

72
31



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA



**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA**

**"COMPUESTOS BIOACTIVOS DE *Cedrela odorata* L.
(MELIACEAE)"**



TESIS MANCOMUNADA

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLGO

P R E S E N T A N :

MIRZA VERONICA MEZQUITA ALCOCER

BLANCA ESTELA RIVERO CRUZ



MEXICO, D. F.

1997

**TESIS CON
FECHA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Prof. Rachel Mata Essayag
VOCAL: Prof. Rogelio Gregorio Pereda Miranda
SECRETARIO: Prof. Irma Susana Rojas Tomé
PRIMER SUPLENTE: Prof. Daniel Chávez Velasco
SEGUNDO SUPLENTE: Prof. José Fausto Rivero Cruz

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 6, Unidad de Investigación en Plantas Medicinales del Instituto de Química y la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Asesor


Dra. Rachel Mata Essayag

Supervisor Técnico


José Fausto Rivero Cruz.

M. en C. José Fausto Rivero Cruz

Sustentantes:


Mirza Verónica Mézquita Alcocer


Blanca Estela Rivero Cruz

AGRADECIMIENTOS

El trabajo experimental de esta tesis se realizó mediante el apoyo económico otorgado a través de los proyectos DGAPA IN206795 (Dirección General de Asuntos de Personal Académico) y CONACyT (Convenio 400313-5-2576 PM).

A la M. en C. Claudina Villarreal por proporcionar el material vegetal utilizado en el presente estudio.

A los M. en C. Isabel Chávez, Beatriz Quiroz y Rubén Gaviño de los laboratorios de RMN del Instituto de Química de la UNAM, por el registro de los espectros de RMN.

A la Q.F.B. Rocio Patiño del laboratorio de Espectroscopía IR del Instituto de Química de la UNAM, por el registro de los espectros de IR.

Al M. en C. Javier Pérez y al I.Q. Luis Velasco del laboratorio de Espectrometría de Masas del Instituto de Química de la UNAM, por el registro de los espectros de masas.

A la M. en C. Georgina Espinosa por el registro de los rayos X del odoratol.

De manera especial agradecemos al Dr. José Calderón Pardo y al M. en C. José Fausto Rivero por su colaboración durante el desarrollo del presente trabajo.

A la Dra. Mariana Meckes del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) por la realización de los ensayos farmacológicos.

Mirza Verónica Mézquita agradece a la Dirección General de Asuntos de Personal Académico (DGAPA), por la beca otorgada a través del proyecto DGAPA IN206795.

Blanca Estela Rivero agradece al Subprograma 127 "Formación Básica en la Investigación" de la Facultad de Química por el apoyo recibido como ayudante de Profesor durante la realización de esta investigación.

Al Dr. Rogelio Pereda y a la M. en C. Susana Rojas, por sus valiosos comentarios durante el proceso de revisión de este trabajo.

A Leda Gómez y a Daniel Chávez por sus valiosos consejos.

Agradecemos especialmente a la Dra. Rachel Mata:

Por habernos concedido su tiempo, sus conocimientos, su vasta experiencia y su afable disposición profesional durante el transcurso de esta investigación.

INDICE

LISTA DE CUADROS	Página
LISTA DE TABLAS	I
LISTA DE FIGURAS	II
LISTA DE GRAFICAS	III
LISTA DE TABLAS (APÉNDICE)	IV
LISTA DE FIGURAS (APÉNDICE)	V
LISTA DE ABREVIATURAS	VII

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	Página
1.1 Generalidades sobre los limonoides.	1
1.2 Antecedentes sobre la especie <i>Cedrela odorata</i> L. (Meliaceae).	7
II. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS	23
III. PARTE EXPERIMENTAL	27
3.1 Material vegetal.	27
3.2 Procedimientos Generales.	27
3.2.1 Análisis cromatográficos en capa fina y columna abierta.	27
3.2.2 Determinación de las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de los productos naturales y sus derivados.	28
3.3 Análisis mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.	29
3.3.1 Condiciones instrumentales.	29
3.4 Determinación de la actividad fitoinhibidora.	30
3.4.1 Método de la caja Petri.	30
3.4.2 Método bioautográfico.	31
3.5 Pruebas biológicas: Efecto relajante sobre la contracción tónica de ileon de cobayo inducida por despolarización con KCl.	32
3.6 Preparación del extracto orgánico a partir de la madera de <i>Cedrela odorata</i> .	34
3.7 Fraccionamiento preliminar del extracto total.	34
3.8 Aislamiento y purificación de los productos de las fracciones primarias activas.	36

3.8.1 Aislamiento y purificación de la 7-desacetil-7-oxogedunina (14) de la fracción primaria activa CO-G.	36
3.8.2 Aislamiento y purificación de la gedunina (3) de la fracción primaria activa CO-G.	36
3.8.3 Aislamiento y purificación de la 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49) y de la 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50) de la fracción primaria activa CO-E.	37
3.8.4 Aislamiento y purificación del β -sitosterol (39) de la fracción secundaria activa CO-E5.	37
3.8.5 Aislamiento y purificación del odoratol (20) de la fracción primaria activa CO-I.	39
3.8.6 Aislamiento y purificación de la odoratona (19) de la fracción primaria activa CO-H.	39
3.8.7 Aislamiento y purificación del isoodoratol (21) de la fracción primaria activa CO-K.	40
3.8.8 Aislamiento y purificación de los sesquiterpenos cubenol (32), torreyol (51) y (-)- α -cadinol (52) de la fracción primaria activa CO-CD.	41
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
4.1 Evaluaciones biológicas preliminares que permitieron la selección de la especie <i>Cedrela odorata</i> como una fuente potencial de principios espasmolíticos y herbicidas.	43
4.2 Caracterización de los constituyentes activos.	59
4.2.1 Caracterización de la 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50) y de la 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49).	60
4.2.2 Caracterización de la gedunina (3) y de la 7-desacetil-7-oxogedunina (14).	79
4.2.3 Caracterización del odoratol (20), isoodoratol (21) y odoratona (19).	79
4.2.4 Caracterización del β -sitosterol (39).	80
4.2.5 Caracterización de los sesquiterpenos torreyol (51), (-)- α -cadinol (52) y cubenol (32).	80
4.3 Actividades biológicas de los constituyentes puros aislados de <i>Cedrela odorata</i> .	106
V. RESUMEN Y CONCLUSIONES	112
VI. PERSPECTIVAS	113
VII. APÉNDICE	115
VIII. BIBLIOGRAFÍA	166

LISTA DE CUADROS

		Página
Cuadro 1	Clasificación biogenética de los limonoides.	2
Cuadro 2	Sistemas de elución utilizados para los análisis cualitativos en capa fina.	28
Cuadro 3	Agentes cromógenos utilizados para los análisis cromatográficos en capa fina.	28
Cuadro 4	Resumen del fraccionamiento preliminar vía cromatografía en columna abierta del extracto crudo de la madera de <i>Cedrela odorata</i> .	35
Cuadro 5	Resumen del fraccionamiento secundario vía cromatografía en columna abierta de la fracción primaria activa CO-G de <i>Cedrela odorata</i> .	38
Cuadro 6	Resumen del fraccionamiento secundario vía cromatografía en columna abierta de la fracción primaria activa CO-E de <i>Cedrela odorata</i> .	38
Cuadro 7	Resumen del fraccionamiento secundario vía cromatografía en columna abierta de la fracción primaria activa CO-I de <i>Cedrela odorata</i> .	40
Cuadro 8	Resumen del fraccionamiento secundario vía cromatografía en columna abierta de la fracción primaria activa CO-H de <i>Cedrela odorata</i> .	40
Cuadro 9	Resumen del fraccionamiento secundario vía cromatografía en columna abierta de la fracción primaria activa CO-K de <i>Cedrela odorata</i> .	41
Cuadro 10	Resumen del fraccionamiento secundario vía cromatografía en columna abierta de la fracción activa CO-CD de <i>Cedrela odorata</i> .	42
Cuadro 11	Metabolitos secundarios aislados de la especie <i>C. odorata</i> .	50
Cuadro 12	Tiempos de retención y porcentajes de los componentes de las fracciones primarias activas CO-AB y CO-CD.	54

LISTA DE TABLAS

		Página
Tabla 1	Metabolitos secundarios aislados a partir de especies del género <i>Cedreia</i> .	12
Tabla 2	Porcentajes de inhibición del crecimiento radicular de <i>A. hypochondriacus</i> inducido por las fracciones primarias de <i>Cedreia odorata</i> .	49
Tabla 3	Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50).	65
Tabla 4	Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49).	66
Tabla 5	Datos de RMN- ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de la 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49) y de la 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50).	67
Tabla 6	Datos de RMN- ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de la 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49) 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50).	68
Tabla 7	Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del cubenol (32).	86
Tabla 8	Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del torreyol (51).	87
Tabla 9	Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del (-)- α -cadinol (52).	88
Tabla 10	Datos de RMN- ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) del cubenol (32), torreyol (51) y (-)- α -cadinol (52).	89
Tabla 11	Datos de RMN- ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) del cubenol (32), torreyol (51) y (-)- α -cadinol (52).	89
Tabla 12	Valores de C ₁₅₀ para los compuestos aislados y caracterizados.	109

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Ejemplos representativos de los diferentes grupos de limonoides.	5
Figura 2	Distribución del género en México, Centro y Sudamérica.	8
Figura 3	<i>Cedrela odorata</i> Linneus.	9
Figura 4	Espectro en el IR de la 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50).	69
Figura 5	Espectro EMIE de la 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50).	70
Figura 6	Espectro de RMN- ¹³ C de la 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50).	71
Figura 7	Espectro de RMN- ¹³ C-DEPT de la 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50).	72
Figura 8	Espectro de RMN- ¹ H de la 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50).	73
Figura 9	Espectro RMN-HETCOR 3 α ,22S -dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50).	74
Figura 10	Espectro en el IR de la 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49).	75
Figura 11	Espectro EMIE de la 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49).	76
Figura 12	Espectro de RMN- ¹³ C de la 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49).	77
Figura 13	Espectro de RMN- ¹ H de la 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49).	78
Figura 14	Vista estereoscópica del odorato! (20).	81
Figura 15	Estructuras base de los núcleos cadinano y murolano.	83
Figura 16	Espectro en el IR del cubenol (32).	90
Figura 17	Espectro EMIE del cubenol (32).	91
Figura 18	Espectro de RMN- ¹³ C del cubenol (32).	92
Figura 19	Espectro de RMN- ¹³ C-DEPT del cubenol (32).	93
Figura 20	Espectro RMN- ¹ H del cubenol (32).	94
Figura 21	Espectro en el IR del (-)- α -cadinol (52).	95
Figura 22	Espectro EMIE del (-)- α -cadinol (52).	96
Figura 23	Espectro de RMN- ¹³ C del (-)- α -cadinol (52).	97
Figura 24	Espectro de RMN- ¹³ C-DEPT del (-)- α -cadinol (52).	98
Figura 25	Espectro RMN- ¹ H del (-)- α -cadinol (52).	99
Figura 26	Espectro RMN-HETCOR del (-)- α -cadinol (52).	100

Figura 27	Espectro en el IR del torreyol (51).	101
Figura 28	Espectro EMIE del torreyol (51).	102
Figura 29	Espectro de RMN- ¹³ C del torreyol (51).	103
Figura 30	Espectro de RMN- ¹³ C-DEPT del torreyol (51).	104
Figura 31	Espectro RMN- ¹ H del torreyol (51).	105

LISTA DE GRÁFICAS

		Página
Gráfica 1	Efecto relajante del extracto CHCl ₃ de <i>Cedreia odorata</i> sobre la contractilidad de ileon de cobayo inducida por despolarización con KCl (60mM).	45
Gráfica 2	Inhibición del crecimiento radicular de <i>A. hypochondriacus</i> , <i>E. crusgalli</i> y <i>T. sativum</i> inducida por el extracto total de la madera de <i>C. odorata</i> .	48
Gráfica 3	Efecto relajante de las fracciones y del extracto CHCl ₃ de <i>Cedreia odorata</i> sobre la contractilidad de ileon de cobayo inducida por despolarización con KCl (60mM).	48
Gráfica 4	Efecto de los compuestos aislados de <i>C. odorata</i> sobre el crecimiento radicular de <i>A. hypochondriacus</i> .	107
Gráfica 5	Efecto relajante de los compuestos aislados sobre la contractilidad de ileon de cobayo inducido por despolarización con KCl (60 mM).	110

APENDICE

LISTA DE TABLAS

		Página
Tabla 1a	Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la gedunina (3).	115
Tabla 2a	Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la 7-desacetil-7-oxogedunina (14).	116
Tabla 3a	Datos de RMN- ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de la gedunina (3) y de la 7-deacetoxi-7-oxogedunina (14).	117
Tabla 4a	Datos de RMN- ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de la gedunina (3) y su derivado.	118
Tabla 5a	Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del odoratol (20).	127
Tabla 6a	Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del isodoratol (21).	128
Tabla 7a	Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la odoratona (19).	129
Tabla 8a	Datos de RMN- ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) del odoratol (20), isodoratol (21) y odoratona (19).	130
Tabla 9a	Datos de RMN- ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) del odoratol (20), isodoratol (21) y odoratona (19).	131

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1a	Espectro en el IR de la gedunina (3).	119
Figura 2a	Espectro EMIE de la gedunina (3).	120
Figura 3a	Espectro de RMN- ¹³ C de la gedunina (3).	121
Figura 4a	Espectro de RMN- ¹ H de la gedunina (3).	122
Figura 5a	Espectro en el IR de la 7-desacetil-7-oxogedunina (14).	123
Figura 6a	Espectro EMIE de la 7-desacetil-7-oxogedunina (14).	124
Figura 7a	Espectro de RMN- ¹³ C de la 7-desacetil-7-oxogedunina (14).	125
Figura 8a	Espectro de RMN- ¹ H de la 7-desacetil-7-oxogedunina (14).	126

Figura 9a	Espectro en el IR del del odoratol (20).	132
Figura 10a	Espectro EMIE del odoratol (20).	133
Figura 11a	Espectro de RMN- ¹³ C del odoratol (20).	134
Figura 12a	Espectro RMN- ¹³ C-DEPT del odoratol (20).	135
Figura 13a	Espectro RMN- ¹ H del odoratol (20).	136
Figura 14a	Espectro RMN-HMQC del odoratol (20).	137
Figura 15a	Espectro en el IR del del isoodoratol (21).	138
Figura 16a	Espectro EMIE del isoodoratol (20).	139
Figura 17a	Espectro de RMN- ¹³ C del isoodoratol (21).	140
Figura 18a	Espectro RMN- ¹³ C-DEPT del isoodoratol (21).	141
Figura 19a	Espectro RMN- ¹ H del isoodoratol (21).	142
Figura 20a	Espectro en el IR de la odoratona (19).	143
Figura 21a	Espectro EMIE de la odoratona (19).	144
Figura 22a	Espectro de RMN- ¹³ C de la odoratona (19).	145
Figura 23a	Espectro de RMN- ¹³ C-DEPT de la odoratona (19).	146
Figura 24a	Espectro RMN- ¹ H de la odoratona (19).	147
Figura 25a	Espectro RMN-HETCOR de la odoratona (19).	148
Figura 26a	Espectro EMIE del compuesto (53).	149
Figura 27a	Espectro EMIE del compuesto (54).	150
Figura 28a	Espectro EMIE del compuesto (55).	151
Figura 29a	Espectro EMIE del compuesto (56).	152
Figura 30a	Espectro EMIE del compuesto (57).	153
Figura 31a	Espectro EMIE del compuesto (58).	154
Figura 32a	Espectro EMIE del compuesto (59).	155
Figura 33a	Espectro EMIE del compuesto (60).	156
Figura 34a	Espectro EMIE del compuesto (61).	157
Figura 35a	Espectro EMIE del compuesto (62).	158
Figura 36a	Espectro EMIE del compuesto (63).	159
Figura 37a	Espectro EMIE del compuesto (64).	160
Figura 38a	Espectro EMIE del compuesto (65).	161
Figura 39a	Espectro EMIE del compuesto (66).	162
Figura 40a	Espectro EMIE del compuesto (67).	163
Figura 41a	Espectro EMIE del compuesto (68).	164
Figura 42a	Espectro EMIE del compuesto (69).	165

LISTA DE ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de etilo
2,4-D	Acido 2,4-diclorofenoxiacético
KBr	Bromuro de potasio
cm	Centímetro
C ₁₀	Concentración inhibitoria media
J	Constante de acoplamiento
ccf	Cromatografía en capa fina
ccfp	Cromatografía en capa fina preparativa
CG-EMIE	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas por impacto electrónico
δ	Desplazamiento químico
dd	Doble de dobles
ddd	Doblete de doblote de doblote
d	Doblete
dt	Doblete tripleteado
HETCOR	Correlación heteronuclear
COSY	Correlación homonuclear
qd	Cuarteto dobleteado
EMIE	Espectrometría de masas por impacto electrónico
°C	Grados centígrados
g	Gramos
Hz	Hertz
Hex	Hexano
h	Hora
Int rel	Intensidad relativa
IR	Infrarrojo
L	Litros
λ _{max}	Longitud de onda máxima
MHz	Megahertz
MeOH	Metanol
μL	Microlitro
μg	Microgramo
mg	Miligramo
mL	Mililitro
mM	Milimolar

LISTA DE ABREVIATURAS (continuación)

<i>m</i>	Multiplete
ppm	Partes por millón
p.f.	Punto de fusión
<i>m/z</i>	Relación masa carga
RMN- ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono trece
RMN- ¹ H	Resonancia magnética nuclear protónica
<i>s</i>	Singlete
<i>sa</i>	Singlete ancho
TMS	Tetrametilsilano
<i>t</i>	Triplete
uma	Unidades de masa
UV	Ultravioleta

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Generalidades sobre los limonoides

Los limonoides son metabolitos secundarios de tipo tetranortriterpenoide que derivan biogénicamente de triterpenoides tetracíclicos de los tipos eufano o tirucalano (protolimonoides). Estos últimos sufren una gran variedad de oxidaciones y rearrreglos en su esqueleto para generar los distintos tipos de limonoides (Isman *et al.*, 1996; Champagne *et al.*, 1992). Durante el proceso biosintético la cadena lateral de los precursores triterpenoides se transforma en un anillo furano (Su *et al.*, 1990) con una pérdida de cuatro átomos de carbono, de ahí que los limonoides sean tetranortriterpenoides (C₂₆). Los anillos A y D frecuentemente son oxidados a epóxidos o lactonas. Cuando más de un anillo es oxidado y ocurre una extensa variedad de rearrreglos, se producen estructuras más complejas.

El término limonoide deriva del nombre de la especie limón (*Citrus limon*) y hoy en día se utiliza para designar de manera general a todos los compuestos relacionados con la limonina (9), primer compuesto tetranortriterpenoide natural aislado a partir de la corteza del limón (Bevan *et al.*, 1963).

Los limonoides y sus precursores biogénicos se han obtenido principalmente de especies de varios géneros de las familias Meliaceae, Rutaceae y Cneoraceae, todas del orden de las rutales, siendo particularmente

abundantes en la primera. Cabe hacer mención que a los limonoides derivados de las meliáceas se les conoce también con el nombre de meliacinas.

Los limonoides y protolimonoides generalmente se acumulan en todos los tejidos (semillas, hojas, corteza y madera) de las plantas que los biosintetizan (Champagne *et al.*, 1992).

Desde el punto de vista biogénético los limonoides se clasifican en 10 grupos principales, mismos que se indican en el Cuadro 1. En la Figura 1 se ilustran ejemplos representativos de cada grupo.

Cuadro 1. Clasificación biogénética de los limonoides.

LIMONOIDE	TIPO	EJEMPLO*
Grupo 1	Protolimonoides	Melianotriol (1)
Grupo 2	Limonoides con esqueleto apo-eufol intacto	Toosendanina (2)
Grupo 3	Limonoides con anillo D-seco	Gedunina (3)
Grupo 4	Limonoides con anillo B, D-seco	Metil angolensato (4)
Grupo 5	Limonoides con anillo B, D-seco	Mexicanólida (5)
Grupo 6	Limonoides con anillo A-seco	Evodulona (6)
Grupo 7	Limonoides con anillo A, B-seco	Prieurianina (7)
Grupo 8	Limonoides con anillo C-seco	Azadiractina (8)
Grupo 9	Limonoides con anillo A, D-seco	Limonina (9)
Grupo 10	Limonoides con anillo B-seco	Toonaciina (10)

*Las estructuras se indican en la Figura 1

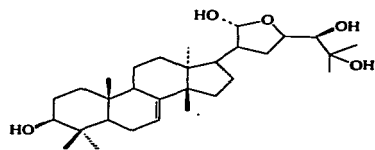
Para la elucidación estructural de los limonoides y sus precursores se

han utilizado principalmente métodos espectroscópicos y químicos. Los métodos químicos consisten fundamentalmente en degradaciones y correlaciones químicas. Recientemente los métodos espectroscópicos, espectrométricos y quirópticos han demostrado ser la mejor herramienta para la caracterización de estos compuestos. De manera particular, la resonancia magnética nuclear de alta resolución (RMN) es la técnica más utilizada (Olugbade, 1991; Lins *et al.*, 1992; Segura-Correa *et al.*, 1993 *Inter alia*). Por último, cabe destacar que también se han descrito varios estudios de cristalografía de rayos X (Ferguson *et al.*, 1973; Baldwin *et al.*, 1972; Segura-Correa *et al.*, 1993; Soriano-García *et al.*, 1996).

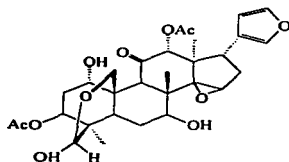
Desde el punto de vista biológico, los limonoides han demostrado poseer una gran variedad de propiedades, mismas que podrían ser de utilidad para el desarrollo de nuevos agentes pesticidas y medicinales (Das y Mahato 1983; Klocke, 1989; Champagne *et al.*, 1992, *Inter alia*). Entre las propiedades medicinales más importantes demostradas por estos terpenoides destacan las siguientes: antiprotozoaria (Bray, 1990; MacKinnon *et al.*, 1997), antimicrobiana, citotóxica (Polonsky *et al.*, 1978), diurética (Duke, 1991), antifúngica (Jacobson *et al.*, 1971), antihelmíntica (Gilbert *et al.*, 1972) y antiulcérica (Duke, 1991). Cabe mencionar que recientemente se demostró que la humilínolida A, limonoide del grupo 5, incrementa la contracción espontánea de músculo liso, tanto uterino como intestinal (Perrusquia *et al.*, 1997). Pero

quizás la actividad biológica más importante que han demostrado estos terpenoides es la insecticida (Lavie *et al.*, 1967; Baldwin *et al.*, 1972; Arnason *et al.*, 1992 y 1993; Jain y Tripathi, 1993; Kubo *et al.*, 1991 y 1993; Isman *et al.*, 1996; Jiménez *et al.*, 1997, *Inter alia*). Recientemente, se ha descrito que muchos de estos compuestos ejercen una actividad fagoínhibidora y reguladora del crecimiento sobre una gran variedad de insectos (Champagne *et al.*, 1992; Isman *et al.*, 1996). Esta notable actividad insecticida ha permitido el desarrollo comercial de dos limonoides: la toosendandina (2) y la azadiractina (8), obtenidos a partir de *Azadiractha indica* y *Melia toosendan*, respectivamente. La azadiractina y otros compuestos relacionados ejercen su efecto insecticida modificando la motilidad de los insectos (Rembold *et al.*, 1989). En el caso de la toosendandina, el mecanismo de acción está relacionado con el de la azadiractina, sin embargo, aún no se encuentra bien caracterizado.

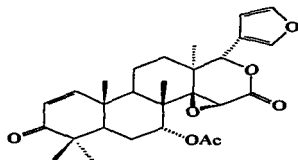
Por último, cabe mencionar que recientemente se demostró que dos limonoides del grupo 5, las humilínolidas A y C, aislados de la especie medicinal *Swietenia humilis*, poseen propiedades reguladoras del crecimiento vegetal (Segura-Correa *et al.*, 1993). Ambos compuestos inhibieron de manera selectiva y significativa el crecimiento radicular de la arvense *Amaranthus hypochondriacus*.



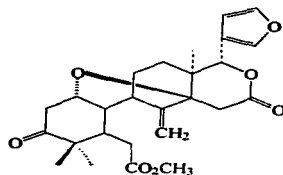
Melianotriol (1)



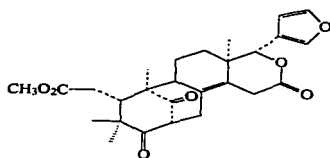
Toosendanina (2)



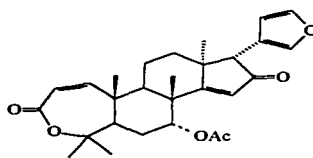
Gedunina (3)



Metil angolensato (4)

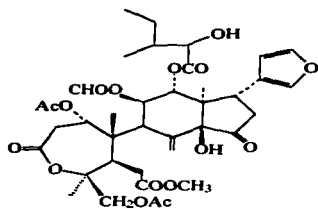


Mexicanólida (5)

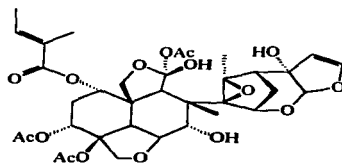


Evodulona (6)

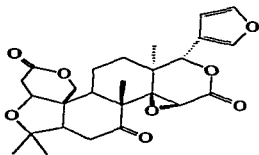
Figura 1. Ejemplos representativos de los diferentes grupos de limonoides.



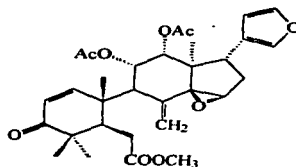
Prieurianina (7)



Azadiractina (8)



Limonina (9)



Toonacilina (10)

Figura 1. Ejemplos representativos de los diferentes grupos de limonoides.
(continuación)

1.2 Antecedentes sobre la especie *Cedrela odorata* L. (Meliaceae)

El género *Cedrela* incluye ocho especies, distribuidas principalmente en el continente Americano, desde el estado de Sinaloa, México, hasta el norte de Argentina. En la Figura 2 se indica la distribución del género en México, Centro y Sudamérica.

La especie *C. odorata* L. se encuentra distribuida en México a lo largo de la costa del Pacífico, desde el estado de Sinaloa hasta Guerrero y en la costa del Atlántico desde Tamaulipas hasta Yucatán. Los individuos de esta especie son árboles de tierras áridas o húmedas, crecen hasta 35 m de altura y poseen una corteza de color café-grisáceo a café-rojizo (Figura 3). Su follaje es vistoso y las hojas tienen apariencia de pluma; son de color verde oscuro en el anverso y verde pálido o verde amarillento en el reverso. Las flores están suavemente perfumadas y son de color crema verdoso. Los frutos están agrupados y se ven doblados, tienen alrededor de 30 semillas que son aladas (Styles, 1981; Argueta, *et al.*, 1994).

En la medicina tradicional de México esta especie se emplea para el tratamiento de cólicos estomacales, problemas respiratorios (bronquitis y asma), diarrea, reumatismo, dolores de muela y heridas. De manera adicional se utiliza para la cura de la hemorragia vaginal (Argueta *et al.*, 1994).

Desde el punto de vista biológico, los extractos preparados a partir de las distintas partes vegetales de *C. odorata* han demostrado diversas actividades



Figura 2. Distribución del género en México, Centro y Sudamérica



Figura 3. *Cedrela odorata* Linneus

farmacológicas. Así por ejemplo, el extracto etanólico preparado a partir de las hojas y tallos frescos presentó actividad hipotensora en perros, al ser administrado por vía intravenosa a una dosis de 0.1 mL/Kg. Este mismo extracto demostró actividad vasodilatadora en ratas. Por otra parte, el extracto hexánico y el aceite esencial obtenidos a partir de la madera demostraron una actividad antibilzarzhia (Gilbert *et al.*, 1970 y 1971). Así mismo, la resina de la madera demostró ser de utilidad para el tratamiento del asma (Mora, 1976).

Por último, en un estudio reciente conducente a determinar la actividad antipalúdica *in vitro* de extractos y productos naturales derivados de *Meliáceas* tropicales, se comprobó que el extracto total de la madera de *C. odorata* posee una notable actividad anti-*Plasmodium falciparum in vitro* (MacKinnon *et al.*, 1997). En esta investigación se utilizaron dos clones de *P. falciparum*, uno sensible a la cloroquina (W_2) y el otro resistente (D_6). La gedunina, limonoide mayoritario de esta especie, demostró también una actividad significativa en contra de los dos clones utilizados. Para el clon D_6 la CI_{50} fue de 39 ng/mL y para el clon W_2 fue de 20 ng/mL. Sin embargo, en estudios *in vivo* este compuesto no inhibió la parasitemia inducida en ratones con *P. berghei*.

Desde el punto de vista químico, varias especies del género, en particular la *C. odorata*, han sido investigadas. La mayoría de los trabajos publicados a la fecha describen el aislamiento y caracterización de limonoides, principalmente de los grupos 3 y 7, como los principales metabolitos secundarios presentes en

las diferentes especies (Chan *et al.*, 1967 y 1968; Bevan *et al.*, 1963 y 1965; Okorie *et al.*, 1968; Burke *et al.*, 1969; De Paula *et al.*, 1997). También se ha descrito la presencia de algunos esteroides (Campos *et al.*, 1991), triterpenoides del tipo tirucalano (Campos *et al.*, 1991), sesquiterpenoides con núcleo muroiano (Nagasampagi *et al.*, 1968), compuestos aromáticos simples (Jong-Cheol *et al.*, 1994) y cumarinas (Nagasampagi *et al.*, 1975). En la Tabla 1 se ilustran las estructuras de los compuestos aislados a la fecha de las distintas especies del género *Cedrela* investigadas desde el punto de vista químico.

Algunos de los limonoides aislados de *C. odorata* y de otras especies del género son de gran interés por sus propiedades biológicas, principalmente por su actividad insecticida. Así, el metil angolensato (**4**) inhibe la ingesta de alimento de la especie *Pectinophora gossypiella* (Lepidopterae a CE₅₀=15 ppm); por otra parte la cedrelanólida I inhibe el crecimiento del gusano barrenador del maíz *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidopterae:pyralidae) (Jiménez *et al.*, 1997).

La gedunina (**3**) y la 7-desacetil-7-oxogedunina (**14**) poseen actividad fagoinhibidora e inhibidora del crecimiento de varios insectos, incluyendo el gusano barrenador del maíz (Champagne *et al.*, 1992; Isman *et al.*, 1996).

Publicaciones recientes describen la acción anti-inflamatoria y analgésica de algunos compuestos aislados de *C. sinnensis*. En esos estudios el ácido o-cumárico (**34**) demostró la mayor potencia como un agente anti-inflamatorio (Jong-Cheol *et al.*, 1994).

Tabla 1. Metabolitos secundarios aislados a partir de especies del género *Cedrela*.

