



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE QUÍMICA

ACTIVIDAD ALELOPÁTICA DE LACTONAS SESQUITERPÉNICAS  
AISLADAS DE "*Montanoa tomentosa sub. tomentosa*"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICO BIÓLOGA

P R E S E N T A :

LORENA FLORES VENEGAS



CIUDAD UNIVERSITARIA, MÉXICO, D. F

2011



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: Profesor: Manuel Jiménez Estrada.

VOCAL: Profesor: Rosa Luz Cornejo Rojas.

SECRETARIO: Profesor: José S. Calderón Pardo

1<sup>er</sup>. SUPLENTE: Profesor: Mabel Clara Fragoso Serrano.

2° SUPLENTE: Profesor: Octavio Fuentes Ramírez.

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: INSTITUTO DE QUÍMICA LAB. 7-C

ASESOR DEL TEMA:  
DR. José S. Calderón Pardo

SUSTENTANTE:  
Lorena Flores Venegas.

---

---

Este trabajo se realizó en el Laboratorio 7-C del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. José S. Calderón Pardo, con el apoyo económico de una beca otorgada por el Sistema Nacional de Investigadores (SNI).

---

## **Agradecimientos:**

Dios:

Gracias gran espíritu por concederme como humana, esto que tanto había anhelado siempre, y que ahora por tu gracia bendita ya es una realidad.

Gracias infinitamente te da mi humilde espíritu.

Mamá:

Gracias te doy con todo mi corazón por toda la bendición entregada y por todo el apoyo incondicional que me has dado siempre, esto también es un logro para ti, te quiero mucho.

Hermanos:

También agradezco a ustedes porque para mí son una gran motivación para seguir adelante, gracias por el enorme esfuerzo y apoyo que hacen y siguen haciendo por mí, de corazón mil gracias por todo.

Dr. José S. Calderón:

Doc. de todo corazón agradeciendo infinitamente todo el apoyo, confianza, y sobre todo su bondad, que me brindo durante el tiempo que estuve realizando este trabajo; gracias doy a ese gran espíritu por poner en mi camino a personitas como usted, personitas con enorme corazón y sencillez que en verdad esto es lo que hace grande a los humanos. Nuevamente muchas gracias!

Profesores de la Facultad:

También soy agradeciéndoles por todo el conocimiento transmitido, paciencia y comprensión y que gracias a eso son formando hombres y mujeres responsables con su nación y sociedad.

---

Acpopocatzin B.F.:

Con enorme gratitud mi espíritu, ángel bendito, por tu gran ayuda, gracias infinitas sobre todo en esos momentos en que siento caer sin esperanza y tú siempre estás ahí brindándome de tu fuerza y sabiduría para levantarme y así poder seguir adelante, llenando nuevamente mi corazón de fe y confianza, en que las cosas del mundo se facilitaran para lograr así la meta deseada. Bendita tu caridad.

Abraham L.M.:

Gracias por tu apoyo incondicional, por tu cariño, comprensión y consejos que me has brindado y sobre todo, porque siempre has estado ahí en los momentos más difíciles con una palabra de consuelo, palabra que da vida y esperanza y que levanta al espíritu a seguir en pie de lucha. De corazón gracias, algún día quisiera devolver tanta magia entregada.

---

---

**Dedicatorias**

**Mamá:**

**Margarita Venegas Sánchez**

**Hermanos:**

**José Luis**

**Raúl**

**Eduardo**

**Alejandro**

**Ana**

**Miguel Ángel**

---

---

## ÍNDICE.

	<b>Pág.</b>
Introducción.	8
Objetivo.	10
Justificación	12
Hipótesis	14
Antecedentes.	16
Parte Experimental.	34
Materiales y métodos.	35
Ensayo biológico.	54
Resultados.	39
Discusión de resultados.	49
Conclusiones.	66
Bibliografía	68
Anexos.	72

---

## LISTA DE ABREVIATURAS

RMN 1H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
RMN 13C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
IR	Espectroscopia de infrarrojo
COSY	Correlation Spectroscopy 1H-1H
DEPT	Distortionless Enhanced by Polarization Transfer
NOESY	Two Dimensional Nuclear Overhauser Spectroscopy
HETCOR	Heteronuclear Correlation Spectroscopy
COLOC	Correlated Spectroscopy Long Range Coupling
CCG	Cromatografía en columna por gravedad
CCF	Cromatografía en capa fina
CCFP	Cromatografía en capa fina preparativa
Pf.	Punto de fusión
J	Constante de acoplamiento
Hz	Hertz
s	Simple
s,a	Simple ancho
c	Cuádruple
c,d	Cuarteto de doblete
d	Doblete
d,a	Doblete ancho
d,d	Doble de doble
d,c	Doble de cuarteto
c,c	Cuarteto de cuarteto
t	Triplete
m	Multiple

---

# INTRODUCCION

---

A través de la historia el hombre ha empleado las plantas como medicina alternativa, utilizando sus raíces, tallos, hojas, flores y /o frutos. Este conocimiento de las plantas esta basado en una experimentación empírica de muchos años y que gracias al legado entre generaciones se ha conservado hasta nuestros días. Nuestro país cuenta con una amplia variedad de recursos naturales entre los que destaca su flora<sup>1</sup>.

El interés por el estudio de la flora Mexicana radica en la posibilidad de encontrar nuevos metabolitos secundarios que tengan propiedades que sean útiles a la humanidad. A nivel mundial el estudio químico-biológico de las plantas medicinales ha logrado aislar compuestos anticancerígenos como el etoposido y el taxol; antimalaricos como la quinina y artemisinina; analgésicos como la morfina y tranquilizantes como la reserpina <sup>6</sup>.

Todos los compuestos mencionados anteriormente son llamados productos naturales siendo un producto natural, todo aquel compuesto aislado de una fuente vegetal o animal<sup>1</sup>.

La Química de los productos naturales se ha incrementado grandemente debido al desarrollo de la Química orgánica y de las técnicas espectroscópicas de UV, IR, RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C, así como la espectrometría de masas. Además de nuevos métodos de purificación como la cromatografía en fase líquida a alta presión (HPLC) por sus siglas en ingles y el análisis espectrométrico por gases-masas. Todos estos adelantos han permitido aislar y asignar a muchos compuestos de origen vegetal su estructura correcta, para utilizarlos en su forma natural o modificada.

El presente trabajo muestra el estudio fitoquímico de la planta *Montanoa tomentosa sub. tomentosa* de la familia de las compuestas, contribuyendo al conocimiento de la composición química de esta especie.

---

# OBJETIVOS

---

## OBJETIVO GENERAL:

Realizar el estudio fitoquímico de las hojas de la especie vegetal *Montanoa tomentosa sub. tomentosa* para aislar e identificar las lactonas sesquiterpénicas presentes y determinar su actividad alelopática.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- a) Compilar la información Química de la planta estudiada (*Montanoa tomentosa sub. tomentosa*).
- b) Colectar la especie vegetal *Montanoa tomentosa sub. tomentosa*, para la realización de su estudio fitoquímico.
- c) Obtener el extracto de diclorometano de las hojas y mediante cromatografía en columna aislar las lactonas sesquiterpénicas presentes.
- d) Purificación de las lactonas sesquiterpénicas aisladas, mediante cromatografía en capa delgada.
- e) Identificación de las lactonas sesquiterpénicas aisladas mediante técnicas espectroscópicas mono y bidimensionales de RMN de hidrógeno y C-13.
- f) Obtener derivados semisintéticos a partir de las lactonas sesquiterpénicas aisladas.
- g) Asignación total de los desplazamientos químicos de Hidrógeno y C-13 de las lactonas naturales y semisintéticas.
- h) Determinación de la actividad alelopática de las lactonas en semillas amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) y pasto (*Lolium multiflorum*).

---

# JUSTIFICACION

---

La herbolaria mexicana se ha venido usando desde la antigüedad, dejándonos así un legado extenso en la medicina tradicional, aplicable a la vida cotidiana, motivo por el cual se realizan estudios a las plantas de origen curativo con la finalidad de obtener e identificar los compuestos con propiedades biológicas que validen su uso medicinal. Por lo tanto con el presente trabajo se pretende continuar con los estudios realizados a la especie *Montanoa tomentosa sub. tomentosa* para aislar y e identificar las lactonas presentes y obtener sus derivados semisintéticos, para determinar su actividad alelopática.

---

# HIPOTESIS

---

En estudios recientes se ha publicado que las lactonas sesquiterpénicas, presentan actividad herbicida, ya que inhiben la germinación de semillas mono y dicotiledóneas. El estudio fitoquímico de la planta *Montanoa tomentosa sub. tomentosa* es necesario para comprobar que las lactonas sesquiterpénicas presentes en la planta, sean las responsables de la fuerte actividad alelopática en donde crece y se desarrolla.

---

# GENERALIDADES

---

## ANTECEDENTES

La familia *Asteraceae*, también llamada *Compositae*; es reconocida como la familia con mayor riqueza y diversidad biológica.

La familia *Asteraceae* se divide en 13 tribus y es una de las más diversas y ampliamente distribuida de las angiospermas debido a su plasticidad genética, a su capacidad de distribución y a su capacidad para adaptarse a diferentes condiciones ecológicas. También, se considera que su plasticidad química ha desempeñado un papel preponderante en su diversificación debido a la presencia de metabolitos secundarios que han sido usados como mecanismo de defensa contra depredadores y/o competidores <sup>3</sup>.

Los miembros de la familia *Asteraceae* o (*Compositae*), constituyen uno de los grupos más diversificados dentro de las plantas con flores (*Magnoliophyta*).

### ASTERACEAE

***Asteraceae* o *Asteraceas***, antes llamadas ***Compositae* o *Compuestas***, es una familia de plantas herbáceas anuales o perennes, que se caracterizan por agrupar las flores en una inflorescencia compuesta o capítulo, rodeadas de una o varias filas de brácteas (involucro), con receptáculo plano o convexo, rara vez cilíndrico, frecuentemente provisto de brácteas, escamas o pelos en su interior<sup>3,10</sup>.

Las flores son pequeñas, hermafroditas, en ocasiones unisexuales o estériles; gamopétalas; cáliz nulo o formado por pelos simples o plumosos, por escamas o por una pequeña corona membranosa; la corola puede ser tubular con 4 ó 5 lóbulos, tubular bilabiada, con el tubo corto y el limbo prolongado lateralmente en una lígula con 3 o 5 dientes; androceo de 5 estambres; gineceo ínfero, con el ovario y el primordio seminal, con un estilo y con 2 estigmas. Inflorescencias en capítulo, rodeado por un involucro de brácteas; Los capítulos a su vez pueden agruparse en inflorescencias compuestas diversas. Fruto en aquenio, a menudo coronado o provisto de vilanos. Se caracterizan por tener hojas alternas, opuestas, de formas muy diversas, sin estípulas<sup>10</sup>.

---

Muchos miembros de la familia se cultivan como plantas ornamentales.

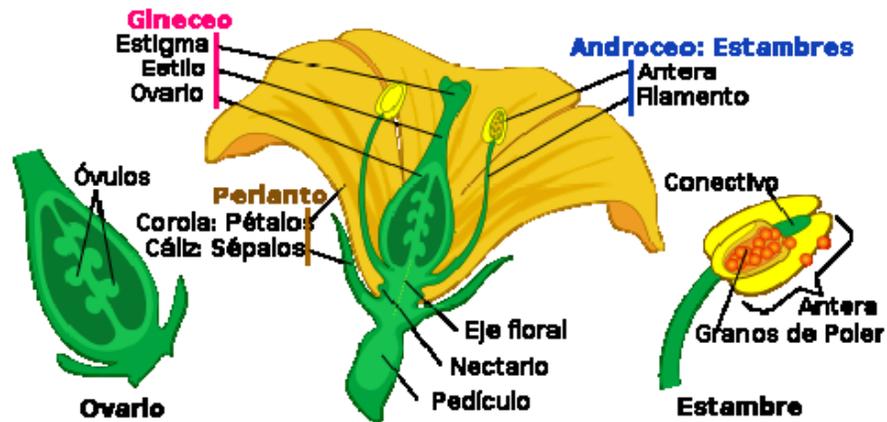


Figura No 1. Esquema de una flor.

Los capítulos, (Figura N°2) a su vez, pueden agruparse en inflorescencias compuestas diversas, determinadas, terminales o axilares<sup>3</sup>.

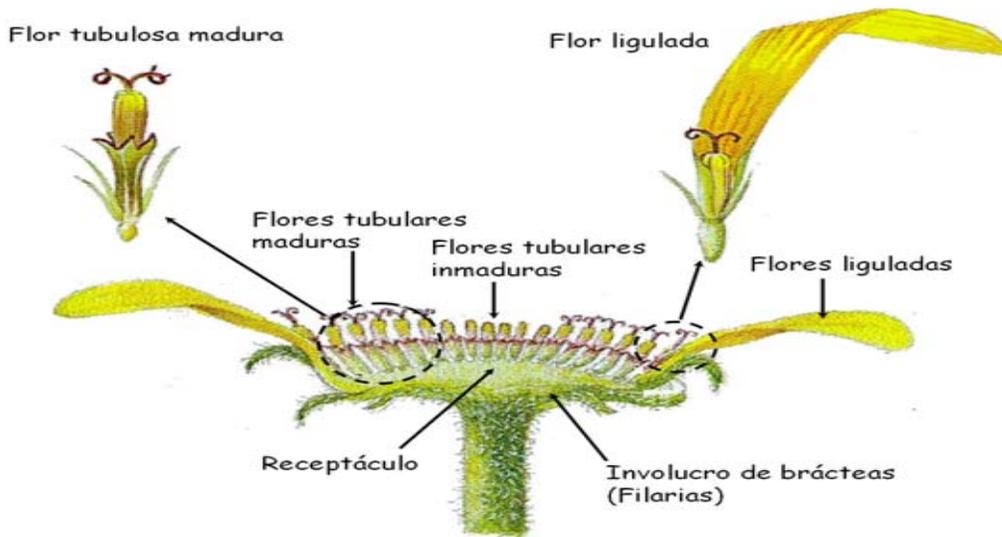


Figura No. 2. Esquema del capítulo e inflorescencia de las *Asteraceae*

En la tabla No.1 Se indican las especies y variedades pertenecientes a las 13 tribus de la familia *Asteraceae* en México<sup>3</sup>.

TRIBUS	GÉNEROS	ESPECIES	VARIEDAD O SUBESPECIES	TOTAL
Anthemideae	13	26	1	27
Asterae	38	338	42	380
Calenduleae	1	1	0	1
Cardueae	4	47	2	49
Eupatorieae	61	589	51	640
Heliantheae	171	1175	180	1355
Inuleae	15	70	3	73
Lactuceae	25	75	6	81
Liabeae	3	23	0	23
Mutisieae	8	90	11	101
Senecioneae	19	228	15	243
Tageteae	19	128	20	148
Vernonieae	10	71	11	82

**Tabla 1.** Tribus de la familia *Asteraceae* presentes en México.

**Tribu: *Heliantheae***

La tribu *Heliantheae* pertenece a la familia *Asteraceae*. Su nombre deriva del género *Helianthus*, en latín para *flor del sol*. Las *Heliantheae* es la tercera tribu más grande en esta familia, con 190 géneros y cerca de 2.500 especies reconocidas. Solo las tribus *Senecioneae* y *Astereae* la superan en cantidad de especies. Muchos géneros y especies se encuentran en Norteamérica y en Sudamérica, particularmente México. Unos pocos géneros son pantropicales.

---

Muchos géneros de esta tribu son hierbas o arbustos, pero hay algunos que crecen hasta alcanzar el tamaño de pequeños árboles. Las hojas son usualmente pilosas y arregladas en pares opuestos, las anteras son oscurecidas, poseen flores en forma de corazón con pétalos generalmente de color blanco. Algunos miembros de esta tribu (*Heliantheae*), tienen propiedades medicinales y tienen importancia comercial debido a sus propiedades anticonceptivas. Algunos miembros de esta tribu son usados como plantas de ornato<sup>2,3</sup>.

### **Género *Montanoa***

El género *Montanoa*, pertenece a la tribu *Heliantheae* y la planta en estudio es: *Montanoa tomentosa sub tomentosa*.



**Figura No. 3** Características físicas de la planta *Montanoa tomentosa subs tomentosa*<sup>8</sup>.

Zopatle es el nombre común de *Montanoa tomentosa subs. tomentosa*., la cual es una planta originaria de México.

Antiguamente, *Montanoa tomentosa* se conocía como cihuapatli; nombre, de origen náhuatl, que significa “medicina de la mujer” (cihuatl-mujer; patli-medicina)<sup>7,10</sup>.

---

**SINONIMOS:**

Cihuapatle, cihuapatli, guapiojo, hierba de la parida, hierba de la mujer, hierba de toó, gordolobo de terreno y zoapatle <sup>42</sup>.

Las especies de *Montanoa* se localizan exclusivamente en el continente Americano e islas adyacentes, en México se encuentran distribuidas principalmente en el área comprendida de Durango, Nuevo León, Chiapas, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Guerrero, Michoacán, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Veracruz, Estado de México, Oaxaca.

Hoy en día en los mercados de plantas medicinales se venden como Zoapatle varias especies de *Montanoa*: *M. tomentosa*, *M. frutescens* y *M. floribunda*<sup>10</sup>.

En la tabla No 2. Se presenta la clasificación botánica y características biológicas del zoapatle.

<b>Reino :</b>	<i>Plantae</i>	<b>Localización</b>	Áreas cercanas al valle de México, en bosques espinosos y desiertos. A la orilla de brechas y arroyos.
<b>División:</b>	<i>Magnoliophyta</i>	<b>Tipos de climas</b>	Áridos a semiáridos a 1900 a 2800m, s.n.m.
<b>Clase</b>	<i>Magnoliopsida</i>	<b>Floración</b>	Agosto-octubre o septiembre-noviembre
<b>Familia</b>	<i>Asteraceae</i>	<b>Tipo de planta</b>	Arbusto muy ramificado
<b>Tribu</b>	<i>Heliantheae</i>	<b>Limbos</b>	Largos, color verde oscuro con márgenes irregulares.
<b>Genero</b>	<i>Montanoa</i>	<b>Forma de las hojas</b>	Acorazonadas y opuestas
<b>Especie</b>	<i>tomentosa</i>	<b>Altura</b>	1 a 3 m
<b>Subespecie</b>	<i>tomentosa</i>		

**Tabla No.2.** Clasificación botánica del zoapatle: *Montanoa tomentosa* subs. *tomentosa*<sup>10</sup>.

El zoapatle ó cihuapatli es una planta utilizada en forma de extracto acuoso (en forma de té, hirviendo la hojas de la planta de 10 a 20 minutos) desde hace más

---

de 500 años con fines curativos <sup>3</sup>. El uso medicinal que daban a esta planta los Mexicanos era para aliviar los padecimientos de la mujer al término del embarazo, induciendo el labor de parto al incrementar las contracciones uterinas y también para disminuir el tiempo de “cuarentena” postparto. El uso del zoapatle para inducir el sangrado menstrual fue descrito por Alfaro en 1866<sup>7,8</sup>.

## PRINCIPIOS ACTIVOS DEL ZOAPATLE

Se han aislado más de 40 compuestos químicos de la *Montanoa tomentosa subs. tomentosa* y especies afines. De todos estos compuestos químicos solo se ha probado la acción farmacológica de algunos, entre los cuales se encuentran: el Montanol (M), Zoapatanol (Z), Tomentol (T), Tomexantina (Tx), Acido kauradienoico o grandiflorenico (AG), Acido Monoginoico (AM), Acido kaurenoico (AK).

El Z y M son compuestos biológicamente activos aislados principalmente de las hojas de zoapatle, y representan un tipo de estructura diterpenoide oxepano inusual <sup>26</sup>. De la mezcla diterpenoide se ha encontrado que T y Z se encuentran en mayor proporción que M <sup>26</sup>. Otro compuesto con este tipo de estructura es la TX <sup>21</sup>, que junto con el T, han sido evaluados en ensayos biológicos por su actividad uterotónica <sup>26,27</sup>.

El extracto acuoso de la planta presenta mayor potencia farmacológica para producir actividad uterotónica que los extractos orgánicos (extractos de cloroformo, alcohol, éter, etc.) <sup>18</sup>.

Además en su composición también se encuentran presentes varios tipos de **lactonas sesquiterpénicas** contenidas en las hojas de la planta, a las cuales se le atribuye su efecto citotóxico<sup>5</sup>.

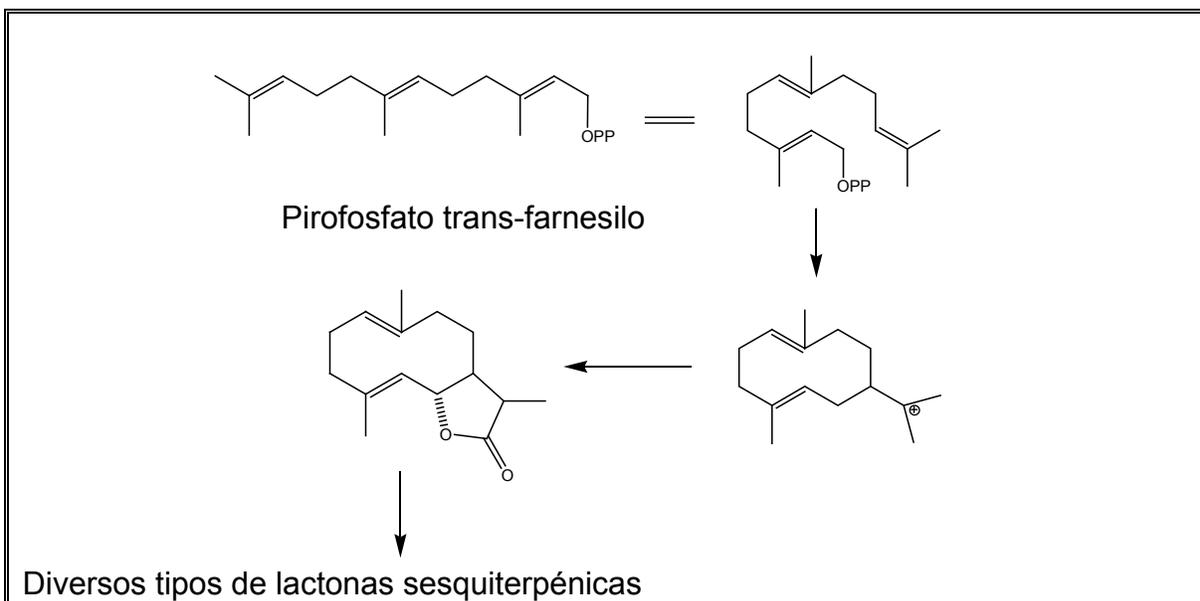
---

### **Lactonas sesquiterpénicas.**

Las lactonas sesquiterpénicas son constituyentes característicos de plantas de la familia Compositae, aunque se han encontrado en otras pocas plantas de familias como Magnoliaceae, Umbelliferae, y Lauraceae<sup>12</sup>. Sin embargo, el mayor número de lactonas publicadas son aisladas de las plantas pertenecientes a la familia Asteraceae. El número de lactonas conocidas en el año de 1994 eran alrededor de 4000 y aproximadamente 5000 estructura en el 2001. Las concentraciones de lactonas sesquiterpénicas pueden variar entre el 0.01 y el 8% del peso seco, y se les encuentra generalmente en hojas y partes floridas. Se las puede encontrar en forma libre y raramente en forma glicosídica<sup>4,5</sup>

### **Biogénesis de las lactonas sesquiterpénicas.**

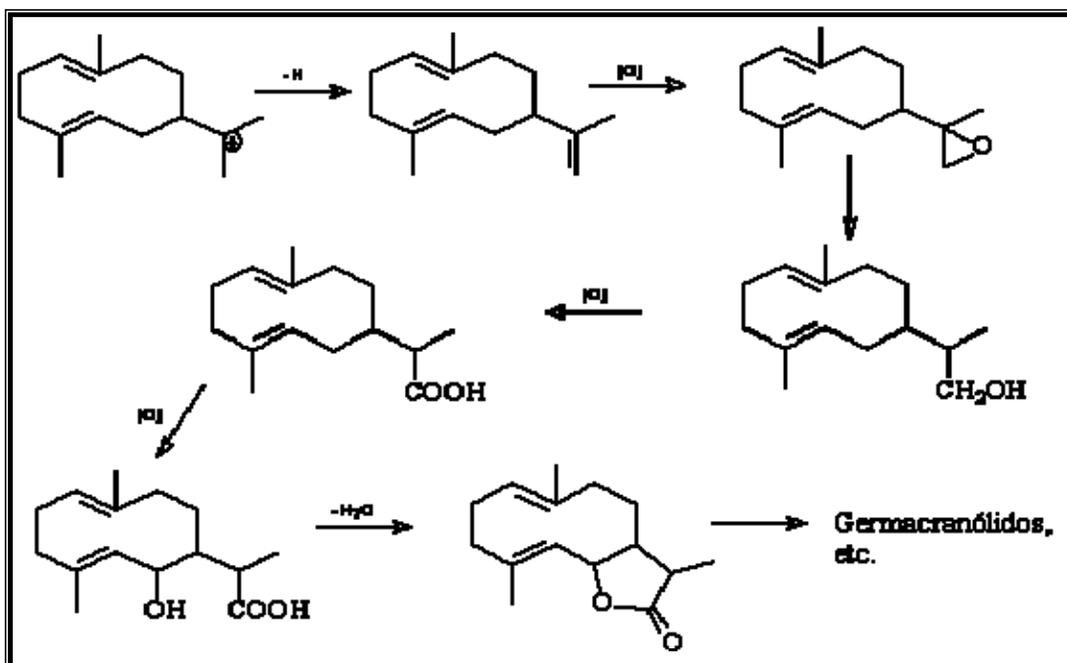
Las lactonas sesquiterpénicas poseen un esqueleto fundamental con 15 átomos de carbono, que teóricamente derivan de la unión de 3 fragmentos de isopreno (2-metil-1,3-butadieno), cabeza, cola y algunos productos de transposición. Se originan a partir del pirofosfato-trans-farnesilo como los demás sesquiterpenos natural.



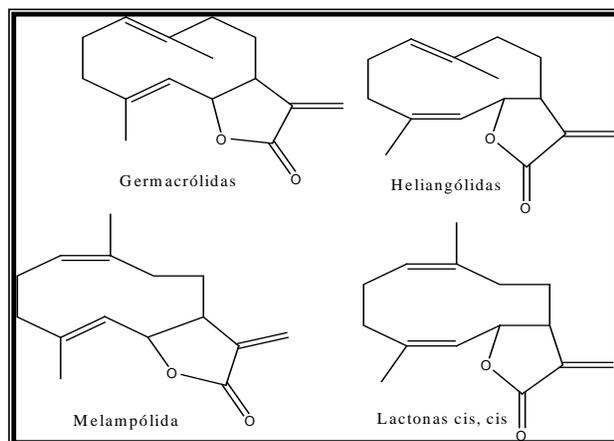
**Figura No. 4.** Biogénesis de la formación de las lactonas sesquiterpénicas.

La lactonización del precursor sesquiterpenoide parece producirse por un mecanismo de oxidación de un grupo metilo hasta carboxilo, la oxidación de un carbono adyacente y finalmente la deshidratación entre los grupos carboxilo e hidroxilo formados <sup>5</sup>.

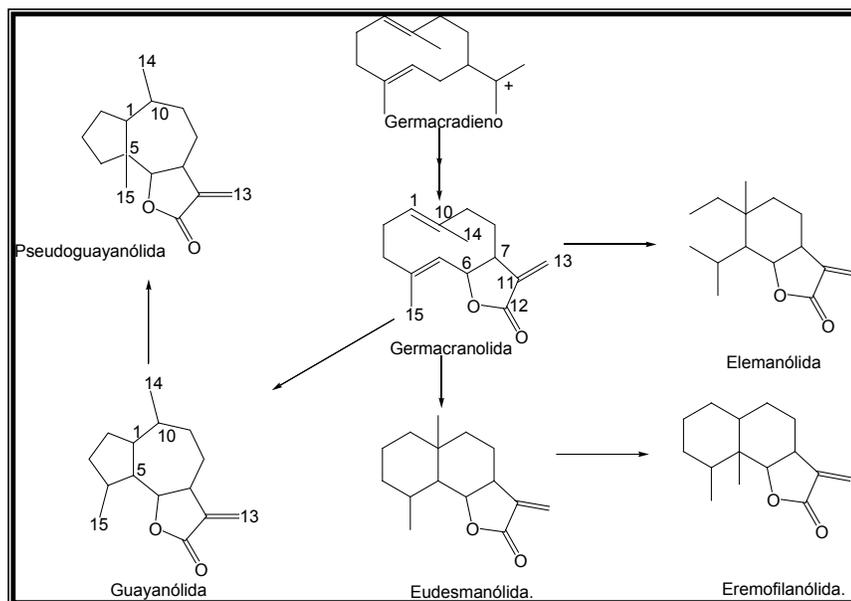
**Figura No. 5.** Biogénesis del anillo lactónico en las sesquiterpenlactonas.



