



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE QUÍMICO
FARMACOBIOLOGÍA

**"ESTUDIO QUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE
COMPUESTOS AISLADOS DEL GÉNERO SENECIO"**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

LUZ MARÍA BOYZO CORREA

ASESOR DE TESIS:

D. C. ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES

Morelia, Michoacán. Junio del 2010



ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES	
2.1 Radicales libres	
2.2 Formación de las Especies Reactivas de Oxígeno.....	3
2.3 Estrés oxidativo.....	4
2.4 Efecto nocivo de los radicales libres.....	4
2.4.1 Lípidos.....	5
2.4.2 Proteínas.....	6
2.4.3 Ácido desoxirribonucleico.....	6
2.5 Antioxidantes.....	7
2.5.1 Mecanismos antioxidantes para reducir el exceso de ERO.....	7
A) Mecanismo preventivo.....	7
B) Mecanismo secuestrador.....	8
C) Mecanismo reparador.....	8
2.5.2 Antioxidantes enzimáticos.....	8
A) Catalasa.....	8
B) Glutación peroxidasa.....	9
C) Superóxido dismutasa.....	10
2.5.3 Antioxidantes no enzimáticos.....	10
Vitamina C.....	10
Vitamina E.....	11
Vitamina A.....	13
Glutación.....	13
2.6 Sesquiterpenos y actividad antioxidante.....	14
2.7 Evaluación de la actividad antioxidante <i>in vitro</i>	15

2.7.1 Evaluación con el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH).....	16
3. OBJETIVO.....	18
4. DISCUSIÓN Y RESULTADOS.....	18
5. PARTE EXPERIMENTAL.....	41
5.1 Obtención de la Decompostina (2) de la raíz de <i>P. sinuatum</i>	42
5.2 Obtención del cacalol (1) de raíz de <i>S. cervarifolium</i>	42
5.3 Obtención del acetato de cacalol (1).....	43
5.4 Reacción DPPH-Cacalol (1).....	43
5.5 Cromatografía del producto de reacción de DPPH-cacalol (1).....	43
5.6 Reacción de acetilación del dímero de cacalol (3).....	44
6. CONCLUSIÓN.....	45
7. BIBLIOGRAFÍA.....	46

1. INTRODUCCIÓN

La necesidad de subsistir obligó al hombre mesoamericano a desarrollar a través de milenios una tecnología eficaz y suficiente para que la población cubriera sus necesidades. Cazaba animales, cultivaba plantas y sobre todo, los convirtió en agudos observadores de la flora que les proporcionaba grandes satisfactores sobre todo en el alimento, vestido y medicinas. Es así que en América, mucho antes de la llegada de los europeos, ya se tenía un amplio conocimiento del empleo de plantas.

La medicina indígena controlaba las enfermedades con infusiones, enjuagues, emplastos, lociones elaboradas con hierbas y productos animales, trataba todas las enfermedades tanto físicas como mentales. Las drogas y bebidas intoxicantes se ingerían para establecer contacto y recibir mensajes de los dioses, adivinar el futuro, mitigar la fatiga y el hambre, etc. Otros productos se aplicaban para repeler los insectos o aniquilar las plagas.¹

Siendo México un país que destaca por su riqueza florística y tomando en cuenta el amplio conocimiento de las plantas medicinales que desde la época precortesiana conservaban los mexicanos, principalmente los de comunidades rurales, es natural que muchos investigadores se interesaran en el estudio de plantas.

Los principios activos contenidos en plantas curativas conocidas desde la antigüedad, comenzaron a hacer identificados hasta conocerse hoy en día lo que son los fármacos o drogas que se sintetizan químicamente en el laboratorio. Es así que nace la Fitoquímica una disciplina científica que tiene como objeto el aislamiento, purificación, análisis, elucidación de la estructura y caracterización de la actividad biológica de diversas sustancias producidas por los vegetales.

Para su estudio la fitoquímica permite aislar e identificar los principios activos de numerosas plantas con importante actividad biológica, tal es el caso de las plantas medicinales

A pesar de las técnicas analíticas disponibles, la mayoría de las especies de plantas no han sido investigadas química o biológicamente a detalle y aún las plantas conocidas requieren estudios clínicos adicionales.²

Como se sabe las plantas mediante el proceso de la fotosíntesis producen sustancias necesarias para llevar a cabo su ciclo vital, por medio de mecanismos bioquímicos, que constituyen verdaderas fábricas de carbohidratos, proteínas, grasas, vitaminas y oligoelementos (como hierro y magnesio), denominados Metabolitos primarios, dado que éstos se encuentran en todas las formas de vida y cumplen funciones vitales para la misma.

Dentro de estas sustancias o metabolitos también encontramos compuestos químicos que ayudan en el tratamiento de algunas enfermedades, por ejemplo, la tribu *Senecioneae* que cuenta con alrededor de 3000 especies y es la más amplia de las 13 tribus en las que se divide la familia *Asteraceae*. El género *Senecio* incluye alrededor de 1500 especies con un amplio espectro de formas de vida. Se encuentran en todo el mundo y tienen una importante diversificación en la región México-Centroamericana. Esta tribu está representada por 165 especies en la región México-Centroamericana, de éstas, 19 pertenecen a éste género. En México existen alrededor de 102 especies que constituyen el 62% del total de la región México y Centroamérica.³

Diversas plantas de éste género son utilizadas en la medicina tradicional.⁴ Por lo que el presente trabajo está enfocado a la extracción de un antioxidante llamado cacalol (**1**) y la obtención del producto de la reacción con un radical libre a partir de las especies *Senecio peltiferum* y *S. cervariflillum*.

2. ANTECEDENTES

2.1 RADICALES LIBRES

Los radicales libres son moléculas que contienen uno o más electrones no apareados cuya presencia les confiere a estas especies un considerable grado de reactividad. Estas especies remueven un electrón de las moléculas que están a su alrededor para obtener su estabilidad. La molécula atacada, que pierde un electrón, se convierte entonces en un radical libre y de esta manera se inicia una reacción en cadena que puede dañar a muchas células, cuando no intervienen los antioxidantes.^{5,6}

La mayoría de los radicales que se producen *in vivo* son originados tanto a partir de las especies reactivas de oxígeno (ERO) como de nitrógeno (ERN). Las ERO incluyen radicales basados en el oxígeno, por ejemplo el radical anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), y los radicales hidroxilo ($OH^{\cdot}$), alcoxilo ($RO^{\cdot}$), peroxilo ($ROO^{\cdot}$), e hidroperoxilo ($RHOO^{\cdot}$). Otras ERO, como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los peróxidos lipídicos, tienen la capacidad de convertirse en radicales libres por la acción de metales de transición, tanto libres en la célula, como unidos a proteínas. Las ERN incluyen los radicales libres óxido nítrico ($NO^{\cdot}$), dióxido de nitrógeno ($NO_2^{\cdot}$) y el potente oxidante peroxinitrito ($ONOO^-$).⁶

2.2 FORMACIÓN DE LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO

Existen diferentes procesos endógenos generadores de ERO, tales como la respiración mitocondrial (O_2^-), la activación de leucocitos polimorfonucleares, el metabolismo del ácido araquidónico, las acciones enzimáticas, entre otros. Es decir el organismo humano produce ERO que son necesarias para el funcionamiento y balance armónico de diversos sistemas, sin las cuales se pueden producir desórdenes fisiológicos o alteraciones del sistema inmune y dar lugar a diversas enfermedades o permitir su evolución y desarrollo hacia diferentes estados patológicos.⁷

Otras ERO se forman en exceso por la acción de factores exógenos, que constituyen un estrés para el organismo humano. Entre éstos se encuentran la contaminación ambiental, las radiaciones de todo tipo, los hábitos tóxicos (tabaco, alcohol y estupefacientes), la alimentación inadecuada, la exposición a sustancias tóxicas (fertilizantes y pesticidas), al metabolismo de algunos fármacos y un elevado estrés físico o psíquico.⁸

Otra fuente generadora de daño oxidativo es la alteración estructural de macromoléculas esenciales de la célula (ADN, proteínas y lípidos), sobre las cuales se originan reacciones químicas irreversibles para su funcionamiento.⁹ Estas reacciones generan derivados (ej. malonildialdehído e hidroperóxidos orgánicos) que propagan el daño oxidativo en el organismo humano.⁸

2.3 ESTRÉS OXIDATIVO

El balance oxidativo del organismo humano, es decir, la producción endógena de ERO sin sobrepasar ciertos límites, resulta esencial para la regulación metabólica, la producción de energía metabólica, la activación o inactivación de biomoléculas, la transducción de señales, el recambio celular y el control del tono vascular, entre otros. Si éste balance entre los sistemas oxidantes (generadores de ERO) y los antioxidantes (preventivo, secuestrador y reparador) se desequilibra a favor de los primeros, por la producción excesiva de ERO, el debilitamiento de los sistemas antioxidantes o por ambas causas, se estará en presencia de lo que se conoce como estrés oxidativo que puede provocar efectos nocivos en el organismo. El estrés oxidativo ha sido relacionado con la progresión de diferentes enfermedades crónicas y con la apoptosis.⁸

2.4 EFECTO NOCIVO DE LOS RADICALES LIBRES

El daño celular producido por las especies reactivas del oxígeno ocurre sobre diferentes macromoléculas:

2.4.1. Lípidos. Es aquí donde se produce el daño mayor en un proceso que se conoce como peroxidación lipídica, afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, ya que se altera la permeabilidad de la membrana celular y se produce edema y muerte celular. La peroxidación lipídica o enranciamiento oxidativo representa una forma de daño hístico que puede ser desencadenado por el oxígeno, el oxígeno singulete, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo. Los ácidos grasos insaturados son componentes esenciales de las membranas celulares, por lo que se cree son importantes para su funcionamiento normal; sin embargo, son vulnerables al ataque oxidativo iniciado por los radicales libres del oxígeno.¹⁰⁻¹¹

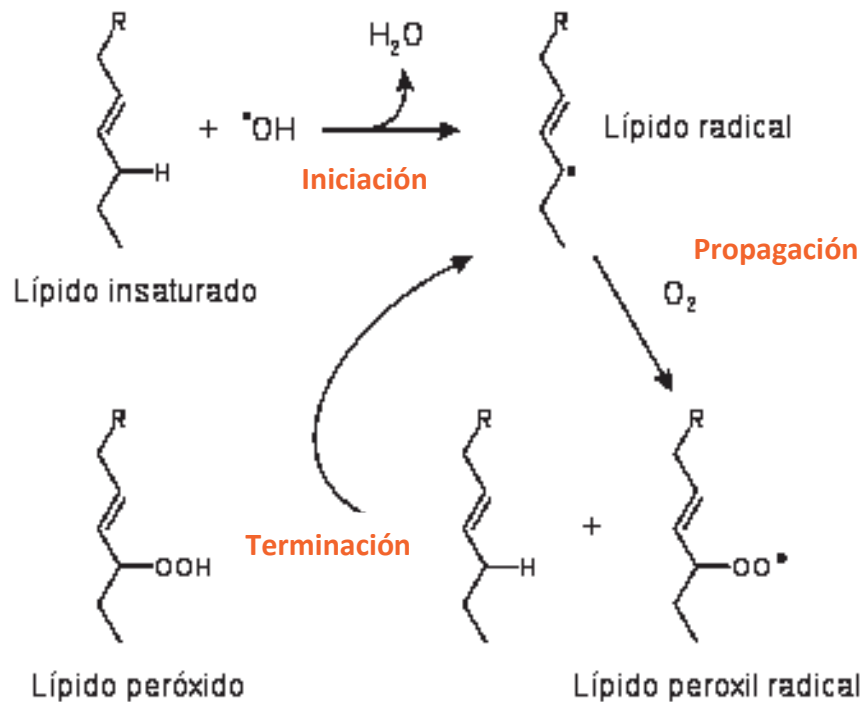
Los factores que influyen en la magnitud de la peroxidación lipídica son:

- a) La naturaleza cualitativa y cuantitativa del agente inicializador.
- b) Los contenidos de la membrana en ácidos grasos poliinsaturados y su accesibilidad.
- c) La tensión de oxígeno.
- d) La presencia de hierro.
- e) El contenido celular de antioxidantes (β -carotenos, α -tocoferoles, glutatión).
- f) La activación de enzimas que pueden hacer terminar la cadena de reacción como es el caso de la glutatión peroxidasa (GSH-Prx).¹²

Una vez que se inicia, el proceso toma forma de “cascada”, con producción de radicales libres que lleva a la formación de peróxidos orgánicos y otros productos, a partir de los ácidos grasos insaturados; y una vez formados, estos radicales libres son los responsables de los efectos citotóxicos.¹²

Los ácidos grasos no saturados se oxidan más fácilmente. El oxígeno no atmosférico puede oxidar al ácido graso a la altura del doble enlace, formando peróxidos. Este peróxido es susceptible de seguir oxidándose y producir ruptura de la cadena carbonada del ácido graso en el sitio donde se encontraba la doble ligadura. Este proceso (Esq.1) consiste en tres etapas: iniciación, propagación y terminación. Se inicia en presencia de un radical libre, formándose un radical libre

lipídico ($L\cdot$). La reacción se propaga por la adición de O_2 , que genera radicales lipoperoxi ($LOO\cdot$) (reacción en cadena) y termina con la formación de peróxidos ($LOOH$); produciéndose ruptura del ácido graso original.¹³ Algunos de los compuestos formados es el malondialdehído y el 4-hidroxi-2-nonenal, dos aldehídos producto de la peroxidación de lípidos, altamente tóxicos y mutagénicos.¹⁴



Esq. 1. Peroxidación de lípidos.

2.4.2 Proteínas. Hay oxidación de un grupo de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina y metionina; además se forman entrecruzamientos de cadenas peptídicas, y por último hay formación de grupos carbonilos.

2.4.3 Ácido desoxirribonucleico (ADN). Ocurren fenómenos de mutaciones y carcinogénesis, hay pérdida de expresión o síntesis de una proteína por daño a un gen específico, modificaciones oxidativas de las bases, **deleciones**,

fragmentaciones, interacciones estables ADN-proteínas, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que activan genes.¹⁴

El daño se puede realizar por la alteración (inactivación/pérdida de algunos genes supresores de tumores que pueden conducir a la iniciación, progresión, o ambas de la carcinogénesis). Los genes supresores de tumores pueden ser modificados por un simple cambio en una base crítica de la secuencia del ADN.¹⁵⁻

16

2.5 ANTIOXIDANTES

Un antioxidante es aquel que previene la formación de ERO, en cantidades no perjudiciales para el organismo humano, estimula los mecanismos de reparación endógenos al daño causado por el ataque de ERO.

