



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**Aislamiento y caracterización del 6-acetil-5-
hidroxi-2,2-dimetil-2H-cromeno, agente fitotóxico
mayoritario de la especie *Brickellia cavanillesii*
(Cass.) A. Gray (Asteraceae).**

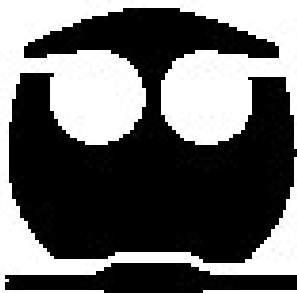
T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGA

PRESENTA:

MARTHA ADRIANA LEYTE LUGO



MÉXICO, D. F.

2007



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.

Jurado asignado:

Presidente	Dra. MARIA ISABEL AGUILAR LAURENTS
Vocal	Dra. RACHEL MATA ESSAYAG
Secretario	Dr. JOSE FAUSTO RIVERO CRUZ
1er suplente	M. en C. ISABEL DEL CARMEN RIVERO CRUZ
2do suplente	M. en C. MARIO ALBERTO FIGUEROA SALDIVAR

LABORATORIO 124, CONJUNTO E, FACULTAD DE QUÍMICA.

Asesor:

Dra. RACHEL MATA ESSAYAG

Supervisor Técnico:

M. en C. JUAN FRANCISCO PALACIOS ESPINOSA

Sustentante:

MARTHA ADRIANA LEYTE LUGO

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme ser parte de ella y por la formación académica recibida.

A la Dra. Rachel Mata Essayag por permitirme formar parte de su equipo de trabajo; por el tiempo invertido y el apoyo en este proyecto de investigación; gracias por compartir su experiencia y por cada recomendación.

Al M. en C. Francisco Palacios por guiarme con paciencia en el desarrollo de este proyecto. Gracias por la ayuda y las experiencias compartidas.

Al SNI por la beca otorgada en el periodo Septiembre 2006 – Agosto 2007.

Al personal técnico de la USAI por el registro y análisis de los distintos espectros utilizados en el presente proyecto.

A los miembros del Jurado designado para la revisión de la tesis, por sus valiosas observaciones.

A los compañeros del Laboratorio 124, por sus consejos, ayuda y por compartir sus experiencias.

DEDICATORIA

A *Dios*: por permitirme vivir y disfrutar cada momento.

A mis padres: *Tomas Leyte y Priscila Lugo*, por el amor que me han dado durante toda mi vida, por su apoyo, esfuerzo y dedicación, por su paciencia, tolerancia, y por estar siempre a mi lado.

A mi abuelito *Tiburcio Lugo*, que siempre ha sido un pilar en mi vida, y que a pesar de que no esta en este mundo, esta siempre en mi corazón. Gracias por lo bellos recuerdos a tu lado.

A mis amigas: *Anhelen, Norma, Karina y Noemí* con quienes compartí momentos inolvidables, por su cariño, apoyo y ayuda durante toda la carrera, por que sin ustedes mi estancia en la universidad no hubiera sido lo mismo.

A *Guri*, por todo el cariño, por que a pesar de los años y la distancia, la amistad entre nosotras es grande, por tu apoyo y confianza, y por todos los momentos compartidos.

A los profesores que dejaron una huella, en especial a la profesora *María del Rayo Salinas Vázquez* quien me enseñó que la paciencia es básica, por su apoyo y experiencia compartida.

GRACIAS

ÍNDICE

	Páginas
Lista de Figuras	III
Lista de Esquemas	III
Lista de Tablas	III
Lista de Cuadros	IV
Lista de Espectros	IV
Lista de Abreviaturas	V
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	6
2.1. ANTECEDENTES BOTÁNICOS Y ETNOBOTÁNICOS DE <i>Brickellia cavanillesii</i> (Cass.) A. Gray (Asteraceae)	6
2.2. CROMENOS DE LA FAMILIA ASTERACEAE	8
2.3. EJEMPLOS SELECTOS DE FITOTOXINAS VEGETALES	17
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	27
4. PARTE EXPERIMENTAL	29
4.1. PROCEDIMIENTOS GENERALES	29
4.1.1. Métodos cromatográficos	29
4.1.2. Determinación de las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas	29
4.2. MATERIAL VEGETAL	30
4.3. ENSAYOS BIOLÓGICOS	30
4.3.1. Evaluación del potencial fitotóxico del extracto, fracciones y metabolitos asilados	30
4.3.2. Determinación del efecto fitotóxico de las fracciones mediante un método bioautográfico	31

4.4. ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LA ESPECIE <i>Brickellia cavanillesii</i>	31
4.4.1. Preparación del extracto	31
4.4.2. Fraccionamiento primario del extracto de <i>Brickellia cavanillesii</i>	32
4.4.3. Fraccionamiento secundario del extracto de <i>Brickellia cavanillesii</i>	33
4.4.4. Obtención del 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2 <i>H</i>)-cromeno (Desmetilisoencecalina)	34
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
5.1. SELECCIÓN PRIMARIA DE LA ESPECIE <i>Brickellia cavanillesii</i> (Cass.) A. Gray (Asteraceae) COMO UNA FUENTE DE PRINCIPIOS FITOTOXICOS	35
5.2. FRACCIONAMIENTO DEL EXTRACTO	35
5.3. FRACCIONAMIENTO SECUNDARIO DE LA FRACCIÓN HEXÁNICA	39
5.4. AISLAMIENTO DE LA DESMETILISOENCECALINA Y EL β -SITOSTEROL (24)	39
5.5. CARACTERIZACIÓN DE LA DESMETILISOENCECALINA (24) Y EL β -SITOSTEROL	40
5.5.1. Caracterización de la desmetilisoencecalina (24)	40
5.5.2. CARACTERIZACIÓN DEL β -SITOSTEROL	42
5.6. DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL FITOTÓXICO DE LA DESMETILISOENCECALINA (24)	42
6. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	48
7. BIBLIOGRAFIA	49

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Ejemplar de <i>Brickellia cavanillesii</i>	7
2	Hojas frescas de <i>Brickellia cavanillesii</i>	7
3	Formación del anillo heterocíclico de los cromenos	8
4	Compuestos de origen vegetal con actividad fitotóxica	19
5	Vista frontal de la Bioautografía de la Fracciones Hexánica (A) y de Diclorometano (B)	37
6	Vista lateral de la Bioautografía de la Fracción Hexánica (A)	38
7	Vista lateral de la Bioautografía de la Fracción de Diclorometano (B)	38

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema		Página
1	Obtención del extracto activo de <i>Brickellia cavanillesii</i>	32
2	Fraccionamiento primario del extracto de <i>Brickellia cavanillesii</i>	33
3	Fraccionamiento secundario de la fracción hexánica de <i>Brickellia cavanillesii</i>	33

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Metabolitos secundarios aislados de la fracción hexánica de <i>B. cavanillesii</i>	40
2	Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2 <i>H</i>)-cromeno	41

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Ejemplos selectos de compuestos fitotóxicos de origen natural natural aislados de Asteraceae por el grupo de investigación del Lab 124 del Departamento de Farmacia	3
2	Dímeros de cromenos aislados de la familia Asteraceae	9
3	Cromenos aislados de la familia Asteraceae	10
4	Compuestos naturales que son empleados como herbicidas	20
5	Efecto del extracto CH ₂ Cl ₂ -MeOH (1:1) de la especie <i>B. cavanillesii</i> sobre la germinación y crecimiento radicular de <i>Amaranthus hypochondriacus</i>	35
6	Cantidades obtenidas del proceso de partición de <i>B. cavanillesii</i>	36
7	Actividad fitotóxica de las fracciones primarias de <i>B. cavanillesii</i> sobre <i>Amaranthus hypochondriacus</i>	36
8	Fraccionamiento secundario de la porción hexánica de <i>B. cavanillesii</i>	39

LISTA DE ESPECTROS

Espectro		Página
1	Espectro de IR del 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2 <i>H</i>)-cromeno (24)	43
2	Espectro de RMN ¹ H del 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2 <i>H</i>)-cromeno (24)	44
3	Espectro de RMN ¹³ C del 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2 <i>H</i>)-cromeno (24)	45
4	Espectro DEPT del 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2 <i>H</i>)-cromeno (24)	46
5	E del 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2 <i>H</i>)-cromeno (24)	47

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
AcOEt	Acetato de Etilo
H ₂ O	Agua
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CI ₅₀	Concentración Inhibitoria Media
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
HETCOR	Correlación heteronuclear
CCF	Cromatografía en Capa Fina
δ	Desplazamiento químico
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
<i>d</i>	Doblete
2,4-D	2,4-Diclorofenoxiacético
EM-IE	Espectroscopía de Masas por Impacto Electrónico
° C	Grado centígrado
<i>g</i>	Gramos
Hex	Hexano
Hz	Hertz
IR	Infrarrojo
Kg	Kilogramo
<i>l</i>	Litros
ν_{\max}	Máxima longitud de onda
MeOH	Metanol
μg	Microgramos
μM	Micromolar
ml	Mililitro
%	Por ciento
<i>m/z</i>	Relación masa-carga
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear Protónica
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
<i>s</i>	Singulete
TMS	Tetrametilsilano

1. INTRODUCCIÓN.

Debido a los problemas ocasionados por los herbicidas sintéticos de uso actual, principalmente la inducción de especies de malezas resistentes y los daños de tipo ambiental en años recientes se ha intensificado la búsqueda de nuevos agentes herbicidas.

Para la búsqueda de nuevos herbicidas se emplean varias estrategias que incluyen:

1. Cernimiento aleatorio de nuevos compuestos químicos sintéticos.
2. Optimización de agentes herbicidas conocidos.
3. Diseño biorracional mediante el estudio de las interacciones planta-planta y planta-microorganismo.
4. Estudios químicos biodirigidos de organismos naturales diversos con la finalidad de encontrar nuevos herbicidas de origen natural.

El interés por los productos naturales en los programas de descubrimiento de nuevos herbicidas a nivel industrial y académico se ha intensificado notablemente en los últimos años debido a muchos factores. Entre ellos cabe destacar el alto grado de desarrollo de los métodos analíticos para la separación, purificación y caracterización de los productos naturales. Este avance ha traído como consecuencia una reducción considerable en los costos de obtención de los principios naturales fitotóxicos y con ello un renovado interés por parte de la industria agroquímica por el estudio de los productos naturales como agentes plaguicidas potenciales. Asimismo, los productos naturales son biodegradables y suelen tener blancos de acción específicos, lo que disminuye los problemas de contaminación ambiental y resistencia, respectivamente.

Para el descubrimiento de compuestos fitotóxicos a partir de productos naturales se han utilizado varios procedimientos, siendo el más efectivo, el que se resume a continuación:

Inicialmente se realiza la preselección de las materias primas naturales; una vez seleccionadas, se preparan los extractos orgánicos. El siguiente paso consiste en la realización de pruebas biológicas de selección; estas pruebas permiten determinar el efecto de los extractos naturales sobre la germinación y el crecimiento radicular de varias especies vegetales (Duke *et al.*, 1999). Los extractos que demuestren respuestas positivas en los ensayos de fitoinhibición se consideran candidatos apropiados para su estudio químico biodirigido con la finalidad de aislar los principios activos. Para monitorear la actividad fitotóxica a lo largo de todo el proceso de obtención de los productos activos se pueden emplear los mismos ensayos biológicos del proceso de selección; también se puede emplear un método bioautográfico (Rahalison *et al.*, 1994). Una vez aislados los compuestos activos, estos se identifican mediante la aplicación de métodos espectroscópicos y espectrométricos. Finalmente, los compuestos puros se someten a distintas pruebas biológicas para completar los estudios conducentes a determinar el potencial herbicida, incluyendo su mecanismo de acción.

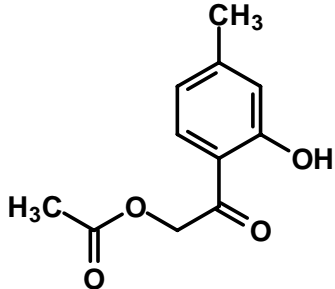
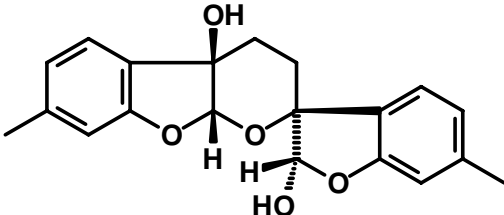
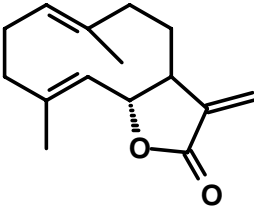
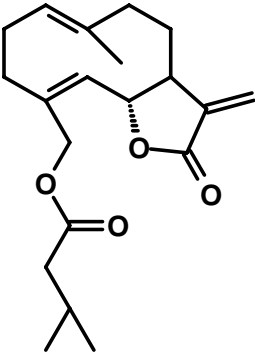
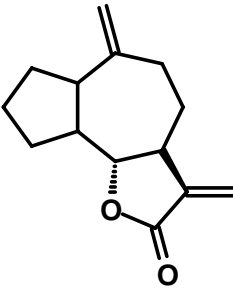
En el Departamento de Farmacia de la Facultad de Química de la UNAM se ha desarrollado durante varios años un proyecto de investigación que tiene como objetivo principal la obtención de compuestos inhibidores del crecimiento vegetal a partir de organismos naturales selectos de la biodiversidad de México. Para ello se ha aplicado la metodología antes descrita. Como resultado de estos primeros años de investigación, se ha logrado aislar e identificar numerosos agentes fitotóxicos de organismos fúngicos y vegetales. Las especies vegetales más promisorias como fuentes de agentes fitotóxicos encontradas en este programa de investigación pertenecen a la familia Asteraceae e incluyen *Cosmos pringlei*; *Flourensia cernua*; *Xanthocephalum gymnospermoides*; *Ratibida mexicana*; *Helianthella quinquenervis*; y *Hofmeisteria schaffneri*. En el cuadro 1 se resumen las estructuras y efectos de los principios activos aislados de esas especies.

En este marco de referencia, el presente trabajo de tesis pretende contribuir con el proyecto mediante el aislamiento y caracterización de los productos fitotóxicos de la especie vegetal *Brickellia cavanillesii* (Cass.) A. Gray (Asteraceae).

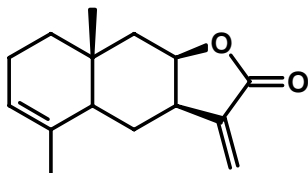
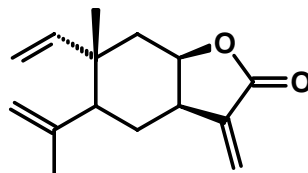
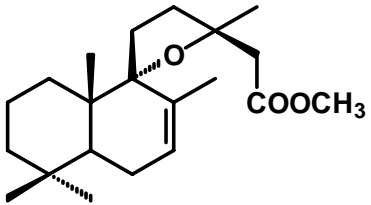
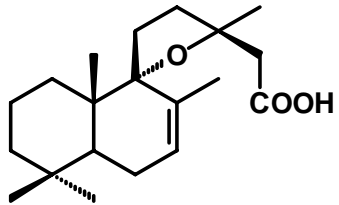
Cuadro 1. Ejemplos selectos de compuestos fitotóxicos de origen natural aislados de Asteraceae por el grupo de investigación del Laboratorio 124 del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química.

Benzofuranos y benzopiranos fitotóxicos de <i>Helianthella quinquenervis</i> (Castañeda-López <i>et al.</i> , 1998)	
<p>1 2 3</p> <p>4 5</p>	<p>Los compuestos 1-5 inhiben el crecimiento radicular de <i>A. hypochondriacus</i> y <i>E. crusgalli</i> con CI_{50}'s de 0.026, 0.513, 0.124, 0.246 y 0.047 μM, y de 0.030, 1.165, 0.362, 1.301 y 0.293 μM, respectivamente.</p>
Compuestos fitotóxicos de <i>Flourensia cernua</i> (Mata <i>et al.</i> , 2003)	
<p>6 7 8</p>	<p>Las sustancias 6-8 inhiben el crecimiento radicular de <i>A. hypochondriacus</i> y <i>E. crusgalli</i> con CI_{50}'s de 0.196, 0.412 y 0.92 μM y de 0.62, 4,2 y 0.31 μM respectivamente. También afectan la movilidad electroforética de la calmodulina.</p>

Cuadro 1. Ejemplos selectos de compuestos fitotóxicos de origen natural aislados de Asteraceae por el grupo de investigación del Laboratorio 124 del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química (Continuación).

