

ESTUDIO QUIMIOTAXONÓMICO COMPARATIVO ENTRE EL TORONJIL ROJO Y EL TORONJIL BLANCO (SP)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A :

LILIA PATRICIA ESPIRITU CRUZ

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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 está 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.

I N D I C E

Introducción	2
Objetivos	3
1. Antecedentes	5
1.1 Aspectos Botánicos	6
1.2 Descripción Taxonómica	7
1.3 Antecedentes Fitquímicos	12
1.4 Sinónimos	18
1.5 Usos	18
II. Metodología	19
III. Resultados	25
3.1 Aceites esenciales	26
3.2 Compuestos Di y Triterpénicos	31
3.3 Compuestos Flavonoides	38
IV. Espectros	43
V. Discusión de Resultados	56
VI. Conclusiones	60
VII. Bibliografía	62

INTRODUCCION

Dentro de la extensa y compleja herbolaria mexicana, se encuentra el toronjil en sus tres variedades.

a) VARIEDAD ROJA: Perteneciente a la familia de las labiadas género Agastache y especie Agastache mexicana.

b) VARIEDAD AZUL: Clasificado como Draccocephalum moldavica.

c) VARIEDAD BLANCA: En realidad considerada como una variedad de Agastache mexicana.

En los últimos años dichas plantas han tenido una gran demanda en el mercado afectando algunas poblaciones locales, llegando casi hasta su extinción.

De aquí surge el interés de estudiar estas plantas desde el punto de vista quimiotaxonómico.

Al inicio de este estudio se observó que el toronjil blanco solo se encontraba como componente de poblaciones nativas, y no tenía una clasificación taxonómica definida - como los demás toronjiles, dándosele por el momento la clasificación de Agastache mexicana, debido a que no tiene grandes diferencias de tipo taxonómico con Agastache mexicana - (variedad roja) excepto en unas cuantas características de la flor.

Esta tesis tiene como objetivo realizar un estudio quimiotaxonómico comparativo entre el toronjil rojo y el blanco¹ para tratar de contribuir a resolver el problema

de si ambas plantas pertenecen a la misma especie o no.

En particular resulta de interés estudiar la composición química de ambas variedades en lo que respecta a aceites esenciales, componentes di y triterpénicos, así como componentes flavonoides.

Este estudio, forma parte de un trabajo más amplio que se realizó en colaboración con el Instituto de Biología de la UNAM, en donde se realizaron los estudios botánicos basados principalmente en caracteres taxonómicos bajo la dirección del Dr. Robert Bye² del Jardín Botánico. En este lugar se hicieron además, estudios comparativos de los ciclos reproductivos y de polinización cruzada, así como estudios cromosómicos.

I. ANTECEDENTES

I.I ASPECTOS BOTANICOS.

Se han realizado estudios florísticos del género *Agastache* Sección *Brittonastrum* que abarca casi toda la Sierra Madre Occidental², abarcando también una parte del centro de la República Mexicana habiéndose localizado una nueva subespecie llamada toronjil blanco (Méx, Mich, Mor, Pue), la cual se ha clasificado hasta el momento como *Agastache mexicana* subespecie *xolocotxiana*³, que es taxonómicamente muy cercana a *Agastache mexicana* con flores de color rojo. Esta última especie, *Agastache mexicana*, tiene una mayor abundancia de poblaciones en la zona cercana a la frontera de México y Estados Unidos, siendo limitada para poblaciones del centro de México.

Actualmente, se reconocen 14 especies de *Agastache* que engloban 23 taxas y se dividen en tres series⁴, la gran variedad en ciertas especies se atribuyen a una hibridación y segregación antigua, pero no se han encontrado los datos experimentales para confirmar esta hipótesis.

Todo esto conduce a suponer una diversificación botánica en el centro de México. Sanders, demostró que el trabajo realizado por Lint y Epling², tenían una aplicación limitada debido a la mala interpretación de la variabilidad de caracteres exomórficos y quimiotaxonómicos apoyados estos últimos en la variación de los constituyentes flavonoides.

I.2 DESCRIPCION TAXONOMICA.

La descripción taxonómica, tanto del toronjil rojo como el blanco, se basa en estudios florísticos presentándose características como:

a) En el toronjil rojo.- Su flor es más grande -- que la del toronjil blanco, presenta un color rojo púrpura, - sus hojas son pronunciadamente dentadas, presentándose un - aroma anisado.

b) El toronjil blanco.- Su flor es más pequeña que la del toronjil rojo, en la garganta de la corola se encuentran pequeñas vellocidades, característica que no presenta el toronjil rojo, se cree que estas tienen la función de atraer insectos, los cuales pueden participar en la polinización, además, el toronjil blanco tiene un aroma más parecido al limón.

ACEITES ESENCIALES.

Los aceites esenciales, estan constituidos por una diversidad de sustancias orgánicas, mismas que se caracterizan por su volatilidad en mayor o menor grado, dependiendo - de la naturaleza química del compuesto; entre ellos podemos encontrar hidrocarburos alicíclicos y aromáticos, así como derivados oxigenados como alcoholes, aldehidos, cetonas, és-

teres, sustancias azufradas y nitrogenadas.

Los aceites esenciales son empleados en perfume --
ria, en la industria alimenticia o como fuentes de materias-
primas.

Pueden localizarse en un determinado órgano vege -
tal (flor, hoja, fruto y hasta raíces o en toda la planta),
pero generalmente se encuentran concentradas en glandulitas-
o tricomas especiales. Algunos aceites esenciales se encuen-
tran en la planta en forma de precursores no volátiles, fre-
cuentemente glucósidos; respecto al papel biológico desempe-
ñado en los vegetales se ha especulado que sirven de atra-
yentes de insectos poliníferos y que regulan la transpira -
ción; la composición de una esencia puede cambiar con la épo-
ca de la recolecta, el lugar geográfico o por pequeños cam -
bios genéticos.

El olor agradable que tienen algunos aceites esen-
ciales se debe generalmente a la presencia de compuestos -
oxigenados.

Los compuestos más frecuentes derivan biogenética-
mente del ácido mevalónico, estos últimos compuestos se pue-
den catalogar como:

- | | |
|------------------------|-------------------|
| | a) Monoterpenos |
| Pueden ser componentes | b) Sesquiterpenos |
| de aceites esenciales. | c) Diterpenos |

Compuestos de olor muy
débil.

d) Triterpenos
e) Esteroides

Los terpenos están frecuentemente acompañados por derivados de fenil propanoides e hidrocarburos de cadena lineal.

Una vez formados por biosíntesis, los terpenos sufren una serie de cambios como oxidaciones, reducciones, esterificaciones, ciclizaciones etc., dando una gran variedad de derivados.

Para algunos aceites esenciales se atribuyen diversas propiedades farmacológicas. Algunos componentes como el camfeno y el mentol son usados como estimulantes del sistema circulatorio, para el alcanfor se ha descrito que ayuda a mejorar algunos problemas cardíacos.

