

204



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EVALUACION in vitro DE XANTONAS Y SESQUITERPENOIDES DE ORIGEN VEGETAL COMO AGENTES HIPOGLUCEMICOS EN AORTA DE RATA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

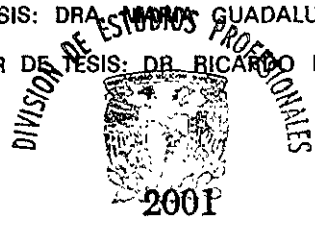
B I O L O G O

P R E S E N T A :

CARLOS ALBERTO TORRES SOSA



DIRECTOR DE TESIS: DRA. MARÍA GUADALUPE CAMPOS LARA
CODIRECTOR DE TESIS: DR. RICARDO REYES CHILPA



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

Evaluación in vitro de xantonas y sesquiterpenoides de origen
vegetal como agentes hipoglucémicos en aorta de rata

realizado por Carlos Alberto Torres Sosa

con número de cuenta 9329195-2 , pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario

Dra. María Guadalupe Campos Lara

Propietario

Dr. Ricardo Reyes Chilpa

Propietario

Dra. María Cristina Revilla Monsalve

Suplente

Dr. Manuel Jimenez Estrada

Suplente

Biol. Miguel Angel Palomino Garibay

FACULTAD DE CIENCIAS
U N. A. M.

Consejo Departamental de Biología

Luisa A. Alba

Dra. Luisa A. Alba Lois



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

293106

There`s not greater power,
than the power of...
... Nature

M. Ciccone

El aislamiento, purificación y elucidación de los compuestos químicos se realizó en el laboratorio 2-10 del Instituto de Química de la UNAM.

Las pruebas farmacológicas se realizaron en la Unidad de Investigación Médica en Farmacología del IMSS.

*A mis padres,
Roberto y Cecilia,
por todo lo que nos han dado...
...y lo que aún les falta.*

*A mis hermanos,
Roberto, Oscar y Diana.
A Erika y Diego.
Por ser la mejor familia
que uno puede tener.*

*A todos y a cada uno de mis amigos,
porque gracias a ellos
la vida es totalmente diferente.*

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Maria G. Campos Lara por abrimme las puertas de su laboratorio y por tener la confianza para realizar este proyecto.

A los Dres. Ricardo Reyes Chilpa y Manuel Jimènez Estrada por la paciencia, las enseñanzas y la confianza que tuvieron en mi, al dejar integrame a su equipo de trabajo.

A la Biol. Elizabeth Estrada que compartió conmigo sus conocimientos y secretos para el aislamiento y transformación de las xantonas.

Al M. en C. Teodoro Villanueva por la paciencia y tranquilidad que tuvo para realizar las pruebas farmacológicas.

A la Dra. Ma. Cristina Revilla y al Biol. Miguel Angel Palomino por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo y por sus comentarios tan acertados.

Al Dr. Guillermo Salgado por la muestra de cacalona.

A todos mis compañeros y amigos del laboratorio 2-10 del Instituto de Química por hacer la vida más agradable y a todo el personal de UIM en Farmacología por tener siempre una sonrisa amable.

INDICE

I – RESUMEN.....	1
II – ANTECEDENTES...	2
1. Diabetes mellitus	2
1.1 Tratamiento médico.....	4
2. Medicina tradicional en México.....	6
2.1 Metabolitos secundarios con efecto hipoglucemiante	11
2.1.1 Xantonas de <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambes.....	12
A. Xantonas con actividad hipoglucemiante.....	15
2.1.2 Sesquiterpenoides de <i>Psacalium decompositum</i> A. Gray.....	17
3. Modelo de músculo liso vascular para evaluar compuestos hipoglucemiante.....	19
III – PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	21
IV – HIPÓTESIS.....	22
V – OBJETIVOS.....	22
VI – METODOLOGÍA.....	23
1. Obtención de las xantonas.....	23
1.1 Metilación de la 1,3,5,6-tetrahidroxi-2- (3,3-dimetilalil)-xantona.....	24
2. Obtención de los sesquiterpenoides.....	25
3. Pruebas farmacológicas.....	25
3.1 Procedimientos generales.....	25
3.2 Prueba de citotoxicidad o daño funcional.....	26

3.3 Prueba de actividad como bloqueadores de canales de potasio.....	26
4. Análisis de datos.....	27
VII – RESULTADOS.....	28
1. Xantonas.....	28
2. Pruebas de citotoxicidad o daño funcional.....	29
3. Efecto de las xantonas sobre la relajación inducida por diazóxido.....	29
4. Efecto de los sesquiterpenoides sobre la relajación inducida por diazóxido.....	30
VIII – DISCUSIÓN.....	34
IX – CONCLUSIONES.....	38
X – REFERENCIAS.....	39
XI – APENDICE.....	43

I. RESUMEN

EVALUACIÓN *in vitro* DE XANTONAS Y SESQUITERPENOIDES DE ORIGEN VEGETAL COMO AGENTES HIPOGLUCÉMICOS EN AORTA DE RATA

La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica considerada un problema de salud pública mundial; en nuestro país es la tercera causa de muerte. Las plantas medicinales juegan un papel muy importante en el tratamiento de esta enfermedad pues, de casi 880 plantas que se utilizan tradicionalmente en su tratamiento, alrededor de 150 se encuentran en nuestro país. En el modelo de músculo liso vascular *in vitro* puede mostrarse si un compuesto es capaz de bloquear los canales de potasio sensibles a ATP de manera similar al mecanismo de acción de las sulfonilureas (conocidos hipoglucemiantes orales) en las células β del páncreas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el papel como bloqueadores de los canales de potasio sensibles a ATP de varias xantonas aisladas de *Calophyllum brasiliense* y sesquiterpenoides aislados de *Psacalium decompositum* en el modelo de músculo liso de aorta de rata. En el análisis fitoquímico se identificaron cinco xantonas y se sintetizó un derivado de *C. brasiliense*. Asimismo, se identificaron dos sesquiterpenoides (cacalol y cacalona) y se sintetizó un derivado (acetato de cacalol) de *P. decompositum*. Se utilizaron anillos de 5 mm de longitud de aorta de ratas macho Sprague-Drawley de 250-300 g. Los anillos se montaron en cámaras de órganos aislados con solución Ringer-Krebs-Bicarbonato (RKB). Se mantuvieron oxigenados (5% CO₂, 95% O₂), a 37 °C y pH 7.4. La contracción isométrica se registró en un polígrafo de Grass 7D. Los tejidos se estabilizaron en la solución RKB durante 60 minutos con 2 g de tensión y se determinó la viabilidad de los tejidos. Para observar si los compuestos interactuaban con los canales de potasio se estimularon los tejidos con fenilefrina hasta alcanzar una contracción tónica sostenida, seguida de relajación inducida por diazóxido (abridor de los canales de potasio) adicionado de manera acumulativa. Después, se incubó el tejido con el compuesto a evaluar (10⁻⁴, 10⁻⁵ y 10⁻⁶ M) durante 30 minutos y se repitió la estimulación con fenilefrina y la relajación con diazóxido. Todos los compuestos se disolvieron en etanol/DMSO (2.5:1) con una máxima concentración final de DMSO menor al 0.1%. Como control positivo se utilizó la glibenclamida (10⁻⁵ M). De los compuestos evaluados, ninguna de las xantonas mostró actividad similar a la de la glibenclamida y todas causaron daño funcional del tejido a concentraciones mayores de 10⁻⁶ M. El cacalol y el acetato de cacalol tuvieron un efecto similar al de la glibenclamida a una concentración de 10⁻⁴ M. Además, el cacalol y la cacalona ejercieron su efecto de manera dependiente de la concentración. En conclusión, se aisló una xantona nunca antes reportada para *Calophyllum brasiliense*. Las xantonas preniladas de *Calophyllum brasiliense* no bloquean los canales de potasio de la célula de músculo liso vascular, mientras que los sesquiterpenoides de *Psacalium decompositum* actúan como bloqueadores de los canales de potasio de dichas células. El cacalol y el acetato de cacalol (10⁻⁴ M) actúan como bloqueadores de los canales de potasio dependientes de ATP de manera similar a la glibenclamida (10⁻⁵ M). Posiblemente este es su mecanismo de acción como hipoglucemiantes .

II. ANTECEDENTES

1. Diabetes mellitus

La *diabetes mellitus* (DM) es un grupo de enfermedades metabólicas y crónicas que se caracterizan por hiperglucemia como resultado de defectos en la secreción o acción de la insulina o ambas con la consecuente alteración en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos. A largo plazo se presentan daño y falla de varios órganos, especialmente ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos. Clínicamente puede ser asintomática o manifestarse como un cuadro agudo (Committee Report, 1997). Este padecimiento es considerado un problema de salud pública mundial; se estima que en 1994 había 110.4 millones de diabéticos en el mundo. En nuestro país, cada 15 minutos muere una persona por diabetes. Después de las enfermedades del corazón y de los tumores malignos, es la tercera causa de muerte. Tan sólo en 1997 murieron 36,000 mexicanos. La tasa de mortalidad debida a ella ha aumentado de 8 muertes por cada 100,000 habitantes en 1960, a 22 en 1980, y a 39 en 1998 (<http://www.ssa.gob.mx/dgei/vitales/cuadro4.html>).

La diabetes se clasifica en cuatro clases: tipo 1, tipo 2, gestacional y otros tipos. En el tipo 1, ocurre una destrucción de las células β del páncreas, usualmente con tendencia a una deficiencia absoluta de insulina. El tipo 2 se caracteriza por un defecto de secreción y por resistencia a la insulina (Foster, 1994). En la diabetes gestacional hay un grado de intolerancia a la glucosa, la cual se inicia o se manifiesta por primera vez durante la gestación. En lo que refiere a los otros tipos de diabetes, puede estar asociada a defectos genéticos de la función de las

células β , defectos genéticos en la acción de la insulina, enfermedades del páncreas exocrino inducidas por fármacos o químicos o algunas infecciones, o bien, está relacionada con síndromes genéticos o algunas formas raras mediadas inmunológicamente (Committee Report, 1997).

Las causas de la DM tipo 1 y tipo 2 se encuentran a nivel genético. En la DM tipo 1 existe la prevalencia de ciertos antígenos de histocompatibilidad (HLA) (B-8, B-15, B-18, DW-3, DW-4 y DRW-3), así como la ausencia de otros (B-5, B-7, DW-2 y DRW-2). Los primeros hacen susceptibles a las células β del páncreas al ataque de diferentes virus y anticuerpos; mientras que los segundos HLA disminuyen la susceptibilidad. En la DM tipo 2 el carácter hereditario está claramente establecido, ya que se han localizado los genes responsables de las alteraciones moleculares de la insulina, de los receptores insulínicos y del transporte de la glucosa a través de la membrana celular, aunque aún no se describen (Alarcón, 1997). En la diabetes gestacional se presenta un grado de intolerancia a la glucosa debido a la elevación del lactógeno placentario; en la mayoría de los casos, una vez que se termina el embarazo, la glucosa regresa a sus valores normales (Foster, 1994). Entre un 10% a un 20% de las pacientes con diabetes gestacional persisten con alteraciones metabólicas después del parto y hasta un 50% se hacen diabéticas a largo plazo (Alarcón, 1997).

1.1 Tratamiento médico

El tratamiento para la DM es de tres tipos: dieta y ejercicio, terapia de reemplazo con insulina y el uso de agentes hipoglucemiantes orales (Ivorra *et al.*, 1989).

Con una dieta adecuada se restablece y se mantiene en el paciente diabético un estado metabólico normal. Una ingesta adecuada de carbohidratos hace innecesario el uso de medicamentos hipoglucemiantes para algunos pacientes con DM tipo 2 e incluso, se pueden mantener los niveles de glucosa normales, principalmente en los pacientes obesos. Una dieta adecuada reduce los factores de riesgo de las complicaciones vasculares de la DM. La dieta del paciente diabético con peso normal debe ser acorde a sus necesidades energéticas. Del 55 al 60% de las calorías totales deben ser aportadas por carbohidratos, del 10 al 15% por proteínas y los lípidos no deben aportar más del 30%. Con el ejercicio físico es posible metabolizar, aun en ausencia de insulina, las reservas de glucógeno y grasa en el organismo, así como activar las funciones del páncreas en cuanto a la secreción de insulina de los pacientes con DM tipo 2. En un paciente diabético, el ejercicio físico aumenta considerablemente la utilización de la glucosa, de ácidos grasos y de cuerpos cetónicos circulantes en la sangre (Alarcón, 1997).

La terapia de reemplazo de insulina es el primer tratamiento para todos los pacientes con DM tipo 1, para pacientes con DM tipo 2 no controlada adecuadamente por la dieta o por agentes hipoglucemiantes orales, para pacientes postpancreatectomizados y en la diabetes gestacional. La insulina es

crítica para el manejo de la cetoacidosis diabética y tiene un papel importante en el tratamiento de la hiperglucemia, coma no cetónico y en el manejo preoperativo de pacientes con DM tipo 1 y tipo 2. En todos los casos, el objetivo del tratamiento es mantener en niveles normales la glucosa sanguínea y todos los aspectos del metabolismo. La administración subcutánea de la insulina difiere de la secreción fisiológica en al menos dos cosas: la cinética no imita el rápido aumento y declinación normal de la secreción de insulina en respuesta a la ingestión de nutrientes, y la insulina se difunde dentro de la circulación periférica en vez de realizarse dentro de la circulación porta (Davis y Granner, 1996).

Los agentes hipoglucemiantes orales son fármacos que tienen la finalidad de incrementar la producción de insulina o sensibilizar los tejidos a su acción. Existen otros fármacos que actúan limitando la acción de algunas enzimas activas en el paciente diabético, estabilizando el metabolismo, o bien, inhibiendo aquellas que afectan la acción hidrolítica del almidón en el intestino, logrando una disminución de la absorción de la glucosa (Foster, 1994). Los principales hipoglucemiantes orales son la metformina, la acarbosa, las tiazolidinedionas, la repaglinida, la nateglinida y las sulfonilureas (Islas *et al.*, 2001).

La metformina y las tiazolidinedionas reducen los niveles de glucosa incrementando la sensibilidad hepática y periférica (principalmente muscular) a la acción de la insulina. La acarbosa es un inhibidor de alfa-glucosidasas, retarda los procesos de digestión y absorción de carbohidratos (y por lo tanto de glucosa) permitiendo que las células β aumenten la producción de insulina en respuesta a

la gran cantidad de glucosa plasmática. La repaglinida estimula la secreción de insulina por medio de dos y posiblemente tres receptores en las células β . La nateglinida actúa restaurando tempranamente la secreción de insulina, previniendo las variaciones excesivas de glucosa antes de que ocurran (Islas *et al.*, 2001).

Las sulfonilureas causan hipoglucemia estimulando la secreción de insulina en las células β del páncreas. Se dividen en dos grupos o generaciones: la primera generación incluye a la tolbutamida, la acetohexamida y la clorpropamida, y en la segunda generación encontramos a la glibenclamida, la glipizida y la glicazida. Las drogas de la segunda generación son más potentes que las de la primera (Davis y Granner, 1996). Las sulfonilureas inician su acción uniéndose a receptores de las células β del páncreas, cerrando los canales de K^+ sensibles a ATP, lo que conduce a una disminución del flujo de potasio y despolarización de la membrana. Ello produce un aumento del flujo de calcio dentro de la propia célula β , se activa entonces el citoesqueleto y ocasiona translocación de los gránulos secretores a la superficie celular y exocitosis de la insulina (Islas *et al.*, 2001).

2. Medicina tradicional en México

La DM es una enfermedad conocida desde la antigüedad; su nombre deriva de los términos: diabetes o "pasar a través", que se refiere al hecho de que el diabético orina en gran cantidad (como si el agua lo atravesara con rapidez); mellitus o "con

gusto a miel", se refiere al sabor dulce de la orina por el elevado contenido de azúcar (Rahman y Zaman, 1989).

