

27



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

**"ESTUDIO QUIMICO DE LAS FRACCIONES  
BIOACTIVAS DE MENOR POLARIDAD  
DE LA ESPECIE  
*Flourensia cernua* D.C. (Compositae)."**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**QUIMICA FARMACEUTICA BIOLGA**  
**P R E S E N T A :**  
**NADINA OLGA PEREZ QUIROZ**



MEXICO, D.F.

2000

228490



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

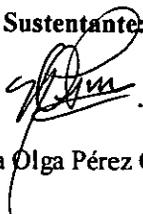
## JURADO ASIGNADO

Presidente	Dra. Yolanda Caballero Arroyo.
Vocal	Dra. Perla Carolina Castañeda López.
Secretario	M. en C. José Fausto Rivero Cruz.
Primer suplente	M. en C. Irma Susana Rojas Tomé.
Segundo suplente	M. en C. Laura Alicia Acevedo Arteaga.

### Sitio donde se desarrolló el tema:

Edificio E, Laboratorio 124, Departamento de Farmacia.  
División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, U.N.A.M.

Sustentante:



Nadina Olga Pérez Quiroz.

Asesor:



Dra. Perla Carolina Castañeda López.

FE DE ERRATAS.

En la página	El texto dice:	Y debe decir:
40	...los cuadros de conectividad observados en el espectro NOESY ( <b>Espectro 9</b> ),...	...los cuadros de conectividad observados en el espectro NOESY ( <b>Espectro 8</b> ),...
40	Este análisis ( <b>Espectros 10 a 16</b> ),...	Este análisis ( <b>Espectros 9 a 15</b> ),...
En la página	El encabezado de página dice:	Y debe decir:
52	<i>Perspectivas.</i>	<i>Resumen y Conclusiones.</i>

---

## AGRADECIMIENTOS

*El trabajo experimental de esta tesis se realizó mediante el apoyo económica otorgado a través del proyecto "Bioactive Agents from Dryland Plants of Latin America", por el programa "International Cooperative Biodiversity Group" (NIH GRANT SU01TW/00316-03) y DGAPA (Dirección General de Asuntos del Personal Académico) IN205197.*

*Agradezco a las M. en C. Isabel Chávez y Beatriz Quiroz del Instituto de Química de la UNAM, por el registro de los espectros de RMN de los compuestos obtenidos.*

*Así mismo a las Q.F.B. Graciela Chávez y Maricela Gutiérrez, por el registro de los espectros de IR, a la Q. Georgina Duarte y el M. en C. José Luis Gallegos, por el registro de los espectros de masas, y a la Q.F.B. Rosa Isela Del Villar, por el registro de los espectros de RMN, de la USAI, Facultad de Química de la UNAM.*

*A los miembros del jurado designado para la revisión del manuscrito de tesis.*

*A la Dra. Rachel Mata por permitirme formar parte de su valioso equipo de trabajo, pero sobre todo por compartir su sabiduría y calidez humana con nosotros....sus alumnos. Así como por sus valiosos comentarios y observaciones realizadas al presente trabajo.*

*A la Dra. Peral Castañeda por todo el tiempo dedicado a nuestro trabajo, por apoyarme, guiarme y animarme a hacer siempre el mejor esfuerzo, por compartir conmigo sus conocimientos y amistad.*

*Al M. en C. Fausto Rivera, por todos los sabios y acertados consejos que me has dado, por tu ayuda y amistad.*

*A mis compañeros del laboratorio 124, por su ayuda, convivencia y amistad.*

*Finalmente me resta agradecer la beca que me otorgó el ICBG, por participar en el proyecto "Bioactive Agents from Dryland Plants of Latin America", durante la realización de mi tesis.*

## DEDICATORIAS

*A mi amada UNAM, mi segundo hogar, que me ha visto crecer, me ha dado los mejores amigos, momentos y recuerdos, y lo mas valiosa formación y conocimientos. Y que sin importar las circunstancias que atraviere, seguirá siendo "La Máxima Casa de Estudios".*

*A mi padre Erasmo Pérez P., a quién le debo todo, mil gracias por ser mi papá, por quererme y consentirme, por tanto trabajo y esfuerzo, por tu apoyo incondicional, por ser mi ejemplo a seguir, te quiero.*

*A mi madre Martina Quiroz, por haberme dado la vida, por aguantar los malos ratos, por tu paciencia en la espera de mi formación profesional, por tu trabajo, te quiero mami.*

*A mis hermanas Norma y Elba con mucho cariño, y especialmente a ti Dulce por ser mi amiga y confidente.*

*A mis profesores Raúl Garza V. y Victor Ugalde S. quienes siempre tuvieron un espacio y un momento para ayudarme, por sus cátedras, por su compromiso con la comunidad de la facultad, y quienes con mano dura formaron mi carácter.*

*A mis amigos del grupo 9: Norma, Paty H., Sandra, Eli, Valeria, Ale, Paty Ch., Liz, Anibal, Adrián, Gabriel y Sergio, por todo el relajo que hemos echado juntos, por todo lo que nos hemos ayudado y por que a todos los quiero mucho.*

*A Alejandro Calixto por tu cólida amistad.*

*A mi siempre amiga Siria L., que sin importar que tan diferentes sean nuestros caminos siempre he contado contigo.*

*A mi maestra Perlita C. con todo el cariño que se merece.*

Un guerrero es alguien que busca libertad,  
que lucha por sus ideales y en contra de sus  
limitaciones y las vence por amor.

Un guerrero no es irascible.

La esencia del camino del guerrero,  
o la esencia de la valentía humana,  
es negarse a desesperar de nada ni de nadie,  
y la clave de este camino es no tener miedo  
a quienes somos.

*“Cada guerrero es el mas fuerte, el mas inteligente, el mas ágil, el mas veloz;  
ya que es único en el universo y por tanto un ser insustituible.”*

*Chögyam Trungpa y Shaolin.*

## CONTENIDO

Lista de Abreviaturas.....	iii
Lista de Cuadros.....	v
Lista de Esquemas.....	v
Lista de Figuras.....	vi
Lista de Tablas.....	vi
Lista de Espectros.....	vii
<b>I. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....</b>	<b>1</b>
<b>II. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>5</b>
2.1 Antecedentes del género <i>Flourensia</i> .....	5
2.2 Antecedentes de la especie <i>Flourensia cernua</i> D. C.....	8
<b>III. PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>23</b>
3.1 Recolección e identificación del material vegetal.....	23
3.2 Preparación del extracto orgánico vegetal.....	23
3.3 Procedimientos generales.....	23
3.3.1 Análisis cromatográficos.....	23
3.3.2 Determinación de las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas.....	26
3.4 Fraccionamiento primario del extracto orgánico total de <i>Flourensia cernua</i> .....	26
3.5 Separación de los constituyentes presentes en las fracciones primarias activas F004 y F005, derivadas del extracto orgánico de <i>F. cernua</i> .....	27
3.5.1 Aislamiento de la mezcla F011 constituida por: Tetracosan-4-ólida (47), pentacosan-4-ólida (48), hexacosan- 4-ólida (49), heptacosan-4-ólida (50), octacosan-4-ólida (51), nonacosan-4-ólida (52) y triacontan-4-ólida (53), a partir del precipitado obtenido de la fracción primaria activa F004.....	27

3.5.2 Fraccionamiento secundario de la fracción activa F004.....	28
3.5.3 Separación del compuesto F012: 1-Pentacosanol (54), a partir de la fracción primaria activa F004.....	29
3.5.4 Fraccionamiento secundario de la fracción activa F005.....	29
3.5.5 Aislamiento del 3-éter metílico de la quercetina (1) a partir de la fracción primaria activa F005.....	30
3.6 Estrategia general.....	30
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>32</b>
4.1 Estudio fitoquímico de <i>Flourensia cernua</i> D.C.....	32
4.2 Caracterización de los compuestos presentes en la mezcla F011.....	35
4.3 Caracterización del 1-Pentacosanol (54).....	43
4.4 Caracterización del 3-éter metílico de la quercetina (1).....	46
<b>V. RESUMEN Y CONCLUSIONES.....</b>	<b>52</b>
<b>VI. PERSPECTIVAS.....</b>	<b>53</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>54</b>
<b>ANEXO de Espectros.....</b>	<b>60</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS.

° C	Grados centígrados.
Å	Angström $10^{-10}$ m.
AcOEt	Acetato de etilo.
CCF	Cromatografía en capa fina.
CCFP	Cromatografía en capa fina modalidad preparativa.
CDCl <sub>3</sub>	Cloroformo deuterado.
CG-EM	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.
cm	Centímetro.
cm <sup>-1</sup>	Número de onda.
COSY	Correlated spectroscopy.
δ	Desplazamiento químico.
<i>d</i>	Doblete.
<i>dddd</i>	Doble de dobles de doble de dobles.
DEPT	Distortionless enhancement polarization transfer.
DMSO	Dimetilsulfóxido.
EM-IE	Espectrometría de masas por impacto electrónico.
eV	Electron volts.
g	Gramo.
h	Hora.
HETCOR	Heteronuclear correlation.
Hex	Hexano.
HMBC	Heteronuclear multiple bond connectivity.
HMQC	Heteronuclear multiple-quantum coherence.
Hz	Hertz.
INI	Instituto Nacional Indigenista.
<i>int. rel.</i>	Intensidad relativa.
IR	Infrarrojo.
<i>J</i>	Constante de acoplamiento.

## LISTA DE ABREVIATURAS (continuación).

Kg	Kilogramo.
L	Litros.
$\lambda$	Longitud de onda.
m	Metro.
<i>m</i>	Multiplete.
$M^+$	Ión molecular.
<i>m/z</i>	Relación masa-carga.
MeOH	Metanol.
MHz	Megahertz.
min	Mínuto.
$\mu$ L	Micro litro.
mL	Mililitro.
$\mu$ m	Micrómetro.
mm	Milímetro.
nm	Nanómetro.
$V_{max}$	Máxima longitud de onda.
NOESY	Nuclear Overhauser effect spectroscopy.
<i>pa</i>	Penteto ancho.
p.f.	Punto de fusión.
pH	Potencial hidrógeno.
ppm	Partes por millón.
RMN	Resonancia Magnética Nuclear.
RMN- <sup>1</sup> H	Resonancia Magnética Nuclear de hidrógeno.
RMN- <sup>13</sup> C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono trece.
<i>s</i>	Singlete.
<i>t</i>	Triplete.
TMS	Tetrametilsilano.

**LISTA DE ABREVIATURAS (continuación).**

USAI	Unidad de servicios y apoyo a la investigación.
UV	Ultravioleta.

**LISTA DE CUADROS.**

Número de cuadro		Página
1	Especies pertenecientes al género <i>Flourensia</i> y su región de localización	5
2	Metabolitos secundarios aislados de la especie <i>Flourensia cernua</i> .	13
3	Sistemas de elución empleados en los análisis de CCF y CCFP.	25
4	Fraccionamiento primario del extracto total de <i>F. cernua</i> .	27
5	Fraccionamiento secundario del sólido obtenido de la fracción primaria activa F004.	28
6	Fraccionamiento secundario de la fracción primaria activa F004.	28
7	Fraccionamiento secundario de la fracción primaria activa F005.	29
8	Metabolitos secundarios aislados a partir de las fracciones primarias bioactivas F004 y F005.	33

**LISTA DE ESQUEMAS.**

Número de esquema		Página
1	Proceso de extracción empleado para la especie <i>Flourensia cernua</i> .	24
2	Diagrama de flujo del desarrollo experimental.	31

## LISTA DE FIGURAS.

Número de figura		Página
1	Distribución geográfica del género <i>Flourensia</i> en el Continente Americano.	7
2	<i>Flourensia cernua</i> D.C. ( <i>Compositae</i> ).	9
3	Arbusto representativo de la especie <i>Flourensia cernua</i> D.C.	9
4	Distribución geográfica de la especie <i>Flourensia cernua</i> en la República Mexicana y suroeste de Estados Unidos.	11
5	Espectro de RMN- <sup>1</sup> H modalidad COSY para la mezcla F011.	37
6	Espectro de RMN- <sup>13</sup> C modalidad HETCOR de la mezcla F011.	39
7	Cromatograma de gases de la mezcla F011 obtenido mediante CG-EM.	40
8	Fragmentos mas importantes observados por EM-IE para el compuesto 47.	42
9	Espectro de RMN- <sup>1</sup> H modalidad COSY para el 1-pentacosanol	45
10	Espectro de RMN- <sup>1</sup> H modalidad COSY para el 3-éter metílico de la quercetina (1).	48
11	Fragmentos mas importantes observados por EM-IE para el compuesto 1.	51

## LISTA DE TABLAS.

Número de tabla		Página
1	Constantes espectroscópicas y espectrométricas para F011.	36
2	Longitud de la cadena hidrocarbonada ( <i>n</i> ), fórmula molecular (FM), masa molecular (MM), tiempo de retención ( <i>t<sub>R</sub></i> ) y nombre, para los compuestos (43 a 57) presentes en la mezcla F011.	41
3	Constantes espectroscópicas del compuesto 54.	43

## LISTA DE TABLAS (continuación).

Número de tabla		Página
4	Constantes espectroscópicas y espectrométricas para el 3-éter metílico de la quercetina (1).	46

## LISTA DE ESPECTROS.

Número de espectro		Página
1	Espectro en el IR de la mezcla F011.	61
2	Espectro de RMN- <sup>1</sup> H de la mezcla F011.	62
3	Espectro de RMN- <sup>13</sup> C de la mezcla F011.	63
4	Espectro de masas por IE de la mezcla F011.	64
5	Espectro de RMN- <sup>13</sup> C modalidad DEPT de la mezcla F011.	65
6	Espectro HMQC de la mezcla F011.	66
7	Espectro HMBC de la mezcla F011.	67
8	Correlaciones observadas en el espectro NOESY para la mezcla F011.	68
9-15	Espectros de masas acoplados a cromatografía de gases de los compuestos 47 a 53.	69-72
16	Espectro en el IR del 1-pentacosanol(54).	73
17	Espectro de RMN- <sup>1</sup> H del 1-pentacosanol (54).	74
18	Espectro de RMN- <sup>13</sup> C del 1-pentacosanol (54).	75
19	Espectro en el IR del 3-éter metílico de la quercetina (1).	76
20	Espectro de RMN- <sup>1</sup> H del 3-éter metílico de la quercetina (1).	77
21	Espectro de RMN- <sup>13</sup> C del 3-éter metílico de la quercetina (1).	78
22	Espectro de masas por IE para el 3-éter metílico de la quercetina (1).	79
23	Espectro de RMN- <sup>13</sup> C modalidad HETCOR para el 3-éter metílico de la quercetina (1).	80

24	Espectro de RMN- <sup>13</sup> C modalidad DEPT para el 3-éter metílico de la quercetina (1).	81
----	---	----

## I. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.

Es un hecho que durante las últimas décadas, la población a nivel mundial replantea el uso y la importancia de la “herbolaria medicinal” como una alternativa para el tratamiento de numerosos padecimientos de salud que afectan a vastos sectores de la población como es el SIDA, el cáncer y la tuberculosis, por tan solo mencionar algunos ejemplos.

Es así que en años recientes, se incrementa notablemente el interés de las materias primas vegetales como fuentes potenciales de compuestos bioactivos de importancia medicinal.

En éste contexto, Jeff Schweitzer de la U.S. Agency for International Development (USAID), interesado en los productos naturales como fuentes potenciales de fármacos, invitó a diversas agencias gubernamentales de los Estados Unidos a unir esfuerzos y participar en el desarrollo de una estrategia a favor de la conservación de la biodiversidad.

De tal manera que, en 1992 se fundó el programa denominado “International Cooperative Biodiversity Group Program” (ICBG) (Suffness *et al.*, 1995), el cuál contempla tres rubros principales: el descubrimiento de fármacos, la conservación de la biodiversidad y el apoyo al crecimiento económico de países en vías de desarrollo.

Este programa está patrocinado y respaldado por las siguientes instituciones gubernamentales de los Estados Unidos: National Science Foundation (NSF), U.S. Agency for International Development (USAID) e institutos integrantes de National Institutes of Health (NIH), incluyendo: National Cancer Institute (NCI), National Institute for Allergy and Infectious Diseases (NIAID), National Heart Lung and Blood Institute (NHLBI), y National Institute of Mental Health (NIMH).

Los objetivos generales planteados en el programa ICBG son los siguientes (Suffness *et al.*, 1995);

- 1.- Identificar y conservar los recursos naturales renovables incluyendo los conocimientos etnobotánicos de los países en vías de desarrollo.

- 2.- Desarrollar a largo plazo estrategias ecológicas y económicas para el establecimiento de cultivos de recursos naturales en países en vías de desarrollo.
- 3.- Implementar investigaciones económicas para el estudio de los productos naturales.
- 4.- Establecer nuevas industrias.
- 5.- Buscar nuevos fármacos de origen natural para tratar enfermedades de países en vías de desarrollo y desarrollados.
- 6.- Contribuir al mejoramiento de la infraestructura de investigación de los países en vías de desarrollo que participan en el programa.
- 7.- Contribuir a la formación de recursos humanos para realizar investigación sobre los recursos naturales renovables de los países participantes.

Considerando la importancia de los objetivos planteados por el programa antes mencionado, las instituciones patrocinadoras acordaron crear un proyecto dentro del cuál participaran también instituciones de países en vías de desarrollo y se sumaran a los esfuerzos en favor de la conservación de la biodiversidad. Es así como posteriormente se fundó el proyecto internacional de investigación denominado "Bioactive Agents from Dryland Plants of Latin America", cuya sede se encuentra en la Universidad de Arizona de Estados Unidos, donde reside la Dra. Bárbara Timmermann, investigador principal del proyecto, y donde se coordina a los siguientes países e instituciones participantes: los laboratorios de las compañías American Cyanamid Company y Wyeth-Ayerst Laboratories y los laboratorios de investigación de GWL Hansen's Disease Center de los Estados Unidos; la Facultad de Química y el Instituto de Biología de la UNAM en México; la Universidad Nacional de la Patagonia (UNP) y el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) en Argentina; y finalmente, en Chile la Universidad Católica de Chile.

En el caso particular de México, la Facultad de Química de la UNAM tiene la tarea de obtener compuestos bioactivos a partir de plantas medicinales de las zonas áridas de la República Mexicana mediante la realización de las siguientes actividades:

- Preparación de extractos vegetales a partir de las especies pre-seleccionadas mediante un criterio etnomédico.
- Envío de los extractos a los laboratorios antes mencionados con la finalidad de determinar su actividad biológica.
- Fraccionamiento biodirigido de los extractos que demuestren una actividad significativa.
- Separación y purificación de los compuestos responsables de las actividades biológicas.
- Elucidación de las estructuras moleculares de los compuestos aislados de las fracciones activas.

Es importante destacar que debido a la existencia de una cláusula de confidencialidad convenida con la Universidad de Arizona, los resultados derivados de los ensayos biológicos no pueden ser difundidos sin el establecimiento de patentes.

En el marco del proyecto de investigación "Bioactive Agents from Dryland Plants of Latin America", los resultados obtenidos de los ensayos biológicos preliminares realizados sobre el extracto orgánico de la especie *Flourensia cernua* D.C. permitieron seleccionar a ésta especie como una fuente potencial de compuestos bioactivos. Por tanto, el objetivo fundamental de éste trabajo es el aislamiento y la caracterización de los productos naturales responsables de la actividad biológica demostrada por el extracto total de *F. cernua*.

Para el cumplimiento del mismo se establecieron los siguientes objetivos particulares:

- a) Preparar el extracto orgánico vegetal a gran escala, de las hojas secas de la especie *Flourensia cernua* D.C., mediante la técnica de maceración.
- b) Realizar el fraccionamiento biodirigido del extracto orgánico total mediante una cromatografía en columna abierta.
- c) Separar y purificar los constituyentes presentes en las fracciones activas mediante diversas técnicas cromatográficas.

- d) Caracterizar los compuestos obtenidos mediante métodos físicos, espectroscópicos y espectrométricos.

Finalmente cabe destacar que, considerando la cláusula de confidencialidad antes mencionada, en el presente trabajo de investigación no se reportará ningún resultado de tipo biológico.

## II. INTRODUCCIÓN.

### 2.1 Antecedentes del género *Flourensia*.

El género *Flourensia*, pertenece a la familia *Compositae*, tribu *Heliantheae*, subtribu *Ecliptinae*, y desde el punto de vista quimiotaxonómico, se encuentra estrechamente relacionado con los géneros *Encelia* y *Helianthella* (Heywood *et al.*, 1977; Robinson, 1981; Bohlmann *et al.*, 1984); comprende 15 especies, las cuáles se indican en el Cuadro 1. En cuanto a su hábitat (ver cuadro 1), el género se localiza principalmente en regiones áridas del norte y centro de la República Mexicana (Rzedowski, 1983; Wollenweber y Yatskievych, 1985; Stuppner y Müller, 1994), suroeste de Estados Unidos (Rao *et al.*, 1970; Fredrickson *et al.*, 1994; Richerson y Boldt., 1995), y Suramérica (Rzedowski, 1983; Bohlmann *et al.*, 1984; Wollenweber y Yatskievych, 1985; Priotti *et al.*, 1997; Faini *et al.*, 1997). En la Figura 1 se muestra la distribución geográfica del género *Flourensia* en el Continente Americano.

En general, estas especies se caracterizan por ser arbustos de 1-3 m de altura, perennes, de hojas ovales a lanceoladas, alternas y opuestas bajo la base, con cabezuelas grandes generalmente solitarias o asociadas en pequeños grupos con flores compuestas (Heywood *et al.*, 1977; Wollenweber y Yatskievych, 1985; Mauchamp y Janeau, 1993; Stuppner y Müller, 1994; Fredrickson *et al.*, 1994).

Cuadro 1. Especies pertenecientes al género *Flourensia* y su región de localización.

Espece	Región de localización
<i>Flourensia campestris</i>	Texas, Estados Unidos.
<i>Flourensia cernua</i> D.C.	Suroeste de Estados Unidos, norte y centro de la República Mexicana.
<i>Flourensia dentata</i>	Hidalgo, México.
<i>Flourensia heterolepis</i> Blake	Bolivia.
<i>Flourensia ilicifolia</i> Blake	Texas, Estados Unidos.
<i>Flourensia laurifolia</i>	San Luis Potosí, México.
<i>Flourensia macrophylla</i> Blake	Perú.
<i>Flourensia monticola</i> Dillon	Chihuahua, México.
<i>Flourensia oolepis</i>	San Luis, Argentina.

**Cuadro 1.** Especies pertenecientes al género *Flourensia* y su región de localización (continuación).

Espece	Región de localización
<i>Flourensia pringlei</i>	Ascensión, Chihuahua, México.
<i>Flourensia pulcherrima</i> Dillon	Chihuahua, México.
<i>Flourensia resinosa</i> Blake (T.S. Brandege)	Valle del Mezquital Hidalgo, México y sur de Ecuador.
<i>Flourensia retinophylla</i> Blake	Cuatro Ciénegas y Laguna del Rey, Coahuila, México.
<i>Flourensia solitaria</i>	Coahuila, México.
<i>Flourensia thurifera</i>	Centro de Chile.

Estos arbustos, generalmente se emplean para el pastoreo de ganado de ovejas y cabras (Estell *et al.*, 1994), como agentes insecticidas y en la industria de la resina (Faini *et al.*, 1997). Así mismo, algunas especies del género son empleadas en la medicina tradicional de México como agentes curativos en el tratamiento de algunos padecimientos; tal es el caso de *F. resinosa* empleada para el tratamiento de reumas y calambres preparando sus hojas en infusión para beber o bien, se prepara un cataplasma para aplicar fricciones (INI, 1994).

Hasta la fecha, varias especies pertenecientes a este género han sido objeto de diversos estudios conducentes a la determinación de su contenido metabólico. Entre los metabolitos secundarios presentes en el género *Flourensia* se encuentran: **flavonoides** (Geissman *et al.*, 1967; Rao *et al.*, 1970; Roster *et al.*, 1971; Lebreton *et al.*, 1971; Wollenweber *et al.*, 1972; Rodríguez *et al.*, 1972; Valesi *et al.*, 1972; Pederiva *et al.*, 1975; Dillon *et al.*, 1976; Dillon, 1976; Dillon y Mabry, 1977; Bohlmann y Jakupovic, 1979; Guerreiro *et al.*, 1979; Wollenweber y Yatskievych, 1985; Guerrero *et al.*, 1990; Stuppner y Müller., 1994), **sesquiterpenoides** (Kingston *et al.*, 1971, 1975; Rodríguez-Hahn y Rodríguez, 1973; Bohlmann y Jakupovic, 1979; Guerreiro *et al.*, 1979; Bohlmann *et al.*, 1984; Estell *et al.*, 1994; Priotti *et al.*, 1997), **triterpenoides** (Rodríguez-Hahn y Rodríguez, 1973; Bohlmann y Jakupovic, 1979), **monoterpenoides** (Estell *et al.*, 1994; Priotti *et al.*, 1997), **benzopiranos** (Bohlmann y Grenz, 1977; Bohlmann y Jakupovic, 1979; Bohlmann *et al.*, 1984; Faini *et al.*, 1997), **benzofuranos** (Bohlmann y Grenz, 1977; Bohlmann y Jakupovic, 1979; Bohlmann *et al.*, 1984; Faini *et al.*, 1997), **p-hidroxiacetofenonas**

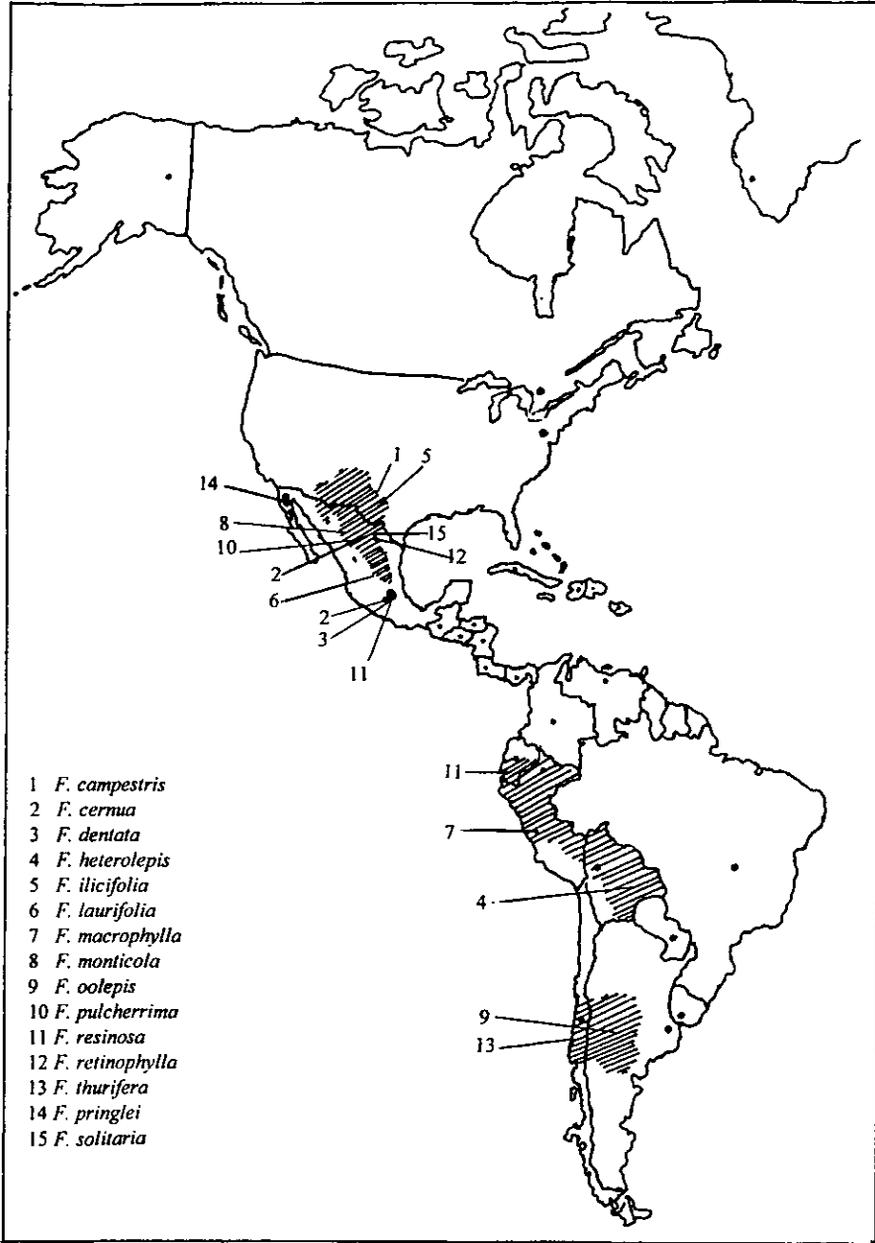


Figura 1. Distribución geográfica del género *Flourensia* en el Continente Americano.