Una de las propuestas biogénicas para el origen de los terpenos fué publicada por Ruzika⁵, en la cual explica la unión de precursores acíclicos o sustancias semejantes, las cuales pueden condensarse por mecanismo iónicos o radicales para dar lugar a diversos terpenos conocidos, uno de los puntos principales fué la regla del "isopreno" que ha sido extremadamente valiosa para la determinación de las estructuras de los terpenos, sobre todo en algunas fórmulas de los esqueletos básicos. Sin embargo, esto no significa que estos compuestos puedan sintetizarse exclusivamente con las unidades indicadas o que todos los terpenos o politer

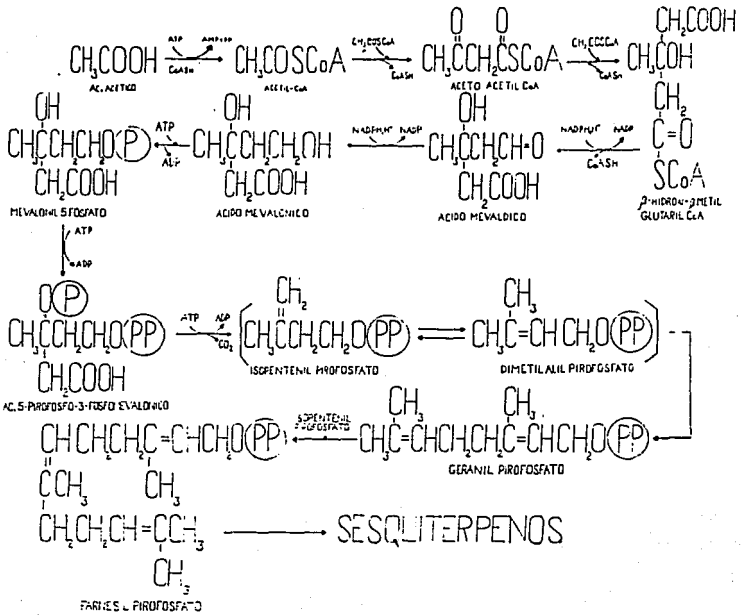
penos sigan estrictamente la regla del isopreno.

Un paso fundamental en este estudio, fué el descubrimiento del ácido mevalónico, a partir de su precursor 3 hidroxil-3 metil glutarato, el cual está formado por la condensación de una molécula de aceto acetato con una molécula de acetil coenzima A. En ésta ruta biosintética se involucra la condensación de ácido acético en tejidos, para la formación de acetil coenzima A y la aceto acetil coenzima A, la transformación del ácido mevalónico se lleva a cabo mediante la enzima mevalonato Kinasa, la adición suficiente de ATP para la transformación del ácido mevalónico-5-fosfato a ácido-mevalónico-5-pirofosfato, el cual posteriormente sufre una descarboxilación para la formación del isopentenil pirofosfato que es la unidad isoprenoide activa.

El isopentenil pirofosfato, sufre una isomerización reversible para la formación del dimetil alil pirofosfato, el cual actuando como un agente alquilante, se condensa con otra molécula de isopentenil pirofosfato dando lugar a la formación del geranil pirofosfato precursor de los monoterpenos.

A su vez, el geranil pirofosfato al condensarse con otra molécula de isopentenil pirofosfato da origen al farnesil pirofosfato y con esto da lugar a los sesquiterpenos. (Figura A).

FIGURA A
RUTA METABOLICA DE TERPENOS



I.3 ANTECEDENTES FITOQUIMICOS DE AGASTACHE MEXICANA.

Uno de los estudios considerados en esta tesis fué el de A. Manjarrez y V. Mendoza sobre la composición de aceites volátiles en Agastache mexicana.⁶

Reportándose a la mentona (46.75%), pulegona (39.8%) y citronelal (1.2%) como componentes de mayor porcentaje, estos componentes se identificaron en base a su tiempo de retención relativo al limoneno.

Sin embargo, el autor no especifica que tipo de planta empleó para su estudio (toronjil rojo o toronjil blanco) y desgraciadamente el ejemplar depositado en el herbario del Instituto de Biología de la UNAM no se ha podido localizar.

COMPUESTOS FLAVONOIDES.

Los compuestos flavonoides dan origen a numerosos pigmentos que poseen un esqueleto $C_6-C_3-C_6$, estos se encuentran extensamente distribuidos entre las plantas tanto en forma libre como en forma de glucósidos.

La gran variedad de compuestos flavonoides, se encuentran relacionados por un camino biosintético común con la incorporación de precursores provenientes del ácido shikímico o por la condensación del ácido cinámico con tres moléculas de malonil coenzima A. (Figura B).

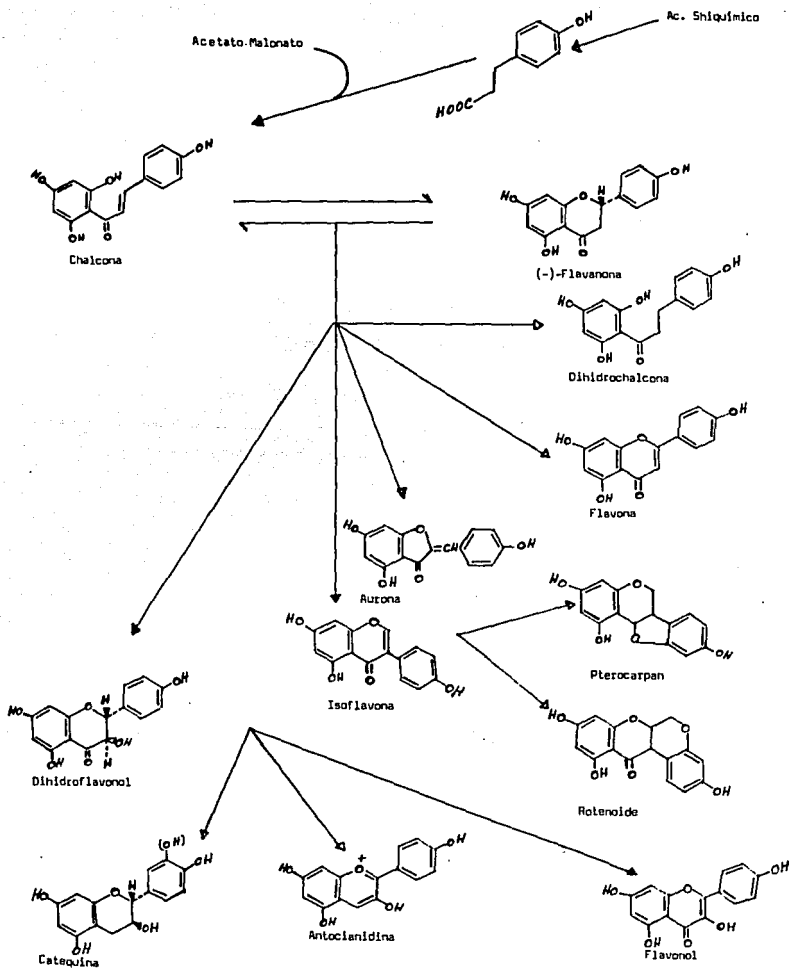


FIGURA B

Los flavonoides, pueden sufrir modificaciones, una adición o glucosidación como por ejemplo: la adición de un -- grupo hidroxílico, una reducción , metilación en sus grupos - hidroxílicos o en el núcleo flavonoide, una dimerización (bi-flavonoides), y lo más frecuente la glucosidación en los grupos hidroxílicos.

Los componentes flavonoides, contienen uno o más - azúcares unidos por enlaces hemiacetal lábil, hay sitios que contienen una glucosidación más frecuentemente; por ejemplo: 7-OH en las flavonas. isoflavonas, dihidroflavonas, 3-(5) en dihidroflavonoles e e hidroxiflavonoles y 3-(5) O-glicosil - en antocianidinas.

Los azúcares más comunes son la glucosa, la galactosa, ramnosa, xilosa y con menor frecuencia la arabinosa; el azúcar puede estar unido directamente al carbono llevando a cabo un ataque en el núcleo bencénico.

PIGMENTOS FLAVONOIDES.

Las sustancias coloridas, son las responsables de - los pigmentos de color naranja, escarlata y azul en la mayoría de las flores, son de tipo antocianidinas (perlargonidina, cianidinas, delphidina etc.,), ciertos tipos de flavonas relacionadas a la constitución de las flores, pueden actuar como co-pigmentos (proantocianidinas y procianidinas), dando una variación de color.

La variación de color de las antocianidinas se debe a una modificación de la molécula básica del pigmento, - por ejemplo: la cianidina (antocianidina), esta modificación puede ser una adición de un grupo hidróxilo, una metilación-acilación o glucosidación. La distribución de leuco-antocianidinas abre un campo de investigación interesante sobre su biogénesis y su posible función fisiológica. Hasta ahora so lo se ha especulado entre la relación de leucoantocianidinas y antocianidinas en plantas superiores.

