_2O .

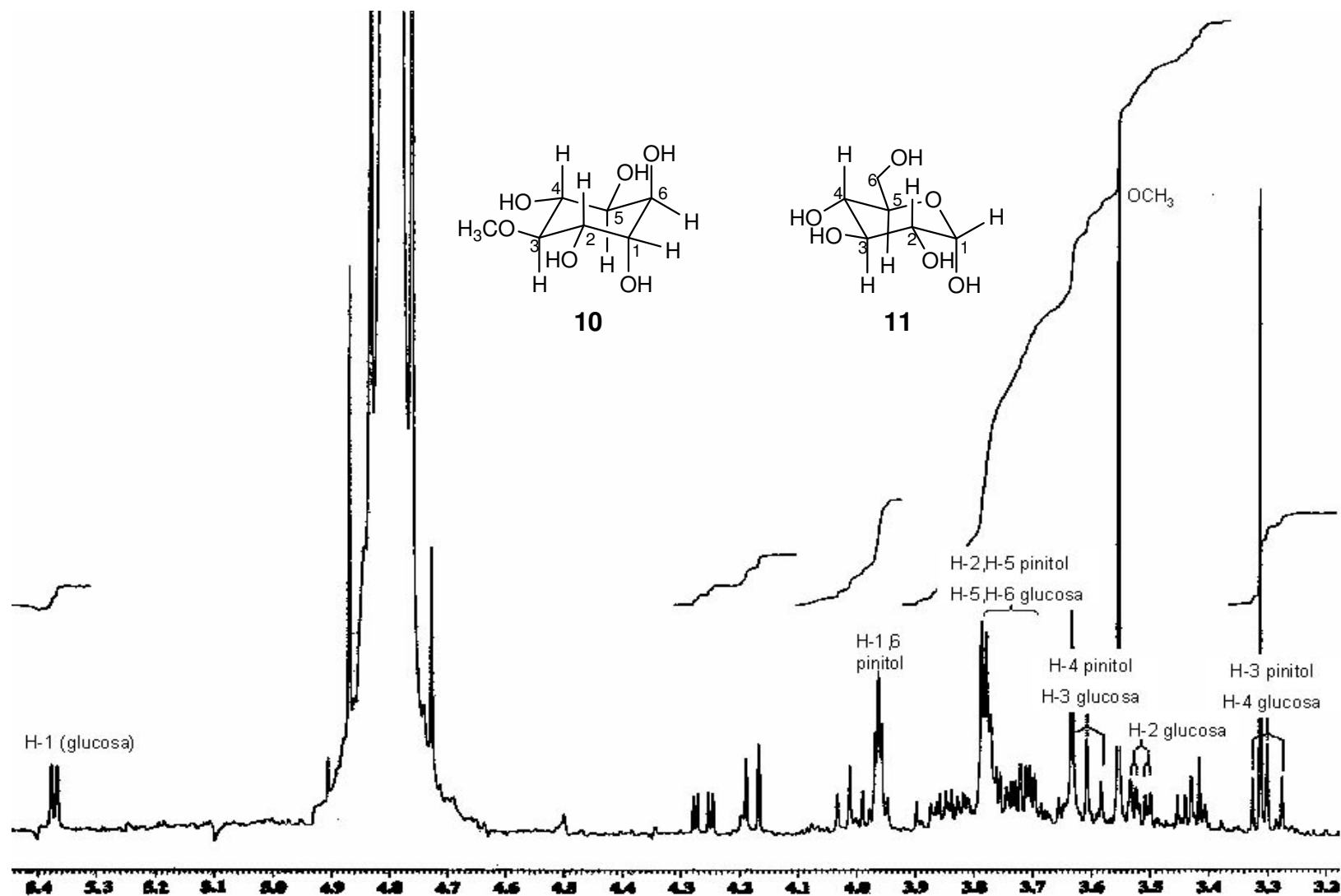
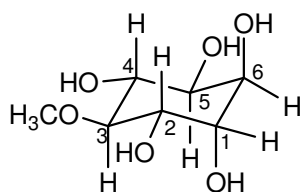


Figura 22. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de (+)-pinitol (10) y α -D-glucosa (11) en D_2O .

Tabla 3. Datos de RMN de ^1H (400 MHz) de (+)-pinitol (**10**), δ en ppm, disolvente D_2O .

H	δ_{H} /ppm (H; mult; J/Hz)
1	3.96 (2H; <i>m</i>)
2	3.77 (1H; <i>dd</i> ; 8.0, 2.9)
3	3.30 (1H; <i>t</i> ; 9.5)
4	3.61 (1H; <i>t</i> ; 9.5)
5	3.72 (1H; <i>dd</i> ; 9.9, 2.9)
6	3.96 (2H; <i>m</i>)
OCH_3	3.56 (3H; <i>s</i>)



10

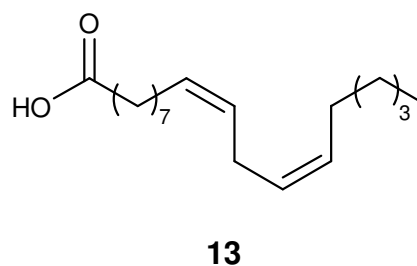
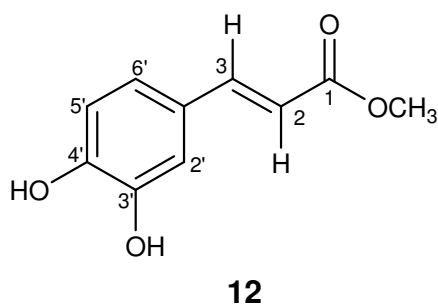
El pinitol se encuentra principalmente en leguminosas y frutas cítricas, tiene un escaso sabor dulce.⁴⁰ Está involucrado en la tolerancia de estrés de sequedad, al acumular altas concentraciones de sales en las verduras.⁴¹

Estudios realizados sobre pinitol han demostrado su actividad antihiper glucémica. Este compuesto se encuentra en las hojas de *Bougainvillea*, planta que se ha usado para tratar la diabetes mellitus en la India,⁴² así como en la harina de soja, en la alfalfa, etc.⁴¹ Es también activo contra edemas agudos en ratas y reduce la producción de citocinas pro-inflamatorias, por lo que es considerado como un agente antiinflamatorio.⁴³

El pinitol posee propiedades parecidas a la insulina; estimula la fijación de la glucosa en las células L6 y en la síntesis del glucógeno, facilita la captación de creatina; el ingerir pinitol reduce o elimina la necesidad de ingerir grandes cantidades de carbohidratos o proteínas durante la carga de creatina.⁴⁴

A otro lote del extracto MeOH de los tallos se le agregó una solución de *n*-BuOH saturado con H₂O, seguido de KOH (1 %). La fase orgánica concentrada se redisolvió con MeOH y se vertió en éter, donde se formó un precipitado color café, el cual se separó mediante CC, con mezclas de CH₂Cl₂-MeOH-H₂O, MeOH, (CH₃)₂CO-H₂O y H₂O como eluyentes. Se colectaron 39 eluatos, los cuales fueron monitoreados por CCF, lo que dió lugar a las siguientes fracciones: A (eluatos 1-3), B (4 y 5), C (6-19), D (20-24) y E (25-39), que fueron analizadas por RMN de ¹H.

En la fracción A se obtuvo el éster metílico del ácido caféico (**12**); en la fracción B se identificó una mezcla de los ácidos grasos **2**, **3** y el ácido linoléico (**13**); en la fracción C se observó la presencia de ácidos grasos y alcanos; en la fracción D se identificó al (+)-pinitol y en la fracción E se observó una mezcla de carbohidratos.



El compuesto **12** se caracterizó mediante sus datos de RMN de ¹H (Fig. 23b y 24, Tabla 4), los cuales se compararon con datos descritos⁴⁵ y con el ácido caféico de la base de datos de Aldrich (Fig. 23a). En su espectro de RMN de ¹H se observó una señal doble ($J = 15.7$ Hz) en 7.61 ppm para H-3, una señal doble de dobles ($J = 8.3, 1.9$ Hz) en 7.08 ppm para H-6', una señal doble ($J = 1.9$ Hz) en 7.04 ppm para H-2', una señal doble ($J = 8.3$ Hz) en 6.92 ppm para H-5', una señal doble ($J = 15.7$ Hz) en 6.30 ppm para H-2 y una señal simple en 3.93 ppm del OCH₃.

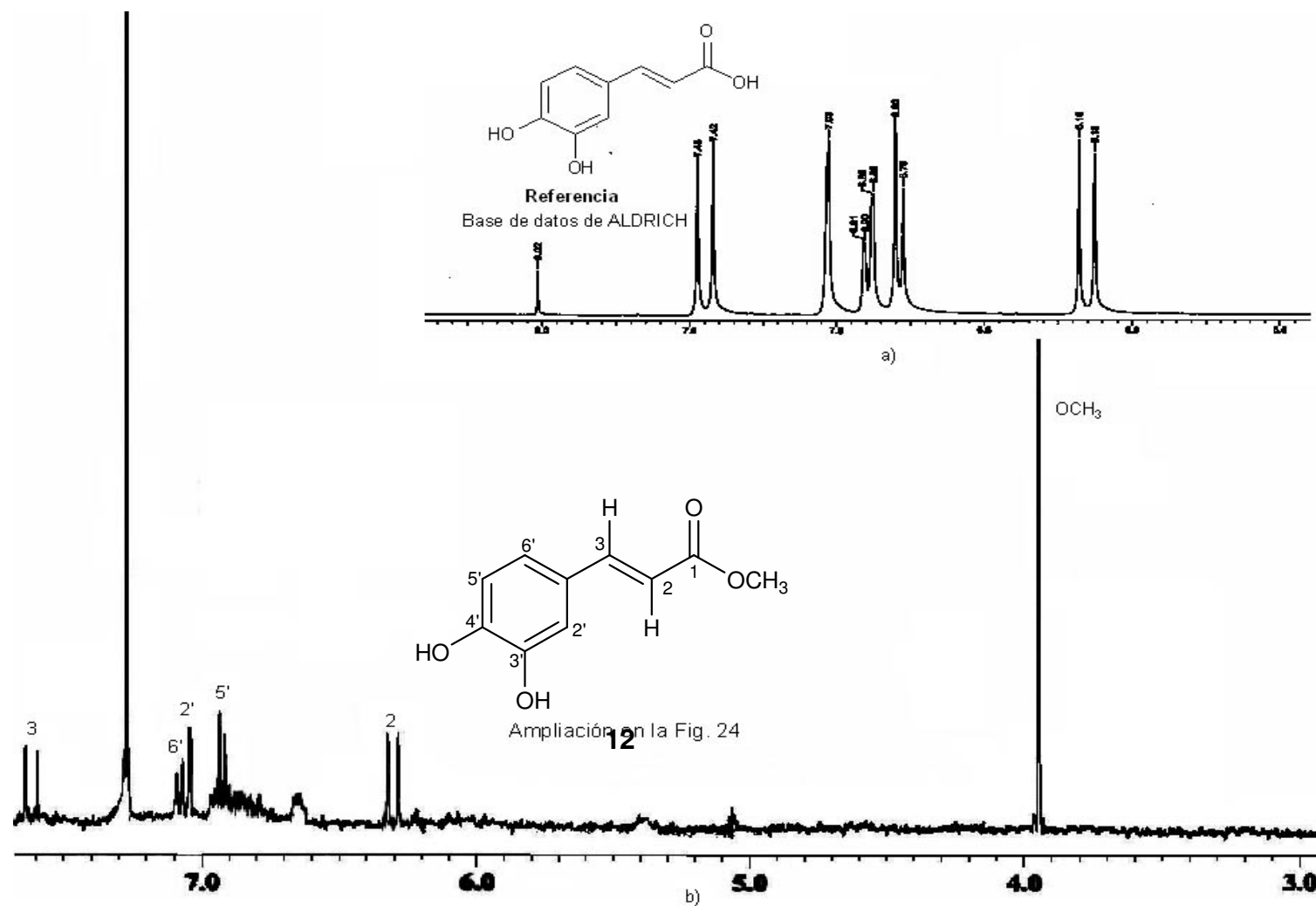


Figura 23. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) a) del ácido cafeico (Aldrich) en $\text{CDCl}_3\text{-DMSO-}d_6$, b) éster metílico del ácido caféico (12) aislado de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera* en CDCl_3 .

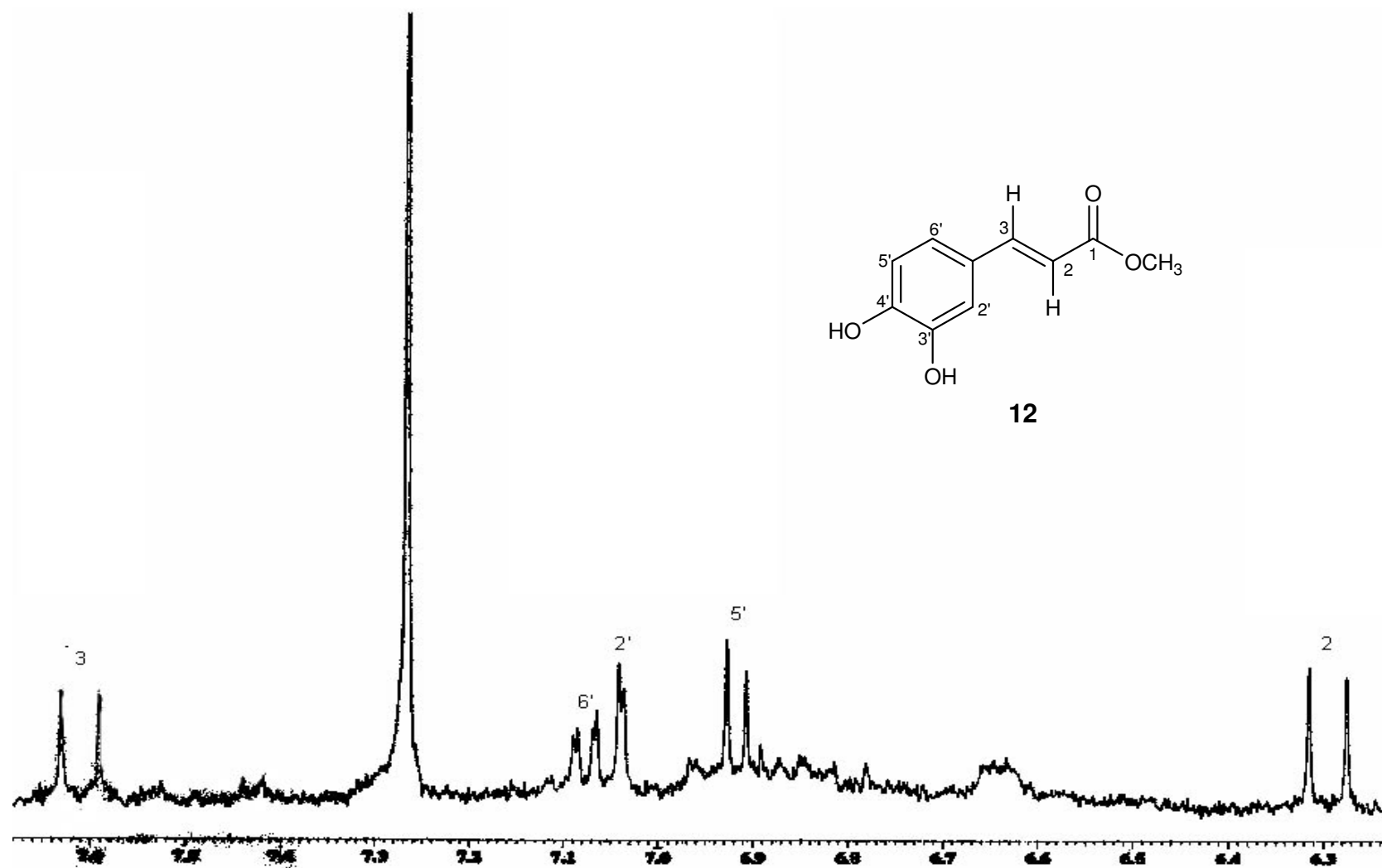
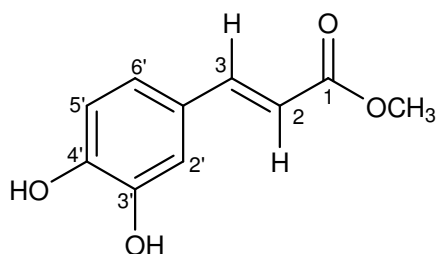


Figura 24. Ampliación del espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del éster metílico del ácido cafeico (12) en CDCl_3 .

Tabla 4. Datos de RMN de ^1H (400 MHz) del éster metílico del ácido caféico (**12**), δ en ppm, disolvente CDCl_3

H	δ_{H} /ppm (H; mult; J/Hz)
2	6.30 (1H; d; 15.7)
3	7.61 (1H; d; 15.7)
2'	7.04 (1H; d; 1.9)
5'	6.92 (1H; d; 8.3)
6'	7.08 (1H; dd; 8.3, 1.9)
OCH_3	3.93 (3H; s)



12

En un estudio realizado por Shin K. M. *et al.*, demostraron que el éster metílico del ácido caféico posee propiedades antiinflamatorias. El ácido caféico posee actividad antimutagénica y anticarcinogénica y algunos de sus derivados muestran actividad antioxidante.⁴⁵

En la Fig. 25 se muestra el cromatograma de la fracción B (elutos 4 y 5), donde se identificaron tres ácidos grasos principalmente, entre ellos al ácido linoléico (**13**), cuyo espectro de masa (Fig. 26) mostró el ion 280 (M^+), que corresponde a su fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$.

