60
2ej

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"Síntesis y Evaluación de la Actividad Biológica del Alcaloide Boschniaquina como Atrayente de *Felis catus*"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A :

KARLA GOMEZ GOYTIA

DIRECTOR DE TESIS: M. EN C. ARTURO NAVARRO O.

FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

VNIVERSIDAD NACIONAL
AVPNOMA DE
MEXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
P r e s e n t e

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

"Síntesis y Evaluación de la actividad biológica del Alcaloide Boschniaquina como Atrayente de *Felis catus* "

realizado por **Karla Gómez Goytia**

con número de cuenta **8933901-3** , pasante de la carrera de **Biología**

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis Propietario	**M.en C. Arturo Navarro Ocaña**
Propietario	**Biól. David Benavides Velázquez**
Propietario	**Biól. Nieves María Cristina Rodríguez Juárez**
Suplente	**Biól. Enrique Ortiz Bermúdez**
Suplente	**Biól. Irene Sánchez Gallén**

FACULTAD DE CIENCIAS

Consejo Departamental de Biología

M. en C. Alejandro Martínez Mena
Coord. Consejo Departamental de Biología

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

Esta tesis fue realizada en el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

NO ESTÁ EN LA NATURALEZA DE LAS COSAS QUE EL HOMBRE REALICE UN DESCUBRIMIENTO SÚBITO E INESPERADO; LA CIENCIA AVANZA PASO A PASO Y CADA HOMBRE DEPENDE DEL TRABAJO DE SUS PREDECESORES.

Ernest Rutherford.

(1871 - 1937).

AGRADECIMIENTOS :

Al Instituto de Química de la UNAM, en especial al M. en C. Arturo Navarro por su dirección y asesoría y por brindarme en ella conocimientos y experiencia; al Dr. Manuel Jiménez por todo el apoyo otorgado para la realización de esta tesis.

A los Biólogos Enrique Ortiz y David Benavides del área de Botánica por su enorme colaboración en las distintas etapas de este trabajo (reconocimiento y colecta de la planta, transportación de la misma, tomas fotográficas para transparencias, etc., etc.).

A la Biól. Cristina Rodríguez (Instituto de Ecología/UNAM) por las aportaciones realizadas a esta tesis en materia del control y/o erradicación de gatos en islas.

A la Biól. Irene Sánchez (Facultad de Ciencias/Ecología/UNAM) por su valiosa asesoría en la parte estadística de este trabajo

Al Herbario Nacional de México (MEXU), en especial al Dr. Mario Souza y a la Curadora Ma. Teresa Germán por toda la atención prestada al trámite de registro de un ejemplar de ***Penstemon roseus***.

Al Quim. Gerardo Barón por toda su ayuda, así como por sus acertados comentarios y sugerencias con respecto a esta tesis.

Al Dr. Gustavo Arnaud por sus atenciones y por enviarnos muy amable mente unas citas bibliográficas que se requerían para complementar este trabajo.

A todos los compañeros del laboratorio 2-8.

A la DGAPA por el apoyo econónimo recibido del proyecto No.IN214996IQ.

A mis padres: Lupita y Luis que tanto
admiro, quiero y respeto. Y a los cuales
agradezco todo el amor, comprensión
y cariño que siempre he recibido de ustedes.
A mis hermanos: Pavel y Kaleb
A mis queridos abuelitos y en general
a toda la familia.

A Lourdes Beltrán y a su esposo
Gerardo, a Ernesto Mercado y esposa,
a Enrique Alcázar y a toda su familia por
aquellas comidas, conversaciones, etc., tan
ricas que hemos tenido junto con mis padres.

A Geraldinho, Terezinha, Atziri,
Victor, Miguel e Berenice, os quais
compartem a paixão que eu tenho
pela língua Portuguesa.

A los amigos por todo el apoyo brindado:
Daniel, Martha Gabriela, Rosa María,
Julia, Verónica, María del Carmen, Chuy,
Magda, Enrique, Rosalía, Berenice, Montserrat,
Lula, Sofía, Arelí, Miguel Angel y David.

A los nuevos amigos: José Luis, Pilar, Constantino y
familia, que tan amablemente nos llevaron a conocer
algunas partes de España. A Peixeiro y esposa por sus
atenciones allá en Lisboa. A Fabio y esposa por aquellas
comidas en Italia. Y porsupuesto a Juan Castillo.

" Síntesis y Evaluación de la Actividad Biológica del Alcaloide Boschniaquina como Atrayente de ***Felis catus*** ".

Karla Gómez Goytia

Director de Tesis: M.en C. Arturo Navarro Ocaña
Departamento de Productos Naturales,
Instituto de Química, UNAM.

RESUMEN

El conocimiento que hasta el momento se tiene sobre los productos naturales nos ha permitido su utilización y aprovechamiento de diversas maneras. Una de las formas en que pueden ser utilizados estos recursos, es como intermediarios sintéticos para la construcción de nuevas moléculas biológicamente activas.

En el presente trabajo, se sintetizó un alcaloide monoterpénico piridínico (PMTA), - Boschniaquina-, a partir de un metabolito secundario de la planta mexicana ***Penstemon roseus***; el compuesto al que se hace referencia es un monoterpeno (C_{10}) -Boschnalósido-, perteneciente a la familia de los iridoides. Tal síntesis se relacionó con una prueba de la actividad biológica del alcaloide en ***Felis catus***.

En esta tesis se propone que el alcaloide Boschniaquina puede ser utilizado como atrayente del gato doméstico, dada la similitud estructural con alcaloides del tipo de la actinidina y valerianina, y compuestos nepetalactónicos como el Catnip.

Las pruebas realizadas en la Ciudad de México con el alcaloide Boschniaquina (experimental), y el Catnip (control) con los gatos mostraron que la Boschniaquina fue 27% más efectiva para atraer gatos que el Catnip, además de las siguientes tendencias: el intervalo de edad en que hubo una mayor atracción fue en [2-2.9] años y no fue determinante el sexo pero si la madurez sexual en la preferencia por el alcaloide. La Boschniaquina produjo en los gatos conductas como las reportadas para el catnip: roce; frotamiento de barba y mejillas; movimientos circulares de cabeza; jugueteo; arañar; dar vueltas; salivación; masticación; olfatear; lamer; arqueamiento del dorso y cola erguida en machos; posición de monta en hembras y una especie de saboreo en gatos inmaduros.

Los rendimientos, tanto del intermediario sintético (18.57%) como del propio alcaloide (46.2%), son altos, de tal forma que hacen factible la síntesis de la Boschniaquina, así como su utilización potencial como método en programas de control y erradicación de gatos en ecosistemas insulares.

" Synthesis and Biologycal Activity Evaluation of Boschniakine Alkaloid as ***Felis catus*** Attractant ".

Karla Gómez Goytia

Thesis Director: M.en C. Arturo Navarro Ocaña
Departamento de Productos Naturales,
Instituto de Química, UNAM.

ABSTRACT

The present knowledge about natural products has permited us their utilization in diverse forms. One way in which these resources can be employed is as synthetic intermediates in the building of new biologycally active molecules.

In this work, a pyridine monoterpenic alkaloid (PMTA), -Boschniakine-, was synthetized from a secundary metabolite of the mexican plant ***Penstemon roseus***; the refered compound is a monoterpene (C_{10}) -Boschnaloside-, belonging to iridoid family. The synthesis was related to a test of the biologycal activity of the alkaloid on ***Felis catus***.

In this thesis it is proposed that the Boschniakine alkaloid can be used as domestic cat attractant, because of its structural similarity with alkaloids of the actinidine and valerianine type and nepetalactonic compounds as catnip.

Assays made with Boschniakine alkaloid (experimental) and Catnip (as control) on cats showed that Boschniakine was 27% more effective than catnip as attractant, and also showed the following trends: the age interval in which there was more attraction was [2-2.9] years old, not being determinant the sex in the preference for the alkaloid, but sexual maturity being. Boschniakine produced on cats several behaviours similar to that reported for catnip: head over rolls body rubbing; chin and cheek rubbing; bitting; pawing; jumping; licking; chewing; sniffing; rolling over. Also dorsal bending and erected tail in males; mount position in females.

Synthetical intermediate yield (18.57%) as well as that of alkaloid (46.2%) are high, so that they make feasible the Boschniakine synthesis, and its potencial use as a method for cat control and eradication programs in islands ecosystems.

ÍNDICE

		Pag.
AGRADECIMIENTOS		i
RESUMEN		iii
ABSTRACT		iv
ÍNDICE		v
CAPÍTULO I		
1.0	Introducción	1
1.1	Objetivos	3
1.2	Hipótesis de trabajo	4
1.3	Generalidades de ***Penstemon roseus***	5
1.3.1	Descripción Biológica	5
1.3.2	Distribución	5
1.3.3	Etnobotánica	5
1.3.4	Ubicación Taxonómica	6
CAPÍTULO II		
2. ANTECEDENTES		
2.1	Introducción de ***Felis catus*** en Ecosistemas Insulares	8
	- Sus efectos	9
2.1.1	Métodos de Control y Erradicación de Gatos	12
2.2	Monoterpenos Ciclopentanoides	14
2.2.1	Iridoides	14
2.2.2	Nepetalactonas	20
2.2.3	Alcaloides Monoterpénicos Piridíncos	22

ÍNDICE

Pag.

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA

3.1	Colecta de ***Penstemon roseus***	28
3.2	Procesamiento del material vegetal	28
3.2.1	Secado	28
3.2.2	Extracción	29
3.2.3	Purificación del Iridoide Glucosídico: Boschnalósido	29
3.3	Síntesis del Alcaloide Monoterpénico Piridínico: Boschniaquina	30
3.4	Prueba Biológica del Alcaloide con ***Felis catus***	34

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS

4.1	Aspectos Químicos	36
4.1.1	Boschnalósido	36
	- Rendimiento, características cuantitativas y cualitativas	37
	- Espectro de RMN ^1H	38
4.1.2	Boschniaquina	39
	- Rendimiento, características cuantitativas y cualitativas	40
	- Espectro de I.R.	41
4.2	Aspectos Biológicos	42
	- Evaluación de la actividad biológica de la Boschniaquina en gatos	42
	- Porcentajes de Efectividad del alcaloide en gatos de acuerdo con la Edad, el Sexo, y la Madurez Sexual	43
	- Conducta de los gatos	47

Í N D I C E

Pag.

CAPÍTULO V

5. DISCUSIÓN

5.1 Aspectos Químicos 48

5.2 Aspectos Biológicos 52

Perspectivas 57

CAPÍTULO VI

6. CONCLUSIONES 58

APÉNDICE I 59
- Abreviaturas y símbolos utilizados

APÉNDICE II 60
- Solución reveladora del Boschnalósido
- Preparación del Reactivo revelador de la Boschniaquina

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 61

CAPÍTULO I

1.0 INTRODUCCIÓN.

El estudio de las plantas a nivel químico ha generado una fuente invaluable de conocimientos (en cuanto a productos naturales se refiere) y ha abierto con esto nuevas perspectivas en su utilización y aprovechamiento.

Los productos naturales se forman como resultado del metabolismo de las plantas. Los que son resultado del metabolismo secundario han sido definidos como aquellos que aparentemente no desempeñan ningún papel en el crecimiento y mantenimiento de las células, sin embargo, en los últimos años se ha descubierto que estos compuestos sintetizados por las plantas tienen funciones ecológicas, de tal forma que dejan de ser considerados meros productos de desecho vegetal. Y así se inicia un nuevo campo en el quehacer científico: la Ecología Química [1].

Los productos naturales son un grupo de compuestos muy diversificados, dentro de los cuales encontramos a los terpenos; estos se forman a partir de la fusión de unidades de cinco carbonos (unidad isoprenoide), y como ejemplo tenemos a los aceites esenciales, resinas, ceras, alcaloides monoterpénicos y a los denominados iridoides [2,3].

Los iridoides pertenecen al grupo de los monoterpenos ciclopentanoides, es decir, aquellos que están constituídos por dos unidades de cinco carbonos (C_{10}), que se caracterizan por presentar como estructura base un anillo de ciclopentano y un pirano; estos compuestos se pueden encontrar en la naturaleza como iridoides glucosídicos y en algunas ocasiones como aglucones [4].

En esta clase particular, los terpenos, como productos naturales que son, pueden ser utilizados de manera natural, modificando su estructura química, o como materia prima para preparar nuevos compuestos que sean biológicamente activos [5].

En la actualidad, los iridoides han adquirido gran importancia, ya que los estudios que se han realizado sobre éstos han demostrado que tienen diversas aplicaciones (debido a su amplia actividad biológica) en áreas tales como la farmacología [6] y la ecología química [7]. Además,

se han utilizado en el campo de la taxonomía [8,9] y en la industria para el desarrollo de esencias y biocolorantes [10].

Una fuente importante de iridoides la encontramos en la familia Scrophulariaceae, siendo estos los compuestos que la caracterizan además de que se pueden obtener en cantidades considerables [11]. Sumado a lo anterior, el número de géneros de la familia Scrophulariaceae en la República Mexicana (*) dió pauta para el desarrollo de una línea de investigación "La química de iridoides de plantas mexicanas"

Este trabajo de tesis es un seguimiento de dicho programa de investigación, que se ha venido desarrollando en el Instituto de Química, para lo cual se utilizó la planta ***Penstemon roseus***, en donde se aisló un iridoide glucosídico, para después transformarlo químicamente en un alcaloide monoterpénico del tipo piridínico y evaluar su actividad biológica como atrayente de ***Felis catus*** (gato doméstico).

En este trabajo se consideró que se pueden sintetizar nuevas moléculas (i.e., alcaloides monoterpénicos de tipo piridínico) que mimeticen sustancias atractoras de gatos, partiendo del hecho de que los animales responden a señales químicas de su propia o diferente especie [12,13], y basándose en compuestos tales como la nepetalactona (catnip) o la actinidina (con propiedades atractoras en gatos), que son muy semejantes estructural y/o isoelectrónicamente al alcaloide sintetizado en esta tesis (Boschniaquina). El propósito de desarrollar nuevos compuestos que sean atrayentes de gatos se relaciona con su posible captura para contribuir con los programas de control y erradicación de esta clase de felinos que han sido introducidos en ecosistemas insulares, con lo que ejercen una influencia negativa sobre la distribución de un gran número de animales endémicos y nativos de dichos ecosistemas, a tal grado que en algunos casos han llegado hasta extinguirlos [14a].

*(*) **Penstemon**, **Angelonia**, **Bacopa**, **Buchnera**, **Calcedonia**, **Castilleja**, **Caproria**, **Digitalis**, **Escobdia**, **Gerardia**, **Linaria**, **Limosella**, **Lamourouxia**, **Maurondya**, **Mimulus**, **Scoparia**, **Sibthorpia**, **Tetranema**, **Veronica** [43].*

1.1 OBJETIVOS.

El objetivo general del presente trabajo es la síntesis de un alcaloide monoterpénico del tipo piridínico a partir de un iridoide glucosídico, que se obtiene como materia prima de la planta ***Penstemon roseus***, para ser utilizado como atrayente de ***Felis catus***.

Objetivos particulares:

1a. Obtención del extracto de diclorometano, que contiene el iridoide no glucosídico denominado aglucón del Boschnalósido, de la planta ***Penstemon roseus***.

1b. Obtención del extracto metanólico, que contiene el iridoide glucosídico denominado Boschnalósido, de la planta ***Penstemon roseus***.

2. Aislamiento y Purificación del Boschnalósido a partir del extracto metanólico, por medio de cromatografía en columna "flash" semilíquida.

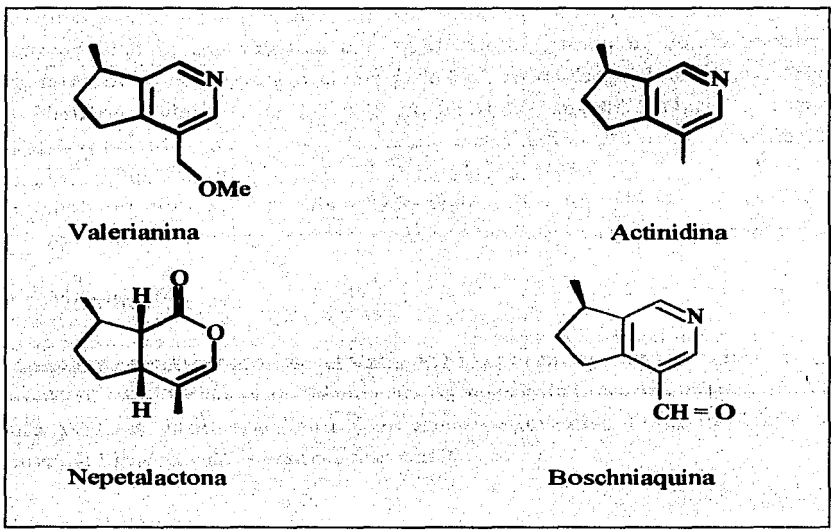
3a. Síntesis del alcaloide monoterpénico piridínico denominado Boschniaquina, sin alterar el centro quiral del ciclopentano, a partir del Boschnalósido.

3b. Síntesis del alcaloide monoterpénico piridínico denominado Boschniaquina, sin alterar el centro quiral del ciclopentano, a partir del extracto de diclorometano.

4. Evaluar la actividad biológica del alcaloide Boschniaquina como atrayente de ***Felis catus***.

1.2 HIPÓTESIS DE TRABAJO.

Si monoterpenos ciclopentanoides como la actinidina, la valerianina, así como la nepetalactona y algunos de sus derivados son atrayentes de gatos y existe cierta similitud estructural entre ellos, entonces, con base en la correlación estructura-función de estos compuestos, el alcaloide monoterpénico piridínico Boschniaquina sintetizado en este trabajo es un atrayente potencial de gatos.



