

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE *Agave gentryi*, *Agave salmiana* y *Agave mapisaga*
(AGAVACEAE) DEL NORESTE DE MÉXICO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

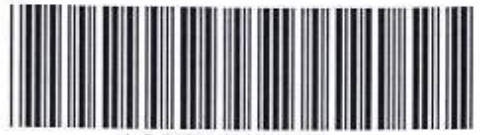
PRESENTA

ROCÍO ALEJANDRA SAUCEDO ROQUE

CIUDAD UNIVERSITARIA

DICIEMBRE DE 2002

TL
SB317
.A2
S28
2002
c.1



1080171460

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE *Agave gentryi*, *Agave salmiana* y *Agave mapisaga*
(AGAVACEAE) DEL NORESTE DE MÉXICO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

PRESENTA

ROCÍO ALEJANDRA SAUCEDO ROQUE

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE *Agave gentryi*, *Agave salmiana* y *Agave mapisaga*
(AGAVACEAE) DEL NORESTE DE MÉXICO

TESIS

que como requisito parcial para obtener el título de
BIÓLOGO

presenta:

ROCÍO ALEJANDRA SAUCEDO ROQUE

COMISIÓN DE TESIS:

DIRECTOR:


M. en C. Marcela González Álvarez

CO-DIRECTOR:


Dra. Julia Verde Star

SECRETARIO:


M. en C. Víctor Vargas López

VOCAL:


Dr. Salomón Martínez Lozano

SUPLENTE:

M. en C. Teresa Torres Cepeda

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

Juana Roque Ortíz y José Gerardo Saucedo Garza

Que siempre han estado a mi lado para darme apoyo , ánimo, cariño y comprensión, por darme la vida y gracias porque con sus esfuerzos tengo una carrera. Los amo.

A MIS HERMANOS:

Raquel y José Gerardo

Por el apoyo y cariño que me han dado siempre, los quiero mucho, aunque nunca se los diga, por todo, gracias por ser mis hermanos.

AGRADECIMIENTOS

M. en C. Marcela González Álvarez

Por su paciencia y comprensión en todo este tiempo, por su ánimo constante, que transmite a todos.

Dra. Julia Verde Star

Por su ayuda para realizar este trabajo, a pesar de las muchas actividades diarias.

Dra. Azucena Oranday Cárdenas

Por sus explicaciones y comentarios, por el apoyo brindado y la literatura facilitada.

Dra. Catalina Rivas Morales

Por su ayuda y las facilidades que me dio al utilizar las instalaciones y materiales.

A las integrantes del Laboratorio de Físicoquímica

Jessy, Paty, Vicky, Betty...por su paciencia, su ayuda y compañía en el laboratorio.

Dra. Noemí Waksman

Gracias por su ayuda y su tiempo al realizar los espectros de Infrarrojo y de Resonancia Magnética Nuclear Protónica de esta tesis.

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES:

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Por abrirme las puertas para realizar mis estudios, por darme la oportunidad de continuar superándome.

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Por prestarme sus instalaciones para desarrollarme dentro de sus aulas y laboratorios, por todos los maestros que forman parte de ella y que me transmitieron sus conocimientos.

PAICYT

Muchas gracias por el apoyo económico brindado para la realización de este proyecto.

ÍNDICE

	PÁGINA
INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Descripción de la familia Agavaceae.....	3
1.2 Ubicación taxonómica de la familia Agavaceae.....	4
1.3 Ubicación de la familia dentro de las angiospermas.....	6
1.4 Usos medicinales de la familia Agavaceae.....	7
1.5 Fitoquímica.....	9
1.6 Objetivos.....	16
1.7 Hipótesis.....	16
1.8 Claves y abreviaturas.....	17
MATERIALES Y MÉTODOS	
2.1 Clasificación botánica.....	18
2.2 Descripción de las especies	
Descripción de <i>Agave gentryi</i>	19
Descripción de <i>Agave salmiana</i>	21
Descripción de <i>Agave mapisaga</i>	23
2.3 Distribución geográfica.....	25
2.4 Lugar de colecta.....	25
2.5 Preparación del material.....	26
2.6 Obtención de los principios activos.....	26
2.7 Métodos de aislamiento e identificación	
Métodos cromatográficos.....	27
a)Cromatografía en Capa Delgada.....	27
b)Cromatografía en Columna Líquida.....	28
Métodos químicos.....	29
Revelado en placas con agentes cromogénicos.....	33
Métodos espectroscópicos.....	34
RESULTADOS	
<i>Agave gentryi</i>	35
<i>Agave salmiana</i>	45
<i>Agave mapisaga</i>	55
DISCUSIONES.....	65
CONCLUSIONES.....	68
PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN.....	69
LITERATURA CITADA.....	70

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
Tabla No. 1. Claves y abreviaturas	17
Tabla No. 2. CCD del extracto metanólico de EMAg	35
Tabla No. 3. Muestra la presencia de compuestos y grupos funcionales de EMAg	36
Tabla No. 4. Muestra la presencia de compuestos y grupos funcionales de EMAg0.47	37
Tabla No. 5. Muestra la presencia de compuestos y grupos funcionales de EMAg0.71	41
Tabla No. 6. CCD del extracto metanólico de EMAs	45
Tabla No. 7. Muestra la presencia de compuestos y grupos Funcionales de EMAs	46
Tabla No. 8. Muestra la presencia de compuestos y grupos Funcionales de EMAs0.53	47
Tabla No. 9. Muestra la presencia de compuestos y grupos funcionales de EMAs0.79	51
Tabla No. 10. CCD del extracto metanólico de EMAm	55
Tabla No. 11. Muestra la presencia de compuestos y grupos funcionales de EMAm	56
Tabla No. 12. Muestra la presencia de compuestos y grupos funcionales de EMAm0.42	57
Tabla No. 13. Muestra la presencia de compuestos y grupos funcionales de EMAm0.78	61

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1. Estructura general de un tanino	11
Figura 2. Estructura general de una saponina	11
Figura 3. Hecogenina	12
Figura 4. Tigogenina	12
Figura 5. Rocogenina	13
Figura 6. Agavogenina	13
Figura 7. Manogenina	13
Figura 8. Samogenina	13
Figura 9. Mexogenina	13
Figura 10. <i>Agave gentryi</i>	20
Figura 11. <i>Agave salmiana</i>	22
Figura 12. <i>Agave mapisaga</i>	24
Figura 13. Espectro de IR para el compuesto EMAg0.47	38
Figura 14. Espectro de RMNH ¹ para el compuesto EMAg0.47	40
Figura 15. Espectro de IR para el compuesto EMAg0.71	42
Figura 16. Espectro de RMNH ¹ para el compuesto EMAg0.71	44
Figura 17. Espectro de IR para el compuesto EMAs0.53	48
Figura 18. Espectro de RMNH ¹ para el compuesto EMAs0.53	50
Figura 19. Espectro de IR para el compuesto EMAs0.79	52
Figura 20. Espectro de RMNH ¹ para el compuesto EMAs0.79	54
Figura 21. Espectro de IR para el compuesto EMAm0.42	58
Figura 22. Espectro de RMNH ¹ para el compuesto EMAm0.42	60
Figura 23. Espectro de IR para el compuesto EMAm0.78	62
Figura 24. Espectro de RMNH ¹ para el compuesto EMAm0.78	64

INTRODUCCIÓN

El género *Agave* es un importante recurso natural desde hace al menos 9,000 años. En épocas prehispánicas estaba vinculado con numerosas deidades, entre las más representativas está la diosa Mayahuel.

Las innumerables formas en que los mexicanos aprovechaban el maguey a la llegada de los españoles motivaron la denominación con que algún cronista de los primeros tiempos de la colonia designó ésta planta “árbol de las maravillas” (Goncalves, 1956; González G., 1994; Martínez M., 1936).

Taxonómicamente, el género *Agave* se ubica en la familia Agavaceae (Cronquist, 1981; Gentry, 1982; Granados, 1993). Este género cuyo nombre viene del griego *Agavos*, y significa “admirable”, fue descrito por Linneo en 1753, siendo la primera especie *Agave americana* (Martínez C., 1994).

En América se han reportado aproximadamente 310 especies, existiendo en México 272 de éstas, razón por la cual se le considera a este país como el centro de origen (Granados, 1993).

Debido a que la mayor parte de la República Mexicana presenta zonas áridas o semiáridas que son los lugares donde se desarrolla el maguey, constituye un importante recurso para éstas regiones, como lo es la región noreste del país (Martínez C., 1994).

El maguey ha sido explotado tanto a nivel particular como alimento, bebidas, forraje, construcción, medicina, vestimenta, etc. (Alanís y cols., 1996), como industrial (para obtener papel, celulosa, levaduras de alto contenido proteico, mieles incristalizables de varias graduaciones, saponinas, alcoholes, sustancias corrosivas y otros productos, sin dejar de mencionar los usos medicinales) (Torres, 1995).

La mayoría de las plantas acumulan sustancias orgánicas que pueden extraerse en cantidades factibles de ser utilizadas económicamente, como resinas, taninos, aceites, ceras, gomas, saponinas, tinturas, farmacéuticos, etc. Estas sustancias son clasificadas como metabolitos primarios o secundarios (Torres, 1995).

Los metabolitos primarios en las plantas se necesitan en el metabolismo básico de la célula, por ejemplo ácidos grasos, aceites vegetales y carbohidratos como sacarosa y celulosa (Torres, 1995).

Los metabolitos secundarios son derivados de los primarios, pero más limitados en el reino vegetal, con frecuencia tienen un papel ecológico, por ejemplo, funcionan como atrayentes en la polinización, como defensa, etc. (Mann, 1978; Putnam, 1983; citados por Constantino, 1997).

Se pretende contribuir con un estudio químico de algunas especies de maguey (*Agave gentryi*, *Agave salmiana* y *Agave mapisaga*) cuya información nos proporcionará sus posibles usos potenciales, creando un mayor conocimiento sobre estas especies y por ende, contribuyendo a su preservación.

1.1 Descripción de la familia Agavaceae.

Agavaceae

Son plantas grandes, macizas, suculentas, multianuales, con un pequeño pedúnculo grueso y bulbos externos, hojas generalmente verdes, la mayoría largas, carnosas, gruesas hacia la base, inflorescencia grande, flores hermafroditas, polígamas, actinomorfas, racimosas o paniculadas, algunas veces acomodadas en un gran tirso; las hojas encerradas por brácteas; el tubo del perianto corto, segmentos iguales o desiguales; corola nunca presente, estambres (6) insertos en la base del tubo, finalmente filiformes o gruesos hacia la base, libres, antera linear usualmente fija al dorso; ovario súpero o ínfero tricapsular; estilo delgado, óvulos numerosos a solitarios en cada cápsula superpuestos en dos series; fruto una cápsula lucolícida con semillas numerosas a solitarias compresas con endospermos carnosos alrededor del embrión (Granados, 1993).

Un aspecto importante de estas plantas que les permiten vivir en medios áridos es el metabolismo fotosintético que presentan que es del tipo ácido de las crasuláceas (MAC). Este metabolismo es muy parecido a las plantas que tienen metabolismo C_4 difiriendo solo en la secuencia de la enzima que reacciona en la oscuridad y con demandas evapotranspirativas bajas, fijando el máximo CO_2 en la noche, teniendo su asimilación fotosintética en el período de luz, almacenándolo, los estomas se cierran disminuyendo la pérdida de agua (Granados, 1993).

En sequía severa hay una recirculación interna de CO_2 evitando la inhibición del aparato fotosintético, cuando el cierre estomático total impide la absorción de CO_2 externo; la vía MAC contribuye a la producción de materia orgánica y crecimiento de la planta (Medina, citado por Granados, 1993).

1.2 Ubicación taxonómica de la familia Agavaceae.

Uno de los grupos taxonómicos “problema” en la sistemática de las plantas superiores es, sin duda alguna, el género *Agave* L. del cual puede decirse que constituye un complejo taxonómico bastante difícil de dilucidar, ya que presenta generalmente un genotipo muy variable que trae como consecuencia, un fenotipo igualmente variable, y esto, en muchos casos, se refleja en variaciones morfológicas muy marcadas entre las especies, aún dentro de una misma población, para diferenciarlas se basan en gran parte en caracteres de órganos vegetativos (Piñol, 1970).

La familia Agavaceae, se propuso por Endlicher en el año de 1841, el cual la bautizó con el género *Agave*, ésta propuesta no fue considerada en las clasificaciones más importantes del siglo XIX y principios del siglo XX. Fue hasta el año de 1934 cuando Hutchinson reconsidera la familia, proponiendo su formación con 6 tribus y 19 géneros segregados tanto de Liliaceae como de Amarilidaceae. A partir de entonces y hasta la actualidad existe un gran debate acerca de la delimitación genérica de las tres familias anteriores (Constantino, 1997).

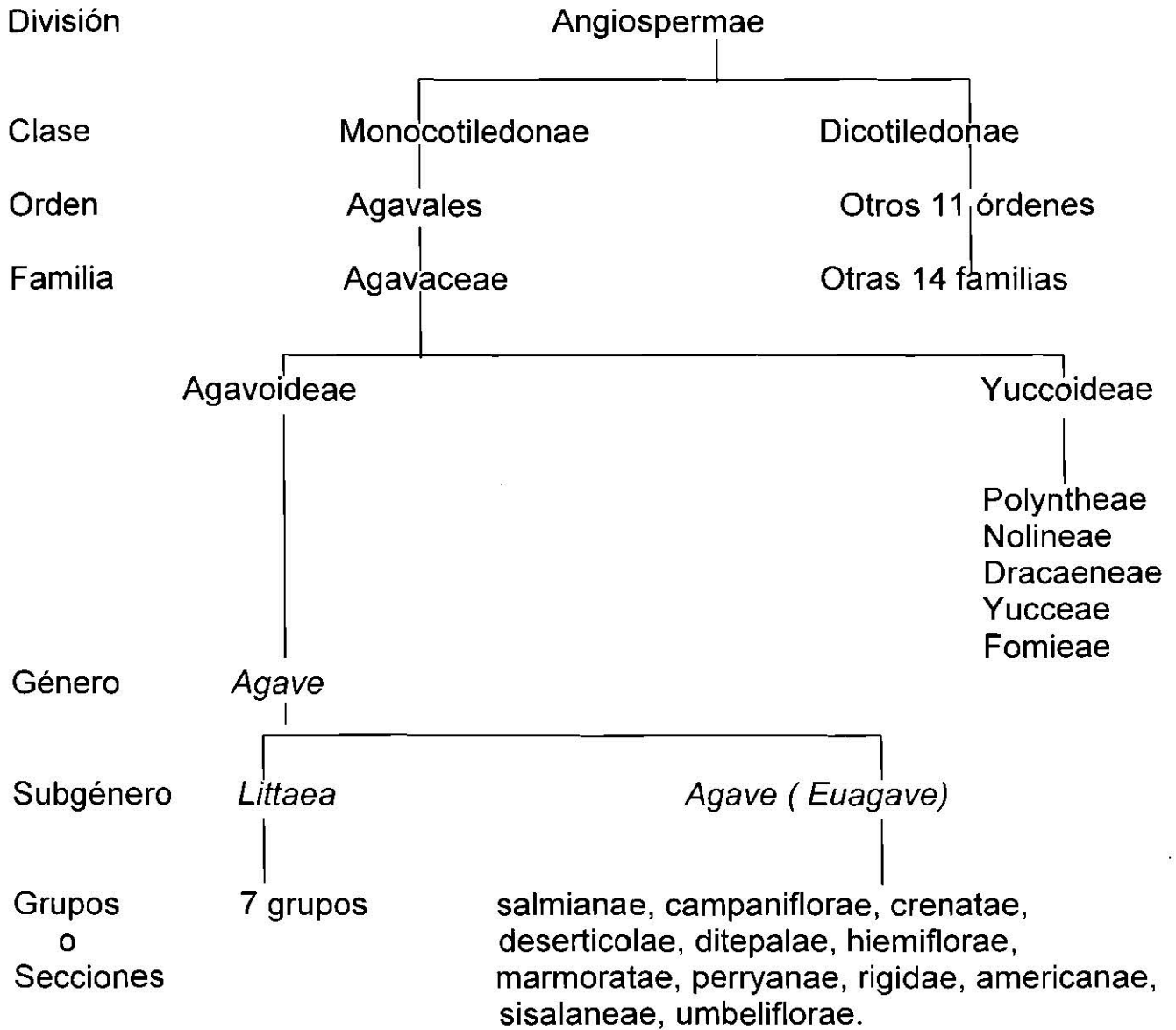
Linneo describió el género *Agave*, estableciendo con él cuatro especies: *Agave americana*, *Agave virginica*, *Agave vivipara* y *Agave foetida* (Piñol, 1970; Granados, 1993).

Mendoza (1998) ubica los agaves o magueyes, junto con las yucas o izotes y los amoles dentro de la familia Agavaceae, y dice que está formada por los géneros *Agave*, *Beschorneria*, *Furcraea*, *Hesperaloe*, *Manfreda*, *Polianthes*, *Prochnyanthes* y *Yucca*.