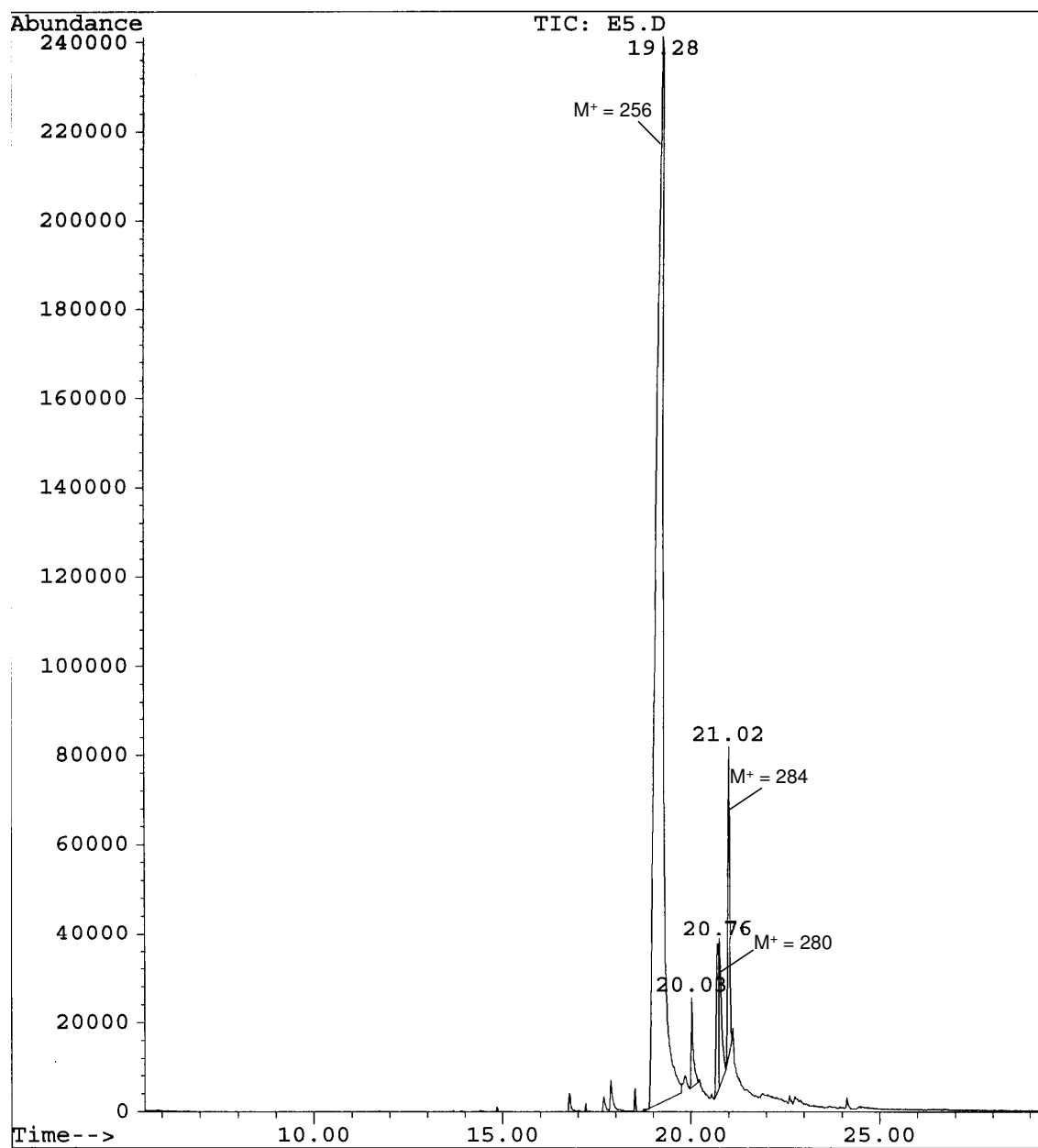
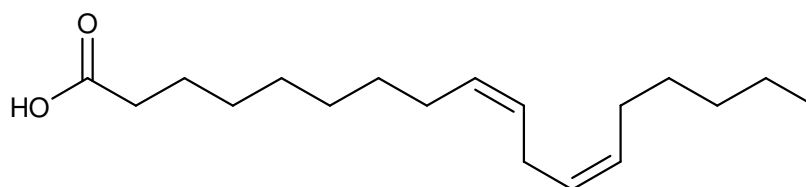


Figura 25. Cromatograma de la fracción B.

**13** ($C_{18}H_{32}O_2 = 280$ g/mol)

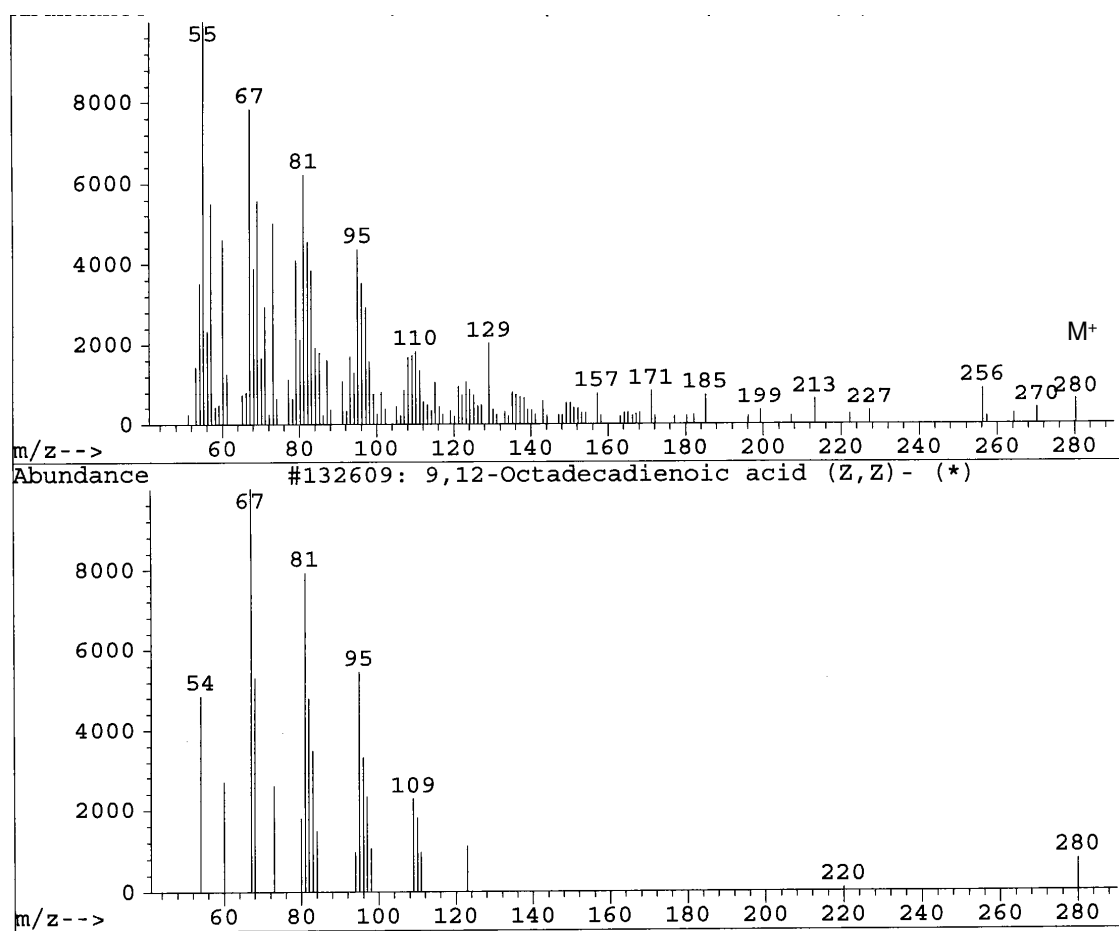
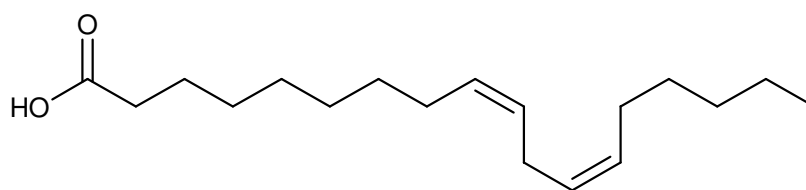
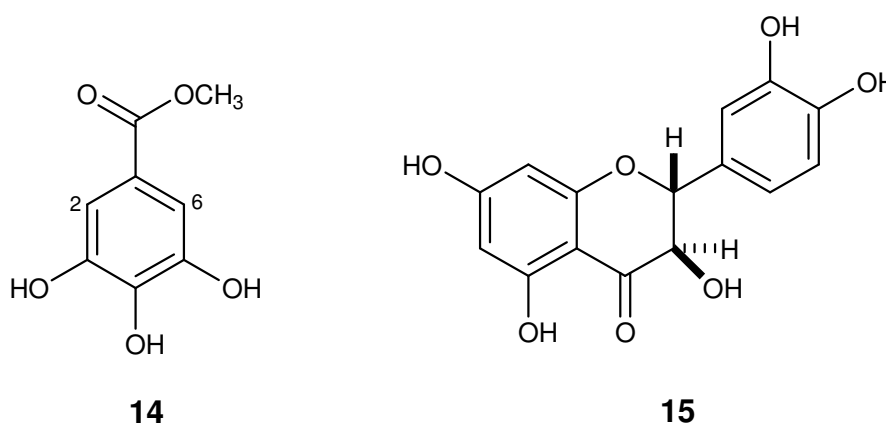


Figura 26. Espectro de masa del ácido linoléico (**13**) (arriba) y espectro de masa de referencia (base de datos Wiley 138, abajo).



13 ($C_{18}H_{32}O_2 = 280$ g/mol)

Otro lote del extracto MeOH de los tallos se extrajo con *n*-BuOH-H₂O, la fase de *n*-BuOH se concentró y se sometió a separación cromatográfica en columna, se empleó mezclas de CHCl₃-(CH₃)₂CO y CHCl₃-(CH₃)₂CO-H₂O como eluyentes. Esto condujo a la obtención del galato de metilo (**14**) y al flavonoide taxifolina (**15**). El compuesto **14** se caracterizó mediante sus datos de RMN y por comparación con una muestra auténtica obtenida de *Geranium bellum* Rose. En la Fig. 27 se muestra el espectro de RMN de ¹H de **14** y en la Fig. 28 se observa una CCF de **14** comparada con una muestra auténtica del mismo compuesto.



El espectro de RMN de ¹H del compuesto **14** (Fig. 27, Tabla 5) mostró una señal ancha cercana en 9.0 ppm correspondiente a los 3 OH del anillo aromático, una señal simple que integró para dos protones en 6.93 ppm para H-2 y H-6 y en 3.73 ppm una señal simple perteneciente al OCH₃.

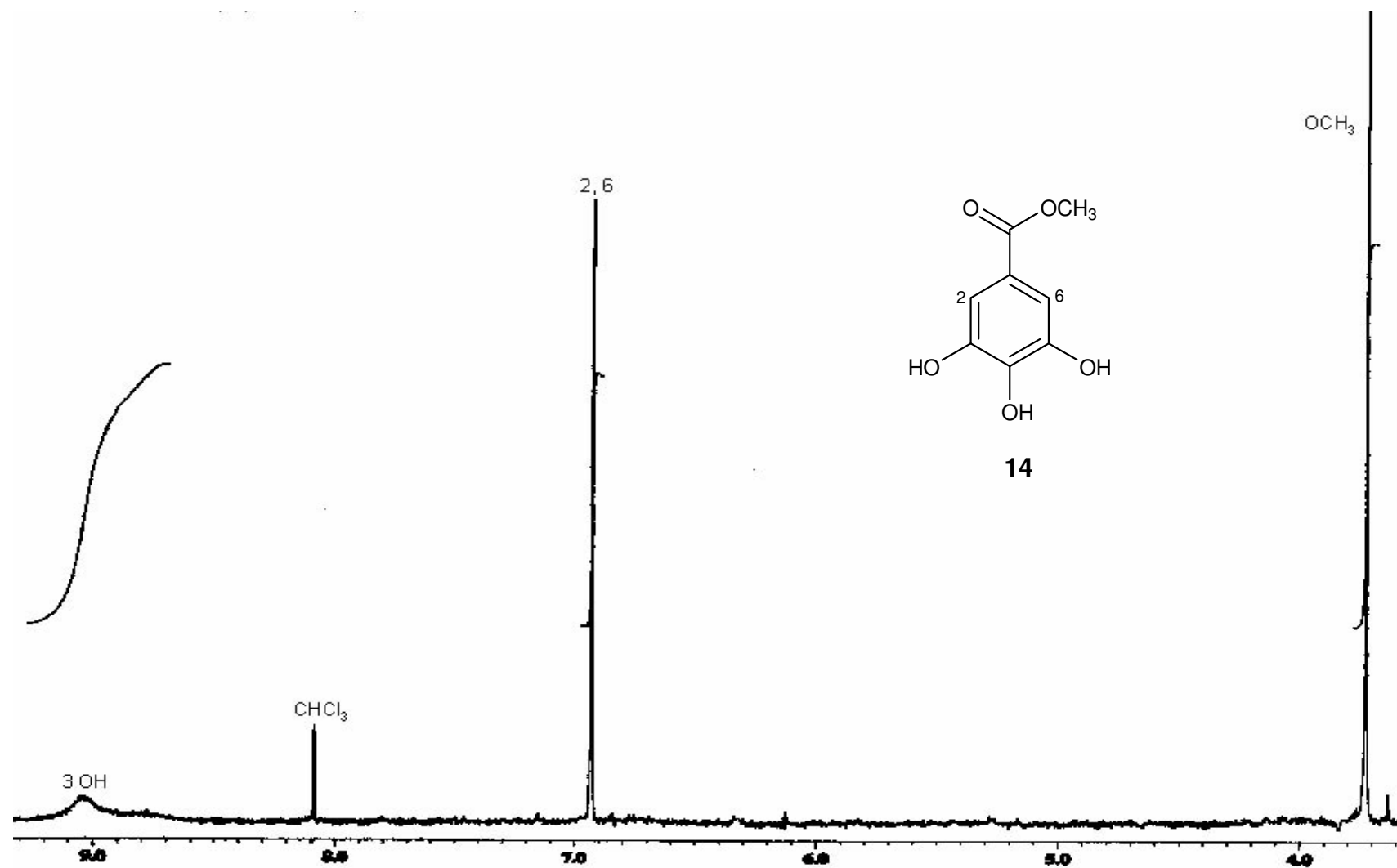
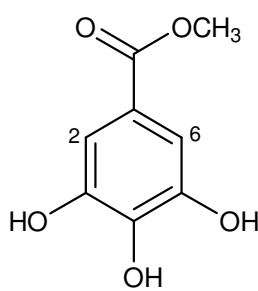


Figura 27. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de galato de metilo (**14**) en CDCl_3 - DMSO-d_6 (1:1).

Tabla 5. Datos de RMN de ^1H (400 MHz) y ^{13}C (100 MHz) de galato de metilo (**14**), δ en ppm, disolvente $\text{DMSO-d}_6:\text{CDCl}_3$ (1:1).

H	$\delta_{\text{H}}/\text{ppm}$ (H; mult)
2	6.93 (2H; s)
6	6.93 (2H; s)
3OH	~ 9.0
OCH_3	3.73 (3H; s)



14

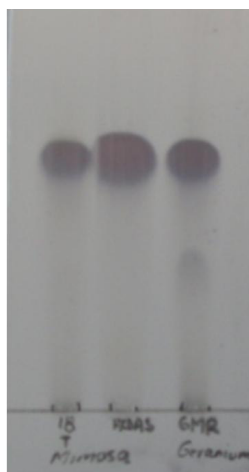


Figura 28. CCF del galato de metilo obtenido de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera* (izquierda y centro) y la muestra estándar aislada de *Geranium bellum* (derecha).