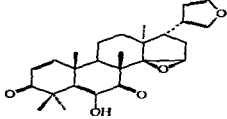
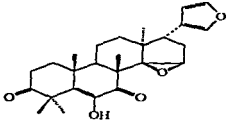
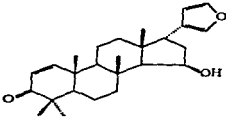
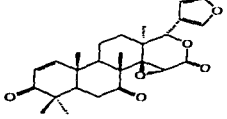
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>C. toona</i>	 <p>cedrelona (11)</p>	Chatterjee <i>et al.</i> , 1971
<i>C. toona</i>	 <p>1,2-dihydrocedrelona (12)</p>	Chatterjee <i>et al.</i> , 1971
<i>C. toona</i>	 <p>6-deoxicedrelona (13)</p>	Banerji <i>et al.</i> , 1975
<i>C. odorata</i>	 <p>7-desacetil-7-oxogedunina (14)</p>	Adeoye y Bekoe 1965

Tabla 1. Metabolitos secundarios aislados a partir de especies del género *Cedrela*. (continuación)

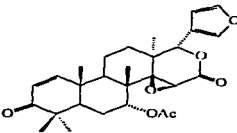
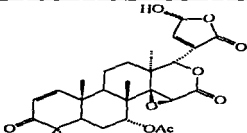
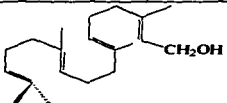
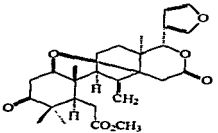
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>C. odorata</i>	 <p>gedunina (3)</p>	Adeoye y Bekoe 1965
<i>C. odorata</i>	 <p>fotogedunina (18)</p>	Burke <i>et al.</i> , 1969
<i>C. odorata</i>	 <p>geranigeraniol (16)</p>	Nagasampagi <i>et al.</i> , 1967
<i>C. odorata</i>	 <p>metil angolensato (4)</p>	Chan <i>et al.</i> , 1967

Tabla 1. Metabolitos secundarios aislados a partir de especies del género *Cedrele*. (continuación)

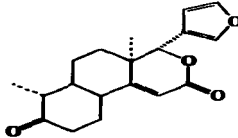
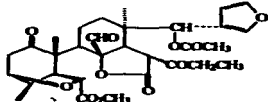
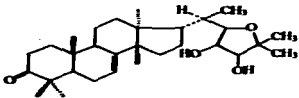
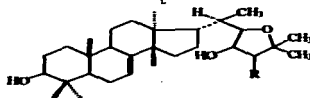
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>C. odorata</i>	 <p style="text-align: center;">odoratin (17)</p>	Chan <i>et al.</i> , 1972
<i>C. salvadorensis</i>	 <p style="text-align: center;">cedrelanólido I (18)</p>	Segura <i>et al.</i> , 1994
<i>C. odorata</i>	 <p style="text-align: center;">odoratona (19)</p>	Chan <i>et al.</i> , 1968
<i>C. odorata</i>	 <p style="text-align: center;">R=β OH odoratol (20) R=α OH isodoratol (21)</p>	Chan <i>et al.</i> , 1968

Tabla 1. Metabolitos secundarios aislados a partir de especies del género *Cedrela*. (continuación)

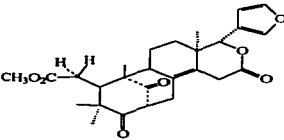
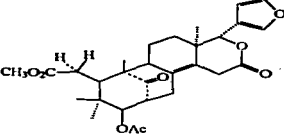
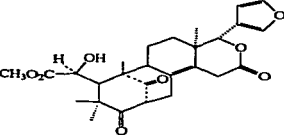
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>C. odorata</i>	 <p style="text-align: center;">mexicanóida (22)</p>	Bevan <i>et al.</i> , 1965
<i>C. fissilis</i>	 <p style="text-align: center;">flasinóida (23)</p>	Zel'nik <i>et al.</i> , 1966
<i>C. odorata</i>	 <p style="text-align: center;">6-hidroximexicanóida (24)</p>	Okorie <i>et al.</i> , 1968

Tabla 1. Metabolitos secundarios aislados a partir de especies del género *Cedrela*. (continuación)

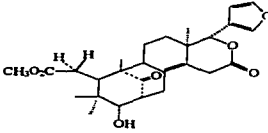
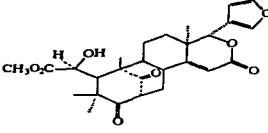
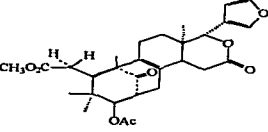
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>C. odorata</i>	 <p style="text-align: center;">6-desoxiswietenólida (26)</p>	Okorie <i>et al.</i> , 1968
<i>C. glaziovii</i>	 <p style="text-align: center;">6-hidroxicarpina (28)</p>	Connolly <i>et al.</i> , 1969
<i>C. angustifolia</i>	 <p style="text-align: center;">angustinólida I (27)</p>	Lavie <i>et al.</i> , 1970

Tabla 1. Metabolitos secundarios aislados a partir de especies del género *Cedrela*. (continuación)

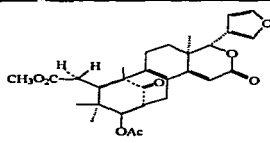
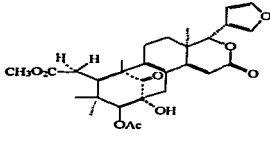
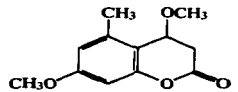
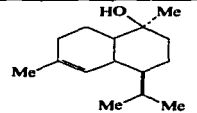
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>C. angustifolia</i>	 <p>angustidienólida II (28)</p>	Lavie <i>et al.</i> , 1970
<i>C. angustifolia</i>	 <p>2α-hidroxiangustidienólida III (29)</p>	Lavie <i>et al.</i> , 1970
<i>C. toona</i>	 <p>siderina (30)</p>	Nagasampagi <i>et al.</i> , 1975
<i>C. toona</i>	 <p>T-murotolol (31)</p>	Nagasampagi <i>et al.</i> , 1968

Tabla 1. Metabolitos secundarios aislados a partir de especies del género *Cedreia*. (continuación)

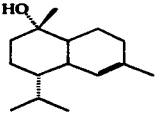
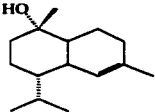
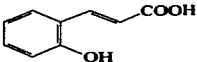
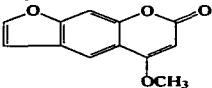
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>C. toona</i>	 <p>cubenol (32)</p>	Nagasampagi <i>et al.</i> , 1968
<i>C. odorata</i>	 <p>cedrelanol (33)</p>	Nagasampagi <i>et al.</i> , 1968
<i>C. sinnensis</i>	 <p>ac. orto-cumárico (34)</p>	Jong-Cheol 1994
<i>C. toona</i>	 <p>bergapteno (35)</p>	Chatterjee <i>et al.</i> , 1971

Tabla 1. Metabolitos secundarios aislados a partir de especies del género *Cedrela*. (continuación)

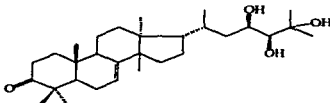
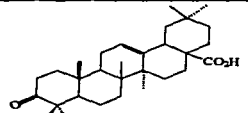
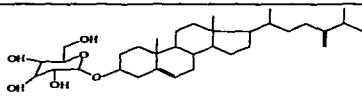
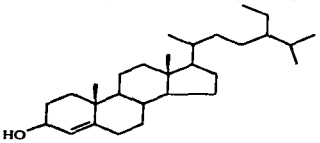
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>C. odorata</i>	 <p>treo-23,24,25-trihidroxitirucalan-7-en-3-ona (36)</p>	Campos <i>et al.</i> , 1991
<i>C. odorata</i>	 <p>ácido oleanoico (37)</p>	Campos <i>et al.</i> , 1991
<i>C. odorata</i>	 <p>3β-O-β-D-glucopiranosil-24-metilcolesterol (38)</p>	Campos <i>et al.</i> , 1991
<i>C. toona</i>	 <p>β-sitosterol (39)</p>	Chatterjee <i>et al.</i> , 1971

Tabla 1. Metabolitos secundarios aislados a partir de especies del género *Cedrela*. (continuación)

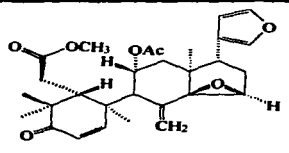
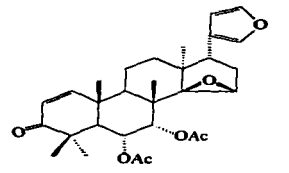
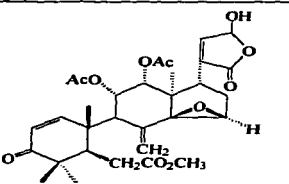
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>C. toona</i>	 <p>12-desacetoxitoonaclina (40)</p>	Neto <i>et al.</i> , 1995
<i>C. toona</i>	 <p>6α-acetoxi-14β,15β-epoxiazadirone (41)</p>	Neto <i>et al.</i> , 1995
<i>C. toona</i>	 <p>23-(R,S)-hidroxitoonaclida (42)</p>	Kraus <i>et al.</i> , 1978

Tabla 1. Metabolitos secundarios aislados a partir de especies del género *Cedrela*. (continuación)

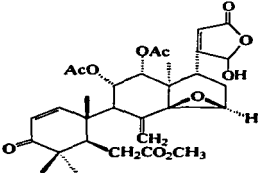
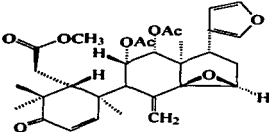
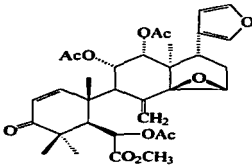
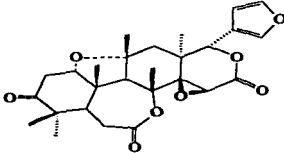
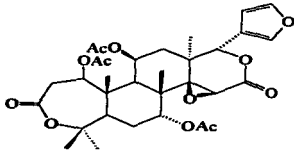
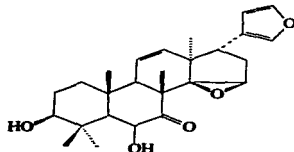
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>C. toona</i>	 <p>21-(R,S)-hidroxitoonaclida (43)</p>	Kraus et al., 1978
<i>C. toona</i>	 <p>toonaclina (44)</p>	Kraus et al., 1978
<i>C. toona</i>	 <p>6-acetoxitoonaclina (45)</p>	Kraus et al., 1978

Tabla 1. Metabolitos secundarios aislados a partir de especies del género *Cedrela*. (continuación)

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>C. toona</i>	 <p>toonafolina (46)</p>	Kraus y Grimmering 1981
<i>C. mexicana</i>	 <p>7α,11β-diacetoxidihidronomilin (47)</p>	Marcelle y Mootoo 1981
<i>C. odorata</i>	 <p>tetranortriterpenoide I (48)</p>	El-Shamy <i>et al.</i> , 1988

II JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

Las plantas medicinales constituyen, sin lugar a dudas, el recurso terapéutico tradicional más utilizado por la población mexicana. De acuerdo a un inventario reciente realizado por investigadores del Instituto Nacional de Antropología e Historia (INAH), en México existen alrededor de 3015 especies medicinales, las cuales son utilizadas por la población para tratar la sintomatología de los padecimientos más comunes. Sin embargo, el porcentaje de especies botánicas estudiadas desde un punto de vista farmacológico es relativamente bajo, y si bien es cierto que en los últimos 20 años la investigación científica de plantas medicinales en México se ha destacado por un notable avance en el estudio fitoquímico de las especies vegetales medicinales del país, tan solo un número escaso de los compuestos aislados e identificados han sido evaluados para determinar sus propiedades biológicas (Bye *et al.*, 1995).

De lo anterior se desprende que el potencial que ofrecen las plantas usadas en las prácticas médicas populares y tradicionales de México como fuente de nuevos y/o conocidos principios activos aún no se ha explorado adecuadamente.

Afortunadamente, hoy día el interés científico por el estudio de las plantas medicinales ha cobrado fuerza en México y es cada vez más notable la incorporación del esquema de trabajo multidisciplinario en los programas de estudio que se conducen en los distintos centros de investigación del país.

Dentro de este contexto, y considerando que las plantas utilizadas en las prácticas populares medicinales constituyen fuentes potenciales valiosas de principios bioactivos (Ghisalberti, 1993), se ha establecido un programa multidisciplinario para determinar la potencialidad espasmolítica y herbicida de especies selectas de la flora medicinal de nuestro territorio nacional. Así mismo este programa, pretende aislar los principios bioactivos (herbicidas o espasmolíticos) con la finalidad de contribuir al desarrollo de agentes de interés medicinal o agroquímico.

La búsqueda de herbicidas verdes se encuentra ampliamente justificada ya que, si bien es cierto que la mayoría de los pesticidas actuales son altamente eficaces para combatir las diferentes plagas, también lo es el hecho de que los mismos producen daños irreversibles al ecosistema al introducir la contaminación del suelo, el aire y el agua. Por otro lado, muchos de estos plaguicidas son neurotóxicos para los organismos vivos (Cremlyn, 1991; Arnason *et al.*, 1993; Agrios, 1995). Por último, cabe destacar que el empleo de estos productos sintéticos resulta altamente costoso.

Las enfermedades gastrointestinales comprenden dos grupos generales de padecimientos. El primer grupo incluye las diarreas, de diversa etiología y que invariablemente van acompañadas de una disfunción del peristaltismo. En el segundo, se encuentran los trastornos que alteran la motilidad de la musculatura lisa gastrointestinal, entre los que se pueden mencionar: los cólicos intestinales, la emésis, el íleon adinámico y la constipación, entre otros (Burton, 1992). Estas enfermedades constituyen uno de los principales padecimientos de la población mundial,

especialmente en los países en vías de desarrollo, en donde las afecciones diarreas son la causa más importante de mortalidad (Cáceres *et al.*, 1992).

Las plantas medicinales constituyen el principal recurso terapéutico empleado por la población mexicana para el tratamiento de las enfermedades gastrointestinales. De hecho, en las prácticas médicas tradicionales de México, se estima que aproximadamente el 38% del total de plantas utilizadas en la herbolaria medicinal mexicana, se emplean para tratar la disentería, los cólicos intestinales, los dolores abdominales y otros síntomas relacionados con el aparato digestivo (Aguilar y Camacho, 1984; Lozoya *et al.*, 1987).

Desafortunadamente, a nivel nacional, la gran mayoría de estas plantas no han sido objeto de estudios sistemáticos multidisciplinares que permitan la validación farmacológica de su uso en la terapéutica tradicional y la caracterización de sus principios activos, con la finalidad de obtener nuevos agentes medicinales con posible aplicación terapéutica.

Con base en las consideraciones anteriores, el presente trabajo tiene como objetivo primordial **establecer la potencialidad, tanto espasmolítica como herbicida, de los extractos y de los productos naturales derivados de *Cedrela odorata* (Meliaceae), con la finalidad de contribuir al desarrollo de nuevos agentes antiespasmódicos y herbicidas, respectivamente.**

Para el cumplimiento del objetivo general se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- 1.- Preparar el extracto íntegro de la madera de *Cedrela odorata*, empleando como disolvente CHCl_3 .
- 2.- Evaluar la potencialidad espasmolítica del extracto clorofórmico mediante la determinación de su efecto sobre las contracciones tónicas del íleon de cobayo inducidas por K^+ .
- 3.- Determinar la potencialidad fitotóxica de los extractos mediante la evaluación de su efecto sobre el crecimiento radicular y la germinación de semillas de tres especies vegetales *Amaranthus hypochondriacus* (Amarantaceae), *Echinochloa crusgalli* (Gramineae) y *Triticum sativum* (Gramineae), utilizando el método de la caja Petri.
- 4.- Realizar el fraccionamiento biodirigido del extracto total mediante un proceso de cromatografía en columna abierta. Para monitorear la actividad espasmolítica se utilizará el bioensayo indicado en el inciso 2. Para determinar la actividad herbicida se seguirá el procedimiento mencionado en el inciso 3.
- 5.- Separar y purificar los principios activos espasmolíticos y reguladores del crecimiento vegetal de las fracciones activas.
- 6.- Evaluar los compuestos puros obtenidos de las fracciones activas mediante las evaluaciones indicadas en los incisos 2 y 3.
- 7.- Identificar los compuestos activos aislados mediante el empleo de métodos químicos, espectroscópicos y espectrométricos.

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 MATERIAL VEGETAL

El material vegetal (madera) utilizado en el presente estudio fue recolectado en el Municipio de Pichucalco Chiapas, en el mes de Agosto de 1995, por la Maestra en Ciencias Claudina Villarreal. Una muestra de herbario fue depositada en el Herbario Nacional (MEXU) [Voucher CVI-95-1].

La madera se fragmentó a tamaño de aserrín en un aserradero particular.

3.2 PROCEDIMIENTOS GENERALES

3.2.1 Análisis cromatográficos en capa fina y columna abierta.

Los análisis cromatográficos en columna abierta se efectuaron siguiendo las técnicas convencionales, en columnas de vidrio de diferentes capacidades empacadas con gel de sílice Merck 60, gránulos de 0.2-0.5 mm, malla 3.5-7.0 ASTM. Para los análisis cromatográficos cualitativos y preparativos en capa fina se emplearon placas de aluminio con un espesor de 0.25 mm (Sílica gel 60 F₂₅₄ Merck) y placas de vidrio (20 x 20 cm) recubiertas de gel de sílice de 0.25 ó 2.0 mm de espesor (sílica gel F₂₅₄ Merck), respectivamente. En ambos casos se utilizaron diversos sistemas de elución y agentes cromógenos, los cuales se resumen en los Cuadros 2 y 3, respectivamente.

Cuadro 2. Sistemas de elución utilizados para los análisis en capa fina.

SISTEMAS DE ELUYENTES	COMPOSICIÓN	PROPORCIÓN
A	Hex-CHCl ₃	Diversas
B	Benc-AcOEt	Diversas
C	CHCl ₃ -AcOEt	Diversas
D	Éterisopropílico-MeOH	Diversas

Cuadro 3. Agentes cromógenos utilizados para los análisis cromatográficos en capa fina.

REACTIVO	AGENTE CROMÓGENO	REFERENCIA
Sulfato cérico*	12.0 g de sulfato cérico, 22.2 mL de ác. sulfúrico concentrado y 350 g de hielo picado.	Lowery <i>et al.</i> , 1993
Ácido sulfúrico	90 mL de agua destilada 10 mL de H ₂ SO ₄ . (conc).	Lowery <i>et al.</i> , 1993

*En todos los casos antes de revelar con el cromógeno, se procedió a visualizar las placas con la luz UV. (onda corta 254 nm y onda larga 365 nm), para el desarrollo del color fue necesario calentar por dos minutos a 110°C aproximadamente.

3.2.2 Determinación de las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de los productos naturales y sus derivados.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos. Los espectros en el IR se registraron en un espectrofotómetro de rejilla Perkin-Elmer, modelo 599-B o en un aparato Nicolet FT-5X, en pastilla de KBr o en película.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMN- ^1H) y de Carbono-13 (^{13}C) se generaron en un aparato Varian VXR-3005, el cual se operó a una frecuencia de 500 ó 125 MHz, respectivamente. Los espectros se obtuvieron en CDCl_3 y los desplazamientos químicos se asignaron en unidades δ (ppm) referidos al Tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Se utilizaron secuencias de pulso estándares Varian para el registro de los espectros de RMN bidimensional homonuclear (COSY) y heteronuclear (HETCOR).

Los espectros de masas se determinaron en un aparato Hewlett-Packard 5890-B mediante introducción directa a 70 eV, en tanto que los espectros de masas generados mediante bombardeo rápido de átomos (FAB), se registraron en un aparato Jeol DX300 con un sistema JMA-3500. Para el bombardeo de átomos se utilizó xenón con 6 keV.

Los análisis de difracción de rayos X se determinaron en un difractorómetro Siems P4/PC.

Todos los análisis arriba indicados se efectuaron en el Instituto de Química de la UNAM.

3.3 Análisis mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

3.3.1 Condiciones instrumentales.

Los análisis mediante cromatografía de gases (CG-EM) se realizaron en un cromatógrafo de gases HP acoplado a un espectrómetro de masas modelo

Jeol JMS-AX505HA, mediante la inyección de 0.2 μL de cada una de las muestras de prueba en una columna capilar PAS-1701-Tested Silicone HP. Se utilizó helio como gas acarreador, a una presión manométrica de 0.6 Kg/cm^2 y con un flujo de 2 mL/min . La temperatura del inyector se mantuvo en 260°C , la temperatura de la columna inicial fue de 150°C y se programó para alcanzar una temperatura de 260°C con un calentamiento gradual de $10^\circ\text{C}/\text{min}$.

Para los registros de los espectros de masas por impacto electrónico se utilizó un voltaje de 70 eV. Cada uno de los espectros se registró con un barrido de 33 a 630 unidades de masa/carga (m/z) por segundo.

3.4 Determinación de la actividad fitoinhibidora.

3.4.1 Método de caja de Petri.

La actividad fitotóxica de los extractos y compuestos puros derivados de la madera de *Cedrela odorata* se evaluó midiendo el efecto de los mismos sobre el crecimiento radicular de la semillas *Amaranthus hypochondriacus* (Amarantaceae), *Echinochloa crusgalli* (Gramineae) y *Triticum sativum* (Graminaceae) de acuerdo a la metodología previamente descrita en la literatura (Anaya *et al.*, 1990; Castañeda *et al.*, 1996).

Los bioensayos se realizaron en cajas de Petri de 10 cm de diámetro interno. Para cada muestra de prueba (extracto o compuestos puros) se prepararon disoluciones clorofórmicas de forma tal de obtener concentraciones finales de 1000, 500, 100, 10 y 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. A continuación se transfirieron a las cajas de Petri (conteniendo un disco de papel filtro Whatman No. 1), 1 mL de las

disoluciones de prueba conteniendo las concentraciones antes indicadas. El disolvente se evaporó mediante una corriente de aire. Posteriormente, se inició la germinación de 10 semillas de la especie vegetal de prueba, humedeciendo el papel filtro con 3 mL de agua destilada.

Se utilizó el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) como un control positivo. El mismo procedimiento se siguió para los controles negativos que contenían únicamente el disolvente y agua destilada. Las cajas Petri se mantuvieron en la oscuridad a 30°C y la actividad fitotóxica se registró midiendo la inhibición de la germinación y la longitud de las radículas después de 24 horas de incubación en el caso de amaranto y trigo, y 48 horas después en el caso de *Echinochloa*. Se trabajaron cuatro réplicas por tratamiento en las muestras de prueba y en los controles.

Los resultados obtenidos se analizaron mediante la prueba estadística de ANOVA ($p < 0.05$). Los valores de la concentración inhibidora media (CI_{50}) se determinaron mediante un análisis Probit a partir de los porcentajes de inhibición calculados.

3.4.2 Método bioautográfico.

El método bioautográfico se realizó sobre placas cromatográficas de 5x20 cm recubiertas con gel de sílice. En cada placa se sembraron 5 mg del extracto, posteriormente, se efectuó la elución utilizando un sistema de disolventes apropiado. Al cabo del proceso de elución se evaporó el disolvente y las cromatoplasas se cubrieron con 20 mL de una suspensión de agar al 1%.

Se realizaron dos réplicas en todos los casos. Paralelamente, dos placas sin muestra problema se eluyeron con el sistema de elución correspondiente. Éstas se utilizaron como control negativo. Posteriormente, cada una de las placas cromatográficas se cubrió completamente con semillas de *A. hypochondriacus*. Las placas con las semillas fueron incubadas a 28°C durante 24 horas en una atmósfera húmeda.

Transcurrido el tiempo de incubación se observó la zona de inhibición (Inoue, 1992). Este último procedimiento se realizó por comparación con una placa conteniendo la muestra, eluida en las mismas condiciones y revelada con el agente cromógeno apropiado.

3.5 Pruebas biológicas.

3.5.1 Efecto relajante sobre la contracción tónica de ileon de cobayo inducida por despolarización con KCl.

El ensayo se basa en una técnica ya descrita (Kachur *et al.*, 1986; Zygumnt *et al.*, 1993). Para el estudio se utilizaron cobayos machos (450-600g), en ayuno de 18 horas y con acceso libre al agua. Los animales se sacrifican por golpe en la nuca y dislocación cervical; se extirpan 10 cm de ileon en su porción más cercana al ángulo ileocecal colocando el tejido en una caja Petri con solución Tyrode cuya composición milimolar es la siguiente: NaCl, 136; KCl, 2.7; CaCl₂, 0.88; NaH₂PO₄, 0.32; NaHCO₃, 11.9 y glucosa, 11.1 (pH 7.4). El fragmento de ileon se limpió adecuadamente con solución Tyrode y se cortan segmentos de 1.5 cm.

En cámaras verticales para tejidos aislados se incuban los segmentos del tejido longitudinal en solución Tyrode y se mantienen las preparaciones a una temperatura de 37°C con burbujeo continuo de 95% O₂ y 5% CO₂. En estas condiciones, un extremo del tejido se sujeta al fondo de la cámara y el otro extremo se ata al transductor de desplazamiento FTO3 que está acoplado a un polígrafo Grass-7D, previamente calibrado a una sensibilidad de 2mV/cm. La fuerza de tensión empleada en el tejido fue de 1g.

Los tejidos se estabilizan en la solución Tyrode durante 60 min, cambiando el medio cada 20 min. Después de este periodo, se adiciona al baño 1x10⁻⁶M de atropina con la finalidad de antagonizar los efectos de la acetilcolina endógena que se pueda liberar espontáneamente por la manipulación experimental y se induce la contracción del tejido con solución Tyrode despolarizante en la que se hace un remplazo isosmótico de la concentración de NaCl por 60 mM de KCl. Posteriormente se lavan las preparaciones con la solución Tyrode normal para alcanzar los valores del registro basal y se repite esta operación hasta lograr que la respuesta de la contracción sea similar a la anterior. Los tejidos se mantienen durante 60 min en la solución despolarizante para registrar la respuesta sostenida de la contracción tónica, valor que se considera como efecto máximo (100%) y se adiciona al baño el material de prueba disuelto en DMSO o Tween-80 (en el caso de los sesquiterpenos) en concentraciones acumulativas hasta obtener la inhibición total de la contracción inducida.

Para cada experimento se utilizó un nuevo segmento de ileon y en todos los casos se realizaron al menos seis réplicas. Al cabo de cada experimento los tejidos se lavaron con la solución Tyrode y se indujo la contracción con K^+ para observar la recuperación de las preparaciones.

El efecto relajante producido por el extracto, fracciones y compuestos puros se determinó midiendo el valor porcentual respecto al efecto máximo de la contracción tónica por despolarización con K^+ . Para el análisis estadístico se utilizan promedios de al menos seis determinaciones y en todos los casos se aplicó t de Student ($p < 0.05$). Los valores de CI_{50} se determinaron mediante análisis de regresión lineal.

3.6 Preparación del extracto orgánico a partir de la madera de *Cedrela odorata*.

El material seco y molido (6.80 Kg) se extrajo mediante un proceso de maceración exhaustivo con $CHCl_3$ 100% (volumen total 40 litros). El extracto resultante se concentró a presión reducida, obteniéndose 241 gramos de extracto crudo.

3.7 Fraccionamiento preliminar del extracto total.

El extracto total se fraccionó en una columna cromatográfica abierta, utilizando como adsorbente 997 g de gel de sílice. El proceso de elución se efectuó con hexano, hexano- $CHCl_3$ (diferentes proporciones), $CHCl_3$, $CHCl_3$ -AcOEt (diferentes proporciones), AcOEt y AcOEt-MeOH (diferentes

proporciones). Se recolectaron 237 fracciones de 1 L cada una. Cada fracción fue analizada por cromatografía en capa fina, combinándose todas aquellas que resultaron cromatográficamente similares. Este proceso generó un total de 14 fracciones primarias. En el Cuadro 4 se resumen los sistemas de elución empleados y las fracciones combinadas. Cada una de las fracciones resultantes se evaluó mediante los bioensayos indicados en los incisos 3.4 y 3.5.

Cuadro 4. Resumen del fraccionamiento preliminar via cromatografía en columna abierta del extracto crudo de la madera de *Cedrela odorata*.

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave	Peso (g)
Hexano	100	1-23	1-23	CO-AB* ^o	45.41
Hex-CHCl ₃	90:10	24-48	24-159	CO- ^o	31.50
	80:20	49-72	160-173	CD- ^o	14.78
	70:30	73-147	174-178	CO-E* ^o	34.09
	60:40	148-159		CO-F* ^o	
	50:50	160-165			
	40:60	166-174			
	20:80	175-178			
CHCl ₃	100	179-188	179-184	CO-G* ^o	18.74
CHCl ₃ -AcOEt	90:10	189-192	185-191	CO-H* ^o	25.00
	80:20	193-197	192-197	CO-I* ^o	17.74
	70:30	198-201	198-205	CO-J* ^o	19.82
	60:40	202-209	206-216	CO-K* ^o	12.85
	50:50	210-213	217-218	CO-L* ^o	0.53
	40:60	214-215			
	30:70	216-217			
	20:80	218			
10:90	219				
AcOEt	100	220-222	219-222	CO-M	34.96
AcOEt-MeOH	90:10	223-224	223-237	CO-N	2.10
	80:20	225-228			
	70:30	229-231			
	50:50	232-237			

* Fracciones fitotóxicas. ^o Fracciones espasmolíticas.

3.8 Aislamiento y purificación de los productos de las fracciones primarias activas.

3.8.1 Aislamiento y purificación de la 7-desacetil-7-oxogedunina (14) de la fracción primaria activa CO-G.

De la fracción primaria activa CO-G (18.74 g) [Cuadro 4] precipitaron de manera espontánea 1.5 g de un sólido cristalino blanco, con un punto de fusión de 257-259°C, idéntico en todos sus aspectos a una muestra auténtica de 7-desacetil-7-oxogedunina (14), obtenida de la especie *Guarea grandifolia* (Meliaceae) [Villareal, 1996].

3.8.2 Aislamiento y purificación de la gedunina (3) de la fracción primaria activa CO-G.

La fracción primaria activa CO-G [Cuadro 4], se recromatografió en una columna abierta de gel de sílice (205 g). El proceso de elución se llevó a cabo con hexano, hexano-CHCl₃ (diferentes proporciones), CHCl₃, CHCl₃-AcOEt (diferentes proporciones) y AcOEt. Se colectaron un total de 260 fracciones de 500 mL cada una y se analizaron por cromatografía en capa fina, combinándose todas aquellas que presentaron homogeneidad cromatográfica. El proceso generó un total de 13 grupos de fracciones secundarias. En el Cuadro 5 se resume este proceso cromatográfico.

De la fracción secundaria CO-G2 cristalizaron de manera espontánea 300 mg de un compuesto cristalino de color blanco con un punto de fusión de 189-192°C, el cual fue caracterizado como gedunina (3) por comparación con una muestra auténtica aislada de *Guarea grandifolia* (Meliaceae) [Villareal, 1996].

3.8.3. Aislamiento y purificación de la 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49) y de la 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50) de la fracción primaria activa CO-E.

La fracción primaria CO-E (14.78 g) [Cuadro 4] se recromatografió en una columna abierta de gel de sílice (270 g). El proceso de elución se llevó a cabo con hexano, hexano-CHCl₃ (diferentes proporciones), CHCl₃ y AcOEt. Se colectaron un total de 158 fracciones de 200 mL cada una y se analizaron por cromatografía en capa fina combinándose aquellas que presentaron homogeneidad cromatográfica. Este proceso generó un total de 10 grupos de fracciones secundarias. En el Cuadro 6 se resume este proceso cromatográfico.

Sucesivas cromatografías preparativas en capa delgada de gel de sílice de la fracción secundaria CO-E7 (0.56 g) utilizando como eluyente una mezcla de CHCl₃-AcOEt 8:2, permitieron el aislamiento de 50 mg de la 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49) y 25 mg de la 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50). El primer compuesto se aisló como un sólido cristalino con un punto de fusión de 185-187°C y el segundo como un polvo blanco de punto de fusión de 163-166°C.

3.8.4 Aislamiento y purificación del β -sitosterol (39) de la fracción secundaria activa CO-E5.

De la fracción secundaria CO-E5 (0.1925 g) [Cuadro 4], cristalizaron espontáneamente 100 mg de un sólido cristalino de color blanco, con un punto de fusión de 122-126°C, identificado como β -sitosterol (39) por comparación con una muestra auténtica.

Cuadro 5. Resumen del fraccionamiento secundario via cromatografia en columna abierta de la fracción primaria activa CO-G de Cedrela odorata.

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave	Peso (g)
Hexano	100	1-4	1-84	CO-G1	0.22
Hexano-CHCl ₃	50:50	5-13	85-91	CO-G2	0.62
	40:60	14-28	92-95	CO-G3	0.39
	30:70	29-43	96-101	CO-G4	0.58
	20:80	44-54	102-147	CO-G5	0.68
	10:90	55-62	148-153	CO-G6	0.16
CHCl ₃	100	63-72	154-169	CO-G7	1.53
CHCl ₃ -AcOEt	98:2	73-85	170-183	CO-G8	2.10
	95:5	86-153	184-205	CO-G9	0.62
	90:10	154-205	206-223	CO-G10	0.68
	80:20	206-219	224-226	CO-G11	0.15
	70:30	220-229	227-228	CO-G12	0.12
	60:40	230-239			
	50:50	240-250			
	10:60	251-259			
AcOEt	100	260	229-260	CO-G13	0.52

Cuadro 6. Resumen del fraccionamiento secundario via cromatografia en columna abierta de la fracción primaria activa CO-E de Cedrela odorata.

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave	Peso (g)
Hexano	100	1-2	1-38	CO-E1	0.22
Hexano-CHCl ₃	90:10	3-4	39-42	CO-E2	0.26
	80:20	5-9	43-46	CO-E3	0.73
	70:30	10-17	47-50	CO-E4	0.29
	60:40	18-25	51-63	CO-E5	0.19
	50:50	26-32	64-77	CO-E6	0.19
	40:60	33-38	78-145		0.56
	30:70	39-93	146-156		2.39
	20:80	94-98			
	10:90	99-102			
CHCl ₃	100	103-157	157	CO-E9	0.63
AcOEt	100	158	158	CO-E10	0.73

3.8.5 Aislamiento y purificación del odorato (20) de la fracción primaria activa CO-I.

La fracción primaria CO-I (17.74 g) [Cuadro 4] se recromatografió en una columna abierta sobre 275 g de gel de sílice. El proceso de elución se efectuó con CHCl_3 , CHCl_3 -AcOEt (diversas proporciones) y AcOEt. Se obtuvieron un total de 66 fracciones de 250 mL cada una, uniéndose aquellas cromatográficamente similares. El proceso generó 9 grupos de fracciones secundarias. En el Cuadro 7 se resume este proceso cromatográfico.

De la fracción secundaria CO-I5 precipitaron espontáneamente 3 g de un sólido cristalino de color blanco, con un punto de fusión de 219-221°C, caracterizado como el odorato (20).

3.8.6 Aislamiento y purificación de la odorona (19) de la fracción primaria activa CO-H.

La fracción primaria CO-H (25.0g) [Cuadro 4] se recromatografió en una columna abierta de gel de sílice (175 g). El proceso de elución se llevó a cabo con CHCl_3 , CHCl_3 -AcOEt (diferentes proporciones) y AcOEt. Se recolectaron un total de 91 fracciones de 150 mL cada una y se analizaron por cromatografía en capa fina, combinándose aquellas que presentaron características cromatográficas similares. En el Cuadro 8 se resume el proceso cromatográfico anterior.

De la fracción secundaria CO-H3 precipitó de manera espontánea 600 mg de un producto bajo la forma de un polvo blanco, con punto de fusión de 217-220°C, el cual fue caracterizado como la odorona (19).

Cuadro 7. Resumen del fraccionamiento secundario vía cromatografía en columna abierta de la fracción primaria activa CO-I de *Cedrela odorata*.

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave	Peso (g)
Hexano	100	1-2	1-10	CO-11	0.17
CHCl ₃ -AcOEt	90:10	3-11	11-18	CO-12	0.25
	80:20	12-20	19-20	CO-13	0.29
	70:30	21-60	21	CO-14	0.29
	50:50	61-65	22-29	CO-15	0.18
			30-31	CO-16	0.17
		22-40	CO-17	1.30	
		41-63	CO-18	0.10	
AcOEt	100	66	64-66	CO-19	0.51

Cuadro 8. Resumen del fraccionamiento secundario vía cromatografía en columna abierta de la fracción primaria activa CO-H de *Cedrela odorata*.