1.3 GENERALIDADES.

1.3.1 Descripción Biológica:

Penstemon roseus (Sweet) G. Don (***P. kunthii*** G. Don) :

Hierba con tallos erectos, de 40 a 120 cm de alto, muy ramificados, glabros o ligeramente puberulentos, en ocasiones teñidos de color púrpura; hojas sésiles, lanceoladas a lineares, de 3 a 9 cm de largo, ápice acuminado y márgenes aserrados, anchas en la base y en ocasiones abrazando al tallo, glabras, las superiores bracteiformes; la inflorescencia es una panícula terminal, con brácteas lanceoladas, de 0.5 a 1.2 cm de largo, pedicelos de 8 a 15 mm de largo, más o menos glandular-pubescentes; flores con cáliz de 5 a 10 mm de largo, sépalos lanceolados a linear-lanceolados, acuminados, con pubescencia glandular; corola tubular, a menudo angosta, de color rojo, púrpura o carmesí, de 2 a 3 cm de largo, labio superior generalmente erecto, filamentos glabros, de 1.7 a 2 cm de largo, anteras inclusas o exsertas, glabras, generalmente peltadas, de ±1 mm de largo, estaminodio filiforme, dilatado, generalmente barbado, con pelos amarillos, ocasionalmente glabro, estilo de ± 2 mm de largo, estigma más o menos capitado; fruto tipo cápsula ovoide, glabra, de color café, de ± 1 cm de largo; semillas de color café, de ± 2 mm de largo. Esta especie forma híbridos con ***P. campanulatus*** [15].

1.3.2 Distribución:

Ampliamente distribuída en el Valle de México, excepto en las partes secas, en altitudes entre los 2250 y los 3900 msnm. Se presenta en bosque de pino, de encino y de oyamel, bosque mesófilo, pastizal, zacatonal alpino y en zonas perturbadas. Fuera del Valle de México se distribuye de Sinaloa y Chihuahua a Oaxaca [15].

1.3.3 Etnobotánica:

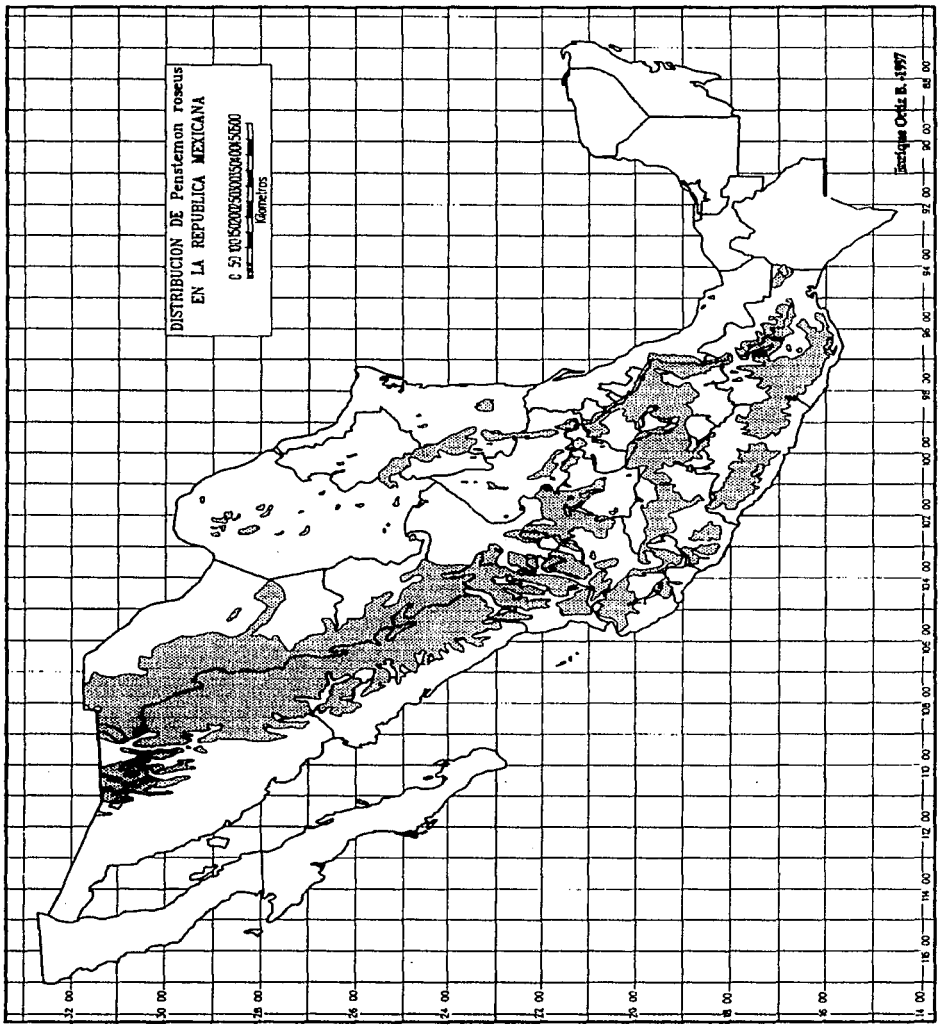
Se tiene reportada en algunos municipios del estado de Hidalgo, como son Acaxochitlán, Epazoyucan, Mineral del Chico y Mineral del Monte, contra piquetes de insectos, para lo cual utilizan las hojas; mientras que en el municipio de Pachuca se usan sus ramas para curar heridas, aire* y espanto*. Los nombres comúnes designados para esta planta en el Valle de México y Pachuca son "tarritos, jarritos" o "chulpa", respectivamente [16].

1.3.4 Ubicación Taxonómica [17].

Sensu : Cronquist, A. 1992.

División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridae
Orden:	Scrophulariales
Familia:	Scrophulariaceae
Género:	***Penstemon***
Especie:	***Penstemon roseus***

**** Aire:*** *malestar producido por haber estado expuesto a emanaciones provenientes de animales, drenajes o desechos en general.* ***Espanto:*** *malestar causado por la supuesta aparición de fantasmas o difuntos.*



Distribución de ***Penstemon roseus*** en la República Mexicana.

CAPÍTULO II

2. ANTECEDENTES.

2.1 INTRODUCCIÓN DE *Felis catus* EN ECOSISTEMAS INSULARES.

Hace 3000 años que los gatos comenzaron a colonizar el mundo. Al principio fueron llevados desde el norte de África a Europa y Asia por los mercaderes. Más adelante los transportaron a China vía Babilonia e India. En Japón fueron introducidos por primera vez hacia el año 1000 de nuestra era y 500 años más tarde llegaron a América [18-19].

Actualmente los gatos se encuentran bien distribuídos en todo el mundo, como consecuencia de los asentamientos humanos, dada la migración de los colonizadores, que los llevaban para que los acompañaran en sus viajes [14a]. En los últimos 100 años se han introducido y establecido poblaciones de gatos en ecosistemas insulares de manera deliberada o accidental [20].

En este momento, las islas a nivel mundial están enfrentando graves problemas ecológicos debido a la introducción de fauna exótica, particularmente de felinos de la especie ***Felis catus*** [36], ya que la distribución local de cualquier animal o planta se encuentra limitada por la presencia de otros organismos [21], por ejemplo, de un depredador, como es el caso de éste felino, en el que se ha observado un efecto devastador sobre algunas poblaciones de mamíferos, aves, y reptiles endémicos, como resultado de sus hábitos alimentarios [22].

La depredación y extinción, principalmente de la avifauna, causada por los gatos, ha sido previamente descrita por científicos y conservacionistas en un gran número de islas. Esto ha provocado que en los años recientes se hayan desarrollado Programas de Control (a mediano plazo) y Erradicación (a largo plazo) de gatos en ecosistemas insulares.

Existen varias islas que ya han puesto en marcha iniciativas para el control y erradicación de gatos. En Nueva Zelanda se tiene a 12 islas en este tipo de programas[23], una de las cuales es la Herekopare [24]. Existen otras más en el Oceáno Índico, particularmente, en la zona sub-antártica, como la Isla Marion [25] y también en el Atolón de Aldebra [26] y en la Isla Hog. Lo mismo ocurre en islas localizadas en el Oceáno Pacífico, como la Isla Isabel [27], que se encuentra frente a las costas de Nayarit, la Isla Jarvis, que está a unas 1300 millas del Sur de Hawaii [23], las Islas Galápagos [32], las Islas Canarias [34], etc.

En México un gran número de Islas del Oceáno Pacífico, específicamente del Golfo de California, presentan un alto grado de endemismos a nivel de plantas, mamíferos, reptiles y anfibios [28a-28c], pero, al igual que en otras islas del mundo, existe la problemática de introducción de gatos, lo que afecta a su fauna, ya sea por la modificación que causan al hábitat o por la depredación que realizan sobre las especies del lugar [29].

En la mayoría de las islas, la introducción de gatos ha sido para contrarrestar los efectos causados por las ratas; sin embargo, las ratas han dejado de ser parte importante de su dieta, mientras que las aves, reptiles e insectos, se han convertido en su principal alimento [14a].

La Isla Socorro, ubicada en el Pacífico Mexicano, es la mayor de las 4 islas que integran el Archipiélago de las Revillagigedo y además es la que registra la más amplia biodiversidad [29]. Aquí, durante los últimos 30 años, se ha reducido la abundancia y distribución de algunas especies de aves, algunas de las cuales se encuentran amenazadas o en peligro de extinción, como es el caso del zenzontle de Socorro (***Mimodes graysoni***), la pardela (***Puffinus auriculatus***) y el pipilo (***Pipilo erythrophtalmus socorroensis***) [30].

Actualmente, el tecolote enano endémico (***Micrathene whitneyi graysoni***) se teme extinto, ya que no ha sido avistado ni hay rastros de su presencia en las últimas expediciones realizadas, y se ha señalado al gato doméstico (***Felis catus***) como el principal causante de su extinción [31].

También es el caso de la paloma de Socorro (***Zenaida graysoni***), que ha sido reportada como extinta de forma silvestre, dado que el último registro que se tiene de ella data de 1958, descrita por Villa (1960). Las expediciones posteriores (1989-1990) han fracasado en encontrarla en la isla. Es importante mencionar que en el periodo de tiempo en que se extinguió, se introdujeron a la isla gatos domésticos, que ahora son salvajes, y a ellos se les atribuye el mayor impacto en la desaparición de esta ave [31]. Cabe destacar que, con excepción del halcón color rojo (***Buteo jamaisencis socorrensis***), no existía antes de la llegada del gato, en el año 1957, otro depredador en la Isla Socorro [30].

Como hemos observado, además de ser un problema el establecimiento de poblaciones de gatos ferales (***F. catus***), su dieta en las islas ha contribuído a la extinción de diversas clases de animales, por lo que se han implementado una serie de métodos que ayuden a conocer el tipo de alimentación de estos gatos en islas y consecuentemente el impacto ecológico producido por dichos felinos [32-35].

De los estudios realizados en islas oceánicas sobre la dieta de los gatos, se concluyó que ***Felis catus*** es un depredador generalista (además de oportunista), ya que su dieta en la mayor parte de las áreas estudiadas comprende ratas, conejos, lagartijas, invertebrados y aves [32-33], de las cuales se tienen reportadas como extintas al menos 6 especies endémicas en Nueva Zelanda y otras 70 subespecies [23]. También se ha reportado la disminución de lagartijas, tanto en Nueva Zelanda como Australia[36]. Además, otros estudios realizados en Isla Marion han arrojado resultados tales como que un gato mata aproximadamente 213 aves procelarias por año. Entre 1974 y 1975, el 95% de las muertes de aves en esta isla fueron causadas por gatos [33].

México no es la excepción. En estudios realizados en la Isla Socorro se encontró que la dieta del gato consta de 4 de las 9 especies de avifauna endémica de esta isla, además de un reptil endémico, la lagartija azul (***Urosaurus auriculatus***), del ratón (***Mus musculus***), de algunos invertebrados, semillas, fibras de plantas, principalmente de gramíneas, y materia orgánica animal (ver tabla 1). La distribución del felino en la isla abarca un 40 a un 50 % de su superficie [30].

Tabla 1. Dieta del gato doméstico (***Felis catus***) en la Isla Socorro, Archipiélago Revillagigedo, México durante 1990 [30].

DIETA DE *Felis catus* EN LA ISLA SOCORRO				
Mamíferos	Aves	Reptiles	Invertebrados	Miscelanea
Mus musculus	***Zenaida macroura***	****Urosaurus auriculatus***	Orthoptera	Semillas
	****Columbina passerina***		Lepidoptera	Fibras de plantas
	****Thryomanes sissonii***		Coleoptera	Materia orgánica animal
	****Parula pitiayumi***		Hymenoptera	
	****Mimodes graysoni***		Scorpiones	
			Decapoda	
			Gecarcinus planatus	

*** Especies endémicas de la Isla Socorro.**

Según Veitch, la erradicación de gatos se debe llevar a cabo por medio de la combinación de diversos métodos, además de que su aplicación debe ser sistemática para mayor efectividad. Es importante considerar las condiciones particulares de cada sitio, ya que no existe un método que resulte efectivo en todas las áreas en las cuales la erradicación de gatos se requiera [14a].

2.1.1 Métodos de Control y Erradicación de gatos:

1. **Control biológico**. Este método consiste en la diseminación del virus FPLV (Feline Panleucopaenia Virus), que produce lo que se conoce como enteritis felina [20,25]. El virus crea diversos cambios hematológicos a consecuencia de la destrucción y disminución de células blancas de la sangre, seguida de una deshidratación. Sin embargo, su uso requiere varios años de seguimiento, y no es un virus específico, además de que las tasas de mortalidad son bajas y los gatos que no mueren forman anticuerpos [23].

2. **Envenenamiento**. El componente 1080 (Monofluorato de Sodio), ha sido utilizado como un veneno para mamíferos en Australia y Nueva Zelanda, en campañas de erradicación de gatos. Este es suministrado en una solución acuosa, que contiene 20% del ingrediente activo, y es inyectado en pequeños trozos de pescado fresco [36]. Otro veneno es el N-3-cloro-4 metil fenil acetamida, mejor conocido como CAT, que fue utilizado en la Isla Jarvis recientemente [23]. Sin embargo, estos venenos no son muy específicos.

3. **Caza**. La cacería se implementa en sitios donde la densidad de gatos es alta o para eliminar gatos que no se hayan podido capturar con otros métodos. La cacería se realiza con perros o con cazadores debidamente equipados con armas de fuego [25].

4. **Trampeo**. Existen diversos tipos de trampas para gatos, como las trampas de rejas o tipo Tomahawk, trampas metálicas, etc. Algunas trampas pueden ser camuflageadas con tierra y hojas y se pueden utilizar cebos para mayor efectividad [14b].

5. **Cebos**. Los cebos pueden ser tóxicos o no tóxicos, los primeros se utilizan tan sólo para atraer gatos a las trampas, y los segundos para envenenarlos. Los cebos pueden ser [37]:

a) **Olores de comida**. Pescado fresco o aceite de pescado, carne de carnero o de vaca, aceite de hígado de bacalao y saborizantes de comida [37].

b) **Olores sociales**. Se ha utilizado orina [38,39] o la secresión del saco anal [40,41], los cuales tienen un valor de comunicación en un gran número de especies [13].

c) **Material vegetal**. Recientemente se ha utilizado la planta oriental ***Nepeta cataria*** (Catnip), el Catmint ***N. mussinii*** [37,42]; la tintura de Valeriana, ***Valeriana officinalis***; el Matatabi, ***Actinidia polygama***, las cuales tienen la propiedad de atraer a los gatos estimulando una conducta excitatoria [36,41]. Se ha encontrado que el nardo ***Nardostachia jatamansi*** [12] y la raíz de la fruta Kiwi ***Actinidia chinensis*** también los atraen, sin embargo, no todos han sido probados en programas de erradicación. Estas plantas se sabe que contienen **alcaloides monoterpénicos,** que tienen la cualidad de atraer a los gatos [14a].

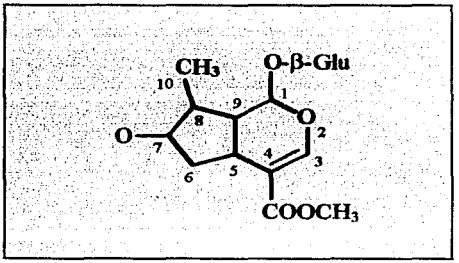
d) **Síntesis química de atrayentes**. En la actualidad se comienza a sintetizar atrayentes basados en componentes de olores sociales y saborizantes artificiales [14a], como la síntesis de huevos fermentados para el coyote, ***Canis latrans*** [40], entre otros, que potencialmente pueden ser utilizados en programas de control y erradicación de animales que han sido introducidos a otros ecosistemas y que de alguna manera causan estragos en las poblaciones nativas. Con esa línea de investigación se sintetizó un alcaloide para atraer a los gatos, el cual podría estar en la categoría de los olores sociales; este alcaloide monoterpénico se formó a partir de un compuesto de la familia de los Iridoides, de los cuales se hablará en seguida.

2.2 MONOTERPENOS CICLOPENTANOIDES.

2.2.1 **IRIDOIDES.**

El estudio de los iridoides se inicia a mediados del siglo XIX [4] (con Asperulósido I y Aucubina II, que fueron aislados en 1848 y 1902, respectivamente), sin embargo no fue sino hasta nuestro siglo, en los años sesentas, cuando se comenzaron a estudiar de manera sistemática, con el advenimiento de nuevas técnicas de análisis fisico-químico, resonancia magnética nuclear (RMN), cromatografía de masas, rayos x, etc., lo que permitió determinar la estereoquímica de este grupo de productos naturales [43].