El galato de metilo es un tanino hidrolizable, que presenta actividad antimicrobiana, antiasmática y antioxidante; a una concentración 10 mM inhibe la adhesión de los leucocitos humanos en un 100 %, también inhibe la adhesión de las células cancerosas con las células vasculares endotelial en un 99 %; inhibe el crecimiento de las bacterias intestinales *Bacteroides fragilis*, *Clostridium clostridiiforme*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium paraputrificum*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* y *Salmonella typhimurium*. Tiene función también como inmunosupresivo e inhibe la metástasis del cáncer así como la colagenasa humana.⁴⁶

Además presenta también propiedades antifúngicas contra varios organismos patógenos para las plantas, por ejemplo contra *Magnaporthe grisea*, que provoca la destrucción del arroz; *Puccinia recondita*, que oxida la hoja del trigo; y contra el moho gris del pepino causado por *Botrytis cinerea*, con una efectiva actividad a concentraciones de 500 ppm, en todos los casos. Presenta moderada actividad contra *Erysiphe graminis* causante del enmohecimiento de la cebada.⁴⁷

Por otro lado, una extracción con acetona del extracto MeOH condujo a un producto que se cromatografió con CHCl_3 , mezclas de CHCl_3 - $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ - H_2O , éter, mezclas de éter-MeOH y MeOH como eluyentes. Esto dio lugar a una mezcla de quercetina (**16**) y galato de metilo (**14**) y nuevamente se obtuvo taxifolina (**15**), aunque no de manera pura. La quercetina (**16**) se identificó mediante la comparación con una muestra auténtica en CCF (Fig. 29)

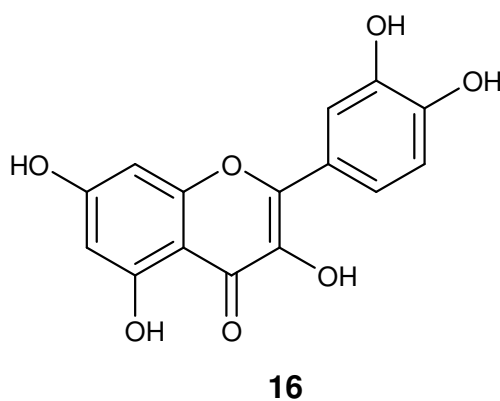
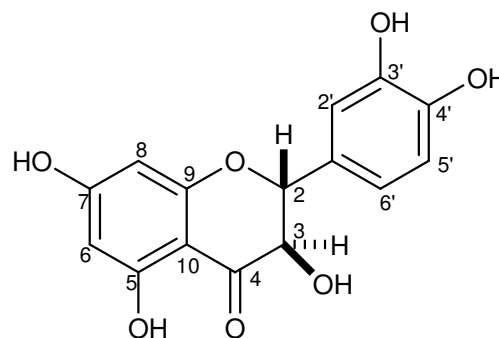


Figura 29. CCF de quercetina aislada de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera* (izquierda) y una muestra estándar de *Geranium bellum* (derecha).

La unión de las fracciones donde se encontró la taxifolina (**15**) y la separación cromatográfica de las mismas, con CHCl_3 , $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$ y MeOH como eluyentes, permitió la purificación del compuesto, el cual se caracterizó mediante sus datos espectroscópicos y por comparación con datos descritos.⁴⁸⁻⁵⁰ Los espectros de ^1H , ^{13}C , así como los experimentos COSY, HMBC y HMQC se muestran en las figuras 30-34.

En el espectro de ^1H del compuesto **15** (Fig. 30, Tabla 6) se observaron las señales simples correspondientes a los grupos hidroxilo de la molécula en 11.90 (OH-C5), 10.84 (OH-C7), 9.04 (OH-C4') y 8.99 ppm (OH-C3'); una señal simple en 6.87 ppm (H-2'), una señal simple que integró para dos protones en 6.73 ppm (H-5', H-6'), una señal doble ($J = 2.0$ Hz) en 5.90

**15**

ppm para H-6, una señal doble ($J = 2.0$ Hz) en 5.85 ppm para H-8, una señal doble ($J = 6.2$ Hz) en 5.76 ppm (OH-C3), una señal doble ($J = 11.4$ Hz) en 4.97 ppm para H-2 y una señal doble de dobles ($J = 11.4, 6.2$ Hz) en 4.49 ppm para el protón 3 base de OH.

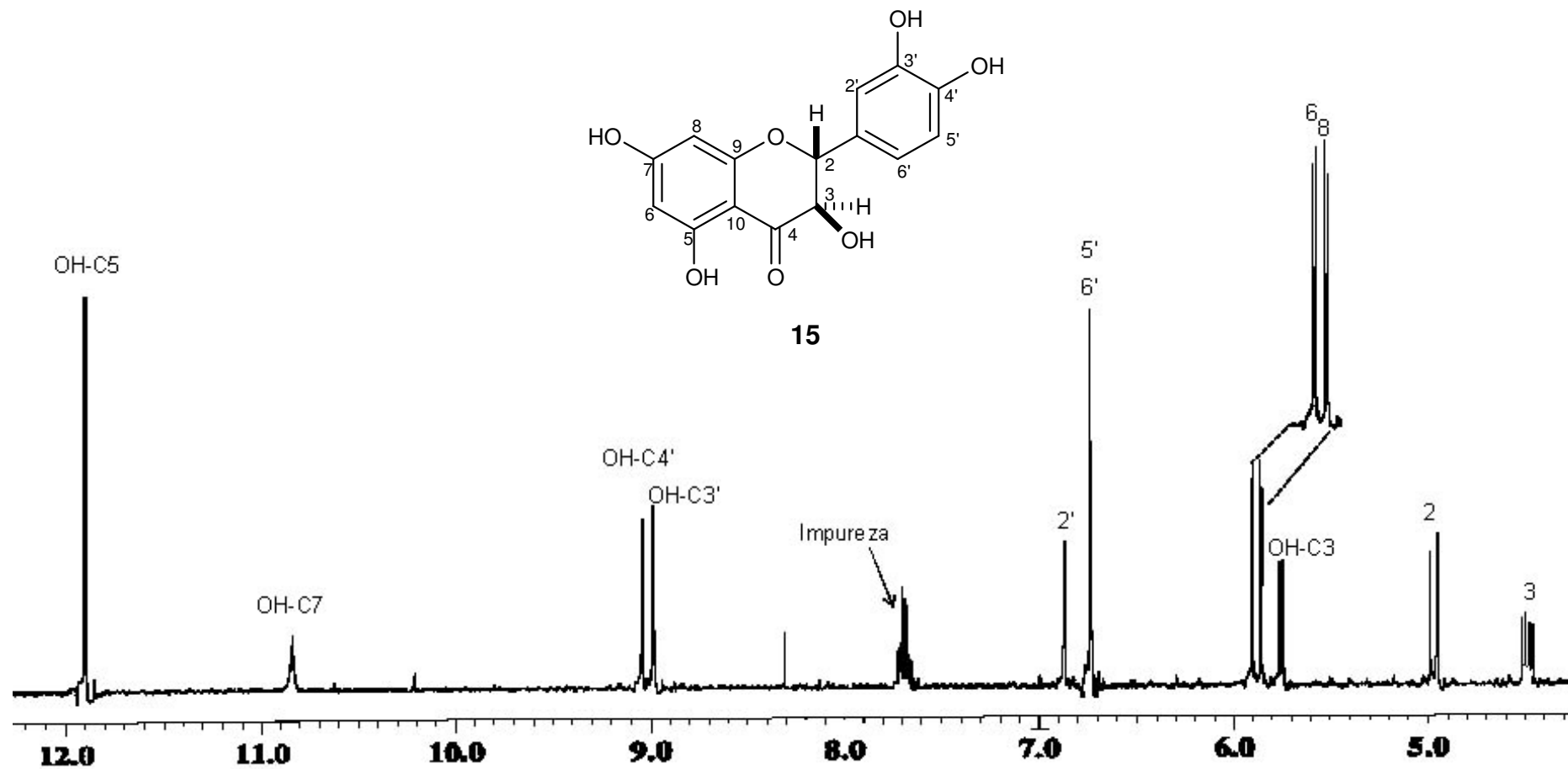
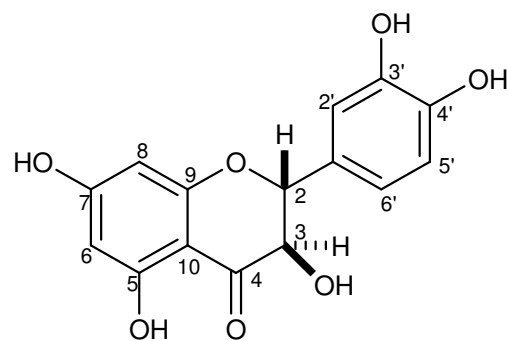
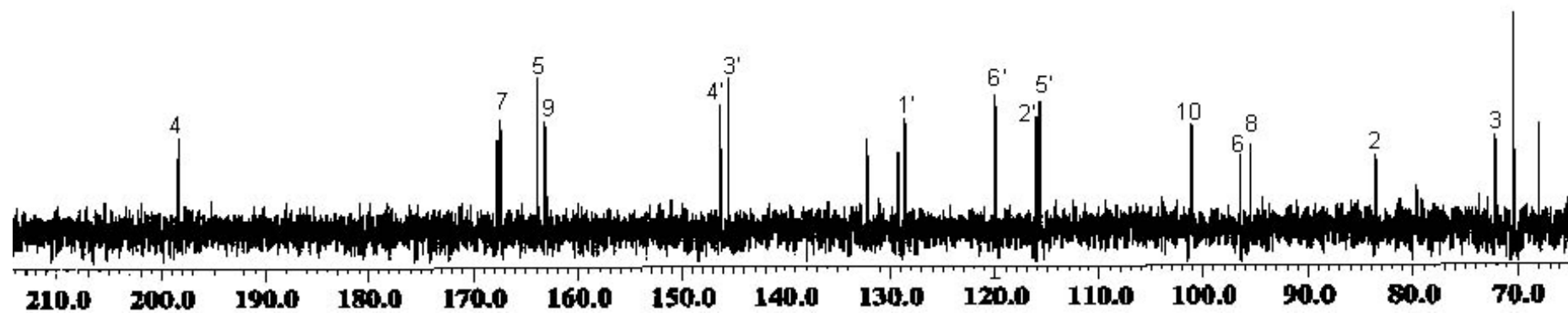


Figura 30. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de taxifolina (15) en DMSO-d_6 .



15

Figura 31. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de taxifolina (15) en DMSO-d_6 .

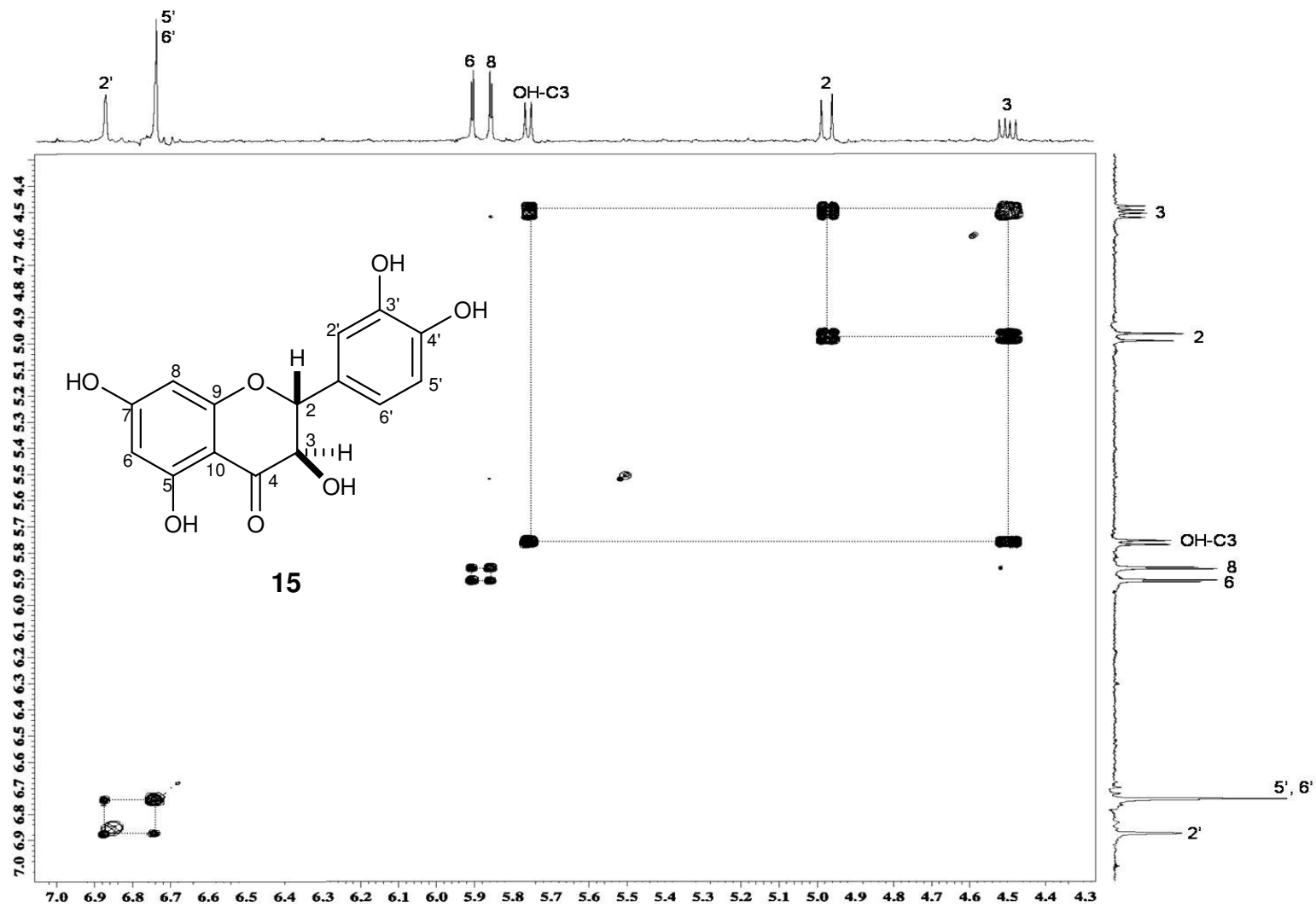


Figura 32. Experimento COSY de taxifolina (15) en DMSO-d₆.

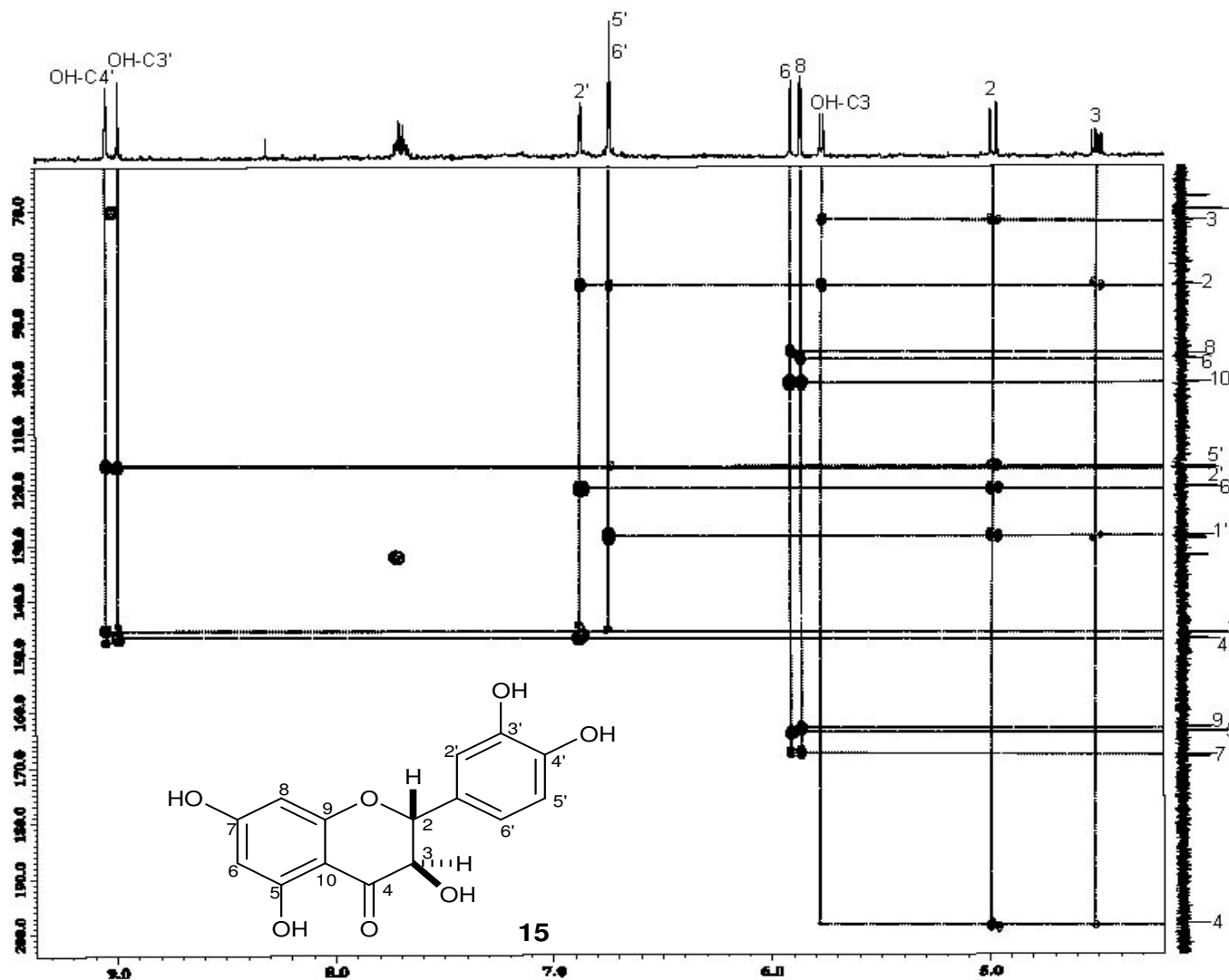


Figura 33. Experimento HMBC de taxifolina (**15**) en DMSO-d₆.

