



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE LOS
CONSTITUYENTES QUÍMICOS DE *Croton adspersus* (EUPHORBIACEAE)**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.F.B. ÁNGEL SAHID AGUILAR COLORADO

DR. EDUARDO GUILLERMO DELGADO LAMAS
INSTITUTO DE QUÍMICA

CIUDAD DE MÉXICO, JUNIO 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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

Presidente:	Dr. Leovigildo Quijano
Vocal:	M. en C. Emma Maldonado Jiménez
Vocal:	Dr. Francisco Javier Espinosa García
Vocal:	Dra. René Miranda Ruvalcaba
Secretario:	Dra. Martha Lydia Macías Rubalcava

LUGAR DE REALIZACIÓN Y DIRECCIÓN

Este trabajo de tesis se realizó en el Laboratorio 1, edificio C, del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Circuito Exterior, Coyoacán 04510, Ciudad de México. La asesoría estuvo a cargo del Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas.

Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas
Asesor

Q.F.B. Ángel Sahid Aguilar Colorado
Sustentante

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y su Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca 88587 otorgada para la obtención del grado de Maestro en Ciencias.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM, por el apoyo recibido a través del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (IG200318).

Al Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas, titular del Laboratorio 1C en Química de Productos Naturales del Instituto de Química, por su asesoría y apoyo durante el desarrollo de este proyecto.

Al Dr. Francisco Javier Espinosa García, adscrito al Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad (IIES), por proporcionar el material vegetal bajo estudio.

A los miembros del jurado Dr. L. Quijano, M. en C. E. Maldonado Jiménez, Dr. F. J. Espinosa García, Dr. R. Miranda Ruvalcaba y Dra. M. L. Macías Rubalcava por sus observaciones a esta tesis.

Al Instituto de Química (IQ) y su personal Química M. Á. Peña González, M. en C. E. Huerta Salazar, M. en C. H. Ríos Olivares, Dra. I. Chávez Uribe, M. en C. L. C. Márquez Alonso, Dra. M. C. García González, Dr. F. J. Pérez Flores y Q.F.B. M. R Patiño Maya por su asistencia técnica.

A M. León, M. Reyes y E. Tapia del Laboratorio Nacional de Ciencias para la Investigación y Conservación del Patrimonio Cultural LANCIC-IQ-UNAM a través de los proyectos financiados CONACYT (LN 232619, LN 260779, LN 279740, LN 293904, LN 271614 y LN 293904) por su asistencia técnica.

Al personal del Laboratorio Universitario de Resonancia Magnética Nuclear LURMN-IQ-UNAM, Dra. N. Esturau Escofet y Dra. B. Quiroz García por su asistencia técnica.

A mis compañeros del Laboratorio 1C por su amistad y consejos durante mi estadía.

A mis amigos y mi familia por su constante apoyo.

DEDICATORIA

A mis padres.

A mi hermano.

A mis abuelos.

A mi novia.

INDICE GENERAL

JURADO	IV
LUGAR DE REALIZACIÓN Y DIRECCIÓN	IV
AGRADECIMIENTOS	V
DEDICATORIA	VI
INDICE GENERAL	VII
LISTA DE TABLAS	X
LISTA DE ILUSTRACIONES	X
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE DIAGRAMAS	X
ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	XI
ABSTRACT	XII
RESUMEN	XIII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Generalidades de la familia Euphorbiaceae	3
2.1.1 El género <i>Croton</i>	3
2.1.1.1 Actividad insecticida de algunas especies del género	9
2.2 Generalidades de <i>C. adspersus</i>	11
3. JUSTIFICACIÓN	13
4. HIPÓTESIS	13
5. OBJETIVOS	13
5.1 Objetivo general	13
5.2 Objetivos específicos	13
6. MATERIALES Y MÉTODOS	14
6.1 Procedimientos generales	14
6.1.1 Métodos cromatográficos	14
6.1.2 Determinación del punto de fusión	14
6.1.3 Análisis quirópticos	14
6.1.4 Análisis espectrométricos	14
6.1.5 Análisis espectroscópicos	15
6.2 Estudio químico de <i>C. adspersus</i> Benth.	15
6.2.1 Obtención del material vegetal	15
6.2.2 Preparación de los extractos	15
6.2.3 Fraccionamiento primario	16
6.2.4 Aislamiento de los compuestos encontrados	17
6.2.4.1 Compuestos con cadenas hidrocarbonadas saturadas (47, 48, 49)	20
6.2.4.2 Óxido de β -cariofileno (10)	21

6.2.4.3 3- <i>O</i> -Éster del ácido oleanólico (50)	21
6.2.4.4 Mezcla de β -sitosterol (51) y estigmasterol (52).....	22
6.2.4.5 Sitostenona (53)	22
6.2.4.6 3- <i>O</i> -Éster del β -sitosterol (54)	23
6.2.4.7 Fitol (55).....	24
6.2.4.8 Luteína (56)	24
6.2.4.8 (-)-Quebraquitol (36).....	25
6.3 Análisis mediante CG-MS de algunas fracciones primarias de <i>C. adspersus</i>	26
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
7.1 Elucidación estructural de los compuestos aislados	30
7.1.1 Compuestos con cadenas hidrocarbonadas saturadas (47, 48, 49).....	30
7.1.2 Óxido de β -cariofileno (10)	31
7.1.3 3- <i>O</i> -Éster del ácido oleanólico (50)	33
7.1.4 β -Sitosterol (51) y estigmasterol (52).....	36
7.1.5 Sitostenona (53)	36
7.1.6 3- <i>O</i> -Éster del β -sitosterol (54)	37
7.1.7 Fitol (55).....	39
7.1.8 Luteína (56)	40
7.1.9 (-)-Quebraquitol (36).....	41
8. CONCLUSIONES.....	43
9. REFERENCIAS	44
10. ANEXOS	52
Anexo 10.1 Especies vegetales perteneciente a la sección Adenophylli Griseb.....	52
Anexo 10.2. Espectros de los compuestos aislados	54
Anexo 10.2.1 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de <i>n</i> -alcano (47).....	54
Anexo 10.2.2 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de <i>n</i> -alcano (47).....	55
Anexo 10.2.3 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de ácido graso (48).	56
Anexo 10.2.4 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de ácido graso (48).	57
Anexo 10.2.5 RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de alcohol graso (49).	58
Anexo 10.2.6 RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de alcohol graso (49).	59
Anexo 10.2.7 RMN ^1H (700 MHz, CDCl_3) de óxido de β -cariofileno (10).....	60
Anexo 10.2.8 RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) de óxido de β -cariofileno (10).....	61
Anexo 10.2.9 HSQC (175 MHz, CDCl_3) de óxido de β -cariofileno (10).	62
Anexo 10.2.10 RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de 3- <i>O</i> -éster del ácido oleanólico (50).....	63
Anexo 10.2.11 RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de 3- <i>O</i> -éster del ácido oleanólico (50).....	64
Anexo 10.2.12 RMN DEPT 90 (300 MHz, CDCl_3) de 3- <i>O</i> -éster del ácido oleanólico (50).....	65
Anexo 10.2.13 RMN DEPT 135 (300 MHz, CDCl_3) de 3- <i>O</i> -éster del ácido oleanólico (50).....	66
Anexo 10.2.14 HSQC (300 MHz, CDCl_3) de 3- <i>O</i> -éster del ácido oleanólico (50).	67
Anexo 10.2.15 HMBC (300 MHz, CDCl_3) de 3- <i>O</i> -éster del ácido oleanólico (50).	68
Anexo 10.2.16 RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de β -sitosterol (51) y estigmasterol (52).	69
Anexo 10.2.17 RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de β -sitosterol (51) y estigmasterol (52).	70

Anexo 10.2.18 RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de sitostenona (53).....	71
Anexo 10.2.19 RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de sitostenona (53).....	72
Anexo 10.2.20 EM/IE de la sitostenona (53).	73
Anexo 10.2.21 RMN ¹ H (700 MHz, CDCl ₃) de 3- <i>O</i> -éster del β-sitosterol (54).....	74
Anexo 10.2.22 RMN ¹³ C (175 MHz, CDCl ₃) de 3- <i>O</i> -éster del β-sitosterol (54).....	75
Anexo 10.2.23 HSQC (700 MHz, CDCl ₃) de 3- <i>O</i> -éster del β-sitosterol (54).	76
Anexo 10.2.24 RMN ¹ H (700 MHz, CDCl ₃) de fitol (55).....	77
Anexo 10.2.25 RMN ¹³ C (175 MHz, CDCl ₃) de fitol (55).....	78
Anexo 10.2.26 HSQC (700 MHz, CDCl ₃) de fitol (55).	79
Anexo 10.2.27 RMN ¹ H (700 MHz, CDCl ₃) de luteína (56).....	80
Anexo 10.2.28 RMN ¹³ C (175 MHz, CDCl ₃) de luteína (56).....	81
Anexo 10.2.29 EM/ESI+ de la luteína (56).	82
Anexo 10.2.30 RMN ¹ H (700 MHz, CD ₃ OD) de (-)-quebraquitol (36).....	83
Anexo 10.2.31 RMN ¹³ C (175 MHz, CD ₃ OD) de (-)-quebraquitol (36).....	84
Anexo 10.2.32 HSQC (700 MHz, CD ₃ OD) de (-)-quebraquitol (36).	85
Anexo 10.2.33 EM/ESI+ del (-)-quebraquitol (36).....	86
Anexo 10.3 Identificación mediante CG-EM de compuestos de <i>C. adpersus</i>	87
Anexo 10.3.1 Identificación de α-Bisabolol (59) en la fracción CaII-5.....	87
Anexo 10.3.2 Identificación de α- (19) y β- (20) amirina en la fracción CaII-7.	88
Anexo 10.3.3 Identificación de sitostenona (53) en la fracción CaII-6.....	89
Anexo 10.3.4 Identificación de sitostenona (53) en la fracción CaII-7.....	90
Anexo 10.3.5 Identificación de campesterol (60) en la fracción CaII-9.	91
Anexo 10.3.6 Identificación de β-sitosterol (51) en la fracción CaII-9.....	92
Anexo 10.3.7 Identificación de ácido decanoico (57) en la fracción CaII-11.	93
Anexo 10.3.8 Identificación de ácido hexadecanoico (58) en la fracción CaII-11.	94

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Núcleos estructurales más comunes de diterpenos en el género <i>Croton</i>	4
Tabla 2. Compuestos aislados de algunas especies de la sección <i>Adenophylli</i> Griseb.	5
Tabla 3. Compuestos insecticidas aislados del género <i>Croton</i>	10
Tabla 4. Fraccionamiento primario del extracto CaI de <i>C. adspersus</i>	16
Tabla 5. Fraccionamiento primario del extracto CaII de <i>C. adspersus</i>	17
Tabla 6. Rendimiento de los compuestos aislados del extracto total de <i>C. adspersus</i>	27
Tabla 7. Compuestos identificados mediante CG-EM en las fracciones primarias de <i>C. adspersus</i>	28
Tabla 8. Datos de RMN ¹ H y ¹³ C del óxido de β-cariofileno (10).	32
Tabla 9. Desplazamientos químicos de ¹³ C de 3- <i>O</i> -ésteres de triterpeno.	35
Tabla 10. Desplazamientos químicos de ¹³ C de 3- <i>O</i> -ésteres del β-sitosterol.....	38

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Distribución de <i>C. adspersus</i>	11
Ilustración 2. Fenología foliar de <i>C. adspersus</i>	12

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Compuestos con cadenas hidrocarbonadas saturadas aislados (47, 48, 49).	30
Figura 2. Óxido de β-cariofileno (10).....	31
Figura 3. 3- <i>O</i> -Éster del ácido oleanólico (50).....	33
Figura 4. Ácido ursólico (61) y ácido maslínico (62).....	34
Figura 5. Representación de algunas correlaciones HMBC del 3- <i>O</i> -éster del ácido oleanólico (50).....	34
Figura 6. β-Sitosterol (51) y estigmasterol (52).	36
Figura 7. Sitostenona (53).....	37
Figura 8. 3- <i>O</i> -Éster del β-sitosterol (54).....	38
Figura 9. Fitol (55).	39
Figura 10. Luteína (56).	40
Figura 11. (-)-Quebraquitol (36).	41
Figura 12. Biosíntesis de (-)-quebraquitol (36).....	42

LISTA DE DIAGRAMAS

Diagrama 1. Compuestos aislados del follaje de verano de <i>C. adspersus</i> recolectado en el año 2017.	18
Diagrama 2. Compuestos aislados del follaje de verano de <i>C. adspersus</i> recolectado en el año 2019.	19

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

- J*: Constante de acomplamiento en Hz.
°C: Grado Celsius.
AcOEt: Acetato de etilo.
c: Señal cuádruple.
C₅D₅N: Piridina deuterada.
CCA: Cromatografía en columna abierta.
CCF: Cromatografía en capa fina.
CCFP: Cromatografía en capa fina preparativa.
CCPR: Cromatografía en columna a presión reducida.
CCR: Cromatografía en columna rápida.
CD₃OD: Metanol deuterado.
CDCl₃: Cloroformo deuterado.
CG: Cromatografía de gases.
CHCl₃: Cloroformo.
cm: Centímetros.
d: Señal doble.
DCM: Diclorometano.
dd: Señal doble de dobles.
ddd: Señal doble de doble de dobles.
dddd: Señal doble de doble de doble de dobles.
ddt: Señal doble de doble de triples.
DEPT: Aumento sin distorsión por transferencia de polarización (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*).
dm: Decímetro.
dt: Señal doble de triples.
EC: Número de la Comisión Enzimática (*Enzyme Commission*).
EM: Espectrometría de masas.
ESI: Ionización por electronebulización (*Electrospray Ionization*) en modo positivo (+) o negativo (-).
eV: Electronvolts.
g: Gramos.
h: Horas
HMBC: Correlación heteronuclear a múltiples enlaces (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*).
HSQC: Correlación heteronuclear cuántica sencilla (*Heteronuclear Single Quantum Correlation*).
Hz: Hertz.
IE: Ionización electrónica (*Electron Ionization*).
IIES: Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad.
Kg: Kilogramo.
m.s.n.m.: Metros sobre el nivel del mar.
m/z: Relación masa/carga.
m: Señal múltiple.
M^{+•}: Ion molecular.
MeOH: Metanol.
mg: Miligramo.
min: Minutos.
mL: Mililitro.
NIST: Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (*National Institute of Standards and Technology*).
nm: Nanómetro.
p/v: Relación peso sobre volumen.
PM: Peso molecular.
ppm: Partes por millón.
quint: Señal quintuple.
Rf: Relación de frentes.
RMN ¹³C: Resonancia magnética nuclear de carbono-13.
RMN ¹H: Resonancia magnética nuclear de hidrógeno-1.
s: Señal simple.
sa: Señal ancha.
t: Señal triple.
tdd: Señal triple de doble de dobles.
t_R: Tiempo de retención en minutos.
tt: Señal triple de triples.
tt: Triple de triples.
UV: Ultravioleta.
 δ : Desplazamiento químico en ppm.
 λ : Longitud de onda en cm⁻¹.

ABSTRACT

The characterization of natural products is a continuous effort that has benefited various branches of science, particularly ecology, medicine, and agronomy, where properties such as their wide structural diversity and low persistence in the environment are usable characteristics. In this research, the interest in exploring the chemical composition of *Croton adspersus*, a shrub distributed from Mexico to Guatemala, arose from the history of the euphorbiaceae family of biosynthesizing secondary metabolites of biomedical interest, at the same time as bioprospecting studies indicate that plant extract is harmful to pests *Sitophilus zeamais* or corn weevil and *Spodoptera frugiperda* or black caterpillar. The objective of this project was to isolate and structurally characterize some of the components of its extract, whose biological properties can subsequently be weighed. It was determined that the extract in dichloromethane-methanol of its aerial parts, collected during the rainy season, contains *n*-alkanes, acids and fatty alcohols with saturated hydrocarbon chains of variable size, primary metabolites that usually cover the leaves of the plants to protect them. Likewise, caryophyllene oxide, phytol, β -sitosterol, stigmasterol, a 3-*O*-ester of β -sitosterol, sitostenone, a 3-*O*-ester of oleanolic acid, lutein and (-)-quebraquitol were characterized. In addition, decanoic acid, hexadecanoic acid, α -bisabolol, campesterol, α - and β -amirin were identified. The isolated compounds contribute to the chemical knowledge of a species of Mexican flora. To deepen its chemical-biological study, it will be necessary to overcome the inconvenience of the low amount of its chemical constituents, so that they can be evaluated through tests that allow us to know their biological properties and the role they play in nature.

RESUMEN

La caracterización de productos naturales es un esfuerzo continuo que ha beneficiado a varias ramas de la ciencia, particularmente la ecología, la medicina y la agronomía, donde propiedades como su amplia diversidad estructural y baja persistencia en el ambiente son características aprovechables. En esta investigación, el interés por explorar la composición química de *Croton adspersus*, un arbusto distribuido desde México a Guatemala, surgió de los antecedentes que posee la familia *Euphorbiaceae* de biosintetizar metabolitos secundarios de interés biomédico, al mismo tiempo que estudios de bioprospección indican que el extracto de la planta es nocivo para las plagas *Sitophilus zeamais* o gorgojo del maíz y *Spodoptera frugiperda* u oruga negra. El objetivo de este proyecto fue aislar y caracterizar estructuralmente algunos de los componentes de su extracto, cuyas propiedades biológicas puedan posteriormente ponderarse. Se determinó que el extracto en diclorometano-metanol de sus partes aéreas, recolectadas durante la época de lluvias, contiene *n*-alcanos, ácidos y alcoholes grasos con cadenas hidrocarbonadas saturadas de tamaño variable, metabolitos primarios que suelen recubrir las hojas de las plantas para protegerlas. Asimismo, fueron caracterizados el óxido de β -cariofileno, fitol, β -sitosterol, estigmasterol, un 3-*O*-éster del β -sitosterol, sitostenona, un 3-*O*-éster del ácido oleanólico, luteína y (-)-quebraquitol. En adición, se identificó el ácido decanoico, ácido hexadecanoico, α -bisabolol, campesterol, α - y β -amirina. Los compuestos aislados contribuyen al conocimiento químico de una especie de la flora mexicana. Para profundizar en su estudio químico-biológico será necesario superar el inconveniente que representa el bajo rendimiento de sus constituyentes químicos, a fin de que los mismos puedan evaluarse mediante ensayos que permitan conocer sus propiedades biológicas y el papel que desempeñan en la naturaleza.

1. INTRODUCCIÓN

Décadas de investigación en química orgánica han dado lugar a un acervo significativo de moléculas, diferenciadas según su origen en dos tipos: las encontradas en la naturaleza y las sintetizadas por el hombre. En lo que concierne a los compuestos de origen natural, también llamados productos naturales, se considera que son resultado del metabolismo de los seres vivos y tradicionalmente se denominan metabolitos primarios, cuando son macromoléculas esenciales para la vida (crecimiento y reproducción), o secundarios, si son de bajo peso molecular, su función se considera de supervivencia, juegan un rol importante en la interacción de los organismos con su entorno y son de distribución taxonómica restringida. En las plantas los metabolitos secundarios participan en fenómenos de alelopatía, atracción de polinizadores, protección contra la luz ultravioleta (UV), mecanismos de defensa contra patógenos y otras funciones.^{1,2}

Los metabolitos secundarios poseen una amplia variedad de propiedades físicas, químicas y biológicas, consecuencia de los procesos evolutivos que los han diversificado a lo largo del árbol filogenético.² Su abanico de propiedades les ha significado aplicaciones en diversas áreas, avances que han transformado el descubrimiento de nuevas entidades químicas en un esfuerzo continuo; especialmente en el sector agrícola y de la salud, donde su elevada y compleja diversidad estructural, acompañada de una baja persistencia en el ambiente, los hacen especialmente útiles, aunque en años más recientes domine la síntesis de análogos.³ Se estima que cerca del 56 % de las moléculas aprobadas como principios activos en medicina y el 40 % de las entidades químicas en ensayos clínicos, particularmente en el caso de compuestos anticancerígenos y antifectivos, son productos naturales o derivados de los mismos.^{4,5} En lo que concierne a su impacto en el desarrollo de plaguicidas, aproximadamente el 38 % de los principios activos registrados como plaguicidas convencionales y bioplaguicidas eran metabolitos secundarios o formulaciones con partes de plantas, aceites esenciales o extractos.⁶

El reino vegetal es una fuente de metabolitos secundarios aún por estudiar, ya que solo de un número reducido de especies se tiene información químico-biológica. Se considera que en el planeta Tierra hay 224 244 especies de plantas terrestres y acuáticas, pero hasta estimaciones de 1998 solo cerca del 6.20 % poseían algún reporte de actividad biológica y del 16.50 % se conocía al menos en cierto grado su composición química.^{7,8} Las predicciones sobre las especies que aún faltan por registrarse extienden el valor a 314 600 especies en la Tierra, aunque dada la extinción de las plantas a un ritmo cada vez más alto es posible que algunas nunca lleguen a conocerse.^{8,9} Descubrir productos naturales bioactivos a partir de una diversidad tan vasta ha requerido

estrategias de selección, estos criterios son el etnobotánico, aleatorio, taxonómico, quimiotaxonómico, ecológico y el enfoque gestionado por la información, este último consiste en la selección de especies vegetales con actividad biológica comprobada que según su información quimiotaxonómica sean una fuente prometedora de moléculas novedosas. Cabe señalar que para el desarrollo de medicamentos el criterio etnofarmacológico es uno de los más empleados y exitosos.^{10,11}

El aprovechamiento sostenible de la biodiversidad o bioprospección puede adaptarse a diversos enfoques y en lo que concierne a la búsqueda de metabolitos secundarios de plantas se enfoca en el estudio de aquellas especies vegetales no exploradas o que se han mostrado como una fuente prometedora según los criterios de selección.¹² En consecuencia, el objetivo de esta investigación fue aislar y caracterizar estructuralmente los componentes de un extracto de *C. adspersus*, arbusto distribuido en el territorio mexicano cuya composición química de las partes aéreas es poco conocida y de interés en describirse por su presumible actividad citotóxica y antiinflamatoria, dados los antecedentes quimiotaxonómicos de la familia Euphorbiaceae, e insecticida por las observaciones en campo que llevaron a establecer su efecto *in vivo* sobre plagas del maíz.¹³

2. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades de la familia Euphorbiaceae

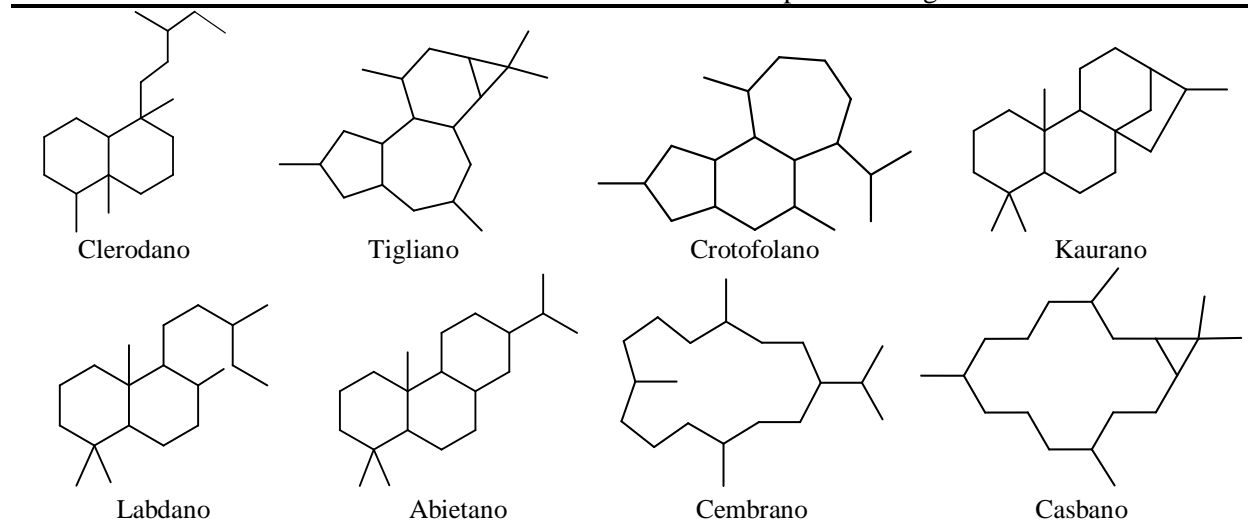
La familia Euphorbiaceae consta actualmente de 3 372 especies distribuidas en todo el mundo, a excepción de las zonas polares, que de acuerdo con la clasificación tradicional de Webster^{14,15} se dividen en 5 subfamilias, 49 tribus, 317 géneros y 40 secciones.¹⁶ No obstante, debido a evidencias moleculares recientes Euphorbiaceae *sensu lato* se fragmentó en cuatro familias: Euphorbiaceae *sensu stricto*, Phyllanthaceae, Picrodendraceae y Putranjivaceae.^{17,18} En México Euphorbiaceae *s. l.* es la quinta familia más diversa de plantas vasculares y destaca por su presencia en los estados de Oaxaca, Chiapas y Veracruz.¹⁹ Además, de las encontradas en el país el 55.52 % son endémicas, sobresalen *Euphorbia pulcherrima* o noche buena, una planta de ornato; *Euphorbia antisyphilitica* o candelilla, fuente importante de cera vegetal y *Croton niveus*, una especie maderable.^{20,21} Modificaciones más recientes acotaron la familia Euphorbiaceae *s. s.* a las subfamilias Euphorbioideae, Acalyphoideae, Crotonoideae, Peroideae y Cheilosoideae.²² No obstante, la clasificación taxonómica de la familia continua en discusión.

2.1.1 El género *Croton*

Croton es un extenso género de la familia *Euphorbiaceae*, conformado por 1226 especies, clasificado en la subfamilia Crotonoideae y tribu Crotoneae.²³ Se encuentran principalmente en las regiones neo y afrotropicales.²⁴ Muchas de sus especies son aromáticas y de varias se extraen aceites esenciales, algunas están registradas como venenosas y otras, o las mismas en dosis distintas, son de aplicación etnomedicinal.²⁵ Sus usos en la medicina tradicional de África, Asia y América del Sur incluyen el tratamiento del cáncer, estreñimiento, diabetes, problemas digestivos, disentería, heridas externas, fiebre, hipercolesterolemia, hipertensión, inflamación, gusanos intestinales, malaria, dolor, úlceras y para perder de peso. Entre los constituyentes químicos característicos de *Croton* están los terpenos, en especial diterpenos de esqueleto tipo clerodano, tigliano, kaurano, crotofolano, labdano, cembrano, abietano y casbano; en menor medida triterpenos pentacíclicos y esteroides (véase Tabla 1). También se han aislado alcaloides, una gran variedad de glicósidos y compuestos fenólicos como flavonoides, lignanos y proantocianidinas. Sus aceites esenciales contienen monoterpenos, sesquiterpenos y a veces derivados del ácido shikímico. Desde el punto de vista etnomedicinal los alcaloides, como en el caso del látex de *Croton draco* o “sangre de dragón”, juegan un papel importante en los efectos observados. Respecto a su actividad biológica, que en ocasiones correlaciona con el uso etnobotánico, suelen ser citotóxicos, antiinflamatorios, antihipertensivos, antimicrobianos, antioxidantes, antiulcerosos,

antiespasmódicos, miorelajantes e insecticidas. De forma puntual hay inhibidores de la acetilcolinesterasa, promotores del crecimiento de la neurita, inhibidores de la angiogénesis, estimulantes de la diferenciación de osteoblastos e inhibidores de la diferenciación de linfocitos T.²⁶⁻²⁸

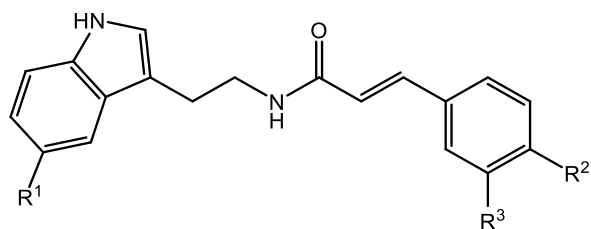
Tabla 1. Núcleos estructurales más comunes de diterpenos en el género *Croton*.



La información filogenética más reciente nos permite conocer a las especies más emparentadas con *C. adspersus*, estas serían las 223 con las que conforma la sección *Adenophylli* Griseb, anteriormente llamada *Cascarilla*, y cuyo origen parece restringirse a América.^{14,29-31} En la Tabla 2 se muestran algunos de los metabolitos secundarios que se han aislado de especies de la sección (véase Anexo 10.1). Las familias de productos naturales más reportados en especies de la sección son alcaloides con núcleos indólicos (1-5) y aporfínicos (6, 7), también de tipo morfínandienona (8) y otros bencilisoquinolínicos (9).^{32,33} Además de sesquiterpenos (10), diterpenos de tipo clerodano (11-13), tigliano (14), kaurano (15), abietano (16), printziano (17) y triterpenos (18-20), péptidos, flavonoides (21-24), antraquinonas (25, 26), chalconas (27, 28), derivados del ácido benzoico (29-32), fenilpropanoides (33-35) e inositoles (36-38).³⁴⁻³⁹ Asimismo, ácidos grasos insaturados (39-42).⁴⁰ En lo que respecta a la actividad biológica de los compuestos informados encontramos investigaciones sobre la carcinogénesis provocada por derivados del forbol, la actividad citotóxica contra líneas de cáncer humano por amidas derivadas del ácido hidroxicinámico y glicósidos de tipo pregnano que favorecen la agregación plaquetaria.⁴¹⁻⁴³ Además, de algunas especies se han identificado compuestos en sus extractos y aceites esenciales mediante análisis con sistemas acoplados de cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG-EM), por ejemplo, de *Croton bonplandianus* y *C. rhamnifolioides*, respectivamente.^{44,45} En general, el conocimiento químico-biológico de la sección es congruente con el del género.

Tabla 2. Compuestos aislados de algunas especies de la sección Adenophylli Griseb.

Alcaloides



1 R¹=OH R²=OH R³=OCH₃

2 R¹=H R²=OH R³=H

3 R¹=OH R²=OH R³=H

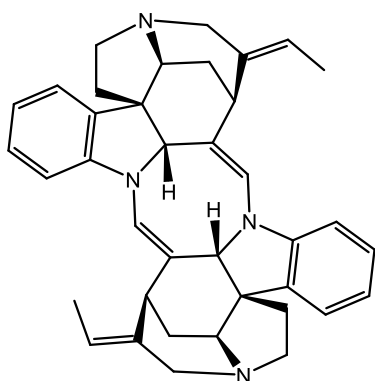
4 R¹=OH R²=OCH₃ R³=H

Moschamina.

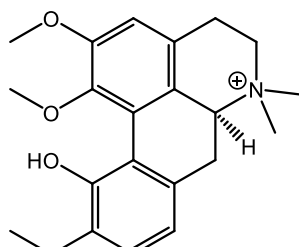
N-trans-p-Cumaroil-triptamina

N-trans-p-Cumaroil-5-hidroxitriptamina

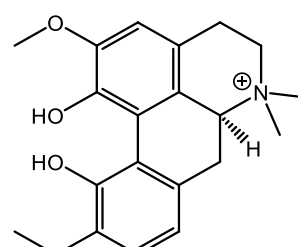
N-trans-4-Metoxi-cinamoil-5-hidroxitriptamina



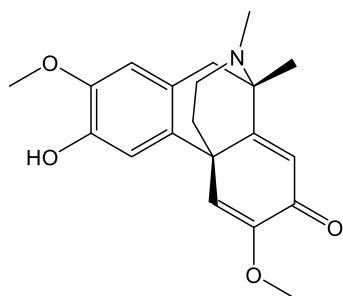
5 Bisnordihidrotoxiciferina



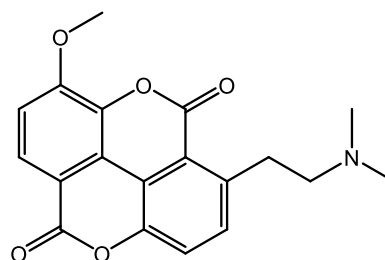
6 (+)-Menisperina



7 Magnoflorina

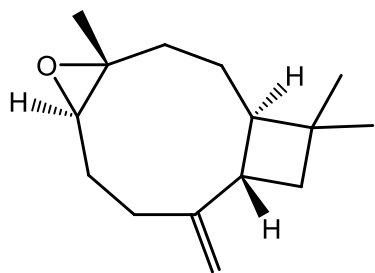


8 Flavianantina

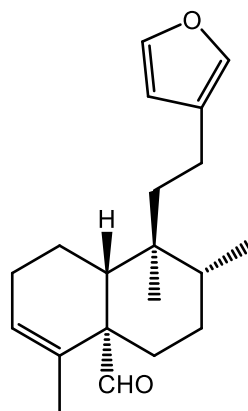


9 Taspina

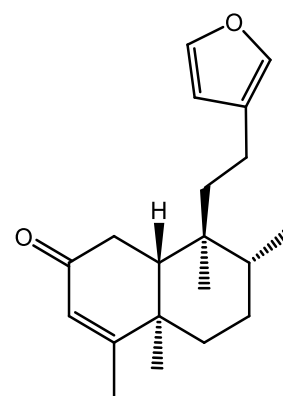
Sesquiterpenos y diterpenos



10 Óxido de β-cariofileno

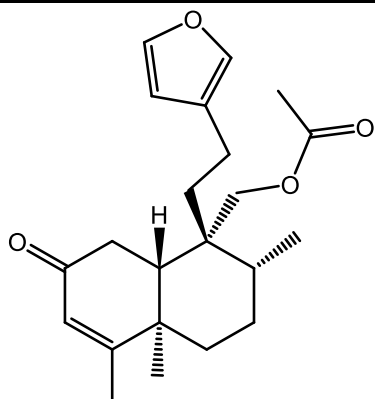


11 Hoffmanniaaldehído

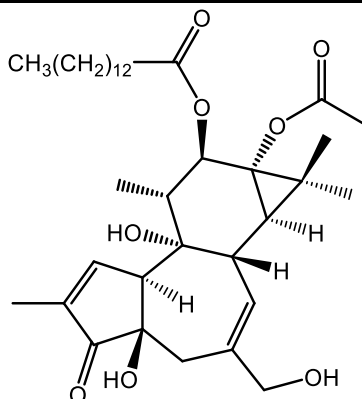


12 Velamona

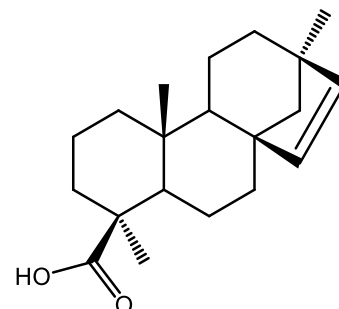
Tabla 2. Compuestos aislados de algunas especies de la sección Adenophylli Griseb (continuación).



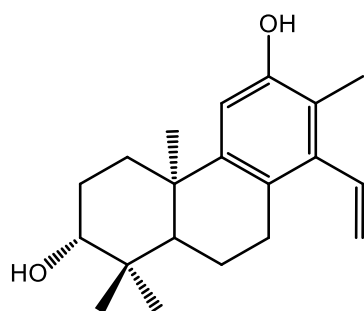
13 Acetato de velamolona



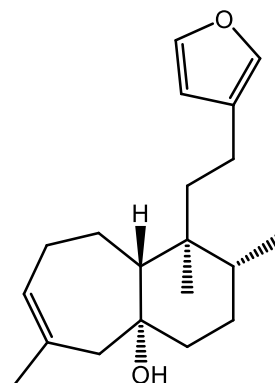
14 Acetato de tetradecanoilforbol



15 Ácido monoginóico

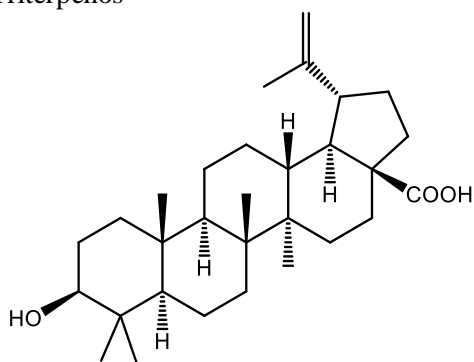


16 Espruceanol

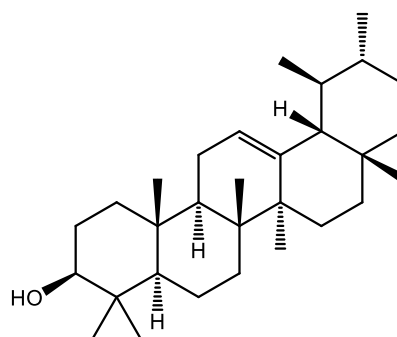


17 5,10-Dihidro-5 α -hidroxi-10 β H-printziano

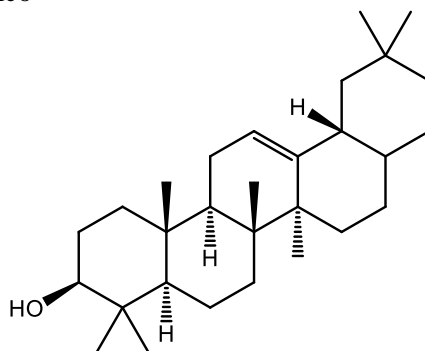
▪ Triterpenos



18 Ácido betulínico



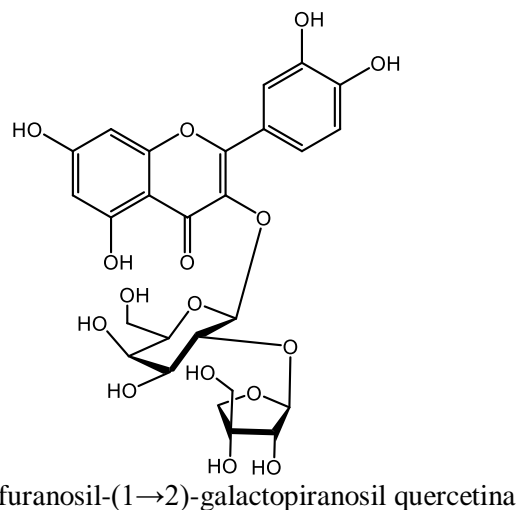
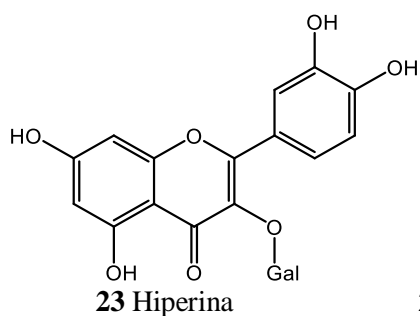
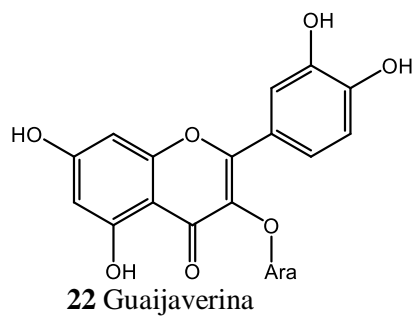
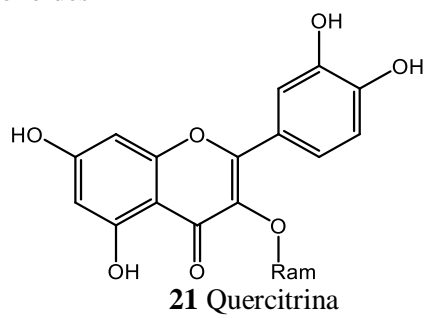
19 α -Amirina



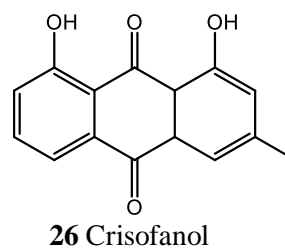
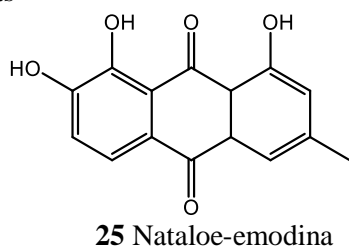
20 β -Amirina

Tabla 2. Compuestos aislados de algunas especies de la sección Adenophylli Griseb (continuación).

▪ Flavonoides



▪ Antraquinonas



▪ Chalconas

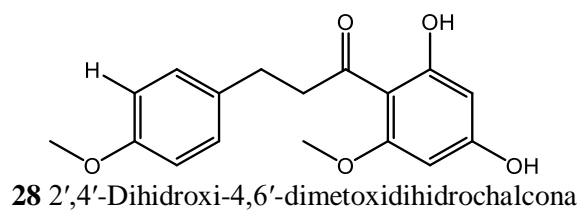
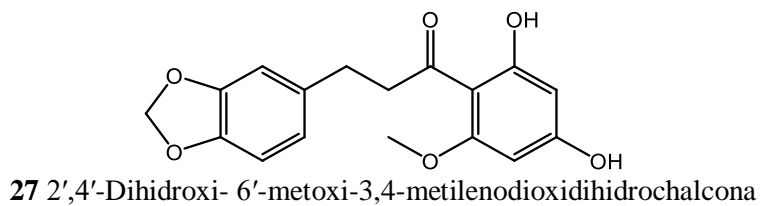
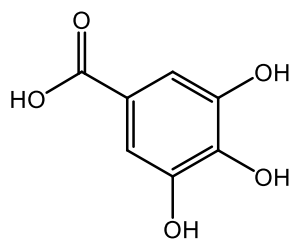
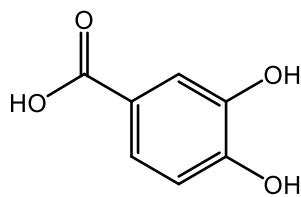


Tabla 2. Compuestos aislados de algunas especies de la sección Adenophylli Griseb (continuación).

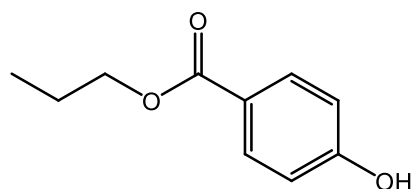
▪ Derivados del ácido benzoico



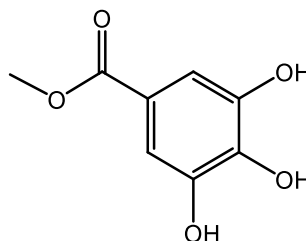
29 Ácido gálico



30 Ácido 3,4-dihidroxibenzoico

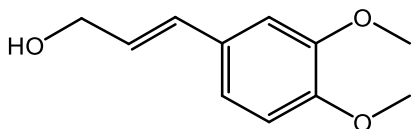


31 *n*-Propilparabeno

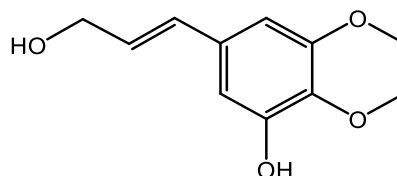


32 Galato de metilo

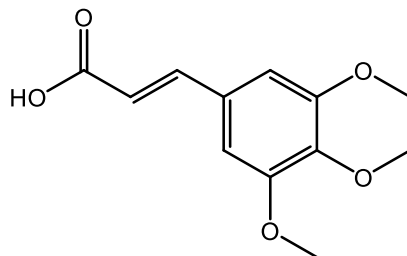
▪ Fenilpropanoides



33 (*E*)-3-(3,4-Dimetoxifenil)prop-2-en-1-ol

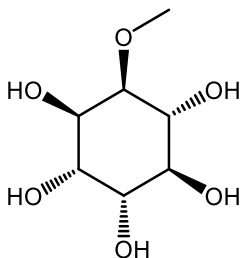


34 (*E*)-5-(3-Hidroxi-prop-1-en-1-il)-2,3-dimetoxifenol

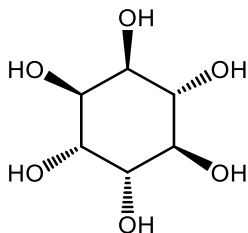


35 Ácido 3,4,5-trimetoxicinámico

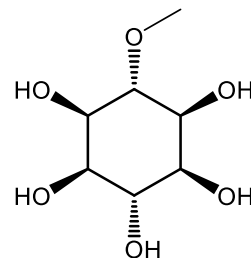
▪ Inositoles



36 (-)-Quebraquitol

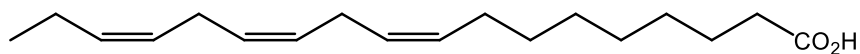


37 L(-)-*chiro*-Inositol



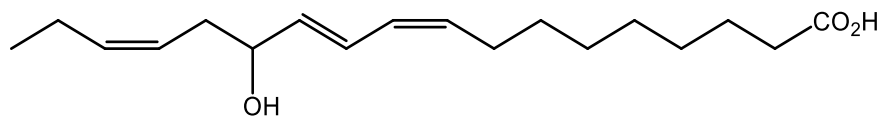
38 Esparsifol

▪ Ácidos grasos insaturados

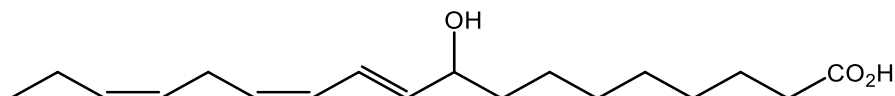


39 Ácido linolénico

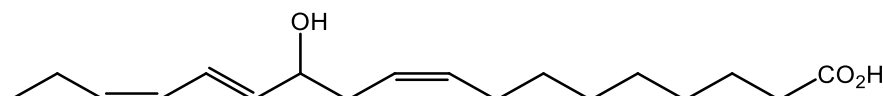
Tabla 2. Compuestos aislados de algunas especies de la sección Adenophylli Griseb (continuación).



40 Ácido (9Z,11E,15Z)-13-hidroxiocetadeca-9,11,15-trienoico



41 Ácido (10E,12Z,15Z)-9-hidroxiocetadeca-10,12,15-trienoico



42 Ácido (9Z,13E,15Z)-12-hidroxiocetadeca-9,13,15-trienoico

Abreviaturas: Ara: arabinosa, Gal: galactosa, Ram: ramnosa.