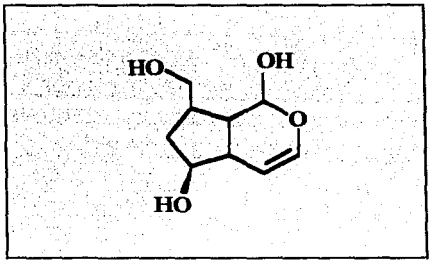
Los iridoides pertenecen al grupo de los monoterpenos ciclopentanoides, que se caracterizan por presentar un anillo de ciclopentano y un pirano. Se pueden dividir en **iridoides glucosídicos**, que presentan un doble enlace entre las posiciones 3 y 4, mientras que en la posición 1, se encuentra una β-D-glucosa o algún otro carbohidrato (Fig. 1), y en **iridoides no glucosídicos**, también llamados **aglucones** (Fig. 2), los cuales no presentan carbohidratos en la posición número 1 [44].



Loganina (Fig. 1)

El término iridoide fue sugerido por Briggs, Cain, Le Quesne y Shooler, debido a que el esqueleto básico de estos monoterpenos heterocíclicos corresponde al iridodial (Fig. 3), el cual presenta un grupo enol-hemiacetal característico de estos compuestos [45], y que por

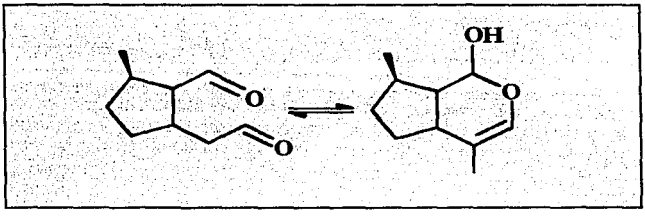
primera vez fue aislado de una hormiga australiana denominada ***Iridomyrmex detectus*** ; otros nombres con los cuales se pueden encontrar a los iridoides son: pseudo-Indikans, debido a la coloración que presentan al hidrolizarse en medio ácido, y, de manera menos común, han recibido el nombre de aglucones de la aucubina II [44].



Aglucón de la Aucubina (Fig. 2)

Para mediados de los años sesentas ya se hablaba de la distribución botánica de los iridoides; este tipo de compuestos se encuentra mejor representado en la subclase Asteridae, ***sensu*** Cronquist, pero los podemos encontrar en menor proporción en miembros de las subclases: Rosidae, Dilleniidae y Hamamelidae [46].

Particularmente, los iridoides glucosídicos son los compuestos más característicos y abundantes que se han aislado de la familia Scrophulariaceae [11].

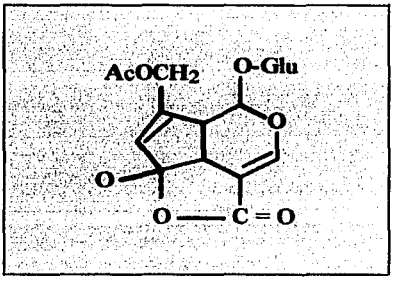


Iridodial (Fig. 3)

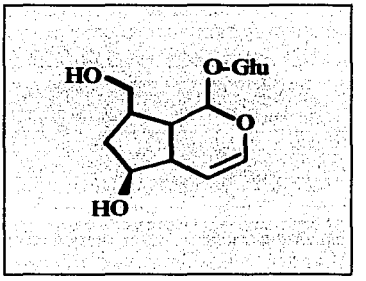
Según Sticher y Junod-Busch (1977), los monoterpenos ciclopentanoides se clasifican de la siguiente manera [5]:

1. Monoterpenos metilciclopentanoides
2. Iridoides:
    a) Glucosídicos
    b) No glucosídicos
3. Alcaloides monoterpénicos
4. Secoiridoides
5. Indol, Isoquinoalcaloides no derivados del triptofano

Ejemplos: 1. Nepetalactona; 2a. Aucubina, Asperulósido, Loganina, Catalpósido, Boschnalósido (Fig. 4); 2b. Aglucón del Boschnalósido, Genipina, Plumericina; 3. Actinidina, Valerianina, Boschniaquina (Fig.9-10).



Asperulósido (I)



Aucubina (II) (Fig. 4)

Tal ha sido el auge por la investigación sobre iridoides, que hasta 1986 ya se habían aislado más de 300 compuestos de este tipo [49], y para 1993 se conocían más de 1000 [47].

Importancia de los Iridoides:

Los iridoides son considerados como un grupo muy importante dentro de los productos naturales, ya que por un lado proporcionan la unión estructural entre terpenos y alcaloides [48] y por otro lado cuentan con una gama de aplicaciones, sin contar con las diferentes formas de utilización (natural, modificación estructural o como materia prima).

El interés por el estudio de los iridoides inicialmente se dió en el campo del aislamiento y determinación estructural; progresivamente se extendió al campo de su reactividad, y sucesivamente al de su utilización como precursores quirales para hacer transformaciones sintéticas [49] y de ahí darles cierta aplicación.

I R I D O I D E S :

* ***Aplicaciones*** :

- ***Farmacológica***
- ***Ecología Química***
- ***Taxonomía y/o Sistemática***
- ***Esencias***
- ***Colorantes***
- ***Síntesis (Intermediarios Quirales)***

* ***Forma de Utilización*** :

- ***Natural***
- ***Modificando su Estructura Química***
- ***Como materia prima***

En el campo de la farmacología, se ha encontrado que algunos iridoides tienen actividad biológica como antibióticos [5], antitumorales [50-52], antimicrobianos [53], analgésicos y anti-inflamatorios [54-55], laxantes [5], diuréticos, espasmódicos, carminativos [43] y antioxidantes, estos últimos como una futura alternativa para evitar enfermedades como cáncer y arteroesclerósis causadas por la presencia de radicales libres [56-57].

En el área de la ecología química, se ha descubierto que algunos artrópodos herbívoros, en estados inmaduros, secuestran y utilizan a los iridoides glucosídicos, como defensa durante estas fases tan vulnerables de su vida, para contrarrestar a sus depredadores. Tal es el caso de larvas de lepidopteros (*Meris alticola* y *Neoterpes graefiaria*), que secuestran y utilizan a los iridoides glucosídicos presentes en hojas de *Penstemon virgatus* y *P. barbatus*, respectivamente [58]; o el caso de la larva *Junonia coenia* (Nymphalidae) que utiliza estos compuestos contra su depredador directo, la hormiga *Formica rufa* [7]. También es el caso de la mariposa *Euphydryas cynthia* (Lepidoptera, Nymphalidae), que tanto en los estados de larva como en los de pupa almacena iridoides glucosídicos, los cuales resultan amargos al paladar de sus enemigos naturales [59-62].

Se ha encontrado que en la glándula de una larva de escarabajo (Chrysomelinae) se producen y secretan iridoides que les sirven como feromonas. Otros, producidos en glándulas de defensa, sirven como pegamentos, fijadores o fumigantes contra otros insectos [63].

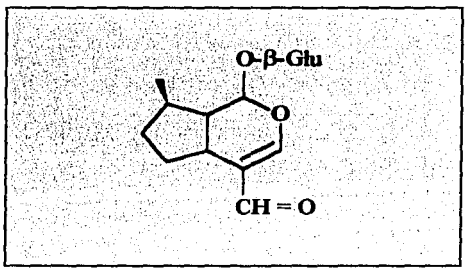
La sistemática química o quimiosistemática [44] ha sido de gran ayuda para establecer relaciones cercanas o lejanas de parentesco entre los organismos que constituyen al reino vegetal, por lo tanto, se le ha utilizado para hacer consideraciones de tipo filogenético.

Por ejemplo, Dahlgren usa a los iridoides glucosídicos como marcadores centrales que dividen a la subclase Asteridae en dos superórdenes, los que contienen dichos compuestos, y los que no (estos últimos contienen lactonas sesquiterpénicas).

La presencia o ausencia de ciertos compuestos químicos, como los iridoides, ha sido utilizada como carácter de importancia evolutiva, en donde la presencia correspondería al estado de carácter derivado [8,44].

Otro ámbito importante en el que se utiliza a los monoterpenos, como los iridoides, es en la formación de perfumes y esencias, además de dar coloración a cierto tipo de alimentos de consumo humano y para uso en la industria de los cosméticos [10,64]; en el estudio estructural de nuevos iridoides [65-72], y, por supuesto, en el campo de la síntesis, como es el caso de la aucubina, asperulósido y el catalpol que se han usado para sintetizar prostaglandinas [49].

En el caso particular del iridoide glucosídico Boschnalósido (Fig. 5) que fue utilizado como materia prima para la síntesis del alcaloide monoterpénico en el presente trabajo, podemos decir que su aplicación se clasificaría dentro de la llamada ecología química, ya que a partir de un metabolito secundario modificado de ***P. roseus***, se formó otro compuesto para atraer al mamífero ***Felis catus***.



Boschnalósido (Fig. 5)

En 1980, Murai y Tagawa proponen la configuración absoluta del boschnalósido[73], proveniente de la planta japonesa ***Boschniakia rossica*** (Orobanchaceae). Para 1987, Lira-Rocha, Díaz y Jiménez, del Instituto de Química de la U.N.A.M., dan a conocer, por primera vez, una serie de metabolitos secundarios de la planta mexicana ***P. roseus***, dentro de los cuales se encontraba el Boschnalósido[74]. Después, en el año de 1991, Navarro trabaja con el Boschnalósido, empleándolo como fuente de intermediarios sintéticos[43].

2.2.2 NEPETALACTONAS.

Las nepetalactonas son un grupo de compuestos que se clasifican como monoterpenos metil-ciclopentanoides [5]. Hoy en día son bien conocidas por su actividad biológica; sus propiedades más remarcables son: a) como repelentes [75], b) como defensa de artrópodos, y la más mencionada es c) como atrayente de algunos felinos [37].

Sin embargo, el interés por estudiar esta clase de sustancias se originó a partir del conocimiento de algunos registros muy antiguos [38] sobre una planta que se distribuye por Europa y Asia: ***Nepeta cataria*** [42], que causaba una conducta de éxtasis en los gatos.

Por tal motivo, en los años 50's y 60's se inicia el estudio químico de la planta, principalmente por McElvain, Waller, Eisenbraun y Bates. En sus investigaciones encontramos el reporte de los constituyentes volátiles del aceite de ***Nepeta cataria*** (Catnip): acido nepetálico y nepetalactona [38,76].

Más adelante se reporta que la *cis-trans*-nepetalactona, componente biológicamente activo por causar una respuesta muy peculiar en los gatos ante el Catnip, es metabolizada por los gatos. En éste último trabajo se propusieron 2 rutas por las cuales es metabolizada la *cis-trans*-nepetalactona por parte de los gatos y por primera vez se proveen evidencias de la metabolización de algún atrayente en un mamífero [77]; además, Todd hace una correlación entre la conducta producida por el Catnip y la que se produce en los gatos en época de celo, señalando que tal vez este compuesto mimetice una feromona [38].

Por otro lado, Sakan *et al.*, encuentran que en el extracto metanólico de ***Nepeta cataria*** existían otros 2 compuestos: las dehidronepetalactonas III y IV [78]. Además, en el estudio químico realizado por Sakan de la planta ***Actinidia polygama***, se encontró un compuesto activo denominado matatabilactona, la cual fue identificada como una mezcla de iridomirmecina I e isoiridomirmecina II; además de que aisló de las hojas de esta planta la dihidronepetalactona III, la isodihidronepetalactona IV y la neonepetalactona V, las cuales tienen la propiedad de atraer gatos [78].

El enantiómero de la dihidronepetalactona, que es el mayor constituyente de la matatabilactona, es reportado como más atractivo a los gatos, que la propia nepetalactona [84].

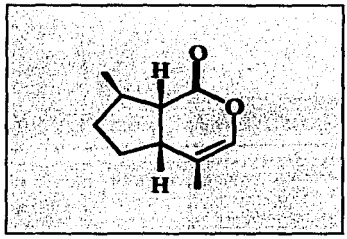
Todos estos resultados alentaron a los químicos a realizar nuevas investigaciones con otras especies del género ***Nepeta*** (*N.* ***mussini***, *N.* ***nuda*** y *N.* ***elliptica***), y se encontraron derivados de la nepetalactona, así como sus diasteroisómeros, los cuales son reportados como biológicamente activos [79-81].

En 1984, Bellesia *et al.*, reportan el proceso de biosíntesis de la nepetalactona en *N.* ***cataria***. En este trabajo se reporta que el iridodial es el intermediario clave para su biosíntesis [82], y la biosíntesis de este monoterpeno por tanto está relacionada con la de los iridoides glucosídicos y con los alcaloides indólicos; esto es importante porque se puede aprovechar esta vía en común para sintetizar toda una serie de compuestos biológicamente activos.

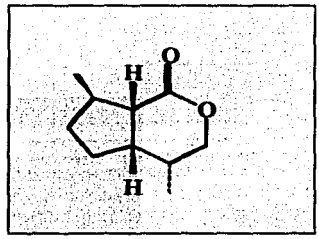
Además de ser sintetizados estos monoterpenos en la naturaleza, en la actualidad ya se ha conseguido sintetizarlos en el laboratorio [84-87].

Todos estos estudios indican la importancia de la conversión iridodial, ya que se puede hacer factible la síntesis de derivados iridodiales, tales como iridoides glucosídicos, nepetalactonas y sus derivados, así como de los alcaloides monoterpénicos piridínicos.

A continuación se muestran las estructuras químicas de la nepetalactona y uno de sus derivados, la dihidronepetalactona (Fig. 6).



Nepetalactona

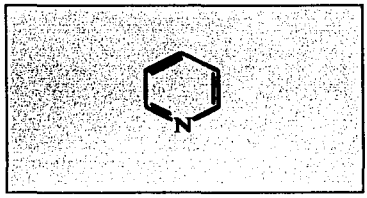


Dihidronepetalactona

(Fig. 6)

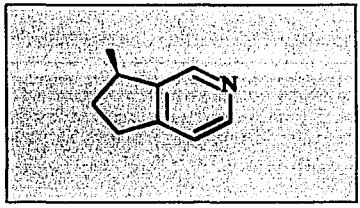
2.2.3 ALCALOIDES MONOTERPÉNICOS PIRIDÍNICOS.

El término " **alcaloide** " (semejante a un álcali) se aplica a un grupo muy diverso de productos naturales de origen vegetal y animal que contienen nitrógeno, comúnmente formando parte de un anillo heterocíclico [88] como en los pirroles, **piridinas** (Fig. 7), pirrolidinas, quinolinas o isoquinolinas [89].



Piridina (Fig. 7)

Cuando los alcaloides se derivan de un monoterpeno (C_{10}), como es el caso del Boschnalósido, se tienen alcaloides monoterpénicos, y si además en el alcaloide monoterpénico está aromatizado el heterocíclo, se dice que se tiene un **alcaloide monoterpénico piridínico** como la Cantleyina (Fig. 8).



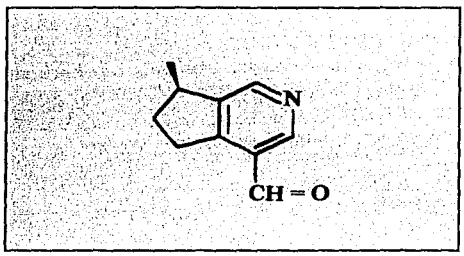
Cantleyina

(Fig. 8)

Para el estudio de los alcaloides monoterpénicos piridínicos se les suele dividir en dos grupos: a) aquellos relacionados con la estructura de la actinidina, principalmente los que se asemejan a la piridina, que son de nuestro interés, y b) aquellos de estructura similar a la gentianina, que contienen un anillo de lactona unido a la piridina [90].

En general, este tipo de alcaloides muestran una notable actividad biológica. Por ejemplo: tenemos a la Boschniaquina (Fig. 9), a la Valerianina, y a la Actinidina (Fig. 10).

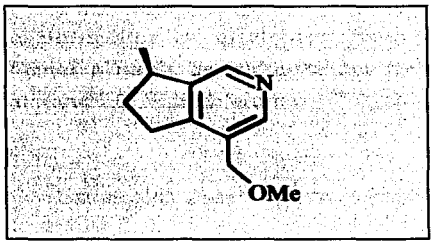
Boschniakia rossica Hult, una planta oriental perteneciente a la familia Orobanchaceae, ha sido utilizada en la medicina china como tónico y como remedio de algunas enfermedades del riñón. Su estudio revela que contiene dos sustancias activas: la Boschnialactona y el alcaloide Boschniaquina. Tanto su estructura como la estereoquímica de estos compuestos, fueron determinadas por el grupo de investigación de Sakan y Murai [73,91].



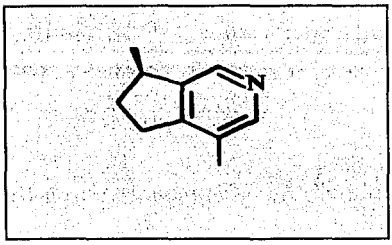
Boschniaquina (Fig. 9)

En algunas especies del género ***Actinidia*** (***A. polygama*** y ***A. chinensis***), que se ubican dentro de la familia Actinidiaceae, se ha reportado que el alcaloide actinidina es componente natural de estas plantas y que además tienen una acción fisiológica en los gatos [14a,92].

Valeriana officinalis, de la familia Valerianaceae, exhibe propiedades tales como sedativas, espasmolíticas, anti-arrítmicas y es utilizada para tratamientos de enfermedades nerviosas. Dentro de los diversos componentes químicos que constituyen a la planta está el alcaloide Valerianina y la Actinidina, que se reportan como atrayentes de gatos [92,93].



Valerianina



Actinidina

(Fig. 10)

El número de alcaloides monoterpénicos piridínicos (PMTA) de origen natural que se conoce es, sin embargo, muy pequeño, comparado con el número de plantas que contienen iridoides, y si a esto le sumamos que algunos PMTA son "artefactos" resultado del método de separación que se esté utilizando [100], entonces su número se vuelve mucho menor.

Dentro de los grupos de investigación que se han dedicado al estudio de los iridoides y a su actividad biológica, así como a impulsar la síntesis de alcaloides monoterpénicos [94] a partir de iridoides glucosídicos, tenemos al de F. Stermitz *et al*.