Derivados del timol de <i>Hofmeisteria schaffneri</i> (Pérez-Vásquez et al., 2005)			
 <p style="text-align: center;">9</p>	 <p style="text-align: center;">10</p>	<p>Los terpenoides 9 y 10 inhiben el crecimiento radicular de <i>A. hypochondriacus</i> con CI_{50}'s de 380 y 12 μM, respectivamente. Además impiden la activación de la PDE1 de cerebro de bovino con CI_{50}'s de 4.4 y 4.2 μM, respectivamente.</p>	
Lactonas sesquiterpénicas fitotóxicas de <i>Cosmos pringlei</i> (Rivero-Cruz, 1999)			
 <p style="text-align: center;">11</p>	 <p style="text-align: center;">12</p>	 <p style="text-align: center;">13</p>	<p>Las lactonas 11-13 inhiben el crecimiento radicular de <i>A. hypochondriacus</i> con CI_{50}'s de 0.047, 0.436 y 0.88 μM, respectivamente.</p>

Cuadro 1. Ejemplos selectos de compuestos fitotóxicos de origen natural aislados de Asteraceae por el grupo de investigación del Laboratorio 124 del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química (Continuación).

Lactonas sesquiterpénicas fitotóxicas de <i>Ratibida mexicana</i> (Calera <i>et al.</i> , 1995)		
 14	 15	Los productos 14 y 15 inhiben el crecimiento radicular de <i>A. hypochondriacus</i> y <i>E. crusgalli</i> .
Diterpenoides de <i>Xanthocephalum gymnospermoides</i> (Rivero-Cruz, <i>et al</i> 2000)		
 16	 17	Los productos 16 y 17 inhiben el crecimiento radicular de <i>A. hypochondriacus</i> y <i>P. ixocarpa</i> .

2. ANTECEDENTES

2.1 ANTECEDENTES BOTÁNICOS Y ETNOBOTÁNICOS DE *Brickellia cavanillesii* (Cass.) A. Gray (ASTERACEAE).

Brickellia cavanillesii (Cass.) A. Gray es un arbusto de hasta 2 m de altura, con los tallos ásperos y rojizos (Figura 1). Las hojas son verde grisáceo, con pequeños hilitos en los bordes y tienen un sabor amargo (Figura 2). Sus flores son amarillas y los frutos pequeños. La especie habita en zonas cálidas y semicálidas, a una altitud de 1130 a 1600 m sobre el nivel del mar (Argueta *et al.*, 1994).

En los Estados de Morelos, Guanajuato y en el Distrito Federal, se conoce con los nombres comunes de prodigiosa, atanasia amarga, gobernadora de Puebla, hierba amargosa, hierba del becerro, hierba del perro, orégano de cerro. En el Estado de Morelos se conoce principalmente como *techichic*. Las partes aéreas de la planta, bajo la forma de infusión o cocimiento, se emplean para tratar afecciones biliares, dolor de estomago, agruras y amibiasis. La prodigiosa se consume sola y en combinación con otras plantas medicinales tales como; las hojas de hierbabuena y las de malva viva para regular el estomago; así como con las hojas de boldo, de ceniza, cuasia, pingüin y flor de tila para el vomito; además, se administra con la flor de manita, de nopal, junco, jazmín, huele de noche, hierba maestra y ajeno para enfermos del corazón y el paludismo (Argueta *et al.*, 1994).



Figura 1. Ejemplar de *Brickellia cavanillesii*.



Figura 2. Hojas frescas de *Brickellia cavanillesii*.

2.2 CROMENOS DE LA FAMILIA ASTERACEAE.

Los benzopiranos, también denominados cromenos, son meroterpenoides constituidos generalmente por una unidad aromática de tipo C_6 , C_6-C_2 ó C_6-C_3 de origen siquímico y un anillo pirano sustituido o no, de origen mevalónico.

Los resultados obtenidos de dos investigaciones relacionadas con el origen biogénico de estos productos naturales, permitieron establecer que la porción C_6 , C_6-C_2 ó C_6-C_3 se biosintetiza a partir del ácido cinámico (Proksch *et al.*, 1983; Siebertz *et al.*, 1989). Posteriormente, la condensación de la unidad aromática con el difosfato de dimetil alilo permite la generación del anillo heterocíclico (Siebertz *et al.*, 1989) (Figura 3).

La mayoría de los cromenos se encuentran en la naturaleza como monómeros, sin embargo, también se han aislado varios dímeros. Ejemplos de estos compuestos son la agerasanina (**18**), las encecancesinas (**19**) y el ageratocromeno (**20**), cada uno de los cuales está constituido por dos unidades de dimetilcromenos (Cuadro 2).

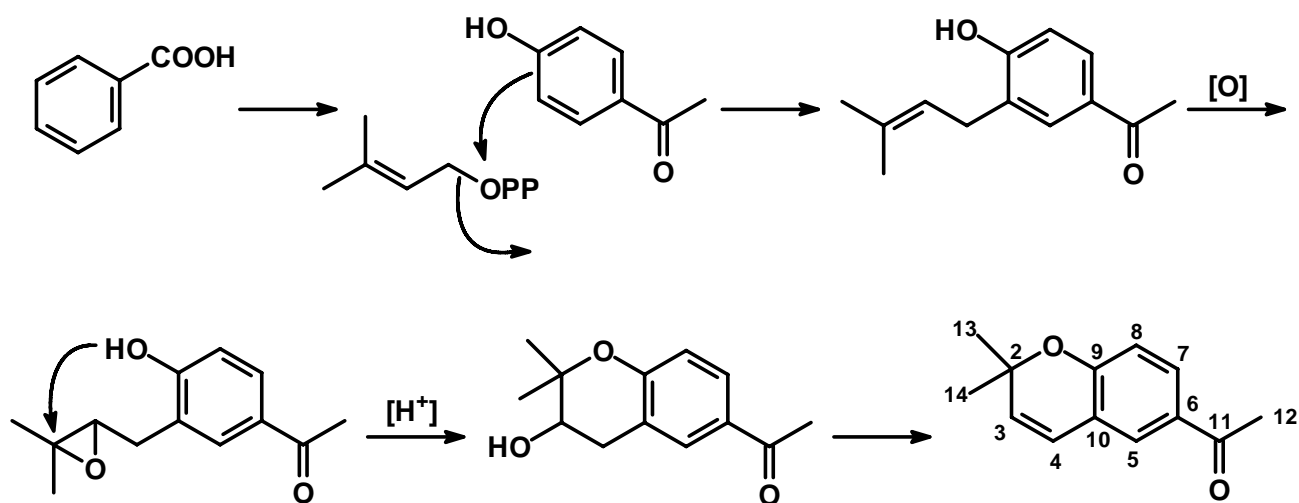
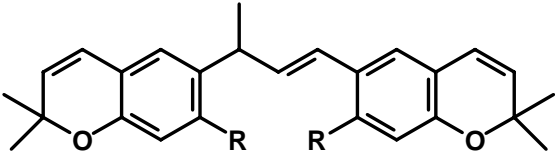
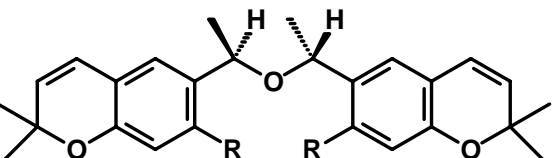
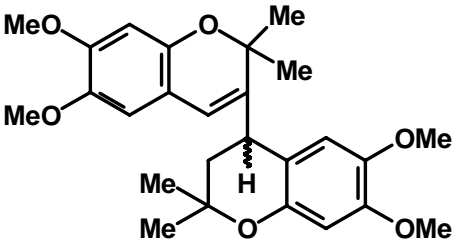


Figura 3. Formación del anillo heterocíclico de los cromenos.

Es importante mencionar que estos productos naturales se acumulan prácticamente en toda la planta, aunque es común encontrar elevadas concentraciones de los mismos en las hojas y las flores (Kunze *et al.*, 1995).

Cuadro 2. Dímeros de cromenos aislados de la familia Asteraceae.

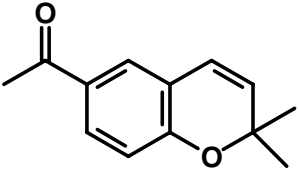
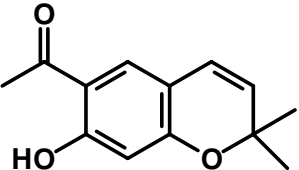
Nombre del compuesto y Fuente natural	Metabolito	Referencia
<p>Agerasanina <i>Ageratina arsenii</i></p>	 <p>R = OMe 18</p>	<p>Fang <i>et al.</i>, 1988</p>
<p>(+)-Encecanescina <i>Ageratum conyzoides</i></p>	 <p>R = OMe 19</p>	<p>González <i>et al.</i>, 1991</p>
<p>Ageratocromeno <i>Ageratum conyzoides</i></p>	 <p>20</p>	<p>Okunade, 2002</p>

La mayoría de estos metabolitos se obtienen como sólidos cristalinos o aceites, de color amarillo. Todos muestran una fluorescencia intensa de color amarillo, naranja o azul bajo la luz UV a 366 nm (Mitsakos *et al.*, 1986; Siebertz *et al.*, 1989).

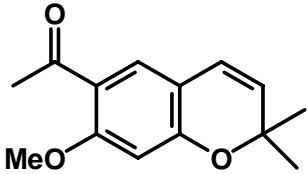
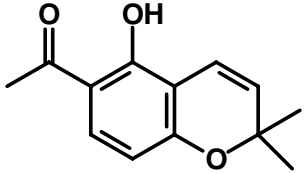
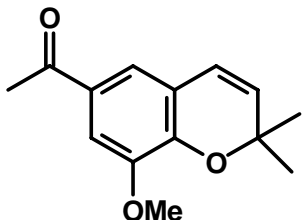
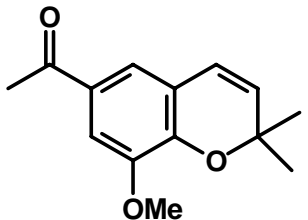
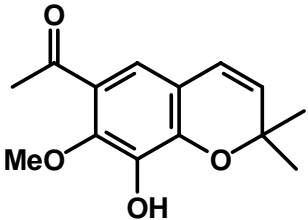
Las investigaciones realizadas han permitido demostrar que algunos de estos compuestos poseen propiedades fitotóxicas (Castañeda *et al.*, 1996), bacteriostáticas (Zalkow *et al.*, 1962), antitumorales (Zalkow *et al.*, 1979) e insecticidas (Bowers y Martínez-Pardo 1977; Nébié *et al.*, 2004). Cabe destacar que la actividad biológica mas explorada en estos compuestos es la insecticida aunque también se ha descrito las propiedades fitotóxicas de algunos benzofuranos como la encecalina (**23**) y compuestos relacionados (Castañeda *et al.*, 1996).

En el Cuadro 3 se resumen los cromenos obtenidos a la fecha de la familia Asteraceae.

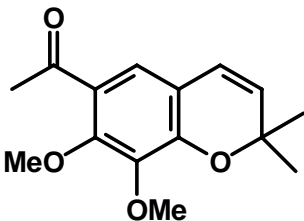
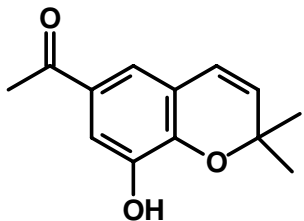
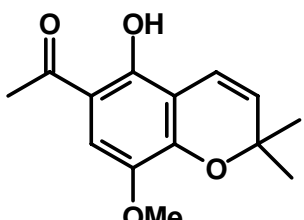
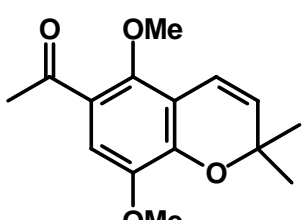
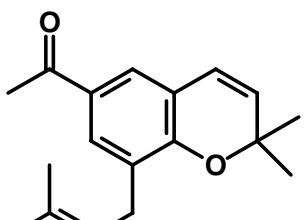
Cuadro 3. Cromenos aislados de la familia Asteraceae.

Metabolito	Fuente Natural	Referencia
 <p>Desmetoxiencecalina (21)</p>	<p><i>Ageratina altissima</i> <i>A. aromatica</i> <i>Baccharis calvescens</i> <i>B. cassinaefolia</i> <i>B. ramosissima</i> <i>Blepharispermum subsessile</i> <i>Calea serrata</i> <i>Encelia californica</i> <i>E. halimifolia</i> <i>E. taciniata</i> <i>E. palmeri</i> <i>Flourensia cernua</i> <i>F. heterolepis</i> <i>Helianthella uniflora</i> <i>H. quinquenervis</i> <i>Hemizonia congesta</i> <i>Inula salicina</i> <i>Lagascea rigida</i> <i>Madia satira</i> <i>Stomatanthes corumbensis</i> <i>Tagetes patula</i> <i>Trichogonia scottmorii</i> <i>Verbesina alternifolia</i> <i>V. helianthoides</i></p>	<p>Domínguez <i>et al.</i>, 1986 Kulkarni <i>et al.</i>, 1987 Proksch <i>et al.</i>, 1983 Steinbeck <i>et al.</i>, 1997 Castañeda, 1998 Agarwal <i>et al.</i>, 1999</p>
 <p>Desmetilencecalina (22)</p>	<p><i>Ageratina aromatica</i> <i>A. petiolaris</i> <i>Austrobrickellia patens</i> <i>Calea oxylepis</i> <i>Encelia californica</i> <i>E. halimifolia</i> <i>E. taciniata</i> <i>E. ventorum</i> <i>Eupatorium riparium</i> <i>E. rugosum</i> <i>Flourensia cernua</i> <i>F. heterolepis</i> <i>Helianthella uniflora</i> <i>H. quinquenervis</i> <i>Hemizonia congesta</i> <i>H. fitchii</i> <i>Lagascea rigida</i> <i>Madia satira</i> <i>Verbesina alternifolia</i> <i>V. helianthoides</i> <i>V. tetráptera</i></p>	<p>Domínguez <i>et al.</i>, 1986 Proksch <i>et al.</i>, 1983 González <i>et al.</i>, 1991 Bandara <i>et al.</i>, 1991 Castañeda, 1998</p>

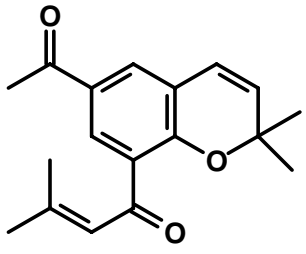
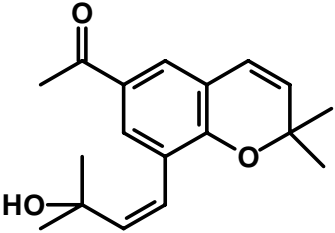
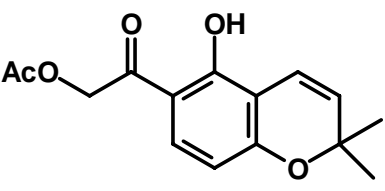
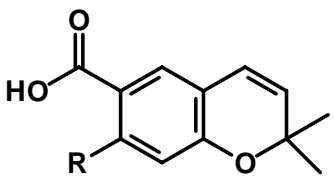
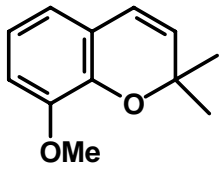
Cuadro 3. Cromenos aislados de la familia Asteraceae (continuación).

 <p>Encecalina (23)</p>	<p><i>Ageratina altissima</i> <i>A. scorodonoides</i> <i>A. adenophora</i> <i>Baccharis glutinosa</i> <i>Calea morii</i> <i>C. oxylepis</i> <i>Encelia californica</i> <i>E. farinosa</i> <i>E. halimifolia</i> <i>E. taciniata</i> <i>E. palmeri</i> <i>E. ventorum</i> <i>Eupatorium glandulosum</i> <i>Hemizonia congesta</i> <i>H. fitchii</i></p>	<p>Domínguez <i>et al.</i>, 1986 Proksch <i>et al.</i>, 1983 González <i>et al.</i>, 1991 Okunade, 2002</p>
 <p>Desmetilisoencecalina (24)</p>	<p><i>Blepharispermum subsessile</i> <i>Calea zacatechichi</i></p>	<p>Kulkarni <i>et al.</i>, 1987 Agarwal <i>et al.</i>, 1999</p>
 <p>6-Acetil-8-metoxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (25)</p>	<p><i>Ageratina altissima</i> <i>A. scorodonoides</i> <i>Eupatorium riparium</i></p>	<p>Proksch <i>et al.</i>, 1987</p>
 <p>Ripariocromeno A (26)</p>	<p><i>Ageratina scorodonoides</i> <i>Eupatorium riparium</i> <i>E. riparium</i></p>	<p>Proksch <i>et al.</i>, 1987 Bandara <i>et al.</i>, 1991</p>
 <p>6-Acetil-7-metoxi-8-hidroxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (27)</p>	<p><i>Zexmenia brerifolia</i></p>	<p>Proksch <i>et al.</i>, 1987</p>

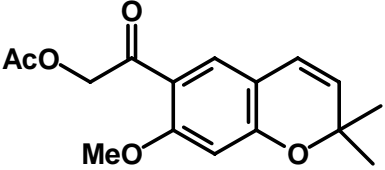
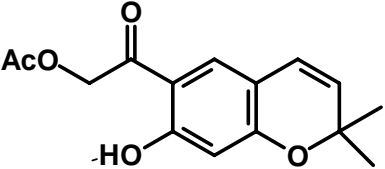
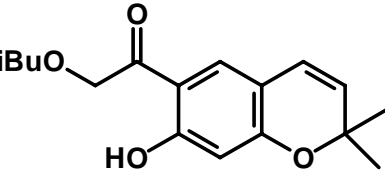
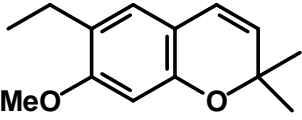
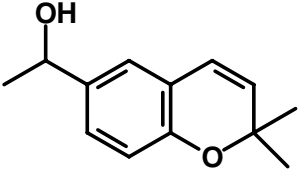
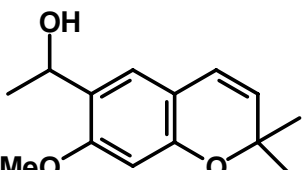
Cuadro 3. Cromenos aislados de la familia Asteraceae (continuación).