Desde tiempos inmemoriales, los pacientes con DM han sido tratados con una gran variedad de extractos de plantas por vía oral, lo que constituye parte de la medicina tradicional. Dentro de la información etnobotánica se tiene un conocimiento de cerca de 880 plantas para tratar la DM, de las cuales, aproximadamente 150 existen en México (Alarcon-Aguilar *et al*, 1998). Entre las plantas más utilizadas se encuentran: ajo (*Allium sativum*), alfalfa (*Medicago sativa*), berro (*Nasturtium officinale*), cebolla (*Allium cepa*), coyol (*Acraconia mexicana*), damiana (*Turnera diffusa*), doradilla (*Cetarach officinalis*), eucalipto (*Eucalyptus glabulus*), fenogreco (*Trigonella foenum-fraecum*), guarumbo (*Cecropia obtusifolia*), lechuga (*Lactuca sativa*), limón (*Citrus limonum*), matarique (*Psacalium decompositum*), romero (*Rosmarinus officinalis*), tomate (*Lycopersicum esculentum*) y tronadora (*Tecoma stans*) (García Rivas, 1982). De esta gran cantidad de plantas solamente una pequeña proporción ha sido estudiada (Cuadro 1).

Debido a la escasez de estudios en esta área, en muchos casos se desconoce el o los mecanismos de acción por los que las plantas disminuyen los niveles de glucosa en sangre. En algunos casos pueden actuar sobre las células β del páncreas y estimular la secreción de la insulina; en este caso requieren un mínimo de células para ejercer su acción. En otros casos inhiben las células α o factores

NOMBRE CIENTÍFICO	FAMILIA	NOMBRE COMÚN	PARTE UTILIZADA Y PREPARACIÓN
<i>Acourtia thurberi</i>	Asteraceae	Matanque	Infusión de raíz
<i>Bauhinia divaricata</i>	Fabaceae	Pezuña de vaca	Infusión de hojas
<i>Bidens piloso</i>	Asteraceae	Aceitilla	Infusión de la planta completa
<i>Buddleia americana</i>	Loganiaceae	Tepozán	Infusión de hojas
<i>Calea zacatechichi</i>	Asteraceae	Prodigiosa	Infusión de tallo, hojas y raíz
<i>Cecropia obtusifolia</i>	Cecropiaceae	Guarumbo	Infusión de hojas
<i>Coix lachryma</i>	Poaceae	Lagrimas de San Pedro	Infusión de tallo, hojas y raíz
<i>Coutarea latiflora</i>	Rubiaceae	Campanillo	Infusión de la planta completa
<i>Crataegus pubescens</i>	Rosaceae	Tejocote	Infusión de raíz
<i>Cynodon dactylon</i>	Poaceae	Gramma	Infusión de tallo, hojas y raíz
<i>Eriobotrya japonica</i>	Rosaceae	Nispero	Infusión de hojas
<i>Euphorbia prostata</i>	Euphorbiaceae	Golondrina	Infusión de la planta completa
<i>Guaiacum coulteri</i>	Zygophyllaceae	Guayacan	Infusión de tallo
<i>Guazuma ulmifolia</i>	Sterculiaceae	Guacima	Infusión de hojas
<i>Lepechinia caulescens</i>	Lamiaceae	Salvia	Infusión de flores
<i>Marrubium vulgare</i>	Lamiaceae	Marrubio	Infusión de tallo, raíz y hojas
<i>Musa sapientum</i>	Musaceae	Plátano	Infusión de flores frescas
<i>Psacalium decompositum</i>	Asteraceae	Matarique	Infusión de raíz
<i>Psacalium peltatum</i>	Asteraceae	Matarique	Infusión de raíz
<i>Psittacanthus calyculatus</i>	Loranthaceae	Muérdago	Infusión de tallo, hojas y flores
<i>Rhizophora mangle</i>	Rhizophoraceae	Mangle rojo	Infusión de los tallos
<i>Salpianthus arenarius</i>	Nyctaginaceae	Catarinita	Infusión de flores
<i>Salpianthus macrodonthus</i>	Nyctaginaceae	Catarinilla	Infusión de tallo y hojas
<i>Solanum verbasifolium</i>	Solanaceae	Malabar	Infusión de tallo y hojas
<i>Tecoma stans</i>	Bignoniaceae	Tronadora	Infusión de tallo y hojas
<i>Teucrium cubense</i>	Lamiaceae	Agrimonia	Infusión de tallo y hojas
<i>Tournefortia hirsutissima</i>	Boraginaceae	Lagrimas de San Pedro	Infusión de tallo
<i>Trigonella foenum-graceum</i>	Fabaceae	Paracata	Infusión de hojas
<i>Turnera diffusa</i>	Turneraceae	Damiana	Infusión de hojas

Cuadro 1. Plantas mexicanas con actividad hipoglucemiante demostrada experimentalmente.
(Alarcón-Aguilar, 1997, 1998; Pérez, 1984; Roman-Ramos, 1991, 1992a y 1992b)

hiperglucémicos, y en otros pueden mejorar el efecto de la insulina y la adrenalina. Otras actúan modificando el metabolismo de la glucosa, inhibiendo la síntesis de la glucosa-6-fosfato fosfatasa, la fructosa difosfatasa, la piruvato carboxilasa o fosfofenol piruvato carboxilasa y estimulando la síntesis de glucocinasas. Por último, algunos productos corrigen las complicaciones de la diabetes (Rahman y Zaman, 1989; Ivorra *et al.*, 1989). La importancia de conocer el mecanismo por el cual disminuyen los niveles de glucosa en sangre radica en que muchos compuestos pueden ser agentes hepatotóxicos y pueden influir en la actividad de algunas enzimas hepáticas relacionadas con la gluconeogénesis y al momento de estudiarlas pueden dar un falso-positivo como resultado (Ivorra *et al.* 1989).

En México, la gente que sufre diabetes ha utilizado preparaciones hechas a partir de plantas tradicionales (Cuadro 1 y 2) bebiendo un vaso de la infusión o un vaso del jugo (ya sean las hojas, tallos o el fruto) antes de cada comida tres veces al día para obtener un efecto hipoglucemiante durante las 5 ó 6 horas posteriores (Román-Ramos *et al.*, 1991). Algunas de estas plantas utilizadas por la población son comestibles (Cuadro 2), por lo que conjuntan dos factores muy importantes en el tratamiento de la enfermedad: ser parte de una buena dieta y tener efecto hipoglucemiante.

Entre las plantas comestibles que se ha demostrado experimentalmente que sí disminuyen los niveles de glucosa en sangre se encuentra el pepino (*Cucumis sativus*), el chilacayote (*Cucurbita ficifolia*), el comino (*Cuminum cyminum*), el nopal (*Opuntia streptacantha*), el frijol (*Phaseolus vulgaris*) y la espinaca

(*Spinacea oleracea*). Un paciente diabético debe implementar un régimen alimenticio utilizando plantas comestibles y de esta manera mejora su dieta y controla, en parte, la enfermedad.

NOMBRE CIENTIFICO	FAMILIA	NOMBRE COMÚN	PARTE UTILIZADA Y PREPARACIÓN
<i>Cuminum cyminum</i>	Apiaceae	Comino	Infusión de las semillas
<i>Cucumis sativus</i>	Cucurbitaceae	Pepino	Jugo del fruto
<i>Cucurbita ficifolia</i>	Cucurbitaceae	Chilacayote	Jugo del fruto
<i>Opuntia streptacantha</i>	Cactaceae	Nopal	Jugo del tallo
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Fabaceae	Frijol	Infusión de la vaina
<i>Spinacea oleracea</i>	Chenopodiaceae	Espinaca	Jugo de las hojas

Cuadro 2. Plantas mexicanas comestibles con actividad hipoglucemiante demostrada experimentalmente (Roman-Ramos, 1995).

Se piensa que un paciente con este control reduce potencialmente la dosis de los agentes hipoglucemiantes que ingiere, inclusive pacientes con una diabetes leve no insulino-dependientes evitarán el uso de dichos agentes. Algunas de la razones que apoyan el uso de plantas comestibles es debido a que los agentes hipoglucemiantes sintéticos pueden tener serios efectos secundarios, incluyendo reacciones hematológicas, cardiovasculares y gastrointestinales, coma hipoglucémico y daños en piel e hígado; además, su uso no es recomendable durante el embarazo. Las plantas no comestibles utilizadas como antidiabéticos pueden tener las mismas limitaciones, lo cual no ocurriría con las plantas comestibles (Román-Ramos *et al*, 1995).

2.1 Metabolitos secundarios con efecto hipoglucemiante

Los metabolitos secundarios son constituyentes de las plantas con un papel metabólico desconocido, aunque se ha postulado que participan en los mecanismos de defensa del tipo químico. Existen más de 200 reportes de compuestos puros de origen vegetal que tienen actividad hipoglucemiante. De las plantas que provienen tales compuestos, el 16% son utilizadas tradicionalmente contra la diabetes, mientras que el 62% son plantas sin un antecedente previo. La gran diversidad estructural de estas sustancias explica la gran variedad de mecanismos que deben estar involucrados en el descenso del nivel de azúcar en sangre (Cuadro 3). Algunos de estos compuestos tal vez tengan un gran potencial terapéutico, mientras que otros tal vez produzcan hipoglucemia como un efecto colateral de su citotoxicidad, especialmente los que son hepatotóxicos (Marles y Farnsworth, 1994).

Clase química	# Activos	Clase química	# Activos
Alcaloides	38	Péptidos y aminas	15
Carbohidratos	66	Fenoles simples	4
Cumarinas	4	Fenilpropanoides	1
Glicosidos cianogénicos	1	Esteroides	7
Flavonoides	7	Estilbenos	1
Glicopéptidos	20	Compuestos sulfurados	2
Sales Inorgánicas	3	Terpenoides	17
Iridooides	4	Vitaminas	2
Lípidos	6	Xantonas	2

Cuadro 3. Productos Naturales hipoglucemiantes (Modificado con base en Marles y Farnsworth, 1994).

En este trabajo se estudiaron compuestos aislados de dos plantas: *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae) y *Psacalium decompositum* (Asteraceae).

2.1.1 Xantonas de *Calophyllum brasiliense* Cambess

Árbol tropical de hasta 50 m de altura perteneciente a la familia Clusiaceae. Se distribuye en la vertiente del Golfo desde el sur de Veracruz hasta Quintana Roo y en la vertiente del Pacífico desde Nayarit hasta Chiapas. Es apreciado principalmente por su madera de gran calidad. La corteza exhuda latex amarillo; hojas coriáceas, elípticas o elíptico-oblongas, agudas en ambas extremidades con nervaduras numerosas y paralelas; flores blancas, aromáticas de 8 mm.; estambres 7-12; fruto globoso de 2-4 cm. (Martínez, 1994).

En México es conocido comúnmente como barí u ocú. El aceite extraído de las semillas se utiliza para curar enfermedades cutáneas, además al látex se le atribuyen propiedades medicinales (Ortega *et al.*, 1991). En la Sierra de Atoyac, Guerrero, el té elaborado con la corteza se da de beber a las parturientas durante nueve días para que les limpie la matriz (Soto y Sousa, 1995). En Colombia la gente del campo obtiene un aceite de tres especies *C. brasiliense* ("árbol de aceite"), *C. lucidum* ("palo de aceite") y *C. mariae* ("aceite de María"), el cual extraen realizando una incisión en la corteza, lo dejan espesar al aire y es utilizado como "vulnerario". Además de que de las incisiones hechas en la corteza brota un látex amarillo empleado como tópico por la gente del campo para cicatrizar el ombligo de los recién nacidos, principalmente cuando éste tiene tendencia a no secar (García Barriga, 1992).

En Brasil esta especie es conocida como "guanandi" y la infusión de la corteza es un remedio popular para el tratamiento del reumatismo, de las várices y de las

úlceras crónicas. Experimentalmente solo se ha evaluado una fracción de diclorometano de la corteza, en la cual no se aislaron compuestos pero se sabe que es rica en xantonas y flavonoides. Evaluaron la fracción de *C. brasiliense* en ratas y ratones administrándolo por vía oral y observaron que inhibió el desarrollo de lesiones gástricas, señalando que dicha fracción posee propiedades antisecretoras, antiulcerosas y citoprotectoras. En este estudio se concluyó que esta fracción brinda protección gastrointestinal contra lesiones inducidas por etanol, indometacina y por el estrés (Sartori *et al.*, 1999).

El estudio fitoquímico del género *Calophyllum* es bastante diverso e incluye xantonas, flavonoides, biflavonoides, neoflavonoides, terpenos, triterpenos, esteroides y cumarinas (Shaiq *et al.*, 1999; Cao *et al.*, 1998).

Las xantonas aisladas pueden ser clasificadas dentro de cinco grandes grupos: 1) Xantonas oxigenadas simples, 2) Xantonas glicosiladas., 3) Xantonas preniladas, 4) Xantonolignoides y 5) Misceláneo. En la familia de las Clusiaceae las xantonas preniladas son las más frecuentes y las que se encuentran en mayor distribución (Peres *et al.*, 1997; Bennet *et al.*, 1989). En el caso de *C. brasiliense* proveniente de México, del duramen se han aislado diversas xantonas preniladas (Figura 1).

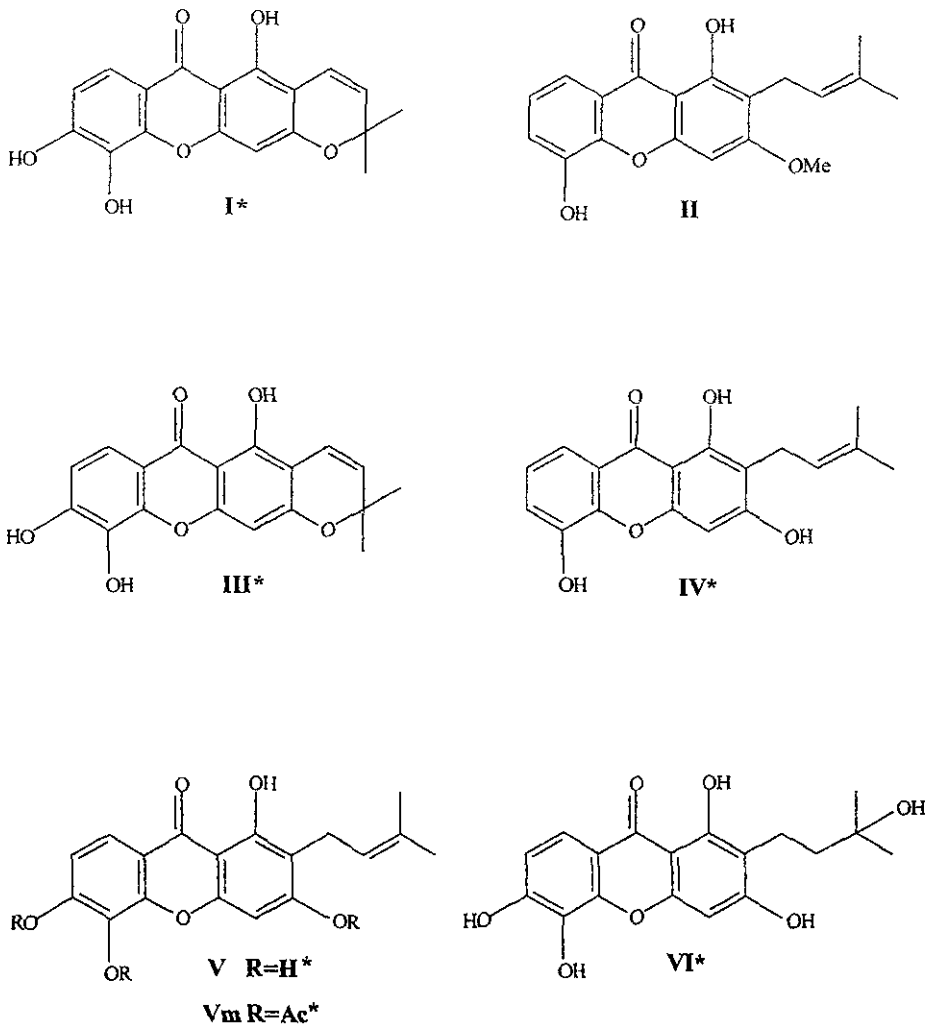


Figura 1. Xantonas aisladas del duramen de *C. brasiliense* (Chiapas, México). 6-desoxijacareubeina (I), 1,5-dihidroxi-2-(3,3-dimetilalil)-3-metoxixantona (II), Jacareubeina (III), 1,3,5-trihidroxi-2-(3,3-dimetilalil)-xantona (IV), 1,3,5,6-tetrahidroxi-2-(3,3-dimetilalil)-xantona (V), 1-hidroxi,3,5,6-trimetoxi-2-2(3,3-dimetil)-xantona (Vm) y 1,3,5,6-tetrahidroxi-2-(3-hidroxi-3-metilbutil)-xantona (VI) (Reyes *et al*, 1997; Ref X VI)).

