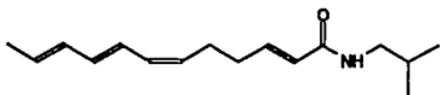


00573

2  
2e

FACULTAD DE QUIMICA  
División de Estudios de Posgrado



**Síntesis y Actividad Biológica de N-  
isobutilamidas Poliinsaturadas Análogas a  
Productos Naturales Bioactivos**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS  
( QUIMICA ORGANICA )

**P R E S E N T A :**

**Químico Agustín Palma de la Cruz**

México, D.F.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

1994



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

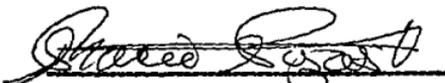
**JURADO ASIGNADO:**

- Presidente:** Dra. Gloria Pérez Cendejas
- Primer Vocal:** Dra. Martha Albores Velasco.
- Secretario:** M. en C. José Manuel Méndez Stivalet.
- Primer Suplente:** M. en C. Lino Joel Reyes Trejo.
- Segundo Suplente:** M. en C. Baldomero Esquivel.

**LUGAR DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:**

**DEPARTAMENTO DE QUIMICA ORGANICA DE LA DIVISION DE  
ESTUDIOS DE POSGRADO, FACULTAD DE QUIMICA , UNAM.**

**ASESOR DEL TEMA:**

  
DRA. ROCIO POZAS HORCASITAS

**SUSTENTANTE:**

  
Q. AGUSTIN PALMA DE LA CRUZ

**ESTA TESIS SE REALIZO BAJO LA  
DIRECCION DE LA DRA. ROCIO POZAS  
HORCASITAS , A QUIEN EXPRESO MI MAS  
SINCERO AGRADECIMIENTO POR EL  
APOYO QUE SIEMPRE ME HA BRINDADO.**

***Para Lety y mi Bebé***

***A mis Padres:  
Natalia de la Cruz y Arnulfo Palma***

***A mis hermanos***

***A mis compañeros del  
Depto. de Quím. Org.***

***Para todos los que me apoyaron  
en la realización de este trabajo***

# CONTENIDO

<b>1. RESUMEN.</b>	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES.</b>	<b>2</b>
<b>2.1 Actividad biológica de N-isobutilamidas naturales.</b>	<b>3</b>
<b>2.2 Pruebas de actividad biológica en <i>Artemia salina</i>.</b>	<b>9</b>
<b>2.3 Métodos de síntesis .</b>	<b>14</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSION.</b>	<b>17</b>
<b>3.1 Síntesis</b>	<b>18</b>
<b>3.2 Actividad biológica de productos sintetizados.</b>	<b>35</b>
<b>4. PARTE EXPERIMENTAL.</b>	<b>41</b>
<b>5. CONCLUSIONES.</b>	<b>53</b>
<b>6. BIBLIOGRAFIA.</b>	<b>55</b>

# RESUMEN

En 1971 investigadores mexicanos reportaron el aislamiento de  $\alpha$ -Sanshool (I) a partir de una planta del género *Zanthoxylum*<sup>1</sup>. Este compuesto presentó alta actividad larvica en *Culex quinquefasciatus*<sup>1</sup> y alta actividad insecticida en la mosca doméstica<sup>2</sup>.

El Espilantol (II) aislado también de plantas<sup>11</sup>, ha sido estudiado y evaluado como insecticida, resultando ser mas activo que algunos productos comerciales como Carbarilo, Lindano y 2.5 veces mas que Bioresmetrin(piretrina comercial)<sup>3</sup>.

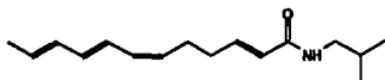
Este tipo de amidas se encuentra también en otras plantas superiores y han sido utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento de diversos padecimientos.

Dada la importancia de este tipo de compuestos, en este trabajo se presenta la síntesis de amidas relacionadas estructuralmente con el  $\alpha$ - Sanshool y el Espilantol.

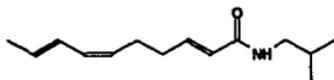
También se determinó la actividad biológica de todos los compuestos obtenidos con el propósito de encontrar sustancias con una actividad potencial mayor a las de origen natural.

Se sintetizaron once compuestos con la estructura general (III) (incluyendo I y II). Se evaluó la actividad biológica en *Artemia salina*<sup>4</sup> de estos compuestos y de algunos insecticidas comerciales.

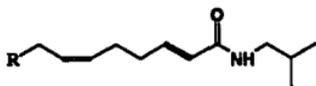
Con los resultados obtenidos de las pruebas biológicas se propone realizar pruebas de actividad insecticida.



(I)



(II)



(III)

R= alquilo, arilo sustituido

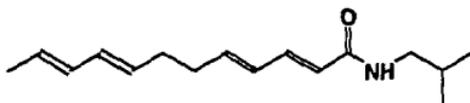
## **2. ANTECEDENTES**

## 2.1. Actividad biológica de N-isobutilamidas naturales

Las amidas lipídicas del tipo general ( I V ) se encuentran distribuidas ampliamente en plantas superiores poco accesibles . Estas amidas ( I V ) se han aislado principalmente en familias de plantas que presentan actividad insecticida como Piperaceae, Compositae y Rutaceae<sup>5</sup>. La planta *Spilanthes mauritiana* (compositae), colectada en Kenia , se usa tradicionalmente en el tratamiento del dolor de muelas, diarrea y también para el control del mosquito *Anopheles* <sup>6</sup>. De ésta planta se aisló el compuesto con la estructura ( V ).

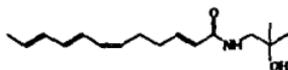


(IV)

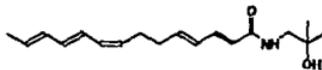


(V)

El pericarpio de *Zanthoxylum bungeamun* ( Rutaceae, la cual crece en Sichuan, China ) ha sido utilizado como un aditivo alimenticio pungente. También la planta se utiliza para el tratamiento del vómito, dolor de muelas y dolor abdominal debido a parásitos . En el aceite esencial de ésta planta se aislaron amidas pungentes como el  $\alpha$ -Sanshool (I), hidroxi- $\alpha$ -Sanshool (VI), hidroxi- $\beta$ -Sanshool (VII), entre otras<sup>7</sup>.

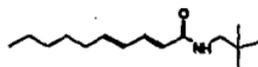


( VII )



( VI )

La Pellitorina aislada de *Anacyclus pyrethrum* (Compositae ) fue descrita por primera vez en 1894 por Dunstan . La estructura correcta fue establecida por Crombie en 1952 sintetizando el compuesto que resultó ser N-isobutil- (2E, 4E )-2,4- undecadienamida ( VIII ) <sup>8</sup>.



( VIII )

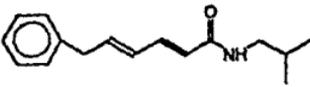
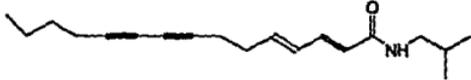
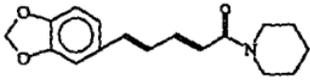
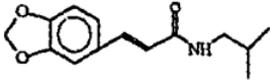
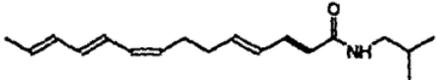
Jacobson reportó en 1949 que la actividad insecticida de la Pellitorina en la mosca doméstica es aproximadamente la mitad en relación a la actividad de las piretrinas<sup>9</sup>.

Después de la elucidación estructural de la Pellitorina, se han aislado un gran número de N-isobutilamidas de ácidos insaturados alifáticos de diferentes especies de plantas. En la tabla 1 se muestran otras amidas diferentes a las mencionadas anteriormente .

Tabla 1. Algunas N-isobutilamidas aisladas de fuentes naturales.

ESTRUCTURA	NOMBRE
	Affinina o Espilantol
	Filifilina
	Pipercida

CONTINUACION

	<b>Piperovatina</b>
	<b>Anaciclina</b>
	<b>Piperina</b>
	<b>Fagaramida</b>
	<b><math>\gamma</math>-Sanshool</b>

Para muchas de estas amidas insaturadas de origen natural se han reportado diferentes tipos de actividad biológica tales como<sup>10</sup>:

Insecticida, molusquicida, pungente (adormecedor de la lengua), vasodilatador coronario, antioxidante, sinergista de piretrinas, interceptivo (antifertilidad postcoital), antituberculosis, antibacteriano, antimicrobiano, antiinflamatorio, immunoestimulante, principios antitusivos, actividad sialagoga (activación de glándulas salivales).

Otro compuesto representativo de este tipo de amidas es el Espilantol (IX) aislado de *Spilanthes acmella*. (compositae). Esta sustancia mostró actividad insecticida en larvas del mosquito *Anopheles quadrimaculatus* del tercero y cuarto estadio<sup>11</sup>.

En 1989 se reportó la actividad insecticida de el Espilantol comparandola con tres insecticidas comerciales. La potencia resultó ser 1.3, 2.6 y 3.8 veces más tóxico que Carbarilo (carbamato), Bioresmetrín (piretrina) y Lindano (organoclorado) respectivamente<sup>12</sup>.

El Espilantol se ha extraído también de *Sepilanthos oleraceae*, resultando ser el responsable de la actividad como anestésico local de esta planta. Se supone

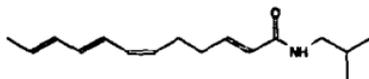
también que es el principio activo antiinflamatorio de la planta, la cual se utiliza en terapia antireumática<sup>13</sup>.

En el caso particular de México, dentro de la variada flora mexicana, existe una planta medicinal conocida con el nombre de *Colophatle* (hierba de la lengua en Nahuatl) cuyo nombre científico es *Zanthoxylum liebmannianum*. Esta planta es utilizada en el valle de Tehuacán, Puebla como amebicida y antihelmíntico, por un conocimiento empírico de sus habitantes. Para estas personas es un recurso medicinal adecuado para el caso de presentar sintomatología intestinal atribuible a enfermedades parasitarias<sup>1</sup>.

Al masticar la corteza de esta planta se produce un adormecimiento de la lengua (pungente).

Por otro lado, un grupo de investigación del Hospital Infantil de México (IMSS) ha evaluado preliminarmente el efecto amebicida de los extractos de la corteza de esta planta obteniendo resultados positivos<sup>14</sup>.

Dada la importancia medicinal que presenta el género *Zanthoxylum* y la amplia distribución en la República Mexicana desde Yucatán hasta Baja California, un grupo de investigadores de la Universidad Autónoma de Chapingo realizó el estudio fitoquímico de *Zanthoxylum liebmannianum* aislando un compuesto identificado como  $\alpha$ -Sanshool (I)<sup>1</sup> conocido también como neo Herculina o Echinaceina<sup>2</sup>.



(I)

Este compuesto presentó una alta actividad insecticida en la mosca doméstica<sup>2</sup> y se han realizado bioensayos como larvicida en *Culex quinquefasciatus* en el cuarto estadio, observando un 100% de mortalidad con una solución de este compuesto al 10% en acetona<sup>1</sup>.

Se supone que la actividad larvicida presentada por  $\alpha$ -Sanshool podría estar relacionada con el uso de la planta como amebicida y antihelmíntico<sup>1</sup>. Por tal motivo se considera de interés realizar la síntesis de  $\alpha$ -Sanshool, Espilantol, así como de análogos estructurales con el objeto de encontrar amidas con una actividad biológica mayor a los de origen natural.

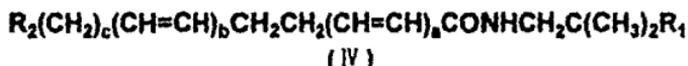
Para lograr este objetivo se realizó una búsqueda de información bibliográfica sobre síntesis y relación estructura-actividad biológica de N-isobutilamidas lipídicas en general.

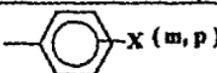
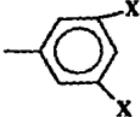
A partir de esta información bibliográfica se encontró que la mayoría de los trabajos reportados sobre actividad biológica de este tipo de amidas está enfocado hacia la actividad insecticida.

También se observó que la mayoría de las N-isobutilamidas aisladas de fuentes naturales están incluidas dentro de la estructura general (IV).

En la tabla 2 se muestra el análisis de información bibliográfica sobre la relación estructura - actividad insecticida de amidas que presentan la estructura general (IV).

Tabla 2. Análisis de información Estructura-Actividad Insecticida de amidas naturales y sintéticas.



Estructura	Mayor actividad insecticida	Ref.
a = 1, 2	Enlace ( E )	15
b = 1, 2, 3	Primer doble enlace ( Z )	16
R <sub>2</sub>	 X = F > Cl > Br > I	17, 18
R <sub>2</sub>		19
R <sub>1</sub>	H	20

La cadena del ácido que da origen a la amida generalmente tiene una longitud de 10- 20 átomos de carbono.

a = 1,2. Los dobles enlaces de este sistema con una estereoquímica ( E )<sup>15</sup> presentan mayor actividad que los correspondientes isómeros ( Z ).

b = 1,2,3. La geometría de estos dobles enlaces puede ser ( E ) o ( Z ). Usualmente el primer doble enlace del agrupamiento b, contando desde el

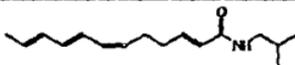
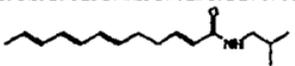
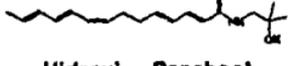
carbonilo es ( Z ) y hay una disminución de la actividad insecticida si es isomerizado a ( E )<sup>16</sup>.

Un grupo insaturado al final de la cadena ácida incrementa la actividad insecticida<sup>17</sup>. Cuando la insaturación es un anillo aromático con un sustituyente halógeno en la posición " meta " o "para " la actividad es mayor que el correspondiente halógeno en la posición " orto ". La actividad disminuye cuando el tamaño del halógeno aumenta<sup>18</sup>. Para arilos disustituídos la actividad insecticida es mayor si los halógenos se encuentran en las posiciones 3 o 5<sup>19</sup>.

Al realizar cambios estructurales en el sustituyente unido al nitrógeno de la amida se observa que la mayor actividad insecticida se presenta cuando el sustituyente es el radical isobutilo ( R = H en la fórmula general )<sup>20</sup>. La mayoría de las amidas mas activas de origen natural contienen el grupo N-isobutilo.

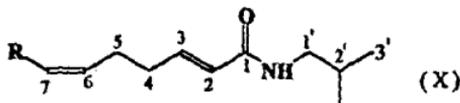
En la tabla 3 se muestran algunos de los sanshools extraídos de fuentes naturales y se indica la influencia de la estructura sobre algunas actividad biológica específicas.

Tabla 3. Estructura y actividad biológica de algunos sanshools obtenidos de fuentes naturales .

Compuesto	Sabor	Actividad insecticida	Actividad sialagoga	Ref.
 <b>α- Sanshool</b>	Pungente	Alta	Alta	7,2
 <b>β- Sanshool</b>	Insípido	Baja	Baja	7.2
 <b>γ- Sanshool (IX)</b>	Pungente	—	—	21
 <b>Hidroxi-γ- Sanshool</b>	Menos pungente que (IX)	—	—	21

Con el objeto de sintetizar compuestos análogos a  $\alpha$ - Sanshool ( I ) y Espilantol ( II ) que puedan presentar una actividad potencial mayor, es necesario analizar la relación estructura- actividad de las amidas que se presentan en las tablas 2 y 3.

