



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

IPOLAMIDA: GLUCOSIDO IRIDOIDE AISLADO DE
Stachytarpheta acuminata (Verbenaceae)

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
Q U I M I C A
P R E S E N T A :
ROSA ELVIRA LOPEZ CHAVEZ



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA



MEXICO, D.F. OCTUBRE

2005

m 351959



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.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: ROSA ELVIRA LOPEZ
CHAVEZ

FECHA: 07-NOV-2005

FIRMA: Rosa Elvira Lopez

Jurado asignado:

Presidente Prof. Yolanda Caballero Arroyo.

Vocal Prof. Ernestina Cervera Flores.

Secretario Prof. Baldomero Esquivel Rodríguez.

1er sup. Prof. José Manuel Méndez Stivalet.

2do sup. Prof. Ana Adela Sánchez Mendoza.

Sitio en donde se desarrolló el tema: Instituto de Química, UNAM.

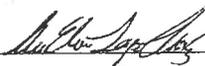
Asesor del tema:

M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez



Sustentante:

Rosa Elvira López Chávez



Dedicatorias

A mis hijas:

Ana Valeria y Nadia Berenice.

A César Javier, a mis padres.

A José, Myrna, Nacho, y Víctor.

Agradecimientos

Mi agradecimiento profundo y especial, por todo el apoyo y confianza que me brindó el Prof. Baldomero Esquivel Rodríguez.

A la Prof. Ana Adela S., por su valioso tiempo invertido a este trabajo.

A mi familia, por el tiempo que me dieron.

INDICE.

Pag.		
	1.0.- Introducción	2
	2.0.- Antecedentes	3
	3.0.- Distribución de Verbenaceas en México.....	5
	4.0.- Uso de Iridoides	8
	4.1.- Función de los iridoides en los insectos	9
	4.2.- Función de los iridoides en las plantas	10
	5.0.- Generalidades Químicas	11
	5.1.- Clasif. de los iridoides (Esquema I).....	13
	5.2.- Esquema II	14
	6.0.- Objetivos	15
	7.0.- Parte teórica.....	16
	7.1.- Previo a la biosíntesis.....	17
	7.2.- Biosíntesis.....	20
	8.0.- Resultados	23
	8.1- Tabla 1.....	27
	8.2- Tabla 2.....	28
	8.3- Tabla 3.....	31
	8.4.- Tabla 4.....	32
	8.5.- Tabla 5.....	33
	9.0.- Parte Experimental.....	34
	9.1.- Obtención del extracto	35
	9.2.- Diagrama de trabajo	38
	10.0.- Conclusiones.....	39
	11.0.- Material y aparatos usados	40
	12.0.- Espectros.....	41
	13.0.- Bibliografía.....	49

INTRODUCCION

Las plantas han sido objeto de estudio desde épocas remotas tanto en nuestro país como en otras partes del mundo. Esto nos lleva a regresar en el tiempo y consultar fuentes de información que abarcan otras culturas. Así, de manera más formal, existen los 47 volúmenes sobre Historia Natural, escritos por el naturalista latino Plinio el viejo (23-79 d.c.) en los que nombran más de 1000 plantas, entre ellas algunas medicinales, aún en uso. Otra fuente de información escrita fue realizada por el griego C. Dioscórides en el año 77 a.c. llamada De Materia Médica, en la que menciona las plantas y medicinas conocidas por los griegos.¹

La medicina tradicional en México tiene antecedentes prehispánicos. México ocupa el cuarto lugar en cuanto diversidad en especies vegetales, esto conlleva a un enorme acervo de conocimientos etnobotánicos especialmente en las plantas medicinales². Muchos de los conocimientos de medicina tradicional que tenemos ahora de gran cantidad de plantas, han llegado hasta nosotros -en la mayoría de los casos-, de forma oral, aunque también de manera escrita o a través de leyendas, tradiciones y costumbres. El uso terapéutico de algunas plantas sigue vigente, por lo que la investigación científica en el país la ha hecho objeto de estudio y le da la importancia que merece.

Como ejemplo de la importancia que la flora mexicana ha tenido en el desarrollo de la química y la industria farmacéutica se puede mencionar que en 1943 un químico norteamericano especializado en esteroides llegó a México y después de indagar sobre muchas plantas; con los lugareños, encontró que cierta planta silvestre del género *Dioscorea* (barbasco) contenía grandes cantidades de diosgenina. Este químico llamado Russell E. Marker, con dicho hallazgo pudo contar con grandes cantidades de materia prima para dedicarse a la síntesis de la progesterona. Gracias a este descubrimiento, el laboratorio por él fundado, llamado Syntex, abasteció durante muchos años el 80% del mercado mundial de hormonas y esteroides a un precio mucho menor que el de los precedentes.³

ANTECEDENTES.

La planta objeto del presente estudio, cuyo nombre científico es *Stachytarpheta acuminata*, fue recolectada en Tolantongo,- estado de Hidalgo, México- durante su época de floración. En este tiempo la vegetación era cerrada alrededor de este arbusto, el cual no presentaba ningún aroma perceptible y como un hecho significativo, cabe mencionar que era la única planta que permanecía sin ser atacada por insectos o depredadores en el ecosistema donde se encontró presente.

La clasificación taxonómica de la *Stachytarpheta acuminata* es la siguiente:

División: *Fanerógamas*

Clase: *Angiospermas*

Subclase: *Dicotiledoneas*

Orden: *Tubifloras*

Familia: *Verbenaceas*

Género: *Stachytarpheta*

Especie: *acuminata*

Las consideraciones quimiotaxonómicas, además de contribuir a una elección más racional de las plantas a investigar, ayuda junto con las teorías biogenéticas a dilucidar la estructura para los nuevos compuestos aislados.¹

La familia *Verbenaceae*, cuenta aproximadamente con 3000 especies, distribuidas en el mundo. Esta gran familia contiene un número de plantas útiles en construcción –como se menciona al final de éste párrafo-, en medicina y ornamentales, incluyendo hierbas, arbustos, árboles y muchas lianas. La distribución de estas plantas es tropical y subtropical, con pocos géneros y especies nativas de zonas templadas. Clasificada básicamente de acuerdo al tipo de inflorescencia, incluye muchos géneros de valor económico, el más

importante es *Tectona grandis* (sureste de Asia ; resistente al agua, usada en la construcción de barcos) y *Citharexylum* (México y Sudamérica) que es usada en la construcción de instrumentos musicales.⁴

En la familia *Verbenaceae* hay plantas de uso común tales como verbenas, sauzgatillo, marialuisa, teca, etc; algunas de las cuales son usadas contra parásitos, como febrifugas, antiinflamatorias o tranquilizantes.

De *Verbenaceae* existen varios géneros en la República Mexicana más o menos abundantes, distribuidos a lo largo de todo el territorio, siendo Tlaxcala el estado que cuenta con menos especies (19) y Chiapas con la mayor cantidad (109). Sin embargo esta familia ha sido escasamente estudiada y menos aún el género *Stachytarpheta*, siendo estos estudios fundamentales para formar una línea que nos dirija en la búsqueda de nuevos compuestos que tengan principios farmacológicos^{7, 9}.

DISTRIBUCION DE VERBENACEAS EN MEXICO.

A continuación se presenta una tabla de la familia de las verbenaceas con el nombre del género y el número de especies que se han determinado dentro del territorio mexicano.

GENERO	No de especies	GENERO	No de especies
Aegiphila	15	Lippia	34
Aloysia	11	Petrea	1
Avicennia	2	Phyla	9
Bouchea	6	Priva	6
Burroughsia	2	Rhedera	2
Callicarpa	2	Stachytarpheta	29
Citharexylum	41	Tamonea	4
Clerodendrum	11	Tectona	1
Comutia	3	Tetraclea	3
Duranta	2	Tonina	1
Glandularia	9	Verbena	69
Holmoskioldia	1	Vitex	8
Lantana	26	Xolocotzia	1

Los estados con mayor flora verbenacea son:⁵

ESTADO	No de especies
Chiapas	109
Oaxaca	103
Veracruz	91

DISTRIBUCION DEL GÉNERO *Stachytarpheta* EN EL TERRITORIO MEXICANO.⁶

PLANTA	Hidalgo	Guerrero	Veracruz	Edo. Méx.	Oaxaca	Tabasco	Jalisco	Chiapas	Michoacán	Q. Roo	Sinaloa	Tamaulipas	S. L. P.	Yucatán	Campeche	Nayarit	Sonora	Puebla
<i>S. acuminata</i>	X	x		x	x		x											
<i>S. albiflora</i>					x													
<i>S. angustifolia</i>		x	x		x	x		x	x	x		x		x				
<i>S. frantzii</i>		x	x		x	x		x		x			x	x				
<i>S. frantzii</i> var. <i>Mollissima</i>								x										
<i>S. guatemalensis</i>			x					x							x			
<i>S. guatemalensis</i> var. <i>Lundelliana</i>								x										
<i>S. hintoni</i>				x												x	x	
<i>S. incana</i>		x																
<i>S. incana</i> var. <i>angustibracteata</i>		x	x		x				x		x		x			x		x
<i>S. incana</i> var. <i>Jaliscana</i>							x											
<i>S. jamaicensis</i>			x		x	x			x		x			x				
<i>S. jamaicensis</i> f. <i>atrocoerulea</i>			x											x				
<i>S. kingi</i>					x													
<i>S. longiflora</i>		x		x														
<i>S. luisana</i>																		x
<i>S. lundellae</i>														x				
<i>S. miniacea</i>										x					x			
<i>S. mutabilis</i>	x	x	x	x					x									
<i>S. mutabilis</i> var. <i>Maxoni</i>							x											
<i>S. mutabilis</i> var. <i>Violacea</i>		x		x				x	x									
<i>S. nelssoni</i>					x													
<i>S. purpurea</i>			x															
<i>S. rivularis</i>							x											
<i>S. robinsoniana</i>														x				
<i>S. tabascana</i>					x	x												
<i>S. velutina</i>					x				x									
<i>S. violacea</i>									x									x

De acuerdo a lo anterior se desprende la gran diversidad y distribución de esta familia, cuyo estudio es prometedor y puede traer resultados aplicables hacia fines medicinales y de ser posible aplicarlos para otros proyectos de importancia industrial.

Las plantas de esta familia (*Verbenaceae*), son usadas de manera terapéutica en muchas regiones de México, y del género que ahora nos compete se han encontrado varias aplicaciones. La *Stachytarpheta mutabilis* es usada en el este de África⁸ para curar dolor de cabeza, disentería e infecciones de ojos; en el área del caribe las especies de *Stachytarpheta* son consideradas plantas de la medicina tradicional, por tener principios febrifugos y antidisentéricos. En la India la *Stachytarpheta indica* es usada en medicina tradicional externamente para úlceras purulentas e internamente para fiebres y reumatismo. En México es usada la *Stachytarpheta acuminata* para combatir infecciones cutáneas, inclusive de ojos y algunos trastornos del estómago como son la diarrea y disentería.

De varias familias de plantas, entre ellas las labiadas y las verbenaceas, a la cual pertenece la planta *Stachytarpheta acuminata*, se han aislado compuestos llamados iridoides. Del género *Stachytarpheta* se han reportado cuatro especies. En seguida se nombra al o los iridoides que se han aislado de cada una de ellas:

Stachytarpheta indica (ipolamida)¹⁰

Stachytarpheta mutabilis (ipolamida y 6 β -hidroxiipolamida)^{11,12}

Stachytarpheta jamaicensis (ipolamida y tarphetalina)¹³

Stachytarpheta guyanensis Sin. *S. cayenensis* (ipolamida)¹⁴

Los principios medicinales son atribuidos a la presencia de glucósidos de iridoides hasta ahora descritos en todas las especies estudiadas de este género. La distribución de los iridoides podría ser una excelente guía como marcador para la clasificación^{15,17,18} quimitaxonómica del género *Stachytarpheta* así, como lo ha sido para el género *Verbena*¹³ y en varios géneros de la familia *Verbenaceae*.¹⁸

USOS DE IRIDOIDES.

Los iridoides han mostrado actividad antimicrobiana (plumericina, aucubina, ácido genípico, ácido elenólico), laxantes (genipósido, verbelina, asperulósido), diuréticos (catalpósido), citotóxicos (alamandina), antitumoral¹⁹ (agliconas de aucubina) hemodinámica, colerética,²⁰ antiinflamatoria²¹, colinérgico,^{22,23} hepatoprotectora hipotensor, analgésico, antiflogístico y sedante.^{19,24-26} y en insectos actúan como antialimentarios (principalmente la ipolamida).

El extracto de la planta *Nyctanthes arbortristis* y los glucósidos de iridoides contenidos del extracto tienen un efecto inmunomodulatorio contra la candidiasis sistémica en ratones.

La decocción de las ramas de *Verbena carolina* es usada: contra la diarrea, el dolor de estómago, irritación del intestino, dolor de vesícula, enfermedades renales, como cicatrizantes de granos y heridas, como abortivo, para la caspa, dermatitis y alergias.³ El principio activo es atribuido al iridoide contenido en ésta, llamado hastósido.

