

00550



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**Estudio fitoquímico y de la actividad insecticida de los metabolitos
secundarios de *Vitex hemsleyi*.**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. CLARISA VILLEGAS GÓMEZ.



TUTOR: M.C. Baldomero Esquivel Rodríguez. AÑO: 2004.



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.

AGRADECIMIENTOS.

Al inicio de éste proyecto se contó con el apoyo parcial de una beca de la DGEP-UNAM.

Al M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez por el apoyo académico y económico recibido durante el desarrollo de éste proyecto.

Al Dr. José S. Calderón Pardo por el apoyo económico recibido de una beca del Sistema Nacional de Investigadores (Exp.2430).

Este trabajo fue llevado a cabo en el laboratorio 2-9 del Instituto de Química de la U.N.A.M., bajo la asesoría del M en C. Baldomero Esquivel Rodríguez.

CONTENIDO

Abreviaturas
Resumen
Abstract

1. Introducción.	1
2. Objetivos.	3
3. Antecedentes.	5
3.1. Perfil químico del género <i>Vitex</i> .	6
3.2. Insecticidas.	18
4. Parte Teórica.	21
4.1. Elucidación estructural del ácido 3 β -hidroxianticopálico.	22
4.2. Elucidación estructural del ácido anticopálico.	28
4.3. Elucidación estructural del éster metílico del ácido anticopálico.	30
4.4. Elucidación estructural del éster metílico del ácido dehidroabiético.	33
4.5. Elucidación estructural del 3 β -acetoxi-20(29)-Lupeno.	37
4.6. Elucidación estructural de Gardenina B.	40
4.7. Elucidación estructural de Gardenina D.	42
4.8. Elucidación estructural de 4-hidroxibenzaldehído y vainillina.	43
4.9. Elucidación estructural del 2-metil-octacosano.	45
4.10. Elucidación estructural de β -sitosterol.	47
4.11. Pruebas de actividad insecticida.	48
4.11.1 Ensayo insecticida contra <i>Spodoptera frugiperda</i>	50
4.11.2 Ensayo insecticida contra <i>Spodoptera littoralis</i>	59
5. Conclusiones.	63
6. Parte Experimental.	66
7. Bibliografía.	77
8. Apéndice.	85

ABREVIATURAS.

IR	Espectroscopía en el Infrarrojo.
RMN	Resonancia Magnética Nuclear.
EM (I.E)	Espectrometría de Masas por Impacto Electrónico.
EM (FAB ⁺)	Espectrometría de Masas por FAB ⁺ .
FAB	Fast Atom Bombardment.
<i>J</i>	Constante de Acoplamiento.
ν	Número de onda.
TMS	Tetrametilsilano.
ppm	Partes por millón.
MHz	Megahertzio.
Hz	Hertzio.
δ	Desplazamiento Químico.
<i>m/z</i>	Masa/carga.
M^+	Ion molecular.
Rel. Int	Intensidad relativa.
$[\alpha]_D$	Rotación óptica.
<i>s</i>	singulete.
<i>d</i>	doblete.
<i>t</i>	triplete.
<i>c</i>	cuadruplete.
<i>sept</i>	septuplete.
<i>sa</i>	singulete ancho.
<i>dd</i>	doble de dobles.
<i>ddd</i>	doble de doble de dobles.
<i>m</i>	multiplete.
CDCl ₃	Cloroformo deuterado.
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado.
AcOEt	Acetato de etilo.
CH ₃ OH	Metanol.
CH ₂ N ₂	Diazometano.
Pi	Piridina.

RESUMEN

El estudio químico del género *Vitex* (*Verbenaceae*) en México y en el mundo ha llevado al aislamiento de diversos compuestos del tipo diterpénico ó con estructuras variadas como son flavonoides, iridoides, ecdisteroides entre otros, mostrando diversas actividades biológicas tales como antimicrobianos, antifúngicos, insecticidas, etc.

El estudio de *Vitex hemsleyi* llevó al aislamiento de diez compuestos cuyas estructuras se elucidaron a través de métodos espectroscópicos.

Se aislaron dos flavonoides, la gardenina B y la gardenina D. Un esteroide, el β -sitosterol. Un compuesto aromático, el 4-hidroxibenzaldehído en mezcla con vainillina. Un hidrocarburo, el 2-metil-octacosano. Un triterpeno pentacíclico con esqueleto del tipo lupano, el 3 β -acetoxi-20(29)-lupeno. Y cuatro diterpenos.

De los cuatro diterpenos, tres poseen esqueleto del tipo labdano, el ácido anticopálico, el ácido 3 β -hidroxianticopálico y el éster metílico del ácido anticopálico. Y uno del tipo abietano, el éster metílico del ácido dehidroabiético.

Es importante señalar que estos compuestos no son exclusivos del género *Vitex*.

La evaluación del ácido anticopálico contra *Spodoptera frugiperda* mostró una importante actividad antialimentaria. Por otro lado se detectó una actividad fagoestimulante cuando se probó contra *Spodoptera littoralis*.

La evaluación de la gardenina B mostró actividad antialimentaria contra *Spodoptera littoralis*.

ABSTRACT

The chemical analysis of plants belonging to genus *Vitex* (Verbenaceae) led to the isolation of several types of secondary metabolites such as diterpenoids, flavonoids, sterols and iridoids among others. Antibacterial, antifungal and insecticidal activities have been described for some compounds isolated from *Vitex spp.*

The chemical study of *Vitex hemsleyi* led to the isolation of ten secondary metabolites. Their structures were elucidated by spectroscopic methods.

The flavonoids Gardenin B and D were isolated together with β -sitosterol, 4-hydroxybenzaldehyde and vanillin. A branched hydrocarbon 2-methyl-octacosane was also isolated as well as the pentacyclic triterpene 3β -acetoxy-20(29)-lupene. Besides these compounds, four diterpenoids were identified from the aerial parts of *Vitex hemsleyi*.

The diterpenoid compounds were identified as anticopalic acid, 3β -hydroxyanticopalic acid, the methyl ester of anticopalic acid and the methyl ester of dehydroabietic acid. Although these compounds are not exclusive of *Vitex* genus, this is the first time that are described from a Mexican *Vitex* species.

Anticopalic and 3β -hydroxyanticopalic acids showed a significant insecticide activity against *Spodoptera frugiperda*. However, the opposite result i.e. a phagostimulant action was obtained when tested with *Spodoptera littoralis*. On the other hand Gardenin B showed to be active as insect antifeedant in the test with *Spodoptera littoralis*.

I. INTRODUCCION.

La flora de México es considerada como una de las más ricas y variadas del mundo, ello se debe a su situación geográfica, sus condiciones fisiográficas y lo variado de sus climas. Los factores abióticos (precipitación, humedad relativa, luz, temperatura, suelo y altitud) y los bióticos (flora y fauna) son relevantes para entender la distribución de los tipos de vegetación presentes en nuestro país.

Rzedowski ¹ señala que en el territorio mexicano están presentes todos los grandes biomas que se han descrito en la superficie de nuestro planeta, desde desiertos (donde la aridez permite solo el desarrollo de algunas especies), hasta las densas y frondosas selvas húmedas, donde la vegetación es completamente tropical.

Considerando a México una de las zonas florísticas más ricas del mundo se han realizado diversos estudios sobre su uso como plantas medicinales, se calcula que existen 21,600 especies de plantas vasculares de las cuales 3,350 han sido utilizadas desde tiempos prehispánicos como medicinales.²

La familia *Verbenaceae* está constituida a nivel mundial por aproximadamente 75 a 100 géneros y alrededor de 3000 especies distribuidas principalmente en los trópicos y subtropicos y algunas otras en zonas templadas.³

Algunas especies de esta familia han sido utilizadas como medicina tradicional tanto en México como en otras partes del mundo, por lo que hasta la fecha han sido objeto importante de estudio.

El género *Vitex* se encuentra representado por 250 especies de las cuales aproximadamente 40 han sido estudiadas, aislándose compuestos del tipo flavonoide, iridoides y diterpenoides, algunos de los cuales han mostrado actividad antialimentaria, por lo que otras especies pertenecientes a éste género han atraído mayor interés en su estudio.⁴

El presente trabajo muestra el estudio de las hojas de la especie *Vitex hemsleyi*, de ésta no se ha reportado algún estudio fitoquímico hasta la fecha, por lo que se desconoce el contenido químico de ésta especie, su taxonomía es la siguiente:

Reino:	<i>Plantae.</i>
Filo:	<i>Magnoliophyta.</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida.</i>
Orden:	<i>Lamiales.</i>
Familia:	<i>Verbenaceae.</i>
Género:	<i>Vitex.</i>
Especie:	<i>hemsleyi.</i>

Vitex hemsleyi es un árbol de cinco a seis metros de altura, de flor violácea conocida comúnmente como capulín blanco.⁵

II. OBJETIVOS.



OBJETIVOS:

1. Aislar y purificar los metabolitos secundarios presentes en la especie *Vitex hemsleyi*.
2. Caracterizar sus estructuras por métodos químicos y espectroscópicos tales como espectroscopía en el infrarrojo (IR), de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C y espectrometría de masas (EM).
3. Obtener información acerca del contenido químico del género con base en una exhaustiva revisión bibliográfica.
4. Continuar con el estudio sistematizado de algunos géneros de la familia *Verbenaceae*, así como, la posible actividad insecticida y antialimentaria de la especie *Vitex hemsleyi* contra *Spodoptera frugiperda* y *Spodoptera littoralis*.

III. ANTECEDENTES.

3.1 Perfil químico del género *Vitex*.

La revisión que se ha llevado a cabo sobre el perfil químico para el género *Vitex*, señala la presencia de flavonoides tanto libres como glicosidados, diterpenos, iridoides, ecdisteroides y algunos lignanos, en extractos provenientes tanto de raíces como de partes aéreas.

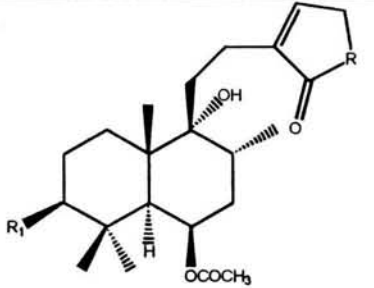
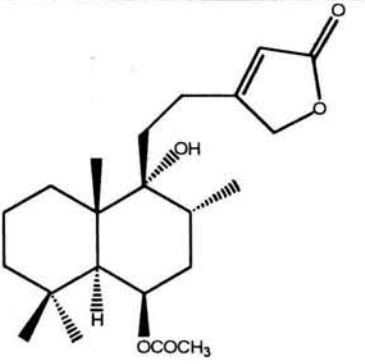
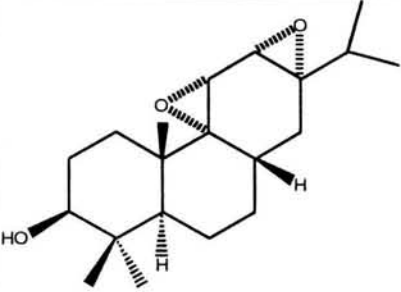
En la **tabla 1** se presenta una revisión efectuada de los compuestos aislados que hasta ahora se han reportado.

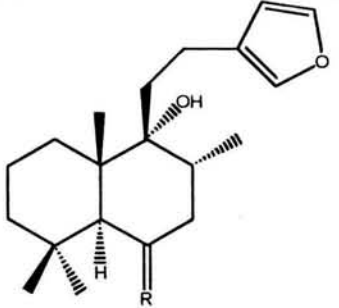
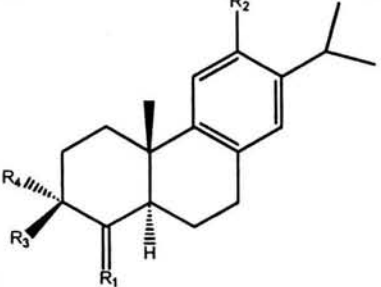
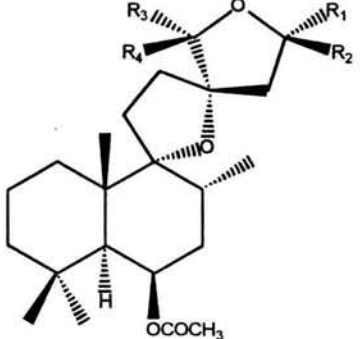
El género *Vitex* ha sido estudiado principalmente por las actividades biológicas descritas, tales como ginecológicas, antiartríticas, antioxidantes, anticancerígenas, analgésicas, antialimentarias, antifúngicas, entre otras.⁶

Acerca de la revisión presentada en la **tabla 1** se pueden hacer las siguientes observaciones:

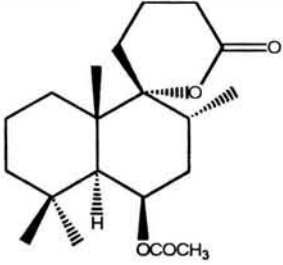
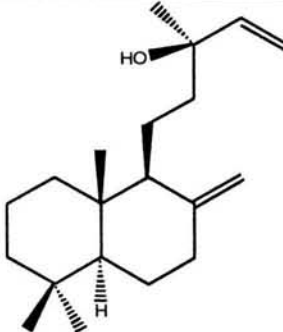
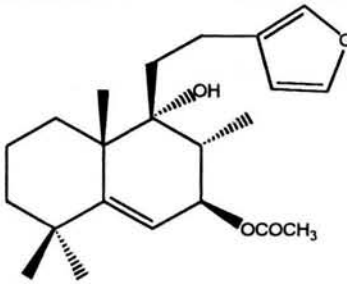
Del total de las especies estudiadas hasta ahora, se han aislado aproximadamente:

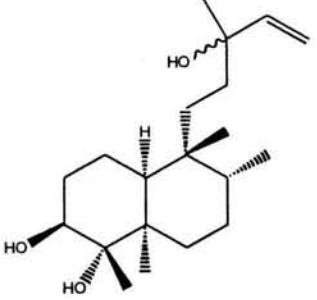
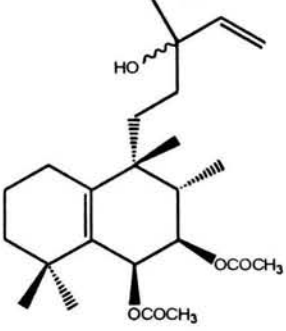
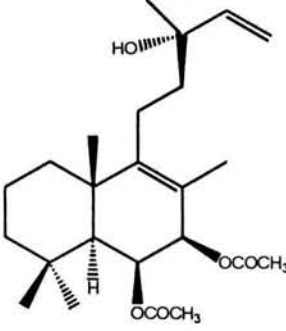
- 1.- 30 Diterpenos con esqueleto del tipo clerodano, labdano y abietano. Todos son compuestos descritos sólo para el género *Vitex*, estos, provienen de especies con distribución en México, Japón, China y Europa.^{7,9}
- 2.- 18 Flavonoides de los cuales la Vitexina (**30**), la Vicenina (**32**), la Lucenina (**37**) y la Artemitina (**34**) no son exclusivos del género *Vitex*, ya que han sido aislados también de la especie *Salvia officinallis* (*Labiatae*)³³, entre otros³⁴, las especies son originarias de la India, Japón, Brazil y Europa.^{17,18.}
- 3.- 16 Ecdisteroides, de los cuales no todos pertenecen al género *Vitex* pues la Agujasterona (**48**), se ha obtenido con anterioridad de la especie *Serratula coronata* (*Asteraceae*)³⁵. Así como la Abutasterona (**49**), la Pterosterona (**50**), la Calonisaterona (**56**) y la Shidasterona (**57**) que ya han sido aislados del género *Briza* (*Graminaceae*)³⁶. Las especies son originarias de Tailandia, E.U. y Europa.^{20,21}
- 4.- 10 Iridoides tanto libres como glicosidados, solo el Agnúsido (**66**) y la Aucubina (**67**) no son exclusivos del género *Vitex*, pues también han sido aislados de la especie *Crescentia cujete*.³⁷
- 5.- 3 Lignanos los cuales han sido descritos sólo para el género *Vitex*.

Estructura	Sustituyentes	Nombre	Ref.
	<p>R = O, R₁=H</p> <p>R = O, R₁=-O-Gluc.</p> <p>R =NH, R₁ = H</p>	<p>(5<i>S</i>,6<i>R</i>,8<i>R</i>,9<i>R</i>,10<i>S</i>)-6-acetoxi-9-hidroxi-13(4)-labden-16-15-olide. (<i>V. rotundifolia</i>)</p> <p>Viteósido A. (<i>V. rotundifolia</i>)</p> <p>Vitexlactama A. (<i>V. agnus-castus</i>)</p>	<p>(1) 7</p> <p>(2) 8</p> <p>(3) 7</p>
		<p>Vitexilactona. (<i>V. agnus-castus</i>) (<i>V. rotundifolia</i>)</p>	<p>(4) 10</p>
		<p>Vitetrifolina A. (<i>V. trifolia</i>)</p>	<p>(6) 11</p>

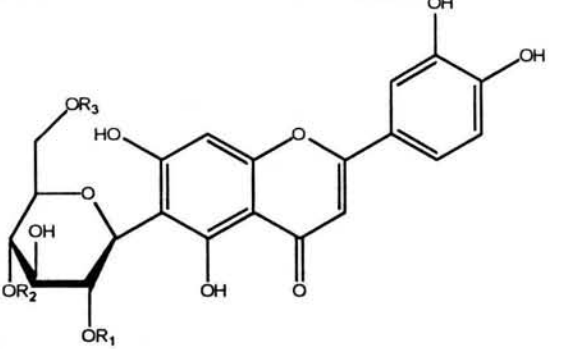
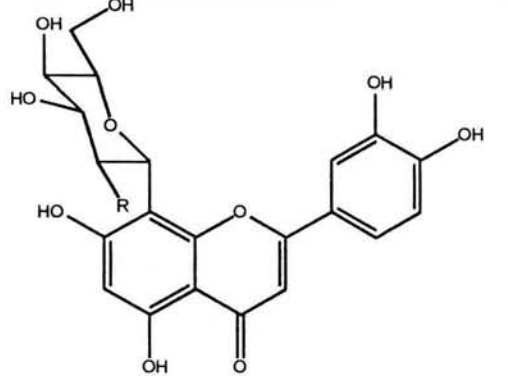
	<p>R= α-OCOCH₃, β-H R= β-OCOCH₃, α-H R= O</p>	<p>Vitetrifolina B. (<i>V. trifolia</i>) (8) 11 Rotundifurano. (<i>V. agnus-castus</i>, <i>V. trifolia</i>) (5) 10,11 Dihidrosolidagenona. (<i>V. trifolia</i>) (10) 11</p>	
	<p>R₁=CH₃/CH₃, R₂=H, R₃=OH, R₄=H R₁=CH₂, R₂=H, R₃=CH₃, R₄=OH R₁=CH₃/CH₃, R₂=OH, R₃=H, R₄=H</p>	<p>Abietatriene-3-β-ol. (<i>V. trifolia</i>, <i>V. rotundifolia</i>) (11) 11 Vitexifolina C. (<i>V. rotundifolia</i>) (15) 9 Ferruginol. (<i>V. rotundifolia</i>) (12) 12</p>	
	<p>R₁=OCH₃, R₂=H, R₃=H, R₄=H R₁=H, R₂=OCH₃, R₃=H, R₄=H R₁=OCH₃, R₂=H, R₃=OCH₃, R₄=H R₁=H, R₂=OCH₃, R₃=OCH₃, R₄=H R₁=OCH₃, R₂=H, R₃=H, R₄=OCH₃ R₁=H, R₂=OCH₃, R₃=H, R₄=OCH₃</p>	<p>(<i>V. rotundifolia</i>) (21) 12 (<i>V. rotundifolia</i>) (22) 12 (<i>V. rotundifolia</i>) (23) 12 (<i>V. rotundifolia</i>) (24) 12 (<i>V. rotundifolia</i>) (25) 12 (<i>V. rotundifolia</i>) (26) 12</p>	

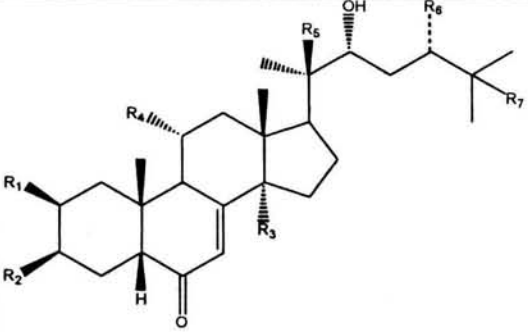
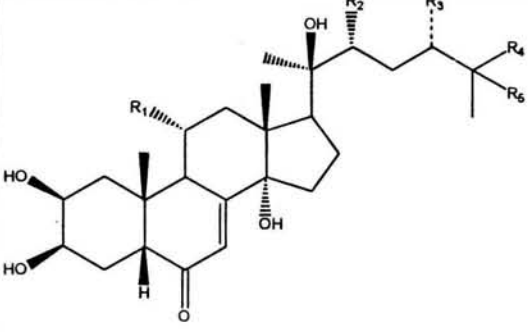
	$R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{H}$ $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OCH}_3$	<i>(V. rotundifolia)</i> <i>(V. rotundifolia)</i>	(27) 12 (28) 12
		Vitexifolina A. <i>(V. rotundifolia)</i>	(13) 9
	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OCOCH}_3$ $R_1 = \text{OCOCH}_3, R_2 = \text{H}$ $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{H}$	Vitexifolina D. <i>(V. rotundifolia)</i> Trisnor- γ -lactona. <i>(V. rotundifolia)</i> Isoambreinólido. <i>(V. rotundifolia)</i>	(16) 9 (19) 9 (20) 9

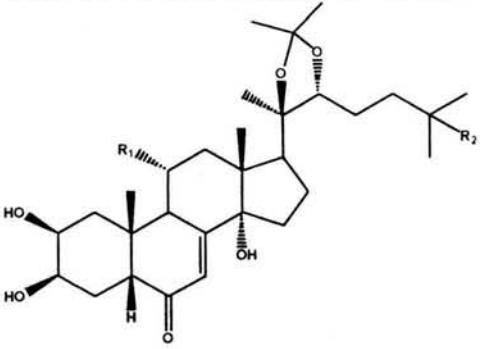
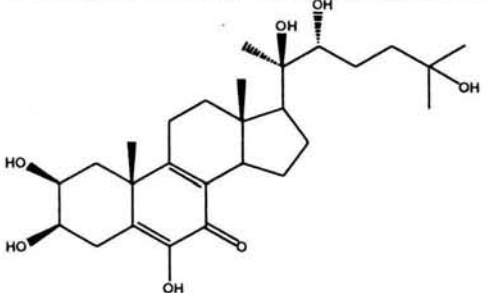
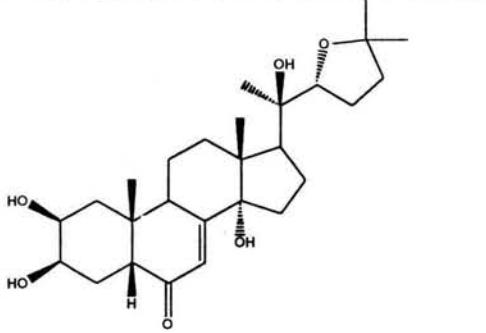
		<p>Vitexifolina E. (<i>V. rotundifolia</i>)</p>	<p>(17) 9</p>
		<p>Manool. (<i>V. rotundifolia</i>)</p>	<p>(29) 9</p>
		<p>Vitetrifolina C. (<i>V. trifolia</i>)</p>	<p>(7) 11</p>

		<p>Vitexifolina B. (<i>V. rotundifolia</i>)</p>	<p>(14) 9</p>
		<p>Vitetrifolina D. (<i>V. rotundifolia</i>)</p>	<p>(9) 9</p>
		<p>6β-7β-diacetoxi-13-hidroxi-labda-8,14-dieno. (<i>V. agnus-castus</i>).</p>	<p>(18) 10</p>

	<p> $R_1=C_6H_{11}O_5$, $R_2=OH$, $R_3=H$, $R_4=OH$, $R_5=H$, $R_6=OH$, $R_7=H$ $R_1=H$, $R_2=OCH_3$, $R_3=OCH_3$, $R_4=OH$, $R_5=OCH_3$, $R_6=OCH_3$, $R_7=OH$ $R_1=H$, $R_2=O-Gluc$, $R_3=H$, $R_4=OH$, $R_5=H$, $R_6=OH$, $R_7=OH$ $R_1=O-Gluc$, $R_2=OH$, $R_3=O-Gluc$, $R_4=OH$, $R_5=H$, $R_6=OH$, $R_7=H$ $R_1=O-Gluc$, $R_2=OH$, $R_3=O-Gluc$, $R_4=OH$, $R_5=H$, $R_6=OH$, $R_7=OH$ $R_1=H$, $R_2=OCH_3$, $R_3=OCH_3$, $R_4=OH$, $R_5=OCH_3$, $R_6=OCH_3$, $R_7=OCH_3$ $R_1=OCH_3$, $R_2=OCH_3$, $R_3=H$, $R_4=OH$, $R_5=H$, $R_6=OCH_3$, $R_7=OH$ $R_1=H$, $R_2=OCH_3$, $R_3=OCH_3$, $R_4=OH$, $R_5=H$, $R_6=OCH_3$, $R_7=OH$ $R_1=H$, $R_2=O-Gluc$ (6''-p-hidroxibenzoyl), $R_3=H$, $R_4=OH$, $R_5=H$, $R_6=OH$, $R_7=OH$ $R_1=OH$, $R_2=OCH_3$, $R_3=OCH_3$, $R_4=OH$, $R_5=OCH_3$, $R_6=OH$, $R_7=OCH_3$ $R_1=H$, $R_2=OH$, $R_3=H$, $R_4=OH$, $R_5=H$, $R_6=OH$, $R_7=OH$ $R_1=H$, $R_2=OCH_3$, $R_3=OCH_3$, $R_4=OH$, $R_5=OCH_3$, $R_6=OCH_3$, $R_7=OCH_3$ $R_1=H$, $R_2=OH$, $R_3=H$, $R_4=OH$, $R_5=OH$, $R_6=OH$, $R_7=OCH_3$ </p>	<p> Vitexina. (<i>V. lucens</i>) (30) 13 Casticina (<i>V. agnus-castus</i>, <i>V. lucens</i>) (31) 14 <i>V. negundo</i>) Luteolina-7-glucósido. (<i>V. lucens</i>) (39) 14 (<i>V. megapotámica</i>) Vicenina I (<i>V. lucens</i>) (32) 15 Lucenina I (<i>V. lucens</i>) (33) 15 5-hidroxi-3,6,7,3',4'-pentametoxiflavona. (<i>V. negundo</i>) (44) 16 5,3'-dihidroxi-6,7,4'-trimetoxiflavona. (<i>V. negundo</i>) (45) 17 5,3-dihidroxi-7,8,4'-trimetoxiflavona. (<i>V. negundo</i>) (46) 17 Luteolina-7-O-(6''-p-benzoil)-glucósido. (<i>V. agnus-castus</i>) (43) 18 4',5-dihidroxi-3-3',6,7-tetrametoxiflavona. (<i>V. agnus-castus</i>) (47) 18 Luteolina. (<i>V. agnus-castus</i>) (38) 18 Artemitina. (<i>V. agnus-castus</i>, <i>V. negundo</i>) (34) 18 Isorhamnetina. (<i>V. agnus-castus</i>) (35) 18 </p>
--	---	---

	<p>$R_1=H, R_2=CH_3, R_3=\text{trans-caffeoyl}$</p> <p>$R_1=H, R_2=H, R_3=\text{trans-caffeoyl}$</p> <p>$R_1=\text{trans-caffeoyl}, R_2=H, R_3=H$</p>	<p>Luteolina-6-C-4'' (metil-6'-O-trans-caffeoilglucósido). (<i>V. agnus-castus</i>) (40)</p> <p>Luteolina-6-C-(6''-O-trans-caffeoilglucósido). (<i>V. agnus-castus</i>) (41)</p> <p>Luteolina-6-C-(2''-O-trans-caffeoilglucósido). (<i>V. agnus-castus</i>) (42)</p>	<p>18</p> <p>18</p> <p>18</p>
	<p>$R=\text{caffeoyl}$</p> <p>$R=H$</p>	<p>2''-O-caffeoilorientina. (<i>V. polygama</i>) (36)</p> <p>Orientina. (<i>V. megapotá mica</i>) (<i>V. polygama</i>) (37)</p>	<p>19</p> <p>19</p>

	<p> $R_1=OH, R_2=OH, R_3=OH, R_4=H,$ $R_5=OH, R_6=H, R_7=OH$ $R_1=OH, R_2=OH, R_3=OH, R_4=OH,$ $R_5=OH, R_6=H, R_7=H$ $R_1=OH, R_2=OH, R_3=OH, R_4=H,$ $R_5=OH, R_6=OH, R_7=OH$ $R_1=OH, R_2=OH, R_3=OH, R_4=OH,$ $R_5=H, R_6=H, R_7=OH$ $R_1=OH, R_2=OH, R_3=OH, R_4=H,$ $R_5=OH, R_6=OH, R_7=H$ $R_1=OH, R_2=OH, R_3=OH, R_4=OH,$ $R_5=OH, R_6=H, R_7=OH$ $R_1=OH, R_2=OH, R_3=OH, R_4=H,$ $R_5=OH, R_6=CH_3, R_7=OH$ $R_1=OH, R_2=OH, R_3=OH, R_4=OH,$ $R_5=OH, R_6=OH, R_7=OH$ $R_1=OH, R_2=OH, R_3=OH, R_4=OH,$ $R_5=OH, R_6=H, R_7=OH$ </p>	<p> 20-hidroxiecdisona. (<i>V. strickeri</i>, <i>V. pinnata</i>, <i>V. canescens</i>, <i>V. scabra</i>) (58) Ajugasterona C. (<i>V. strickeri</i>) (48) Abutasterona. (<i>V. strickeri</i>, <i>V. pinnata</i>) (49) 11α-hidroxiecdisona. (<i>V. strickeri</i>) (59) Ptesrosterona. (<i>V. pinnata</i>) (50) Turkesterona. (<i>V. pinnata</i>, <i>V. canescens</i>) (51) 24-epi-Makisterona A. (<i>V. canescens</i>) (52) (24<i>R</i>)-11α,20,24-trihidroxiecdisona. (<i>V. canescens</i>) (60) Scabrasterona. (<i>V. scabra</i>) (53) </p>	<p> 20-22, 24-25 20 20-23 20 21 21-25 22 23 24 </p>
	<p> $R_1=OH, R_2=OH, R_3=H, R_4=CH_2OH,$ $R_5=OH$ $R_1=H, R_2=H, R_3=OH, R_4=CH_3,$ $R_5=OH$ $R_1=H, R_2=H, R_3=C_5H_4O_2N, R_4=CH_3,$ $R_5=OH$ </p>	<p> 11α-20,26-trihidroxiecdisona. (<i>V. canescens</i>) (61) Pinnatasterona. (<i>V. pinnata</i>, <i>V. scabra</i>, <i>V. pinnata</i>) (54) Canescensterona. (<i>V. canescens</i>) (55) </p>	<p> 23 21, 24, 25 25 </p>

 <p>Chemical structure of a steroid with a 20,22-acetonide group and substituents R₁ and R₂. The steroid core has hydroxyl groups at C-3 and C-14, and a ketone at C-20. The acetonide group is attached to C-20 and C-22.</p>	<p>R₁=H, R₂=OH</p> <p>R₁=OH, R₂=H</p>	<p>20,22-monoacetónido de la 20-hidroxiecdisona. (<i>V. strickeri</i>) (62)</p> <p>20,22-monoacetónido de la Ajugasterona C. (<i>V. strickeri</i>) (63)</p>	<p>20</p> <p>20</p>
 <p>Chemical structure of Calonisterona, a steroid with hydroxyl groups at C-3, C-14, and C-20, and a ketone at C-20. It has a 20,22-dihydroxyethyl side chain.</p>		<p>Calonisterona. (<i>V. canescens</i>) (56)</p>	<p>22</p>
 <p>Chemical structure of Shidasterona, a steroid with hydroxyl groups at C-3, C-14, and C-20, and a ketone at C-20. It has a 20,22-acetonide group.</p>		<p>Shidasterona. (<i>V. canescens</i>) (57)</p>	<p>22</p>

	<p> $R_1 = \text{OCH}_3$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = p\text{-OH-Ph-CO-}$ $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{OCH}_3$, $R_3 = p\text{-OH-Ph-CO-}$ $\Delta_{3,4}$, $R_3 = p\text{-OH-Ph-CO-}$ $\Delta_{3,4}$, $R_3 = \text{H}$ </p>	<p> Nishindasido. (<i>V. cannabifolia</i>) (64) 26 Isonishindasido. (<i>V. cannabifolia</i>) (65) 26 Agnusido. (<i>V. rotundifolia</i>, <i>V. agnus-castus</i>) (66) 27, 28 Aucubina. (<i>V. agnus-castus</i>) (67) 27, 28 </p>	
	<p>$R_1 = \text{Gluc}$, $R_2 = \text{H}$</p>	<p>Mizodendrona. (<i>V. rotundifolia</i>) (<i>V. agnus-castus</i>) (68) 27, 28</p>	
	<p> $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{H}$ $R_1 = \text{H}$, $R_2 = p\text{-OH-Ph-CO-}$, $R_3 = \text{H}$ $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = p\text{-OH-Ph-CO-}$ $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{ácido 8-hidroxi-2,6-dimetil-2,6-octadienóico}$, $R_3 = \text{H}$ $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{ácido 8-hidroxi-2,6-dimetil-2,3-octenóico}$, $R_3 = \text{H}$ </p>	<p> Ac. Musaenosidico. (<i>V. agnus-castus</i>) (69) 28 Ac. 6-<i>p</i>-hidroxibenzoilmusaenosidico. (<i>V. agnus castus</i>, <i>V. negundo</i>) (70) 29, 30 Ac. 2'-<i>p</i>-hidroxibenzoilmusaenosidico. (<i>V. negundo</i>) (71) 29, 30 Agnucastósido A. (<i>V. agnus-castus</i>) (72) 28 Agnucastósido B. (<i>V. agnus-castus</i>) (73) 28 </p>	

	<p>R=H R=OH</p>	<p>Vitrofolal A. (<i>V. rotundifolia</i>) (74) Vitrofolal B. (<i>V. rotundifolia</i>) (75)</p>	<p>31 31</p>
		<p>Vitrofolal C. (<i>V. rotundifolia</i>) (76)</p>	<p>31</p>
	<p>R₁=H, R₂=H R₁=H, R₂=OH R₁=H, R₂=OCH₃ R₁=CH₃, R₂=OH R₁=CH₃, R₂=OCH₃</p>	<p>Cardamomina. (<i>V. leptobotrys</i>) (77) Helichrisetina. (<i>V. leptobotrys</i>) (78) 2',4'-dihidroxi-4,6'-dimetoxichalcona (<i>V. leptobotrys</i>) (79) 4,4'-dihidroxi-2',6'-dimetoxichalcona (<i>V. leptobotrys</i>) (80) 4'-hidroxi-4,2',6'-trimetoxichalcona (<i>V. leptobotrys</i>) (81)</p>	<p>32 32 32 32 32</p>

3.2 Insecticidas.

Por muchos años el hombre ha tratado de proteger sus cosechas contra el ataque de insectos y otros tipos de plagas.

Hay aproximadamente 1 millón de especies de insectos en el mundo, siendo el 70% total de especies del reino animal, de los cuales cerca de 10,000 han sido reconocidos como dañinos o perjudiciales al hombre.³⁸

Está estimado que el 14% de las cosechas perdidas en el mundo son causadas por plagas de insectos.

Debido a estas cifras se han creado nuevas estrategias para el control de plagas, sobre todo en la investigación de insecticidas de origen natural.

Está estimado que hay cerca de 250,000 especies diferentes de plantas en el mundo de los cuales 60 familias son conocidas que poseen propiedades insecticidas, algunas de éstas son: *Compositae*, *Juglandaceae*, *Labiatae*, *Piperaceae*, *Verbenaceae*, entre otras.³⁸

En general los insecticidas están subdivididos en “insecticidas sintéticos” e “insecticidas de origen natural”.

En los insecticidas sintéticos tenemos a los compuestos organoclorados (DDT), organofosforados (malation), piretroides (deltametrin), entre otros³⁹ (**Figura 1**).

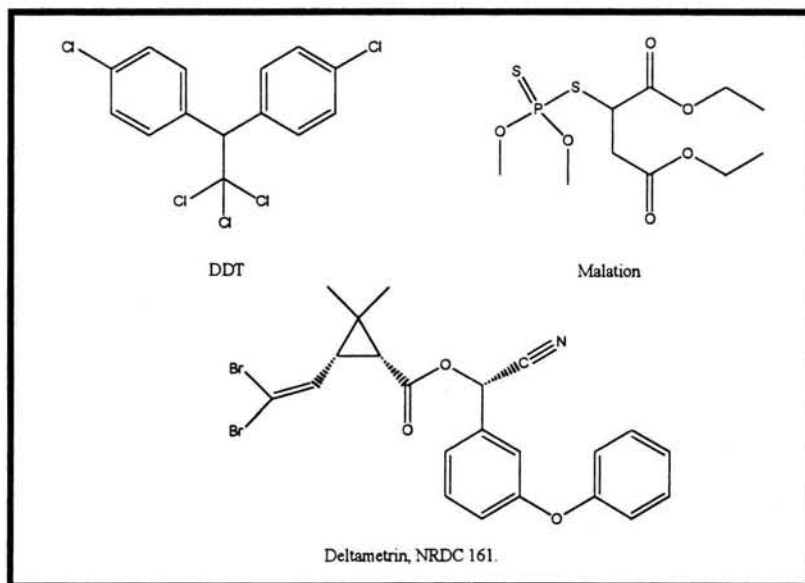


Figura 1.

Estos compuestos en su momento fueron importantes para la agricultura, sin embargo su uso ha causado serios problemas de salud y daño al medio ambiente, además del fenómeno de resistencia que ya presentaban los insectos. Debido a esto surgen los insecticidas de origen natural, los más frecuentemente estudiados son los llamados semioquímicos (sustancias químicas que controlan el comportamiento), dentro de éste grupo tenemos principalmente a las feromonas y a los antialimentarios.

La acción antialimentaria consiste en que los productos que están presentes ó aplicados en las plantas, evita que un insecto se la coma. La muerte puede ocurrir por inanición.⁴⁰

Si se desea utilizar un antialimentario como agente para el control de plagas, debe reunir las siguientes características:⁴¹

- 1.- No debe ser fitotóxico.
- 2.- No debe ser tóxico al hombre, animales, insectos útiles y otros organismos.
- 3.- Ser activo a bajas concentraciones.
- 4.- Ser razonablemente persistente cuando sea aplicado a un cultivo.
- 5.- No debe descomponerse en sustancias tóxicas o de mal sabor.
- 6.- Debe ser fácilmente absorbido por la planta y distribuirse por el vegetal.
- 7.- Ser fácilmente aplicable.
- 8.- Debe ser de bajo costo y fácilmente asequible.
- 9.- Ser compatible con otras formas de control de plagas.
- 10.- No debe afectar el sabor, el olor ó la apariencia de los productos de la planta (hojas o frutos).
- 11.- No debe provocar resistencia en los insectos.
- 12.- Debe ser estable por mucho tiempo.

A la fecha se ha descrito esta actividad para varios compuestos aislados de plantas, tales como alcaloides, cumarinas, flavonoides, antraquinonas, terpenos, entre otros. Los antialimentarios más importantes de origen natural, pertenecen al grupo de los terpenos, tal es el caso de la Azadiractina (**Figura 2**), aislado del árbol del *Neem Azaridacta indica*, este antialimentario cumple con todos los requisitos antes descritos.⁴¹

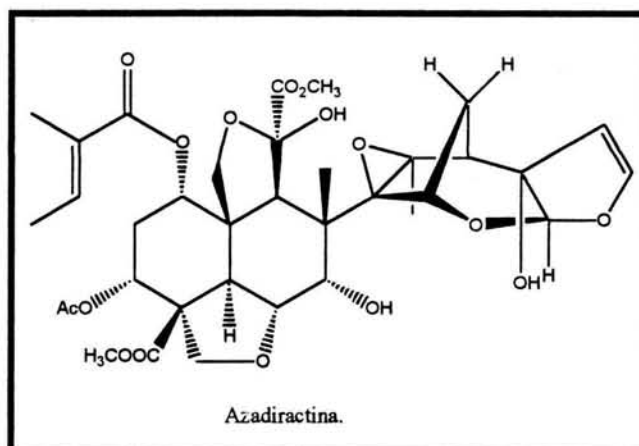


Figura 2.

Ahora con respecto al género *Vitex*, recientemente se ha descrito en la literatura que el extracto crudo de la planta *Vitex trifolia* presenta una importante actividad antialimentaria contra *Spodoptera frugiperda* (principal plaga del maíz en México).⁴²

Por lo anterior y tomando en cuenta que en México y en otras partes del mundo existe un porcentaje considerable de pérdidas de cultivos ocasionadas por plagas de insectos, se establece la necesidad del estudio de nuevos insecticidas de origen natural.

Debido a la abundancia del género *Vitex* en México, se decidió estudiar a la especie *Vitex hemsleyi* y aislar los metabolitos secundarios para investigar su posible actividad insecticida, puesto que ésta especie se presenta en el campo como una planta que no es atacada por insectos.

IV. PARTE TEORICA.

Elucidación estructural de los metabolitos secundarios de *Vitex hemsleyi*.

El presente trabajo incluye el extracto metanólico de las hojas de la especie denominada *Vitex hemsleyi*, la cual fue recolectada en el estado de Morelos.

Del estudio de esta especie se obtuvieron 10 diferentes metabolitos secundarios; a continuación se presenta la elucidación de sus estructuras por métodos espectroscópicos, tratándose con mayor énfasis aquellos que han sido poco estudiados y con importancia biológica.

4.1. Elucidación estructural del ácido 3β-hidroxianticopálico.

Del primer compuesto aislado se obtuvieron 30 mg de un sólido color blanco con punto de fusión de 140°C, cuyas características físicas y espectroscópicas coinciden con las descritas para el ácido 3β-hidroxianticopálico (ácido 3β-hidroxi-8(17),*E*-13-labdadien-15-oico) (**Figura 3**).

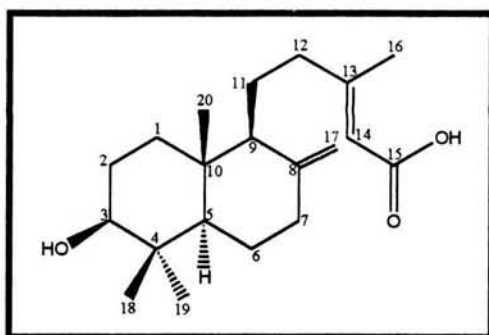


Figura 3. Acido 3β-hidroxianticopálico

El espectro de IR (Susp/nujol) (**Espectro 1**) muestra una banda característica para un grupo hidroxilo a 3353 cm^{-1} y en 3072 cm^{-1} la de un ácido carboxílico cuyo grupo carbonilo se observa en 1693 cm^{-1} . En 1651 cm^{-1} se localiza la banda correspondiente a dobles ligaduras y una banda complementaria en 894 cm^{-1} sugiere que un doble enlace corresponde a un metileno exocíclico.⁴³

En el espectro de masas se observa un ion molecular M^+ 320 que corresponde a la fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_3$, de la cual se calculan 5 insaturaciones.

Con base en todos los datos de espectroscopía se corrobora la estructura base de un diterpeno con esqueleto del tipo labdano⁴⁴ (**Figura 4**), en el cual se localiza un doble enlace conjugado a un carbonilo y otro de tipo exocíclico.

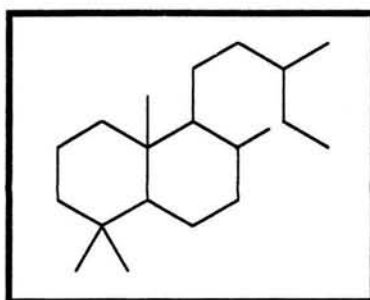


Figura 4. Esqueleto de labdano.

En el espectro de RMN- ^1H se observan a 0.99, 0.77 y 0.69 ppm tres singuletes que integran para tres protones cada uno, lo que indica la presencia de tres metilos, que por su multiplicidad muestra que están unidos a un carbono cuaternario.

A 2.14 ppm se localiza un doblete que corresponde a los protones del metilo de la posición 16, su multiplicidad se debe al acoplamiento con el H-14.

A 4.85, 4.50 ppm se observan dos singuletes anchos, que por su desplazamiento se deduce que son protones gem vinílicos que comprueban la presencia del doble enlace exocíclico en la posición 8(17). En 5.64 ppm se encuentra un cuarteto que debido a su desplazamiento y su multiplicidad se le asigna al (H-14) de naturaleza vinílica y α a un carbonilo α - β insaturado, acoplado al Me-16.

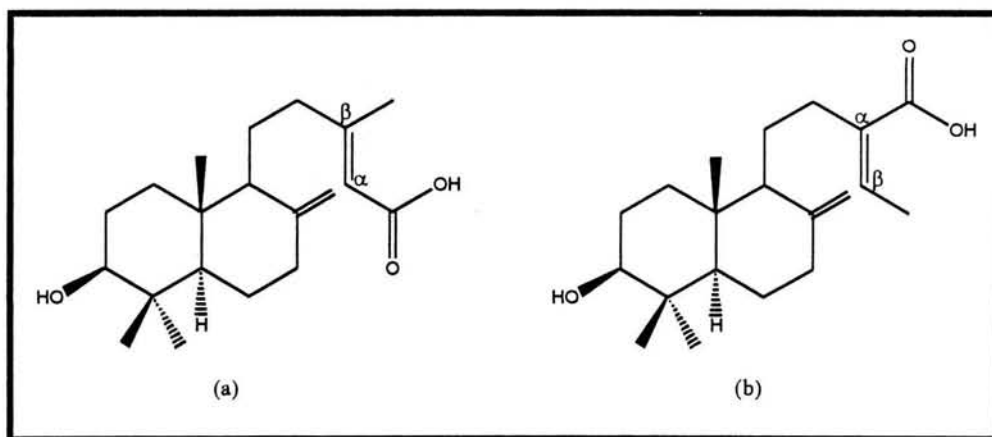


Figura 5.

Si tomamos en cuenta la **figura 5** en **(a)** el H-14 se encuentra α a un carbonilo donde su desplazamiento a 5.64 ppm explica esa posición, pero, dado el caso de que se presentara como en **(b)**, el H-14 estaría β a un carbonilo, encontrando que su desplazamiento sería a campo más bajo, debido al fenómeno de desprotección que se presenta por el carbonilo.