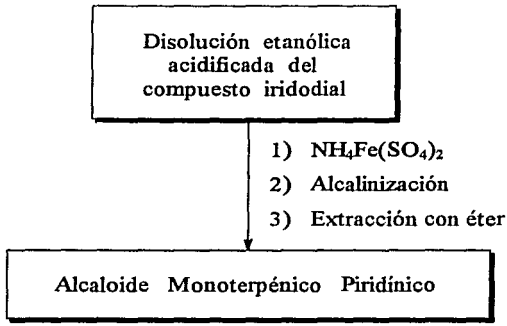
Los alcaloides monoterpénicos se encuentran biogenéticamente relacionados con la loganina y con algunos otros iridoides glucosídicos, en los que el oxígeno de la posición dos se encuentra sustituído por un nitrógeno y se retiene el esqueleto bicíclico [44].

La conversión de un iridoide a un alcaloide monoterpénico piridínico se da gracias a un intermediario que tienen en común: "el iridodial", el cual establece una conexión clave para dicha transformación [82]. Este compuesto es, además, un intermediario para la formación de otros iridoides, así como de compuestos del tipo de las nepetalactonas. Un ejemplo de esto es la síntesis de la actinidina realizada a partir del ácido nepetálico [92].

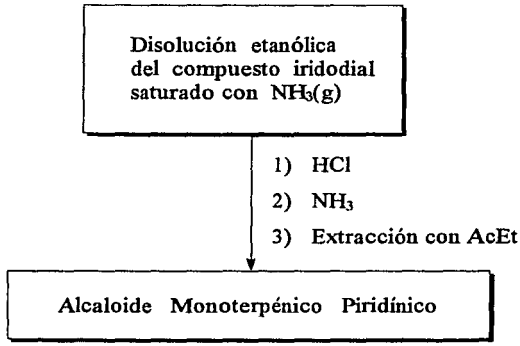
Ya que podemos decir que los iridoides son tanto biosintética como quimiosintéticamente transformables en alcaloides monoterpénicos piridínicos [95-96], éstos últimos los podemos obtener a partir de iridoides por tratamiento con amoniaco o sales de cobre; hierro y amoniacales; hidroxilaminas [96-99], etc.

Estrategias para la Síntesis Parcial de un Alcaloide Monoterpénico Piridínico:

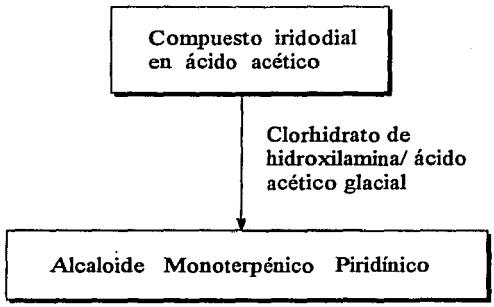
(1) Utilización de un complejo férrico-amoniacal:



(2) Utilización de amoniaco:



(3) Utilización con hidroxilaminas:



Se han diseñado estrategias para la síntesis total de los ciclopentano-piranos, basándose en la preparación del intermediario "iridodial"; sin embargo, predomina la síntesis parcial, mediante el uso de compuestos ópticamente activos, como los iridoides o compuestos semejantes, pues estos presentan ya un arreglo espacial bien definido, y facilitan, además, la construcción de nuevas moléculas biológicamente activas [100-103].

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA.

La pureza del Boschnalósido, así como las reacciones de síntesis de la Boschniaquina, se siguieron por medio de Cromatografía en Capa Fina (C.C.F.) en cromatofolios de sílica gel Merck F_{254} de 0.25 mm de espesor. La purificación del iridoide se llevó a cabo por columna cromatográfica, y en ella se utilizó sílica gel para C.C.F. Para cromatografía en capa fina preparativa se utilizaron cromatofolios Merck de sílica gel 60 F_{254} de 20x20 cm de 2 mm de espesor. Tanto al iridoide como al alcaloide se les determinó su factor de retención (R_F) y el punto de fusión (p.f.) en un aparato Fisher-Johns. El espectro de Resonancia Magnética Nuclear protónica (RMN ^1H) se registró en un aparato Varian FT-80A, que opera a 200 MHz, empleando como disolvente cloroformo deuterado ($CDCl_3$) para el caso del Boschnalósido, mientras que para la Boschniaquina se registró el espectro de absorción en Infrarojo (I.R.), el cual se determinó en un espectofotómetro Nicolet Modelo Ft-5Sx en cloroformo ($CHCl_3$).

3.1 Colecta de *Penstemon roseus* :

Se contó con 2 lotes del material vegetal: el primero se colectó en 1992 en el Cerro del Ajusco, mientras que el segundo lote de ***Penstemon roseus*** (Sweet) G. Don (***P. kunthii*** G. Don) fue colectado el 20 de julio de 1996, en el Cerro del Ajusco, a 3045 metros sobre el nivel del mar (msnm).

El material reunido se constituyó de las partes aéreas de la planta: tallos, hojas, flores, semillas y frutos.

Finalmente, se prensó un ejemplar de *P. roseus*, que se depositó en el Herbario Nacional de México (MEXU), con número de registro: **782996**.

3.2 Procesamiento del material vegetal:

3.2.1 Secado

Las plantas fueron acomodadas sobre papel periódico a temperatura ambiente para secarlas y, una vez terminado este proceso, fueron trituradas en un molino.

3.2.2 Extracción

Después del secado, se colocaron 2.6 kg de planta molida en un matraz bola grande, donde se realizaron las extracciones del iridoide; para ello, se utilizaron disolventes con polaridad diferencial: diclorometano (CH_2Cl_2) y metanol (CH_3OH), respectivamente. El material vegetal se cubrió totalmente con dichos disolventes. Por cada uno de estos, se realizaron dos extracciones, y se dejó cada macerado 24 horas. El trabajo a seguir fue concentrar en un rotavapor los extractos metanólicos y los de diclorometano.

3.2.3 Purificación del Iridoide Glucosídico: Boschnalósido

De los dos extractos, el que se utilizó para la separación y aislamiento del Boshnalósido fue el metanólico, al cual se le agregó celita (1/3 de la capacidad de la columna), para después montar una columna semilíquida ("flash"), utilizando sílica gel para Cromatografía en Capa Fina (C.C.F). El eluyente con el que se trabajó inicialmente fue acetato de etilo ($CH_3COOCH_2CH_3$) al 100%, con lo que se eliminó la mayor cantidad posible de clorofilas y carotenos, y se logró, así, una separaración más eficiente del Boschnalósido, cuya polaridad de elución fue 9.5:0.5 de acetato de etilo:metanol.

Las fracciones colectadas al inicio del proceso de separación fueron de 100 ml y paulatinamente se aumentaron a 200 ml, se concentraron y posteriormente se les tomaron placas, a una polaridad de 8:2 de acetato de etilo:metanol, para después ser reveladas con luz ultravioleta (U.V.), y luego con una solución de sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N.

Cuando ya se obtuvieron las fracciones concentradas que contenían al iridoide, se les adicionó acetato de etilo y un poco de metanol, para después ser evaporadas hasta la mitad en volumen, e inmediatamente después se les colocó en hielo, para que cristalizará el Boshnalósido.

Se decantó lo poco que quedaba de clorofila, y finalmente se formó una pasta a la que se le agregó hexano (C_6H_{12}), un poco de acetato de etilo y se calentó para el proceso de cristalización, con lo que quedó un sólido blanco amorfo; después se filtró al vacío con un matraz Kitassato, y se formó un polvo amorfo de color amarillo, que corresponde al iridoide puro.

Para la obtención de cristales, hay que colocar al Boschnalósido en etanol frío, y dejar que éste se evapore.

3.3 Síntesis del Alcaloide Monoterpénico Piridínico: Boschniaquina

En un matraz de bola de 100 ml provisto de un agitador magnético, mantilla de calentamiento y refrigerante, se colocaron 470 mg del Boschnalósido disueltos en 10.6 ml de etanol (CH_3CH_2OH) al 95%, se agregó 1 ml de ácido clorhídrico (HCl) al 10% y se dejó a reflujo por 1 hora (dicha reacción corresponde a la primera hidrólisis ácida). La mezcla de reacción se enfrió y se neutralizó (pH = 7) con una solución de bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$) al 5%.

Posteriormente se realizaron dos extracciones a la mezcla de reacción con CH_2Cl_2, empleando volúmenes de 25 ml. A la fase orgánica se le agregó sulfato de sodio anhídro (Na_2SO_4 anh.), como desecante, y se procedió a concentrarlo, con lo que se obtuvo un aceite viscoso de color café-amarillo claro.

A este aceite se le añadieron 9.4 ml de etanol al 95 %, 14.1 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 30 % (segunda hidrólisis ácida) y, gota a gota, se le fue agregando una solución de sulfato férrico amoniacal ($FeNH_4[SO_4]_2$), que se preparó disolviendo 2.8 g de $FeNH_4(SO_4)_2$ en 54 ml de H_2O destilada.

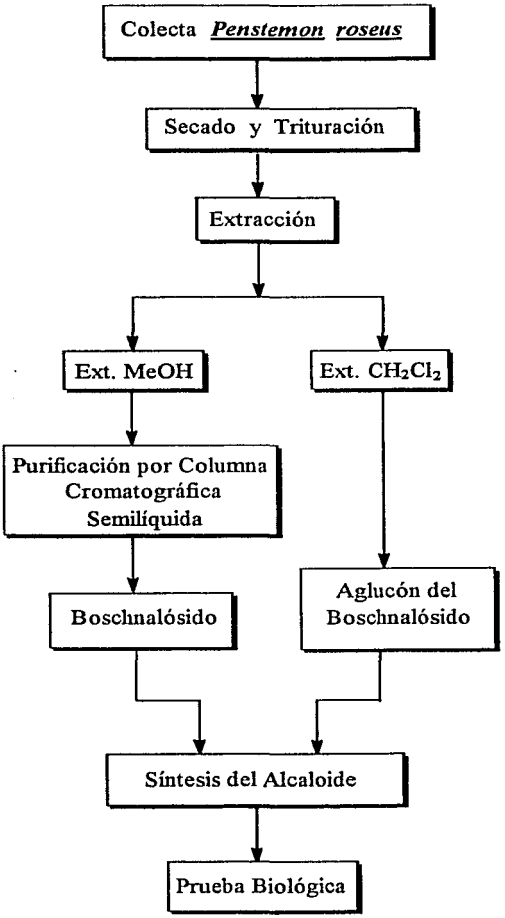
Toda esta mezcla se dejó a reflujo por 2 horas con agitación y calentamiento; después se enfrió con hielo y se alcalinizó con hidróxido de amonio (NH_4OH) a pH = 8; posteriormente se destiló a presión reducida, con lo que quedó por un lado el destilado y por otro el residuo; ambos se extraen con éter etílico (C_2H_5-O-C_2H_5). La fase orgánica es la que se utiliza y a la cual se le añade sulfato de sodio anhídro, se filtra y se concentra el disolvente para finalmente obtener el alcaloide, cuya apariencia es de un aceite café-amarillo claro. Enseguida se revela con el reactivo de Dragendorff.

Además de que se forma el alcaloide Boschniaquina, aparecen otros dos compuestos más; ésta mezcla se aplica en una placa preparativa, y se espera a que seque para correrla con hexano:acetato de etilo, en una proporción de 7:3; se revela una parte, con reactivo de Dragendorff, para localizar al alcaloide y separarlo de los demás compuestos al raspar esa zona con un exacto; el polvo que se obtiene se muele en un mortero y se filtra con CH_2Cl_2 al vacío.

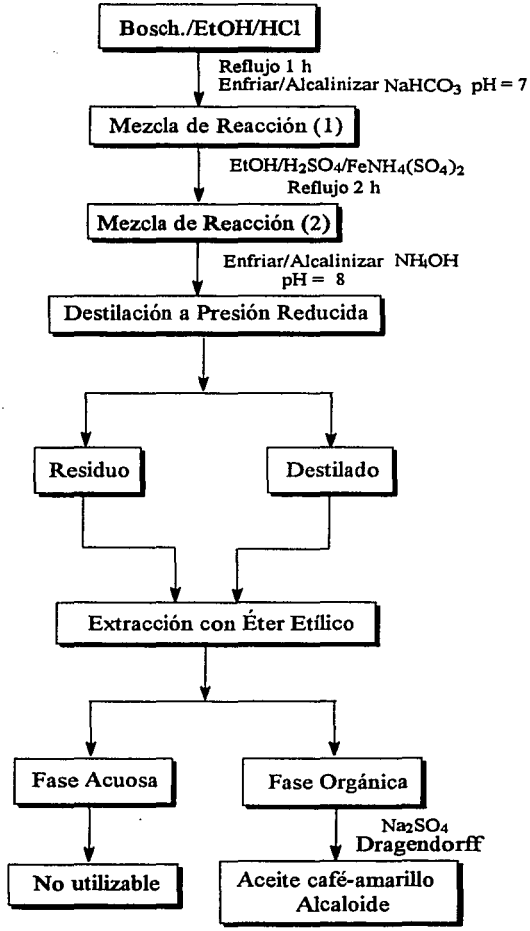
Del extracto crudo de diclorometano se tomaron 5 g y se llevó a cabo directamente la reacción de síntesis del alcaloide, de igual forma que con el Boschnalósido; pero como en este extracto se encuentra el Aglucón del Boschnalósido no se necesita realizar la primera hidrólisis ácida, de tal forma que se inicia la reacción a partir de la segunda hidrólisis, que es con H_2SO_4 (ver esquema de preparación del alcaloide). Así, los siguientes pasos son iguales para obtener el alcaloide; sin embargo, como quedan ciertas impurezas, ya que se trabajó con el extracto crudo, se realizó un método para purificar el alcaloide: se extrajo 2 veces con CH_2Cl_2 en un volumen de 5 ml, se le agregaron 5 ml de HCl al 5%, esta mezcla se agitó en un embudo de separación y se obtuvieron la fase orgánica (no utilizable) y la fase acuosa a la cual se le agregó una solución acuosa de NH_4OH a pH = 8.

Después se realizó un extracción con éter etílico 2 veces en un volumen de 2.5 ml y se saturó con NaCl, y se formaron una fase acuosa (no utilizable) y una fase orgánica en donde se encontraba el alcaloide ya puro. Finalmente se reveló con el reactivo de Dragendorff para verificar la presencia del alcaloide.

Diagrama de Flujo de la Metodología



Preparación del Alcaloide
Monoterpénico
Piridínico



3.4 **Prueba Biológica del Alcaloide con *Felis catus* :**

Para la realización de este experimento se contó con una muestra de n = 71 gatos, 10 de los cuales eran "callejeros" y los 61 restantes se obtuvieron por medio de gente que contaba con este tipo de mascotas. Por cada gato se efectuaron 3 repeticiones (una cada tercer día), tanto con el alcaloide como con el catnip (estos fueron probados por separado).

Para probar la actividad biológica del alcaloide Boschniaquina (experimental) en los gatos, se utilizó como control Catnip comercial (incluye hojas y tallos que están secos y molidos), que es bien conocido por la atracción que ejerce sobre estos animales; con el fin de evaluar la actividad del alcaloide se midió la variable tiempo de olfatación* que tenían los gatos hacia ambos compuestos para después poder compararlos por medio de un análisis de varianza (ANOVA) no paramétrico. Además se procedió a contabilizar y obtener porcentajes de efectividad tanto del catnip como del alcaloide entre los gatos de acuerdo con los siguientes factores: sexo, edad y madurez sexual.

En el muestreo se reunió tanto a gatos machos como hembras, sexualmente maduros e inmaduros. Para ello, se definió como sexualmente maduros a aquellos gatos que ya cuentan con la edad para reproducirse, independientemente de que lo hayan hecho o no, y, por lo tanto, los sexualmente inmaduros son los que no cuentan con dicha edad.

Las pruebas se realizaron en un área cuya variación máxima fue de $3m^2$, en el lugar donde habitan, ya sea al aire libre (gatos callejeros) o en espacios cerrados (mascotas).

Tanto el Catnip (0.4g) como el alcaloide (0.043g) se colocaron en contenedores transparentes de vidrio de 6 cm de largo y 1.5 cm de diámetro. El alcaloide también puede ser colocado en un contenedor de porcelana para que se vaya disipando lentamente su aroma.

En caso de que los gatos se encontraran en lugares como jardines, los contenedores eran escondidos bajo tierra en 3/4 partes, mientras que para la los gatos que estuvieran en casa, simplemente se colocaban los contenedores esquinados en alguna pared.

Por cada gato se registraron los siguientes datos:

- Sexo
- Edad
- Madurez sexual
- Tiempo de olfatación

De los datos anteriores se obtiene la siguiente información:

1) Existe o no preferencia hacia el alcaloide por parte de los gatos de uno u otro sexo.

2) Es significativa o no dicha preferencia (en caso de existir).

3) Está relacionada o no dicha preferencia (en caso de ser significativa) con la edad y/o madurez sexual.

La información sobre el sexo, edad y madurez sexual de los gatos, fue proporcionada por el dueño del gato.

Después que se hizo la prueba, ya sea con el alcaloide o con el catnip, se registró si hubo o no una respuesta de tipo conductual en los gatos.

*Este criterio ha sido utilizado por grupos de investigación como Clapperton, Eason et al. para evaluar compuestos que pueden ser utilizados como atrayentes de gatos. Consiste en colocar en diferentes contenedores, como por ejemplo cajas Petri, a las sustancias olorificas en un algodón. Los tratamientos se colocan en conjunto para evaluar si las sustancias son o no atrayentes, o si una es más eficaz que otra, además de que la prueba se repite de 1-4 veces. Lo que miden para dicha evaluación es el tiempo en que el gato está olfateando la o las sustancias, y esto lo determinan con pruebas estadísticas como la ANOVA [27].

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS.