 <p>Metilripariocromeno (28)</p>	<p><i>Ageratina scorodonoides</i> <i>Eupatorium riparium</i> <i>Stevia serrata</i></p>	<p>Bandara <i>et al.</i>, 1991</p>
 <p>6-Acetil-8-hidroxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (29)</p>	<p><i>Isocarpha atriplicifolia</i> <i>Lagascea rigida</i></p>	<p>Proksch <i>et al.</i>, 1987</p>
 <p>6-Acetil-8-metoxi-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (30)</p>	<p><i>Ageratina altissima</i> <i>A. scorodonoides</i> <i>Eupatorium aschenbornianum</i> <i>Flourensia cernua</i></p>	<p>Proksch <i>et al.</i>, 1987</p>
 <p>5,8-Dimetoxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (31)</p>	<p><i>Ageratina scorodonoides</i> <i>Eupatorium aschenbornianum</i></p>	<p>Proksch <i>et al.</i>, 1987</p>
 <p>6-Acetil-8-(3-metil-2-butenil)-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (32)</p>	<p><i>Flourensia cernua</i> <i>F. heterolepis</i> <i>Stoebe incana</i> <i>S. sphaerocephala</i></p>	<p>Bohlmann <i>et al.</i>, 1978 Proksch <i>et al.</i>, 1987</p>

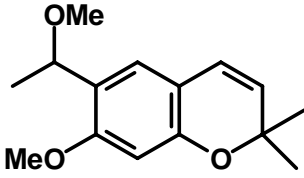
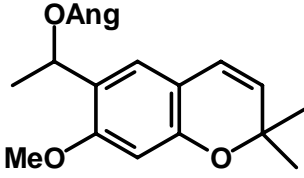
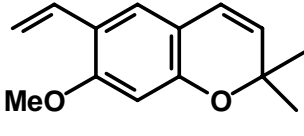
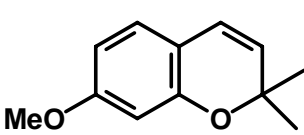
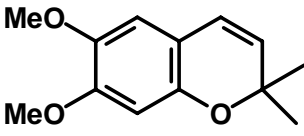
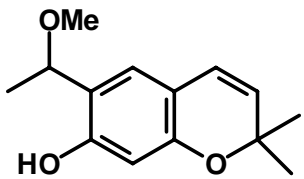
Cuadro 3. Cromenos aislados de la familia Asteraceae (continuación).

 <p>6-Acetil-8-(3-metil-1-ona-2-buten)- 2,2-dimetil-(2H)-cromeno (33)</p>	<p><i>Gerbera krausii</i> <i>Stoebe incana</i></p>	<p>Bohlmann <i>et al.</i>, 1978 Proksch <i>et al.</i>, 1987</p>
 <p>Carbinol (34)</p>	<p><i>Stoebe cinerea</i></p>	<p>Bohlmann <i>et al.</i>, 1978 Proksch <i>et al.</i>, 1987</p>
 <p>6-Etanoiloxi carbonil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (35)</p>	<p><i>Calea zacatechichi</i></p>	<p>Proksch <i>et al.</i>, 1987</p>
 <p>R = OH, 6-Carboxi-7-hidroxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (36) R = OMe, 6-Carboxi-7-metoxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (37)</p>	<p><i>Lagascea rigida</i> <i>Madia sativa</i></p>	<p>Proksch <i>et al.</i>, 1987</p>
 <p>8-Metoxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (38)</p>	<p><i>Blepharispermum subsessile</i></p>	<p>Kulkarni <i>et al.</i>, 1987</p>

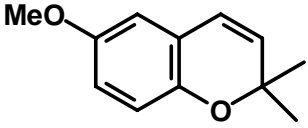
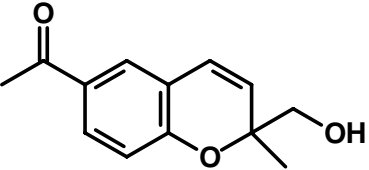
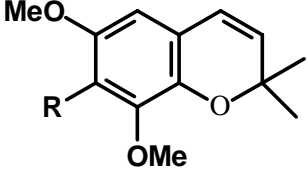
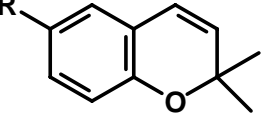
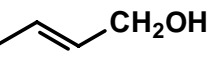
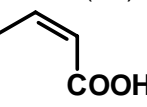
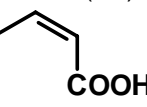
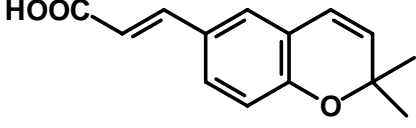
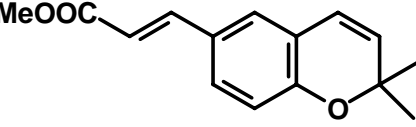
Cuadro 3. Cromenos aislados de la familia Asteraceae (continuación).

 <p>6- Etanoiloxi carbonil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (39)</p>	<p><i>Calea morii</i></p>	<p>Proksch <i>et al.</i>, 1987</p>
 <p>Ripariocromeno B (40)</p>	<p><i>Ageratina altissima</i> <i>A. scorodonoides</i> <i>Eupatorium riparium</i></p>	<p>Kulkarni <i>et al.</i>, 1987 Proksch <i>et al.</i>, 1987 Bandara <i>et al.</i>, 1991</p>
 <p>Ripariocromeno C (41)</p>	<p><i>Ageratina scorodonoides</i> <i>Eupatorium riparium</i></p>	<p>Kulkarni <i>et al.</i>, 1987 Agarwal <i>et al.</i>, 1999</p>
 <p>7-Metoxi-6-etano-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (42)</p>	<p><i>Encelia farinosa</i></p>	<p>Proksch <i>et al.</i>, 1987</p>
 <p>6-(1-Hidroxietil)-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (43)</p>	<p><i>Baccharis cassinaefolia</i> <i>Baccharis glutinosa</i></p>	<p>Domínguez <i>et al.</i>, 1986</p>
 <p>6-(1-Hidroxietil)-7-metoxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (44)</p>	<p><i>Ageratina exertovenosa</i> <i>A. arsenii</i> <i>A. glechonophylla</i> <i>Ageratum conyzoides</i> <i>Baccharis glutinosa</i> <i>Calea morii</i> <i>Flourensia cernua</i> <i>F. heterolepis</i> <i>Hemizonia fitchii</i> <i>Lagascea rigida</i></p>	<p>Proksch <i>et al.</i>, 1987 González <i>et al.</i>, 1991 Okunade, 2002</p>

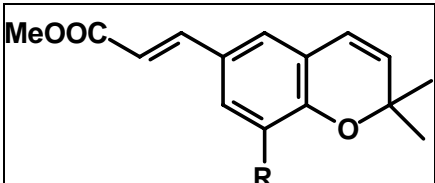
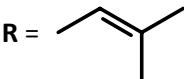
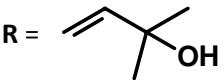
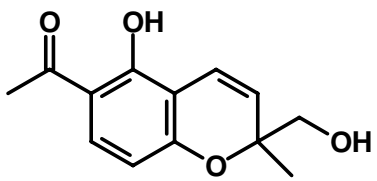
Cuadro 3. Cromenos aislados de la familia Asteraceae (continuación).

 <p>6-(1-Metoxietil)-7-metoxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (45)</p>	<p><i>Ageratina arsenii</i> <i>A. glechonophylla</i> <i>Ageratum conyzoides</i> <i>Encelia farinosa</i></p>	<p>Domínguez <i>et al.</i>, 1986 Proksch <i>et al.</i>, 1987 González <i>et al.</i>, 1991 Okunade, 2002</p>
 <p>6-Angeloiloxi-7-metoxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (46)</p>	<p><i>Ageratina exertovenosa</i> <i>Ageratum conyzoides</i> <i>Flourensia cernua</i> <i>Calea morii</i></p>	<p>Proksch <i>et al.</i>, 1987 González <i>et al.</i>, 1991 Okunade, 2002</p>
 <p>7-Metoxi-6-vinil-2,2-dimetil(2H)-cromeno (47)</p>	<p><i>Ageratina arsenii</i> <i>Ageratum conyzoides</i> <i>Encelia farinosa</i> <i>Flourensia cernua</i></p>	<p>Proksch <i>et al.</i>, 1987 González <i>et al.</i>, 1991 Okunade, 2002</p>
 <p>Precoceno I (48)</p>	<p><i>Ageratum houstonianum</i> <i>A. conyzoides</i> <i>Ageratina aromatica</i> <i>A. aschenbornia</i> <i>A. pinchinchensis</i> <i>Eupatorium aschenbornianum</i> <i>Verbesina alternifolia</i> <i>V. helianthoides</i></p>	<p>Proksch <i>et al.</i>, 1987 González <i>et al.</i>, 1991 Okunade, 2002</p>
 <p>Precoceno II (49)</p>	<p><i>Ageratum houstonianum</i> <i>A. conyzoides</i> <i>A. mexicanum</i> <i>Ageratina aromatica</i> <i>Calea serrata</i> <i>Senecio longifolius</i></p>	<p>Siebertz <i>et al.</i>, 1989 González <i>et al.</i>, 1991 Steinbeck <i>et al.</i>, 1997 Okunade, 2002</p>
 <p>Sonorol (50)</p>	<p><i>Baccharis glutinosa</i></p>	<p>Domínguez <i>et al.</i>, 1986</p>

Cuadro 3. Cromenos aislados de la familia Asteraceae (continuación).

 6-Metoxiageratocromeno (51)	<i>Ageratina aromatica</i> <i>A. conyzoides</i>	Nébié <i>et al.</i> , 2003 Okunade, 2002
 6-Acetil-2-metil-2-hidroximetil-(2H)-cromeno (52)	<i>Ageratina adenophora</i>	Proksch <i>et al.</i> , 1987
 R = OMe Prunicromeno I (53) R = H Prunicromeno II (54)	<i>Calea prunifolia</i>	Ober <i>et al.</i> , 1985
 R =  6-(1',2'-(<i>E</i>)-propen-3'-hidroxi)-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (55)  R =  6-(Acido 1',2'-(<i>E</i>)-propionico)-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (56)	<i>Baccharis linearis</i>	Brown, 1994 Castañeda, 1998
 6-[(2 <i>E</i>)-carboxivinil]-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (57)	<i>Baccharis linearis</i> <i>B. rhomboidalis</i> <i>B. solieri</i>	Labbe <i>et al.</i> , 1986
 6-(1',2'- <i>E</i> -propen-metil-ester)-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (58)	<i>Baccharis linearis</i> <i>Werneria stuebelii</i>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1984 Castañeda, 1998

Cuadro 3. Cromenos aislados de la familia Asteraceae (continuación).

 <p>R = </p> <p>8-[3''-Isopenten-(2)il]-6-(1-propen-metil-ester)-2,2- dimetil-(2<i>H</i>)-cromeno (59)</p> <p>R = </p> <p>8-[3''-Hidroxi-(<i>E</i>)-isopenten-(1)-il]-6-(1'-propen-metil-ester)-2,2-dimetil-(2<i>H</i>)-cromeno (60)</p>	<i>Werneria stuebelii</i>	Bohlmann <i>et al.</i> , 1984 Castañeda, 1998
 <p>6-Acetil-5-hidroxi-2-hidroximetil-2-metil-(2<i>H</i>)-cromeno (61)</p>	<i>Blepharispermum subsessile</i>	Kulkarni <i>et al.</i> , 1987 Agarwal <i>et al.</i> , 1999

2.3 EJEMPLOS SELECTOS DE FITOTOXINAS VEGETALES

Las plantas biosintetizan y acumulan una gran cantidad de metabolitos secundarios que les sirven como mecanismo de defensa contra el ataque de insectos, microorganismos y plantas nocivas. Así, muchas de estas sustancias tienen un papel importante en las interacciones alelopáticas de tipo planta-planta y planta-microorganismo y en las interacciones planta-insecto en los distintos ecosistemas. Estas interacciones regulan la densidad y distribución de plantas, insectos y microorganismos y se establecen en todo tipo de ecosistemas, tanto naturales como en los agrosistemas. Por lo tanto, no es de sorprender que el reino vegetal constituya una gran fuente de agentes herbicidas.

Hasta la fecha se han descrito numerosos compuestos de origen vegetal con actividad fitotóxica que han generado un interés debido a su estructura y a los diferentes mecanismos de acción mediante los cuales ejercen su efecto.

Entre los compuestos de origen vegetal más importantes por su actividad fitotóxica se encuentra el cineol (**62**) (Cobb *et al.*, 2000), la artemisina (**63**) (Duke, 2002), la tricolorina A (**64**) (Anaya *et al.*, 1990; Pereda-Miranda *et al.*, 1993), el ácido *p*-hidroxibenzoico (**65**) (Tissut *et al.*, 1980), la juglona (**66**), la leptospermona (**67**) (Van Klink *et al.*, 1999) y la sorgoleona (**68**) (Rojas *et al.*, 2000) (Figura 4). Algunos de estos compuestos actúan específicamente como inhibidores de enzimas, sustratos naturales ó intermediarios de reacción que están involucrados en procesos de crecimiento y desarrollo de las plantas (Weir, *et al.*, 2004; Inderjit, *et al.*, 2003; Weston, *et al.*, 2003; Vyvyan, 2002; Dayan, *et al.*, 2000). Así por ejemplo la sorgoleona (**68**), actúa como un análogo de la plastoquinona, e interfiere con la unión de esta última al sitio activo de la proteína D1 del fotosistema II, limitando la transferencia de electrones entre la Q_A y Q_B, y de esta manera el proceso de fotosíntesis de una planta; además la sorgoleona, al igual que la juglona (**66**), es un inhibidor efectivo de la respiración mitocondrial a muy baja concentración (Weir, *et al.*, 2004). La tricolorina A (**64**) inhibe la actividad de la H⁺-ATPasa y el transporte de electrones en el fotosistema II (Calera, *et al.*, 1995). La artemisinina (**63**) que es altamente fitotóxica, también actúa a nivel del fotosistema II. Así mismo, se ha encontrado que modifica la permeabilidad de la membrana celular. (Duke, *et al.*, 1988). El cineol (**62**) inhibe la mitosis y la respiración mitocondrial (Romagni, *et al.*, 2000).

Algunos de estos productos antes mencionados se usan comercialmente o han servido como moléculas prototipo para el desarrollo de nuevos agentes herbicidas.