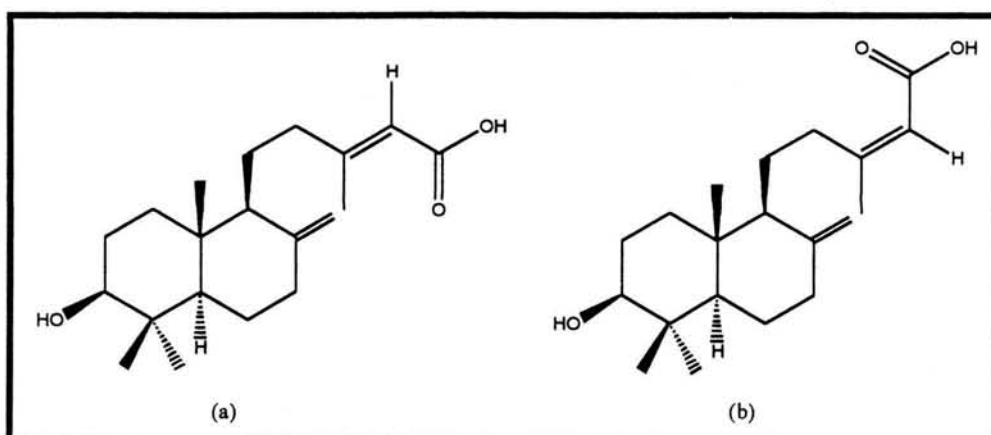
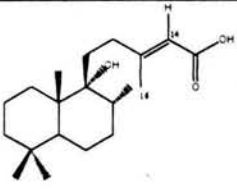
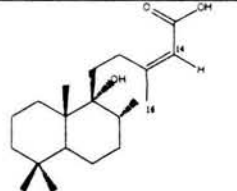
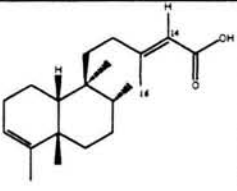
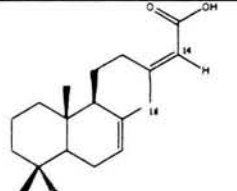
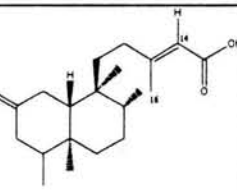
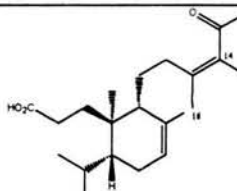


Figura 6.

En la **figura 6** podemos observar las dos orientaciones que puede presentar el ácido con respecto al Me-16, es decir *E* o *Z* ((**a**) y (**b**) respectivamente), para poder confirmar cual es la molécula obtenida se puede observar en la **tabla 2**:

Tabla 2.

Estructura	δ (ppm)	Ref	Estructura	δ (ppm)	Ref
	H-14 5.64 Me-16 2.15	45		H-14 5.74 Me-16 2.06	52
	H-14 5.72 Me-16 2.17	46		H-14 5.63 Me-16 1.90	46
	H-14 5.67 Me-16 2.16	47		H-14 5.80 Me-16 1.66	53
	H-14 5.63 Me-16 2.08	48		H-14 5.62 Me-16 1.91	48

	H-14 5.68 Me-16 2.17	49		H-14 5.67 Me-a6 1.90	49
	H-14 5.68 Me-16 2.17	50		H-14 5.66 Me-16 1.91	54
	H-14 5.68 Me-16 2.15	51		H-14 5.65 Me-16 1.90	55

En la **tabla 2** podemos observar que los desplazamientos en RMN nos indican cual es la orientación del ácido y del Me-16, es decir, el Me-16 es desplazado a campo alto en posición *Z* al ácido y a campo bajo en posición *E* al ácido, debido a los fenómenos de anisotropía y desprotección presentes en las moléculas.

La señal localizada a 3.24 ppm es un doble de dobles ($J= 11.43, 4.71$) que pertenece al hidrógeno de un carbono terciario, que por su desplazamiento se asigna al protón geminal de la posición 3 de la molécula. (**Tabla 3**), las constantes de acoplamiento de este protón ($J= 11.43, 4.71$) indican una orientación ecuatorial para el OH.

Tabla 3. Asignación de señales de RMN-¹H para el ácido 3β-hidroxianticopálico

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
H-3	3.24	<i>dd</i>	11.43, 4.71
H-17	4.85	<i>sa</i>	-
H-17'	4.50	<i>sa</i>	-
H-14	5.64	<i>c</i>	1.17
Me-16	2.14	<i>d</i>	1.17
Me-18	0.77	<i>s</i>	-
Me-19	0.99	<i>s</i>	-
Me-20	0.69	<i>s</i>	-

CDCl₃/DMSO-d₆, TMS, 300 MHz.

La configuración absoluta que presenta el compuesto se asigna con base en una revisión completa sobre los enantiómeros existentes de ésta molécula tomando en cuenta la rotación óptica, donde un $[\alpha]_D$ positivo corresponde al ácido 3 β -hidroxianticopálico, mientras que un $[\alpha]_D$ negativo pertenece al ácido 3 α -hidroxicopálico. (Figura 5).^{56, 57-66}

El compuesto aislado presenta un $[\alpha]_D = +29.4$ (c=0.85mg/mL, CH₃OH).

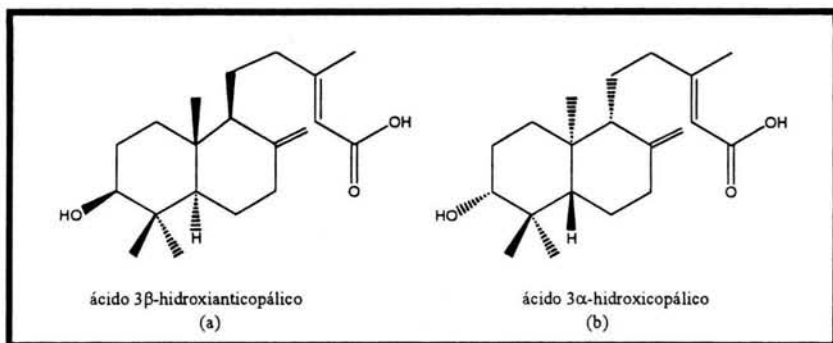


Figura 7. a) $[\alpha]_D = +40.7$ (c=2, CHCl₃), b) $[\alpha]_D = -40.7$ (c=2, CHCl₃).

En el espectro de RMN-¹³C, se presentan 20 señales de las cuales se observa a 168.6, 159.9, 147.5 ppm las señales correspondientes a los carbonos cuaternarios C-15, C-13 y C-8 respectivamente, así como a 18.5, 15.2, 28.1 y 14.2 ppm que pertenecen a los carbonos de metilo C-16, C-18, C-19 y C-20 respectivamente.

El C-3 es una señal doble a 78.1 ppm, la multiplicidad de éstas señales se deduce por el espectro DEPT.

Los carbonos vinílicos C-14 y C-17 se encuentran a 115.6 y 106.4 ppm respectivamente.

En la siguiente tabla (Tabla 4) se presentan los datos de RMN-¹³C para éste compuesto:

Tabla 4. Asignación de señales de RMN-¹³C para el ácido 3β-hidroxicopálico.

C	δ (ppm)	Multiplicidad
C-1	36.8	<i>t</i>
C-2	27.6	<i>t</i>
C-3	78.1	<i>d</i>
C-4	39.3	<i>s</i>
C-5	54.3	<i>d</i>
C-6	23.7	<i>t</i>
C-7	37.8	<i>t</i>
C-8	147.5	<i>s</i>
C-9	55.5	<i>d</i>
C-10	39.4	<i>t</i>
C-11	21.3	<i>t</i>
C-12	40.1	<i>s</i>
C-13	159.9	<i>s</i>
C-14	115.6	<i>d</i>
C-15	168.6	<i>s</i>
C-16	18.5	<i>c</i>
C-17	106.4	<i>t</i>
C-18	15.2	<i>c</i>
C-19	28.1	<i>c</i>
C-20	14.2	<i>c</i>

CDCl₃/DMSO-d₆, TMS, 75 MHz.

Este diterpeno no es exclusivo de ésta familia, pues también se ha aislado de la familia *Pinaceae* de especies como *Pinus strobus* y *Pinus monticola*.⁵⁶ Es importante mencionar que este compuesto no ha sido reportado previamente para el género *Vitex*.

4.2. Elucidación estructural del ácido anticopálico.

De la segunda fracción perteneciente al hexano se aislaron 3 g de un aceite de color amarillo muy claro cuyas características corresponden al ácido anticopálico. (ácido 8(17),*E*-13-labdadien-15-oico) (**Figura 8**).

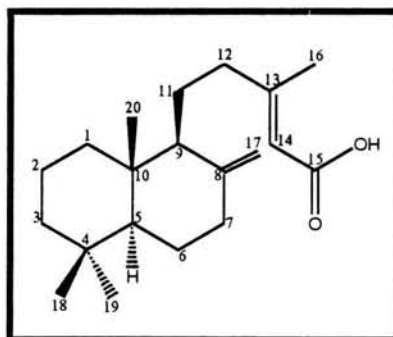


Figura 8. Acido anticopálico.

El espectro de IR (Película) (**Espectro 5**) se observa una banda a 3072 cm^{-1} que sumada a la de 1687 cm^{-1} indican la presencia de un ácido carboxílico. En 1636 cm^{-1} se localiza la banda correspondiente a dobles ligaduras y una banda complementaria en 886 cm^{-1} que sugiere un doble enlace que pertenece a un metileno exocíclico.

En el espectro de masas se observa un ion molecular M^+ 304 correspondiente a una fórmula molecular $C_{20}H_{32}O_2$ de la cual se calculan 5 insaturaciones, tomando en cuenta que en base a los datos de RMN y los anteriormente descritos, se deduce que es un esqueleto del tipo labdano (**figura 4**).

En el espectro de RMN- ^1H se observan a 4.85 y 4.49 ppm los protones gem vinílicos H-17, a 5.67 ppm se observa el protón vinílico de un carbonilo α - β insaturado y a 2.17, 0.87, 0.80 y 0.68 ppm los hidrógenos de los metilos H-16, H-19, H-18 y H-20 respectivamente.

Tabla 5. Asignación de señales de RMN- ^1H para el ácido anticopálico.

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
H-14	5.67	<i>c</i>	1.2
H-17	4.85	<i>sa</i>	-
H-17'	4.49	<i>sa</i>	-
Me-16	2.17	<i>d</i>	1.2
Me-18	0.80	<i>s</i>	-
Me-19	0.87	<i>s</i>	-
Me-20	0.68	<i>s</i>	-

CDCl_3 , TMS, 300 MHz.

La configuración absoluta que presenta éste compuesto está asignado en base a las rotaciones ópticas (**Figura 7 y 9**).

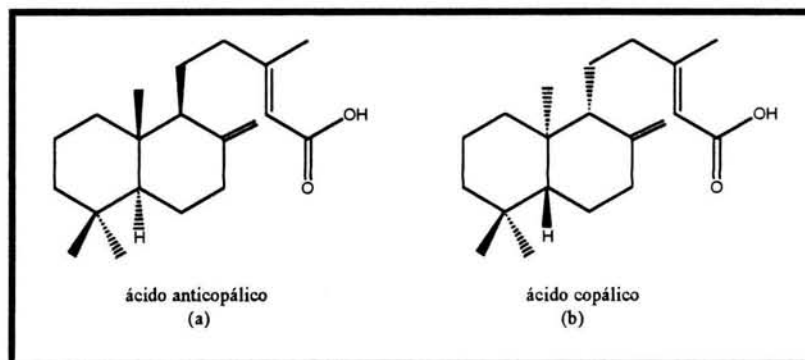


Figura 9. a) $[\alpha]_D = +6.9$ (CHCl_3), b) $[\alpha]_D = -6.9$ (CHCl_3).

La rotación óptica obtenida de éste compuesto es un $[\alpha]_D = +44.3$ ($c=10$, CHCl_3).

En el espectro de RMN- ^{13}C observamos a 171.9 ppm la señal perteneciente al carbono cuaternario del carbonilo C-15, en 114.7 y 106.3 ppm se encuentran los carbonos vinílicos C-14 y C-17 respectivamente. En la siguiente tabla se presentan los datos completos de RMN- ^{13}C :

Tabla 6. Asignación de señales de RMN- ^{13}C para el ácido anticopálico.

C	δ (ppm)	Multiplicidad	C	δ (ppm)	Multiplicidad
C-1	39.1	<i>t</i>	C-11	21.5	<i>t</i>
C-2	19.4	<i>t</i>	C-12	42.1	<i>t</i>
C-3	40.1	<i>t</i>	C-13	164.1	<i>s</i>
C-4	-	<i>s</i>	C-14	114.7	<i>d</i>
C-5	55.5	<i>d</i>	C-15	171.9	<i>s</i>
C-6	24.4	<i>t</i>	C-16	33.6	<i>c</i>
C-7	38.3	<i>t</i>	C-17	106.3	<i>t</i>
C-8	148.3	<i>s</i>	C-18	19.2	<i>c</i>
C-9	56.1	<i>d</i>	C-19	21.7	<i>c</i>
C-10	40.1	<i>s</i>	C-20	14.5	<i>c</i>

La multiplicidad fue determinada por el espectro DEPT.
 CDCl_3 , TMS, 75 MHz.

Este compuesto ha sido aislado con anterioridad de especies como *Pinus strobus* y *Pinus monticola*⁵⁶ y de *Hymenaea coubaril* L,⁵⁹ dentro del género *Vitex* no se ha reportado este compuesto.

Para éste compuesto no se ha reportado ningún tipo de actividad biológica, sin embargo para el ácido copálico se ha descrito que posee una fuerte actividad anti-inflamatoria.⁶⁷

4.3. Elucidación estructural del éster metílico del ácido anticopálico.

Se decide hacer la esterificación de una fracción que contenía grupos ácido, con el objetivo de lograr la separación de dos compuestos, de los cuales uno de ellos fue un aceite incoloro (43 mg) cuyas características espectroscópicas corresponden al éster metílico del ácido anticopálico (**Figura 10 y 11**).

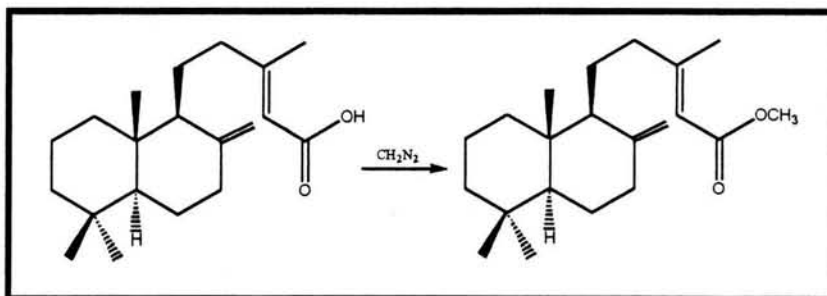


Figura 10. Reacción de esterificación del ácido anticopálico con diazometano.

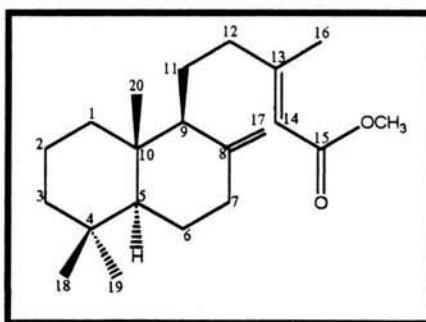


Figura 11. Ester metílico del ácido anticopálico.

El espectro de IR (Película) (**Espectro 9**) muestra a 1720 cm^{-1} la banda de un carbonilo de éster, así como la presencia de un doble enlace trisustituido $\text{C}=\text{C}$ a 1647 cm^{-1} y a 888 cm^{-1} una banda complementaria que corresponde a un doble enlace exocíclico.

El espectro de masas nos muestra un ion molecular M^+ de 318 correspondiente a una fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_2$ del cual se calculan 5 insaturaciones.

El espectro de RMN-¹H muestra un singulete característico en 3.69 ppm que corresponde al metilo del éster, a 4.49 y 4.84 ppm se encuentran dos señales anchas que corresponden a los protones gem vinílicos H-17 y 17', así como a 5.65 ppm el protón vinílico H-14 de un éster α-β insaturado que por su multiplicidad es probable que esté acoplado al metilo de la posición 16. (Tabla 7).

Tabla 7. Asignación de señales de RMN-¹H para el éster metílico del ácido anticopálico.

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
H-17	4.49	<i>sa</i>	-
H-17'	4.84	<i>sa</i>	-
H-14	5.65	<i>c</i>	1.2
OMe-15	3.69	<i>s</i>	-
Me-16	2.17	<i>d</i>	1.2
Me-18	0.80	<i>s</i>	-
Me-19	0.87	<i>s</i>	-
Me-20	0.68	<i>s</i>	-

CDCl₃, TMS, 300 MHz.

En el espectro de RMN-¹³C se observa principalmente a 50.6 ppm la señal que corresponde al metilo del éster (OMe), y por lo tanto a 167.3 ppm la señal del carbonilo C-15, en 114.9 ppm encontramos al carbono vinílico α-β insaturado motivo por el cual presenta ese desplazamiento y finalmente a 106.3 ppm el metileno exocíclico C-17.

Este compuesto presenta un $[\alpha]_D = +43.52$ (c=9.65, CHCl₃). ($[\alpha]_D = +25$ (CH₃OH)).⁵⁷

Las multiplicidades de las señales de RMN-¹³C para el éster metílico del ácido anticopálico están dadas por medio del espectro DEPT.

En la **Tabla 8** se presentan todos los datos de RMN-¹³C para éste compuesto:

Tabla 8. Asignación de señales de RMN-¹³C para el éster metílico del ácido anticopálico.

C	δ (ppm)	Multiplicidad
C-1	39.1	<i>t</i>
C-2	19.4	<i>t</i>
C-3	42.1	<i>t</i>
C-4	33.6	<i>s</i>
C-5	55.5	<i>d</i>
C-6	24.4	<i>t</i>
C-7	38.3	<i>t</i>
C-8	148.3	<i>s</i>
C-9	56.2	<i>d</i>
C-10	39.8	<i>s</i>
C-11	21.5	<i>t</i>
C-12	39.8	<i>t</i>
C-13	161.2	<i>s</i>
C-14	114.9	<i>d</i>
C-15	167.3	<i>s</i>
C-16	18.9	<i>c</i>
C-17	106.3	<i>t</i>
C-18	21.7	<i>c</i>
C-19	33.6	<i>c</i>
C-20	14.4	<i>c</i>
C-21	50.6	<i>c</i>

CDCl₃, TMS, 75 MHz.

4.4. Elucidación estructural del éster metílico del ácido dehidroabiético.

De la esterificación antes mencionada el segundo compuesto resultante en la separación, fue un aceite incoloro (52 mg) cuyas características nos llevaron a concluir que se trataba del éster metílico del ácido dehidroabiético (**Figura 12 y 13**).

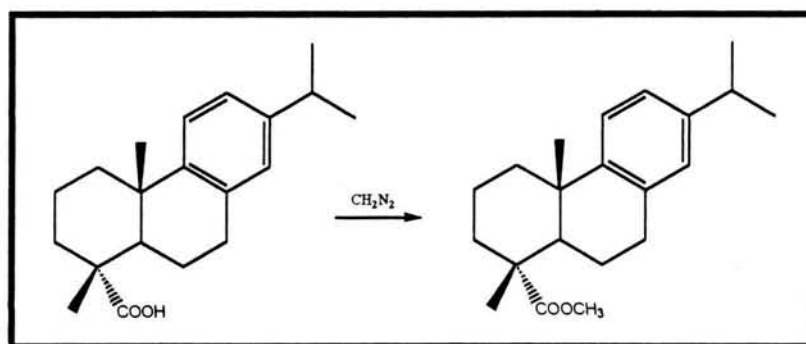


Figura 12. Reacción de esterificación de ácido dehidroabiético con diazometano.

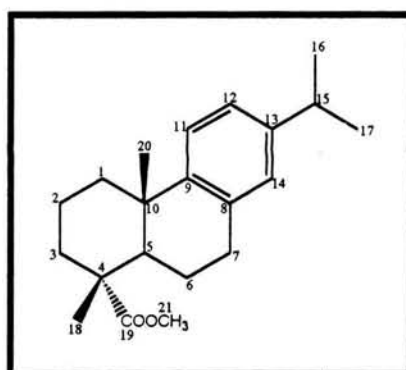


Figura 13. Ester metílico del ácido dehidroabiético.

El espectro de IR (Película) (**Espectro 13**) nos muestra a 1727cm^{-1} la señal característica de carbonilo de éster y a 1497cm^{-1} la señal de dobles ligaduras aromáticas.

En la espectrometría de masas se encuentra un ion molecular M^+ 314 perteneciente a una fórmula molecular $C_{21}H_{30}O_2$ a la cual se le calculan 7 insaturaciones, debido a estos datos y por espectroscopía de RMN se deduce que es un diterpeno con esqueleto del tipo abietano⁴⁴ (**Figura 14**).

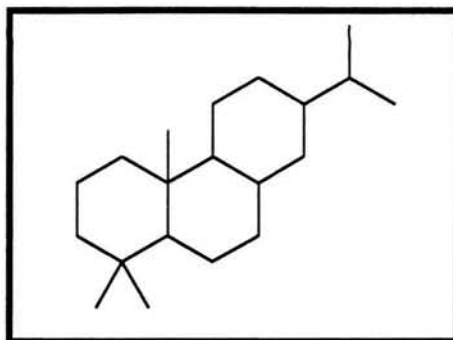


Figura 14. Esqueleto de abietano.

En el espectro de RMN-¹H se observan a 7.18 ppm una señal doble ($J= 8.1$), a 7.01 ppm una señal doble de dobles ($J=8.1, 2.1$) y a 6.88 ppm un singulete las cuales corresponden a un sistema aromático trisustituido en las posiciones 1, 3 y 4, a 3.66 ppm se encuentra una señal simple, que por su multiplicidad se le asigna a un metilo, este se encuentra desplazado por ser un metilo de éster.

A 1.21 ppm se encuentra un doblete que integra para 6 protones al cual se le asignan los metilos del isopropilo H-16, H-17, así como a 1.25, 1.27 y 1.23 ppm tres singuletes los cuales pertenecen a los protones de los metilos 18, 19 y 20 respectivamente.

Por otro lado a 2.85 ppm se encuentra un septuplete que integra para un protón y que por su multiplicidad pertenece al H-15.

A 2.26 ppm se localiza una señal doble de dobles ($J= 12.3, 2.1$) a la cual se le asigna el hidrógeno H-5.

La configuración absoluta que presenta éste compuesto se basa en la rotación óptica reportada en la literatura.

La rotación óptica de obtenida para este compuesto es $[\alpha]_D = +24$ ($c= 1.25, \text{CHCl}_3$) ($[\alpha]_D = +51$ ($c=0.4, \text{EtOH}$)).⁷⁰

Los datos completos de RMN-¹H para éste compuesto se presenta a continuación: **(Tabla 9)**.

Tabla 9. Asignación de señales de RMN-¹H para el éster metílico del ácido dehidroabiético.

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
H-5	2.26	<i>dd</i>	12.3, 2.1
H-11	7.18	<i>d</i>	8.1
H-12	7.01	<i>dd</i>	8.1, 2.1
H-14	6.88	<i>s</i>	-
H-15	2.85	<i>sept</i>	-
Me-16	1.21	<i>d</i>	-
Me-17	1.21	<i>d</i>	-
Me-18	1.25	<i>s</i>	-
Me-19	1.27	<i>s</i>	-
Me-20	1.23	<i>s</i>	-
OMe-21	3.66	<i>s</i>	-

CDCl₃, TMS, 300 MHz.

En la resonancia magnética nuclear de ¹³C se pueden observar 21 señales correspondientes a la molécula, de las cuales a 179.1 ppm se encuentra el carbono del carbonilo C-19, a 134.7 y 146.9 ppm los carbonos C-8 y C-9 respectivamente.

A 23.9 ppm se encuentran los metilos C-16 y C-17 del isopropilo, así como a 16.5 y 25.1 ppm encontramos los metilos C-18 y C-20, finalmente a 51.9 ppm se encuentra el metilo C-21 del éster.

En el caso de los aromáticos a 123.9, 124.1 y 126.9 ppm se encuentran los C-11, C-12 y C-14 respectivamente.

En la siguiente tabla (**Tabla 10**) se encuentran los datos de RMN-¹³C para este compuesto:

Tabla 10. Asignación de señales de RMN-¹³C para el éster metílico del ácido dehidroabiético.

C	δ (ppm)	Multiplicidad
C-1	36.7	<i>t</i>
C-2	17.0	<i>t</i>
C-3	36.9	<i>t</i>
C-4	44.9	<i>s</i>
C-5	38.0	<i>d</i>
C-6	29.9	<i>t</i>
C-7	21.7	<i>t</i>
C-8	134.7	<i>s</i>
C-9	146.9	<i>s</i>
C-10	33.5	<i>s</i>
C-11	123.9	<i>d</i>
C-12	124.1	<i>d</i>
C-13	145.7	<i>s</i>
C-14	126.9	<i>d</i>
C-15	18.6	<i>d</i>
C-16	23.9	<i>c</i>
C-17	23.9	<i>c</i>
C-18	16.5	<i>c</i>
C-19	179.1	<i>c</i>
C-20	25.1	<i>c</i>
C-21	51.9	<i>c</i>

La multiplicidad fue determinada a partir del espectro DEPT.
CDCl₃, TMS, 75 MHz.

El ácido dehidroabiético ha sido aislado de otras especies como son *Pinus taeda*,⁶⁸ *Pinus palustris*,⁶⁹ *Larix kaempferi*,⁷⁰ entre otros.

4.5. Elucidación estructural del 3β-acetoxi-20(29)-lupeno.

En este caso, se llevó a cabo una acetilación para la separación de 16.5 mg de un compuesto que se caracteriza por ser un sólido cristalino de color blanco con punto de fusión de 150°C que corresponde al compuesto 3-β-acetoxi-20(29)-lupeno (Lup-20(29)-en-3β-acetoxi) (**Figura 15 y 16**).

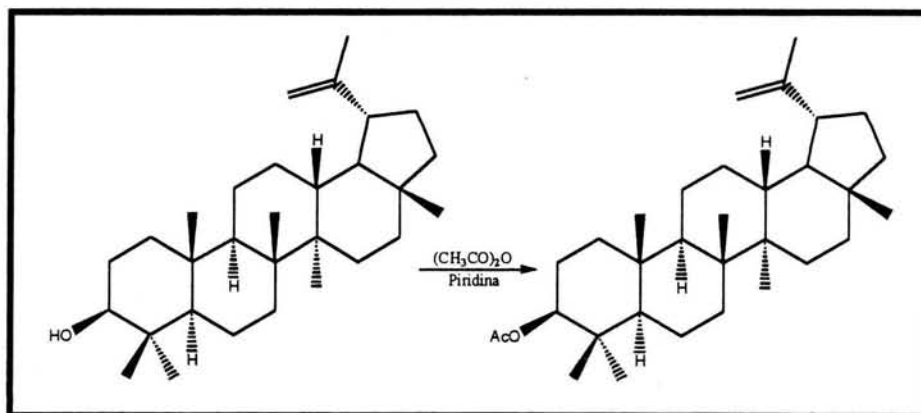


Figura 15. Reacción de acetilación de lupeol

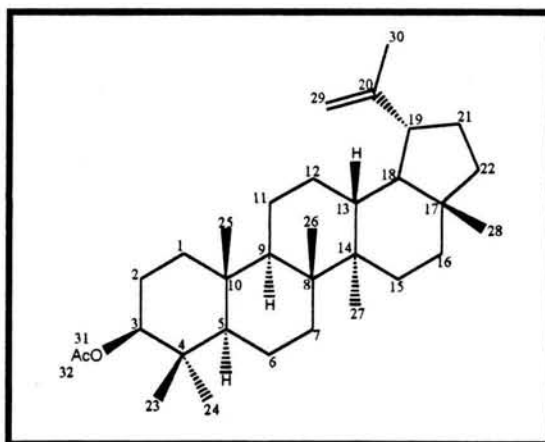


Figura 16. 3β-acetoxi-20(29)-lupeno.

El espectro de IR (Película) (**Espectro 17**) muestra a 1734 cm^{-1} la presencia del carbonilo del acetato y a 1641 cm^{-1} un doble enlace C=C.

En el espectro de masas podemos observar un ion molecular M^+ 468, y un pico con una relación $m/z= 408$ que acompañado de los datos de RMN corresponde a un triterpeno pentacíclico con un arreglo molecular en su estructura del tipo lupano⁷¹ (**Figura 17**), dando como resultado una fórmula molecular de $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_2$ al cual se le calculan 7 insaturaciones.

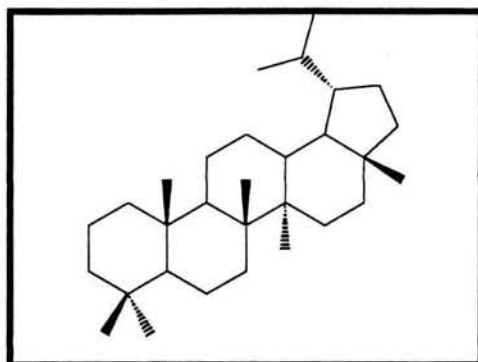


Figura 17. Esqueleto de lupano.

El espectro de RMN-¹H muestra a 4.69 ppm un doblete ($J= 2.35$) perteneciente al hidrógeno gem vinílico H-29 acoplado a H-19 y a 4.57 ppm un doble de dobles ($J= 2.35, 1.47$) que corresponde al otro hidrógeno gem vinílico H-29' acoplado al hidrógeno H-19.

En 4.47 ppm se encuentra la señal asignada para el hidrógeno H-3 desplazada por la presencia del acetato vecino, a 2.37 ppm se encuentra un multiplete que pertenece al H-19, su multiplicidad se debe al acoplamiento existente entre los hidrógenos H-21, H-18 y H-29. (Tabla 11).

Tabla 11. Asignación de señales de RMN-¹H para el 3β-acetoxi-20(29)-lupeno.

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
H-29	4.69	<i>d</i>	2.35
H-29'	4.57	<i>dd</i>	2.35, 1.47
H-3	4.47	<i>m</i>	-
H-19	2.37	<i>m</i>	-
OAc	2.05	<i>s</i>	-
H-25	0.79	<i>s</i>	-
H-26	1.03	<i>s</i>	-
H-27	0.94	<i>s</i>	-
H-28	0.84	<i>s</i>	-
H-30	0.79	<i>s</i>	-

CDCl₃, TMS, 300 MHz.

En el espectro de RMN-¹³C podemos observar los carbonos vinílicos C-20 y C-29 a 150.9 y 109.3 ppm respectivamente, a 80.9 se encuentra el C-3, así como a 55.4 ppm la señal que corresponde al C-19. En 171.0 ppm encontramos al carbono cuaternario del carbonilo y en 21.3 ppm se encuentra el metilo del acetato. A 14.5, 15.9, 17.9, 19.3 y 27.9 ppm se encuentran los metilos C-25, C-26, C-27, C-28 y C-30 respectivamente, las multiplicidades obtenidas por medio del espectro DEPT lo confirman. (Tabla 12).

Tabla 12. Asignación de señales de RMN-¹³C para el 3β-acetoxi-lupeno.

C	δ (ppm)	Multiplicidad
C-1	34.2	<i>t</i>
C-2	38.4	<i>t</i>
C-3	80.9	<i>d</i>
C-4	37.1	<i>s</i>
C-5	47.9	<i>d</i>
C-6	18.2	<i>t</i>
C-7	25.1	<i>t</i>
C-8	40.8	<i>s</i>
C-9	38.0	<i>d</i>
C-10	37.8	<i>s</i>
C-11	23.7	<i>t</i>
C-12	20.9	<i>t</i>
C-13	48.3	<i>d</i>
C-14	42.8	<i>s</i>
C-15	27.4	<i>t</i>
C-16	29.8	<i>t</i>
C-17	42.9	<i>s</i>
C-18	50.3	<i>d</i>
C-19	55.4	<i>d</i>
C-20	150.9	<i>s</i>
C-21	39.9	<i>t</i>
C-22	35.6	<i>t</i>
C-23	16.2	<i>c</i>
C-24	16.5	<i>c</i>
C-25	14.5	<i>c</i>
C-26	15.9	<i>c</i>
C-27	17.9	<i>c</i>
C-28	19.3	<i>c</i>
C-29	109.3	<i>t</i>
C-30	27.9	<i>c</i>
C-31	171.0	<i>s</i>
C-32	21.3	<i>c</i>

CDCl₃, TMS, 75 MHz.

Este compuesto tanto acetilado, como sin acetilar no se ha aislado del género *Vitex*, sin embargo ya ha sido obtenido de la especie *Hieracium plumulosum* de la familia *Asteraceae*.⁷² Estos triterpenos pentacíclicos han reportado una fuerte actividad antileucémica.⁷³

4.6. Elucidación estructural de Gardenina B.

De la fase hexánica, obtenida del extracto metanólico de *V. hemsleyi*, se aislaron mediante cromatografía en columna (hexano: AcOEt, 3:1.5) 82.5 mg de un sólido cristalino color amarillo con punto de fusión 158-160°C cuyas características físicas y espectroscópicas corresponden a la gardenina B (5-hidroxi-6,7,8,4'-tetrametoxiflavona) (Figura 18).

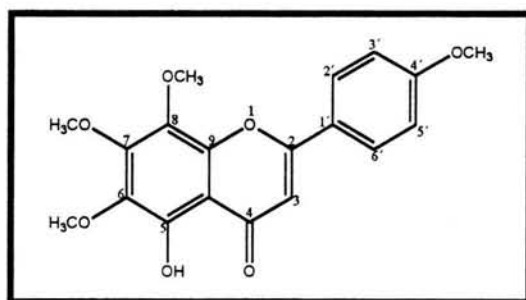


Figura 18. Gardenina B.

En el espectro de IR (CHCl_3) (Espectro 21) observamos a 2840, 2969 y 2937 cm^{-1} las señales correspondientes a los grupos metoxilo, a 1653 cm^{-1} la señal del carbonilo α - β insaturado, en 1560 cm^{-1} la señal de un doble enlace $\text{C}=\text{C}$ de la posición 2-3, a 1597 cm^{-1} las bandas de los aromáticos y en aproximadamente 3000 cm^{-1} se encuentra el OH.

En el espectro de masas se puede observar el ion molecular M^+ 358 que corresponde a una fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7$ con 11 insaturaciones.

En el espectro de RMN- ^1H se muestra que en 3.87, 3.90, 3.92 y 3.96 ppm se encuentran cuatro singletes que por su desplazamiento y multiplicidad corresponden a los metoxilos H-4', H-7, H-6 y H-8.

A 6.50 ppm se encuentra un singlete que corresponde al protón vinílico H-3, el desplazamiento muestra la desprotección que le ocasiona el carbonilo y el oxígeno presentes.

En la región aromática se encuentra un sistema AA'BB' en donde a 7.04 ppm ($J=9.3$) corresponde a los protones aromáticos H-3' y H-5', así como en 8.09 ppm ($J=9.3$) se localizan los protones aromáticos H-2' y H-6'.

Tabla 13. Asignación de señales de RMN-¹H para la gardenina B.

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
H-3	6.50	<i>s</i>	-
H-3' y H-5'	7.04	-*	9.3
H-2' y H-6'	8.09	-*	9.3
Me-4	3.87	<i>s</i>	-
Me-6	3.92	<i>s</i>	-
Me-7	3.90	<i>s</i>	-
Me-8	3.96	<i>s</i>	-
H (OH)	12.63	<i>sa</i>	-

CDCl₃, TMS, 300 MHz.

* Sistema AA'BB'.

En el espectro de RMN-¹³C se observan los metoxilos C-4', C-7, C-6 y C-8 a 55.4, 56.3, 60.1 y 60.8 ppm, los cuales pueden ser intercambiados. A 178.9 ppm se encuentra el C-4 que corresponde al carbonilo. En 158.7 y 106.5 ppm se encuentran los carbonos vinílicos C-2 y C-3 respectivamente.

En la **tabla 14** se encuentran registrados los datos de RMN-¹³C para este compuesto:

Tabla 14. Asignación de señales de RMN-¹³C para la gardenina B.

C	δ (ppm)	Multiplicidad	C	δ (ppm)	Multiplicidad
C-1	-	-	C-2'	130.1	<i>d</i>
C-2	158.7	<i>s</i>	C-3'	140.1	<i>d</i>
C-3	106.5	<i>d</i>	C-4'	90.3	<i>s</i>
C-4	178.9	<i>s</i>	C-5'	114.1	<i>d</i>
C-5	161.7	<i>s</i>	C-6'	130.1	<i>d</i>
C-6	132.2	<i>s</i>	OMe-4' OMe-6 OMe-7 OMe-8	55.4, 60.1, 56.3, 60.8 *	<i>c</i>
C-7	122.8	<i>s</i>			
C-8	138.7	<i>s</i>			
C-9	155.9	<i>s</i>			
C-1'	152.7	<i>s</i>			

La multiplicidad fue determinada a partir del espectro DEPT.

* los valores pueden ser intercambiables.

CDCl₃, TMS, 75 MHz.

Este compuesto ha sido aislado con anterioridad de las especies *Mentha pulegium* y *Mentha suaveolens* de la familia *Labiatae*,⁷⁴ así como de los géneros *Ocium*⁷⁵ y *Biedersteinia*.⁷⁶ Esta flavona se ha estudiado como un potente anticancerígeno, el cual se ha aislado de *Hyptis tomentosa*.⁷⁷

4.7. Elucidación estructural de la Gardenina D.

De la fracción perteneciente a la partición con hexano que se eluyó con 3:2 hexano:acetato de etilo se aislaron 3 mg de un sólido de color amarillo con punto de fusión de 142-144°C y corresponde a la gardenina D (5,3'-dihidroxi-6,7,8,4'-tetrametoxiflavona) (Figura 19).

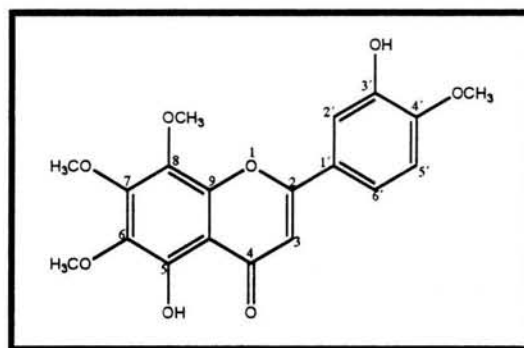


Figura 19. Gardenina D.

En el espectro de IR (Película) (**Espectro 25**) se observa a 3412 cm^{-1} la señal del OH, a 2929 y 2853 cm^{-1} se presentan los metoxilos y 1595 cm^{-1} la señal del carbonilo α - β insaturado.

El espectro de masas muestra un ion molecular M^+ 374 que corresponde a una fórmula molecular $C_{19}H_{18}O_8$ con 11 insaturaciones.

En el espectro de RMN-¹H se observa a 6.51 ppm un singulete que corresponde al hidrógeno H-3 desplazado por ser un hidrógeno vinílico de un carbonilo α - β insaturado.

A 6.99 se observa un doblete ($J=8.65$) que por su multiplicidad y su desplazamiento corresponde al hidrógeno H-5', así como a 7.73 se observa una señal doble de dobles ($J=8.65, 2.04$) que corresponde por lo tanto al hidrógeno H-6' y a 7.68 ppm una señal doble ($J=2.3$) perteneciente al H-2'.

Finalmente los cuatro metoxilos H-4', H-6, H-7 y H-8 a 3.87, 3.92, 3.96, 3.99 ppm respectivamente.

En la **Tabla 15** se muestran los datos de RMN-¹H de éste compuesto:

Tabla 15. Asignación de señales de RMN-¹H para la gardenina D.

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
H-3	6.51	<i>s</i>	-
H-2'	7.68	<i>d</i>	2.3
H-5'	6.99	<i>d</i>	8.65
H-6'	7.73	<i>dd</i>	8.65, 2.04
Me-4'	3.87	<i>s</i>	-
Me-6	3.96	<i>s</i>	-
Me-7	3.92	<i>s</i>	-
Me-8	3.99	<i>s</i>	-
H (OH-3)	5.7	<i>s</i>	-
H (OH-5)	12.08	<i>s</i>	-

CDCl₃, TMS, 300 Mhz.

Este flavonoide se ha aislado también de la especie *Sidertis mugronensis* y *Sidertis jahandiezii*, así como de la especie *Mentha piperita* de la familia *Labiatae*,⁷⁸ entre otros.

4.8. Elucidación estructural del 4-hidroxibenzaldehído.

De la partición del extracto metanólico, la fracción que pertenece al cloruro de metileno sometida a cromatografía en columna (hexano: AcOEt 3:1.5) se aislaron 5 mg de un sólido color amarillo claro, el cual con estudios espectroscópicos se encontró que corresponde al 4-hidroxibenzaldehído en mezcla con vainillina (**Figura 20 y 21**).

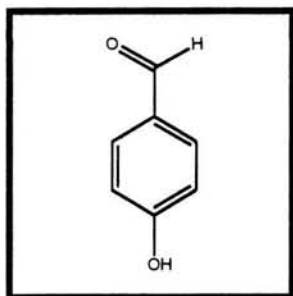


Figura 20. 4-hidroxibenzaldehído.

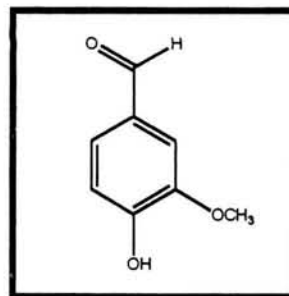


Figura 21. Vainillina.

En un estudio realizado de *Vanilla planifolia* se ha reportado que el componente mayoritario es la vainillina, en donde el 4-hidroxibenzaldehído es un precursor de ésta, al igual que el ácido-4-hidroxibenzoico y el ácido 4-hidroxí-3-metoxibenzoico.⁷⁹

Con base en ésta observación es posible explicarnos el porque se aísla el 4-hidroxibenzaldehído en mezcla con vainillina, tomando en cuenta que el 4-hidroxibenzaldehído está en proporción mayoritaria.

En el espectro de IR (CHCl_3) (**Espectro 28**) podemos observar a 3584 cm^{-1} la señal de un OH, a 1688 cm^{-1} la señal de un carbonilo, así como en 2855 cm^{-1} la señal de un metoxilo y a 2927 cm^{-1} un hidrógeno de aldehído.

En el espectro de RMN- ^1H de la mezcla podemos observar que las señales a 7.83 y 6.98 ppm pertenece a un sistema aromático sustituido en las posiciones 1 y 4, en 9.87 ppm se encuentra la señal de un aldehído (**Tabla 16**), éstas señales corresponden al 4-hidroxibenzaldehído. Ahora se observa que en 7.44 y 7.06 ppm existe un sistema aromático sustituido en las posiciones 1, 3 y 4, en 9.83 ppm se localiza el hidrógeno de un aldehído y en 3.97 ppm se localiza un singulete que por su desplazamiento pertenece a un metoxilo, estas señales pertenecen entonces a la vainillina (**Tabla 17**).

Tabla 16. Asignación de señales de RMN- ^1H para el 4-hidroxibenzaldehído.

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
-CHO	9.87	<i>s</i>	-
H-2 y H-6	7.83	<i>dt</i>	9
H-3 y H-5	6.98	<i>dt</i>	9

CHCl_3 , TMS, 300 MHz.

Tabla 17. Asignación de señales de RMN- ^1H para la vainillina.

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
-CHO	9.83	<i>s</i>	-
H-2 y H-6	7.44	<i>m</i> *	-
H-5	7.06	<i>d</i>	8.4
OMe	3.97	<i>s</i>	-
OH	6.21	<i>s</i>	-

Este patrón de señales fue tomado de una referencia de vainillina.

* señales sobrepuestas.

CHCl_3 , TMS, 300 MHz.

En el espectro de RMN- ^{13}C encontramos a 190.9 ppm un la señal de un carbono que corresponde al carbonilo del aldehído, a 115.9 ppm se encuentra el C-5 y C-3. En 132.4 ppm se encuentra el C-2 y C-6 (**Tabla 18**).

Tabla 18. Asignación de señales de RMN-¹³C para el 4-hidroxibenzaldehído.

C	δ (ppm)	Multiplicidad
C-1	-	-
C-2	132.4	<i>d</i>
C-3	115.9	<i>d</i>
C-4	161.2	<i>d</i>
C-5	115.4	<i>d</i>
C-6	132.4	<i>s</i>
C-7	190.9	<i>s</i>

CDCl₃, TMS, 75 MHz.

4.9. Elucidación estructural del 2-metil-octacosano.

De la elución con 100% de hexano, se aislaron 42.3 mg de una cera color blanco, cuyas características espectroscópicas corresponden al 2-metil-octacosano (**Figura 22**).

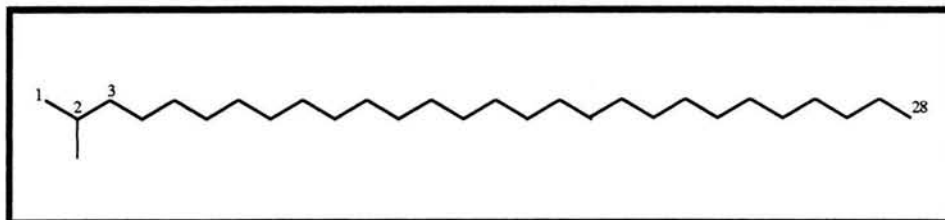


Figura 22. 2-metil-octacosano.

En el espectro de IR (Película) (**Espectro 32**) observamos a 1379 cm⁻¹ una banda doble característica de grupos metilos geminales, la presencia a 1464 cm⁻¹ correspondientes a grupos metilo, y a 2956-2851 cm⁻¹ las bandas que pertenecen a vibraciones C-H.

En el espectro de masas se observa un ion molecular M⁺ 408 que corresponde a una fórmula molecular C₂₉H₆₀. Esto fue identificado por medio de un sistema acoplado GC/EM.

En el espectro de RMN-¹H (**Espectro 33**) se observa a 1.25 ppm una señal simple que integra para 48 protones correspondiente a los grupos metileno. La señal múltiple de 0.83 a 0.90 ppm que integra para 10 protones corresponde a los dos grupos metilos equivalentes de las posiciones 1 y 29, así como el metilo de la posición 28 y el metino de la posición 2.

En el espectro de RMN-¹³C (**Espectro 34**) se observa a 14.1 ppm la señal del C-28, a 19.7 ppm la señal que corresponde al C-2, y a 22.7 y 22.6 las señales correspondientes a los carbonos 1 y 29 (metilo), las señales restantes corresponden a los carbonos de los grupos metileno.

Este compuesto ha sido aislado con anterioridad de una gran variedad de insectos, así como de plantas (**Tabla 19 y 20**).

Tabla 19. Especies de insectos de donde se ha aislado el 2 metil-octacosano.