4.1 **Aspectos Químicos** :

4.1.1 Boschnalósido

El primer lote de plantas de ***P. roseus*** (colectado hace 5 años) con el que se trabajó fue de 2.6 Kg en peso seco, de los cuales se obtuvieron 125 g de extracto crudo metanólico; de este extracto, sólo se utilizaron 70 g para su purificación, y se obtuvieron 5.6 g de Boschnalósido, que corresponden a un 8.0 % de rendimiento. La polaridad de elución fue de 95:5 AcEt:MeOH, a partir de la fracción 49 hasta la número 156 en el que dejó de salir el Boschnalósido.

El segundo lote de plantas fue material fresco que se colectó en el transcurso del trabajo de tesis. De la misma manera que en el primer lote, se realizaron la extracciones con MeOH, a partir de 2.6 Kg de planta seca, pero en este caso se obtuvieron 140 g del extracto crudo de los que, al ser purificados 70 g, se obtuvieron 13 g de Boschnalósido, que corresponden a un 18.57 % de rendimiento. La polaridad de elución corresponde a la de un 100 % de acetato de etilo. En este caso el iridoide salió a partir de la fracción 21 hasta la número 138.

El Boschnalósido en polvo es de un color amarillo claro, y, al correrlo en una placa cromatográfica en capa fina a una polaridad de 8:2 de acetato de etilo:metanol, se obtiene un R_F de 0.49, una coloración azulada al observarlo en U.V. y una coloración morado intenso al revelarlo con una solución de sulfato cérico en ácido sulfúrico.

Los cristales del Boschnalósido son amarillos claros y tuvieron su punto de fusión entre los 102-103 °C, dato que coincide con lo reportado en la bibliografía [73].

De los resultados espectroscópicos del iridoide se obtuvieron los siguientes datos de RMN ^1H : un doblete en δ 1.05 ppm (J = 6.85 Hz), que corresponde al protón del grupo metilo; una señal en δ 4.74 ppm, debido al protón de la glucosa que se encuentra en posición β; un singulete en δ 7.15 ppm que corresponde al protón que está sobre el carbón tres del doble enlace; un doblete a δ 5.37 ppm, debido al protón del carbón de la posición 1 (J = 4.5 Hz), y un singulete a δ 9.27 ppm que se debe al protón del aldehído.

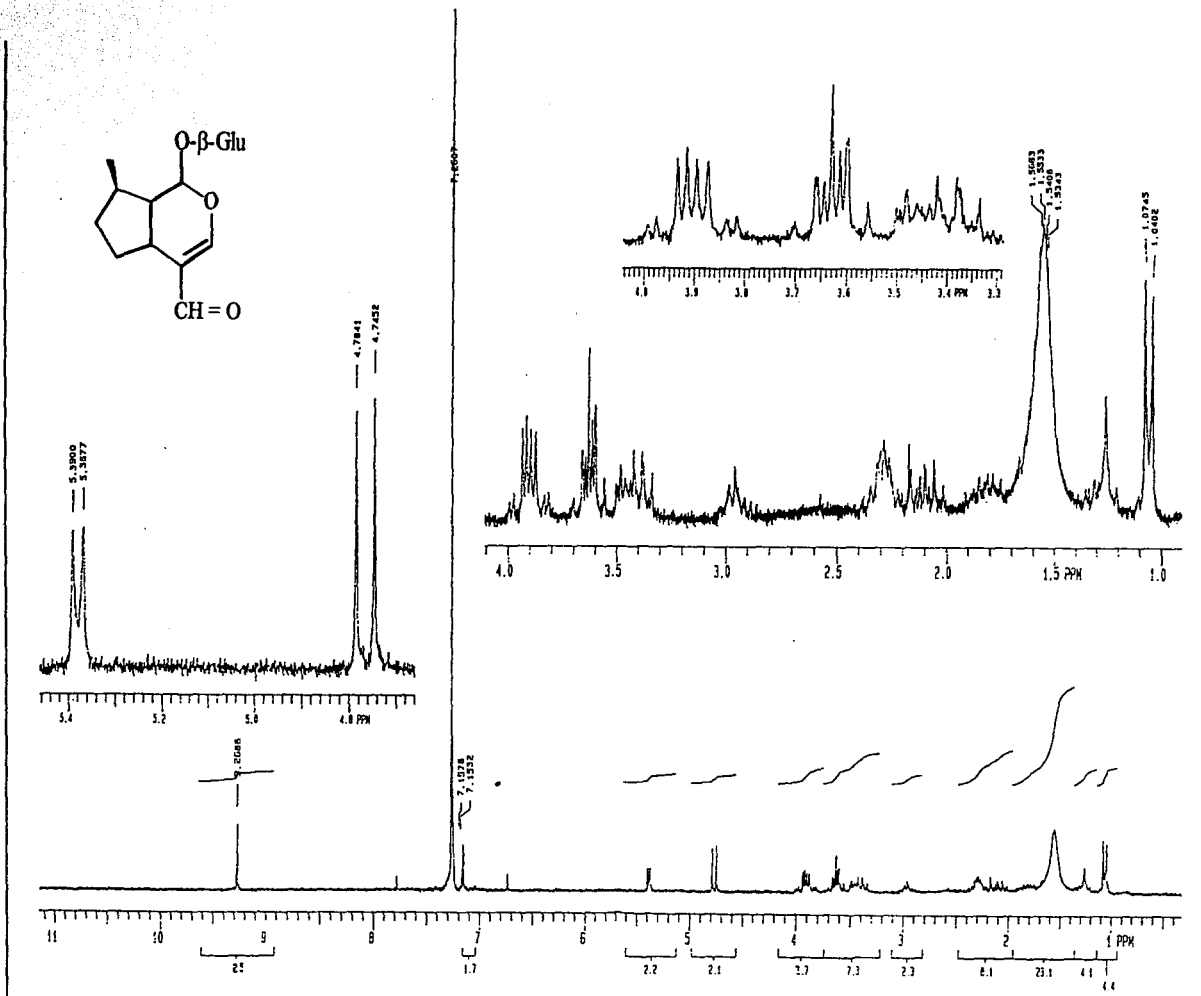
Tabla 2. Resultados del Boschnalósido obtenidos a partir de 70 g del extracto metanólico de ***Penstemon roseus***.

Resultados cualitativos y cuantitativos del Boschnalósido	
• **Color**: amarillo claro tanto en polvo como en cristal, el cual es translúcido.	• **punto de fusión**: 102-103° C. • R_F : 0.49 en un sistema 8:2 de AcEt:MeOH
• **Revelado**: en U.V. se observa azulado y con Sulfato Cérico en H_2SO_4 es de un morado intenso	• **Rendimiento**: **18.57 % (13 g) *8 % (5.6 g)

Lote *1 y **2.

Tabla 3. Resultados espectroscópicos (RMN ^1H) del Boschnalósido a 200 MHz; temperatura ambiente; disolvente $CDCl_3$.

Resultados del Espectro de RMN ^1H del Boschnalósido δ (ppm)				
H (CH_3)	H-β (Glu)	H (C-1)	H (C-3)	H (CHO)
1.05 (d) 3H. ^3J = 6.85 Hz.	4.74 (s)	5.37 (d) 1H. J = 4.5 Hz.	7.15 (s) 1H.	9.27 (s) 1H.



Espectro 1. RMN ^{1}H del Boschnalósido

4.1.2 Boschniaquina

En las primeras transformaciones químicas realizadas al Boschnalósido, resultó que por cada 200 mg de este iridoide se obtenían 26 mg del alcaloide Boschniaquina; esto ocurría cuando se dejaban menos de 2 horas los reflujos, al aumentar el tiempo de reflujo ya se obtenían 43 mg del alcaloide Boschniaquina, lo cual representa el 46.2 % de rendimiento, con respecto al teórico que se calcula con bases estequiométricas.

La Boschniaquina se reconoce como un aceite café-amarillo claro, con una fragancia dulce, del que, al correrlo en una placa cromatográfica en capa fina a una polaridad de 7:3 hexano:acetato de etilo, se obtiene un R_f de 0.43; al observarlo en U.V. da una coloración azulada, y al revelarlo con el reactivo de Dragendorff se torna entre café y naranja.

De la extracción realizada a ***P. roseus*** con CH_2Cl_2 se obtuvieron 34 g de extracto crudo, a los que se les realizaron las reacciones correspondientes para formar la Boschniaquina, y se obtuvieron 65 mg de dicho alcaloide.

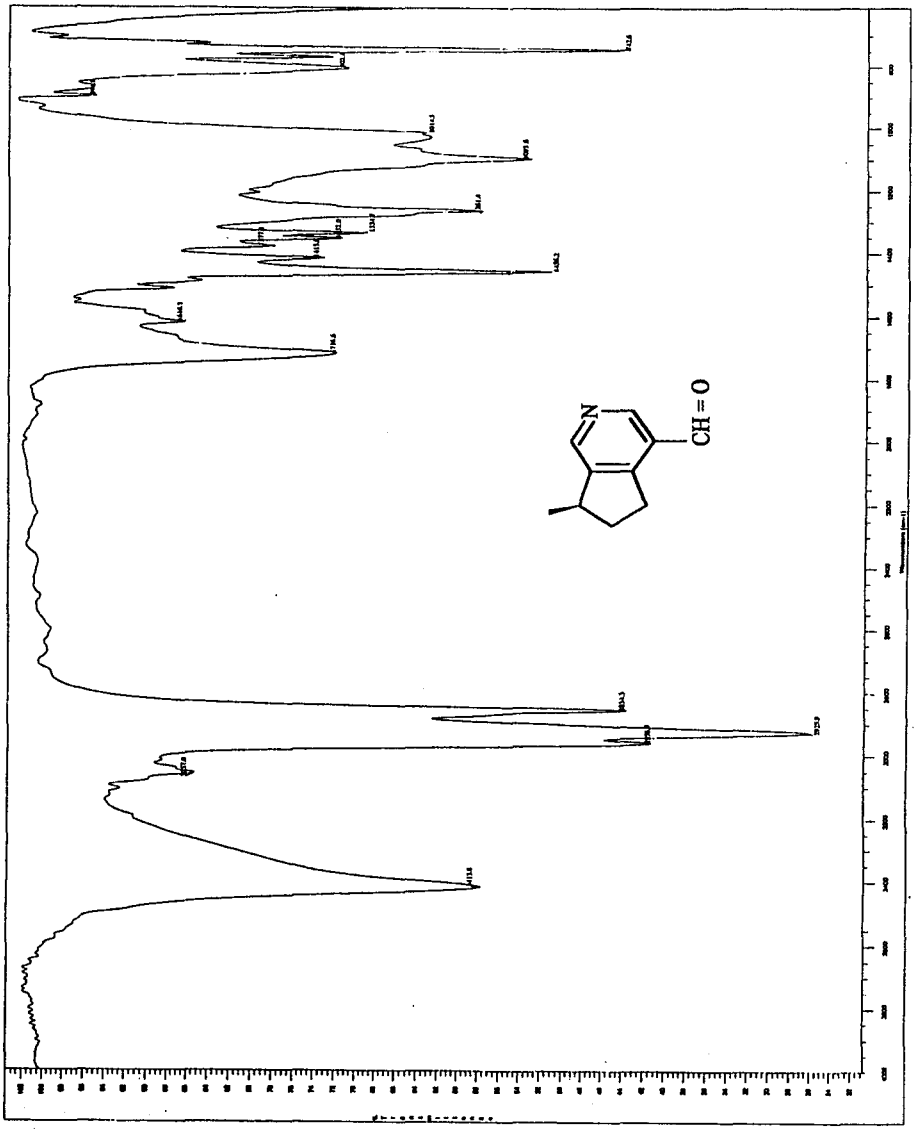
El espectro de I.R. del alcaloide Boschniaquina exhibe bandas de absorción a V_{max} 3057, 2854, 1716.6 y 1616.3 cm^{-1}, que corresponden a la presencia del aldehído conjugado con el anillo piridínico [91].

Tabla 4. Resultados del alcaloide Boschniaquina obtenidos a partir de 200 mg del Boschnalósido.

Resultados cualitativos y cuantitativos de la Boschniaquina	
• **Color**: aceite café-amarillo claro	• R_F: 0.43 en un sistema 7:3 de Hex:AcEt.
• **Revelado**: en U.V. se observa azulado y con Reactivo de Dragendorff es entre café y naranja	• **Rendimiento**: 46.2 % (43mg)

Tabla 5. Resultados espectroscópicos (I.R.) de la Boschniaquina a 200 MHz; temperatura ambiente; Película.

Resultados del Espectro de I.R. del Alcaloide Boschniaquina cm^{-1}			
Señales correspondientes al aldehído conjugado con el anillo piridínico			
3057	2854.5	1716.6	1616.3



Espectro 2. I.R. del Alcaloide Boschniaquina

4.2 **Aspectos Biológicos :**

Del muestreo que se realizó, se obtuvo un total de 71 gatos (100 %) que incluyó tanto a machos como a hembras; el 71.83 % (51) fueron atraídos por el alcaloide Boschniaquina, mientras que el Catnip atrajo al 45.07 % (32) de los gatos. Estos porcentajes se mantuvieron constantes en las tres repeticiones, y sólo el tiempo de olfatación fue el que varió ligeramente. Además existieron gatos que fueron atraídos ya sea por a) el alcaloide o por b) el Catnip, pero también los hubo que eran atraídos por c) ambos o por d) ninguno.

En el análisis de varianza (ANOVA) no paramétrico, que se realizó al tiempo de olfatación (criterio evaluador de la actividad biológica del alcaloide) de los gatos hacia el alcaloide y al control (Catnip), se obtuvo una $t_{52} = 7.4905$, $p < 0.05$ que indica la existencia de una diferencia significativa entre el factor tiempo en dichos compuestos.

De hecho, la media fue de 116.05 segundos (1.93 min.) para el caso del alcaloide Boschniaquina con una desviación estándar (D.S.) de 22.61 segundos (0.37 min.), mientras que en el caso del Catnip, la media fue de 97.62 segundos (1.62 min.) y su D.S. de 21.78 segundos (Tabla 6).

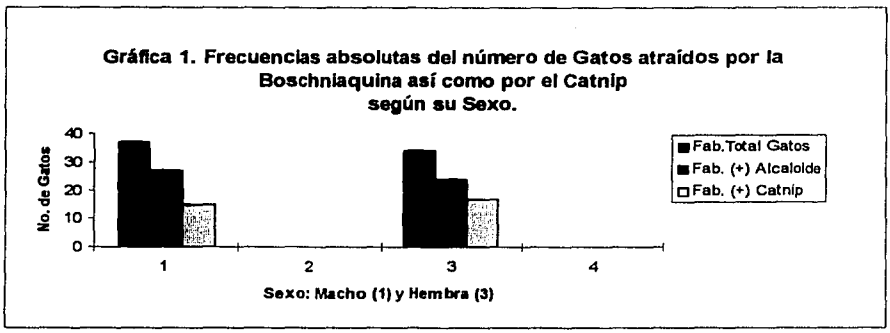
Para complementar este trabajo y conocer las características de la muestra que sí fue atraída por el alcaloide se analizaron aspectos como edad, sexo y madurez sexual. Con respecto a los sexos se tuvo que 34 eran hembras, lo cual representa el 47.89 %, y 37 eran machos, que es el 52.11 %. De esas 34 hembras, 24 (70.59 %) fueron atraídas por el alcaloide, mientras que el Catnip sólo atrajo a 17 (50 %). En el caso de los machos, 27 (72.97 %) de los 37 fueron atraídos por el alcaloide, mientras que el Catnip atrajo a 15 (40.54 %) de ellos (Tabla 7, Gráfica 1).

Tabla 6. Representa la media de edad y tiempo, así como su respectiva desviación estándar de los gatos que sí (+) fueron atraídos tanto por la Boschniaquina como por el Catnip.

Edad / Tiempo	Boschniaquina (+) n = 51	Catnip (+) n = 32
Edad en años	3.2453 ± 1.4264	3.2452 ± 1.4264
Tiempo en segundos (min.)	116.05 ± 22.61 (0.37 ± 0.37)	97.62 ± 21.78 (1.62 ± 0.36)

Tabla 7. Representa, en números absolutos y porcentajes, cuántos gatos, según su sexo, fueron atraídos (+) o no (-) por el alcaloide Boschniaquina y/o por el Catnip.

Sexo	Boschniaquina		Catnip	
	(+)	(-)	(+)	(-)
Hembra n = 34 (47.89 %)	24 (70.59 %)	10 (29.41 %)	17 (50 %)	17
Macho n = 37 (52.11 %)	27 (72.97 %)	10 (27.03 %)	15 (40.54 %)	22 (59.46 %)



Fab. Total Gatos hace referencia al número total de gatos existentes por cada sexo. **Fab. (+) Alcaloide y Catnip,** se refieren a los gatos que sí fueron atraídos por estos compuestos en cada uno de los sexos.

La muestra de gatos fue ordenada por intervalos de edad (en años) y se obtuvo que en el intervalo de **[0 - 0.9]** había 10 gatos, que corresponden al 14.18 % del total de la muestra; de éstos , 5 (50 %) fueron atraídos por la Boschniaquina, mientras que el Catnip atrajo sólo un gato (10 %).

En el intervalo **[1 - 1.9]** se encontraron 12 gatos, los cuales corresponden al 16.90 % de la muestra total; de éstos, 10 (83.3 %) fueron atraídos por el alcaloide, mientras que el Catnip atrajo a 9 (75 %).

En el intervalo de **[2 - 2.9]** hubo 18 gatos, que corresponden al 25.35 % de la muestra total; de éstos, 16 (88.8 %) fueron atraídos por la Boschniaquina, mientras que el Catnip atrajo a 10 (55.5 %).

En el intervalo de **[3 - 3.9]** había 13 gatos, los cuales corresponden al 18.31 % de la muestra total; de éstos, 9 (69.23 %) fueron atraídos por el alcaloide Boschniaquina, mientras que el Catnip atrajo a 7 (53.84 %).