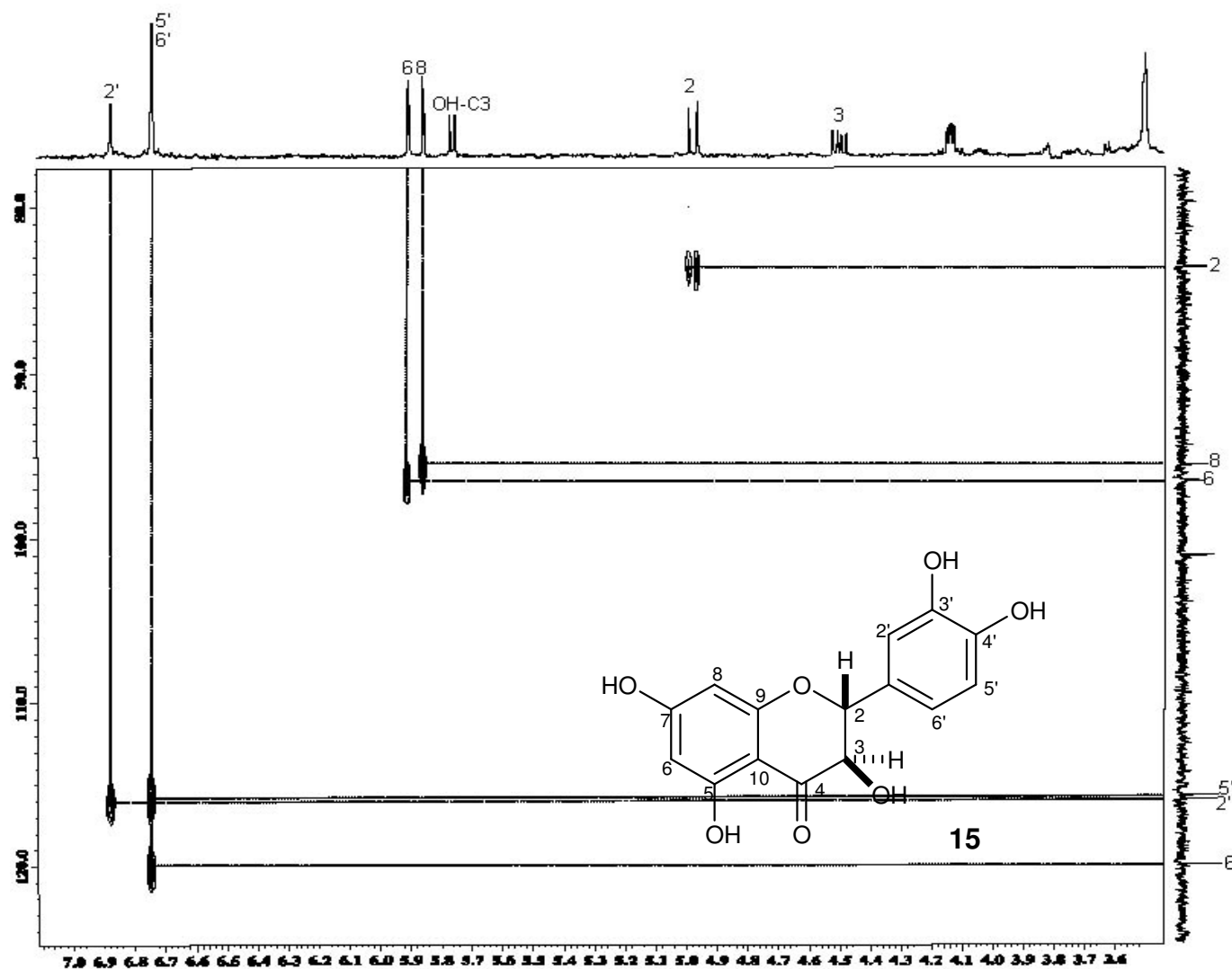
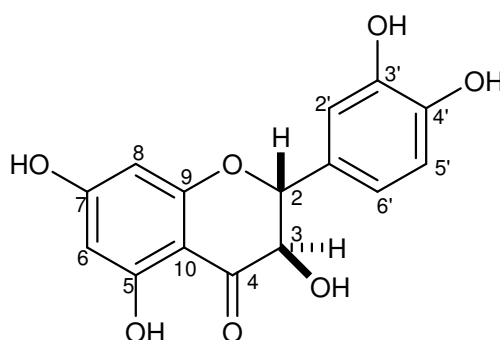


Figura 34. Experimento HMQC de taxifolina (**15**) en DMSO-d₆.

Tabla 6. Datos espectroscópicos de taxifolina (**15**), δ en ppm, disolvente DMSO- d_6 .

H	δ_H /ppm (H; mult; J/Hz)	COSY	C	δ_C /ppm	HMBC
2	4.97 (1H; <i>d</i> ; 11.4)	H-3	2	83.43	H-3, H-2', H-6', OH-C3
3	4.49 (1H; <i>dd</i> ; 11.4, 6.2)	H-2, OH-C3	3	71.94	OH-C3
6	5.90 (1H; <i>d</i> ; 2.0)	H-8	4	198.35	H-2, H-3, OH-C3
8	5.85 (1H; <i>d</i> ; 2.0)	H-6	5	163.86	H-6
2'	6.87 (1H; <i>s</i>)	H-5'	6	96.51	H-8
5'	6.73 (2H; <i>s</i>)	H-6'	7	167.33	H-6, H-8
6'	6.73 (2H; <i>s</i>)	H-5'	8	95.50	H-6
OH-C3	5.76 (1H; <i>d</i> ; 6.2)	H-3	9	163.10	H-8
OH-C5	11.90 (1H; <i>s</i>)	-	10	101.02	H-6, H-8
OH-C7	10.84 (1H; <i>s</i>)	-	1'	128.57	H-2, H-5'
OH-C3'	8.99 (1H; <i>s</i>)	-	2'	115.89	H-2, H-6', OH-C3'
OH-C4'	9.04 (1H; <i>s</i>)	-	3'	145.47	H-5', OH-C4'
			4'	146.31	H-2', OH-C3'
			5'	115.65	OH-C4'
			6'	119.93	H-2, H-2'

**15**

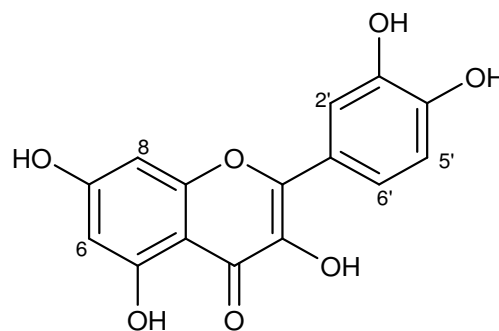
La taxifolina se encuentra en algunos cítricos como el limón,⁵¹ uva y naranja, su actividad antioxidante es dos veces más baja que la quercetina,⁵² además posee efectos antiproliferativos contra células tumorales⁵³ y actividad antilipoperoxidante.⁵⁴

En una investigación realizada por Park Y. *et al.* reportaron el efecto de la taxifolina al producir un rápido incremento en el flujo de sangre ocular, así como la recuperación de la función retinal.⁵⁵

Una vez que se había identificado a la quercetina (**16**) por CCF se llevó a cabo un procedimiento para su obtención. Para ello se agregaron 200 mL de agua destilada a 7.64 g de extracto MeOH de los tallos de *M. biuncifera* y se filtró. La parte soluble en agua se extrajo con 400 mL de AcOEt, la fase orgánica se concentró a sequedad en el rotavapor dando como producto 120 mg. De este producto se tomó la mitad y se recromatografió en una columna de 0.4 cm de diámetro interno y se empleó CHCl₃ y una mezcla de CHCl₃-(CH₃)₂CO como eluyentes. Las fracciones colectadas fueron de 2 mL cada una y su monitoreo por CCF reveló la presencia de quercetina (**16**). Se repitió la cromatografía del producto restante (60 mg) bajo las mismas condiciones.

En la Fig. 35 se presenta el espectro de la quercetina y en la Fig. 36 una ampliación del mismo; el espectro de ¹H de la Fig. 37 corresponde a una muestra auténtica de quercetina. La comparación de los desplazamientos, así como sus constantes de acoplamiento nos ayudaron a corroborar la presencia de dicho compuesto.

En el espectro de ¹H del compuesto **16** (Fig. 36, Tabla 7) se observó una señal simple ancha del grupo hidroxilo en C5 en 12.49 ppm, una señal doble ($J = 2.2$ Hz) en 7.67 ppm para H-2', una señal doble de dobles ($J = 8.4, 2.2$ Hz) en 7.54 ppm para H-6', una señal doble ($J = 8.4$ Hz) en 6.88 ppm para H-5', una señal doble ($J = 1.8$ Hz) en 6.40 ppm para H-8 y finalmente una señal doble ($J = 1.8$ Hz) en 6.18 ppm para H-6.

**16**

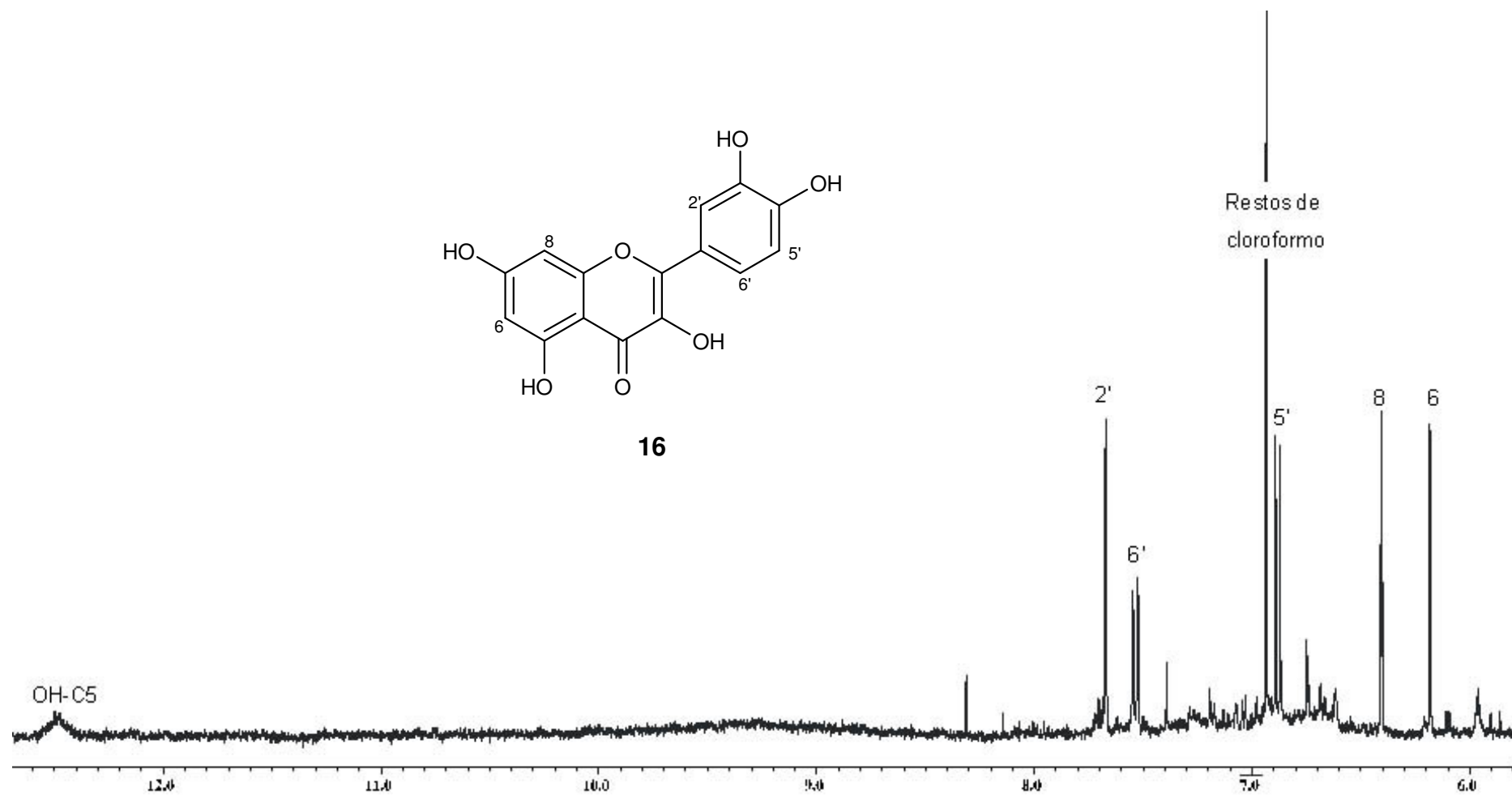


Figura 35. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de quercetina (**16**) en DMSO-d_6 .

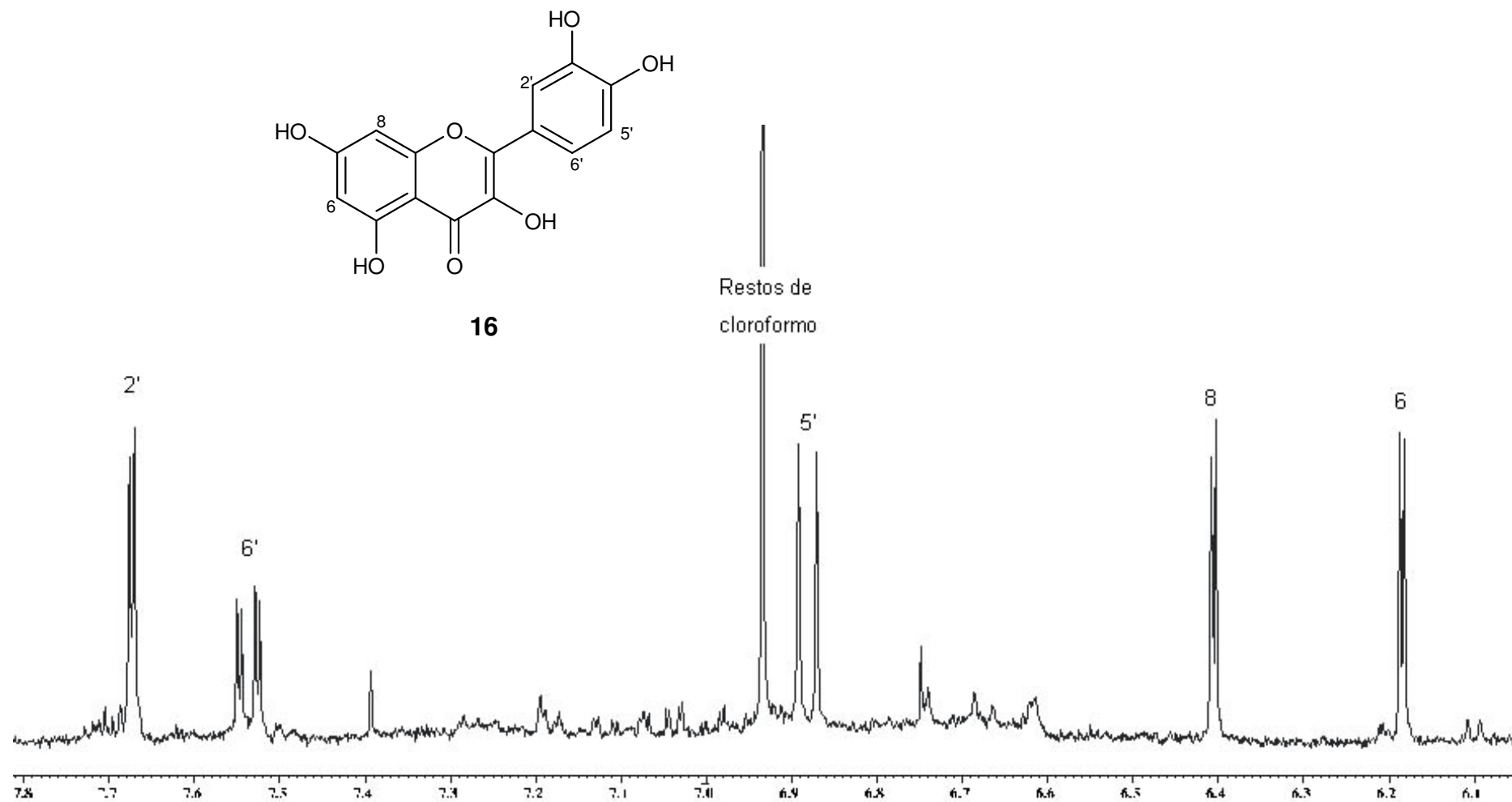


Figura 36. Ampliación del espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de quercetina (**16**) en DMSO-d_6 .