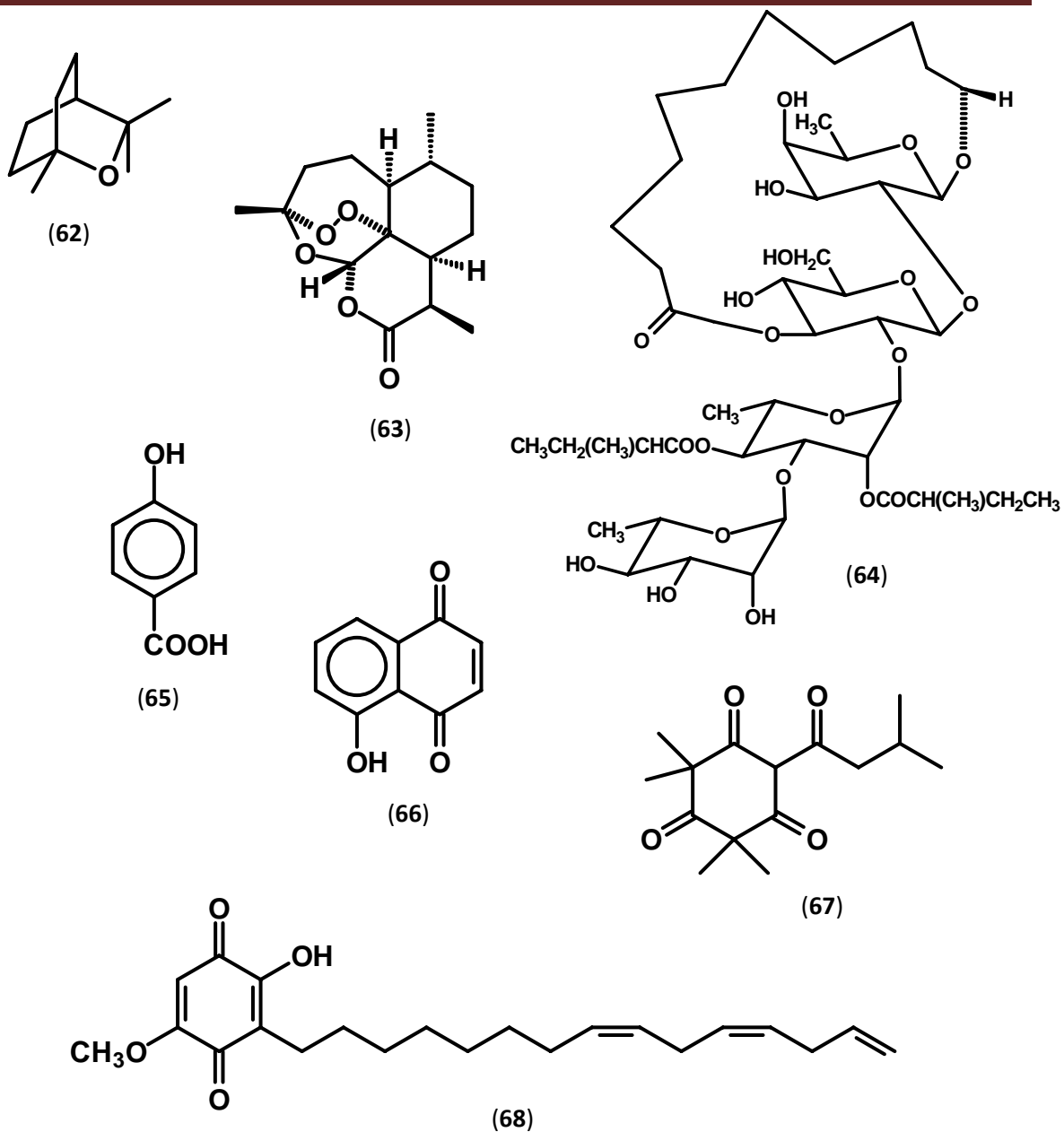
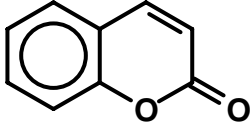
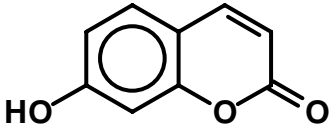
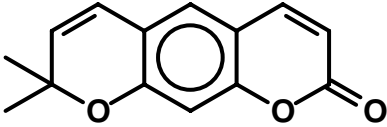
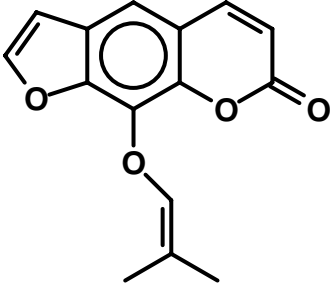
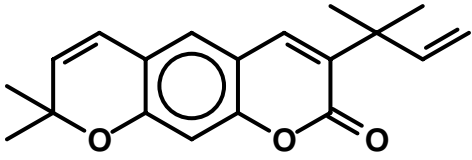


Figura 4. Compuestos de origen vegetal con actividad fitotóxica.

En el Cuadro 4, se muestran otros ejemplos de compuestos de origen natural con propiedades fitotóxicas, algunos de los cuales han servido de prototipo para el desarrollo de productos comerciales.

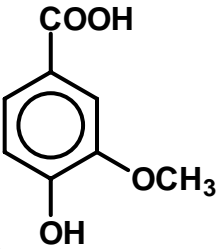
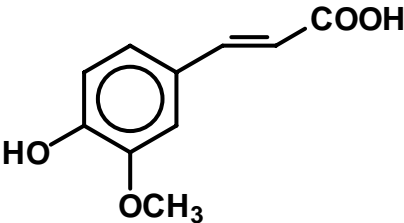
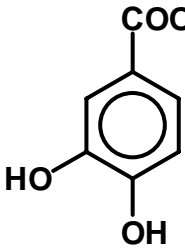
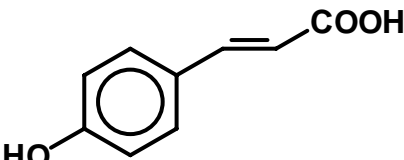
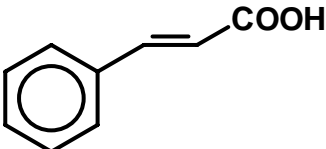
Cuadro 4. Ejemplos selectos de productos vegetales con efectos fitotóxicos.

Cumarinas		
Metabolito	Blanco de Acción	Referencia
 <p>Cumarina (69)</p>	Respiración Mitocondrial: DFO.	Duke, 1993
 <p>Umbeliferona (70)</p>	Respiración Mitocondrial: DFO. Fotosíntesis: Inhibición de la ATPasa.	Moreland y Novitzky, 1987
 <p>Xantiletina (71)</p>	Fotosíntesis: IRH	Macías <i>et al.</i> , 2000
 <p>Imperatorina (72)</p>	Fotosíntesis: DF; estimulante de la ATPasa; IRH.	Mata <i>et al.</i> , 1998
 <p>3-(1',1'-Dimetilalil)- xantiletina (73)</p>	Fotosíntesis: IRH y DF	Macías <i>et al.</i> , 2000

IRH = Inhiición de la Reacción de Hill. DF = Desacoplante de la Fotofosforilación.

DFO = Desacoplamiento de la fosforilación oxidativa.

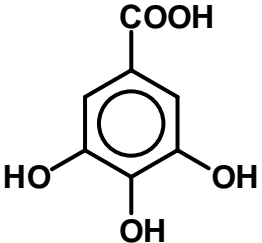
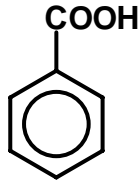
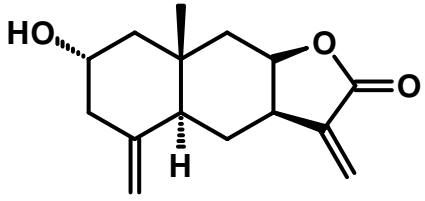
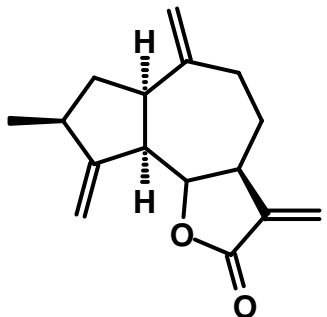
Cuadro 4. Ejemplos selectos de productos vegetales con efectos fitotóxicos (continuación).

Compuestos Aromáticos Simples		
Metabolito	Blanco de Acción	Referencia
 <p>Ácido vainílico (74)</p>	Respiración Mitocondrial: DFO.	Duke, 1993
 <p>Ácido ferúlico (75)</p>	Respiración Mitocondrial: DFO.	Moreland y Novitzky, 1987
 <p>Ácido protocatequico (76)</p>	Respiración Mitocondrial: DFO.	Tissut <i>et al.</i> , 1980
 <p>Ácido <i>p</i>-cumárico (77)</p>	Respiración Mitocondrial: DFO.	Tissut <i>et al.</i> , 1980
 <p>Ácido cinámico (78)</p>	Respiración Mitocondrial: DFO.	Tissut <i>et al.</i> , 1980

IRH = Inhiición de la Reacción de Hill. DF = Desacoplante de la Fotofosforilación.

DFO = Desacoplamiento de la fosforilación oxidativa.

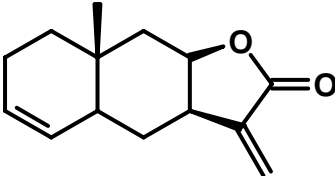
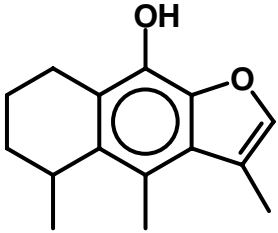
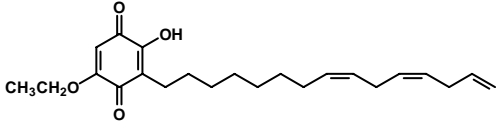
Cuadro 4. Ejemplos selectos de productos vegetales con efectos fitotóxicos (continuación).

Compuestos Aromáticos Simples		
Metabolito	Blanco de Acción	Referencia
 <p>Ácido gálico (79)</p>	Respiración Mitocondrial: DFO.	Tissut <i>et al.</i> , 1980
 <p>Ácido benzoico (80)</p>	Respiración Mitocondrial: DFO.	Tissut <i>et al.</i> , 1980
Lactonas Sesquiterpénicas		
Metabolito	Blanco de Acción	Referencia
 <p>Ivalina (81)</p>	Fotosíntesis: IRH	Lotina-Hennsen <i>et al.</i> , 1998
 <p>Zaluzanina (82)</p>	Fotosíntesis: IRH	Lotina-Hennsen <i>et al.</i> , 1992

IRH = Iniciación de la Reacción de Hill. DF = Desacoplante de la Fotofosforilación.

DFO = Desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. ITrE = Inhibidor de la transferencia de energía.

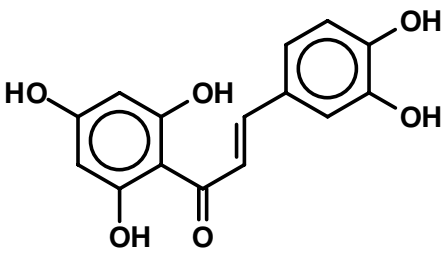
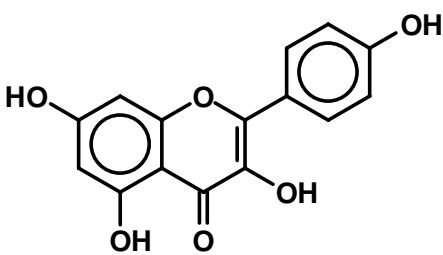
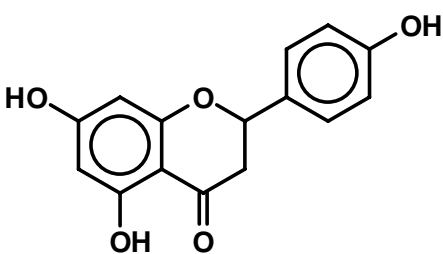
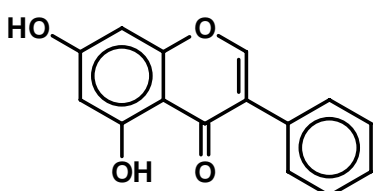
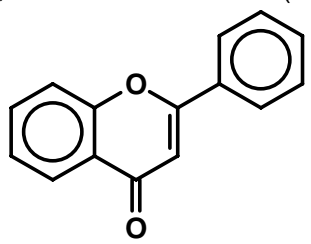
Cuadro 4. Ejemplos selectos de productos vegetales con efectos fitotóxicos (continuación).

Lactonas Sesquiterpénicas		
Metabolito	Blanco de Acción	Referencia
 <p>Isoalolactona (83)</p>	Fotosíntesis: IRH	Calera <i>et al.</i> , 1995
 <p>Cacalol (84)</p>	Fotosíntesis: IRH	Aguilar-Martínez <i>et al.</i> , 1996
Benzoquinonas		
Metabolito	Mecanismo de Acción	Referencia
 <p>Etoxisorgoleona (85)</p>	Fotosíntesis: ITRé en el fotosistema II.	Rojas <i>et al.</i> , 2000
Cromenos		
Metabolito	Blanco de Acción	Referencia
Desmetilencecalina (22)	Fotosíntesis: IRH.	Castañeda-López, 1998
Encecalina (23)	Respiración Mitocondrial: DFO.	
	Fotosíntesis: IRH.	

IRH = Inhibición de la Reacción de Hill. DF = Desacoplante de la Fotofosforilación.

DFO = Desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. ITRé = Inhibidor de la transferencia de energía.

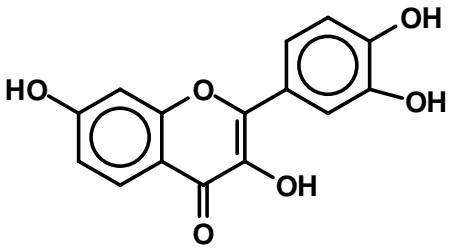
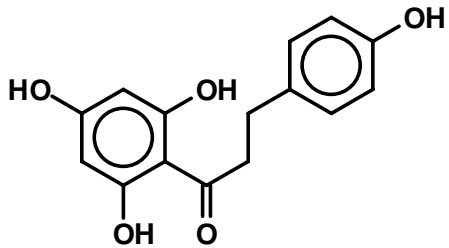
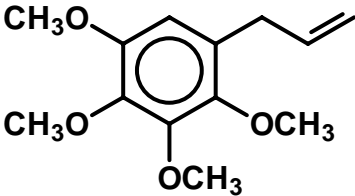
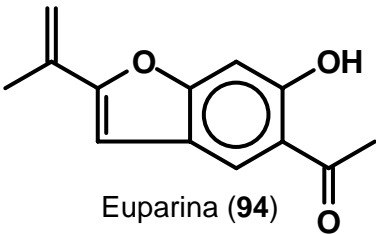
Cuadro 4. Ejemplos selectos de productos vegetales con efectos fitotóxicos (continuación).

Flavonoides		
Metabolito	Blanco de Acción	Referencia
 <p style="text-align: center;">Buteina (86)</p>	Respiración Mitocondrial: DFO.	Ravanel <i>et al.</i> , 1982
 <p style="text-align: center;">Kaempferol (87)</p>	Inhibe el Citocromo C de la cadena de transporte de electrones.	Valencia-Islas, 2000
 <p style="text-align: center;">Naringenina (88)</p>	Respiración Mitocondrial: DFO.	Moreland y Novitzky, 1987
 <p style="text-align: center;">5,7-dihidroxiisoflavona (89)</p>	Respiración Mitocondrial: DFO.	Stenlid, 1970
 <p style="text-align: center;">Flavona (90)</p>	Respiración Mitocondrial: DFO.	Stenlid, 1970

IRH = Inhibición de la Reacción de Hill. DF = Desacoplante de la Fotosforilación.

DFO = Desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. ITRE = Inhibidor de la transferencia de energía.

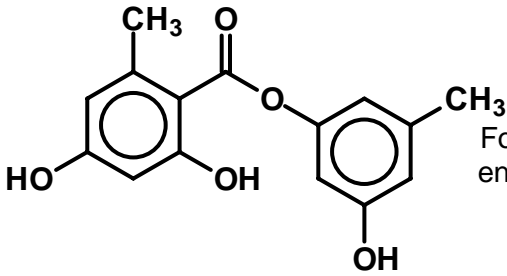
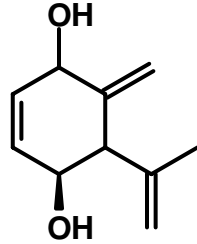
Cuadro 4. Ejemplos selectos de productos vegetales con efectos fitotóxicos (continuación).

Flavonoides		
Metabolito	Blanco de Acción	Referencia
 <p>Fisetina (91)</p>	Respiración Mitochondrial: DFO.	Stenlid,1970
 <p>Floretina (92)</p>	Respiración Mitochondrial: DFO.	Ravanel <i>et al.</i> , 1982
Fenilpropanoide		
Metabolito	Blanco de Acción	Referencia
 <p>1,2,3,4-tetrametoxi-5-(2-propenil)benzeno (93)</p>	Fotosíntesis: IRH	Jiménez <i>et al.</i> , 1998
Benzofurano		
Metabolito	Blanco de Acción	Referencia
 <p>Euparina (94)</p>	Fotosíntesis : ITrE	Lotina-Hennsen <i>et al.</i> , 1998

IRH = Inhiición de la Reacción de Hill. DF = Desacoplante de la Fotofosforilación.

DFO = Desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. ITrE = Inhibidor de la transferencia de energía.

Cuadro 4. Ejemplos selectos de productos vegetales con efectos fitotóxicos (continuación).

