



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.**

**Facultad de Estudios Superiores  
IZTACALA**

**“ESTUDIO DE ALCALOIDES MAYORITARIOS EN  
*Neobuxbaumia tetetzo*”**

**T E S I S**

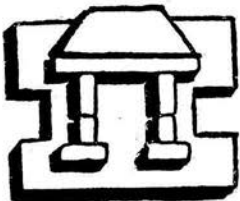
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :

**B I Ó L O G O**

P R E S E N T A :

**LETICIA GÓMEZ FLORES.**

DIRECTOR DE TESIS: M. en C. CÉSAR M. FLORES ORTÍZ.



**IZTACALA**

LOS REYES IZTACALA. TLALNEPANTLA. MÉXICO 2002



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



U.N.A.M. CAMPUS

A MIS PADRES:

Isaías y Coco.

Por estar siempre junto a mi.  
por su paciencia y todo su amor.

A MIS DOS AMORES:

IZT.

Ali.

Por significar tantas cosas buenas en mi  
vida.

Lety.

Por ser mi bendición de Dios.

A MIS ABUELITOS:

Panchito, Panchita y Con.

Por su cariño.

A MIS HERMANOS:

Maria del Carmen y Joel.

Por todos los momentos compartidos.

A MIS TIOS:

Por ser un gran apoyo.

Agradezco a DGAPA, proyecto IN-210101, por el apoyo otorgado para la realización de este trabajo de tesis.

Al M.en C. Cesar Flores Ortiz, por haber aceptado dirigir mi investigación, por su apoyo, su paciencia y su amistad.

A la UBIPRO por permitirme utilizar sus instalaciones.

A mis sinodales los profesores Tzasna, Margarita, José Luis y Memo, por todos sus comentarios sobre este trabajo, alentarme, apoyarme y por la amistad que siempre me han brindado.

A Luis Barbo por su ayuda incondicional.

Gracias

## INDICE

CONTENIDO	PÁGINA
Resumen	1
I.- Introducción	2
Distribución del género <i>Neobuxbaumia</i>	6
Sistemática del género <i>Neobuxbaumia</i>	7
Estudios de alcaloides en especies emparentadas al género <i>Neobuxbaumia</i>	8
Descripción de <i>Neobuxbaumia tetetzo</i>	11
Distribución	12
Ecología	13
Usos comunes	13
Descripción de la región de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla, Méx.	14
II.- Objetivos	16
III.- Metodología	17
Colecta de material biológico y preparación de la muestra	17
Obtención del extracto crudo	17
Purificación del extracto alcaloideo	17
Análisis espectroscópico	18
Espectroscopia de UV	18
Espectroscopia de IR	19
Espectrometría de masas	19
IV.-Resultados	20
Contenido de humedad y rendimiento en sólidos de <i>Neobuxbaumia tetetzo</i>	20
Separación cromatográfica y purificación	20
Espectroscopia de UV	22
Espectroscopia de IR	24
Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas	27
Integración de datos espectroscópicos	32
V.- Discusión	34
VI.-Conclusiones	37
VII.-Bibliografía	38
VIII.-Apéndice	41

## **INDICE DE FIGURAS Y TABLAS**

Contenido	Página
Figura 1 Relación biosintética de fenetilaminas presentes en cactáceas	3
Figura 2 Tetrahydroisoquinolinas representativas de la subtribu Pachycereeinae	4
Figura 3 Tetrahydroisoquinolinas no encontradas en <i>N. euphorbiodes</i>	8
Figura 4 Alcaloides de especies emparentadas con el género <i>Neobuxbaumia</i>	9
Figura 5 Valle de Tehuacán-Cuicatlán	15
Figura 6 Espectro de UV-VIS de la fracción pura de alcaloide obtenida en <i>Neobuxbaumia tetetzo</i>	22
Figura 7 Espectro de IR de la fracción pura de alcaloide obtenida de <i>Neobuxbaumia tetetzo</i>	24
Figura 8 Cromatograma de la fracción pura del extracto alcaloideo	27
Figura 9 Patrón de fragmentación del alcaloide purificado	28
Figura 10 Fragmentación secundaria del ion 191	29
Figura 11 Fragmentación secundaria del ion 175	29
Figura 12 Hipótesis del patrón de fragmentación de masas del alcaloide	30
Figura 13 Estructura química de la Salsolidina	32
Tabla 1 Distribución de las especies del género <i>Neobuxbaumia</i>	6
Tabla 2 Rendimiento de sólidos y contenido de humedad	20
Tabla 3 Asignación de señales con el grupo funcional correspondiente	25

## RESUMEN

*Neobuxbaumia tetetzo* pertenece a la subtribu *Pachycereeinae*, dicha subtribu ha sido definida entre otras características por la presencia de alcaloides; *Neobuxbaumia tetetzo* es un elemento dominante en la vegetación de la región árida de Zapotitlán de las Salinas, la cual es una zona de gran importancia biológica por sus elevados índices de biodiversidad y alto endemismo. Por tanto, en el presente trabajo, se definió el objetivo de estudiar el contenido de alcaloides de esta especie.

A partir de tejido fresco de los tallos de *Neobuxbaumia tetetzo*, se obtuvo la fracción alcaloidea mediante la partición ácido-básica de extracto crudo. Esta fracción fue purificada mediante cromatografía preparativa en placa fina, obteniendo cristales de un alcaloide puro con un rendimiento de 0.012%.

La identificación del compuesto se realizó mediante las técnicas espectroscópicas (UV-VIS, IR) y espectrométricas EM y MS/MS, de las cuales a través de la asignación correspondiente se determinó la estructura de Salsolidina (1-meti-6,7-dimetoxi-3,3,4,4-tetrahidroisoquinolina).



## I. INTRODUCCIÓN

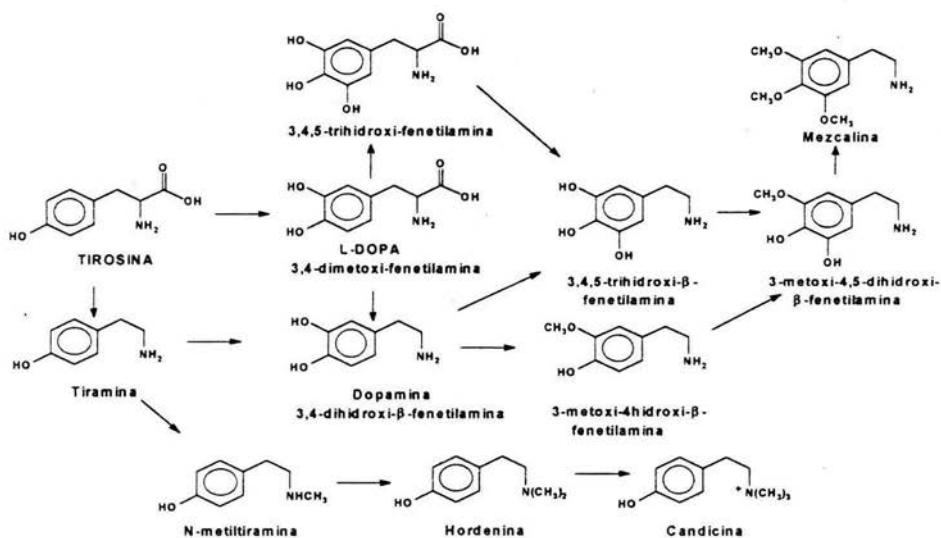
Gran parte de la República Mexicana y del mundo, está constituida por zonas áridas y semiáridas; en estas regiones, la vegetación ha experimentado diversos procesos de adaptación tanto morfológica como fisiológica debido a la escasez del agua, dando origen a nuevas especies. A la vegetación que se encuentra en estas zonas se le denomina "vegetación xerófita", la cual tiene la característica de protegerse de la evaporación a través de una gruesa cutícula constituida de ceras. Adicionalmente, es muy común que las hojas se reduzcan al mínimo, modificándose en estructuras de protección como las espinas.

Entre la vegetación xerófita, destacan las cactáceas, las cuales son plantas distribuidas en las zonas áridas y semiáridas de América con alrededor de 1500 especies. En México se presenta la mayor diversidad de este grupo, siendo centro de endemismo para varios grupos taxonómicos, como las tribus *Cacteeae*, *Hylocereeae*, *Pachycereeae*. (Arias, S. 1993).

Las cactáceas han tenido un papel importante en la vida cotidiana, religiosa, y artística de los diversos grupos étnicos de México. Los Huicholes, Yaquis, Apaches, Tarahumaras y otros grupos humanos oriundos de México han usado el *Lophophora williamsii* (Peyote) como medio para alcanzar estados de éxtasis profundo y "comunicarse" o entrar en "comunidad" con sus dioses, convirtiéndose en parte fundamental de sus ritos religiosos, estas propiedades alucinógenas de la cactácea despertaron el interés de los científicos y a finales del siglo XIX se inició el estudio químico de esta planta, de ella se han aislado 47 alcaloides; entre ellos la mezcalina que se caracteriza por producir excitación nerviosa y alucinaciones psicodélicas (Bye, R. 1976). La familia de las Cactáceas es un grupo de plantas ideales para estudios fitoquímicos por los niveles significativos de alcaloides que se han aislado de ellas y que potencialmente son precursores de principios farmacológicos aun no totalmente investigados.