Los compuestos fueron aislados de:

Croton alnifolius por Aponte *et al.*⁴⁶ (5, 14, 15, 18, 25, 26, 27, 28).

Croton campestris por Santos *et al.*⁴⁷ (21, 22, 23, 24).

Croton ciliatoglandulifer por Rios *et al.*³⁸ (19, 20).

Croton cortesianus por Siems *et al.*³⁴ (10, 11, 17, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42).

Croton echioides por Novello *et al.*⁴³ (2, 3, 4).

Croton heliotropifolius por Queiroz *et al.*³³ (1, 6, 9, 12, 13, 16, 31).

Croton ruizianus por Piacente *et al.*⁴² (8).

Croton xalapensis por Arevalo *et al.*³⁹ (7, 29, 30, 32, 33, 34, 35).

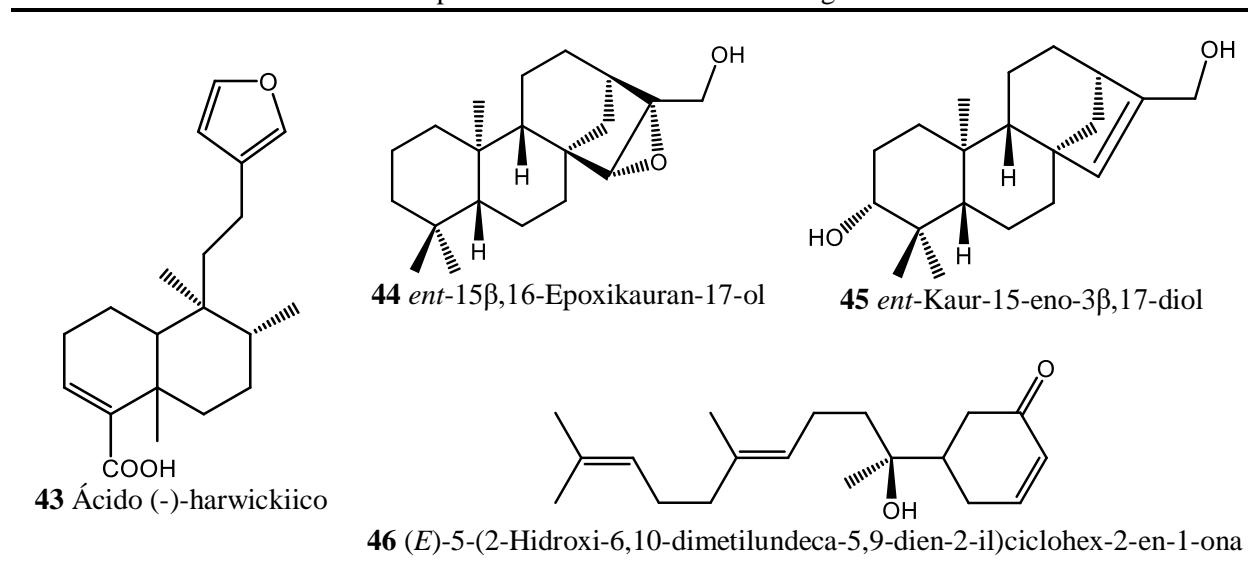
2.1.1.1 Actividad insecticida de algunas especies del género

Los cambios en la regulación de los plaguicidas hace algunos años, con fin de disminuir su impacto en la salud humana y el ambiente, llevó a la introducción de nuevas clases de compuestos, algunos basados en productos naturales con actividad insecticida: azadiractinas, spinosad, piretrinas, rotenona, avermectinas, milbemicinas y nicotina; formulaciones de órganos vegetales como las raíces y tallos de *Ryania speciosa*, y aceites esenciales de por ejemplo chile, clavo, romero y tomillo.³ Al respecto, entre los tipos de productos naturales con más reportes de actividad insecticida destacan los alcaloides, fenoles y terpenoides, que son muy frecuentes en las familias botánicas Lamiaceae, Fabaceae y Asteraceae; la contribución de Euphorbiaceae es menos significativa.⁴⁸

De varias especies del género *Croton* se ha descrito la actividad insecticida de sus extractos o aceites esenciales contra especies patógenas de las plantas o vectores de enfermedades humanas, como el gorgojo del frijol *Zabrotes subfaciatus* o el mosquito *Aedes aegypti*.^{49,50} Las evaluaciones

biológicas suelen determinar, por contacto o ingestión, efectos como la muerte del insecto, disuasión de la alimentación, inhibición del crecimiento, inhibición de la ovoposición o la eclosión de huevos; aunque en ocasiones también se examina su acción repelente por exposición. En algunos casos se identificaron los componentes mayoritarios de los aceites esenciales bioactivos, como son los sesquiterpenos β -cariofileno, biciclogermacreno y germacreno D del aceite de las hojas de *Croton heliotropiifolius* y *C. pulegiodorus*.⁵¹ No obstante, la composición varía entre especies, por mencionar un ejemplo, el aceite de *Croton regelianus* se caracteriza por los monoterpenos ascaridol, *p*-cimeno y alcanfor.⁵² Los ensayos *in vivo* de algunos compuestos identificados condujeron a reconocer que el ascaridol, y no así el β -cariofileno, reduce la supervivencia de larvas del mosquito *A. aegypti*. En cuanto a los compuestos bioactivos aislados (véase Tabla 3), de la raíz de *Croton aromaticus* se encontró un ácido contra el fitopatógeno *Aphis craccivora*, el diterpeno de tipo clerodano ácido (-)-harwickiico (**43**).⁵³ De la raíz de *Croton lacciferus* se aislaron algunos diterpenos de tipo kaurano, dos de los cuales mostraron moderada actividad aficida también contra *A. craccivora*, el *ent*-kaur-15-en-3 β ,17-diol (**44**) y el *ent*-15 β ,16-epoxikauran-17-ol (**45**).⁵⁴ Un compuesto derivado del fuscumol (**46**) hallado en las partes aéreas de *Croton linearis* resultó nocivo para el gorgojo del camote *Cylas formicarius elegantulus*.⁵⁵ Cabe decir que se ha investigado el efecto nocivo de *Croton* sobre otras plagas, tal es el caso de la actividad del aceite esencial de *C. regelianus* contra *Meloidogyne incognita* o nematodo del nudo de la raíz y la larva del crustáceo *Artemia* sp.⁵² Igualmente la actividad molusquicida sobre *Bulinus truncatus*, vector de la esquistosomiasis, de los diterpenos de tipo clerodano velamona (**12**) y su acetato, identificados en la corteza de la raíz de *Croton campestris*.⁵⁶

Tabla 3. Compuestos insecticidas aislados del género *Croton*



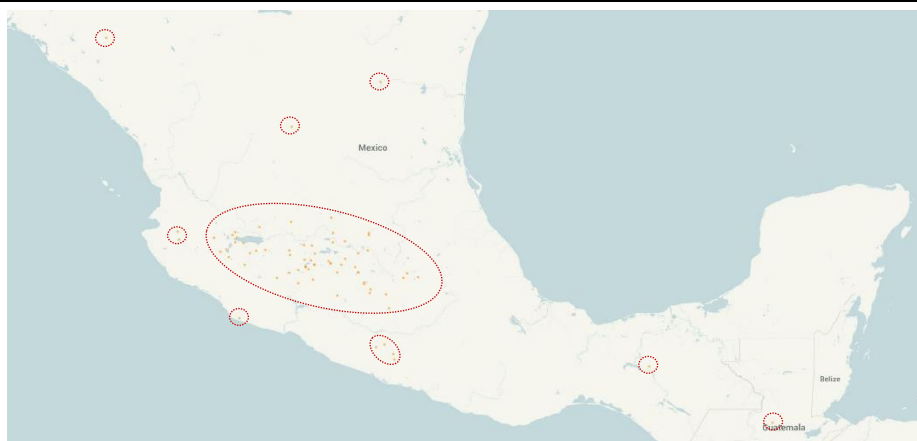
2.2 Generalidades de *C. adpersus*

Croton. adpersus Benth. es el nombre aceptado de la especie vegetal en estudio y posee las sinonimias: *Croton calvescens* S. Watson, *Croton botryocarpus* Croizat y *Oxydectes adpersa* (Benth.) Kuntze.²³ Su jerarquía taxonómica de acuerdo con *ITIS*¹⁶ y *Tropicos*⁵⁷ es:

Reino	Plantae
Subreino	Viridiplantae
Infrareino	Streptophyta
Superdivisión	Embryophyta
División	Tracheophyta
Subdivisión	Spermatophytina
Clase	Equisetopsida C. Agardh
Subclase	Magnoliidae Novák ex Takht.
Superorden	Rosanae Takht.
Orden	Malpighiales Juss. Es Bercht. & J.Presl.
Familia	Euphorbiaceae Juss.
Género	<i>Croton</i> L.

La especie es nativa de un área que se extiende de México a Guatemala (véase Ilustración 1). En México puede encontrarse de Jalisco a Chiapas hasta los 2450 m.s.n.m., sin embargo, en el Valle de México su presencia se ha reducido. En el país se ha reportado con los nombres comunes de cuahuilotillo o solimán, y no se le ha registrado algún uso en la medicina tradicional. Es una planta común en los matorrales derivados de la selva baja caducifolia y el bosque de pino y encino. En lo que respecta a su descripción botánica, se trata de un arbusto monoico de 0.5 a 1 m de alto, con frecuencia poco ramificado en la base. Sus hojas son alternas y ovado lanceoladas. Sus flores se disponen en las puntas de los tallos y el fruto es una cápsula de las que salen 3 semillas largas, oscuras, brillantes y lisas.^{20,25,58}

Ilustración 1. Distribución de *C. adpersus*.



En el mapa se indican los puntos de colecta de diversos ejemplares de herbario en el catálogo de instituciones de *Global Biodiversity Information Facility*⁵⁹.

La anatomía de la especie varía en los sitios de marcada estacionalidad, como en el Valle de México donde la época de lluvias ocurre de junio a octubre y la seca de noviembre a mayo. Las descripciones indican que durante la época lluviosa es glabrescente y de color verde brillante en hojas, tallos y flores, mientras que en la seca es pubescente y de color verde grisáceo en las mismas estructuras (véase Ilustración 2).⁶⁰ De otras especies de *Croton* se ha comparado el efecto de la estación lluviosa en la producción, composición y bioactividad de su aceite esencial, así en las especies nativas de Brasil *Croton sonderianus* y *C. conduplicatus* se detectó que la presencia del espatulenol decrece hacia la temporada húmeda.^{61,62}

Ilustración 2. Fenología foliar de *C. adspersus*.



Hojas de verano

Hojas de invierno

Las hojas de verano se presentan durante la época de lluvias y las hojas de invierno en la época seca. Fotografías tomadas y adaptadas de Gómez Sánchez⁶⁰.

El aprovechamiento de *C. adspersus* se exploró en un estudio de prospección de la flora del estado de Michoacán, México, que buscaba entre algunas plantas abundantes de la región aquellas con actividad insecticida *in vivo*, a fin de desarrollar una formulación útil y asequible para los agricultores locales. En este primer acercamiento, originalmente basado en observaciones de campo en las que *C. adspersus* era la única especie de la localidad no consumida por un saltamontes hipergeneralista (*Sphenarium purpurascens*), se demostró que la aplicación tópica del extracto metanólico y hexánico de sus partes aéreas de la estación lluviosa disminuyen de forma moderada la supervivencia de adultos del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*), y solo el hexánico de la oruga negra o gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*). En un análisis preliminar sobre la composición química de *C. adspersus*, mediante un sistema CG-EM, se reveló que entre los componentes mayoritarios del extracto hexánico figuran alquenos (nonacoseno y hexacoseno) y ácidos grasos (ácido linoleico), mientras que en su aceite esencial se acentúan los sesquiterpenos β -cariofileno, germacreno D y germacreno B.^{13,63,64}

3. JUSTIFICACIÓN

El aislamiento y la caracterización estructural de productos naturales es un esfuerzo continuo de interés para muchas ramas de la ciencia debido a sus propiedades físicas, químicas y biológicas.^{5,6} En consecuencia, el estudio químico de las especies vegetales se conduce con particular atención en aquellas todavía no exploradas y cuyos antecedentes las convierten en una fuente de metabolitos secundarios según diversos criterios de selección, como el ecológico.¹⁰ Esta investigación se enfoca en *C. adspersus* debido a que es una especie encontrada en territorio nacional que solo cuenta con estudios químicos preliminares.

4. HIPÓTESIS

De acuerdo con el criterio taxonómico para la selección de especies vegetales y según los antecedentes preliminares de su actividad insecticida, *C. adspersus* puede considerarse una fuente de compuestos químicos de interés debido a su presumible actividad biológica.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Generar conocimiento científico sobre la composición química de las partes aéreas de *C. adspersus* con follaje de verano.

5.2 Objetivos específicos

- Recopilar información sobre los estudios químicos previos de las especies emparentadas con *C. adspersus*.
- Aislar los metabolitos secundarios del extracto en diclorometano-metanol (1:1) de las partes aéreas de *C. adspersus* con follaje de verano.
- Caracterizar estructuralmente los compuestos aislados a través del análisis de sus datos físicos, espectroscópicos, espectrométricos, cristalográficos y quirópticos.
- Comparar y contextualizar los resultados obtenidos con los informados en la literatura.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Procedimientos generales

6.1.1 Métodos cromatográficos

En los análisis por cromatografía en capa fina (CCF) se emplearon cromatofolios con soporte de aluminio y una capa de 175-225 μm de espesor compuesta por gel de sílice 60 F₂₅₄; se utilizaron cromatofolios de similares características con soporte de vidrio y capas de 175-225 μm o 3 mm de espesor para separaciones por cromatografía en capa fina preparativa (CCFP), las dimensiones de estas (base x altura en cm) se mencionan en el texto. Las placas se revelaron con luz UV de onda corta (254 nm) y onda larga (365 nm), también con los cromógenos: sulfato cérico, *p*-anisaldehído y vainillina, cuya preparación se detalla por Pirrung⁶⁵. Para separaciones cromatográficas en columna en fase normal se utilizó gel de sílice 60 con un tamaño de partícula de 40-63 μm y malla 230-400; un cartucho de 360 mg de gel sílice modificada C18 (50-150 μm) para fase inversa y Sephadex[®] LH-20 en cromatografía de exclusión molecular.

6.1.2 Determinación del punto de fusión

Se realizó en un aparato Fisher-Johns, los datos no fueron corregidos.

6.1.3 Análisis quirópticos

La rotación óptica se determinó en un polarímetro Perkin Elmer serie 343 con lámpara de Na (589 nm). La muestra se disolvió en metanol (MeOH), utilizándose una celda de 1 dm de longitud y un tiempo de integración de 5 segundos.

6.1.4 Análisis espectrométricos

Los análisis de espectrometría de masas con ionización electrónica (EM/IE) se llevaron a cabo en un equipo MStation JMS-700. La muestra en disolución se inyectó de forma directa. El equipo operó con una fuente de ionización por IE a 70 eV y un analizador de sector eléctrico-magnético en modo de barrido completo en intervalo de m/z 0 a 530. Los análisis de espectrometría de masas con ionización por electronebulización (EM/ESI) se realizaron por inyección directa en un espectrómetro de masas Bruker Esquire 6000. La muestra se disolvió a una concentración de 1 mg/mL en MeOH, se ionizó por electronebulización y se analizó en modo positivo. El analizador de trampa de iones operó en modo de barrido completo en un intervalo de m/z 50 a 1000.

6.1.5 Análisis espectroscópicos

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ^1H y ^{13}C , mono y bidimensionales, se adquirieron en el laboratorio correspondiente del Instituto de Química y el Laboratorio Universitario de Resonancia Magnética Nuclear (LURMN), a temperatura ambiente en los equipos Bruker Avance 300 MHz, Jeol 300 MHz, Bruker Avance III 400 MHz o Bruker Avance 700 MHz. El disolvente fue cloroformo deuterado (CDCl_3) o metanol deuterado (CD_3OD). Los espectros se referenciaron respecto a la señal de ^1H y ^{13}C del disolvente deuterado utilizado.

6.2 Estudio químico de *C. adpersus* Benth.

La composición química de la especie se exploró mediante el estudio de sus partes aéreas recolectadas en dos ocasiones durante la época de lluvias. A continuación, se detalla la obtención del material vegetal, el proceso de extracción, el fraccionamiento primario y el aislamiento de los compuestos encontrados.

6.2.1 Obtención del material vegetal

Las partes aéreas de *C. adpersus* con follaje de verano se recolectaron de la misma población en el municipio de Erongarícuaro ($19^\circ 35' 37.6''\text{N}$ $101^\circ 43' 13.1''\text{W}$, a 2080 m.s.n.m.), Michoacán de Ocampo, en septiembre y agosto de 2017 y 2019, respectivamente. La colecta estuvo a cargo del Dr. Francisco Javier Espinosa García, investigador del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad (IIES). Un ejemplar de la primera colecta de la población se depositó en el herbario de la Facultad de Biología de la Universidad Michoacana San Nicolás de Hidalgo con el número 28498.

6.2.2 Preparación de los extractos

El material vegetal fresco de cada colecta fue secado a temperatura ambiente y posteriormente se molió en un molino eléctrico (marca Thomas-Wiley, modelo 4) con un tamiz de 3 mm de diámetro. El material seco de la primera colecta (6.14 kg) se sometió a extracción exhaustiva por percolación con una mezcla de diclorometano-metanol 1:1 (DCM-MeOH), mientras que el de la segunda colecta (1.56 kg) se extrajo por maceración durante 24 h, en dos ocasiones, con la mezcla mencionada en una proporción p/v 1.6 a 5. Los disolventes de extracción se filtraron por gasa y papel filtro estándar. Finalmente, se concentraron bajo presión reducida en un rotaevaporador (marca Büchi, modelo R-220 Pro), obteniéndose dos extractos color verde oscuro equivalentes a 376.90 g y 99.80 g, correspondientes a un rendimiento de extracción para la primera y segunda colecta de 6.14 % y 6.40 %, respectivamente.

6.2.3 Fraccionamiento primario

El extracto de la primera colecta (CaI) consistente en 366.80 g se preadsorbió en 276.00 g de gel de sílice y se sometió a un fraccionamiento por cromatografía en columna a presión reducida (CCPR). Como fase estacionaria se empleó 1 kg de gel de sílice y como fase móvil un gradiente de polaridad ascendente con hexano, hexano-acetato de etilo (AcOEt), AcOEt, AcOEt-MeOH y MeOH. De cada fracción se colectó un volumen de 250 mL, se analizaron por CCF y se agruparon según la similitud de su composición. En la Tabla 4 se detalla su separación cromatográfica.

Tabla 4. Fraccionamiento primario del extracto CaI de *C. adspersus*

Eluyente	Proporción	Fracción final	Clave	Rendimiento*
Hexano	100%	1-3	CaI-1	0.017 %
Hexano-AcOEt	98:2	4-7	CaI-2	0.004 %
	95:5	8-20	CaI-3	0.005 %
	9:1	21-25	CaI-4	0.301 %
	8:2	26-33	CaI-5	0.091 %
	7:3	34-38	CaI-6	0.061 %
	6:4	39-59	CaI-7	0.150 %
	1:1	60-86	CaI-8	0.177 %
	4:6	87-109	CaI-9	0.342 %
	3:7	110-135	CaI-10	0.591 %
	2:8	136-197	CaI-11	0.318 %
	1:9	198	CaI-12	2.722 %
AcOEt	100%			
AcOEt-MeOH	1:1			
MeOH	100%			

*Se expresa respecto al peso del material vegetal seco y molido de partida.

En lo que respecta al extracto de la segunda colecta (CaII), mediante un proceso de cromatografía en columna abierta (CCA) se fraccionaron 94.8 g de este, preadsorbidos en 100 g de gel de sílice, en una columna de 9.5 cm de diámetro. Como fase estacionaria se usaron 1.1 kg de gel de sílice y como fase móvil se usó un gradiente de polaridad ascendente con hexano, AcOEt y MeOH, modificado para ser más eficiente que el empleado durante el fraccionamiento de la primera colecta. Se colectaron fracciones 200 mL y según su análisis por CCF se agruparon aquellas similares; en la Tabla 5 se describe el proceso de separación.

Tabla 5. Fraccionamiento primario del extracto CaII de *C. adpersus*

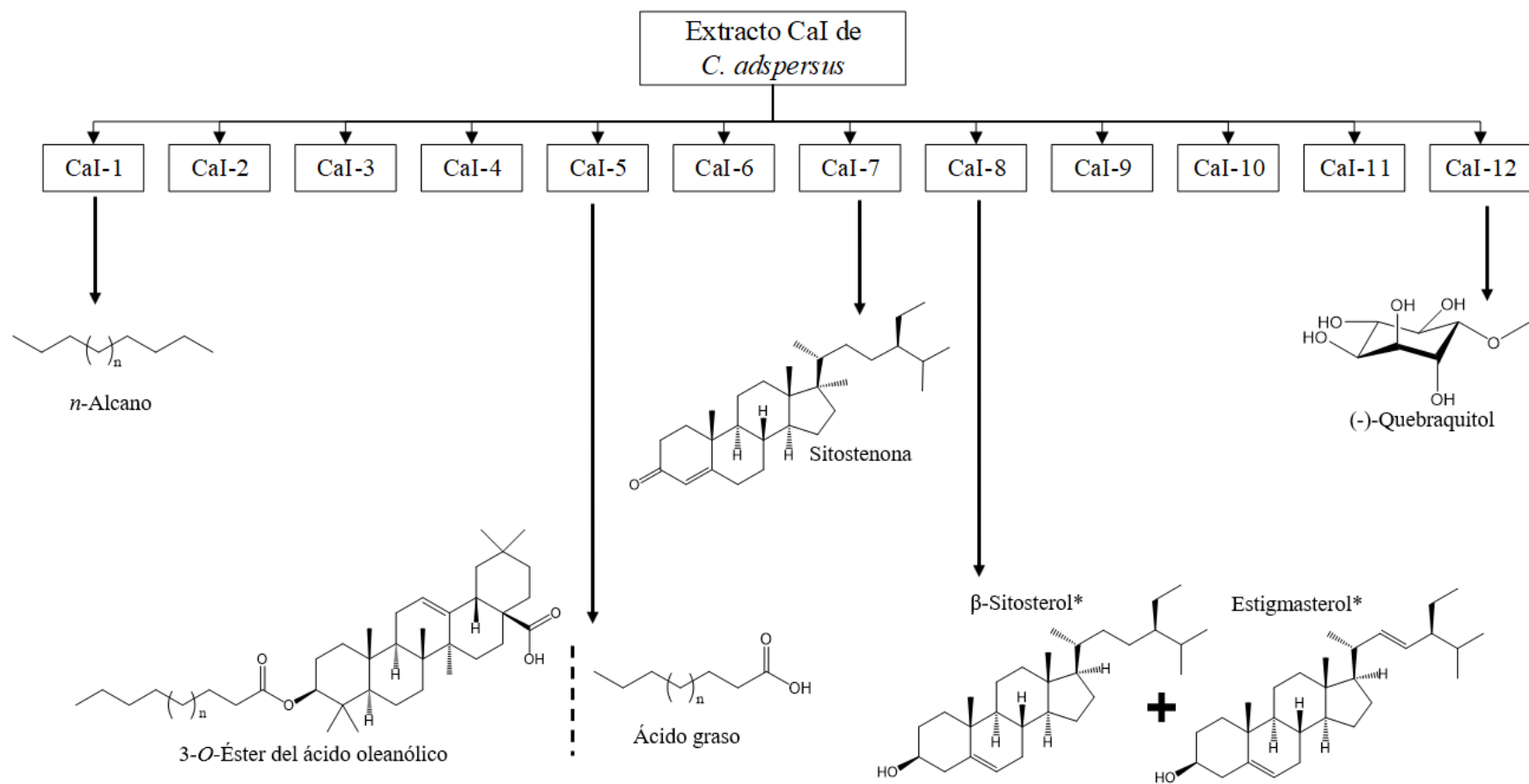
Eluyente	Proporción	Fracción	Fracción final	Clave	Rendimiento*
Hexano	100%	1-22	1-10	CaII-1	0.020 %
Hexano-AcOEt	9:1	23-59	11-20	CaII-2	0.002 %
		60-85	21-33	CaII-3	0.003 %
		86-114	34	CaII-4	0.002 %
		115-126	35-50	CaII-5	0.237 %
		127-142	51-60	CaII-6	0.020 %
		143-153	61-68	CaII-7	0.067 %
AcOEt	100%	154	69-72	CaII-8	0.043 %
MeOH	100%		73-85	CaII-9	0.247 %
			86-104	CaII-10	0.231 %
			105-131	CaII-11	0.137 %
			132-139	CaII-12	0.070 %
			140-153	CaII-13	0.069 %
			154	CaII-14	0.217 %
			155	CaII-15	3.118 %

*Se expresa respecto al peso del material vegetal seco y molido de partida.

6.2.4 Aislamiento de los compuestos encontrados

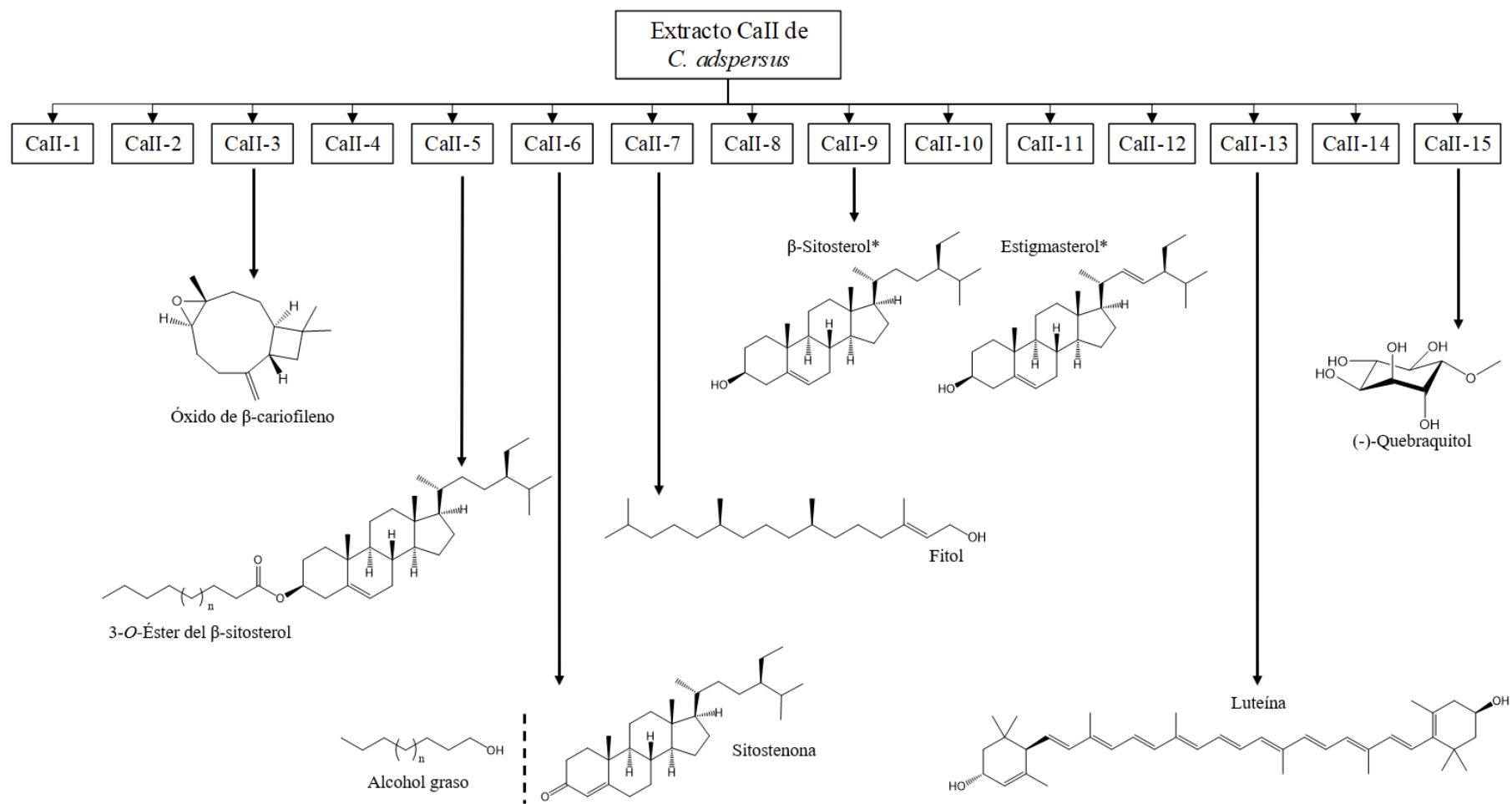
Para lograr la purificación de los compuestos a partir de las fracciones primarias se implementaron métodos cromatográficos de fase normal de tipo analítico y preparativo en capa fina, así como en columna abierta y rápida, esta última en un equipo SEPACORE X50 de Büchi. También se dispuso de cromatografía de fase inversa y exclusión molecular. Una variedad de disolventes de polaridad distinta fue utilizada y las separaciones se guiaron mediante el análisis por CCF de las fracciones hasta el aislamiento de un compuesto o la obtención de una mezcla elucidable, cuando su bajo rendimiento impidiera una purificación pertinente. La determinación de la estructura molecular de los compuestos puros o los constituyentes de una mezcla se basaron en el estudio de sus datos físicos, espectroscópicos a partir de experimentos de RMN (^1H y ^{13}C) mono y bidimensionales, espectrométricos (EM/IE, EM/ESI y acoplados de CG-EM), así como los de rotación óptica. La identidad de los compuestos pudo confirmarse por comparación de la información adquirida con la disponible en la bibliografía y mediante su coelusión con muestras auténticas en CCF cuando fuese posible. En los Diagramas 1 y 2 se muestran los compuestos aislados a partir de los extractos de *C. adpersus*.

Diagrama 1. Compuestos aislados del follaje de verano de *C. adspersus* recolectado en el año 2017.



*Los compuestos se identificaron como parte de una mezcla.

Diagrama 2. Compuestos aislados del follaje de verano de *C. adspersus* recolectado en el año 2019.



*Los compuestos se identificaron como parte de una mezcla.

6.2.4.1 Compuestos con cadenas hidrocarbonadas saturadas (**47**, **48**, **49**)

La fracción CaI-1 (0.64 g) se disolvió en el menor volumen posible de hexano y se aplicó en la parte superior de una columna de 2.9 cm de diámetro montada con 20.2 g de gel de sílice en hexano, mismo disolvente con el que se eluyó. De esta CCA se obtuvieron 3 fracciones, de la primera (CaI-1-1) se aislaron 538.1 mg del alcano **47** (C_nH_{2n+2}) en forma de un polvo blanco que revela de color café oscuro con sulfato cérico ($R_f = 0.93$ en hexano).

Información espectroscópica:

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 1.25 (38H, s, H-2), 0.88 (6H, t, $J = 6.7$ Hz, H-1, H-1').

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): δ 22.9-32.1 (C-2), 14.3 (C-1, C-1').

La fracción CaI-5 (5.57 g) se preadsorbió en 11.2 g de gel de sílice y se fraccionó por CCA en una columna de 4 cm de diámetro con 141.3 g de gel de sílice y eluida con hexano y mezclas de hexano-AcOEt 95:5, 9:1 y 7:3. Se finalizó con siete fracciones nombradas de CaI-5-1 al -7. La fracción CaI-5-3 se sometió a una separación en CCA, esta vez en una columna de 3.6 cm de diámetro con 60 g de gel de sílice eluida con la fase móvil hexano-AcOEt 85:15. De este proceso se obtuvieron 3 fracciones finales, seleccionándose CaI-5-3-3 para fraccionarse en CCA de fase normal con 35 g de gel de sílice y hexano-AcOEt 9:1 como eluyente. Una de las fracciones finales de este paso (CaI-5-3-3-2) se sometió a dos separaciones cromatográficas de exclusión molecular hasta obtener el ácido graso saturado lineal **48** ($C_nH_{2n}O_2$) como un polvo blanco (63.7 mg).

Información espectroscópica:

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): δ 2.27 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2), 1.56 (2H, quint, $J = 7.5$ Hz, H-3), 1.18 (26H, s, H-4 a H-6), 0.88 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, H-7).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): δ 180.4 (C-1), 34.2 (C-2), 32.1 (C-5), 29.2-29.8 (C-4), 24.8 (C-3), 22.8 (C-6), 14.3 (C-7).

En la fracción CaII-6 (312.9 mg) se formó un precipitado que se recuperó por decantación y se lavó con hexano hasta obtener el alcohol graso saturado lineal **49** ($C_nH_{2n+2}O$) en forma de un sólido blanco (21.6 mg).

Información espectroscópica:

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): δ 3.64 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, H-1), 1.54 (2H, m, H-2), 1.25 (56H, s, H-3 a H-6), 0.87 (3H, t, $J = 6.7$ Hz, H-7).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): δ 63.3 (C-1), 35.0 (C-2), 32.1 (C-5), 29.5-29.9 (C-4), 26.0 (C-3), 22.9 (C-6), 14.3 (C-7).

6.2.4.2 Óxido de β -cariofileno (**10**)

La fracción CaII-3 (45 mg) se fraccionó mediante CCA en una columna de 1.5 cm de diámetro empacada con 1.5 g de gel sílice y eluida con una mezcla hexano-AcOEt 95:5. Se obtuvieron tres fracciones finales denominadas CaII-3-1 al -3. La fracción CaII-3-2 se aplicó sobre una cromatoplaque (de 5 x 10 cm) para purificarla mediante CCFP, esta se eluyó de forma consecutiva en los sistemas hexano-AcOEt: 98:2 y 95:5. Se recuperó una banda que reveló con sulfato cérico en CCF ($R_f = 0.6$ en hexano-AcOEt 95:5) y de la que se obtuvo una mezcla (0.7 mg), uno de cuyos componentes se identificó como **10** a partir de la información espectroscópica obtenida.

Información espectroscópica:

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 4.97 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-15), 4.86 (1H, d, $J = 1.3$ Hz, H-15), 2.88 (1H, dd, $J = 10.6, 4.2$ Hz, H-5), 2.62 (c, $J = 9.6$ Hz, H-9), 2.34 (1H, ddd, $J = 12.8, 8.1, 4.5$ Hz, H-7), 2.25 (1H, ddt, $J = 12.4, 8.1, 4.2$ Hz, H-6), 2.11 (señal sobrepuesta, H-7), 2.09 (1H, dt, $J = 13.3, 3.9$ Hz, H-3), 1.76 (3H, t, $J = 9.9$ Hz, H-1), 1.69 (1H, dd, $J = 10.5, 8.4$ Hz, H-10), 1.65 (señal sobrepuesta, H-2), 1.63 (señal sobrepuesta, H-10), 1.43 (1H, dddd, $J = 14.7, 13.5, 10.4, 4.1$ Hz, H-2), 1.32 (señal sobrepuesta, H-6), 1.20 (3H, s, H-14), 1.0 (3H, s, H-13), 0.99 (3H, s, H-12), 0.97 (señal sobrepuesta, H-3).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 152.0 (C-8), 112.9 (C-15), 63.9 (C-5), 60.0 (C-4), 51.0 (C-1), 48.9 (C-9), 39.9 (C-10), 39.3 (C-3), 34.2 (C-11), 30.4 (C-6), 30.1 (C-12), 30.0 (C-7), 27.4 (C-2), 21.8 (C-13), 17.2 (C-14).

6.2.4.3 3-*O*-Éster del ácido oleanólico (**50**)

A partir de la purificación de la fracción CaI-5-3-3-2 por exclusión molecular, de la que fue aislado **48**, se obtuvo un derivado del ácido oleanólico esterificado con un ácido graso en la posición 3 (**50**) como un polvo blanco que revela con sulfato cérico y *p*-anisaldeído (4.8 mg, $R_f = 0.44$ en DCM-hexano 7:3).

Información espectroscópica:

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): 5.427 (1H, t, $J = 2.9$ Hz, H-12), 4.49 (1H, t, $J = 7.9$ Hz, H-3), 2.81 (1H, dd, $J = 13.7, 4$ Hz, H-18), 2.29 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-2'), 1.61 (3H, m, H-30), 1.57 (3H, m, H-9, H-3'), 1.25 (26H, s, H-4' a H-10'), 1.12 (3H, s, H-27), 0.89 (3H, s, H-29), 0.87-0.80 (13H, m, H-5, H-25, H-26, H-23, H-11'), 0.74 (3H, s, H-24).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 184.2 (C-28), 173.9 (C-1'), 143.7 (C-13), 122.7 (C-12), 80.7 (C-3), 55.5 (C-5), 47.7 (C-9), 46.7 (C-17), 46.0 (C-19), 41.7 (C-14), 41.1 (C-18), 39.4 (C-8), 38.2 (C-1), 37.9 (C-4), 37.1 (C-10), 35.0 (C-2'), 33.9 (C-21), 33.2 (C-29), 32.7 (C-7), 32.6 (C-22), 32.1 (C-9'), 30.8 (C-20), 29.8-29.3 (C-4' a C-8'), 28.2 (C-23), 27.8 (C-15), 26.1 (C-27), 25.3 (C-3'), 23.7 (C-30), 23.6 (C-11), 23.0 (C-16), 22.8 (C-2), 22.8 (C-10'), 18.3 (C-6), 17.3 (C-26), 16.9 (C-24), 15.5 (C-25), 14.3 (C-11').

6.2.4.4 Mezcla de β -sitosterol (**51**) y estigmasterol (**52**)

La fracción CaI-8 (10.84 g) se preadsorbió en 13.4 g de gel de sílice y se fraccionó por CCA en una columna de 4.5 cm de diámetro con 150 g de gel de sílice. Como fase móvil se empleó hexano-AcOEt 7:3, 6:4, 100% de AcOEt, AcOEt-MeOH 8:2, 7:3 y 6:4. El proceso llevó a 10 fracciones finales, de las que precipitó un sólido en CaI-8-4 que tras lavarse con hexano y AcOEt condujo a un polvo blanco (51.3 mg) identificado como la mezcla de **51** y **52** por su información espectroscópica y la comparación con una muestra auténtica.

Del extracto de la segunda colecta también se aisló esta mezcla de fitoesteros. De la fracción primaria CaII-9 (3.85 g) precipitó un polvo blanco que tras lavarse con MeOH y permitir su cristalización en hexano se obtuvieron 163.9 mg (Rf = 0.3 en hexano-AcOEt 85:15).

Punto de fusión: 137-138 °C. Reportado para el β -sitosterol: 134-135 °C y el estigmasterol: 168-169 °C.^{66,67}

Información espectroscópica de la mezcla para **51**:

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 5.35 (1H, d, J = 3.6 Hz, H-6), 3.52 (1H, tt, J = 10.7, 4.7 Hz, H-3), 1.00 (6H, s, H-21, H-19), 0.84 (3H, s, H-26), 0.82 (3H, s, H-29), 0.79 (6H, s, H-27, C-28), 0.68 (3H, s, H-18).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 140.9 (C-5), 121.9 (C-6), 72.0 (C-3), 56.9 (C-14), 56.2 (C-17), 50.3 (C-9), 46.0 (C-24), 42.4 (C-4), 42.4 (C-13), 39.9 (C-12), 37.4 (C-1), 36.7 (C-10), 36.3 (C-20), 34.1 (C-22), 32.1 (C-7), 32.1 (C-8), 31.8 (C-2), 29.3 (C-25), 28.4 (C-16), 26.2 (C-23), 24.5 (C-15), 23.2 (C-28), 21.2 (C-11), 20.0 (C-26), 19.5 (C-19), 19.2 (C-27), 18.9 (C-21), 12.1 (C-29), 12.0 (C-18).

Información espectroscópica de la mezcla para **52**:

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 5.35 (1H, d, J = 3.6 Hz, H-6), 5.15 (1H, dd, J = 15.2, 8.4 Hz, H-23), 5.01 (1H, dd, J = 15.2, 8.08 Hz, H-22), 3.52 (1H, tt, J = 10.7, 4.7 Hz, H-3), 1.00 (6H, s, H-21, H-19), 0.84 (3H, s, H-26), 0.82 (3H, s, H-29), 0.79 (6H, s, H-27, H-28), 0.68 (3H, s, H-18).

6.2.4.5 Sitostenona (**53**)

La fracción CaI-7 (2.7 g) se preadsorbió en una cantidad equivalente de gel de sílice para separarse por CCA en una columna de 2.9 cm de diámetro con 20.2 g de gel de sílice como fase estacionaria; la fase móvil fue hexano-AcOEt en las proporciones 9:1, 85:15 y 8:2. El proceso finalizó en ocho fracciones nombradas CaI-7-1 al -8, de las cuales CaI-7-2 se fraccionó a través de consecutivos pasos de CCA de fase normal con gel de sílice y mezclas de hexano-AcOEt y DCM-MeOH como fase móvil, así como de separaciones por exclusión molecular con Sephadex® LH-20 y CHCl₃.

De la purificación de una de las últimas fracciones, mediante CCA de fase inversa con gel de sílice modificada C18 y MeOH, se aisló el compuesto **53** como un polvo blanco que revela café claro con sulfato cérico (24 mg, Rf = 0.6 en hexano-AcOEt 8:2).

El mismo compuesto se aisló también del extracto de la segunda colecta. La fracción CaII-6 (312.9 mg) se preadsorbió en 400 mg de celita para separarse por CCA, en una columna de 1.5 cm de diámetro con 10 g de gel de sílice como fase estacionaria y un gradiente de polaridad ascendente con mezclas de hexano-AcOEt 82:8, 84:16, 76:24, 68:32, 60:40 y AcOEt 100%. De las seis fracciones finales, CaII-6-2 se sometió a CCA con 8 g de gel de sílice y los disolventes CHCl₃ y AcOEt. La fracción CaII-6-2-3 se purificó mediante CCFP (cromatoplaque de 10 x 20 cm) eluida dos veces con cada uno de los siguientes sistemas: hexano 100%, hexano-AcOEt 98:2, 96:4 y 92:8. De una banda que se recuperó y revela bajo luz UV de onda corta y sulfato cérico se aislaron 2.6 mg del compuesto **53** (Rf = 0.35 en hexano-AcOEt 9:1).

Información espectroscópica:

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 5.71 (1H, s, H-4), 1.17 (3H, s, H-19), 0.80-0.92 (m, H-21, H-26, H-27, H-29), 0.70 (3H, s, H-18).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 199.8 (C-3), 171.8 (C-5), 123.9 (C-4), 56.1 (C-17), 56.0 (C-14), 54.0 (C-9), 46.0 (C-24), 42.5 (C-13), 39.8 (C-10), 38.7 (C-12), 36.3 (C-20), 35.8 (C-1), 35.8 (C-8), 34.1 (C-22), 34.0 (C-2), 33.1 (C-6), 32.2 (C-7), 29.3 (C-25), 28.3 (C-16), 26.2 (C-23), 24.3 (C-15), 23.2 (C-28), 21.2 (C-11), 20.0 (C-26), 19.2 (C-27), 18.8 (C-21), 17.5 (C-19), 12.1 (C-18), 12.1 (C-29).

6.2.4.6 3-O-Éster del β-sitosterol (**54**)

Al disolver 1 g de la fracción CaII-5 en el menor volumen posible de acetona precipitó un polvo color amarillo que se recuperó por decantación. El precipitado se lavó en repetidas ocasiones con acetona hasta obtener un polvo blanco. El polvo se purificó por CCFP (cromatoplaque de 16 x 17 cm) eluida con hexano en 2 ocasiones y con hexano-AcOEt 99:1 en 3 ocasiones. El compuesto **54** que reveló con sulfato cérico en un tono rojizo-morado se extrajo de la sílice con AcOEt. El compuesto tenía el aspecto de un polvo blanco (2 mg, Rf = 0.31 en hexano-AcOEt 98:2).

Información espectroscópica:

RMN ¹H (700 MHz, CDCl₃): δ 5.37 (1H, dd, J = 5.1 Hz, H-6), 4.61 (1H, tdd, J = 10.7, 6.8, 3.1 Hz, H-3), 2.32 (1H, m, H-4), 2.26 (2H, t, J = 7.5 Hz, H-2'), 2.00 (1H, m, H-12), 1.85 (m, H-1, H-2), 1.67 (1H, m, H-25), 1.25 (s, H-4' a H-15'), 1.02 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-21), 0.88 (3H, t, J = 7.1 Hz, H-16'), 0.84 (3H, t, J = 0.9 Hz, H-29), 0.83 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-26), 0.82 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-27), 0.68 (3H, s, H-18).

RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3): δ 173.5 (C-1'), 139.9 (C-5), 122.7 (C-6), 73.8 (C-3), 56.9 (C-14), 56.2 (C-17), 50.2 (C-9), 46.0 (C-24), 42.5 (C-13), 39.9 (C-12), 38.3 (C-4), 37.2 (C-1), 36.8 (C-10), 36.3 (C-20), 34.9 (C-2'), 34.1 (C-22), 32.1 (C-7), 32.1 (C-14'), 32.0 (C-8), 29.9-29.6 (C-7' a C-13'), 29.5 (C-6'), 29.4 (C-5'), 29.3 (C-4'), 29.3 (C-25), 28.4 (C-16), 28.0 (C-2), 26.3 (C-23), 25.2 (C-3'), 24.5 (C-15), 23.2 (C-28), 22.9 (C-15'), 21.2 (C-11), 20.0 (C-26), 19.5 (C-19), 19.2 (C-27), 18.9 (C-21), 14.3 (C-16'), 12.1 (C-29), 12.0 (C-18).