La *Verbena littoralis*, cuyos constituyentes principales son los iridoides verbalina y brasosido, es utilizada en Colombia; principalmente contra la tifoidea e inclusive contra cáncer.¹⁶

Otro iridoide, el genipósido, extraído como glucósido, de los frutos de *Genipa americana* y *Gardenia jasmoindes*, previamente hidrolizado y nombrado como genapin, promete prevenir el cáncer de piel y de pulmón.²⁷

Teniendo como hipótesis que existe una relación entre la actividad antimicrobiana y la actividad antitumoral, se probó la aglicona de aucubina y el éster metil escandósido

contra carcinoma Ehrlichascites, Meth A y Sarcoma 180, ambos mostraron una elevada actividad.¹⁹

FUNCION DE LOS IRIDIOIDES EN LOS INSECTOS.

El secuestro de iridoideas por insectos ha sido descrito como secuestro de toxinas amargas de las plantas.²⁸⁻³² En varias revisiones se enlistan, especies de insectos capaces de almacenar y secuestrar³²⁻³⁴ estas toxinas amargas como defensas. De acuerdo a Rimpler, un mínimo de 10 especies originarias de tres familias de lepidópteros²⁸ muestran un contenido de iridoideas derivados de plantas. El papel protector de los iridoideas secuestrados no sólo los previene de los ataques de los pájaros sino también del ataque de otros insectos.³⁵ Las larvas de *Junonia coenia*³⁶⁻³⁸ usan los iridoideas aucubina y catalpol de *Plantago lanceolata* como protección, contra sus depredadores.^{28,39}

El catalpol fue encontrado en la mariposa *Euphydryas chalcedona* y *E. anicia*, huésped de la planta *Penstemon griffinn*. En contraste, las larvas de estas mariposas no contienen catalpol a pesar de ser huéspedes de la planta, pero contienen otros glucósidos de iridoideas.

La mariposa *Thesalia theona* de Costa Rica cuyo alimento de la larva es desconocido contiene solo 6- β -hidroxiipolamida, iridoidea de *Verbenaceae* y no ha sido encontrado previamente en lepidóptero alguno.⁴¹

La ipolamida, aislada de varias especies de *Stachytarpheta*, inhibe a la *Spodoptera littoralis* con una concentración de 0.1%; aunque ésta se encuentra en la *Stachytarpheta mutabilis* en una concentración del 1%.^{18,40,41}

Estos dos últimos resultados muestran efectos similares a los obtenidos con

compuestos que se conocen como antialimentarios: sustancias que una vez que las ingiere el insecto, no vuelve a probar nada, por tanto muere de inanición.

Los antialimentarios tienen frecuentemente otros efectos en los insectos fitófagos, incluyendo la inhibición del crecimiento, retardo en la maduración, reducción en la capacidad reproductiva y toxicidad directa. Compuestos semejantes pueden ser probados como insecticidas. El mejor antialimentario conocido es la azadiractina aislada del árbol del neem.⁴²

Se tiene escasa documentación evidente de como los iridoideos son involucrados o como influyen en otros organismos semejantes a los nemátodos y a los hongos. Se han probado en *Penicillium expansum* los glucósidos y agliconas de aucubina, catalpol y gentiopirrim, mostrando que las agliconas tienen una actividad fungicida.

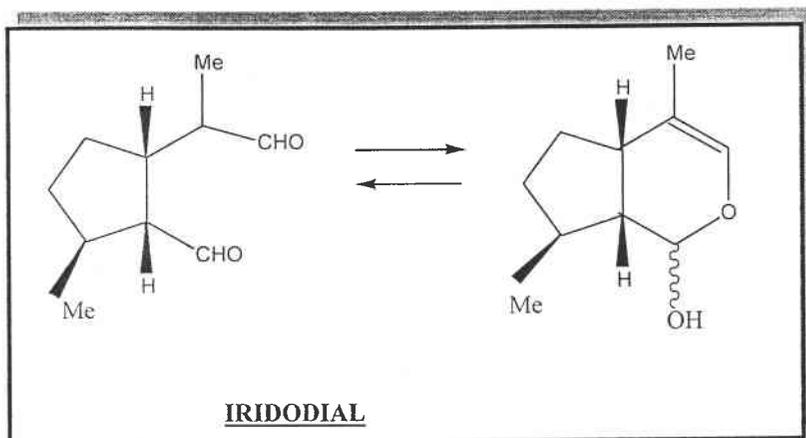
FUNCION DE LOS IRIDOIDEOS EN LAS PLANTAS.

La distribución de los iridoideos en el tejido vegetal, frecuentemente localizados en tejidos jóvenes, sugieren su rápida utilización en el metabolismo.⁴¹ Esto también es confirmado por la observación de que la presencia de los precursores de los iridoideos en *Verbena officinalis*, que es muy elevada en los retoños, decrece significativamente durante el periodo de floración, decayendo totalmente después.⁴³ En el caso de *Catalpa speciosa* se ha comprobado que el iridoide catalpol se encuentra en el néctar de esta planta y no afecta la polinización.⁴⁴

Otra actividad descrita para los iridoideos es la de inhibir la germinación. Se probaron 7 iridoideos y 2 compuestos relacionados para corroborar dicha actividad en varias especies vegetales, probando que tienen un marcado efecto en el crecimiento de la raíz, y se determinó que la acción inhibitoria de este crecimiento se realizaba *in vivo* por la hidrólisis del glucósido de iridoide a aglicona.⁴⁵

GENERALIDADES QUIMICAS DE LOS IRIDOIDES.

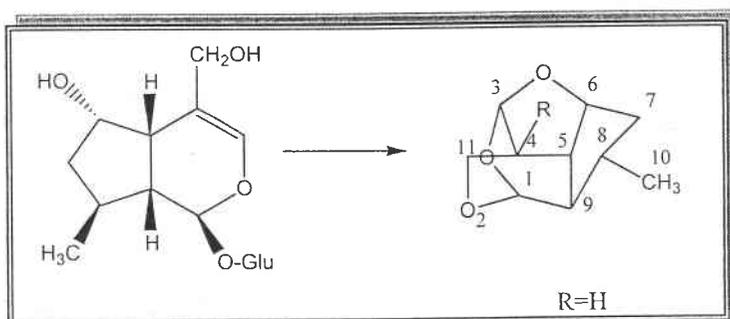
Los iridoideos representan un grupo de productos naturales monoterpénicos los cuales son casi exclusivamente de origen vegetal. Sin embargo el nombre Iridoide se deriva de la hormiga australiana, *Iridomirmex detectus*,⁴⁶ de la cual fue aislada por primera vez el iridodial.



Este metabolito se aísla frecuentemente como un glucósido, el cual se hidroliza en medio ácido para perder la molécula de glucosa y formar la aglicona correspondiente, algunas agliconas relativamente estables son obtenidas por la hidrólisis enzimática de los glucósidos iridoideos vegetales.⁴⁵

Los glucósidos de iridoides son caracterizados por la inestabilidad de sus agliconas en medio ácido, los cuales llevan primero a la formación de productos coloreados de sustancias poliméricas, principalmente azul en diferentes tonalidades o negras. Por esta razón los iridoides son llamados pseudoindicadores y estas reacciones cromáticas son usadas para determinar su presencia en extractos de plantas.⁴⁷

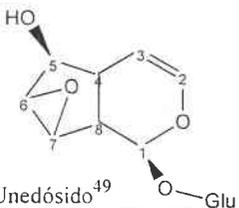
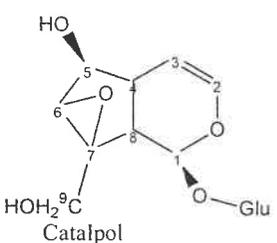
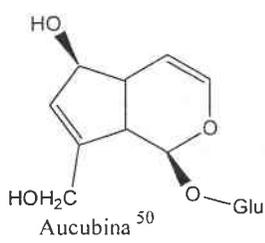
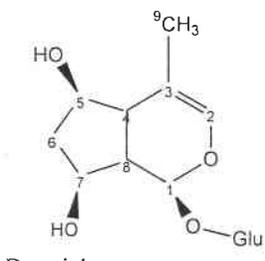
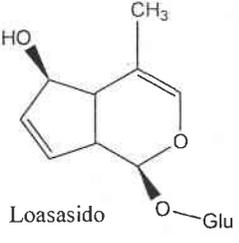
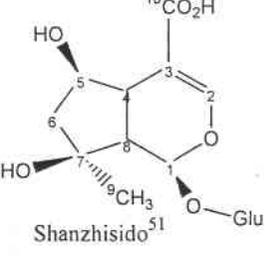
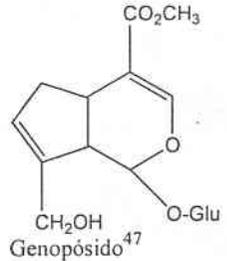
Un ejemplo es la transposición catalítica de α -dihydroverberol en medio ácido. Este es transformado completamente en un solo producto aislable: el acetal tetracíclico.



La estructura fue comprobada por la correspondencia de los espectros de RMN de ^1H y RMN ^{13}C con el del acetal obtenido del asperulosidol, que solo se diferencia del anterior iridoide por tener una doble ligadura entre 7-8 y de tener CH_2OH en vez del CH_3 unido al C-8.⁴⁸

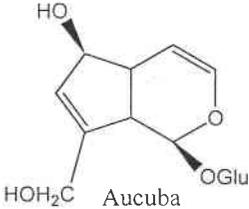
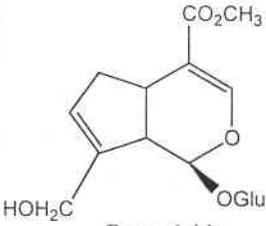
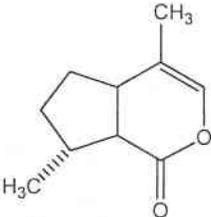
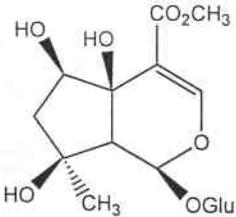
Los iridoides están relacionados biogénicamente con una serie de sustancias monoterpénicas, las cuales pueden estar divididas como se muestra en el esquema I, y pueden o no tener insaturación en el anillo de 5 miembros.

ESQUEMA I
CLASIFICACION DE IRIDOIDES.

Esqueleto básico	Saturados	Insaturados
<i>De 8 Carbonos</i>	 <p style="text-align: center;">Unedósido⁴⁹</p>	
<i>De 9 carbonos con C-10</i>	 <p style="text-align: center;">Catalpol</p>	 <p style="text-align: center;">Aucubina⁵⁰</p>
<i>De 9 carbonos con C-11</i>	 <p style="text-align: center;">Deutzol</p>	 <p style="text-align: center;">Loasido</p>
<i>De 10 carbonos</i>	 <p style="text-align: center;">Shanzhisido⁵¹</p>	 <p style="text-align: center;">Genopósido⁴⁷</p>

Los siguientes iridooides son algunos ejemplos de los que más se han estudiado y de los cuales existen varios estudios descritos³³ en la literatura.

ESQUEMA II

IRIDOIDE:	OBTENIDO DE:	PRINCIPIOS:
 <p>The structure shows a bicyclic iridoid core. It has a hydroxyl group (HO) at the 1-position, a carboxylic acid group (HOH₂C) at the 2-position, and a glucose moiety (OGlu) at the 3-position. The name "Aucuba" is written below the structure.</p>	<p><i>Aucuba japonica</i>^{19,32}</p>	<p>Las agliconas son posibles antitumorales.</p>
 <p>The structure shows a bicyclic iridoid core. It has a methyl ester group (CO₂CH₃) at the 1-position, a carboxylic acid group (HOH₂C) at the 2-position, and a glucose moiety (OGlu) at the 3-position. The name "Genopósido" is written below the structure.</p>	<p><i>Genipa americana</i>, <i>Gardenia jasmoindes</i>^{7,12}</p>	<p>Laxante^{46,52}</p>
 <p>The structure shows a bicyclic iridoid core. It has a methyl group (CH₃) at the 1-position, a methyl group (H₃C) at the 2-position, and a lactone ring at the 3-position. The name "Nepetolactona" is written below the structure.</p>	<p><i>Nepeta cataria</i></p>	<p>Repelente^{49,57}</p>
 <p>The structure shows a bicyclic iridoid core. It has hydroxyl groups (HO) at the 1 and 2 positions, a methyl ester group (CO₂CH₃) at the 3-position, a methyl group (CH₃) at the 4-position, and a glucose moiety (OGlu) at the 5-position. The name "6-β-hidroxiipolamida" is written below the structure.</p>	<p><i>Stachytarpheta mutabilis</i>¹²</p>	<p>Antimicrobiano</p>

OBJETIVOS

Tomando como base la información anterior, los objetivos que se pretenden alcanzar estudiando la *Stachytarpheta acuminata*, de acuerdo a los antecedentes son:

- a) Abrir la línea de estudio del género *Stachytarpheta* en México.
- b) Aislar los metabolitos secundarios de la planta *Stachytarpheta acuminata*.
- c) Caracterizar dichos metabolitos.
- d) Contribuir con las determinaciones quimiotaxonómicas de la familia *Verbenaceae*, en particular la del género *Stachytarpheta*.