La ingestión de frutas y vegetales frescos en la dieta diaria es una de las mejores formas de prevenir la generación excesiva de ERO. Por lo que debe considerar la existencia de una dieta balanceada. Sin embargo, la continua e incrementada presencia de factores de riesgo ambientales, incluidos los períodos prolongados de estrés físico, hacen recomendables el consumo de productos antioxidantes.¹⁷

2.5.1 MECANISMOS ANTIOXIDANTES PARA REDUCIR EL EXCESO DE ERO

Los mecanismos antioxidantes con que cuenta el organismo humano para reducir el exceso de ERO, causado por agentes endógenos o exógenos, pueden clasificarse de la siguiente forma:¹⁷

A) Mecanismo preventivo

En éste mecanismo toman parte diversas proteínas, que poseen núcleos coordinados o con capacidad de enlace de metales, tales como la albúmina, metalotioneína y ceruloplasmina, que poseen un núcleo central de cobre (Cu); y la ferritina, transferrina y mioglobina, que poseen un núcleo central de Hierro (Fe). Así se previene la formación de ERO muy dañinas, como son los radicales

hidroxilo, a partir de otras moléculas. La deficiencia de algunas de éstas proteínas en el organismo o de los metales Hierro y Cobre, alrededor de los cuales se forman dichos complejos de coordinación, o su alteración estructural por causas genéticas o fisiológicas, deja al organismo sin protección contra la sobreproducción endógena de ERO.¹⁸

B) Mecanismo secuestrador

Consiste en la eliminación del exceso de ERO formadas en el organismo, lo cual puede lograrse por la acción de enzimas tales como la superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx), catalasa y otras metaloenzimas o la presencia de entidades químicas con capacidad secuestradora de radicales libres, tales como los ácidos poliinsaturados, úrico y ascórbico (vitamina C), los tocoferoles (vitamina E), la bilirrubina, los carotenoides y flavonoides.¹⁸

C) Mecanismo reparador

Constituido por enzimas que reparan o eliminan las biomoléculas que han sido dañadas por el ataque de ERO, tales como la glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa (GR) y metionina-sulfóxido reductasa (MSR). Dichas enzimas actúan como intermediarias en el proceso reparador del daño oxidativo, por el ataque de ERO producidas en exceso. Todo factor del medio que inhiba o modifique su actividad se convierte en una condición que favorece la aparición del estrés oxidativo. Ello requiere, por tanto, el conocimiento de la química de las enzimas reparadoras del daño oxidativo.

En la actualidad existe poco más de una decena de productos antioxidantes en el mercado con evidencias experimentales suficientes de su actividad preventiva, reparadora o secuestradora de ERO.¹⁸

2.5.2 ANTIOXIDANTES ENZIMÁTICOS

A) *Catalasa (CAT)*. Tiene una amplia distribución en el organismo humano, alta concentración en hígado y riñón, baja concentración en tejido conectivo y epitelios, prácticamente nula en tejido nervioso y se localiza a nivel celular:

mitocondrias, peroxisomas, citosol (eritrocitos); presenta 2 funciones fundamentales: catalítica y peroxidativa y forma parte del sistema antioxidante CAT/SOD que actúa en presencia de altas concentraciones de peróxido de hidrógeno catalizando la reacción para formar agua y oxígeno. (Esq.2).¹⁹



Esq. 2. Reacción de la catalasa con el peróxido de hidrógeno

B) *Glutación peroxidasa (GPx)*. Es una enzima selenio-dependiente, cataliza la reducción de peróxido de hidrógeno e hidroperóxidos orgánicos (ROOH), usando como agente reductor el glutatión reducido (GSH) convirtiéndolos en derivados hidroxilados (Esq.3).¹⁹



Esq.3. Reacción enzimática de la glutatión peroxidasa (GPx) con peróxido de hidrógeno.

El glutatión oxidado es reducido por acción de glutatión reductasa, enzima que utiliza NADPH como donante de equivalentes de reducción (Esq. 4).



Esq.4. Reacción enzimática de la glutatión reductasa con el glutatión oxidado.

El glutatión se localiza en: citosol (eritrocitos), lisosomas (neutrófilos, macrófagos y otras células del sistema inmune). Existen 3 formas de GPx: GPx-c o forma celular, tiene mayor afinidad por el peróxido de hidrógeno que por el lipoperóxido; GPx -p o forma extracelular, presenta afinidad semejante para ambos sustratos; GPx-PH, tiene afinidad específica para los lipoperóxidos. Las formas GPx-c y GPx-p no son capaces de utilizar los lipoperóxidos.¹⁹

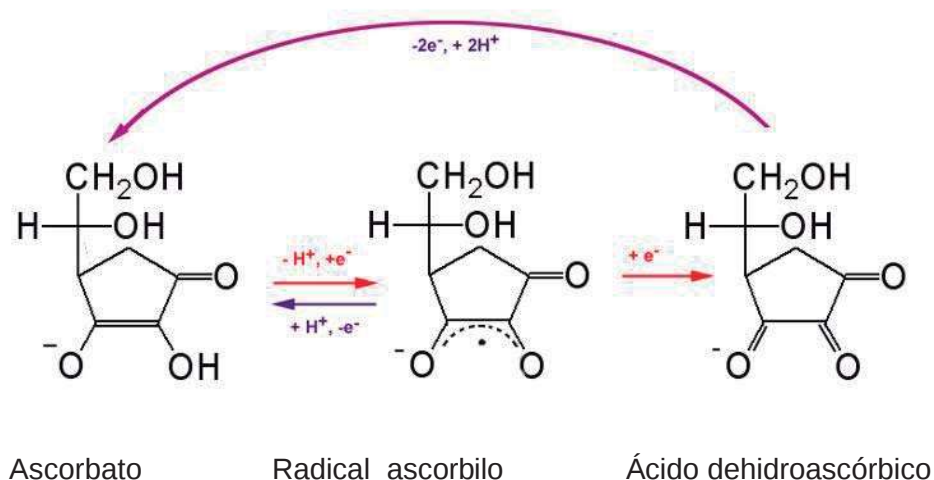
C) *Superóxido dismutasa*. Su distribución es amplia en el organismo, está formada por un grupo de enzimas metaloides: Cu-SOD y Zn-SOD que contienen cobre y zinc en su sitio activo y se encuentran en el citosol y en el espacio intermembranoso mitocondrial; Mn-SOD que contiene manganeso y se localiza en la matriz mitocondrial; Fe-SOD que contiene hierro y se localiza en el espacio periplasmático de la *E. coli*. Estas enzimas dismutan el oxígeno para formar peróxido de hidrógeno y su principal función es la protección contra el anión superóxido.¹⁹

2.5.3 ANTIOXIDANTES NO ENZIMÁTICOS

Vitamina C

La vitamina C o ácido ascórbico es un importante y poderoso antioxidante que actúa en los ambientes acuosos del cuerpo tales como los pulmones y el cristalino.

El ácido L-ascórbico es un enérgico reductor; cede dos de sus hidrógenos con gran facilidad. A pH fisiológico el 99% de la vitamina C está presente como ascorbato (Esq.5).²⁰

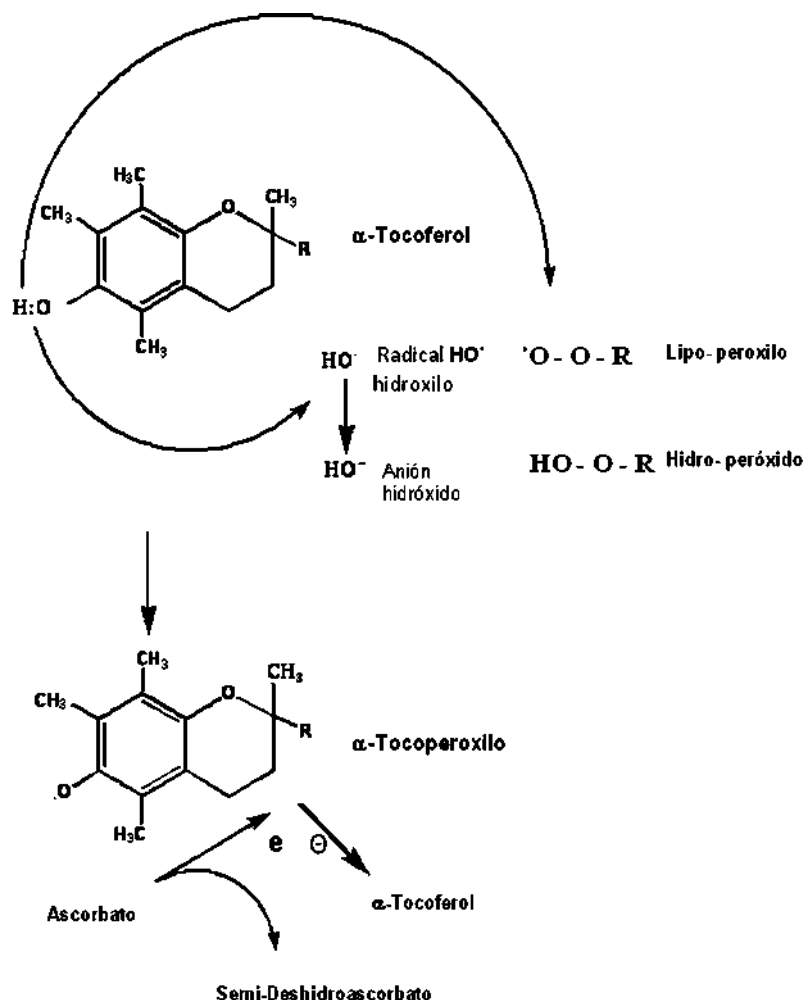


Esq.5. Reacción de la vitamina C frente a un radical libre.

Esta sustancia es un antioxidante donador de protones y reacciona con los radicales libres para producir el radical libre tricarbonil ascorbato el cual está estabilizado por resonancia.²⁰

Vitamina E

La vitamina E es una vitamina lipofílica la cual existe en ocho formas. El α -tocoferol es la forma más activa de ésta vitamina la cual se considera como el principal antioxidante unido a membranas empleado por las células. Su principal función es proteger a las membranas de la peroxidación de lípidos.²⁰⁻²¹



Esq.6. Reacción de la Vitamina E frente a un radical libre.

Se representa el ataque electrónico monoelectrónico (Esq.6) (un solo electrón) de la valencia que forma el oxhidrilo del α tocoferol hacia el radical hidroxilo, estabilizando su reactividad al formar el anión hidróxido. La molécula de α -tocoferol al ceder un electrón se constituye en radical α -tocoperoxilo, el cual es estabilizado al aceptar un electrón proveniente del ascorbato restituyendo la estructura de α -tocoferol. Una reacción similar se lleva a cabo con el radical lipo-peroxilo.

Vitamina A

La Vitamina A o retinol (Fig.1) es el carotenoide más abundante en la naturaleza y el más importante para la dieta humana, por lo que da su nombre a todo un grupo de compuestos bioquímicos. Se han realizado estudios científicos para determinar el efecto del β -caroteno en la salud, y los resultados han mostrado que puede reducir las probabilidades de ataques cardíacos, funciona como un antioxidante liposoluble y aumenta la eficiencia del sistema inmunológico.²¹

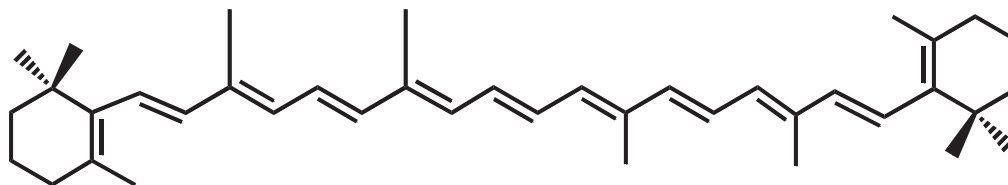


Fig.1. Estructura química de la vitamina A.

Glutación

El glutatión (Fig.2) es el principal antioxidante tiólico, se encuentra en altas concentraciones en los compartimentos celulares (mM) y es considerado como el principal antioxidante hidrosoluble en las células.²⁰ El glutatión es un tripeptido formado por glutamato, cisteína y glicina. La forma reducida del Glutatión es GSH, y la forma oxidada es GSSG denominada disulfuro de glutatión.

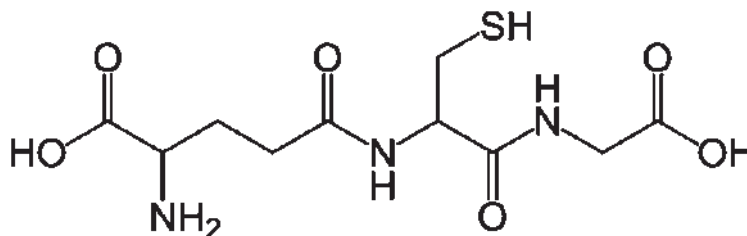


Fig. 2. Estructura química del Glutatión.

2.6 SESQUITERPENOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los terpenoides son productos naturales derivados biogenéticamente del ácido mevalónico, ampliamente distribuidos en la naturaleza (plantas, hongos, insectos y organismos marinos) y que presentan variedades estructurales y comportamientos biológicos de amplio espectro.²¹

Los sesquiterpenos son una clase de terpenos formados por tres unidades de isopreno²² (Fig.3). Como los monoterpenoides, muchos sesquiterpenos están presentes en los aceites esenciales, como es el caso del aceite esencial de *Phylla dulcis*, la cual se caracteriza por la presencia de sesquiterpenos (63%), entre los cuales destacan trans- β -cariofileno y δ -cadineno entre otros, según estudios realizados. Además muchos de ellos actúan como fitoalexinas, compuestos antibióticos producidos por las plantas en respuesta a la aparición de microbios, y como inhibidores de la alimentación ("antifeedant") de los herbívoros oportunistas.²³

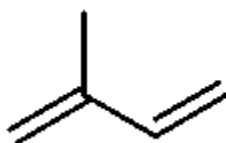


Fig.3. Estructura del isopreno.

Un tipo de sesquiterpenos son los eremofilanos que derivan biogenéticamente de los eudesmanos por migración del grupo metilo en C10 al C5.²⁴ Su numeración biogenética se refleja en la figura 4.