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave	Peso (g)
Hexano	100	1-12	1-27	CO-H1	0.26
CHCl ₃ -AcOEt	95:5	13-28	28-32	CO-H2	0.28
	90:10	29-81	33-69	CO-H3	4.07
	50:50	82-90	70-80	CO-H4	0.74
			81-85	CO-H5	3.63
			86-90	CO-H6	0.34
AcOEt	100	91	91	CO-H7	0.98

3.6.7 Aislamiento y purificación del isodoratol (21) de la fracción primaria activa CO-K.

La fracción primaria CO-K (12.85 g) [Cuadro 4], se recromatografió en una columna abierta sobre 120 g de gel de sílice. El proceso de elución se inició con benceno, mezclas de benceno-AcOEt y AcOEt. Se obtuvieron un total de 116 fracciones de 150 mL cada una, uniéndose aquellas cromatográficamente similares. El proceso se resume en el Cuadro 9.

De la fracción secundaria CO-K6 precipitaron espontáneamente 15 mg del compuesto caracterizado como el isodoratol (**21**), bajo la forma de un polvo blanco de punto de fusión de 240-243°C.

Cuadro 9. Resumen del fraccionamiento secundario vía cromatografía en columna abierta de la fracción primaria activa CO-K de *Cedrela odorata*.

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave	Peso (g)
Benceno	100	1-4	1-21	CO-K1	0.14
Benceno-AcOEt	99:1	5-8	22-23	CO-K2	0.11
	95:5	9-12	24-28	CO-K3	0.14
	90:10	13-16	29-33	CO-K4	0.17
	80:20	17-22	34	CO-K5	0.12
	70:30	23-107	35-46	CO-K6	0.26
	50:50	108-115	47-57	CO-K7	0.35
			58-70	CO-K8	0.28
			71-85	CO-K9	0.46
			86-106	CO-K10	0.32
AcOEt	100	116	107	CO-H11	0.44
			108-112	CO-K12	0.46
			113-116	CO-K13	0.40

3.8.8 Aislamiento y purificación de los sesquiterpenos cubenol (32**), torreyol (**51**) y (-)- α -cadinol (**52**) de la fracción primaria activa CO-CD.**

La fracción primaria activa CO-CD (31.50 g) [Cuadro 4], se cromatografió en una columna abierta sobre 450 g de gel de sílice. El proceso de elución se inició con hexano y posteriormente se continuó con mezclas de hexano-CHCl₃, CHCl₃ y finalmente con AcOEt. Se obtuvieron 127 fracciones de

500 mL cada una, uniéndose aquellas cromatográficamente similares. El proceso se resume en el Cuadro 10. Sucesivas cromatografías preparativas en capa delgada del gel de sílice (impregnadas previamente con nitrato de plata al 10%) de la fracción activa CO-D8 (0.90 g), utilizando como eluyente una mezcla de CHCl_3 -AcOEt 85:15, permitieron el aislamiento de 10 mg de cubenol (**32**), 30 mg de torreyol (**51**) y 38 mg de (-)- α -cadinol (**52**). El primer compuesto se aisló como un aceite de color amarillo, el segundo y tercer producto se aislaron bajo la forma de un polvo blanco con punto de fusión de 106-109°C y 47-50°C, respectivamente.

Cuadro 10. Resumen del fraccionamiento secundario vía cromatografía en columna abierta de la fracción primaria activa CO-CD de *Cedrela odorata*.

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave	Peso (g)
Hexano	100	1-24	1-31	CO-CD1	0.46
Hexano- CHCl_3	95:5	25-32	32-42	CO-CD2	3.55
	90:10	33-81	43-53	CO-CD3	0.49
	80:20	82-84	54-72	CO-CD4	3.16
	70:30	85-121	73-86	CO-CD5	11.29
	50:50	122-125	87-88	CO-CD6	0.74
				CO-CD7	0.35
CHCl_3	100	126	89-94	CO-CD8	0.90
			95-99	CO-CD9	0.99
			100-109	CO-CD10	0.28
AcOEt	100	127	110-120	CO-CD11	0.27
			121-124	CO-CD12	1.79
			125-127	CO-CD13	0.30

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Evaluaciones biológicas preliminares que permitieron la selección de la especie *Cedrela odorata* como una fuente potencial de principios espasmolíticos y herbicidas.

La preselección de la especie *C. odorata* se realizó con base en los criterios quimiotaxonómico y etnomédico. Con relación al primero cabe destacar que el género *Cedrela*, al igual que otros géneros de la familia de las Meliáceas, ha demostrado ser una fuente valiosa de principios activos (Champagne *et al.*, 1992; Segura-Correa *et al.*, 1993; Isman *et al.*, 1996; MacKinnon *et al.*, 1997; *Inter alia*). En lo que respecta al segundo criterio, las plantas medicinales constituyen una fuente potencial valiosa para el descubrimiento de sustancias biológicamente activas (Ghisalberti, 1993). En este caso particular, considerando el uso popular de la planta es altamente probable que la misma contenga principios espasmolíticos.

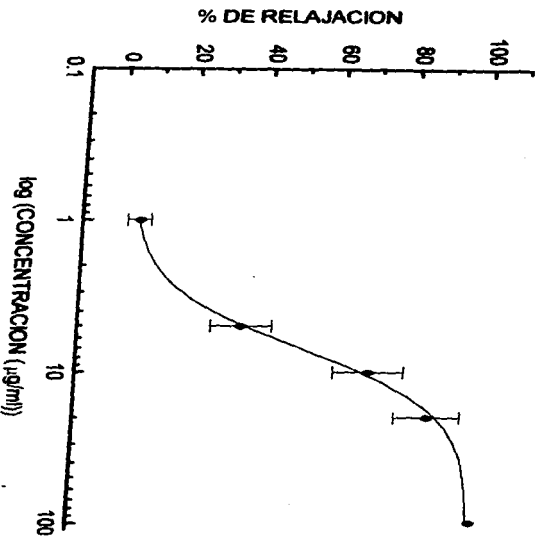
Posteriormente, durante la realización de los ensayos biológicos preliminares conducentes a la determinación de la potencialidad espasmolítica e inhibidora del crecimiento vegetal del extracto total de la madera de la planta, se comprobó que la misma contiene principios activos capaces de modificar la contractilidad del músculo liso y el crecimiento radicular de la arvense *Amaranthus hypochondriacus*.

El extracto clorofórmico de la madera de *Cedrela odorata* demostró un efecto espasmolítico significativo *in vitro*, sobre las contracciones inducidas por KCl de íleon aislado de cobayo. Los resultados de esta determinación se resumen en la Gráfica 1.

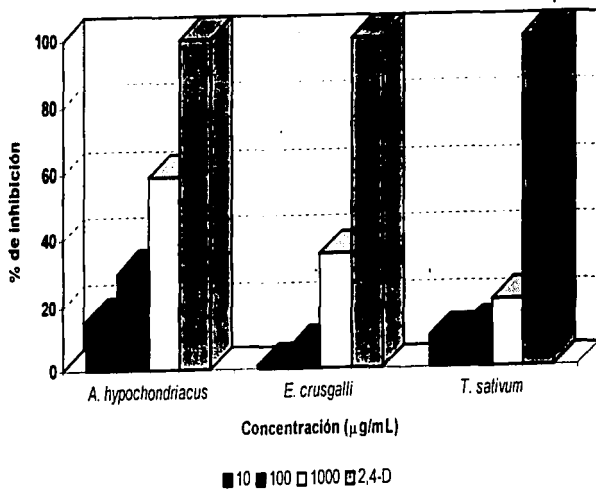
Los resultados de la determinación del efecto sobre el crecimiento radicular del extracto total de la madera de *Cedrela odorata* se resumen en la Gráfica 2. De estas evaluaciones se infiere que el extracto inhibe de manera significativa el crecimiento radicular de las especies *E. crusgalli* y *A. hypochondriacus*. Sin embargo, la especie *T. sativum* resultó ser menos sensible a los tratamientos.

Con base en los resultados de las evaluaciones biológicas preliminares, se decidió llevar a cabo el estudio fitoquímico de la madera de *C. odorata*, con la finalidad de aislar los principios activos responsables de las actividades relajante de la musculatura lisa y fitotóxica. La preparación del extracto en gran escala se realizó mediante un procedimiento de maceración, tal como se indica en la sección experimental (Inciso 3.6). Posteriormente, el extracto activo se fraccionó de manera preliminar mediante una cromatografía en columna abierta sobre gel de sílice. Este proceso permitió la obtención de doce fracciones primarias CO-AB-CO-N (Cuadro 4).

Todas las fracciones primarias fueron evaluadas para monitorear la actividad inhibidora del crecimiento vegetal y la actividad espasmolítica



Gráfica 1. Efecto relajante del extracto CHCl₃ de Cedrela odorata sobre la contractilidad de león de colajo inducida por despolarización con KCl (60 mM).



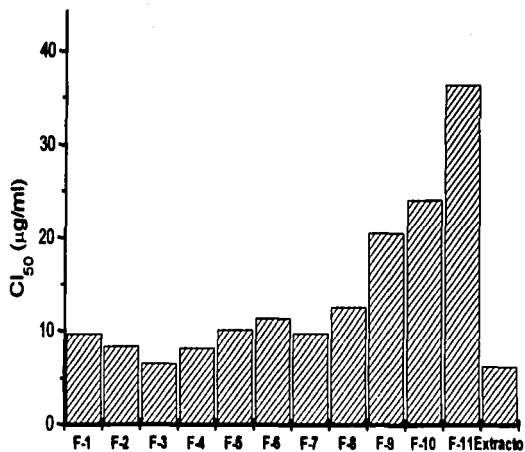
Gráfica 2. Inhibición del crecimiento radicular de *A. hypochondriacus*, *E. crusgalli* y *T. sativum* inducido por el extracto total de la madera de *C. odorata*.

potencial (sección experimental 3.4 y 3.5). Los resultados de estas determinaciones se resumen en la Tabla 2 y en la Gráfica 3, respectivamente.

Como se desprende de los resultados de la Tabla 2 las fracciones CO-CD y CO-I demostraron una actividad fitoinhidoradora significativa a 100 ppm. A 1000 ppm el porcentaje de inhibición de la fracción CO-CD fue del 100%. A esta misma concentración las fracciones CO-H, CO-G, CO-K, CO-F, CO-AB y CO-E también demostraron una buena actividad fitotóxica. En todos los casos las fracciones resultaron más potentes que el extracto original a las concentraciones de 100 y 1000 ppm.

Con relación al efecto relajante de la musculatura lisa *in vitro*, los resultados que se resumen en la Gráfica 3 indican que la mayor actividad se concentra en las fracciones CO-E, CO-F, CO-CD, CO-AB y CO-G. Los resultados de la Gráfica 3 expresan los valores de CI_{50} de cada fracción. Es importante mencionar que todas las fracciones ensayadas presentan un valor de CI_{50} mayor o igual al extracto. En principio esto permite inferir que la actividad del extracto podría deberse a un efecto sinérgico de los compuestos activos presentes en el mismo.

Las fracciones activas derivadas del fraccionamiento primario fueron sometidas a diversos procedimientos cromatográficos (Inciso 3.8), lo cual permitió el aislamiento y la caracterización de los diez metabolitos secundarios de origen mevalónico que se indican a continuación: la gedunina (3), la



Gráfica 3. Efecto relajante de las fracciones y del extracto CHCl_3 de *Cedrela odorata* sobre la contractilidad de íleon de cobayo inducida por despolarización con KCl (60 mM).

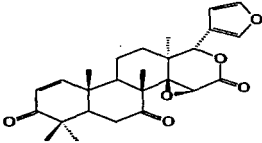
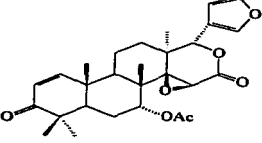
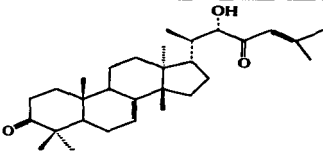
Tabla 2. Porcentajes de inhibición del crecimiento radicular de *A. hypochondriacus* inducido por las fracciones primarias de *Cedrela odorata*.

Fracción	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)		
	10	100	1000
CO-AB	7.76	18.27	81.32
CO-CD	+12.43	37.58	100.00
CO-E	+10.93	1.35	71.60
CO-F	0.53	11.03	74.38
CO-G	+26.61	25.53	78.64
CO-H	+18.06	+3.62	81.88
CO-I	+69.33	39.81	26.82
CO-J	+27.39	6.01	51.84
CO-K	+8.74	9.90	74.76
CO-L	+38.94	6.79	69.43
CO-M	+22.73	+35.46	47.07
CO-N	+20.39	+33.60	36.26

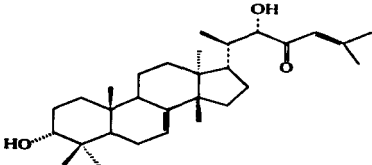
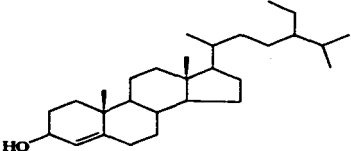
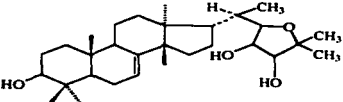
Los resultados están expresados en porcentajes de inhibición en relación al crecimiento de un control blanco (agua destilada). Cada valor representa el promedio de 3 réplicas; 10 plántulas cada una. Como control positivo se emplea el 2,4-D.

7-desacetil-7-oxogedunina (**14**), la 22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (**49**), la 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (**50**), el odoratol (**20**), el isoodoratol (**21**), la odoratona (**19**), el torreyol (**51**), el cubenol (**32**) y el (-)- α -cadinol (**52**). El compuesto 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (**50**) constituye un nuevo producto natural.

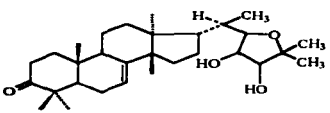
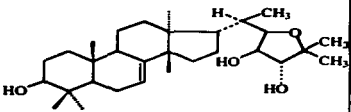
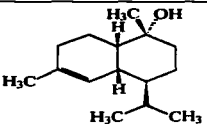
Cuadro 12. Metabolitos secundarios aislados de la especie *C. odorata*

COMPUESTO	FRACCION	RENDIMIENTO
 <p>7-desacetil-7-oxogedunina (14)</p>	CO-G	0.03%
 <p>gedunina (4)</p>	CO-G	0.078%
 <p>22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49)</p>	CO-E	0.00073%

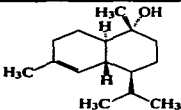
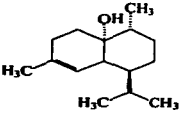
**Cuadro 12. Metabolitos secundarios aislados de la especie *C. odorata*
(continuación)**

COMPUESTO	FRACCION	RENDIMIENTO
 <p>3α,22S-dihydroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50)</p>	CO-E	0.00036%
 <p>β-sitosterol (39)</p>	CO-E5	0.020%
 <p>odoratoI (20)</p>	CO-I	0.088%

Cuadro 12 Metabolitos secundarios aislados de la especie *C. odorata*
(continuación)

COMPUESTO	FRACCION	RENDIMIENTO
 <p>odoratona (19)</p>	CO-H	0.044%
 <p>isodoratol (21)</p>	CO-K	0.022%
 <p>torreyol (21)</p>	CO-D8	0.00045

Cuadro 12 Metabolitos secundarios aislados de la especie *C. odorata*
(continuación)

COMPUESTO	FRACCIÓN	RENDIMIENTO
 <p>(-)-α-cadinol (52)</p>	CO-D8	0.00055
 <p>cubenol (32)</p>	CO-D3	0.00029

En el cuadro 12 se indican las estructuras de los compuestos aislados y sus rendimientos correspondientes.

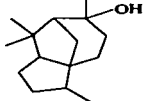
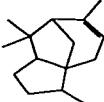
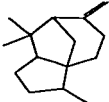
De manera adicional, el análisis de las fracciones activas CO-AB y CO-CD (Cuadro 4) mediante una cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-EM) permitió la detección de 17 metabolitos adicionales. Los espectros correspondientes se incluyen en el Apéndice.

Los tiempos de retención, así como el rendimiento de los componentes en relación al peso de la planta seca, se indican en el Cuadro 13.

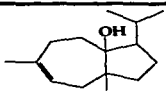
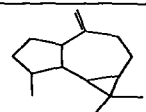
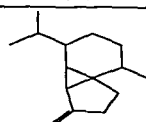
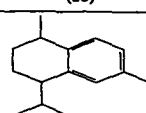
El torreyol (51), el cubenol (32) y el (-)- α -cadinol (52), componentes

mayoritarios de las fracciones CO-AB y CO-CD, se separaron mediante sucesivas cromatografías preparativas en capa delgada, utilizando las condiciones que se indicaron en el punto 3.8.8 de la sección experimental.

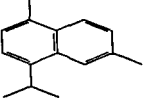
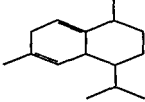
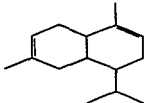
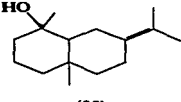
Cuadro 13. Tiempos de retención y porcentaje de los componentes de las fracciones primarias activas CO-AB y CO-CD de acuerdo al análisis GM-EM.

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Rendimiento (%)
 (83)	13.80	2.41 E^{-7}
 (84)	14.43	2.19 E^{-7}
 (85)	12.66	1.29 E^{-7}

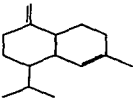
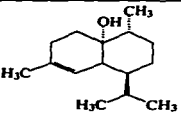
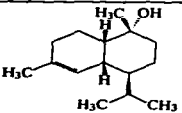
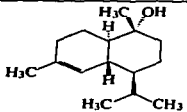
Cuadro 13. Tiempos de retención y porcentaje de los componentes de las fracciones primarias activas CO-AB y CO-CD de acuerdo al análisis GM-EM.
(continuación)

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Rendimiento (%)
 (66)	14.71	1.32 E^{-5}
 (67)	12.44	2.73 E^{-7}
 (68)	10.26	1.37 E^{-5}
 (69)	15.94	1.63 E^{-5}

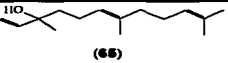
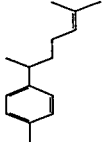
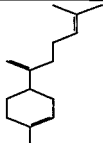

Cuadro 13. Tiempos de retención y porcentaje de los componentes de las fracciones primarias activas CO-AB y CO-CD de acuerdo al análisis GM-EM.
(continuación)

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Rendimiento (%)
 (60)	15.65	2.31 E^{-6}
 (61)	11.48	3.86 E^{-7}
 (62)	11.87	4.53 E^{-8}
 (63)	12.70	3.10 E^{-7}

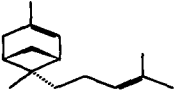
Cuadro 13. Tiempos de retención y porcentaje de los componentes de las fracciones primarias activas CO-AB y CO-CD de acuerdo al análisis GM-EM.
(continuación)

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Rendimiento (%)
 (84)	13.48	2.46 E ⁻⁶
 cubenol (32)	14.22	1.5 E ⁻⁵
 torreyol (81)	14.09	2.30 E ⁻⁵
 (-)-α-cadinol (82)	14.36	2.10 E ⁻⁵

Cuadro 13. Tiempos de retención y porcentaje de los componentes de las fracciones primarias activas CO-AB y CO-CD de acuerdo al análisis GM-EM.
(continuación)

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Rendimiento (%)
 (65)	12.76	2.73 E^{-7}
 (66)	14.13	6.62 E^{-6}
 (67)	11.54	1.05 E^{-7}
 agarospirol (68)	12.25	1.2 E^{-5}

Cuadro 13. Tiempos de retención y porcentaje de los componentes de las fracciones primarias activas CO-AB y CO-CD de acuerdo al análisis GM-EM.
(continuación)

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Rendimiento (%)
 (69)	11.56	1.36 E ⁻⁷

4.2 Caracterización de los constituyentes activos

En general, los compuestos aislados se caracterizaron mediante la aplicación de técnicas espectrométricas y espectroscópicas convencionales, así como de métodos químicos. En el caso del odorato (**20**), la estructura se confirmó inequívocamente mediante un análisis de difracción de rayos X.

Los productos conocidos se caracterizaron por comparación con muestras auténticas o mediante la comparación de sus constantes físicas y espectroscópicas con las previamente descritas en la literatura. En el caso del análisis CG-EM de las fracciones CO-AB y CO-CD, los compuestos se identificaron al comparar los espectros de masas generados con los registrados en un banco de datos (Public/NIST).

En la presente sección se describe el análisis de los parámetros espectrométricos y espectroscópicos que permitieron proponer la estructura molecular del nuevo producto natural.

4.2.1 Caracterización de la 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50) y de la 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49).

La 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50) se obtuvo de la fracción primaria activa CO-E bajo la forma de un polvo blanco. Las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del nuevo producto natural se resumen en las Tablas 2, 4 y 5.

Su espectro en el IR (Figura 4) presenta absorciones asociadas con grupos hidroxilo (3462 cm⁻¹), carbonilo de cetona (1678 cm⁻¹) y olefínico (1620 cm⁻¹). El espectro de masas generado por este compuesto presenta el ion molecular en una *m/z* de 456 uma (Figura 5), correspondiente a una fórmula molecular C₃₀H₄₈O₅, la cual permite ocho grados de insaturación. El espectro presenta también fragmentos importantes en *m/z* 83, 114, 125, 247, 259, 315, 327 (pico base), 343, 423 (M-15-18) y 441 (M-15).

La información proporcionada por la espectrometría de masas y el análisis detallado de los espectros de RMN (Figuras 6 y 8) del producto (50), permiten establecer que el mismo es un protolimonoide del tipo Δ^7 -tirucalano

que presenta una función cetónica conjugada y una función carbinólica secundaria en la cadena lateral (Bevan *et al.*, 1965; Lavie *et al.*, 1967; Kraus *et al.*, 1980; Connolly y Hill, 1989; Olugbade, 1991; Tinto *et al.*, 1991; Itokawa *et al.*, 1992 *inter alia*). Así el espectro de RMN ^{13}C (Figura 6), presenta señales para 30 carbonos en congruencia con la fórmula molecular calculada; el espectro de RMN ^{13}C en su modalidad DEPT (Figura 7), indica claramente que estas señales corresponden a ocho metilos, siete metilenos, siete metinos y ocho carbonos cuaternarios. De acuerdo al espectro de RMN ^1H (Figura 8) cinco de los metilos (δ_{H} 0.84, 1.03, 1.65, 0.99, 1.10) se encuentran unidos a centros cuaternarios alifáticos, dos (δ_{H} 1.96, 2.20) se encuentran ubicados sobre una doble ligadura y el último (δ_{H} 0.62, *d*, $J=6.6$ Hz) corresponde a un metilo unido a un carbono terciario.

El espectro de RMN ^1H (Figura 8) del producto natural también presenta señales diagnósticas para:

- a) Una doble ligadura trisustituída [δ 5.31, *dd*, $J=3.3, 6.3$ Hz, H-7] de un Δ^7 tirucalano (Bevan *et al.*, 1967; Purushothaman *et al.*, 1985; Kundu *et al.*, 1985; Guang-Yi *et al.*, 1988; Lins *et al.*, 1992; Inadad *et al.*, 1994).
- b) Un hidrógeno olefínico conjugado con la función cetónica en C-23 [δ_{H} 6.08, H-24]. La función cetónica se evidencia también por la presencia de una absorción en δ_{C} 201.37 en el espectro de RMN ^{13}C .
- c) Dos hidrógenos bases de funciones carbinólicas en δ_{H} 3.47 (*dd*, $J=2.75, 2.75$

Hz, H-3) y δ_H 4.18 (dd, $J=1.5, 5.1$ Hz, H-22) mismas que correlacionan con las señales en δ_C 76 (C-3) y 78.89 (C-22), respectivamente en el espectro HETCOR (Figura 10).

Cabe hacer notar, que la presencia en el espectro de masas de los fragmentos con m/z 114 ($C_8H_{16}O_2$) y 371 ($C_{25}H_{30}O_2$), son congruentes con la presencia de uno de los carbinos y de la función cetona conjugada en la cadena lateral. La otra función hidroxilo se ubicó entonces en la posición 3 del tirucalano, con base en consideraciones biogenéticas y en los desplazamientos químicos observados para C-4 (δ_C 37.42), C-28 (δ_C 27.78) y C-30 (δ_C 27.44) en el espectro de RMN ^{13}C del producto natural (Guang-Yi *et al.*, 1988). Los elementos estructurales evidenciados mediante el análisis de los espectros de RMN satisfacen las nueve insaturaciones y el número de oxígenos requeridos por la fórmula molecular.

La estereoquímica del hidroxilo en C-3 se asignó como α , considerando el patrón de acoplamiento de la señal en δ_H 3.47, la cual aparece como un doblete de doblete con una constante de acoplamiento de 2.75 Hz.

La estereoquímica del hidroxilo en C-22 se asignó como *S* con base en el desplazamiento del metilo en C-20 (δ_C 39.56) en el espectro de RMN ^{13}C , el cual resultó idéntico al descrito para la 22*S*-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (**49**) cuya estructura se determinó inequívocamente por un análisis de difracción de rayos X (Guang-Yi *et al.*, 1988; 1989).

Con base en las evidencias presentadas el compuesto (**50**) se caracterizó como la $3\alpha,22S$ -dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona. Cabe destacar que este metabolito secundario constituye un nuevo producto natural.

El siguiente producto se caracterizó como la $22S$ -hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (**49**). El compuesto se aisló de la fracción primaria activa CO-E, bajo la forma de cristales amorfos. Las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del producto se resumen en las Tablas 3, 4 y 5. El espectro en el IR (Figura 10) al igual que en el caso del producto (**50**), presenta absorciones características para carbonilo de cetona (1701 cm^{-1}), para un sistema vinílico sustituido (820 cm^{-1}) y para grupo hidroxilo (3458 cm^{-1}).

El espectro de masas generado por este compuesto permite observar el ion molecular con una m/z 454 una el cual corresponde a la fórmula $C_{30}H_{46}O_3$ (Figura 11). Esta fórmula permite calcular nueve grados de insaturación, uno más que en el caso del producto anterior. Otros picos importantes en el espectro se observan con m/z 421, 371, 341, 313, 257, 245, 114, y 83 (pico base).

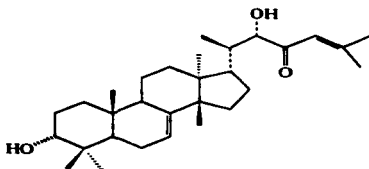
Los espectros de RMN (Tablas 3 y 4, Figuras 13 y 14) del producto (**49**) muestran una gran similitud a los del $3\alpha,22S$ -dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (**50**). Esta analogía sugiere que este producto es también un Δ^7 -tirucalano, (Bevan *et al.*, 1965; Lavie *et al.*, 1967; Kraus *et al.*, 1980; Connolly y Hill, 1989; Olugbade, 1991; Tinto *et al.*, 1991; Itokawa *et al.*, 1992; *Inter alia*).

Las principales diferencias observadas entre los espectro de RMN de los producto (50) y (49), corresponden a las absorciones del anillo A. A continuación se describen estas diferencias.

- a) En el espectro de RMN ^{13}C del producto (49) se observa una absorción para un grupo ceto no conjugado en δ_c 216.80 en lugar de la señal asignada a C-3 (δ_c 76.00) en el producto (50).
- b) En el espectro de RMN ^1H de (49) se observa la señal característica para el hidrógeno 2α (δ_H 2.74) de un tirucalano con una función cetónica en C-3 (Guang-Yi *et al.*, 1988). Esta absorción, ausente en el espectro de (50), se observa como un doblete de doblete de doblete ($J=14.5$ y 5.5 Hz).
- c) Por último, y como era de esperarse, las señales en el espectro de ^{13}C para C-28, C-29 y C-4, presentaron un desplazamiento químico congruente con la presencia del grupo ceto en C-3 (Bevan *ibid*; Guang-Yi *et al.*, 1988; Olugbade, 1991).

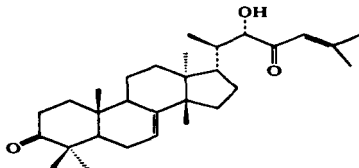
El análisis comparativo descrito en los párrafos anteriores permite establecer la estructura del compuesto (49) como la del 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona, producto natural previamente aislado de *Aucoumea klaineana* (Guang-Yi *et al.*, 1988). Cabe mencionar, que este producto no se encuentra descrito en la literatura como metabolito de *C. odorata*.

Tabla 3. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50).



FM	C ₃₀ H ₄₈ O ₃
PM	456
p.f.	163-166°C
IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} (Figura 4)	2953, 1678, 1620
EMIE m/z (Int rel) (Figura 5)	456 [M ⁺ (19)], 441 [M-15 (28)], 423 [M-15-H ₂ O (9)], 373 [M-83 (17)], 343 [M-113 (80)], 327 [M-141 (11)], 114 [M-340 (59)], 83 [M-371 (100)]

Tabla 4. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49).



FM	$C_{30}H_{46}O_5$
PM	454
p.f.	185-187°C
IR V_{max} (KBr) cm^{-1} (Figura 10)	3458, 1701, 1678, 1620
EMIE m/z (int rel) (Figura 11)	454 [M ⁺ (19)], 439 [M-15 (28)], 421 [M-15-H ₂ O (9)], 371 [M-83 (17)], 341 [M-113 (80)], 313 [M-141 (11)], 114 [M-340 (59)], 83 [M-371 (100)]

Tabla 5. Datos de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) de la 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (**49**) y de la 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (**50**).

Protón	Compuesto	
	22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49)	3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50)
H-2 β	2.74 (5.5, 14.5, 14.5) <i>ddd</i>	-----
H-3	-----	3.47 (2.75, 2.75) <i>dd</i>
H-7	5.31 (3.3, 6.3) <i>dd</i>	5.27 (3.0, 6.5) <i>dd</i>
H-21	0.61 (6.6) <i>d</i>	0.64 (6.5) <i>d</i>
H-22	4.15 (1.65, 5.1) <i>dd</i>	4.18 (1.5, 5.1) <i>dd</i>
H-24	6.06 <i>s</i>	6.08 (0.75) <i>sa</i>
CH ₂ -18	0.84 <i>s</i>	0.77 <i>s</i>
CH ₂ -19	1.03 <i>s</i>	0.92 <i>s</i>
CH ₂ -21	0.62 (6.6) <i>d</i>	0.64 (6.5) <i>d</i>
CH ₂ -26	1.96 (1.2) <i>d</i>	1.97 (1.5) <i>d</i>
CH ₂ -27	2.20 (0.9) <i>d</i>	2.22 (1.0) <i>d</i>
CH ₂ -28	1.65 <i>s</i>	0.94 <i>s</i>
CH ₂ -29	0.99 <i>s</i>	0.87 <i>s</i>
CH ₂ -30	1.10 <i>s</i>	1.04 <i>s</i>
OH-3	-----	3.63 (3.0) <i>d</i>
OH-22	3.62 (5.4) <i>d</i>	4.18 <i>s</i>

Los desplazamientos químicos (relativos al TMS) están dados en ppm y las constantes de acoplamiento (en paréntesis) en Hz. Las asignaciones se realizaron por una combinación de COSY Y HETCOR.

Tabla 6. Datos de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) de la 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49) y de la 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50)

Carbón	Compuesto	
	22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49)	3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50)
C-1	38.50	31.27
C-2	34.87	25.44
C-3	216.80	76.00
C-4	47.85	37.42
C-5	52.35	44.61
C-6	24.34	23.95
C-7	117.93	118.00
C-8	145.85	146.00
C-9	48.46	49.07
C-10	35.00	34.77
C-11	18.18	17.94
C-12	33.41	33.64
C-13	43.30	43.34
C-14	51.36	51.46
C-15	33.98	33.99
C-16	28.00	25.44
C-17	49.00	48.70
C-18	12.73	12.99
C-19	21.53	21.82
C-20	39.47	39.56
C-21	11.91	11.98
C-22	78.79	78.89
C-23	201.37	201.37
C-24	119.18	119.25
C-25	159.56	159.37
C-26	24.50	28.08
C-27	21.34	21.37
C-28	28.00	27.78
C-29	21.92	21.76
C-30	27.54	27.44

Los desplazamientos químicos están dados en ppm. Las asignaciones se realizaron con base en el análisis de los espectros DEPT y HETCOR y por comparación de los desplazamientos químicos con aquellos asignados a compuestos relacionados.