Granados (1993) argumenta que la presencia de la inflorescencia escaposa umbelada, con un involucre de dos o más brácteas membranosas (rara vez una sola), es un carácter de Amarilidaceae. En cambio, las Liliaceae nunca tienen una

verdadera umbela; el carácter distintivo para separar a las Agaváceas de las Liliáceas es su hábito arborescente. Las Agavaceae casi nunca tienen bulbos a la manera de muchas Liliaceae, y su inflorescencia nunca es una umbela como en las Amarilidaceae.

1.3 Ubicación de la familia dentro de las angiospermas.



(Cronquist, 1981; citado por Granados, 1993).

1.4 Usos medicinales de la familia Agavaceae.

En Yucatán varias especies de maguey son utilizadas con fines medicinales, *Agave sp.*, es un remedio para las mordeduras de serpiente; *Agave americana* se utiliza contra el cáncer, calentura, espasmos del estómago, depurativo de la sangre, para golpes, heridas y mordeduras de serpientes; *Agave fourcroydes* se aprovecha para males espasmódicos, heridas y llagas; *Agave ixtli* se utiliza como diurético para cáncer de riñones, diabetes, diurético, gonorrea, incordios, apostemas, retención de orina, depurar riñones con piedras y arenillas y para mordeduras de serpiente. (Mendieta, R. M. y S. del Amo, 1981).

Martínez, M. (1936) menciona que el jugo de los magueyes de los climas templados tiene apreciables cualidades depurativas, y en la época colonial se utilizaba como remedio contra la sífilis.

El maguey se utiliza para los golpes contusos en el pecho, para apostemas y tumores interiores, para el dolor de costado, para toda clase de heridas, gonorrea, dolor de muelas, etc. (Martínez, M., 1969).

En el estado de Hidalgo, México, se utilizan 9 taxa de magueyes para el alivio de ciertos malestares; al considerar que un solo taxa se emplea para uno o más padecimientos resulta que en enfermedades del sistema respiratorio y aparato digestivo se emplean 5 especies, en traumatismo 3, en músculo esquelético 2, sistema circulatorio 1, síndrome de filiación cultural 1, sistema urinario 1, piel 1, enfermedades metabólicas e infecciosas 1, y en veterinaria 3 especies (Rangel, S. y A. Aguilar, 1994).

El efecto hipocolesterolémico de algunas saponinas ha prometido un interés clínico considerable, muchas saponinas poseen actividad antimicrobiana, además presentan actividad antiinflamatoria, inhiben arritmias cardíacas y tienen efecto analgésico (Mahato y cols., 1982).

1.5 Fitoquímica.

El estudio fitoquímico y el cultivo de tejidos de *Beschorneria yuccoides* C. Koch (Agavaceae) muestra la presencia de saponinas. En el estudio microbiológico usando algunas especies de hongos que producen micosis en el hombre y extractos metanólicos de las hojas a una concentración de 500 mg/l vertiendo 1 ml. en disco de Petri, se produjeron zonas de inhibición con un diámetro de 27.6 mm más o menos (Villegas y cols., 1994).

Aguilar y Zolla (1982) mencionan que *Agave lechuguilla* presenta dos agentes tóxicos, uno de ellos fotosensibilizador de la piel y el otro con efectos sobre el hígado y los riñones y es debido a una saponina tóxica presente, la cual es soluble en agua y no se activa al ser sometida a temperaturas elevadas.

Las sustancias químicas que se encuentran en la mayoría de las variedades de *Agave*, es la sapogenina, estas se pueden considerar como el principal agente tóxico encontrado en las variedades de *Agave*; este agente puede actuar con algunas otras sustancias tóxicas encontradas en estas plantas (Constantino, 1997).

Datos sobre aislamiento, composición monomérica y estructura de las fracciones alifáticas y no saponificable de las cutículas aisladas de las hojas de *Agave americana* muestran que es comúnmente compuesta por una mezcla de ácidos grasos de 16 y 18 carbonos, además de una serie de n-alcános con rangos de 19 a 26 carbonos. La calorimetría obtiene un bipolímero insoluble, resistente, continuo e hidrofóbico (1).

También se aisló de *Agave americana* una nueva saponina, spirostanol bidesmosídica, junto con tres conocidas saponinas. La

estructura fue elucidada como (25R)-3 β , 6 α -dihidroxi-5 α -spirostan-12 one 3, 6-di-o- β -Dglucopiranosido (2).

Aguilar, A. y C. Zolla (1982) mencionan que *Agave lechuguilla* presenta una saponina tóxica, la cual es soluble en agua, y no se inactiva al ser sometida a temperaturas elevadas. La acción fotosensibilizadora tiene dos orígenes probables: uno por acción directa debido a la presencia, segregación o separación de un pigmento fotodinámico existente en la planta (posiblemente filioeritrina) que una vez ingerida afecta la circulación periférica.

En cuanto a su composición química, los agaves contienen saponinas esteroidales. Las saponinas esteroidales son glucósidos vegetales que al contacto con el agua, generan una espuma permanente. Adicionalmente poseen un efecto hemolítico (Esquer, 1962; Jain, 1991; Johnson, 1984; Rzedowski, 1993; citados por Constantino, 1997).

Se les nombra saponinas a ciertos glucósidos vegetales, que tienen la propiedad, a semejanza de los jabones, de producir espuma persistente cuando se agitan con el agua. Son solubles en el alcohol, prácticamente insolubles en éter de petróleo, éter sulfúrico, cloroformo, benceno y sulfuro de carbono. (Velázquez, 1962).

Químicamente las saponinas se dividen en triterpenoides y esteroides. Las saponinas triterpenoides son más abundantes. (Velázquez, 1962).

En las plantas que las contienen, las saponinas influyen de un modo decisivo sobre la resorción de otros principios activos vegetales,

y es muy frecuente que pequeñas cantidades sean tóxicas para animales inferiores (Constantino, 1997).

Este mismo autor menciona que los magueyes constituyen una alternativa en el combate de insectos, ya que poseen una gran diversidad de características y sustancias químicas que pueden tener acción insecticida, ser repelentes a insectos o simplemente alterar su comportamiento. En cuanto a toxicidad para el hombre, los problemas más frecuentes son por contacto con el vegetal, debido a que el mismo posee un agente fotosensibilizador de la piel, cuando ocurre se presenta dermatitis.

Romo (1985), menciona que muchas plantas de las zonas áridas son fuente potencial de materias primas para la industria de esteroides, en especial las especies pertenecientes a los géneros *Agave*.

Cruz y cols. (1985), comenta que el Departamento de Química, del Centro de Investigación Científica de Yucatán tiene algunos proyectos sobre los residuos líquidos de *Agave sisalana*, ya que estos presentan sustancias factibles de ser utilizadas industrialmente como los taninos y las saponinas que contiene.

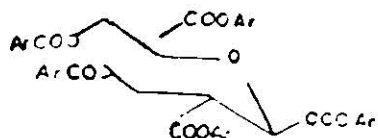


Fig.1. Estructura general de un tanino

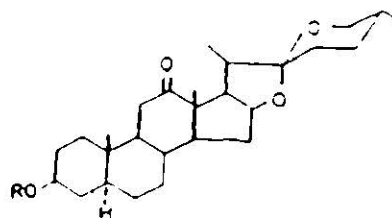


Fig. 2. Estructura general de una saponina

Entre las saponinas que presenta se encuentran la hecogenina y la tigogenina, las cuales se encuentran en relación 1:1 en la hoja, la

cual presenta pequeñas cantidades de otras saponinas (Cruz y cols., 1985).

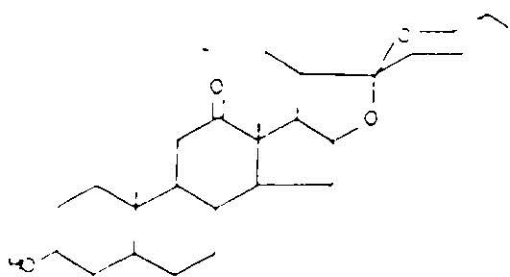


Fig. 3. Hecogenina

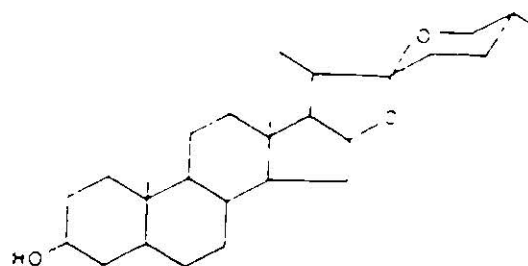


Fig 4 Tigogenina

Marker y cols. (1947) mencionan que la hecogenina fue aislada de los extractos de dos especies de la familia Bromeliaceae, una de ellas llamada *Hechtia texensis* S. Wats. Después fue hallada en numerosas especies de agaves. Se encontraron en 16 diferentes especies de agaves nativos de México y del sur de Estados Unidos. Posteriormente se averiguó que esta sapogenina es un importante constituyente del henequén (*Agave sisalana*). Por correlación con tigogenina se estableció la estructura de la hecogenina, cuando esta se sometió a una reacción de Wolff-Kishner y perdió la cetona de C-12 y se transformó en tigogenina.

Wall y cols. (1953) aislaron de *Manfreda maculosa* (Hook) la sapogenina manogenina de 18 agaves clasificados y de 5 no clasificados, esta sapogenina presenta un grupo cetónico en la posición C-12, el que se puede eliminar para transformarse en gitogenina.

La sapogenina rocogenina se obtiene con hecogenina de *Agave gracilipes* (Trel) (Romo, 1985).

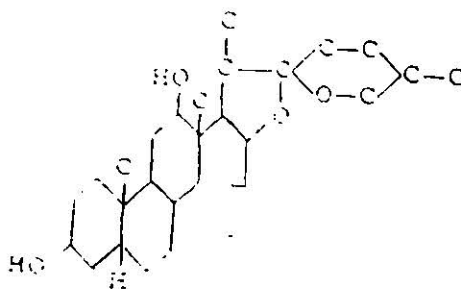


Fig. 5. Rocogenina

La agavogenina fue aislada de *Agave huachucensis*, junto con manogenina, que es principal componente esteroidal, la agavogenina es un triol que se obtiene por reducción de la manogenina (Romo, 1985).

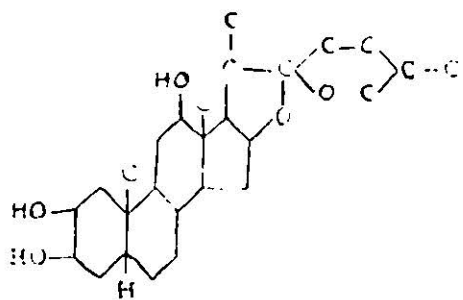


Fig. 6. Agavogenina

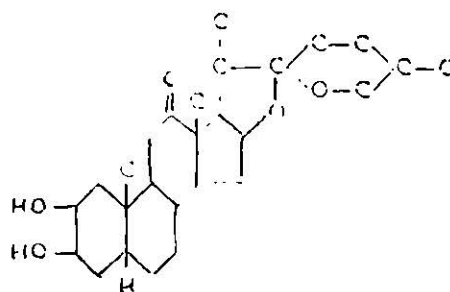


Fig. 7. Manogenina

~~Marker y cols. (1947)~~ obtuvieron las saponinas samogenina, mexogenina y markogenina.

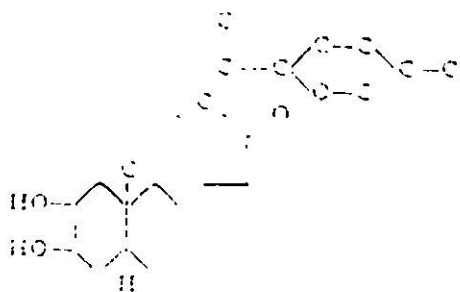


Fig. 8. Samogenina

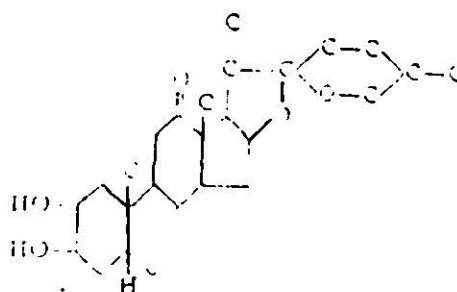


Fig. 9. Mexogenina

Callow y cols. (1955) aislaron la sisalagenina de *Agave sisalana*, este es el isómero de 25β de la hecogenina.

La cacogenina y magogenina fueron aisladas de un maguey colectado cerca del Pico de Orizaba, Veracruz, donde se le conoce como maguey cacaya (Marker y cols., 1947).

Romo (1985) menciona que son importantes los agaves utilizados para la extracción de fibras duras como *Agave sisalana* y *Agave lechuguilla* ya que los desechos que quedan después de la extracción tienen cantidades apreciables de saponinas esteroidales.

Martínez (1969) menciona que la composición química de los agaves debe ser muy variable en las distintas especies, en su literatura menciona que se han encontrado en el jugo de las pencas potasa, cal, ácido sulfúrico, clorhídrico, malato ácido de cal y una sustancia que cristaliza en forma de agujas entrelazadas. Estos cristales se depositan cuando se evapora el jugo después de agregarle ácido sulfúrico. Son insípidos, insolubles en alcohol y poco en agua. No tienen acción sobre el papel reactivo. También menciona haberse encontrado y aislado saponinas de las pencas.

La fibra de sisal (*Agave sisalana*) está constituida por 63% de α -celulosa y 18% de lignina. El principal azúcar, al igual que *Agave americana* es la D-xilosa (Romo, 1985).

El mismo autor menciona que en la cera de *Agave sisalana* existe un alto porcentaje de los hidrocarburos triacontano (54%) y hentriacontano (34%).

Aguilar, A. y C. Zolla (1982), mencionan que *Agave lechuguilla* Torr, presenta una saponina hepatonefrotóxica (esmilagenina). Es posible que la acción fotosensibilizadora de esta planta sea por una

sustancia desconocida (posiblemente filoeitrina) o por la presencia de un pigmento fotodinámico.

En cuanto a los tipos de compuestos que presentan los magueyes se encontró lo siguiente:

- a) Agavosaponinas (3)
- b) Agavosa (3)
- c) Clorogenina(3)
- d) Ácido D-glucorónico (3,8)
- e) Delta-9,11-dehidrohecogenina(3)
- f) Fibra
- g) Galactosa(3)
- h) Glucosa(3)
- i) Hecogenina(3,10)
- j) Kaempferol-3-o-glucósido(3)
- k) Kaempferol-3-rutinósido(3)
- l) L-arabinosa(3,9)
- m) Ácido oxálico(3)
- n) Ácido piscídico (3)
- o) Proteínas (3)
- p) Rhamnosa (3)
- q) Rocogenina (3)
- r) Saponinas (3,6)
- s) Esmilagenina (3)
- t) Tigogenina (3)
- u) Xilosa (3,7)
- v) Yamogenina (3,4)
- w) Diosgenina (3,5)

1.6 Objetivos

Objetivo general:

Realizar un estudio fitoquímico de las siguientes especies:

-*Agave gentryi*.

-*Agave salmiana*.

-*Agave mapisaga*.

Objetivos específicos:

-Determinar los compuestos orgánicos y grupos funcionales de las especies anteriores.

-Aislar los compuestos más abundantes en las especies.

-Identificar los compuestos aislados.

-Ampliar los conocimientos fitoquímicos existentes sobre las especies en estudio.

1.7 Hipótesis.

Agave gentryi, *Agave salmiana* y *Agave mapisaga* poseen diferencias en los tipos de compuestos presentes en sus hojas.

1.8 Claves y abreviaturas

CCD	Cromatografía en Columna Delgada
°C	Grados Celsius
CCL	Cromatografía en Columna Líquida
Mg	Miligramos
ml	Mililitros
NaOH	Hidróxido de sodio
KOH	Hidróxido de potasio
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
KMnO ₄	Permanganato de potasio
2-4, D. N. F. H.	2-4, dinitrofenilhidrazina
HCl	Ácido clorhídrico
FeCl ₃	Cloruro férrico
CoCl ₂	Cloruro de cobalto
Grs	Gramos
Ep	Éter de petróleo
Bc	Benceno
Ac	Acetona
Me	Metanol
Cl	Cloroformo
U. V.	Ultravioleta
No.	Número
IR	Infrarrojo
RMNH ⁻¹	Resonancia Magnética Nuclear Protónica

Tabla No. 1. Claves y abreviaturas.

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Clasificación botánica.

REINO Vegetal

SUBREINO Spermatophyta

CLASE Angiospermae

SUBCLASE Monocotiledónea

ORDEN Agavales

FAMILIA Agavaceae

GÉNERO *Agave*

ESPECIES *gentryi*
salmiana
mapisaga

2.2 Descripción de las especies.

Descripción de *Agave gentryi* (Gentry, H. S., 1982).

