

44
2ci



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

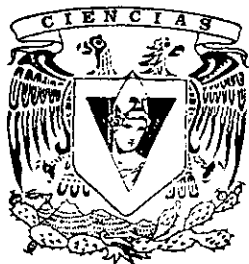
ESTUDIO QUIMICO Y ACTIVIDAD INSECTICIDA DE
Hippocratea excelsa HBK e *Hippocratea celastroides*
HBK (Hippocrateaceae)

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 ;
ELIZABETH CRISTOBAL TELESFORO

DIRECTOR DE TESIS: DR. RICARDO REYES CHILPA

1998



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

TESIS CON
FOLIO DE CUBIERTA

262325



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

"Estudio químico y Actividad insecticida de Hippocratea
excelsa HBK e Hippocratea celastroides HBK (Hippocrateaceae)"

realizado por Cristóbal Telésforo Elizabeth

con número de cuenta 8923621-1 , pasante de la carrera de Biología

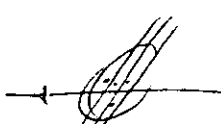

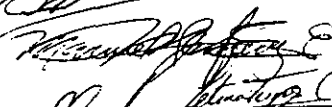
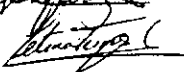

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis Propietario	Dr. Ricardo Reyes Chilpa
Propietario	Dra. Ana Luisa Anaya Lang
Propietario	Dr. Manuel Jiménez Estrada
Suplente	Biol. Leticia M. Torres Colín
Suplente	M. en C. Arturo Navarro Ocaña


Consejo Departamental de Biología

M. en C. Alejandro Martínez Mena
Coordinador





FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DEPARTAMENTO DE...

Agradecimientos

Quiero agradecer a los doctores Ricardo Reyes Chilpa y Manuel Jiménez Estrada por su dirección en esta investigación, por su paciencia y apoyo.

Este trabajo fué realizado gracias al apoyo de Beca de la Dirección General de Asuntos del Personal Academico en el proyecto No. IN214996.

Agradezco a la Biol. Leticia Torres Colín del Instituto de Biología por la identificación de la planta.

Al M.C. Miguel Angel Villavicencio, Quím. Blanca Estela Pérez Escandón y al Quím. Alfredo Ramírez Aguirre por el apoyo prestado en la realización de las pruebas biológicas.

A el programa "Economic Botany in Latin America and the Caribbean -PREBELAC-" de THE NEW YORK BOTANICAL GARDEN por la beca otorgada.

A todos los compañeros de laboratorio 2-8, que de alguna u otra forma, me apoyaron en la realización de la presente investigación.

Especialmente a Elna, María del Carmen y Cecilia, las mejores amigas que he podido encontrar, gracias por su apoyo y sincera amistad.

A los compañeros de mi generación 92-95, con gran cariño a todos.

Al único y sabio Dios

A Juan Cristóbal Jiménez y Dalila Telésforo González, mis padres, quienes gracias a su gran amor y apoyo hicieron posible mi formación profesional.

Gustavo, Angélica y Rocío, gracias a ellos por su entusiasmo e interés en todo lo que realice.

A Héctor, el gran amor de mi vida, gracias a tí, he llegado al término de este trabajo, gracias por todo lo que me has dado, por tu inmenso amor, comprensión y paciencia .

Esta tesis se realizó en el Laboratorio 2-8, del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México bajo la asesoría de los doctores Ricardo Reyes Chilpa y Manuel Jiménez Estrada.

ABREVIATURAS

C.C.F.	Cromatografía en capa fina
C.C.	Cromatografía en columna
EMIE	Espectrometría de masas por impacto electrónico
EMIQ	Espectrometría de masas por ionización química
IAA	Indice de actividad antialimentaria
IR	<i>Infrarrojo</i>
MC	Mortalidad corregida
p.f.	Punto de fusión
Rf	Frente de referencia
RMNP	Resonancia magnética nuclear de protón (^1H)
RMNC	Resonancia magnética nuclear de carbono (^{13}C)
RX	Defracción de rayos X
UV	Ultravioleta

	INDICE	Pag.
RESUMEN		
INTRODUCCION		1
ANTECEDENTES		3
A.- METODOS PARA EL CONTROL DE PLAGAS		3
B.- PRINCIPALES PLAGAS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DEL MAIZ		4
C.- <i>Sitophilus zeamais</i> "EL GORGOJO DEL MAIZ"		5
1.-Ciclo de Vida de <i>S. zeamais</i>		5
2.-Características del daño		8
D.- LAS PLANTAS COMO FUENTE DE INSECTICIDAS		8
1.-Plantas insecticidas de México		12
E.- <i>Hippocratea excelsa</i> e <i>H. celastroides</i>		12
1.-Etnobotánica		12
2.-Clasificación Botánica		13
3.-Cuadro comparativo de <i>Hippocratea excelsa</i> e <i>Hippocratea celastroides</i>		14
F.- ESTUDIOS BIOLOGICOS Y QUIMICOS DE LA FAMILIA HIPPOCRATEACEAE		15
G.METABOLITOS DE ORIGEN VEGETAL CON ACTIVIDAD TOXICA Y/O ANTIALIMENTARIA CONTRA INSECTOS		16
1.-Productos naturales con actividad antialimentaria		18
2.-Triterpenos		18
3.-Propiedades biológicas de los triterpenos		19
METODOLOGIA		21
1.-Material Vegetal		21
2.-Instrumentación		21
3.- <i>Hippocratea excelsa</i>		
Extracción		22
Aislamiento y purificación de compuestos		22

4.- <i>Hippocratea celastroides</i>	
Extracción	23
Aislamiento y purificación de compuestos	24
5.-Pruebas biológicas	28
RESULTADOS	29
A.-Análisis químico de <i>Hippocratea excelsa</i> e <i>Hippocratea celastroides</i>	29
B.-Actividad biológica de <i>H. excelsa</i> e <i>H. celastroides</i>	36
DISCUSION	40
CONCLUSIONES	43
BIBLIOGRAFIA	44
ESPECTROS	51

RESUMEN

Hippocratea excelsa HBK e *Hippocratea celastroides* HBK, (Hippocrateaceae), son utilizadas en México en la medicina tradicional y también como insecticidas. Se ha demostrado que la corteza de la raíz de *H. excelsa* (cancerina) posee actividad insecticida contra la plaga de granos almacenados *Sitophilus zeamais*. Los extractos de las raíces (eter de petróleo, diclorometano, acetona, metanol y agua) así como varios compuestos fueron examinados al 1% mediante pruebas de alimentación obligada con *S. zeamais*. Todos los extractos de la cancerina redujeron la alimentación del insecto (68-93%) e incrementaron la mortalidad (21-68%). El extracto de hexano fué el más tóxico y se sometió a cromatografía. Se aislaron los triterpenos: friedelina, β -sitosterol, canofilol y pristimerina. La pristimerina resultó un potente inhibidor de la alimentación (89.2%) con baja mortalidad (16%). La friedelina y el β -sitosterol sólo redujeron la alimentación en 30 y 22% respectivamente y el canofilol resultó inactivo.

Todos los extractos de *H. celastroides* presentaron baja o nula mortalidad (menor de 12%), pero cuatro de ellos disminuyeron la alimentación en 44-73%. El extracto eter de petróleo así como el de diclorometano se sometieron a cromatografía en columna obteniéndose dos compuestos mayoritarios, y su estructura molecular fue propuesta con base a sus datos espectroscópicos y corresponden a compuestos no descritos previamente, a los cuales se les denominó celastroidina A y celastroidina B. El primer compuesto disminuyó la alimentación en un 88.7% y ambos compuestos presentaron baja mortalidad. El extracto acuoso fué inactivo, sin embargo, uno de sus componentes, el galactitol redujo en un 33% la alimentación.

INTRODUCCION

La conservación de los granos alimenticios ha sido motivo de preocupación para el hombre por su significado en la dieta humana y por la necesidad de resguardarlos contra el peligro que significa su aprovechamiento por sus demás competidores. El método que comúnmente se utiliza para proteger los cultivos y los granos almacenados del ataque de insectos es el químico, pero recientemente los insecticidas han sido objeto de innumerables críticas, principalmente por sus efectos adversos (Ramírez, 1982) como:

- 1.- El envenenamiento directo de los humanos y el peligro que representan los residuos de productos químicos que quedan en los alimentos.
- 2.- El riesgo de contaminación general del ambiente.
- 3.- El desarrollo de resistencia a los plaguicidas en insectos.

Estos hechos han obligado a reflexionar sobre las ventajas de utilizar otros productos con propiedades insecticidas que no causen contaminación. Además de que sean económicos, y fáciles de aplicar. Una alternativa lo constituye el uso de plantas como agentes insecticidas.

Existen plantas que sintetizan sustancias naturales que pueden actuar como repelentes o inhibidores del crecimiento, desarrollo y alimentación de los insectos. El conocimiento sobre estas plantas es muy antiguo y todavía son utilizadas tanto en México como en el mundo.

Dentro de ésta investigación, se estudió como una alternativa el uso de extractos y compuestos así como polvos de diferentes partes vegetales de dos especies de la familia Hippocrateaceae: *Hippocratea excelsa* e *Hippocratea celastroides* utilizadas ambas en la medicina tradicional y que gozan de reputación como insecticidas.

Las propiedades insecticidas atribuidas a *H. excelsa* ("cancerina") fueron primeramente probadas por un grupo de investigadores mexicanos, hace varios años. La "cancerina" mostró buena actividad antialimentaria contra las plagas de granos almacenados como son *Acanthocelides obtectus*,

zeamais (Lagunes y Rodríguez, 1990). Arenas en 1984 realizó un estudio bibliográfico sobre 1169 plantas pertenecientes a 159 familias con efectos tóxicos para 112 especies de artrópodos, donde incluye a la familia Hippocrateaceae.

Sitophilus zeamais es considerada como una de las más importantes plagas dentro de las treinta especies de insectos que atacan el maíz almacenado en México. Se ha estimado que las plagas de granos almacenados pueden reducir hasta en un 25% las existencias (Ramírez, 1982). Los principios activos de las raíces de *H. excelsa* y *H. celastroides* contra *S. zeamais* no han sido determinados por lo tanto decidimos investigarlos.

Objetivos:

Evaluar la actividad insecticida de los extractos (eter de petróleo, diclorometano, acetónico, metanólico y acuoso) de *Hippocratea excelsa* e *H. celastroides* contra el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais*.

Aislar e identificar los compuestos activos responsables de la actividad insecticida.

ANTECEDENTES

A.- METODOS PARA EL CONTROL DE PLAGAS

La importancia del control de plagas es obvia por los daños que causan a las plantas cultivadas en las diferentes fases de su desarrollo. Prácticamente existe peligro de daños parciales o totales, en casos extremos, desde el momento en que la semilla es colocada en el suelo al sembrar, hasta la época de la cosecha. Los diferentes métodos de control de plagas se enumeran a continuación:

I.- Métodos mecánicos. En sus orígenes, el control de las plagas fué muy simple, pues el hombre se valía de sus dedos para desprenderse los piojos de su cuerpo, método que siguió aplicando cuando trató de eliminar los insectos que atacaban sus cultivos, hasta que la intensidad de la plaga fué muy grande. Cuando las plantas presentaban ataque de hongos, éstas eran arrancadas a mano para destruirlas y así eliminar la enfermedad. Otros de los procedimientos mecánicos de combate es el empleo de trampas de otros tipos para atrapar tanto insectos como roedores.

II.- Métodos físicos. El combate físico, es aquel en el que intervienen medios físicos, tales como el calor, el frío, la esterilización por el agua caliente y el vapor. El empleo de agua a presión y las inundaciones como en el caso del control de los roedores.

III.- Métodos Culturales. Son parte integral de una herencia cultural y religiosa de la gente, son técnicas sencillas en las que intervienen el desarrollo de variedades de plantas resistentes, el empleo de cultivos trampa, el aumento de vigor de las plantas, la rotación de cultivos, las labores necesarias para la siembra como son: barbechos, rastreado y pulverización del suelo, etc.

IV.- Métodos químicos. Son los que se realizan mediante la aplicación a los cultivos o productos cosechados, de sustancias químicas sintéticas o naturales. En la destrucción de las plagas agrícolas por medios químicos intervienen una gran variedad de sustancias químicas, las que se utilizan solas, o bien, en forma de mezclas, presentándose tanto en forma sólida (povos) como en forma líquida (concentrados emulsificables

formadores de depósitos residuales y soluciones concentradas de contacto). Estas últimas, necesitan para ser efectivas, que los insectos se encuentren presentes en el momento de su aplicación, al igual que las sustancias que se aplican tanto en forma sólida como líquida y que pasen al estado gaseoso durante o después de su aplicación, así como los gases (fumigantes).

V.- Métodos Biológicos. Muchas plagas de insectos son atacadas y destruidas por otros insectos, ácaros o también por enfermedades causadas por hongos, bacterias y virus. El aislamiento y cultivo de estos parásitos y depredadores en laboratorios adecuados, así como su liberación y propagación en las zonas plagadas, constituye el método de combate biológico artificial.

Todos los métodos se utilizan en mayor o menor medida. Sin embargo es probable que el empleo de insecticidas sistémicos unidos al método biológico artificial, sea en el futuro uno de los mejores procedimientos para la destrucción de las plagas agrícolas (Ramírez, 1982). Dentro de este contexto es necesario desarrollar nuevos plaguicidas de menor riesgo al ambiente y a la salud humana, para lo cual se pueden utilizar como modelos sustancias insecticidas producidas por las plantas.

B.-PRINCIPALES PLAGAS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DEL MAIZ

El maíz en el almacén es atacado por diversos organismos entre los que se incluyen: roedores, ácaros, hongos e insectos. El grano es dañado por una gran variedad de insectos que se clasifican en primarios y secundarios. Dentro de los insectos primarios se incluyen todos aquellos que son capaces de romper la semilla para llegar al endospermo del cual se alimentan. Este grupo de insectos es el que mayor daño causa en el maíz en el almacén, ya que sus actividades destructivas facilitan la existencia del segundo grupo, los cuales no son capaces de iniciar el ataque rompiendo el grano. Los insectos primarios que atacan a el maíz están agrupados en general en los órdenes Coleoptera y Lepidoptera (Díaz 1985).

C.- *Sitophilus zeamais* "EL GORGOJO DEL MAIZ"

Clasificación, origen, distribución y hospederas.

La clasificación de *Sitophilus zeamais* de acuerdo a Borr. *et al.* (1981) es como sigue:

Phylum Arthropoda
 Subphylum Uniramia
 Clase Insecta
 Subclase Pterygota
 Orden Coleoptera
 Suborden Polyphaga
 Superfamilia Curculionoidea
 Familia Curculionidae
 Subfamilia Calendrinae
 Género y especie *Sitophilus zeamais*

No existe seguridad acerca del centro de origen del gorgojo del maíz, pero se considera como un insecto originario de la India y ha sido ampliamente diseminado a través del movimiento comercial de productos. Es normal encontrarlo en zonas tropicales, subtropicales y también en ambientes templados. Este insecto (Fig. 1), a pesar de tener una alta preferencia por el maíz, ha demostrado capacidad para atacar el sorgo y otros cereales (Aguilera, 1991).

1.-Ciclo de Vida de *S. zeamais*

El ciclo de vida de *S. zeamais* (Fig. 2) tiene una duración promedio de 36.5 días (27° C y 70% de humedad relativa). En México se encontró una duración promedio de 40, 41 y 45 días en condiciones de laboratorio, almacén y campo respectivamente (Aguilera, 1991).