(Bohlmann y Grenz, 1977; Bohlmann y Jakupovic, 1979; Faini *et al.*, 1997) y diversos acetilenos (Bohlmann y Grenz, 1977; Bohlmann y Jakupovic, 1979).

Cabe mencionar que *F. thurifera*, *F. resinosa* y *F. cernua*, difieren de las especies restantes debido a que sus hojas y ramas jóvenes están cubiertas de una secreción resinosa, la cuál juegan un papel importante en la química de defensa y comunicación de éstas especies (Zobel *et al.*, 1991). El análisis químico de la resina de las dos primeras especies, permitió establecer que diversos compuestos de naturaleza terpenoide y flavonoides son los principales constituyentes de *F. resinosa* (Wollenweber y Yatskievych, 1985), en tanto que para *F. thurifera* se identificaron diversos cromenos y cumarinas (Faini *et al.*, 1997); así mismo, para *F. cernua* se identificaron mono y sesquiterpenoides (canfeno,  $\beta$ -mircenol, 3-careno, limoneno, 1,8-cineol, borneol, *cis*-jamona,  $\beta$ -cariofileno, óxido de cariofileno y globulol), cromenos y compuestos de naturaleza fenólica (*p*-hidroxiacetofenonas) (Estell *et al.*, 1994).

## 2.2 Antecedentes de la especie *Flourensia cernua* D.C.

*Flourensia cernua* D.C. (*Compositae*) (Figura 2), es un arbusto semiperenne, de hoja caduca, endémico de regiones áridas; mide menos de 1 m y en algunas localidades entre 1 y 2 m de altura (Martínez, 1937; Fredrickson *et al.*, 1994). Mauchamp y Janeau (1993), lo describen como un arbusto multiramificado semejante a un cono invertido (Figura 3), que mide 1.50 m de altura por 1 a 1.50 m de diámetro (Ludwing *et al.*, 1975), sin tronco y ramas oblicuas desde la base. Sus tallos son oscuros y las hojas son enteras, ovadas u ovales, de 2 a 2.5 cm de largo por 6 mm de ancho orientadas hacia arriba en una posición sub-vertical, cubiertas con una resina aromática y de sabor amargo, con flores amarillas en cabezuelas, que nacen de los axones terminales y axiales sostenidas por largos ejes (Rzedowski, 1983; Fredrickson *et al.*, 1994).

*F. cernua* se distribuye al suroeste de Estados Unidos [en Arizona, Nuevo México y Texas (Rao *et al.*, 1970; Estell *et al.*, 1994; Fredrickson *et al.*, 1994)] y en el norte y centro de la República Mexicana [en los estados de Chihuahua, Baja California Norte, Durango,

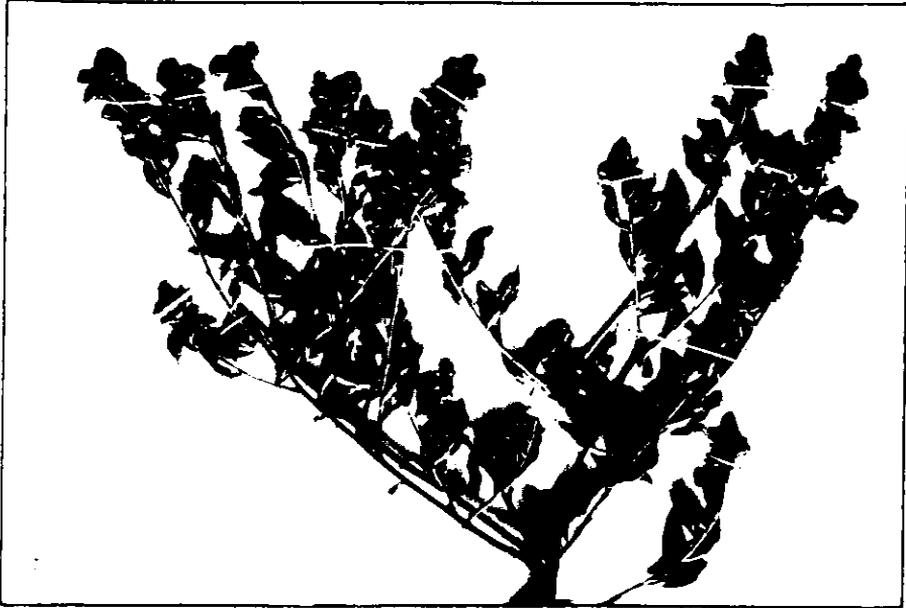


Figura 2. *Flourensia cernua* D.C. (Compositae).

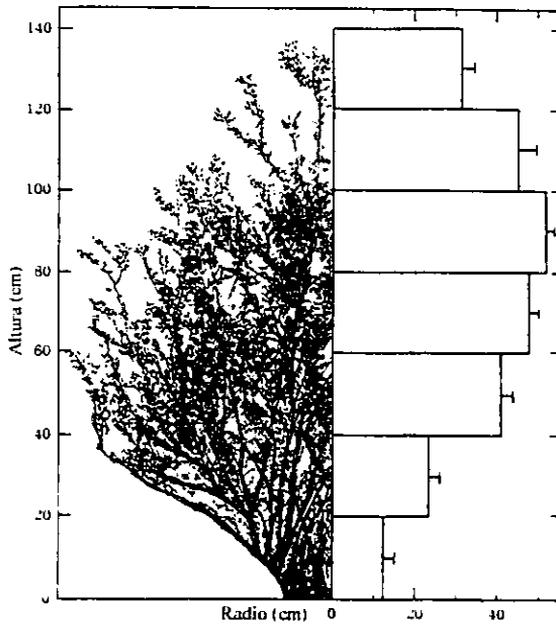


Figura 3. Arbusto representativo de la especie *Flourensia cernua* D.C.

Coahuila, Nuevo León, Zacatecas, San Luis Potosí, Sonora y en la región árida del estado de Hidalgo (Kingston *et al.*, 1971; Dillon *et al.*, 1976; Rzedowski, 1983; Estell *et al.*, 1994)](Figura 4).

Generalmente, ésta especie se encuentra asociada con las especies *Prosopis sp.* (Mezquite) y *Larrea tridentata* (Gobernadora), arbustos de regiones áridas, con los cuáles forma matorrales que se desarrollan en altitudes no inferiores a 1000 m; dichos matorrales cubren extensiones de terreno muy amplias en Hidalgo (Actopan), San Luis Potosí, Zacatecas y Chihuahua (Rzedowski, 1983; Richerson y Boldt, 1995).

Se le conoce popularmente con los nombres de hoja sen, hoja sé (Martínez, 1937; Richerson y Boldt, 1995), arbusto de alquitrán, maleza negra (Dillon *et al.*, 1976; Estell *et al.*, 1994) y arbusto barnizado (Fredrickson *et al.*, 1994).

Dentro de la medicina tradicional mexicana, diferentes partes del arbusto de *F. cernua* son empleadas como agentes medicinales en el tratamiento de algunos padecimientos; la decocción de las hojas y cabezuelas de flores, se utiliza como remedio para la indigestión y otras enfermedades y dolores, tomando vía oral, 1mL de la tintura preparada en etanol a 90 °C, o la infusión de 10 hojitas (Martínez, 1959; Fredrickson *et al.*, 1994; Richerson y Boldt, 1995); también es empleado como expectorante en enfermedades respiratorias (Díaz, 1976); las mujeres de la etnia Kiliwa de Baja California Norte, emplean la raíz previamente fragmentada y preparada en infusión en 1 L de agua, para estimular la presencia de la menstruación cuando ésta se retrasa (INI, 1994).

Así mismo, la hoja sen se utiliza ampliamente como forraje en el pastoreo de ganado (ovejas y cabras) debido a que posee un perfil nutricional semejante a la alfalfa (Fredrickson *et al.*, 1994), gracias a su alto contenido de crudo proteico y a que es una fuente de fósforo, calcio y nitrógeno, sustituyendo así las hierbas escasas en las regiones áridas (Nelson *et al.*, 1970; King *et al.*, 1996).

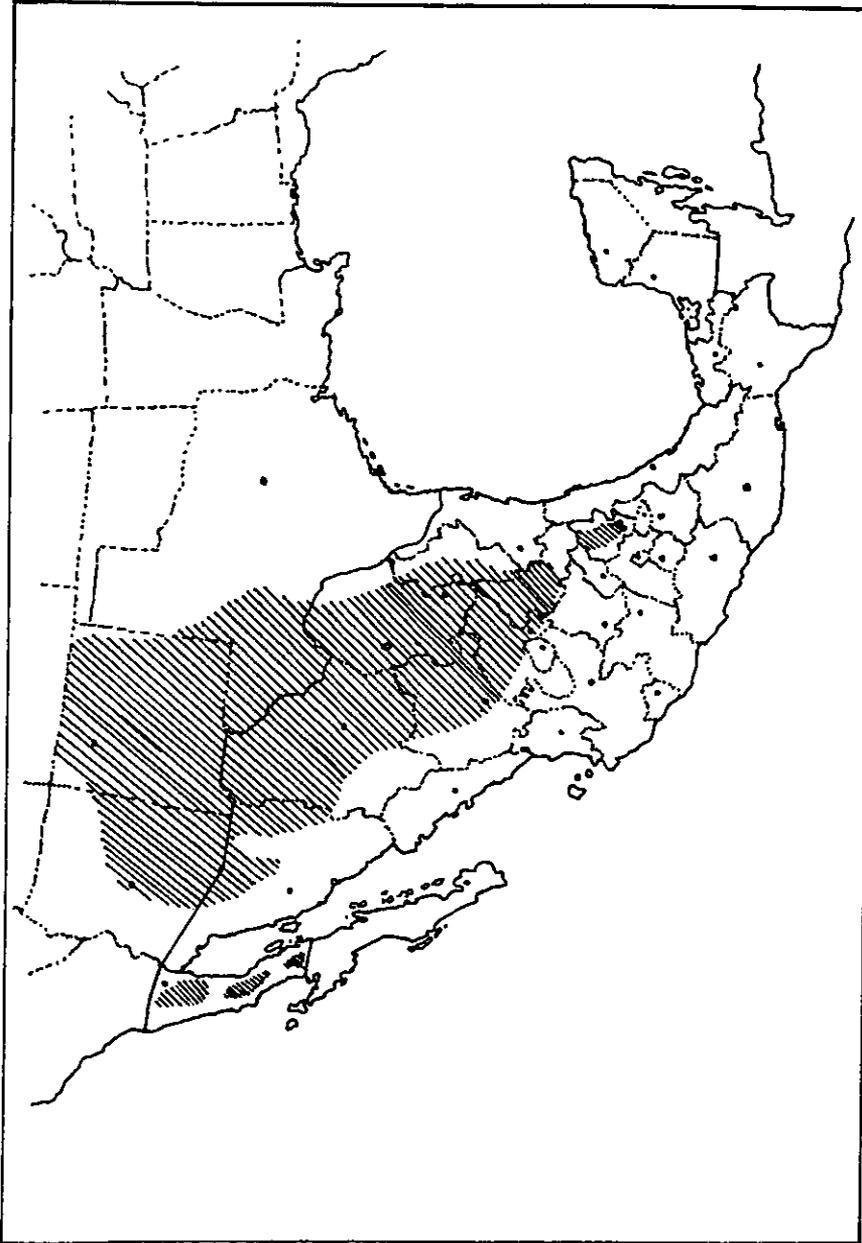


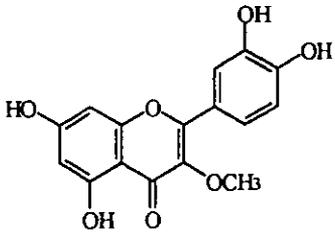
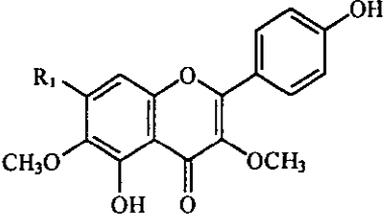
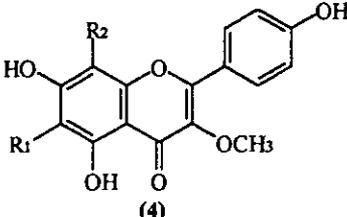
Figura 4. Distribución geográfica de la especie *Florensia cernua* en la República Mexicana y suroeste de Estados Unidos.

Sin embargo, se ha descrito en la literatura que los componentes químicos de la resina o cera epicuticular de sus hojas son desagradables y tóxicos para los insectos (Rodríguez, 1985) y causan envenenamiento en el ganado provocando alteraciones digestivas por inhibición de la digestión de la celulosa y/o toxicosis que se manifiesta como daño apoptótico del hígado y probable daño de músculos y otros tejidos (Mathews, 1944; Fredricson *et al.*, 1994; King *et al.*, 1996). También los frutos y flores del arbusto han sido reportados como tóxicos para el antílope y conejos por periodos prolongados de pastoreo (Dollahite y Allen, 1975; Fredrickson *et al.*, 1994). Se ha demostrado que los compuestos responsables de éstas alteraciones son algunos monoterpenoides (borneol, alcanfor, limoneno y  $\beta$ -pineno), cromenos y *p*-hidroxiacetofenonas (Oh *et al.*, 1967; Schwartz *et al.*, 1980; Estell *et al.*, 1994; Showalter, 1996; King *et al.*, 1996). Algunos autores sugieren que para evitar el envenenamiento del ganado, se restrinja el pastoreo a periodos de no floración, o bien remover la cera con disolventes apropiados antes de alimentar el ganado (Estell *et al.*, 1994; Fredrickson *et al.*, 1994).

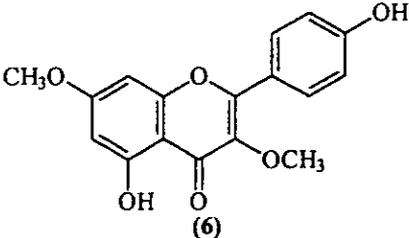
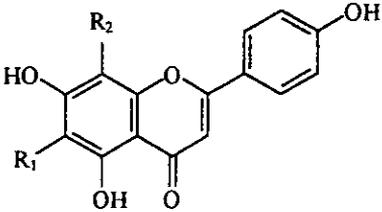
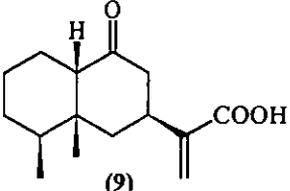
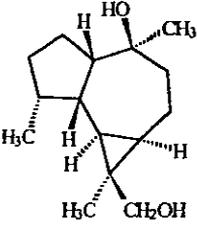
En su medio ambiente natural, se ha observado que el arbusto ejerce un efecto fitotóxico importante ya que inhibe el crecimiento de otras comunidades de plantas promoviendo así, el proceso de “desertificación” de pastizales a tierras de arbustos. De tal forma, que desde 1915 se ha incrementado en un 2 al 9 % la vegetación de *F. cernua* dominando mas de 45 millones de hectáreas en el desierto de Chihuahua y suroeste de Nuevo México (Schlesinger *et al.*, 1990; Estell *et al.*, 1994; Schowalter, 1996).

Desde el punto de vista químico, las investigaciones realizadas hasta el momento de *Flourensia cernua* han permitido el aislamiento y caracterización de diversos metabolitos secundarios, los cuáles se presentan en el **Cuadro 2**.

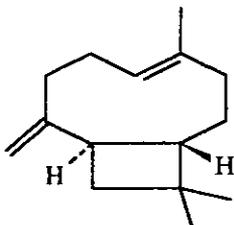
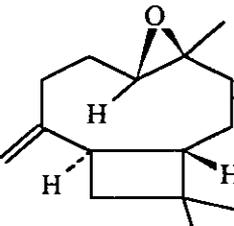
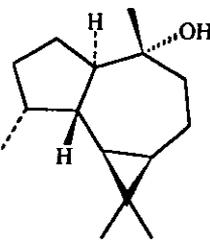
Cuadro 2. Metabolitos secundarios aislados de la especie *Flourensia cernua*

NOMBRE	COMPUESTO FLAVONOIDES	REFERENCIA
(1) 3- éter metílico de la quercetina	 <p style="text-align: center;">(1)</p>	Dillon <i>et al.</i> , 1976. Dillon y Mabry, 1977.
(2) Hispidulina (3) Cirsimaritina	 <p style="text-align: center;">R<sub>1</sub> (2) OH (3) OCH<sub>3</sub></p>	Geissman <i>et al.</i> , 1967. Rao <i>et al.</i> , 1970.
(4) Neoschaftosido (5) Isoschaftosido	 <p style="text-align: center;">(4)</p> <p style="text-align: center;">R<sub>1</sub>    R<sub>2</sub> (4) Glu   Arab (5) Arab   Glu</p>	Dillon <i>et al.</i> , 1976.

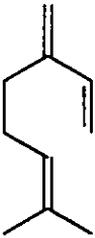
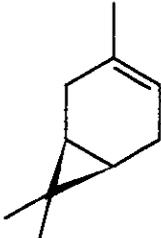
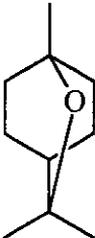
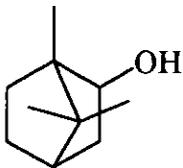
**Cuadro 2.** Metabolitos secundarios aislados de la especie *Flourensia cernua* (continuación).

NOMBRE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>FLAVONOIDES</b>		
(6) Kumatakenina.	 <p style="text-align: center;">(6)</p>	<p>Rao, 1970.</p> <p>Valesi <i>et al.</i>, 1972.</p> <p>Dillon <i>et al.</i>, 1977.</p>
(7) Vicenina 1 (8) Vicenina 2	 <p style="text-align: center;">R<sub>1</sub>      R<sub>2</sub></p> <p style="text-align: center;">(7) Xil      Glu</p> <p style="text-align: center;">(8) Glu      Xil</p>	<p>Dillon <i>et al.</i>, 1976.</p>
<b>SESQUITERPENOIDES</b>		
(9) Ácido flourensico	 <p style="text-align: center;">(9)</p>	<p>Kingston <i>et al.</i>, 1971.</p> <p>Kingston <i>et al.</i>, 1975.</p>
(10) Flourensadiol	 <p style="text-align: center;">(10)</p>	<p>Kingston <i>et al.</i>, 1975.</p> <p>Pettersen <i>et al.</i>, 1975.</p>

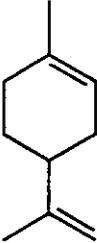
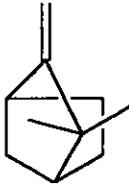
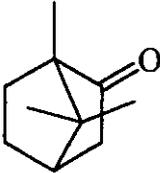
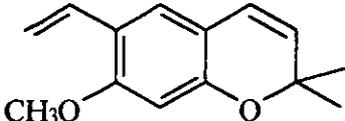
**Cuadro 2.** Metabolitos secundarios aislados de la especie *Flourensia cernua* (continuación).

NOMBRE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>SESQUITERPENOIDES</b>		
(11) $\beta$ -Cariofileno.	 <p style="text-align: center;">(11)</p>	<p>Estell <i>et al.</i>, 1994. Priotti <i>et al.</i>, 1997.</p>
(12) Óxido de cariofileno.	 <p style="text-align: center;">(12)</p>	<p>Estell <i>et al.</i>, 1994. Priotti <i>et al.</i>, 1997.</p>
(13) Globulol.	 <p style="text-align: center;">(13)</p>	<p>Estell <i>et al.</i>, 1994. Priotti <i>et al.</i>, 1997.</p>

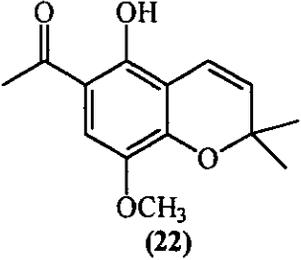
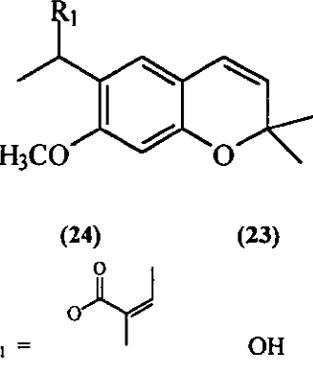
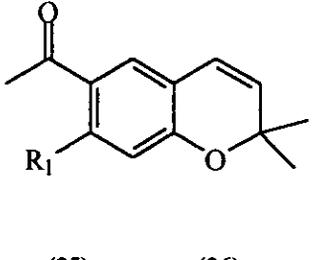
**Cuadro 2.** Metabolitos secundarios aislados de la especie *Flourensia cernua*.  
(continuación).

NOMBRE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>MONOTERPENOIDES</b>		
(14) $\beta$ -Mirreno	 <p style="text-align: center;"><b>(14)</b></p>	<p>Estell <i>et al.</i>, 1994. Priotti <i>et al.</i>, 1997.</p>
(15) 3-Careno	 <p style="text-align: center;"><b>(15)</b></p>	<p>Estell <i>et al.</i>, 1994. Priotti <i>et al.</i>, 1997.</p>
(16) 1,8-Cineol	 <p style="text-align: center;"><b>(16)</b></p>	<p>Estell <i>et al.</i>, 1994. Priotti <i>et al.</i>, 1997.</p>
(17) Borneol	 <p style="text-align: center;"><b>(17)</b></p>	<p>Estell <i>et al.</i>, 1994. Priotti <i>et al.</i>, 1997.</p>

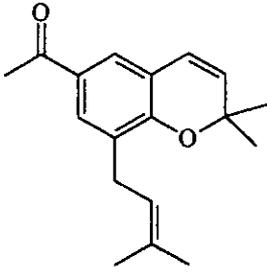
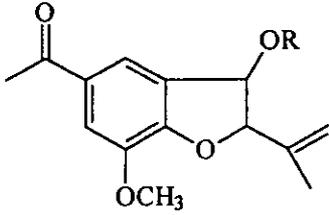
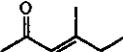
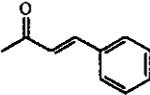
**Cuadro 2.** Metabolitos secundarios aislados de la especie *Flourensia cernua* (continuación).

NOMBRE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>MONOTERPENOIDES</b>		
(18) Limoneno	 <p style="text-align: center;">(18)</p>	<p>Estell <i>et al.</i>, 1994. Priotti <i>et al.</i>, 1997.</p>
(19) Canfeno	 <p style="text-align: center;">(19)</p>	<p>Estell <i>et al.</i>, 1994. Priotti <i>et al.</i>, 1997</p>
(20) Alcanfor	 <p style="text-align: center;">(20)</p>	<p>Estell <i>et al.</i>, 1994. Priotti <i>et al.</i>, 1997.</p>
<b>BENZOPIRANOS</b>		
(21) Anhidroencecalinol	 <p style="text-align: center;">(21)</p>	<p>Bohlmann y Grenz, 1977. Venkama <i>et al.</i>, 1980.</p>

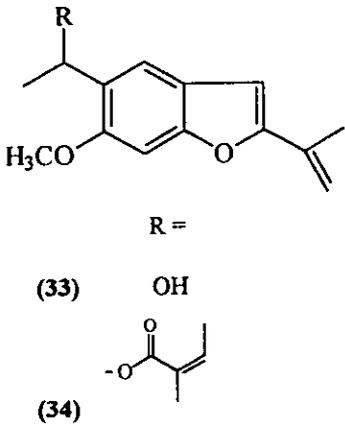
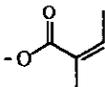
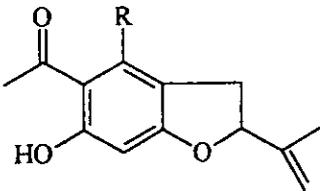
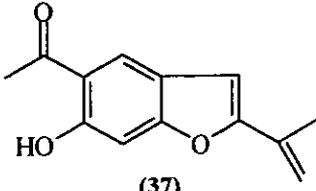
**Cuadro 2.** Metabolitos secundarios aislados de la especie *Flourensia cernua* (continuación).

NOMBRE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>BENZOPIRANOS</b>		
<p>(22) 6-acetil-5-hidroxi-8-metoxi-2,2-dimetil-2H-1-benzopirano.</p>	 <p style="text-align: center;">(22)</p>	<p>Bohlmann y Grenz, 1977.</p>
<p>(23) Encecalinol</p> <p>(24) Angelato de encecalinol</p>	 <p style="text-align: center;">(24)                      (23)</p> <p>R<sub>1</sub> =                      OH</p>	<p>Bohlmann y Grenz, 1977.</p> <p>Bohlmann y Jakupovic, 1979.</p>
<p>(25) Desmetilencecalina</p> <p>(26) 6-acetil-2,2-dimetil-2H-1-benzopirano.</p>	 <p style="text-align: center;">(25)                      (26)</p> <p>R<sub>1</sub> =                      OH                      H</p>	<p>Bohlmann y Grenz, 1977.</p>

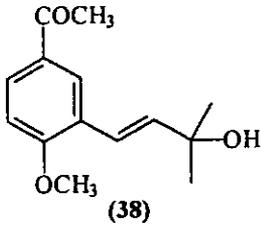
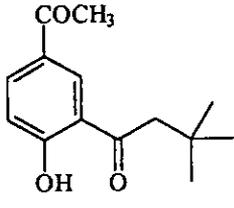
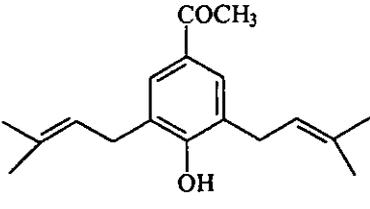
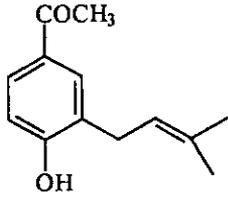
**Cuadro 2.** Metabolitos secundarios aislados de la especie *Flourensia cernua* (continuación).