PARTE TEORICA

PARTE TEORICA

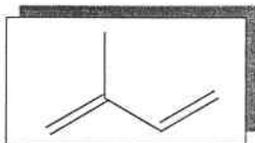
1.- PREVIO A LA BIOSINTESIS.

Siglos de intentos para encontrar posibles respuestas; - pretencioso sería decir que todas correctas o completas- nos ha llevado a entender, una pequeña parte del mecanismo de la vida, que implica energía (provenientes de reacciones de oxidoreducción), la cual es necesaria para realizar funciones vitales en cada individuo. El mecanismo de la vida puede culminar en la diferenciación y especialización de la transformación de la materia y la energía en diferentes metabolitos, clasificados para fines prácticos en primarios y secundarios. Estos últimos tienen una distribución taxonómica restringida, es decir; no se forman bajo todas las circunstancias y no tienen una función metabólica obvia, (expresan la individualidad de las especies en términos químicos), en cambio los metabolitos primarios son aquellos que se encuentran prácticamente en la misma forma desde los microorganismos hasta los mamíferos. Los metabolitos secundarios han llegado a ser útiles al hombre ya sea de forma directa o indirecta .^{1, 54,55}

Cuando se encuentra un principio activo en ocasiones se inician la serie de pasos que lleve a sintetizarlo en el laboratorio. De aquí la necesidad de tener la ruta de biosíntesis, para lo cual se pueden hacer estudios usando marcadores, aislando y determinando compuestos que antecedan al principio activo en cualquiera de sus etapas sintéticas, investigando la relación con su entorno biótico, de manera teórica, etc.^{40,55,62-64}

Una parte importante de la química de los productos naturales, se inició con el aislamiento de aceites esenciales, ricos en terpenoides, que se usaron como perfumes ó medicinas.

Los terpenos son moléculas formadas por la unión “cabeza-cola” de moléculas de isopreno (2-metil-1,3-butadieno):



cuya estructura fue considerada hasta hace poco la base en la construcción de muchos compuestos de gran importancia, tanto en las plantas como en los animales.

Los terpenos se clasifican de acuerdo a la cantidad de unidades de isopreno que contengan sus moléculas, de la siguiente manera:

Nom.general del terpeno	# de carbonos	Unidades isoprenicas
Mono-	10	2
Sesqui-	15	3
Di-	20	4
Sester-	25	5
Tri-	30	6
Poly-	n	5n

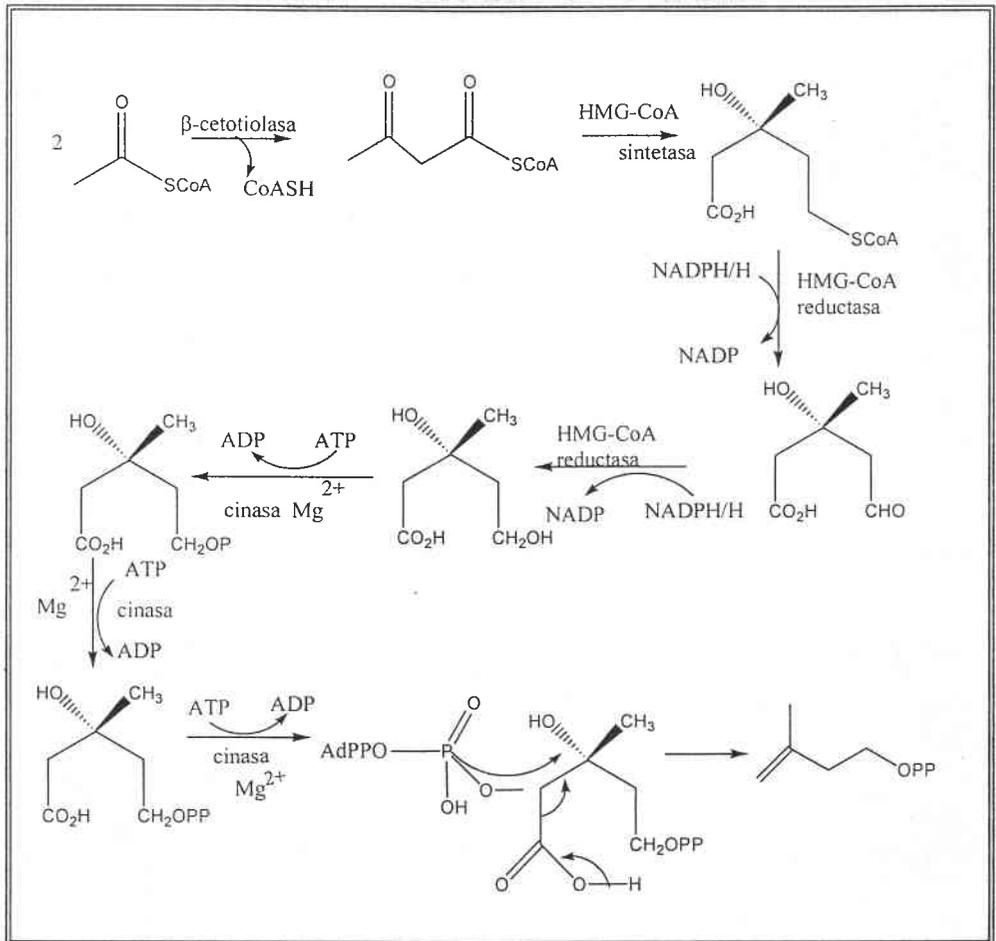
Los monoterpenos se pueden encontrar en diversos órganos de las plantas: hojas,

flores, frutas, etc. Se consideran formados por dos unidades de isopreno, aunque en realidad son de su derivado fosforado, llamado: pirofosfato de isopentenilo (PPI). Se propone que son elaborados por las plantas, entre otras cosas, para inhibir la germinación de otras especies y evitar la competencia, especialmente por el agua, si ésta es escasa.⁵⁶⁻⁵⁹

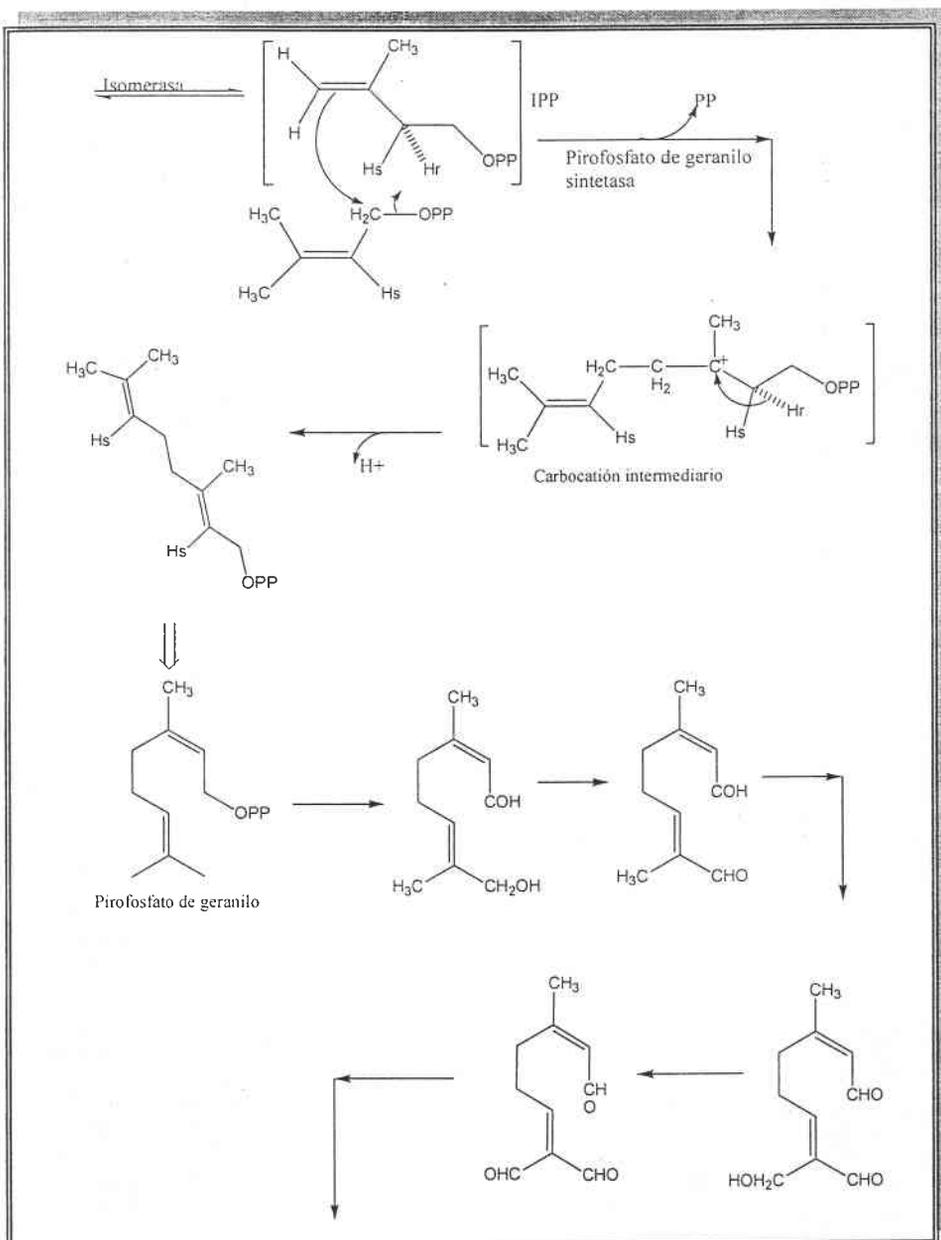
El esqueleto del pirofosfato de isopentenilo (forma activa del isopreno) se biosintetiza a grandes rasgos, como sigue: una condensación tipo Claisen, produciendo a partir de acetil CoA, el aceto acetil CoA, posteriormente el β -hidroxi- β -metil glutaril CoA, su reducción por NADPH, lleva al ácido mevalónico, el cual es fosforilado tres veces con ATP, seguido por una descarboxilación, para producir finalmente el PPI. Lo anterior sucede con ayuda de enzimas catalizadoras específicas.

Las transformaciones subsecuentes, presentadas en el siguiente esquema muestran la biosíntesis total del esqueleto base de iridoïdes.

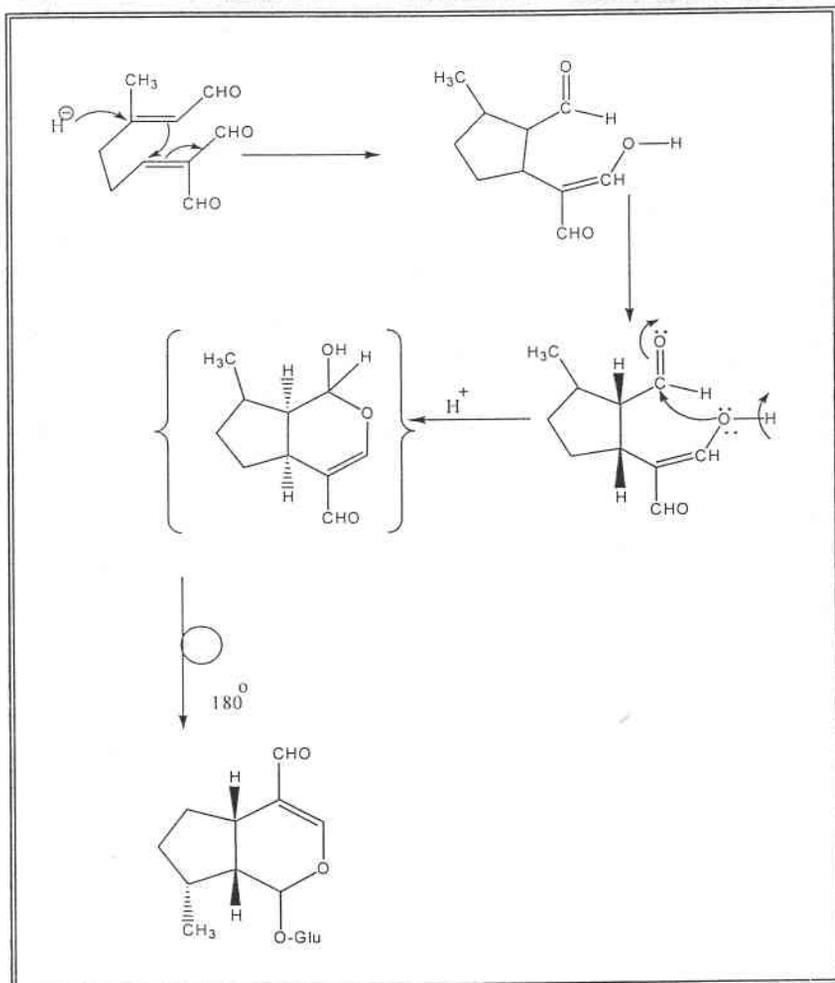
BIOSINTESIS DEL ESQUELETO BASICO DE LOS IRIDOIDES.