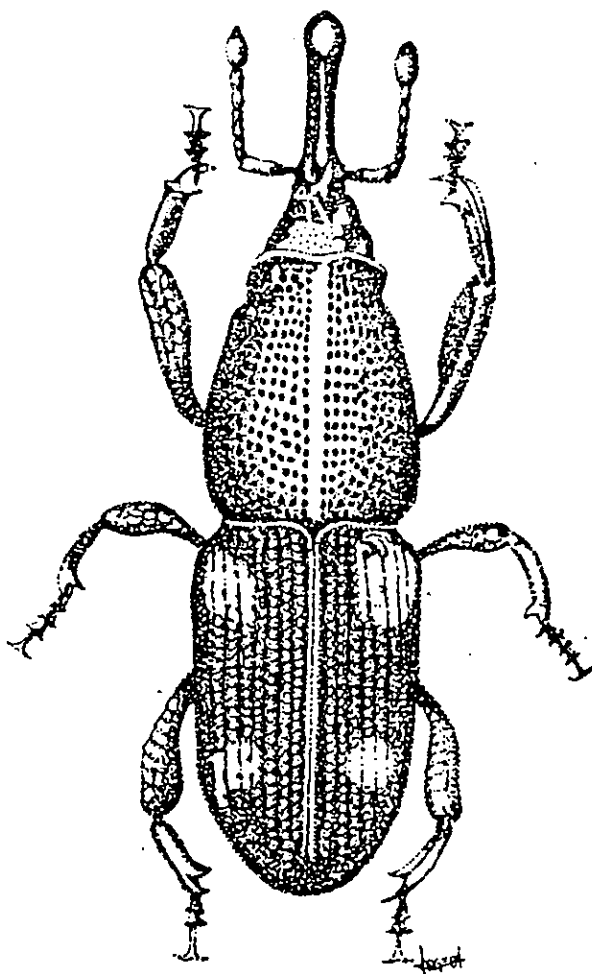


Fig. 1.- *Sitophilus zeamais* (Aguilera, 1991)

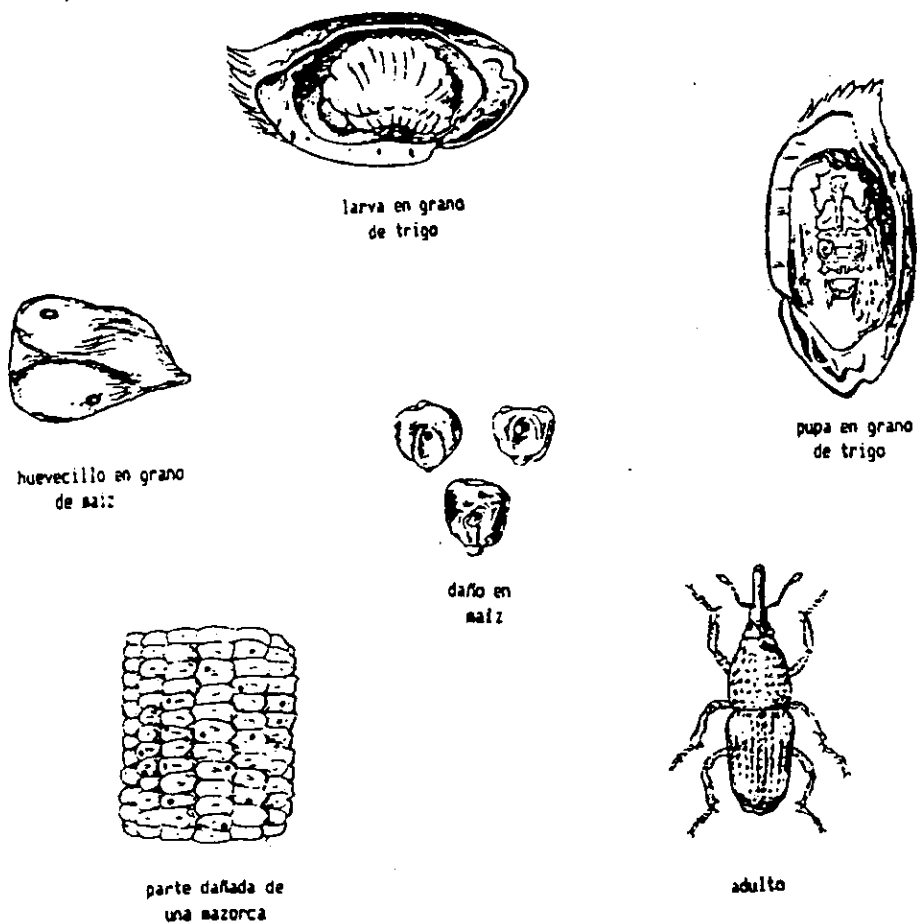


Fig. 2.- Ciclo de Vida de *Sitophilus zeamais* (Aguilera, 1991)

La hembra, produce de 300 a 500 huevecillos durante toda su vida y alcanza su máxima producción 3 a 4 semanas después de la emergencia; la ovoposición en los granos se dá luego de hacer una excavación la cual le permite colocar el huevo en la parte media; posteriormente, las hembras descargan un tapón de material gelatinoso sobre el sitio donde es colocado el huevo. Esta sustancia gelatinosa queda nivelada con la superficie del grano y se seca en un corto tiempo al entrar en contacto con el aire. El período de incubación es de 3 a 5 días. Las larvas pasan por 4 estadios en el interior del grano donde se alimentan haciendo galerías, las cuales algunas veces son visibles a través de la testa de éste. En el último estadio las larvas mediante sus desechos y la producción de secreciones elaboran una cámara pupal. Este estado pupal tiene una duración de 18 a 21 días y una vez que el adulto emerge no sale inmediatamente al exterior sino que dura de 4 a 5 días alimentándose dentro del grano (Castro, 1991; Aguilera, 1991)

2.-Características del daño

El adulto de *S. zeamais* tiene dos hábitos de alimentación: algunas veces penetra el pericarpio provocando agujeros irregulares y alcanza a consumir parte de la superficie del endospermo; en otras ocasiones, penetra profundamente en éste haciendo grandes tuneles; cuando existen infestaciones severas, conjuntamente con las larvas, son capaces de consumir todo el endospermo y dejar solamente la cáscara. Las larvas son muy voraces, por lo tanto son las causantes del mayor daño. (Díaz, 1985)

Ramírez (1982) considera que los insectos de almacén provocan contaminación debido a las excretas. Además su respiración junto con la de los granos, induce un incremento en la temperatura propiciando la proliferación de hongos que producen toxinas capaces de ocasionar trastornos digestivos, respiratorios y nerviosos en los organismos que las ingieren. Ambos daños afectan la calidad, el poder germinativo y el valor económico de los granos.

D.- LAS PLANTAS COMO FUENTE DE INSECTICIDAS

Los insecticidas de origen vegetal están considerados dentro de la primera generación de plaguicidas, ya que su uso como tal se remota a siglos antes de la era cristina (Jacobson y Crosby 1971). Los romanos

dividieron los venenos en tres grupos: animales, vegetales y minerales. En el año 470 a.c., Demócrito en sus escritos recomendó rociar las plantas con el líquido extraído de la preparación del aceite de olivo para detener el ataque de las orugas, que se adherían a las raíces (Costa *et al.*, 1974). La práctica del tratamiento de semillas con plantas insecticidas también es muy antigua. A pesar de existir muchas plantas con actividad tóxica contra insectos, desde el punto de vista comercial sólo se han aprovechado algunas como la *Ryania*, *Schoenocaulon officinale*, *Derris*, *Lonchocarpus*, *Chrysanthemum* y *Nicotiana tabacum* (Lagunes y Rodríguez, 1984, Román 1990, Aguilera, 1991). A continuación se enumeran algunas de éstas.

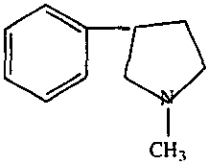
Nicotiana tabacum

El extracto de hoja de tabaco (*Nicotiana tabacum*) ha sido usado en aspersiones para controlar insectos. La nicotina es el alcaloide principal de las hojas del tabaco cuyo contenido está comprendido entre el 0.5 y 3%. De acuerdo con Velez (1988), la nicotina es un insecticida de contacto que destruye los insectos al penetrar en la cutícula y las vías respiratorias, estimulando y deprimiendo la actividad del sistema nervioso, la muerte se presenta en poco tiempo.

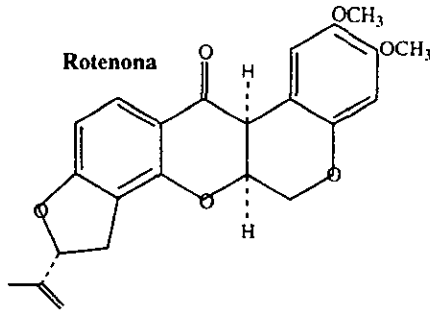
Derris y Lonchocarpus

Desde hace mucho tiempo los nativos del Archipiélago Indio han empleado las raíces machacadas de las plantas del género *Derris* (Leguminosae), arrojándolas dentro de los ríos o lagunas para capturar los peces, procedimiento que también siguen los nativos de algunas regiones tropicales de América. Los jardineros chinos empleaban un cocimiento de *Derris* para el combate de los insectos en sus cultivos de coles y en los árboles de nuez moscada, procedimiento que se ha seguido utilizando hasta la fecha (Velez, 1988). El principio activo es la rotenona, la cual es inocua para las plantas, sumamente tóxica para muchos insectos y relativamente inofensiva para los mamíferos. Su uso es contra insectos picadores-chupadores como pulgones y chinches. Los rotenoides son excelentes para combatir parásitos externos de los animales como pulgas y piojos. También las raíces de diversas especies del género *Lonchocarpus* (género perteneciente a la familia Leguminosae), se han empleado desde épocas prehispánicas en Sudamérica como venenos para pescar y en el combate de insectos y ácaros parásitos de la piel. Al igual que *Derris*, sus principios activos son la rotenona y otros compuestos relacionados conocidos como rotenoides (Haley, 1978).

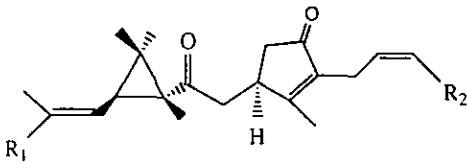
Nicotina



Rotenona

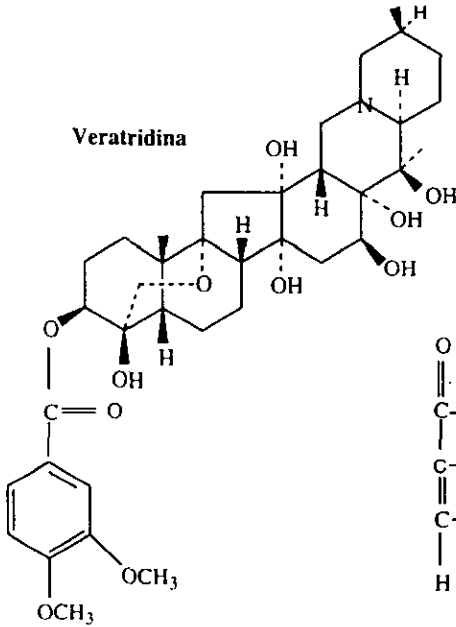


Formula general de las piretrinas



- $R_1 = \text{CH}_3$ (ácido pirético)
- $R_1 = \text{CO}_2 \text{CH}_3$ (ácido crisantémico)
- $R_2 = \text{CH-CH}_2$ (piretrinas I y II)
- $R_2 = \text{CH}_3$ (cinerinas I y II)
- $R_2 = \text{CH}_2 \text{CH}_3$ (jasmolinas I y II)

Veratridina



Veratrina

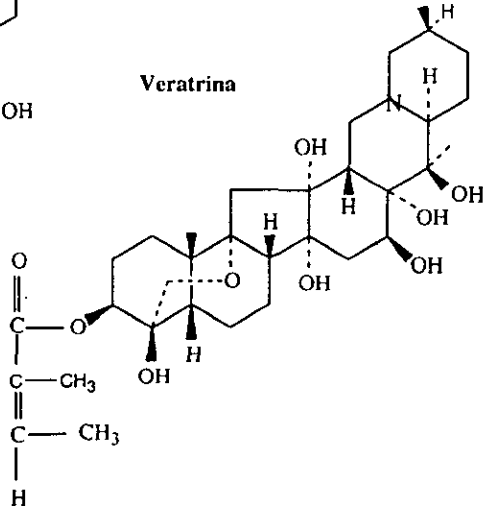


Fig. 3 Compuestos aislados de diferentes plantas

Entre 1930 y 1945 algunas especies de leguminosas como *Derris elliptica* y *Lonchocarpus utilis* se cultivaron a gran escala en el sureste de Asia y la Cuenca Amazónica, respectivamente, a fin de proveer de materia prima (raíces) para la elaboración de polvos y soluciones insecticidas. En su época de oro la producción de raíces con rotenona alcanzó cerca de las 5000 toneladas anuales (Higbee, 1947). La decadencia posterior de este recurso se debió entre otras causas a la invasión japonesa a las zonas productoras de Asia y la aparición de los primeros insecticidas organoclorados (DDT) (Reyes *et al.*, 1991).

Schoenocaulon officinale

Sabadilla es el nombre común de esta planta de la familia Melanthiaceae (Dahlgren *et al.*, 1985) la cual incluye 20 especies distribuidas principalmente en México, Centro y Sudamérica. Las semillas pulverizadas se han empleado durante muchos años como polvos piojicidas por los nativos de Centro y Sudamérica. De esta planta se han extraído una serie de alcaloides llamados veratridina y veratrina, los cuales tanto en polvo como en extracto tienen importancia como insecticidas para el control de hemípteros y homópteros. Estos compuestos actúan como venenos estomacales y de contacto, provocando en los insectos la muerte después de varios días de efectuada la aplicación (Velez, 1988).

Ryania speciosa

Los polvos obtenidos de la molienda de los tallos y raíces de la planta *Ryania speciosa* de la familia Flacourtiaceae que crece en América del Sur, se han utilizado para el combate de algunos insectos. Se emplearon muy frecuentemente alrededor de los años 1940-1950, pero fueron desplazados por los compuestos organoclorados que eran más baratos (Metcalf y Flint, 1985).

Chrysanthemum cinerariaefolium

El uso del piretro (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) como insecticida se remota a tiempos del Rey Jerjes de Persia, cuando se le conocía como polvo de Persia y se supone que se usaba para controlar piojos en humanos. En el siglo XIX fué introducido a Yugoslavia y posteriormente fué llevado a Japón, Africa, y a otras partes de Europa y América (Román, 1990). Sus principios activos son las piretrinas las cuales deben su importancia a su alta toxicidad para artrópodos y baja toxicidad para animales de sangre caliente, por otro lado, repele a ciertos insectos los cuales actúan sobre el sistema nervioso, tiene acción inmediata y sus residuos son de vida corta (Casida, 1973).

Actualmente son los plaguicidas de origen vegetal más utilizados en el mundo para lo cual se siembran grandes extensiones de ésta planta. Algunos derivados sintéticos son también producidos industrialmente y se les conoce como piretroides.

1.-Plantas insecticidas de México

En México, el uso de plantas como insecticidas es muy antiguo. Existen dos referencias de principios de siglo que nos informan del uso de plantas contra la mosca y el gusano de la naranja y mango, así como contra el picudo del algodnero (Román, 1990). En la primera se asperjaban soluciones preparadas con la hierba de la cucaracha *Haplophyton cimidum* y en la segunda se menciona el uso de una solución acuosa de la raíz del chichicamole o sanacoche *Microsechium helleri* para matar lombrices, cochinillas de humedad, babosas, caracoles en jardines y macetas de la ciudad de Toluca.

Actualmente los campesinos continuan empleando diversas plantas para el combate de plagas. En la región de Ixtapan de la Sal, Estado de México, es costumbre intercalar plantas secas de *Artemisa luduviciana* entre costales de maíz para evitar el daño del gorgojo (Arenas, 1984). La semilla de la planta *Trichilia havanensis* conocida como "Xopiltetl" es utilizada en la Sierra Norte de Puebla, en la región de Zacapoaxtla. La pasta que se produce al moler la semilla se aplica para impregnar los granos del maíz durante los tres días que el grano se humedece antes de la siembra. Este tratamiento es considerado efectivo para repeler el ataque de parásitos durante la germinación (Lagunes, 1984).

E.- *Hippocratea excelsa* e *H. celastroides*

Existen algunas plantas con propiedades insecticidas poco conocidas, que representan una esperanza futura para el combate de plagas insectiles sin el eventual problema de contaminación que pueden presentar algunos insecticidas orgánicos modernos. Entre ellas encontramos a las especies: *Hippocratea excelsa* e *H. celastroides*.

Etnobotánica

Hippocratea excelsa

En México es conocida como "cancerina". Se aprovecha la corteza de la raíz preparada en cocimiento, administrado por vía oral para tratar úlceras y por vía local para lavar heridas. Se usa también para combatir el mal olor de los pies y para matar piojos (INI, 1994).

Hippocratea celastroides

En Guatemala se le llama "mata piojo" debido a que con las semillas pulverizadas o los frutos enteros se hace una pasta la cual es aplicada en humanos y en animales domésticos para matar piojos; ésta es una práctica que parece ampliamente distribuida en América Central y México (Standley, 1949). En el Estado de México se utilizan los frutos, como antiparasitario o purgante, para contrarrestar la tos, destruir los ácaros que producen la sarna y como antiséptico o desinfectante (INI, 1994). En Yucatán es utilizada en la medicina tradicional como calmante y en conjunción con su uso como insecticida podría indicar que las semillas contienen algún alcaloide (Standley, 1949). También emplean la hoja en cocimiento para la disenteria o en infusión como tranquilizante (INI, 1994). Soto y Sousa (1995) amplían más la información sobre la forma en que utilizan las semillas de este bejuco leñoso. En Guerrero y Michoacán las semillas tanto de *H. excelsa* como de *H. uniflora* son molidas y amasadas con un poco de agua, para elaborar una pasta que se aplica tópicamente para eliminar piojos y otros ectoparásitos del hombre, también evita la resequedad del cuero cabelludo. Las semillas o las hojas sirven para hacer un cocimiento que los campesinos usan para darse baños tópicos con el fin de matar piojos.

Clasificación Botánica (Cronquist 1988)

División Magnoliophyta

Clase Magnoliopsida

Subclase Rosidae

Orden Celastrales

Familia Hippocrateaceae

Género y especie *Hippocratea excelsa*

Hippocratea celastroides

Cuadro comparativo de las dos especies de *Hippocratea*

	<i>H. excelsa</i>	<i>H. celastroides</i>
Sinonimia	<i>Hemiangium excelsum</i>	<i>Pristimera celastroides</i> <i>H. acapulcensis</i>
Nombre común	Matapijo Cancerina	Barajilla Barajilla prieta
Hábito	Bejuco o trepadora	Trepadoras o lianas
Hojas	Oblongo elípticas a obovadas . Verde olivo	Elípticas u obovoide Verde claro
Inflorescencias	Pániculo corimbosas o cimosas	Paniculo corimbosas o cimosas
Flores	Sépalos verdes, pétalos verdes o verde amarillentos	Sépalos verdes, pétalos verdes o verde amarillentos
Frutos	Cápsula dehiscente Lóbulos del fruto verde amarillentos, unidos hasta la mitad o 2/3 de su longitud	Cápsula dehiscente Lóbulos del fruto verde claros, separados desde la base
Semillas	Aladas	Aladas
Distribución	Chiapas, Durango, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca , Yucatán, Edo. de México, Campeche, Quintana Roo y en Centroamérica.	Campeche, Colima, San Luis Potosi, Sinaloa, Tamaulipas, Puebla, Veracruz, Chiapas, Durango, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Yucatán, Querétaro, Guanajuato y Guatemala.
Vegetación	Bosque tropical caducifolio	Bosque tropical caducifolio

F. ESTUDIOS QUIMICOS Y BIOLOGICOS DE LA FAMILIA HIPPOCRATEACEAE

Arenas (1984) realizó un estudio bibliográfico sobre 1169 plantas pertenecientes a 159 familias con efectos tóxicos para 112 especies de artrópodos, donde incluye a la familia Hippocrateaceae.

