



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



DR. JEAN MICHEL GRÉVY MACQUART
COORDINADOR DEL POSGRADO EN CIENCIAS
PRESENTE

Atendiendo a la solicitud para emitir DICTAMEN sobre la revisión de la TESIS titulada **Estudio químico integral de *Machaerium isadelphum***, que presenta la alumna **Daniela Patrón González (10010101)** para obtener el título de **Doctor en Ciencias**.

Nos permitimos informarle que nuestro voto es:

NOMBRE	DICTAMEN	FIRMA
Dra. Laura Patricia Alvarez Berber CIQ-UAEM	APROBADO	
Dra. María Luisa del Carmen Garduño Ramírez CIQ-UAEM	APROBADO	
Dr. Alexandre Toshirrico Cardoso Taketa CEIB-UAEM	APROBADO	
Dr. Víctor Gómez Calvario Benemérita Universidad de Puebla (BUAP)	APROBADO	
Dra. Leticia González Maya FF-UAEM	APROBADO	
Dra. Angélica Berenice Aguilar Guadarrama CIQ-UAEM	APROBADO	
Dra. Irma Linzaga Elizalde CIQ-UAEM	APROBADO	



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

ANGELICA BERENICE AGUILAR GUADARRAMA | Fecha:2021-10-25 13:40:50 | Firmante

F8EiOIB2LHWJm3G90P/KI2UKSxozbnvokfCqig5EmgbB10ANFEPmMnWOGa4wL93IKcZIG5oaAa/DZaKwXcFII+VF3qp8k+aYIzUHIN4rUnEYGJMBAJqppR8RMUQa+AghtoltG0z+L+QePNihD7siSE9Yhh9VLDCfUC8GR7pxKPMa2YciGGMGctTRD2Nt6D3lxCAKZKfCGrj6VdLR1ukwnHEhN/mbeyYfWYyviN3sUHYPxHnkIhSH5ezXgZ4bTwnFdf2mpBdU HNGmv1AS4krWh2jhC0sNSg3Tbs9m8pjXYlg4Kq9COgopXiNplkTiuf9BulDuAJtRLi41rRSEg==

IRMA LINZAGA ELIZALDE | Fecha:2021-10-25 14:17:22 | Firmante

csDdKlxdqhxewt9RIFiLo45auNcs4BUx6A/9kAY2SXGeWG/mziU4DYigohBFwXUEbBKHFqhkechSRQNoBcAqYe+Zp0E+zplxF2VhiJSeB+1ZPUSHrqavZai8xu+xlEiH/X8zezik2Ez bAO8jeh/EoYORK8xBe+hXOQvAW6GMex/bN+BEMByDwK/WYOZsWNt4sdZ+iU6Lw3DGMmY1IDClunWrM1eXlWb2lSns4AyHleRD6g7fs6zmfuhZ1BPAQ5M8QSFf31bGX38lKq bakQV4WAW7sjoWMMaoZ6J80ubrHlPPRHP3122MiH+PeNDA5q4L3ocHNyTptweDFvknrJSA==

LAURA PATRICIA ALVAREZ BERBER | Fecha:2021-10-25 15:13:46 | Firmante

jNz8asol9Jh6vg9b1tXjkm56XWyspcPaQMIR3jZAt6AS5EHwQkW0fVv08lcNIF/zBaMAli11JuDv4XgEyTE5c5Y/wUer35oGOfoT4JNeEGckIDc2eqR4U2Yqd2aKipaoBAFe/ksB2Goo vrtnAj6Bzy9FcnTss3TXUoWqCDYJAZZekXJ2rrX9GYXlZv/3aLz55nWKZxyUvF3JEhfsnTn1RnqlaN5OZozV1UhNvXvgQatQ5CZ+3Rad/VoBLYoQa21QFYKtTrpofcB6KnmU4+Qkr mm+8xvF0I9lOrl2Yam8qNqLkf6P+rGoFY0HkgGZ4Uz+SaVVDwpTUOg+vbJFpNNUA==

MARIA LUISA DEL CARMEN GARDUÑO RAMIREZ | Fecha:2021-10-25 15:56:46 | Firmante

Ml8ysyVgtyNVEsk7aAbR9V/KtMXN0P08IO6sCBXONbwDOADVKTi7vp4DU5LcejanbpgYyjhxCeGeTrXZ9WAF294N3P3uBF1W024E68NPBOFPhRL8gyonaLAGDGkiEhYPJYc e7xrJUslFM9ls7aApV5oSUfMAxkM01fDy++YVl4aSiNJsG1PyioVdfCoI2zuWiu8TAQwB3bHdiY+msiVjVg+w90tyHlpB3oBLSRNONjWQbmq1ZrRTVvU8M6VqvlXlckQGwfor1h7 g+y/K2VsUbfueXITenTBSHiq4FzYjMzj7Aro/D0yj/4twY3ltHiJ1c7Y5HChBulYjtYh87g==

VÍCTOR GÓMEZ CALVARIO | Fecha:2021-10-25 16:37:46 | Firmante

UwU2S5tX4TM7roxi+i55pmDTK22RtailwTLseiF7er2bDKbj8ilw3DBbV5lQKMBY8FgtKJLvmf9yGmBkdIppCStyoiGvnnw6ErmlWGDrfnjFKMH+7i0AtAJeA/tg4YsP2ubSzo7dr5Gn2 Mwizg/0xFWLY4FyQJl6z5SzkHPWuWrRD2oY/cqzjLeuhU1FB9M/h9jr/wqcJqTnqzaO8U+NsaokaOg2dbiUH4FNTtkHAD7BaJ8583YipjwoqVr7ETDdL0Xdhr/oAoXGDUTButdsJJ8 Sbr6CwH4ADhoDkvmS6ee7OGAitb4Ct8Rt9ApD8PaQgwiJy6UQTNaPq6RBx6hQMw==

ALEXANDRE TOSHIRRICO CARDOSO TAKETA | Fecha:2021-10-26 09:54:12 | Firmante

vCR2EgabMVGgvMuH/PPRmZh4FglkBeGfEylorf/c2HtL/6yB65lrXdn5k5yYo2YJAwwDkhG63XUfFrn1rMTjHmndub5fltrPg4ym0yaP473f/MriMd6nbSFUwXoy+5AeT7PyZhkYOBz bEj9duqbFn/vyRUYMGfGZrjwoNcj4lrMpLDu+RF4OhCeKzeQkt/H4xxZye1V/8QrPOeBLP0/XMQMmiAHC1gBFehvm10cOl6rQbpmcRMU0qutNDQNCbE0tLQVWVee0RePO4cn bTbMI7UakouRc6MEf19YFzWzEzbr/foFRJ1VtI4TJitCktLurXalmYTCJaElognzlRDA==

LETICIA GONZALEZ MAYA | Fecha:2021-10-27 12:16:57 | Firmante

UufbKTYXjURnmWJJpf8o/z6FrUYESIEYP6V3OTXdavM2jt1EifblmiX45S5zlbNue4+L+HULnxocsY1wgpkZtkJDCicgJL32L9mMp5v5CEzRMdh8+2lPvI8GuxVUNOfJki4jJlG8Ro 4R3jWgX71zkvrjMjFVrY3Or/xbFXAl4pMd5AFsqoappgQasam83AU9PgZ8lMkDoqql4GEgU5y2D5XhNkwkpwlegUHyI/JlJR3yHhSqkMZCH7X58OSzmzHCPB8fQDn8rsJ4SQky CMGgt0tueU1PXJbLrGu+WNXq4eclZmEWBp1Mal/Wj2L/AsU6V2l9P94A41jzKg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



XYxe36EDR

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/jQCTQGNCN7sWlazGVbCoePhBxXggbQmJ>





**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS
CENTRO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS

Estudio químico integral de *Machaerium isadelphum*

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M.C. Daniela Patrón González

DIRECTOR DE TESIS

Dra. Yolanda Ríos Gómez

CUERNAVACA, MORELOS

noviembre de 2021



El presente trabajo se realizó en el laboratorio 323 del Centro de Investigaciones Químicas, IICBA, de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la dirección de la Dra. María Yolanda Ríos Gómez. Con el apoyo otorgado por CONACYT a través de la beca nacional con número (CVU/becario) 701915/584387.

Los insumos requeridos para esta investigación provienen del proyecto de Ciencia Básica 241044, y los estudios analíticos fueron posibles gracias a los proyectos de infraestructura 254145 y del Laboratorio Nacional de Estructura de Macromoléculas (LANEM, 251613).



Jurado revisor:

Dra. Laura Patricia Alvarez Berber

Dra. María Luisa del Carmen Garduño Ramírez

Dr. Alexandre Toshirrico Cardoso Taketa

Dr. Victor Gómez Calvario

Dra. Leticia González Maya

Dra. Angélica Berenice Aguilar Guadarrama

Dra. Irma Linzaga Elizalde

Índice

Lista de abreviaturas	vi
Resumen	viii
Abstract	x
1.Introducción.....	1
2. Justificación	3
3.Antecedentes	4
3.1. Generalidades del cáncer y Alzheimer	4
3.2. Importancia del estudio de las plantas medicinales	6
3.3. Género <i>Machaerium</i>	6
4. Objetivos	12
5. Hipótesis	12
6. Resultados y discusión	14
6.1 Elucidación estructural de los compuestos aislados	14
6.2 Extractos metanólicos de hojas, tallos y raíz	15
6.3 Análisis químico del extracto acetónico de las hojas y ramas de <i>M. isadelphum</i>	16
6.4 Análisis químico del extracto acetónico de tallos de <i>M. isadelphum</i>	18
6.5 Análisis químico del extracto acetónico de raíz de <i>M. isadelphum</i>	20
6.5.1 Machaeriol E (94)	20
6.5.2 Machaeriol A (55)	28
6.5.3 Amorfastilbol (95)	32
6.5.4 Machaeridiol A (57)	38
6.5.5 Isadelfona A (96).....	42
6.5.6 Isadelfona B (97).....	50
6.6 Actividad citotóxica y anticancerígena de los compuestos aislados de <i>M. isadelphum</i> ...	55
6.7 Compuestos de <i>M. isadelphum</i> y su actividad en Alzheimer	59
7. Desarrollo experimental	62
7.1 Estudio fitoquímico	62
7.2 Métodos Generales	62
7.2.3 Espectroscopía de infrarrojo.....	62
7.2.4 Punto de fusión	62
7.2.5 Polarimetría	63
7.3 Extracción	63

7.4 fraccionamiento y purificación de los extractos	63
7.5 Análisis químico de los extractos acetónicos de tallos, hojas-ramas y raíz de <i>M. isadelphum</i>.....	64
7.5.1 Hojas-ramas.....	64
7.5.2 Tallos	69
7.5.3 Raíz.....	73
8. Datos espectroscópicos.....	76
8.1 Machaeriol A	76
8.2 Machaeridiol A	77
8.3 Amorfastilbol.....	78
8.4 Machaeriol E.....	79
8.5 Isadelfona A	80
8.6 Isadelfona B	81
8.7 (+) - <i>trans</i>-4,7,2'-trihidroxi-4'-metoxiisoflavanol	82
9. Conclusiones	83
10. Perspectivas	85
11. Referencias bibliográficas.....	86
12. Apéndice.....	94
13. Asistencia a Congresos.....	95
14. Artículos generados.....	97
15. Material suplementario.....	98

Lista de abreviaturas

^{13}C	carbono 13
^1H	protón
AchE	acetilcolinesterasa
AcOEt	acetato de etilo
APP	proteína precursora de amiloide
Aβ	β -amiloide
CC	cromatografía en columna abierta
CCF	cromatografía en capa fina
CDCl_3	cloroformo deuterado
CG-EM	cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas
COSY	espectroscopía correlacionada
EA	alzheimer
HCT-116	carcinoma de colon humano
HeLa	carcinoma de cuello uterino humano
HFD	dieta rica en grasas
HL-60	células de leucemia promielocítica humana
hMAO-B	monoamino oxidasa B humana
HMBC	coherencia de enlaces múltiples heteronucleares
HSQC	coherencia heteronuclear cuántica simple
Hz	hertz
IL1-β	interleuquina 1 beta
IR	espectroscopia infrarroja
<i>J</i>	constantes de acoplamiento
KB	carcinoma epidermoide humano

LNCap	carcinoma de próstata humano
LRP1	proteína asociada al receptor de lipoproteínas
m	multiplicidad
MAO-B	monoamino oxidasa B
NHPrE	células epiteliales de próstata normales
OMS	organización mundial de la salud
OVCAR-3	adenocarcinoma de ovario
P388	células de leucemia
PC-3	carcinoma de próstata humano
PGC-1α	receptor-coactivador gamma-1 alfa
PPM	partes por millón
PS	presenilina
RAGE	receptor para productos finales de glicación avanzada
RMN	resonancia magnética nuclear
f	integración
TNF	receptor del factor de necrosis tumoral
TRAIL	ligando inductor de apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral
UV	ultravioleta
δ	desplazamiento químico

Resumen

Este proyecto constituye el primer estudio químico integral de *M. isadelphum* e incluye el análisis de hojas-ramas, tallos y raíz. En él se aislaron y caracterizaron 31 productos naturales de la planta, que se pueden agrupar en siete tipos estructurales: pterocarpanos, flavanonas, isoflavonoides, geranil-chalconas, monoterpen-estilbenos, triterpenos y esteroides. Los monoterpen-estilbenos aislados de esta planta presentan una importante similitud estructural con los cannabinoides, y hasta ahora se han aislado exclusivamente de esta especie.

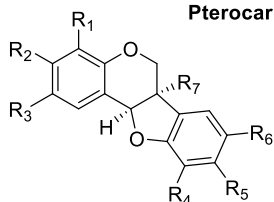
Doce de estos 31 compuestos se han aislado previamente de otras especies de *Machaerium*, con las que *M. isadelphum* comparte las vías biosintéticas que conducen a su síntesis en la planta. Por tanto, 19 de estos compuestos se aislaron por primera vez dentro de este género. Los extractos de ramas-hojas y tallos comparten 11 compuestos, mientras que las raíces no comparten ningún compuesto con las otras partes de la planta.

Tres de los compuestos aislados constituyen nuevos productos naturales y sus datos espectroscópicos y la determinación de su estructura química se discute por primera vez.

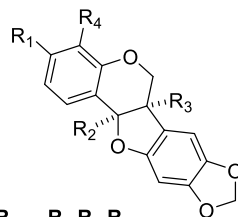
Una revisión bibliográfica exhaustiva de los 31 compuestos caracterizados indica que 13 cuentan con reportes de actividad citotóxica o anticancerígena demostrada: medicarpina, 4-hidroxicarpina, maackiaina, 4-hidroxiamaackiaina, formononetina, calycosina, β -sitosterol, estigmasterol, β -amirina, taraxerol, lupeol, betulina y ácido 3-*O*-acetiloleanolico; mientras que siete presentan actividad relacionada con Alzheimer (EA): lupeol, betulina, taraxerol, β -sitosterol, estigmasterol, formononetina y calicosina. La actividad citotóxica, anticancerígena y contra Alzheimer reportada para los 13 compuestos citotóxicos y los 7 anticolinesterásico permite justificar el uso popular de *M. isadelphum* en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de cáncer y demencia.

Compuestos caracterizados de hojas-ramas, tallos y raíz de *M.isadelphum*

Pterocarpanos

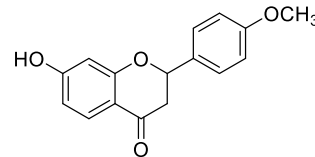


R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	
H	OH	H	H	OCH ₃	H	H	medicarpina
H	OH	H	H	OCH ₃	H	OH	6a-hidroximedicaipina
H	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H	OH	variabilina
OH	OH	H	H	OCH ₃	H	H	4-hidroximedicaipina
H	OCH ₃	OH	OH	OCH ₃	H	H	mucronocarpino



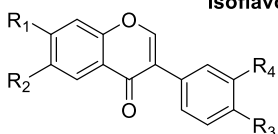
R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	
OCH ₃	H	H	H	pterocarpina
OH	H	H	H	maackiaina
OH	H	H	H	4-hidroximaackiaina

Flavanonas

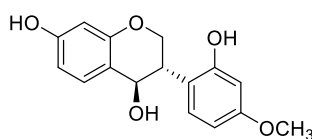


liquiritigenina-4-metil-éter

Isoflavonoides

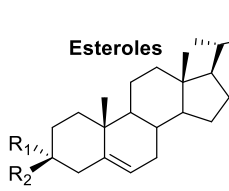


R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	
OCH ₃	OH	OCH ₃	H	alfalona
OH	H	OCH ₃	OH	calicosina
OH	H	OCH ₃	H	formononetina



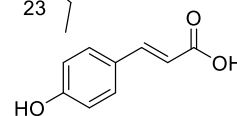
(+)-*trans*-4,7,2'-trihidroxi-4'-metoxiisoflavanol

Esteroles



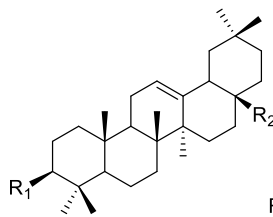
R ₁	R ₂	
OH	H	β-sitosterol
OH	Δ ^{22,23}	estigmasterol
O		sitosterona

Ácido cinámico

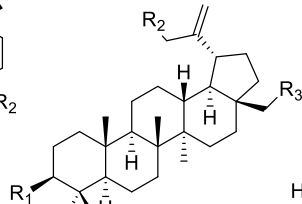


ácido 4- *p*-hidroxicinámico

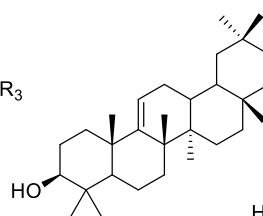
Triterpenos



R ₁	R ₂	
H	CH ₃	β-amirina
OH	CH ₃	taraxerol
OAc	COOH	ácido <i>O</i> -acetil oleanólico

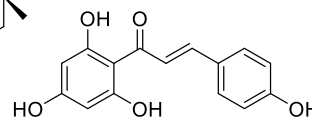


R ₁	R ₂	R ₃	
OH	H	H	lupeol
OH	H	OH	betulina
=O	OH	H	30-hidroxi-lupenona



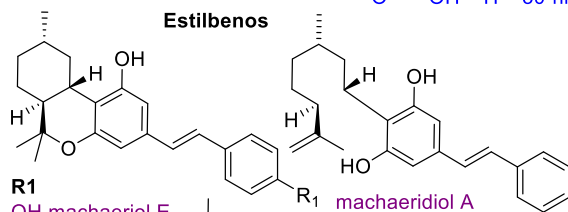
mirsineno

Chalconas

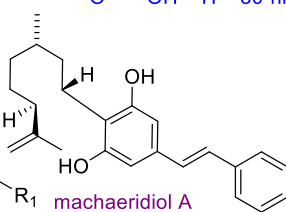


chalconaringenina

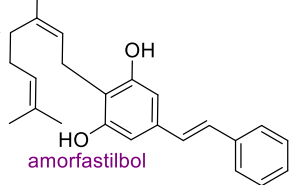
Estilbenos



R ₁	
OH	machaeriol E
H	machaeriol A

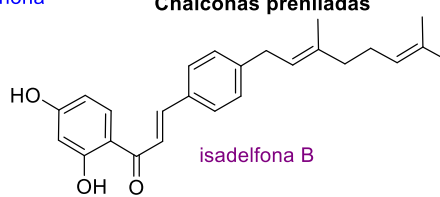


machaeridiol A

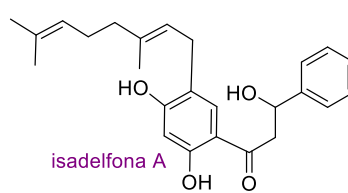


amorfastilbol

Chalconas preniladas



isadelfona B



isadelfona A

Componentes químicos de *Machaerium isadelphum*: en azul, compuestos aislados tanto en hojas-ramas como en tallos; en rojo, compuestos aislados en hojas-ramas; en verde, compuestos exclusivos de tallos; en morado, compuestos caracterizados en raíz.

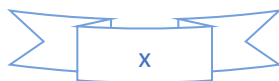
Abstract

This project constitutes the first integral chemical study of *Machaerium isadelphum* and includes the analysis of leaves-branches, stems, and roots. Thirty-one natural products were isolated and characterized, which can be grouped into seven structural types: pterocarpan, flavanones, isoflavonoids, geranyl-chalcones, monerpene-stilbenes, triterpenes, and sterols. It is important to note that the monerpene-stilbenes isolated from this planta shows a high structural similarity to cannabinoids, being isolated as natural products exclusively of *Machaerium isadelphum*.

Twelve of these 31 compounds have been previously isolated from other species of *Machaerium*, with which *M. isadelphum* shares the biosynthetic pathways that lead to its synthesis in the plant. Therefore, 19 of these compounds were isolated for the first time within this genus. The leaves-branches and stem extracts share 11 compounds, while the roots do not share any compound with the other parts of the plant.

Two of the isolated compounds constitute new natural products and its spectroscopic data and the determination of its chemical structures is discussed for the first time.

An exhaustive bibliographic review of the 31 characterized compounds indicates that 13 have reports of demonstrated cytotoxic or anticancer activity: medicarpin, 4-hydroxymedicarpin, maackiain, 4-hydroxymaackiain, formononetin, calycosin, β -sitosterol, stigmasterol, β -amyrin, taraxerol, lupeol, betulin and γ 3-*O*-acetyloleanolic acid; while seven more shown a related activity with Alzheimer: lupeol, betulin, taraxerol, β -sitosterol, stigmasterol, formononetin and calycosin. The reported cytotoxic and anticancer activities and as acetylcholinesterase inhibitors for these compounds justify the popular use of *M. isadelphum* in the Mexican traditional medicine for cancer and dementia treatment.



1. Introducción

Las plantas medicinales han sido, y seguirán siendo, una fuente importante para el tratamiento de diversos trastornos y enfermedades que han afectado a nuestra sociedad a lo largo de su historia. Por ello, son de gran interés para la investigación científica, pues constituyen una fuente rica para el descubrimiento de nuevos compuestos bioactivos, con propiedades farmacológicas útiles en el tratamiento de la salud humana. En la actualidad, diferentes investigaciones sobre plantas medicinales en todo el mundo han permitido aislar, purificar, caracterizar, y determinar las distintas propiedades biológicas de varios compuestos bioactivos, entre las cuales, es de nuestro interés, aquellos que actúan como anticancerígenos o como inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa (AChE).

México tiene la ventaja de poseer una de las diversidades en flora y fauna más importantes de nuestro planeta. El aprovechamiento de esta diversidad biológica es fundamental para su desarrollo económico y social. Se considera que representa gran parte de su economía y cubre un alto porcentaje de las necesidades de las personas en estado de pobreza, incluidas las de atención de la salud.¹

El cáncer sigue siendo una de las afecciones más difíciles de tratar, convirtiéndose en la segunda causa de muerte en el mundo, donde cerca del 70% de estas muertes se registran en países de ingresos medios y bajos.² En México, el cáncer es la cuarta causa de muerte, después del COVID-19, las enfermedades cardiovasculares y la diabetes,³ diagnosticándose 191,000 casos nuevos al año, de los cuales 84,000 fallecen. Esto representa un aumento del 20% en la mortalidad desde el año 2000. De acuerdo con el Instituto Nacional de Geografía y Estadística (INEGI), entre 2010 y 2018 las defunciones relacionadas con el cáncer han pasado de 70,240 a 85,754.^{2,4} El cáncer más frecuente en México es el de mama, con 27,500 casos por año; seguido del de próstata con 25,000; colon, 15,000; tiroides 12,000; cervicouterino, 7,870 y de pulmón con 7,810. A su vez, el cáncer de mama ocasiona 7,000

defunciones al año, el de próstata 6,900; colon, 7,000; tiroides, 900; cervicouterino, 4,000, y pulmón, 6,700, de acuerdo con cifras de la Secretaría de Salud.²

Por otro lado, la enfermedad de Alzheimer es la causa más común de demencia en personas de edad avanzada. Es una enfermedad irreversible y progresiva que afecta al cerebro de quien la padece, que poco a poco destruye su memoria y sus habilidades para llevar a cabo hasta las tareas más mínimas, contribuyendo significativamente en las estadísticas de afectación de salud de nuestros adultos mayores. Esta enfermedad puede ser tratada con inhibidores de la AChE.⁵

A pesar de que tanto el cáncer como el Alzheimer son enfermedades con alta prevalencia en nuestro país, y aunque actualmente existen tratamientos clínicos para cada una de ellas, éstos no son del todo eficaces. Por ejemplo, no existe un medicamento efectivo para todos los tipos y/o estadios de cáncer, y para el caso del Alzheimer, solo se dispone de tratamientos que intentan controlar los síntomas cognitivos y psiquiátricos, en un intento de mantener la capacidad funcional.^{5,6} Las plantas medicinales han proporcionado una gran cantidad y variedad de compuestos bioactivos para el tratamiento de estas dos afecciones, que incluyen alcaloides, flavonoides y terpenos, entre otros, por lo que juegan un papel importante en la búsqueda de nuevos compuestos que contribuyan a la solución a estos padecimientos.

En este trabajo se realizará el estudio químico integral de *Machaerium isadelphum*, una planta endémica del estado de Michoacán, donde es utilizada para el tratamiento de estas dos enfermedades, con el propósito de contribuir al establecimiento de su contenido químico, delineando que compuestos de los que contiene presentan reportes relacionados con estas actividades.

2. Justificación

Actualmente, el cáncer y el Alzheimer son enfermedades difíciles de tratar y hasta el momento los tratamientos quimioterapéuticos disponibles no han superado el reto que representan estas enfermedades. En el caso del cáncer estos solo ayudan en etapas tempranas y a un alto costo económico y corporal para el paciente, y en etapas tardías solo contribuyen a aminorar el dolor que genera la enfermedad. Para el Alzheimer solo existen escasos tratamientos paliativos y no del todo eficaces, que en la mayoría de los casos tienen efectos secundarios adversos no deseados. Por ello, su impacto global en la salud de los mexicanos es importante y continúa aumentando, siendo necesario realizar esfuerzos enfocados a la validación de entidades químicas que permitan su abordaje de manera exitosa.

Las importantes contribuciones que las sustancias naturales han hecho al desarrollo de medicamentos y al descubrimiento de nuevos y eficaces agentes contra estas dos afecciones mantiene a las plantas como pieza clave en la búsqueda. En este sentido, *M. isadelphum* es utilizada de manera tradicional para el tratamiento de cáncer y d demencia (enfermedades del sistema nervioso central) en algunas comunidades del estado de Michoacán. Estudios químicos previos realizados a otras especies de este género indican que contienen compuestos de tipo flavonoide, isoflavonoide, pterocarpano, estilbeno, triterpeno, esteroide y alcaloide. Algunos de estos compuestos han mostrado actividad citotóxica y son prometedores agentes anticancerígenos, y algunos otros son inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa, por ello es importante realizar el estudio químico integral de *M. isadelphum*, incluyendo tallos, hojas y raíz, a fin de identificar sus constituyentes químicos, tratando de asociarlos con la actividad anticancerígena e inhibitoria de la acetilcolinesterasa reportada por el uso de la planta en la medicina tradicional mexicana. Esto permitirá sentar las bases para la búsqueda de nuevos agentes anticancerígenos y anticolinesterásicos en este género.

3. Antecedentes

3.1. Generalidades del cáncer y Alzheimer

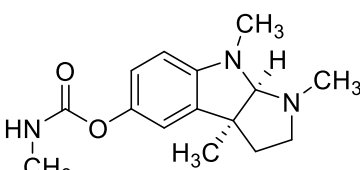
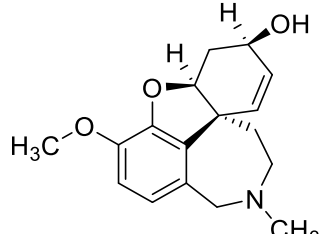
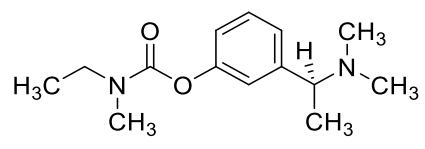
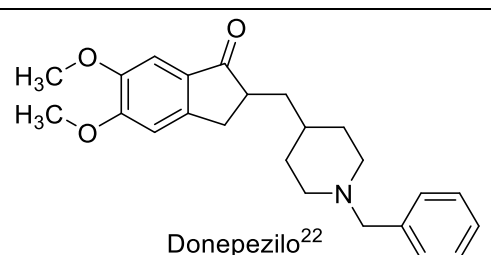
La palabra cáncer es un término colectivo que se utiliza para describir un grupo de diferentes enfermedades que se caracterizan por la pérdida de control en la división celular y su crecimiento. Esta patología hoy en día es uno de los problemas globales de salud pública, con una prevalencia mundial estimada por la OMS de 14 millones de casos nuevos diagnosticados y 8,2 millones de muertes en todo el mundo.^{7,8}

Los tratamientos para esta enfermedad se basan en el tipo de cáncer y la etapa del padecimiento. Aunque hoy en día existe un amplio conocimiento a nivel genético y bioquímico de cómo surgen y se desarrollan la mayoría de los cánceres, actualmente, la cirugía, la radioterapia, la quimioterapia y la inmunoterapia, así como los regímenes combinados, son las principales estrategias clínicas, sin embargo, como se mencionó anteriormente, no son del todo eficaces para todos los tipos tumorales o sus estadios, en gran parte debido a la heterogeneidad original en las alteraciones genéticas de las células tumorales. Además, los pasos en el desarrollo de medicamentos contra esta afección son complejos, y suelen ser muy costosos e inciertos; generarlos puede llevar entre 15 y 20 años.^{9,10,11}

Por otro lado, el Alzheimer es una de las principales causas de demencia entre las personas de edad avanzada. Es un trastorno neurodegenerativo progresivo que se caracteriza por una pérdida gradual de la memoria, la cognición y la normalidad del comportamiento. Se trata de una afectación del Sistema Nervioso Central compleja e irreversible que puede conducir a la muerte.^{12,13} De acuerdo con el último informe de la World Alzheimer Reports, más de 46 millones de personas en el mundo sufre de EA, y se estima que para 2050 este número aumente a más de 131 millones.^{14,15}

Se conoce que entre la población adulta mayor en México existe una prevalencia del 7.3% y una incidencia de 27.3 (1,000 personas por año) para EA. La proyección del número de mexicanos afectados por esta enfermedad para el 2050 es de más de 3.5 millones, y de acuerdo con los datos presentados sobre la prevalencia de la demencia en México.¹² Debido a que es una enfermedad multifactorial, el AE actualmente solo se cuenta con cuatro medicamentos para el tratamiento de sus síntomas: la fisostigmina, el donepezilo, la rivastigmina y la galantamina, los cuatro actúan como inhibidores de la acetilcolinesterasa. y han demostrado efectos beneficiosos sobre los tres ámbitos sintomáticos en la EA: cognitivo, conductual y funcional, no obstante, estos tienen efectos secundarios adversos en la mayoría de los pacientes tratados. El CI₅₀ de cada uno de estos medicamentos se muestra en la **Tabla 1**.^{5,16}

Tabla 1. Medicamentos utilizados actualmente para el tratamiento del Alzheimer

Compuesto	CI ₅₀	Dosis	Compuesto	CI ₅₀	Dosis
 <p>Fisostigmina^{17,18}</p>	1.0 nM	2 mg/día	 <p>Galantamina^{19,20}</p>	1.9 μM	24-32 mg/día
 <p>Rivastigmina^{5,21}</p>	2.07 μM	6-12 mg/día	 <p>Donepezilo²²</p>	11.7 nM	(5-10 mg/día)

3.2. Importancia del estudio de las plantas medicinales

Las plantas medicinales hoy en día siguen siendo de gran relevancia para realizar estudios fitoquímicos y biológicos, pues la biodiversidad que poseen en su contenido químico es de gran importancia para el descubrimiento y desarrollo de nuevos productos o fármacos que ayuden en el tratamiento de diferentes afecciones que aquejan a la sociedad.^{23,24} Por esta razón, la medicina tradicional ha ganado gran importancia, pues el uso de las plantas medicinales para curar algunos malestares en la salud, es una práctica muy común en muchos países.²⁵ En este contexto, las fuentes naturales como ruta para identificar y obtener nuevos agentes anticancerígenos y anticolinesterásicos tienen buena demanda, ya que son fuente de compuestos químicamente diversos y en algunos casos poseen propiedades únicas o similares a las de los medicamentos en uso. Debemos hacer hincapié que los medicamentos actuales para el tratamiento del cáncer incluyen al paclitaxel (*Taxus brevifolia*), la vincristina (*Catharanthus rose*) y la doxorubicina, entre otros muchos, los cuales son obtenidos o derivados naturalmente.²⁶

Así mismo, varios compuestos químicos aislados de plantas han demostrado actividad inhibitoria de la AChE, y han servido para el desarrollo de medicamentos que pueden usarse para prevenir o retrasar el desarrollo de la EA. Por ello, es importante destacar que los compuestos utilizados actualmente para el tratamiento de esta enfermedad son la fisostigmina (*Physostigma venenosum*), la huperzina A (*Huperzia serrata*) y la galantamina (*Leucojum aestivum*), todas ellos aislados de plantas medicinales.^{26,27,28} Hoy por hoy, los productos naturales siguen proporcionando la mayor cantidad de compuestos con estas actividades biológicas.

3.3. Género *Machaerium*

El género *Machaerium* pertenece a la familia Fabaceae (subfamilia Faboideae y tribu Dalbergieae), una de las más grandes en cuanto a plantas con uso medicinal reconocido. Las especies de este género tienen importancia por sus diferentes actividades biológicas, y sus efectos metabólicos y farmacológicos de interés para la salud humana. Estudios químicos realizados a plantas de este género indican que sus principales compuestos son los

flavonoides, estilbenos, pterocarpanos, alcaloides, chalconas, triterpenos, esteroides, derivados de ácidos grasos, y cinamoilfenoles, entre otros.^{29,30,31,32,33,34}

Hasta ahora se han estudiado químicamente 15 especies de este género. Una revisión bibliográfica sobre los componentes encontrados en estas plantas se describe en la **Tabla 2**

Tabla2. Constituyentes químicos de las especies de *Machaerium*

Especie	Parte de la planta	Constituyentes químicos
<i>M. acutifolium</i> ³⁵	tronco	15, 48, 62
<i>M. aristulatum</i> ³⁶	tallo	2, 15, 19, 47
	corteza	2, 5
<i>M. eriocarpum</i> ^{37,38}	hojas	32, 34, 40-41
<i>M. floribundum</i> ³³	tallos y corteza leñosa	30
<i>M. hirtum</i> ^{39,40,41}	tronco	34-39
	hojas	32-33, 72-73, 76
	ramas	32-33, 70-73
	retoños	36, 39, 68-69, 73, 75
<i>M. incorruptibile</i> ⁴²	savia de la madera	64-67
<i>M. kuhlmanni</i> ^{43,44}	madera	22-23, 25, 28
	tronco	2, 14, 22-25, 27-28, 49-54, 67, 72
<i>M. mucronulatum</i> ⁴⁵	duramen	5, 7, 9-11, 18, 42-45, 53
	raíces	5, 7, 9-11, 18, 44-45
<i>M. multiflorum</i> ^{30,31}	corteza del tallo	59, 61, 74
	corteza del tallo	55-58, 60-61, 74
<i>M. nictitans</i> ^{43,44}	madera	22-23, 25-26, 28
	tronco	2, 15, 22-23, 25-28
<i>M. opacum</i> ⁴⁶	duramen	9, 11, 54, 62-63
<i>M. pedicellatum</i> ⁴⁷	duramen	12-14, 20-23, 25, 27, 64
<i>M. scleroxylon</i> ^{48,49}	madera	20-21, 24, 27, 29
	duramen y savia de la madera	20-21, 25, 27, 29, 66, 72
<i>M. vestitum</i> ^{35,32,50}	madera	2, 8-9, 15, 17, 66
<i>M. villosum</i> ³²	duramen	1-4, 6, 30, 42-43
	duramen	1-5, 7, 9-11, 16, 18, 31, 42-43, 45-46, 72
	savia de la madera	64-65, 72

De estos estudios se han podido identificar 77 compuestos, distribuidos en los tipos descritos en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Estructuras de los constituyentes químicos de las especies de *Machaerium*

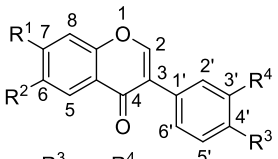
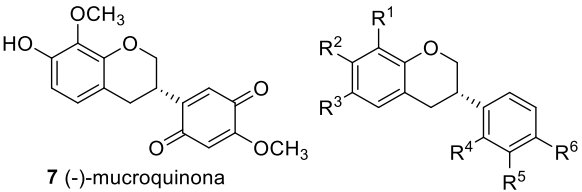
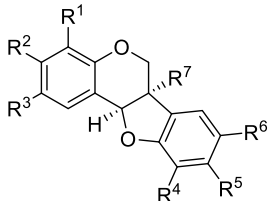
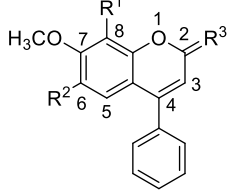
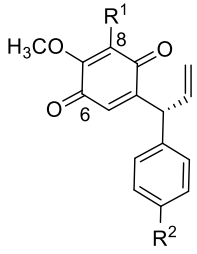
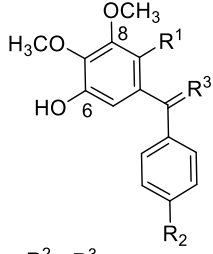
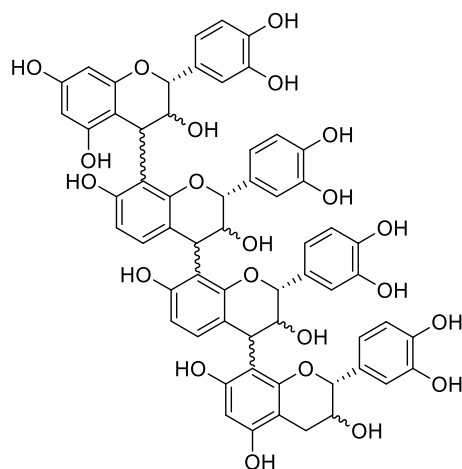
Isoflavonas					Isoflavanos								
													
R ¹	R ²	R ³	R ⁴		7 (-)-muroquinona	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶		
1	OH	H	OH	H	daidzeina	8	H	H	H	OH	H	OCH ₃	(+)-vestitol
2	OH	H	OCH ₃	H	formononetina	9	H	H	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	(-)-mucronulatol
3	OCH ₃	H	OH	H	isoformononetina	10	H	H	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	(+)-mucronulatol
4	OH	H	OH	OH	3'-hidroxidaidzeina	11	OCH ₃	OH	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	(-)-duartina
5	OH	H	OCH ₃	OH	calicosina	12	H	OCH ₃	OH	OH	OCH ₃	OCH ₃	machaerol A
6	OH	H	OH	OCH ₃	4',7'-dihidroxi-3'-metoxi isoflavona	13	OCH ₃	OCH ₃	OH	OH	OCH ₃	OCH ₃	machaerol B
						14	OH	OCH ₃	OH	OH	OCH ₃	OCH ₃	machaerol C
Pterocarpanos							Neoflavonoides						
													
R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	R ⁷	R ¹	R ²	R ³				
15	H	OH	H	H	OCH ₃	H	H	OH	O				(+)-medicarpina
16	H	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H	H	OCH ₃	O				(+)-homoptercarpina
17	H	OH	H	OH	OCH ₃	H	H	OH	O				(+)-vesticarpino
18	H	OCH ₃	OH	OH	OCH ₃	H	H	OH	OCH ₃	H	H		(+)-mucronucarpino
19	H	OH	H	H	OCH ₂ O	H							(+)-maackiaina
							20	H	OH	O			dalbergina
							21	H	OCH ₃	O			O-metildalbergina
							22	OCH ₃	OH	O			kuhlmannina
							23	OCH ₃	OH	H,H			kuhlmanneno
Quinonas				Quinoles									
													
R ¹	R ²			R ¹	R ²	R ³							
24	H	H		dalbergiona	27	OH	H	βH, _β				(R)-3,4-dimetoxidalberginol	
25	OCH ₃	H		(R)-3,4-dimetoxidalbergiona	28	OCH ₃	OH	βH, _β				kuhlmanniquinol	
26	OCH ₃	OH		(R)-4'-hidroxi-3,4-dimetoxidalbergiona	29	OH	H	O				scleroina	

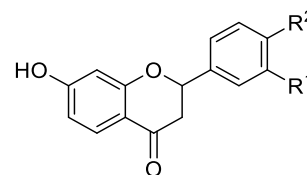
Tabla 3 cont. Estructuras de los constituyentes químicos de las especies de *Machaerium*

Procianidinas



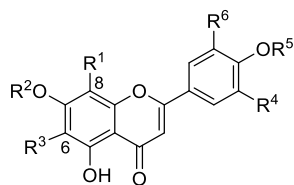
30

Flavanonas



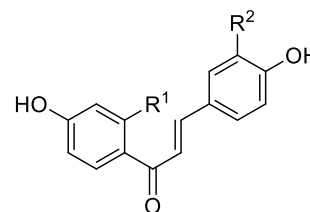
R¹ R²
31 OH OH butina

Flavonas



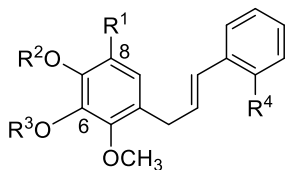
	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁵	
32	H	H	Glu	H	H	H	isovitexina
33	H	CH ₃	Glu	H	H	H	swertisina
34	H	Glu	Glu	H	H	H	apigenina-6-C-β-D-glucopiranosil-7-O-β-D-glucopiranosido
35	H	H	Glu	H	H	H	apigenina-6-C-β-D-glucopiranosido
36	H	CH ₃	Glu	H	H	H	apigenina-7-metoxil-6-C-β-D-glucopiranosido
37	H	H	Glu	OH	H	H	luteolina-6-C-β-D-glucopiranosido
38	Glu	Glu	H	H	H	H	apigenina-8-C-β-D-glucopiranosil-7-O-β-D-glucopiranosido
39	Xyl	Glu	Glu	H	H	H	apigenina-6-C-β-D-glucopiranosil-8-C-β-D-xilopiranosido
40	Glu	H	H	H	CH ₃	H	apigenina-4'-metoxil-8-C-β-D-glucopiranosido
41	H	H	Glu	OH	CH ₃	OH	4'-metoxil-5,7,3',5'-tetrahidroxi-6-C-β-D-glucosil-flavona

Chalconas



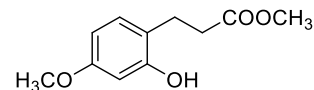
R¹ R²
42 OH H isoliquiritigenina
43 OH OH buteina

Estirenos

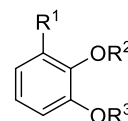


	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	
44	H	H	CH ₃	H	mucronustireno
45	H	H	CH ₃	OH	mucronulastireno
46	H	H	CH ₃	OCH ₃	villostireno
47	OH	CH ₃	H	H	macharistol
48	OH	CH ₃	CH ₃	OH	petrostireno
49	OH	CH ₃	CH ₃	OH	(Z) = kuhlmannistireno

Aromáticos C6-C1 y C6-C3



50 metil 3-(2-hidroxi-4-metoxifenil)-propionato



	R ¹	R ²	R ³	
51	OH	H	CH ₃	2-hidroxi-3-metoxifenol
52	OH	CH ₃	CH ₃	2,3-dimetoxifenol
53	OCH ₃	H	CH ₃	2,6-dimetoxifenol
54	CHO	CH ₃	CH ₃	2,3-dimetoxibenzaldehído

Tabla 3 cont. Estructuras de los constituyentes químicos de las especies de *Machaerium*

Estilbenos			Triterpenos	
R	R	R	H ₃ COCO	R ¹ R ²
55 H machaeriol A	57 H machaeridiol A	59 H machaeriol B	64 R = CH ₃ O-acetil β-amirina	68 CH ₃ H α-amirina
56 OH machaeriol C	58 OH machaeridiol B	60 OH machaeriol D	65 R = CH ₂ OH O-acetil eritrodil	69 H CH ₃ β-amirina
61 machaeridiol C	R 62 H pinosilvin monometil eter 63 OCH ₃ pinosilvin dimetil eter		70 friedelina	R ¹ R ² R ³ R ⁴ 71 H OH H H lupeol
Esteroles			Misceláneos	
R ¹ R ²			74 (-)-kessano	75 ácido quinico
72 OH H β-sitosterol	73 OH H Δ ^{22,23} estigmasterol			
			76 4-hidroxi-N-metilprolina	77 alantoína

Las plantas del género *Machaerium* son utilizadas de manera tradicional para la cura de diferentes malestares, entre las que destacan la actividad citotóxica, antimicrobiana, antiparasitaria, antiviral, antiinflamatoria y antioxidante (**Tabla 4**).

Tabla 4. Actividad biológica de las especies de *Machaerium*.

Especie	Actividad biológica	Extracto o compuesto activo
<i>M. aristulatum</i> ³⁶	citotóxica	15, 47
<i>M. aristulatum</i> ³⁷	antigiardial	2, 5
<i>M. biovulatum</i> ⁵¹	antiviral	aglutinina
<i>M. eriocarpum</i> ³⁸	alelopática	metanol, 32
<i>M. floribundum</i> ^{33,52}	antibacteriana antifúngica	30
	efecto antioxidante antibacteriana (antiacné)	etanol
<i>M. hirtum</i> ^{39, 49,41}	antiinflamatoria	methanol, 56, 60, 76
	quimio protectora	etanol 70%
	antiinflamatoria antinociceptiva ausencia de toxicidad aguda ausencia de daño gástrico	hydroethanolic (70%)
<i>M. lunatus</i> ⁵¹	antiviral	aglutinina
<i>M. multiflorum</i> ^{30,31}	antimalárica	etanol, 59
	antibacteriana	etanol, 59
	unión a receptor CB1 (act. canabinoide)	no actividad
	reactividad cruzada contra receptores canabinoides	no actividad
	antimicrobiana	56, 57, 58, 60, 61
	antibacteriana y antifúngica	56, 57, 58, 61
	antiparasítica	58
<i>M. scleroxylon</i> ⁴⁸	alérgica	26, 27
<i>M. villosum</i> ^{53,54}	antioxidante	etanol
	antiesquistosomiasis	éter

No existen estudios previos sobre *Machaerium isadelphum*, que es utilizada en la medicina tradicional del estado de Michoacán para el tratamiento de cáncer, demencia y gastritis. En este trabajo de investigación será estudiada desde un punto de vista integral, llevando a cabo un análisis exhaustivo de sus hojas-ramas, tallos y raíces.

3. Objetivos

Objetivo general:

Llevar a cabo el estudio de hojas-ramas, raíz y tallos de la planta medicinal *Machaerium isadelphum* para establecer su perfil químico, la actividad citotóxica, anticancerígena y anticolinesterásica, a fin de correlacionar estas actividades con el uso de esta planta en la medicina tradicional mexicana.

Objetivos particulares:

- ❖ Obtener los extractos de acetona y metanol de las hojas-ramas, raíz y tallos de *Machaerium isadelphum*.
- ❖ Purificar y caracterizar los metabolitos secundarios presentes en estos extractos.
- ❖ Establecer el perfil químico de cada parte estudiada de esta planta y compararlo con el de otras especies de *Machaerium*.
- ❖ Documentar las actividades citotóxicas (y/o anticancerígena) y anticolinesterásica para cada compuesto aislado.
- ❖ Relacionar el contenido químico de *M. isadelphum* con su uso popular en la medicina tradicional.

5. Hipótesis

El perfil químico reportado para el género *Machaerium* indica la presencia de isoflavonoides, neoflavonoides, pterocarpanos, quininas, quinoles, flavonas, chalconas, estirenos, estilbenos, triterpenos y esteroides, por lo que el estudio químico de hojas, raíz y tallos de *M. isadelphum* permitirá obtener este tipo de compuestos, algunos de los cuales presentaran actividad citotóxica o anticolinesterásica que justifiquen su uso popular en la medicina tradicional del estado de Michoacán.

6. Resultados y discusión

Machaerium isadelphum es utilizada de manera tradicional para el tratamiento de cáncer y desórdenes mentales en la comunidad de Carácuaro Michoacán. Nuestro grupo de investigación realizó un primer estudio químico y citotóxico de los tallos de *M. isadelphum*, identificándose compuestos de tipo flavonoide, isoflavonoide y pterocarpano, los cuales tuvieron actividad citotóxica contra líneas celulares de carcinomas humanos de mama, cervicouterino y pulmón.⁷⁷ Existen estudios que indican que este tipo de compuestos son también inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa, lo que correlaciona directamente con la posibilidad de encontrar compuestos con potencial para el tratamiento de Alzheimer y cáncer. Con base en lo anterior se decidió realizar un estudio químico integral de la planta, que incluye sus tallos, hojas y raíz, para lo cual, a partir de estas partes se obtuvieron los extractos crudos de acetona y metanol.

6.1 Elucidación estructural de los compuestos aislados

Para cada uno de los extractos se realizaron diversos procesos exhaustivos de purificación a través de diversas cromatografías hasta obtener compuestos puros. Para establecer la composición de los extractos metanólicos fue necesario llevar a cabo su derivatización y análisis mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (véase el apartado de desarrollo experimental). Se obtuvieron diferentes compuestos químicos para cada extracto crudo. En el extracto acetónico de los tallos se identificaron pterocarpanos, isoflavonoides, triterpenos y esteroides, en las hojas y ramas isoflavonas, pterocarpanos, flavanonas, esteroides y triterpenos, mientras que para el extracto de raíz se obtuvieron compuestos novedosos de tipo monoterpen-estilbeno, así como geranil-chalconas. La elucidación estructural de estos compuestos se discutirá en el presente trabajo por tipo de compuesto y en el orden en que fueron aislados. Para la identificación de cada uno de los compuestos aquí descritos, como en la mayoría de los estudios fitoquímicos de plantas

medicinales, se llevó a cabo un estudio químico tradicional y un análisis riguroso mediante diversas técnicas espectroscópicas de RMN de 1D (^1H y ^{13}C) y 2D (HSQC, HMBC y COSY). Así mismo, se realizó una comparación de la información obtenida de los compuestos aislados con los datos reportados en la literatura, para determinar si ya han sido previamente aislados o no. En este último caso, los datos reportados para análogos se tomaron como base para el establecimiento de la estructura de compuestos no reportados.

6.2 Extractos metanólicos de hojas, tallos y raíz

Debido a la poca homogeneidad y alta polaridad de los constituyentes químicos de los extractos metanólicos de las tres partes de *M. isadelphum* (su análisis mediante CCF mostro el barrido de los constituyentes desde el punto de aplicación hasta el frente del eluyente sin definición alguna), se realizó una reacción de acetilación a cada uno de ellos. El residuo total obtenido para cada uno de ellos fue analizado en un cromatógrafo de Gases Agilent Technology modelo 6890 plus, acoplado a un espectrómetro de masas 5973N con la finalidad de determinar su composición química. El análisis de los compuestos volatilizables presentes en el crudo de reacción permitió corroborar que estos tres extractos presentan un alto contenido de azúcares (metabolitos primarios, **Tabla 5**).

Tabla 5. Composición química (CG-EM) de extractos metanólicos de hoja, tallo y raíz de *M. isadelphum*.

Compuestos	Extractos metanólico		
	Hoja	Tallo	Raíz
Tipo de azúcar			
Pentaacetato α -D-glucosa	✓	✓	✓
Octaacetato de sacarosa	✓	✓	✓
Pentaacetato 2,3,4,5,6 D-glucosa	X	✓	✓
Metil 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucosa	✓	✓	✓
Hexaacetato de myo inositol	✓	✓	✓
Hexaacetato de D- glucitol	✓	✓	✓
Octaacetato de trehalosa	✓	✓	X
Pentaacetato de pinitol	✓	✓	X
Pentaacetato de altrosa	X	X	✓
Pentaacetato de α -D-glucosa	X	X	✓

Dada esta composición química y la aparente ausencia de metabolitos secundarios, el análisis de estos extractos no se continuó.

6.3 Análisis químico del extracto acetónico de las hojas y ramas de *M. isadelphum*.

En el estudio químico realizado al extracto de acetona de las hojas y ramas de *M. isadelphum* se aislaron y caracterizaron 16 compuestos, todos ellos de estructura conocida, dos isoflavonas: alfalona⁵⁵ y formononetina;²³ una flavanona: liquiritigenina-4'-metil-éter⁵⁶ seis pterocarpanos: medicarpina,⁵⁷ variabilina,⁵⁸ 6a-hidroximedicarpina,³⁵ 4-hidroximedicarpina,⁵⁸ mucronocarpano,⁵⁹ y 4-hidroximaackiaina;⁶⁰ cuatro triterpenos lupeol,⁵⁹ betulina,⁶¹ 30-hidroxi-lupenona,⁶² y ácido *O*- acetil oleanólico;⁶³ y tres esteroides: β -sitosterol,⁶⁴ estigmasterol⁶⁵ y sitosterona⁶⁶ (**Figura 1**).

De los compuestos mostrados en la **figura 1**, siete se han aislado previamente de otras especies de *Machaerium*, los cuales incluyen a β -sitosterol, estigmasterol, lupeol, ácido *O*- acetil oleanólico, medicarpina, mucronocarpano y formononetina, por lo que *M. isadelphum* comparte con esas otras especies de *Machaerium* las vías biosintéticas que los producen. Además, nueve de los compuestos se aislaron por primera vez en este proyecto para este género, los cuales incluyen a los pterocarpanos: 6a-hidroximedicarpina, variabilina, 4-hidroximedicarpina, 4-hidroximaackiaina, la flavanona liquiritigenina-4-metil-éter, el isoflavonoide alfalona, la sitosterona, y por último los triterpenos betulina y 30-hidroxi-lupenona.

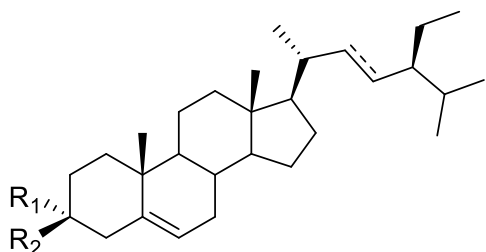
Los compuestos conocidos como medicarpina, 4-hidroximedicarpina, 6a-hidroximedicarpina, mucronocarpano, variabilina, 4-hidroximaackiaina, alfalona y formononetina se consideran marcadores quimiogenéticos de *M. isadelphum*.

Es importante resaltar que los compuestos aislados en este proyecto de investigación son completamente consistentes con la fitoquímica previamente establecida para el género *Machaerium*.

Figura 1. En rojo se muestran los compuestos aislados de *M. isadelphum* previamente caracterizados en otras especies de *Machaerium* y en azul aquellos aislados por primera vez en el género *Machaerium*.

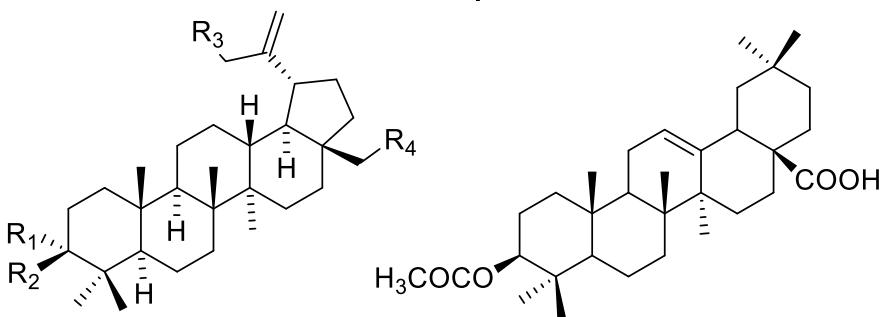
Compuestos aislados de la hojas y ramas de *M. isadelphum*

Esteroles



	R ₁	R ₂	
72	OH	H	β-sitosterol
73	OH	Δ ^{22,23}	estigmasterol
78	O		sitosterona

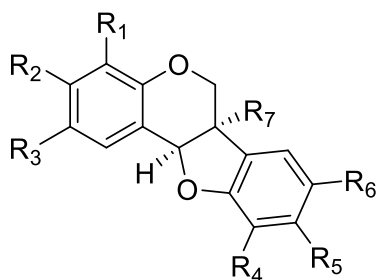
Triterpenos



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	
79	H	OH	H	H	lupeol
80	H	OH	H	OH	btulina
81	O		OH	H	30-hidroxi-lupano

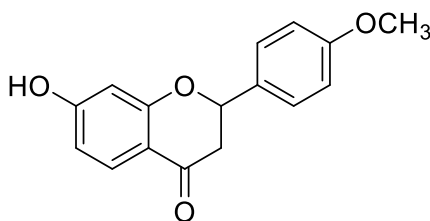
82 ácido O-acetil oleanólico

Pterocarpanos



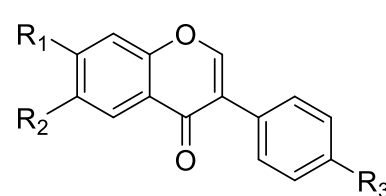
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	
15	H	OH	H	H	OCH ₃	H	H	medicarpina
18	H	OCH ₃	OH	OH	OCH ₃	H	H	mucronocarpano
82	H	OH	H	H	OCH ₃	H	OH	6a-hidroximedicarpina
83	H	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H	OH	variabilina
84	OH	OH	H	H	OCH ₃	H	H	4-hidroximedicarpina
85	OH	OH	H	H	OCH ₂ O	H		4-hidroximaackiaina

Flavanonas



86 liquiritigenina-4'-metil-eter

Isoflavonoides



	R ₁	R ₂	R ₃	
87	OCH ₃	OH	OCH ₃	alfalona
2	OH	H	OCH ₃	formononetina

6.4 Análisis químico del extracto acetónico de tallos de *M. isadelphum*.

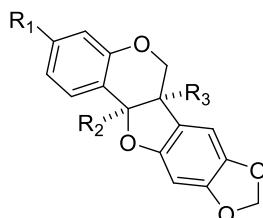
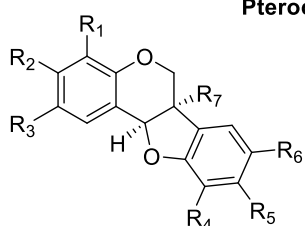
Del estudio químico del extracto acetónico de los tallos de *M. isadelphum*, y de acuerdo con un análisis minucioso de cada una de las fracciones de este extracto, se lograron identificar veinte compuestos: seis de tipo de pterocarpano conocidos como medicarpina,⁶⁷ pterocarpina,⁵⁸ variabilina,⁵⁸ maackiaina,⁵⁸ 4-hidroxicarpina⁶⁸ y 6a-hidroxicarpina,³⁵ una chalcona, conocida como chalconaringenina,⁶⁹ tres isoflavonoides, el (+)-*trans*-4,7,2'-trihidroxi-4'-metoxiisoflavanol,⁵⁸ alfalona,⁷⁰ y calicosina;⁷¹ ocho triterpenos, taraxerol,⁷² β -amirina,⁷³ ácido *O*- acetil-oleanólico,⁷⁴ 30-hidroxi-lupenona,⁶² lupeol,⁵⁹ betulina,⁶¹ mirsineno,⁷⁵ y ácido 4- *p*-hidroxicinámico;⁷⁶ y finalmente dos esteroides, el β -sitosterol⁶⁴ y el estigmasterol.⁶⁵ De los 20 compuestos identificados en los tallos, 11 fueron aislados también en las hojas-ramas. De estos 20 compuestos, 14 se han aislado previamente en alguna especie del género. Los componentes de los tallos de esta planta son de tipo pterocarpano, isoflavonoide y triterpeno, por lo que estos esqueletos fundamentales pueden considerarse representativos de hojas, ramas y tallos de *M. isadelphum*. Las estructuras de estos compuestos se ilustran en la **Figura 2**.

De igual manera que con hojas y ramas, todos los compuestos aislados en los tallos de esta planta ya han sido reportados en la literatura, por lo que su estructura fue confirmada por comparación con sus datos espectroscópicos de RMN de ¹H y ¹³C. Varios de estos compuestos fueron aislados en un primer estudio realizado a los tallos de esta planta, en la tesis de maestría de la autora de este trabajo.⁷⁷

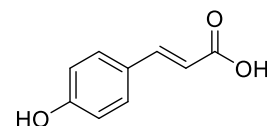
Figura 2. Compuestos caracterizados en tallos de *M. isadelphum*. En azul se muestran los compuestos que comparten con las hojas-ramas.