...CONTINUACION DE LA BIOSINTESIS...



ULTIMA PARTE DE LA BIOSINTESIS.

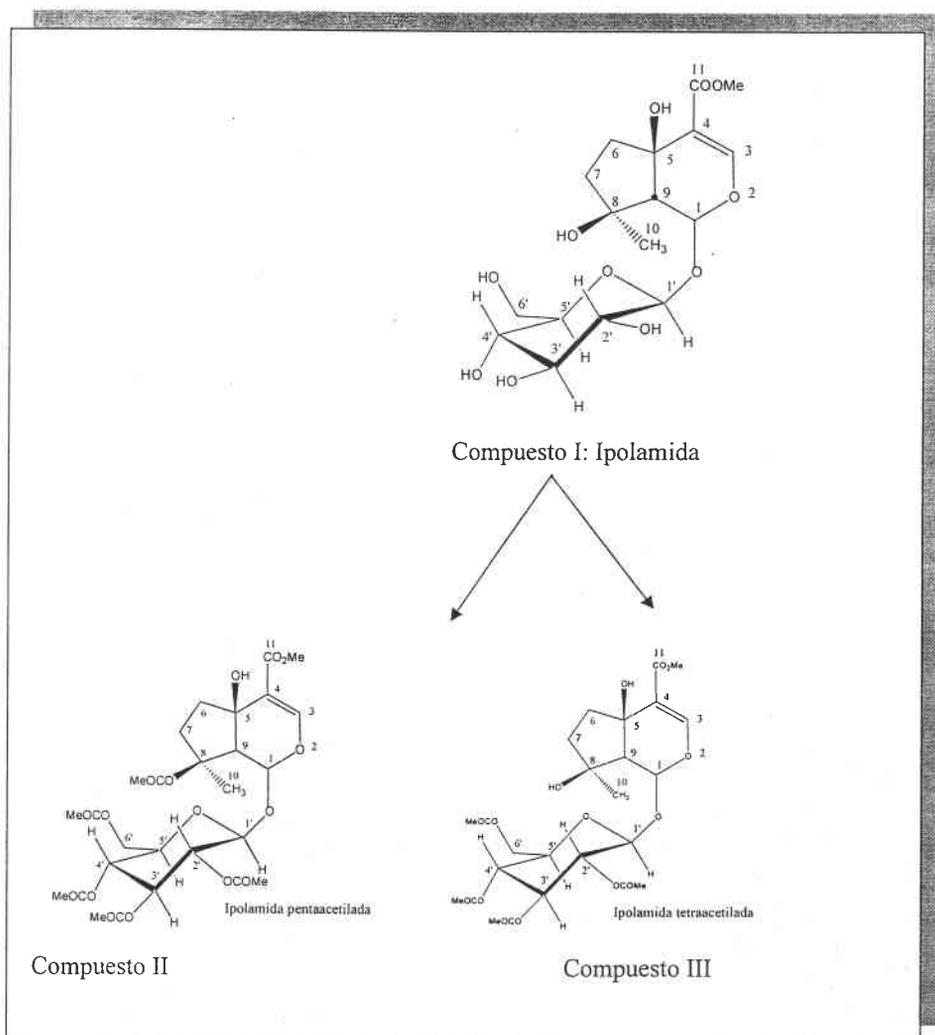


Ref.56-61.

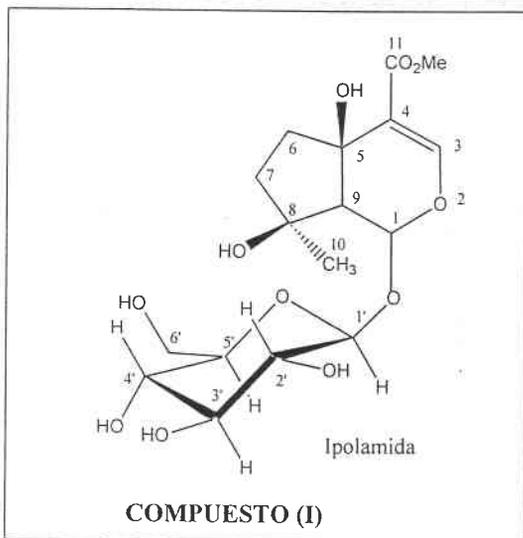
DISCUSION DE RESULTADOS

PREVIO A LA DISCUSION DE RESULTADOS.

El compuesto anterior, es el esqueleto básico del que se considera se puede partir hacia otras estructuras de iridoideas, como en el caso que nos compete ahora: la ipolamida, el cual aisló puro y al que se le realizó una reacción de acetilación obteniendo el glucósido del iridoide penta- y tetraacetilado (como se explica en la parte experimental), de los cuales se tiene la siguiente discusión.

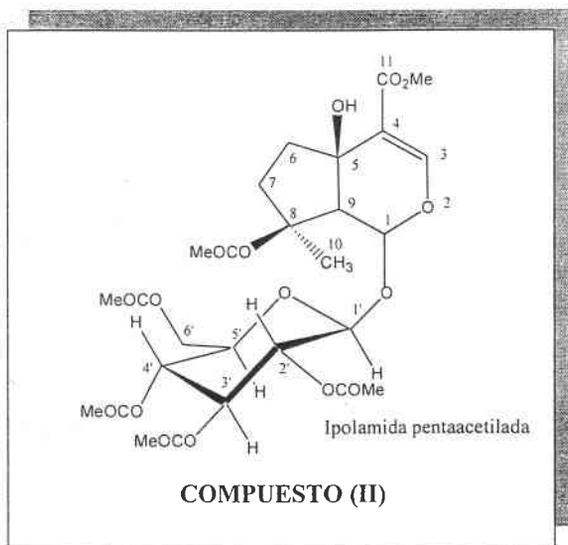


2.- DISCUSION DE RESULTADOS.



En el espectro de I.R (espectro1) del compuesto (I), se presentan bandas entre 3303-3446 cm^{-1} , que indica presencia de $-\text{OH}$, tanto del iridoide como de la molécula de glucosa. En 1697.4 cm^{-1} hay una señal que indica grupo carbonilo conjugado, a una doble ligadura, que se observa a 1632 cm^{-1} .

Debido a los problemas para disolverlo en acetona, acetato de etilo, etc. que presentó (I), este fue sometido a una reacción de acetilación de la cual se obtuvo una mezcla de dos compuestos: uno pentaacetilado y otro tetraacetilado. El compuesto pentaacetilado (II) presenta en espectrometría de masas, (espectro 2) el pico base en 169.1 m/e debido a la aglicona menos el éster situado en el C-4, (227 m/e - 58 m/e), en 43.2 m/e de los acetatos. El pico en 209 m/e (227m/e - 18 m/e) corresponde a la aglicona menos agua.



La presencia del grupo $-\text{COOMe}$ unido a la posición 4 se comprueba en RMN ^1H (espectro 3) por las señales características del grupo $-\text{OMe}$ en 3.76 ppm así como en RMN ^{13}C (espectro 4) la del C del $-\text{OMe}$ del éster a 51.44 ppm. Así, la doble ligadura se observa en 151.4 ppm, para el C-3 y en 113.5 ppm, para C-4, así como en RMN ^1H , el protón vinílico (C-3) se muestra como una señal simple en RMN ^1H a 7.44 ppm.

El C-1 del esqueleto del iridoide se observa en RMN ^{13}C a 94.71 ppm y el H-1 en RMN ^1H a 5.99 ppm como una señal doble ($J= 1.46$ Hz) acoplada con el H-9 (2.79 ppm, d, $J= 1.46$ Hz; y C-9 se muestra en el espectro de RMN ^{13}C a 58.39 ppm, (ver tabla 2).

Así mismo, en la tabla 2 (RMN ^{13}C) se observa el C-8 a 86.65 ppm y C-6 y C-7 a 37.97 ppm y 34.86 ppm respectivamente. Los protones H-6 se observan en el espectro de RMN ^1H como señales múltiples a 1.6 ppm y 2.10 ppm y H-7 α a 2.4 ppm como un ddd, $J= 3.6, 3.3$ y 1.3 Hz. El metilo correspondiente a C-10 se observa en RMN ^1H a 1.4 ppm, como una señal simple y en RMN ^{13}C a 20.9 ppm.⁶⁹⁻⁷³

TABLA I

R.M.N. ¹H Compuesto (II)

H	δ (ppm)	Señal	J (Hz)	H	δ (ppm)	Señal	J(Hz)
H-1	5.99	d	1.46	H-1'	4.79	d	7.8
H-3	7.44	s	-----	H-2'	4.97	dd	7.8,9.6
H-9	2.29	d	1.46	H-3'	5.26	t	9.6
-OH	3.13	S anch.	-----	H-4'	5.08	t	9.6
H-6 α	1.60	m	-----	H-5'	3.76	ddd	9.6,4.5,2.4
H-6 β	2.10	m	-----	H-6' α	4.38	dd	4.5,12.3
H-7 α	2.40	ddd	3.6,3.3,1.3	H-6' β	4.14	dd	2.4,12.3
Me de C-10	1.40	s	-----	Me acet.	2.00,2.00 2.02 y 2.1	(12 H)	
COOMe, (C-11)	3.76	s	-----	Me de Acet.en C-8	1.94	-----	-----

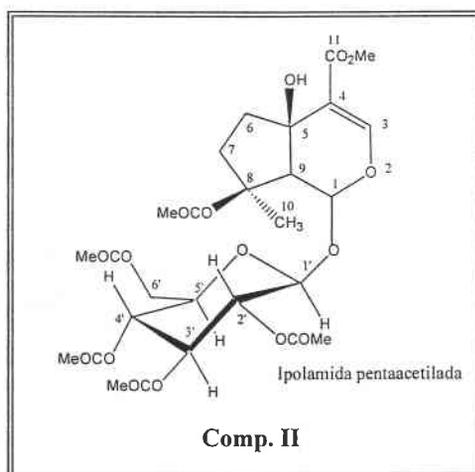


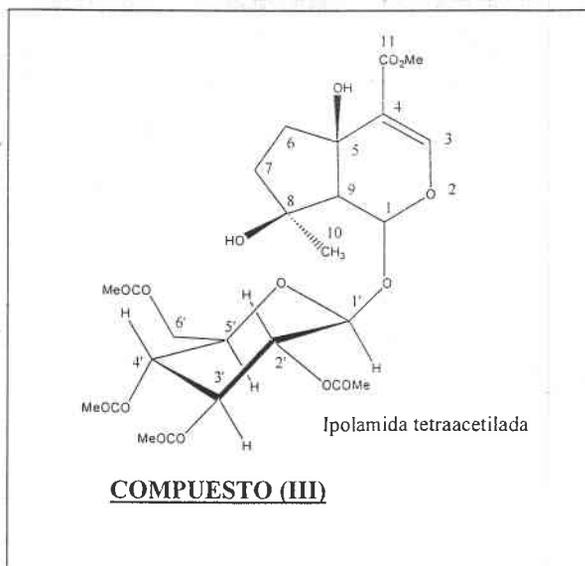
TABLA 2

R.M.N. ^{13}C

Compuesto II

C	δ (ppm)	C	δ (ppm)
C-1	94.7	C-10	20.9
C-3	151.4	C-11	169.2
C-4	113.5	C-1'	96.2
C-5	72.0	C-2'	70.8
C-6	38.0	C-3'	72.0
C-7	34.9	C-4'	68.3
C-8	86.6	C-5'	72.0
C-9	58.4	C-6'	61.7

Existen 5 $-\text{CH}_3$ de acetatos entre 20.4 ppm y 20.7 ppm. También 6 carbonos de carbonilo entre 166 ppm y 170.7 ppm-169.0 ppm. El $-\text{CH}_3$ del éster metílico en 51.4 ppm (q).



El espectro de I.R. (espectro 5) para el compuesto (III), presenta bandas anchas y pequeñas entre $3596\text{-}3534\text{ cm}^{-1}$, debidas los grupos -OH unidos a C-5 y C-8.

Se observan también bandas para carbonilos de éster (los acetatos de la glucosa en 1753 cm^{-1} y otra en 1627 cm^{-1} , con el hombro presente en la banda de 1753 cm^{-1} confirman la presencia del sistema α,β insaturado entre C-3, C-4 y el carbonilo en C-11.

En el espectro de RMN ^1H (espectro 6) para el compuesto III, se muestran cuatro señales debidas a los cuatro metilos de los acetatos entre 1.93 ppm y 2.07ppm, a diferencia del compuesto II, que tiene cinco señales (espectro 3) para los cinco metilos de los acetatos.

La diferencia anterior se confirma en RMN ^{13}C , ya que un cambio significativo entre el compuesto II y compuesto III, se observa que el C-8 en (II) esta en 86.65 ppm, en tanto que en el compuesto (III) se encuentra en 78.85 ppm, lo cual indica que el C-8 tiene diferentes ambientes, tanto en un compuesto como en otro. Esto quiere decir que el C-8 en (II) se une a un $\beta\text{-OCOMe}$ y $\alpha\text{-CH}_3$, en cambio en el compuesto (III) esta

unido a β -OH y α -CH₃.