*Xantonas y derivados obtenidos en este trabajo.

Las xantonas han despertado gran interés por sus propiedades farmacológicas, aunque no se han introducido en la medicina clínica, muchas de ellas, junto con sus derivados químicos, han demostrado una fuerte y variada actividad biológica. Algunas xantonas sintéticas han sido probadas clínicamente contra el asma y los broncoespasmos y han mostrado actividad antialérgica. Otras poseen una gran actividad citotóxica, ya que en estudios *in vitro* han inhibido la proliferación de líneas celulares tumorales de colon, seno y leucemia. La mangiferina ha mostrado una actividad anti-inflamatoria, antihepatotóxica y antiviral (contra el virus del herpes) (Bala *et al*, 1990). Otras xantonas han mostrado actividad antidepresiva, ya que inhiben a la enzima monoamino oxidasa (MAO), la cual está relacionada con el mal de Parkinson, depresión, ansiedad y demencia senil, cuando hay alteraciones en la concentración (Hostettamann y Lea, 1987). Las xantonas aisladas de *Calophyllum inophyllum* produjeron estimulación y depresión del sistema Nervioso Central (SNC) en ratones y ratas (Bala *et al.*, 1990).

A la fecha, no existen estudios farmacológicos de las xantonas preniladas aisladas de *C. brasiliense* (Figura 1), sin embargo se sabe que inhiben el crecimiento micelial del hongo xilófago *Lenzites trabea* (Reyes-Chilpa *et al*, 1997).

A. Xantonas con actividad hipoglucemiante

Hasta la fecha solamente se han descrito dos xantonas, ambas de origen natural, con actividad hipoglucemiante (Figura 2). Ambas se aislaron de hierbas utilizadas en Japón para males estomacales. En 1990, Bala Bajpai *et al*, comunicaron que el compuesto activo de la planta *Swertia chiyarita* (Gentianaceae), era la 1,8-dihidroxi-

4,6-dimetoxixantona. Este compuesto nombrado trivialmente como swerchirina, mostró actividad hipoglucemiante en ratas con una hiperglucemia temporal a las cuales solamente se les administró un 10% de su peso de glucosa media hora después de ser tratadas con la xantona por vía oral (Bala *et al.*, 1990).

En 1994, Basnet *et al.* aislaron cinco xantonas de la hierba *Swertia japonica* (Gentianaceae), de las cuales dos, la 1,4,8-trihidroxi-5-metoxixantona y la 1,8-dihidroxi-4,6-dimetoxixantona (Figura 2), mostraron una gran actividad hipoglucemiante en ratas diabetizadas con streptozotocina. Estos autores concluyeron que la posición de los sustituyentes en el esqueleto de las xantonas tiene un papel muy importante en la actividad hipoglucémica, ya que únicamente fueron activas las xantonas sustituidas con grupos hidróxilo o metóxilo en posición *para* del anillo B (Basnet *et al.*, 1994).

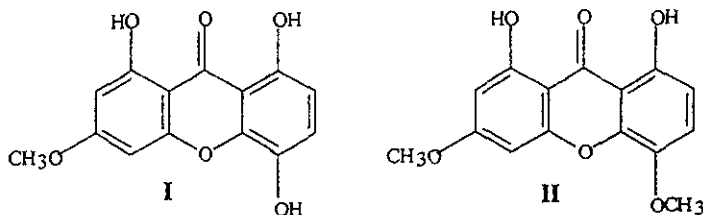


Figura 2. Xantonas con actividad hipoglucemiante: 1,4,8-trihidroxi-5-metoxixantona (I) y 1,8-dihidroxi-4,6-dimetoxixantona (II).

Al examinar la actividad de la 1,8-dihidroxi-3,5-dimetoxixantona observaron que tiene una actividad mayor comparada con la tolbutamida, ya que esta redujo los

niveles de glucosa en un 33%, mientras la xantona los disminuyó en un 41%. Además de que la actividad de la swerchirina se manifestó una hora después de su administración por vía oral y su acción continuó durante las 24 horas siguientes, lo que anterior sugiere que si se utilizará la xantona como un agente hipoglucemiante oral, la dosis administrada sería mucho menor (Bala *et al.*, 1990).

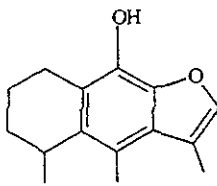
2.1.2 Sesquiterpenoides de *Psacalium decompositum* A. Gray

Hierba silvestre de 1 m de altura originaria de México, habita en clima semiseco en el norte del país, principalmente en Chihuahua. Tiene tallos casi leñosos y con pelillos. Las hojas están divididas y miden hasta 40 cm de largo. Sus flores son blancas y están agrupadas en cabezuelas (Argueta Villamar *et al.*, 1994).

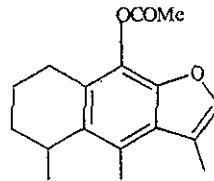
Se conoce comúnmente en México como matarique o mataricue. Se emplea en padecimientos reumáticos, diabetes y para el dolor hepático. Asimismo se utiliza cuando hay dolor por cólicos o de riñón, o como remedio contra los resfríos. También se utiliza en la angina en heridas, neuralgias y úlceras. En México y sureste de los Estados Unidos se utiliza ampliamente como remedio para la diabetes (Argueta Villamar *et al.*, 1994).

Se ha demostrado que los extractos acuoso y el metanólico de la raíz tienen actividad hipoglucemiante (Román *et al.*, 1992). La raíz es un órgano abundante en sesquiterpenos, entre los que se han aislado e identificado el cacalol, la cacalona, la maturina, la maturinona y la maturona (Figura 3) (Alarcón-Aguilar *et al.*, 2000).

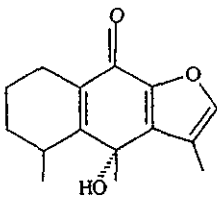
En 1998, Inman *et al.* desarrollaron una patente en la cual protegieron las aplicaciones de furanoeremofilanos y sesquiterpenos furanoeremofilanos en el tratamiento de la diabetes mellitus. Dichos autores describen las propiedades de la epicacalona, cacalona, cacalol y dimaturina como agentes hipoglucemiantes, puesto que observaron que dichos compuestos administrados por vía oral reducen significativamente los niveles de glucosa en plasma en un modelo de ratones genéticamente diabéticos y obesos C57BL-6J *ob/ob* (Inman *et al.*, 1998). Más adelante este grupo reportó que el cacalol tenía actividad hipoglucemiante junto con otros dos nuevos eremofilanólidos (Inman *et al.*, 1999).



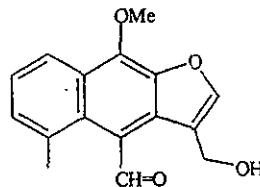
Cacalol



Acetato de Cacalol



Cacalona



Maturina

Figura 3. Sesquiterpenoides de *Psacalium decompositum*.

Alarcón-Aguilar *et al.*, reportaron que el extracto acuoso reduce la glucosa sanguínea significativamente en una forma dosis-dependiente en ratones normales después de administrarlo intraperitonealmente. Sin embargo, al probar los sesquiterpenoides mayoritarios de la raíz (cacalol, cacalona y maturina) y el producto transformado del cacalol (acetato de cacalol) observaron que éstos no mostraron efecto hipoglucemiante al inyectarlo intraperitonealmente en ratones sanos (Alarcon-Aguilar *et al.*, 2000a, 2000b). Es probable que los resultados contradictorios se deban a que cada grupo utilizó un modelo diferente.

3. Modelo de músculo liso vascular para evaluar compuestos hipoglucemiantes (bloqueadores de canales de potasio)

El músculo liso ha sido un excelente modelo para probar el efecto farmacológico de diferentes compuestos pues muestra una amplia gama de respuestas fisiológicas. Se ha utilizado en la búsqueda de fármacos útiles en el tratamiento de enfermedades como alergias, asma e hipertensión (Edwards y Weston, 1995).

En las células de músculo liso vascular, el canal de potasio sensible a ATP es importante en el control del tono vascular. La apertura de los canales de potasio sensibles a ATP da como resultado hiperpolarización de la membrana plasmática y, en consecuencia, vasodilatación del músculo liso vascular. Los canales de potasio sensibles a ATP son el blanco de dos importantes clases de fármacos: las sulfonilureas antidiabéticas como glibenclamida, que bloquean los canales, y una serie de vasorelajantes denominados "abridores de los canales de potasio", los

cuales tienden a mantener abiertos los canales de potasio y relajan el músculo liso precontraído por varios espasmógenos. Entre los abridores de los canales de potasio dependientes de ATP se encuentran cromakalim, pinacidil y diazóxido (Edwards y Weston, 1995).

Como resultado de los anteriores hallazgos, en el modelo de músculo liso vascular *in vitro* se puede mostrar si un compuesto con actividad hipoglucemiante ejerce su efecto a través de un mecanismo similar a las sulfonilúreas, ya que bloquearía los canales de K^+ de las células de músculo liso vascular inhibiendo la vasodilatación inducida por un abridor de canales de potasio.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los trabajos fitoquímico-farmacológicos tienen un gran valor en la búsqueda de agentes hipoglucemiantes, por que la identificación de la o las sustancia activas de las plantas con propiedades antidiabéticas pueden llevar a la elaboración de fármacos con la misma o mayor eficacia que las drogas existentes (Román-Ramos *et al*, 1992a). También permiten establecer si los remedios populares tienen un sustento científico.

A la fecha se han descrito dos xantonas simples de origen vegetal con actividad hipoglucemiante. Tomando en cuenta que las xantonas preniladas son metabolitos muy abundantes y fáciles de extraer dentro del barí, se propuso evaluarlas en el modelo de músculo liso.

Aunque se han llevado a cabo diferentes bioensayos con los sesquiterpenoides de *Psacalium decompositum*, se desconoce el mecanismo de acción de los mismos. Considerando la importancia del uso popular del matarique como planta antidiabética, en este proyecto planteamos estudiar un posible mecanismo de acción del cacalol, cacalona y acetato de cacalol como agentes hipoglucemiantes, empleando el modelo de músculo liso vascular.

IV. HIPÓTESIS

Las xantonas de *Calophyllum brasiliense* y los sesquiterpenoides de *Psacalium decompositum* bloquean los canales de potasio de la célula de músculo liso vascular.

V. OBJETIVOS

1. Aislar las xantonas preniladas de *Calophyllum brasiliense*.
2. Evaluar la citotoxicidad o daño funcional de las xantonas de *C. brasiliense* y de los sesquiterpenoides de *Psacalium decompositum* en el modelo de músculo liso vascular.
3. Evaluar la acción como bloqueadores de canales de potasio de las xantonas y de los sesquiterpenoides en el modelo de músculo liso vascular.

VI. METODOLOGÍA

1. Obtención de las xantonas

La madera de *Calophyllum brasiliense* se compró en "Maderas Tulum, S.A. de C.V." en abril de 1999. Su determinación se realizó por comparación en cromatografía en capa fina con una muestra auténtica de *C. brasiliense* colectada en la selva Lacandona, Chiapas. Los ejemplares de respaldo están depositados en el Herbario del Instituto de Ecología A.C. de Xalapa (XAL).

Se realizó un extracto con 3,660 g de viruta de *C. brasiliense* en un extractor de flujo continuo con 21 litros de una mezcla de acetona-metanol (2:1) durante 3 horas a 100 °C. El extracto se concentró al vacío en un rotavapor, obteniéndose un peso seco de 192.14 g con un rendimiento del 5.25%.

Se tomaron 100 g del extracto, se preabsorbieron en celita y se colocaron en una columna de vidrio empacada con 300 g de gel de sílice (Merck). Se obtuvieron 119 fracciones de 400 ml las cuales fueron eluidas al vacío con hexano y acetato de etilo, y con mezclas de estos disolventes. Estas fracciones se concentraron al vacío en un rotavapor. La fracción 17 a la 21 precipitó espontáneamente un sólido de color amarillo embebido en aceite. El sólido se lavó con hexano, obteniéndose aproximadamente 500 mg de 6-desoxijacareubina (I). Su estructura se demostró por medio de un análisis espectroscópico de resonancia magnética nuclear protónica (RMNP) de 200 MHz.

Las fracciones 56 a la 109 (11.65 g) se preabsorbieron con celita y se colocaron en una columna de vidrio empacada con 120 g de gel de sílice (Merck) para capa fina (sílica gel 60, tamaño de partícula 0.063-0.200 mm, 70-230 mallas). La columna se eluyó con hexano y acetato de etilo. Se obtuvieron 157 fracciones de 150 ml las cuales se concentraron al vacío en un rotavapor. De la fracción 15 a la 18 se obtuvieron cristales amarillos cuadrangulares pequeños los cuales se identificaron por RMNP de 200 MHz como Jacareubeina (III) (800 mg). Su estructura se corroboró por difracción de rayos X. La fracción 77 a la 106 precipitó espontáneamente un sólido amarillo (2 g) el cual se identificó por RMNP (200 MHz) como la 1,3,5,6-tetrahidroxi-2-(3,3-dimetilalil)-xantona (V).

Las fracciones 107-126 produjeron 1.02 g, de los cuales se aplicaron 150 mg disueltos en MeOH en una cromatoplaça de sílica gel de 2 mm de espesor (Merck). Se eluyó tres veces con una mezcla de diclorometano-metanol (95:5). Se recuperaron 16 mg de un polvo café el cual se identificó como 2-(3-hidroxi-3-metilbutil)-1,3,5,6-tetrahidroxixantona (VI). Su estructura se determinó por medio de RMNP de 200 MHz.

1.1 Metilación de la 1,3,5,6-tetrahidroxi-2-(3,3-dimetilalil)-xantona

Del compuesto V se tomaron 210 mg para metilarlo con 1 ml de sulfato de dimetilo y 200 mg de bicarbonato de potasio. La reacción se mantuvo en agitación constante y a temperatura ambiente por 24 horas. De esta reacción se obtuvo un sólido el cual se sometió a cromatografía en columna con sílica gel (Merck). Se obtuvieron 13 fracciones de 50 ml las cuales fueron eluidas con una mezcla de

hexano-diclorometano (8:2). De las fracciones 5 a la 11 se obtuvo el derivado trimetilado de la xantona V. Su estructura se determinó por medio de RMNP de 200 MHz.

2. Obtención de los sesquiterpenoides

Los sesquiterpenoides: cacalol, acetato de cacalol y cacalona se obtuvieron en el Instituto de Química, UNAM.

3. Pruebas farmacológicas

3.1 Procedimientos generales

Se utilizaron ratas macho Sprague-Dawley, con un peso corporal entre 250-300 g. Las ratas se sacrificaron por dislocación cervical, se aisló inmediatamente la aorta torácica descendente y se removió el tejido conectivo y adiposo. De cada aorta se cortaron cuatro segmentos en forma de anillo, aproximadamente de 5 mm de longitud, los cuales se montaron en un baño de órganos con 5 ml de solución Ringer Krebs-Bicarbonato (RKB) cuya composición en milimoles es: NaCl 118.4; KCl 4.7; CaCl₂ 1.8; NaHCO₃ 25; KH₂PO₄ 1.2; MgSO₄ 1.2 y glucosa 11.5. Los tejidos se mantuvieron a 37 °C y la solución se burbujeó con una mezcla de 95:5 O₂/CO₂, manteniéndola a pH de 7.4.