Compuestos aislados de los tallos de *M. isadelphum*

Pterocarpanos



Ácido cinámico

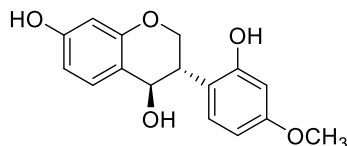
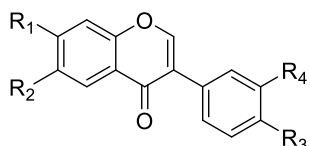


R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	
15	H	OH	H	H	OCH ₃	H	H medicarpina
82	H	OH	H	H	OCH ₃	H	OH 6a-hidroxicarpina
83	H	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H	OH variabilina
84	OH	OH	H	H	OCH ₃	H	H 4-hidroxicarpina

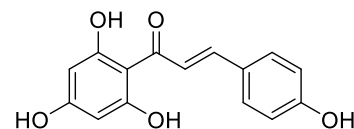
R ₁	R ₂	R ₃	
88	OCH ₃	H	H pterocarpina
19	OH	H	H maackiaina

89 ácido 4- *p*-hidroxicinámico

Isoflavonoides



Chalconas



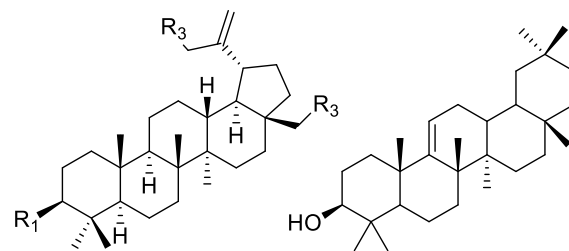
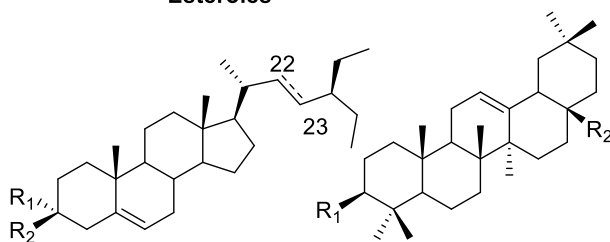
R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	
87	OCH ₃	OH	OCH ₃	H alfalona
5	OH	H	OCH ₃	OH calicosina

90 (+)-*trans*-4,7,2'-trihidroxi-4'-metoxiisoflavanol

91 chalconaringenina

Triterpenos

Esteroles



R ₁	R ₂		R ₁	R ₂	R ₃	
72	OH	H	69	H	CH ₃	β -amirina
73	OH	$\Delta^{22,23}$	92	OH	CH ₃	taraxerol
			82	OAc	COOH	O-ácido acetil oleanólico

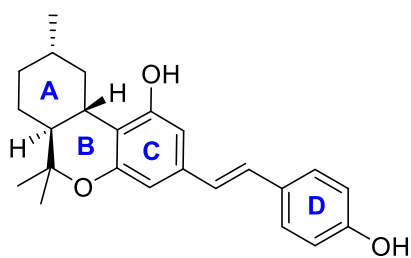
R1	R2	R3	
79	OH	H	H lupeol
80	OH	H	OH betulina
81	=O	OH	H 30-hidroxi-lupenona

93 mirsineno

6.5 Análisis químico del extracto acetónico de raíz de *M. isadelphum*

Después del análisis del extracto acetónico de la raíz de *M. isadelphum* se logró aislar e identificar cuatro compuestos de tipo monoterpen-estilbeno: machaeriol A (**55**), machaeridiol A, (**57**) machaeriol E (**94**), amorfastilbol (**95**) y dos chalconas: isadelfona A (**96**) e isadelfona B (**97**). La elucidación de su estructura y sus datos espectroscópicos se describen a continuación a detalle.

6.5.1 Machaeriol E (**94**)



El análisis estructural de machaeriol E se reporta por primera vez en este trabajo. Este compuesto tiene un esqueleto base formado por un fragmento estilbeno unido a un monoterpeno. En su espectro de RMN¹H, en la zona de resonancia de los hidrógenos aromáticos se observan 7 señales, distribuidas en tres sistemas de espines, uno de tipo **A₂B₂** y dos de tipo **AB**. El primer sistema **A₂B₂** corresponde al anillo **D**, uno de los sistemas **AB** corresponde al anillo **C**, y el sistema **AB** restante corresponde a un doble enlace *trans*. Así mismo, se pudieron observar señales en la región alifática y señales típicas para metilos (**Figura 3**).

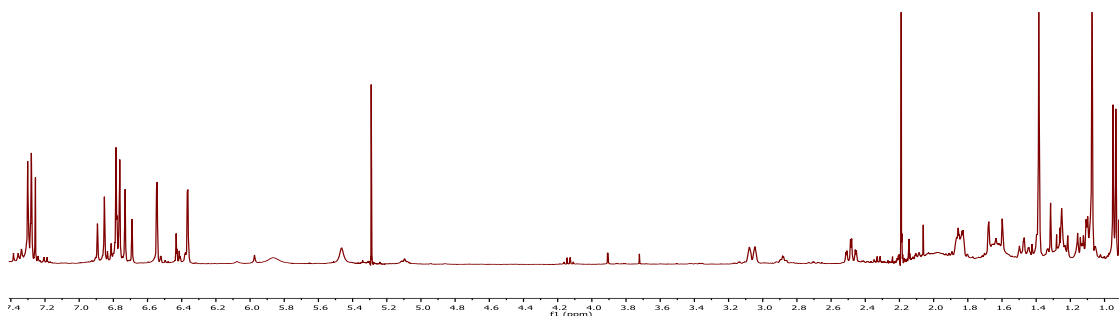


Figura 3. RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) de machaeriol E

El primer sistema **A₂B₂** del anillo **D** fue evidente de acuerdo con lo siguiente: los protones **A₂** se observan en la señal con desplazamiento químico en 7.33 ppm, que presenta una constante de acoplamiento *orto* de 8.6 Hz, la cual integra para dos hidrógenos, esto indicó que se trataba del primer grupo de hidrógenos equivalentes (H-4' y H-8'). Los protones **B₂** son evidentes mediante la señal doble con constante de acoplamiento *orto* de 8.6 Hz y desplazamiento químico en 6.80 ppm, la cual integra para dos hidrógenos (H-5' y H-7') (**Figura 4**). Este sistema de espines indica que este anillo se encuentra *p*-disustituido.

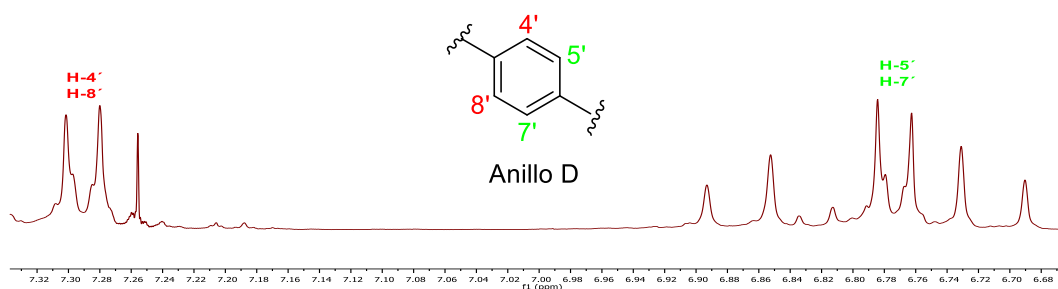


Figura 4. RMN¹H (ampliación, 400 MHz, CDCl₃) de las señales del anillo D de machaeriol E.

El sistema de espines **AB** del anillo **C** muestra ambos protones como señales dobles con constante de acoplamiento *meta* de 1.6 Hz y desplazamiento químico en 6.55 y 6.38 ppm. Este segundo anillo aromático es tetrasustituido como se observa en la **Figura 5**.

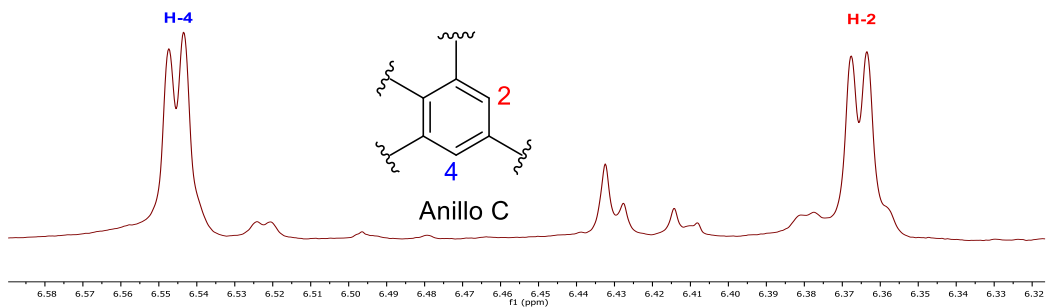


Figura 5. RMN¹H (ampliación, 400 MHz, CDCl₃) del anillo aromático C machaeriol E.

El segundo sistema **AB** de espines se define por los protones en 6.92 y 6.75 ppm. Su constante de acoplamiento de 16.0 Hz indica que corresponden a un doble enlace *trans* (**Figura 6**).

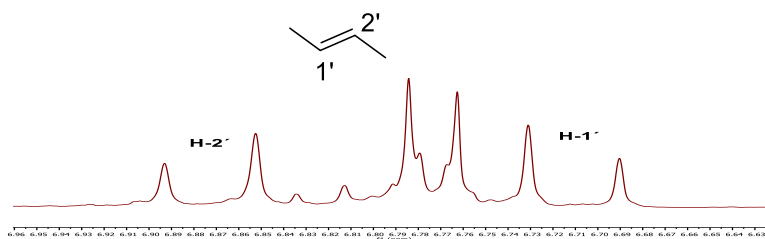


Figura 6. RMN¹H (400 MHz, CDCl₃, fragmento) del doble *trans* machaeriol E.

La unión de los tres fragmentos descritos permite suponer un núcleo estilbeno con un hidroxilo en el carbono C-6' (**Figura 7**).

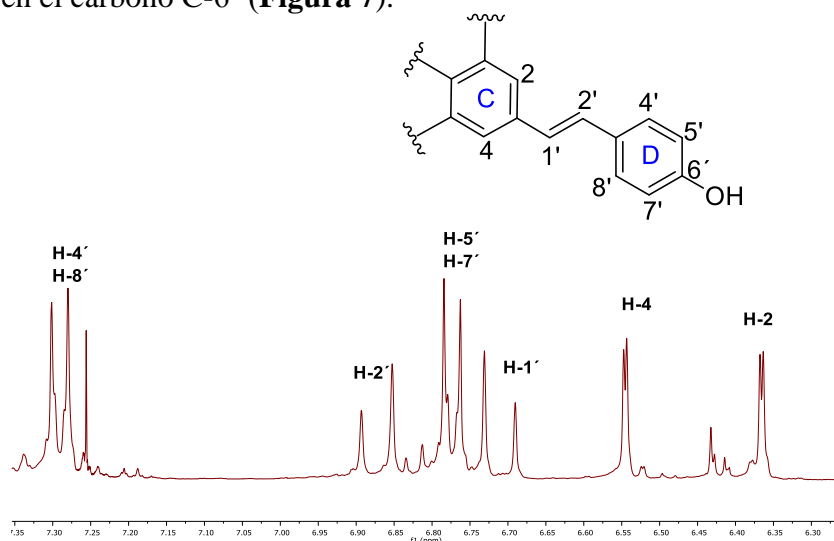


Figura 7. RMN¹H (ampliación, 600 MHz, CDCl₃) del fragmento estilbeno de machaeriol E.

En la región alifática de este mismo espectro (**Figura 8**) es posible observar una señal que resuena en 3.05 ppm con constante de acoplamiento de 13.0 Hz, y una señal doble de doble de doble en 0.78 ppm con constantes de acoplamiento de 12.5, 11.5, 1.0 Hz. Ambas señales integran para un hidrógeno y corresponden a los hidrógenos H-10. H-10a fue evidente mediante la señal doble de doble de doble que integra para un hidrógeno en 2.48 ppm, con constantes de acoplamiento de 11.7, 11.0 y 2.6 Hz. H-6a integra para un hidrógeno y resuena en 1.47 ppm como doble de doble de doble con constantes de acoplamiento de 11.4, 11.0 y 2.8 Hz. En 1.86 y 1.15 ppm se observan dos señales que integran para un hidrógeno cada una y que pertenecen a H-7. Por último, los hidrógenos H-8 resuenan como multiplete en 1.83 y 1.10 ppm, mientras que la señal en 1.63 ppm corresponde a H-9. Adicionalmente, en 1.38 y 1.08 ppm resuenan 2 metilos singulete [6β -CH₃ y 6α -CH₃], su desplazamiento químico indica que son base de oxígeno, mientras que en 0.95 ppm se observa una tercera señal, esta vez doble con constante de acoplamiento de 6.7 Hz, que corresponde a CH₃-C-9. El número y multiplicidad de los metilos de este compuesto indica la presencia de un residuo monoterpreno de tipo *p*-mentano (**Figura 8**).

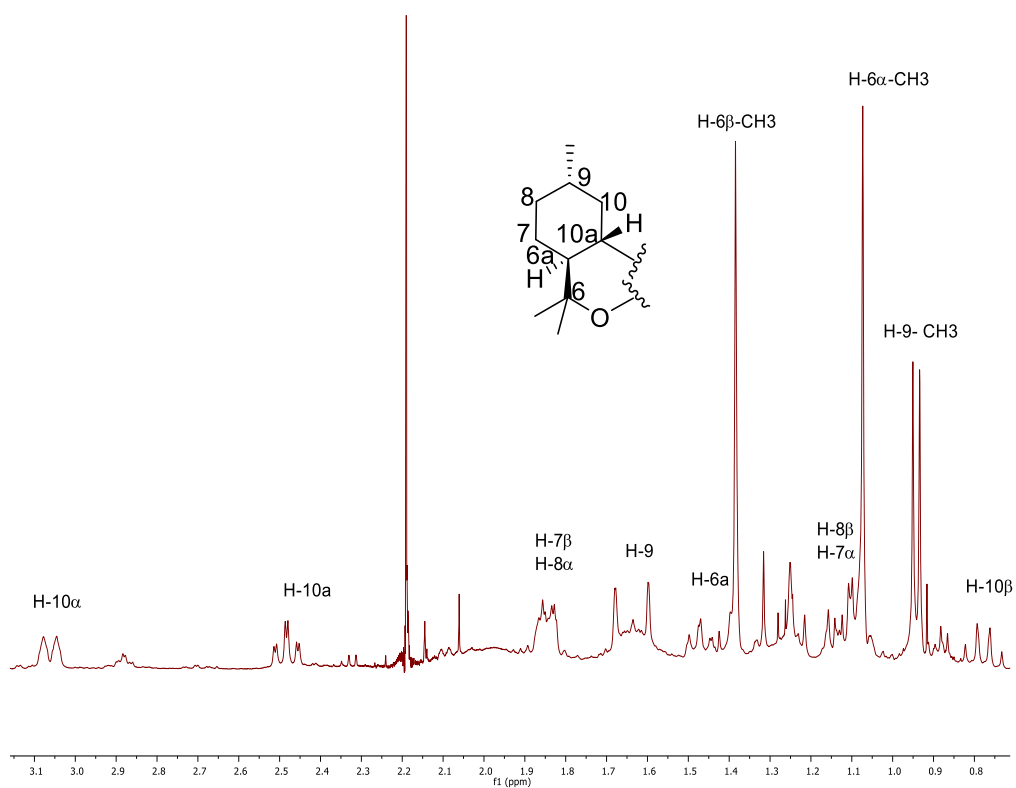
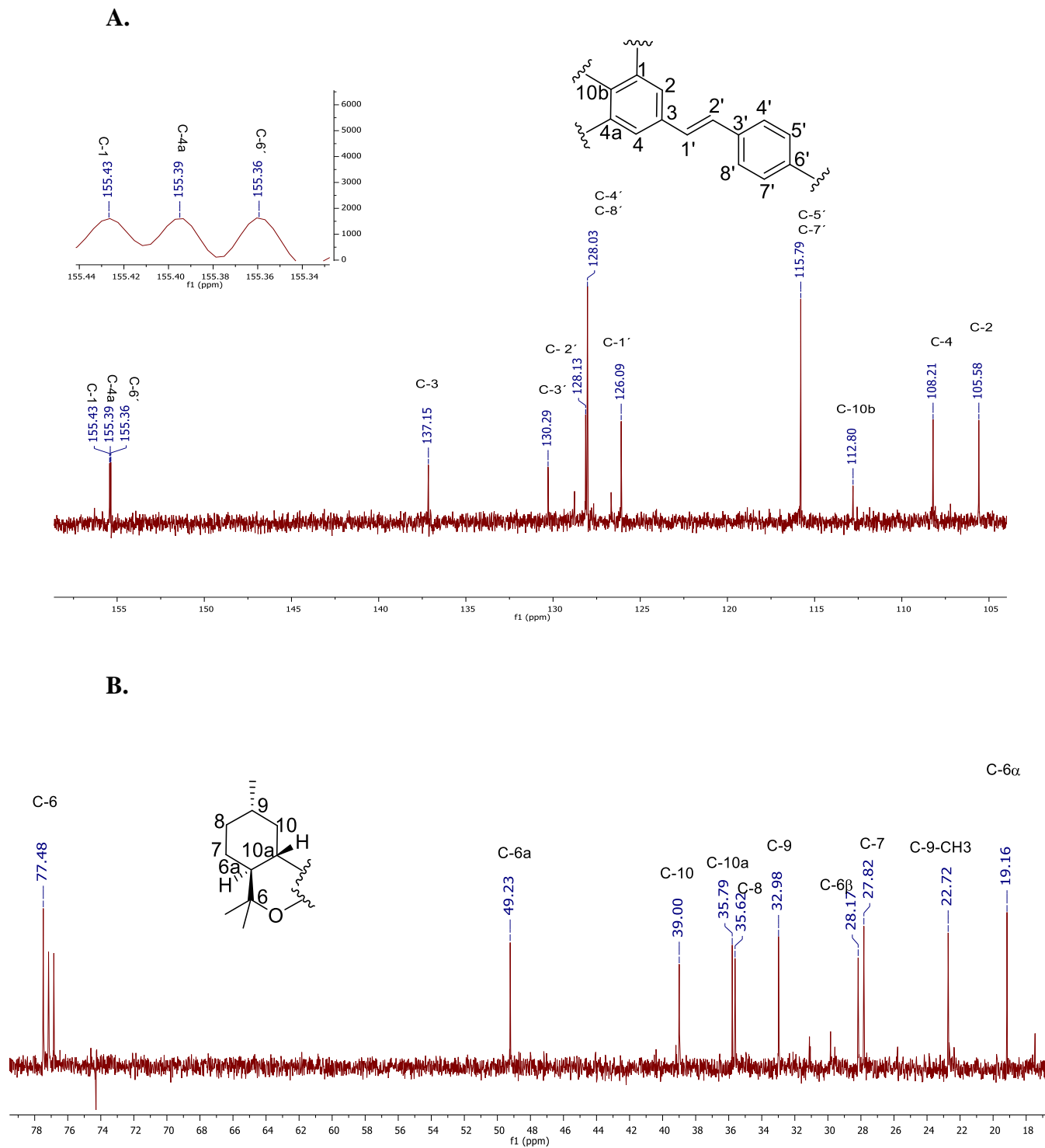


Figura 8. RMN¹H (ampliación, 400 MHz, CDCl₃) de la zona alifática de machaeriol E.

El espectro de RMN ^{13}C (**Figura 9**) corroboró la identidad de los fragmentos monoterpreno y estilbeno. Así, el espectro de RMN ^{13}C presentó las 24 señales esperadas.



Con ayuda del experimento HSQC (**Figuras 10 y 11**) se asignaron los metinos aromáticos (128.0 por 2, 115.7 por 2, 108.2 y 105.6 ppm). Dos metinos de doble enlace *trans* (128.1 y 126.1 ppm), y tres metinos en el monoterpeno (49.2, 35.8, 33.0 ppm), siete carbonos cuaternarios (155.5, 155.4, 155.3, 137.2, 130.4, 112.7, y 77.5 ppm), tres metilenos del monoterpeno (39.0, 35.6, 27.8 ppm) y, por último, los tres metilos antes anunciados (27.9, 22.7, 19.2 ppm).

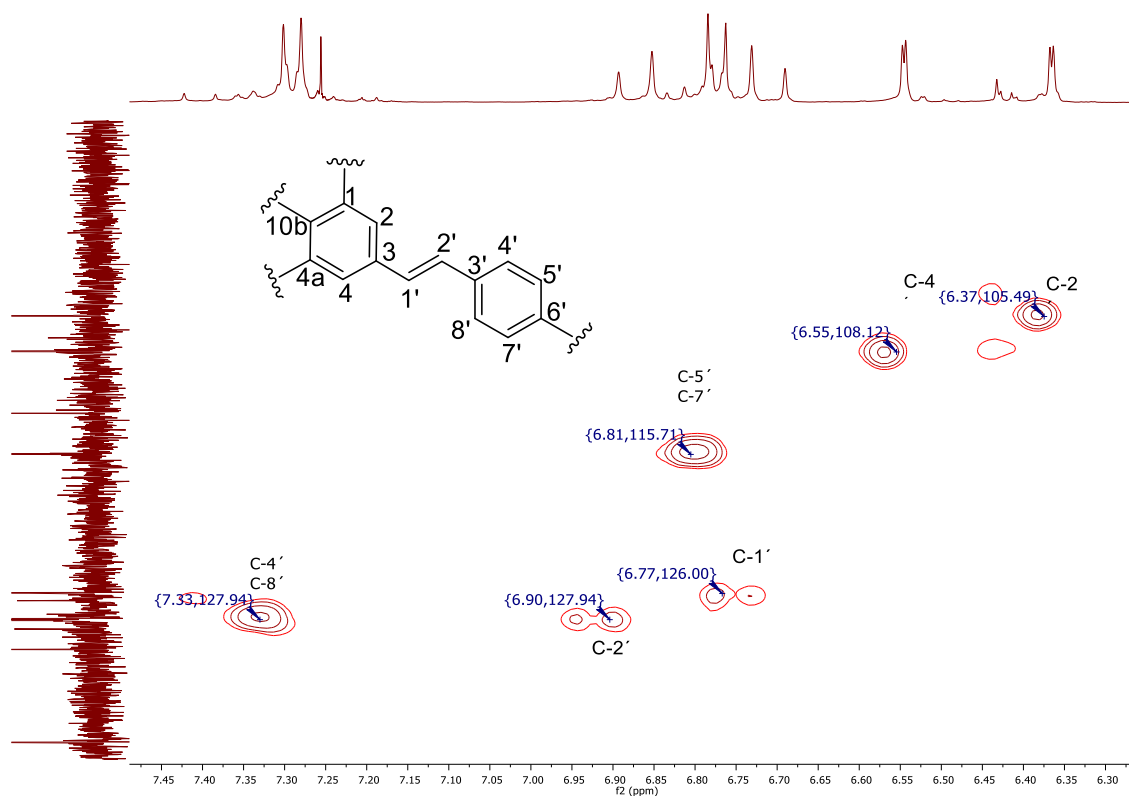


Figura 10. HSQC (ampliación, 400 MHz, CDCl_3) zona aromática de machaeriol E.

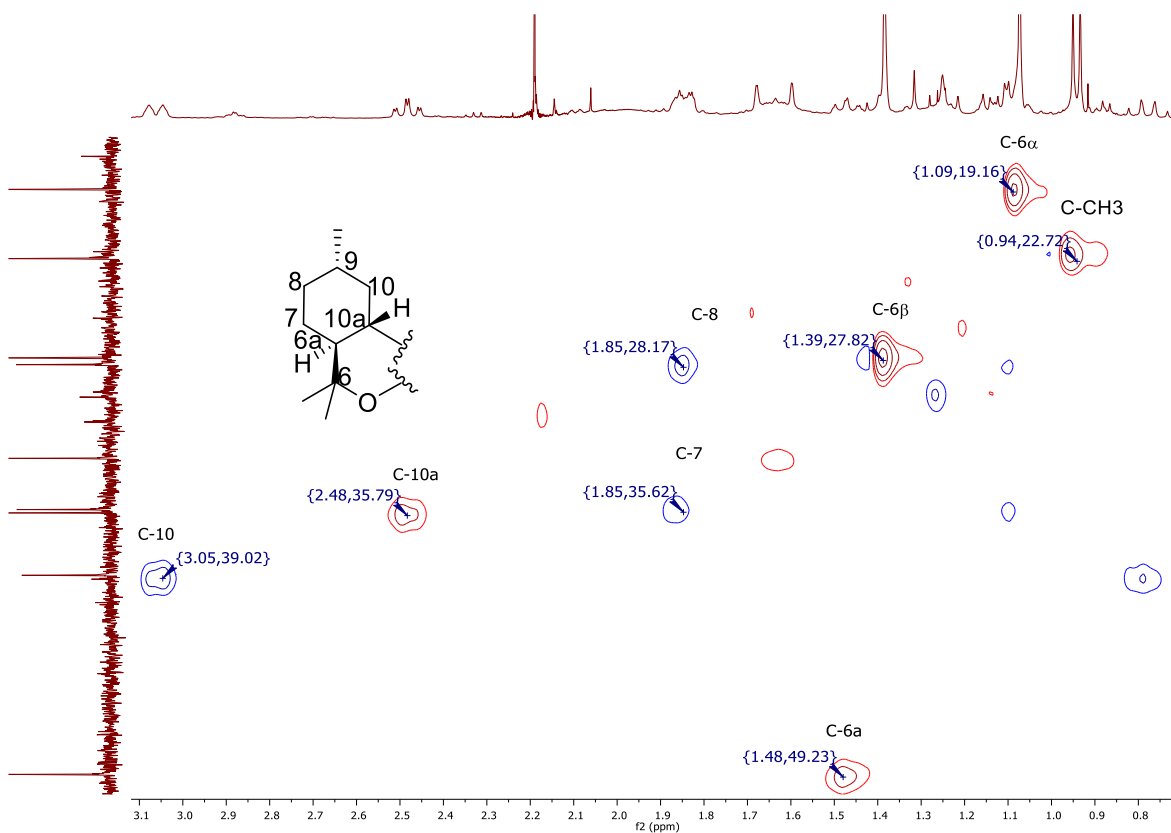
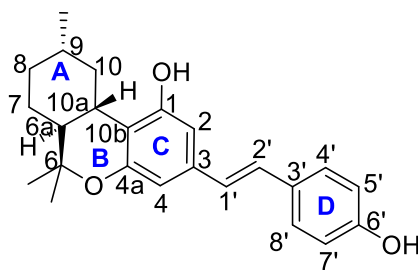


Figura 11. HSQC (ampliación, 400 MHz, CDCl_3) zona alifática de machaeriol E.

El número de metinos y metilenos en el monoterpene indica que se encuentra doblemente unido al fragmento estilbeno, y por parte de este último, esta unión debe ser sobre los carbonos C-10b y C-4a, a fin de justificar la constante *meta* de los hidrógenos en este anillo aromático. Por último, en el espectro de RMN^1H se observaron dos señales, en 5.90 y 5.47 ppm, para los hidrógenos de dos grupos hidroxilo, que deben encontrarse ubicados sobre C-1 y 6'. De esta manera este compuesto fue identificado como machaeriol E.



machaeriol E.

El experimento HMBC corrobora la estructura propuesta. Para el anillo D se puede observar una correlación entre el H-4' y H-8' con los carbonos C-2' y C-6, y de H-5' y H-7' con C-3'. Esto indica que el hidroxilo se ubica en C-6'. El H-1' (doble enlace *trans*) correlaciona con C-4 y C-3', mientras que H-2' correlaciona con C-3, C-4'. Los hidrógenos del anillo C muestran las siguientes correlaciones: H-4 con C-10b, C-3 y C-1'; y H-2 con C-4, C-10b y C-1'. Estas correlaciones corroboran el fragmento estilbeno (ver **Figura 12**).

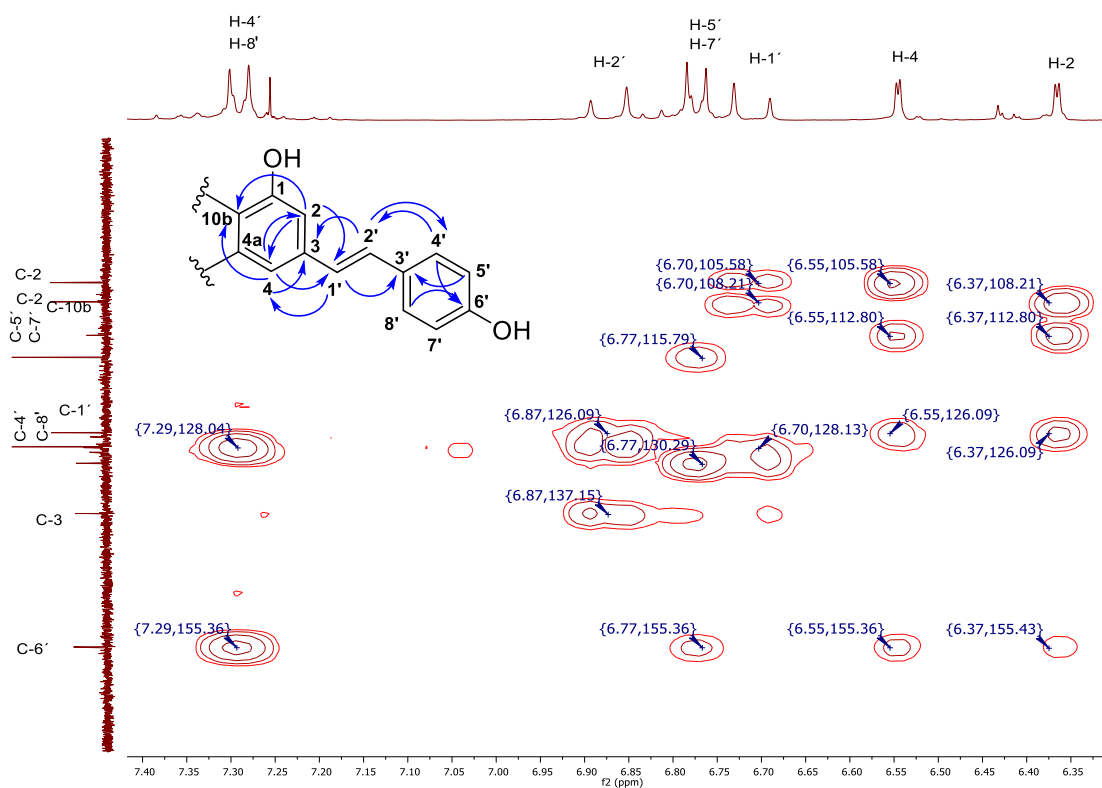


Figura 12. HMBC (ampliación, 400 MHz, CDCl₃) de machaeriol E.

Por su parte, para el fragmento monoterpreno se observan las siguientes correlaciones: 6 β -CH₃ con 6 α -CH₃, C-6a y C-6; 6 α -CH₃ con 6 β -CH₃, C-6a y C-6; por último, 9-CH₃ con C-9, C-8 y C-10, las que confirmaron los sitios de unión del fragmento monoterpreno con el estilbeno (**Figura 13**).

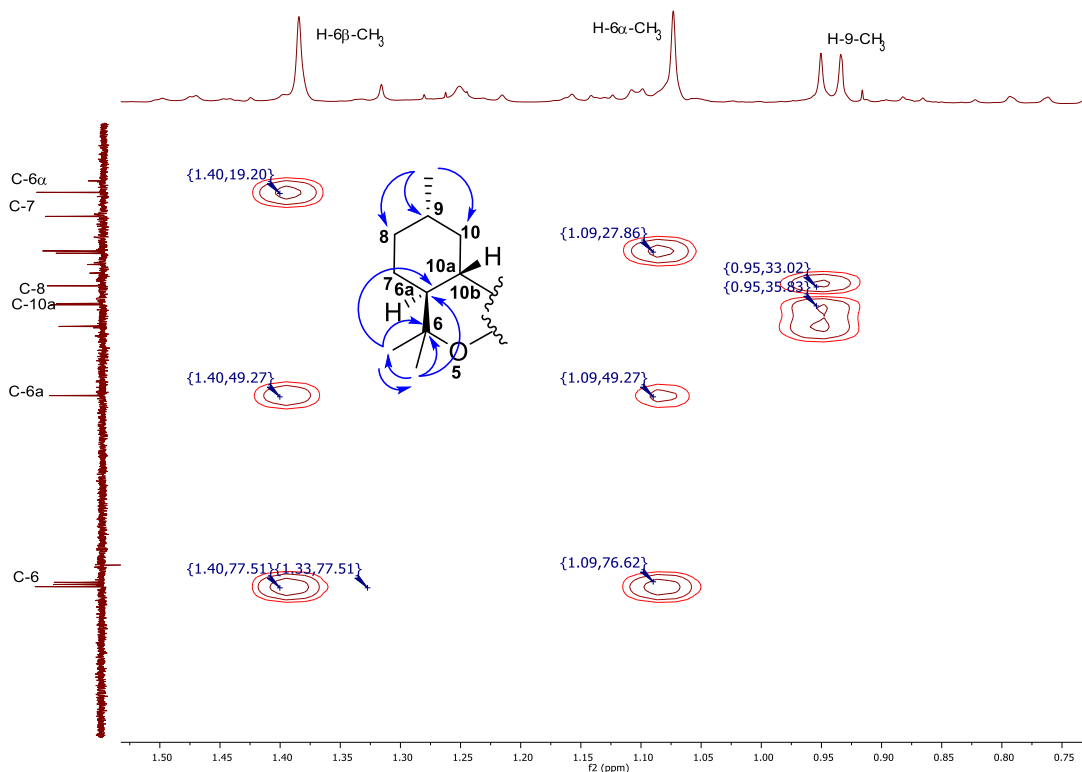
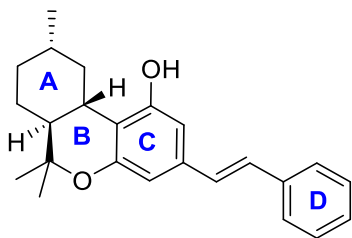


Figura 13. HMBC (ampliación, 400 MHz, CDCl_3) de machaeriol E.

6.5.2 Machaeriol A (55)



Este compuesto ya se encuentra reportado en la literatura científica. Su estructura es análoga a la de machaeriol E, la única diferencia con este último es la ausencia del grupo hidroxilo sobre C-6'. Debido a esto, el sistema de spines para su anillo **D** en machaeriol A es de tipo $\text{A}_2\text{B}_2\text{X}$. Así, en el espectro de RMN^1H se observan 7 señales en la región de 6.2 a 7.5 ppm, tres de ellas con el sistema de espines $\text{A}_2\text{B}_2\text{X}$ para el anillo aromático **D**, dos para el doble enlace *trans*, y dos más para el anillo tetrasustituido **C**.

Para el anillo **D** los protones **A₂** se observaron mediante la señal doble de doble en 7.42 ppm que integra para dos hidrógenos y presenta constantes de acoplamiento *orto* y *meta* de 8.2 y 1.5 Hz (H-10' y H-14'). Los hidrógenos **B₂** resuenan en 7.31 ppm, también como un doble de doble, éstas con constantes de acoplamiento *orto-orto* de 8.2 y 7.3 Hz (H-11' y H-13'). Por último, el protón **X** se hizo evidente mediante la señal doble de doble en 7.22 Hz con constante de acoplamiento *orto-meta* de 7.3 y 1.5 Hz, respectivamente (H-12'). El sistema **AB** del doble enlace *trans* y del anillo **C** se indican junto con el fragmento recién descrito en la **Figura 14**.

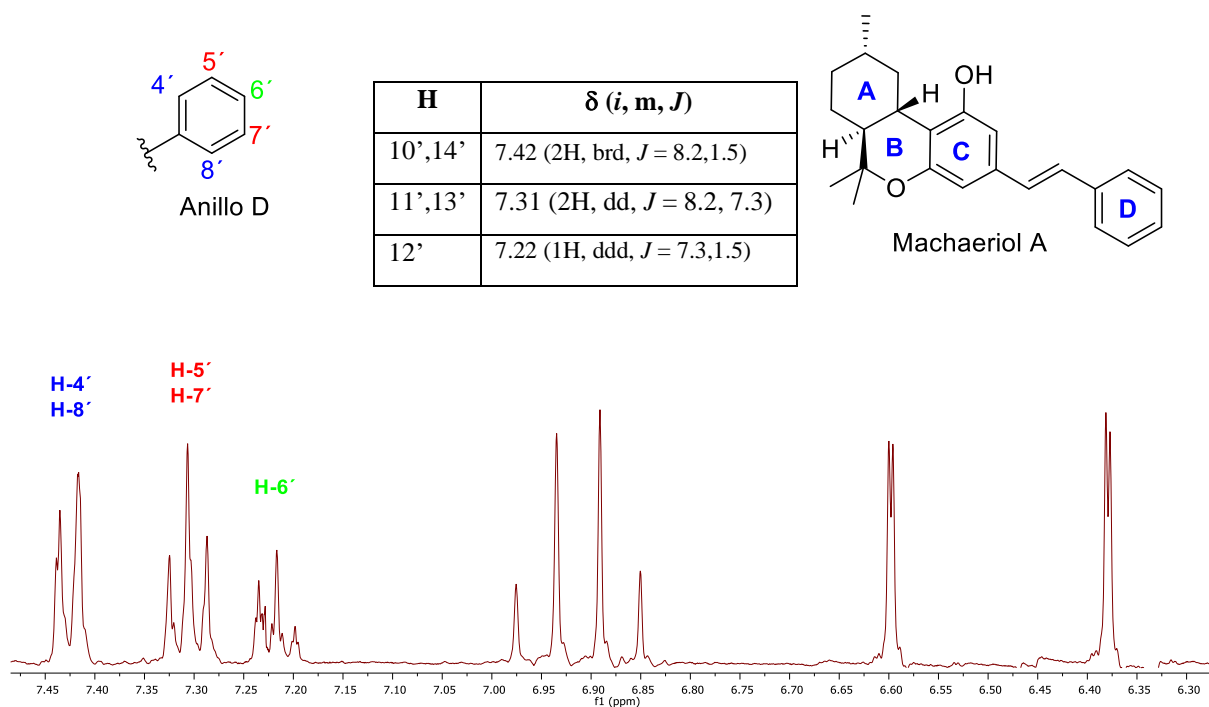


Figura 14. RMN¹H (ampliación, 400 MHz, CDCl₃) del anillo aromático D de Machaeriol A.

En RMN¹³C, C-6' resuena en 127.8 ppm, corroborando la ausencia del grupo hidroxilo en esta posición (**Figura 15**).

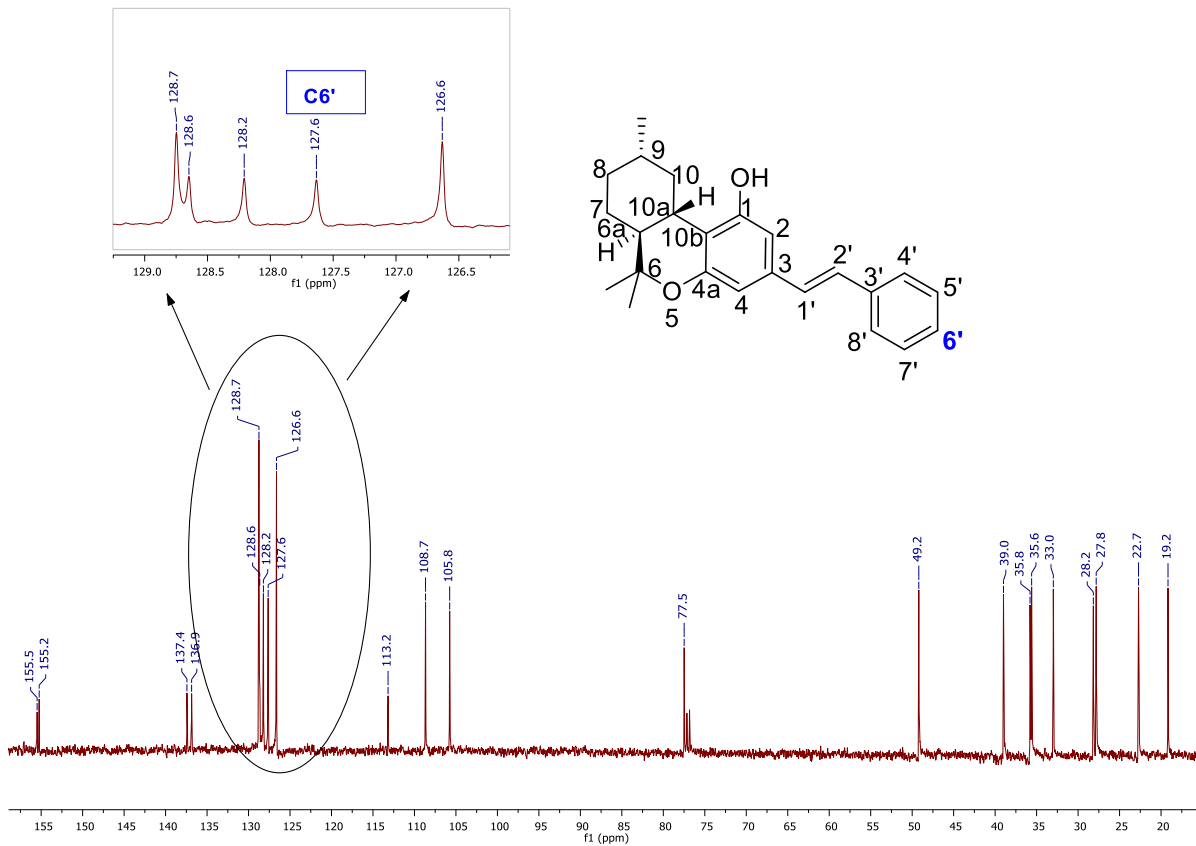


Figura 15. RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3) de Machaeriol A

En el experimento HMBC, la correlación de H-6' con C-4' y C-8' confirmó la posición de este metino y corrobora inequívocamente la identidad de machaeriol A (Figura 16).

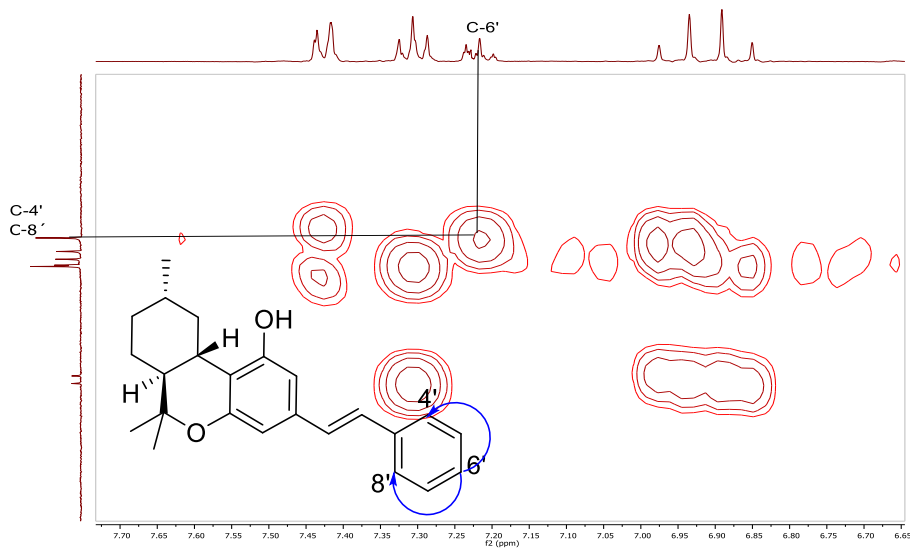
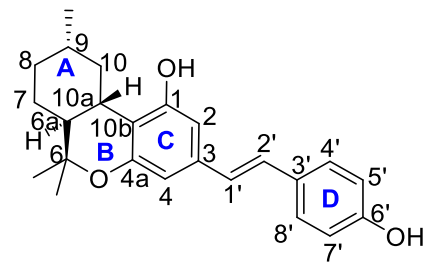
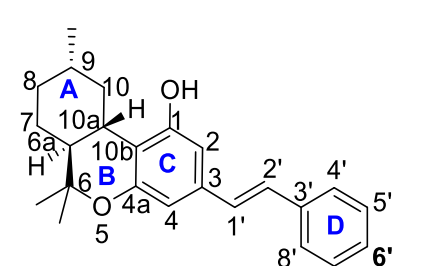


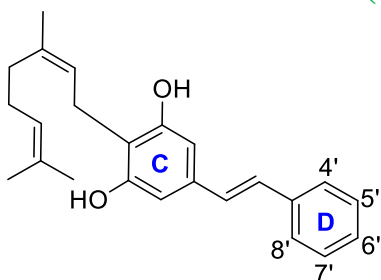
Figura 16. HMBC (fragmento, 400 MHz, CDCl₃) de Machaeriol A

Los datos espectroscópicos completos para Machaeriol A y E se enlistan en la **Tabla 6**, donde se remarca en rojo la única diferencia entre estos dos productos naturales.

Tabla 6. Comparación de los datos espectroscópicos de ¹H y ¹³C de machaeriol E y machaeriol A

H/C	 machaeriol E (94)		 machaeriol A (55)	
	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C
1	---	155.5 C	---	155.3 C
2	6.38 (d, 1.6 Hz)	105.5 CH	6.38 (1H, d, 1.7 Hz)	105.8 CH
3	---	137.2 C	---	136.9 C
4	6.55 (d, 1.6 Hz)	108.3 CH	6.60 (1H, d, 1.7 Hz)	108.7 CH
4a	---	155.4 C	---	155.2 C
10b	---	112.7 C	---	113.2 C
1'	6.75 d (16.2 Hz)	126.1 CH	6.95 (1H, d, J=16.0 Hz)	128.6 CH
2'	6.92 d (16.2 Hz)	128.1 CH	6.87 (1H, d, J=16.0 Hz)	128.2 CH
3'	---	130.4 C	---	137.4 C
4',8'	7.33 d (8.6 Hz)	128.0 CH	7.42(2H, brd, J=8.2,1.5)	126.6 CH
5',7'	6.80 d (8.6 Hz)	115.7 CH	7.32 (2H, dd, J=8.2,7.3)	128.7 CH
6'	---	155.3 C	7.22 (1H, ddd, J=8.2,7.3,1.5)	127.8 CH
6	---	77.5 C	---	77.5 C
6a	1.47 (1H, ddd, J=11.4, 11.0, 2.8)	49.2 CH	1.47 (1H, ddd, J=11.2, 11.0, 2.0)	49.2 CH
7a	1.15 (1H, m)	27.8 CH ₂	1.10 (1H, m)	28.2 CH ₂
7b	1.86 (1H, m)		1.85 (1H, m)	
8b	1.10 (1H, m)	35.6 CH ₂	1.10 (1H, m)	35.6 CH ₂
8a	1.83 (1H, m)		1.83 (1H, m)	
9	1.63 (1H, m)	33.0 CH	1.64 (1H, m)	33.0 CH
10b	0.78 (1H, ddd, J=12.5, 11.5, 1.0)	39.0 CH ₂	0.78 (1H, dd, J=12.8, 12.0, 1.0Hz)	39.0 CH ₂
10a	3.05 (1H, br d, J=13.0)		3.10 (1H, d, J=12.8Hz)	
10a	2.48 (1H, ddd, J=11.7, 11.0, 2.6 Hz)	35.8 CH	2.49 (1H, ddd, J=12.0,11.0,2.6 Hz)	35.8 CH ₂
6a(a)-CH ₃	1.08 (3H, s)	19.2 CH ₃	1.08 (3H, s)	19.2 CH ₃
6b(b)-CH ₃	1.38 (3H, s)	27.8 CH ₃	1.39 (3H, s)	27.8 CH ₃
9-CH ₃	0.95 (3H, d, J=6.7)	22.7 CH ₃	0.94 (3H, d, J=6.7)	22.7 CH ₃
1-OH	---	---	---	---
6'-OH	---	---	---	---

6.5.3 Amorfastilbol (95)



Este compuesto fue aislado y caracterizado de una mezcla irresoluble con machaeridiol A (aceite amarillo pálido, 44:56 %). De la misma manera que machaeriol A y machaeriol E, este producto natural tiene un núcleo estilbeno unido a un fragmento monoterpeno. En la **Figura 17** se presenta el espectro de RMN¹H completo para esta mezcla.

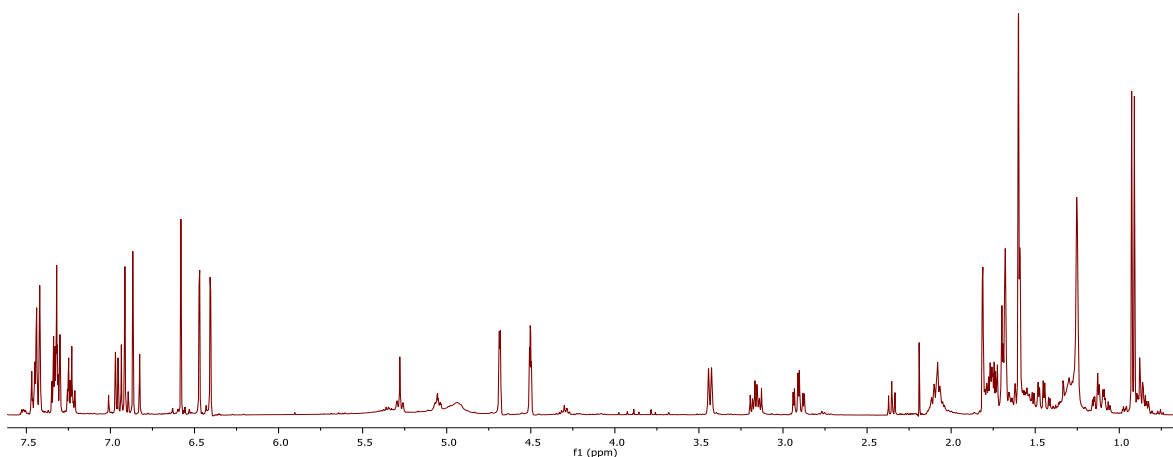


Figura 17. RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) de la mezcla amorfastilbol y machaeridiol A.

Para la descripción de su espectro, se usará la letra **A** para machaeridiol A, y la **D** para amorfastilbol y color negro para las señales comunes a ambos compuestos.

Como se observa, en el espectro de RMN¹H ambos comparten algunas señales, sin embargo, también presentan señales específicas que, en el caso de amorfastilbol, permitieron su identificación y asignación inequívoca (**Figura 18**). Como en machaeriol A, este espectro presenta siete señales y tres sistemas de spines: uno de tipo **A₂B₂X**, uno de tipo **AB** y una señal simple, en la región aromática (de 6.58 a 7.05 ppm). La comparación de la integral

relativa de estas señales (marcadas en rojo) con las de machaeridiol A (marcadas en azul) indicó que este último es el componente minoritario de la mezcla.

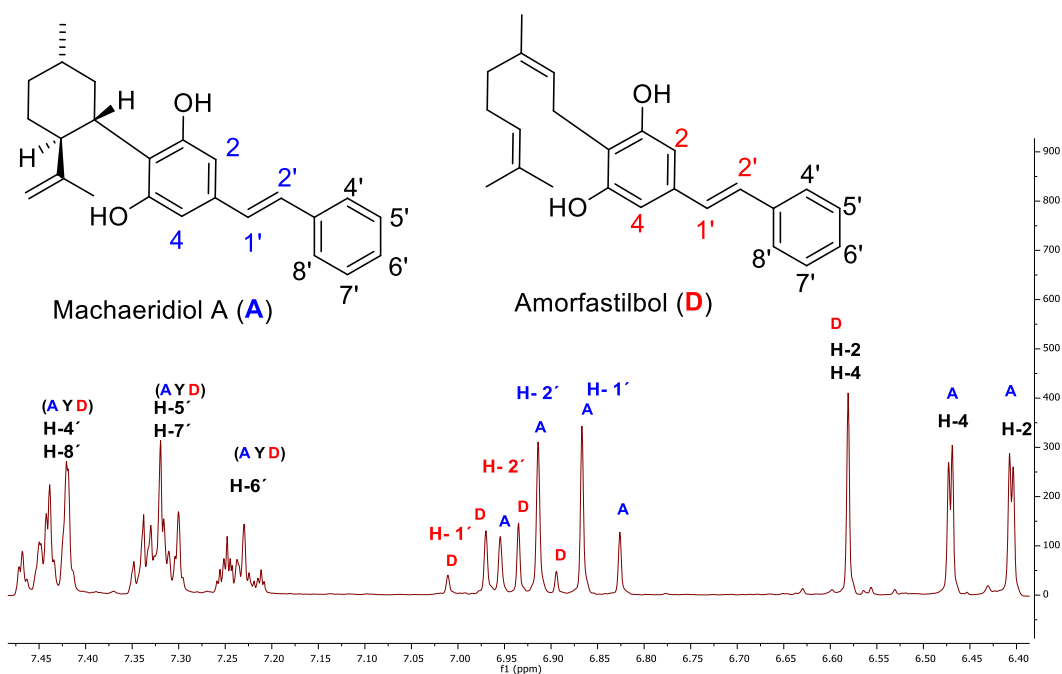


Figura 18. RMN¹H (región aromática, 400 MHz, CDCl₃) de machaeridiol A + amorfastilbol.

El sistema **A₂B₂X** mostró que el anillo D de amorfastilbol es monosustituido, mientras uno de los sistemas **AB** mostro la presencia de un anillo C tetrasustituido y el segundo corresponde a los 2 hidrógenos vinílicos *trans*.

Los protones **A₂** del sistema de espines **A₂B₂X** son evidentes mediante la señal doble de doble que integra para dos hidrógenos en 7.44 ppm, con constantes de acoplamiento *orto* y *meta* (8.2, 1.5 Hz), correspondientes a H-4' y H- 8'. Los protones **B₂** resuenan en 7.32 ppm como un doble de doble que íntegra para dos hidrógenos y presenta constantes de acoplamiento *orto* (7.7 y 7.3 Hz), asignados a H-5' y H-7'. Finalmente, el protón **X** resuena en 7.23 ppm como un doble de doble de doble, con constantes de acoplamiento *orto*, *orto* y *meta* de 8.2, 7.3 y 1.5 Hz (H-6', **Figura 19**).

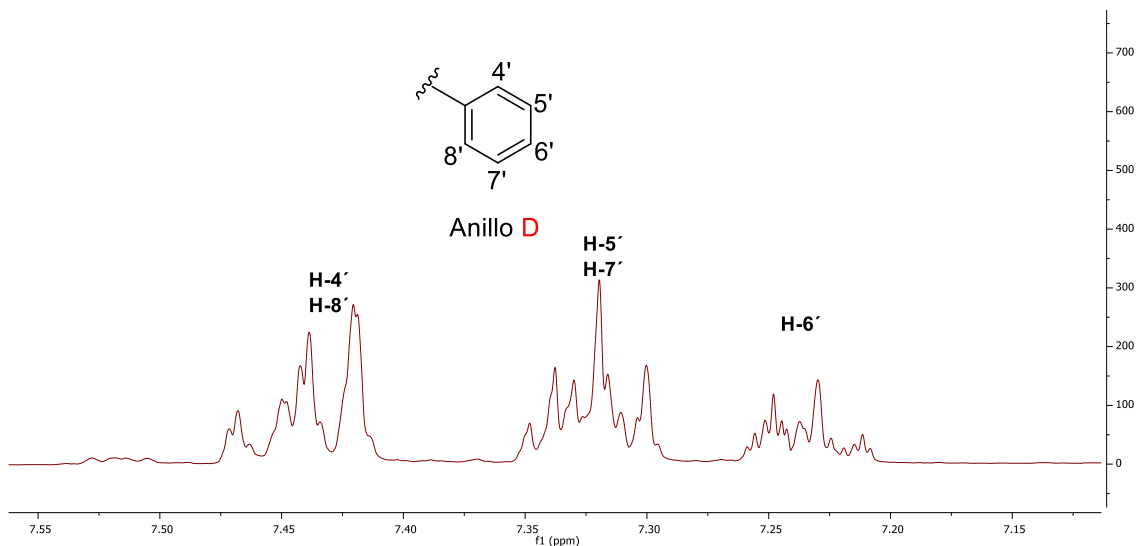


Figura 19. RMN¹H (400 MHz, CDCl₃ Fragmento) del espectro de hidrógeno de las señales de amorfastilbol.

El sistema **AB** del anillo **C** fue evidente mediante la señal simple amplia en 6.58 ppm (H-2 y H-4), que integra para dos hidrógenos. La amplitud de la señal indica la relación *meta* de los hidrógenos y que el anillo **C** es tetrasustituido. El segundo sistema **AB** pertenece a H-1' y H-2', evidentes por dos señales dobles con constante de 16.3 Hz (*trans*), cada una integra para un hidrógeno, el primero resuena en 6.97 ppm y el segundo en 6.19 ppm (**Figura 20**).

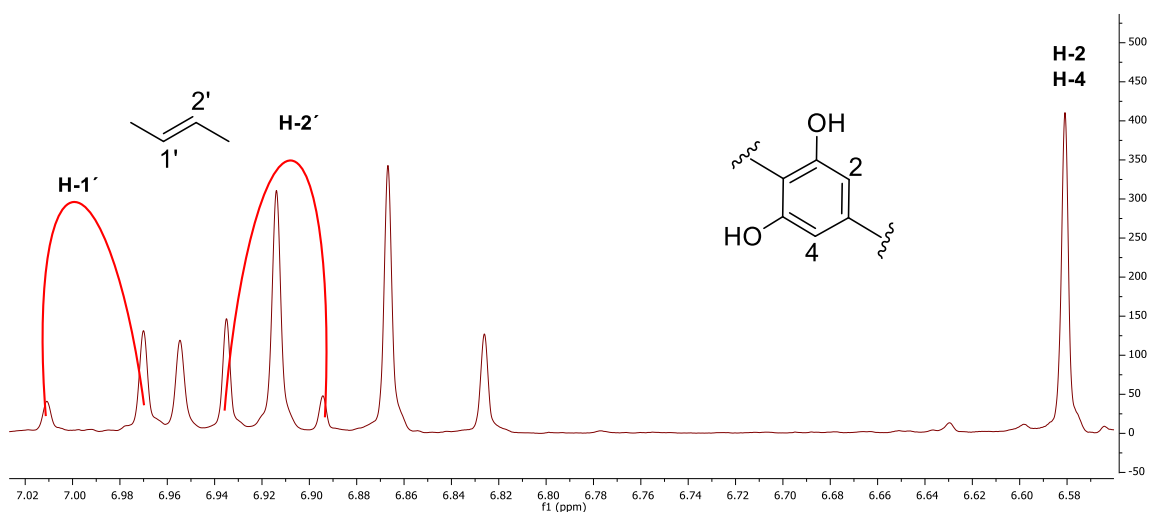


Figura 20. RMN¹H (ampliación, 400 MHz, CDCl₃) los hidrógenos *trans* de la mezcla amorfastilbol y machaeridiol A.

La región alifática indica la presencia de un residuo de tipo geranilo, cuya primera unidad de isopreno está caracterizada por los dos metilos (6a-CH₃ y 6b-CH₃), C-6, H-6a (5.05 ppm, m), y H-7 (2.10 ppm, 2H, m). La segunda unidad de isopreno está formada por las señales 5.23 ppm (H-10, 1H, ddq, 7.0,70,1.2 Hz), 3.43 ppm (H-10a, 2H, d, 7.0 Hz), 9-CH₃ (1.81 ppm), 2.06 ppm (2H, m) y 1.69 ppm (1H, m) para H-8, **Figura 21**. La ausencia de señal para H-10b confirmó que el residuo geranilo se encuentra ubicado en esta posición, lo que define las posiciones de los hidrógenos H-2 y H-4 en el anillo aromático, justificadas también por su constante de acoplamiento *meta*.

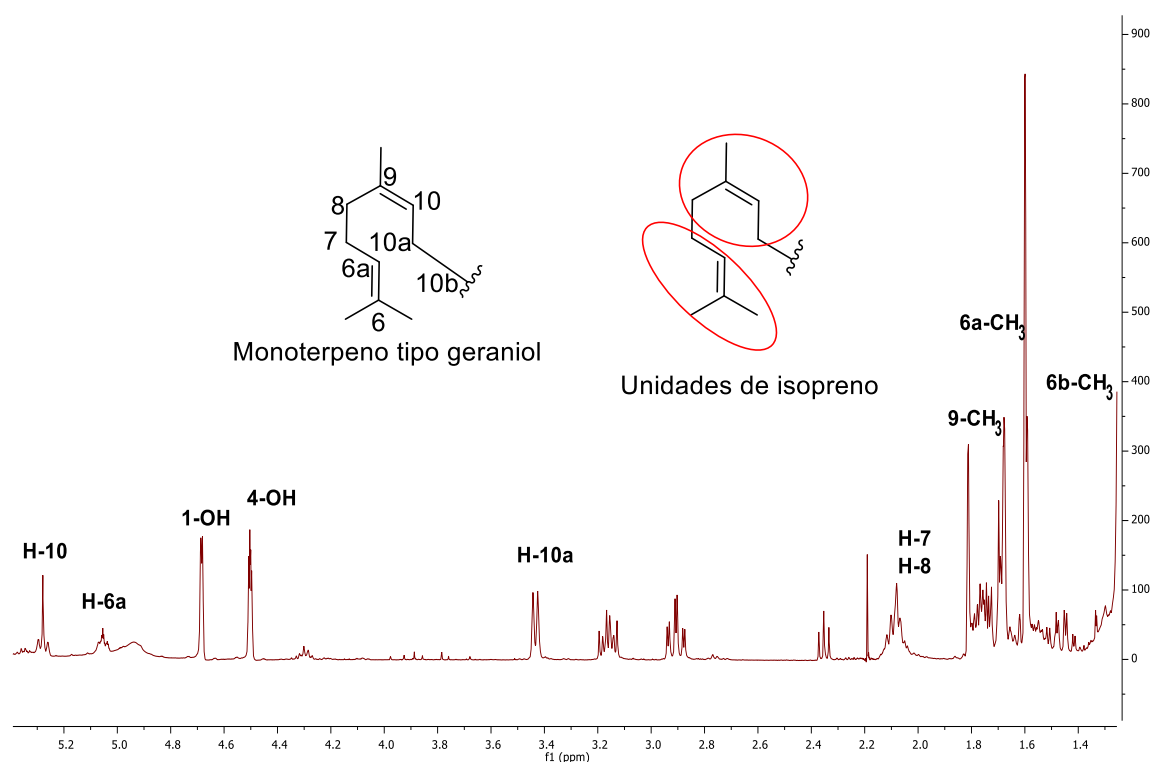
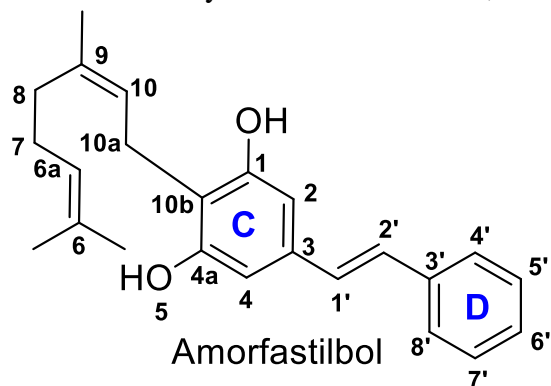


Figura 21. RMN¹H (ampliación, 400 MHz, CDCl₃) de la región alifática de la mezcla amorfastilbol y machaeridiol A.