Las germacranólidas son consideradas lactonas de primer paso biogénico y se supone que sean las precursoras de las demás. Se forman por ciclación enzimática seguida de oxidación enzimática del trans-trans pirofosfato de farnesilo. Se dividen en: germacrólidas si contienen dos dobles ligaduras, en C-1, C-10 y en C-4, ambas con configuración trans; en heliangólidas si la doble ligadura de C-1, C-10 es cis. Cuando la doble ligadura, cuando la doble ligadura de C-4 tiene configuración cis se tiene el grupo de las melámpolidas, y si ambas dobles ligaduras son cis, se tendrá el grupo de las lactonas cis, cis<sup>5</sup>



**Figura No. 6.** Tipos de germacranólidas.

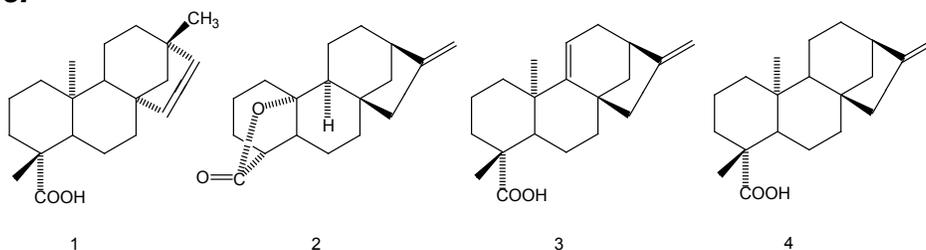


**Figura No.7.** Relaciones Biogénicas de algunos grupos de lactonas sesquiterpénicas

---

**METABOLITOS SECUNDARIOS  
AISLADOS DE LA PLANTA**  
*Montanoa tomentosa sub. tomentosa*

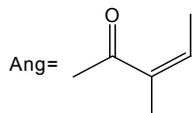
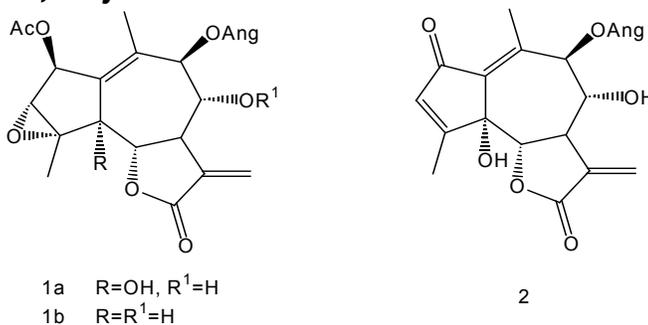
**M. tomentosa. Cerv. Parte analizada: Raíces. Lugar de colecta: Ciudad de México.**



1. **Ácido monoginóico.**
2. **Zoapatlina.**
3. **Ácido ent-kaur-9(11)16-dien-19-oico.**
4. **Ácido kaurenico.**

**Caballero Y.; Walls F. Bol. Inst. Quím. Univ. Nacl. Autón. México. 1970, 22, 79-102.**

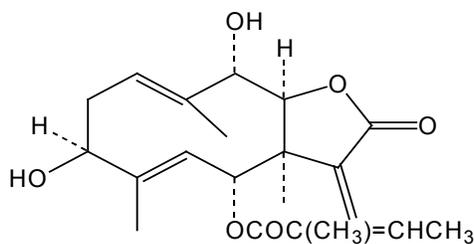
**M. tomentosa. Cerv. Parte analizada: Partes aéreas. Lugar de colecta: Guerrero, México, en julio de 1978.**



- (1a) **Zoapatanolida C.**
- (1b) **Zoapatanolida D.**
- (2) **Pumilina.**

**Quijano L.; Gómez F.; Calderón J. S.; López J.; Ríos T. Phytochemistry 1984, 23, 125-127.**

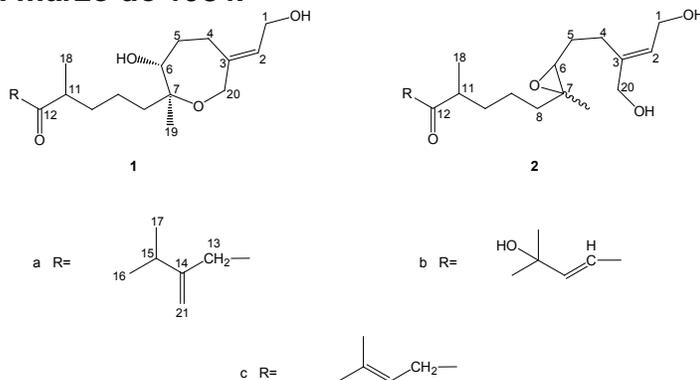
**M. tomentosa. Cerv. Parte analizada: Hojas y flores.**



Tomentosina

**Geissman T. A.; Griffin T. S. Rev. Latinoam. Quim. 1971, 2, 81-83.**

**M. tomentosa Cerv. Parte analizada: Hojas. Lugar de colecta: Ciudad de México en marzo de 1984.**

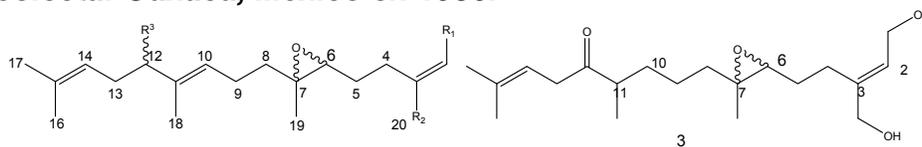


**(1a) Tomentol. (1b) Tomexantol. (1c) Zoapatanol. (2a) Pre-tomentol. (2b) Pre-tomexantol. (2c) Pre-zoapatanol.**

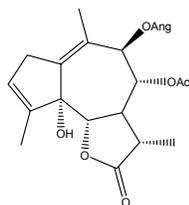
**Quijano L.; Calderón J. S.; Gómez F.; Rosario V.; Ríos T.**

**Phytochemistry 1985, 24, 2741-2743.**

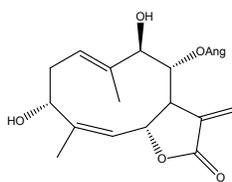
***M. tomentosa* Cerv. subsp. *tomentosa*. Parte analizada: Hojas. Lugar de colecta: Oaxaca, México en 1986.**



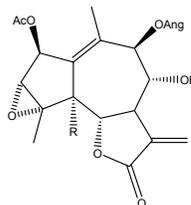
	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
1	CH <sub>2</sub> OAc	CH <sub>2</sub> OH	OH
2	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>2</sub> OH	H



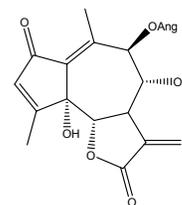
4



5



6 R=OH  
7 R=H

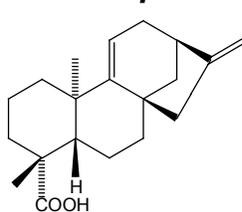


8

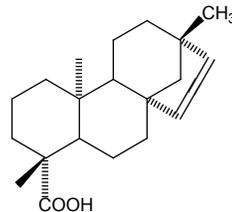
- (1) Zoapatol A.
- (2) Zoapatol B.
- (3) Pre-zoapatanol.
- (4) Zoapatanolida F.
- (5) Zoapatanolida A.
- (6) Zoapatanolida C.
- (7) Zoapatanolida D.
- (8) Pumilina.

Quijano L.; Gómez F.; Sierra E.; Ríos T. *Phytochemistry* 1991, 30, 1947-1950.

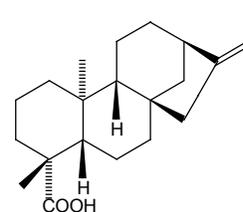
***M. tomentosa* Cerv. Parte analizada: Hojas. Lugar de colecta: Ciudad de México en septiembre de 1993.**



Ácido *ent*-kaur-9(11)16-dien-19-oico



Ácido monoginoico

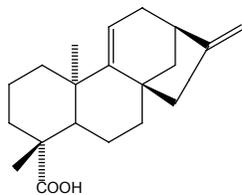


Ácido *ent*-kaur-16-en-19-oico

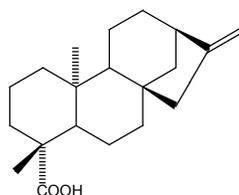
Se realizó detección cualitativa de los ácidos kaurenoico, kaurendioico y monoginoico en la infusión de *Montanoa tomentosa* Cerv., utilizando métodos de CG-EM y 2D-RMN.

Enríquez R. G.; Miranda-G. E.; Ortiz B.; León I.; Magos G.; Peña A.; Reynolds W. F.; Gnecco D. *Planta Medica* 1996. 62(6). 569-571.

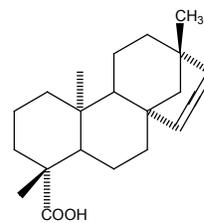
***M. tomentosa* Cerv. Parte analizada: Semillas. Lugar de colecta: Ciudad de México.**



Ácido glandiflorénico



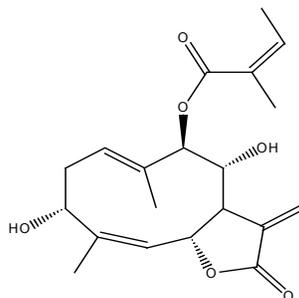
Ácido kaurenico



Ácido monoginóico

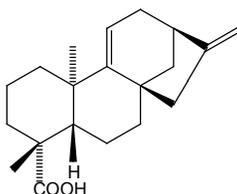
**Villarreal M. L.; Rojas G.; Quintero R.; Miranda E.; Enríquez R.; León I.; Reynolds W. *Biotechnology Letters* 2001, 23, 1279–1284,.**

***M. tomentosa*. Se realizó un análisis cristalográfico de rayos X de la Zoapatanolida B.**



**Cowe H. J.; Cox P. J.; Howie A. *Journal of Crystallographic and Spectroscopic Research* 1990, 20(6), 571-576.**

***M. tomentosa*. No hay datos de la parte analizada del vegetal ni del lugar de colecta.**

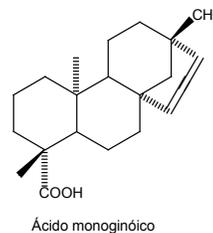
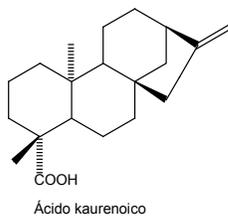
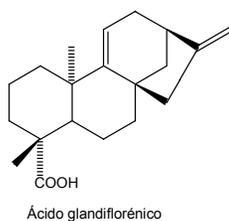


Ácido ent-kaur-9(11)16-dien-19-oico

**Asignaciones totales de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del ácido ent-kaur-9(11) dien-19-oico con el auxilio de correlaciones heteronucleares 2D optimizado para constantes de acoplamiento  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  geminales y vicinales.**

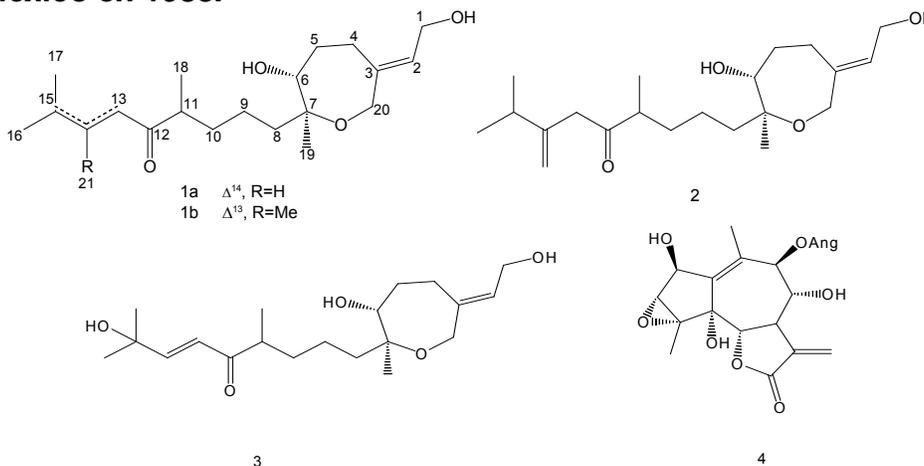
**Reynolds W. F.; Escobar L. I.; Lozoya X. *Can. J. Chem* 1984, 62, 2421-2425.**

**M. tomentosa. Cerv. Parte analizada: Extractos acuosos de hojas raíces y tallos.**



**Enriquez R. G.; Escobar L. I.; Romero M. L.; Chávez M. A.; Lozoya X. Journal of Chromatography 1983, 258, 297-301.**

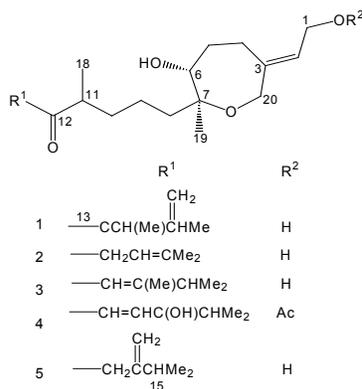
**M. tomentosa Cerv. Parte analizada: Hojas. Lugar de colecta: Ciudad de México en 1983.**



**(1a) Zoapatanol.  
(1b) Montanol.  
(2) Tomentol.  
(3) Tomexantol.  
(4a) Zoapatanolida E.**

**Quijano L.; Calderón J. S.; Gómez F.; Rosario V.; Ríos T. Phytochemistry 1985, 24, 2337-2340.**

***M. tomentosa* Cerv. subsp. *tomentosa*. Parte analizada: Hojas. Lugar de colecta: El material vegetal fue cultivado en la estación Lisle en Illinois del Departamento de Farmacognosia en el verano de 1982.**



(1) ***Tomentanol.***

(2) ***Zoapatanol.***

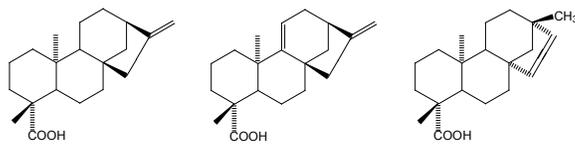
(3) ***Montanol.***

(4) ***Tomexantina.***

(5) ***Tomentol.***

**Oshima Y.; Cordell G.; Fong H. H. *Phytochemistry* 1986, 25, 2567-2568.**

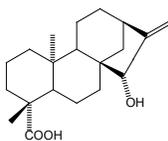
***M. tomentosa* Cerv. ssp. *tomentosa*. Parte analizada: raíces y hojas. Lugar de colecta: El material vegetal fue cultivado en la estación Lisle en Illinois del Departamento de Farmacognosia en los veranos de 1982 y 1985.**



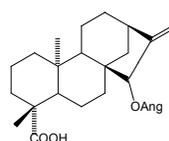
Ácido *ent*-kaur-16-en-19-oico.

Ácido *ent*-kaur-9(11),16-dien-19-oico  
(ácido grandiflorónico).

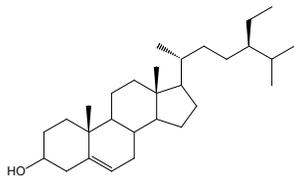
Ácido monogínico.



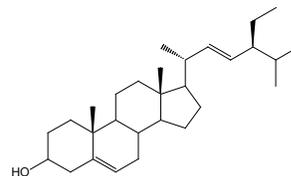
Ácido grandifórico.



Ácido angetoil grandifórico



$\beta$ -Sitosterol.



Estigmasterol.

**Lu Z-Z.; Xue H-Z. O.; Tu Z-B.; Cono Ch.; Waller D. P.; Soejarto D. D.; Cordell G. A.; Fong H. H. S. Journal of Natural Products 1987, 50(5),**

---

## ENSAYO BIOLÓGICO.

### Germinación de las semillas

La determinación de la actividad alelopática de las lactonas aisladas y sus derivados acetilados, fue evaluada con uno de los ensayos biológicos más empleados para el estudio de aleloquímicos el cual comprendió la evaluación de la germinación de las semillas y la elongación de raíz y tallo de las plántulas en semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) y pasto (*Lolium multiflorum*).

Para lo cual se realizó la técnica que a continuación se describe:

El bioensayo se realizó en cajas petri de vidrio de 10 cm de diámetro a los que se les colocó en el fondo un papel filtro esterilizado. Se lavaron las semillas de amaranto y pasto con una solución al 10% de hipoclorito de sodio. Se preparo una solución stock de las fracciones colectadas a 1000  $\mu\text{M}$  en el disolvente adecuado, de la cual se tomaron los volúmenes apropiados para obtener concentraciones de 400, 500, 600, 800 $\mu\text{M}$  estos se colocaron sobre el papel filtro de las cajas petri y se permitió la evaporación completa del disolvente antes de agregar 5 mL de agua destilada esterilizada. Después se inició a la germinación de 25 semillas por caja, en todos los casos se efectuaron tres réplicas como control positivo utilizando agua estéril. Cabe mencionar que el procedimiento anterior se realizo en una campana de flujo laminar para evitar contaminación microbiana. Posteriormente las cajas petri se sellaron con papel parafilm y se incubaron a 25° C, el tiempo de incubación fue de aproximadamente 36 hrs. para germinación y 72 hrs. para elongación. Se eliminó el agua de cada una de las cajas y se midió la longitud tanto de la raíz como del tallo de las plántulas. Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente.

---

PARTE  
EXPERIMENTAL

---

## APARATOS, MATERIALES Y DISOLVENTES

Las cromatografías en columna a presión reducida (CCPR) se realizaron con sílica gel 60 (70-230 mesh ASTM) la proporción de sílica por gramo de extracto.

Las cromatografías en columna por gravedad (CCG) se realizaron con sílica gel 230-400. Las CCPR y las CCG, se realizaron adsorbiendo el material en sílica para columna en una proporción 1:1. Las cromatografías en capa fina (CCF) se realizaron en cromatoplasmas de aluminio de sílica gel 60 F<sub>254</sub>, 0.2 mm., para realizar el seguimiento de las columnas y para comprobar la pureza de los metabolitos aislados. Las cromatografías en capa fina preparativa (CCFP) se realizaron en placas de vidrio de 20x20 cm., sílica gel 60F<sub>254</sub>, 0.25y 0.50 mm, para la purificación y el aislamiento de los metabolitos. Los métodos de revelación fueron luz ultravioleta proveniente de una lámpara portátil Modelo MODER-UVLS-26, (254-365 nm) y como reactivo cromogénico se utilizó una solución de 12 g de sulfato cérico amoniacal y 22 mL de ácido sulfúrico concentrado en 350 g de hielo. Los puntos de fusión (pf) se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos. Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en un espectrofotómetro con transformada de Fourier modelo prospect-IR marca MIDAC en solución de cloroformo (CHCl<sub>3</sub>), o bien, en pastilla de KBr. Los espectros de resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN <sup>1</sup>H), fueron obtenidos a 400 MHz utilizando un espectrómetro analítico Bruker-Avance, utilizando como disolvente cloroformo deuterado (CDCl<sub>3</sub>), y como referencia interna tetrametil silano (TMS). Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13 (DEPT, HSQC, HMBC), se determinaron en un espectrómetro Bruker-Avance a 100 MHz. En algunos casos especiales se utilizó el experimento bidimensional COSY y NOESY para el caso de la zoapatanolida C y el acetato de zoapatanolida C.

---

## COLECTA DE MATERIAL VEGETAL I

La planta *Montanoa tomentosa*, fue colectada en el Pedregal de San Ángel, Ciudad de México, en octubre 2004, en su etapa de floración. Es un arbusto muy ramificado de aproximadamente 1 a 3 m de altura, con flores de color blanco, hojas acorazonadas y opuestas, limbos largos, color verde oscuro con márgenes irregulares.

En el siguiente esquema se resume el procedimiento experimental realizado a las hojas frescas de *Montanoa tomentosa subs. tomentosa*.



Esquema No. 1. Metodología realizada a las hojas frescas de *Montanoa tomentosa subs. tomentosa*.

---

## Cromatografía de extracto de diclorometano (Colecta 2004).

### Primera cromatografía:

El extracto de diclorometano con un peso total de 1.44g, se adsorbió en 6.0g de gel de sílice 35/70 y se colocó en una columna empacada con 45g de gel de sílice en una relación 1:30 con respecto al extracto. La columna se eluyó a presión ordinaria, con hexano-acetato de etilo 1:1, obteniéndose 9 fracciones de 250mL. Las fracciones se analizaron por cromatografía en capa fina analítica y se reunieron de acuerdo con sus características cromatográficas. Las fracciones obtenidas se resolvieron en sus componentes mediante cromatografías sucesivas en capa fina, seguido de la determinación del peso de cada una.

La tabla No. 3 Indica las fracciones unidas según el análisis por CCF y los metabolitos secundarios aislados a partir de las mismas.

Fracciones	Peso	Sistema de elución (Hex:AcOEt)	Sustancia Identificada
1	-	(1:1)	-
2	92.0mg		Zoapatanolida C
3	121.6mg		Zoapatanolida C
4	120.9mg		Zoapatanolida C
5	119.5mg		Zoapatanolida C
6	-		-
7	-		-
8	-		-
9	-		-

**Tabla No. 3** Fracciones obtenidas de la CCG del extracto de diclorometano.

Las fracciones de la 2 a la 5 contienen Zoapatanolida C, las demás fracciones se desechan. El peso de la unión de las fracciones 2 a la 5 fue de 454mg.

Los 454 mg de Zoapatanolida C impura, fue purificada mediante cromatografía en capa fina preparativa, utilizando 4 cromatoplasmas de sílica gel de 1.0 mm de espesor y tamaño 10x20 cm. Las cromatoplasmas se desarrollaron en una mezcla de hexano:acetato de etilo (4:6) corridas dos veces, obteniendo 201 mg de Zoapatanolida C pura. 30 mg de muestra se enviaron a RMN.

---

## COLECTA DE MATERIAL VEGETAL II

La planta *Montanoa tomentosa subs. tomentosa.*, fue colectada en la Ciudad Universitaria UNAM, Ciudad de México, en Marzo 2011. Es un arbusto muy ramificado de aproximadamente 1 a 3 m de altura, con flores de color blanco, hojas acorazonadas y opuestas, limbos largos, color verde oscuro con márgenes irregulares.

### Cromatografía de extracto de diclorometano colecta (2011).

#### Segunda cromatografía:

El extracto de *Montanoa* diclorometano, con un peso total de 7.93 g. se adsorbió en 24 g de gel de sílice 35/70 en una relación (1:3) y se colocó en una columna empacada con 240 g de gel de sílice en relación 1:30 con respecto al extracto. La columna se eluyó a presión ordinaria, con hexano-acetato de etilo (1:1), obteniéndose 100 fracciones de 125mL. Las fracciones se analizaron por cromatografía en capa fina analítica y se reunieron de acuerdo con sus características cromatográficas. Las fracciones obtenidas se resolvieron en sus componentes mediante cromatografías sucesivas en capa fina, seguido de la determinación del peso de cada una.

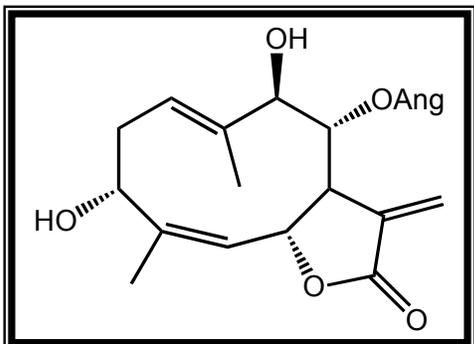
La tabla No. 4 Indica las fracciones unidas según el análisis por CCF y los metabolitos secundarios aislados a partir de las mismas.

No. Eluato	Fracciones	Peso(mg)	Sistema de elución (Hex:AcOEt)	Sustancia Identificada
1-10	<b>A</b>	-	1-1	-
11-20	<b>B</b>	-		-
21-28	<b>C</b>	-		-
29-36	<b>D</b>	707.5		Zoapatanolida C
37-40	<b>E</b>	329.4		Zoapatanolida C
41-50	<b>F</b>	367.0		Zoapatanolida C
51-60	<b>G</b>	-		-
61-71	<b>H</b>	472.0		Zoapatanolida A
72-73	<b>I</b>	60.0		Zoapatanolida A
74-100	<b>J</b>	-		-

**Tabla No. 4** Fracciones obtenidas de la CCG del extracto diclorometano hojas frescas.

---

## CONSTANTES ESPECTROSCÓPICAS DE LOS COMPUESTOS AISLADOS



### Zoapatanolida A

$C_{20} H_{26} O_6$

PM = 362 g/mol

P. f. 194-196°C

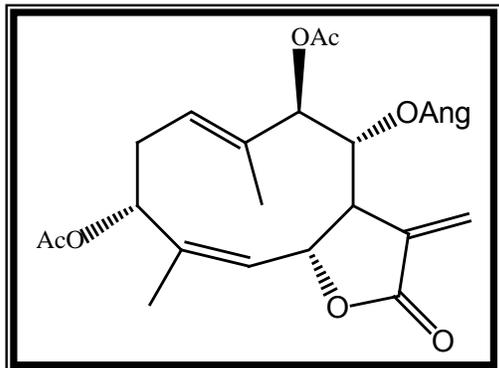
Compuesto aislado como un sólido cristalino.

**IR.**  $\nu_{max}$   $cm^{-1}$ : 3440 (OH, grupos hidroxilo), 2935 (C-H), 1770 (carbonilo de lactona), 1708 (carbonilo de angelato) y 1650 (dobles enlaces, C=C).

**E.M.** eV, m/z (%): 362 [ $M^+$ ] (0.12), 344 [ $M^+ - H_2O$ ] $^+$  (0.42), 316 [ $M - 2H_2O$ ] $^+$  (0.13), 83 [ $C_5H_7O$ ] $^+$  (100) y 55 [ $C_4H_7$ ] $^+$  (23.6).

**RMN  $^1H$** , 400MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ (ppm): 6.23 (1H, d, J= 1.6, H-13a); 6.09 (1H, cc, J= 1.6,7.2 Hz, H-3'); 5.61 (1H, sa, H-13b); 5.30 (1H, dda, J= 8.0,7.6 Hz, H-1); 5.05 (1H, da, J=10.4Hz, H-5); 4.96 (1H,dd, J= 10.0, 9.6 Hz, H-8 $\beta$ ); 4.79 (1H, da,J=10.8 H-6 $\beta$ ); 4.65 (1H, dd, J= 5.2, 11.6 Hz H-3  $\beta$ ); 4.10 (1H, d, J=9.6 Hz, H-9 $\alpha$ ); 2.79 (1H,cd, J= 1.6,10.0Hz, H-7 $\alpha$ ); 2.63 (1H, m, H-2 $\alpha$ ); 2.12 (1H, dt, J=12.4,7.6 Hz, H-2  $\beta$ ); 1.97 (3H, cd, J= 1.6, 7.2 Hz, H-4'); 1.91 (3H, q, J= 1.6Hz, H-5'); 1.88 (3H, sa, H-14); 1.78 (3H, d, J=1.2 Hz, H-15).

**RMN  $^{13}C$** , 100 MHz, $CDCl_3$   $\delta$ (ppm):169.2 (C-12); 166.6 (C-1'); 142.3 (C-4); 139.0 (C-3'); 136.2 (C-10); 134.7 (C-11); 127.3 (C-2'); 126.3 (C-13); 124.1 (C-1); 122.1 (C-5); 79.9 (C-9); 75.5 (C-6); 72.6 (C-8); 67.0 (C-3); 48.5 (C-7); 32.6 (C-2); 20.3 (C-5'); 17.5 (C-15); 15.7 (C-4'); 11.7 (C-14).