Lagunes y Rodríguez (1988) mencionan que los polvos extraídos de la raíz de la cancerina (*Hippocratea* sp.) actúan como un buen insecticida, para combatir el gorgojo pardo del frijol (*Acanthoscelides obtectus*), el barrenador mayor de los granos (*Prostephanus truncatus*), el gorgojo pinto del frijol (*Zabrotes subfasciatus*) y el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*). Los resultados obtenidos fueron prometedores tanto en la mortalidad como en la emergencia. De este estudio se recomendó mezclar un gramo de polvo de raíz de cancerina en un kilogramo de maíz para protegerlo en el almacén de *Acanthoscelides obtectus* y de *Prostephanus truncatus*. En el caso de *Zabrotes subfasciatus* y de *Sitophilus zeamais* de 35 plantas estudiadas sólo *Hippocratea* sp. fué la única que pudo combatir eficazmente las cuatro especies de insectos antes mencionados.

Torres (1989) demostró en su estudio que la cancerina (*Hippocratea excelsa*) 0.25% disminuyó considerablemente la densidad de la población de insectos en el almacén y consecuentemente su daño. En 1990 Román demostró que en evaluaciones de mortalidad a los 15 días en gorgojos, los tratamientos con mejores resultados fueron la *Hippocratea* con un 37% de mortalidad. Además que también puede prevenir la emergencia del gorgojo.

Lagunes y Rodríguez (1990) realizaron una búsqueda de métodos de control del gusano cogollero del maíz y plantearon el uso de extractos acuosos de plantas tóxicas. Se evaluaron 385 especies de plantas, en forma de infusión y macerado, de las cuales en sólo 64 especies se obtuvieron resultados prometedores incluyendo a *Hippocratea* sp. (Hippocrateaceae) tanto en forma de infusión como macerada.

ESTUDIOS QUIMICOS

En 1989 González y colaboradores realizaron un estudio con las hojas de *H. celastroides*, aislando los terpenos, friedelina, epifrielinol, el 3-oxo-lup-20-en-30-ol y el lup-20-en-3 β ,30-diol. Palacios (1989) reportó la obtención del transpoliisopreno y β sitosterol del extracto clorofórmico en *H. excelsa*.

Mata y Calzada (1990) en su estudio de plantas mexicanas de uso tradicional aislaron del extracto metanólico de *H. excelsa* tres alcaloides: Hippocrateína I, Hippocrateína II y Emarginatina A, siendo este tipo de alcaloides los primeros descritos para esta familia. Calzada *et al.* (1991) aislaron del extracto hexánico de la corteza radical de *H. excelsa* los triterpenos friedelina, canofilol, canifilial, y ácido canofílico y cuatro metilquinonas triterpénicas: tingenona, celastrol, pristimerina y excelsina. En 1995 Calzada y Mata obtuvieron del extracto metanólico de la raíz de *H. excelsa* el alcaloide Hippocrateína III y la maiteína. (Fig. 4)

G.-METABOLITOS DE ORIGEN VEGETAL CON ACTIVIDAD TOXICA Y/O ANTIALIMENTARIA CONTRA INSECTOS.

Los metabolitos de las plantas se pueden clasificar en primarias y secundarias. Las primarias son aquellas comunes a todas o casi todas las plantas, juegan un papel importante en el crecimiento y metabolismo de la planta y son necesarias para la continuación de la vida de la misma (carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos).

El segundo grupo de sustancias (metabolitos secundarios) no participan directamente en las funciones vitales de la planta (con algunas excepciones), sino que intervienen en la mediación de interacciones fisiológicas, como por ejemplo en la de defensa contra patógenos y organismos herbívoros. Estos metabolitos son de estructura diversa y tienen una variada distribución dentro de la planta. Se conocen aproximadamente 30,000 metabolitos secundarios de plantas y hongos, entre los que se pueden citar fenoles, alcaloides, terpenos, ligninas, taninos, etc. (Ruberté y Martin, 1975; Edwards y Wratten, 1980; Harbone, 1988)

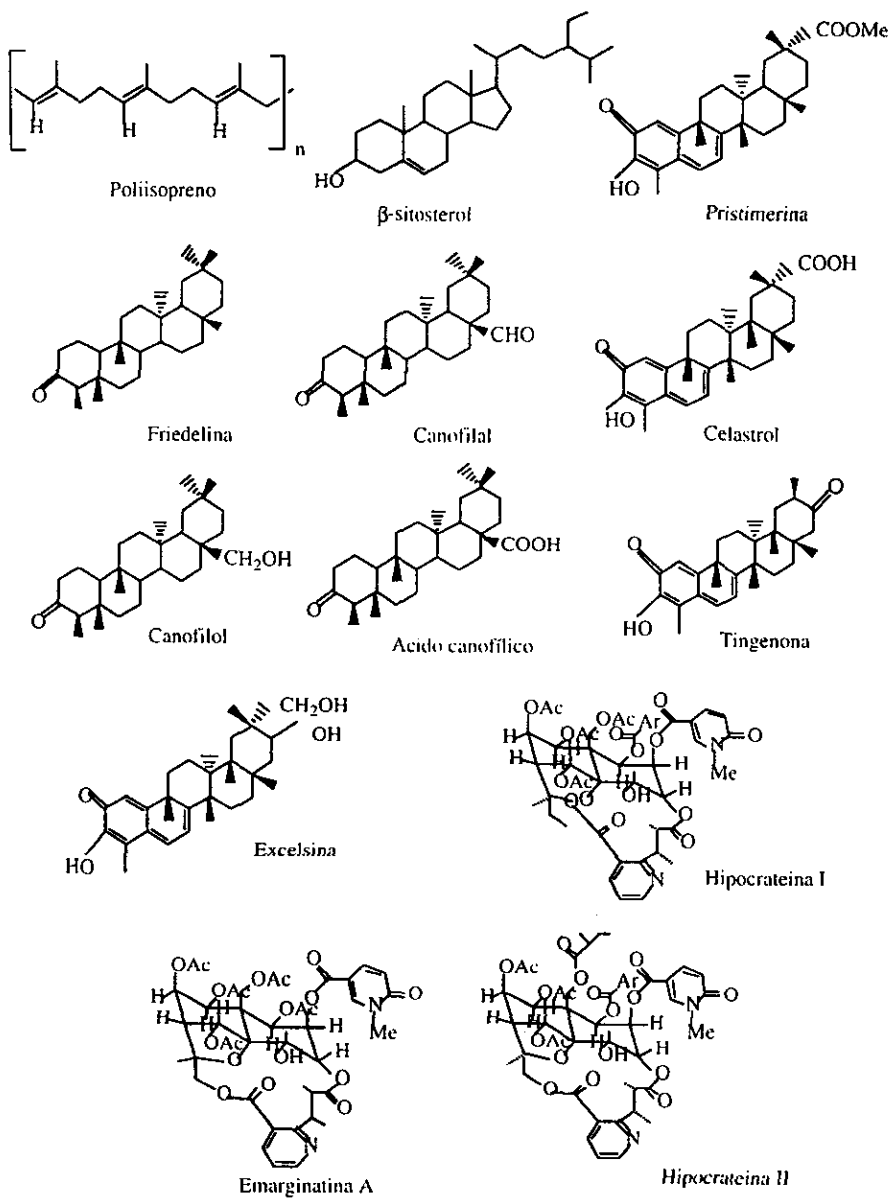


Fig.4.- Metabolitos aislados de *Hippocratea excelsa*.

1.-PRODUCTOS NATURALES CON ACTIVIDAD ANTIALIMENTARIA

Hoy en día la protección de los granos y semillas almacenados, contra las plagas de insectos es un problema relevante para el desarrollo de la agricultura. Los primeros productos naturales utilizados para detener dichas plagas fueron arena, ceniza y sal, los cuales eran espolvoreados en las plantas. El agente ideal que proteja a los granos y semillas deberá ser un compuesto que repele o mate a las plagas y que prevenga que estos puedan desarrollarse o alimentarse de las semillas. No deberán cambiar el sabor o el olor de los productos almacenados ni amenazar el ambiente ni ser tóxico para el consumidor. Los fumigantes e insecticidas de contacto utilizados en el control de plagas en los productos almacenados no cumplen con éstos criterios.

Los compuestos con actividad antialimentaria se definen como factores que inhiben la alimentación o causan la suspensión de la actividad alimenticia, pero no matan a los insectos.

Los metabolitos secundarios con propiedades antialimentarias pueden causar cambios fisiológicos en su desarrollo o en la ovoposición, por ejemplo en el escarabajo *Trogoderma granarium*, se ha observado la prolongación del estado larval y malformación en el estado pupal. Los antialimentarios actúan en el crecimiento y desarrollo del insecto, causan inhibición de la ecdisis (muda) o reducen la fecundidad en las hembras. (Harmatha y Nawrot, 1984; Nawrot *et al.*, 1989; Nawrot y Harmatha, 1994). Dentro de los metabolitos secundarios con actividad antialimentaria se encuentran los triterpenos.

TRITERPENOS

Los triterpenos pertenecen a la familia de los terpenos estos presentan una gran diversidad de estructuras, formadas por unidades repetidas de cinco carbonos (isopentil o isopreno) (Ege, 1994). Los terpenos tienen numerosas aplicaciones, la industria perfumera los aísla de flores, hojas y raíces, para fabricar perfumes de alto valor comercial. Algunos terpenos son intermediarios importantes en síntesis orgánica, otros se usan como disolventes, como es el caso del aguarrás.

Los terpenos se dividen en cinco grupos de acuerdo con el número de unidades de isopreno (C-5) que contenga su molécula. Estos grupos son los siguientes:

- 1.- Monoterpenos (C-10) formados por dos unidades de isopreno.
- 2.- Sesquiterpenos (C-15) formados por 3 unidades de isopreno.
- 3.- Diterpenos (C-20) formados por 4 unidades de isopreno.
- 4.- Sesterterpenos (C-25) formados por 5 unidades de isopreno.
- 5.- Triterpenos (C-30) formados por 6 unidades de isopreno.
- 6.- Politerpenos (C-n) formados por n unidades de isopreno.

Los diferentes tipos de terpenos antes mencionados son metabolitos secundarios de plantas con excepción del grupo de los sesterterpenos, ya que estas sustancias sólo se encuentran en hongos y en el insecto parásito *Ceroplastes albolineatus* (Romo de Vivar, 1985)

PROPIEDADES BIOLÓGICAS DE LOS TRITERPENOS

Los triperpenos poseen diferentes propiedades biológicas como son: actividad antifúngica, alelopática y protección contra herbívoros (mamíferos e insectos).

La actividad antifúngica de 49 triterpenos pentacíclicos (ácido oleanoico, hederagenina) fue probada *in vitro* utilizando *Saccharomyces carlsbergensis*, resultando muy efectivos (Das y Mahota, 1983).

Los triterpenos aislados de las semillas de *Pushia tridentata* (arbusto que se localiza en el oeste de los Estados Unidos), inhibieron la germinación de semillas. Otros triterpenos aislados de *Neamatoloma fasciculares* y *N. membranacea* tienen propiedades inhibitorias en el crecimiento en plantas jóvenes (Das y Mahota, 1983).

Los triterpenos aislados de *Lippia rehmanni* muestran una actividad tóxica sobre conejos. Las cucurbitacinas aisladas de los frutos y de las raíces de plantas de la familia Cucurbitaceae también son tóxicas para mamíferos produciendo una fuerte acción purgante y envenenamiento. Estos compuestos juegan un papel en la defensa contra la herbivoría (Rosenthal y Janzen, 1979).

El meliantriol aislado de los frutos de *Melia azedarach* mostró una inhibición en la alimentación de la langosta del desierto *Schitocerca gregaria*. El toonacilin y el 6-acetoxxytoonacilin aislados de *Toona ciliata* muestran actividad antialimentaria contra *Epilachna varivestis* (Rosenthaly Janzen, 1979). De la corteza de la raíz obtenida de *Trichilia roka* un árbol del este de Africa, se obtuvo una serie de limonoides, los cuales presentan un amplio rango de actividad antialimentaria y plaguicida contra insectos como son el gusano armado del sur (*Spodoptera cridania*), el escarabajo mexicano del frijol (*Epilanchna varivestis*), el gusano cornudo del tabaco y en otros insectos (Das y Mahota, 1983).

METODOLOGIA

1.- MATERIAL VEGETAL

Para la realización del presente trabajo se utilizó la corteza de la raíz de *Hippocratea excelsa* y las raíces de *H. celastroides*. La primera se compró en el Mercado de Sonora, México, D.F. La identidad de este material se corroboró con la colecta de muestras de raíces de *H. excelsa* colectadas en la estación Biológica de la UNAM "Chamela" y en Reforma, Oaxaca y de *Hippocratea celastroides* colectada en Ticumán, Morelos. El material se dejó secar a temperatura ambiente y posteriormente se separó tallo, raíz, hojas y flores.

2.-INSTRUMENTACION

Las constantes físicas y espectroscópicas de los compuestos aislados se determinaron en los siguientes aparatos:

- 1.- Los puntos de fusión se determinaron en un aparato de Fisher-Jones.
- 2.- Los espectros de Infrarrojo (IR) se determinaron en un espectrómetro PERKIN ELMER 283 empleando la técnica de pastilla y en el espectrómetro NICOLET FT-IR 5-SX empleando la técnica de solución, las absorciones máximas se dan en cm^{-1} .
- 3.- Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN) se realizaron con aparatos VARIAN GEMINI-200, 300 y 500. Se agregó tetrametilsilano como referencia interna, el desplazamiento químico (δ) se indica en p.p.m.
- 4.- Los espectros de masas se realizaron en un espectro de masas Hewlett-Packard modelo 5945 A mediante técnicas de impacto electrónico (EMIE), ionización química (EMIQ) y Bombardeo rápido de átomos (FAB).

3.-*Hippocratea excelsa*

EXTRACCION

La corteza de la raíz de *H. excelsa* (1000 g) se extrajo sucesivamente con eter de petróleo, diclorometano, acetona, metanol y agua. Las extracciones se efectuaron a temperatura ambiente tres veces por periodos de 48 hrs a excepción del extracto de agua de la cual se realizaron dos

extracciones de 24hrs cada uno. Los disolventes se eliminaron con un rotavapor. El extracto acuoso se colocó en porciones dentro de un cristizador y se evaporó con calor suave sobre un baño de vapor. El extracto de diclorometano tuvo una consistencia viscosa que con el tiempo formó un sólido plástico (polimerización), fué muy abundante, y el sólido se pudo redisolver en p-xileno.

AISLAMIENTO Y PURIFICACION DE COMPUESTOS

Extracto Eter de petróleo

El extracto se redisolvió en diclorometano y se le agregó metanol helado para precipitar las ceras. Estas se obtuvieron como un precipitado pardo, el cual se separó por filtración (0.52g).

La parte mayoritaria del extracto (6.38 g) se separó por cromatografía en columna empacada con sílica gel 60 (Merck). Se eluyó utilizando eter de petróleo y acetato de etilo así como mezclas de estos disolventes. El volumen de cada fracción eluida fué de 100 ml, obteniendose 150 fracciones.

Las fracciones 10-17 eluidas con 9.5:0.5, fueron similares por CCF y se reunieron. Estas se cristalizaron y lavaron con metanol. Se obtuvo un sólido el cual fué identificado por sus datos espectroscópicos como el triterpeno **Friedelina (I)**.

Las fracciones 26-33 eluidas con una mezcla (9.5:0.5) fueron similares al analizarlos por CCF y se reunieron. Este material se disolvió con CH_2Cl_2 . Después de un día se encontró un sólido cristalino de color blanco, el cual se filtró y se identificó como el triterpeno β -**Sitosterol (II)**.

Las fracciones 37-39, eluidas también con una mezcla de eter de petróleo-acetato de etilo (9.5-0.5) fueron similares. De estas fracciones se aisló e identificó el **Canofilol (III)**.

Las fracciones 40-64 eluidas con una mezcla (9.5:0.5) mostraron un componente mayoritario al analizarlos por CCF y se reunieron. Dicho material de consistencia resinosa presentó un color rojo oscuro y se

purificó mediante una placa preparativa (sílica gel). Se lograron obtener 3 compuestos de menor polaridad que fueron identificados como ésteres de ácidos grasos insaturados con peso molecular aproximado de 702. El compuesto más polar fue un aceite de color rojo (1.59 g) el cual se identificó como **Pristimerina (IV)**.

Extracto acuoso

El extracto acuoso de *H. excelsa* fue comparado por CCF con muestras idénticas de glucosa, sacarosa y fructuosa. Se pudo observar la presencia de sacarosa.

Se preparó un té con la raíz de *H. excelsa*. Para ello se le agregó un litro de agua a un vaso de precipitado y 12g de la corteza de la raíz de "cancerina" y se puso a hervir por un lapso de 3 minutos. Posteriormente 500 ml del té se extrajeron sucesivamente con disolventes orgánicos. De la extracción con diclorometano, se pudo observar por CCF la presencia de los triterpenos **Pristimerina** (Rf= 0.33) y **Canofilol** (Rf= 0.48), se utilizó como fase móvil una mezcla de éter de petróleo-acetato de etilo 8:2. La segunda extracción se realizó con butanol. Los restantes 500ml se evaporaron con calor suave, posteriormente el residuo fue lavado con etanol y se filtró. El residuo obtenido (un polvo rojizo, 1.43 gr) se identificó por sus datos de ¹H RMN y ¹³C RMN como el azúcar **Galactitol**.