Por último, en el espectro de RMN¹H se observan dos señales, en 4.94 y 4.91 ppm, atribuibles a grupos hidroxilo, que deben encontrarse sobre C-4a y C-1. De esta manera, este compuesto fue identificado como amorfastilbol.



Con ayuda del espectro de RMN ^{13}C y el HSQC se pudo correlacionar cada una de las señales de carbono a cada hidrógeno, tanto del fragmento estilbeno como del monoterpeno. En el espectro de ^{13}C se observan las 24 señales esperadas (**Figura 22 y 23**). El análisis de todas las señales, así como el número de metinos, metilenos y metilos en el monoterpeno corrobora su unión al fragmento estilbeno sobre el carbono 10b y 10a.

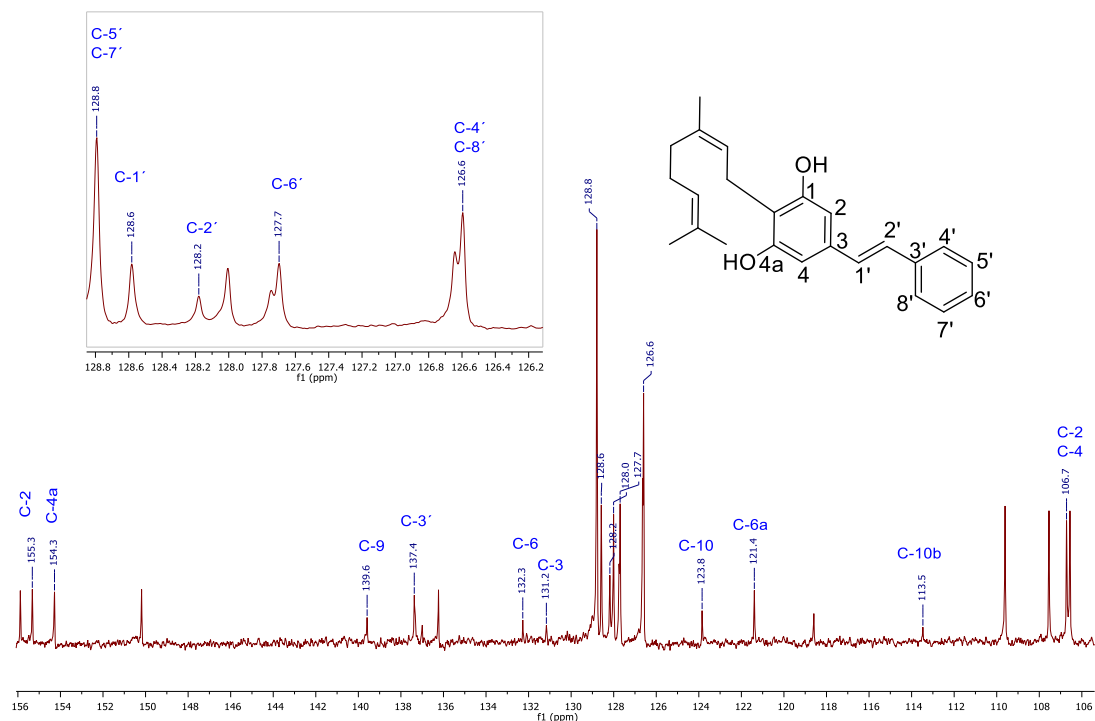


Figura 22. RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3) del fragmento estilbeno de amorfastilbol.

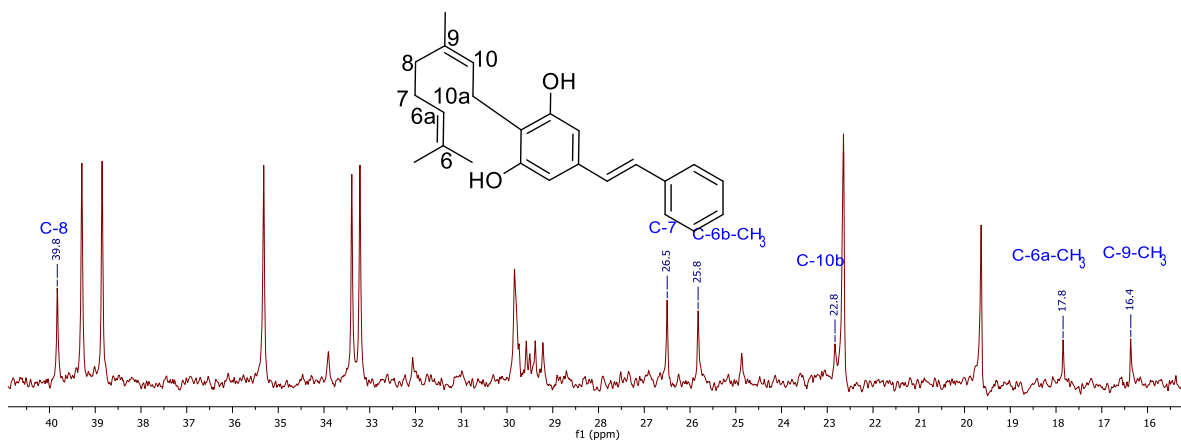


Figura 23. RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3) del fragmento monoterpeno de amorfastilbol.

El experimento HMBC corrobora la estructura propuesta. De acuerdo con ello, se observan las correlaciones entre H-1' y C-4 y C-2; y de H-2 con C-3, C-1 y C-10b. Para el fragmento monoterpeno se observaron las siguientes correlaciones: H-10a con C-9, C-10, C-10b y C-1, las últimas dos correlaciones corroboran la unión del monoterpeno con el estilbeno en C-10b. También se observa las correlaciones de H-10 con C-10a, 9-CH₃ y C-8; de 9-CH₃ con C-8, C-9, y C-10. Por su parte, H-8 muestra correlaciones con C-7 y 9-CH₃; H-7 con C-8; y, por último, los 6-CH₃ correlacionan entre ellos y ambos con C-6 y C-6a (Figura 24).

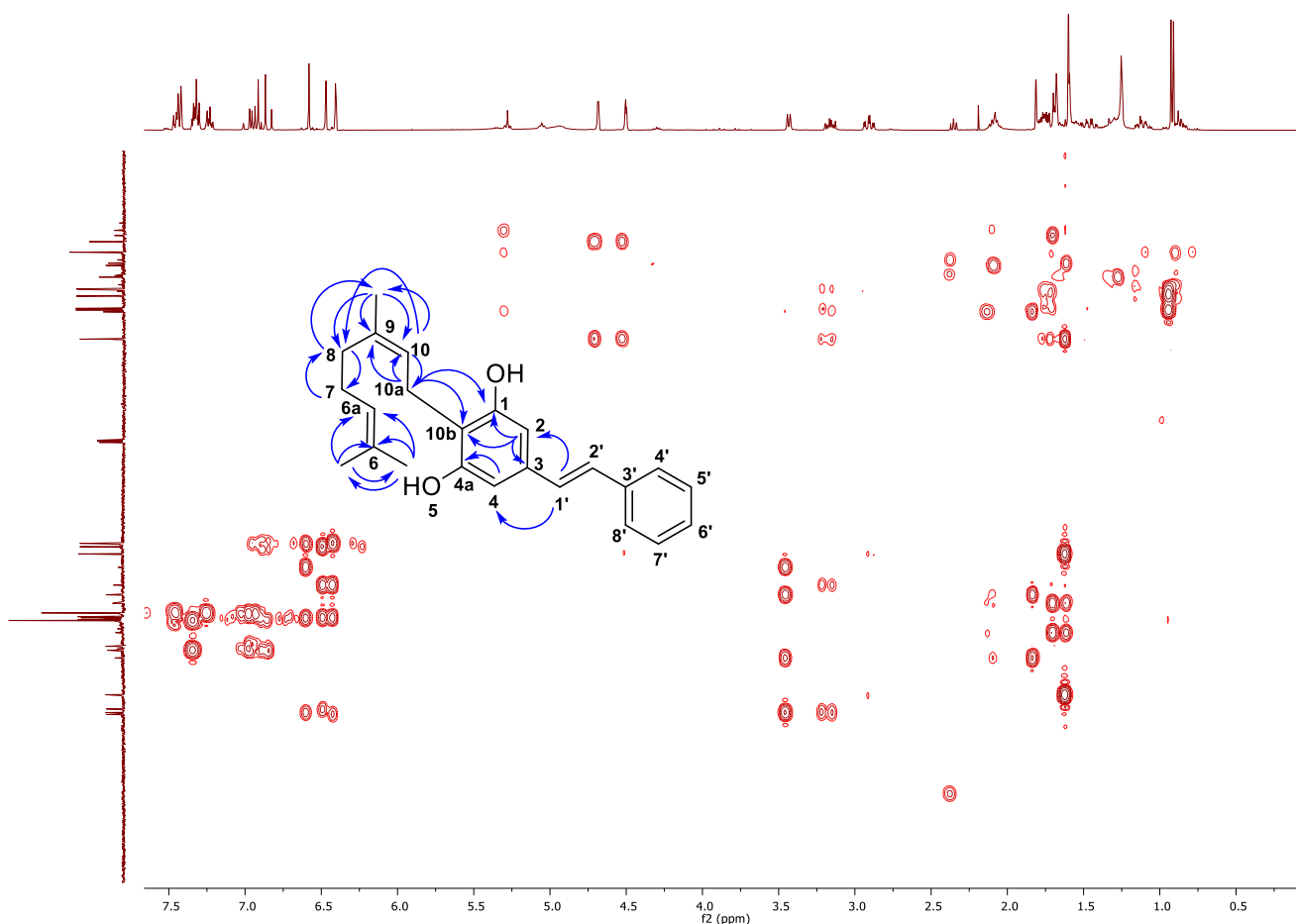
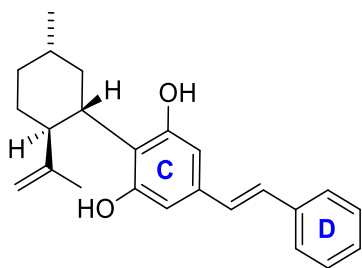


Figura 24. Experimento HMBC (400 MHz, CDCl₃) de amorfastilbol.

6.5.4 Machaeridiol A (57)



Este compuesto fue aislado como un sólido blanco brillante. El análisis de sus datos espectroscópicos y su comparación con los reportados en la literatura permitieron identificarlo como un compuesto previamente aislado de *Machaerium multiflorum*. En la **Figura 25** se muestra su espectro de RMN¹H, donde, en la región aromática se observan 7 señales que pueden ser distribuidas en tres conjuntos de espines en la región de 6.4 a 7.5 ppm, 2 de tipo **AB** y un tercero de tipo **A₂B₂X**.

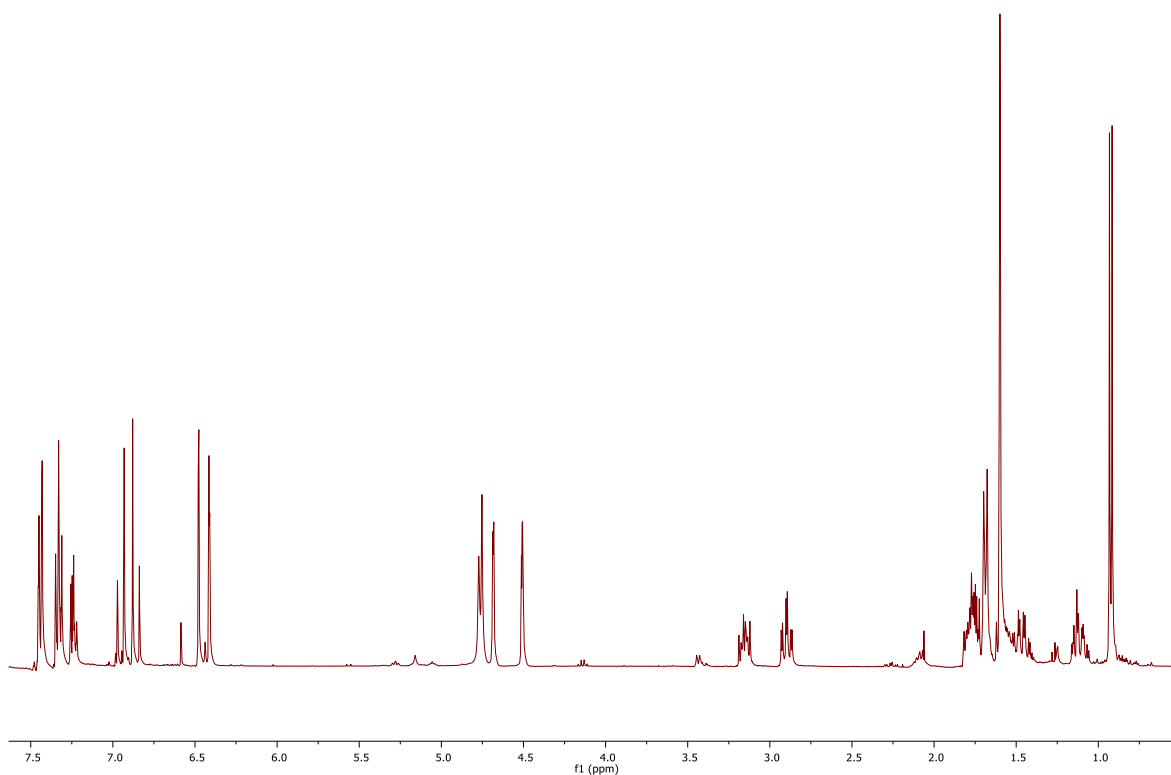


Figura 25. RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) de Machaeridiol A

Como en los compuestos previamente discutidos, el sistema **A₂B₂X** corresponde a un anillo aromático monosustituido, uno de los sistemas **AB** indica la presencia de un anillo aromático tetrasustituido; el segundo corresponde a 2 hidrógenos vinílicos con *J trans* (Figura 26).

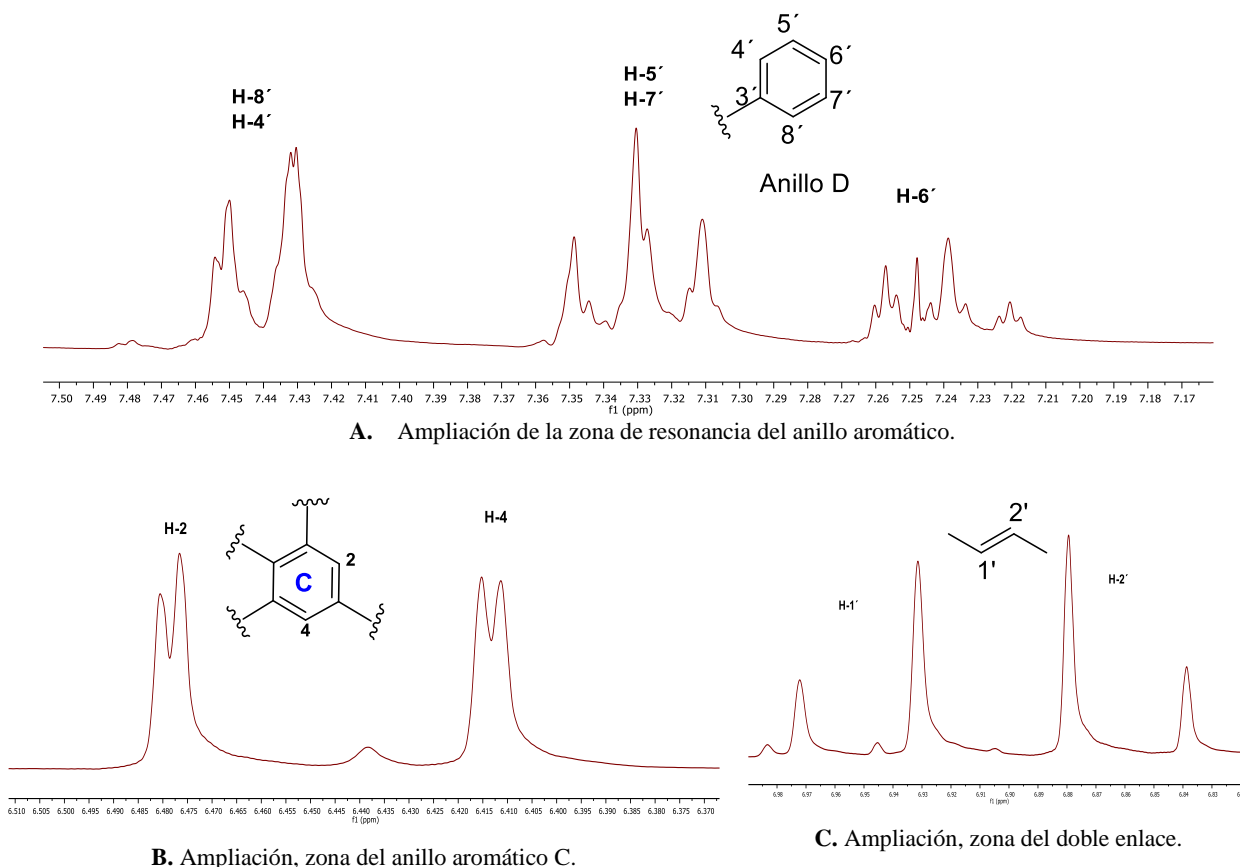
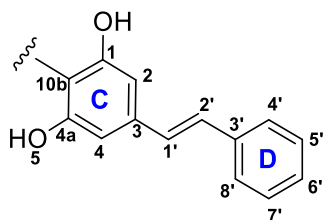
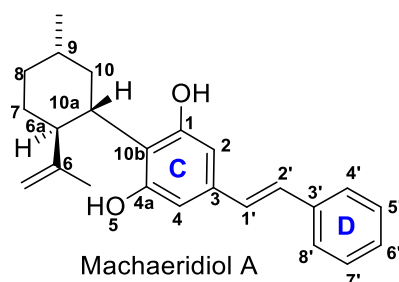


Figura 25. RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) de Machaeridiol A

La unión de los tres fragmentos descritos permite corroborar la presencia del fragmento estilbeno en el compuesto (**57**).

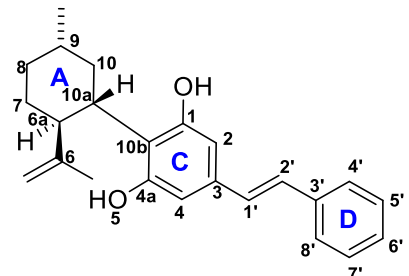
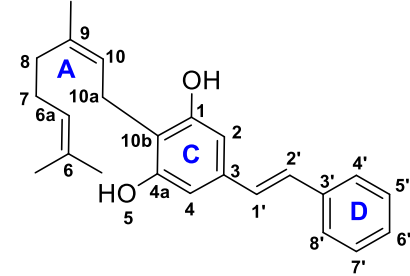


Este estilbeno está unido al fragmento monoterpreno en C-1', de acuerdo con el análisis de los experimentos de RMN de ^1H , ^{13}C , HSQC y HMBC. La presencia de dos unidades isopreno en la región alifática evidenció al monoterpreno de tipo geraniol y la ausencia de señal para H-10b confirmó que el residuo geranilo se encuentra unido al fragmento estilbeno sobre el carbono 10b y 10a. De esta manera, este compuesto fue identificado como machaeridiol A. La comparación de sus datos espectroscópicos con los reportados en la literatura permitió corroborar su identidad como el compuesto aislado por Ilias et al (2003).⁴⁸

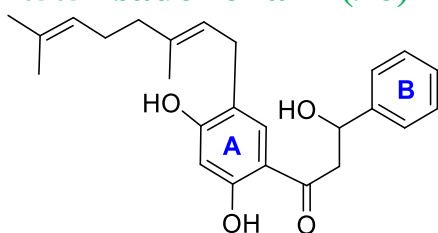


Los datos espectroscópicos completos para machaeridiol A y amorfastilbol se enlistan en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Comparación de los datos espectroscópicos de ^1H y ^{13}C de amorfastilbol y machaeridiol A

H/C	 machaeridiol A (57)		 amorfastilbol (95)	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
1	155.5 C	---	---	155.3 C
2	106.6 CH	6.42 (1H, d, $J=1.7$ Hz)	6.58 (1H, s)	106.7 CH
3	136.3 C	---	---	131.2 C
4	107.6 CH	6.46 (1H, d, $J=1.7$ Hz)	6.58 (1H, s)	106.7 CH
4a	154.2 C	---	---	154.3 C
10b	118.1.7 C	---	---	113.5 C
1'	128.2 CH	6.96 (1H, d, $J=16.0$ Hz)	6.97 (1H, d, $J=16.3$)	128.7 CH
2'	128.6 CH	6.87 (1H, d, $J=16.0$ Hz)	6.91 (1H, d, $J=16.3$)	128.2 CH
3'	137.4 C	---	---	137.4 C
4',8'	126.6 CH	7.44 (2H, dd, $J=8.2,1.5$ Hz)	7.44 (2H, brd, $J=8.2,1.5$)	126.7 CH
5',7'	128.8. CH	7.33 (2H, dd, $J=8.2,7.3$ Hz)	7.32 (2H, dd, $J=7.7,7.3$)	128.8 CH
6'	127.6 CH	7.24 (1H, ddd, $J=8.2,7.3,1.5$ Hz)	7.23 (1H, ddd, $J=8.2,7.3,1.5$)	127.8 CH
6	150.2 C	---	---	132.3 C
6a	47.7 CH	2.90 (1H, ddd, $J=11.8,11.4,2.8$ Hz)	5.06 (1H, m)	121.4 CH
7 α 7 β	33.2 CH ₂	1.7 (1H, m) 1.47 (H,ddd, $J=12.6, 12.6, 3.4$ Hz)	2.10 (2H, m)	26.5 CH ₂
8 β 8 α	35.3 CH ₂	1.68 (1H,d, $J=8.6$ Hz) 1.12 (1H, m)	2.06 (1H, m) 1.69 (1H, m)	39.8 CH ₂
9	33.4 CH	1.62 (1H,m)	---	139.6 C
10 β 10 α	39.3 CH ₂	1.70. (2H,m) ---	5.23 (1H, ddq, $J=7.0,7.0,1.2$) ---	123.8 CH
10a	38.9 CH	3.16 (1H, ddd, $J=12.0,11.4,5.3$ Hz)	3.43 (2H, d, $J=7.0$)	22.8 CH ₂
6 α (a)-CH ₃	19.6 CH ₃	1.60 (3H, s)	1.67 (3H, s)	17.8 CH ₃
6 β (b)-CH ₂	109.6 CH ₂	4.68 d (2.6Hz) 4.51dq (2.6,1.6Hz)	1.60 (3H, s)	25.8 CH ₃
9-CH ₃	22.6 CH ₃	0.92 (3H, d, $J=6.6$ Hz)	1.81 (3H, d, $J=1.1$)	16.4 CH ₃
1-OH	---	4.94 (1H, br s)	4.94 (1H, br s)	---
4a-OH	---	4.91 (1H, br s)	4.91 (1H, br s)	---

4.5.5 Isadelfona A (96)



Su purificación y aislamiento se logró como un sólido amarillo brillante. Este compuesto no ha sido reportado en la literatura y se describe por primera vez de la raíz de *M. isadelphum* en este trabajo de investigación.

El espectro de RMN¹H de este producto natural se muestra en la siguiente **Figura 26**.

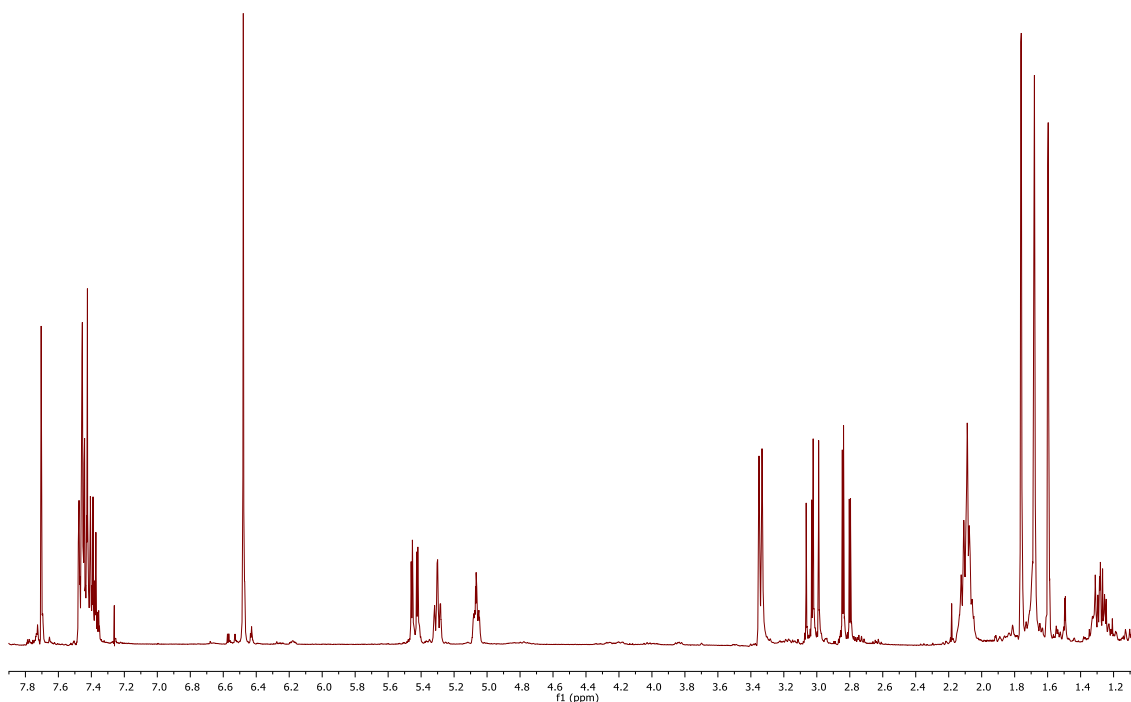


Figura 26. RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) de isadelfona A

En la región aromática de este espectro se observan 2 conjuntos de señales. En 7.45 un sistema **A₂B₂X** (**Figura 27**) que describe un anillo aromático monosustituido (anillo **B**), y el segundo de tipo **AB** (**Figura 28**) indicó la presencia de un anillo aromático tetrasustituido (anillo **A**).

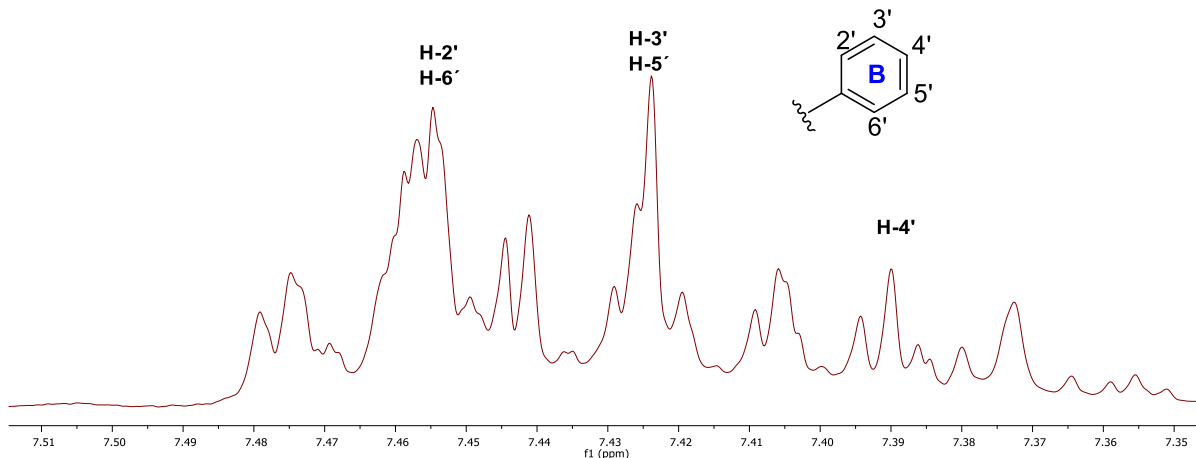


Figura 27. RMN¹H (ampliación 400 MHz, CDCl₃, fragmento) del anillo aromático **B** de isadelfona A

El primer protón **A** es una señal simple en 7.70 ppm que integra para un hidrógeno (H-9). El protón **B** es evidente mediante la señal simple que resuena en 6.48 ppm (H-6). La multiplicidad simple de las señales indica que se encuentran en posición *para* en el anillo aromático **A** (**Figura 28**).

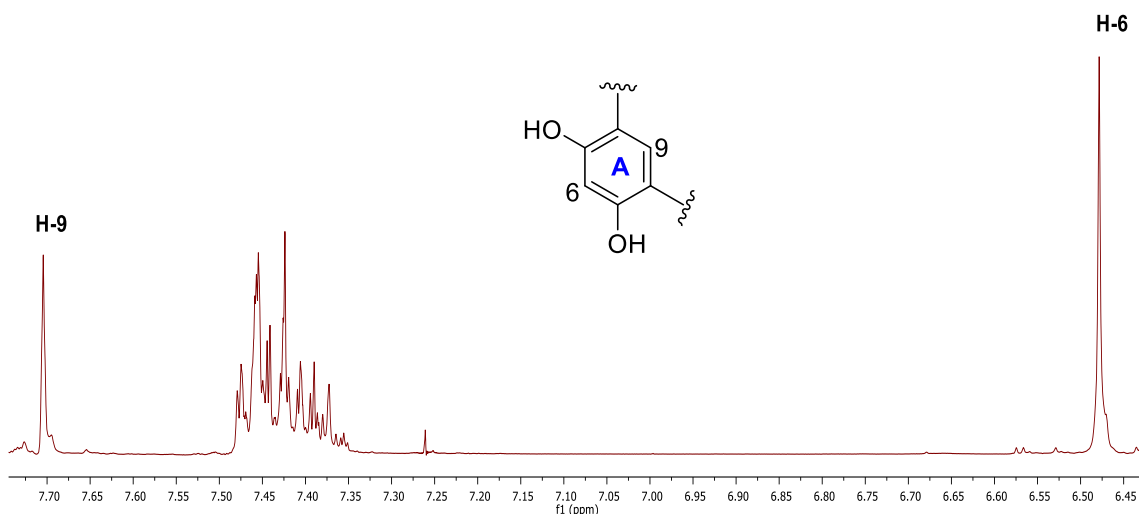


Figura 28. RMN¹H (ampliación, 400 MHz, CDCl₃) del anillo aromático **A** de isadelfona A

Adicionalmente en la región alifática resuenan tres señales: un doble de doble con constantes de acoplamiento 13.1 y 2.8 Hz que integra para un hidrógeno en 5.44 ppm, su desplazamiento químico indica que se ubica sobre carbono base de hidroxilo (H-2). Las dos señales restantes integran para un hidrógeno y resuenan en 3.03 y 2.82 ppm (H-3). Ambas

señales son dobles de doble, con constantes de acoplamiento de 17.0 y 13.2 Hz para la primera, y 17.0 y 2.8 Hz para la segunda. La constante de 17.0 Hz en ambas indica que son hidrógenos diasterotópicos, y su desplazamiento indica que son desprotegidos (por un grupo carbonilo, evidente en RMN¹³C). El fragmento construido se muestra en la **Figura 29**.

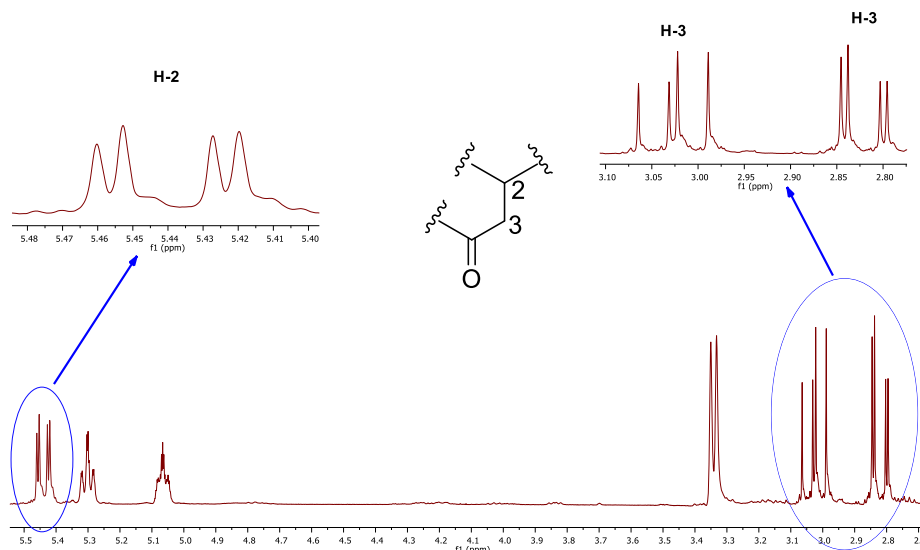
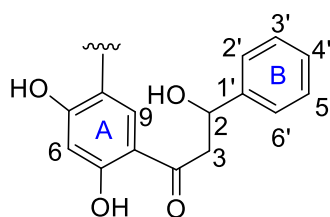


Figura 29. RMN¹H (ampliación, 400 MHz, CDCl₃) de isadelfona A

La unión de los tres fragmentos descritos por estos sistemas de espines permite concluir la estructura de una dihidrochalcona.



Fragmento estructural de isadelfona A

En la región alifática resuenan tres señales dobles para metilo, en 1.76, 1.68 y 1.61 ppm. Cada una integra para 3 hidrógenos, y muestran constantes de acoplamiento de 1.2 Hz para la primera y 1.4 Hz para las últimas dos. Su desplazamiento químico indica que se ubican sobre carbono de doble enlace. Estas señales son indicativas de la presencia de residuo

geranilo (**Figura 30**). En este residuo, el protón H-2'' fue evidente mediante la señal triple de triples que resuena en 5.30 ppm con constantes de acoplamiento de 7.3 y 1.2 Hz. H-1'' resuena como un doblete que integra para dos hidrógenos en 3.34 ppm, con constante de acoplamiento de 7.3 Hz. Por su parte, H-6'' resuena en 5.13 ppm, es un triple de quinteto que integra para un hidrógeno y constantes de acoplamiento de 6.9 y 1.4 Hz. De la misma manera que H-2'', el desplazamiento indica que se encuentra desprotegido por un doble enlace. Por último, H-4'' y H5'' producen señales multipletes en 2.10 y 2.08 ppm. Ambas señales integran para dos hidrógenos (CH₂).

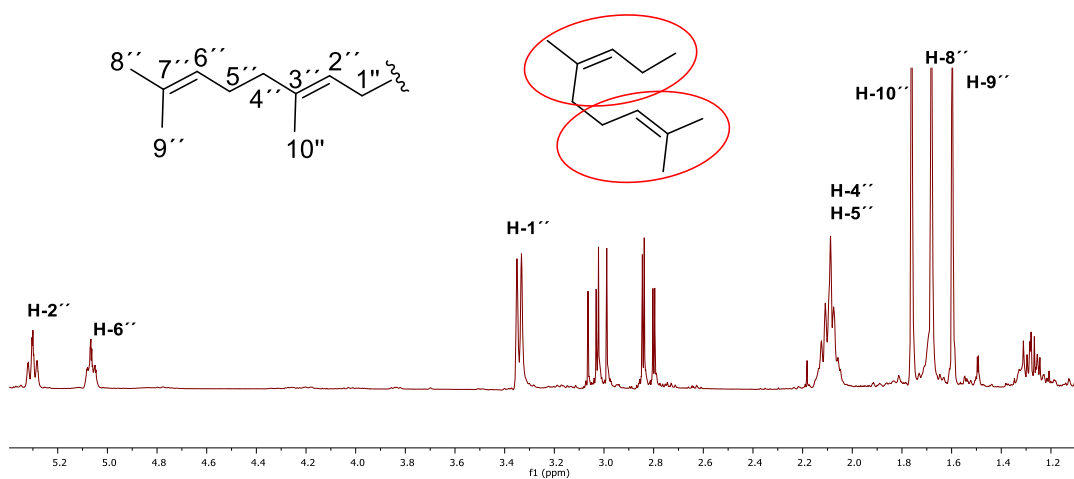


Figura 30. RMN¹H (ampliación, 400 MHz, CDCl₃) de la zona alifática de isadelfona A.

Con ayuda del espectro de RMN de ¹³C, que presentó las 23 señales esperadas (**Figura 31**) y de acuerdo con el HSQC (**Figura 32**) se lograron asignar las señales de carbono que corresponden a cada uno de los hidrógenos para este compuesto.

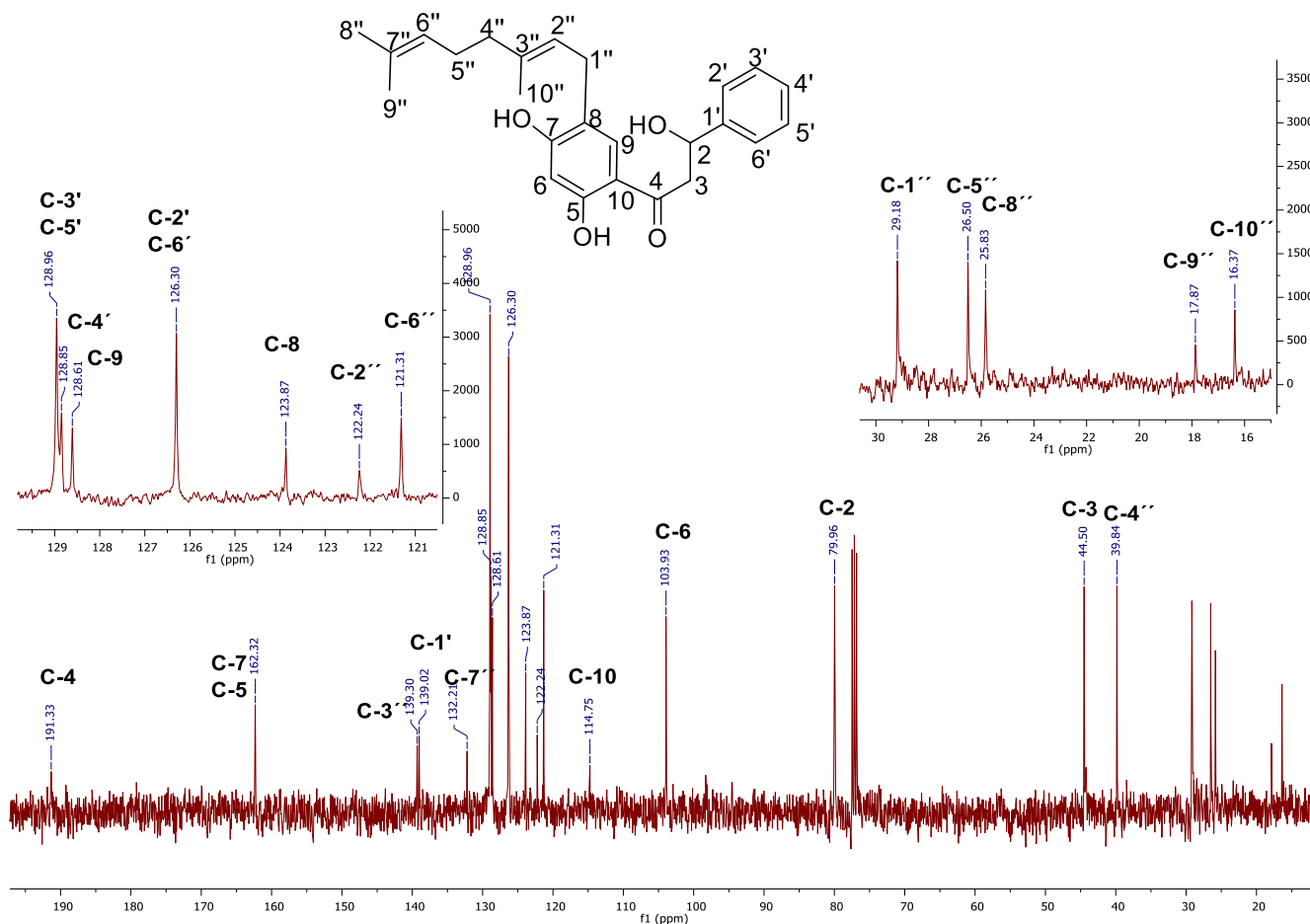


Figura 31. RMN¹³C (400 MHz, CDCl₃) de isaldelphon A.

De acuerdo con la estructura propuesta, con ayuda del experimento HSQC (**Figura 32**) se asignaron cinco metinos aromáticos (129.0 por 2, 128.9, 126.3 por 2, 128.6 y 103.9 ppm), un metino base de oxígeno (80.0 ppm), seis carbonos cuaternarios (191.3, 162.3, 162.3, 139.0, 122.2 y 114.8), y un metileno (44.5). Para el geranilo se observaron tres metilenos (39.9, 29.2, 26.5), dos carbonos cuaternarios (132.3 y 139.3), tres metilos (25.8, 17.9 y 16.4), y por último dos metinos de doble enlace (123.9 y 121.3).

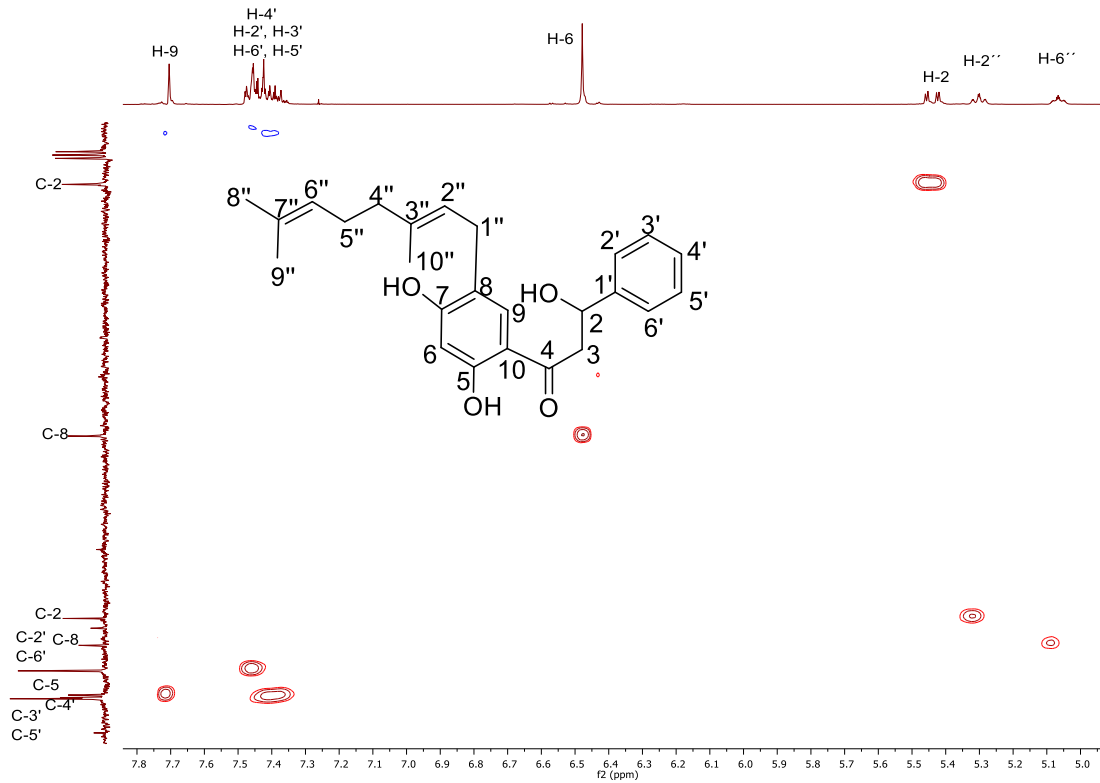


Figura 32A. HSQC (ampliación 400 MHz, CDCl₃, fragmento) de isadelfona A

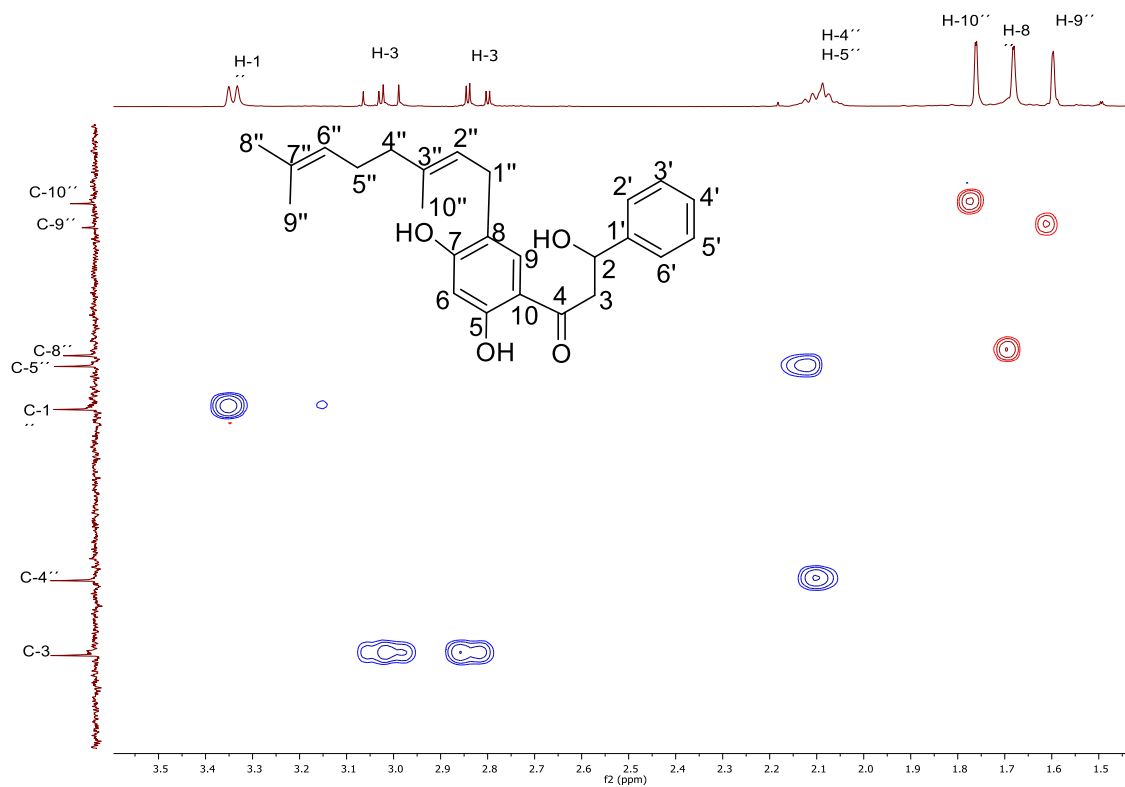
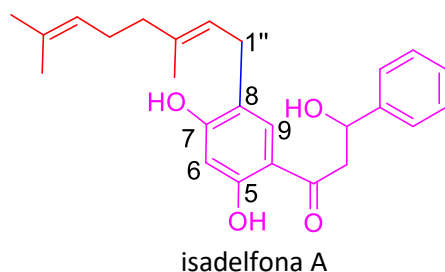


Figura 32B. HSQC (ampliación 400 MHz, CDCl₃, fragmento) de isadelfona A

La unión entre los fragmentos geranilo y chalcona debe ser en C-8, y la posición de los carbonos cuaternarios oxigenados en C-7 y C-5, debido a la posición de los metinos H-9 y H-6 en *para*. Cada una de estas posiciones fue confirmada mediante las correlaciones observadas en HMBC, identificando a este producto natural como isadelfona A.



De acuerdo con la estructura propuesta, en el experimento HMBC se observan las siguientes correlaciones: para el anillo **B** H-2' con C-3' y C-2; H-3' con C-2' y C-1'; y H-4' con C-2'. Para el anillo **A** H-9 con C-4, C-7 y C-1''; H-6 con C-7; H-3 con C-4, C-2 y C-1', estas correlaciones confirmaron la posición de los hidrógenos H-9, H-6 y H-3, así como la posición del grupo carbonilo. Todas las correlaciones corroboran el fragmento dihidrochalcona. Para el fragmento geranilo se observan las siguientes correlaciones: H-1'' con C-9, C-7, C-8, C-2'', fundamentales para corroborar que la unión entre el geranilo con la dihidrochalcona es entre C-1'' y C-8; H-4'' con C-2'', C-6'' y C-5''; H-5'' con C-6'' y C-7''. Por último, las correlaciones de los tres metilos son las siguientes: H-9'' con C-6'', C-7'' y C-8''; H-8'' con C-6'', C-7'' y C-9''; y H-10 con C-3'' y C-4'' (**Figura 33**).

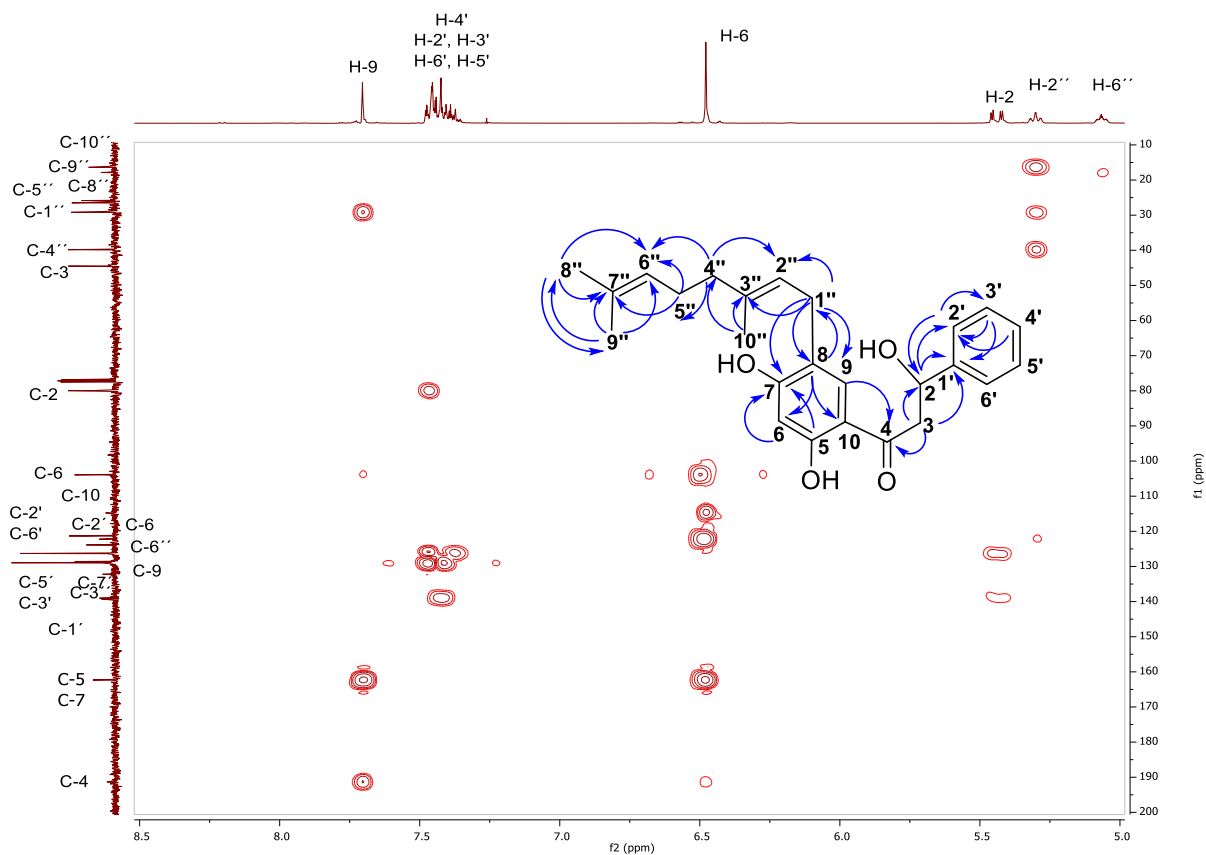


Figura 33A. HMBC (ampliación, 400 MHz, CDCl_3) de isadelfona A

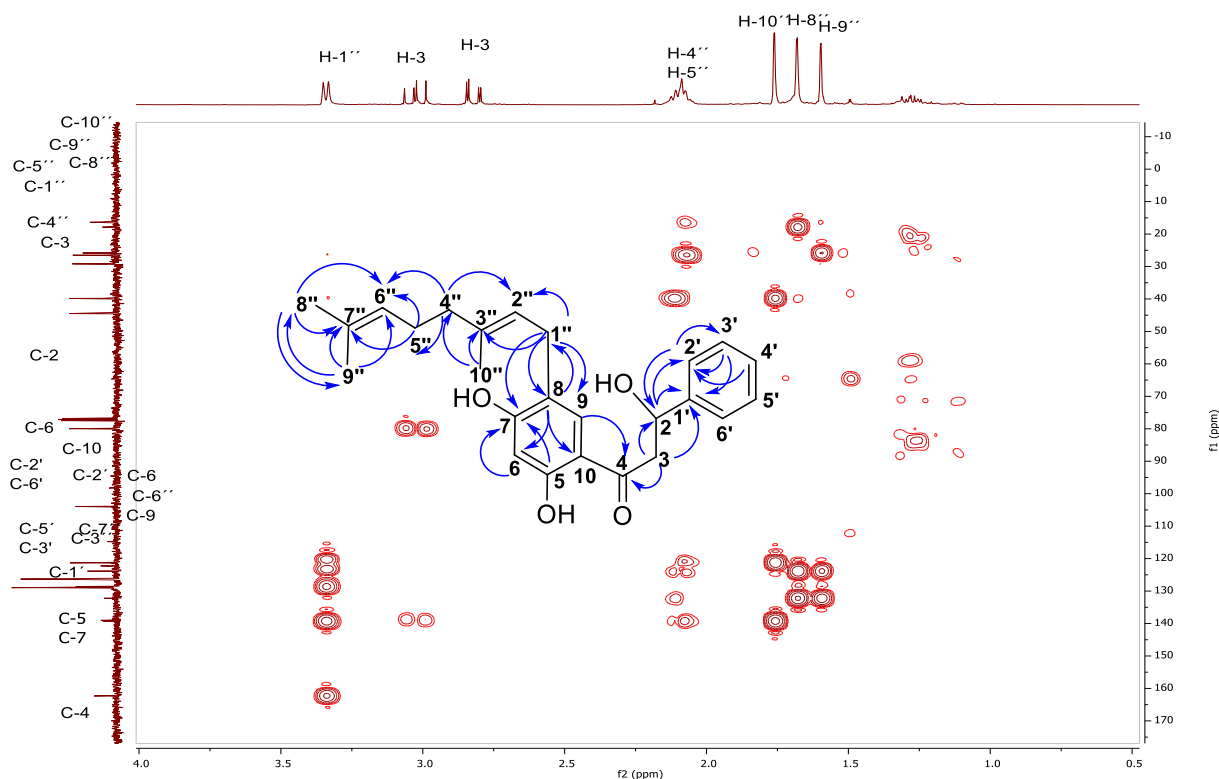
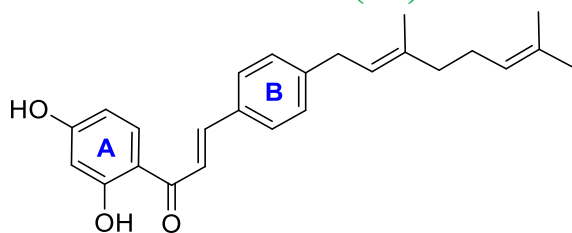


Figura 33B. HMBC (ampliación, 400 MHz, CDCl_3) de isadelfona A

6.5.6 Isadelfona B (97)



La purificación y aislamiento de este compuesto se logró como un aceite de color ámbar pálido. Este producto natural no ha sido reportado en la literatura por lo que es aislado por primera vez de la raíz de *M. isadelphum*. Tiene un alto grado de similitud con isadelfona A (96), las diferencias entre estos dos compuestos radican en que isadelfona B presenta un carbonilo α,β -insaturado, lo que indica que se trata de una chalcona. La segunda diferencia entre ambos compuestos es el número de sustituyentes presentes en los anillos **A** y **B**, para este compuesto el anillo **A** es trisustituido y el anillo **B** disustituido, mientras que para isadelfona A (96) el anillo **A** está tetrasustituido y el anillo **B** está monosustituido. Las diferencias antes descritas se pueden observar en color rojo en la **Figura 34**.

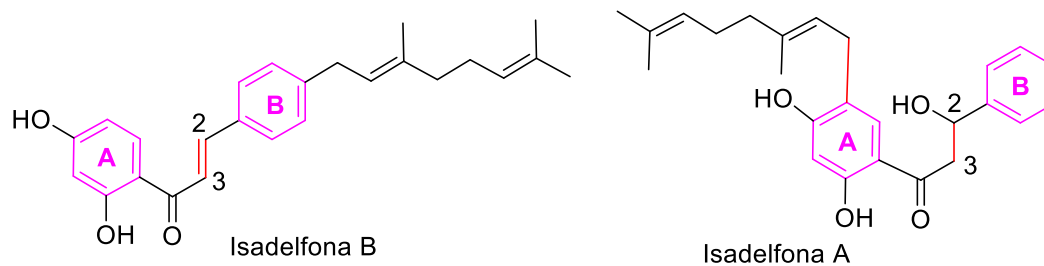


Figura 34. Diferencias entre los compuestos (97) y (96) de *M. isadelphum*.

El espectro de RMN¹H para este producto natural se muestra en la **Figura 35**.

