



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

“Búsqueda de métodos de separación de diterpenos del tipo abietano presentes en la resina de *Pinus montezumae*”

Mauricio Bahena García¹, Silvia Marquina Bahena², Manuel Tapia² y Laura Álvarez²

¹Escuela de Técnicos Laboratoristas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, ²Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos 62209, México
E-mail: mauricio_bahena@live.com.mx



INTRODUCCIÓN

La resina de ocote blanco (*Pinus montezumae*) es ocupada dentro de la medicina tradicional mexicana debido a las propiedades que se le atribuyen como el efecto terapéutico o rehabilitatorio en las enfermedades respiratorias, como antimicrobiano y antiinflamatorio o cicatrizante en heridas profundas.

Sus componentes principales (aproximadamente el 90% del total) son diterpenos tricíclicos (1) de tipo abietano (2) y pimarano (3), siendo la cantidad relativa de estos últimos bastante menor.

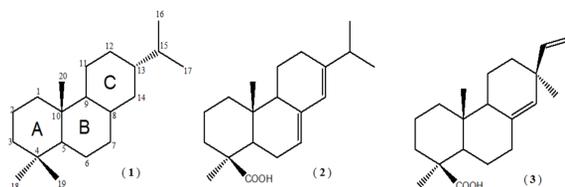


Figura 1. Diterpenos tricíclicos presentes en la resina de *Pinus montezumae*

ANTECEDENTES

En un estudio fitoquímico realizado a la resina se purificó una mezcla de ácidos diterpénicos identificados como ácido pimárico (3) y ácido isopimárico (4), al igual que un compuesto aromático identificado como ácido dehidroabiético (5) y otro llamado pimarol (6); los cuales muestran actividad antimicrobiana diez veces mayor que la resina íntegra. Así mismo fue posible aislar e identificar los compuestos 12-hidroxi-dehidroabiético (7), 14-hidroxi-dehidroabiético (8) y 15-hidroxi-dehidroabiético (9) los cuales mismos que presentaron actividad antiinflamatoria.

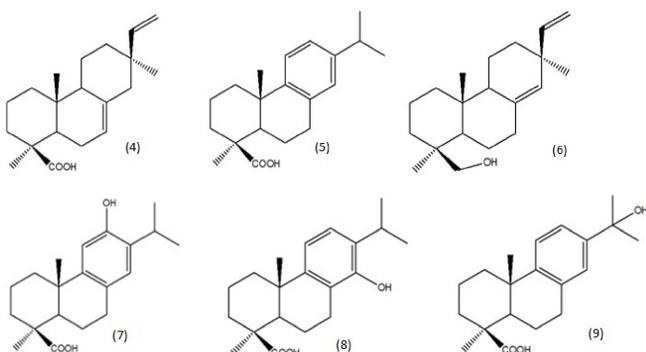


Figura 2. Compuestos diterpénicos tipo abietano presentes en la resina de *Pinus montezumae* con actividad terapéutica.

OBJETIVO

Separar los ácidos diterpénicos contenidos en la resina de la especie *P. montezumae* haciendo uso de las técnicas convencionales de cromatografía en capa fina (CCF) y en columna abierta (CC).

MATERIALES Y MÉTODOS

- Se fraccionaron y/o purificaron los componentes químicos utilizando cromatografía en columna abierta (CC), donde las fases estacionarias utilizadas fueron: fase normal silica gel Merck Kieselgel 70-230 y Kieselgel 60 GF y como fase móvil un gradiente de disolventes orgánicos (*n*-hexano, diclorometano, acetato de etilo y acetona).
- En CCF se utilizaron cromatoplasmas de silica gel soportadas en aluminio con un tamaño de 4.0 x 1.0 a 6.0 cm y dos sistemas de elución 95:05 diclorometano: metanol y 85:15 *n*-hexano: acetato de etilo.
- Los perfiles fueron observados en lámpara de luz ultravioleta (UV) (de I corta 283 nm-200 nm) y se procedió a revelar utilizando sulfato cérico amoniacal (sulfato cérico al 1 % en ácido sulfúrico 2N) lo cual permitió observar todo el contenido metabólico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados en el método de derivatización muestran que la metilación de los grupos hidroxilo hizo que los compuestos disminuyeran su polaridad y la posición del O-Me fuera del anillo aromático permite darle un carácter más polar que a los compuestos que tienen el O-Me en el anillo aromático, generando así un mejor perfil cromatográfico.

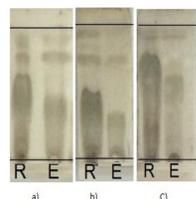


Figura 3. Comparación de los productos obtenidos en la derivatización (E) y la resina total (R), en CCF utilizando diferentes sistemas de elución: a) 85:15, b) 90:10 y c) 95:05 de *n*-hexano: acetato de etilo.