Plantas rígidas, multianuales, no surcadas, verdes, con espinas cortas y gruesas; hojas de 45 a 84 x 17 a 26 cms muy anchas y gruesas en la base, generalmente triangulares, largas, acuminadas, profundamente cóncavas, redondeadas por abajo, verde oscuro a verde claro, algunas veces levemente glaucas, los márgenes partidos o enteros, fuertemente armadas; dientes filosos comúnmente de 8 a 12 mm de largo, 2 a 4 cms de separación, las puntas anchas redondeadas por la base, torcidas o dobladas, castañas a gris pardusco, espinas terminales muy fuertes, 4.5 a 6.5 cms de longitud, subovaladas, acanaladas hasta dos tercios de su extensión, redondeadas o quilladas por abajo, pardo oscuro a grisáceo; panículas de 3 a 5 mts de alto, sobre pedúnculos fuertes con grandes brácteas carnosas, imbricadas estrechamente en la base de la panícula; panículas con contorno piramidal con 10 a 28 ramas en forma de umbelas y con muchas flores; flores de 70 a 90 mm de longitud, botones rojos, amarillos al abrir, ovarios verdes, suculentos; ovarios de 35 a 55 mm de largo con cuello ranurado; cámara de 11 a 16 mm de profundidad, de 16 a 22 mm de ancho, forma de embudo, paredes gruesas, acanaladas profundamente; tépalos, 20 a 28 x 6 a 8mm, lineares lanceolados, erectos o encurvados, gruesos carnosos, papilado por adentro, el interior con quillas gruesas; filamentos, 50 a 65 mm de largo, amarillos, aplanados-angulados, insertados 8 a 12 mm por encima del botón tubular; anteras amarillas, 25 a 30 mm de largo, regulares, céntricas o excéntricas; pistilo extendido, el estigma globoso, trilobulado, cápsulas de 6 a 7.5 x 2 a 2.5 cms, oblongas, leñosas, estípites cortos, café oscuro, semillas lacrimiformes, de 7 a 8 x 6 mm, negro brillante. (Fig. 10)



Fig. 10. *Agave gentryi*.

Descripción de *Agave salmiana* (Gentry, H. S., 1982).

Plantas con tallos cortos y gruesos, con raíz fibrosa, hojas dispuestas cerradamente formando rosetas masivas de 1.5 a 2 m de alto; hojas de 100-200 por 20-35 cm (depende de la variedad), anchas linear-lanceoladas, acuminadas, carnosas-verdes a glaucogrisáceas, profundamente convexas en la base, cóncavas o surconadas hacia arriba, con espina terminal pungente y con abundantes dientes marginales; largas, acanaladas, simples, enteras, más o menos lanceoladas con el ápice agudo hasta un color verde grisáceo; la prefoliación es central, se la conoce con el nombre de meyolotli (en náhuatl) a la yema central que alcanza casi toda la longitud de la planta; las yemas laterales nacen cerca del suelo y reciben el nombre de mecuate (mecoatl en náhuatl). La inflorescencia es densamente subespigada o dispuesta en panícula a panoja tirsoide, de 7-8 m de alto, con 15-20 grandes umbelas en el cuarto superior del eje. El bordo floral es alto y rojizo y se halla provisto de numerosas brácteas perfoliadas. Las flores son monoperiantadas de ovario ínfero, hermafroditas y provistas de pedúnculos cortos y encorvados; perianto de 6 piezas, tubulosa e infundiliforme; androceo de 6 estambres largamente exsertos, gineceo constituido por un ovario oblongo y cilíndrico, trilocular, multiovulado; estilo central alesnado y estrigmatrigeno y capitado. El fruto es una cápsula oblonga con 6 casillas longitudinales y 3 lóculos poliespermos. Las semillas (de 8-9 x 6-7 mm) negras, deprimidas, triangulares, con el embrión recto y el endospermo carnosos.

Agave salmiana probablemente proporcione el 75% de el licor fermentado (pulque) producido y consumido en la región central de México.(Figura No. 11).



Fig. 11. *Agave salmiana*

Descripción de *Agave mapisaga* (Gentry, H. S., 1982).

Es una planta amplia, con un pequeño tallo macizo, de 2 a 2.4 m de altura; hojas lineales formando rosetas desplegadas, de 185-250 x 19-25 cm, extendidas o ascendentes; la base maciza, carnosa, extendida arriba, convexa abajo; la hoja ascendente, margen recto con pequeños dientes pardos, la cúspide de 2 a 2.5 mm de longitud; espinas de 3 a 5 cm de longitud, cónicas; inflorescencia maciza de 7 a 8 o más de alto; pedúnculo cerrado colocado a lo largo de las suculentas brácteas; panoja ancha extendida, con 20 a 25 kgs de peso, flores largas y densas suculentas, 80-100 mm de longitud; tépalos frecuentemente rojizos en la yema y abiertos y amarillos sobre los ovarios verdes; ovario de 40-52 mm de longitud, grueso, redondo; tubo profundo de 14-21 mm, carnoso, pared maciza, surco profundo; el ápice en el interior de 2-3 mm, filamentos (55-70 mm de longitud) insertados en dos hojas de 11 a 15 mm sobre la base del tubo, anteras amarillas, de 30-35 mm de longitud, excéntricas; pistilo distribuido sobre el estambre corpulento, cápsulas de 6 a 6.5 x 2 cm; semillas de 7-8 x 5-6 mm, negras.

Agave mapisaga está emparentado con *Agave salmiana*, pero fácilmente se distingue por sus largas hojas lineales. Frecuentemente se establece en cultivo combinado con *Agave salmiana*, raramente se le encuentra solo. (Figura 12).



Fig. 12. *Agave mapisaga*.

2.3 Distribución geográfica.

Agave gentryi es una especie de alta montaña, vive generalmente entre los 2150 y 2800 mts de elevación en rocas calizas en bosque de pino-encino o en chaparral. Esta especie ha tenido un amplio rango de distribución de más de 800 kms en la Sierra Madre Oriental. Tal vez no sea su localidad natural tipo, pero fue probablemente colectado primeramente desde la parte más al sur de su distribución en el estado de Hidalgo (Gentry, 1982).

Agave salmiana, el gran maguey pulquero, crece en la región del altiplano central de México, a lo largo de las carreteras cercanas a la ciudad de México y en los estados de Michoacán, Guanajuato, Hidalgo, Tlaxcala, Puebla y Morelos (Granados, 1993; Gentry, 1982).

Agave mapisaga es cultivado extensamente y crece disperso sobre las montañas del centro de México.

2.4 Lugar de colecta.

Las pencas fueron colectadas en distintas localidades, siendo éstas:

Agave gentryi: estación Carneros, Saltillo, Coahuila. (5-Feb-2002)

Agave salmiana: estación Carneros, Saltillo, Coahuila.(5-Feb-2002)

Agave mapisaga: Mexquitic de Carmona, S. Luis Potosí(9-Mzo-2001)

2.5 Preparación del material.

Las pencas de las tres especies (*Agave gentryi*, *Agave salmiana* y *Agave mapisaga*) fueron puestas a secar sobre papel periódico en un lugar donde no le lleguen los rayos solares directamente. Posterior a esto, fueron trituradas por separado en un molino tipo Wiley, de modo que las partículas quedaran lo más pequeñas posible.

2.6 Obtención de los principios activos.

Se realizó mediante una extracción con metanol durante 7 días consecutivos del material previamente seco y molido, usándose para este propósito extractores tipo "Soxhlet". Así se obtuvo la parte soluble en metanol llamada extracto metanólico.

Cada uno de los extractos metanólicos fueron evaporados en un rotavapor tipo "Buchler" utilizando presión reducida y bajas temperaturas.

El aislamiento de los principios activos de la planta se realizó por medio de los métodos que serán descritos en este mismo capítulo, más explícitamente en el punto siguiente.

2.7 Métodos de aislamiento e identificación.

Métodos cromatográficos.

a) Cromatografía en Capa Delgada (CCD).

Este tipo de cromatografía se realiza utilizando una placa de vidrio que puede variar en dimensiones, cubierta de una capa de espesor específico y constante de sílica. Éste se prepara de la siguiente manera: se pesan 300 grs de sílica gel 60G, se le añade agua destilada (100 ml) y se mezcla de modo que no queden grumos, la cantidad de sílica o de agua puede variar dependiendo de la consistencia de la mezcla de modo que no quede ni muy sólida ni muy líquida, para que se pueda esparcir uniformemente en la placa. Las muestras a analizar se colocan sobre la placa con capilares de diámetro muy pequeño, de manera que no se rompa la placa y que la cantidad de la muestra sea constante a lo largo del ancho de la placa. Después la placa se corre en una cámara que se adapte a las dimensiones de la placa utilizada. Se utiliza un eluyente apropiado y la cámara se tapa, para permitir la saturación con los vapores de este.

1. Cámaras utilizadas.

- Cámaras en forma de cubo (rectangulares) de dimensiones variadas y con tapas de vidrio.

2. Placas utilizadas.

- De 10 cms de largo por 2.5 cms de ancho.
- De 10 cms de largo por 5 cms de ancho.
- De 10 cms de largo por 10 cms de ancho.

- De 10 cms de largo por 20 cms de ancho.

Estas placas se limpiaron previamente con etanol, para librarlas de cualquier tipo de impureza o residuo.

3. Soporte.

El soporte se prepara mezclando 300 grs de sílica de la marca Merck, con 100 ml de agua destilada de modo que no queden grumos. Con ésta mezcla se cubren las placas, procurando no se hagan burbujas. Después se dejan secar varias horas a temperatura ambiente y por último se llevan a activar en una estufa a 100°C durante una hora.

4. Eluentes.

Los eluentes utilizados son principalmente cloroformo, metanol, benceno, acetona y éter de petróleo, mezclando los necesarios a diferentes relaciones.

b) Cromatografía en Columna Líquida (CCL).

Esta cromatografía consta también de dos fases, la estacionaria y la móvil. Se utilizan columnas de vidrio de dimensiones variadas. Se colocan en su interior hasta el fondo una porción de papel filtro, en seguida una porción de algodón, e inmediatamente la fase estacionaria de sílica de malla 200, de la marca Merck, se cubre con papel filtro, se le adiciona la muestra en sílica, se tapa con otro papel filtro, y por último se le pone un pedazo de algodón. Como fase móvil se usaron disolventes de polaridad creciente, en mezclas y en relaciones diferentes.

Métodos químicos.

Los métodos utilizados se basaron en la tesis de González Chapa(1984).

Prueba de triterpenos y compuestos esteroidales.

Prueba de Lieberman- Burchard.

Se disuelven 1.5 mg de la muestra en cloroformo, luego se le añaden unas gotas del reactivo, observándose cambios de coloración, el reactivo se prepara agregando una gota de ácido sulfúrico concentrado a una mezcla de 1 ml. de anhídrido acético y 1 ml. de cloroformo.

Prueba de esteroides y metilesteroides.

Prueba de Salkowski.

De uno a dos miligramos de la muestra disuelta en un mililitro de cloroformo se pone en contacto con un mililitro de ácido sulfúrico concentrado. Desarrolla colores amarillos o rojos si la prueba es positiva.

Prueba para compuestos de tipo flavonoide.

Prueba de Shinoda.

A 1 mg. de muestra disuelta en etanol y con limaduras de magnesio, se le aplica calor (60°C) y después unas gotas de ácido clorhídrico por las paredes.

Se considera positiva la prueba con la aparición de coloraciones naranja, rojo, rosa, azul y violeta.

Prueba para flavonoides.

Prueba de H₂SO₄ concentrado.

Una pequeña cantidad de la muestra se disuelve en ácido sulfúrico concentrado y se observan coloraciones amarillas para flavonas y flavonoles, rojo-azuloso para chalconas y naranja-guinda para flavonas.

También detecta quinonas con coloración roja-púrpura.

Prueba para sesquiterpenlactonas.

Prueba de Baljet.

Se utilizan dos soluciones que se mezclan en volúmenes iguales antes de usarse:

Solución A: 1 gr de ácido pícrico en 100 ml de etanol.

Solución B: 10 grs de NaOH en 100 ml de agua.

Para la prueba se ponen de 2 a 3 mg. de compuesto y unas 3 a 4 gotas del reactivo, siendo positiva si se forma una coloración naranja o roja oscura.

Prueba para coumarinas.

Prueba de KOH 10%.

Como las coumarinas son lactonas se pueden disolver en soluciones alcalinas o alcohólicas con aparición de una coloración amarilla, la cual desaparece al acidular.

Prueba de carbohidratos.

Prueba de Molish.

En un tubo de ensaye se coloca 1 mg de muestra ó 0.2 mls, se añade el reactivo el cual se prepara añadiendo 1 gr de α -naftol en 100 mls de alcohol etílico, después de agregar el reactivo se inclinó el tubo y se agrega 1 ml de H_2SO_4 concentrado por las paredes. Se considera positiva la prueba si hay anillo coloreado en interfase.

Prueba de insaturaciones.

Prueba de $KmnO_4$.

Una pequeña cantidad de muestra se coloca en un capilar y un poco de reactivo ($KmnO_4$ 1%) en otro capilar, luego se mezclan y si se conserva la desaparición del color púrpura del $KmnO_4$ 1%, y formación de un precipitado color café se considera positiva la prueba.

Prueba de grupo carbonilo.

Prueba de la 2, 4 D. N. F. H.

Una pequeña cantidad de una solución saturada de 2, 4 D. N. F. H. en HCl 6N, se coloca en un capilar y en otro se coloca una pequeña cantidad de muestra, luego se mezclan y si aparece un precipitado naranja se considera positiva la prueba.

Prueba para fenoles.

Prueba de tricloruro férrico.

Una pequeña cantidad de muestra se disuelve en alcohol, a ésta solución se le agregan unas gotas de una solución de FeCl_3 al 5%, la prueba se considera positiva si aparecen coloraciones violetas, rojas, azules o verdes.

Prueba para saponinas.

Prueba de bicarbonato de sodio.

Un poco de la muestra en un tubo de ensayo, se le agregan unas gotas de bicarbonato de sodio al 10%. Se considera positiva la prueba si aparecen burbujas.

Revelado en placa con agentes cromogénicos.

(Wagner, H y cols., 1984)

Se usó principalmente:

1. Luz ultravioleta: detecta sistemas planares.

2. Vapores de yodo: se corren las cromatografías y se colocan en una cuba con yodo resublimado en un vaso de precipitado y se tapa. Se dejan actuar los vapores de yodo sobre la placa para detectar compuestos orgánicos, con coloración café.

3. Prueba de Dragendorff (para alcaloides): la prueba se hace corriendo una C. C. D. para la muestra, una vez teniendo ésta se rocía un poco de reactivo Dragendorff a la placa y si la mancha de la muestra a investigar se torna naranja se considera positiva la prueba.

Forma de preparar el reactivo de Dragendorff:

Solución A: Se disuelven 0.85 grs de subnitrito de bismuto en una mezcla de 10 mls de ácido acético glacial y 40 mls de agua.

Solución B: Se disuelven 8 grs de yoduro de potasio en 20 mls de agua.

Cuando se va a usar el reactivo de Dragendorff se mezclan 5 mls, de solución A y 5 mls de solución B y se le añaden 20 mls de ácido acético glacial. La solución se afora con agua hasta 100 mls.

Métodos espectroscópicos.

-Espectro de Infrarrojo.

-Espectro de Resonancia Magnética Nuclear Protónica.

Ambos espectros se realizaron en la Facultad de Farmacología y Toxicología de la Unidad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, por la Dra. Noemí Waksman.

RESULTADOS

1. *Agave gentryi*.

Preparación del material:

Las pencas de *Agave gentryi* se cortaron y secaron a temperatura ambiente, entre papel periódico, cambiándolo continuamente, durante una semana.

Obtención de los principios activos:

Al secarse, las pencas se molieron hasta que quedaran a casi polvo, se pesaron 40 grs de éste y se pusieron a extraer en un soxlhet durante 7 días consecutivos en metanol. Al terminar este tiempo, el extracto recuperado fue evaporado el solvente utilizando un evaporador rotatorio (40°C, 30% rotación). Se obtuvo un residuo color café canela que pesó 11.8 grs, al cual se le llamó EMAg. Con éste extracto se el corrió una CCD, utilizando sílica gel como fase inmóvil y como eluente EP: Bc: Ac: Me (9:9:2:2), se puso en una cuba cromatográfica, se dejó que el eluente ascendiera a 1 cm aproximadamente del borde superior de la placa, después se retiró de la cuba y se dejó secar para posteriormente revelarse utilizando luz U. V. Las manchas observadas fueron:

Mancha	Visible	U. V.	Rf	Yodo	Rf
1	-	Amarilla	0.23	-	-
2	-	Amarilla	0.37	-	-
3	Amarilla	Amarilla	0.47	Café	0.46
4	Amarilla	Azul	0.71	Café	0.7
5	-	Amarilla	0.78	-	-

Tabla No.2. CCD del extracto metanólico de EMAg.

No aparecieron bandas para alcaloides con el reactivo de Dragendorff.

Las pruebas químicas para esta especie demuestran la presencia de lo siguiente:

Prueba química	Observación	Presencia/ausencia	Resultado
Liebermann-Burchard	Verde claro	Esteroides, triterpenos	Positivo
Salkowski	Rojo oscuro	Esteroles, metilesteroles	Positivo
Shinoda	Sin cambio	Flavonoides	Positivo
H ₂ SO ₄	Rojo claro	Quinonas	Positivo
Baljet	Naranja-rojo	Sesquiterpenlactonas	Positivo
Coumarinas	Desaparece color	Coumarinas	Positivo
KMnO ₄	Precipitado café	Insaturaciones	Positivo
FeCl ₃	Sin cambio	Oxhidrilos fenólicos	Positivo
2,4-D. N. F. H.	Amarillo	Grupo carbonilo	Positivo
Molish	Anillo en interfase	Carbohidratos	Positivo
Bicarbonato de sodio	Precipitado blanco	Saponinas	Positivo

Tabla No.3 . Muestra la presencia de compuestos y grupos funcionales de EMAG.