Bencilos		
Metabolito	Blanco de Acción	Referencia
 <p>Lecanorina (95)</p>	<p>Fotosíntesis: IRH del complejo enzimático que fotolisa el agua</p>	<p>Rojas <i>et al.</i>, 2000</p>
Monoterpenoides		
Metabolito	Blanco de Acción	Referencia
 <p>Piquerol A (96)</p>	<p>Fotosíntesis : ITrE</p>	<p>Mendoza <i>et al.</i>, 1994</p>

IRH = Inhiación de la Reacción de Hill. DF = Desacoplante de la Fotofosforilación.

DFO = Desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. ITrE = Inhibidor de la transferencia de energía.

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.

En la actualidad la agricultura enfrenta una serie de problemas que han aumentado con el paso del tiempo. Los más importantes son la proliferación de malezas y la aparición de biotipos resistentes a los herbicidas de uso comercial; la contaminación de ríos, lagos y aguas subterráneas con nitrógeno y fósforo, elementos presentes en los fertilizantes químicos y agentes biocidas; la transformación de ecosistemas naturales (terreno cultivado); la pérdida de la biodiversidad; la erosión de terrenos; la disminución de los minerales del suelo; y la salinización del suelo en zonas secas.

Todos estos problemas han ocasionado el agotamiento de los suelos cultivables haciendo evidente la necesidad de respuestas efectivas para el aumento de la productividad agrícola, así como, para alcanzar un manejo ambiental adecuado de los recursos. De igual forma se requiere hacer cambios encaminados a reducir el impacto ambiental negativo que han tenido sobre la agricultura el uso indiscriminado de herbicidas empleados para la eliminación de malezas.

Los daños más importantes que ocasionan las malezas son los siguientes:

- Compiten con las plantas ornamentales y de interés económico.
- Incrementan los costos de producción
- Reducen la calidad de los cultivos
- Reducen la riqueza de la tierra
- Disminuyen la estética de los jardines y terrenos de cultivo
- Son refugio de insectos y organismos patógenos
- Pueden causar grandes incendios

El costo para erradicar las malezas es muy grande aumentando considerablemente cada año, debido a las complicaciones cada vez mayores para el control de estas (Kohli *et al.*, 2006; Singh *et al.*, 2003), quizás la resistencia a los herbicidas es una de las más importante. Esta resistencia se genera en primera instancia por la aplicación recurrente de herbicidas eficaces con un mecanismo de acción idéntico.

Actualmente, se han identificado 315 biotipos de malezas resistentes pertenecientes a 183 especies (110 dicotiledóneas y 73 monocotiledóneas). Las 10 malezas de mayor importancia económica que han desarrollado resistencia a los herbicidas son: el vellico (*Lolium rigidum*), la avena silvestre (*Avena fatua*), el bleado o sabia (*Amaranthus retroflexus*), el chaguaquelite o quelite verde (*Chenopodium album*), la cola de zorro (*Setaria viridis*), el zacate pinto (*Echinochloa crus-galli*), la pata de gallo o zacatón (*Eleusine indica*), la coquia (*Kochia scoparia*), la hierba de caballo (*Conyza canadensis*) y el quelite blanco (*Amaranthus hybridus*) (Heap, 2007).

Por los problemas antes mencionados es necesario intensificar la búsqueda de nuevos agentes herbicidas, tanto de origen natural como sintético más eficaces. En este sentido la biodiversidad de México ofrece buenas perspectivas para el descubrimiento de nuevos agentes potencialmente útiles para el desarrollo de nuevos herbicidas. De tal forma que objetivo principal de este trabajo consiste en establecer el potencial fitotóxico de la especie *Brickellia cavanillesii*, una Asteraceae ampliamente distribuida en la Republica Mexicana con la finalidad de contribuir al desarrollo de nuevos agentes herbicidas.

Para el cumplimiento del objetivo principal, se plantearon los siguientes objetivos particulares:

- Determinar la fitotoxicidad del extracto integro de las partes aéreas de la planta mediante la evaluación de su efecto sobre la germinación y el crecimiento radicular de la especie *Amaranthus hypochondriacus*.
- Obtener al menos un agente fitotóxico de la planta mediante la realización de un estudio químico biodirigido.
- Caracterizar los compuestos activos mediante el empleo de técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 PROCEDIMIENTOS GENERALES.

4.1.1 Métodos cromatográficos.

En los análisis de cromatografía en capa fina tipo analítico (CCF) se utilizaron placas de aluminio de distintas dimensiones recubiertas con una capa de gel de sílice de 0.25 mm de espesor (silica gel 60 F₂₅₄ Merck). La visualización de las placas se realizó con una lámpara de luz UV (onda corta 254 nm; onda larga 356 nm) y como agente cromógeno se utilizó el sulfato cérico.

Los análisis cromatográficos en columna abierta se realizaron siguiendo las técnicas convencionales, empleando columnas de vidrio empacadas en todos los casos con gel de sílice (silica gel 60 Merck) y empleando varios sistemas de elución.

4.1.2 Determinación de las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas.

Los puntos de fusión se midieron con un aparato Fisher-Johns. Los espectros en el infrarrojo (IR) se registraron en un espectrofotómetro de rejilla Perkin-Elmer, modelo 599-B, utilizando la técnica de pastilla de KBr. Los análisis de espectrometría de masas por impacto electrónico (EM-IE) se realizaron en un espectrómetro de masas Agilent Modelo 6890N.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear protónica (RMN-¹H) y de Carbono-13 (RMN-¹³C), se registraron en un aparato Varian VXR-300S, el cual se operó a una frecuencia de 300 MHz para protón y 75 MHz para carbono-13. Los desplazamientos químicos se asignaron en ppm referidos a tetrametilsilano (TMS) que se utilizó como referencia interna. Los espectros se registraron en CDCl₃.

Todos los análisis espectroscópicos y espectrométricos se realizaron en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química, UNAM.

4.2 MATERIAL VEGETAL.

Las partes aéreas de la especie *Brickellia cavanillesii* (Cass.) A. Gray se recolectaron en Yecapixtla, Morelos en Enero del 2006. Un ejemplar de referencia [Voucher: R. Bye & Linares 34570] se depositó en el Herbario Nacional (MEXU). La recolección e identificación fue realizada por el Dr. Robert Bye, del Instituto de Biología de la UNAM. El material vegetal fue desecado a temperatura ambiente y fragmentado en un molino Wiley modelo 4.

4.3 ENSAYOS BIOLÓGICOS

4.3.1 Evaluación del potencial fitotóxico del extracto, fracciones y metabolitos aislados.

La determinación del potencial fitotóxico del extracto, fracciones (primarias y secundarias) y compuestos puros, se realizó mediante los bioensayos de germinación y crecimiento radicular de semillas de *Amaranthus hypochondriacus*, de acuerdo con los procedimientos descritos en la literatura (Anaya, *et al.*, 1990; Castañeda *et al.*, 1996).

El bioensayo se realizó en cajas Petri de 10 cm de diámetro; las muestras objeto de estudio (extracto, fracciones y compuestos puros) se disolvieron en diclorometano y en mezcla de diclorometano-metanol. Se prepararon disoluciones de diferentes concentraciones: el extracto y las fracciones se evaluaron a 10, 100, 500 y 1000 µg/ml y los compuestos puros se evaluaron a 1, 10, 50 y 100 µg/ml. Tres mililitros de las disoluciones preparadas, se vertieron en las cajas Petri sobre un disco de papel filtro permitiendo enseguida la evaporación del disolvente mediante una corriente de aire. Posteriormente, se adicionó 3 ml de agua destilada sobre el papel filtro y se colocaron 15 semillas de la especie vegetal de prueba. Las cajas Petri se incubaron a 30° C y la actividad fitotóxica se registró calculando el porcentaje de germinación e inhibición, y midiendo la longitud de las radículas a las 24 horas del tratamiento.

El ácido 2,4-diclorofenoxiacético se empleó como control positivo (Pereda-Miranda *et al.*, 1993); el H₂O y el CH₂Cl₂ se utilizaron como controles blancos.

Cada tratamiento se realizó por triplicado. Los resultados obtenidos se expresaron como concentraciones inhibitoras medias (CI_{50}), las cuales fueron calculadas por regresión lineal a partir de los porcentajes de inhibición del crecimiento radicular.

4.3.2 Determinación del efecto fitotóxico de las fracciones mediante un método bioautográfico.

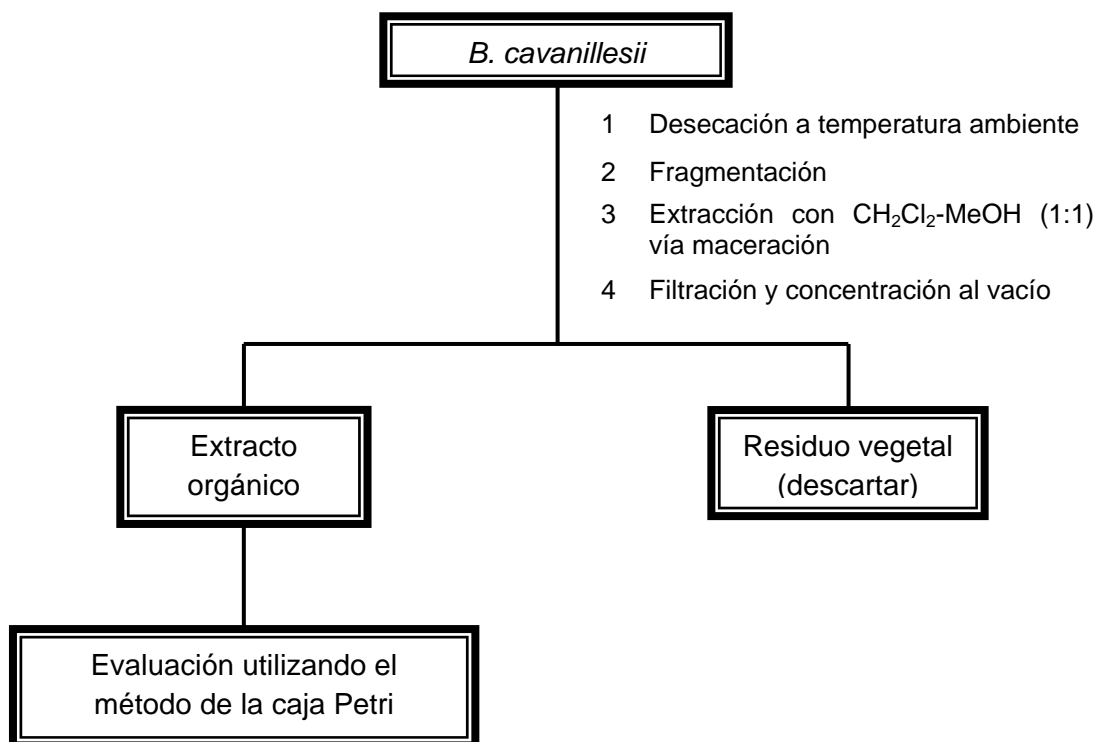
Para monitorear la actividad fitotóxica a lo largo del estudio fitoquímico se empleó la técnica cualitativa de bioautografía (Anaya *et al.*, 1990; 1995). Para ello se emplearon placas de vidrio de 20.0 x 3.0 cm recubiertas de gel de sílice. En cada placa se aplicaron las fracciones correspondientes hasta saturación del punto de aplicación; posteriormente cada placa se eluyó en un sistema previamente seleccionado.

Finalizada la elución, se dejó evaporar el disolvente de la placa, misma que se cubrió con 10 ml de agar bacteriológico (Clinical Standards Laboratories) al 1%. Una vez solidificado el agar, se colocan las semillas de *A. hypochondriacus* hasta cubrir completa y homogéneamente la superficie de las placas. A continuación, el conjunto semillas-placas se incubó en un ambiente húmedo a 30° C durante 24 horas. Transcurrido el tiempo de incubación, se observan las zonas de inhibición de la germinación y el crecimiento radicular.

4.4 ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LA ESPECIE *Brickellia cavanillesii*.

4.4.1 Preparación del extracto.

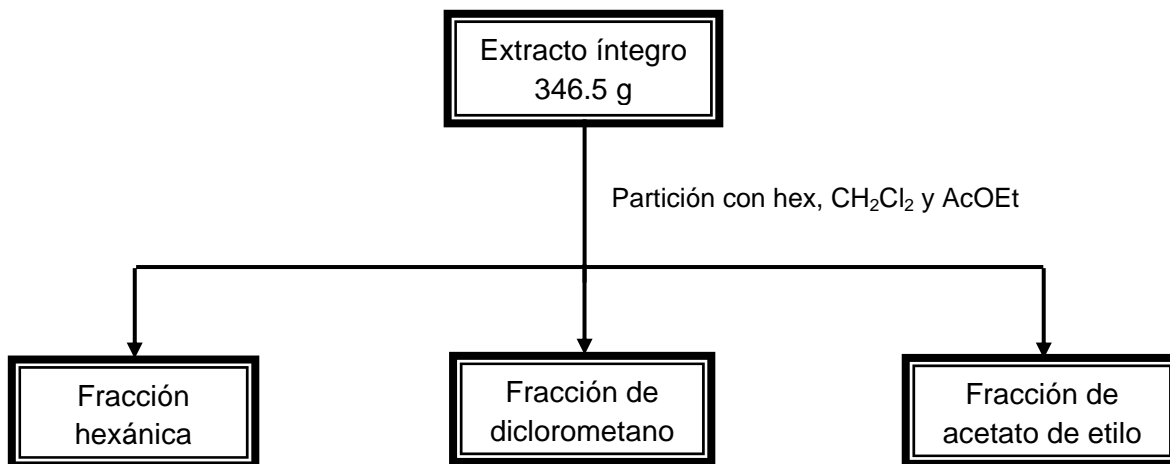
El material vegetal seco y molido (5.5 Kg) se extrajo mediante un proceso de maceración exhaustivo con 35.5 l de una mezcla diclorometano-metanol (1:1) a temperatura ambiente. Posteriormente, se filtró y se concentró a presión reducida. El peso del extracto resultante fue de 496.5 g.



Esquema 1. Obtención del extracto activo de *Brickellia cavanillesii*.

4.4.2 Fraccionamiento primario del extracto de *Brickellia cavanillesii*.

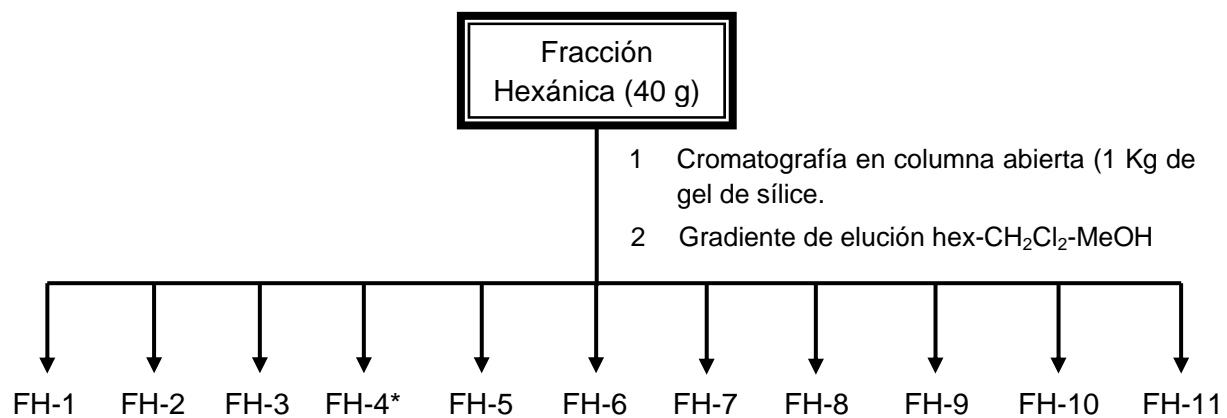
El extracto íntegro (346.5 g) se sometió a un proceso de partición empleando de manera sucesiva diferentes disolventes de polaridad creciente: hexano, diclorometano y acetato de etilo.



Esquema 2. Fraccionamiento Primario del Extracto de *Brickellia cavanillesii*.

4.4.3 Fraccionamiento secundario del extracto de *Brickellia cavanillesii*.

La fracción hexánica (40 g) se sometió a un fraccionamiento secundario vía cromatografía en columna abierta, empleando una columna de vidrio empacada con gel de sílice (1 Kg) y un gradiente de elución de hexano-CH₂Cl₂ (10:0 → 0:10) y CH₂Cl₂-MeOH (10:0 → 0:10) obteniéndose once fracciones secundarias indicadas en el Cuadro 8.



* Fracción activa

Esquema 3. Fraccionamiento secundario de la fracción hexánica de *Brickellia cavanillesii*.

4.4.4 Obtención del 6-acetil -5-hidroxi-2,2-dimetil-(2*H*)-cromeno (Desmetilisoencecalina).

De la fracción secundaria activa FH-4 (16 g) cristalizó espontáneamente un sólido cristalino amarillo, soluble en diclorometano, el cual fue lavado sucesivamente con hexano para generar 1.120 g de 5-hidroxi-6-acetil-2,2-dimetil-(2*H*)-cromeno con un punto de fusión de 102° C.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 SELECCIÓN PRIMARIA DE LA ESPECIE *Brickellia cavanillesii* (Cass.) A. Gray (ASTERACEAE) COMO UNA FUENTE DE PRINCIPIOS FITOTOXICOS.