Los anillos aórticos se montaron en el baño de órganos por medio de dos ganchos de acero inoxidable, los cuales se insertaron dentro del lumen. Un gancho se fijó a la base del baño y el otro se unió a un transductor FT03 para medir la contracción isométrica en un polígrafo de Grass 7D. Los tejidos se estabilizaron en la solución

RKB durante 60 minutos (renovándola cada 15 minutos) y se sometieron a una tensión de 2 g. La viabilidad del tejido se estableció estimulándolo con una solución despolarizante de KCl 60 mM (preparada como el KRB por sustitución equimolar del NaCl por KCl); solamente se utilizaron los tejidos que presentaron dos respuestas de contracción similares a KCl antes de iniciar los protocolos experimentales específicos.

3.2 Prueba de citotoxicidad

Para poder conocer el efecto citotóxico de las xantonas de *C. brasiliense* y de los sesquiterpenoides de *P. decompositum* sobre el músculo liso vascular aislado de rata, tras obtener las dos respuestas máximas a KCl 60 mM, y una vez que el tejido se encontró en la basal, se incubó el tejido con cada una de las xantonas y los sesquiterpenoides durante treinta minutos (10^{-7} M, 10^{-6} M ó 10^{-5} M). Después se realizó otro estímulo con KCl 60 mM para comparar la respuesta con la obtenida antes de la incubación con el compuesto. Las xantonas se disolvieron en DMSO y los sesquiterpenoides en etanol/DMSO (2.5:1). La concentración final de DMSO en el baño de órganos fue 0.6% para las xantonas y 0.1 % para los sesquiterpenoides. No se pudo utilizar una concentración menor de DMSO con las xantonas debido a problemas de solubilidad. Como control se utilizó DMSO para las xantonas y etanol/DMSO (2.5:1) para los sesquiterpenoides.

3.3 Prueba de actividad como bloqueadores de canales de potasio

Después de obtener las dos respuestas con KCl 60 mM y que el tejido realcanzó su línea basal, se estimuló con fenilefrina (previamente se ha determinado en el

laboratorio que una concentración de 10^{-6} M causa aproximadamente 80% de la contracción máxima) hasta alcanzar una contracción tónica sostenida. Después se adicionó diazóxido de una forma acumulativa (10^{-5} M, 1.8×10^{-5} M, 3.2×10^{-5} M, 5.8×10^{-5} M y 10^{-4} M) en el baño de órganos, en incrementos logarítmicos medios para relajar el tejido. Cada dosis se agregó cuando se observó una meseta a la dosis previa adicionada. Cuando se alcanzó una máxima relajación, se lavaron los tejidos repetidamente para recuperar la línea basal. Una vez que el tejido se encontró en la basal, se incubó con el compuesto a probar a la concentración deseada durante treinta minutos; como control positivo se utilizó glibenclamida 10^{-5} M. Después de la incubación, se repitió la estimulación con fenilefrina y la relajación con diazóxido. El diazóxido y la glibenclamida se disolvieron en etanol/DMSO (2.5:1) con una máxima concentración de DMSO en el baño de órganos menor a 0.1% la cual no afecta en la contractilidad del tejido. Como control se utilizó etanol/DMSO (2.5:1).

4. Análisis de datos

Los efectos del diazóxido sobre la relajación se expresaron como un porcentaje de la inhibición de la contracción inducida por fenilefrina. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar. Las concentraciones inhibitorias 50 (CI_{50}) y las respuestas máximas (R_{max}) se calcularon con el programa Sigma Plot versión 4.01 1986-1997 SPSS Inc. La evaluación estadística se realizó por análisis de varianza y prueba de Bonferroni para comparación múltiple. Para las pruebas estadísticas se utilizó el programa GraphPAD InStat versión 1990, versión 1.12a.

VII. RESULTADOS

1. Xantonas

Se obtuvieron seis compuestos del extracto acetona-metanol de *Calophyllum brasiliense*, cinco del tipo de las xantonas y un triterpeno (Tabla 1). La xantona IV no se obtuvo pura, sino mezclada con la xantona III.

La mayoría de las xantonas aisladas han sido previamente obtenidos del duramen de *C. brasiliense* (Reyes-Chilpa *et al.*, 1997). La muestra de madera que se analizó carecía de la 1,5-dihidroxí-2-(3,3-dimetilalil)-3-metoxixantona (xantona II). Asimismo, se aisló una xantona que no se había encontrado anteriormente en esta especie, pero que había sido reportado previamente para otras especies de *Calophyllum* sp (xantona VI -Goh y Jantan, 1991) (Apendice).

Tabla 1. Compuestos aislados y derivados del extracto acetona-metanol de *Calophyllum brasiliense*.

Nombre del compuesto	Tipo de compuesto
β -sitosterol	Triterpeno
6-desoxijacareubina (I)	Xantona
Jacareubeina (III)	Xantona
Mezcla de xantona III y 1,3,5-trihidroxi-2-(3,3-dimetilalil)-xantona (IV)	Xantona
1,3,5,6-tetrahidroxi-2-(3,3-dimetilalil)-xantona (V)	Xantona
1-hidroxi,3,5,6-trimetoxi-2-(3,3-dimetilalil)-xantona (Vm)	Xantona
1,3,5,6-tetrahidroxi-2-(3-hidroxi-3-metilbutil)xantona (VI)	Xantona

2. Pruebas de citotoxicidad o daño funcional

Antes de llevar a cabo los estudios farmacológicos, los anillos aórticos se expusieron a los fitocompuestos para establecer si éstos causaban algún daño funcional, evaluando la magnitud de la concentración inducida por KCl 60 mM. Las xantonas se probaron a tres concentraciones: 10^{-5} M, 10^{-6} M y 10^{-7} M. A la concentración de 10^{-5} M, la respuesta a KCl se inhibió 50%. Sólo la xantona V produjo un daño mayor al 20% a la concentración 10^{-6} M. Ya que a la concentración de 10^{-6} M el tejido permaneció viable en presencia de la mayoría de las xantonas, ésta fue la concentración que se escogió para evaluar su papel como bloqueadores de los canales de potasio. Los sesquiterpenoides fueron totalmente inocuos a las concentraciones 10^{-6} y 10^{-5} M. El cacalol sólo se ensayó farmacológicamente a 10^{-6} y 10^{-5} M ya que la concentración de 10^{-4} M afectó la funcionalidad del tejido: el daño funcional inducido por cacalol fue dependiente de la concentración, ya que disminuyó al reducir la concentración de cacalol en el baño de órganos.

3. Efecto de las xantonas sobre la relajación inducida por diazóxido

En la preparación de músculo liso de aorta contraído con fenilefrina (10^{-5} M), el diazóxido causa relajación al abrir los canales de potasio (CI_{50} de 5.8×10^{-5} M). La glibenclamida (10^{-5} M) antagonizó los efectos del diazóxido bloqueando la relajación del músculo liso. A 10^{-6} M ninguna de las seis xantonas mostró actividad similar a la de la glibenclamida. No se ensayaron a una concentración mayor por la citotoxicidad que producen.

4. Efecto de los sesquiterpenoides sobre la relajación inducida por diazóxido

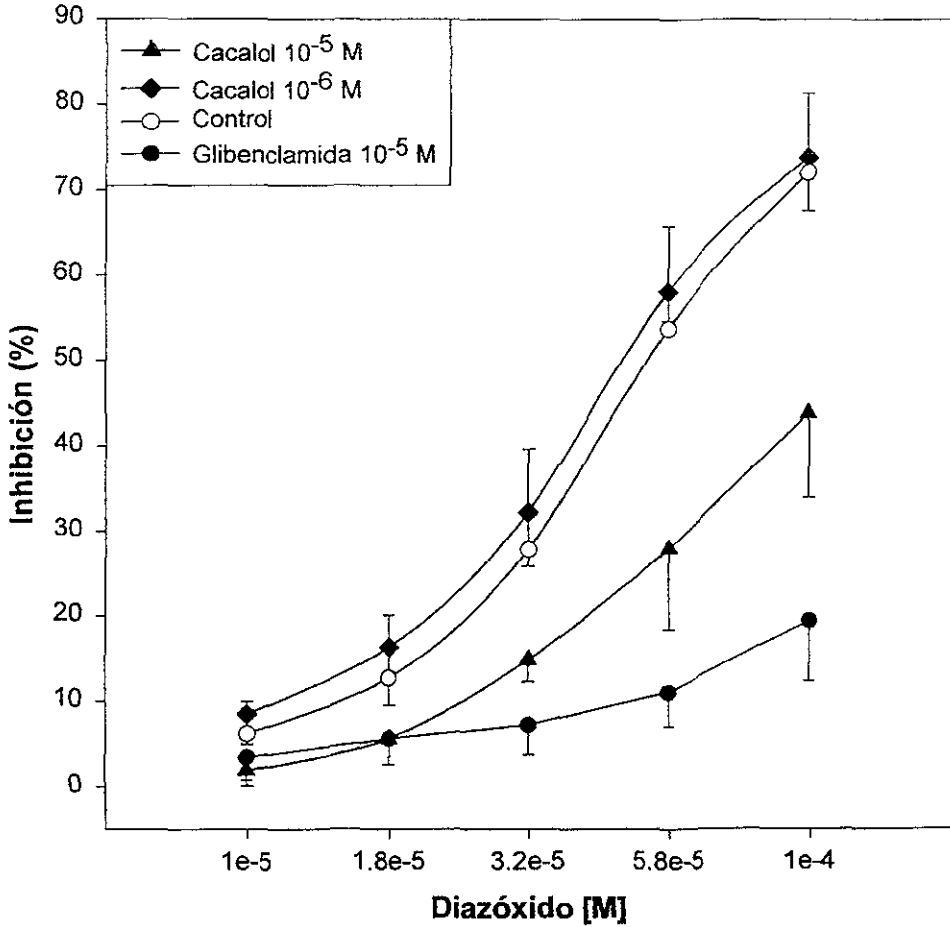
La cacalona y el acetato de cacalol tuvieron un efecto similar al de la glibenclamida en los anillos aórticos a la concentración de 10^{-4} M, es decir, inhibieron significativamente la relajación inducida por diazóxido de la respuesta contráctil a fenilefrina tanto en relación a su eficacia como a su potencia ($p < 0.01$ vs. 10^{-6} M y control). El cacalol y la cacalona ejercieron su efecto de manera dependiente de la concentración, es decir, a mayor concentración mayor inhibición de la relajación del tejido. En el caso del acetato de cacalol las concentraciones 10^{-6} y 10^{-5} M tuvieron un efecto similar al control, y la de 10^{-4} similar a la glibenclamida (Figs. 1-3). Las concentraciones inhibitorias 50 (CI_{50}) y las respuestas máximas (R_{max}) de los tres compuestos a las concentraciones ensayadas se reportan en la Tabla 2.

Tabla 2. Efecto del cacalol, acetato de cacalol y cacalona sobre la inhibición inducida por diazóxido de la respuesta a fenilefrina en aorta de rata.

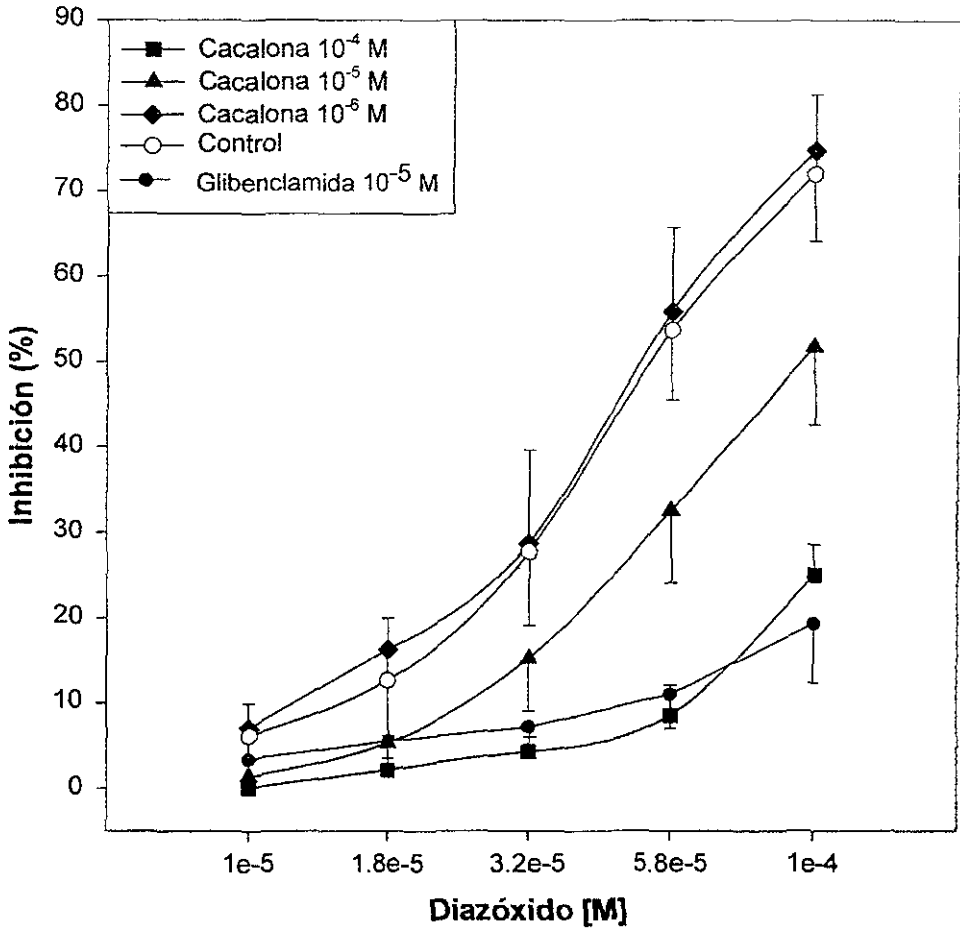
	10^{-4} M		10^{-5} M		10^{-6} M	
	CI_{50} ($\times 10^{-5}$ M)	R_{max} (%)	CI_{50} ($\times 10^{-5}$ M)	R_{max} (%)	CI_{50} ($\times 10^{-5}$ M)	R_{max} (%)
Cacalol	-	-	4.25 ± 0.81	43.37 ± 9.9^b	3.42 ± 1.26	73.72 ± 6.16
Acetato de Cacalol	6.52 ± 0.48^a	21.02 ± 10.38^a	3.62 ± 0.63	62.77 ± 12.78	3.58 ± 1.29	66.05 ± 7.74
Cacalona	6.77 ± 1.82^b	24.95 ± 3.61^a	4.53 ± 0.71	51.77 ± 9.10	3.64 ± 0.62	74.75 ± 10.56

Medias \pm desviación estándar, n = cuatro anillos de diferentes ratas.