Cromatografía en Columna Líquida (CCL).

Se seleccionaron los eluentes que dieron la mejor separación de bandas para correr la CCL. El orden de eluentes utilizados fue el siguiente: EP: Bc: Ac: Me (9:9:2:2); Bc: Cl: Ac (3:2:1); Bc: Cl (1:1); Cl: Me (5:1) y Cl: Me (6:4). Las fracciones se recogieron cada 50 ml, para después correr una CCD para cada una de ellas. Las fracciones más abundantes se pusieron a evaporar y se precipitaron con compuestos de polaridad contrastante (acetona y metanol). Se escogieron dos de estos compuestos. Al primero se le llamó EMAG0.47, a éste se le realizaron pruebas químicas resultando lo siguiente:

Prueba química	Observación	Presencia/ausencia	Resultado
Liebermann-Burchard	Verde	Esteroides, triterpenos	Positivo
Salkowski	Rojo	Esteroles, metilesteroles	Positivo
Shinoda	Sin cambio	Flavonoides	Negativo
H ₂ SO ₄	Rojo	Quinonas	Positivo
Baljet	Naranja	Sesquiterpenlactonas	Positivo
Coumarinas	Desaparece color	Coumarinas	Positivo
KMnO ₄	Precipitado café	Insaturaciones	Positivo
FeCl ₃	Sin cambio	Oxhidrilos fenólicos	Negativo
2,4-D. N. F. H.	Amarillo	Grupo carbonilo	Positivo
Molish	Anillo en interfase	Carbohidratos	Positivo
Bicarbonato de sodio	Precipitado blanco	Saponinas	Negativo

Tabla No. 4. Muestra la presencia de compuestos y grupos funcionales de EMAg0.47

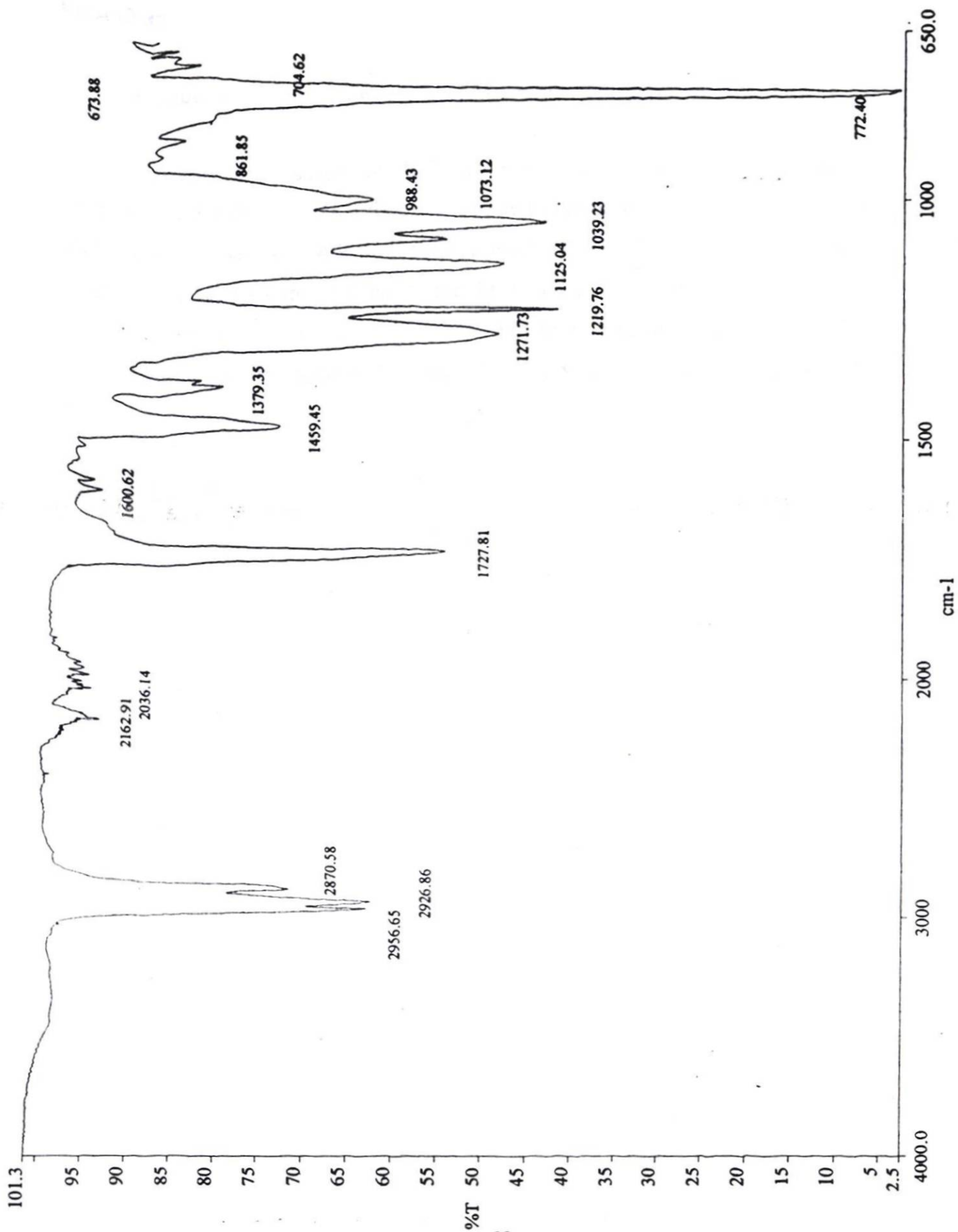
Análisis de Espectro Infrarrojo (IR) del compuesto EMAg0.47.

Enseguida se le corrió un IR, para el cual se obtuvieron las siguientes señales :

Se observa una banda de absorción mediana en 2956-2926 cm⁻¹ debido a estiramientos C-H. En 2870 cm⁻¹ se observa una banda para protones unidos a grupo cetona. En la región de 1727 cm⁻¹ se encuentra una banda muy intensa debida al grupo carbonilo de una cetona saturada. En 1459 y en 1379 cm⁻¹ se observan bandas que corresponden a flexiones C-H debido a la presencia de grupos metilo. De 1219 a 1073 cm⁻¹ se observan bandas que demuestran la presencia de estiramientos C-O del grupo carbonilo. Una banda intensa se presenta a 772 cm⁻¹ debida a estiramientos C- H presentes en la molécula.

(Figura No. 13)

Figura 13. Espectro Infrarrojo para el compuesto EMAG0.47



c:\pel_data\spectra\gentry-1.sp

EMAG 0.47

Análisis de Resonancia Magnética Nuclear Protónica(RMNH¹) del compuesto EMag0.47.

El espectro de RMN presentó las siguientes señales:

Se observan absorciones de 7.72 a 6.78 δ que pertenece a un protón unido a un carbono aromático, lo que provoca que absorba a un campo bajo. Se observa una absorción intensa a δ : 4.9 que corresponde a un protón unido a carbono con doble enlace. A 2.18 δ existe absorción debida a una metil cetona. Existen absorciones de 1.56-1.4 δ n que corresponden a protones terciarios saturados; de 1.37-1.28 δ a protones secundarios saturados y de 0.95 a 0.83 pertenecientes a protones primarios saturados.

(Figura No. 14)

A gentry: RF = 0.47

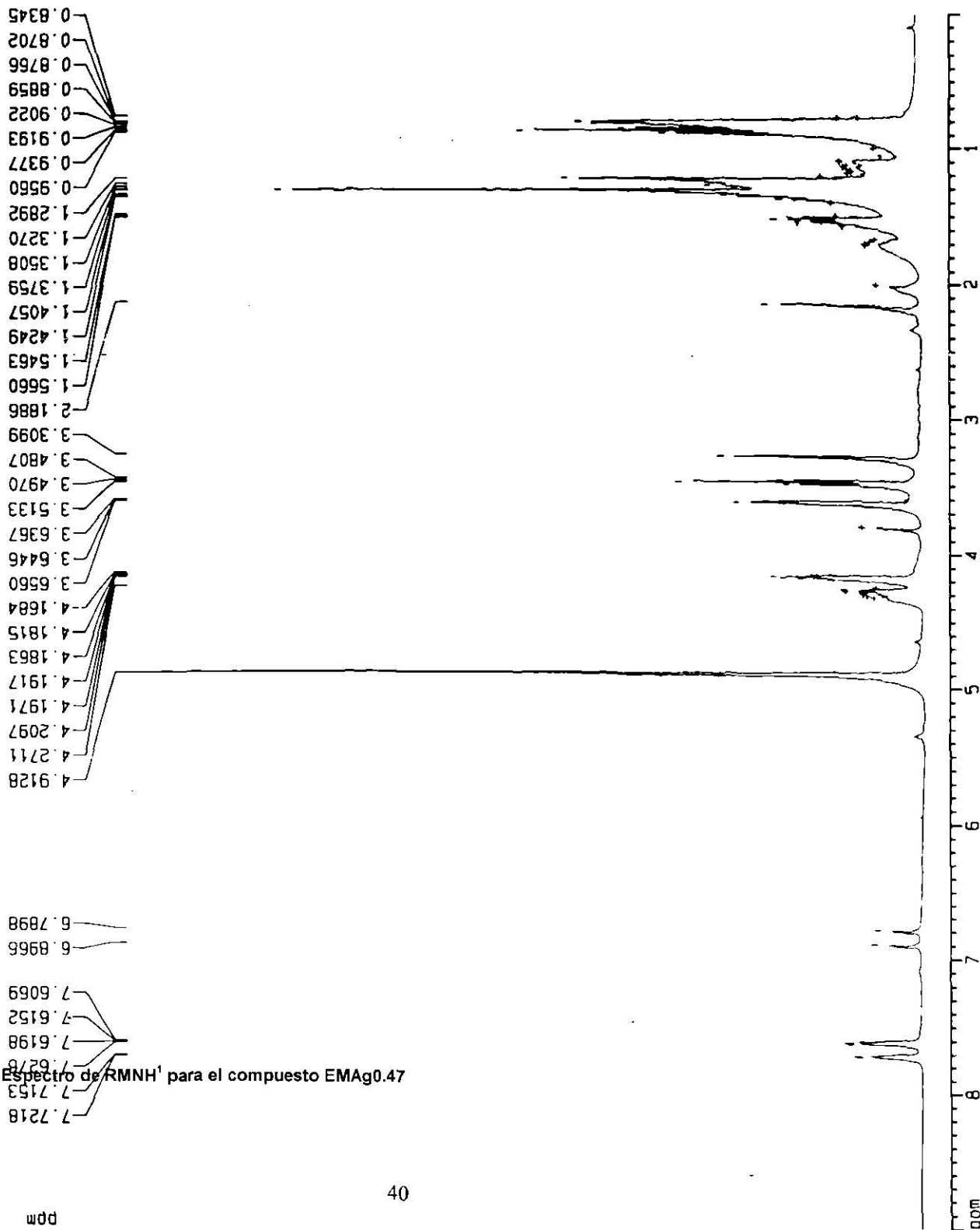


Figura 14. Espectro de RMN¹H para el compuesto EMAG0.47

Current Data Parameters
 NAME Dra_J_Verde
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 500000
 Time 10.30
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Multinu
 PULPROG zg
 TD 16384
 SOLVENT MeOH
 NS 32
 DS 4
 SMH 6009.615 Hz
 FIDRES 0.366798 Hz
 AQ 1.3631988 sec
 RG 128
 DM 83.200 usec
 DE 8.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 1.50000000 sec
 P1 12.50 usec
 DE 8.00 usec
 SF01 400.1323846 MHz
 NUC1 1H
 PL1 -3.00 dB

F2 - Processing parameters
 S1 8192
 SF 400.1300075 MHz
 MON EN
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 0.10

1D NMR plot parameters
 CX 20.00 cm
 F1P 9.000 ppm
 F1 3601.17 Hz
 F2P 0.000 ppm
 F2 0.00 Hz
 PPMOH 0.45000 ppm/cm
 NZDN 180.05850 Hz/cm

También se aisló y purificó un compuesto con un Rf de 0.71 al cual se le llamó EMAg0.71. Las pruebas químicas y resultados para este compuesto fueron:

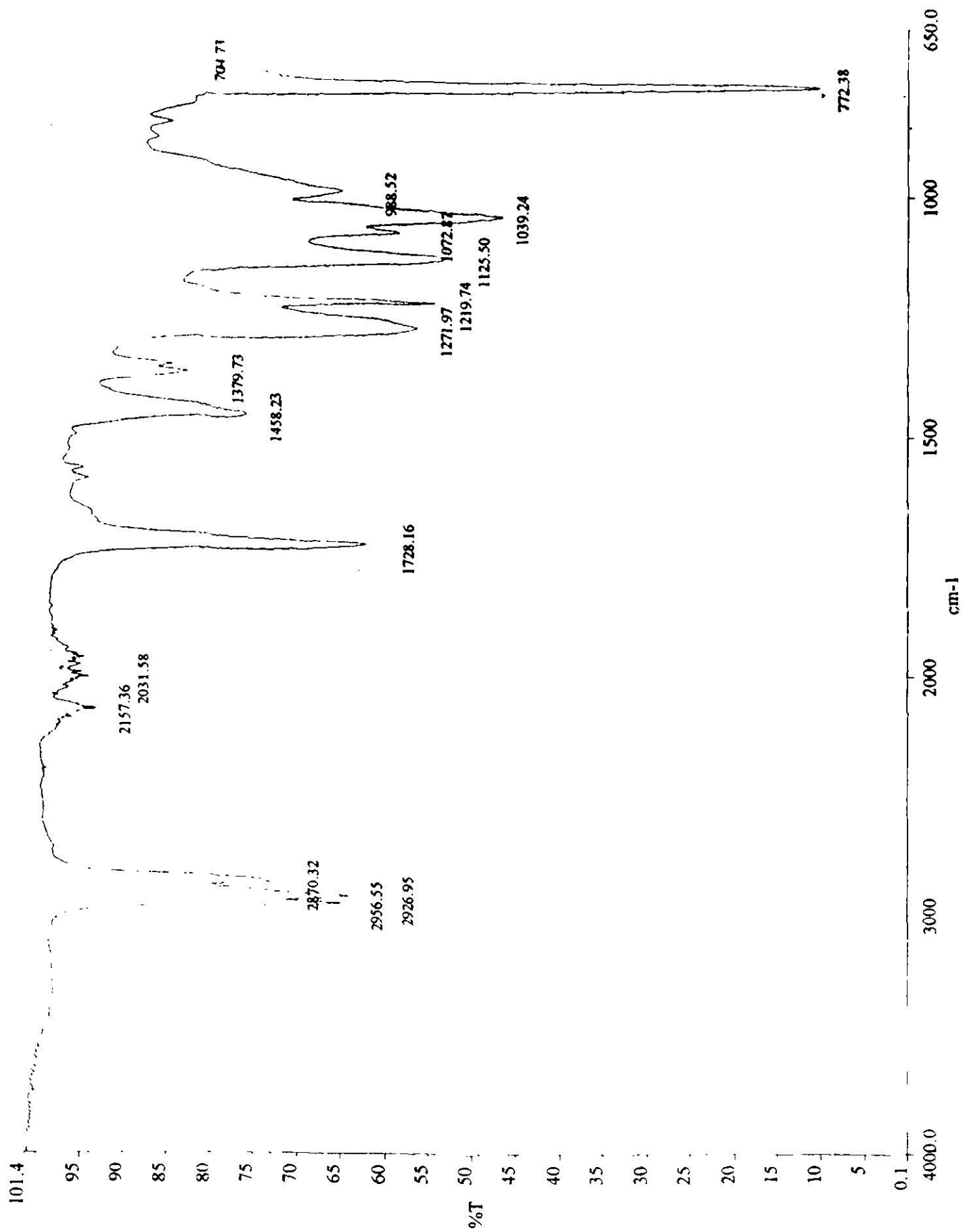
Prueba química	Observación	Presencia/ausencia	Resultado
Liebermann-Burchard	Verde	Esteroides, triterpenos	Positivo
Salkowski	Rojo	Esteroles, metilesteroles	Positivo
Shinoda	Sin cambio	Flavonoides	Negativo
H ₂ SO ₄	Rojo	Quinonas	Positivo
Baljet	Naranja	Sesquiterpenlactonas	Positivo
Coumarinas	Desaparece color	Coumarinas	Positivo
KMnO ₄	Precipitado café	Insaturaciones	Positivo
FeCl ₃	Sin cambio	Oxidrilos fenólicos	Negativo
2,4-D. N. F. H.	Amarillo	Grupo carbonilo	Positivo
Molish	Anillo en interfase	Carbohidratos	Positivo
Bicarbonato de sodio	Precipitado blanco	Saponinas	Negativo

Tabla No. 5. Muestra la presencia de compuestos y grupos funcionales de EMAg0.71

Espectro Infrarrojo (IR) del compuesto EMAg0.71

Se observa absorción a 2956 cm^{-1} debida a estiramientos carbono-hidrógeno. La presencia de estos estiramientos se confirma por una banda de absorción a 2926 cm^{-1} . En la región 2870 cm^{-1} existe una banda debida al grupo cetona. Se observa una banda en la región 1728 cm^{-1} la cual es característica para el grupo carbonilo de una cetona saturada. De 1125 a 1039 cm^{-1} existen bandas de absorción características de estiramientos C-O del grupo carbonilo. En la región de 772 cm^{-1} existe una banda intensa que demuestra la presencia de estiramientos C-H.