NOMBRE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>BENZOPIRANOS</b>		
<p>(27) 6-acetil-8-(3,3-dimetilalil)-2,2-dimetilcromeno.</p>	 <p style="text-align: center;">(27)</p>	<p>Bohlmann y Grenz, 1977.</p>
<b>BENZOFURANOS</b>		
<p>(28) Cernuanona</p> <p>(29) Senoiato de cernuanona</p> <p>(30) 3-metil-2-pentenil cernuanona</p> <p>(31) Cinamoato de cernuanona</p> <p>(32) Angelato de cernuanona</p>	 <p style="text-align: center;">R =</p> <p>(28) </p> <p>(29) </p> <p>(30) </p> <p>(31) </p> <p>(32) </p>	<p>Bohlmann y Grenz, 1977.</p>

**Cuadro 2.** Metabolitos secundarios aislados de la especie *Flourensia cernua* (continuación).

NOMBRE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>BENZOFURANOS</b>		
<p>(33) Flourensianol</p> <p>(34) Angelato de flourensianol</p>	 <p style="text-align: center;">R =</p> <p style="text-align: center;">(33) OH</p> <p style="text-align: center;">(34) </p>	<p>Bohlmann y Grenz, 1977.</p>
<p>(35) Dihidroeuparina.</p> <p>(36) 4 -metoxidihidro euparina.</p>	 <p style="text-align: center;">(35)      (36)</p> <p style="text-align: center;">R =    H            OCH<sub>3</sub></p>	<p>Bohlmann y Grenz, 1977.</p>
<p>(37) Euparina</p>	 <p style="text-align: center;">(37)</p>	<p>Bohlmann y Grenz, 1977.</p> <p>Bohlmann y Jakupovic, 1979.</p> <p>Faini <i>et al.</i>, 1997.</p>

**Cuadro 2.** Metabolitos secundarios aislados de la especie *Flourensia cernua* (continuación).

NOMBRE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>p-HIDROXIACETOFENONAS</b>		
<p>(38) 3-(3-hidroxi-3-metil-1-butenil)-4-metoxi-acetofenona.</p>	 <p style="text-align: center;">(38)</p>	<p>Bohlmann y Grenz, 1977.</p>
<p>(39) 4-hidroxi-3-isovalerilacetofenona.</p>	 <p style="text-align: center;">(39)</p>	<p>Bohlmann y Grenz, 1977.</p>
<p>(40) 3,5-bis-(3,3-dimetilalil)-4-hidroxiacetofenona.</p>	 <p style="text-align: center;">(40)</p>	<p>Bohlmann y Grenz, 1977. Bohlmann y Jakupovic, 1979.</p>
<p>(41) 3-(3,3-dimetilalil)-4-hidroxi-acetofenona.</p>	 <p style="text-align: center;">(41)</p>	<p>Bohlmann y Grenz, 1977.</p>

**Cuadro 2.** Metabolitos secundarios aislados de la especie *Flourensia cernua* (continuación).

NOMBRE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>ACETILENOS</b>		
(43) 1-3-tridecadieno-5,7,9,11-tetraieno.	$\text{H}_3\text{C}-[\text{C}\equiv\text{C}]_4-[\text{CH}=\text{CH}]_2\text{H}$ <p style="text-align: center;">(43)</p>	Bohlmann y Grenz, 1977.
(44) 1-tridecadieno-3,5,7,9,11-pentaieno.	$\text{H}_3\text{C}-[\text{C}\equiv\text{C}]_5-\text{CH}=\text{CH}_2$ <p style="text-align: center;">(44)</p>	
(45) 4,6-dieno-8,10,12-trienino-1-tetradecanol.	$\text{H}_3\text{C}-[\text{C}\equiv\text{C}]_3-[\text{CH}=\text{CH}]_2-(\text{CH}_2)_2\text{OH}$ <p style="text-align: center;">(45)</p>	Bohlmann y Jakupovic, 1979.
(46) 2-(1, 3- penta dienino) -5-(1-ino-buteno) tiofeno.	$\text{H}_3\text{C}-[\text{C}\equiv\text{C}]_2-\text{C}_4\text{H}_3\text{S}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}=\text{CH}_2$ <p style="text-align: center;">(46)</p>	
<b>OTROS</b>		
(42) 1,3-araquido behenicina.	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OCO}(\text{CH}_2)_{18}\text{CH}_3 \\   \\ \text{CHOH} \\   \\ \text{CH}_2\text{OCO}(\text{CH}_2)_{20}\text{CH}_3 \end{array}$ <p style="text-align: center;">(47)</p>	Kingston <i>et al.</i> , 1975.

### III. PARTE EXPERIMENTAL.

#### 3.1 Recolección e identificación del material vegetal.

Las hojas de *Fluorensia cernua* D.C., se recolectaron en un mercado convencional en el estado de San Luis Potosí, México, el día 28 de Octubre de 1995. La colecta y la clasificación de la especie, estuvieron a cargo del Dr. Robert Bye (Instituto de Biología, U.N.A.M.). Un ejemplar del espécimen se depositó como referencia en la colección etnobotánica del Herbario Nacional MEXU (Voucher R. Bye 20468) del Instituto de Biología de la U.N.A.M.

El material vegetal se desecó a temperatura ambiente bajo la sombra y se fragmentó en un molino Willey modelo 4.

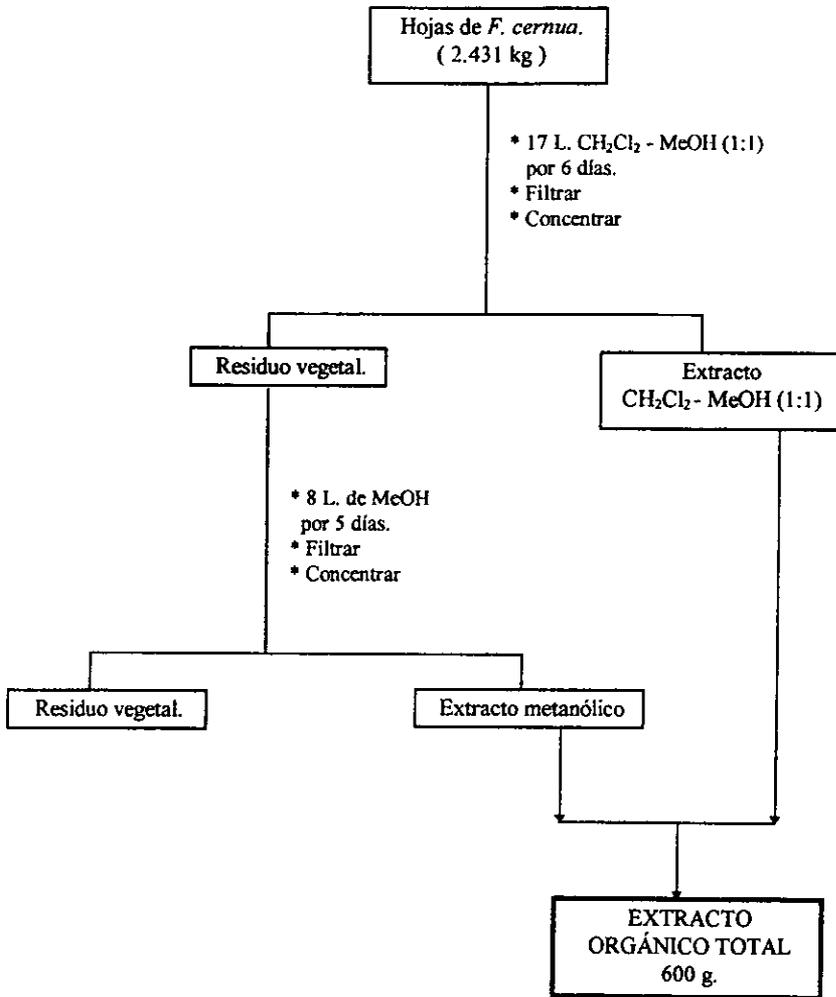
#### 3.2 Preparación del extracto orgánico vegetal.

2.431 kg. de material vegetal seco y molido, se extrajo mediante un proceso de maceración, empleando como disolvente de extracción 17 L de una mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  - MeOH en una proporción 1:1; transcurridos 6 días, el extracto se filtró y se concentró al vacío. Posteriormente, se adicionaron 8 L de MeOH al residuo vegetal guardando un reposo de 5 días. Considerando el análisis cromatográfico de los extractos obtenidos, ambos se reunieron obteniéndose un total de 600 g de extracto orgánico. En el **esquema 1** se resume el procedimiento empleado.

#### 3.3 Procedimientos Generales.

##### 3.3.1 Análisis Cromatográficos.

Los análisis cromatográficos en las modalidades de cromatografía en capa fina (CCF) y cromatografía en capa fina preparativa (CCFP), se realizaron siguiendo las técnicas convencionales (Marcel, 1992), empleando diversos sistemas de elución en diferentes proporciones (ver el **Cuadro 3**). Los análisis cromatográficos realizados mediante CCF, se



Esquema 1. Proceso de extracción empleado para la especie *Flourensia cernua*.

efectuaron sobre placas de aluminio de diferentes dimensiones recubiertas con gel de sílice (60 F<sub>254</sub> Merck), de 0.25 mm de espesor, malla 3.5 - 7.0 ASTM.

Para la separación y la purificación de los productos naturales mediante CCFP, se emplearon placas de vidrio (20x20 cm) recubiertas con gel de sílice (60 F<sub>254</sub> Merck) de 0.25 mm de grosor. Como agente revelador se empleó sulfato cérico amoniacal (Lowrey *et al.*, 1993); para el desarrollo de color fue necesario calentar las placas aproximadamente a 110 °C durante 2 min.

**Cuadro 3.** Sistemas de elución empleados en los análisis de CCF y CCFP.

Disolventes	Proporciones
Hexano / AcOEt	Diferentes proporciones.
AcOEt	100%
AcOEt / CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	7:3
CHCl <sub>3</sub> / MeOH	99:1, 98:2
AcOEt / MeOH	9:1, 8:2
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / MeOH	Diferentes proporciones.

El análisis de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-EM), se realizó empleando un cromatógrafo de gases HP acoplado a un espectrómetro de masas modelo Jeol JMS-AX505HA. Para ello, la muestra de 0.2 µL se inyectó a la columna capilar (PAS-1701-Tested Silicone HP) del cromatógrafo bajo las siguientes condiciones de trabajo: como gas acarreador Helio, presión manométrica de 0.6 kg/cm<sup>2</sup>, flujo de 2 ml/min, temperatura del inyector de 260 °C y temperatura inicial de la columna de 150 °C con calentamiento gradual de 10 °C /min , hasta alcanzar una temperatura de 260 °C.

Los espectros de masas se registraron por la técnica de impacto electrónico (EM-IE), con voltaje de 70 eV y un barrido de 33 a 800 unidades de masa/carga (m/z) por segundo.

Estos análisis se realizaron en la USAI de la Facultad de Química y en el Instituto de Química de la UNAM.

### **3.3.2 Determinación de las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas.**

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

Para el registro de los espectros en el Infrarrojo (IR), se empleó un espectrofotómetro modelo 599-B, de rejilla Perkin-Elmer, utilizando la técnica de pastilla de KBr.

La espectrometría de masas de impacto electrónico (EM-IE) se obtuvo mediante un espectrómetro de masas HP 5890, serie II, por introducción directa a 70 eV.

Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica (RMN-<sup>1</sup>H) y de carbono 13 (RMN-<sup>13</sup>C), así como los espectros de RMN bidimensional homonuclear (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY) y heteronuclear (HETCOR), se registraron en un aparato Varian VXR-300s, a 500, 300, 125, 100 y 75 MHz de frecuencia y empleando CDCl<sub>3</sub> y DMSO como disolventes; los desplazamientos químicos están dados en ppm y referidos en TMS o DMSO como estándar interno; para la obtención de los espectros HETCOR y COSY se utilizaron secuencias de pulsos estándares Varian.

Todos los análisis descritos en este punto se efectuaron en la Unidad de Servicios y Apoyo a la Investigación (USAI), Facultad de Química y en el Instituto de Química de la UNAM.

### **3.4 Fraccionamiento primario del extracto orgánico total de *Flourensia cernua*.**

El extracto orgánico total (600 g), se fraccionó mediante una cromatografía en columna abierta, empleando como fase estacionaria gel de sílice (3 Kg.); el proceso de elución se efectuó con un gradiente de polaridad Hexano-AcOEt-MeOH. Se colectaron un total de 178 fracciones de 1 L cada una, las cuáles se reunieron considerando su homogeneidad cromatográfica; este proceso permitió obtener 10 grupos de fracciones primarias (ver el Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Fraccionamiento primario del extracto total de *F. cernua*.

Fraciones recolectadas	Disolventes	Proporción	Fraciones reunidas	Clave	Peso (g)
1-20	Hexano	100%	1-3 4-19	F001 F002	0.6875 1.0338
21-37	Hex / AcOEt	9:1	20-25 26-38	F003 * F004	15.8600 19.4142
38-63	Hex / AcOEt	8:2	39-67	* F005	44.4982
64-87	Hex / AcOEt	7:3	68-80	* F006	16.6692
88-101	Hex / AcOEt	6:4	81-119	* F007	76.8473
102-120	Hex / AcOEt	1:1			
121-138	AcOEt	100%	120-141	F008	69.8481
139-152	AcOEt/MeOH	9:1	142-173	F009	93.1196
153-167	AcOEt/MeOH	8:2			
168-175	AcOEt/MeOH	7:3			
176-178	AcOEt/MeOH	1:1			
			174-178	F010	45.0150

\* Fracciones bioactivas.

### 3.5 Separación de los constituyentes presentes en las fracciones primarias activas F004 y F005, derivadas del extracto orgánico de *F. cernua*.

3.5.1 Aislamiento de la mezcla F011 constituida por: Tetracosan-4-ólida (47), pentacosan-4-ólida (48), hexacosan-4-ólida (49), heptacosan-4-ólida (50), octacosan-4-ólida (51), nonacosan-4-ólida (52) y triacontan-4-ólida (53), a partir del precipitado obtenido de la fracción primaria activa F004.

Durante el fraccionamiento primario del extracto orgánico de *F. cernua* (punto 3.4), precipitó de manera espontánea 1.1 g de un sólido amorfo de la fracción primaria activa F004 (ver Cuadro 4). Considerando que el análisis cromatográfico de este sólido permitió detectar la presencia de al menos 4 constituyentes, se procedió a realizar la separación de éstos productos mediante una cromatografía en columna abierta, empleando para ello 44 g de gel de sílice como fase estacionaria y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 100% como disolvente de elución; se colectaron un total de 114 fracciones de 10 mL cada una, las cuáles se agruparon según su homogeneidad cromatográfica; este procedimiento permitió obtener un total de 4 grupos de fracciones. En el Cuadro 5 se resumen las fracciones reunidas.

**Cuadro 5.** Fraccionamiento secundario del sólido obtenido de la fracción primaria activa F004.

Fracciones agrupadas	Peso ( mg )
1-3	Desechada
4	48.2
5	97.2
6-56	454.5
57-114	336.3

De la fracción 4 (ver Cuadro 5) se obtuvieron 48.2 mg de un sólido amorfo de color blanco, con un punto de fusión de 68-70 °C y un rendimiento de  $1.98 \times 10^{-3}$  %, el cuál se denominó F011.

### 3.5.2 Fraccionamiento secundario de la fracción activa F004.

La fracción primaria activa F004 (19.4142 g, cuadro 4), se sometió a un fraccionamiento secundario mediante cromatografía en columna abierta, empleando como fase estacionaria 215 g de gel de sílice y se eluyó con un gradiente de polaridad de Hexano-AcOEt según se indica en el Cuadro 6. Se colectaron un total de 94 fracciones de 70 mL cada una y se analizaron mediante CCF reuniendo aquellas que mostraran similitud cromatográfica. Este proceso generó un total de 6 grupos de fracciones secundarias; el proceso se resume en el Cuadro 6.

**Cuadro 6.** Fraccionamiento secundario de la fracción primaria activa F004.

Fracciones recolectadas	Disolvente	Proporción	Fracciones reunidas	Clave	Peso
1-13	Hexano	100 %	1-16	F004-I	20 mg
14-32	Hex / AcOEt	9:1	17-22	F004-II	6.1592 g
			23-32	F004-III	8.2306 g
33-43	Hex / AcOEt	8:2	33-42	* F004-IV	1.8802 g
44-77	Hex / AcOEt	7:3	43-90	F004-V	2.0097 g
78-84	Hex / AcOEt	6:4			
85-93	Hex / AcOEt	1:1	91-94	F004-VI	207.5 mg
94	AcOEt	100 %			

\* Fracción bioactiva.

### 3.5.3 Separación del compuesto F012: 1- Pentacosanol (54), a partir de la fracción primaria activa F004.

De las fracciones secundarias F004-II a F004-IV (ver cuadro 6), precipitaron de manera espontánea 219.7 mg de un sólido amorfo. La CCF de este sólido reveló la presencia de un compuesto mayoritario, el cuál se purificó mediante la técnica de CCFP empleando como sistema de elución CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> - MeOH 98:2; una vez procesada la placa de manera habitual se obtuvieron 14.2 mg de un sólido amorfo, de color blanco con un punto de fusión de 75-78 °C y un rendimiento de  $5.84 \times 10^{-4}$  %, denominado compuesto F012.

### 3.5.4 Fraccionamiento secundario de la fracción activa F005.

La fracción primaria activa F005 (44.4982 g, cuadro 4), se sometió a un fraccionamiento secundario mediante cromatografía en columna abierta, utilizando 500 g de gel de sílice como adsorbente, el proceso de elución se llevó a cabo con un gradiente de polaridad de Hexano- AcOEt. Se recolectaron un total de 51 fracciones de 250 mL cada una y se analizaron por CCF, las cuáles, se reunieron considerando su homogeneidad cromatográfica. El proceso generó un total de 8 grupos de fracciones secundarias y se resume en el Cuadro 7.

**Cuadro 7.** Fraccionamiento secundario de la fracción primaria activa F005.

Fraciones recolectadas	Disolvente	Proporción	Fraciones reunidas	Clave	Peso
1-10	Hexano	100 %	1-4 5-6 7-9	F005-I F005-II F005-III	674 mg 2.558 g 3.625 g
11-20	Hex / AcOEt	9:1	10-15 16-19	*F005-IV F005-V	12.440 g 2.683 g
21-34	Hex / AcOEt	8:2	20-34	F005-VI	4.817 g
35-40	Hex / AcOEt	7:3	35-45	F005-VII	3.180 g
41-45	Hex / AcOEt	6:4			
46-50	Hex / AcOEt	1:1	46-51	F005-VIII	2.885 g
51	AcOEt	100 %			

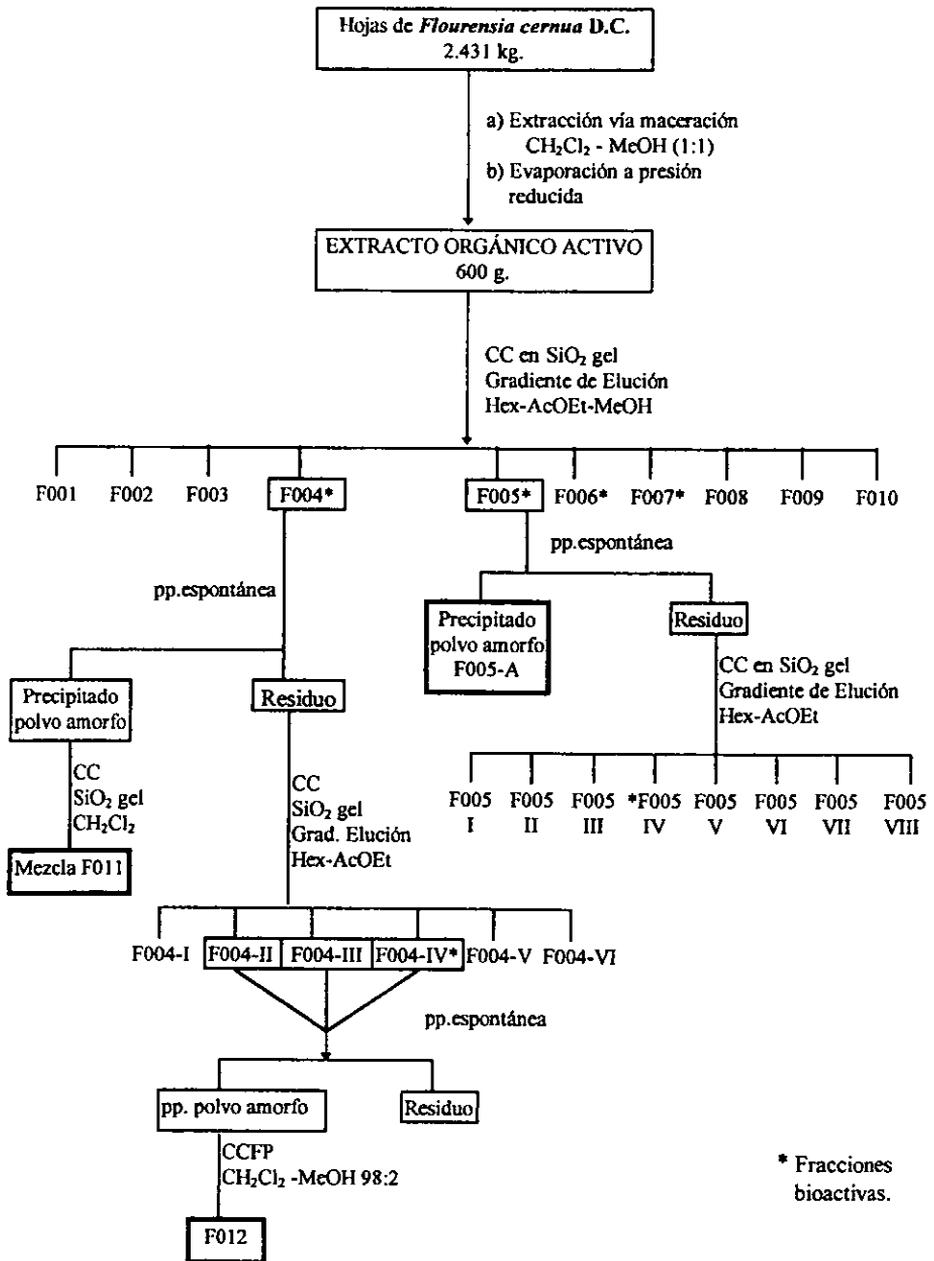
\* Fracción bioactiva.

### **3.5.5. Aislamiento del 3-éter metílico de la quercetina (1) a partir de la fracción primaria activa F005.**

Durante el fraccionamiento primario del extracto orgánico de *F. cernua* (punto 3.4), precipitaron de manera espontánea a partir de la fracción primaria activa F005 (ver el cuadro 4), 370.9 mg de un sólido amorfo de color amarillo, con un punto de fusión de 240-241 °C y un rendimiento de 0.015 %. El análisis cromatográfico del mismo reveló la presencia de un solo constituyente al cuál se le denominó compuesto F005-A.

### **3.6 Estrategia general.**

En el **Esquema 2** se muestra, a manera de resumen, los procedimientos empleados que permitieron la obtención de algunos de los productos naturales presentes en las fracciones primarias bioactivas F004 y F005.



\* Fracciones bioactivas.

Esquema 2. Diagrama de flujo del desarrollo experimental.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 4.1 Estudio fitoquímico de *Flourensia cernua* D.C.

La preselección de materias primas vegetales utilizando como criterio su uso en la medicina tradicional, es un hecho bien documentado y que ha permitido el hallazgo de importantes principios activos (Hamburger y Hostettman, 1991; Prance, 1994; *inter alia*). En este sentido cabe mencionar, que la preselección de las especies vegetales objeto del Proyecto “Bioactive Agents from Dryland Plants of Latin America” se realiza considerando principalmente este criterio.

Una vez preseleccionadas las especies, se realizaron los ensayos biológicos pertinentes en las sedes correspondientes de los laboratorios participantes en el Proyecto.

En el caso particular del presente estudio, la selección de la especie *F. cernua* se realizó considerando por una parte su uso en la medicina popular y por otra, los resultados significativos obtenidos en una serie de ensayos biológicos preliminares realizados sobre el extracto total de la misma.

Es importante reiterar, que debido a la existencia de la cláusula de confidencialidad en el convenio del Programa ICBG sobre los resultados acerca de los ensayos biológicos, los resultados y discusión aquí descritos estarán enfocados únicamente a la parte química.

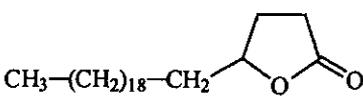
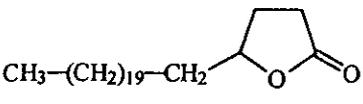
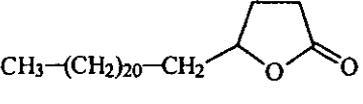
El proceso de extracción de las hojas de *F. cernua* realizado mediante la técnica de maceración, generó 600 g de un residuo amorfo de color verde oscuro (inciso 3.2); este extracto se sometió a un fraccionamiento primario mediante métodos cromatográficos generando 10 grupos de fracciones primarias (cuadro 4, inciso 3.4); la evaluación biológica de las mismas permitió determinar que la actividad biológica se concentró en las fracciones primarias F004, F005, F006 y F007. En el presente trabajo, se describirá únicamente el estudio de las dos fracciones bioactivas de menor polaridad (F004 y F005).

Con la finalidad de aislar los constituyentes presentes en las fracciones activas F004 y F005, se procedió a realizar diversos análisis cromatográficos de ambas fracciones por separado. Estos procesos, permitieron el aislamiento de una mezcla de 7 metabolitos secundarios [Tetracosan-4-ólida (47), pentacosan-4-ólida (48), hexacosan-4-ólida (49), heptacosan-4-ólida (50), octacosan-4-ólida (51), nonacosan-4-ólida (52) y triacontan-4-ólida (53)], un alcohol alifático [1-pentacosanol], y un flavonoide [3- éter metílico de la quercetina].

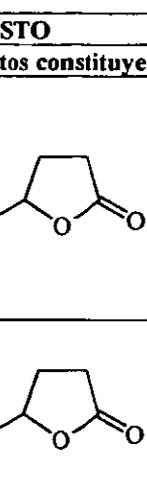
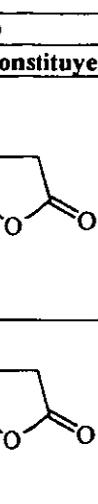
En el cuadro 8 se indican las estructuras químicas de los metabolitos secundarios aislados y caracterizados de las fracciones primarias activas F004 y F005.

De manera general, la elucidación estructural de los compuestos aislados se realizó mediante la aplicación de técnicas espectroscópicas y espectrométricas descritas en la sección 3.3 de la parte experimental.

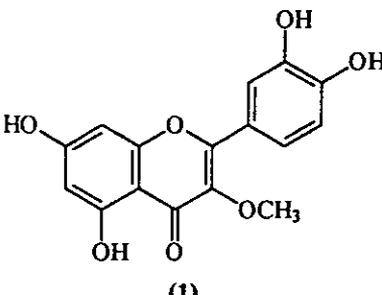
**Cuadro 8.** Metabolitos secundarios aislados a partir de las fracciones primarias bioactivas F004 y F005.

COMPUESTO	NOMBRE
<b>Compuestos constituyentes de la mezcla de lactonas F011</b>	
 (47)	Tetracosan-4-ólida
 (48)	Pentacosan-4-ólida
 (49)	Hexacosan-4-ólida

Cuadro 8. Metabolitos secundarios aislados a partir de las fracciones primarias bioactivas F004 y F005 (continuación).