- El grupo N-isobutilo de la amida presenta mayor actividad que otros radicales
- El doble enlace conjugado con el carbonilo debe ser " trans " ( E ).
- En doble enlace " cis " ( Z ) en la posición 6 presenta mayor actividad que el correspondiente isómero ( E ), estructura ( X ).



-- Para estructuras diferentes a ( X ), un grupo aromático al final de la cadena ácida aumenta la actividad insecticida.

Tomando en cuenta el análisis anterior, se propone como base la estructura general ( X ) para sintetizar nuevos compuestos no descritos que puedan presentar una actividad biológica potencial mayor que los de origen natural.

En este trabajo se propuso sintetizar  $\alpha$ - Sanshool ( I ), Espilantol ( II ) y algunos compuestos donde " R " es un grupo alifático lineal, arilo y arilos sustituidos .

## 2.2. Pruebas de actividad biológica en *Artemia salina* .

La Farmacodinamia es la rama mas importante de la Farmacología y estudia la acción de los fármacos sobre los organismos vivos . También valora o mide la potencia de los fármacos en dichos organismos <sup>22</sup>. Existen dos tipos de valoración.:

- a) Ensayo químico. Determina por métodos químicos la concentración de principios activos (fármaco) . El ensayo químico es el mas exacto.
- b) Ensayo biológico. En este tipo de valoración se determina la concentración de las sustancias activas por medición de la respuesta farmacológica que provocan en los animales o tejidos vivos; se trata de métodos menos exactos que los químicos y se emplean cuando estos últimos son poco sensibles hacia las sustancias activas.

El ensayo biológico tiene la desventaja de ser mas laborioso que el químico y requiere de el uso de organismos vivos y mayor inversión de tiempo, sin embargo presentan ventajas en cuanto a especificidad.

Si no existe una concordancia entre los resultados de los métodos biológicos y químicos para la valoración de una sustancia farmacológicamente activa, el ensayo biológico se considera mas exacto<sup>22</sup>.

La clasificación de los métodos biológicos depende del tipo de respuesta que generan las sustancias activas en los organismos vivos. Las respuestas pueden ser graduales o cuantales <sup>22,23</sup>.

Las respuestas graduales son aquellas en las que se mide la magnitud de la respuesta, por ejemplo, la variación del peso de un animal cuando se aplica un determinado fármaco.

En respuestas cuantales, también llamadas del todo o nada, se determina la existencia o no de una respuesta, por ejemplo, se mide la concentración a la que se muere un animal, o si presenta convulsiones .

Para tratar de establecer el mecanismo de acción de una sustancia es indispensable encontrar primero las relaciones de magnitud entre las dosis del fármaco y la intensidad de los efectos producidos o respuestas. Esta relación da lugar a la curva DOSIS- RESPUESTA.

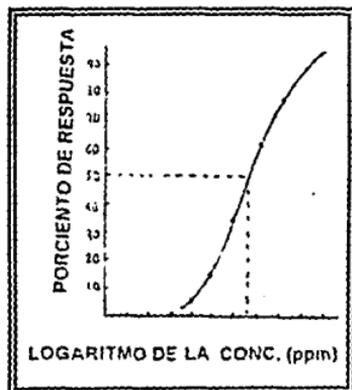
Esta curva puede establecerse mediante pruebas efectuadas en organismos o celulas aisladas. Dependiendo del tipo de respuesta (cuantal o gradual) será la curva.

En el caso particular de una curva Dosis-Respuesta, cuantal en la abscisa se coloca la dosis y en la ordenada el % de animales que dan positiva la respuesta farmacológica. El tipo de curva que se origina en este caso particular es sigmoideal, gráfica 1<sup>23</sup>.

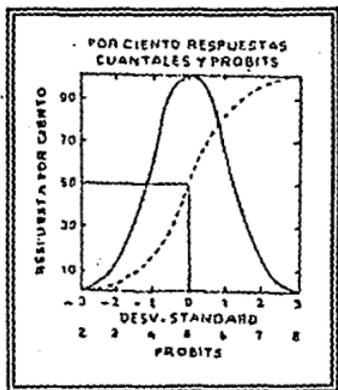
En esta curva se puede encontrar la dosis o concentración  $DE_{50}$ , conocida como dosis efectiva o dosis media . También se puede deducir la dosis a la cual se muere el 50 % de los animales probados ,  $DL_{50}$  ( Dosis Letal ).

La curva de la gráfica 1 se puede linearizar mediante un tratamiento estadístico de tal manera que exista proporcionalidad entre el log. de la dosis y la respuesta. Este tratamiento estadístico transforma primero la curva sigmoideal en la curva normal de distribución de frecuencias , gráfica 2. Esta curva normal se transforma posteriormente en una linea recta , la cual permite comparar entre dos o mas sustancias probadas , gráfica 3 .

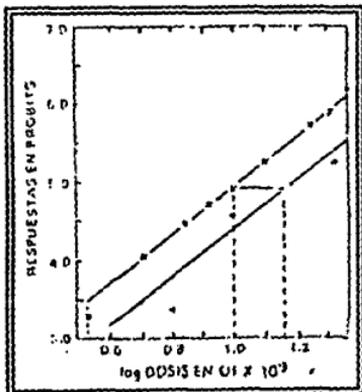
Actualmente todo el tratamiento estadístico para transformar las gráficas Dosis-Respuesta de una curva sigmoideal en una gráfica de líneas rectas es simplificado por medio de programas de computación, lo cual ahorra mucho tiempo de trabajo.



Gráfica 1. Curva dosis respuesta cuantil .



Gráfica 2. Transformación de curva sigmoideal ( línea de trazos) en curva normal ( línea continua ) .



Gráfica 3. Log. de la dosis contra % de respuesta en probits .

Toda la información anterior es muy importante ya que permite tener una idea general de la forma en que se presentan los resultados de actividad biológica al aplicar fármacos en los organismos vivos.

Los extractos y metabolitos secundarios de origen natural o compuestos sintetizados en el laboratorio, pueden presentar actividad biológica en organismos vivos. Por esta razón es muy importante disponer de un método general para evaluar la actividad biológica de estas sustancias .

El método general no evalúa una actividad biológica específica, pero se requiere que sea barato, sencillo, que pueda realizarse en un tiempo corto, que utilice cantidades pequeñas de sustancias a probar y que sea muy sensible .

El método general de evaluación biológica que reúne estos requisitos es el bioensayo realizado en larvas ( nauplii ) de camarón salado, cuyo nombre científico es *Artemia salina* ( Leach ). En este bioensayo se determina la concentración letal 50 (  $CL_{50}$  ) de las sustancias en las larvas de *Artemia salina*. Fue propuesto en 1982 por Meyer y colaboradores como un método general de evaluación farmacológica para probar la actividad de extractos o metabolitos secundarios de plantas<sup>4</sup>.

Los compuestos bioactivos son casi siempre tóxicos en altas dosis (Toxicología ) sin embargo en bajas concentraciones ( Farmacología ) pueden tener una acción sobre los seres vivos ya sea de curación, mitigación, tratamiento o prevención de enfermedades<sup>4</sup>. Por esta razón la muerte *in vivo* en un organismo puede ser usado convenientemente como un monitor para descubrir un nuevo producto bioactivo natural o sintético, con el objeto de realizar posteriormente pruebas biológicas más específicas .

Los huevecillos de *A. salina* están disponibles a bajo costo en el mercado como alimento para peces y permanecen viables por años en estado seco. Los huevecillos se incuban en una solución salada durante 48 h. produciéndose un gran número de larvas, nauplii, etapa en la cual se realiza el bioensayo <sup>4</sup>. En la figura 1 se muestra la morfología de las larvas en esta fase de desarrollo.

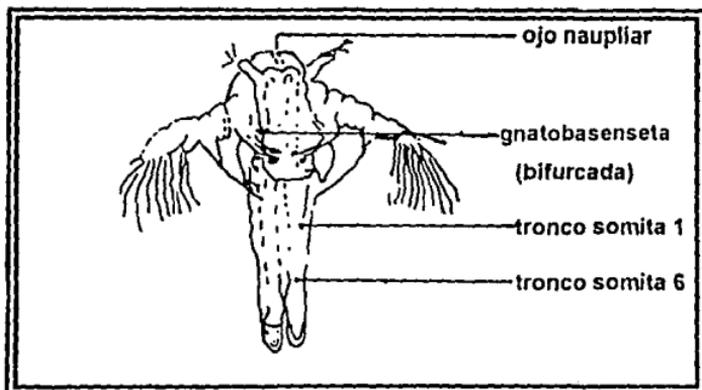


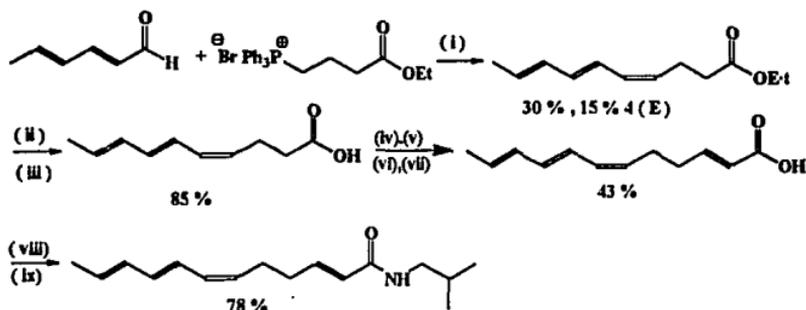
Fig. 1 . Larva despues del segundo  
estadio larvario. Tiempo de incubación:  
48 h. Temperatura: 20 °C. Tamaño :725 μ.

A continuación se muestra una lista de algunas aplicaciones del bioensayo en *A. salina* :

- Análisis de residuos pesticidas <sup>24</sup>.
- Prueba zoológica para la determinación de insecticidas por contacto <sup>25</sup>.
- Indicador de componentes tóxicos en aguas residuales <sup>26, 27</sup> .
- Determinación de insecticidas organofosforados en carnes <sup>28</sup>.
- Efecto de la toxicidad de herbicidas en los crustáceos <sup>29</sup>.
- Pruebas de toxicidad de micotoxinas <sup>30</sup>.
- Pruebas de toxicidad de colorantes para alimentos <sup>31</sup>.
- Determinación de toxicidad y actividad biológica en productos naturales <sup>4</sup>.

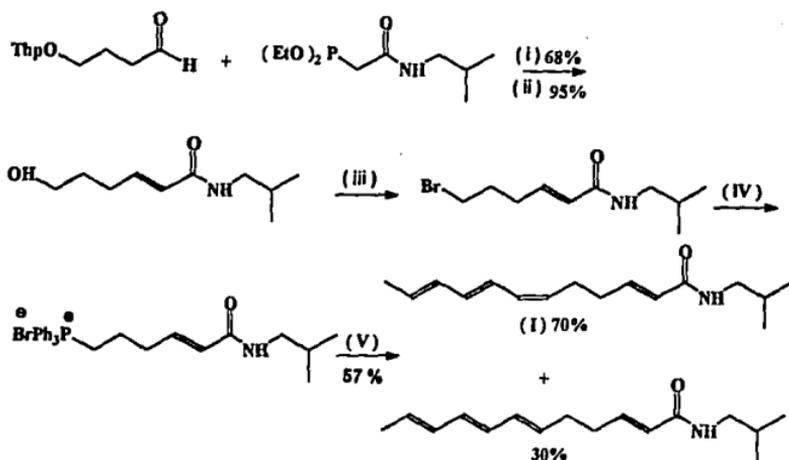
## 2.3. Métodos de Síntesis

Se han reportado algunas rutas de síntesis para la obtención de N-isobutilamidas poliinsaturadas naturales con la estructura general ( X ), tales como  $\alpha$ -Sanshool ( I ) ( esquemas 1<sup>36</sup> y 2<sup>34,41</sup> ) y Espilantol ( II )<sup>38</sup> ( esquema 3 )



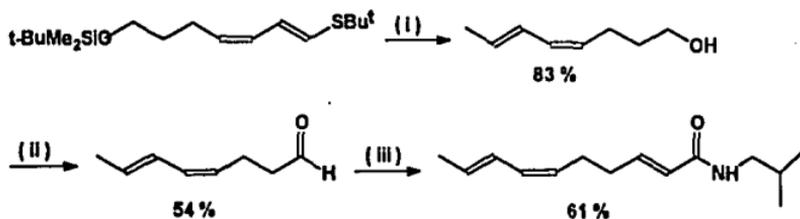
Esquema 1 . ( i )  $\text{NaOEt}$ ,  $\text{NaI}$  /  $\text{DMF}$ ; ( ii )  $\text{KOH}$  /  $\text{EtOH}$ ,  $\text{N}_2$ , T. A. ; ( iii )  $\text{H}_2\text{O}$ ; ( iv )  $\text{Ph}_3\text{P} / \text{CCl}_4$ ,  $\text{N}_2$ ; ( v ) Etilenimina ,  $\text{TEA}$  /  $\text{DEE}$ , T. A. ; ( vi )  $\text{LAH}$  /  $\text{DEE}$ ; ( vii )  $\text{Ac. Malónico}$  /  $\text{Py}$ ,  $\text{N}_2$ ; ( viii )  $(\text{COCl})_2$ ,  $\text{N}_2$ ; ( ix )  $i\text{Bu NH}_2$  /  $\text{DEE}$ ,  $\text{TEA}$ .

En el esquema 1 se muestra la primera síntesis de  $\alpha$ - Sanshool realizada por Sonnet en 1969<sup>36</sup> . Los inconvenientes de esta síntesis es que utiliza una estrategia sintética lineal y el doble enlace ( Z ) se genera al principio de la secuencia de síntesis dando lugar a una isomerización en el transcurso de las siguientes reacciones . Al final se obtiene una mezcla de isómeros ( Z ) / ( E ) de 70 / 30 respectivamente .



Esquema 2. (I) 2 Eq. n-BuLi; (II) Amberlyst H-15, 2h., TA/MeOH; (III) CBr<sub>4</sub>/Ph<sub>3</sub>P (IV) Ph<sub>3</sub>P; (V) 2 Eq. n-BuLi, THF/DMSO (1/1), 0 °C, Aldehído sórbico.

En el esquema 2 se muestra la segunda síntesis de  $\alpha$ -Sanshool (I) reportada por Crombie y Fischer en 1985<sup>34, 41</sup>. Esta síntesis muestra reactivos accesibles y puede modificarse a una estrategia de síntesis ramificada. El inconveniente del esquema de síntesis 2 es que en la última reacción se obtiene un 30% del isómero 6(E), por lo que es importante modificar las condiciones experimentales de esta reacción con el objeto de aumentar la estereoselectividad 6(Z).