(Figura 15).



c:\pel_data\spectra\gentry~2.sp E.MAG0.71

Figura 15. Espectro IR para el compuesto EMAG0.71

Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMNH¹) del compuesto EMAg0.71.

Se observa absorción de δ : 7.72 a 6.79 que pertenecen a protones unidos a un carbono perteneciente a un anillo aromático, de ahí la absorción a esta región del campo. Se presenta una banda de absorción intensa a δ : 4.9, la cual es debida a un protón unido a carbono de doble enlace. En la región de 2.19 δ se encuentra una banda de absorción característica del protón de metil cetona. De δ : 1.58 a 1.4 se encuentran bandas de absorción de protones terciarios saturados, de 1.38 a 1.29 δ corresponden las bandas originadas por protones secundarios saturados y de 0.95 a 0.87 δ son absorciones debidas a protones primarios saturados.

(Figura 16)

A gentry, RF = 0.715

Current Data Parameters
 NAME Dr-9_J_Verde
 EXPNO 4
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 500000
 Time 12 05
 INSTRUM spect
 PROBR0 5 mm Multinu
 PULPROG zg
 TO 16384
 SOLVENT MeOH
 NS 16
 DS 4
 SWH 6009.615 Hz
 FIDRES 0.366798 Hz
 AQ 1.3631988 sec
 RG 128
 DM 83 200 usec
 DE 8.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 1.5000000 sec
 P1 12.50 usec
 DE 8.00 usec
 SFO1 400 1323646 MHz
 NUC1 1H
 PC1 -3.00 dB

F2 - Processing parameters
 S1 B192
 SF 400 1300067 MHz
 NCH EM
 SSB 0
 LB 0 30 Hz
 GB 0
 PC 0 10

10 MHz plot parameters
 CX 20 00 cp
 F1P 9 000 ppz
 F1 3601.17 Hz
 F2P 0 000 ppz
 F2 0 00 Hz
 PPMCH 0 45000 ppz/cz
 HZCH 180 05850 Hz/cz

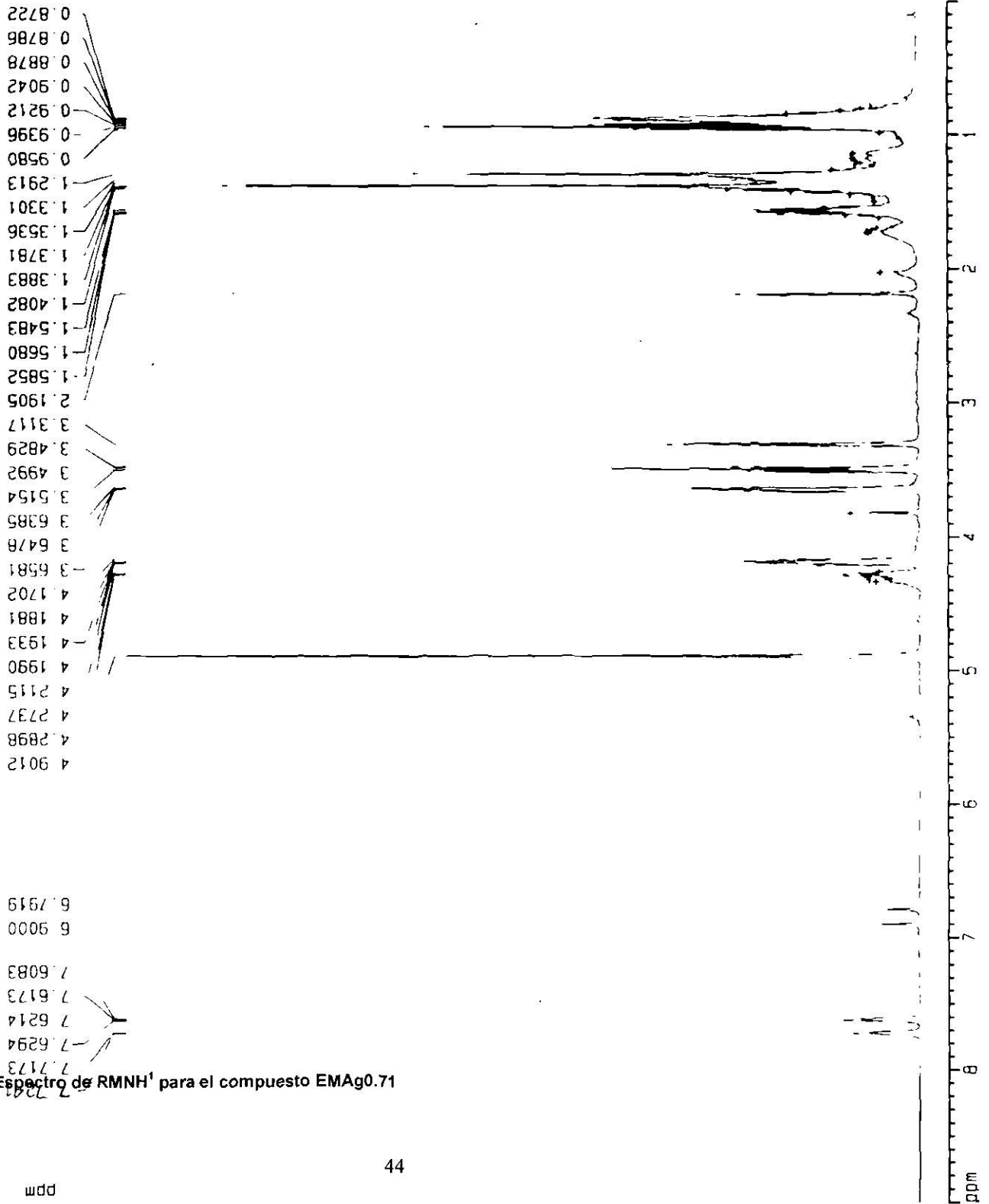


Figura 16. Espectro de RMN¹ para el compuesto EMAG.0.71

2. *Agave salmiana*.

Preparación del material:

Las pencas de *Agave salmiana* fueron puestas a secar sobre papel periódico a temperatura ambiente durante 2 semanas y sin exposición directa a los rayos solares.

Obtención de los extractos:

Ya secas las hojas se trituraron y molieron lo más pequeño posible, enseguida se pesaron 60 grs y se pusieron a extraer en metanol durante 7 días consecutivos para después concentrar el extracto obtenido en un evaporador rotatorio a 40°C. Eliminado el solvente quedó un sólido con coloración café y con un peso de 12.07 grs al cual se le llamó EMAs. Después se realizó una CCD con este extracto utilizando sílica gel como fase inmóvil y como eluente EP: Bc: Ac: Me (9:9:2:2). Se colocó la placa en la cuba y se retiró de ésta cuando al eluente llegó a 1 cm aproximadamente del borde superior de la placa, se dejó secar y se observó en el U. V. Enseguida se reveló con vapores de yodo, para después correrse otra CCD pero ahora para revelarse con el reactivo de Dragendorff. Los resultados obtenidos se resumen en la siguiente tabla:

Mancha	Visible	U. V.	Rf	Yodo	Rf
1	Amarilla clara	Amarilla	0.22	-	-
2	Amarilla	Azul	0.53	Café	0.55
3	-	Roja	0.65	-	-
4	Verde	Roja	0.79	Café verdoso	0.78
5	Verde tenue	Roja	0.88		

Tabla No. 6. CCD del extracto metanólico de EMAs.

El reactivo de Dragendorff no reveló bandas para alcaloides.

Las pruebas químicas para esta especie demuestran la presencia de lo siguiente:

Prueba química	Observación	Presencia/ausencia	Resultado
Liebermann-Burchard	Verde claro	Esteroides, triterpenos	Positivo
Salkowski	Rojo oscuro	Esteroles, metilesteroles	Positivo
Shinoda	Sin cambio	Flavonoides	Positivo
H ₂ SO ₄	Rojo claro	Quinonas	Positivo
Baljet	Naranja-rojo	Sesquiterpenlactonas	Positivo
Coumarinas	Desaparece color	Coumarinas	Positivo
KMnO ₄	Precipitado café	Insaturaciones	Positivo
FeCl ₃	Sin cambio	Oxidrilos fenólicos	Positivo
2,4-D. N. F. H.	Amarillo	Grupo carbonilo	Positivo
Molish	Anillo en interfase	Carbohidratos	Positivo
Bicarbonato de sodio	Precipitado blanco	Saponinas	Positivo

Tabla No. 7. Muestra la presencia de compuestos y grupos funcionales de EMAs.

Cromatografía en Columna Líquida (CCL).

Se corrió después una cromatografía en columna líquida al extracto con los siguientes eluentes y en siguiente orden: EP: Bc: Ac: Me (9:9:2:2); Bc: Cl: Ac (3:2:1); Bc: Cl (1:1); Cl: Me (5:1) y Cl: Me (6:4), las fracciones se recogieron cada 50 ml y a cada una de éstas fracciones se le corrió una CCD. Se escogieron las fracciones que estuvieran en mayor cantidad en la CCD, se pusieron a evaporar y se precipitaron utilizando compuestos de polaridad contrastante (acetona y metanol). Uno de los compuestos aislados presentó un R_f de 0.53, a este compuesto le llamó EMAs0.53, se le realizaron pruebas químicas, obteniendo lo siguiente:

Prueba química	Observación	Presencia/ausencia	Resultado
Liebermann-Burchard	Verde	Esteroides, triterpenos	Positivo
Salkowski	Naranja	Esteroles, metilesteroles	Positivo
Shinoda	Sin cambio	Flavonoides	Negativo
H ₂ SO ₄	Rojo claro	Quinonas	Positivo
Baljet	Naranja-oscuro	Sesquiterpenlactonas	Positivo
Coumarinas	Desaparece color	Coumarinas	Positivo
KMnO ₄	Precipitado café	Insaturaciones	Positivo
FeCl ₃	Sin cambio	Oxhidrilos fenólicos	Negativo
2,4-D. N. F. H.	Amarillo	Grupo carbonilo	Positivo
Molish	Anillo en interfase	Carbohidratos	Positivo
Bicarbonato de sodio	Precipitado blanco	Saponinas	Negativo

Tabla No. 8. Muestra la presencia de compuestos y grupos funcionales de EMAs0.53.

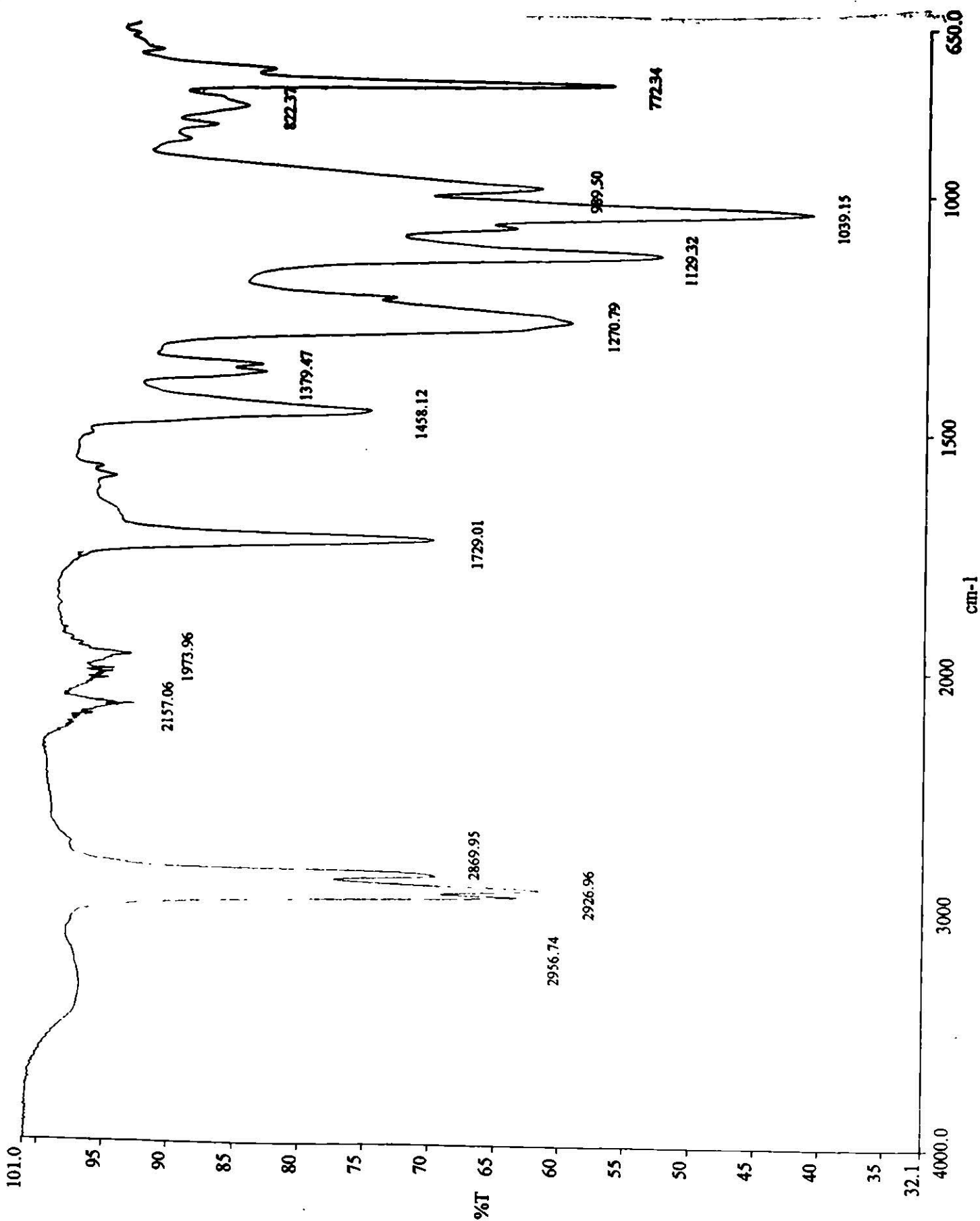
Análisis del Espectro Infrarrojo (IR) del compuesto EMAs0.53

Al correr el espectro infrarrojo se presentaron las siguientes señales:

Se observa absorción a 2956 cm⁻¹, siendo ésta una banda intensa, y que representa la presencia de estiramientos C- H. Ocurre también un estiramiento de este tipo de enlace a 2926 cm⁻¹. La presencia de otra banda a 2869 cm⁻¹ es característica para el grupo cetona . Se observa una banda intensa a 1729 cm⁻¹ donde absorben las cetonas saturadas. A partir de aquí se encuentra la zona de huellas dactilares. En esta región se observan un gran número de absorciones debidas a enlaces sencillos. Las posiciones de las bandas de 1129 y 1039 cm⁻¹ son características para los grupos funcionales C-O, la banda a 772 cm⁻¹ es característica para grupos C-H.

(Figura 17)

Figura 17. Espectro de IR para el compuesto EMAs0.53.



c:\pel_data\spectra\almija-2.sp EMAs0.53

Análisis de Resonancia Magnética Nuclear Protónica(RMNH¹) del compuesto EMAs0.53

Después se realizó un espectro de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) resultando lo siguiente:

Se observa una absorción de a 6.89δ lo que indica que existen protones unidos a carbono aromático. Se presenta absorción a $\delta:4.89$ lo que indica que se trata de un protón unido a carbono adyacente a doble enlace. De $\delta: 2.18-2.15$ indica que se trata de protones de una metil cetona. De $\delta: 1.58-1.4$ indica la presencia de protones terciarios saturados, de $\delta:1.38-1.29$ corresponde a protones secundarios saturados, y la serie de absorciones de $\delta: 0.95-0.87$ representan protones primarios saturados.