### Acetato de Zoapatanolida A

$C_{24} H_{30} O_8$

PM = 446 g/mol

Compuesto aislado como un sólido cristalino.

**IR.**  $\nu_{max}$   $cm^{-1}$ : 2935 (C-H), 1775 (carbonilo de lactona), 1735 (carbonilo de acetato), 1708 (carbonilo de angelato) y 1650 (dobles enlaces, C=C).

**E.M.** eV, m/z (%): 446  $[M^+]$  (no se observa), 387  $[M-59]^+$  (3.8), 344  $[M^+-59-43]^+$  (3.1), 83  $[C_5H_7O]^+$  (100) y 55  $[C_4H_7]^+$  (24.2), 43  $[CH_3-CO]$  (29.2).

**RMN  $^1H$** , 400MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ (ppm): 6.31(1H, d, J= 1.6, H-13a); 6.10 (1H, cc, J= 1.6,7.2 Hz, H-3'); 5.64 (1H, sa, H-13b); 5.62 (1H, dd, J= 4.8, 11.6 Hz H-3  $\beta$ ); 5.45 (1H, dda, J= 8.0,7.2 Hz, H-1); 5.35 (1H, da, J=9.6 Hz, H-9 $\alpha$ ); 5.16 (1H, da, J=10.4Hz, H-5); 5.22 (1H,dd, J= 10.0, 9.6 Hz, H-8 $\beta$ ); 4.81 (1H, da, J=10.4 H-6 $\beta$ ); 2.87 (1H,da , J=10.8Hz, H-7 $\alpha$ ); 2.75 (1H, m, H-2  $\beta$ ); 2.16 (1H, dt, J=7.2,12.4, H-2 $\alpha$ ); 2.10 (3H, s, H-2'''); 2.03 (3H,s, H-2''); 1.94 (3H, sa, H-14); 1.93 (3H, cd, J= 1.6, 7.2 Hz, H-4');1.82 (3H, q, J= 1.6Hz, H-5'); 1.79 (3H, d, J=1.6 Hz, H-15).

**RMN  $^{13}C$** , 100 MHz, $CDCl_3$   $\delta$  (ppm): 170.0 (C-1'''); 169.7 (C-1''); 168.7 (C-12); 166.0 (C-1'); 140.1 (C-3'); 136.9 (C-10); 134.2 (C-4); 133.8 (C-11); 127.5 (C-13); 126.8 (C-2'); 125.3 (C-1); 124.3 (C-5); 80.3 (C-9); 75.1 (C-6); 69.9 (C-8); 69.7 (C-3); 48.3 (C-7); 29.4 (C-2); 21.1 (C-2'''); 20.8 (C-2''); 20.2 (C-5'); 18.1 (C-15); 15.7 (C-4'); 12.5 (C-14).

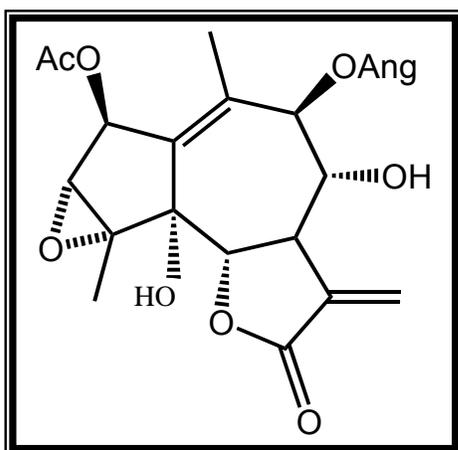
## ACETATO DE ZOAPATANOLIDA A

<sup>13</sup> C	Acoplamiento con protón
C <sub>1</sub>	H <sub>14</sub> , H <sub>2α</sub> , H <sub>2β</sub> , H <sub>9</sub> , H <sub>3</sub>
C <sub>1'</sub>	H <sub>5'</sub>
C <sub>2</sub>	-----
C <sub>2'</sub>	H <sub>5'</sub> , H <sub>4'</sub>
C <sub>3</sub>	H <sub>15</sub> , H <sub>2α</sub> , H <sub>2</sub>
C <sub>3'</sub>	H <sub>5'</sub> , H <sub>4'</sub>
C <sub>4</sub>	H <sub>14</sub> , H <sub>2α</sub>
C <sub>5</sub>	H <sub>15</sub>
C <sub>6</sub>	-----
C <sub>7</sub>	H <sub>13</sub>
C <sub>8</sub>	H <sub>7</sub> , H <sub>6</sub> , H <sub>9</sub>
C <sub>9</sub>	H <sub>1</sub> , H <sub>8</sub> , H <sub>14</sub>
C <sub>10</sub>	H <sub>2β</sub> , H <sub>15</sub>
C <sub>11</sub>	H <sub>7</sub> , H <sub>13</sub>
C <sub>12</sub>	H <sub>6</sub> , H <sub>7</sub> , H <sub>13</sub> , H <sub>13</sub>
C <sub>13</sub>	H <sub>1</sub>
C <sub>14</sub>	H <sub>1</sub> , H <sub>9</sub>
C <sub>15</sub>	H <sub>3</sub> , H <sub>5</sub>

Tabla 5. Correlaciones en el espectro **HMBC** para el acetato de zoapatanolida A

<sup>13</sup> C	protón
C <sub>1</sub> δ 125.3 ppm	δ 5.45 ppm
C <sub>2</sub> δ 29.5 ppm	δ 2.16 ppm
	δ 2.75 ppm
C <sub>3</sub> δ 69.7 ppm	δ 5.62 ppm
C <sub>5</sub> δ 124.3 ppm	δ 5.16 ppm
C <sub>6</sub> δ 75.1 ppm	δ 4.81 ppm
C <sub>7</sub> δ 48.3 ppm	δ 2.87 ppm
C <sub>8</sub> δ 69.9 ppm	δ 5.22 ppm
C <sub>9</sub> δ 80.3 ppm	δ 5.35 ppm
C <sub>13</sub> δ 127.5 ppm	δ 5.64 ppm
	δ 6.31 ppm
C <sub>14</sub> δ 12.5 ppm	δ 1.94 ppm
C <sub>15</sub> δ 18.1 ppm	δ 1.79 ppm

Tabla 6. Acoplamientos a un enlace de los carbonos del acetato de zoapatanolida A, con sus respectivos protones, observados en el espectro **HSQC**



### Zoapatanolida C

$C_{22} H_{26} O_9$

PM = 434 g/mol

P. f. 115-120°C

Compuesto aislado como un sólido cristalino.

**IR.**  $\nu_{max}$   $cm^{-1}$  (pastilla KBr): 3430 (OH, grupos hidroxilos), 2935 (C-H), 1762 (carbonilo de lactona), 1720 ( carbonilo de acetato), 1708 (carbonilo de angelato) y 1630 (dobles enlaces, C=C).

**E.M.** eV, m/z (%): 434 [ $M^+$ ] (no se observa), 256 [ $M^+$ -AngOH-AcOH- $H_2O$ ] $^+$  (1.1), 83 [ $C_5H_7O$ ] $^+$  (100) y 55 [ $C_4H_7$ ] $^+$  (25), 43 [ $CH_3-CO$ ] (9.7).

**RMN  $^1H$** , 400MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$  (ppm): 6.26 (1H, d, J=1.6 Hz, H-13a); 6.24 (1H, d, J=1.6Hz, H-13b); 6.22 (1H, cc J= 7.2, 1.6 Hz, H-3'); 6.15 (1H, da, J= 9.2 Hz, H-9); 5.64 (1H, c, J= 1.6 Hz, H-2); 3.91(2H, m, H-6,H-7); 3.84 (1H, dd, J=10.0, 9.2Hz, H-8); 3.77 (1H, d, J= 1.6 Hz, H-3); 2.13 (3H, s, H-2''); 2.04 (3H, cd, J= 7.2, 1.6 Hz, H-4'); 1.97 (3H, q, J= 1.6 Hz, H-5'); 1.67 (3H, s, H-15); 1.60 (3H, sa, H-14).

**RMN  $^{13}C$** , 100 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ (ppm): 170.8 (C-1''); 168.5 (C-12); 166.7 (C-1'); 141.1 (C-3'); 140.7 (C-10); 136.7 (C-11); 134.1 (C-1); 126.5 (C-2'); 122.9 (C-13); 79.7 (C-5); 79.5 (C-6); 73.7(C-9); 72.6 (C-2); 70.3 (C-8); 67.9 (C-4); 63.6 (C-3); 47.7 (C-7); 20.7 (C-2''); 20.5 (C-5'); 15.9 (C-15,C-4'); 15.1 (C-14).

## Zoapatanolida C

<sup>13</sup> C	Acoplamiento con protón
C <sub>1</sub> δ 134.1 ppm	H <sub>14</sub> , H <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> , H <sub>9</sub>
C <sub>1'</sub> δ 166.7 ppm	H <sub>5'</sub>
C <sub>1''</sub> δ 170.8 ppm	H <sub>2''</sub>
C <sub>2</sub> δ 72.6 ppm	H <sub>3</sub>
C <sub>2'</sub> δ 126.5 ppm	H <sub>5'</sub> , H <sub>4'</sub>
C <sub>3</sub> δ 63.6 ppm	H <sub>15</sub>
C <sub>3'</sub> δ 141.1 ppm	H <sub>5'</sub> , H <sub>4'</sub>
C <sub>4</sub> δ 67.9 ppm	H <sub>15</sub>
C <sub>5</sub> δ 79.7 ppm	H <sub>15</sub>
C <sub>7</sub> δ 47.7 ppm	H <sub>13a</sub> , H <sub>13b</sub> , H <sub>8</sub> , H <sub>9</sub>
C <sub>8</sub> δ 70.3 ppm	H <sub>7</sub> , H <sub>9</sub>
C <sub>9</sub> δ 73.7 ppm	H <sub>14</sub>
C <sub>10</sub> δ 140.7 ppm	H <sub>2</sub> , H <sub>9</sub> , H <sub>14</sub>
C <sub>11</sub> δ 136.7 ppm	H <sub>13a</sub> , H <sub>13b</sub>
C <sub>12</sub> δ 168.5 ppm	H <sub>6</sub> , H <sub>7</sub> , H <sub>13a</sub> , H <sub>13b</sub>

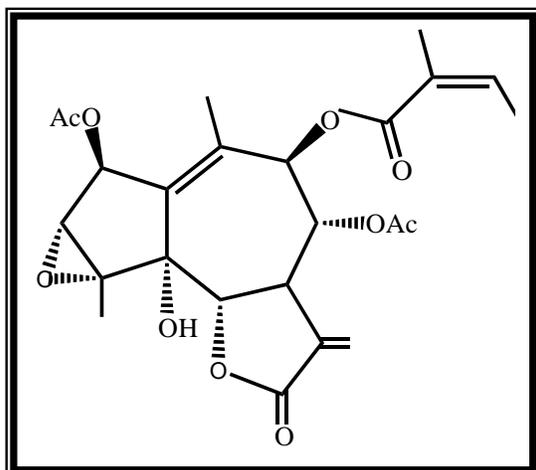
Tabla 7. Acoplamientos C-H a dos y tres enlaces en el espectro **HMBC** para la zoapatanolida C

<sup>13</sup> C	protón
C <sub>2</sub> δ 72.6 ppm	δ 5.64 ppm
C <sub>2''</sub> δ 20.7 ppm	δ 2.13 ppm
C <sub>3</sub> δ 63.6 ppm	δ 3.77 ppm
C <sub>3'</sub> δ 141.1 ppm	δ 6.22 ppm
C <sub>5'</sub> δ 20.5 ppm	δ 1.97 ppm
C <sub>6</sub> δ 79.5 ppm	δ 3.91 ppm
C <sub>7</sub> δ 47.7 ppm	δ 3.91 ppm
C <sub>8</sub> δ 70.3 ppm	δ 3.84 ppm
C <sub>9</sub> δ 73.7 ppm	δ 6.15 ppm
C <sub>13</sub> δ 123.9 ppm	δ 6.24 ppm δ 6.26 ppm
C <sub>14</sub> δ 15.1 ppm	δ 1.60 ppm
C <sub>15</sub> δ 15.9 ppm	δ 1.67 ppm
C <sub>4'</sub> δ 15.9 ppm	δ 2.04 ppm

Tabla 8. Acoplamientos a un enlace de los carbonos de la zoapatanolida C, con sus respectivos protones, observados en el espectro **HSQC**

protón	Protón con el que interacciona
H <sub>2</sub>	H <sub>3</sub> , H <sub>14</sub>
H <sub>3</sub>	H <sub>2</sub>
H <sub>9</sub>	H <sub>7</sub>

Tabla 9. Correlaciones en el espectro **NOESY** para Zoapatanolida C



### Acetato de Zoapatanolida C

C<sub>24</sub> H<sub>28</sub> O<sub>10</sub>

PM = 476 g/mol

Compuesto aislado como un líquido viscoso.

**IR.**  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>: 3440 (OH, grupo hidroxilo), 2935 (C-H), 1783 (carbonilo de lactona), 1740 ( carbonilo de acetato), 1708 (carbonilo de angelato) y 1650 (dobles enlaces, C=C).

**E.M.** eV, m/z (%): 476 [M<sup>+</sup>] (0.3), 416 [M-AcOH]<sup>+</sup> (0.1) , 376 [M- AngOH]<sup>+</sup> (0.3), 316 [M<sup>+</sup>-AngOH-AcOH]<sup>+</sup> (0.6), 83 [C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup> (100) y 55 [C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup> (16.2), 43 [CH<sub>3</sub>-CO] (12.1)

**RMN <sup>1</sup>H**, 400MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm): 6.35 (1H, da, J= 10.4 Hz, H-9); 6.20 (1H, cc J= 7.2, 1.6 Hz, H-3'); 6.19 (1H, sa, J=3.2 Hz, H-13b); 5.65 (1H, c, J= 1.6 Hz, H-2); 5.46 (1H, d, J=2.8, H-13a); 5.22 (1H, t, J=10.4, H-8); 4.11 (1H, tt, J= 3.2, 10.4, H-7); 3.96 (1H, dd, J=1.2, 10.4 Hz, H-6); 3.78 (1H, d, J= 2.0 Hz, H-3); 2.11 (3H, s, H-2''); 2.07 (1H, s, H-2'''); 2.03 (3H, cd, J= 7.2, 1.6 Hz, H-4'); 1.87 (3H, q, J= 1.6 Hz, H-5'); 1.66 (3H, sa, H-15); 1.62 (3H, sa, H-14).

**RMN  $^{13}\text{C}$** , 100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ : 170.7 (C-1''); 169.7 (C-1'''); 167.8 (C-12); 165.7 (C-1'); 141.5 (C-3'); 140.5 (C-10); 136.2 (C-11); 134.3 (C-1); 126.4(C-2'); 120.8 (C-13); 79.9 (C-6); 79.5 (C-5); 72.6 (C-2); 70.5 (C-9); 69.1 (C-8); 67.8 (C-4); 63.6 (C-3); 45.4 (C-7); 20.7 (C-2'',C-4'); 20.2 (C-5'); 15.9 (C-2'''); 15.8 (C-14); 15.0 (C-15).

### Acetato de zoapatanolida C

$^{13}\text{C}$	Acoplamiento con protón
C <sub>1</sub> $\delta$ 134.3 ppm	H <sub>14</sub> , H <sub>2</sub> , H <sub>9</sub> , H <sub>3</sub>
C <sub>1'</sub> $\delta$ 165.7 ppm	H <sub>5'</sub> , H <sub>9</sub>
C <sub>1''</sub> $\delta$ 170.7 ppm	H <sub>2</sub> , H <sub>2''</sub>
C <sub>1'''</sub> $\delta$ 169.7 ppm	H <sub>8</sub> , H <sub>2'''</sub>
C <sub>2</sub> $\delta$ 72.6 ppm	H <sub>3</sub>
C <sub>2'</sub> $\delta$ 126.4 ppm	H <sub>5'</sub> , H <sub>4'</sub>
C <sub>3</sub> $\delta$ 63.6 ppm	H <sub>15</sub>
C <sub>3'</sub> $\delta$ 141.5 ppm	H <sub>5'</sub> , H <sub>4'</sub>
C <sub>4</sub> $\delta$ 79.5 ppm	H <sub>15</sub> , H <sub>6</sub>
C <sub>5'</sub> $\delta$ 20.2 ppm	H <sub>3'</sub>
C <sub>6</sub> $\delta$ 79.9 ppm	H <sub>7</sub> , OH
C <sub>7</sub> $\delta$ 45.4 ppm	H <sub>9</sub> , H <sub>13a</sub> , H <sub>13b</sub> , H <sub>8</sub> , H <sub>6</sub>
C <sub>8</sub> $\delta$ 69.1 ppm	H <sub>7</sub> , H <sub>9</sub>
C <sub>9</sub> $\delta$ 70.5 ppm	H <sub>8</sub> , H <sub>14</sub>
C <sub>10</sub> $\delta$ 140.5 ppm	H <sub>8</sub> , H <sub>9</sub> , H <sub>14</sub>
C <sub>11</sub> $\delta$ 136.2 ppm	H <sub>7</sub> , H <sub>8</sub> , H <sub>13a</sub> , H <sub>13b</sub>
C <sub>12</sub> $\delta$ 167.8 ppm	H <sub>13a</sub> , H <sub>13b</sub>

Tabla 10. Correlaciones en el espectro **HMBC** para el acetato de zoapatanolida C

$^{13}\text{C}$	Protón
C <sub>2</sub> $\delta$ 72.6 ppm	$\delta$ 5.65 ppm
C <sub>2''</sub> $\delta$ 20.7 ppm	$\delta$ 2.11 ppm
C <sub>2'''</sub> $\delta$ 15.9 ppm	$\delta$ 2.07 ppm
C <sub>3</sub> $\delta$ 63.6 ppm	$\delta$ 3.78 ppm
C <sub>3'</sub> $\delta$ 141.5 ppm	$\delta$ 6.20 ppm
C <sub>4'</sub> $\delta$ 20.7 ppm	$\delta$ 2.03 ppm
C <sub>5'</sub> $\delta$ 20.2 ppm	$\delta$ 1.87 ppm
C <sub>6</sub> $\delta$ 79.9 ppm	$\delta$ 3.96 ppm
C <sub>7</sub> $\delta$ 45.4 ppm	$\delta$ 4.11 ppm

C <sub>8</sub> δ 69.1 ppm	δ 5.22 ppm
C <sub>9</sub> δ 70.5 ppm	δ 6.35 ppm
C <sub>13</sub> δ 120.8 ppm	δ 5.46 ppm δ 6.19 ppm
C <sub>14</sub> δ 15.8 ppm	δ 1.62 ppm
C <sub>15</sub> δ 15.0 ppm	δ 1.66 ppm

Tabla 11. Acoplamientos C-H a un enlace de los carbonos del Acetato de Zoapatanolida C, observados en el espectro **HSQC**

protón	Acoplamiento con protón
H <sub>2</sub>	H <sub>14</sub> , H <sub>9</sub> , H <sub>3</sub>
H <sub>9</sub>	H <sub>8</sub> , H <sub>2</sub> , H <sub>14</sub>
H <sub>13a</sub>	H <sub>7</sub>
H <sub>13b</sub>	H <sub>7</sub>
H <sub>8</sub>	H <sub>9</sub> , H <sub>7</sub>
H <sub>7</sub>	H <sub>13a</sub> , H <sub>13b</sub> , H <sub>8</sub> , H <sub>6</sub>
H <sub>6</sub>	H <sub>7</sub> , OH
H <sub>3</sub>	H <sub>2</sub>

Tabla 12. Correlaciones en el espectro **COSY** para el Acetato de Zoapatanolida C

protón	Interacción con protón
H <sub>2</sub>	H <sub>14</sub> , H <sub>3</sub> , H <sub>6</sub>
H <sub>9</sub>	H <sub>7</sub>
H <sub>8</sub>	H <sub>6</sub>
H <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> , H <sub>15</sub>

Tabla 13. Correlaciones en el espectro **NOESY** para el Acetato de Zoapatanolida C

## PURIFICACIÓN DE ZOAPATANOLIDA A.

De las fracciones 72 y 73, eluidas con hexano acetato de etilo (1:1) del extracto de diclorometano, se unieron, obteniéndose un peso de 85mg, los cuales se purificaron mediante cromatografía en capa fina preparativa de sílica gel de 20x10 cm y 1mm de espesor, desarrollada en una mezcla de hexano:acetato de etilo 6:4, 2 veces. Obteniéndose así un peso final de 53.5mg de Zoapatanolida A como un sólido blanco.

---

### **ACETILACIÓN DE ZOAPATANOLIDA A.**

La Zoapatanolida A obtenida anteriormente, con un peso total de 53.5mg se le adicionaron 0.5 mL de piridina y 0.5mL de anhídrido acético respectivamente, dejándose reaccionar a temperatura de 35°C, durante 1hr, concluida la reacción se eliminó el exceso de anhídrido acético y piridina al alto vació con una bomba mecánica. El producto obtenido se purifico mediante cromatografía en capa fina preparativa de sílica gel 60 - F<sub>254</sub> de 1mm de espesor, utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo a una proporción 7:3. Obteniendo así un peso final de 35.9mg de Acetato de zoapatanolida A. Una muestra de 25.0 mg se envió al laboratorio de RMN para obtener sus espectros de RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C.

### **PURIFICACIÓN DE ZOAPATANOLIDA C.**

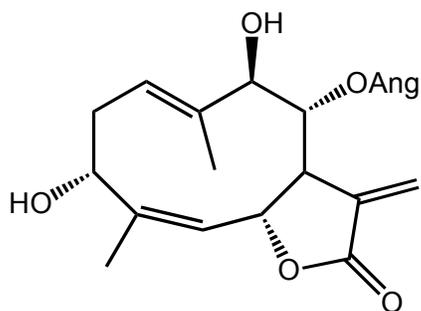
Se pesaron aproximadamente 160mg de zoapatanolida C impura, la cual se aplicó en dos cromatoplaqa preparativa de 10 por 20cm y 1.0 mm de espesor desarrollando las cromatoplaqa con una mezcla de hexano-acetato de etilo (6:4) 2 veces, después se dejan secar, se raspan, se trituran colocando el polvo en una columna de vidrio con algodón a la cual se le hizo pasar 100mL de una mezcla de diclorometano-acetona (1:1), se evapora el disolvente y se pesa. Obteniéndose un peso final de 64.6mg de zoapatanolida C pura.

### **ACETILACION DE ZOAPATANOLIDA C**

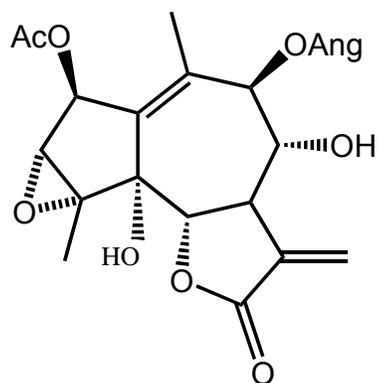
La zoapatanolida C purificada anteriormente (64.6mg), se disolvieron en 0.5 mL de piridina y posteriormente se adicionaron 0.5 mL de anhídrido acético, dejándose reaccionar a temperatura de 35°C durante 1hr, concluida la reacción se eliminó el exceso de anhídrido acético y piridina al alto vació con una bomba mecánica. El producto obtenido se purifico mediante cromatografía en capa fina preparativa de sílica gel 60 - F<sub>254</sub> de 1mm de espesor, utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo a una proporción 7:3. Obteniendo así un peso final de 36.2mg de Acetato de zoapatanolida C. La muestra se envió al laboratorio RMN para obtener sus espectros de RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C.

---

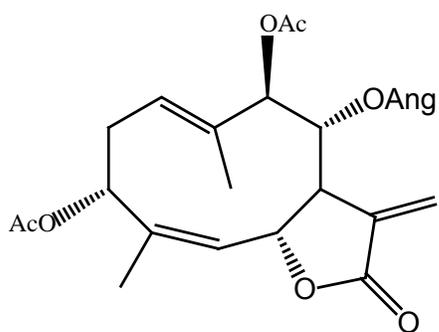
## ESTRUCTURAS DE LOS COMPUESTOS AISLADOS Y SINTETIZADOS



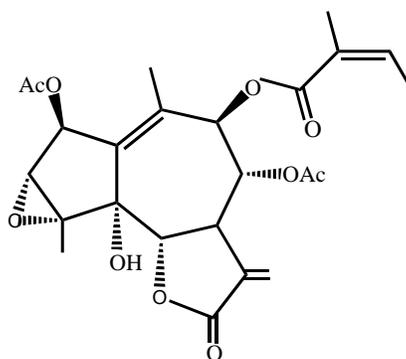
Zoapatanolida A (1)



Zoapatanolida C (3)



Acetato de Zoapatanolida A (2)



Acetato de Zoapatanolida C (4)

---

# **DISCUSION DE RESULTADOS**

---

## ZOAPATANOLIDA A (1).

De las fracciones H e I, de la cromatografía del extracto de diclorometano de la segunda colecta y posterior purificación por CCF, se aisló un sólido cristalino (1) con un p.f. de 194-196 °C, su espectro de IR muestra una banda ancha en 3440  $\text{cm}^{-1}$  característica para grupos hidroxilo, mientras que las bandas en 1770 y 1708  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a carbonilos de una lactona y de un ester no saturado respectivamente. En su espectro de masas presenta un ión molecular de  $m/z$  362  $[\text{M}^+]$ , el cual está de acuerdo con una fórmula molecular de  $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_6$ , además se observan fragmentos en  $m/z$  344  $[\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}]^+$  y 316  $[\text{M}-2\text{H}_2\text{O}]^+$  confirmando la presencia de grupos hidroxilo en la molécula. Los fragmentos en  $m/z$  83  $[\text{C}_5\text{H}_7\text{O}]^+$  (pico base) y 55  $[\text{C}_4\text{H}_7]^+$  son característicos de un ester  $\alpha,\beta$  no saturado de 5 átomos de carbono.

Su espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro No.2) exhibe señales en  $\delta$  6.09 (1H, c,c,  $J=7.2, 1.6$  Hz, H-3'),  $\delta$  1.97 (3H, cd,  $J=7.2, 1.6$  Hz, H-4'), y en  $\delta$  1.91 (3H, q,  $J=1.6$  Hz, H-5') características de un grupo angelato en la molécula, además muestra señales típicas para un metileno exocíclico de una  $\gamma$ -lactona en  $\delta$  6.23 (1H, d,  $J=1.6$  Hz, H-13a) y  $\delta$  5.61 (1H, sa, H-13b). El espectro de RMN  $^1\text{H}$  presenta a campo bajo señales para 2 protones vinílicos en  $\delta$  5.30 (1H, dda,  $J=8.0, 7.6$  Hz, H-1) y en  $\delta$  5.05 (1H, da,  $J=10.4$  Hz, H-5), un protón base de un ester en  $\delta$  4.96 (1H, dd,  $J=10.0, 9.6$  Hz, H-8 $\beta$ ) y dos señales en  $\delta$  4.65 (1H, dd,  $J=5.2, 11.6$  Hz H-3  $\beta$ ) y en  $\delta$  4.10 (1H, d,  $J=9.6$  Hz, H-9 $\alpha$ ) asignadas a los protones base de dos grupos hidroxilo secundarios. Finalmente dos señales a campo alto en  $\delta$  1.88 (3H, sa, H-14) y 1.78 (3H, d,  $J=1.2$  Hz, H-15) que corresponden a dos metilos vinílicos. La presencia de dos protones vinílicos y dos metilos vinílicos en el espectro de espectro de RMN  $^1\text{H}$ , dan evidencia de dos dobles enlaces trisustituidos en la molécula de **1**. La información obtenida del espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **1**, se resume en que la molécula contiene un grupo angelato, una  $\gamma$ -lactona con un metileno exocíclico, dos grupos hidroxilo secundarios y dos dobles enlaces trisustituidos.

El espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (espectro 1), mostró 20 señales que corresponden a 20 átomos de carbono. Los espectros DEPT-135 y DEPT-90 mostraron que la

---

molécula contiene 2 metilenos, 8 metinos 4 metilos y de acuerdo al espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , los 6 carbonos restantes son carbonos no protonados. Los datos de RMN  $^1\text{H}$  de del compuesto **1**, coinciden con los reportados para la lactona Zoapatanolida A, aislada previamente de *Montanoa tomentosa subs. tomentosa*, pero los datos se determinaron a campo bajo de 80 MHz, la asignación de total de los desplazamientos de  $^1\text{H}$  y C-13, lo cuales no se ha publicado y se llevó a cabo por comparación con los datos obtenidos del acetato de Zoapatanolida A.

### **ACETATO DE ZOAPATANOLIDA A (2).**

La reacción de la zoapatanolida A, con anhídrido acético en piridina dio el correspondiente acetato, el cual mostró en su espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro No. 3) dos nuevas señales a campo alto en  $\delta$  2.03 (3H, s, H-2'') y  $\delta$  2.10 (3H,s, H-2'''), confirmando la formación de dos grupos acetato. Además las señales para los protones base de los hidroxilos secundarios que aparecen en  $\delta$  4.65 ppm (H-3 $\beta$ ) y en  $\delta$  4.10 ppm (H-9 $\alpha$ ) en la zoapatanolida A, sufren un fuerte desplazamiento a campo bajo en el acetato, observándose ahora en  $\delta$  5.62 ppm para H-3 $\beta$  y en  $\delta$  5.35 ppm para H-9 $\alpha$ , debido a la acetilación de los grupos hidroxilo en C-3 y C-8 de la zoapatanolida A.

El espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , del acetato de zoapatanolida A (espectro 11), exhibe 24 señales para 24 átomos de carbono; 4 señales más que las que presenta el espectro de la zoapatanolida A, confirmado la presencia de dos grupos acetato. Las nuevas señales en  $\delta$  169.7(C-1'') y  $\delta$  170.0 (C-1''') son asignadas a los dos carbonos de los grupos carbonilo y las señales en  $\delta$  20.8 (C-2'') y en  $\delta$  21.1 (C-2''') corresponden a los metilos de los grupos acetilo.

La asignación de total de los desplazamientos de  $^1\text{H}$  y C-13, la cual no se ha publicado se llevo a cabo de la manera siguiente: Los desplazamiento de los carbonos protonados se determinó en base al espectro HSQC y se resumen en la tabla 6. Para la asignación de los carbonos no protonados se utilizó el espectro de HMBC (espectro 10) el cual muestra los acoplamiento C-H a dos y tres enlaces, estos se resumen en la tabla 5, mediante los cuales fue posible asignar sin

---

ambigüedad los carbonos C-4, C-10, C-11, C-12, C-1' y C-2' de la zoapatanolida A.

### ZOAPATANOLIDA C (3).

De la cromatografía de los extractos de diclorometano y posterior purificación por CCG de las colectas se aisló un sólido cristalino (**3**) con un p.f. de 115-120 °C, su espectro de IR muestra una banda ancha en 3430 cm<sup>-1</sup> característica para grupos hidroxilo, mientras que las bandas en 1775, 1735 y 1708 cm<sup>-1</sup> corresponden a carbonilos de lactona, ester saturado y ester no saturado respectivamente. En su espectro de masas se observan fragmentos en m/z 387 y m/z 43 que sugieren la presencia de un acetato en la molécula, mientras que los fragmentos en m/z 83 (pico base) y m/z 55 indican la presencia de un ester de 5 átomos de carbono no saturado. Su espectro de RMN <sup>1</sup>H (espectro No. 13) exhibe señales en δ 6.22 (1H, cc, J= 7.2, 1.6 Hz, H-3'), δ 2.04 (3H, cd, J= 7.2, 1.6 Hz, H-4'), y en δ 1.97 (3H, q, J= 1.6 Hz, H-5') confirmando la presencia de un angelato en la molécula, además muestra señales típicas para un metileno exocíclico de una γ-lactona en δ 6.26 (1H, d, J=1.6 Hz, H-13a) y δ 6.24 (1H, d, J=1.6Hz, H-13b). El espectro de RMN <sup>1</sup>H presenta a campo bajo señales para protones base de esteres en δ 6.15 (1H, da, J= 9.2 Hz, H-9) en δ 5.64 (1H, c, J= 1.6 Hz, H-2) y una señal característica para un protón base de un hidroxilo secundario en δ 3.84 (1H, dd, J=10.0, 9.2Hz, H-8). A campo alto la lactona (**3**), exhibe señales para dos metilos en δ 1.67 (3H, s, H-15) y en δ 1.60 (3H, sa, H-14). La presencia de un epóxido en la molécula se infiere de la señal en δ 3.77 (1H, d, J= 1.6 Hz, H-3) y la señal en δ 2.13 (3H, s, H-2'') confirma la presencia de un grupo acetato. La información obtenida del espectro de RMN <sup>1</sup>H de **3**, se resume en que la molécula contiene un grupo epóxido, un grupo angelato, un grupo acetato, una γ-lactona con un metileno exocíclico y dos grupos metilo uno de ellos vinílico.

El espectro de RMN de <sup>13</sup>C (espectro 17), mostró 21 señales que corresponden a 22 átomos de carbono. De acuerdo a los espectros DEPT-135 (espectro 15) y DEPT-90 (espectro 18) la molécula contiene un metileno, 7 metinos y 5 metilos.

---

Los 9 carbonos restantes son carbonos no protonados y las señales se muestran en el espectro en el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ .

Los datos de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto **3**, están de acuerdo con los reportados para la lactona Zoapatanolida C, aislada previamente de *Montanoa tomentosa subs. tomentosa*, pero los datos se determinaron a campo bajo de 80 MHz, la asignación de total de los desplazamientos de  $^1\text{H}$  y C-13, la cual no se ha publicado se llevo a cabo de la manera siguiente: Los desplazamiento de los carbonos protonados se determinó en base al espectro HSQC (espectro 14) y se resumen en la tabla 8. Para la asignación de los carbonos no protonados se utilizó el espectro de HMBC, el cual muestra los acoplamiento C-H a dos y tres enlaces, estos se resumen en la tabla 7, mediante los cuales fue posible asignar sin ambigüedad los carbonos C-1, C-3, C-4, C-10, C-11, C-12, C-1, C-1'' y C-2''' de la zoapatanolida C.

#### **ACETATO DE ZOAPATANOLIDA C (4).**

La reacción de la zoapatanolida C, con anhídrido acético en piridina dio el correspondiente acetato, el cual mostró en su espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro No. 20) una nueva señal en  $\delta$  2.07 (1H, s, H-2'''), confirmando la formación de un nuevo grupo acetato. Además se observó que el protón H-8 en  $\delta$  3.84 ppm en la zoapatanolida C, sufrió un fuerte desplazamiento a campo bajo, el cual se encuentra en  $\delta$  5.22 ppm debido a la acetilación del grupo hidroxilo en C-8. El espectro de RMN  $^1\text{H}$  del acetato **4**, muestra además que las señales para los protones H-6 y H-7 que se encontraban encimadas, ahora se observan en  $\delta$  3.96 (1H, dd, J=1.2, 10.4Hz, H-6) y  $\delta$  4.11 (1H, tt, J= 3.2,10.4, H-7) respectivamente. La asignación total de los carbonos protonados se determinó mediante el espectro HSQC (espectro No.26) esto se resume en la tabla 11, y para los carbonos no protonados se utilizó la información proporcionada por el espectro HMBC del acetato de zoapatanolida C, se resume en la tabla 10 . De esta manera se llevó a cabo la asignación total de los desplazamientos de C-13 de la molécula del acetato de Zoapatanolida C.

---

## **PRUEBAS BIOLÓGICAS: GERMINACIÓN Y DESARROLLO DE PLÁNTULA.**

En los estudios realizados para evaluar la actividad alelopática de las lactonas aisladas, se evaluaron los siguientes parámetros en las semillas de pasto (*Lolium multiflorum*) y amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*): germinación, elongación de raíz y elongación de tallo. Los resultados obtenidos son los promedios de los ensayos realizados por triplicado. Los valores reportados se dan en % con respecto al control.

### **Efecto de Zoapatanolida A en la germinación, elongación del tallo y raíz de pasto (*Lolium multiflorum*).**

Las graficas 1 y 2 presentan el efecto en la germinación de semillas de pasto por la zoapatanolida A, la cual a una concentración 600  $\mu\text{M}$ , exhibe un 47 % de inhibición, pero a una concentración mayor de 1000  $\mu\text{M}$ , la actividad inhibitoria baja a un 20 %, estos resultados indican que la zoapatanolida A, muestra un efecto variable dependiente de la concentración.

Las graficas 3 y 4 presentan el efecto en el crecimiento de raíz de pasto por la zoapatanolida A, la cual a una concentración de 400  $\mu\text{M}$ , inhibe el crecimiento de la raíz en un 17 %, mientras que a una concentración de 800  $\mu\text{M}$ , aumenta el crecimiento en un 41 %.

Los resultados indican que el efecto de la zoapatanolida A en la elongación de raíz varia con la concentración ensayada. A bajas concentraciones actúa como inhibidor y a altas concentraciones actúa como regulador.

Las graficas 5 y 6 presentan el efecto en el crecimiento del tallo de pasto por la zoapatanolida A, la cual a una concentración de 400  $\mu\text{M}$ , inhibe el crecimiento del tallo en un 8.2 %, mientras que a una concentración de 600  $\mu\text{M}$ , aumenta el crecimiento en un 8.9 %. Los resultados indican que el efecto de la zoapatanolida A en la elongación de tallo varia con la concentración ensayada, presentando efectos poco significativos.

---

### **Efecto de Zoapatanolida A en la germinación, elongación del tallo y raíz de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*).**

Las graficas 7 y 8 presentan el efecto en la germinación de semillas de amaranto por la zoapatanolida A, la cual a una concentración 400  $\mu\text{M}$ , exhibe un 19 % de inhibición, pero a concentraciones mayores (800  $\mu\text{M}$ ) este efecto disminuye a un 12% de inhibición aproximadamente, estos resultados indican que la zoapatanolida A presenta un efecto poco significativo en la germinación de semillas de amaranto y que su efecto varia con la concentración.

Las graficas 9 y 10 presentan el efecto en el crecimiento de raíz de amaranto por la zoapatanolida A, la cual a una concentración de 500  $\mu\text{M}$  y 800  $\mu\text{M}$  inhibe el crecimiento de la raíz en 2.3 y 2.5 % respectivamente, mientras que a una concentración de 600  $\mu\text{M}$ , presenta el máximo de crecimiento de 4.4%. Efectos poco significativos y muy variables de la zoapatanolida A en el crecimiento de la raíz de amaranto.

Las graficas 11 y 12 presentan el efecto en el crecimiento del tallo de amaranto por la zoapatanolida A, la cual a una concentración de 500  $\mu\text{M}$ , inhibe el crecimiento de la tallo en un 9.0 %, mientras que a una concentración de 800  $\mu\text{M}$ , aumenta el crecimiento en un 9.5 %, los resultados indican que los efectos en la elongación del tallo por la zoapatanolida A, son poco significativos, pero más fuertes que los observados para la raíz.

### **Actividad de la Zoapatanolida A**

Las semillas de amaranto mostraron ser más resistentes que las del pasto, puesto que la zoapatanolida A inhibió la germinación de amaranto solamente un 12 % a una concentración de 600  $\mu\text{M}$ , mientras que a la misma concentración, inhibió la germinación de pasto en un 47 %. Por lo tanto la zoapatanolida A afecta la

---

germinación de pasto significativamente, a concentraciones de 600  $\mu\text{M}$  pero esta actividad disminuye al aumentar la concentración.

La actividad de la zoapatanolida A en la elongación de raíz y tallo de la plántula de amaranto no fue significativa, ya que el % de inhibición encontrado en la raíz a las concentraciones probadas fue de alrededor del 2 % y para el tallo el % máximo de inhibición fue de 9% a 500  $\mu\text{M}$ .

La zoapatanolida A, mostró un fuerte efecto regulador de 41%, en la raíz de pasto a una concentración 800  $\mu\text{M}$  pero a una concentración menor (400  $\mu\text{M}$ ) inhibe el crecimiento de la raíz en un 17%. El efecto en la elongación del tallo de amaranto por la zoapatanolida A, no fue significativo a las concentraciones probadas, mostrando un máximo de inhibición de 9%.

La zoapatanolida a, inhibe de forma significativa la germinación de pasto pero no las de amaranto. La plántula de pasto resulto más sensible a la acción de la zoapatanolida a que la plántula de amaranto, pero su efecto inhibitor como regulador no fue significativo.

### **Efecto de la zoapatanolida C en la germinación y elongación del tallo y raíz de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*)**

Las graficas 13 y 14 presentan el efecto en la germinación de semillas de amaranto por la zoapatanolida C, la cual a una concentración 500  $\mu\text{M}$ , exhibe un 31 % de inhibición, pero a una concentración mayor de 800  $\mu\text{M}$ , la actividad inhibitoria baja a un 18 %, estos resultados indican que la zoapatanolida C, muestra un efecto de inhibición significativo a una concentración de 500  $\mu\text{M}$ .

Las graficas 15 y 16 presentan el efecto en el crecimiento de raíz de amaranto por la zoapatanolida C, la cual a una concentración de 400  $\mu\text{M}$  aumenta el crecimiento en un 28%, a concentraciones mayores disminuye su efecto a casi 0% y a una concentración de 800  $\mu\text{M}$ , inhibe el crecimiento de la raíz en un 18%. Los resultados muestran que a una concentración de 400  $\mu\text{M}$ , la zoapatanolida C

---

actúa como hormona de crecimiento pero a una concentración de 800  $\mu\text{M}$  inhibe el crecimiento de la raíz.

Las graficas 17 y 18 presentan el efecto en el crecimiento del tallo de amaranto por la zoapatanolida C, la cual a una concentración de 600  $\mu\text{M}$ , inhibe el crecimiento de la tallo en un 9.0 %, mientras que a una concentración de 800  $\mu\text{M}$ , solo inhibió un 1.3 % el tallo de amaranto. Los resultados indican que los efectos en la elongación del tallo por la zoapatanolida C, son poco significativos.

**Efecto de la zoapatanolida C en la germinación y elongación del tallo y raíz de pasto ( *Lolium multiflorum*).**

Las graficas 19 y 20 presentan el efecto en la germinación de semillas de pasto por la zoapatanolida C, la cual a una concentración 800  $\mu\text{M}$ , exhibe un máximo de inhibición de un 31 %, pero a una concentración de 1000  $\mu\text{M}$  la actividad inhibitoria baja a un 1.8 %, estos resultados indican que la zoapatanolida C, muestra un efecto de inhibición significativo en la germinación de la semilla de pasto a una concentración de 800  $\mu\text{M}$ .

Las graficas 21 y 22 presentan el efecto en el crecimiento de raíz de pasto por la zoapatanolida C, la cual a concentraciones menores de 800  $\mu\text{M}$ , su efecto inhibitorio o de crecimiento no es significativo, pero presenta un fuerte inhibición del 55 % a una concentración de 1000  $\mu\text{M}$ . Un efecto significativo que no presenta la zoapatanolida A.

Las graficas 23 y 24 presentan el efecto en la elongación del tallo de pasto por la zoapatanolida C, la cual a una concentración de 600  $\mu\text{M}$ , exhibe un aumento en el crecimiento significativo del tallo de 34 %, mientras que a una concentración de 1000  $\mu\text{M}$ , inhibe el crecimiento del tallo en un 12.4%. Los resultados indican que la zoapatanolida C, inhibe de forma significativa la raíz de pasto pero aumenta significativamente la elongación del tallo de pasto.

---

### **Actividad de la zoapatanolida C**

La zoapatanolida C, inhibió la germinación de las semillas de pasto y amaranto de manera significativa, para pasto el máximo efecto inhibitorio ( 31%) se presentó a una concentración de 800  $\mu\text{M}$ , mientras que para el amaranto fue de 31 % a una concentración de 500  $\mu\text{M}$  y de 18% a una concentración de 800  $\mu\text{M}$ . Por lo que la semilla de amaranto fue más sensible a la zoapatanolida C.

La actividad de la zoapatanolida C en la elongación de raíz y tallo de pasto mostró ser significativa, pero su efecto fue diferente ya que en raíz presentó un efecto fuertemente inhibitorio de 55% a una concentración 1000  $\mu\text{M}$ , mientras que para tallo exhibió un efecto regulador de 34% a una concentración 600  $\mu\text{M}$ .

La zoapatanolida C, mostró un efecto regulador en la raíz y tallo de amaranto, siendo este efecto significativo en la raíz, ya que mostró un 28% de crecimiento a una concentración de 400  $\mu\text{M}$ . El efecto regulador en tallo de la zoapatanolida C, no fue significativo.

### **Efecto del acetato de zoapatanolida A en la germinación y elongación del tallo y raíz de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*).**

Las graficas 25 y 26 presentan el efecto en la germinación de semillas de amaranto por el acetato de zoapatanolida A, la cual a concentraciones menores de 400  $\mu\text{M}$  no presenta inhibición de la germinación, pero a una concentración de 600  $\mu\text{M}$ , presenta una fuerte inhibición del 71 %, la cual no aumenta a una concentración 800  $\mu\text{M}$ . Estos resultados indican que el acetato de zoapatanolida A, inhibe la germinación de amaranto en mayor proporción que la zoapatanolida A y la zoapatanolida C a la misma concentración.

Las graficas 27 y 28 presentan el efecto en el crecimiento de raíz de amaranto por el acetato de zoapatanolida A, la cual a una concentración de 400  $\mu\text{M}$ , muestra un efecto regulador de 17%, mientras que a una concentración de 600  $\mu\text{M}$  exhibe una inhibición de 25%, la cual disminuye 3.4% al aumentar la concentración a 800  $\mu\text{M}$ . Estos resultados indican que el acetato de zoapatanolida A, presenta un

---

efecto inhibitor y regulador de la elongación de la raíz de amaranto, dependiente de la concentración.

Las graficas 29 y 30 presentan el efecto en el crecimiento del tallo de amaranto por el acetato de zoapatanolida A, la cual a concentraciones menores de 600  $\mu\text{M}$ , presenta poca actividad inhibitoria, pero a concentraciones de 600  $\mu\text{M}$  y 800  $\mu\text{M}$ , presenta una inhibición de la elongación del tallo de 54% y 53 % respectivamente.

Estos resultados indican que el tallo de amaranto es más sensible que la raíz, frente al acetato de zoapatanolida A.

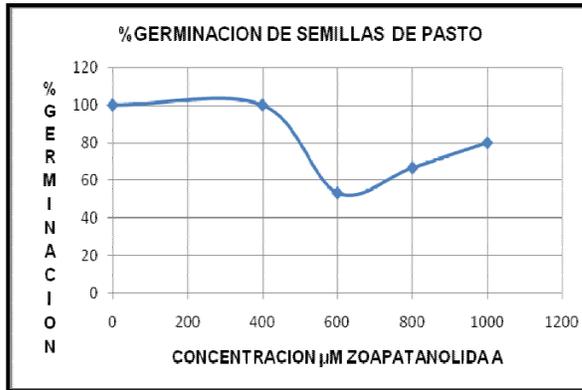
#### **Actividad del acetato de zoapatanolida A en amaranto.**

La actividad del acetato de zoapatanolida A en la inhibición de la germinación de amaranto es 6 veces más activa que la zoapatanolida A y 3.5 veces más activa que la zoapatanolida C, a la misma concentración.

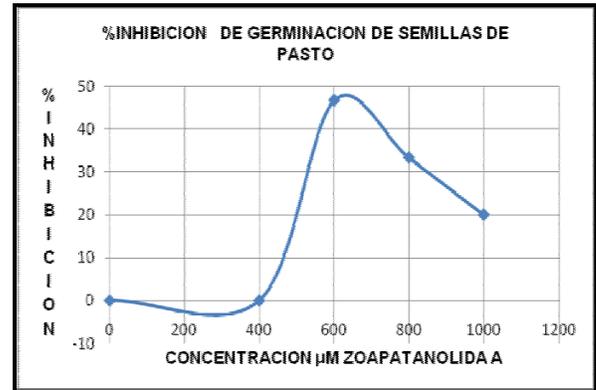
La actividad del acetato de zoapatanolida A en la elongación de la raíz de amaranto es inhibitoria, mientras que la actividad de la zoapatanolida A y la zoapatanolida C, es ligeramente reguladora.

El acetato de zoapatanolida A en la elongación de la tallo de amaranto muestra una fuerte actividad inhibitoria a 600  $\mu\text{M}$ , mientras que la actividad de la zoapatanolida A es solo de 5% a la misma concentración. En cambio la zoapatanolida C muestra una actividad es ligeramente reguladora (9%) a la misma concentración.