4.- *Hippocratea celastroides*

EXTRACCION

Las raíces molidas de *H. celastroides* (1610 g) se extrajeron sucesivamente con éter de petróleo, diclorometano, acetona, metanol y agua. Las extracciones fueron efectuadas a temperatura ambiente, tres veces por periodos de 48hrs cada vez y el extracto de agua se realizó una vez. Los disolventes se eliminaron como ya se ha descrito anteriormente.

ASLAMIENTO Y PURIFICACION DE COMPUESTOS

Extracto Eter de petróleo

El extracto eter de petróleo, fue separado por cromatografía en columna empacada con sílica gel 60 (Merck) y se eluyó con mezclas de éter

de petróleo con acetato de etilo en orden creciente de polaridad. Las fracciones 9-14 fueron similares al analizarlas por CCF y se reunieron. Estas fueron eluidas con una mezcla de eter de petróleo- acetato de etilo (9:1) obteniendose un aceite amarillo.

Las fracciones 16-19, eluidas con eter de petróleo, se sometieron a cromatografía en columna con sílica gel, logrando obtener un compuesto resinoso amarillo.

De las fracciones 30-42, eluidas con una mezcla (9:1) se formó un precipitado el cual se lavó con metanol. Se obtuvo un sólido blanco. Después de analizar sus datos espectroscópicos se estableció que se trataba de un nuevo compuesto al cual se le dió el nombre de **Celastroidina B** (clave HCH 30-42) (V)

Las fracciones 43-76, eluidas con eter de petróleo-acetato de etilo (9:1), se sometieron a CC sílica gel (60 Merck), eluyendo con mezclas de eter de petróleo-acetato de etilo en orden creciente de polaridad. Se obtuvieron dos compuestos. De las subfracciones 6-8, las cuales se eluyeron con una mezcla 9.5-0.5, se obtuvo β -sitosterol. De las fracciones 16 a 19 eluidas con una mezcla 9-1. se obtuvo un compuesto nuevo al cual se le nombró **Celastroidina A**.

Las fracciones de 77 a 81 se eluyeron con una mezcla de 8.5:1.5 y se obtuvo un precipitado blanco (clave HCH 77-81). Por medio de una CCF y de las diferentes pruebas espectroscópicas se pudo comparar que este compuesto es idéntico a la **Celastroidina A**. De todos los compuestos aislados se obtuvieron sus espectros de EM, IR, RMNP, RMN ^{13}C

Celastroidina B (V)

Cristales blancos amarillentos, p.f. = 196-202 °C.

IR λ max, CHCl_3 : 2937, 2875, 1712, 1608, 1602, 1462, 1373, 1155, 1022.

EM(%): FAB⁺ m/z 605 (12) (M⁺+1); 586(4); 557(3); 487(2); 391(1); 303(43); 302(36); 286(27); 261(25); 245(10); 165(100); 123(32); 69(41); 55(29); 43(62); 41(40); 27(6). IE 70 eV m/z: 604(3); 543(2); 533(3); 344(3); 302(100); 285(15); 259(20); 260(15); 261(10); 245(10); 232(22); 217(6); 165(50); 123(11); 83(6); 69 (12); 71(12); 55(7); 57(7); 43(18).

¹HRMN, δ , CDCl₃ (300 MHz): 6.125 (s, 1H, H-11'), 3.441 (s, 1H, H-11), 3.078 (d, J=1.6 Hz, 14), 2.532 (d, J=1.6 Hz, H-14'), 2.05 (dd, 2H), 1.9-2.25 (4H), 2.25-1.5 (6H), 1.25 (s), 1.19 (s, 3H), 0.964 (s, 3H), 0.983 (s, 3H), 0.9456 (s, 3H), 0.91 (s, 3H), 0.89 (s), 0.76 (s, 3H), 0.52 (d, J=7 Hz, 3H, Me-17).

¹³CRMN Ver Tabla A

Extracto Diclorometano

El extracto de diclorometano fué rediseuelto con acetona, obteniéndose un precipitado blanco (1.4gr), el cual se separó por filtración, el extracto restante se concentró en un rotavapor. El precipitado fue separado por cromatografía en columna, eluido con una mezcla de eter de petróleo-diclorometano, en orden creciente de polaridad. Se obtuvieron 160 fracciones y dos compuestos mayoritarios. De las fracciones 24-72 eluidas con una mezcla 7:3 se obtuvo un sólido blanco, el cual se recrystalizó con diclorometano y metanol, se identificó como **Celastroidina A (clave HCD 48)**. El otro compuesto mayoritario se obtuvo de las fracciones 88-105 (clave HCD 88-105) eluidas con una mezcla 1:1. La estructura de este compuesto no se pudo establecer.

Celastroidina A (VI)

Cristales blancos, pf= 196-200°. PM=754

C₅₀H₇₄O₅

IR, λ max, CHCl₃: 3564, 2960, 2873, 1759, 1709, 1462, 1386, 1367, 1311, 1178 y 1145 cm⁻¹.

EM (FAB⁺): M⁺, m/z 754 (5); 737 (20) (M⁺-17); 694 (10); 655 (4); 587 (2); 453 (7); 302 (45); 285 (63); 259 (30); 245 (17); 165 (85); 91 (50); 81 (60); 69 (50); 43 (100). (EI): 452 M⁺, (CI) 452 M⁺.

IR, λ max, CHCl₃: 3564, 2960, 2873, 1759, 1709, 1462, 1386, 1367, 1311, 1178 y 1145 cm⁻¹.

¹HRMN, δ , CDCl₃, 300 MHz: 5.02 (q, dd, J=7, J=21Hz, 1H, H-15); 2.91 (s, 1H, H-11'); 2.73 (sdt, J=1.2, 1H, H-14'); 2.52-2.35 (14 señales, 4H); 2.19-2.11 (6 señales, 2H); 2.18 (s, 1H, D₂O); 1.961, 1.918 (2q, 7 señales, J=4.8, J=7.8, 1H); 1.88-1.6 (15 señales, 6H); 1.07 (s, 3H, CH₃), 1.06 (s, 3H, CH₃), 1.02 (s, 3H, CH₃), 0.97 (d, J=7Hz, 3H); 0.93 (s, 3H, CH₃); 0.89 (s, 3H, CH₃); 0.82 (s, 3H, CH₃); 0.8 ppm (d, J=7 Hz, 3H); 0.78 (2s, 6H, 2 CH₃).

¹³CRMN, Ver Tabla A.

El sobrenadante también se sometió a cromatografía en columna, como fase móvil se utilizó una mezcla de eter de petróleo-diclorometano. Se obtuvieron 140 fracciones. De las fracciones 44-55 eluidas con una mezcla 8:2 precipitó espontáneamente un sólido blanco al cual se le asignó la clave **HCD II 44-55**. Las fracciones 56-65 se reunieron y precipitó un sólido blanco amarillo el cual se sometió a varias recrystalizaciones con diclorometano y metanol (**clave HCD II 56-65**), eluidas también con una mezcla 8:2. Las fracciones 66-89 (**clave HCD II 66-89**) también se reunieron y se obtuvo un sólido blanco el cual se recrystalizó con CH₂Cl₂ y metanol, que al compararlo por CCF mostro un RF idéntico al de la **Celastroidina A**. Sus datos espectroscópicos, así como su punto de fusión fueron también idénticos, por lo cual se estableció que se trata del mismo compuesto.

Extracto Acetónico

A el material obtenido de la extracción con acetona de la *H. celastroides*, se le agregó metanol, y también se observó la formación de un precipitado blanco el cual se separó por filtración y lo restante del extracto se concentró en un rotavapor.

Extracto Metanólico

Al extracto metanólico se agregó acetona y se formó un precipitado (2.82 gr) y el sobrenadante (18.87 gr) se concentró en el rotavapor. A este material restante se le agregó diclorometano caliente obteniendo una parte soluble y otra insoluble. La porción soluble en CH₂Cl₂ se concentró (4.11 gr) y posteriormente fué separada mediante cromatografía en columna, obteniéndose 141 fracciones, se utilizó como fase móvil una mezcla de diclorometano-acetato de etilo en orden creciente de polaridad. De las fracciones 13-52 eluidas con una mezcla 7:3 se obtuvo del β -**Sitosterol**. De las fracciones 56-82 eluidas con una mezcla 1:1 se obtuvo nuevamente a la **Celastroidina A (clave HCD 66-89)**.

A las fracciones 133-136 eluidas con acetato de etilo 100% se les agregó eter de petróleo adquiriendo una consistencia chiclosa, luego de raspar este material con la espátula se obtuvo un polvo amarillo el cual se

filtró (clave HCMDC 133-136).

Extracto Acuoso

El extracto acuoso fué colocado en porciones en un cristizador y se evaporó con calor suave. Al día siguiente se observó la formación de un precipitado blanco. De acuerdo a sus datos espectroscópicos se trata del **Galactitol**. El extracto fué además comparado con muestras idénticas de glucosa, sacarosa y fructuosa por medio de CCF; en dónde se pudo observar la presencia de sacarosa.

De todos los compuestos se obtuvieron sus espectros de EM, IR, $^1\text{HRMN}$, $^{13}\text{CRMN}$.

Galactitol (VII).

Polvo blanco, p.f. 186-188°.

IR ν max (KBr): 3365, 3316, 3252 (OH), 2943 (C-H alifat.), 1458 (CH₂), 1377 (CH₃), 1118, 1078, 1050, 1030 (C-O).

$^1\text{HNMR}$ (D₂O, 200 MHz) ppm: 3.53 (d, 6H, J = 4.6 Hz) H-1, H-6 (2 CH₂) y H-4, H-5; 3.81 (t, 2H, J = 4.2 Hz) H-2 y H-3.

$^{13}\text{CNMR}$ (D₂O, 50 MHz) ppm: 64.2 (CH₂) C-1 y C-6, 70.3 (CH) C-2 y C-5, 71.2 (CH) C-3 y C-4.

EMIQ 70 ev (m/z): 183 M⁺ (100%) [C₆H₁₄O₆ + H]⁺, 165 (10%) [M⁺-H₂O], 147 (18%) [M⁺-2H₂O], 129 (45%) [M⁺-3H₂O], 111 (10%) [M⁺-4H₂O], 99 (6%), 81 (6.5%).

5.-PRUEBAS BIOLÓGICAS

EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIALIMENTARIA

Las pruebas biológicas fueron efectuadas por el M. en C. Miguel Angel Villavicencio y la Química Blanca Estela Pérez Escandón en el Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma de Hidalgo. La actividad antialimentaria se examinó mediante la alimentación forzada del gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*) Mots. (Coleoptera: Curculionidae). Para ello, los insectos fueron puestos a dieta 2-3 horas antes de realizar las pruebas y se les proporcionó como alimento una dieta artificial (pastillas).

Elaboración de pastillas

Las pastillas se elaboraron con una mezcla de fécula de maíz (Maizena) y maíz Cacahuazintle molido (1:1 p/p) El material: hojas, flores o raíces previamente pulverizadas, así como extractos y compuestos se probaron incorporándolos a las pastillas a una concentración del 1%. En el caso de sustancias como la pristimerina, friedelina y canofilol, éstas se redisolvieron en un disolvente adecuado. La solución se añadió a la dieta, se mezcló perfectamente y se dejó volatilizar el disolvente. Posteriormente se agregó agua, la pasta que se formó, se cortó con un sacabocados de 8 mm de diámetro para formar las pastillas y estas se cocieron en una estufa a 65°C. Cada tratamiento consistió de 10 replicas y su respectivo control.

Cada una de las pastillas se colocó en una Caja de Petri y 10 insectos adultos. A las 24 horas se contabilizaron las excretas. Para ello la caja de Petri fué colocada en el microscopio estereoscópico para proceder al conteo de excretas. Una vez ya contabilizadas se obtuvo el promedio. Se determinó el índice de actividad antialimentaria (IAA) mediante la fórmula $IAA = 100 - [(media\ de\ la\ muestra\ de\ alimentación / media\ de\ control\ alimentación) 100]$.

Porcentaje de Mortalidad

Se identificó el número de individuos muertos en los tratamientos, al cabo de 6 días. Para la evaluación de la mortalidad de los insectos se utilizó la fórmula $MC = [Y - X / 100 - X] 100$; donde MC es mortalidad corregida, Y es % de mortalidad del tratamiento y X es % de mortalidad del testigo.

RESULTADOS

ANALISIS QUIMICO DE *Hippocratea excelsa*

El rendimiento de los extractos de la raíz de *Hippocratea excelsa* se muestran en la tabla 1. El extracto acuoso presentó el mayor rendimiento (7.4%) y el menor fué el de hexano (0.7%). El extracto de diclorometano no se determinó debido a que este se polimerizó.

Tabla 1. Rendimiento de los extractos de *H. excelsa*.

EXTRACTO	gr.	% del peso seco
ETER DE PETROLEO	7.30	0.73
DICLOROMETANO	----	----
ACETONA	9.43	0.94
METANOL	41.90	4.19
AGUA	74.87	7.48

El extracto eter de petróleo se sometió a cromatografía en columna (sílica gel), obteniéndose cuatro triterpenos: **Friedelina**, **β -Sitosterol**, **Canofilol** y **Pristimerina**. En la tabla 2 se observa, que el compuesto más abundante fué el **β -Sitosterol** seguido de la **Pristimerina**.

Tabla 2 Compuestos aislados del eter de petróleo de *H. excelsa*

Compuestos	Aspecto fisico	mg	p.f
Friedelina	cristales blancos	2.4	253-258
β -Sitosterol	sólido blanco-amarillentos	857.4	123-128
Canofilol	cristales blancos-amarillos	8.0	235-240
Pristimerina	resina rojo oscura	159	---

ANALISIS QUIMICO DE *H. celastroides*

En el caso de *H. celastroides* se obtuvo en mayor cantidad el extracto acuoso (3.07%) y en menor, el extracto de eter de petróleo (0.38%), (ver tabla 3)

Tabla 3 Rendimiento de los extractos de *H. celastroides*

EXTRACTO	gr.	% del peso seco
ETER DE PETROLEO	6.18	0.38
DICLOROMETANO	14.19	1.66
ACETONA	4.11	0.25
METANOL	21.69	1.34
AGUA	49.51	3.07

Del extracto eter de petróleo de *H. celastroides*, se obtuvieron por cromatografía en columna varios compuestos, dos de ellos como aceites y los demás en forma cristalina (Tabla 4). Como se puede observar el β -sitosterol fué nuevamente el más abundante.

Tabla 4 Compuestos del extracto eter de petróleo de *H. celastroides*

Compuesto	Aspecto físico	mg	p.f.
HCH 9-14	aceite amarillo	7.8	---
HCH 16-19	aceite amarillo		---
Celastroidina B (HCH 30-42)	cristales blancos	12.6	196-202°
β -sitosterol	sólido blanco	29.5	125-128
Celastroidina A (HCH 77-81)	sólido blanco	10.4	180-185°

Del extracto de eter de petróleo, así como del de diclorometano (Tabla 4 y 5) se obtuvieron varios compuestos. La estructura molecular de dos de estos compuestos fue propuesta con base en sus datos espectroscópicos y corresponden a compuestos no descritos previamente en la literatura. A estos compuestos se los denominó Celastroidina A (HCD-48=HCDII 66-89=HCH 77.81) y Celastroidina B (HCD II 56-65). El punto de fusión de las diferentes muestras se determinó varias veces. Las muestras más puras presentaron una menor variación en su rango. También se obtuvieron otros dos compuestos cuyas estructuras aun están dilucidándose, a saber: HCD-88-105 y HCD II 44-55.

TABLA 5 Precipitado y sobrenadante del extracto de diclorometano de *H. celastroides*.