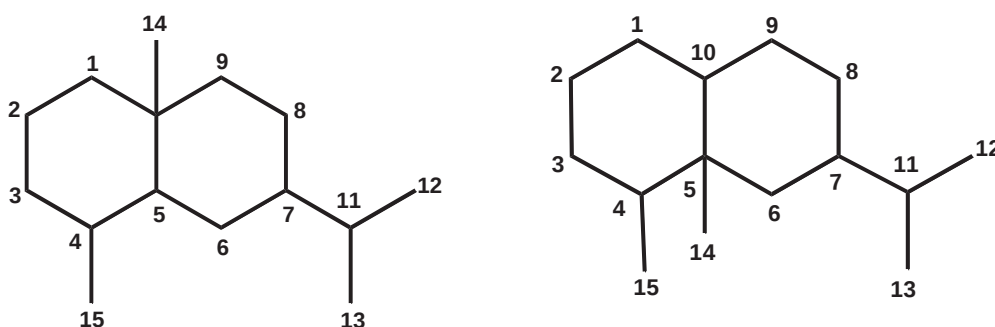


Fig.4. Esqueleto de los eremofilanos y de los eudesmanos

En la actualidad existe un gran interés por el descubrimiento de nuevos compuestos antioxidantes de origen natural. Por ello diversos estudios han generado buenas perspectivas, como es el caso del 5,6,7,8-tetrahidro-3,4,5-trimetilnafto[2,3-b]furan-9-ol (cacalol (**1**)) (Fig. 5) compuesto antioxidante aislado de *Cacalia decomposita* y *C. delphiniifolia*.^{25,26} Dicho compuesto presentó una actividad antioxidante muy potente al someterlo a la prueba de peroxidación lipídica en cerebro de rata,^{26,27} otros estudios han sugerido que tiene afinidad por la subunidad SUR1 de los canales de K_{ATP} en el músculo liso de aorta de rata.²⁸

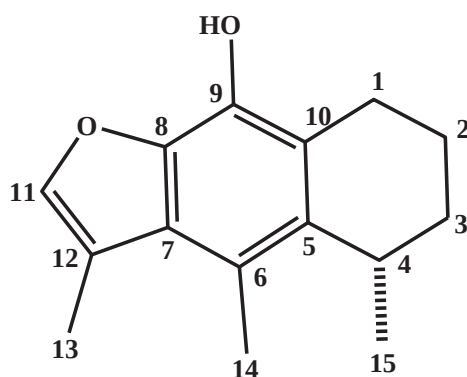


Fig.5. Estructura del cacalol (**1**).

2.7 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE *in vitro*

Existen numerosas pruebas para la evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* y, dependiendo de la reacción involucrada, se clasifican en dos tipos: pruebas basadas en reacciones de transferencia de un átomo de hidrógeno (TAH) son los más comunes y miden la habilidad de un antioxidante para neutralizar un radical por donación de un átomo de hidrógeno. Las reacciones TAH son independientes del pH y del disolvente, por lo que son más rápidas. Las pruebas basadas en la transferencia de electrones (TE), miden la eficacia de un antioxidante para transferir un electrón y reducir un compuesto. Las reacciones de

TE son lentas, y dependen del pH, por ello, los resultados de éstos métodos se basan en el porcentaje de disminución del radical.^{29,33}

Tabla 1. Pruebas de actividad antioxidante *in vitro*.³⁰

TAH $\text{ROO}^\cdot + \text{AH} \rightarrow \text{ROOH} + \text{A}^\cdot$ $\text{ROO}^\cdot + \text{LH} \rightarrow \text{ROOH} + \text{L}^\cdot$	-ORAC ³¹ (capacidad de absorber el radical libre de oxígeno). -TRAP -IOU (recaptura de oxígeno inhibida) -Inhibición de oxidación de ácido linoleico. -Inhibición de la oxidación de LDL.
TE $\text{M}(\text{n}) + \text{e}^- (\text{de AH}) \rightarrow \text{AH}^\cdot + \text{M}(\text{n}-1)$	-TEAC (capacidad antioxidante equivalente a trolox). -FRAP (parámetro antioxidante reductor de ión férrico) -DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo) -Capacidad de reducción del cobre(II)
Otras pruebas	TOSC (capacidad total atrapadora antioxidante) -Quimioluminiscencia -Electroluminiscencia

2.7.1 EVALUACIÓN CON EL RADICAL 2,2-DIFENIL-1-PICRILHIDRAZIL (DPPH)

El DPPH es uno de los pocos radicales de nitrógeno estable y disponible comercialmente. Las soluciones del DPPH presentan una coloración púrpura cuya absorción máxima en el UV se observa en 517 nm. En presencia de un antioxidante el DPPH (Fig. 6) se reduce y el color de la solución se modifica transformándose en una de color amarillo. El progreso de la reacción puede ser monitoreado a 517 nm hasta que la absorbancia permanezca estable.³²

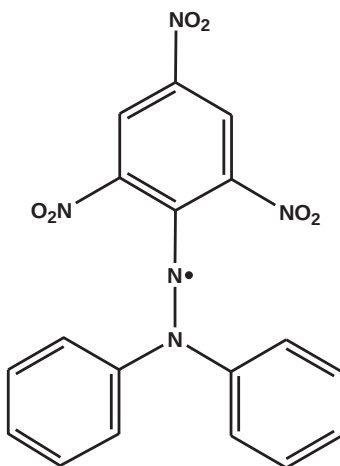


Fig.6. Estructura del DPPH.

La prueba de DPPH se lleva a cabo con relativa facilidad y no requiere de equipo muy sofisticado. Sin embargo, presenta algunas desventajas, el DPPH es un radical de nitrógeno estable, el cual, no comparte similitudes con los altamente reactivos radicales peróxilo involucrados en la peroxidación de lípidos. Además, muchos de los antioxidantes que reaccionan rápidamente con los radicales peróxilo pueden reaccionar lentamente o incluso ser inertes al DPPH. A pesar de esto, la prueba del DPPH es ampliamente utilizada en el campo de los productos naturales alrededor de todo el mundo.³²⁻³³

El cacalol (**1**) es utilizado como referencia en la actividad antioxidante de otros tipos de compuestos²⁸ donde se utilizan diferentes pruebas; una de ellas es la reacción con el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), un radical de nitrógeno estable que en presencia de un antioxidante se reduce cambiando de un color púrpura a una solución de color amarillo. Sin embargo, a la fecha los métodos utilizados han sido sólo espectrofotométricos²⁸⁻²⁹ pero no existe ningún reporte de los productos que se forman de la reacción del cacalol (**1**) frente al radical libre DPPH.

3. OBJETIVO

Este trabajo tiene como objetivo llevar a cabo la reacción del cacalol (**1**) con DPPH a escala del laboratorio, así como aislar e identificar el producto de dicha reacción.

4. DISCUSIÓN Y RESULTADOS

Con el propósito de obtener cacalol (**1**) se investigaron las fuentes del mismo, encontrando que está presente en una planta llamada comúnmente Matarique, esta se obtuvo del mercado Sonora de México D.F. la cual, al ser puesta a reflujo por 4 horas se obtuvo un aceite muy denso de color café que al ser analizado por RMN de ^1H se observó una mezcla muy compleja. Por esta razón se utilizaron otras fuentes para la obtención del cacalol (**1**).

Se sabe que el cacalol (**1**) es un componente presente en plantas del género *Senecio*, por lo que se realizó otra revisión bibliográfica en dicho género para encontrar la fuente del mismo. De éstas, se utilizaron diferentes tipos de plantas de los géneros *Senecio* y *Psacalium* como son: *P. sinuatum* (Fig.7), especie antes conocida como *S. sinuatum*, colectada en el Km 26 de la carretera Morelia-Quiroga, *S. cervarifolium* (Fig.8), colectada el 17 de Noviembre del 2008, en el Km 23, de la carretera Morelia- México Vía Mil Cumbres frente al Parque Nacional y *S. peltiferum* (Fig.9), colectada en el Km 35 de la carretera México-Morelia Vía Mil Cumbres.



Fig.7. *Psacalium sinuatum*



Fig.8. *Senecio cervarifolium*



Fig.9. *Senecio peltiferum*

895 g de raíz molida de *Psacalium sinuatum* se sometieron a maceración con hexano durante 3 días. Transcurrido éste tiempo se concentró en un rotavapor se obtuvieron 30 g de una miel color ámbar que por adición de hexano precipitaron 14 g de cristales ligeramente amarillos. Con P.F 181-183 °C. La comparación de todos los datos espectroscópicos confirmó un compuesto conocido como decompostina (2).

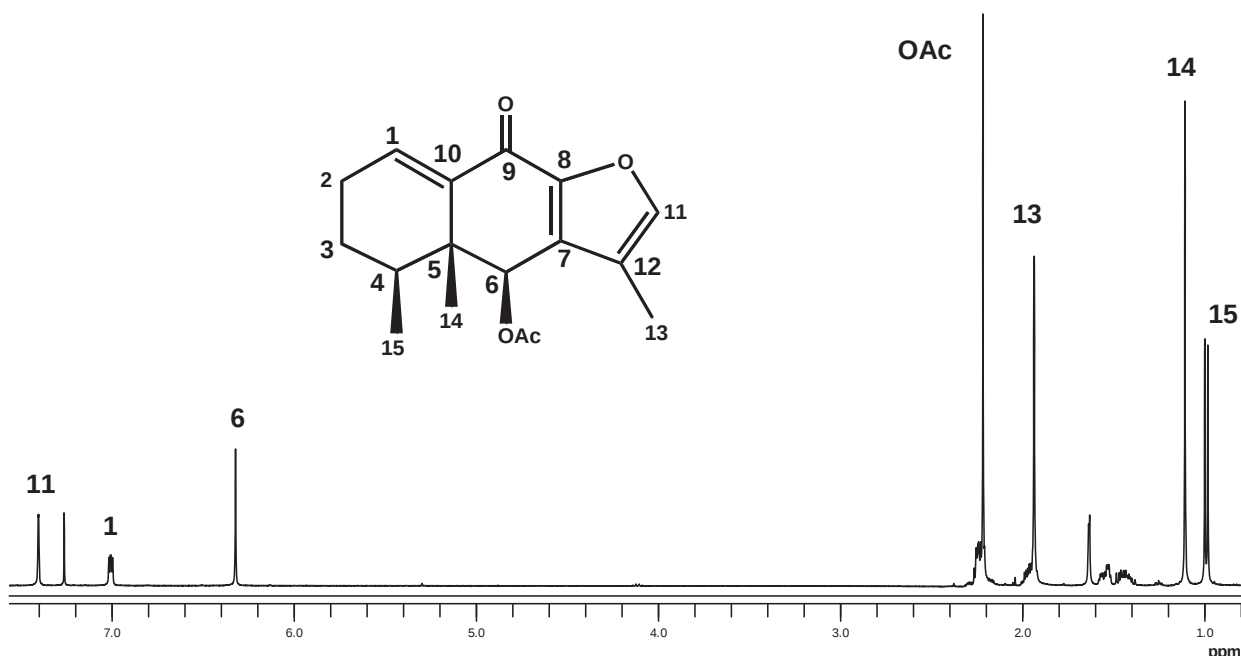


Fig.10. Espectro de RMN de ^1H de la decompostina (2).

En el espectro de RMN de ^1H de la decompostina (2) (Fig.10) se observó una señal en 7.40 ppm característica de un protón aromático (H-11), en 7.06 ppm se encuentra otra señal triple correspondiente al protón H-1. En 6.32 ppm se encuentra una señal simple que corresponde al protón base del acetato (H-6). En 2.23 ppm se observa una señal correspondiente al grupo acetato y en 1.94 ppm se observa la señal correspondientes al metilo CH₃-13; las señales encontradas en 1.10 y 0.96 ppm corresponden a los grupos metilo CH₃-14 y CH₃-15 respectivamente, los datos fueron comparados con la literatura.³⁴

Se procedió a llevar a cabo la colecta de otra especie, para obtener el cacalol (1) que era el compuesto de interés, la cual, fue colectada el 17 de Noviembre del 2008, en el Km 23, de la carretera Mil Cumbres frente al Parque Nacional e identificada como *S. cervarifolium*, se pusieron a maceración 800 g de raíz seca y molida en 2.3 litros de hexano, donde se obtuvieron 35 g de extracto total y al adicionar hexano precipitaron 10 g de cacalol (1), el resto se acetiló para poder conservarlo. Se obtuvieron cristales de color blanco con P.F. 90-92 °C que se analizaron por RMN de ^1H (Fig. 11) para identificar al cacalol (1).