69

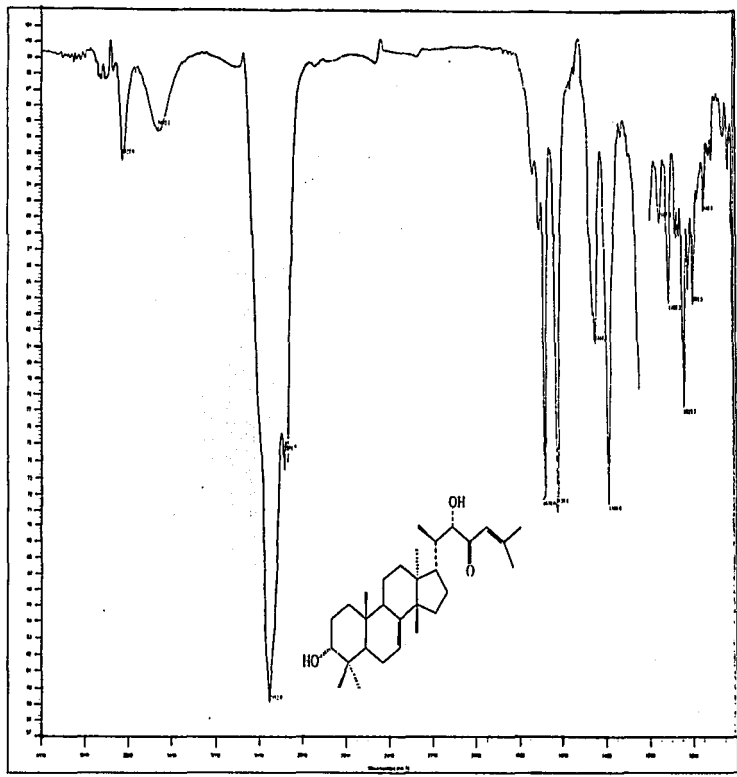


Figura 4. Espectro en el IR de la 3α,22S-dihydroxirucalan-7,24-dien-23-ona (50)

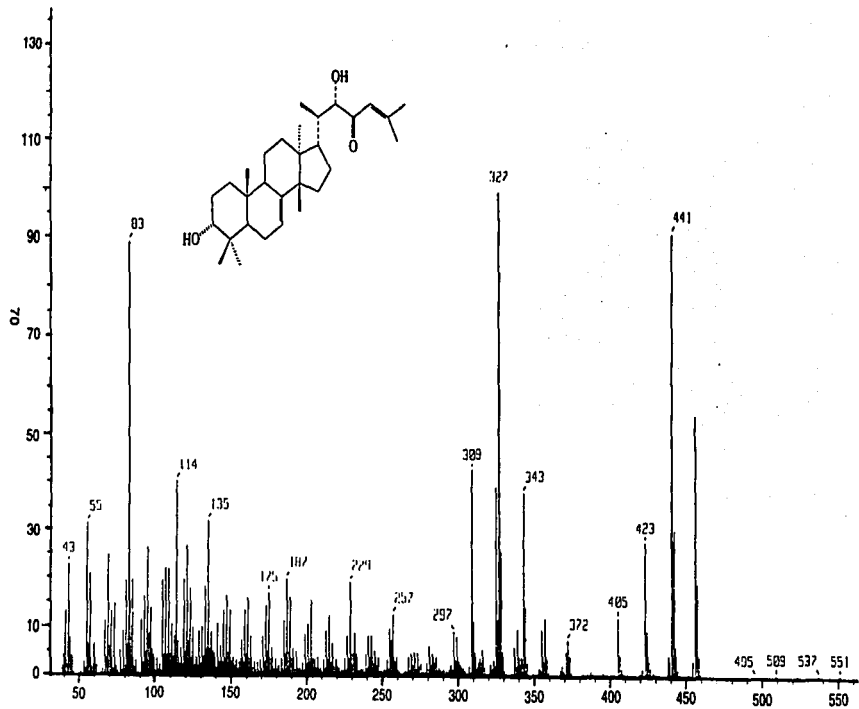


Figura 5. Espectro EMIE de la 3 α ,22S-dihydroxiturcalan-7,24-dien-23-ona (50)

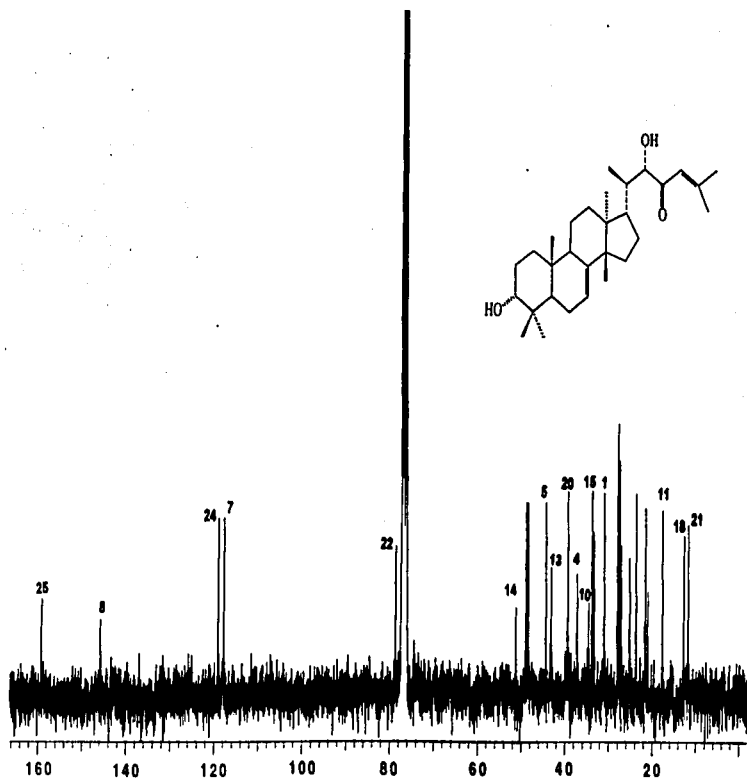


Figura 6. Espectro RMN- ^{13}C de la 3 α ,22S-dihydroxitrucalan-7,24-dien-23-ona (50)

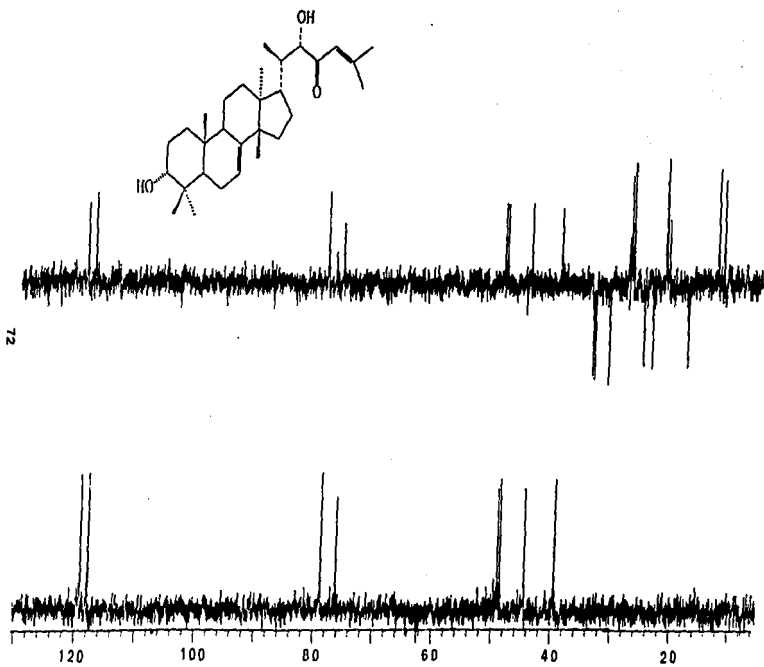


Figura 7. Espectro RMN- ^{13}C -DEPT de la 3 α ,22S-dihydroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50)

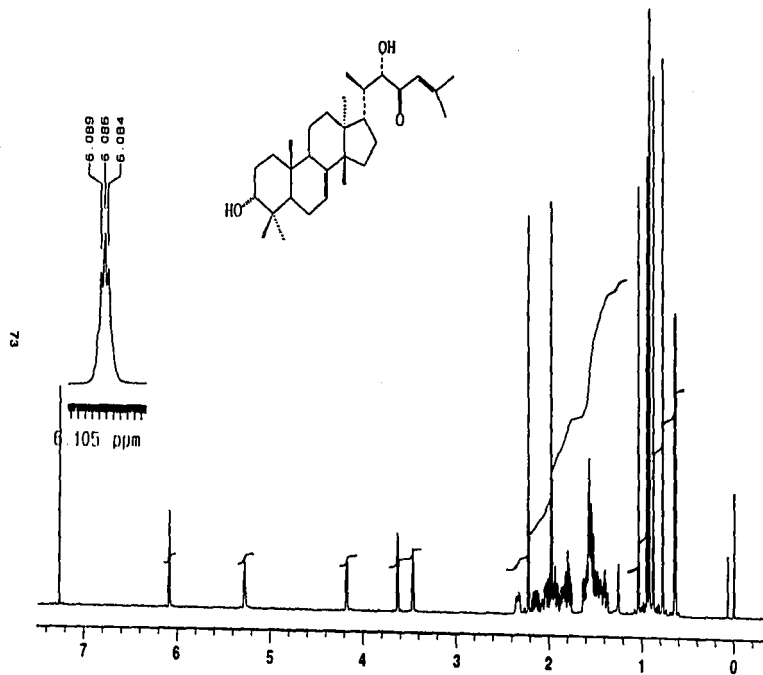


Figura 8. Espectro RMN- ^1H de la 3 α ,22S-dihydroxirucalan-7,24-dien-23-ona (50)

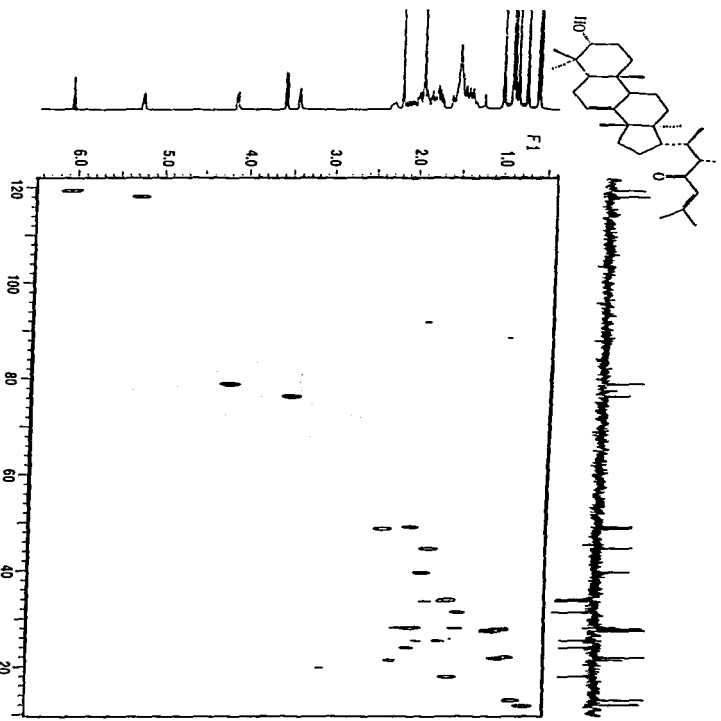


Figura 9. Espectro RMN-HETCOR de la 3α,22S-dihidrostitigatalan-7,24-dien-23-ona (9b)

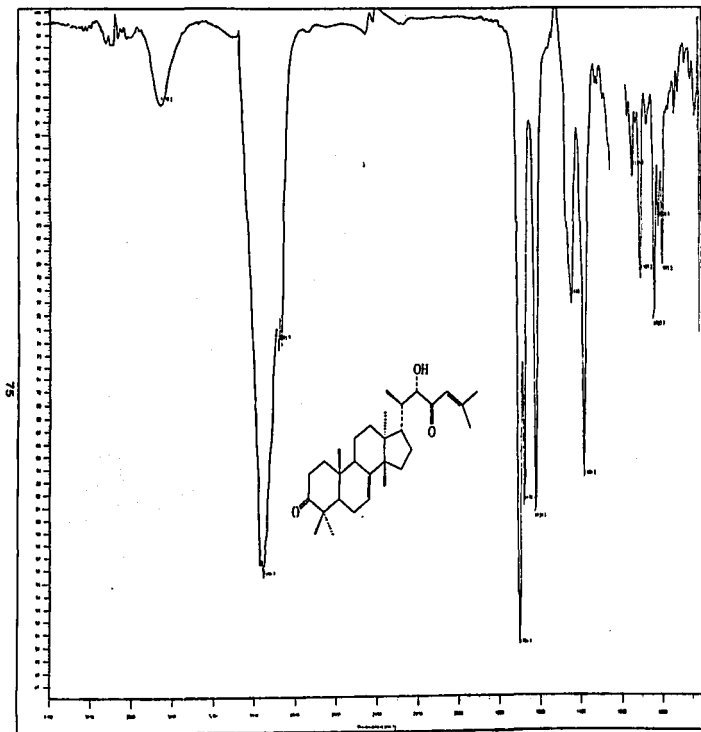


Figura 10. Espectro en el IR de la 22S-hidroxitfurcalan-7,24-dien-3,23-diona (48)

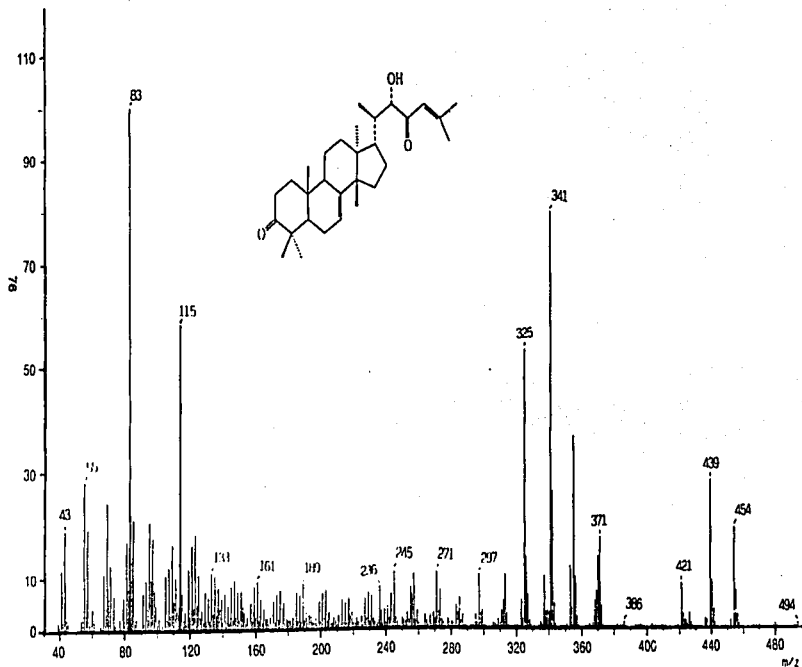


Figura 11. Espectro EMIE de la 22S-hidroxitrucalan-7,24-dien-3,23-diona (48)

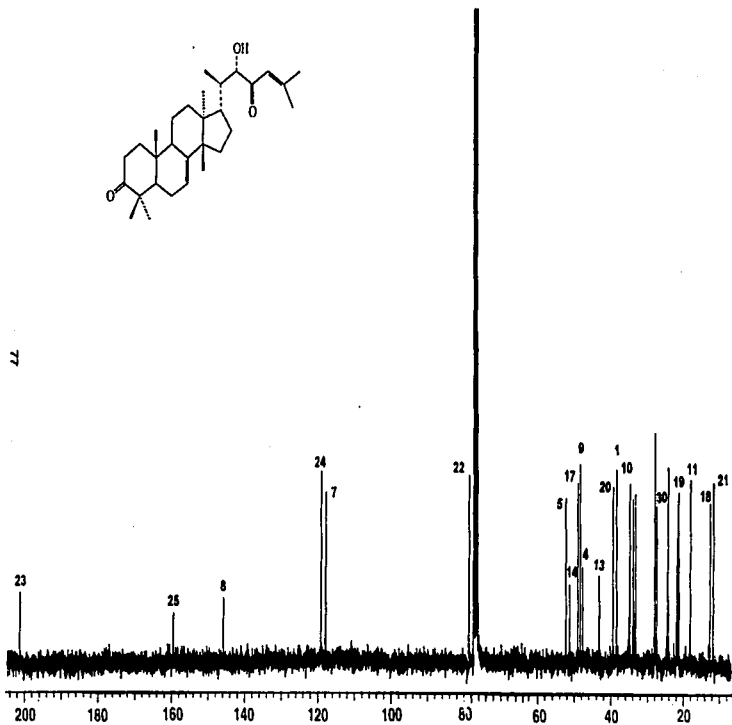
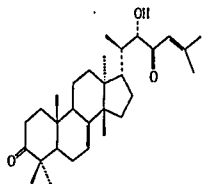


Figura 12. Espectro RMN-¹³C de la 22S-hidroxitrucalan-7,24-dien-3,23-diona (49)

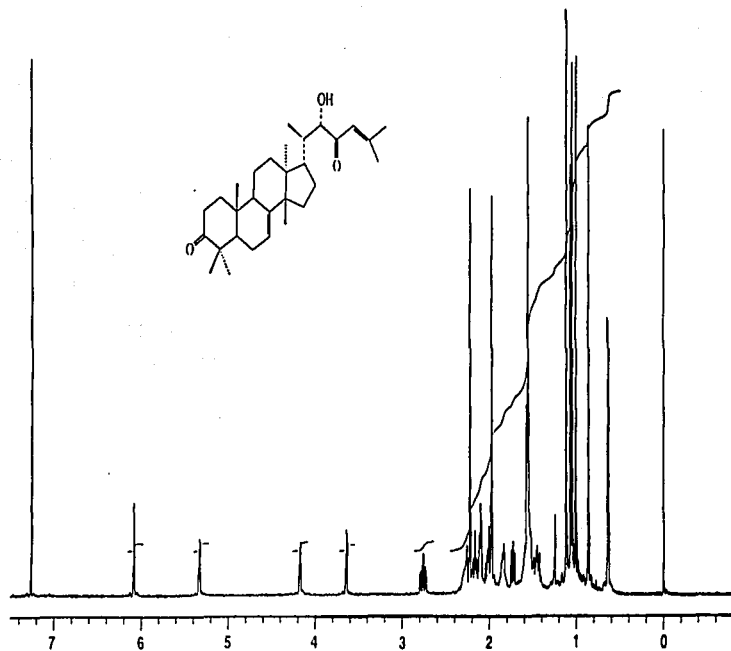


Figura 13. Espectro RMN- ^1H de la 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49)

4.2.2 Caracterización de la gedunina (3) y de la 7-desacetil-7-oxogedunina (14).

El fraccionamiento secundario de fracción primaria CO-G (Cuadro 5, sección experimental), permitió el aislamiento de dos productos, uno de ellos bajo la forma de un sólido cristalino de color blanco (2.04 g) y el otro como un polvo blanco (5.3 g), los cuales fueron identificados como la 7-desacetil-7-oxogedunina (14) y la gedunina (3), respectivamente.

Cabe señalar que las constantes espectroscópicas y espectrométricas de los compuestos (3) y (14) se encuentran en armonía con las de unas muestras auténticas obtenidas de la especie *Guarea grandifolia* (Villarreal, 1996). Las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de (3) y (14) se resumen en las Tablas 1a, 2a, 3a y 4a del Apéndice, donde se incluyen también los espectros correspondientes.

4.2.3 Caracterización del odoratol (20), isoodoratol (21) y odoratona (19)

Los compuestos odoratol (20), isoodoratol (21) y odoratona (19) se encuentran previamente descritos en la literatura como metabolitos de la especie *C. odorata*. Sus constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas se resumen en las Tablas 5a, 6a, 7a, 8a y 9a del Apéndice; asimismo, se incluyen los espectros correspondientes.

Cabe destacar, que los espectros de RMN-¹³C de estos tres metabolitos no han sido descritos en la literatura. La asignación de las señales se realizó con base en el análisis de los espectros DEPT, HMQC y por comparación de los desplazamientos químicos con aquellos asignados a compuestos relacionados (Guang-Yi, 1988). En el caso del odoratol (**20**), el análisis de difracción de rayos X (Figura 14) confirmó la estructura propuesta por Chan y colaboradores (1968).

4.2.4 Caracterización del β-sitosterol (39)

De la fracción secundaria activa CO-E5 (Cuadro 6) precipitaron espontáneamente 1.4 g de un sólido cristalino color blanco. El compuesto se caracterizó como el β-sitosterol (**39**) por comparación con una muestra auténtica.

4.2.5 Caracterización de los sesquiterpenos torreyol (51), (-)-α-cadinol (52) y cubenol (32).

Sucesivas cromatografías preparativas en capa delgada de gel de sílice de la fracción secundaria activa CO-CDB [(Cuadro 10), Sección experimental 3.8.8], condujeron al aislamiento de tres productos. El primero fue aislado como

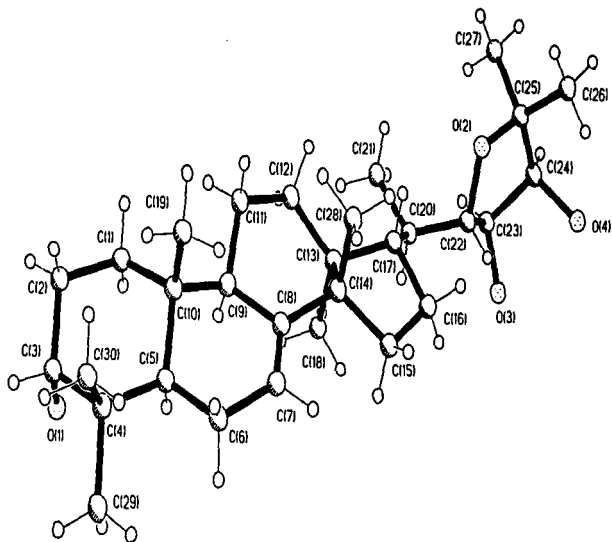


Figura 14. Vista estereoscópica del odoratol (20).

un aceite de color amarillo. El segundo y el tercero se obtuvieron bajo la forma de un polvo blanco. Éstos compuestos fueron identificados como el cubenol (**32**), el torreyol (**51**) y el (-)- α -cadinol (**52**), respectivamente.

El torreyol (**51**) se detectó previamente en el extracto de la madera de *C. odorata* mediante un análisis de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (Campos *et al.*, 1991). Sin embargo, el cubenol (**32**) y (-)- α -cadinol (**52**) representan nuevos metabolitos secundarios de la especie *C. odorata*.

Los metabolitos (**32**) y (**52**) presentan en el IR bandas asociadas con la presencia de grupos hidroxilo (3350 y 3373 cm^{-1} , respectivamente) e insaturaciones olefinicas (1451 cm^{-1} en **32**; 1452 cm^{-1} en **52**) (Figuras 17 y 21).

Los espectros de masas de los dos compuestos presentan el ion molecular con una relación m/z de 222 uma, (Figuras 18 y 22). Este ion molecular permite establecer una fórmula molecular de $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$, en los dos casos.

Los espectros de RMN de ^{13}C y ^1H (Figuras 19 y 23) permiten comprobar que los dos productos naturales son sesquiterpenoides del tipo cadinano (ver Figura 15), con una función alcohólica cuaternaria y una doble ligadura trisustituída (Borg-Karlson y Norin, 1981; Claeson *et al.*, 1991; Nagashima *et al.*, 1994; Bordoloi *et al.*, 1989; Labbe *et al.*, 1993; Bohman *et al.*, 1981;

Sankaraman *et al.*, 1981). Las evidencias más importantes se discuten a continuación:

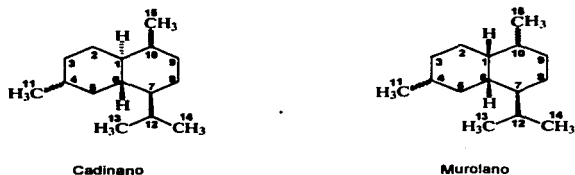


Figura 16. Estructuras base de los núcleos cadinano y murolano

1.- Los espectros de RMN ^{13}C presentan señales para 15 átomos de carbono en congruencia con la fórmula molecular establecida por EM. El análisis de los espectros DEPT permitió discriminar las señales de los carbonos en cuaternarios, metinos, metilenos y metilos (ver Tabla 11). Como característica común, en los espectros de ^{13}C se observaron dos señales para una doble ligadura trisustituída ($\delta_{\text{C-4}}$ 135.16, $\delta_{\text{C-5}}$ 119.84 en **32**; $\delta_{\text{C-4}}$ 134.99, $\delta_{\text{C-5}}$ 122.36 en **52**). En ambos casos, la señal correspondiente al metino olefínico correlaciona en el espectro HETCOR con la única absorción olefínica presente en los espectros de RMN ^1H de los productos naturales (δ_{H} 5.42 en **32** y δ_{H} 5.50 en **52**).

2.- De manera adicional, los espectros de ^{13}C presentan una absorción para una función alcohólica cuaternaria (δ_{C} 70.70 en **32** y δ_{C} 72.39 en **52**).

3.- Las doce señales restantes presentes en el espectro de ^{13}C se asignaron a cuatro metilos, cuatro metilenos, cuatro metinos y un carbono cuaternario, todos alifáticos (ver Tabla 10).

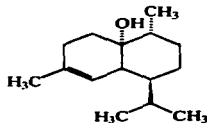
Los metilos en δ_{C} 23.66 y δ_{C} 23.80 de los compuestos (**32**) y (**52**), respectivamente, muestran una correlación en el espectro HETCOR con el singlete ancho en δ_{H} 1.71 y δ_{H} 1.68, respectivamente. El desplazamiento químico en el espectro de RMN- ^1H de estos metilos es consistente con su ubicación sobre la doble ligadura trisustituída. Así mismo, los desplazamientos químicos de los metilos sobre doble ligadura y de las absorciones vinílicas en los espectros de los RMN ^{13}C de ambos compuestos son congruentes con la disposición de la doble ligadura entre los carbonos 4 y 5 en los dos compuestos. La apariencia de la señal olefínica como un singlete ancho en δ_{H} 5.42 en (**32**) y δ_{H} 5.50 en (**52**), permite establecer la fusión *trans* de los anillos del esqueleto base (Borg-Karlson y Norin, 1981; Claeson *et al.*, 1991; Nagashima *et al.*, 1994; Bordoloi *et al.*, 1989; Labbe *et al.*, 1993; Bohlman *et al.*, 1981; Sankaraman *et al.*, 1981).

La asignación de la disposición y de la estereoquímica de los hidroxilos en los compuestos (**52**) y (**32**) se realizó con base en la magnitud de los desplazamientos químicos observados para los carbonos de tipo carbinólico, el

metilo en C-10 y para C-1. Al comparar los desplazamientos químicos de los carbonos antes mencionados con los correspondientes a una serie de modelos previamente descritos en la literatura (Borg-Karlson y Norin, 1981; Claeson *et al.*, 1991; Nagashima *et al.*, 1994; Bordoloi *et al.*, 1989; Labbe *et al.*, 1993; Bohlman *et al.*, 1981; Sankaraman *et al.*, 1981) se encontró que eran idénticos a los del (-)- α -cadinol y cubenol, respectivamente.

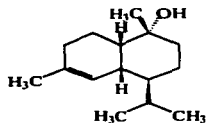
El producto (**51**) resultó muy similar al (**52**) difiriendo exclusivamente en la fusión de los anillos. En el caso de (**51**) la fusión de los anillos A y B se determinó como *cis* con base en la magnitud del desplazamiento químico y la multiplicidad de la señal vinílica en δ_H 5.52 (Borg-Karlson y Norin, 1981). En consecuencia el producto se identificó como el torreyol, el cual presenta un núcleo de muroloano (ver Figura 15), en lugar de cadinano como en el caso de los compuestos (**52**) y (**51**). Es importante mencionar que los datos físicos, espectroscópicos y espectrométricos encontrados para los productos (**32**), (**51**) y (**52**) [tablas 10, 11, 12 y 13] resultaron idénticos a los previamente descritos para los sesquiterpenoides cubenol (Nagashima *et al.*, 1994), torreyol (Campos *et al.*, 1991; Borg-Karlson y Norin, 1981) y (-)- α -cadinol (Borg-Karlson y Norin, 1981; Labbe *et al.*, 1993; Claeson *et al.*, 1991; Nagashima *et al.*, 1994), respectivamente.

Tabla 7. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del cubenol (32).



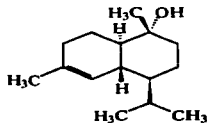
FM	$C_{19}H_{26}O$
PM	222
p.f.	90-93°C
IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} (Figura 16)	3310, 1722, 1430, 1123
EMIE m/z (int rel) (Figura 17)	222 [M^+], 204 [M-18 (55)], 179 (71), 161 (100), 119 (39), 105 (22)

Tabla 8. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del torreyol (51)



FM	$C_{15}H_{26}O$
PM	222
p.f.	106-109°C
IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} (Figura 27)	3314, 1727, 1450, 1127
EMIE m/z (int rel) (Figura 28)	222 [M^+], 204 [M-18 (40)], 161 (100), 119 (50), 105 (36), 95 (31), 43 (36)

Tabla 9. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del (-)- α -cadinol (52).



FM	$C_{15}H_{26}O$
PM	222
p.f.	47-50°C
$[\alpha]_D$	-37.0
IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} (Figura 21)	3373, 3008, 1718, 1452, 1123
EMIE m/z (int rel) (Figura 22)	222 [M^+ (12)], 204 [$M-18$ (61)], 161 (54), 164 (45), 121 (93), 109 (38), 95 (100), 81 (37), 79 (30), 43 (61)

Tabla 10. Datos de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) del del cubenol (**32**), torreyol (**51**) y (-)- α -cadinol (**52**).

Protón	Compuesto		
	cubenol (32)	torreyol (51)	(-)- α -cadinol (52)
H-5	5.42 s	5.52 (1.5, 5.4) dq	5.50 sa
CH ₂ -11	1.25 s	1.66 s	1.68 s
CH ₂ -13	0.92 (4.57) d	0.89 (6.9) d	0.92 (6.9) d
CH ₂ -14	0.74 (6.71) d	0.82 (6.9) d	0.77 (6.9) d
CH ₂ -15	0.94 (4.27) d	1.29 s	1.11 (0.6) d

Tabla 11. Datos de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) del cubenol (**32**), torreyol (**51**) y (-)- α -cadinol (**52**).

Carbón	Compuesto		
	cubenol (32)	torreyol (51)	(-)- α -cadinol (52)
C-1	70.72	45.55	50.02
C-2	30.22	21.53	21.90
C-3	26.86	31.13	30.91
C-4	135.16	134.00	134.99
C-5	119.84	124.64	122.36
C-6	46.06	36.78	39.80
C-7	39.87	44.11	46.70
C-8	24.13	18.49	22.70
C-9	25.94	35.34	42.20
C-10	32.12	72.53	72.39
C-11	29.35	23.57	26.00
C-12	14.90	26.41	21.10
C-13	21.36	15.30	15.09
C-14	15.02	21.63	20.8
C-15	23.66	27.94	23.80

Los desplazamientos químicos están dados en ppm. Las asignaciones se realizaron con base en el análisis de los espectros DEPT y HETCOR y por comparación de los desplazamientos químicos con aquellos asignados a compuestos relacionados

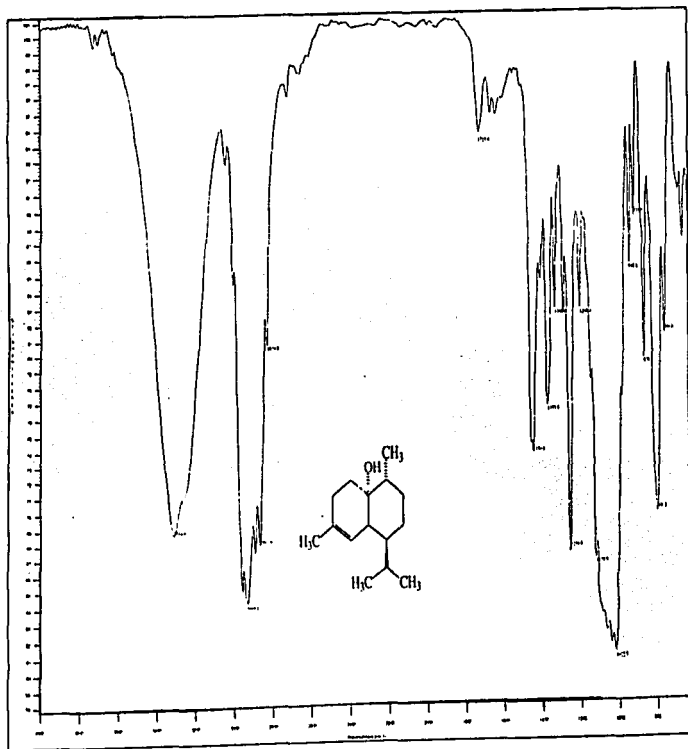


Figura 20 Espectro en el IR del cubenol (32)

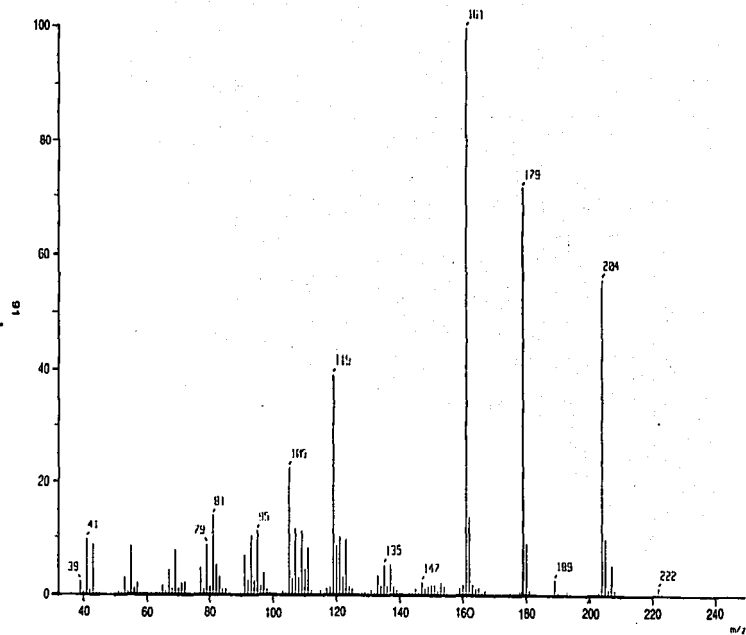


Figura 17. Espectro EMIE del cubenol (32)

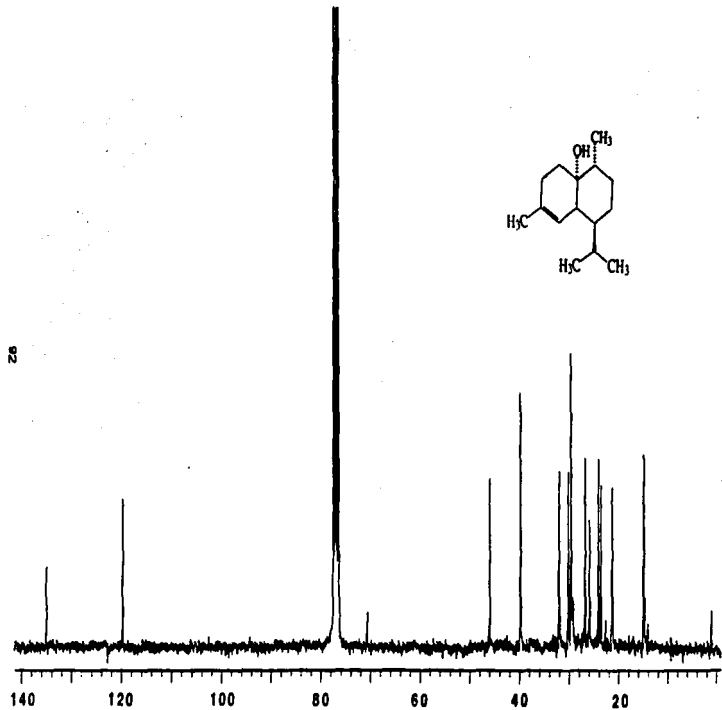


Figura 18. Espectro RMN- ^{13}C del cubenol (32)