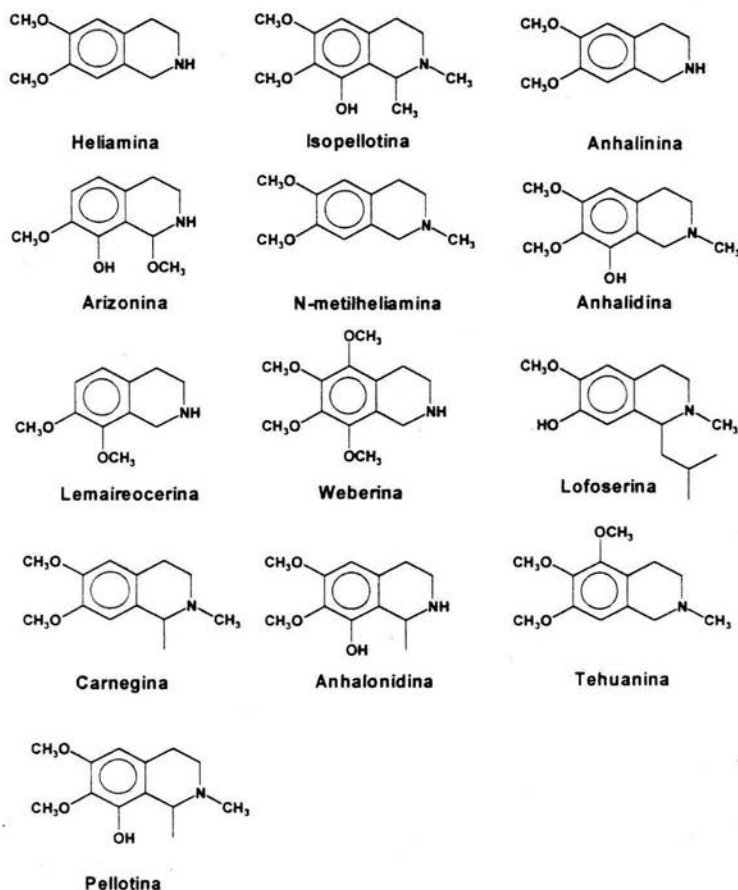
Si se considera que se han estudiado menos del 15% de las 1500 especies de cactáceas, es evidente que queda todavía un amplio campo para el cribado alcaloideo. Mata, R. & McLaughlin L. (1982) hacen una compilación de los alcaloides encontrados hasta ese momento, donde se observa que los alcaloides más comunes en cactáceas son aquellos derivados de la tirosina, los cuales tienen en común una hidroxilación en la posición 4 del anillo aromático; adicionalmente se pueden presentar hidroxilaciones en las posiciones 3 y 5 con las correspondientes metilaciones.

Para el modelo descrito se presentan dos grandes grupos de alcaloides, las β-fenetilaminas y las tetrahydroisoquinolinas, en los primeros, se pueden presentar funcionalidades químicas en la posición 2 de la cadena lateral y el amino terminal puede encontrarse en forma de amina primaria, secundaria, terciaria o cuaternaria. En la figura 1 se muestra una relación biosintética para el grupo de fenetilaminas (Gibson, A & Nobel, P.1990).



**Figura 1** Relación biosintética de fenetilaminas presentes en cactáceas

Por su parte, las tetrahydroisoquinolinas se producen cuando las dimetoxi y las trimetoxifenétilaminas aceptan un carbón adicional incorporando el nitrógeno en un nuevo anillo. La mayoría de tetrahydroisoquinolinas reportadas se han aislado del género *Lophophora*, no obstante, hasta 1985 se habían extraído 26 tetrahydroisoquinolinas de especies de la subtribu *Pachycereeinae*, en general los alcaloides de esta subtribu muestran una hidroxilación en la posición 4 del anillo aromático y adicionalmente hidroxilaciones o metoxilaciones en las posiciones 3 y 5, asimismo se ha encontrado que pueden formar dímeros y trímeros.



**Figura 2** Tetrahydroisoquinolinas representativas de la subtribu *Pachycereeinae*.

La figura 2 muestra una compilación de las tetrahidroisoquinolinas caracterizadas en la subtribu *Pachycereeinae*.

El género *Neobuxbaumia* no ha sido totalmente analizado en este aspecto, por lo cual y con el propósito de contribuir al conocimiento fitoquímico de las especies endémicas de México y en particular sobre el género de *Neobuxbaumia*, se realizó el presente estudio fitoquímico de la especie de *Neobuxbaumia tetetzo*, para determinar la presencia de alcaloides y caracterizar su estructura química.

El estudio del contenido de alcaloides en especies de cactáceas permitirá apoyar a los esquemas taxonómicos y sistemas de clasificación filogenética, que en el caso de la familia *Cactaceae* es de importancia relevante dada la notable complejidad taxonómica, debido a los eventos biológicos como son: La evolución convergente, la hibridación interespecífica e intergenérica puesto que en las cactáceas estos eventos se dan fácilmente por la poliploidía y los síndromes de polinización, lo cual ha introducido una gran variedad morfológica.

## DISTRIBUCIÓN DEL GÉNERO *Neobuxbaumia*.

La tribu *Pachycereae* consta de 13 géneros entre los que se encuentra *Neobuxbaumia*, este género es endémico en la República Mexicana; se distribuye en las regiones semiáridas, cálidas secas del norte, centro y sur del territorio. La mayor variedad de especies se encuentra al sur del Eje Volcánico, incluyendo parte de la Depresión del Balsas, la Costa Pacífica Sur, el Valle de Tehuacán-Cuicatlán y las Serranías Meridionales.

Los taxa de *Neobuxbaumia* muestran en general preferencias por suelos calizos, sin embargo pueden encontrarse en otros tipos de sustratos; se asocian con diferentes comunidades vegetales, principalmente los bosques tropicales caducifolios, los bosques espinosos y los matorrales xerófilos. La distribución del género de *Neobuxbaumia* se describe en la tabla 1.

**Tabla 1. Distribución de las especies del género *Neobuxbaumia***

GÉNERO	ESPECIE	DISTRIBUCIÓN
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>euphorbioides</i> (Haw.) Buxb.	SLP, Tamps, Ver
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>macrocephala</i> (F.A.C. Weber) Dawson	Pue
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>mezcalaensis</i> (Bravo) Backeb.	Gro, Jal, Mich, Mor, Oax, Pue
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>multiareolata</i> (E.Y. Dawson) Bravo	Gro
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>polylopha</i> (DC.) Backeb.	Gto, Hgo, Qro, SLP
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>sanchez-mejoradae</i> A. Lau	Oax
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>scoparia</i> (Poselger) Backeb.	Oax, Ver
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>Squamulosa</i> Scheinvar & Sánchez-Mejorada.	Col, Gro, Mich
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>tetetzo</i> (J. Coult.) Backeb.	Oax, Pue

## SISTEMÁTICA DEL GÉNERO *Neobuxbaumia*.

La sistemática del género *Neobuxbaumia* ha sido discutida en varios estudios, utilizando esencialmente caracteres morfológicos, de donde se desprende una primera hipótesis sobre su relación filogenética con otros géneros de la tribu *Pachycereae* (Gibson and Horak, 1978).

Backerberg, C. (1938), propuso el género *Neobuxbaumia* incluyendo en el dos especies, y hasta la fecha se han incluido siete más. Gibson y Horak (1978), al reevaluar la filogenia de la tribu *Pachycereae* consideran seis especies de *Neobuxbaumia* tomando en cuenta caracteres anatómicos y químicos, sin embargo, una gran limitante en el trabajo de Gibson y Horak (1978), es la información incompleta sobre los taxos estudiados debido al tamaño reducido de muestras y el número de especies. Finalmente, Barthlott y Hunt (1993) consideran a *Neobuxbaumia* como un taxón más amplio, consideran que *Carnegiea* es el taxón hermano y que posiblemente representa un solo género.

## ESTUDIOS DE ALCALOIDES EN ESPECIES EMPARENTADAS AL GÉNERO *Neobuxbaumia*.

De las nueve especies reconocidas para este género, solamente se han realizado estudios fitoquímicos en algunas especies; en *Neobuxbaumia sp.*, Domínguez X. *et al.* (1969), reporta ausencia de alcaloides en la especie. Posteriormente Unger, S. *et al.* (1980), mediante la técnica de MIKES no encuentra ninguno de los iones provenientes de las nueve tetrahidroisoquinolinas contenidas en *Neobuxbaumia euphorbiodes*. (Fig. 3), Mata, R & McLaughlin (1980)<sup>a</sup>, usando la técnica de cromatografía de capa delgada reportan ausencia de alcaloides en *Neobuxbaumia macrocephala*, *Neobuxbaumia polylopha*, encontrando solo trazas de heliamina en *Neobuxbaumia mezcalaensis*.