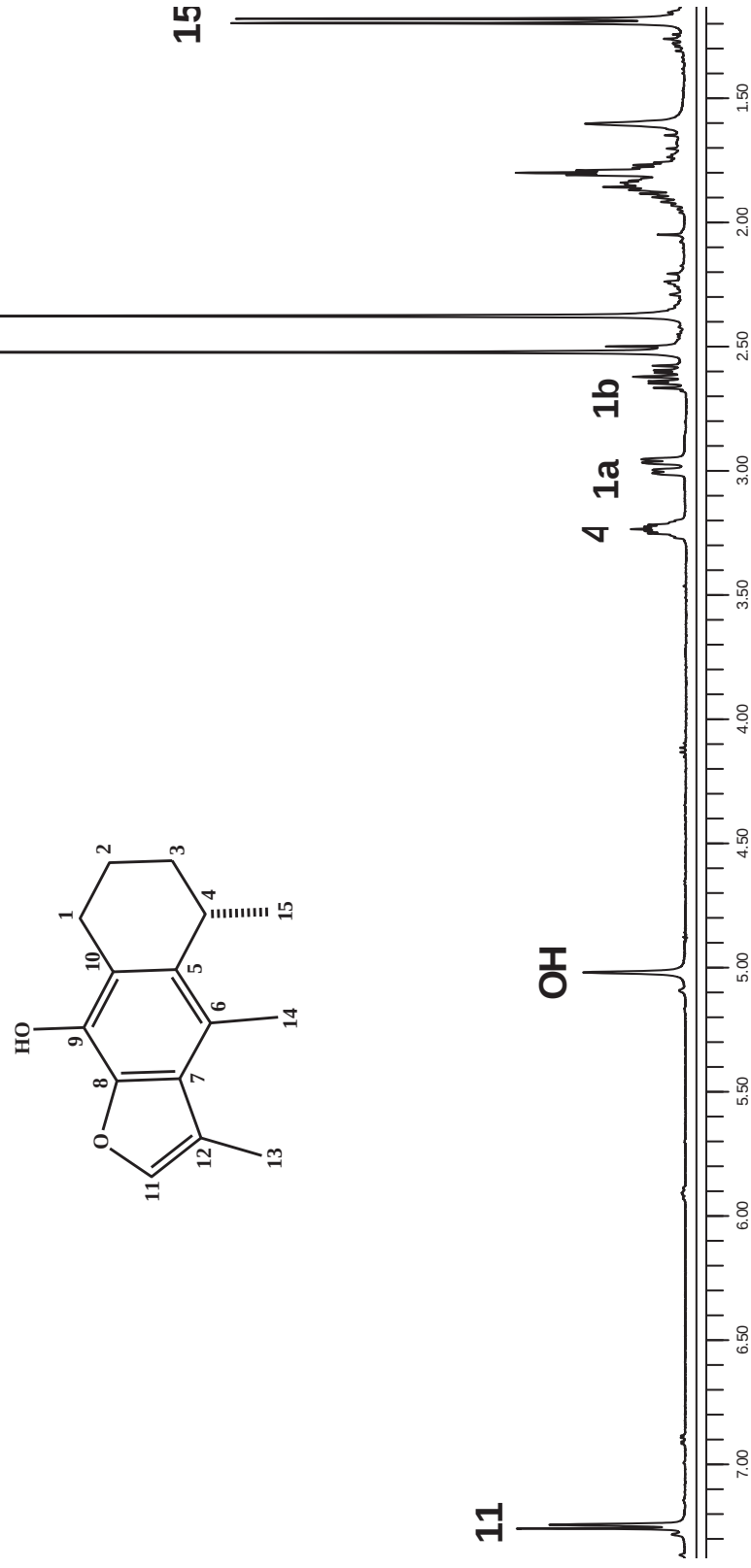


Fig. 11. Espectro de RMN ^1H del cactalol (1).

En el espectro de RMN ^1H (Fig. 11) del cacalol (**1**) se puede observar una señal simple ancha en 7.28 ppm correspondiente al H-11, además de la señal ancha que se encuentra en 5.02 ppm correspondiente al OH del fenol. En 3.24 ppm se encuentra una señal múltiple que corresponde al H-4, base de un metilo secundario. En 2.98 ppm se encuentra una señal dda asignada para H-1a con $J=17.6, 5.1$ Hz debido a su acoplamiento geminal con H-1b; en 2.62 ppm se observa la señal de H-1b con una señal ddd con $J=17.6, 10.9$ y 7.3 Hz. Las señales simples encontradas en 2.52 y 2.38 ppm corresponden a los grupos metilo aromáticos CH_3 (H-14 y H-13 respectivamente). Mientras que en 1.19 ppm se encuentra una señal doble con una $J=7.1$ Hz correspondiente al metilo secundario CH_3 -15. Las asignaciones de ^1H fueron confirmadas por el espectro COSY.

En el espectro COSY (Fig. 12) del cacalol (**1**), se observa una señal doble en 1.19 ppm asignada para el metilo secundario H-15 y además presenta correlación con la señal en 3.24 ppm asignada para H-4.

La asignación para H-13 en 2.38 ppm se realizó debido a la correlación que presenta con la señal en 7.28 ppm del hidrógeno aromático (H-11).

En el espectro de RMN ^{13}C (Fig. 13) se observan las señales que corresponden al cacalol (**1**), las cuales se asignaron con la ayuda de los espectros de dos dimensiones. Por ejemplo se observa una señal en 142.06 ppm que corresponde al C-11, en 135.50 ppm se encuentra el C-9 base del hidroxilo. En 21.33 ppm se encuentra el metilo correspondiente al C-15, en 13.77 ppm y 11.28 ppm se encuentran las señales correspondientes a los C-14 y C-13 respectivamente.

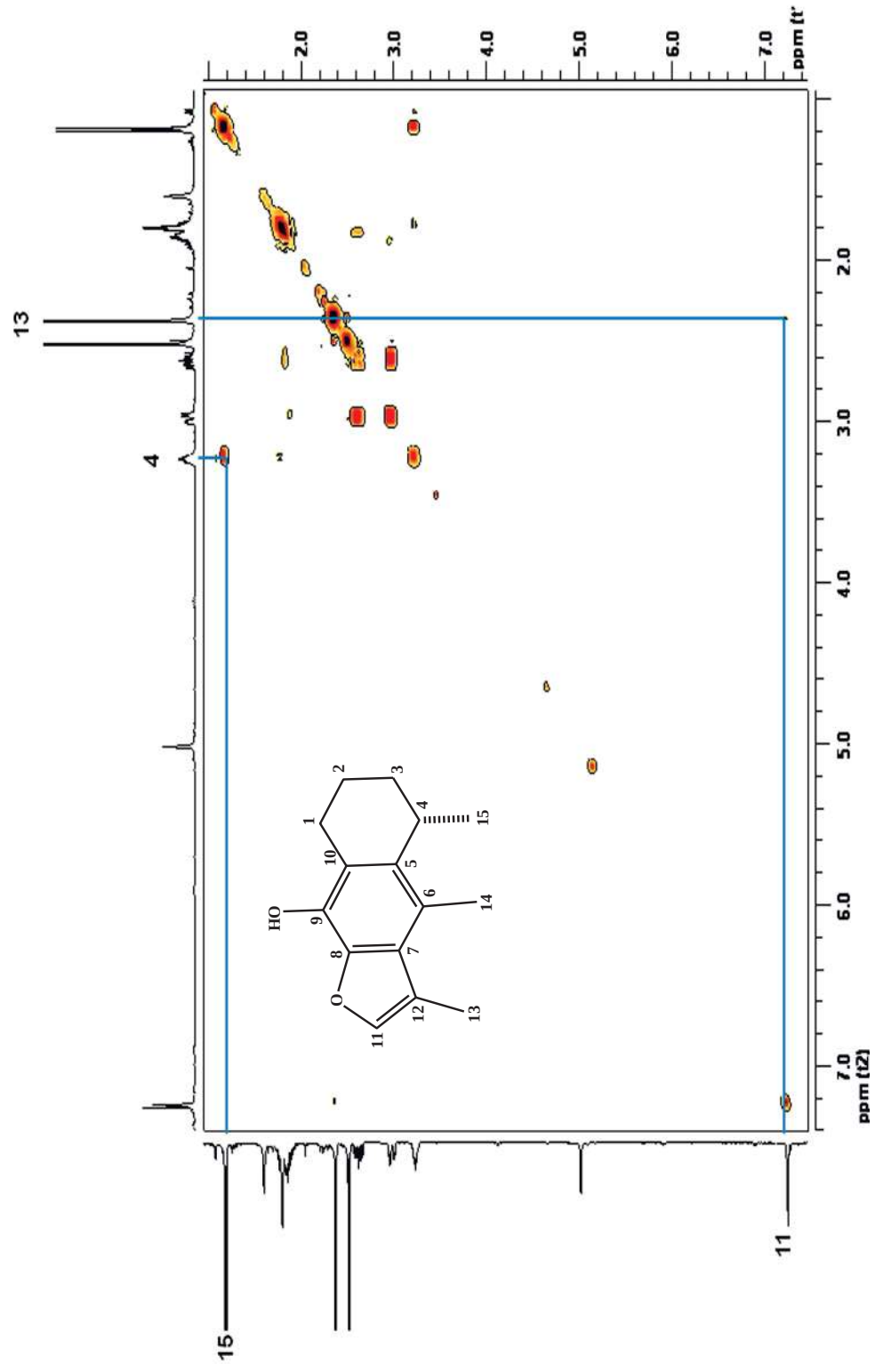


Fig. 12. Espectro COSY del cactalol (1).

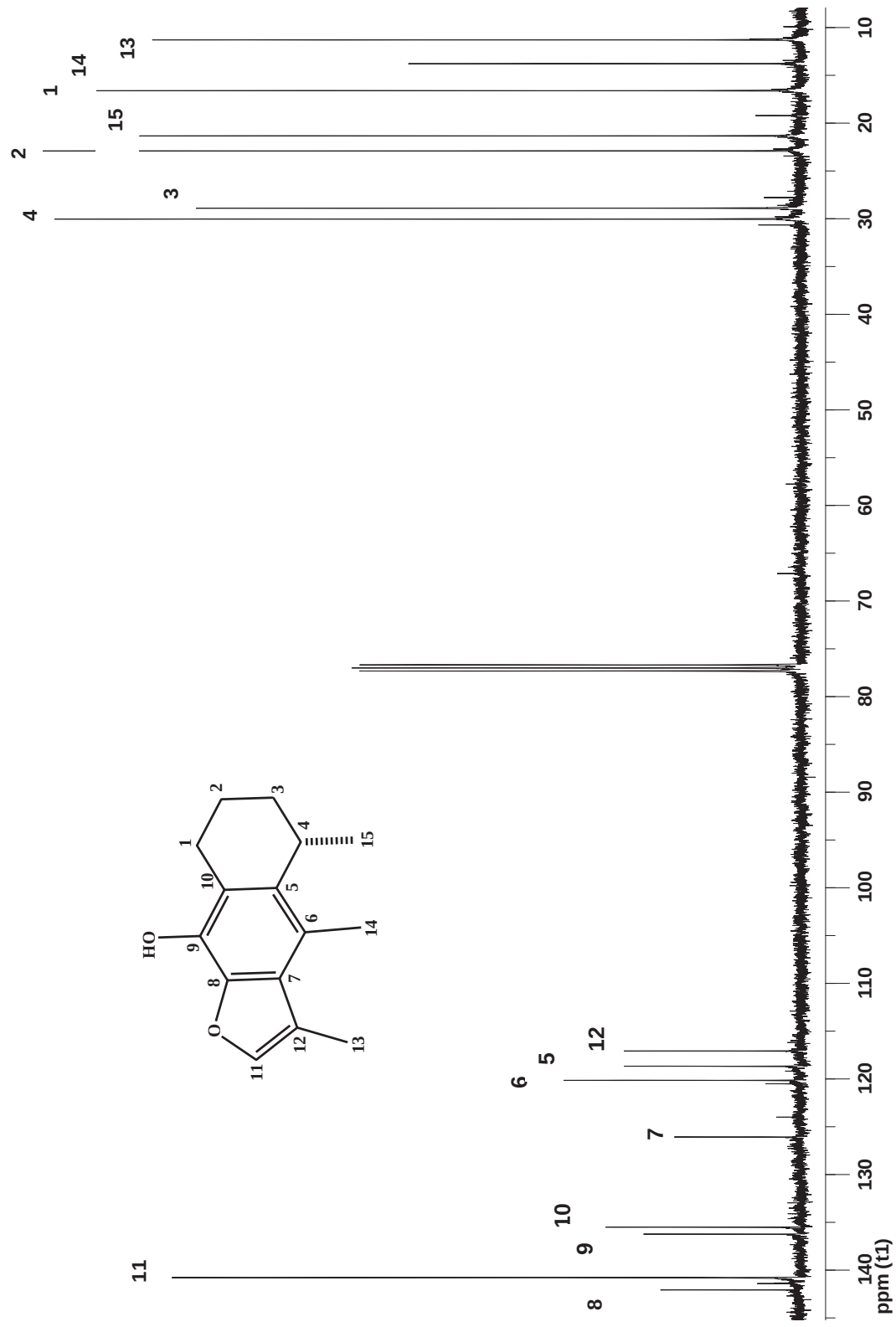


Fig. 13. Espectro de RMN ^{13}C del cacalol (1).

Al igual que el espectro de dos dimensiones COSY en el espectro HETCOR (Fig. 14) del cacalol (**1**) también se deben seguir las manchas de correlación, por ejemplo se puede observar que la señal encontrada en 7.28 ppm asignada al H-11 presenta una correlación en 140.77 ppm que corresponde al C-11 del anillo furánico. La señal encontrada en 2.52 ppm que corresponde a un metilo aromático tiene correlación con una señal encontrada en 13.77 ppm en la escala del carbono, con lo cual sabemos que corresponde al carbono C-14 del mismo metilo aromático; esto también lo podemos observar más claramente en la expansión del espectro HETCOR (Fig 15). Se observa que en 2.38 ppm se encuentra una señal que corresponde al otro metilo aromático, la cual; tiene una correlación en 11.28 ppm en la escala del carbono, por lo que se puede afirmar que se trata del C-13. La señal encontrada en 1.19 ppm correspondiente al metilo alifático secundario, correlaciona con la señal en 21.33 ppm, que corresponde al C-15. El resto de las señales se puede ir asignando de la misma manera, partiendo del espectro de protón previamente asignado.