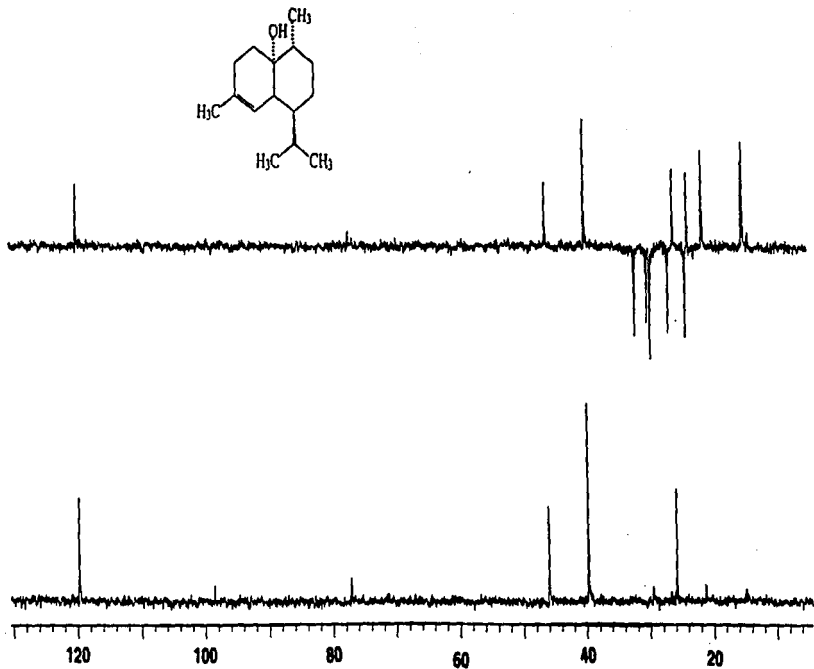


Figura 19. Espectro RMN- ^{13}C -DEPT del cubenol (32)

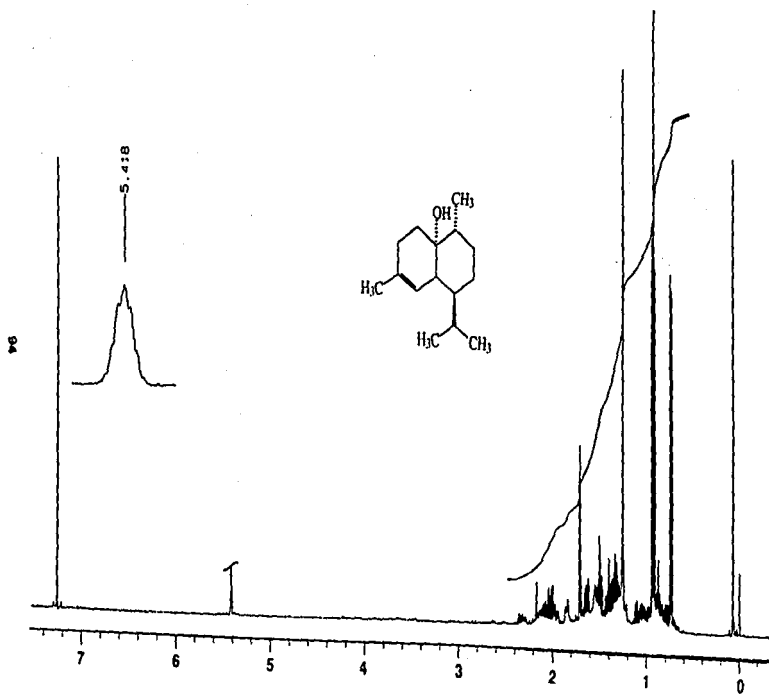


Figura 20. Espectro RMN- ^1H del cubenol (32)

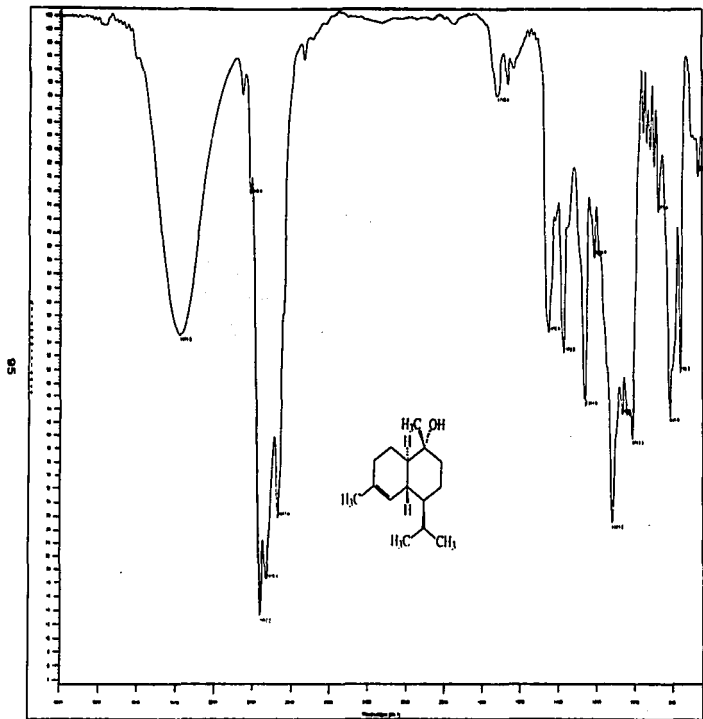


Figura 21. Espectro en el IR del (-)-α-cadinol (82)

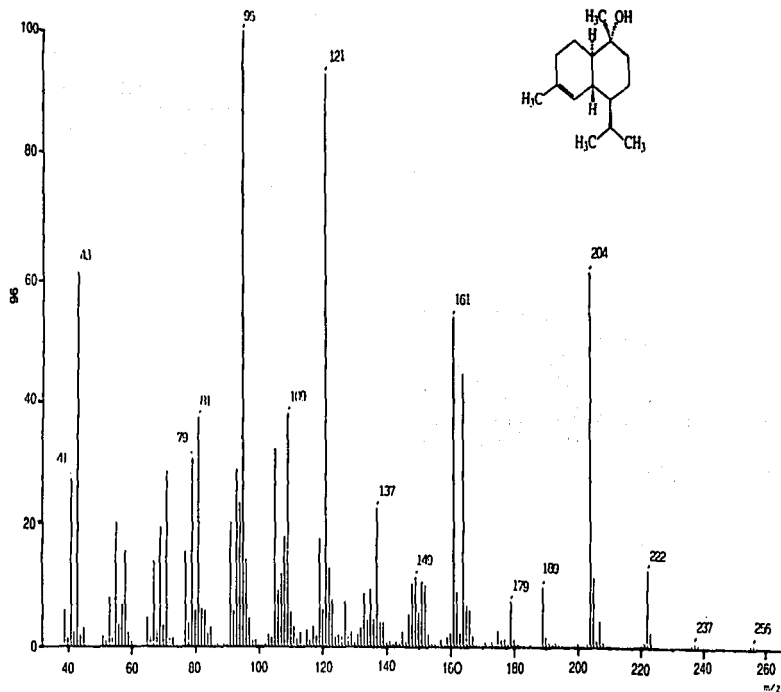


Figura 22. Espectro EMIE del (-)-α-cadinol (52)

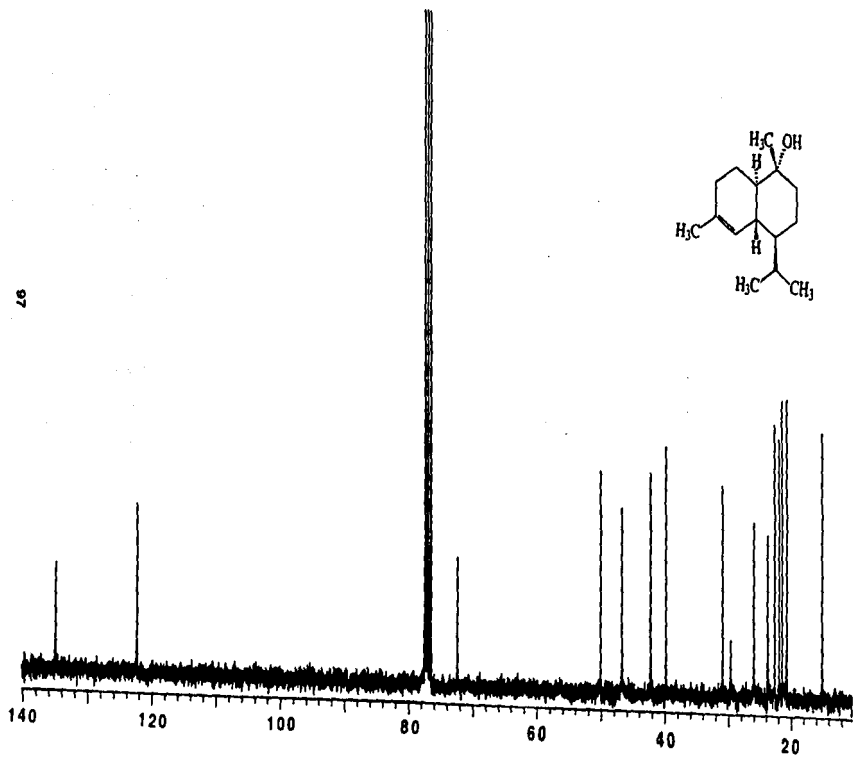


Figura 23. Espectro RMN- ^{13}C del (-)- α -cadinol (52)

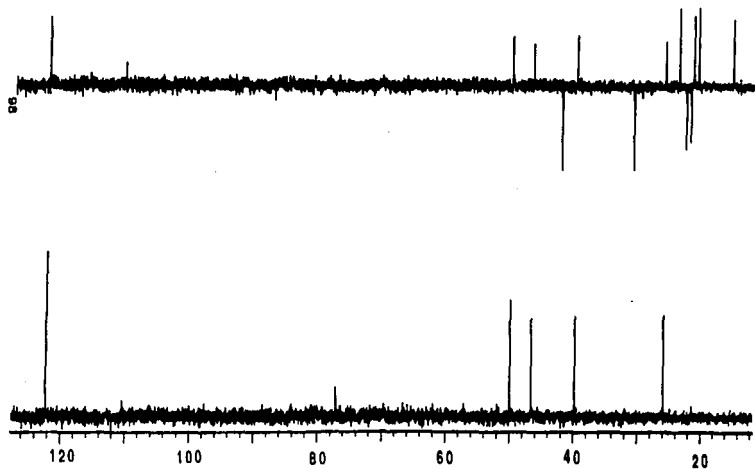
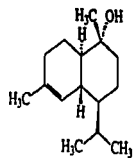


Figura 24. Espectro RMN- ^{13}C -DEPT del (-)- α -cadinol (52)

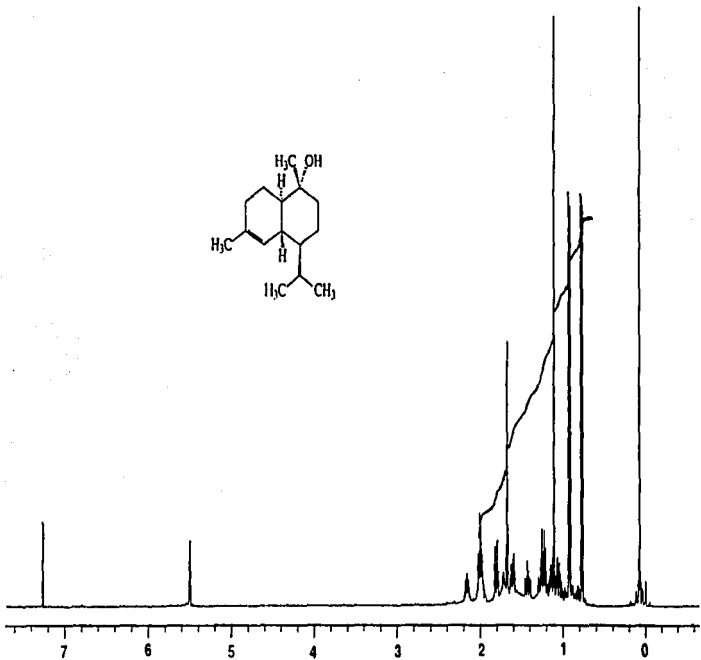
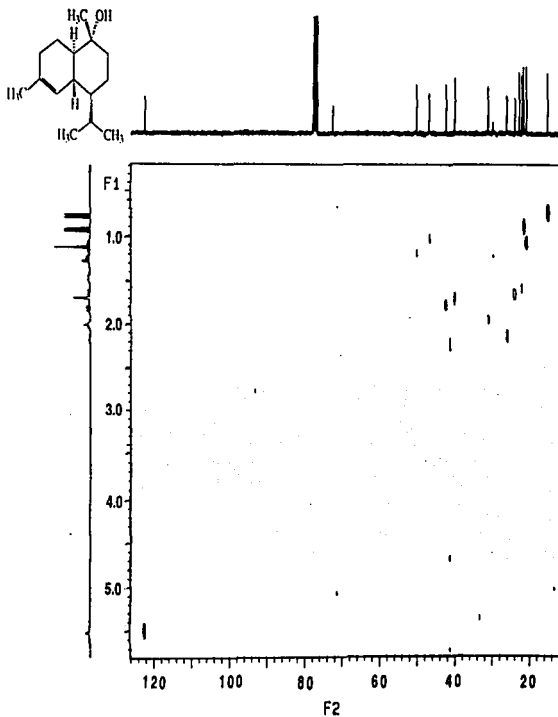


Figura 25. Espectro RMN-¹H del (-)-α-cadinol (52)



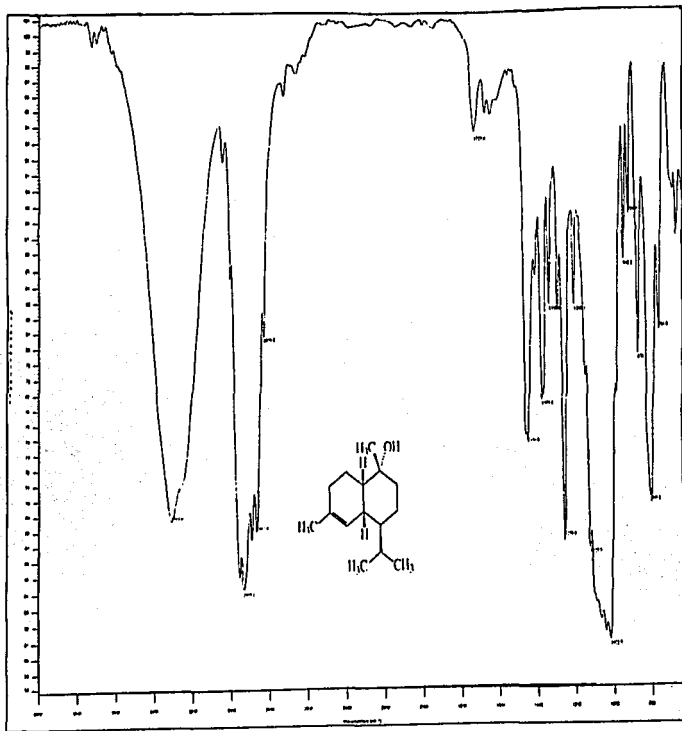


Figura 27. Espectro en IR del torreyol (51)

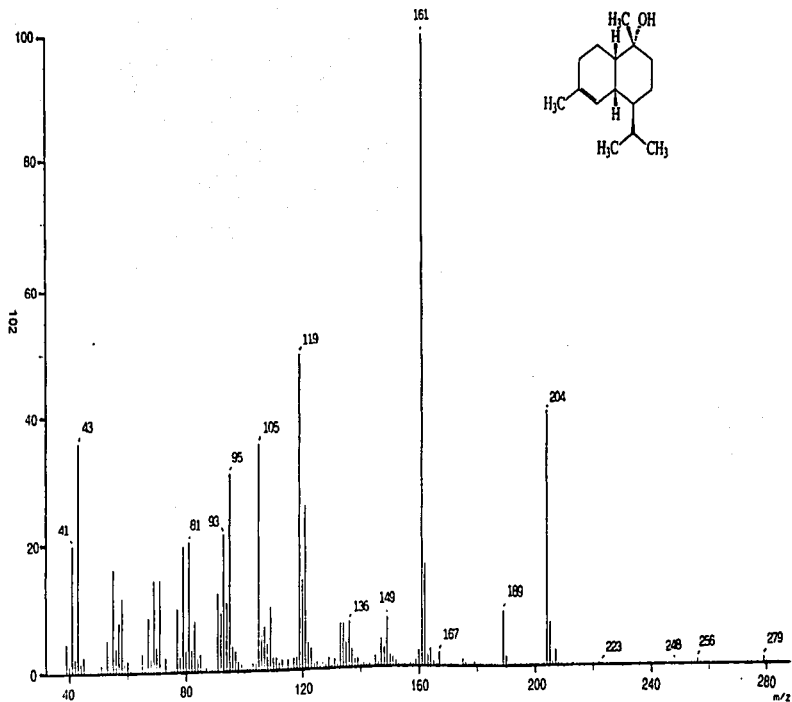


Figura 28. Espectro EMIE del torreyol (51)

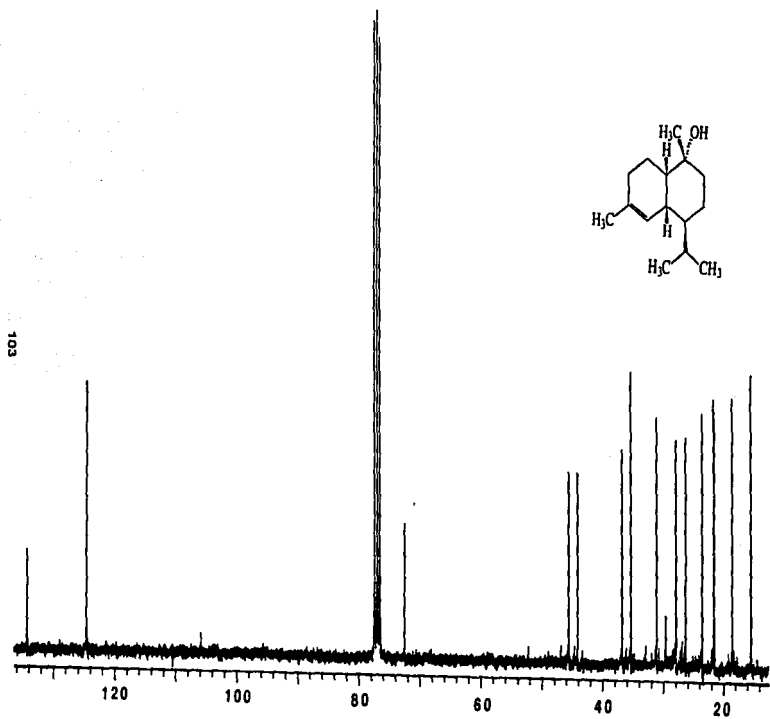


Figura 29. Espectro RMN- ^{13}C del torreyol (51)

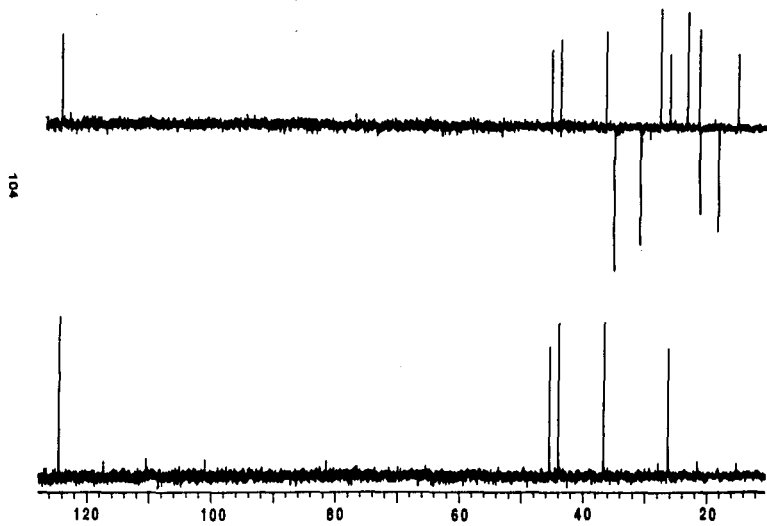
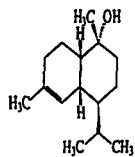
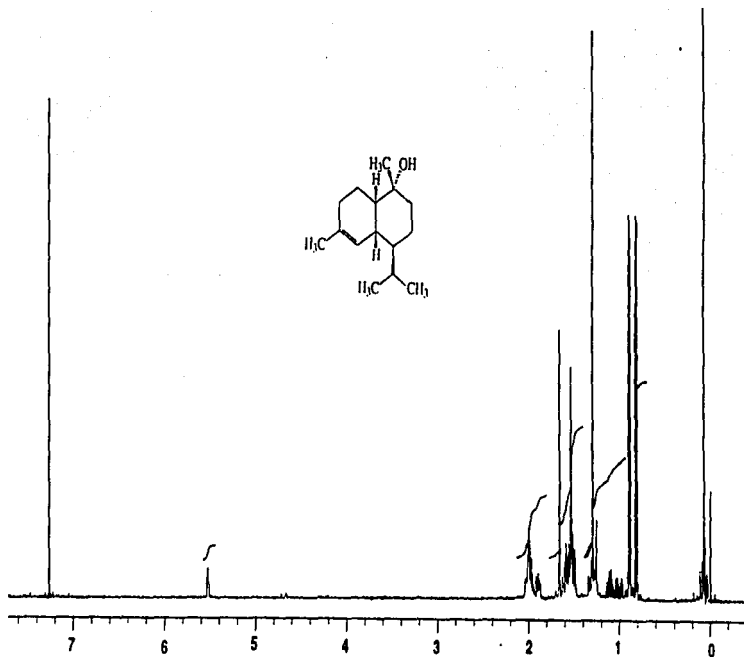


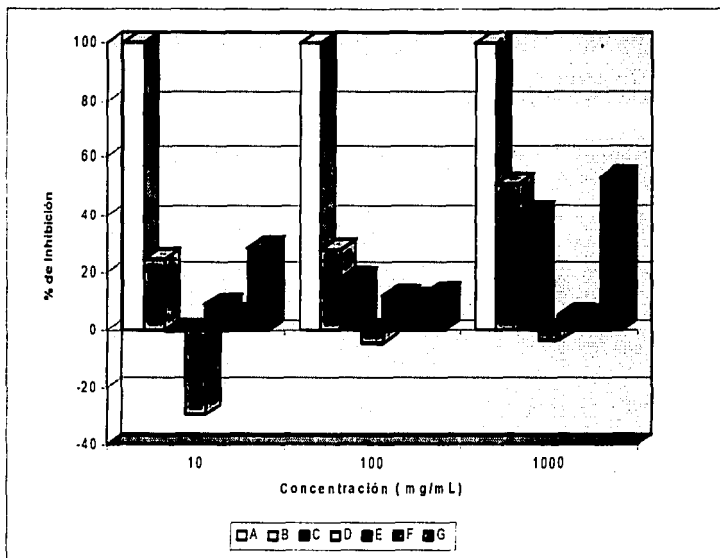
Figura 30. Espectro RMN- ^{13}C -DEPT del torreyol (51)

Figura 31. Espectro $\text{RMN-}^1\text{H}$ del torreyol (51)

4.3 Actividades biológicas de los constituyentes puros aislados de *Cedrela odorata*

De acuerdo con el diseño experimental planteado en esta investigación, se realizaron una serie de ensayos biológicos, cuya finalidad fue la determinación del potencial herbicida y espasmolítico de los compuestos aislados de *Cedrela odorata*. En primer lugar, se discutirán los resultados relacionadas con la evaluación del efecto de los metabolitos secundarios sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus*. Los compuestos ensayados se obtuvieron de fracciones fitotóxicas e incluyeron los siguientes: la 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (**49**), la 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (**50**), el odoratol (**20**), el isodoratol (**21**), la odoratona (**19**), el torreyol (**51**) y el (-)- α -cadinol (**52**).

En todos los casos el rango de concentración utilizado para las evaluaciones fue de 10 a 1000 $\mu\text{g/mL}$. Los resultados de las evaluaciones conducidas con los productos antes señalados se muestran en la Gráfica 4, y se encuentran expresados como porcentajes de inhibición del crecimiento radicular de la especie de prueba. De acuerdo a estas determinaciones los constituyentes más activos fueron el (-)- α -cadinol (**52**), el torreyol (**51**) y la odoratona (**19**). El (-)- α -cadinol inhibe totalmente el crecimiento y la germinación de *A. hypochondriacus* a las concentraciones de prueba. Así mismo, la



Gráfica 4. Efecto de los compuestos aislados de *C. odorata* sobre el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus*.

A: (-)- α -cadinol (**52**)

C: $3\alpha,22S$ -dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (**50**)

E: odoratol (**20**)

G: odoratona (**19**)

B: torreyol (**51**)

D: $22S$ -hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (**49**)

F: isodoratol (**21**)

odoratona (19) y el torreyol (51) inhiben de manera menos drástica, pero significativa, el crecimiento radicular de la semilla de prueba, encontrándose que el efecto inhibitor es dependiente de la concentración.

Los compuestos (20), (21), (49) y (50) no demostraron un efecto inhibitor apreciable del crecimiento radicular, observándose que el compuesto (49) en el rango de concentraciones utilizado estimula el crecimiento radicular de la especie de prueba. La gedunina (3) y su derivado (14) no se evaluaron ya que previamente se demostró que ninguno de los dos compuestos afecta el crecimiento vegetal (Villarreal, 1996).

Este trabajo constituye la primera descripción de las propiedades fitotóxicas para la odoratona (19). Este hallazgo aunado a los resultados previamente descritos para el melianotriol (Villarreal, 1996) aislado de *Guarea grandifolia*, indican que los protolimonoides poseen actividades fitotóxicas significativas.

En relación a la notable actividad fitotóxica demostrada por los sesquiterpenoides (-)- α -cadinol y torreyol, cabe mencionar que previamente Yatagai *et al.*, (1991) demostraron que el aceite esencial de *Cryptomeria japonica* que contiene cadinol, torreyol, β -eudesmol y cedrol, entre otros, retardan la germinación de las semillas de rábano.

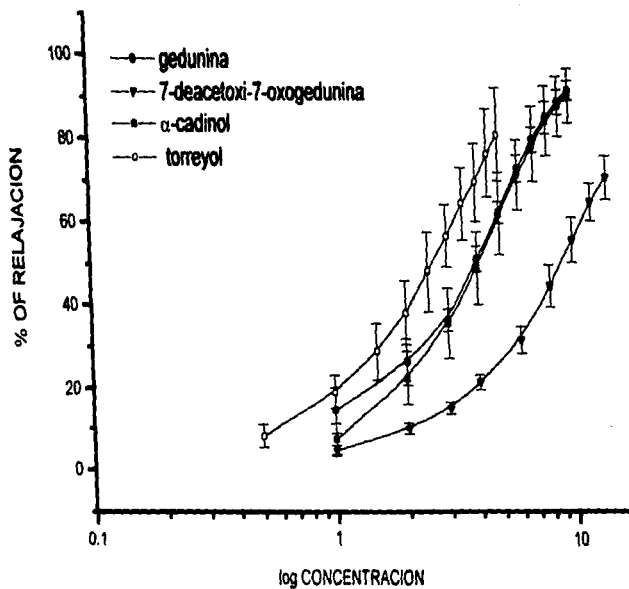
La evaluación del efecto relajante de la musculatura lisa *in vitro* de los compuestos (3), (14), (19), (20), (21), (50), (51) y (52), se realizó utilizando la

misma metodología que para el caso de las fracciones primarias y el extracto original (Zygmunt *et al.*, 1993; Kachur *et al.*, 1986). Estos ensayos permitieron determinar que la gedunina (3), la 7-desacetil-7-oxogedunina (14), el (-)- α -cadinol (52) y el torreyol (51), inhiben de manera notable las contracciones inducidas por despolarización con KCl en el ileon de cobayo. Los resultados de esta determinación se resumen en la Gráfica 5. En la Tabla 11 se resumen los valores de Cl_{50} para cada uno de los compuestos. De acuerdo a los valores enlistados en la Tabla 12 el torreyol (51) y la gedunina (3) son los compuestos más potentes como relajantes de la musculatura lisa.

Tabla 12. Valores de Cl_{50} para los compuestos aislados y caracterizados

Compuesto	Cl_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
(-)- α -cadinol (52)	2.38
torreyol (51)	4.09
gedunina (3)	3.27
7-desacetil-7-oxogedunina (14)	8.76
3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50)	48.78
odoratona (19)	52.36
odoratol (20)	86.09
isodorato (21)	66.97

En el caso de los sesquiterpenoides los resultados farmacológicos derivados en el presente estudio se encuentran en armonía con los descritos por Zygmunt *et al.*, (1993), quienes comprobaron que el torreyol, el α -cadinol y otros compuestos relacionados inhiben las contracciones inducidas por KCl



Gráfica 5. Efecto relajante de los compuestos aislados sobre la contractilidad de íleon de cobayo inducido por despolarización con KCl (60mM).

(60mM) en aorta aislada de rata. También estos mismos autores demostraron mediante experimentos de unión a receptores que el torreyol y el α -cadinol se comportan como antagonistas competitivos del calcio.

Por otro lado, en el caso de la gedunina (3) y la 7-desacetil-7-oxogedunina (14), la presente investigación constituye la primera descripción de sus propiedades relajantes de la musculatura lisa. Aún más, de acuerdo a una revisión bibliográfica exhaustiva este tipo de propiedad no ha sido descrito previamente para limonoide alguno.

Por último cabe destacar que, los sesquiterpenoides cubenol, (-)- α -cadinol y torreyol han demostrado previamente actividad antifúngica, antimicrobiana e insecticida específicamente contra las termitas (Kondo e Imamura, 1986; Yamaguchi y Sato, 1985; Yatagai *et al.*, 1991; Kinjo *et al.*, 1988; McDaniel, 1989). Así mismo, como se indicó anteriormente la gedunina (3) ha demostrado propiedades antimaláricas e insecticidas.

V. RESUMEN Y CONCLUSIONES

1.- En el presente estudio se determinó el potencial espasmolítico de la especie *C. odorata* mediante la evaluación del efecto relajante sobre la contracción tónica de ileón de cobayo inducida por despolarización con K^+ (60mM). De manera adicional, se investigó el potencial herbicida de la especie a través de la determinación del efecto del extracto de la madera sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus*.

2.- El fraccionamiento biodirigido del extracto orgánico activo de la madera (extracto $CHCl_3$), permitió el aislamiento y la caracterización de dos limonoides [gedunina (3) y 7-desacetil-7-oxogedunina (14)], cinco protolimonoides [odoratol (20), isodoratol (21), odoratona (19), 22S-hidroxitirucalan-7,24-dien-3,23-diona (49) y 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50)], tres sesquiterpenoides [torreyol (51), (-)- α -cadinol (52) y cubenol (32)], y un esteroil [sitosterol (39)]. La 3 α ,22S-dihidroxitirucalan-7,24-dien-23-ona (50) constituye un nuevo producto natural.

En general, la caracterización de los productos naturales se realizó por métodos químicos y espectroscópicos. En el caso del odoratol (20), la determinación inequívoca de su estructura se realizó mediante un análisis de difracción de rayos X.

De manera adicional, el análisis por cromatografía de gases acoplada a

espectrometría de masas permitió la detección de 17 sesquiterpenoides adicionales.

3.- Se determinó el efecto regulador del crecimiento vegetal de los productos naturales aislados del extracto fitotóxico, encontrándose que los sesquiterpenoides (-)- α -cadinol (**52**) y torreyol (**51**), así como el triterpenoide odoratona (**19**), inhiben de manera significativa el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus*.

4.- El extracto de la planta, así como el limonoide gedunina (**3**) y los sesquiterpenoides torreyol (**51**) y (-)- α -cadinol (**52**) demostraron un efecto espasmolítico importante mismo, que podría estar correlacionado con el uso popular de esta especie como agente antiespasmódico.

5.- La especie *Cedrela odorata* constituye una fuente potencial de compuestos con propiedades espasmolíticas y reguladoras del crecimiento vegetal.

VI. PERSPECTIVAS

Completar el estudio fitoquímico de las fracciones de mayor polaridad para así determinar de manera integral el contenido metabólico secundario de la especie *C. odorata* L.

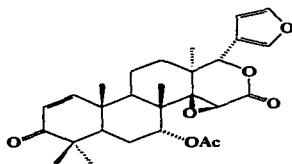
Determinar el efecto sobre el crecimiento vegetal de los productos

naturales utilizando otras semillas vegetales de prueba con la finalidad de ampliar el conocimiento de estos compuestos como agentes reguladores del crecimiento vegetal.

Establecer el(los) mecanismo(s) mediante el cual la gedunina (**3**) y la 7-desacetil-7-oxogedunina (**14**) ejercen su efecto relajante de la musculatura lisa.

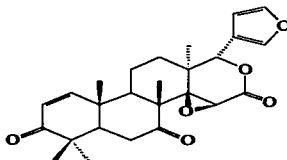
APÉNDICE

Tabla 1a. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la gedunina (3)



FM	$C_{28}H_{34}O_7$
PM	482
p.f.	218°C
$[\alpha]_D$	-44° (CHCl ₃)
IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} (Figura 1a)	3452, 1736, 1708, 1670, 1514, 1288, 1028, 820
EMIE m/z (Int rel) (Figura 2a)	482 [M ⁺ (9)], 467 [M-15 (1)], 423 [M ⁺ +H-60 (2)], 407 (7), 379 (3), 328 (17), 299 (100), 281 (5), 257 (6), 256 (5), 213 (7), 163 (12), 149 (25), 137 (15), 121 (12), 95 (16), 69 (16), 43 (26).