COMPUESTO	NOMBRE
<b>Compuestos constituyentes de la mezcla de lactonas F011</b>	
$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{21}-\text{CH}_2-$  <b>(50)</b>	Heptacosan-4-ólida
$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{22}-\text{CH}_2-$  <b>(51)</b>	Octacosan-4-ólida
$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{23}-\text{CH}_2-$  <b>(52)</b>	Nonacosan-4-ólida
$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{24}-\text{CH}_2-$  <b>(53)</b>	Triacontan-4-ólida
<b>Compuesto F012</b>	
$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{22}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ <b>(54)</b>	1- Pentacosanol

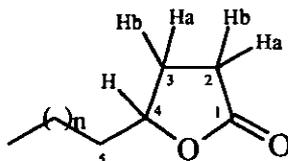
**Cuadro 8.** Metabolitos secundarios aislados a partir de las fracciones primarias bioactivas F004 y F005 (continuación).

COMPUESTO	NOMBRE
<b>Compuesto F005-A</b>	
 <p>(1)</p>	3-éter metílico de la quercetina

#### 4.2 Caracterización de los compuestos presentes en la mezcla F011.

El análisis cromatográfico del sólido obtenido durante el fraccionamiento del precipitado obtenido de la fracción bioactiva F004 (ver cuadro 5, inciso 3.5.1), reveló la presencia de un constituyente (F011), con un p. f. de 68-70 °C.

La comparación de los datos espectroscópicos obtenidos para el producto natural, con los descritos previamente en la literatura (Brookes *et al.*, 1958; Guy y Firouz, 1982; Maurer y Hauser, 1982; Hussain y Waterman, 1982; Gräfe *et al.*, 1982, *inter alia*), permitieron establecer que el producto natural era una  $\gamma$ -lactona sustituida, con la siguiente estructura química:



Sus constantes espectroscópicas y espectrométricas se resumen en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Constantes espectroscópicas y espectrométricas de F011.

IR (KBr) $\nu_{\max}$ , $\text{cm}^{-1}$ Espectro 1	2917, 2849, 1754, 1472, 1428, 1355, 1287, 1231, 1193, 1010, 974, 908, 718.
*RMN- <sup>1</sup> H 300 MHz (CDCl <sub>3</sub> ) Espectro 2	4.48 (1H, <i>pa</i> , $J = 8.0, 7.0, 6.0, 5.5$ , H-4); 2.53 (2H, <i>m</i> , H-2a y H-2b); 2.32 (1H, <i>dddd</i> , $J = 13.0, 8.0, 6.5$ , H-3a); 1.85 (1H, <i>m</i> , $J = 14.0, 9.5, 8.0$ , H-3b); 1.72 (1H, <i>m</i> , H-5); 1.59 (1H, <i>m</i> , H-5); 1.25 (42H, <i>s</i> , CH <sub>2</sub> ); 0.88 (3H, <i>t</i> , $J = 7.2$ , CH <sub>3</sub> ).
RMN- <sup>13</sup> C 75.5 MHz (CDCl <sub>3</sub> ) Espectro 3	177.2 (C-1), 81.0 (C-4), 35.5 (C-5), 31.9 (C-8), 29.6 [(CH <sub>2</sub> ) <i>n</i> ], 28.8 (C-2), 28.0 (C-3), 25.2 (C-7), 22.6 (CH <sub>2</sub> ), 14.1 (CH <sub>3</sub> ).
EM-IE ( <i>m/z</i> ) (int. rel.) Espectro 4	450 [M <sup>+</sup> (1)], 432 (4), 404 (47), 376 (34), 360 (15), 332 (11), 292 (6), 264 (5), 250 (5), 236 (5), 165 (8), 125 (31), 85 (100), 57 (96), 55 (81).

\* Los valores de las constantes de acoplamiento  $J$  están dados en Hz.

El análisis detallado de los datos espectroscópicos del compuesto F011, que permitieron sugerir su estructura se discuten a continuación:

El espectro en el IR de F011 (Espectro 1), mostró bandas de absorción características para C-H de una cadena hidrocarbonada larga (2917, 2849, 1472 y 718  $\text{cm}^{-1}$ ) y un grupo carbonilo de una lactona de cinco miembros (1754, 1428, y 1193  $\text{cm}^{-1}$ ).

En el espectro de RMN-<sup>1</sup>H de este producto natural (Espectro 2), se observaron las siguientes señales:

- Un triplete [ $\delta$  0.88,  $J = 7.2$  Hz] que integró para 3 hidrógenos característicos de un CH<sub>3</sub> terminal de la cadena hidrocarbonada.
- Un singulete ancho [ $\delta$  1.25] que integró para 42 hidrógenos, asignados a los metilenos de la cadena alifática. En el espectro COSY (Figura 5), se observa una clara correlación entre ambas señales.

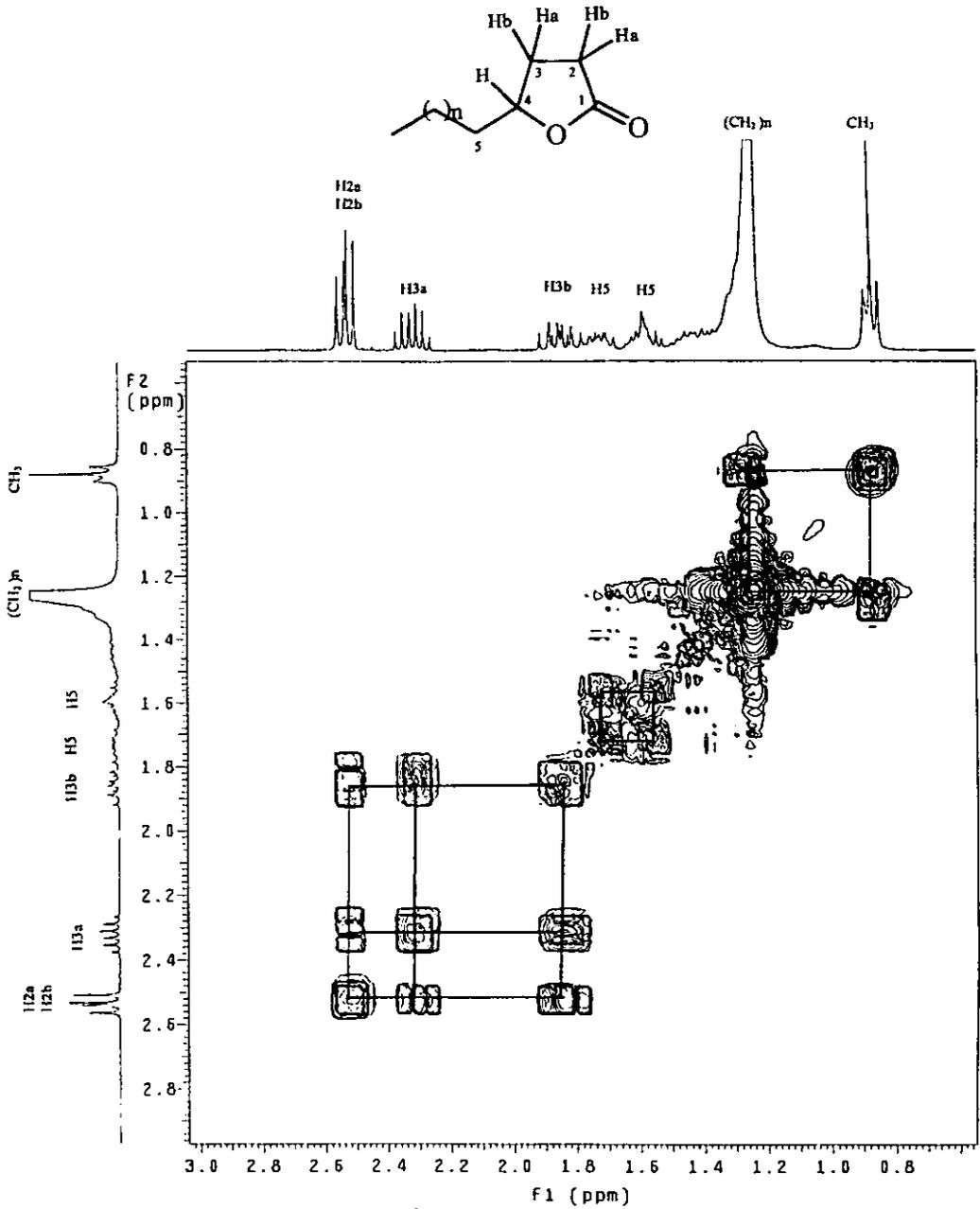


Figura 5. Espectro de RMN- $^1\text{H}$  modalidad COSY para la mezcla F011.

- c) Un penteto ancho en  $\delta$  4.48, que integraba para un hidrógeno; el desplazamiento paramagnético observado permitió asignar la señal al metino base de la lactona.
- d) Un multiplete en  $\delta$  2.53, que integraba para dos hidrógenos asignado a H-2a y H-2b de la estructura mostrada previamente.
- e) Un *dddd* en  $\delta$  2.32, que integró para un hidrógeno asignado a H-3a.
- f) Una señal múltiple en  $\delta$  1.85, la cuál, integraba para un hidrógeno; la multiplicidad observada y el valor de las constantes de acoplamiento posibilitaron asignar la señal a H-3b.
- g) Finalmente, los dos multipletes restantes que integraron para un hidrógeno cada uno, ubicados en  $\delta$  1.72 y  $\delta$  1.59 se asignaron al metileno del carbono 5 de la cadena hidrocarbonada.

En el espectro COSY (**Figura 5**) se observaron, cuadros de conectividad entre los hidrógenos H-3b y H-3a; H-3b y H-2a, H-2b; H-3a y H-3b; H-3a y H-2a, H-2b.

En el espectro de RMN-<sup>13</sup>C (**Espectro 3**) se observaron 10 señales; el espectro de <sup>13</sup>C modalidad DEPT (**Espectro 5**), permitió establecer que estas señales correspondían a:

- \* La señal observada en  $\delta$  14.11 se asignó al CH<sub>3</sub> terminal de la cadena hidrocarbonada, previamente evidenciado en el espectro de RMN-<sup>1</sup>H.
- \* Los metilenos ubicados en  $\delta$  22.68, 28.00, 28.85 y 35.50, se asignaron al CH<sub>2</sub> vecino al metilo terminal, a C-3, C-2 y C-5, respectivamente de la estructura base. Así mismo, la señal intensa ubicada en  $\delta$  29.68, corresponde al resto de los metilenos de la cadena hidrocarbonada.
- \* En  $\delta$  81.05 se localizó una señal asignada al carbono base de la lactona.
- \* Por último, desplazado hacia campo bajo en  $\delta$  177.27 se encontró la señal característica del grupo carbonilo de una lactona de cinco miembros.

Las asignaciones anteriormente descritas se confirmaron con base a las correlaciones evidenciadas en los espectros HETCOR (**Figura 6**) y HMQC (**Espectro 6**).

Los carbonos restantes, se asignaron por comparación con los descritos previamente en la literatura (Gräfe *et al.*, 1982; Maurer y Hauser, 1982).

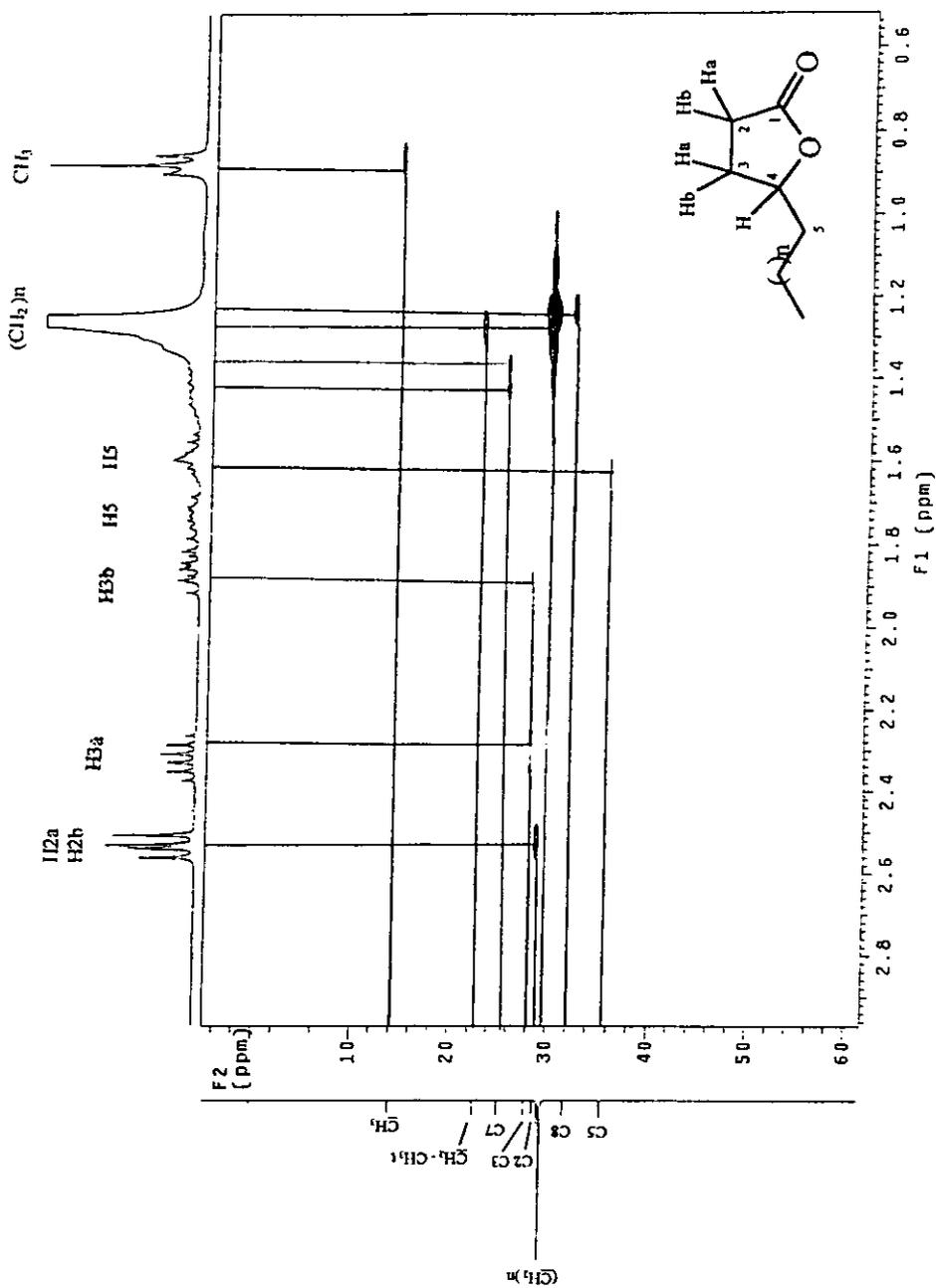


Figura 6. Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  modalidad HETCOR de la mezcla F011.

El análisis antes presentado de los espectros de RMN- $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  en sus diferentes modalidades eran consistentes con la ubicación de la cadena hidrocarbonada en la posición C-4 del núcleo base de la lactona.

Por otro lado, los cuadros de conectividad observados en el espectro NOESY (Espectro 9), entre el metino base de la lactona (H-4) y H-3a ( $\delta$  2.31), son consistentes con la disposición *syn* de ambos hidrógenos.

El análisis del espectro de masas del compuesto F011 (Espectro 4), demostró un ion molecular diferente al esperado para este compuesto. Por lo tanto, se procedió a realizar un análisis de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-EM) del producto F011.

El análisis del espectro de CG-EM, reveló que el producto F011 estaba constituido por siete compuestos; en la Figura 7, se muestra el cromatograma correspondiente. Este análisis (Espectros 10 a 16), también aportó los datos necesarios para la determinación del número de metilenos que conforman la cadena hidrocarbonada de cada uno de los siete componentes, así como su masa y fórmula molecular. En la Tabla 2, se muestran las características y el nombre de cada uno de los compuestos, y en la Figura 8, se muestra el patrón de fragmentación del compuesto 47.

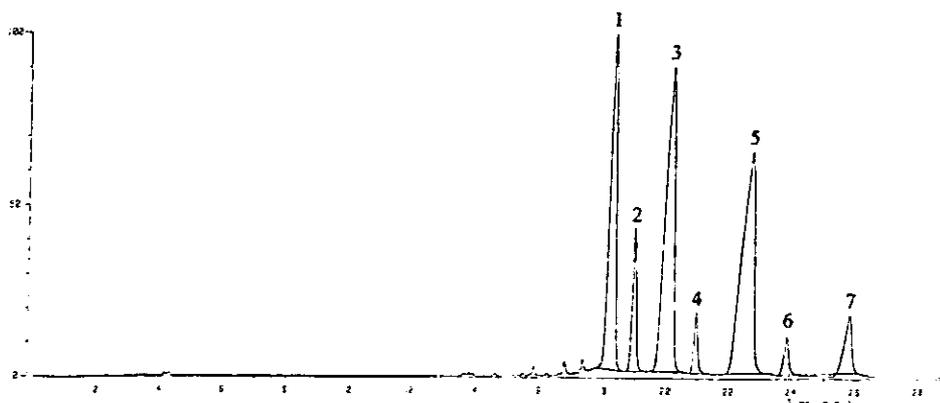


Figura 7. Cromatograma de gases de la mezcla F011 obtenido mediante CG-EM.

**Tabla 2.** Longitud de la cadena hidrocarbonada ( $n$ ), fórmula molecular (FM), masa molecular (MM), tiempo de retención ( $t_R$ ) y nombre, para los compuestos (34 a 57) presentes en la mezcla F011.

Compuesto	$n$	$t_R$	%	MM	FM	Nombre
47	18	18.30	23.65	366	$C_{24}H_{46}O_2$	Tetracosan-4-ólida
48	19	18.96	7.50	380	$C_{25}H_{48}O_2$	Pentacosan-4-ólida
49	20	20.15	30.01	394	$C_{26}H_{50}O_2$	Hexacosan-4-ólida
50	21	20.94	2.77	408	$C_{27}H_{52}O_2$	Heptacosan-4-ólida
51	22	22.70	28.54	422	$C_{28}H_{54}O_2$	Octacosan-4-ólida
52	23	23.83	2.28	436	$C_{29}H_{56}O_2$	Nonacosan-4-ólida
53	24	25.81	4.56	450	$C_{30}H_{58}O_2$	Triacontan-4-ólida

$n$  = unidades de  $CH_2$  sustituibles en la estructura base de la lactona.

Las evidencias anteriormente presentadas, condujeron a establecer las estructuras químicas, para los siete compuestos presentes en la mezcla de lactonas F011, las cuáles se muestran en el Cuadro 8. Cabe destacar que los siete constituyentes presentes en la mezcla F011, representan nuevos productos naturales.

Finalmente, es importante mencionar, que la presente investigación constituye el primer reporte de la presencia de este tipo de metabolitos secundarios en *F. cernua*. Sin embargo, estos productos naturales se encuentran presentes principalmente en hongos y actinomicetos como *Aspergillus avenaceus* (Brokes *et al.*, 1958; Brookes *et al.*, 1965) y *Streptomyces griseus* (Gräfe *et al.*, 1982); insectos como *Blendius mandibularis* y *B. spectabilis* (Guy y Fioruz, 1982); y el escarabajo *Popillia japonica* (Tumlinson *et al.*, 1977). Por el contrario, son escasos los reportes de este tipo de metabolitos en plantas superiores habiéndose encontrado por ejemplo en las especies *Garcinia mannii* (Hussain y Waterman, 1982) y *Polianthes tuberosa* (Maurer y Hauser, 1982).

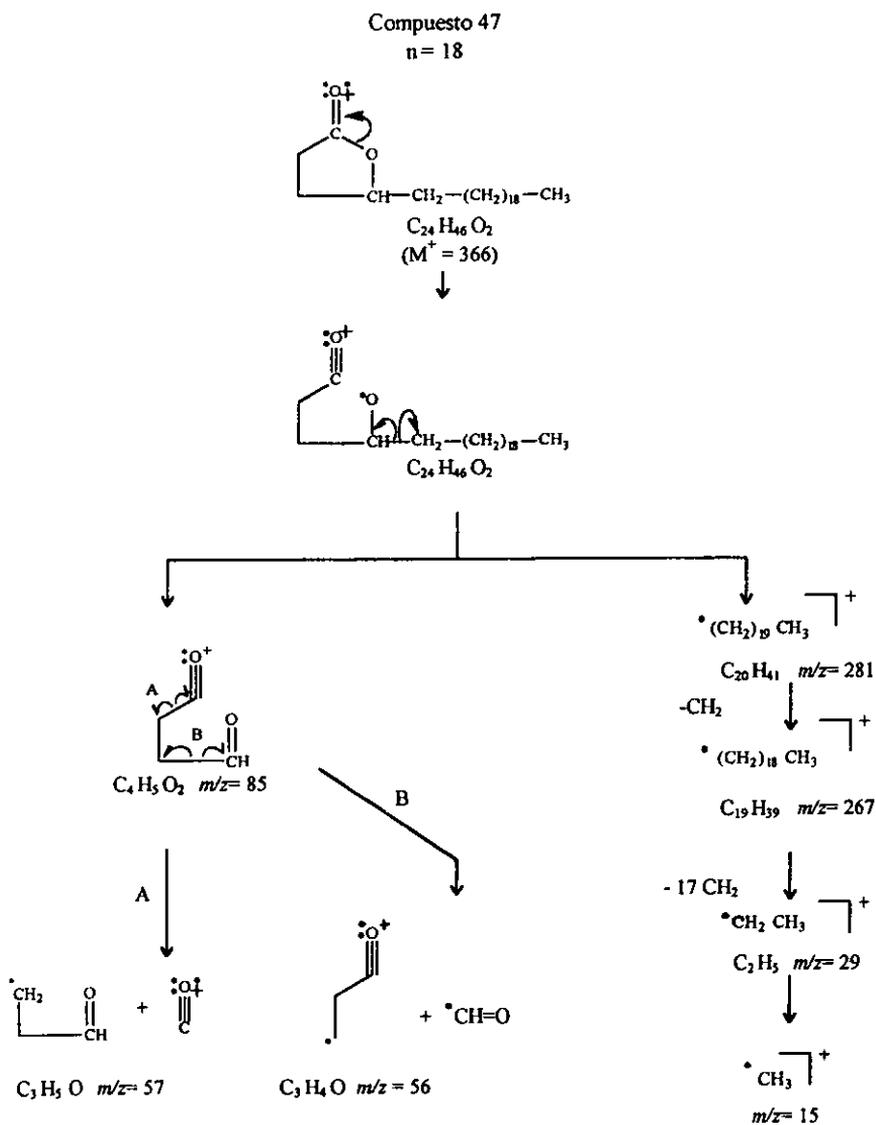
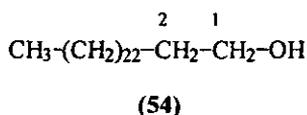


Figura 8. Fragmentos mas importantes observados por EM-IE para el compuesto 47.

### 4.3 Caracterización del 1-Pentacosanol (54).

El compuesto F012, se obtuvo como un sólido amorfo de color blanco, con un p. f. de 75-78 °C; sus constantes espectroscópicas se resumen en la **Tabla 3**.



Fórmula molecular = C<sub>25</sub> H<sub>52</sub> O

Peso molecular = 368

**Tabla 3.** Constantes espectroscópicas del compuesto 54.

IR (KBr) $\nu_{\text{max}}$ , cm <sup>-1</sup> Espectro 16	3343, 2917, 2848, 1472, 1462, 1378, 1058, 729, 719.
*RMN- <sup>1</sup> H 300 MHz (CDCl <sub>3</sub> , DMSO) Espectro 17	0.87 (3H, t, J = 6.6, CH <sub>3</sub> ); 1.25 (44H, s, 22 CH <sub>2</sub> ); 1.51 (2H, m); 3.52 (2H, t, J = 6.6, CH <sub>2</sub> OH).
RMN- <sup>13</sup> C 100 MHz (CDCl <sub>3</sub> , DMSO) Espectro 18	61.09 (CH <sub>2</sub> OH), 31.94-21.67 (CH <sub>2</sub> ), 13.24 (CH <sub>3</sub> ).

\* Los valores de J están dados en Hz.

Su espectro en el IR (Espectro 16), mostró bandas de absorción características del grupo hidroxilo (3343 cm<sup>-1</sup>), metilenos alifáticos (2917 y 2848 cm<sup>-1</sup>) y metileno (1472 y 1462 cm<sup>-1</sup>).

El análisis de los espectros de RMN del compuesto, permitió establecer que se trata de un alcohol primario alifático.

En el espectro de RMN-<sup>1</sup>H (**Espectro 17**), se observaron las siguientes señales:

- \* En  $\delta$  3.52 se encontraba un triplete ( $J = 6.6$  Hz), que integraba para dos hidrógenos; el desplazamiento químico y la multiplicidad observados permitieron asignar la señal a un grupo metileno unido a un grupo hidroxilo.
- \* Un multiplete en  $\delta$  1.51 correspondiente a un grupo metileno.
- \* Un singulete ancho en  $\delta$  1.25, que integraba para 44 hidrógenos, correspondientes a los metilenos de la cadena alifática.
- \* Finalmente, en  $\delta$  0.87 un triplete ( $J = 6.9$  Hz) que integraba para tres hidrógenos, asignable al metilo terminal de la cadena alifática.

En el espectro COSY (**Figura 9**) se observaron cuadros de conectividad entre los hidrógenos del CH<sub>3</sub> y CH<sub>2</sub> de la cadena alifática; H-2 y CH<sub>2</sub> de la cadena; H-2 y H-1.

Por otro lado, en el espectro de RMN-<sup>13</sup>C (**Espectro 18**), destacan las señales en  $\delta$  61.09 y 13.24, atribuidas al carbono base de oxígeno y al metilo terminal respectivamente; el resto de las señales corresponden a los metilenos de la cadena alifática.

Con base en las evidencias antes presentadas, el compuesto F012 se caracterizó como el 1-Pentacosanol.