Animal	Especie	Parte.	Ref
Escarabajo del girasol.	<i>Zygogramma exclamationis.</i>	Superficie cuticular.	80
Avispa.	<i>Vespula vulgaris L.</i>	Superficie cuticular.	81
Escarabajo de la papa.	<i>Leptinotarsa decemlineata.</i>	Cera de huevos, adultos.	82
Cucaracha Alemana.	<i>Blattella germanica L.</i>	Superficie cuticular.	83
Mosca.	<i>Drosophila melanogaster.</i>	Superficie cuticular.	84
Hormiga.	<i>Pogonomyrmex barbatus.</i>	Superficie cuticular.	85
Araña.	<i>Nephila clavipes.</i>	Telaraña.	86
Polilla (larva).	<i>Scoliopteryx libratrix.</i>	Superficie cuticular.	87
Termitas.	<i>Cryptotermes brevis.</i>	Superficie cuticular.	88
Araña.	<i>Tegenaria atrica.</i>	Superficie cuticular.	89
Termitas.	<i>Coptotermes formasanus.</i>	Superficie cuticular.	90
Mariposa.	<i>Heliothis virescens.</i>	Superficie cuticular.	91
Hormiga.	<i>Leptothorax lichtensteini.</i>	Superficie cuticular.	92
Avispa.	<i>Vespula maculifrons.</i>	Superficie cuticular.	93
Pulgón (áphido).	<i>Sitobion avenae F.</i>	Superficie cuticular.	94
Mosca.	<i>Drosophila pseudoobscura.</i>	Superficie cuticular.	95
Grillo.	<i>Acheta domesticus.</i>	Superficie cuticular.	96
Plaga de piceas.	<i>Pikonema alaskensis.</i>	Superficie cuticular.	97

Tabla 20. Especies de plantas de donde se ha aislado el 2-metiloctacosano.

Especie.	Parte.	Ref.
<i>Antirrhinum majus.</i>	Pétalos y hojas.	98
<i>Hamamelis virginiana.</i>	Hojas y corteza.	99
<i>Euphorbia caducifolia</i>	Hojas.	100
<i>Euphorbia helioscopia.</i>	Hojas.	100
<i>Euphorbia royleana.</i>	Hojas.	100
<i>Euphorbia tirucalli.</i>	Hojas.	100
<i>Euphorbia milii.</i>	Hojas.	100
<i>Scutellaria lateriflora.</i>	Hojas.	101
<i>Nicotiana tabacum.</i>	Follaje.	102
<i>Lycopersicon esculentum</i> (tomate).	Cutícula.	103
<i>Amaranthus spinosus.</i>	-	104
<i>Solanum dulcamara.</i>	Hojas.	105

4.10. Elucidación estructural de β -sitosterol.

De la elución 6:1 hexano:acetato de etilo de la parte correspondiente al hexano se aislaron 96 mg de un sólido cristalino color blanco con punto de fusión de 107°C, cuyas características espectroscópicas coinciden con las descritas para el β -sitosterol, en mezcla con estigmasterol (**Figura 22 y 23**).

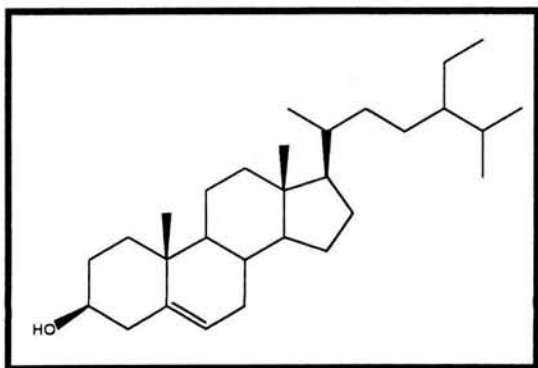


Figura 22. β -sitosterol.

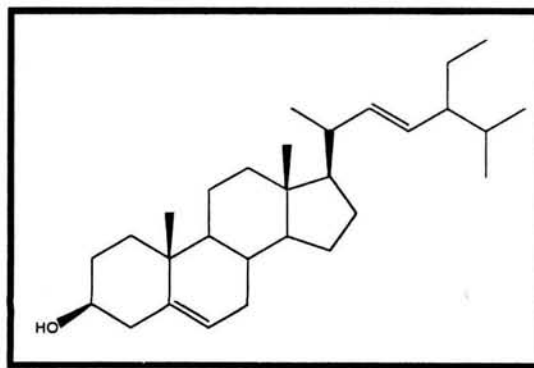


Figura 23. Estigmasterol.

4.11. Pruebas de Actividad Insecticida.

4.11.1. Ensayo insecticida contra *Spodoptera frugiperda*.

Nombre Científico: *Spodoptera frugiperda*. (Lepidoptera: Noctuidae).

Nombre Común: Gusano cogollero de maíz ó palomilla de maíz.

Esta plaga puede atacar alrededor de 60 cultivos y malezas, pero tiene mayor importancia en maíz, sorgo, arroz, pastos y muchos cultivos hortícolas.¹⁰⁷

Es nativa de regiones tropicales, en América se encuentra desde la parte occidental de Estados Unidos hasta Argentina.

El ciclo de vida de éste insecto es de 30 días durante el verano, de 60 días en primavera y otoño y de 80 a 90 días en el invierno.

Ciclo de vida:

a) Huevo: mide cerca de 0.4 mm de diámetro y 0.3 mm de altura, el número de huevos por masa formados sobre las hojas y tallos es de aproximadamente 40 a 300 huevos. Los huevos son inicialmente de color verde claro, volviéndose luego grisáceos antes de eclosionar.

b) Larva: mide de 0.35 a 2.6 mm de ancho y de 1 a 3 cm de largo, generalmente son de color gris, verdoso y a veces casi negro. Es fácil reconocer las larvas ya que en el dorso del antepenúltimo segmento del abdomen tiene 4 puntos negros formando un trapecio y el cuerpo no está cubierto de microespinas.

c) Pupa: la pupación ocurre generalmente en el suelo, en una profundidad de 2 a 8 cm, son de color marrón rojizo y miden cerca de 14 a 18 mm de largo y 4.5 mm de ancho.

d) Adulto: Son palomillas grisáceas que miden cerca de 30 mm de ala a ala. El macho se distingue de la hembra por unos puntos blancos triangulares en las extremidades y en el centro del ala.

Esta plaga mastica el tejido vegetal, la larva puede comportarse como raspador, alimentándose de la epidermis de las hojas, en general las larvas se introducen al cogollo causando daños a las hojas tiernas que luego resultan en hojas con agujeros de tamaño y forma irregular.

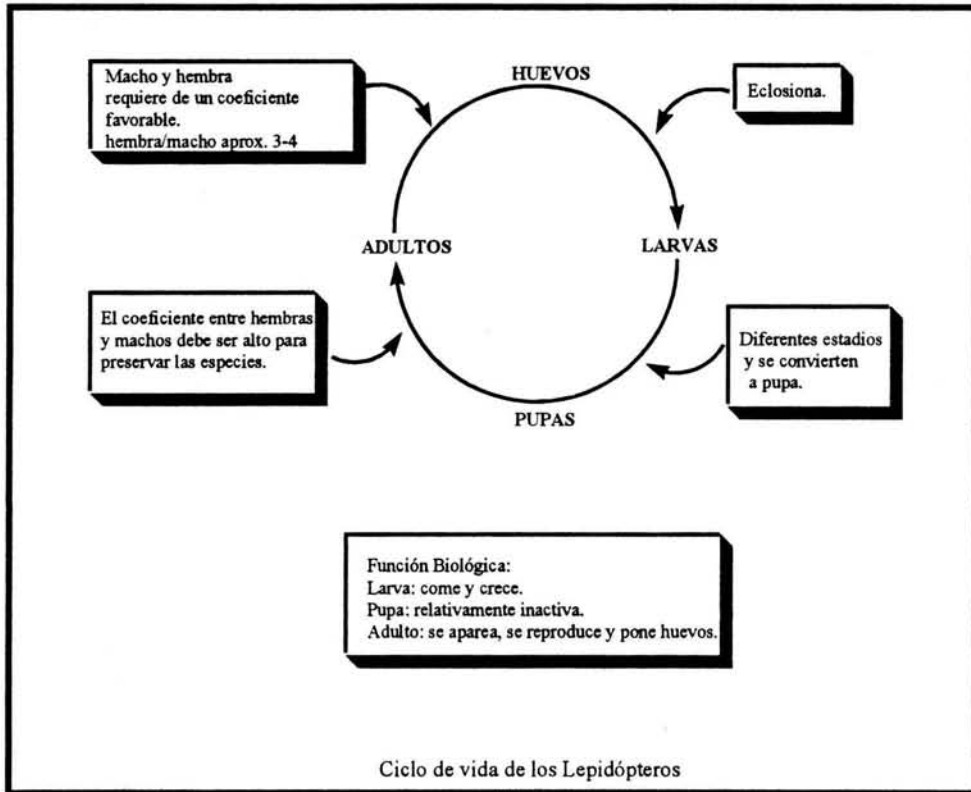


Figura 23. Ciclo de vida de los Lepidópteros.¹⁰⁹

Varios diterpenos aislados de diferentes especies han presentado actividad insecticida y antialimentaria.¹¹⁰ Debido a esto se evalúa la posible actividad insecticida del ácido anticopálico contra *Spodoptera frugiperda* (gusano cogollero de maíz).

El efecto que pueden ocasionar éstos compuestos sobre el ciclo de vida de los lepidópteros se puede observar en la **Figura 24**.

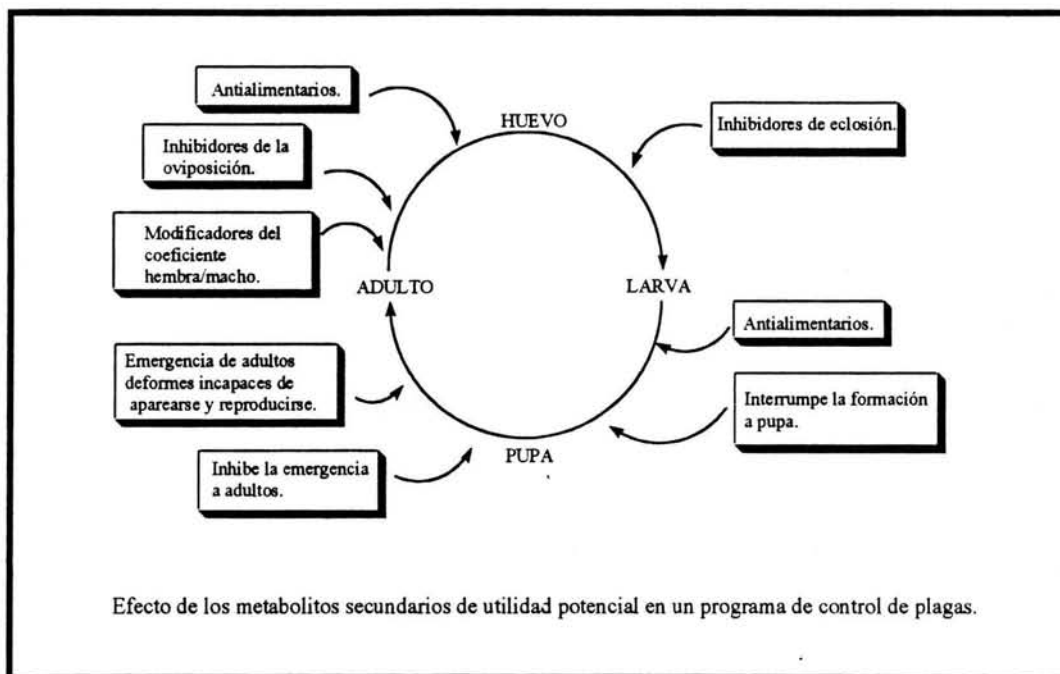


Figura 24.¹⁰⁹

Ensayo insecticida contra *Spodoptera frugiperda*.

El procedimiento seguido para la realización de éste ensayo es el siguiente:

Se utilizaron larvas de 5 días de nacidas de *Spodoptera frugiperda* que proporcionó el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT).

A éstas larvas se les suministró a su dieta artificial 10, 1 y 0.1 ppm del ácido anticopálico. Se colocaron en una cámara de incubación, bajo condiciones controladas de temperatura (27 °C +/- 1.5 °C) y 60 % de humedad relativa, con un fotoperiodo de luz y oscuridad de 16:8 h durante una semana. Se utilizaron 10 larvas por compuesto y su respectivo control, cada larva lleva 2 g de dieta.

1ª. Medición:

A **10 ppm** en la 1ª. medición (1ª. semana) se observa:

<i>No.</i>	<i>Peso (mg).</i>	<i>Talla (cm).</i>
1	114.4	2.0
2	111.3	1.5
3	266.0	3.0
4	214.4	2.5
5	84.7	2.0
6	205.3	2.5
7	248.1	2.5
8	73.7	1.0
9	211.1	2.0
10	118.5	2.0
<i>Promedio</i>	164.7	2.1
<i>Control</i>	406.0	2.9

En la medición se observó el oscurecimiento de las larvas y muy poca movilidad.

A ésta concentración el efecto del tratamiento respecto al control es 60% menos en peso y 28% menos en talla.

Con base en esto se observa que las larvas comieron menos además de que no existió mortalidad, por lo que se concluye que el efecto del compuesto en esta 1ª. Medición es antialimentario.

A **1 ppm** en la 1ª. medición (1ª. semana) se observa:

<i>No.</i>	<i>Peso (mg).</i>	<i>Talla (cm).</i>
1	75.4	1.5
2	114.3	2.0
3	215.6	2.0
4	135.7	2.0
5	200.3	2.5
6	177.1	2.0
7	220.5	2.0
8	184.3	2.0
9	196.1	2.0
10	532.0	1.5
<i>Promedio.</i>	205.1	1.95
<i>Control.</i>	475.6	3.05

Se presentó el oscurecimiento de las larvas y muy poca movilidad.

El efecto del tratamiento respecto al control es 57% menos en peso y 36% menos en talla.

Debido a esto se observa que las larvas comieron menos, además de que no existió mortalidad, con base en esto se concluye que el efecto del compuesto a ésta concentración es antialimentario contra ésta especie.

A **0.1 ppm** en la 1ª. medición (1ª. semana) se observa:

<i>No.</i>	<i>Peso (mg).</i>	<i>Talla (cm).</i>
1	149.2	2.0
2	121.2	2.0
3	221.5	2.0
4	339.5	3.0
5	184.7	3.0
6	147.3	2.0
7	185.2	2.0
8	192.7	2.0
9	162.5	2.0
10	125.7	2.0
<i>Promedio.</i>	182.9	2.2
<i>Control.</i>	372.0	2.8

Existió menos oscurecimiento en las larvas, y se presentó mayor movilidad.

En éste caso el tratamiento respecto al control es de 50% menos en peso y 21% menos en talla.

Debido a los porcentajes del tratamiento respecto al control, se deduce comieron menos y no existió mortalidad, con base en esto se concluye que el compuesto a ésta concentración tuvo un efecto antialimentario.

Estadísticamente la diferencia entre el tratamiento y el control respecto a peso y talla es significativa, obteniendo un valor de 0.00, tomando en cuenta que el límite es < 0.05.

Reuniendo los porcentajes de cada concentración respecto a peso y talla tenemos:

10 ppm 60% menos en peso y 28% menos en talla.
 1 ppm 57% menos en peso y 36% menos en talla.
 0.1 ppm 50% menos en peso y 21% menos en talla.

Se observa que a menor concentración del compuesto el porcentaje de pérdida en peso es cada vez menor, por lo tanto las larvas comen menos y el efecto que se presenta es antialimentario.

2ª. Medición:

A **10 ppm** en la 2ª. medición (2ª. semana) se observa:

<i>No.</i>	<i>Estado.</i>
1	Pupa.
2	Pupa.
3	Pupa.
4	Pupa.
5	Pupa muerta deforme.
6	Pre-pupa.
7	Larva.
8	Pupa.
9	Pre-pupa.
10	Pre-pupa.
<i>Controles</i>	Todos puparon de forma normal.

En ésta evaluación se observa que el 50% pupa normalmente, el 30% se encuentra en estado de pre-pupa, el 10% permanece en estado larvario y el 10% muere como pupa deforme

Se concluye que el 40% muestra alteraciones en la pupación y el 10% interrumpe el paso a pupa, ocasionando baja mortalidad.

A **1 ppm** en la 2^a. medición (2^a. semana) se observa:

No.	Estado.
1	Pupa.
2	Pre-pupa.
3	Pupa muerta deforme.
4	Pupa.
5	Pre-pupa.
6	Pupa.
7	Pupa.
8	Pupa.
9	Pupa.
10	Larva.
<i>Controles</i>	Todos puparon de forma normal.

Estos resultados nos muestran que el 60% pupa normalmente, el 20% se encuentra en forma de pre-pupa, el 10% muere en forma de pupa deforme, y el otro 10% permanece en estado larvario. Se observa que el 40% sufrió alteraciones en la pupación.

A **0.1 ppm** en la 2^a. medición (2^a. semana) se observa:

No.	Estado.
1	Pupa.
2	Pre-pupa.
3	Pupa.
4	Pre-pupa.
5	Pupa.
6	Pupa.
7	Pupa.
8	Pre-pupa.
9	Pupa.
10	Pre-pupa.
<i>Controles</i>	Todos puparon de forma normal.

Estos resultados nos muestran que el 60% pupa normalmente y el 40% restante permanece en estado de pre-pupa. El 40% sufrió alteraciones en la pupación.

3ª. Medición:

A **10 ppm** en la 3ª. medición (3ª. semana) se observa:

<i>No.</i>	<i>Estado</i>
1	Pupa.
2	Pupa.
3	Pupa.
4	Larva muerta.
5	Pre-pupa muerta.
6	Pre-pupa muerta.
7	Adulto.
8	Pupa.
9	Pupa.
<i>Controles</i>	90% emerge normalmente. 10% muere sin eclosionar.

Se observa que el 22.2% muere en forma de pre-pupa, el 11% en forma de estado larvario, el 11% emerge a adulto y el 55.5% permanece como pupa.

De estos resultados podemos concluir que hubo una fuerte alteración en el tiempo de emergencia a adultos.

Tres días después de esta evaluación se observaron los siguientes resultados.

<i>No.</i>	<i>Estado</i>
1	Hembra normal.
2	Macho deforme.
3	Hembra normal.
4	Hembra normal.
5	Macho deforme.

Como se puede observar se tienen tres hembras normales y dos machos deformes, en donde la modificación ó deformidad presente en la fase adulta impide la reproducción entre ellos.

A **1 ppm** en la 3ª. medición (3ª. semana) se observa:

<i>No.</i>	<i>Estado.</i>
1	Pupa.
2	Adulto.
3	Pupa.
4	Pupa.
5	Pre-pupa muerta.
6	Larva muerta.
7	Pupa.
8	Pupa.
9	Pupa.
<i>Controles</i>	Todos emergieron de forma normal.

Estos resultados nos muestran que el 66.6% permanece en forma de pupa, el 10% emergió a adulto, el 11% muere en forma de pre-pupa y el otro 11% restante muere en estado larvario. Se presenta una fuerte alteración en el tiempo de emergencia a adultos.

Después de tres días de esta última medición se observó lo siguiente:

<i>No.</i>	<i>Estado.</i>
1	Hembra deforme.
2	Hembra deforme.

Se observa que después del porcentaje que existía de pupas, solo dos hembras sobreviven las cuales presentan deformidades, además de que no existió la presencia de algún macho que pudiera hacer posible su reproducción.

A **0.1 ppm** en la 3ª. medición (3ª. semana) se observa:

<i>No.</i>	<i>Estado.</i>
1	Pupa.
2	Pre-pupa muerta.
3	Adulto.
4	Pupa.
5	Pupa.
6	Pupa.
7	Pupa.
8	Pre-pupa muerta.
9	Pupa.
10	Pupa.
<i>Controles</i>	90% emerge normalmente. 10% muere sin eclosionar.

Por lo tanto se observa que el 70% permanece en forma de pupa, el 20% muere como pre-pupa, y el 10% restante emergió a adulto. Debido al porcentaje de pupa, se puede remarcar su alteración de la emergencia a adultos.

Después de tres días de ésta última medición se observa:

<i>No.</i>	<i>Estado.</i>
1	Hembra normal.
2	Macho deforme.
3	Hembra deforme.

La deformidad presente en la fase adulta impide la reproducción entre ellos, pues sólo una hembra es normal, y el único macho está deforme.

4.11.2. Ensayo insecticida contra *Spodoptera littoralis*.

Nombre Científico: *Spodoptera littoralis*. (Lepidoptera: Noctuidae).

Nombre Común: Gusano del algodón.

Es una especie polífaga, que ataca a diferentes especies como son la alcachofa, fresa, forrajes verdes, maíz, algodón, tomate, pimiento y especies como *Solanaceae* y *Cruciferaeae*.¹¹¹

Ciclo de vida:

a) Huevo: de forma más o menos esférica, mide cerca de 0.6 mm de largo, los huevos se ponen en racimo separados del abdomen de la hembra.

b) Larva: mide aproximadamente 3.5 a 4.5 cm de largo.

El color varía: de puntos amarillos grises a rojizo o amarillento, con una línea en el dorso acompañada de dos rayas grisáceas. Los bordes llevan marcas triangulares que en los primeros y octavos segmentos se convierten en más grandes marcas negras triangulares aterciopeladas, la superficie inferior de la oruga es grisácea-roja o amarillenta.

c) Pupa: la pupación generalmente ocurre en el suelo a una profundidad de 2 a 5 cm, la pupa mide cerca de 15 a 20 mm de largo, color rojo ladrillo.

d) Adulto: tiene una envergadura de 35 a 40 mm, las alas delanteras son parduscas con insinuaciones azuladas y amarillo a lo largo de la vena mediana, el frente de la extremidad del ala tiene una marca negruzca, pronunciada más en el varón, las alas traseras son blanquecinas, con un borde delantero color marrón, las polillas emergen en el crepúsculo ó en la noche, en menos de una semana.

Se realizaron dos diferentes ensayos contra esta especie, el primero con hojas de pimiento y el segundo con canulación oral.

1) En hojas de pimiento:

a) Acido anticopálico.

Procedimiento:

En cajas Petri se coloca agar a una altura de 0.5 cm, cuando éste solidifica se realizan cuatro perforaciones a través del círculo en forma de cruz (**Figura 25**). En los huecos se colocan recortes de hojas en forma de círculo, sobre los cuales en a y c se colocan 50 µg de la sustancia disuelta previamente en 10 µL de acetona y en b y d sólo se coloca 10 µL de acetona (control).

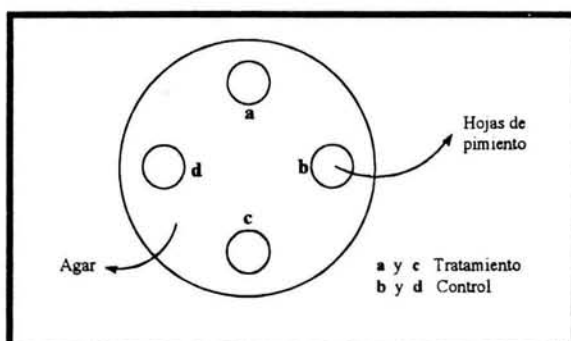


Figura 25.

Se colocan dos larvas de *S. littoralis* al centro de la caja Petri, las larvas se han mantenido 24 h sin alimentación de hojas (sólo tallos). El experimento se detiene cuando han consumido el 75% de los discos de hoja control (hoja y media), o cuando los discos de hoja tratamiento se han consumido al 100%

Se utilizan 5 cajas por compuesto.

Se calcula el porcentaje de la hoja consumida para cada tratamiento y dichos valores se introducen en la fórmula siguiente.

$$\%RA = [1 - T/C] \times 100$$

donde:

%RA = Porcentaje de reducción en alimentación.

T = Porcentaje de hojas tratamiento consumidas.

C = Porcentaje de hojas control consumidas.

En la **Figura 26** se muestra el resultado de hojas tratamiento y hojas control consumidas, observando que las larvas consumieron en mayor proporción las hojas con tratamiento, el porcentaje de las hojas consumidas tanto del tratamiento como del control se introdujeron en la ecuación anterior, obteniendo como resultado un valor negativo, concluyendo que el compuesto tiene una actividad fagoestimuladora y no antialimentaria.

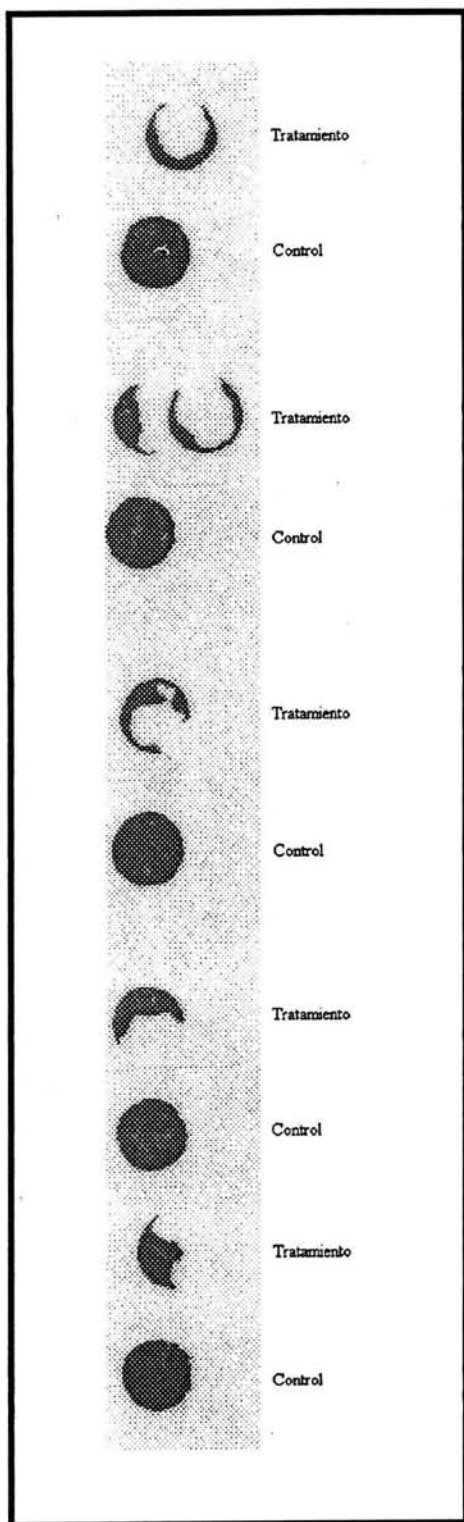


Figura 26. Efecto del ácido anticopálico.

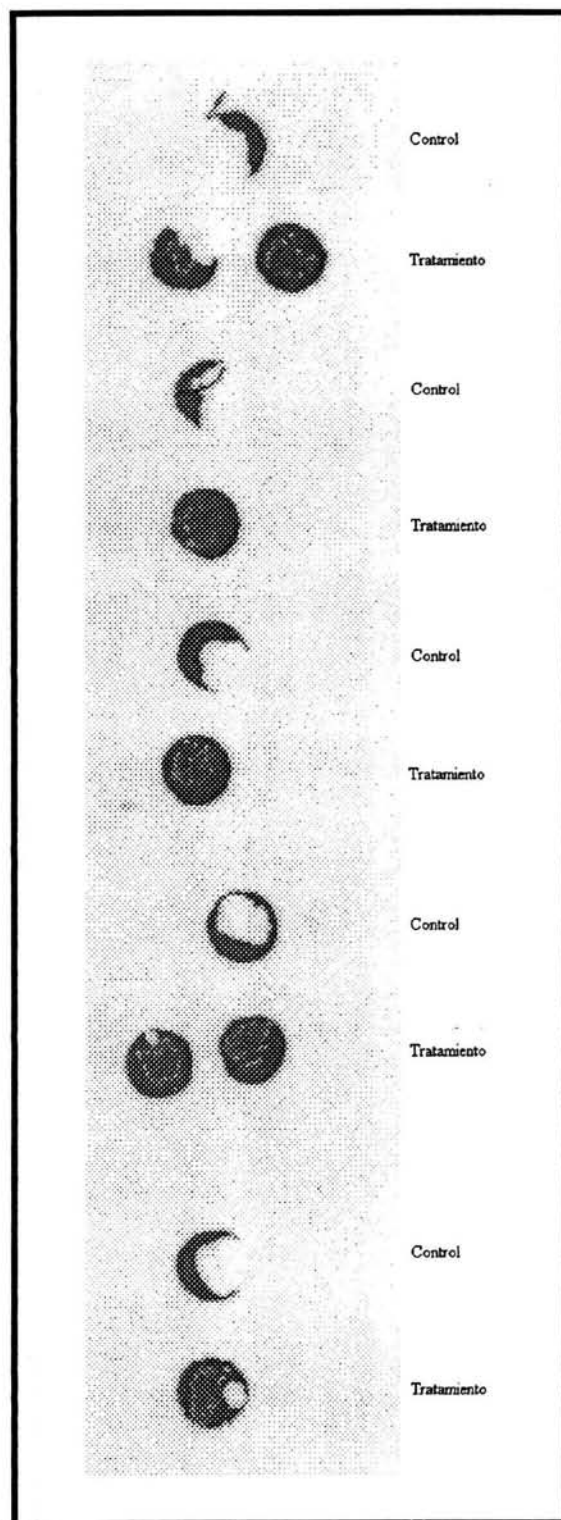


Figura 27. Efecto de la gerdenina B.

b) Gardenina B

Utilizando el mismo procedimiento anteriormente descrito (**Figura 25**), para la gardenina B podemos observar que las larvas consumieron las hojas control y no las hojas tratamiento (**Figura 27**), el resultado obtenido de %RA = 50.646, encontrando que éste posee un valor positivo, concluyendo así que éste compuesto tiene un efecto antialimentario.

2) Canulación oral: ¹¹²⁻¹¹⁴

a) Acido anticopálico.

Procedimiento:

Se disuelven 90 µg del compuesto en 9 µL de DMSO, 4 µL de ésta solución son inyectados en la garganta de la larva usando una microjeringa y un dispensador automático.

Las larvas a utilizar deben de tener un peso entre 200 y 250 mg, así como su dieta de 4-5 mg.

A las larvas se les alimenta por 72 h (20°C) y después de ese tiempo se introducen en un congelador por 24 h para sacrificarlas, luego se colocan en una estufa a 60 °C de 24 a 48 h. Finalmente las larvas se pesan al igual que la dieta, y se busca la diferencia.

3) Se realizó también un ensayo de actividad insecticida del ácido anticopálico y gardenina B contra la especie *Rhopalosiphum padis* (Aphido) y *Leptinotarsa decemlineata* (Escarabajo) sin encontrar actividad.

4) Así mismo se realizó una prueba de alelopatía para comprobar una inhibición de la germinación contra *Lactuca sativa* (Lechuga) donde no existió actividad.

V. CONCLUSIONES.

Conclusiones:

Del estudio del extracto metanólico de las hojas de la especie *Vitex hemsleyi* se obtienen las siguientes conclusiones:

Se aislaron diez metabolitos secundarios, cuatro de ellos son diterpenos, uno es un triterpeno pentacíclico, dos son flavonoides, un compuesto aromático, un hidrocarburo y un estero.

De los diterpenos obtenidos, tres presentan en su estructura un arreglo molecular del tipo labdano los cuales se conocen con el nombre de ácido 3 β -hidroxianticopálico, ácido anticopálico y éster metílico del ácido anticopálico, aislados previamente de *Pinus strobus*, *Pinus monticola* y de *Hymenea coubaril* L.

El otro diterpeno presenta un arreglo molecular del tipo abietano conocido comúnmente como ácido dehidroabiético, obteniéndolo en forma del éster metílico, aislado previamente de especies como *Pinus palustris*, *Pinus taeda* y *Larix kaempferi*.

El triterpeno pentacíclico presenta en su estructura un arreglo molecular del tipo lupano, el cual fue aislado en forma de acetato del Lupeol conocido como 3 β -acetoxi-20(29)-Lupeno, éste compuesto también ha sido aislado de la especie *Hieracium plumulosum*.

De los dos flavonoides obtenidos se presentan en su estructura un arreglo molecular del tipo de las flavonas las cuales ya son conocidas bajo el nombre de gardenina B y gardenina D, las cuales han sido aisladas con anterioridad de *Mentha pulegium*, *Mentha suaveolens* y de *Sidertis mugronensis* entre otros.

Se obtuvo el 4-hidroxibenzaldehído, el cual se presentó en mezcla con vainillina, obteniendo el primero en proporción mayoritaria, éstos compuestos han sido previamente aislados de la especie *Vanilla planifolia*.

El hidrocarburo obtenido se conoce como 2-metil-octacosano, aislado previamente de tabaco, aceite de naranja y de algunos insectos.

El estero obtenido es conocido bajo el nombre común de β -sitosterol, con base en una revisión completa en la literatura, este compuesto es muy conocido.

En general acerca del presente trabajo se puede concluir lo siguiente:

Este trabajo es el primer estudio fitoquímico que se realiza sobre la especie *Vitex hemsleyi*.

El perfil químico encontrado para la especie *Vitex hemsleyi* es de diterpenos, triterpenos, flavonoides, compuestos aromáticos y esteroides obtenidos de las hojas de ésta especie.

Todos los metabolitos aislados han sido obtenidos de otras especies, pero no para el género *Vitex*.

El ácido anticopálico hasta la fecha no ha sido evaluado biológicamente, este es el primer estudio realizado sobre su actividad insecticida y antialimentaria contra *Spodoptera frugiperda* y *Spodoptera littoralis*.

El ácido anticopálico mostró un efecto antialimentario significativo contra *Spodoptera frugiperda* a la 1ª. semana (1ª. medición), y altera de manera importante el ciclo de vida del insecto a comparación de los controles.

El ácido anticopálico fue evaluado contra *Spodoptera littoralis*, encontrando una fuerte actividad fagoestimulante.

La gardenina B se ha evaluado biológicamente con anterioridad, en este caso este compuesto mostró un efecto antialimentario contra *Spodoptera littoralis*.

VI. PARTE EXPERIMENTAL.

Material y aparatos utilizados.

- Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Mel-Temp II y no están corregidos.
- La identificación y la pureza de los compuestos se llevó a cabo por medio de cromatografía en placa fina (CCF) utilizando placas de gel de sílice ALUGRAM[®], SIL G/UV₂₅₄. Para el revelado de éstas placas se utilizó una lámpara de luz ultravioleta ENF-260C y una solución 1% de sulfato cérico en ácido sulfúrico 2N.
- En todas las cromatografías en columna (CC) llevadas a cabo, se utilizó como fase estacionaria, gel de sílice Aldrich 200-400 mesh, 60 Å.
- Los espectros de IR fueron realizados en un espectrofotómetro FT-IR Nicolet Magna 750.
- Los espectros de resonancia magnética nuclear de ¹H y ¹³C fueron realizados en un aparato Varian Unity de 300 MHz.
- Las rotaciones ópticas fueron determinadas en un polarímetro Jasco-Dip-360.
- Los espectros de masas fueron realizados en un espectrómetro de masas Jeol-JMS-AX505HA y Jeol-JMS-SX102A por medio de impacto electrónico.

Aislamiento y purificación de los metabolitos secundarios de *Vitex hemsleyi*.

Recolección.

La especie *Vitex hemsleyi* fue recolectada en la reserva de la biosfera de la sierra de Huautla, Morelos.

Extracción.

Un total de 620 g de material vegetal seco y molido, perteneciente a las hojas, fue puesto a macerar en 20 L de metanol por un lapso de 5 días. Al término de éste tiempo se concentró el extracto, evaporando el disolvente en un rotavapor a presión reducida y posteriormente se llevó a sequedad en una bomba de alto vacío, de ésta forma se obtuvo el extracto seco, cuyo peso fue de 76.5 g.

Partición.

El extracto seco se sometió a una partición mediante un sistema de disolventes: hexano-CH₂Cl₂-agua, por medio de un embudo de separación, las cuales se concentraron obteniendo al final el extracto de hexano (33.3 g) y CH₂Cl₂ (2.4 g).

Separación.

Al extracto seco de CH₂Cl₂ se le practicó una cromatografía en columna (CC) con sílica gel como fase estacionaria y como eluyente se inició con hexano, incrementando la polaridad con una mezcla de hexano:AcOEt hasta llegar a 100% de AcOEt.

Se continuó con diversas técnicas de purificación, para todos los casos que hubo que practicar subsecuentes cromatografías en columna.

Al extracto de hexano se le practicó una cromatografía en columna (CC) utilizando una columna de vidrio de 10 cm de diámetro y sílica gel como fase estacionaria (10 cm de altura), iniciando la elución con 100% de hexano, incrementando la polaridad con mezclas de hexano:AcOEt, hasta llegar al 100% de AcOEt y luego lavando con 100% de metanol, de igual forma se practicaron subsecuentes cromatografías para la purificación de los compuestos.

En el **diagrama 1** se muestra la metodología general seguida durante el trabajo, en los **diagramas 2 y 3** se muestra detalladamente el trabajo experimental para la obtención de los metabolitos secundarios.

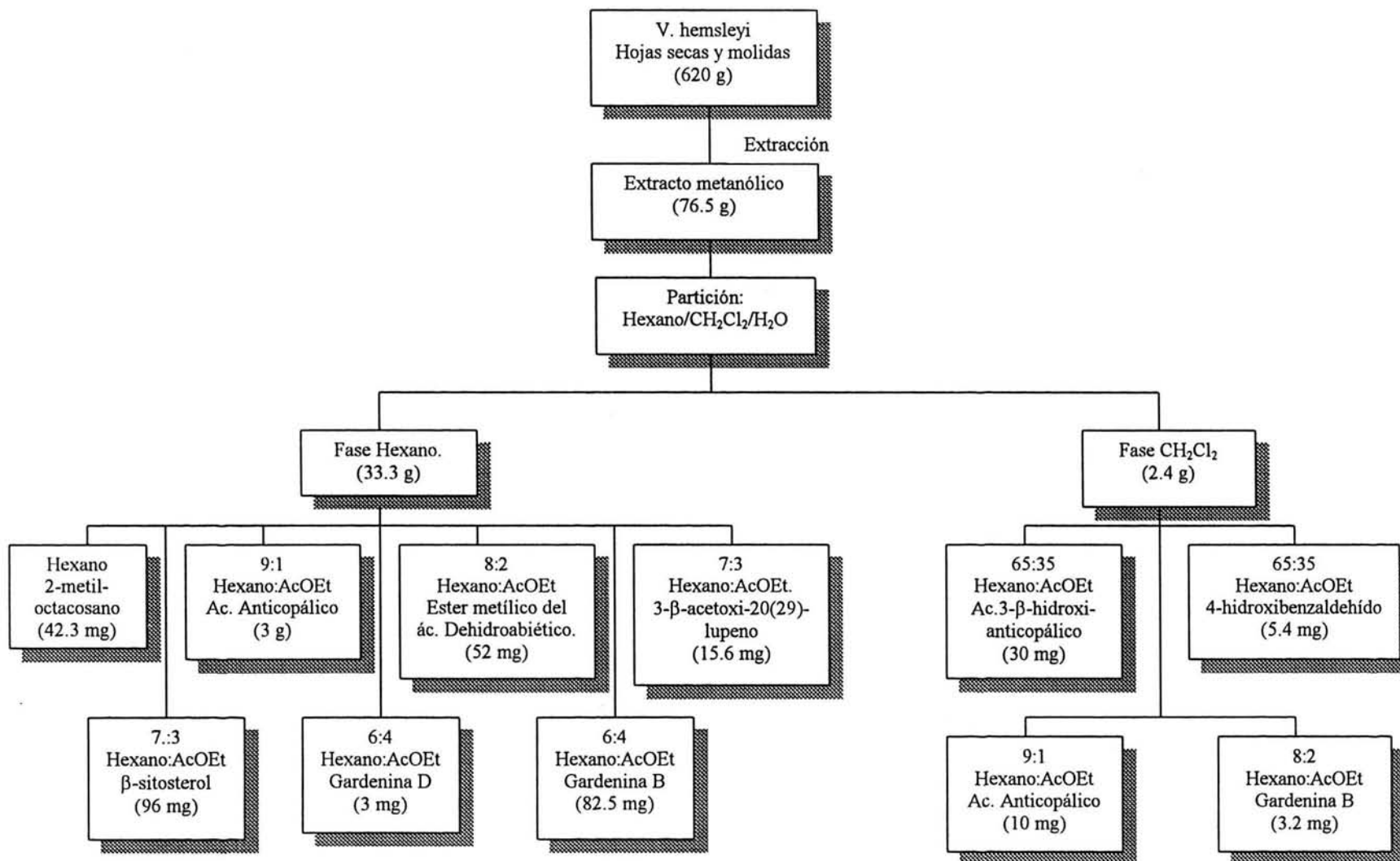


Diagrama 1. Metodología general seguida durante el estudio de *Vitex hemsleyi*.

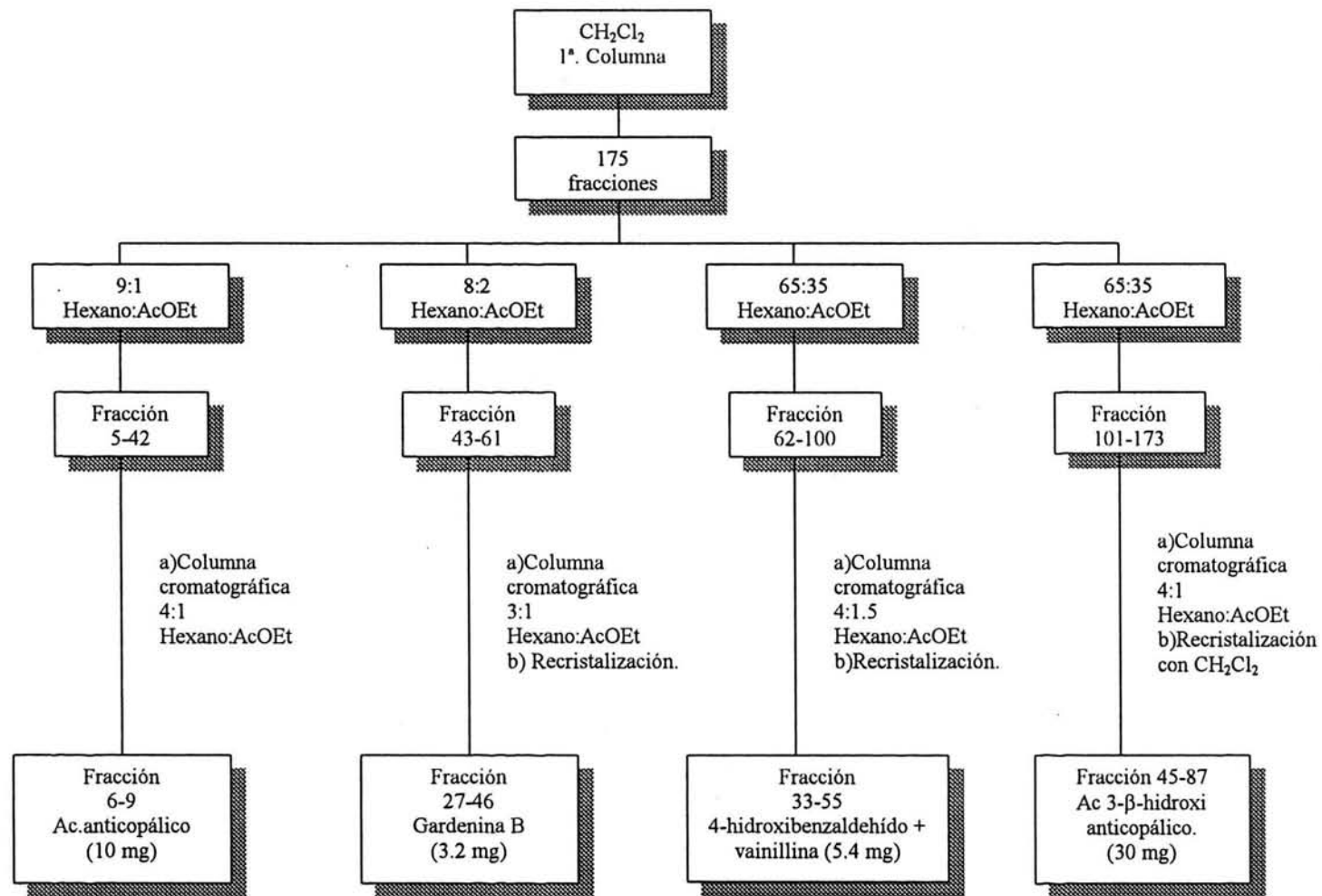


Diagrama 2. Aislamiento y purificación de cuatro metabolitos secundarios obtenidos del extracto CH_2Cl_2 .

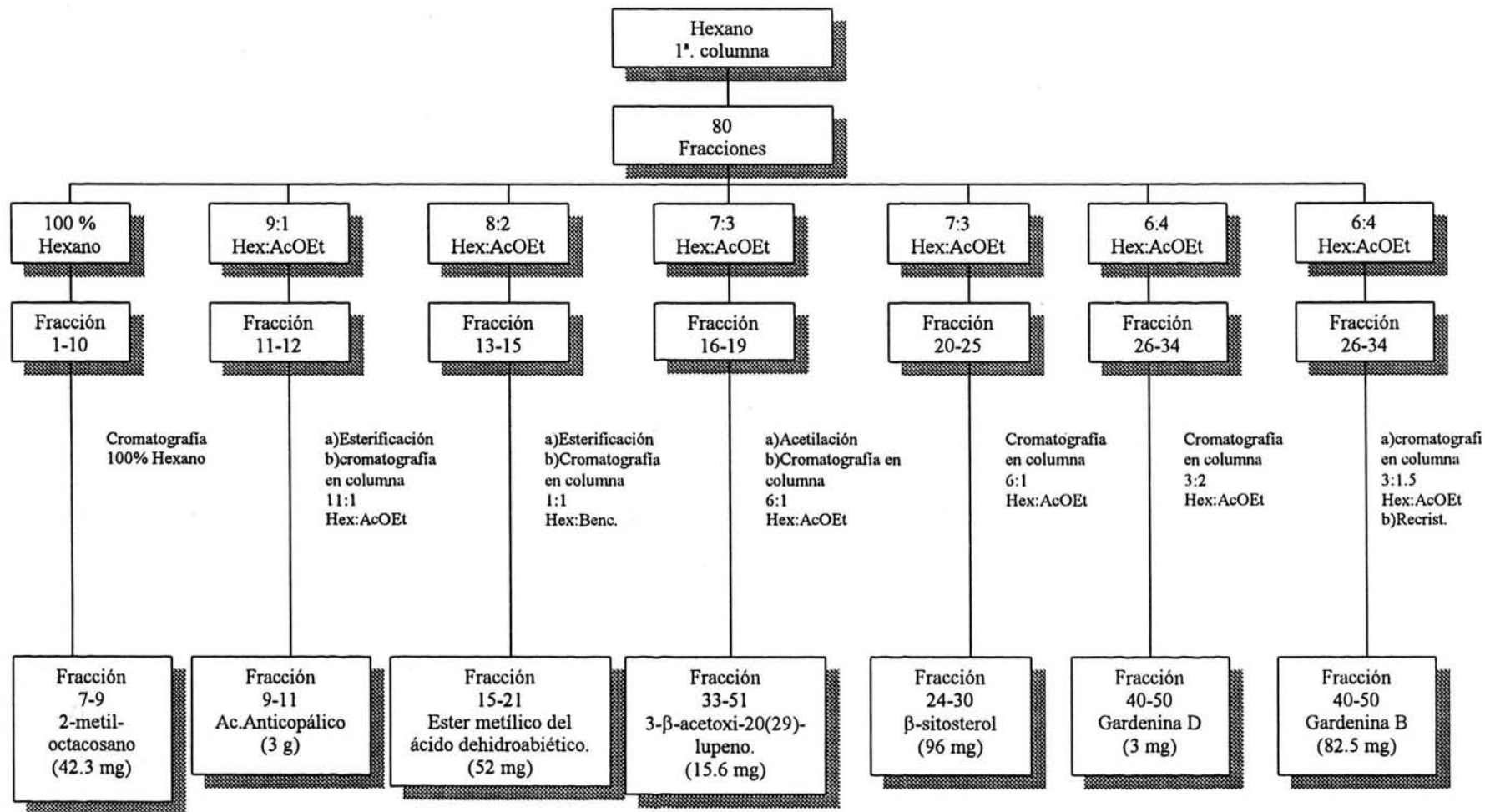


Diagrama 3. Aislamiento y Purificación de siete metabolitos secundarios obtenidos del extracto del Hexano.