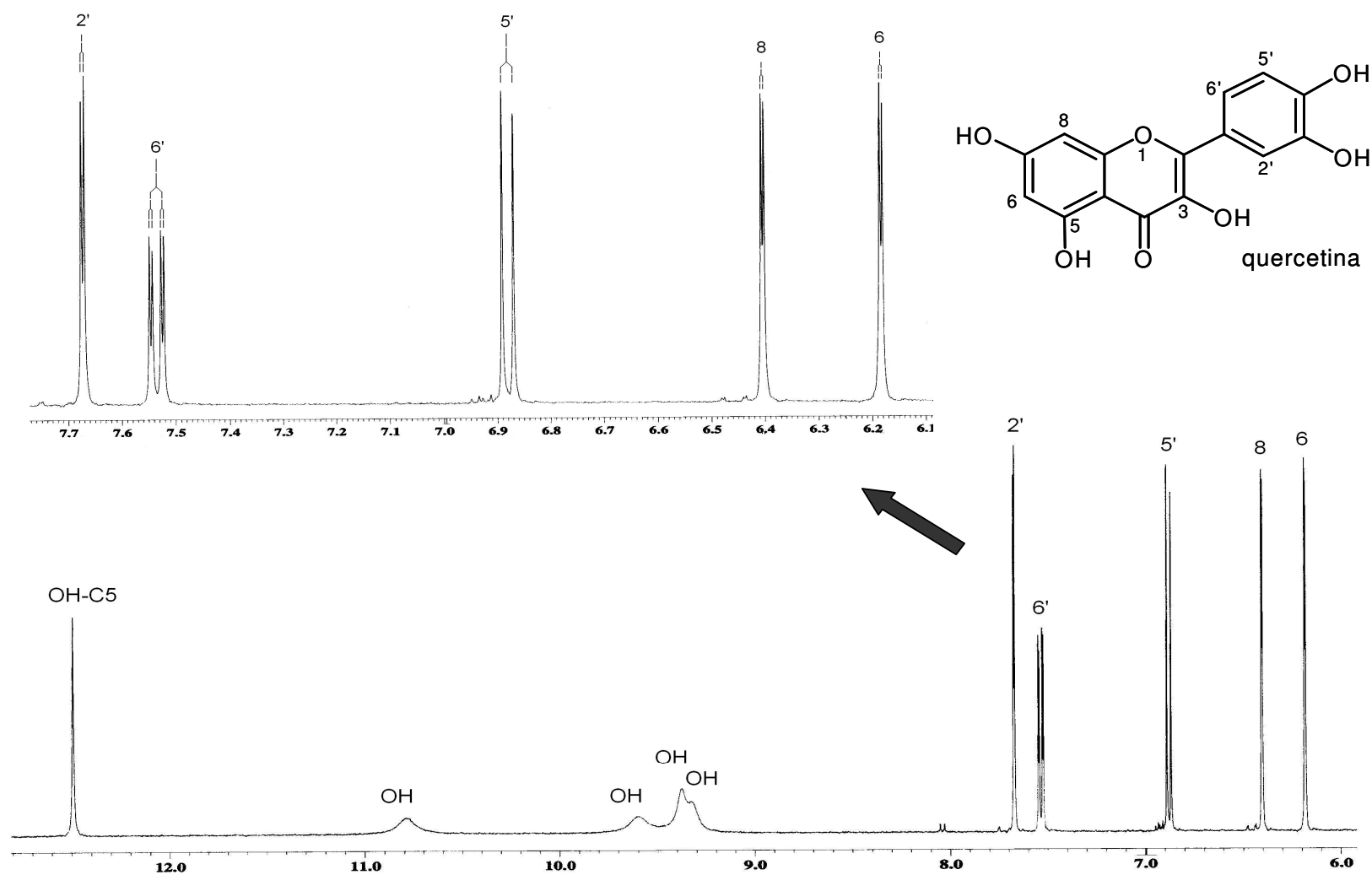
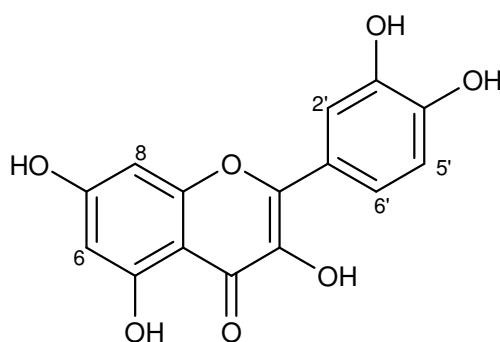


Figura 37. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) de una muestra auténtica de quercetina en DMSO-d₆.

Tabla 7. Datos de RMN de ^1H (400 MHz) de quercetina (**16**), δ en ppm, disolvente DMSO- d_6

H	δ_{H} /ppm (H; mult; J/Hz)
6	6.18 (1H; <i>d</i> ; 1.8)
8	6.40 (1H; <i>d</i> ; 1.8)
2'	7.67 (1H; <i>d</i> ; 2.2)
5'	6.88 (1H; <i>d</i> ; 8.4)
6'	7.54 (1H; <i>dd</i> ; 8.4, 2.2)
OH-C5	12.49 (1H; <i>s</i> ancha)



16

La quercetina se encuentra presente en diversos vegetales como lechuga, pimiento rojo, amarillo y verde, en la cebolla tanto en la roja como la blanca, en la arugula, espinacas, brócoli, eneldo, rábano; en frutas como cereza agria, mora, grosella negra, zarzamora, fresa, uva, manzana, pera, ciruela y en el albaricoque.^{21,56} Administrada de forma intraperitoneal (25-100 mg/Kg) inhibe el daño gástrico producido por etanol en ratas. Posee propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antialergias, antiviral, antineoplástica y anticancerígena. Juega un papel protector en las enfermedades del hígado, cataratas y enfermedades cardiovasculares.²⁴

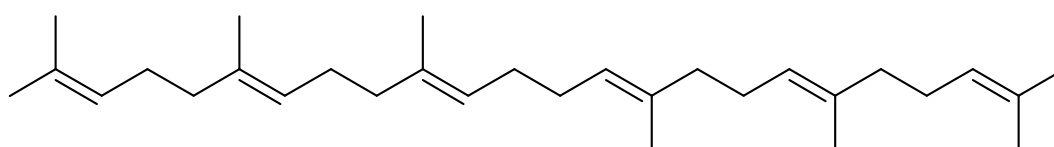
Se ha sugerido a la quercetina como estabilizador para el aceite de pescado como una alternativa para antioxidantes sintéticos. También es conocido que la quercetina reduce la agregación de eritrocitos en caballos, e inhibe la agregación de plaquetas en humanos. Tiene actividad contra el virus simple de herpes tipo 1 y 2.²⁴

La quercetina además presenta actividad contra las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*; interfiere con el crecimiento de *Clostridium botulinum* y evita que este microbio produzca su toxina, aunque en el caso de que la toxina esté ya preformada la adición de quercetina no es capaz de inactivar a la toxina; inhibe el crecimiento de *Brucilla abortus* y *Aerobacillus polymyxa*.⁵⁷

Posee actividad antiviral contra el virus de la rabia, la parainfluenza y la influenza, el virus del polio y el virus respiratorio sincitial; es efectivo contra los hongos *Candida tropicales* y *Azotobacter vinelandii*; también se usa para tratar dolores e inflamación, calambres nocturnos, cansancio (sensación de las piernas pesadas), edema e hinchazón de las piernas, diabetes mellitus, alergias, parodontosis, cáncer, infecciones virales, resfriado común, oncogénesis química, dolor de cabeza y úlceras duodenales.²⁴

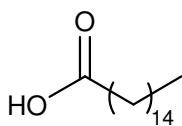
5. CONCLUSIONES

- Se llevó a cabo el estudio fitoquímico de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera* (Benth.) Barneby, el cual implicó la búsqueda de publicaciones químicas y biológicas sobre las plantas pertenecientes al género *Mimosa*, la recolección de la planta; su clasificación botánica; el secado a la sombra, así como su posterior separación y molienda de hojas y tallos y la obtención de los extractos clorofórmico (CHCl_3) y metanólico (MeOH).
- La separación cromatográfica del extracto CHCl_3 de las hojas condujo a la caracterización del compuesto **1**, mediante sus datos físicos y espectroscópicos, así como por comparación de una muestra auténtica de Aldrich.

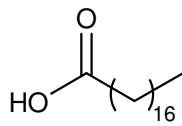


(6E, 10E, 14E, 18E)-2,6,10,15,19,23-hexametil-2,6,10,14,18,22-tetraeicosahexaeno
(escualeno, **1**)

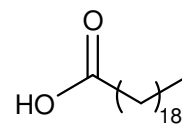
- La separación cromatográfica del extracto MeOH de los tallos condujo a la obtención de los compuestos **2-16**.



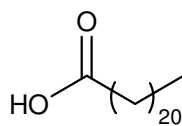
ácido palmítico (2)



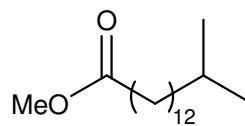
ácido esteárico (3)



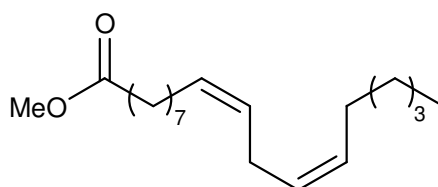
ácido eicosanoico (4)



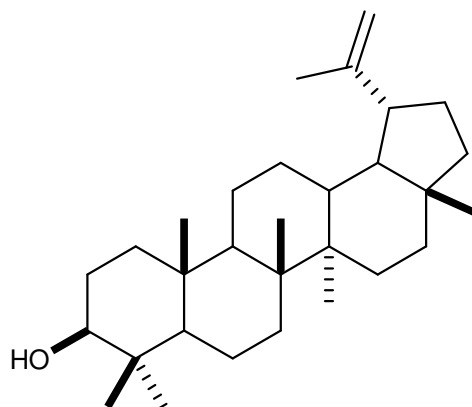
ácido docosanoico (5)



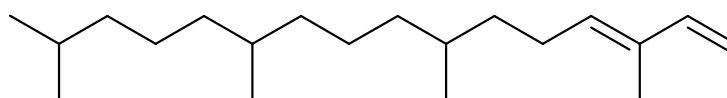
14-metil pentadecanoato de metilo (6)



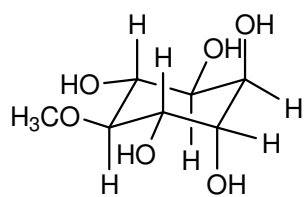
(Z,Z)-9,12-octadecadienoato de metilo (7)



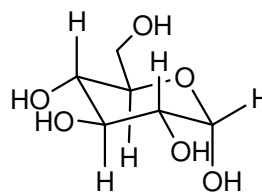
lupeol (8)



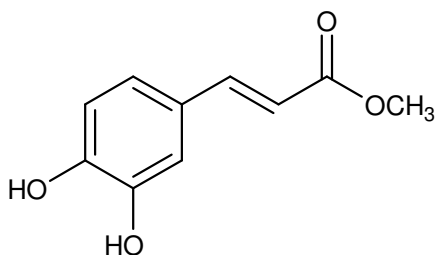
3E-3,7,11,15-tetrametil-1,3-hexadecadieno (9)



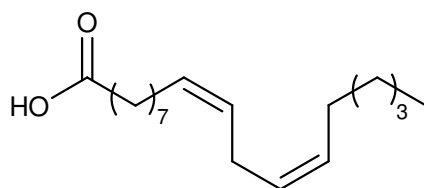
D-*quiros*-(+)-3-*O*-metilinositol
((+)-pinitol, **10**)



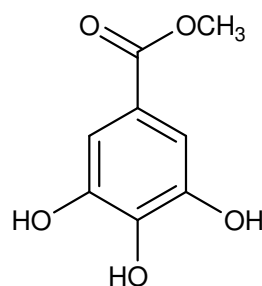
α -D-glucosa (**11**)



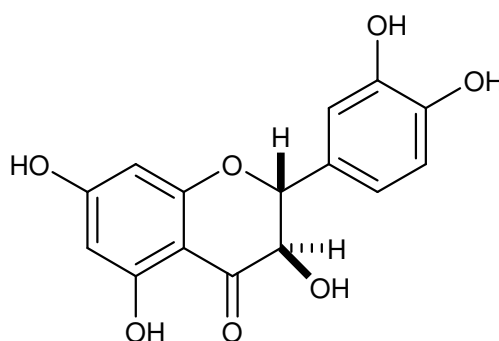
trans-3,4-dihidroxicinnamato de metilo
(éster metílico del ácido cafeico, **12**)



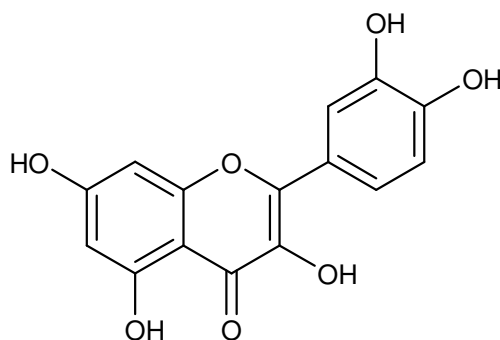
ácido linoléico (**13**)



galato de metilo (**14**)



taxifolina (**15**)



quercetina (16)

- Hasta donde tenemos conocimiento, es la primera vez que se aislan el éster metílico del ácido caféico (12), galato de metilo (14), taxifolina (15) y quercetina (16) de especies de *Mimosa*. Aunque si se han obtenido glicósidos de quercetina de *Mimosa*, como se menciona en los antecedentes.
- La presencia del compuesto 12 tal vez esté asociada a los compuestos responsables de los movimientos de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera*, dada la similitud estructural con compuestos conocidos a los cuales se les ha atribuído tal comportamiento, como se mencionó en los antecedentes de este trabajo.
- Dada la relevante actividad biológica de los compuestos lupeol (8), (+)-pinitol (10), el éster metílico del ácido caféico (12), galato de metilo (14), taxifolina (15) y quercetina (16), su hallazgo en *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera* resulta importante y evidente la bondad que ofrecería esta especie en su empleo para el tratamiento de varias enfermedades. Por ejemplo, podría ayudar en procesos inflamatorios, enfermedades causadas por bacterias y en el tratamiento del cáncer.
- Los resultados obtenidos en este trabajo contribuyen al conocimiento de los metabolitos presentes en *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera* y aportan una metodología para la obtención de sustancias útiles a partir de fuentes naturales.

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1. General

Las separaciones cromatográficas se llevaron a cabo en gel de sílice 60, Merck, 0.04-0.063mm (230-400 mesh ASTM) en columnas de vidrio de 5, 2, 1, 0.4 y 0.2 cm de diámetro interno por 60, 37 y 25 cm de largo. Las CCF se realizaron en cromatofolios de gel de sílice sobre aluminio de 2.5 x 5.0 cm, el revelado de las placas se realizó con FeCl_3 en solución con MeOH; sulfato cérico; ácido difenilborínico β -etilaminoéster seguido de polietilenglicol en solución con MeOH y vainillina en solución con $\text{H}_3\text{PO}_4/\text{H}_2\text{O}$.

La caracterización de los compuestos se llevo a cabo principalmente por RMN de ^1H (400 MHz) y de ^{13}C (100 MHz), APT, COSY, HMBC Y HMQC en un equipo JEOL 400 eclipse, se ocuparon como disolventes CDCl_3 , D_2O , DMSO-d_6 y mezcla de $\text{DMSO-d}_6:\text{CDCl}_3$ (1:1) y como referencia interna TMS.

Los espectros de masa se obtuvieron en un espectrómetro de masa Hewlett Packard 5989-A, acoplado a un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890 Series II, por medio de impacto electrónico a 70 eV. Y fueron comparados con la base de datos Wiley 138.

6.2 Recolección e identificación de la planta

Los ejemplares de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera* (Benth.) Barneby (Fig. 38), se colectaron en el mes de agosto del 2002 y junio del 2004 en Epazoyucan, Hidalgo. Un espécimen se preparó y se envió al herbario del Centro de Investigaciones Biológicas de la UAEH, para su identificación botánica por parte del M. en C. Manuel González Ledesma (No. de depósito: J. M. Torres Valencia 18).



Figura 38. Parte aérea de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera* (Benth.) Barneby.

6.3. Obtención de los extractos

La planta se dejó secar a la sombra y se dividió en parte aérea y raíces. Del lote colectado en agosto del 2002 se separaron las hojas de los tallos y se procedió a la molienda de las hojas con un molino manual; los tallos tanto de las muestras del 2002 como las del mes de junio del 2004 se trituraron en un molino eléctrico, obteniéndose el extracto clorofórmico (CHCl_3) de las hojas y MeOH de los tallos (Fig. 39).