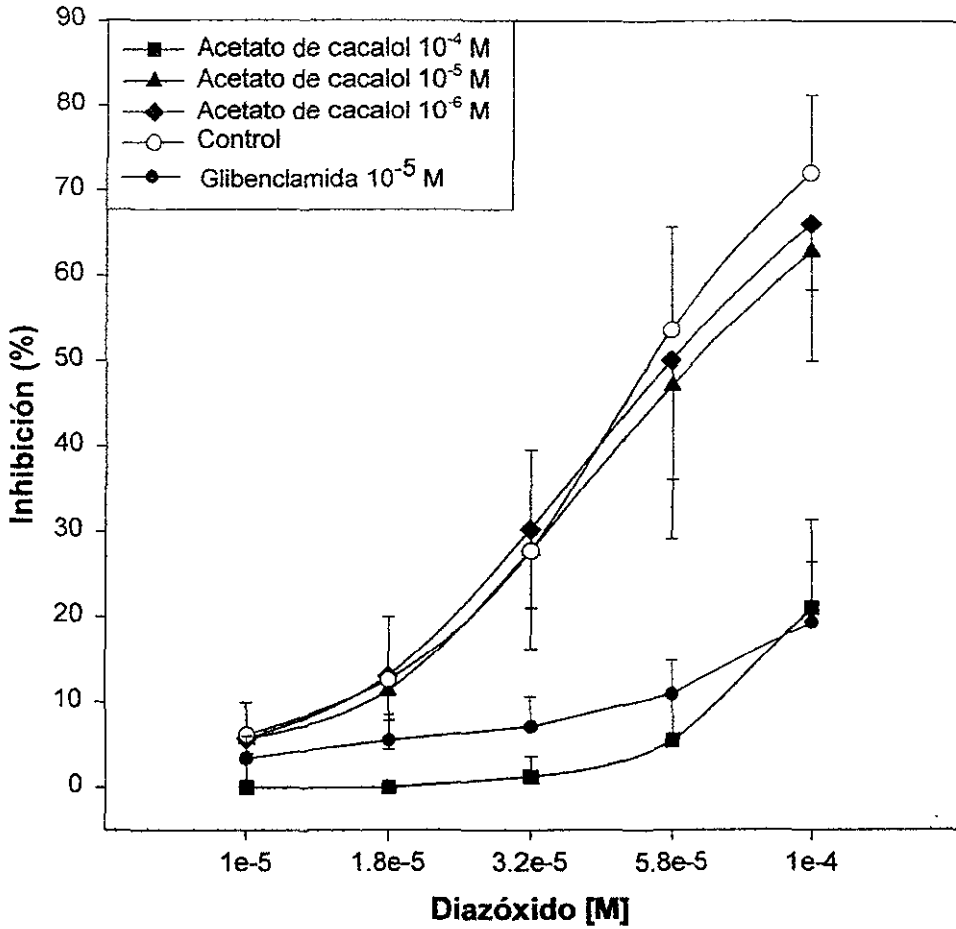
a: $p < 0.01$ vs 10^{-5} M, 10^{-6} M y control. b: $p < 0.01$ vs 10^{-6} M y control.



Gráfica 1. Efecto del cacalol sobre la relajación inducida por diazóxido de la respuesta de contracción a fenilefrina en músculo liso vascular de rata.



Gráfica 2. Efecto de la cacalona sobre la relajación inducida por diazóxido de la respuesta de contracción a fenilefrina en músculo liso vascular de rata.



Gráfica 3. Efecto del acetato de cacalol sobre la relajación inducida por diazóxido de la respuesta de contracción a fenilfrina en músculo liso vascular de rata.

VIII. DISCUSIÓN

Xantonas de *Calophyllum brasiliense*

En este estudio se extrajeron y aislaron 5 xantonas de *Calophyllum brasiliense*, incluyendo la 1,3,5,6-tetrahidroxi-2-(3-hidroxi-3-metilbutil)-xantona que no se había reportado anteriormente para esta especie. Los resultados muestran que las xantonas no bloquean los canales de potasio de la célula de músculo liso vascular en comparación con el control de glibenclamida en la preparación de aorta de rata. Es decir, cuando se preincubo con glibenclamida, la contracción por fenilefrina se mantuvo al agregar dosis acumulativas de diazóxido; mientras que con las xantonas, el tejido se relajó de la misma forma que el control de etanol/DMSO.

Solamente dos xantonas han sido reportadas con actividad hipoglucemiante, ambas provienen de otras especies como *Swertia chirayita* y *S. japonica* (Bala *et al.*, 1991; Basnet *et al.*, 1994). Estos estudios se llevaron a cabo midiendo los niveles de glucosa sanguínea en un modelo *in vivo* de diabetes en ratas tratadas con estreptozotocina o en ratas sometidas a alteraciones dietéticas. Aunque en ninguno de estos estudios se ha propuesto un mecanismo de acción para el efecto hipoglucémico obtenido, se observó que dichas xantonas presentan grupos hidroxilo o metoxilo en posición *para* en el anillo B, mientras que las xantonas preniladas de *C. brasiliense* tienen grupos hidroxilo en posición *meta* en ese anillo. Además, las xantonas con actividad hipoglucemiante son del tipo simples mientras que las xantonas de *C. brasiliense* son preniladas, por lo que éstas últimas podrían ser impedidas estéricamente para unirse al receptor.

Por otro lado, diferentes xantonas han sido ampliamente reportadas como antagonistas de la entrada de calcio de la célula muscular vascular para explicar el mecanismo de vasorrelajación de la aorta torácica de rata (Ko *et al.*, 1991; Rampa *et al.*, 1995; Cheng *et al.*, 1997), aunque de acuerdo a los resultados de este estudio, el efecto vasorrelajante debe diferenciarse claramente del daño funcional, ya que las xantonas evaluadas causaron daño funcional del tejido a concentraciones mayores de 10^{-6} M.

Sesquiterpenoides de *Psacalium decompositum*

Este es el primer reporte en el que se atribuye un probable mecanismo de acción al efecto hipoglucemiante de los tres compuestos provenientes de *Psacalium decompositum*: cacalol, cacalona y acetato de cacalol. Estos compuestos tuvieron un comportamiento semejante a la glibenclamida (Gráficas 1-3), un fármaco de la familia de las sulfonilureas con conocidas propiedades hipoglucemiantes al estimular la liberación de insulina de las células β del páncreas tras varios eventos celulares entre los que se encuentra el reducir la conductancia (bloquear) de los canales de potasio sensibles a ATP. El hecho de que los sesquiterpenoides ensayados contrarrestaran el efecto abridor de canales de potasio del diazóxido es lo que los señala como posibles bloqueadores de los canales de potasio, al igual que la glibenclamida, en la célula de músculo liso vascular.

El cacalol y la cacalona son los componentes mayoritarios obtenidos del extracto hexánico de las raíces de *P. decompositum*. Se sabe que tienen actividad

antimicrobial y propiedades alelopáticas (Alarcon-Aguilar *et al.*, 2000a). Los resultados de las pruebas farmacológicas indican que a una concentración de 10^{-4} M, la cacalona y el acetato de cacalol, tienen una actividad similar a la glibenclamida 10^{-5} M. La razón por la que no se tienen datos del cacalol a esa concentración (Gráfica 1) es debido al daño tisular a una concentración mayor de 10^{-5} M. Es probable que el hidroxilo en el C₉ sea el causante de su toxicidad, ya que el acetato de cacalol tiene un grupo acetato y la cacalona un grupo ceto en dicha posición.

Los reportes previos sobre la actividad hipoglucemiante de los sesquiterpenoides de las raíces de *P. decompositum* son contradictorios. Alarcón *et al.* (2000) encontraron que la administración intraperitoneal de cacalol, cacalona y acetato de cacalol (50 y 100 mg/kg peso corporal) no produjo efecto hipoglucemiante en ratones sanos al medir la glucosa sanguínea 120 y 240 min después de su administración. Sin embargo, Inman *et al.* (1999) reportaron que el cacalol (vía oral, dosis única de 1.09 mmol/kg), mas no la cacalona, logró disminuir los niveles de glucosa plasmática de manera similar que la metformina, un fármaco usado para tratar diabetes tipo 2, en un modelo genético de diabetes y obesidad en ratones C57BL-6J *ob/ob*. Es posible que la contradicción en los resultados sea por el modelo utilizado en cada grupo. En el modelo *in vitro* usado en este estudio, el efecto de los sesquiterpenoides es un efecto directo sobre la célula, sin que los compuestos sean expuestos a la biotransformación farmacocinética que presentan en el organismo. Asimismo, Inman *et al.* (1999) especularon que, ya que el cacalol inhibe el transporte electrónico y la fosforilación oxidativa, podría ejercer su efecto

hipoglucemiante estimulando el transporte de glucosa y estimulando la glucólisis. Por otro lado, no hay que perder de vista que el estudio se realiza en músculo liso vascular y no en células β pancreáticas que, en cuanto a modelos *in vitro*, serían el modelo ideal donde estudiar compuestos con supuestas propiedades hipoglucemiantes.

Los resultados de esta tesis muestran que uno de los posibles mecanismos de acción por los que el cacalol, la cacalona y el acetato de cacalol pueden producir hipoglucemia podría ser el bloqueo de los canales de potasio, ya que así actúan en el músculo liso vascular al igual que la glibenclamida. Aunque el uso tradicional de *P. decompositum* pudiera estar justificado por la presencia del cacalol, no se recomienda el uso de esta planta o de sus extractos por la presencia de posibles compuestos tóxicos. Ya que de los sesquiterpenoides no se conocen efectos citotóxicos, estudios subsecuentes en las células beta de los islotes de Langerhans y confirmatorios de la actividad hipoglucemiante del cacalol y derivados son necesarios para conocer si éstos son los compuestos activos responsables de la actividad hipoglucémica de los extractos y fracciones de *P. decompositum*.

IX. CONCLUSIONES

1. De la madera de *Calophyllum brasiliense* se aislaron 5 xantonas. De las cuales la 1,3,5,6-tetrahidroxi-2-(3-hidroxi-3-metilbutil)-xantona no había sido reportada previamente para esta especie.
2. Las xantonas preniladas de *Calophyllum brasiliense* no bloquean los canales de potasio de la célula de músculo liso vascular.
3. Las xantonas son compuestos tóxicos que a una concentración de 10^{-5} M causan daño funcional del tejido.
4. Los sesquiterpenoides cacalol, cacalona y acetato de cacalol de *Psacalium decompositum* actúan como bloqueadores de los canales de potasio de la célula de músculo liso vascular.
5. La cacalona y el acetato de cacalol (10^{-4} M) son tan eficientes y potentes como la glibenclamida (10^{-5} M) al actuar como bloqueadores de los canales de potasio sensibles a ATP.
6. El cacalol y la cacalona bloquean los canales de potasio de la célula de músculo liso vascular de manera dependiente de la concentración.

X. REFERENCIAS

1. Alarcón Aguilar, Francisco J. 1997 *Investigación experimental de la acción hipoglucemiante de plantas usadas en el control de la Diabetes Mellitus*. Tesis Doctoral, UAM.
2. Alarcón-Aguilar, F.J., Román-Ramos, R., Jimenez-Estrada, M., Reyes-Chilpa, R., González-Paredes, B. & Flores-Saenz, J.L. (1997). Effects of three mexican medicinal plants (*Asteraceae*) on blood glucose levels in healthy mice and rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*. 57: 171-177.
3. Alarcón-Aguilar, F.J., Román-Ramos, R., Pérez-Gutierrez, S., Aguilar-Contreras, A., Contreras-Weber, C.C. & Flores-Saenz, J.L. (1998). Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetic. *Journal of Ethnopharmacology*. 61: 101-110.
4. Alarcón-Aguilar, F.J., Jimenez-Estrada, M., Reyes-Chilpa, R. & Roman-Ramos, R. (2000a). Hypoglycemic effect of extracts and fractions from *Psacalium decompositum* in healthy and alloxan-diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 72: 21-27.
5. Alarcón-Aguilar, F.J., Jimenez-Estrada, M., Reyes-Chilpa, R., González-Paredes, B., Contreras-Weber, C.C. & Roman-Ramos, R. (2000b). Hypoglycemic activity of root water decoction, sesquiterpenoids, and one polysaccharide fraction from *Psacalium decompositum* in mice. 69: 207-215.
6. Argueta Villamar, A., Cano Asseleih, L.M. & rodarte, M.E. 1994. *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana II*. Instituto Nacional Indigenista, México. p 985.
7. Bala Bajpai, M., Asthana, R.K., Sharma, N.K., Chatterjee, S.K. & Mukherjee, S.K. (1990). Hypoglycemic effect of Swerchirin from the hexane fraction of *Swertia chirayita*. *Planta Medica*. 57: 102-104.
8. Basnet, P., Kadota, S., Shimizu M. & Namba T. (1994). Bellidifolin: a potent hypoglycemic agent in Streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats from *Swertia japonica*. *Planta Medica*. 60: 507-511.
9. Bennet, G. & Lee, H. H. (1989). Xanthones from *Guttiferae*. *Phytochemistry*. 28(4): 967-998.
10. Cao, S. G., Sim, K. Y., Pereira, J. & Goh, S. H. (1998). Coumarins from *Calophyllum teysmanii*. *Phytochemistry*. 47: 773-777.
11. Committee Report. (1997) Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 20: 1183-1197.

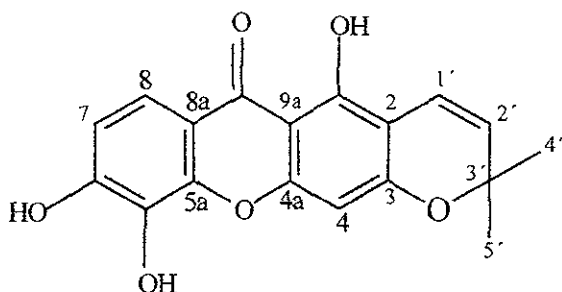
12. Cheng, Y.W. & Kang, J.J. (1997). Mechanism of vasorelaxation of thoracic aorta caused by xanthone. *European Journal of Pharmacology*. 336: 23-28.
13. Davis, S. N. & Granner, D.K. 1996. Insulin, oral hypoglycemic agents, and the pharmacology of the endocrine pancreas. En: Hardman, J.G., Limbird, L.E., Molinoff, P.B., Ruddon, R.W. & Gilman, A.G. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of therapeutics*. McGraw-Hill, New York. pp. 1487-1513.
14. Edwards, G. & Weston A.H. (1995). Pharmacology of the potassium channel openers. *Cardiovasc Drugs Ther.* 9 (Supp 2): 185-93.
15. Foster D.W. (1994) Diabetes mellitus. En *Principios de Medicina Interna*. Vol. II K.J. Isselbacher, E. Braunwald, J.D. Wilson, J.B. Martín, A.S. Fauci, D.L. Kasper (eds). 13ª edición. Interamericana McGraw-Hill. Pp. 2281-2305.
16. García Barriga, Hermando. 1992. *Flora Medicinal de Colombia, III*. Tercer Mundo Editores, Colombia. p 209-212.
17. García Rivas, Heriberto.1982. *Enciclopedia de las plantas medicinales mexicanas*. Editorial Posadas, México. 655 pp.
18. Goh, S.H. & Jantan, I. 1991. A xanthone from *Calophyllum inophyllum*. *Phytochemistry*. 30: 366-367.
19. Hostettmann, K. & Lea, P.J. 1987. *Biologically Active Natural Products*. Clarendon Press, Oxford. pp 287.
20. Inman, W.D., King, S.R., Evans, J.L. & Luo, J. 1998. Furanoremerophilane and eremophilanolide sesquiterpens for treatment of diabetes. US Patent number 5,747,527.
21. Inman, W.d., Luo, J., Shivanand, D.J., Steven, R.K. & Cooper, R. (1999). Antihyperglycemic Sesquiterpenes from *Psacalium decompositum*. *Journal of Natural Products*. 62: 1088-1092.
22. Islas Andrade, S., Revilla Monsalve, C. & García Alcalá, H. 2001. *La secreción de insulina. Implicaciones clínicas en pacientes con diabetes mellitus. Bases para su regulación terapéutica*. Manual Moderno, México. p. 34-46.
23. Ivorra, M.D., Payá, M. & Villar, A. (1989). A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. *Journal of Ethnopharmacology*. 27: 243-275.
24. Jones, R.B., Dickinson, K., Anthony, D.M., Marita, A.R., Kaul, C.L. & Buckett, W.R. (1997). Evaluation of BTS 67 582, a novel antidiabetic agent, in normal and diabetic rats. *British Journal of Pharmacology*. 120: 1135-1143.