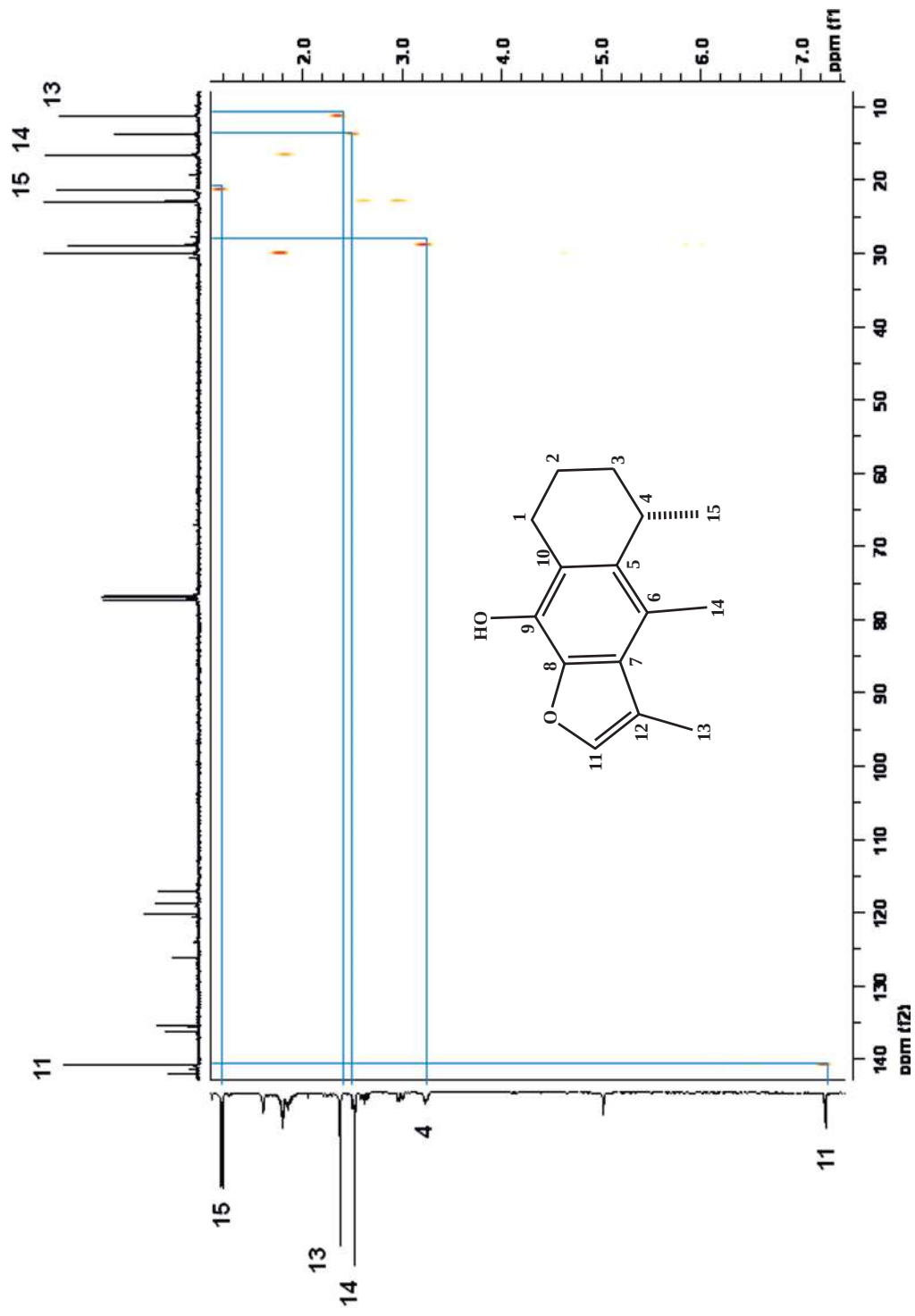


Fig.14. Espectro HETCOR del cacalol (1).

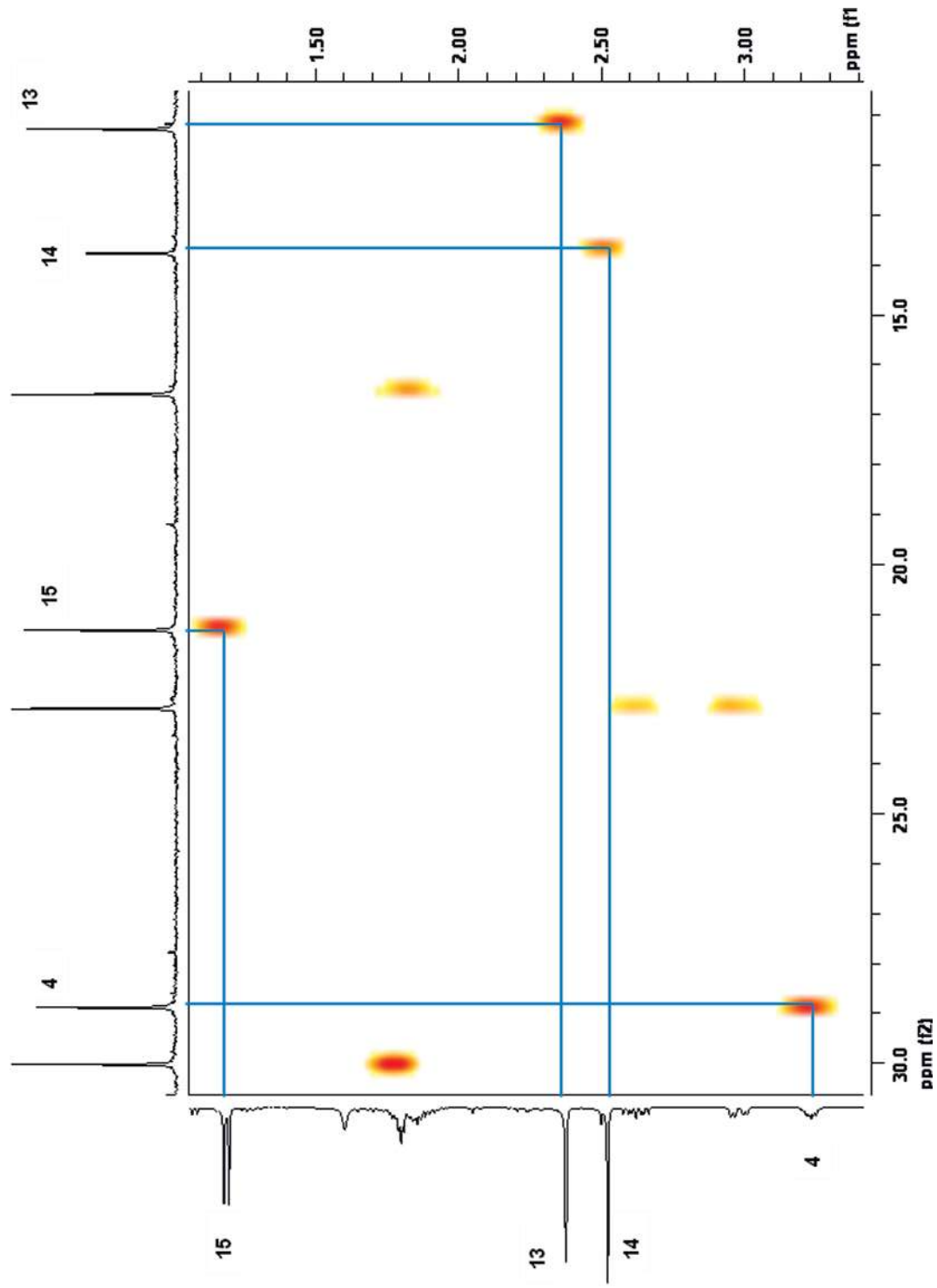


Fig. 15. Expansión del espectro HETCOR del cacalol (1).

Una vez aislado y caracterizado el cacalol (**1**) se procedió a realizar la reacción frente al radical libre DPPH de la siguiente manera:

200 mg de cacalol (**1**) y 345 mg de DPPH en 6 ml de diclorometano, se pusieron a reaccionar a temperatura ambiente en agitación por una hora, transcurrido este tiempo se evaporó el disolvente con Nitrógeno. La reacción del cacalol (**1**) con el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), es una reacción de oxido- reducción donde el DPPH se reduce cambiando de un color púrpura a una solución de color amarillo, ésta coloración nos indica que la reacción se ha llevado a cabo.

El análisis de RMN ^1H , del crudo de reacción, sugiere la formación de un dímero, ya que la mayoría de las señales se encuentran duplicadas. El producto de reacción se sometió a una purificación por cromatografía en columna de 2 cm de ancho por 10 cm de altura con sílica gel (70-230 Merck) obteniéndose 80 fracciones de 15 ml cada una, por medio de cromatografías en placa se detectó el compuesto en las fracciones 50-79. El producto de reacción se obtuvo ligeramente contaminado con reactivo DPPH, por tal motivo se llevó a cabo una segunda purificación en una columna de 8 cm de altura por 2 cm de ancho con sílica gel de poro fino (230-400 Merck). Obteniendo 60 fracciones; donde se logró identificar mediante RMN de ^1H a el compuesto en las fracciones de la 54-58, con una polaridad de 9:1 de hexano acetato de etilo.

En el espectro de RMN ^1H (Fig. 16) del dímero de cacalol (**3**) se puede observar una señal simple ancha en 7.28 ppm correspondiente al H-11, además de dos señales anchas que se encuentran en 5.11 y 4.98 ppm correspondientes a los OH del fenol. En 4.41 ppm se observan las señales de un sistema AB correspondiente a un metileno nuevo con una $J_{AB}=16.50$ Hz. En 3.25 ppm se encuentra una señal múltiple que corresponde al H-4 y 4', base de los metilos secundarios. En 2.94 ppm se encuentra una señal ddd con $J= 17.85$ y 5.60 Hz por su acoplamiento con su protón geminal correspondiente al H-1a; en 2.68 ppm se observa la señal del otro protón geminal H-1b con una señal múltiple. La señal simple encontrada en 2.50 ppm corresponde al H-14' del metilo aromático y las

señales dobles encontradas en 2.30 y 2.26 ppm corresponden a los grupos metilo aromáticos H-13 y 13'. Mientras que en 1.20 y 1.16 ppm se encuentran dos señales dobles con $J=7.02$ y 7.00 Hz que corresponden a los metilos secundarios H-15 y 15'.

En el espectro de RMN de ^{13}C (Fig. 17) del dímero de cacalol (**3**) se observan 30 señales lo que nos confirma la formación de un dímero. En la zona del espectro del 151.13 a 110.94 ppm se encuentran todos los carbonos aromáticos. Por ejemplo en 151.13 ppm se observa una señal que corresponde al C-11' aromático y en 141.25 ppm se encuentra la señal correspondiente también al C-11 de la otra molécula de cacalol. Los carbonos que corresponden a los grupos metilo se encuentran en 21.87 y 21.40 los cuales corresponden a los C-15 y 15', se puede observar que el C-14 se encuentra en 25.32 ppm, en el cual, existe un mayor desplazamiento con respecto al C-14' que se encuentra en 13.80 ppm esto debido a que en el primero es donde se unen las dos moléculas de cacalol (**1**).

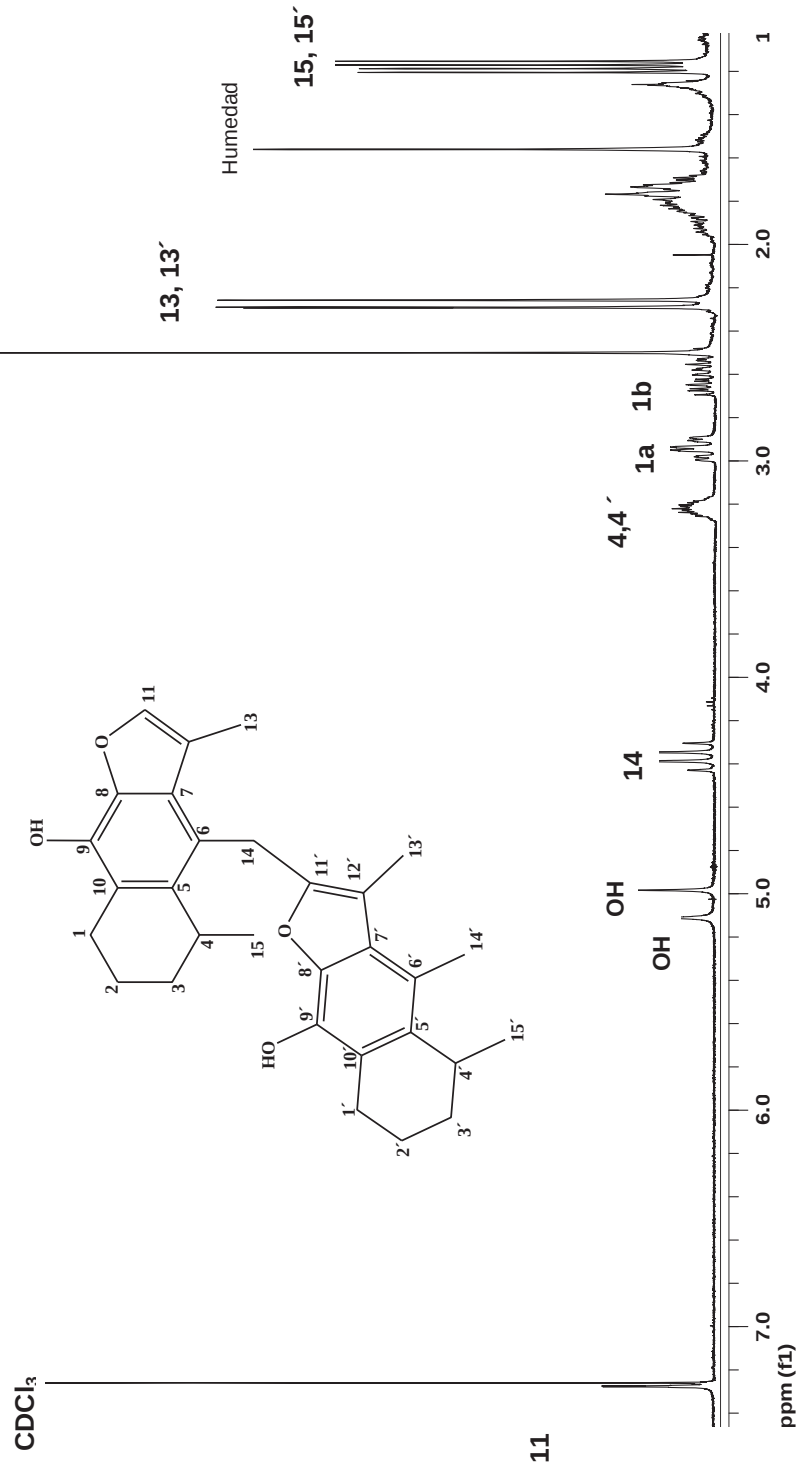


Fig. 16. Espectro de $\text{RMN } ^1\text{H}$ del dímero de cacalol o Adenostina A (3)