(Figura 18)

Current Data Parameters
 NAME Dra_J_Verde
 EXPNO 6
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date 500000
 Time 12.51
 INSTRUM spect
 PROBRID 5 mm MjJtjnu
 PULPROG zg
 TO 16384
 SOLVENT MeOH
 NS 32
 DS 4
 SWH 5009.615 Hz
 FIDRES 0.366798 Hz
 AQ 1.3631988 sec
 RG 128
 DM 83.200 usec
 DE 8.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 1.5000000 sec
 D2 12.50 usec
 DE 8.00 usec
 SF01 400.1323846 MHz
 NUC1 1H
 PL1 -3.00 dB

F2 Processing parameters
 SI B192
 SF 400.1300075 MHz
 HDW EM
 SSB 0
 JB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 0.10

ID NAME : 101 parameters
 CX 20.00 cm
 F1P 9.000 ppm
 F1 3601.17 Hz
 F2P 0.000 ppm
 F2 0.00 Hz
 PPMCM 0.45000 ppm/cm
 HZCM 180.05850 Hz/cm

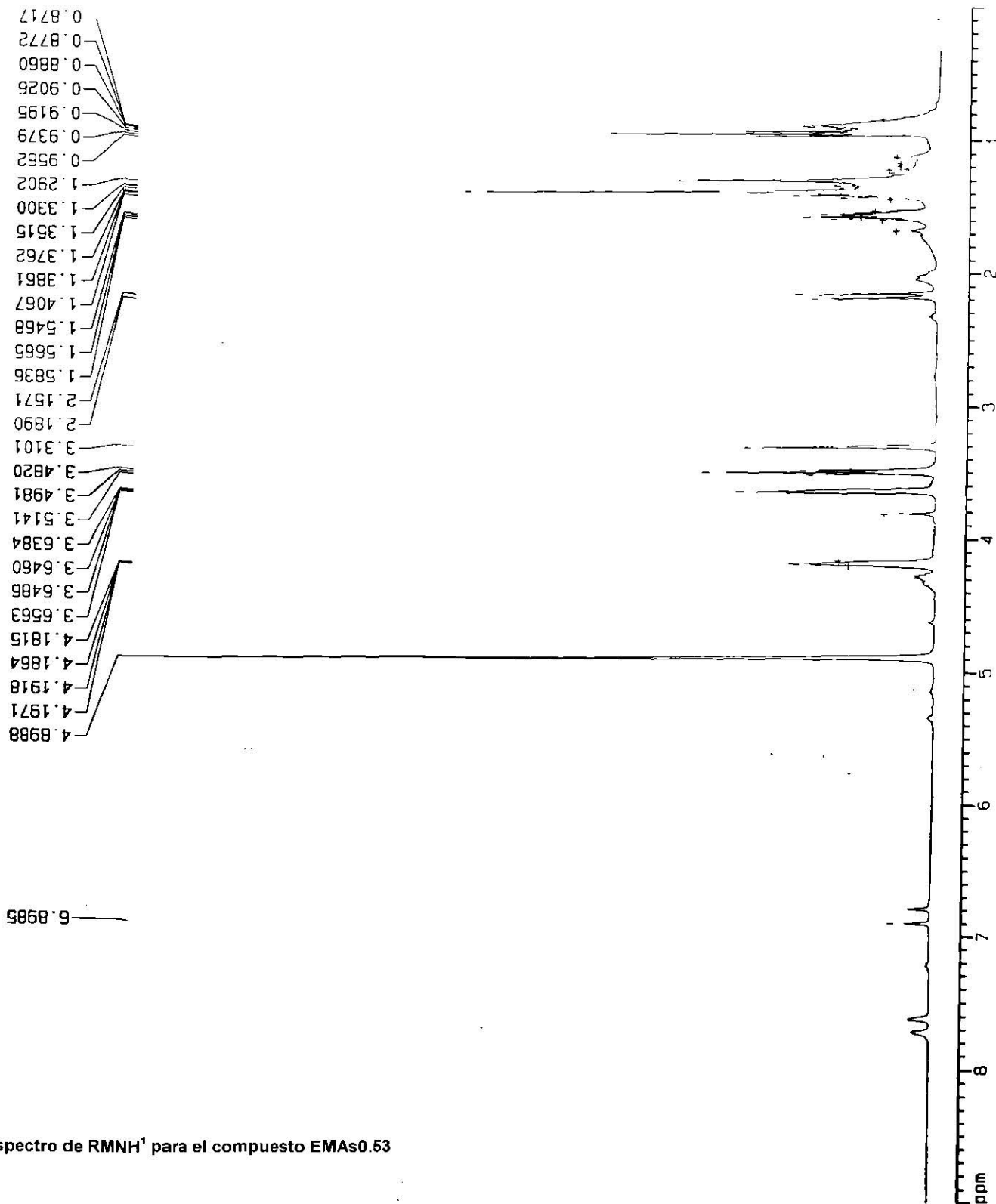


Figura 18. Espectro de RMN¹ para el compuesto EMA0.53

Del extracto EMAs se observó otro compuesto muy característico, se aisló y purificó una fracción que presentó un Rf de 0.79 y se le llamó EMAs0.79; las pruebas químicas realizadas a este compuesto dieron los siguientes resultados:

Prueba química	Observación	Presencia/ausencia	Resultado
Liebermann-Burchard	Verde amarillento	Esteroides, triterpenos	Positivo
Salkowski	Rojo	Esteroles, metilesteroles	Positivo
Shinoda	Sin cambio	Flavonoides	Negativo
H ₂ SO ₄	Rojo	Quinonas	Positivo
Baljet	Naranja oscuro	Sesquiterpenlactonas	Positivo
Coumarinas	Desaparece color	Coumarinas	Positivo
KMnO ₄	Precipitado café	Insaturaciones	Positivo
FeCl ₃	Sin cambio	Oxhidrilos fenólicos	Negativo
2,4-D. N. F. H.	Amarillo	Grupo carbonilo	Positivo
Molish	Anillo en interfase	Carbohidratos	Positivo
Bicarbonato de sodio	Precipitado blanco	Saponinas	Negativo

Tabla No. 9. Muestra la presencia de compuestos y grupos funcionales de EMAs0.79.

Análisis del Espectro Infrarrojo (IR) del compuesto EMAs0.79

Al correrle un espectro infrarrojo se obtuvieron las siguientes señales:

Se observa absorción a 2956 cm⁻¹, siendo ésta una banda intensa la cual es característica de uniones C-H. La presencia de este grupo se reconfirma con una banda también intensa a 2926 cm⁻¹. Se observa una banda a 2870 cm⁻¹ que representa un grupo cetona. Existe una banda de absorción intensa a 1727 cm⁻¹ que demuestra la presencia de un grupo carbonilo de una cetona saturada. En 1124 cm⁻¹ existe una absorción intensa que indica la presencia de un grupo C-O. También existe una absorción intensa a 771 cm⁻¹ la cual es señal confirmatoria de C-H de CH₂ y CH₃.

(Figura 19)

Figura 19. Espectro de IR para el compuesto EMAs0.79



c:\pel_data\spectra\salmja-1.sp EMAs0.79

Análisis de Resonancia Magnética Nuclear Protónica(RMNH¹) del compuesto EMAs0.79

Las señales registradas de este compuesto en el espectro fueron las siguientes:

El análisis detallado de este espectro demuestra que se trata de un compuesto muy parecido al anterior, excepto en que la intensidad de absorción es mayor en todas las señales registradas, además de que la señal a δ 4.9 se encuentra a un campo más bajo. Las absorciones que se encuentran a campo bajo se deben a protones de anillo aromático en las señales δ : 7.72-6.79. Existen dos tipos de protones, y cada uno de ellos produce una señal desdoblada en un doblete a causa de sus protones vecinos. Por eso se observan dos dobletes. La señal δ :4.9 no se desdobla y aparece como un singlete agudo y se debe a un protón unido a un carbono con doble enlace. En δ : 2.1 existe absorción debida a protones que forman parte de una metil cetona. De 1.58-0.87 δ existen absorciones debidas a protones C-H de grupos CH₂ y CH₃.

(Figura 20)

Current Data Parameters
 NAME Dra_J_Verdg
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 500000
 Time 11.35
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm NuIt1nu
 PULPROG zg
 TD 16384
 SOLVENT NaOH
 NS 16
 DS 4
 SWH 6009.619 KHz
 FIDRES 0.365799 KHz
 AQ 1.3631998 sec
 RG 128
 DM 83.200 usec
 DE 8.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 1.5000000 sec
 P1 12.50 usec
 DE 8.00 usec
 SF01 400.1323846 MHz
 NUC1 1H
 PL1 -3.00 dB

F2 - Processing parameters
 SI 8192
 SF 400.1300075 MHz
 MDH 0
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 0.10

1D NMR plot parameters
 CX 20.00 cm
 F1P 9.000 pps
 F1 3601.17 KHz
 F2P 0.000 pps
 F2 0.00 KHz
 PPMCH 0.45000 ppm/cm
 HZCH 180.05650 Hz/cm

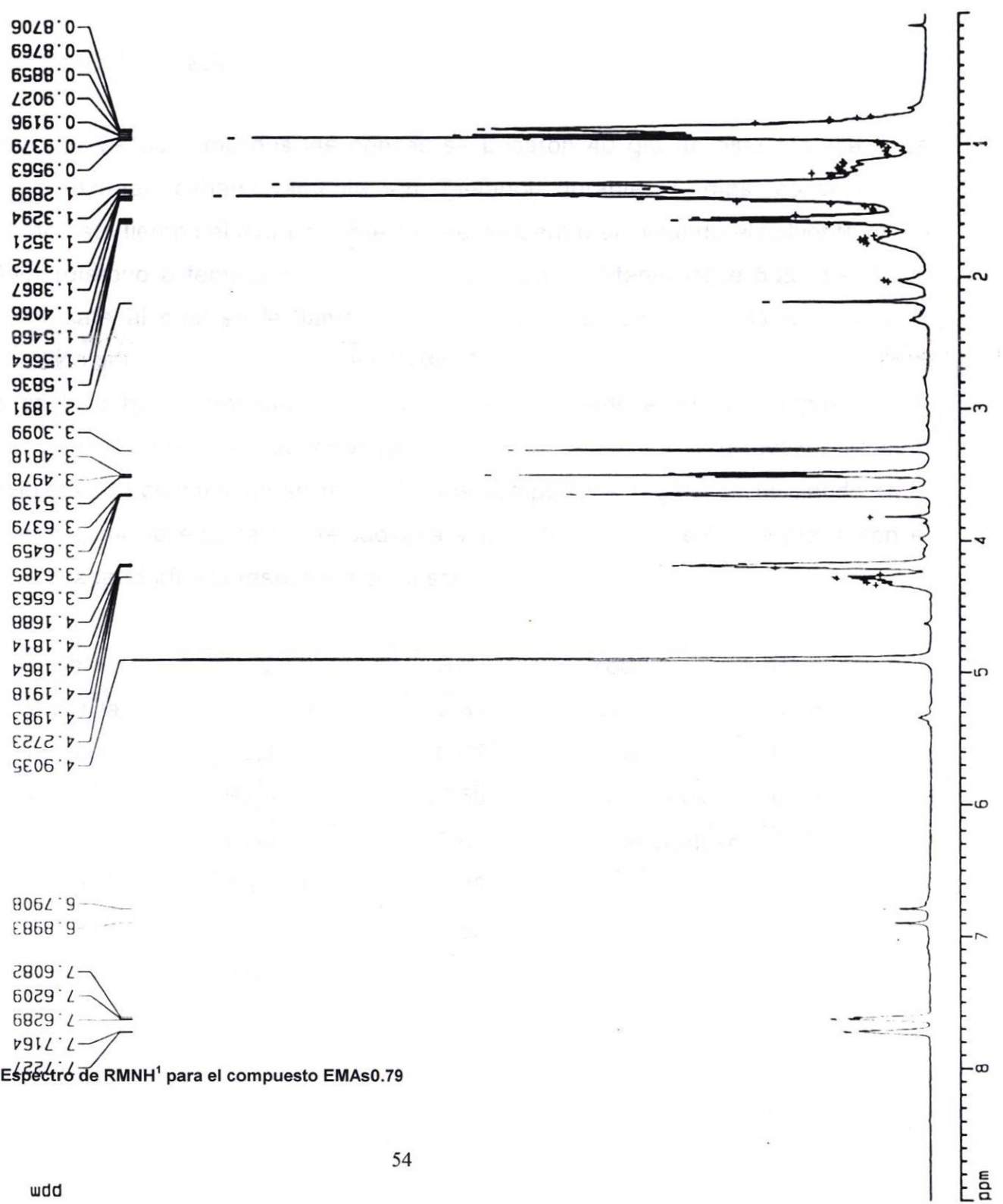


Figura 20. Espectro de RMNH¹ para el compuesto EMAS0.79

3. *Agave mapisaga*.

Preparación del material:

Las hojas de *Agave mapisaga* fueron cortadas y secadas a temperatura ambiente y sin exposición al sol durante 2 semanas.

Obtención de los extractos:

Una vez secas y molidas las pencas se pesaron 40 grs de este material y se pusieron a extraer exhaustivamente en metanol durante 7 días consecutivos. Transcurrido este tiempo el extracto obtenido se concentró eliminando el solvente en un evaporador rotatorio a temperatura y presión reducidas, obteniéndose 5.25 grs de un sólido color café al cual se le llamó EMAm. A este extracto se le corrió una CCD utilizando sílica gel como fase inmóvil y EP: Bc: Ac: Me (9:9:2:2) como eluyente, se colocó la placa en la cuba cromatográfica y ésta se retiró cuando el eluyente llegó a 1 cm aproximadamente de el borde superior de la placa, se dejó secar y se reveló utilizando luz ultravioleta. A continuación se revelaron los compuestos orgánicos utilizando yodo resublimado, como lo explica la metodología y por último se reveló otra placa con el reactivo de Dragendorff, los resultados se describen enseguida:

Mancha	Visible	U. V.	Rf	Yodo	Rf
1	Amarilla clara	Amarilla	0.33	Café	0.48
2	Amarilla	Azul	0.42	Café	0.53
3	-	Roja	0.59	Café tenue	0.69
4	-	Roja	0.67	Café verdoso	0.77
5	Amarilla	Amarilla	0.78		
6	-	Roja	0.86		
7	-	Azul	0.95		

Tabla No. 10. CCD del extracto metanólico de EMAm.

El reactivo de Dragendorff no dio bandas positivas para alcaloides.

Las pruebas químicas realizadas a esta especie demuestran la presencia de los siguientes compuestos y grupos funcionales:

Prueba química	Observación	Presencia/ausencia	Resultado
Liebermann-Burchard	Verde claro	Esteroides, triterpenos	Positivo
Salkowski	Rojo oscuro	Esteroles, metilesteroles	Positivo
Shinoda	Sin cambio	Flavonoides	Positivo
H ₂ SO ₄	Rojo claro	Quinonas	Positivo
Baljet	Naranja-rojo	Sesquiterpenlactonas	Positivo
Coumarinas	Desaparece color	Coumarinas	Positivo
KMnO ₄	Precipitado café	Insaturaciones	Positivo
FeCl ₃	Sin cambio	Oxhidrilos fenólicos	Positivo
2,4-D. N. F. H.	Amarillo	Grupo carbonilo	Positivo
Molish	Anillo en interfase	Carbohidratos	Positivo
Bicarbonato de sodio	Precipitado blanco	Saponinas	Positivo

Tabla No. 11. Muestra la presencia de compuestos y grupos funcionales de EMAM.

Cromatografía en Columna Líquida (CCL).

Se procedió a correr una cromatografía en columna líquida al extracto basándose en el eluyente que dio la mejor separación. Se eluyó iniciando con EP: Bc: Ac: Me (9:9:2:2) y se fue incrementando la polaridad de la manera siguiente: Bc: Cl: Ac (3:2:1); Bc: Cl (1:1); Cl: Me (5:1) y Cl: Me (6:4), recogiendo fracciones cada 50 ml. Se corrió una CCD para cada fracción. Se seleccionaron las fracciones que mostraron mayor abundancia en la CCD y se pusieron a evaporar, se procedió a precipitar utilizando compuestos de polaridad contrastante, los cuales fueron acetona y metanol. Uno de los compuestos aislados presentó un R_f de 0.42, a este compuesto le llamó EMAM0.42, se le realizaron pruebas químicas, obteniendo los siguientes resultados:

Prueba química	Observación	Presencia/ausencia	Resultado
Liebermann-Burchard	Verde claro	Esteroides, triterpenos	Positivo
Salkowski	Rojo oscuro	Esteroles, metilesteroles	Positivo
Shinoda	Sin cambio	Flavonoides	Negativo
H ₂ SO ₄	Rojo claro	Quinonas	Positivo
Baljet	Naranja-rojo	Sesquiterpenlactonas	Positivo
Coumarinas	Desaparece color	Coumarinas	Positivo
KMnO ₄	Precipitado café	Insaturaciones	Positivo
FeCl ₃	Sin cambio	Oxhidrilos fenólicos	Negativo
2,4-D. N. F. H.	Amarillo	Grupo carbonilo	Positivo
Molish	Anillo en interfase	Carbohidratos	Positivo
Bicarbonato de sodio	Precipitado blanco	Saponinas	Negativo