6.2.4.7 Fitol (**55**)

La fracción CaII-7 (1.05 g) se preadsorbió en 1 g de celita para separar sus constituyentes por CCA en una columna de 2.5 cm de diámetro con 50 g de gel de sílice, eluida con hexano-AcOEt 7:3. Se obtuvieron 5 fracciones denominadas CaII-7-1 al -5. La fracción CaII-7-3 se sometió a un fraccionamiento por CCA en una columna de 2.5 cm de diámetro con 5 g de gel de sílice y cloroformo (CHCl_3); de las tres fracciones que se originaron, CaII-7-3-3 fue purificada mediante CCA de fase inversa con gel de sílice modificada C18 y un gradiente de metanol, acetonitrilo y acetona. Esta separación originó cuatro fracciones denominadas CaII-7-3-3-1 al -4. De la fracción CaII-7-3-3-2 se purificó el compuesto **55** mediante CCA en una columna de 0.7 cm de diámetro con 0.8 g de gel de sílice y CHCl_3 . El compuesto **55** se obtuvo como un aceite amarillo claro que revela con *p*-anisaldehído en color rojo naranja (20.9 mg, $R_f = 0.35$ en hexano-AcOEt 9:1 y 1 % de ácido acético).

Información espectroscópica:

RMN ^1H (700 MHz, CDCl_3): δ 5.40 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, H-2), 4.14 (2H, d, $J = 7.0$ Hz, H-1), 1.99 (2H, m, H-4), 1.66 (3H, s, H-20), 1.52 (1H, dp, $J = 13.3, 6.7$ Hz, H-15), 1.48-0.92 (m, H-5 a H-14), 0.86 (6H, d, $J = 6.7$ Hz, H-16, H-17), 0.85 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-18 o H-19), 0.84 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-18 o H-19).

RMN ^{13}C (175 MHz, CD_3OD): δ 140.4 (C-3), 123.3 (C-2), 59.6 (C-1), 40.0 (C-4), 39.5 (C-14), 37.6-37.5 (C-8, C-10, C-12), 36.8 (C-6), 33.0-32.9 (C-11, C-7), 28.1 (C-15), 25.3 (C-5), 25.0-24.6 (C-9, C-13), 22.9-22.8 (C-16, C-17), 19.9 (C-18), 19.9 (C-19), 16.3 (C-20).

6.2.4.8 Luteína (**56**)

A partir de la fracción CaII-13 (1.08 g) se aisló un precipitado color rojo (150 mg) que se preadsorbió en 500 mg de celita. La muestra se fraccionó por CCA en una columna de 4.7 cm de diámetro, se utilizaron 180 g de gel de sílice y mezclas de hexano-AcOEt 7:4, 7:5, 7:6, 7:7; AcOEt 100% y MeOH 100% para eluirla. Las fracciones obtenidas se nombraron CaII-13-1 al -5. De la fracción CaII-13-3 se recuperó el compuesto **56** en forma de un precipitado consistente en cristales

rojos (29.4 mg) y un polvo naranja (63.4 mg), mismos que se lavaron con MeOH. En los análisis por CCF los precipitados revelan en luz visible como bandas amarillo-rojas y con *p*-ansaldehído en café ($R_f = 0.28$ en hexano-AcOEt 6:4 y 1% de ácido acético). La purificación del lavado de MeOH mediante cromatografía de exclusión molecular y CHCl_3 condujo a un polvo naranja (0.5 mg) de igual identidad que el compuesto **56**.

Información espectroscópica:

RMN ^1H (700 MHz, CD_3OD): δ 6.62 (4H, m, H-11, H-11', H-15, H-15'), 6.36 (2H, dd, $J = 15.0, 3.7$ Hz, H-12, H-12'), 6.25 (2H, d, $J = 9.2$ Hz, H-14, H-14'), 6.13 (5H, m, H-7, H-8, H-8', H-10, H-10'), 5.54 (1H, s, H-4'), 5.43 (1H, dd, $J = 15.4, 9.9$ Hz, H-7'), 4.25 (1H, s), 4.00 (1H, s), 2.40 (2H, m), 2.05 (1H, dd, $J = 16.2, 9.7$ Hz), 1.97 (3H, s), 1.96 (6H, s), 1.90 (3H, s), 1.83 (1H, dd, $J = 13.2, 5.9$ Hz), 1.77 (1H, ddd, $J = 11.8, 3.6, 2.0$ Hz), 1.73 (3H, s), 1.62 (3H, s), 1.47 (1H, t, $J = 11.9$ Hz), 1.37 (1H, dd, $J = 13.2, 6.8$ Hz), 1.07 (6H, s), 1.00 (3H, s), 0.85 (3H, s).

RMN ^{13}C (175 MHz, CD_3OD): δ 138.6 (C-8'), 138.1 (C-5), 137.9 (C-8), 137.9 (C-6'), 137.7 (C-12), 137.7 (C-12'), 136.6 (C-13), 136.6 (C-13'), 135.8 (C-9'), 135.2 (C-9), 132.7 (C-14), 132.7 (C-14') 131.5 (C-10'), 131.0 (C-10), 130.2 (C-15), 130.2 (C-15'), 128.9 (C-7), 126.3 (C-5'), 125.8-125.1 (C-4, C-7'), 124.9 (C-11'), 124.7 (C-11), 66.1 (C3-), 65.2 (C-3'), 55.1 (C-6), 48.6 (C-2'), 44.8 (C-2), 42.7 (C-4'), 37.3 (C-1'), 34.1 (C-1), 30.4-23.0 (C-16, C-17, C-16', C-17', C-18), 21.8 (C-18'), 13.3 (C-19), 13.0 (C-20), 13.0 (C-20'), 12.9 (C-19').

6.2.4.8 (-)-Quebraquitol (**36**)

La fracción CaI-12 (92.7 g) se sometió a una partición líquido/líquido con DCM-agua en proporción 1:1. Las fases fueron filtradas por papel filtro estándar y concentradas. Al disolver la fracción acuosa (con 61.38% de rendimiento) en MeOH se formó un precipitado que se recuperó por decantación, el precipitado se purificó por recristalización en MeOH seco hasta obtener dos sólidos, consistentes en un polvo color blanco y cristales transparentes. Se infirió que los cristales eran una sal inorgánica dado que no carbonizan. El sólido blanco corresponde al compuesto **36** (4.1 mg, $R_f = 0.6$ en hexano-AcOEt-MeOH 1:1:4).

El compuesto **36** también se aisló de la segunda colecta de la especie. Una porción de la fracción CaII-15 (1.86 g) se sometió a dos extracciones consecutivas con carbón activado de grano grueso, para lo cual se disolvió en el menor volumen posible de MeOH, se mezcló con 0.5 y 1 g de carbón activado y permaneció en agitación con calentamiento a 50 °C, durante 60 y 30 min, respectivamente.⁶⁸ La fracción recuperada por filtración se sometió a dos pasos de fraccionamiento mediante CCA con gel de sílice como fase estacionaria y las mezclas de disolventes DCM-MeOH 7:3 y 1 % de ácido acético y DCM-MeOH-Acetona (3:1:1, 2:2:1 y 1:3:1) como eluyentes. De la

fracción CaII-15-2-2 obtenida de la última CCA, precipitó un sólido verde que se lavó de forma consecutiva con MeOH hasta obtener el compuesto **36** como un polvo blanco (5.7 mg).

Información quiróptica:

$[\alpha]_D^{25}$ -31.95 (c 0.0041, MeOH)

Información espectroscópica:

RMN ^1H (700 MHz, CD_3OD): δ 4.14 (1H, t, $J = 3.6$ Hz, H-1), 3.96 (1H, t, $J = 3.6$ Hz, H-6), 3.69 (1H, dd, $J = 9.5, 3.5$ Hz, H-5), 3.63 (1H, t, $J = 9.4$ Hz, H-3), 3.57 (1H, m, H-4), 3.47 (3H, s, H-7), 3.34 (1H, dd, $J = 9.6, 3.18$ Hz, H-2).

RMN ^{13}C (175 MHz, CD_3OD): δ 82.4 (C-2), 74.7 (C-4), 73.8 (C-3), 73.4 (C-6), 72.3 (C-5), 69.3 (C-1), 57.9 (C-7).

6.3 Análisis mediante CG-MS de algunas fracciones primarias de *C. adspersus*

Algunas fracciones primarias del extracto CaII de *C. adspersus* fueron seleccionadas para conocer la naturaleza química de sus constituyentes mayoritarios identificables mediante un sistema acoplado de CG-EM, estas fueron CaII-1, -5, -6, -7, -8, -9, -10 y -11. El análisis se realizó en el Laboratorio de Espectrometría de Masas del Instituto de Química. Se empleó un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890A con una columna capilar NP-5 (5% difenil/95% dimetilpolisiloxano) de 30 m de longitud, diámetro interno de 0.32 mm y un espesor de película de 0.25 μm . La temperatura del inyector fue 300 °C y el gas acarreador fue helio a un flujo de 1 mL/min. El programa de temperatura inició con 1 min a 40 °C y continuó con una rampa de 8 °C/min hasta alcanzar 300 °C. Las fracciones fueron disueltas en hexano y AcOEt o mezclas de estos a una concentración de ~1 mg/mL y se inyectó 1 μL de cada una en modo *split* 50:1, sin réplicas. La temperatura de la interfaz fue 300 °C. El equipo de EM Jeol GC Mate II operó con una fuente de ionización por IE a 70 eV y un analizador de sector eléctrico-magnético en modo de barrido completo con adquisiciones cada 1.3 s en un intervalo de m/z 10 a 600. Los componentes se identificaron por coincidencia del patrón de fragmentación de cada pico cromatográfico con el registrado en la base de datos del *National Institute of Standards and Technology* (NIST). Se admitió la identificación preliminar a partir de picos cromatográficos con abundancia relativa superior al 4% y se calculó su abundancia según el porcentaje del pico cromatográfico respecto al área total del cromatograma.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Esta investigación se circunscribió al análisis de las partes aéreas de *C. adpersus* con follaje de verano debido a los antecedentes de la actividad insecticida de sus extractos en experimentos *in vivo* contra el gorgojo y el gusano cogollero del maíz.^{13,63,64} A fin de profundizar en el conocimiento de sus constituyentes químicos en un amplio rango de polaridad se sometieron dos extractos totales de DCM-MeOH a fraccionamientos y purificación. Los extractos provenían de la misma población en Michoacán, pero de fechas de colecta separadas por aproximadamente 6 años. Los resultados indican que el extracto de *C. adpersus* contiene como metabolitos primarios mayoritarios compuestos altamente hidrocarbonados, es decir, *n*-alcanos (**47**), ácidos (**48**) y alcoholes grasos saturados (**49**). Además, fueron hallados varios terpenos y esteroides (véase Tabla 6), el sesquiterpeno óxido de β -cariofileno (**10**); el diterpeno fitol (**55**); los fitoesteroides β -sitosterol (**51**), estigmasterol (**52**), un 3-*O*-éster del β -sistoterol (**54**), sitostenona (**53**) y un triterpeno 3-*O*-éster del ácido oleanólico (**50**). También se determinó la presencia de luteína (**56**), una xantofila, y (-)-quebraquitol (**36**), un ciclitol. Algunos de los compuestos mencionados se identificaron como parte de una mezcla debido a que son moléculas conocidas con extensa información bibliográfica disponible, comparadas durante su identificación con muestras auténticas.

Tabla 6. Rendimiento de los compuestos aislados del extracto total de *C. adpersus*.

Compuesto	Primera colecta (año 2017)	Segunda colecta (año 2019)
Óxido de β -cariofileno (10)	-	0.0007%
3- <i>O</i> -éster del ácido oleanólico (50)	0.0013%	-
β -sitosterol (51) y estigmasterol (52)	0.0140%	0.1729%
Sitostenona (53)	0.0065%	0.0027%
3- <i>O</i> -éster del β -sitosterol (54)	-	0.0021%
Fitol (55)	-	0.0220%
Luteína (56)	-	0.0984%
(-)-Quebraquitol (36)	0.0015%	0.0060%

El rendimiento se expresa en % respecto al peso del material vegetal seco y molido de partida. La información es orientadora ya que no en todos los casos puede asegurarse un aislamiento total del compuesto a partir del extracto o el mismo desarrollo experimental en los fraccionamientos de ambas colectas.

Es conveniente mencionar que la capacidad antiinflamatoria y citotóxica de los compuestos aislados ya se ha abordado con anterioridad y resulta más interesante tomar en cuenta su participación en el efecto insecticida de la especie. De este análisis se desprende una observación sobre la escasa disponibilidad de los compuestos aislados y las dificultades consecuentes para su análisis preferentemente en ensayos de actividad insecticida *in vivo*, demandantes en la cantidad necesaria de la sustancia a evaluar por tratarse de experimentos con periodos de prueba prolongados, sin embargo, como alternativas se tiene la obtención de los compuestos de otras fuentes y su elaboración por semisíntesis, por ejemplo, la esterificación de la posición C-3 de **51** con un ácido graso para obtener **54**. También pueden considerarse las determinaciones *in vitro*, que requieren menor cantidad de muestra, para blancos moleculares como la enzima acetilcolinesterasa, cuya inhibición es el modo de acción de insecticidas como los carbamatos y los organofosfatos.

Con el objetivo de realizar aportaciones adicionales a los constituyentes de esta especie, algunas fracciones primarias de la segunda colecta se analizaron mediante CG-EM (véase Tabla 7). La coincidencia de los patrones de fragmentación de ciertos picos en los cromatogramas con los reportados en la base de datos del NIST permitió la identificación del ácido decanoico (**57**) y hexadecanoico (**58**), el sesquiterpeno α -bisabolol (**59**), el fitoesterol campesterol (**60**) y los triterpenos α - y β -amirina (**19**, **20**). Estos compuestos identificados ampliaron el rango de sesquiterpenos, ácidos grasos, fitoesteroles y triterpenos descritos para la especie en estudio.

Tabla 7. Compuestos identificados mediante CG-EM en las fracciones primarias de *C. adspersus*.

Compuesto identificado	Fracción primaria	Abundancia relativa
Sesquiterpenos		
α -Bisabolol (59)	CaII-5	4.32%
Triterpenos		
α - y β -Amirina (19 , 20)	CaII-7	9.90%
Fitoesteroles		
Sitostenona (53)	CaII-6	33.33%
	CaII-7	9.01%
β -Sitosterol (51)	CaII-9	42.22%
Campesterol (60)	CaII-9	20.63%
Ácidos grasos		
Ácido decanoico (57)	CaII-11	5.71%
Ácido hexadecanoico (58)	CaII-11	16.65%

El porcentaje de abundancia relativa del compuesto identificado corresponde a cada fracción en particular.

Los compuestos hallados en esta investigación han sido aislados originalmente de otras fuentes vegetales, pero es el primer reporte de su presencia en *C. adspersus*. Los resultados sugieren que ciertos compuestos (**51, 52, 53, 36**) aislados de las dos colectas realizadas, a pesar de las variables de recolección y experimentación, poseen cierta constancia en el extracto total de la especie; que en el caso de los fitoesteroles puede explicarse por su amplia distribución en el reino vegetal. Por otro lado, de considerar los reportes previos sobre la composición química del género *Croton* y la familia Euphorbiaceae, puede advertirse que la de *C. adspersus* se relaciona en cuanto a la presencia de terpenos, pero no de alcaloides.^{27,28} Para esclarecer esta situación, lejos de suponer que la especie vegetal no los posee, es importante tomar en cuenta que el estudio químico no está completo ya que se examinó el 50 % y 67 % de las fracciones primarias de la primera y la segunda colecta, respectivamente. También se desconoce como fluctúan los metabolitos secundarios de la planta con el cambio estacional de sus partes aéreas, aunque desde el punto de vista de la bioprospección el follaje de invierno sea menos promisorio para la búsqueda de productos naturales insecticidas. Para continuar con el aislamiento de metabolitos secundarios a partir de *C. adspersus* podrían aplicarse técnicas analíticas de separación cromatográfica en conjunto con análisis espectrométricos o espectroscópicos que permitan enfocar los fraccionamientos en compuestos distintos a los descritos, proceso denominado desreplicación.⁶⁹

7.1 Elucidación estructural de los compuestos aislados

7.1.1 Compuestos con cadenas hidrocarbonadas saturadas (47, 48, 49)

En la especie vegetal se identificaron un *n*-alcano, un ácido y un alcohol graso saturados no ramificados. La longitud de su cadena no fue determinada. En el espectro RMN ^1H del *n*-alcano se observan dos señales, una simple y ancha en δ_{H} 1.25 correspondiente a la cadena alifática (H-2) y un triple centrado en δ_{H} 0.88 que debido a la simetría de la molécula pertenece a los dos metilos terminales de la cadena (H-1, H-1'). En lo que concierne a los datos espectroscópicos del ácido graso, en su espectro de RMN ^1H observamos una señal triple en δ_{H} 2.27 de un metileno α a un ácido carboxílico (H-2), una señal quintuple centrada en δ_{H} 1.56 correspondientes a un metileno en posición β al mismo grupo (H-3), una señal simple y ancha en δ_{H} 1.18 que integra para los metilenos de la cadena alifática (H-4 a H-6) y un triple en δ_{H} 0.81 que pertenece al grupo metilo terminal de la cadena (H-7). En el espectro de RMN ^1H del alcohol graso hay un triple en δ_{H} 3.64 correspondiente al metileno base del hidroxilo (H-1), un multiplete en δ_{H} 1.54 de un metileno (H-2), una señal simple ancha en δ_{H} 1.25 que corresponde a la cadena alifática (H-3 a H-6) y una señal triple en δ_{H} 0.88 del metilo de la cadena (H-7). En el espectro de RMN ^{13}C del ácido y el alcohol graso cabe distinguir la presencia de una señal en δ_{C} 180.4 de un grupo carbonilo y δ_{H} 63.3 de un carbono base de hidroxilo, respectivamente, mientras que en el espectro del alcano ambas señales están ausentes. Los datos espectroscópicos de los tres compuestos coinciden con lo reportado en la bibliografía.⁷⁰

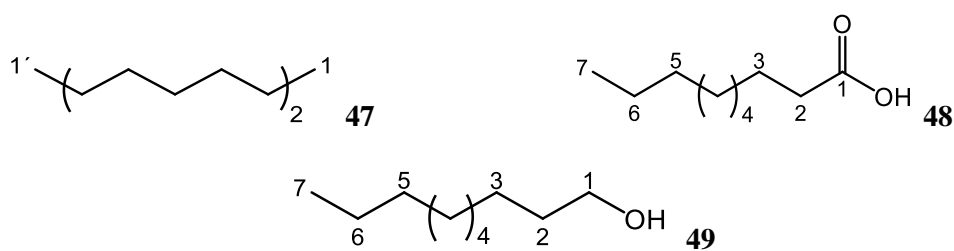


Figura 1. Compuestos con cadenas hidrocarbonadas saturadas aislados (47, 48, 49).

En lo que concierne a su función natural, los ácidos, alcoholes, alcanos, aldehídos, ésteres y triterpenos con largas cadenas hidrocarbonadas suelen encontrarse en una cubierta de protección llamada cutícula sobre las partes aéreas de las plantas superiores. En este sentido, evaluaciones *in vivo* con los alcanos hexacosano, heptacosano y nonacosano han mostrado su efecto insecticida en larvas de lepidóptera.⁷¹⁻⁷³ Una aproximación a su distribución en Euphorbiaceae indica que los alcanos más comunes en esta son hidrocarburos lineales de 27, 29 y 31 carbonos. Desde otro punto

de vista algunas euforbias también han resultado interesantes para la producción de biodiesel, tal es el caso de las semillas de *Jatropha curcas* cuyo aceite transesterificado es rico en los ácidos grasos oleico, linoléico, palmítico y esteárico.^{74,75}

7.1.2 Óxido de β -cariofileno (**10**)

De las primeras fracciones de *C. adspersus* se identificó un sesquiterpeno. La comparación de las señales espectroscópicas en el espectro de RMN ^1H y su correspondencia con los carbonos observados en el experimento HSQC y el espectro RMN ^{13}C , fueron la base para corroborar su presencia. Basándose en la baja polaridad de la muestra diversos compuestos a menudo presentes en los aceites esenciales fueron considerados para establecer su identidad, asimismo, por la presencia de ciertos grupos funcionales sugeridos por los desplazamientos de las señales en el espectro de RMN ^{13}C , estos son la presencia de carbonos vinílicos por las señales en δ_{C} 152.0 y 112.9 y carbonos base de oxígeno en δ_{C} 63.9 y 60.0. Su análisis por EM no pudo realizarse debido a la degradación de la muestra tras la adquisición de los espectros de RMN. Por comparación con los datos de la literatura (véase Tabla 8), particularmente por la coincidencia de 15 señales de carbono en el espectro de RMN ^{13}C y la multiplicidad de los hidrógenos correspondientes, el compuesto se identificó como **10**.

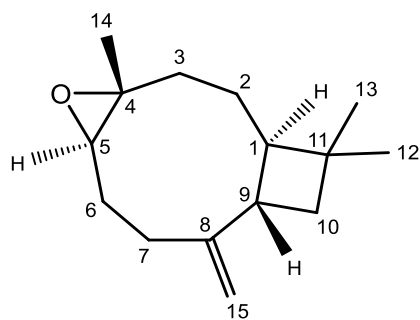


Figura 2. Óxido de β -cariofileno (**10**).

El compuesto **10** es un sesquiterpeno volátil que suele identificarse en los aceites esenciales de las plantas, su abundancia varía entre especies y su rol ecológico es conocido. Entre los efectos insecticidas que se le han explorado se reporta que por ingestión o exposición en ensayos *in vivo* es capaz de matar a termitas adultas *Coptotermes formosanus*, larvas del escarabajo de la papa *Leptinotarsa decemlineata*, del mosquito *A. aegypti* y del gusano del tabaco *Heliothis virescens*.⁷⁶⁻⁷⁸ Además, en el área de la salud se ha investigado que posee propiedades analgésicas y afecta el crecimiento y proliferación de células cancerosas, se sabe que **10** altera las vías de señalización para el desarrollo del cáncer, como la ruta de la proteína quinasa activada por mitógeno o MAPK.⁷⁹

Tabla 8. Datos de RMN ^1H y ^{13}C del óxido de β -cariofileno (**10**).

Posición	$\delta^{13}\text{C}$		$\delta^{13}\text{H}$	
	Referencia (100 MHz, CDCl_3) [†]	Aislado (175 MHz, CDCl_3)	Referencia (400 MHz, CDCl_3) [†]	Aislado (700 MHz, CDCl_3)
1	50.6	51.0	1.76 (H, t, $J = 10$ Hz)	1.76 (3H, t, $J = 9.9$ Hz)
2	27.4	27.4	1.43 (1H, tdd, $J = 13.5, 10.5, 4$ Hz) 1.65 (1H, dddd, $J = 13.5, 5, 3.5, 1$ Hz)	1.43 (1H, dddd, $J = 14.7, 13.5, 10.4, 4.1$ Hz) 1.65 (señal sobrepuesta)
3	39.0	39.3	0.97 (1H, td, $J = 13.0, 5.0$ Hz) 2.09 (1H, dt, $J = 13.0, 3.5$ Hz)	0.97 (señal sobrepuesta) 2.09 (1H, dt, $J = 13.3, 3.9$ Hz)
4	59.9	60.0	-	-
5	63.1	63.9	2.87 (1H, dd, $J = 11.0, 4.0$ Hz)	2.88 (1H, dd, $J = 10.6, 4.2$ Hz)
6	30.2	30.4	1.32 (1H, dddd, $J = 12.5, 11.0, 8.0, 4.5$ Hz) 2.25 (1H, ddt, $J = 12.5, 8.5, 4.5$ Hz)	1.32 (señal sobrepuesta) 2.25 (1H, ddt, $J = 12.4, 8.1, 4.2$ Hz)
7	29.7	30.0	2.11 (1H, ddd, $J = 12.5, 8.5, 4.5$ Hz) 2.34 (1H, ddd, $J = 12.5, 8.0, 4.5$ Hz)	2.11 (señal sobrepuesta) 2.34 (1H, ddd, $J = 12.9, 8.1, 4.5$ Hz)
8	151.7	152.0	-	-
9	48.4	48.9	2.62 (1H, dt, $J = 10, 9.5$ Hz)	2.62 (c, $J = 9.6$ Hz)
10	39.7	39.9	1.62 (1H, t, $J = 10$ Hz) 1.69 (1H, dd, $J = 10, 8$ Hz)	1.63 (señal sobrepuesta) 1.69 (1H, dd, $J = 10.5, 8.4$ Hz)
11	34.2	34.2	-	-
12	29.9	30.1	0.98 (3H, s)	0.99 (3H, s)
13	21.6	21.8	1.01 (3H, s)	1.0 (3H, s)
14	17.0	17.2	1.20 (3H, s)	1.20 (3H, s)
15	112.7	112.9	4.86 (1H, d, $J = 1$ Hz) 4.97 (1H, d, $J = 1$ Hz)	4.86 (1H, d, $J = 1.3$ Hz) 4.97 (1H, d, $J = 1.6$ Hz)

Los desplazamientos se reportan en ppm. [†]Datos de referencia por Heymann *et al.*⁸⁰, Silva *et al.*⁸¹ y Ribeiro *et al.*⁸²

7.1.3 3-*O*-Éster del ácido oleanólico (**50**)

A partir de la información espectroscópica de RMN de ^1H y ^{13}C del compuesto se propuso como estructura base un triterpeno dada la presencia de varias señales propias de metilos y metilenos a campo alto. Adicionalmente, se dedujo la presencia de dos grupos funcionales carbonílicos, uno de ácido carboxílico por el desplazamiento de una señal en δ_{C} 184.2 y otro propio de un éster por la señal en δ_{C} 173.7. También se identificaron las señales correspondientes a dos carbonos vinílicos en δ_{C} 122.5 y 143.7, referidos a un enlace doble trisustituido dada la presencia de solo una señal de hidrógeno triple en δ_{H} 5.26 ($J = 2.9$ Hz) que correlaciona con esta insaturación en el espectro HSQC. Además, de la revisión de los espectros DEPT 90 y 135 se precisó la existencia de 7 carbonos cuaternarios, 5 metinos y 7 metilos. Las señales en RMN ^1H : simple y ancha en δ_{H} 1.25, múltiple en δ_{H} 1.57 y triple ($J = 7.4$ Hz) en δ_{H} 2.29 resultan características de una cadena hidrocarbonada. De la información descrita se concluyó que el compuesto es un ácido triterpénico esterificado en la posición 3, como se corrobora por la señal del hidrógeno H-3 que se observa en δ_{H} 4.49 (t, $J = 7.9$ Hz). Con la búsqueda de los datos espectroscópicos en la bibliografía se definió que el compuesto era un 3-*O*-éster del ácido oleanólico (**50**, véase Tabla 9); la longitud de la cadena no fue determinada. Entre las señales consideradas para descartar otros posibles triterpenos están, por ejemplo, el desplazamiento de las señales del enlace doble a δ_{C} 125.7 y 139.3 si se tratara del ácido ursólico (**61**), o el desplazamiento y la multiplicidad del hidrógeno 3 (δ_{H} 3.38, d, $J = 9.5$ Hz) en el caso de ácido maslínico (**62**, véase Figura 4).^{83,84}

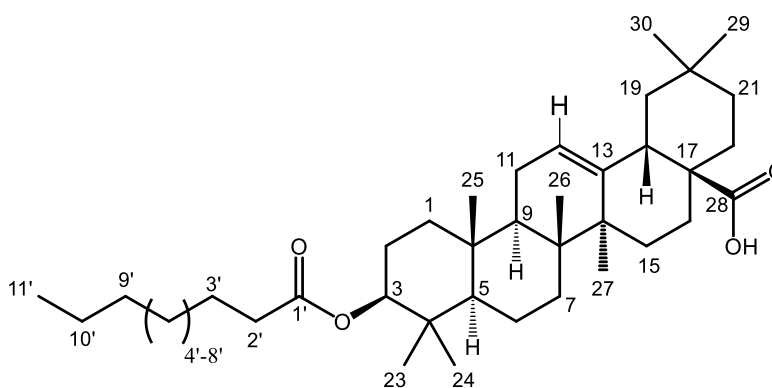


Figura 3. 3-*O*-Éster del ácido oleanólico (**50**).

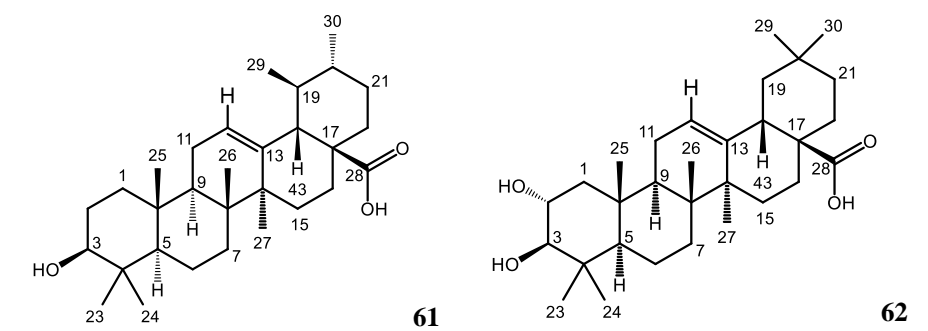


Figura 4. Ácido ursólico (**61**) y ácido maslínico (**62**).

Al analizar el espectro HMBC se establecieron las correlaciones a larga distancia entre δ_C 173.9 (C-1') con δ_H 4.49 (H-3), de δ_C 184.2 (C-28) con δ_H 2.81 (H-18) y δ_C 41.1 (C-18) con δ_H 5.26 (H-12), lo que confirma la esterificación en la posición 3 del triterpeno, la localización del grupo carbonílico ácido y la insaturación en su esqueleto. En la siguiente figura se representan las correlaciones más representativas.

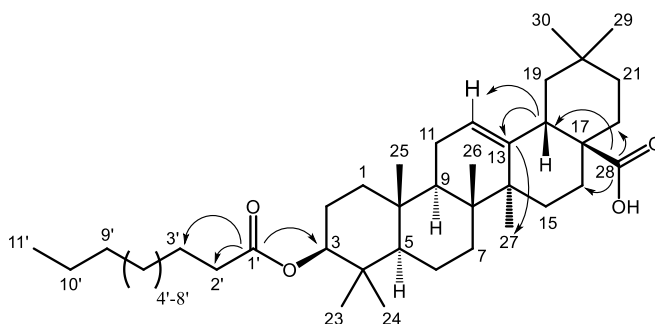


Figura 5. Representación de algunas correlaciones HMBC del 3-*O*-éster del ácido oleanólico (**50**).

Los triterpenos y esteroides esterificados con una variedad de ácidos grasos se han aislado de plantas superiores en general. Por su estructura química puede suponerse que forman parte de la cutícula de las plantas, sin embargo, su rol específico se desconoce. A los derivados del ácido ursólico se les atribuye actividad antibacteriana *in vitro* leve contra algunas bacterias, particularmente el microorganismo fitopatógeno *Pseudomonas syringae*, mientras que a los ésteres del ácido oleanólico se les ha descrito actividad insecticida moderada contra el gusano oriental del tabaco *Spodoptera litura*.^{85,86} Ésteres del ácido oleanólico se han encontrado en *Wedelia paludosa* (Asteraceae).⁸⁷ Los palmitatos de α - y β -amirina aislados de *Brachylaena ramiflora* (Compositae) y *Lobelia inflata* (Campanulaceae), por mencionar algunas actividades biológicas, son citotóxicos contra líneas celulares de cáncer de ovario y a partir de modelos *in vivo* se ha sugerido que son antidepresivos.^{88,89}

Tabla 9. Desplazamientos químicos de ^{13}C de 3-*O*-ésteres de triterpeno.

Posición	Acetato de ácido ursólico (125 MHz, CDCl_3) [†]	Acetato de ácido oleanólico (125 MHz, CDCl_3) [†]	3- <i>O</i> -Éster del ácido oleanólico (50 , 75 MHz, CDCl_3)	Posición	Acetato de ácido ursólico (125 MHz, CDCl_3) [†]	Acetato de ácido oleanólico (125 MHz, CDCl_3) [†]	3- <i>O</i> -Éster del ácido oleanólico (50 , 75 MHz, CDCl_3)
1	38.3	38.1	38.2	25	15.5	15.4	15.5
2	23.6	23.5	22.8	26	17.0	17.1	17.3
3	80.9	80.9	80.7	27	23.6	25.9	26.1
4	37.3	37.7	37.9	28	183.5	182.7	184.2
5	55.2	55.3	55.5	29	21.2	33.1	33.2
6	18.2	18.2	18.3	30	17.1	23.6	23.7
7	32.8	32.6	32.7	<u>CH₃COO-</u>	21.3	21.3	
8	39.5	39.3	39.4	<u>CH₃COO-</u>	171.1	171.0	
9	47.5	47.6	47.7				
10	36.9	37.0	37.1	1'			173.9
11	23.3	23.4	23.6	2'			35.0
12	125.7	122.6	122.7	3'			25.3
13	138.0	143.6	143.7				29.8
14	41.9	41.6	41.7				29.8
15	28.0	27.7	27.8	4'-8'			29.6
16	24.1	22.9	23.0				29.4
17	48.0	46.5	46.7				29.3
18	52.5	41.0	41.1	9'			32.1
19	39.0	45.9	46.0	10'			22.8
20	38.8	30.7	30.8	11'			14.3
21	30.6	33.8	33.9				
22	36.7	32.4	32.6				
23	28.1	28.0	28.2				
24	16.7	16.7	16.9				

El desplazamiento se reporta en ppm. Las posiciones 1' a 11' son las señales observadas de ^{13}C correspondientes a la cadena alifática de **50**. †Datos de referencia por Endo *et al.*⁹⁰

7.4.4 β -Sitosterol (**51**) y estigmasterol (**52**)

La comparación de la muestra aislada con una referencia auténtica de β -sitosterol durante el proceso de fraccionamiento indicó que esta era su identidad probable. En el espectro de RMN ^{13}C se advierte la presencia de dos señales de carbonos olefínicos en δ_{C} 140.9 y δ_{C} 121.9. En el espectro de RMN ^1H se distingue una señal de multiplicidad tt en δ_{H} 3.52 ($J = 10.7, 4.7$ Hz) correspondiente al hidrógeno geminal a un grupo hidroxilo y una señal doble en δ_{H} 5.14 característica de un hidrógeno vinílico ($J = 15.2, 8.4$ Hz). Lo mencionado coincide con lo reportado para el β -sitosterol, sin embargo, en el espectro de RMN ^1H también se observan dos señales doble de dobles en δ_{H} 5.16 y δ_{H} 5.02 ($J = 15.2, 8.1$ Hz) que corresponderían a una olefina *trans*-disustituida, característico de los protones H-22 y H-23 del estigmasterol. La comparación de los datos espectroscópicos con la bibliografía mostró que se trataba de la mezcla de β -sitosterol (**51**) y estigmasterol (**52**).^{91,92}

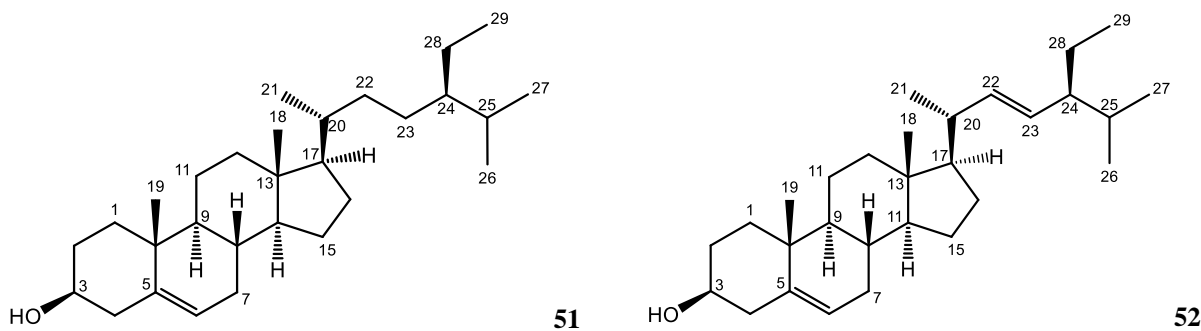


Figura 6. β -Sitosterol (**51**) y estigmasterol (**52**).

El fitoesterol **52** es producido por las plantas mediante la ruta del mevalonato a partir de la oxidación enzimática de los carbonos del enlace en C-22 de **51**. Se ha sugerido que la conversión esta mediada como respuesta a hormonas y estrés ambiental, especialmente por el crecimiento de la planta sobre suelos salinos y la exposición a temperaturas desfavorables.⁹³ Además, los esteroles **51** y **52** son parte integral de las membranas de las células vegetales, donde están intercalados con los fosfolípidos.⁹⁴

7.1.5 Sitostenona (**53**)

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto se pueden observar 29 señales de carbono. Una de las señales sugirió la presencia de un grupo carbonilo de cetona por su desplazamiento en δ_{C} 199.6 y otras dos señalaron, por su desplazamiento en δ_{C} 171.7 y δ_{C} 123.7, la existencia de una insaturación trisustituida debido a que en el espectro de RMN ^1H solo hay una señal simple de tipo vinílico en

δ_H 5.71 que integra para 1 hidrógeno. Con la interpretación mencionada y en consideración de su similitud espectroscópica con el β -sitosterol se propuso que se trataba de la sitostenona ($C_{29}H_{48}O$, **53**), cuyo peso molecular coincide con el ion molecular de m/z 412 del espectro de masas del compuesto. Por comparación de la información espectroscópica y espectrométrica con la disponible en la bibliografía se confirmó dicha identidad.^{95,96}

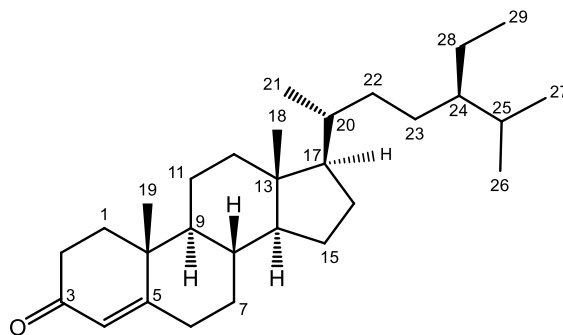


Figura 7. Sitostenona (**53**).

7.4.6 3-*O*-Éster del β -sitosterol (**54**)

Mediante el análisis de la información espectroscópica de este compuesto se conjeturó que se trataba de un triterpeno dadas las señales a campo alto propias de metilos y metilenos alifáticos. En particular, el perfil espectroscópico fue semejante al de la mezcla de β -sitosterol y estigmasterol, posiblemente el β -sitosterol esterificado en el oxígeno de la posición 3, como se explicará a continuación. El espectro de RMN 1H presenta una señal simple y ancha desplazada a δ_H 1.25, que se atribuye a un elevado número de metilenos propios de una cadena hidrocarbonada, que se supuso como la porción alifática de un éster por la presencia de una señal en RMN ^{13}C cuyo desplazamiento a δ_C 173.5 coincide con un grupo carbonílico no ácido, a lo que se añade una señal triple en δ_H 2.26 ($J = 7.5$ Hz) propia de un carbono (C-2') α al carbonilo. Debido al desplazamiento de la señal tdd a δ_H 4.61 ($J = 10.7, 6.8, 3.0$ Hz), correspondiente al hidrógeno en la posición 3 del presumible esterol, se confirmó la esterificación del hidroxilo de la posición 3, cuya señal de carbono correspondiente (C-3) se desplazó a δ_C 74.0. Un comparativo de los desplazamientos de las señales de RMN ^{13}C de la muestra con la información reportada para el palmitato de β -sitosterilo se encuentra en la Tabla 10. La coincidencia de la información espectroscópica con la literatura corroboró que se trata de un 3-*O*-éster de β -sitosterol (**54**), sin embargo, la longitud de la cadena no fue determinada.^{97,98}

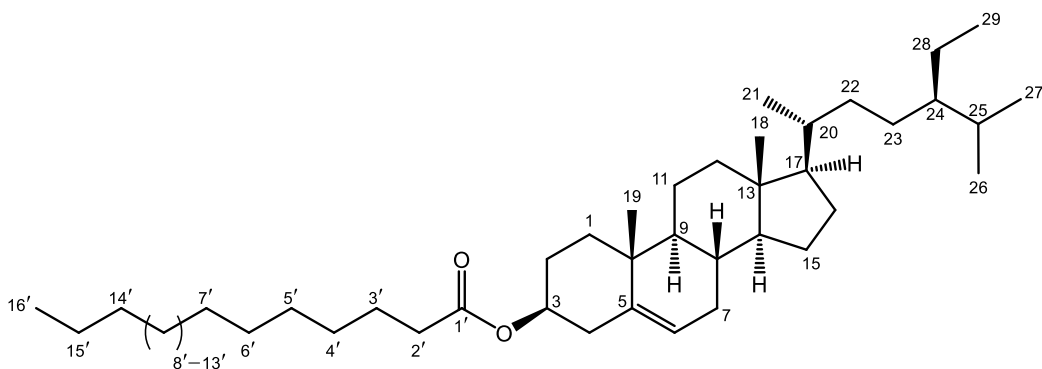


Figura 8. 3-*O*-Éster del β -sitosterol (**54**).

Tabla 10. Desplazamientos químicos de ^{13}C de 3-*O*-ésteres del β -sitosterol.

Posición	Palmitato de β -sitosterilo (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) [†]	3- <i>O</i> -Éster del β -sitosterol (54 , 175 MHz, CDCl_3)	Posición	Palmitato de β -sitosterilo (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) [†]	3- <i>O</i> -Éster del β -sitosterol (54 , 175 MHz, CDCl_3)
1	37.0	37.2	27	20.1	19.2
2	27.8	28.0	28	23.0	23.2
3	73.6	73.8	29	12.0	12.1
4	38.1	38.3			
5	139.7	139.9			
6	122.6	122.7	1'	173.4	173.5
7	31.9	32.1	2'	34.7	34.9
8	31.8	32.0	3'	25.1	25.2
9	50.2	50.2	4'	29.3	29.3
10	36.6	36.8	5'	29.4	29.4
11	21.0	21.2	6'	29.6	29.5
12	39.7	39.9			29.6
13	42.3	42.5			29.8
14	56.7	56.9			29.8
15	24.3	24.5	7'-13'	29.7-31.8	29.8
16	25.2	28.4			29.8
17	55.9	56.2			29.9
18	11.8	12.0			29.9
19	19.2	19.5	14'	31.9	32.1
20	36.1	36.3	15'	22.7	22.9
21	18.9	18.9	16'	14.1	14.3
22	34.0	34.1			
23	26.0	26.3			
24	45.8	46.0			
25	29.1	29.3			
26	20.0	20.0			

El desplazamiento se reporta en ppm. [†]Datos de referencia por Fan *et al.*⁹⁸

7.4.7 Fitol (**55**)

El análisis del espectro de RMN ^{13}C y HSQC mostró que la molécula aislada se componía de 20 carbonos, uno de tipo cuaternario, cuatro metinos, diez metilenos y cinco metilos. En el espectro de RMN ^{13}C el desplazamiento de una señal a δ_{C} 59.6 sugirió la presencia de un carbono base de hidroxilo y dos señales a δ_{C} 140.4 y 123.2 indicaron la existencia de un enlace doble. Se conjeturó que la insaturación es trisustituida ya que solo una señal a δ_{H} 5.41 en el espectro de RMN ^1H correspondería por su desplazamiento con un hidrógeno olefínico (H-2). En el mismo espectro una señal doble en δ_{H} 4.15 ($J = 7.0$ Hz) se identificó como un metileno base de oxígeno, acoplado con el hidrógeno olefínico (H-2). Considerando el número de señales de ^{13}C observadas y los grupos funcionales sugeridos se propuso que **55** es fitol, un diterpeno con fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}$, cuya información espectroscópica en la bibliografía coincide con la adquirida.⁹⁹ Además, tomando el desplazamiento en δ_{H} 1.66 de la señal RMN ^1H del metilo vínilico (CH_3 -20) se propone que es el isómero geométrico (*E*)-fitol.¹⁰⁰

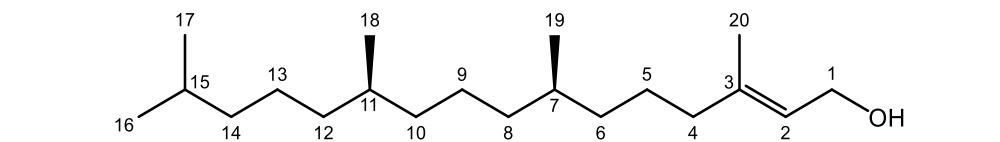


Figura 9. Fitol (**55**).