Tabla 2a. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la 7-desacetil-7-oxogedunina (14)



FM	C₂₆H₃₀O₆
PM	438.51
p.f.	262-265°C
[α]_D	50 (CHCl₃)
IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹ (Figura 5a)	3452, 3044, 1736, 1708, 1670, 1504, 1288, 1030, 818
EMIE-FAB, m/z (Int rel) (Figura 6a)	439 [M+ (2)], 423 [M-15 (5)], 395 (5), 368 (4), 368 (4), 316 (23), 315 (100), 297 (7), 256 (1), 236 (5), 189 (4), 161 (10), 137 (12), 135 (11), 95 (13), 69 (12), 43 (11)

Tabla 3a. Datos de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) de la gedunina (**3**) y 7-desacetil-7-oxogedunina (**14**)

Protón	Compuesto	
	gedunina (3)	7-desacetil-7-oxogedunina (14)
H-1	7.09 (10.15) <i>d</i>	7.11 (10.2) <i>d</i>
H-2	5.866 (10.15) <i>d</i>	5.92 (9.9) <i>d</i>
H-5	2.17 (13.05, 2.55) <i>dd</i>	2.15 (12.3, 2.4) <i>dd</i>
H-6	1.90 <i>m</i>	2.90 (12.3) <i>t</i> , 2.40 (12.3, 3.2) <i>dd</i>
H-7	4.55 (2.1, 3.6) <i>dd</i>	-----
H-9	2.49 (12.45, 6.0) <i>dd</i>	2.19 (12.3, 1.2) <i>dd</i>
H-15	3.53 <i>s</i>	3.94 <i>s</i>
H-17	5.62 <i>s</i>	5.5 <i>s</i>
H-21	7.41 <i>sa</i>	7.41 (0.3) <i>t</i>
H-22	6.34 (1.5, 1.65) <i>dd</i>	6.34 (1.2)
H-23	7.41 <i>sa</i>	7.42 (0.9, 0.6) <i>dd</i>
CH ₃ -18	1.07 <i>s</i>	1.2 <i>s</i>
CH ₃ -19	1.06 <i>s</i>	1.2 <i>s</i>
CH ₃ -28	1.15 <i>s</i>	1.08 <i>s</i>
CH ₃ -29	1.25 <i>s</i>	1.16 <i>s</i>
CH ₃ -30	1.22 <i>s</i>	1.14 <i>s</i>
CH ₂ COO-7	2.10 <i>s</i>	-----

Los desplazamientos químicos (relativos al TMS) están dados en ppm y las constantes de acoplamiento (en paréntesis) en Hz. Las asignaciones se realizaron por una combinación de COSY Y HETCOR.

Tabla 4a. Datos de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) de la gedunina (**3**) y su derivado.

Carbón	Compuesto	
	gedunina (3)	7-desacetil-7-oxogedunina (14)
C-1	156.85	155.88
C-2	125.99	126.42
C-3	203.87	203.70
C-4	44.04	44.20
C-5	46.04	47.58
C-6	23.40	36.67
C-7	73.22	208.00
C-8	42.63	45.22
C-9	39.54	53.56
C-10	40.20	39.60
C-11	15.10	17.17
C-12	26.10	32.21
C-13	38.73	37.72
C-14	69.76	65.70
C-15	56.89	54.54
C-16	167.10	166.83
C-17	78.24	77.95
C-18	17.73	17.36
C-19	19.74	19.82
C-20	120.42	120.10
C-21	143.06	143.09
C-22	109.84	107.95
C-23	141.18	141.00
C-28	27.10	20.93
C-29	21.24	20.62
C-30	18.10	26.93

Los desplazamientos químicos están dados en ppm. Las asignaciones se apoyaron por DEPT y por comparación de los desplazamientos químicos con aquellos asignados a compuestos relacionados.

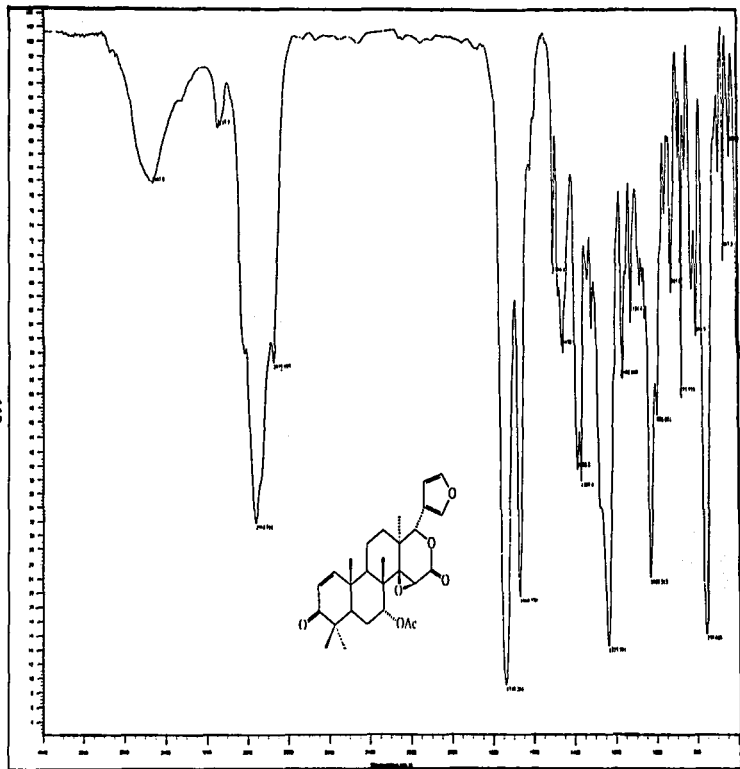


Figura 1a. Espectro en el IR de la gedunina (3)

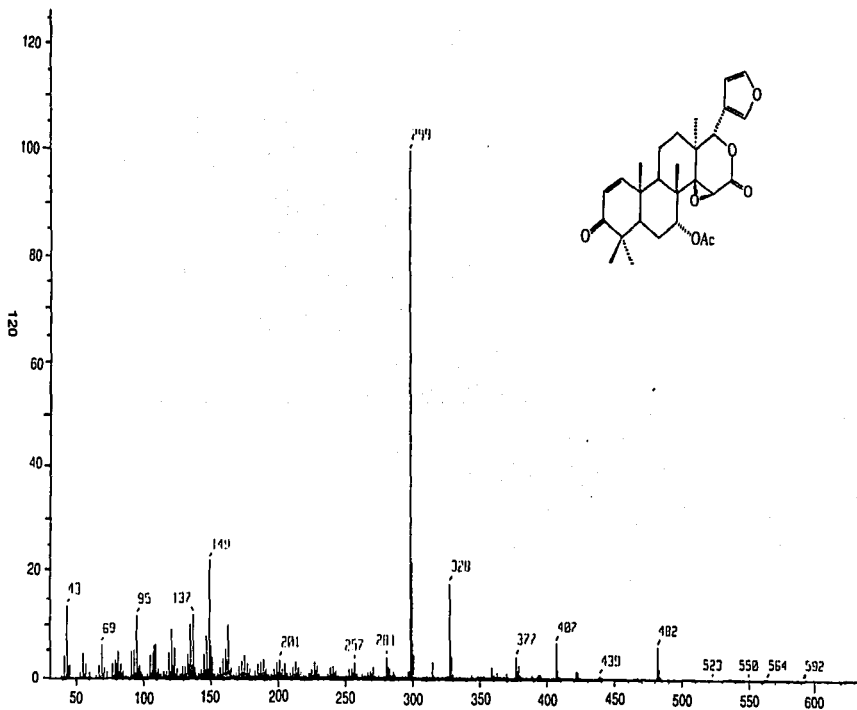


Figura 2a. Espectro EMIE de la gedunina (3)

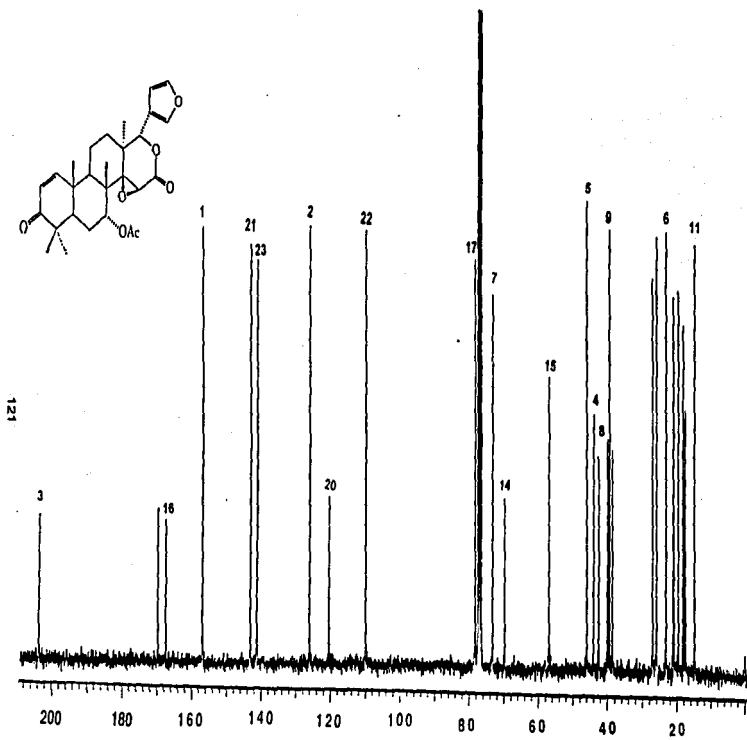


Figura 3a. Espectro RMN- ^{13}C de la gedunina (3)

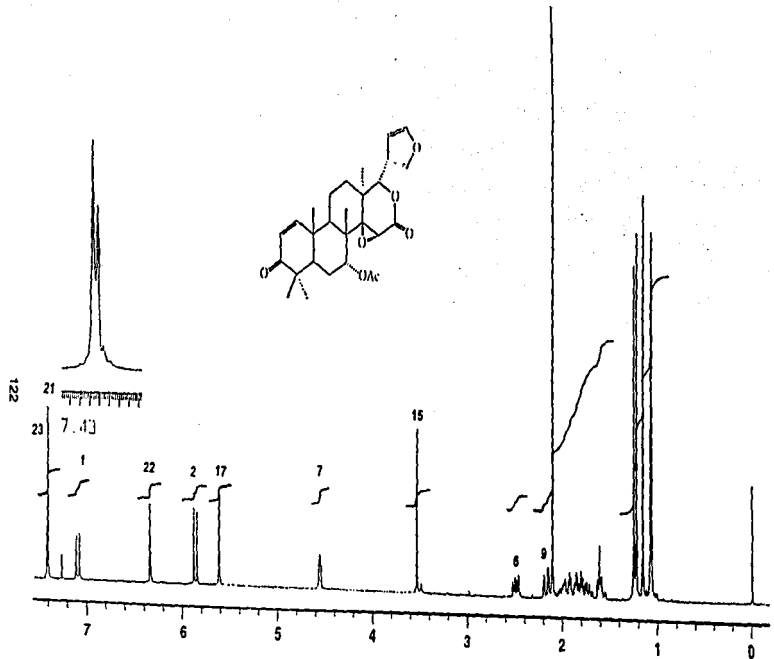


Figura 4a. Espectro RMN- ^1H de la gedunina (3)

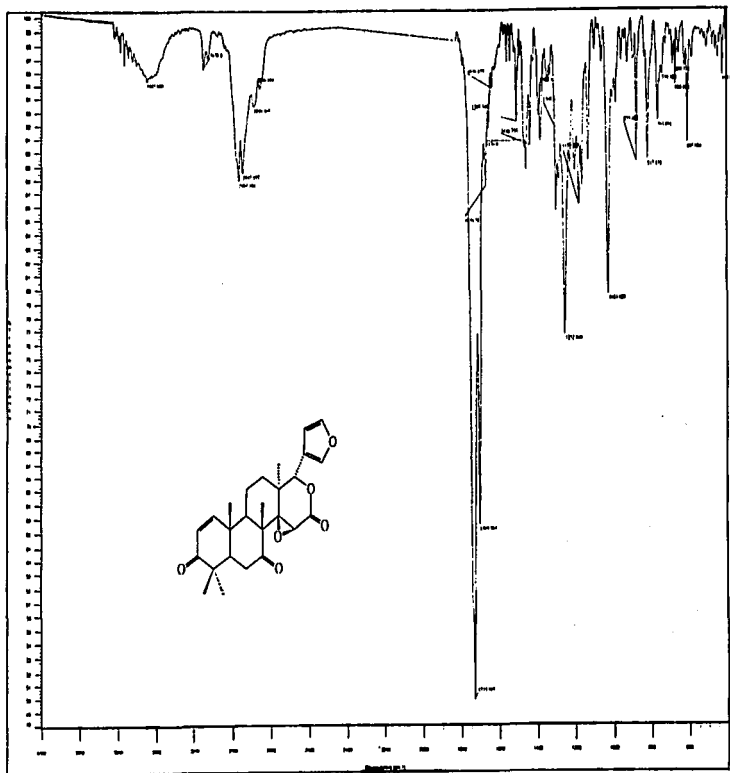


Figura 5a. Espectro en el IR de la 7-desacetil-7-oxogedunina (14)

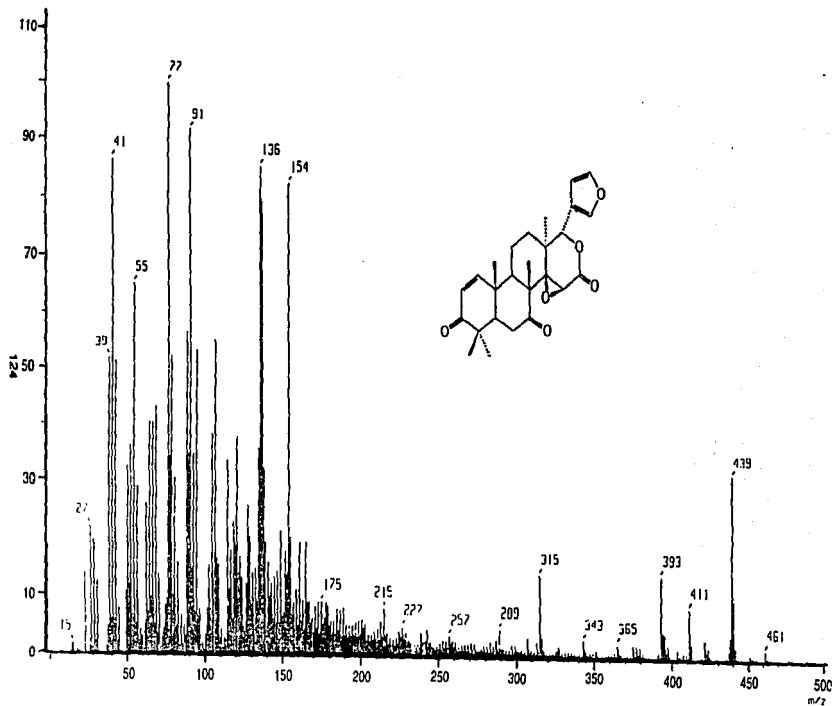


Figura 6a. Espectro EMIE de la 7-desacetil-7-oxogedunina (14)

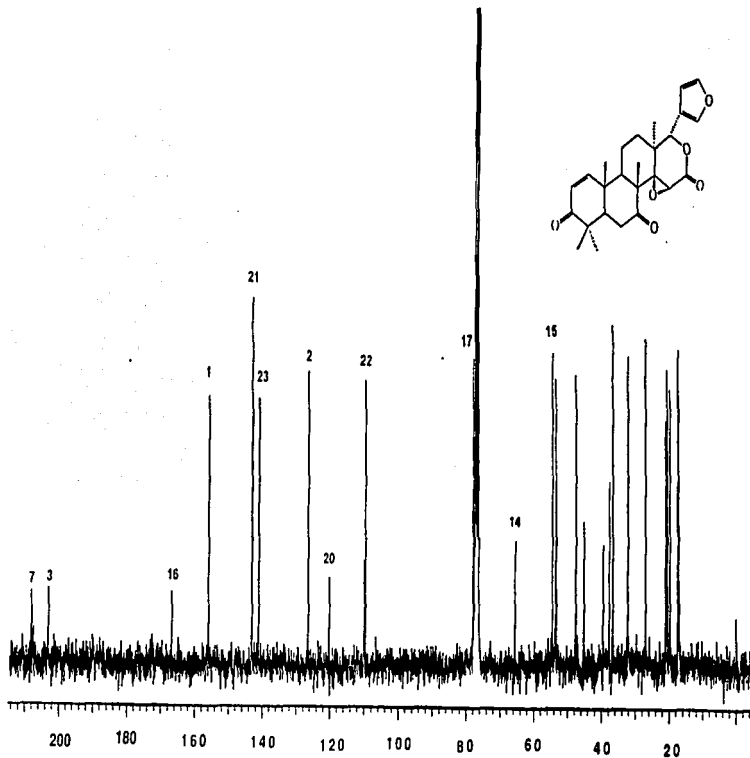


Figura 7a. Espectro RMN- ^{13}C de 1a7-desacetil-7-oxogedunina (14)

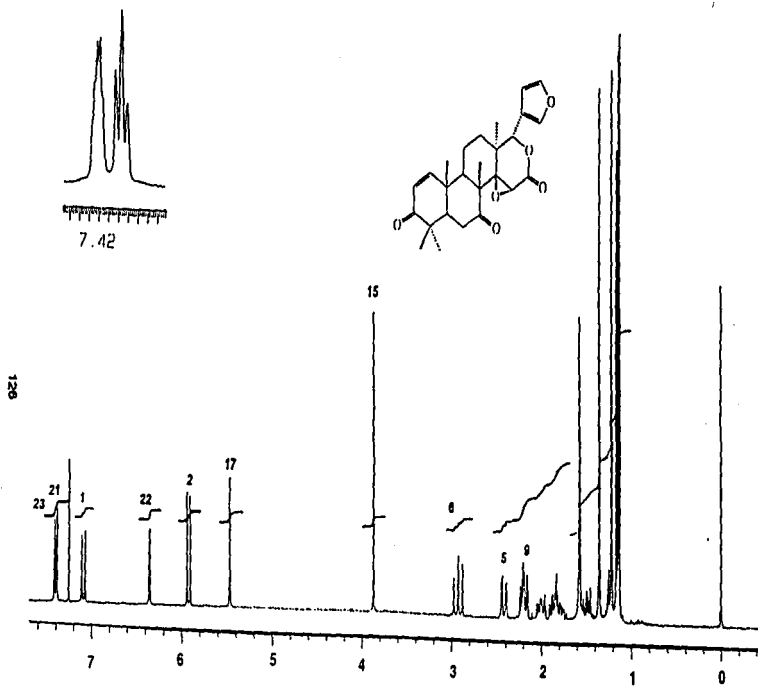
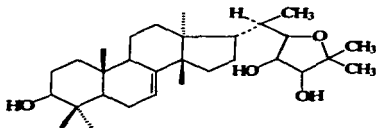


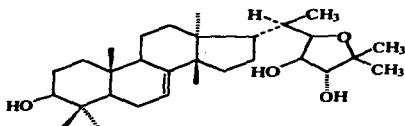
Figura 8a. Espectro $\text{RMN}^1\text{-H}$ de la 7-desacetil-7-oxogedunina (14)

Tabla 5a. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del odoratol (20)



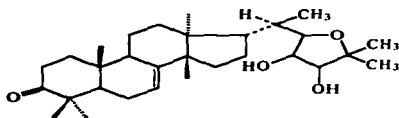
FM	C ₃₀ H ₅₀ O ₄
PM	474
p.f.	219-221°C
IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹ (Figura 9a)	3394, 2960, 3887
EMIE m/z (int rel) (Figura 10a)	474 [M ⁺ (58)], 459 [M-18 (100)], 441 (40), 423 (20), 405 (3.5), 283 (26), 131 (31), 71 (54)

Tabla 6a. Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del isoodoratoI (21)



FM	C ₃₀ H ₅₀ O ₄
PM	474
p.f.	240-243°C
IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹ (Figura 15a)	3381, 2948, 2886
EMIE m/z (int rel) (Figura 16a)	474 [M ⁺ (39)], 459 [M-18 (100)], 441 (42), 423 (20), 405 (4), 283 (26), 131 (35), 71 (30)

Tabla 7a .Constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de la odoratona (19)



FM	$C_{30}H_{48}O_4$
PM	472
p.f.	217-220°C
IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} (Figura 20a)	3499, 3430, 1706, 1462, 1385, 1108,990
EMIE m/z (int rel) (Figura 21a)	472 [M^+ (36)], 457 [M-18 (53)], 441 (41), 299 (33), 131 (38), 83 (52), 71 (100), 42 (95)

Tabla 8a. Datos de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) del odoratol (**20**) y compuestos relacionados.

Protón	Compuesto		
	odoratol (20)	isodoratol (21)	odoratona (19)
H-2 β	-----	-----	2.75 (5.4, 14.5, 14.5) <i>ddd</i>
H-3	3.44 <i>sa</i>	3.47 (2.7) <i>t</i>	-----
H-7	5.25 (2.75, 6.75) <i>dd</i>	5.25 (2.75, 6.75) <i>dd</i>	5.31 (3.5, 6.5) <i>dd</i>
H-22	3.81 (1.5, 6.5) <i>dd</i>	3.71 (1.25, 8.25) <i>dd</i>	3.82 (1.5, 6.5) <i>dd</i>
H-23	3.90 (6.0, 6.0) <i>dd</i>	3.89 (6.25, 8.25) <i>dd</i>	3.97 (6.25, 12.25) <i>dd</i>
H-24	3.59 (6.25, 6.25) <i>t</i>	3.79 (6.5) <i>d</i>	3.66 (6.25, 6.25) <i>dd</i>
CH ₂ -18	0.76 <i>s</i>	0.77 <i>s</i>	0.82 <i>s</i>
CH ₂ -19	0.83 <i>s</i>	1.16 <i>s</i>	1.22 <i>s</i>
CH ₂ -21	0.85 <i>s</i>	0.90 <i>s</i>	0.84 <i>s</i>
CH ₂ -26	1.20 <i>s</i>	1.30 <i>s</i>	1.22 <i>s</i>
CH ₂ -27	1.20 <i>s</i>	0.91 <i>s</i>	1.04 <i>s</i>
CH ₂ -28	0.92 <i>s</i>	0.93 <i>s</i>	1.04 <i>s</i>
CH ₂ -29	0.90 <i>s</i>	0.84 <i>s</i>	1.00 <i>s</i>
CH ₂ -30	1.00 <i>s</i>	1.01	1.11 <i>s</i>
OH-3	2.65	-----	-----
OH-23	3.99 (6.0) <i>d</i>	-----	-----
OH-24	3.88 (6.0) <i>d</i>	-----	-----

Los desplazamientos químicos (relativos al TMS) están dados en ppm y las constantes de acoplamiento (en paréntesis) en Hz.

Tabla 9a. Datos de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) del odoratol (20) y compuestos relacionados.

Carbón	Compuesto		
	odoratol (20)**	isodoratol (21)*	odoratona (19)*
C-1	30.96	31.23	38.53
C-2	27.42	27.74	34.90
C-3	75.68	76.36	213.00
C-4	37.10	37.37	47.86
C-5	44.21	44.56	52.35
C-6	23.62	23.88	24.31
C-7	117.56	117.89	117.77
C-8	145.91	146.16	145.98
C-9	49.00	49.18	48.50
C-10	34.43	34.71	34.99
C-11	17.68	17.96	18.24
C-12	33.39	33.66	33.47
C-13	43.19	43.51	43.48
C-14	50.95	51.26	51.18
C-15	33.75	33.98	34.02
C-16	25.21	25.35	27.72
C-17	48.34	48.71	49.25
C-18	12.71	12.95	12.74
C-19	21.48	21.76	21.54
C-20	37.21	36.59	37.47
C-21	12.16	12.14	12.36
C-22	83.49	84.53	83.68
C-23	72.28	78.36	72.90
C-24	76.80	80.63	77.43
C-25	80.71	79.39	80.89
C-26	27.61*	27.74	24.25
C-27	21.21*	23.57	24.49
C-28	27.47	27.47	21.78
C-29	21.56	21.76	27.64
C-30	27.23	27.05	27.72

Los desplazamientos químicos están dados en ppm. Las asignaciones se realizaron con base en el análisis de los espectros DEPT, HMBC y HMQC y por comparación de los desplazamientos químicos con aquellos asignados a compuestos relacionados.

**CDCl₃-DMSO_d

*CDCl₃

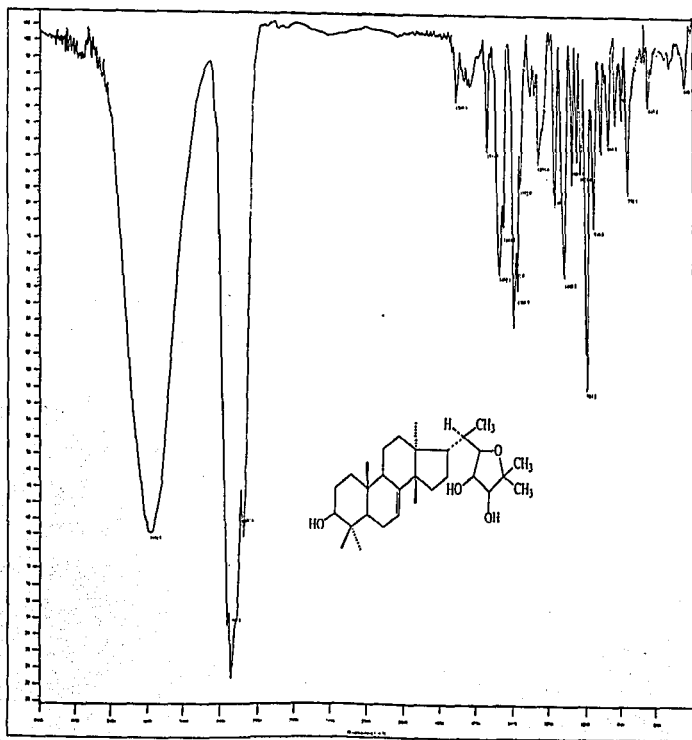


Figura 9a. Espectro en el IR del odoratol (20)

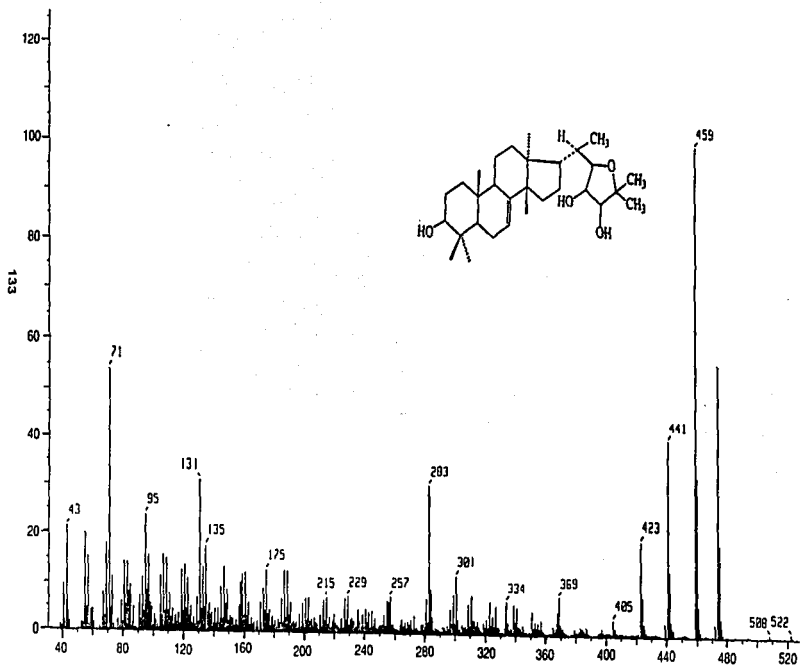
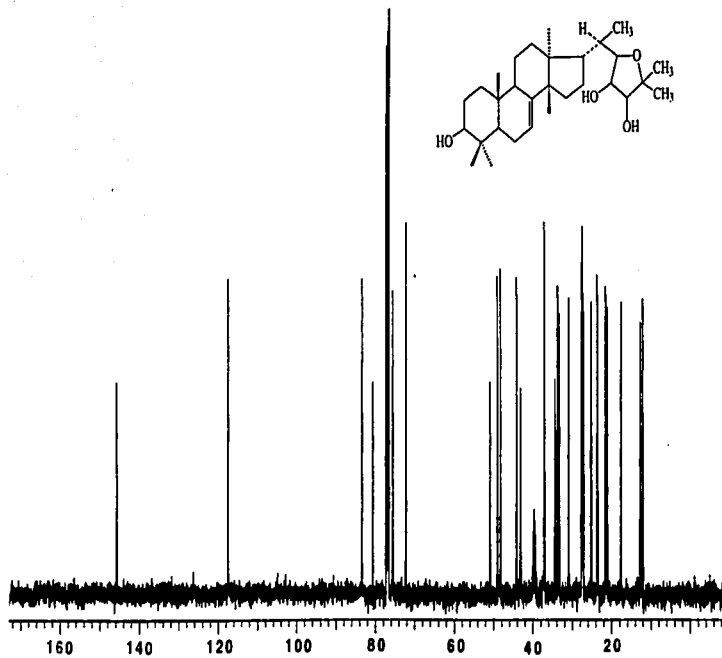


Figura 10a. Espectro EMIE del odoratol (20)

Figura 11a. Espectro RMN- ^{13}C del odorato (20)

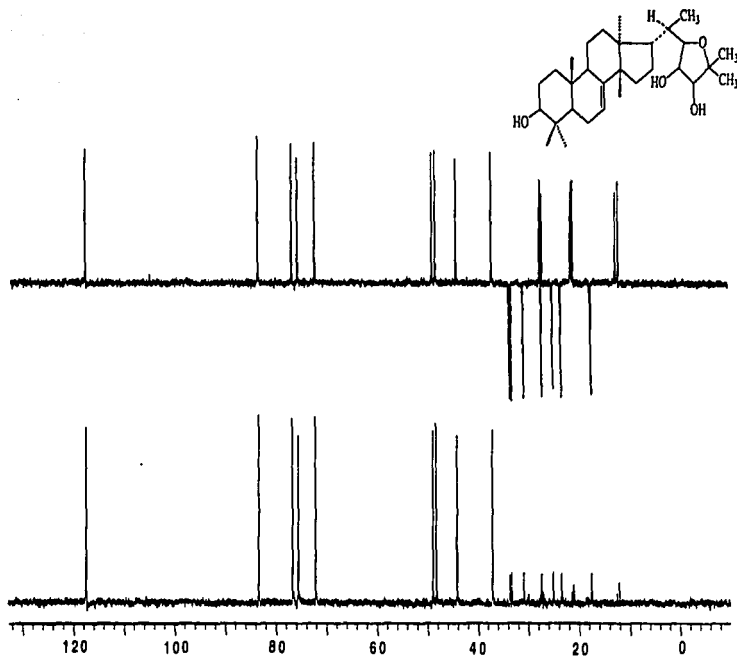


Figura 12a. Espectro RMN- ^{13}C -DEPT del odoratol (20)

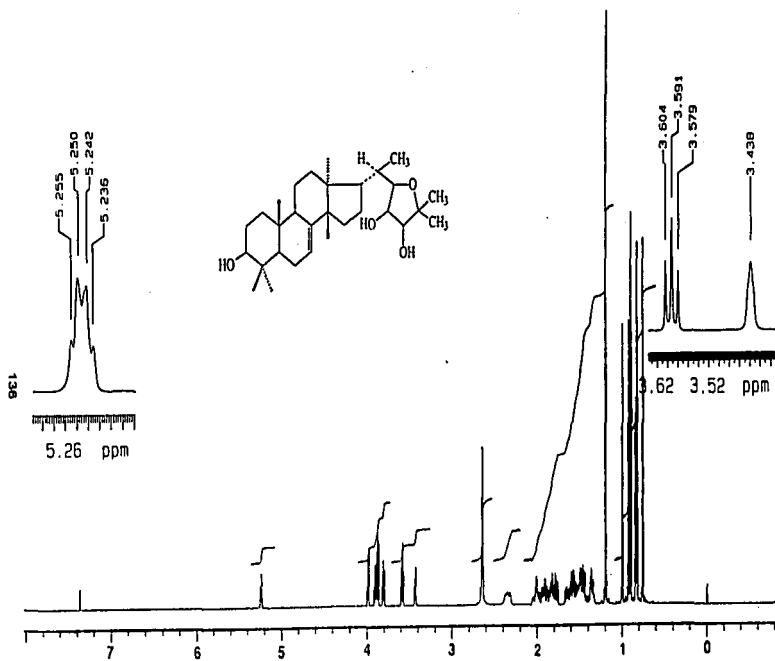


Figura 13a. Espectro RMN- ^1H del odoratol (20)