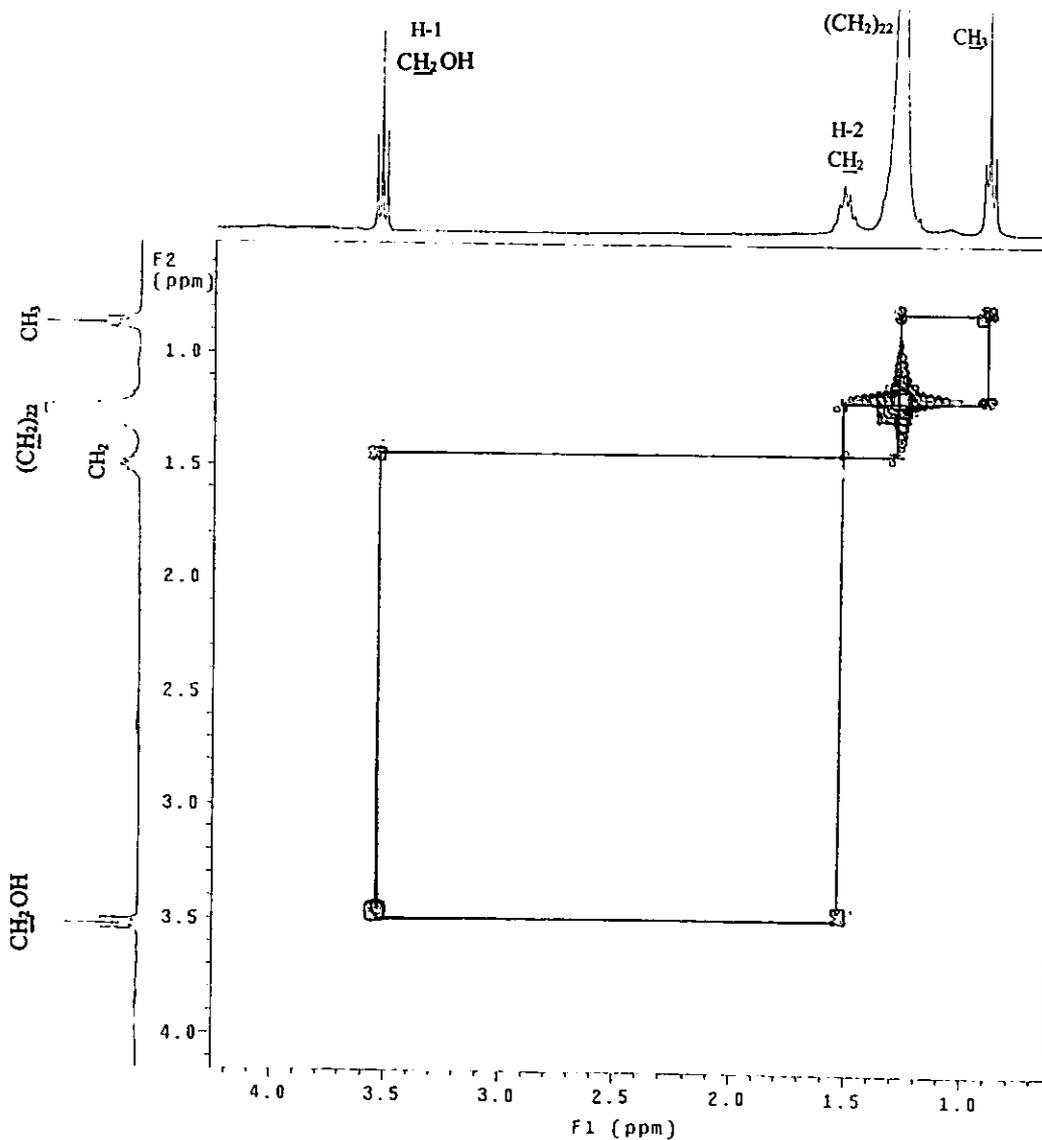
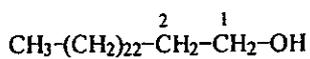
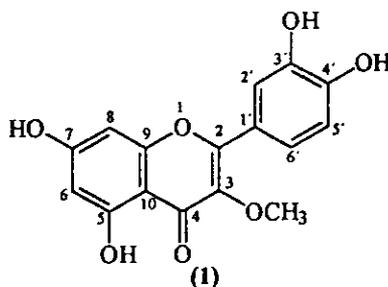


Figura 9. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H modalidad COSY para el 1-pentacosanol.

## 4.4 Caracterización del 3-éter metílico de la quercetina (1).

El compuesto 1, se obtuvo como un sólido amorfo de color amarillo, con un p. f. de 240-241 °C; sus constantes espectroscópicas y espectrométricas se resumen en la **Tabla 4**.



Fórmula molecular =  $C_{16}H_{12}O_7$

Peso molecular = 316

**Tabla 4.** Constantes espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 1.

IR (KBr) $\nu_{max}$ , $cm^{-1}$ Espectro 19	3144, 2924, 1648, 1607, 1572, 1495, 1362, 1222, 1162, 1073, 840, 803, 782, 710.
*RMN- $^1H$ 300 MHz (DMSO) Espectro 20	12.5 (1H, <i>s</i> , OH-5); 10.9 (1H, <i>s</i> , OH-7); 7.9 (2H, <i>m</i> , H-2' y OH); 7.5 (3H, <i>m</i> , H-5', H-6' y OH); 6.4 (1H, <i>d</i> , $J_{8,6} = 1.8$ , H-8); 6.2 (1H, <i>d</i> , $J_{6,8} = 2.1$ , H-6); 3.7 (3H, <i>s</i> , OCH <sub>3</sub> ).
RMN- $^{13}C$ 75 MHz (DMSO) Espectro 21	178.1 (C-4), 164.3 (C-7), 161.2 (C-5), 156.5 (C-9), 155.1 (C-2), 138.7 (C-3), 131.0 (C-6'), 130.0 (C-1'), 128.7 (C-5' y C-OH), 128.1 (C-2' y C-OH), 104.4 (C-10), 98.7 (C-6), 93.8 (C-8), 60.0 (OCH <sub>3</sub> ).
EM-IE ( <i>m/z</i> ) ( <i>int. rel.</i> ) Espectro 22	316 [ $M^+$ (1)], 315 [ $M-1$ ] <sup>+</sup> (5), 284 [ $315 - OCH_3$ ] <sup>+</sup> (100), 238 (96), 254 (24), 241 (8), 171 (7), 152 (9), 105 (8), 77 (9), 69 (5), 28 (7)

\* Los valores de *J* están dados en Hz.

El espectro en el IR del compuesto 1 (**Espectro 19**), mostró señales de absorción características para grupos hidroxilos ( $3144\text{ cm}^{-1}$ ), C-H ( $2924\text{ cm}^{-1}$ ), grupo carbonilo de una  $\gamma$ - pirona ( $1648\text{ cm}^{-1}$ ) y aromaticidad ( $1607\text{ cm}^{-1}$ ).

El espectro de masas (**Espectro 22**), mostró un ion molecular en una relación de  $m/z$  de 316, correspondiente a la fórmula molecular  $C_{16}H_{12}O_7$ , la que permite 11 grados de insaturación.

Las características espectroscópicas antes mencionadas, el comportamiento cromatográfico demostrado por el producto natural, así como consideraciones de tipo quimiotaxonómico (Harborne *et al.*, 1975; Heywood *et al.*, 1977; Bohlmann *et al.*, 1984; Domínguez, 1985; Faini *et al.*, 1997), permitieron sugerir la naturaleza flavonoide del compuesto.

El análisis detallado de los espectros de RMN, permitieron confirmar ésta propuesta; en el espectro de RMN- $^1\text{H}$  (**Espectro 20**) se observó:

\* El sistema AB característico de H-6 y H-8 del anillo A, en la región de los hidrógenos aromáticos [ $\delta$  6.21,  $d$ ,  $J= 1.8\text{ Hz}$ ;  $\delta$  6.44,  $d$ ,  $J= 2.1\text{ Hz}$ ]; la correlación observada para ambas señales en el espectro COSY (**Figura 10**) y la magnitud de la constante de acoplamiento permitieron confirmar este sistema.

\* Dos señales múltiples en  $\delta$  7.56 [H-5' y H-6'] y  $\delta$  7.99 [H-2'], correspondientes a un sistema ABX del anillo aromático B disustituido. La correlación observada en el espectro COSY (**Figura 10**) para las dos señales era congruente con lo antes descrito.

\* Las señales ubicadas en  $\delta$  10.9 y  $\delta$  12.5, se asignaron a dos grupos hidroxilos, evidenciados previamente con el espectro en el IR; el desplazamiento químico observado para ésta última señal indicaba que el grupo OH debía estar quelatado con un grupo carbonilo, por lo cuál el OH debía estar en la posición 5 del anillo A.

\* Finalmente, se observó un singulete en  $\delta$  3.79, característico de un grupo metoxilo.

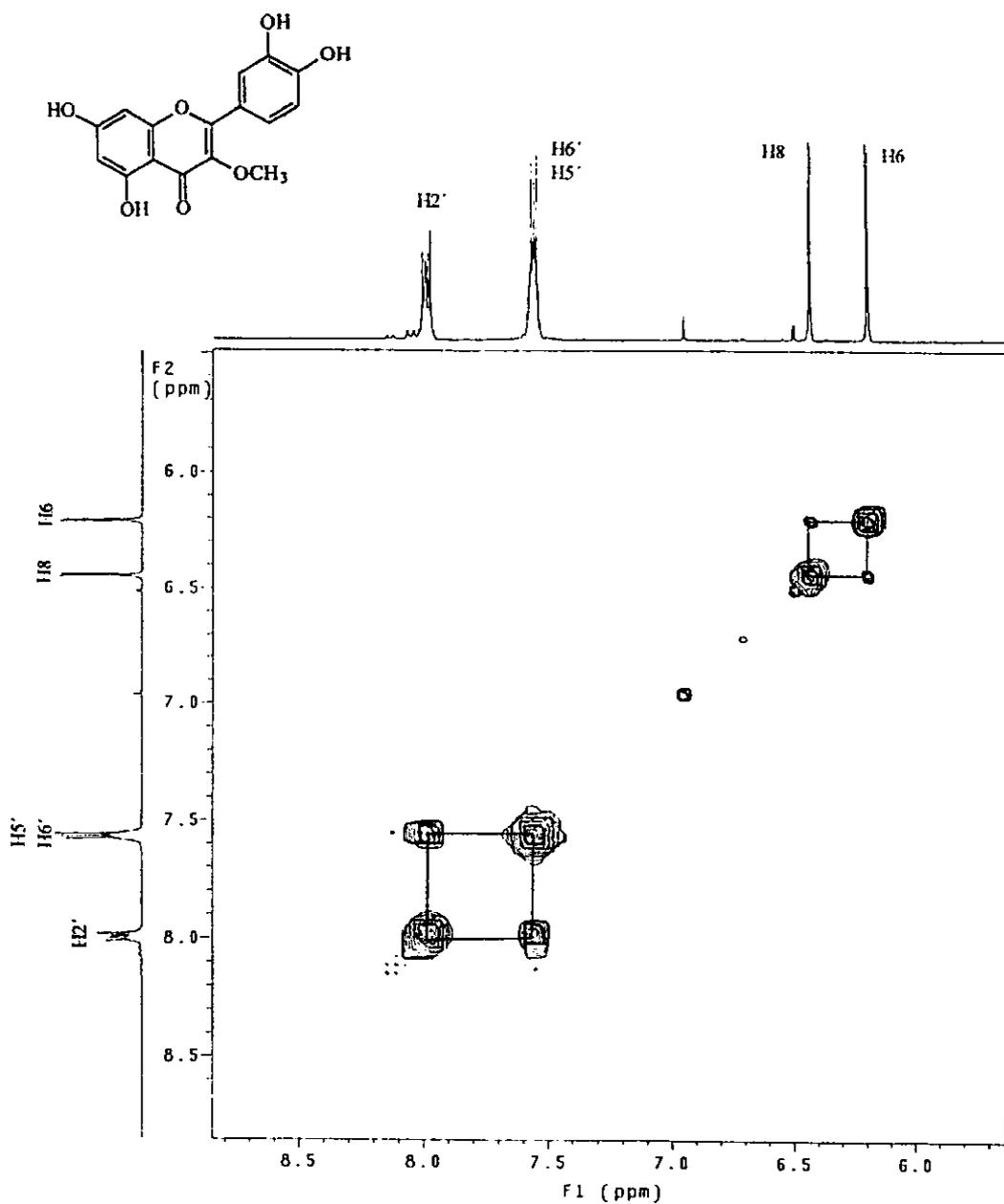
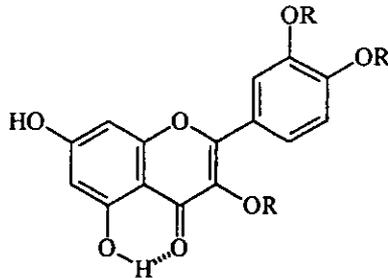


Figura 10. Espectro de RMN- $^1\text{H}$  modalidad COSY para el 3-éter metílico de la quercetina.

Los datos presentados hasta el momento, así como la ausencia de la señal característica para H-3 en el espectro de RMN-<sup>1</sup>H de una flavona (Markham *et al.*, 1985; *inter alia*), sugirieron que el compuesto era un flavonol sustituido con cuatro grupos hidroxilo y un grupo metoxilo; de lo anterior se propuso la siguiente estructura parcial:



Por otro lado en el Espectro 21 de RMN-<sup>13</sup>C, se observan señales para 14 átomos de carbono, lo cuál indica la presencia de dos señales equivalentes:

- \* Las señales en  $\delta$  178.1 y  $\delta$  60.0 corresponden al grupo carbonilo de la  $\gamma$ - pirona del anillo C y a un grupo metoxilo, respectivamente.
- \* Las señales para los carbonos base de oxígeno C-2, C-5, C-7 y C-9 se observaron en  $\delta$  155.1, 161.2, 164.3 y 156.5, respectivamente.
- \* Para los metinos aromáticos de los carbonos C-6, C-8 y C-5', se observaron sus respectivas señales en  $\delta$  98.7, 93.8 y 131.0, mientras que la señal para los metinos de los carbonos C-2' y C-6', se ubicó en  $\delta$  128.1.
- \* Los carbonos restantes se asignaron por comparación con los descritos previamente en la literatura (Harborne *et al.*, 1975; Wehrli y Nishida, 1979; Agrawal, 1989; Stuppner y Müller, 1994); así mismo, se pudo constatar la asignación de los mismos con base a la información proporcionada por los espectros HETCOR y DEPT (Espectros 23 y 24).

El análisis del espectro de masas del producto natural, fue de gran utilidad ya que permitió ubicar el grupo metoxilo en la posición C-3 y a los tres grupos hidroxilos en C-7,

C-3' y C-4' del flavonol. En la tabla 4 y en la **Figura 11**, se encuentran los fragmentos mas importantes observados en éste espectro.

El análisis de los datos espectroscópicos para el producto natural, así como la comparación de los mismos con los descritos previamente en la literatura (Harborne *et al.*, 1975; Wehrli y Nishida, 1979; Markhan *et al.*, 1985; Agrawal, 1989; Stuppner y Müller, 1994), permitieron caracterizar al compuesto como el 3-éter metílico de la quercetina, el cuál ya había sido aislado anteriormente de ésta especie (Dillon *et al.*, 1976; Dillon y Mabry, 1977). Cabe mencionar que este compuesto se ha aislado también de otras especies tales como; *Achillea kotschyi* (Wollenweber *et al.*, 1987), *Ageratina saltillensis* (Yu *et al.*, 1986), *Brickellia vernicosa* (Ahmed *et al.*, 1986), *Geraea viscida* (Proesh *et al.*, 1986), *Hemizonia sp.* (Tanowitz *et al.*, 1987) y *Salvia pedicerlata* (Ulubelen y Tuzlari, 1990), entre otras.

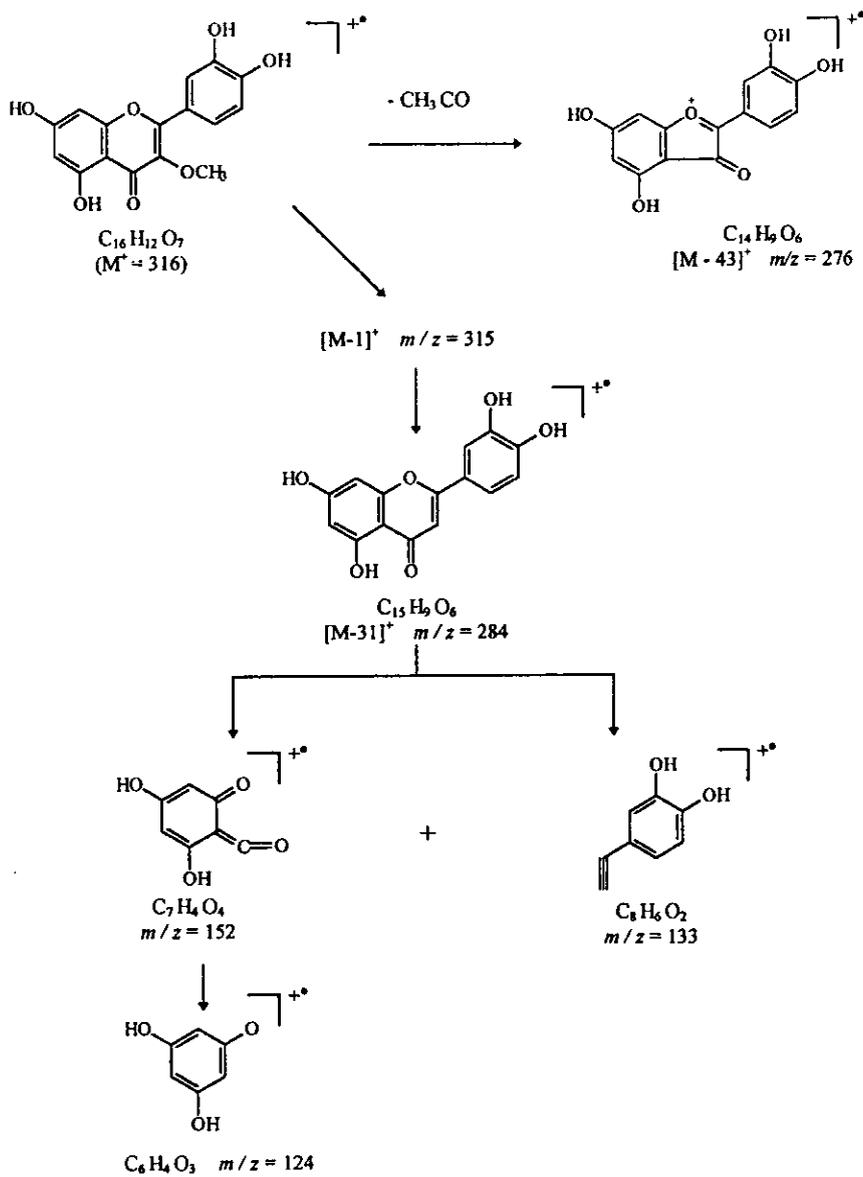


Figura 11. Fragmentos más importantes observados por EM-IE para el compuesto 1.

## V. RESUMEN Y CONCLUSIONES.

1. Los resultados obtenidos de los ensayos biológicos preliminares realizados sobre el extracto total de *Flourensia cernua* D. C., permitieron detectar a esta especie como una fuente potencial de compuestos bioactivos.

2. El estudio químico de tipo biodirigido, de las fracciones primarias bioactivas de menor polaridad [F004 y F005], permitió la obtención de 9 productos naturales, mismos que se caracterizaron mediante métodos espectroscópicos y espectrométricos. Los productos naturales aislados corresponden a: un flavonoide caracterizado como el 3-éter metílico de la quercetina (1), el cuál ya había sido aislado previamente de esta especie; una mezcla de siete  $\gamma$ -lactonas caracterizadas como; Tetracosan-4-ólida (47), pentacosan-4-ólida (48), hexacosan-4-ólida (49), heptacosan-4-ólida (50), octacosan-4-ólida (51), nonacosan-4-ólida (52) y triacontan-4-ólida (53), y un alcohol alifático identificado como el 1-Pentacosanol (54).

3. Las lactonas aisladas en el presente estudio constituyen nuevos productos naturales.

4. La presente investigación representa la primera descripción de la presencia de lactonas en la especie *Flourensia cernua* D. C.

5. Este estudio constituye una aportación al conocimiento de la química de la especie *F. cernua*.

## **VI. PERSPECTIVAS.**

1. Separar al menos tres de los componentes presentes en la mezcla F011, mediante la aplicación de la técnica de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR).

2. Continuar el estudio químico de las fracciones bioactivas.

3. Establecer la configuración absoluta del Carbono 4 de los constituyentes presentes en la mezcla F011.

## VII. BIBLIOGRAFÍA.

- \* Agrawal, P. K. (1989) Carbon-13 NRM of Flavonoids. Serie studies in Organic Chemistry, Vol. 39. Edit. Elsevier science publishers B. V. Amsterdam, The Netherlands.
- \* Ahmed, A., Norris, J. y Mabry, T. J. (1986) *Phytochemistry* 25, 1501.
- \* Bohlmann, F. y Grenz, M. (1977) Über Inhaltsstoffe der Gattung *Flourensia*. *Chem. Ber.* 110: 295-300.
- \* Bohlmann, F. y Jakupovic, J. (1979) New Sesquiterpene, Triterpene, Flavanone and other aromatic compounds from *F. heterolepis*. *Phytochemistry* 18(7): 1189-1194.
- \* Bohlmann, F., Jakupovic, J., Schuster, A., King, R.M. y Robinson, H. (1984) Eudesmanolides and Costic Acid derivatives from *F. macrophylla*. *Phytochemistry* 23(7): 1445-1448.
- \* Brookes, D., Sternhell, S., Tidd, B. y Turner, W. (1965) Long range spin-spin coupling in avenaciolide and related compounds. *Aust. J. Chem.* 18, 373-377.
- \* Brookes, D., Tidd, B. y Turner, W. (1958) Avenaciolide, an antifungal lactone from *Aspergillus avenaceus*. *J. Biochemical* 68, 647.
- \* Clifford, J. C., Olaf Runquist y Malcolm, M. C. (1980) Análisis espectral de compuestos orgánicos. Edit. Diana. México, D. F.
- \* Díaz, José Luis (1976) Usos de las plantas medicinales de México, monografías científicas II. Edit. IMEPLAM, México.
- \* Dillon, M.O. (1976) Ph. D. Dissertation, University of Texas at Austin.
- \* Dillon, M.O. y Mabry, T.J. (1977) Flavonoid Aglycones from *Flourensia*. *Phytochemistry* 16: 1318-1319.
- \* Dillon, M.O., Mabry, T.J., Besson, E., Bouillant, M.L. y Chopin, J. (1976) New Flavonoids from *Flourensia cernua*. *Phytochemistry* 15: 1085-1086.
- \* Dollahite, J.W. y Allen, T. J. (1975) The toxicity of the fruit of *Flourensia cernua* (tarbush) (blackbrush). *Southwest. Vet.* 28, 113-117.
- Domínguez, X. A. (1985) Métodos de investigación fitoquímica. Edit. Limusa. México.

- \* Estell, R.E., Anderson, D.M. y Havstad, K.M. (1994) Effects of organic solvents on use of tarbush by sheep. *Journal of Chemical Ecology* 20(5): 1137-1142.
- \* Estell, R.E., Fredrickson, E. L. y Havstad, K.M. (1996) Chemical composition of *F. cernua* at four growth stages. *Grass and Forage Science* 51: 434-441.
- \* Estell, R.E., Havstad, K.M., Fredrickson, L.E. y Gardea-Torresdey, J.L. (1994) Secondary chemistry of the leaf surface of *Flourensia cernua*. *Biochemical Systematics and Ecology* 22(1): 73-77.
- \* Faini, F., Labbe, C., Salgado, I. y Coll, J. (1997) Chemistry, toxicity and antifeedant activity of the resin of *F. thurifera*. *Biochemical Systematics and Ecology* 25(3): 189-193.
- \* Fredrickson, E., Thiisted, J., Estell, R. y Havstad, K. (1994) Effect of chronic ingestion of tarbush (*Flourensia cernua*) on ewe lambs. *Vet. Human Toxicology* 36(5):409-415.
- \* Freeland, W. J. (1991) Plant secondary metabolites. Biochemical evolution with herbivores. *Plant Defenses Against Mammalian Herbivory*. (Palo, R. T. y Robbins, C. T., eds), pp. 61-81. CRC Press, Boca Ratón, FL.
- \* Geissman, T.A., Mukherjee, R. y Sim, K. Y. (1967) *Phytochemistry* 6, 1575.
- \* Gräfe, U., Reinhardt, G., Schade, W., Krebs, D., Erritt, Y. y Fleck, W. (1982) Isolation and structure of novel autoregulators from *Streptomyces griseus*. *The Journal of antibiotics* 35: 5, 609.
- \* Guerreiro, E., Kavka, J., Giordano, O.S. y Gross, E.G. (1979) Sesquiterpenoids and flavonoids from *Flourensia oolepis*. *Phytochemistry* 18: 1235-1237.
- \* Guerrero, R. *et al.* (1990) *Rev. Latinoamer. Quím.* 27, 3637.
- \* Guy Solladie y Firouz M-M. (1982) Asymmetric synthesis of five and six membered lactones from chiral sulfoxides. *J. Org. Chem.* 47, 91.
- \* Hamburger, M. y Hostettman, K. (1991) Bioactivity in plants: The link between Phytochemistry and Medicine. *Phytochemistry* 30: 38-64 y 38-74.
- \* Harborne, J. B., Mabry, T. J. y Helga Mabry. (1975) *The Flavonoids*. Edit. Chapman and Hall. London Great Britain.

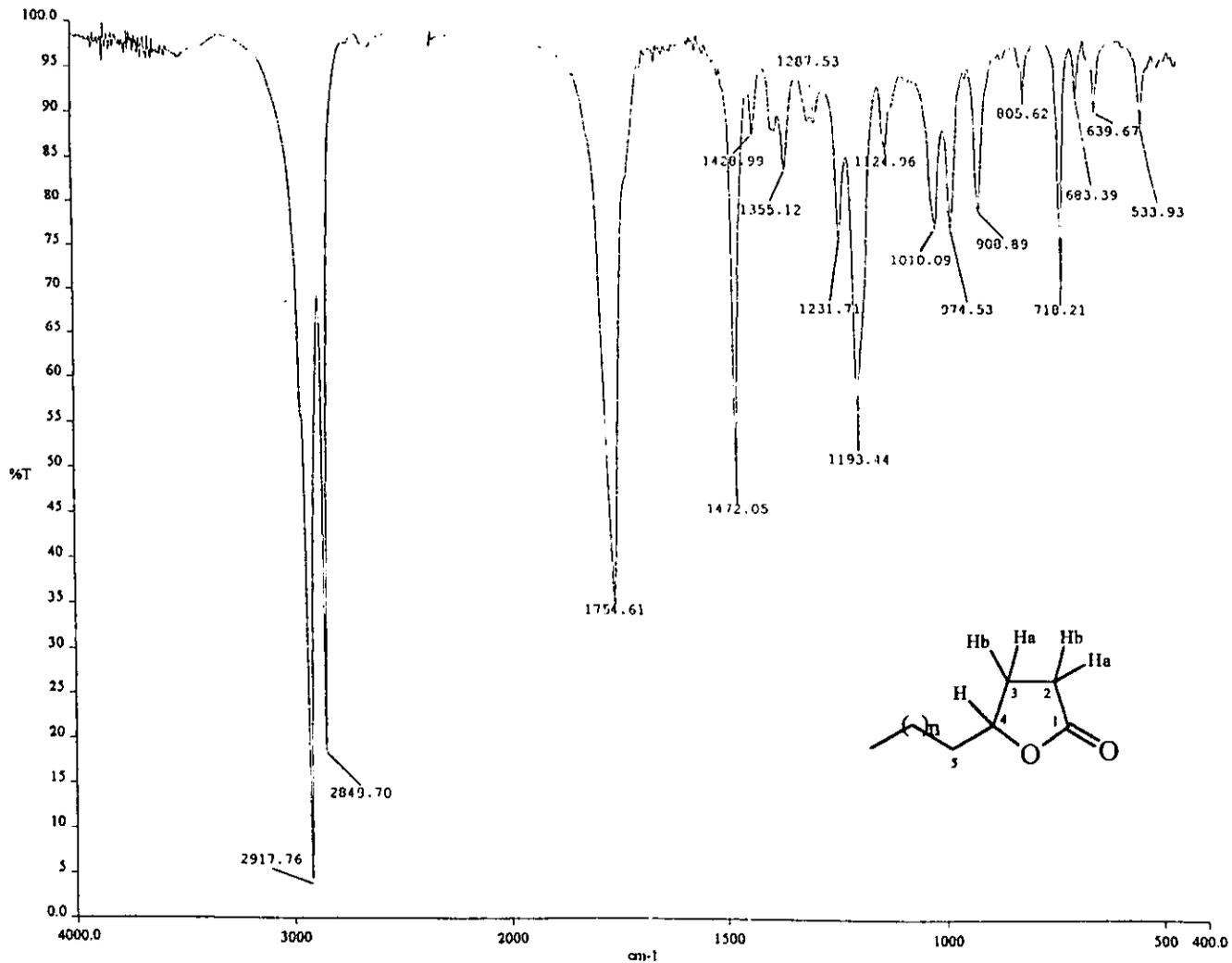
- \* Heywood, V. H., Harborne, J.B. y Turner, B. L. (1977) The Biology and Chemistry of the Compositae . V.I. Edit. Accademic Press. London, N.Y. pag. 168, 642 y 686.
- \* Hussain, Raouf y Waterman, P. (1982) Lactones, flavonoids and benzophenones from *Garcinia conrauana* and *G. manni*. *Phytochemistry* 21, 6: 1393.
- \* Inuma, M., Tanaka, T., Mizuno y Wollenweber, E. (1990) *Z. Naturforsch.* 45 C, 135.
- \* Instituto Nacional Indigenista. (1994) La Flora medicinal indígena de México. Edit. INI. México D.F. Tomo I pag. 52, Tomo II pag. 815.
- \* Intituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. (1995) Catálogo de Herbario. Edit. INEGI. México D.F. Tomo I pag.97, Tomo II pag. 157.
- \* King, D.W., Estell, R.E., Fredrickson, E. L., Havstad, K.M., Wallace, J.D. y Murray, L.W. (1996) Effects of *F. cernua* ingestion on intake, digesta kinetics, and rumial fermentation of sheep consuming tobosa. *J. of Range Management.* 49(4): 325-330.
- \* King, D.W., Fredrickson, E. L., Estell, R.E., Havstad, K.M., Wallace, J.D. y Murray, L.W. (1996) Effects of *F. cernua* ingestion on nitrogen balance of sheep consuming tobosa. *J. of Range Management.* 49(4): 331-335.
- \* Kingston, D.G.I., Rao, M.M. y Spittler, T.D. (1971) Isolation and structure determination of flourensic acid, a new sesquiterpene of the eremophilane type. *Tetrahedron Letters* No. 20: 1613-1616.
- \* Kingston, D.G.I., Rao, M.M., Spittler, T.D., Pettersen, R.C. y Cullen, D.L. (1975) Sesquiterpenes from *Flourensia cernua*. *Phytochemistry* 14(9): 2033-2037.
- \* Lebreton, P., Wollenweber, E., Southwick, L. y Mabry, T. J. (1971) *C. R. Acad. Sci. Ser. C* 272, 1529.
- \* Lowrey, C. (1993) Reagent chemicals. American Chemical Society Specification, Washington, D.C. pp. 90-91.
- \* Ludwing, J. A., Reynolds, J. F. y Whitson, P. D. (1975) Size-biomass relationships of several Chihuahuan Desert shrubs. *American Midland Naturalist* 94: 451-461.
- \* Marcel Dekker, Inc. (1992) Chromatografic Science series; Modern Thin-Layer chromatografic. Edit. Nelu Grinberg. Estados Unidos, New York. Volúmen 52.