En las plantas, **55** puede encontrarse como una cola hidrofóbica de la clorofila que se ancla a la membrana fotosintética de los tilacoides en los cloroplastos. Se reporta que el fitol posee leve actividad insecticida por evaluaciones contra larvas del gusano oriental del tabaco (*S. litura*).¹⁰¹ Cabe mencionar que para el caso de los terpenos insecticidas se hallaron mecanismos de desintoxicación en los insectos por degradación enzimática con monooxigenasas microsomales.¹⁰² En cuanto a las evaluaciones biológicas del fitol en el área clínica, se ha explorado en gran diversidad de modelos, fundamentalmente ha resultado exitoso en ensayos de actividad antimicrobiana contra patógenos como el agente causal de la tuberculosis *Mycobacterium tuberculosis*, citotóxica para líneas de cáncer humano especialmente el adenocarcinoma de mama y para el tratamiento de enfermedades neurológicas por su efecto anticonvulsivante, antinociceptivo, antidepresivo y ansiolítico en experimentos *in vivo*.¹⁰³

7.4.8 Luteína (**56**)

De las fracciones de mediana polaridad de *C. adpersus* se aisló una sustancia roja. La información cualitativa aludió a que probablemente se trataba de un pigmento vegetal de tipo carotenoides. De acuerdo con la información espectrométrica de la sustancia su ion molecular es m/z 568.5, en concordancia con los carotenoides dihidroxilados llamados xantofilas cuyo peso molecular suele exceder al de los carotenos (536.9 mg/mol), la otra gran familia de pigmentos vegetales.¹⁰⁴ En el espectro de RMN ^1H se notan a campo bajo las señales de los hidrógenos olefínicos y a campo alto ocho señales singuletes atribuidas a 10 metilos, debido a la sobreposición de los metilos olefínicos que son equivalentes en las xantofilas. La comparación de la información espectroscópica con la reportada para las xantofilas permitió identificar al compuesto **56** como uno de los isómeros estructurales luteína o zeaxantina ($\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_2$), cuya diferencia radica en la posición de un enlace doble en C-4' o C-5', respectivamente.¹⁰⁵ La información del espectro de RMN ^1H para el hidrógeno H-7' permitió determinar la posición del doble enlace en C-4', por la presencia de una señal doble de dobles en δ_{H} 5.43 ($J = 15.4, 9.9$ Hz), cuya multiplicidad se debe al acoplamiento con los hidrógenos H-8' y H-6'.^{106,107} La comparación de los datos espectroscópicos finalizó con la asignación tentativa de la geometría (15-*E*, 13-*E*, 13'-*E*, 9-*E*, 9'-*E*) que corresponde a la de la luteína (**56**). Esto se basó en el desplazamiento de las señales en RMN ^1H a no más de δ_{H} 6.65, caso opuesto para los reportes de los isómeros 15-*Z*, 13-*Z*, 13'-*Z*, 9-*Z* y 9'-*Z*.^{108,109}

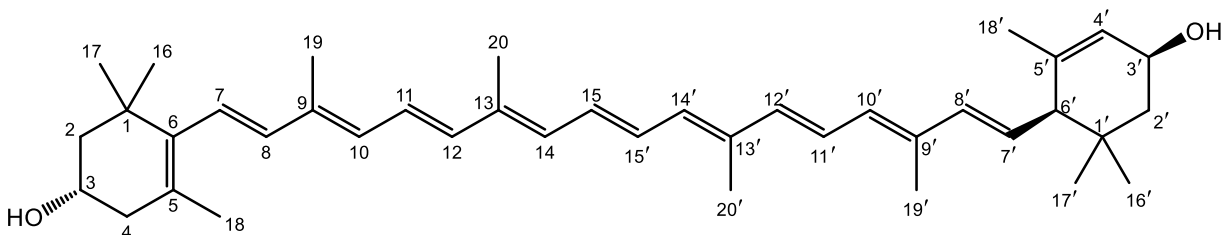


Figura 10. Luteína (**56**).

Los carotenoides son pigmentos naranjas y amarillos producidos por algas y plantas superiores, una de sus principales clases son las xantofilas y cumplen una función protectora. Debido a su labilidad son compuestos antioxidantes que tienden a formar moléculas más pequeñas cuando se combinan con oxígeno atmosférico y a isomerizarse de su forma usual *E* a *Z* cuando interactúan con calor, luz, ácidos o superficies activas como alúmina. Estudios epidemiológicos han relacionado de forma inversa una dieta abundante de estos compuestos con el riesgo de padecer ciertos tipos de cáncer.¹¹⁰

7.4.9 (-)-Quebraquitol (**36**)

De acuerdo con su espectro de RMN ^{13}C el compuesto consta de 7 carbonos, que inicialmente se consideraron base de oxígeno debido a la distribución de sus señales en una región del espectro que involucra efectos de desprotección por la cercanía a átomos electronegativos y dada la naturaleza polar de la muestra que llevó a suponerla altamente hidroxilada. En el espectro de RMN ^1H se observan 6 grupos de señales de cuya integración se advierte la presencia de un metilo y 6 metinos. El análisis del espectro HSQC permitió correlacionar los átomos de carbono e hidrógeno. Dada la coincidencia de los datos espectroscópicos con lo reportado en la bibliografía, el compuesto **36** se identificó como un derivado metilado del *chiro*-inositol.^{111,112} Tras determinar que la sustancia aislada es levógira y su espectro de masas presenta el pico base en m/z 217.2 correspondiente a un aducto del ion molecular $[\text{M}+\text{Na}]^+$, se concluyó que se trata del (-)-quebraquitol o 1L-2-*O*-metil-*chiro*-inositol ($\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_6$, **36**).

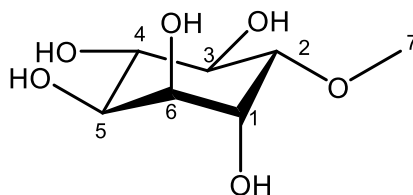
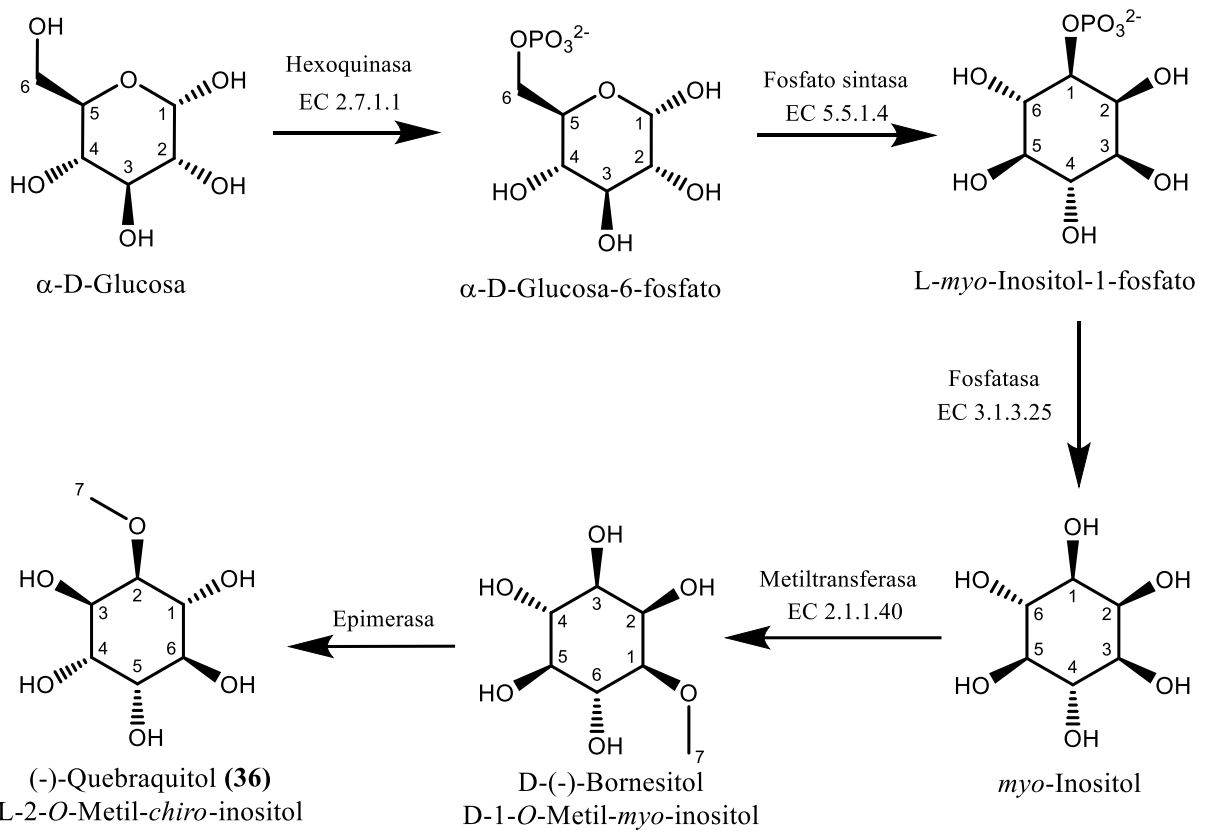


Figura 11. (-)-Quebraquitol (**36**).

El compuesto **36** se ha encontrado en varias especies vegetales como *Allophylus edulis*, *Sapindus rarak* (Sapindaceae), *Dipladenia martiana* (Apocynaceae) y *C. cortesianus* (Euphorbiaceae), rara vez en combinación con su isómero (+)-pinitol.^{34,113} En general, los ciclitolos son una porción importante de los carbohidratos de las plantas. La biosíntesis de **36** según se investigó en la planta *Acer pseudoplatanus* involucra la metilación del *myo*-inositol y la consecuente epimerización del D-(-)-bornesitol (véase Figura 12).^{114,115} Entre sus aplicaciones se ha investigado su potencial como parte del tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 y para el desarrollo de antagonistas del factor de activación plaquetaria. También se ha descrito su capacidad antioxidante y citoprotectora en células gástricas.¹¹³ Por otro lado, se ha explorado su uso como reactivo en síntesis asimétrica y se ha propuesto su producción a partir de la extracción de las aguas residuales de la industria del caucho.¹¹⁶



En los casos de enzimas conocidas se reporta su número EC (*Enzyme Commission*).
 Adaptado de Schilling *et al.*¹¹⁴, Wu *et al.*¹¹⁵ y Ligor *et al.*¹¹⁷

Figura 12. Biosíntesis de (-)-quebraquitol (36).

8. CONCLUSIONES

Mediante el estudio químico de las partes aéreas de *C. adpersus* se hace una contribución al conocimiento del contenido metabólico de una especie de la flora nacional hasta ahora no abordada. Cabe señalar la estacionalidad de la planta y la delimitación de los resultados de este trabajo al follaje de verano. Los compuestos aislados fueron el sesquiterpeno óxido de β -cariofileno (**10**); el diterpeno fitol (**55**) y los fitoesteroles β -sitosterol (**51**), estigmasterol (**52**), un 3-*O*-éster del β -sitosterol (**54**), sitostenona (**53**) y un triterpeno 3-*O*-éster del ácido oleanólico (**50**). También se determinó la presencia de luteína (**56**), una xantofila utilizada como pigmento amarillo en la industria alimentaria, y el (-)-quebraquitol (**36**), un ciclitol. *C. adpersus* mostró estructuras químicas en un rango de polaridad amplio, el estudio abarcó poco más del 50% de las fracciones primarias de dos colectas realizadas, de modo que la descripción química de la especie no está completa. No obstante, el conocimiento generado contribuirá a abordar el estudio de las propiedades e interacciones biológicas de la especie. Además, el conocimiento sobre las clases de metabolitos que posee la especie podría resultar útil para la quimiotaxonomía de los grupos biológicos a los que pertenece. Hasta ahora el panorama coincide con lo reportado para el género *Croton* y la familia *Euphorbiaceae* en cuanto a la presencia de metabolitos hidrocarbonados y terpenos C15, C20 y C30, pero sin caracterizarse diterpenos macrocíclicos y alcaloides como los que se han descrito.²⁸ Un análisis posterior de sus fracciones primarias mediante un sistema acoplado de CG-EM corroboró la distribución de las familias químicas aisladas, especialmente de ácidos grasos (**57, 58**), sesquiterpenos (**59**), triterpenos (**19, 20**) y fitoesteroles (**53, 51, 60**). Para profundizar en el estudio químico-biológico de la planta es necesario superar el reto que representa el bajo rendimiento de sus constituyentes, al mismo tiempo que se recomienda incorporar análisis de desreplicación que orienten a aislamientos novedosos. Finalmente, las propiedades insecticidas de los compuestos encontrados podrían ponderarse con particular interés, ya que la planta ha mostrado esta actividad en ensayos *in vivo* por contacto contra el gorgojo (*Sitophilus zeamais*) y el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) del maíz; para este fin trasciende que la información bibliográfica disponible señale con frecuencia que terpenos (**10**) y ciertos compuestos altamente hidrocarbonados (**47, 48, 49**) están involucrados en mecanismos de defensa química de las partes aéreas de plantas.^{48,73}

9. REFERENCIAS

- 1 Cannell, R. J. P. *Natural Products Isolation*; Humana Press Inc.: Totowa, New Jersey, 1988.
- 2 Delgoda, R.; Murray, J. E. Evolutionary Perspectives on the Role of Plant Secondary Metabolites. In *Pharmacognosy*; Elsevier, 2017; pp 93–100. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802104-0.00007-X>.
- 3 Dayan, F. E.; Cantrell, C. L.; Duke, S. O. Natural Products in Crop Protection. *Bioorganic Med. Chem.* **2009**, *17* (12), 4022–4034. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.01.046>.
- 4 Butler, M. S.; Robertson, A. A. B.; Cooper, M. A. Natural Product and Natural Product Derived Drugs in Clinical Trials. *Nat. Prod. Rep.* **2014**, *31* (11), 1612–1661. <https://doi.org/10.1039/c4np00064a>.
- 5 Newman, D. J.; Cragg, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *J. Nat. Prod.* **2020**, *83* (3), 770–803. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>.
- 6 Cantrell, C. L.; Dayan, F. E.; Duke, S. O. Natural Products as Sources for New Pesticides. *J. Nat. Prod.* **2012**, *75* (6), 1231–1242. <https://doi.org/10.1021/np300024u>.
- 7 Verpoorte, R. Exploration of Nature's Chemodiversity: The Role of Secondary Metabolites as Leads in Drug Development. *Drug Discov. Today* **1998**, *3* (5), 232–238. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(97\)01167-7](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(97)01167-7).
- 8 Mora, C.; Tittensor, D. P.; Adl, S.; Simpson, A. G. B.; Worm, B. How Many Species Are There on Earth and in the Ocean? *PLoS Biol.* **2011**, *9* (8), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001127>.
- 9 Brower, V. Back to Nature: Extinction of Medicinal Plants Threatens Drug Discovery. *J. Natl. Cancer Inst.* **2008**, *100* (12), 838–839. <https://doi.org/10.1093/jnci/djn199>.
- 10 Espinosa García, F. J.; Delgado, G. Relationship between Ecology of Plant Defense and the Prospection of Secondary Metabolites with Potential Medicinal or Agricultural Application. *Rev. Latinoam. Química* **1998**, *26* (1), 13–29.
- 11 Rates, S. M. K. Plants as Source of Drugs. *Toxicon* **2001**, *39* (5), 603–613. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(00\)00154-9](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(00)00154-9).
- 12 Firn, R. D. Bioprospecting - Why Is It so Unrewarding? *Biodivers. Conserv.* **2003**, *12* (2), 207–216. <https://doi.org/10.1023/A:1021928209813>.
- 13 López Echartea, E. Evaluación de *Croton morifolius* Willd. (Euforbiaceae) como Fitoplaguicida para Graneros de Pequeños Productores Agrícolas; 2011.
- 14 Webster, G. L. A Provisional Synopsis of the Sections of the Genus *Croton* (Euphorbiaceae). *Taxon* **1993**, *42* (4), 793–823. <https://doi.org/10.2307/1223265>.
- 15 Webster, G. L. Synopsis of the Genera and Suprageneric Taxa of Euphorbiaceae. *Ann. Missouri Bot. Gard.* **1994**, *81* (1), 33. <https://doi.org/10.2307/2399909>.
- 16 Integrated Taxonomic Information System. ITIS <https://www.itis.gov/>.
- 17 The Angiosperm Phylogeny Group. An Update of the Angiosperm Phylogeny Group Classification for the Orders and Families of Flowering Plants: APG II. *Bot. J. Linn. Soc.* **2003**, *141* (4), 399–436. <https://doi.org/10.1046/j.1095-8339.2003.t01-1-00158.x>.
- 18 Tokuoka, T. Molecular Phylogenetic Analysis of Euphorbiaceae Sensu Stricto Based on Plastid and Nuclear DNA Sequences and Ovule and Seed Character Evolution. *J. Plant Res.* **2007**, *120* (4), 511–522. <https://doi.org/10.1007/s10265-007-0090-3>.

- 19 Villaseñor, J. L. Catálogo de Las Plantas Vasculares Nativas de México. *Rev. Mex. Biodivers.* **2016**, 87 (3), 559–902. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.06.017>.
- 20 Martínez Gordillo, M.; Jiménez Ramírez, J.; Cruz Durán, R.; Juárez Arriaga, E.; García, R.; Cervantes, A.; Mejía Hernández, R. Los Géneros de la Familia Euphorbiaceae en México (Parte A). *An. del Inst. Biol. Ser. Botánica* **2002**, 73 (2), 197–219.
- 21 Steinmann, V. W. Diversidad y Endemismos de la Familia Euphorbiaceae en México. *Acta Botánica Mex.* **2002**, No. 61, 61–93.
- 22 Wurdack, K. J.; Hoffmann, P.; Chase, M. W. Molecular Phylogenetic Analysis of Uniovulate Euphorbiaceae (Euphorbiaceae *sensu stricto*) Using Plastid RbcL and TrnL-F DNA Sequences. *Am. J. Bot.* **2005**, 92 (8), 1397–1420. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.8.1397>.
- 23 The Plant List. The Plant List <http://www.theplantlist.org> (consultado el 25 Feb 2020).
- 24 Martínez Gordillo, M.; Morrone, J. J. Patrones de Endemismo y Disyunción de los Géneros de Euphorbiaceae *sensu lato*: Un Análisis Panbiogeográfico. *Bot. Sci.* **2017**, 33 (77), 21. <https://doi.org/10.17129/botsci.1710>.
- 25 Calderon de Rzedowski, Graciela; Rzedowski, J. *Flora Fanerogámica del Valle de México*, 2a ed.; INECOL, A. C.-C., Ed.; Pátzcuaro, Michoacán, 2005.
- 26 Palmeira, S. F.; Conserva, L. M.; Barbosa Filho, J. M. Clerodane Diterpenes from *Croton* Species: Distribution and a Compilation of Their ¹³C NMR Spectral Data. *Nat. Prod. Commun.* **2006**, 1 (4), 319–344. <https://doi.org/10.1177/1934578x0600100410>.
- 27 Salatino, A.; Salatino, M. L. F.; Negri, G. Traditional Uses, Chemistry and Pharmacology of *Croton* Species (Euphorbiaceae). *J. Braz. Chem. Soc.* **2007**, 18 (1), 11–33. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532007000100002>.
- 28 Wen Hui, X.; Wei Yi, L.; Qian, L. Chemical Constituents from *Croton* Species and Their Biological Activities. *Molecules* **2018**, 23 (9), 2333. <https://doi.org/10.3390/molecules23092333>.
- 29 Berry, P. E.; Hipp, A. L.; Wurdack, K. J.; Van Ee, B.; Riina, R. Molecular Phylogenetics of the Giant Genus *Croton* and Tribe Crotonae (Euphorbiaceae *Sensu Stricto*) Using ITS and TrnL-TrnF DNA Sequence Data. *Am. J. Bot.* **2005**, 92 (9), 1520–1534. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.9.1520>.
- 30 van Ee, B.; Beery, P. E. Typification Notes for *Croton* (Euphorbiaceae). *Harvard Pap. Bot.* **2010**, 15 (1), 73–84.
- 31 van Ee, B. W.; Riina, R.; Berry, P. E. A Revised Infrageneric Classification and Molecular Phylogeny of New World *Croton* (Euphorbiaceae). *Taxon* **2011**, 60 (3), 791–823. <https://doi.org/10.1002/tax.603013>.
- 32 Stuart, B. K. L.; Chambers, C.; Husbands, G. E. M. Alkaloids from *Croton* Species. Part X. Two New Reduced Proaporphine Alkaloids. *J. Chem. Soc.* **1970**, No. 1228, 1228–1230.
- 33 Queiroz, M. M. F.; Queiroz, E. F.; Zeraik, M. L.; Marti, G.; Favre Godal, Q.; Simões Pires, C.; Marcourt, L.; Carrupt, P. A.; Cuendet, M.; Paulo, M. Q.; Bolzani, V. S.; Wolfender, J. L. Antifungals and Acetylcholinesterase Inhibitors from the Stem Bark of *Croton heliotropiifolius*. *Phytochem. Lett.* **2014**, 10, 88–93. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2014.08.013>.
- 34 Siems, K.; Dominguez, X. A.; Jakupovic, J. Diterpenes and Other Constituents from *Croton cortesianus*. *Phytochemistry* **1992**, 31 (12), 4363–4365. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)80479-X](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)80479-X).
- 35 Stuart, K. L.; McNeill, D.; Kutney, J. P.; Eigendorf, G.; Klein, F. K. Isolation and Synthesis of Glutamine and Glutarimide Derivates from *Croton humilis*. *Tetrahedron* **1973**, 29, 4071–4075.

- 36 Capasso, A.; Piacente, S.; De Tommasi, N.; Ragucci, M.; Pizza, C. Constituents Of *Croton menthodorus* and Their Effects on Electrically Induced Contractions of the Guinea-Pig Isolated Ileum. *Phyther. Res.* **2000**, *14* (3), 156–159. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(200005\)14:3<156::AID-PTR630>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(200005)14:3<156::AID-PTR630>3.0.CO;2-V).
- 37 Catalán, C. A. N.; De Heluani, C. S.; Kotowicz, C.; Gedris, T. E.; Herz, W. A Linear Sesterterpene, Two Squalene Derivatives and Two Peptide Derivatives from *Croton hieronymi*. *Phytochemistry* **2003**, *64* (2), 625–629. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00202-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00202-4).
- 38 Rios, M. Y.; Aguilar-Guadarrama, A. B. Nitrogen-Containing Phorbol Esters from *Croton ciliatoglandulifer* and Their Effects on Cyclooxygenases-1 and -2. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69* (6), 887–890. <https://doi.org/10.1021/np0504311>.
- 39 Arevalo, C.; Lotti, C.; Piccinelli, A. L.; Russo, M.; Ruiz, I.; Rastrelli, L. Magnoflorine and Phenolic Derivatives from the Leaves of *Croton xalapensis* L. (Euphorbiaceae). *Notural Prod. Commun.* **2009**, *4* (12), 1679–1700.
- 40 García Díaz, J.; Escalona Arranz, J. C.; do Carvalho, C. M.; Rojas Vargas, J.; Machado García, R.; Vega Acosta, J. Aislamiento y Caracterización de Metabolitos de Hojas de *Croton linearis* Jacq. *Rev. Cuba. Química* **2015**, *27* (3), 289–301.
- 41 Weber, J.; Hecker, E. Cocarcinogens of the Diterpene Ester Type from *Croton flavens* L. and Esophageal Cancer in Curacao. *Experientia* **1978**, *34*, 679–682.
- 42 Piacente, S.; Belisario, M. A.; Del Castillo, H.; Pizza, C.; De Feo, V. *Croton ruizianus*: Platelet Proaggregating Activity of Two New Pregnane Glycosides. *J. Nat. Prod.* **1998**, *61* (3), 318–322. <https://doi.org/10.1021/np970399d>.
- 43 Novello, C. R.; Marques, L. C.; Pires, M. E.; Kutschenco, A. P.; Nakamura, C. V.; Nocchi, S.; Sarragiotto, M. H.; Mello, J. C. P. Bioactive Indole Alkaloids from *Croton echiodides*. *J. Braz. Chem. Soc.* **2016**, *27* (12), 2203–2209. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20160112>.
- 44 Vidal, C. S.; Oliveira Brito Pereira Bezerra Martins, A.; Alencar Silva, A.; Oliveira, M. R. C.; Ribeiro Filho, J.; de Albuquerque, T. R.; Coutinho, H. D. M.; Silva Almeida, J. R. G.; Quintans, L. J.; Menezes, I. R. A. Gastroprotective Effect and Mechanism of Action of *Croton rhamnifolioides* Essential Oil in Mice. *Biomed. Pharmacother.* **2017**, *89*, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.02.005>.
- 45 Dutta, S.; Chakraborty, A. K.; Dey, P.; Kar, P.; Guha, P.; Sen, S.; Kumar, A.; Sen, A.; Chaudhuri, T. K. Amelioration of CCl4 Induced Liver Injury in Swiss Albino Mice by Antioxidant Rich Leaf Extract of *Croton bonplandianus* Baill. *PLoS One* **2018**, *13* (4), 1–30. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196411>.
- 46 Aponte, J. C.; Vaisberg, A. J.; Rojas, R.; Caviedes, L.; Lewis, W. H.; Lamas, G.; Sarasara, C.; Gilman, R. H.; Hammond, G. B. Isolation of Cytotoxic Metabolites from Targeted Peruvian Amazonian Medicinal Plants. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71* (1), 102–105. <https://doi.org/10.1021/np070560c>.
- 47 Santos, P. M. L.; Schripsema, J.; Kuster, R. M. Flavonóides O-Glicosilados de *Croton campestris* St. Hill. (Euphorbiaceae). *Brazilian Jorunal Pharmacogn.* **2005**, *15* (4), 321–325.
- 48 Boulogne, I.; Petit, P.; Ozier Lafontaine, H.; Desfontaines, L.; Loranger Merciris, G. Insecticidal and Antifungal Chemicals Produced by Plants: A Review. *Environ. Chem. Lett.* **2012**, *10* (4), 325–347. <https://doi.org/10.1007/s10311-012-0359-1>.
- 49 Rahuman, A. A.; Gopalakrishnan, G.; Venkatesan, P.; Geetha, K. Larvicidal Activity of Some Euphorbiaceae Plant Extracts against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasitol. Res.* **2008**, *102* (5), 867–873. <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0839-6>.

- 50 Silva, C. G. V.; Zago, H. B.; Júnior, H. J. G. S.; Da Camara, C. A. G.; De Oliveira, J. V.; Barros, R.; Schwartz, M. O. E.; Lucena, M. F. A. Composition and Insecticidal Activity of the Essential Oil of *Croton grewioides* Baill. against Mexican Bean Weevil (*Zabrotes subfasciatus* Boheman). *J. Essent. Oil Res.* **2008**, *20* (2), 179–182. <https://doi.org/10.1080/10412905.2008.9699985>.
- 51 Dória, G. A. A.; Silva, W. J.; Carvalho, G. A.; Alves, P. B.; Cavalcanti, S. C. H. A Study of the Larvicidal Activity of Two *Croton* Species from Northeastern Brazil against *Aedes aegypti*. *Pharm. Biol.* **2010**, *48* (6), 615–620. <https://doi.org/10.3109/13880200903222952>.
- 52 Torres, M. C. M.; Assunção, J. C.; Santiago, G. M. P.; Andrade Neto, M.; Silveira, E. R.; Costa Lotufo, L. V.; Bezerra, D. P.; Filho, J. D. B. M.; Viana, F. A.; Pessoa, O. D. L. Larvicidal and Nematicidal Activities of the Leaf Essential Oil of *Croton regelianus*. *Chem. Biodivers.* **2008**, *5* (12), 2724–2728. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200890227>.
- 53 Bandara, B. M.; Wimalasiri, W.; Bandara, K. A. N. Isolation and Insecticidal Activity of (-)-Hardwickiic Acid from *Croton aromaticus*. *Planta Med.* **1987**, *53* (06), 575–575. <https://doi.org/10.1055/s-2006-962818>.
- 54 Bandara, B. M. R.; Wimalasiri, W. R.; Macleod, J. K. Ent-Kauranes and Oleananes from *Croton lacciferus*. *Phytochemistry* **1988**, *27* (3), 869–871. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)84109-8](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)84109-8).
- 55 Alexander, I. C.; Pascoe, K. O.; Manchard, P.; Williams, L. A. D. An Insecticidal Diterpene from *Croton linearis*. *Phytochemistry* **1991**, *30* (6), 1801–1803. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)85016-S](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)85016-S).
- 56 El Babili, F.; Fabre, N.; Moulis, C.; Fouraste, I. Molluscicidal Activity against *Bulinus truncatus* of *Croton campestris*. *Fitoterapia* **2006**, *77* (5), 384–387. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.03.003>.
- 57 Missouri Botanical Garden. Tropicos <http://legacy.tropicos.org/> (consultado el 25 Feb 2020).
- 58 CONABIO. Malezas de México. <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/home-malezas-mexico.htm> (consultado el 25 Feb 2020).
- 59 Global Biodiversity Information Facility. Maps API <https://www.gbif.org/species/3057843> (consultado el 25 Feb 2020).
- 60 Gómez Sánchez, S. Morfo-Anatomía de *Croton adspersus* Benth. (Euphorbiaceae) y su Relación con Algunos Factores Climáticos en Dos Temporadas Contrastantes, Universidad Nacional Autónoma de México, 2017.
- 61 Almeida, J.; Souza, A. V.; Oliveira, A. P.; Santos, U.; Souza, M.; Bispo, L.; Turatti, Z. C.; Lopes, N. Chemical Composition of Essential Oils from *Croton conduplicatus* (Euphorbiaceae) in Two Different Seasons. *J. Essent. Oil Bear. Plants* **2014**, *17* (6), 1137–1145. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.931254>.
- 62 Vieira Souza, A. V.; Britto, D.; Soares Santos, U.; Passos Bispo, L.; Casanova Turatti, I. C.; Peporine Lopes, N.; Paula Oliveira, A.; Silva Almeida, J. R. G. Influence of Season, Drying Temperature and Extraction Time on the Yield and Chemical Composition of ‘Marmeleiro’ (*Croton sonderianus*) Essential Oil. *J. Essent. Oil Res.* **2017**, *29* (1), 76–84. <https://doi.org/10.1080/10412905.2016.1178183>.
- 63 Sierra Ruíz, M. L. Prospección de Bio-Insecticidas o Moduladores de Resistencia a Insecticidas en Gusano Cogollero (*Spodoptera frugiperda*) a Partir de Plantas Abundantes en Michoacán, Reporte de residencia profesional, Instituto Tecnológico Superior de Puruándiro, México, 2018.
- 64 Lemus Puente, Y. Prospección de Bio-Insecticidas y Moduladores de Resistencia a Insecticidas en el Gorgojo de Maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) a Partir de Plantas Abundantes en Michoacán, Reporte de residencia profesional, Instituto Tecnológico Superior de Puruándiro, México, 2017.
- 65 Pirrung, M. C. *The Synthetic Organic Chemist's Companion*; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2007. <https://doi.org/10.1002/9780470141045>.

- 66 Jamaluddin, F.; Mohamed, S.; Lajis, M. N. Hypoglycaemic Effect of *Parkia speciosa* Seeds Due to the Synergistic Action of β -Sitosterol and Stigmasterol. *Food Chem.* **1994**, *49* (4), 339–345. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(94\)90002-7](https://doi.org/10.1016/0308-8146(94)90002-7).
- 67 Hang, J.; Dussault, P. A Concise Synthesis of β -Sitosterol and Other Phytosterols. *Steroids* **2010**, *75* (12), 879–883. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2010.05.016>.
- 68 Ríos Cortés, G. R. C.; Ramírez Aguilar, D.; Bobadilla Reyes, C. Q.; Ríos Cortés, A. M.; Ramírez Bello, M. A.; Sales Chávez, R. M.; Rosas Morales, M. Remoción de Clorofilas Presentes en Extractos de Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) por Adsorción con Carbón Activado y Precipitación con Cal Grado Alimenticio. *Acta Univ.* **2017**, *27* (1), 67–75. <https://doi.org/10.15174/au.2017.1209>.
- 69 Hubert, J.; Nuzillard, J. M.; Renault, J. H. Dereplication Strategies in Natural Product Research: How Many Tools and Methodologies behind the Same Concept? *Phytochem. Rev.* **2017**, *16* (1), 55–95. <https://doi.org/10.1007/s11101-015-9448-7>.
- 70 Pretsch, E.; Bühlmann, P.; Affolter, C. *Structure Determination of Organic Compounds*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2000. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-04201-4>.
- 71 Poonsri, W.; Pluempanupat, W.; Chitchirachan, P.; Bullangpoti, V.; Koul, O. Insecticidal Alkanes from *Bauhinia scandens* var. *Horsfieldii* against *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). *Ind. Crops Prod.* **2015**, *65*, 170–174. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.11.040>.
- 72 Junhirun, P.; Pluempanupat, W.; Yooboon, T.; Ruttanaphan, T.; Koul, O.; Bullangpoti, V. The Study of Isolated Alkane Compounds and Crude Extracts from *Sphagneticola trilobata* (Asterales: Asteraceae) as a Candidate Botanical Insecticide for Lepidopteran Larvae. *J. Econ. Entomol.* **2018**, *111* (6), 2699–2705. <https://doi.org/10.1093/jee/toy246>.
- 73 Aragón, W.; Reina Pinto, J. J.; Serrano, M. The Intimate Talk between Plants and Microorganisms at the Leaf Surface. *J. Exp. Bot.* **2017**, *68* (19), 5339–5350. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx327>.
- 74 Gnecco, S.; Bartulin, J.; Becerra, J.; Marticorena, C. *n*-Alkanes from Chilean Euphorbiaceae and Compositae Species. *Phytochemistry* **1989**, *28* (4), 1254–1256. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(89\)80222-5](https://doi.org/10.1016/0031-9422(89)80222-5).
- 75 Silitonga, A. S.; Atabani, A. E.; Mahlia, T. M. I.; Masjuki, H. H.; Badruddin, I. A.; Mekhilef, S. A Review on Prospect of *Jatropha curcas* for Biodiesel in Indonesia. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2011**, *15* (8), 3733–3756. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.07.011>.
- 76 Gunasena, G. H.; Vinson, S. B.; Williams, H. J.; Stipanovic, R. D. Effects of Caryophyllene, Caryophyllene Oxide, and Their Interaction with Gossypol on the Growth and Development of *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* **1988**, *81* (1), 93–97. <https://doi.org/10.1093/jee/81.1.93>.
- 77 Bettarini, F.; Borgonovi, G. E.; Fiorani, T.; Gagliardi, I.; Caprioli, V.; Massardo, P.; Ogoche, J. I. J.; Hassanali, A.; Nyandat, E.; Chapy, A. Antiparasitic Compounds from East African Plants: Isolation and Biological Activity of Anonaine, Matricarianol, Canthin-6-One and Caryophyllene Oxide. *Int. J. Trop. Insect Sci.* **1993**, *14* (01), 93–99. <https://doi.org/10.1017/S174275840001345X>.
- 78 Sen Sung, C.; Chi Lin, W.; Hui Ting, C.; Yu Ting, K.; Shang Tzen, C. Antitermitic and Antifungal Activities of Essential Oil of *Calocedrus formosana* Leaf and Its Composition. *J. Chem. Ecol.* **2004**, *30* (10), 1957–1967. <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000045588.67710.74>.
- 79 Fidy, K.; Fiedorowicz, A.; Strzdała, L.; Szumny, A. β -Caryophyllene and β -Caryophyllene Oxide-Natural Compounds of Anticancer and Analgesic Properties. *Cancer Med.* **2016**, *5* (10), 3007–3017. <https://doi.org/10.1002/cam4.816>.
- 80 Heymann, H.; Tezuka, Y.; Kikuchi, T.; Supriyatna, S. Constituents of *Sindora sumatrana* MIQ. I. Isolation and NMR Spectral Analysis of Sesquiterpenes from the Dried Pods. *Chem. Pharm. Bull.* **1994**, *42* (1), 138–146. <https://doi.org/10.1248/cpb.42.138>.

- 81 Silva, C. de M. da; Bolzan, A. A.; Mallmann, C. A.; Pozzatti, P.; Alves, S. H.; Heinzmann, B. M. Sesquiterpenoids of *Senecio Bonariensis* Hook. & Arn., Asteraceae. *Rev. Bras. Farmacogn.* **2010**, *20* (1), 87–92. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2010000100018>.
- 82 Ribeiro, V. P.; Arruda, C.; da Silva, J. J. M.; Aldana Mejia, J. A.; Furtado, N. A. J. C.; Bastos, J. K. Use of Spinning Band Distillation Equipment for Fractionation of Volatile Compounds of *Copaifera Oleoresins* for Developing a Validated Gas Chromatographic Method and Evaluating Antimicrobial Activity. *Biomed. Chromatogr.* **2019**, *33* (2), e4412. <https://doi.org/10.1002/bmc.4412>.
- 83 Taniguchi, S.; Imayoshi, Y.; Kobayashi, E.; Takamatsu, Y.; Ito, H.; Hatano, T.; Sakagami, H.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Sugita, D.; Shimura, S.; Yoshida, T. Production of Bioactive Triterpenes by *Eriobotrya japonica* Calli. *Phytochemistry* **2002**, *59* (3), 315–323. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00455-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00455-1).
- 84 Seebacher, W.; Simic, N.; Weis, R.; Saf, R.; Kunert, O. Complete Assignments of ^1H and ^{13}C NMR Resonances of Oleanolic Acid, 18α -Oleanolic Acid, Ursolic Acid and Their 11-oxo Derivatives. *Magn. Reson. Chem.* **2003**, *41* (8), 636–638. <https://doi.org/10.1002/mrc.1214>.
- 85 Mallavadhani, U. V.; Mahapatra, A.; Raja, S. S.; Manjula, C. Antifeedant Activity of Some Pentacyclic Triterpene Acids and Their Fatty Acid Ester Analogues. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51* (7), 1952–1955. <https://doi.org/10.1021/jf020691d>.
- 86 Mallavadhani, U. V.; Mahapatra, A.; Jamil, K.; Reddy, P. S. Antimicrobial Activity of Some Pentacyclic Triterpenes and Their Synthesized 3-*O*-Lipophilic Chains. *Biol. Pharm. Bull.* **2004**, *27* (10), 1576–1579. <https://doi.org/10.1248/bpb.27.1576>.
- 87 Carvalho, G. J. A.; Carvalho, M. G.; Ferreira, D. T.; Faria, T. de J.; Braz Filho, R. Diterpenos, Triterpenos e Esteróides das Flores de *Wedelia paludosa*. *Quim. Nova* **2001**, *24* (1), 24–26. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000100006>.
- 88 Subarnas, A.; Tadano, T.; Oshima, Y.; Kisara, K.; Ohizumi, Y. Pharmacological Properties of B-Amyrin Palmitate, a Novel Centrally Acting Compound, Isolated from *Lobelia inflata* Leaves. *J. Pharm. Pharmacol.* **1993**, *45* (6), 545–550. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1993.tb05596.x>.
- 89 Chaturvedula, V. S. P.; Schilling, J. K.; Miller, J. S.; Andriantsiferana, R.; Rasamison, V. E.; Kingston, D. G. I. Two New Triterpene Esters from the Twigs of *Brachylaena ramiflora* from the Madagascar Rainforest. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65* (8), 1222–1224. <https://doi.org/10.1021/np0201220>.
- 90 Endo, M.; Shigetomi, K.; Mitsuhashi, S.; Igarashi, M.; Ubukata, M. Isolation, Structure Determination and Structure–Activity Relationship of Anti-Toxoplasma Triterpenoids from *Quercus crispula* Blume Outer Bark. *J. Wood Sci.* **2019**, *65* (1), 3. <https://doi.org/10.1186/s10086-019-1782-8>.
- 91 De Eknankul, W.; Potduang, B. Biosynthesis of β -Sitosterol and Stigmasterol in *Croton sublyratus* Proceeds via a Mixed Origin of Isoprene Units. *Phytochemistry* **2003**, *62* (3), 389–398. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00555-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00555-1).
- 92 Kongduang, D.; Wungsintaweekul, J.; De Eknankul, W. Biosynthesis of β -Sitosterol and Stigmasterol Proceeds Exclusively via the Mevalonate Pathway in Cell Suspension Cultures of *Croton stellatopilosus*. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49* (25), 4067–4072. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2008.04.049>.
- 93 Aboobucker, S. I.; Suza, W. P. Why Do Plants Convert Sitosterol to Stigmasterol? *Front. Plant Sci.* **2019**, *10* (March). <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00354>.
- 94 Dufourc, E. J. Sterols and Membrane Dynamics. *J. Chem. Biol.* **2008**, *1* (1–4), 63–77. <https://doi.org/10.1007/s12154-008-0010-6>.
- 95 Gaspar, E. M. M.; das Neves, H. J. C. Steroidal Constituents from Mature Wheat Straw. *Phytochemistry* **1993**, *34* (2), 523–527. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(93\)80039-U](https://doi.org/10.1016/0031-9422(93)80039-U).

- 96 Prachayasittikul, S.; Suphamong, S.; Worachartcheewan, A.; Lawung, R.; Ruchirawat, S.; Prachayasittikul, V. Bioactive Metabolites from *Spilanthes acmella* Murr. *Molecules* **2009**, *14* (2), 850–867. <https://doi.org/10.3390/molecules14020850>.
- 97 Zi Jiang, L.; Lei, W.; Chuan Ling, S.; Jun Hui, W.; Xiao Na, Y.; Hong Ying, Y.; Ri Zheng, C.; Si Yao, W.; Rui, W. Chemical Constituents of *Pinus pumila* Cones. *Chem. Nat. Compd.* **2019**, *55* (6), 1187–1189. <https://doi.org/10.1007/s10600-019-02931-0>.
- 98 Fan, F.; Li, G. Q.; Li, Z. J.; Zhang, J.; Yuan, E.; Wu, L.; Ma, G. Q.; Bae, Y. S. Steroidal Compounds from Roots of *Cinnamomum camphora*. *Chem. Nat. Compd.* **2020**, *56* (1), 155–156. <https://doi.org/10.1007/s10600-020-02979-3>.
- 99 Miranda, M. L. D.; Souza, A. F.; Rodrigues, E. D.; Garcez, F. R.; Garcez, W. S.; Abot, A. Constituintes Químicos das Folhas de *Riedeliella graciliflora* Harms (Leguminosae). *Quim. Nova* **2012**, *35* (7), 1306–1311. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000700005>.
- 100 Sita, L. R. Convenient Highly Stereoselective Syntheses of (3R,7R,11R)- and (3S,7R,11R)-3,7,11,15-Tetramethylhexadecanoic Acid (Phytanic Acid) and the Corresponding 3,7,11,15-Tetramethylhexadecan-1-ols. *J. Org. Chem.* **1993**, *58* (19), 5285–5287. <https://doi.org/10.1021/jo00071a049>.
- 101 Munakata, K. Insect Antifeedants of *Spodoptera litura* in Plants. In *Host Plant Resistance to Pests*; Hedin, A. P., Ed.; Washington, DC, 1977; pp 185–196. <https://doi.org/10.1021/bk-1977-0062.ch013>.
- 102 Yu, S. J. Microsomal Oxidation of Allelochemicals in Generalist (*Spodoptera frugiperda*) and Semispecialist (*Anticarsia gemmatalis*) Insect. *J. Chem. Ecol.* **1987**, *13* (3), 423–436. <https://doi.org/10.1007/BF01880090>.
- 103 Islam, M. T.; Alencar, M. V. O. B.; Conceição Machado, K.; Conceição Machado, K.; Carvalho Melo-Cavalcante, A. A.; Sousa, D. P.; Freitas, R. M. Phytol in a Pharma-Medico-Stance. *Chem. Biol. Interact.* **2015**, *240*, 60–73. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.07.010>.
- 104 Sivathanu, B.; Palaniswamy, S. Purification and Characterization of Carotenoids from Green Algae *Chlorococcum humicola* by HPLC-NMR and LC-MS-APCI. *Biomed. Prev. Nutr.* **2012**, *2* (4), 276–282. <https://doi.org/10.1016/j.bionut.2012.04.006>.
- 105 Moss, G. P. Carbon-13 NMR Spectra of Carotenoids. *Pure Appl. Chem.* **1976**, *47* (2–3), 97–102. <https://doi.org/10.1351/pac197647020097>.
- 106 Aman, R.; Biehl, J.; Carle, R.; Conrad, J.; Beifuss, U.; Schieber, A. Application of HPLC Coupled with DAD, APCI-MS and NMR to the Analysis of Lutein and Zeaxanthin Stereoisomers in Thermally Processed Vegetables. *Food Chem.* **2005**, *92* (4), 753–763. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.031>.
- 107 Khachik, F.; Chang, A. N. Total Synthesis of (3R,3'R,6'R)-Lutein and Its Stereoisomers. *J. Org. Chem.* **2009**, *74* (10), 3875–3885. <https://doi.org/10.1021/jo900432r>.
- 108 Englert, G.; Noack, K.; Broger, E. A.; Glinz, E.; Vecchi, M.; Zell, R. Synthesis, Isolation, and Full Spectroscopic Characterization of Eleven (Z)-Isomers of (3R,3'R)-Zeaxanthin. *Helv. Chim. Acta* **1991**, *74* (5), 969–982. <https://doi.org/10.1002/hlca.19910740507>.
- 109 Dachtler, M.; Glaser, T.; Kohler, K.; Albert, K. Combined HPLC-MS and HPLC-NMR On-Line Coupling for the Separation and Determination of Lutein and Zeaxanthin Stereoisomers in Spinach and in Retina. *Anal. Chem.* **2001**, *73* (3), 667–674. <https://doi.org/10.1021/ac000635g>.
- 110 Sajilata, M. G.; Singhal, R. S.; Kamat, M. Y. The Carotenoid Pigment Zeaxanthin - A Review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2008**, *7* (1), 29–49. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2007.00028.x>.

- 111 Abraham, R. J.; Byrne, J. J.; Griffiths, L.; Koniotou, R. ¹H Chemical Shifts in NMR: Part 22 - Prediction of the ¹H Chemical Shifts of Alcohols, Diols and Inositols in Solution, a Conformational and Solvation Investigation. *Magn. Reson. Chem.* **2005**, *43* (8), 611–624. <https://doi.org/10.1002/mrc.1611>.
- 112 Al-Suod, H.; Ligor, M.; Rațiu, I. A.; Rafińska, K.; Górecki, R.; Buszewski, B. A Window on Cyclitols: Characterization and Analytics of Inositols. *Phytochem. Lett.* **2017**, *20* (5), 507–519. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2016.12.009>.
- 113 Wang, D.; Zhang, S.; Chang, Z.; Kong, D.-X.; Zuo, Z. Quebrachitol: Global Status and Basic Research. *Nat. Products Bioprospect.* **2017**, *7* (1), 113–122. <https://doi.org/10.1007/s13659-017-0120-3>.
- 114 Schilling, N.; Dittrich, P.; Kandler, O. Formation of L-Quebrachitol from D-Bornesitol in Leaves of *Acer pseudoplatanus*. *Phytochemistry* **1972**, *11* (4), 1401–1404. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90093-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90093-1).
- 115 Wu, Z. C.; Zhang, J. Q.; Zhao, J. T.; Li, J. G.; Huang, X. M.; Wang, H. C. Biosynthesis of Quebrachitol, a Transportable Photosynthate, in *Litchi chinensis*. *J. Exp. Bot.* **2018**, *69* (7), 1649–1661. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx483>.
- 116 Jiang, S. K.; Zhang, G. M.; Wu, Y.; Meng, Z. H.; Xue, M. Isolation and Characterisation of L-Quebrachitol from Rubber Factory Wastewater. *J. Rubber Res.* **2014**, *17* (1), 23–33.
- 117 Ligor, M.; Rațiu, I. A.; Kiełbasa, A.; Al-Suod, H.; Buszewski, B. Extraction Approaches Used for the Determination of Biologically Active Compounds (Cyclitols, Polyphenols and Saponins) Isolated from Plant Material. *Electrophoresis* **2018**, *39* (15), 1860–1874. <https://doi.org/10.1002/elps.201700431>.