25. Ko, F.N., Lin, C.N., Liou, S.S., Huang, T.F. & Teng, C.M. (1991). Vasorelaxation of rat thoracic aorta caused by norathyriol isolated from Gentinaceae. *European Journal of Pharmacology*. 192: 133-139.
26. Marles, R.J. & Farnsworth, N.R. 1994. Plants as sources of Antidiabetic Agents. In: Wagner, H. & Farnsworth, N, R. *Economic and Medicinal Plant Research*. Vol. 6. Academic Press, London. pp. 325.
27. Martínez, Maximino. 1994. *Catálogo de Nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas*. Fondo de cultura Económica, México. p. 88.
28. Ortega Escalona, F., Castillo Morales, I. & Carmona Valdovinos, T. 1991. *Anatomía de la madera de veintiséis especies de la selva Lacandona, Chiapas*. Instituto de Ecología A.C. & Universidad Autónoma Metropolitana, México. pp. 200.
29. Peres, V. & Nagem, J. J. (1997). Trioxxygenated naturalu occurring xanthones. *Phytochemistry*. 44(2): 191-214.
30. Pérez G.,R., Ocegueda Z.,A., Muñoz L.,J.L., Avila A.,J. & Morrow, W.W. (1984). A study of the hypoglucemic effect of some mexican plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 12: 253-262.
31. Rahman, A.U. & Zaman, K. (1989). Medical plants with hypoglycemic activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 26: 1-55.
32. Rampa. A., Budriesi, R., bisi, A., Fabbri, G., Barili, P.L., chianini, A. & Valenti, P. (1995). Structure-activity relationship studies in the field of calcium antagonists. Xanthone 1,4-dihydropyridines bearing a 2,3-lactone ring. *Arzneim-Forsch./Drug Res*. 45: 957-962.
33. Reyes-Chilpa, R., Jiménez-Estrada, M. & Estrada-Muñiz, E. (1997). Antifungal xanthones from *Calophyllum brasiliense* heartwood. *Journal of Chemical Ecology*. 23(7): 1901-1911.
34. Román-Ramos,R., Flores-Saenz,J.L., Partida-Hernández,G., Lara-Lemus,A. & Alarcon-Aguilar, F. (1991). Experimental study of the hypoglycemic effect of some antidiabetic plants. *Arch. Invest. Méd.* 22(1): 87-93.
35. Román-Ramos,R., Alarcon-Aguilar,F., Lara-Lemus,A & Flores-Saenz,J.I. (1992a). Hypoglycemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics. *Archives of Medical Research*. 23(1): 59-64.
36. Román Ramos,R., Lara Lemus,A., Alarcon Aguilar,F & Flores Saenz,J.L. (1992b). Hypoglycemic activity of some antidiabetic plants. *Archives of Medical Research*. 23(3): 105-109.

-
37. Román-Ramos, R., Flores-Saenz, J.L. & Alarcon-Aguilar, F.J. (1995). Anti-hyperglycemic effect of some edible plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 48:25-32.
 38. Sartori, N.T., Canepelle, D., de Sousa, P.T. & Martins, D.T.O. (1999). Gastroprotective effect from *Calophyllum brasiliense* Camb. Bark on experimental gastric lesions in rats and mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 67: 149-156.
 39. Shaiq Ali, M., Mahmud, S., Perveen, S., Uddin Ahmand, V. & Hafeez Rizwani, G. (1999). Epimers from the leaves of *Calophyllum inophyllum*. *Phytochemistry* 50: 1385-1389.
 40. Soto Nuñez, J.C & Sousa, M. 1995. *Plantas medicinales de la cuenca del río Balsas*. UNAM, México. 250 pp.

APENDICE

Jacareubeína (III)



$C_{18}H_{14}O_6$, cristales amarillos, p.f. 252-258 °.

Datos de RMNP (500 MHz, acetona deuterada + DMSO deuterado) de la Jacareubeína.

Protón	δ (ppm)	Multiplicidad	Constante de acoplamiento J (Hz)	Número de H
2 Me	1.46	s	-	6
H-2'	5.71	d	10.0	1
H-4	6.36	s	-	1
H-1'	6.66	d	10.5	1
H-7	6.97	d	9.0	1
H-8	7.58	d	9.0	1
OH-5 y OH-6	9.40	s	-	2
OH-1	13.59	s	-	1

Datos de RMN ^{13}C (125 MHz, acetona deuterada + DMSO deuterado) de la Jacareubeina.

Número de C	δ (ppm)	Tipo de C	$^2J^*$	$^3J^*$
C=O	181.29	C=O	H-8	-
C-3	160.93	C	H-4	H-1'
C-1	158.56	C	OH-1	-
C-4a	157.88	C	-	H-4
C-6	152.70	C	H-7	H-8
C-5a	147.01	C	-	H-8
C-5	133.52	C	H-7	-
C-2'	128.53	CH	-	-
C-8	117.04	CH	-	-
C-1'	115.74	CH	-	-
C-8a	114.43	C	H-7	-
C-7	113.92	CH	-	-
C-2	105.01	C	H-2'	H-4
C-9a	103.42	C	-	H-4
C-4	95.50	CH	-	-
C-3'	78.82	C	H-2'	H-1'
C-4' y C-5'	28.40	2 CH ₃	-	H-2'

* Acoplamientos de $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ a 2 (2J) y 3 (3J) enlaces observados en el experimento HMBC.

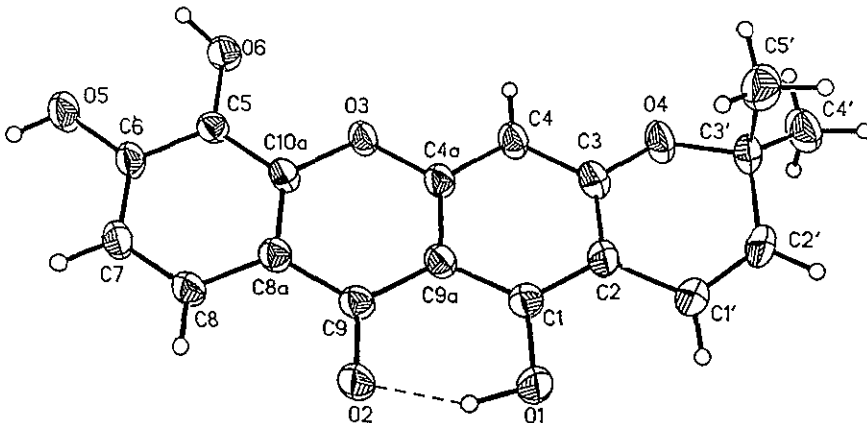
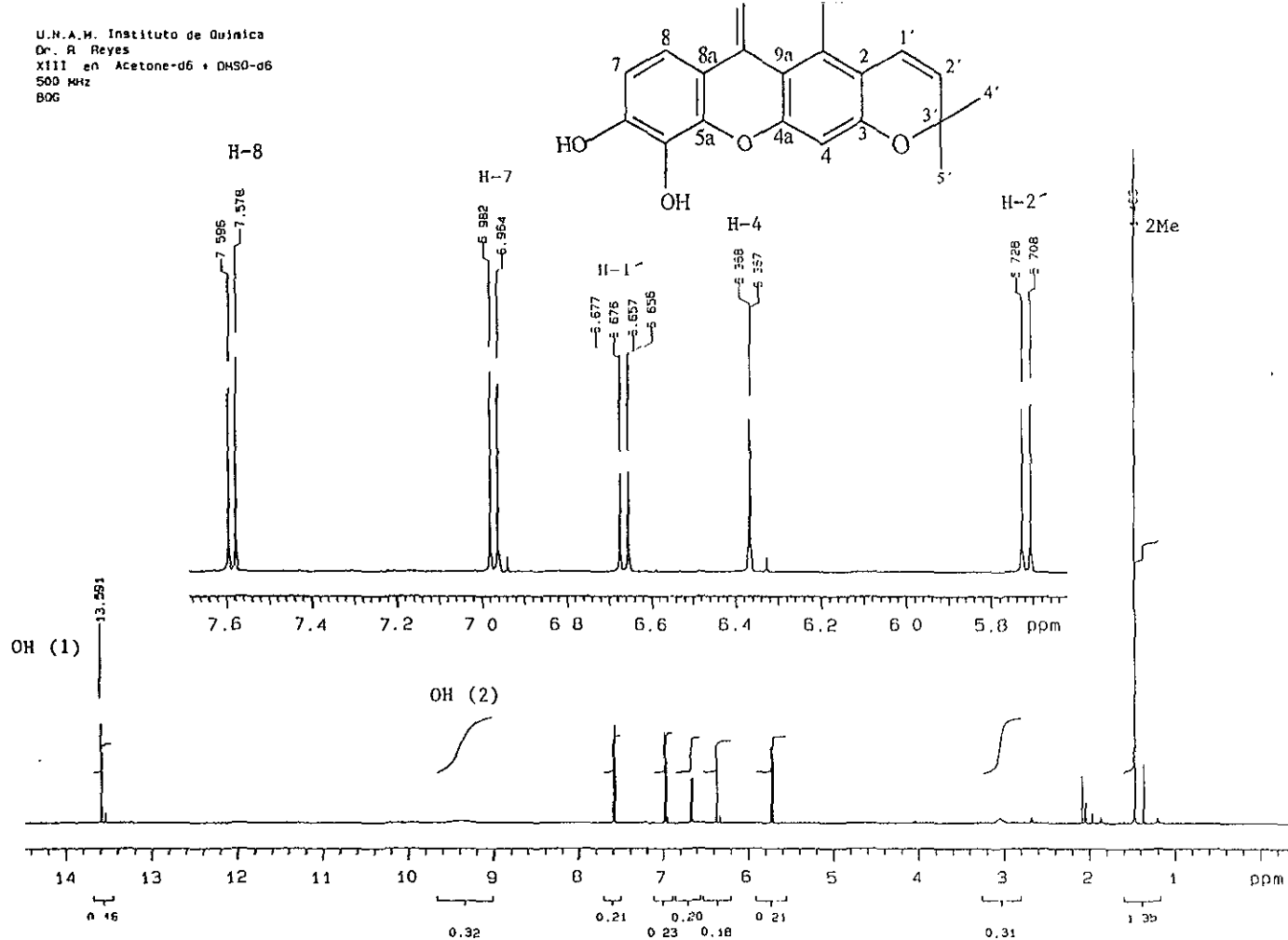


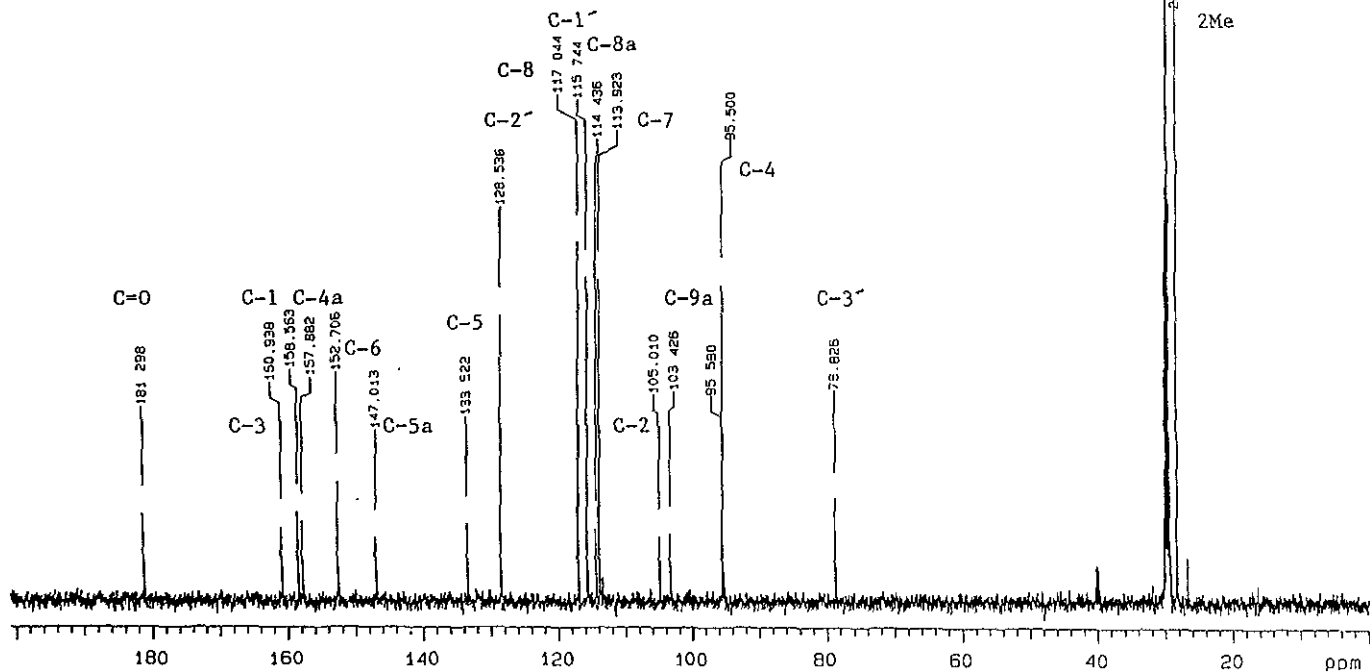
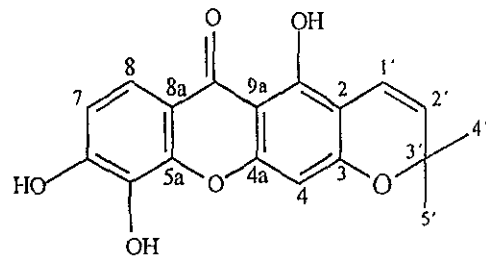
Figura A. Esteriodiagrama por difracción de Rayos X de la Jacareubeina.

U.N.A.M. Instituto de Química
 Dr. R. Reyes
 XIII en Acetone-d6 + DMSO-d6
 500 MHz
 BOG



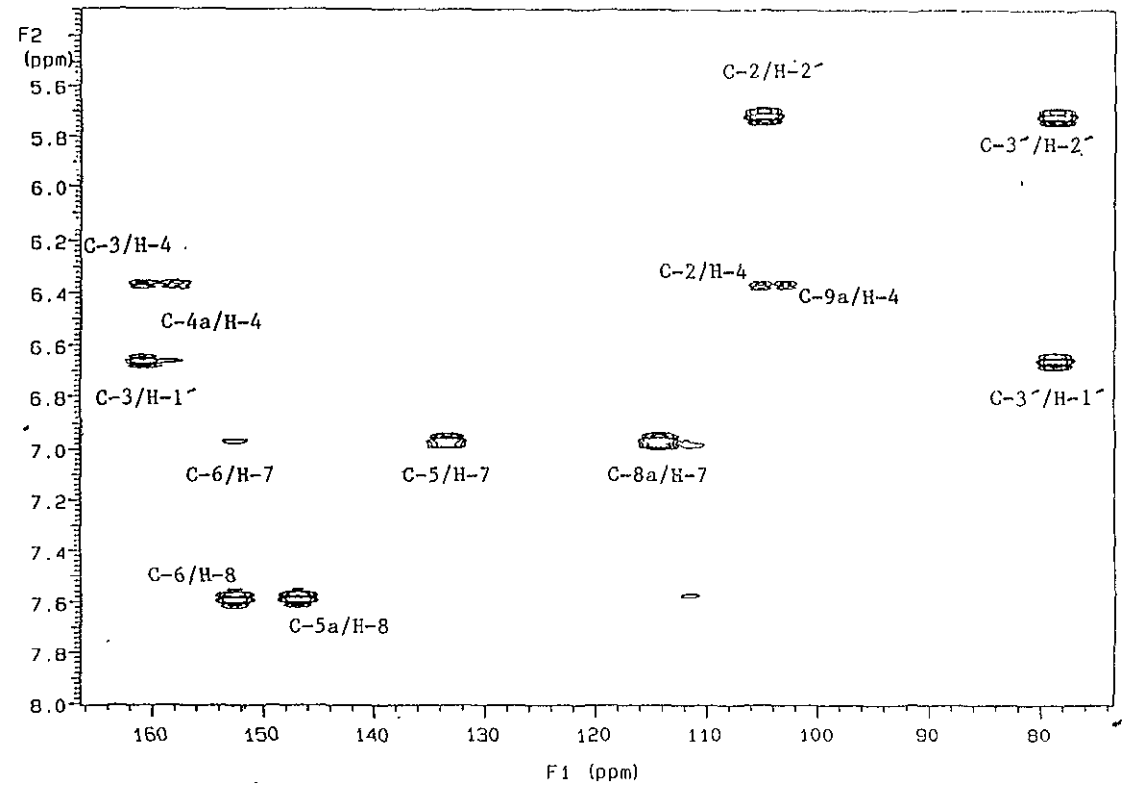
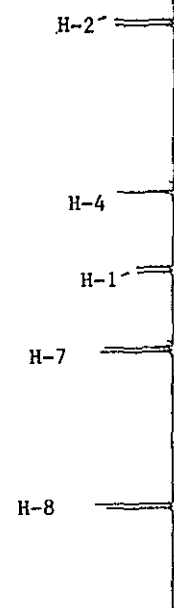
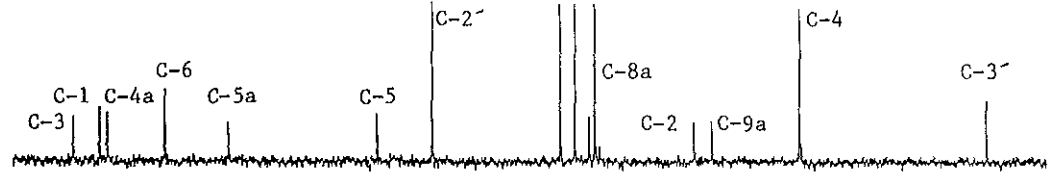
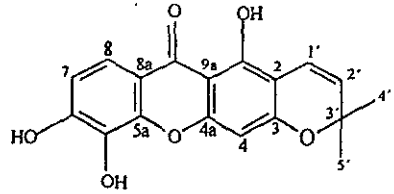
Espectro No. 1. Espectro de RMNP (500 MHz, Acetona Deuterada/DMSO): Jacareubeina.