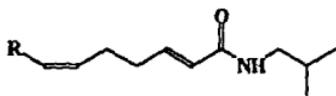
Esquema 3. (I) a)  $\text{MeMgI}$ ,  $\text{Ni}_{\text{cat}}$ , b)  $n\text{-Bu}_4\text{NF}$  / THF, T.A. ; (II)  $(\text{COCl})_2$ , DMSO, TEA /  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ; (III)  $\text{Ph}_3\text{CH}_2\text{CONH}^t\text{Bu}$ , LDA / THF

En 1984 investigadores japoneses reportaron la síntesis estereoselectiva 6(Z) de el Espilantol <sup>38</sup>. La síntesis se muestra en el esquema 3. El inconveniente de esta es que utiliza reactivos poco accesibles y es difícil adaptarlo para la obtención de compuestos diferentes a Espilantol.

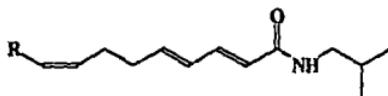
### ***3. RESULTADOS Y DISCUSION***

### 3.1 Síntesis

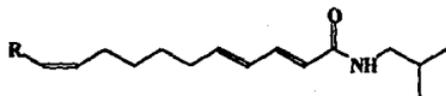
Las amidas poliinsaturadas (X), (XI) y (XII) representan casos particulares de la estructura general (IV). Tales amidas no son muy estables y se encuentran en pequeñas cantidades en plantas poco accesibles. Dada la actividad biológica tan variada que presentan, como la actividad insecticida observada ampliamente en este tipo de amidas, es importante diseñar rutas de síntesis tales que permitan obtener estereoselectivamente los isómeros deseados.



( X )



( XI )



( XII )

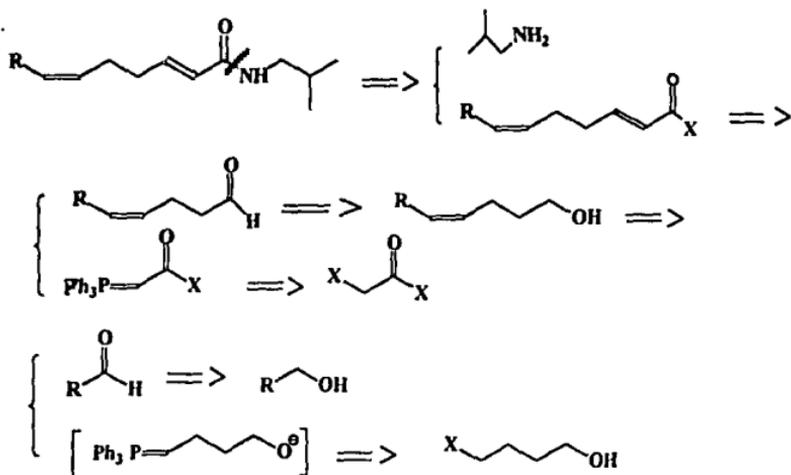
Como se mencionó anteriormente, los compuestos que nos interesa obtener corresponden a la estructura (X). Este tipo particular de amidas deben presentar dos dobles enlaces con la estereoquímica 2(E) y 6(Z). por tal motivo, las estrategias de síntesis que se proponen incorporan reacciones estereoselectivas para obtener los productos deseados.

Se proponen cuatro estrategias de síntesis para la posible obtención de compuestos que forman parte de la estructura general (X). Con estas estrategias se pueden obtener nuevos tipos de amidas, así como sustancias de origen natural las cuales son difíciles de obtener a partir de sus fuentes de origen.

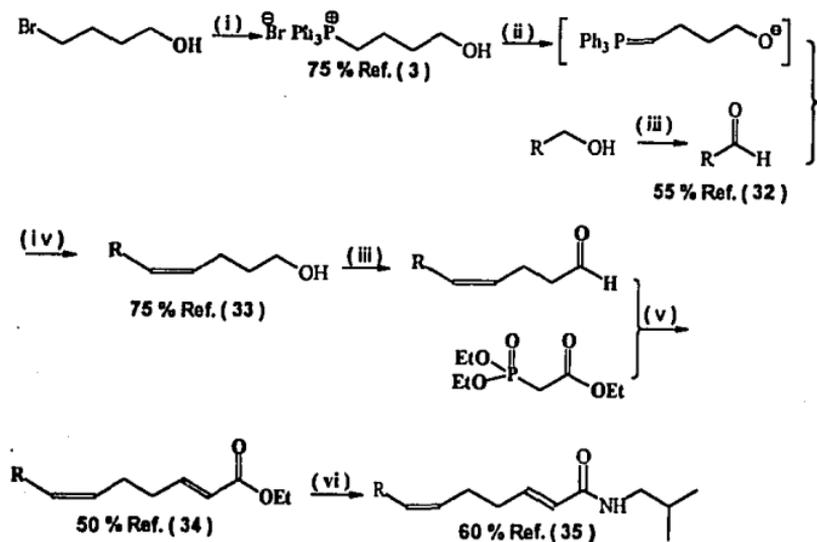
En cada una de estas estrategias funcionales primero se muestra su análisis retrosintético y después la secuencia de síntesis propuesta por analogía a síntesis previas reportadas en la literatura.

## ESTRATEGIA DE SINTESIS A

### Análisis retrosintético.



**Síntesis propuesta**



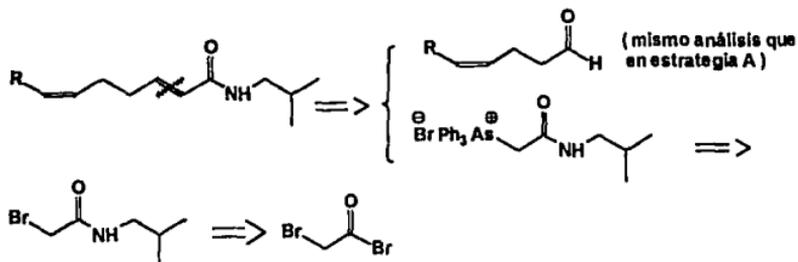
Esquema 4.  $\text{Ph}_3\text{P} / \text{C}_6\text{H}_6$ ; (ii)  $\text{NaNH}_2$ , 2 Eq. / parafina, THF; (iii)  $\text{PCC} / \text{CH}_2\text{Cl}_2$

(iv) 1)  $-\text{THF}, -80^\circ\text{C}$  15 min.; 2)  $\text{H}_2\text{O}$ , T.A. (v)  $\text{LDA}, -78^\circ\text{C}$

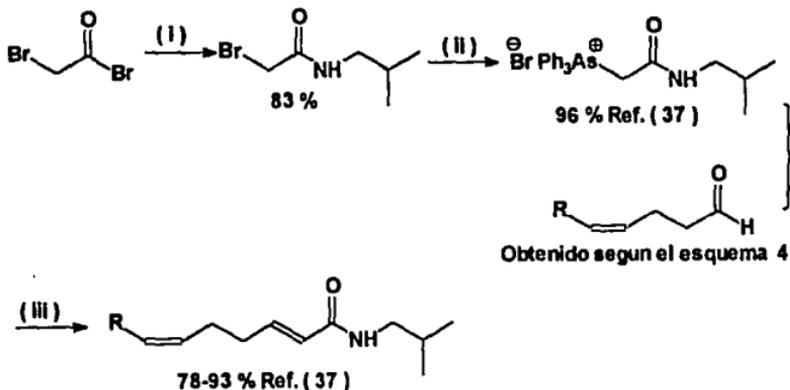
(vi) a)  $\text{KOH} / \text{EtOH}$ ; b)  $\text{PhOP(O)(Cl)NPh} / \text{TEA}, \text{Bu}^i\text{NH}_2$

## ESTRATEGIA DE SINTESIS B

### Análisis retrosintético



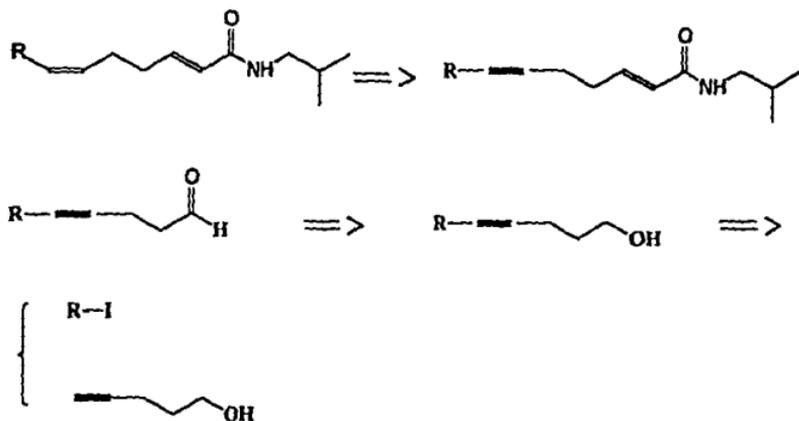
### Síntesis propuesta



Esquema 5. (i)  $\text{BuNH}_2 / \text{DEE}$ ; (ii)  $\text{Ph}_3\text{As} / \text{CH}_3\text{CN}$ ; (iii)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , Trazas de  $\text{H}_2\text{O}$   
25 °C,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ,  $\text{N}_2$

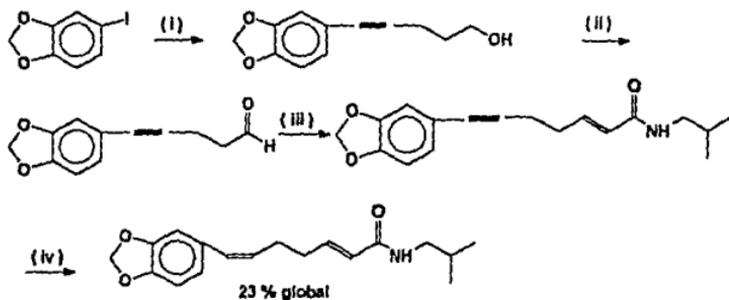
## ESTRATEGIA DE SINTESIS C ( R = Ar )

### Análisis Retrosintético



### Síntesis

Con esta ruta estereoselectiva Blade y colaboradores sintetizaron amidas poliinsaturadas no naturales incorporando un doble enlace ( Z ) unido a una variedad de anillos aromáticos <sup>39</sup>. En el esquema 6 se muestra un ejemplo.

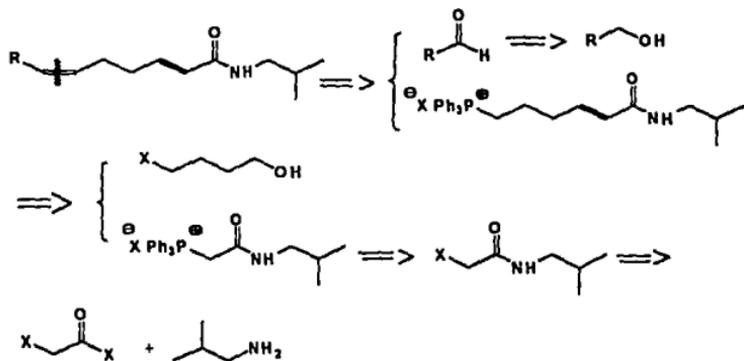


Esquema 6 . ( i )  $(\text{Ph}_2\text{P})_2\text{PdCl}_2 - \text{Cu}$ , pent-4- in-1- ol, DEA ; ( ii ) PCC /  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$

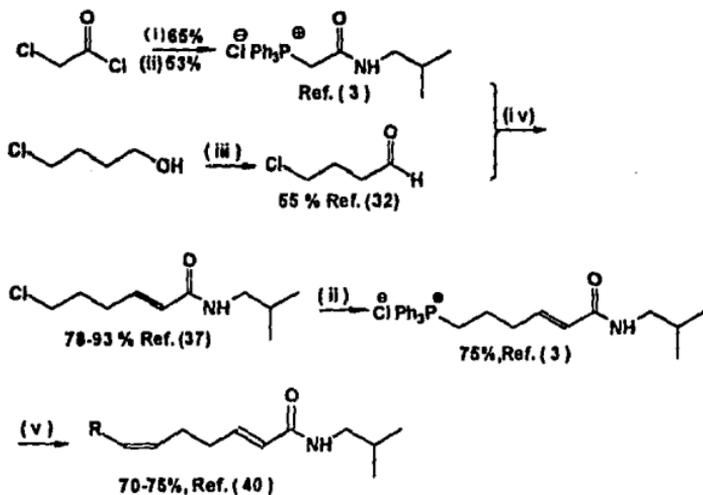
( iii )  $\text{Cl}^-\text{P}^+\text{Ph}_3\text{CH}_2\text{CONH}^i\text{Bu}$ , NaOMe / MeOH ; ( iv )  $\text{H}_2$ , Lindlar / AcOEt

## ESTRATEGIA DE SINTESIS D

### Análisis retrosintético



### Síntesis

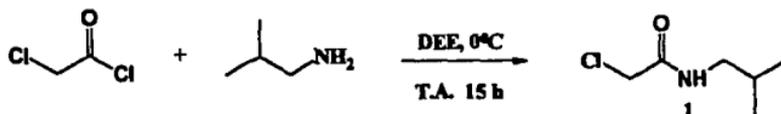


Esquema 7. (i) 1-Bu NH<sub>2</sub> / DEE; (ii) Ph<sub>3</sub>P / C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>; (iii) PCC / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; (iv) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anh. / CH<sub>3</sub>CN, N<sub>2</sub>, DMF (traza); (v) NaNH<sub>2</sub> / THF, -78 °C, N<sub>2</sub>

Para la obtención de los compuestos con la estructura general ( X ), se propuso la estrategia sintética D, cuya síntesis por analogía a otras reacciones se muestra en el esquema 7. Se propuso esta estrategia de síntesis por la disponibilidad de materia prima y porque existe el antecedente sintético de  $\alpha$ -Sanshool ( esquema 2 ), el cual es semejante a dicha estrategia.

Se realizaron reacciones de Wittig estereoselectivas para la formación de los dobles enlaces de los compuestos con la estructura general ( X ) .

Para la obtención de la sal de Wittig 2 se utiliza como materia prima cloruro de cloroacetoilo. Este, con isobutilamina genera la amida correspondiente ( 1 ) con un 89 % de rendimiento, reacción 1 . El tiempo de la reacción fue de 17 h. En la literatura se reporta un rendimiento de 65 % con un tiempo de reacción de 1h<sup>3</sup> .

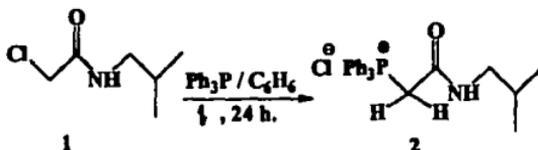


Reacción 1

El espectro infrarrojo de 1 muestra señales en 3300 cm<sup>-1</sup> de N-H; 2880-2900 cm<sup>-1</sup> de CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH y una señal en 1960 cm<sup>-1</sup> de C=O.

La RMN-H muestra señales de desplazamientos químicos (ppm) en: 0.9 (d, 6H, 2CH<sub>3</sub>, J=7 Hz); 1.7 (m, 1H, CH); 3.1 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N, J= 7Hz) estos hidrógenos tienen un acoplamiento con los hidrógenos del NH y de CH, ya que al adicionar D<sub>2</sub>O se observa un doblete; 4.0 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Cl).

La amida 1 se somete a reflujo durante 36 h. con trifenil fosfina utilizando benceno como disolvente generando el compuesto 2, reacción 2.