La selección primaria de la especie *Brickellia cavanillesii* (Cass.) A. Gray se realizó con base en los criterios, etnomédico y quimiotaxonómico. El primero se basa en el hecho de que las plantas medicinales utilizadas en la medicina popular de diversas regiones del mundo, han constituido el punto de partida para el aislamiento de compuestos activos de interés medicinal y agroquímico. De esta forma se descubrieron el cíneol y la artemisina por mencionar dos ejemplos. El cíneol constituyó el prototipo estructural para el desarrollo del herbicida comercial Cinmmetilino®. El criterio quimiotaxonómico, en cambio, se fundamenta en los antecedentes de la familia de las Asteraceae como una fuente valiosa de compuestos bioactivos, incluyendo de tipo fitotóxicos (Duke *et al.*, 1999).

Una vez realizado el proceso de selección primaria, se procedió a la recolección de la especie y a la preparación del extracto orgánico. Los resultados obtenidos de la evaluación del efecto del extracto orgánico de *B. cavanillesii* sobre la germinación y el crecimiento radicular de *Amaranthus hipochondriacus*, permitió determinar el potencial fitotóxico. El valor de CI_{50} calculada es similar al de otros extractos vegetales a partir de los cuales se han aislado compuestos fitotóxicos.

Cuadro 5. Efecto del extracto CH_2Cl_2 -MeOH (1:1) de la especie *B. cavanillesii* sobre la germinación y crecimiento radicular de *Amaranthus hipochondriacus*.

Evaluación Fitotóxica	CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Extracto ^a	276.53
2,4-D ^b	0.0099

^a Concentraciones evaluadas: 1000, 500, 100 y 10 $\mu\text{g/ml}$

^b Control positivo

5.2 FRACCIONAMIENTO DEL EXTRACTO.

El fraccionamiento primario del extracto orgánico íntegro se realizó mediante particiones sucesivas con diferentes disolventes. En primer lugar, el extracto (346.5 g) se disolvió en una mezcla de metanol acuoso (1:1) y se extrajo de manera exhaustiva

con varias porciones de hexano, luego con diclorometano, y finalmente con acetato de etilo; cada una de las fracciones se concentro al vacío. En el Cuadro 6 se muestran los rendimientos obtenidos de cada fracción.

Cuadro 6. Cantidades obtenidas del proceso de partición de *B. cavanillesii*

Fracción	Peso (g)	Rendimiento %
Hexánica	50	14.43
Diclorometano	45.48	13.12
Acetato de etilo	15.42	0.44
Metanol acuoso (1:1)	175.2	50.56

Las tres fracciones primarias fueron evaluadas mediante el ensayo de la caja de Petri; los resultados se resumen en el Cuadro 7. De los mismos se desprende que las fracciones más activas fueron la hexánica y la de diclorometano.

Cuadro 7. Actividad fitotóxica de las fracciones primarias de *B. cavanillesii* sobre *Amaranthus hypochondriacus*

Evaluación Fitotóxica	CI ₅₀ (µg/ml)
Fracción hexanica	254.98
Fracción de diclorometano	70.35
Fracción de acetato de etilo	1175.59

El estudio bioautografico de las dos fracciones primarias activas permitió establecer que los compuestos fitotóxicos presentes en ambas fracciones son distintos. En el caso del extracto hexánico la zona de inhibición (Figura 5) presento un factor de retención de 0.48 y correspondía a un solo componente.

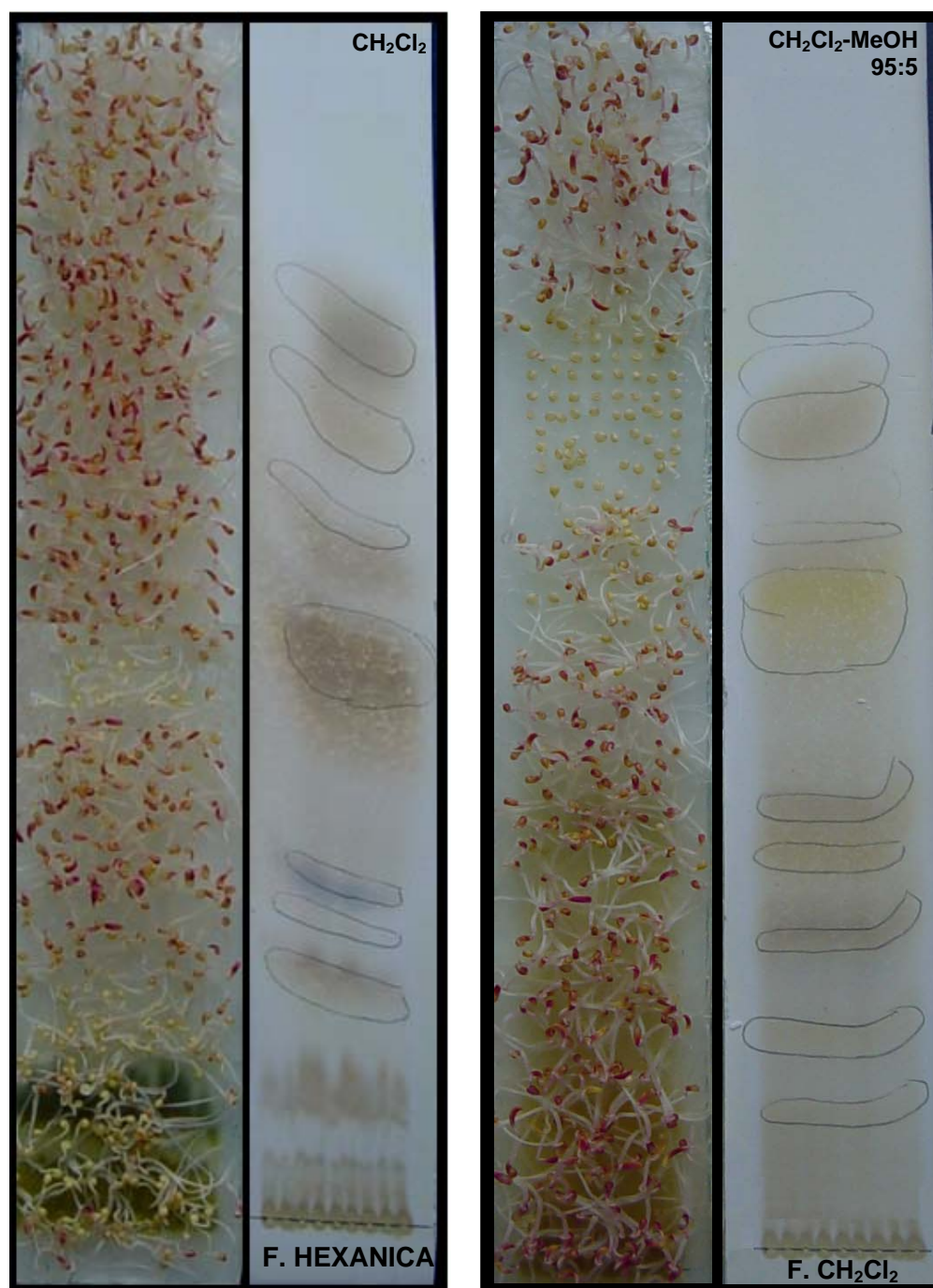


Figura 5. Vista frontal de la Bioautografía de las Fracciones Hexánica (A) y de Diclorometano (B).

A: gel de sílice; CH₂Cl₂. B: gel de sílice; CH₂Cl₂-MeOH (95:5).

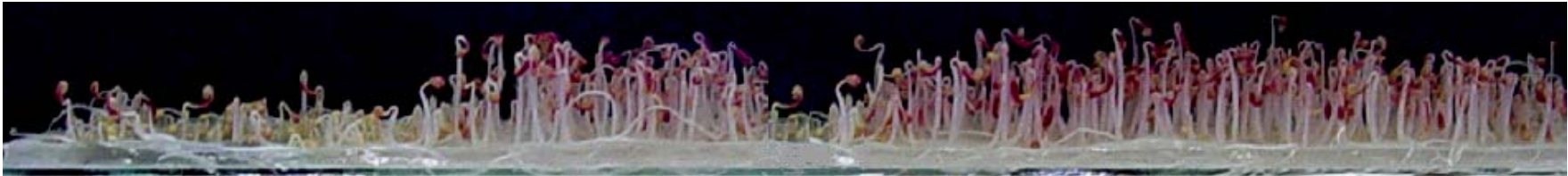


Figura 6. Vista lateral de la Bioautografía de la Fracción Hexánica (A).

A: gel de sílice; CH_2Cl_2 .



Figura 7. Vista lateral de la Bioautografía de la Fracción de Diclorometano (B).

B: gel de sílice; CH_2Cl_2 -MeOH (95:5).

5.3 FRACCIONAMIENTO SECUNDARIO DE LA FRACCIÓN HEXÁNICA.

Con la finalidad de aislar el componente activo de la fracción primaria hexánica activa (40 g) se realizó un fraccionamiento secundario mediante una cromatografía en columna abierta empleando gel de sílice, como fase estacionaria (1 Kg). Como eluyentes se utilizaron mezclas de hex-CH₂Cl₂ y CH₂Cl₂-MeOH con incrementos graduales de polaridad. Este proceso se resume en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Fraccionamiento secundario de la porción hexánica de *B. cavanillesii*.

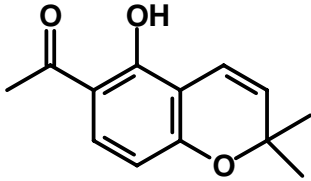
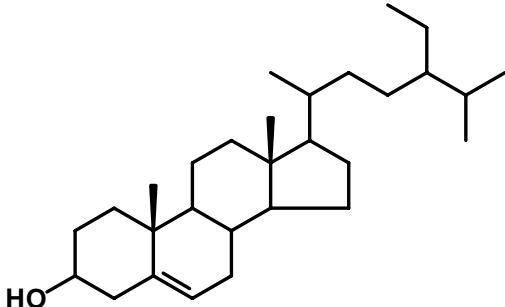
Eluyente	Proporción	Fracciones	Clave	Peso (g)
Hexano	-	1-14	FH-1	0.638
Hex-CH ₂ Cl ₂	9:1	15-37	FH-2	0.190
Hex-CH ₂ Cl ₂	8:2	38-55	FH-3	2.779
Hex-CH ₂ Cl ₂	7:3	56-119	FH-4	16.120
Hex-CH ₂ Cl ₂	1:1	120-151	FH-5	0.922
Hex-CH ₂ Cl ₂	3:7	152-178	FH-6	9.800
CH ₂ Cl ₂	-	179-198	FH-7	1.083
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	9:1	199-233	FH-8	24.296
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	8:2	234-247	FH-9	10.371
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	1:1	248-266	FH-10	1.079
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	1:1	267-297	FH-11	2.581

5.4 AISLAMIENTO DE LA DESMETILISOENCECALINA Y EL β -SITOSTEROL.

De acuerdo al análisis bioautográfico de las fracciones FH-1 - FH-11, el compuesto activo se encontraba en la fracción secundaria FH-4. El producto mayoritario, que felizmente correspondió al activo, precipitó copiosamente (1.2 g) como un sólido cristalino verde-amarillo (Tabla 1).

De la fracción FH-7 cristalizaron de manera espontánea grandes cantidades del esteroide β -sitosterol.

Tabla 1. Metabolitos secundarios aislados de la fracción hexánica de *B. cavanillesii*.

Compuesto	Cantidad	Fracción
 <p>(24) 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2H)- cromeno</p>	1.2 g	FH-4
 <p>(97) β-sitosterol</p>	200 mg	FH-7

5.5 CARACTERIZACIÓN DE LA DESMETILISOENCECALINA (24) Y EL β -SITOSTEROL

5.5.1 Caracterización de la desmetilisoencecalina (24).

Para identificar el compuesto **24** se registraron sus espectros de masas, RMN uni- y bidimensionales y en el infrarrojo. Las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del producto se resumen en Tabla 2.

Tabla 2. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2*H*)-cromeno.

Fórmula molecular	C ₁₃ H ₁₄ O ₃
Peso molecular	218
Punto de Fusión	102° C
IR ν_{\max} (KBr) cm ⁻¹	2974, 1749, 1614, 1578, 1485, 1301, 1108
RMN ¹ H	12.97 (s, OH), 7.52 (d, H-7, <i>J</i> = 8.8 Hz), 6.71 (d, H-4, <i>J</i> = 10 Hz), 6.33 (d, H-8, <i>J</i> = 8.8 Hz), 5.58 (d, H-3, <i>J</i> = 10 Hz), 2.54 (s, H-12), 1.45 (s, H-13 y H.14)
RMN ¹³ C	202.8 (C-11), 159.7 (C-5), 159.6 (C-9), 131.6 (C-7), 128.2 (C-3), 115.8 (C-4), 113.9 (C-6), 108.3 (C-8 y C-10), 77.7 (C-2), 28.3 (C-13 y C-14), 26.1 (C-12)

El espectro de masas generado por la técnica de impacto electrónico presenta un ión molecular en una relación *m/z* de 218 uma, que corresponde a la fórmula molecular de C₁₃H₁₄O₃. El espectro en el IR presentó bandas de absorción características para grupos hidroxilo (2974 cm⁻¹) carbonilo de cetona conjugada (1749 cm⁻¹) y aromaticidad (1600 – 1450 cm⁻¹).

El análisis detallado de los espectros de RMN indicaron que el producto natural pertenece a la categoría de los cromenos (Castañeda, 1998). Las características más relevantes observadas en los espectros se indican a continuación:

- 1) En δ_{H} de 12.97 se observa un singlete asignable a un grupo hidroxilo, este desplazamiento químico sugiere que este grupo se encuentra quelatado con un carbonilo. La presencia del grupo carbonilo se confirmó mediante la presencia de una señal en δ_{C} 202.8 en el espectro de RMN-¹³C.
- 2) En δ_{H} de 7.52 y 6.33 se observan dos dobletes (*J* = 8.8 Hz), los cuales integran para un protón respectivamente, asignables a los hidrógenos H-7 y H-8, respectivamente, del núcleo cromeno. Estas señales mostraron una clara correlación con las señales en δ_{C} 131.6 y 108.3 en el espectro bidimensional de tipo HETCOR.

- 3) En δ_H de 6.71 (H-3) y 5.58 (H-4) se observaron los dobletes ($J = 10$ Hz) de los hidrógenos vinílicos de la doble ligadura conjugada del esqueleto benzopirano. Estas señales correlacionan con las absorciones en δ_C 128.2 y 115.8. En la región de los carbonos aromáticos y vinílicos del espectro de RMN- ^{13}C del producto **24** se aprecian tres singuletes en δ_C 159.7, 159.6 y 108.3, los cuales corresponden a tres carbonos cuaternarios del núcleo base.
- 4) En δ_H de 2.54 y 1.45 se observaron dos singuletes, el primero es asignable a los protones de una metil cetona ubicada en la posición C-6; el segundo, en cambio, corresponde a los hidrógenos de los grupos metilos sobre la posición C-2.
- 5) Por último, en la zona de carbonos unidos a oxígenos del espectro de RMN se aprecia un carbono cuaternario en δ_C 77.7. Esta señal es atribuible a un carbono cuaternario (C-2) que soporta dos grupos metilos.