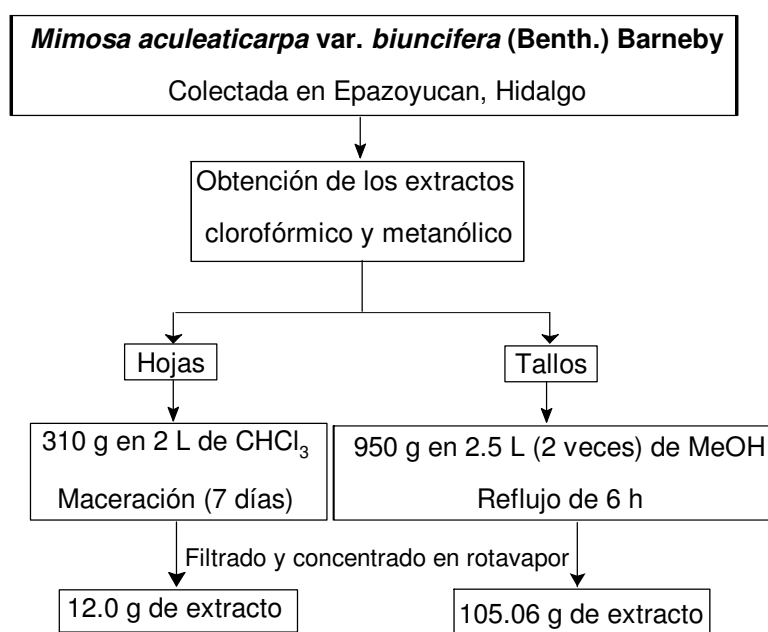
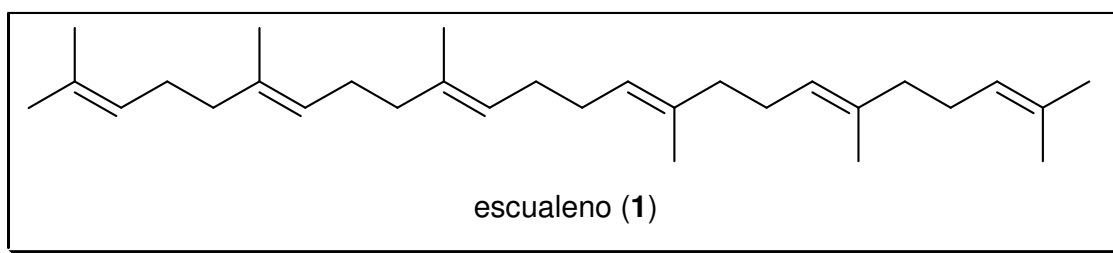


Figura 39. Obtención de los extractos de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera*.

6.4. Obtención y separación cromatográfica del extracto clorofórmico de las hojas de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera*.

Se pesaron 310 g de hojas secas y molidas, se colocaron en un frasco al que se le adicionó 2 L de CHCl_3 y se dejó tapado durante 7 días (maceración), posteriormente se filtró y concentró en el rotavapor. Se obtuvieron 12 g de extracto, de los cuales se tomaron 5 g para su separación cromatográfica con mezclas de hexano- CHCl_3 (1:1, 800 mL), (1:2, 800 mL) y (1:3, 1.2 L); CHCl_3 (400 mL), obteniéndose ocho eluatos de 400 mL, los cuales fueron analizados por CCF y RMN ^1H . De acuerdo a los resultados se juntaron las fracciones A (eluato 1-2), B (3-4), C (5-7) y D(8). Y se decidió continuar solamente con la fracción A.

La separación mediante cromatografía en columna de la fracción A (249.5 mg), con hexano- CHCl_3 (3:1, 40 mL), (2:1, 100 mL), (1:1, 95 mL), (1:2, 40 mL), CHCl_3 (20 mL) y $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ (25 mL) como eluyentes, los eluatos obtenidos fueron de 5 mL cada uno, esto condujo a la obtención del escualeno (**1**) (178 mg) en los eluatos 2-10. Sus espectros de ^1H y ^{13}C , así como su cromatograma y espectro de masa se muestran en las figuras 4-7, respectivamente.



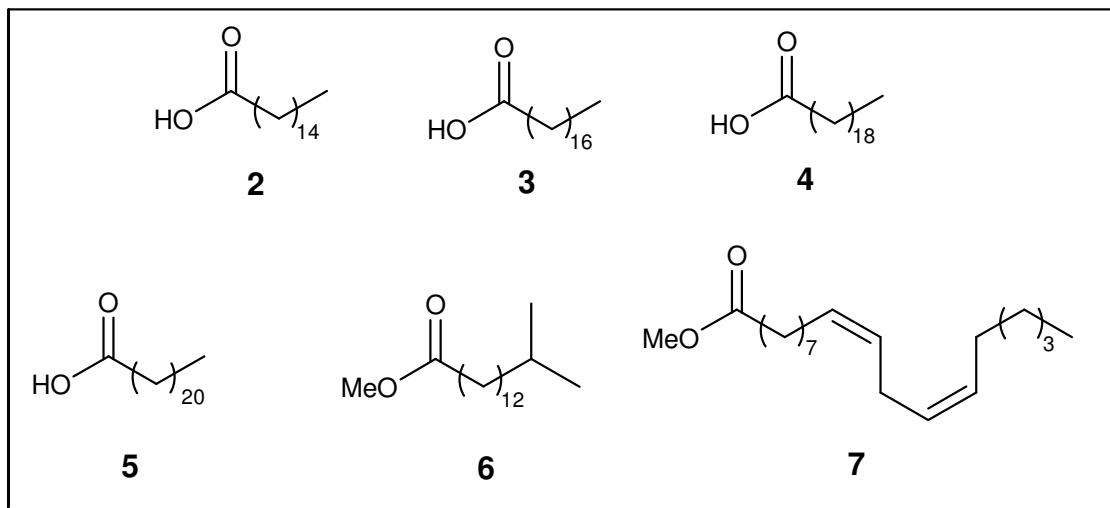
6.5. Obtención y separación mediante cromatografía en columna del extracto metanólico de los tallos de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera*.

Se pesaron 950 g de tallos previamente triturados y se sometieron a dos reflujos con MeOH durante 6 horas, se filtró y concentró en el rotavapor para obtener 105.06 g de extracto metanólico.

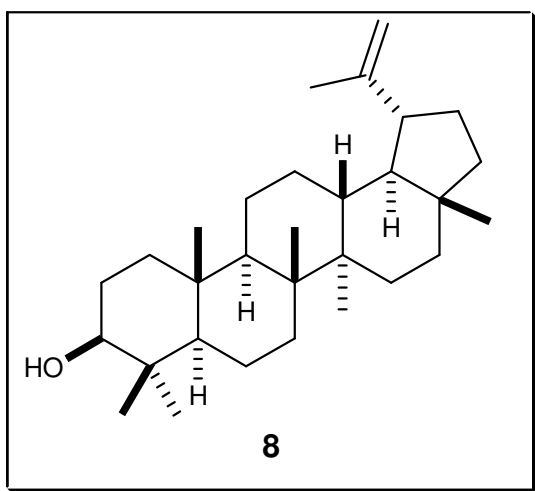
El extracto MeOH de los tallos (5.06 g) se llevó a una primera separación en columna, se ocupó como eluyentes acetona (500 mL) y MeOH (500 mL), lo que dio origen a las fracciones A (eluato 1) y B (2), con un peso de 0.49 g y 4.37, respectivamente.

La fracción A se recromatografió con CHCl_3 (120 mL), mezcla de CHCl_3 - $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ (1:1, 120 mL), $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ (100 mL), mezcla $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ -MeOH (1:1, 100 mL) y MeOH (100 mL) para obtener 29 eluatos que se juntaron con base a su R_f en CCF.

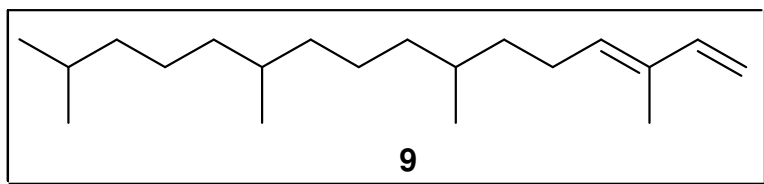
En los eluatos 1-3 se identificaron mediante espectrometría de masa y comparación con la base de datos Wiley 138 (Fig. 9-15), el ácido palmítico (2), ácido esteárico (3), ácido eicosanoico (4), ácido docosanoico (5), 14-metil pentadecanoato de metilo (6), y el (Z,Z)-9,12-octadecadienoato de metilo (7), el peso de esta fracción (eluatos 1-3) fue de 14.5 mg.



En los eluatos 4-5 (4.4 mg) se identificaron los ácidos grasos esteárico (**3**) y eicosanoico (**4**).



En los eluatos 6 y 7 (3.4 mg) se caracterizó mediante RMN de ^1H (Fig. 16), ^{13}C (Fig. 17), APT (Fig. 18), MS (Fig. 19), y con base en datos descritos,⁴⁷ al lupeol (**8**).

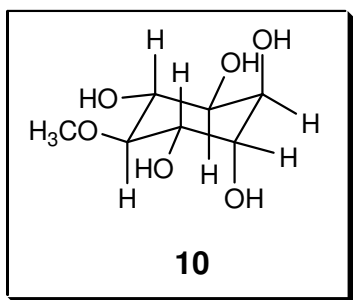


En los eluatos 14-16 (37 mg) se caracterizó el neofitadieno (**9**) con base a su espectro de

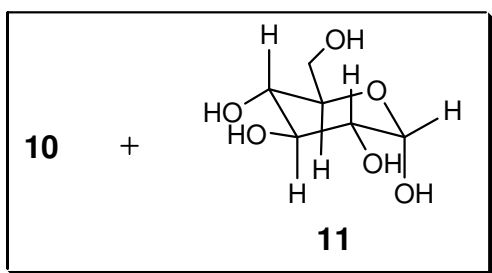
masa (Fig. 20).

La CC de la fracción B (2.47 g), al emplear CHCl_3 (500 mL), $\text{CHCl}_3\text{-(CH}_3)_2\text{CO}$ (1:1, 500 mL), $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ (500 mL), $(\text{CH}_3)_2\text{CO-MeOH}$ (1:1, 500 mL) y MeOH (250 mL) y colectar fracciones de 250 mL, condujo a la identificación de los compuestos **10** y **11**.

En los eluatos 1-2 (6.7 mg) se identificó nuevamente a los ácidos grasos **4** y **5**.



En el eluato 7 (623.2 mg) proveniente de la fracción B, se caracterizó, con base en RMN ^1H (Fig. 21), al (+)-pinitol (**10**).



En los eluatos 8-10 de la CC de la fracción B se observó, mediante RMN ^1H (Fig. 22), una mezcla de **10** y $\alpha\text{-D-glucosa}$ (**11**), el peso de esta fracción fue de 955 mg.

En base al procedimiento descrito por Englert J. *et al.*,¹¹ el extracto MeOH (50.82 g) se trató con una solución saturada de BuOH/ H_2O y posteriormente se adicionó KOH al 1 %, la fase orgánica se concentró a sequedad en el rotavapor y se redisolvió con la mínima cantidad de MeOH, la cual se vertió sobre éter, el precipitado formado se separó por filtración, se extendió el papel filtro y se dejó secar a temperatura ambiente, obteniéndose un polvo fino de color café (Fig. 40-42).

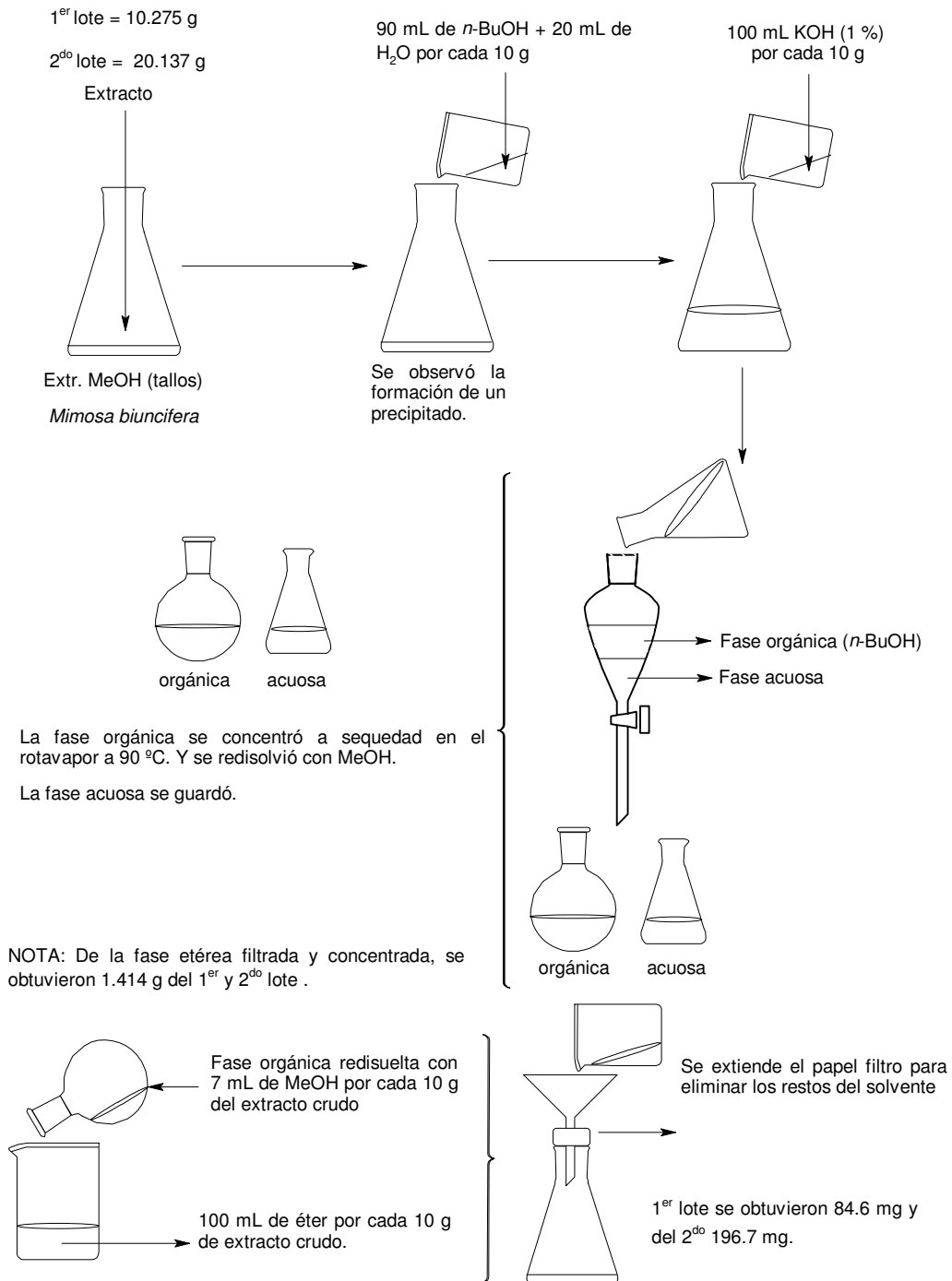


Figura 40. Tratamiento del extracto MeOH de los tallos de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera*.

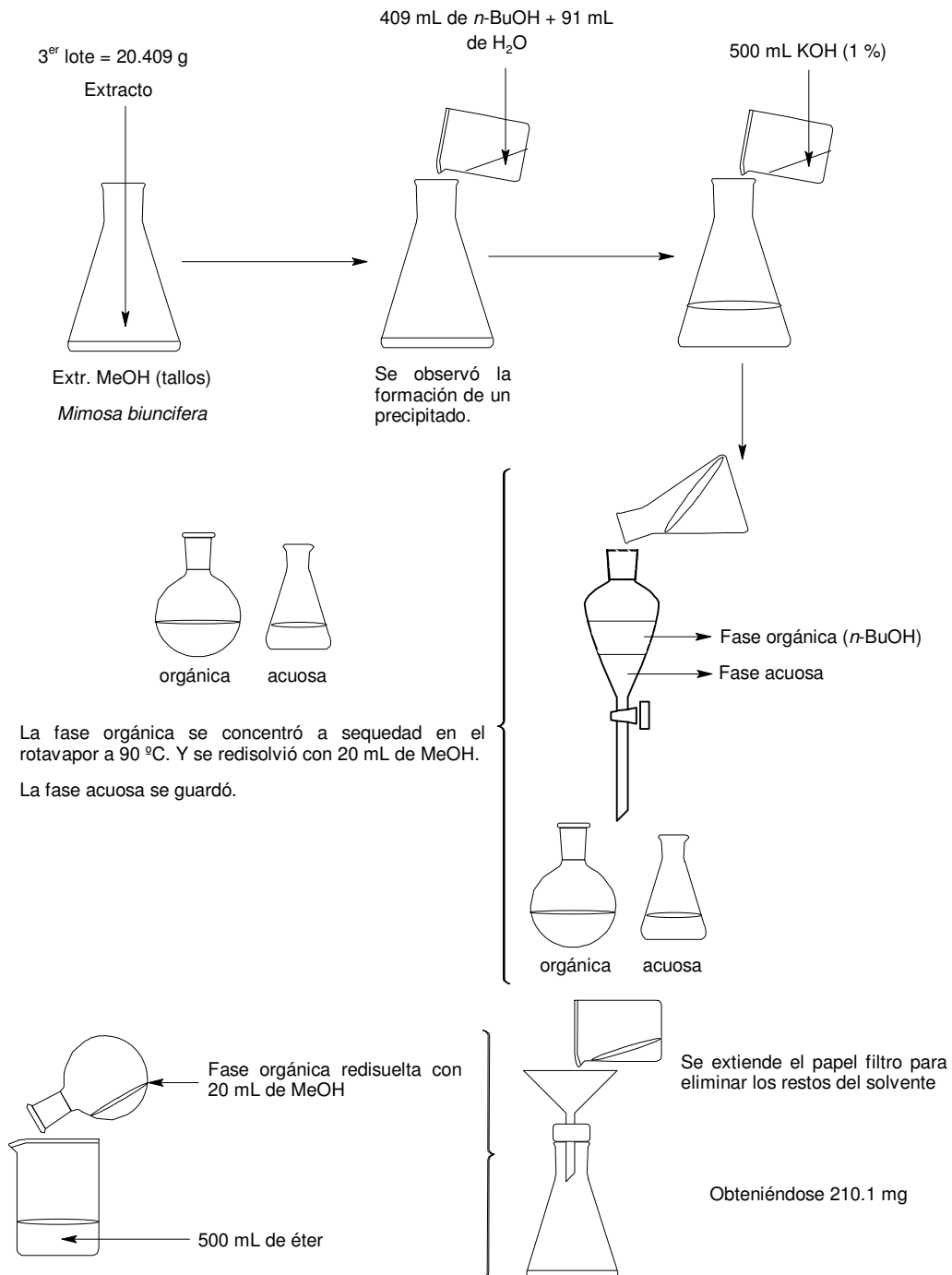


Figura 41. Tratamiento del extracto MeOH de los tallos de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera*.