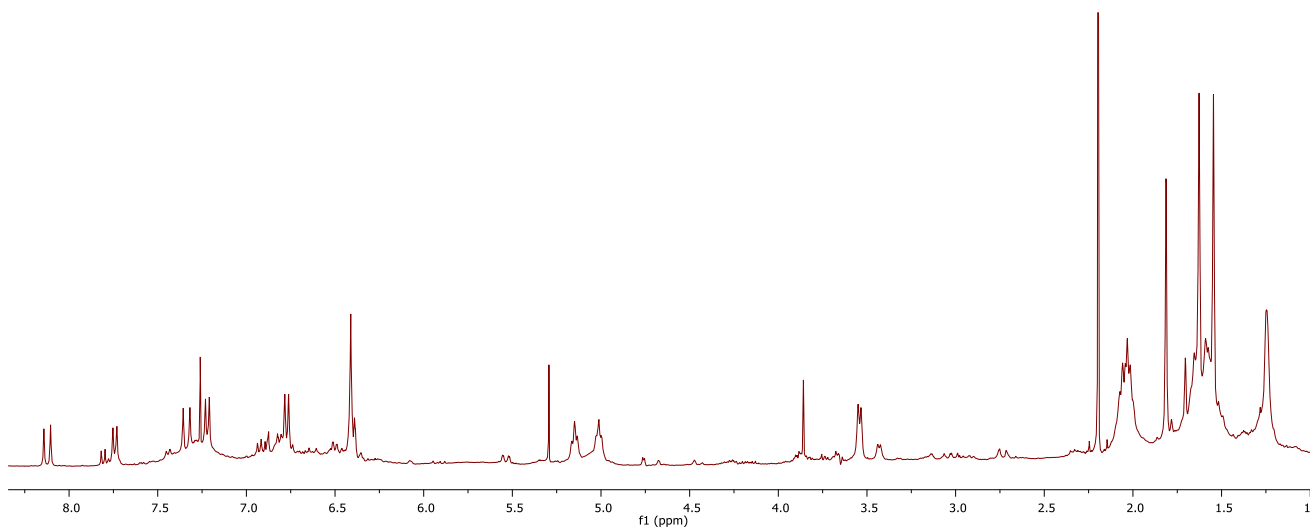


Figura 35. RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) de isadelfona B

El espectro de RMN¹H muestra en la región aromática seis señales entre 6.39 y 8.21 ppm, que pueden ser distribuidas en tres sistemas de espines, uno de tipo **A₂B₂** que de acuerdo con el análisis pertenece al anillo **B** disustituido, un segundo de tipo **ABX** para el anillo **A** disustituido, y, por último, un sistema **AB** para H-2 y H-3. El desplazamiento químico (δ , ppm), la integración (*f*), multiplicidad (*m*) y constantes de acoplamiento (*J*, Hz) de cada señal para cada uno de estos sistemas son descritos a detalle en la **Figura 36**:

¹ H	δ (<i>i</i> , <i>m</i> , <i>J</i>)
2',6'	7.22 (2H, d, J=8.5)
3',5'	6.77 (1H, d, J=8.5)

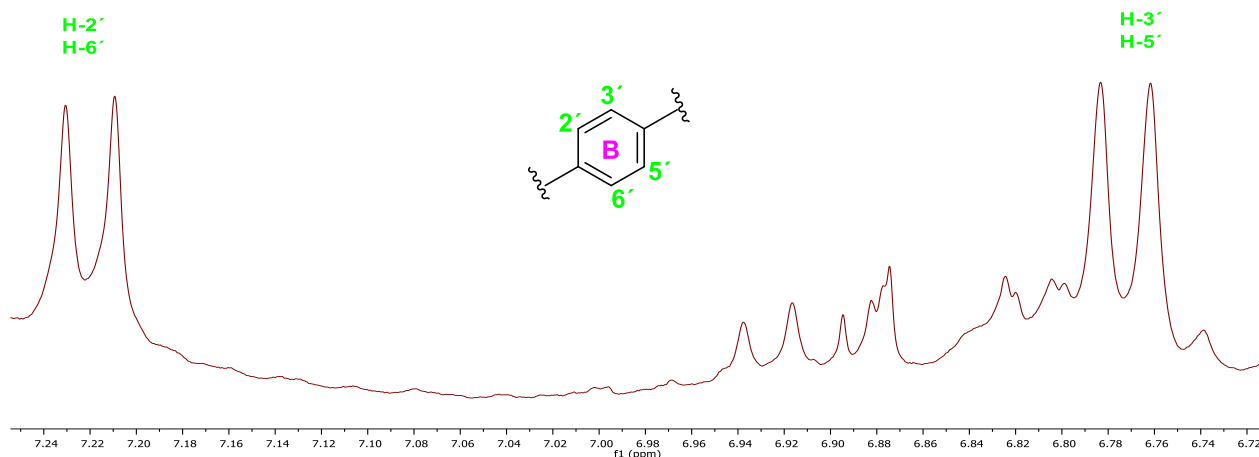


Figura 36A. RMN¹H (ampliación 400 MHz, CDCl₃, fragmento) del anillo aromático B de isadelfona
B. Sistema A₂B₂= verde

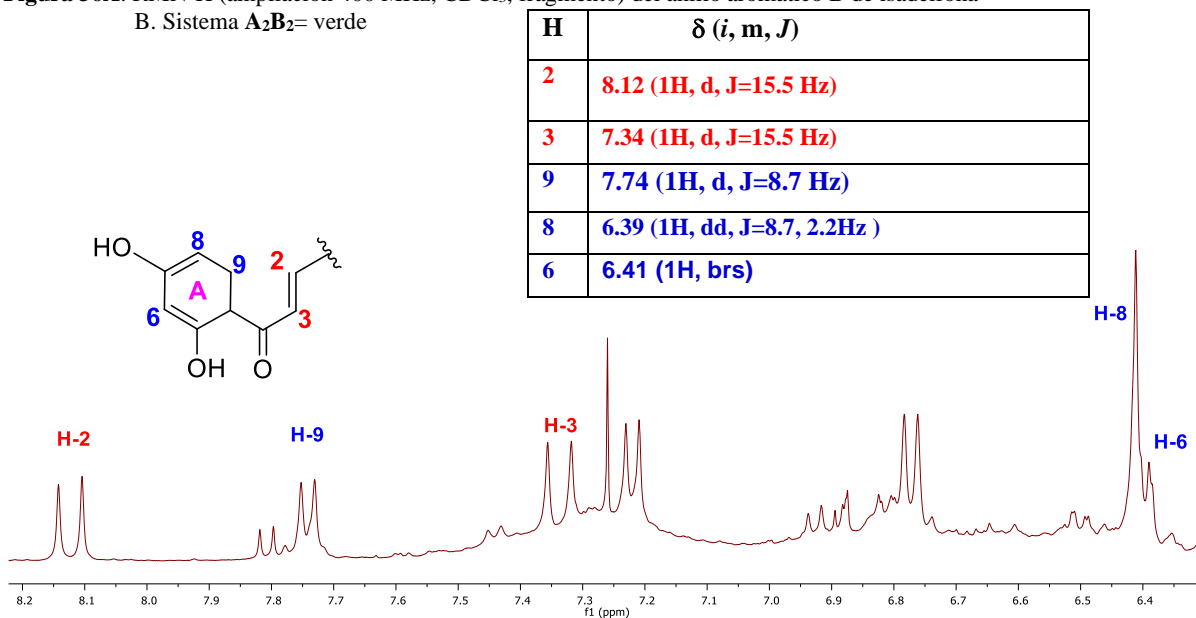
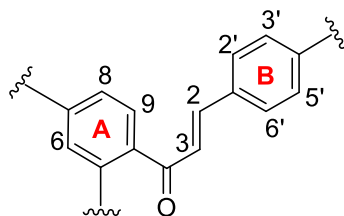


Figura 36B. RMN¹H (ampliación, 400 MHz, CDCl₃) del anillo aromático A y doble enlace de isadelfona A. Sistema ABX= azul, Sistema AB= rojo

La unión de los tres fragmentos descritos por estos sistemas de espines permite corroborar la estructura de una chalcona (**Figura 37**).



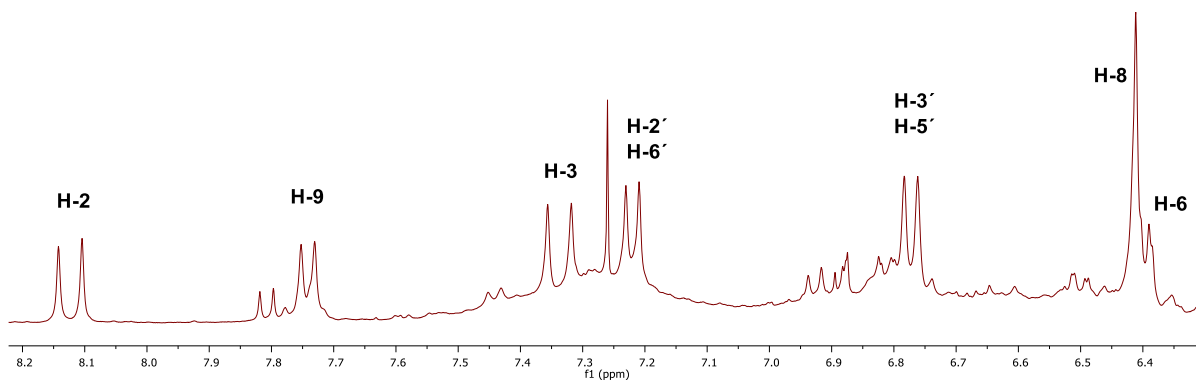


Figura 37. RMN¹H (ampliación 400 MHz, CDCl₃, fragmento) de la región chalcona de isadelfona B.

El fragmento chalcona está unido a un residuo geranilo (**Figura 38**), cuyos hidrógenos fueron evidentes en la región alifática mediante ocho señales.

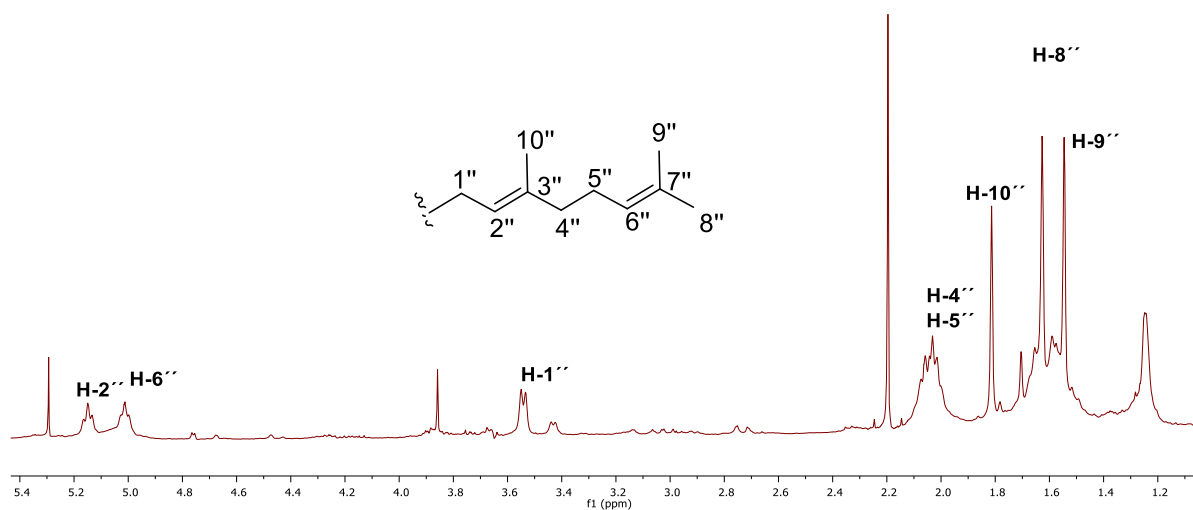


Figura 38. RMN¹H (ampliación 400 MHz, CDCl₃) del geranilo de la isoflavona B

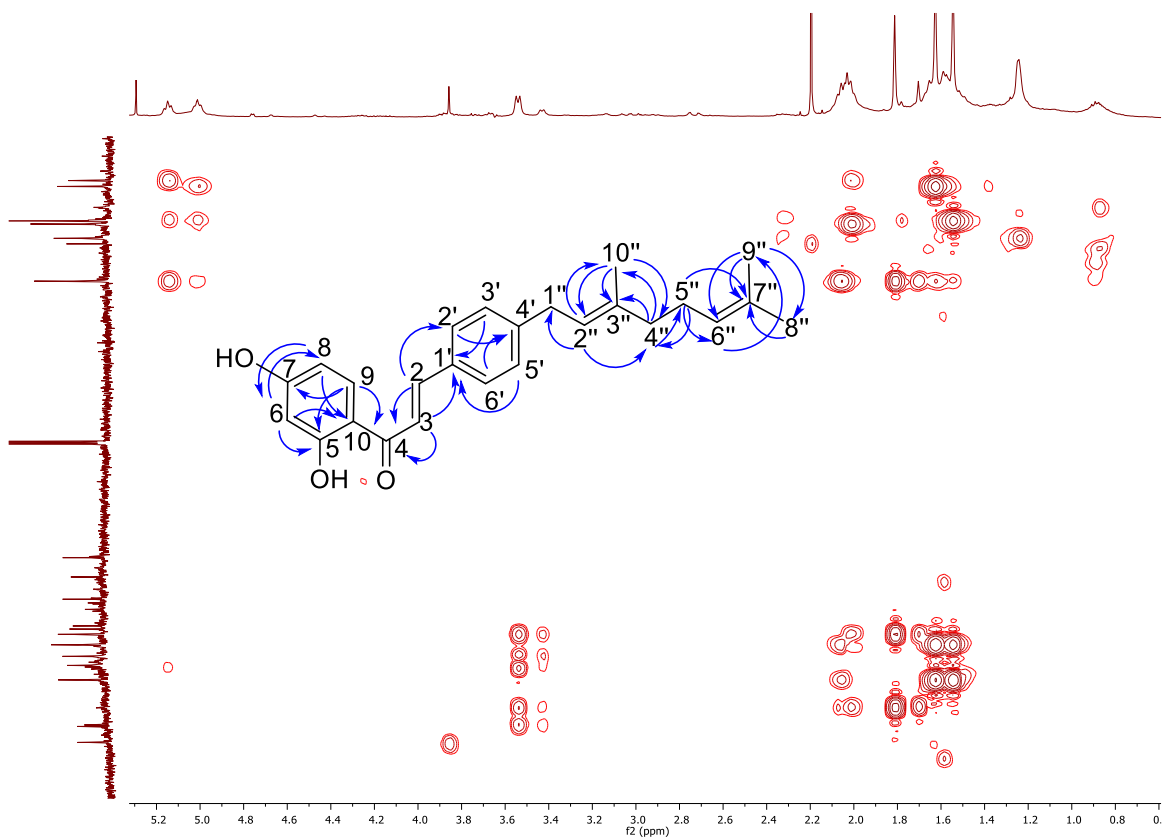
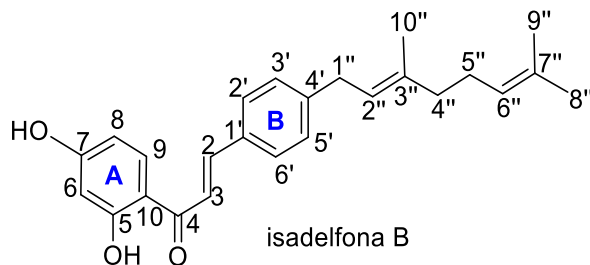


Figura 39. RMN¹³C (400 MHz, CDCl₃) correlaciones de HMBC

La diferencia de este compuesto con isaldelfona A radica en que en ésta la unión del residuo geranilo ocurre entre los carbonos C-1'' y C-8, mientras que para isaldelfona B (**97**) se lleva a cabo entre los carbonos C-1'' y C-4', esto último de acuerdo con la multiplicidad de los protones aromáticos del anillo **B** (*para* disustituido), y las correlaciones observadas en el experimento HMBC **Figura 39**.

El espectro de RMN ¹³C y el experimento HSQC corroboraron las 23 señales para el compuesto y permitieron proponer su identidad como isaldelfona B.



Los datos espectroscópicos completos para las isaldelfonas A y B se enlistan en la **Tabla 8**.

Tabla 8. Comparación de datos espectroscópicos de ^{13}C y ^1H de isadelfona B y isadelfona A

H/C	isadelfona A (96)		isadelfona B (97)	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
2	5.44 (1H, dd, $J=13.1, 2.8$ Hz)	80.0 CH	8.12 (1H, d, $J=15.5$)	142.9 CH
3	2.82 (1H, dd, $J=17.0, 13.2$ Hz) 3.03 (1H, dd, $J=17.0, 3.0$ Hz)	44.5 CH ₂	7.34 (1H, d, $J=15.5$)	119.6 CH
4	---	191.3 C	---	192.2 C
5	---	162.3 C	---	166.3 C
6	6.48 (1H, s)	103.9 CH	6.41 (1H, brs)	103.8 CH
7	---	162.3 C	---	163.5 C
8	---	122.2 C	6.39 (1H, dd, $J=8.7, 2.2$ Hz)	108.3 CH
9	7.70 (1H, s)	128.6 CH	7.74 (1H, d, $J=8.7$ Hz)	132.1 CH
10	---	114.8 C	---	114.3 C
1'	---	139.0 C	---	126.7 C
2'	7.45 (1H, m)	126.3 CH	7.22 (1H, d, $J=8.5$ Hz)	120.3 CH
3'	7.42 (1H, m)	129.0 CH	6.77 (1H, d, $J=8.5$ Hz)	113.4 CH
4'	7.39 (1H, m)	128.9 CH	---	146.6 CH
5'	7.42 (1H, m)	129.0 CH	6.77 (1H, d, $J=8.5$ Hz)	113.4 CH
6'	7.45 (1H, m)	126.3 CH	7.22 (1H, d, $J=8.5$ Hz)	120.3 CH
1''	3.34 (2H, d, $J=7.3$ Hz)	29.2 CH ₂	3.54 (1H, d, $J=6.7$ Hz)	25.6 CH ₂
2''	5.30 (1H, ddq, $J=7.3, 7.3, 1.2$ Hz)	121.3 CH	5.15 (1H, dd, $J=7.5, 6.6$ Hz)	121.6 CH
3''	---	139.3 C	---	138.5 C
4''	2.08 (2H, m)	39.9 CH ₂	2.09 (1H, m)	39.74 CH ₂
5''	2.10 (2H, m)	26.5 CH ₂	2.06 (1H, m)	26.50 CH ₂
6''	5.08 (1H, ddh, $J=6.9, 6.9, 1.4$ Hz)	123.9 CH	5.01 (1H, ddq, $J=7.8, 6.8, 1.3$ Hz)	124.0 CH
7''	---	132.3 C	---	132.2 C
8''	1.68 (3H, d, $J=1.4$ Hz)	25.8 CH ₃	1.62 (3H, s)	25.8 CH ₃
9''	1.61 (3H, d, $J=1.4$ Hz)	17.9 CH ₃	1.55 (3H, s)	17.8 CH ₃
10''	1.76 (3H, d, $J=1.2$ Hz)	16.4 CH ₃	1.81 (3H, s)	16.5 CH ₃

6.6 Actividad citotóxica y anticancerígena de los compuestos aislados de *M. isadelphum*

En este estudio químico se aislaron 31 compuestos, distribuidos en hojas-ramas, tallos y raíces. En las **Tablas 9-10** se enlistan por parte analizada, clasificados por tipo estructural al que pertenecen. Con el propósito de correlacionar este contenido químico con el uso de la planta en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento del cáncer, se realizó una revisión bibliográfica exhaustiva sobre reportes de la actividad citotóxica o anticancerígena para cada compuesto.

Tabla 9. Compuestos de hojas-ramas de *M. isadelphum* y su actividad anticancerígena o citotóxica demostrada.

Tipo	Nombre	Actividad	Ref.
Isoflavonoides	Alfalona	---	---
	Formononetina	Propiedades antitumorales que inducen la detención del ciclo celular, la apoptosis celular, la supresión de la proliferación celular y la inhibición de la invasión celular en células humanas de: mieloma, cáncer de ovario, carcinoma de nasofaringe, cáncer de mama, cáncer de próstata, osteosarcoma, cáncer de vejiga, cancer cervicouterino, cancer de pulmón, y hepatoma.	78
Flavanonas	Liquiritigenina-4'-metil-éter	---	---
Pterocarpanos	Medicarpina	Sensibiliza las células de leucemia mieloide a la apoptosis inducida por TRAIL, potencia la citotoxicidad de los fármacos de quimioterapia en células de leucemia P388 resistentes a múltiples fármacos.	79,80
	Variabilina	---	---
	6a-hidroximedicago	---	---
	4-hidroximedicago	Citotoxicidad contra células de carcinoma epidermoide humano (KB, CI ₅₀ = 8.09 μM) y carcinoma de cuello uterino humano (HeLa, CI ₅₀ = 8.69 μM).	81
	mucronocarpano	---	---
	4-hidroximaackiaina	Potente citotoxicidad contra células cancerosas LNCaP (CI ₅₀ = 58.24 μM), PC-3 (CI ₅₀ = 25.44 μM), HeLa(CI ₅₀ = 18.88 μM) y OVCAR-3 (CI ₅₀ = 16.47 μM).	82
Triterpenos	Lupeol	Agente potencial para tratar cáncer de próstata y gástrico humano. Actividad contra cáncer de piel en ratones CD-1	83,84,85,86
	Betulina	Muestran una potente actividad anticancerígena al desencadenar la vía de la apoptosis mitocondrial en las células tumorales de cáncer de pulmón, gástrico y páncreas.	87
	30-hidroxi-lupenona	---	---
	ácido <i>O</i> - acetil oleanólico	Induce apoptosis en células HCT-116 de carcinoma de colon humano	88
Esteroles	β-sitosterol	Reduce el estrés oxidativo in vivo en ratones SCID y actúa como agente quimiopreventivo en la carcinogénesis del colon, inhiben el crecimiento y la metástasis de las células del cáncer de mama en ratones atímicos ovariectomizados.	89
	Estigmasterol	Suprime el desarrollo de algunas neoplasias, especialmente el cáncer de mama, colon, ovario y gástrico, a través de la inducción de apoptosis o inhibición de crecimiento al controlar la proliferación y el ciclo celular. Se utilizó el ensayo CCK8, ensayo de formación de clones y el ensayo de proliferación de EdU, la apoptosis se demostró mediante tinción de Hoechst y TUNEL.	90,91
	Sitosterona	---	----

Tabla 10. Compuestos de tallos de *M.isadelphum* y su actividad anticancerígena o citotóxica demostrada.

Tipo	Nombre	Actividad	Ref.
Isoflavonoides	(+)- <i>trans</i> -4,7,2'-trihidroxi-4'-metoxiisoflavanol	---	---
	Alfalona	Tabla 9	---
	Calicosina	Induce apoptosis en células de cáncer de mama humano y cáncer colorrectal. Se utilizaron los ensayos de MTT, de Hoechst y citometría de flujo para apoptosis.	92,93,94
Chalconas	Chalconaringenina	---	---
Pterocarpanos	Medicarpina	Tabla 9	---
	Pterocarpina	---	---
	Variabilina	Tabla 9	---
	Maackiaina	Induce la apoptosis de células leucémicas HL-60 a través de la fragmentación del ADN, la activación de genes de supresión tumoral en células LNCaP y PC-3 de cáncer de próstata, así como en células epiteliales de próstata normales (NHPrE)	95,82
	4-hidroximedocarpina	Tabla 9	---
	6a-hidroximedocarpina	Tabla 9	---
Triterpenos	Taraxerol	Ha mostrado actividad citotóxica in vitro contra líneas celulares humanas de carcinoma hepatocelular (CI ₅₀ = 11.70 μM) y carcinoma epidermoide (CI ₅₀ = 38.20 μM). Induce apoptosis en células HeLa a través de la vía mitocondrial, que incluye la liberación del citocromo c al citosol y la activación de caspasas. Induce apoptosis y detención del ciclo celular en el colesteatoma epitelial del oído medio humano.	96,97
	β-amirina	Muestra actividad anticancerosa significativa contra células Hep-G2 con valores de CI ₅₀ de 25 μM.	98
	ácido <i>O</i> - acetil-oleanólico	Tabla 9	---
	30-hidroxi-lupenona	Tabla 9	---
	Lupeol	Tabla 9	---
	Betulina	Tabla 9	---
	Mirsineno	---	---
	Ac. cinámicos	Ácido <i>p</i> -hidroxicinámico	---
Esteroles	β-sitosterol	Tabla 9	---
	Estigmasterol	Tabla 9	---

Trece de estos compuestos explican el uso de *M. isadelphum* en la medicina tradicional mexicana como remedio contra el cáncer. Estos incluyen medicarpina, que sensibiliza las células de leucemia mieloide a la apoptosis inducida por TRAIL⁸⁰ y potencia la citotoxicidad de los fármacos de quimioterapia en las células de leucemia P388 resistentes a múltiples fármacos;⁷⁹ 4-hidroximedocarpina muestra una citotoxicidad adecuada contra las células KB y HeLa;⁸¹ 4-hidroximaackiaina muestra una potente citotoxicidad contra las células cancerosas LNCaP, PC-3, HeLa y OVCAR-3⁸² y formononetina que ha demostrado

propiedades antitumorales, induciendo la detención del ciclo celular, apoptosis celular, supresión de la proliferación celular e inhibición de invasión celular.⁷⁸

Además, los triterpenos de *M. isadelphum* también han mostrado actividad en el tratamiento del cáncer; El ácido *O*- acetil oleanólico induce la apoptosis en las células HCT-116 del carcinoma de colon humano;⁸⁸ el lupeol es un agente potencial para tratar el cáncer de próstata^{83,71} y gástrico humano,⁸⁵ también muestra actividad contra el cáncer de piel en la EC-1 ratones;⁸⁶ y la betulina induce citotoxicidad tumoral en cáncer de pulmón, estómago y páncreas.⁸⁷ Finalmente, numerosos estudios indican que el β -sitosterol y el estigmasterol han mostrado un efecto terapéutico en varios tipos de neoplasias, especialmente de mama, colon, ovario y cáncer gástrico.^{89,90} No se ha informado que el resto de los componentes de las hojas y ramas de *M. isadelphum* tengan propiedades terapéuticas.

Los tallos de *M. isadelphum* incluyen 11 compuestos previamente identificados en sus hojas y ramas: medicarpina, variabilina, 4-hidroxicarpina, 6a-hidroxicarpina, alfalona, ácido *O*- acetil oleanólico, 30-hidroxi-lupenona, lupeol, betulina, β -sitosterol y estigmasterol. Siete de ellos son agentes citotóxicos y anticancerígenos reconocidos. De los nueve componentes no comunes, maackiaina es un agente anticancerígeno demostrado que induce la apoptosis de las células leucémicas HL-60 mediante la fragmentación del ADN⁹⁵ y la activación de genes de supresión tumoral en células LNCaP y PC-3 de cáncer de próstata de origen humano, así como en células epiteliales de próstata humana normales (NHPrE).⁶⁷ De manera similar, la calicosina induce la apoptosis en células humanas de cáncer de mama,^{92,93} y cáncer colorrectal,⁹⁴ y los triterpenos β -amirina y taraxerol han demostrado actividad citotóxica,⁹⁶ e inducen apoptosis en células HeLa,⁹⁷ y en las células del colesteatoma epitelial del oído medio humano, respectivamente.⁹⁸

No existe información reportada sobre la actividad citotóxica o anticancerígena para los compuestos aislados de las raíces de *M. isadelphum*: machaeriol A, machaeriol E, machaeridiol A y machaeridiol D, así como las isadelfonas A y B, y junto con aquellos no evaluados de hojas-ramas y tallos de esta misma planta, esperan ser evaluados para determinar su potencial como agentes anticancerígenos. Por ello, es de suma importancia llevar a cabo su evaluación citotóxica, a fin de contribuir al descubrimiento de nuevas entidades químicas útiles en el tratamiento del cancer.

6.7 Compuestos de *M. isadelphum* y su actividad en Alzheimer

Respecto a la actividad acetilcolinesterásica para estos productos naturales, que los relaciona con el uso popular de la planta en el tratamiento de la demencia (y particularmente en este proyecto correlacionado con la enfermedad de Alzheimer), la información con la se cuenta actualmente se describe en las **Tablas 11-12**.

Tabla 11. Compuestos de hojas-ramas de *M. isadelphum* y su actividad en Alzheimer

Tipo	Nombre	Actividad
Isoflavonoides	Alfalona	---
	Formononetina ^{99,100,101,102}	<ul style="list-style-type: none"> • 52.63 % y 21.05 %, respectivamente de disminución de la actividad de AChE. • Actividad similar a la de donepezilo. • Disminuye dopamina y noradrenalina a nivel cerebral. • 17.2 % de inhibición de AChE. • Efecto protector en células endoteliales de hipocampo de ratón APP/PS (regulación de las vías mediada por LRP1 y RAGE para eliminar Aβ). • Mejora la función cognitiva al inhibir la neuroinflamación (regulación de la vía PGC-1α en ratón por HFD).
Flavanonas	Liquiritigenina-4'-metil-éter	---
Pterocarpanos	Medicarpina ^{103,104}	<ul style="list-style-type: none"> • Inhibe a la hMAO-B (CI₅₀ = 0.30 μM). • Posible candidato anti-EA al dirigirse a múltiples vías.
	Variabilina	---
	6a-hidroxicarpina	---
	4-hidroxicarpina	---
	mucronocarpano	---
	4-hidroxi-aackiaina	---
Triterpenos	Lupeol ^{105,106,107}	<ul style="list-style-type: none"> • Importante actividad inhibidora dosis-dependiente de AChE a 25, 50, 100 y 200 μM. • CI₅₀ = 38.31 μg/mL • 60 % de inhibición de AChE.
	Betulina ¹⁰⁸	<ul style="list-style-type: none"> • Moderada actividad inhibidora de AChE (CI₅₀ = 28.5 μM.) • 68% de inhibición de AChE.
	30-hidroxi-lupenona	---
	O-ácido acetyl oleanólico	---
Esteroles	β -sitosterol ¹⁰⁹	<ul style="list-style-type: none"> • Moderada actividad inhibidora de AChE (CI₅₀ = 63.5 μg/mL). • 49.1% de inhibición de AChE.
	Estigmasterol ^{109,110}	<ul style="list-style-type: none"> • 45% de inhibición de AChE. • CI₅₀ = 65.5μg/mL.
	Sitosterona	---

Tabla 12. Compuestos de tallos de *M.isadelphum* y su actividad en trastornos Alzheimer

Tipo	Nombre	Actividad
Isoflavonoides	(+)- <i>trans</i> -4,7,2'-trihidroxi-4'-metoxiisoflavanol	---
	Alfalona	---
	Calicosina ^{111,112,113,114}	<ul style="list-style-type: none"> Disminuye de manera dosis-dependiente los niveles de β-amiloide hipocampal, proteína Tau, IL-1β, TNFα, AChE y malondialdehído. Aumenta la actividad de acetilcolina y glutatión (puede ser un potencial agente terapéutico para EA). Inhibe de forma selectiva, reversible y competitiva la hMAO-B (CI₅₀ = 0.24 μM). 22.76% de inhibición de AChE (50 μM).
Chalconas	Chalconanaringenina	---
Pterocarpanos	Medicarpina	Tabla 12
	Pterocarpina	---
	Variabilina	---
	Maackiaina ¹¹⁵	<ul style="list-style-type: none"> Potente inhibidor de la MAO-B (CI₅₀ = 0.68 μM).
	4-hidroximedocarpina	---
	6a-hidroximedocarpina	---
Triterpenos	Taraxerol ^{116,117}	<ul style="list-style-type: none"> Inhibe la actividad de AChE de manera dosis-dependiente (CI₅₀ de 33.6 μg/mL). Mostro actividad significativamente de AChE solo en el hipocampo (20.69 % hasta 30 %).
	β -amirina	---
	<i>O</i> -ácido acetil-oleanólico	---
	30-hidroxi-lupenona	---
	Lupeol	Tabla 12
	Betulina	Tabla 12
	Mirsineno	---
Ac. cinámicos	Ácido <i>p</i> -hidroxicinámico	---
Esteroles	β -sitosterol	Tabla 12
	Estigmasterol	Tabla 12

Lo compuestos machaeriol A, machaeriol E, machaeridiol A y machaeridiol D, así como las isadelfonas A y B aislados de la raíz de *M.isadelphum* no cuentan con reportes de actividad acetilcolinesterásica o con su potencial en el tratamiento de la EA.

Existen muy pocos reportes acerca de la actividad de los compuestos de *M.isadelphum* relacionados con su potencial en el tratamiento de trastornos neurodegenerativos principalmente para el Alzheimer. De los 31 compuestos aislados de las hojas-ramas, tallos y raíz de esta planta, siete tienen reportes sobre actividad inhibitoria contra la enzima de acetilcolinesterasa (AChE): los triterpenos lupeol, betulina, y taraxerol, los esteroles β -sitosterol y estigmasterol, y las isoflavonas formononetina y calicosina.

El lupeol muestra actividad inhibitoria de AChE dependiente de la dosis, con un CI_{50} de 38.31 $\mu\text{g/mL}$ en todas las concentraciones (25,50,100 y 200 μm) e inhibe un 60% a esta enzima.^{105,106,107} Por otra parte, la betulina presenta actividad moderada contra esta misma enzima, con una CI_{50} de 28.5 μM y una inhibición del 68%.¹⁰⁸ Finalmente, el taraxerol inhibe la actividad de AChE de manera dependiente de la dosis, con un CI_{50} de 33.6 $\mu\text{g/mL}$, y también mostro actividad inhibitoria significativa de AChE en hipocampo, a niveles de 20.69 % hasta 30%.^{106,107} Los esteroides β -sitosterol y estigmasterol muestran actividad inhibitoria de AChE, el primero de manera moderada, con un CI_{50} de 63.5 μg y una inhibición del 49.1%;¹⁰⁹ el segundo inhibe a la enzima con un porcentaje de 45 % y un CI_{50} de 63.5 μg .¹¹⁰ Por su parte, formononetina y calicosina inhiben la AChE en 17.2% y 22.76%, respectivamente.^{99-102,111-114}

Algunos de estos compuestos pueden ser buenos agentes terapéuticos para el tratamiento del Alzheimer, o pueden actuar como neuroprotectores (tablas 11 y 12).⁹⁹⁻¹¹⁷ La actividad reportada para estos compuestos contribuyen a explicar el uso de *M. isadelphum* en la medicina tradicional para el tratamiento de la demencia. No existen reportes de actividades relacionadas con el Alzheimer para el resto de los compuestos de *M. isadelphum*.

7. Desarrollo experimental

7.1 Estudio fitoquímico

7.2 Métodos Generales

Para el estudio fitoquímico de cada uno de los extractos totales (hoja, tallo y raíz) se utilizó una metodología tradicional, para la determinación de la composición química de los compuestos volátiles y la obtención de los espectros mediante RMN de los compuestos aquí descritos se utilizó la misma metodología utilizada por Patrón 2017.

7.2.3 Espectroscopía de infrarrojo

Los espectros de infrarrojo se determinaron en un espectrofotómetro Thermo scientific NICOLET 6700 FT-IR, y los datos obtenidos del mismo se expresan en números de onda (cm^{-1}).

7.2.4 Punto de fusión

El punto de fusión fue determinado mediante el aparato Fisher Johns, que consta de una placa de aluminio calentada eléctricamente unida a un termómetro con una escala que generalmente va de 0 a 300 °C.

7.2.5 Polarimetría

Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro Perkin Elmer Inc. 341 solubilizando la muestra en metanol, con radiación de 589 nm (línea D) de una fuente de luz de sodio en celdas de 1 dm de longitud a temperatura ambiente.

7.3 Extracción

Las hojas, raíces y tallos de *Machaerium isadelphum* fueron recolectados en Caracuaro, Michoacán el 20 de julio de 2017, con número de colecta (1614), por el M. en C. Ramiro Ríos Gómez, de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. Un ejemplar de estos se encuentra depositado en el Herbario de la misma Facultad (FEZA).

Cada muestra vegetal se secó a temperatura ambiente bajo condiciones de luz natural en el laboratorio de Química de Productos Naturales y Metabólica (323) del Centro de Investigaciones Químicas. Las hojas junto con las ramas fueron desgrasadas y molidas con ayuda de un molino de mano, mientras que los tallos y raíces fueron finamente cortados con ayuda de unas tijeras de jardín y desgrasados, para la obtención de los extractos correspondientes se colocaron 2.0 kilogramos de hojas, 1.2 kilogramos de raíces y 3.6 kilogramos de tallos, en un garrafón de vidrio de capacidad de 20 litros. Cada parte de la planta se maceró tres veces por 48 horas en acetona tanto para las hojas, raíz y tallos. Una vez cumplido este lapso, el disolvente de extracción se filtró y se concentró a sequedad al vacío con ayuda de un rotaevaporador, lo que condujo a 191.6 g de extracto de crudo de hoja, 108g de raíz y 56.8 g de tallo. Se efectuó una segunda extracción para las tres muestras vegetales con metanol siguiendo el mismo procedimiento, obteniendo 229.3 g de extracto crudo de hoja, 56.8 g de raíz y 108g de tallo.

7.4 fraccionamiento y purificación de los extractos

Cada uno de los extractos correspondiente fue sometido a cromatografía en columna abierta (CC), sobre gel de sílice 60 utilizando solventes de polaridad gradiente como

eluyente, o mediante cromatografía en capa fina (CCF) de acuerdo con los requerimientos de cada un extracto.

La composición de cada una de las fracciones obtenidas fue monitoreada mediante CCF, utilizando cromatoplasas de sílica gel 60F₂₆₄ de base aluminio de 1 mm de espesor, el revelado de las mismas se realizó mediante su observación bajo luz ultravioleta (UV) y posteriormente asperjando con sulfato cérico amoniacal al 1% en ácido sulfúrico 2N y calentándolas.

Cada una de las fracciones obtenidas de cada extracto correspondiente se reunieron en grupos de acuerdo con la similitud en sus componentes de acuerdo con el análisis de CCF y a la proporción de estos. Estos grupos fueron sujetos a sucesivas recromatografías, ya sea utilizando CC o CCF hasta obtener los compuestos puros.

7.5 Análisis químico de los extractos acetónicos de tallos, hojas-ramas y raíz de *M. isadelphum*.

Al finalizar el análisis químico de los extractos acetónicos de tallos, hojas-ramas y raíz de *M. isadelphum* se lograron identificar los siguientes compuestos en cada uno de ellos.

7.5.1 Hojas-ramas

Del estudio químico del extracto acetónico de hoja y ramas se aislaron y obtuvieron compuestos ya conocidos reportados en la literatura, esto se llevó a cabo mediante cromatografía en columna abierta (CC) sucesiva sobre gel de sílice 60F₂₆₄, utilizando un gradiente de hexano-AcOEt como eluyente.

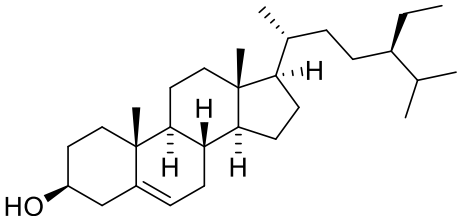
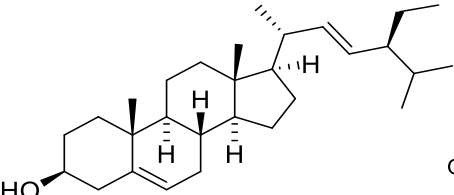
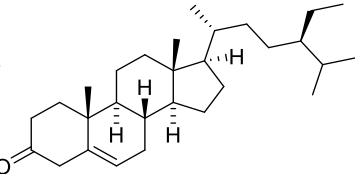
El extracto de acetona (29 g) se sometió a cromatografía de gel de sílice en columna abierta, usando hexano puro, luego un gradiente de hexano-AcOEt, y terminando con AcOEt puro y se obtuvieron 62 fracciones de 200 mL cada una.

La composición de cada fracción se controló mediante cromatografía en capa fina (CCF) y de acuerdo a esto todas las fracciones se agruparon en ocho grupos: **G-1** (fracciones 1-3, 3.7 g, hexano-AcOEt 9:1), **G-2** (fracción 4-14, 2.9 g, hexano-AcOEt 8:2), **G-3** (fracciones 15-22, 2.7 g, hexano-AcOEt 8: 2), **G-4** (fracción 23-26, 1.9 g, hexano-AcOEt 7:

3), **G-5** (fracción 27-33, 2.0 g, hexano-AcOEt 6: 4), **G-6** (fracciones 34 a 43, 2.5 g, hexano-AcOEt 6: 4), **G-7** (fracciones 44 a 55, 1.7 g, hexano-AcOEt 5: 5) y **G-8** (fracciones 56-62, 4.9 g, AcOEt 100%).

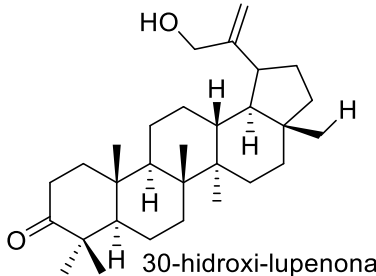
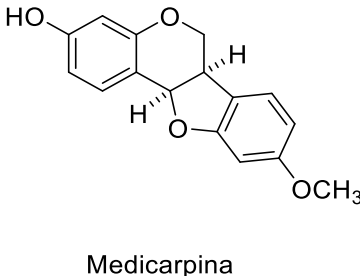
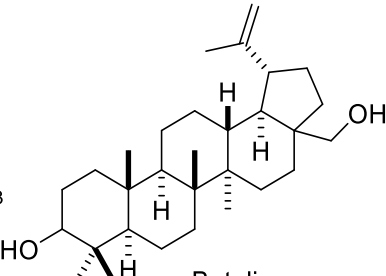
El fraccionamiento de **G-1** se realizó usando gradientes de hexano-AcOEt 10:0 a 9:1 como eluyente, produciendo 98 fracciones de 100 ml cada una, estas fracciones fueron agrupados en dos subgrupos, cuyos compuestos se purificaron mediante CC. De **SG-1A** se utilizaron gradientes de hexano-AcOEt 10:0 a 9:1 y obtuvieron los compuestos β -sitosterol-estigmasterol^{64,65} en mezcla, así mismo se obtuvo el escualeno mientras que **SG-1B** fue eluída con gradientes de hexano-AcOEt 9:1 y se obtuvo sitosterona⁶⁶ (**Tabla 13**).

Tabla 13. Grupo 1, sistema de elusión y compuestos aislados del extracto de diclorometano de hojas y ramas *Machaerium isadelphum*.

G-1 (hexano-AcOEt 10:0 a 9:1, 98 fracciones de 100 ml)		
Subgrupos		
SG-1A (hexano-AcOEt 10: 0 a 9:1)		SG-1B (hexano-AcOEt 9:1)
		
β -sitosterol	Estigmasterol	Sitosterona

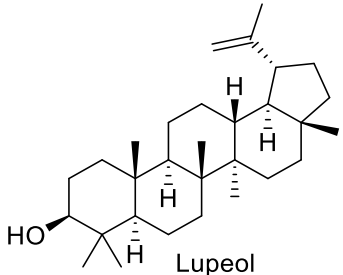
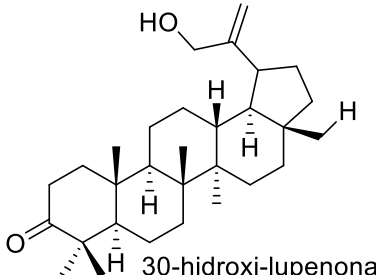
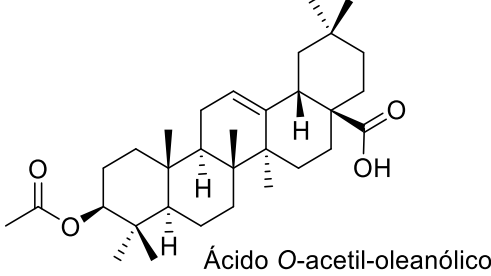
Los constituyentes de **G-2** se purificaron usando gradientes de hexano-AcOEt 9:1 a 75:25 como eluyente, obteniendo 55 fracciones de 100 ml cada una, que se agruparon en tres subgrupos (**SG-2A a SG-2C**). **SG-2A** para la elución se utilizó un sistema de hexano-AcOEt 8:2, se sometió a CCF (hoja de aluminio de 10 x 20 cm x 1 mm, hexano-AcOEt 75:25 como eluyente) y se logró obtener 30-hidroxi-lupenona.⁶² **SG-2B** (hexano-AcOEt 8:2) se obtuvo un sólido amarillo, que, después del lavado y filtrado se identificó como medicarpina.⁵⁷ El último subgrupo **SG-2C** fue eluido con un sistema de hexano-AcOEt 8:2, fracciones y fue sometido a una cromatografía en columna abierta utilizando hexano-acetona, se obtuvieron 25 fracciones, 10 ml cada una y se obtuvo betulina.⁶¹ (**Tabla 14**).

Tabla 14. Grupo 2, sistema de elusión y compuestos aislados del extracto de diclorometano de hojas y ramas *Machaerium isadelphum*.

G-2 (hexano-AcOEt 9:1 a 75:25, 55 fracciones de 100 ml)		
Subgrupos		
SG-2A (hexano-AcOEt 8: 2)	SG-2B (hexano-AcOEt 8: 2)	SG-2C (Hexano-AcOEt 8: 2)
 <p>30-hidroxi-lupenona</p>	 <p>Medicarpina</p>	 <p>Betulina</p>

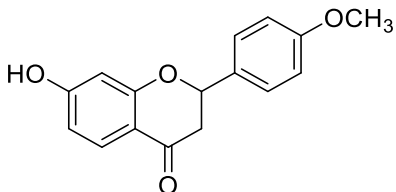
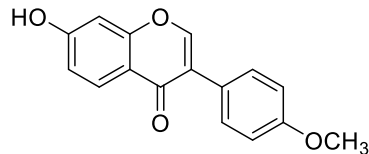
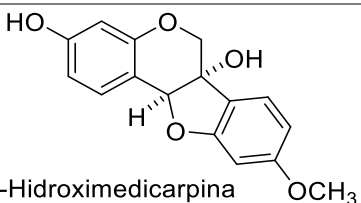
El grupo **G-3** fue tratado usando un gradiente de hexano-AcOEt (75:25 a 1: 1) como eluyente, obteniendo 59 fracciones de 50 ml cada una, que se agruparon en dos subgrupos: para **SG-3A** se utilizó hexano-AcOEt 7: 3 como eluyente y se obtuvieron los siguientes compuestos: lupeol,⁵⁹ 30-hidroxi-lupenona,⁶² en el grupo **SG-3B** fue eluido con un sistema de hexano-AcOEt 7: 3 y se obtuvo ácido *O*- acetil oleanólico⁷⁴ (**Tabla 15**).

Tabla 15. Grupo 3, sistema de elusión y compuestos aislados del extracto de diclorometano de hojas y ramas *Machaerium isadelphum*.

G-3(hexano-AcOEt 75:25 a 1:1, 59 fracciones de 50 ml)	
Subgrupos	
SG-3A (hexano-AcOEt 7: 3)	
 <p>Lupeol</p>	 <p>30-hidroxi-lupenona</p>
SG-3B (hexano-AcOEt 7: 3)	
 <p>Ácido <i>O</i>-acetil-oleanólico</p>	

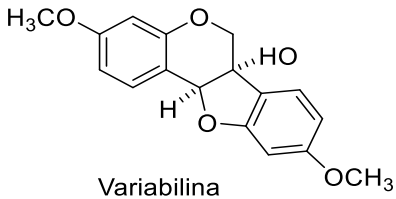
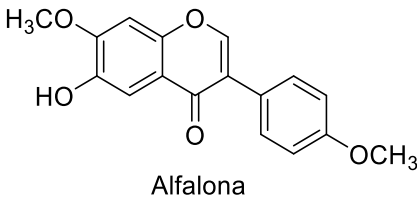
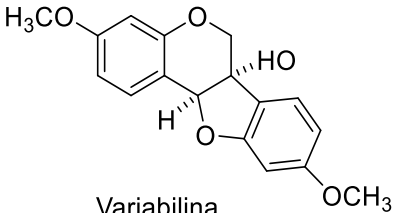
El grupo **G-4** estuvo constituido por dos productos naturales, que fueron obtenidos por CC usando un gradiente de hexano-CH₂Cl₂ (7:3 a 1:1) como eluyente y se obtuvieron 66 fracciones de 50 ml cada una y se obtuvieron liquiritigenina-4'-metil-éter⁵⁶ y formononetina.²³ El grupo **G-5** se sometió a CC utilizando un sistema de gradiente de hexano-acetona 7:3, obteniéndose 38 fracciones de 20 ml cada una este grupo estaba constituido por 6a-hidroximedecarpina⁵⁸(**Tabla 16**).

Tabla 16. Grupo 4 y 5, sistema de elusión y compuestos aislados del extracto de diclorometano de hojas y ramas *Machaerium isadelphum*.

G-4 (hexano-CH₂Cl₂ 7:3 a 1:1, 66 fracciones de 50 ml)	
Compuestos aislados	
 <p>Liquiritigenina-4-metil-éter</p>	 <p>Formononetina</p>
G-5 (hexano-acetona 7:3, 38 fracciones de 20 ml)	
Compuestos aislados	
 <p>6a-Hidroximedecarpina</p>	

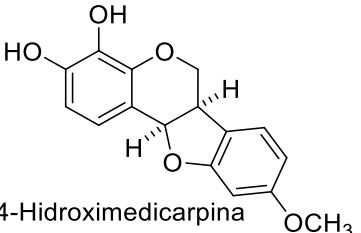
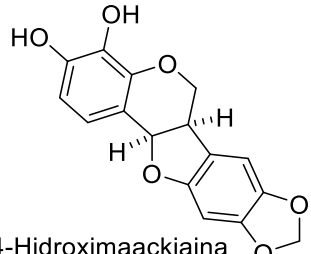
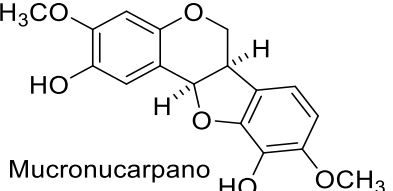
Para el grupo **G-6** se realizó una recromatografía utilizando un sistema de hexano-acetona 6: 4, se obtuvieron 34 fracciones, 50 ml cada uno y se obtuvo el siguiente compuesto conocido como alfalona⁵⁵ y variabilina⁵⁸ y para el grupo **G-7** se utilizó hexano-acetona 1: 1 como eluyente, se obtuvieron 29 fracciones, 20 ml cada una y se obtuvo variabilina⁵⁸ (**Tabla 17**).

Tabla 17. Grupo 6 y 7, sistema de elusión y compuestos aislados del extracto de diclorometano de hojas y ramas *Machaerium isadelphum*

G-6 (hexano-acetona 6:4, 34 fracciones, 50 ml)	
Compuestos aislados	
 <p>Variabilina</p>	 <p>Alfalona</p>
G-7 (hexano-acetona 1:1, 29 fracciones, 20 ml)	
Compuestos aislados	
 <p>Variabilina</p>	

Finalmente, el grupo **G-8** estaba por los siguientes compuestos 4-hidroxi-mediacarpina,⁵⁷ mucronucarpano⁵⁹ y 4-hidroxiacckiaína⁶⁰ (**Tabla 18**).

Tabla 18. Grupo 8, sistema de elusión y compuestos aislados del extracto de diclorometano de hojas y ramas *Machaerium isadelphum*

G-8 compuestos aislados	
 <p>4-Hidroxi-mediacarpina</p>	 <p>4-Hidroxiacckiaína</p>
 <p>Mucronucarpano</p>	

7.5.2 Tallos

Del extracto acetónico de tallos de *M. isadelphum*, donde de acuerdo con el análisis minucioso de cada una de las fracciones de este extracto se lograron identificar los siguientes compuestos: los pterocarpanos variabilina, medicarpina, 4-hidroximedicaipina, 6a-hidroximedicaipina, maackiaina, y pterocarpina; los isoflavonoides; alfalona, calycosina, y (+)-*trans*-4,7,2'-trihidroxi-4'-metoxiisoflavanol; la chalcona chalconaringenina; los triterpenos mirsineno, *O*-ácido acetil oleanólico, lupeol, betulina, y 30-hidroxi-lupenona, taraxerol y β -amirina; los esteroides, β -sitosterol, y estigmasterol y finalmente el ácido 4- *p*-hidroxicinámico, cada uno de estos compuestos es descrito a continuación.

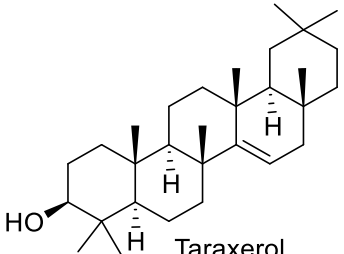
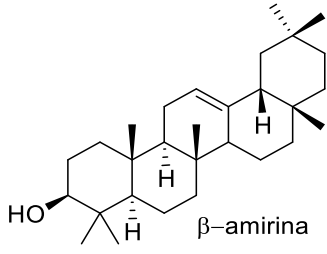
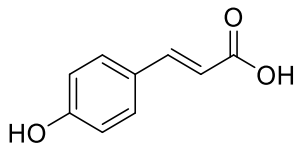
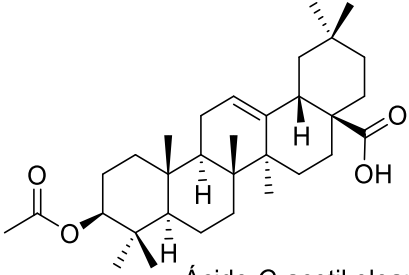
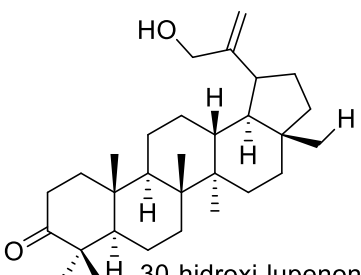
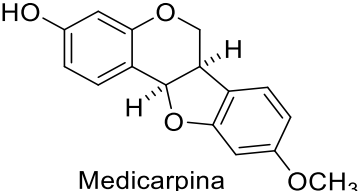
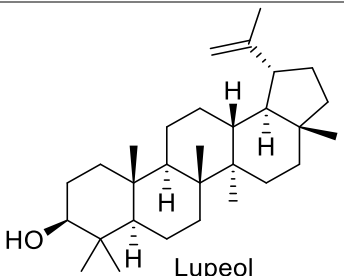
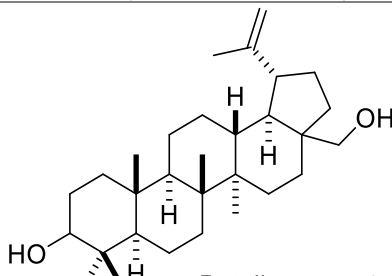
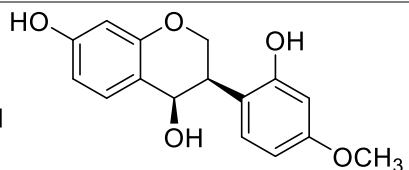
Se realizó una percolación del extracto total crudo obtenido de tallos (50g), utilizando un embudo buchner, con un sistema de gradiente hexano- AcOEt como eluyente, obteniendo 42 fracciones de 500 mL cada una. La composición de cada fracción se controló mediante cromatografía en capa fina (CCF).

Según la CCF, las fracciones se agruparon en cinco grupos: **G-1** (fracciones 1-8, 8 g, hexano-AcOEt 10: 0 a 9: 1), **G-2** (fracción 9-14, 9,4 g, hexano- AcOEt 9: 1), **G-3** (fracciones 15-26, 4.0 g, hexano-AcOEt 9: 1), **G-4** (fracción 27-32, 3.4 g, hexano-AcOEt 8: 2 a 7: 3) y **G-5** (fracción 33-42, 9,1 g, hexano-AcOEt 1: 1 a 0:10).

Los constituyentes de estos grupos se aislaron mediante sucesivas cromatografías en columna abierta (CC) sobre gel de sílice 60 utilizando un gradiente de hexano-AcOEt como eluyente o mediante CCF.

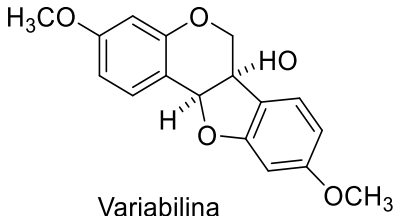
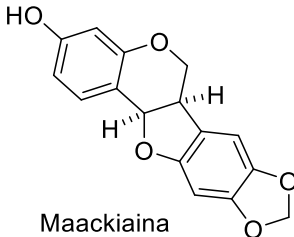
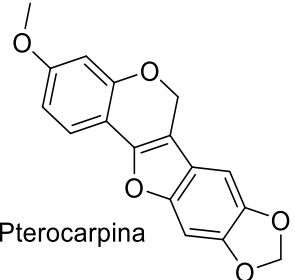
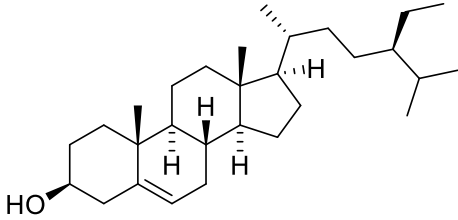
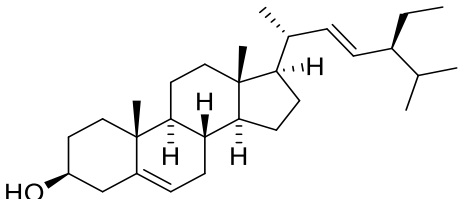
Los productos naturales del grupo **G-1** se purificaron mediante CC usando gradientes de polaridad de hexano-AcOEt 10: 0 a 9: 1 como eluyente, produciendo 39 fracciones de 100 ml cada una, que se agruparon en tres subgrupos: **SG-1A** (eluída con hexano-AcOEt 10 : 0 a 9: 1) produjo taraxerol,⁷² β -amirina,⁷³ ácido 4- *p*-hidroxicinámico,⁷⁶ *O*-ácido acetil oleanólico⁷⁴ y 30-hidroxi-lupenona;⁶² **SG-1B** (hexano-AcOEt 9:1) produjo medicarpina;⁵⁷ y **SG-1C** (hexano-AcOEt 9:1) de este grupo se obtuvo lupeol,⁵⁹ betulina⁶¹ y (+) – *trans*-4,7,2'-trihidroxi-4'-metoxiisoflavanol⁵⁸ (**Tabla 19**).

Tabla 19. Grupo 1, sistema de elusión y compuestos aislados del extracto de diclorometano de tallos *Machaerium isadelphum*.

G-1 (hexano-AcOEt 10:0 a 9:1)		
Subgrupos		
SG-1A (hexano-AcOEt 10:0 a 9:1)		
 <p>Taraxerol</p>	 <p>β-amirina</p>	 <p>Ácido 4- <i>p</i>-hidroxicinámico</p>
 <p>Ácido O-acetil oleanólico</p>	 <p>30-hidroxi-lupenona</p>	
SG-1B (hexano-AcOEt 9:1)		
 <p>Medicarpina</p>		
SG-1C (hexano-AcOEt 9:1)		
 <p>Lupeol</p>	 <p>Betulina</p>	 <p>(+) - trans-4,7,2'-trihidroxi-4'-metoxiisoflavanol</p>

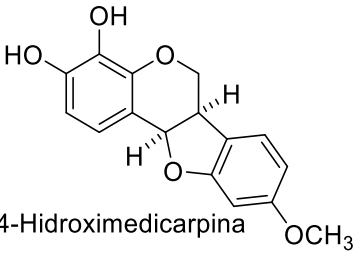
El grupo **G-2** produjo un sólido de color amarillo claro identificado como variabilina.⁵⁸ El fraccionamiento del residuo obtenido después de filtrarlo se sometió a un proceso de cromatografía utilizando un sistema de hexano-AcOEt 9:1 como eluyente, obteniendo así los siguientes compuestos; maackiaina,⁵⁸ pterocarpina,⁵⁸ variabilina,⁵⁸ β -sitosterol,⁶⁴ y estigmasterol⁶⁵(**Tabla 20**).

Tabla 20. Grupo 2, sistema de elusión y compuestos aislados del extracto de diclorometano de tallos *Machaerium isadelphum*

G-2 (hexano-AcOEt 9:1)		
Compuestos obtenidos		
 <p>Variabilina</p>	 <p>Maackiaina</p>	 <p>Pterocarpina</p>
 <p>β-sitosterol</p>	 <p>Stigmasterol</p>	

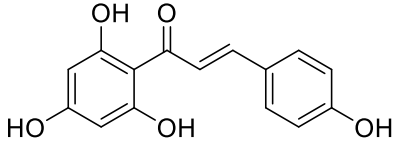
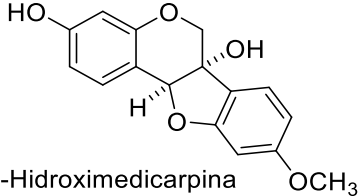
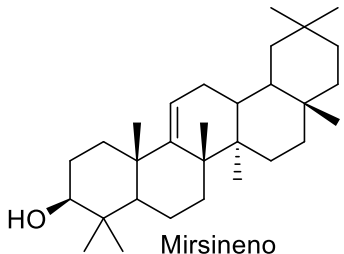
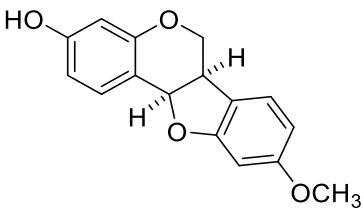
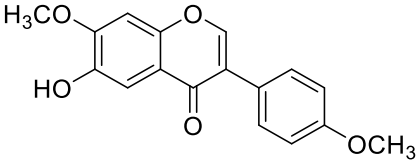
El grupo **G-3** estaba constituido por 4-hidroxicarpina⁶⁸ y se purificó usando hexano-AcOEt 9:1 (**Tabla 21**).

Tabla 21. Grupo 3, sistema de elusión y compuestos aislados del extracto de diclorometano de tallos *Machaerium isadelphum*.

G-3 (hexano-AcOEt 9:1)
 <p>4-Hidroxicarpina</p>

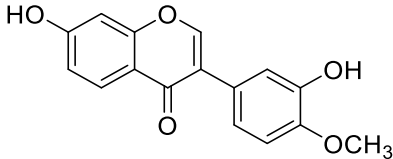
Los constituyentes del grupo **G-4** se purificaron usando un gradiente de hexano-AcOEt 8:2 a 7:3 como eluyente, produciendo 68 fracciones de 100 ml cada una, que se agruparon en dos subgrupos. **SG-4A** (hexano-AcOEt 8:2) en este grupo se obtuvo chalconaringenina⁶⁹ y mirsineno⁷⁵ y **SG-4B** (hexano-AcOEt 8:2 a 7:3) produjeron 6a-hidroxicarpina³⁶ y alfalona²⁰ (**Tabla 22**).

Tabla 22. Grupo 4, sistema de elusión y compuestos aislados del extracto de diclorometano de tallos *Machaerium isadelphum*.

G-4 (hexano-AcOEt 8:2 a 7:3)	
SG-4A (hexano-AcOEt 8:2)	SG-4B (Hexano-AcOEt 8:2 a 7:3)
 <p>Chalconaringenina</p>	 <p>6a-Hidroximedicarpina</p>
 <p>Mirsineno</p>	 <p>Medicarpina</p>
 <p>Alfalona</p>	

Finalmente, del **G-5** grupo se obtuvo el compuesto conocido como calicosina,⁷¹ su purificación se llevó a cabo usando hexano-AcOEt 1:1 (**Tabla 23**).

Tabla 23. Grupo 5, sistema de elusión y compuestos aislados del extracto de diclorometano de tallos *Machaerium isadelphum*.

G-5 (hexano-AcOEt 1:1)
 <p>Calicosina</p>

7.5.3 Raíz

Del análisis del extracto acetónico de raíz se obtuvieron seis compuestos cuatro de tipo estilbeno unido a un monoterpeno (machaeriol A, machaeridiol A, machaeriol E y amorfastilbol) y dos de tipo chalcona (isadelfona A y isadelfona B), de los cuales cuatro de estos son aislados por primera vez en este trabajo de investigación y son considerados como compuestos novedosos. Cada uno de los compuestos obtenidos se describen a continuación.