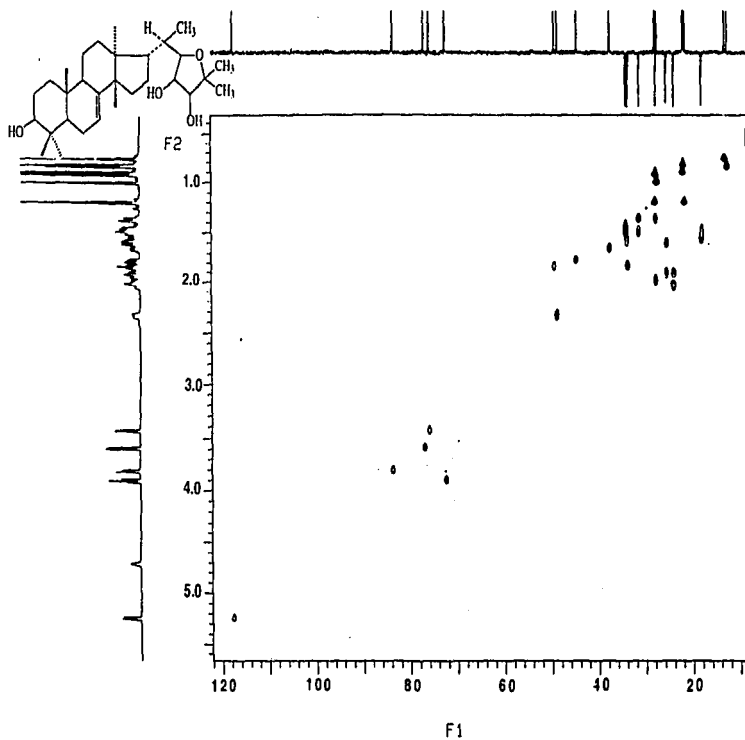


Figura 14a. Espectro RMN-HMQC del odoratol (20)

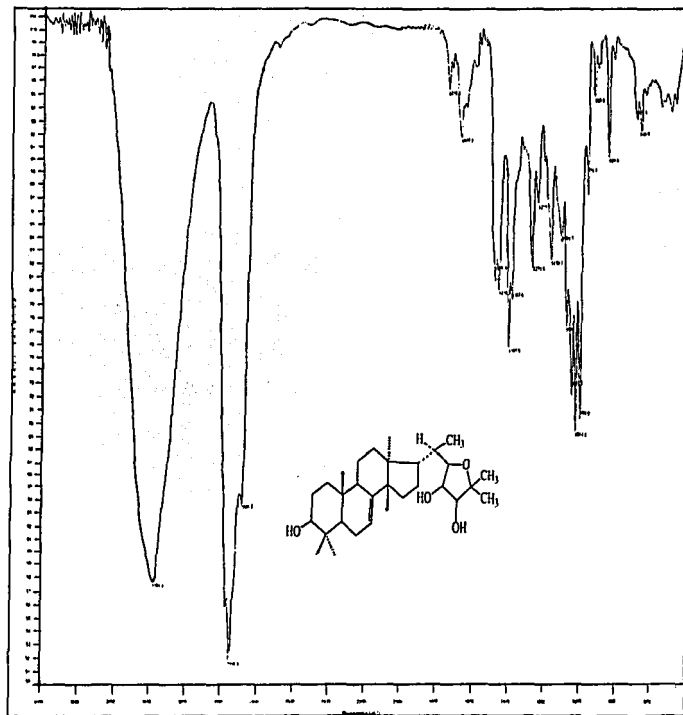


Figura 15a. Espectro en el IR del isodoratol (21)

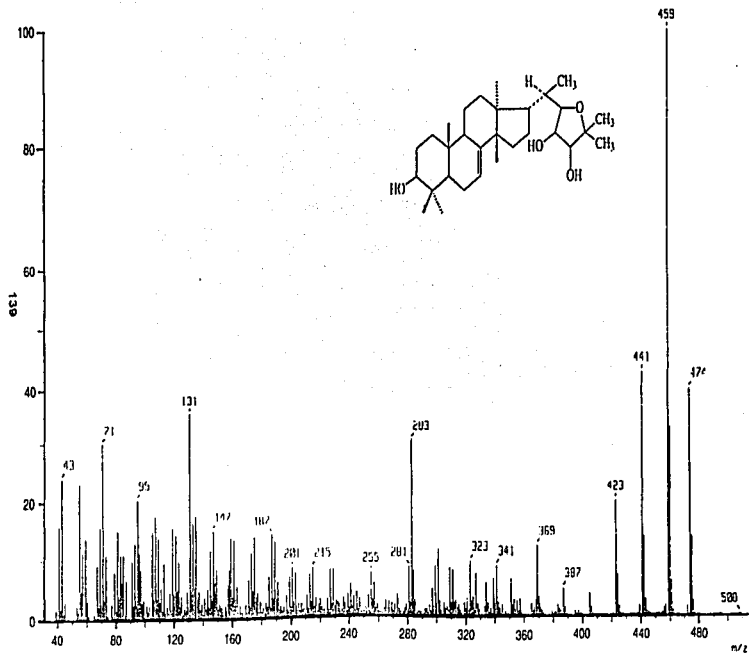


Figura 16a. Espectro EMIE del isodoratorol (21)

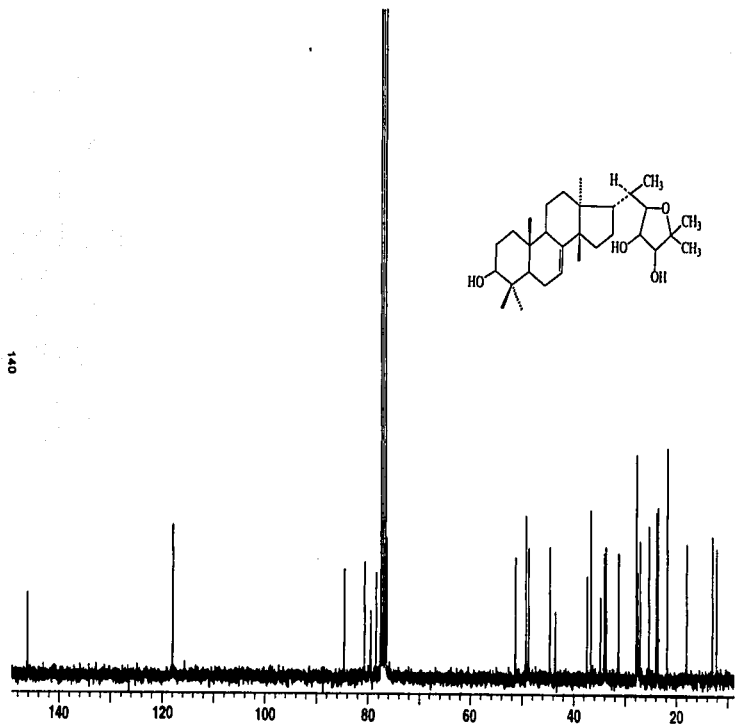


Figura 17a. Espectro RMN- ^{13}C del isodoratalol (21)

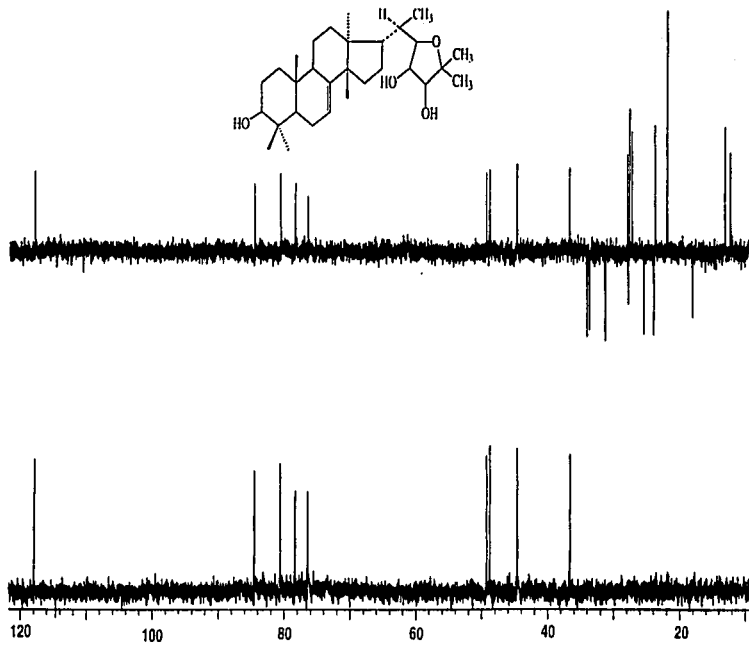


Figura 18a. Espectro RMN- ^{13}C -DEPT del isodoratol (21)

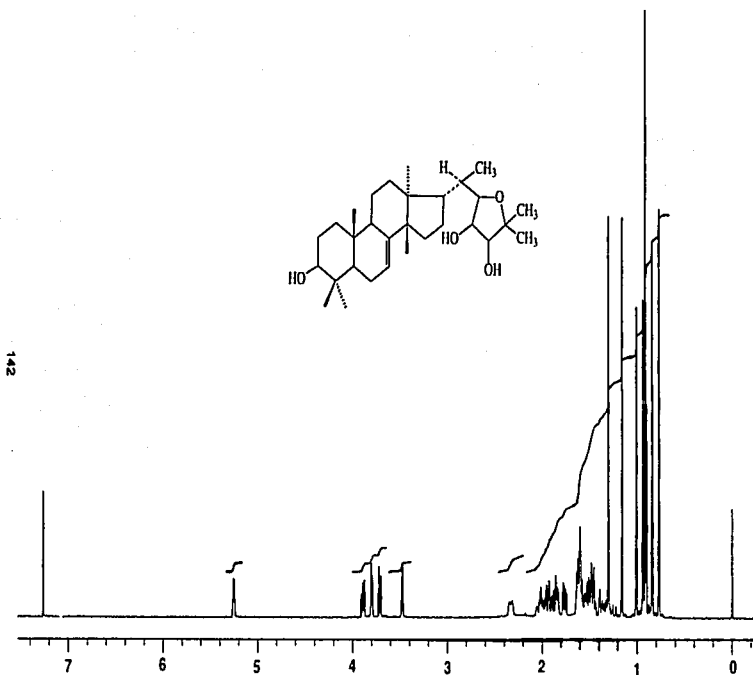


Figura 19a. Espectro RMN- ^1H del isodoratol (21)

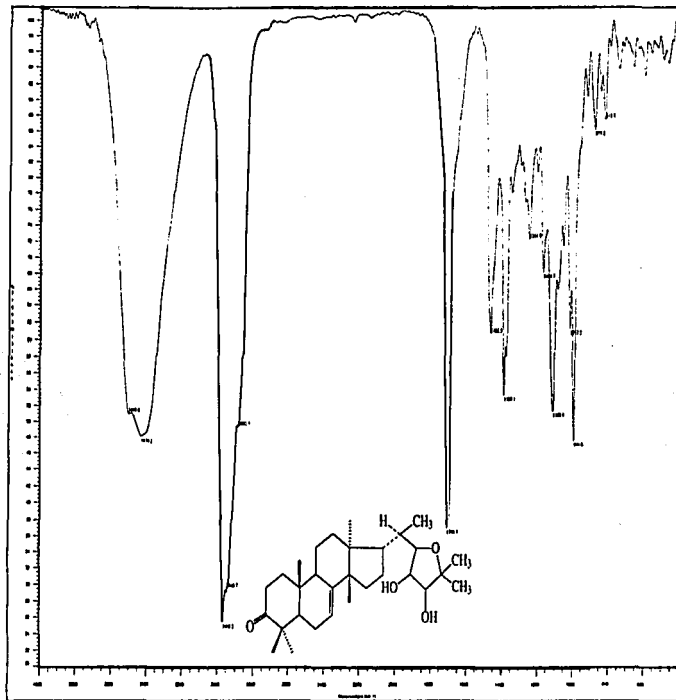


Figura 20a. Espectro en el IR de la odoratona (19)

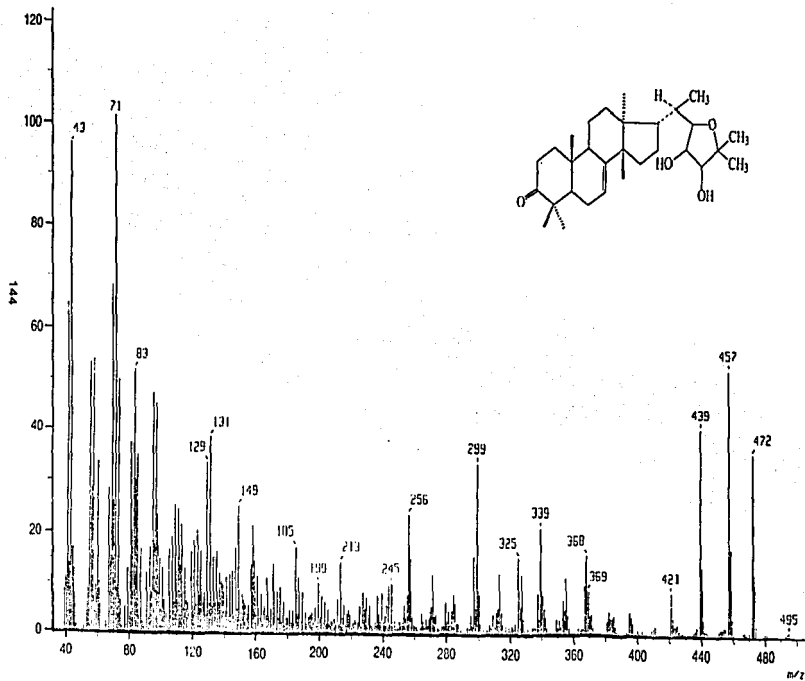


Figura 21a. Espectro EMIE de la odoratona (19)

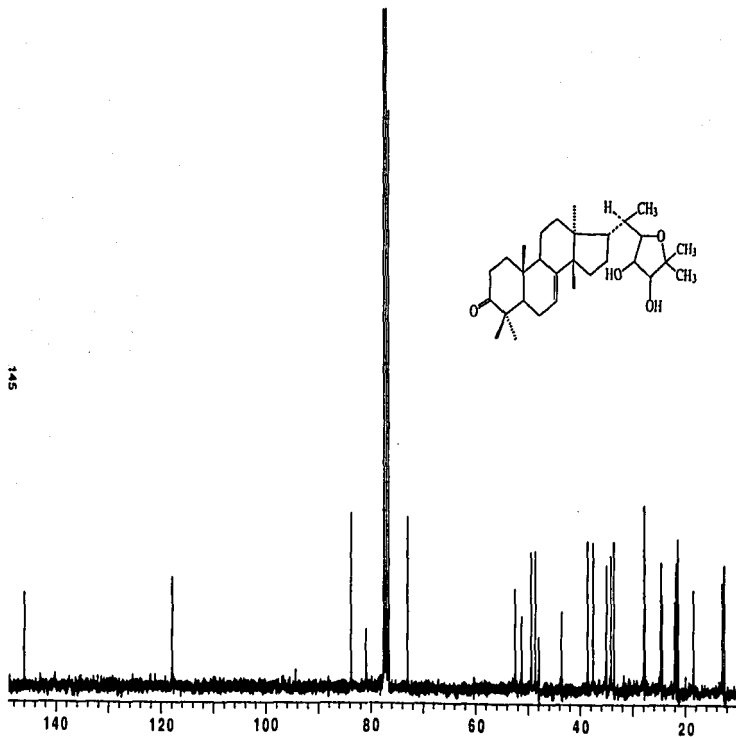
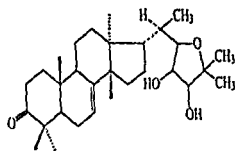


Figura 22a. Espectro RMN- ^{13}C de la odoratona (19)



146

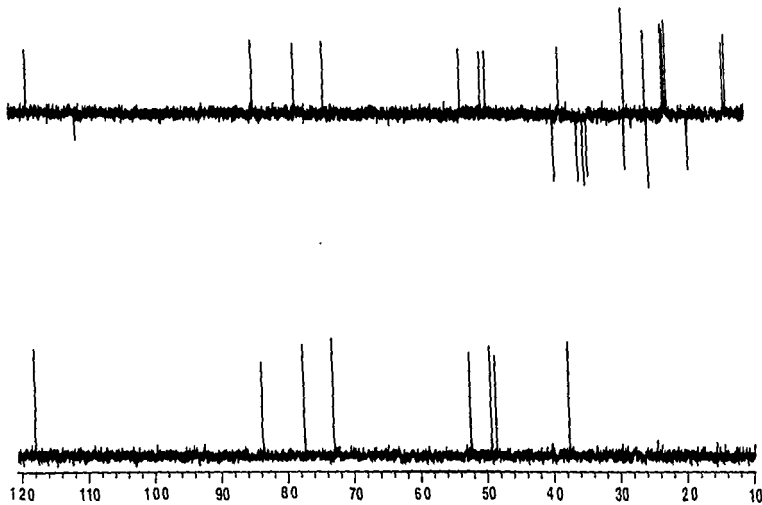


Figura 23a. Espectro $\text{RMN-}^{13}\text{C-DEPT}$ de la odoratona (19)

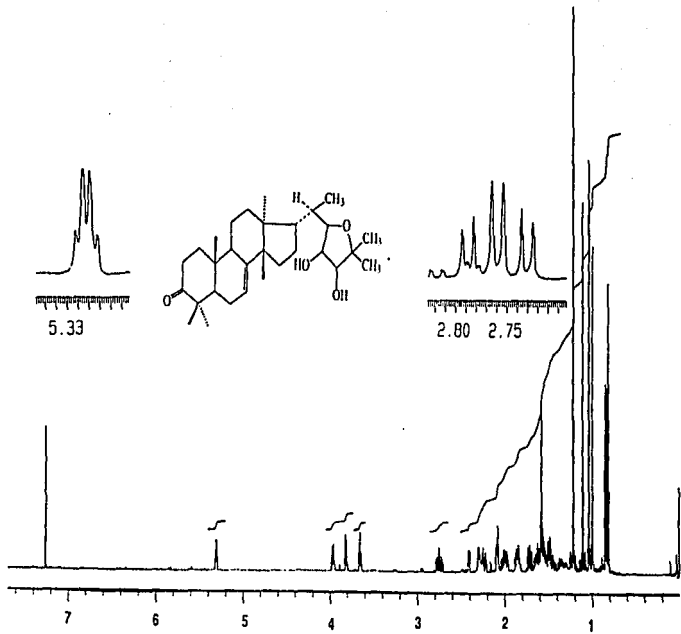
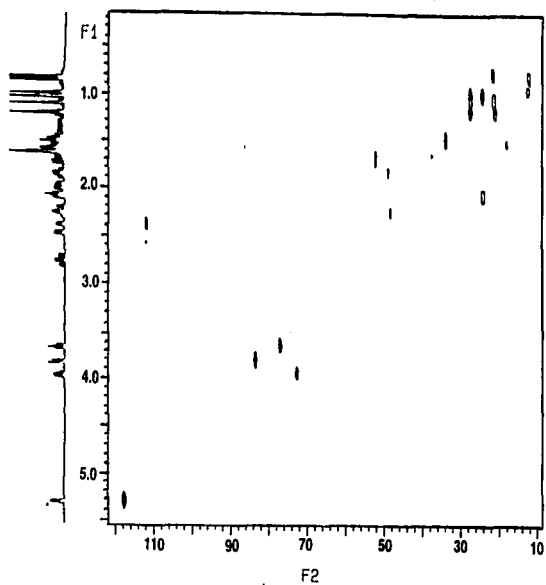
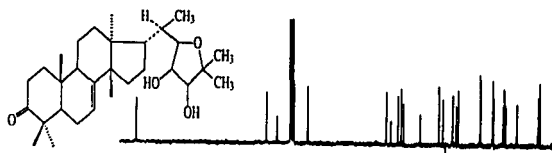


Figura 24a. Espectro RMN-¹H de la odoratona (10)



148

Figura 25a. Espectro RMN-HETCOR de la odoratona (19)

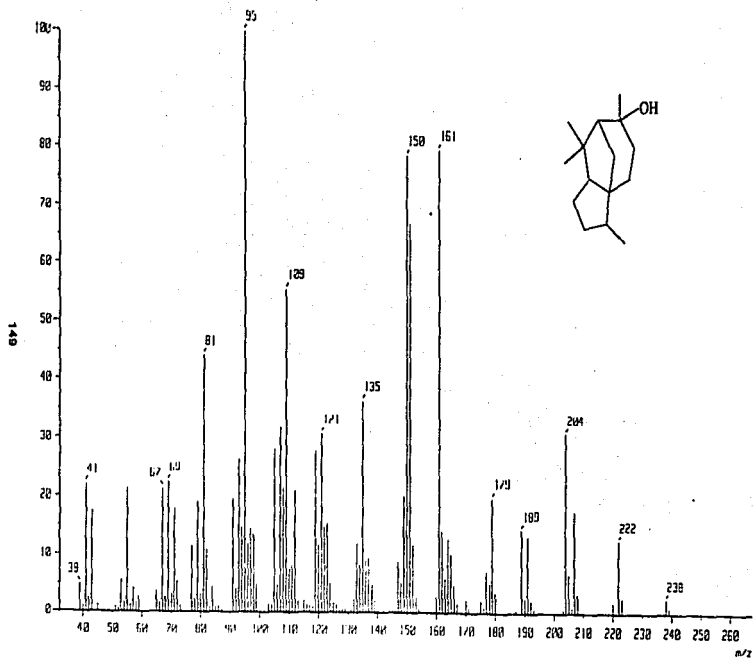


Figura 26a. Espectro EMIE del compuesto (53)

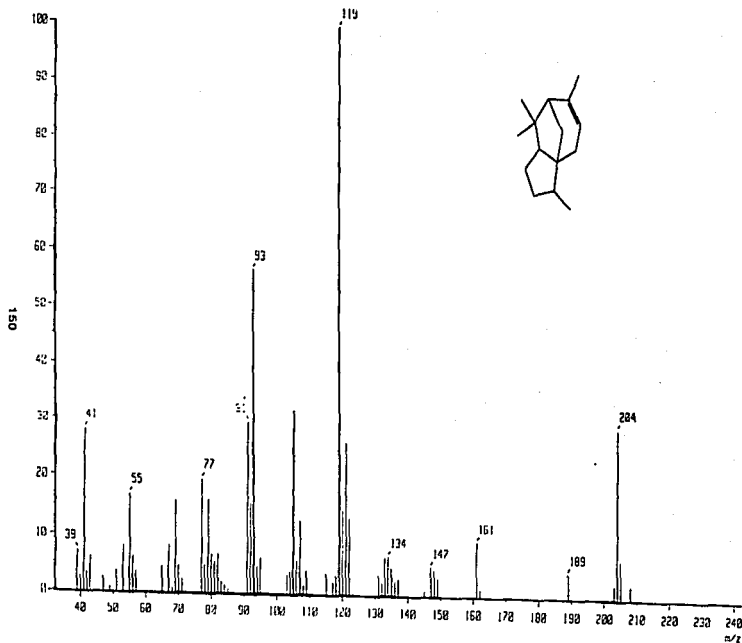


Figura 27a. Espectro EMIE del compuesto (64)

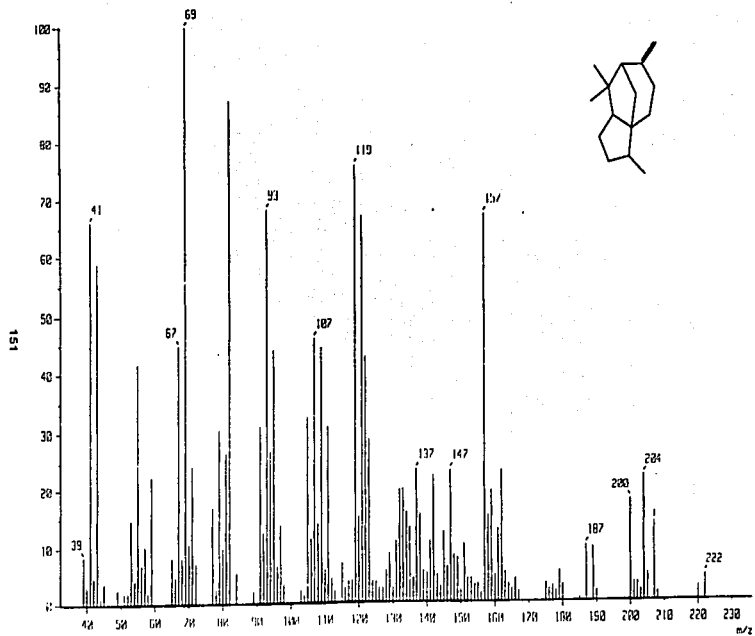


Figura 26a. Espectro EMIE del compuesto (55)

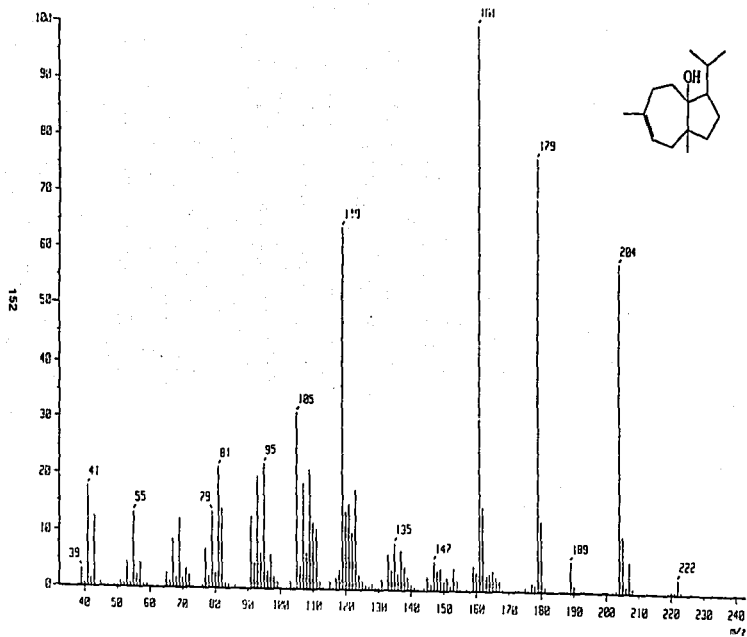


Figura 28a. Espectro EMIE del compuesto (56)

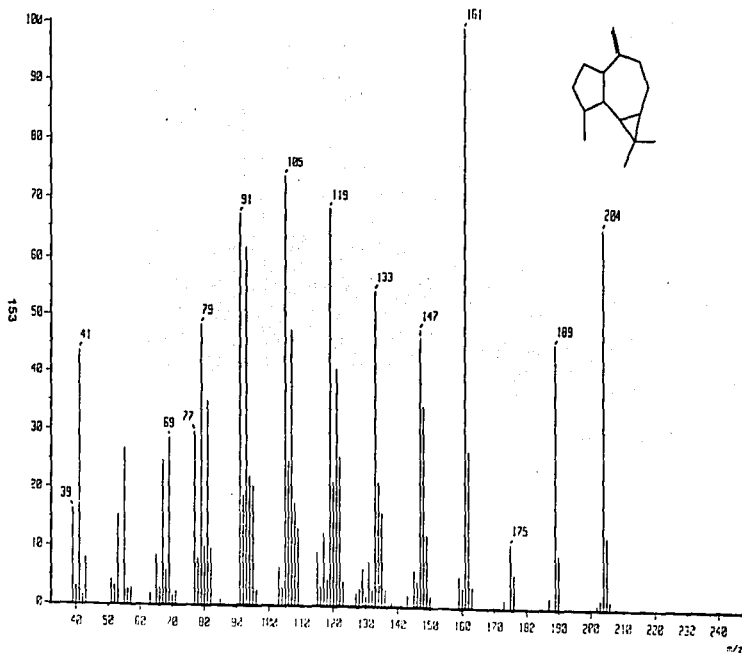


Figura 30a. Espectro EMIE del compuesto (57)

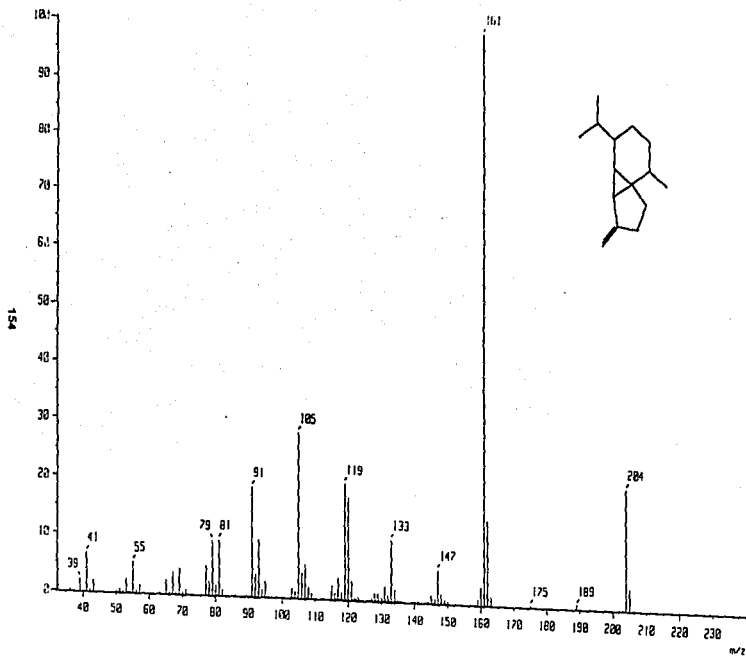


Figura 31a. Espectro EMIE del compuesto (88)

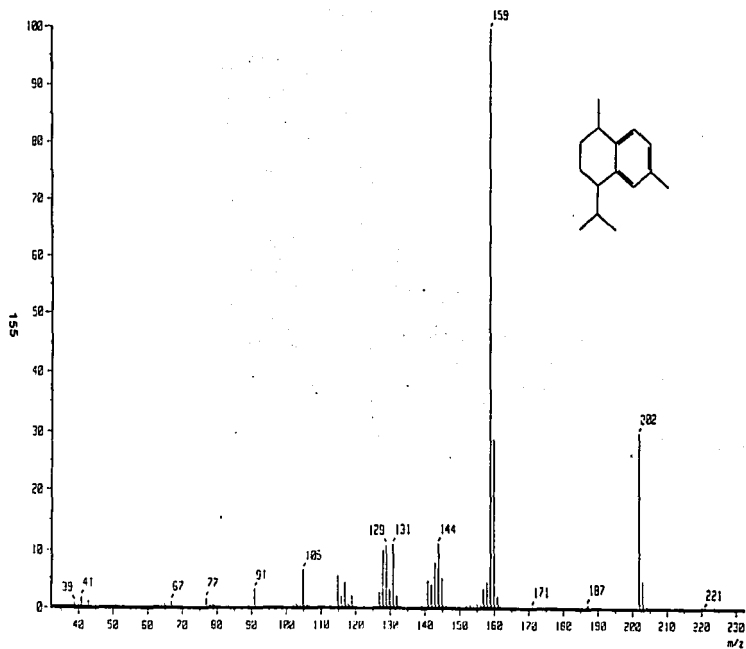


Figura 32a. Espectro EMIE del compuesto (58)

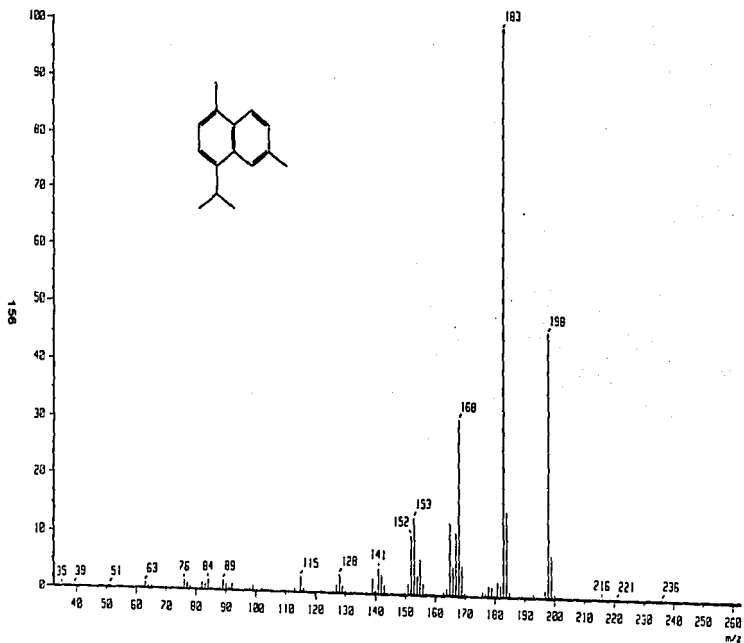


Figura 33a. Espectro EMIE del compuesto (80)

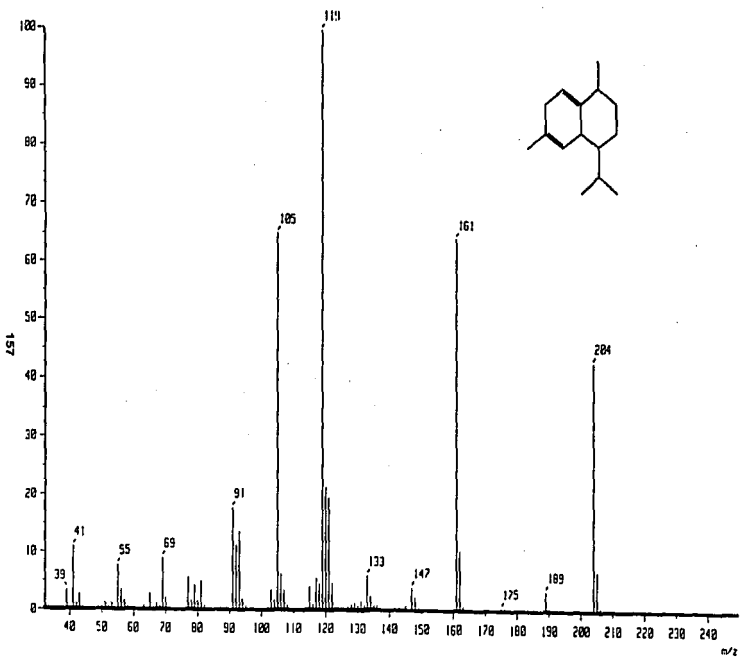


Figura 34a. Espectro EMIE del compuesto (81)