Compuesto	Aspecto fisico	mg	p.f
Precipitado			
Celastroidina A (HCD 48)	sólido blanco	610.5	198-1990
HCD 88-105	sólido blanco	510	225-2270
Sobrenadante			
HCDII 44-55	sólido blanco	24.1	55-590
Celastroidina B (HCDII 56-65)	sólido blanco amarillo	224	189-1900
Celastroidina A (HCDII 66-89)	sólido blanco amarillo	902.8	198-2000

CELASTROIDINA A (VI)

Este compuesto se obtuvo como cristales blancos y tiene una fórmula mínima fórmula $C_{50}H_{74}O_5$ (PM=754), se le asignó la estructura VI (Fig. 5). Tiene en IR bandas de OH (3565), de carbonilo de una ciclopentanona (1759), y dos de cetonas en anillo de seis miembros (1709), de metilos y metilenos (1462, 1386) y a 1145 cm^{-1} . La Celastroidina-A (VI) es un aducto tipo Diels-Alders formado por un triterpeno por un lado y por el otro un diterpeno. Al ser fragmentado en EM por FAB⁺ se observa un pico a m/z 452. En el espectro obtenido por ionización química este pico corresponde al ión molecular (M^+) correspondiente al peso de un triterpeno $C_{30}H_{42}O_3$ (fragmento A). La diferencia del M^+ -452 es m/z 302 equivalente al peso de un diterpeno $C_{20}H_{32}O_2$ (fragmento B) formados por un proceso tipo retro-Diels-Alders. El pico de m/z 737 (M^+ -17) debido a la pérdida de un OH probablemente del hidroxilo terciario. La parte triterpénica tiene un esqueleto del tipo del lupeno y la diterpénica del tipo del beyerano. En ¹H RMN tiene dos señales dobles a δ 0.8 y a δ 1.0 (3H, J=7Hz) que corresponden a los metilos C-16' y C-17'. Lo anterior se confirmó por experimentos de HETCOR, COSY (300 MHz), de EMQC y de ¹³CRMN que se compararon con los espectros reportados del 3-oxo-lup-20-en-30-ol

previamente aislado de *H. celastroides*, (González, *et. al.* 1989) (Ver Tabla A). Se observa la interacción entre las señales de los metilos-16' y 17' con un protón localizado a δ 1.76. Los experimentos DEPT indican la presencia de 11 CH₃, 15 CH₂, 10 CH, 9 C, 3 C=O y 2 C=C. La doble ligadura se encuentra entre los carbonos C-8'/C-9' del diterpeno y es causante de las señales a δ 137(C) y δ 135 (C) respectivamente. Los tres carbonilos presentes en la molécula, son causantes de las señales a δ 218, 213, 178 de ciclohexanonas y un carbonilo de ester. El primero está en C-3 de la fracción triterpénica; este carbonilo explica la señal a δ 2.4 de un metileno α -carbonilo y que correlaciona con la señal a δ 34.13 (DCMB) de C-1. El espectro de masas presenta un pico a m/z 285 que se explica por un fragmento como C (Fig. 6) debido a la pérdida de un grupo hidroxilo (OH) y aromatización del anillo; también presenta un pico a m/z 165 que se explica por el fragmento D. El carbonilo a δ 213 se encuentra en la parte diterpénica sobre C-12' y correlaciona con H-11' y H-14'. El tercer carbonilo corresponde al de una γ -lactona, que está en el carbono-30 y cuyo cierre esta sobre C-21 (δ 81.15); además H-21 causa la señal a δ 5.02 (d,d, J=6.2 y J=13.5) que por COSY interacciona con H-19 (δ 50.37 CH y 2.48) y los H-22 (δ 2.18 y 1.75). La señal simple a δ 2.91 corresponde a H-11' y la señal doble de doble a δ 2.73 (J=2, J=3.5 Hz) a H-14' que interacciona a tres ligaduras con el C-29 (δ 23.29 por hmbc). Además el H-29 α y H-29 β causan las señales a δ 2.41 y 1.74 respectivamente. Al carbono-20 se le asignó la señal a δ 54.94 (C). La celastroidina-A tiene (VI) tiene once metilos; si tomamos en cuenta que cinco pertenecen al diterpeno y uno está oxidado al carbonilo de la lactona (C-30). Esto apoya la propuesta de que el triterpeno tiene un esqueleto del tipo lupeno, además previamente se aislaron este tipo de compuestos de la misma planta*(González *et. al.* 1989). La celastroidina-A (VI), no se acetiló con anhídrido acético y piridina en condiciones suaves, pero si se redujo con NaBH₄ en THF, se obtuvo un producto sólido blanco que en IR muestra las bandas hidroxilos pero no las de carbonilo, a 1437, 1352 y 1145 cm⁻¹. En ¹HMRN presenta una señal múltiple centrada a δ 4.19 que se asignó a los H-2 indicando la presencia de una mezcla de estereoisómeros. Así mismo tiene varias señales

correspondientes a los hidrógenos base de hidroxilo. A δ 1.17 y a δ 1.38 dos señales dobles ($J=7$ Hz) de los metilos-16' y del metilo-17, el resto de los metilos aparecen entre δ 1.2-1.4 (7 señales simples). En EM (FAB⁺) presenta como ión molecular m/z 760 (4), 757 (50) (M^++3), 740 (40), 739 (85), 738 (52), 721 (40) que indican las pérdidas de moléculas de agua. A m/z 696 (35), 657 (20), 550 (10), 455 (25), 456 (10), 437 (22), 302 (20), 154 (100), 136 (75), 105 (91), 77, 55 (35), 43 (55), 23. Para demostrar que VI no es un eter se hicieron intentos de romper el grupo con un tratamiento en medio ácido (HCl ac.) el cual no dió resultado y se recuperó sin cambio.

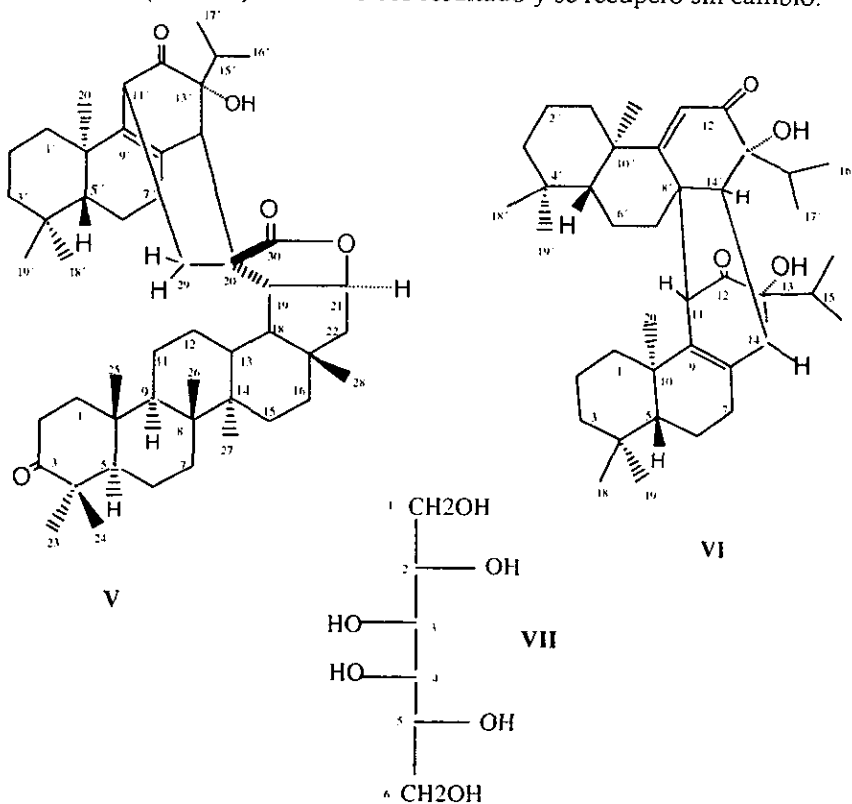


Fig. 5.- Compuestos aislados de *H. celastroides*: Celastroidina A (VI), B (V) y el Galactitol VII.

Celastroidina B (V)

A este compuesto (HCD-30-42) de fórmula $C_{40}H_{56}O_4$ (PM=604) obtenido por FAB⁺ y IE⁺ se le asignó la estructura V (Fig. 5). Tiene en IR dos bandas de carbonilo de una ciclohexanona α,β -nosaturada (1608) y de ciclohexanona (1712), de metilos y metilenos (1462, 1386) y a 1155 cm^{-1} . Es un dímero formado por una reacción del tipo de Diels-Alders por la unión de dos diterpenos del tipo descrito como B (Fig. 5). Al ser fragmentado en EM se observa un pico a m/z 302 tanto en FAB⁺ como en IE⁺. El ión molecular (M^+ , m/z 604) es el doble del ión padre (m/z 302) esto explica la formación de dos fragmentos similares entre sí de $C_{20}H_{28}O_2$ como se describe en la figura 6, presenta también un pico a m/z 165 que se explica por un fragmento del tipo D. De los núcleos base de los diterpenos, el tipo del *Beyerano* es el que mas esta de acuerdo a los datos de RMN tanto para la **Celastroidina A** como para la **B**. El espectro de ¹HRMN del dímero V presenta dos señales dobles centradas a δ 3.078 (d, J=1.6 Hz, 1H) y 2.532 (d, J=1.6 Hz, 1H) que se asignaron a los protones H-14 y H-14' respectivamente y a la vez son responsables de las señales a δ 45.48 (CH) y 43.43 (CH) (Tabla A).

La señal simple a δ 6.12 se debe al protón vinílico H-11 del sistema de cetona α,β -no saturada que solo puede estar en otra molécula de diterpeno y corresponde al carbono-11' y esta a δ 120.06; C-9' esta a δ 138.71(C). La señal simple ancha a δ 3.44 se asignó al protón-11 y a δ 57.92(CH) de C-11. Se observan dos carbonos a δ 78.79 (C) y 76.17 (C) y se deben a los carbonos cuaternarios (C-13' y C-16) unidos a hidroxilo. Los metilos-17' y 16' son los causantes de la señal doble a δ 0.50 (d, J=7Hz, 6H).

Los carbonilos de las cetonas estan en C-12' a δ 172.62 y el C=O en C-12 a δ 200.66. La doble ligadura esta en C-8 y C-9 y sus señales a δ 138.71 y a 138.59 totalmente sustituidos. Así mismo se observa la presencia

de otros ocho metilos más. Todas las asignaciones fueron apoyadas en los datos obtenidos de los experimentos COSY, HETCOR que se hicieron a este compuesto. La estructura del dímero V se confirmó por estudios de difracción de Rayos X.

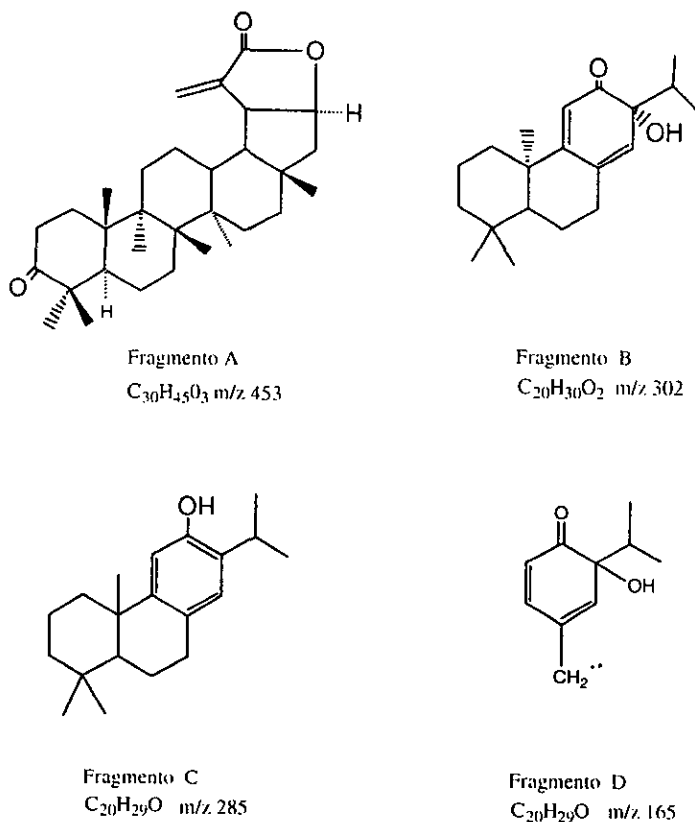


Fig.6- Patrón de fragmentación de la Celastroidina A (VI)

El extracto metanólico de *H. celastroides* fué separado por cromatografía en columna. Se obtuvo el triterpeno β -sitosterol, el cual presentó el mayor rendimiento (142.6mg). También se obtuvo nuevamente la Celastroidina A (obtenido previamente del precipitado del extracto de

diclorometano) así como otro compuesto (HCMDC 133-136) el cual se obtuvo como un polvo amarillo-pardo (Tabla 6).

Del precipitado del extracto acuoso de *H. celastroides* se obtuvo un azúcar, el **Galactitol**. Este compuesto fué un sólido blanco. Como se puede ver en la Tabla 6 fué el que se obtuvo en mayor cantidad, en comparación a todos los demás compuestos obtenidos, tanto para las dos plantas.

TABLA 6 Compuestos aislados de los extractos metanólico y acuoso de *H. celastroides*

Compuesto	Aspecto fisico	mg	p.f
Extracto metanolico			
β - Sitosterol	sólido blanco amarillento	142.6	127-130
Celastroidina A	sólido blanco amarillento	68.1	197-200 ^o
HCMDC 133-136	polvo amarillo-café	319.4	
Precipitado del extracto acuoso			
Galactitol	sólido blanco	2480	186-188 ^o

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *H. excelsa*

Con respecto a las pruebas biológicas realizadas con los diferentes extractos, fracciones y compuestos, los resultados se resumen en la tabla 7.

Los extractos de *H. excelsa*, mostraron un alto índice de actividad antialimentaria pero su toxicidad fue de baja a moderada (Tabla 7). En el primer caso esta osciló de 68.5 % (agua) a 93.1% (metanol), mientras que la mortalidad fue de 21.3% (agua) a 68.0% (extracto eter de petróleo).

Los 4 compuestos aislados mostraron actividad antialimentaria (Tabla 7), sobre todo la pristimerina que presentó el valor más alto (89.2%), seguida por la friedelina (30.0%) y el β -Sitosterol (22%). La toxicidad de estos compuestos fué nula o baja (friedelina=3.0%, pristimerina=16.0%). Los compuestos restantes presentaron valores menores de 5% y en el caso del Canofilol fue inactivo.

Con respecto a las fracciones su actividad fue de buena a moderada. La fracción 116-124 presentó un valor de IAA de 88.2%, seguida por la

fracción 131-140 con 83.5%; con respecto a la MC, la toxicidad de la fracción 107-115 fue el valor más alto 83.5% y le siguió la fracción 116-124 con 73.6%.

TABLA 7 Índice de Actividad Antialimentaria (IAA) y Mortalidad Corregida (%MC) de *Hippocratea excelsa* (1% p/p) contra el gorgojo de maíz *Sitophilus zeamais*

Parte de la planta, extracto, fracción(F) o compuesto	%IAA	%MC
Control	0.0	0.0
Hojas	16.1	8.9
Extracto eter de petróleo	83.84	68.0
Friedelina	30.0	3.0
β -Sitosterol	22.0	2.0
Canofilol	0.0	0.0
Pristimerina	89.2	16.0
F 65-71	44.2	17.9
F 72-79	21.2	5.3
F 80-87	34.3	13.8
F 88-97	74.2	35.8
F 98-106	76.6	40.0
F 107-115	81.5	83.5
F 116-124	88.2	73.6
F 125-130	80.9	61.5
F 131-140	83.5	46.8
Extracto diclorometano	84.5	55.7
Extracto acetónico	89.2	23.4
Extracto metanólico	93.1	25.5
Extracto acuoso	68.5	21.3

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *H. celastroides*

Se realizaron pruebas con las raíces, flores, frutos y hojas molidos (Tabla 8). Con respecto a su actividad antialimentaria, ésta fue nula y en lo que se refiere a su mortalidad, el valor más alto fue la de raíz más las flores (13.5%), mientras que únicamente las partes restantes presentaron valores muy bajos (2.0%-3%).

Por otra parte, las pruebas de actividad antialimentaria de los

extractos de *H. celastroides* mostraron resultados favorables, para cuatro de ellos. (Tabla 8). La mayor actividad la presentó el precipitado del extracto de acetona (73.9%), seguido por el extracto de diclorometano (70.3%), y por último el de metanol (44.4%). El extracto acuoso fue inactivo (0.0%). El porcentaje de mortalidad fue considerablemente menor en comparación con los extractos de *H. excelsa*. El valor más alto fue del extracto de acetona (12.5%) mientras que los demás extractos tuvieron valores menores al 10%. El extracto acuoso fue inactivo (0.0%).

Con relación a los compuestos aislados, la Celastroidina A presentó un IAA de 88.7%, seguido por el Galactitol 33.8%, con respecto a la Celastroidina B su valor fue menor a 10%. Todos los compuestos aislados fueron prácticamente inocuos a *S. zeamais*, presentando toxicidad menor a 5.2%.

TABLA 8 Índice de Actividad Antialimentaria (IAA) y Mortalidad Corregida (MC) de *Hippocratea celastroides* (1% p/p) contra el gorgojo de maíz *Sitophilus zeamais*.

Partes de la planta, extractos o compuestos	%IAA	MC
Control	0.0	0.0
Raíz	0.0	3.1
Flores	0.0	2.0
Raíz+Flores	0.0	13.5
Fruto	0.0	2.1
Hojas	0.0	3.2
Extracto eter de petróleo	67.8	7.3
Extracto diclorometano	70.3	9.4
Celastroidina B	9.6	5.2
Celastroidina A	88.7	2.1
Extracto acetónico	72.3	12.5
Precipitado	73.9	0.0
Extracto metanólico	44.4	6.2
Precipitado	49.0	5.2
Extracto acuoso	0.0	0.0
Galactitol	33.8	1.0

Tabla A Datos de 13C de la Celastroidina A y de la Celastroidina B

TABLA A					
C	α -amirina	β -amirina	Celastroidina -A		Celastroidina-B
	38.95	38.73	39.63	CH2 1	36.33 CH2 1
1	27.35	27.29	29.57	CH2 2*	41.95 CH2 2
2	78.97	78.97	218.00	C=O 3	18.47 CH2 3
3	38.78	38.84	47.27	C 4	48.57 C 4
4	55.34	55.29	49.66	CH 5	49.29 CH 5
5	18.45	18.45	19.63	CH2 6	18.95 CH2 6
6	33.07	32.80	33.75	CH2 7	29.54 CH2 7
7	40.13	38.78	41.40	C 8	138.71 C= 8
8	47.85	47.74	48.38	CH 9	138.59 C= 9
9	36.95	37.00	36.40	C 10	37.44 C 10
10	23.41	23.57	21.77	CH2 11	57.92 CH 11
11	124.5	121.8	41.26	CH2 *12	200.66 C=O 12
12	139.6	145.10	38.04	CH 13	76.17 C-O 13
13	42.18	41.80	43.19	C 14	45.48 CH 14
14	26.70	26.22	81.15	CH 15	37.12 CH 15
15	28.16	27.02	34.03	CH2 16	16.57 CH3 16
16	33.77	32.47	43.78	C 17	17.73 CH3 17
17	59.19	47.36	50.37	CH 18	33.02 CH3 18
18	39.76	46.93	49.42	CH 19	26.58 CH3 19
19	39.65	31.07	54.94	C 20	15.46 CH3 20
20	31.29	34.79	29.67	CH2 21	37.12 CH2 1'
21	41.59	37.22	35.00	CH2 22	41.72 CH2 2'
22	28.16	28.21	20.13	CH3 23	17.08 CH2 3'
23	15.65	15.48	20.99	CH3 24	42.16 C 4'
24	15.65	15.59	15.96	CH3 25	43.13 CH 5'
25	16.95	16.88	16.95	CH3 26	18.75 CH2 6'
26	23.25	26.00	14.46	CH3 27	30.99 CH2 7'
27	28.75	28.43	177.84	C=O 28	33.17 C 8'
28	17.48	33.34	23.29	CH2 29	138.59 C= 9'
29	21.36	23.73	26.70	CH3 30	34.70 C 10'
30			34.13	CH2 1'	120.06 CH 11'
1'			18.54	CH2 2'	172.62 C=O 12'
2'			48.10	CH2 3'	78.79 C-O 13'
3'			36.78	C 4'	43.43 CH 14'
4'			54.72	CH 5'	34.13 CH 15'
5'			18.79	CH2 6'	16.33 CH3 16'
6'			26.56	CH2 7'	21.18 CH3 17'
7'			134.93	C=C 8'	32.96 CH3 18'
8'			136.12	C=C 9'	21.43 CH3 19'
9'			33.23	C 10'	20.95 CH3 20'
10'			55.36	CH 11'	
11'			213.54	C=O 12'	
12'			78.82	C 13'	
13'			45.42	CH 14'	
14'			54.92	CH 15'	
15'			21.08	CH3 16'	
16'			21.44	CH3 17'	
17'			32.88	CH3 18'	
18'			17.40	CH3 19'	
19'			15.97	CH3 20'	

DISCUSION

H. excelsa y *H. celastroides* son utilizadas en la medicina tradicional debido a sus propiedades farmacológicas y poseen gran importancia como agentes insecticidas. Recientemente varios investigadores se han enfocado a estudiar los metabolitos responsables de esta actividad.