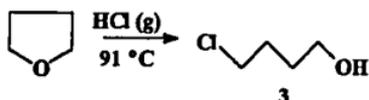
Reacción 2

Esta sal es un sólido de color blanco que se obtiene con un rendimiento de 74.9 % y presenta un punto de fusión de 177-179°C. En la literatura se reporta un rendimiento de 53 % calentando a reflujo por 20 h. y describen un punto de fusión de 173-174 °C<sup>3</sup>.

El espectro IR de **2** muestra una señal en 3220 de N-H; 3020-3080 cm<sup>-1</sup> de Ar-H; 2800-2990 cm<sup>-1</sup>, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH; 1670 cm<sup>-1</sup> de C=O.

La RMN-H de **2** da desplazamientos químicos en 0.8 (d, 6H, 2CH<sub>3</sub>, J=7 Hz); 1.6 (m, 1H, CH); 1.9-2.0 (s, 1H, NH) esta señal desaparece con D<sub>2</sub>O; 2.9 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N, J= 6Hz); 5.1 (d, 2H, CH<sub>2</sub>CO, J= 14Hz), estos hidrógenos presentan una interacción fuerte con el fósforo y desaparecen con D<sub>2</sub>O debido a que son ácidos; 7.4-8.0 (m, 15H, Ar).

Para obtener el aldehído en la primera reacción de Wittig se parte de THF como materia prima. Se abre el anillo de THF con HCl g a una temperatura máxima de 91°C<sup>42</sup>, para generar 4-cloro-1-butanol **3**, reacción 3.



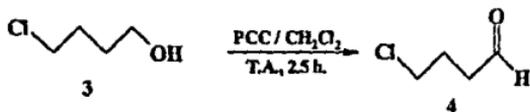
### Reacción 3

El producto se purifica con 2 destilaciones fraccionadas a presión reducida obteniendo 36 % de rendimiento (literatura 55 %)<sup>32</sup>. El bajo rendimiento se debe a que **3** sufre una eliminación de cloruro de hidrógeno cuando se somete a altas temperaturas<sup>42</sup>

El espectro IR de **3** presenta una banda ancha de O-H en 3200-3500 cm<sup>-1</sup>; 2800-2900 cm<sup>-1</sup>, CH<sub>2</sub>; 1050 cm<sup>-1</sup> -C-OH de alcohol primario.

El espectro de RMN-H<sup>1</sup> da desplazamientos químicos en 1.4-2.1 (m, 4H, CCH<sub>2</sub>C); 3.4-3.8 (m, 4H, ClCH<sub>2</sub>, OCH<sub>2</sub>); 4.0 (s, 1H, OH), esta señal desaparece con D<sub>2</sub>O.

La oxidación del alcohol **3** se realizó con clorocromato de piridinio (PCC) en cloruro de metileno como disolvente obteniendo el aldehído correspondiente **4**<sup>32</sup> con un rendimiento de 49 % . El punto de fusión de 2,4-dinitrofenilhidrazona de **3** es de 132-133 °C, ( lit. 130-132 °C<sup>43</sup> ).

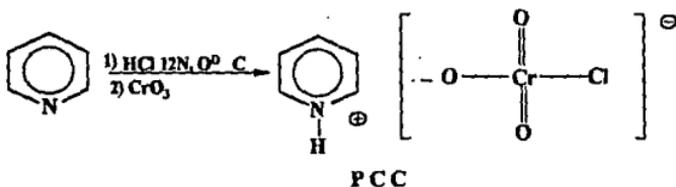


**Reacción 4**

El espectro IR de 4 da una señal en 2710  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración de el enlace OC-H ; 1800-1900  $\text{cm}^{-1}$  de  $\text{CH}_2$  y una en 1710  $\text{cm}^{-1}$  del enlace C=O.

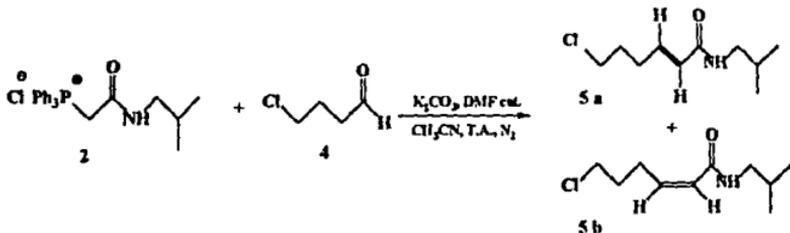
El espectro de RMN- $^1\text{H}$  de 4 presenta desplazamientos químicos en : 2.1(q, 2H, - $\text{CCH}_2\text{C}$ -,  $J=7$  Hz); 2.6(t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=8$  Hz); 3.6(t, 2H,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ,  $J=7$  Hz); 9.8(s, 1H, CHO).

El PCC se preparó en nuestro laboratorio con HCl 12N, piridina seca y  $\text{CrO}_3$  con agitación mecánica a 0  $^\circ\text{C}$ , reacción 5 . Se obtiene un 96.1 % de rendimiento ( lit. 97 % )<sup>44</sup> .



**Reacción 5**

La primera reacción de Wittig estereoselectiva se lleva a cabo mezclando los compuestos: 2, 4,  $\text{K}_2\text{CO}_3$  como base, DMF como catalizador complejante de  $\text{K}^+$  y acetonitrilo como disolvente<sup>37</sup>, reacción 6.



El  $K_2CO_3$  es una base débil y se utiliza en esta reacción porque los hidrógenos  $\alpha$  al grupo carbonilo son muy ácidos por estabilización de la base conjugada con el carbonilo y la sal de fosonio. En esta reacción se obtienen dos alquenos ( **5a** y **5b** ), los cuales se separan por cromatografía en columna . El rendimiento general es de 58 % . La relación E / Z es de 8.8 / 1.2 respectivamente. Este análisis se realizó por integración de áreas en espectro de RMN- $H^1$  y confirmado por la separación de la mezcla en cromatografía en columna.

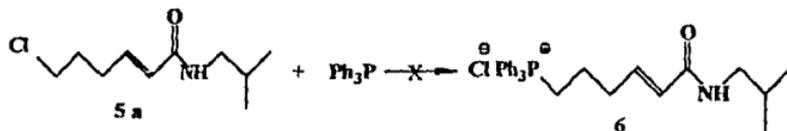
El isómero **5a** forma cristales blancos con punto de fusión de 52-53 °C. En su espectro IR se obtienen señales en : (3280  $cm^{-1}$ , N-H; 3075  $cm^{-1}$ , H-C=C; 2800-2990  $cm^{-1}$ ,  $CH_3$ ,  $CH_2$ , CH; 1660  $cm^{-1}$ , CH=CH; 1620  $cm^{-1}$ , C=O).

La RMN- $H^1$  de **5a** genera desplazamientos en : 0.8(d, 6H,  $CH_3$ , J=8 Hz); 1.5-2.0(m, 3H, CH, -CCH $_2$ C-); 2.2(q, 2H,  $CH_2$ C=C); 3.1(t, 2H,  $CH_2$ N); 3.5(t, 2H,  $CH_2$ Cl ); 5.9( 1H,dt, CH=CHCO, J=14 Hz, J'=0-1 Hz); 6.4(s, 1H, NH, ) señal ancha que desaparece con  $D_2O$  ; 6.7(dt,1H, CH-CH=C, J=15 Hz, J'= 7 Hz).

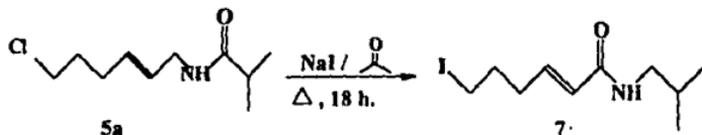
El alqueno **5b** es un líquido amarillo viscoso que muestra las mismas señales en el IR que **5a** . La única diferencia de **5b** es la vibración del enlace C=C que aparece en 1640  $cm^{-1}$  y la del enlace C=O que aparece en 1615  $cm^{-1}$  .

La RMN- $H^1$  de **5b** da señales en: 0.8(d, 6H,  $CH_3$ , J=8 Hz); 1.5-2.2(m, 3H, CH, -CCH $_2$ C-); 2.7(c, 2H,  $CH_2$ C=C J=6 Hz); 3.1(t, 2H,  $CH_2$ N); 3.5(t, 2H,  $CH_2$ Cl ); 5.5-6.2( m, 3H, NH, CH=CH ) .

La sal de Wittig **6** no se pudo obtener a partir de **5a** y trifeniilfosfina, ni cambiando disolventes y condiciones de reacción :



Por tal motivo se realizó un intercambio de halógeno ( reacción de Finkelstein) de cloro por yodo utilizando acetona como disolvente <sup>45</sup>. El objetivo es generar un buen grupo saliente frente a la reacción de  $SN_2$  , reacción 7.

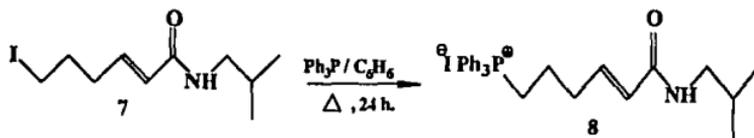


**Reacción 7**

El compuesto **7** es un sólido que cristaliza en forma de agujas blancas con el par de disolventes Eter / Hexano. El punto de fusión es de 47-49 °C.

La sustancia **7** muestra las mismas señales principales en IR y RMN-H<sup>1</sup> que el compuesto **5a**. La única diferencia es el desplazamiento químico en RMN-H<sup>1</sup> que presentan los hidrógenos -CH<sub>2</sub> en 3.15 ppm y los hidrógenos Cl-CH<sub>2</sub> en 3.5 ppm.

La segunda sal de Wittig **8** se obtiene mezclando **7**, trifenilfosfina y benceno como disolvente<sup>3</sup>, reacción **8**.



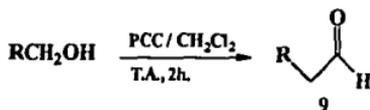
Reacción **8**

El compuesto **8** cristaliza con el par de disolventes EtOH / AcOEt. Su punto de fusión es de 187-188 °C. Esta sal es el compuesto que se utiliza para la obtención de todas las amidas con la estructura general **X**.

La sal **8** presenta en el IR las siguientes señales: (3280 cm<sup>-1</sup>, N-H; 3080 cm<sup>-1</sup>, H-C=C; 2800-2990 cm<sup>-1</sup>, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH; 1670 cm<sup>-1</sup>, CH=CH; 1635 cm<sup>-1</sup>, C=O).

La RMN-H<sup>1</sup> de este compuesto presenta un multiplete en 3.3-3.8 ppm que integra para 2H, estos hidrógenos se asignaron a CH<sub>2</sub>P; presenta un multiplete entre 7.4-7.9 ppm e integra para 15 hidrógenos, estos se asignaron al anillo aromático; las otras señales son semejantes al compuesto **7**.

En la segunda reacción de Wittig para obtener estereoselectivamente alquenos (Z), fue necesario sintetizar los aldehídos por oxidación de los correspondientes alcoholes con PCC<sup>32</sup>. El rendimiento de esta oxidación está entre 45-50 %, reacción **9**.



Reacción **9**

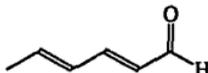
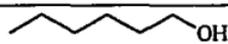
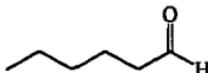
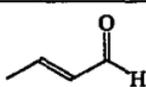
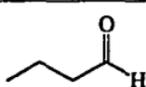
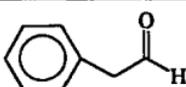
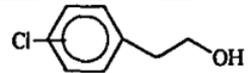
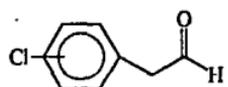
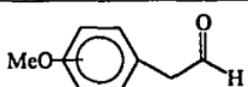
Estos aldehídos se purificaron por cromatografía en columna, ya que una destilación descompone a dichos compuestos.

El espectro IR de los aldehídos presentan una señal importante entre 1710-1730 cm<sup>-1</sup> por la vibración del enlace C=O. Su espectro de RMN-

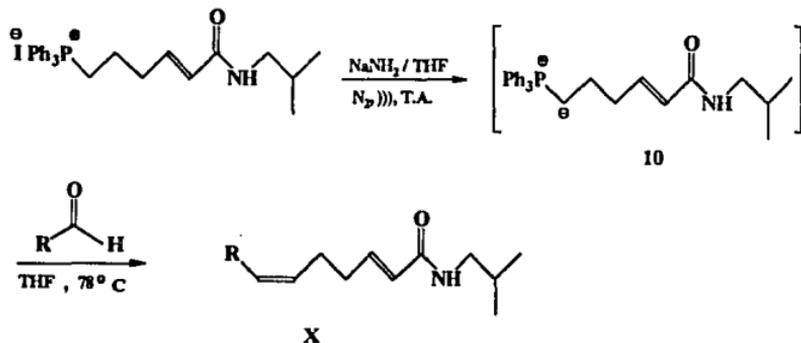
H<sup>1</sup>proporciona, entre otros, un desplazamiento químico en 9.5-10 ppm que corresponde a CHO .

En la tabla 4 se muestran los aldehídos seleccionados , nueve fueron sintetizados y dos son productos comerciales ( crotonaldehído, aldehído sórbico).

Tabla 4. Aldehídos seleccionados para realizar la síntesis de los productos finales con la estructura general X. 9 aldehídos fueron sintetizados en el laboratorio.

ALCOHOL	ALDEHIDO
	 Aldehído sórbico, comercial
	
	 Crotonaldehído, comercial
	
	
 o, m, p	 o, m, p
 o, m, p	 o, m, p

La síntesis estereoselectiva de las amidas lipídicas con la estructura general **X** se realizó generando primero el iluro **10**. Este intermediario se obtiene mezclando la sal **8**,  $\text{NaNH}_2$  como base y THF como disolvente <sup>40</sup>. Esta reacción se llevó a cabo en tubos de ensayo sellados en atmósfera de nitrógeno utilizando ultrasonido como un sistema de agitación, reacción 10. La generación sonoquímica de iluros se está utilizando recientemente en las reacciones de Wittig <sup>52,53</sup>.



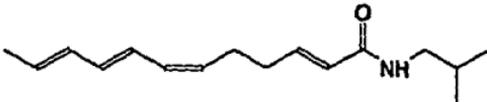
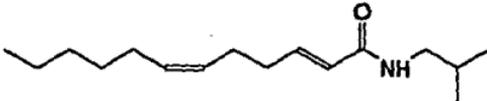
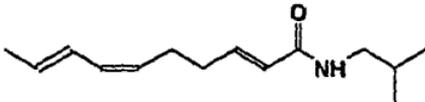
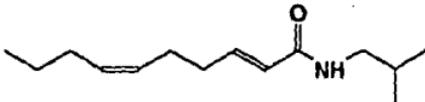
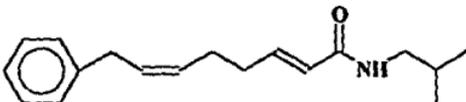
El iluro **10** sobrenadante de color rojo ladrillo se aisló precipitando las sales por centrifugación. Se ha reportado que iluros libres de sales aumentan la estereoselectividad (**Z**) en las reacciones de Wittig <sup>47</sup>.