10. ANEXOS

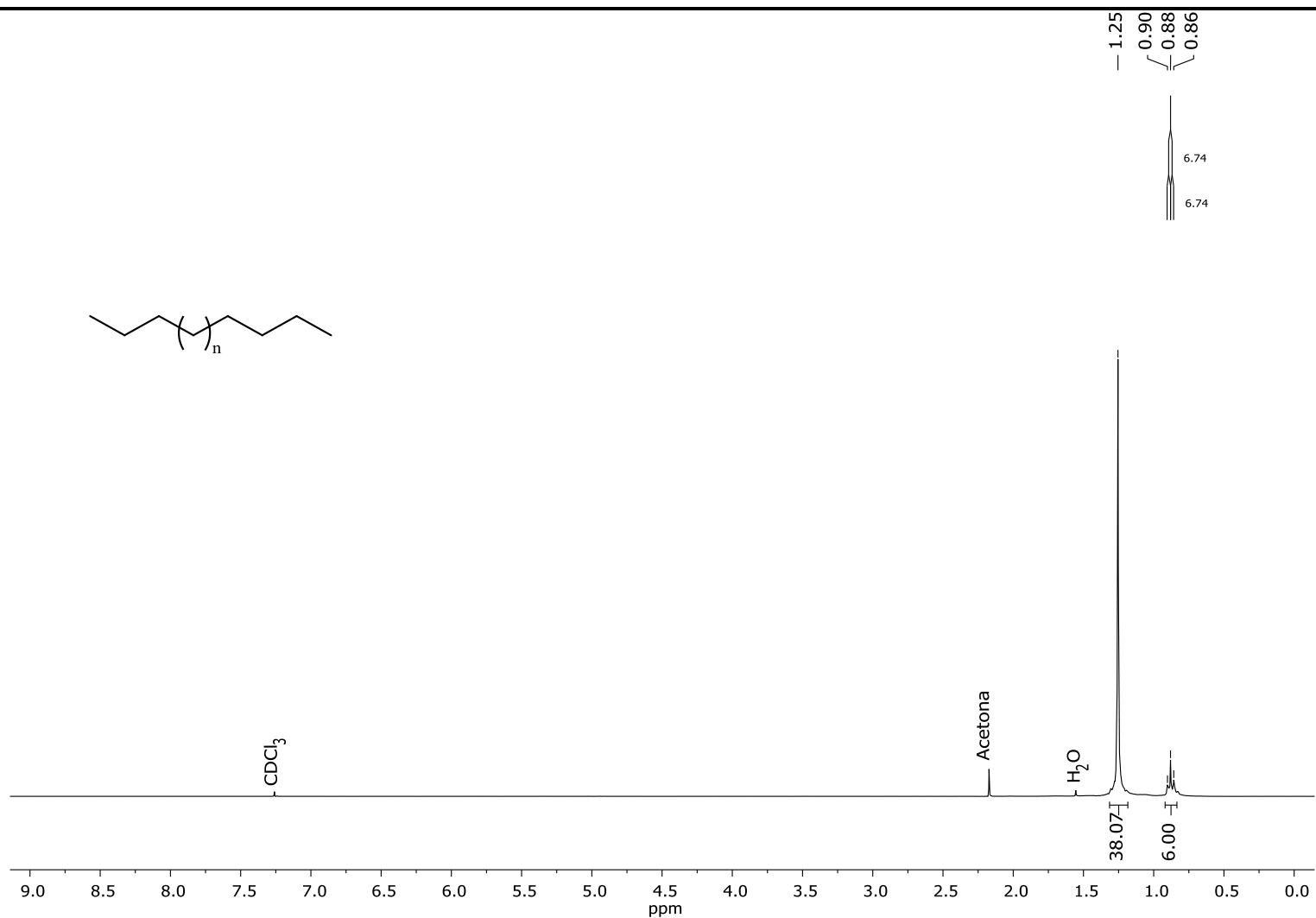
Anexo 10.1 Especies vegetales perteneciente a la sección Adenophylli Griseb.

Un estudio filogenético que involucró a las 31 secciones y 10 subsecciones reconocidas como especies del género *Croton* en el Nuevo Mundo, clasificó a 223 de ellas en Adenophylli Griseb; abajo se listan las mismas.³¹ Hasta el momento no se ha publicado una revisión exclusiva sobre la sección. La especie bajo estudio se indica en letra negrita.

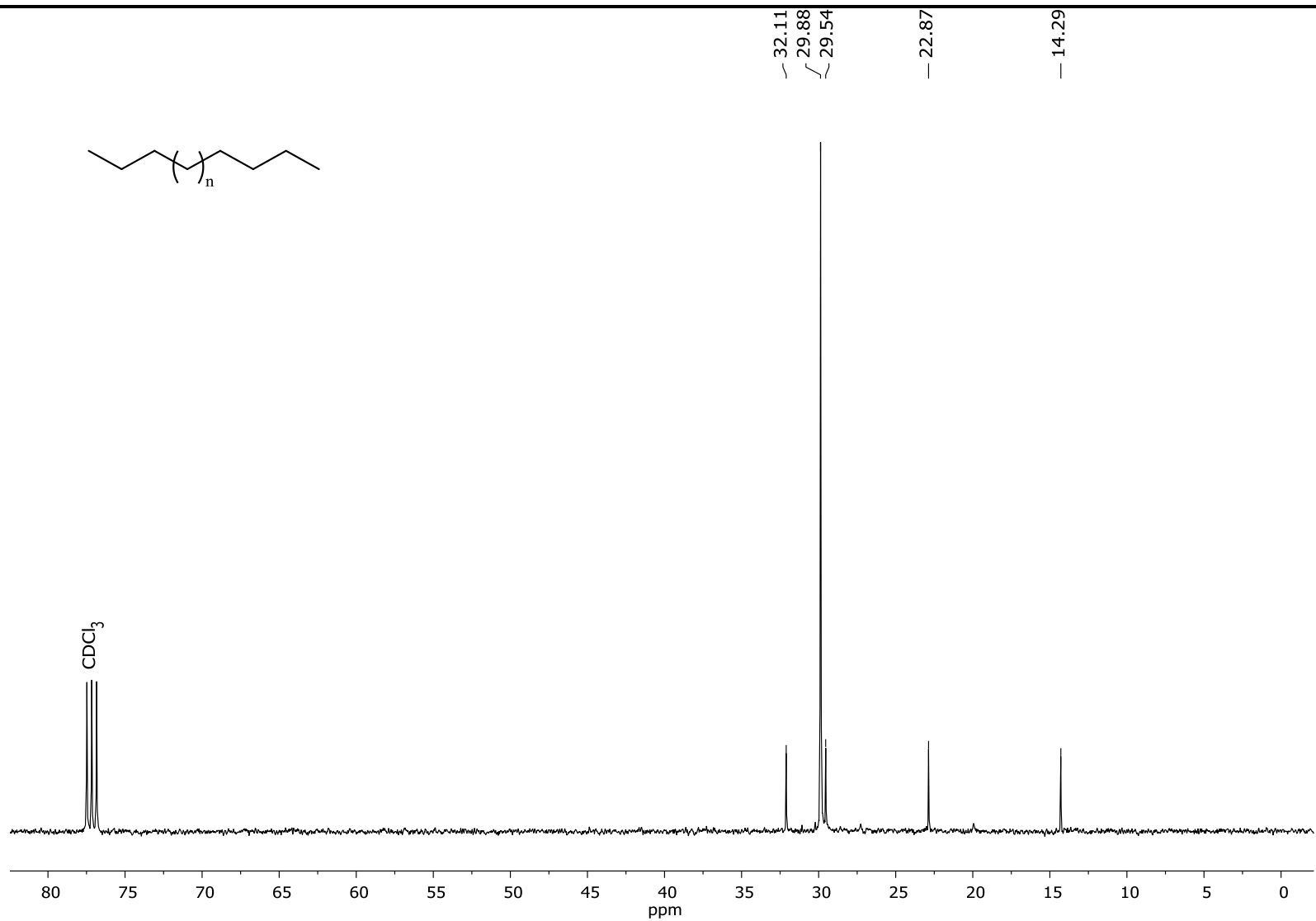
1. *C. abegii* Urb. & Ekman,
2. *C. abutilifolius* Croizat,
3. *C. abutiloides* Kunth,
4. *C. acunae* Borhidi,
5. *C. adenophyllus* Bertero ex Spreng.
6. *C. adipatus* Kunth
7. ***C. adpersus* Benth.**
8. *C. aequatoris* Croizat
9. *C. agrarius* Baill.
10. *C. agrophilus* Müll. Arg.
11. *C. albellus* Müll. Arg.
12. *C. alloeophyllus* Urb.
13. *C. alnifolius* Lam.
14. *C. alnoideus* Baill.
15. *C. amphileucus* Briq.
16. *C. angustifolius* Ham.
17. *C. apicifolius* Croizat
18. *C. araripensis* Croizat
19. *C. artibonitensis* Urb.
20. *C. azuensis* Urb.
21. *C. balsameus* Müll. Arg.
22. *C. balsensis* V.W. Steinmann & M.J. Martínez Gordillo.
23. *C. bangii* Rusby
24. *C. barahonensis* Urb.
25. *C. barbatus* Kunth
26. *C. betaceus* Baill.
27. *C. boliviensis* Müll. Arg.
28. *C. bonplandianus* Baill.
29. *C. borhidii* O. Muñiz
30. *C. brachytrichus* Urb.
31. *C. bryophorus* Croizat
32. *C. caboensis* Croizat
33. *C. campestris* A. St.-Hil.
34. *C. cardenasii* Standl.
35. *C. catharinensis* L.B. Sm. & Downs
36. *C. chamanus* Steyerl.
37. *C. chilensis* Müll. Arg.
38. *C. chimboracensis* P.E. Berry & Riina
39. *C. chrysocladus* Müll. Arg.
40. *C. churumayensis* Croizat
41. *C. ciliatoglandulifer* Ortega
42. *C. cinerascens* Radcl. Sm. & Govaerts
43. *C. clavuliger* Müll. Arg.
44. *C. comayaguanus* Standl. & L.O. Williams
45. *C. conduplicatus* Kunth
46. *C. corallicola* Borhidi
47. *C. cordobensis* Ahumada
48. *C. cortesianus* Kunth
49. *C. corumbensis* S. Moore
50. *C. craspedotrichus* Griseb.
51. *C. curiosus* Croizat
52. *C. curvipes* Urb.
53. *C. cycloideus* Borhidi & O. Muñiz
54. *C. discolor* Willd.
55. *C. disjunctus* V.W. Steinmann
56. *C. doctoris* S. Moore
57. *C. echioideus* Baill.
58. *C. eggersii* Pax
59. *C. ehrenbergii* Schtdl.
60. *C. emporiorum* Croizat
61. *C. excisus* Urb.
62. *C. ferruginellus* Müll. Arg.
63. *C. ferrugineus* Kunth
64. *C. flavens* L.
65. *C. flavescens* Greenm.
66. *C. flaviglandulosus* Lundell
67. *C. fragilis* Kunth
68. *C. francoanus* Müll. Arg.
69. *C. fraseri* Müll. Arg.
70. *C. frieseanus* Müll. Arg.
71. *C. fruticosus* Torr.
72. *C. fulvus* Mart.
73. *C. glyptospermus* Müll. Arg.
74. *C. gracilipes* Baill.
75. *C. grandivelum* Baill.
76. *C. guillemianum* Baill.
77. *C. heliotropiifolius* Kunth
78. *C. heterochrous* Müll. Arg.
79. *C. heteroneurus* Müll. Arg.
80. *C. hieronymi* Griseb.
81. *C. hilarii* Baill.
82. *C. holguinensis* Borhidi
83. *C. holtonii* Müll. Arg.
84. *C. horridulus* (Baill.) Müll. Arg.
85. *C. huajuapense* M.J. Martínez Gordillo & Cruz Durán
86. *C. humilis* L.
87. *C. hypoleucus* Schtdl.
88. *C. impressus* Urb.
89. *C. incanus* Kunth
90. *C. incertus* Müll. Arg.
91. *C. intercedens* Müll. Arg.
92. *C. jacmelianus* Urb.
93. *C. jamesonii* Müll. Arg.
94. *C. japirensis* Müll. Arg.
95. *C. jucundus* Brandegee
96. *C. kalkmannii* Müll. Arg.
97. *C. kleinii* L.B. Sm. & Downs
98. *C. laceratoglandulosus* Caruzo & Cordeiro
99. *C. lachnocladus* Mart. ex Müll. Arg.
100. *C. lachnostachyus* Baill.
101. *C. laeticapsulus* Croizat
102. *C. lanatus* Lam.

103. *C. curuguatyensis* Ahumada
104. *C. lapanus* Müll. Arg.
105. *C. lasiopetaloides* Croizat
106. *C. lehmannii* Pax
107. *C. leptostachyus* Kunth
108. *C. leucophlebius* C. Wright ex Griseb.
109. *C. limnocharis* Croizat
110. *C. linearis* Jacq.
111. *C. longifolius* Müll. Arg.
112. *C. lucidus* L.
113. *C. magdalenae* Millsp.
114. *C. mazapensis* Lundell
115. *C. medians* Müll. Arg.
116. *C. megaladenus* Urb.
117. *C. menthodoros* Benth.
118. *C. meridensis* Croizat
119. *C. michaelii* V.W. Steinmann
120. *C. micradenus* Urb.
121. *C. miradorensis* Müll. Arg.
122. *C. miraflorensis* Borhidi
123. *C. missionum* Croizat
124. *C. mollis* Benth.
125. *C. monogynus* Urb.
126. *C. morifolius* Willd.
127. *C. munizii* Borhidi
128. *C. nephrophyllus* Urb. & Ekman
129. *C. nitidulifolius* Croiza
130. *C. nudulus* Croizat
131. *C. olanchanus* Standl. & L.O. Williams,
132. *C. ophiticola* Borhidi
133. *C. orbignyanus* Müll. Arg.
134. *C. orientesensis* Borhidi
135. *C. organifolius* Lam.
136. *C. pachyrachis* Alain
137. *C. pallidus* Müll. Arg.
138. *C. panduriformis* Müll. Arg.,
139. *C. paraensis* Müll. Arg.
140. *C. patrum* L.B. Sm. & Downs
141. *C. pavonis* Müll. Arg.
142. *C. payaquensis* Standl.
143. *C. pedersenii* Ahumada
144. *C. pellitus* Kunth
145. *C. peltophorus* Müll. Arg.
146. *C. peraeruginosus* Croizat
147. *C. peraffinis* Müll. Arg.
148. *C. perlongiflorus* Croizat
149. *C. persicaria* Baill.
150. *C. peruvianus* Briq.
151. *C. pervestitus* C. Wright ex Griseb.
152. *C. petraeus* Müll. Arg.
153. *C. piauhiensis* Müll. Arg.
154. *C. poitaei* Urb.
155. *C. polygonoides* L.B. Sm. & Downs
156. *C. polytomus* Urb.
157. *C. priorianus* Urb.
158. *C. prostratus* Urb.
159. *C. pulcher* Müll. Arg.
160. *C. pungens* Jacq.
161. *C. pycnanthus* Benth.
162. *C. rehderianus* Croizat
163. *C. reitzii* L.B. Sm. & Downs
164. *C. rhamnifolioides* Pax & K. Hoffm.
165. *C. rivinifolius* Kunth
166. *C. rosarianus* M.J. Martínez Gordillo & Cruz Durán
167. *C. roxanae* Croizat
168. *C. ruizianus* Müll. Arg.
169. *C. sagraeanus* Müll. Arg.
170. *C. saltensis* Griseb.
171. *C. sanctae-crucis* S. Moore
172. *C. sancti-lazari* Croizat
173. *C. sapiiflorus* Croizat
174. *C. scouleri* Hook.f.
175. *C. seminudus* Müll. Arg.
176. *C. semivestitus* Müll. Arg.
177. *C. shreveanus* Croizat
178. *C. soliman* Cham. & Schltdl.
179. *C. sonora* Torr.
180. *C. soratensis* Müll. Arg.
181. *C. sphaerocarpus* Kunth
182. *C. spurcus* Croizat
183. *C. stenopetalus* G.L. Webster
184. *C. stenophyllus* Griseb.
185. *C. stenosepalus* Müll. Arg.
186. *C. stenotrichus* Müll. Arg.
187. *C. stipulaceus* Kunth
188. *C. suaveolens* Torr.
189. *C. suavis* Kunth
190. *C. subacutus* (Baill.) Müll. Arg.
191. *C. subcomosus* Müll. Arg.
192. *C. subdecumbens* Borhidi & O. Muñiz
193. *C. suberosus* Kunth
194. *C. subferrugineus* Müll. Arg.
195. *C. subfragilis* Müll. Arg.
196. *C. subjucundus* Croizat
197. *C. subsuavis* Croizat
198. *C. subvillosus* Müll. Arg.
199. *C. suyapensis* Ant. Molina
200. *C. tarapotensis* Müll. Arg.
201. *C. tejucensis* Müll. Arg.
202. *C. tenuifolius* Pax & K. Hoffm.
203. *C. thurifer* Kunth
204. *C. timotensis* Pittier
205. *C. tremulifolius* Croizat
206. *C. turnerifolius* S. Moore
207. *C. vaccinioides* A. Rich.
208. *C. vaillantii* Geiseler
209. *C. vauthierianus* Baill.
210. *C. velame* Müll. Arg.
211. *C. vepretorum* Müll. Arg.
212. *C. versicolor* Müll. Arg.
213. *C. viminalis* Griseb.
214. *C. virletianus* Müll. Arg.
215. *C. vitifolius* Lundell
216. *C. wagneri* Müll. Arg.
217. *C. websteri* M.J. Martínez Gordillo & J. Jiménez Ram.
218. *C. xalapensis* Kunth
219. *C. xanthochylus* Croizat
220. *C. yecorensis* V.W. Steinmann & Felger
221. *C. ynesae* Croizat
222. *C. ypanemensis* Müll. Arg.
223. *C. yungensis* Croizat

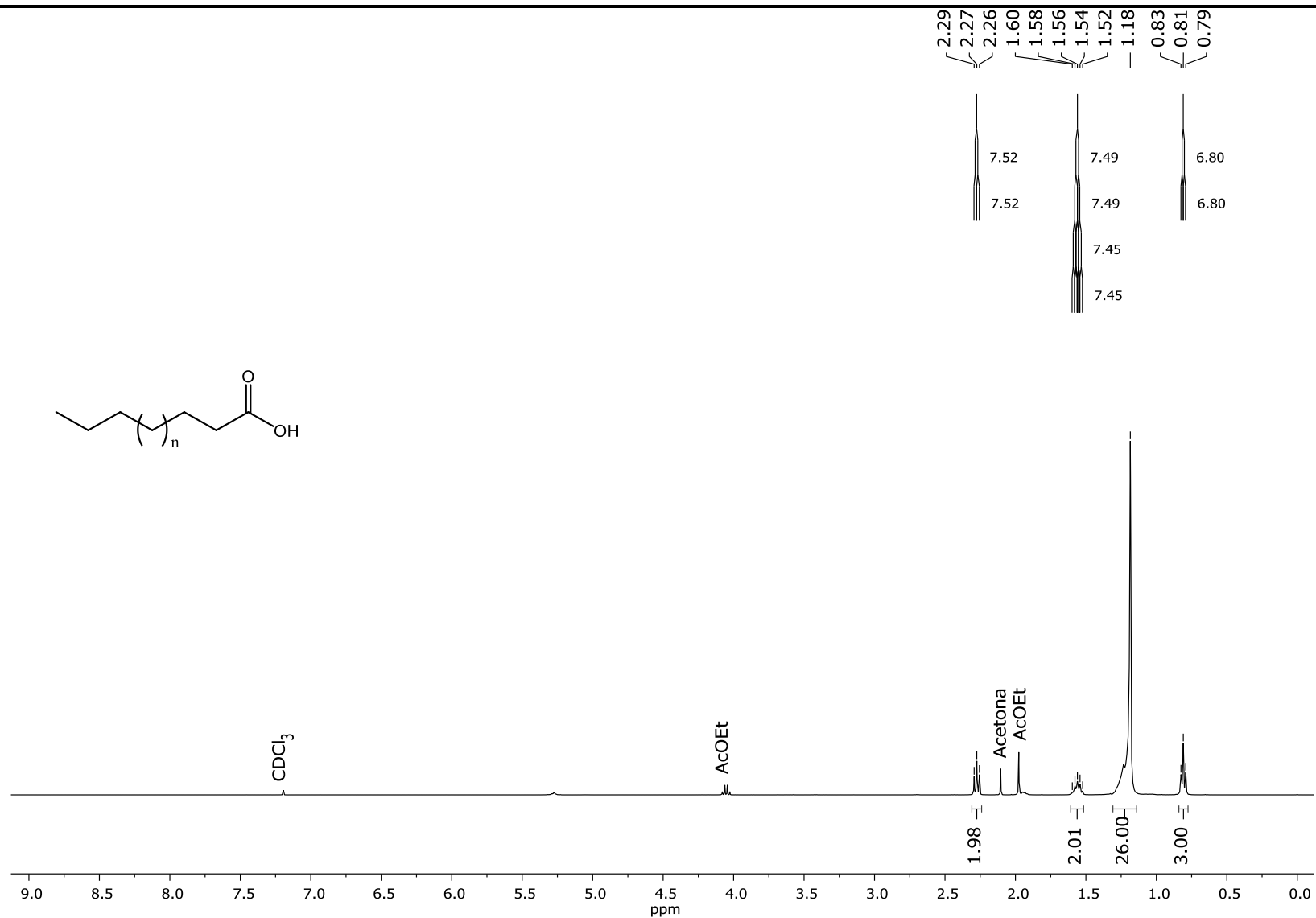
Anexo 10.2. Espectros de los compuestos aislados



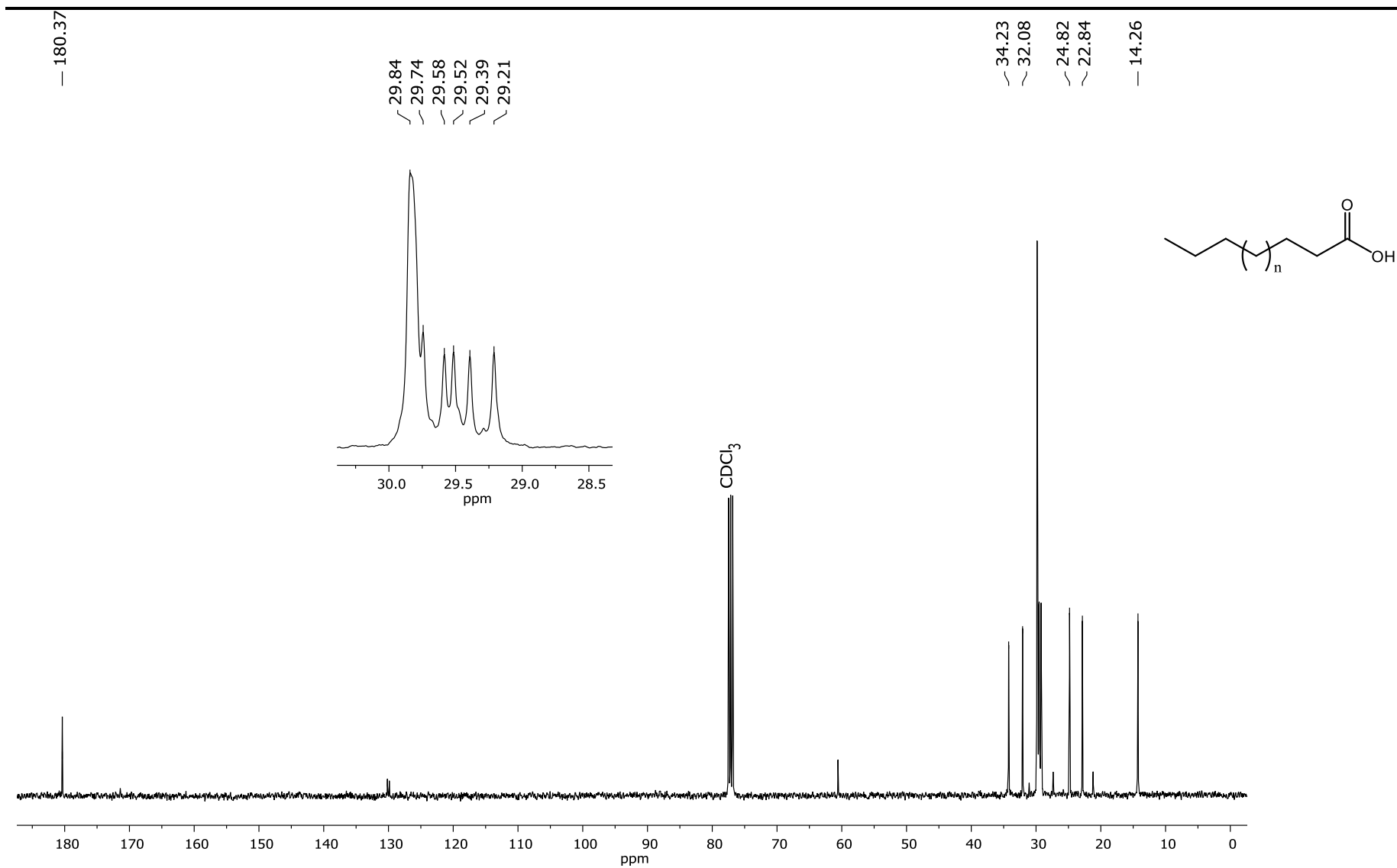
Anexo 10.2.1 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de *n*-alcano (47).



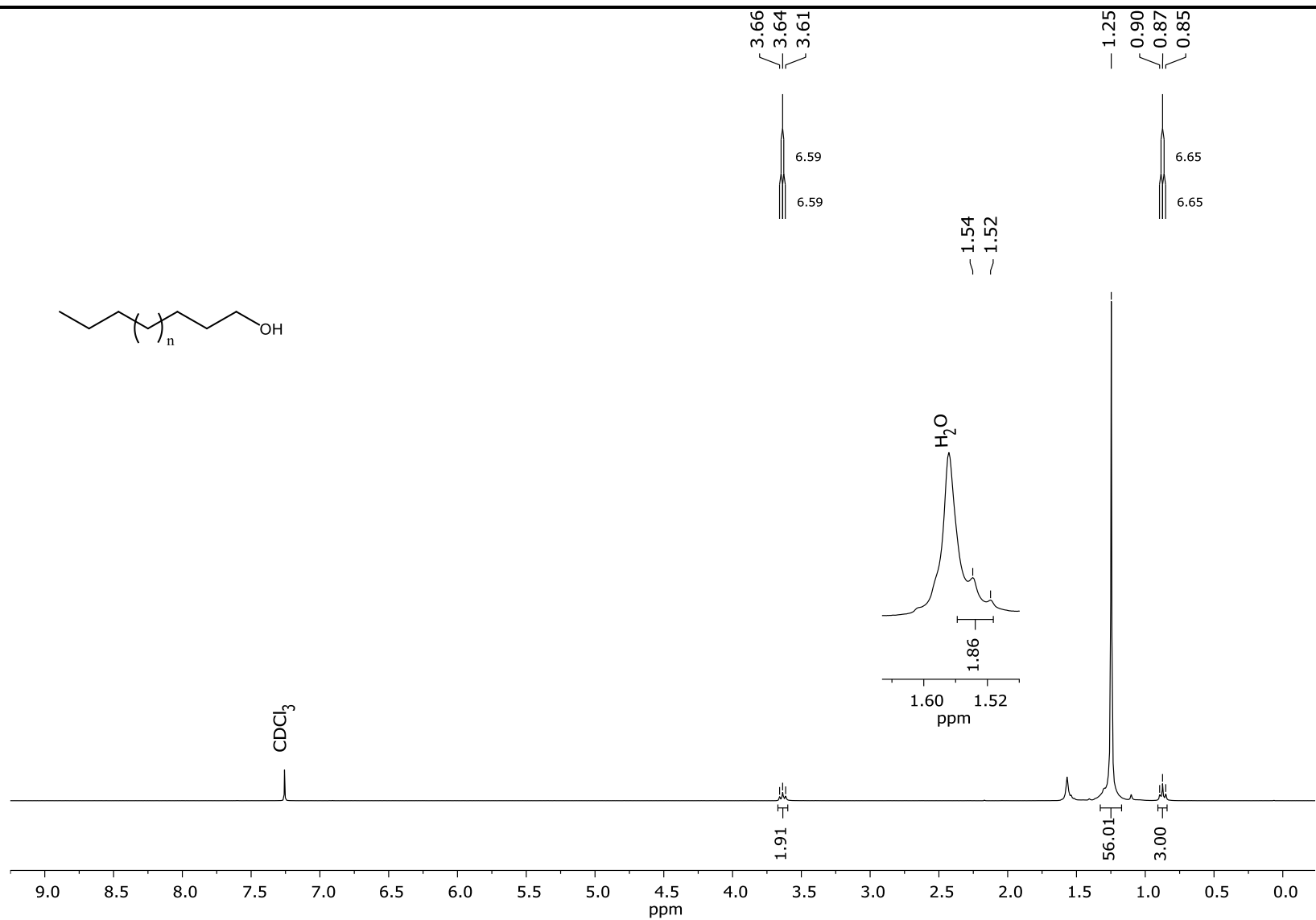
Anexo 10.2.2 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de *n*-alcano (47).



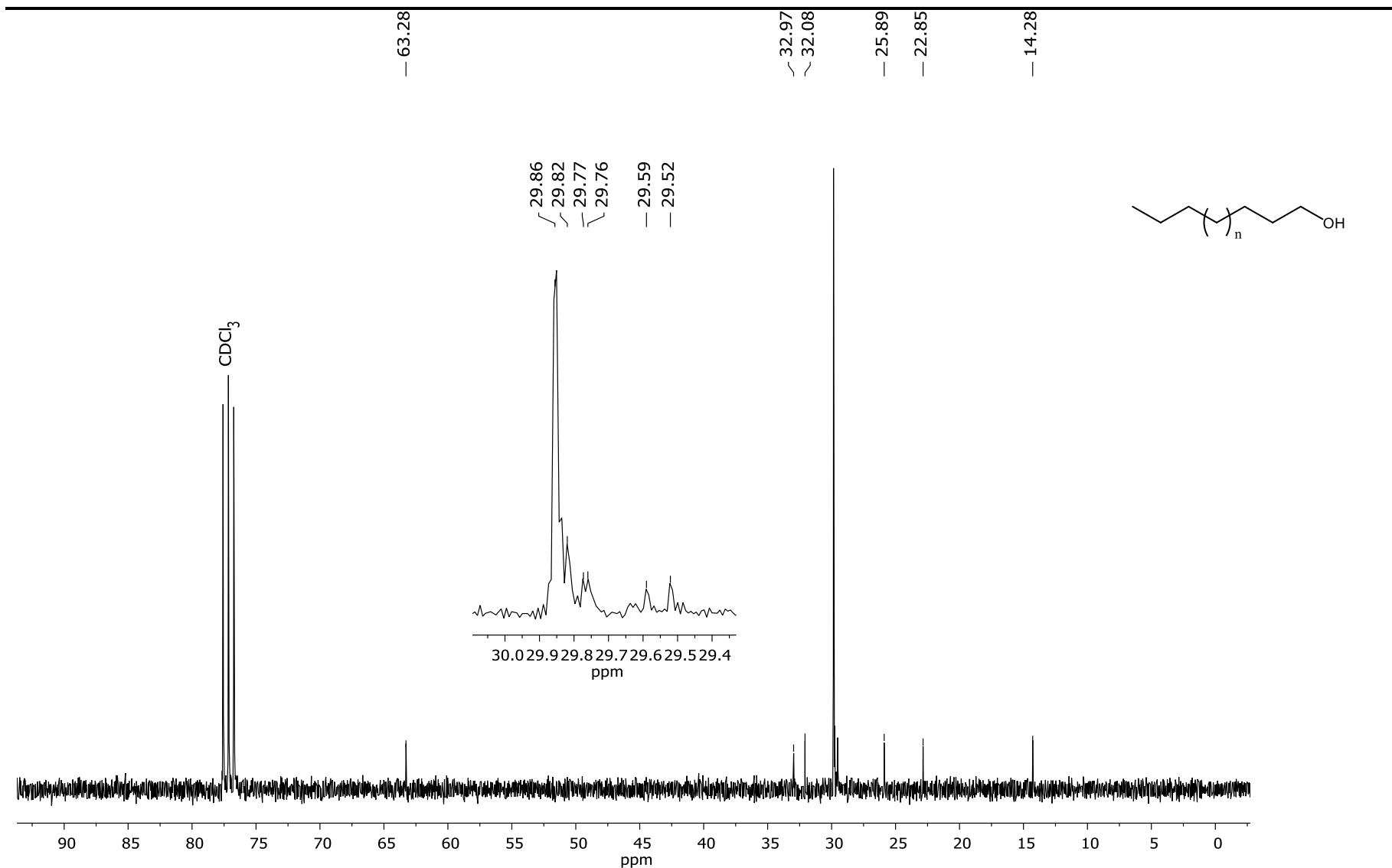
Anexo 10.2.3 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de ácido graso (48).



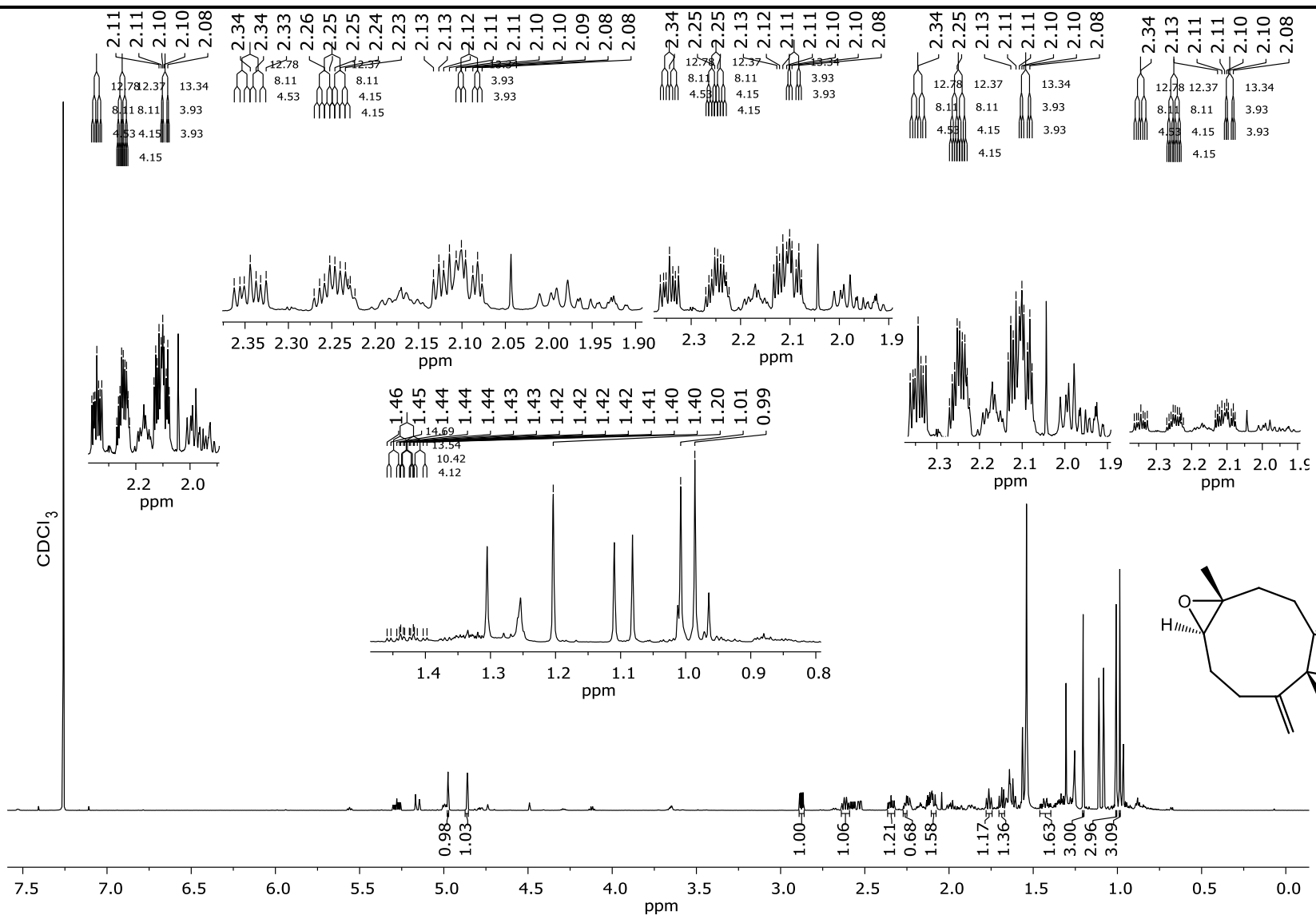
Anexo 10.2.4 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de ácido graso (48).



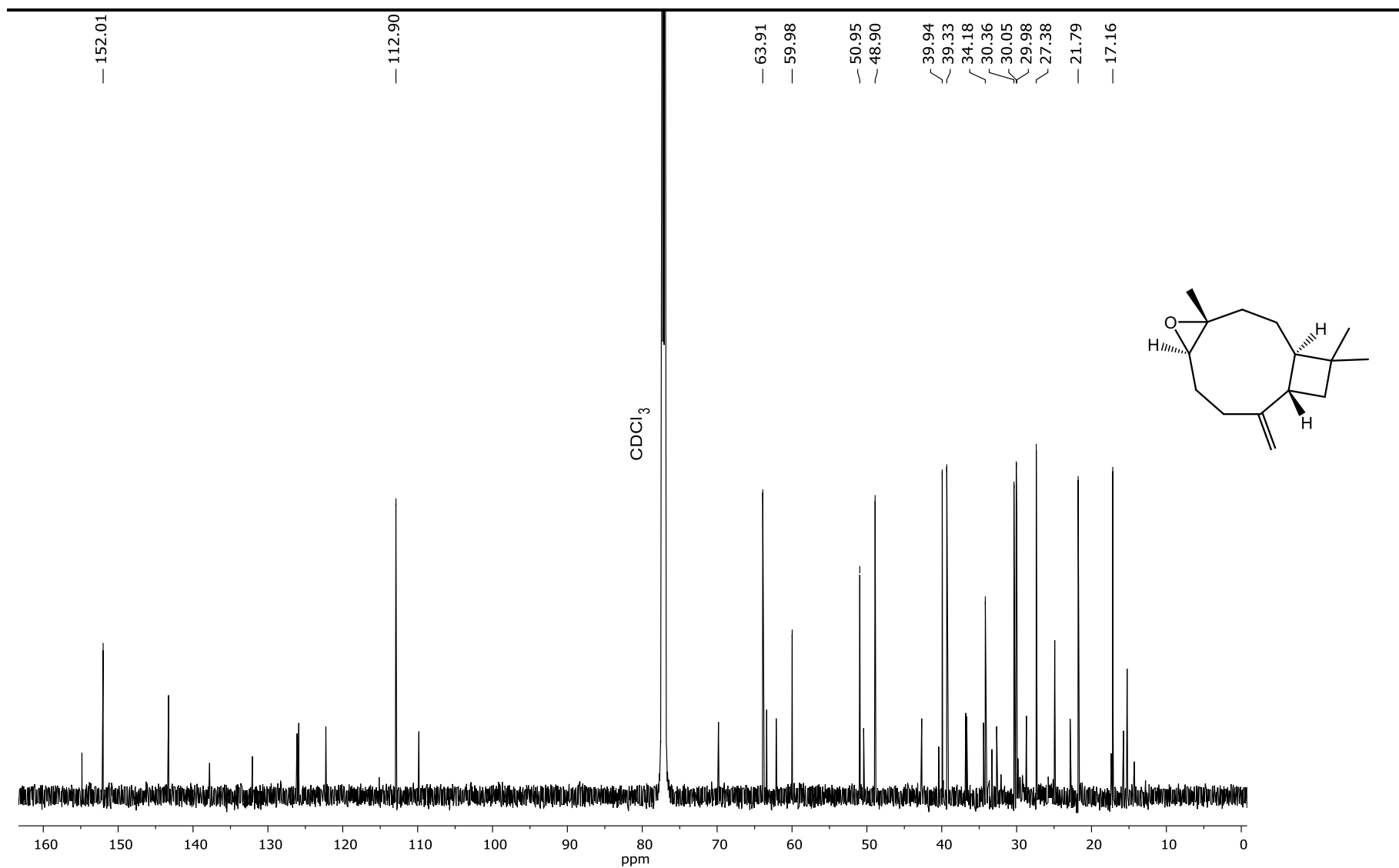
Anexo 10.2.5 RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de alcohol graso (49).



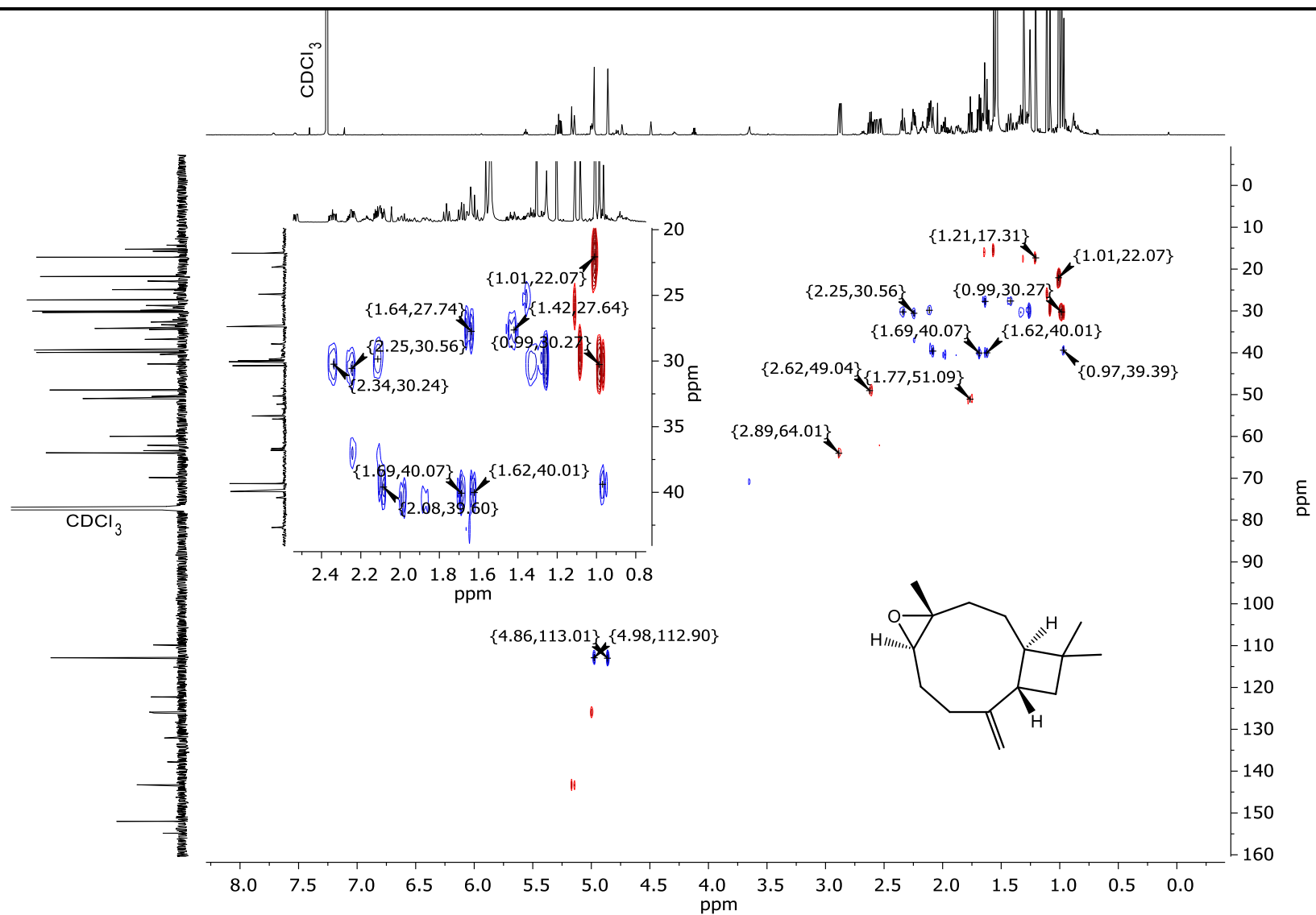
Anexo 10.2.6 RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de alcohol graso (49).