Diversos estudios estructurales, han llegado a -- la teoría de que este tipo de compuestos se forman a partir del flavan 3-4-diol (leucoantocianidina), precursor que puede utilizarse para dar origen a las proantocianidinas y a antocianidinas.

Esta relación entre la biogénesis de proantocianidinas y antocianidinas fué propuesta por Dean en 1963 (7). Estas observaciones pueden ser correlacionadas con datos experimentales obtenidos por Grisebach, Frisburg, Haslam y Jacques⁸, los que proponen una ruta a partir de la biogénesis de flavonoides y sugieren una ruta para la formación de proantocianidinas y procianidinas. Donde se presenta una qui nona que actúa como intermediario la cual puede orientarse a dos rutas posibles:

I.- Para la formación de la cianidina (proantocianidinas), - primeramente sufre un rearrreglo de la molécula (oxidación) y posteriormente una protonación (reducción), se piensa que

dicha secuencia está asociada con la fuerte capacidad reductiva de NADH o NADPH en los tejidos de plantas superiores -- para la producción de proantocianidina.

2.- En esta ruta se encuentra involucrada una serie de reacciones en la cual se sugiere la producción de flavan-3-ol -- para la formación de la catequina, a través de la acumulación de intermediarios para su posterior transformación. La adición nucleofílica de la quinona de el dímero normal procianidina. (Figura C).

1.3a ANTECEDENTES FITOQUIMICOS DE AGASTACHE MEXICANA.

Otro estudio realizado para Agastache mexicana - Sección Brittonastrum, es el realizado por Sanders⁴, en una extensa tesis en la que se identifica un gran número de flavonas en el género Agastache y les atribuye un valor taxonómico. En este trabajo se describe como componentes de Agastache mexicana a la diosmetina, 6-7 dimetil éter, apigenina-6-7 dimetil éter y luteolina. Los antecedentes obtenidos por Sanders y J. Mabry⁹, se puede tomar como base para nuestro estudio al llevar a cabo la comparación química entre el tonjol rojo y blanco para tratar de ampliar el estudio de -- los componentes flavonoides contenidos en esta planta.

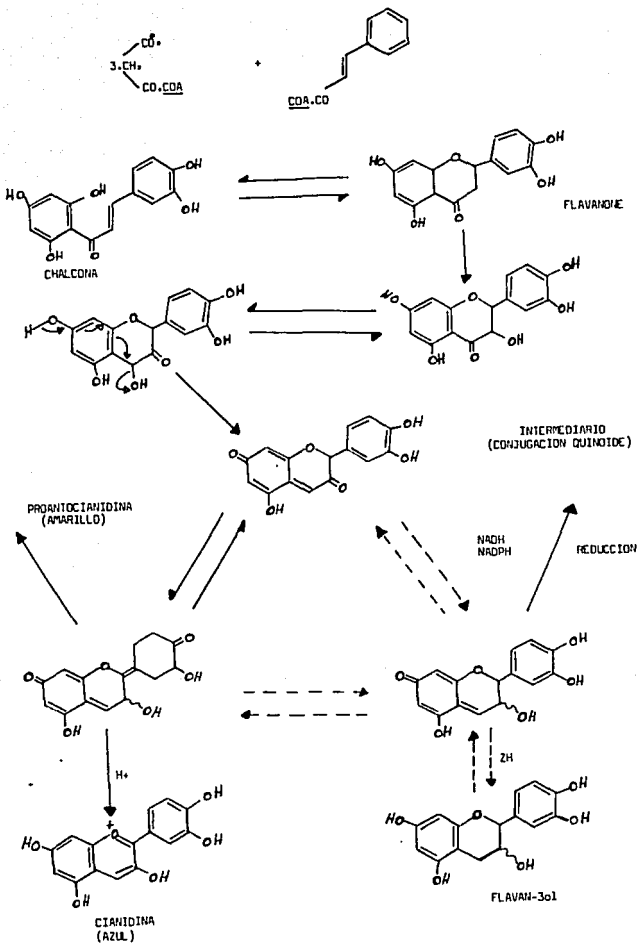


FIGURA C

1.4 SINONIMOS.

Dichas plantas se les conoce en Nahuatl como tlahuhuélt y tlalamáit.¹⁰

1.5 USOS.

El toronjil con sus tres variedades forman un complejo medicinal popular conocido desde la antigüedad por sus propiedades curativas de enfermedades gastrointestinales, -- nerviosas y cardiovasculares¹¹; también son utilizadas para padecimientos que se describen con los nombres populares de espanto o susto¹², usandko una infusión de los tres toronjiles después de la comida.

Farmacológicamente, la infusión del toronjil blanco produce efectos diferentes al toronjil rojo³. La infusión de 25g de hierba seca en 300 ml de agua bidestilada, reduce la contracción de la aorta, vesícula, músculo intestinal, -- así como del útero. También disminuye considerablemente las contracciones cardíacas en ranas¹³.

II METODOLOGIA

ACEITES ESENCIALES.

Tomando en cuenta que la composición de la esencia puede cambiar con la época de la recolección, la etapa de crecimiento en la que se encuentre, el lugar geográfico o bien, a pequeños cambios genéticos, se utilizaron dos diferentes recolecciones; tanto para el toronjil rojo como para el toronjil blanco, estas colectas fueron hechas de la Cuenca de México (ambas en floración).

PRIMERA RECOLECTA.

Planta silvestre anual del mes de agosto, haciendo uso de toda la planta (hoja, tallo y flor), para toronjil rojo y blanco.

SEGUNDA RECOLECTA.

Planta recolectada en el mes de octubre, se utilizó toda la planta (hoja, tallo y flor).

Los aceites esenciales se obtuvieron mediante una destilación por arrastre con vapor tanto para el toronjil rojo como para el blanco, el material vegetal se trabaja sin secar.

En vista de la importancia atribuida a los compuestos con grupos carbonílicos, se decidió estudiar los aceites esenciales en condiciones tales, que se pudieran distinguir estos compuestos a través de la formación de algunos derivados.

Se le sometió a dos diferentes tratamientos:

- a) Tratamiento con bisulfito de sodio.
- b) Tratamiento con reactivo de Girard.

En el tratamiento con bisulfito de sodio, se preparó una solución acuosa de bisulfito de sodio al 20%, agregándole 10 ml. de aceite esencial, con agitación durante 30 minutos y se extrajo con cloruro de metileno, el disolvente se evaporó, quedando el aceite esencial al cual se le efectuó la cromatografía de gases.

En el segundo tratamiento, a 100 mg. de muestra, se le adicionó el reactivo de Girard en exceso, se le agregó 10 ml. de metanol, 100 mg. de acetato de sodio disuelto en la mínima cantidad de agua y se refluja dos horas, se diluye con agua y se ajusta a un PH 2-4, posteriormente, se extrae con cloruro de metileno, el cual se evapora y se vuelve a practicar la cromatografía de gases, junto con aceites esenciales sin tratamiento. La porción soluble en agua se conserva para recuperar de ella los componentes carbonílicos.

Estos tratamientos se aplicaron tanto para el -- toronjil rojo como para el blanco, en las mismas condiciones para poder llevar a cabo la comparación de componentes químicos de ambas plantas.

COMPONENTES DI Y TRITERPONOIDES.

Este tipo de componentes son más o menos comunes en este tipo de plantas.

Nuestro estudio consistió en una separación de varios extractos, separando hoja, tallo y flor utilizandose disolventes de mayor o menor polaridad tales como: Hexano, Acetato de Etilo, Acetona, Cloruro de metileno y Metanol, llevándose un control a través de cromatografía en placa fina, usando como revelador sulfato cérico.