En el intervalo **[4 - 4.9]** se ubicaron a 11 gatos, que corresponden al 15.52 % de la muestra total; de éstos, 8 (72.72 %) fueron atraídos por la Boschniaquina, mientras que el Catnip atrajo a 3 (27.27 %).

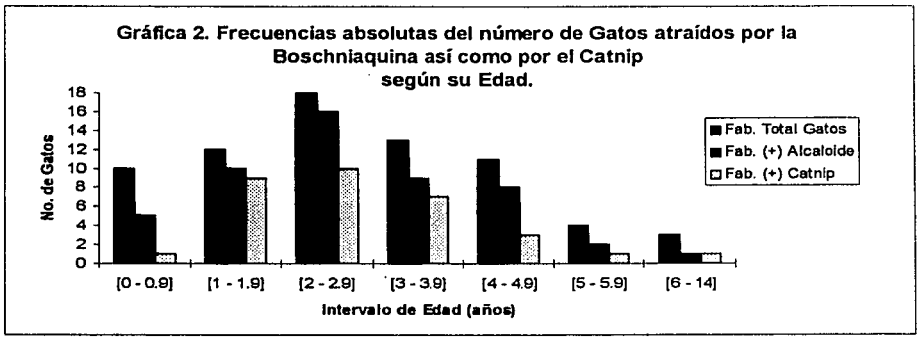
En el intervalo **[5 -5.9]** había 4 gatos, los cuales corresponden al 5.63 % de la muestra total; de éstos, 2 (50 %) fueron atraídos por el alcaloide, mientras que el Catnip atrajo a solo uno (25 %).

En el intervalo **[6 - 14]** se ubicaron sólo 3 gatos, que corresponden al 4.21 % de la muestra total; de éstos, uno (33.3 %) fue atraído por el alcaloide, y también uno, que representa el 33.3 %, fue atraído por el Catnip (Tabla 8, Gráfica 2).

En cuanto a madurez sexual, se obtuvo que, de 8 gatos inmaduros, sólo 3 fueron atraídos por el alcaloide, mientras que el Catnip no atrajo a ninguno. Del grupo maduro, que estaba integrado por 63 gatos, el 76.19 % (48) fue atraído por la Boschniaquina, mientras que el 50.79 % (32) fueron atraídos por el Catnip (Tabla 9).

Tabla 8. Representa, en números absolutos y porcentajes, cuántos gatos, según su edad en forma de intervalos, fueron atraídos (+) o no (-) por el alcaloide Boschniaquina y/o por el Catnip.

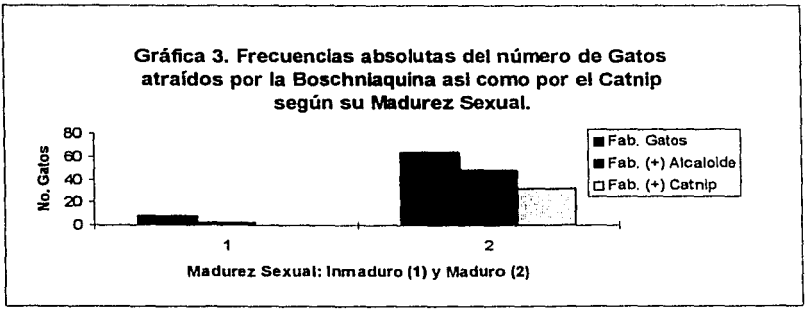
Intervalo de Edad en años	Fab. Total n = 71 (100 %)	Fab. Alcaloide (+) n = 51 (71.83 %)	Fab. Catnip (+) n = 32 (45.07 %)
[0 - 0.9]	10 (14.18 %)	5 (50 %)	1 (10 %)
[1 - 1.9]	12 (16.90 %)	10 (83.3 %)	9 (75 %)
[2 - 2.9]	18 (25.35 %)	16 (88.8%)	10 (55.5 %)
[3 - 3.9]	13 (18.31 %)	9 (69.23 %)	7 (53.84 %)
[4 - 4.9]	11 (15.52 %)	8 (72.72 %)	3 (27.27 %)
[5 - 5.9]	4 (5.63 %)	2 (50 %)	1 (25 %)
[6 - 14]	3 (4.21 %)	1 (33.3 %)	1 (33.3 %)



Fab. Total Gatos hace referencia al número Total de gatos existentes en cada intervalo de edad (en años)
Fab. (+) Alcaloide y Catnip, se refieren a los gatos que *sí* fueron atraídos por estos compuestos.

Tabla 9. Representa, en números absolutos y porcentajes, cuántos gatos, según su madurez sexual, fueron atraídos (+) o no (-) por el alcaloide Boschniaquina y/o por el Catnip.

Madurez Sexual	Boschniaquina		Catnip	
	(+)	(-)	(+)	(-)
Inmaduros n = 8 (11.27 %)	3 (37.5 %)	5 (62.5 %)	0 (0 %)	8 (100 %)
Maduros n = 63 (88.73 %)	48 (76.19 %)	15 (23.81 %)	32 (50.79 %)	31 (49.21 %)



Fab. Gatos hace referencia al número Total de gatos existentes en los grupos (1) y (2). Fab. (+) Alcaloide y Catnip, se refieren a los gatos (maduros e inmaduros) que sí fueron atraídos por estos compuestos.

Conducta de los gatos:

El alcaloide Boschniaquina resultó provocar, en los gatos sexualmente maduros, conductas como las reportadas para el Catnip [38]. Se observó que la intensidad de la respuesta hacia estos compuestos variaba de gato a gato. Además, no todos los gatos presentaron cada uno de estos eventos.

Gatos maduros sexualmente:

1. Arqueamiento del dorso en machos.

2. Cola erguida en el caso de los machos.

3. Posición de monta en las hembras (se posiciona boca abajo, estira su cuerpo y eleva sus ancas con las patas traseras) .

4. Pegarse a paredes (roce), muebles o personas que se encuentren en ese momento; frotamiento de la barba y mejillas, y movimientos de la cabeza semicirculares. Arañan lo que tienen al frente y juguetean, esto se observó tanto en machos como en hembras ("Head over rolls body rubbing, chin and cheek rubbing, bitting, pawing, jumping").

5. Salivación, mascar, lamer, olfatear tanto en machos como en hembras ("Licking, chewing, sniffing").

6. Dar vueltas "revolcarse" ("Rolling over"), tanto en machos como en hembras.

Gatos inmaduros sexualmente:

1. Salivación y una especie de "saboreo" aunque nunca lo probaron, sólo lo olfatearon; juguetean, pero nunca se observó alguna conducta sexual como en los gatos maduros sexualmente.

CAPÍTULO V

5. DISCUSIÓN.

5.1 Aspectos Químicos :

Por lo general, cuando se trabaja con productos naturales se obtienen rendimientos bajos (a veces del orden de mg) a partir de cantidades muy grandes de material vegetal; sin embargo, y de manera afortunada para este trabajo, ***Penstemon roseus*** fue una planta que presentó altos rendimientos del Boschnalósido.

Los lotes de plantas 1 y 2 presentaron diferencias en rendimiento; tal es el caso de la cantidad de extracto metanólico crudo que se obtuvo. Resulta que en el lote 2 se otuvieron 15 g más que en el primer lote; además en el lote 1 se obtuvo 5.6 g de Boschnalósido, mientras que en el lote 2 el rendimiento fue de 13 g, es decir, se obtuvieron 7.4 g más de materia prima que en el lote 1.

Con base en lo anterior, se puede decir que existe una diferencia en rendimientos de los lotes 1 y 2 de un poco más del doble. Hay que recordar que el primer lote fue colectado aproximadamente 5 años antes que el segundo, el cual se colectó y utilizó en el tiempo en que se desarrolló esta tesis, por lo que dichas diferencias en los rendimientos podrían estar dadas, por un lado, por el factor tiempo, pues hay que considerar la degradación de los metabolitos con respecto a este, y por otro lado, porque, según se sabe por experimentos realizados con ***Verbena officinalis***, hay una utilización drástica de estos compuestos por parte de la planta, que depende directamente del estado de desarrollo en que ésta se encuentre [44].

Una consideración importante, concerniente a los rendimientos del iridoide, es que si se aumenta en por lo menos 2 veces más el número de extracciones que se realizaron en este trabajo, tanto metanólicas como de diclorometano, seguramente los rendimientos aumentarán apreciablemente, ya que después de realizadas las dos extracciones, todavía quedaba un color muy concentrado, lo cual puede indicar la presencia de Boschnalósido además de otros compuestos.

Si revisamos los datos expuestos en la parte de resultados, encontraremos una diferencia en el tratamiento de los lotes 1 y 2 con respecto a la polaridad de elución que se utilizó para el Boschnalósido. Al primer lote se le dió una mayor polaridad de elución (95:5 de AcEt:MeOH), mientras que el segundo lote eluyó con sólo acetato de etilo al 100 %. Esto se realizó así debido a la tardanza (tiempo) con la que eluyó el iridoide, y esto probablemente se deba al empacamiento de la columna o a la cantidad de algodón utilizado en una y otra columnas.

Cabe mencionar que el tiempo en que eluyó totalmente el Boschnalósido de la columna, a partir de 70 g, fue de aproximadamente un mes y medio y no hubo descomposición del iridoide; esto es importante resaltarlo, ya que en la mayoría de los casos, cuando se purifica un compuesto en una columna, éste no puede permanecer por mucho tiempo en dicho sistema, pues se descompone.

En trabajos anteriores se había intentado realizar la cristalización del Boschnalósido sin mucho éxito, debido a que es muy difícil separar la clorofila de este iridoide, ya que las polaridades de ambos son muy semejantes; sin embargo, en este trabajo se logró cristalizarlo por medio de la implementación de varios métodos que son muy sencillos y que ya han sido explicados anteriormente, pero algo fundamental que se observó y que parece ser muy importante en dicho proceso, es que se necesita dejar reposar al Boschnalósido en etanol mínimo por una semana y media por lo menos para que éste cristalice.

Por otra parte, el haber trabajado con ***P. roseus*** constituyó una gran ventaja por varias razones: primera, porque en la etapa de secado muchas plantas son suceptibles de ser invadidas por hongos y otros organismos que echan a perder el material vegetal, y a esta planta nunca le ocurrió una invasión por microorganismos; en segunda, hay que recordar que el tiempo que se lleva el Boschnalósido en el proceso de purificación es largo y aún así no se descompone, y además se obtienen altos rendimientos de este iridoide.

Ahora bien, en la actualidad, una de las tendencias en materia de síntesis está cada vez más dirigida hacia la síntesis parcial, es decir, utilizar como intermediarios compuestos químicos que previamente fueron sintetizados por la naturaleza, ya que confieren grandes ventajas: por un lado, la posibilidad de evitar algunos pasos de síntesis, y, por otro, el hecho de que intermediarios como es el caso particular del iridoide Boschnalósido, cuentan con un arreglo espacial bien definido, que facilita la construcción de moléculas biológicamente activas, como fue en este caso el alcaloide Boschniaquina.

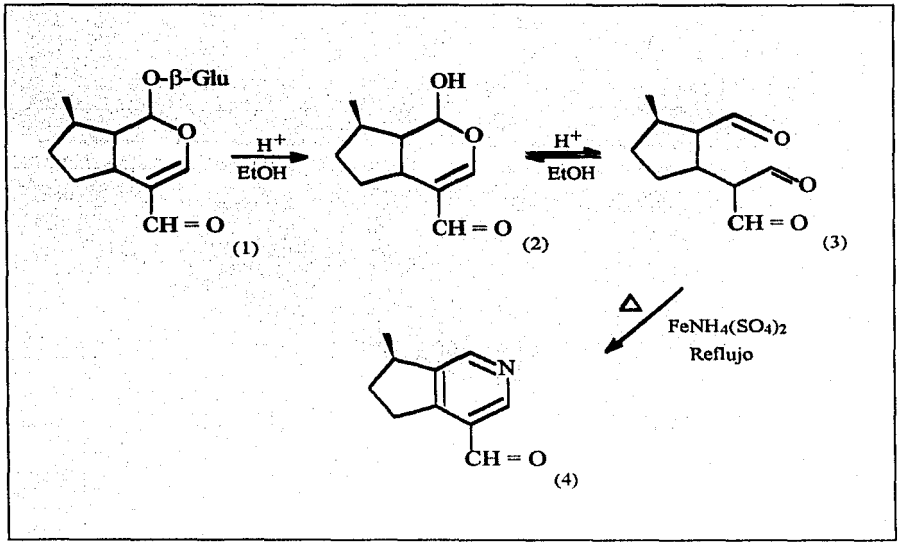
Para entender y visualizar de una mejor manera la síntesis de la Boschniaquina, se explicará a continuación, por medio de un esquema, cómo es que se llevó a cabo dicha síntesis.

La primera de las cuatro estructuras moleculares que hay en el esquema de la siguiente página corresponde al iridoide glucosídico: Boschnalósido, que para efecto de este trabajo, se ha considerado tanto la materia prima como el intermediario clave en la síntesis del alcaloide Boschniaquina.

Dicho intermediario es primeramente disuelto en etanol para después agregarle un ácido inorgánico, que es el responsable de una primera hidrólisis en el proceso de síntesis. Esta hidrólisis se lleva a cabo con la finalidad de formar el Aglucón del Boschnalósido, es decir, un compuesto semejante a la primera estructura del esquema, pero sin su glucosa (segunda estructura molecular del esquema). Ya que se cuenta con dicho Aglucón, se realiza una segunda hidrólisis, que permite tener condiciones ácidas en la reacción y de ésta forma hacer que ocurra la apertura del Hemiacetal (tercer estructura molecular del esquema) para que en el momento en que se agrege la sal de amonio se dé la sustitución del oxígeno en posición 2 por el nitrógeno. Ahora, el calentamiento suministrado a ésta última etapa de la síntesis es con el fin de que haya una deshidratación que en consecuencia dará el cierre y formación del anillo piridínico.

La estructura restante (cuarta y última estructura molecular del esquema) corresponde a la Boschniaquina. De ésta forma es como, a partir de un monoterpeno ciclopentano-pirano, se puede realizar una transformación química para llegar a un alcaloide monoterpénico piridínico.

ESQUEMA GENERAL DE LA TRANSFORMACIÓN QUÍMICA DEL BOSCHNALÓSIDO EN BOSCHNIAQUINA.



(1) Boschnalósido
(2) Aglucón del Boschnalósido
(3) Enol-Hemiacetal
(4) Boschniaquina

En términos de rendimientos del alcaloide Boschniaquina, estos fueron diferentes según el tiempo que se le dió a la etapa de hidrólisis; si revisamos los resultados tenemos que cuando se dejaba menos de 2 horas en dicha etapa se obtenían 26 mg (27.93 %) y cuando se aumentó el tiempo al menos 2 horas más, aumentó a 43 mg, es decir, a un 46.2 % de rendimiento, con respecto del teórico (estequiométrico) que debiera ser de 92.7 mg. Probablemente esto se deba a que no reaccionó el total de la materia prima (el Boschnalósido), precisamente por el corto tiempo otorgado a dicha reacción. Otra posible explicación de que no se haya obtenido el rendimiento teórico podría ser por las condiciones quizá demasiado ácidas de la transformación del iridoide al alcaloide.

De hecho, y con el propósito de obtener hidrólisis menos agresivas para no degradar por completo el esqueleto iridodial, que a fin de cuentas se ve reflejado en los rendimientos finales de la síntesis, los químicos están buscando otros reactivos hidrolíticos que no sean necesariamente por vía química, sino por una vía enzimática, que solamente rompan el enlace de la unidad de azúcar unida al iridoide, así que en los casos en donde el azúcar fuese una glucosa, como en el caso del Boschnalósido, entonces se necesitaría emplear la enzima β-glucosidasa [53,6,64].

Se decidió formar el alcaloide a partir del extracto de CH_2Cl_2 haciendo directamente la etapa de las reacciones sobre dicho extracto para evitarnos algunos pasos de separación y purificación y, además, porque en este extracto encontramos el Aglucón del Boschnalósido, de tal manera que ya no es necesario realizar una de dos hidrólisis ácidas. Sin embargo, los rendimientos fueron bajos, pues se obtuvieron sólo 65 mg del alcaloide y resulta que se gasta mayor cantidad de disolventes así como de reactivos, que cuando se tiene purificado el compuesto. Además, como no se conoce la relación cuantitativa existente en el extracto entre el iridoide y su aglucón, sólo se hicieron estimaciones de cuánto aglucón podría haber y de qué cantidad se necesitaba de reactivos para dicha síntesis, y probablemente esto tenga que ver con las bajos rendimientos.

Como los rendimientos de la materia prima, el Boschnalósido, fueron altos, se logró sintetizar la cantidad necesaria del alcaloide Boschniaquina para realizar la prueba biológica con un total de 71 gatos.

5.2 **Aspectos Biológicos :**

Las pruebas de actividad con el alcaloide Boschniaquina en gatos se realizaron en diversos sitios (casas, jardínes), debido a que el Instituto de Química no contaba con un lugar adecuado para ello. Otro factor que determinó este hecho fue que en general la gente que prestó su gato para el experimento no consintió que se realizara en otra parte que no fuera su casa, ya que querían saber en qué consistía la prueba y asegurarse que el alcaloide no fuera un nuevo veneno que se estuviera probando para gatos.

Como resultado de lo anterior, el área en que se trabajó varió en función del lugar en donde se realizara la prueba; en ocasiones el sitio era tan pequeño que no se podía trabajar con los dos compuestos al mismo tiempo y a una distancia mínima de un metro como para darnos cuenta si la respuesta que tenía el gato se debía al Catnip, al alcaloide o a ambos; por lo tanto se decidió probar dichos compuestos por separado para poder determinar con exactitud qué lo atraía.

Además, sí se lograron tres repeticiones de la prueba con los 10 gatos "callejeros", ya que estos acuden diariamente al jardín de una persona que les lleva de comer desde hace varios años; además ella fue quien nos proporcionó los datos de sus edades de manera aproximada, así como los de sexo y su madurez sexual.