Acido 3 β -hidroxi-anticopálico. (ácido 3 β -hidroxi-8(17),*E*-13-labdadien-15-oico).
Sólido color blanco (30 mg) con punto de fusión de 140°C.

IR: $\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1} (Susp/nujol), (**Espectro 1**).
3353, 1693, 1651, 894.

RMN- ^1H 300 MHz (CDCl_3 -DMSO- d_6 /TMS): (**Tabla 3**) (**Espectro 2**).

RMN- ^{13}C 300 MHz (CDCl_3 -DMSO- d_6 /TMS): (**Tabla 4**) (**Espectro 3**).

EM (I.E), m/z (Rel. Int) (**Espectro 4**).

320 (12.5), 302 (40.1), 287 (40.2), 203 (37.1), 175 (21.0), 135 (100), 107 (40.2).

EM, FAB^+ Alta resolución: m/z estimado para $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_3$ igual a un peso molecular 320.2351, m/z observado igual a 320.2349.

$[\alpha]_{\text{D}} = +29.4$ ($c=0.85$ mg/mL, MeOH).

Acido anticopálico. (ácido 8(17),*E*-13-labdadien-15-oico).
Aceite de color amarillo muy claro (3 g).

IR: $\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1} (Película) (**Espectro 5**).
3072, 1687, 1636, 886.

RMN- ^1H 300 MHz (CDCl_3 /TMS): (**Tabla 5**) (**Espectro 6**).

RMN- ^{13}C 300 MHz (CDCl_3 /TMS): (**Tabla 6**) (**espectro 7**).

EM (I.E), m/z (Rel. Int) (**Espectro 8**).

304 (27.5), 289 (78.5), 205 (45.0), 177 (42.7), 137 (100), 123 (63.0), 109 (62.0).

$[\alpha]_{\text{D}} = +44.3$ ($c=10$, CHCl_3).

Ester metílico del ácido anticopálico.

Aceite incoloro (43.5 mg).

Para la obtención del éster metílico del ácido anticopálico fue necesario llevar a cabo una esterificación con diazometano,¹¹⁵ pues, debido a la existencia en IR de un ácido carboxílico y la apariencia de un cometa visto por cromatografía en placa fina (CCF), no era posible definir o separar los productos existentes.

Se disolvieron 100 mg de producto en 50 mL de éter etílico frío, enseguida se añadió lentamente el diazometano, hasta que el producto tomó una coloración amarilla, la reacción se monitoreó por cromatografía en capa fina, dando fin a la reacción con 1 mL de agua fría, cuando se definieron tres productos. Se sometió a una purificación por medio de cromatografía en columna, obteniendo en uno de los productos el éster metílico del ácido anticopálico.

IR: $\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1} (Película) (**Espectro 9**).

1720, 1647, 888.

RMN-¹H 300 MHz (CDCl₃/TMS): (**Tabla 7**) (**Espectro 10**).

RMN-¹³C 300 MHz (CDCl₃/TMS): (**Tabla 8**) (**Espectro 11**).

EM (I.E), m/z (Rel. Int), (**Espectro 12**).

319 (58.0), 303 (93.1), 287 (33.5), 205 (55.5), 137 (100), 114 (95.0), 95 (77.2).

$[\alpha]_{\text{D}} = +43.52$ (c=9.65, CHCl₃).

Ester metílico del ácido dehidroabiético.

Aceite incoloro (52 mg).

Este compuesto fue el segundo en aislarse de la esterificación ya antes mencionada.

IR: $\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1} (Película) (**Espectro 13**).

1727, 1246.

RMN-¹H 300 MHz (CDCl₃/TMS): (**Tabla 9**) (**Espectro 14**).

RMN-¹³C 300 MHz (CDCl₃/TMS): (**Tabla 10**) (**Espectro 15**).

EM (I.E), m/z (Rel. Int), (**Espectro 16**).

314 (89.8), 299 (94.7), 253 (78.9), 239 (100), 197 (37.0).

$[\alpha]_{\text{D}} = +24$ (c=1.25, CHCl₃).

3 β -acetoxi-20(29)-lupeno.

Sólido color blanco (16.5 mg) con punto de fusión de 150°C.

Del tercer compuesto aislado de la esterificación antes mencionada, se decidió realizar una reacción de acetilación, debido a la dificultad para purificarlo, esto corroborado por el OH presente en el espectro de IR.

Se procedió a disolver 30 mg del compuesto aislado en piridina seca¹¹⁶ (1 mL), para después agregar anhídrido acético destilado¹¹⁶ (1 mL), se siguió la reacción por cromatografía en capa fina, y así se le agregó 1 mL de agua fría para detener la reacción cuando se observó la formación de un solo producto. Se retiró el disolvente por medio de una bomba de alto vacío, sometiéndose a una purificación por medio de cromatografía en columna, obteniendo así el producto deseado.

IR: $\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1} (Película) (**Espectro 17**).
1734, 1641.

RMN-¹H 300 MHz (CDCl₃/TMS): (**Tabla 11**) (**Espectro 18**).

RMN-¹³C 300 MHz (CDCl₃/TMS): (**Tabla 12**) (**Espectro 19**).

EM (I.E), m/z (Rel Int) (**Espectro 20**).
468 (31.5), 408 (7.5), 218 (100), 189 (63.5), 135 (38.0).

$[\alpha]_{\text{D}} = +44.21$ (c=0.95, CHCl₃).

Gardenina B. (5-hidroxi-6,7,8,4'-tetrametoxiflavona).

Sólido cristalino de color amarillo (82.5 mg) con punto de fusión de 158-160°C

IR: $\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1} (CHCl₃) (**Espectro 21**).
2937, 1597, 1560.

RMN-¹H 300 MHz (CDCl₃/TMS): (**Tabla 13**) (**Espectro 22**).

RMN-¹³C 300 MHz (CDCl₃/TMS): (**Tabla 14**) (**Espectro 23**).

EM (I.E), m/z (Rel.Int) (**Espectro 24**).
358 (100), 343 (55.0), 339 (26.5), 149 (49.0).

Gardenina D. (5,3'-dihidroxi-6,7,8,4'-tetrametoxiflavona).

Sólido cristalino de color amarillo (3 mg).

IR: $\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1} , (Película) (**Espectro 25**).

3412, 2929, 2853, 1654.

RMN- ^1H 300 MHz (CDCl_3/TMS): (**Tabla 15**) (**Espectro 26**).

EM (I.E), m/z (Rel Int) (**Espectro 27**).

374 (100), 359 (50.0), 355 (22.5), 331 (17.0), 151 (12.5).

4-hidroxibenzaldehído.

Sólido de color amarillo claro (5 mg).

IR: $\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1} (CHCl_3) (**Espectro 28**).

3584, 2927, 1688, 858.

RMN- ^1H 300 MHz (CDCl_3/TMS): (**Tabla 16**) (**Espectro 29**).

RMN- ^{13}C 300 MHz (CDCl_3/TMS): (**Tabla 18**) (**Espectro 30**).

RMN- ^1H 300 MHz (CDCl_3/TMS) (Vainillina): (**Tabla 17**).

EM (I.E), m/z (Rel. Int) (**Espectro 31**).

152 (10.0), 122 (73.1), 93 (56.2), 71 (83.7), 57 (100), 43 (55.0), 20 (9.8).

2-metil-octacosano.

Cera color blanco (42.3 mg).

IR: $\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1} (Película) (**Espectro 32**).

1379, 1464, 2922.

RMN- ^1H 300MHz (CDCl_3/TMS): (**Espectro 33**).

RMN- ^{13}C 300 MHz (CDCl_3/TMS): (**Espectro 34**).

EM (I.E), m/z (Rel.Int) (**Espectro 35**).

408 (11.0), 393 (10.0), 365 (18.5), 252 (12.5), 156 (58.7), 57 (100), 43 (60.0).

β -sitosterol.

Sólido de color blanco (96 mg) con punto de fusión de 107°C.

IR: $\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1} (Pastilla/KBr) (**Espectro 36**).
3427, 1462.

EM (I.E), m/z (Rel.Int) (**Espectro 37**).
414 (100), 396 (55.0), 381 (37.5), 303 (41.7), 255 (45.0), 213 (38.6).

VII. BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Rzedowski, J. *Vegetación de México*, Ed. Limusa, México, 1978.
- 2.- Arnason, R., Mata, R., Romeo, T., *Phytochemistry of Medicinal Plants. Recent Advances in Phytochemistry*. 1995, 29, 65-82.
- 3.- www.botany.hawaii.edu/faculty/carr/verben.htm.
www.desert-tropicals.com/plants/verbenaceae.html.
- 4.- botit.botany.wisc.com
www.botanica.com/eb/article.
- 5.- Martínez, M. *Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas*, Fondo de cultura económica, México, 1979.
- 6.- a) Dharmasin, M., Javakodi, J., Galhena, G., Liyanage, S., Ratnasooriya, W. *Journal of Ethnopharmacology*, 2003, 87, 199-206.
b) Samy, P., Ignacimuthy, S., Sen, A., *Journal of Ethnopharmacology*, 1998, 62, 173-182.
- 7.- Sheng-Hong, L., Sheng-Xiang, Q., Xue-Mei, N., Santarsiero, B., Mesecar, A., Fong, H., Farnsworth, N., Dong, H. *Tetrahedron Letters*, 2002, 43, 5131-5134.
- 8.- Ono, M., Ito, Y., Nohara, T. *Phytochemistry*, 1998, 48, 207-209.
- 9.- Ono, M., Yanaka, T., Yamamoto, M., Ito, Y., Nohara, T. *Journal of Natural Products*, 2002, 65, 537-541.
- 10.- Hoberg, E., Orjala, J., Meier, B., Sticher, O. *Phytochemistry*, 1999, 52, 1555-1558.
- 11.- Ono, M., Sawamura, H., Ito, Y., Mizuki, K., Nohara, T. *Phytochemistry*, 2000, 55, 873-877.
- 12.- Ono, M., Yamamoto, M., Masuoka, C., Ito, Y., Yamashita, M., Nohara, T. *Journal of Natural Products*, 1999, 62, 1532-1537.
- 13.- Briggs, L., Cambie, R. *Tetrahedron*, 1958, 3, 269-273.
- 14.- Hänsel, R., Leuckert, C., Rimpler, H., Schaaf, K. *Phytochemistry*, 1965, 4, 19-27.
- 15.- Seikel, M., Chow, J., Feldman, L. *Phytochemistry*, 1966, 5, 439-455.
- 16.- Banerji, A., Chadha, M., Malshet, V. *Phytochemistry*, 1969, 8, 511-512.
- 17.- Achari, B., Chowdhory, U., Dutta, P., Pakrashi, S. *Phytochemistry*, 1984, 23, 703-704.
- 18.- Hirobe, C., Qiao, Z., Takeya, K., Itokawa, H. *Phytochemistry*, 1997, 46, 521-524.

- 19.- Leitão, S., Manache, F. *Phytochemistry*, **1998**, *49*, 2167-2169.
- 20.- Zhang, M., Stout, M., Kubo, I. *Phytochemistry*, **1992**, *31*, 247-250.
- 21.- Suksamrarn, A., Sommechai, C. *Phytochemistry*, **1993**, *32*, 303-306.
- 22.- Suksamrarn, A., Promrangsarn, N., Chitkul, B., Homvisasevongsa, S., Sirikate, A. *Phytochemistry*, **1997**, *45*, 1149-1152.
- 23.- Suksamrarn, A., Promrangsarn, N., Jintasirikul, A. *Phytochemistry*, **2000**, *53*, 921-924.
- 24.- Suksamrarn, A., Kumpun, S., Yingyongnarongkul, B. *ACS. Pharmacognosi*, **2002**.
- 25.- Suksamrarn, A., Sommechai, C., Charulpong, P., Chitkul, B. *Phytochemistry*, **1995**, *38*, 473-476.
- 26.- Iwagawa, T., Nakahara, A., Nakatani, M. *Phytochemistry*, **1993**, *32*, 453-454.
- 27.- Kouno, I., Inoue, M., Onizuka, Y., Fujisaki, T., Kawano, N. *Phytochemistry*, **1988**, *27*, 611-612.
- 28.- Kuruüzüm-Uz, A., Ströch, K., Demirezer, Ö., Zeeck, A. *Phytochemistry*, **2003**, *63*, 959-964.
- 29.- Sehgal, C., Tareja, S., Dhar, K., Atal, C. *Phytochemistry*, **1983**, *22*, 1036-1038.
- 30.- Sehgal, C., Taneja, S., Dhar, K., Atal, C. *Phytochemistry*, **1982**, *21*, 363-366.
- 31.- Kawazoe, K., Yutani, A., Takaishi, Y. *Phytochemistry*, **1999**, *52*, 1657-1659.
- 32.- Thuy, T., Porzel, A., Ripperger, H., Sung, T., Adam, G. *Phytochemistry*, **1998**, *49*, 2603-2605.
- 33.- Lu, Y., Yeap-Foo, L. *Phytochemistry*, **2000**, *55*, 263-267.
- 34.- Shaiq-Ali, M., Saleem, M., Uddin, V. *Phytochemistry*, **2000**, *55*, 933-936.
- 35.- a) Odínokov, V., Galyautdinov, V., Nedopekin, D., Khalilov, L., Shashkov, A., Kachala, V. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, **2002**, *32*, 161-165.
b) Volodin, V., Alcxeeva, L., Kolegova, N., Sarker, S., Lafont, R., Dinan, L. *Biochemical Systematics and Ecology*, **1998**, *26*, 459-461.
- 36.- Savchenko, T., Whiting, P., Underwood, E., Sarker, S., Dinan, L. *Biochemical Systematics and Ecology*, **1998**, *26*, 781-791.
- 37.- Kaneko, T., Ohtani, K., Kasai, R., Yamasaki, K., Duc-Nguyen, M. *Phytochemistry*, **1997**, *46*, 907-910.

- 38.- Sukh, D., Opender, K. *Insecticides of Natural Origin*, Harwood Academic Publishers, 1997.
- 39.- Pickett, J., *Chemistry in Britain*, 1988, 24, 137-142.
- 40.- Esquivel, B., Rodríguez-Hahn, L., Simmonds, M. *Actividad Insecticida de Diterpenos Clerodánicos Aislados de Salvias Mexicanas*, 1^{er}. Simposium "La Química en la UNAM", Instituto de Química y Facultad de Química, 1992, 140-156.
- 41.- Van Beek, T, De Groot, A. *Recl. Trav. Chem. Pays-Bass*, 1986, 105, 513-527.
- 42.- Hernández, M., Heraso, C., Villareal, M., Vargas-Aspuro, I., Aranda, E. *Journal of Ethnopharmacology*, 1999, 67, 37-44.
- 43.- Pretsch, E., Clerc, T., Seibl, J. Simon, W. *Tablas para la Elucidación Estructural de Compuestos Orgánicos por Métodos Espectroscópicos*. Ed. Alhambra.
- 44.- Sukh, D., Renuka, M. *Handbook of Terpenoids, Diterpenoids, Vol 1-4*, CRC Press, 1985.
- 45.- Avila, D., Medina, J. *Journal of Natural Products*, 1992, 55, 845-850.
- 46.- Garbarino, J., Chamy, M., Piovano, M., Gambaro, V. *Phytochemistry*, 1988, 27, 1795-1796.
- 47.- Manh, D., Bastard, J., Fétizon, M. *Journal of Natural Products*, 1983, 46, 262-273.
- 48.- Urones, J., De Pascual Teresa, I., Sánchez, M., Díez, N., Garrido, M., Alfayate, R. *Phytochemistry*, 1987, 26, 1077-1079.
- 49.- Jakupovic, J., Tschritzis, F. *Phytochemistry*, 1991, 30, 211-213.
- 50.- Lopes, L., vanderlan, B., Trevisan, L. *Phytochemistry*, 1987, 26, 2781-2784.
- 51.- Hasan, C., Healey, T., Waterman, P. *Phytochemistry*, 1982, 21, 1365-1368.
- 52.- Hsieh, Y., Fang, J., Cheng, Y. *Phytochemistry*, 1998, 47, 845-850.
- 53.- Bohlmann, F., Zdero, C., King, R., Robinson, H. *Phytochemistry*, 1982, 21, 2021-2025.
- 54.- Tonn, C., Rossomando, P., Giordano, O. *Phytochemistry*, 1982, 21, 2599-2600.
- 55.- Escamilla, E., Ortega, A. *Phytochemistry*, 1991, 30, 599-602.
- 56.- a) Zinkel, D., Magee, T. *Phytochemistry*, 1987, 26, 769-774.
b) Braun, S., Breitenbach, H. *Tetrahedron*, 1977, 33, 145-150.

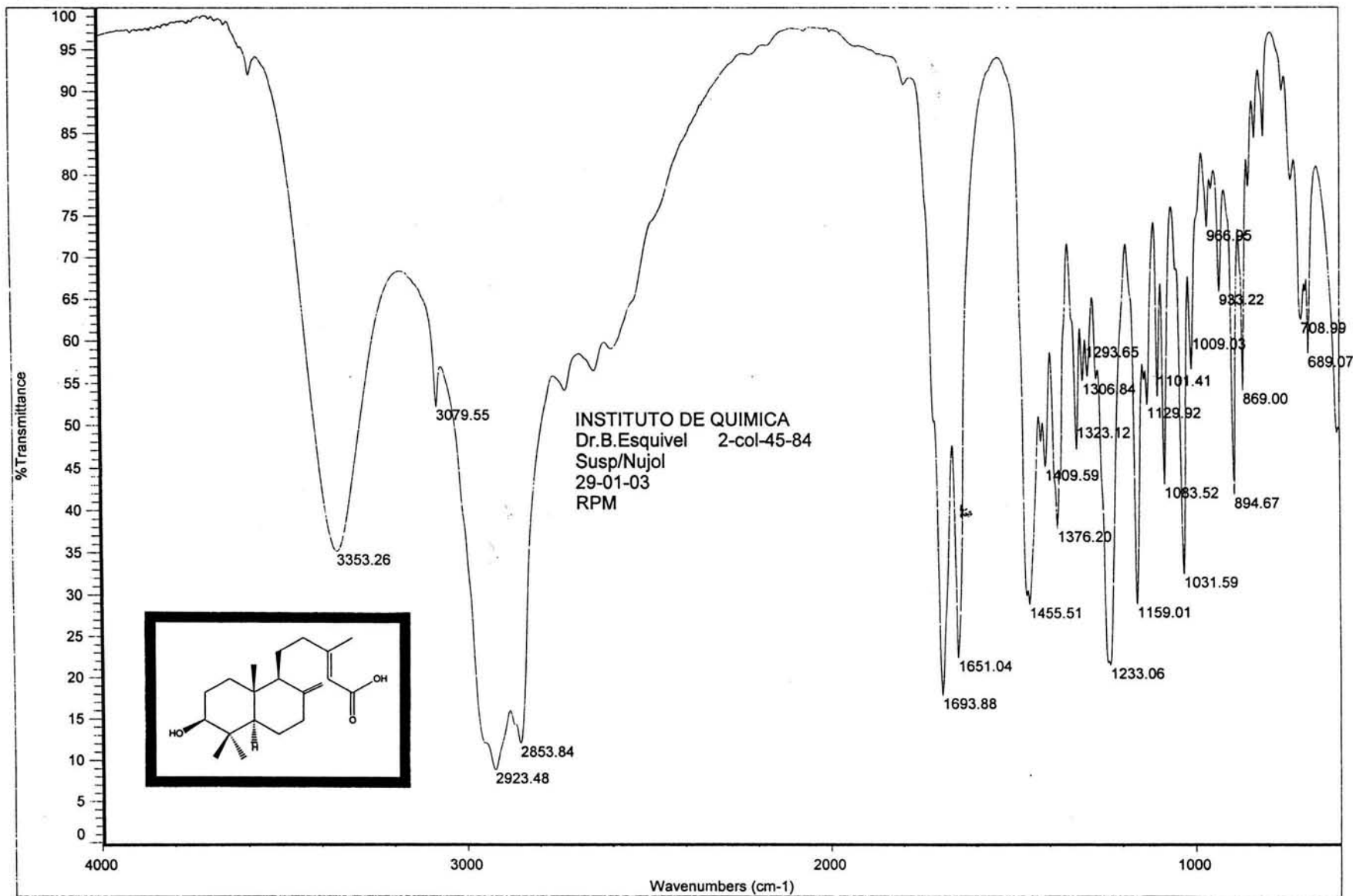
- 57.- Bevan, W., Ekong, D., Okogun, J. *Journal of Chemical Society (C)*, **1968**, 1067-1070.
- 58.- Ohloff, V.G. *Liebigs Ann. Chem*, **1958**, 617, 134-147.
- 59.- Nakano, T., Djerassi, C. *Journal of Organic Chemistry*, **1961**, 26, 167-173.
- 60.-Hugel, G., Oehlschlager, A., Ourisson, G. *Tetrahedron, Suppl. 8, Part I*, **1966**, 203-216.
- 61.- Sandermann, W., Bruns, K., Reichhelm, W. *Tetrahedron Letters*, **1967**, 28, 2685-2688.
- 62.- Zinkel, D., Spalding, B. *Phytochemistry*, **1972**, 11, 425-426.
- 63.- Demole, E., Wuest, H. *Helvetica Acta*, **1967**, 50, 1314-1327.
- 64.- Kumar-Dey, V., Wolf, H. *Helvetica Chimica Acta*, **1978**, 61, 1004-1010.
- 65.- Imamura, P., Pantarotto, H. *Liebigs Ann Chem*, **1995**, 1891-1894.
- 66.- Lunardi, I., Santiago, G., Imamura, P. *Tetrahedron Letters*, **2002**, 43, 3609-3611.
- 67.- Basile, A., Sertie, J., Freitas, P., Zanini, A. *Journal of Ethnopharmacology*, **1988**, 22, 101-109.
- 68.- De Carrvalho, M., Rumjanek, V., Lópes, M., Carvalho, A. *Phytochemistry*, **1998**, 49, 1101-1105.
- 69.- Halbrook, N., Lawrence, R. *Journal of Organic Chemistry*, **1966**, 31, 4246.
- 70.- Tanaka, R., Ohtsu, H., Matsunaga, S. *Phytochemistry*, **1997**, 46, 1051-1057.
- 71.- Ahmad, V., Basha, A. *Spectroscopic Data of Saponins. The Triterpenoid Glucosides. Volume III*, CRC Press.
- 72.- Argay, G., Kálmán, A., Kapor, A., Ribár, B., Pétróvic, S., Gorunovic, M. *Journal of Molecular Structure*, **1997**, 435, 169-179.
- 73.- Hata, K., Hori, K., Ogasawara, H., Takahashi, S. *Toxicology Letters*, **2003**, 143, 1-7.
- 74.- Zaidi, F., Voirin, B., Jay, M., Viricel, M. *Phytochemistry*, **1998**, 48, 991-994.
- 75.- Grayer, R., Veitch, N., Kite, G., Price, A., Kokubun, T. *Phytochemistry*, **2001**, 56, 559-567.
- 76.- Greenham, J., Vassiliades, D., Harbone, J., Williams, C., Eagles, J., Grayer, R., Veitch, N. *Phytochemistry*, **2001**, 56, 87-91.
- 77.- Kingston, D., Rao, M., Zucker, W. *Journal of Natural Products*, **1979**, 42, 496-499.

- 78.- a) Rodríguez, B. *Phytochemistry*, **1977**, *16*, 800-801.
b) Harborne, J., Baxter, H. *The Handbook of Natural Flavonoids. Volume I*, John Wiley & Sons, **1999**.
- 79.- Podstolski, A., Havkin-Frenkel, D., Malinowski, J., Blount, J., Kourteva, G., Dixon, R. *Phytochemistry*, **2002**, *61*, 611-620.
- 80.- Dennis, N., Laurence, C. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry & Molecular Biology*, **2003**, *135B(2)*, 273-284.
- 81.- Steinmetz, I., Schmolz, E., Joachim, R. *Biological Science, Series B*, **2003**, *270*, 385-391.
- 82.- Nelson, D., Adams, T., Fatland, C. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry & Molecular Biology*, **2003**, *134B(3)*, 447-466.
- 83.- Rivault, C., Cloarec, A., Srehg, L. *European Journal of Entomology*, **2002**, *99*, 437-444.
- 84.- Savarit, F., Ferveur, J.F. *Genetical Research*, **2002**, *79*, 23-40.
- 85.- Tissot, M., Nelson, D., Gordon, D. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry & Molecular Biology*, **2001**, *130B(3)*, 349-358.
- 86.- Schulz, S., *Lipids*, **2001**, *36*, 637-647.
- 87.- Subchev, M., Jurenka, R.A. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, **2001**, *47*, 35-43.
- 88.- Haverty, M., Woodrow, R., Nelson, L., Kenneth, G. *Journal of Chemical Ecology*, **2000**, *26*, 1167-1191.
- 89.- a) Pourie, G., Tralalon, M. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, **1999**, *42*, 188-197.
b) Provoust, O., Tralalon, M., Papke, M., Schulz, S. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, **1999**, *40*, 194-202.
- 90.- Haverty, M., Kenneth, G., Nelson, L., Yamamoto, R. *Journal of Chemical Ecology*, **1996**, *22*, 1813-1834.
- 91.- a) Buckner, J., Mardaus, M., Nelson, D. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry & Molecular Biology*, **1996**, *114B(2)*, 207-216.
b) Nelson, D., Buckner, J. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry & Molecular Biology*, **1995**, *111B(4)*, 681-689.
- 92.- Provost, E., Riviere, G., Roux, M., Morgan, E., Bagners, A. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, **1993**, *23*, 945-957.

- 93.- Butts, D., Espelie, K., Hermann, H. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry & Molecular Biology*, **1991**, 99B(1), 87-91.
- 94.- Hebanowska, E., Malinski, E., Nawrot, J., Ruszkowska, M., Pihlaja, K., Szafranek, J. *Comparative Biochemistry and physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, **1989**, 94B(4), 723-727.
- 95.- Blomquist, G., Toolson, E., Nelson, D. *Insect Biochemistry*, **1985**, 15, 25-34.
- 96.- Hutchins, R., Martin, M. *Lipids*, **1968**, 3, 250-255.
- 97.- Bartelt, R., Krick, T., Jones, R. *Insect Biochemistry*, **1984**, 14, 209-213.
- 98.- a) Gülz, P. *Phytochemistry*, **1968**, 7, 1009-1017.
 b) Goodwin, S., Kolosova, N., Kish, C., Wood, K., Dudareva, N., Jenks, M. *Physiologia Plantarum*, **2003**, 117, 435-443.
- 99.- Engel, R., Gutmann, M., Hartisch, C., Kolodziej, H., Nahrstedt, A. *Planta Medica*, **1998**, 64, 251-258.
- 100.- Ahmad, W., Nazir, M., Chaudhary, F., Mohammad, F., Ahmad, A. *Biosciences*, **1996**, 51, 291-295.
- 101.- Yaghmai, S., Khayat, M. *Iranian Journal of chemistry & Chemical Engineering*, **1987**, 9 (Part A), 26-30.
- 102.- a) Mold, J., Stevens, R., Means, R., Ruth, J. *Biochemistry*, **1963**, 2, 605-610.
 b) Heemann, V., Bruemmer, U., Paulsen, C., Seehofer, F. *Phytochemistry*, **1983**, 22, 133-135.
- 103.- Baker, E., Bukovac, M., Hunt, G. *Linnean Society Symposium Series*, **1982**, 10, 33-44.
- 104.- Behari, M., Andhiwal, C. *Current Science*, **1976**, 45, 481-482.
- 105.- Koestens, J., Willuhn, G. *Archiv der Pharmazie*, **1972**, 305, 944-949.
- 106.- Hunter, G., Brogden, W. *Phytochemistry*, **1966**, 5, 807-809.
- 107.- Nelson, D., Adams, T., Fatland, C. *Comparative and Physiology, Part B: Biochemistry & Molecular Biology*, **2003**, 134B(3), 447-466.
- 108.- a) http://creatures.ifas.ufl.edu/field/fall_armyworm.htm
 b) Edwards, R., Bledsoe, L., Obermeyer, J., *Field Crops, Department of Entomology, Purdue University West Lafayette, Indiana*. 1-4.

- 109.- Esquivel, B., Sánchez, A.A., Aranda, E. *Phytochemicals ans Phytopharmaceuticals*, 2000, 34, 371-385.
- 110.- Van Beek, T., de Groot, A. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bass*, 1986, 105, 513-527.
- 111.- Arnett, R.H. *American Insects. A Handbook of the Insects of America North of México*. 2ª. Edición. CRC press.
- 112.- Guadaño, A., Gutiérrez, C., Peña, E., Cortes, D., González-Coloma, A. *Journal of Natural Products*, 2000, 63, 773-776.
- 113.- González-Coloma, A., Gutiérrez, C., Miguel del Corral, J., Gordaliza, M., De la Puente, M., San Feliciano, A. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48, 3677-3681.
- 114.- Reina, M., González-Coloma, A., Gutiérrez, C., Cabrera, R., Rodríguez, M., Fajardo, V., Villareal, L. *Journal of Natural Products*, 2001, 64, 6-11.
- 115.- *Organic Synthesis. Volume II*, 165.
- 116.- Perrin, D., Amariago, W. *Purification of Laboratory Chemicals*, 2ª. Edición, Pergamon Press, 1988.

VII. APENDICE.



Espectro 1

M. en C. Baldomero Esquivel/ Clarisa V.

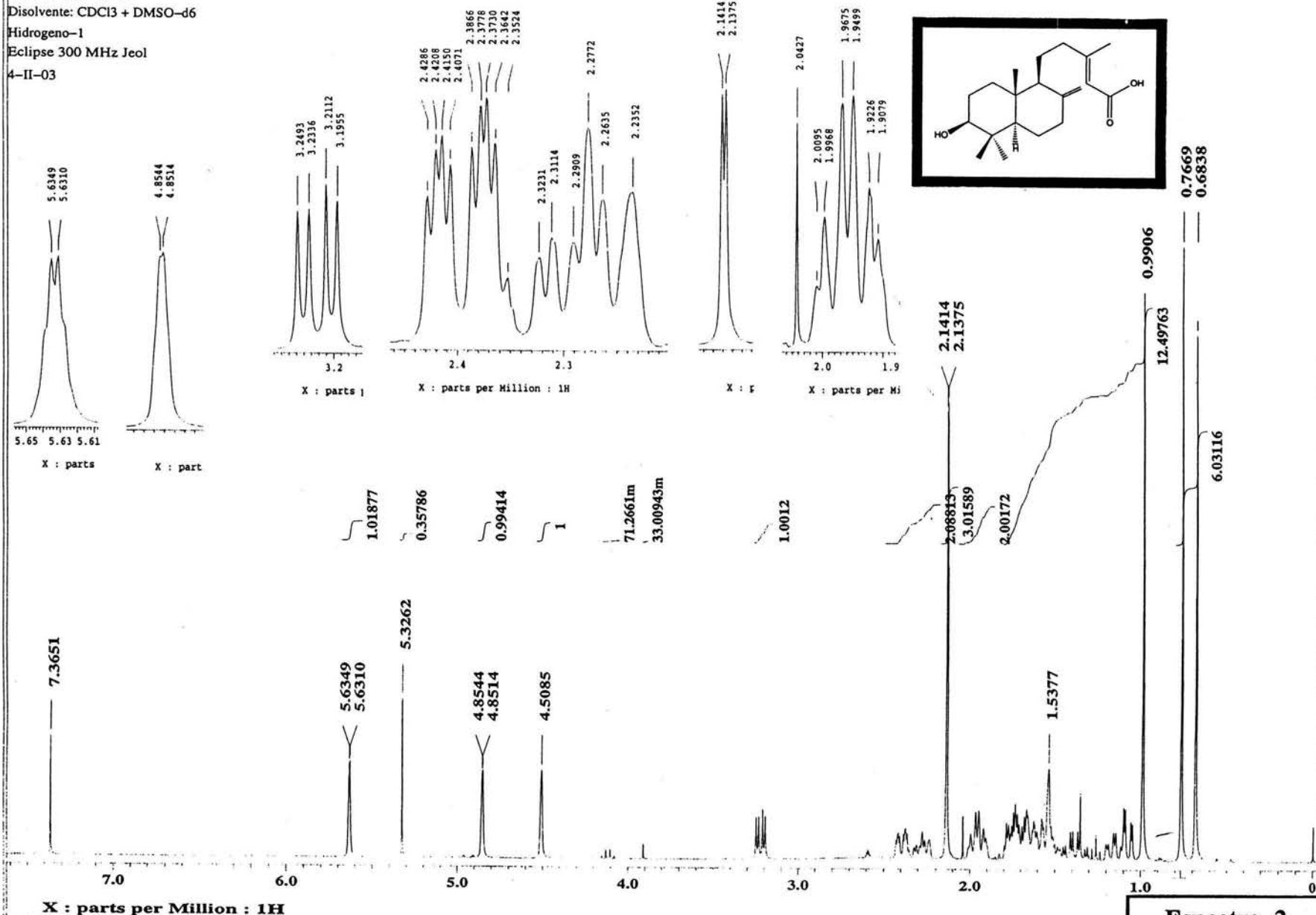
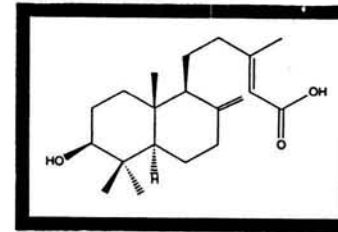
Clave: 2-col-45-87

Disolvente: CDCl₃ + DMSO-d₆

Hidrogeno-1

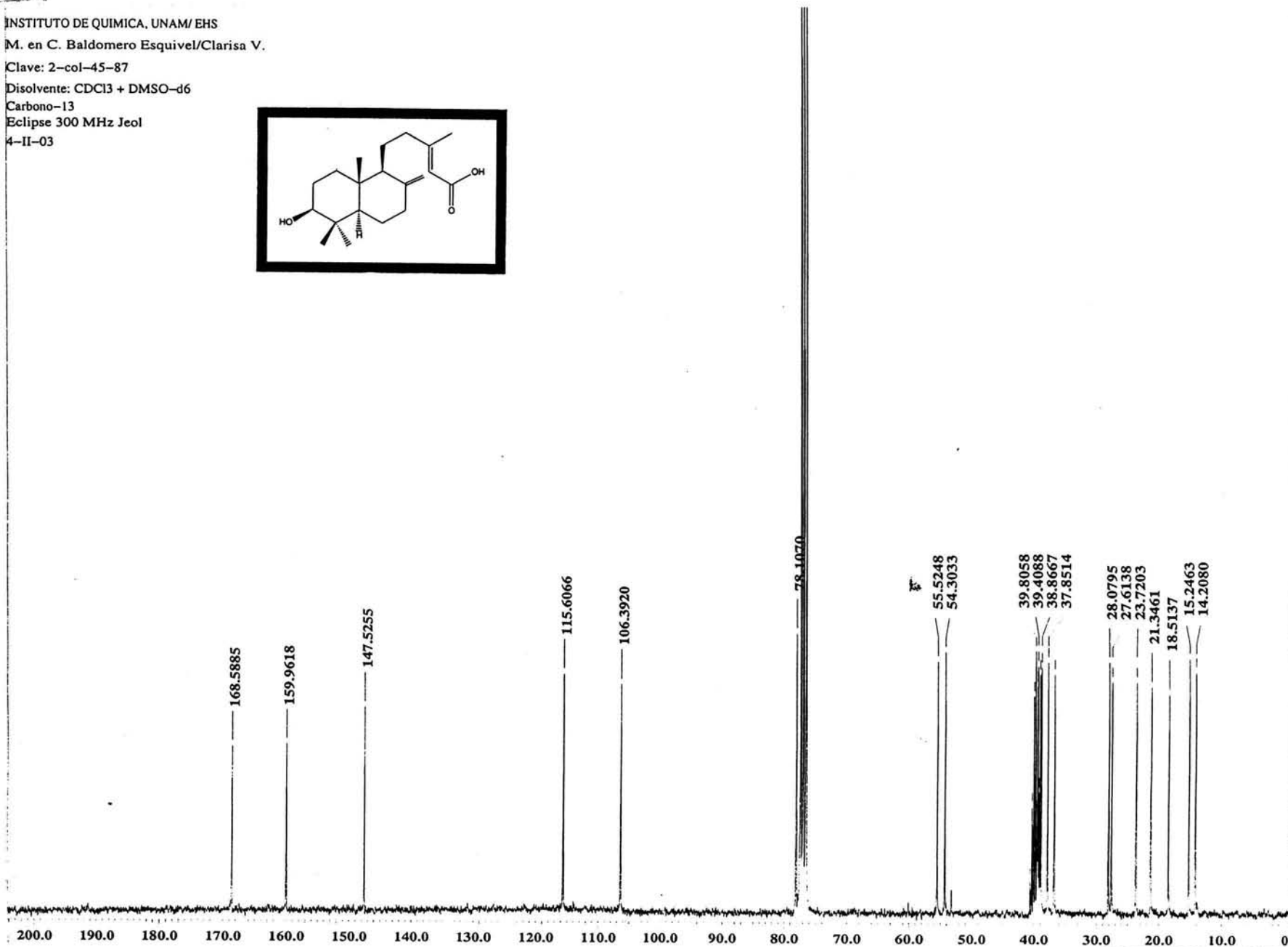
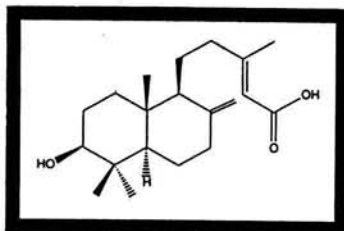
Eclipse 300 MHz Jeol

4-II-03



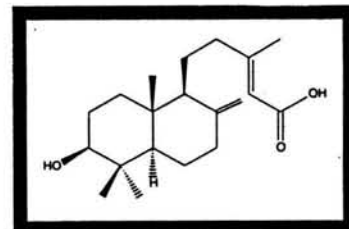
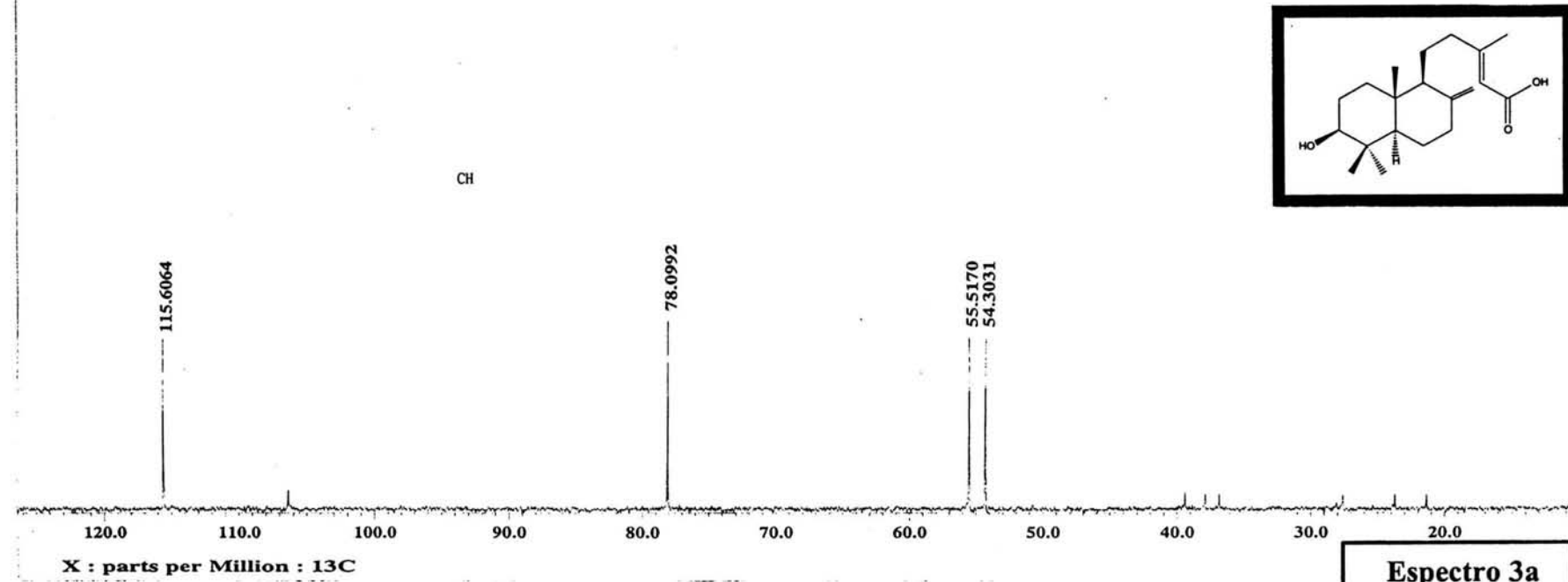
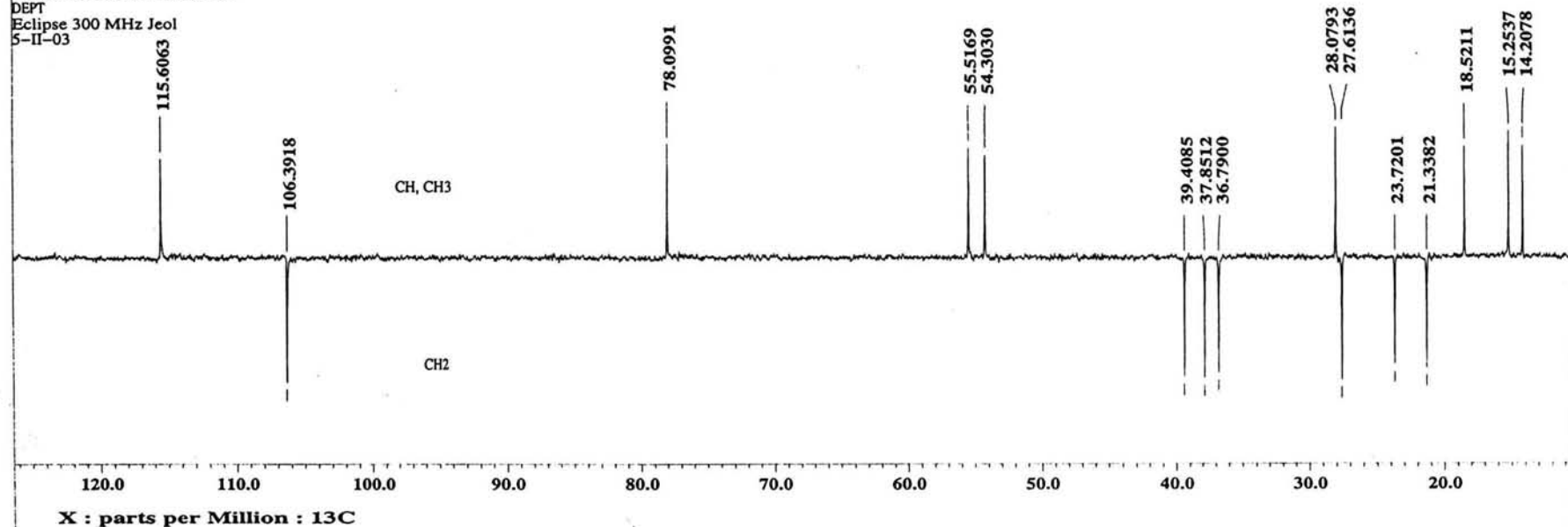
Espectro 2

INSTITUTO DE QUIMICA, UNAM/ EHS
M. en C. Baldomero Esquivel/Clarisa V.
Clave: 2-col-45-87
Disolvente: CDCl₃ + DMSO-d₆
Carbono-13
Eclipse 300 MHz Jeol
4-II-03



Espectro 3

INSTITUTO DE QUIMICA, UNAM/EHS
M. en C. Baldomero Esquivel/ Clarisa V.
Clave: 2-coj-45-87
Disolvente: CDCl₃ + DMSO-d₆
DEPT
Eclipse 300 MHz Jeol
5-II-03



Espectro 3a

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Esquivel-Baldomero-004 Date : 28-Jan-03 11:05

Sample: ERI-03-2col-45-07

Note : Luis-Velasco

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

RT : 1.70 min Scan# : (36,48)-(28,38)

*Temp : 197.2 deg.C

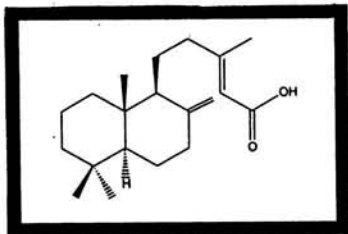
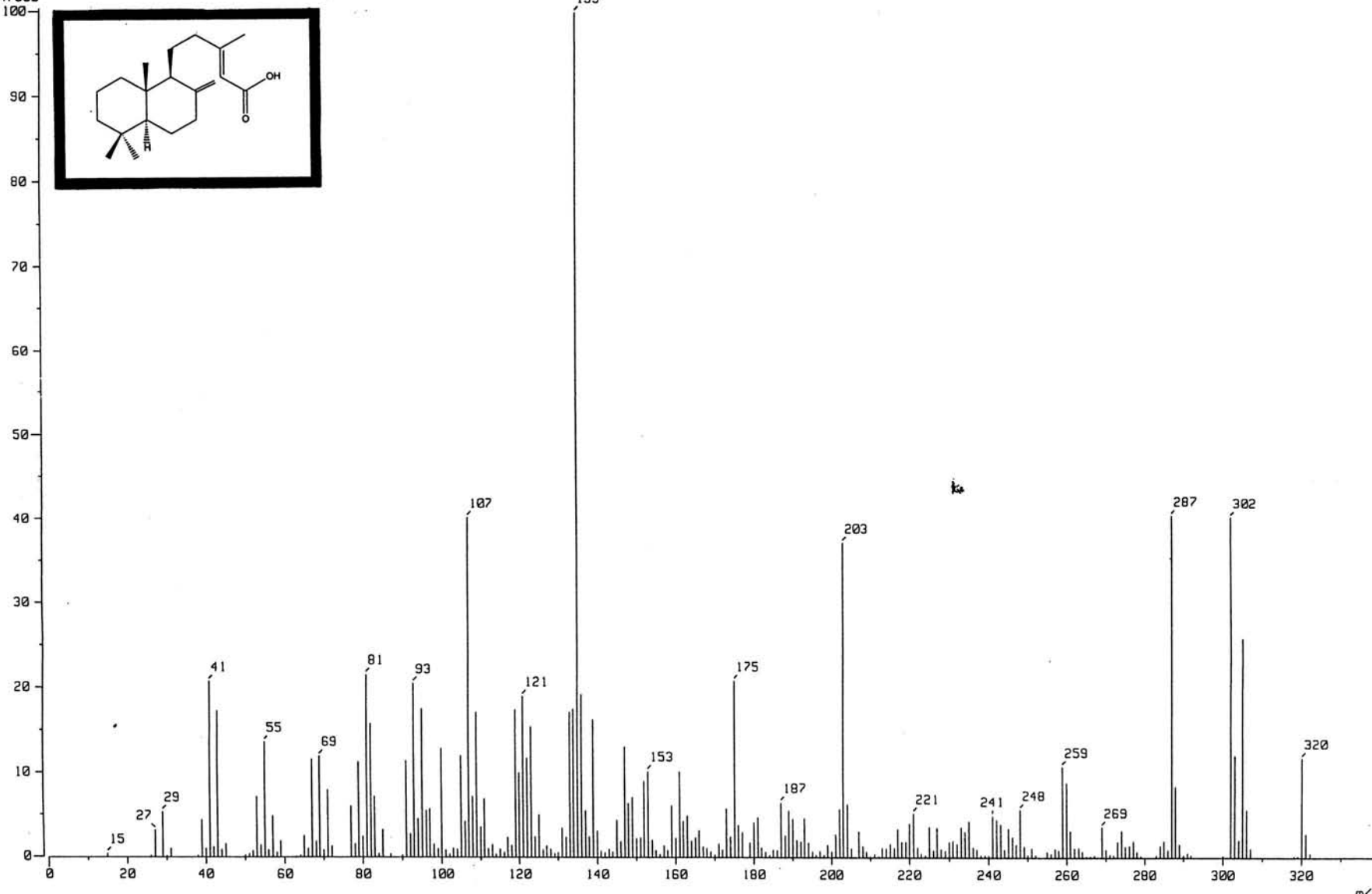
BP : m/z 135.0000