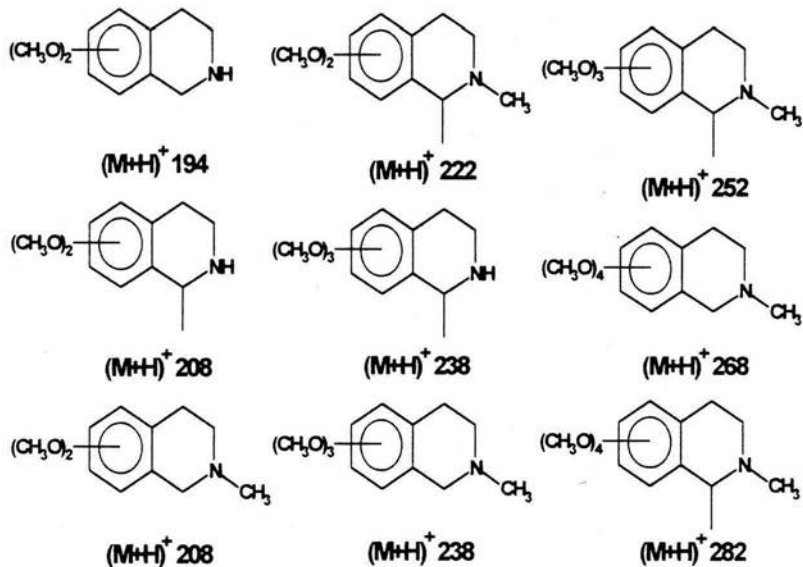
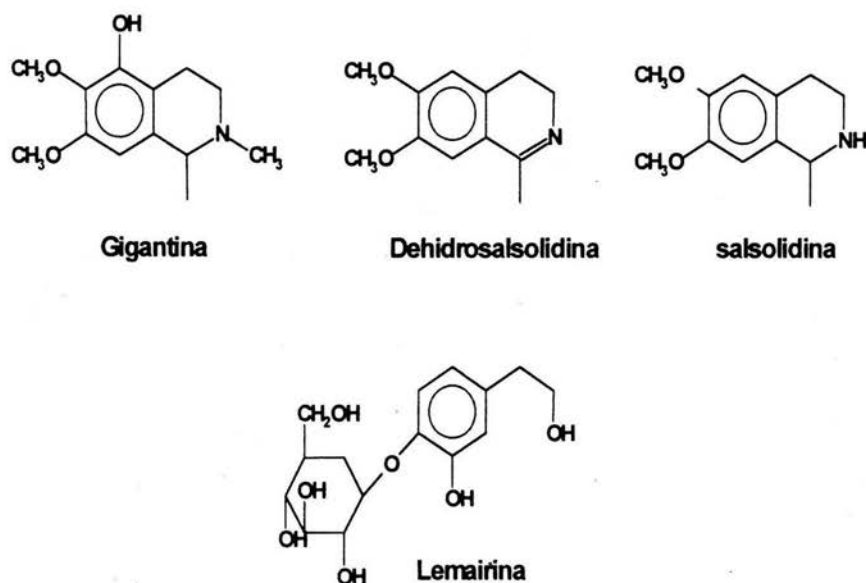


Figura 3. Tetrahidroisoquinolinas no encontradas en *N. euphorbiodes*.

El género más emparentado que ha sido ampliamente estudiado respecto al contenido de alcaloides es *Carnegiea*; del cual Mata, R., y McLaughlin, L. (1982) han aislado los siguientes alcaloides; carnegina, gigantina, salsolidina, 3-metoxitiramina, 3,4-dimetoxifenetilamina, arizonina y dopamina (figura 4). Posteriormente en esta misma especie se reconocieron cantidades traza de alcaloides como dehidrosalsolidina y heliamina (Pummangura, S. et al. 1982), así como dehidroheliamina (Ordaz, C. et al. 1983).



**Figura. 4** Alcaloides de especies emparentadas con el género *Neobuxbaumia*

Otras especies emparentadas al género *Neobuxbaumia* que han sido objeto de estudios fitoquímicos son *Pachycereus pinglei*, donde se reportó la cristalización



de tehuana y heliamina, así como trazas de lemaireocereina y weberina (Mata, R. & McLaughlin, J. 1980)<sup>a</sup>. Por otro lado, en *Pachycereus weberi*, se aislaron ocho tetrahydroisoquinolinas (Mata, R. & McLaughlin, J. 1980)<sup>b</sup>, así como un glucósido de fenol lemairina, el cual es responsable de la coloración oscura que adquiere el tejido después de un daño (Mata, R. & McLaughlin, J. 1980)<sup>b</sup>.

En *Backebergia militaris* también fue aislada heliamina y 3,4-dimetoxi-beta-fenetilamina (Mata, R. & McLaughlin, J., 1976).

## DESCRIPCIÓN DE *Neobuxbaumia tetetzo*.

FAMILIA: *Cactaceae*

SUBFAMILIA: *Cactoideae*

TRIBU: *Pachycereeae*

SUBTRIBU: *Pachycereeinae*

GÉNERO: *Neobuxbaumia*

ESPECIE: *Neobuxbaumia tetetzo*

"(F.A.C Weber)Backeb, Blät. Kakteenf. 6.1938. *Pilocereus tetetzo* F.A.C. Weber, Hort, Paris et in litt. ad Engelm, 1864. *Cereus tetetzo* J.M. Coulter, Contr. U.S. Natl. Herb. 3: 409. 1896. *Pachycereus tetetzo* (F.A.C. Weber) Ochot., Cact. México 72. 1922 *Carnegiea tetetzo* (F.A.C. Weber) P.V. Heath, Calyx 2: 108. 1992. México: Puebla; Zapotitlán Salinas, S.C. s.n., s.f."

**Nombre común:** "tetecho", "cardón", "teteche".

### DESCRIPCIÓN

Es una planta arborescente 1.5–15.0 m alto, con tallo principal 30.0–60.0 cm de ancho, columnares cuando jóvenes, después ramifican, ramas terminales 10.0–20.0 cm de ancho, escasas, rectas o ligeramente arqueadas, verde-grisáceas; costillas 13–17 de 2.0–2.5 cm de altura, podarios poco elevados, sus areolas miden de 1.0–1.5 cm de largo, 0.5–0.6 cm de ancho, obovadas, ovadas o casi redondeadas, distantes entre sí 0.7–2.0 cm marcadamente separadas por un surco obdeltoideo transversal; espinas radiales 7–13, de 0.5–2.0 cm de largo,

aciculares, pardo-grisáceas, de 1-3 espinas centrales 3.0-4.0 cm de largo, una de ellas más larga, subuladas, pardo-rojizas a grisáceas, a veces las aréolas del ápice de las ramas jóvenes presentan pelos abundantes, con espinas ligeramente flexibles, su flor mide de 4.7-5.5. cm de largo, tubular-infundibuliformes dispuestas alrededor del ápice, pericarpelo de 0.8-1.2 cm de largo, 0.6-1.0 cm de ancho, globoso, podario decurrentes, angosto, terminando en brácteas ca. 1.0 mm de largo, deltoides, carnosas o cartáceas, acuminadas, aréolas desnudas o con lana, espinas escasas, setosas; tubo receptacular 2.2-2.7 cm de largo, podarios recurrentes, angostos terminando en brácteas, acuminadas carnosas, tépalos externos e internos oblongos, verdes claros a pardos, estambres de 5.0-8.0 mm de largo, florece en los meses de mayo y junio.

Su fruto mide 3.0-4.0 cm de largo, 0.3-0.4 cm de ancho, ovoides, verde a rojo, podarios conspicuos, terminando en brácteas 1.0-2.0 mm de largo, acuminadas carnosas a cartáceas, areolas desnudas o con pelos, espinas setosas, con la pulpa blanca ligeramente azucarada, el cual es objeto de comercio, los frutos se dan entre junio y julio y son llamados "higos de teteche", "tetecha". (Bravo, 1978) las semillas son de color café y miden 1.7-2.0 mm de largo.

## **DISTRIBUCIÓN**

Es endémico de la región de Tehuacán-Cuicatlán, donde se le conoce únicamente en dos localidades, la primera en el valle de Tehuacán, en la parte baja de las estribaciones de la sierra de Zongolica y de la sierra de la Granja, una colonia grande de "cardones" se encuentra en el cerro de Tochapa, la segunda población se encuentra en el Valle de Zapotitlán de las Salinas cerca de los márgenes del río Quiotepec, hasta cerca de Acatepec; se establece en lomeríos, terrenos muy accidentados y pedregosos.

## **ECOLOGÍA**

Emerge de una carpeta arbustiva representada por especies como *Mimosa luciana*, "cumito" o "uña de gato", *Acacia constrictor*, "guajillo", llega a alcanzar densidades de 1200 individuos/hectárea, es capaz de almacenar hasta una tonelada de agua y su crecimiento es en promedio de 10 cm/año.

## **USOS COMUNES**

Se le utiliza ya estando seco haciendo las veces de tronco para la construcción de paredes de habitación o para delimitar propiedades. La flor y el fruto estando frescos son consumidos localmente. Las semillas se utilizan para la preparación de salsas y para la reproducción controlada en viveros autorizados por la Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y pesqueros SEMARNAP.

## DESCRIPCIÓN DE LA REGIÓN DE TEHUACÁN-CUICATLÁN, PUEBLA, MEX.

Se considera como la Provincia Florística de Tehuacán-Cuicatlán (figura 5), es un relicto de matorral-xerófilo que alguna vez imperó en todo el valle de Tehuacán, se encuentra ubicada dentro de las coordenadas 17° 48' y 18° 58' de latitud Norte y los 97° 03' y 97° 43' de longitud Oeste (Figura 5). Es la región árida y semiárida más meridional de México (Rzedowski, 1978). El clima asignado siguiendo la clasificación de Köppen y modificada por García (1988), corresponde a BSo<sup>hw</sup>(w)(e)g, que es un clima seco con régimen de lluvias de verano, con dos máximos de lluvias separados por dos estaciones secas; con una precipitación promedio anual de 479.6 mm y una altitud alrededor de los 1500 msnm, mientras que la temperatura media anual oscila entre los 18 y 22 °C (Jaramillo & González, 1983). Las condiciones áridas del Valle se deben principalmente al efecto de sombra orográfica que producen las Sierras Negra, de Zongolica y la Sierra Madre Oriental (INEGI, 1987).