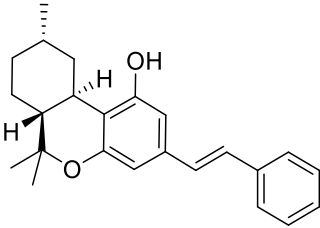
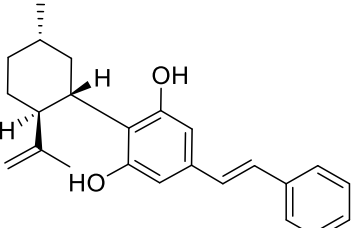
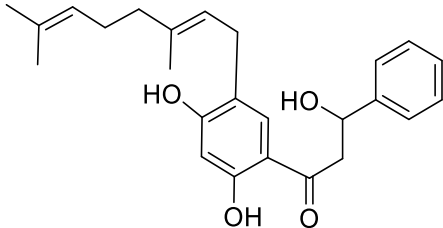
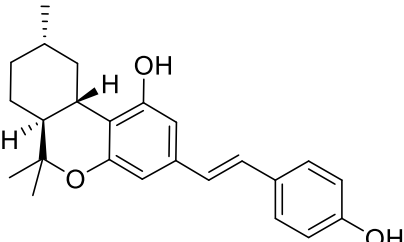
Referente a lo anterior se realizó una percolación del extracto acetónico de raíz de *M. isadelphum*, se colocaron 86g en embudo buchner, se obtuvieron cuarenta y cinco fracciones de 500 ml cada una. Estos fueron eluidos utilizando gradientes de hexano-acetona y de acuerdo con el seguimiento de cada una de estas a través de la CCF se reunieron en seis grupos acorde con la similitud en sus componentes, mismas que fueron sujetas a recromatografías sucesivas, ya sea en columna abierta (CC) sobre gel de sílice 60 utilizando un gradiente de hexano-AcOEt o hexano-acetona como eluyente, según las necesidades de cada grupo, hasta obtener los compuestos puros.

Acorde con lo observado en CCF, el total de las fracciones fueron reunidas en cinco grupos: **G-1** (fracciones 1-7, 16 g, hexano-acetona 8:2), **G-2** (fracción 8-11, 1,3 g, hexano-acetona 8:2), **G-3** (fracciones 12-18, 2,0 g, hexano-acetona 7:3), **G-4** (fracción 19-23, 1,7 g, hexano-acetona 6:4), **G-5** (fracción 24-33, 5,0 g, hexano-acetona 5:5), **G-6** (fracciones 34-40, 8,0 g, acetona 100%) y **G-7** (fracciones 41-45, 10 g, MeOH 100%). Los constituyentes de estos grupos se aislaron mediante sucesivas cromatografías.

Para el fraccionamiento de **G-1**, se utilizó un gradiente de hexano-AcOEt 95:5 a 9:1 como eluyente, produciendo 69 fracciones de 50 ml cada una, los compuestos se purificaron lavando y filtrando con hexano al 100% las fracciones 6-7 y se obtuvo un sólido cristalino blanco identificado como machaeriol A. De las fracciones 8-15 se obtuvo un sólido blanco identificado como machaeridiol A, mientras que la fracción 17-23 produjeron un compuesto sólido amarillo novedoso que fue nombrado como isadelfona A. Las fracciones 47-55 se volvieron a recromatografiar utilizando una columna abierta de 3 cm de diámetro, colocando 700 mg el cual fue fraccionado con un sistema de gradiente de hexano-acetona 9:1 a 8:2, se

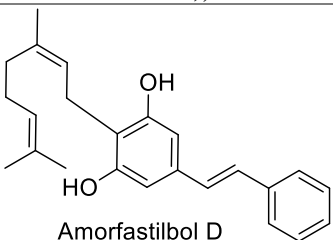
obtuvieron 66 fracciones, 20 ml cada una, y se obtuvo un compuesto novedoso que fue nombrado como machaeriol E (**Tabla 24**).

Tabla 24. Grupo 1, sistema de elusión, fracciones y compuestos aislados del extracto de acetona de raíz *Machaerium isadelphum*.

G-1 (hexano-AcOEt 95:5 a 9:1), 69 fracciones de 50 ml		
Lavado y filtrado de fracciones		
Fracciones 6-7	Fracciones 8-15	Fracciones 17-23
 <p>Machaeriol A</p>	 <p>Machaeridiol A</p>	 <p>Isadelfona A</p>
Recromatografía (47-55, hexano-acetona 9:1 a 8:2), 66 fracciones de 20 ml		
 <p>Machaeriol E</p>		

Los constituyentes del grupo **G-2** se purificaron utilizando un gradiente de hexano-acetona 9:1 a 5:5, obteniendo 86 fracciones de 100 ml cada una, esta reunión estaba constituida por amorfastilbol (**Tabla 25**).

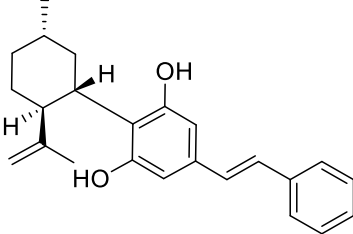
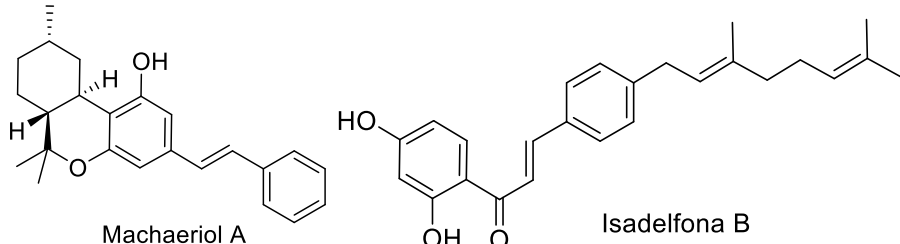
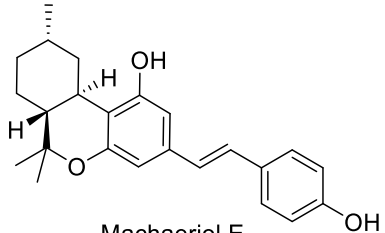
Tabla 25. Grupo 2, sistema de elusión, fracciones y compuestos aislados del extracto de acetona de raíz *Machaerium isadelphum*.

G-2 (hexano-acetona 9:1 a 5:5), 86 fracciones de 100 ml
 <p>Amorfastilbol D</p>

Los constituyentes del grupo **G-3** se purificaron usando un gradiente hexano-acetona 9:1 a 5:5, se obtuvieron 86 fracciones de 50 ml cada una, y se obtuvo machaeridiol

A. mientras que para el grupo **G-4** se utilizó con un sistema de gradiente hexano:acetona 9:1 a 6:4, obteniéndose 118 fracciones de 50 ml cada una, y se obtuvo machaeriol A e isadelfona B, y finalmente, para el grupo **G-5** se utilizó hexano:acetona 8:2 a 7:3 y estuvo constituido por machaeriol E (**Tabla 26**).

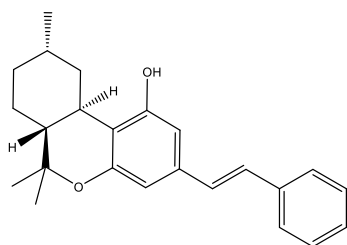
Tabla 26. Grupos 3-5, sistema de elusión y compuestos aislados del extracto de acetona de raíz *Machaerium isadelphum*.

Compuestos aislados de Grupos 3-5	
Subgrupos	
G-3 (hexano:acetona 9:1 a 5:5)	
 <p>Machaeridiol A</p>	
G-4 (hexano:acetona 9:1 a 6:4)	
 <p>Machaeriol A Isadelfona B</p>	
G-5 (hexano:acetona 8:2 a 7:3)	
 <p>Machaeriol E</p>	

Finalmente, el grupo **G-6** era una resina insoluble por lo que ya no se realizó el análisis químico para esta reunión. A continuación, se enlistan los datos espectroscópicos de RMN de ^1H y ^{13}C de los compuestos de interés de *M. isadelphum*.

8. Datos espectroscópicos

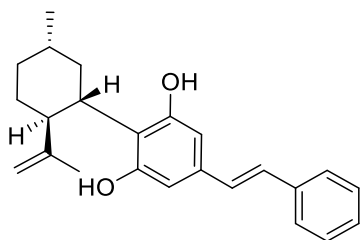
8.1 Machaeriol A



RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (integración, multiplicidad, J , asignación): 7.42 (2H, br, $J = 8.2, 1.5$ Hz, H-10', H-14'), 7.31 (2H, dd, $J = 8.2, 7.3$ Hz, H-11', H-13'), 7.22 (1H, ddd, $J = 7.3, 7.3, 1.5$ Hz, H-12'), 6.95 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'), 6.87 (1H, d, 16.0 Hz, H-8'), 6.60 (1H, d, 1.7 Hz, H-5'), 6.38 (1H, d, $J = 1.7$, H-3'), 3.10 (1H, d, $J = 12.8$, H-2a), 2.49 (1H, ddd, $J = 12.0, 11.0, 2.6$ Hz, H-3), 1.85 (1H, m, H-5a), 1.83 (1H, m, H-6a), 1.64 (1H, m, H-1), 1.47 (1H, ddd, $J = 11.2, 11.0, 2.0$ Hz, H-4), 1.39 (3H, s, H-9), 1.10 (1H, m, H-6b), 1.10 (1H, m, H-5b), 1.08 (3H, s, H-10), 0.94 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-7), 0.78 (1H, dd, $J = 12.8, 12.0$ Hz, H-2).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidad, asignación): δ 155.5 (C, C-2'), 155.2 (C, C-6'), 137.4 (C, C-9'), 136.9 (C, C-4'), 128.7 (CH, C-11', C-13'), 128.6 (CH, C-7'), 128.2 (CH, C-8'), 127.6 (CH, C-12'), 126.6 (CH, C-10', C-14'), 113.2 (C, C-1'), 108.7 (CH, C-5'), 105.8 (CH, C-3'), 77.5 (C, C-8), 49.2 (CH, C-4), 39.0 (CH_2 , C-2), 35.8 (CH, C-3), 35.6 (CH_2 , C-6), 33.0 (CH, C-1), 28.2 (CH_2 , C-5), 27.8 (CH_3 , C-10), 22.7 (CH_3 , C-7), 19.2 (CH_3 , C-9).

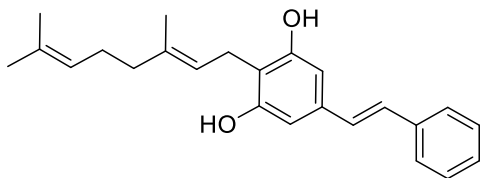
8.2 Machaeridiol A



RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (integración, multiplicidad, J, asignación): 7.44 (2H, dd, *J* = 8.2, 1.5 Hz, H-10', H-14'), 7.33 (2H, dd, *J* = 8.2, 7.3 Hz, H-11', H-13'), 7.24 (1H, ddd, *J* = 8.2, 7.3, 1.5 Hz, H-12'), 6.96 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-7'), 6.87 (1H, d, 16.0 Hz, H-8'), 6.46 (1H, d, 1.7 Hz, H-5'), 6.42 (1H, d, *J* = 1.7, H-3'), 4.68, 4.51 (2H, dq, *J* = 2.6, 1.6, H-10), 3.16 (1H, ddd, *J* = 12.0, 11.4, 5.3 Hz, H-3), 2.90 (1H, ddd, *J* = 11.8, 11.4, 2.8 Hz, H-4), 1.77 (1H, m, H-5a), 1.70 (2H, m, H-2), 1.68 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-6a), 1.62 (1H, m, H-1), 1.60 (3H, s, H-9), 1.47 (1H, ddd, *J* = 12.6, 12.6, 3.4 Hz, H-5b), 1.12 (1H, m, H-6b), 0.92 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-7).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidad, asignación): δ 155.5 (C, C-2'), 154.2 (C, C-6'), 150.2 (C, C-8), 137.4 (C, C-9'), 136.3 (C, C-4'), 128.8 (CH, C-11', C-13'), 128.6 (CH, C-7'), 128.2 (CH, C-8'), 127.6 (CH, C-12'), 126.6 (CH, C-10', C-14'), 118.1 (C, C-1'), 109.6 (CH₂-C-10), 107.6 (CH, C-5'), 106.6 (CH, C-3'), 47.7 (CH, C-4), 39.3 (CH₂, C-2), 38.9 (CH, C-3), 35.3 (CH₂, C-6), 33.4 (CH, C-1), 33.2 (CH₂, C-5), 22.6 (CH₃, C-7), 19.7 (CH₃, C-9).

8.3 Amorfastilbol

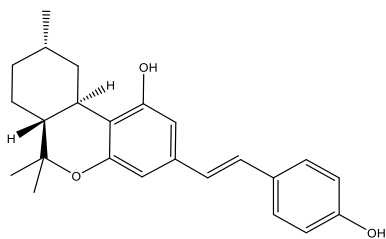


Aceite de color amarillo pálido; rf 0,5 [hexano-acetona (8: 2)].

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (integración, multiplicidad, J, asignación): 7.44 (2H, brd, $J=8.2,1.5$ Hz, H-4',H-8'), 7.32 (2H, dd, $J=7.7,7.3$ Hz,H-5', H-7'), 7.23 (1H, ddd, $J=8.2,7.3,1.5$ Hz, H-6'), 6.97 (1H, d, $J=16.3$ Hz, H-1'), 6.91 (1H, d, $J=16.3$ Hz,H-2'), 6.58 (1H, s, H-4), 6.58 (1H, s,H-2), 5.23 (1H, ddq, $J=7.0,7.0,1.2$ Hz,H-10), 5.06 (1H, m,H-6a), 4.94 (1H, br s, H-1-OH), 4.91 (1H, br s,H-4a-OH), 3.43 (2H, d, $J=7.0$ Hz,H-10a), 2.10 (2H, m, H-7) 2.06 (1H, m,H-8 β), 1.69 (1H, m, H-8 α), 1.81 (3H, d, $J=1.1$ Hz, H-9 CH₃), 1.67 (3H, s, H-6 α CH₃), 1.60 (3H, s,H-9 CH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidad, asignación): δ 155.3 (C, C-1), 154.3 (C, C-4a), 139.6 (C, C-9), 137.4 (C, C-3'), 132.3 (C, C-6) , 131.2 (C, C-3), 128.8 (CH,C5', C-7')128.7 (CH, ,C-1'),128.2 (CH, C-2'), 127.8 (CH, C-6'), 126.7 (CH, C-4', C-8'), 123.8 (CH, H-10) 121.4 (CH, C-6a), 113.5 (C,C-10b), 106.7 (CH, C-2,C-4), 39.8 (CH₂,C-8), 26.5 (CH₂, C-7), 25.8 (CH₃,C-6 β)22.8 (CH₂, C-10a), 17.8 (CH₃, C-6 α), 16.4 (CH₃, C-9).

8.4 Machaeriol E

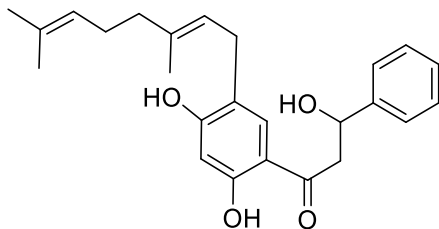


Sólido amorfo; rf 05[hexano-acetona (9:1)]; $[\alpha]_D^{25} +89.6$ (c 0.4, MeOH); **IR** (CHCl_3) V_{max} 3370 (ancho), 2943, 2922, 2865, 1606, 1569, 1513, 1447, 1422, 1354, 1248, 1222, 1185, 1168, 1136, 1115, 1086, 1056, 1039, 1019, 960, 905, 863, 833, 805 cm^{-1} .

RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3) δ (integración, multiplicidad, J, asignación): 7.33 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-4', H-8'), 6.92 (1H, d, $J = 16.3$ Hz, H-2'), 6.80 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5', H-7'), 6.75 (1H, d, $J = 16.2$ Hz, H-1'), 6.55 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-4), 6.38 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2), 3.05 (1H, br d, $J = 13.0$ Hz, H-10 α), 2.48 (1H, ddd, $J = 11.7, 11.0, 2.6$, H-10a), 1.86 (1H, m, H-7 β), 1.83 (1H, m, H-8 α), 1.63 (1H, m, H-9), 1.47 (1H, ddd, $J = 11.4, 11.0, 2.8$ Hz, H-6a), 1.38 (3H, s, H-6BCH $_3$), 1.15 (1H, m, H-7 α), 1.10 (1H, m, H-8 β), 1.08 (3H, s, H-6 α CH $_3$), 0.95 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-9 CH $_3$).

RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidad, asignación): δ 155.5 (C, C-1), 155.4 (C, C-4a), 155.3 (C, C-6'), 137.3 (C, C-3), 130.4 (C, C-3'), 128.1 (CH, C-2'), 128.0 (CH, C-4', C-8'), 126.1 (CH, C-1'), 115.7 (CH, C-5', C-7'), 112.7 (C, C-10b), 108.3 (CH, C-4), 105.6 (CH, C-2), 77.5 (C, C-6), 49.2 (CH, C-6a), 39.0 (CH $_2$, C-10), 35.8 (CH $_2$, C-10a), 35.6 (CH $_2$, C-8), 33.0 (CH, C-9), 27.9 (CH $_3$, C-6 β), 27.8 (CH $_2$, C-7), 22.7 (CH $_3$, C-9), 19.2 (CH $_3$, C-6 α).

8.5 Isadelfona A

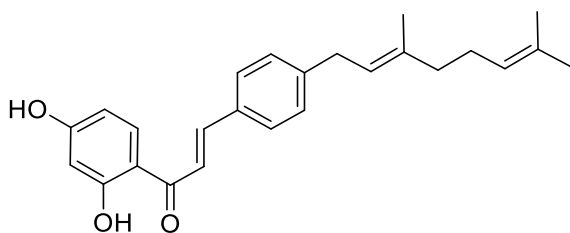


Cristales amarillos; p.f.110-113 °C, rf 0,45 [hexano-acetona (8: 2)]; $[\alpha]_D^{25}$ -23.6 (c 0.5, MeOH); **IR** (CHCl₃) ν_{\max} 2915, 1653, 1578, 1499, 1455, 1313, 1278, 1256, 1216, 1164, 1081, 993 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (integración, multiplicidad, J, asignación): 7.70 (1H, s, H-9), 7.45 (2H,m, H-2',H-6'),7.42 (2H,m ,H-3',H-5'), 7.39 (1H,m,H-4'), 6.48 (1H, s, H-6), 5.44 (1H, dd, J =13.1,2.8 Hz, H-2), 5.30 (1H, ddq, J =7.3, 7.3, 1.2 Hz,H-2'')5.08 (1H, tq, J =6.9, 6.9, 1.4Hz, H-6''), 3.34 (2H, d, J =7.3Hz, H-1'') 3.03 (1H, dd, J =17.0, 2.8Hz, H-3) 2.82 (1H, dd, J =17.0,13.2Hz, H-3), 2.10 (2H, m,H-5''), 1.76 3H, d, J =1.2 Hz,H-10''), 1.68 (3H, d, J =1.4Hz,H-8'') 1.61 (3H, d, J =1.4 Hz,H-9'').

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidad, asignación): δ 191.3 (C,C-4), 162.3 (C, C-9), 162.3. (C, C-7),139.0 (C, C-1'), 132.3(C, C-7''), 129.0 (CH, C-3',5'), 128.9. (CH, C-4'), 128.6 (CH, C-5), 126.3 (CH, C-6', C-2'),123.9 (CH, C-6''), 122.2. (C, C-2), 121.3.(CH, C-2''), 114.8 (C, C-10), 103.9 (CH, C-8),80.0 (CH-C-2), 44.5 (CH₂, C-3), 39.9 (CH₂, C-4'), 29.2. (CH₂, C-1''), 26.5 (CH₂, C-5''), 25.8 (CH₃, C-8''), 17.9. (CH₃, C-9''), 16.4 (CH₃, C-10'').

8.6 Isadelfona B

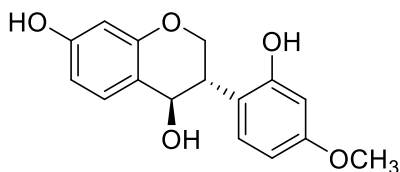


Aceite de color ámbar pálido; rf 0,4 [hexano-acetona (7: 3)]; $[\alpha]_D^{25} +17.8$ (c 0.4, MeOH) **IR** (CHCl_3) V_{max} 2920, 1699, 1604, 1512, 1447, 1361, 1282, 1253, 1227, 1133, 1168, 1029, 970 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (integración, multiplicidad, J, asignación): 8.12 (1H, d, $J=15.5$ Hz, H-2) 7.74 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-9), 7.34 (1H, d, $J=15.5$ Hz, H-3) 7.22 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2', H-6'), 6.77 (2H, d $J=8.5$ Hz, H-3' H-5'), 6.41 (1H, brd, H-6), 6.39 (1H, dd, $J=8.7, 2.2$ Hz, H-8), 5.15 (1H, t, $J=6.7$ Hz, H-2''), 5.01 (1H, tq, $J=6.6, 1.2$ Hz, H-6''), 2.09 (1H, m, H-4'), 2.06 (1H, m, H-5''), 1.81 (3H, s, H-10''), 1.62 (3H, s, H-8''), 1.55 (3H, s, H-9'').

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidad, asignación): δ 192.2 (C, C-4) 166.3 (C, C-5), 163.5. (C, C-7), 146.6 (CH, C-4'), 142.9 (CH, C-2), 138.5 (C, C-3''), 132.1 (CH, C-9), 132.2 (C, C-7''), 126.7 (C, C-1'), 124.0. (CH, C-6''), 121.6 (CH, C-2'') 120.3 (CH, C-6', C-2'), 114.3. (C, C-10), 113.4 (CH, C-3', C5'), 108.3 (CH, C-8) 103.8 (CH, C-6), 39.74 (CH_2 , C-4''), 26.50 (CH_2 , C-5''), 25.8. (CH_3 , C-8''), 25.6 (CH, C-1''), 17.8 (CH_3 , C-9''), 16.5 (CH_3 , C-10'').

8.7 (+) - *trans*-4,7,2'-trihidroxi-4'-metoxiisoflavanol



Aceite de color ámbar pálido; rf 0,3 [hexano-cetona (8: 2)]; $[\alpha]_D^{25} + 217^\circ$ (*c* 0.1, MeOH); **IR** (CHCl_3) ν_{max} 3372, 1618, 1596, 1495, 1471, 1446, 1258, 1190, 1143, 1112, 1082, 1025, 946 cm^{-1} .

RMN ^1H (700 MHz, CDCl_3) δ (integración, multiplicidad, *J*, asignación): 7.37 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5), 7.13 (1H, d, *J* = 9.1 Hz, H-6'), 6.54 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.5 Hz, H-6), 6.46 (1H, dd, *J* = 9.1, 2.1, H-5') 6.45 (1H, d, *J* = 2.1, H-3'), 6.41 (1H, d, *J* β = 2.5 Hz, H-8), 5.50 (1H, d, *J* = 6.8 Hz, H-4), 4.23 (1H, dd, *J* = 11.1, 5.1 Hz, H-2 β), 3.63 (1H, dd, *J* = 11.1, 11.1 Hz, H-2 α), 3.76 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.53 (1H, ddd, *J* = 11.2, 6.8, 5.1 Hz, H-3).

RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidad, asignación): 161.2 (C, C-4') 160.8 (C, C-2') 157.3 (C, C-7), 156.8 (C, C-9), 132.4 (CH, C-5), 125.0 (CH, C-6'), 119.4 (C, C-1'), 112.7 (C, C-10), 110.0 (CH, C-6), 106.7 (CH, C-5'), 103.9 (CH, C-8), 97.1 (CH, C-3'), 78.8 (CH, C-4), 66.7 (CH₂, C-2), 55.7 (CH₃, 4'-OCH₃), 39.7 (CH, C-3).

9. Conclusiones

- ✚ De acuerdo con el análisis por CG-EM, los extractos metanólicos de hojas-ramas, tallos y raíces de *Machaerium isadelphum* están constituidos por azúcares (metabolitos primarios) como compuestos mayoritarios.
- ✚ Este es el segundo estudio químico de los tallos y el primero de las hojas-ramas y las raíces de *M. isadelphum*. Como resultado de su análisis diecinueve compuestos se aíslan por primera vez dentro del género.
- ✚ El análisis químico de hojas-ramas, tallos y raíces permitió el aislamiento y caracterización de dieciséis, veinte, y seis metabolitos secundarios, respectivamente.
- ✚ Las hojas-ramas y tallos de *M. isadelphum* comparten once metabolitos secundarios y contienen compuestos que pertenecen al menos a siete grupos diferentes de estructuras químicas.
- ✚ El contenido químico de las raíces es completamente diferente al de hojas-ramas y tallos, pues contienen machaerioles e isadelfonas no aisladas en las otras partes de la planta. Por su parte, las raíces no contienen ningún metabolito secundario encontrado en hojas-ramas y tallos.
- ✚ Machaeriol E, isadelfona A e isadelfona B son compuestos encontrados por primera vez en una fuente natural y sus datos espectroscópicos se describen por primera vez.

- ✚ Los pterocarpanos, triterpenos, isoflavonas, monoterpen-estilbenos (machaeriales), y geranil-chalconas (isadelfonas) pueden considerarse marcadores quimiofenéticos (componentes que caracterizan) de *M. isadelphum* y en general del género *Machaerium*.
- ✚ Este estudio proporciona nueva información química de las hojas-ramas, tallos y raíz de *M. isadelphum*, contribuyendo al conocimiento de esta especie e integrando los resultados de su estudio químico a la comprensión de este género.
- ✚ Los resultados obtenidos de este estudio validan la hipótesis planteada para este proyecto de investigación pues de *M. isadelphum* fue posible aislar e identificar pterocarpanos, flavanonas, isoflavonoides, geranil-chalconas, monoterpen-estilbenos, triterpenos y esteroides, y este contenido químico es completamente concordante con el reportado para otras especies de este género.
- ✚ Con excepción de las geranil-chalconas y los monoterpen-estilbenos, uno o varios de los compuestos para cada grupo han demostrado actividad citotóxica, anticancerígena o anticolinesterásica, justificando el uso popular de esta planta en la medicina tradicional del estado de Michoacán.

10. Perspectivas

- ❖ Determinar la actividad citotóxica y anticolinesterásica de los compuestos aislados, estableciendo su blanco terapéutico y su mecanismo de acción.
- ❖ Llevar a cabo estudios de Modelado Molecular, Docking y Dinámica Molecular de los compuestos activos.
- ❖ Evaluar *in vivo* los compuestos que resulten activos.
- ❖ Relacionar la actividad demostrada para estos compuestos con su potencial uso en el tratamiento de cáncer y Alzheimer.
- ❖ Realizar estudios metabolómicos de las tres partes de la planta.

11. Referencias bibliográficas

1. <https://www.biodiversidad.gob.mx/pais/capitalNatMex>. 10-septiembre-2021.
2. <https://www.amlcc.org/el-cáncer-en-mexico-y-el-mundo/>.10-septiembre-2021.
3. Prevención y diagnóstico oportuno en cáncer 2016, https://www.smeo.org.mx/descargables/COPREDOC_GUIA.pdf.
4. <https://www.infocáncer.org.mx/?c=conocer-el-cáncer&a=estadisticas-mundiales-y-locales10-septiembre-2021>.
5. Pradas González, M. (2019). Evolución de los inhibidores de la acetilcolinesterasa en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer: fármacos multiana, nueva estrategia terapéutica [Tesis de licenciatura, universidad ,Universidad Complutense de Madrid]. <https://eprints.ucm.es/id/eprint/50351/>.
6. Miller, K. D., Siegel, R. L., Lin, C. C., Mariotto, A. B., Kramer, J. L., Rowland, J. H., Jemal, A. (2016). Cáncer treatment and survivorship statistics. *Cáncer J. Clin* 66(4), 271-289.
7. Rooseboom, M., Commandeur, J. N., & Vermeulen, N. P. (2004). Enzyme-catalyzed activation of anticáncer prodrugs. *Pharmacol. Rev.*, 56(1), 53-102.
8. Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2016). Cáncer statistics, 2016. CA: *CA Cáncer J. Clin* 66, 7-30.
9. Islami, F., Goding Sauer, A., Miller, K. D., Siegel, R. L., Fedewa, S. A., Jacobs, E. J., Flanders, W. D. (2018). Proportion and number of cáncer cases and deaths attributable to potentially modifiable risk factors in the United States. CA: *Cáncer J. Clin*, 68, 31-54.
10. Loeb, L. A., Loeb, K. R., & Anderson, J. P. (2003). Multiple mutations and cáncer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 100(3), 776-781.
11. Yadav, V. K., Kumar, A., Mann, A., Aggarwal, S., Kumar, M., Roy, S. D., Chowdhury, S. (2013). Engineered reversal of drug resistance in cáncer cells—metastases suppressor factors as change agents. *Nucleic Acids Res*, 42(2), 764-773.
12. Gutiérrez-Robledo, L. M., & Arrieta-Cruz, I. (2015). Demencias en México: la necesidad de un Plan de Acción. *Gac Med Mex*, 151(5), 667-673.
13. Calabrò, M., Rinaldi, C., Santoro, G., & Crisafulli, C. (2021). The biological pathways of Alzheimer disease: A review. *AIMS Neurosci.*, 8(1), 86.
14. Andrieu, S., Coley, N., Lovestone, S., Aisen, P. S., & Vellas, B. (2015). Prevention of sporadic Alzheimer's disease: lessons learned from clinical trials and future directions. *Lancet Neurol*, 14(9), 926-944.
15. <https://www.alzint.org/what-we-do/research/world-alzheimer-report/10-septiembre-2021>.
16. Birks, J. S., & Evans, J. G. (2015). Rivastigmine for Alzheimer's disease. Cochrane Database of systematic reviews, (4).

17. Zhan, Z. J., Bian, H. L., Wang, J. W., & Shan, W. G. (2010). Synthesis of physostigmine analogues and evaluation of their anticholinesterase activities. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* 20(5), 1532-1534.
18. Brunton, L. L. (2010). Goodman & Gilman: manual de farmacologia e terapêutica. In *Goodman & Gilman: manual de farmacologia e terapêutica* (pp. 1220-1220).
19. Nair, J. J., Aremu, A. O., & van Staden, J. (2011). Isolation of narciprimine from *Cyrtanthus contractus* (Amaryllidaceae) and evaluation of its acetylcholinesterase inhibitory activity. *J Ethnopharmacol*, 137(3), 1102-1106.
20. Olin, J. T., & Schneider, L. (2002). Galantamine for Alzheimer's disease. *Cochrane database syst. rev. (CD-ROM)*, (3).
21. Li, Y., Peng, P., Tang, L., Hu, Y., Hu, Y., & Sheng, R. (2014). Design, synthesis, and evaluation of rivastigmine and curcumin hybrids as site-activated multitarget-directed ligands for Alzheimer's disease therapy. *Bioorg. Med. Chem.*, 22(17), 4717-4725.
22. Camps, P., Formosa, X., Galdeano, C., Gómez, T., Munoz-Torrero, D., Scarpellini, M., ... & Luque, F. J. (2008). Novel donepezil-based inhibitors of acetyl- and butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase-induced β -amyloid aggregation. *Journal of medicinal chemistry*, 51(12), 3588-3598.
23. Rodriguez, A. M., Zunino, M. P., & Dambolena, J. S. (2018). Optimización de ensayos de inhibición de acetilcolinesterasa en *Sitophilus zeamais* (Mots.). *FCEFYN*, 5(1), 51.
24. Kwon, O., Lee, S., Ban, S., Im, J. J., Lee, D. S., Lee, E. H., ... & Lee, S. H. (2015). Effects of the combination herbal extract on working memory and white matter integrity in healthy individuals with subjective memory complaints: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Korean J. Biol. Psychiatry.*, 22(2), 63-77.
25. Lewis, G. P. (2005). *Legumes of the World*. Royal Botanic Gardens Kew.
26. Cragg, G. M., & Newman, D. J. (2005). Plants as a source of anti-cancer agents. *J Ethnopharmacol*, 100(1-2), 72-79.
27. Wecker, L., Watts, S., Faingold, C., Dunaway, G., & Crespo, L. (2010). Brody's Human Pharmacology: Molecular to Clinical, Mosby.
28. Weinmann, S., Roll, S., Schwarzbach, C., Vauth, C., & Willich, S. N. (2010). Effects of Ginkgo biloba in dementia: systematic review and meta-analysis. *BMC geriatrics*, 10(1), 1-12.
29. Harborne, J. B., & Baxter, H. (1999). *The handbook of natural flavonoids. Vol. 1 and Vol. 2*. John Wiley and Sons.
30. Muhammad, I., Li, X. C., Dunbar, D. C., ElSohly, M. A., & Khan, I. A. (2001). Antimalarial (+)-transhexahydrodibenzopyran derivatives from *Machaerium multiflorum*. *J. Nat. Prod.* 64(10), 1322-1325.
31. Muhammad, I., Li, X. C., Jacob, M. R., Tekwani, B. L., Dunbar, D. C., & Ferreira, D. (2003). Antimicrobial and antiparasitic (+)-trans-hexahydrodibenzopyrans and analogues from *Machaerium multiflorum*. *J. Nat. Prod.* 66(6), 804-809.
32. Kurosawat, K., Ollist, W. D., Sutherland, I. O., Gottlieb, O. R., & De Oliveira, A. B. (1978). Mucronustyrene, mucronulastyrene and villostyrene, cinnamylphenols from *Machaerium mucronulatum* and *M. villosum*. *Phytochemistry*, 17(8), 1389-1394.
33. Waage, S. K., Hedin, P. A., & Grimley, E. (1984). A biologically-active procyanidin from *Machaerium floribundum*. *Phytochemistry*, 23(12), 2785-2787.

34. Patrón-González, D., Ríos-Gómez, R., Flores-Morales, V., & Rios, M. Y. (2021). Metabolites of *Machaerium isadelphum* as chemophenetic markers of *Machaerium* genus. *Biochem. Syst. Ecol.*, 94, 104202.
35. Kurosawa, K., Ollis, W. D., Redman, B. T., Sutherland, I. O., & Gottlieb, O. R. (1978 b). Vestitol and vesticarpan, isoflavonoids from *Machaerium vestitum*. *Phytochemistry*, 17(8), 1413-1415
36. Seo, E. K., Kim, N. C., Mi, Q., Chai, H., Wall, M. E., Wani, M. C., Kinghorn, A. D. (2001). Macharistol, a New Cytotoxic Cinnamylphenol from the Stems of *Machaerium aristulatum*. *J. Nat. Prod.* 64(11), 1483-1485.
37. El Sohly, H. N., Joshi, A. S., & Nimrod, A. C. (1999). Antigiardial isoflavones from *Machaerium aristulatum*. *Planta Med.*, 65(05), 490-490.
38. Bento, C.C.,Tangerina, M.M.P., Zanatta, A.C., Sartori, A.L.B.,Franco, D.M., HirumaLima, C.A.,Vilegas, W., de Almeida, L.F.R.,Sannomiya, M. (2020). *Nat. Prod. Res.* 34(6), 884-888.
39. Ribeiro, D. L., Cilião, H. L., Specian, A. F. L., Serpeloni, J. M., Souza, M. F. D., Tangerina, M. M. P., ... & Cólus, I. M. S. (2016). Chemical and biological characterisation of *Machaerium hirtum* (Vell.) Stellfeld: absence of cytotoxicity and mutagenicity and possible chemopreventive potential. *Mutagenesis*, 31(2), 147-160.
40. Ignoato, M.C., Fabrão, R.M., Schuquel, I.T., Botelho, M.F., Bannwart, G., Pomini, A.M.,Arruda, L.L., Bersani-Amado, C.A., Santin, S.M. (2013). Chemical constituents of *Machaerium hirtum* Vell.(Fabaceae) leaves and branches and its anti-inflammatory activity evaluation. *Nat. Prod. Res.* 27(17), 1556-1561.
41. Lopes, J.A.; Rodrigues, V.P.; Pereira, M.M.; Machado, L.R.; Nishijima C.M.; Alfieri, V.V.; Rolim, L.F.; Vilegas, W.; Soares, A.R.; Sannomiya, M.; Hiruma-Lima, C.A. (2020). *Biomolecules*,10, 590-613.
42. Alves, H. M., Arndt, V. H., Ollis, W. D., Eyton, W. B., Gottlieb, O. R., & Magalhães, M. T. (1966). Triterpenoids isolated from *Machaerium incorruptibile*. *Phytochemistry*, 5(6), 1327-1330.
43. Ollis, W. D., Redman, B. T., Roberts, R. J., Sutherland, I. O., & Gottlieb, O. R. (1968). New neoflavanoids from *Machaerium kuhlmannii* and *Machaerium nictitans* and the recognition of a new neoflavanoid type, the neoflavenes. *ChemComm (London)*, (22), 1392-1393.
44. Ollis, W. D., Redman, B. T., Roberts, R. J., Sutherland, I. O., Gottlieb, O. R., & Magalhaães, M. T. (1978a). Neoflavonoids and the cinnamylphenol kuhlmannistyrene from *Machaerium kuhlmannii* and *M. nictitans*. *Phytochemistry*, 17(8), 1383-1388.
45. Kurosawa, K., Ollis, W. D., Sutherland, I. O., Gottlieb, O. R., & de Oliveira, A. B. (1978a). Mucronulatol, mucroquinone and mucronucarpan, isoflavonoids from *Machaerium mucronulatum* and *M. villosum*. *Phytochemistry*, 17(8), 1405-1411.
46. Ollis, D.W.; Sutherland, I.O.; Alves, H.; Gottlieb, O.R. *Phytochemistry* (1978b), 17, 1401-1403.
47. Ogiyama, K., & Yasue, M. (1973). Constituents of *Machaerium pedicellatum* heartwood. *Phytochemistry* 12, 2544-2545.
48. Morgan, J.W.W.; Orsler, R.J.; Wilkinson, D.S. (1968). Dermatitis due to the wood dusts of *Khaya anthotheca* and *Machaerium scleroxylon*. *Brit. J. Industry Med.*, 25, 119-125.

49. Eyton, W. B., Ollis, W. D., Fineberg, M., Gottlieb, O. R., de Souza Guimaraes, I. S., & Magalhães, M. T. (1965). The neoflavanoid group of natural products II: The examination of *Machaerium scleroxylon* and some biogenetic proposal regarding the neoflavanoids. *Tetrahedron*, 21(9), 2697-2705.
50. De Oliveira, A. B., Gottlieb, O. R., & Ollis, W. D. (1968). A química de leguminosas Brasileiras. XVII. Constituintes do *Machaerium villosum*. *Anais Acad. Brasil. Cienc*, 40, 147-150.
51. Animashaun, T., Mahmood, N., Hay, A. J., & Hughes, R. C. (1993). Inhibitory effects of novel mannose-binding lectins on HIV-infectivity and syncytium formation. *Antivir. Chem. Chemother.*, 4(3), 145-153.
52. Díaz, L., De Montijo, S., Medina, A. L., Meléndez, P., Laurence, V., & Marti-Mestres, G. (2011). Activity of ethanolic extracts leaves of *Machaerium floribundum* against acne-inducing bacteria, and their cytoprotective and antioxidant effects on fibroblast. *Rev. Peru. Biol.*, 18(2), 153-158.
53. Santos, A.; Silva, D.; Bolzani, V.; Santos, L.; Schmidt, T.; Baffa, O. (2009). *J Braz Chem Soc*. 20,1483-1492.
54. Joly, L. G., Guerra, S., Septimo, R., Solis, P. N., Correa, M., Gupta, M., Sandberg, F. (1987). Ethnobotanical inventory of medicinal plants used by the Guaymi Indians in Western Panama. Part IJ *Ethnopharmacol*, 20(2), 145-171.
55. Han, T., Li, H., Zhang, Q., Zheng, H., & Qin, L. (2006). New thiazinediones and other components from *Xanthium strumarium*. *Chem Nat Compd*, 42(5), 567-570.
56. Rao, G. V., Swamy, B. N., Chandregowda, V., & Reddy, G. C. (2009). Synthesis of (\pm) Abyssinone I and related compounds: Their anti-oxidant and cytotoxic activities. *Eur. J. Med. Chem.*, 44(5), 2239-2245.
57. Yang, X., Zhao, Y., Hsieh, M. T., Xin, G., Wu, R. T., Hsu, P. L., Lee, K. H. (2017). Total synthesis of (+)-medicarpin. *J. Nat. Prod.* 80(12), 3284-3288.
58. Sato, S., Takeo, J., Aoyama, C., & Kawahara, H. (2007). Na⁺-glucose cotransporter (SGLT) inhibitory flavonoids from the roots of *Sophora flavescens*. *Bioorg. Med. Chem.*, 15(10), 3445-3449.
59. Burns, D., Reynolds, W. F., Buchanan, G., Reese, P. B., & Enriquez, R. G. (2000). Assignment of 1H and 13C spectra and investigation of hindered side-chain rotation in lupeol derivatives. *Magn Reson Chem*, 38(7), 488-493.
60. Chaudhuri, S. K., Huang, L., Fullas, F., Brown, D. M., Wani, M. C., Wall, M. E., Kinghorn, A. D. (1995). Isolation and structure identification of an active DNA strand-scission agent, (+)-3,4-di-hydroxy-8,9-methylenedioxypterocarpan. *J. Nat. Prod.*, 58(12), 1966-1969.
61. Ressmann, A. K., Kremsmayr, T., Gaertner, P., Zirbs, R., & Bica, K. (2017). Toward a benign strategy for the manufacturing of betulinic acid. *Green Chem.*, 19(4), 1014-1022.
62. Ribeiro de Souzae Silva, S., Silva, G.D.F., Almeida Barbosa, L.C., Pains Duarte, L., VieiraFilho, S.A. (2005). *Helv. Chim. Acta* 88(5), 1102-1109.
63. Wang, S., & Fang, W. (2011). Design and synthesis of a dual linker for solid phase synthesis of oleanolic acid derivatives. *Molecules* 16(6), 4748-4763.
64. Ahmad, B., Azam, S., Bashir, S., Adhikari, A., & Hussain, F. (2011). Anti-inflammatory activity and a new compound isolated from aerial parts of *Myrsine africana*. *Afr. J. Biotechnol*, 10(42), 8465-8470.

65. Forgo, P., & Kövér, K. E. (2004). Gradient enhanced selective experiments in the ¹H NMR chemical shift assignment of the skeleton and side-chain resonances of stigmasterol, a phytosterol derivative. *Steroids*, 69(1), 43-50.
66. Prachayasittikul, S., Suphamong, S., Worachartcheewan, A., Lawung, R., Ruchirawat, S., & Prachayasittikul, V. (2009). Bioactive metabolites from *Spilanthes acmella* Murr. *Molecules*, 14(2), 850-867.
67. Zhang, J. J., Schoene, N. W., Qi, Y., Alshatwi, A., Alsaif, M., & Lei, K. Y. (2010). The Polycyclic Flavonoid, Maackiain, Arrests Cell Cycle Progression in LNCaP and PC-3 Human Prostate Cancer Cells and Repairs DNA Damage in PC-3 and NHPRE Cells. *The FASEB Journal*, 24, 928-933.
68. Piccinelli, A. L., Campo Fernandez, M., Cuesta-Rubio, O., Márquez Hernández, I., De Simone, F., & Rastrelli, L. (2005). Isoflavonoids isolated from Cuban propolis. *J. Agric. Food Chem.*, 53(23), 9010-9016.
69. Slimestad, R., Fossen, T., & Verheul, M. J. (2008). The flavonoids of tomatoes. *J. Agric. Food Chem.* 56(7), 2436-2441.
70. Goto, H., Terao, Y., & Akai, S. (2009). Synthesis of various kinds of isoflavones, isoflavanes, and biphenyl-ketones and their 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical-scavenging activities. *Chem. Pharm. Bull.*, 57(4), 346-360.
71. Salem, M. M., & Werbovetz, K. A. (2006). Isoflavonoids and other compounds from *psoralea corylifolia* with antiprotozoal activities. *J. Nat. Prod.*, 69(1), 43-49.
72. Swain, S. S., Rout, K. K., & Chand, P. K. (2012). Production of triterpenoid anti-cancer compound taraxerol in *Agrobacterium*-transformed root cultures of butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.). *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 168(3), 487-503.
73. Martins, L. R., & Takahashi, J. A. (2010). Rearrangement and oxidation of β -amyrin promoted by growing cells of *Lecanicillium muscarinum* Nat. Prod. Res., 24(8), 767-774.
74. Wang, S., & Fang, W. (2011). Design and synthesis of a dual linker for solid phase synthesis of oleanolic acid derivatives. *Molecules* 16(6), 4748-4763.
75. Ahmad, B., Azam, S., Bashir, S., Adhikari, A., & Hussain, F. (2011). Anti-inflammatory activity and a new compound isolated from aerial parts of *Myrsine africana*. *Afr. J. Biotechnol.*, 10(42), 8465-8470.
76. Danylec, B., & Iskander, M. N. (2002). ¹H NMR measurement of the trans-cis photoisomerization of cinnamic acid derivatives. *J Chem Educ*, 79(8), 1000.
77. Patrón-González, D. Estudio químico biodirigido por la actividad citotóxica de *Machaerium isadelphum* (Leguminosae). Tesis de Maestría. Posgrado en Ciencias. IICBA. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México 2017.
78. Tay, K. C., Tan, L. T. H., Chan, C. K., Hong, S. L., Chan, K. G., Yap, W. H., Goh, B. H. (2019). Formononetin: a review of its anticancer potentials and mechanisms. *Front. Pharmacol.* 10, 820.
79. Gatouillat, G., Magid, A. A., & Bertin, E. (2015). El btaouri H., Morjani H., Lavaud C., Madoulet C. Medicarpin and millepurpan, two flavonoids isolated from *Medicago sativa*, induce apoptosis, and overcome multidrug resistance in leukemia P388 cells. *Phytomedicine*, 22(13), 1186-1194.
80. Trivedi, R., Maurya, R., & Mishra, D. P. (2014). Medicarpin, a legume phytoalexin sensitizes myeloid leukemia cells to TRAIL-induced apoptosis through the induction of DR5 and activation of the ROS-JNK-CHOP pathway. *Cell Death Dis.*, 5(10), e1465-e1465.

81. Kaennakam, S., Siripong, P., & Tip-pyang, S. (2015). Velucarpins A-C, three new pterocarpan and their cytotoxicity from the roots of *Dalbergia velutina*. *Fitoterapia*, 105, 165-168.
82. K. H. Yoon, K. J. Park., J. Yin, K. H. Yoon, J. Y. Lee, Y. J. Hwang, D. I. Lee, Y. W. Choi, M. W. Lee (2016). *Rec. Nat. Prod.* 10(4), 441-451.
83. Siddique, H. R., Mishra, S. K., Karnes, R. J., & Saleem, M. (2011). Lupeol, a novel androgen receptor inhibitor: implications in prostate cancer therapy. *Clin. Cáncer*, 17(16), 5379-5391.
84. M. Saleem, I. Murtaza, R. S. Tarapore, Y. Suh, V. M. Adhami, J. J. Johnson, I. A Siddiqui, N. Khan, M. Asim, B. B. Hafeez, M. T. Shekhani, B. L., H. Mukhtar (2009). *Carcinogenesis* 30(5), 808-817.
85. Saleem, M., Afaq, F., Adhami, V. M., & Mukhtar, H. (2004). Lupeol modulates NF- κ B and PI3K/Akt pathways and inhibits skin cancer in CD-1 mice. *Oncogene*, 23(30), 5203-5214.
86. Wu, X. T., Liu, J. Q., Lu, X. T., Chen, F. X., Zhou, Z. H., Wang, T., Fei, S. J. (2013). The enhanced effect of lupeol on the destruction of gastric cancer cells by NK cells. *Int. Immunopharmacol.* 16(2), 332-340.
87. Hordyjewska, A., Ostapiuk, A., & Horecka, A. (2018). Betulin and betulinic acid in cancer research. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*, 12(2).
88. Yoo, K. H., Park, J. H., Cui, E. J., Kim, K. I., Kim, J. Y., Kim, J., Chung, I. S. (2012). 3-O-Acetyloleanolic acid induces apoptosis in human colon carcinoma Hct-116 cells. *Phytother Res* 26(10), 1541-1546.
89. Novotny, L., Abdel-Hamid, M. E., & Hunakova, L. (2017). Anticancer potential of β -sitosterol. *Int J Clin Pharmacol Pharmacother*, 2, 2-4.
90. Bae, H., Song, G., & Lim, W. (2020). Stigmasterol causes ovarian cancer cell apoptosis by inducing endoplasmic reticulum and mitochondrial dysfunction. *Pharmaceutics*, 12(6), 488.
91. Zhao, H., Zhang, X., Wang, M., Lin, Y., & Zhou, S. (2021). Stigmasterol Simultaneously Induces Apoptosis and Protective Autophagy by Inhibiting Akt/mTOR Pathway in gastric cancer cells. *Front. Oncol.* 11, 43.
92. J Tian, J., Duan, Y. X., Bei, C. Y., & Chen, J. (2013). Calycosin induces apoptosis by upregulation of RASD1 in human breast cancer cells MCF-7. *Hormone and Metabolic Research*, 45(08), 593-598.
93. Tian, J., Wang, Y., Zhang, X., Ren, Q., Li, R., Huang, Y., ... & Chen, J. (2017). Calycosin inhibits the in vitro and in vivo growth of breast cancer cells through WDR7-7-GPR30 Signaling. *J. Exp. Clin. Cáncer Res.*, 36(1), 1-13.
94. C. Huang, R. Li, W. Shi, Z. Huang (2019), Discovery of the Anti-Tumor Mechanism of Calycosin Against Colorectal Cancer by Using System Pharmacology Approach. *Med. Sci. Monit.*, 25, 5589-5593.
95. Aratanechemuge, Y., Hibasami, H., Katsuzaki, H., Imai, K., & Komiya, T. (2004). Induction of apoptosis by maackiain and trifolirhizin (maackiain glycoside) isolated from sanzukon (*Sophora Subprostrate* Chen et T. Chen) in human promyelotic leukemia HL-60 cells. *Oncol. Rep.*, 12(6), 1183-1188.
96. Yao, X., Lu, B., Lü, C., Bai, Q., Yan, D., & Xu, H. (2017). Taraxerol induces cell apoptosis through a mitochondria-mediated pathway in HeLa cells. *Cell Journal (Yakhteh)*, 19(3), 512.

97. Liao, J., Wu, F., Lin, W., & Huang, Z. (2018). Taraxerol exerts potent anticancer effects via induction of apoptosis and inhibition of Nf-kB signalling pathway in human middle ear epithelial cholesteatoma cells. *Trop. J. Pharm. Res.*, 17(6), 1011-1017.
98. Wen, S., Gu, D., & Zeng, H. (2018). Antitumor effects of beta-amyrin in Hep-G2 liver carcinoma cells are mediated via apoptosis induction, cell cycle disruption and activation of JNK and P38 signalling pathways. *J. BUON*, 23, 965-970.
99. Aly, S. H., Elissawy, A. M., Fayez, A. M., Eldahshan, O. A., Elshanawany, M. A., & Singab, A. N. B. (2020). Neuroprotective effects of Sophora secundiflora, Sophora tomentosa leaves and formononetin on scopolamine-induced dementia. *Nat. Prod. Res.*, 1-5.
100. Guo, A. J., Xie, H. Q., Choi, R. C., Zheng, K. Y., Bi, C. W., Xu, S. L., ... & Tsim, K. W. (2010). Galangin, a flavonol derived from Rhizoma Alpiniae Officinarum, inhibits acetylcholinesterase activity in vitro. *Chem Biol Interact*, 187(1-3), 246-248.
101. Fei, H. X., Zhang, Y. B., Liu, T., Zhang, X. J., & Wu, S. L. (2018). Neuroprotective effect of formononetin in ameliorating learning and memory impairment in mouse model of Alzheimer's disease. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 82(1), 57-64.
102. Fu, X., Qin, T., Yu, J., Jiao, J., Ma, Z., Fu, Q., ... & Ma, S. (2019). Formononetin ameliorates cognitive disorder via PGC-1 α pathway in neuroinflammation conditions in high-fat diet-induced mice. *CNS Neurol Disord Drug Targets.*, 18(7), 566-577.
103. Li, D., Cai, C., Liao, Y., Wu, Q., Ke, H., Guo, P., ... & Fang, S. (2021). Systems pharmacology approach uncovers the therapeutic mechanism of medicarpin against scopolamine-induced memory loss. *Phytomedicine*, 91, 153662.
104. Oh, J. M., Jang, H. J., Kim, W. J., Kang, M. G., Baek, S. C., Lee, J. P., ... & Kim, H. (2020). Calycosin and 8-O-methylretusin isolated from Maackia amurensis as potent and selective reversible inhibitors of human monoamine oxidase-B. *Int. J. Biol. Macromol.* 151, 441-448.
105. Çulhaoğlu, B., Hatipoğlu, S. D., Dönmez, A. A., & Topçu, G. (2015). Antioxidant and anticholinesterase activities of lupane triterpenoids and other constituents of Salvia trichoclada. *Med Chem Res*, 24(11), 3831-3837.
106. Siddique, H. R., & Saleem, M. (2011). Beneficial health effects of lupeol triterpene: a review of preclinical studies. *Life Sci*, 88(7-8), 285-293.
107. Besbes, M., Guérineau, V., & Touboul, D. (2017). Isolation and structure elucidation of acetylcholinesterase lipophilic lupeol derivatives inhibitors from the latex of the Tunisian Periploca laevigata. *Arab. J. Chem.*, 10, S2767-S2772.
108. Jamila, N., Khairuddean, M., Yeong, K. K., Osman, H., & Murugaiyah, V. (2015). Cholinesterase inhibitory triterpenoids from the bark of Garcinia hombroniana. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 30(1), 133-139.
109. Azman, N. A. N., Alhawarri, M. B., Rawa, M. S. A., Dianita, R., Gazzali, A. M., Nogawa, T., & Wahab, H. A. (2020). Potential Anti-Acetylcholinesterase Activity of Cassia timorensis DC. *Molecules*, 25(19), 4545.
110. Khan, I., Zahoor, M., Zeb, A., Sahibzada, M. U. K., Bari, W. U., & Naz, S. (2020). Isolation, characterization, pharmacological evaluation and in silico modeling of

bioactive secondary metabolites from *Ziziphus oxyphylla* a member of Rhamnaceae family. *Trop. J. Pharm. Res.*, 19(2), 351-359.

111. Song, L., Li, X., Bai, X. X., Gao, J., & Wang, C. Y. (2017). Calycosin improves cognitive function in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease by activating the protein kinase C pathway. *Neural Regen Res*, 12(11), 1870.
112. Oh, J. M., Jang, H. J., Kim, W. J., Kang, M. G., Baek, S. C., Lee, J. P., ... & Kim, H. (2020). Calycosin and 8-O-methylretusin isolated from *Maackia amurensis* as potent and selective reversible inhibitors of human monoamine oxidase-B. *Int. J. Biol. Macromol.* 151, 441-448.
113. Guo, A. J., Xie, H. Q., Choi, R. C., Zheng, K. Y., Bi, C. W., Xu, S. L., ... & Tsim, K. W. (2010). Galangin, a flavonol derived from *Rhizoma Alpiniae Officinarum*, inhibits acetylcholinesterase activity in vitro. *Chem. Biol. Interact.*, 187(1-3), 246-248.
114. Zhenxia, Z., Min, L., Peikui, Y., Zikai, C., Yaqun, L., Junli, W., ... & Yuzhong, Z. (2021). Inhibition of tau aggregation and associated cytotoxicity on neuron-like cells by calycosin. *International Int. J. Biol. Macromol.*, 171, 74-81.
115. Lee, H. W., Ryu, H. W., Kang, M. G., Park, D., Oh, S. R., & Kim, H. (2016). Potent selective monoamine oxidase B inhibition by maackiain, a pterocarpan from the roots of *Sophora flavescens*. *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, 26(19), 4714-4719.
116. Lee, J. H., Lee, K. T., Yang, J. H., Baek, N. I., & Kim, D. K. (2004). Acetylcholinesterase inhibitors from the twigs of *Vaccinium oldhami* Miquel. *Arch. Pharm. Res.*, 27(1), 53-56.
117. Berté, T. E., Dalmagro, A. P., Zimath, P. L., Gonçalves, A. E., Meyre-Silva, C., Bürger, C., ... & de Souza, M. M. (2018). Taraxerol as a possible therapeutic agent on memory impairments and Alzheimer's disease: Effects against scopolamine and streptozotocin-induced cognitive dysfunctions. *Steroids*, 132, 5-11.

12. Apéndice

13. Asistencia a Congresos

Amipronat
Asociación Mexicana de Investigación en Productos Naturales



**La Asociación Mexicana de Investigación en Productos Naturales, A. C.
Y la Universidad Autónoma del Estado de Morelos**
EXTIENDEN LA PRESENTE

CONSTANCIA

a

Daniela Patrón González, María Yolanda Rios, Verónica Rodríguez López

Por su valiosa participación como ponentes en Modalidad de **CARTEL** del trabajo

**Estudio químico biodirigido por la actividad citotóxica de
*Machaerium isadelphum (Leguminosae)***

durante la 14ª. Reunión Internacional de Investigación
en Productos Naturales, celebrada del 23 al 26 de mayo de 2018
en Cuernavaca, Morelos, México


Dra. María Luisa de la Cruz Garduño Ramírez
Presidente del Comité Organizador


Dr. Sergio Rubén Peraza Sánchez
Presidente de la AMIPRONAT

14A. RIIPN



La Universidad Autónoma de Zacatecas “Francisco García Salinas”
y la Asociación Mexicana de Investigación en Productos Naturales, A.C.

Otorgan la presente

Constancia

A: Daniela Patrón González*, Ma. Yolanda Ríos Gómez, Diana E. Aguilar Leon.

Por su valiosa participación en la **PRESENTACIÓN DE CARTEL** en la
16ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales
Zacatecas 2021 | Dra. Ma. Yolanda Ríos Gómez
con el **TRABAJO LIBRE: FT031 | Farmacología y toxicología (FT).**

“Búsqueda de compuestos citotóxicos en extractos acetónicos de Machaerium isadelphum”

que se llevó a cabo mediante la **modalidad en línea (aula virtual)**
el día **19 al 21 de mayo de 2021.**

Zacatecas, Zac., a 19 de junio de 2021



M. en C. Hans Hiram Pacheco García
Secretario Académico
Universidad Autónoma de Zacatecas
“Francisco García Salinas”



Dra. en C. María Luisa del Carmen
Garduño Ramírez
Presidenta de la AMIPRONAT, A.C.



Dra. en C. Virginia Flores Morales
Presidenta del Comité Organizador Local
16ªRIIPN 2021 Zacatecas

REGISTRO INSTITUCIONAL

LIBRO:	5
HOJA:	111
FOLIO:	3924
FECHA:	19/06/2021
VALOR CURRICULAR:	14 (cuatroteen)
Netos: Contribuyente	
CONVENIO:	D-526-H166-L30 0627-3924



SELLO DIGITAL

D-526-H166-L30 (60719043) (11/06/2021) Daniela Patrón González

143 (cuatroteen) contribuyente en el expediente de Compuestos Citotóxicos en extractos acetónicos de Machaerium isadelphum (FT031) (Caripo-06273924) (2021) (06/19/2021)

www.amipronat.com.mx



https://16riipn-zacatecas2021.com.mx/downloads/WWW_GENCAT_16RIIPN/COMPROMISOS/0627.pdf

14. Artículos generados



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Biochemical Systematics and Ecology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/biochemsyseco

Biochemical
systematics
and ecology



Metabolites of *Machaerium isadelphum* as chemophenetic markers of *Machaerium* genus

Daniela Patrón-González^a, Ramiro Ríos-Gómez^b, Virginia Flores-Morales^c,
María Yolanda Ríos^{a,*}

^a Centro de Investigaciones Químicas-ICQA, Universidad Autónoma Del Estado de Morelos, Avenida Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca 62209, Morelos, Mexico

^b Unidad de Investigación en Sistemática Vegetal y Suelo, FES Zaragoza, UNAM, Ciudad de México, Mexico

^c Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas 98160, Zacatecas, Mexico

ARTICLE INFO

Keywords:

Fabaceae

Machaerium

Machaerium isadelphum

Isoflavonoids

Pterocarpan

Chemophenetic markers

ABSTRACT

Species of the genus *Machaerium* characteristically produce aromatic compounds, being the isoflavonoids (isoflavanes and isoflavones), flavones, neoflavonoids, stilbenes and pterocarpan their potential chemophenetic markers. In this study, sixteen compounds were characterized from the acetone extract of *Machaerium isadelphum* leaves and branches: two isoflavones, six pterocarpan, one flavanone, three sterols and four triterpenes. Seven of these compounds have been previously isolated from other *Machaerium* species with which *M. isadelphum* shares the biosynthetic pathways that produce them. In addition, nine of the compounds were isolated for the first time within this genus. It is important to emphasize that their structures are completely consistent with the phytochemistry previously established for *Machaerium*. Medicarpin, 4-hydroxymedicarpin, 6 α -hydroxymedicarpin, mucronucarpan, variabilin, 4-hydroxymaacklain, alalone and formononetin are considered chemophenetic markers for *M. isadelphum*.