El iluro se extrae con jeringa y reacciona a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  con los aldehídos seleccionados. Las temperaturas bajas aumentan la estereoselectividad (**Z**) <sup>47</sup>.

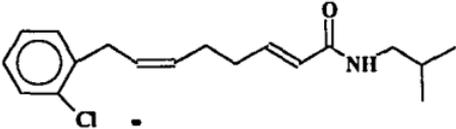
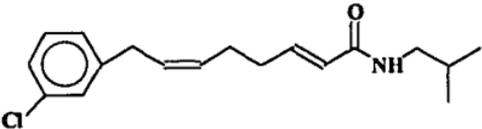
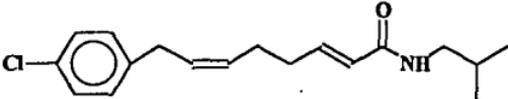
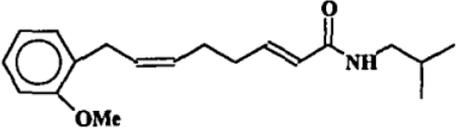
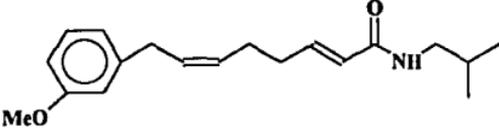
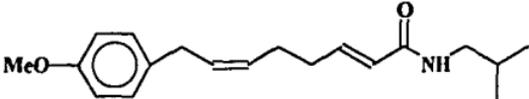
Esta reacción de Wittig genera los compuestos con la estructura general **X**. Los compuestos obtenidos se purificaron por cromatografía en columna y capa fina preparativa y caracterizaron con todas sus espectroscopías: IR, RMN- $^1\text{H}$ , RMN- $^{13}\text{C}$ , UV y EM.

En la tabla 5 se muestran todos los compuestos sintetizados, así como de las señales principales de su E.M.

Tabla 5. N-isobutilamidas poliinsaturadas sintetizadas en el laboratorio. También se muestran las señales mas importantes de su E.M. ( M<sup>+</sup>, PB ) para cada una de ellas .

NOMBRE Y ESTRUCTURA	E.M.(int.rel.)
 <p><b>α-Sanshool ( I )</b></p>	247 ( M <sup>+</sup> ) 140 ( PB )
 <p><b>N-isobutil ( 2E,6Z)-dodecadienamida ( 11 )</b></p>	251 ( M <sup>+</sup> ) 141 ( PB )
 <p><b>Espilantol ( II )</b></p>	221( M <sup>+</sup> ) 84 ( PB ) 140 ( 98 )
 <p><b>N-isobutil-(2E, 6Z)-decadienamida ( 12 )</b></p>	223 ( M <sup>+</sup> ) 141 ( PB )
 <p><b>N-isobutil-8-fenil-(2E,6Z)-octadienamida ( 13 )</b></p>	271 ( M <sup>+</sup> ) 117 ( PB ) 91 ( 18 ) ion tropilio

## CONTINUACION

 <p><b>N-isobutil-8-(o-clorofenil)-(2E,6Z)-octadienamida ( 14 )</b></p>	305 ( 6 ) 307 ( 2 ) 141 ( PB )
 <p><b>N-isobutil-8-(m-clorofenil)-(2E,6Z)-octadienamida ( 15 )</b></p>	305 ( 6 ) 307 ( 2 ) 141 ( PB )
 <p><b>N-isobutil-8-(p-clorofenil)-(2E,6Z)-octadienamida ( 16 )</b></p>	305 ( 6 ) 307 ( 2 ) 141 ( PB )
 <p><b>N-isobutil-8-(o-metoxifenil)-(2E,6Z)-octadienamida ( 17 )</b></p>	301( M <sup>+</sup> ) 141 ( PB )
 <p><b>N-isobutil-8-(m-metoxifenil)-(2E,6Z)-octadienamida ( 18 )</b></p>	301( M <sup>+</sup> ) 141 ( PB )
 <p><b>N-isobutil-8-(p-metoxifenil)-(2E,6Z)-octadienamida ( 19 )</b></p>	301( M <sup>+</sup> ) 141 ( PB )

Los espectros IR de los compuestos que se presentan en la tabla 5, muestran las mismas señales principales en la zona de los grupos funcionales:

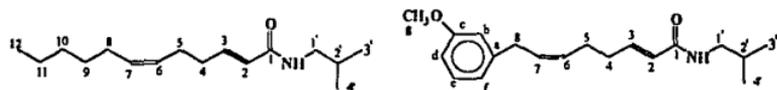
3288-3300  $\text{cm}^{-1}$ , N-H; 3005-3090  $\text{cm}^{-1}$ , dos bandas pequeñas que corresponden a la vibración del enlace H-C=C de anillo aromático o alqueno; 2850-3000 $\text{cm}^{-1}$ , CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH; se muestran dos bandas entre 1625-1670  $\text{cm}^{-1}$ , la primera es ligeramente menor que la segunda y apareció entre 1660-1670  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde a C=C conjugado con el grupo carbonilo, la segunda banda aparece en 1625-1630  $\text{cm}^{-1}$  y se origina por alargamiento del enlace C=O <sup>54</sup>.

La espectroscopía U.V. de los productos finales muestran  $\lambda$  máx. entre 210-216 nm. que corresponde a la absorción de energía del grupo C=C-C=O.

Los compuestos con dobles enlaces conjugados en la posición 6(  $\alpha$ -Sanshool y Espilantol <sup>54</sup>. ) presentan  $\lambda$  máx. entre 266-269 nm.

En la tabla 6 se muestra la asignación de señales de RMN-C<sup>13</sup> para los compuestos sintetizados. En el caso de  $\alpha$ -Sanshool y Espilantol la asignación de señales se facilitó tomando información de la literatura, ( 48 ) y ( 49, 50 ) , respectivamente.

Tabla 6. Desplazamientos químicos en ppm de RMN-C<sup>13</sup> de productos finales. En todos los casos se utilizó como disolvente CDCl<sub>3</sub>.



C	I	II	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	175.1	172.1	165.9	156.8	165.8	165.0	166.3	164.9	165.8	160.0	166.4
2	124.4	126.6	123.9	124.0	124.1	124.6	124.9	126.4	125.1	125.1	124.7
3	143.4	143.2	143.8	143.8	143.2	142.7	143.4	142.4	143.4	143.8	144.0
4	30.9	36.4	32.2	31.9	32.0	31.8	32.4	31.3	31.8	32.1	32.5
5	28.3	28.9	27.0	28.4	27.0	27.0	27.7	27.6	27.5	30.8	32.1
6	129.5	128.4	131.0	130.6	131.0	130.7	130.1	131.3	130.9	130.5	130.7
7	130.1	130.4	127.9	128.0	128.9	128.5	127.0	127.6	126.9	126.4	127.0
8	124.6	126.9	25.9	25.8	39.0	36.4	39.3	37.8	40.0	40.0	40.0
9	132.3	131.6	29.1	22.5	-	-	-	-	-	-	-
10	131.5	18.3	31.4	13.5	-	-	-	-	-	-	-
11	130.1	-	22.4	-	-	-	-	-	-	-	-
12	18.3	-	13.9	-	-	-	-	-	-	-	-
1'	47.4	46.7	46.8	46.6	46.7	46.3	47.4	46.2	46.7	46.5	47.3
2'	30.1	28.3	28.5	29.0	28.4	28.0	29.0	27.9	28.4	28.8	29.0
3'	20.3	20.3	20.3	19.9	20.3	19.7	20.6	19.5	20.0	20.3	20.6
4'	20.3	20.3	20.3	19.9	20.3	19.7	20.6	19.5	20.0	20.3	20.6
a	-	-	-	-	128.4	142.8	143.6	136.3	129.8	145.1	130.9
b	-	-	-	-	128.0	133.0	129.0	129.6	157.1	113.7	127.6
c	-	-	-	-	128.9	128.8	134.7	127.7	110.1	160.0	114.4
d	-	-	-	-	126.3	127.4	126.4	131.5	128.1	109.8	159.2
e	-	-	-	-	-	126.8	129.8	127.7	120.3	129.0	114.4
f	-	-	-	-	-	129.2	127.6	129.6	129.1	120.4	127.6
g	-	-	-	-	-	-	-	-	55.1	55.4	55.7

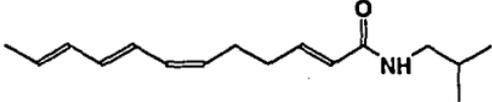
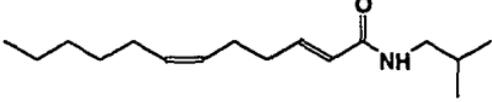
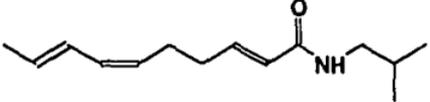
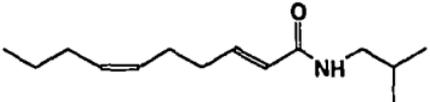
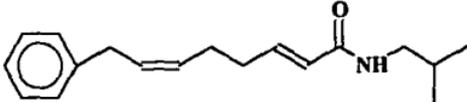


medio de un programa de computación con el objeto de obtener la concentración letal 50 (DL<sub>50</sub>).

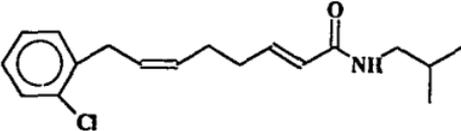
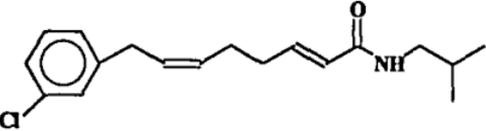
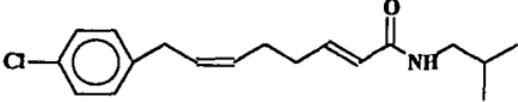
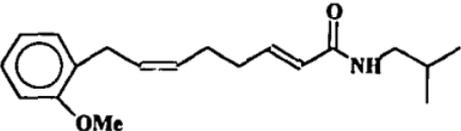
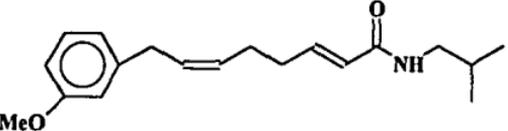
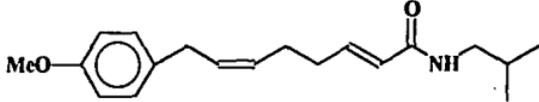
La realización de esta prueba biológica fue rápida, sencilla, barata y se utilizó cantidades pequeñas de sustancia ( máx. 100 mg. ).

Los resultados de actividad biológica se muestran en la tabla número 7.

Tabla núm. 7. Actividad biológica en *Artemia salina* ( DL<sub>50</sub> . en ppm ) de N-Isobutilamidas poliinsaturadas sintetizadas en el laboratorio .

NOMBRE Y ESTRUCTURA	DL <sub>50</sub> ( ppm )
 <p data-bbox="326 589 492 611"><b>α-Sanshool ( I )</b></p>	<b>50</b>
 <p data-bbox="181 749 631 771"><b>N-isobutil( 2E,6Z)-dodecadienamida ( 11 )</b></p>	<b>0.5</b>
 <p data-bbox="326 902 492 924"><b>Espilantol ( II )</b></p>	<b>37.2</b>
 <p data-bbox="196 1055 616 1077"><b>N-isobutil-(2E, 6Z)-decadienamida ( 12 )</b></p>	<b>8.3</b>
 <p data-bbox="160 1215 647 1237"><b>N-isobutil-8-fenil-(2E,6Z)-octadienamida ( 13 )</b></p>	<b>6.8</b>

CONTINUACION

 <p>N-isobutil-8-(o-clorofenil)-(2E,6Z)-octadienamida ( 14 )</p>	<p>2.1</p>
 <p>N-isobutil-8-(m-clorofenil)-(2E,6Z)-octadienamida ( 15 )</p>	<p>8.0</p>
 <p>N-isobutil-8-(p-clorofenil)-(2E,6Z)-octadienamida ( 16 )</p>	<p>2.0</p>
 <p>N-isobutil-8-(o-metoxifenil)-(2E,6Z)-octadienamida ( 17 )</p>	<p>9.0</p>
 <p>N-isobutil-8-(m-metoxifenil)-(2E,6Z)-octadienamida ( 18 )</p>	<p>9.9</p>
 <p>N-isobutil-8-(p-metoxifenil)-(2E,6Z)-octadienamida ( 19 )</p>	<p>9.7</p>

La determinación de actividad biológica en  $\alpha$ -Sanshool ( I ) se realizó 24 h. después de sintetizarlo. Es importante hacer esta aclaración ya que el compuesto es muy inestable.

En la tabla 7 se observa que los compuestos de origen natural I y II sintetizados en nuestro laboratorio presentan menor actividad biológica que las amidas 11 y 12 respectivamente. Estas últimas no presentan dobles enlaces conjugados al final de la cadena alifática como los primeros.

Cuando se introduce un anillo aromático al final de la cadena en la estructura general X , se obtiene el compuesto 13, esta amida presenta mayor actividad biológica que los compuestos de origen natural I y II .

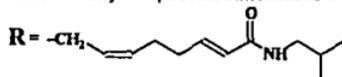
Un grupo electroatractor ( Cl ) en las posiciones o ( 14 ) y p ( 15 ) en el anillo aromático aumenta aproximadamente 3.4 veces la actividad biológica en relación a la amida 13 . Sin embargo, el compuesto 15 con el cloro en posición m disminuye ligeramente su actividad en comparación con el compuesto 13

Las amidas con un grupo electrodonador ( MeO ) en las posiciones o ( 17 ), m ( 18 ) y p ( 19 ) son aproximadamente 0.9 veces menos activos que el compuesto aromático sin sustituyentes 13 . No obstante, los compuestos con el sustituyente electrodonador Cl en las tres posiciones del anillo aromático resultaron ser mas activos que los respectivos compuestos con un sustituyente electrodonador MeO . Sin embargo estos últimos son mas activos que los compuestos de origen natural. Prácticamente no hay variación en la actividad biológica al cambiar la posición del sustituyente electrodonador MeO en el anillo aromático, ver los compuestos 17, 18 y 19 en la tabla 7.

Es importante señalar que este bioensayo realizado con los compuestos sintetizados en *A. salina* es un método general que no evalúa una actividad biológica específica . Sin embargo dada la alta actividad insecticida de  $\alpha$ -Sanshool ( I ) <sup>1,2</sup> y el Espilantol ( II ) <sup>12</sup> , así como la similitud estructural de estos con los compuestos sintetizados , se propone como hipótesis la posibilidad de que los compuestos nuevos pueden presentar mayor actividad insecticida que ( I ) y ( II ) de origen natural, ya que aquellos presentaron mayor actividad biológica en *A. salina* que estos últimos . Para sustentar esta hipótesis se determinó la actividad biológica en *A. salina* de insecticidas comerciales como Metil Paratión, Etil Paratión y Neo-Pyamin ( piretrina) encontrando que los compuestos 11, 14 y 16 resultaron ser mas activos que estos insecticidas comerciales , ver los datos verticales de la tabla 8 . Además en la literatura se reportó la actividad insecticida del Espilantol ( la amida mas

conocida de esta serie de compuestos ) y se comparó por primera vez dicha actividad con insecticidas comerciales . La potencia resultó ser 1.3, 2.6 y 3.8 veces mas tóxico que Carbarilo ( carbamato ), Bioresmetrín ( piretrina ) y Lindano ( organoclorado ) respectivamente <sup>12</sup>, ver los datos horizontales de la tabla 8.