Por otro lado, el análisis de los resultados revela que, de una muestra total de 71 gatos, fueron atraídos por la Boschniaquina el 71.83 %, mientras que el Catnip atrajo al 45.07 %. Es preciso aclarar que el hecho de que los anteriores porcentajes no dan el 100 % es porque así como existieron gatos que sólo fueron atraídos por el alcaloide o por el Catnip, también los hubo que eran atraídos por ambos o por ninguno (el gato que se encontrara en alguna de estas opciones, siempre mantenía dicha situacion durante las tres repeticiones). Lo que se quiere señalar es que estos compuestos no son forzosamente excluyentes el uno del otro como atractores en un mismo gato.

Cabe mencionar que el Catnip (nepetalactona) no es efectivo en un cien porciento como atractor de felinos [14a].

Dadas las cifras anteriores podemos decir que el alcaloide sintetizado en este trabajo sí atrae a los gatos domésticos con cierto porcentaje de efectividad. Es importante recordar que sustancias como el alcaloide Actinidina [14a,92] y monoterpenos del tipo de las lactonas [75], como la nepetalactona (catnip), son productos naturales obtenidos de plantas orientales y son atrayentes de felinos, especialmente del gato doméstico ***Felis catus***, y que en esta tesis se propuso sintetizar una molécula con características semejantes a dichos compuestos, tanto en lo estructural (estereoquímica) como en lo isoeléctrico, pero a partir de un intermediario extraído de una planta mexicana, que además tiene la peculiaridad de compartir una estructura base con los compuestos mencionados, el iridodial. Precisamente dadas estas similitudes entre dichos compuestos y la Boschniaquina es por lo que el alcaloide Boschniaquina pudo mimetizar la función de atracción en gatos de los compuestos antes mencionados.

Hay que recordar que la variable que se utilizó como criterio de respuesta hacia el alcaloide Boschniaquina así como el control que utilizamos en ésta prueba, el Catnip, fue el tiempo de olfatación de los gatos hacia estos dos compuestos y que, finalmente, resultó que ambos tiempos diferían de manera significativa; de hecho, existe una diferencia de 18.43 segundos promedio entre el alcaloide y el Catnip, y quien obtuvo un mayor tiempo de atención en los gatos fue el alcaloide. Esta diferencia en los tiempos en que se entretienen los gatos con los compuestos puede ser muy importante en el caso de que se requiera cazarlos en ecosistemas insulares.

El que la Boschniaquina exhibiera un 27 % más de efectividad en la atracción de gatos con respecto al Catnip, quizá se deba a la sensibilidad que cada gato tenga a dichos compuestos; de hecho, existe un trabajo en donde se habla de que los gatos tienen diferente sensibilidad al Catnip y que esto depende de la edad en la que se encuentren; por ejemplo, los gatos sexualmente maduros son más sensibles al Catnip que los gatos inmaduros y dentro de los sexualmente maduros, los que presentan mayor sensibilidad a dicho compuesto son los adultos jóvenes y esta sensibilidad se pierde conforme aumenta la edad [38]. Sin embargo, hasta el momento no se han realizado estudios que puedan explicar el por qué o a qué se debe tal sensibilidad. Por otro lado, el alcaloide sintetizado en esta tesis es más parecido a compuestos encontrados en la planta ***Actinidia polygama***, como la actinidina, que al propio Catnip, y en la literatura se ha reportado que compuestos de dicha planta son más poderosos para atraer a gatos que inclusive el propio Catnip [84].

Además de haber evaluado la actividad de la Boschniaquina en función del tiempo de olfatación de los gatos, se analizaron los datos de edad, sexo y madurez sexual, con el fin de tener un precedente del tipo de población a la cual se puede atraer y capturar, en caso de su utilización en programas de control y erradicación de gatos en ecosistemas insulares. En dicho análisis se observaron las siguientes tendencias: no existe una preferencia por alguno de los dos sexos a ser atraídos por el alcaloide y de esta misma manera ocurre con el Catnip (existen trabajos donde se demuestra que no hay diferencia significativa entre los sexos en cuanto a su atracción por el Catnip [38]). En lo que si existió diferencia fue en la preferencia entre el alcaloide y el Catnip, por los gatos.

El intervalo de edad [2 - 2.9] es en el que se encontró el mayor número de gatos atraídos tanto por el alcaloide como por el Catnip. Aunque la edad promedio a la que eran atraídos los gatos por estas sustancias fue de 3.24 años, se decidió que era más apropiado manejar la edad por intervalos ya que, como la muestra constaba de gatos que llegaban a tener desde 5 meses hasta 14 años de edad, al utilizar un estadístico como lo es la media aritmética, éste se ve afectado, pues es muy sensible a los valores extremos.

Los textos de veterinaria definen que los gatos que se pueden considerar maduros sexualmente son aquellos que cuentan con un mínimo de 7 meses, pues ya son capaces de reproducirse, y, por lo tanto, inmaduros son los que cuentan con no más de 6 meses [19]. Con base en esta definición, la muestra total de gatos estaba conformada por 88.73 % gatos maduros sexualmente, mientras que sólo el 11.27 % correspondía a gatos inmaduros sexualmente.

Aunque el número de gatos maduros es mucho mayor que el de inmaduros, se tiene que mencionar que tres gatos de los ocho correspondientes a los inmaduros sexualmente sí fueron atraídos por el alcaloide, mientras que ninguno de estos fue atraído por el Catnip; esto es importante ya que en los trabajos realizados por Hill *et al.*, además de haber concluído que el Catnip atraía indistintamente tanto a machos como a hembras, también se mencionaba que sólo atraía a gatos que cumplieran con la madurez sexual, inclusive no importaba el hecho de que hayan sido esterilizados, la condición era que se hubieran reproducido alguna vez , tenido montas, o que la esterilización haya sido después de haber cumplido su madurez sexual [38].

En este trabajo se cumplió lo reportado anteriormente, pero lo interesante es que el alcaloide Boschniaquina atrajo a tres gatos inmaduros sexualmente. Aunque no es estadísticamente representativo, este número de gatos plantea la posibilidad de atraer a una población de gatos inmaduros.

Por otro lado, hay que señalar que estos tres gatos se encuentran en el límite de la edad para ser considerados maduros sexualmente, por lo que habría que iniciar una línea de investigación más detallada al respecto.

Por otra parte, una posibilidad de que estos tres gatos hayan sido atraídos por la Boschniaquina es quizá el aroma dulce que expide el alcaloide y tal vez este aroma sea una ventaja más para poder atraer gatos que no son sexualmente maduros.

Finalmente, se puede decir que los productos naturales del tipo de los iridoides son en el presente y potencialmente en el futuro una fuente importante de compuestos que tienen o que pueden llegar a tener, con alguna modificación química, cierta actividad biológica que sea interesante y útil para el hombre; dado lo anterior, es necesario y conveniente, que se siga con la investigación de este tipo de compuestos.

PERSPECTIVAS :

1. Dado que el alcaloide Boschniaquina funcionó bien en este ensayo que se llevó a cabo en la Ciudad de México, bien podría ser utilizado en las labores de control y erradicación de gatos en ecosistemas insulares, e inclusive sería mejor que se complementara la utilización de este alcaloide con la del Catnip o viceversa, con el fin de atraer a una población más amplia y obtener una mayor efectividad en la caza.

2. A partir de los resultados de conducta descritos en este trabajo, se podría ampliar su estudio en el área etológica; en el área fisiológica (para determinar cómo es que el gato metaboliza el alcaloide), o inclusive llevarlo a niveles bioquímicos que pudieran explicar, por ejemplo, el tipo de neurotransmisores involucrados o cómo es que se lleva la transducción de señales que finalmente son responsables de dicha conducta en los gatos. También se podría estudiar cuál es el radio de acción máximo al que puede llegar el alcaloide y ser percibido por los gatos; ampliar el estudio con poblaciones más grandes de gatos sobre todo inmaduros sexualmente (ya que para este trabajo se contó sólo con ocho gatos de estas características), o el tratar de explicar por qué algunos gatos pueden llegar a responder al Catnip y al alcaloide no o viceversa, o por qué a ambos o de plano a ninguno de estos compuestos. También se podrían seguir sintetizando nuevos alcaloides con actividad de atrayentes, a partir de cualquier otro iridoide, ya que estos son suceptibles de transformaciones químicas como las que se realizaron en este trabajo. Como se puede ver, a partir de esta tesis es posible seguir o explorar nuevas líneas de investigación.

En resumidas cuentas, se puede decir que la planta ***Penstemon roseus*** es una muy buena fuente de materia prima (Boschnalósido) para poder llevar a cabo la síntesis parcial del alcaloide Boschniaquina; que además se le ha encontrado un nuevo uso como recurso natural modificado (atrayente de gatos) y que, por tal razón, bien prodría ser considerada con una gran potencialidad por la botánica económica, como lo ha llegado ser ***Nepeta cataria*** con el Catnip. Sumado a lo anterior, la Scrophulariaceae ***P. roseus*** se encuentra muy bien distribuída y es abundante, requisitos indispensables para la realización de estudios químicos y biológicos como los de este trabajo; además, el sistema que se utiliza para la síntesis del alcaloide no es muy complejo y los reactivos utilizados para tal fin no son muy caros. Esto sin olvidar que hay que utilizar los recursos, pero sin destruírlos. Así que se puede proponer el método de cultivo de tejidos para esta planta e inclusive con dicho método inducir a la planta a la producción de una mayor cantidad del metabolito secundario, es decir, el Boschnalósido, y de ésta manera conservar este recurso natural.

CAPÍTULO VI

6. CONCLUSIONES.

1. Se obtuvo el iridoide glucosídico Boschnalósido a partir del extracto metanólico de la planta ***Penstemon roseus*** con altos rendimientos (18.57 %).

2. El monoterpeno Boschnalósido resulta ser buen intermediario en la síntesis del alcaloide monoterpénico piridínico Boschniaquina.

3. Se lograron obtener altos rendimientos (46.2 %) del alcaloide Boschniaquina cuando éste se sintetiza a partir del iridoide puro, pero, si se sintetiza directamente a partir del extracto crudo de diclorometano, el rendimiento disminuye considerablemente.

4. El alcaloide Boschniaquina funciona como atractor del gato doméstico ***Felis catus***. Y fue 27 % más efectivo que el control utilizado (Catnip).

5. Se observó que el alcaloide Boschniaquina provoca en los gatos una conducta semejante a la provocada por el Catnip.

6. Se encontró que el intervalo de edad en la que hubo una mayor atracción por el alcaloide fue [2 - 2.9] años, y que no es determinante el sexo pero sí la madurez sexual en la preferencia por el alcaloide.

7. Dado que el alcaloide tiene la actividad de atrayente en ***Felis catus***, el sistema que se utiliza para su síntesis es simple; los reactivos utilizados para tal fin no son caros; la distribución y abundancia de ***P. roseus*** es amplia y sus rendimientos altos, puede ser factible su utilización en programas de control y erradicación de gatos en ecosistemas insulares.

APÉNDICE I

Abreviaturas y símbolos utilizados.

AcEt.	Acetato de Etilo
PMTA.	Alcaloide Monoterpénico Piridínico
Catnip.	Compuesto nepetalactónico proveniente de la planta ***Nepeta cataria***
CCF.	Cromatografía en Capa Fina
$CHCl_3$	Cloroformo
$CDCl_3$	Cloroformo Deuterado
δ	Desplazamiento químico
D. S	Desviación estándar
(d)	Doblete
EtOH	Etanol
FPLV	Feline Panleucopenia Virus
(g)	Gas
Glu	Glucosa
g	Gramo
Hex.	Hexano
H-β	Hidrógeno de la posición β de la glucosa
Hz	Hertz
h	Hora
I.R.	Infrarojo
J	Joules
MHz	MegaHertz
MeOH	Metanol
msnm	Metros sobre el nivel del mar
ppm	Partes por millón
p. f.	Punto de Fusión
R_F	Factor de Retención o Factor de desplazamiento de los compuestos en cromatografía en placa
(s)	Singulete
UV	Ultravioleta
V_{max}	Variación máxima

APÉNDICE II

a) Solución utilizada para revelar al Boschnalósido.

Para la preparación del $CeSO_4$ al 1 % en H_2SO_4 2N se necesita de:

- 40 g de H_2SO_4 (22.2 ml)
- 12 g de $CeSO_4$
- 350 g de Hielo

Se colocan sobre el hielo los 12 g del $CeSO_4$, se agregan los 22.2 ml de H_2SO_4 concentrado y con una varilla de vidrio se mueve y después, en una parrilla, se calienta hasta dilución. El color al inicio de la disolución es anaranjado y conforme queda bien disuelto el color se vuelve amarillo.

Nota. Al ser revelado el iridoide glucosídico denominado Boschnalósido con la anterior disolución, el color de la mancha es morado intenso.

b) Preparación del Reactivo de Dragendorff [83].

Se requiere de preparar dos soluciones:

Solución A: que consta de $Bi(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$ (8 g)
HNO_3 (20 ml)

Solución B: que consta de KI (27.2 g)
H_2O (50 ml)

Ambas soluciones se mezclan y se dejan reposar por 24 h; al cabo de este tiempo se realiza su filtración y se lleva el volumen total a 100 ml de agua. Este reactivo siempre se utiliza en muestras ácidas.

Nota. Si el reactivo da una prueba positiva, es decir, que sí evidencie algún alcaloide, será siempre y cuando al ser revelado el compuesto dé una coloración entre café y naranja.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Salisbury, F.B. y C.W. Ross. 1994. Fisiología Vegetal. Ed. Iberoamérica. México, D.F. 759 pp.

2. Teiz, L. y E. Zeiger. 1991. Plant Physiology. Ed. Benjamin/Cuming. California. p. 321-344.

3. Cronquist, A. 1995. Botánica Básica. Ed. CECSA. México, D.F. 655 pp.

4. El-Naggar, L.J. y J.L. Beal. 1980. Iridoids. A Review. ***Journal of Natural Products***. 43(6): 648-707.

5. Wagner, H., P. Wolff (Eds). 1977. New Natural Products and Plant Drugs with Farmacological, Biological or therapeutical Activity. Spring-Verlag, Berlin Heidelberg. p. 137-176.

6.Wysokinska, H. y Z. Skrzypek. 1992. An iridoid from ***Penstemon serrulatus*** cultures. ***Phytochemistry***. 31(4): 1235-1237.

7. Dyer, A.L. y D. Bowers. 1996. The importance of sequestered iridoid glycosides as a defense against an ant predator. ***Journal of Chemical Ecology***. 22(8): 1527-1539.

8. Jensen, S. R., B.J. Nielsen y R. Dahlgren. 1975. Iridoid Compounds, Their Occurrence and Systematic Importance in the Angiosperms. ***Bot. Notiser***. 128: 148-180.

9. Rimpler, H., U. Falk., S. Bremer. y R. Hiltunen. 1993. Iridoids from some Caryopteroideae, Viticoideae (Verbenaceae), and Ajugoideae (Labiatae): Chemical Characters for a Cladistic Analysis of Lamiales. ***Planta Medica***. 59: 693.

10. Glidewell, C. 1991. Monoterpenes. ***Journal of Chemical Education***. 68(3): 267-269.

11. Kooiman, P. 1970. The ocurrence of iridoids glycosides in the Scrophulariaceae. ***Acta Bot. Neerl.*** 19(3): 329-340.

12. Brahmachary, R. L. 1986. Ecology and Chemistry of Mammalian Pheromones. ***Endeavour***. 10(2): 65-68.

13. Feldman, H. N. 1994. Methods of scent marking in the domestic cat. ***Can. J. Zool.*** 72: 1093-1099.

14a. Veitch, C.R. 1985. Methods of Eradicating Feral Cats from Offshore Islands in New Zealand. ***In Conservation of island birds***. Ed. P. J. Moors. ICBP Technical Publication. 3: 125-141.

14b. Veitch, C.R. 1991. Cat Erradication: The New Zealand Perspective. ***In*** C. Potter (Ed): ***The Impact of Catus on Native Wildlife***. Australian National Parks and Wildlife Service. p. 82-89.

15. Rzedowski, J. y G. C. de Rzedowski (Eds). 1981. Flora Fanerogámica del Valle de México. Generalidades: Gymnospermae, Dicotyledonae. Vol. I. Ed. Continental, S.A. de C.V. México, D.F. p. 358-360.

16. Escandón, B.E. y M.A. Villavicencio. 1995. Listado de las Plantas Medicinales del Estado de Hidalgo. Univ.del edo. Hidalgo. División de Investigación y Posgrado. Centro de Investigaciones Biológicas 47 pp.

17. Cronquist, A. 1992. Introducción a la Botánica. Ed. CECSA. México, D.F. 348 pp.

18. Fogle, B. 1993. Conozca a su Gato. Ed. Diana. México, D.F. 128 pp.

19. Hamer, I.J. 1983. El maravilloso mundo de los gatos. Ed. Continental. México. 717 pp.

20. Van Rensburg, P.J.J., J.D. Skinner y R.J. Van Aarde. 1987. Effects of Feline Panleucopaenia on the Population Characteristics of Feral Cats on Marion Island. ***Journal of Applied Ecology***. 24: 63-73.

21. Krebs, C. J. 1985. Ecología. Estudio de la Distribución y la Abundancia. Ed. Harla. 753 pp.

22. Konecny, M.J. 1987. Food Habits and Energetics of Feral House Cats in the Galapagos Islands. ***OIKOS***. 50: 24-32.

23. Rauzon, M.J. 1985. Feral Cats on Jarvis Island: Their Effects and their Eradication. ***A Toll Research Bull.*** Smithsonian Institution. 282:1-31.

24. Fitzgerald, B.M. y C.R., Veitch. 1985. The Cats of Herekopare Island, New Zealand; their History, Ecology and Effects on Birdlife. ***New Zealand Journal of Zoology***. 12: 319-330.