Los métodos empleados mostraron diferencias en cuanto a la separación de los compuestos diterpénicos debido a sus interacciones con sus respectivos sistemas tanto de fase móvil como fase estacionaria.

Se encontró que en el método de derivatización los compuestos diterpénicos de mayor polaridad generaron modificaciones en la polaridad obteniendo así un mejor perfil cromatográfico, sin embargo, al generar la retrosíntesis se prevé una disminución en los rendimientos de los compuestos de interés.

En los resultados del método de GRADIENTE I, la mezcla de la fase estacionaria se vio favorecida por la conformación de los compuestos, sin embargo, la interacción con los disolventes fue menor ya que los eluatos obtenidos se observaban aún en mezclas complejas. A diferencia con el método de GRADIENTE II, la separación de los compuestos diterpénicos con mayor polaridad se ve favorecida tanto por la mezcla de fase estacionaria como la móvil, ya que los disolventes generan una mayor interacción con los compuestos a demás de la separación debido a su conformación la cual se ve favorecida por la fase estacionaria obteniendo así el mejor perfil cromatográfico de los tres métodos empleados.

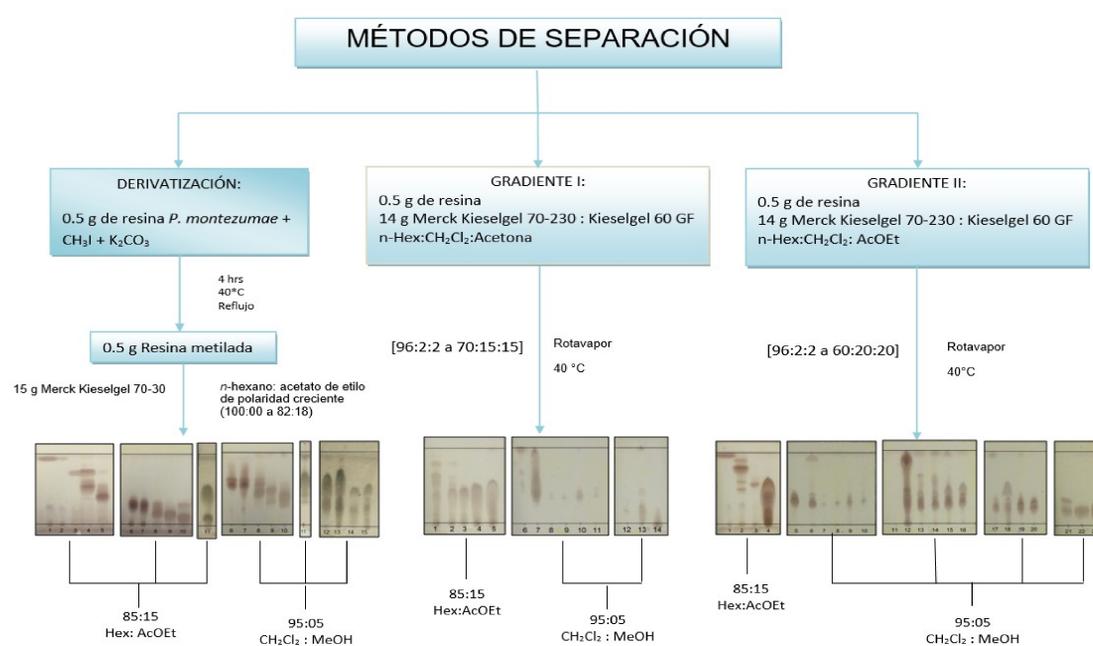


Figura 4. Esquema general de los métodos utilizados para la separación de los compuestos diterpénicos del tipo abietano.

Comparando el contenido metabólico obtenido en los tres métodos de separación, se puede observar en las cromatoplasmas que el método de gradiente II permite una mejor separación de los compuestos debido a que los eluatos tienen mayor interacción con la fase móvil (ver figura 5).

Sistema de elución en columna	DERIVATIZACION Hex : AcOEt	GRADIENTE I Hex:CH ₂ Cl ₂ :Acetona	GRADIENTE II Hex:CH ₂ Cl ₂ :AcOEt
96:2:2			
90:5:5			
82:18:9			

Figura 5. Imagen comparativa de los tres métodos empleados para la separación de los compuestos diterpénicos.

CONCLUSIÓN

En la búsqueda de un método eficaz para la separación de los ácidos diterpénicos presentes en la resina total de la especie *P. montezumae*, se estableció que una combinación tanto en la fase estacionaria como en la fase móvil permitió diferenciar o separar los componentes químicos basado principalmente en sus propiedades dieléctricas.

REFERENCIAS

- Gonzalez, A. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(2), 811-816.
- Rosales V.N. Tesis de Licenciatura UAEM (2010).
- Ortiz-Mazarriegos, M. Tesis de Licenciatura UAEM, 2011.
- Wada S., Tanaka R. *J. Nat. Prod.*, Vol. 63, No. 8, pp.1055-1057.