Existe una gran diversidad de afloramientos geológicos y tipos de suelo en el Valle de Zapotitlán de las Salinas, estos son: someros, pedregosos, halomórficos con diferentes estados de salinidad, entre los cuales encontramos: Litosoles, Cambisoles cálcicos y Xerosoles cálcicos derivados de evaporitas del Cretácico Inferior y Medio, comprendiendo las formaciones Zapotitlán, Miahuatepec, San Juan Raya y Cipiapa (Dávila, *et al.*, 1993). El Valle está irrigado por el cauce efímero del río Zapotitlán que es tributario del sistema del río Salado que riega el Valle de Tehuacán. Ambos ríos forman parte de la cuenca alta del Papaloapan (Zavala, 1982).

Dávila, (1993) señala el alto grado de endemismo que caracteriza a su flora, pues de acuerdo con sus cálculos, de una muestra de 253 especies colectadas en el

valle, 29.1% corresponde a elementos de distribución restringida a esta región. (Rzedowski, 1981).

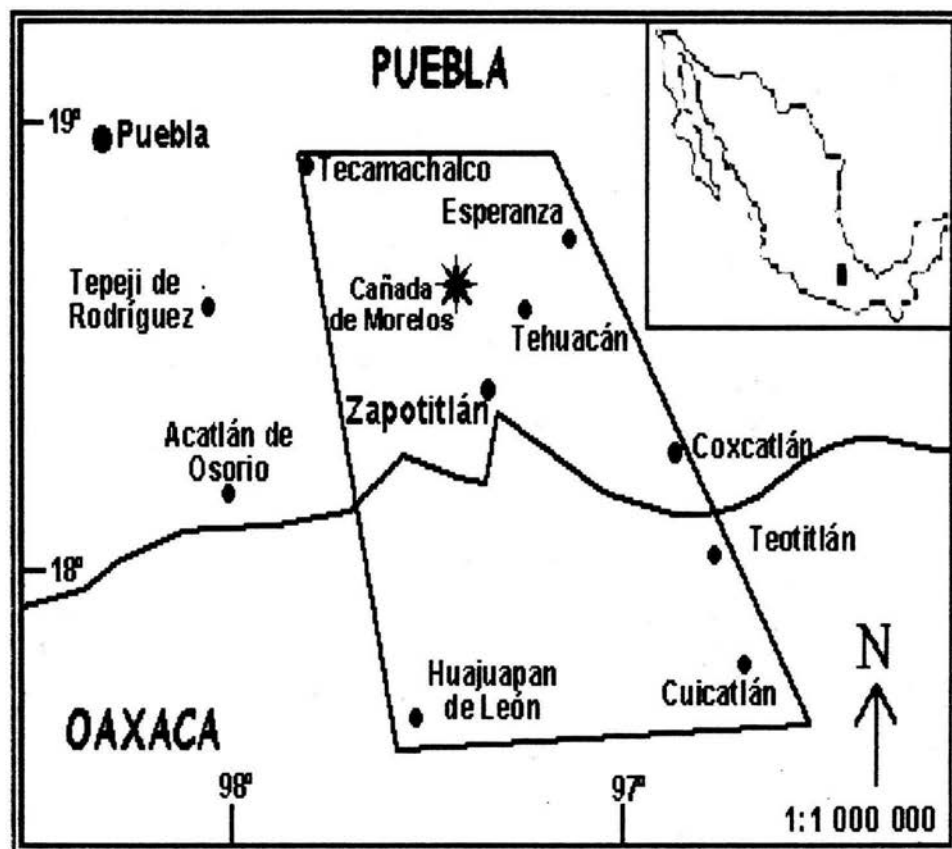


Figura 5. Valle de Tehuacán—Cuicatlán.

## **II. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la presencia de alcaloides en *Neobuxbaumia tetetzo* y caracterizar sus estructuras químicas

### **OBJETIVOS PARTICULARES.**

1. Recopilar la información botánica, etnobotánica, química y sistemática de *Neobuxbaumia tetetzo*.
2. Colectar muestras de tallos maduros y ápices de *Neobuxbaumia tetetzo*
3. Determinar cualitativamente la presencia de alcaloides en *Neobuxbaumia tetetzo*
4. Extraer el contenido alcaloideo de muestras de *Neobuxbaumia tetetzo* mediante las técnicas de partición ácido-básica
5. Separar y purificar los constituyentes de las fracciones obtenidas.
6. Identificar mediante métodos químicos, espectroscópicos y espectrométricos las sustancias aisladas.
7. Correlacionar los resultados obtenidos con la información previamente descrita en la literatura en cuanto:
  - a) El tipo de alcaloide obtenido.
  - b) Sus características estructurales.

### **III. METODOLOGÍA**

#### **COLECTA DE MATERIAL BIOLÓGICO Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**

Se colectaron muestras de aproximadamente 5 Kg de los tallos frescos de tetecho, fueron tomados a partir del ápice, a finales de mayo de 1999, en la zona de Zapotitlán de las Salinas, Puebla; fueron trasladados al laboratorio donde se eliminaron las aureolas primarias, secundarias y la epidermis. Posteriormente, se pesaron y se congelaron durante un día para liofilizarlos durante tres días, la liofilización permitió eliminar el contenido de humedad para que no interfiriera con la extracción de la masa pulpar. Finalmente se pesó el liofilizado obtenido para calcular su rendimiento en peso seco.

#### **OBTENCIÓN DE EXTRACTO CRUDO**

Mediante la técnica de partición ácido-básica se llevo a cabo la extracción de los alcaloides. 398.2 gr de masa pulpar liofilizada fue acidificada con 8.0 l de solución de ácido sulfúrico al 0.05 M agitándose durante 30 min. Posteriormente, se filtró para separar el mucílago. El extracto ácido se basificó con 800 ml de hidróxido de amonio a pH 8, para la recuperación de sustancias no polares mediante éter de petróleo. La solución neutralizada se lavó con 8 litros de agua y finalmente se eliminó el disolvente hasta sequedad con vacío a temperatura ambiente. Los residuos de la extracción se disolvieron en 5 ml de éter isopropílico y se dejaron en reposo durante 7 días a 4°C para su cristalización.

#### **PURIFICACIÓN DEL EXTRACTO ALCALOIDEO.**

Para la purificación de los alcaloides de las muestras de *Neobuxbaumia tetetzo*, se utilizó la técnica de Cromatografía en Capa Fina. La fase estacionaria consistió en



sílica gel con un espesor de capa de 4 mm. Para la determinación de la fase móvil, se realizaron pruebas con mezclas de solventes de diferentes polaridades, evaluando la eficiencia del sistema en función del mejor desplazamiento de los compuestos, estas fueron: cloroformo–metanol al: 80-20, 90-10 y 95-5.

Los sistemas cromatográficos fueron evaluados con muestras del extracto alcaloideo obtenido, para lo cual se sembraron diferentes concentraciones del compuesto; 3µl, 5µl y 10µl. Una vez desarrollada la cromatografía, se reveló mediante el reactivo de Dragendorff.

Finalmente, para la purificación preparativa del extracto alcaloideo, se realizó sembrando 2 ml del extracto. Una vez eluida la placa, las bandas de alcaloides fueron raspadas y extraídas resuspendiendo con 5 ml de fase móvil y filtrándose para obtener la fracción pura del alcaloide.

## **ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO.**

Para la identificación química del contenido de alcaloides, se utilizaron técnicas espectroscópicas de rutina como Ultravioleta (UV), Infrarrojo (IR) y Espectrometría de Masas (EM), así como, el análisis estructural mediante fragmentación secundaria de un ión seleccionado (MS/MS). Las asignaciones de las señales en todos los tipos de espectroscopía empleados, se realizaron según la teoría correspondiente para cada técnica (Silverstein, R & Bassier, G. 1992, Mata et al, 1983)

### **ESPECTROSCOPIA DE UV**

El espectro de UV se obtuvo en un espectrofotómetro UV–VIS marca Perkin Elmer, modelo Lambda 2S, la lectura se llevó a cabo en una celda de cuarzo de 1 cm, utilizando como blanco metanol. El rango de lectura empleado fue de 200–400 nm.

## ESPECTROSCOPIA DE IR

Los espectros de IR se realizaron con un espectrofotómetro FT-IR, marca Perkin Elmer modelo Spectrum 2000, utilizando un accesorio de Reflectancia Totalmente Atenuada "ATR", con un rango de 600 a 7800  $\text{cm}^{-1}$ , permitiendo la acumulación de 16 barridos a un intervalo de 1  $\text{cm}^{-1}$  y una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

## ESPECTROMETRÍA DE MASAS

IZT.