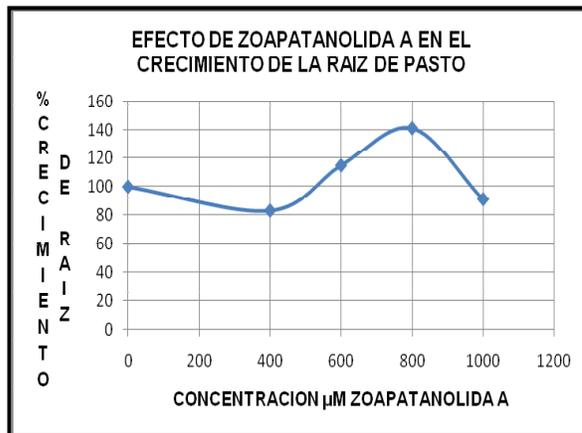
## GRÁFICAS Zoapatanolida A Pasto



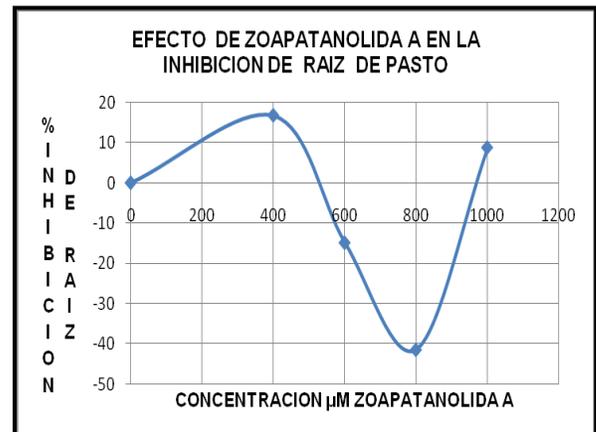
gráfica 1



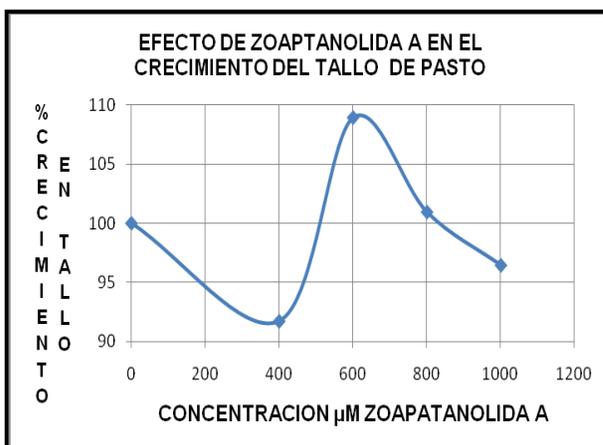
gráfica 2



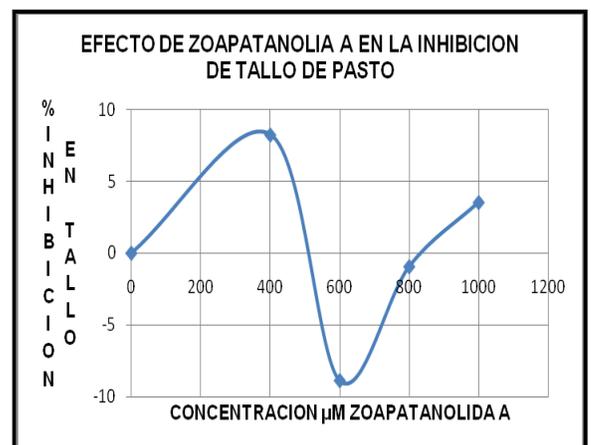
gráfica 3



gráfica 4

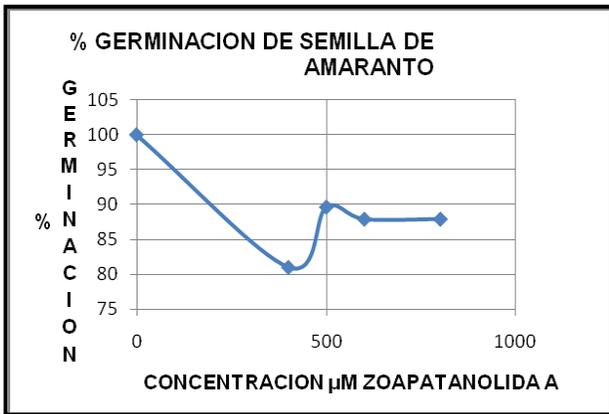


gráfica 5

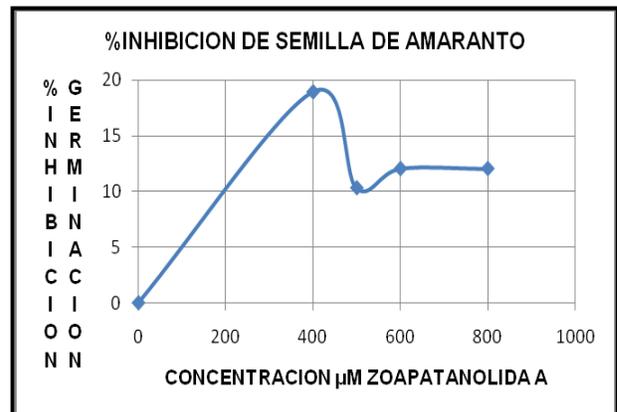


gráfica 6

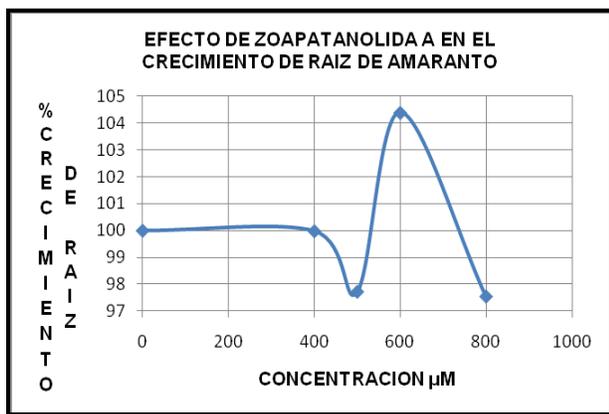
## Zoapatanolida A Amaranto



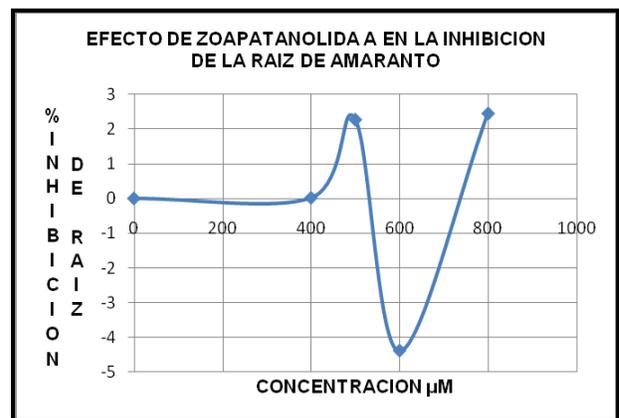
gráfica 7



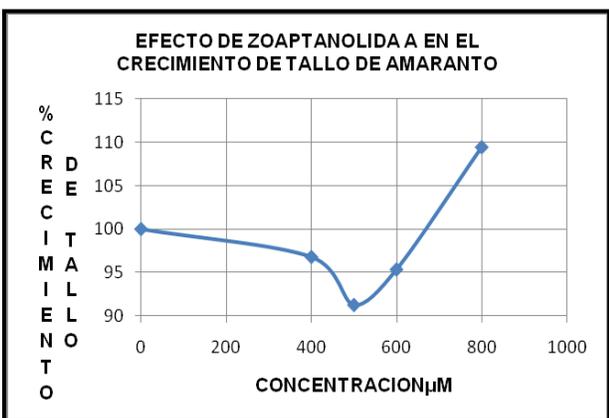
gráfica 8



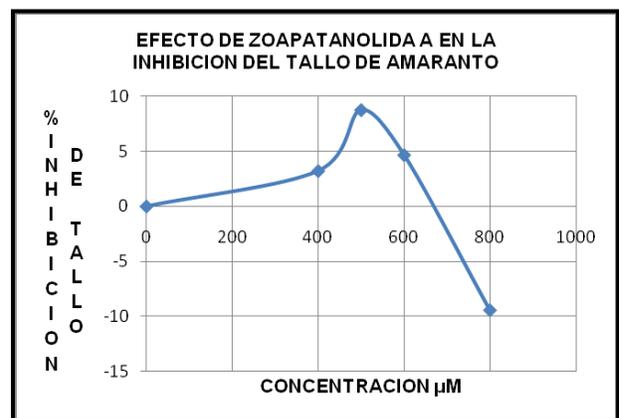
gráfica 9



gráfica 10

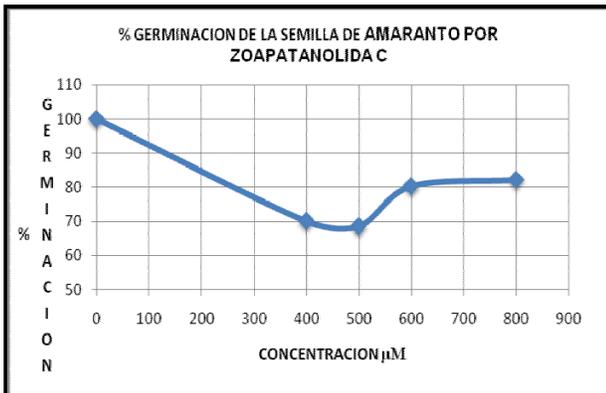


gráfica 11

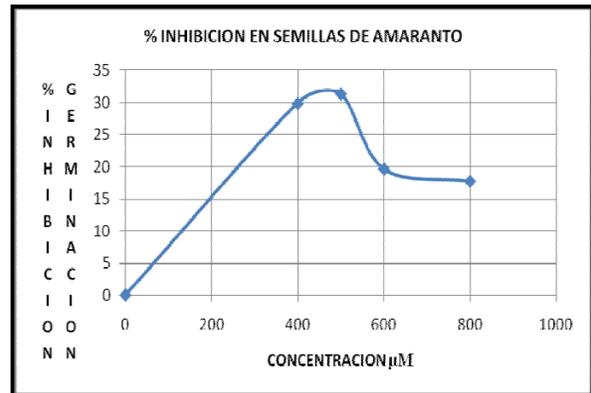


gráfica 12

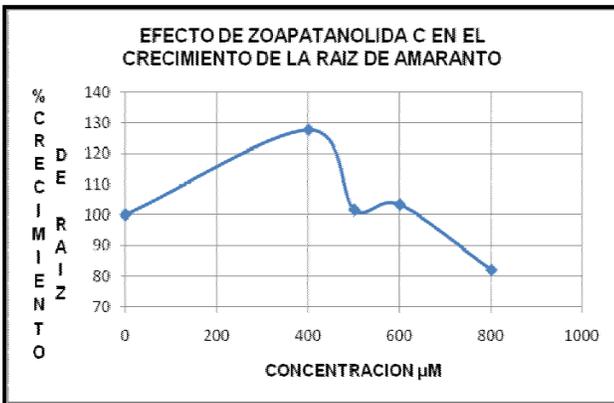
## Zoapatanolida C Amaranto



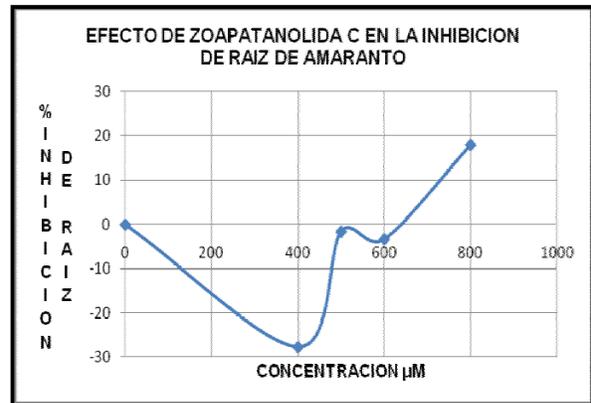
gráfica 13



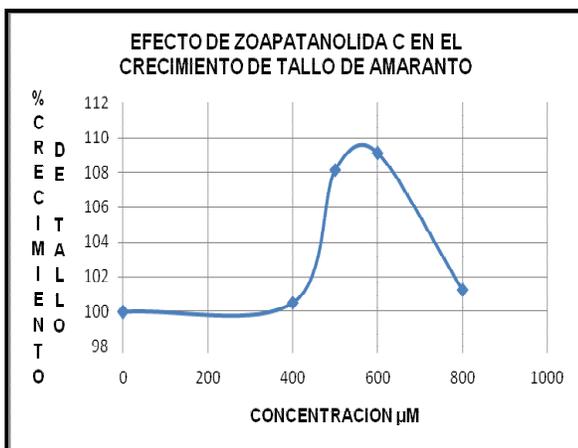
gráfica 14



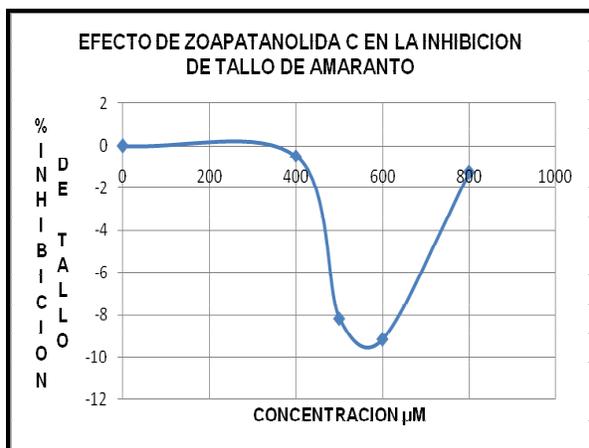
gráfica 15



gráfica 16

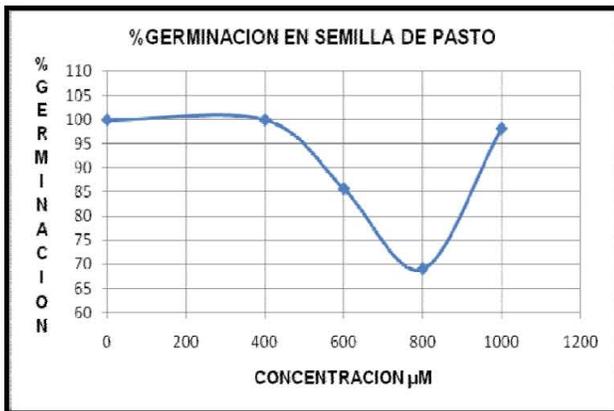


gráfica 17

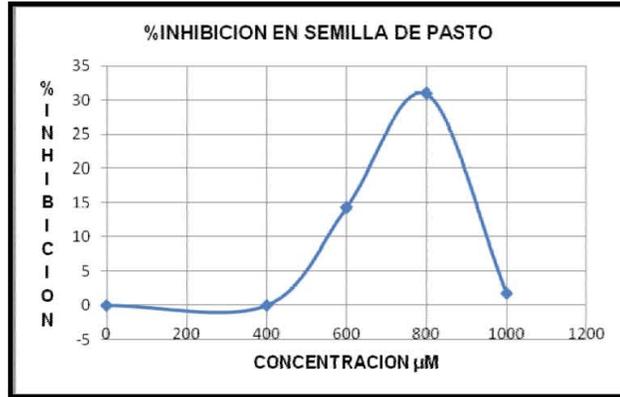


gráfica 18

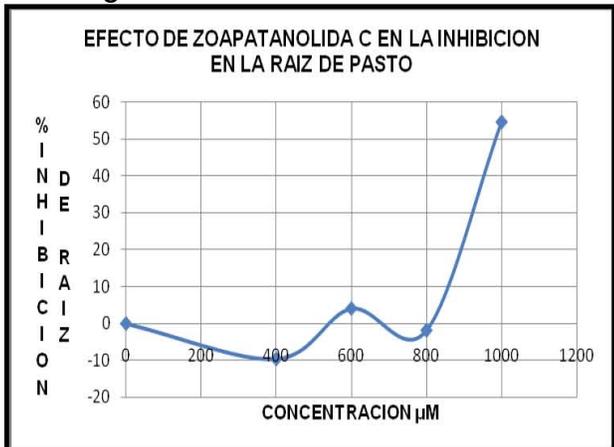
## Zoapatanolida C Pasto



gráfica 19



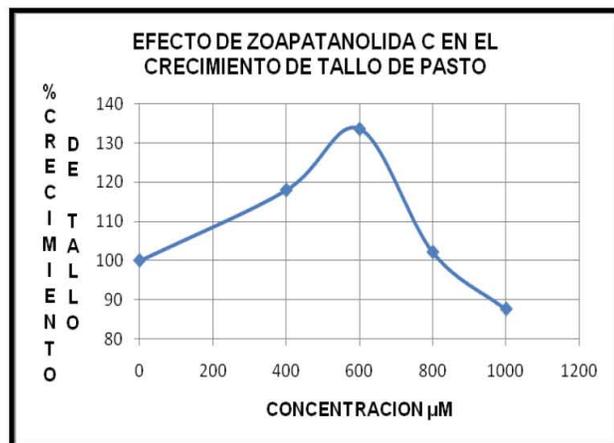
gráfica 20



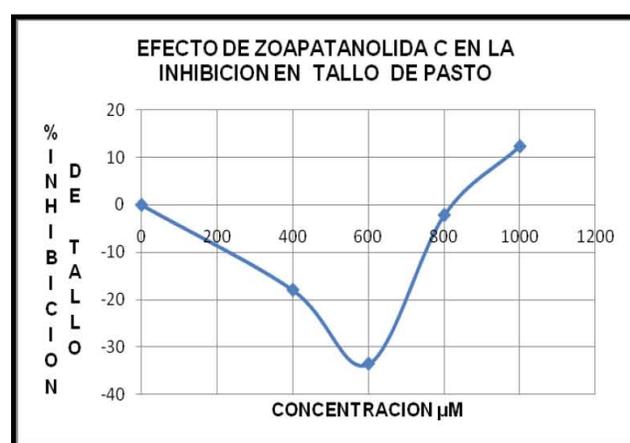
gráfica 21



gráfica 22

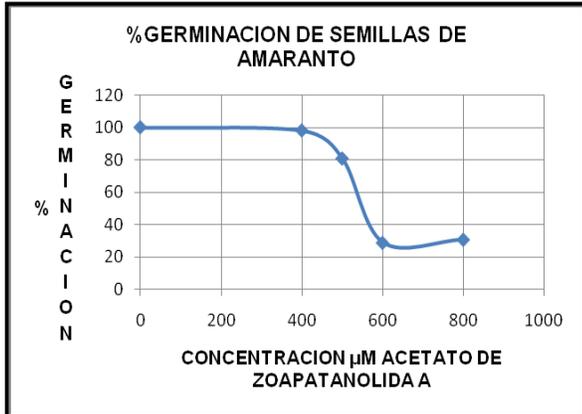


gráfica 23

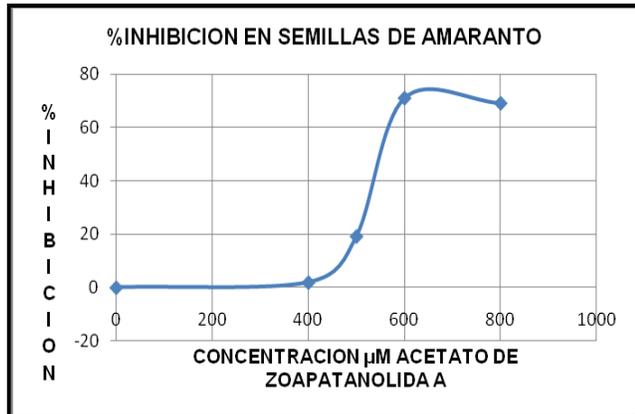


gráfica 24

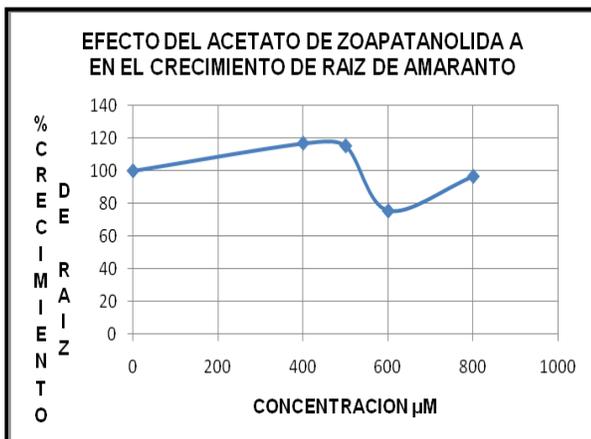
## Acetato de Zoapatanolida A



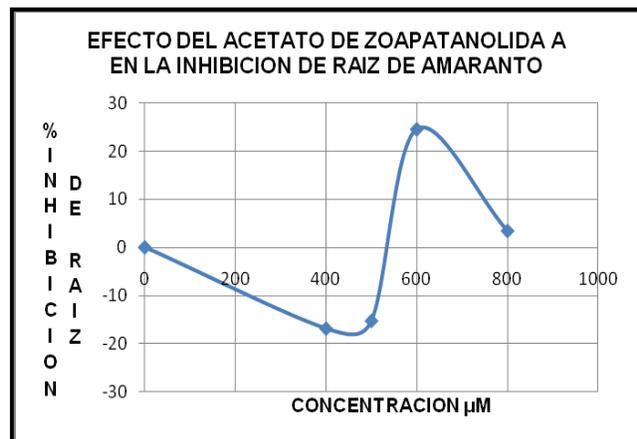
gráfica 25



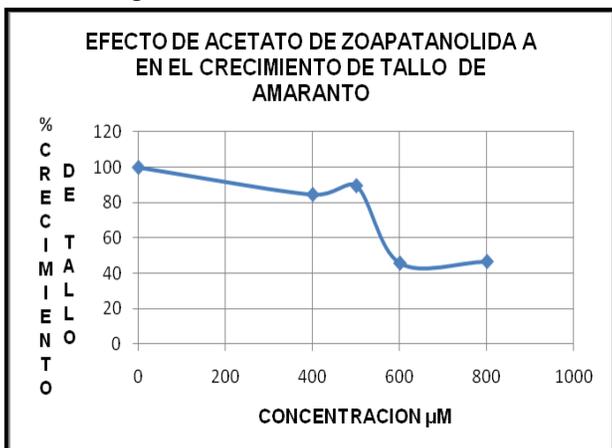
gráfica 26



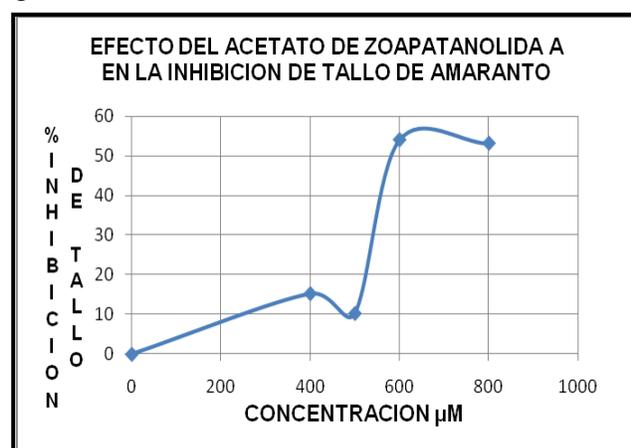
gráfica 27



gráfica 28



gráfica 29



gráfica 30

---

# CONCLUSIONES

---

1.-Se aislaron dos lactonas sesquiterpénicas de los extractos de diclorometano de *Montanoa tomentosa sub. tomentosa* que se identificaron como zoapatanolida A y zoapatanolida C, a las cuales se les determinó la asignación total de sus desplazamientos químicos de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , utilizando técnicas mono y bidimensionales como COSY, NOESY, DEPT, HSQC Y HMBC.

2.- Se obtuvieron los acetatos de la zoapatanolida A y zoapatanolida C y se les determinó su asignación total de los desplazamientos químicos de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , utilizando técnicas mono y bidimensionales como COSY, NOESY, DEPT, HSQC Y HMBC.

3.- Se llevo a cabo la actividad de las lactonas y sus derivados en la germinación y elongación de la raíz y tallo de dos semillas mono y dicotiledóneas *Lolium multiflorum* (pasto) y *Amaranthus hypochondriacus* (amaranto).

4.- De las tres lactonas ensayadas, el acetato de zoapatanolida A, resultó ser la más activa en la inhibición de la germinación y elongación de la raíz y tallo de amaranto (semilla dicotiledónea).

5.- La zoapatanolida A fue más activa que la zoapatanolida C en la germinación de la semilla de pasto. En cambio en la semilla de amaranto la zoapatanolida C fue más activa.

6.- La zoapatanolida A y la zoapatanolida C, mostraron más actividad en la elongación de raíz y tallo de pasto que en la de amaranto. Siendo las plántulas de pasto (monocotiledónea) más sensibles que las de amaranto (dicotiledónea).

7.- La zoapatanolida A y la zoapatanolida C, mostraron efectos opuestos en la elongación de raíz y tallo de las dos semillas, mostrando actividad reguladora como inhibidora.

---

8.-El acetato de Zoapatanolida A presentó un efecto alelopático significativo en la semilla dicotiledónea de amaranto, por lo cual se le considera como un posible compuesto con actividad herbicida.

---

# REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

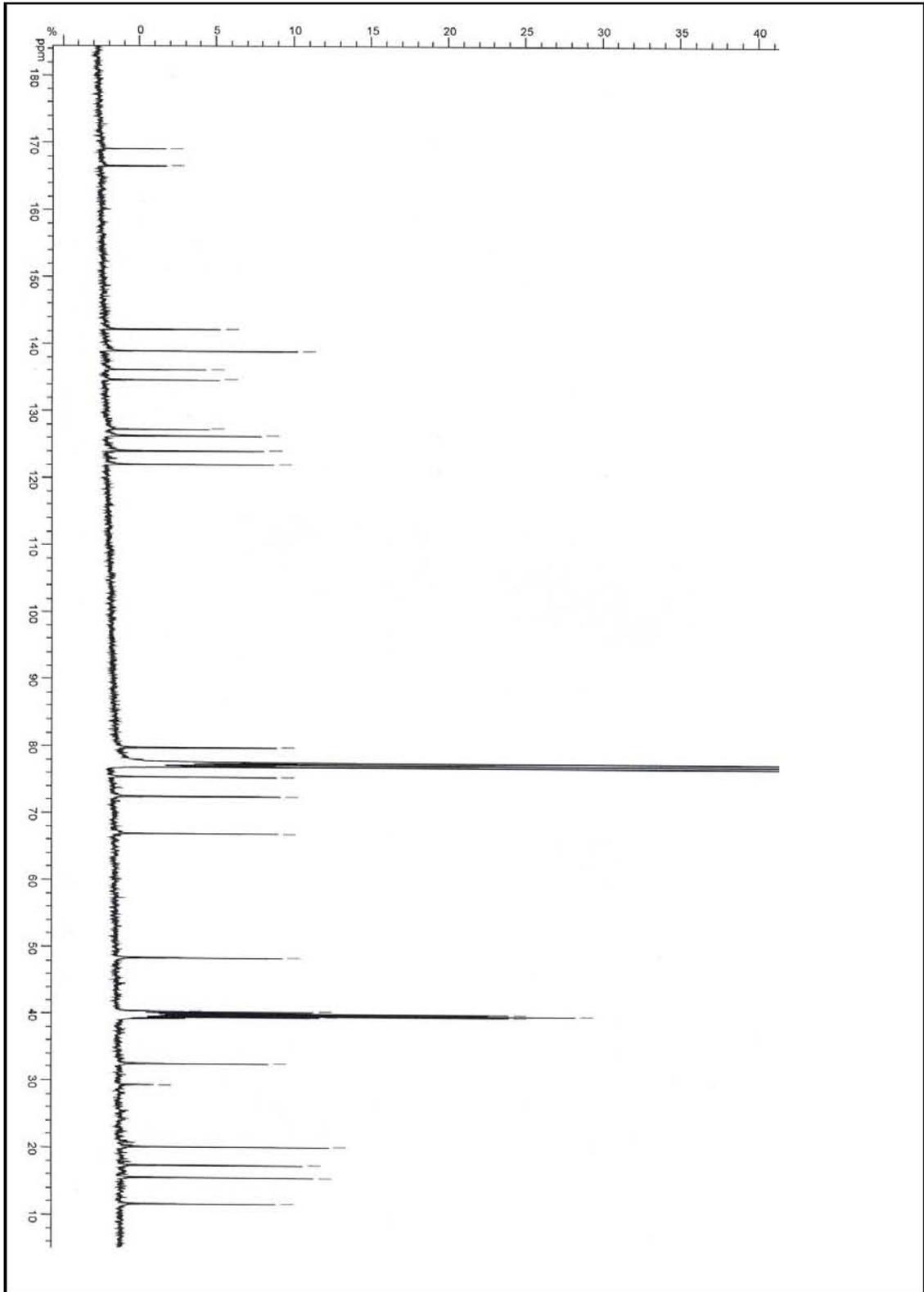
- 
1. - Geissman T. A., Crout D. H. G; Organic chemistry of secondary plant metabolism; Pag. 297-301; Freeman, Cooper and company U.S.A. (1969).
  2. - Kurt B. G. Torsell ; Natural Product Chemistry; Pag. 190-195; Chichester , Gran Bretaña (1983)
  3. - Romo de Vivar A. Productos Naturales de la flora Mexicana; Pag. 140 Ed. Limusa México (1985)
  4. - Newman, A. A. Chemistry of Terpenes and terpenoides; Pag. 175 Academic Press, New York (1972)
  5. -Rodriguez E., Yoshioka H. and Mabry T.J, The sesquiterpen Lactone Chemistry of the Compositae. *Phytochemistry* (1971) 10, 1145 -1154.
  6. - Devon, T. K. and Scott, A. I. Handbook of natural occurring compounds. Vol. II Ed. Academic Press London (1972)
  7. - <http://148.233.168.204/pfnm/MontanoaTomentosa.html>
  8. - <http://www.imades.org/entorno/entorno11/montanoa.htm>
  9. - Grümer, M., **1961**. The role of toxic substance in the interrelationships between higher plants. p 219-228. En: F.L. Milthorpe, (ed.). *Mechanisms in biological competition*. Academic Press, New York.
  10. - Kupchan, M. S.; Eakin, M. A; Thomas, A.M. *Journal of Medicinal Chemistry* **1971**, 14, 1147-1152.
  11. - Katon, M.; Takahashi, M.; Shibayama, H.; Munakata, K. *Agr. Biol. Chem.* **1972**, 36, 2579-2582.
  12. - Rodríguez, E.; Tower G. H. N.; Mitchell, J.C. *Phytochemistry* **1976**, 15, 1573-1580.
  13. - Lee, K. H.; Hall, I. H.; Mar, E. C.; Starnes, C. O. *Science* **1977**, 196, 533-536
  14. - Quijano L.; Calderón J. S.; Gómez F.; Ríos T.; *Phytochemistry* **1979**, 18, 843-845.
  15. - Ohno N.; Mabry T.M; Zabel V.; Watson W.H.; *Phytochemistry* **1979**, 18, 1687-1689.
  16. - Cotter M. I; Organic magnetic resonance 1981, 17, 14-17
  17. - Quijano L.; Calderón J. S.; Gómez F.; Ríos T.; *Phytochemistry* **1982**, 21, 2041-2044.
-

- 
18. -Enrriquez R. G.; Escobar L. I.; Romero M. L.; Chávez M. A.; Lozoya X. *Journal of Chromatography* **1983**, 258, 297-301
19. -Reynolds W. F.; Escobar L. I.; Lozoya X. *Can. J. Chem* **1984**, 62, 2421-2425.
- 20.-Seaman F.C; Malcolm A.J.; Fronczek F. R.; Lee I.Y.; Fischer N.H.; *Phytochemistry* **1984**, 23, 817-822.
- 21.-Seaman F.; Malcolm A.; Fischer N.; *Phytochemistry* **1984**, 23, 464-465.
- 22.-Reynolds W.F.; Enriquez R.G.; Escobar L.I.; Lozoya X.; *Can. J. Chem* **1984**, 62, 2421-2425.
- 23.-Belles, X.; Camps, F.; Coll, J.; Piulachs, M. D. *J. Chem. Ecol.* 1985, 11, 1439-1445.
- 24.-Seaman F.; Malcolm A.; Fischer N.; *Phytochemistry* **1985**, 24, 2003-2005
- 25.-Castro V.; Jakupovic J.; *Phytochemistry* **1985**, 24, 2449-2450.
- 26.-Quijano L.; Calderón J. S.; Gómez F.; Rosario V.; Ríos T.; *Phytochemistry* **1985**, 24, 2337-2340.
- 27.-Quijano L.; Calderón J. S.; Gómez-Garibay F.; Rosario V.; Ríos T.; *Phytochemistry* **1985**, 24, 2741-2743.
- 28.-Oshima Y.; Cordell G.; Fong H. H.; *Phytochemistry* **1986**, 25, 2567-2568.
- 29.-Compadre C. M.; Hussain R. A.; León I.; Enrriquez R. G. *Planta Medica* **1987**, 53(5), 495-496
- 30.- Lu Z-Z.; Xue H-Z. O.; Tu Z-B.; Konno Ch.; Waller D. P.; Soejarto D. D.; Cordell
- 31.-Rembold, H. **1989**. The Azadirachtins their Potential for Insect Control. En: *Economic and Medicinal Plant Research*. Wagner, H; Hikino, H; and Farnsworth, N. (eds). Academic Pres, London 3, p 57-72.
- 32.-Cowe H. J.; Cox P. J.; Howie A. *Journal of Crystallographic and Spectroscopic Research* **1990**, 20(6), 571-576.
- 33.-Quijano L.; Gómez F.; Sierra-R E.; Ríos T.; *Phytochemistry* **1991**, 30,1947-1950.
- 34.-Pérez A. L.; Caballero M. B. A.; Ortega A.; Gaviño R.; Romo de Vivar A.; *Planta Medica* **1994**, 60, 263-266.
-