Int. : 251.75

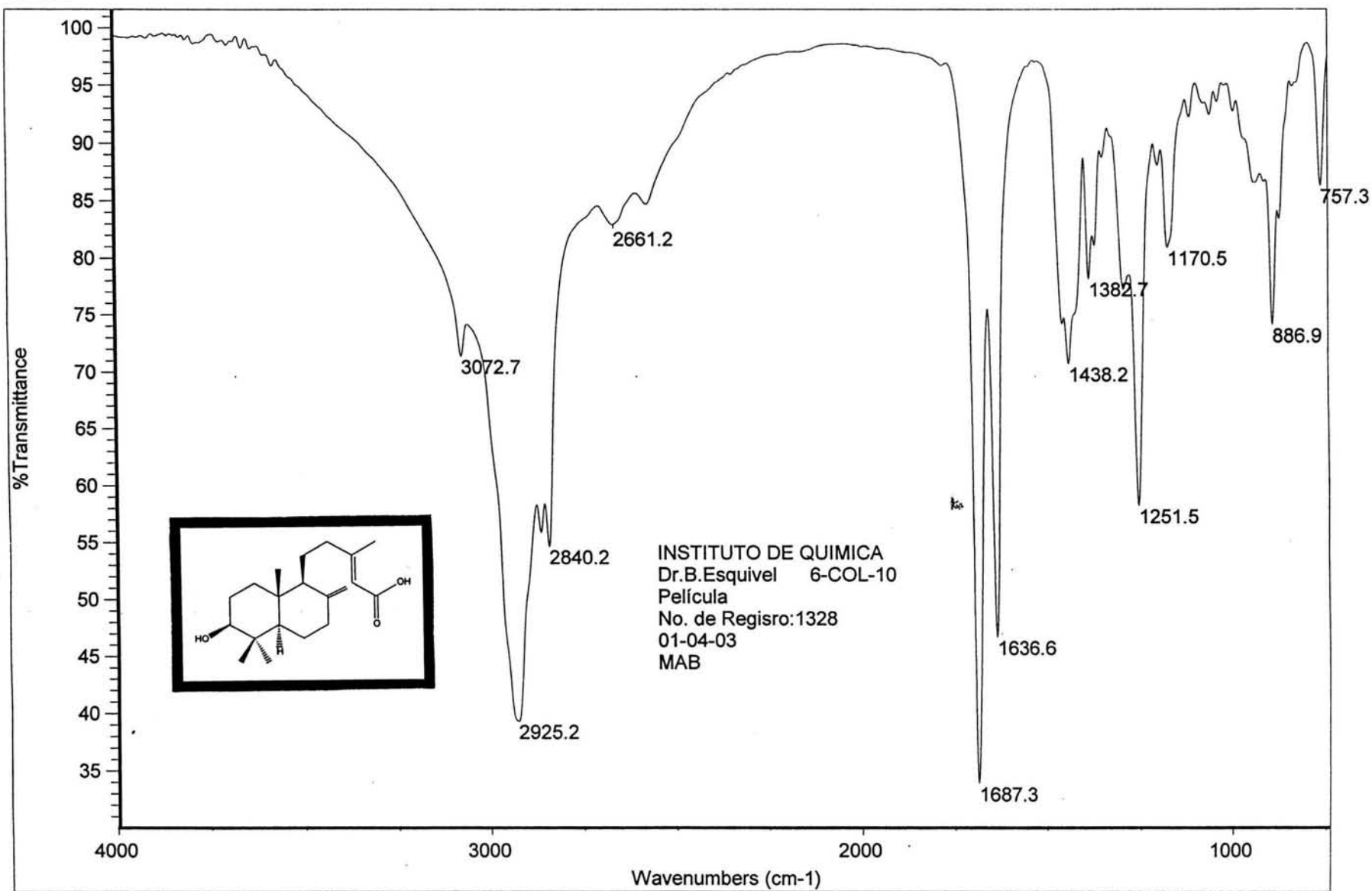
Output m/z range : 0.0000 to 339.6142

Cut Level : 0.00 %

2647399

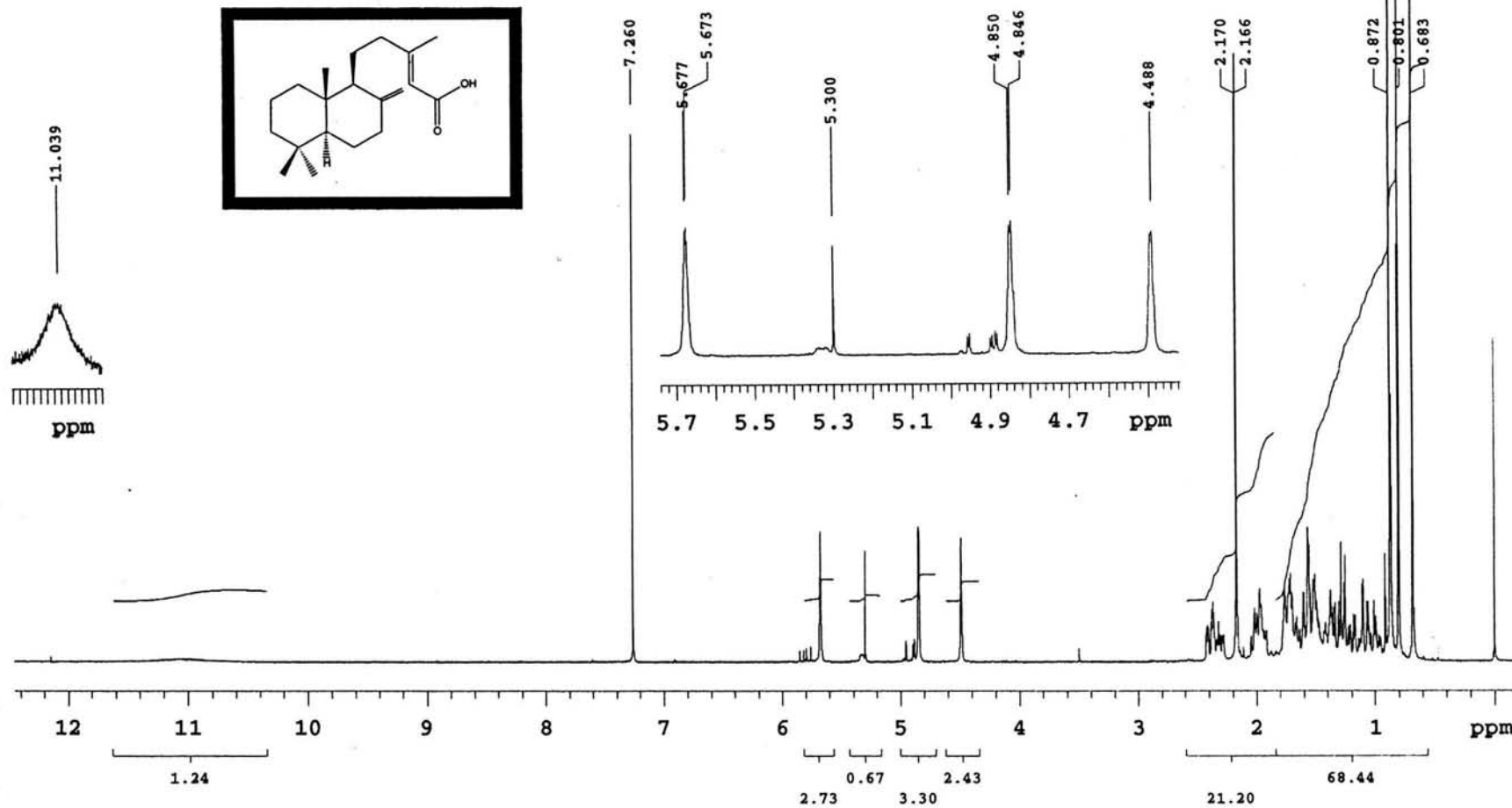


Espectro 4



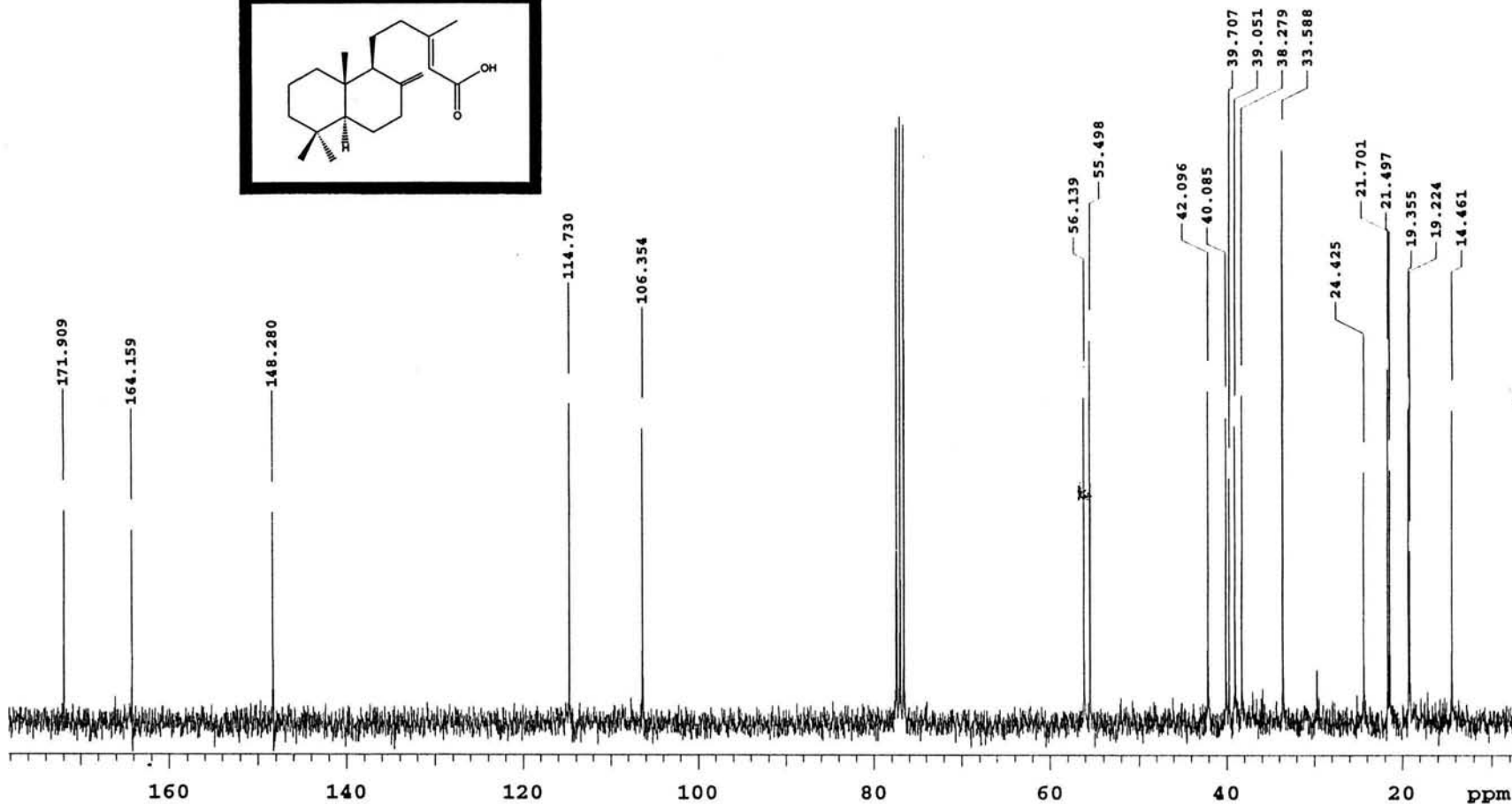
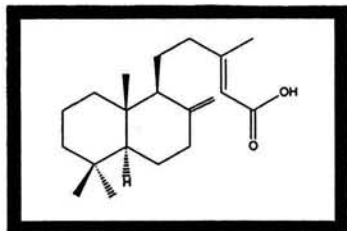
Espectro 5

Instituto de Quimica. UNAM HR
Dr-B-Esquivel/ C-Villegas
Clave: 6-col-10
No-Orden 2077
Experimento: Hidrogeno
Disolvente: CDCl3
Varian-Unity-300-MHz (D)
Mar-31-2003



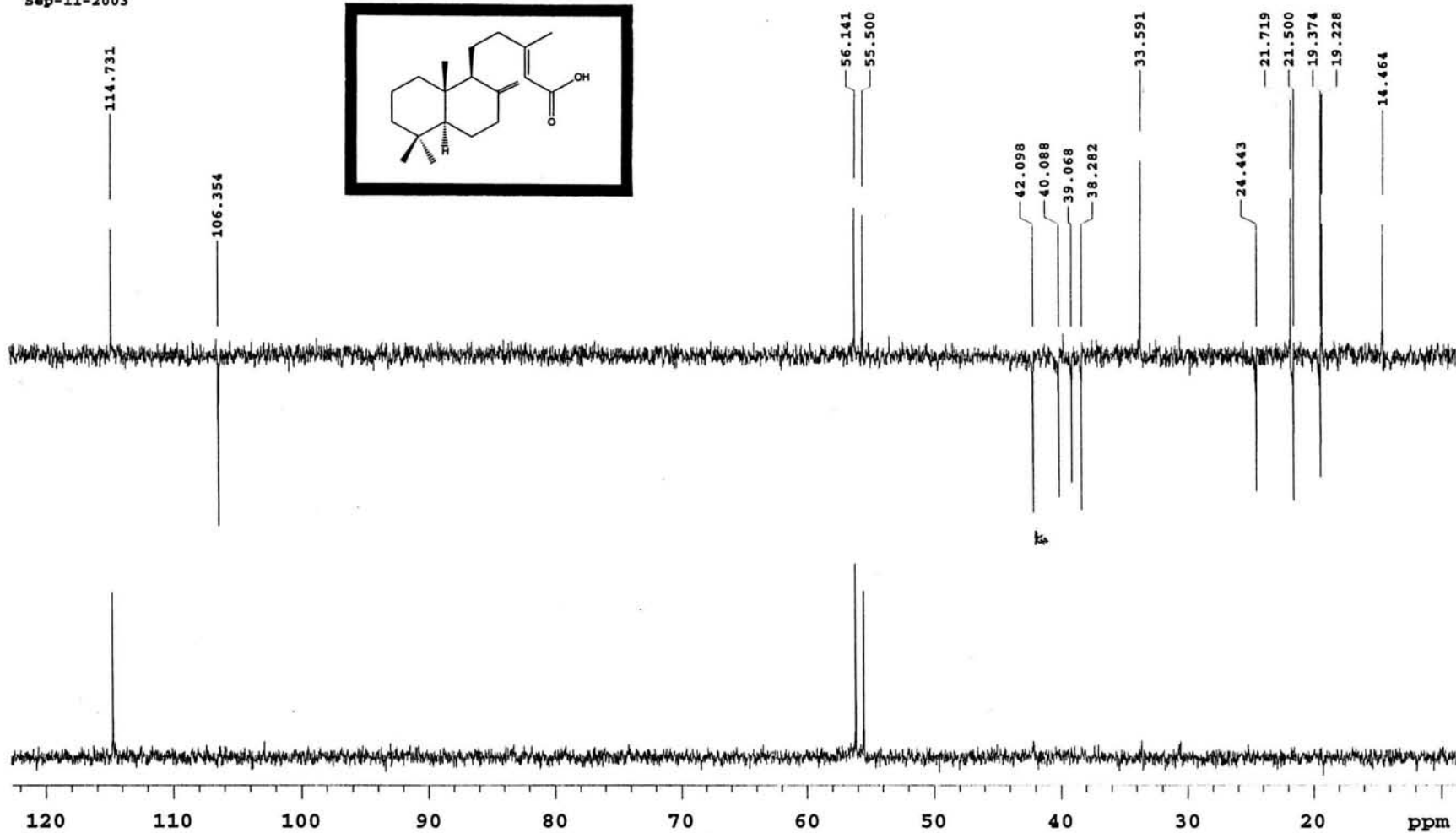
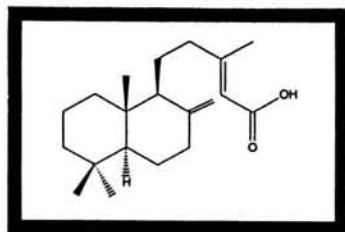
Espectro 6

Instituto de Quimica. UNAM HR
MenC B-Esquivel/C-Villegas
Clave: 6-col-10
Experimento: C13
Disolvent: CDCL3
Varian-Unity-75.4 MHz(D)
Sep-11-2003



Espectro 7

Instituto de Química. UNAM HR
MenC B-Esquivel/C-Villegas
Clave: 6-col-10
experimento: DEPT
Varian Unity 75 MHz (D)
Sep-11-2003



Espectro 7a

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Baldomero-Esquivel004 Date : 05-Dec-03 11:49

Sample: 041203-05 Ac-copa

Note : Luis-Velasco

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

RT : 0.84 min

Scan# : (17,24)

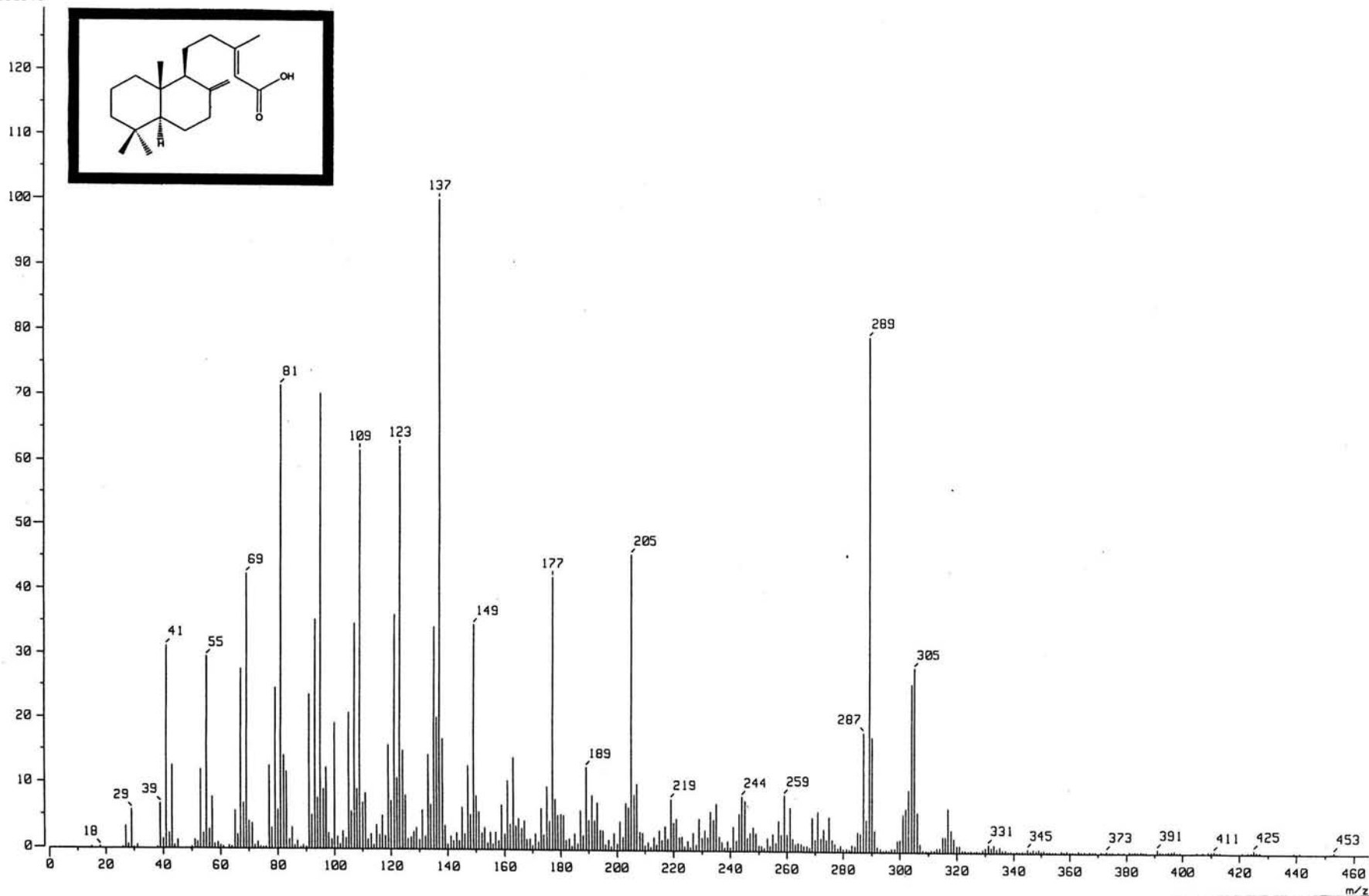
Temp : 233.6 deg.C

BP : m/z 137.0000 Int. : 1207.00

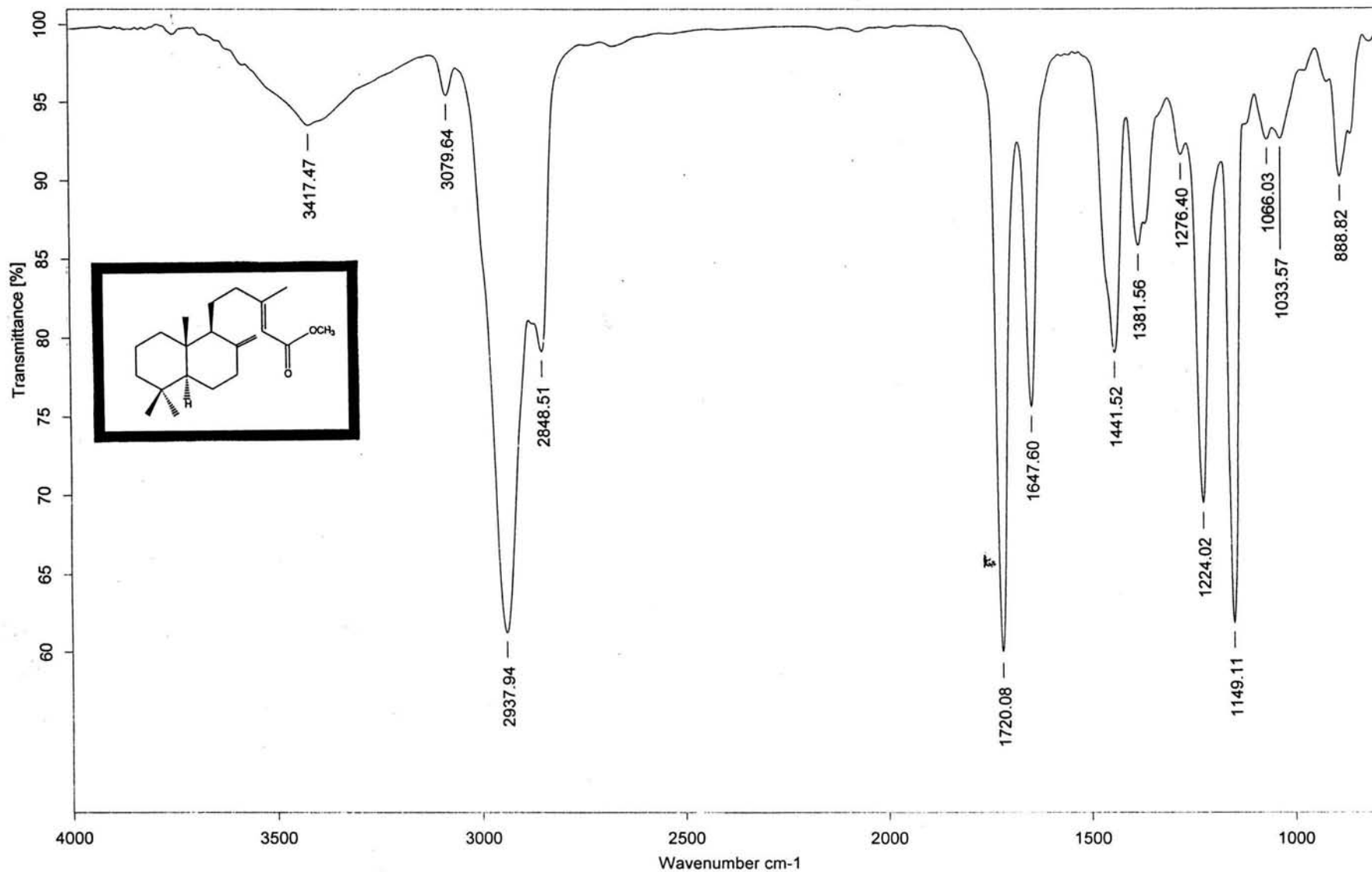
Output m/z range : 0.0000 to 465.2619

Cut Level : 0.00 %

16350041



Espectro 8

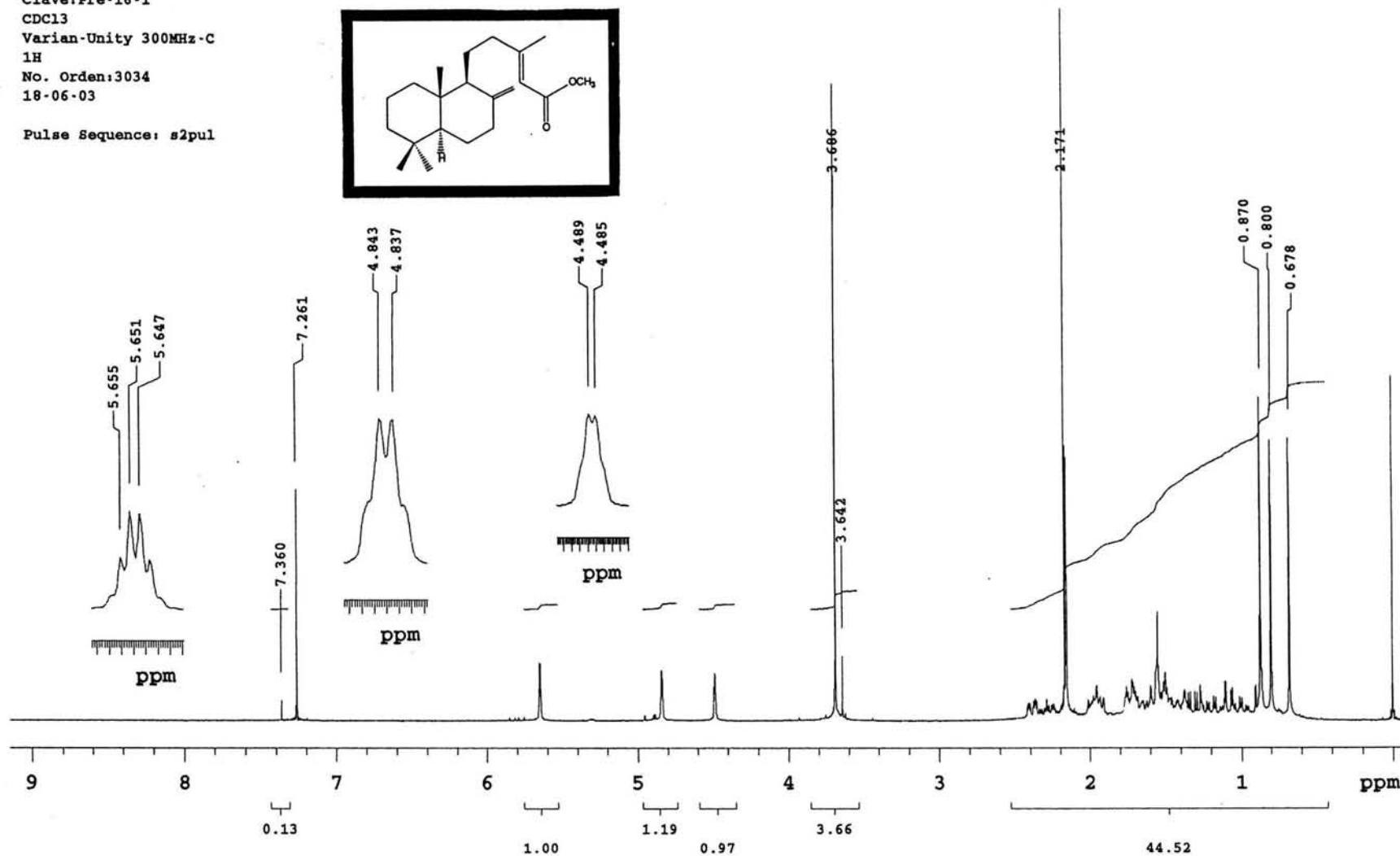
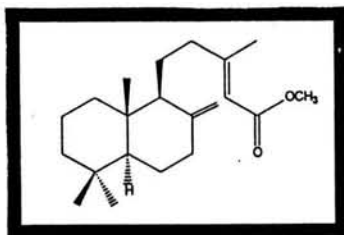


C:\infrarrojo\AIR-2003\2475.0 M.C.B.Esquivel Prep-16-1 Película MAB

09/09/2003

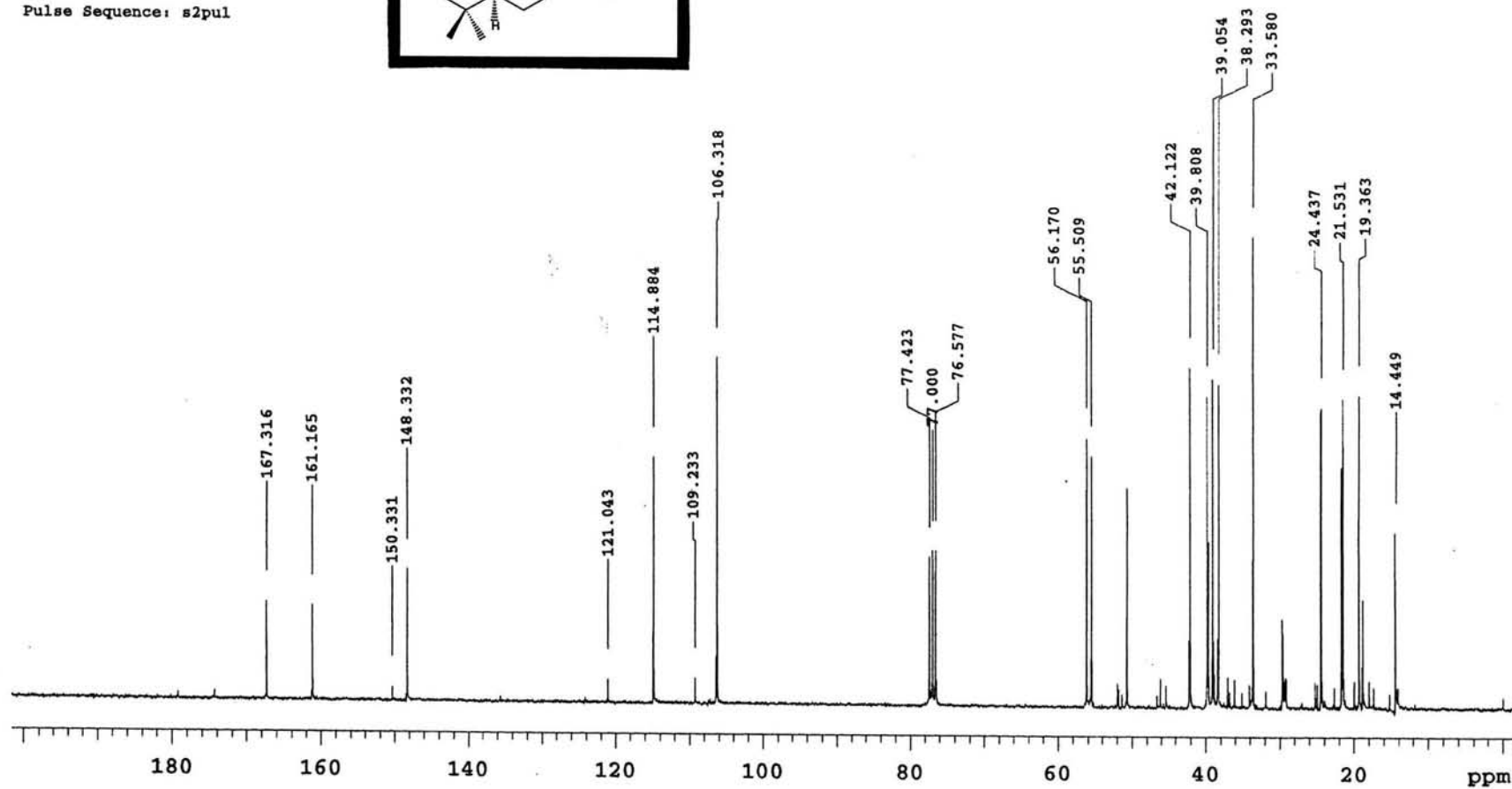
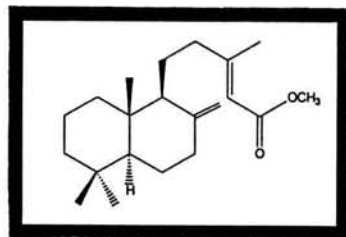
Espectro 9

Instituto de Quimica UNAM NZ
M.C. Baldomero Esquivel/Clarisa V.
Clave:Pre-16-1
CDCl3
Varian-Unity 300MHz-C
1H
No. Orden:3034
18-06-03



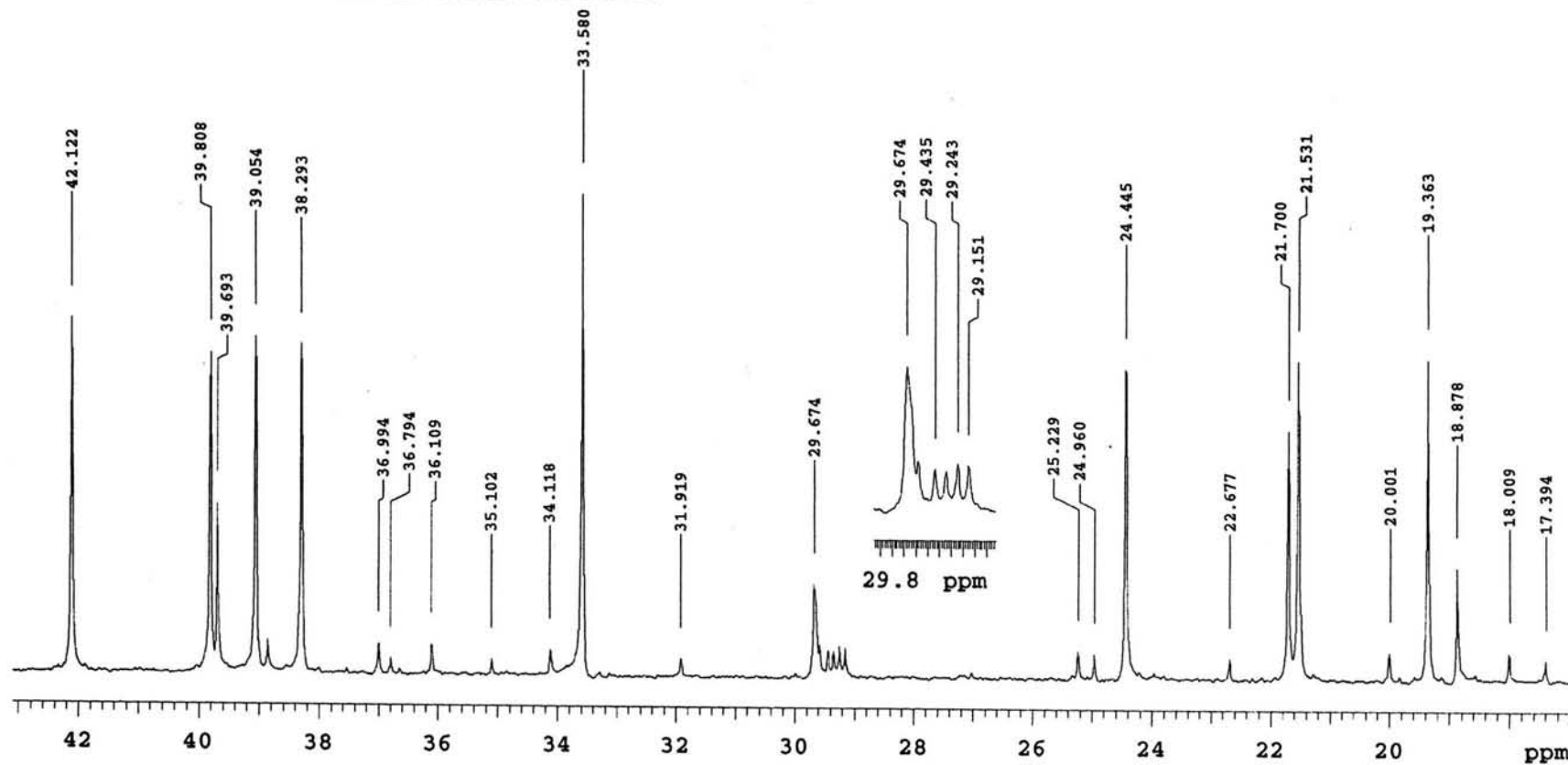
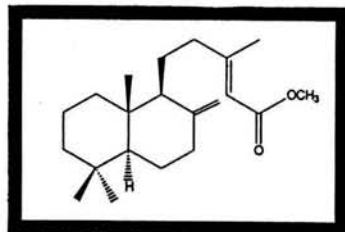
Espectro 10

Instituto de Quimica UNAM NZ
Dr. M.C. Baldomero Esquivel
Clave: 15-col-8
CDC13
Varian-Unity 300MHz-C
13C
No. Orden: 2826
4-06-03



Espectro 11

Instituto de Quimica UNAM NZ
Dr. M.C. Baldomero Esquivel
Clave: 15-col-8
CDC13
Varian-Unity 300MHz-C
13C
No. Orden:2826
4-06-03



Espectro 11a

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Baldomero-Esquivel1111 Date : 12-Nov-103 09:33

Sample: 121103-09 Me-COPR

Note : Luis-Velasco-I

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

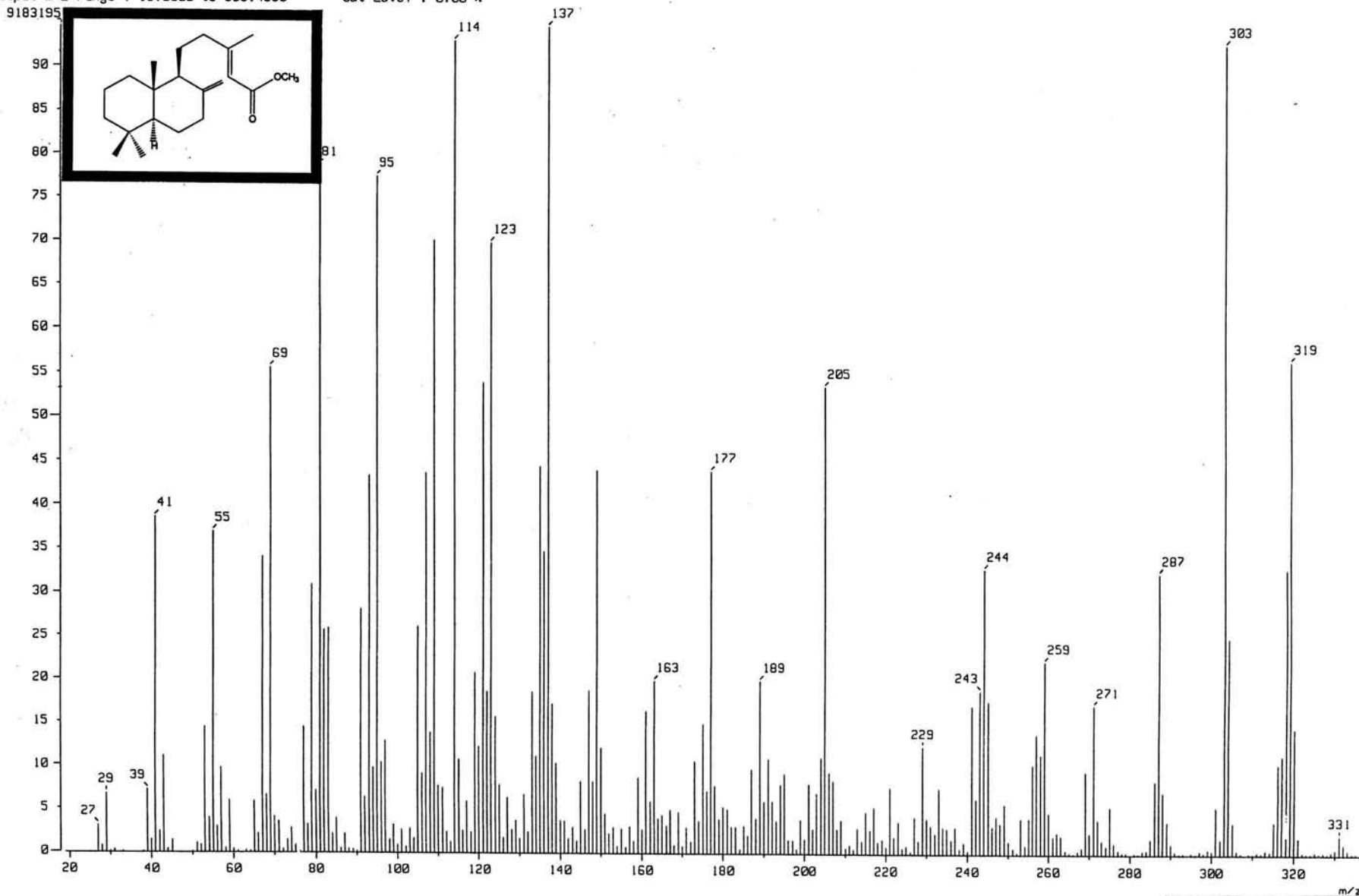
RT : 1.10 min Scan# : (27,34)