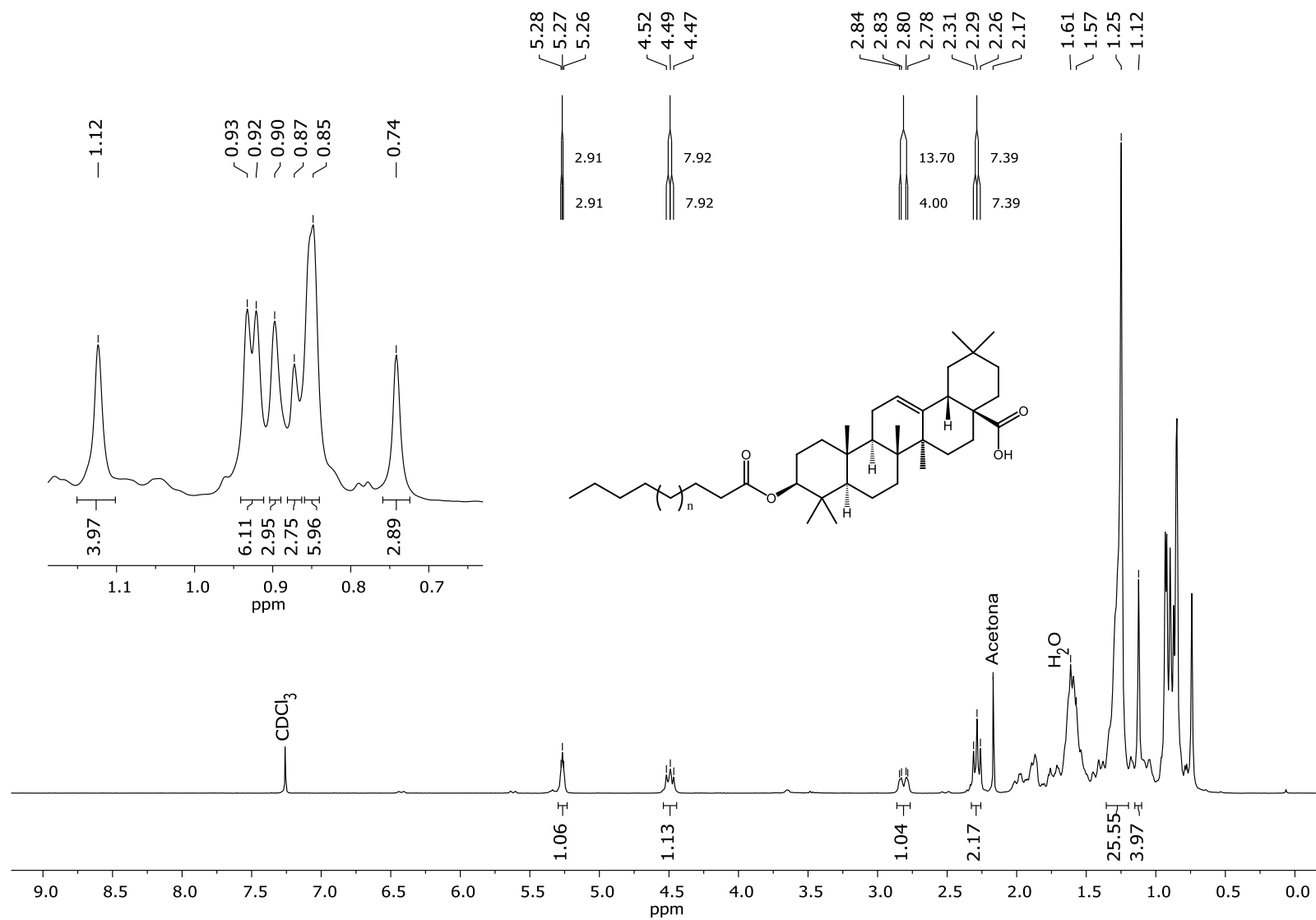
Anexo 10.2.7 RMN ^1H (700 MHz, CDCl_3) de óxido de β -cariofileno (10).



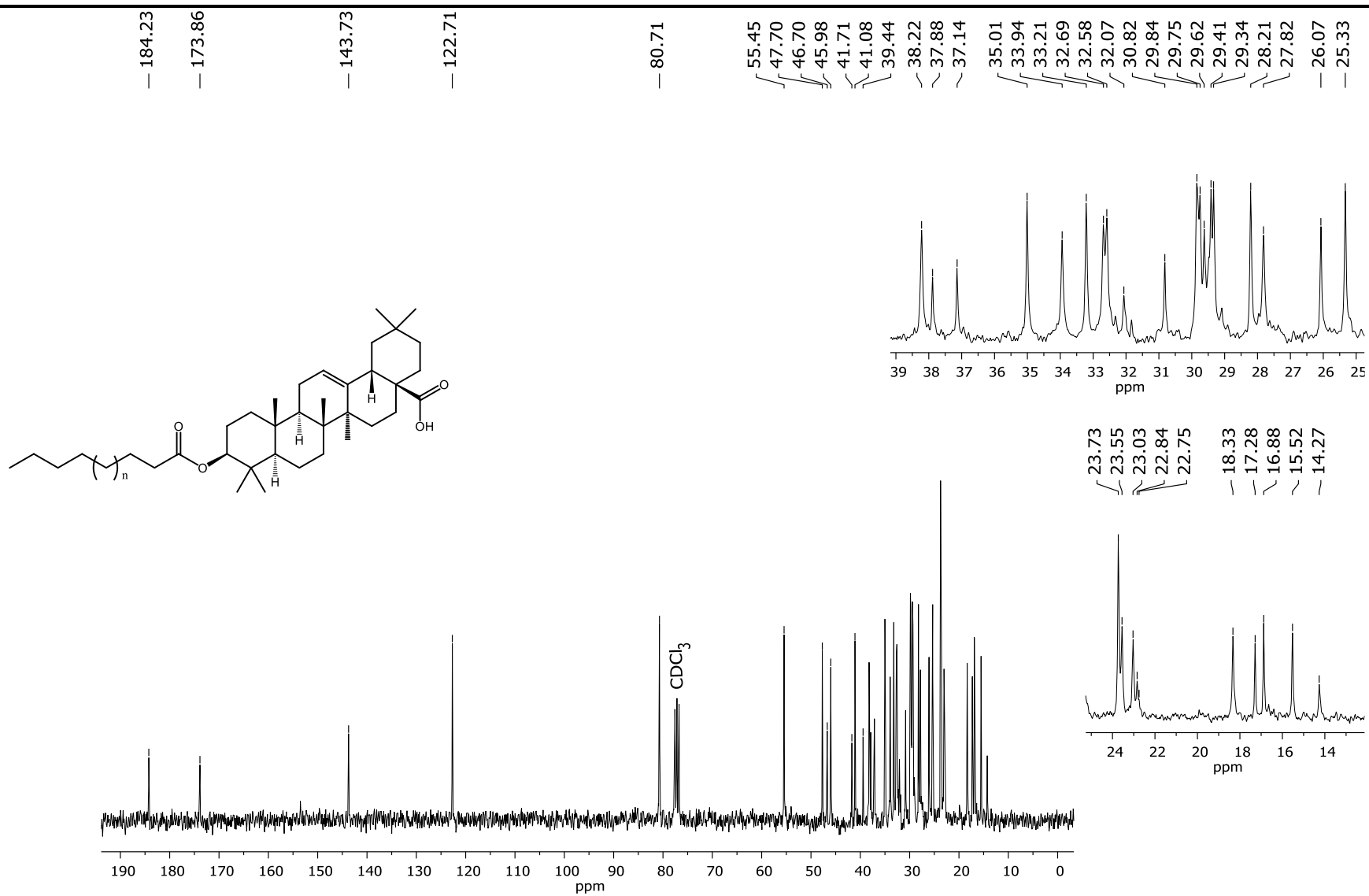
Anexo 10.2.8 RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) de óxido de β -cariofileno (**10**).



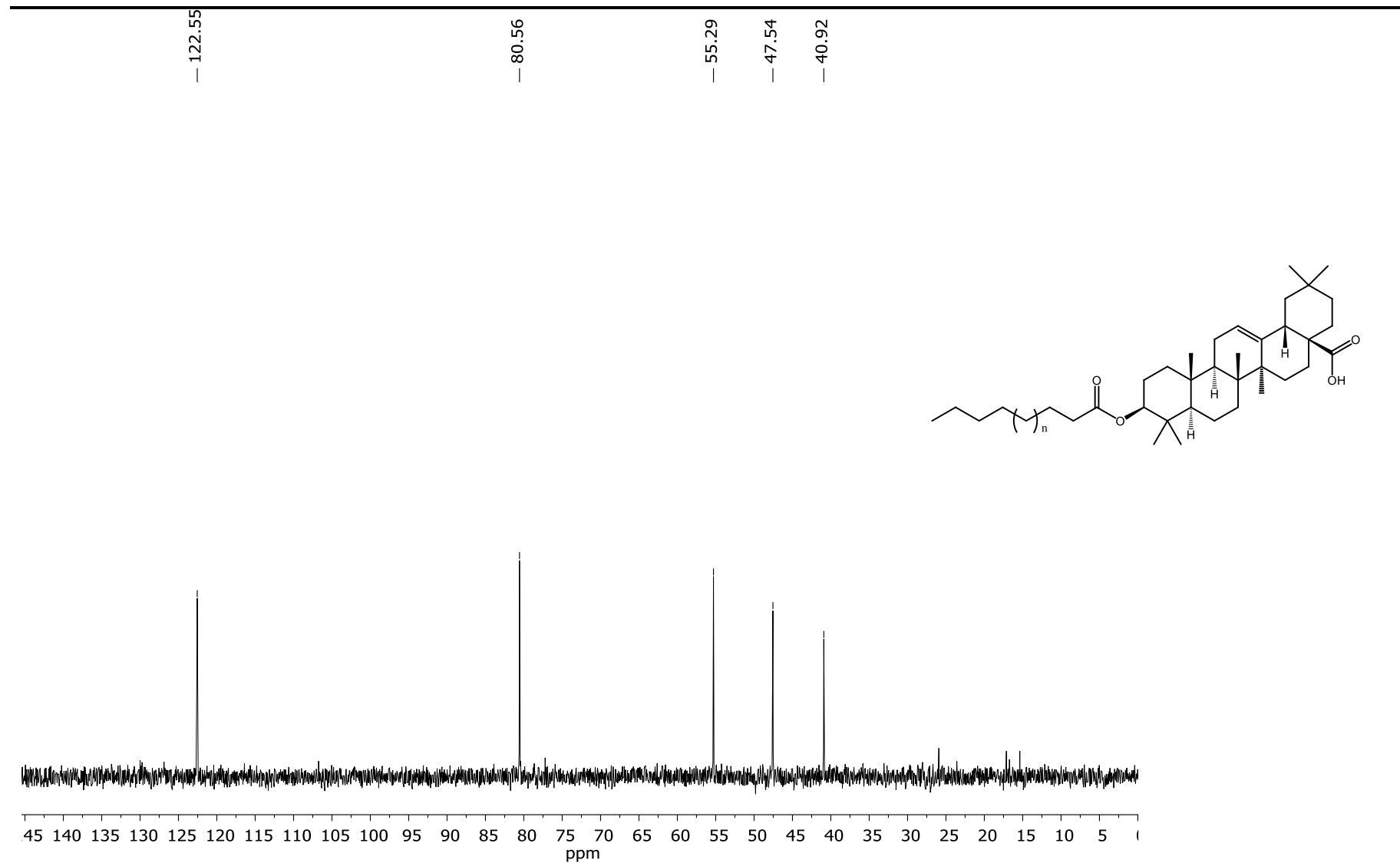
Anexo 10.2.9 HSQC (175 MHz, CDCl_3) de óxido de β -cariofileno (**10**).



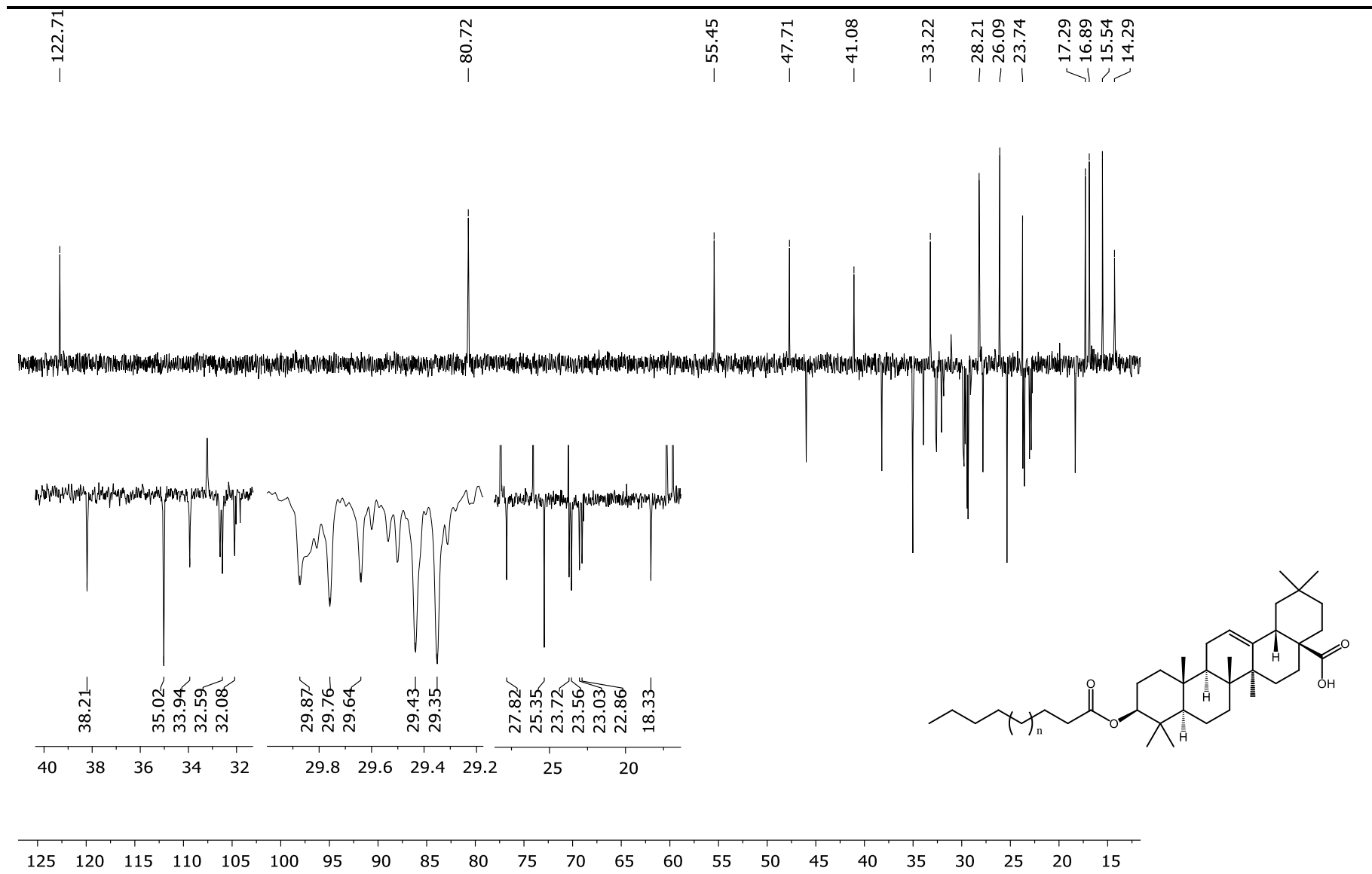
Anexo 10.2.10 RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) de 3-O-éster del ácido oleanólico (50).



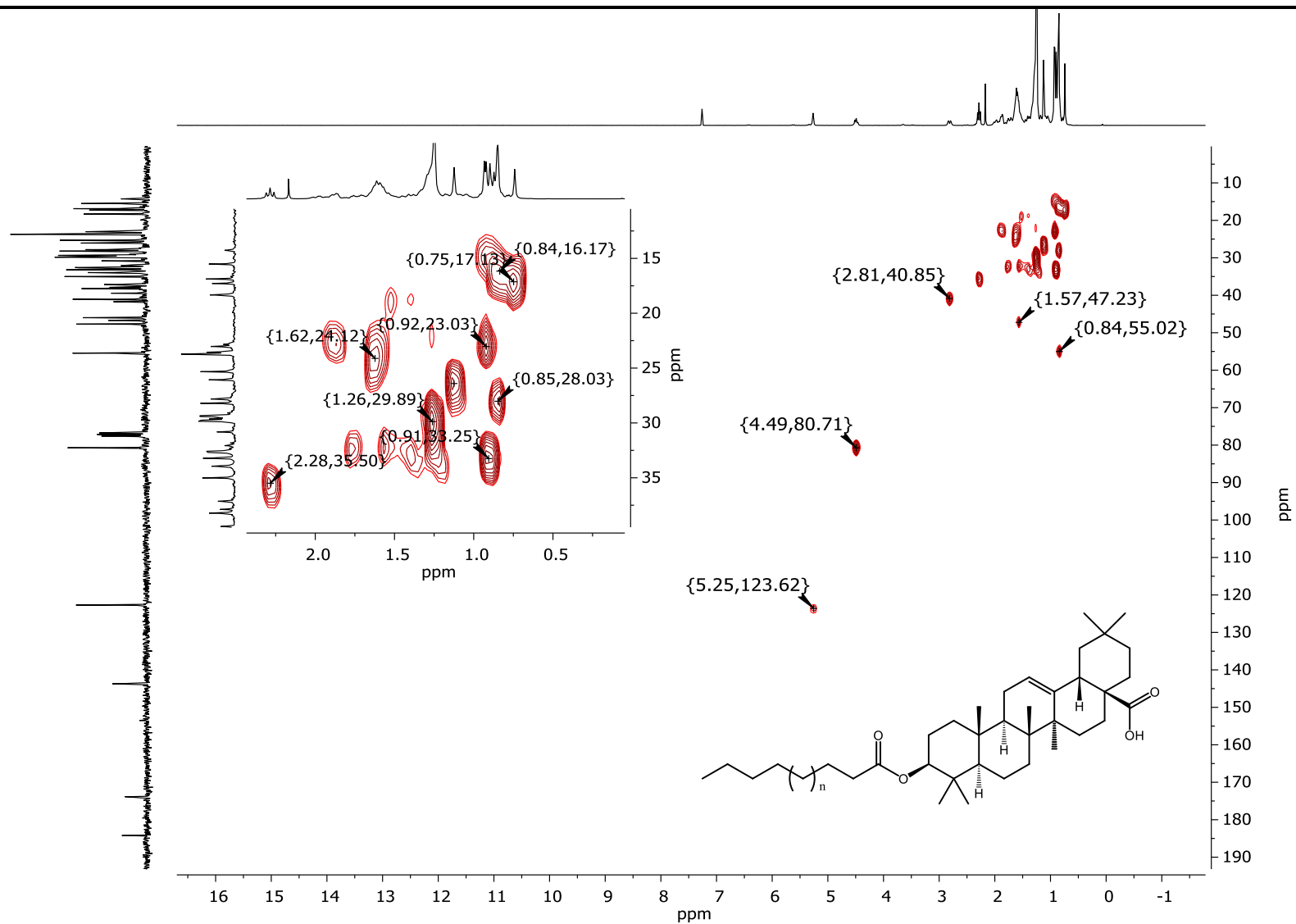
Anexo 10.2.11 RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de 3-O-éster del ácido oleanólico (50).



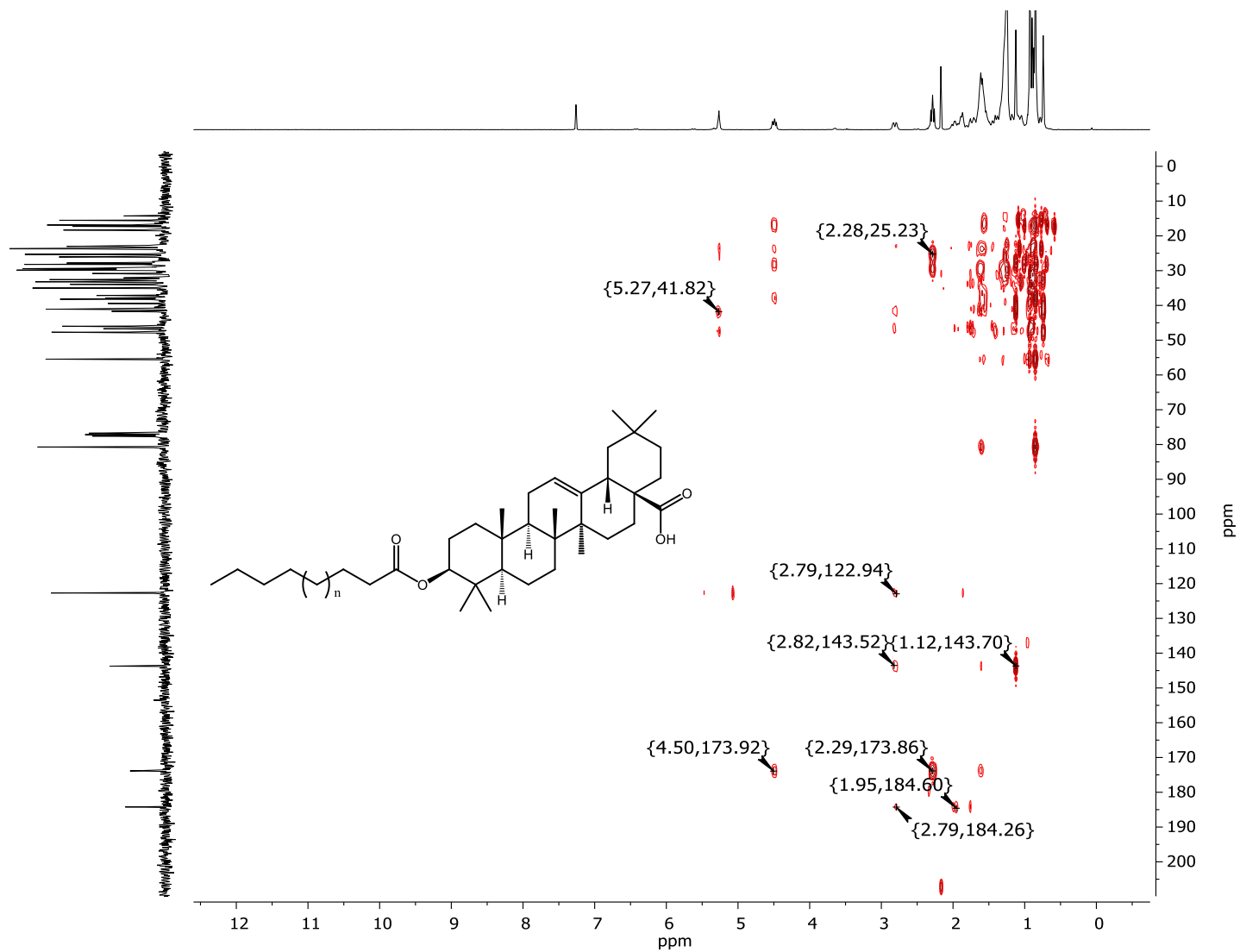
Anexo 10.2.12 RMN DEPT 90 (300 MHz, CDCl_3) de 3-O-éster del ácido oleanólico (50).



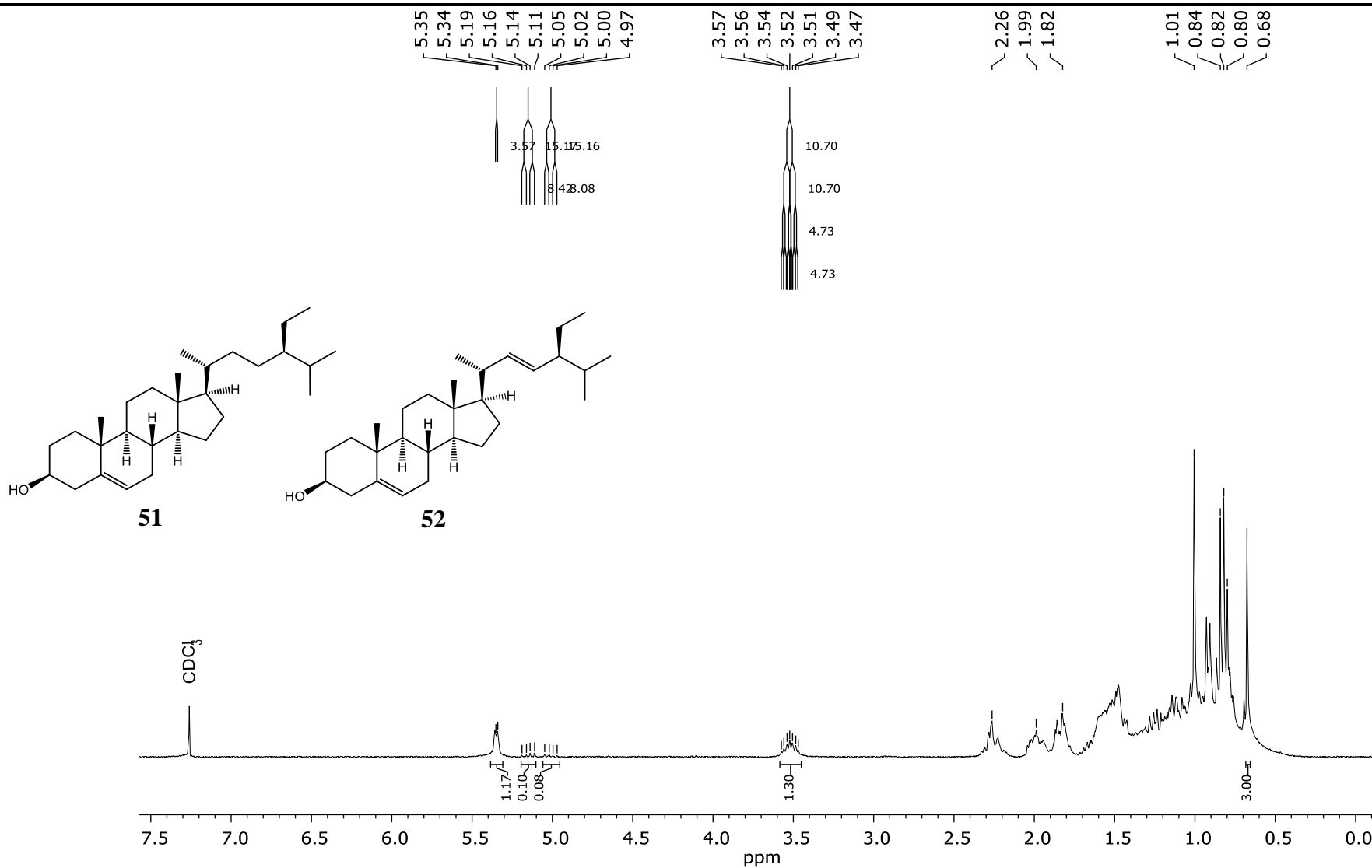
Anexo 10.2.13 RMN DEPT 135 (300 MHz, CDCl₃) de 3-O-éster del ácido oleanólico (**50**).



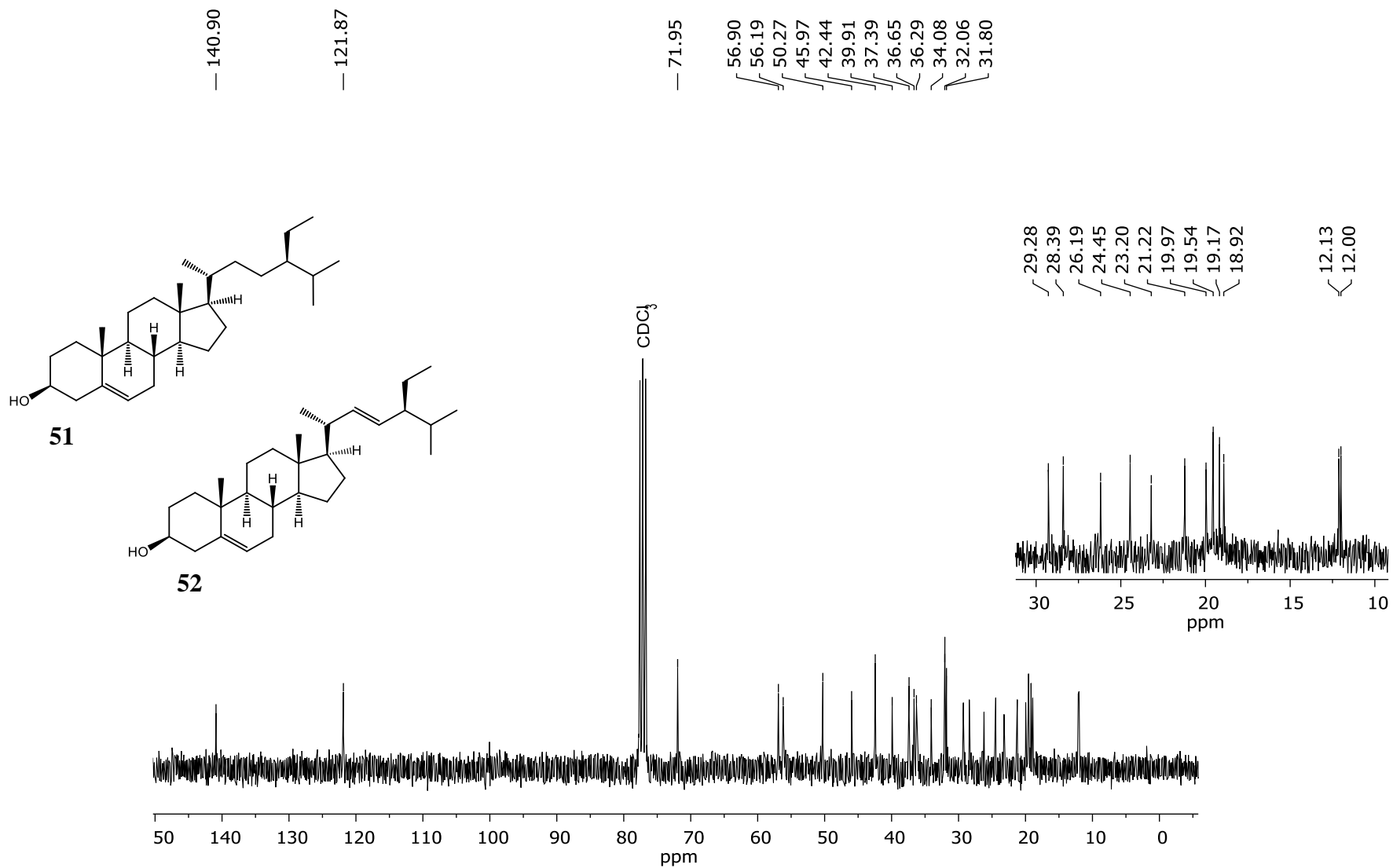
Anexo 10.2.14 HSQC (300 MHz, CDCl_3) de 3-O-éster del ácido oleanólico (50).



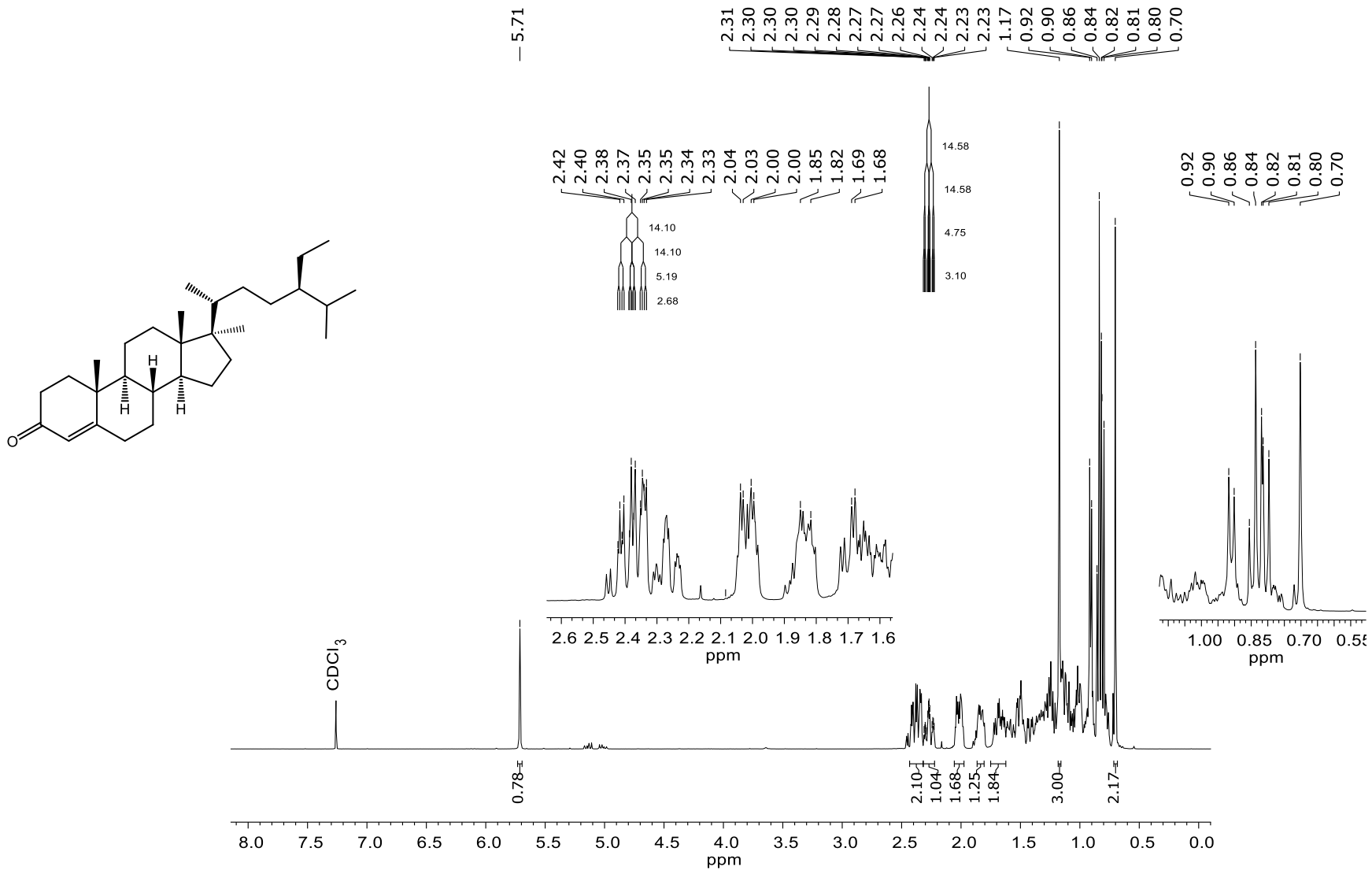
Anexo 10.2.15 HMBC (300 MHz, CDCl_3) de 3-O-éster del ácido oleanólico (**50**).



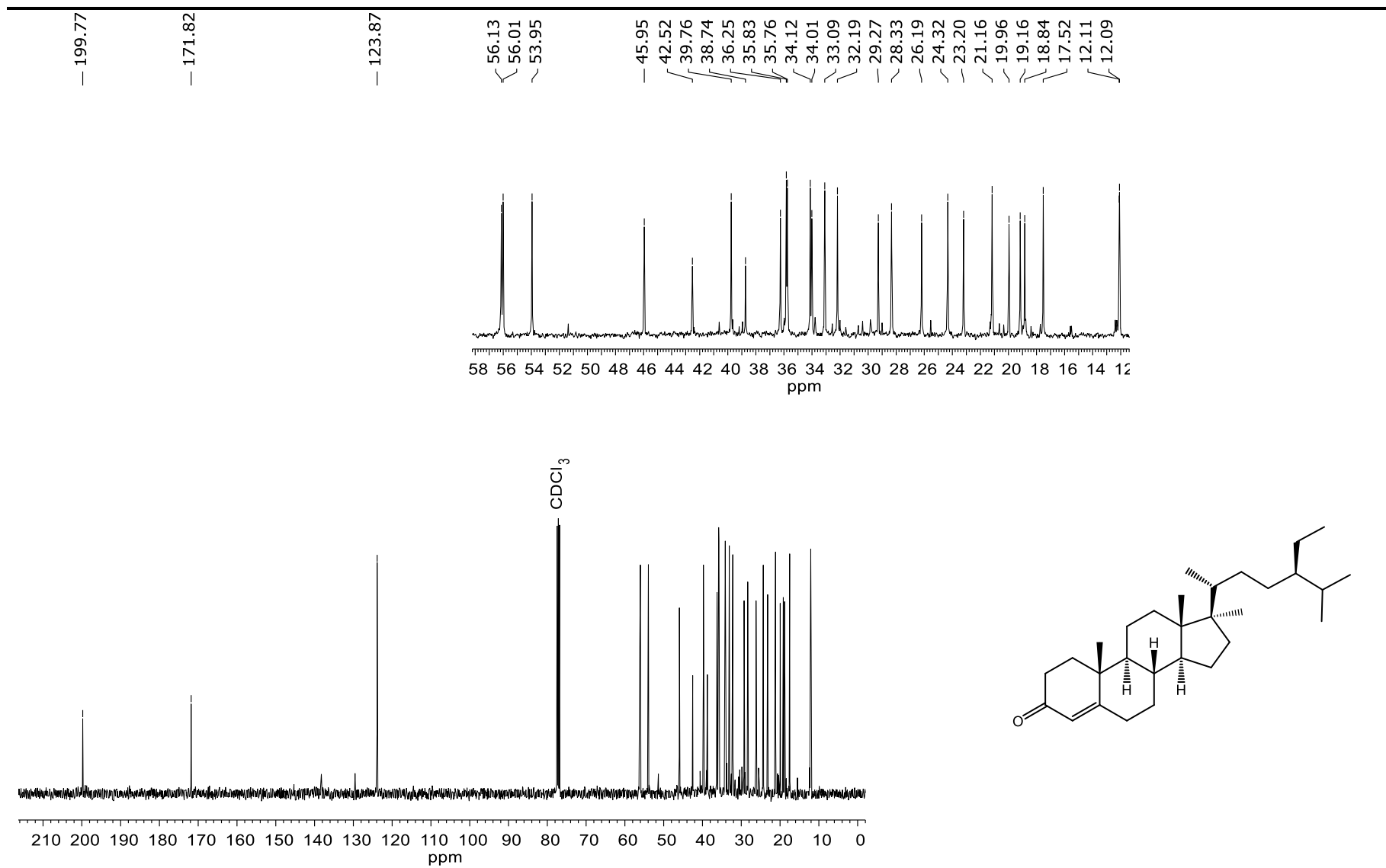
Anexo 10.2.16 RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) de β -sitosterol (**51**) y estigmasterol (**52**).



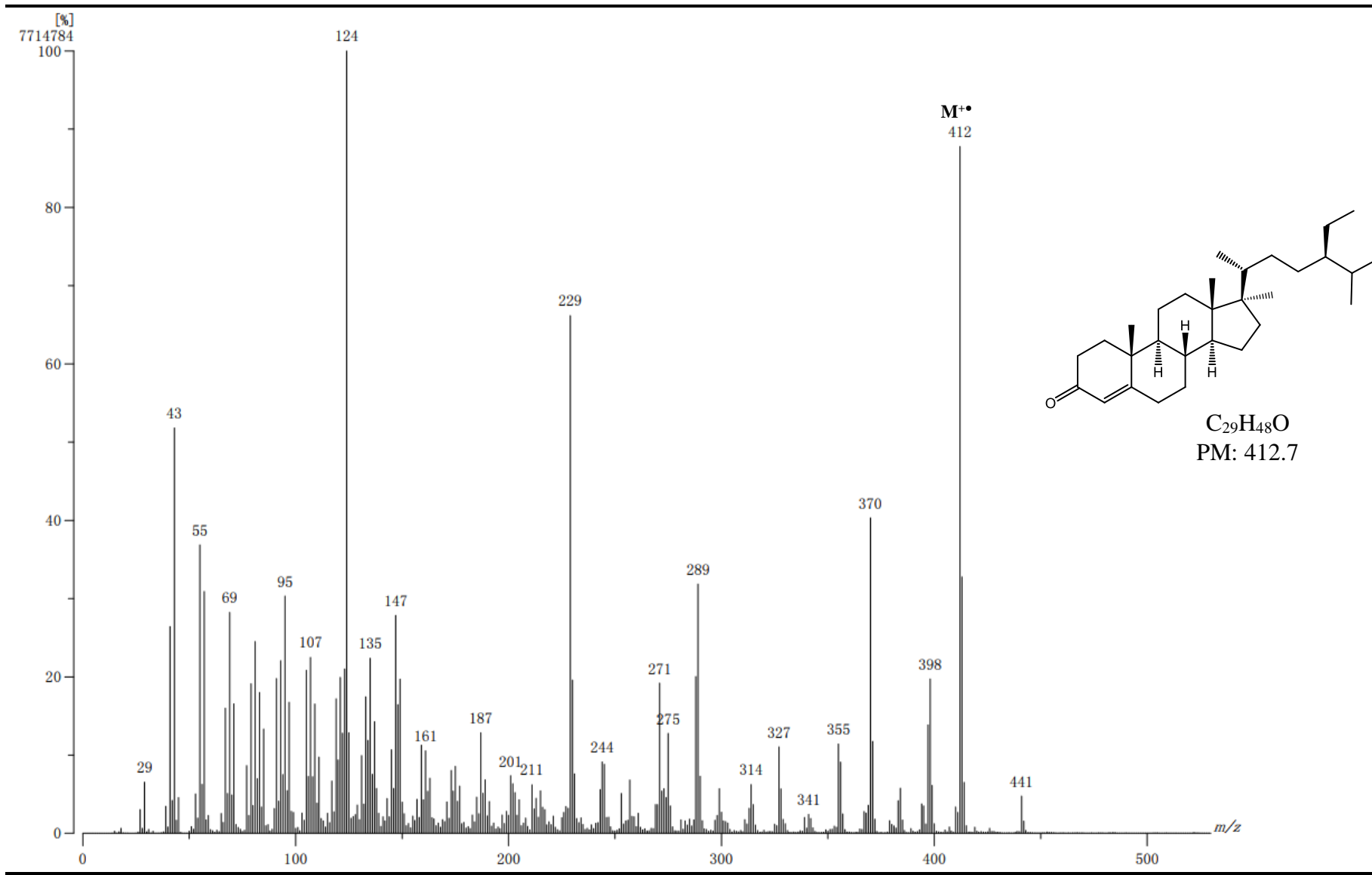
Anexo 10.2.17 RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) de β-sitosterol (**51**) y estigmasterol (**52**).



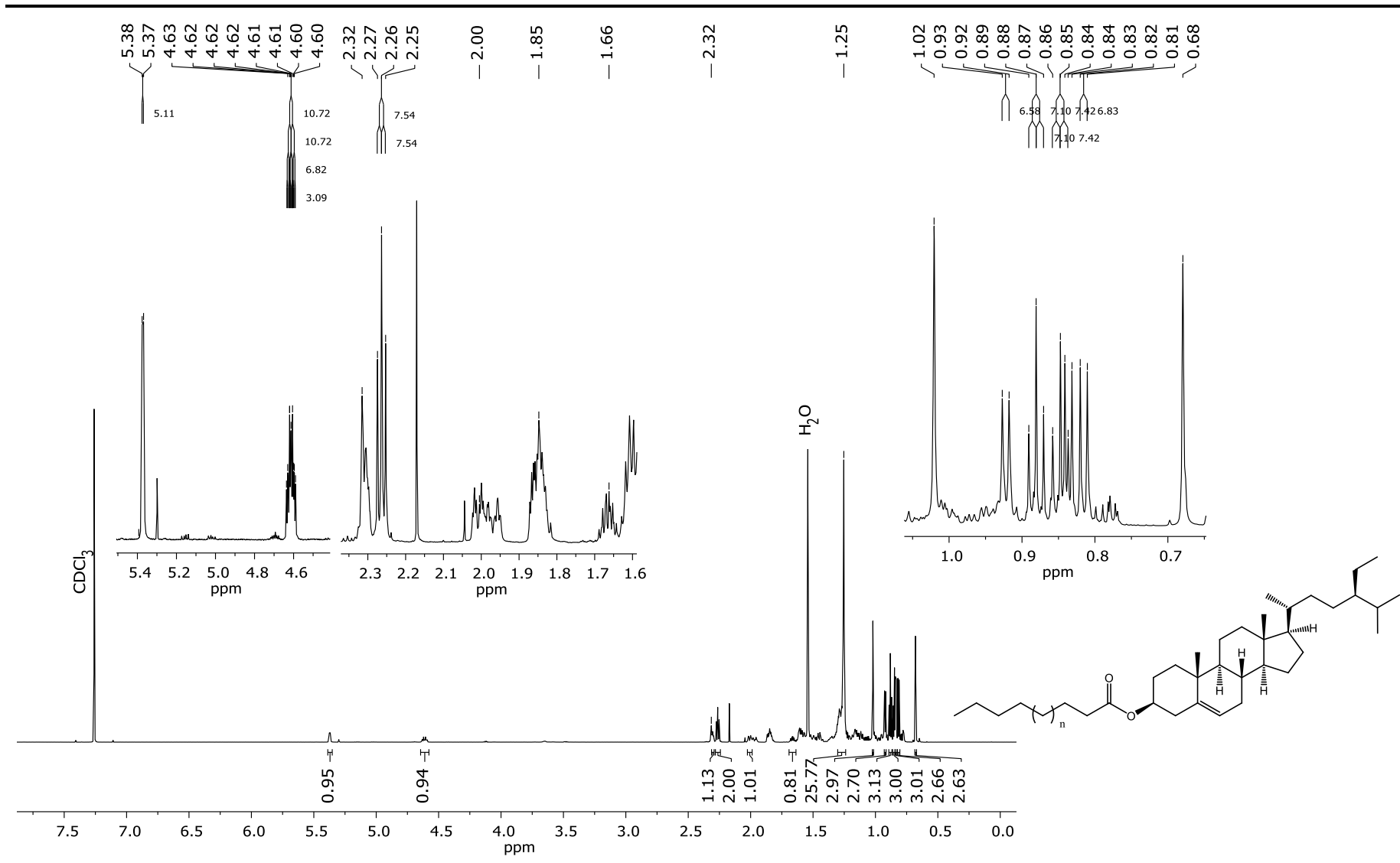
Anexo 10.2.18 RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) de sitostenona (53).