- \* Markham, K. R. (1982) Techniques of flavonoid identification. Accademic Press, London.
- \* Martínez, Maximino. (1959) Las Plantas Medicinales de México. 4ta. ed. Edit. Ediciones Botas. México D.F. pag 186.
- \* Martínez, Maximino. (1979) Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Edit.Fondo de cultura económica. pag. 446 y 1081
- \* Mathews, F. P. (1944) The toxicity of the ripe fruit of blackbrush or tarbush (*Flourensia cernua*) for sheep and goats. *Texas Agr. Exp. Sta. Bull.* No. 664.
- \* Mauchamp, A. y Janeau, J.L. (1993) Water funneling by the crown of *F. cernua*, a Chihuahuan Desert shrub. *J.of Arid. Environments* 25: 299-306.
- \* Maurer, B. y Hauser, A. (1982) Identification and synthesis of new  $\gamma$  - lactones from tuberos absolute (*Polianthes tuberosa*). *Helvetica Chimica Acta* 65, 2: 45, 462.
- \* Nelson, A. B., Herbel, C. H. y Jackson, H. M. (1970) Chemical composition of forege species grazed by cattle on an arid New México range. *New Mexico Agr. Exp. Sta. Bull.* No. 561.
- \* Oh, H. K., Sakai, T., Jones, M. B. y Longhurst, W. M. (1967) Effic of various essential oils isolated from Douglas Fir needles upon sheep and deer rumen microbial activity. *Appl. Microbiol.* 15, 777-784.
- \* Pedereiva, R., Kavka, J. y D'arcangelo, A.T. (1975) *An. Asoc. Quím. Argent.* 63, 85.
- \* Pettersen, R.C., Cullen, D.L., Spitter, T.D. y Kingston, D.G.I. (1975). The Crystal and Molecular Structure of Flourensadiol, a natural product sesquiterpene isolated from a West Texas shrub. *Acta Cryst. B* 31,1124.
- \* Prance, G.T. (1994) Ethnobotany and research for new drugs. Ciba Foundation simposium 185. (Eds.) John Wiley and sounds. New York.
- \* Priotti, Z.E., Zygadlo, J.A. y Ariza-Espinar, L. (1997) Essential oils of *F. oolepis* S.L. Blake. *J. Essent. Oil Res.* 9: 345-347.
- \* Proesh, P., Mitsacos, A., Bodden, J. y Wollenweber, E. (1986) *Phytochemistry* 25, 2367.
- \* Rao, M.M., Kingston, D.G.I. y Spittler, T.D. (1970). Flavonoids from *Flourensia cernua*. *Phytochemistry* 9: 227-228.

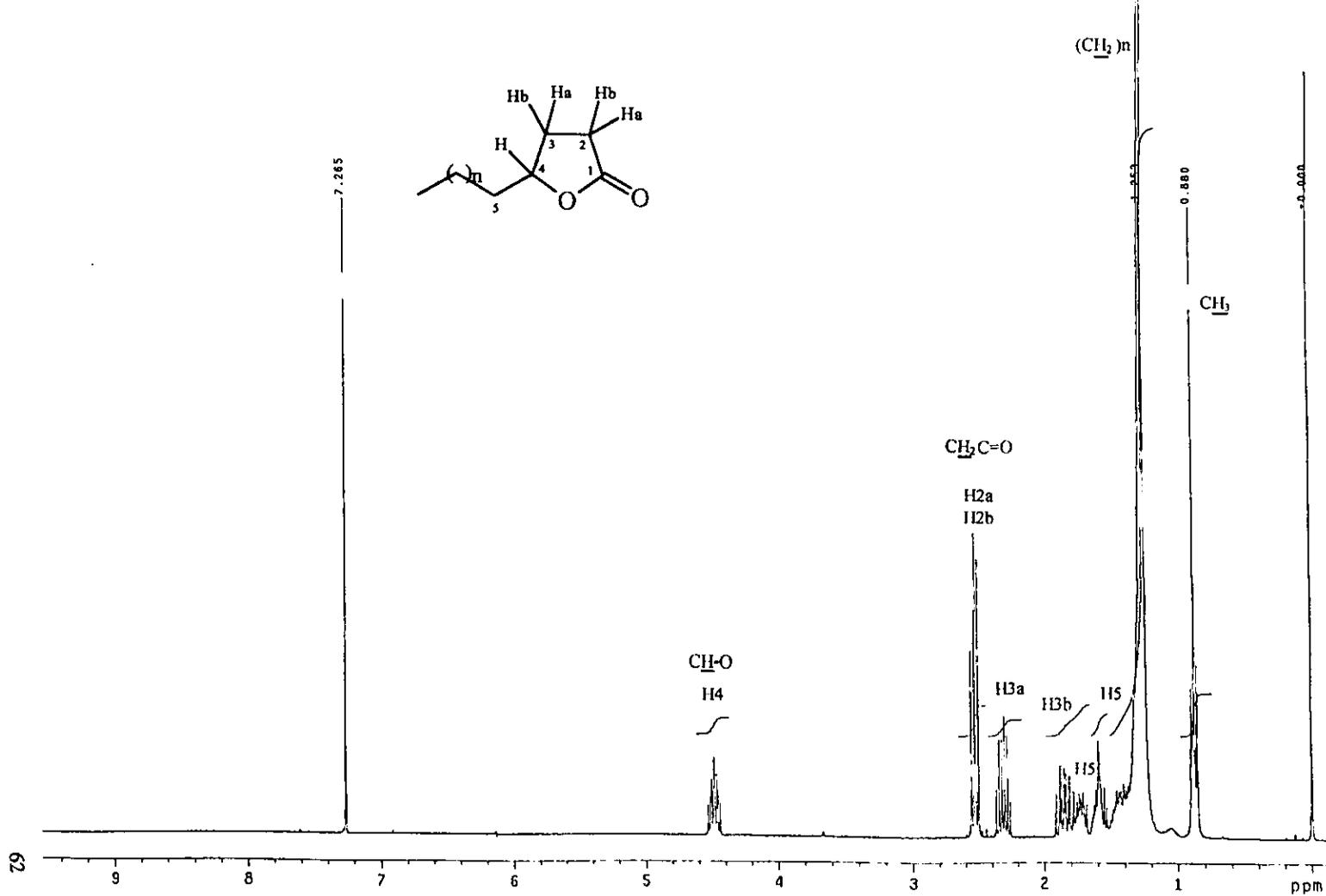
- 
- \* Richerson, J.V. y Boldt, P. E. (1995) Phytophagous insect fauna of *F.cernua* (Asteraceae:Heliantheae) in Trans-Pecos Texas and Arizona. *Environmental Entomology* 24 (3): 588-594.
  - \* Robinson, H. (1981) Smithsonian Contribution of Botany. 51, 48.
  - \* Rodríguez, E. (1985) Rubber and phytochemical specialities from desert plants of North America. *Plants for arid lands* 399-412.
  - \* Rodríguez, E., Carmen, N. J., Vander, V., Mc Reynolds, J. H., Mabry, T. J., Irwin, M. A. y Geissman, T.A. (1972) *Phytochemistry* 11, 3509.
  - \* Rodríguez-Hahn, L. y Rodríguez, J. (1973).Resinona, un nuevo triterpeno aislado de *Flourensia resinosa*. *Rev. Latinoamer. Quím.* 3 (4): 148-153.
  - \* Rosler, H., Star, A. E. y Mabry, T. J. (1971) *Phytochemistry* 10, 450.
  - \* Rzedowski, Jerzy. Vegetación de México. Edit. Limusa. 1983, México D.F. pag. 77-80.
  - \* Schlesinger, W. H., Reynolds, J. F., Cunningham, G. L., Huenneke, L. F., Jarrell, W., Virginia, R. y Whitford, W. (1990) Biological feedbacks in global desertification. *Science* 247, 1043-1048.
  - \* Schwartz, C. C., Nagy, J. G. y Regelin, W. L. (1980) Juniper oil yield, terpenoid concentration and antimicrobial affects on deer. *J. Wildl. Manage* 44, 107-113.
  - \* Showalter, T.D. (1996) Arthropod associates and herbivory on tarbush in southern New México. *The Southwestern Naturalist* 41(2): 140-144.
  - \* Stuppner, H. y Müller, E. P. (1994) Rare flavonoid aglycones from *F. retinophylla*. *Phytochemistry* 37(4): 1185-1187.
  - \* Suffness, M., Cragg, G.M., Grever, M.R., Grifo, F.J., Johnson, G., Mead, J.A.R., Schepartz, S.A., Venditti, J.M. y Wolpert, M. (1995) The National Cooperative Natural Products Drug Discovery Group (NCNPDDG) and International Cooperative Biodiversity Group (ICBG) Programs. *International Journal of Pharmacognosy* 33: 5-16.
  - \* Tanowitz, B., Leeder, G., Ross, P. y Proksch, P. (1987) *Biochem. Syst. Ecol.* 15, 535.

- \* Tumlinson, J., Klein, M., Doolittle, R., Ladd, T. y Proveaux, A. (1977) Identification of the female japanese beetle sex pheromone: Inhibition of male response by an enantiomer. *Science* 197: 789-792.
- \* Ulubelen, A. y Tuzlari, E. (1990) *Fitoterapia* 61, 185.
- \* Valesi, A. G., Rodriguez, E., Vander, V. G. y Mabry, T.J. (1972) *Phytochemistry* 11, 2821.
- \* Venkama, N.M. y Krishna, R.G.S. (1980) Synthetic studies in aromatic hemiterpenes of natural origin: Part VI-synthesis of 7-Methoxy-2,2-dimethyl-6-vinylchromene (anhydroencecalinol), a natural product isolated from *Flourensia cernua*. *Indian J. Chem.* 19B: 313-315.
- \* Wehrl, F. W. y Nishida, T. (1979) The use of Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Natural Products. (Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G., eds.). Vol. 36, Edit. Springer-Verlag Wien, New York.
- \* Wollenweber, E. (1972) *Z. Naturforsch B*, 27, 567.
- \* Wollenweber, E. y Dietz, V. H. (1981) *Phytochemistry* 20, 869.
- \* Wollenweber, E., Valant-Vetschera, K., Ivancheva, S. y Kuzmanov, B. (1987) *Phytochemistry* 26, 181.
- \* Wollenweber, E. y Yastkievich, G. (1985) Flavonoides en la resina foliar de *F. resinosa*, compuesta endémica de Hidalgo, México. *Rev. Latinoamer. Quím.* 16-1: 45-46.
- \* Yu, S., Fang, N y Mabry, T. J. (1986) *J. Nat. Prod.* 49, 1178.
- \* Zobel, A. M., Wang, J., March, R. E. y Brown, S.A. (1991) Identification of eight coumarins occurring with psolaren, xanthotoxin and bergapten on leaf surfaces. *J. Chem. Ecol.* 17, 1859- 1870.

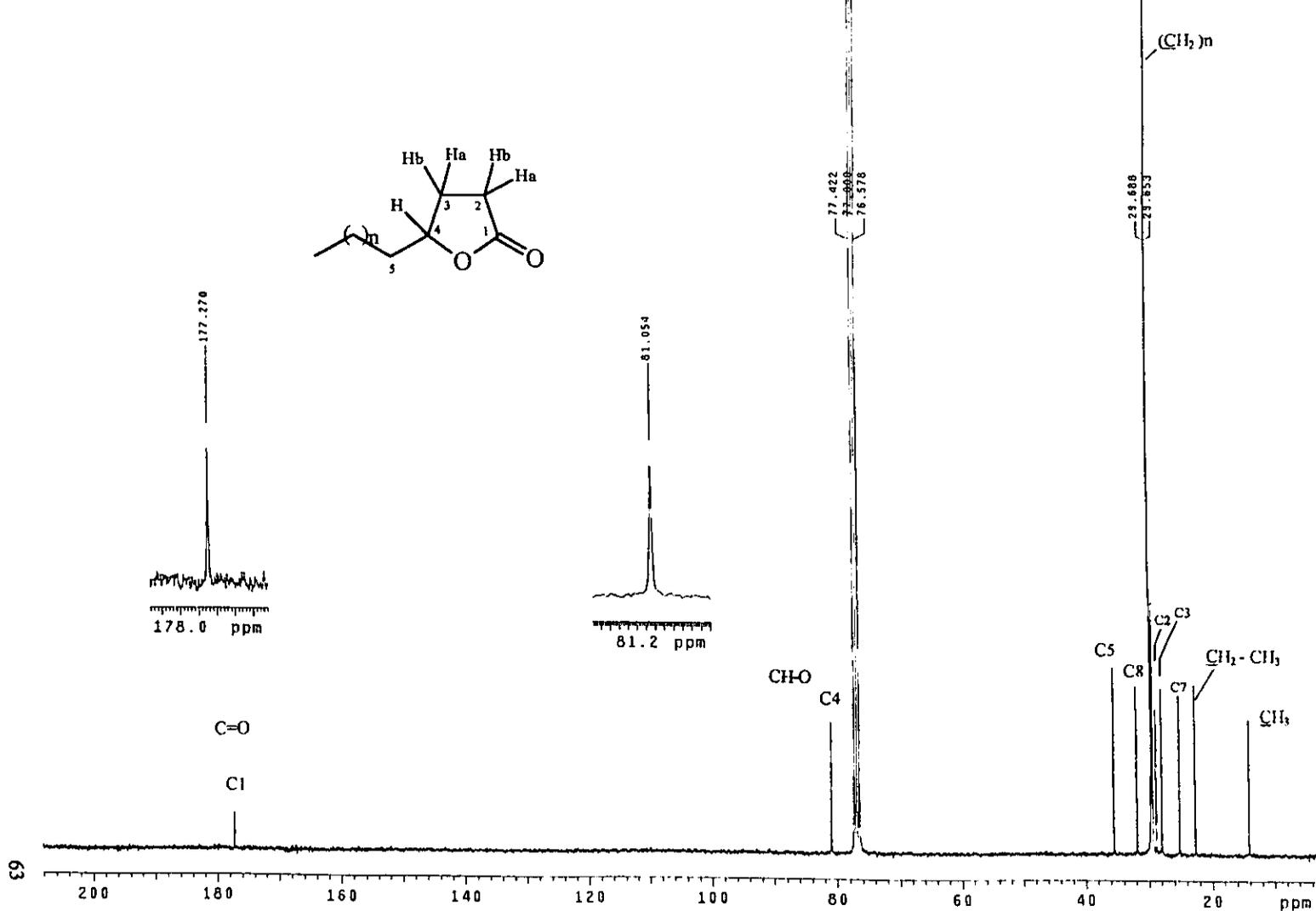
**ANEXO**  
**DE**  
**ESPECTROS**



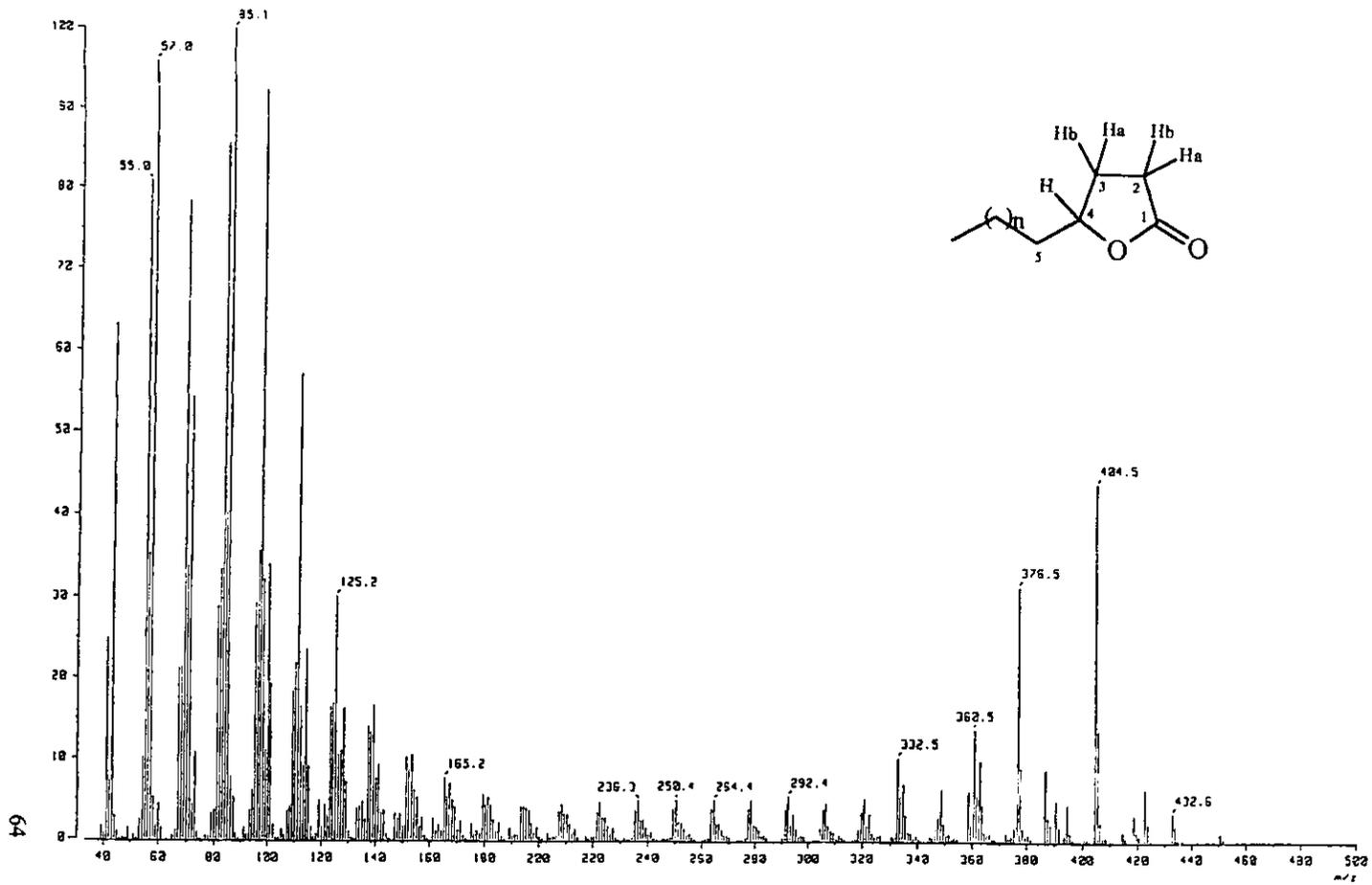
**Espectro 1. Espectro en el IR de la mezcla F011.**



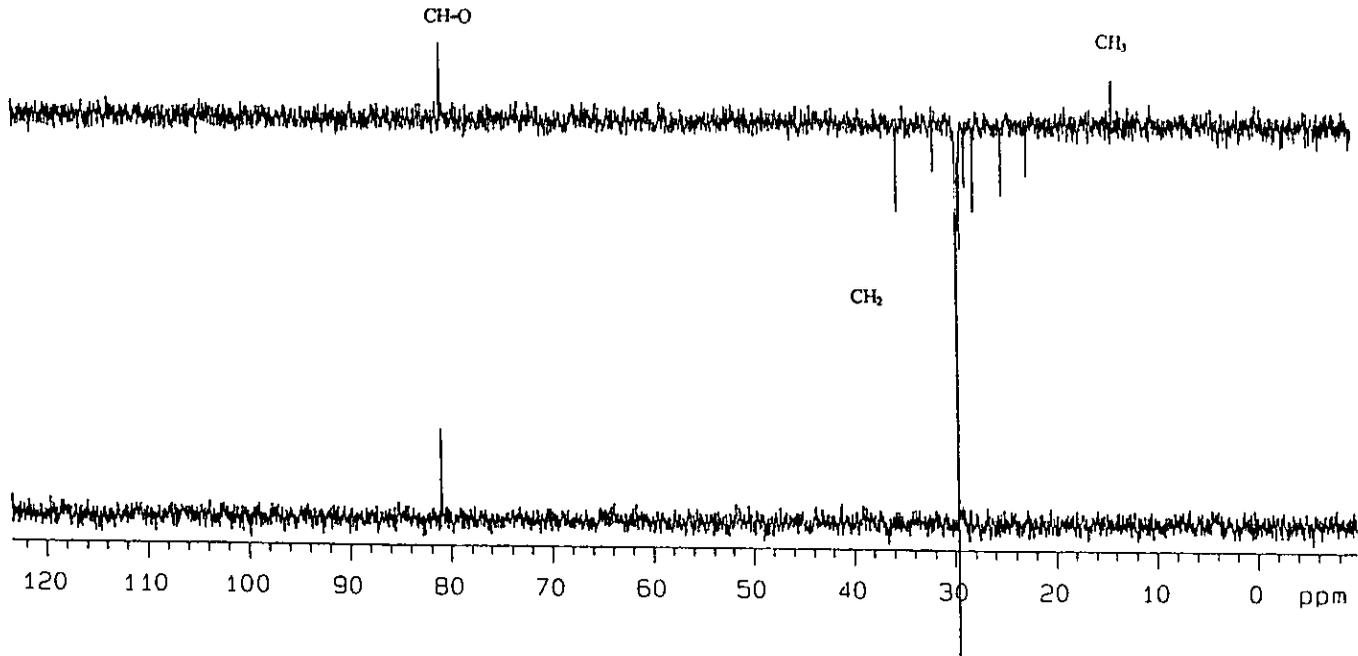
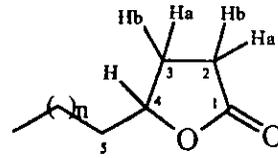
**Espectro 2.** Espectro de RMN- $^1\text{H}$  de la mezcla F011.



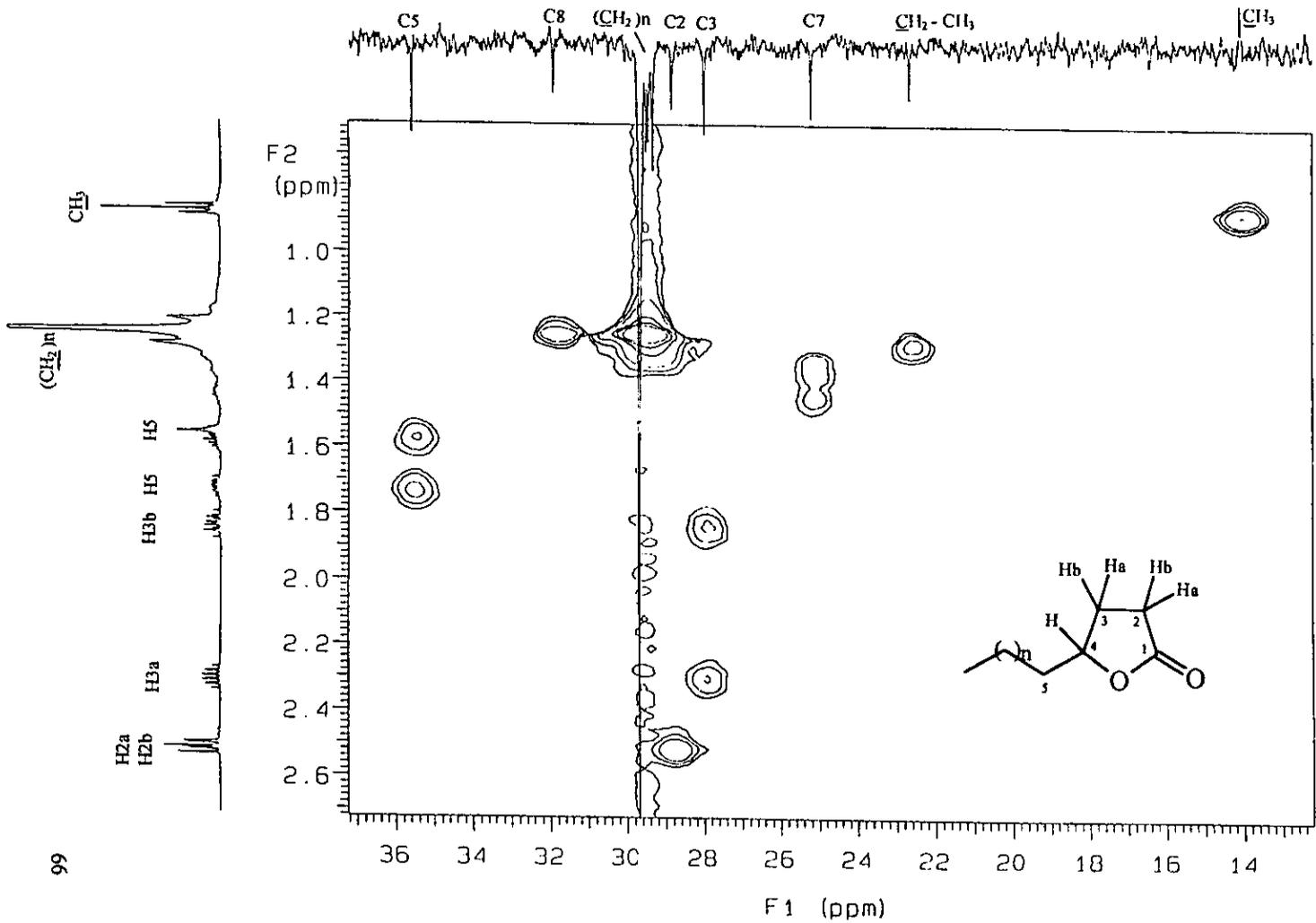
Espectro 3. Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  de la mezcla F011.