Se ha evaluado el polvo de la raíz de "cancerina" para proteger al frijol y al maíz de diferentes insectos, pero se ha dado más importancia a *Sitophilus zeamais*, porque en México sobrepasan los daños causados en el maíz por este insecto. El maíz constituye un alimento básico del pueblo mexicano, y en nuestro país se cultiva ampliamente, por esta razón cualquier medida que se tome para mejorar la cantidad de la cosecha, tiene gran importancia en la economía de nuestro país.

En el caso de la actividad antialimentaria (IAA) de los extractos de *H. excelsa*, estos mostraron valores de 68.5 % (agua) a 93.1% (metanol). En el caso de la mortalidad, ésta fue menor, siendo el extracto eter de petróleo el más activo (68%) y el agua el menos activo (21.3%). En lo que se refiere a los compuestos probados (**Friedelina**, **Canofilol**, **β -Sitosterol** y **Pristimerina**); ésta última presentó el valor más alto de IAA 89.2%, seguida por la **Friedelina** 30.0%. Con respecto a la actividad insecticida se obtuvieron valores menores a 16%. En las fracciones probadas, se puede observar que a medida que aumenta la polaridad, aumenta también la actividad tanto antialimentaria como tóxica; siendo las fracciones F116-124 (IAA=88.25) y la F131-140 (IAA=83.55) las más importantes. En las fracciones F107-115 (MC=83.55) y la F116-124 (MC=73.6%) se observó un importante valor en lo que se refiere la toxicidad, éstos resultados son los valores más altos que se obtuvieron en todos los compuestos, extractos y fracciones probadas.

Con estos valores podemos inferir que la **Pristimerina** no es el único compuesto activo responsable de la actividad antialimentaria, sino que en el extracto eter de petróleo de *H. excelsa* existen otros compuestos activos que producen toxicidad e inhiben la alimentación de *Sitophilus zeamais*. Y que los compuestos responsables de la actividad insecticida se encuentran en los extractos menos polares (eter de petróleo y diclorometano) y en lo que se refiere a los compuestos de la actividad antialimentaria, éstos se encuentran en un amplio rango de polaridad.

Del extracto metanólico se obtuvo una mayor actividad antialimentaria, posiblemente debido a la presencia de alcaloides sesquiterpénicos (Hippocrateina I, II, y III). Se ha comprobado que este de compuestos son los principios insecticidas de la planta china *Tripterygium wilfordii* (Acree, 1950; Beroza, 1951). Y la actividad insecticida de éstos alcaloides podría ser probada más adelante.

Con los resultados de ésta investigación se observó que la pristimerina, se encuentra en una pequeña cantidad 1.3 gr por Kg y con un alto IAA por lo que deben buscarse alternativas para que pueda ser utilizada como un agente de protección en el almacenamiento de los granos almacenados. El uso frecuente de *H. excelsa* en la medicina tradicional ha provocado que esta planta se vea amenazada y reflexionar sobre el uso de estos recursos evitando que se extingan, una alternativa lo constituye el cultivo de tejidos vegetales, también el de identificar una planta que presente en las hojas los compuestos responsables de la actividad antialimentaria y no en la raíz. Evitando de esta manera acabar completamente con los recursos y continuar con la producción de flores, frutos y semillas. Si los compuestos activos se encontraran en las hojas, estas sólo se cortarían y la planta seguiría produciendo hojas, y no necesariamente se tendría que obtener toda la planta completa.

Se realizaron pruebas con las raíces, flores, frutos y hojas molidos de *H. celastroides*, su actividad antialimentaria fue nula y en lo que se refiere a la mortalidad, el valor más alto fue de la raíz más las flores (13.5%), mientras que únicamente la flores presentaron el valor más bajo (2.0%). En general la actividad antialimentaria e insecticida de *H. celastroides* es baja, sin embargo los extractos probados de las raíces a la misma concentración, si mostraron actividad biológica.

La actividad antialimentaria de los cinco extractos de *H. celastroides* mostraron valores de 72.3% (acetona precipitado) a 0.0% (agua). El porcentaje de mortalidad fué menor de 12.5% (acetona precipitado) a 0.0% (agua). Con respecto a los compuestos, la **Celastroidina A** presentó un alto IAA, (88.7%), en cambio la actividad antialimentaria de la **Celastroidina B** fué muy baja (9.6%). Ninguno de los compuestos presentó toxicidad apreciable.

La **Celastroidina B** se obtuvo en el extracto eter de petróleo y en la

porción soluble del extracto de diclorometano obteniendo un rendimiento de 236.6 mg. En lo que se refiere al rendimiento de la **Celastroidina A** éste fue mayor, (1591.8 mg) siendo el compuesto más abundante. Este compuesto se obtuvo del extracto de hexánico, en la porción soluble, así como en el precipitado del extracto de diclorometano y en el extracto metanólico. Es posible que también esté presente en el extracto acetónico. En razón a la alta actividad antialimentaria que mostró la **Celastroidina A**, es posible que sea uno de los principales principios activos de la raíz de *H. celastroides*.

En lo que se refiere al **Galactitol**, éste inhibió la alimentación con un 33.8% y con respecto a la actividad insecticida presentó un valor menor (1.0%). La presencia del **Galactitol** o también llamado **Dulcitol**, en *H. excelsa* y *H. celastroides* es descrito por primera vez para estas plantas y tiene un valor taxonómico ya que relaciona a las familias Hippocrateaceae y Celastraceae. Este azúcar se ha encontrado en especies de la familias Celastraceae, incluyendo a *Tripterigium wilfordii* así como las Hippocrateaceae (*Pristimera*, *Salacia* y *Tontelea*), Lauraceae, Saxifragaceae y Scrophulariaceae (Plouvier, 1963).

Las estructuras moleculares de otros compuestos obtenidos de *H. celastroides* se están elucidando, a saber; **HCH 9-14**, **HCH 16-19**, **HCD 88-105**, **HCDII 44-55** y el **HCMDC 133-136**.

CONCLUSIONES

Los extractos de las raíces de *Hippocratea excelsa* presentaron tanto actividad antialimentaria como toxicidad. En el caso de *Hippocratea celastroides* sólo se obtuvo actividad antialimentaria.

Los extractos de las raíces de *H. excelsa* presentaron una mayor actividad antialimentaria y tóxica en relación a los de *H. celastroides*.

La **Pristimerina** aislada de *H. excelsa* presentó una alta actividad antialimentaria pero baja toxicidad. Otros triterpenos aislados de ésta misma planta (**Friedelina**, **β -Sitosterol** y **Canofilol**), presentaron actividad antialimentaria moderada.

Del extracto de diclorometano, (porción soluble y precipitado) de *H. celastroides*, se obtuvieron varios compuestos. La estructura molecular de dos de ellos fué propuesta con base en sus datos espectroscópicos y corresponden a compuestos no descritos previamente en la literatura. A estos compuestos se les denominó **Celastroidina A** y **Celastroidina B**.

La **Celastroidina A** presentó un alto IAA, no así la **Celastroidina B**. Ambos compuestos presentaron baja mortalidad.

El **Galactitol** se encontró por primera vez en *Hippocratea celastroides* e *Hippocratea excelsa* y es un marcador taxonómico que relaciona a las especies de las familias Hippocrateaceae y Celastraceae.

El **Galactitol** presentó actividad antialimentaria moderada y toxicidad nula.

BIBLIOGRAFIA

- Acree, F. and H.L. Haller. 1950. Wilfordine, an insecticidal alkaloid from *Tripterygium wilfordii* Hook. Journal of the American Chemical Society 72:1608-1611.
- Aguilera, M., 1991. Validación semicomercial de polvos vegetales y minerales para el combate de *Sitophilus zeamais* Mutsch. y *Prostephanus truncatus* (HORN) y *Rhyzopertha dominica* (FABR) en el sur y el sureste de México. Tesis profesional de Licenciatura. Colegio de Postgraduados. Chapingo. México. 138 p.
- Arenas, L. 1984. Extractos acuosos y polvos vegetales con propiedades insecticidas, una alternativa por explorar. Tesis profesional de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 161 p.
- Beroza, M. 1951. Alkaloid from *Tripterygium wilfordii* Hook. Journal of the American Chemical Society 73:3656-3659.
- Betancor, C., R. Freire, A. González, A. Salazar, C. Pascard and T. Prange. 1980. Three triterpenes and other terpenoids from *Catha cassinoides*. Phytochemistry 19: 1989-1993.
- Borr, D.J., D.M. Delog & C.A. Triplehorn. 1981. An introduction to the study of insects. 5rd. ed. Saunders College. Philadelphia. U.S.A. 927 p.
- Brown, M., M. Moir, R. Thomson, T. King, V. Krishnamoorthy and R. Seshadri. 1973. Tingenone and Hydroxy tingenone, triterpenoid quinone methides from *Evonymus tingenens*. J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1:2721-2725.
- Calzada, F., R. Mata, R. López, E. Linares, R. Bye, V. Barreto and F. Del Rio. 1991. Friedelanes and Triterpenoid quinone methides from *Hippocratea excelsa*. Planta Medica 57:194-195.
- Calzada, F. and R. Mata. 1995. Hippocrateine III, a sesquiterpene alkaloid from *Hippocratea excelsa*. Phytochemistry 40: 583-585.

- Casida, J. E. 1973. Pyrethrum the natural insecticide. Academic Press. New Yor ,p. 3-16
- Castro, L. 1991. Evaluación de resistencia de 30 genotipos de maíz a *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleóptera: Curculionidae) en laboratorio. Tesis profesional de Licenciatura, Colegio de Postgraduados. Chapingo. México. 72 p.
- Costa, J. J., A. E. Margheritis y O. J. Marsico. 1974. Introducción a la terapéutica vegetal. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina, p. 11
- Cronquist, A. 1988. The evolution and classification of flowering plants. 2a. ed. The New York Botanical Garden. 555 p.
- Dahgren, R.M.T., A.T. Clilford and P.F. Yeo. 1985. The families of the Monocotyledons. Springer-Verlag. 520 p.
- Das, M. C. and S. B. Mahota. 1983. Triterpenoids. Phytochemistry 22: 1071-1096.
- Delle Monache, F., Marini-Bettòlo and M. Pomponi. 1979. New triterpene quinone-methides from Hippocrateaceae. J. Chem. Soc. Perkin I:3127-3131.
- Díaz, V. G. 1985. Actividades de aceites vegetales para proteger maíz almacenado contra el gorgojo *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Tesis profesional de Licenciatura Colegio de Postgraduados Chapingo. México. 73 p.
- Doranbeau, P. B. 1985. Evaluación del efecto de las hojas de seis diferentes especies de plantas del noroeste de México en el combate del picudo (*Sitophilus*) en granos de maíz almacenado. Tesis profesional de Licenciatura Colegio de Postgraduados Chapingo. México. 54 p.
- Dreyer, D. L., H. Meshulam and A. T. Sneden. 1978. Cucurbitacins in *Purshia tridentata*. Phytochemistry 17:325-326.
- Edwards, P. J. and S. D. Wratten. 1980. Ecology of insect plants interactions. Institute of biology's studies in Biology. No. 121.

- Ege, S. 1994. Organic Chemistry. Heath and Company. USA. P. 748-753.
- Espino, G. 1992. Anatomía del desarrollo de *Hippocratea celastroides*. Tesis de Maestría Colegio de Postgraduados Chapingo. México. 69 p.
- Fonseca, R. M. 1995.No. 3. Hippocrateaceae. In: Flora de Guerrero. N. Diego-Pérez G.R. y M. Fonseca (eds.). Prensas de Ciencias. UNAM. México. 12 p.
- Gamlat, Ch. and A. A. Gunatilaka 1988. The structure of celastranhydride: a novel triterpene anhydride of celastraceae. Tetrahedron 29:109-112.
- Gamlat, Ch., A. A. Gunatilaka, and S. Subramaniam 1989. Studies on terpenoids and steroids. Part 19. ¹ Structures of three novel 19 (10 9) abeo-8 α , 3 β , 10 α - Euphane triterpenoids from *Reissantia indica* (Celastraceae). J. Chem. Soc. Perkin Trans I. 2259-2267.
- González, A., C. G. Francisco, R. Freire, R. Hernández, J. A. Salazar, and E. Suárez. 1975. Iguesterin, a new quinonoid triterpenen from *Catha cassinoides*. Phytochemistry 14:1067-1070.
- González, A., I. Bazzocchi, A. Ravelo y J. Luis. 1989. Triterpenos de *Hippocratea celastroides* (Celastraceae). Revista Latinoamericana de Química 20:17.
- González, V. 1995. El maíz y su conservación. Trillas. México, D.F. 399 p.
- Govindachari, T. R., N. Viswanathan, B. Pai, U. Ramadas and M. Srinivasan. 1967. Triterpenes of *Calophyllum inophyllum*. Tetrahedron 23: 1901-1908.
- Haley, T. J. 1978 A review of the literature of rotenone. Journal of Enviromental Pathology and Toxicology 1:315-337.
- Harbone, J. B., 1988. Introduction to Ecological Biochemistry. Academic Press. New York 3rd. ed., London.
- Harmatha, J. and J. Nawrot 1984. Comparison of the feeding deterrent

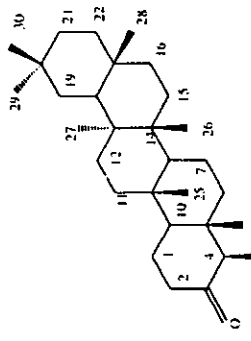
- activity of some sesquiterpene lactones and lignan lactone towards selected insect storage pests. Biochemical Systematics and Ecology 12:95-98.
- Higbee, E. C. 1947. *Lonchocarpus*: a fish poison insecticide Econ.Bot. 1:472-436.
- I.N.I. (Instituto Nacional Indigenista). 1994. "Barajilla" (*Hippocratea celastroides*) y "Cancerina" (*Hippocratea excelsa*) p. 190 y 280 en: A. Argueta-Villamar, Cano-Asseleh L. N. y Rodarte M.E.(eds). Atlas de las plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Vol. I y II. Instituto Nacional Indigenista. México.
- Jacobson, M. K. and D. G. Crosby. 1971. Naturally occurring insecticides. Marcel Dekker. Inc New York, USA. P. 3-131.
- Jones, S. 1987. Sistemática Vegetal. Mc Graw Hill. México. 536 p.
- Lagunes, T. A. y C. Rodríguez. 1989. Búsqueda de tecnología apropiada para el combate de plagas del maíz almacenado en condiciones rústicas. Informe Técnico. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y Colegio de Postgraduados. Chapingo. México. 150 p.
- Lagunes, T. A. y C. Rodríguez. 1990. Utilización de plantas con actividad insecticida en el combate del gusano cogollero del maíz en zonas agrícolas de subsistencia. Primer Informe Técnico. Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y Colegio de Postgraduados, Chapingo. México.
- Langman, K. 1964. A selected guide to the literature on the flowering plants of México. University of Pennsylvania Press. Philadelphia. USA. 1015 p.
- Martínez, M. 1979. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México. 1220 p.
- Marzocca, A. 1985. Taxonomía Vegetal. Instituto Interamericano de Cooperación para la agricultura. San José, Costa Rica. 263 p.