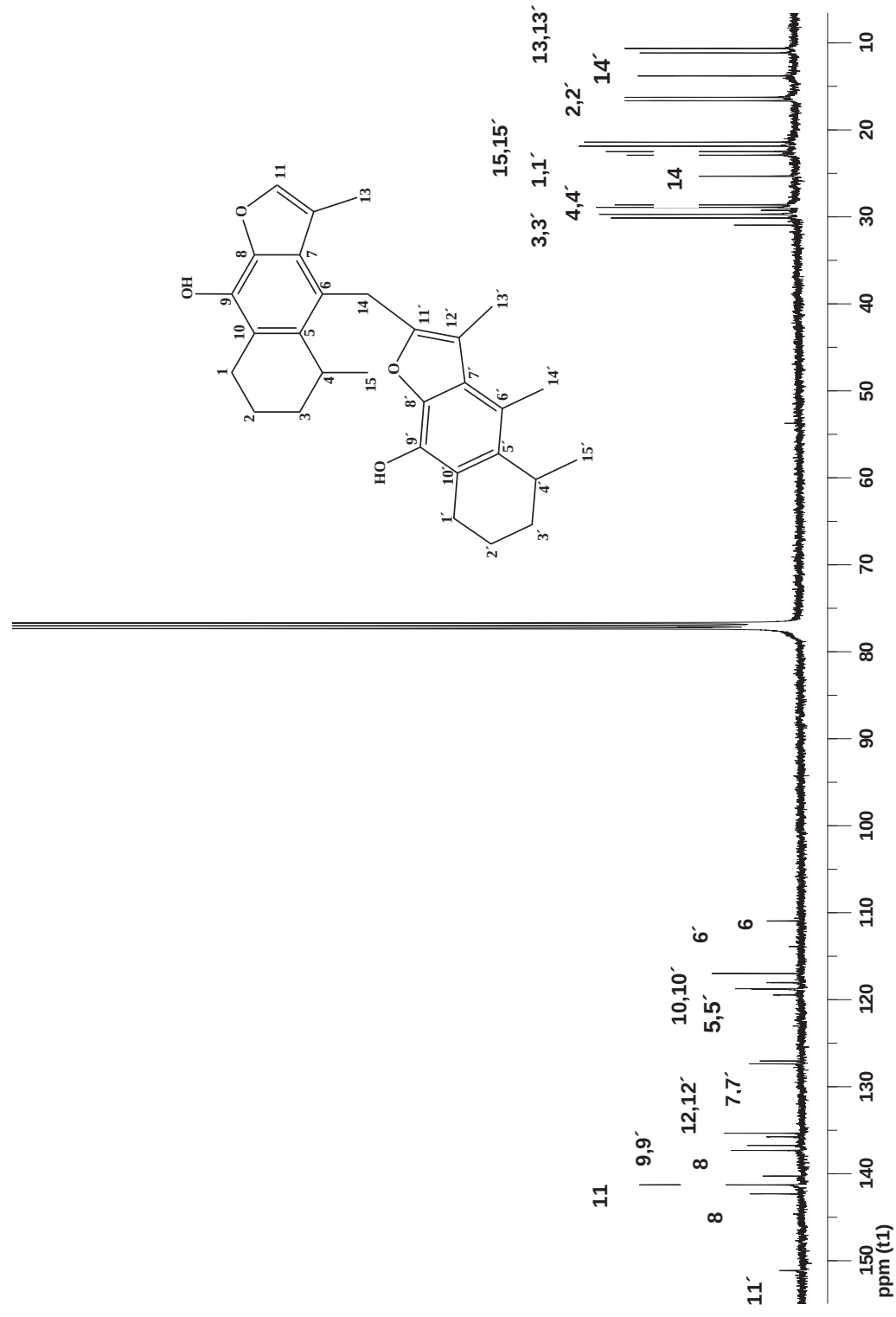


Fig. 17. Espectro de RMN ^{13}C del dímero de cacalol o Adenostina A (3).

En el espectro COSY (Fig. 19) del dímero de cacalol (**3**) se puede observar que algunas señales se encuentran duplicadas al compararlas con el espectro del cacalol por ejemplo la señal correspondiente al H-4,4' tiene correlación con los metilos secundarios H-15,15'. Mientras que los metilos H-13,13' tiene una correlación con la señal localizada en 7.28 ppm correspondiente al protón aromático H-11. Las señales correspondientes a los metilos también se encuentran dobles, excepto una, la que corresponde al protón del metilo secundario H-14 que tiene correlación con una señal localizada en 1.70 ppm correspondiente a los protones H-2 y H-3. En 4.37 ppm se observa un sistema AB correspondiente a un metileno nuevo H-14', que es el punto de unión entre las dos moléculas de cacalol (**1**).

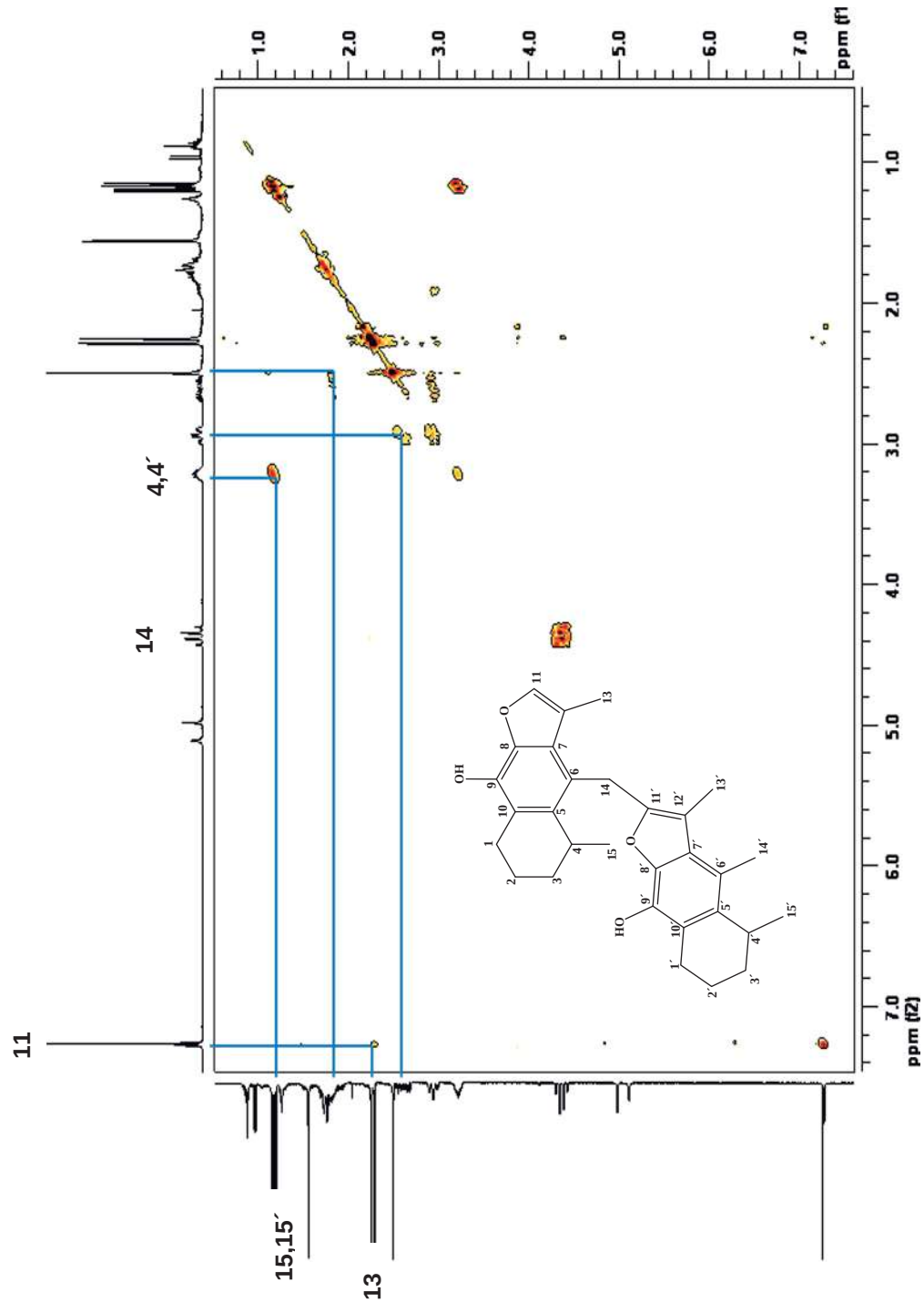


Fig.18. Espectro COSY del dímero de cacalol o Adenistina A (3).

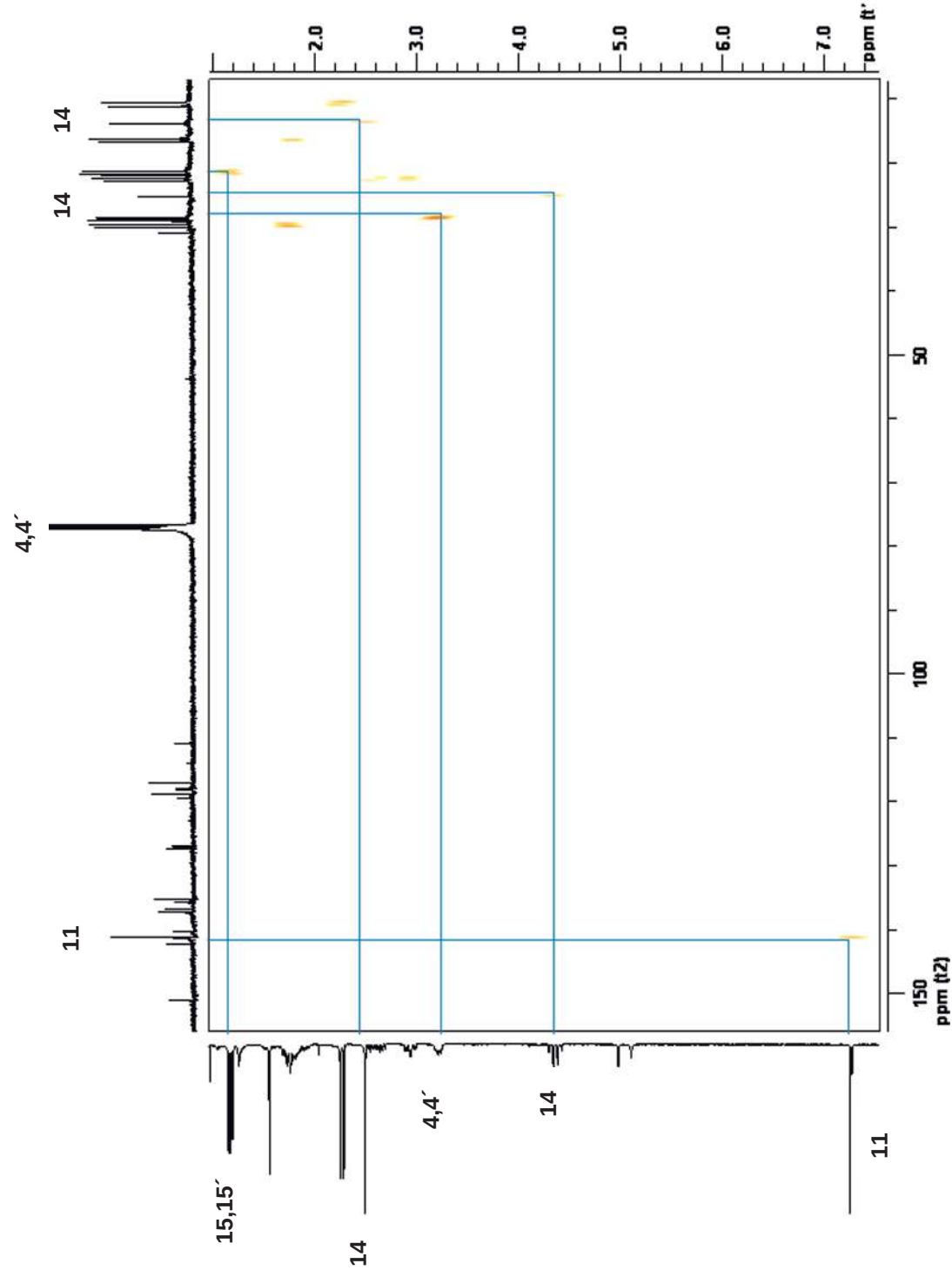


Fig.19. Espectro HETCOR del dímero de cacalol o Adenostina A (3).

En el espectro HETCOR (Fig. 19) del dímero de cacalol (**3**) se observa que la señal encontrada en 2.52 ppm correspondiente a un metilo aromático y tiene correlación con la señal encontrada en 13.77 ppm en la escala del carbono, por lo que sabemos que corresponde al carbono C-14 del mismo metilo aromático; esto también lo podemos observar más claramente en la expansión (Fig 20).

En la expansión del espectro HETCOR se observa que en 2.38 ppm se encuentra una señal que corresponde a otro metilo secundario, y correlaciona con una señal en 11.28 ppm en la escala del carbono, por lo que se puede afirmar que se trata del C-13. La señal encontrada en 1.19 ppm correspondiente al metilo alifático, correlaciona con una señal en 21.33 ppm, correspondiente al C-15. El resto de las señales se puede ir asignando de la misma manera, partiendo del espectro de protón previamente asignado.