Durante el control de las placas se observó que en los extractos de tallo y hoja, una fracción se queda en los puntos de aplicación en la base de la placa, por lo que se procedió a acetilar esta fracción; con objeto de disminuir la polaridad de los componentes existentes en el extracto, facilitando su separación e identificación con respecto al extracto de la flor no hubo necesidad de acetilar, pues no presentaba una porción de alta polaridad.

La acetilación se lleva a cabo en un matraz de bola de 100 ml., al extracto de hoja y tallo se les agrega una cantidad aproximada de 50 ml. de piridina así como la adición lenta de anhídrido acético (reacción exotérmica), se refluja dos horas, después de ese tiempo se diluye con metanol en frío concentrándose en un rotavapor, se hace las veces necesarias este procedimiento, hasta la eliminación total de la piridina llevándose control en placa.

La muestra acetilada se somete a una cromatografía en columna de 55 cm. de largo con 1.5 cm. de diámetro en las condiciones usuales, utilizando fluorosilicato como soporte y se emplea eluyentes de menor a mayor polaridad (Hexano, Acetato de Etilo, Acetona, Cloruro de metileno, Metanol), -- llevándose control por placa fina.

COMPUESTOS FLAVONOIDES.

De los primeros extractos obtenidos, el extracto metanólico de la flor, se sometió a una percolación-utilizándose sílica gel como absorbente, empleando eluyentes de mayor a menor polaridad, así como mezclas de estos; se observó que en dicha percolación no hubo buena separación, por lo que se procedió a extraer por columna flash, utilizándose como soporte sílica gel; se utilizan como eluyentes Hexano al 100%, Hexano: Acetato de etilo 90:10, 80:20, 70:30 y 60:40.

Para ampliar el estudio de los compuestos flavonoides existentes, tanto en el toronjil rojo como en el toronjil blanco y poder comparar entre ambas plantas, se siguió la técnica utilizada por J. Mabry⁹, para la identificación de flavonas.

Dichas técnicas consisten en una cromatografía en papel bidimensional en la cual, la primera dimensión se utiliza un sistema de terbutanol-ácido acético- agua -- (3:1:1) TBA y en la segunda dimensión ácido acético al 15%.

Esta técnica se llevó a cabo para los extractos metanólicos de tallo, tanto para el toronjil rojo como para el toronjil blanco.

PIGMENTOS.

La flor del toronjil rojo, presenta un color rojo púrpura, esto indica la presencia de pigmentos, por lo cual se procede a variar la secuencia del estudio de estas plantas.

Al extracto metanólico de la flor, se somete a un tratamiento con ácido clorhídrico al 10%, dejándose en reposo por lo menos 24 hrs., para una mejor extracción en frío. Todo esto se lleva con los cuidados necesarios, ya que debe estar bien cubierto el matraz con papel aluminio, con el fin de proteger nuestro extracto de la luz, ya que estos componentes (pigmentos) tienden a descomponerse rápidamente; posteriormente se procede a concentrar en el rotavapor a 40° C, se lleva un control por placa fina, utilizándose un sistema de butanol-ácido acético-agua (4:1:5), observándose mediante fluorescencia con luz ultravioleta la aparición de 3 zonas perfectamente definidas y separadas (todo este procedimiento se lleva a cabo en un cuarto oscuro).

III. RESULTADOS

PRIMERA RECOLECTA.

Toronjil rojo: Se obtuvo un aceite de color anaranjado con aroma penetrante de olor anisado y no muy denso.

Toronjil blanco: Se obtuvo un aceite de color amarillo claro, su aroma es más suave de olor a limón y no muy denso.

Estos resultados se obtuvieron paralelamente (toronjil rojo y toronjil blanco).

Ambos se someten a una cromatografía de gases utilizándose un cromatógrafo Perkin-Elmer modelo Sigma No. 1, equipado con una columna carbowax 20-M al 20%, utilizando un flujo de nitrógeno a una velocidad de 25 ml./min., la temperatura de la columna se varia entre 60 a 180°C, temperatura del inyector a 60°C y la del detector de ionización de flama a 180°C, en base al cromatograma obtenido, se observa que con respecto al:

Toronjil rojo: Aparece un total de 39 componentes de los cuales 11 coinciden con el toronjil blanco.

Toronjil blanco: Aparece un total de 46 componentes de los cuales 11 coinciden con el toronjil rojo.

Los compuestos fueron determinados en base al tiempo de retención del limoneno, solo se identificó componentes que se encuentran en mayor porcentaje bajo la curva.

Estas mismas muestras se mandaron posteriormente a cromatografía líquido-líquido de alta precisión para una confirmación de resultados.

Se utilizó un detector de ultravioleta (254 nm), detector para componentes flavonoides. (Espectro No. 1)

TORONJIL ROJO

Se presentan 6 componentes como principales, de los cuales 3 son comunes.

(TR. 1.0, 1.9, 3.8) al toronjil blanco.

TORONJIL BLANCO

Se presentan 12 componentes principales, de los cuales 3 son comunes.

(TB. 1.0, 1.9, 3.8) al toronjil rojo.

En el detector de índice de refracción utilizando una columna micropak M-CH-10 en metanol - agua (45:55) a un flujo de 100 ml./hr. (detector para di y triterpenos encontramos en (Espectro No. 2)

TORONJIL ROJO

Aparece un componente como principales, que no coincide en tiempo de retención con ninguno de los que presenta el toronjil blanco.

TORONJIL BLANCO

Aparecen 4 componentes como principales. (TB. 0.5, 0.6, 1.3, 2.7).

T A B L A I

COMPONENTES DE MAYOR CONCENTRACION EN EL TORONJIL ROJO

<u>COMPONENTES</u>	<u>CONCENTRACION</u>
- α TERPINENO	9.98 %
- β TUYENO	9.26 %
- α PINENO	7.86 %
- CAMFENO	3.56 %
- SABINENO	.82 %
- β PINENO	.76 %
- TERPINOLENO	.76 %
- β BISABOLENO	.50 %
- URSOLICO	.46 %
- α BISABOLENO	.43 %

T A B L A I I

COMPONENTES DE MAYOR CONCENTRACION EN EL TORONJIL BLANCO

<u>COMPONENTES</u>	<u>CONCENTRACION</u>
- ISOPULEGONA	44.12 %
- PULEGONA	28.73 %
- α TERPINENO	5.10 %
- ρ CINEOL	2.56 %

T A B L A I I I
COMPONENTES COMUNES EN EL TORONJIL ROJO Y BLANCO

<u>COMPONENTES</u>
- α -TUYENO
- α -PINENO
- SABINENO
- β -PINENO
- CANFENO
- 1,8- CINEOL
- ISOPULEGONA
- GUAYACOL
- EUGENOL
- β -BISABOLENO
- α -BISABOLENO

SEGUNDA RECOLECTA.

Toronjil rojo: Se obtiene un aceite de color anaranjado claro con aroma penetrante no muy denso.

Toronjil blanco: El aceite obtenido es de color amarillo intenso y su aroma es más penetrante que el del toronjil rojo.

TORONJIL ROJO

Se encontraron 46 componentes de los cuales 14 son comunes con el toronjil blanco.

TORONJIL BLANCO

Se encontraron 31- componentes de los cuales 14 son comunes con el toronjil rojo.

COMPONENTES TERPENOIDES.

Al estudiar las fracciones resultantes de los extractos de Acetato de etilo, Cloruro de metileno al 100%, Hexano: Acetato de etilo 60:40, se observó la aparición de manchas que se revelaron con sulfato cérico, y por su valor de Rf se dedujo que se trata de ácido Ursólico, Sitosterol y ácido Oleanólico (se utilizaron muestras estándares de referencia para comprobar).

Estos compuestos son comunes tanto en el toronjil rojo como en el toronjil blanco.