La comprobación de las asignaciones fue obtenida analizando el espectro de DEPT para el compuesto III (espectro 8), ver tabla 5. Entre 20.43 ppm-20.73 ppm se aprecian los metilos de los acetatos de la glucosa y el metilo que corresponde a C-10 (en total 5 metilos). El metilo del C-11 se encuentra en 23.38 ppm. En seguida se aprecian dos señales correspondientes a -CH₂, una en 37.44 ppm y otra en 40.16 ppm que corresponden a C-7 y C-6 respectivamente. Una última señal de -CH₂ es para el C-6' de la glucosa, observada en 61.47 ppm. En la zona comprendida entre 59.79 ppm y 95.90 ppm, se observan un total de 7 señales: el C-9 en 59.79 ppm, cuatro de las cinco señales correspondientes a -CH- de la glucosa están entre 68.07-72.06 ppm, el C-1 en 94.119 ppm y C-1' (de la glucosa) que está en 95.9 ppm. Por último la señal para C-3 se muestra en la zona de carbono sp² en 149.9 ppm, confirmando así la estructura propuesta.

TABLA 3

R.M.N ¹H Compuesto (III).

Aglicona.

H	δ (ppm)	Señal	J (Hz)
H-1	5.50	d	3.87
H-3	7.31	s	-----
-OH (C-5)	3.25	-----	-----
H-9	2.49	d	3.87
H-6 α	1.65	m	-----
H-6 β	2.00	-----	-----
H-7 α	2.26	m	-----
H-7 β	2.05	-----	-----

RMN ¹H COMPUESTO (III)

Glucosa.

H	δ (ppm)	Señal	J (Hz)
H-1'	4.83	d	12.1
H-2'	4.96	dd	12.1,14.2
H-3'	5.22	t	14.2
H-4'	5.06	t	14.2
H-5'	3.7	-----	-----
H-6'a	4.26	dd	18.5, 6.4
H-6' b	4.11	dd	18.5, 3.9
-CH ₃ (C-10)	1.18	s	-----
COOMe (C-11)	3.78	s	-----

Acetatos: 1.93 (Me de acet. en C-8) ,1.97, 2.00, 2.07 ppm.

TABLA 4

R.M.N ¹³C

Compuesto (III)

C	δ (ppm)	Señal	C	δ (ppm)	Señal
C-1	94.1	d	C-10	20.7	q
C-3	149.9	d	C-11	169.9	s
C-4	114.8	s	C-1*	95.9	d
C-5	72.1	s	C-2'	70.9	d
C-6	40.2	t	C-3'	72.1	d
C-7	37.4	t	C-4'	67.8	d
C-8	78.8	s	C-5'	-----	-----
C-9	59.8	d	C-6'	61.5	t

4 Me de acetatos entre 20.43ppm y 20.58ppm

El -CH₃ de -COOMe en 51.462ppm

C=O 166.34-170.663 ppm

TABLA 5

DEPT

Compuesto (III)

C	δ (ppm)	Señal	C	δ (ppm)	Señal
C-1	94.1	-CH	C-11	-----	-COO-
C-3	149.9	=CH	C-1'	95.9	-CH
C-4	-----	C=(sin H-)	C-2'	70.8	-CH
C-5	-----	C- (sin H-)	C-3'	72.1	-CH
C-6	40.2	-CH ₂	C-4'	68.1	-CH
C-7	37.4	-CH ₂	C-5'	72.1	-CH
C-8	-----	C- (sin H-)	C-6'	61.5	-CH ₂
C-9	59.8	-CH			
C-10	20.7	-CH ₃			

Me: 20.4- 20.7 ppm incluye C-10

23.4 ppm (-CH₃) acetato.

PARTE EXPERIMENTAL

PARTE EXPERIMENTAL.

OBTENCION DEL EXTRACTO DE *Stachytarpheta acuminata*.

(*Stachytarpheta*; de la etimología griega: satchys (espiga) y tarphys (espeso), en alusión al tipo de florescencia.)^{66,67}

Las partes aéreas de la planta, que corresponden a los tallos y hojas, previamente secas y cortadas en pequeños fragmentos, se pesaron para tener 650g de material para estudiar. El material se colocó en un garrafón con 10 litros de acetona, y se dejó macerar durante 5 días, para poder extraer tanto metabolitos polares como los menos polares.

Una vez terminado el tiempo de maceración, se procedió a filtrar usando algodón desengrasado, el extracto se concentró a vacío. El proceso de la maceración se realizó dos veces.

Durante la eliminación del disolvente (acetona) por vacío, comenzó a obtenerse un producto sólido cristalino, que fue caracterizado posteriormente como un iridoide. Dicho sólido salió desde las primeras concentraciones del macerado en rotavapor y durante varias columnas cromatográficas, con sílica gel.

PARTICION DEL EXTRACTO.

El extracto total (19.049g) se sometió a una partición para hacer más eficiente la separación de los metabolitos y principios activos esperados.

Se pesaron 9.5g del extracto total. A esta porción se le realizó una partición usando para disolver 280ml de una mezcla de MeOH/H₂O en una proporción de 8:2 y como mezcla no polar benceno/hexano, 1:1, (750 ml.)

Terminado el proceso de partición se concentró por separado tanto la parte polar, procedente de la mezcla MeOH/H₂O, como la parte no polar: benceno/hexano, en el rotavapor. La concentración de la parte no polar se realizó sin dificultad; sin embargo para la parte polar fue necesario el uso del rotavapor y secar con bomba de vacío.

Los pesos de los extractos fueron:

Parte polar: 1.5910g.

Parte no polar: 7.7380g.

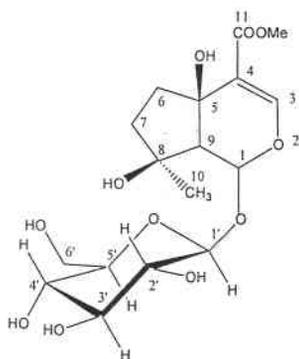
Durante la concentración del extracto acetónico inicial se formaron cristales, a los cuales se les determinó su p.f.:144-146^oC y se les realizó una cromatopla. Dicho sólido etiquetado como C-I, presentó bandas de -OH en el espectro de I.R., para determinar la posible existencia de algún acetato de forma natural en C-I, se obtuvo el espectro de RMN ¹H (en el cual no se observó acetato) y dado que era muy polar, se procedió a acetilar.

El estudio de la parte no polar se inició con una columna cromatográfica, de la que se obtuvieron después de purificaciones sucesivas, como compuesto mayoritario a C-I, en cantidad suficiente para su análisis, sin lograr aislar algún compuesto diferente puro.

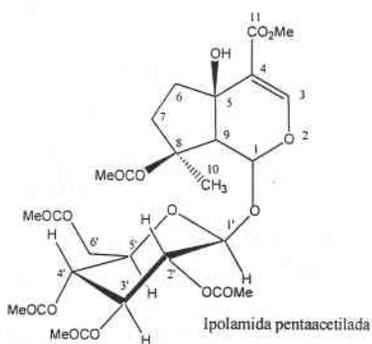
El total de sólidos obtenidos a lo largo del proceso de separación y purificación de los extractos de *Stachytarpheta acuminata* fue de 4.261 g.

Acetilación de I.

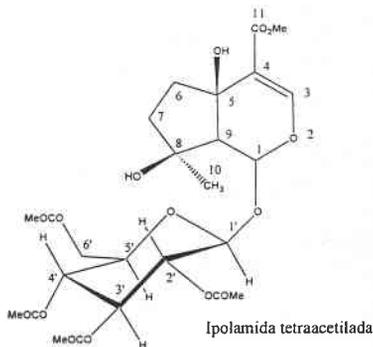
El compuesto I (117 mg de ipolamida), se disolvió en 1.2 ml de piridina y se le agregó la misma cantidad de anh. acético. Después de efectuada la reacción (4 hrs., a temperatura ambiente). Se trabajó de forma usual: se le adicionó hielo y se extrajo con acetato de etilo. Una vez verificado el pH (neutralizado), se secó el extracto orgánico y se concentró a vacío. Se obtuvieron 196 mg de producto crudo, del cual se caracterizaron los compuestos (II) y (III). Ver tablas 1 y 2 para el compuesto (II) y tablas 3,4 y 5 para el compuesto (III).



Compuesto I: Ipolamida

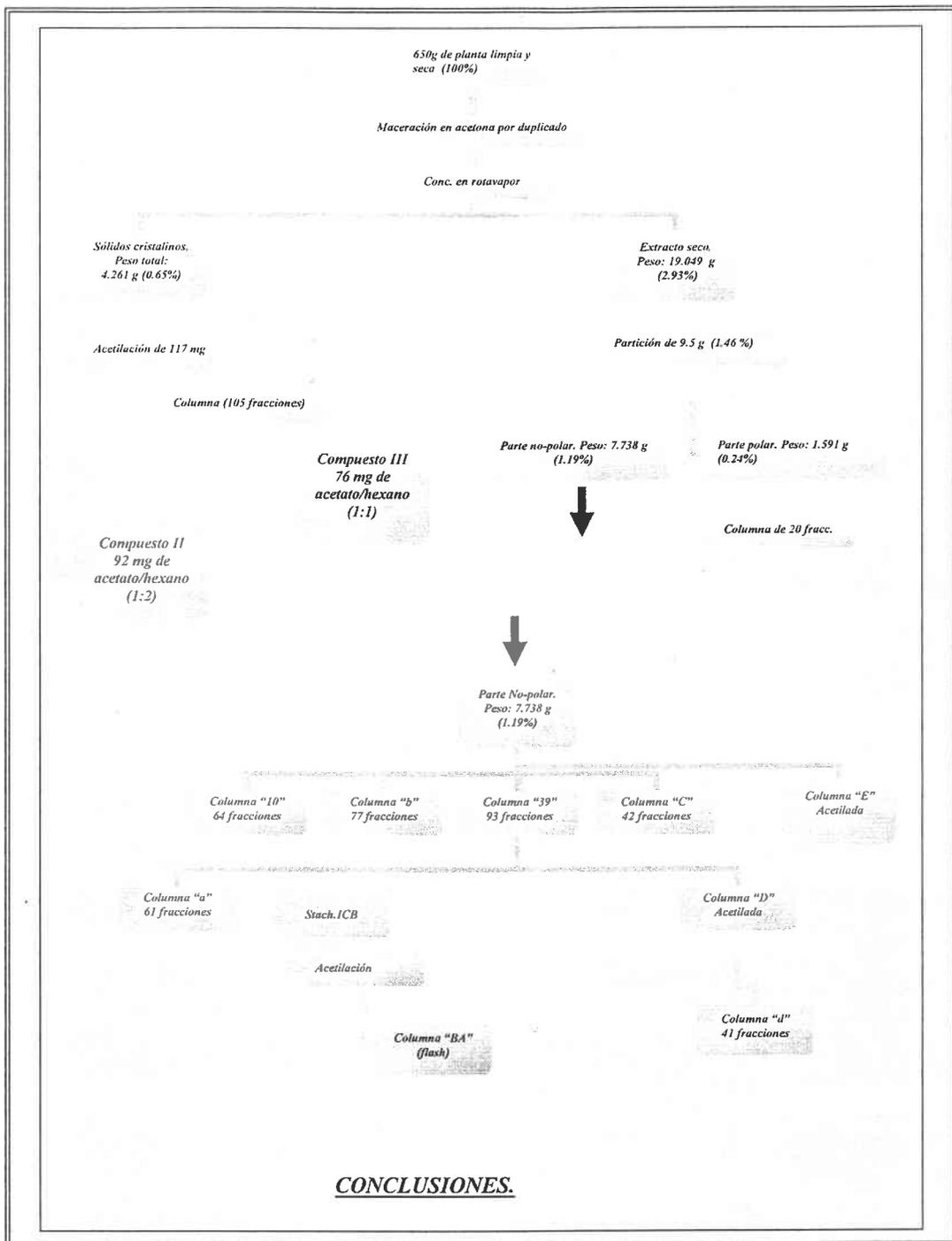


Compuesto II



Compuesto III

DIAGRAMA DE TRABAJO



El estudio fitoquímico de *Stachytarpheta acuminata* representa el inicio del estudio de este género en México.

Del estudio fitoquímico de las partes aéreas *Stachytarpheta acuminata*, se aislaron 4.261 grs. de ipolamida como compuesto principal, correspondiente al 0.65% de la masa de la planta seca, siendo así una fuente importante de este glucósido de iridoide.

La presencia del glucósido de iridoide es consistente con los metabolitos secundarios aislados previamente del género, los cuales se presentan como marcadores quimiotaxonómicos del mismo. Por lo tanto, el presente trabajo es una contribución al estudio quimiotaxonómico del género *Stachytarpheta*.