Temp : 246.9 deg.C

BP : m/z 137.0000 Int. : 926.66

Output m/z range : 19.0000 to 336.4985

Cut Level : 0.00 %

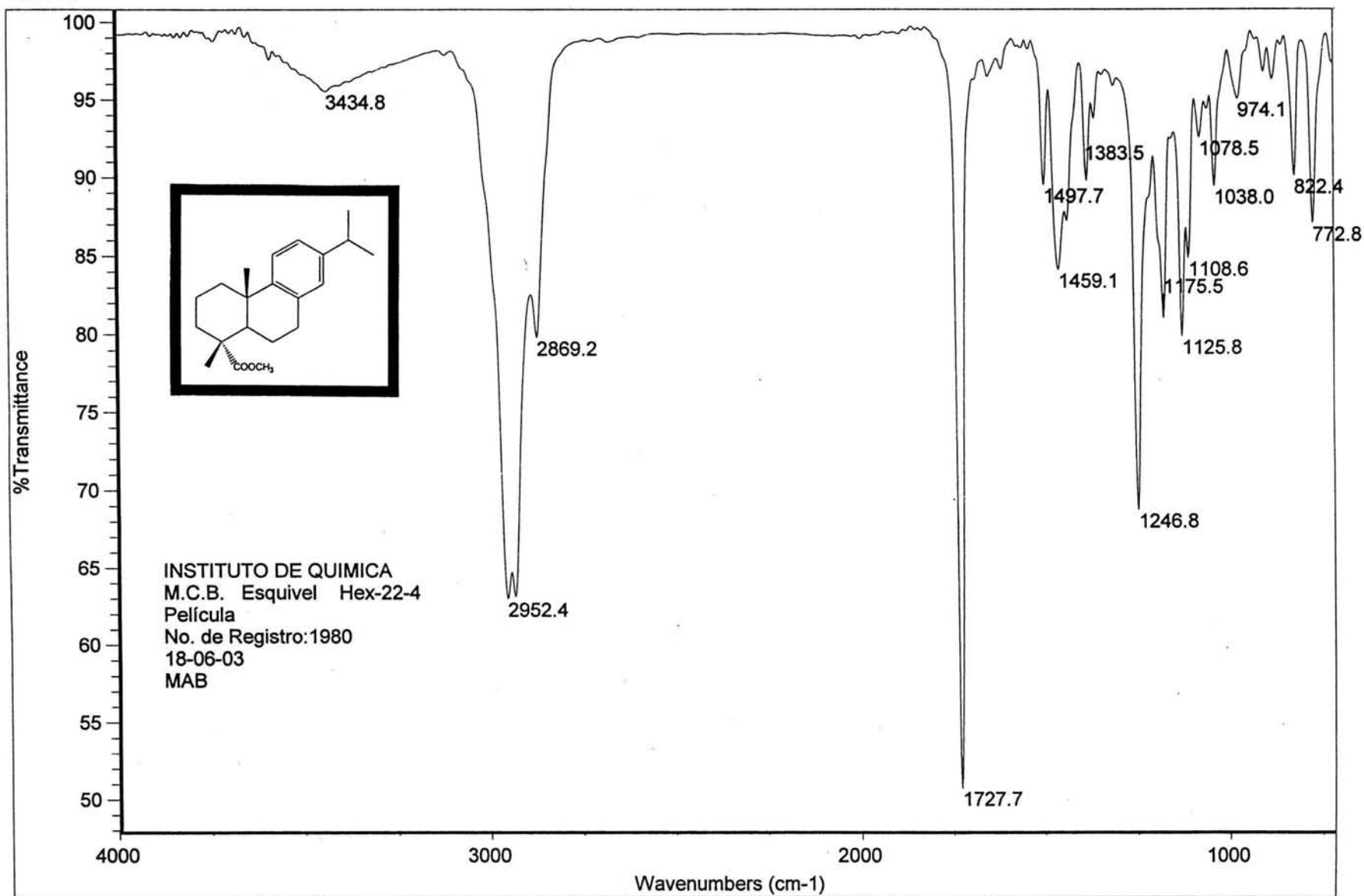


Espectro 12



Instituto de Química, UNAM

Laboratorio de Infrarrojo

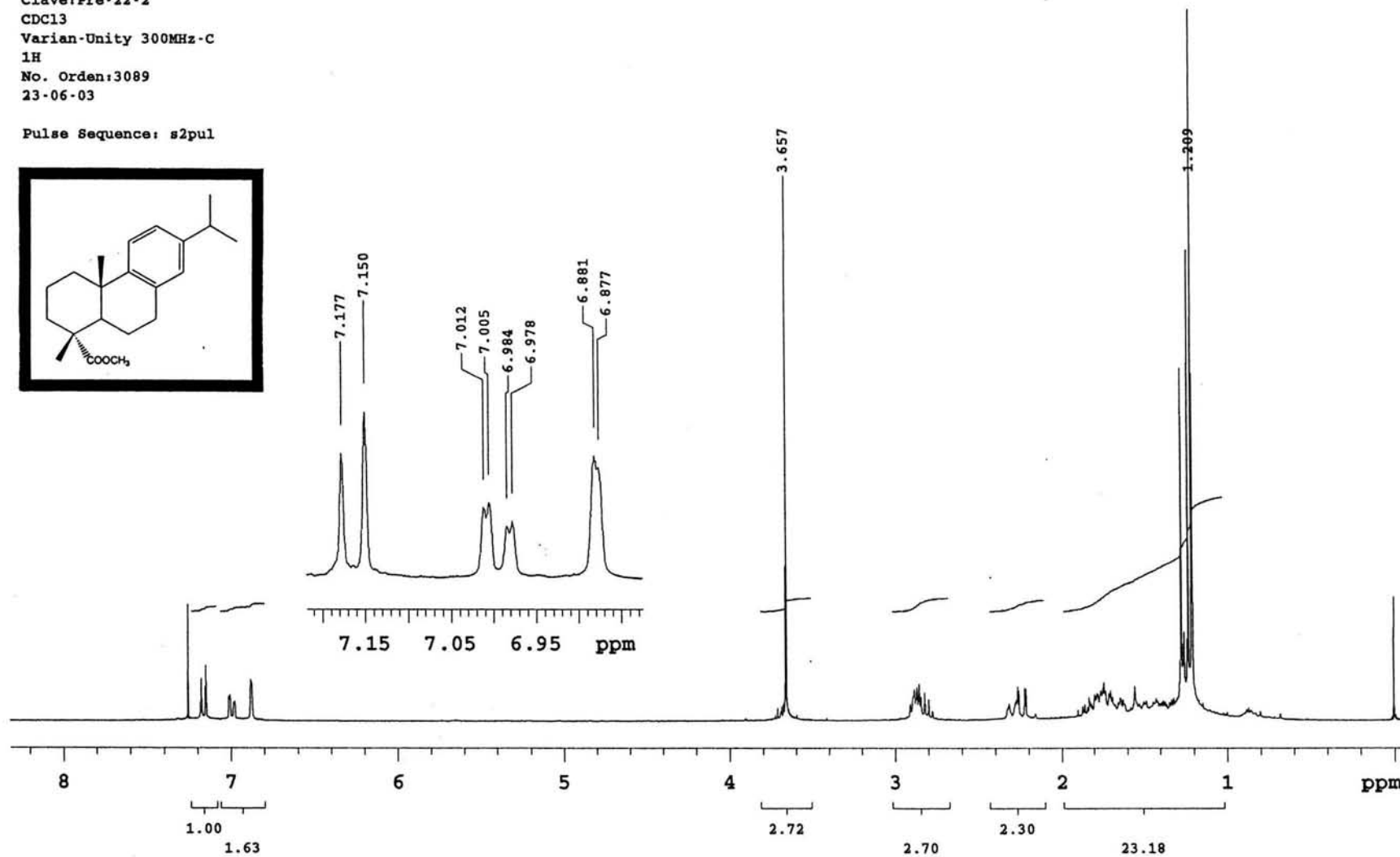
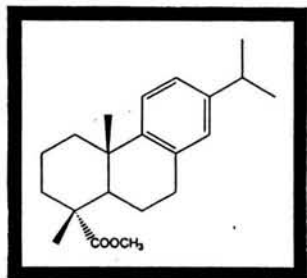


INSTITUTO DE QUIMICA
M.C.B. Esquivel Hex-22-4
Película
No. de Registro: 1980
18-06-03
MAB

Espectro 13

Instituto de Quimica UNAM NZ
M.C. Baldomero Esquivel/Clarisa V.
Clave:Pre-22-2
CDC13
Varian-Unity 300MHz-C
1H
No. Orden:3089
23-06-03

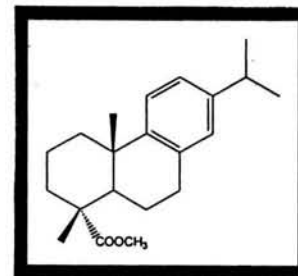
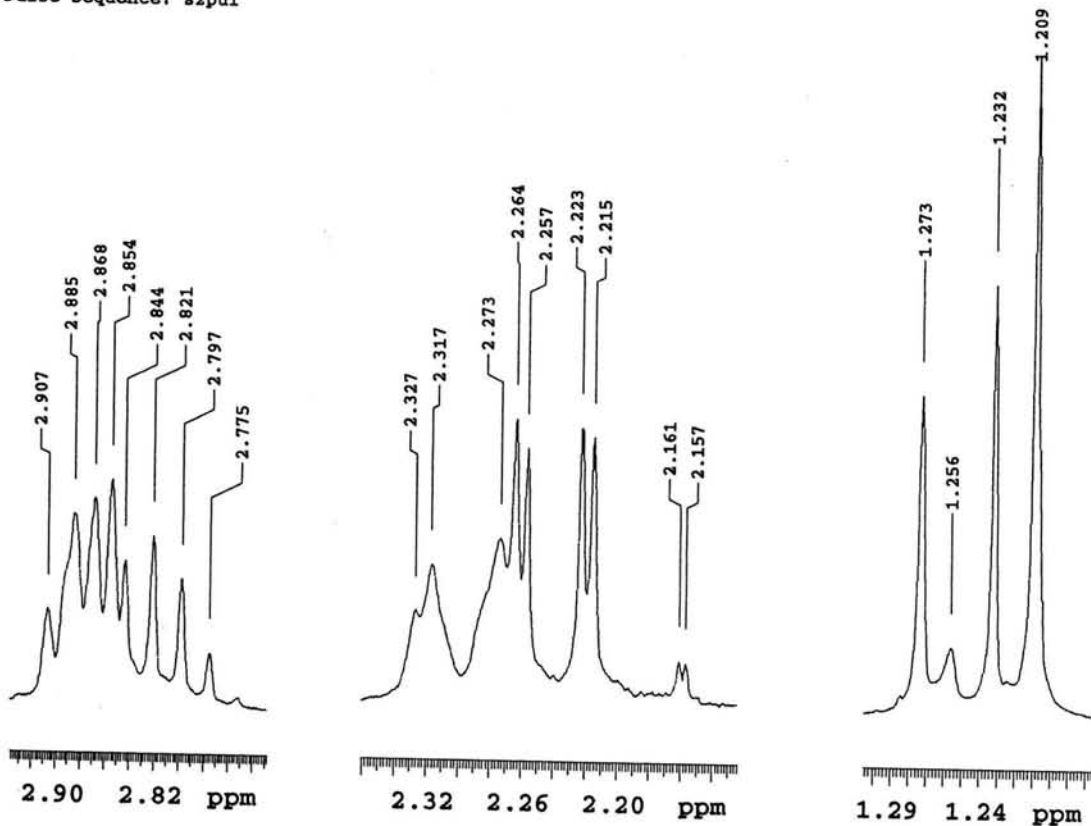
Pulse Sequence: s2pul



Espectro 14

Instituto de Quimica UNAM NZ
M.C. Baldomero Esquivel/Clarisa V.
Clave:Pre-22-2
CDC13
Varian-Unity 300MHz-C
1H
No. Orden:3089
23-06-03

Pulse Sequence: s2pul

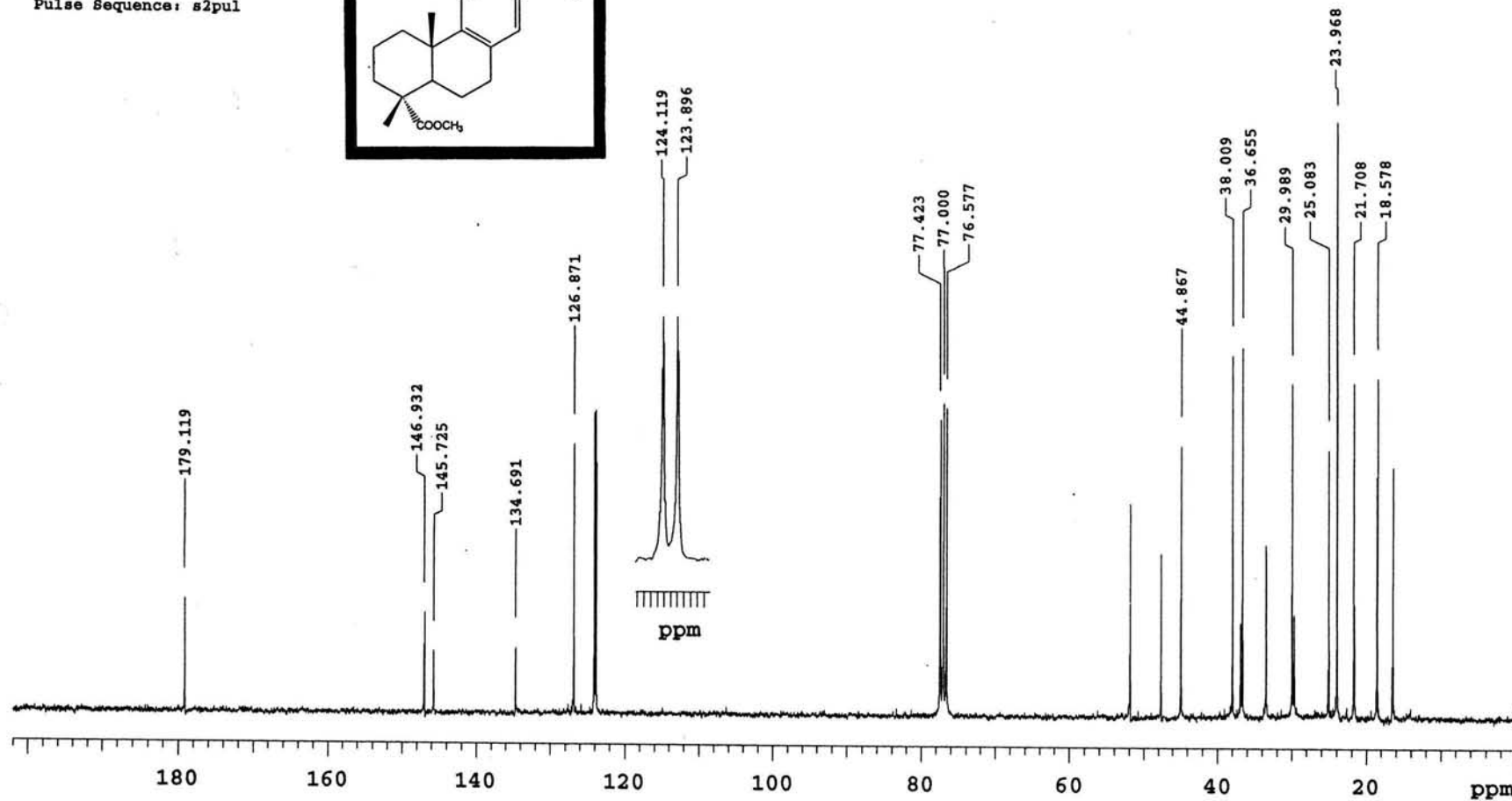
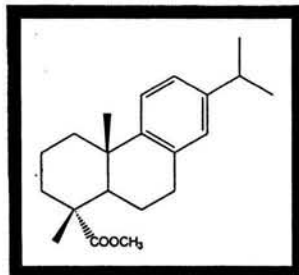


Espectro 14a

Instituto de Quimica UNAM NZ
M.C. Baldomero Esquivel/Clarisa V.
Clave:Pre-22-2
CDC13
Varian-Unity 300MHz-C
13C

No. Orden:3089
23-06-03

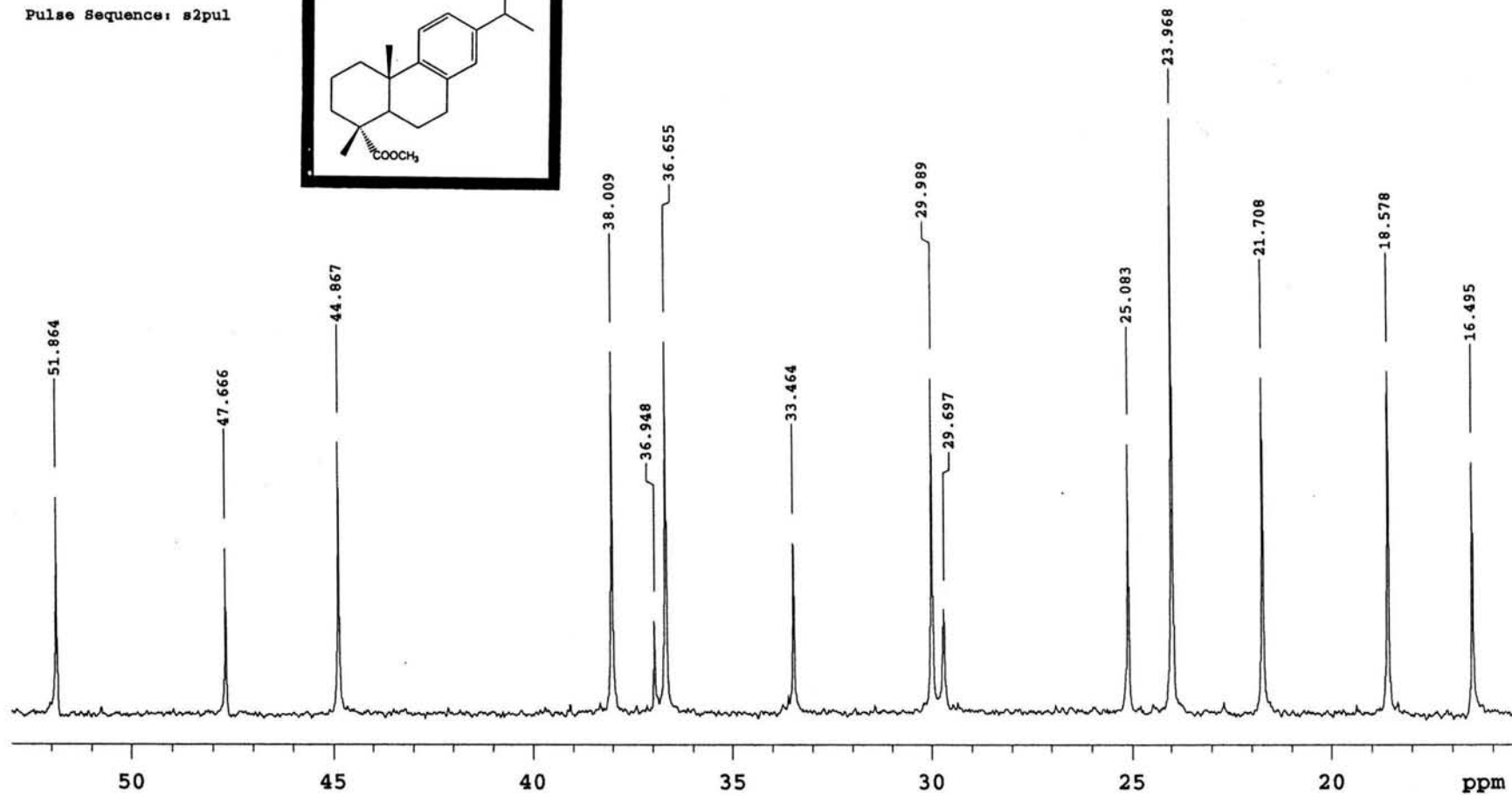
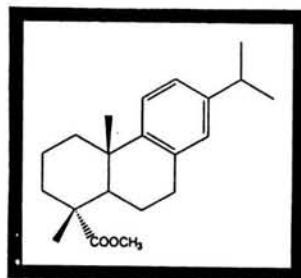
Pulse Sequence: s2pul



Espectro 15

Instituto de Quimica UNAM NZ
M.C. Baldomero Esquivel/Clarisa V.
Clave:Pre-22-2
CDC13
Varian-Unity 300MHz-C
13C
No. Orden:3089
23-06-03

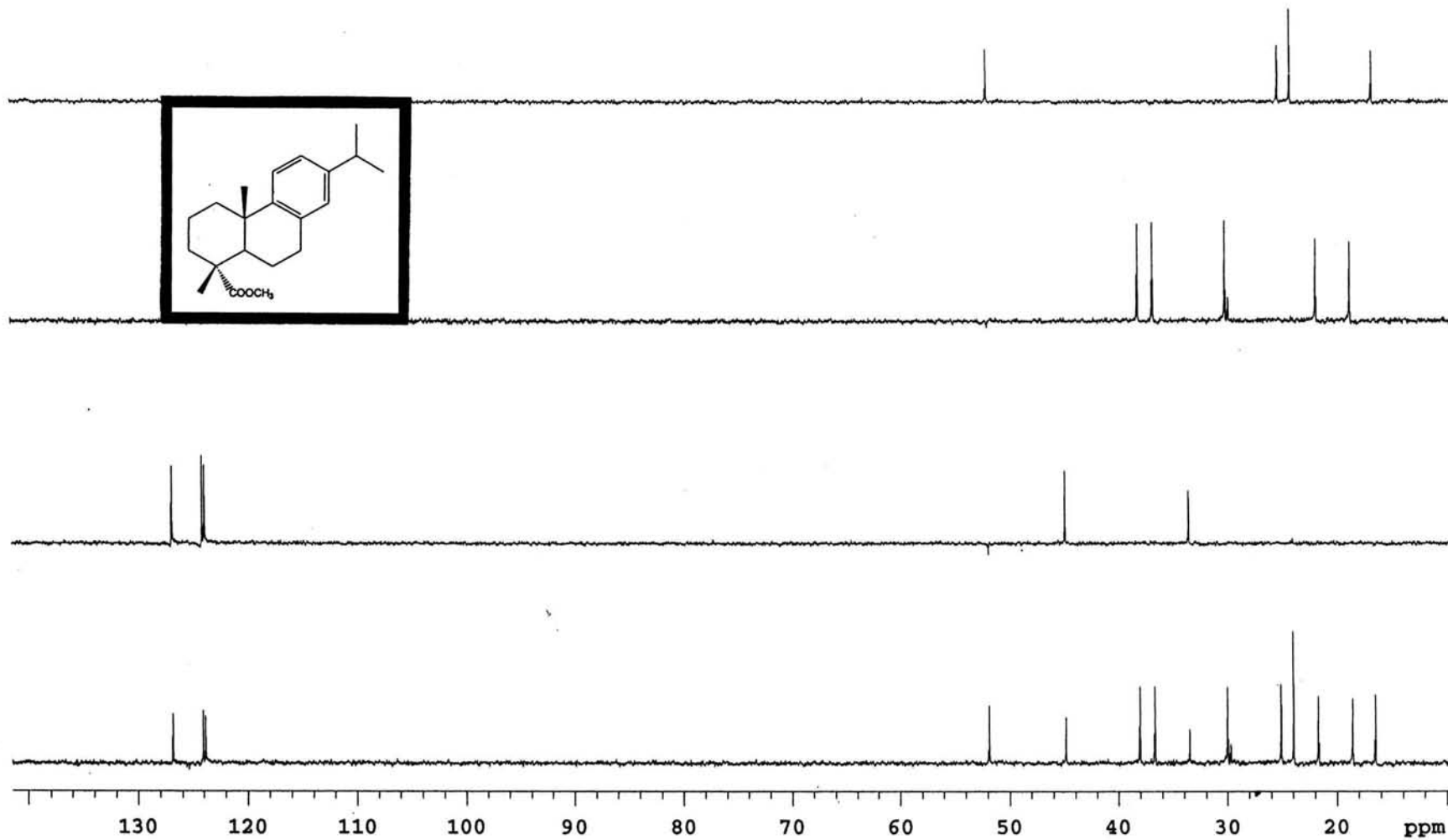
Pulse Sequence: s2pul



Espectro 15a

Pre222

Pulse Sequence: dept



Espectro 15b

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Baldomero-Esquivell110 Date : 12-Nov-103 09:17

Sample: 121103-08 Ac-ABIET

Note : Luis-Velasco-I

Inlet : Direct Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

RT : 1.17 min

Scan# : (29,36)

Temp : 252.5 deg.C

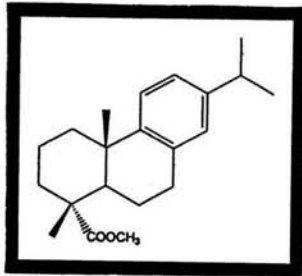
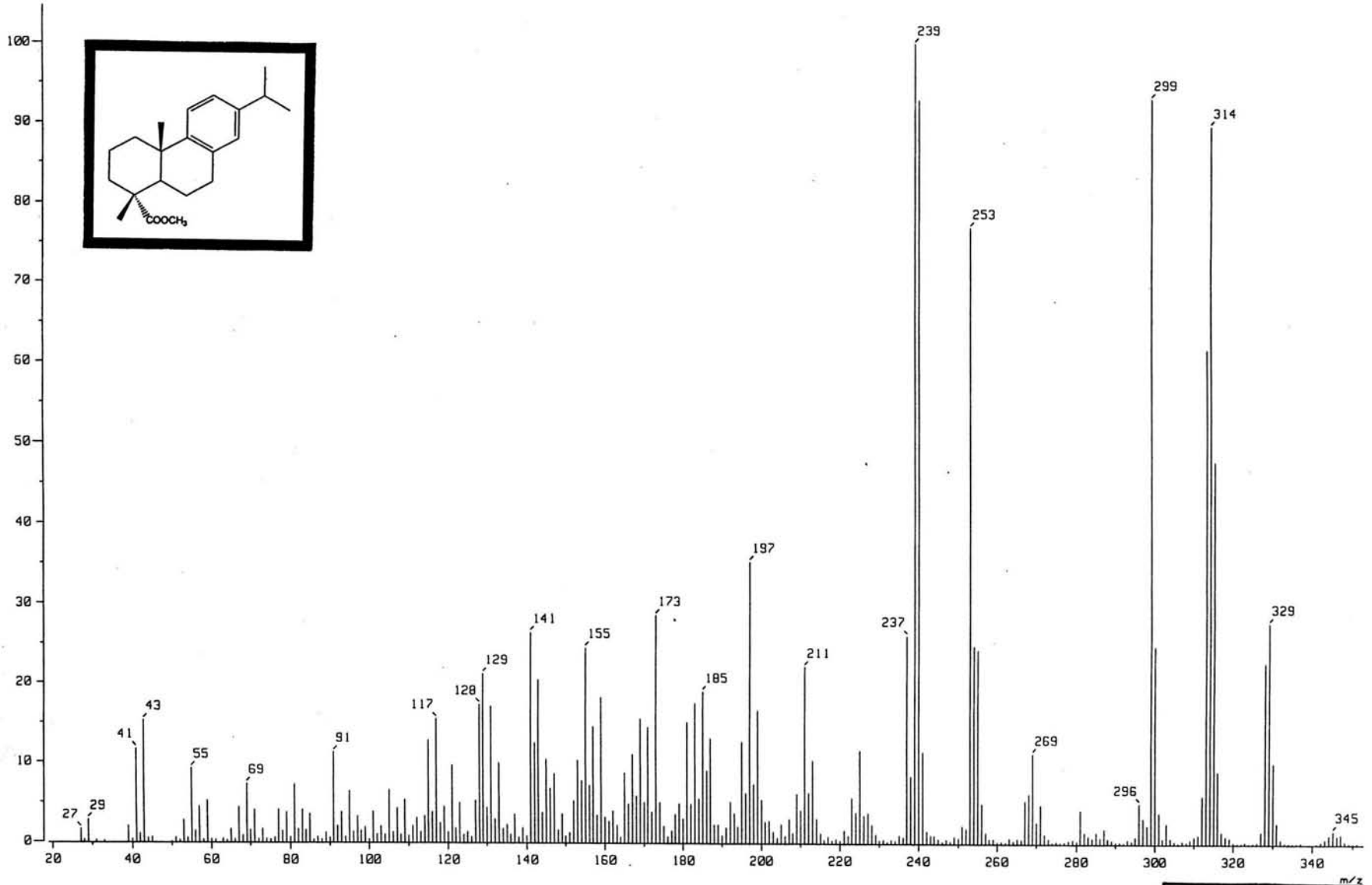
BP : m/z 239.0000

Int. : 1599.98

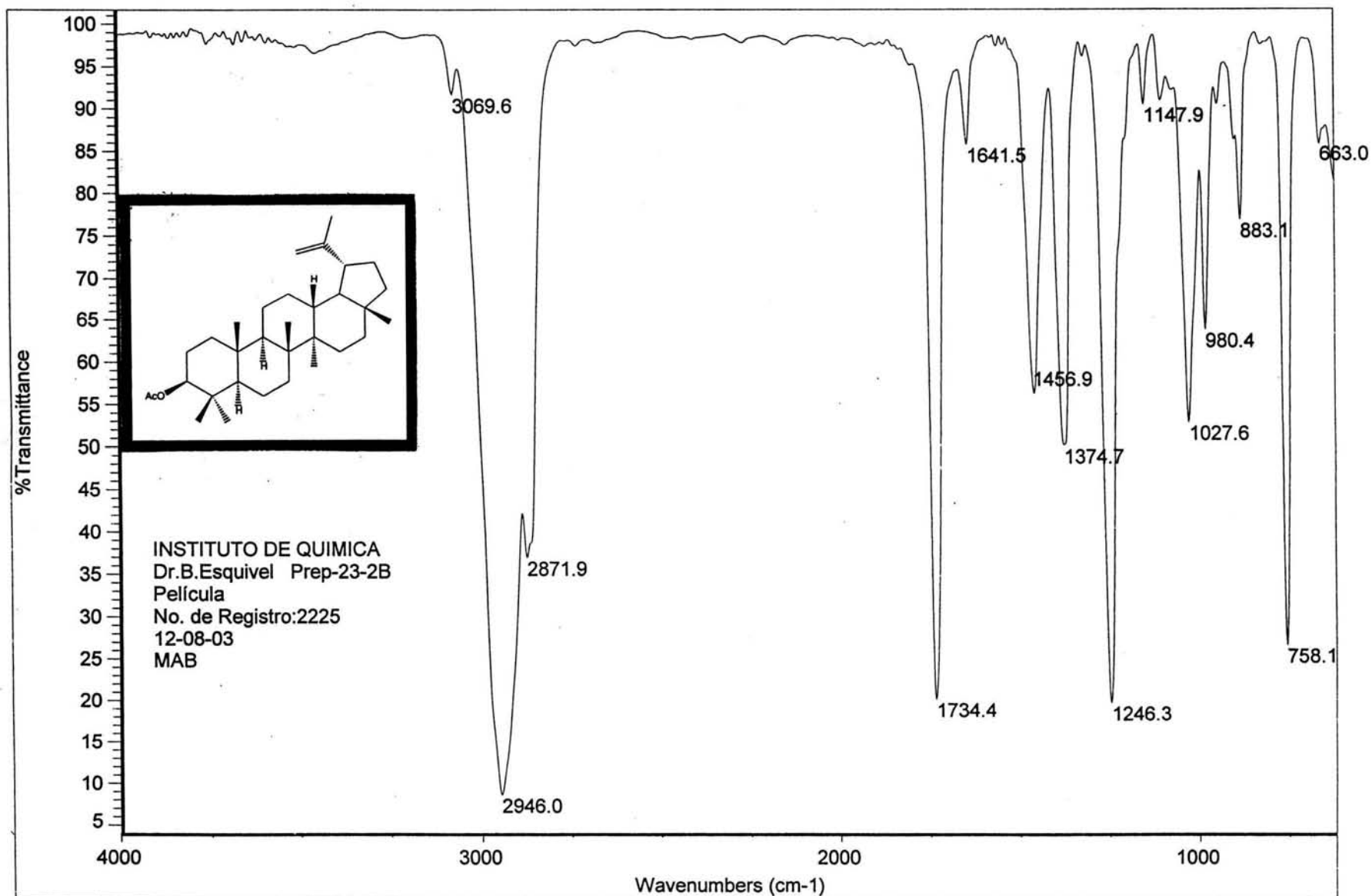
Output m/z range : 19.0000 to 352.7211

Cut Level : 0.00 %

17552774



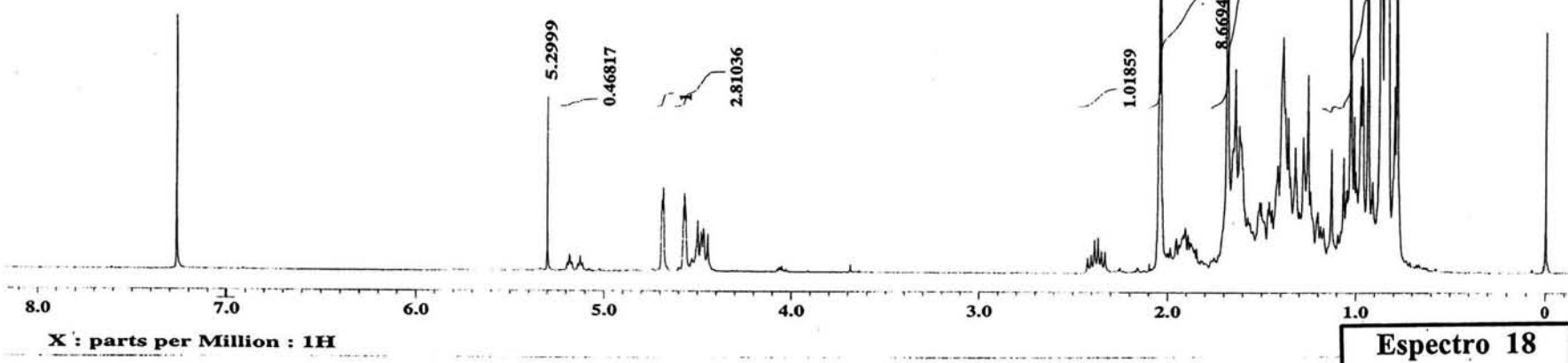
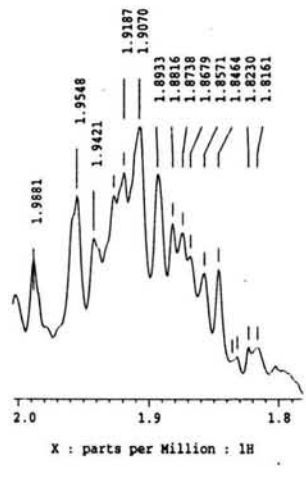
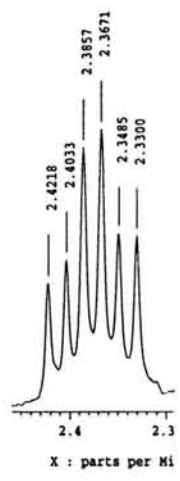
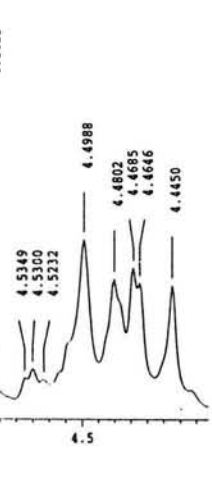
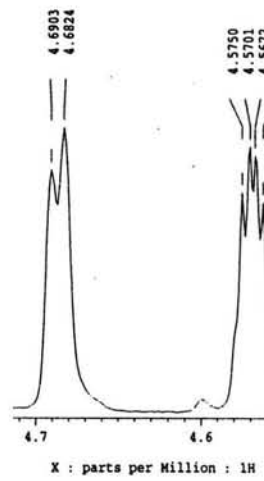
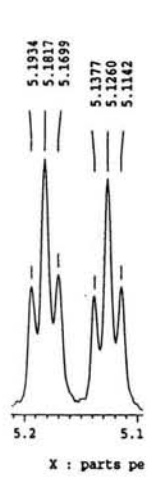
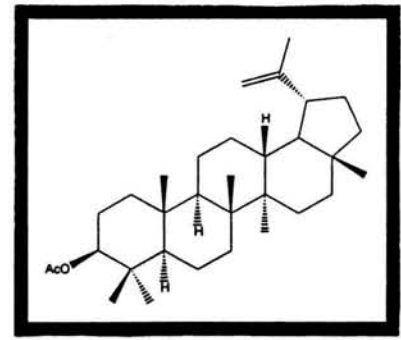
Espectro 16



INSTITUTO DE QUIMICA
Dr.B.Esquivel Prep-23-2B
Película
No. de Registro:2225
12-08-03
MAB

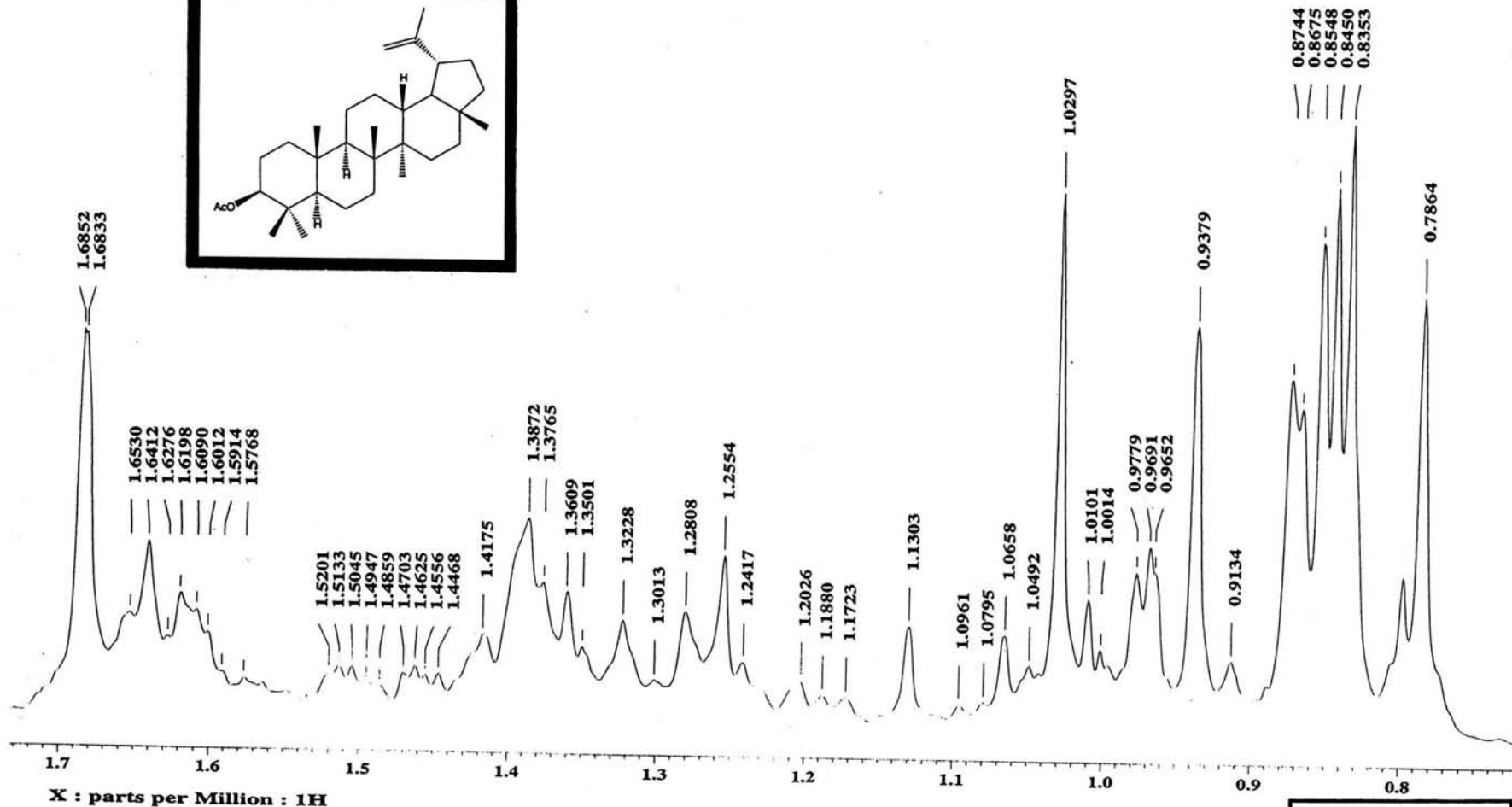
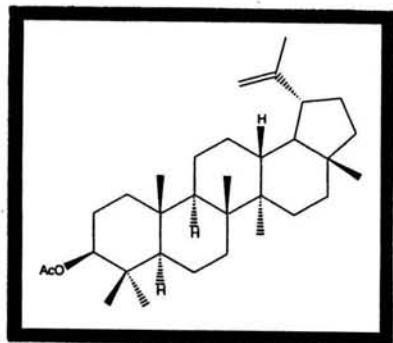
Espectro 17

UNAM. INSTITUTO DE QUIMICA, apg
 M. C. Baldomero Esquivel / Clarissa Villegas
 Clave: Prep-23-2B
 Disolvente: CDCl3
 Hidrogeno-1
 Eclipse 300 Jeol (E)
 17-VII-2003
 No. orden: 3459



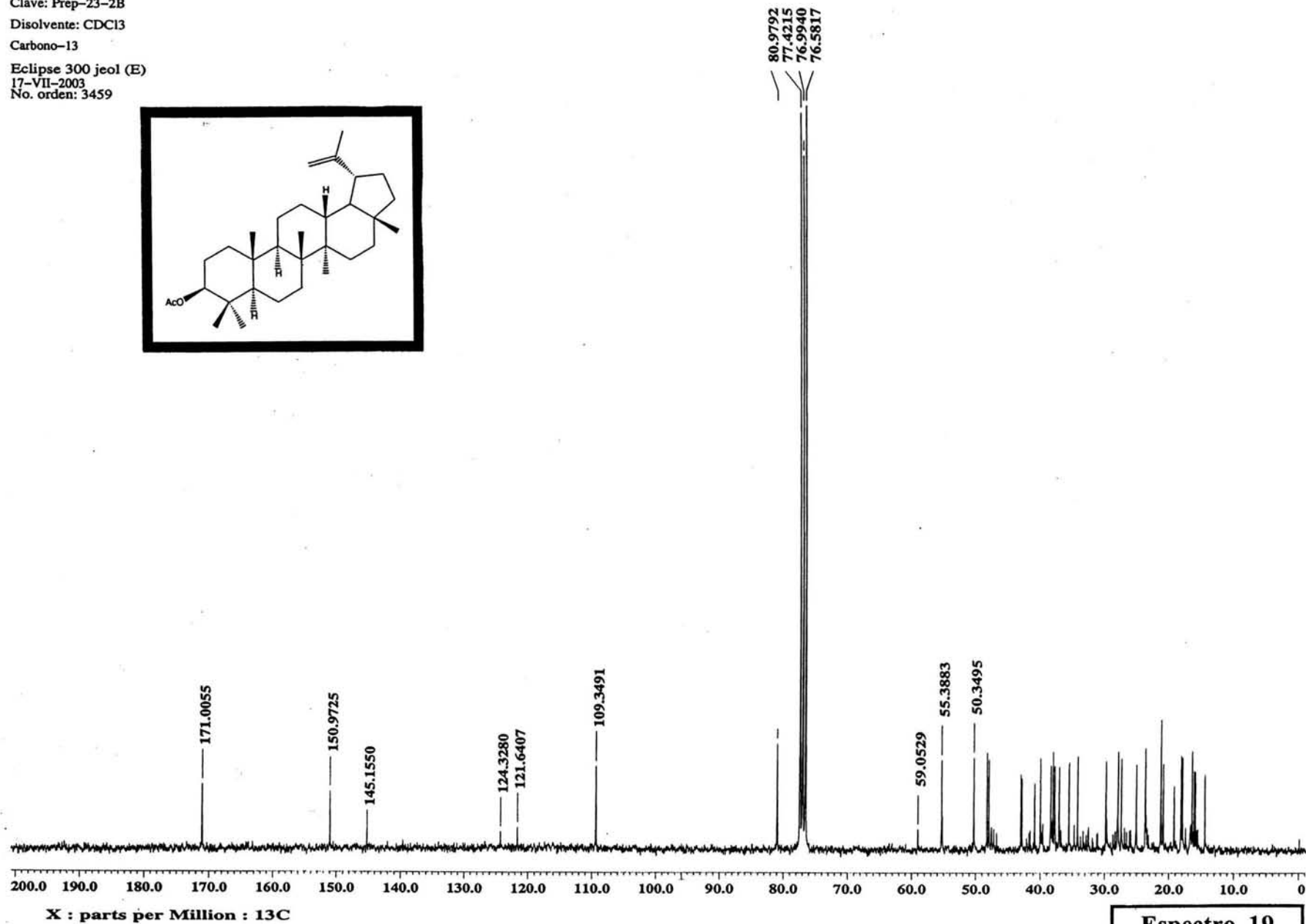
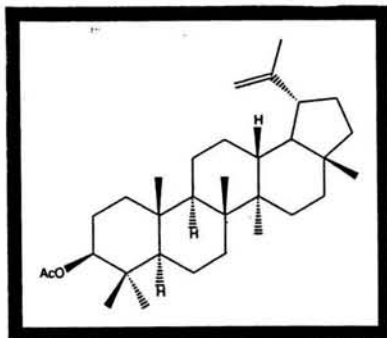
Espectro 18

UNAM, INSTITUTO DE QUIMICA, apg
 M. C. Baldomero Esquivel / Clarissa Villegas
 Clave: Prep-23-2B
 Disolvente: CDCl₃
 Hidrogeno-1
 Eclipse 300 Jeol (E)
 17-VII-2003
 No. orden: 3459



Espectro 18a

UNAM, INSTITUTO DE QUIMICA, apg
M. C. B. Esquivel / Clarissa Villegas
Clave: Prep-23-2B
Disolvente: CDCl₃
Carbono-13
Eclipse 300 jeol (E)
17-VII-2003
No. orden: 3459



Espectro 19

UNAM, INSTITUTO DE QUIMICA, apg
M. C. B. Esquivel / Clarissa Villegas

Clave: Prep-23-2B

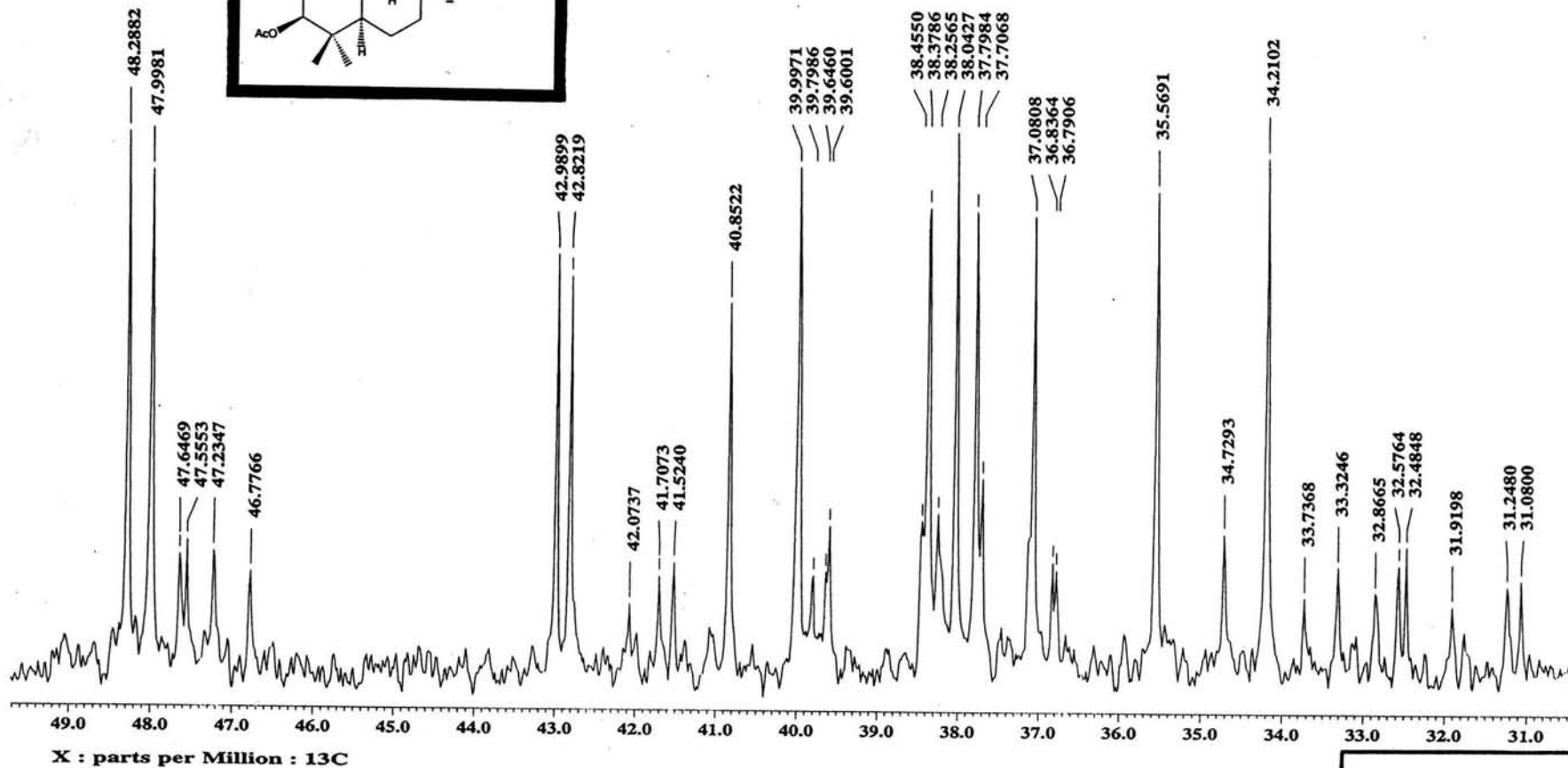
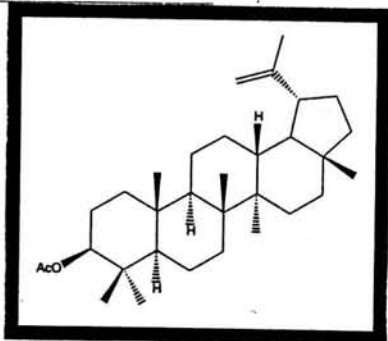
Disolvente: CDCl₃

Carbono-13

Eclipse 300 jeol (E)