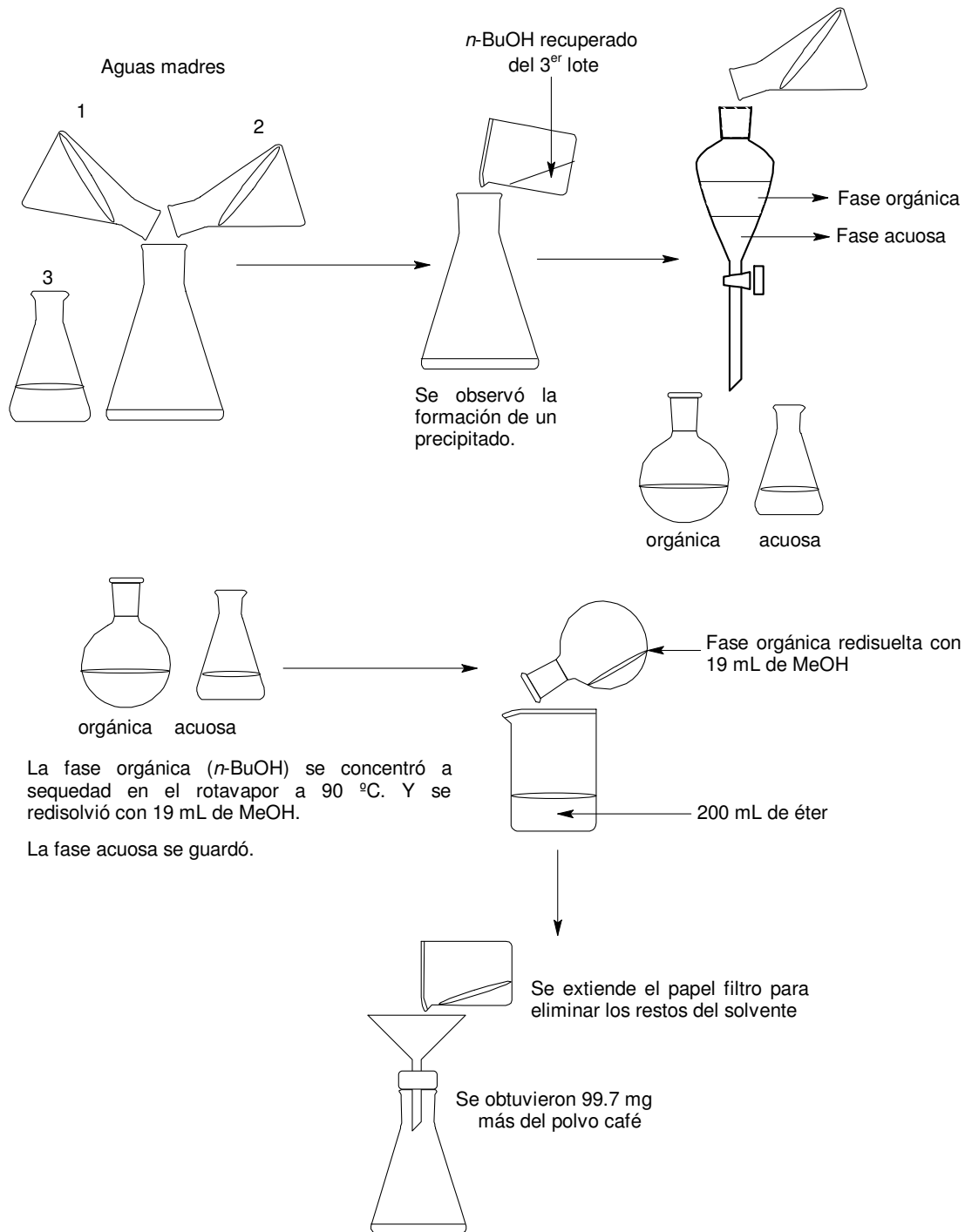
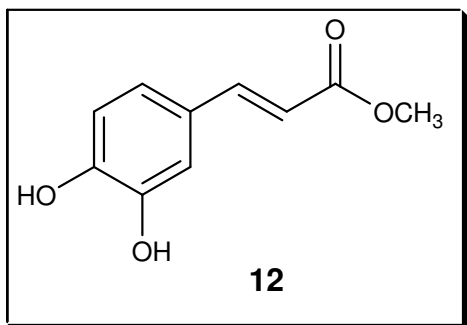
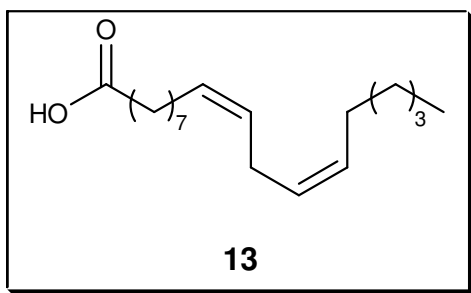


Figura 42. Tratamiento de las aguas madres.

El sólido café (577 mg) se cromatografió con mezclas de CH_2Cl_2 -MeOH- H_2O (14:7:1, 320 mL), MeOH (180 mL), $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ - H_2O (7:3, 80 mL), (1:1, 80 mL) y finalmente con H_2O (120 mL), colectándose 39 eluatos de 20 mL cada uno.



En el eluato 3 (65.1 mg) se caracterizó al éster metílico del ácido caféico (**12**). Sus espectros de ^1H se muestran en las figuras 23 y 24.



En el eluato 5 (34.8 mg) se identificó a los ácidos grasos **2**, **3**, y al ácido linoleico (**13**). Su espectro de masas se muestra en la Fig. 26.

Por otro lado, se realizó una extracción con *n*-BuOH/ H_2O a 24.52 g de extracto metanólico, obteniéndose 12.41 g de producto (Fig. 43), del cual se tomaron 7.89 g y se procedió a cromatografiarlo con mezclas de CHCl_3 - $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ - H_2O (50:15:0.2, 80 mL) y (45:12:0.2, 60 mL) y se colectó fracciones de 10 mL, las cuales se monitorearon mediante CCF, con el objetivo de identificar la presencia de flavonoides. Finalmente, se juntaron los eluatos (1-2) que contenían sustancias grasas y la fracción que comprende a los eluatos (3-12), cuyo peso fue de 1.13 g.

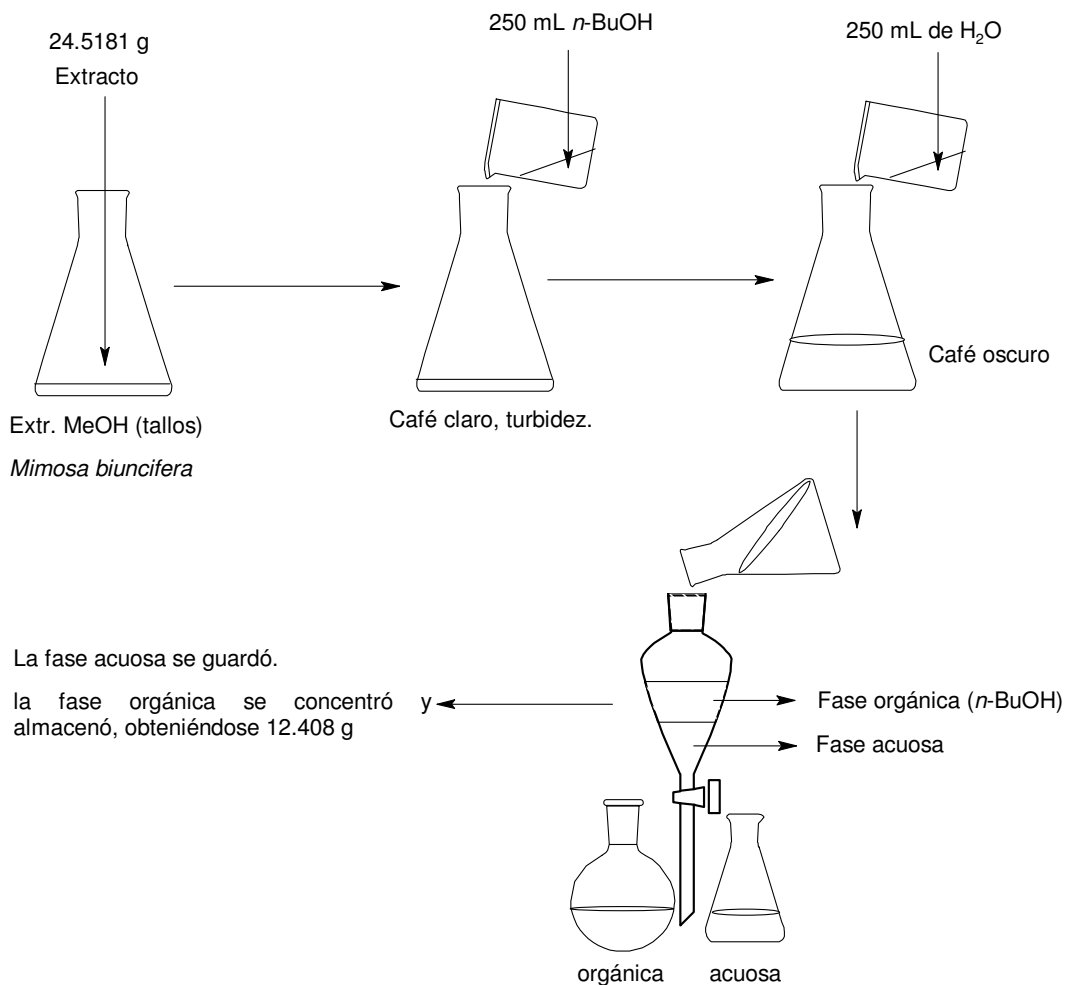
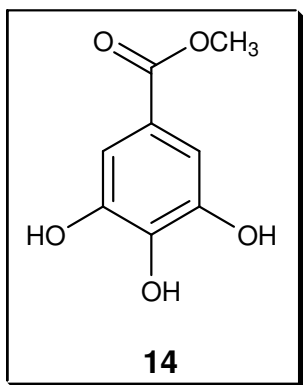
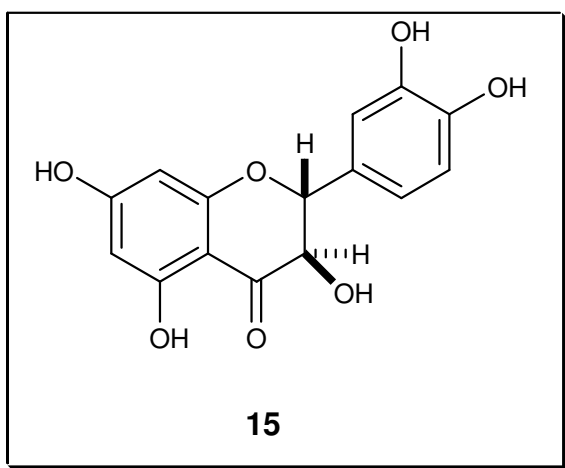


Figura 43. Obtención de la fase de *n*-BuOH del extr. MeOH (tallos) de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera*.

De la fracción que contiene los eluatos (3-12) se tomaron 0.57 g y se efectuó una primera CC con mezclas de CHCl₃-(CH₃)₂CO (25:1, 28 mL), (25:2, 32 mL) y (25:4, 26 mL), se reunió en total 41 eluatos de 2 mL, con base a una CCF se juntaron para dar las siguientes fracciones: A (eluatos 1-5), B (6-25), C (26-41).



Una CCF de la fracción B (34.7 mg) se comparó con una muestra de referencia, identificándose galato de metilo (**14**) en dicha fracción.

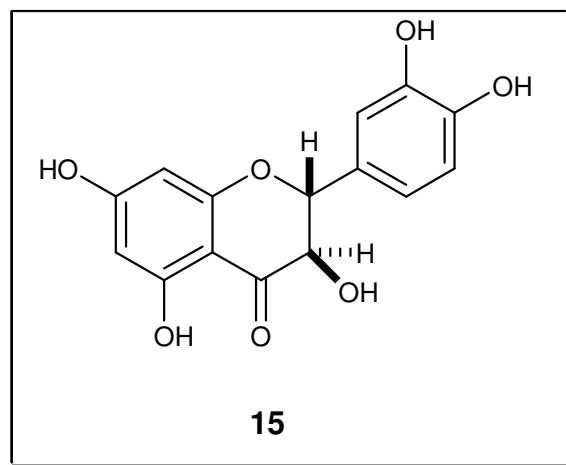


En la fracción C (10.8 mg) se observó la presencia de taxifolina (**15**), sin embargo se encontraba en mezcla con sustancias grasas y una impureza que se le atribuye al disolvente.

El resto de la fracción que comprende los eluatos (3-12) se cromatografió con CHCl_3 (8 mL) y mezclas de CHCl_3 - $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ - H_2O (25:4:0.2, 44 mL), (25:8:0.2, 26 mL) y (25:12:0.2, 12 mL). Colectándose 45 eluatos de 2 mL.

En el eluato 18 (26 mg) se observó mediante CCF la presencia de galato de metilo de forma pura, por lo que se le determinó un estudio de RMN de ^1H (Fig. 27) lo que comprobó que se trataba del compuesto **14**. La muestra aislada se comparó además con una muestra estándar de *Geranium bellum* (Fig. 28). Y en los eluatos 29-31, se aisló nuevamente a **15**.

Con la finalidad de obtener mayor cantidad del compuesto **15**, se tomaron 4.22 g del extracto MeOH y se extrajeron con 90 mL de acetona (Fig. 44), se concentró y determinó una CCF para poder seguir su estudio. El producto obtenido (1.63 g) se cromatografió con CHCl_3 (15 mL), mezclas de CHCl_3 - $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ - H_2O (28.5:7.6:0.2, 75 mL) y (25.1:8.3:0.2, 55 mL), éter (15 mL), mezclas éter-MeOH (19.5:1, 35 mL), (8:1, 40 mL) y (4:1, 40 mL), y se reunió en total 55 eluatos de 5 mL cada uno. Su monitoreo por CCF dio origen a las fracciones: A (eluatos 1-6), B (7-12), C (13-22), D (23-30), E (31-37), F(38-40), G (41-46) y H (47-55). El compuesto **15** se obtuvo en la fracción C, la cual se juntó con la fracción C (eluatos 26-41), proveniente de la primera CC de la fracción 3-12 antes mencionada, el peso total de la nueva fracción fue de 44.2 mg, los cuales se recromatografiaron con la finalidad de purificar a **15**, en este caso se tuvo que recurrir a una columna de 0.2 cm de diámetro interno, los eluyentes empleados fueron CHCl_3 (4 mL), mezcla de CHCl_3 -MeOH (50:1, 42 mL) y MeOH (4 mL), su separación dio lugar a 25 eluatos de 2 mL cada uno, una CCF nos permitió identificar el compuesto esperado conocido como taxifolina (**15**) en los eluatos (12-17), el peso de dicha fracción fue de 5.3 mg, muestra suficiente para completar su análisis espectroscópico (Fig. 30-34).



En las fracciones subsiguientes de la CC de la extracción con acetona al extracto MeOH, es decir 31-37 (44 mg) y 38-40 (35.8 mg) sólo se pudieron observar por RMN de ^1H señales de compuestos aromáticos y por CCF mezcla de al menos 3 compuestos.