U. N. A. M. Instituto de Química
 Dr. R. Reyes
 XIII en Acetona-d6 + DMSO-d6
 125 MHz
 80G



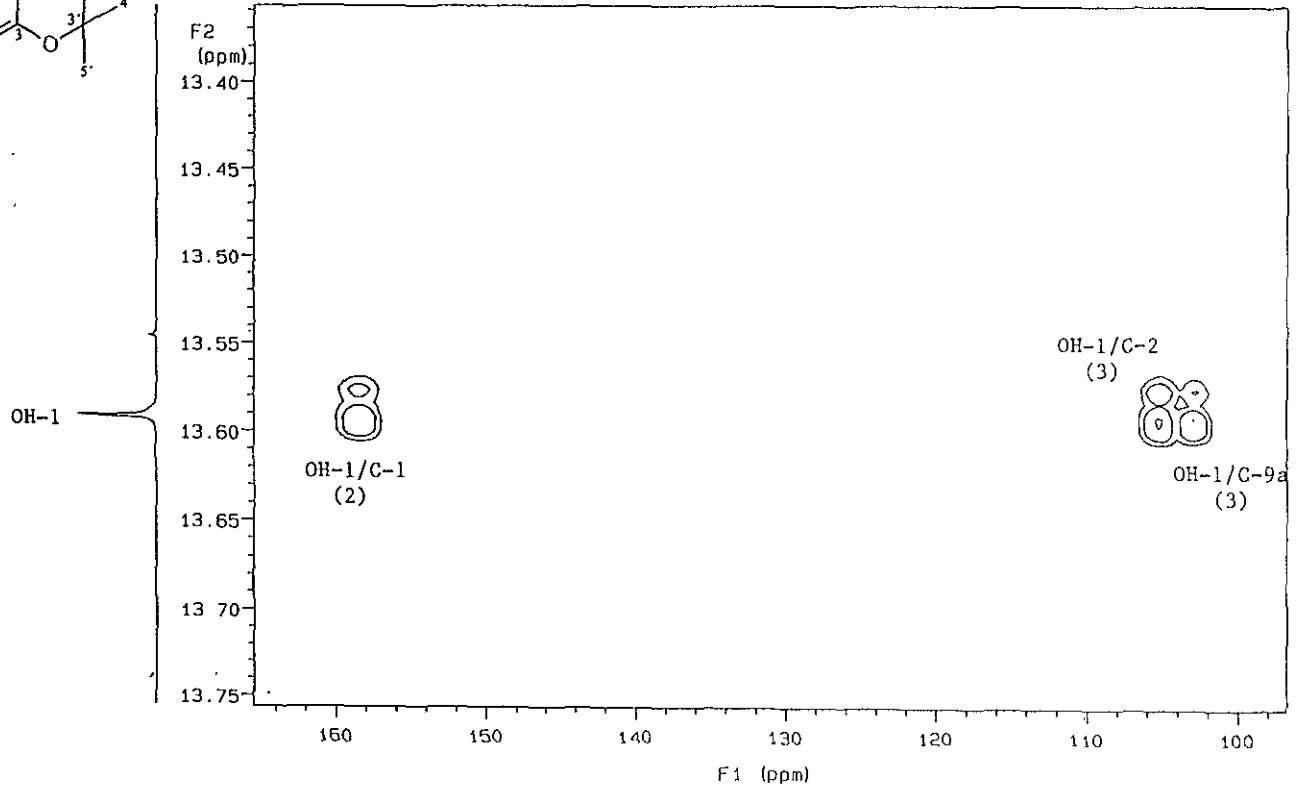
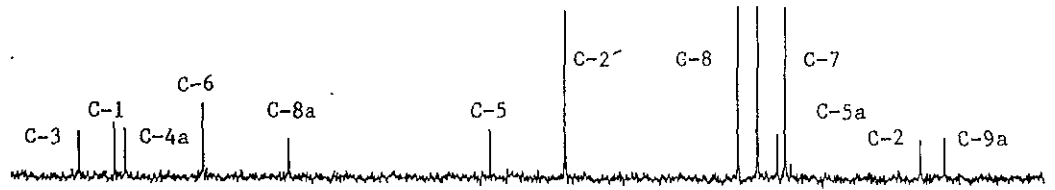
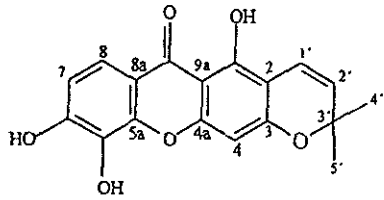
Espectro No. 2. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, Acetona Deuterada/DMSO Deuterado): Jacareubeina.

Dr. R. Reyes
 XIII en Acetone-d6 + DMSO-d6
 1H4BC
 500 MHz
 BOG



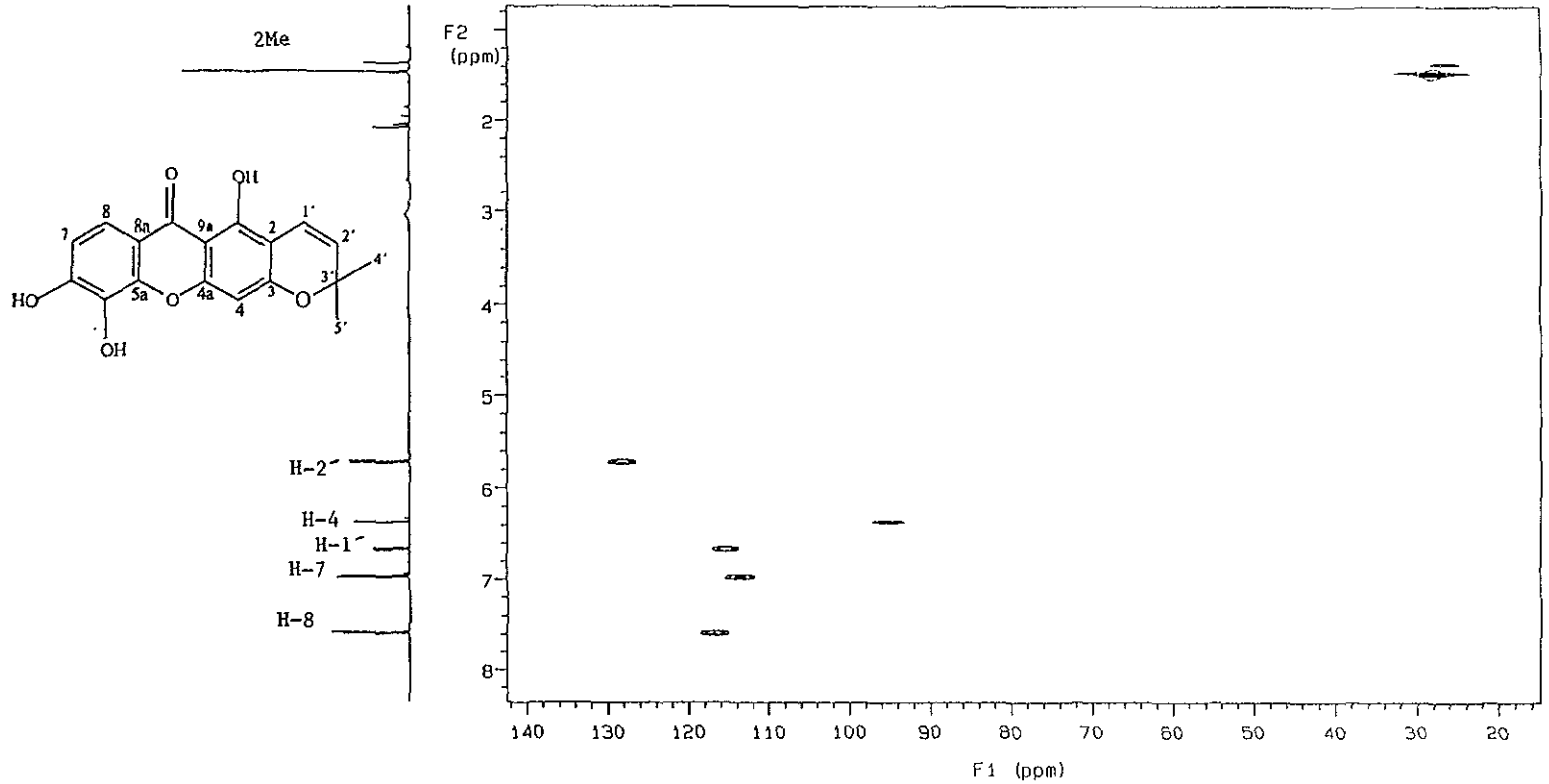
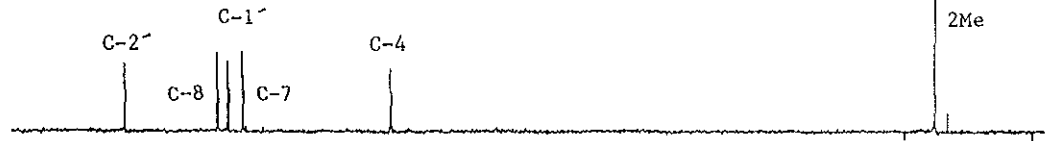
Espectro No. 3. Acoplamiento de los espines nucleares $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ a dos (^2J) y tres (^3J) enlaces: Jacareubaina

U.N.A.M. Instituto de Química
 Dr. R. Reyes
 XIII en Acetone-d6 + DMSO-d6
 148C
 500 MHz
 B0G



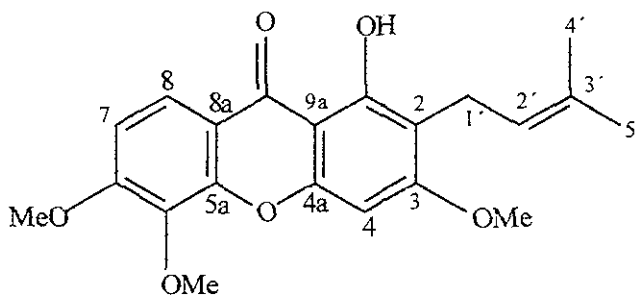
Espectro No. 4. Acoplamiento de los espines nucleares $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ a dos (^2J) y tres (^3J) enlaces: Jacareubina

U.N.A.M. Instituto de Química
 Dr. R. Reyes
 XIII en Acetone-d6 + DMSO-d6
 PPOC
 500 MHz
 BOG



Espectro No. 5. Acoplamiento de los espines nucleares $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ a un enlace (^1J): Jacareubina.

1-hidroxi,3,5,6-trimetoxi-2-2(3,3-dimetilalil)-xantona



$C_{21}H_{22}O_6$, cristales amarillos, p.f. 152-157 °.

EMIE (70 ev) m/z (%): 370 (59.2%) $C_{21}H_{22}O_6 [M]^+$; 355 (28.9%) M^+-Me ; 339 (6.3%); 327 (78.9%); 315 (100%) $M^+-C_4H_7$; 302 (10.6%); 170 (8.5%).

Datos de RMN P (300 MHz, $CDCl_3$) de la 1-hidroxi,3,5,6-trimetoxi-2-2(3,3-dimetilalil)-xantona

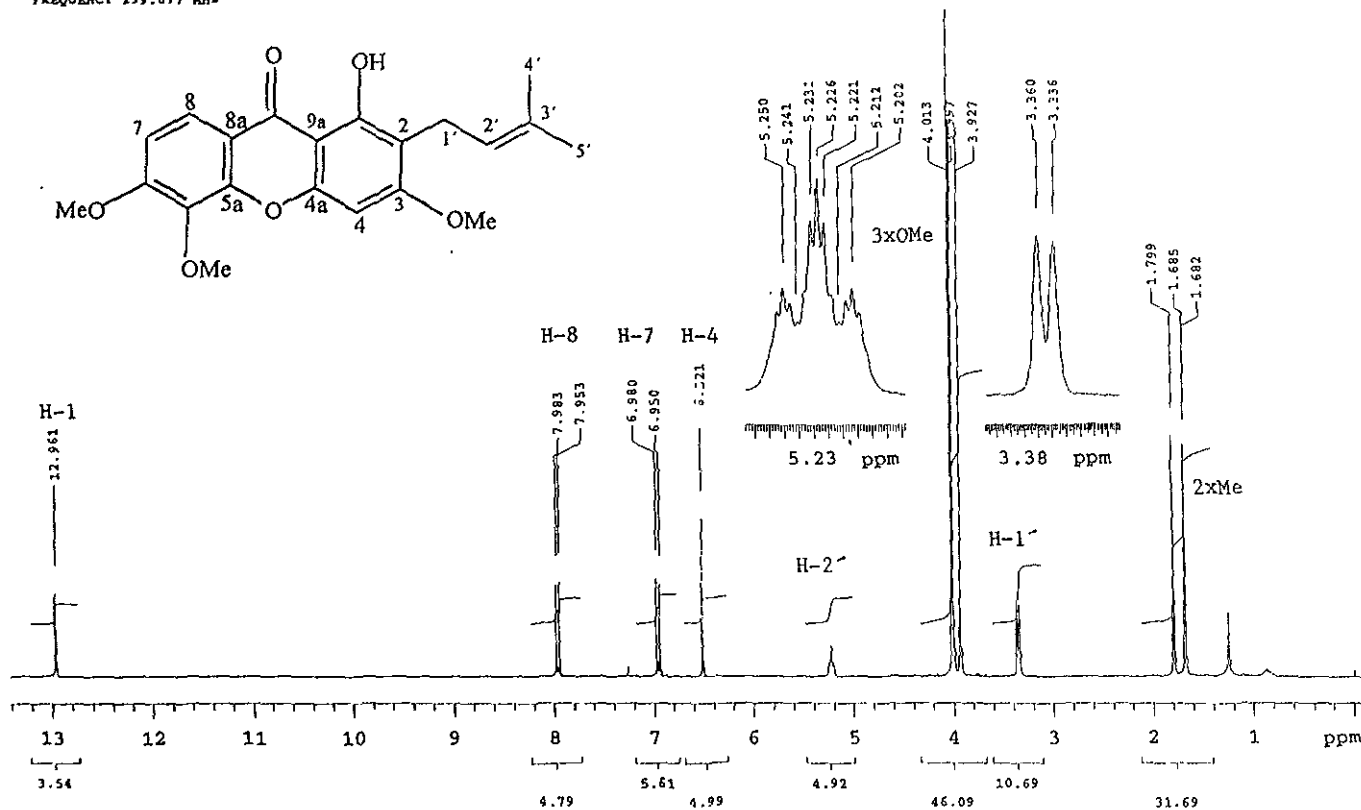
Protón	δ (ppm)	Multiplicidad	Constante de acoplamiento J (Hz)	Número de H
OH-1	12.96	s	-	1
H-8	7.69	d	9	1
H-7	6.96	d	9	1
H-4	6.52	s	-	1
H-2'	5.22	tm	7.2 y 1.5	1
OMe	4.01	s	-	3
OMe	3.99	s	-	3
OMe	3.92	s	-	3
H-1'	3.34	d	7.2	2
Me	1.79	s	-	3
Me	1.68	d	0.9	3

Datos de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) de la 1-hidroxi,3,5,6-trimetoxi-2-(3,3-dimetilalil)-xantona.