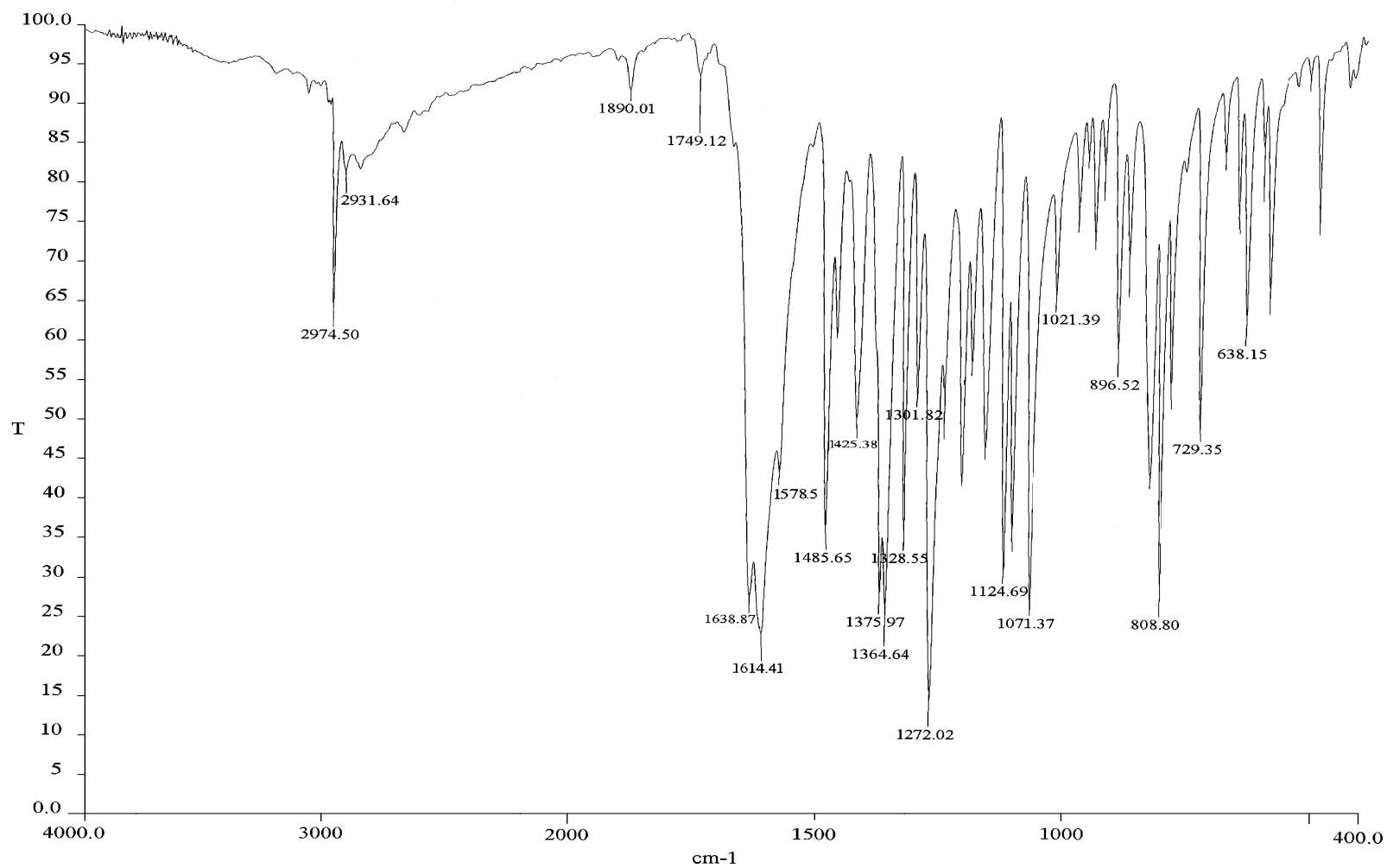
Con base en las evidencias presentadas, el producto **24** se identificó como el 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2*H*)-cromeno previamente descrito en esta especie por Rodríguez-López y colaboradores (Rodríguez-López *et al.*, 2006).

5.5.2 Caracterización del β -sitosterol (**97**).

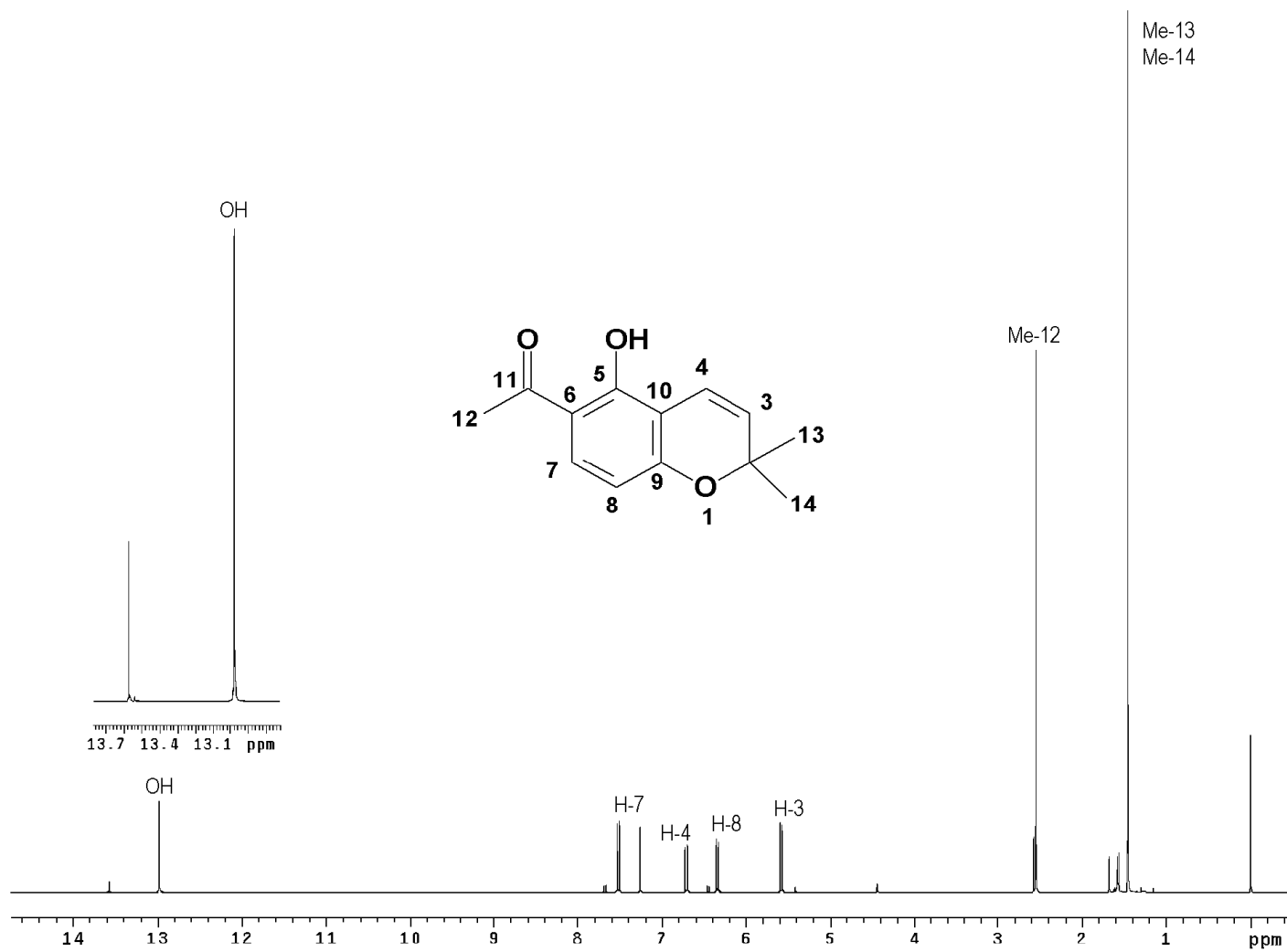
El β -sitosterol (**97**) identificado como un sólido cristalino color blanco con punto de fusión de 138 – 140° C, fue caracterizado por comparación de sus constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas con aquellas de una muestra auténtica.

5.6 DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL FITOTÓXICO DE LA DESMETILISOENCECALINA (**24**).

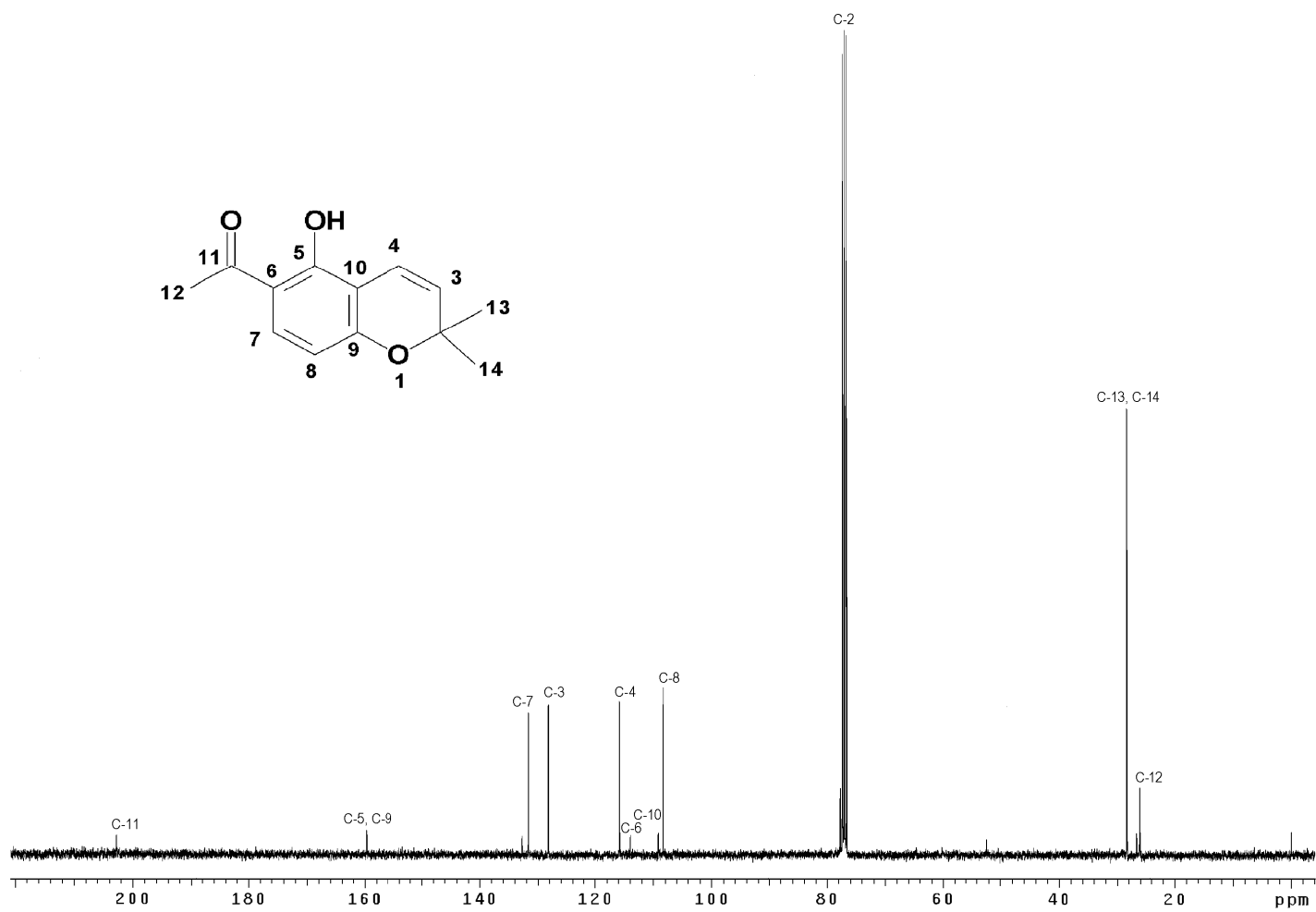
El 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2*H*)-cromeno se evaluó para determinar su potencial fitotóxico sobre la germinación y el crecimiento radicular de la especie *Amaranthus hypochondriacus*, también mediante el ensayo de la caja de Petri. El metabolito inhibió el crecimiento radicular de la semilla de prueba de manera dependiente de la concentración. La CI_{50} calculada fue de 58.40 μ g/ml.



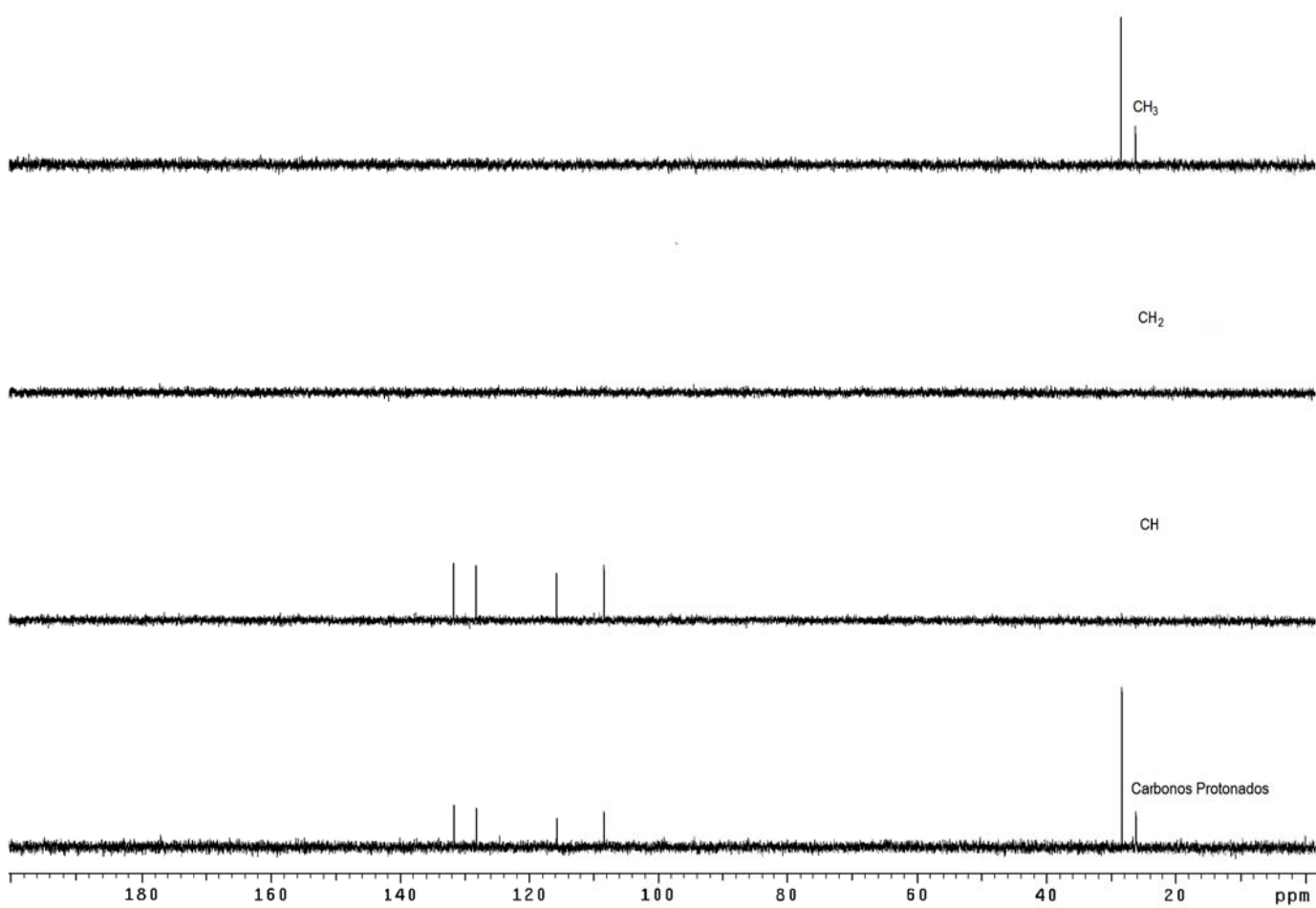
Espectro 1. Espectro de IR del 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (**24**).



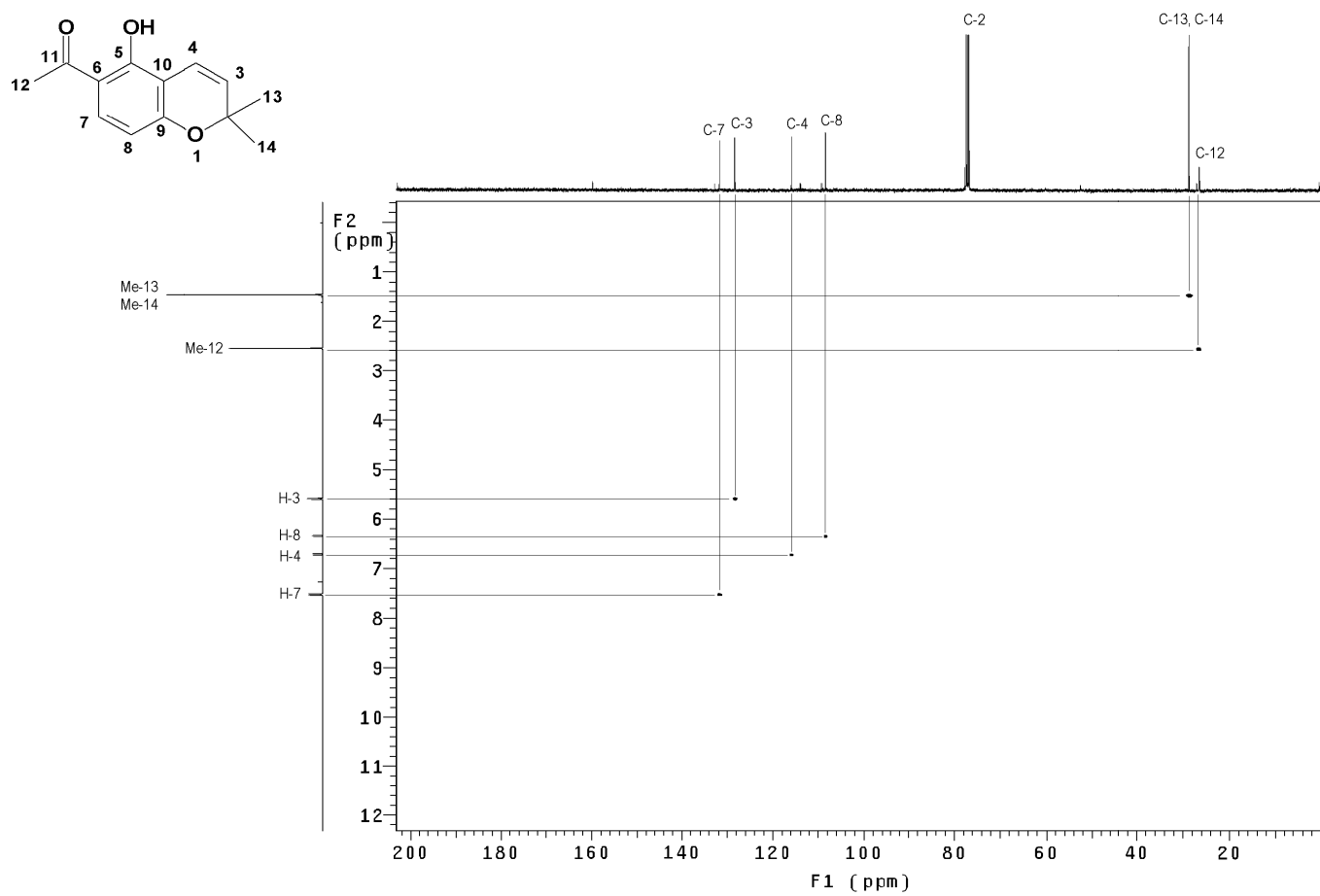
Espectro 2. Espectro de RMN ^1H del 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (24).