<https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104202>

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305197820304427>



Contents lists available at ScienceDirect

Phytochemistry Letters

journal homepage: www.elsevier.com/locate/phytol



Monoterpene-stilbenes and other constituents from *Machaerium isadelphum*

Daniela Patrón-González, María Yolanda Rios *

Centro de Investigaciones Químicas, IICBA, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca 62209, Morelos, Mexico

ARTICLE INFO

Keywords:

Machaeriol E
Isadelphone A
Isadelphone B
Machaerium isadelphum
Fabaceae

ABSTRACT

Twenty-six secondary metabolites were isolated from the roots and stems of *Machaerium isadelphum* (Fabaceae). The monoterpene-stilbene machaeriol E [(6aS,9S,10aS)-3-(*E*)-4-hydroxystyryl]-6,6,9-trimethyl-6a,7,8,9,10,10a-hexahydro-6*H*-benzo[*c*]chromen-1-ol, **1**], and the geranyl-chalcones isadelphone A [(*E*)-1-(5-(3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-yl)-2,4-dihydroxyphenyl)-3-hydroxy-3-phenylpropan-1-one, **2**], and isadelphone B [(*E*)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(4-((*Z*)-3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one, **3**] are isolated for the first time and their complete ¹H and ¹³C NMR data analysis, assessed by means of the COSY, DEPT, HSQC and HMBC experiments, is reported within. Also, this is the first report of the NMR data for (+)-*trans*-4,7,2'-trihydroxy-4'-methoxyisoflavanol (**4**).

<https://doi.org/10.1016/j.phytol.2021.08.013>

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1874390021001841>

15. Material suplementario

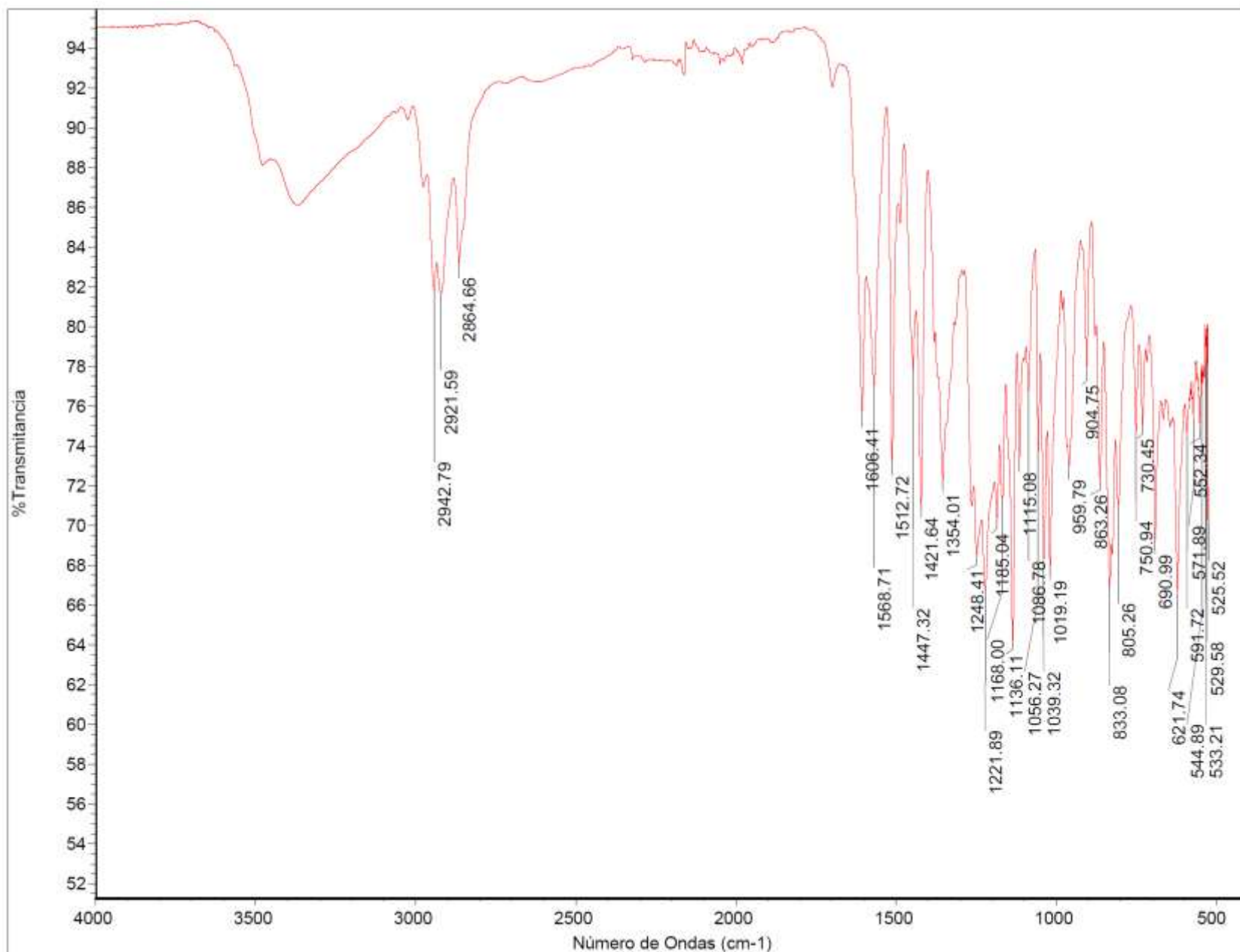


Figura 1. IR (CDCl₃) de machaeriol E (**94**)

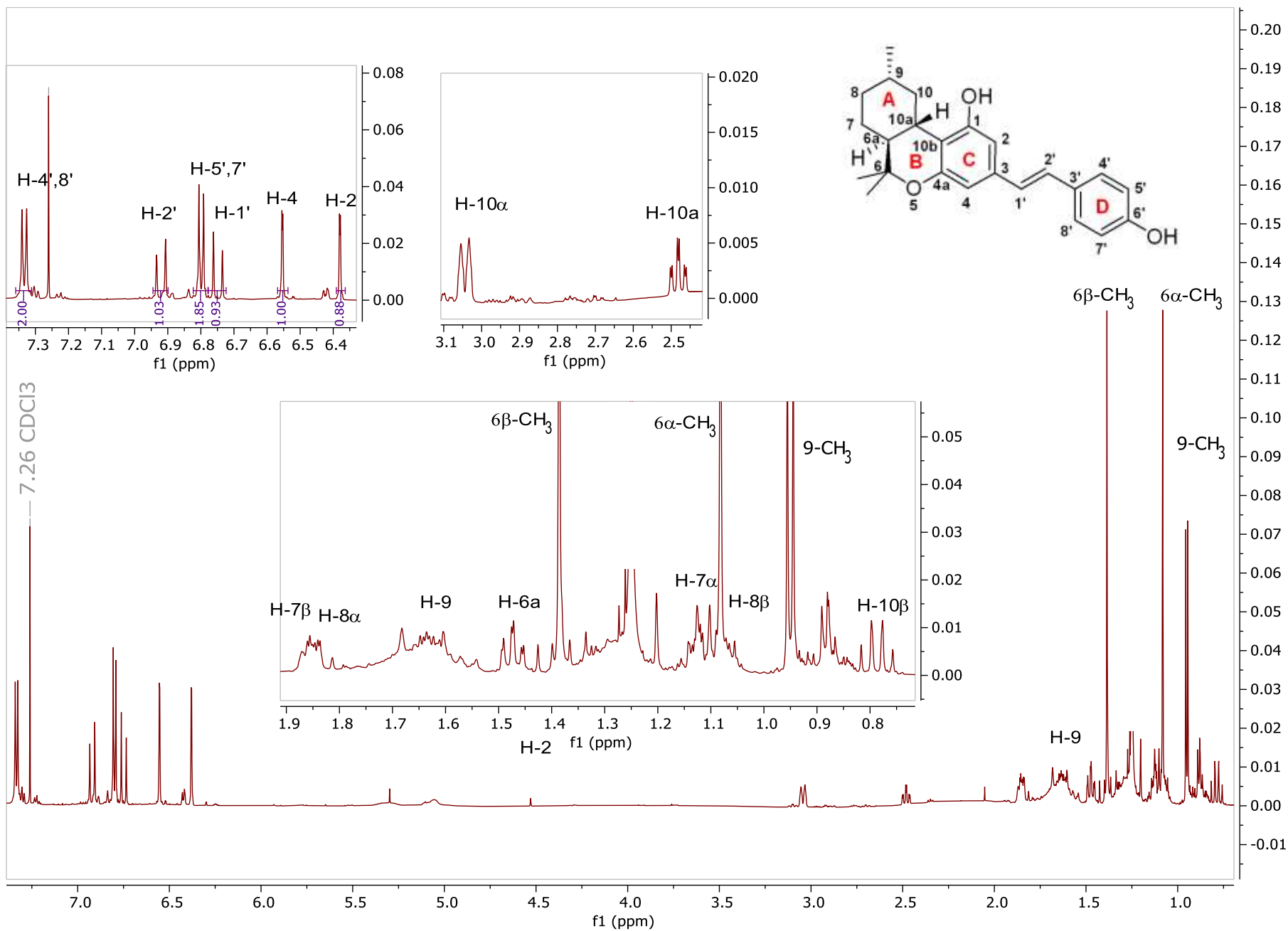


Figura 2. ¹HNMR (CDCl₃, 600 MHz) de machaeriol E (**94**)

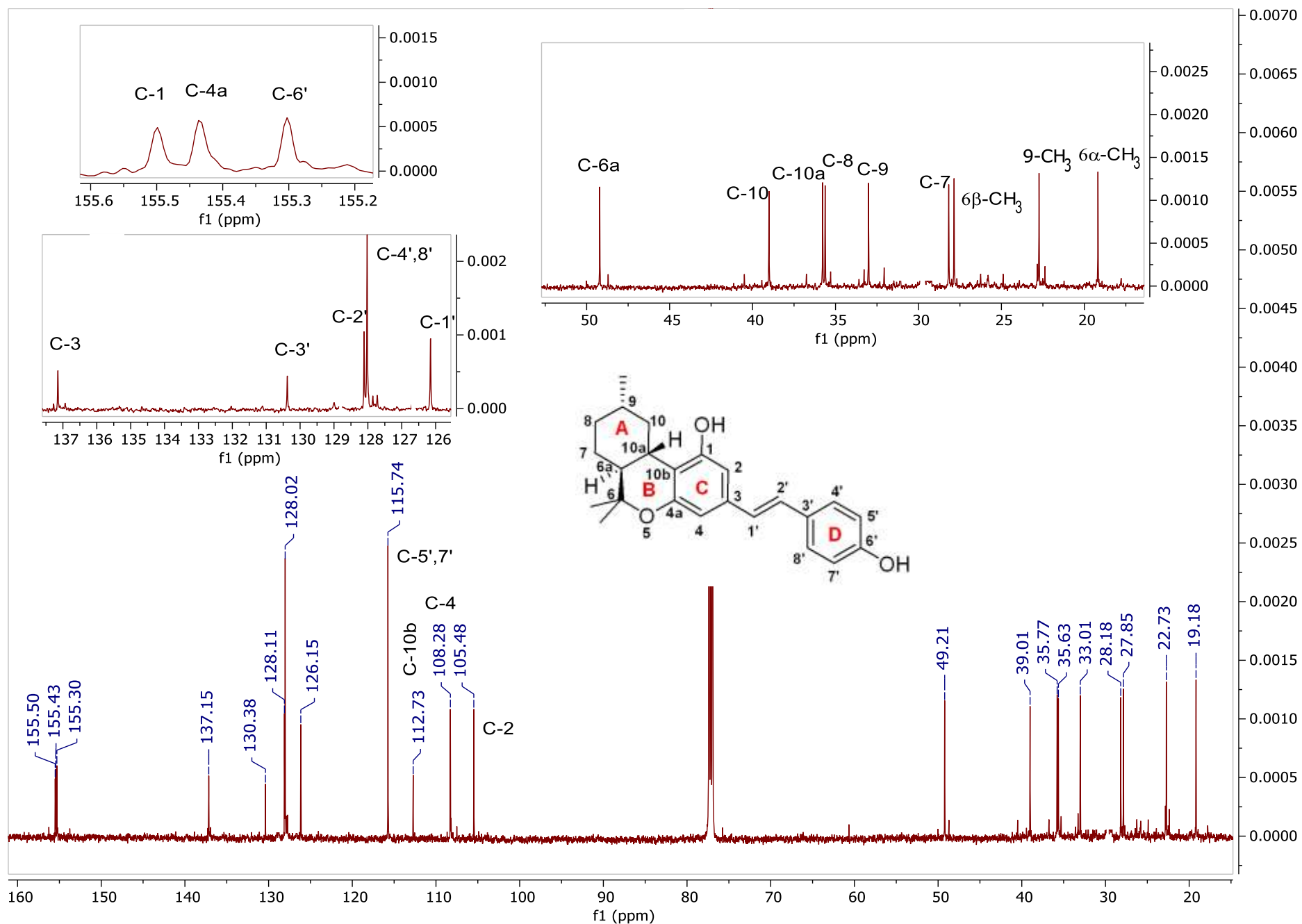


Figura 3. ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) de machaeriol E (94)

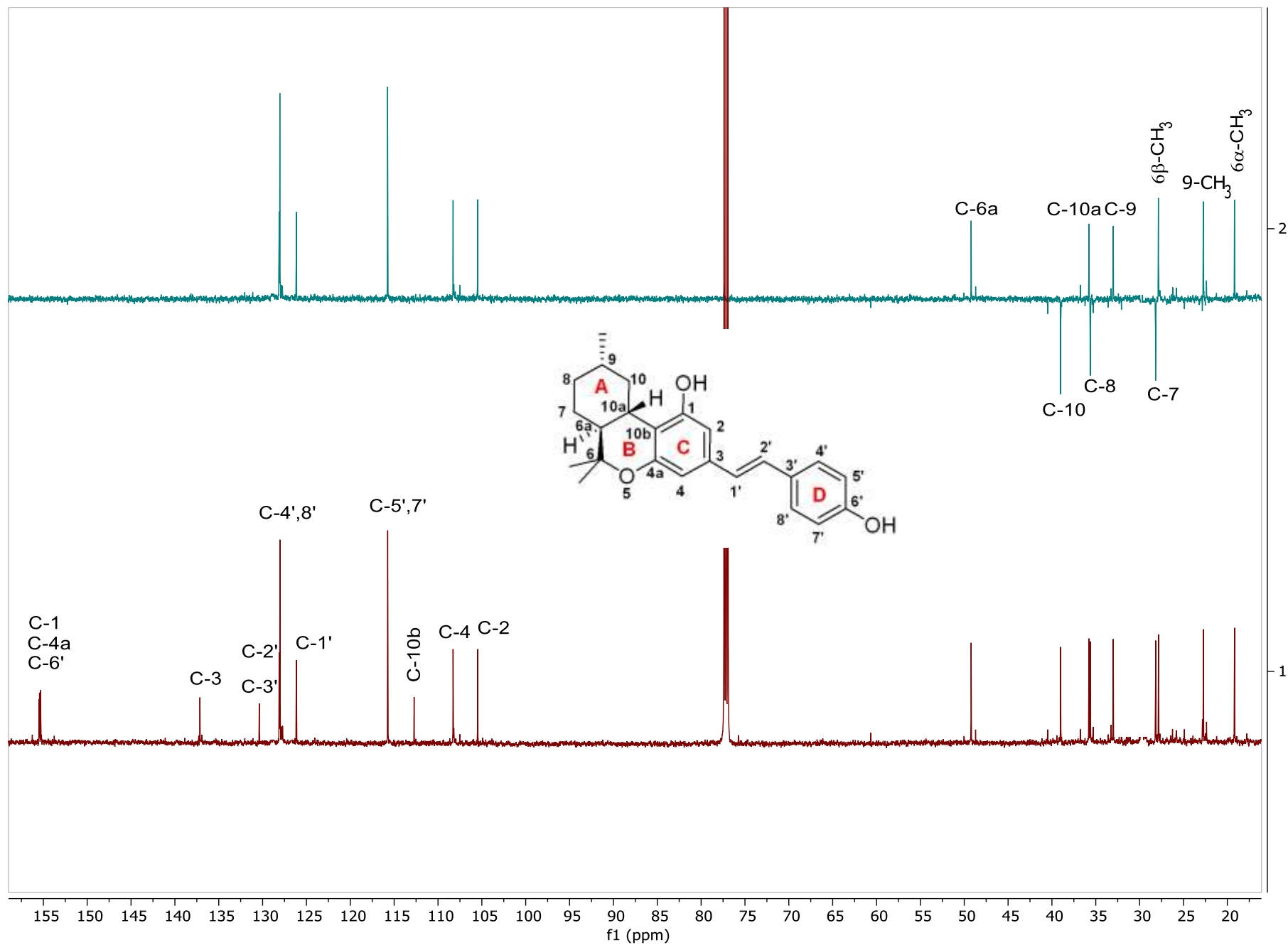


Figura 4. DEPT (CDCl₃, 150 MHz) de machaeriol E (**94**)

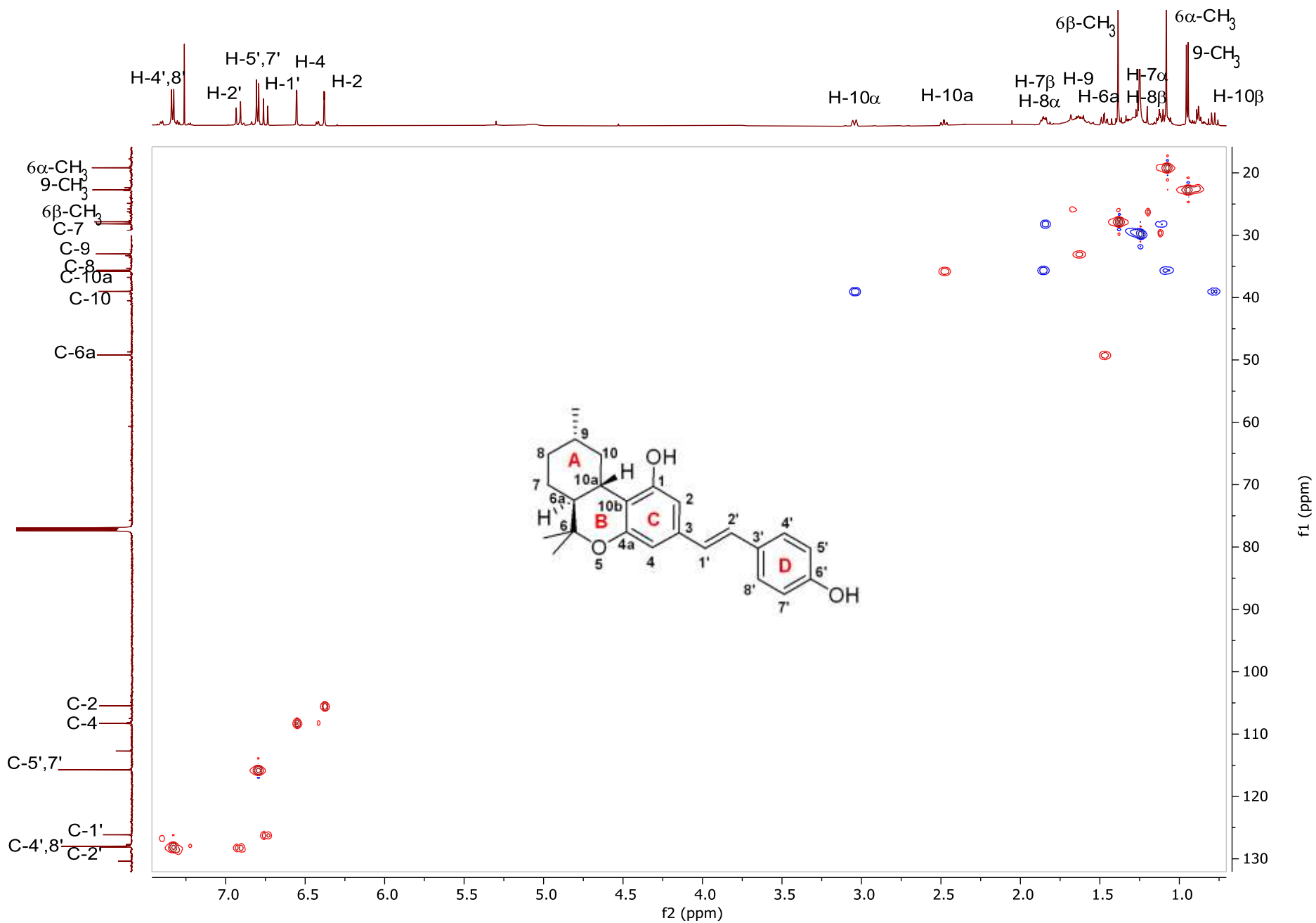


Figura S5. HSQC (CDCl₃, 150/600 MHz) de machaeriol E (94)

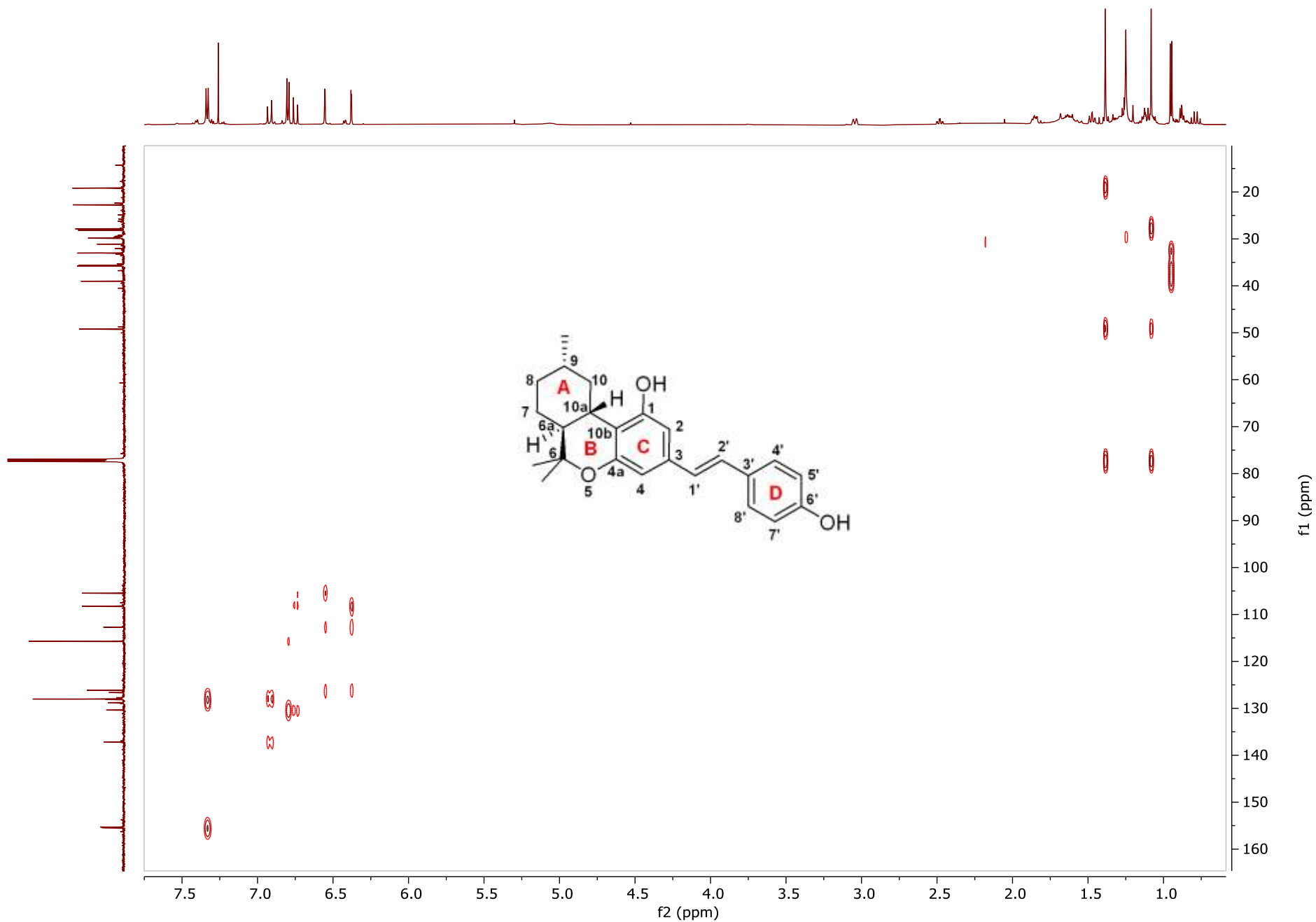


Figura 6. HMBC (CDCl₃, 150/600 MHz) de machaeriol E (**94**)

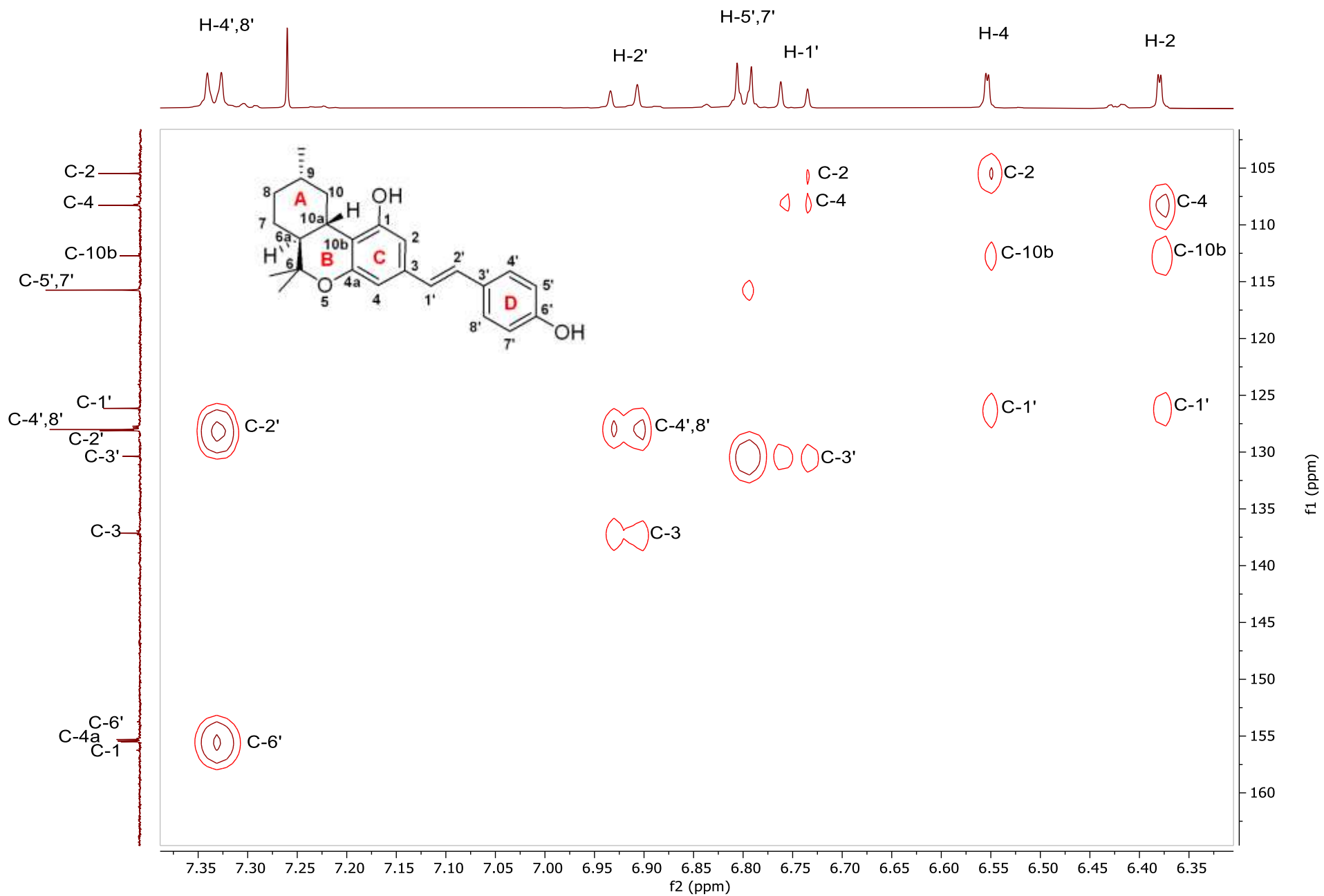


Figura 7. HMBC (CDCl₃, 150/600 MHz) de machaeriol E (94)

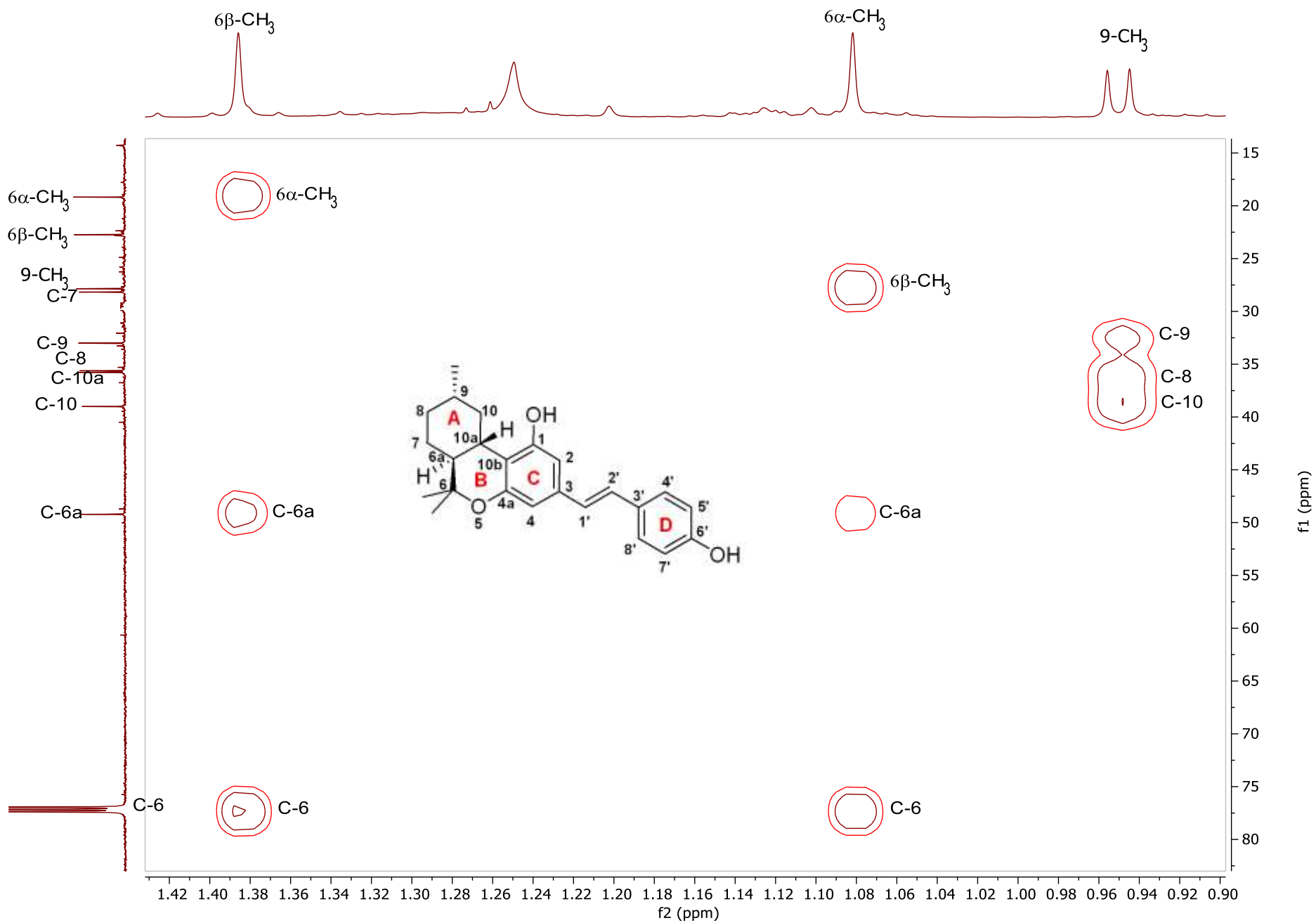


Figura 8. HMBC (CDCl₃, 150/600 MHz) de machaeriol E (**94**)

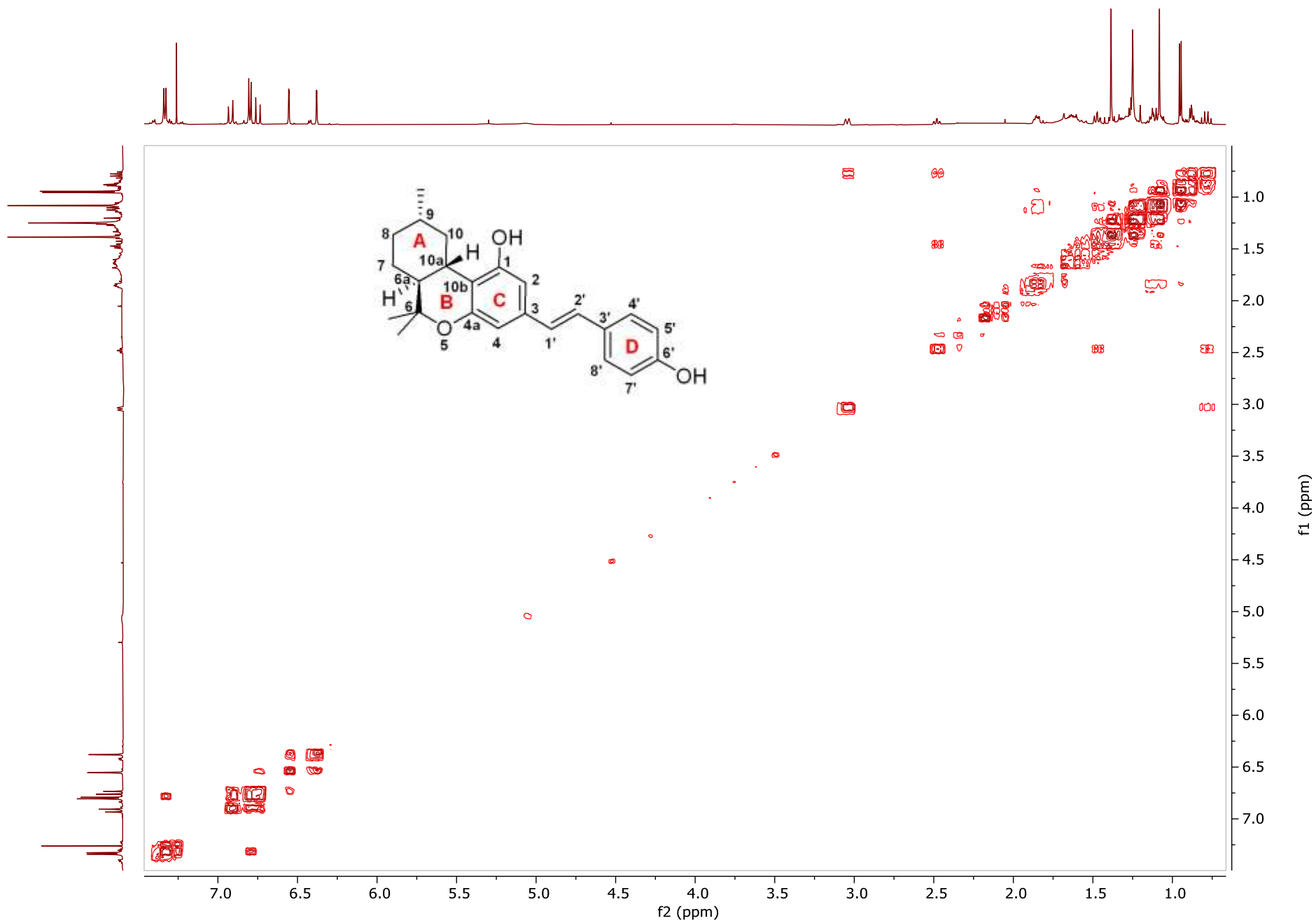


Figura S9. COSY (CDCl₃, 600 MHz) de machaeriol E (94)

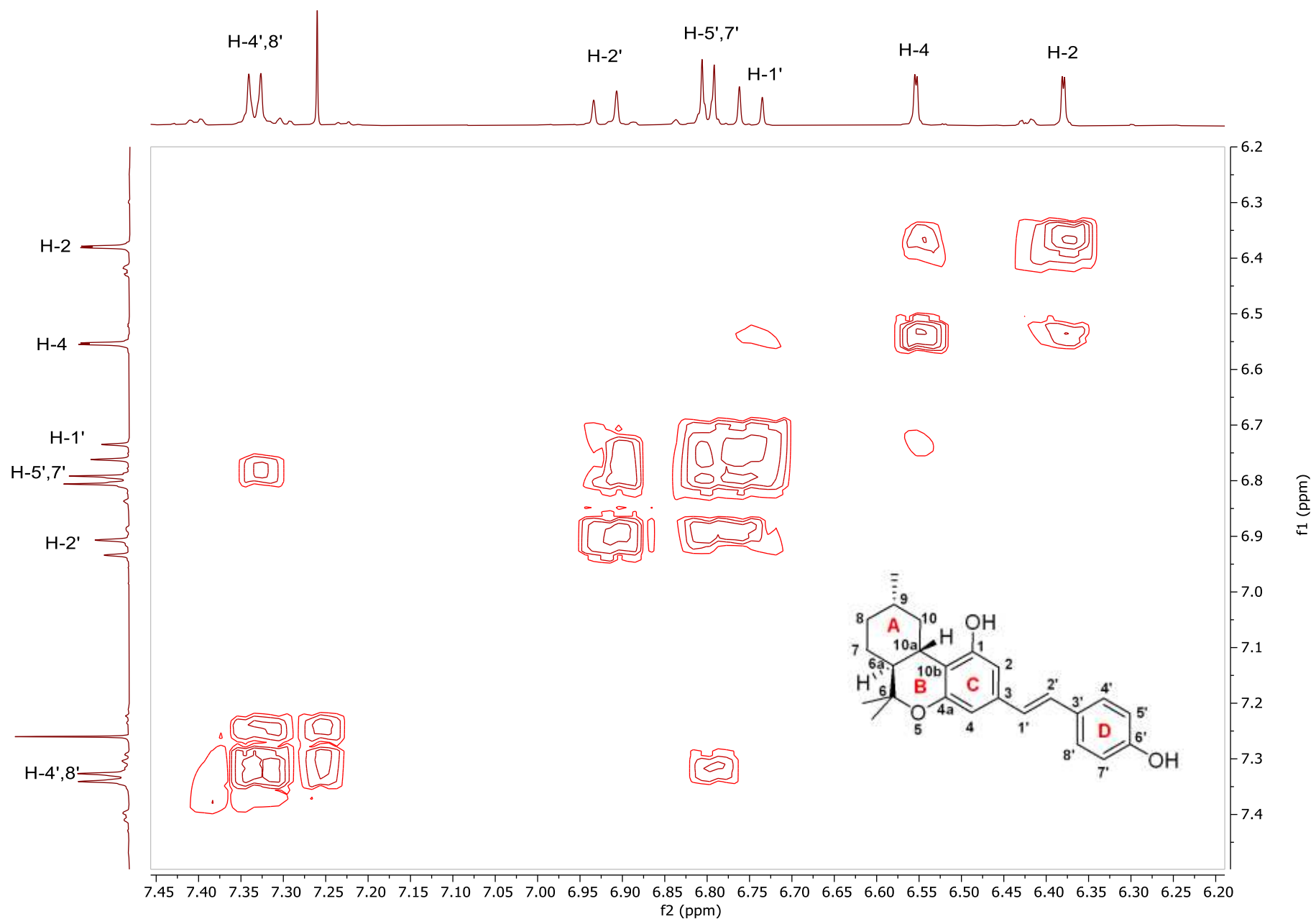


Figura 10. COSY (CDCl₃, 600 MHz) ampliación de δ 7.5 a 6.2 de machaeriol E (**94**)

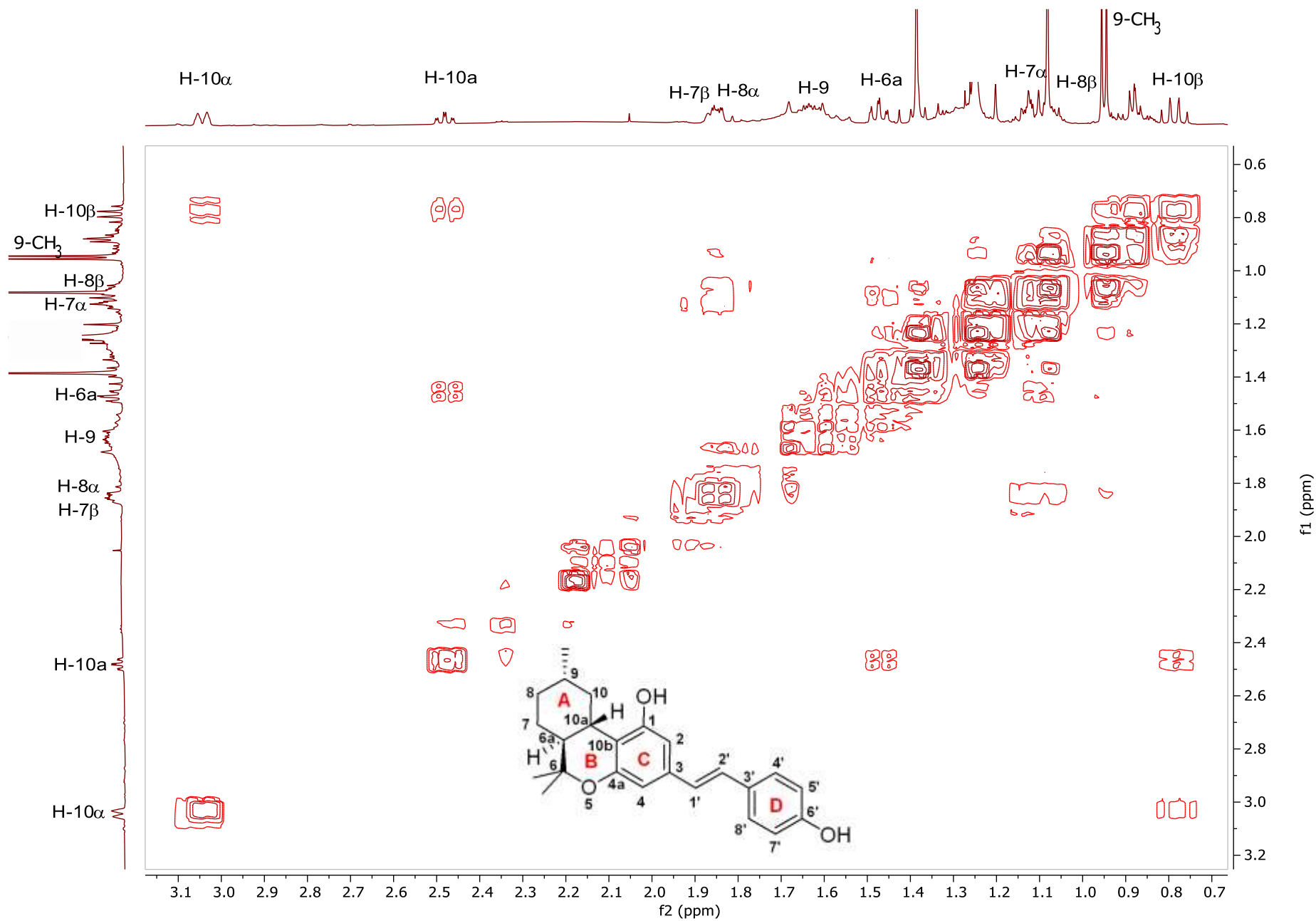


Figura 11. COSY (CDCl₃, 600 MHz) ampliación de δ 3.1 a 0.7 de machaeriol E (**94**)

YRG-10-37-c

Amorfastilbol (95)

Machaeridiol A

Señales comunes

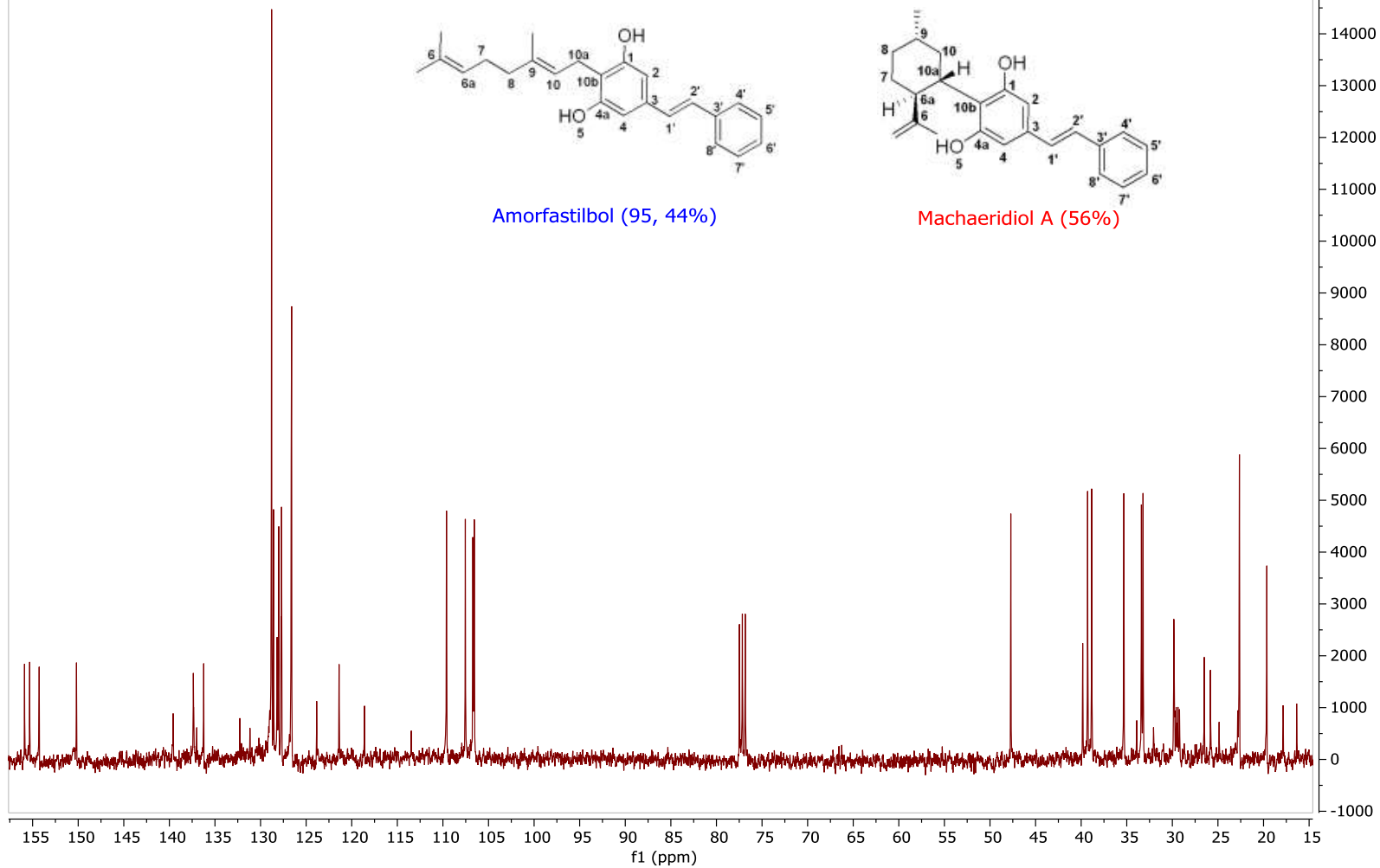


Figura 13. ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) de la mezcla 44:56 de amorfastilbol (**95**) + machaeridiol A

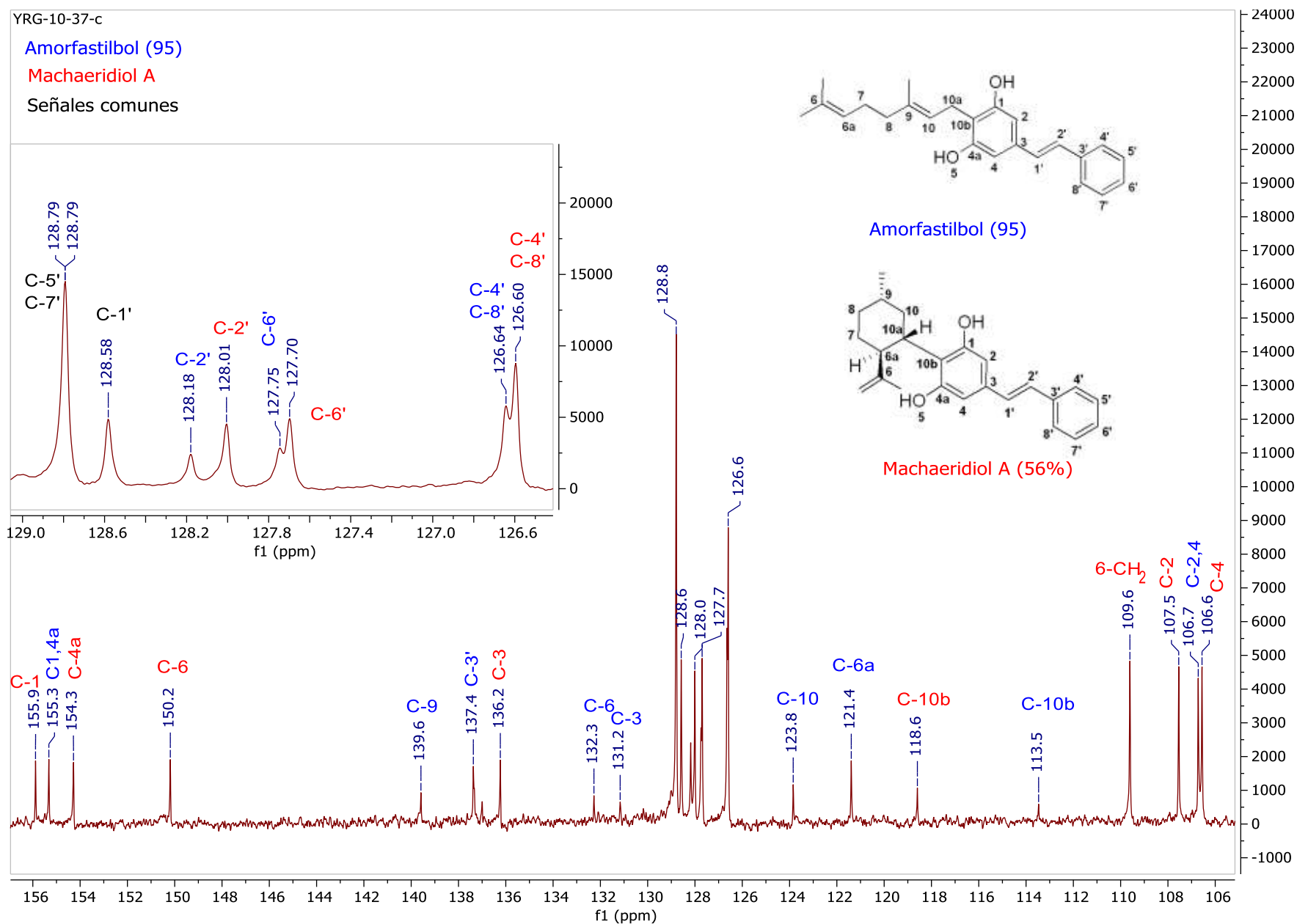


Figura 14. ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) de la mezcla 44:56 de amorfastilbol (**95**) + machaeridiol A

YRG-10-37-c

Amorfastilbol (95)

Machaeridiol A

Señales comunes

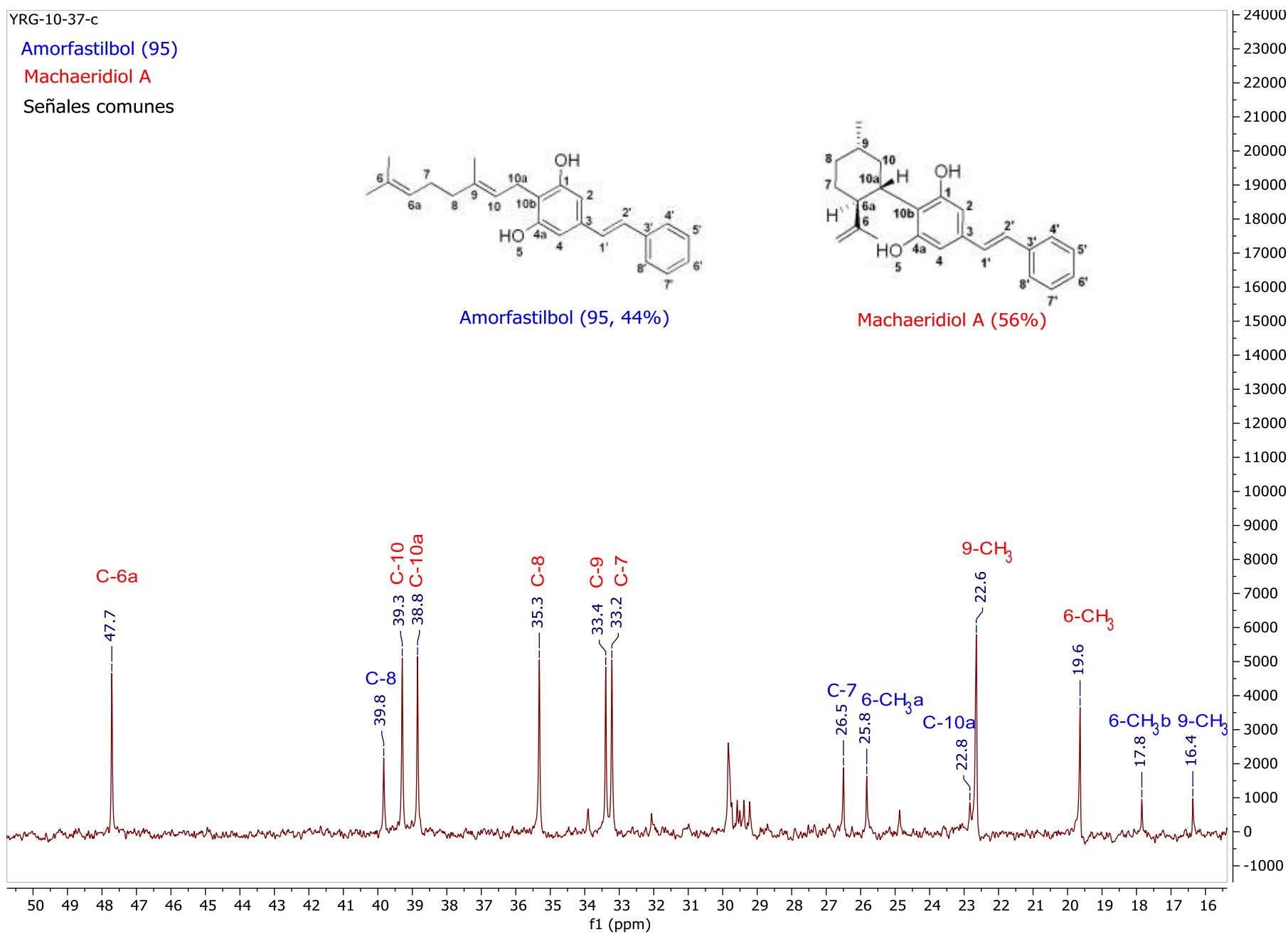


Figura 15. ¹³CNMR (CDCl₃, 100 MHz) de la mezcla 44:56 de amorfastilbol (95) + machaeridiol A

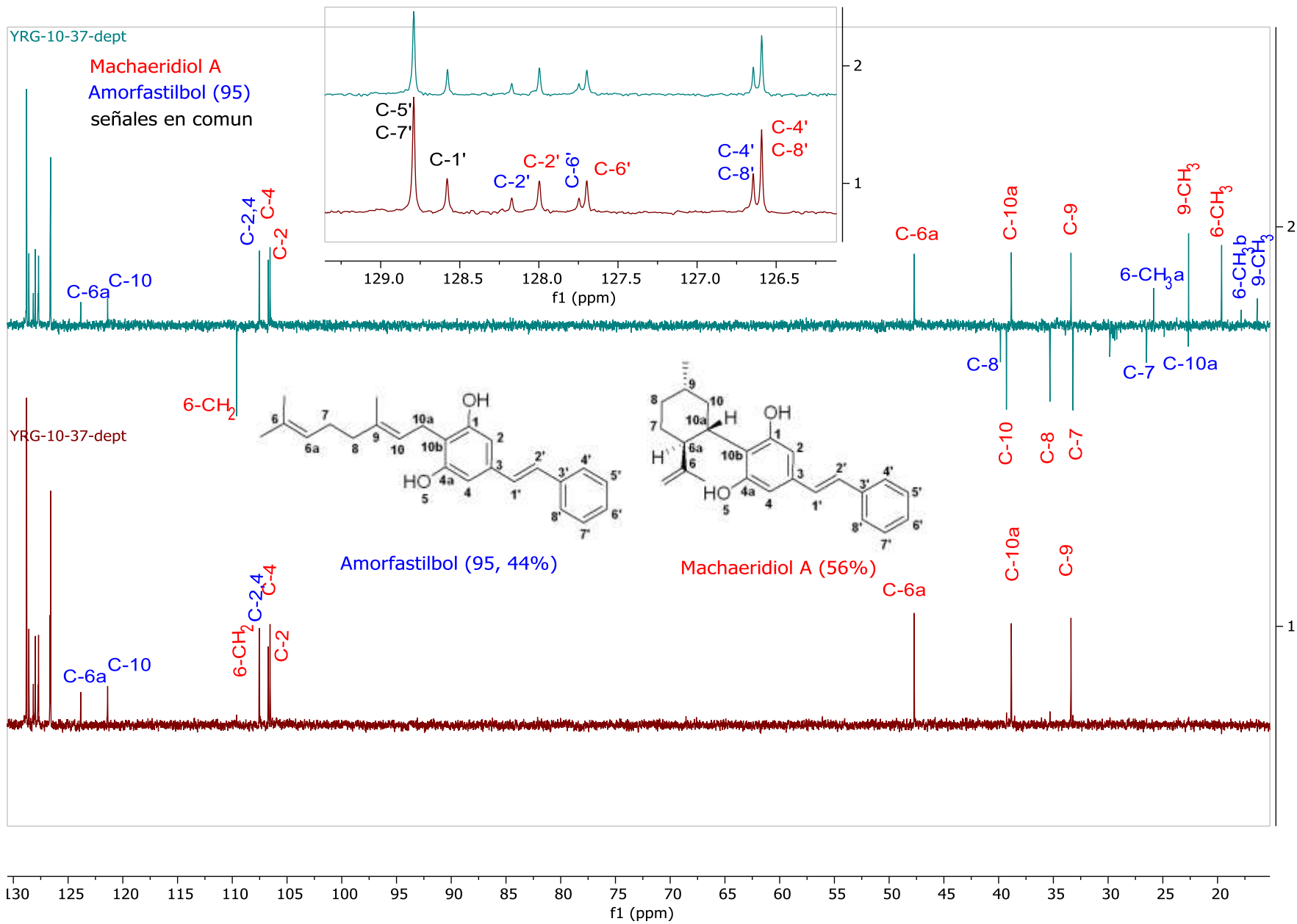


Figura 16. DEPT (CDCl₃, 100 MHz) de la mezcla 44:56 de amorfastilbol (95) + machaeridiol A