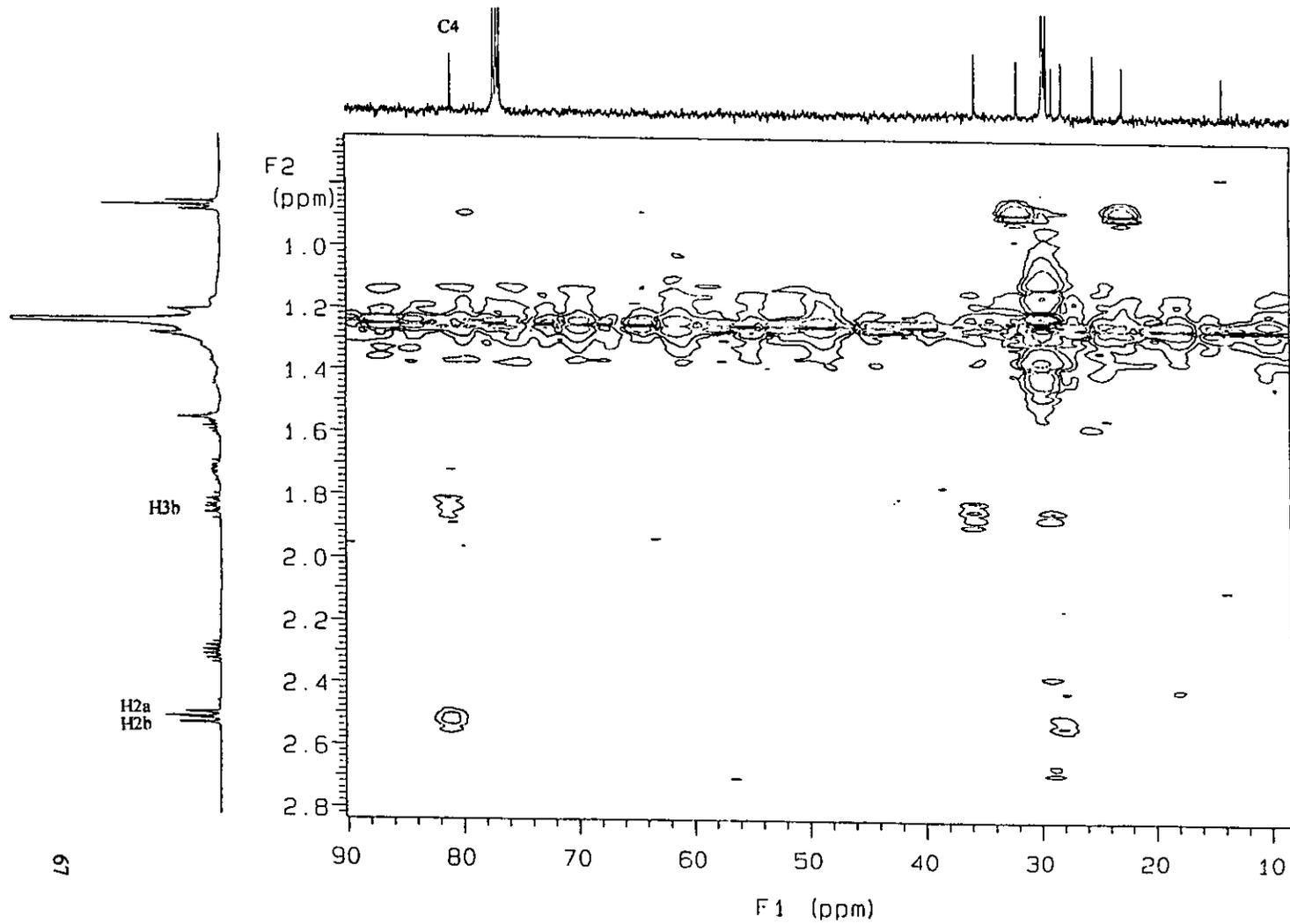
**Espectro 4.** Espectro de masas por IE de la mezcla F011.



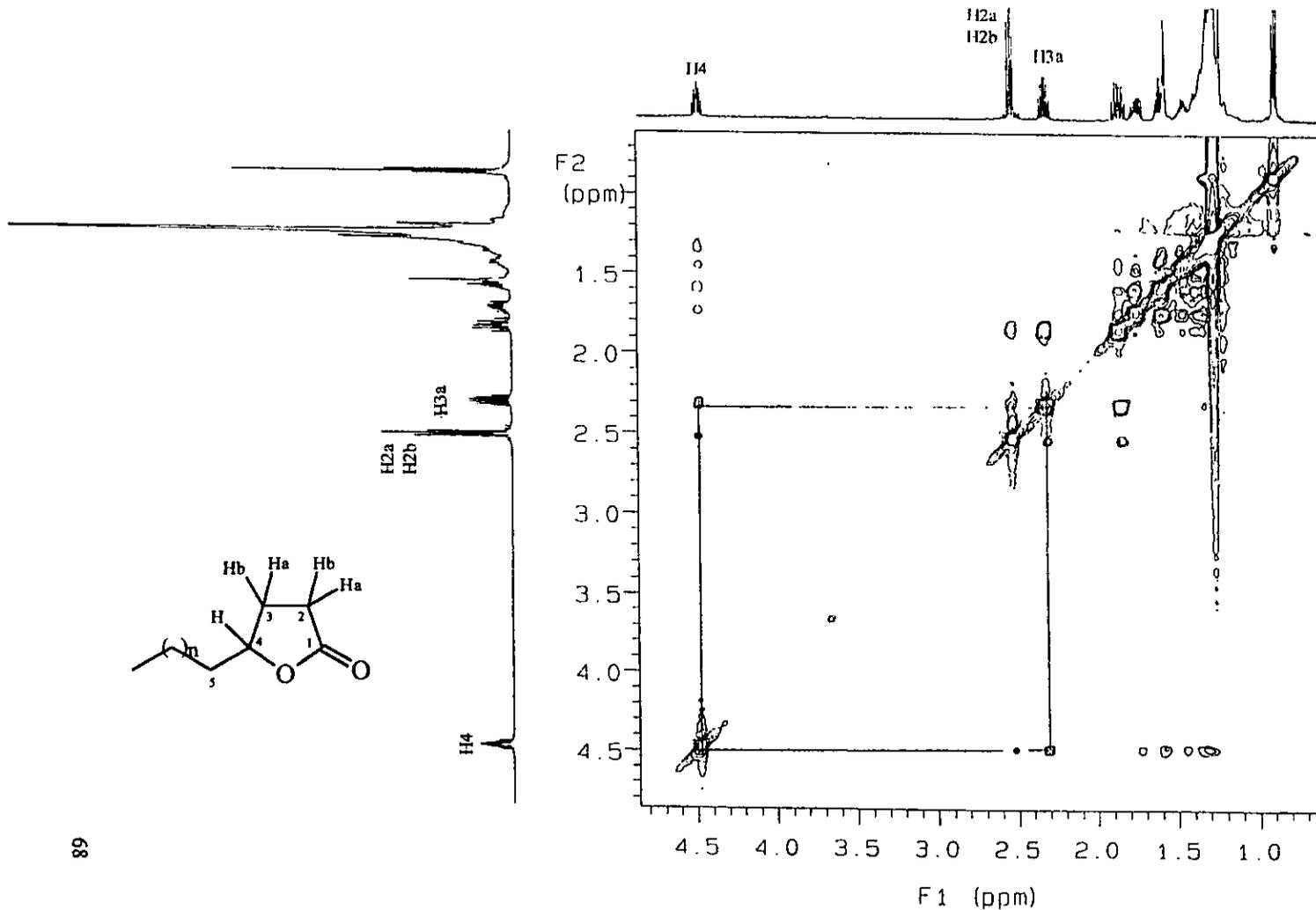
**Espectro 5.** Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  modalidad DEPT de la mezcla F011.



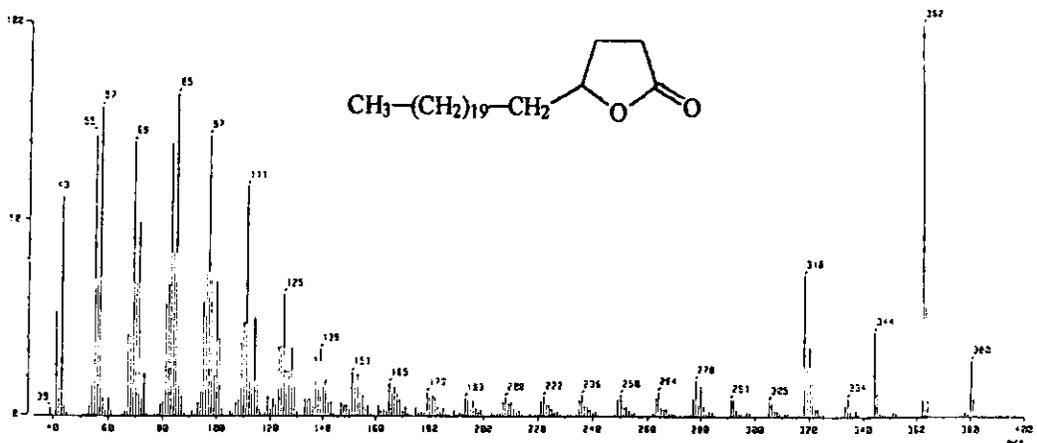
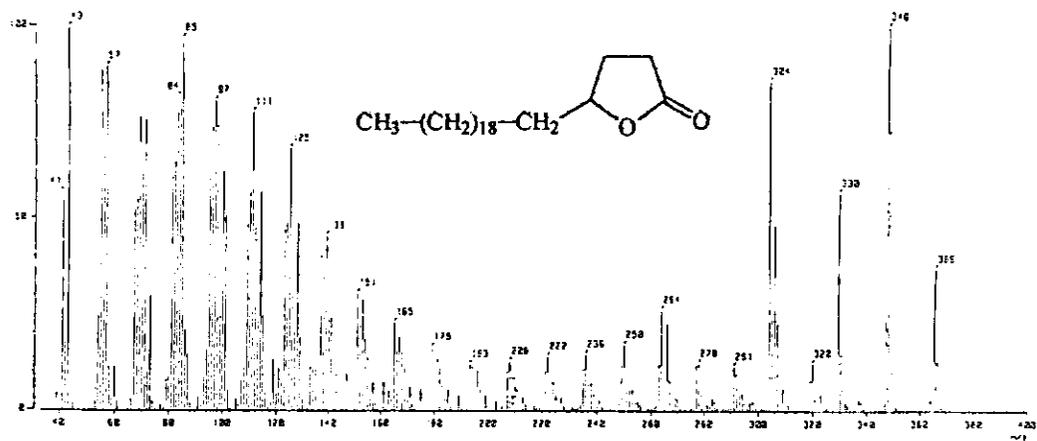
**Espectro 6.** Espectro HMQC de la mezcla F011.



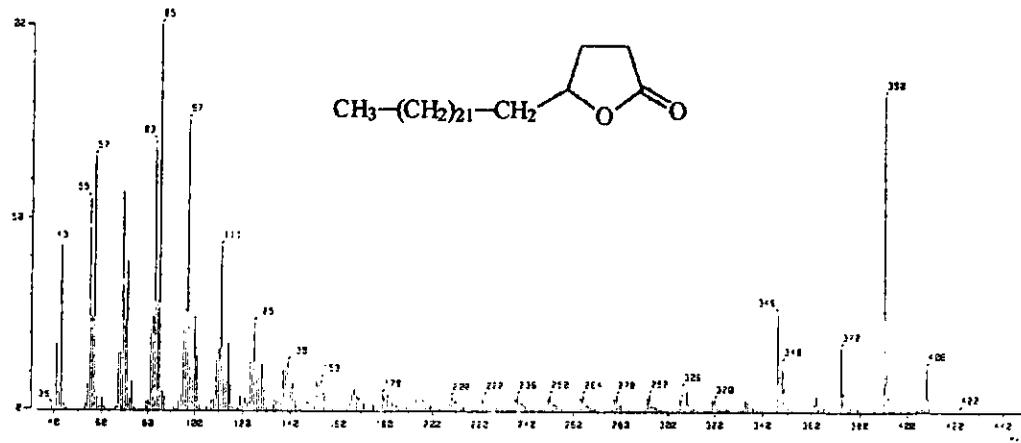
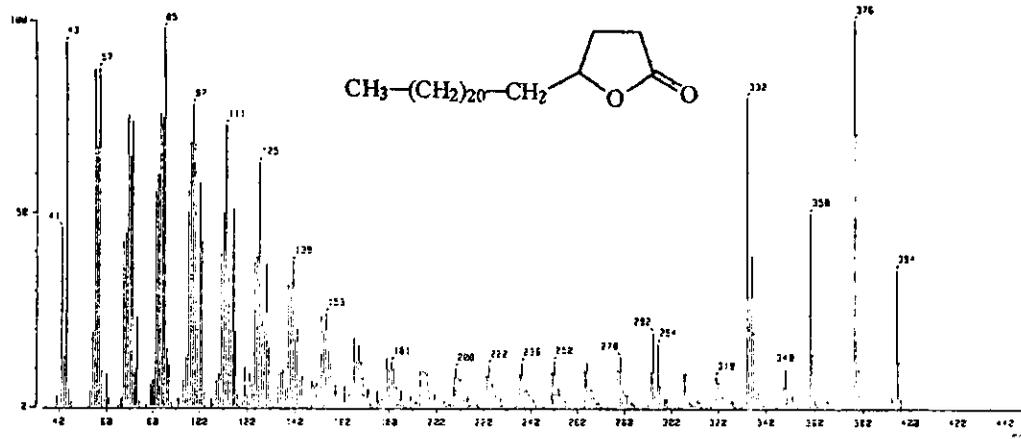
**Espectro 7.** Espectro de HMBC de la mezcla F011.



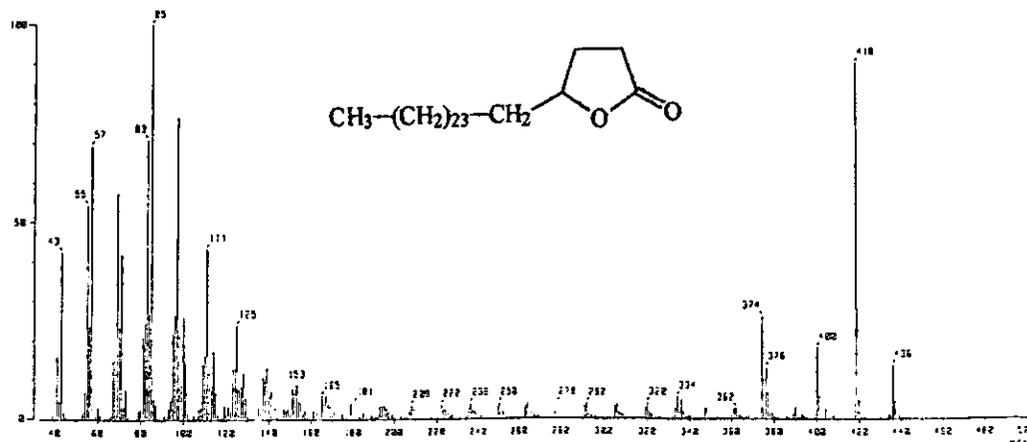
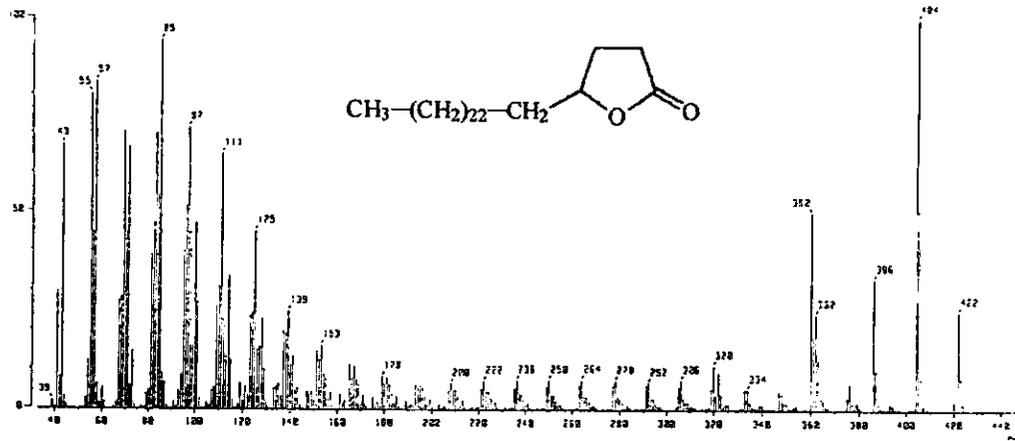
**Espetro 8.** Correlaciones observadas en el espectro NOESY para la mezcla F011.



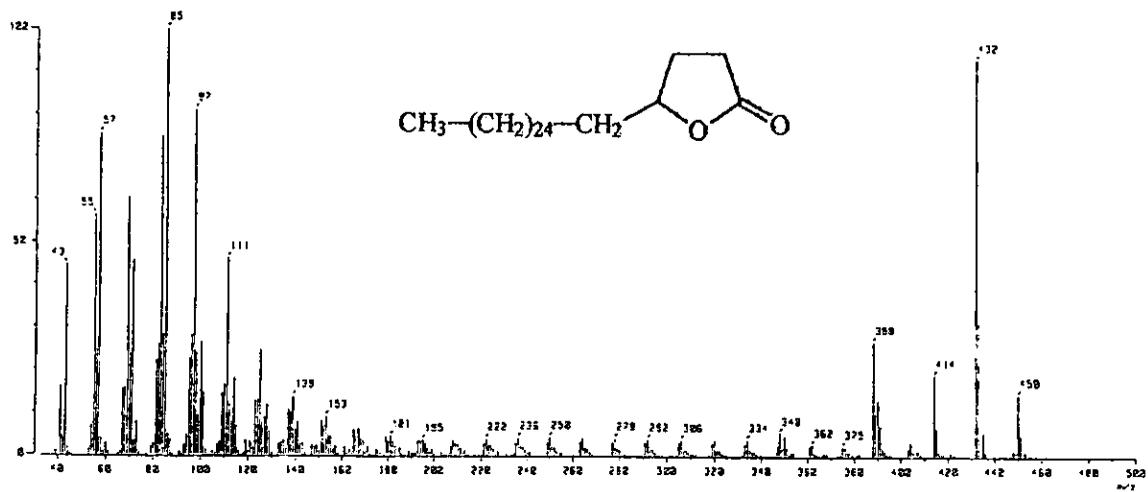
**Espectros 9 y 10.** Espectros de masas acoplados a cromatografía de gases de los compuestos 47 y 48.



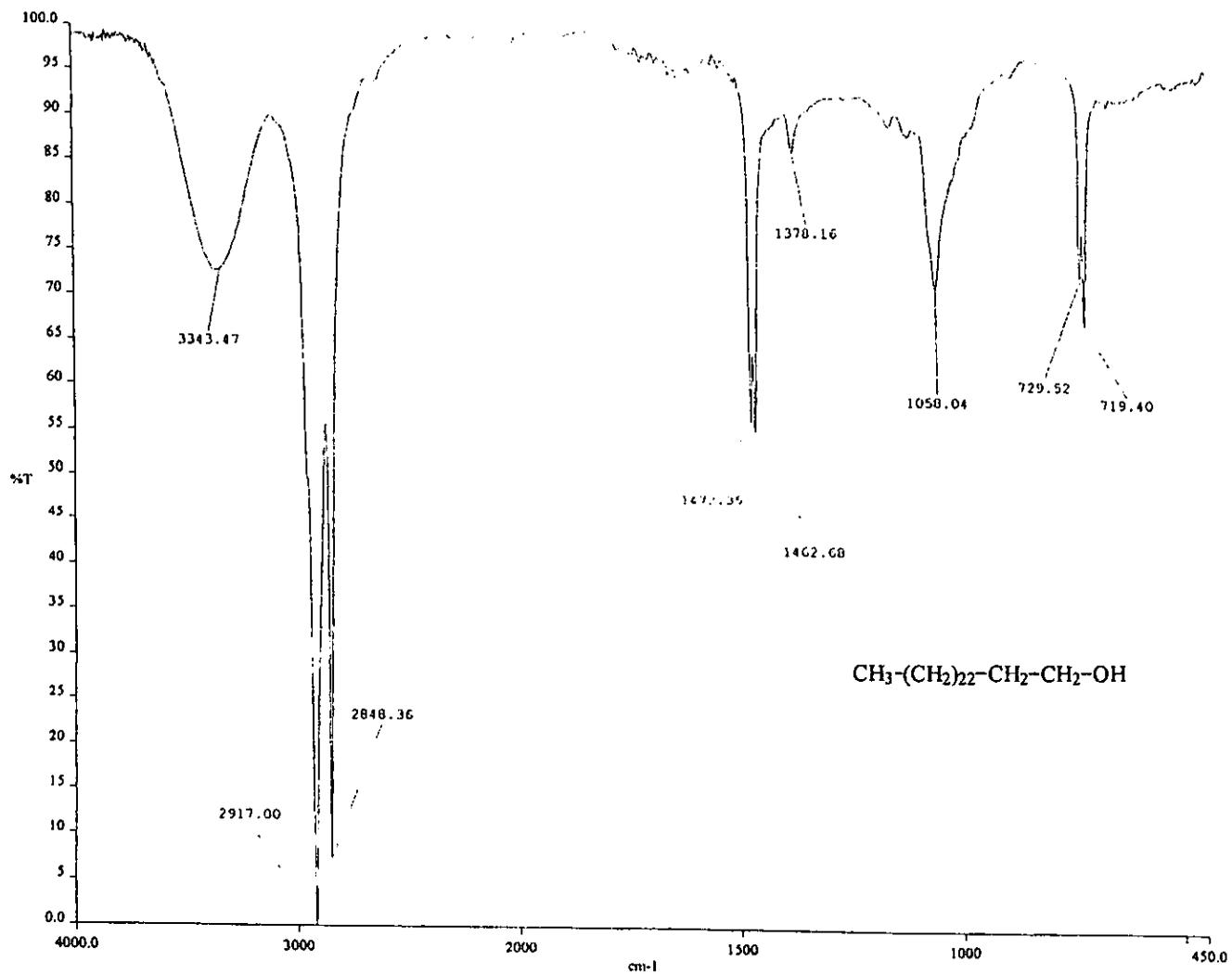
Espectros 11 y 12. Espectros de masas acoplados a cromatografía de gases de los compuestos 49 y 50.



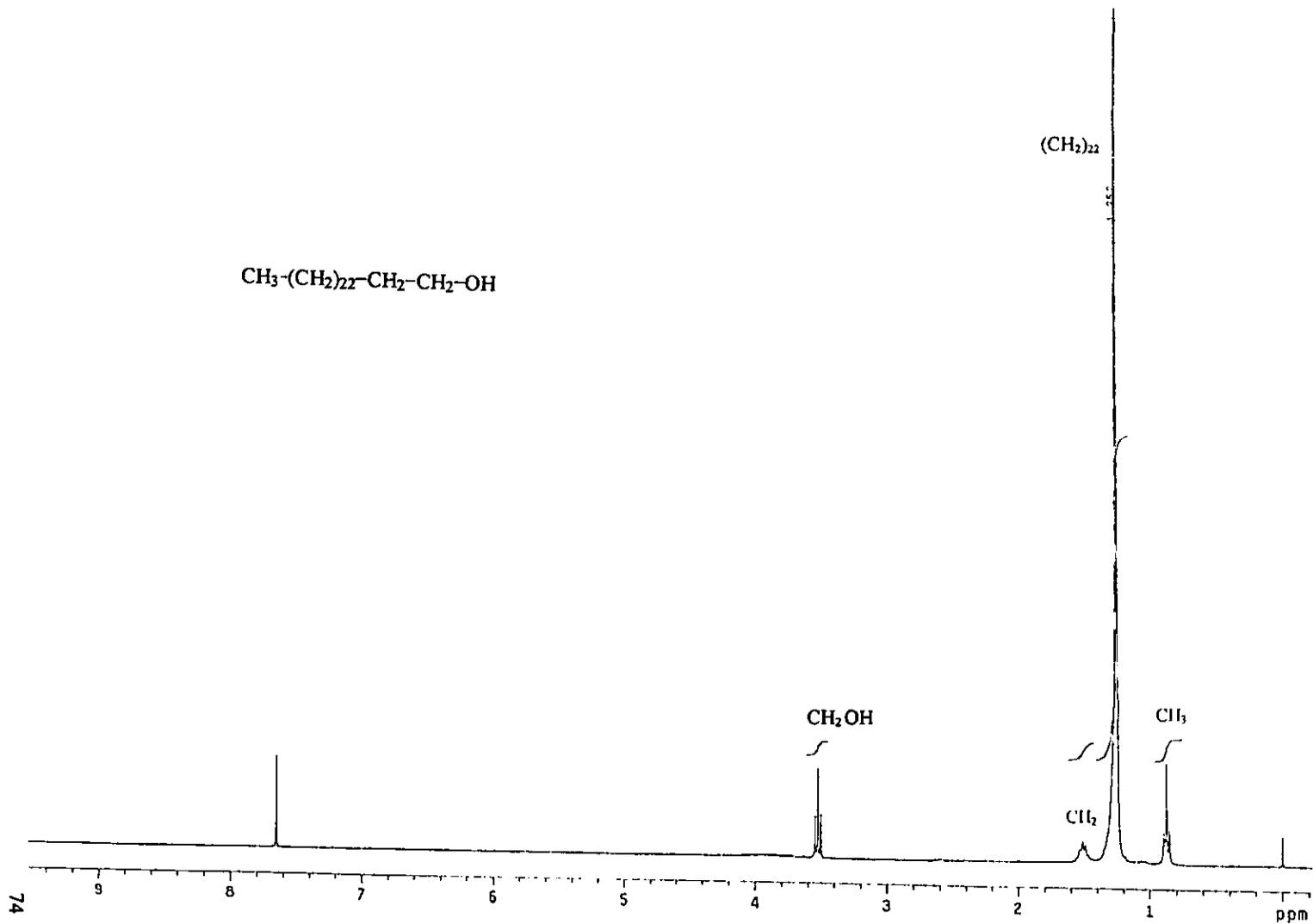
**Espectros 13 y 14. Espectros de masas acoplados a cromatografía de gases de los compuestos 51 y 52.**



**Espectro 15.** Espectro de masas acoplado a cromatografía de gases del compuesto 53.

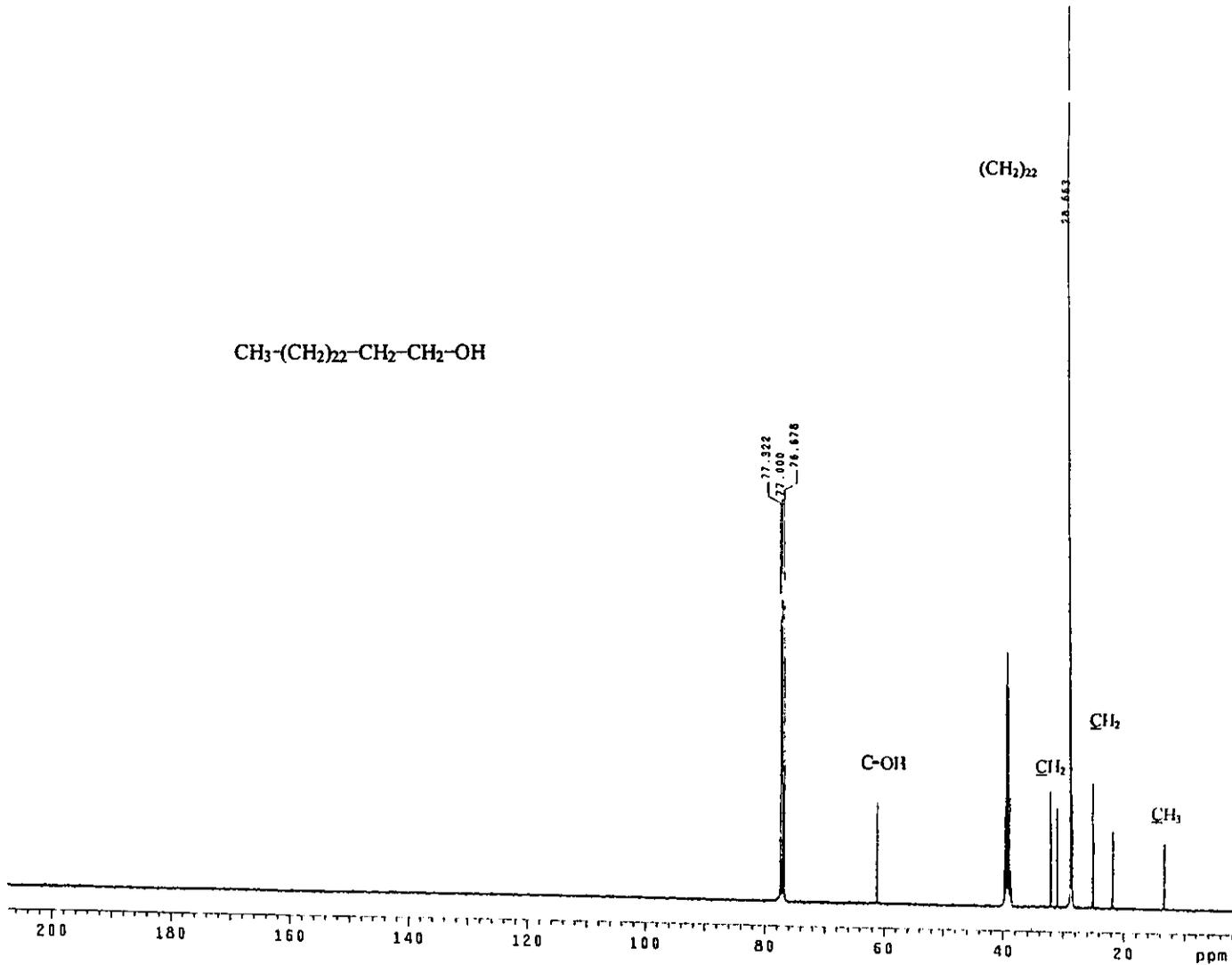


Espectro 16. Espectro en el IR del 1-pentacosanol (S4).