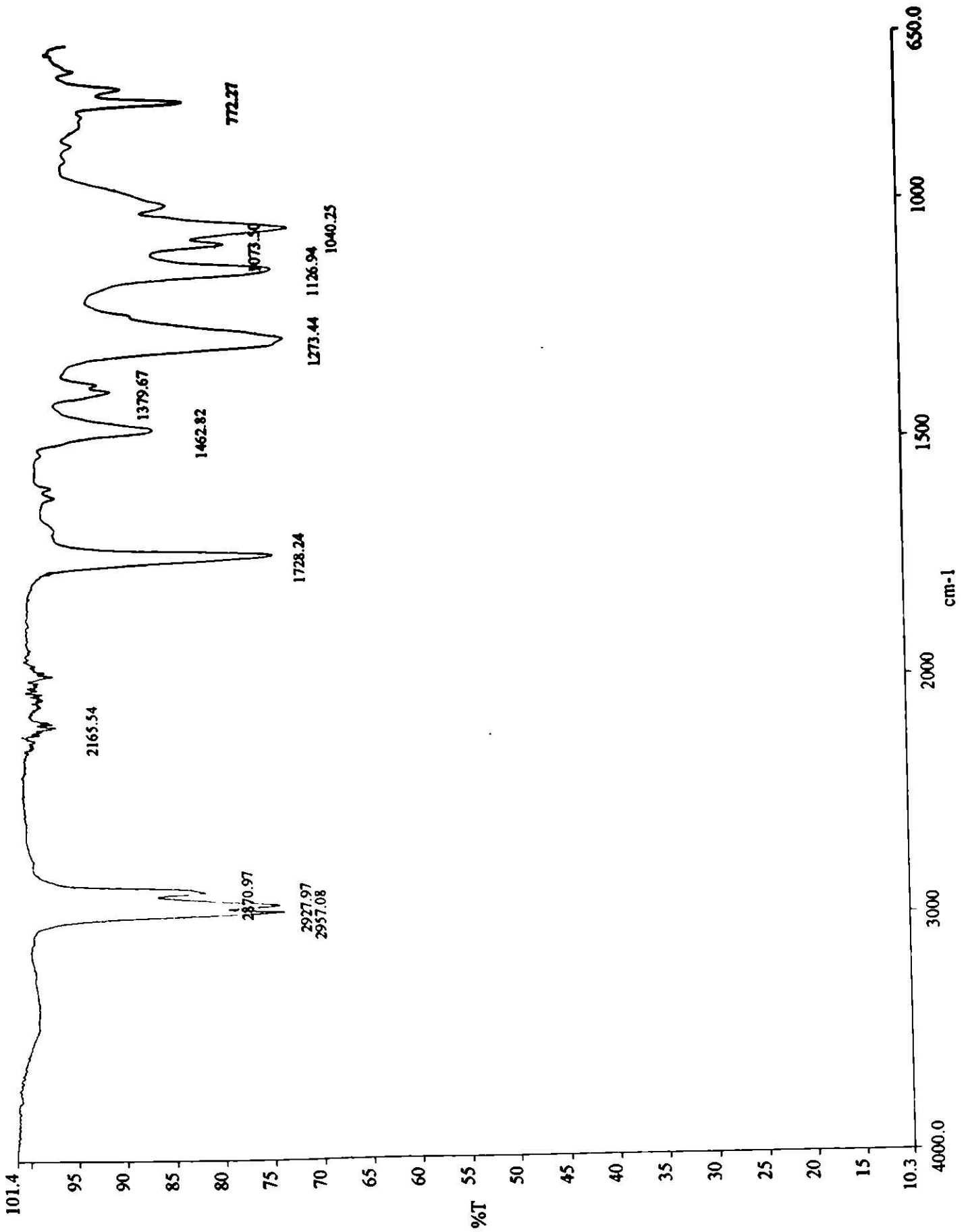
Tabla No.12. Muestra la presencia de compuestos y grupos funcionales de EMAm0.42.

Análisis del Espectro Infrarrojo (IR) del compuesto EMAm0.42

Se observa absorción a 2957 cm^{-1} , y que representa la presencia de estiramientos carbono-hidrógeno. La presencia de este grupo se reconfirma por una banda a 2927 cm^{-1} . Se observa una banda a 2870 cm^{-1} que representa la presencia de un grupo cetona. Existe absorción a 2165 cm^{-1} que se debe a la presencia de anillo aromático. En la región de 1728 cm^{-1} existe una banda característica para el grupo carbonilo de una cetona saturada. Existen bandas de absorción de $1126\text{-}1040\text{ cm}^{-1}$ que demuestran la presencia de estiramientos C-O del grupo carbonilo. Una banda intensa a 772 cm^{-1} confirma estiramientos C-H.

(Figura 21)

Figura 21. Espectro de IR para el compuesto EMAm0.42



c:\pel_data\spectra\mapisa~1.sp EMAm0.42

Análisis del espectro de Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMNH¹) del compuesto EMAm0.42

Asimismo se le determinó su espectro de Resonancia Magnética Nuclear Protónica, dando señales principales a (δ):

Se observa absorción de δ : 7.72-6.78, que pertenecen a protones unidos a un carbono aromático, lo cual provoca que aparezca a campo más bajo. Se observa absorción intensa a δ : 4.9 debida a protones de doble enlace. Se presentan señales a δ : 4.83-4.16 que corresponden a protones unidos a carbono con doble enlace de ahí que absorban en esta región de campo bajo. En la región del espectro de δ : 2.18 característico del protón de metil cetona. En el campo de 1.58-1.53 δ absorben los protones secundarios saturados, y en la región del campo de δ :0.95-0.83 los protones primarios saturados.

(Figura 22)

mapisaga RF = 0.42

Current Data Parameters
NAME Dra_J_Verde
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 500000
Time 13.29
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Multino
PULPROG zg
TD 16384
SOLVENT MeOH
NS 32
DS 4
SWH 4401.409 Hz
FIDRES 0.268641 Hz
AQ 1.861275 sec
RG 256
DM 113.800 usec
DE 8.00 usec
TE 300.0 K
D1 1.5000000 sec
P1 12.50 usec
DE 8.00 usec
SFO1 400.1315844 MHz
NUC1 1H
PL1 -3.00 dB

F2 - Processing parameters
SI B192
SF 400.1300059 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 0.10

1D NMR plot parameters
CX 20.00 cm
F1F 9.000 ppm
F1 3601.17 Hz
F2P 0.000 ppm
F2 0.00 Hz
PPMCM 0.45000 ppm/cm
HZCM 180.05650 Hz/cm

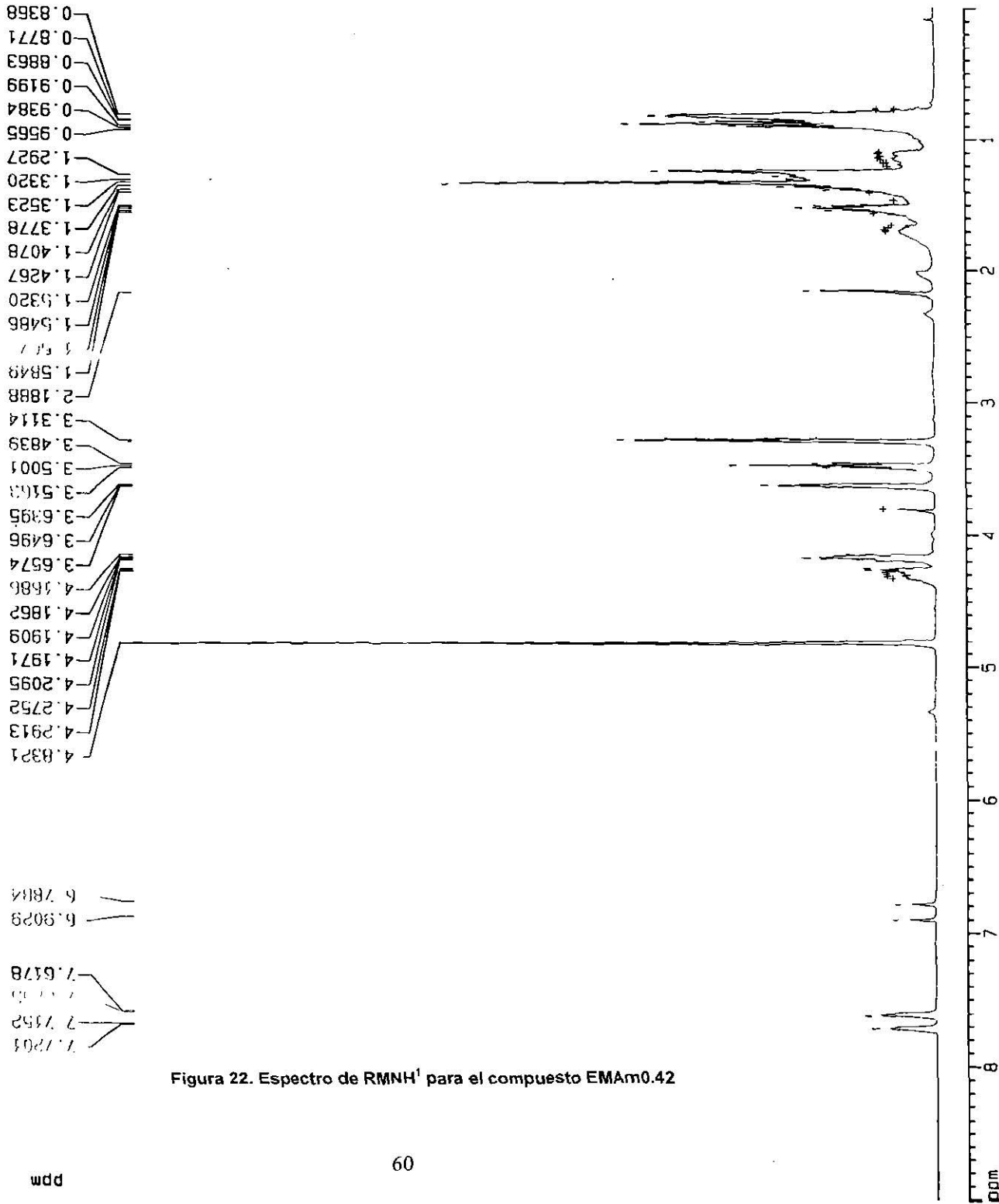


Figura 22. Espectro de RMN¹H para el compuesto EMAm0.42

Otro de los compuestos más notorios en la CCD presentó un Rf de 0.78 y se le llamó EMAm0.78; las pruebas químicas realizadas a este compuesto dieron los siguientes resultados:

Prueba química	Observación	Presencia/ausencia	Resultado
Liebermann-Burchard	Verde claro	Esteroides, triterpenos	Positivo
Salkowski	Rojo	Esteroles, metilesteroles	Positivo
Shinoda	Sin cambio	Flavonoides	Negativo
H ₂ SO ₄	Rojo oscuro	Quinonas	Positivo
Baljet	Naranja-rojo	Sesquiterpenlactonas	Positivo
Coumarinas	Desaparece color	Coumarinas	Positivo
KMnO ₄	Precipitado café	Insaturaciones	Positivo
FeCl ₃	Sin cambio	Oxhidrilos fenólicos	Negativo
2,4-D. N. F. H.	Amarillo	Grupo carbonilo	Positivo
Molish	Anillo en interfase	Carbohidratos	Positivo
Bicarbonato de sodio	Precipitado blanco	Saponinas	Negativo

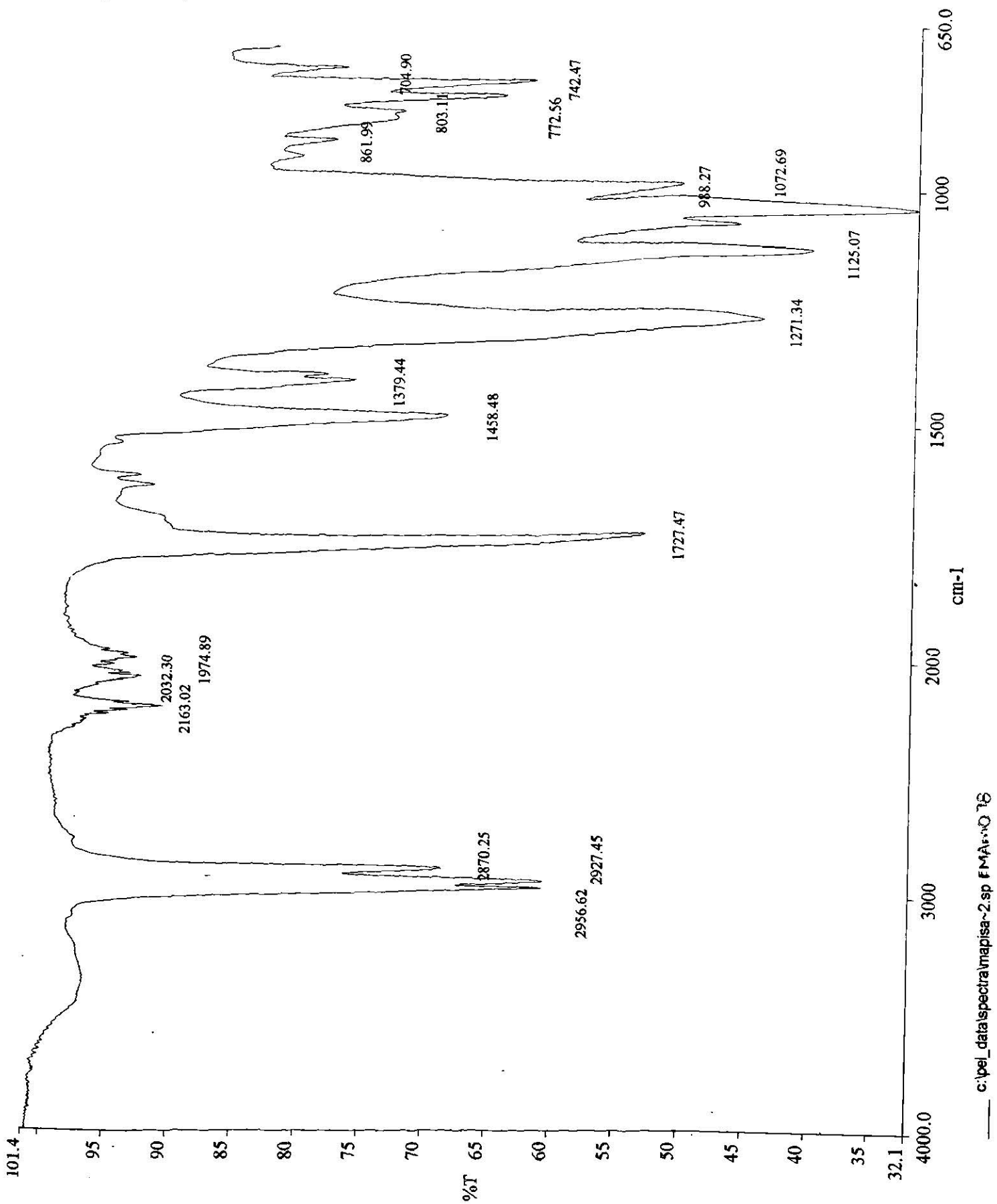
Tabla No. 13. Muestra la presencia de compuestos y grupos funcionales de EMAm0.78.

Análisis del Espectro Infrarrojo (IR) del compuesto EMAm0.78

Posteriormente se le corrió un espectro infrarrojo obteniéndose las siguientes señales:

Demuestra un parecido muy grande con el compuesto anterior, presenta básicamente las mismas señales y en la misma región, solo que estas son más intensas: de 2956 a 2870 cm⁻¹ nos indica la presencia de estiramientos de alcanos y grupos alquilo. De 2163 a 1974 cm⁻¹ indica la presencia de dobles enlaces. A 1727 cm⁻¹ se presenta absorción del grupo carbonilo de una cetona saturada. En la región de 1125-1072 cm⁻¹ se observa absorción característica de estiramientos C-O del grupo carbonilo. Una banda a 861 cm⁻¹ confirma la presencia de anillo aromático. Las bandas a 772 y 742 cm⁻¹ confirman la presencia de estiramientos C- H. (Figura 23)

Figura 23. Espectro de IR para el compuesto EMAm0.78.



Análisis del espectro de Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMNH¹) del compuesto EMAm0.78

El análisis detallado de este espectro demuestra nuevamente que se trata de un compuesto muy parecido al anterior. Las señales presentadas en el espectro de RMNH¹ son básicamente iguales que las del espectro anterior a diferencia que la intensidad de absorción de algunas señales es mayor. Además de que la banda de absorción a δ : 4.89 está desplazada ligeramente a un campo de absorción más bajo. Se presenta absorción de protones aromáticos a δ : 7.72-6.79. En δ : 4.89-4.16 existe absorción de protones unidos a C con doble enlace. En δ : 2.18 hay absorción de protones de metil cetona. Se observa absorción de 1.58 a 0.87 δ para protones de CH₂ y CH₃.