25. Bloomer, J.P. y M.N. Bester. 1992. Control of Feral Cats on sub-Antartic Marion Island, Indian Ocean. ***Biological conservation***. 60: 211-219.

26. Seabrook, W. 1990. The Impact of the Feral Cat (***Felis catus***) on the Native Fauna of Aldebra Atoll, Seychelles. ***Rev. Ecol.*** 45: 135-145.

27. Domínguez, C.L., *et al.* 1991. Depredación por Mamíferos Introducidos ***Felis catus*** y ***Rattus rattus*** : Riesgo de Extinción Local de ***Sterna fuscata*** en Isla Isabel, Nayarit. Biología de Campo. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F. 31 pp.

28a. Cody, M., R. Moran y H. Tompson. 1993. The Plants. ***In***: Case, T. y M. Cody (Editors): ***Island Biogeography in The Sea of Cortez***. University of California Press. p. 49-97.

28b. Lawlor, T. 1983. The Mammals. ***In***: Case, T. y M. Cody (Editors): ***Island Biogeography in The Sea of Cortez***. University of California Press. p. 265-289.

28c. Case, T. 1983. The Reptiles: Ecology. ***In***: Case, T. y M. Cody (Editors): ***Island Biogeography in The Sea of Cortez***. University of California Press. p. 49-97.

29. Ortega, A., A. Castellanos, G. Arnaud., *et al.* 1992. Recursos naturales de la Isla Socorro, Revillagigedo, México. ***Ciencia***. 45: 175-184.

30. Arnaud, G., A. Rodríguez y C.S. Alvarez. 1994. La Isla Socorro, Reserva de la biosfera, Archipiélago Revillagigedo, México. Cap. 16: El gato doméstico (***Felis catus***), implicaciones de su presencia y alternativas para su erradicación. Public. No. 9. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, s.c. p. 319-328.

31. Jehl, J.R. y K.C. Parkes. 1982. The Status of the Avifauna of the Revillagigedo Islands, México. ***Wilson Bull.*** 94:1-19.

32. Karl, B.J. y H.A. Best. 1982. Feral Cats on Stewart Island: Their Foods and Their effects on Kakapo. ***New Zeland Journal of Zoology***. 9:287-294.

33. Van Aarde, R.J. 1980. The Diet and Feeding Behaviour of Feral Cats, ***Felis catus*** at Marion Island. ***S. Afr. J. Wildl. Res***. 10: 123-128.

34. Nogales, M., J. Rodríguez., G. Delgado., V. Quilis y O.Trujillo. 1992. The Diet of Feral Cats (***Felis catus***) on Alegranza Island (North of Lanzarote. Canary Islands). ***Folia Zoológica***. 41 (3): 209-212.

35. Fitzgerald, B.M. 1990. The Domestic Cat the Biology of its Behaviour. Cap. 10. Diet of Domestic Cats and their Impact on Prey Populations. Cambridge Univesity Press, N.Y. p. 123-143.

36. Eason, C.T. y C.M. Frampton. 1991. Acute Toxicity of Sodium Monofluoroacetate (1080) Baits to Feral Cats. ***Wildl. Res***. 18: 445-449.

37. Clapperton, K., C.T. Eason., R.J. Weston., A.D. Woolhouse y D.R. Morgan. 1994. Development and Testing of Attractans for Feral Cats, ***Felis catus*** L. ***Wildl. Res***. 21: 389-399.

38. Hill, J.O., E.J. Pavlik., G.L. Smith III., G.M. Burghardt y P.B. Coulson. 1976. Species-Characteristic Responses to Catnip by Undomesticated Felids. ***Journal of Chemical Ecology***. 2(2): 239-253.

39. Müller-Schwarze, D., R.M. Silverstein, C. Müller-Schwarze., A.G. Singer y N.J. Volkman. 1976. Response to a Mammalian Pheromone and its Geometric Isomer. ***Journal of Chemical Ecology***. 2(3): 389-398.

40. Preti, G., E.L. Muetterties., J.M. Furman., J.J. Kennelly y E.B.Johns. 1976. Volatile Constituents of Dog (***Canis familiaris***) and Coyote (***C. latrans***) Anal Sacs. ***Journal of Chemical Ecology***. 2(2):177-186.

41. Albone, E.S. y G.C. Perry. 1975. Anal Sac Secretion of the Red Fox, ***Vulpes vulpes***; Volatile Fatty Acids and Diamines: Implications for a Fermentation Hypothesis of Chemical Recognition. ***Journal of Chemical Ecology***. 2(1): 101-111.

42. Tucker, A.O., and S. S. Tucker. 1988. Catnip and catnip response. ***Economic Botany***. 43: 214-231.

43. Navarro, O.A. 1991. Empleo de los Productos Naturales como Fuente de Intermediarios Sintéticos (Boschnalósido). Tesis de Maestría. Fc. Química, UNAM. México, D.F. 91 pp.

44. Nicoletti, M. 1989. Iridoids. ***Rev. Latinoamer. Quim.*** Suppl. 1: 133-159.

45. Briggs, L.H., B.F. Cain y P.W. Le Quesne. 1963. The structure of Asperuloside. ***Tetrahedron Letters***. 2: 69-74.

46. Cronquist, A., 1968. The evolution and clasification of flowering plants. Houghton Meflin. Boston. p. 315-319.

47. López, V.N. 1995. Aislamiento y Transformación de Iridoides Glícosídicos de ***Lamourouxia dasyantha***. Tesis de Licenciatura. Fc. Química, UNAM. México, D.F. 80 pp.

48. Waller, G.R. 1970. Metabolism of plant terpenoides. Progress in the Chemistry of Fats an other Lipids. Holman, R.T. (eds.). Oxford-London. Pergamon Press. Vol. X. p. 151-238.

49. Davini, E. 1991. Synthesis of Bioactive Compound Intermediates from Chiral Natural Precursors. ***Research Paper***. 9: 41-47.

50. Wysokinska, H. y Z. Skrzypek. 1992. Studies on Iridoids of Tissue Cultures of ***Penstemon serrulatus***: Isolation and their Antiproliferative Properties. ***Journal of Natural Products***. 55(1):58-63.

51. Isiguro, K., M. Yamaki., S. Takagi., Y. Ikeda., K. Kawakami., K. Ito y T. Nose. 1986. Studies on Iridoid-related Compounds. IV. Antitumor Activity of Iridoid Aglycones. ***Chem. Pharm. Bull.*** 34(6): 2375-2379.

52. Jolad, S., J.J. Hoffman., R.M. Wiedhopf y J.R. Cole. 1976. Antitumor Agent from ***Penstemon deutus***. ***Tetrahedron Letters***. 46: 4119-4120.

53. Davini, E., C. Iavarone., C. Trogolo., P. Aureli y B. Pasolini. 1986. The Quantitative Isolation and Antimicrobial Activity of the Aglicone of Aucubin. ***Phytochemistry***. 25(10): 2420-2422.

54. Lanhers, M.C., J. Fleurentin., F. Mortier., A. Vinche y C. Younos. 1992. Anti-Inflammatory and Analgesic Effects of an Aqueous Extract of ***Harpagophytum procumbens***. ***Planta Medica***. 58: 117-123.

55. Recio, M.C., R.M. Giner., S. Máñez., y J.L. Ríos. 1994. Structural Considerations on the Iridoids as Anti-Inflammatory Agents. ***Planta Medica***. 60: 232-234.

56. Toda, S., T. Miyase., H. Arichi., H. Tanizawa y Y. Takino. 1985. Natural Antioxidants. II. Antioxidative Components Isolated from Seeds of ***Plantago asiatica*** Linne. ***Chem Pharm Bull.*** 33: 1270-1273.

57. Cuendet, M., K. Hostettmann y O. Potterat. 1997. Iridoid Glucosides with Free Radical Scavening Properties from ***Fagraea blumei***. ***Helvetica Chimica Acta***. 80: 1144-1152.

58. Stermitz, F.R., D.R. Gardner y N. McFarland. 1988. Iridoid Glycoside Sequestration by two Aposematic ***Penstemon***-Feeding Geometrid Larvae. ***Journal of Chemical Ecology***. 14(2): 435-441.

59. Franke, A., H. Rimpler y D. Schneider. 1987. Iridoid Glycosides in the Butterfly ***Euphydryas cynthia*** (Lepidoptera, Nymphalidae). ***Phytochemistry***. 26(1): 103-106.

60. Stermitz, F.R., R. Dale., Gardner, F., J. Ordendaal y P.R. Ehrlich. 1986. ***Euphydryas anicia*** (Lepidoptera: Nymphalidae) of Utilization Iridoid Glycosides from ***Castilleja*** and ***Besseya*** (Scrophlariaceae) Host Plants. ***Journal of Chemical Ecology***. 12(6): 1459-1468.

61. Bowers, M.D. y G.M. Puttick. 1986. Fate of Ingested Iridoid Glycosides in Lepidopteran Herbivores. ***Journal of Chemical Ecology***. 12(1): 169-177.

62. Stermitz, F.R., S.A. Abdel-Kader., T.A. Foderaro y M. Pomeroy. 1994. Iridoid Glycosides from some Butterflies and their Larval Food Plants. ***Phytochemistry***. 37(4): 997-999.

63. Lorenz, M., W. Boland y K. Dettner. 1993. Biosynthesis of Iridodials in the Defense Glands of Beetle Larvae (Crysomelinae). ***Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*** 32(6): 912-914.

64. Pieretti, S. 1991. Iridoid Reactivity With Amino Acids. Preliminary Results and Use For Specific Detection. ***Rev. Latinoamer. Quim.*** 22/1: 35-36.

65. Teborg, D. y P. Junior. 1991. Iridoid glucosides from ***Penstemon nitidus***. ***Planta Medica***. 57: 184-186.

66. Teborg, D. y P. Junior. 1989. Martynoside and the Novel Dimeric Open-Chain Monoterpene Glucoside Digipenstroside from ***Penstemon digitalis***. ***Planta Medica***. 55: 474-476.

67. Köning, M. y K. Seifert. 1995. Iridoid Glucosides from ***Penstemon ovatus***. ***Planta Medica***. 61: 82-83.

68. Gering-Ward, B. y M. Wichtl. 1988. Iridoids from ***Penstemon richardsonii***. ***Planta Medica***. 452-453.

69. Stermitz, F.R., A., Blokhin., C.S. Poley y R.E. Krull. 1994. Iridoid Glycosides of additional ***Penstemon*** species. ***Phytochemistry***. 37(5): 1283-1286.

70. Gering, B., P. Junior y M. Wichtl. 1987. Iridoid Glycosides from ***Penstemon confertus***. ***Phytochemistry***. 26(11): 3011-3013.

71. Gering, B. y M. Wichtl. 1987. Phytochemical Investigations on ***Penstemon hirsutus***. ***Journal of Natural Products***. 50(6): 1048-1054.

72. Arslanian, R.L., T. Anderson y F.R. Stermitz. 1990. Iridoid Glucosides of ***Penstemon ambiguus***. ***Journal of Natural Products***. 53(6): 1485-1489.

73. Murai, F. y M. Tagawa. 1980. The Absolute Configuration of Boschnaloside and the Chemical Conversion of Genipin into Boschnaloside. ***Chem. Pharm. Bull.*** 28(6): 1730-1735.

74. Lira-Rocha, A., R. Díaz y M. Jiménez. 1987. Iridoids and Phenilpropanoid Glycoside from ***Penstemon roseus***. ***Journal of Natural Products***. 50(2): 331-332.

75. Eisner, T. 1964. Catnip: Its Raison d'être. ***Science***. 146: 1318-1320.

76. McElvain, S.M., R.D. Bright y P.R. Johnson. 1941. The Constituents of the Volatile Oil of Catnip. I Nepetalic Acid, Nepetalactone and Related compounds. ***Journal of American Chemical Society***. 63: 1558-1563.

77. Waller, G.R., G.H. Price y E.D. Mitchess. 1969. Feline attractans, *cis*, *trans*-Nepetalactone: Metabolism in the Domestic Cat. ***Science***. 164:(3885): 1281-1283.

78. Sakan, T., S. Isoe., S.B. Hyeon., R. Katsumura y T. Maeda. 1965. The Exact Nature of Matatabilactone and the Terpenes of ***Nepeta cataria***. ***Tetrahedron Letters***. 46: 4097-4102.

79. Eisenbraun, E.J., C.E. Browne., R.L. Irvin-Willis., D.J. McGurck., E.L. Eliel, y D.L. Harris. 1980. Structure and Stereochemistry of 4aβ, 7α, 7aβ-Nepetalactona from ***Nepeta mussini*** and its Relationship to the 4aα, 7α, 7aα- and 4aα, 7α, 7aβ-Nepetalactones from ***N. cataria***. ***J. Org. Chem.*** 45: 3811-3814.

80. De Pooter, H.L., B. Nicolai., L.F. De Buyck., P. Goetghebeur y N.M. Schamp. 1987. The Essential Oil of ***Nepeta nuda***. Identification of a New Nepetalactone Diastereoisomer. ***Phytochemistry***. 26(8): 2311-2314.

81. Bottini, A.T., V. Dev., D.J. Garfagnoli., H. Lohani., C.S. Mathela. 1987. (7R)-*Trans*, *Trans*-nepetalactone from ***Nepeta elliptica***. ***Phytochemistry***. 26(4): 1200-1202.

82. Bellesia, F., R. Giandi., U.M. Pagnoni., A. Pinetti y R. Trave. 1984. Biosynthesis of Nepetalactone in ***Nepeta cataria***. ***Phytochemistry***. 23(1): 83-87.

83. Maldoni, B. 1991. Alkaloids: Isolation and Purification. ***Journal of Chemical Education.*** 68(8): 700-703.

84. **Wolinsky, J.** y E.J. Eustace. 1972. Synthesis of the Dihydronepetalactones. ***Journal of Organic Chemical.*** 37(21): 3376-3378.

85. Ficini, J. y J. d'Angelo. 1976. Synthese De La (±) Isodihydronepetalactone Et De Deux de Ses Diastereoisomeres. ***Tetrahedron Letters***. 9: 687-690.

86. Kigawa, M., M. Tanaka., H. Mitsuhashi y T. Wakamatsu. 1992. Synthesis of Iridolactones Isolated from ***Silver vine***. ***Heterocycles***. 33(1): 117-120.

87. Lee, E. y C.H. Yoon. 1994. Stereoselective Favorskii Rearrangement of Carvone Chlorohydrin; Expediente Synthesis of (+) Dihydronepetalactone and (+) Iridomyrmecin. ***Journal of Chemical Communication***: 479-481.

88. Pelletier, S.W. 1983. Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives. Vol. I. Wiley, N.Y. p. 1-33.

89. Herrera, R.L., R.R. Miranda., C.J.G. Penieres y B.B. Velasco. 1995. Nomenclatura Sistematizada en Química Heterocíclica. U.N.A.M. México, D.F. 93 pp.

90. Katritzky, A. 1984. Comprehensive Heterocyclic Chemistry. Vol. 2. Pergamon Press. Great Britain. p. 169-398.

91. Sakan, T., F. Murai., Y. Hayashi., Y. Honda., T. Shono., M. Nakajima y M. Kato. 1967. Structure and Stereochemistry of Boschniakine, Boschnialactone, and Boschnialinic Acid; An Oxidation Product of Boschnialactone. ***Tetrahedron.*** 23: 4635-4652.

92. Wuest, J.D., A.M. Madonik y D.C. Gordon. 1977. Synthesis de (+) Actinidine. ***J. Org. Chem.*** 42(12):2111-2113.

93. Marekov, N.L., S.S. Popov y N.V. Handjieva. 1984. Chemistry and Biotechnology of Biologically active Natural Products. Chemistry of Pharmaceutically Important Cyclopentane Monoterpenes from some ***Valeriana*** Plants:. Ed. Cs. Szanfay. Elsevier. p. 113-329.

94. Frederiksen, S. M. y F.R. Stermitz. 1996. Piridine Monoterpene Alkaloid Formation from Iridoid Glycosides. A novel PMTA Dimer from Geniposide. ***J. Nat Prod***. 59: 41-46.

95. M.R. Roby y F.R. Stermitz. 1984. Penstemonoside and other Iridoids from Castilleja rhexifolia. Conversion of Penstemonoside to the Pyridene Monoterpene Alkaloid Rhexifoline. ***Journal of Natural Products***. 47(5): 854-857.

96. Cavill, G.W.K. y A. Zeitlin. 1967. Sinthesis of D(+) Tecostidine and Related Actinidine Derivates. ***Aust. J. Chem.*** 20: 349-357.

97. Popov, S.S., N.L. Marekov y T.N. Do. 1988. In Vitro Transformations of Gentiopricoside and Swertiamarin. ***Journal of Natural Products***. 51(4): 765-768.

98. Cavil, G.W.K., D.L. Ford y D.H. Solomon. 1960. A Synthesis of Alkylpyridines. ***Aust. J. Chem.*** 1960. 13: 469-472.

99. Chumakov, Y.I. y V. P. Sherstyuk. The Synthesis of the Fusarinic Acid, Its Isomers and Homologues. ***Tetrahedron Letters***. 1965. 2: 129-135.

100. Stermitz, F.R. 1988. Biologically Active Natural Products. Cap. 26. Iridoid Glycosides and Aglycones as Chiral Synthons, Bioactive Compounds, and Lepidopteran Defenses. American Chemical Society. p. 397-402.

101. Davies, S.G. 1986. Asymmetric Synthesis: Prospects for Industry. ***Chemistry and Industry***: 506-509.

102. Ohba, M., T. Haneishi, y T. Fujii. 1995. Synthesis of Several Ciclopentano-Monoterpene Lactones Using 1,3-Dioxin Vinylogous Ester. ***Chem. Pharm. Bull.*** 43(1): 26-31.

103. Brown, T.R. y M.J. Ford. 1990. A Symmetryc Total Synthesis of Alkaloids and Secoiridoids. ***Tetrahedron Letters***. 31(14): 2033-2036.