Con base en la información presentada en los antecedentes, donde se describe la acción antialimentaria de los glucósidos de iridoide, en particular de la ipolamida, se puede concluir que éste puede ser uno de los factores responsables de que la planta se haya encontrado intacta (no atacada por sus herbívoros depredadores), aun cuando fue colectada en la época de lluvias, que es cuando los insectos atacan más a las plantas, mostrando un fuerte contraste con el habitat de su entorno, donde los otros especímenes mostraron un alto grado de depredación.

Teniendo como antecedentes que la ipolamida tiene propiedades antialimentarias contra algunos insectos y que la *Stachytarpheta acuminata* es una fuente natural muy rica de este glucósido de iridoide, se puede llegar a pensar que las posibles aplicaciones ya sea de la planta en sí misma o de este compuesto, pueden llegar a ser muy importantes como un tipo de insecticida natural debido al bajo impacto ambiental que pudiera presentar ya que es un producto natural.

- 1.-Dominguez, Xorge A. Métodos de investigación Fotoquímica. Ed Limusa; 4a reimpr, México. D.F. (1988)
- 2.-Lara Ochoa; Francisco y Carmen Márquez Alonso. Plantas Medicinales de México. UNAM. México, (1996).
- 3.-Márquez Alonso; Carmen, Francisco Lara Ochoa, Baldomero Esquivel Rodríguez y Rachel Mata Essayag. Plantas Medicinales de México II. Composición, usos y actividad Biológica. UNAM, México, (1999).
4. -Heywood, V. Flowering Plant of the world. Oxford University press London, England. (1978). pp. 236-237.
- 5.-Segura, Guadalupe, Tesis. Recopilación de datos de varios Herbarios. Biología, Instituto de Biología. UNAM. México, (1994).
- 6.-Moldenke, Harold N. Physiologic Memoirs II. 2, New Jersey, (1980).
- 7.-Romo de Vivar, Ed Limusa. Productos naturales de la flora mexicana. México, (1985).
- 8.-Kokwaro J. O. Medicinal Plants of East Africa. EAL, Nairobi!1976) p224.
- 9.-Rzedowski, J. Vegetación de México. 1ª ed. Ed. Limusa. México 1983.
- 10.-Tantisewie, B & Sticher, O. Isolation of ipolamiide from *Stachytarpheta indica*. *Phytochemistry*, (1975), **14**: 1462-1463.
- 11.-De Luca, C. Isolation of ipolamiide from *Stachytarpheta mutabilis*. *Fitoterapia*.

(1980). 279-280.

12.-De Luca, C., Marcella Guiso & Carmela Martino. 6 β -hidroxiipolamiide, and iridoid glucoside from *Stachytarpheta mutabilis*. *Phytochemistry*, (1983), **22** (5): 1185-1187.

13.-Damtoft, S., Rosendal, S., & Juhl, B. The identity of the iridoid glycoside tarphetaline with ipolamiide. *Phytochemistry*, (1984), **3** (4): 907-908.

14.-Garnier, J. Etude chimique de deux Verbenacées de Guyane: *Stachytarpheta guyanensis* Vahl, et *Stachytarpheta mutabilis* Vahl. *Plantes medicinales et phytothérapie*, (1977), Tome XI. (4): 303-305.

15.-Jacke, G. & H. Rimpler. Distribution of iridoid Glycosides in *Clerodendrum* species. *Phytochemistry*, (1983), **22**(8): 1729-1734.

16.-Umaña, Eduardo y Oscar Castro. Chemical constituents *Verbena littoralis*. *Int. J. Crude Drug Res.*, (1990), **28** (3): 175-6.

17.-Grayson, D. H. Monoterpenoids. *Nat. Prod. Rep.*, (1998), **15**: 439-475.

18.-C. G. Jones, D. W. Whitman, S. J. Compton, P. J. Silk & M. S. Blum. A generalist herbivore in a specialist mode, metabolic, sequestrative & defensive consequences. *J. Chem. Ecol.*, (1990), **16** (1): 222-244.

19.- Isiguro, K., Yamaki, M., Takagi Ikeda Y., Kawakami, K. Ito & Nose, T. Studies on iridoid-Related Compounds. IV. Antitumor Activity of iridoids Aglycones. *Chem. Pharm. Bull.*, (1986), **34**(6): 2375-2379.

20.-Ueda, S., Tokuda, H., Iwashima, A., Nishino, H. (1994). Chemoprevention of skin

and lung cancer by *Gardenia* iridoid. Proc. Int. Congress on Nat. Product research, Halifax, Canadá, 1994. Abstr. No. P36.

21.-Recio, M. C., Giner, R. M., Mañez, S. & Rios, J. L. Structural consideration on the iridoids as anti-inflammatory agents. *Planta Medica*, (1994), **60**: 232-234.

22.-Arnason, J. T., R. Mata & J.T. Romero. (Editors) Phytochemistry of medicinal plants, Recent Advances in Phytochemistry 29, 65-82. Plenum Press. N.Y.

23.-Phytochemical Dictionary. A Handbook of bioactive compounds from Plants. In J. B. Harborne & H. Baxter (editors). Taylor & Francis, London-Washington, D.C. (1996).

24.-O. Sticher. New natural products & plants drug with pharmacological, biological or therapeutical activity (H. Wagner & P. Wolff eds.) Springer-Verlag, Berlin, 1977, pp137-176.

25.-Mesia, S., Souccar, C., Lima-Landman, M. T. Lapa, A. J. (1997) Inhibition of gastric acid Secretion by the aqueous Extract & Purified Extracts of *Sthachytarpheta cayennensis*. *Planta Medica*, (1997), **63**: 36-39.

26.-Webster's Third New International Dictionary of the English Language unabridged. Ed Merriam-Webster, Springfield, Massachusetts. USA. 1993.

27.-Kapadia, G. J., Sharma, S. C. Tokuda, H Nishino, H. & Veda, S., Inhibitory effect of iridoids on Epstein-Barr virus activation by a short-term *in vitro* assay for anti-tumor promoters. *Cancer Letters*, (1996), **102**: 223-226.

28.-Harborne, J. B. Advances in Chemical Ecology. *Nat. Prod. Rep.*, (1993), **10**:

- 29.- M. Deane Bowers, Kenneth Boockvar & Sharon K. Collige. Iridoid glycosides of *Chelone glabra* (Schrophulariaceae) & their sequestration by larvae of sawfly, *Tenthredo grandis* (Tenthredinidae) *J.Chem. Ecol.*, (1993), **19** (4): 815-23.
- 30.- Gardner, D. R. & Stermitz, F. R. Host plant utilization & iridoid glycoside sequestration by *Poladryas minuta* (Lepidoptera: *Nymphalidae*) feeding on *Penstemon virgatus* (Schrophulariaceae). *J. Chem. Ecol.*, (1988), **14** (12): 2147-68.
- 31.- L'Empereur Karen M. & Frank R. Stermitz. Iridoid glycoside metabolism & sequestration by *Poladryas minuta* (Lepidoptera: *Nymphalidae*) Feeding on *Penstemon virgatus* (Schrophulariaceae). *J. Chem. Ecol.*, (1990), **16** (5): 1495-506.
- 32.- Bowers, M.D. Iridoids glycosides & host-plant specificity in larvae of the buckeye butterfly, *Junonia coenia* (*Nymphalidae*). *J.Chem. Ecol.*, (1984), **10** (11): 1567-77.
- 33.-Harborne, J. B. (1997) Recent Advances in Chemical Ecology. *Nat. Prod. Rep.*, (1993), **14**: 83-98.
- 34.-Bernays, E.A. & De Luca, C. Insect anti-feedant properties of an iridoid glycoside: Ipolamiide. *Experientia*, (1981), **37**:1289-1290.
- 35.-Duffey, S.S. Sequestration of plants natural products by insects. *Ann. Rev. Entomol.*, (1980), **25**:447-477.
- 36.-P. C. Pereyra & M. D. Bowers. Iridoid glycosides as oviposition stimulants for the buckeye butterfly *Junonia coenia* (*Nymphalidae*). *J. Chem. Ecol.*, (1988), **14**(3): 917.

- 37.- Bowers, M.D. & Collige, S. K. Fate of iridoid glycosides in different life stage of the buckeye, *Junonia coenia* (Lepidoptera: *Nymphalidae*). *J. Chem. Ecol.*, (1992), **18** (6): 817-31.
- 38.- Frank R. Stermitz, Dale R. Gardner Francois J. Odendaal & Paul R. Ehrlich. *Euphydryas anicia* (Lepidoptera: *Nymphalidae*) utilization of iridoid glycosides from *Castillej* & *Besseyia* (*Schrophulariaceae*) host plant. *J.Chem. Ecol.*, (1986), **12** (6): 1459-68.
- 39.-F. R. Stermitz, in "Biologically Active Natural Products, Potential use in Agriculture", ed. H. G. Culter, ACS. Washington, 1988, pp. 397-402.
- 40.-Damtoft, S. Biosynthesis of catalpol. *Phytochemistry*, 1995, **35** (5):1187-89.
- 41.-Stermitz, F. R., Abdel-Kader, M. s. Foderaro, T. A. & Pome N. M. Iridoid glycosides from some butterflies & their larval food plants. *Phytochemistry*, (1994) **37**(4): 997-999.
- 42.-H. Rimpler. Ecological Chemistry & Biochemistry of plant Terpenoids; ed. J. B. Harborne & F. A. Tomas-Barberan, University Press, Oxford, (1991). pp. 314-330.
- 43.- S.Damtoft, L.Godthjaelpsen, S. R. Jensen & B. J. Nielsen. Age-dependent variations of the efficiency of iridoid biosynthesis in *Verbena officinalis*. *Phytochemistry*, (1983), **22**:2614.
- 44.- Stephenson G., Andrew. Iridoid glycosides in the nectar of *Catalpa speciosa* are unpalatable to nectar thieves. *J. Chem. Ecol.*, (1982), **8** (7): 1025-34.
- 45.-Nicoletti, Marcello. Iridoids. *Rev. Latinoamer. de Quím. suppl.*, (1989), **1**: 131-

159.

46.-L.M. & T. Eisner. Chemical defenses of arthropods. *Ann. Rev. Entomol.*, (1962), 7: 107.

47.-A. Bianco, M. Guiso, C. Iavarone, R. Marini-Bettolo & C. Trogolo. Fulvoiridoids. 4-methoxycarbonyl-7-methylcyclopenta[c]pyran from ipolamiide. *Gazz. Chim. Ital.*, (1976), 106: 733.

48.-Bianco, A. Caciola, P., Guiso, M., Iavarone, C. & Trogolo C. Rearregements of iridoid aglycones aqueous acidic medium. *Gazz. Chim. Ital.*, (1981), 9: 223

49.- O.Sticher & B. Meier. Secoiridoids. *Planta Med.*, (1978), 33: 295.

50.-R. K: Chaudhuri, F.U. Afifi-Yazar, O. Sticher & T. Winkler. ¹³C RMN Spectroscopy of naturally occurring iridoid Glucosides & their acylated derivatives. *Tetrahedron*, (1980), 36: 2317

51.- A. Bianco, D. Budai, M. Guiso, C. Iavarone, R. Marini-Bettolo & C. Trogolo. Reduction of iridoid aglycones. II reactivity of lamiigenin towards sodium borohydride. *Gazz. Chim. Ital.*, (1979), 109: 517

52.-A. Bianco, P. Passacantilli, M. Nicoletti & R. A. De Lima. Iridoids in equatorial & tropical flora III (aucubin). *Tetrahedron*, (1981), 38: 359.

53.-L. J. El-Naggar / J.L: Beal. Iridoids. A review. *J. Nat. Prod.*, (1980), 43: 649.

54.-L. Rost; Thomas, Michael G. Barbour, Robert M. Thornton, T. Elliot Werner & C. Ralph Stocking. *Botánica. Introducción a la biología vegetal*. Ed Limusa. (1985).

- 55.- Hanson, J. R. The development of strategies for terpenoid structure determination. *Nat. Prod. Rep.*, (2001), **18**: 607-617.
- 56.- Rohmer, Michel. The mevalonate independent methylerythritol 4-phosphate (MEP) pathway isoprenoid biosynthesis, including carotenoids. *Pure Appl. Chem.*, (1999), **17** (12): 2274-2284.
- 57.-Rohmer, Michel. A mevalonate-independent route to isopentenyl diphosphate. *Compreh. Nat. Prod. Chem.*, (1999), **2**: 45-68.
- 58.-Dewick, Paul M. The biosynthesis of C₅-C₂₅ terpenoid compounds. *Nat. Prod. Rep.*, (2002), **14**: 182-222.
- 59.-Kuzuyama, Tomohisa & Harvo Seto. Diversity of the biosynthesis of the isoprene units. *Nat. Prod. Rep.*, (2003), **20**: 171-183.
- 60.-Mann, J. Secondary metabolism. 2a ed. Ed Clarendon, Oxford, England. (1987)
- 61.-Herbert B. Richard. The biosynthesis of secondary metabolites. 2a ed. Ed. Champman & Hall N.Y. E.U.A. (1989), p.1677.
- 62.-Frederiksen, L. B., Damtoft, S. & Jensen, S. R. Biosynthesis of the iridois lacking C-10 & the chemotaxonomic implications of their distribution. *Phytochemistry*, (1999), **52**: 1409-1420.
- 63.-Damtoft, S. Jensen, S. R. & Nielsen, B. J. Biosynthesis of the iridoid glucoside Comin, Hastatoside & Griselinoside in Verbena species. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, (1983), 1943-1948.