Para el análisis de fragmentación de masas, se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas marca Finnigan Mat modelo GCQ. Las condiciones del análisis fueron las siguientes: Se inyectaron 2  $\mu\text{l}$  de muestra en el inyector en forma split con una temperatura de 250°C. La separación cromatográfica se llevó a cabo en una columna DB1, con una rampa de temperatura de 80 a 200°C con aumento de temperatura de 30°C  $\text{min}^{-1}$ . El registro de los compuestos separados se realizó a través del acoplamiento del cromatógrafo al detector de masas, el cual fue acondicionado en modo de ionización electrónica (70eV), registrando iones positivos en una rango de masa de 20 a 400 m/z.



U.N.A.M. CAMPUS

#### **IV. RESULTADOS**

##### **CONTENIDO DE HUMEDAD Y RENDIMIENTO EN SÓLIDOS DE *Neobuxbaumia tetetzo***

En la tabla 2 se pueden observar los resultados de contenido de humedad y rendimiento de materia seca en la muestra de *N. tetetzo*. El rendimiento de sólidos es de 11.71%; al liofilizar la muestra, ésta pierde el 88.29% de su peso, que es el contenido de humedad.

**Tabla 2 Rendimiento de sólidos y contenido de humedad.**

<b>Muestra fresca (g)</b>	<b>Muestra liofilizada (g)</b>	<b>Humedad %</b>	<b>Rendimiento %</b>
<b>3,398.30</b>	<b>398.20</b>	<b>88.29</b>	<b>11.71</b>

##### **SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA Y PURIFICACIÓN.**

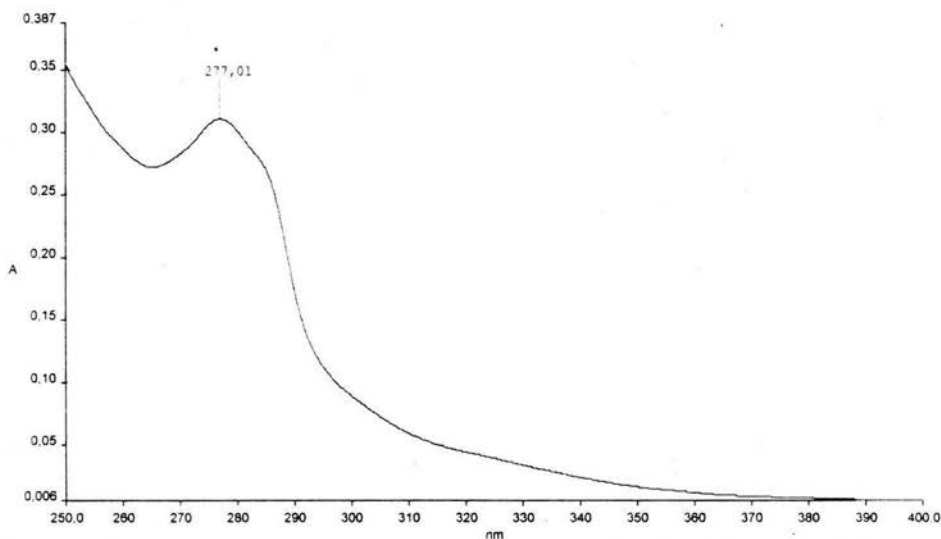
Se realizaron sobre la base de la experimentación de ensayo y error diferentes combinaciones en cuanto a las fases polares y diferentes cantidades del extracto crudo encontrando elusión en la fase móvil de cloroformo-metanol (95/5) por lo que fue seleccionada para la purificación cromatográfica preparativa.

La separación cromatográfica preparativa de la muestra permitió la purificación de una fracción alcaloidea; posteriormente, el reposo de la fracción pura en alcohol isopropílico favoreció la cristalización de la fracción alcaloidea. La determinación

gravimétrica de los cristales permitió calcular un rendimiento de 0.012 % del alcaloide respecto al peso seco. Los cristales obtenidos fueron utilizados en la caracterización espectroscópica que se describe a continuación.

## ESPECTROSCOPIA DE UV.

En la figura 6, se presenta el espectro de UV de la fracción pura del alcaloide obtenido de *N. tetetzo*. El análisis del espectro permite observar que existe un máximo de  $\lambda_{\text{max}}$  277.01 nm, sin puntos isobésticos, ni hombros en la región visible del espectro.



**Figura 6.- Espectro de UV-VIS de la fracción pura de alcaloide obtenida de *Neobuxbaumia tetetzo*.**

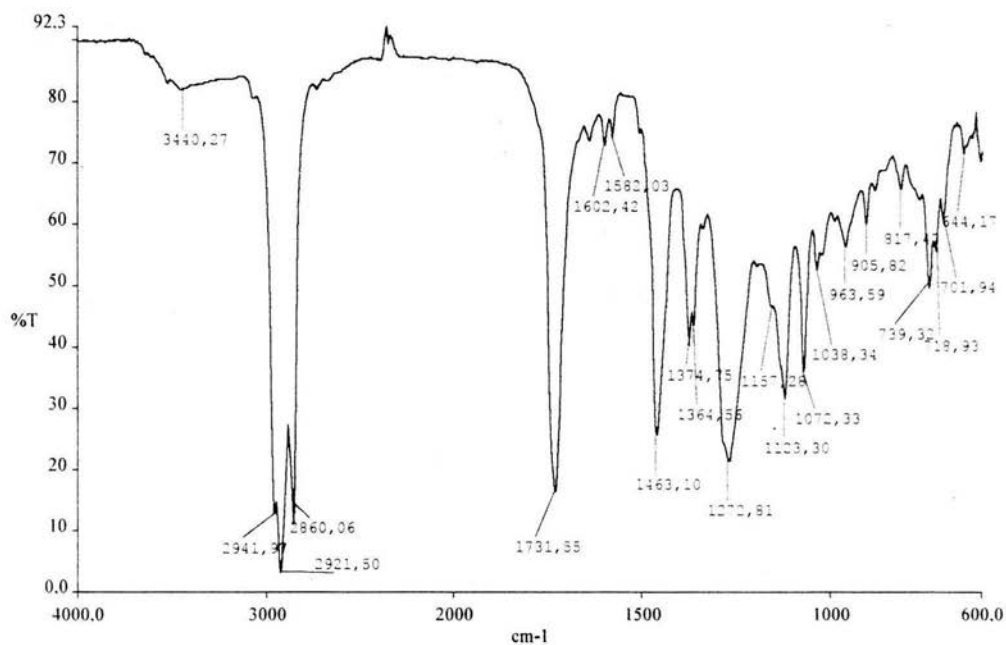
Los compuestos aromáticos se deben a transiciones de energía de los electrones de hibridación  $sp^2$  y sus lecturas se dan dentro de los rangos de 200 a 400 nm,; el registro máximo del estudio realizado se encuentra dentro de este rango (277.01 nm) esto nos permite suponer la presencia de un compuesto aromático; el máximo registrado se ubica hacia la región de electrones exocíclicos, lo cual indica la presencia de una molécula con más de un anillo. Adicionalmente, la deslocalización de electrones  $\pi$ , puede ser explicada por la existencia de un par

electrónico solitario de un heteroátomo como el nitrógeno, lo cual es pertinente de suponer, ya que el compuesto proviene de una rutina de extracción de alcaloides.

Los alcaloides presentes en extractos de especies de la subtribu Pachycereeinae pertenecen a dos grupos principales, las  $\beta$ -fenetilaminas y las tetrahidroisoquinolinas, las segundas muestran una máximo de absorbanza entre 240–285 nm, En estos compuestos, la presencia de sustituyentes orto-dimetoxi pueden provocar un efecto hipoercrómico debido a su naturaleza inductora, por lo cual, considerando la absorción del alcaloide en la región alta del rango de tetrahidroisoquinolinas ( $\lambda_{\text{max}}$  277 nm, rango 240–285 nm), se puede apoyar la suposición de la presencia de sustituciones de metoxilos en el anillo aromático.

## ESPECTROSCOPIA DE IR.

En la figura 7 se observa el registro del espectro de IR obtenido de la fracción pura del alcaloide. A través de la inspección de las señales de vibración se realizaron las asignaciones de los correspondientes grupos funcionales presentes en la estructura del compuesto. En la tabla 3 se presenta la relación de vibraciones con el grupo funcional asignado.



**Figura 7. Espectro de IR de la fracción pura de alcaloide obtenida de *Neobuxbaumia tetetzo*.**

**Tabla 3. Asignación de señales con el grupo funcional correspondiente.**

<b>LECTURA</b> <b>cm<sup>-1</sup></b>	<b>INTENSIDAD</b>	<b>GRUPO</b> <b>FUNCIONAL</b>
3,440.27	B	Amina N-H vibración de alargamiento
2,941.47	A	Metilo C-H
2,860.06	A	Metilo C-H
2,921.50	A	Metilo C-H
1,731.55	A	O-ftalato, Carbonilo de ester
1,602.42	B	Anillo aromático
1,582.03	B	Vibraciones ocasionadas por un sistema aromático
1,463.10	A	indica C-N en un anillo pequeño.
1,272.81	A	Vibraciones C-C
1,364.56	B	Vibraciones C-H
1,157.28	B	Éter
1,123.30	M	Éter
1,072.33	A	Éter
953.59	B	Amina
905.82	B	Amina
817.47	B	Metoxilo
644.17	B	C-H vibraciones de flexión
701.94	B	Sistema aromático
718.93	M	C-H Vibraciones cortas
739.32	M	C-H Vibraciones cortas

Relación de la señal de infrarrojo, el tipo de intensidad (A=alta, B=baja, M=media) y la asignación correspondiente a los valores presentados.