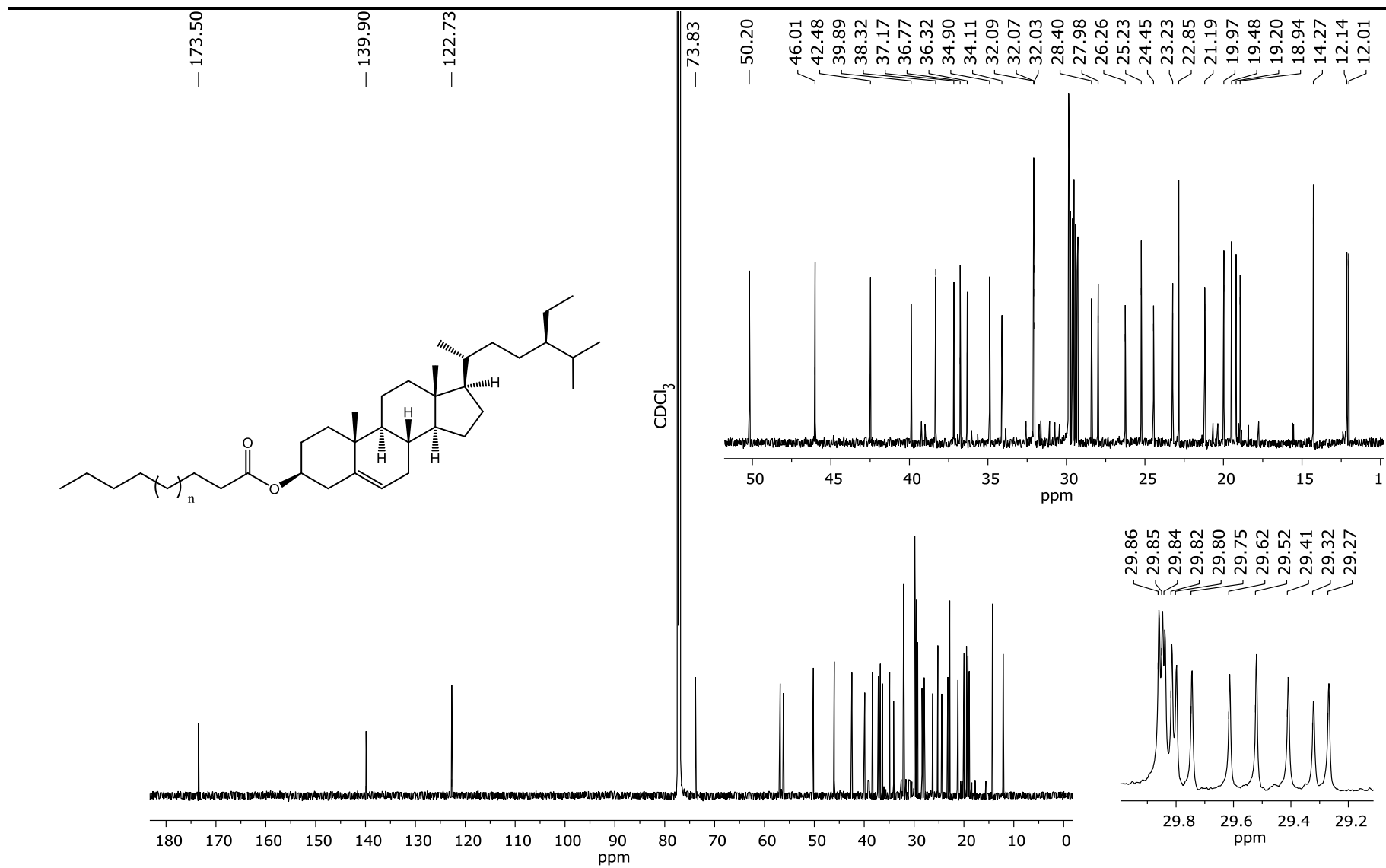
Anexo 10.2.19 RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) de sitostenona (53).



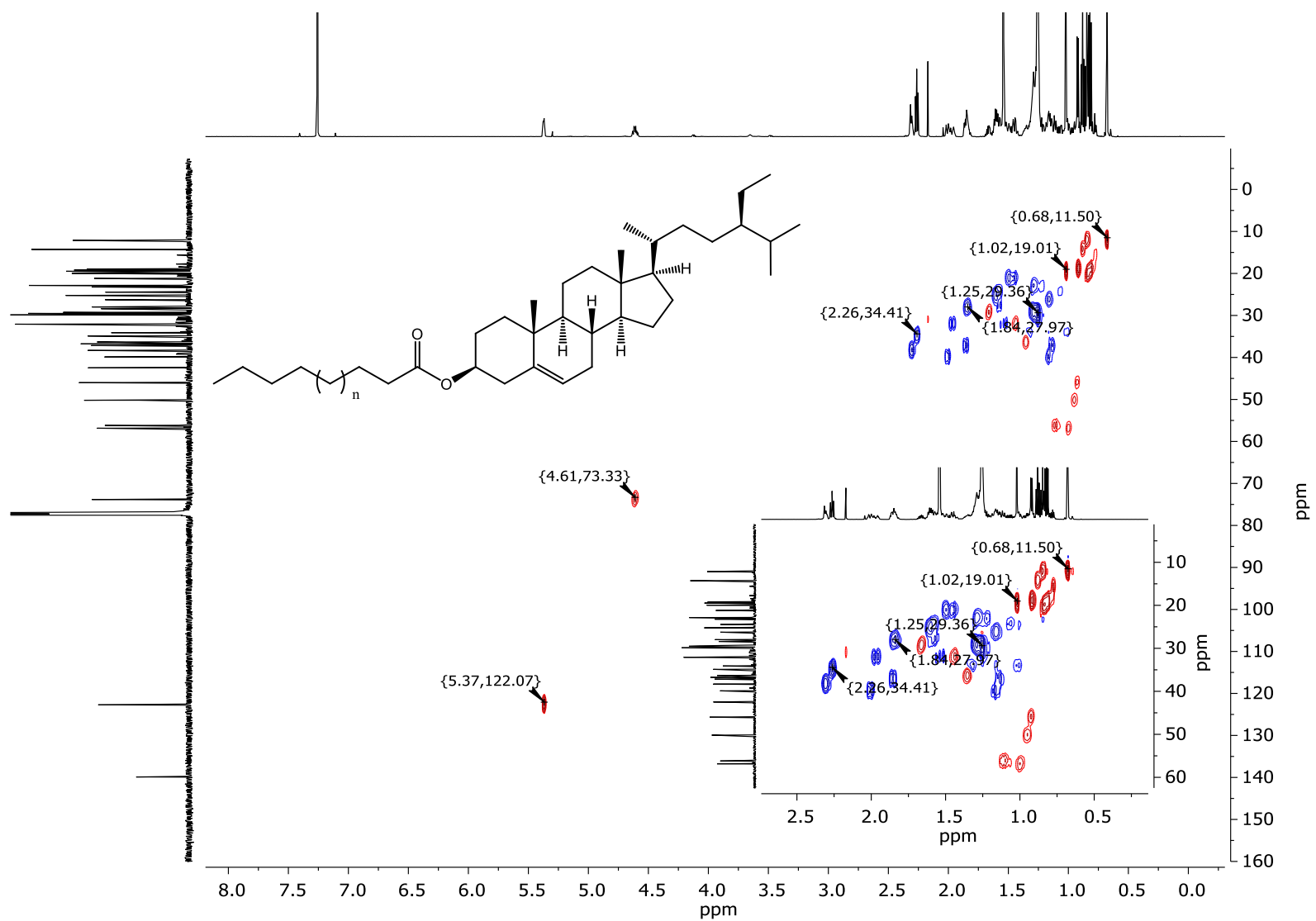
Anexo 10.2.20 EM/IE de la sitostenona (**53**).



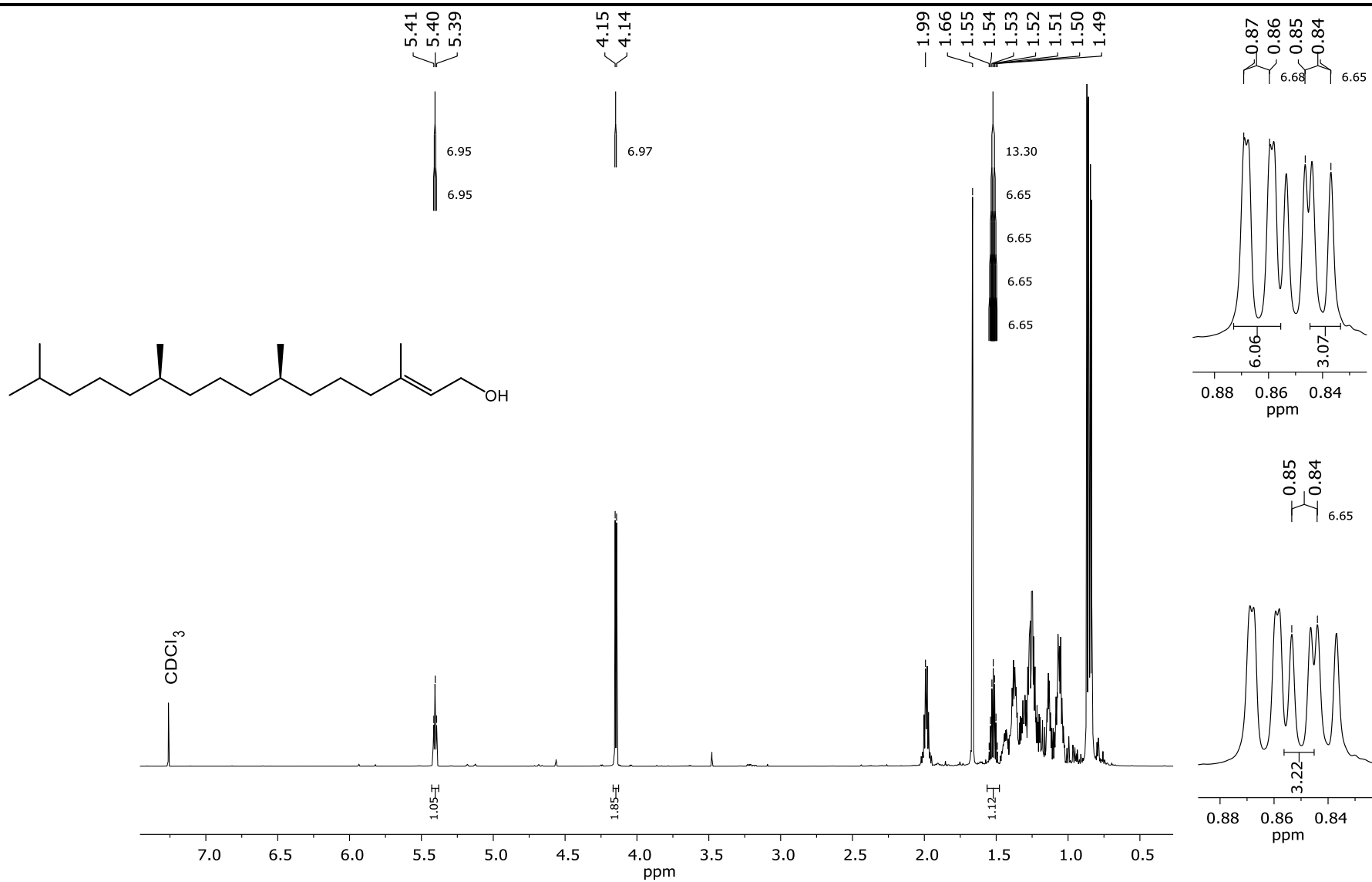
Anexo 10.2.21 RMN ^1H (700 MHz, CDCl_3) de 3-O-éster del β -sitosterol (**54**).



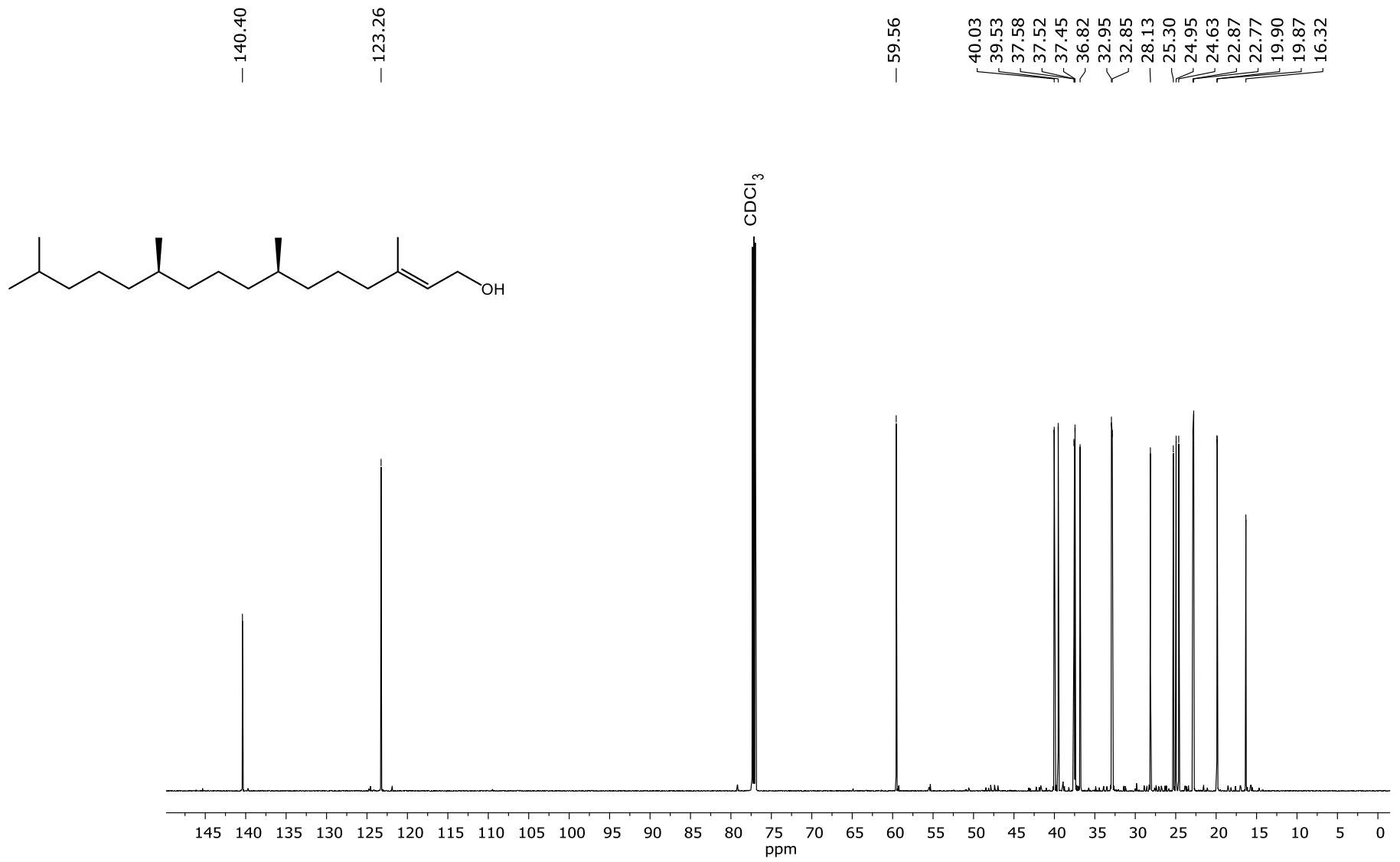
Anexo 10.2.22 RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) de 3-O-éster del β -sitosterol (54).



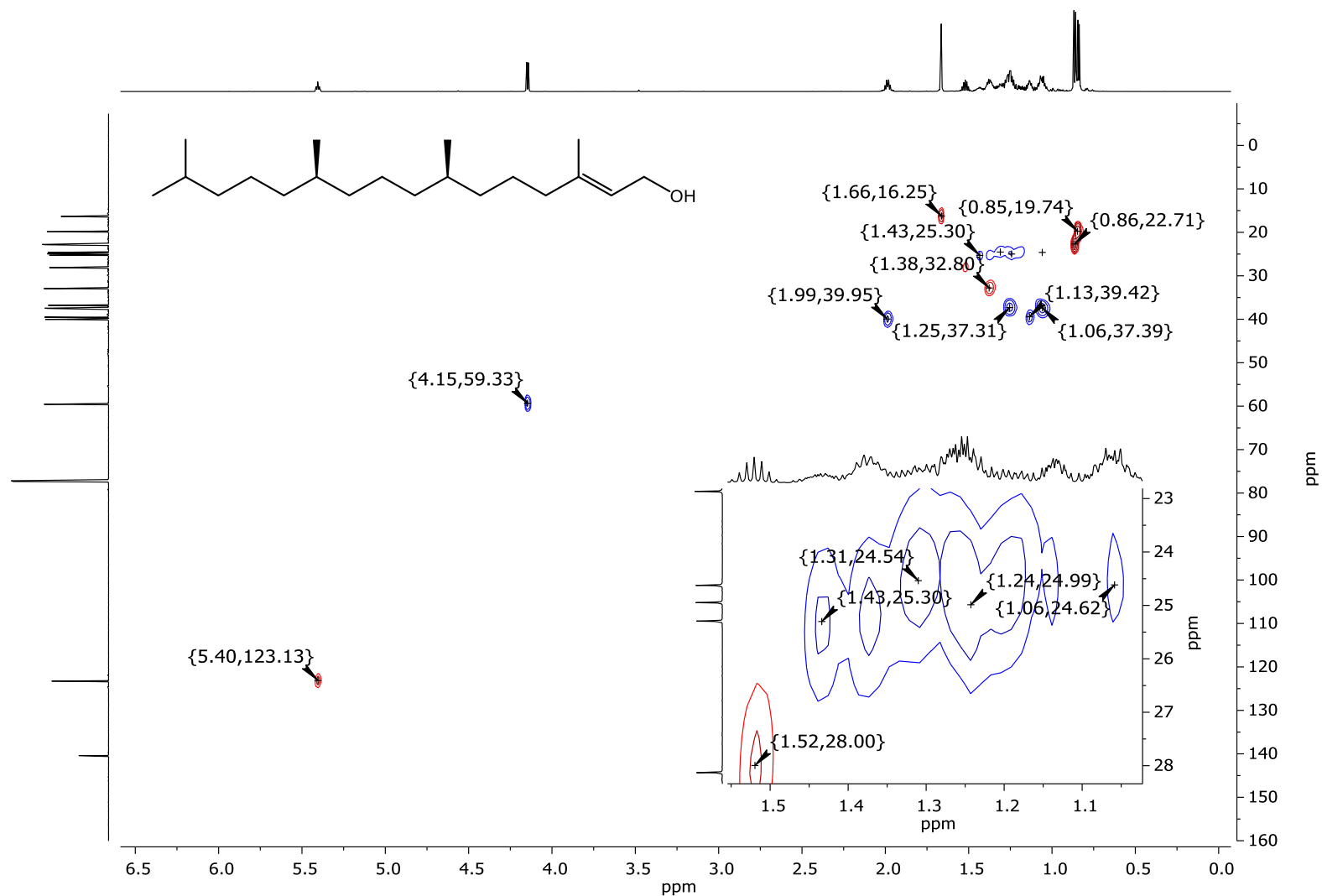
Anexo 10.2.23 HSQC (700 MHz, $CDCl_3$) de 3-O-éster del β -sitosterol (**54**).



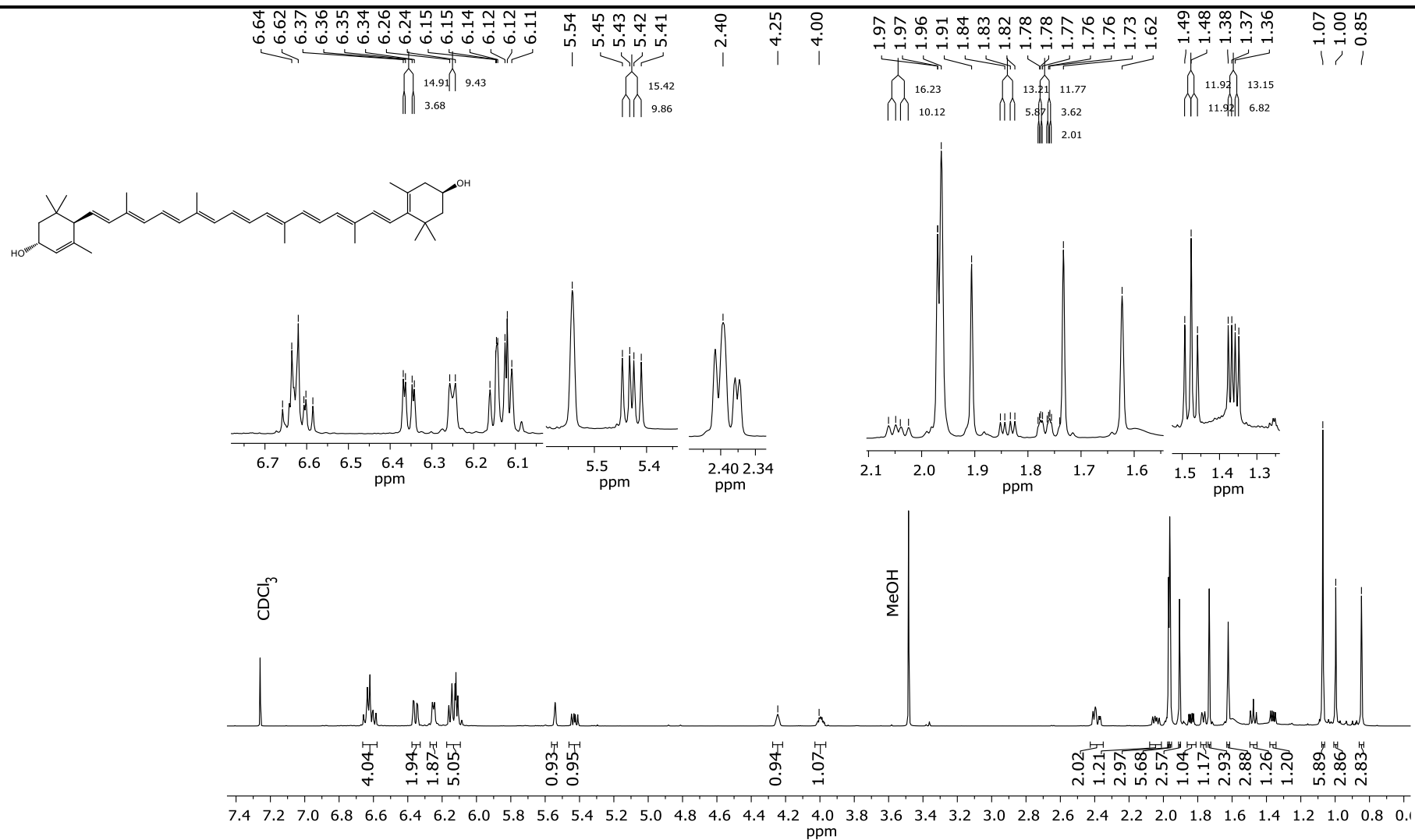
Anexo 10.2.24 RMN ^1H (700 MHz, CDCl_3) de fitol (55).



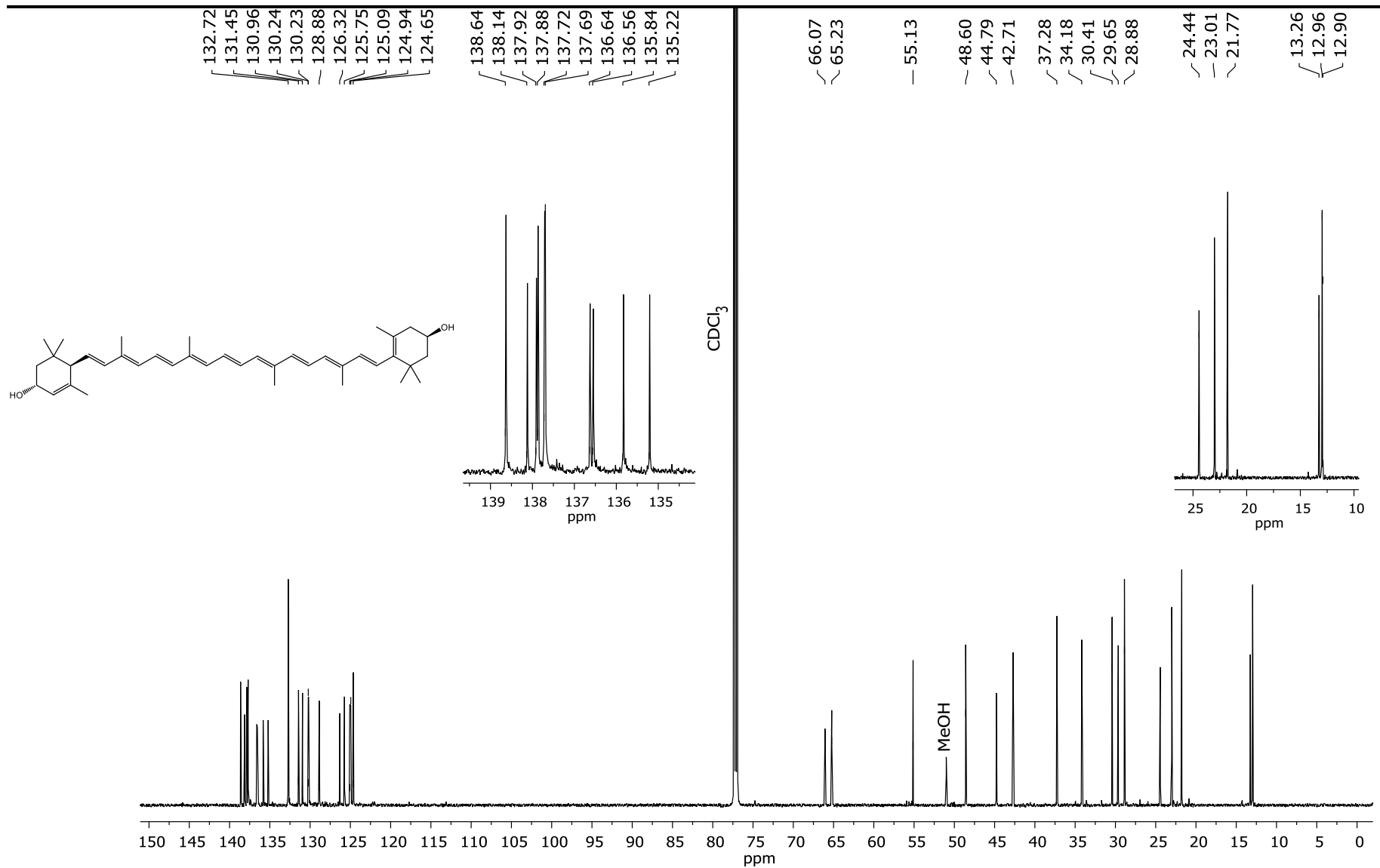
Anexo 10.2.25 RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl₃) de fitol (55).



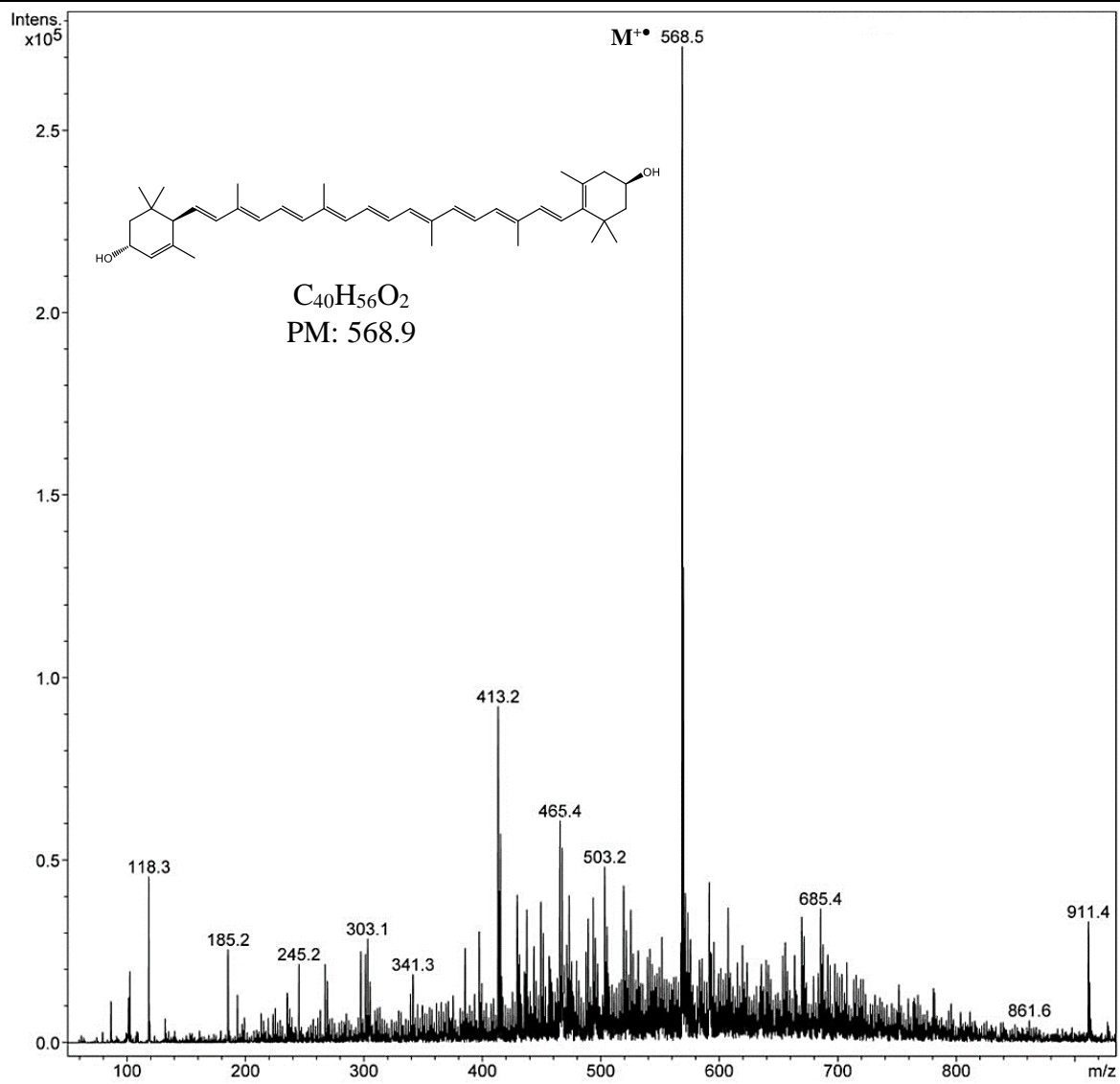
Anexo 10.2.26 HSQC (700 MHz, CDCl₃) de fitol (55).



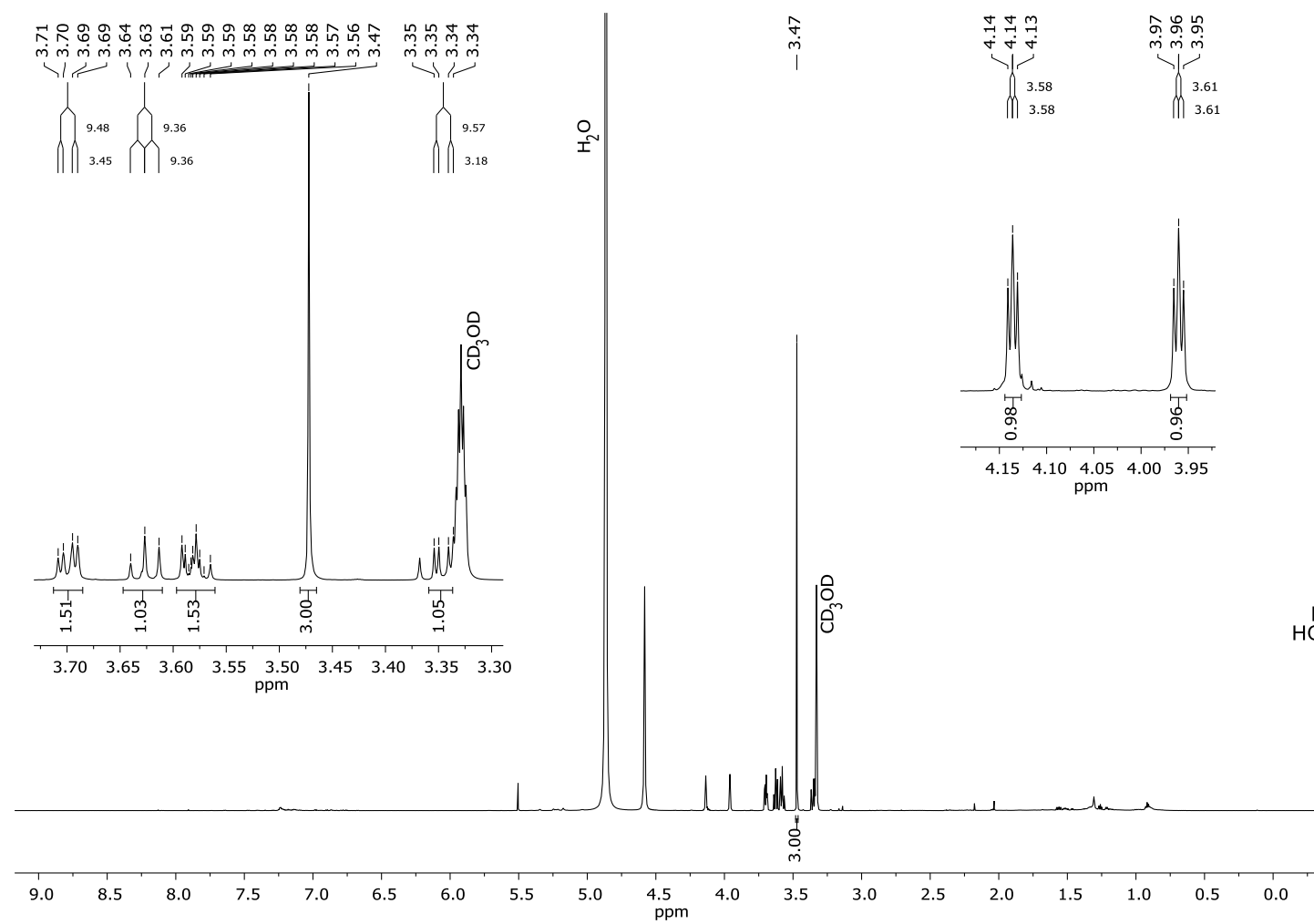
Anexo 10.2.27 RMN ¹H (700 MHz, CDCl₃) de luteína (56).



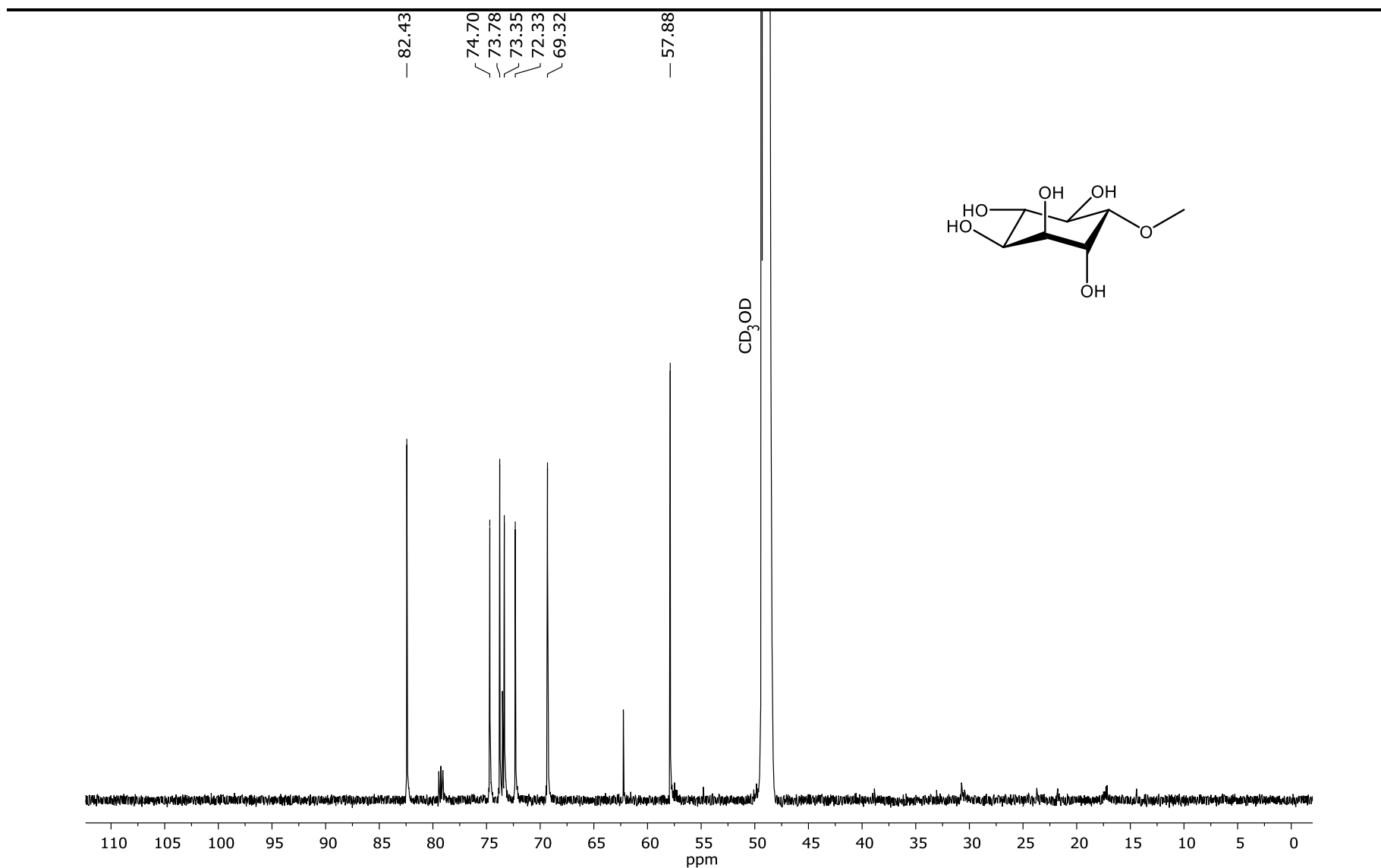
Anexo 10.2.28 RMN ¹³C (175 MHz, CDCl₃) de luteína (**56**).



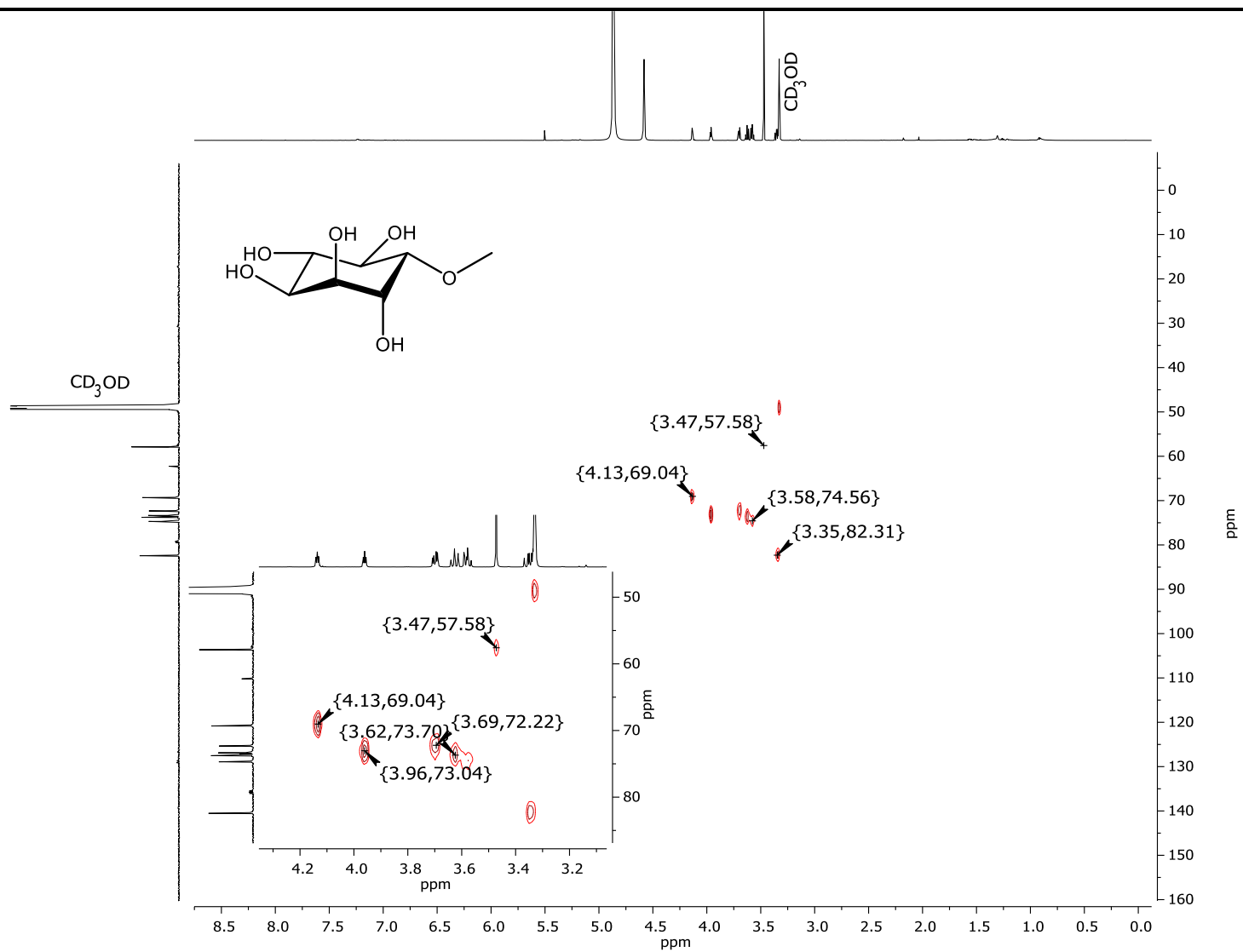
Anexo 10.2.29 EM/ESI+ de la luteína (56).



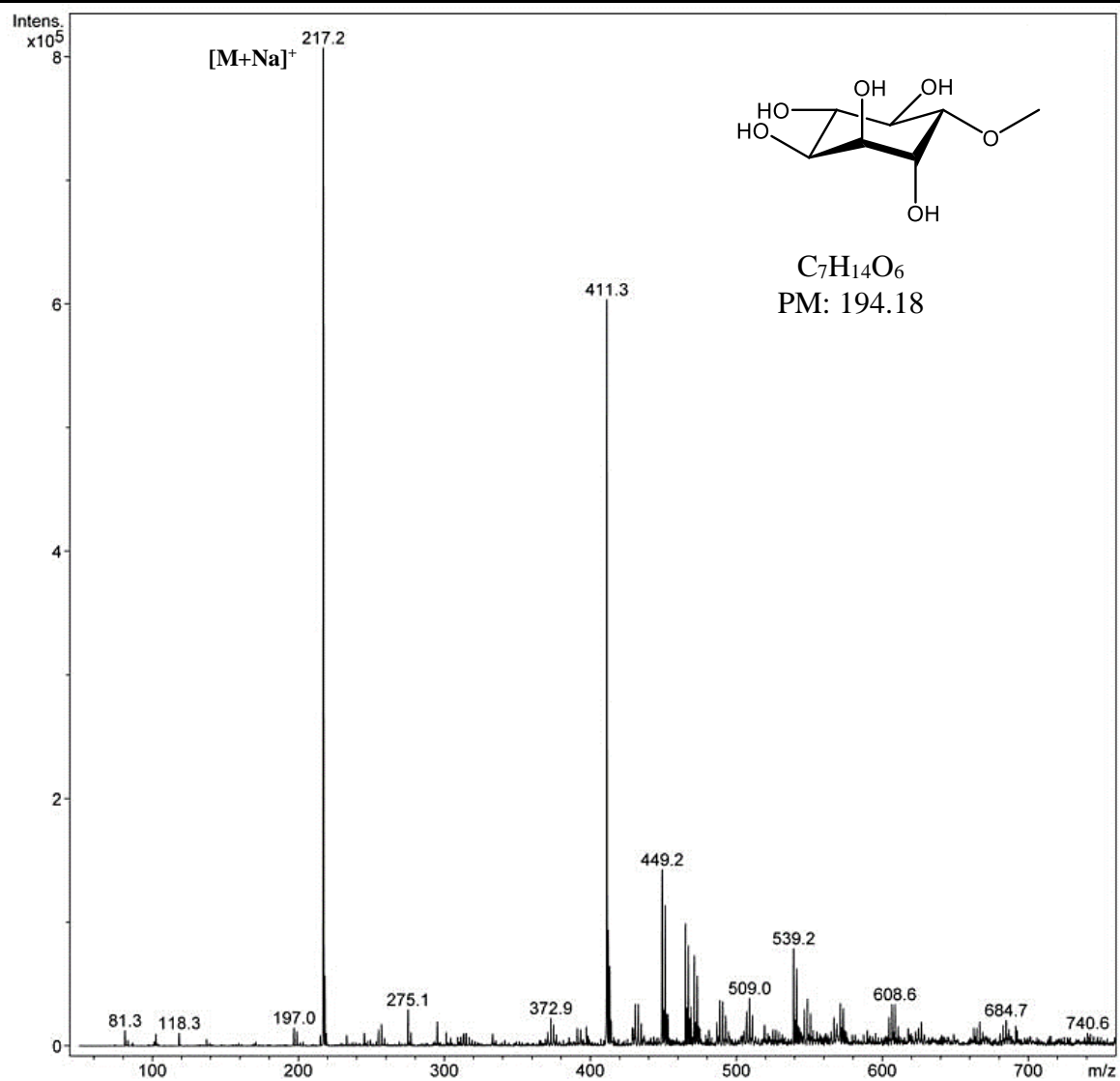
Anexo 10.2.30 RMN ^1H (700 MHz, CD_3OD) de (-)-quebraquitol (**36**).



Anexo 10.2.31 RMN ¹³C (175 MHz, CD₃OD) de (-)-quebravitol (36).