Espectro 3. Espectro de RMN ^{13}C del 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (24).



Espectro 4. Espectro DEPT del 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2*H*)-cromeno (**24**).



Espectro 5. Espectro HSQC del 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2*H*)-cromeno (**24**).

CONCLUSIONES.

1. Los resultados del presente trabajo corroboraron que la preselección de especies vegetales con base en el criterio etnomédico y quimiotaxonómico en conjunto con la determinación del potencial biológico mediante evaluaciones apropiadas puede conducir a la obtención de productos naturales biodinámicos de posible utilidad herbicida.

2. El estudio fitoquímico biodirigido del extracto orgánico preparado a partir de la especie *Brickellia cavanillesii* permitió el aislamiento de dos metabolitos secundarios identificados como el 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (**24**) y el β -sitosterol (**97**).

3. El 6-acetil-5-hidroxi-2,2-dimetil-(2H)-cromeno (**24**) presentó una actividad inhibitoria significativa del crecimiento radicular de la especie *Amaranthus hypochondriacus* ($CI_{50} = 58.4 \mu\text{g/ml}$).

4. La presente investigación fitoquímica constituye una contribución al conocimiento del contenido metabólico secundario de la especie *Brickellia cavanillesii*.

PERSPECTIVAS.

- Realizar el estudio químico de la fracción de diclorometano para completar la obtención de los metabolitos secundarios con actividad fitotóxica de la especie *Brickellia cavanillesii*.

- Determinar el efecto sobre la germinación y el crecimiento radicular de los productos naturales en especies vegetales (malezas) de prueba con la finalidad de ampliar el conocimiento de estos compuestos como agentes reguladores del crecimiento vegetal.

- Establecer mediante las evaluaciones apropiadas los posibles mecanismos de acción del metabolito obtenido como agentes reguladores del crecimiento vegetal.

7. BIBLIOGRAFÍA

Agarwal, S. K., Verma, S., Singh, S. S., Kumar, S. (1999). Antifertility chromene from *Blepharispermum subsessile*. *Fitoterapia* **70**: 435-437.

Aguilar-Martínez, M., Jiménez-Estrada, M., Macias-Ruvalcaba, N. A., Lotina-Hennsen, B. (1996). Electrochemical properties of the herbicide cacalol and its derivatives on protic and aprotic solvents by using cyclic voltammetry. Correlation with Hill's Reaction Activities. *J. Agric. Food Chem.* **44**: 290-295.

Anaya, A. L., Calera, M. R., Mata, R., Pereda-Miranda, R. (1990). Allelopathic potential of compounds isolated from *Ipomoea tricolor* Cav. (Convolvulaceae). *J. Chem. Ecol.* **7**: 2145-2152.

Argueta, A. V., Cano, L. M., Rodarte, M. E. (1994). Prodigiosa. En: Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Vol. 2. Instituto Nacional Indigenista, México. Pp 1188.

Bandara, B. M., Hewage, M., Karunaratne, V. (1991). An antifungal chromenes from *Eupatorium riparium*. *Phytochemistry* **31**: 1983-1985.

Bohlmann, F., Suwita, A. (1978). Neue phloroglucin-derivate aus *Leontonyx*-arten sowie weitere verbindungen aus vertretern der tribus inulaea. *Phytochemistry* **17**: 1929-1934.

Bowers, W. S. y Martínez-Pardo, R. (1977). Antiallatotropins: Inhibition of *Corpus Allatum* Development. *Science* **30**: 1369-1371.

Brown, G. D. (1994). Phenylpropanoids and other secondary metabolites from *Baccharis linearis*. *Phytochemistry* **35**: 1037-1042.

Castañeda, P., Gómez, L., Mata, R. (1996). Phytogrowth-Inhibitory and antifungal constituents of *Helianthella quinquenervis*. *J. Nat. Prod.* **59**: 323-326.

Castañeda-Lopez, P. C. (1998). Potencialidad herbicida de los cromenos y benzofuranos mayoritarios aislados de *Helianthella quinquenervis* (Hook.) A. Gray (Asteraceae). Tesis de Doctorado. Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

Calera, M. R., Soto, F., Sánchez, P., Bye, R., Hernández-Bautista, B., Anaya, A. L., Lotina-Hennsen, B., Mata, R. (1995). Biochemically active sesquiterpene lactones from *Ratibida mexicana*. *Phytochemistry* **40**: 419-425.

Cobb, A. H. y Kirkwood, R. C. (2006). Challenges for herbicide development. En: Herbicides and their mechanisms of action. ACS: 3-21.

Cole, D., Pallett, Ek., Rodgers, M. (2000). Discovering new modes of action for herbicides and the impact of genomics. *Pesticide Outlook*: 223-229.

- Domínguez, X. A., Dahmi, S. E. y Rombold C. (1986). Hydroxyacetophenone derivatives from *Baccharis glutinosa*. *J. Nat. Prod.* **49**: 143-144.
- Duke, S. O., Kenyon, W. (1993). En Target assays for herbicides and related phytotoxic compounds. Börger, P. and Sandmann, G. (eds.) *CRC Press*: 61.
- Duke, S. O. y Abbas, H. K. (1995). Allelopathy organisms, processes and applications. Natural products with potential use as herbicides. En: Inderjit K. M. M. Dakshini y Einhellig F. A. ACS: 348-362.
- Duke, S. O., Dayan, F. E., Romagni, J. G., Rimando, A. M. (1999). Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. *Weed Research* **40**: 99-111.
- Duke, S. O., Dayan, F. E., Aliotta, G., Romagni, J. G. (2002). Chemicals from nature for weed management. *Weed Science* **50**: 138-151.
- Fang, N., Yu, S., Mabry, T. (1988). Chromenes from *Ageratina arsenii* and revised structures of two epimeric chromene dimmers. *Phytochemistry* **27**: 1902-1905.
- González, A. G., Aguiar, Z. E., Grillo, T. A., Luis, J. G., Rivera, A., Calle, J. (1991). Chromenes from *Ageratum conyzoides*. *Phytochemistry* **30**: 1137-1139.
- Heap, I. The international survey of herbicide resistant weeds. Online. Mayo, **2007**. Available www.weedscience.com
- Inderjit and Nilsen, Erik. T. (2003). Bioassays and Field Studies for Allelopathy in Terrestrial Plants: Progress and Problems. *Critical Reviews in Plant Sciences* **22**: 221-238
- Jiménez, A., Mata, R., Lotina-Hennsen, B., Anaya, A. (1998). Interference of 1,2,3,4-tetramethoxy-5-(2-propenyl)benzene with photosynthetic electron transport. *Z. Naturforsch* **53c**: 55-59.
- Kohli, R. K. Batish, D. R., Singh, H. P. (2006). Weeds and their management: Rational and approaches. In: Singh, H. P., Batish, D. R., y Kohli, R. K. (eds), Handbook of sustainable weed management. Food Products Press, Binghamton, NY: 1-19.
- Kulkarni, M. M., Nagasampagi, B. A., Deshpande, S. G., Sharma, R. N. (1987). Five Chromenes from *Blepharispermum subsessile*. *Phytochemistry* **26**: 2969-2971.
- Kunze, A., Müller, C., Proksch, P. (1995). Chemical variation and defense of *Encelia farinosa*. *Biochemical Systematics and Ecology* **23**: 355-363.
- Labbe, C., Roviroso, J., Faini, F., Mahu, M., San-Martin, A., Castillo, M. (1986). Secondary metabolites from Chilean *Baccharis* species. *J. Nat. Prod.* **49**: 517-518.

- Lotina-Hennsen, B., Bernal-Morales, E., Romo De Vivar, A., Pérez, A. I., Castro, A., Aguilar, M. (1992). Inhibition of oxygen evolution by zaluzanin C. *J. Chem. Ecol.* **18**: 1891-1900.
- Lotina-Hennsen, B., Mata, R., Calderón, J., Cxéspedes-Acuña, C., Jiménez-Estrada, M. (1998). Secondary metabolites from mexican plants: target and mechanism of action on photosynthesis. *Recent Res. Devel. In Agricultural & Food Chem.* **2**: 731-749.
- Macías, F. A., Castellano, D., Molinillo, J. M. (2000). Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals selection of standard target species. *J. Agric. Food Chem.* **48**: 2512-2521.
- Mata, R., Macias, M., Rojas, I., Lotina-Hennsen, B., Toscano, R., Anaya, A. (1998). Phytotoxic compounds from *Esenbeckia yaxhoob*. *Phytochemistry* **49**: 1086-1095.
- Mata, R., Rivero-Cruz, I., Rivero-Cruz, Blanca., Bye, R., Timmermann, B. (2002). Sesquiterpene lactones and phenylpropanoids from *Cosmos pringlei*. *J. Nat. Prod.* **65**: 1030-1032.
- Mata, R., Bye, R., Linares, E., Macias, M., Rivero-Cruz, I., Perez, O., Timmermann, B. (2003). Phytotoxic compounds from *Flourensia cernua*. *Phytochemistry* **64**: 285-291.
- Mendoza, J. L., Jiménez, M., Lotina-Hennsen, B. (1994). Piquerol a and diacetyl piquerol act as energy transfer inhibitors of photosynthesis. *Pesticide Science* **40**: 37-40.
- Mitsakos, A., Breuer, M., Budzikiewicz, H. and Proksch, P. (1986). Benzofuran derivatives from *Enceliopsis covillei*. *Phytochemistry* **25**: 2243-2244.
- Moreland, D. E., Novitzky, W. P. (1987). Effects of phenolic acids, coumarins and flavonoids on isolated chloroplasts and mitochondria. En: Allelochemicals: Role in agriculture and forestry. Waller g. r. (Editor). *ACS Symposium Series*, Washington. D. C.: 246-261.
- Nébié, R. H., Yaméogo, R. T., Bélanger, A., Sib, F. S. (2004). Composition chimique des huiles essentielles d'*Ageratum conyzoides* du Burkina Faso. *C. R. Chimie* **7**: 1019-1022.
- Ober, A. G., Urbatsch, L. E., Fischer, N. H. (1985). Guaianolides and chromenes from *Calea* species. *Phytochemistry* **24**: 795-799.
- Okunade, A. L. (2002). *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae). *Fitoterapia* **73**: 1-16.
- Pereda-Miranda, R., Mata, R., Anaya, A. L., Wickramaratne, D. B., Mihanda, D. B., Pezzuto, J. M., Kinghorn, A. D. (1993). Tricolorin A, major phyto-growth inhibitor from *Ipomoea tricolor*. *J. Nat. Prod.* **56**: 571-582.

- Perez-Vazquez, A., Reyes, A., Linares, E., Bye, R., Mata, R. (2005). Phytotoxic agents from *Hofmeisteria schaffneri*: Isolation and synthesis of 2'-(2"-hydroxy-4"-methylphenyl)-2'-oxoethyl acetate. *J. Nat. Prod.* **68**: 959-962.
- Proksch, P., Rodriguez, E. (1983). Chromenes and benzofurans of the Asteraceae, their chemistry and biological significances. *Phytochemistry* **22**: 2335-2348.
- Proksch, P., Isman, M. B., Witte, L., Hartmann, T. (1987). Metabolites of insecticidal chromenes from the migratory grasshopper *Melanoplus sanguinipes*. *Phytochemistry* **26**: 2227-2230.
- Rahalison, L., Hamburger, M., Monod, M., Frenk, E., Hosttetmann, K. (1994). An antifugal test in phytochemical investigations: Comparison of bioautographic methods using phytopathogenic fungi. *Planta Medica* **60**: 41-44.
- Ravel, P., Tissut, M., Douce, R. (1982). Uncoupling activities of chalcones and dihydrochalcones on isolated mitochondria from potato tubers and mung bean hypocotyls. *Phytochemistry* **21**: 2845-2850.
- Rimando, A. M., Duke, S. O., (2006). Natural products for pest management. En: Natural Products for Pest Management. A. G. Rimando y S. O. Duke (Eds.). *ACS Symposium Series* **927**. Washington, D. C.: 2-21.
- Rivero-Cruz, I. (1999). Compuestos bioactivos de *Cosmos pringlei* Rob. & Fern. (Asteraceae):determinacion de la configuracion de la configuracion absoluta del 8a,13-epoxi-labdano-14S,15-diol. Tesis de Maestría. Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Rivero-Cruz, I. (1996). Estudio químico y biológico de la planta medicinal *Xanthocephalum gymnospermoides* var *eradiatum* (Asteraceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Rodríguez-Lopez, V., Moreno-Escobar, J. A., Ávila-Torres, O., Tlahuext, H. (2006). 6-Acetyl-5-hidroxy-2,2-dimethyl-2H-chromene. *Acta Crystallographica* Section E. Structure Reports.
- Rojas, I. S., Lotina-Hennsen, B., Mata, R. (2000). Effect of lichen metabolites on thylakoid electron transport and photophosphorylation in isolated Spinach chloroplasts. *J. Nat. Prod.* **63**: 1396-1399.
- Romagni, J. G., Meazza, G., Nanayakkara, D. and Dayan, F. E. (2000). The phytotoxic lichen metabolite, usnic acid, is a potent inhibitor of plant p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. *FEBS Letters* **480**: 301-305.

- Siebertz, R., Proksch, P., Witte, L. (1989). Accumulation and biosynthesis of the chromenes precocene I and II in *Ageratum Houstonianum*. *Phytochemistry* **29**: 2135-2138.
- Singh, H. P., Batish, D. R., Kohli, R. K. (2003). Allelopathic interactions and allelochemicals: New possibilities for sustained weed management. *Critical Reviews in Plant Sciences* **22**: 239-311.
- Steinbeck, C., Spitzer, V., Starasta, M. y Von Poser G. (1997). Identification of two chromenes from *Calea serrata* by semiautomatic structure elucidation. *J. Nat. Prod.* **60**: 627-628.
- Stenlid, G. (1970). Flavonoids as inhibitors of the formation of adenosine triphosphate in plant mitochondria. *Phytochemistry* **9**: 2251-2256.
- Tissut, M., Chevallier, D., Douce, R. (1980). Effet de Différents polyphénols sur les mitochondries et les chloroplasts isolés. *Phytochemistry* **19**: 495-500.
- Valencia-Islas, N. A. (2000). Fitotoxinas de *Prionosciadium watsoni* (Umbelliferae) y *Maxilaria densa* (Orchidaceae). Tesis de Doctorado. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Van Klink, J. W., Brophy, J. J., Perry, N. B., Weavers, R. T. (1999). β – Triketones from Myrtaceae: Isoleptospermone from *Leptospermum scoparium* and Papuanone from *Corymbia dallachiana*. *J. Nat. Prod.* **62**: 487-489.
- Vyvyan, J. R. (2002). Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. *Tetrahedron* **58**: 163-1646.
- Zalkow, L. H., Ekpo, B. A., Gelbaum, L. T., Harris, R. N., Keinan, E., Novak, J. R., Ramming, C. T., Van Derveer, D. (1979). The benzofurans of *Isocoma wrightii*. Structure and Stereochemistry. *J. Nat. Prod.* **62**: 203-219.