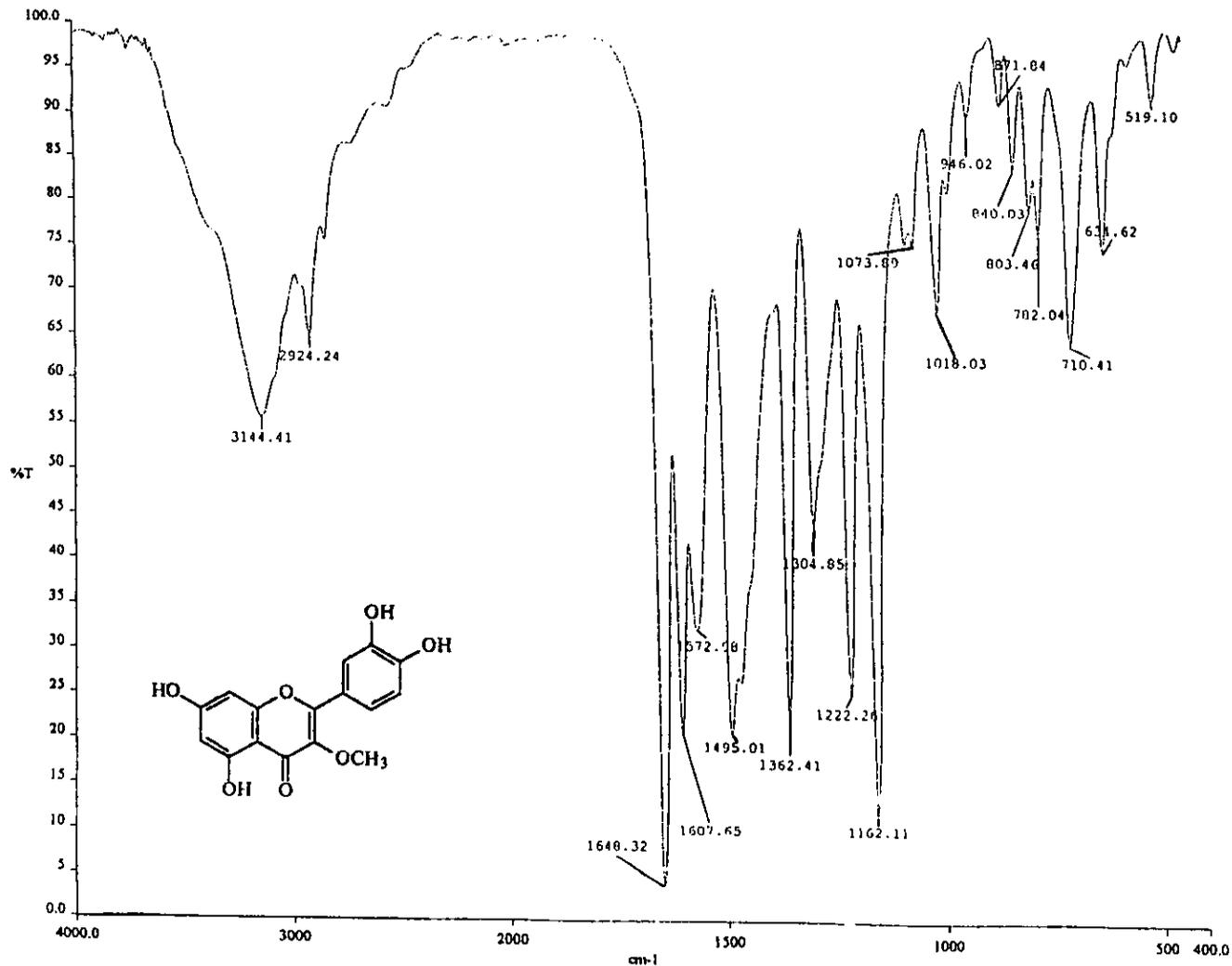


**Espetro 17.** Espetro de RMN- $^1\text{H}$  del 1-pentacosanol (54).

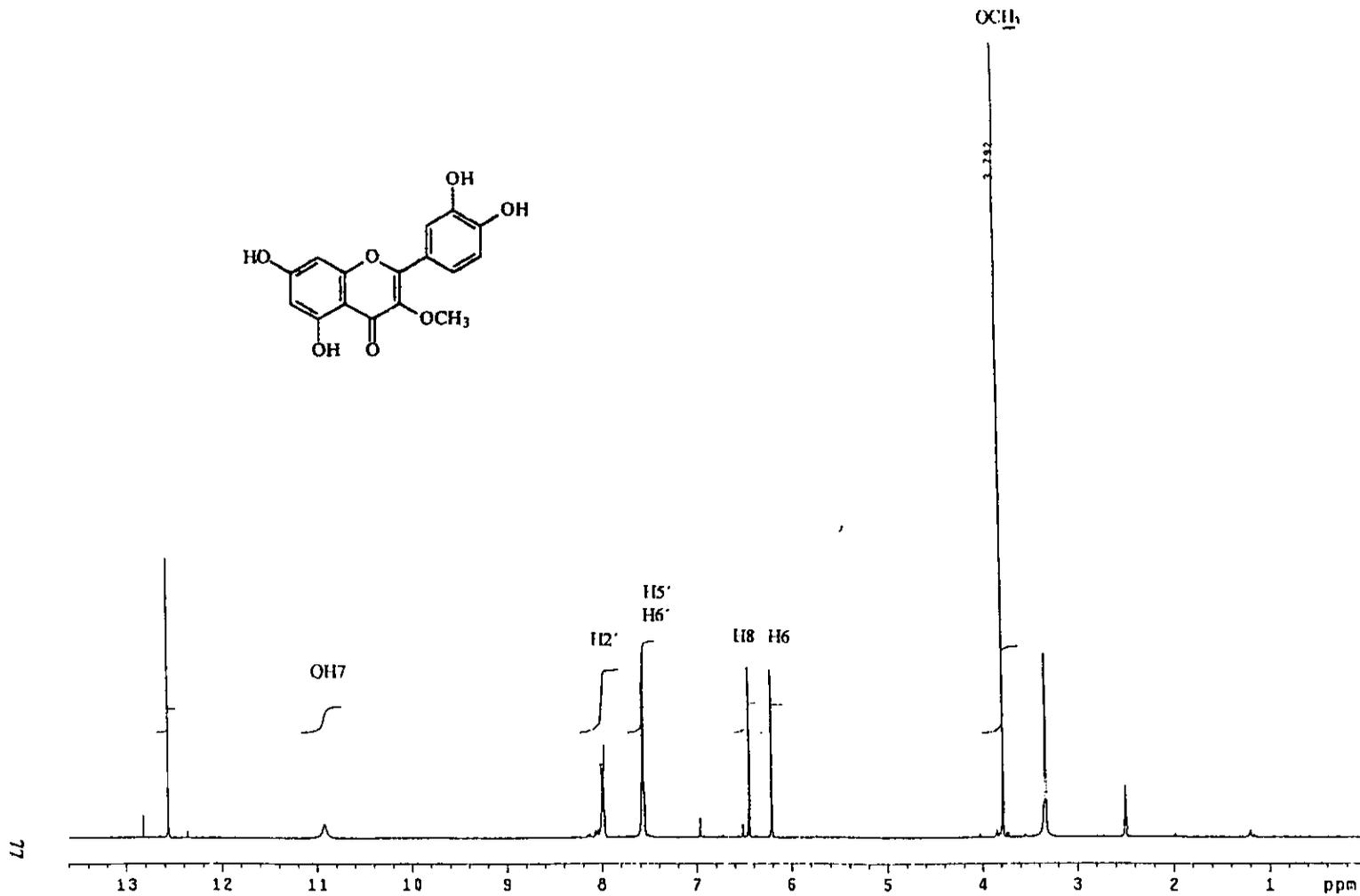
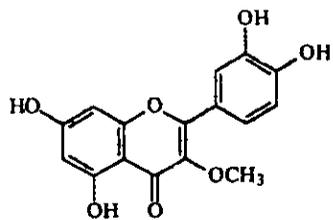
75



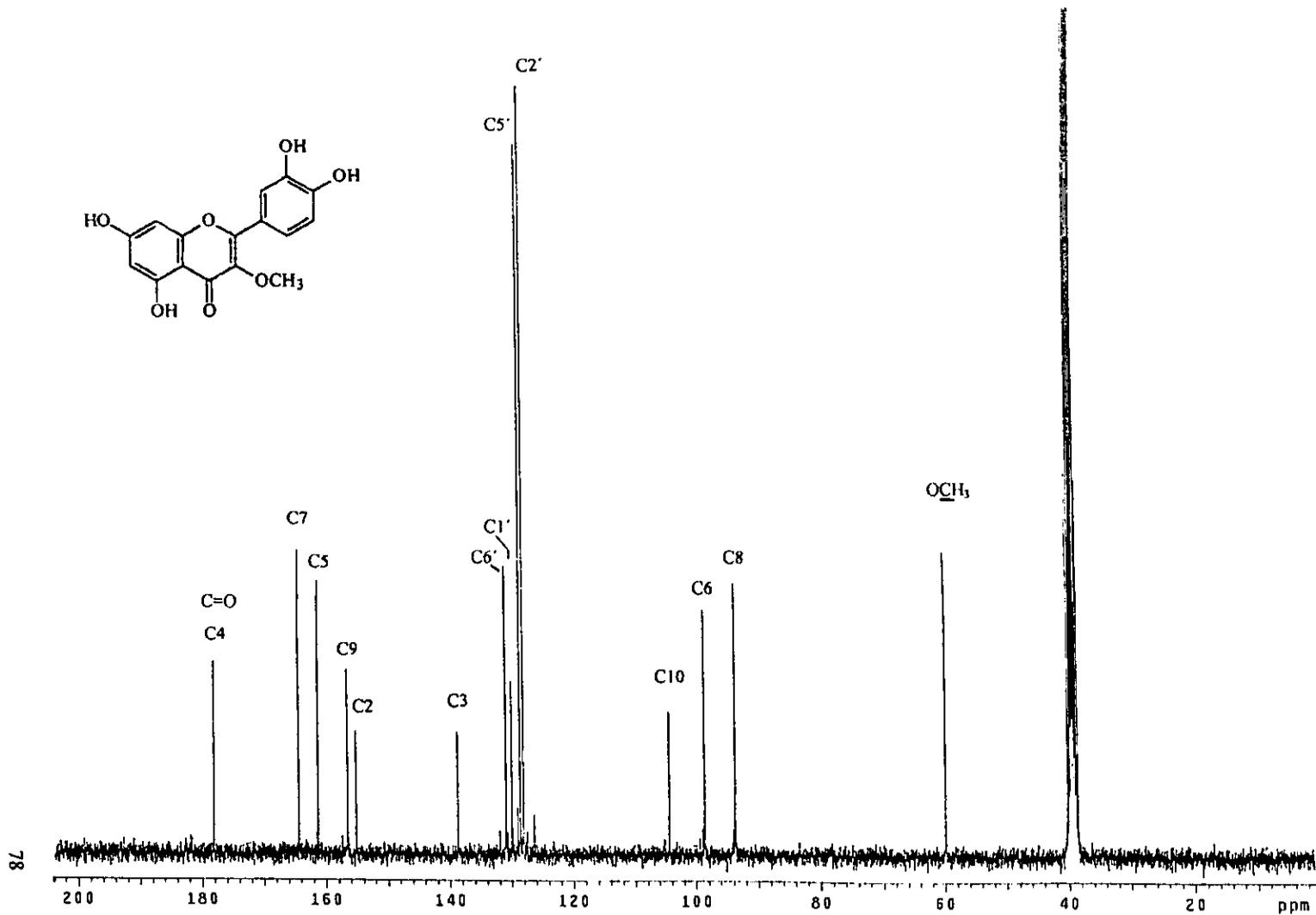
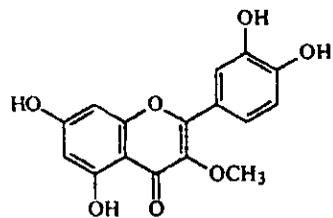
Espectro 18. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del 1-pentacosanol (54).



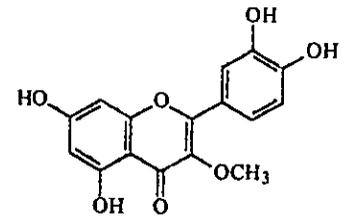
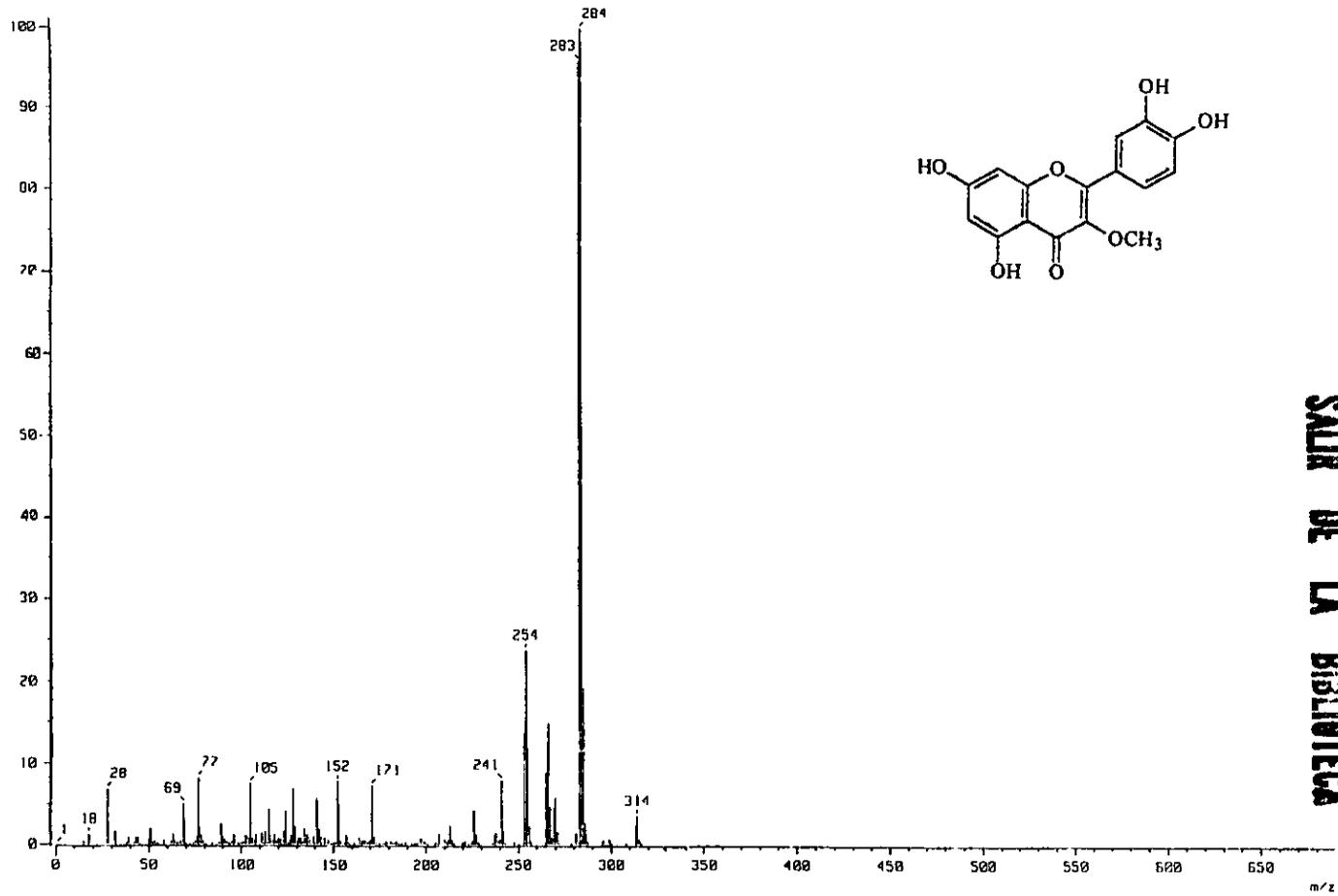
**Espectro 19.** Espectro en el IR del 3-éter metílico de la quercetina (1).



**Espectro 20.** Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del 3-éter metílico de la quercetina (1).

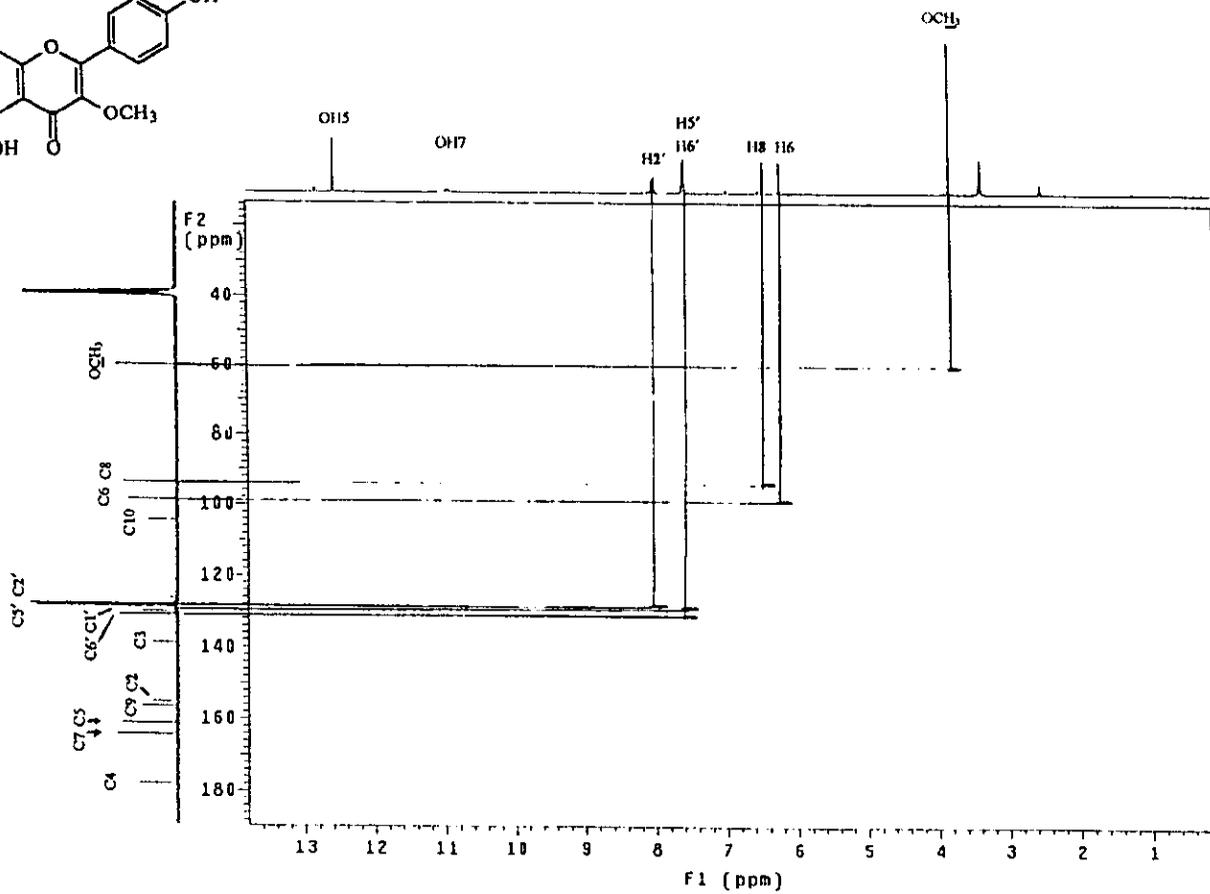
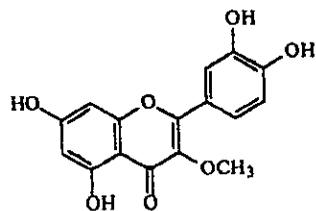


**Espectro 21.** Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del 3-éter metílico de la quercetina (1).

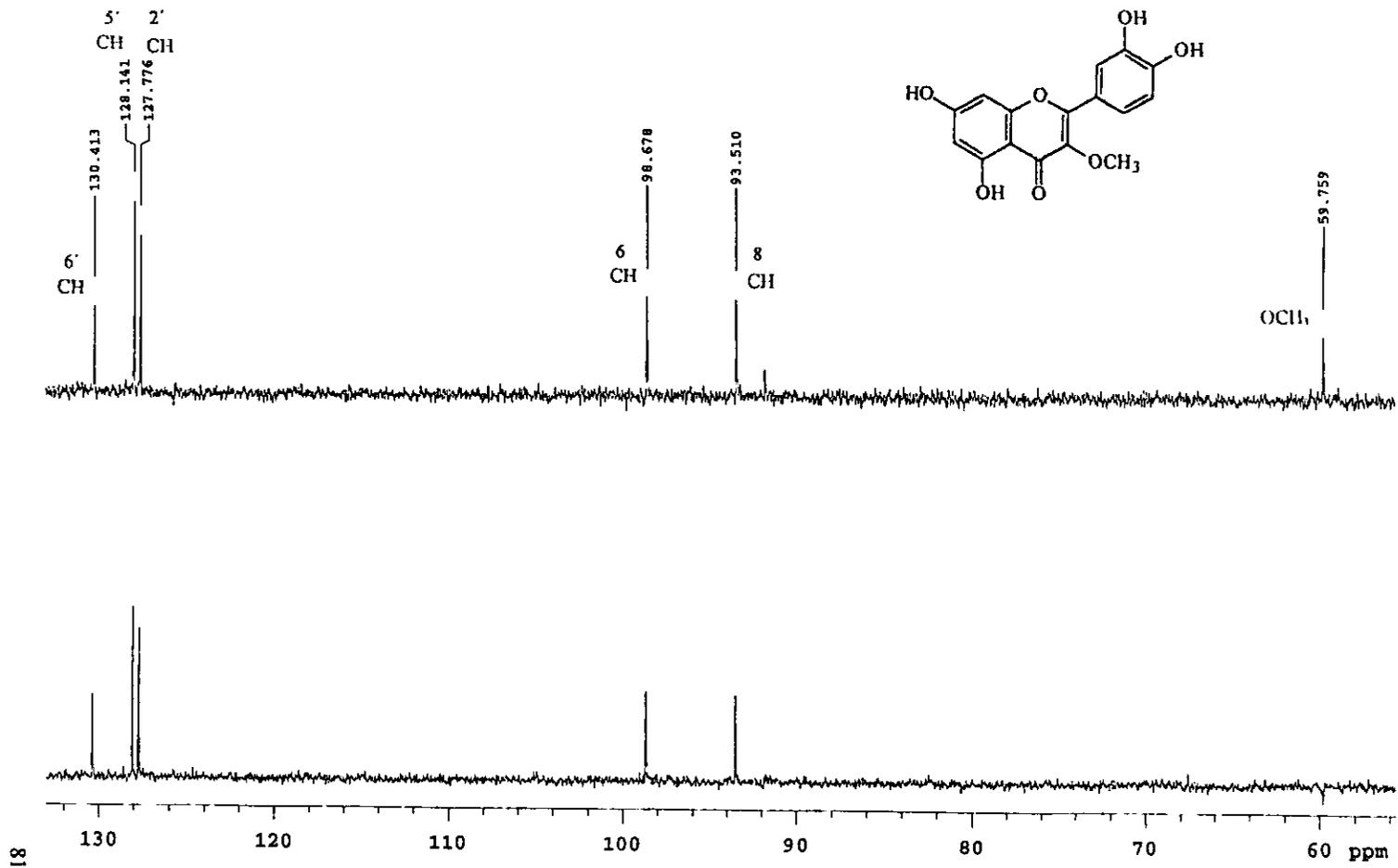


ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Espectro 22. Espectro de masas por IE para el 3-éter metílico de la quercetina (1).



Spectro 23. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C modalidad HETCOR para el 3-éter metílico de la quercetina (1).



**Espectro 24.** Espectro de RMN-<sup>13</sup>C modalidad DEPT para el 3-éter metílico de la quercetina (1).