64.- Advances in Natural Products Chemistry extraction & Isolation of biological & Active compounds. Ed. John Wiley & Sons. N.Y. USA. (1981), pp.261-266.

65.- R. Croteau. Isoprene rule discoveries. *Plant Bio.*, (1998), **1**: 329.

66.- CRC World Dictionary of Plants Names Common Names, Scientific Names, Eponyms, Synonyms & Etymology. Vol. IV (R-Z). Umberto Quattrocchi, F.L.S. CRC Press. U. S. A. Florida (2000).

67.- Sánchez Sánchez, Oscar. Las excursiones Botánicas en el D. F. Tesis (SEP). Escuela Normal Superior. México. (1958).

68.- Jacke, Gabriele & Horst Rimpler. Distribution of iridoid Glycosides in Clerodendrum species. *Phytochemistry*, (1983), **22** (88): 1729-1734.

69.- Boros Christie A. & Frank R. Styermits. An updated review part I. *J. of Nat. Prod.*, (1990), **53**(5): 1055-1197.

70.- Scarpati M. L. & Guiso M. 8-O acetyl derivative of ipolamiide. *Gazz. Chim. Ital.* (1969). **99**: 1150.

71.- Bianco A. , M. Guiso, C. Iavarone, R. Marini-Bettolo & C. Trogolo. The stereochemistry of Ipolamiide and the structure of its natural 8-O-acetyl derivative, Ipolamiidoside. *Gazz. Chim. Ital.*, (1976), **106**: 947-953

72.- Damtoft, Soren; Soren Rosendal & Bent Juhl Nielsen. The identity of the iridoid glucoside tarphetaline with ipolamiide. *Phytochemistry*, (1984), **23** (4): 907-908.

73.- Damtoft, Soren; Soren Rosendal Jensen & Bent Juhl Nielse ^{13}C & ^1H NRM Spectroscopy as a tool iridoid glucosides. *Phytochemistry*. (1981), **20** (12): 2717-32.

74.- Silverstein, R. M. Spectrometric Identification of organic Compounds. 5th edition, John Wiley & Sons, Inc.; Singapore, (1991).

75.-Castells, T. y Camps, F. Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscopicos 2a ed., Alhambra, España, (1985).

76.-Fessenden & Fessenden. Química orgánica. 2a ed. Grupo editorial Iberoamérica. México (1982).

MATERIAL Y APARATOS USADOS.

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

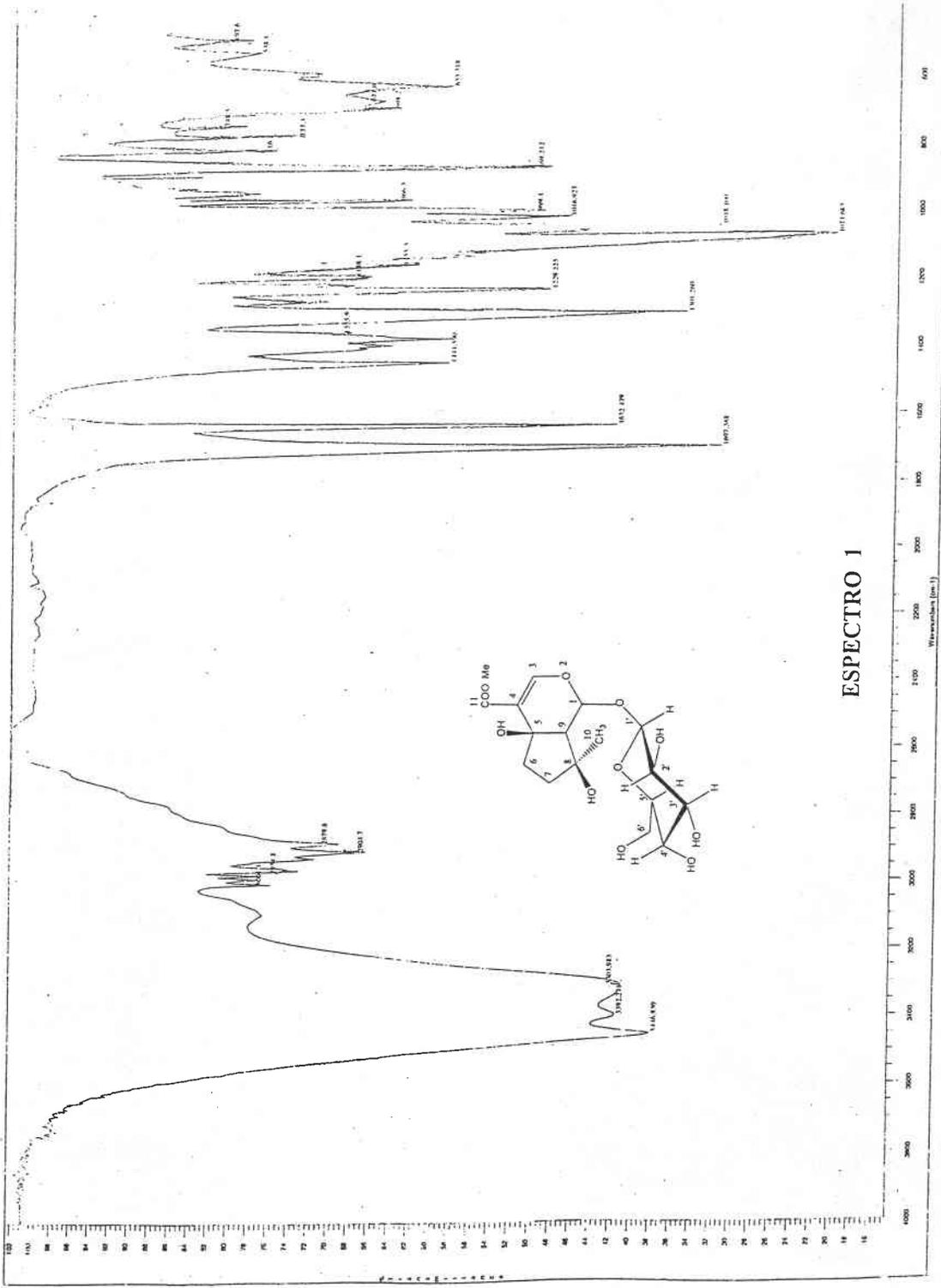
Para la cromatografía en capa fina (CCF) se emplearon cromatofolios Alugram Sil G/UV254 (Macherey- Nagel Düren MN) y como revelador se uso una solución de sulfato cérico en ácido sulfúrico 0.2 N.

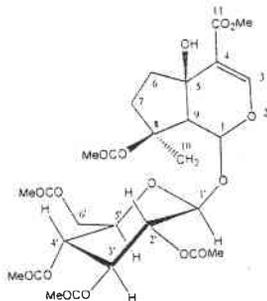
En las columnas para cromatografía se utilizó como fase estacionaria Gel de Silice G seg. Sthal para cromatografía en capa fina (Merck) y Silicagel 60: mallas 70-230 y 230-400 ASTM.

Los espectros de IR fueron corridos en los espectrofotómetros Perkin-Elmer 283B Nicolet 55X.

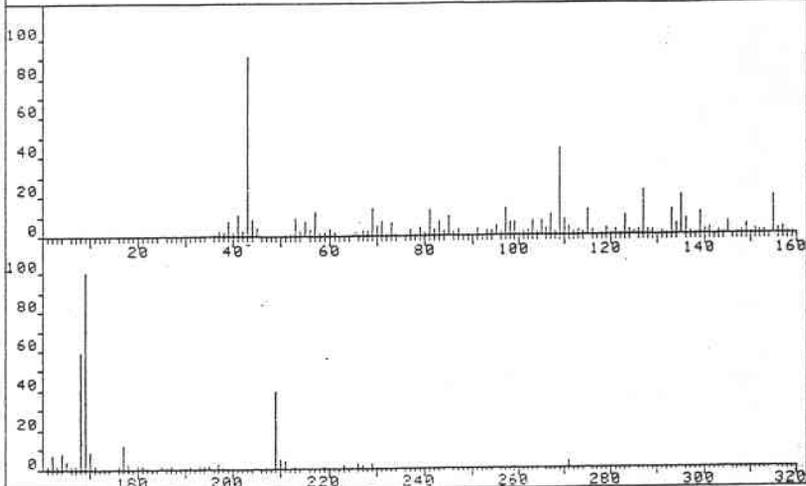
Los espectros de masas fueron obtenidos en un Espectrómetro Hewlett Packard 5985B GC/M System, y se utilizó la técnica de ionización por impacto electrónico a 70 eV.

Los espectros de RMN ^1H , ^{13}C y DEPT, fueron corridos en los aparatos Varian Gemini y VXR, de 200 y 300 MHz respectivamente. Los desplazamientos químicos están dados en ppm y las constantes de acoplamiento en Hz.

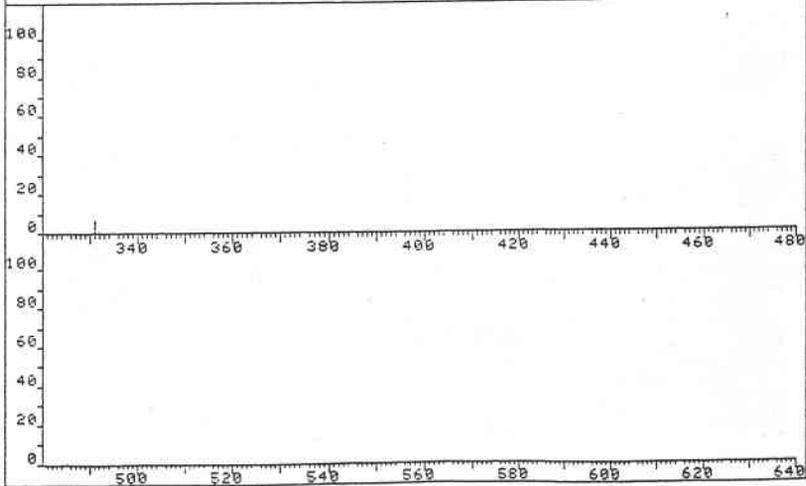


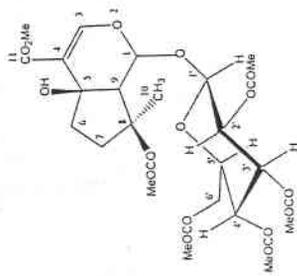


FRN 9270	SPECTRUM 42	RETENTION TIME 2.9
LARGST 4: 169.1, 100.0	43.2, 90.7	168.1, 59.4 109.2, 44.4
LRST 4: 259.2, .6	271.2, 3.4	331.1, 6.8 332.2, .9
		PAGE 1 Y = 1.00

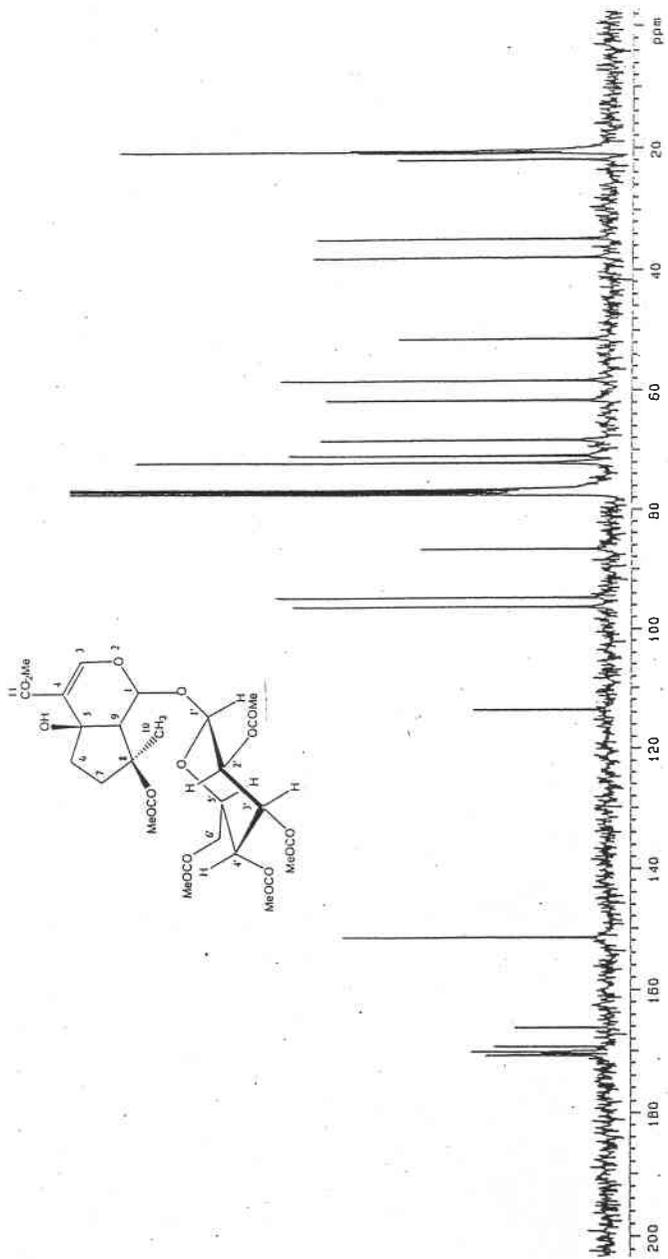


FRN 9270	SPECTRUM 42	RETENTION TIME 2.9
LARGST 4: 169.1, 100.0	43.2, 90.7	168.1, 59.4 109.2, 44.4
LRST 4: 259.2, .6	271.2, 3.4	331.1, 6.8 332.2, .9
		PAGE 2 Y = 1.00