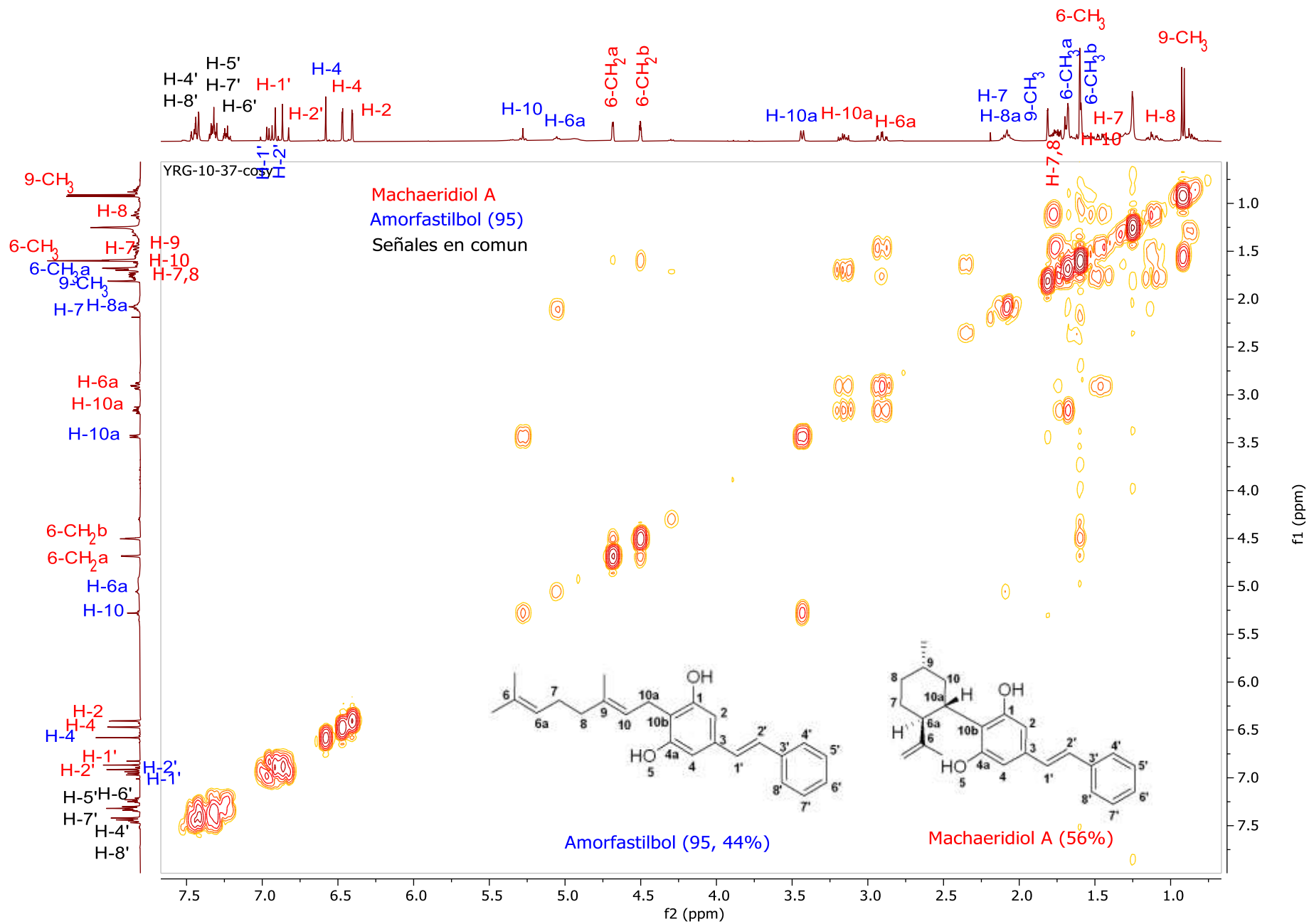


Figura 17. expansión COSY (CDCl₃, 400 MHz) de la mezcla 44:56 de amorfastilbol (95) + machaeridiol A

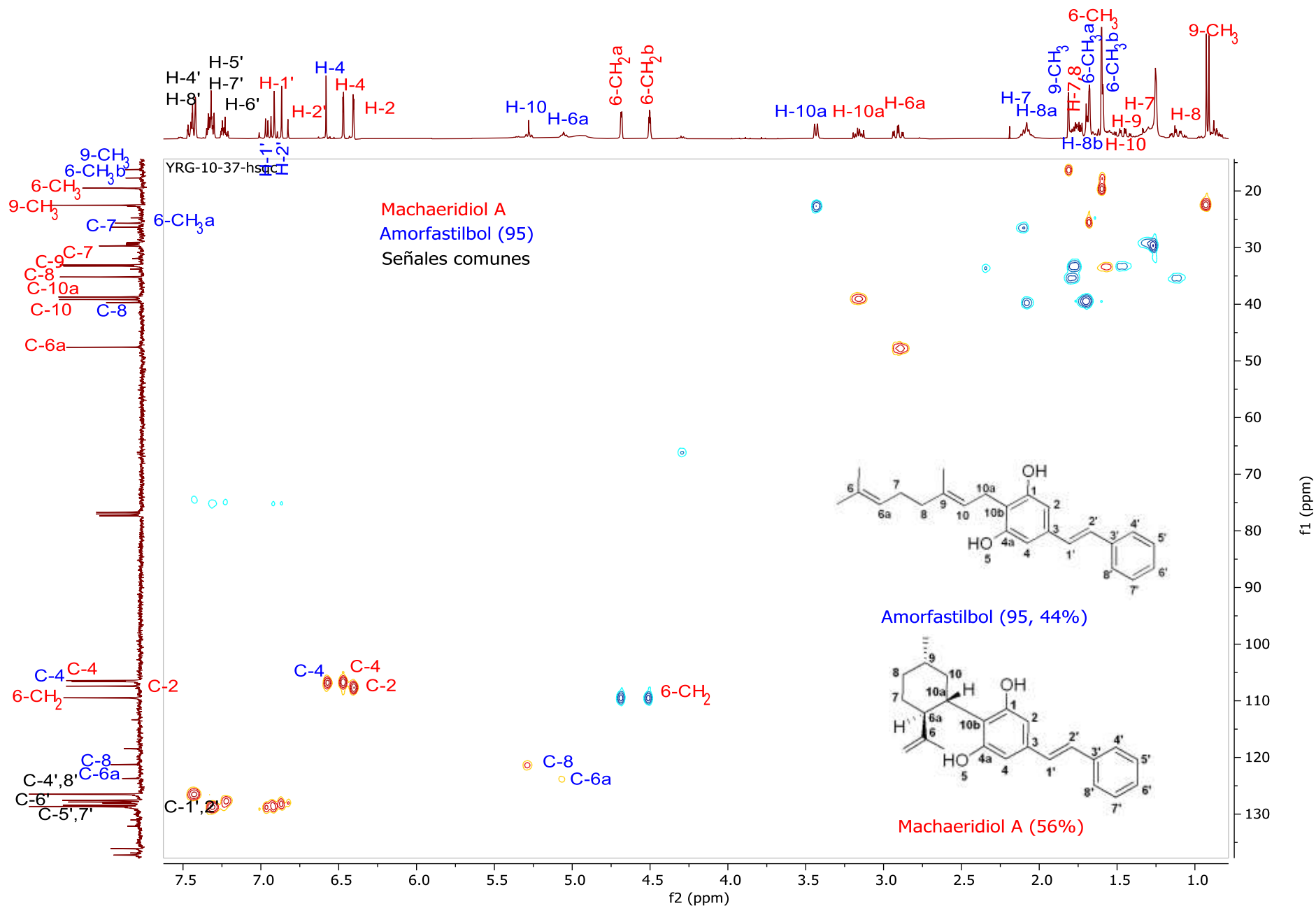


Figura 18. HSQC (CDCl₃, 400/100 MHz) de la mezcla 44:56 de amorfastilbol (95) + machaeridiol A

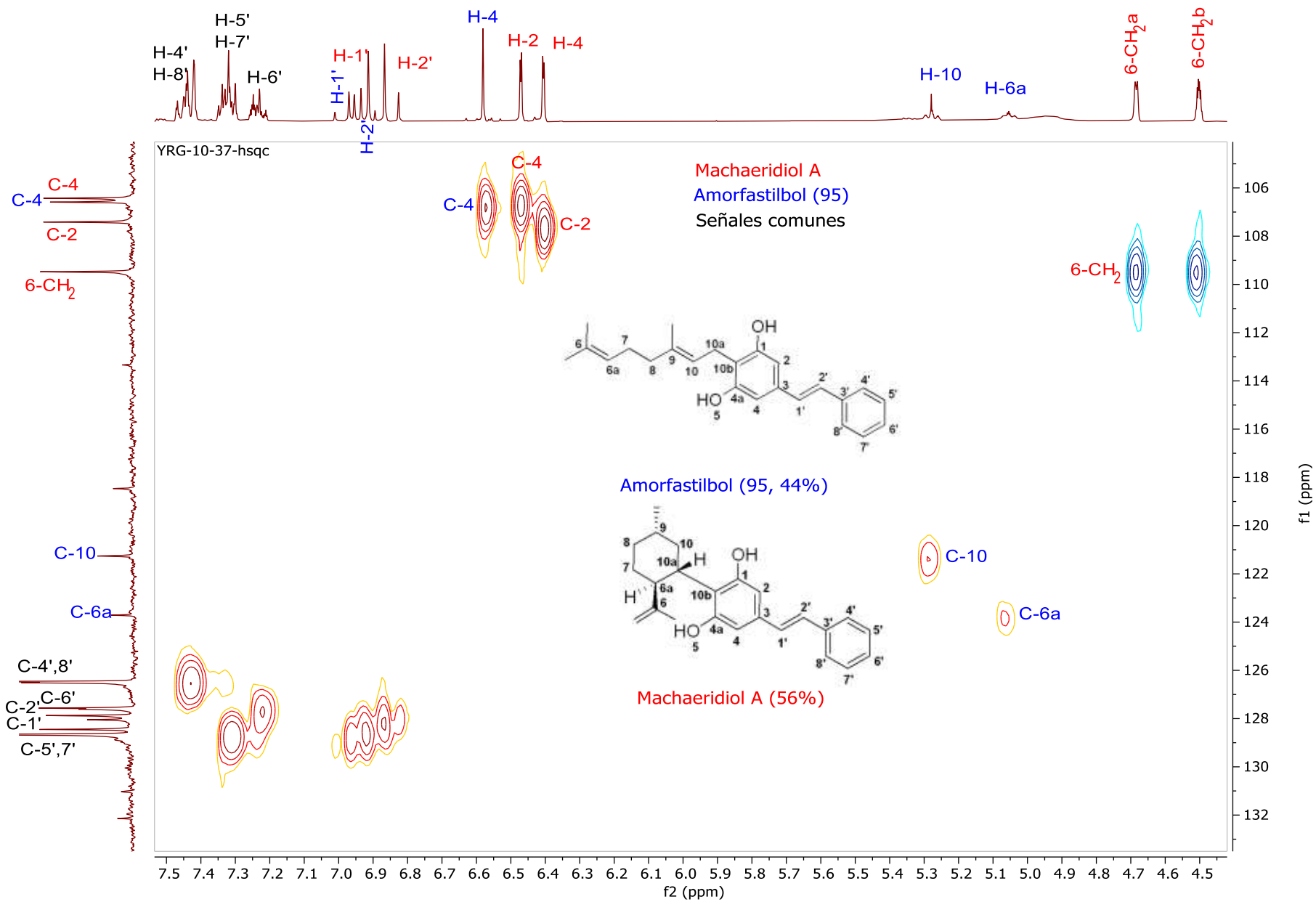


Figura 19. HSQC (CDCl₃, 400/100 MHz) de la mezcla 44:56 de amorfastilbol (95) + machaeridiol A

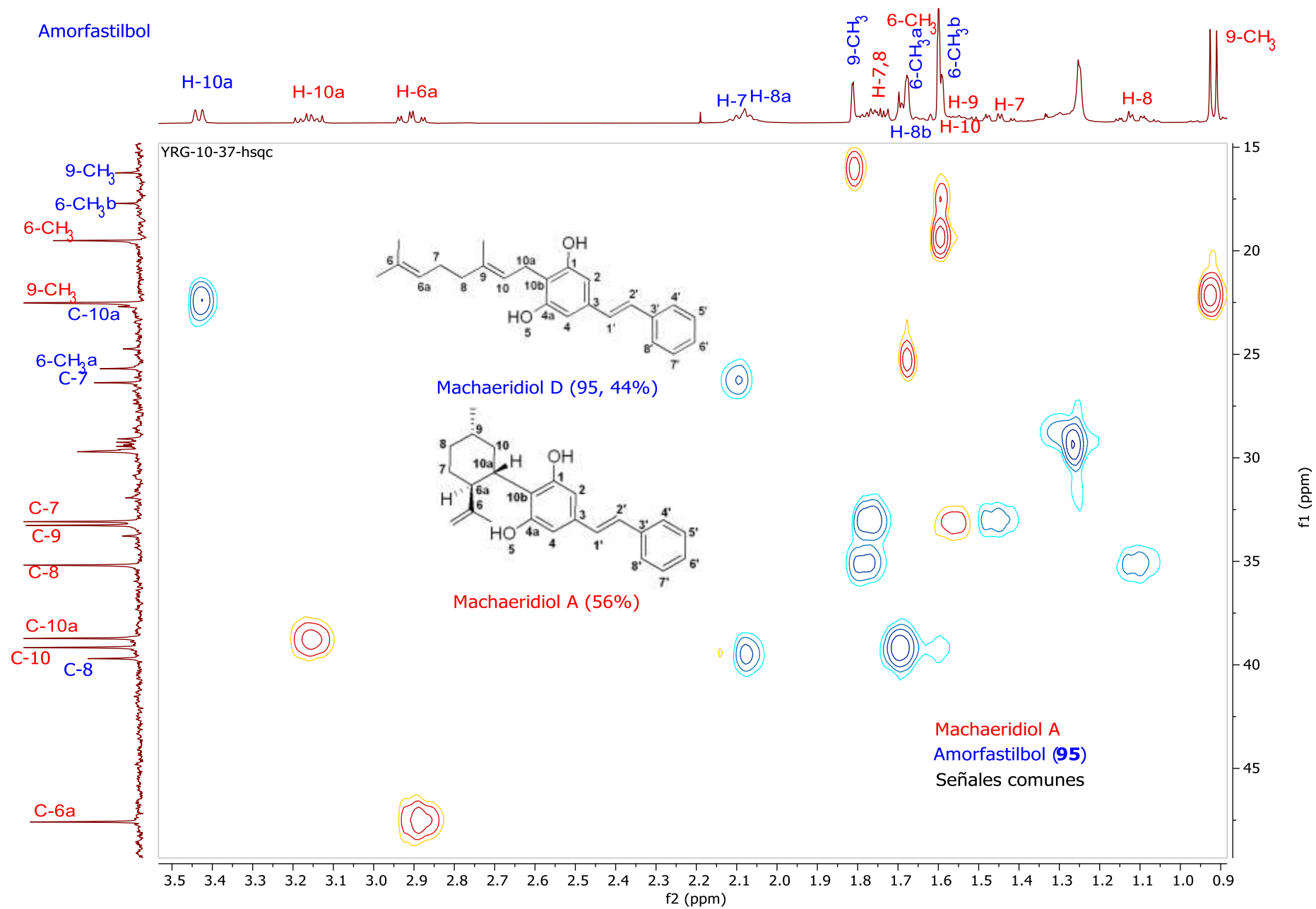


Figura 20. HSQC (CDCl₃, 400/100 MHz) de la mezcla 44:56 de amorfastilbol (95) + machaeridiol A

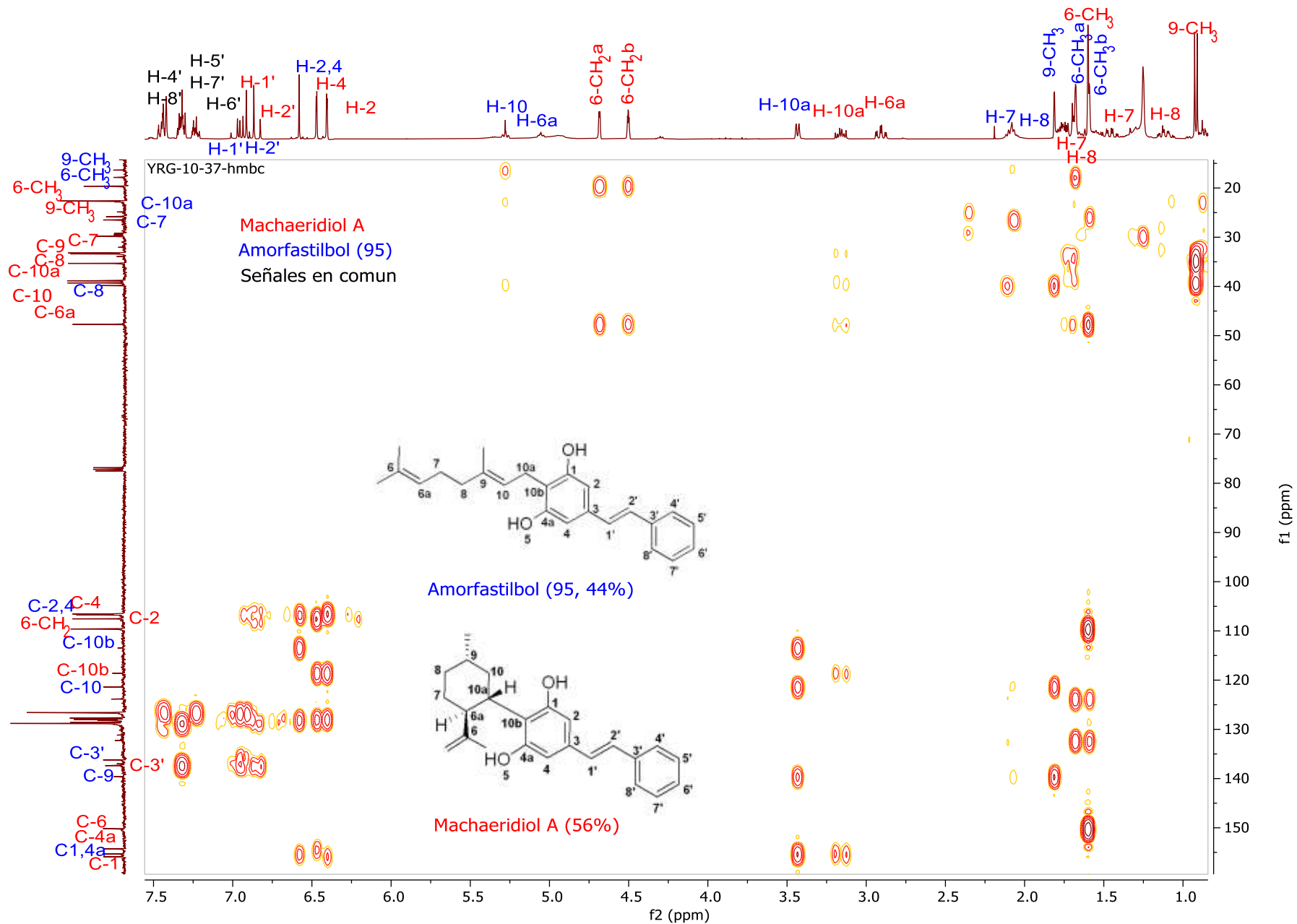


Figura 21. HMBC (CDCl₃, 400/100 MHz) de la mezcla 44:56 de amorfastilbol (95) + machaeridiol

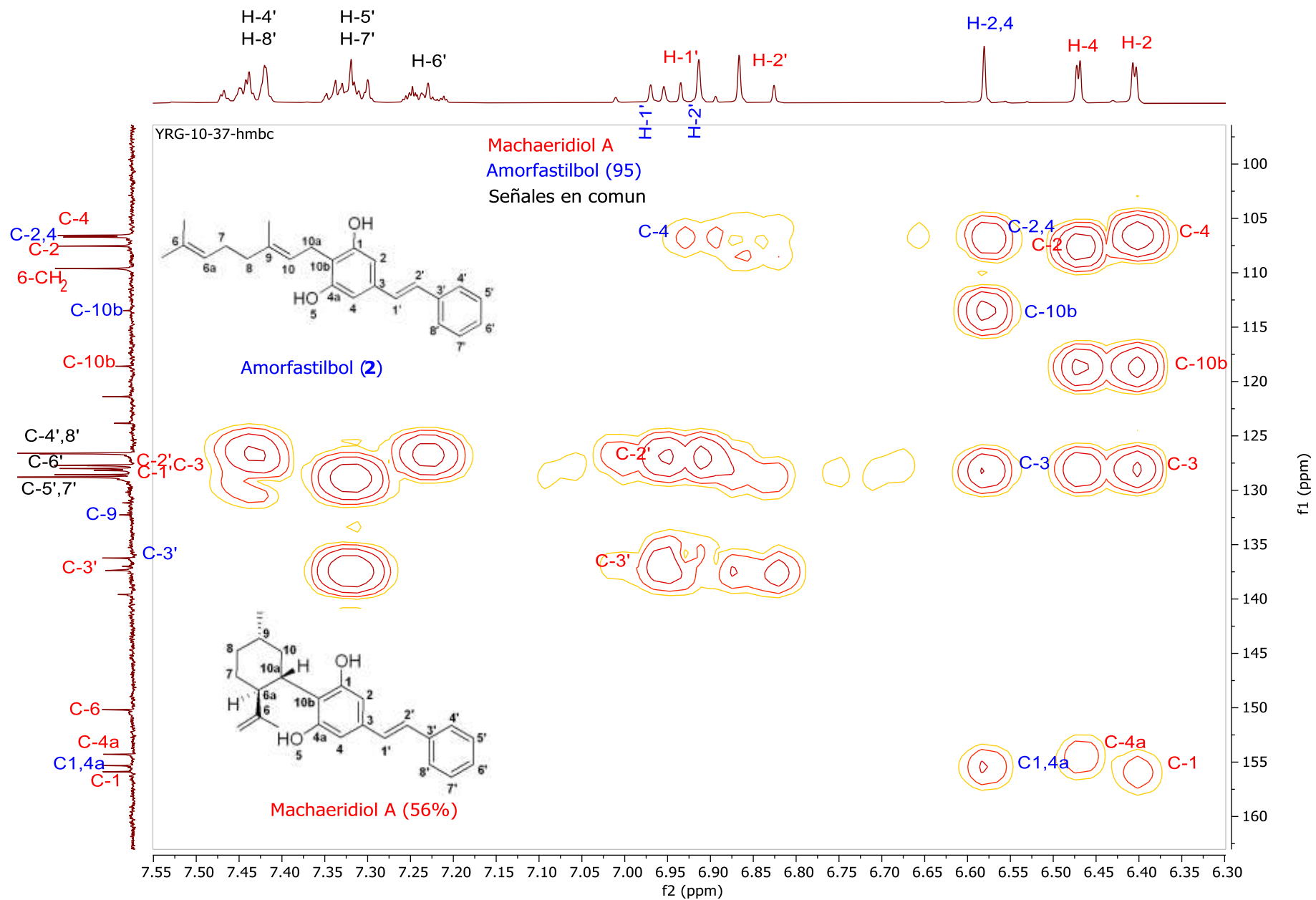


Figura 22. HMBC (CDCl₃, 400/100 MHz) de la mezcla 44:56 de amorfastilbol (95) + machaeridiol A

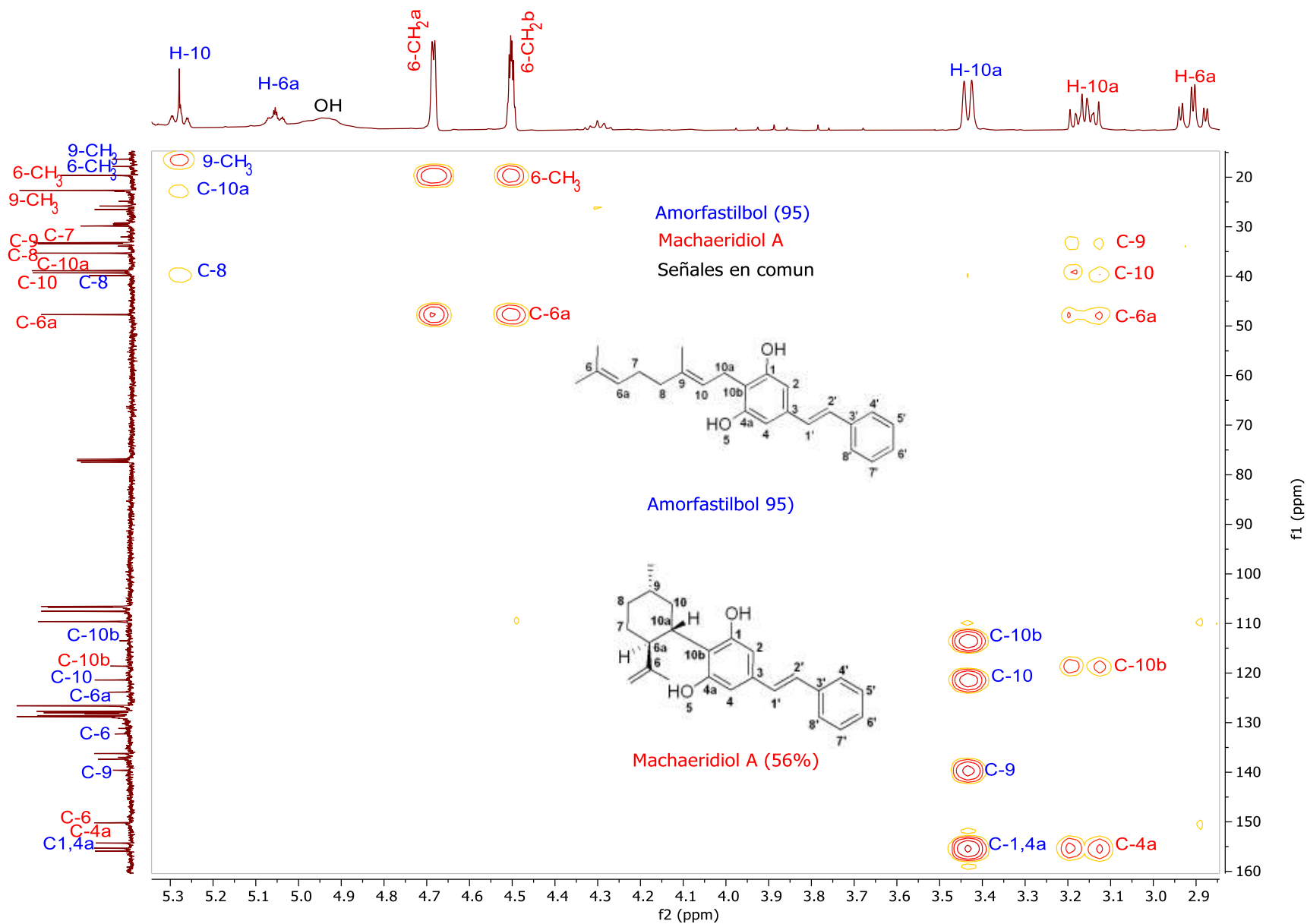


Figura 23. HMBC (CDCl₃, 400/100 MHz) de la mezcla 44:56 de amorfastilbol (95) + machaeridiol A

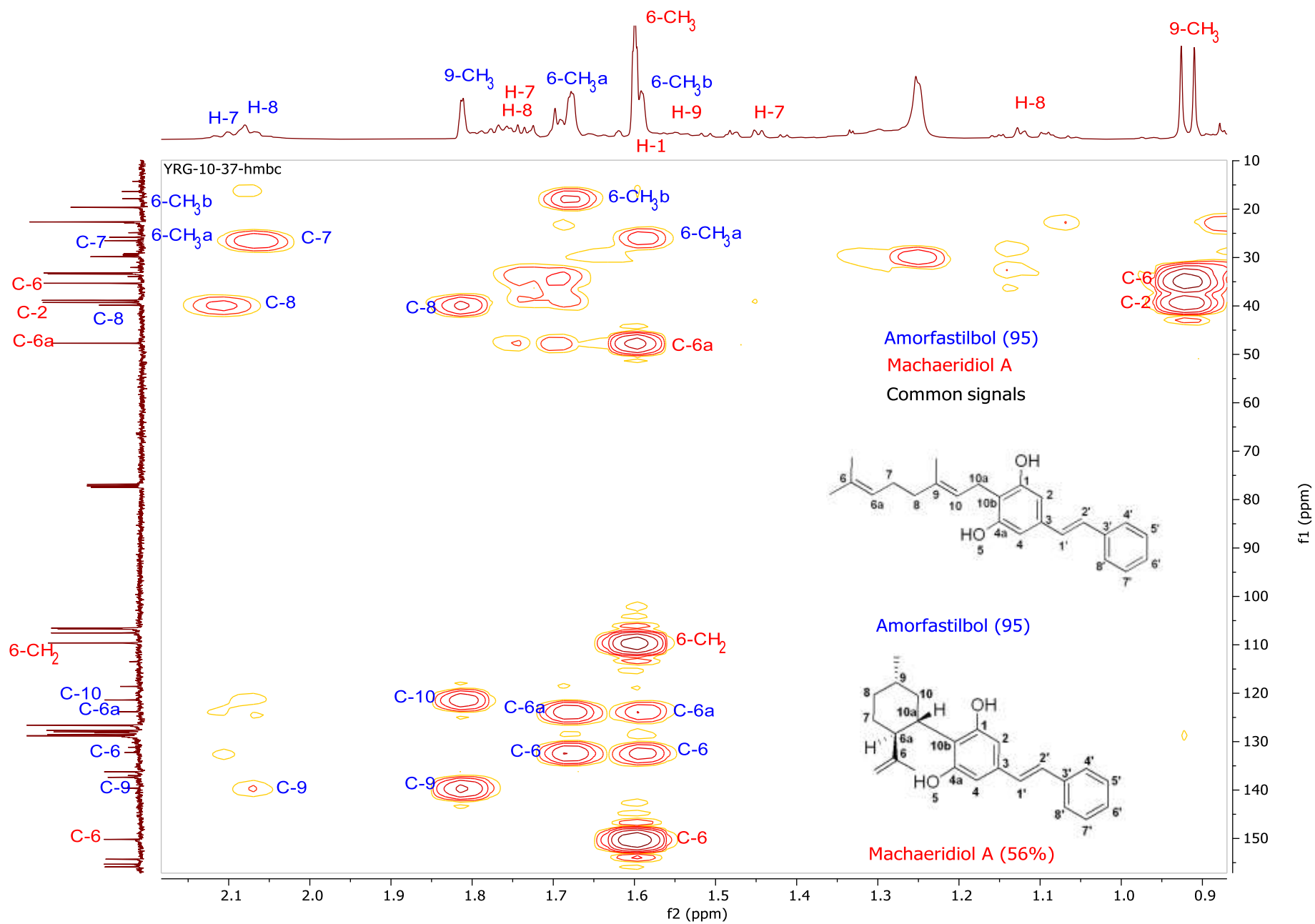


Figura 24. HMBC (CDCl₃, 400/100 MHz) de a mixture 44:56 de amorfastilbol (95) + machaeridiol A

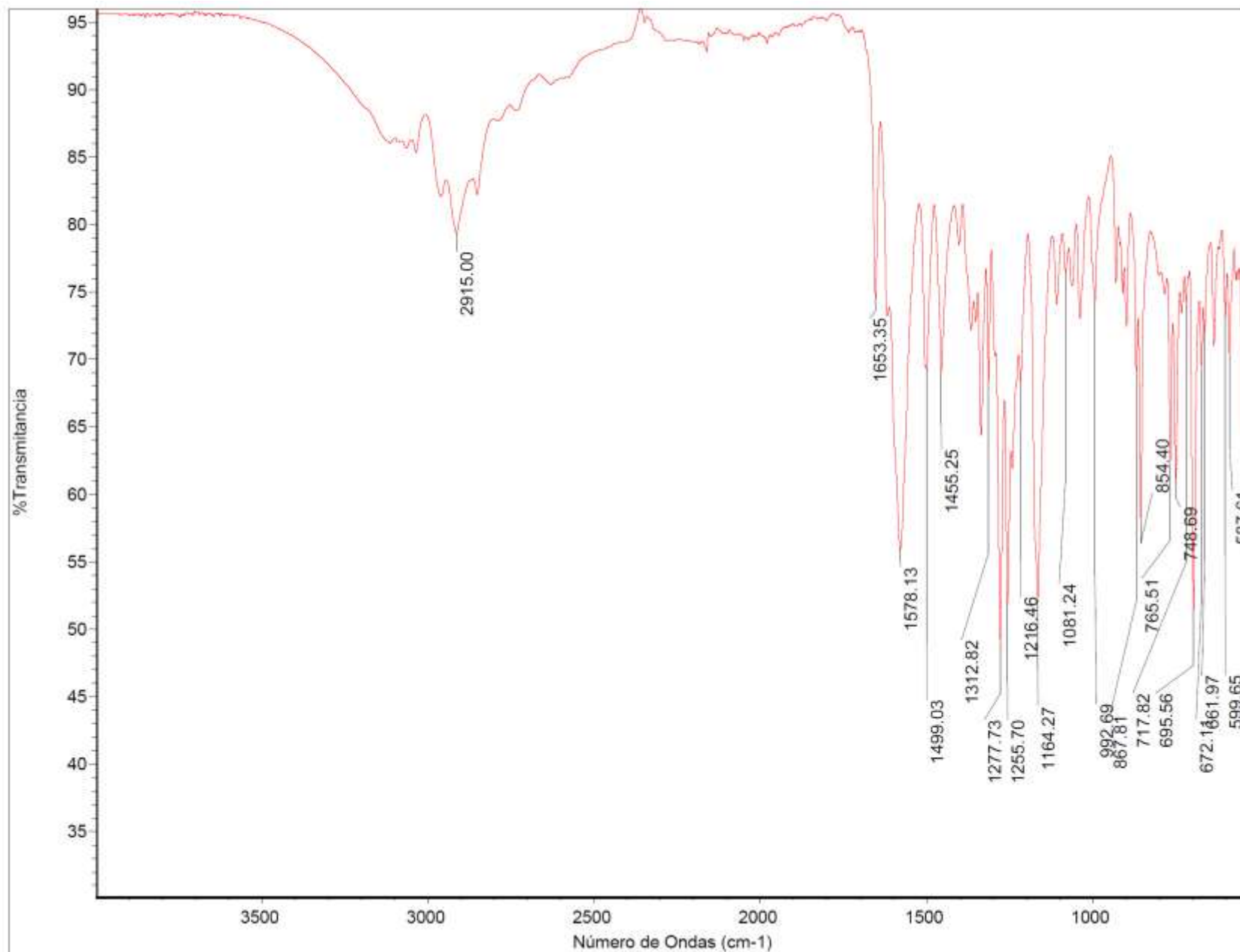


Figura 25. IR (CDCl₃) de isadelfona A (96)

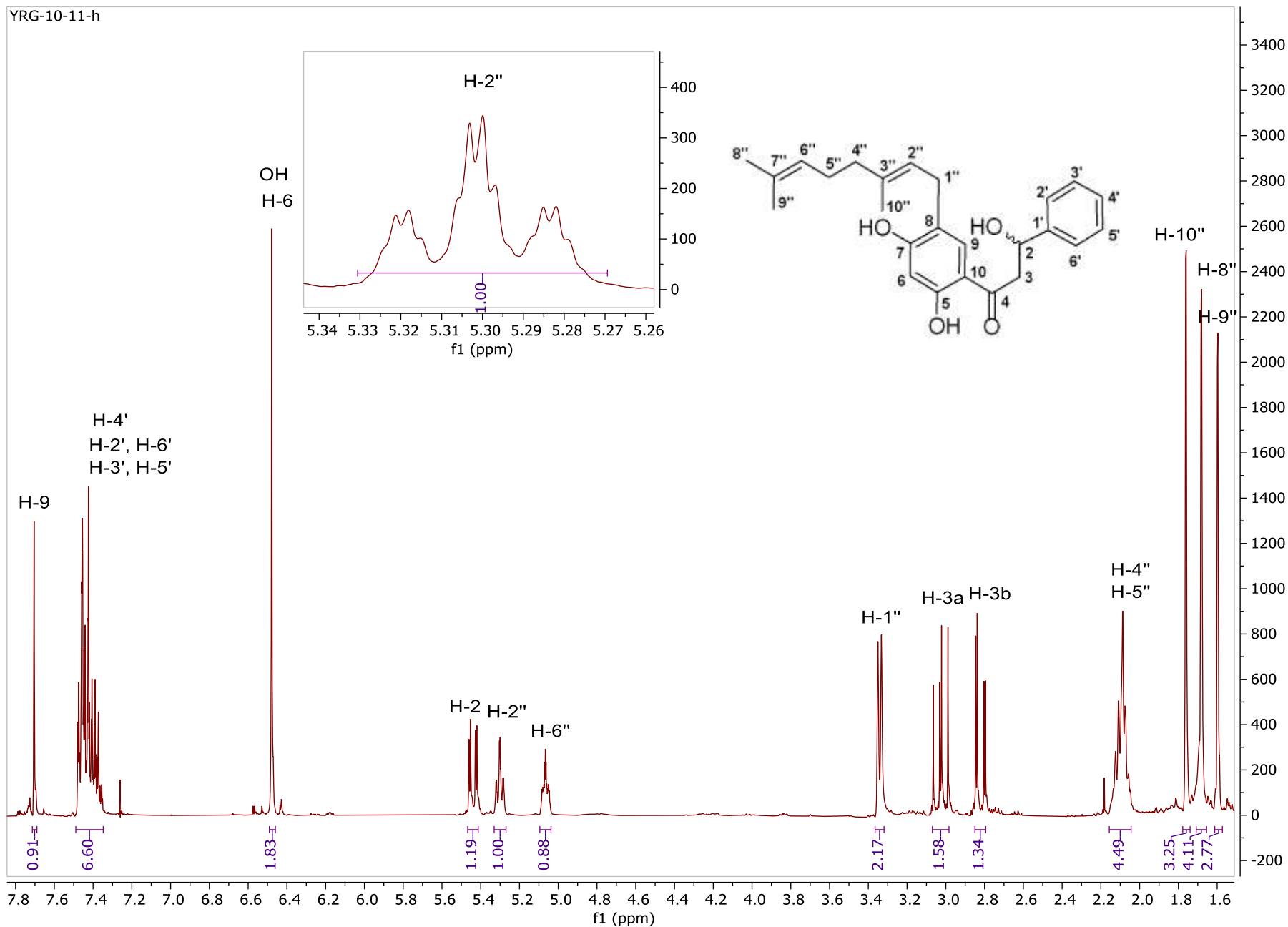


Figura 26. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) de isadelfona A (96)

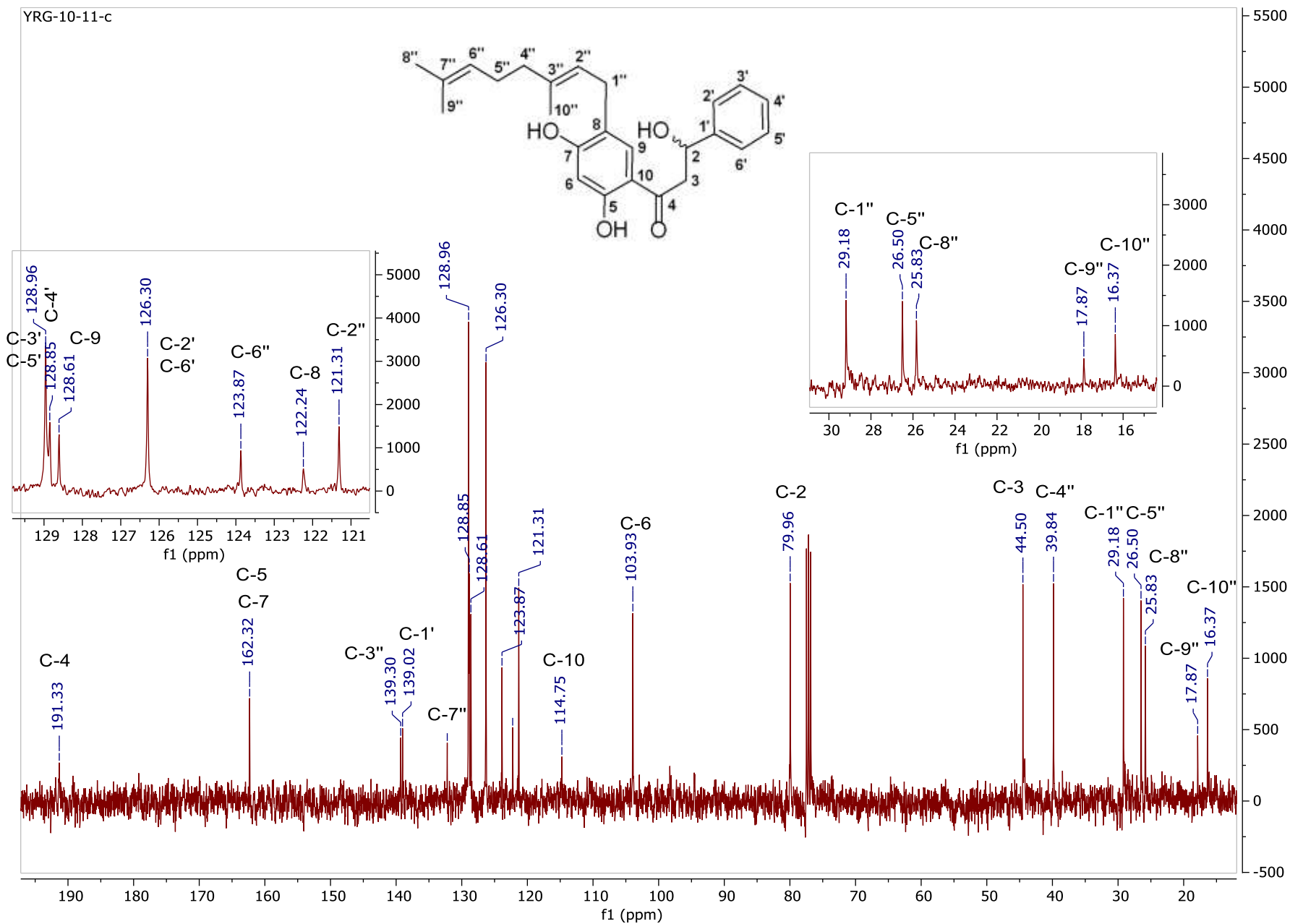


Figura 28. ^{13}C NMR (CDCl₃, 100 MHz) de isadelfona A (96)

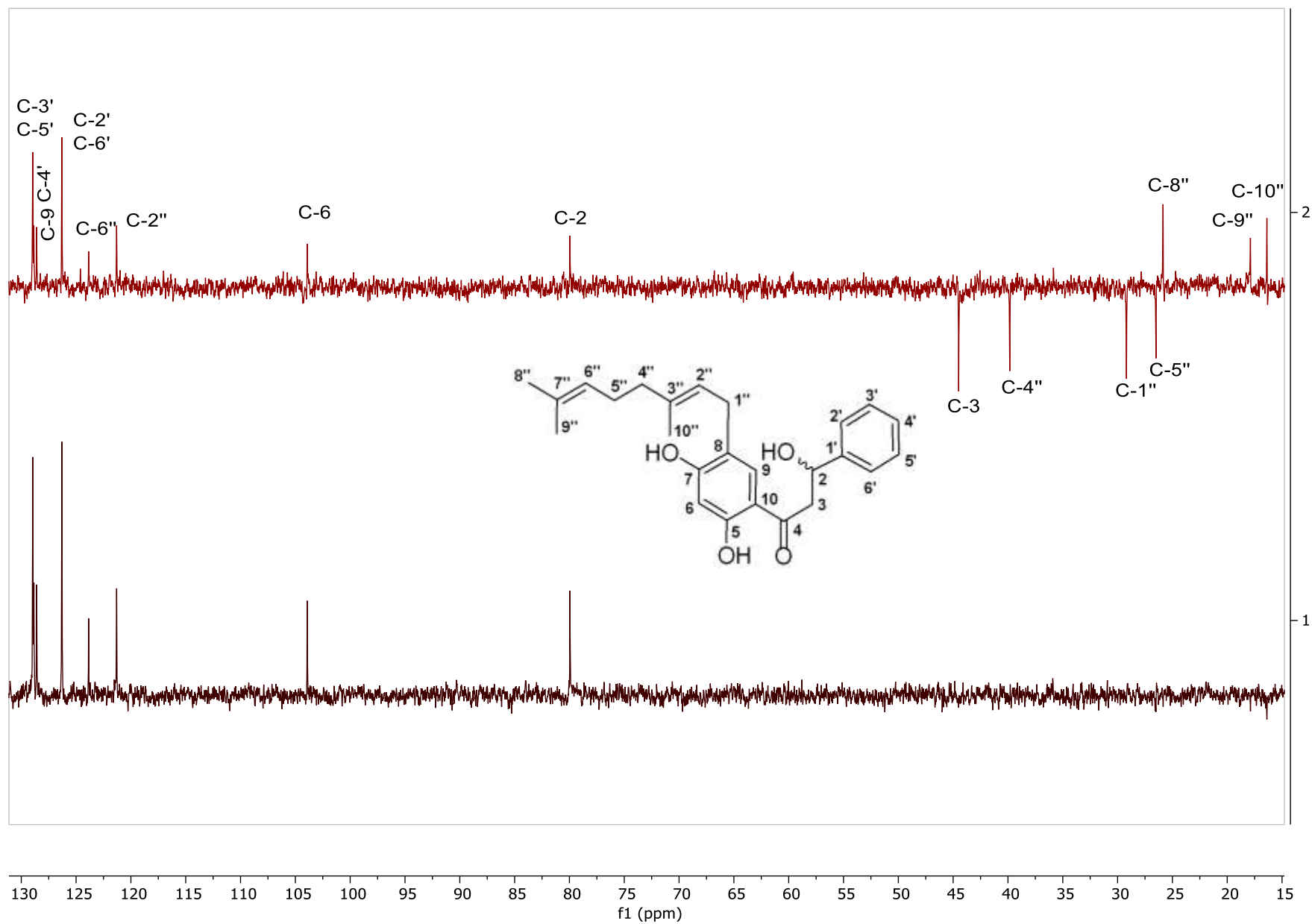


Figura 29. DEPT (CDCl₃, 100 MHz) de isadelfona A (96)

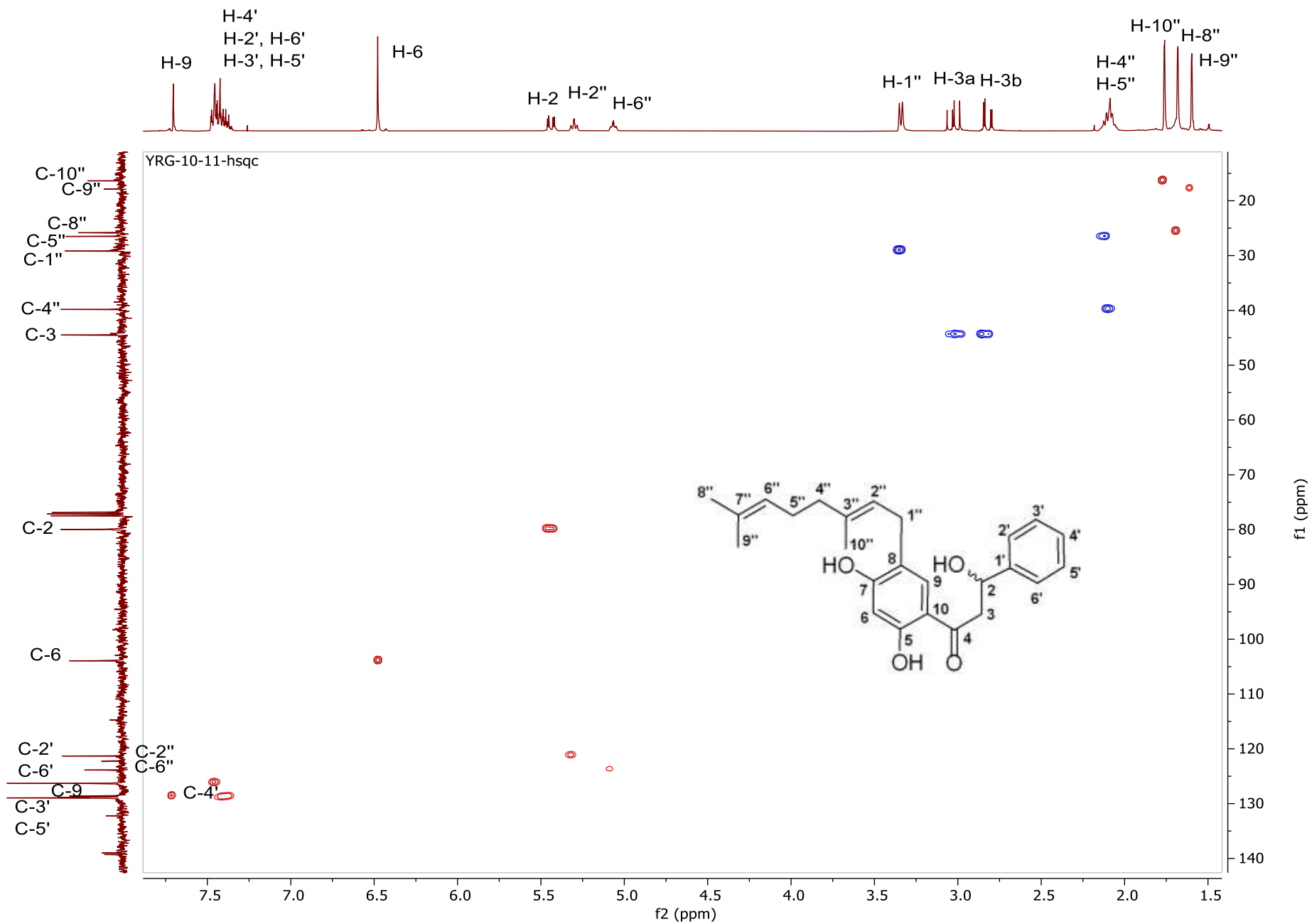


Figura 30. HSQC (CDCl₃, 400/100 MHz) de isadelfona A (96)

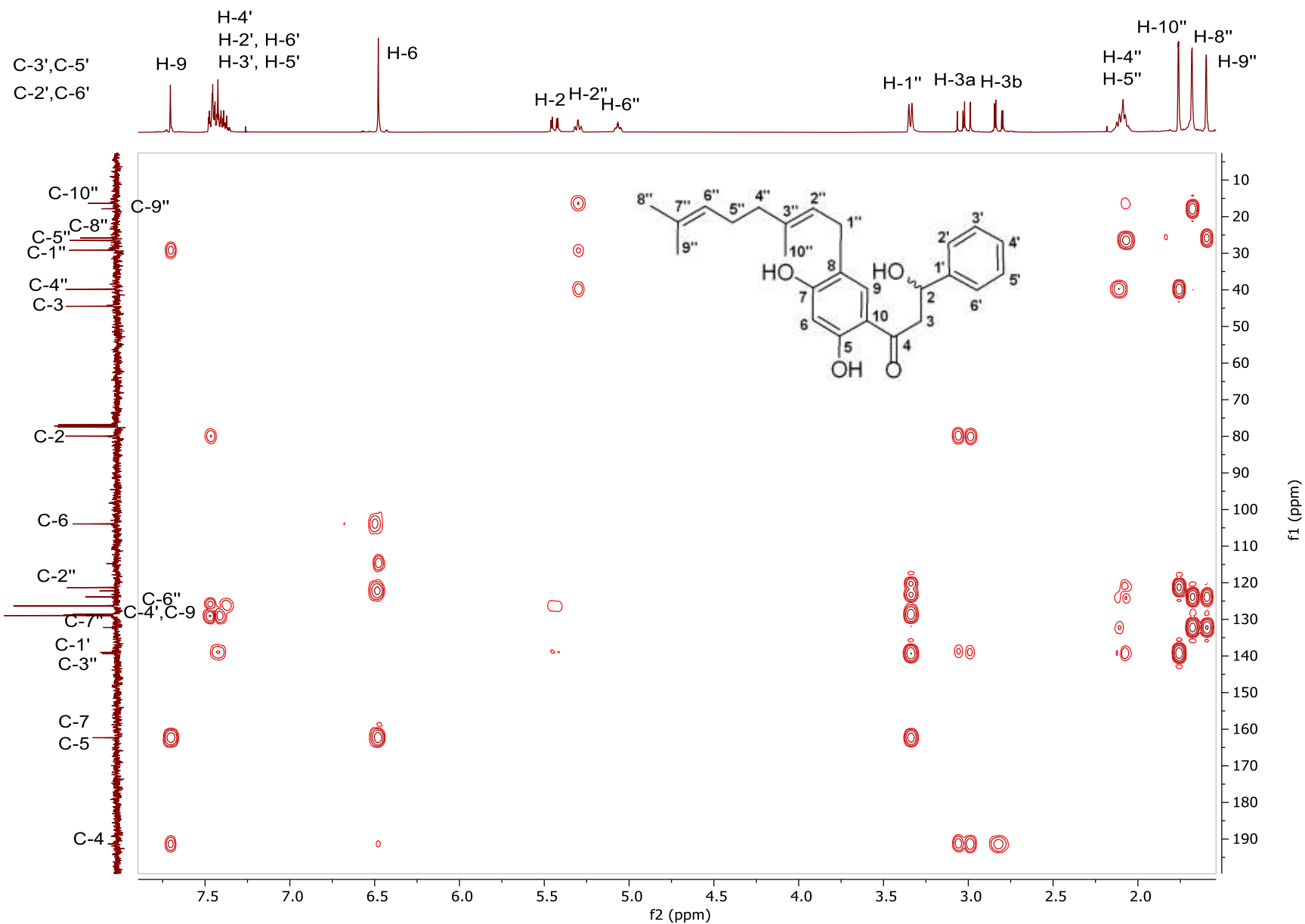


Figura 31. HMBC (CDCl₃, 400/100 MHz) de isadelfona A (96)

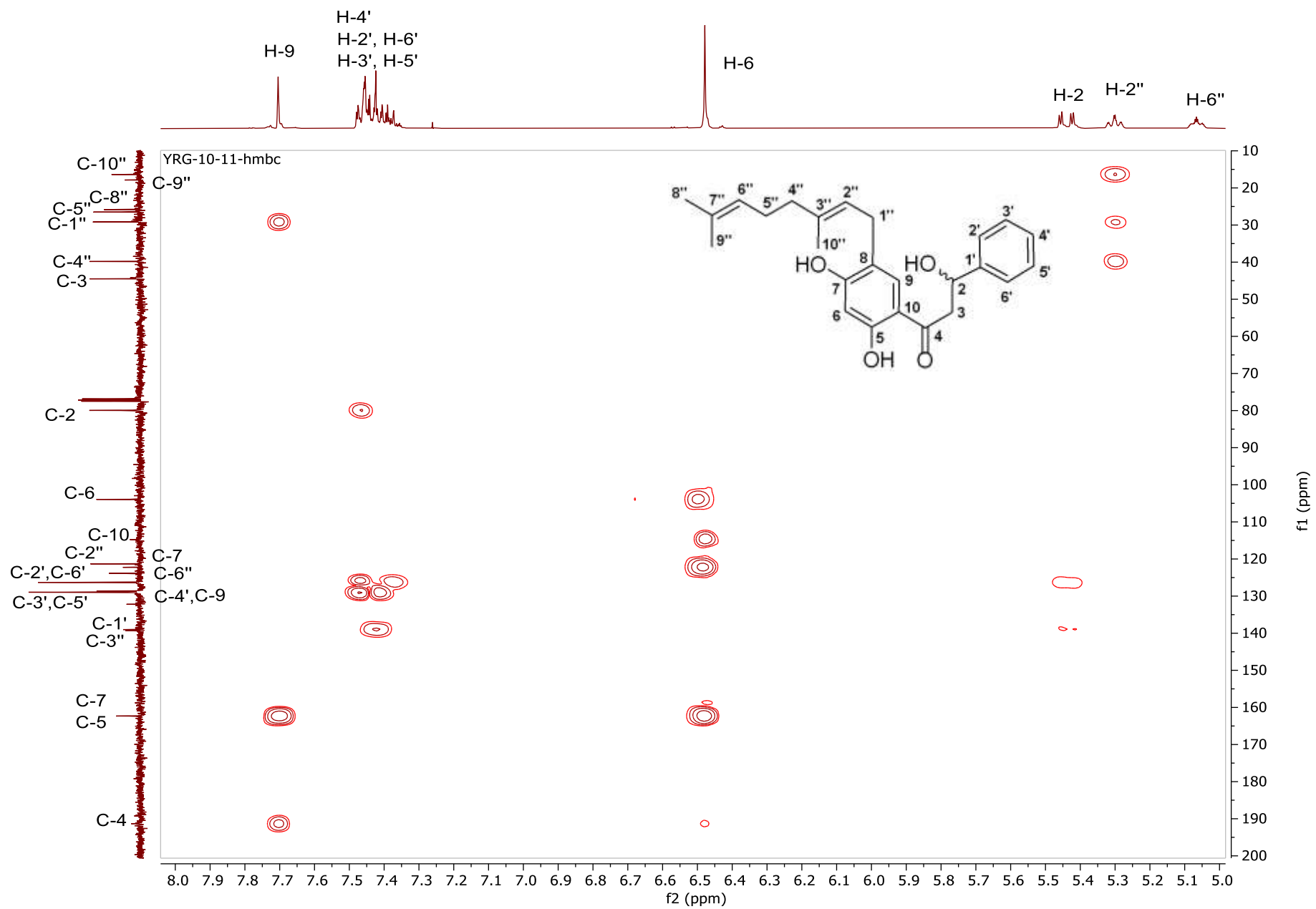


Figura 32. HMBC (CDCl₃, 400/100 MHz) de isadelfona A (96)

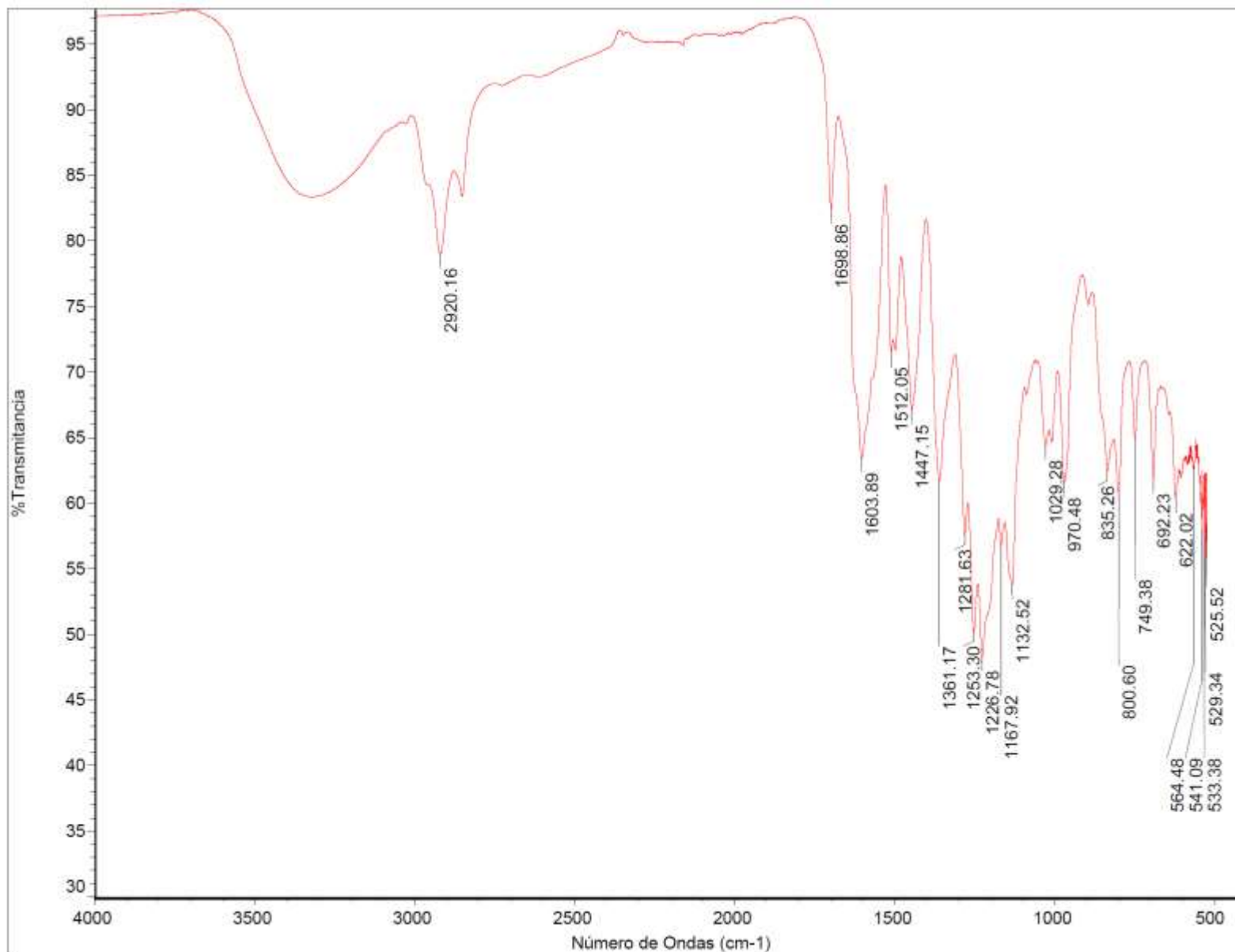


Figura 34. IR (CDCl₃) de isadelfona B (97)