Número de C	δ (ppm)	Tipo de C
C=O	180.18	C=O
C-1 *	164.11	C
C-3 *	159.57	C
C-6 *	157.44	C
C-5a *	156.09	C
C-4a *	150.18	C
C-5 *	136.11	C
C-3'	131.78	C
C-2'	122.07	CH
C-8 *	121.47	CH
C-9a *	115.49	C
C-8a *	111.92	C
C-7	108.41	CH
C-2 *	103.14	C
C-4	90.05	CH
OMe	61.52	OMe
OMe	56.35	OMe
OMe	55.93	OMe
C-4 O C-5'	25.75	CH ₃
C-1'	21.27	CH ₂
C-5' O C-4'	17.75	CH ₃

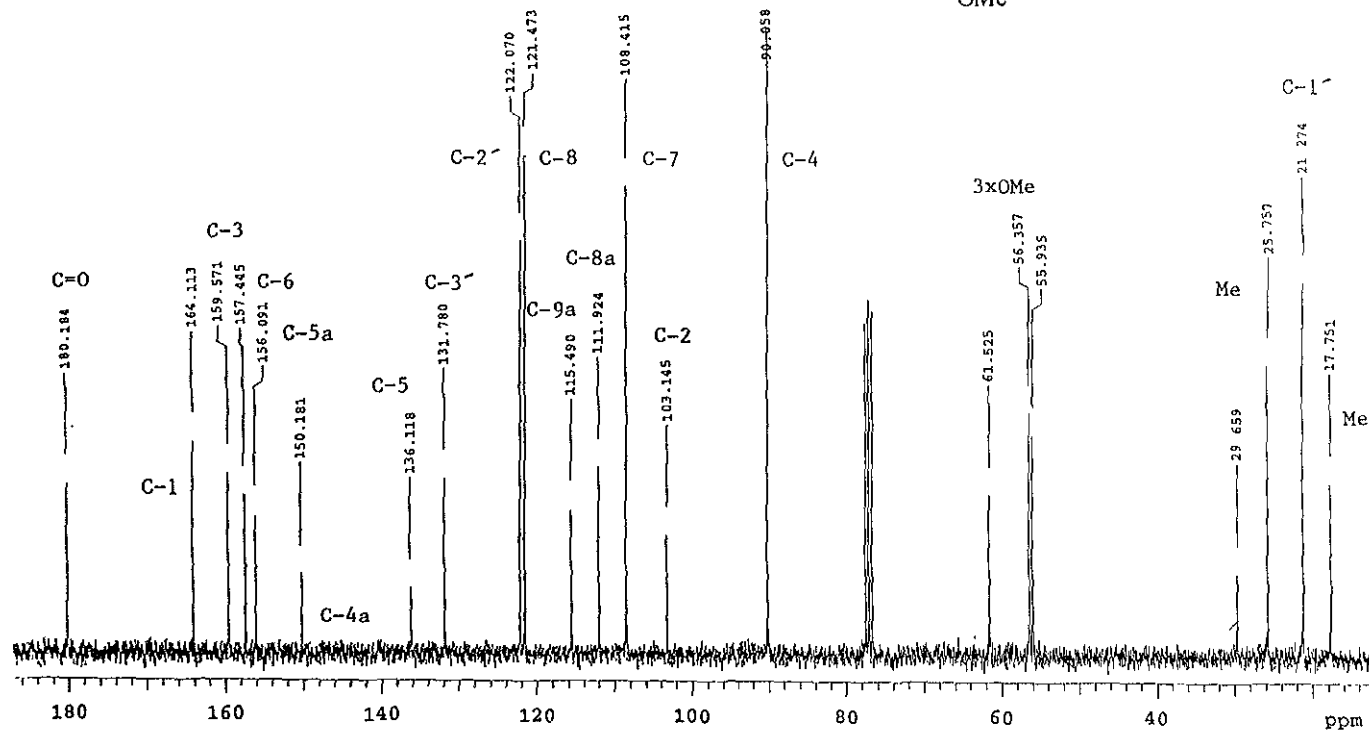
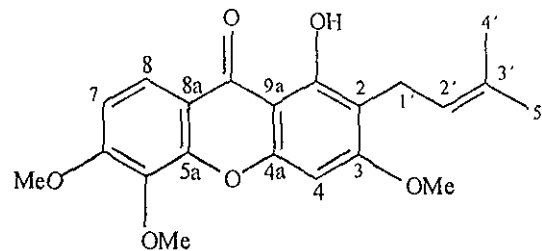
* Asignaciones tentativas con base en cálculos teóricos del efecto de sustituyentes en C aromáticos monosustituidos (Pretsch et al., 2000).

Dr-R-Royas Vc-8 hc
 SOLVENT CDCl3
 OBSERVER H1
 FREQUENCY 299.877 MHz



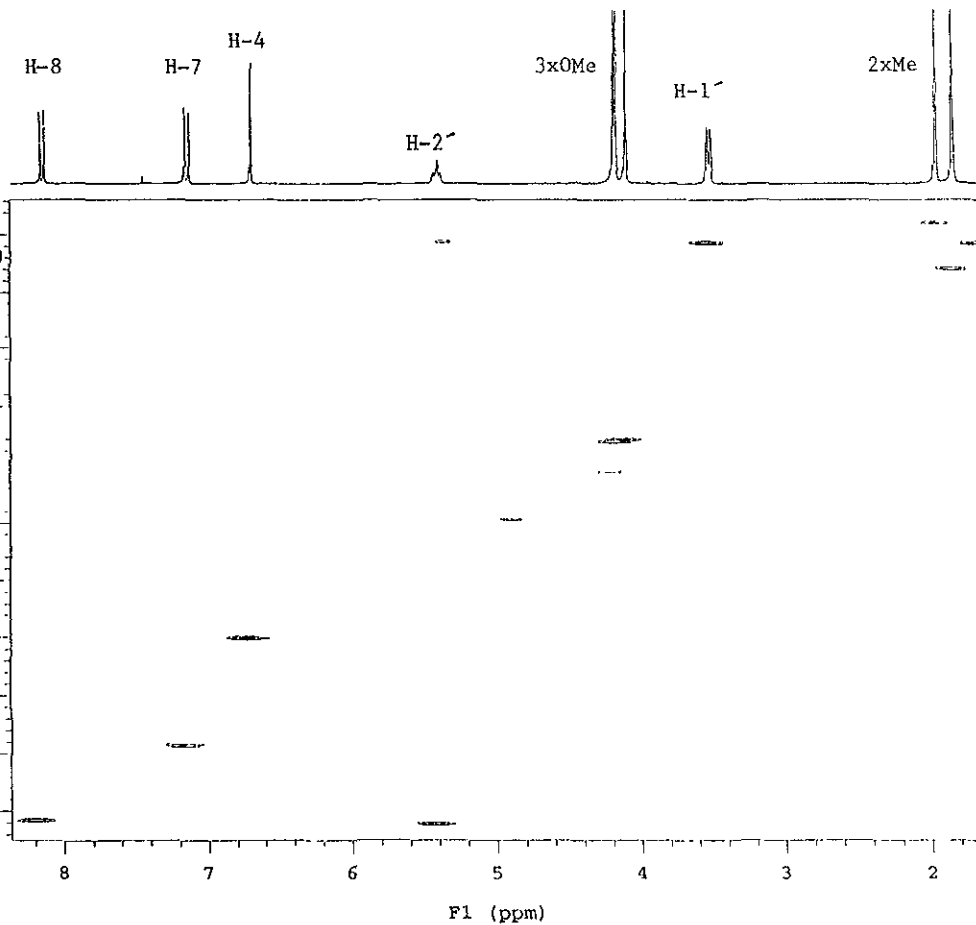
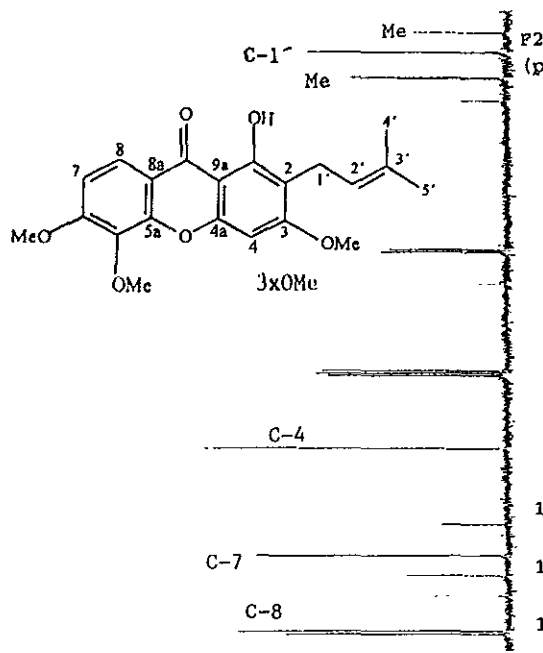
Espectro No. 6. Espectro de RMNP (300 MHz, CDCl₃): 1-dihidroxi,3,5,6-trimetoxi-2-(3,3-dimetilalil)-xantona.

Dr-R-Reyes Vc-8 hr
 SOLVENT CDCl₃
 OBSERVER C13
 FREQUENCY 75.412 MHz



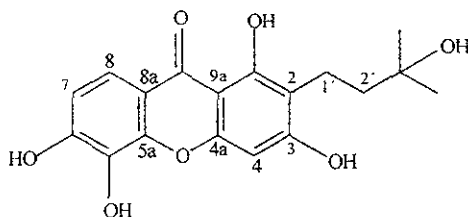
Espectro No. 7. Espectro de RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): 1-dihidroxi,3,5,6-trimetoxi-2-(3,3-dimetilalil)-xantona.

Dr. R. Reyes Vc. 8 hr
 SOLVENT CDCl3
 PULSE SEQUENCE hetcor
 OBSERVE C13
 FREQUENCY 75.409 MHz



Espectro No. 8. Acoplamiento de los espines nucleares $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ a un enlace (1J): 1-hidroxi,3,5,6-trimetoxi-2-(3,3-dimetilalil)-xantona.

1,3,5,6-tetrahidroxi-2-(3-hidroxi-3-metilbutil)-xantona (VI)

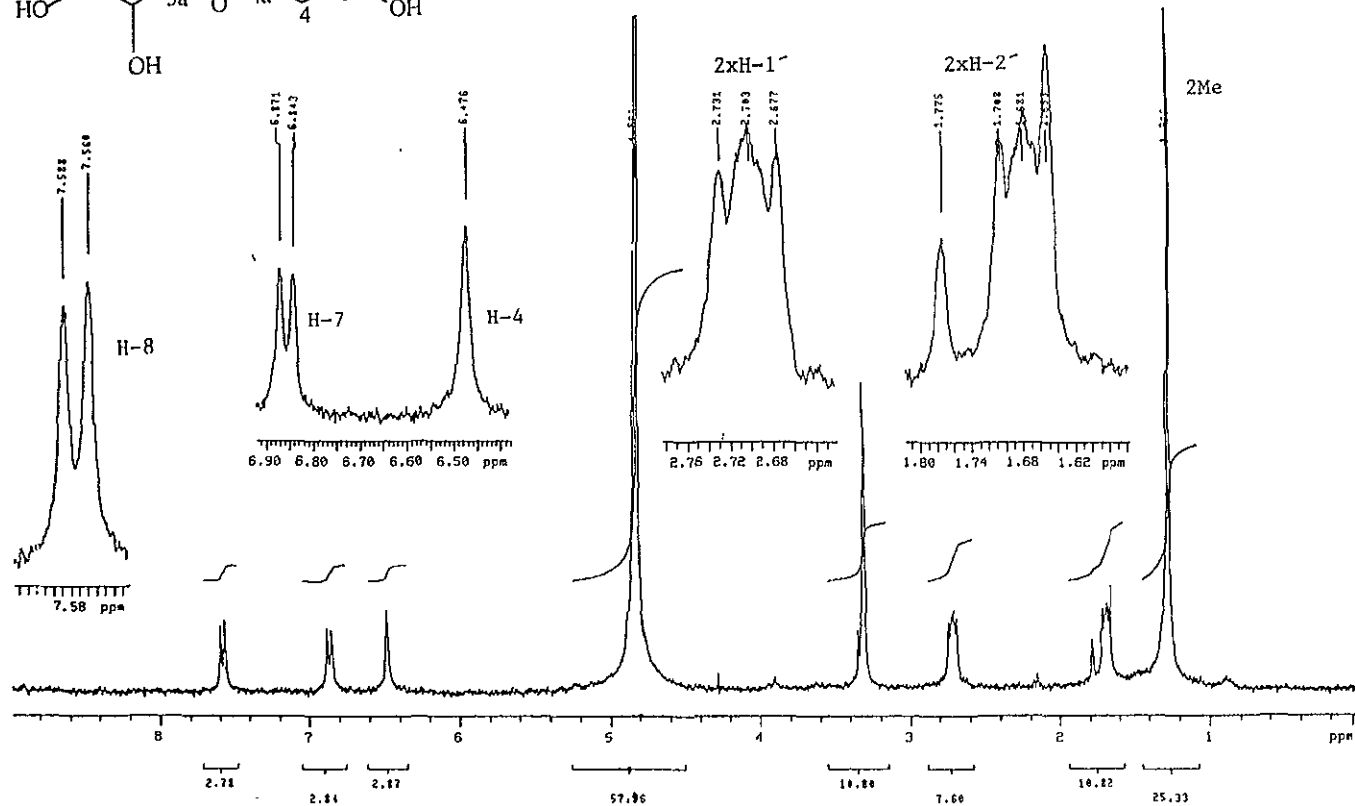
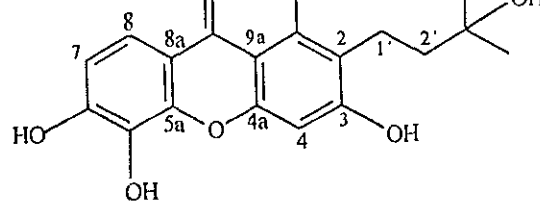


$C_{18}H_{18}O_7$, sólido café, p.f 252-253 °.

EMIE (70 ev) m/z (%): 346 (18.6%) $C_{18}H_{18}O_7 [M]^+$; 328 (24.8%) M^+-OH ; 313 (17%) M^+-Me ; 285 (37.2%); 273 (100%); 260 (6.2%); 244 (4.7%).

Datos de RMN P (300 MHz, diclorometano deuterado) de la 1,3,5,6-tetrahidroxi-2-(3-hidroxi-3-metilbutil)-xantona

Protón	δ (ppm)	Multiplicidad	Constante de acoplamiento J (Hz)	Número de H
H-8	7.57	d	8.4	1
H-7	6.85	d	8.4	1
H-4	6.47	s	-	1
H-1'	2.70	t	8.1	2
H-2'	1.68	t	8.1	2
2 Me	1.26	s	-	6



Espectro No. 9. Espectro de RMNP (300 MHz, Diclorometano Deuterado): 1,3,5,6-tetrahidroxi-2-(3-hidroxi-3 metilbutil)-xantona.