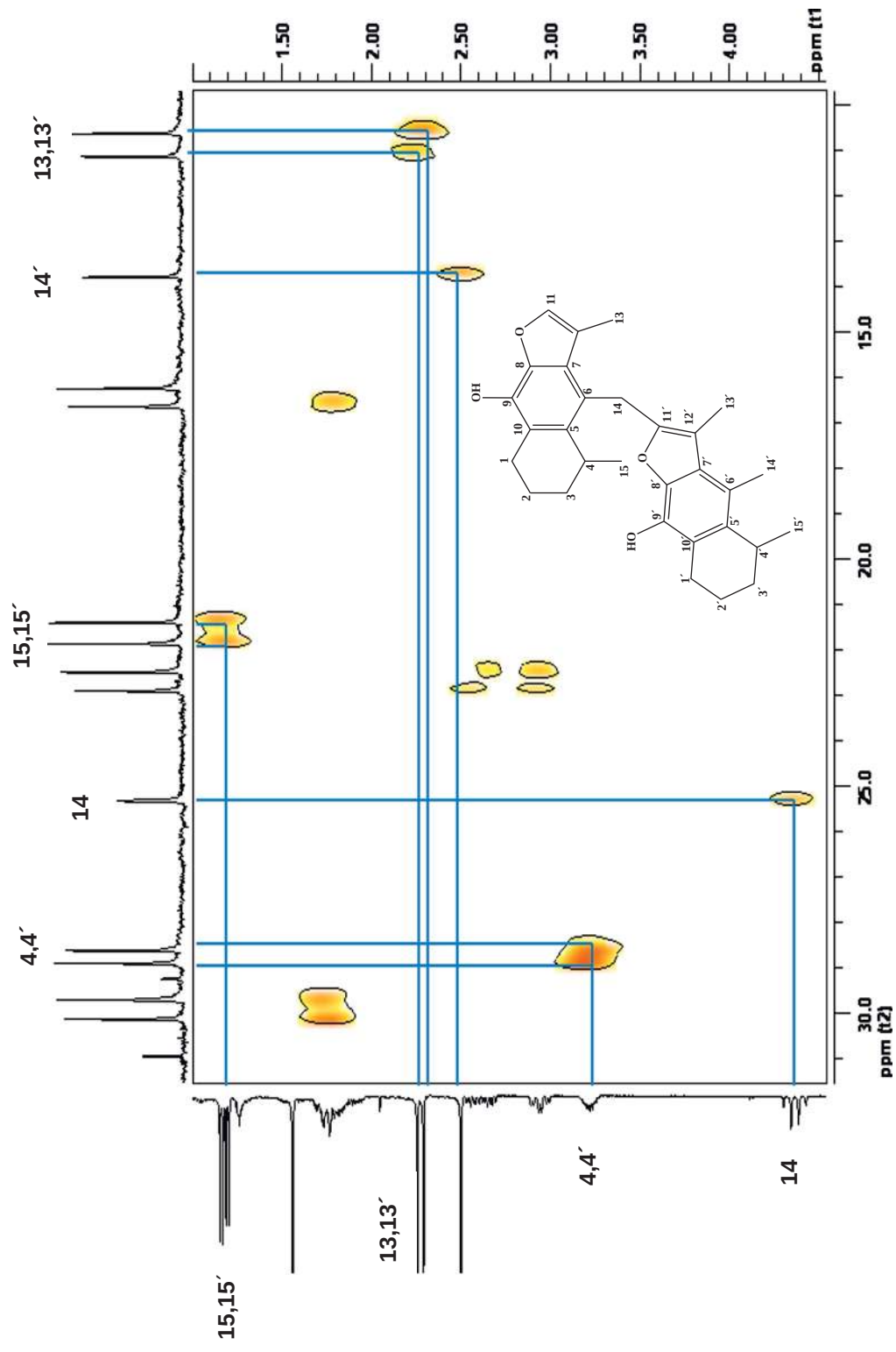
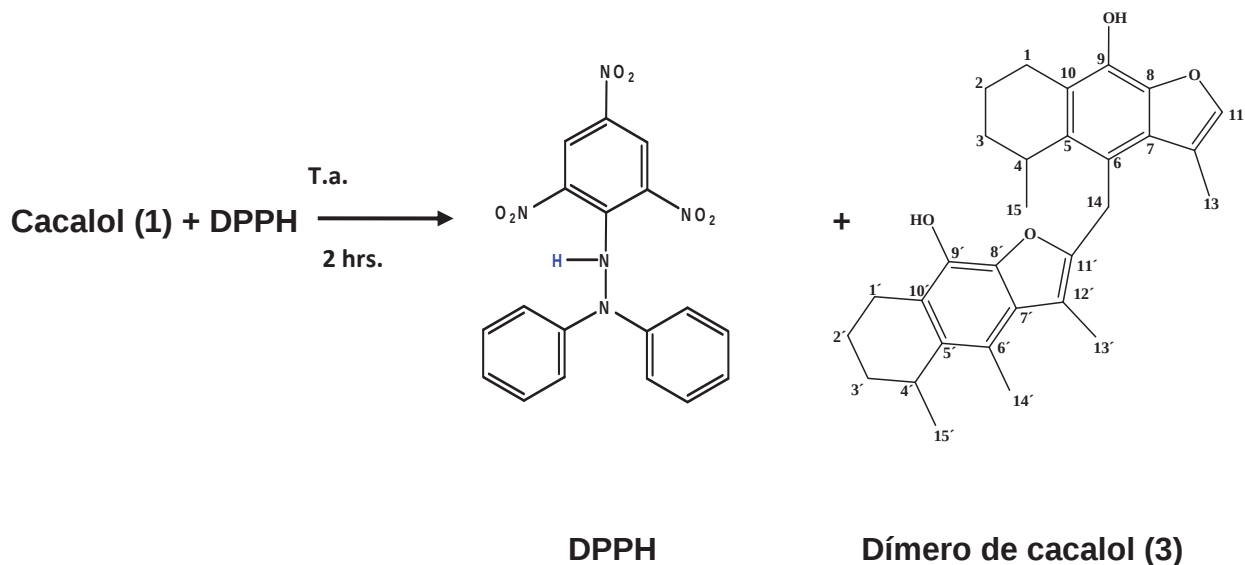


Fig.20. Expansión del espectro HETCOR del dímero de cacalol o Adenostina A (3).

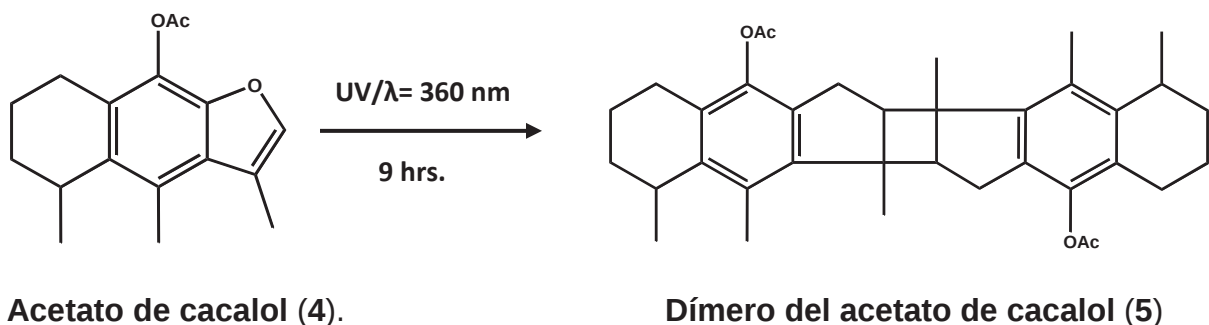
La reacción del cacalol (**1**) con el DPPH dio lugar al dímero de cacalol (**3**) (Esq. 7), el cual fue identificado por análisis espectroscópicos de RMN.



Esq.7. Reacción química del DPPH con el cacalol (**1**).

Una vez caracterizada la estructura del dímero de cacalol (**3**) se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica para ver si el compuesto había sido obtenido con anterioridad o si se trataba de un compuesto nuevo; por lo que se llegó al conocimiento que se trata de un compuesto llamado Adenostina A, el cual, fue aislado de manera natural de algunas plantas como fueron. *Cacalia adenostyloides* y *Psacalium radulifolium*.

Cabe mencionar que solo se encontró un dímero obtenido mediante la reacción fotoquímica del acetato de cacalol a 360 nm (como se muestra en el esquema 8). Este producto fue identificado por sus datos espectroscópicos.³⁶



Esq.8. Reacción de fotodimerización.

Con el objetivo de comprobar si las señales anchas encontradas en el espectro de RMN ^1H (Fig.16) del dímero de cacalol (**3**) en 5.11 y 4.98 ppm correspondían a los grupos fenoles, se procedió a preparar su derivado acetilado. Ya que se esperaba que la formación del dímero se daría por las posiciones de los grupos fenólicos, según algunos estudios teóricos realizados de modelado molecular con el cacalol (**1**).³⁶

15 mg del dímero de cacalol (**3**), 1 ml de piridina y 1 ml de anhídrido acético, se hicieron reaccionar durante una hora a baño maría, el producto de reacción se extrajo con acetato de etilo y se evaporó, obteniéndose un sólido de color ámbar, identificado por RMN como el dímero acetilado (**6**).

En el espectro de RMN ^1H (Fig. 21) del dímero de cacalol acetilado (**6**) se puede observar una señal simple ancha en 7.28 ppm correspondiente al H-11, además En 4.35 ppm se observan señales de un sistema AB correspondiente a un nuevo metileno. En 3.24 ppm se encuentra una señal múltiple que corresponde al H-4 y 4', base de los metilos secundarios. En 2.80 ppm se encuentra una señal dddd por su acoplamiento con su protón geminal correspondiente al H-1a; en 2.68 ppm se observa la señal del otro protón geminal H-1b con una señal. La señal simple encontrada en 2.53 ppm corresponde al H-14 del metilo aromático, y la señal simple encontrada en 2.39 corresponde al metilo del acetato, las señales dobles encontradas en 2.30 y 2.26 ppm corresponden a los grupos metilo aromáticos H-13 y 13', mientras que la señal simple encontrada en 2.20 ppm

corresponde al grupo acetato. En 1.20 y 1.15 ppm se encuentran dos señales dobles con $J=7.00$ y 7.02 Hz que corresponden a los metilos secundarios H-15 y 15'. Del análisis del espectro de RMN ^1H se pudo corroborar que los grupos fenoles quedan libres después de la reacción con DPPH, ya que el derivado acetilado posee dos grupos acetato. Por lo tanto, se concluye que la parte más reactiva del cacalol (**1**) es el C-11, ya que tanto en éste derivado, como en el fotodímero del acetato (**5**), la reacción se lleva a cabo en éste sitio.

X = AcOEt

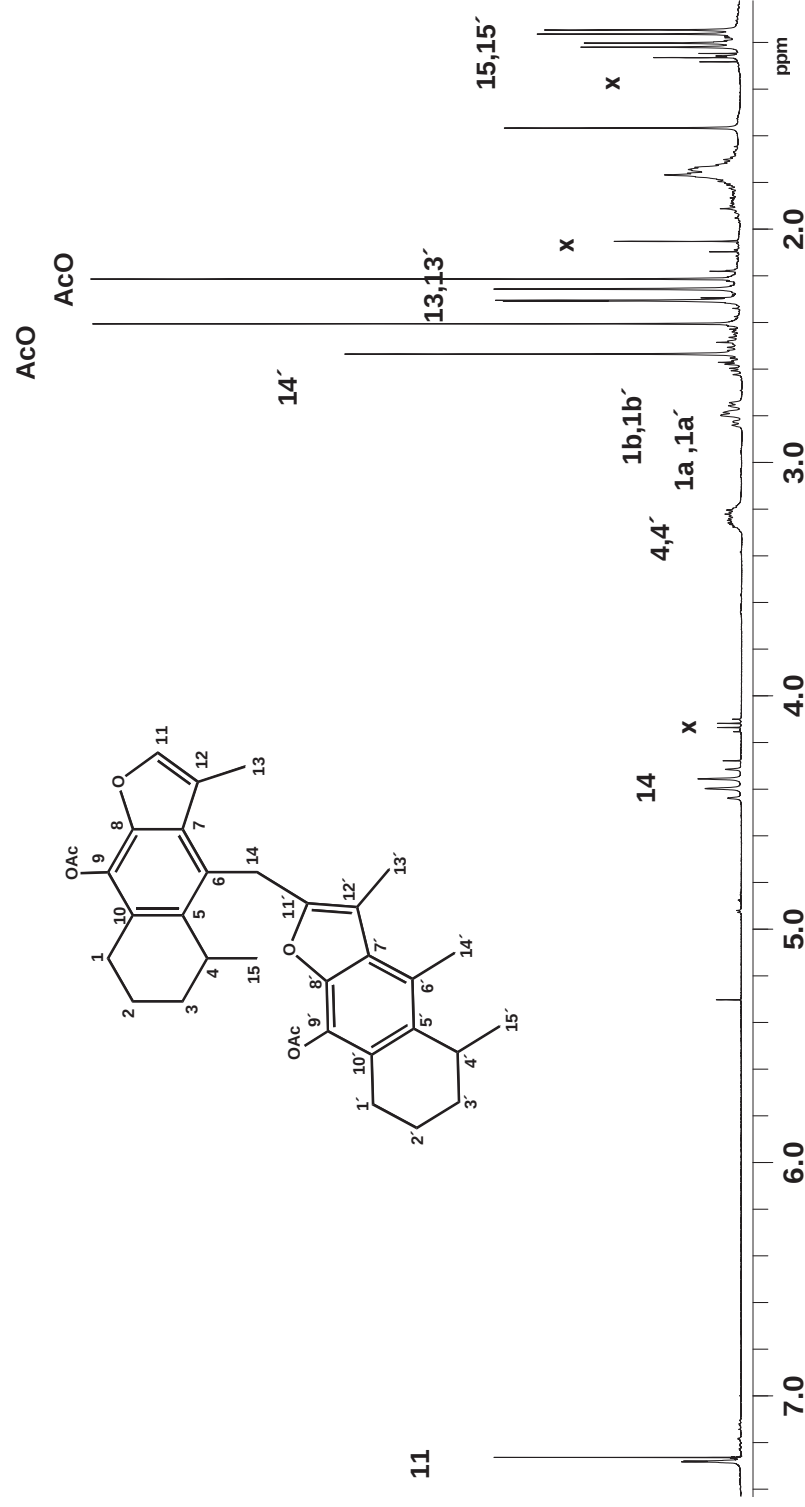


Fig. 21. Espectro de RMN ^1H del dímero de cacalol acetilado (6).

5. PARTE EXPERIMENTAL

Los espectros de RMN ^1H a 400 MHz y de ^{13}C a 100 MHz, así como los espectros bidimensionales de correlación $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ (HETCOR), $^1\text{H}/^1\text{H}$ (COSY) se determinaron en un aparato Varian Mercury Plus-400, usando como disolventes CDCl_3 y como referencia se utilizó tetrametisilano (TMS).

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Scientific y no se encuentran corregidos.

Los espectros de absorción UV se determinaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 12, empleando como disolvente Etanol.

Los espectros de IR se determinaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer 16F PC FT-IR utilizando como disolvente CDCl_3 .

Los espectros de masas se llevaron a cabo en un cromatógrafo de gases HP 5890 series II Plus, acoplado a un espectrofotómetro de Masas HP 5989-B.

Las rotaciones ópticas se determinaron en un aparato Perkin Elmer 341, usando Etanol como disolvente.

Para las separaciones cromatográficas se utilizó sílica gel de la marca Merck de 70-230 y 230-400 mallas, utilizando en cada caso la mezcla adecuada de disolventes (hexano-acetato de etilo) según las características del producto a separar (polaridades de 95:5 y 90:10). También se utilizaron cromatofolios de gel de sílice soportada en aluminio marca Merck. La detección de los productos en las placas, se llevo a cabo utilizando luz UV de onda corta (254 nm) y de onda larga (365 nm), además de sulfato cérico amoniacal como agente cromógeno preparado con 12 g de sulfato cérico, 22.5 ml de ácido sulfúrico y 350 g de hielo.