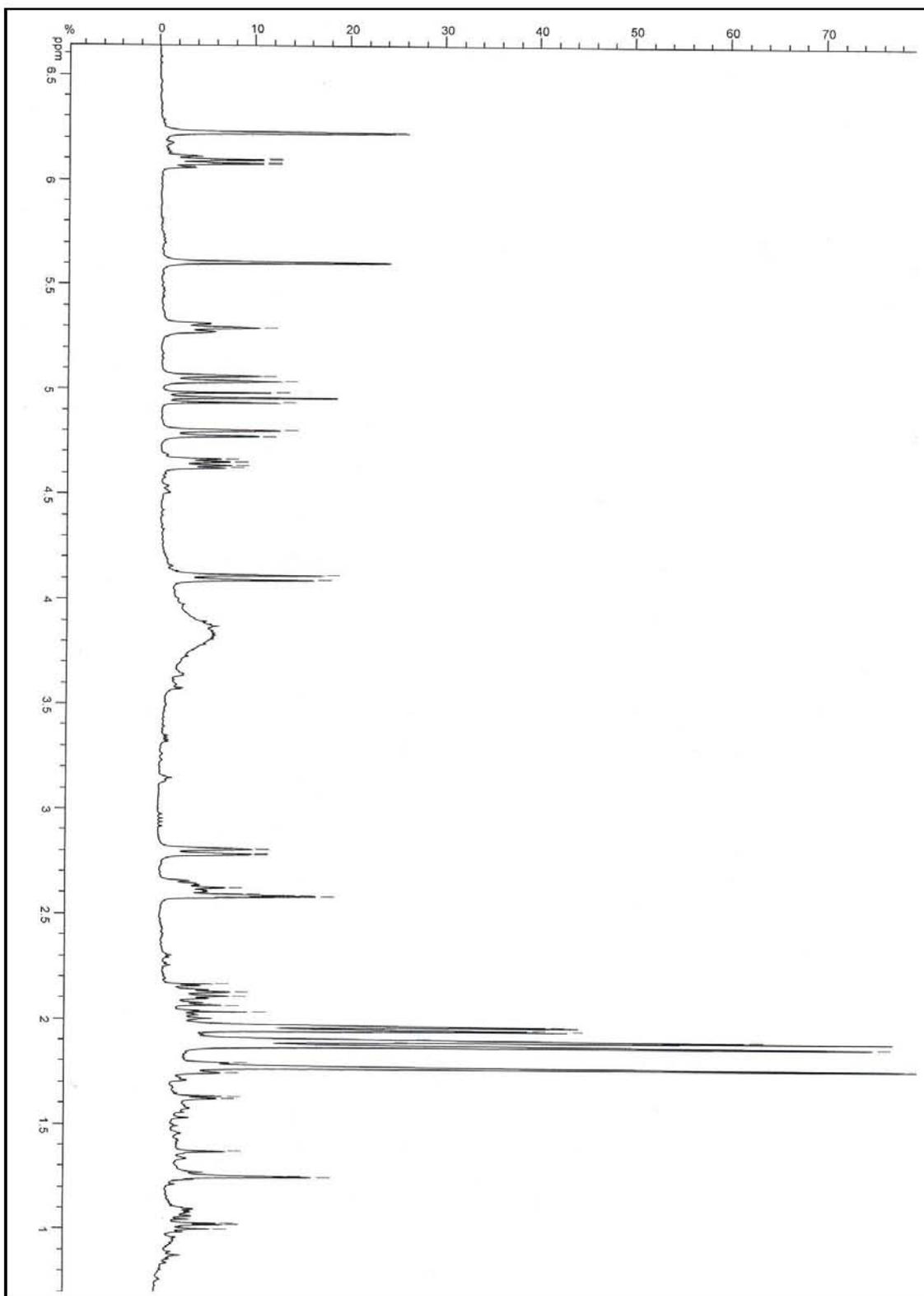
- 
- 35.-Enríquez R. G.; Miranda-G. E.; Ortiz B.; León I.; Magos G.; Peña A.; Reynolds W. F.; Gnecco D. *Planta Medica* **1996**, 62(6), 569-571.
- 36.-Anaya A., Hernández Bautista, B., Torres-Barragán, A., León-Cantero, Jiménez-Estrada. **1996**. Phytotoxicity of cacalol and some derivatives obtained from the roots of *Psacalium decompositum* (A. Gray) H. Rob & Brettel (Asteraceae), matarique or maturing. *J. Chem. Ecol.* 22, p 393-403.
- 37.-Campos Bedolla, Campos M G, Valencia Sánchez A, Ponce Monter H, Uribe C, Osuna L, Calderón J. *Phytotherapy research* **1997**, 11, 11-16.
- 38.-Lozoya, X. Fármacos de Origen Vegetal de Ayer y Hoy. *Investigación y Ciencia* 1997, 245, 4-10. (b) Díaz J. L. Usos de las Plantas Medicinales de México. *Monografías Científicas II*. IMEPLAM. México, A. C. 1977, 329p.
- 39.-Braca A.; Cioffi G.; Morelli I.; Venturella F.; Pizza C.; De Tommasi N.; *Planta Medica* **2001**, 67, 774-776.
- 40.-Macías F., Galindo, J. **2001** Terpenoides alelopáticos: estructuras, actividad y aplicaciones p 137-161. En (Anaya, A; Espinoza-García, F; Cruz-Ortega, R. (eds) *Relaciones Químicas entre Organismos: aspectos Básicos y Perspectivas de su aplicación*. Instituto de Ecología UNAM, México D. F.
- 41.-Villarreal M. L.; Rojas G.; Quintero R.; Miranda E.; Enríquez R.; León I.; Reynolds W. *Biotechnology Letters* **2001**, 23, 1279-1284.
- 42.-Domínguez L. M., Tesis de Licenciatura, UNAM, **2002**

---

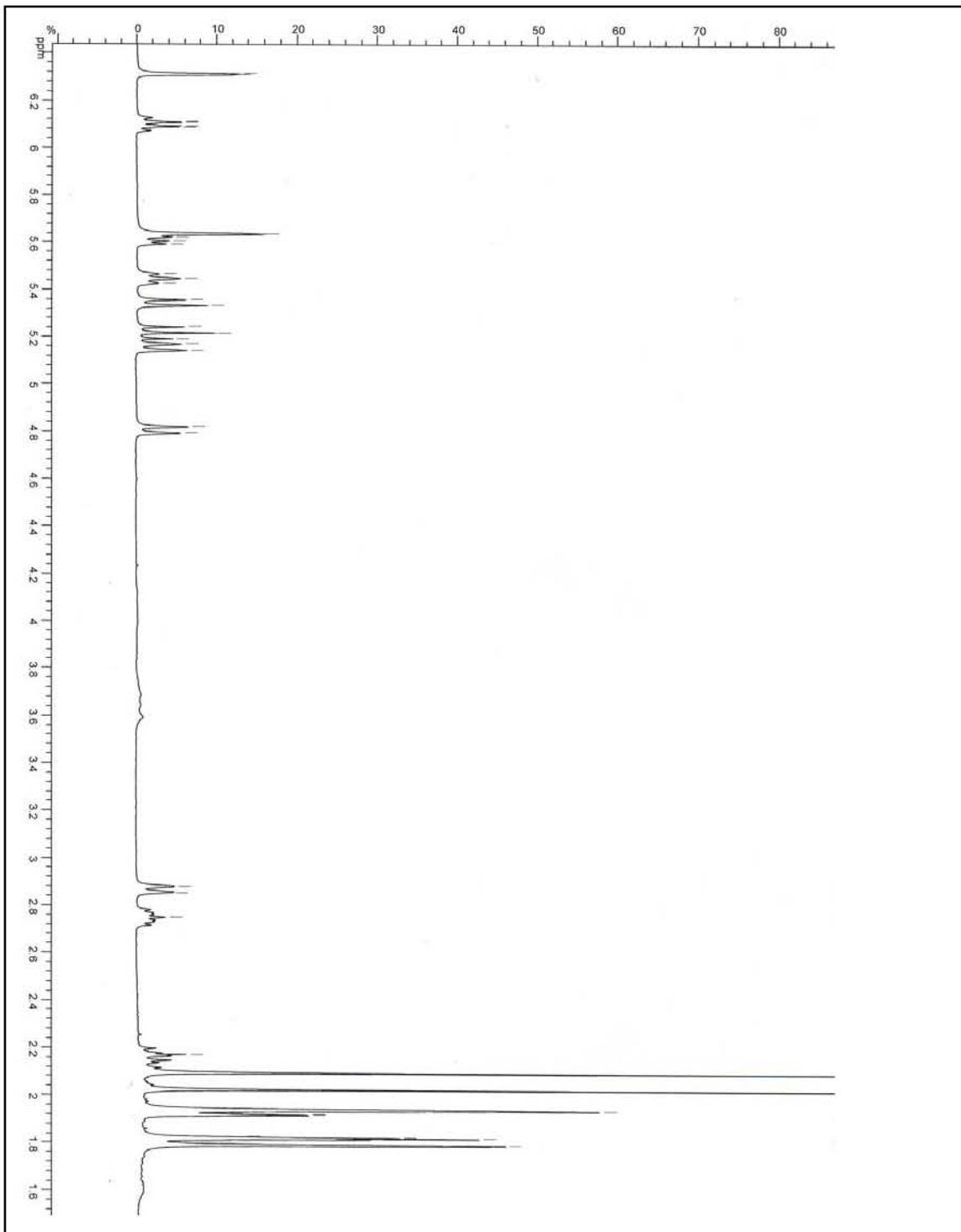
# ANEXOS



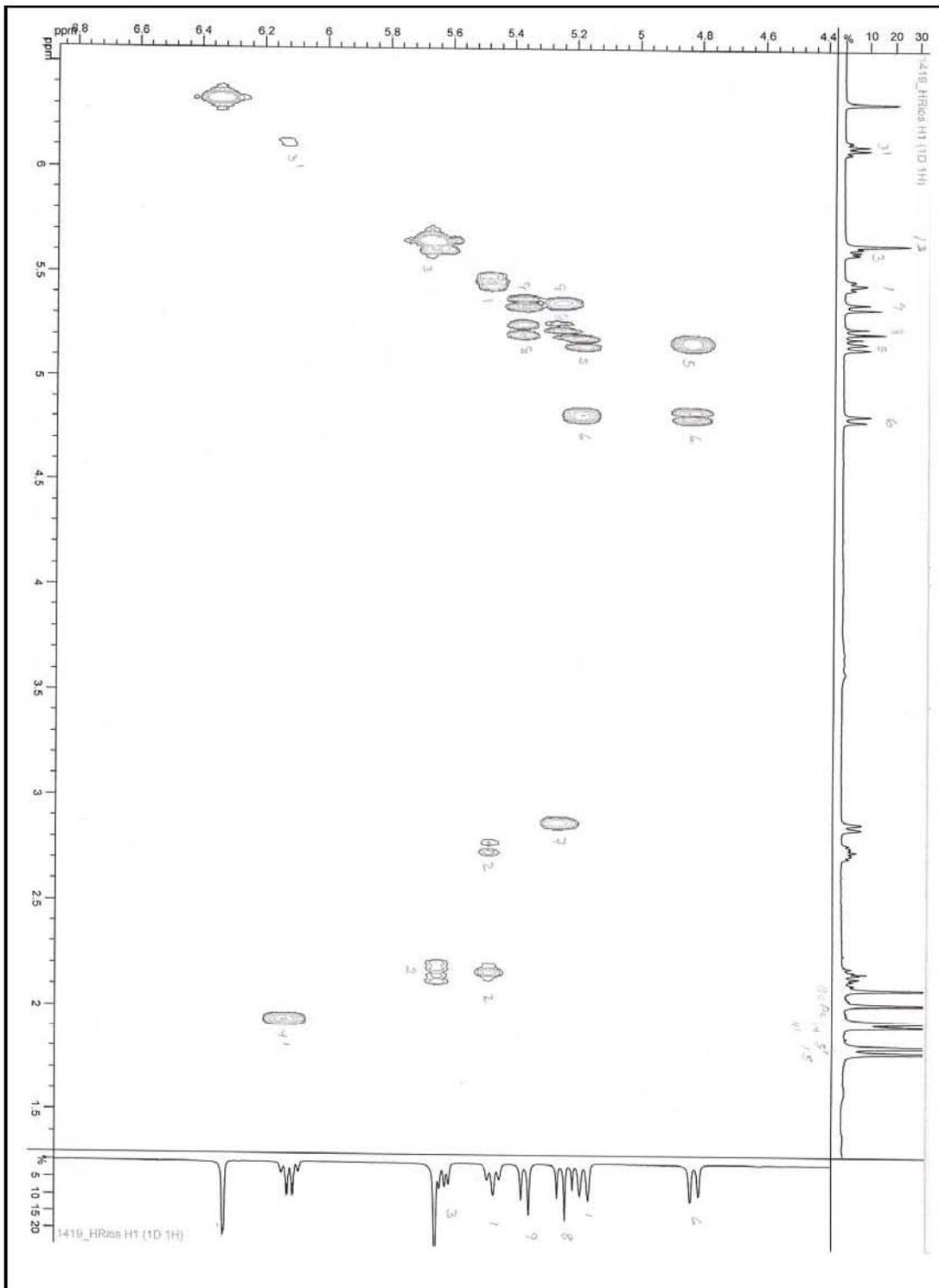
Espectro No. 1 RMN 13C para zoapatanolida A



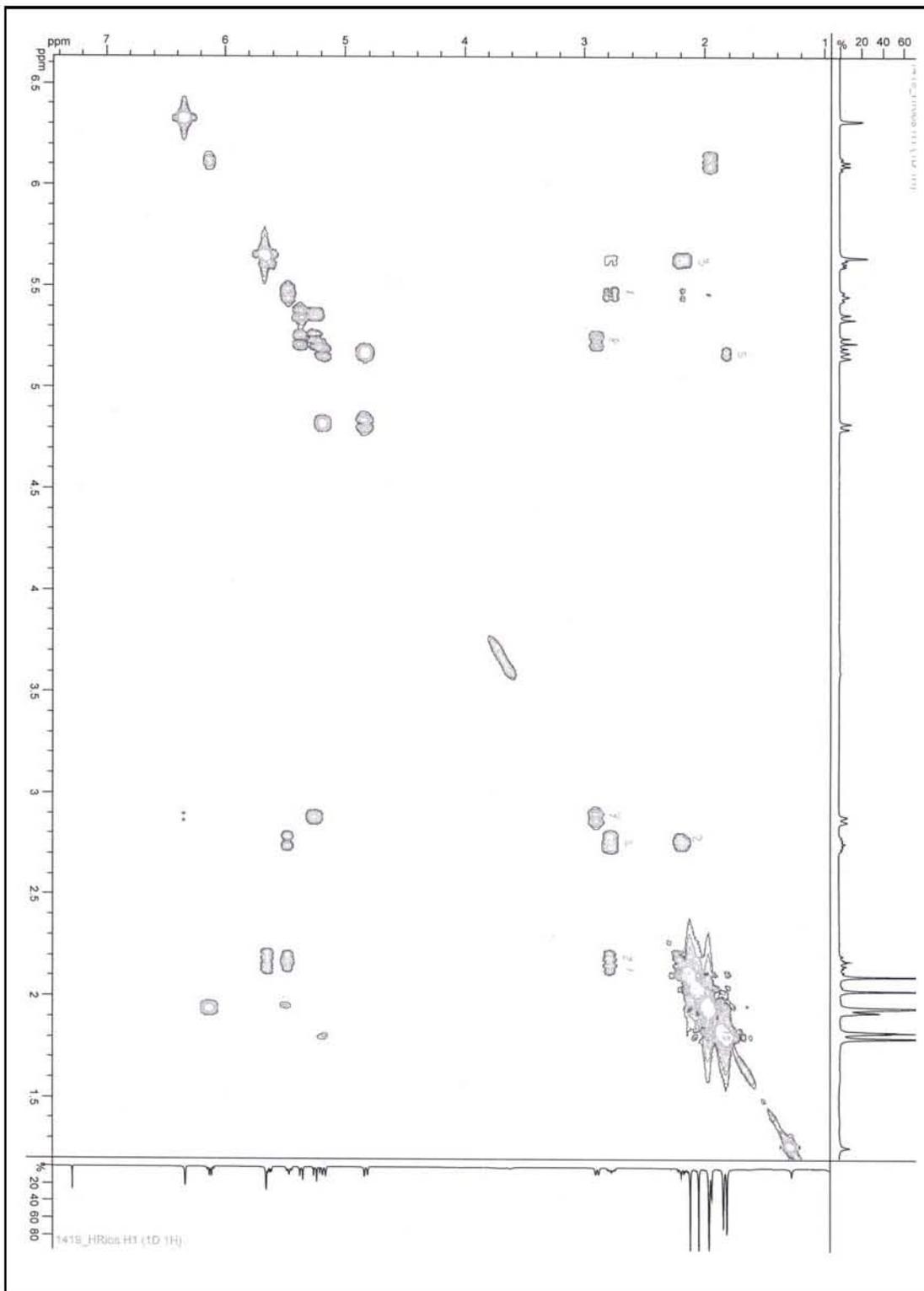
Espectro No. 2 RMN 1H para Zoapatanolida A



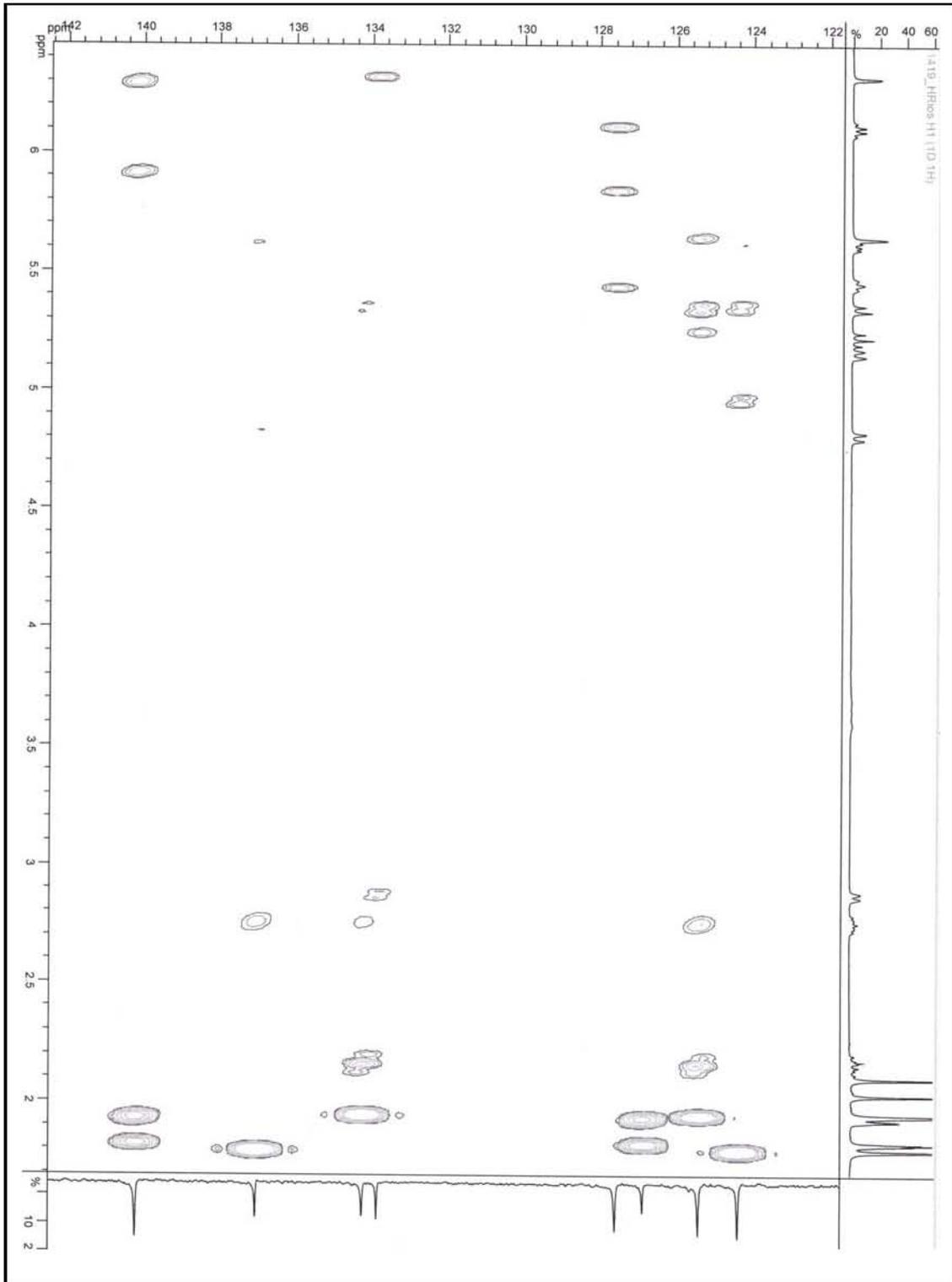
Espectro No.3 RMN 1H para Acetato de Zoapatanolida A



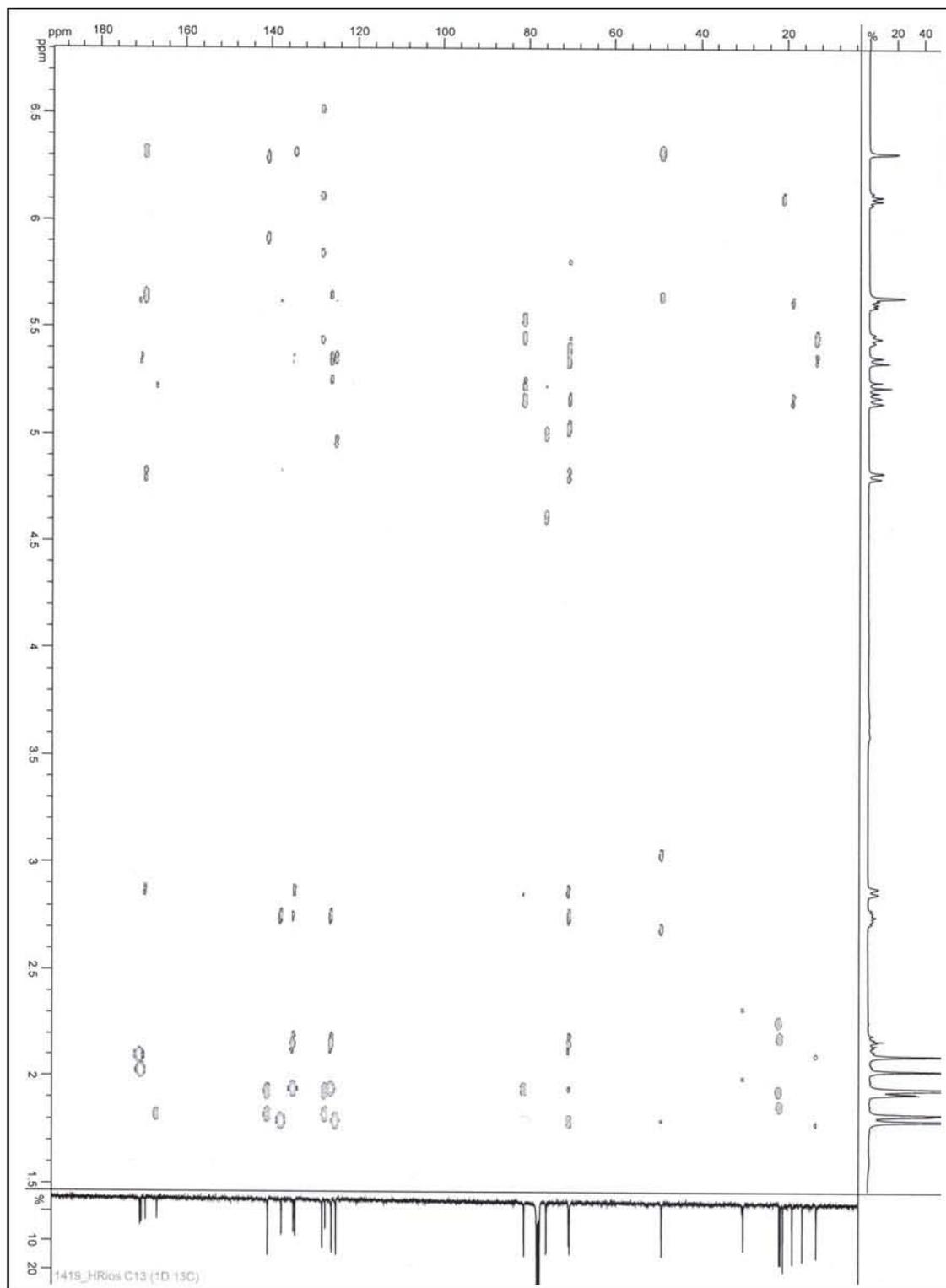
Espectro No. 4 RMN COSY para Acetato de Zoapatanolida A



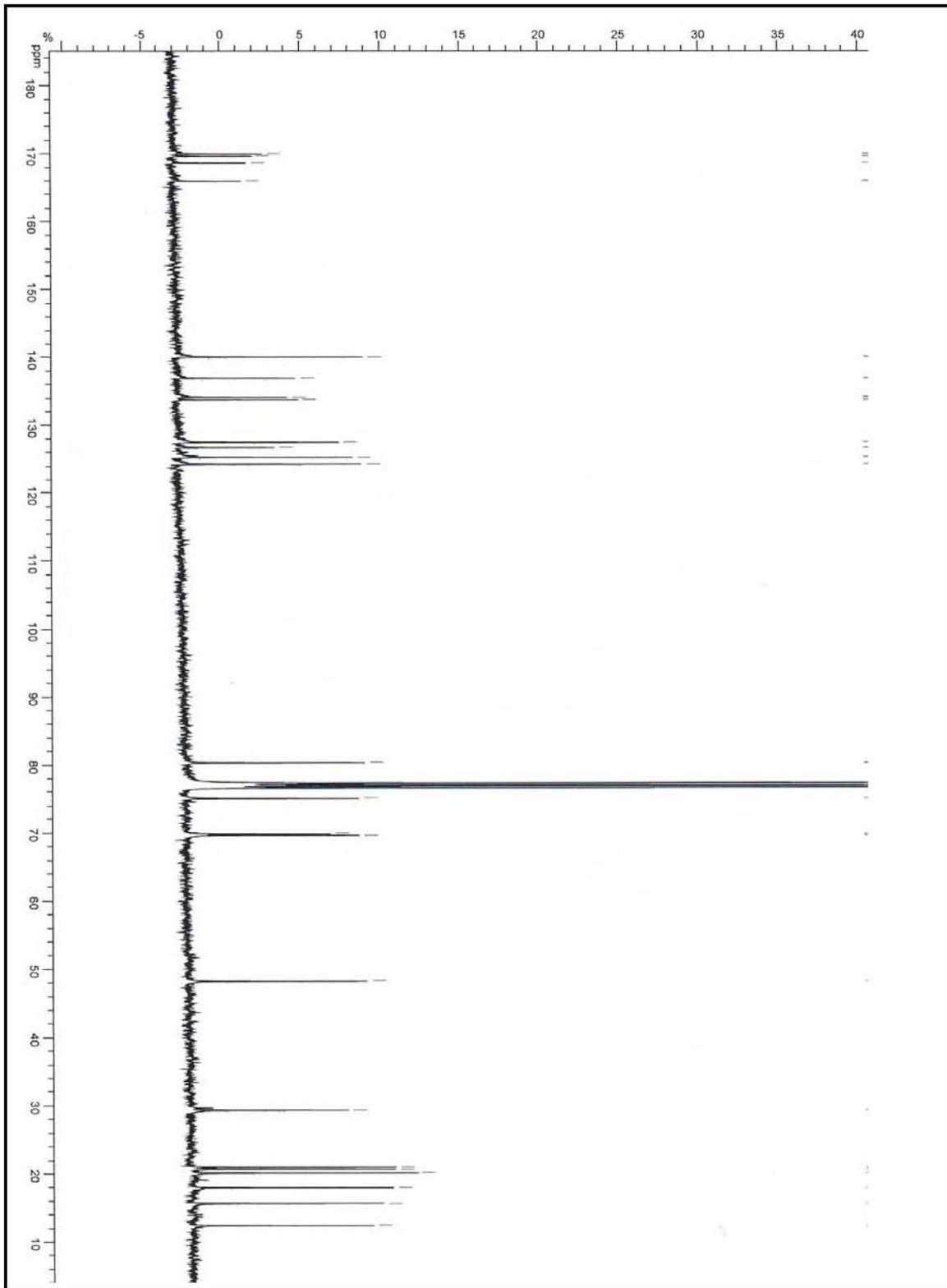
Espectro No. 5 COSY para Acetato de Zoapatanolida A