- Mata, R., and F. Calzada. 1990. Chemical studies on Mexican Plants used in traditional medicine, XV. sesquiterpene evoninoate alkaloids from *Hippocratea excelsa*. Journal of Natural Products 53: 1212-1219.
- Mc Laughlin, G. 1973. History of pyrethrum: Phyrethrum the Natural Insecticide. Academic Press. New York and London p. 3-15.
- Metcalf, C. L. y W. P. Flint. 1986. Insectos destructivos e insectos útiles, sus costumbres y su control. CECSA. México, D.F. 11208 p.
- Miranda, F. 1952. La vegetación de Chiapas. Ediciones del Gobierno del Estado de Tuxtla Gutierrez, Chiapas. p. 205.
- Nakatani, M., J.C. James, and K. Nakanishi. 1981. Isolation and structures of trichilins, antifeedants against the Southern Army Worm. J. Am. Chem. Soc103:1228-1230.
- Nawrot, J., J. Harmatha, I. Kostova and I. Ognyanov. 1989. Antifeeding activity of rotenone and some derivatives towards selected insect storage pests. Biochemical Systematics and Ecology 17:55-57.
- Nawrot, J. and J. Harmatha. 1994. Natural products as antifeedants against stored products insects. Postharvest News and Information 5:17N-21N.
- Palacios, J., R. Mata, and R. López. 1989. Notes On Economic Plants. Econ. Bot. 43: 508-510.
- Paul, R. L. 1992. Acción insecticida de los componentes de la raíz de *Hippocratea excelsa* H.B.K. y compuestos de síntesis. Tesis profesional de Licenciatura. Universidad Autónoma de Tlaxcala. México. 49 p.
- Plouvier, V. 1963. Distribution of aliphatic polyols and cyclitols. p. 313-336 in: Swain T. (ed.), Chemical Plant Taxonomy. Academic Press. London and New York.
- Rao, B., E. Sukumar, A. Kundu and A. Patra. 1990. A triterpenoid from *Pristimera grahamii*. Phytochemistry 29: 2027-2029.
- Ramírez, G. M. 1982. Almacenamiento y Conservación de granos y

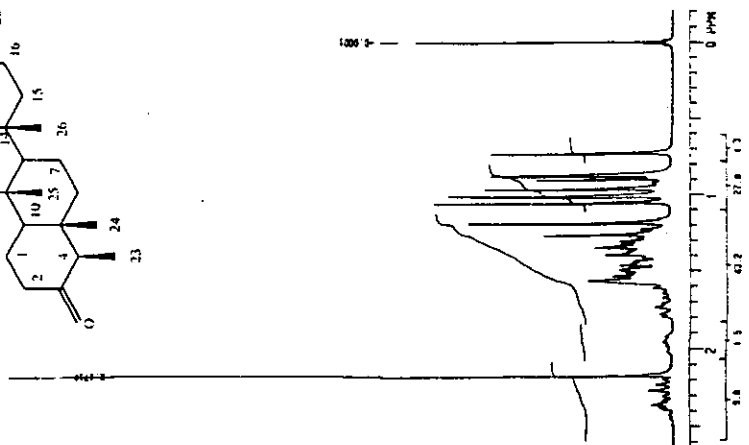
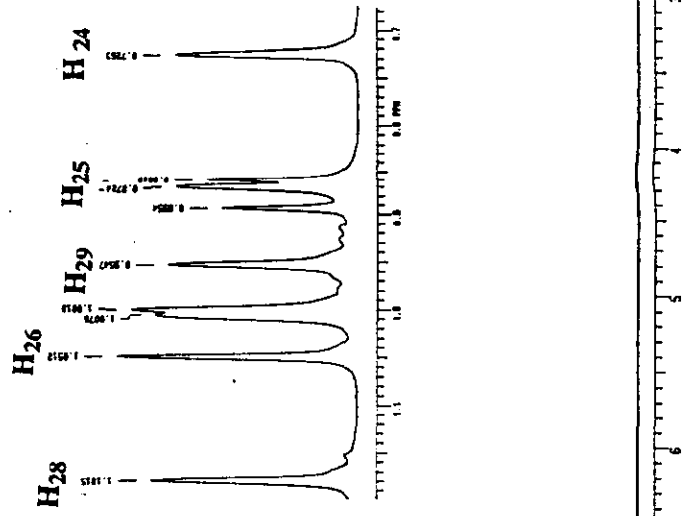
- semillas. CECSA. México. 300 p.
- Reyes, Ch. R., G. Gómez, F. Quijano y Ríos. 1991. Las leguminosas de México como fuente potencial de rotenoides. (Insecticidas de origen vegetal). Simposio sobre conservación y manejo de recursos naturales en América Latina. Oaxtepec. México. p. 2-4.
- Robles, R. 1983. Producción de granos y forrajes. Limusa. México, D.F. 608 pp.
- Román, D. 1990. Extractos y polvos vegetales con propiedades insecticidas, una alternativa en el combate del gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) en granos almacenados. Tesis profesional de Licenciatura Colegio de Postgraduados Chapingo. México. 120 p.
- Romo de Vivar, A. 1985. Productos naturales de la flora mexicana. Limusa. México, D.F. p. 59-179.
- Rosenthal, G. A. and D. H. Janzen 1979. Herbivores: Their Interaction with Secondary Plant Metabolites. Academic Press. Inc. 718 p.
- Ruberté, R.M. and F. W. Martin. 1975. Edible leaves of the tropics. Agricultural Research Service. Washington, D.C. 245 p.
- Soto, N. J.C. y M.Sousa. 1995. Plantas medicinales de las Cuenca del Río Balsas. Serie Cuadernos del Instituto de Biología No. 25. UNAM. México. 198 p.
- Standley, P. C. and J. A. Steyermark. 1949. Hippocrateaceae. In: Flora of Guatemala. Fieldiana Botany 24(6):218-222.
- Torres, R. J. 1989. Actividad de cuatro polvos minerales e *Hippocratea excelsa* en el combate de insectos en maíz almacenado en Cardenas, Tabasco. Tesis profesional de Licenciatura. Colegio de Postgraduados Chapingo. México 89 p.
- Velez, L. E. 1988. Notas del Curso de Parasitoides Agrícolas. Chapingo. México. 396 p.

- Vigar, U. A. and A. Rahman. Handbook of natural products data. Pentacyclic Triterpenoids. Vol. 2. The Netherlands. El Sevier. p. 1556.
- Villegas, S. 1989. Incorporación de *Hippocratea excelsa* (Hippocrateaceae) y cuatro polvos minerales encostalados para evitar daños de insectos en Lerma, Estado de México. Tesis profesional de Licenciatura Colegio de Postgraduados Chapingo. México. 76 p.
- Yamada, K., Y. Shizuri and Y. Hirata. 1978. Isolation and structures of a new alkaloid alatamine and an insecticidal alkaloid wilfordine from *Euonymus alatus* forma *striatus* (Thunb.) Makino. Tetrahedron 34:1915-1920.

ESPECTROS

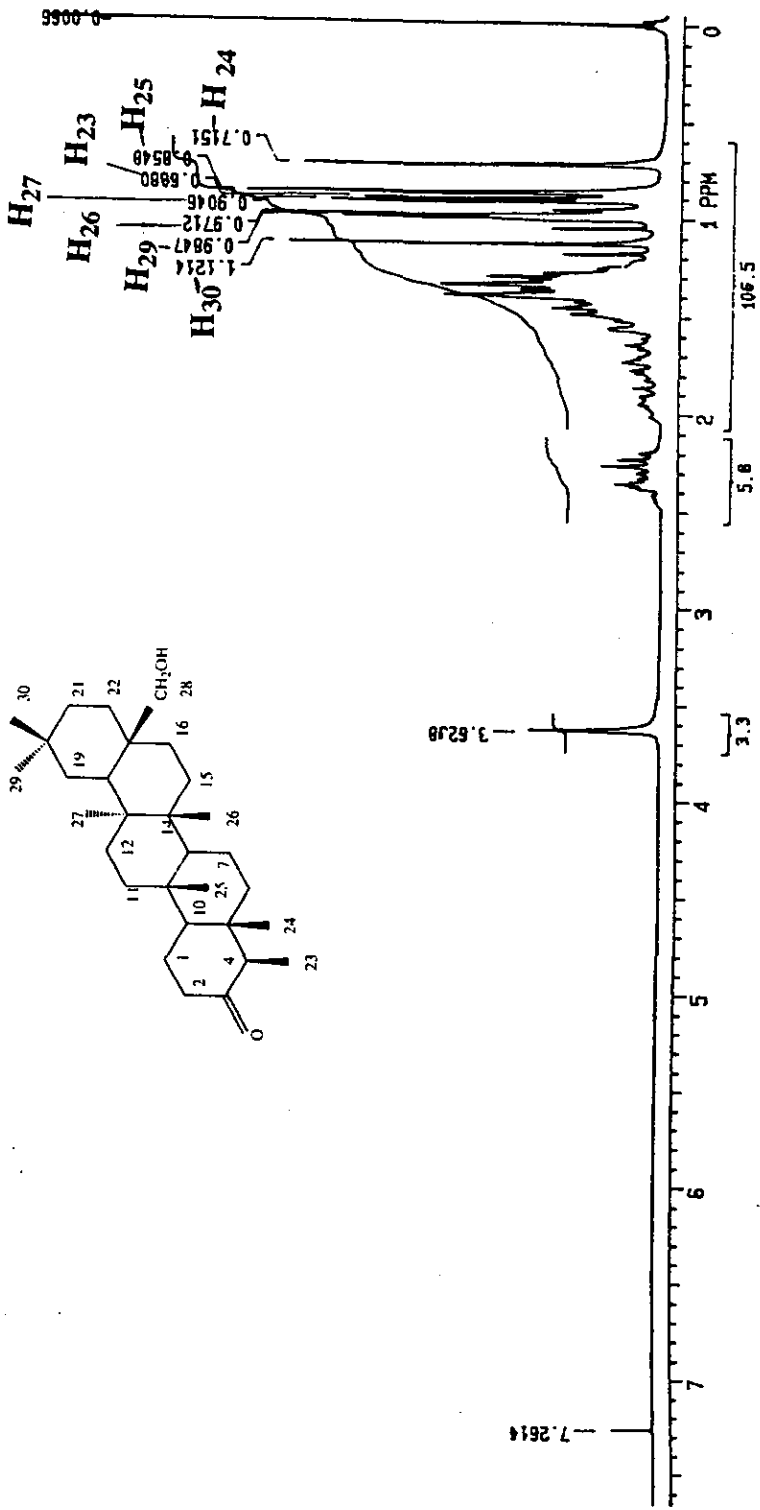


NAME: JIMENEZ, AND/COMB-114
 EXP: PULS SEQUENCE: 20PM
 DATE: 81-11-17
 INSTR: 100A
 PUL: 10
 INCLUSIVE SWEEPING
 FREQUENCY: 100.625 MHz
 SPECTRA: 40TH 2000.7 Hz
 ACQ. TIME: 2.00 SEC
 RELAXATION DELAY: 2.0 SEC
 PULSE WIDTH: 10.00 USEC
 AMBIENT TEMPERATURE:
 NO. REPEATS: 10
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING:
 ACQUISITION ENHANCED
 FT: 102.200
 TOTAL TIME: 7.1 MINUTES