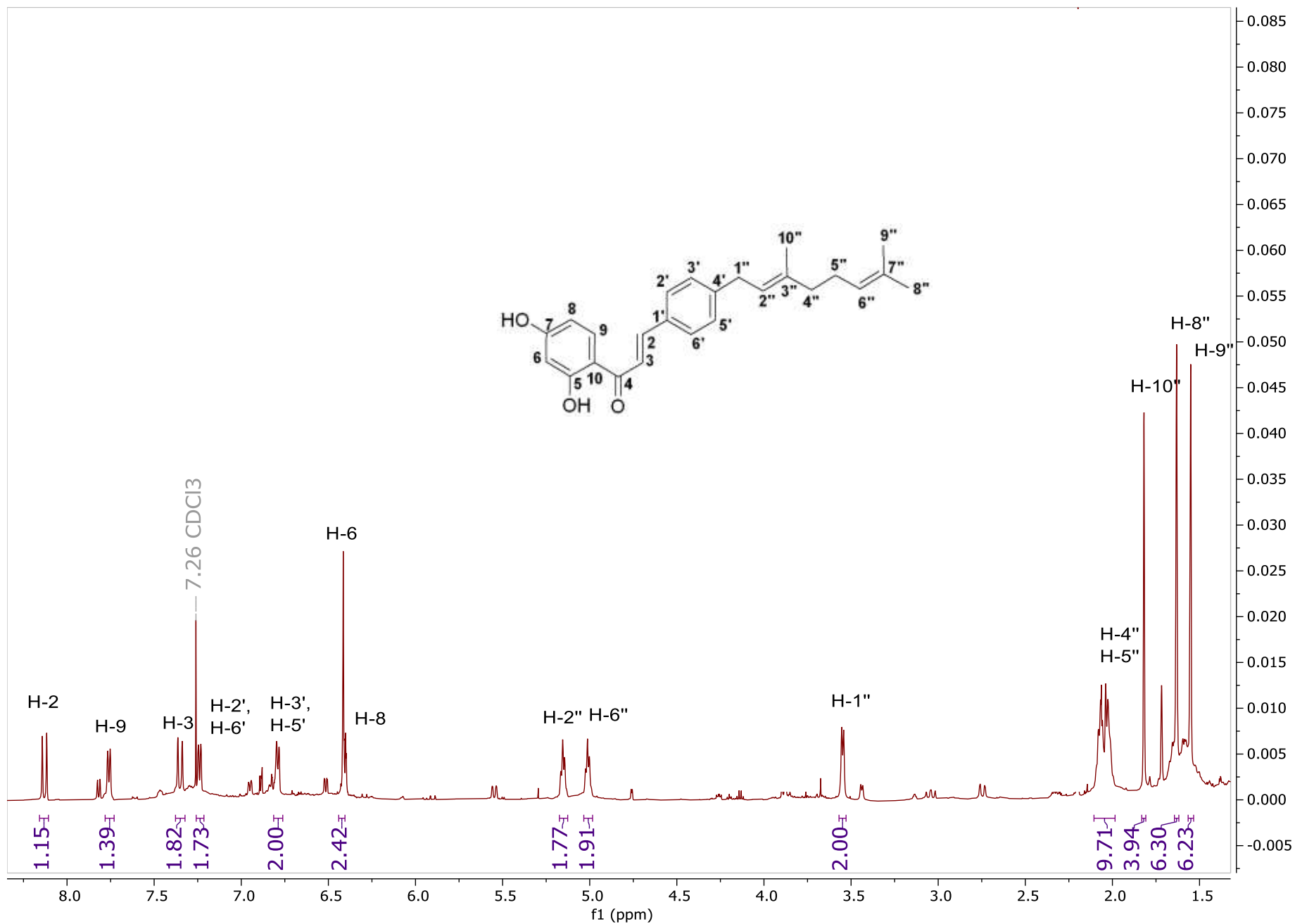


Figura 35. ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) de isadelfona B (97)

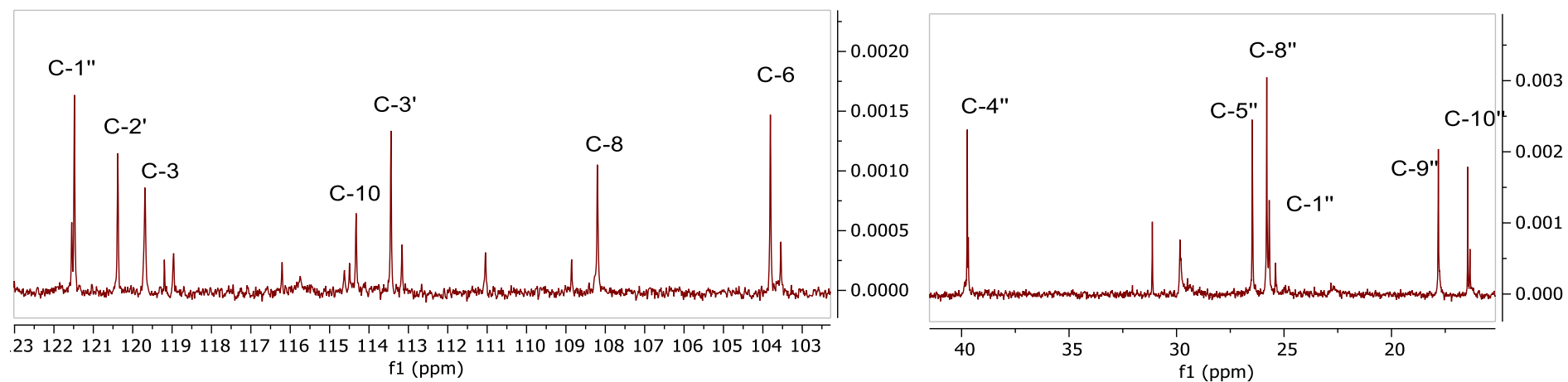
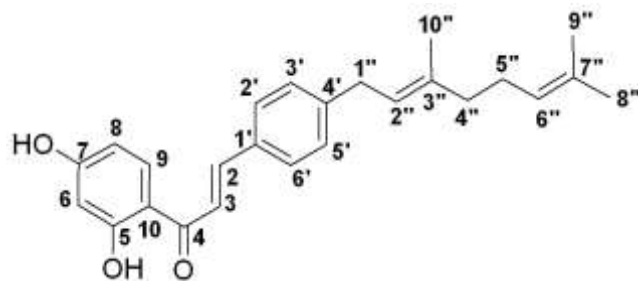
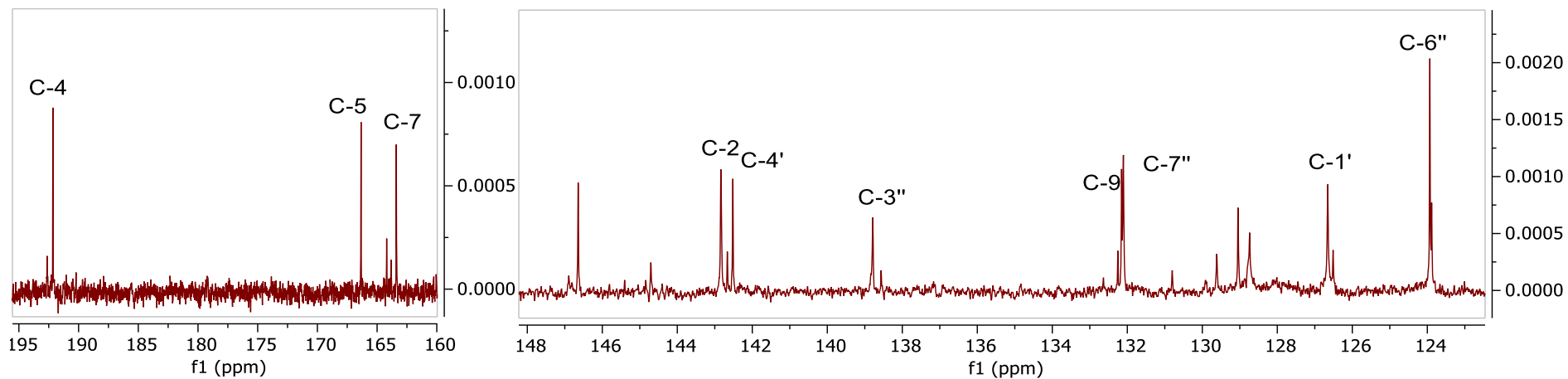


Figura 36. ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) de isadelfona B (97)

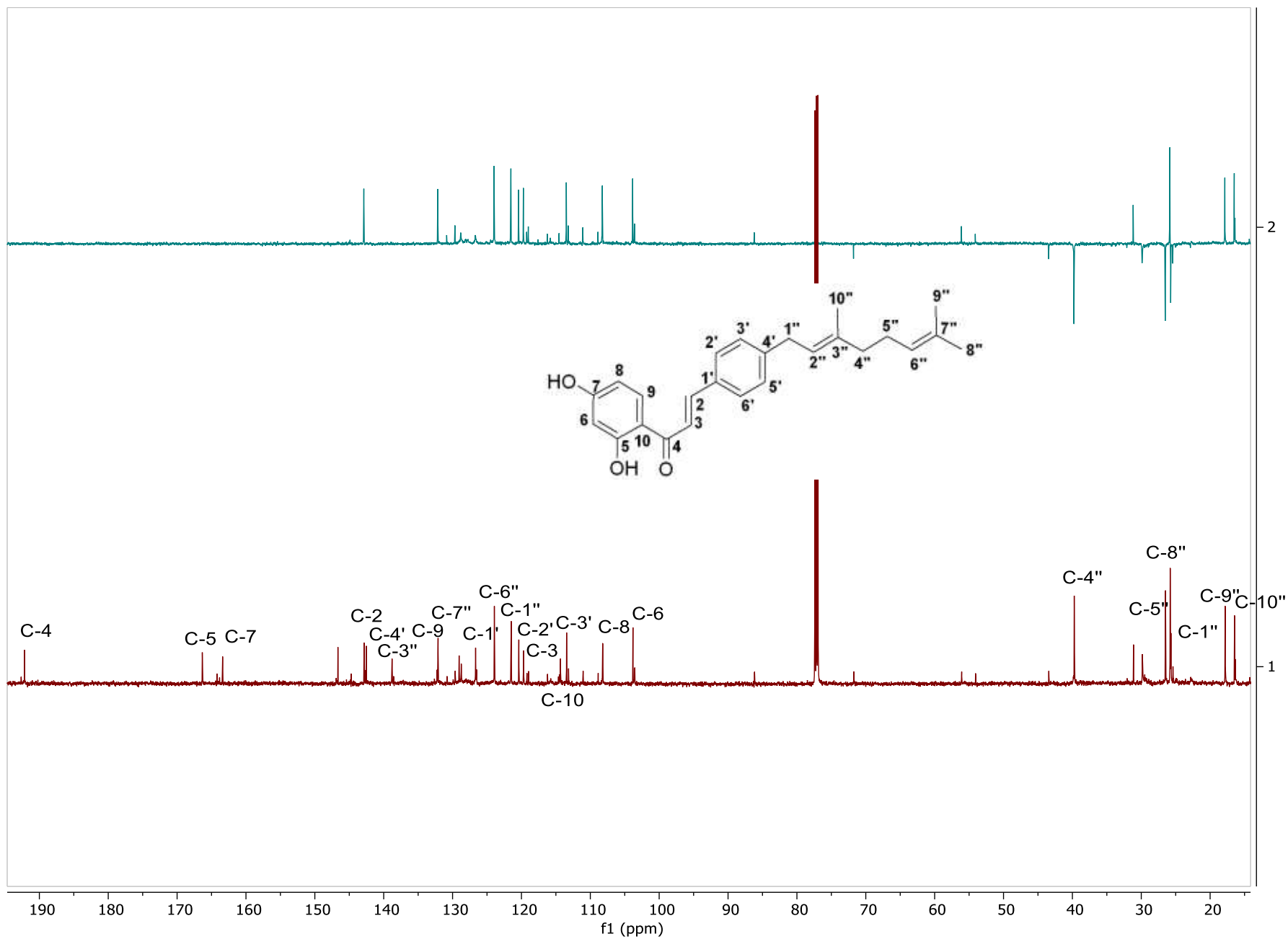


Figura 37. ^1H NMR and DEPT (CDCl_3 , 150 MHz) de isadelfona B (97)

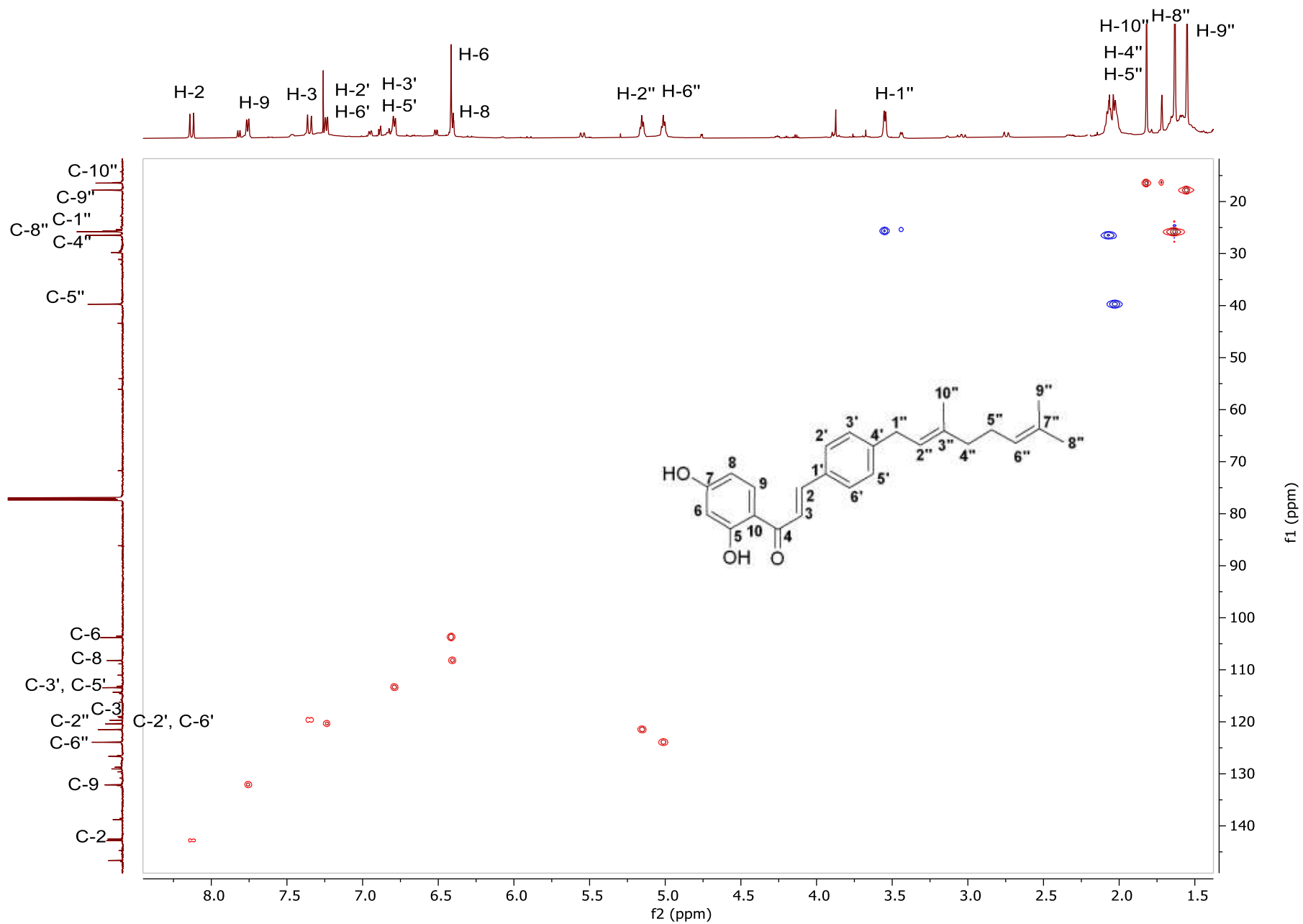


Figura 38. HSQC (CDCl₃, 150/600 MHz) de isadelfona B (97)

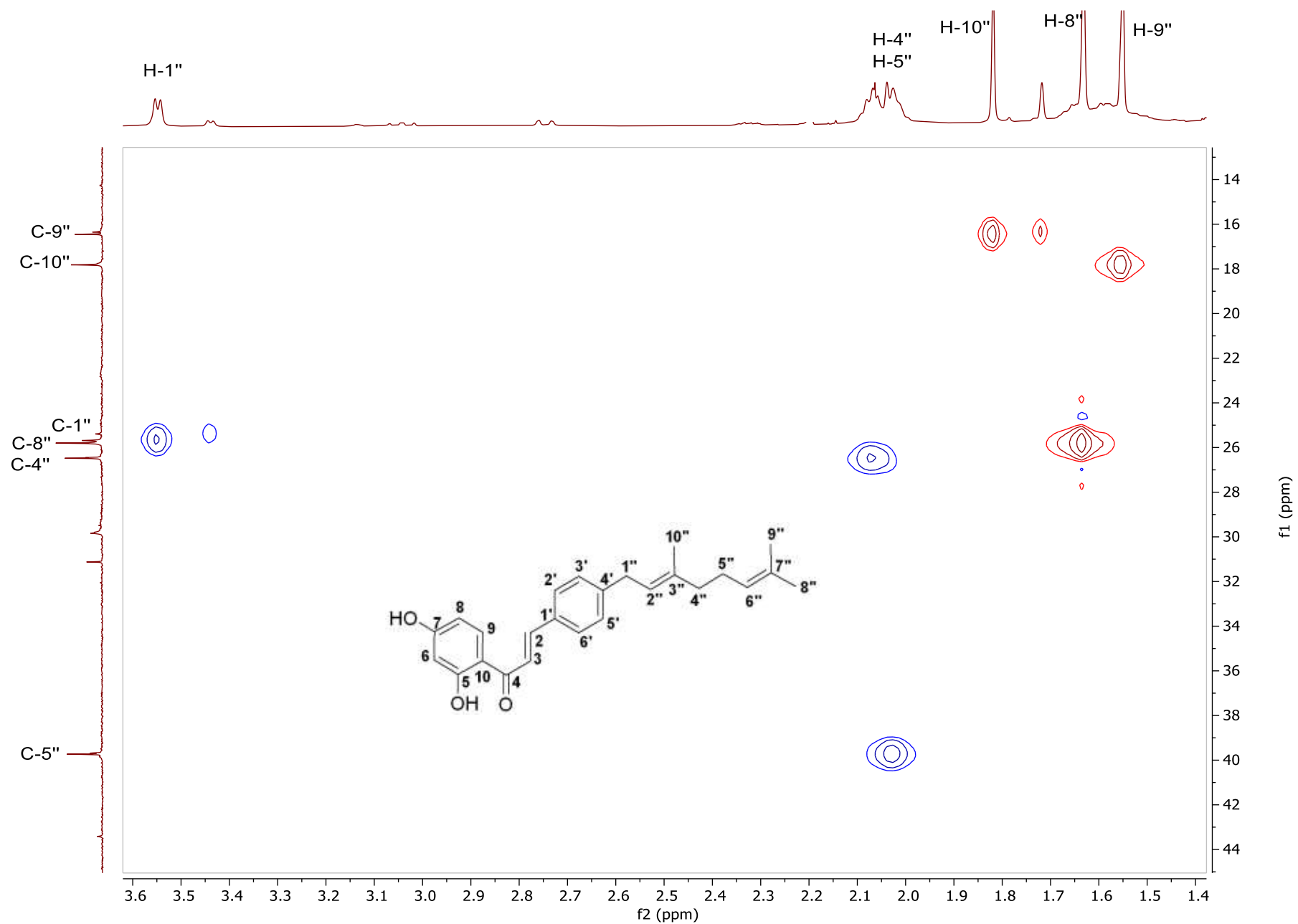


Figura 39. HSQC (CDCl_3 , 150/600 MHz) de isadelfona B (97)

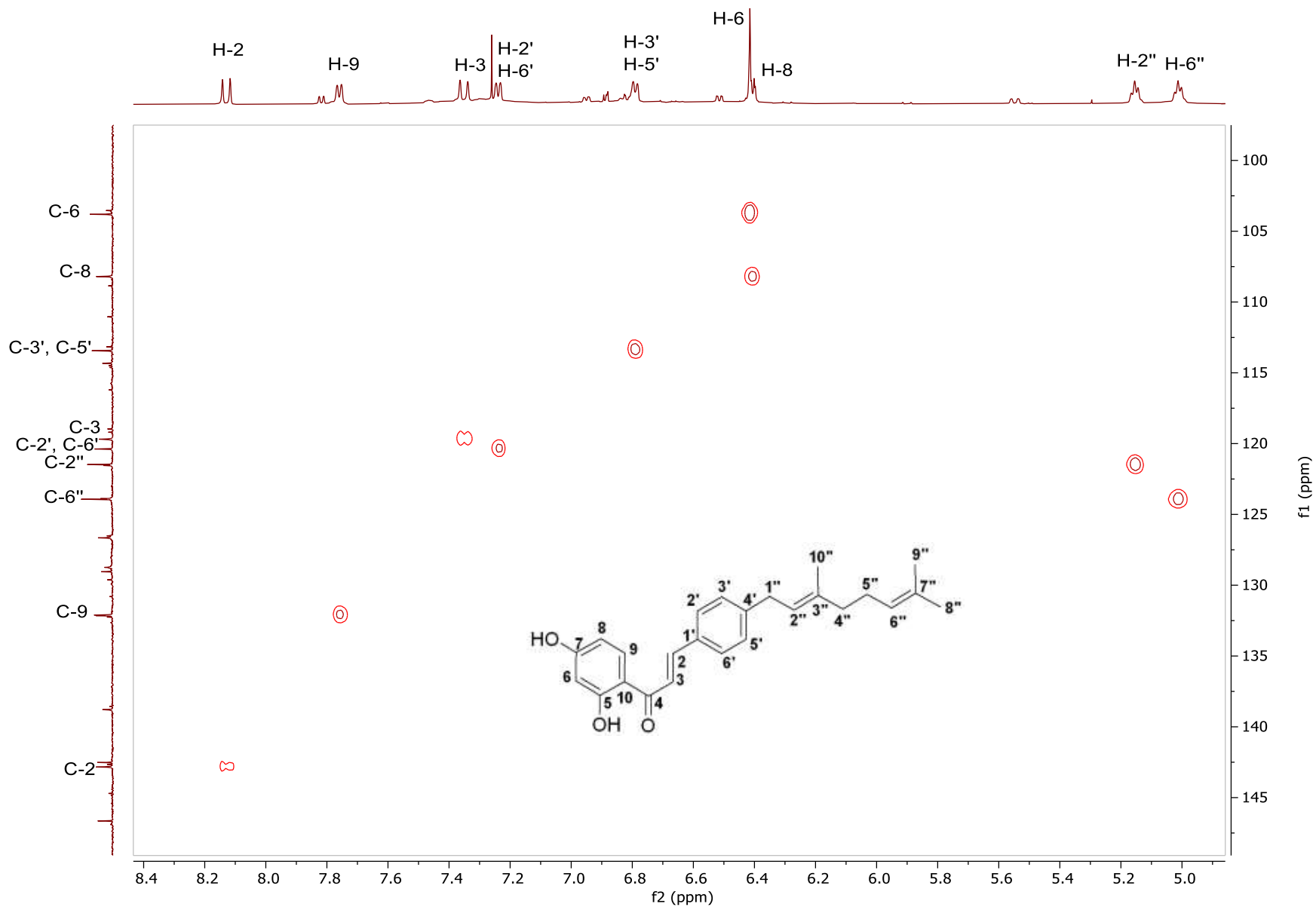


Figura 40. HSQC (CDCl₃, 150/600 MHz) de isadelfona B (97)

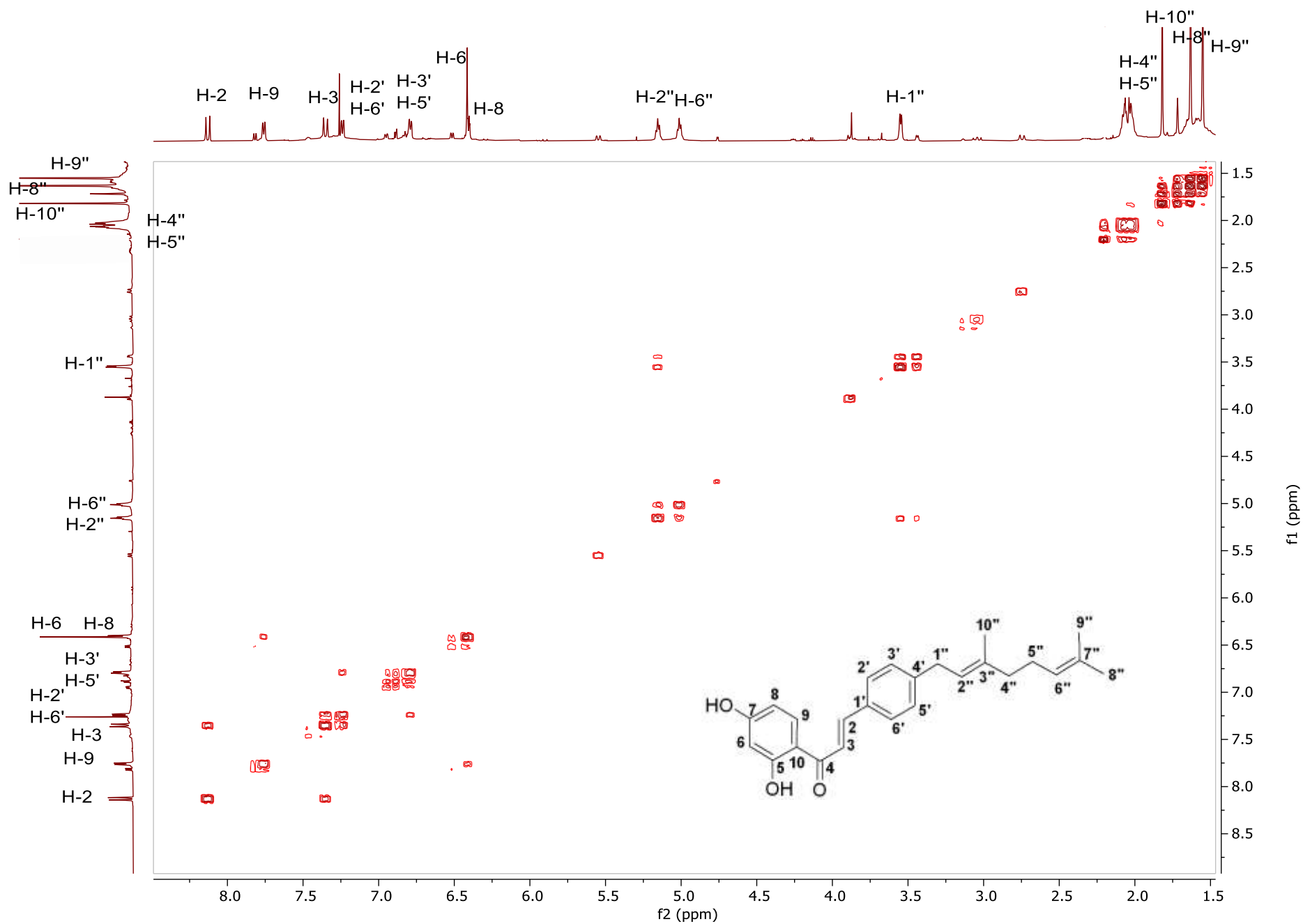


Figura 41. COSY (CDCl₃, 600 MHz) de isadelfona B (97)

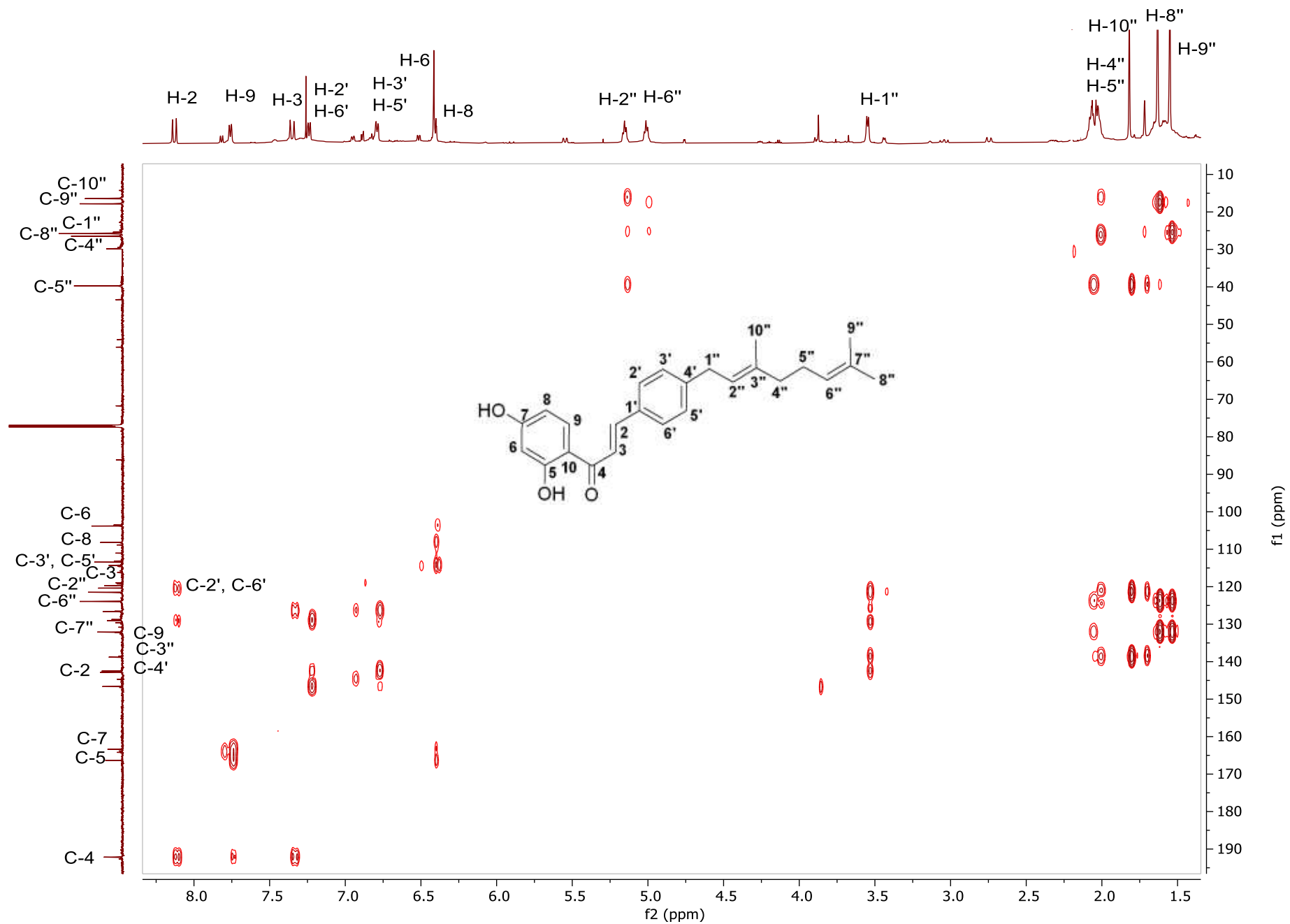


Figura 42. HMBC (CDCl₃, 150/600 MHz) de isadelfona B (97)

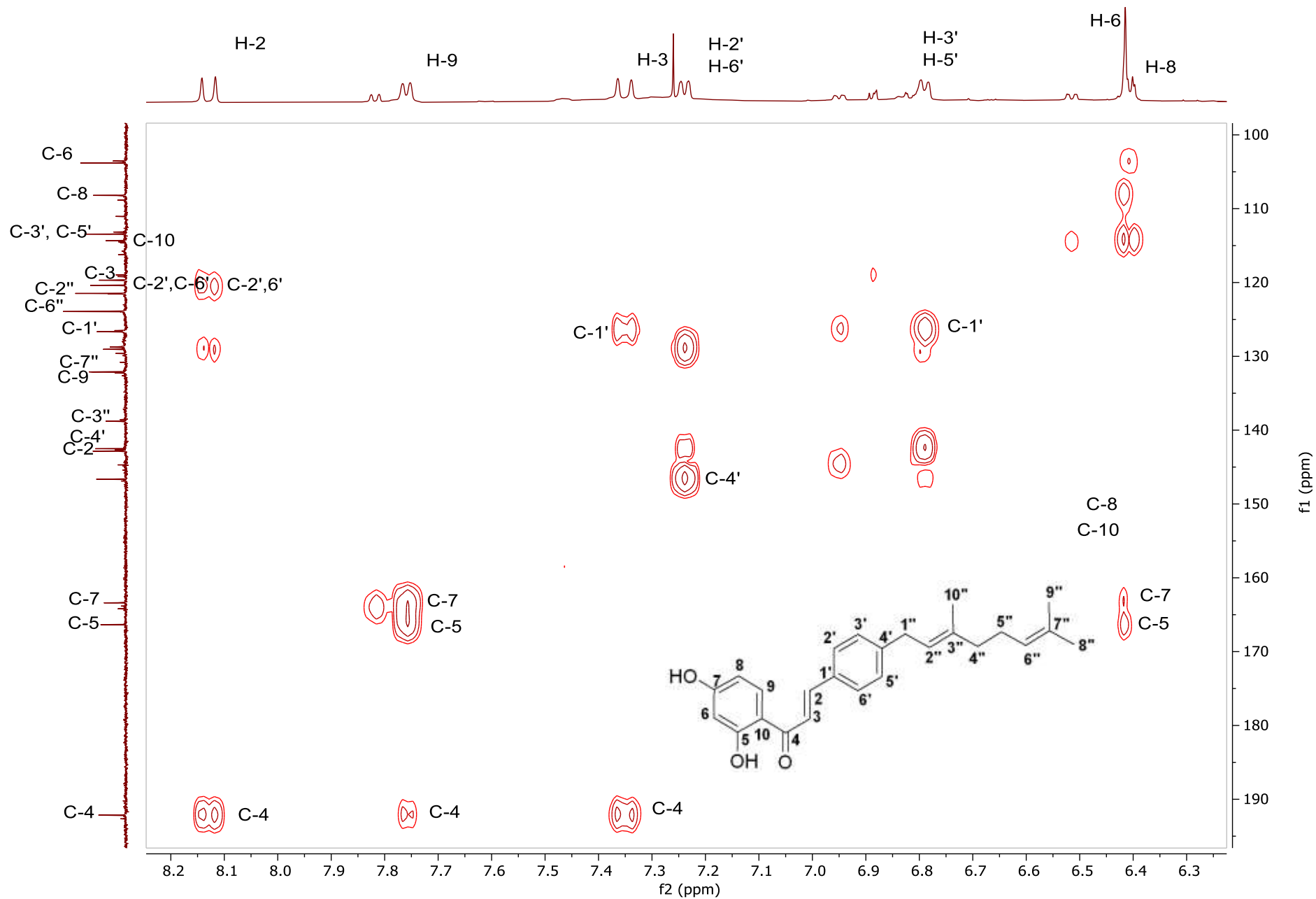


Figura 43. HMBC (CDCl₃, 150/600 MHz) de isadelfona B (97)

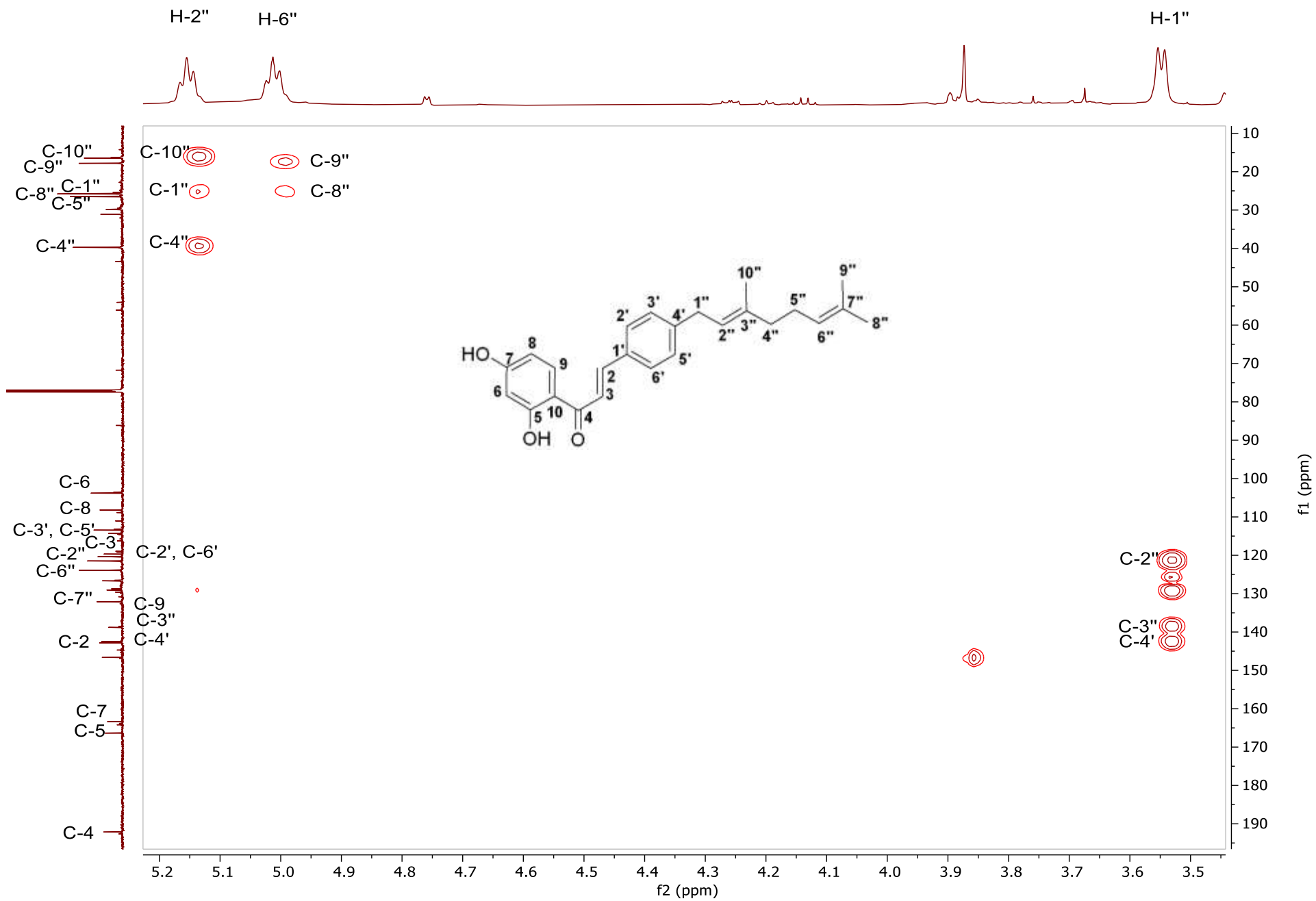


Figura 44. HMBC (CDCl₃, 150/600 MHz) de isadelfona B (97)

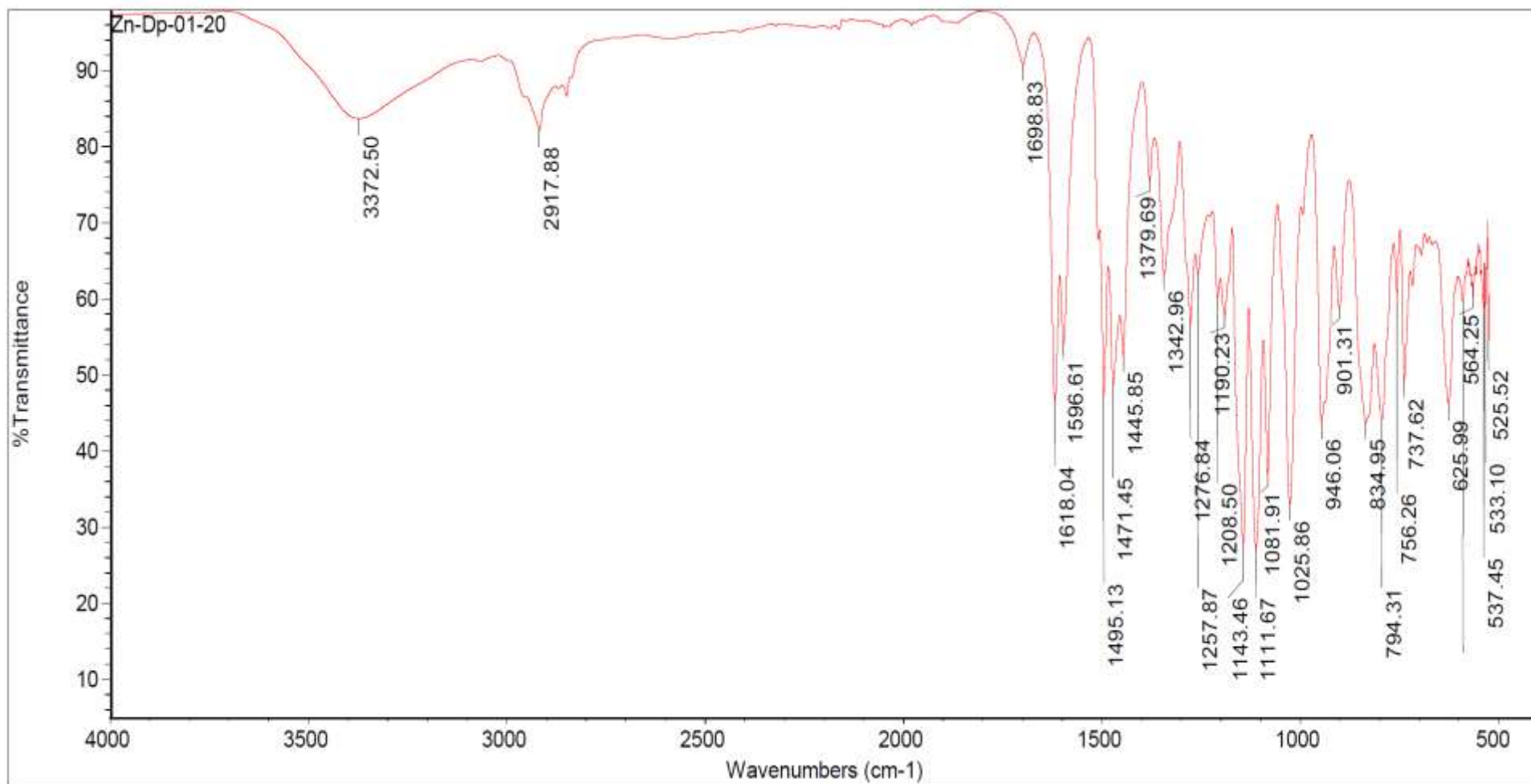


Figura 46. IR (CDCl₃) de (+) - trans-4,7,2'-trihidroxi-4'-metoxiisoflavanol(**90**)

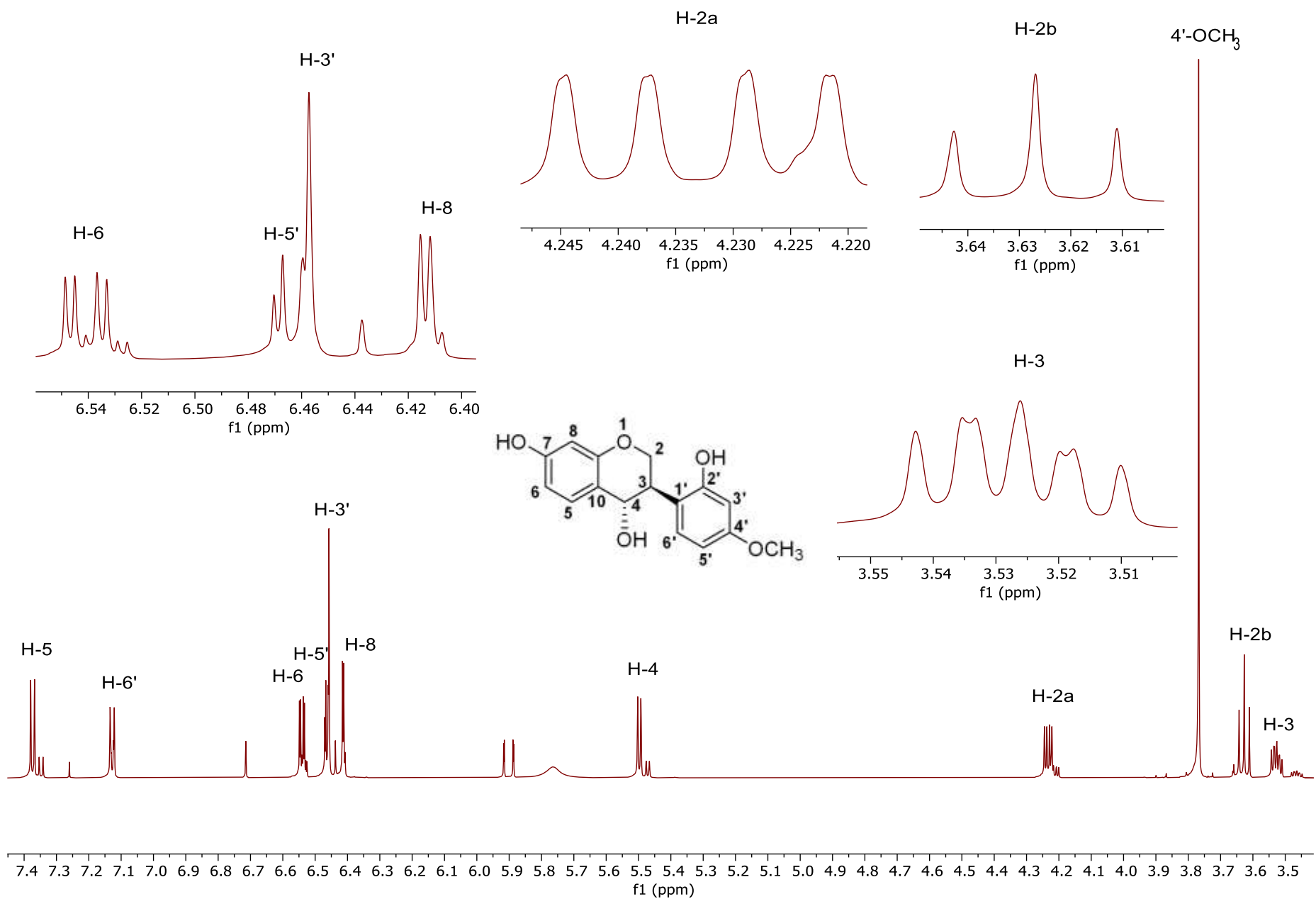


Figura 47. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 700 MHz) de (+) - trans-4,7,2'-trihidroxi-4'-metoxiisoflavanol(90)

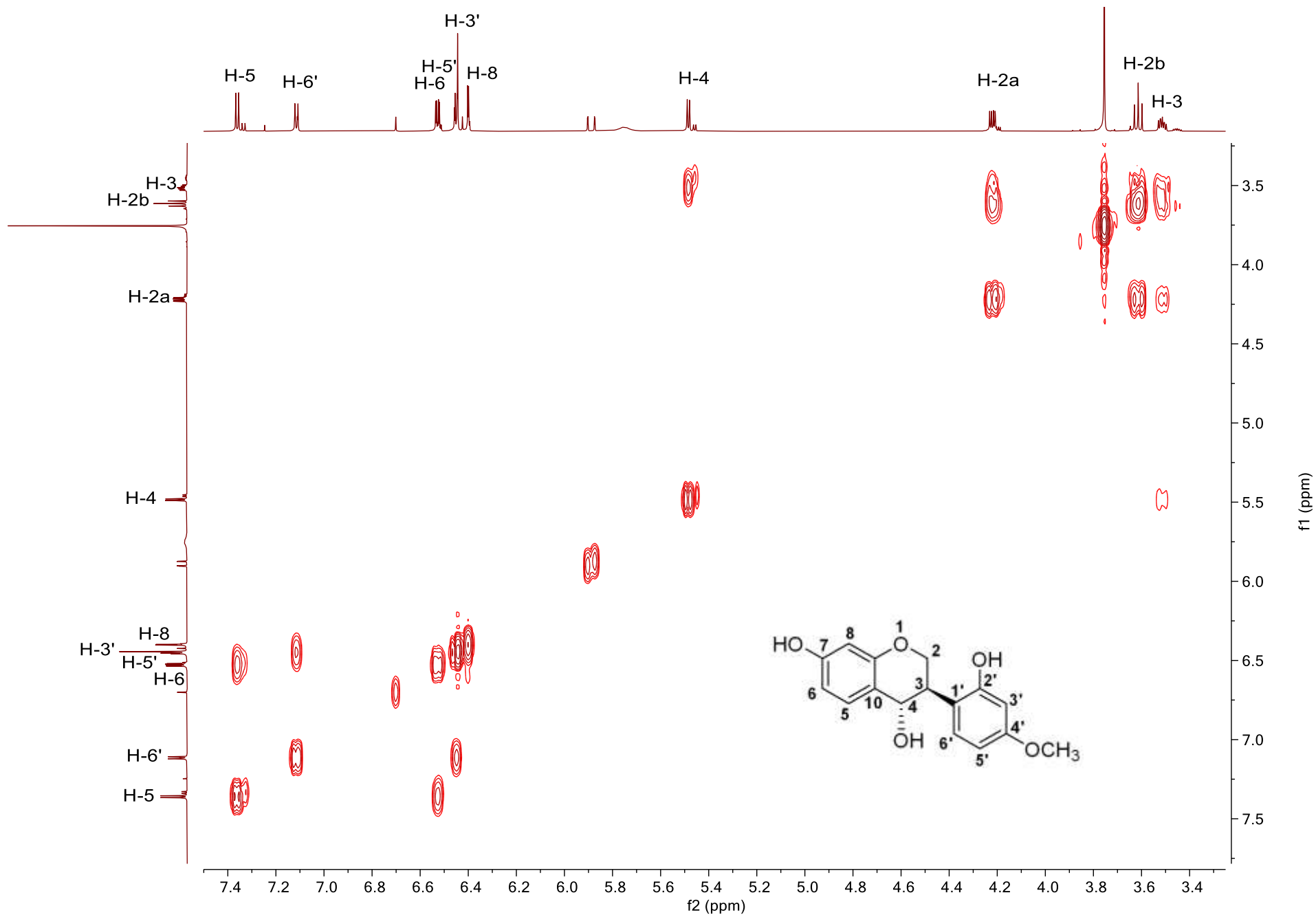


Figura 48. COSY (CDCl₃, 700 MHz) de (+) - trans-4,7,2'-trihidroxi-4'-metoxiisoflavanol(90)

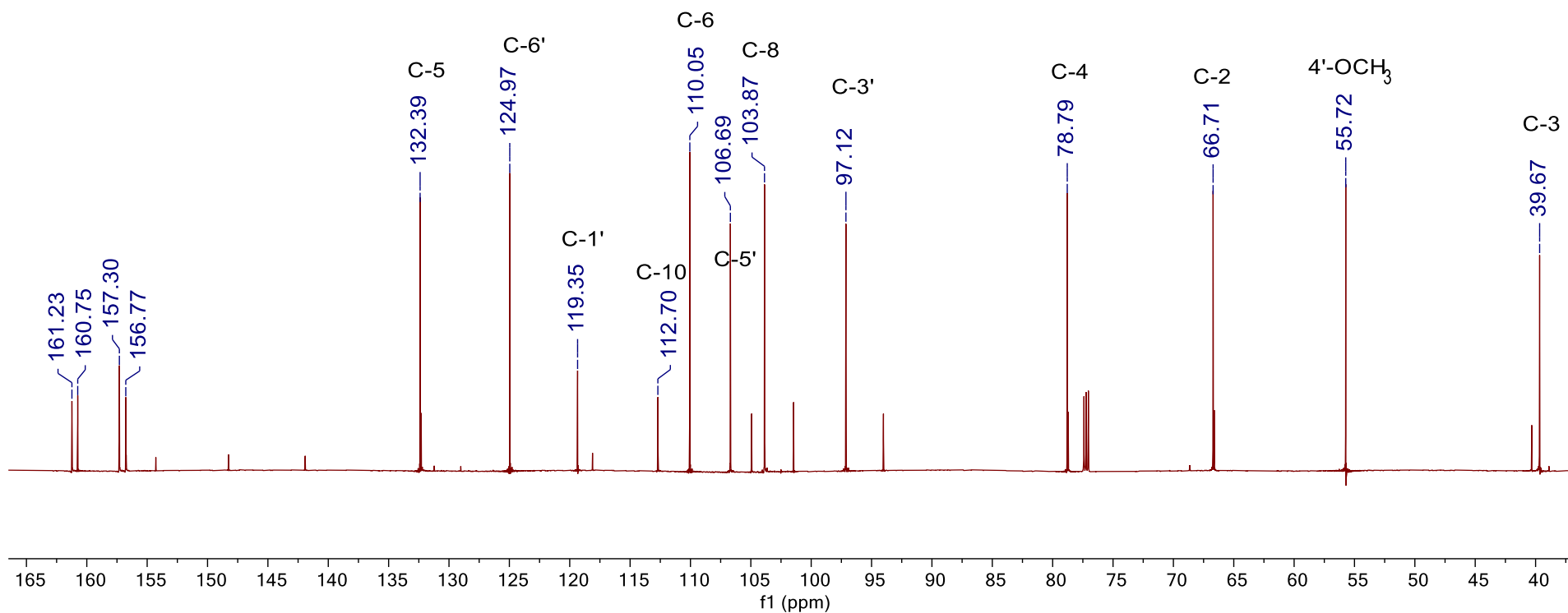
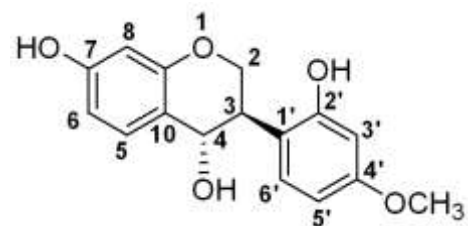
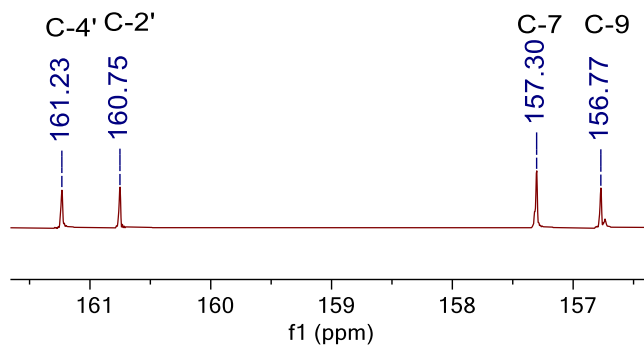


Figura 49. ^{13}C NMR (CDCl_3 , 175 MHz) de (+) - trans-4,7,2'-trihidroxi-4'-metoksiisoflavanol(**90**)

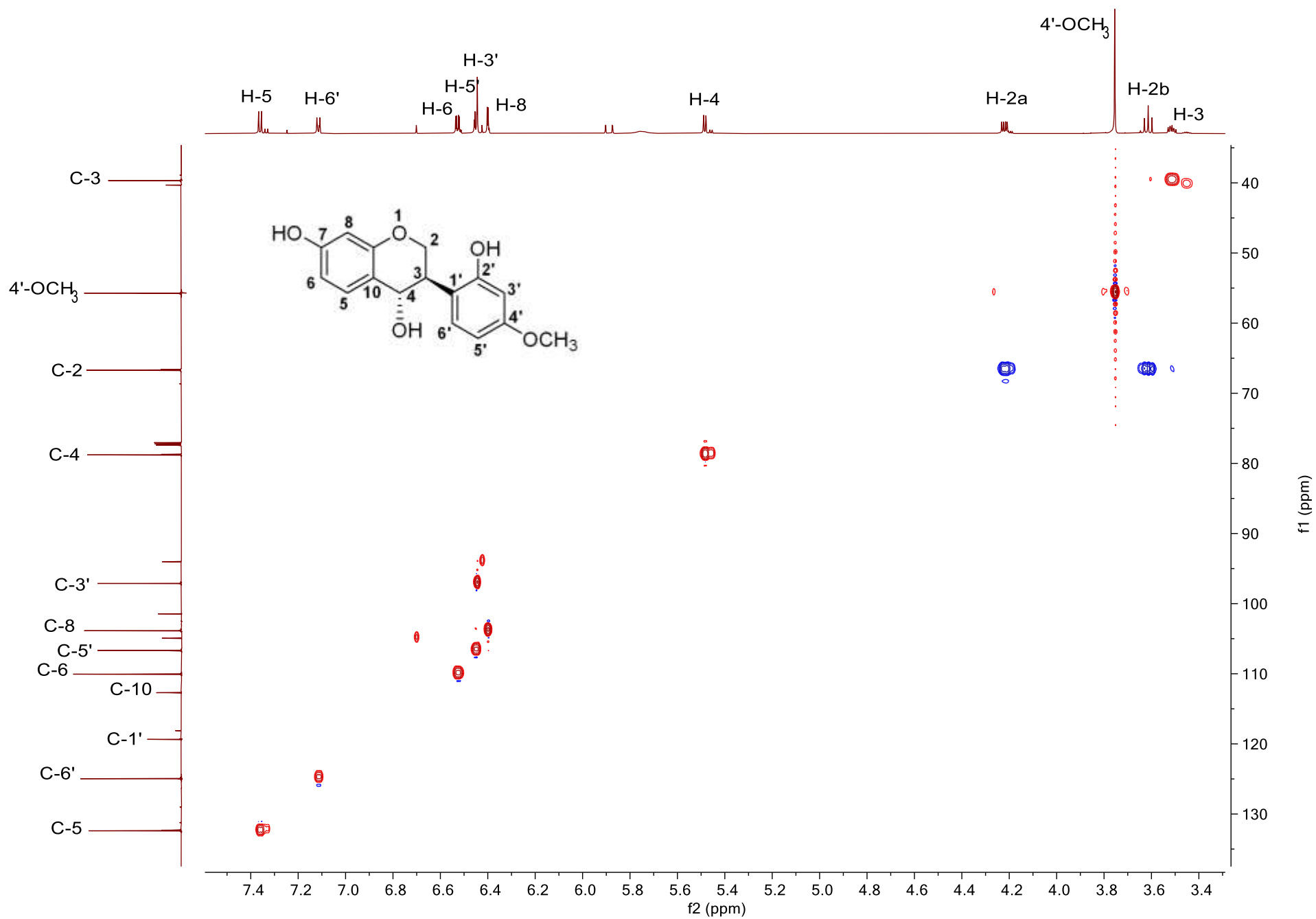


Figura 50. HSQC (CDCl₃, 700/175 MHz) de (+) - trans-4,7,2'-trihidroxi-4'-metoxiisoflavanol(90)

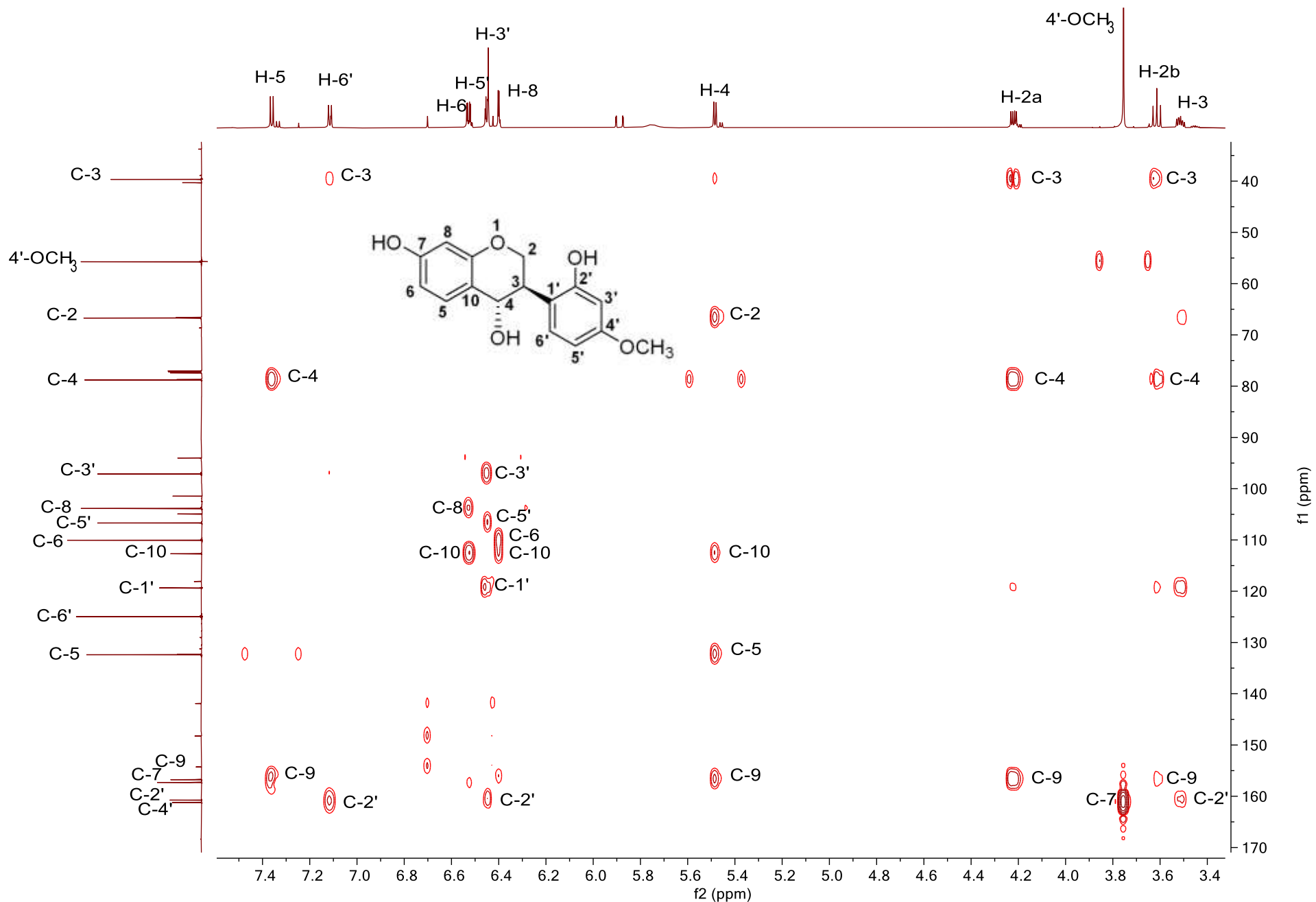


Figura 51. HMBC (CDCl₃, 700/175 MHz) de (+) - trans-4,7,2'-trihidroxi-4'-metoksiisoflavanol(90)