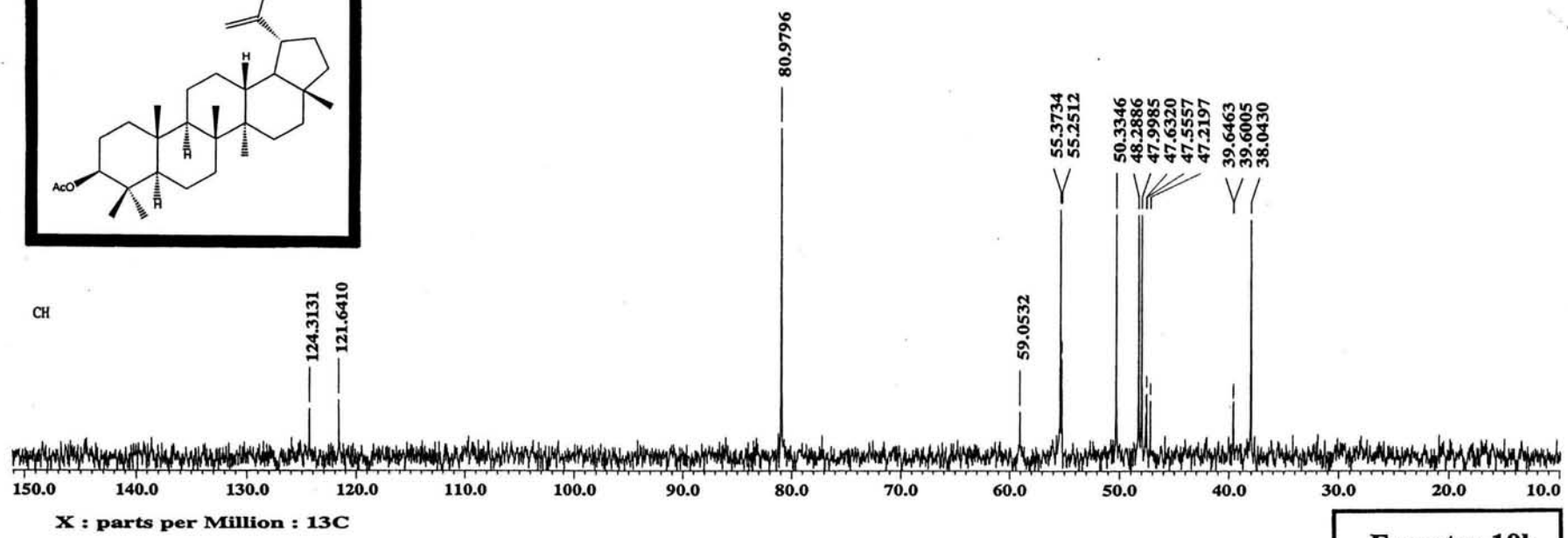
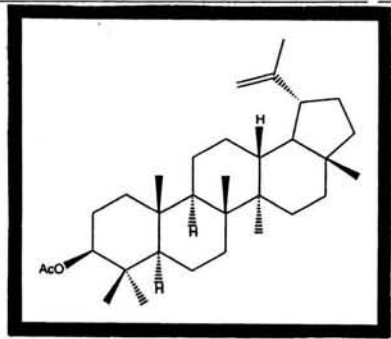
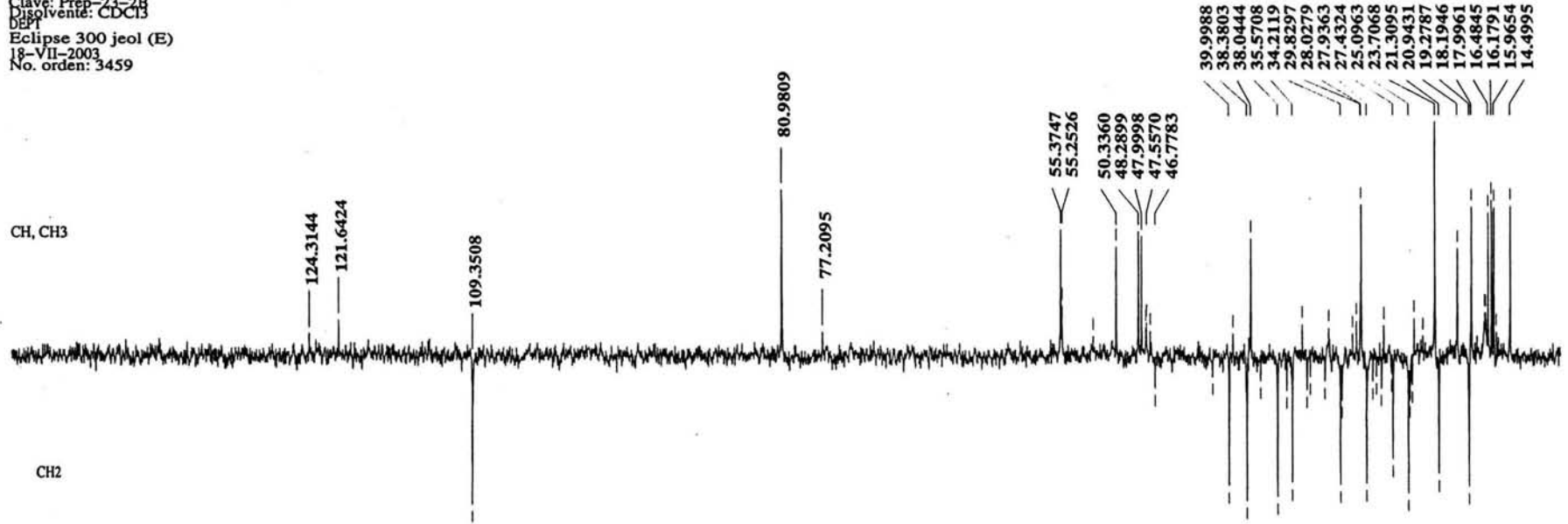
17-VII-2003

No. orden: 3459



Espectro 19a

UNAM, INSTITUTO DE QUIMICA, apg
 M. C. B. Esquivel / Clarissa Villagas
 Clave: Prep-23-2B
 Disolvente: CDCl₃
 D5F1
 Eclipse 300 jeol (E)
 18-VII-2003
 No. orden: 3459



Espectro 19b

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Baldomero-Esquivell114 Date : 12-Nov-103 09:40

Sample: 121103-11 LUPA

Note : Luis-Velasco-I

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

RT : 0.61 min

Scan# : (11,23)

Temp : 43.2 deg.C

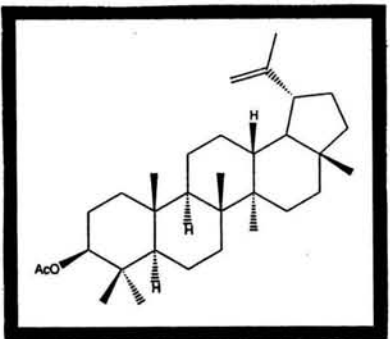
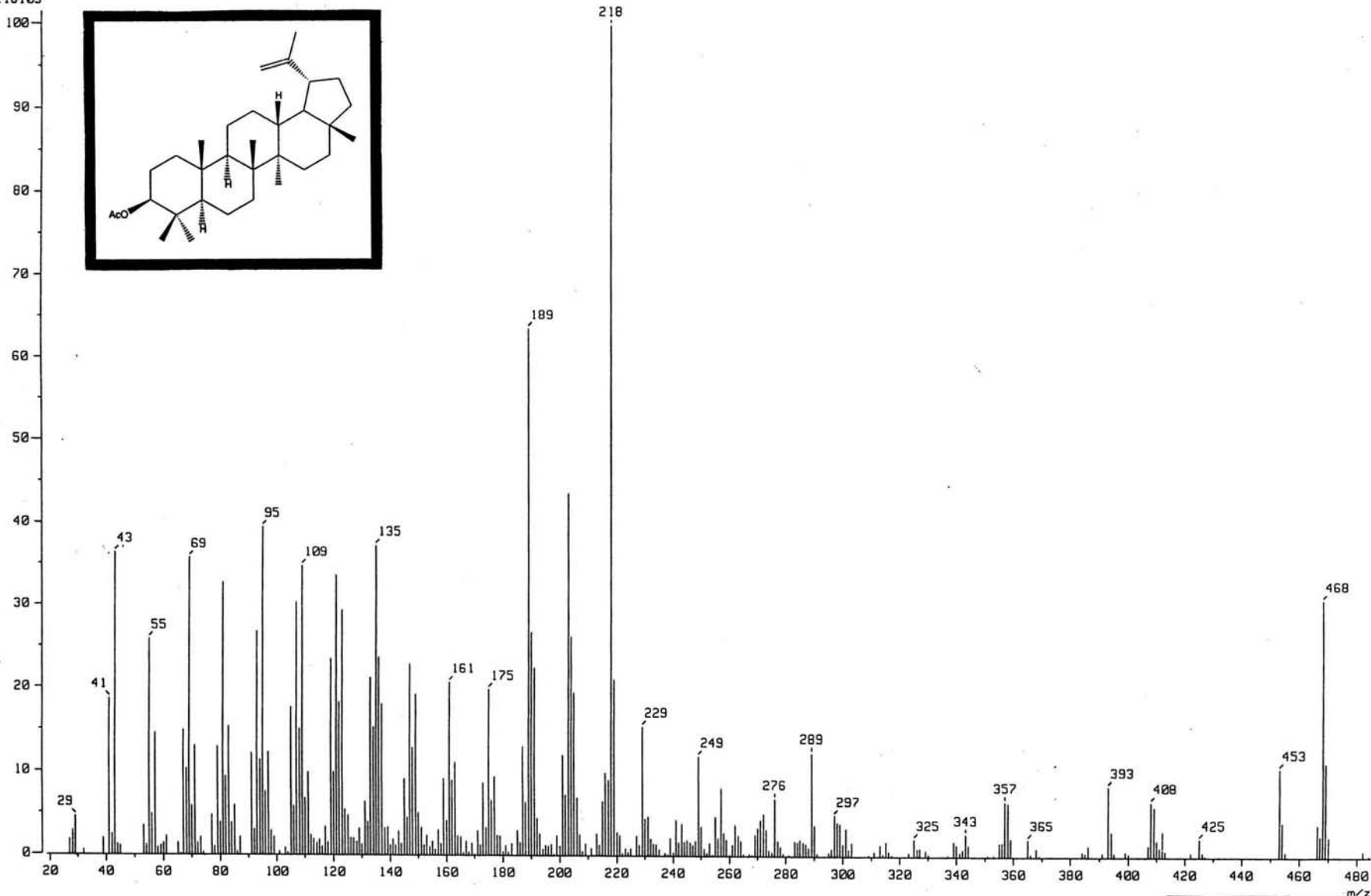
BP : m/z 218.0000

Int. : 199.12

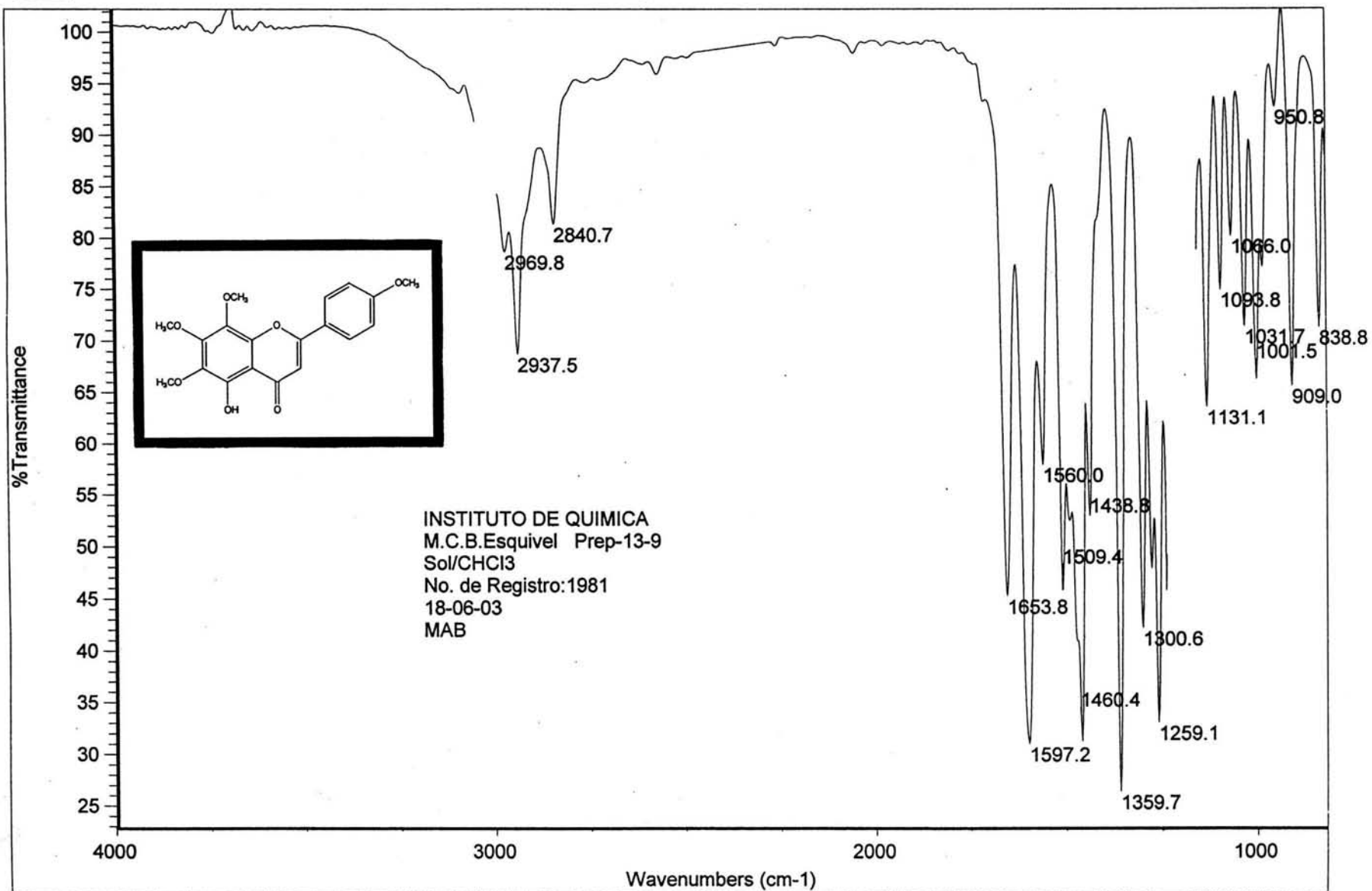
Output m/z range : 19.0000 to 484.8190

Cut Level : 0.00 %

2110103



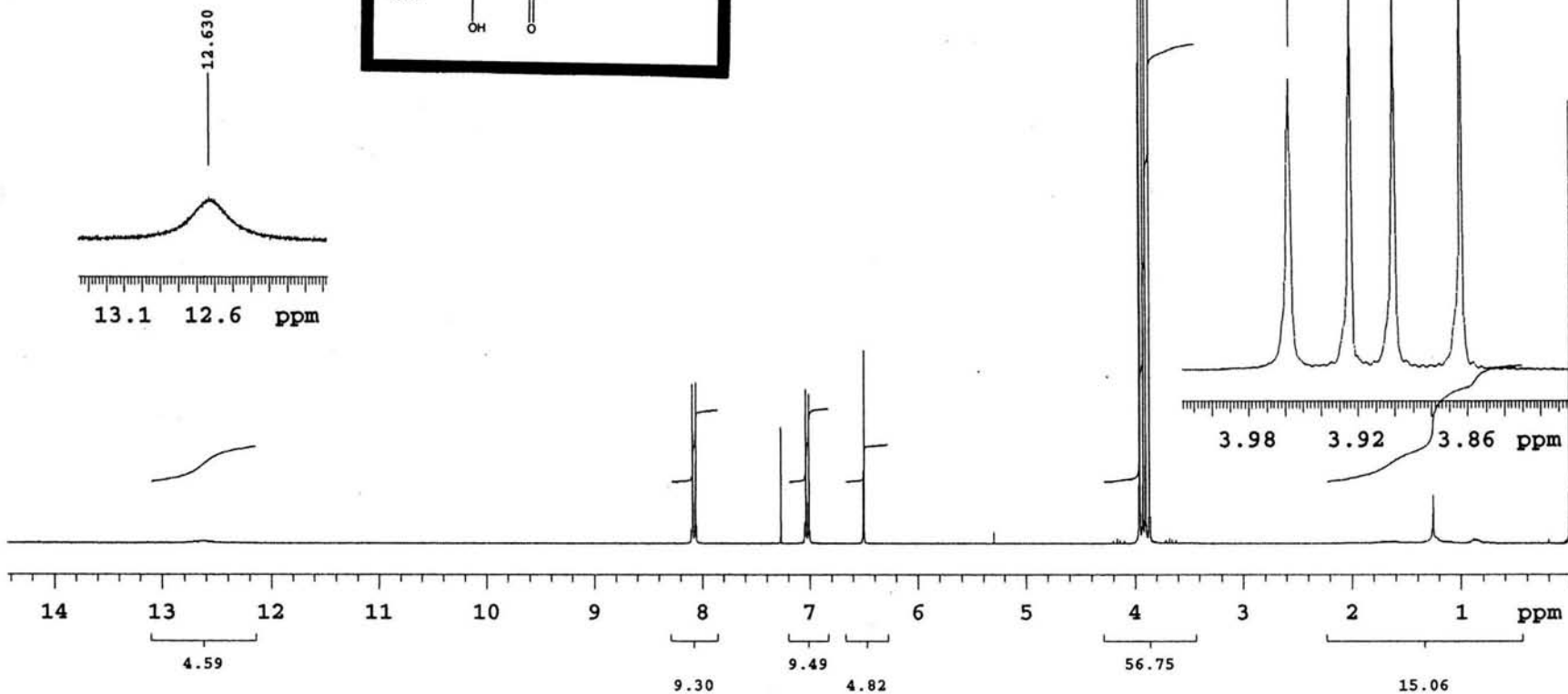
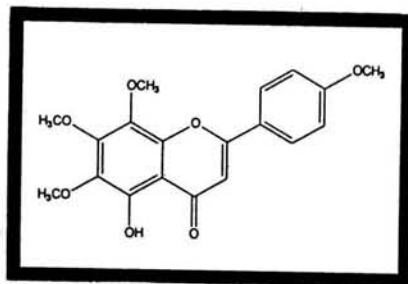
Espectro 20



INSTITUTO DE QUIMICA
M.C.B. Esquivel Prep-13-9
Sol/CHCl3
No. de Registro: 1981
18-06-03
MAB

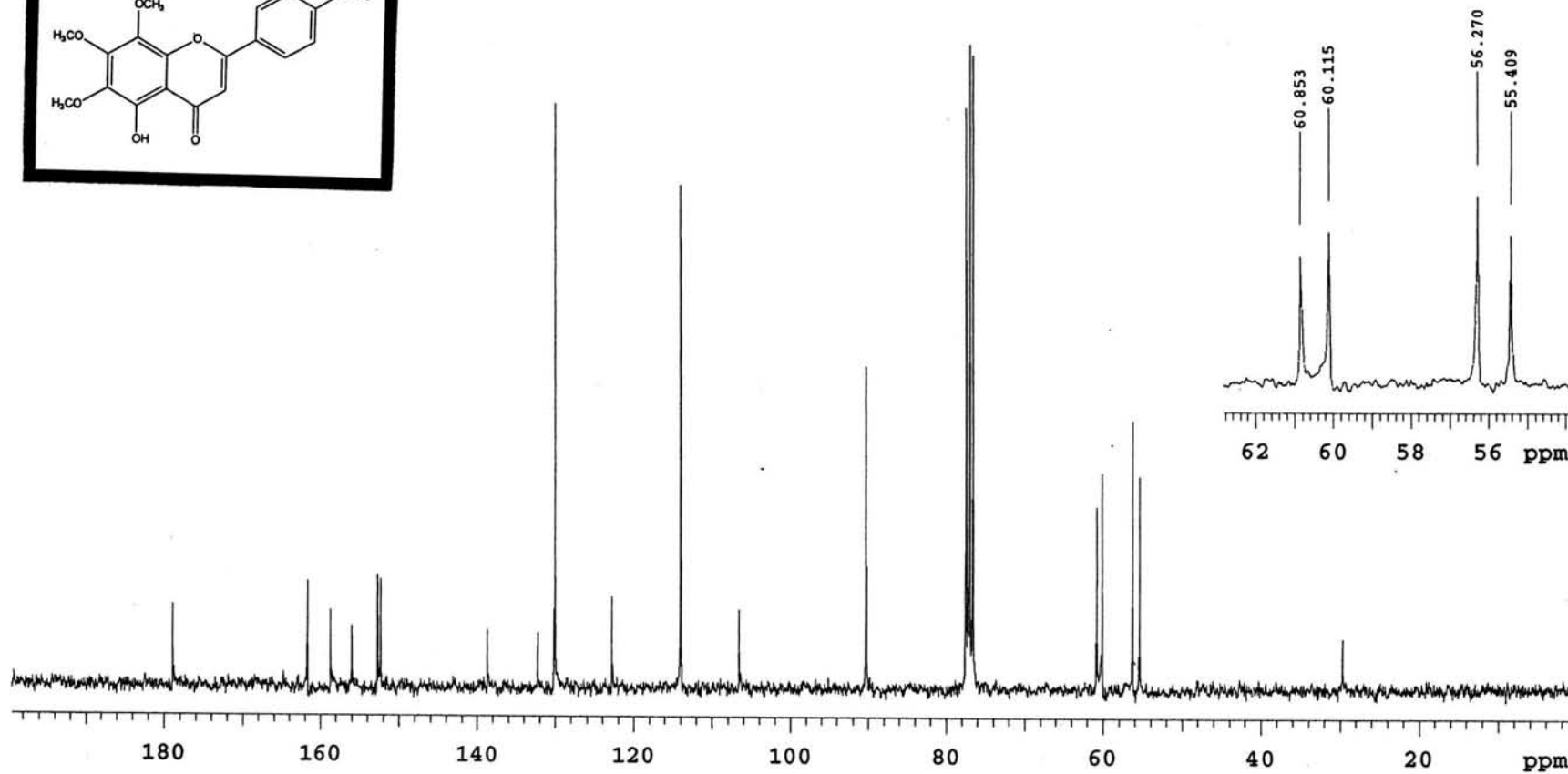
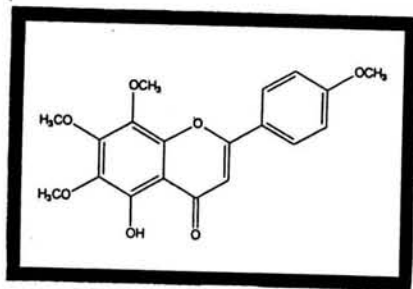
Espectro 21

Instituto de Quimica UNAM ICH
B. Esquivel//Clarisa Vilegas
clave:Prep-13-9
disolvente:CDCl3
varian unity300 300 MHz (D)
hidrogeno-1
No. se orden 3022
19-06-03



Espectro 22

Instituto de Quimica UNAM ICH
B. Esquivel/Clarisa Vilegas
clave:Prep-13-9
disolvente:CDCl3
varian unity300 75 MHz (D)
carbono-13
No. se orden 3022
19-06-03



Espectro 23

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Baldomero-Esquivell09 Date : 12-Nov-03 09:13

Sample: 121103-07 GR-B

Note : Luis-Velasco-I

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

RT : 0.87 min

Scan# : (21,20)

Temp : 207.6 deg.C

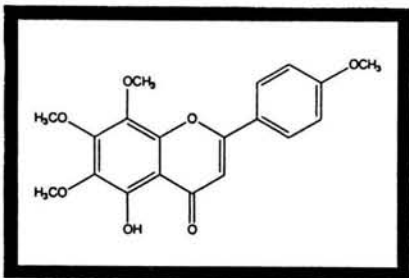
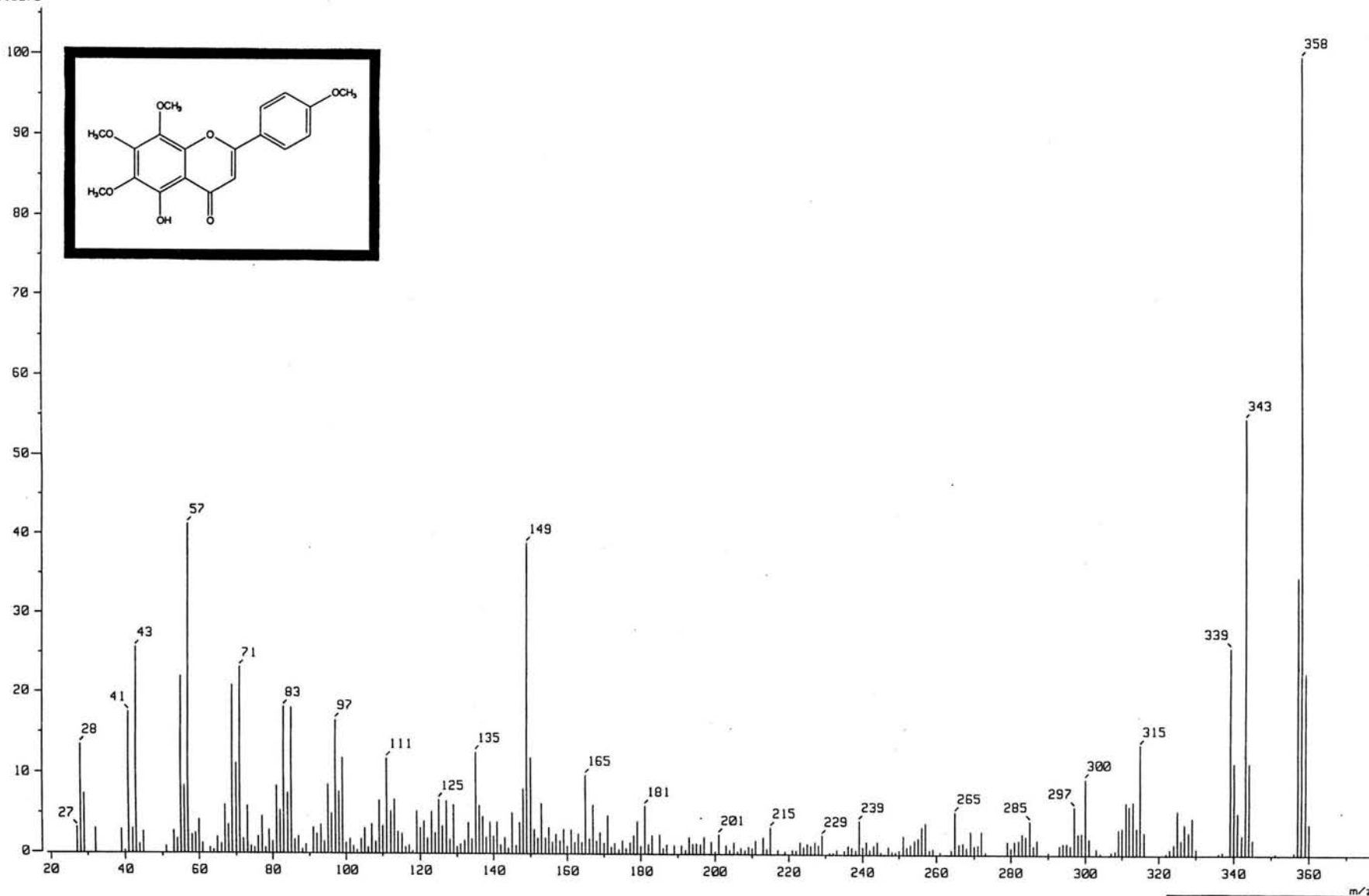
BP : m/z 358.0000

Int. : 191.23

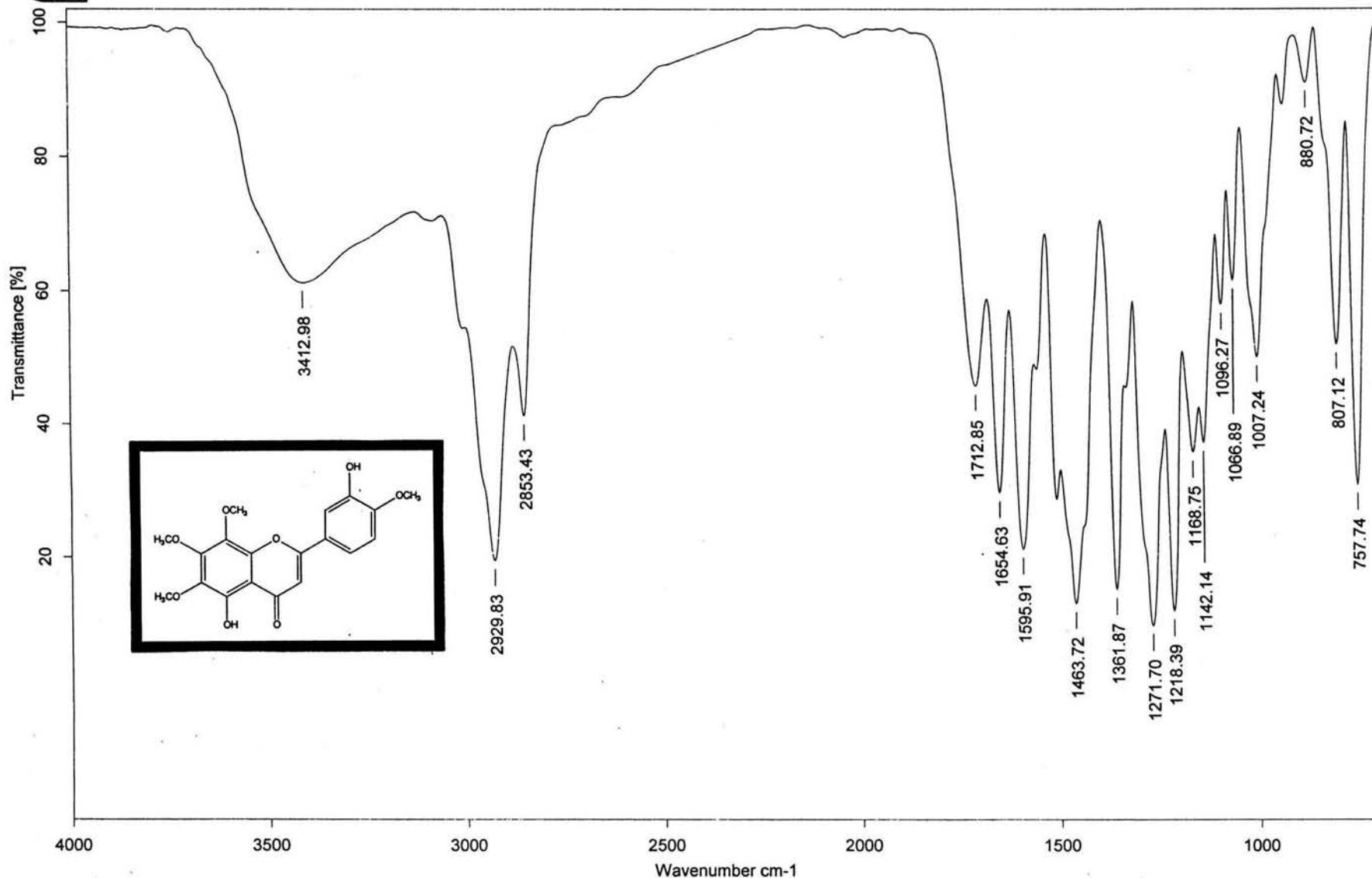
Output m/z range : 19.0000 to 377.0549

Cut Level : 0.00 %

2115279



Espectro 24

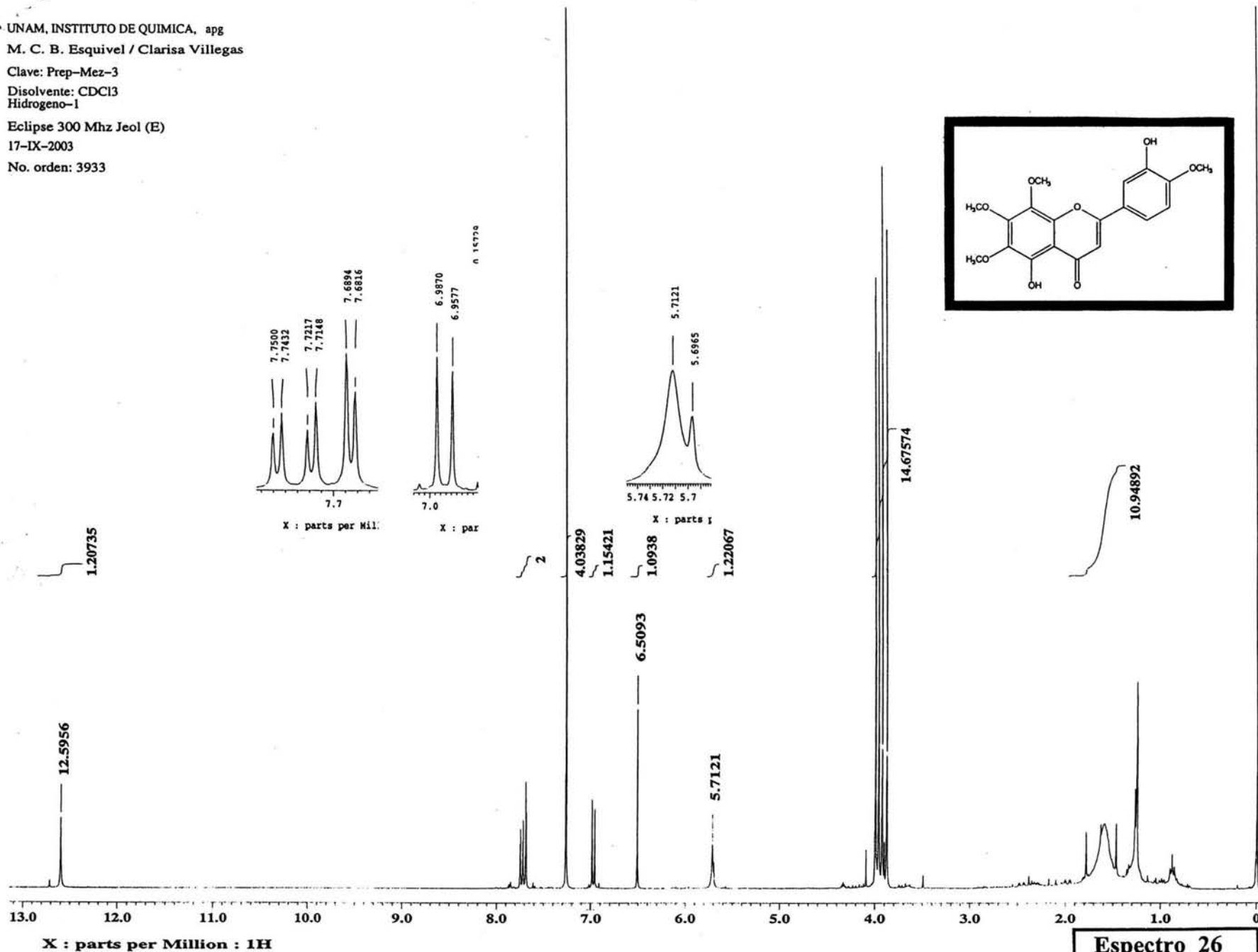
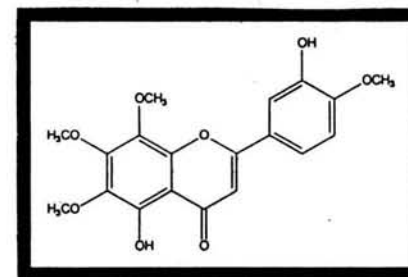


C:\infrarrojo\AIR-2003\2477.0 M.C.B.Esquivel Prep-Me2-3 Película MAB

10/09/2003

Espectro 25

UNAM, INSTITUTO DE QUIMICA, apg
 M. C. B. Esquivel / Clarisa Villegas
 Clave: Prep-Mez-3
 Disolvente: CDCl3
 Hidrogeno-1
 Eclipse 300 Mhz Jeol (E)
 17-IX-2003
 No. orden: 3933



Espectro 26

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Esquivel-Baldomero-072 Date : 01-Dec-103 14:11

Sample: 011203-06 GA-2

Note : Javier-Perez

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

RT : 2.68 min

Scan# : (69,00)

Temp : 318.1 deg.C

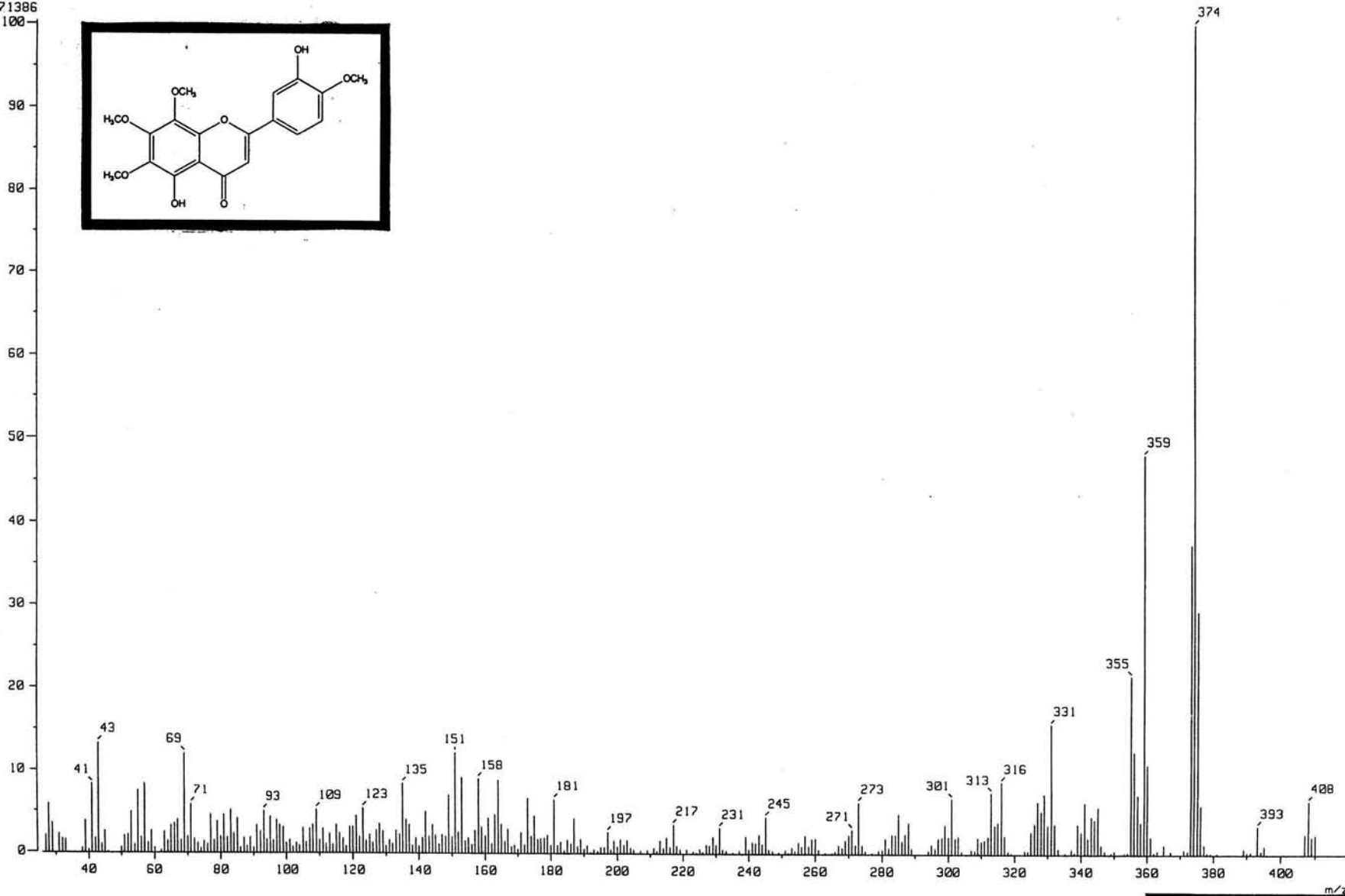
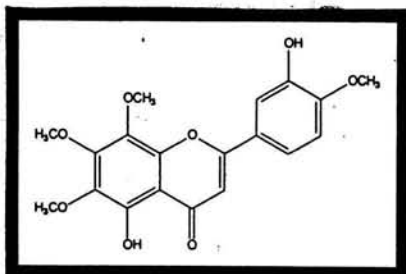
BP : m/z 374.0000

Int. : 215.99

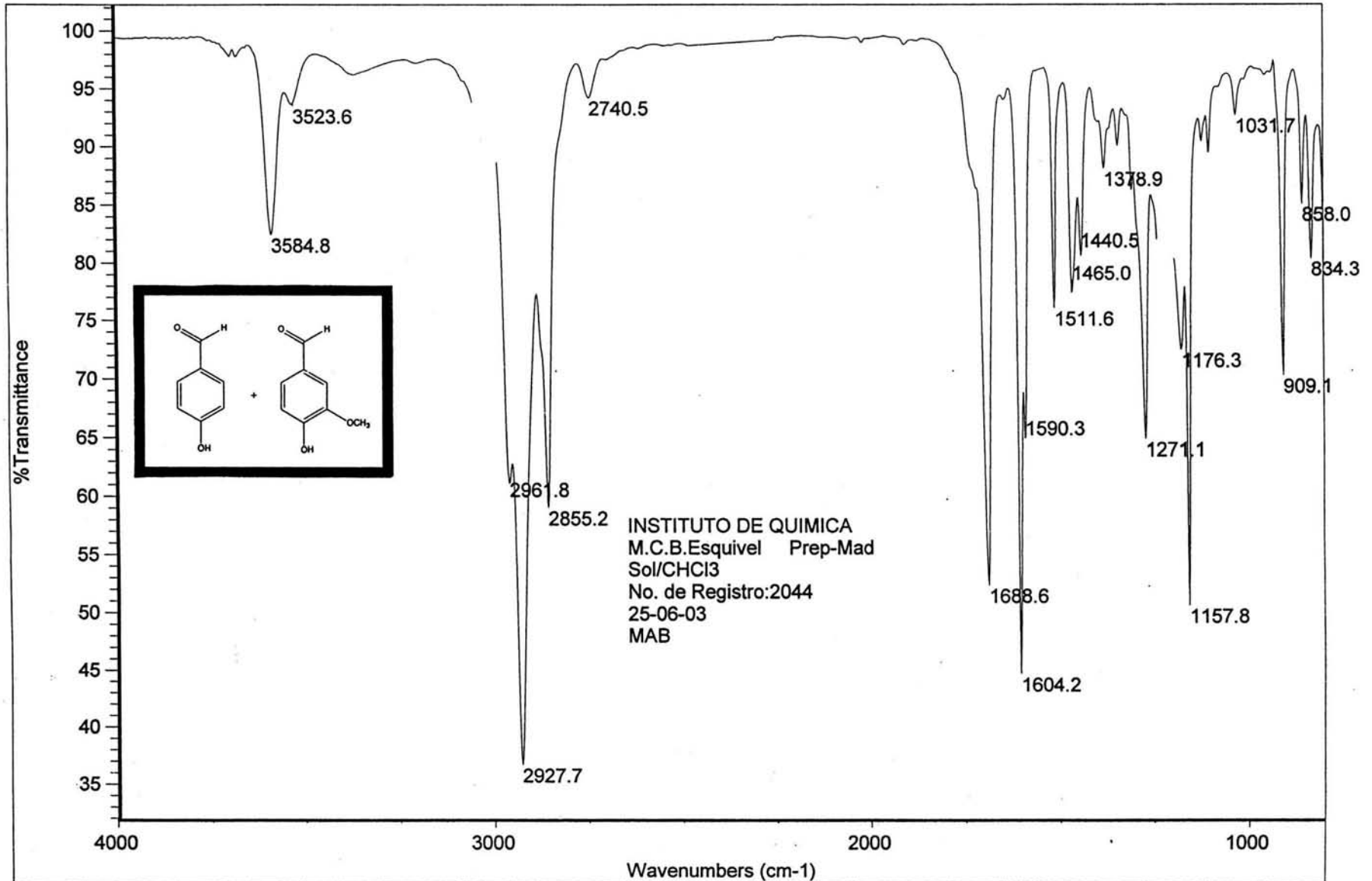
Output m/z range : 26.0000 to 419.8902

Cut Level : 0.00 %

2271386

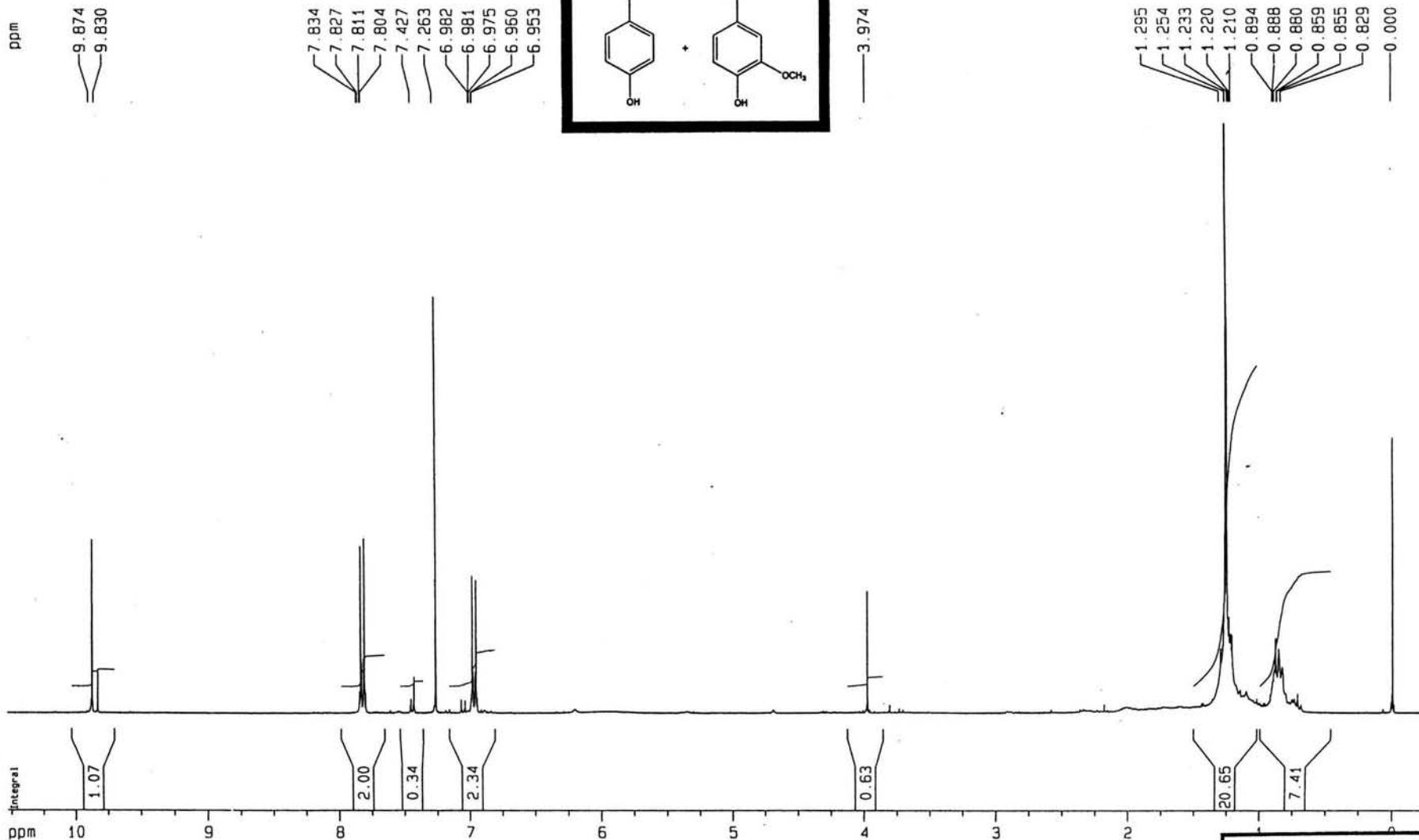


Espectro 27

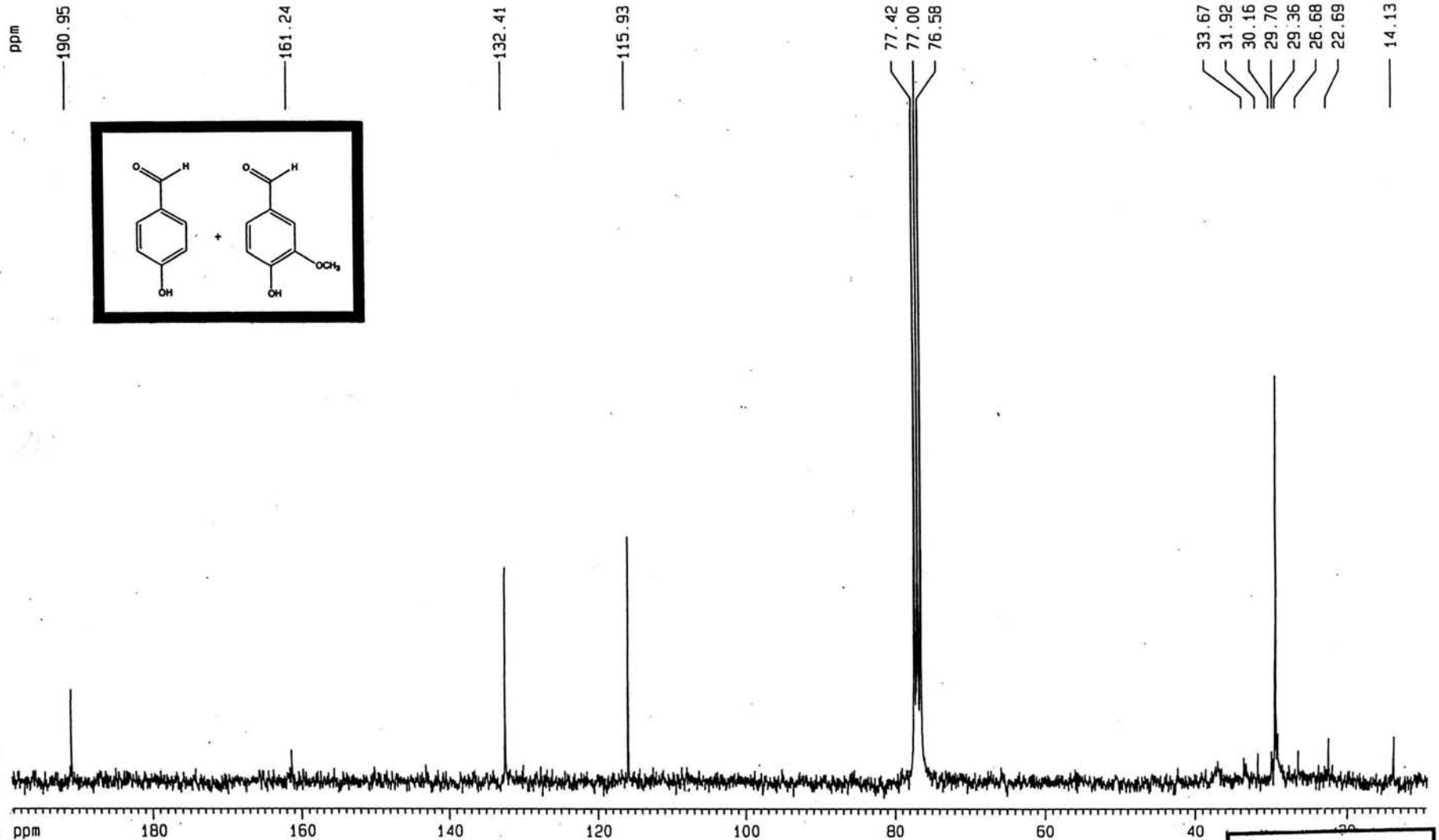


Espectro 28

Instituto de Quimica. UNAM HR
Dr-B-Esquivel/C-Villegas
Clave: Prepa-Mad
No-Orden 3097
Solvent: CDCL3
Experimento: Hidrogeno
BRUKER-AVANCE-300-MHZ (F)
Junio-24-2003