Tabla 8. Actividad biológica en *A. salina* ( vertical ) y actividad insecticida (horizontal) relativos a el Espilantol de productos comerciales y compuestos sintetizados en el laboratorio.



Neo- Pyamin ( Piretrina )	0.43			
$\alpha$ - Sanshool ( I )	79			
		Activ. Insecticida Relativa <sup>12</sup>		
		←		
		Carbarilo	Bioresmetrín	Lindano
<b>ESPIANTOL ( II )</b>	<b>1.0</b>	<b>0.76</b>	<b>0.38</b>	<b>0.26</b>
m- Metoxifenil- R ( 18 )	3.7			
p- Metoxifenil- R ( 19 )	3.8			
o- Metoxifenil- R ( 17 )	4.4			
Etil- R ( 12 )	4.5			
m- Clorofenil- R ( 15 )	4.7			
Fenil- R ( 13 )	5.5			
Metil Paratión	7.8			
Etil Paratión	10.3			
o- Clorofenil- R ( 14 )	17.7			
p- Clorofenil- R ( 16 )	18.6			
n- Butil- R ( 11 )	74.4			

En esta tabla se observa que el compuesto 11 sobresale por tener una actividad biológica mucho mas alta que los productos sintetizados y los insecticidas comerciales que se presentan . El compuesto 11 tiene una actividad biológica de 74.4 veces mas que el Espilantol.

Actualmente se investiga la síntesis y actividad biológica de N-Isobutilamidas lipídicas insaturadas por ser un nuevo tipo de insecticidas con una estructura química diferente a los que se utilizan comunmente en el mercado .

Los resultados obtenidos en este trabajo son muy prometedores porque los compuestos sintetizados pueden ser una nueva opción para combatir la plagas , ya que estas están mostrando mecanismos de resistencia contra los piretroides introducidos recientemente <sup>3,51</sup>.

Es sabido que los compuestos que presentan actividad plagicida y que son originarios de fuentes naturales tienen alta preferencia en el mercado por la posibilidad de ser biodegradables y no contaminar el medio ambiente como lo hacen muchos compuestos sintético clorados..

# **4. PARTE**

# **EXPERIMENTAL**

## Síntesis

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato de Fisher- Johns y no están corregidos.

Los espectros de infrarrojo (IR) fueron determinados en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 559-B, en películas o en pastillas de KBr. Las frecuencias se reportan en  $\text{cm}^{-1}$ .

Los espectros de resonancia magnética nuclear de hidrógeno ( $\text{RMN-H}^1$ ) y de carbono 13 ( $\text{C}^{13}$ ) se determinaron en un espectrómetro Varian XL-300 utilizando como disolvente  $\text{CDCl}_3$ . Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) están expresados en ppm usando como referencia tetrametilsilano (TMS). Las constantes de acoplamiento están expresadas en Hz. La multiplicidad de las señales se reportan de la siguiente manera: s= singulete, d= doblete, dd= doblete de doblete, t= triplete, c= cuarteto, m= multiplete.

Los espectros de masas (EM) se determinaron en un espectrómetro Hewlett-Packard 59858 con sistema acoplado a CG/EM.

Los espectros de ultravioleta (UV) se determinaron en un espectrómetro Perkin Elmer UV/VIS Lambda 2, utilizando etanol como disolvente.

La agitación ultrasónica se realizó en un baño de ultrasonido marca BRANSON B-32H

La precipitación de sales en la reacción de Wittig se utilizó una centrifuga clínica marca Mettich. Eba III.

Los reactivos y disolventes son de Aldrich y se utilizaron sin previa purificación. El THF grado reactivo se secó agitándolo en sodio metálico 2h. con ultrasonido y posteriormente se destiló.

La pureza de los productos y el curso de las reacciones se observó por cromatografía en capa fina (ccf) usando como adsorbente sílica gel 60 F-254, y como reveladores luz ultravioleta y vapores de yodo.

Los productos finales se purificaron por cromatografía en columna utilizando sílica gel Merck 60 (230-400 mallas) y con cromatoplasmas de capa fina preparativa de sílica gel Merck 6F 254 de 20x100 cm.

### Cloruro de (2-metil propil) carbamoil metil trifenilfosfonio (2).

A un matraz de 1 litro con dos bocas se adapta un condensador de reflujo con trampa de cloruro de calcio y un embudo de adición. Con el embudo se adiciona lentamente una solución de 2-Metil propil amina (132.7 ml., 1.31 mol) en dietil éter (160 ml.) al cloruro de cloroacetilo (65.3 ml., 0.82 mol) en éter (400 ml.) agitando magnéticamente a 0 °C. La mezcla se calienta a temperatura ambiente dejando reaccionar durante la noche con agitación y despues se adiciona agua. La solución etérea se separa, se lava con HCl diluido al 5% y posteriormente con agua. La solución etérea se seca con sulfato de sodio anhidro y se evapora para dar la correspondiente amida (1) (109.6 g., 0.73 mol, 89%).

IR:  $\nu_{\text{máx}}$ . (3300, NH; 2800-2900, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH; 1660, CO).

RMN-H:  $\delta_{\text{ppm}}$  0.9(d, 6H, CH<sub>3</sub>, J=7 Hz); 1.7(m, 1H, CH); 3.1(t, 2H, CH<sub>2</sub>N, J=7 Hz); 4.0(s, 2H, CH<sub>2</sub>CCl).

En un matraz de fondo redondo de una boca equipado con un condensador de reflujo se disuelve trifenilfosfina ( 140 g., 0.534 moles ) en benceno (800 ml.) y posteriormente se adiciona la amida ( 1 ) ( 79.9 g., 0.534 moles ). La solución se calienta a reflujo por 24 h., la sal cristaliza por enfriamiento y se filtra a vacío. La sal de Wittig se tritura con benceno y nuevamente se filtra a vacío ( 150.5 g., 74.9% ).

P. f.: 177-179 °C.

IR:  $\nu_{\text{máx}}$ . (3220, NH; 3020-3080, H Ar; 2800-2990, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH; 1670, CO).

RMN-H:  $\delta_{\text{ppm}}$  0.8(d, 6H, CH<sub>3</sub>, J=7 Hz); 1.6(m, 1H, CH); 2.9(t, 2H, CH<sub>2</sub>N, J=6 Hz); 5.1(d, 2H, CH<sub>2</sub>CO, J=14 Hz); 7.4-8.0(m, 15H, Ar).

### 4-Cloro-1-butanol (3).

Un matraz de tres bocas de 250 ml que contiene THF (70 ml., 0.86 mol) se equipa con un condensador de reflujo, un termómetro sumergido en el líquido y se incorpora un tubo de vidrio para introducir HCl (g) en el fondo del matraz (el cloruro de hidrógeno se preparó por goteo de ácido sulfúrico concentrado a una mezcla de NaCl y HCl concentrado) . La parte superior del condensador de reflujo se conecta a una trampa de NaOH.

El THF se calienta a su punto de ebullición y posteriormente se introduce HCl (g) dentro del líquido. A medida que la reacción procede la temperatura de ebullición del líquido se incrementa lentamente hasta alcanzar 91 °C. Al término

de 6 horas la temperatura se mantiene prácticamente constante y se suspende la reacción. Se enfría el líquido y se somete a una destilación fraccionada a presión reducida.

Después de eliminar pequeñas cantidades de material de bajo punto de ebullición la fracción principal destila en el intervalo de 65-75 °C / 1 mm Hg (se ha reportado que tetrametilen clorhidrina origina pérdida de cloruro de hidrógeno cuando se destila a una presión arriba de 15 mm Hg) obteniendo 40 ml. El producto crudo se somete a una redestilación colectando la fracción que destila en 70-71 °C / 7 mm Hg (31 ml, 0.31 mol, 36 %).

IR:  $\nu_{\max}$ . (3200-3500, OH; 2800-2900, CH<sub>2</sub>; 1050, OH primario).

RMN-H:  $\delta_{\text{ppm}}$  1.4-2.1(m, 4H, -CCH<sub>2</sub>C-); 3.4-3.8(m, 4H, CH<sub>2</sub>Cl, OCH<sub>2</sub>); 4(s, 1H, OH).

4-cloro-n-butanal (4).

Preparación de cloro cromato de piridinio (PCC):

Se adiciona HCl (12 N, 45.8 ml, 0.55 mol) gota a gota a la piridina (40.2 ml, 0.5 mol) seca y fría con agitación constante. La solución se enfría a 0 °C y después se adiciona gota a gota al ácido crómico (50 g, 0.5 mol) con agitación vigorosa. Enfriando a 0 °C, da un sólido naranja-amarillo de PCC, el cual se aísla por filtración: el sólido fue presionado entre el papel filtro y secado a vacío (103.6 g, 96.1%).

Oxidación de 4-cloro-n-butanol:

En un matraz de fondo redondo unido con un condensador de reflujo se suspende PCC (89.6 g, 0.415 mol) en diclorometano anh. (450 ml). El alcohol (3) (30 g, 0.277 mol) en diclorometano (100 ml) se adiciona a la suspensión agitada mecánicamente. Después de 2.5 horas se adiciona éter seco (0.5 lt) hasta decantar una goma negra. Este residuo insoluble se enjuaga con éter seco y se juntan los extractos orgánicos. La solución orgánica se pasa a través de una columna corta de florisil para eliminar sustancias inorgánicas y el disolvente se elimina por evaporación.

El producto crudo se purifica por destilación a presión reducida colectada la fracción que destila a 77-77.5 °C / 38 mm Hg (14.3 g, 49%).

P. f.: 2,4-dinitrofenilhidrazona de 4-cloro-n-butanol: 133-134 °C, literatura 130-132 °C.

IR:  $\nu_{\max}$ . (2710, CHO; 1800-1900, CH<sub>2</sub>; 1710, CO).

RMN-H:  $\delta_{\text{ppm}}$  2.1(q, 2H, -CCH<sub>2</sub>C-, J=7 Hz); 2.6(t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=8 Hz); 3.6(t, 2H, CH<sub>2</sub>Cl, J=7 Hz); 9.8(s, 1H, CHO).

N-isobutil - 6 - cloro - (2E) hexaenamida (5a).

En un matraz redondo de 1 litro en atmósfera de nitrógeno se mezcla:(2) (33.9 g, 90.14 mmol), (4) (8 g, 75.12 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anh. (12.4 g, 90.14 mmol), acetonitrilo (400 ml) y DMF (4 ml). El sistema de reacción se somete a una agitación magnética a temperatura ambiente. Después de 15 horas de reacción (monitoreada por ccf) el disolvente se evapora a presión reducida. Al residuo se le agrega una mezcla de pentano/éter (1: 3) hasta disolver el residuo líquido. De esta manera se separa por filtración la mayoría de óxido de trifenilfosfina. Se evapora el disolvente orgánico y el residuo líquido se purifica por cromatografía en columna (eluyente: hexano/ acetato de etilo, 1: 4), (8.9 g, 43.6 mmol, 58%).

P. f.: 52-53 °C.

IR:  $\nu_{\text{max}}$ . (3280, NH; 3075, H-C=C; 2800-2990, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH; 1660, CH=CH; 1620, CO).

RMN-H:  $\delta_{\text{ppm}}$  0.8(d, 6H, CH<sub>3</sub>, J=8 Hz); 1.5-2.0(m, 3H, CH, -CCH<sub>2</sub>C-); 2.2(q, 2H, CH<sub>2</sub>-CH=CH); 3.1(t, 2H, CH<sub>2</sub>N); 3.5(t, 2H, CH<sub>2</sub>Cl); 5.9(dt, CH=CHCO, J=14 Hz, J'=0-1 Hz); 6.7(dt, 1H, CH-CH=C, J=15 Hz, J'= 7 Hz); 6.4(s, 1H, NH).

N-isobutil - 6 - iodo - (2E) hexaenamida (7).

En un matraz de 500 ml equipado con un condensador protegido con CaCl<sub>2</sub> anh. se disuelve NaI seco (32 g, 213 mmol, 2.2 eq.) en 250 ml de acetona seca (el NaI se seca en rotavapor a vacío durante 2 horas a 100 °C). A la solución se adiciona (5a) (19.6 g, 96.7 mmol). La mezcla de reacción se calienta a reflujo por 18 horas. Enfriar y filtrar el NaCl, enjuagar el residuo con poca acetona. La acetona se elimina con un evaporador rotatorio y se disuelve el halogenuro orgánico residual con acetato de etilo. La fase orgánica se pasa a un embudo de separación y se enjuaga primero con agua y después con una solución de tiosulfato de sodio para decolorar la fase orgánica, secar el producto con sulfato de sodio anh., filtrar y evaporar el disolvente. El producto crudo se cristaliza con par de disolventes éter dietílico / hexano obteniendo cristales blancos en forma de agujas (22 g, 74.7 mmol, 77.2%).

P. f.: 47-49 °C.

**IR:**  $\nu_{max}$ . (3300, NH; 3100-3080, H-C=C; 2850-2990, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH; 1670, C=C; 1630, CO).

**RMN-H:**  $\delta_{ppm}$  0.8(d, 6H, CH<sub>3</sub>, J=7 Hz); 1.5-2.0(m, 3H, CH, CCH<sub>2</sub>C); 2.2(m, 2H, CCH<sub>2</sub>C=C); 3.0-3.3(m, 4H, CH<sub>2</sub>N, CH<sub>2</sub>l).

#### Síntesis de (8).

En un matraz bola de fondo redondo de 500 ml equipado con un condensador de reflujo se disuelve trifenilfosfina (23 g, 88.0 mmol) en benceno (170 ml). Después se adiciona (7) (21.8 g, 73.3 mmol) y la solución se calienta a reflujo por 24 horas. El precipitado se lava con acetona y cristaliza de etanol/acetato de etilo (25.0 g, 44.6 mmol, 60.8%).

**P. f.:** 187-188 °C.

**IR:**  $\nu_{max}$ . (3280, NH; 3000-3080, H-C=C; 2850-2990, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH; 1670, C=C; 1635, CO).

**RMN-H:**  $\delta_{ppm}$  0.8(d, 6H, CH<sub>3</sub>, J=8 Hz); 1.5-2.0(m, 3H, CH, -CCH<sub>2</sub>C-); 2.2(s, 1H, NH); 2.5(q, 2H, CH<sub>2</sub>C=C); 3.0(t, 2H, CH<sub>2</sub>N); 3.3-3.8(m, 2H, CH<sub>2</sub>P); 6.2-6.9(m, 2H, HC=C); 7.4-7.9(m, 15H, H-Ar).