T A B L A I V

COMPONENTES DE MAYOR CONCENTRACION EN FLOR

<u>TORONJIL ROJO</u>		<u>TORONJIL BLANCO</u>	
- PULEGONA	36.14 %	- ISOPULEGONA	36.87 %
- ISOPULEGONA	30.75 %	- PULEGONA	21.77 %
- CITRONELAL	4.41 %	- CITRONELAL	9.55 %
- MENTONA	3.68 %	- LINALOL	7.45 %
- GERANIOL	.45 %	- ACETATO DE	
- NERAL	.10 %	BORNILO	4.54 %

T A B L A V

COMPONENTES DE MAYOR CONCENTRACION EN LA HOJA Y TALLO

<u>TORONJIL ROJO</u>		<u>TORONJIL BLANCO</u>	
- ISOPULEGONA	30.75 %	- ISOPULEGONA	38.56 %
- TUYENO	6.63 %	- CITRONELAL	15.99 %
- MENTONA	3.69 %	- PULEGONA	13.40 %
- LINALOL	.79 %	- LINALOL	6.69 %
- ANTRANILATO DE METILO	.36 %	- ACETATO DE BORNILO	4.97 %
		- PINENO	2.04 %
		- ACETATO DE LINALILO	.48 %

T A B L A V I
 COMPONENTES COMUNES ENTRE EL TORONJIL ROJO Y EL BLANCO

TORONJIL ROJO		TORONJIL BLANCO	
- PULEGONA	36.2 %	- ISOPULEGONA	38.6 %
- ISOPULEGONA	30.8 %	- PULEGONA	21.8 %
α - TERPINEOL	3.3 %	- ACETATO DE	
β - TERPINEOL	3.0 %	LINALILO	9.88%
- SALICILATO DE		- LINALOL	7.4 %
METILO	2.8 %	- LIMONENO	2.74%
- ACETATO DE		β - TERPINEOL	1.4 %
LINALILO	1.5 %	α - TERPINEOL	1.4 %
- LINALOL	0.79%	α - FELANDRENO	0.95%
- LIMONENO	0.58%	- NEROL	0.28%
- GERANIOL	0.50%	- GERANIOL	0.2 %
- NEROL	0.35%	- CAMFENO	0.13%
α - FELANDRENO	0.19%	- SALICILATO DE	
- CAMFENO	0.18%	METILO	0.09%
β - CINENO	0.14%	- SABINENO	0.08%
- SABINENO	0.04%	β - CINENO	0.03%

NOTA: Los datos se tomaron de los extractos de -
 hoja y flor, tanto para el Toronjil Rojo -
 como Blanco.

T A B L A V I I I

DISMINUCION DE COMPONENTES EN EL TORONJIL ROJO Y TORONJIL BLANCO

TORONJIL ROJO		TORONJIL BLANCO	
- GERANIOL	64.43 %	- OXIDO DE	
α, β - TERPINEOL	15.89 %	LINALILO	58.59 %
- NEROL	11.44 %	- TERPINOLENO	39.43 %
- ESTRAGOL	9.4 %	α - FELANDRENO	0.80 %
- ANTRANILATO DE		ρ - CIMENO	0.12 %
METILO	7.08 %	α - TERPINENO	0.11 %
- SALICILATO DE			
METILO	2.91 %		
- CITRONELAL	1.15 %		
- PULEGONA	0.10 %		

NOTA : En base a los resultados obtenidos del aceite esencial, tratado con el reactivo de Girard, se observa una disminución de componentes Carbonílicos en el Toronjil Rojo, y para el Toronjil Blanco la menor participación de estos.

T A B L A V I I

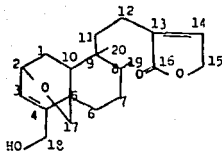
COMPONENTES NO COMUNES AL TORONJIL ROJO Y BLANCO

TORONJIL ROJO		TORONJIL BLANCO	
- TUYENO	6.63 %	- ACETATO DE	
- TUYONA	6.14 %	BORNILO	0.49 %
- MENTONA	3.69 %	- OXIDO DE	
- ESTRACOL	0.46 %	LINALILO	0.2 %
- ANTRANILATO DE			
NETILO	0.36 %		

Entre los componentes diferentes tenemos:

TORONJIL ROJO: Triterpeno " X " (no identificado)

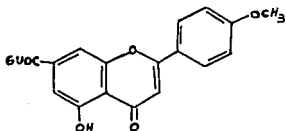
TORONJIL BLANCO: 18-hidroxi-2, 19, epoxibiciclo-8-R-breviflora lactona.



COMPONENTES FLAVONOIDES.

En las fracciones obtenidas de los extractos de la mezcla de Hexano: Acetato de etilo 60:40, se pudo observar mediante la placa cromatográfica una mancha, que por su fluorescencia con luz ultravioleta y que al ser revelada con sulfato-cérico presenta una mancha color amarillo claro. Por su R_f parece ser una flavona, por lo que se procedió a su aislamiento y purificación; una vez obtenidos los cristales se procedió a tomar su punto de fusión, el cual fué de 265° - 268° , posteriormente se sometió a un análisis espectroscópico de I.R. y U.V. y se identificó como 7-O-Glucósido de Acetina.

Se pudo observar en el espectro de U.V. (Espectro - No. 3)

3 Máx. 209, 266, 322 μ 3 Mín. 242.270. 371 μ 

Tomándose en consideración los estudios de Mabry⁹, así como la comparación de resultados con los de Sanders⁴, se obtuvieron del análisis por cromatografía en papel de los extractos metanólicos los siguientes resultados: Existe un mayor número de componentes flavonoides en el toronjil rojo, al ser expuestos a la luz ultravioleta de onda larga, se observan colores como amarillo, amarillo verdoso etc., que se piensa que sean de tipo antocianidinas por su coloración en el papel. En tanto que en el toronjil blanco predominan manchas de color azul. por lo que se piensa que sean componentes de tipo flavona y dihidroflavona; comparando nuestros resultados con los de Sanders⁴, y -- tomando en base la posición de la mancha se observa que en:

TORONJIL ROJO

Coinciden en posición con el

TORONJIL BLANCO

No coinciden con nin

- | | |
|----------------------------|----------------------|
| - Kamferol-3-O-Galactósido | guno, en comparación |
| - Kamferol-3-O-Rannósido | con los resultados - |
| en comparación con los - | de Sanders. |
| resultados de Sanders. | |

Tomando en consideración los resultados obtenidos por Mabry únicamente coinciden:

TORONJIL ROJO

- Acacetina-7-O-Glucósido
- Diosmetina-7-O-Glucósido
- Apigenina
- Luteolina

TORONJIL BLANCO

- Acacetina-7-O-Glucósido.

(Figura 3 y 4)

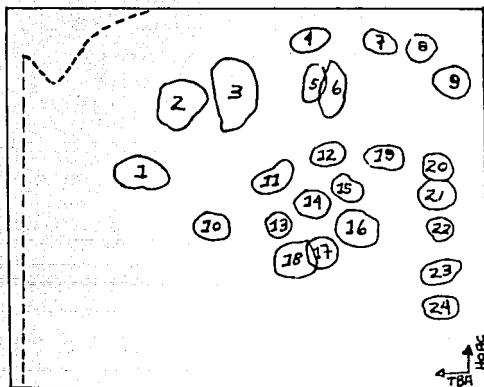
COMPONENTES FLAVONOIDES DIFERENTES.

TORONJIL ROJO

- Pigmentos (Antocianidinas)

TORONJIL BLANCO

- Acetato de Crisina
- PratoI (aislado como acetato).



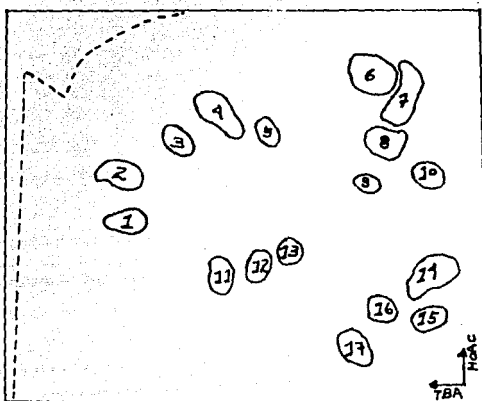
Cromatografía en papel bidimensional del toronjil
rojo.