Instituto de Quimica. UNAM HR
Dr-B-Esquivel/C-Villegas
Clave: Prep-Mad
Solvent: CDCL3
Experimento: Carbono-13
BRUKER-AVANCE-75-MHZ (F)
Junio-27-2003



Espectro 30

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Esquivel-Baldomero-002 Date : 10-Nov-103 11:14

Sample: 181103-00 BE-VAIN

Note : Javier-Perez

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

RT : 0.31 min

Scan# : (4,12)

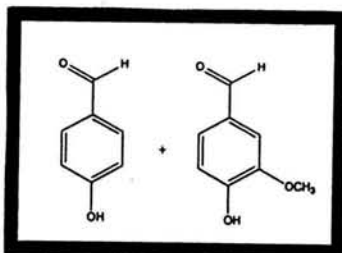
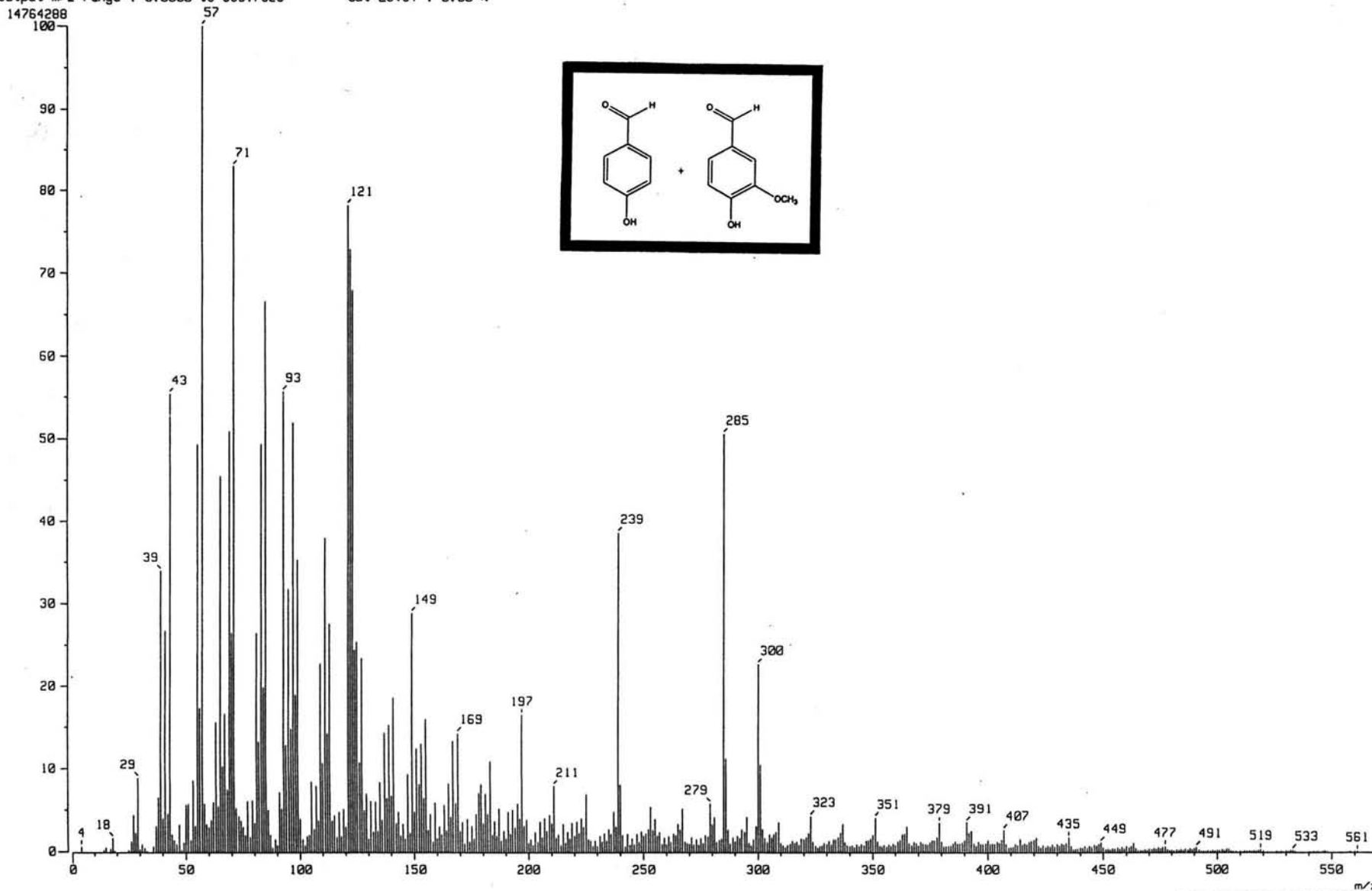
Temp : 70.0 deg.C

BP : m/z 57.0000

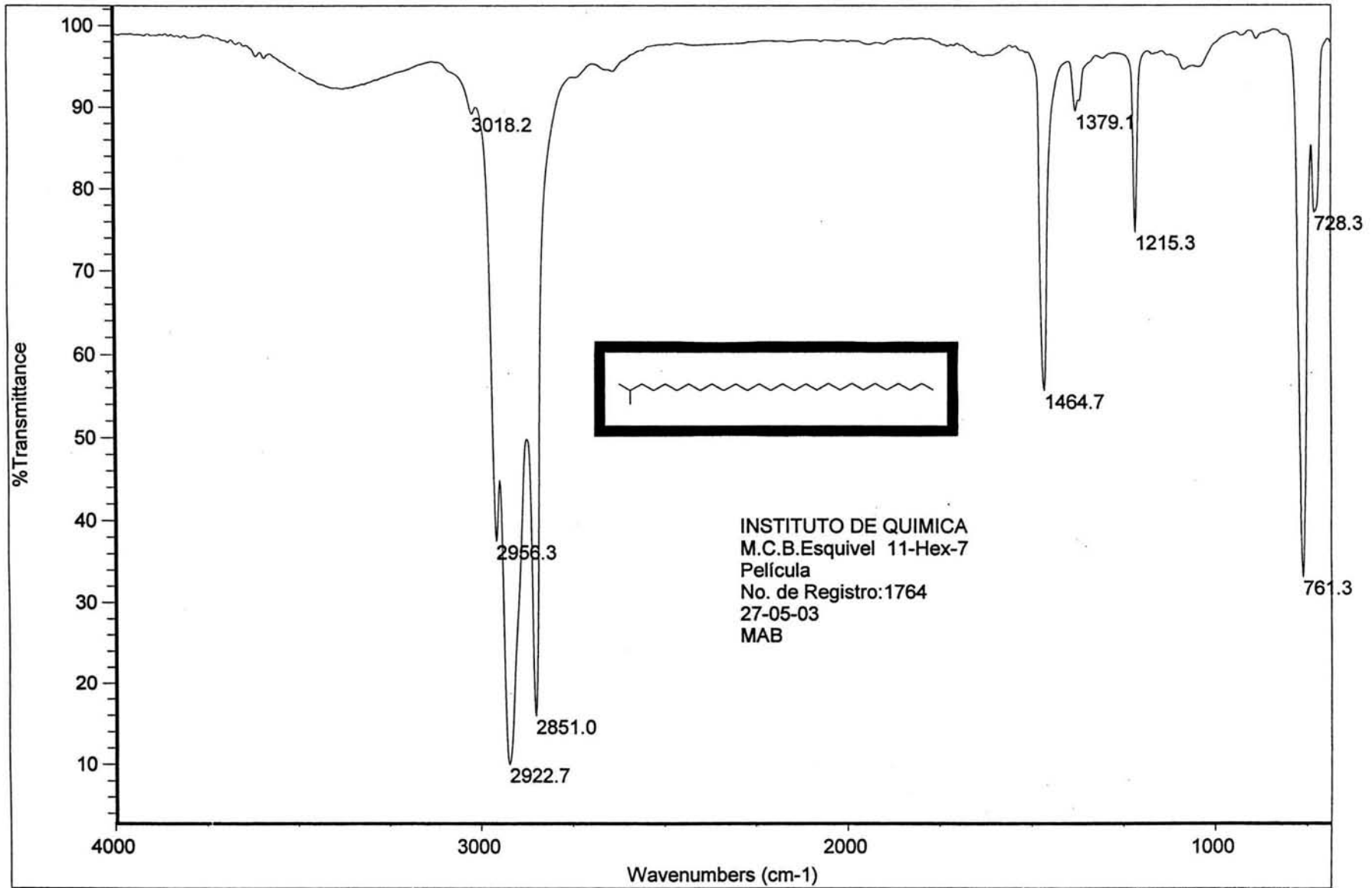
Int. : 1400.03

Output m/z range : 0.0000 to 569.7329

Cut Level : 0.00 %



Espectro 31



Espectro 32

UNAM, INSTITUTO DE QUIMICA, apg

M. C. Baldomero Esquivel / Clarisa Villegas

Clave: 11-Hex-9

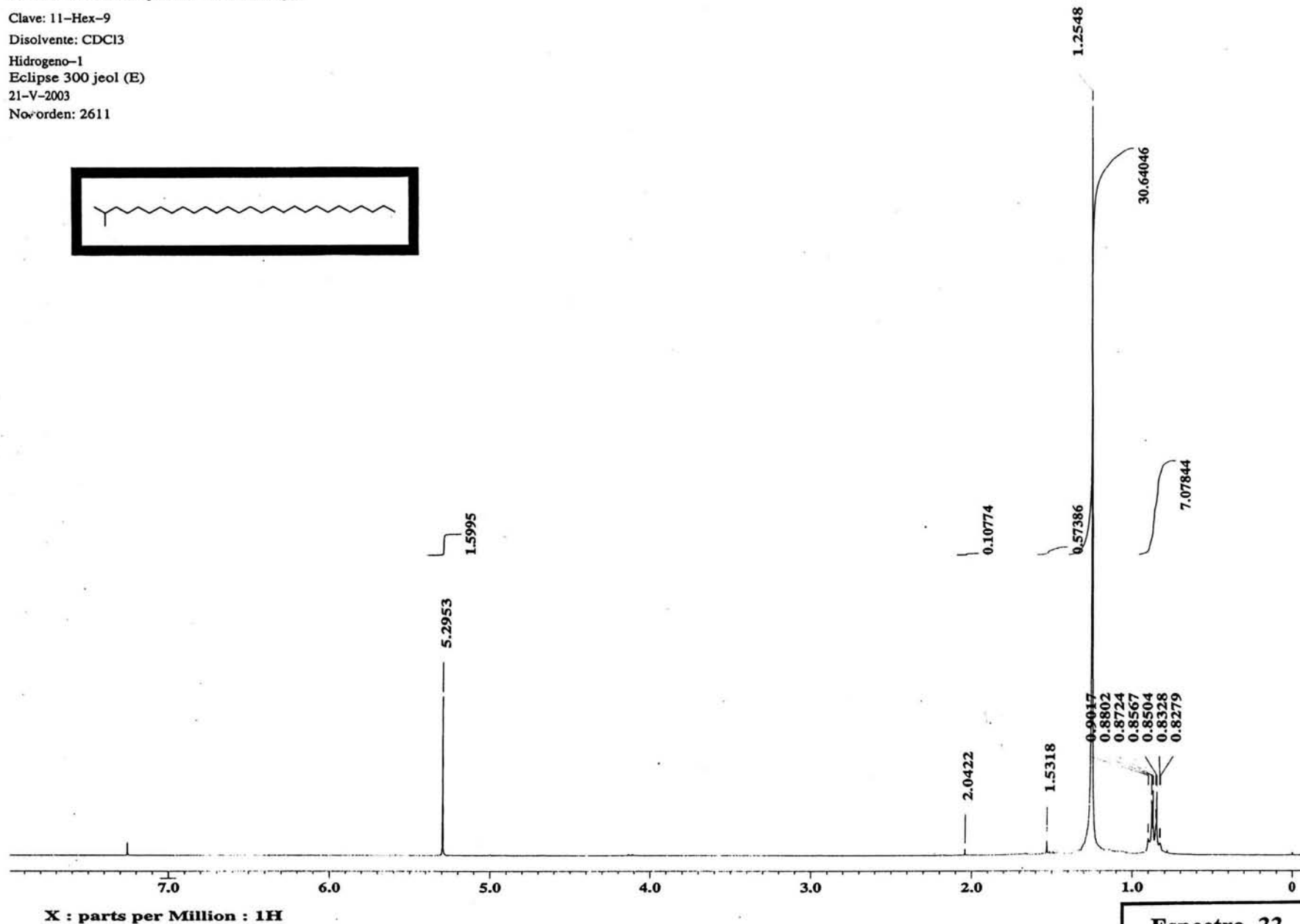
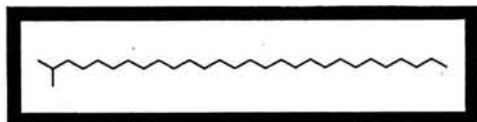
Disolvente: CDCl₃

Hidrogeno-1

Eclipse 300 jeol (E)

21-V-2003

Noorden: 2611



Espectro 33

UNAM, INSTITUTO DE QUIMICA, apg

M. C. Baldomero Esquivel / Clarisa Villegas

Clave: 11-Hex-9

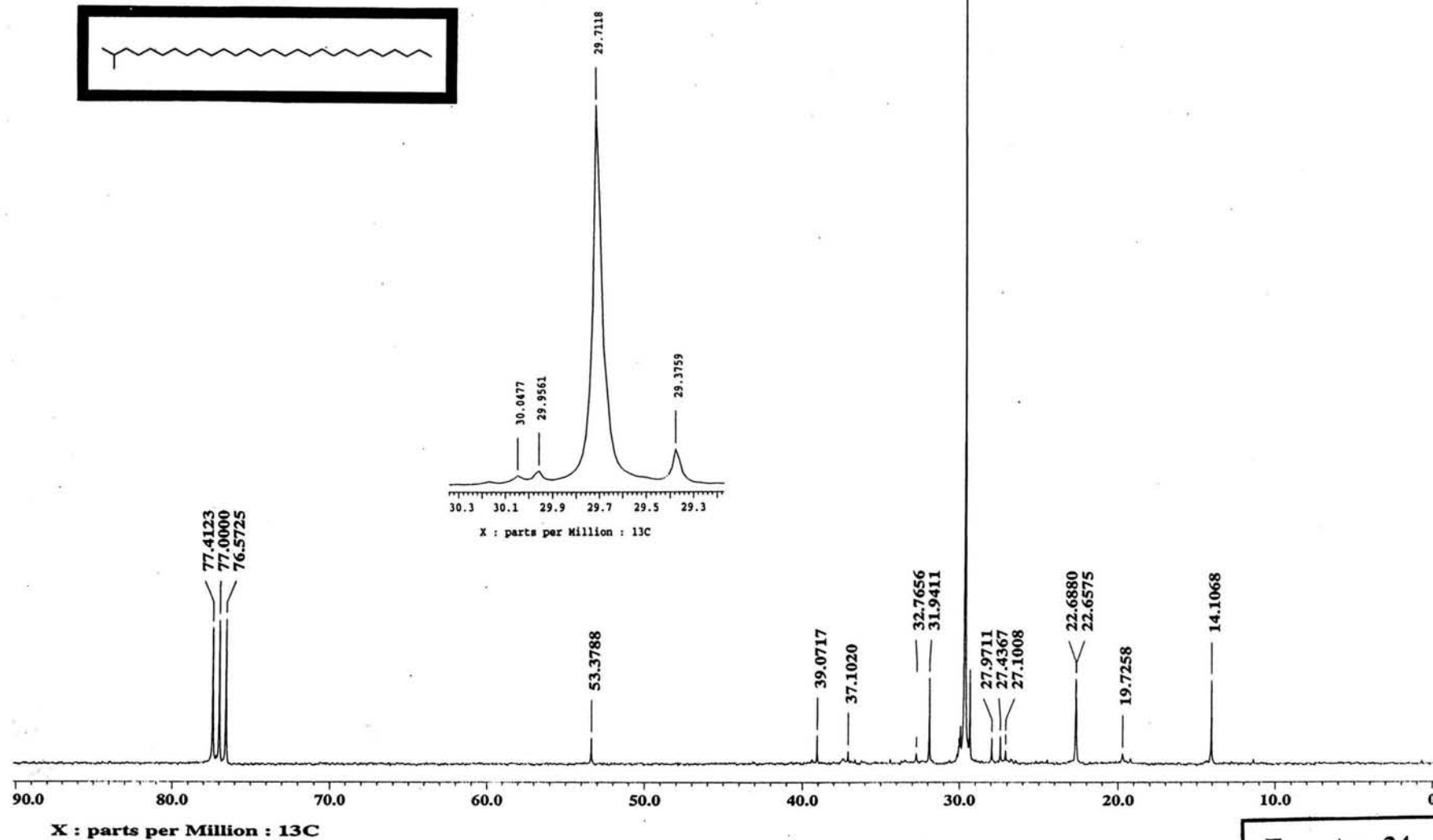
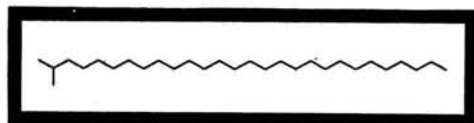
Disolvente: CDCl₃

Carbono-13

Eclipse 300 jeol (E)

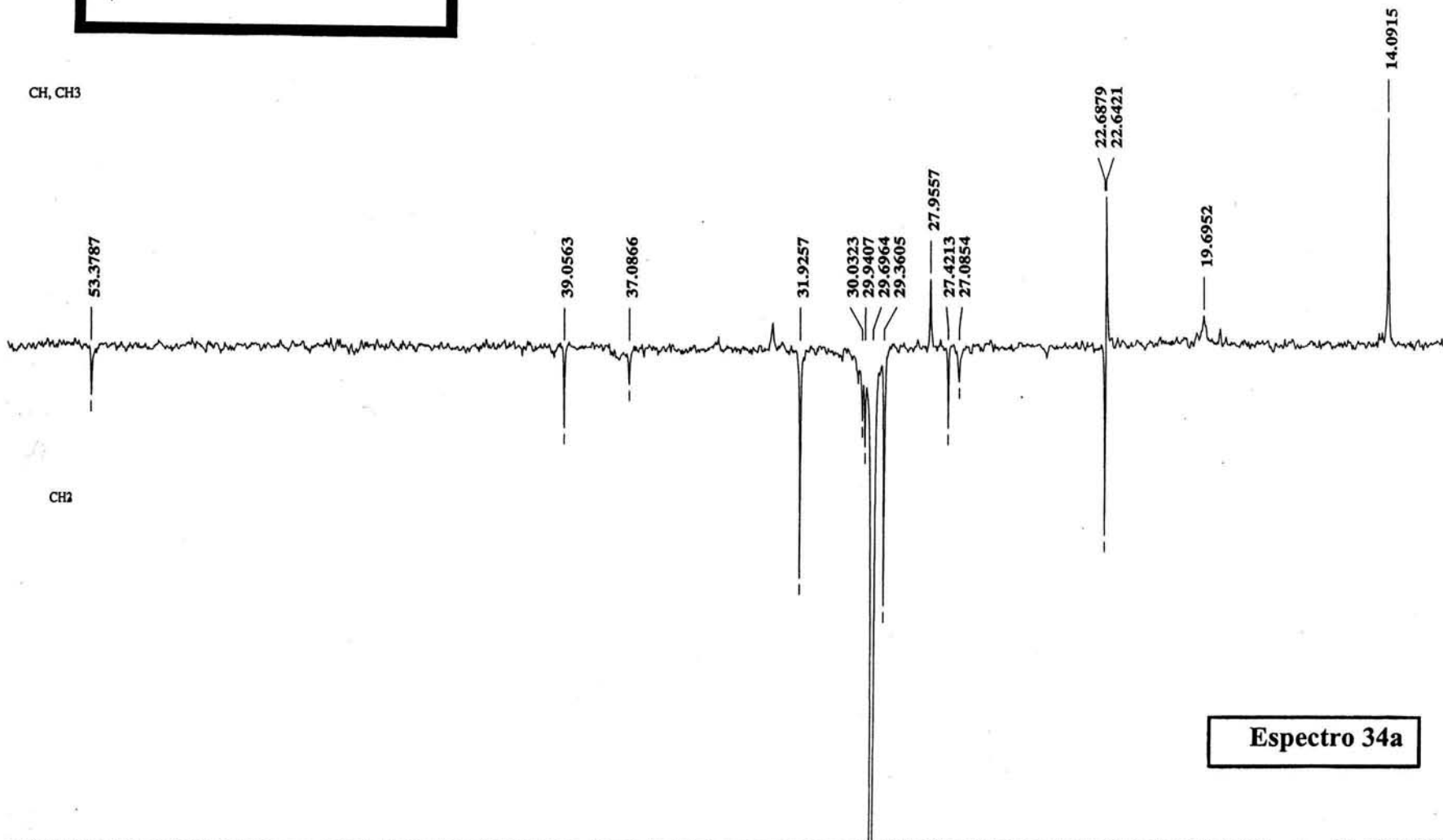
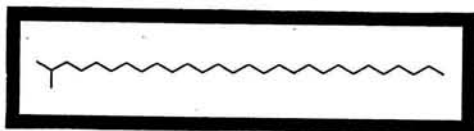
21-V-2003

No. orden: 2611



Espectro 34

UNAM, INSTITUTO DE QUIMICA, apg
M. C. Baldomero Esquivel / Clarisa Villegas
Clave: 11-Hex-9
Disolvente: CDCl3
DEPT
Eclipse 300 jeol (E)
21-V-2003
No. orden: 2611



Espectro 34a

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Esquivel-Baldomero-061 Date : 10-Apr 11:50

Sample:

Note : Javier-Perez

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

RT : 1.15 min

Scan# : (20,59)-(16,29)

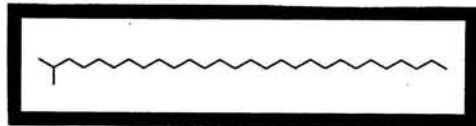
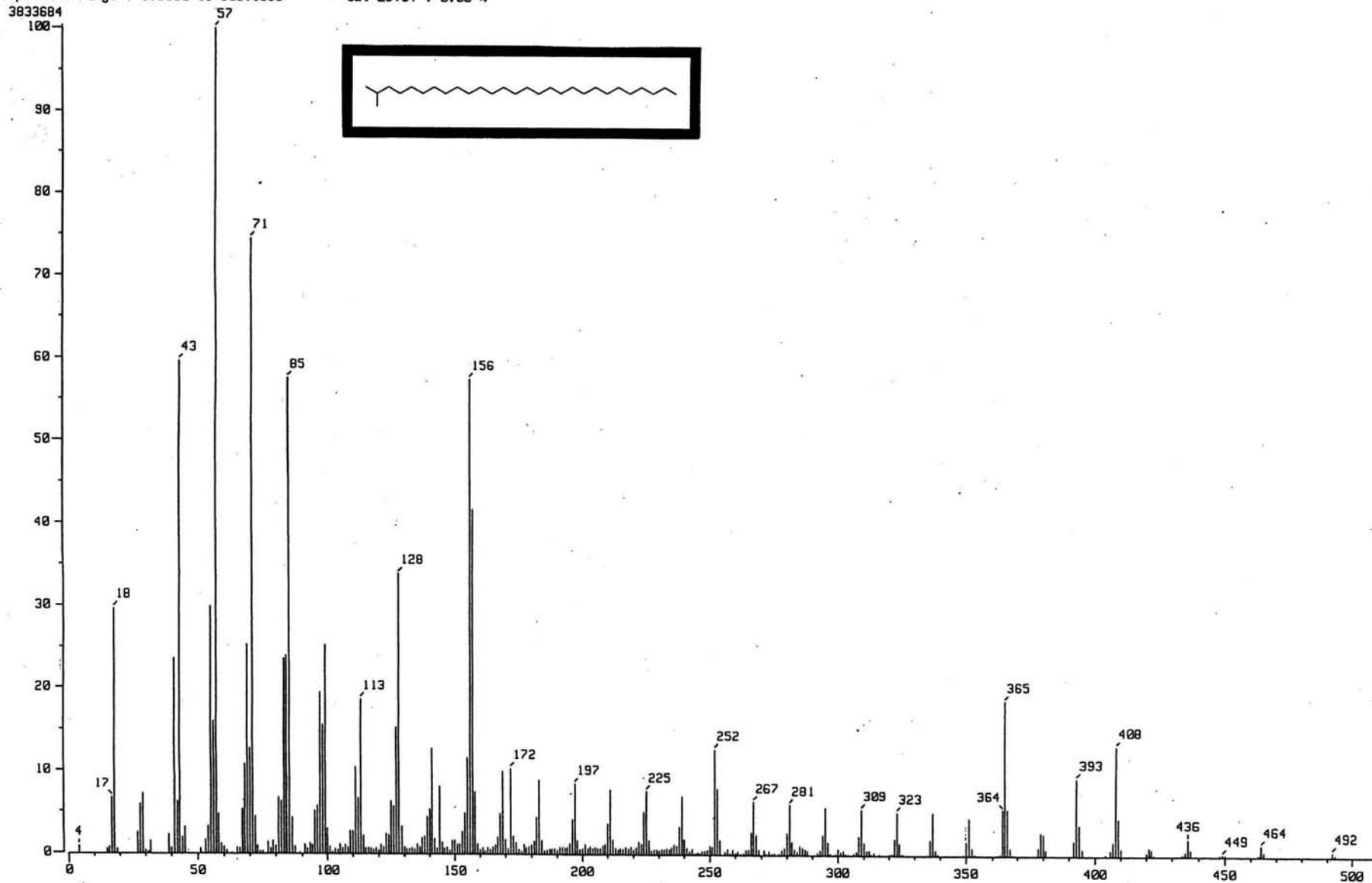
Temp : 91.2 deg.C

BP : m/z 57.0000

Int. : 364.56

Output m/z range : 0.0000 to 509.1988

Cut Level : 0.00 %



Espectro 35

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Esquivel-Baldomero-709 Date : 10-Dec-103 13:21

Sample: 101203-02 Hidro-2

Note : Javier-Perez

Inlet : GC

Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

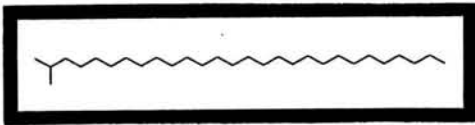
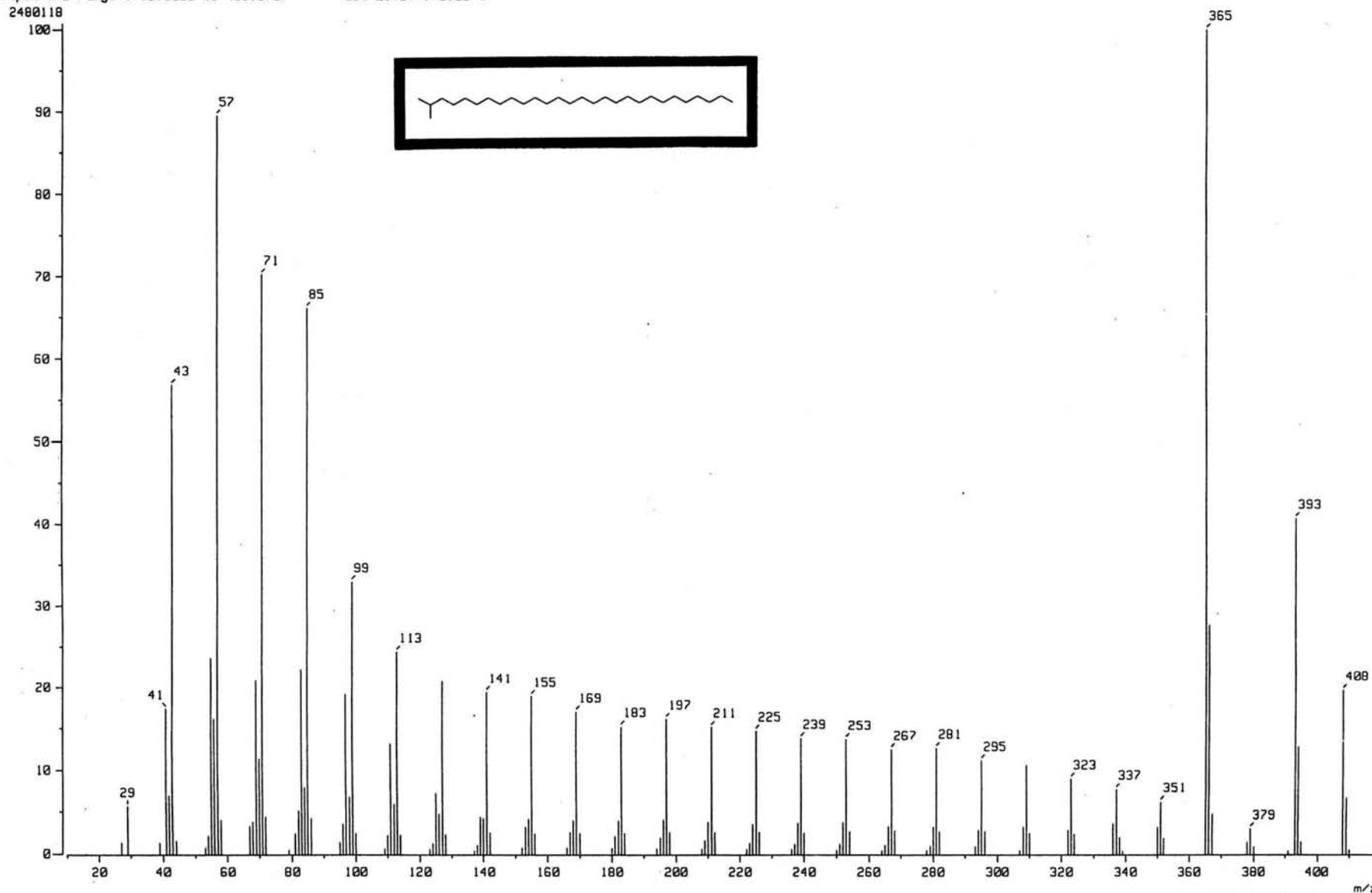
RT : 20.42 min Scan# : (1670,1671)

Temp : 0.0 deg.C

BP : m/z 365.0000 Int. : 234.80

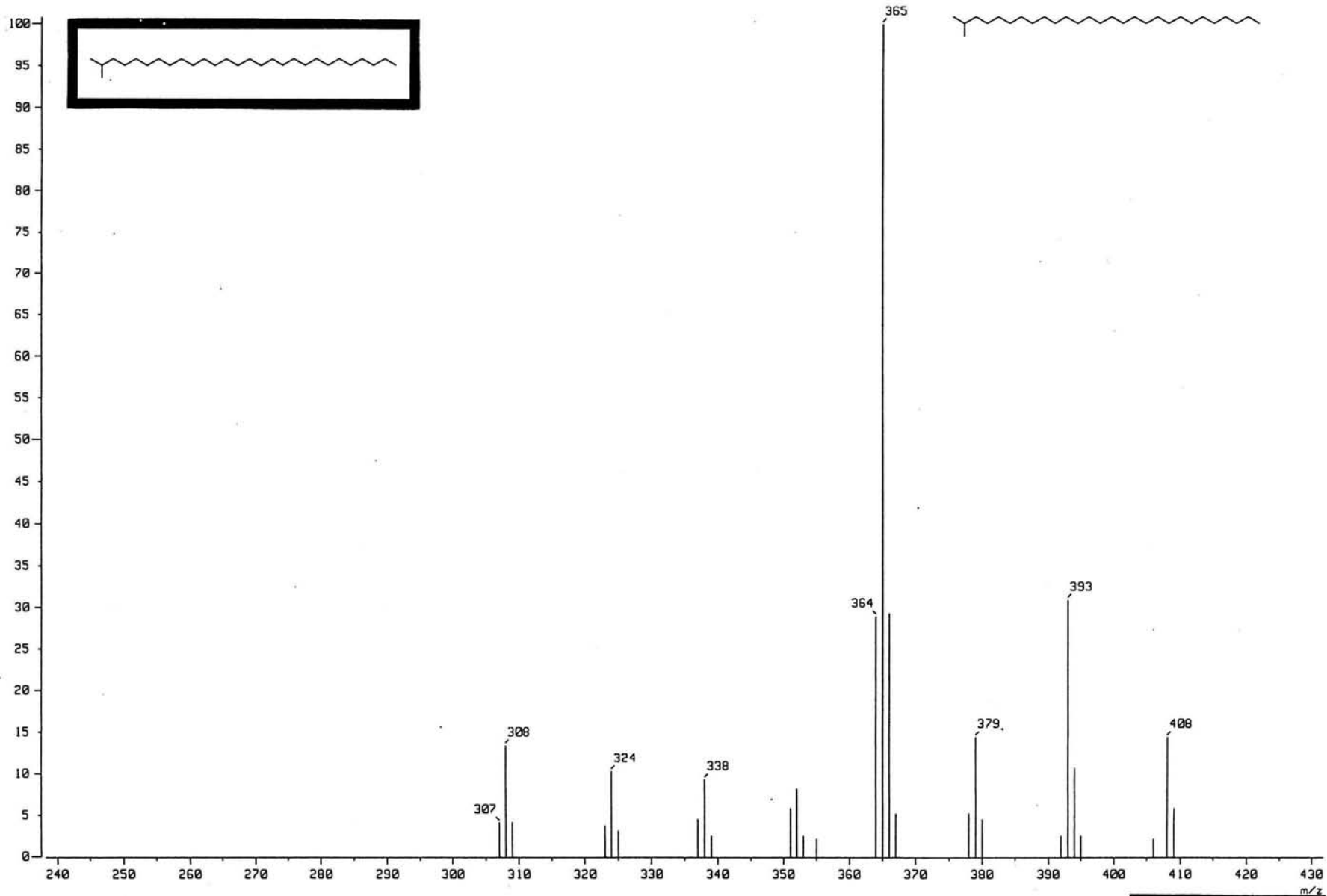
Output m/z range : 10.0000 to 418.5757

Cut Level : 0.00 %

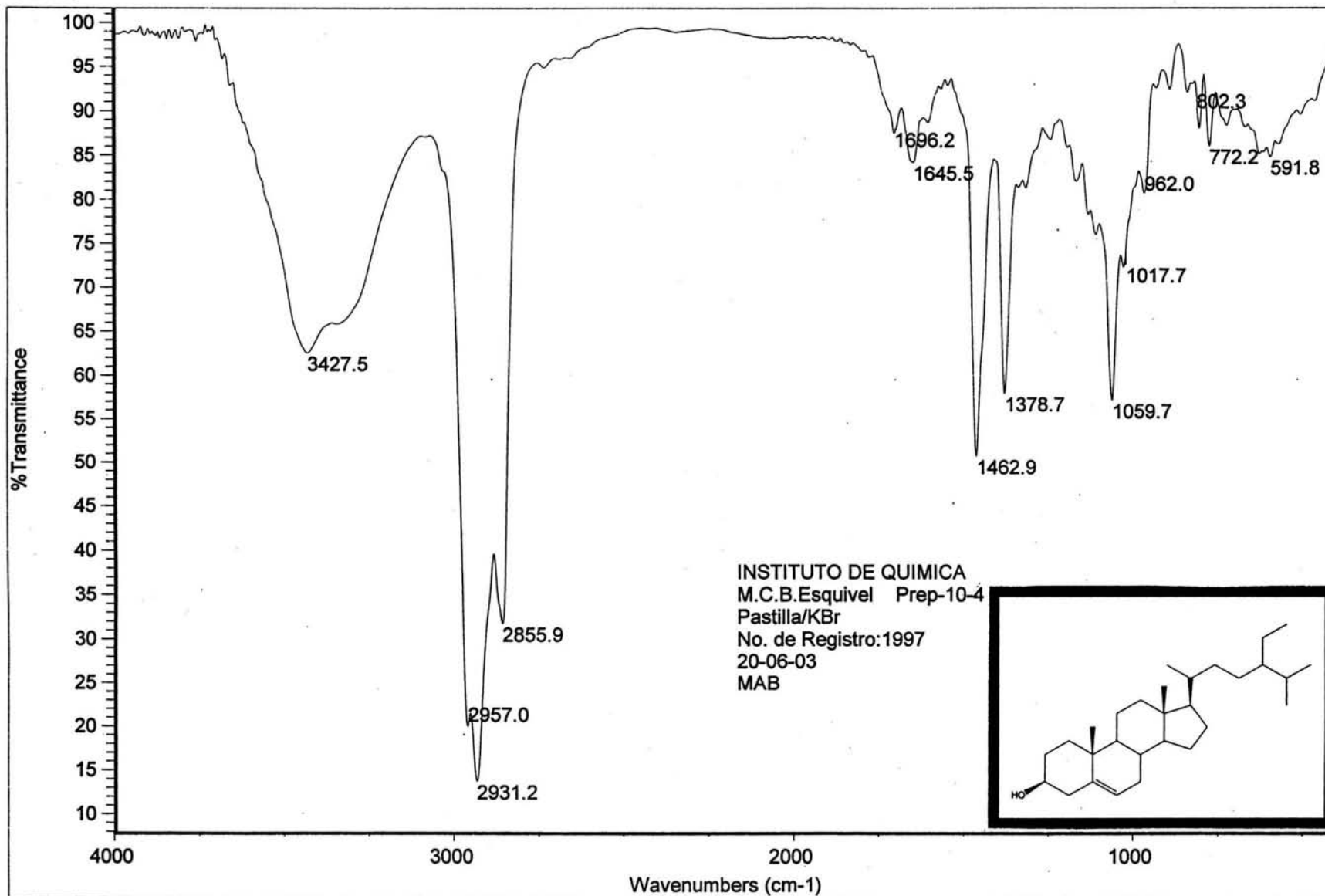


Espectro 35a

Mass Library Spectrum J
Library Database: Public/NIST
Entry No.: 43035
Name: Octacosane, 2-methyl-
MW : 408 BP : m/z 365.0 Formula : C₂₉H₆₀
CAS No.: 1560-98-1 EPA No.: 17122 R.Index :
Inlet Type : Note : T67 4876



Espectro 35b



Espectro 36

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Baldomero-Esquivel112

Date : 12-Nov-103 09:30

Sample: 121103-10 SITOS

Note : Luis-Velasco-I

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

RT : 1.81 min Scan# : (46,52)

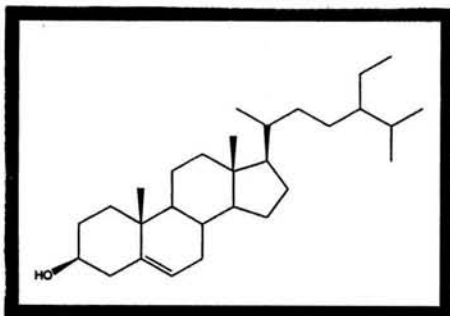
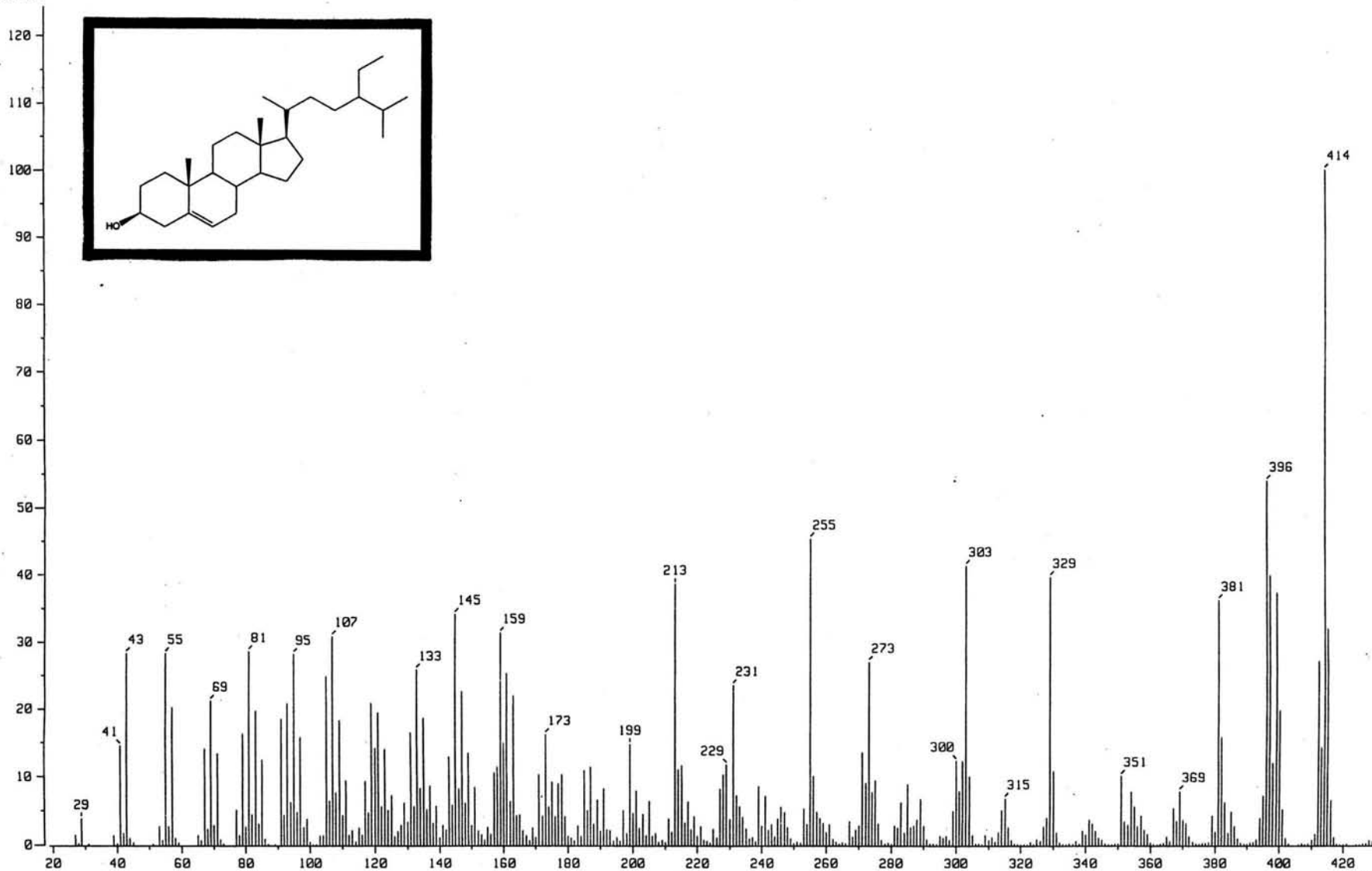
Temp : 309.8 deg.C

BP : m/z 414.0000 Int. : 787.11

Output m/z range : 19.0000 to 430.3576

Cut Level : 0.00 %

10257110



Espectro 37