5.1 OBTENCIÓN DE LA DECOMPOSTINA (2) DE LA RAIZ DE *P. sinuatum*

Un lote de 895 g de raíz molida de *Psacalium sinuatum* se sometieron a maceración con hexano durante 3 días. Transcurrido éste tiempo se concentró en un rotavapor se obtuvieron 30 g de una miel color ámbar que por adición de hexano precipitaron 14 g de cristales ligeramente amarillos. Con P.F 181-183 °C. La comparación de todos los datos espectroscópicos confirmó el compuesto conocido como decompostina (2).

Decompostina (2): Cristales blancos. p.f. 181-183°C, ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.40 (1H, s, H-11), 7.06 (1H, t, H-1), 6.32 (1H, s, H-6), 2.23 (3H, s, AcO), 1.94 (3H, s, H-13), 1.10 (3H, s, H-14), 0.96 (3H, s., H-15).

5.2 OBTENCIÓN DEL CACALOL (1) DE LA RAIZ DE *S. cervarifolium*

Un lote de 800 g de raíz molida de *S. cervarifolium*, se sometieron a extracción por el método de maceración a temperatura ambiente, utilizando como disolventes hexano, diclorometano y metanol, en tres ocasiones con cada disolvente por un período de 3 días. En cada ocasión se filtró y concentró en rotavapor, se obtuvieron 35 g del extracto correspondiente. Del cual, precipitó 1 g de cristales, con P.F. 90-92 °C, el resto del extracto no cristalizable se sometió a una acetilación para proteger el grupo OH y facilitar su purificación.

Cacalol (1). Cristales blancos. p.f. 90-92°C, ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.28 (1H, sa, H-11), 5.02 (1H, da, OH), 3.24 (2H, dda, H-4), 2.98 (2H, dda, J=17.6 Hz, J=5.1 Hz, H-1a), 2.62 (2H, ddd, J=17.6 Hz, J=10.9 Hz, J=7.3 Hz, H-1b), 2.52 (3H, s, H-14), 2.38 (3H, s, H-13), 1.19 (3H, d, J=7.1 Hz H-15). ¹³C-RMN (100 MHz CDCl₃) δ ppm 142.06(CH, C-11), 140.77 (C, C-8), 136.23 (C, C-5), 135.50 (C, C-9), 126.07 (C, C-7), 120.14 (C, C-6), 118.66 (C, C-10), 117.07 (C, C-12), 30.03 (CH₂, C-3), 28.89 (CH, C-4), 22.90 (CH₂, C-1), 21.33 (CH₃, C-15), 16.60 (CH₂, C-2), 113.77 (CH₃, C-14), 11.28 (CH₃, C-13).

5.3 OBTENCIÓN DEL ACETATO DE CACALOL (4)

30 g de la miel no cristalizable del extracto hexánico total de *S. cervarifolium* se sometió a una reacción de acetilación con 50 ml de piridina y 50 ml de anhídrido acético, durante una hora a baño maría; y se extrajo con acetato de etilo. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna obteniéndose 14 g de cristales de color blanco con p.f. 104-105°C identificados como acetato de cacalol (3) mediante RMN. Esta reacción se llevó a cabo para conservar el cacalol.

5.4 REACCIÓN DPPH-CACALOL (1)

200 mg de cacalol (1) y 345 mg de DPPH con 6 ml de diclorometano, se puso a reaccionar a temperatura ambiente en constante agitación durante una hora y se evaporó con Nitrógeno. El producto de reacción se purificó por cromatografía en columna.

5.5 CROMATOGRAFÍA DEL PRODUCTO DE REACCIÓN DE DPPH-CACALOL (1)

Una columna de 2 cm de ancho por 10 cm de largo con sílice gel (70-230 Merck), el producto de reacción se disolvió con diclorometano y se absorbió en gel de sílice hasta sequedad. Se colocó en la columna de forma directa. Se emplearon como disolventes hexano y acetato de etilo a diferentes proporciones, colectándose 78 fracciones de 15 mL aproximadamente.

El compuesto obtenido se recromatografió utilizando una columna de 8 cm de largo por 2 cm de ancho con gel de sílice de poro fino (230-400 Merck). Obteniendo 60 fracciones de 15 mL aproximadamente; donde se logró identificar el compuesto mediante RMN de ^1H (Fig. 3).

Dímero de cacalol (3). Polvo ligeramente amarillo. p.f. 128-130°C, IR (cm^{-1}) (OH) 3578, (C-O) 1222, (CH₃) 2934, (C=C) 1658; UV (EtOH) $\lambda_{\text{máx}}$ = 219, $\lambda_{\text{máx}}$ = 260, $\lambda_{\text{máx}}$ = 267, $[\alpha] = +5^\circ$. +9.7 ($c = 0.001$, EtOH). HRME-El calculado para C₃₀H₃₄O₄: 458.2457: encontrado 458.2457. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.28 (1H,sa, H-11), 5.11 (1H, sa OH), 4.98 (1H, as, OH), 4.41 (1H, d., J_{AB} = 16.5 Hz, H-14A), 4.33 (1H, d, J_{AB} = 16.5 Hz, H-14B) 3.25 (2H, m, H-4,4'), 2.94 (2H, ddd, J_{gem} = J_{1a,2b} = 17.85 Hz, J_{1a,2a} = 5.60 Hz, H-1a, H-1a'), 2.68 (2H, m H-1b, H-1b'), 2.50 (3H, s, H-14), 2.30 (3H, s, H-13), 2.26 (3H, s, H-13'), 1.20 (3H, d, J=7.02 Hz H-15), 1.16 (3H, d, J=7.00 Hz H-15'), ¹³C-RMN (100 MHz CDCl₃) δ ppm 151.13(C, C-11'), 142.35 (C, C-8'), 141.27 (CH, C-11), 140.26 (C, C-8), 137.32 (C, C-9'), 136.74 (C, C-9), 135.84 (C, C-12'), 135.34 (C, C-12), 127.36 (C, C-7'), 127.03(C, C-7), 119.45 (C, C-5'), 118.78 (C, C-5), 118.72 (C, C-10), 118.03 (C, C-10'), 116.98 (C, C-6'), 110.94 (C, C-6), 30.13 (CH₂, C-3), 29.70 (CH₂, C-3'), 28.90 (CH, C-4'), 28.62 (CH, C-4), 25.32 (CH₂, C-14). 22.9 (CH₂, C-1), 22.50 (CH₂, C-1'), 21.87 (CH₃, C-15'), 21.40 (CH₃, C-15), 16.65 (CH₂, C-2), 16.25 (CH₂, C-2'), 13.80 (CH₃, C-14'), 11.15 (CH₃, C-13), 10.64 (CH₃, C-13').

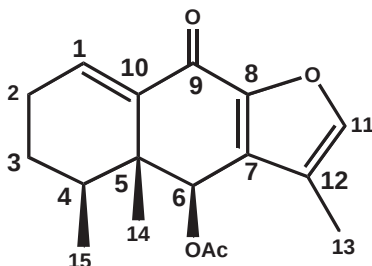
5.6 REACCIÓN DE ACETILACIÓN DEL DÍMERO DE CACALOL (3).

20 mg del dímero de cacalol, 1 ml de piridina y 1 ml de anhídrido acético durante una hora a baño maría, se extrajo con acetato de etilo, obteniéndose un sólido de color blanco, identificado por RMN como el dímero acetilado.

Dímero de cacalol Acetilado (6). Polvo ligeramente amarillo. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.28 (1H,s.a., H-11), 5.11 (1H, sa, OH), 4.98 (1H, sa, OH), 4.41 (1H, d., J_{AB} = 16.5 Hz, H-14A), 4.33 (1H, d., J_{AB} = 16.5 Hz, H-14B) 3.25 (2H, m., H-4,4'), 2.94 (2H, ddd, J_{gem} = J_{1a,2b} = 17.85 Hz, J_{1a,2a} = 5.60 Hz, H-1a, H-1a'), 2.68 (2H, m. H-1b, H-1b'), 2.50 (3H, s., H-14), 2.30 (3H, s., H-13), 2.26 (3H, s, H-13'), 2.20 (3H, s., AcO), 2.39 (3H, s., AcO') 1.20 (3H, d., J=7.02 Hz, H-15), 1.16 (3H, d., J=7.00 Hz, H-15').

6. CONCLUSIÓN

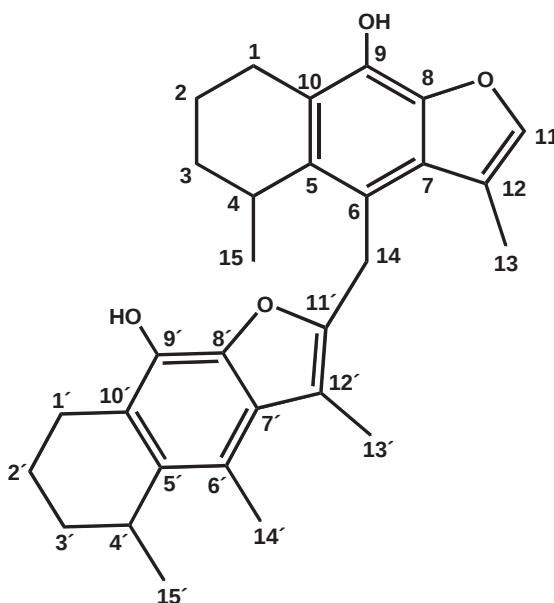
De la raíz de *Psacalium sinuatum*, se logró aislar la Decompostina (**2**), identificándola por RMN y por comparación bibliográfica.



Decompostina (2)

Se llevó a cabo la reacción del cacalol con el radical libre (DPPH) a escala del laboratorio.

Se logró aislar e identificar un dímero de cacalol conocido como adenostina A (**3**) por medio de métodos físicos y espectroscópicos, como son Resonancia Magnética Nuclear, Infrarrojo Ultravioleta y punto de fusión.



Dímero de cacalol o Adenistina A (3)

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilera C., "Flora y Fauna Mexicana. Mitología y Tradiciones"., *Editorial Everest Mexicana, S.A.* 8. **1985.**
2. Dewick P.M., "Medical Natural Products a Biosynthetic Approach"., John Wiley & Sons, **1997.**
3. Romo de Vivar A., Perez-Casterona A. L., Arciniegas A., Vllaseñor J.L., *J. Mex. Chem. Soc.* **2007.** 51(3), 160-172.
4. Calderón de Rzedowski G. y Rzedowski J, Flora Fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, A.C., CONABIO. . **2005.** 931.
5. Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J. *Int. J. Biochem. Cel. Biol.* **2006.** 39, 44-84.
6. Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. *Chem.-Biol. Interact.* **2006.** 160, 1-40.
7. Montagnier L., Oliview, and Pasquier C., (eds)., *M. Dekker, N.Y., USA,* **1998.**
8. Beck M.A. *Am. J. Clin. Nutr.*, **2000.** 72,1082-1086.
9. Murray M.T., "Encyclopedia of Nutritional Supplements". *Prima Publ., California, USA,* **1996.**
10. Jerlick A, Pitt A.R., Schaur RJ, Spickett CM. *Free Radic Biol Med* **2000.** 28(5), 673-82.
11. Reylli P.M., Burkley GB. *Br. J. Surg.* **1990.** 77, 1324-5.

12. Rangon V., Bulkley GB. *Br. Med. Bull* **1993**. 49, 700-18.
13. Blanco A. *Química Biológica*. Ed. El Ateneo, Octava edición, **2006**. 165.
14. Halliwell B. and Chirico S., *Am. J. Clin. Nutr.* **1993**. 57, 716-721.
15. Roche E. *Med. Clin.* **1994**. 103, 189-96.
16. Oteiza P.A. Modificación oxidativa de proteínas. Antioxidantes y calidad de vida **1995**. 2, 12-20.
17. Mallat A., Preaux A. M. and Blazejewski S., *Hepatology*. **1998**. 27, 1265-1274.
18. Nuñez Sellés A.J., El Reto en la Terapia Antioxidante. *Editorial Científico-Técnica*. **2008**. 7-40
19. Céspedes M, Ela M., *Rev. Cubana Inv. Biomed.* **1996**. 15(2), 75-8.
20. Valko M. Rhodes C.J. Moncol J., Zakovic M. Mazur M. *Chem.-Biol. Interact.* **2006**. 160, 1-40.
21. Hwang E.S. and Kim G.H., *Toxicology*. **2007**. 229, 4-5.
22. Celis N.T., Escovar Rivero P., Isaza J.H., Stashenko E., and Martinez J.R., *Scientia et Technica*. **2005**. 33, 103-105.
23. Fessenden R.J., Fessenden J.S., *Química Orgánica*. Iberoamérica. **1983**. 1, 905, 500.
24. Pinder A.R. *Prog. Chem. Nat. Prod.* **1977**. 34, 181-186.
25. Romo J., Joseph-Nathan P. *Tetrahedron* **1964**, 20, 2331-2337.
26. Shindo K., Kimura M., Iga M., *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2004**, 68, 1393-1394.
27. Joseph-Nathan P., Morales J.J., Romo J., *Tetrahedron* **1966**. 22, 301-307.

28. Campos M. G., Oropeza M., Torres-Sosa C., Jiménez-Estrada M., Reyes-Chilpa R. *J. Ethnopharmacol.* **2009**, 123, 489-493
29. Mendoza Gastelúm, J.I., “Evaluación de la actividad antioxidante de sesquiterpenos derivados del benzociclooctano y del longipineno”. Tesis de Maestría presentada en la Sección Externa de Farmacología del CINVESTAV, México., **2008**.
30. Huang D., Ou B., y Prior R.L.. *J. Agr. Food.Chem.* **2005**, 53, 1841-1856.
31. Sánchez-Moreno C., Larrauri J.A., Saura-Calixto F., *J. Sci. Food Agric.* **1998**, 76, 270-276.
32. MacDonald-Wicks L.K., Wood L.G., Garg M.L., *J. Sci. Food Agric.* **2006**, 86, 2046-2056.
33. Prior R.L., Wu X., Schaich K.. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 4290-4302.
34. Valdés Medina, C.L., “Estudio Químico de la raíz de *Odontotrichum sinuatum*. Tesis de Licenciatura presentada en la Facultad de Químico Farmacología. UMSNH. **1982**.
- 35.
36. Jiménez E. M., Saucedo S. R., and Tafoya E. *Rev. Latinoameric. Quim.* **1987**, 18, 17-20
37. Silva Sánchez, B., Cerda García-Rojas C.M., “Modelado molecular de derivados del cacalol” XIII Congreso de la Investigación Científica del Pacífico. (DELFIN). **2008**.