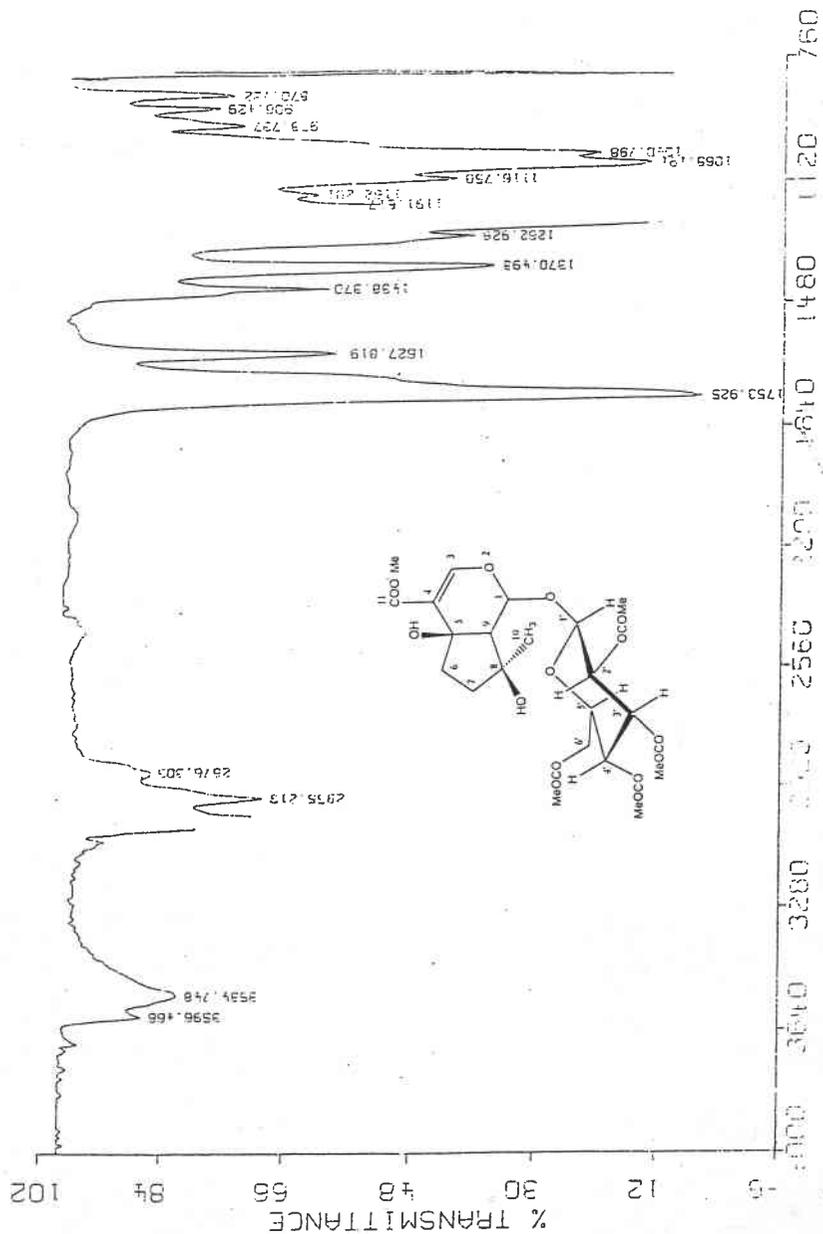




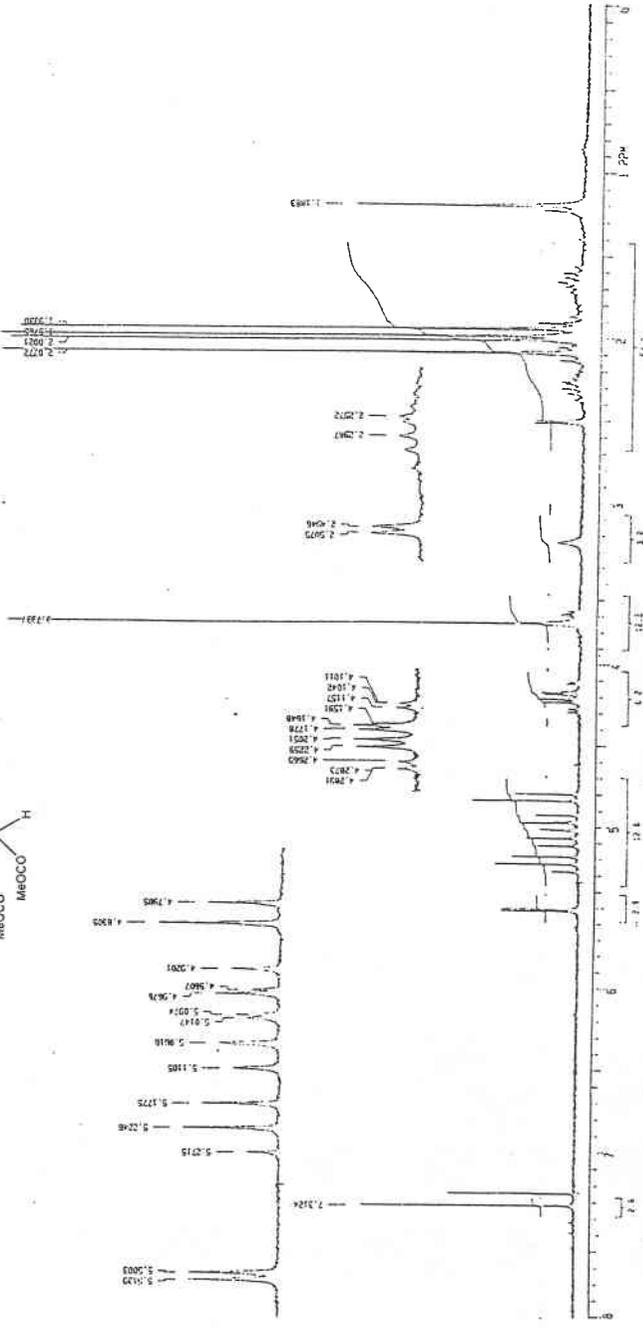
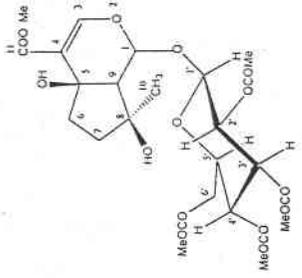
ESPECTRO 3



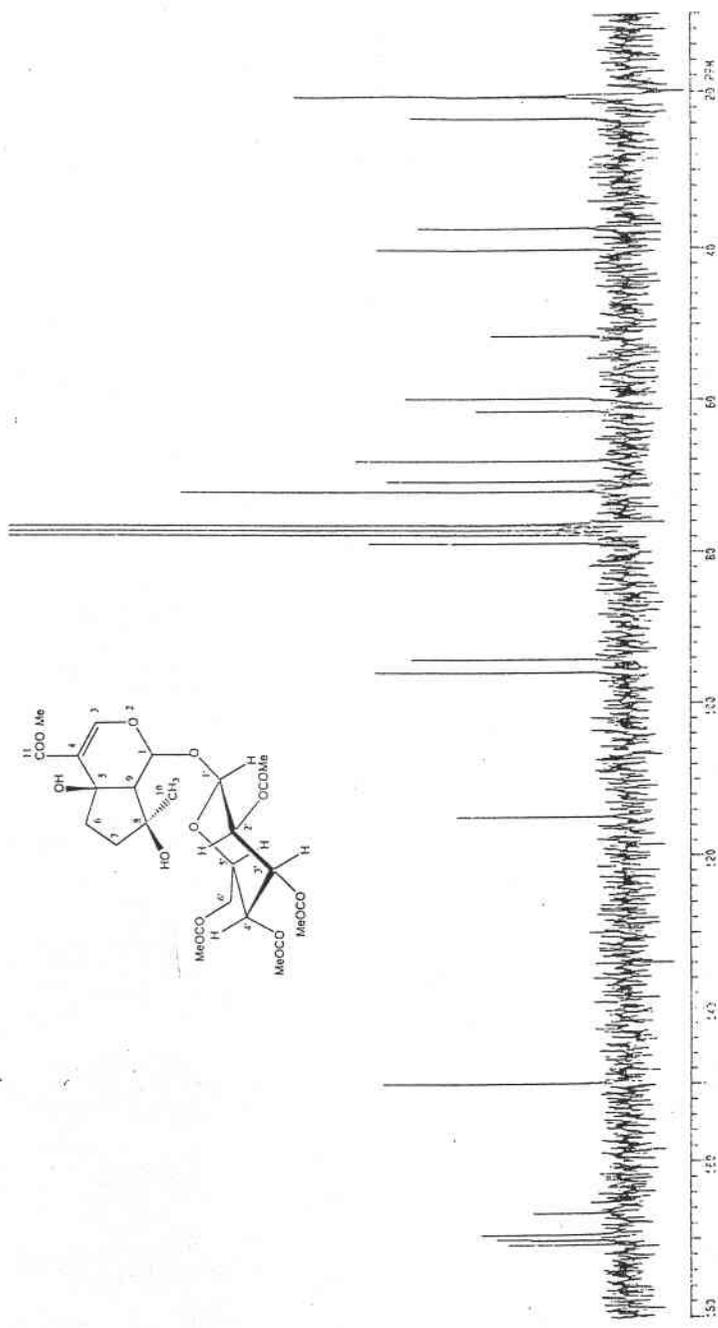
ESPECTRO 4



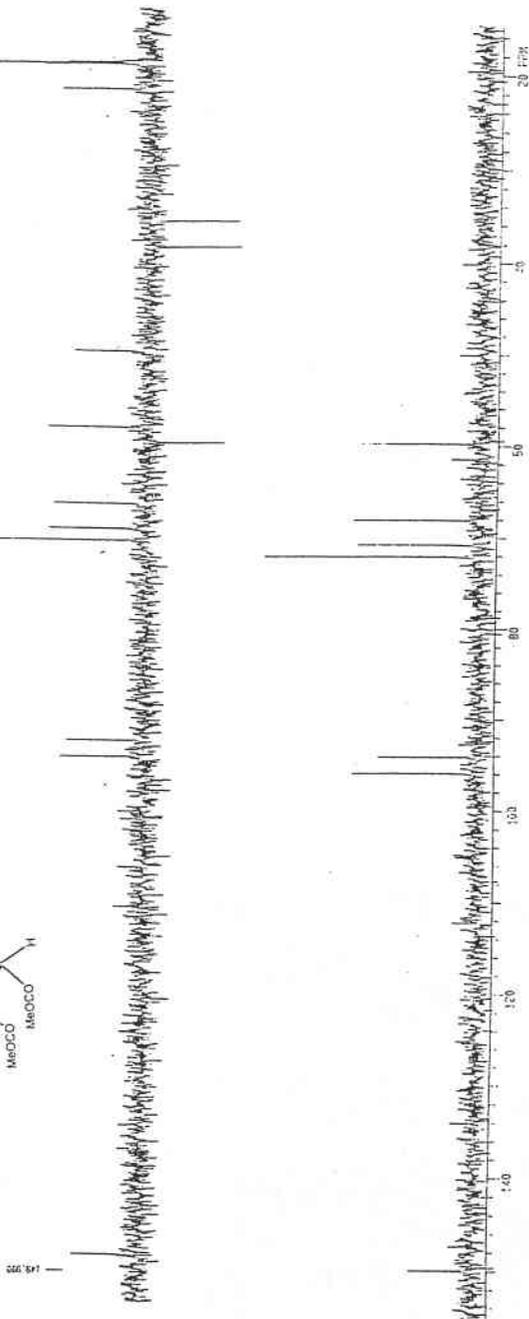
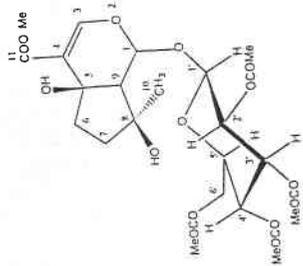
ESPECTRO 5



ESPECTRO 6



ESPECTRO 7



ESPECTRO 8