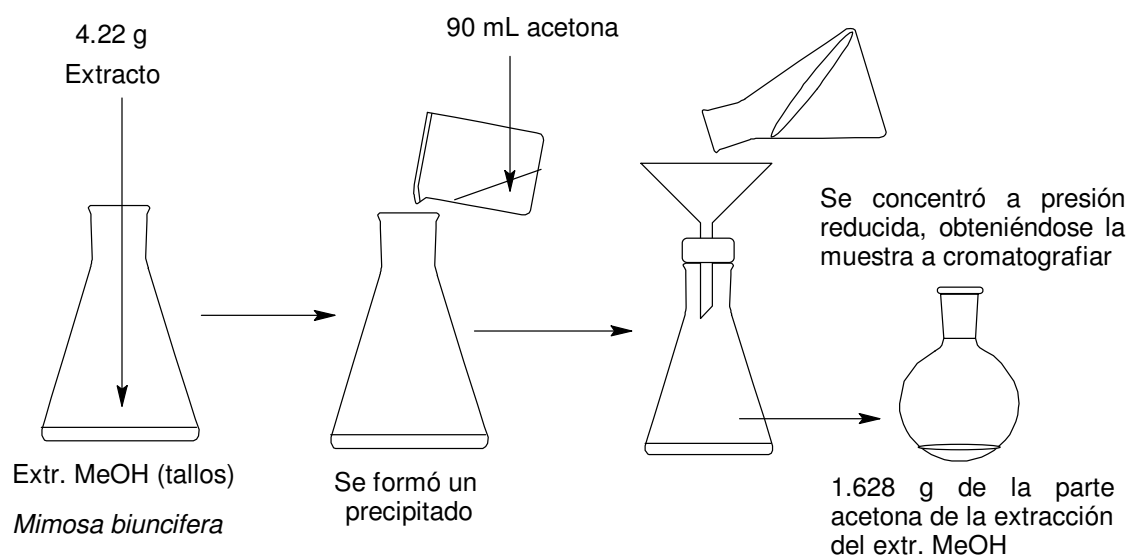
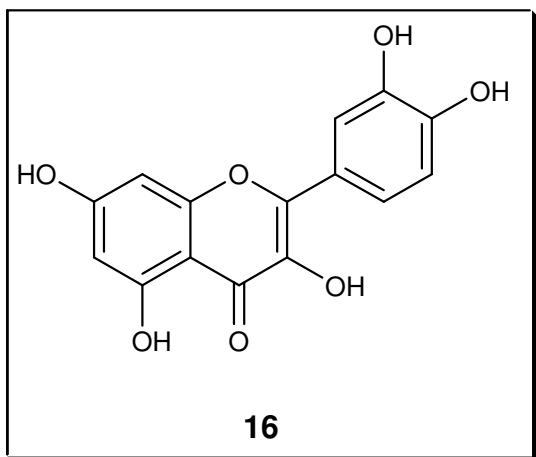


Figura 44. Extracción con acetona del extr. MeOH de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera* (tallos).



- Por otro lado, a 7.64 g del extracto MeOH de los tallos y se le agregó 200 mL de agua destilada, observándose la formación de un precipitado, se filtró y la parte soluble en agua se extrajo con 400 mL de AcOEt, la fase orgánica se concentró en el rotavapor para

dar 120 mg de producto de los cuales se tomaron 60 mg y se procedió a su separación por medio de CC, con CHCl_3 (4 mL) y mezcla de CHCl_3 - $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ (20:2, 20 mL), observándose que a partir del eluato 6 comenzó a salir de forma pura, con la ayuda de una CCF se supo hasta que fracción continuar. Se repitió la cromatografía con los 60 mg restantes y las fracciones fueron monitoreadas mediante CCF. Se obtuvieron 8 mg de quercetina (**16**) en los eluatos 6-16. Su espectro de ^1H se aprecia en las Fig. 35 y 36, el cual se comparó con el espectro de una muestra auténtica (Fig. 37).

7. REFERENCIAS

1. Butler S. M. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 2141-2153.
2. Cortez V., Macedo J., Hernández M., Arteaga G., Espinosa D. y Rodríguez J. F. *J. Rev. Biomed.* **2004**, *15*, 123-136.
3. J. Newman D., M. Cragg G. y M. Snader K. *Nat. Prod. Rep.* **2000**, *7*, 215-234.
4. Camargo S. y García V. *ContactoS* **2001**, *39*, 34-42.
5. Millar I. Papers presented at the 3rd Internacional Symposium on the Management of *Mimosa pigra*, 23-25 de septiembre **2002**, Darwin, Australia, pp. 63-67.
6. Ngo Bum E., Dawack D., Schmutz M., Rakotonirina A., Rakotonirina S., Portet C., Jeker A., Olpe H. y Herrling P. *Fitoterapia* **2004**, *75*, 309-314.
7. Luna S., Frias J., Olalde V. y Dendooven L. *Biol. Fertil Soils.* **2000**, *32*, 109-113.
8. Camargo S. y Dhillion S. *Rev. Biol. Trop.* **2004**, *52 (4)*, 845-851.
9. A. Dominguez X. y García S. *J. Nat. Prod.* **1989**, *52 (4)*, 864-867.
10. Ueda M. y Yamamura S. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 10937-10948.
11. Englert J., Weniger B., Lobstein A. y Anton R. *J. Nat. Prod.* **1995**, *58 (8)*, 1265-1269.

12. León L., Maldonado E., Cruz A. y Ortega A. *Planta Med.* **2004**, *70*, 536-539.
13. Dewick P. M. *Medicinal Natural Products, A Biosynthetic Approach*, Ed. John Wiley & Sons, New York, **1997**, pp.201-207.
14. Evans W.C. Trease y Evans *Farmacognosia*, 13^a Edición, Ed. Interamericana-McGraw-Hill, México, **1991**, pp. 519-559.
15. Hussain N., Modan M., Shabbir G. y Zaidi S. *J. Nat. Prod.* **1979**, *42* (5), 525-527.
16. Carretero M. E. *Panorama Actual Med.* **2000**, *24* (235), 633-636.
17. A Iji P., Khumalo K., Slippers S. y Gous R. *Sci. Food Agric.* **2004**, *84*, 1451-1458.
18. Kalsom U., Abdullah N., Bakar B., Itam K., Abdullah F., Aspolla M. *Biochem. Syst. Ecol.* **2003**, *31*, 443-445.
19. Martínez S., González J., M. Culebras J. y J. Muñón M. *Nutr. Hosp.* **2002**, *17* (6), 271-278.
20. Rusak G., O. Gutzaeit H. y Ludwing J. *Nutr. Res.* **2005**, *25*, 141-153.
21. Lugasi A., Hóvári J., Sági K. y Bíró L. *Acta biológica Szegediensis* **2003**, *47* (1-4), 119-125.
22. K. Prasain J., Cheng Ch., Barnes S., Serial Review Editor: Rice C. *Free Radical Biol. Med.* **2004**, *37* (9), 1324-1350.
23. A. Scheidt H., Pampel A., Nissler L., Gebhardt R. y Huster D. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, *1663*, 97-107.

24. Narayana K., Sripal M., Chaluvadi M. y Krishna D. *Indian Journal of Pharmacology* **2001**, *33*, 2-16.
25. H. Yao L., M. Jiang Y., Shi J., Tomás F. A., Datta N., Singanusong R. y S. Chen S. *Plant Foods for Human Nutrition* **2004**, *59*, 113-122.
26. He H.-P., Cai Y., Sun M. y Corke H. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 368-372.
27. Gerson J., Lotz S. y D'Angelo J. Estandar de Milady. Editorial Thompson Delmar Learning, **2003**.
28. Mc. Murry J. Química Orgánica, quinta edición. Editorial Internacional Thomson Editores, México, D. F. **2001**.
29. Rao V., Newmark L. y Reddy S. *Carcinogenesis* **1998**, *19* (2), 287-290.
30. Khallouk F., Spiegelhalter B., Bartsch H. y Owen R. *African Journal of Biotechnology* **2005**, *4* (5), 381-388.
31. Smith J., Yang G., Seril N., Liro J. y Kim S. *Carcinogenesis* **1998**, *19* (4), 703-706.
32. Wang H., Goto M., Sasaki M. y Hirose T. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2004**, *43*, 2753-2758.
33. Castro A. M. (**2004**) Aislamiento y caracterización de metabolitos de las raíces y hojas de *Mimosa xanti* (Tesis de licenciatura) CIQ, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
34. Burns D., Reynolds W., Buchanan G., Reese P. y Enriquez R. *Magn. Reson. Chem.* **2000**, *38*, 488-493.

35. Saleem M., Kweon M.-H., Jun J.-M., Mustafa V., Khan N., Syed D. y Mukhtar H. *Cancer Res.* **2005**, *65* (23), 11203-11213.
36. Ziegler H., Staerk D., Christensen J., Hviid L., Hägerstrand H. y Jaroszewski J. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46* (5), 1441-1446.
37. Patočka J. *Journal of Applied Biomedicine* **2003**, *1*, 7-12.
38. Geetha T. y Varalakshmi P. *Journal of Ethnopharmacology* **2001**, *76*, 77-80.
39. Aratanechemuge Y., Hibasami H., Sanpin K., Katsuzaki H., Imai K. y Komiya T. *Oncology reports* **2004**, *11*, 289-292.
40. Ajuah D., Christiansen M., Horowitz J., Klein S., Hellerstein M. y Ostlund R. JR. *DiabetesCare* **2000**, *23* (7), 1000-1005.
41. Iqbal M. J., Afzal A., Yaegashi S., Triwitayakorn K., Njiti V., Ahsan R., Wood A. y Lightfoot D. *Theor. Appl. Genet.* **2002**, *105*, 1115-1123.
42. Pañeda C., Villar A., Alonso A., Goñi F., Varela F., Brodbeck U., León Y., Varela I. y Jones D. *Molecular Medicine* **2001**, *7* (7), 454-460.
43. Sia C. *Rev. Diabetic Stud.* **2004**, *1*, 145-149.
44. Greenwood M., Kreider R., Rasmussen C., Almada A. y Earnest C. *Journal of Exercise Physiologyonline* **2001**, *4* (4), 41-47.
45. Shin K.-M., Kim I.-T., Park Y.-M., Ha J., Choi J.-W., Park H.-J., Sup Y. y Lee K.-T. *Biochem. Pharmacol.* **2004**, *68*, 2327-2336.
46. Chaubal R., Deshpande V. y Deshpande N. *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem.* **2005**, *4* (4), 956-962.

47. Ahn Y.-J., Lee H.-S., Oh H.-S., Kim H.-T. y Lee Y.-H. *Pestic. Biochem. Physiol.* **2005**, *81*, 105-112.
48. Yinrong L. y Yeap L. *Food Chem.* **2003**, *80*, 71-76.
49. Braune A., Gütschow M., Engst W. y Blaut M. *Appl. Environ. Microbiol.* **2001**, *67* (12), 5558-5567.
50. Markham R. *Tetrahedron* **1976**, *32*, 2607-2612.
51. Yao L., Jiang Y. shi J. Tomás F.-A., Datta N., Singanusong R. y Chen S. *Plant Foods for Human Nutrition* **2004**, *59*, 113-122.
52. Trouillas P., Marsal P., Siri D., Lazzaroni R. y Duroux J.-L. *Food Chem.* **2006**, *97*, 679-688.
53. Esteves A., Sarmiento T., Fernandes C., G. de Carvalho M., Braz-Filho R. y Echevarria A. *J. Braz. Chem. Soc.* **2002**, *13* (6), 838-842.
54. Burda S. y Oleszek W. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 2774-2779.
55. Park Y., Xu X. y Chiou G. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* **2004**, *20* (3), 189- 200.
56. Arabbi P.-R., Genovese M. y Lajolo F. *J. Agric. and Food Chem.* **2004**, *52*, 1124-1131.
57. Bustinza F. y Caballero A. *Anales del Jardín Botánico de Madrid.* **1948**, *7* (1), 549-559.

GLOSARIO

Antilipoperoxidante: que evita la peroxidación lipídica.

Antimicóticos: fármacos que se emplean en la terapéutica de las infecciones superficiales o generalizadas producidas por hongos, se denomina también antifúngicos.

Apoptosis: muerte celular programada. En apariencia a través de los receptores de superficie de la célula "siente" que recibe una señal de "crecimiento" inadecuada y se suicida.

Apoplejía: acumulo o derrame de sangre o linfa en el cerebro.

Arteriosclerosis: enfermedad que ocurre cuando se acumula grasa y colesterol en las paredes de las arterias, esta acumulación endurece las arterias y las hace más angostas que lo normal, bloqueando la circulación de sangre y oxígeno al cuerpo.

Astringente: sustancia que se utiliza para contraer tejidos y reducir el moco y otras secreciones. Sustancia que tiene la propiedad de precipitar las proteínas sin llegar a destruirlas, dando lugar a una capa protectora sobre la superficie lesionada.

Carcinogénesis: transformación de las células epiteliales en carcinomas, se divide en cuatro fases sucesivas: iniciación tumoral, promoción tumoral, conversión maligna y progresión tumoral.

Citocinas proinflamatorias: son moléculas de bajo peso molecular, constituidas de 120-180 aminoácidos, están representadas por las IL-1, IL-6, IL-8 y el FNT- α (factor de necrosis tumoral-alfa), tiene una gran importancia, pues

en él recae el mayor peso de la respuesta inflamatoria y del daño tisular producido en la gastritis crónica.

Colagenasas: grupo de enzimas de origen microbiano que destruyen el componente colágeno del tejido conectivo.

Creatina: sustancia producida en el hígado y almacenada en la fibra muscular, se libera en forma de alta energía como un combustible inmediato del cuerpo cuando se realiza alguna actividad física. La fosfocreatina representa una fuente de energía de reserva para el ATP porque puede reconvertir rápidamente el ADP de nuevo a ATP, gradualmente y con el tiempo, la molécula de creatina se degrada a creatinina.

Creatinina: es un producto de degradación de la creatina, esta no puede ser utilizada por las células para ningún propósito constructivo, la creatinina es excretada del cuerpo completamente por los riñones.

Diurético: que aumenta la secreción de orina.

Duodeno: es la primera porción del intestino situado inmediatamente después del estómago, en cuyo interior se inician los procesos de la digestión intestinal. Tiene una longitud de unos 30 cm en un individuo adulto.

Edema: inflamación de una parte del cuerpo debido a la acumulación de líquido en los tejidos.

Emoliente: combinaciones de agua y aceites que ayudan a hidratar la piel y a restaurar el aceite perdido por la deshidratación cutánea. Que suaviza las inflamaciones locales.

Endémico: propio y exclusivo de una zona o región concreta. Que predomina y está confinado a un determinado país o región.

Eritrocitos: o glóbulos rojos, son las células sanguíneas que contienen en su interior la hemoglobina; son los principales portadores de oxígeno a las células y tejidos del cuerpo.

Expectorante: que facilita las secreciones mucosas de los bronquios o de los pulmones.

Extracción: consiste en incorporar las sustancias activas de una planta a un líquido, se puede realizar en frío o en caliente.

Glucógeno: polímero sintetizado a partir de moléculas de glucosa. Es un almidón que se encuentra en el hígado, llamándose a veces almidón animal. Es hidrolizado por ácidos o enzimas, dando finalmente glucosa. El glucógeno desempeña un importante papel en el metabolismo animal.

Insulina: hormona pancreática que disminuye el contenido de azúcar en la sangre.

Leucocitos: también llamados glóbulos blancos, contribuyen a la defensa contra los agentes nocivos que inciden sobre nuestro organismo.

Maceración: disolución en agua fría de las partes solubles de una planta. Es una extracción que se realiza a temperatura ambiente, y el líquido empleado puede ser agua o un alcohol.

Melanocitos: células encargadas de elaborar un pigmento llamado melanina, responsable del color de la piel, pelo y del iris de los ojos.

Melanoma: tipo de cáncer de piel que aparece cuando las células llamadas melanocitos se convierten en malignas. Es un tumor caracterizado por la intensa coloración oscura a consecuencia del pigmento melanina que contienen sus células.

Metástasis: diseminación de células tumorales y su establecimiento en zonas secundarias de crecimiento.

Neoplasia: crecimientos excesivos e incoordinados con respecto al tejido normal, formando masas anormales de tejido, el crecimiento continúa aún después de interrumpir el estímulo que indujo el cambio.

Oncogénesis: proceso mediante el cual cualquier célula normal se transforma en neoplástica.

Parodontosis: enfermedad de las encías producida por bacterias que ocasionan sangrado de las encías, bolsas gingivales y pérdida del hueso.

Peroxidación lipídica: proceso en el cual los ácidos grasos y el colesterol, lípidos mayoritarios en nuestra sangre, por acción de unas sustancias denominadas radicales libres, se transforman en los correspondientes productos oxidados que pierden su función original.

Plaqueta: elemento celular de la sangre que interviene principalmente en la coagulación.

Topoisomerasa II: enzima encargada de desanudar y desencadenar el ADN antes de la división celular, además de ser también la principal relajadora de tensión cuando el ADN está plegado en los cromosomas.

Úlceras duodenales: herida abierta o área cruenta en la parte superior del intestino delgado que se llama duodeno.

Vasoconstrictor: sustancia que provoca constricción o estrechamiento de un vaso sanguíneo.

Virus del Herpes tipo I: enfermedad asociada con las infecciones de los labios, la boca y la cara, con frecuencia causa lesiones dentro de la boca como herpes labial (ampollas febriles) y se trasmite por contacto con saliva infectada.

Virus del Herpes tipo II: enfermedad transmitida por contacto sexual, sus síntomas abarcan úlceras o llagas en los genitales, además de lesiones orales, infección en el revestimiento del cerebro y del cerebro mismo, así como también infección ocular.

Virus Respiratorio Sincitial: es un microorganismo viral que puede causar infecciones del tracto respiratorio, con frecuencia causa bronquiolitis y neumonía en los niños menores de un año.