No. de Manchas

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19

Color en U/V

rojo (Acacetina-7-0-G)
azul
amarillo-verdoso
absorción
azul
amarillo-verdoso
absorción
verde
verde
azul
azul
verde
rojo
amarillo-verdoso
amarillo-verdoso
azul
azul
verde
azul



Cromatografía en papel bidimensional del toronjil
blanco

<u>No. de Mancha</u>	<u>Color en U/V</u>
1	absorción (Acetona-7-O-G)
2	Absorción
3	azul
4	azul
5	azul
6	amarillo-verdoso
7	amarillo-verdoso
8	azul
9	azul
10	azul
11	azul
12	azul
13	azul
14	amarillo-verdoso
15	verde
16	verde
17	verde

Con respecto a los pigmentos que se encuentran en el tronchil rojo se observan 3 zonas bien definidas:

- Mancha de color rojo con un Rf de 0.21
- Mancha de color azul con un Rf de 0.18
- Mancha de color amarillo con un Rf de 0.13

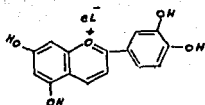
Los cuales se aislaron cada uno por separado e identificaron por espectroscopía en U.V. y en visible.

En el cromatograma obtenido de la mancha de color rojo se observó:

4 Max 415, 311, 822 y 844 μ

2 Min 431, 623 μ

y un hombro en 544 μ dichas señales corresponden al compuesto conocido como Cianidina (Espectro No. 6)

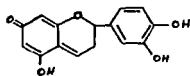


Del cromatograma obtenido de la mancha amarilla se observó:

1 Max. a 384 μ

1 Min. a 312 μ

y un hombro a 513 μ , dichas señales corresponden a un compuesto conocido como proantocianidina. (Espectro No. 7)



IV ESPECTROS

PRIMERA RECOLECTA

<u>TIEMPO</u>	<u>TRR</u>	<u>C</u>	<u>NOMBRE</u>
1.52	0.15	9.36	α - Tujeno
1.81	0.17	7.56	β - Pineno
1.91	0.19	0.82	- Sabineno
2.21	0.22	0.76	β - Pineno
3.71	0.37	0.75	- Camfeno
4.36	0.43	0.32	β - Felandreno
4.95	0.49	0.11	- 1,8 Cineol
5.1	0.53	0.23	- Limoneno
5.61	0.56	9.98	β - Terpineno
7.60	0.76	0.76	- Isopulegono
10.88	1.08	1.18	- Guayacol
11.29	1.12	1.39	- Eugenol
11.72	1.17	0.50	β - Bisaboleno
12.22	1.22	0.43	α - Bisaboleno
28.89	2.88	0.46	- Ursólico

TIEMPO = Minutos

TRR = Tiempo de retención relativa, en base al limoneno.

C = Concentración en % del área bajo la curva.

SEGUNDA RECOLECTA

<u>TIEMPO</u>	<u>TRR</u>	<u>C</u>	<u>NOMBRE</u>
2.59	0.25	0.36	-Tuyeno
2.94	0.29	0.25	α -Fineno
3.83	0.38	0.16	-Camfeno
4.39	0.43	0.19	α -Felandreno
5.49	0.54	0.15	α -Terpineno
5.92	0.59	0.14	ρ -Cimeno
6.65	0.66	0.58	-Limoneno
14.01	1.40	6.14	-Tuyona
15.61	1.56	2.25	-Mentona
16.84	1.68	1.69	ρ -Cimeno
18.67	1.86	27.36	-Isopulegona
20.77	2.07	3.39	-Pulegona
24.56	2.45	2.90	-Eugenol
25.50	2.55	2.75	-Guayacol
26.02	2.60	3.19	β -Bisaboleno
28.29	2.82	0.40	α -Bisaboleno

Tiempo = Minutos

TRR = Tiempo de retención relativa, en base al limo -
neno.

C = Concentración en % del área bajo la curva.

TORONJIL ROJO TRATADO CON EL
REACTIVO DE GIRARD

<u>TIEMPO</u>	<u>TRR</u>	<u>C</u>	<u>NOMBRE</u>
3.60	0.22	0.10	- Pulegon
14.17	0.89	9.42	- Estragol
15.89	0.92	3.32	∞ - Terpineol
17.10	1.09	2.91	- Salicilato de metilo
17.69	1.11	1.15	- Citronelal
18.35	1.15	7.08	- Antranilato de metilo
18.76	1.18	11.44	- Nerol
19.99	1.25	64	- Geraniol

TIEMPO = Minutos

TRR = Tiempo de retención relativa, en base al limoneno.

C = Concentración en % del área bajo la curva.

TORONJIL ROJO TALLO-HOJAS
(TRATADO CON BISULFITO DE SODIO)

<u>TIEMPO</u>	<u>TRR</u>	<u>C</u>	<u>NOMBRE</u>
1.77	0.77	6.63	- Tuyenol
14.96	1.49	3.69	- Mentonol
16.00	1.60	0.79	- Linalol
20.07	2.00	30.75	- Isopulegona
31.73	3.17	0.36	- Antranilato de metilo

TIEMPO = Minutos

TRR = Tiempo de retención relativa, en base al lino -
neno.

C = Concentración en % del área bajo la curva.

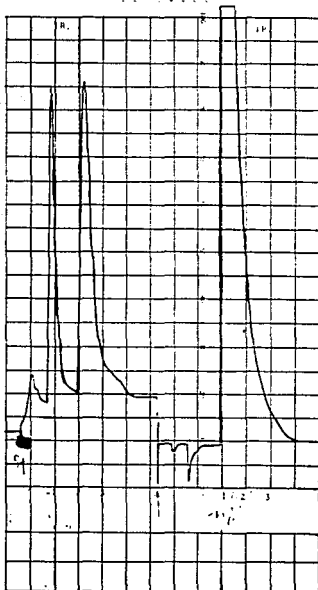
TORONJIL ROJO FLOR

<u>TIEMPO</u>	<u>TRR</u>	<u>C</u>	<u>HOMBRE</u>
16.49	1.64	0.35	- Nerol
17.75	1.77	0.45	- Geraniol
14.96	1.49	3.68	- Mentona
18.75	1.87	4.41	- Citronelal
20.07	2.00	30.75	- Isopulegona
22.23	2.22	36.12	- Pulegona

TIEMPO = Minutos

TRR = Tiempo de retención relativa, en base al limoneno.

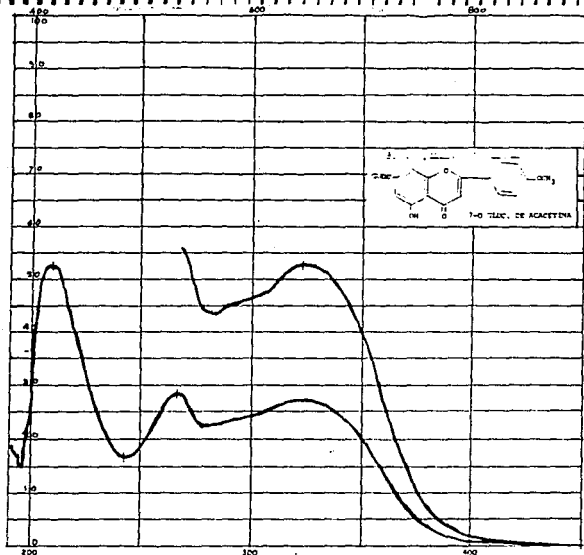
C = Concentración en % del área bajo la curva.