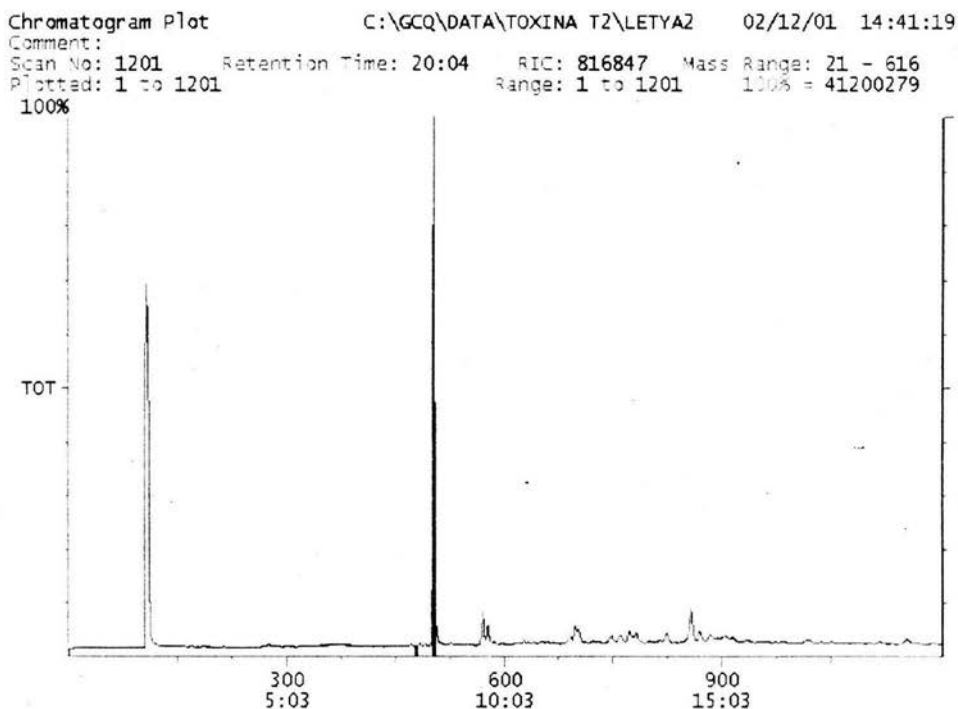
El espectro de infrarrojo de la fracción purificada del compuesto permite observar las bandas características para grupos metilos ( $2941.97$ ,  $2860.06\text{ cm}^{-1}$ ), Metilenos ( $2860.06\text{ cm}^{-1}$ ), amina con una vibración de alargamiento ( $3440.27\text{ cm}^{-1}$ ). También se registran vibraciones ocasionadas por la presencia de sistema aromático ( $1582.03\text{ cm}^{-1}$ ,  $1602.42\text{ cm}^{-1}$ ), enlaces de C-N en un anillo pequeño ( $1463.10\text{ cm}^{-1}$ ) y vibraciones C-C ( $1272.81\text{ cm}^{-1}$ ). En la región dactilar se puede confirmar la presencia del nitrógeno en forma de amina ( $963.59$ ,  $905.82\text{ cm}^{-1}$ ), el metoxilo ( $817.47\text{ cm}^{-1}$ ), el sistema aromático ( $701.94\text{ cm}^{-1}$ ), vibraciones estrechas de C-H ( $718.93$ ,  $739.32\text{ cm}^{-1}$ ), vibraciones distorsión de C-H ( $701.94\text{ cm}^{-1}$ ). (Silverstein, R. 1992).

Con la caracterización realizada mediante el espectro de infrarrojo de la fracción pura del alcaloide se pueden establecer rasgos estructurales de la molécula, las cuales confirman los datos obtenidos a través del espectro de UV y ofrecen nuevos elementos de identificación, tales como, la presencia de dos anillos fusionados, la presencia de sustituciones de metoxilos y la presencia de nitrógeno con hibridación  $sp^3$ .

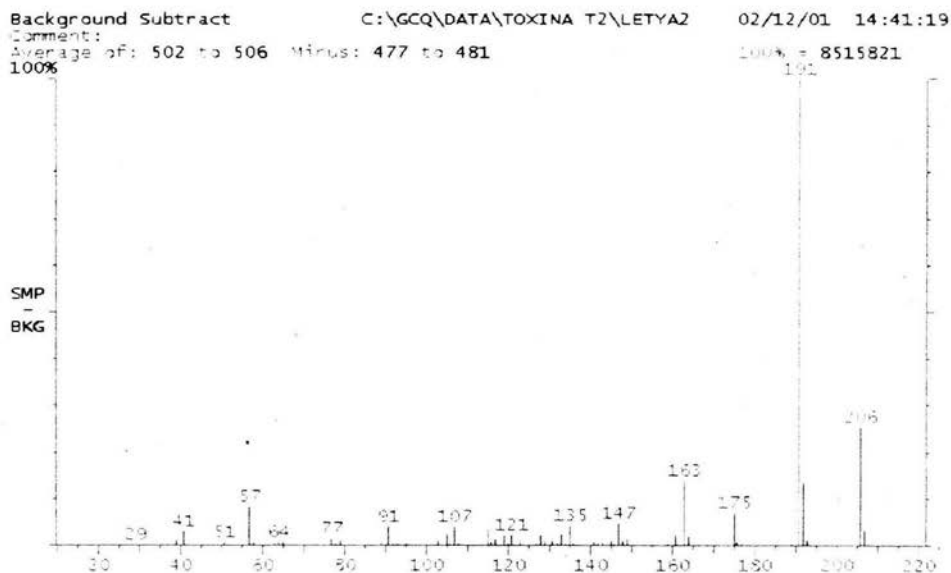
Es necesario hacer notar que el espectro de infrarrojo, registra vibraciones de carbonilos de éster en  $1731.55$ , lo cual indica la presencia de una impureza.

## CROMATOGRAFÍA DE GASES Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS

En la figura 8 se puede observar el Cromatograma de la fracción del alcaloide purificado, en este registro es evidente el elevado grado de pureza que presenta la fracción, no obstante la impureza de éster reconocida en el espectro de IR y las condiciones de separación de este ensayo no permitieron determinar su cantidad, ni identidad.



**Figura 8. Cromatograma de la fracción pura del extracto alcaloideo.**



**Figura 9. Patrón de fragmentación del alcaloide purificado**

En la figura 9 se puede observar el patrón de fragmentación del compuesto, donde se registra que el pico base; es el ion con masa 191 m/z. Adicionalmente, se reconoce que el ion molecular no corresponde a un alcaloide, ya que es número par, sin embargo, se sabe que estas formas químicas son inestables y se caracterizan por la pérdida espontánea de un hidrógeno, sobre todo, cuando son del tipo de aminas primarias y secundarias (Silverstein, M & Bassier, G.1992).

El análisis del patrón de masas permitió determinar que la fragmentación del alcaloide muestra dos ramificaciones, una en 191 m/z y otra en 175 m/z, por lo cual se recurrió al análisis de fragmentación secundaria de los iones 191 m/z y 175 m/z, los cuales se muestran en las figuras 10 y 11 respectivamente.

Background Subtract C:\GCQ\DATA\TOXINA T2\LMMA02 02/12/01 17:17:05  
Scan Range: 501 to 505 Minus: 475 to 479  
100% 191 = 940027

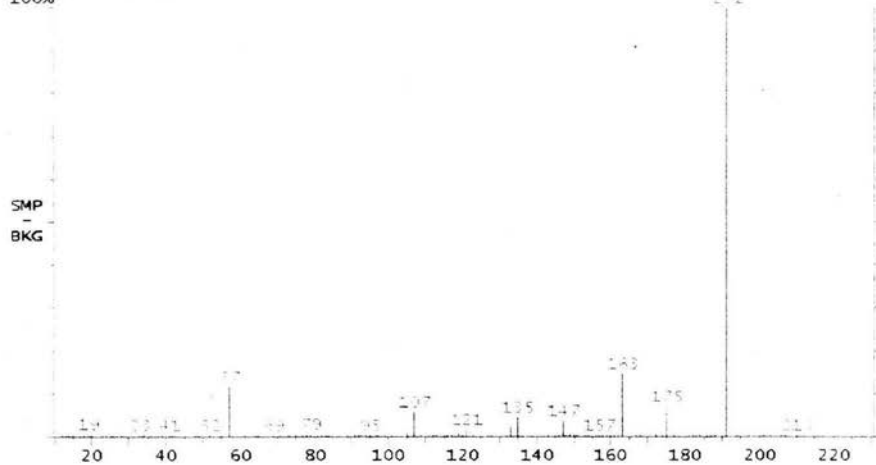


Figura 10. Fragmentación secundaria del ion 191.