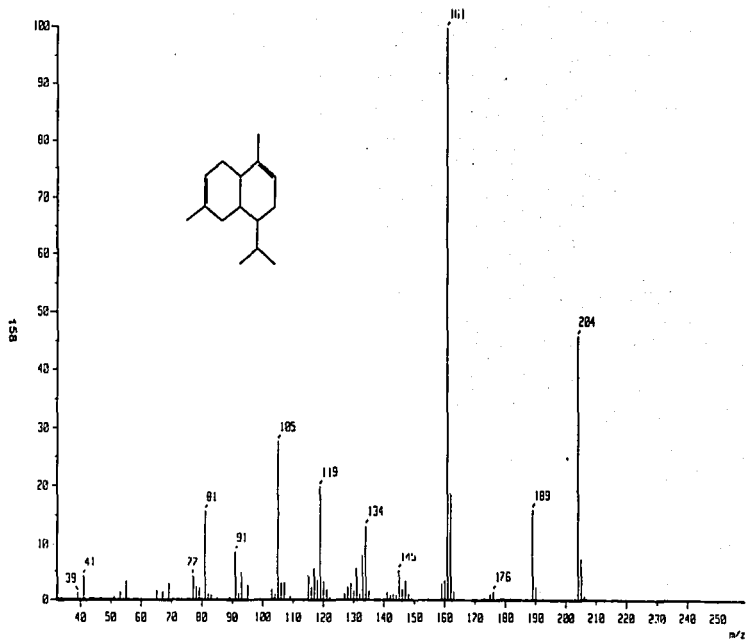


Figura 35a. Espectro EMIE del compuesto (62)

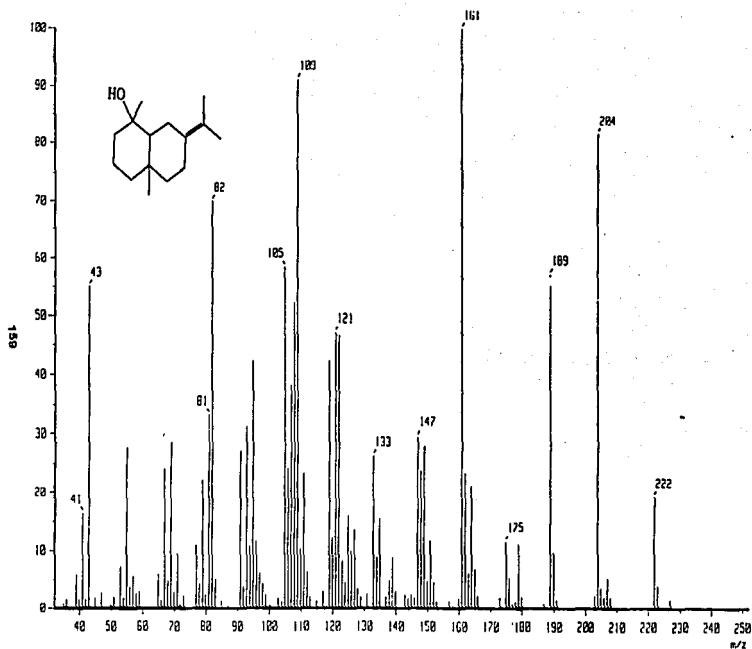


Figura 36a. Espectro EMIE del compuesto (63)

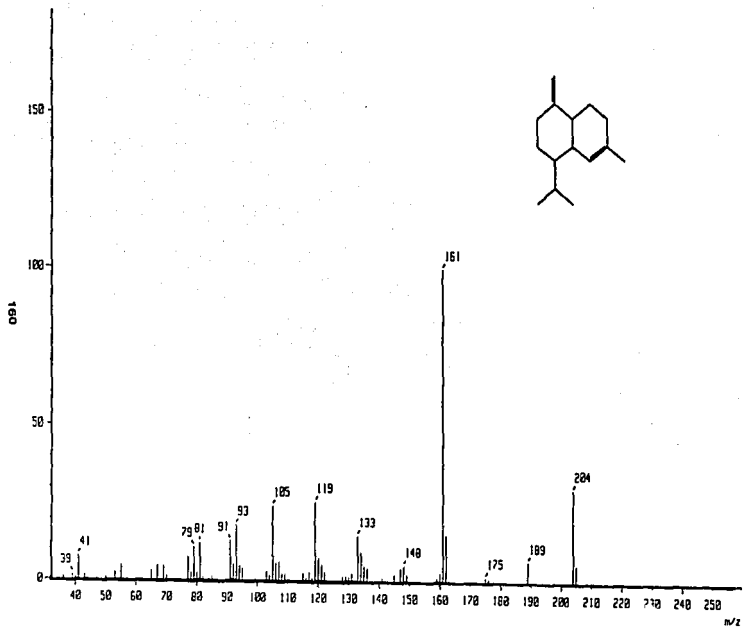


Figura 37a. Espectro EMIE del compuesto (64)

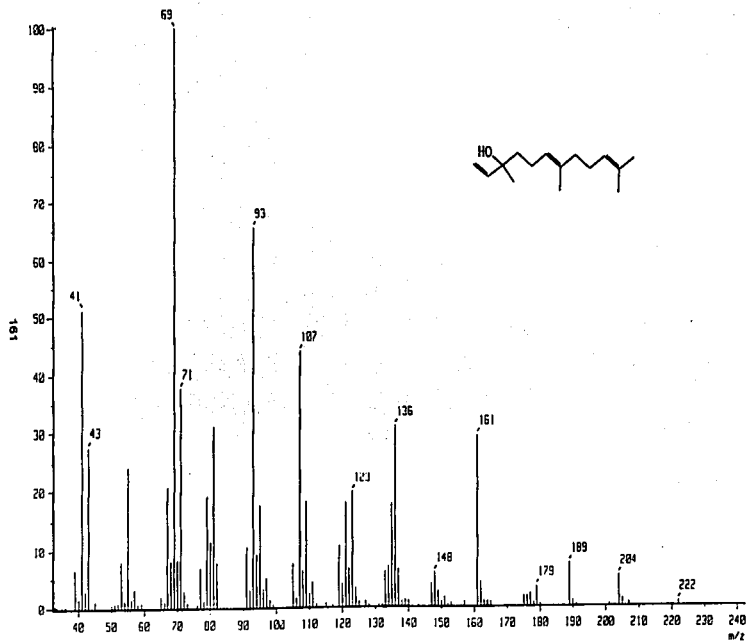


Figura 38a. Espectro EMIE del compuesto (66)

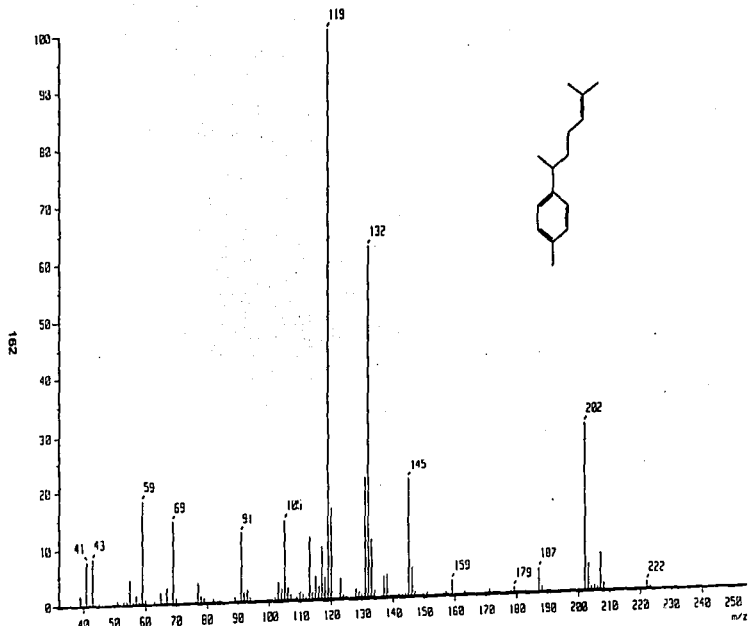


Figura 39a. Espectro EMIE del compuesto (66)

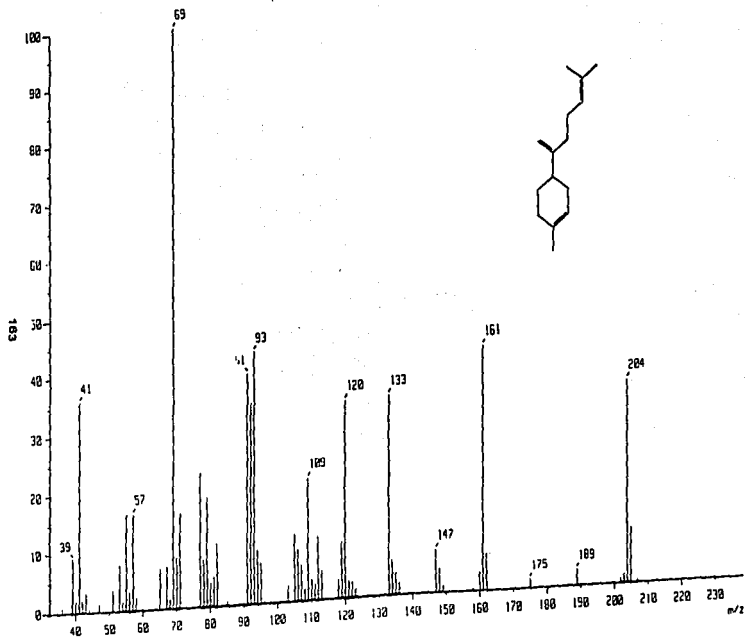


Figura 40. Espectro EMIE del compuesto (67)

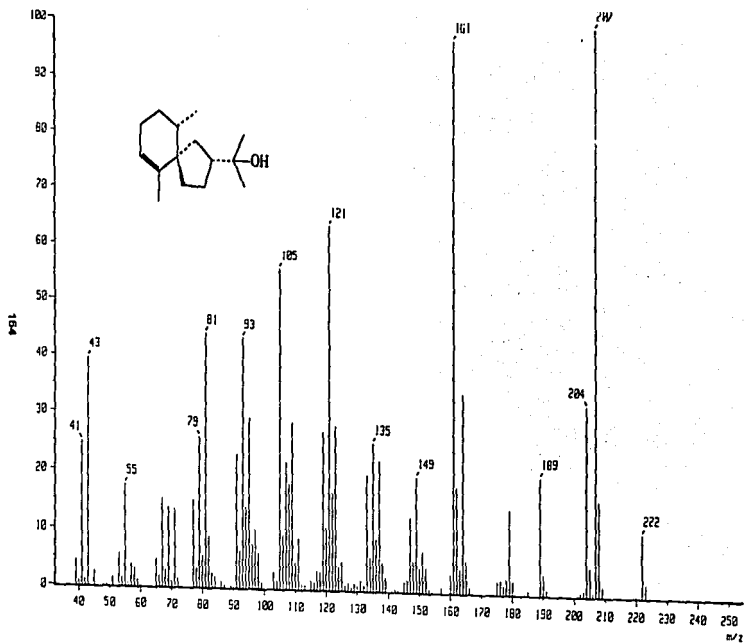


Figura 41a. Espectro EMIE del compuesto (68)

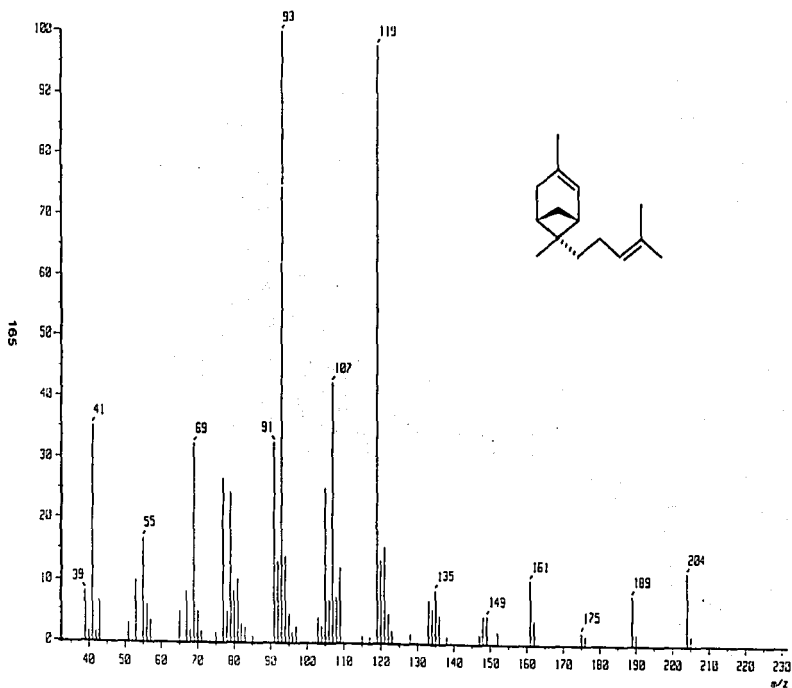


Figura 42a. Espectro EMIE del compuesto (60)

VIII. BIBLIOGRAFIA

Adeoye, S. A. and Bekoe, C. R. (1965). The molecular structure of *Cedrela odorata* substance B. *Chemical Communication*, 301-302.

Agrios, G. (1995). Control de enfermedades de las plantas en Fitopatología, tercera edición, pp 139-170.

Aguilar, A. y Camacho, J. R. (1984). La herbolaria como recurso básico. Estadísticas nacionales en medicina tradicional y herbolaria. Materiales para su estudio. Publicación del IMSS, México, 88-92.

Anaya, A. L., Calera, M., Mata, R., y Pereda, R. (1990). Allelopathic potential of compounds isolated from *Ipomea tricolor* Cav. (Convolvulaceae). *Journal of Chemical Ecology*, **16**, 2145-2152.

Argueta, A. V., Cano, L. M. y Rodarte, M. E. (1981). Cedro en Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana, Vol. 1. Instituto Nacional Indigenista, México, 1981.

Arnason, J. T., Mackinnon, S., Durst, A. et al (1993). Insecticides in tropical plants with non-neurotoxic modes of action en *Phytochemical potential of tropical plants*. Downum, K. R., Romeo, J. T., Stafford, H. A. Editores Plenum Press, Nueva York, pp 107-131.

Arnason, J. T., Philogene, B. J. R., Towers, G. G. N. (1992). Photoxins in plant-insect interaction en *Herbivores: Their interactions with secondary plant metabolites*. Rosenthal, G. A. y Berenbaum, M. R. Segunda edición Vol 2. *Ecological and Evolutionary Processes*. Editores Academic Press, Nueva York, pp 107-131.

Baldwin, M. A., Mootoo, B. S., Játiva, C., Tinto, W. F., Reynolds, W. F. and McLean, S. (1972). Ecuadorin, a novel tetranortriterpenoid of *Guarea kunthiana*: structure, elucidation by 2-D NMR spectroscopy. *Canadian Journal of Chemistry*, **70**, 1260-1263.

Banerji, R. and Mitra, C. R. (1975). Deoxycedrelone, a new tetranortriterpenoid from *Cedrela toona* hertwood. *Planta Médica*, **28**, 52-5.

Bevan, C. W. L., Ekong, D. E. U. and Taylor, A. H. (1965). Extractives from West African Members of the Family Meliaceae. *Nature*, **20**, 1323-1325.

Bevan, C. W. L., Powell, J. W. and Taylor, D. A. H. (1963). West African timbers. VI. Petroleum extracts from species of the genera *Khaya*, *Guarea*, *Carapa* and *Cedrela*. *Journal of Chemical Society*, 980-982.

Bevan, C. W. L., Powell, J. W. and Taylor, D. A. H. (1965). West African timbers. X. Structure of *Cedrela odorata* substance B. *Chemical Communication*, 281-82.

Bevan, C. W. L., Powell, J. W., Taylor, A. H. (1967). West African Timbers. XIX. The structure of Metil Angolensate, a ring-B-seco tetranortetracyclic triterpene of the Meliaceae family, *Journal of Chemical Society*, 163-170.

Bohlmann, F. and Gupta, R. K. (1981). Six cadinene derivatives from *Ageratina adenophora*. *Phytochemistry*, **20**, 1432-1433.

Bohlmann, F., Zdero, C., Pickard, J., Robinson, H. and King, R. M. (1981). New types of sesquiterpene lactones and other constituents from *Trichogonia* species. *Phytochemistry*, **20**, 1323-1333.

Bordoloi, M., Shukla, V. S., Nath, S. C. and Sharma, R. P. (1989). Review article number 45. Naturally occurring cadinenes. *Phytochemistry*, **28**, 2007-2037.

Borg-Karlson, A. and Norin, T. (1981). Configurations and conformations of torreyol (δ -cadinol), α -cadinol, T-muurolol and T-cadinol. *Tetrahedron*, **37**, 425-430.

Bray, D. H., Warhurst, D. C., Connolly, J. D., O'Neil, M. J., Phillipson, J. D. (1990). Plants as sources of antimalarial drugs. Part 7. Activity of some species of Meliaceae. Plants and their constituents limonoids. *Phytoterapy Reesearch*, **4**, 29-35.

Burke, B. A., Chan, W. R., Magnus, K. E., Taylor, D. A. H. (1969). Extractives of *Cedrela odorata*. III. Structure of photogedunin. *Tetrahedron*, **25**, 5007-5011.

- Bye, R., Linares, E. and Estrada, E. (1995) In phytochemistry of medicinal plants. Recent advances in phytochemistry. **29**. Arnason, J. T., Romeo, J. T., and Mata, R. Editores Plenum Press, Nueva York, pp 65-82.
- Cáceres, A., Torres, M. F., Ortiz, S., Floridaíma, C. y Jauregui, E. (1992). Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders IV. Vibriocidad activity of five American plants used treat infections. *Journal of Ethnopharmacology*, **39**, 73-75.
- Campos, A. M., Oliveira, F. S., Machado, M.I., Braz-Filho, R., Matos, F. J. A. (1991). Triterpenes from *Cedrela odorata*. *Phytochemistry* **30**, 1225-1229.
- Castañeda, P., García, M. R., Hernández-Bautista, B., Torres, B. A., Anaya, A. L. and Mata, R. (1992). Effects of some compounds isolated from *Celaenodendron mexicanum* Standl. (Euphorbiaceae) on seeds and phytopathogenic fungi. *Journal of Chemical Ecology*, **7**, 1025-1037.
- Claeson, P., Anderson, R. and Samuelsson, G. (1991). T-cadinol: A pharmacologically active constituents of scented myrrh: Introductory pharmacological characterization and high field ¹H- and ¹³C-NMR data. *Planta Médica*, **67**, 352-356.
- Connolly, J. D. and Handa, K. L. (1969). Tetranortriterpenoids and related substances. XII. 6-Hydroxycarpin and a tetracyclic triterpenoid pentaol and *Cedrela glaziovii*. *Journal of Chemical Society C*, 2435-6.
- Connolly, J. D. and Hill, R. A. (1986). Triterpenoids. *Natural Products Reports*, **3**, 421-503.
- Champagne, D. E., Koul, O., Isman, B. M., Scudder, G. G. E., Towers, G. H. N. (1992). Biological activity of limonoids from the rutales. *Phytochemistry*, **31**, 377-394.
- Chan, W. R., Holder, N. L., Snatzke, G., Fehlhäber, H. W., Taylor, D. R. (1968). Extractives of *Cedrela odorata*. II. The structures of *Cedrela* tetracyclic triterpenes odoratol, isoodoratol and odoratone. *Journal of Chemical Society C*, **20**, 2485-9.
- Chan, W. R., Magnus, K. E. and Mootoo, B. S. (1967). Extractives from *Cedrela odorata* L. The structure of methyl angolensate. *Journal of Chemical Society*, 171-177.

Chan, W. R., Taylor, D. R., Aplin, R. T. (1972). Extracts of *Cedrela odorata*. IV. Structure of odoratin, an undecanortriterpene. *Tetrahedron*, **28**, 431-437.

Chatterjee, A., Chakraborty, T. and Chandrasekharan, S. (1971). Chemical investigation of *Cedrela toona*. *Phytochemistry*, **10**, 2533-5.

Das, M. C., Mahato, S. B. (1983). Triterpenoids: Review. *Phytochemistry*, **22**, 1071-1095.

De Paula, J. R., Vieira, I. J. C., Rodríguez, E., Fernández, J. B., Vieira, P. C., Pinheiro, A. L. and Vilela, E. F. (1997). Sesquiterpenes, triterpenoids, limonoids and flavonoids of *Cedrela odorata* Graft and speculations on the induced resistance against *Hypsipyla grandella*. *Phytochemistry*, **44**, 1449-1454.

Duke, S. O. (1991). Plant terpenoids as pesticides en handbook of natural toxins, Vol. 6. Keeler, R. F. and Tu, A. T. Editores Marcel Dekker, Inc., Nueva York, pp. 269-291.

El-Shamy, A. M., El-Shabrawy, A. O., Selim, M. A. and Motowe, H. M. (1988). A new tetranortriterpenoid from *Cedrela odorata*. *Fitoterapia*, **59**, 219-20.

Ferguson, G., Gunn, P. A., Marsh, W.C., Macrindle, R. (1973). Triterpenoids from *Guarea glabra* (Meliaceae): a new skeletal class identified by chemical, spectroscopic and X-Ray evidence. *Chemical Communications*, **5**, 159-169.

Ghisalberti, E. (1983). Detection and isolation of bioactive natural products en *Bioactive natural products. Detection, isolation and structural determination*. Colegate, S. y Molyneux, R., Editores. CRC Press, Boca Ratón, E. U., pp 9-57.

Gilbert, B., Da Rosa, M., Borojevic, R., Pellegrino, J. (1972). *Schistosoma mansoni*, *in vitro* transformation of cercarie in to schistosomula. *Parasitology*, **64**, 333-339.

Gilbert, B., De Souza, J. P., Fortes, C. C., Santos, F., Do Prado Seabra, A., Kitagawa, N., Pellegrino, J. J. (1970). Chemoprophylactic agent in Schistosomiasis: active and inactive terpenes. *Parasitology*, **56**, 397-398.

Brunton, L. (1996). Agents affecting gastrointestinal water flux and motility; emesis and antiemetics; bile acids and pancreatic enzymes. En Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics, Novena edición. Hardman, J. G. y Limbird, L. E., Editores McGraw-Hill, Nueva York, pp 917-936.

Guang-Yi, L., Gray, A. L. and Waterman, P. G. (1988). Tirucallane and oleanane triterpenes from the resin of *Aucomea klaineana*. *Phytochemistry*, **27**, 2283-2286.

Guang-Yi, L., Gray, A. L., Pataiinghug, W. C., Skelton, B. W., Waterman, P. G. and White, A. H. (1989). Chemistry of the Burseraceae. XI. X-Ray diffraction studies on some tirucall-7-ene triterpenes from *Aucomea klaineana* (Burseraceae). *Australian Journal of Chemistry*, **42**, 1169-1175.

Inadad, A., Konishi, M., Murata, H., Nakanishi, T. (1994). Structures of a New Limonoids and a New Triterpenoid derivative from pericarps of *Trichilia connaroides*. *Journal of Natural Products*, **57**, 1446-1449.

Isman, M. B., Matsuura, H., MacKinnon, S., Durst, T., Neil, G. H. and Arnason, J. T. (1996). Phytochemistry of the Meliaceae en Phytochemical Diversity and Redundance in Ecological Interactions, Vol. 30. Romeo, J. T., Saunders, J. A., Barbosa, P., Editores, Plenum Press, Nueva York and London, pp 155-178.

Itokawa, H., Kishi, E., Monta, H., Takeya, K. (1992). Citotoxic quiassinoids and tirucallane-type triterpenes from woods of *Eurycoma longifolia*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, **40**, 1053-1055.

Jacobson, M. (1971). Naturally Ocurring Insecticides. Jacobson, M., Crosby, D. G., Editores Marcel Dekker, Inc. Nueva York, pp. 139-176.

Jain, D. C. and Tripathi, A. K. (1993). Potential of Natural Products as Insect Antifeedants. *Phytoteraphy Research*, **7**, 327-334.

Jiménez, A., Mata, R., Pereda, R., Calderón, J., Isman, M. B., Nicol, R. y Arnason, J. T. (1997). Insecticidal limonoids from *Swietenia humilis* and *Cedrela salvadorensis* (Meliaceae). *Journal Chemical Ecology*, **23**, 1225-1234.

Jong-Cheol, P., Young-Beob, Y., Jong-Ho, L., Nam-Jae, K. (1994). Anti-inflammatory and analgesic effect of the components from some edible plants. *H'anguk Yongyang Siklyong Hakhoechi*, **23**, 671-4. A través de CA 121: 271619y (1994).

Jong-Cheol, P., Young-Beob, Y., Jong-Ho, L., Nam-Jae, K. (1994). Chemical components and biological activities of edible plants in Korea (VI). Anti-inflammatory and analgesic effects of *Cedrela sinensis*, *Oenanthe javanica* and *Artemisia princeps* var. *orientalis*. *H'anguk Yongyang Siklyong Hakhoechi*, **23**, 119-9. A través de CA 121: 148576e (1994).

Kachur, D. W. M. and Gaginella, T. S. (1986). Effect of dextromethorphan on guinea-pig ileal contractility *in vitro*: Composition with leuomethorphan, loperamide and codeine. *Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **239**, 661-667.

Kinjo, K., Doufuku, Y., Yaga, S. (1988). Termiticidal substances from the wood of *Chamaecyparis obtusa* Endl. *Mokuzai Gakkaishi*, **34**, 451-5. A través de CA 109: 125923d (1988).

Kondo, R. and Imamura, H. (1986). Antifungal compounds in heartwood extractives of Hinoki (*Chamaecyparis obtusa* Endl.). *Mokuzai Gakkaishi*, **32**, 213-17. A través de CA 105: 112196m (1986).

Kraus, W., Crame, R., Sawitzki, G. (1981). Tetranortriterpenoids from the seeds of *Azadirachta indica*. *Phytochemistry*, **20**, 117-120.

Kraus, W., Grimminger, W. and Sawitzki, G. (1978). New insect antifeedants from Meliaceae. *Journal of Natural Products*, **2**, 115-16.

Kraus, W. and Grimminger, W. (1981). Toonafofin, a novel tetranortriterpenoid β -lactone from *Toona ciliata* var. *Australis* (Meliaceae). *Ann. Chem.*, 1838-43.

Kubo, I. (1991). Screening techniques for plant-insect interactions en Methods in plant biochemistry. Assays for bioactivity. Hostteman, K. Vol. 6. Editores CA Academic Press, London, pp 179-193.

- Kubo, I. (1993). Insect control agents from tropical plants en *Phytochemical Potential of Tropical Plants*, Downum, K. R., Romeo, J. T., Stafford, H. A. Vol 27. Editores Plenum Press, Nueva York. Recent Advances in Phytochemistry, pp 133-151.
- Kundu, A., Pays, B., Chetterjee, A. (1985). Aphananin, a triterpenoid *Aphanamixis polystachya*. *Phytochemistry*, **24**, 2123-2125.
- Labbe, C., Castillo, M. and Connolly, J. D. (1993). Mono and sesquiterpenoids from *Satureja gilliesii*. *Phytochemistry*, **34**, 441-444.
- Lavie, D., Jain, M. K., Shpan-Gabrielith, S. R. (1967). A locust phagorepellent from the *Melia* species. *Chemical Communications*, 910-911.
- Lavie, D., Levy, E. C., Rosito, C., Zelnik, R. (1970). Tetranortriterpenoids from *Cedrela angustifolia*. *Tetrahedron*, **26**, 219-226.
- Lins, A. P., Braggio, M. M., D'arc-Felicio, J., Giuriatti, A. M., Felicio, J. C. (1992). Chemical and Pharmacological aspects of *Guarea guidona*. *Revista Latinoamericana de Quimica*, **22/4**, 30-33.
- Lowery, C. (1993). *Reagent Chemicals*. American Chemical Society specification, Editores Washington, D. C., 90-91.
- Lozoya, X., Aguilar, A. y Camacho, J. R. (1987). Encuesta sobre el uso actual de plantas en la medicina tradicional mexicana. *Revista Médica IMSS (México)*, **25**, 283-291.
- MacKinnon, T. D. and Arnason, J. T. (1997). Antimalarial activity of tropical Meliaceae Extracts and gedunin derivatives. *Journal of Natural Products*, **60**, 336-341.
- Marcelle, G. B. and Mootoo, B. S. (1981). $7\alpha,11\beta$ -diacetoxidydhronomilin, a new tetranortriterpenoid from *Cedrela mexicana*. *Tetrahedron Letters*, **22**, 505-8.
- McDaniel, C. A. (1989). Major termiticidal component of hertwood of Port-Orford-Cedar, *Chamaecyparis lawsoniana* (A. Murr.). *Pearl. Mater. Org.* **24**, 1-15. A través de CA **111**: 171161t (1989).

- Mora, R. (1976). Therapeutic preparations containing cedar resin for allergic asthma. *Japan Kokai* **76,133,409**, (Cl. A61K35/78), 04 Oct. 1978, Appl. 76/12,869, 31 Mar. 1976; 6pp. A través de CA 87: 11624d (1976).
- Mora, R. (1978). Compositions for treating asthma. *Brit.* **1,527,656** (Cl. A61K35/78), 04 Oct. 1978, Appl. 76/12,869, 31 Mar. 1976; 6 pp. A través de CA 90: 19254h (1978).
- Nagasampagi, B. A., Sriraman, M. C., Yankov, L. and Dev. S. (1975). Siderin from *Cedrela toona*. *Phytochemistry*, **14**, 1673.
- Nagasampagi, B. A., Yankov, L. and Dev, S. (1968). Sesquiterpenoids from the wood of *Cedrela toona*; partial synthesis of T-muuroiol, T-cadinol and cubenol; structures of δ -cadinene and δ -cadinol. *Tetrahedron Letters*, 1943-18.
- Nagasampagi, B. A., Yankov, L., and Dev, S. (1967). Isolation and characterization of geranylgeraniol. *Tetrahedron Letters*, 189-192.
- Nagashima, F., Suda, K. and Asakawa, Y. (1994). Cadinane-type sesquiterpenoids from the liverwort *Scapania undulata*. *Phytochemistry*, **37**, 1323-1325.
- Neto, J. O., Agostinho, S. M. M. and Fatima, M. (1995). Limonoids from seeds of *Toona ciliata* and their chemosystematic significance. *Phytochemistry*, **38**, 397-401.
- Okorie, D. A. and Taylor, D. A. H. (1968). Extractives from the seed of *Cedrela odorata*. *Phytochemistry*, **7**, 1683-1686.
- Olugbade, T. A. (1991). Tetracyclic triterpenoids from *Trichilia pririiana* leaves. *Phytochemistry*, **30**, 301-373.
- Perrusquia, M., Hernández, R., Jiménez, M. A., Pereda, R. y Mata, R. (1997). Contractile response induced by a Limonoid (Humilinolide A) on spontaneous activity of isolated smooth muscle. *Phytoterapy Research II*, en prensa.
- Polonsky, J. (1973). Triterpenoids, structure, biogenesis and distribution en *Recent advances in phytochemistry*, Vol. 6. Runeckles, A. and Mabry, T. J., Editores, Academic Press, Nueva York,.

- Purushothaman, K. K., Duraiswamy, K., Connolly, J. D. and Rycroft, D. S. (1985). Triterpenoids from *Walsura pisciclia*. *Phytochemistry*, **24**, 2349-2354.
- Rembold, H. (1989). The Azadirachtins-their potential for insect control en Economic and Medicinal Plant Research. Vol. 3. Wagner, H., Hikino, H., Farnsworth, N. R. Editores Academic Press, London, pp 57-72.
- Sankaram, A. V. B., Sivasankara, N. and Shoolery, J. N. (1981). New sesquiterpenoids of *Bombax malabaricum*. *Phytochemistry*, **20**, 1877-1881.
- Segura, R., Calderón, J., Toscano, R., Gutiérrez, A., Mata, R. (1994). Cedrelanolide I, a new limonoid from *Cedrela salvadorensis*. *Tetrahedron letters*, **35**, 3437-40.
- Segura-Correa, R., Mata, R., Anaya, A. L., Hernández-Bautista, B., Villena, R., Soriano-García, M., Bye, R., Linares, E. (1993). Tetranortriterpenoids of *Swietenia Humilis*. *Journal of Natural Products*, **56**, 1567-1574.
- Soriano-García, M., Jiménez, M. A., Mata, R., Segura-Correa, R. (1996). Humilinolide D. *Acta Crystallographica C*, **25**, 1527-1529.
- Styles, B. T. (1981). Swietenioideae en Flora neotropica (monograph). Luteyn, J. and Mori, S. Editores Botanical garden bronx, Nueva York, pp 359-386.
- Su, R., Kim, M., Kawaguchi, H. (1990). Triterpenoids from the fruits of *Phellodron chenense* schneid the stereostructure of nitotycin. *Chemical Pharmacology Bulletin*, **38**, 1616-1619.
- Tinto, W. F., Jagessar, P. K. and Ketwaru, P. (1991). Constituents of *Trichilia schombuerkii*. *Journal of Natural Products*, **54**, 972-977.
- Villarreal, C. E. (1996). Protolimonoides y limonoides activos de *Guarea grandifolia* A. P. de Candolle (Meliaceae). Tesis de Maestría. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Yamaguchi, Y. and Sato, T. (1985). An essential oil used as an oral antibacterial. *Eur. Pat. Appl. EP 130,027* (Cl. C11B9/00), 02 Jan 1985, JP. Appl. 83/110,113, 21 Jan 1983; 12 pp. A través de CA 102: 119450m (1985).

Yatagai, M., Miyazaki, Y., Morita, S. (1991). Extractives from *Yakusugi* bogwood and their termiticidal activity and growth regulation effects on plant seeds. *Mokuzai Gakkaishi*, **37**, 345-51. A través de CA **115**: 106318t (1991).

Zelnik, R. and Rosito, C. M. (1966). Fissinolide. *Tetrahedron Letters*, **52**, 6441-4.

Zygmunt, P. M., Larsson, B., Sterner, O., Vinge, E. and Högestatt, E. D. (1993). Calcium antagonistic properties of the sesquiterpene T-cadinol and related substance: Structure-Activity studies. *Pharmacology and Toxicology*, **73**, 3-9.