(SPECTRO No. 1)



(ESPECTRO No. 11)



PERKIN ELMER

1964

TR-EMF

Ch. E. Jones

100-1000

100-1000

sol. in Chloroform

100-1000

sol. in Chloroform

100-1000

min 248, 270-311 P. 100-1000

max 284, 286-288

7-O ACETINA 748-754

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

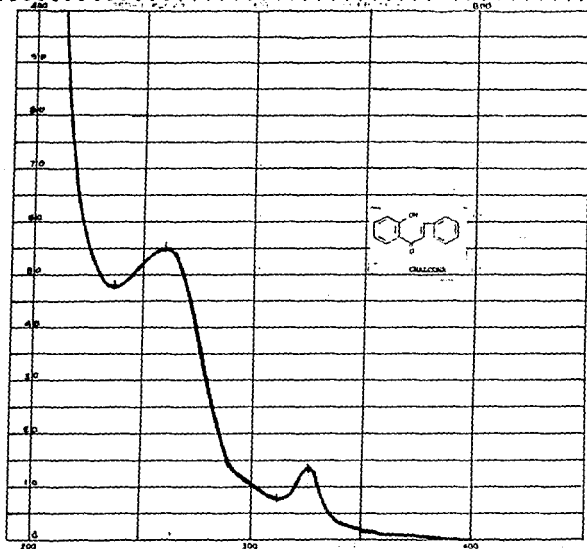
100-1000

100-1000

100-1000

100-1000

100-1000



PERKIN-ELMER

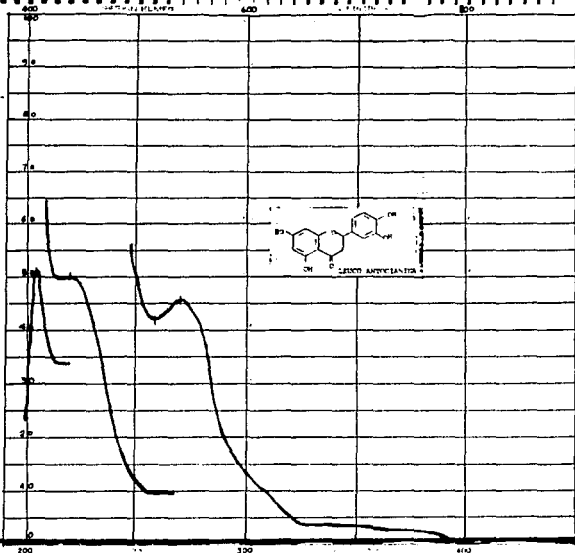
MODEL NO. 521
 SERIAL NO. 521

WAVELENGTH RANGE 2.5-40 μm
 RESOLUTION 10-100 cm⁻¹

ACCESSORY

REFERENCE

REMARKS:
 MAX 515 520 525
 MIN 515 520



PERKIN-ELMER

INSTRUMENT *521*

MODEL *7-113*

C.F. 5-13

DATE OF TEST

PATH LENGTH (CM) OTHER

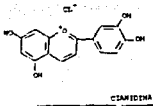
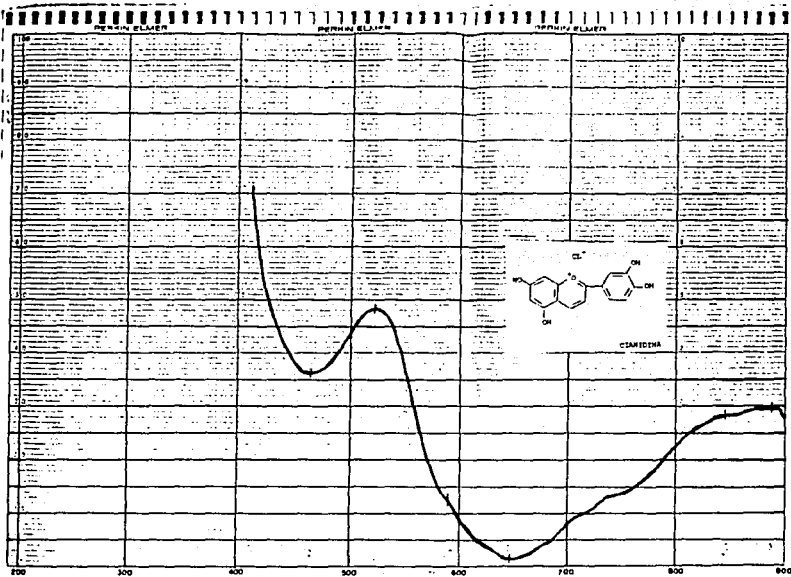
CONC. *100*

ACCESSORY

REMARKS *Moist*

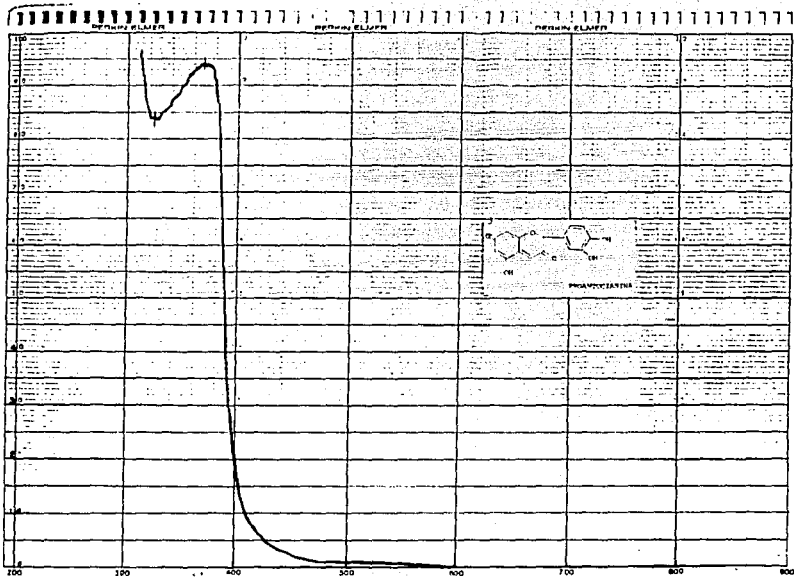
NAME *Leuco-antocyanin*

LEUCO-ANTOCYANIN
 No. - 750 870 880
 M.P. - 500



PERKIN-ELM

INSTRUMENT NO. 750
 DATE 7/21/57
 SAMPLE NO. 3830
 IDENTIFICATION CLASSIFIED
 PREPARED BY W.C. CHER
 CLIENT Sylvania
 RECEIVED
 OFFICE Sylvania
 ICARDS sub
Sylvania
 ANAL. NO. 481-88
 10-11 14 15
 INSTRUMENT NO. 750
 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16
 100 200 300 400 500 600 700 800



PERKIN-ELM.

INSTR. NO. 1588
 SAMPLE PREPARED BY D. J. ...
 CONCENTRATION _____
 PATHLENGTH 10 CM.
 SOLVENT CHCl₃
 REFERENCE _____
 IDENTIFY Proalicyclanil
 SOURCE ...
 DATE ...
 ANALYST ...
 TITLE ...
 DEPT. ...
 DIV. ...
 FILE NO. ...

V. DISCUSION DE RESULTADOS

DISCUSION DE RESULTADOS.

Los resultados obtenidos en el estudio general del que forma parte este trabajo indica diferencias en algunas - características taxonómicas, así como farmacológicas entre - el toronjil rojo (Agastache mexicana) y toronjil blanco (Agastache mexicana subespecie xolocatziana).

En relación a los aceites etenciales, se encontraron en el toronjil rojo 46 componentes, de los cuales 14 son comunes al blanco, este último, presenta 31 componentes.

Dentro de los compuestos identificados en aceites- esenciales en el presente trabajo, y que no son comunes a - ambas subespecies, tenemos 5 en el toronjil rojo y 3 en el - blanco.