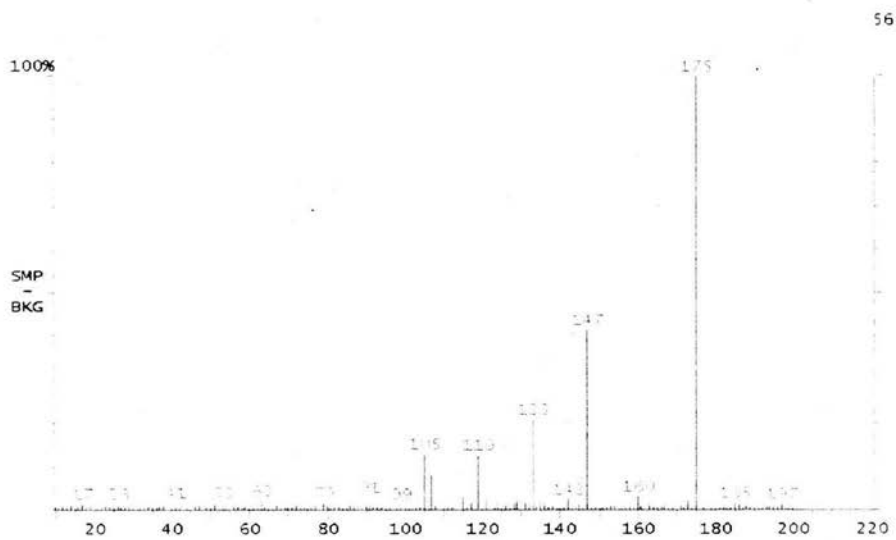
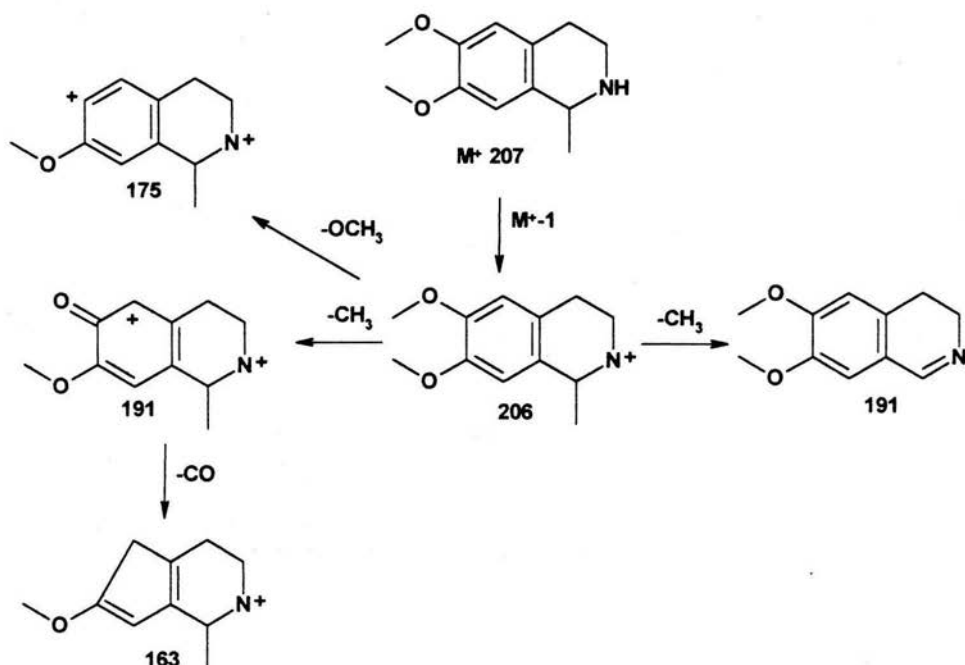


Figura 11. Fragmentación secundaria del ion 175.

La inspección del patrón de masas en los experimentos de fragmentación total y en los derivados de fragmentación de los iones 191 y 175, permitió plantear una hipótesis de identificación estructural, que corresponde a la tetrahidroisoquinolina Salsolidina, tal como se muestra en la figura 12.



**Figura 12. Hipótesis del patrón de fragmentación de masas del alcaloide**

En primera instancia, hay que reconocer que el ion molecular corresponde a  $M^+-1$  del peso molecular de la Salsolidina, lo cual se explica por el hecho de la inestabilidad de aminas primarias y secundarias en sistemas de ionización electrónica, donde con frecuencia iones moleculares se presentan como  $M^+-1$ .

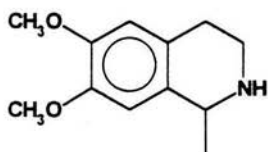
Por otro lado, es de llamar la atención la intensidad del ion  $191\ m/z$  (Figura 9), el cual puede estar derivado de dos procesos de fragmentación, el primero a través

del rompimiento del metilo de metoxilo, lo cual es favorecido enormemente por el efecto alfa de la vecindad con el oxígeno y por la posición bencílica que presenta respecto del anillo aromático. El segundo proceso de fragmentación se explica por la escisión del metilo en posición 1, el cual se favorece por la conjugación del doble enlace resultante con el anillo aromático, así como por la posición bencílica del metilo. Ambos procesos determinan que la abundancia de este ion lo conviertan en el pico base.

En adición a la fragmentación del metilo de metoxilo; el rearreglo del fenóxido resultante, se equilibra entre su forma fenol/cetona, con lo cual puede dar lugar a la pérdida de este fragmento en forma de CO (163 m/z).

## INTEGRACIÓN DE DATOS ESPECTROSCÓPICOS

La asignación de las constantes espectroscópicas registradas para la fracción pura del alcaloide purificado permiten proponer la estructura de la Salsolidina (Figura 13).



**Figura 13. Estructura química de la Salsolidina.**

Las evidencias que sustentan la hipótesis anterior son las siguientes:

- Los pasos para la extracción del compuesto discriminan la naturaleza iónica de los componentes de la mezcla para la obtención selectiva de alcaloides.
- La reacción selectiva del reactivo de Dragendorf apoya la suposición de la presencia de nitrógeno en la estructura química.
- El espectro de UV-VIS con ( $\lambda_{\text{max}}$  277 nm) permite suponer la presencia de un sistema aromático fusionado a un anillo con un heteroátomo.
- Las vibraciones de la molécula registradas en el espectro de IR, establecen la presencia de grupos metoxilos y la hibridación  $sp^3$  del nitrógeno.
- La interpretación del patrón de fragmentación reafirma la estructura propuesta por la confirmación del ion molecular, la presencia de la amina secundaria, la fragmentación de los metoxilos y la presencia del metilo en posición 1.

Adicionalmente a las evidencias mostradas, la confirmación que permitiría la asignación inequívoca de la estructura del alcaloide, sería la obtención del espectro de RMN, en alguna modalidad de sus experimentos;

desafortunadamente, durante la recristalización del compuesto y la utilización de solventes de baja pureza determinaron el incremento del diéster de ácido ftálico impidiendo el registro de las señales específicas de la Salsolidina.

No obstante de la carencia del espectro de RMN, las evidencias de la identidad química de la fracción obtenida son suficientes para la asignación de la estructura química del compuesto obtenido.



## V. DISCUSIÓN

El presente trabajo confirma la hipótesis acerca del contenido de alcaloides en especies de la subtribu *Pachycereinae*. En particular, la especie *N. tetetzo* registró la presencia del alcaloide Salsolidina, el cual, no obstante de presentarse en cantidades traza, permite reconocer que el genotipo de la especie conserva reliquias de esta función metabólica y que el carácter fenotípico está presente. Adicionalmente, los procedimientos de extracción, purificación e identificación permitieron el reconocimiento de elementos fisiológicos y aspectos analíticos que son de importancia para el conocimiento fitoquímico de la especie.

En primer lugar; con relación al contenido de humedad y el rendimiento en materia seca, se confirma que el tejido suculento de *N. tetetzo* contiene un elevado porcentaje de humedad (88.19%). Lo anterior es característico en especies de cactus, las cuales presentan la particularidad de captar el agua con rapidez y almacenarla en su tejido esponjoso; esto responde a la estrategia de aprovechar los periodos cortos de lluvias que se presentan en la zona de su distribución.

Así mismo, el tipo CAM de fotosíntesis que realiza, contribuye a la economía hídrica de la especie, la cual a través de mantener cerrados las estomas durante las horas de mayor insolación impide la pérdida de humedad por intercambio gaseoso. Adicionalmente, el contenido elevado de mucílagos que se presentaron durante la extracción, es una evidencia de la capacidad higroscópica del tejido para retener humedad en contra de un gradiente hídrico estresante (Salisbury, F. & Ross, W. 1994). El mucílago se caracteriza por ser un polisacárido fibroso y ramificado, el cual forma un polímero de peso molecular elevado y complejo, que tiene la capacidad de absorber fácilmente la humedad y convertirse en una solución altamente viscosa (Gibson, A. & Nobel, P. 1990).

Hay que mencionar, que la presencia del mucílago interfiere de manera importante con la extracción de los alcaloides, por lo que se recomienda el liofilizado de la muestra ya que este permitió la eliminación de la humedad residual en el mucílago, con lo cual se disminuyó el efecto codisolvente de este coloide. En adición, los múltiples lavados que fueron necesarios para la eliminación de esta fracción, permitieron la verdadera extracción exhaustiva de los alcaloides.

Con relación al rendimiento obtenido en el alcaloide, se puede mencionar, que es pequeño, comparado con el 0.6% obtenido para el mismo alcaloide en *C. gigantea* (Bruhn y Lundstrom, 1976). Tomando en cuenta el peso seco de la muestra, el porcentaje de la fracción alcaloidea fue de solo 0.012 %. No obstante los bajos niveles del alcaloide que se encuentran presentes, reflejan la estrecha relación filogenética entre los miembros del Taxa. Esta demostración contribuye con la especificación de la sinapomorfia de la Subtribu *Pachycereinae*, en el sentido de definirla en función de la presencia de alcaloides derivados de tetrahidroisoquinolinas.