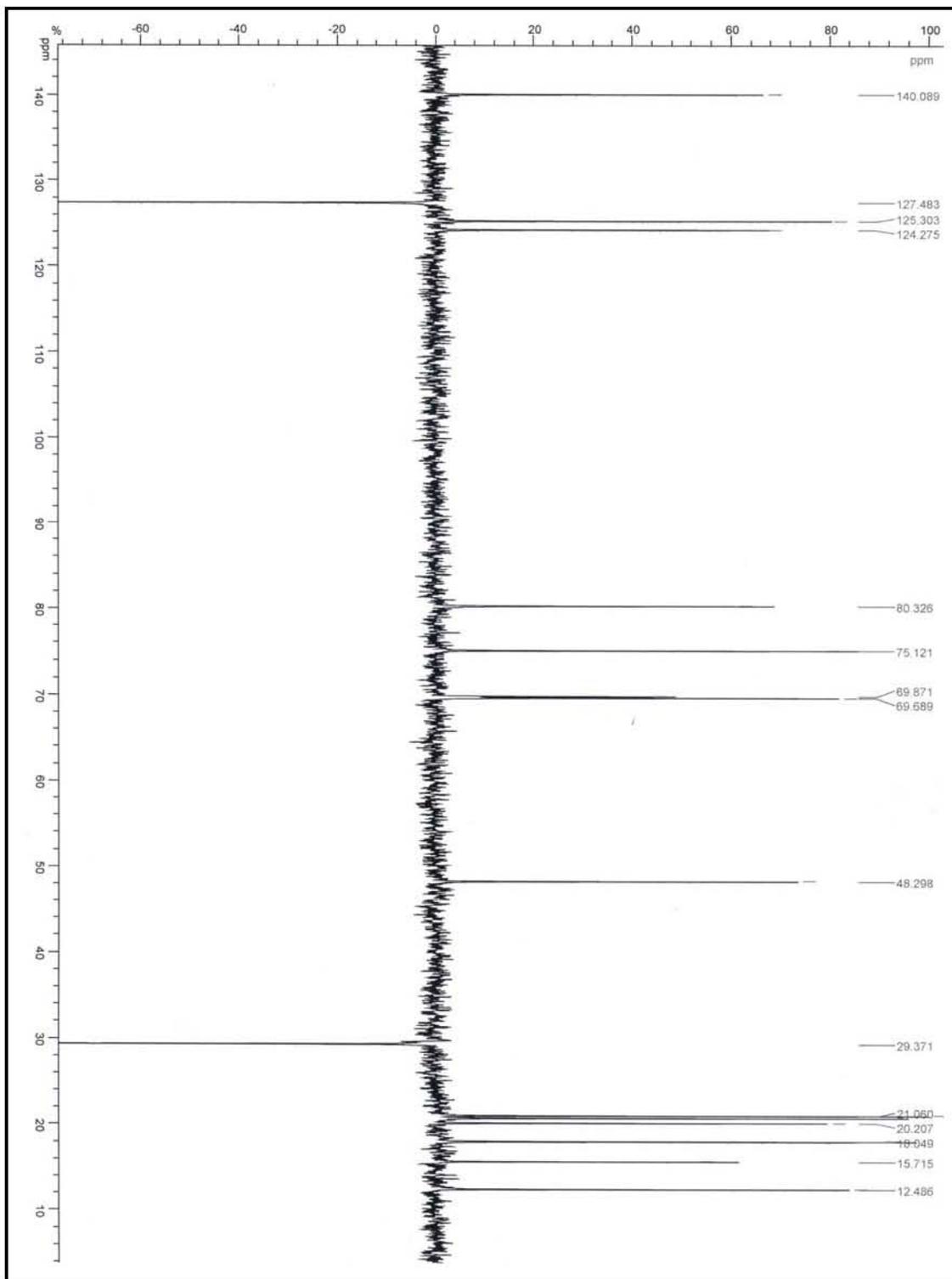
Espectro No. 6 RMN HMBC para Acetato de Zoapatanolida A



Espectro No. 7 RMN HMBC para Acetato de Zoapatanolida A

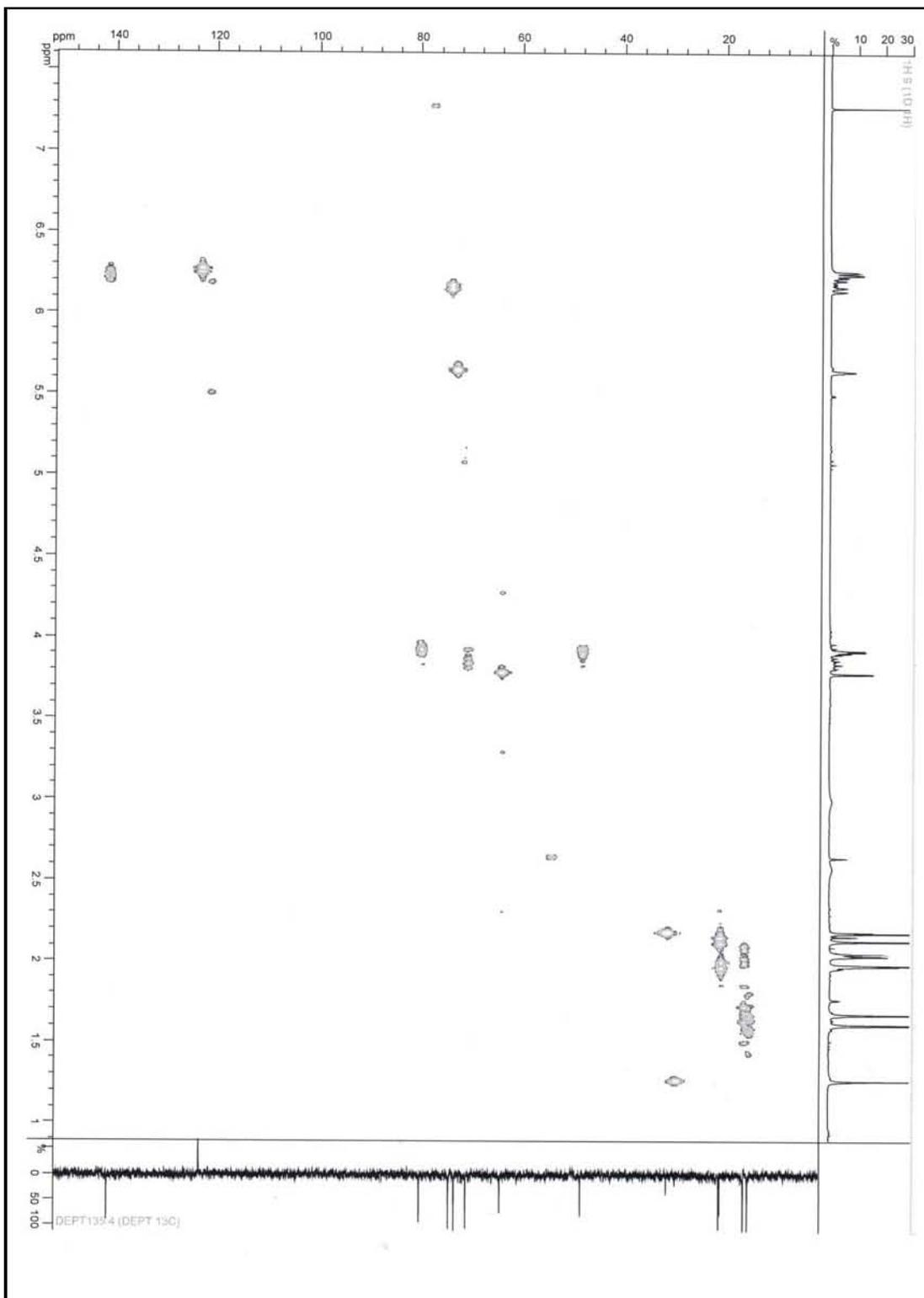


Espectro No. 8 RMN 13C para Zoapatanolida C

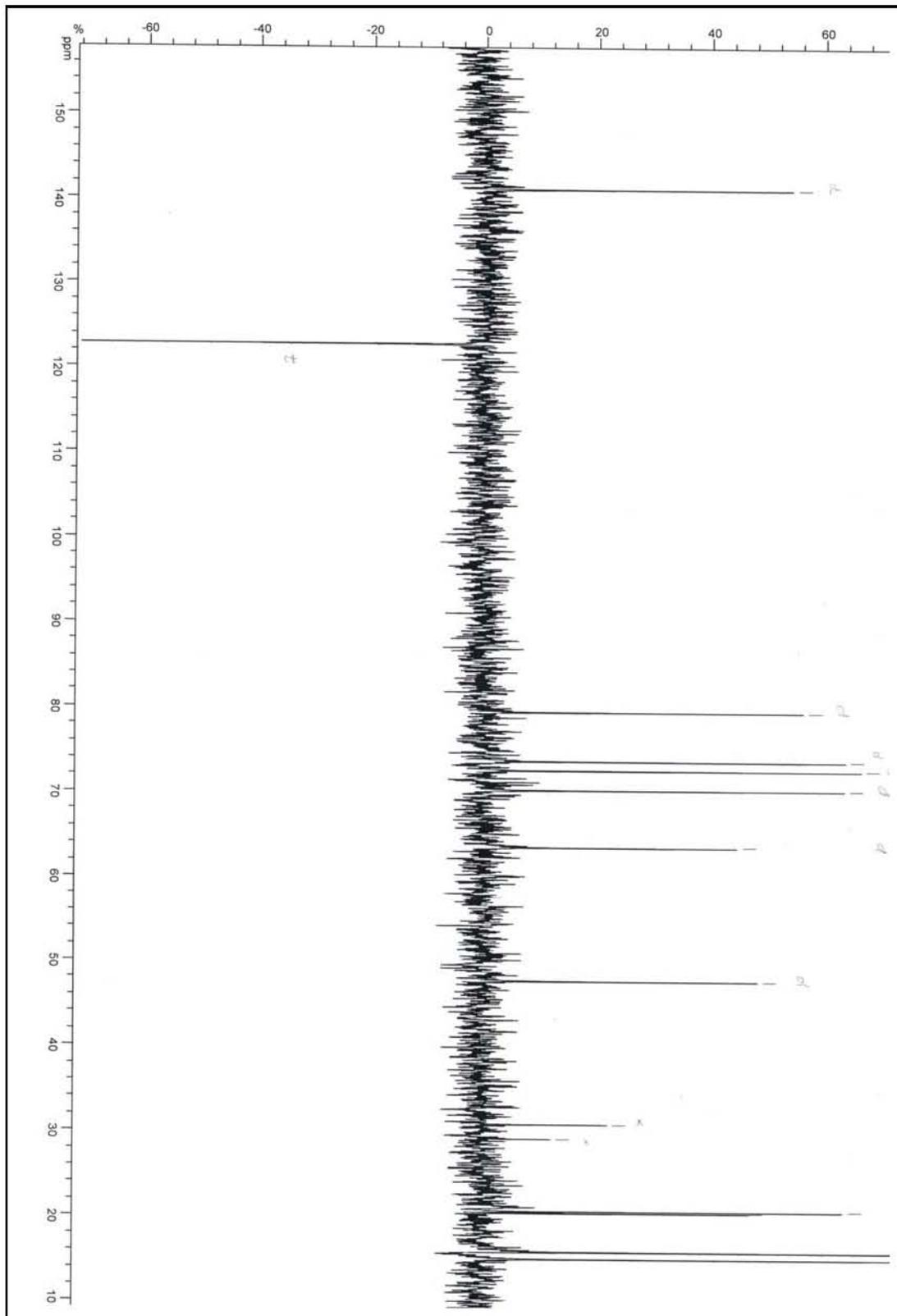


Espectro No. 9 RMN Dept 135 para Zoapatanolida C

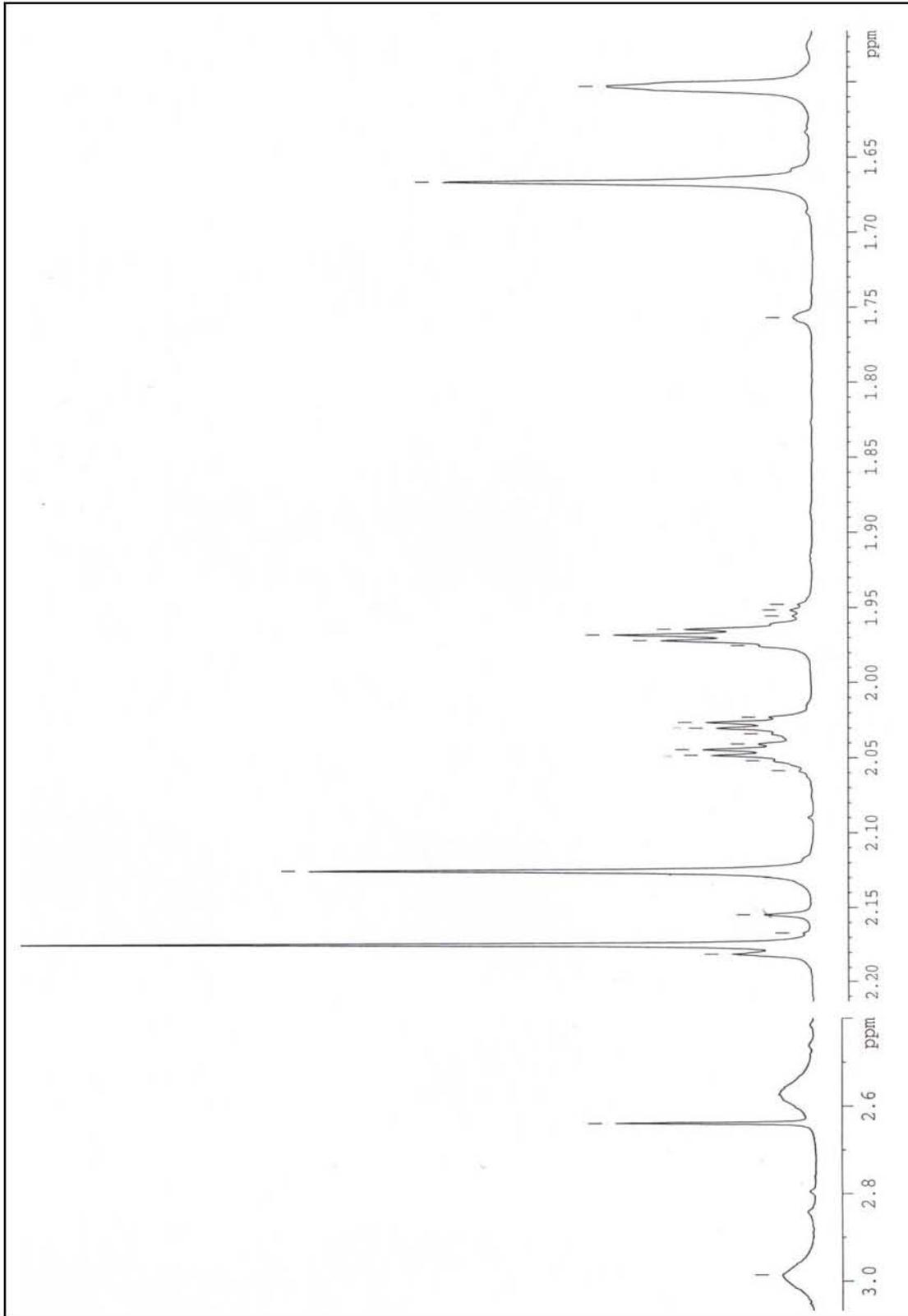




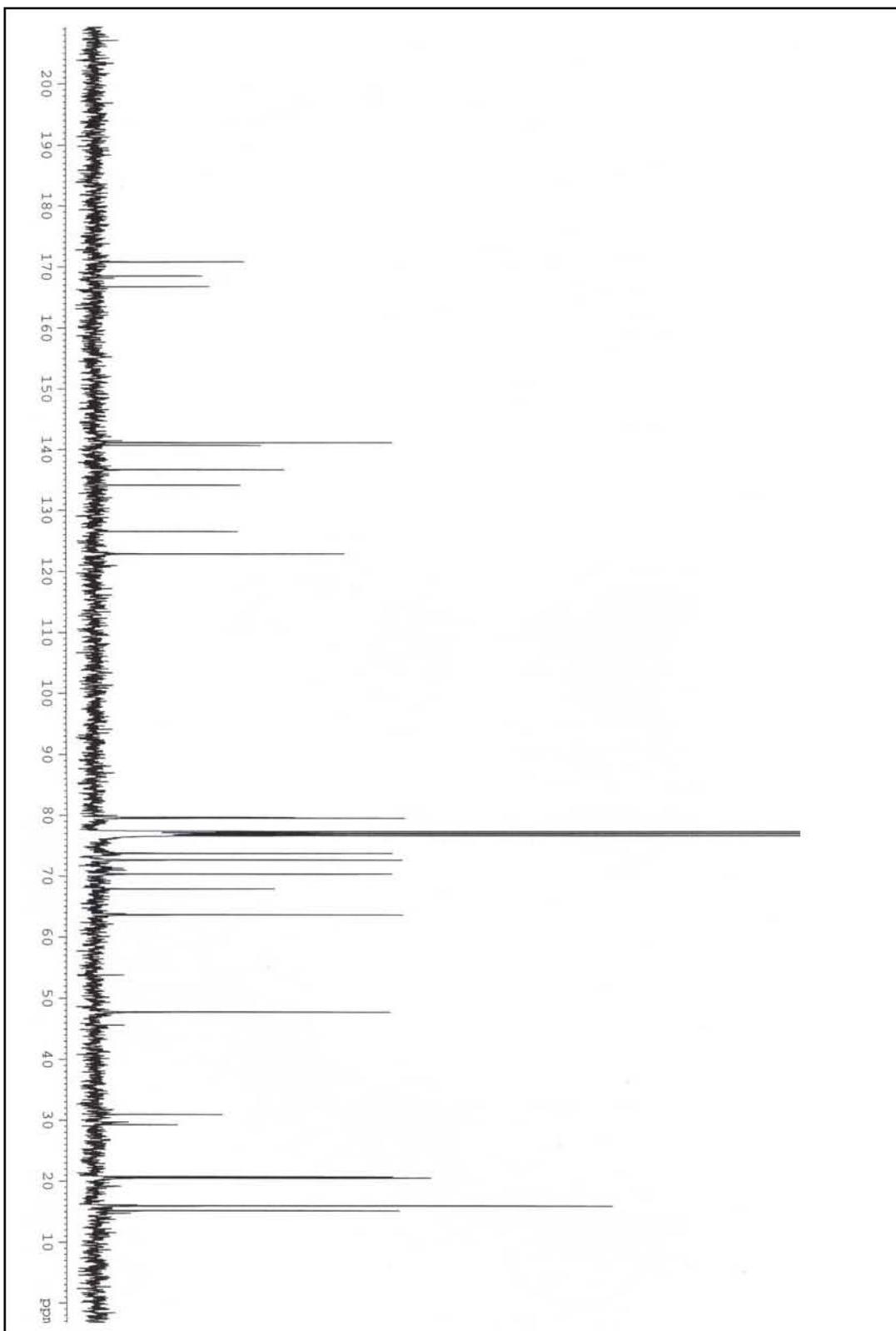
Espectro No. 11 RMN HSQC para Zoapatanolida C



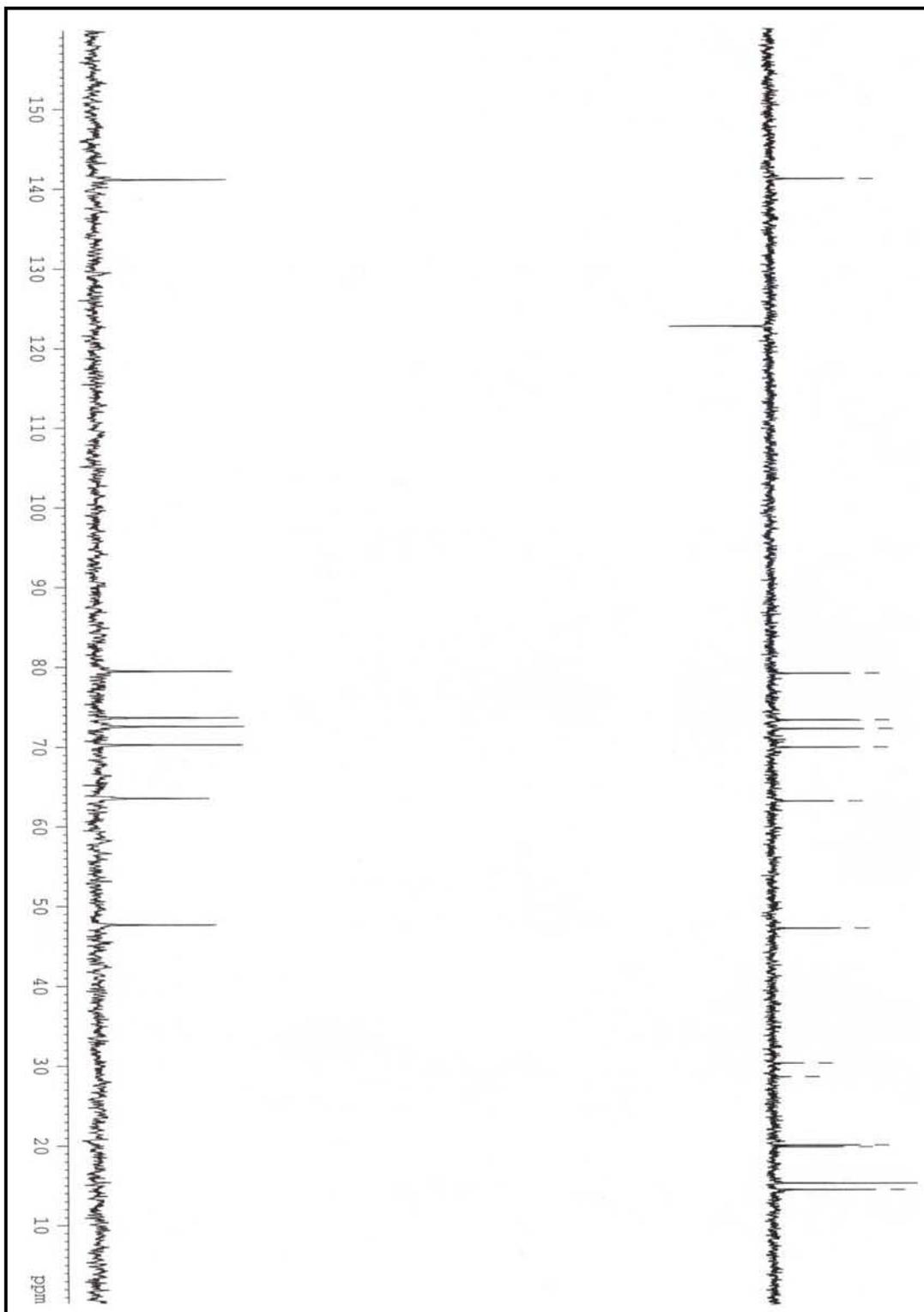
Espectro No. 12 RMN Dept 135 para Zoapatanolida C



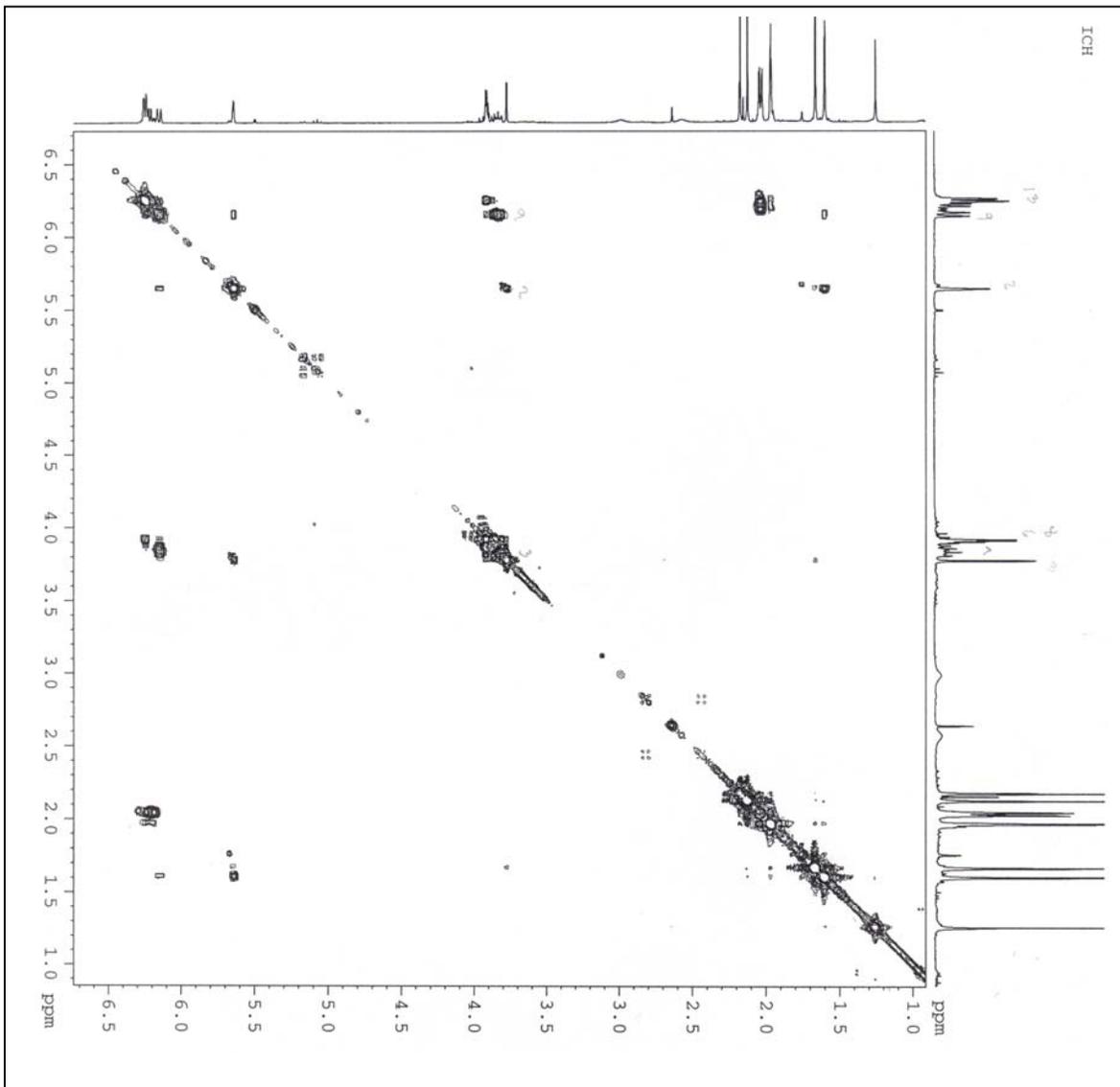
Espectro No. 13 RMN 1H para Zoapatanolida C



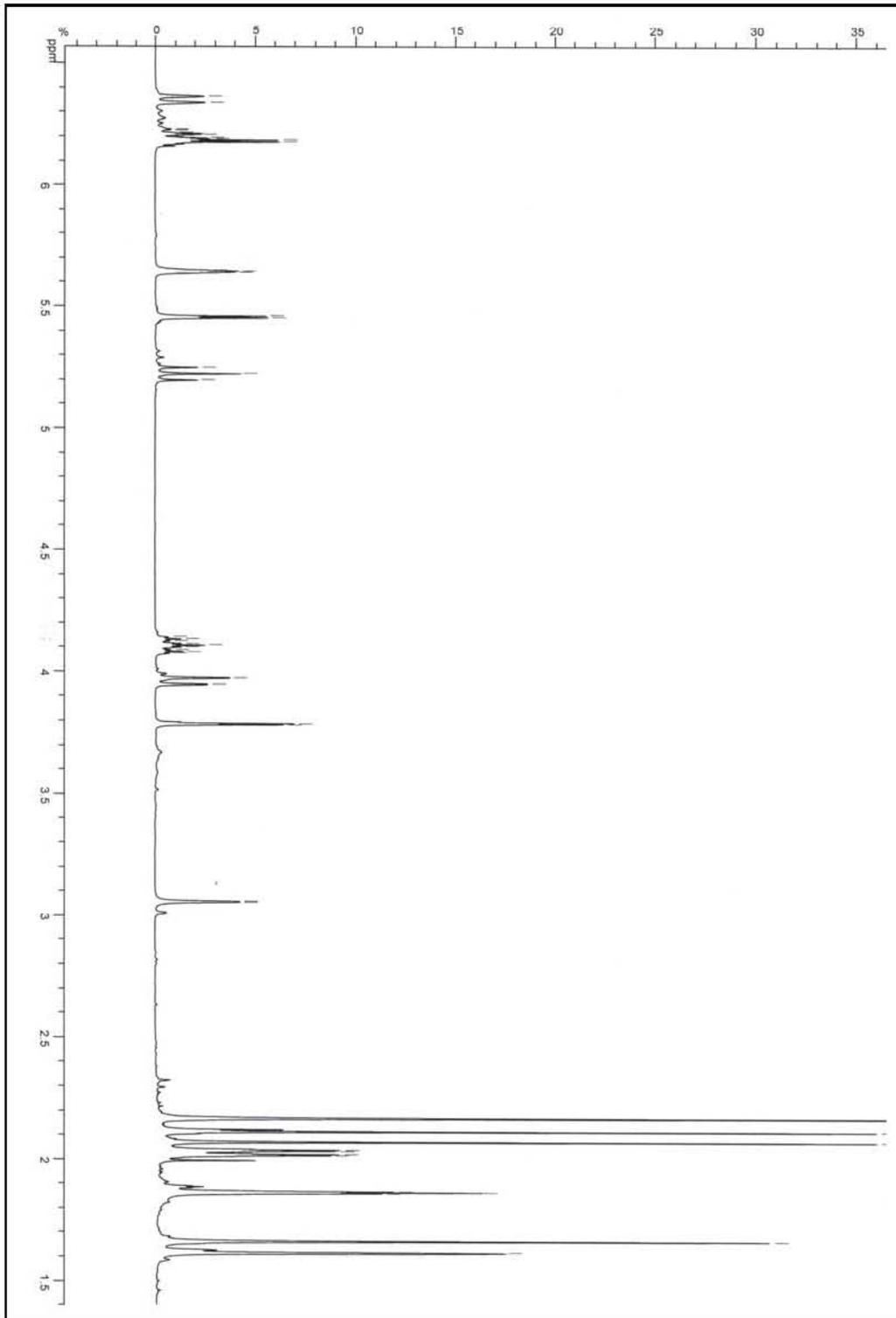
Espectro No. 14 RMN 13C para Zoapatanolida C