#### Aril etanal (9).

En un matraz de fondo redondo de 50 ml con dos bocas se une un condensador de reflujo. Se suspende PCC ( 1.8 Eq., 23 mmol ) en diclorometano anhidro ( 20 ml ) . El alcohol 2-aril etanol ( 1 Eq. , 12.8 mmol ) disuelto en 3 ml de diclorometano se adiciona lentamente con una jeringa a la suspensión de PCC agitada magnéticamente. Después de 1 h. se adiciona éter etílico seco ( 30 ml ) hasta decantar una goma negra. Este residuo insoluble se enjuaga con éter etílico seco y se juntan los extractos orgánicos. La solución orgánica se pasa a través de una columna corta de florisil para quitar sustancias inorgánicas y el disolvente se elimina por destilación.

El producto crudo se purifica por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla de Hexano/ Acetato de etilo ( 3:2 ). Los rendimientos que se obtienen se encuentran entre 53-79 %.

#### Síntesis general de N-isobutil-8-( alquil y aril )- ( 2E,6Z ) octadienamidas (X).

En un tubo de ensayo seco se mezcla la sal de fosfonio (8) (1.33 g, 2.3 mmol, 1 eq) con polvo de sodamida comercial (Aldrich) (0.37 g, 9.48 mmol, 4

eq). El tubo se sella con septum y grasa de silicona, posteriormente se genera una atmósfera de nitrógeno dentro de el. Se adiciona THF seco con una jeringa para formar una solución 0.2 M. de el iluro. La mezcla de reacción se agita con ultrasonido por 20 minutos hasta formar una solución de color rojo ladrillo. Posteriormente se quita la fuente de nitrógeno y se vuelve a sellar con grasa de silicona. La solución se clarifica por centrifugación y el sobrenadante que contiene el iluro libre de sales se transfiere con una jeringa a un matraz de fondo redondo en atmósfera de nitrógeno a  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . A esta solución se adiciona lentamente el aldehído (2.37 mmol, 1 eq) en THF seco.

La mezcla de reacción se agita por 15 minutos a  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  y despues se aumenta lentamente hasta temperatura ambiente. Despues de 1 hora se adiciona agua para disolver las sales y se realizan 3 extracciones con éter etílico. Los extractos orgánicos se juntan, la solución etérea se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anh. y se filtra, el disolvente se elimina con un evaporador rotatorio. El producto se purifica por cromatografía en columna(eluyente:hexano/acetato de etilo, 3/2).

A continuación se muestra la espectroscopía de todos los productos finales obtenidos:

(I). Aceite inestable. 30% de rendimiento. EM  $m/z$  (int. rel.): 247(2.8) [  $\text{M}^+$ , 140, (100), 141 ( 30), 107(47), 91(48), 84(67).

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3280, NH; 3020, H-C=C, 2820-2920,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$ , CH; 1660, C=C; 1620 CO. UV,  $\lambda_{\text{max}}$ : 269 nm.

RMN- $^1\text{H}$ :  $\delta$  0.92 ( 6H, d, J= 7 Hz, H- 3', 4' ), 1.6-1.9 ( 4H, m, H-12 , 2'), 2.5-2.2(4H,m, H-4,5), 3.05 ( 2H, t, J= 7 Hz, H-1' ), 5.37( 1H, dt, J= 11, 7 Hz, H-6), 5.70( 1H, dc, J= 14, 6 Hz, H-11), 5.80( 1H, d, J= 15 Hz, H-2), 5.9-6.4( 5H, m, H-7,8,9,10,NH), 6.82( 1H, dt, J= 15, 6.5 Hz, H-3).

RMN- $^{13}\text{C}$ :  $\delta$  C-1, 175.1; C-2 , 124.4; C-3, 143.4 ; C-4, 30.9; C-5, 26.3 ; C-6, 129.5 ; C-7, 130.1 ; C-8, 124.6 ; C-9, 132.3; C-10, 131.5 ; C-11, 130.1; C-12, 18.3; C-1', 47.4 ; C-2', 30.1; C- 3', 20.3; C-4', 20.3.

(II). Aceite inestable.25 % de rendimiento. EM  $m/z$  (int. rel.): 221(49) [  $\text{M}^+$ , 140 (98), 91 (75), 84(100), 41(90).

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3300, NH; 3090, 3010, H-C=C; 2850-2960,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$ , CH; 1655, C=C; 1640 , CO. UV,  $\lambda_{\text{max}}$ : 266 nm.

**RMN-H<sup>1</sup>** :  $\delta$  0.90 ( 6H, d, J= 7 Hz, H- 3', 4' ), 1.6-1.9 ( 4H, m, H-10, 2' ), 2.5-2.2 ( 4H, m, H-4,5), 3.05( 2H, t, J= 6 Hz, H-1' ), 5.5-6.1( 6H, m, H-2, 6, 7, 8, 9, NH), 6.5( 1H, dt, J= 15 , 6 Hz).

**RMN-C<sup>13</sup>** :  $\delta$  C-1, 172.1; C-2 , 126.6 ; C-3, 143.2 ; C-4, 36.4; C-5, 28.9; C-6, 128.4; C-7, 130.4; C-8, 126.9; C-9, 131.6; C-10, 18.3; C-1', 46.7; C-2', 28.3; C-3', 20.3 ; C-4', 20.3.

(11). Aceite amarillo. 35% de rendimiento. EM m/z (int. rel.): 251(1.5) [ M<sup>+</sup>], 141 (100), 69(64), 55(50), 41(44).

IR (cm<sup>-1</sup>) : 3280, NH; 3090,3010, H-C=C; 2850-2960, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH; 1650, C=C; 1630 , CO. UV,  $\lambda_{max}$ : 213 nm.

**RMN-H<sup>1</sup>** :  $\delta$  0.85 ( 6H, d, J= 7 Hz, H- 3', 4' ), 0.89( 6H, d, J= 7 Hz, H-3',4' ), 1.4-1.1( 6H, m, H-9,10,11), 1.75( 1H, m, H-2' ), 1.95( 2H, c, J= 6 Hz, H-8 ), 2.05-2.25 (4H, m, H-4,5), 3.1( 2H, t, J= 6 Hz, H-1' ), 5.2-5.5( 2H, m, H-6,7), 5.6( 1H, banda hancha, NH), 5.75( 1H, d, 15 Hz, H-2), 6.8( 1H, dt, J0 15,6 Hz, H-3).

**RMN-C<sup>13</sup>** :  $\delta$  C-1, 169.9 ; C-2 , 123.9 ; C-3, 143.8 ; C-4, 32.2; C-5, 27.0; C-6, 131.0 ; C-7, 127.9 ; C-8, 25.9; C-9, 29.1; C-10, 31.4; C-11, 22.4; C-12, 13.9 ; C-1', 46.8 ; C-2', 28.5; C-3', 20.3; C-4', 20.3 .

(12). Aceite amarillo. 34% de rendimiento. EM m/z (int. rel.): 223(0.4) [ M<sup>+</sup>], 141(100), 81(83), 68 (67), 55 (82) .

IR (cm<sup>-1</sup>) : 3290, NH; 3080, H-C=C; 2850- 2960, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH; 1660, C=C; 1630 , CO. UV,  $\lambda_{max}$ : 213 nm.

**RMN-H<sup>1</sup>** :  $\delta$  0.8-1.1 ( 9H, m, H- 3', 4', 10 ), 1.35( 2H, m, H-9), 1.8( 1H, m, H-2' ), 2.0( 2H, c, 6Hz, H-8), 2.1-2.3( 4H, m, H-4,5), 3.15( 2H, t, 6 Hz, H-1' ), 5.3-5.5(2H, m, H-6,7), 5.6( banda hancha, NH), 5.8( 1H, d, 15 Hz, H-2), 6.8( 1H, dt, J= 15,6 Hz, H-3).

**RMN-C<sup>13</sup>** :  $\delta$  C-1, 168.8; C-2 , 124.0; C-3, 143.6; C-4, 31.9; C-5, 28.4; C-6, 130.6 ; C-7, 128.0; C-8, 25.8; C-9, 22.5; C-10, 13.5; C-1', 46.6; C-2', 29.0; C-3', 19.9; C-4', 19.9 .

(13). Aceite amarillo. 34% de rendimiento. EM m/z (int. rel.): 271(1) [ M<sup>+</sup>], 115 (27), 117(100) , 91(18).

IR (cm<sup>-1</sup>) : 3293, NH; 3080, H-C=C; 2850- 2960, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH; 1660, C=C; 1630 , CO. UV,  $\lambda_{max}$ : 213 nm.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

**RMN-H<sup>1</sup>** :  $\delta$  0.9 ( 6H, d, J= 7 Hz, H- 3', 4' ), 1.6-2.9( 1H,m, H-2'), 2.2-2.4( 4H,m, H-4,5), 3.4( 2H, d,7Hz, H-8), 3.1(2H,t, J= 6 Hz, H-1' ), 5.5-5.9( 4H,m., H-2,6,7,NH), 6.8( 1H, dt, J0 15, 6 Hz, H-3), 7.1-7.4( 4H,m, H-aromáticos).

**RMN-C<sup>13</sup>** :  $\delta$  C-1, 165.8; C-2 , 124.1; C-3, 143.2; C-4, 32.0; C-5, 27.0; C-6, 131.0; C-7, 126.9; C-8, 39.0; C-1', 46.7; C-2', 28.4; C- 3', 20.3; C-4', 20.3; C-a, 128.4; C-b, 128.0; C-c, 128.9; C-d, 126.3 .

**(14).** Aceite amarillo. 27% de rendimiento. EM m/z (int. rel.): 307 (2) [ M\*], 305 (6), 141(100), 125 (62), 115 (37) .

**IR** (cm<sup>-1</sup>) : 3288, NH; 3068, 3016, H-C=C; 2860- 2960, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH; 1668, C=C; 1630, CO. **UV**,  $\lambda_{max}$ : 212 nm.

**RMN-H<sup>1</sup>** :  $\delta$  0.93 ( 6H, d, J=7 Hz, H- 3', 4' ), 1.7-2.0 ( 1H, m, H- 2' ), 2.2-2.5 ( 4H,m, H-4,5), 3.15 ( 2H, t, J= 6 Hz, H-1' ), 3.5 (2H, d, 7Hz, H-8), 5.5-5.7 (3H, m, H-6,7, NH, ), 5.73 ( 1H, d, 15 Hz., H-2 ), 6.86 ( 1H, dt, J= 15, 6 Hz, H-3 ), 7.1-7.5 ( 4H, m, H-aromáticos ) .

**RMN-C<sup>13</sup>** :  $\delta$  C-1, 165.0; C-2, 124.6; C-3, 142.7; C-4, 31.8 ; C-5, 27.0; C-6, 130.7 ; C-7, 26.5; C-8, 36.4; C-1', 46.3; C-2', 28.0; C- 3', 19.7; C-4', 19.7; C-a, 142.8; C-b, 133.0; C-c, 128.8; C-d, 127.4; C-e, 126.8; C-f, 129.2 .

**(15).** Aceite amarillo. 25% de rendimiento. EM m/z (int. rel.): 307 (2) [ M\*], 305 (6), 141(100 ), 125 (59), 115 (36) .

**IR** (cm<sup>-1</sup>) : 3290, NH; 3076, H-C=C; 2860- 2960, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH; 1666, C=C; 1630, CO. **UV**,  $\lambda_{max}$ : 215 nm.

**RMN-H<sup>1</sup>** :  $\delta$  0.90 ( 6H, d, J=7 Hz, H- 3', 4' ), 1.6-2.0( 4H, m, H- 2' ), 2.2-2.4( 4H,m, H-4,5), 3.15( 2H, t, J= 6 Hz, H-1' ), 3.38(2H, d, 7Hz, H-8), 5.5-5.9 (4H, m, H-2,6,7,NH), 6.71( 1H,dt, J=15,6,HZ, H-3), 7.0-7.4( 4H, m, H- aromáticos ) .

**RMN-C<sup>13</sup>** :  $\delta$  C-1, 166.3; C-2 , 124.9; C-3, 143.4; C-4, 32.4; C-5, 27.7; C-6, 130.1; C-7, 127.0; C-8, 39.3; C-1', 47.4; C-2', 29.0; C- 3', 20.6; C-4', 20.6; C-a, 143.6; C-b, 129.0; C-c, 134.7; C-d, 126.4; C-e, 129.6; C-f, 127.6 .

**(16).** Aceite amarillo. 24% de rendimiento. EM m/z (int. rel.): 307 (2) [ M\*], 305 (6), 141(100 ), 125 (56), 115 (35) .

**IR** (cm<sup>-1</sup>) : 3296, NH; 3088, H-C=C; 2860- 2960, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH; 1660, C=C; 1630, CO. **UV**,  $\lambda_{max}$ : 217 nm.

**RMN-H<sup>1</sup>** :  $\delta$  0.91 ( 6H, d, J=7 Hz, H- 3', 4' ), 1.7-2.0( 4H, m, H- 2' ), 2.2-2.5( 4H,m, H-4,5), 3.15( 2H, t, J= 6 Hz, H-1' ), 3.4(2H, d, 7Hz, H-8), 5.5-5.8 (4H, m,

H- 2,6,7,NH), 5.70( 1H,d, J=15Hz, H-2), 6.75 ( 1H, dt, J= 15, 6 Hz, H-3 ), 7.1-7.4( 4H, m, H- aromáticos ) .

**RMN-C<sup>13</sup>** :  $\delta$  C-1,164.9; C-2 , 126.4; C-3, 142.4; C-4, 31.3; C-5, 27.6; C-6, 131.3; C-7, 127.6; C-8, 37.8; C-1', 46.2; C-2', 27.9; C- 3', 19.5; C-4', 19.5; C-a, 136.3; C-b,129.6; C-c, 127.7; C-d, 131.5; C-e, 127.7; C-f, 129.7 .

**(17).** Aceite amarillo. 23% de rendimiento. EM m/z (int. rel.): 301(1) [ M<sup>+</sup>], 141 (100), 126 (37), 98 (23) .

**IR** (cm<sup>-1</sup>) : 3300, NH; 3080, H-C=C; 2860- 2960, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH; 1667, C=C; 1625, CO. **UV**,  $\lambda_{max}$ : 213 nm.

**RMN-H<sup>1</sup>** :  $\delta$  0.91( 6H, d, J= 7 Hz, H- 3', 4' ), 1.8( 1H, m, H-2' ), 2.2-2.5( 4H,m, H-4,5), 3.15( 2H, t, J= 6 Hz, H-1' ), 3.38(2H,d,7Hz,H-8), 3.31( 3H, s, H-g ), 5.4-5.9 (4H, m, H-2,6,7,NH ), 6.6-7.3( 5H, m, H-3 , aromáticos) .

**RMN-C<sup>13</sup>** :  $\delta$  C-1, 165.8; C-2 , 125.2; C-3, 143.4; C-4, 31.8; C-5, 27.5; C-6, 130.9; C-7, 126.9; C-8, 40.0; C-1', 46.7; C-2', 28.4; C- 3', 20.0; C-4', 20.0; C-a, 129.8; C-b, 157.1; C-c, 110.1; C-d, 128.1; C-e, 120.3; C-f, 129.1; C-g, 55.1.

**(18).** Aceite amarillo. 38% de rendimiento. EM m/z (int. rel.): 301(1) [ M<sup>+</sup>], 141 (100), 126 (35), 98 (21) .

**IR** (cm<sup>-1</sup>) : 3290,NH; 3074, 3004, H-C=C; 2860- 2960, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH; 1670, C=C; 1628, CO. **UV**,  $\lambda_{max}$ : 216 nm.