Con respecto a la determinación estructural del alcaloide purificado, tal como se describe en la parte de resultados, las constantes espectroscópicas de UV y de IR, permitieron una aproximación sobre la naturaleza estructural del compuesto; sin embargo, el espectro que brindó mayor información fue la fragmentación de masas y los experimentos de fragmentación secundaria, en los cuales se puede observar que el ion molecular (207 m/z) se muestra muy inestable, ya que su abundancia relativa al pico base es extremadamente baja. Este comportamiento se puede explicar por el sistema de ionización electrónica que fue utilizado en este trabajo, el cual consiste en una trampa de iones, donde la fragmentación no ocurre simultáneamente, tal como es el caso de la fragmentación y separación en sistemas cuadrupolares convencionales, a diferencia de estos, la trampa iónica conserva durante mayor tiempo los iones dentro del sistema de ionización.

Por otro lado, observando la estructura de la Salsolidina, se distingue que presenta un centro asimétrico en la posición 1, en el cual se encuentra sustituido

un metilo. La posición del metilo quedó bien establecida por la abundancia que presenta el ion 191 m/z, el cual es determinado por la fragmentación en posición alílica respecto del anillo aromático, por otro lado, el efecto inductor del nitrógeno en posición 2, facilita la eliminación de este fragmento. No obstante, con la información disponible del espectro de masas, es imposible determinar la configuración absoluta de alguno de los dos posibles enantiómeros, sin embargo se supone la asignación S, en consideración de la configuración que ha sido determinada para la gran mayoría de tetrahidroisoquinolinas que se han aislado de especies de la misma subtribu (Mata y McLaughlin, 1982).

Finalmente, con respecto a la función biológica que explique la presencia de la Salsolidina en *N. tetetzo*, hasta el momento no se han ofrecido evidencias concretas. No obstante que la presencia de alcaloides en especies de la familia *Cactáceae*, han recibido atención por los usos tradicionales asociados a ritos religiosos, donde se ha correlacionado el contenido de derivados de tetrahidroisoquinolinas con los efectos psicodélicos característicos. Más recientemente, se han determinado posibles efectos a nivel bioquímico sobre la inhibición de la enzima monoamino-oxidasa y como consecuencia la actividad hipotensora. En otro ámbito, se ha asociado a los alcaloides presentes en cactáceas con actividad antialimentaria en los insectos que parásitan sus tejidos, en particular se ha reconocido su efecto sobre la respiración mitocondrial y sobre la saturación del sistema enzimático del citocromo P-450 en insectos.

(Danielson, P., et al, 1997)

## **VI. CONCLUSIONES**

Como resultado del presente trabajo de tesis se pueden enunciar las siguientes conclusiones :

1. Se demostró la presencia de alcaloides en la especie *Neobuxbaumia tetetzo*
2. Se identificó espectroscópicamente la presencia de Salsolidina en el extracto de *Neobuxbaumia tetetzo*.
3. La técnica de fragmentación secundaria de ion seleccionado permite la identificación estructural de alcaloides derivados de tetrahydroisoquinolinas.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- Arias, S. 1993. Cactáceas: conservación y diversidad en México. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* **44**: 109-115.
- Backeberg, C. 1938. Blatter fur Kakteenforschung. *Bulletin Cactus Research.* **8**: 21.
- Barthlott, W. and D.R. Hunt. 1993. *Cactaceae*. En: K. Kubitzki (ed.) The families and genera of vascular plants. Springer-Verlag. Berlin. pp. 161-197.
- Bravo-Hollis, H. 1978. Las cactáceas de México. Vol. I. UNAM, México, pp. 635-661
- Bye, R. 1976. Plantas psicotrópicas de los Tarahumara. *Cemef* **4**: 49-72.
- Bruhn ; J., Lundsstrom, J. 1976. Alkaloids of *Carnegiea gigantea*. Arizonine, Anwe tetrahydroisoquinoline alkaloid. *Lloydia*, **39**:197-203.
- Danielson,P., Maclynre,R., Fogleman,J., 1997. Molecular cloning or a family of xenobiotic-inducible drosophilid cytochrome p450s: evidence for involvement in host-plant allelo-chemical resistanse. *Proceedings of the National Academy of Sciences*,**94**: 10797-10802.
- Dávila,A,P.,Villaseñor,R.J.L.,Medina,L.R.,Salinas,T.A.,Sánchez-Ken.J. & Tenorio, L.P., 1993. Flora del Valle de Tehucán-Cuicatlán. Listados Florísticos de México X Instituto de Biol.. UNAM,México,D.F.

- Domínguez, X.; Rojas, P.; Gutiérrez, M.; Armenta, N.; Lara, G. 1969. Estudio preliminar de 31 cactáceas. *Rev. Soc. Quím. Mex.* **XIII**: 9-12.
- García E. 1988 Modificaciones al sistema de clasificación climático De Köppen para la República Mexicana. Offset Larios, 4a ed. Corregida y actualizada con datos a 1980, 1a Edición, 1964.
- Gibson, A. C.; Horak, K. E. 1978. Systematic anatomy and Phylogeny of Mexican columnar cacti. *Ann. Missouri Bot. Gard.* **65**: 999-1097.
- Gibson, A. C; Nobel, P. 1990. The cactus primer. Harvard University Press. Cambridge, 286 pp.
- INEGI, 1987, Cartas Orizaba 1:250 000 Edafológica y Geológica del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México.
- Jaramillo, L.V. & González, M.F. 1983. Análisis de la vegetación arborea de la provincia Florística de Tehuacán-Cuicatlán. *Bol. Soc. Bot. Méx.* **45**.
- Mata, R., McLaughlin, J. 1976. Cactus alkaloids. XLII: 3,4-dimetoxi-D-fenetilamine and heliamine from the Mexican cereoid *Backebergia militaris*. *Lloydia* **39**: 461-463.
- Mata, R., McLaughlin, J. 1980.<sup>a</sup> Cactus Alkaloids XLV. Tetrahydroisoquinolines from Mexican Cereoid *Pachycereus pinglei*. *Planta Medica.* **38**: 180-182.
- Mata, R. McLaughlin, J. 1980.<sup>b</sup> Lemairin, a new glucoside from the Mexican cactus, *Pachycereus weberi*. *J. Nat. Prod.* **43**: 411-413.
- Mata, R.; McLaughlin, L. 1982. Cactus alkaloids. 50. A comprehensive tabular summary. *Rev. Lat. Quím.* **12**: 95-117.

- Mata, R.; Chang, C.; McLaughlin, J. 1983. <sup>13</sup>C analysis of some simple tetrahydroisoquinolines, *Phytochemistry*. **22**: 1263-1270.
- Ordaz, C.; Ferrigni, N.; McLaughlin, J. 1983. Dehydroheliamine, a trace alkaloid from the saguaro *Carnegiea gigantea* (Cactaceae). *Phytochemistry*. **22**: 2101-2102.
- Pummangura, S.; McLaughlin, L.; Davis, D.; Cooks, R. 1982. Cactus XLIX. New trace alkaloids (dehydrosalsolidine and heliamine) from the saguaro, *Carnegiea gigantea*, and confirmation by MIKES. *J. Nat. Prod.*
- Rzedowsky, J. 1978 *Vegetación de México*, Limusa, México.
- Rzedowsky, J. 1981 *Vegetación de México*, Limusa, México.
- Salisbury, F.B. & Ross, W. 1994. *Fisiología vegetal*. Grupo editorial Iberoamérica. México, D.F.
- Silverstein, R.M.; Bassier, G.C. 1992. *Spectrometric Identification of organic compounds*, Ed. John Wiley Sons 5a. ed. Pags: 3-44, 91-142, 289-315.
- Unger, S.; Cooks, R.; Mata, R.; McLaughlin, L. 1980. Chemotaxonomy of columnar Mexican cacti by mass spectrometry/mass spectrometry. *J. Nat. Prod.* **43**: 288-293.
- Zavala, H.J.A. 1980. *Estudios ecológicos en el valle semiárido de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, Clasificación de la vegetación*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. 1-160

## VIII. APÉNDICE

### REACTIVO DE DRAGENDORFF.

0.85 g de nitrato de bismuto disuelto en 40 ml de agua + 10 ml de ácido acético + 8 g de ioduro de potasio disuelto en 20 ml de agua.

**IZT.**

### TÉCNICA DE LIOFILIZACION.

La muestra se corta en pedazos de aprox.  $1 \text{ cm}^2$  y se congelan.

Se estabiliza el liofilizador a una presión de  $1 \times 10^{-4}$  TOR y una temperatura de  $-51^\circ\text{C}$ .

Las muestras se liofiliza teniendo especial cuidado en mantener siempre la presión y la temperatura constante. ( $P = 1 \times 10^{-4}$  TOR y  $T = -51^\circ\text{C}$ ).

### ABREVIATURAS.

UV – VIS	Ultravioleta Visible
IR	Infrarrojo
EM	Espectrometría de Masas
MS/MS	Masas/Masas



U.N.A.M. CAMPUS