La comparación de los resultados obtenidos en el estudio del toronjil rojo y blanco, permiten establecer como componentes principales a los siguientes y se comparan - también con los compuestos principales descritos por A. Man- jarrez et al (6).

Agastache mexicana (6)

- Mentona	46.75%
- Pulegona	39.8 %
- Citronelal	1.2 %

TORONJIL ROJO (Agastache mexicana)

- Pulegona	36.2 %
- Isopulegona	30.8 %
- Mentona	3.69%
- Citronelal	4.41%

TORONJIL BLANCO (Agastache mexicana var. xolocotzi)

- Isopulegona	38.56 %
- Pulegona	21.8 %
- Citronelal	15.99 %

Los componentes principales descritos anteriormente coinciden mejor con los del toronjil rojo, del presente estudio aunque aún en este caso hay diferencias notables.

Dentro de los componentes di y triterpenoides tenemos a un neo clerodano (18-hidroxi-2,19, epoxibiciclo-8-R-breviflora lactona) que se aisló e identificó en el toronjil blanco, éste se considera un factor importante desde el punto de vista quimiotaxonómico ya que se ha aislado en algunas especies de labiadas.¹⁴

En cambio en el toronjil rojo, se encontró un triterpeno que no se pudo identificar. Existen otros componentes aislados del toronjil blanco diferentes al rojo, como por ejemplo: Crisina (aislado como acetato) y Pratul (aislado como acetato).

Estos componentes marcan una diferencia quimiotaxonómica para estas subespecies, en cambio el Acido Ursólico el Acido Oleanólico y el β -Sitosterol son componentes presentes en ambos toronjiles, pero en mayor concentración en el rojo.

Con respecto al estudio realizado en cromatografía en papel llevada a cabo en las dos plantas se pudo distinguir nuevamente diferencias muy notorias en la composición química y al ser comparadas con los resultados obtenidos por Sanders distinguimos en el toronjil rojo un mayor número de componentes 24, en los que muchos son de tipo antocianidinas o preantocianidinas. En cambio en el toronjil blanco tenemos un menor número de componentes 17, en donde la mayoría son de tipo flavonas, isoflavonas, dihidroflavonas y flavonoles.

Dentro de los componentes flavonoides tenemos como componentes comunes tanto en el toronjil rojo como en el blanco a la Acacetina 7-O-Glucósido, como componentes resultantes de la cromatografía en papel que coincide en propiedades como color de la fluorescencia y Rf, también tenemos al Kamferol 3-O-Galactósido y al Kamferol 3-O-Ramnósido, además de la Acacetina 7-O-Glucósido.

En el toronjil blanco no se pudo encontrar ninguna coincidencia excepto para la Acacetina 7-O-Glucósido; Por lo que nos permitimos suponer que Sanders no estudió al toronjil blanco, sino posiblemente solo al rojo.

VI. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES.

A lo largo de este estudio se observaron muchas diferencias entre estas dos subespecies⁴, el toronjil blanco presenta algunas diferencias taxonómicas con respecto a Agastache mexicana¹.

Farmacológicamente presenta efectos opuestos al toronjil rojo, así como amplias diferencias en su composición química considerándose éstas como una amplia diferencia taxonómica entre el toronjil rojo y blanco.

Todo esto nos lleva a confirmar que estas dos plantas son dos subespecies diferentes, efectivamente recientemente se ha clasificado al toronjil blanco como Agastache mexicana subespecie xolocotziana, reservándose el nombre de Agastache mexicana para la variedad roja.

VII. BIBLIOGRAFIA

1. Contreras, Trajo, B. Metabolitos secundarios aislados del toronjil blanco, *Arastache S.P.* (tesis. et. al. 1986). Instituto de Química, UNAM. Méx. D.F.
2. Bye, R., and E. Linares. 1983. The role of plants in the mexicana - markets and their importance in ethnobotanical studies, Journal of Ethnobiology 3 (1) : 1-13.
3. R. Bye, E. Linares, T.P. Ramamoorthy, F. García. O. Collera, G. Palomino y V. Corona. *Arastache mexicana* Subespecie xolocotziana (Lamiaceae), A new taxon from the mexican medicinal plants. Contribución No. 02510 UNAM. México, D.F. 1987.
4. R. W. Sanders A systematic study of *Arastache mexicana* section - *Krittonastrum*. (Lamiaceae, Nepetae). Austin Texas University. 1979.
5. Ruzicka, L. *Experientia* 9. 357 (1953).
6. A. Manjarrez y V. Mendoza. The volatile oil of *Arastache mexicana*. Contribución No. 225, of Instituto de Química, UNAM, México, D.F.
7. Dean, F.M. (1963), Naturally occurring oxygen ring compounds, p. - 427 Betterworth, London.
8. Grisebach, H. (1968), In recent advances in phytochemistry (T. J. - Mabry, V.C. Runickles and R.E. alston eds). p. 379 Appleton Century New York.
9. T. J. Mabry., K.R. Markham and M.B. Thomas. The systematic identification of flavonoids. Berlin-New York (1978).
10. R. Bye Tés curativos de México. Ed. Fonart. 1983
11. Baytelman 1979, Gali 1984, Gonzalez 1981.
12. Gonzalez 1981, Sandoval 1977. Ecología humana y etnobotánica de un pueblo campesino de la Sierra Nevada, Méx. Santa Catalina del Norte. Tesis profesional, Facultad de Ciencias UNAM.

13. Galindo Manrique, Y. 1982. Estudio farmacológico de algunas plantas medicinales reportadas popularmente por la población mexicana para el tratamiento de padecimientos cardiovasculares, México, D.F. Tesis de Biología, escuela nacional de estudios profesionales, Iztacala, UNAM.
14. Cuevan, G. Estudio químico de Salvia Breviflora 1986. Instituto de Química de UNAM.
15. Chavez Carplo, C.Y. 1986. Preparación vegetativa de toronjil morado (Agastache mexicana (HBK) Lint & Epling) and toronjil blanco (Agastache sp). Tesis Biología Facultad de Ciencias, UNAM.
16. Tarvovina, P. A., Gibbs, M.H. and Huff, J.W.J. Am. Chem. Soc. 78, - 4498, (1956).
17. Folkers, K., Shunk, C.H., Linn, B.O. Robinson, F.M. Wittreich P.E., Symposium of Biosynthesis of terpenes and sterols p. 20, J. & A. - Churchill, LTD, London (1959).
18. Bloch, K. In Biochemistry of steroids, p. 50. Proc. 4 the internatl congr. Biochem Ed. e. Mosseting, Pergamon Press, New York, (1959).
19. Domínguez, Xorge A., Métodos de Investigación fitoquímica. Ed. -- Limusa (1979).
20. Wolf. D.E. Hoffman, C.H. Aldrch, P.E. Skeggs, Hr., Wrigt L. D. and Folkers, K. J. Am Chem. Soc. 78, 4499 (1956).
21. Braitwaite, G.B. and Goodwin, T.W. Biochem. J. 67, (1957).
22. Tchen, T.T. J. Am Chem. Soc. 19, 63445, (1957).
23. Henning, U., Moselein, E.M. and Lynen, F. Arch, Biochem., Ed. E. -- Mosetting, Pergamon Press New York, (1958).

24. Lynen, F. Eggers, H., Henning, J. and Kennel, I. Angew. Chem. 70, 738 (1958).
25. Peter Bernfeld. Biogenesis of Natural Compounds, Ed. Mac millan Company. (1963).
26. Yoshiro Masada, Analysis of Essential Oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. Ed John Wiley & Sons, Inc, (1976).
27. Ernest Guenther, P.H.D. The Essential Oils. Vol. I. Ed. D. Van Nostrand Company. Inc. (1950).
28. Rye, R. A., 1979 Incipient Domestication of Mustards in North West-México. Kiva 44 (2-3) : 237-256.
29. Tarvoina, P.A., Gibbs, M.H. and Huff, J. Am Chem. Soc. 78, 6210 -- (1956).