(Figura 24)

A mapisaga RF = 0.78

Current Data Parameters
 NAME Dra_J_Verde
 EXPNO 5
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 500000
 Time 12.28
 INSTRUM spect
 PROCNO 5 mm Multispu
 PULPROG zg
 TD 16384
 SOLVENT MeOH
 NS 16
 DS 4
 SWH 6009.615 Hz
 FIDRES 0.366798 Hz
 AQ 1.3631988 sec
 RG 128
 DW 83.200 usec
 DE 8.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 1.50000000 sec
 P1 12.50 usec
 DE 8.00 usec
 SF01 400.1323846 MHz
 NUC1 1H
 PL1 -3.00 dB

F2 - Processing parameters
 SI 8192
 SF 400.1300075 MHz
 MDM EH
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 0.10

10 NMR plot parameters
 CX 20.00 cm
 F1P 9.000 ppm
 F1 3601.17 Hz
 F2P 0.000 ppm
 F2 0.00 Hz
 PRMCH 0.45000 ppm/cm
 MZCX 180.05850 Hz/cm

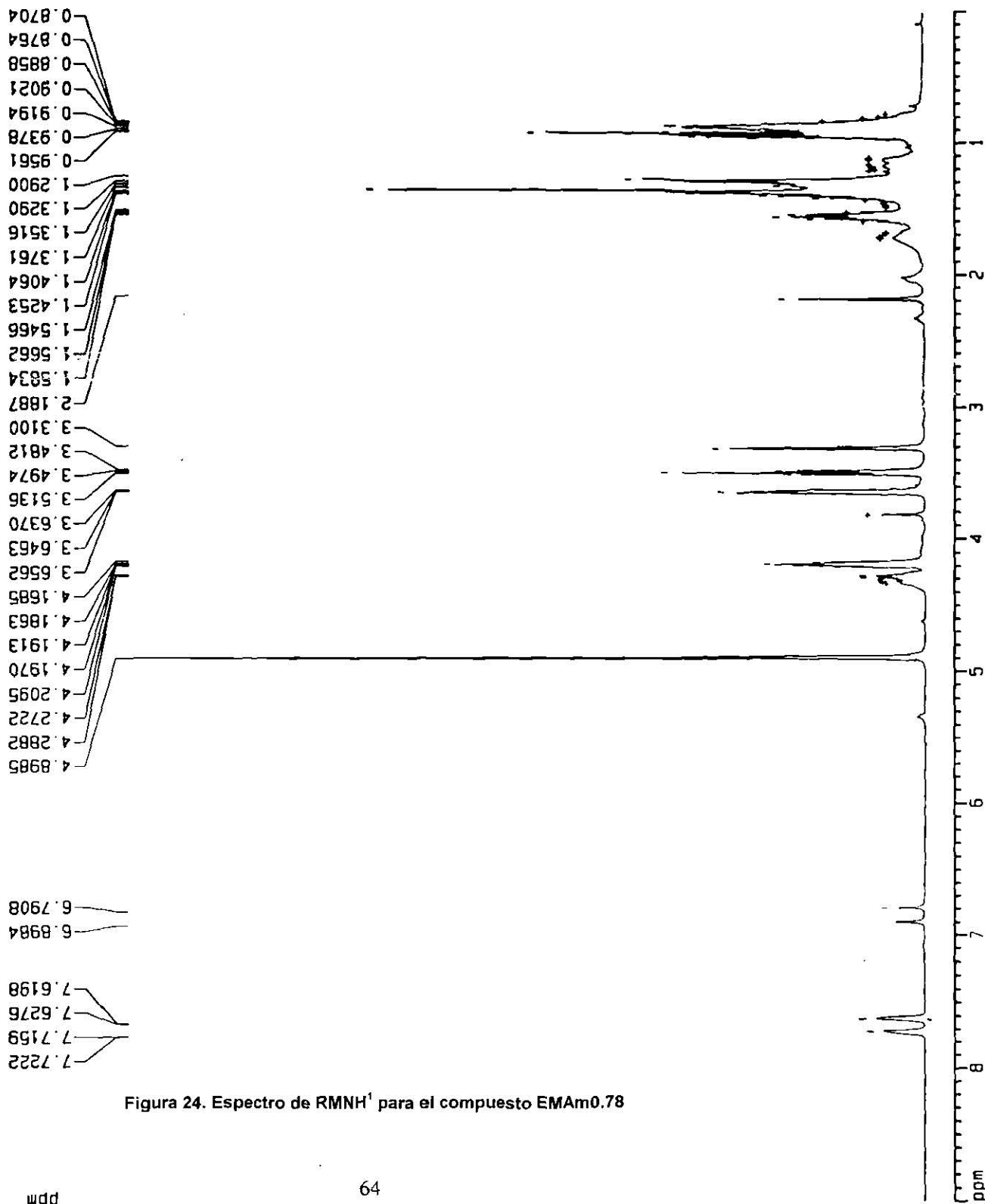


Figura 24. Espectro de RMNH¹ para el compuesto EMAm0.78

DISCUSIONES

Los resultados señalan que los compuestos aislados de las tres especies de agaves analizadas presentan compuestos muy parecidos, ya que al observar los espectros, estos presentan picos muy similares, existiendo muy pocas diferencias entre éstos, pudiendo ser estas diferencias solo en cuanto al número de sustituyentes y tipos de éstos en la molécula, o en cuanto al número de moléculas que constituyen la cadena alifática. En cuanto al tipo de compuesto aislado se deduce que se trata de una cetona alifática con al menos un doble enlace, unida a un sistema aromático, debido a las siguientes observaciones de sus espectros:

ESPECTRO INFRARROJO:

CADENA ALIFÁTICA: existen enlaces C-H ya que existen absorciones intensas en el intervalo de 2850 a 2960 cm^{-1} , también existen enlaces C-C saturados que presentan absorciones en el intervalo de 800 a 1300 cm^{-1} , por lo que se deduce que el compuesto analizado tenga una cola alifática.

GRUPO CETONA: se encuentra presente una cetona debido a que existe absorción intensa a 1727 cm^{-1} .

ESPECTRO DE RMNH¹:

CADENA ALIFÁTICA: la presencia en el compuesto de una cadena alifática es corroborada por el espectro en la región de 1.5 a 2.5 δ donde se presentan absorciones características de los protones contiguos a centros insaturados. Además existen protones unidos a sistemas saturados.

INSATURACIONES: existen insaturaciones en el compuesto aislado ya que los protones de carbonos con doble enlace absorben en la región de 4.5 a 6.5 δ y en este espectro se presentó como una banda intensa en este campo.

GRUPO AROMÁTICO: la presencia del grupo aromático se ve confirmada en este espectro ya que existe absorción en la región de 6.5 a 8 δ que se debe a la presencia de protones de anillos aromáticos que están fuertemente desprotegidos por los orbitales Pi del anillo y absorben en este intervalo de campo bajo característico.

GRUPO CETONA: la presencia de un grupo cetona se denota por la absorción característica de los protones unidos a metil cetonas con una absorción en el espectro en la región de 2.1 a 2.4 δ .

La diferencia en la fitoquímica de las especies depende mucho de factores extrínsecos e intrínsecos propios de ésta, entre estos factores pueden mencionarse: la especie de planta, la parte de la planta, edad de esta, época de colecta, los solventes utilizados para la extracción, localización geográfica y geológica donde crece la planta, estado de crecimiento, clima, los métodos utilizados para la evaluación, entre otros. Ya que las especies analizadas tuvieron muchos de estos factores iguales los resultados obtenidos fueron también muy similares.

Para citar un ejemplo, Gutiérrez (2002) menciona que a excepción de los alcaloides, los compuestos encontrados en *Bracaena reflexa*, son los mismos encontrados en *Agave lophanta*, aún siendo éstos de diferentes géneros, existe una gran similitud en cuanto a compuestos químicos se refiere debido a la relación filogenética de las plantas, debido a esto, los compuestos analizados en este trabajo resultaron prácticamente iguales ya que las tres plantas en estudio eran inclusive del mismo género.

Además de esto se observa que las especies analizadas fueron colectadas en las mismas localidades y en las misma fechas (Estación Carneros, Saltillo, Coah., 5 de febrero de 2001) a excepción de *Agave mapisaga* que fue colectada en Mexquitic de Carmona, S. L. P. En la fecha que se colectaron las especies, todas ellas se encontraban en período de floración.

Se esperaba que al menos uno de los compuestos aislados fuera alguna saponina, ya que la literatura consultada menciona la gran cantidad de estos compuestos en las especies analizadas. Al realizar pruebas químicas a los extractos obtenidos, todos dieron positividad en cuanto a su presencia, ya que existió una espuma permanente al realizarles la prueba de bicarbonato de sodio, sin embargo, éstos

compuestos no se encontraron en gran cantidad en comparación con otros, como los aislados, que se encontraban en gran cantidad en las fracciones separadas durante la CCL, por lo que se decidió determinar que tipo de compuestos eran estos, ya que se encontraban en cantidad suficiente para hacer las pruebas y realizar los espectros.

Para obtener una gran cantidad de saponinas es necesario realizar estudios de otras partes de la planta, donde se encuentren en mayor cantidad, como lo es por ejemplo en el fruto para *Agave lophanta*, según reportado por Gutiérrez (2002). El mismo autor menciona que en el caso de *Agave huachucencis* Baker, la cantidad de manogenina (una saponina) es progresivamente menor de la planta joven a la planta en floración, y las estructuras de las saponinas aisladas de mayor ocurrencia de jóvenes, edad media, viejas y floreciendo, sucesivamente, tienen menos grupos oxigenados.

Se observó que los compuestos aislados son parte de aceites esenciales que existían en poca o gran cantidad en las fracciones separadas. Thompson (1980) señala que los aceites esenciales por lo general son usualmente derivados de compuestos aromáticos. Raramente consisten en un solo componente, sino que contienen cetonas, aldehídos, fenoles, éteres, ésteres y otros compuestos, así como a veces nitrógeno y azufre. Además se observó que después de cortadas las pencas, se formó una resina en las regiones laceradas, lo cual se debe a que las resinas son productos de oxidación de los aceites esenciales.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos denotan que el objetivo establecido se cumplió al realizarse un estudio fitoquímico de las tres especies de agaves estudiadas, al realizarse la determinación de compuestos y grupos funcionales presentes en las plantas en estudio, así como aislar e identificar los compuestos más abundantes, ampliando los conocimientos existentes de estas especies.

- Los compuestos y grupos funcionales presentes en los extractos metanólicos de *Agave gentryi*, *Agave salmiana* y *Agave mapisaga* fueron: esteroides, triterpenos, esteroides, flavonoides, quinonas, sesquiterpenlactonas, coumarinas, insaturaciones, oxhidrilos fenólicos, grupo carbonilo, carbohidratos y saponinas.

- La estructura básica del compuesto aislado fue una cetona alifática con al menos un doble enlace, unida a un sistema aromático.

- La cantidad y tipo de sustituyentes fue la diferencia entre los compuestos aislados de los tres extractos de agaves.

- Los resultados indican que las plantas poseen una gran cantidad de aceites esenciales que pueden utilizarse como alternativa dentro de la industria farmacéutica ya que son valiosos como carminativos, antisépticos bucales, antitusígenos, y muchos son altamente germicidas por su alta volatilidad y capacidad para penetrar en el protoplasma. Además las resinas se utilizan como purgantes y ungüentos.

PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN

- Realizar espectros que complementen la información y ayuden a determinar la estructura exacta de los compuestos aislados.
- Hacer estudios fitoquímicos de otras partes de la planta y buscar el estadio de ésta donde se encuentre en mayor cantidad el compuesto de interés.
- Extraer los compuestos de la planta con otros solventes que sean no polares.

LITERATURA CITADA

Alanís Flores, G. J., G. Cano y Cano y M. Rovalo Merino. S/a. Vegetación y Flora de Nuevo León. Una Guía Botánico-ecológica. S/ed. S/ed. México, p.p. 152-153.

Aguilar Contreras, A. y C. Zolla. 1982. Plantas tóxicas de México. Dpto. de Publicaciones I. M. S. S. México, p. p. 16-17.

Callow, R. K., Cornforth, J. W. y P. C. Spensley; Chemical and Industry. 699(1951).

Constantino Pérez, S. A. 1997. Efecto tóxico de extractos acuosos de dos variedades de *Agave americano* (Linneo) y del *Agave lechuguilla* (Torr) (Fam. Amaryllidaceae: Agavaceae) en larvas de *Culex pipiens quinquefasciatus* SAY (Diptera; culicidae) en condiciones de laboratorio. Tesis Q. B. P. Universidad Autónoma de Nuevo León, México, p. p. 6-23.

Cruz-Ramos, C. A., R. Orellana and M. L. Robert. 1985. *Agave* research progress in Yucatán. In: Desert Plants Special Issue. Symposium on the genus *Agave*. Vol. 7. Num. 2. University of Arizona at the Boyce Thompson Southwestern Arboretum. E. U. A., 90-92.

Domínguez, X. A. 1979. Métodos de Investigación Fitoquímica. Ed. LIMUSA. México, p.p. 70-488.

García Mendoza, A. s/a. Con sabor a maguey. Guía de la Colección Nacional de Agaváceas y Nolináceas del Jardín Botánico del Instituto Nacional de Biología- U.N.A.M. Universidad Autónoma de Nuevo León. Sistemas de Información Geográfica, S. A. de C. V., p.p.11-13.

Gentry, H. S. 1982. *Agaves of Continental North America*. The University of Arizona Press. E. U. A., p. p. 594-618.

Goncalves de Lima, O. 1956. El maguey y el pulque en los códigos mexicanos. Fondo de Cultura Económica. México, D. F., p. p. 278.

González Chapa, C. 1984. Estudio químico de *Schaefferia cuneifolia* (aérea), *Jacobinia spicigera* (raíz y aérea), *Lantana achryranthifolia* (raíz). Tesis. Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey, México, p. p. 1-41.

González Guerrero, S. R. 1994. Valor nutricional de dos especies de maguey *Agave salmiana* y *Agave atrovirens* Karw forrajeras utilizadas en las zonas áridas del norte de México en relación a sus características fenológicas. Tesis: Ing. Agrónomo Zootecnista. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, México, p. p. 1.

Granados Sánchez, D. 1993. Los agaves en México. Universidad Autónoma de Chapingo. México, p. p. 1-201.

Gutiérrez García, J. J. 2002. Determinación de la concentración inhibitoria media (CI₅₀) del extracto etanólico obtenido de *Agave lophantha* sobre el crecimiento in vitro de *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas vaginalis* y *Giardia lamblia*. Tesis: Químico Bacteriólogo Parasitólogo. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León, México. P. p. 20-45.

Mahato, S. B., S. K. Sarkar and Poddar (1982). Toid saponins. *Phytochemistry*. Vol. 27.No. 10, p. p. 3037-3067.

Marker, R. E., Wagner, R. B., Ulshafer, P. R., Wittbecker, E. L., Godsmith, P. D. J. y C. H. Rouf. (1947). Steroidal sapogenins. *Journal American Chemical Society*. Vol. 69 , p. p. 2167-2229.

Martínez Vega, E. A. 1982. Estudio fitoquímico preliminar de nueve plantas medicinales del estado de Nuevo León. Tesis: Q. B. P. Universidad Autónoma de Nuevo León, México, p. p. 25-26.

Martínez Cabrera, J. L. 1994. Valor nutricional de dos especies de maguey: *Agave atrovirens* y *Agave salmiana* en el sur del estado de Coahuila, Rincón de los Pastores, Saltillo y El Castillo, Arteaga. Tesis: Ing. Agrónomo Zootecnista. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México, p. p. 77.

Martínez, M. 1936. Plantas útiles de México. 2ª. ed. Ediciones Botas. México, p. p. 276-280.

.....1969. Las plantas medicinales de México. 5ª. ed. Ediciones Botas, México, p. p. 206-210.

Mendieta, R. M. y S. Del Amo. 1981. Plantas medicinales del estado de Yucatán. Cía. Editorial Continental, S. A. de C. V. México, p. p. 13 y 14.

Piñol Gómez, Ma. Luisa. 1970. Variación del fenotipo de *Agave horrida* Lem. Ex Jacobi. Tesis. Biólogo. Universidad Nacional Autónoma de México, p. p. 10-33.

Rangel, S. y A. Aguilar 1994. Aspectos medicinales de *Agave spp.* En el estado de Hidalgo, México. En: 1er. Simposio Internacional sobre Agaváceas. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional, México, p. p. 33-34.

Romo de Vivar, A. 1985. Productos mexicanos de la flora mexicana. Ed. LIMUSA, S. A. de C. V., p. p. 186-197.

Thomson, D. M. 1980. Guía Práctica Ilustrada de las Plantas Medicinales. Ed. Blume, S. A. España. P. p. 11-14.

Torres Árciga, M. 1995. "El Maguey" (*Agave sp.*) Monografía. Ing. Agrónomo Zootecnista. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, México, p. p. 60.

Velázquez, Montiel, C. 1962. Sapogeninas esteroidales de *Agave lechuguilla*. Tesis. Q. F. B. Universidad Autónoma Potosina, México, p. p. 9-10.

Villegas, M., I. Fonseca, J. Paredes, R. Silva, T. Villegas, L. Rica, J. L. Herrera, E. Martínez y J. Alba. 1994. Estudio etnobotánico, edafológico, fitoquímico, microbiológico y de propagación de *Beschorneria yuccoides* C. Koch (Agavaceae). En: 1er. Simposio Internacional sobre Agaváceas. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional, México, p. p. 39.

Wagner, H. S., S. Blatt y E. M. Zgainski. 1984. Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg New York, Tokyo, p. p. 225-227.

Wall, M. E., Eddy, C. R., Serota, S. Y R. F. Miniger, R. F. 1953. Steroidal sapogenins. VIII. Markogenina (22b-spirostane-2ξ,, 3β-diol). A new sapogenin isolated from *Yucca*. Journal American Society. Vo.. 75, p. p. 4437-4440.

DIRECCIONES EN INTERNET

(1) <http://link.springer.de/link/service/journals/00898/meeting/lanc96/p4.htm>

(2) www.thieme.de/plantamedica/04.00/planta393.html

(3) www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/farmacy2.pl?38

(4) www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/chemical.pl?YAMOGENIN

(5) www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/chemical.pl?diosgenina

(6) www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/chemical.pl?SAPONIN

(7) www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/chemical.pl?XILOSA

(8) www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/chemical.pl?DGLUCORONICACID

(9) www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/chemical.pl?LARABINOSA

(10) www.binternet.com/nimh/ejhm/2.3.mm.html