**RMN-H<sup>1</sup>** :  $\delta$  0.92( 6H, d, J= 7 Hz, H- 3', 4' ), 1.8( 1H, m, H-2' ), 2.2-2.5( 4H,m, H-4,5), 3.18( 2H, t, J= 6 Hz, H-1' ), 3.4(2H,d,7Hz,H-8), 3.82( 3H, s, H-g ), 5.4-5.9 (4H, m, H-2,6,7,NH ), 6.7-7.8( 5H, m, H-3 , aromáticos) .

**RMN-C<sup>13</sup>** :  $\delta$  C-1, 160.0; C-2 , 125.1; C-3, 143.8; C-4, 32.1; C-5, 30.8; C-6, 130.5; C-7, 126.4; C-8, 40.0; C-1', 46.5; C-2', 28.8; C- 3', 20.3; C-4', 20.3; C-a, 145.1; C-b, 113.7; C-c, 160.; C-d, 109.8; C-e, 129.0; C-f, 120.4; C-g, 55.4.

**(19).** Cristales blancos en forma de agujas. Punto de fusión 139-141°C. 25% de rendimiento. EM m/z (int. rel.): 301(1) [ M<sup>+</sup>], 141 (100), 126 (39), 98 (25) .

**IR** (cm<sup>-1</sup>) : 3295, NH; 3000-3100, H-C=C; 2860- 2960, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH; 1668, C=C; 1626, CO. **UV**,  $\lambda_{max}$ : 212 nm.

**RMN-H<sup>1</sup>** :  $\delta$  0.91( 6H, d, J= 7 Hz, H- 3', 4' ), 1.8( 1H, m, H-2' ), 2.2-2.4( 4H,m, H-4,5), 3.15( 2H, t, J= 6 Hz, H-1' ), 3.3( 2H, d, J= 7 Hz, H-8 ), 3.8( 3H, s,H-g ), 5.5-5.9 (4H, m, H-2,6,7,NH ), 6.3-6.8( 5H, m, H-3 , aromáticos) .

RMN-C<sup>13</sup> :  $\delta$  C-1, 166.4; C-2 , 124.7; C-3, 144.0; C-4, 32.5; C-5, 32.1; C-6, 130.7; C-7, 127.4; C-8, 40.0; C-1', 47.3; C-2', 29.0; C-3', 20.6; C-4', 20.6; C-a, 130.9; C-b, 127.6; C-c, 114.4; C-d, 159.2; C-e, 114.4; C-f, 127.6; C-g, 55.7.

### **Determinación de actividad biológica en larvas de Artemia salina**

El agua de mar se prepara disolviendo 38 g. de sales en un litro de agua destilada, posteriormente se filtra para eliminar las partículas suspendidas .

Se agrega agua de mar en un tanque de 15 X 8 cm. y se adiciona una punta de espátula ( aproximadamente 50 mg. ) de huevecillos de *A. salina* . Se tapa la mitad del tanque con papel aluminio con el objeto de evitar que penetre la luz y la otra mitad se tapa con una red para que no penetren los insectos . El tanque se coloca abajo de una lampara con luz blanca durante 48 h. para que los huevecillos maduren a su fase de larvas, fig. 2.

Para cada sustancia las concentraciones de la prueba inicial son de 1000, 100, 10  $\mu\text{g} / \text{ml}$ ., que equivalen a 1000, 100, 10 ppm respectivamente. Se preparan tres viales para cada concentración.

Se colocan 20 mg. de sustancia en un vial y se adicionan 2ml. de acetona, la concentración obtenida es de 10 mg / ml. De esta solución se transfieren alícuotas de 500, 50, 5  $\mu\text{l}$  a los viales correspondientes de 1000, 100, 10 ppm respectivamente. Se evapora el disolvente con vacío o dejándolo volatilizarse toda la noche . Para lograr una mejor solubilidad de la muestra en el agua puede adicionarse DMSO hasta una concentración máxima de 10  $\mu\text{g} / \text{ml}$ . Después se adiciona agua de mar a cada vial y 10 larvas de *A. salina* aforando a un volumen de 5 ml. con agua de mar . Las larvas se dejan en contacto con la sustancia durante 24 h. Después de este tiempo se cuentan las larvas muertas en cada vial.

Los datos se analizan por medio de un programa de computadora que determina los valores de  $DL_{50} \%$  , con un 95 % de confiabilidad. Si el  $DL_{50}$  no está en este intervalo de concentraciones se hacen pruebas con concentraciones menores a 10 ppm.

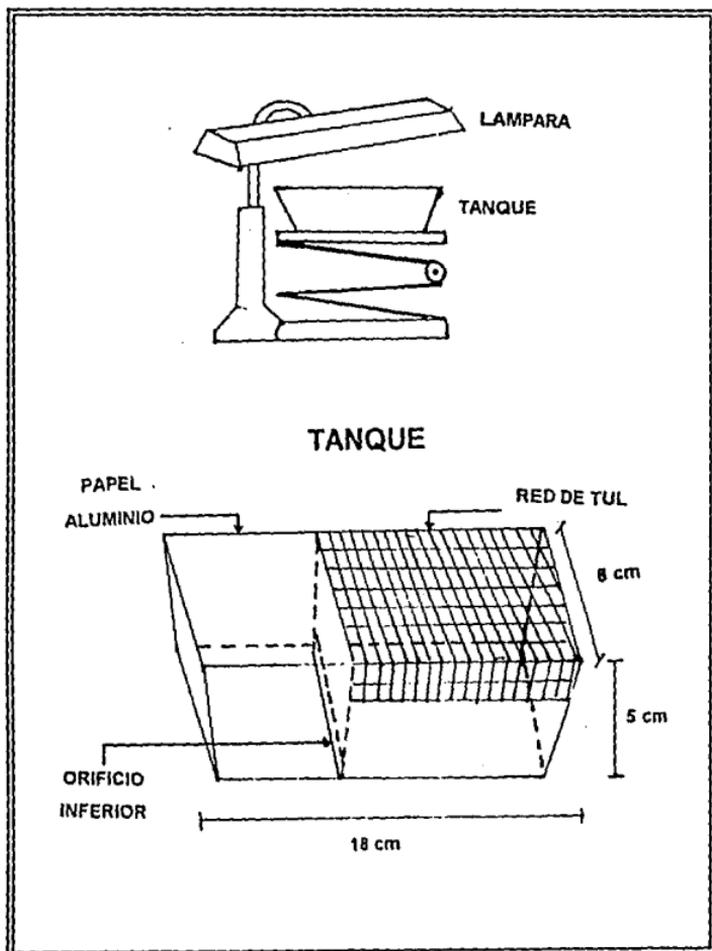


Figura 2. Tanque de incubación para los huevecillos de *A. salina*

## **5. CONCLUSIONES**

En este trabajo se realizó la síntesis estereoselectiva de once N-Isobutil-8-(alquil y aril)-(2E, 6Z)-Octadienamidas:

$\alpha$ -Sanshool(I).

Espilantol(II).

N-isobutil(2E,6Z)-dodecadienamida(11).

N-isobutil-(2E,6Z)-decadienamida(12).

N-isobutil-8-fenil-(2E,6Z)octadienamida(13).

N-isobutil-8-(o-clorofenil)-(2E,6Z)-octadienamida(14).

N-isobutil-8-(m-clorofenil)-(2E,6Z)-octadienamida(15).

N-isobutil-8-(p-clorofenil)-(2E,6Z)octadienamida(16).

N-isobutil-8-(o-metoxifenil)-(2E,6Z)octadienamida(17).

N-isobutil-8-(m-metoxifenil)-(2E,6Z)-octadienamida(18).

N-isobutil-8-(p-metoxifenil)-(2E,6Z)-octadienamida(19).

Los compuestos (I) y (II) son de origen natural cuyas síntesis han sido reportadas en la literatura. Los nueve restantes son compuestos nuevos y resultaron ser mas estables que los primeros.

Se determinó la actividad biológica de todos los compuestos obtenidos en el laboratorio con el bioensayo general que utiliza larvas de *Artemia salina*. Frente a este bioensayo, los dos compuestos de origen natural resultaron ser menos activos que los nueve compuestos sintetizados restantes.

Con el fin de tener un parámetro de comparación, se determinó la actividad biológica en *Artemia salina* de tres insecticidas comerciales : Metil Paratión, Etil Paratión y Neo-Pyamin (piretrina).

Al comparar las actividades frente *A. salina* de las amidas sintetizadas en este trabajo con las de los insecticidas se observó que el Espilantol resultó ser menos activo que Metil y Etil Paratión, pero las amidas (11), (14) y (16) mostraron una actividad mayor que los dos insecticidas comerciales mencionados.

El compuesto que presentó la mayor actividad biológica fue (11) siendo también mayor que la de los insecticidas comerciales que se probaron.

## **6. BIBLIOGRAFIA**

1. Reyes T.B., Navarrete C. A. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* . 21, (5), 30 (1991).
2. Crombie, L. J. *Chem. Soc.* 995-999 (1995).
3. Elliot, M., Farnham A., Janes N., Johnson D. y Pulman D. *Pestic. Sci.* 18, 1991-201 (1987).
4. Meyer B.N., Ferrigni N. R., Putnam J. E. , Jacobson L.B., Nichols D.E. y Mclaghlin J.M. *Planta Med.* 45, 31-4 (1982).
5. Crombie L. y Krasinski A. H. A. *Chem. and Ind.* 983 (1964) .
6. Jondiko I. J. O. *Phytochemistry* . 25, (10), 2289-90 (1986).
7. Mizuntani K., Fukunaga Y., Tanako O., Takasugi N., Saruwatari Y., Fuwa T., Yamauchi T., Wang J., Jia M., Li F. y Lin Y. *Chem. Pharm. Bull.* 36, (7) 2362-5 (1988).
8. Crombie L. *Chem. Ind. (Londres)* .2997 (1952).
9. Jacobson M. *J. Amer. Chem. Soc.* 71, 366 (1949).
10. Arnason J. T. , Philogene B., J. R. , Morand P. *Insecticides of Plant Origin. A C S Symposium Series 387. American Chemica Society* . Washington D.C. 173-87 (1989).
11. Pendse G. S., Phanikar N. L. y Bhide B. V. *Current Sci.* 14, 37-8 (1945) .
12. Kadir H. A., Zakaria M. B., Kechil A. A. y Azirum M. S. *Pestic Sci.* 25, (4), 329-35 (1989).
13. Wagner H., Breu W., Willer F., Wierer M., Remiger P. y Schwenker G. *Planta Med.* 55, 566-7 (1989)
14. Tamayo A. *Determinación de la actividad enzimática en Entamoeba histolítica despues de adicionar Colophalle ( Zanthoxylum liebmannianum)*. Tesis de licenciatura, ENEP Zaragoza , UNAM (1985).
15. Crombie L. y Denman R. *Tetrahedron Letter.* 25, (38) 4267-70 (1984).
16. Crombie L. y Shah J. D. *J. Chem. Soc.* 4244 (1955).
17. Elliott M., Farnham A. W., Janes N. F., Johnson D. M. y Pulman D. A. *Pestic. Sci.* 18, 211-21 (1987).
18. Elliott M., Farnham A. W., Janes N. F., Johnson D. M. y Pulman D. A. *Pestic. Sci.* 18, 223-8 (1987).
19. Elliott M., Farnham A. W., Janes N. F., Johnson D. M. y Pulman D. A. *Pestic. Sci.* 18, 239-44 (1987).
20. Elliott M., Farnham A. W., Janes N. F., Johnson D. M. y Pulman D. A. *Pestic. Sci.* 18, 229-38 (1987).
21. Yasuda I., Takeya K. e Itokawa H. *Chem. Pharm. Bull.* 29 (6) 1791-3 (1981).
22. Litter M. *Compendio de Farmacología*. Ed. 4ª. Editorial el Ateneo. 114-23 (1988).
23. Tallarida R. J. y Jacob L. S. *The Dose- Response reaction in Pharmacology*. Ed. Springer-Verlog. 85-110 (1979).
24. Michael A. S., Thompson C. G. y Abramovitz M. *Science.* 123, 464 (1956).
25. Grosch D. S. *Science.* 155, 592 (1967).
26. C.A. 57, 12957 d (1962).
27. C.A. 98, 120855 e (1983).

28. C.A. 73, 75714 b (1970).
29. C.A. 83, 54200 x (1975).
30. C.A. 77, 110301 m (1972).
31. C.A. 92, 4804 n (1980).
32. Piancatelli G., Scettri A. y D'Auria M. *Synthesis*. 245 (1982).
33. Schaub B., Blaser G. y Schlosser M. *Tetrahedron Letters*. 26. (3) 307-10 (1985).
34. Crombie L. y Fisher D. *Tetrahedron Letters*. 26. (20) 2477-80 (1985).
35. Mestres R. y Palomo C. *Synthesis*. 288 (1982).
36. Sonnett P. E. *J. Org. Chem.* 34, (4) 1147-9 (1969).
37. Shi L., Yang J., Wen X. y Huang Y. *Tetrahedron Letters*. 29. (32) 3949-50 (1988).
38. Ikeda Y., Ukai J. Ikeda N. y Yamamoto H. *Tetrahedron Letters*. 25. (45) 5177-80 (1984).
39. Blade R. J., Robinson J. E., Peek R. J. y Weston J. B. *Tetrahedron Letters*. 28. (33) 3857-60 (1987).
40. Vedejs E., Marth C. F. y Ruggeri R. *J. Am. Chem. Soc.* 110, 3940-8 (1988).
41. Crombie L. y Fisher D. *Tetrahedron Letters*. 26. (20) 2481-4 (1985).
42. Blatt A. H. *Org. Synth. Coll. Vol. 2*. 571-2. John Wiley & Sons inc. (1943).
43. Buckingham J. *Dictionary of Organic Compounds*. Vol. 1. 1070. Ed. 5<sup>a</sup>. Chapman and Hay (1982).
44. Agarwal S., Tiwaria H. P. y Sharma J. P. *Tetrahedron*. 46. (12) 4417-20 (1990).
45. Starks C. M. y Liotta C. *Phase Transfer Catalysis in Organic Synthesis*. Academic Press. 346, 112-25 (1978). N. Y.
46. C. A. 114, 207359 s (1991).
47. Schlosser M. Schaub B., Oliveira- Neto J. y Jeganathan S. *Chimia*. 40, (7-8) 244-5 (1986).
48. Yasuda I., Takeya K. e Itokawa H. *Phytochemistry*. 1295-8 (1982).
49. Yasuda I., Takeya K. e Itokawa H. *Chem. Pharm. Bull.* 28, (7) 2251-3 (1980).
50. Calle J., Rivera A., Reguero M. T., Del Río R. y Joseph-Nathan P. *Rev. Latinoamer. Quím.* 19/2 94-7 (1988).
51. Elliott M., Janes N. F. y Potter C. *Ann. Rev. Entomol.* 23, 443-69 (1978).
52. Einhorn C., Einhorn J. y Luche J.-L. *Synthesis*. 787 (1989).
53. Nakamura N., Kiuchi F. y Tsuda Y. *Chem. Pharm. Bull.* 36, (7) 2647-65 (1988).