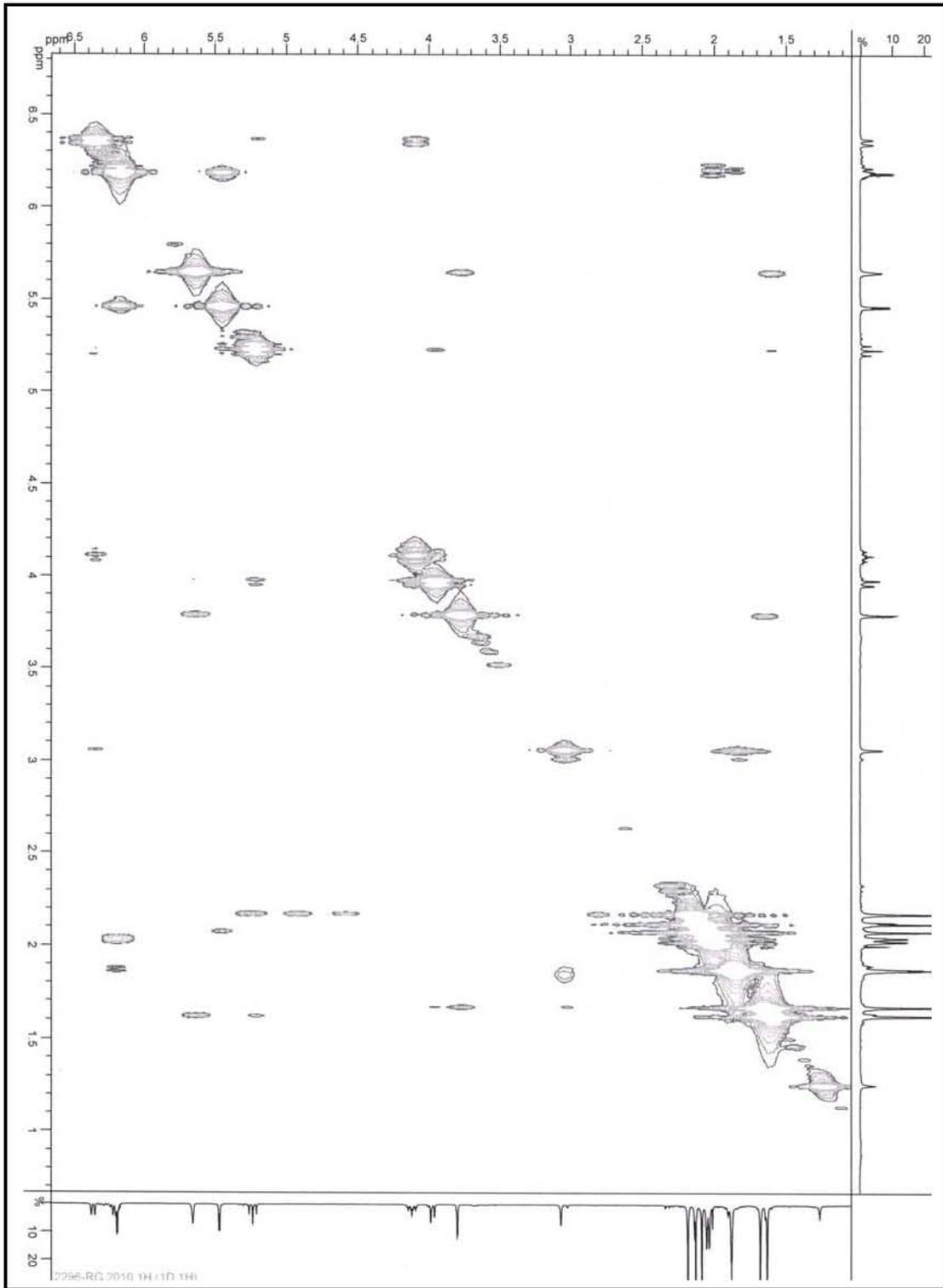
Espectro No. 15 RMN Dept90 para Zoapatanolida C



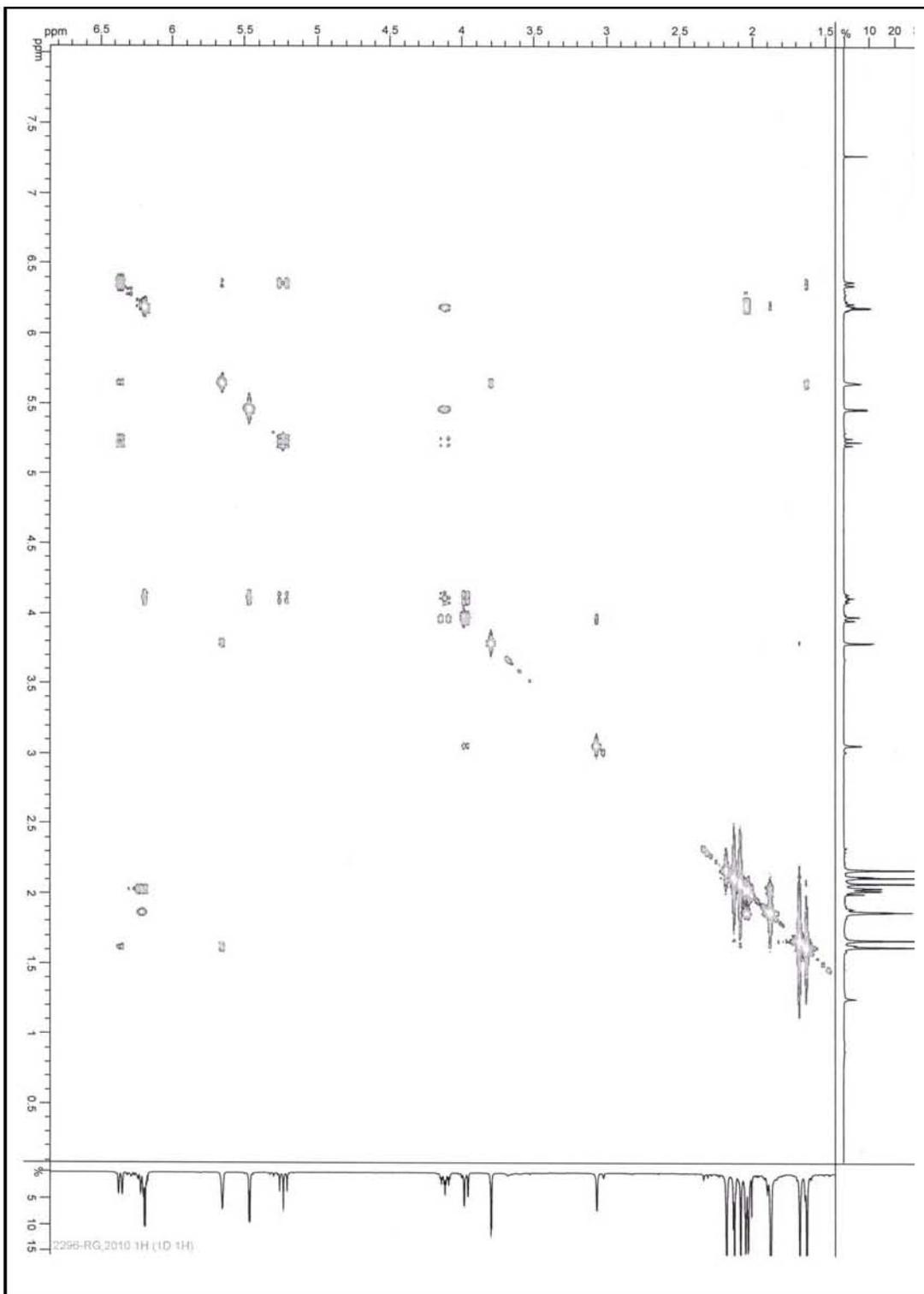
Espectro No. 16 RMN COSY para Zoapatanolida C



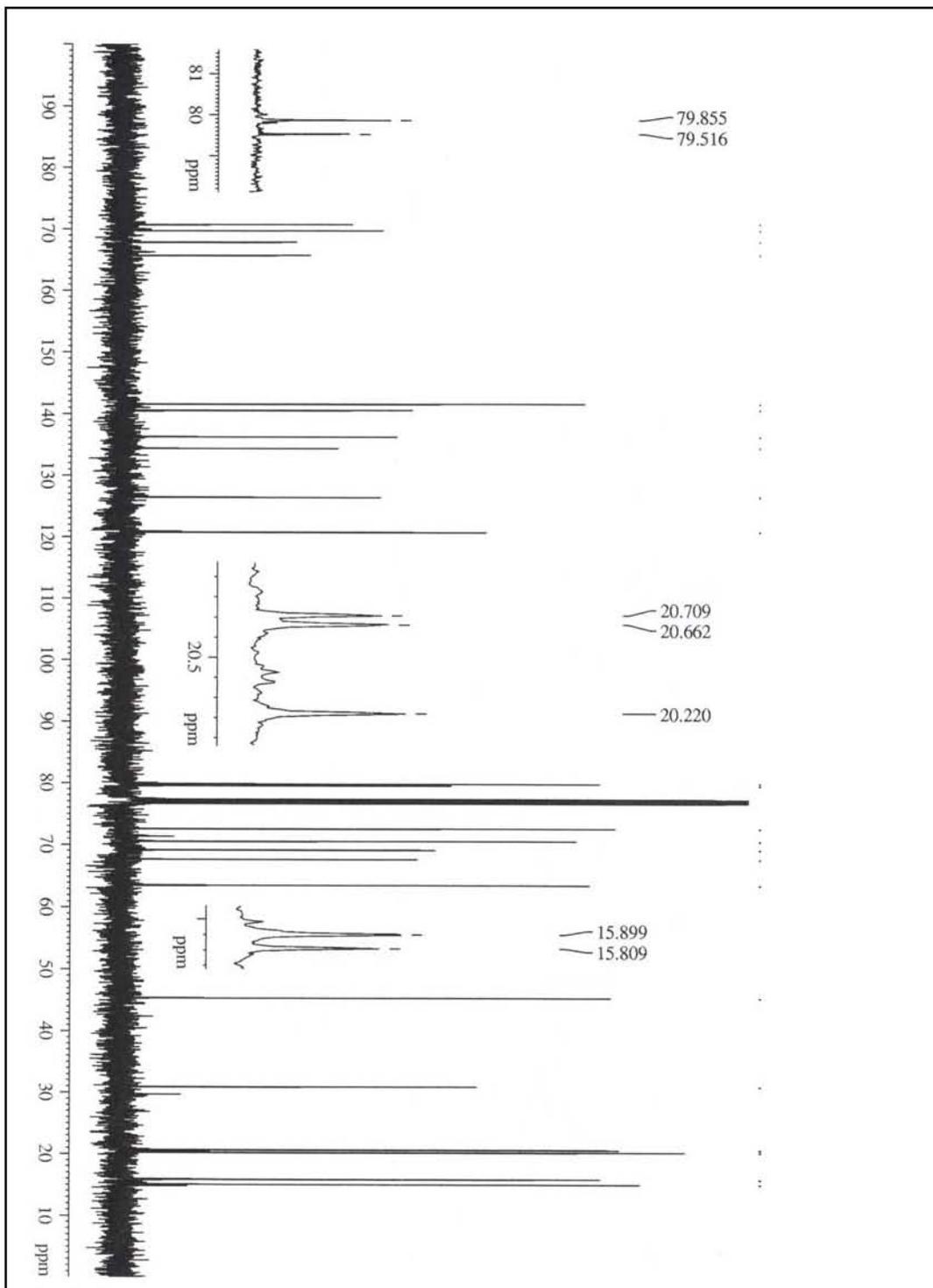
Espectro No. 17 RMN 1H para Acetato de Zoapatanolida C



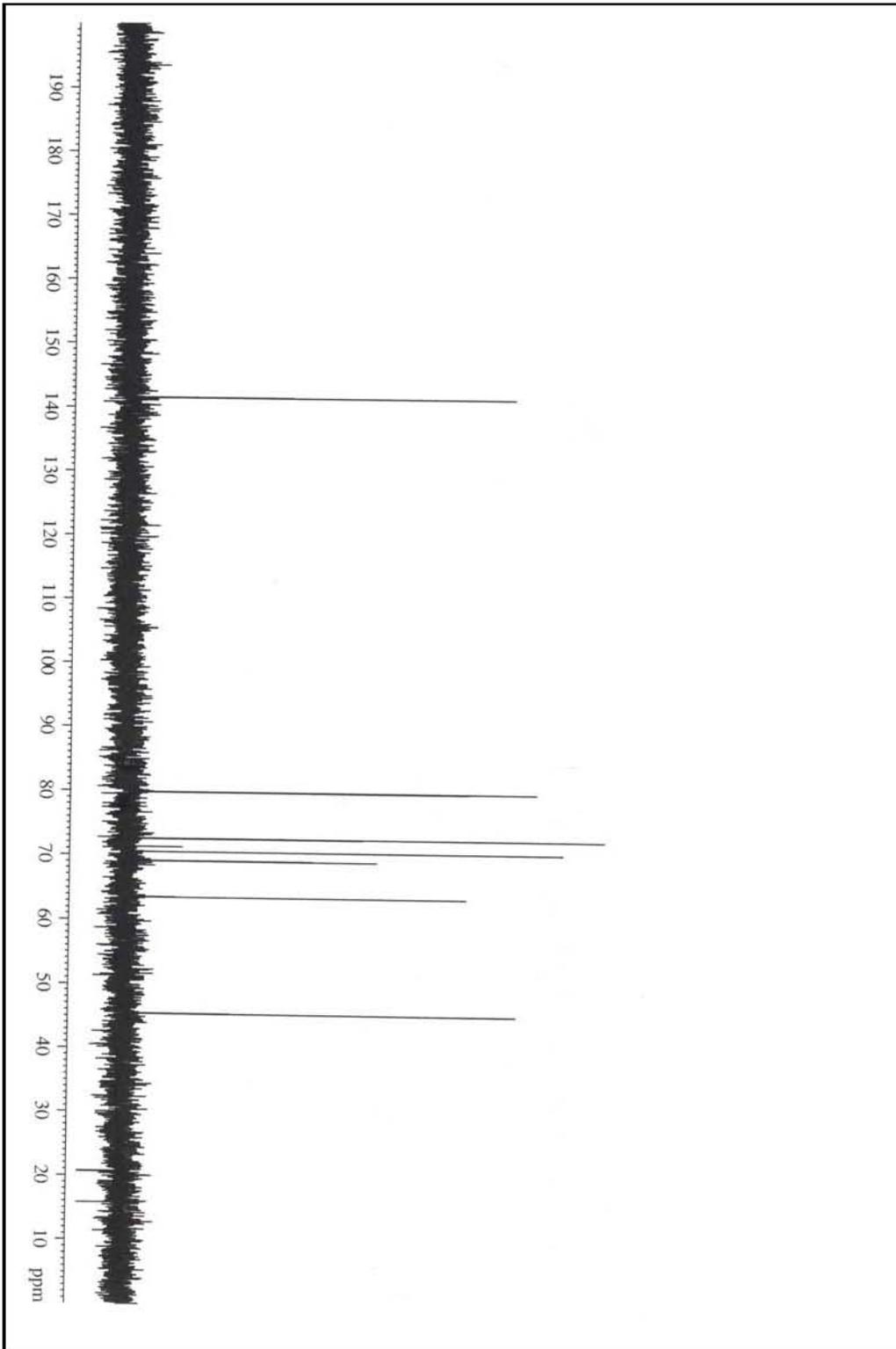
Espectro No. 18 RMN NOESY para Acetato de Zoapatanolida C



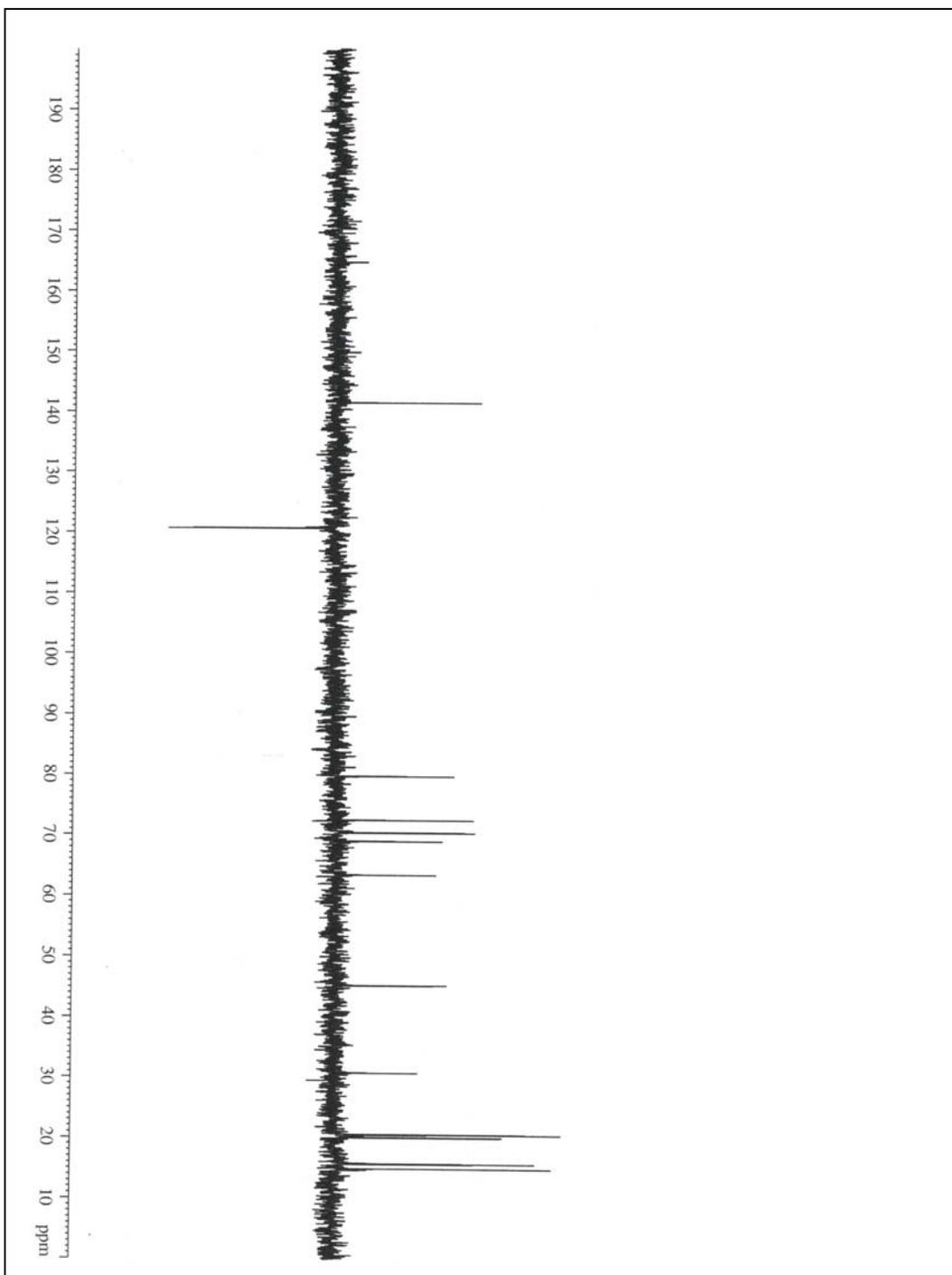
Espectro No. 19 RMN COSY para Acetato de Zoapatanolida C



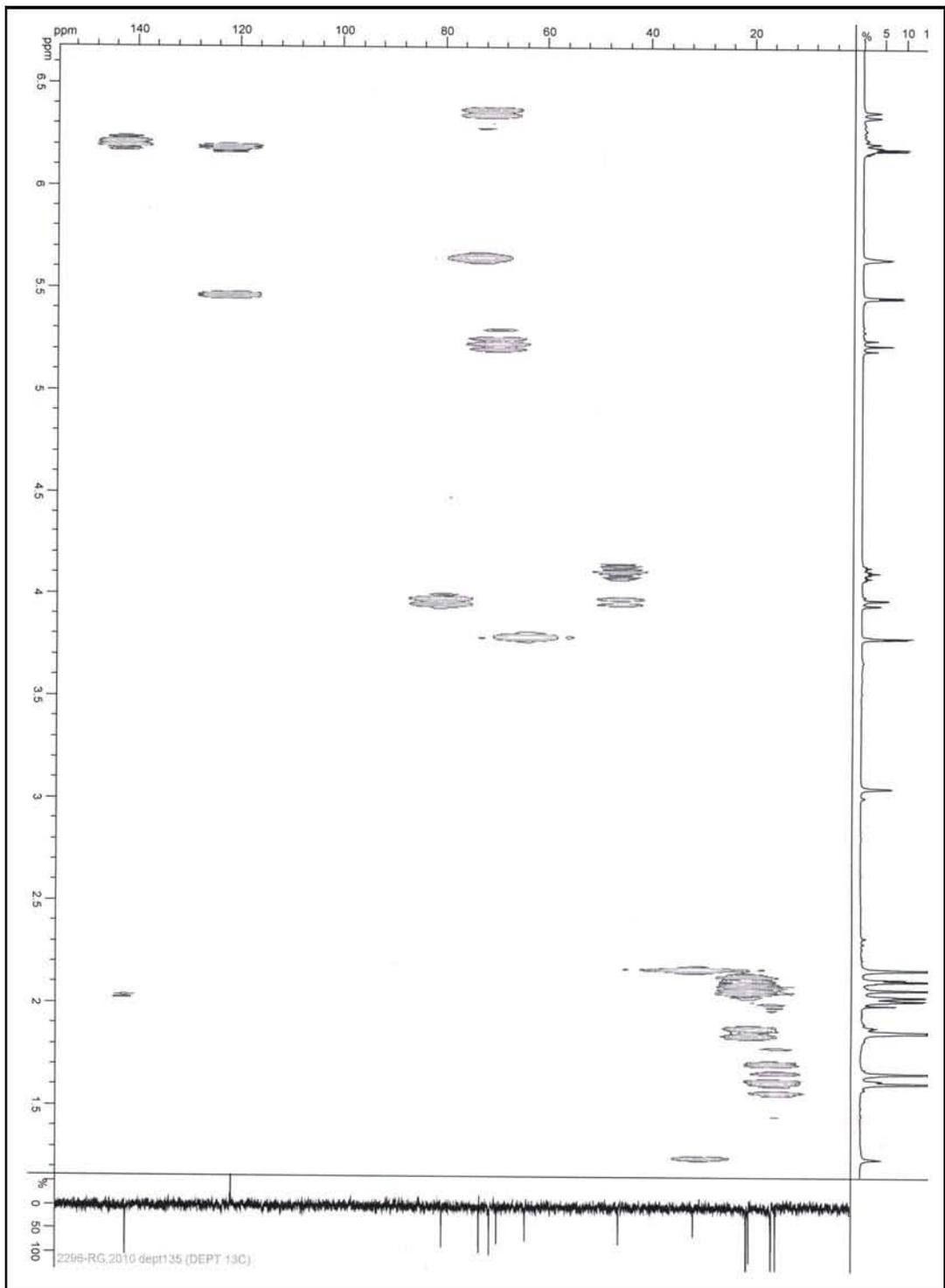
Espectro No. 20 RMN 13C para Acetato de Zoapatanolida C



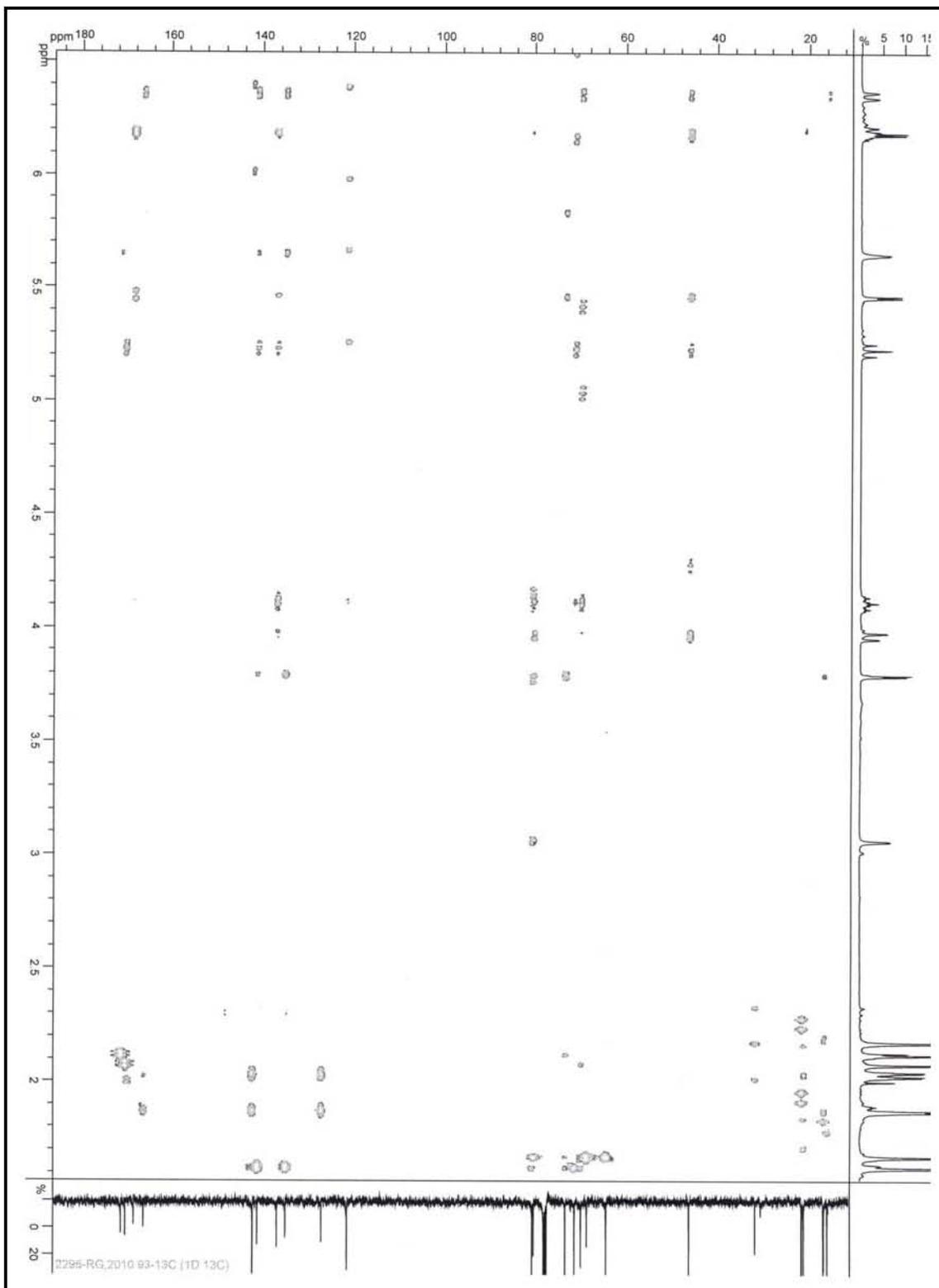
Espectro No. 21 RMN 13C Dept 90 para Acetato de Zoapatanolida C



Espectro No. 22 RMN 13C Dept 135 para Acetato de Zoapatanolida C



Espectro No. 23 RMN HSQC para Acetato de Zoapatanolida C



Espectro No. 24 RMN HMBC para Acetato de Zoapatanolida C