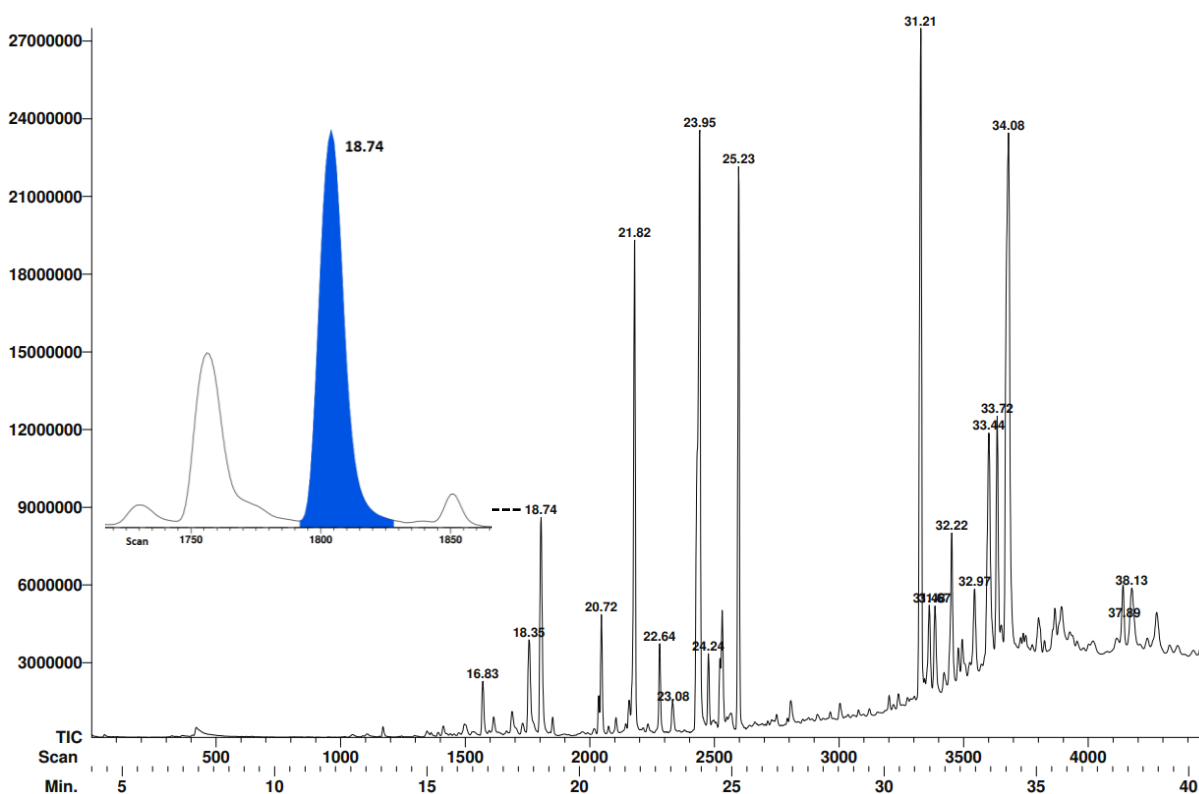
Anexo 10.2.32 HSQC (700 MHz, CD₃OD) de (-)-quebraquitol (**36**).



Anexo 10.2.33 EM/ESI+ del (-)-quebraquitol (36).

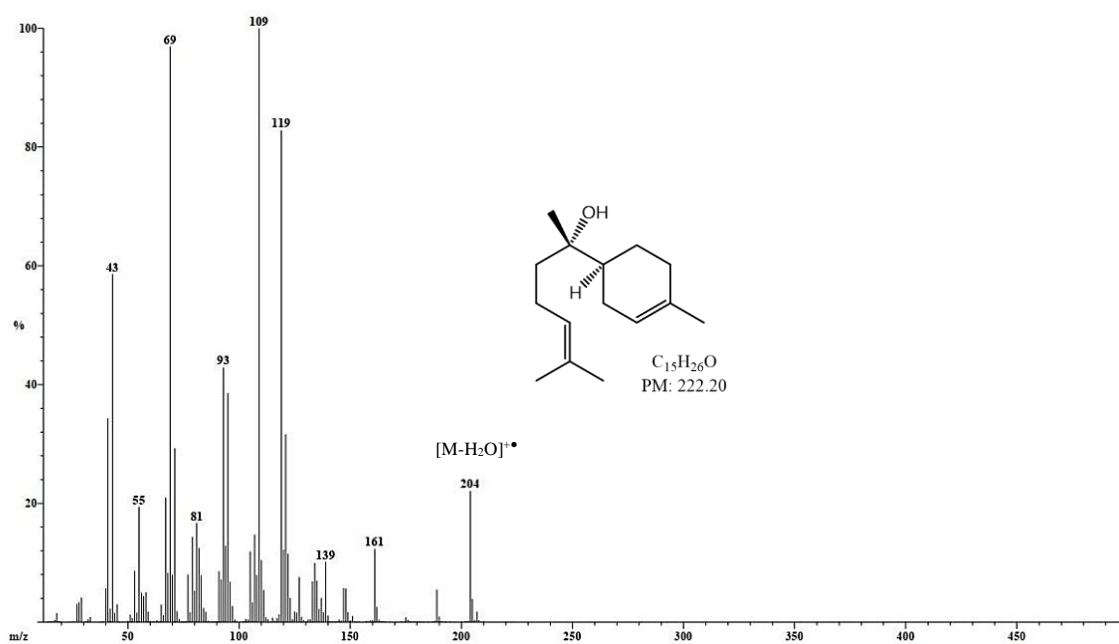
Anexo 10.3 Identificación mediante CG-EM de compuestos de *C. adpersus*.

■ Cromatograma de la fracción CaII-5



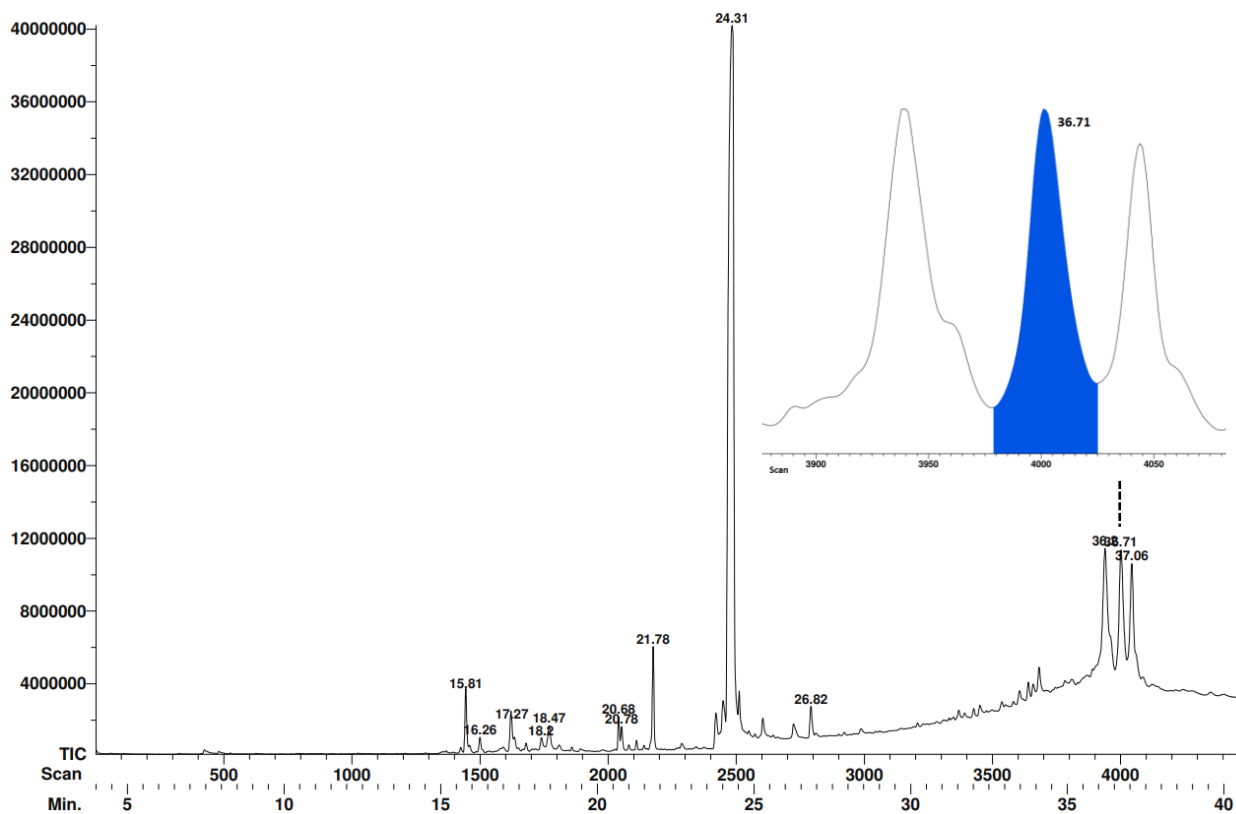
■ Espectro de masas del pico con t_R 18.74 min.

Base: m/z 109



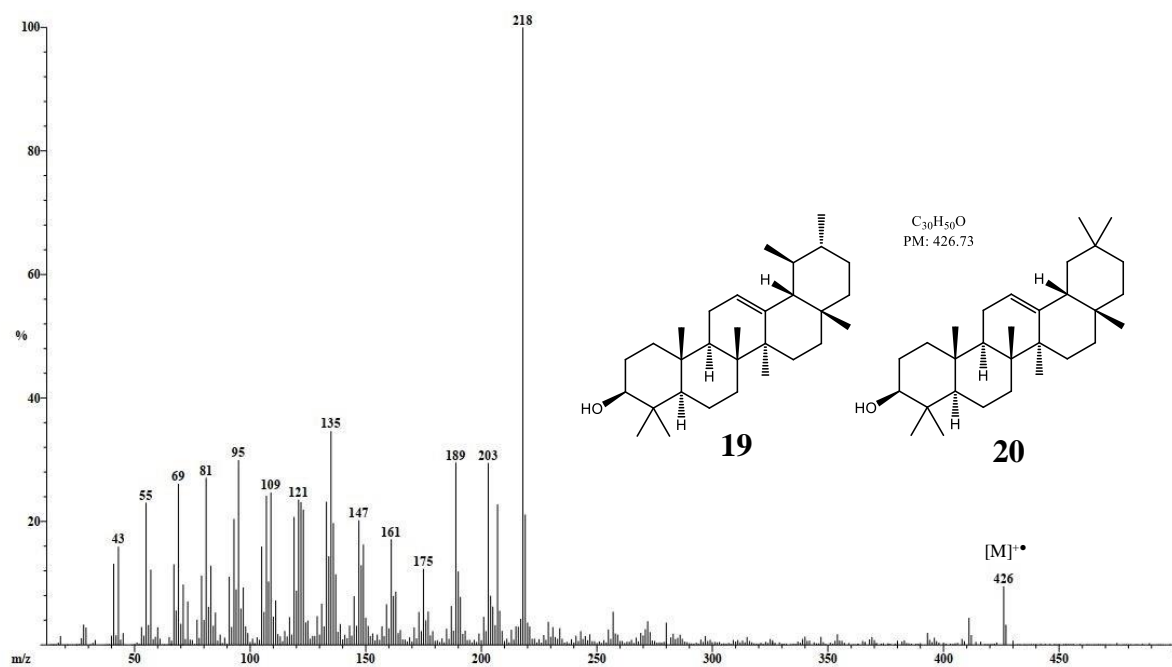
Anexo 10.3.1 Identificación de α -Bisabolol (**59**) en la fracción CaII-5.

■ Cromatograma de la fracción CaII-7



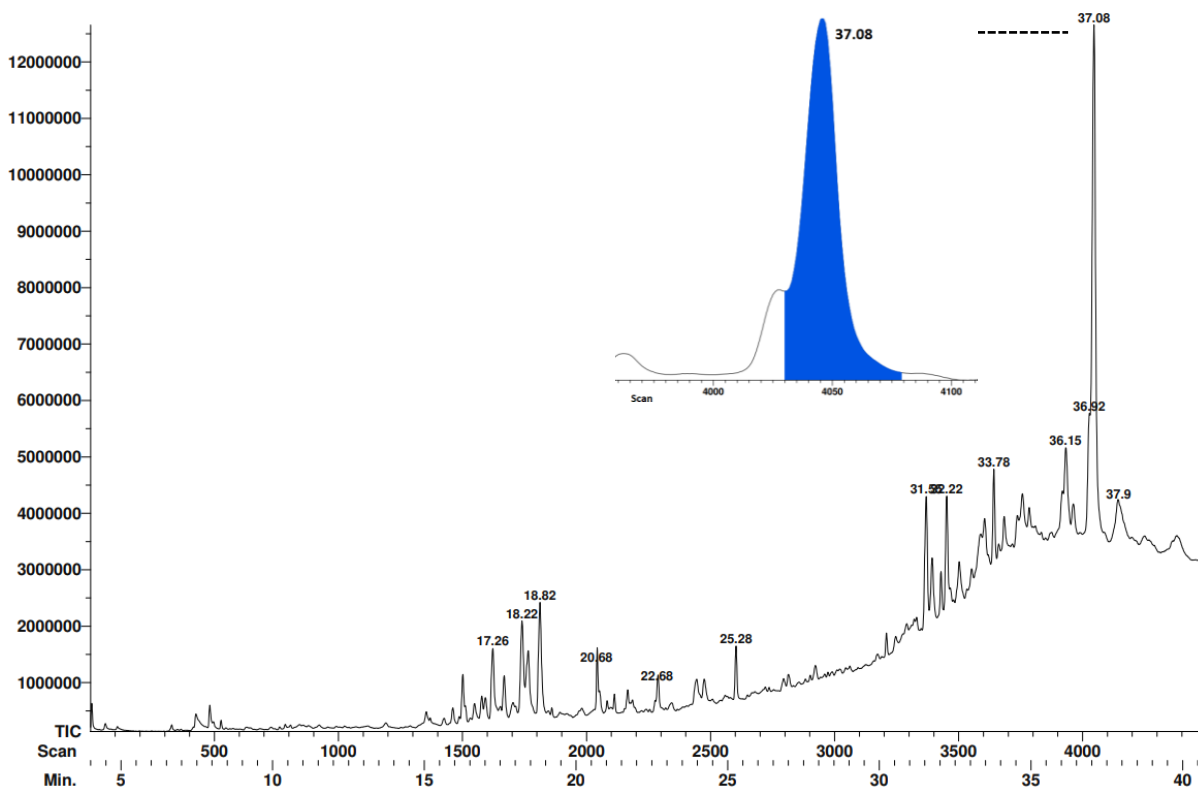
■ Espectro de masas del pico con t_R 36.71 min.

Base: m/z 218



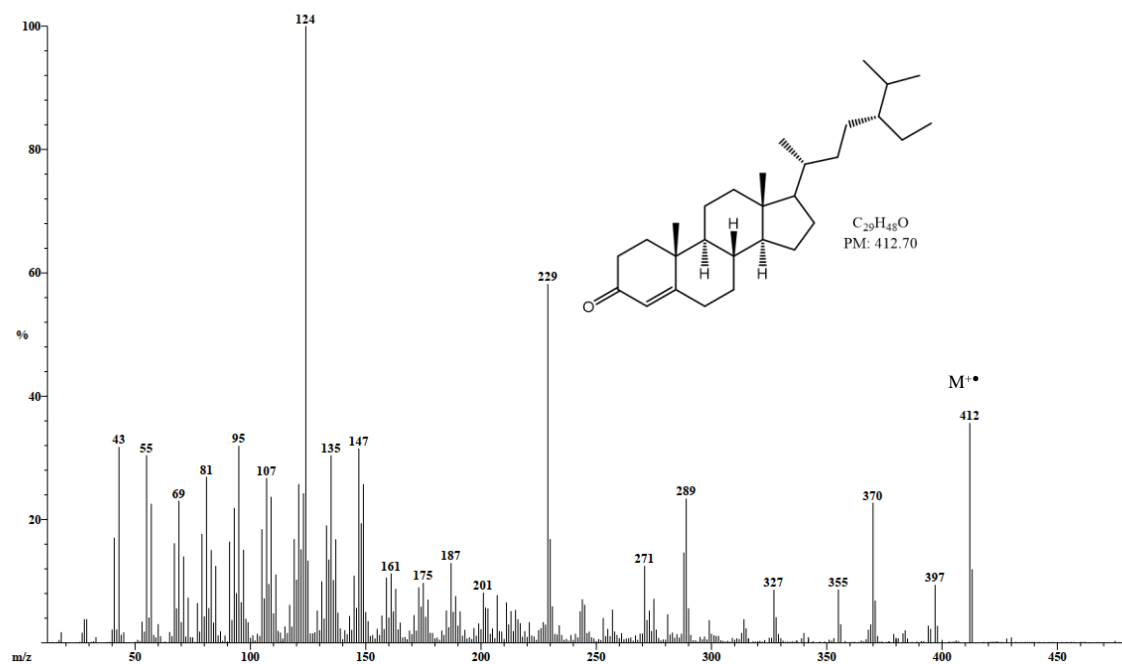
Anexo 10.3.2 Identificación de α - (19) y β - (20) amirina en la fracción CaII-7.

■ Cromatograma de la fracción CaII-6



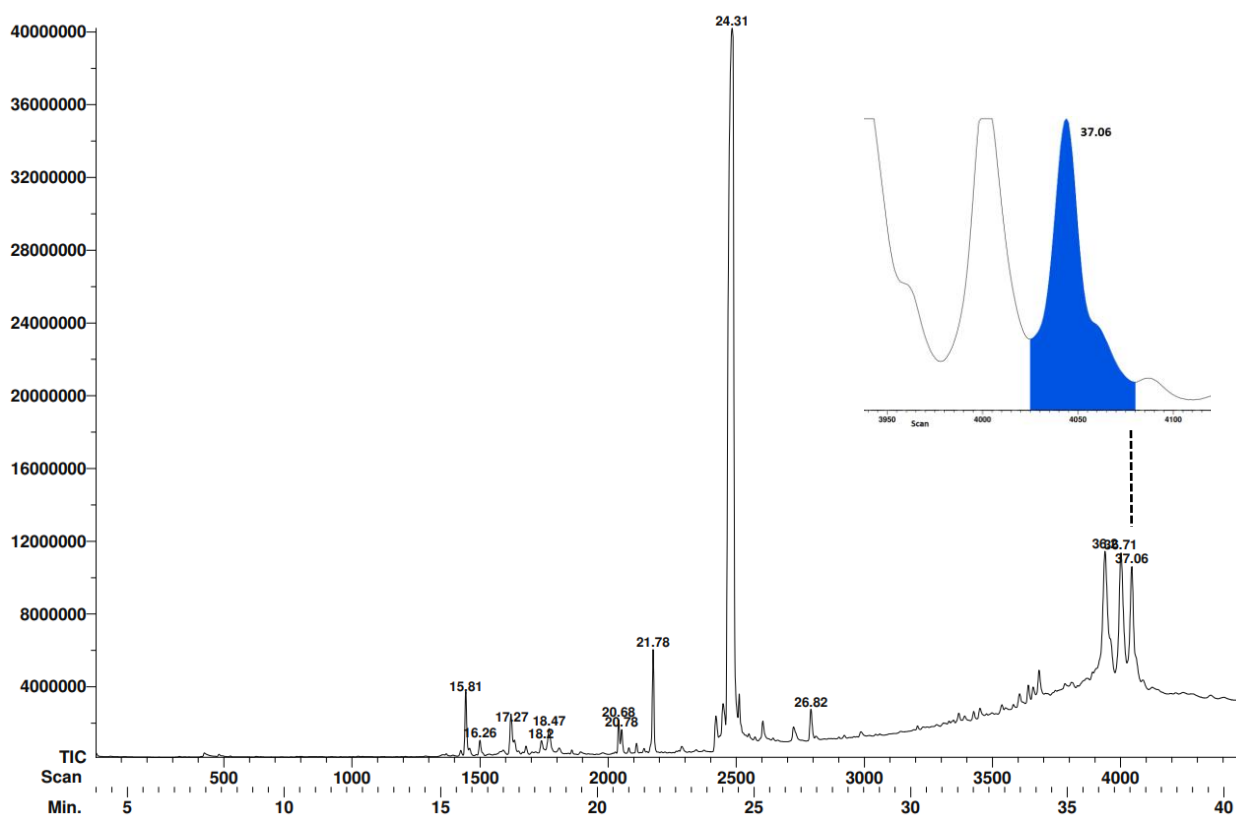
■ Espectro de masas del pico con t_R 37.08 min.

Base: m/z 124



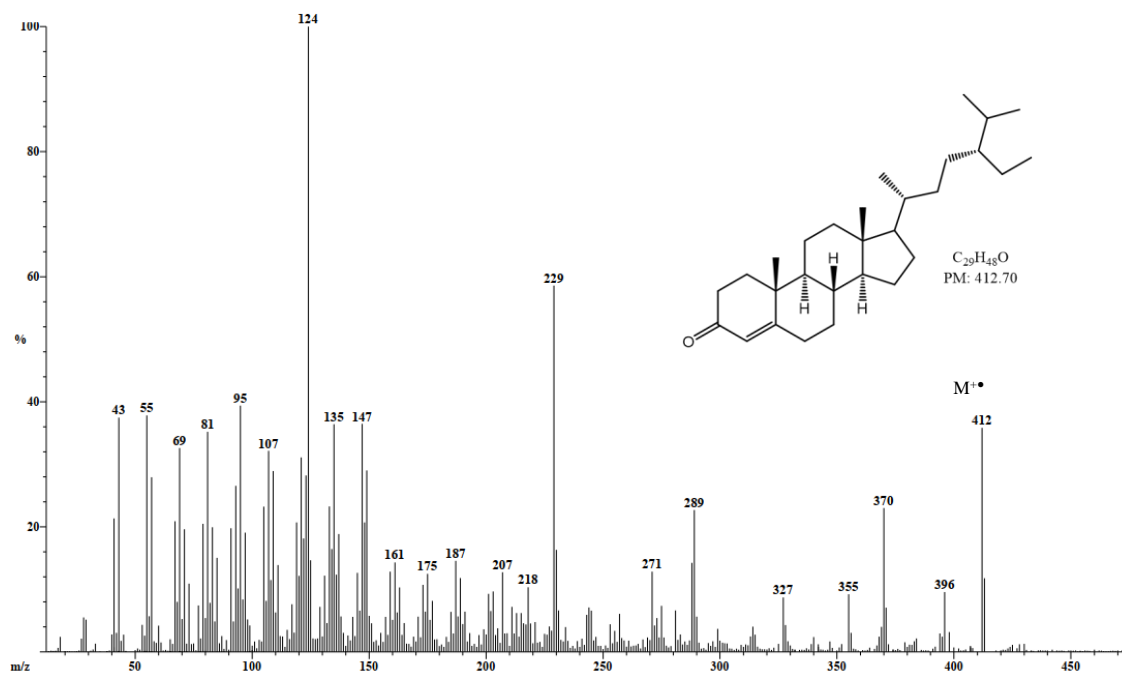
Anexo 10.3.3 Identificación de sitostenona (53) en la fracción CaII-6.

■ Cromatograma de la fracción CaII-7



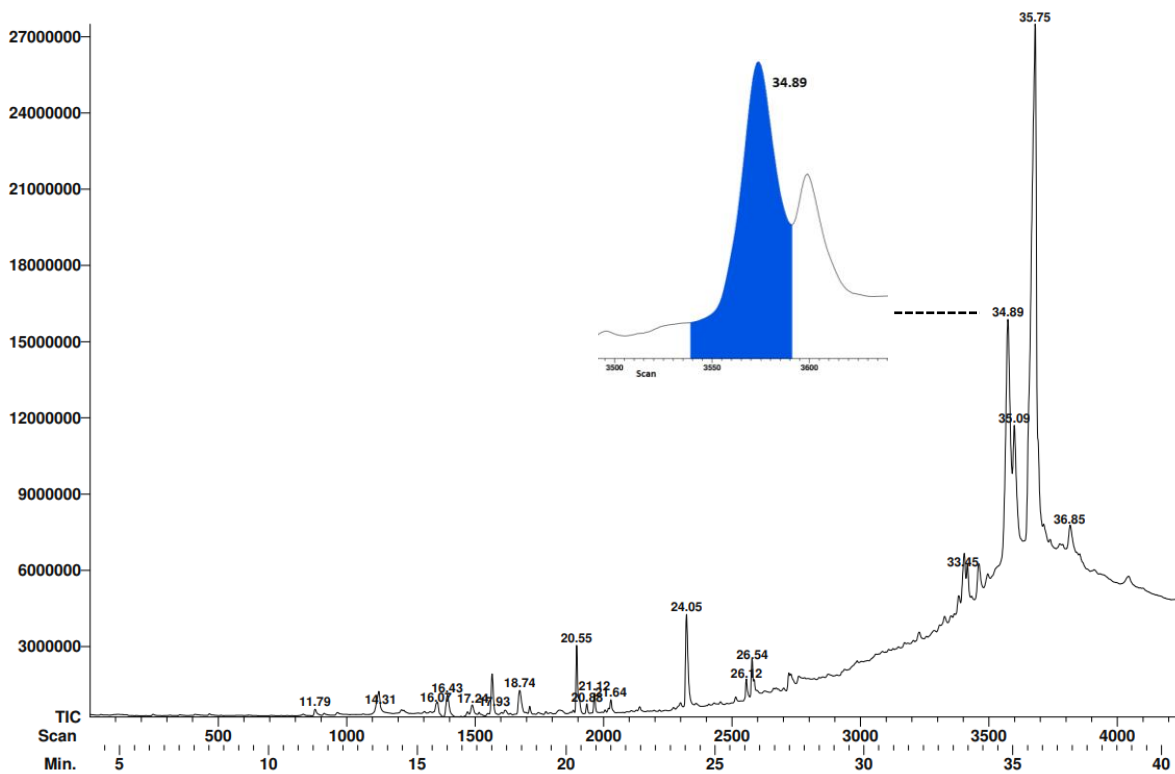
■ Espectro de masas del pico con t_R 37.06 min.

Base: m/z 124



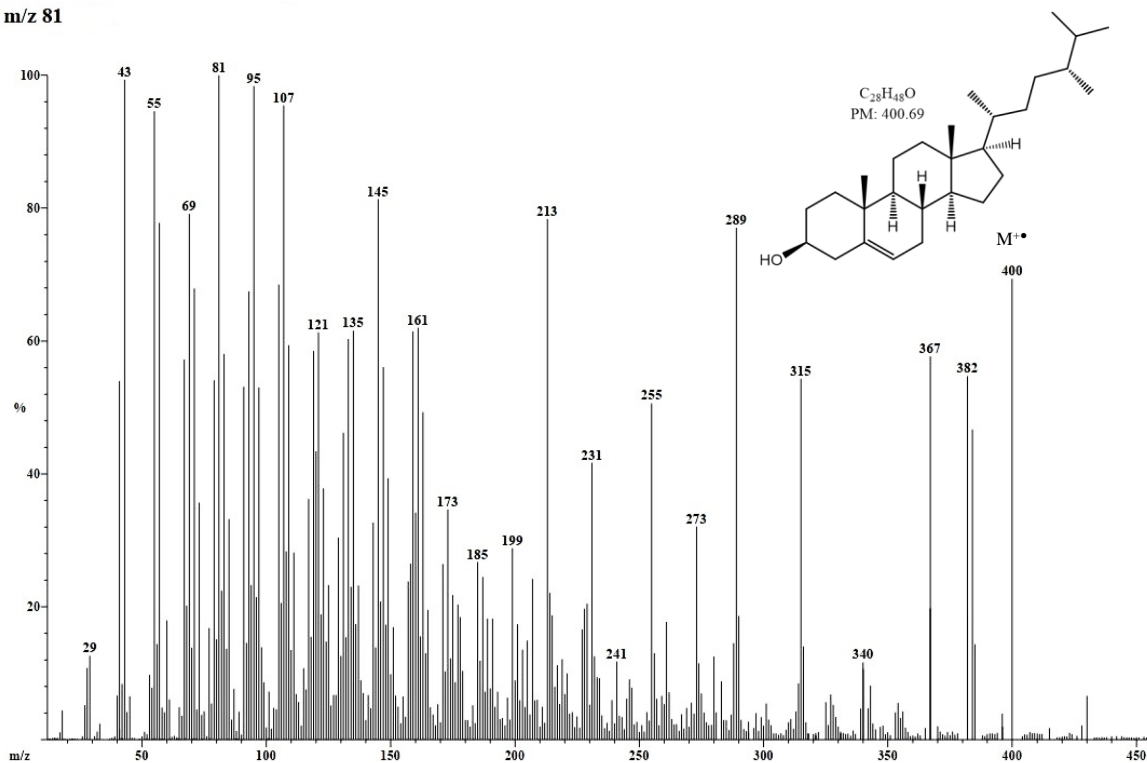
Anexo 10.3.4 Identificación de sitostenona (**53**) en la fracción CaII-7.

■ Cromatograma de la fracción CaII-9



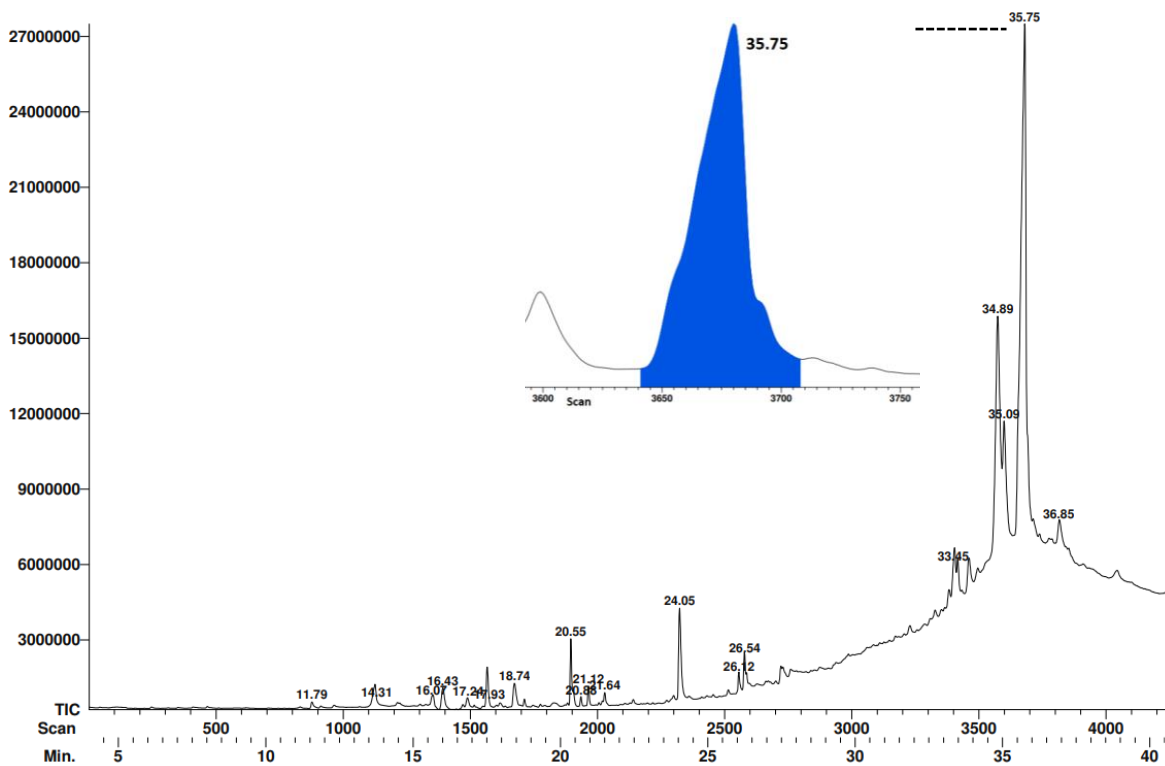
■ Espectro de masas del pico con t_R 34.89 min.

Base: m/z 81



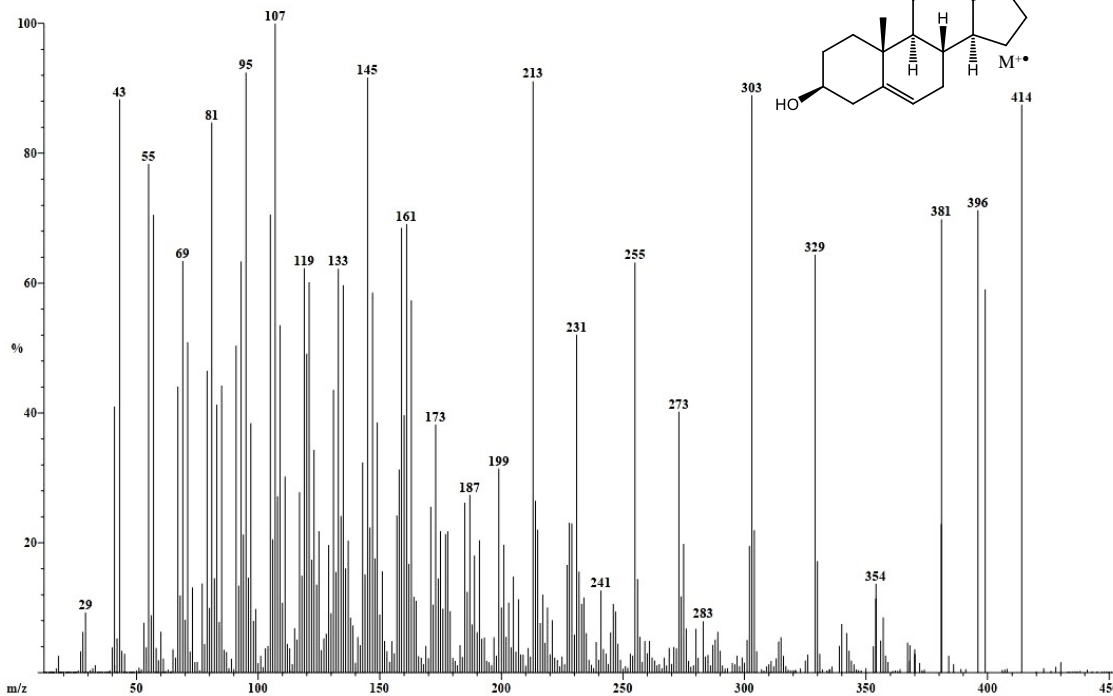
Anexo 10.3.5 Identificación de campesterol (60) en la fracción CaII-9.

■ Cromatograma de la fracción CaII-9



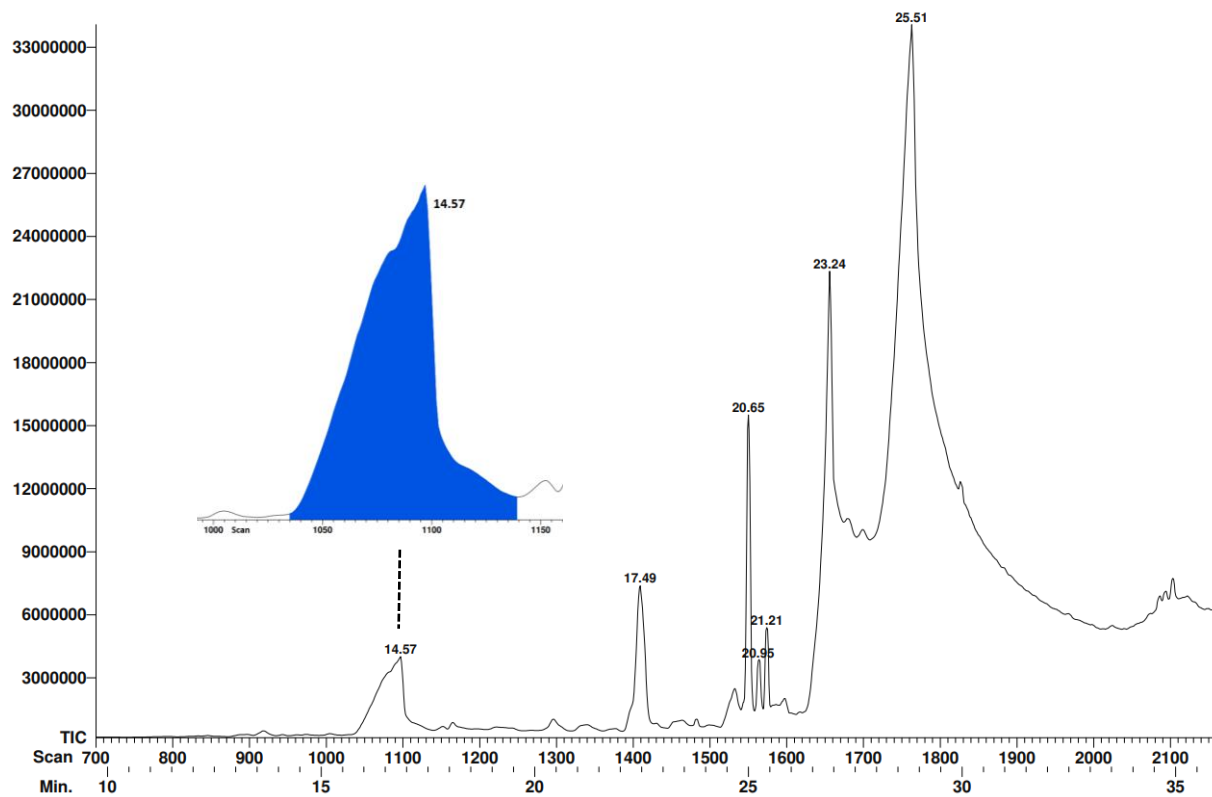
■ Espectro de masas del pico con t_R 35.75 min.

Base: m/z 107



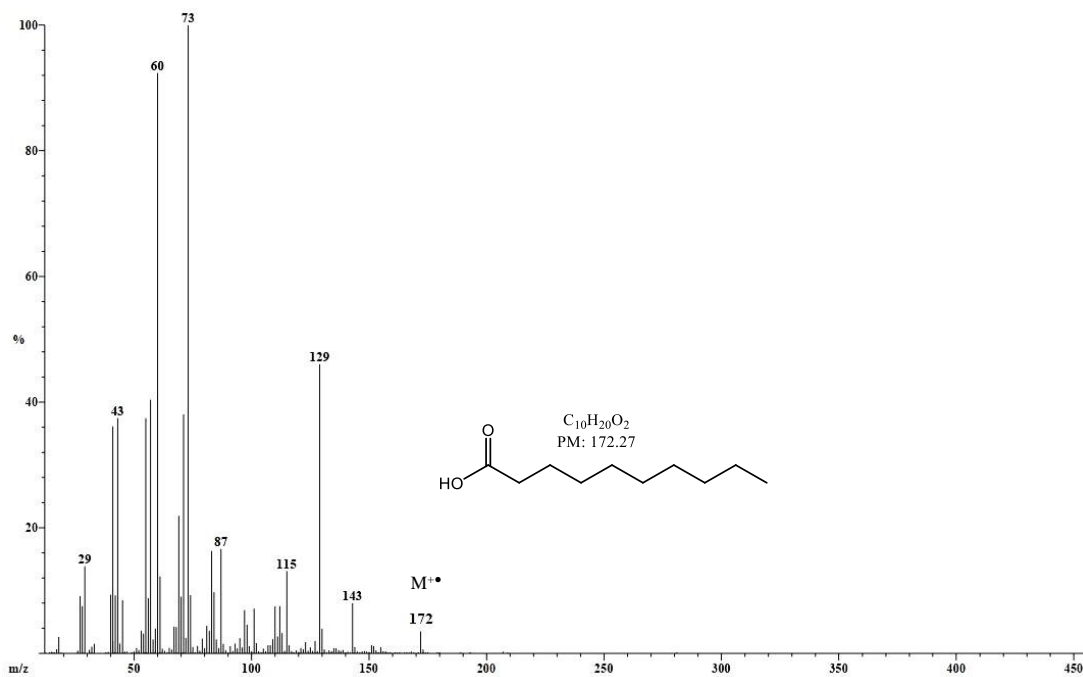
Anexo 10.3.6 Identificación de β -sitosterol (**51**) en la fracción CaII-9.

■ Cromatograma de la fracción CaII-11



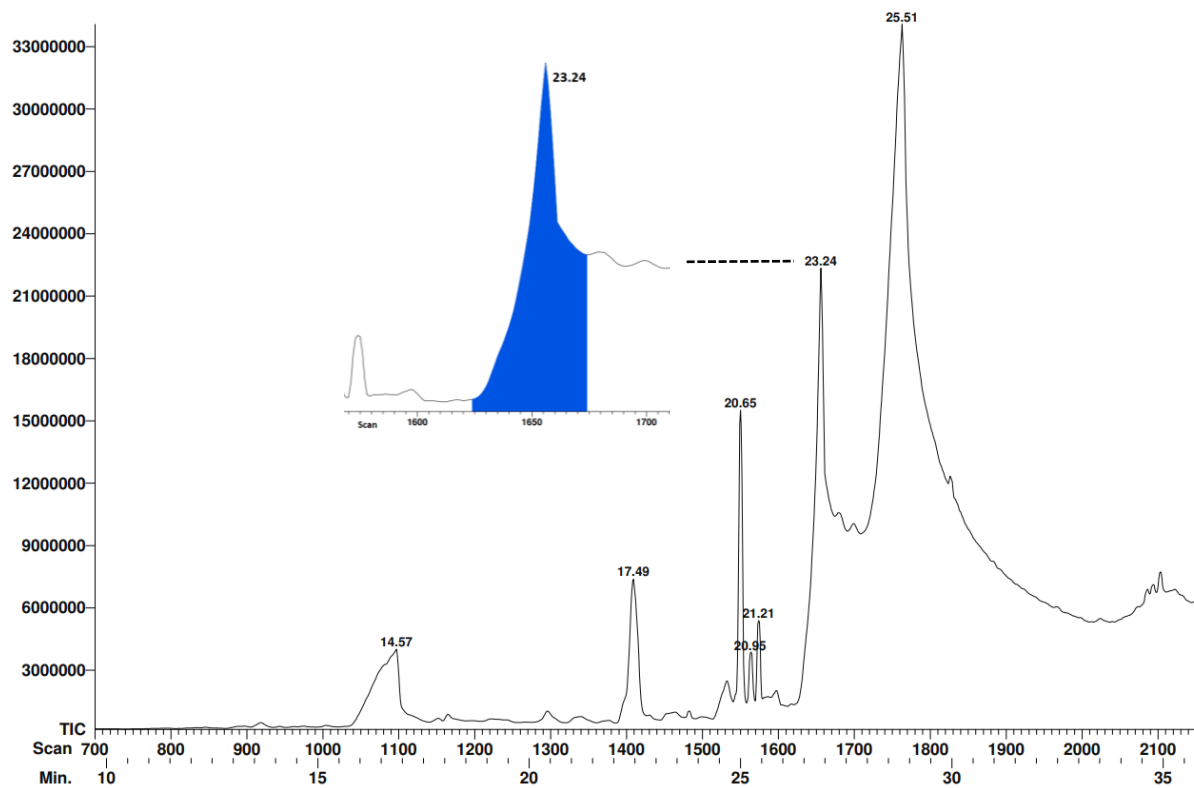
■ Espectro de masas del pico con t_R 14.57 min.

Base: m/z 73



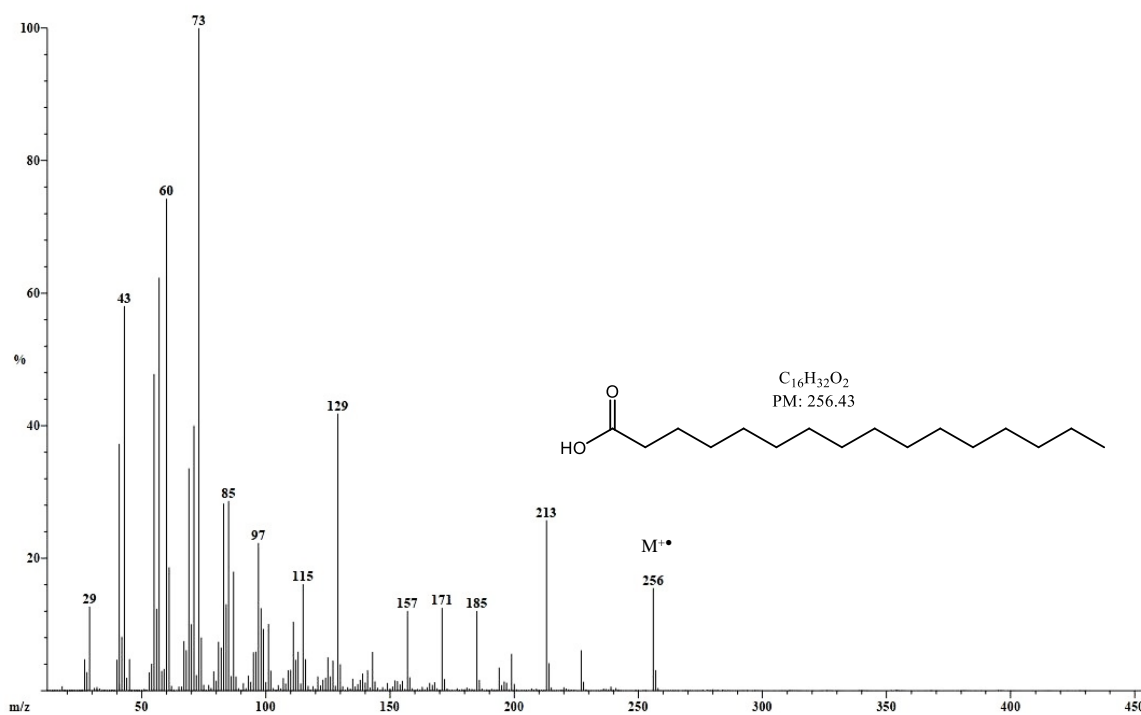
Anexo 10.3.7 Identificación de ácido decanoico (**57**) en la fracción CaII-11.

■ Cromatograma de la fracción CaII-11



■ Espectro de masas del pico con t_R 23.24 min.

Base: m/z 73



Anexo 10.3.8 Identificación de ácido hexadecanoico (**58**) en la fracción CaII-11.