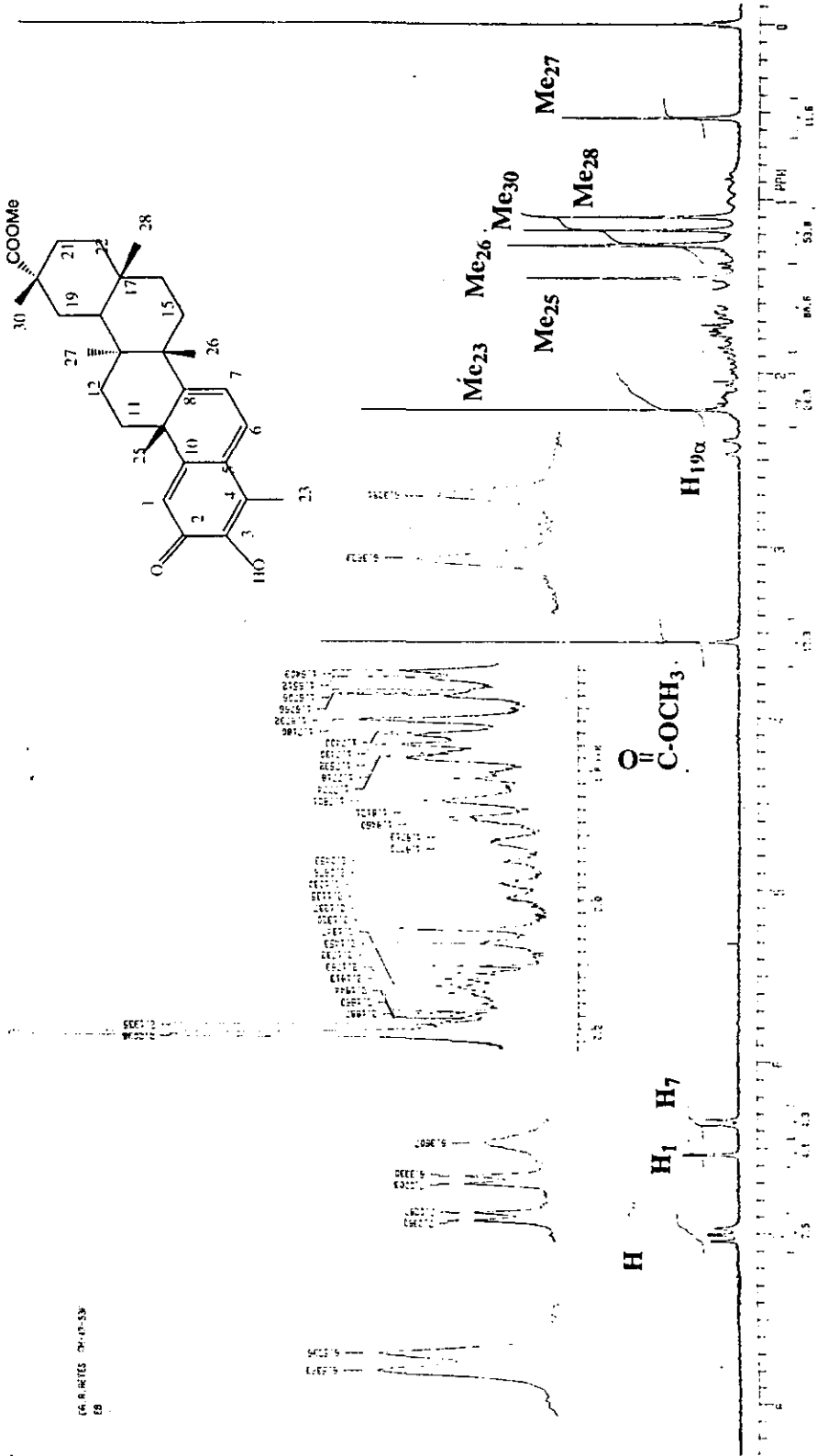


Espectro de RMNP (200MHZ/CDCl₃) de la Friedelina

R REYES 2003-4 VGV

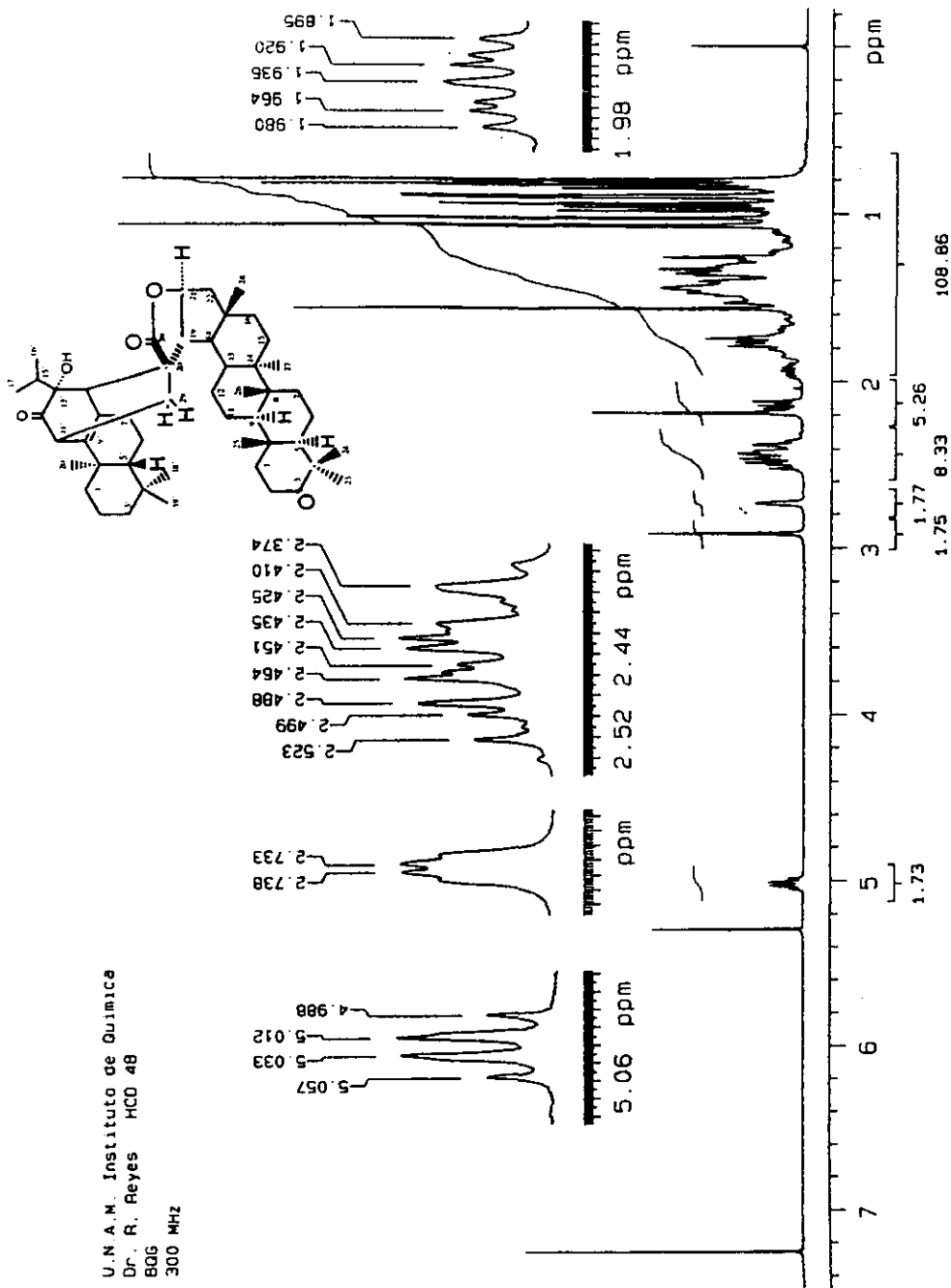


Espectro de RMNP (200MHZ/CDCI₃) del Canofiolol

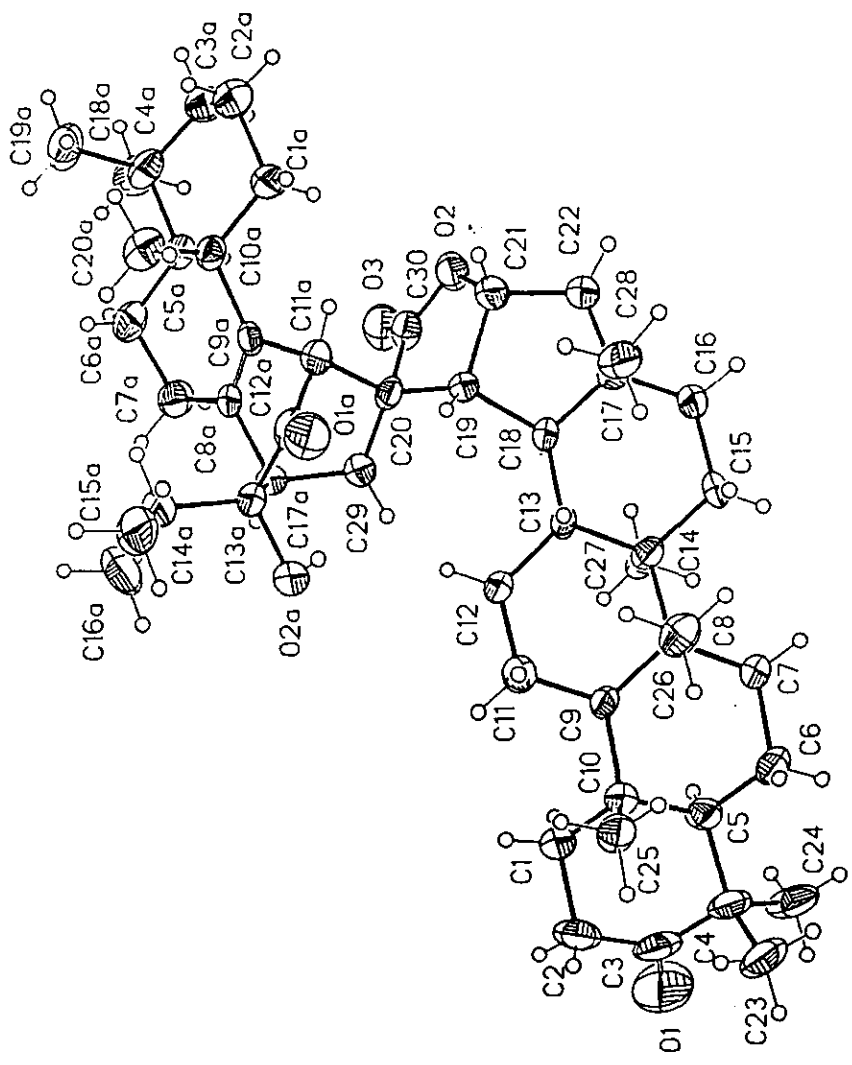


Espectro de RMNP (200MHz/CDC₃) de la Pristimerina

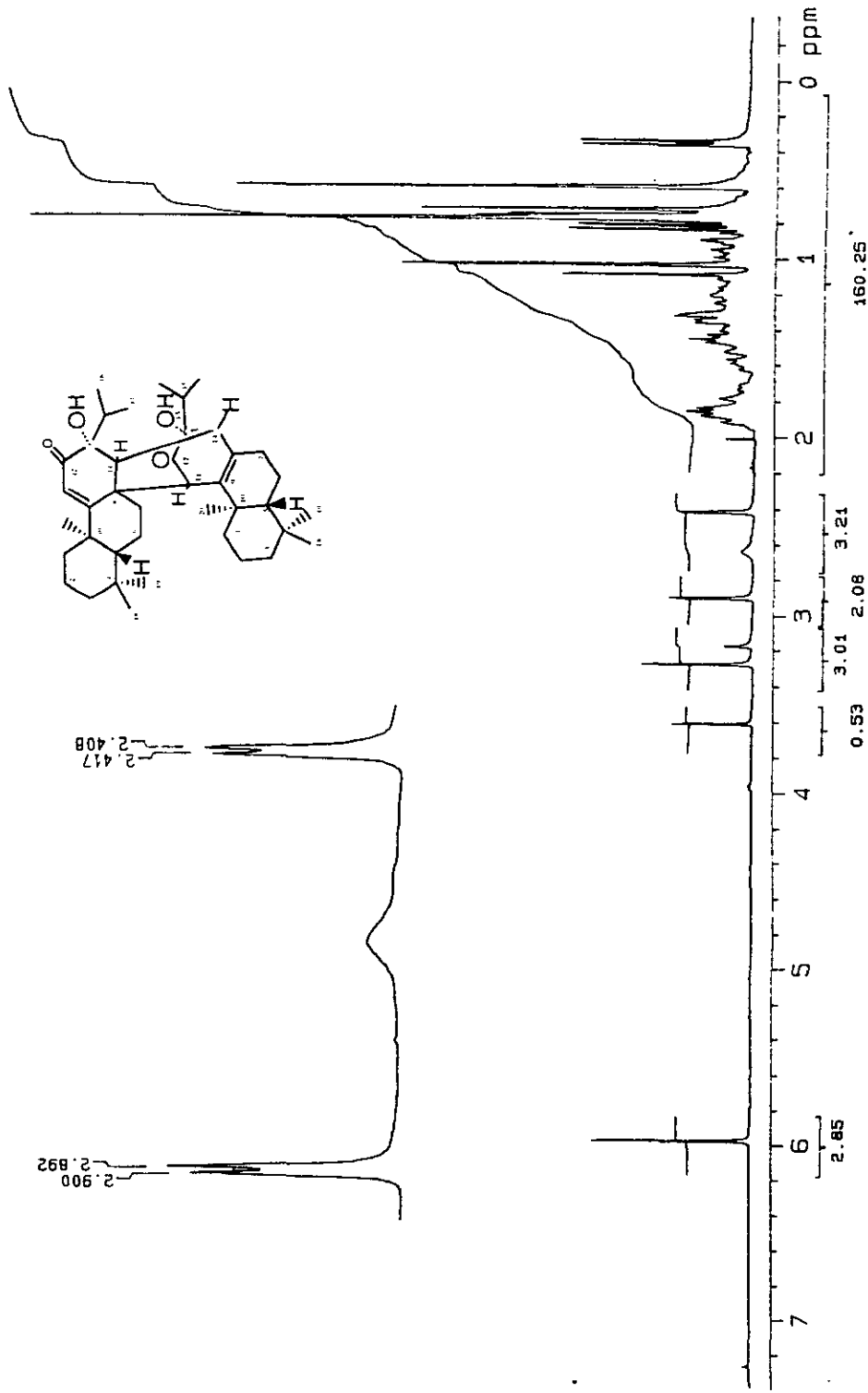
U.N.A.M. Instituto de Quimica
 Dr. R. Reyes MCD 48
 BQG
 300 MHz



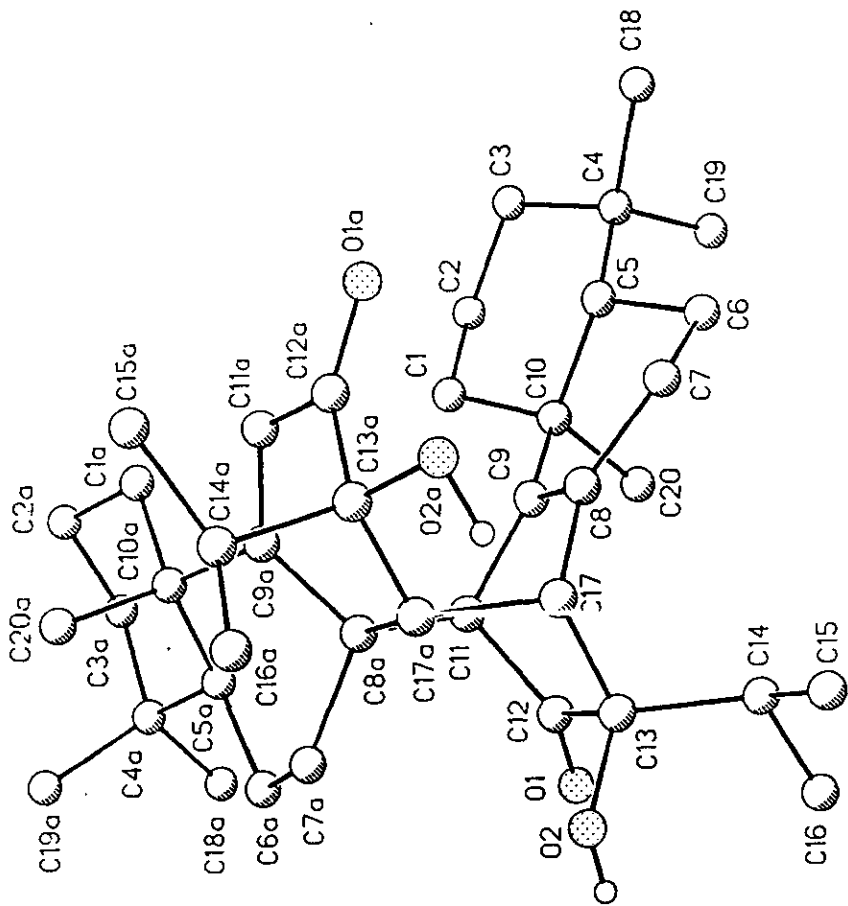
Espectro de RMNP (300MHz/CDCl₃) de la Celastroidina A



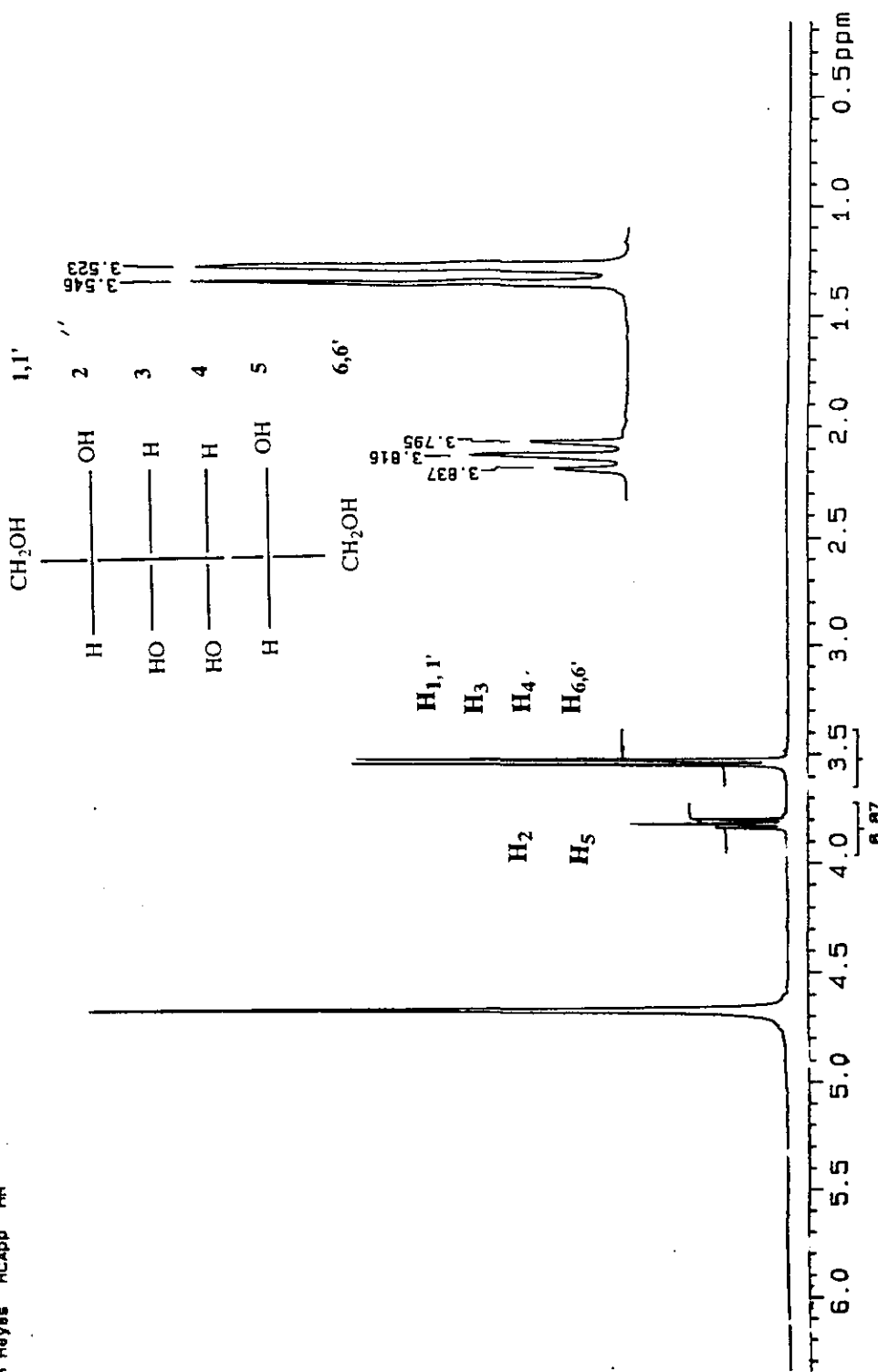
Estereodiagrama de Rayos X de la Celastroidina A



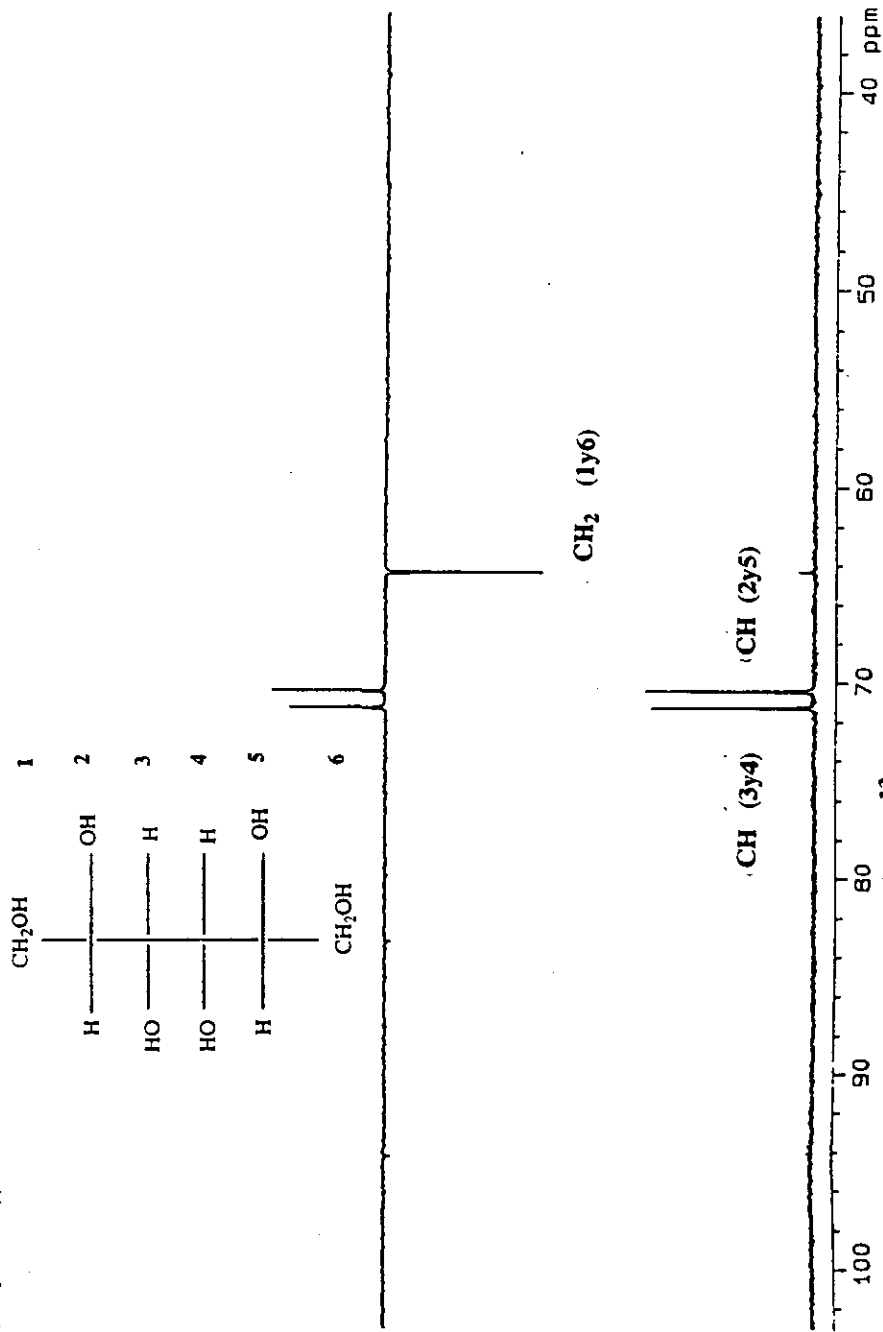
Espectro de RMNP (200MHz/CDCl₃) de la Celastroidina B



Estereodiagrama de Rayos X de la Celastroidina B



Espectro de RMNP (200mhz/D₂O) del Galactitol



Espectro de RMN¹³C (50MHz/D2O) del Galactitol
Experimento de desacoplamiento de protones (DEPT)