



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

AISLAMIENTO, CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y BIOEVALUACIÓN  
PRELIMINAR DE LOS PRODUCTOS NATURALES DE LA ESPECIE VEGETAL  
*Artemisia ludoviciana ssp. mexicana*

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS**

PRESENTA

Q. LUANN GISSELL MARTÍNEZ TREJO

DR. E. GUILLERMO DELGADO LAMAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, FEBRERO 2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## **Agradecimientos**

A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Instituto de Química.

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (becario 7352239 y convenio 15920).

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA), por el apoyo a través del proyecto PAPIIT IG200318.

Al Dr. Guillermo Delgado, por permitirme formar parte de su grupo de investigación, por su paciencia y apoyo en la realización de este trabajo.

A los miembros del jurado: Dr. Leovigildo Quijano, Dr. Manuel Jiménez Estrada, M. en C. Emma Maldonado Jiménez, Dr. J. Martín Torres Valencia y Dra. María Isabel Aguilar Laurents.

Al personal técnico del Instituto de Química: a la M. en C. Elizabeth Huerta Salazar, a la Dra. María Isabel Chávez Uribe y a la Q. Ma. de los Ángeles Peña González de los laboratorios de Resonancia Magnética Nuclear. A la Q. F. B. Ma. del Rocío Patiño Maya del laboratorio de Espectroscopia y Polarimetría. A la Dra. María del Carmen García González, al Dr. Francisco Javier Pérez Flores y al Ing. Q. Luis Velasco Ibarra del laboratorio de Espectrometría de Masas y al M. en C. Antonio Nieto Camacho del laboratorio de Pruebas Biológicas.

Al Dr. José Luis Rodríguez Chávez por compartir su conocimiento y por su amistad.

A la M. en C. Olivia Pérez Valera, por compartir tus conocimientos, por las horas de felicidad y por tu amistad.

A mis compañeros del Laboratorio 1-C, gracias por sus consejos, paciencia y compañerismo.

A mis amigos Jorge Luis Roldán, Néstor Díaz, Josué Cerón, Armando Berlanga, Jessi Carreón, Adriana Ortiz, Oswaldo Martínez y Fernando Ventura.

A mis padres, gracias por todo.

## Contenido

1.	Introducción .....	1
2.	Antecedentes .....	2
2.1.	Descripción botánica .....	2
2.2.	Composición química .....	2
2.3.	Actividad biológica.....	3
3.	Justificación .....	5
4.	Objetivo .....	5
5.	Resultados y discusión .....	5
5.1.	Identificación y elucidación estructural de los metabolitos aislados .....	5
5.2.	Evaluación de la inhibición de la enzima $\alpha$ -glucosidasa.....	16
6.	Parte experimental.....	17
7.	Conclusiones .....	18
8.	Referencias .....	19

## 1. Introducción

El género *Artemisia* pertenece a la familia Asteraceae (Compositae) y cuenta con aproximadamente 500 especies a nivel mundial. Estas plantas se caracterizan por ser aromáticas y por el aprecio que tienen en distintos países debido a su uso tradicional. Una de sus características distintivas es que su contenido metabólico está constituido principalmente de lactonas sesquiterpénicas de tipo guayanólidas, eudesmanólidas y germacranólidas. Estos productos naturales tienen una gran diversidad estructural (se han reportado 8000 compuestos) y son reconocidos por las diversas propiedades biológicas que poseen, tales como actividad antitumoral, antiinflamatoria, antiulcerosa, analgésica, bactericida, antiviral y antiparasitaria, entre otras. Además, existen estudios que demuestran que las lactonas sesquiterpénicas son importantes mediadores en las interacciones planta-planta, planta-microorganismo y planta-ambiente.<sup>1-3</sup>

La especie *Artemisia ludoviciana* ssp. *mexicana* o estafiate es conocida en nuestro país desde la época prehispánica. El nombre común estafiate proviene del náhuatl *iztauhyatl* que significa ‘sal amarga.’ Además de éste, tiene otros nombres de origen indígena como *ambfe* en lengua hñá'ñü (otomí), *ten ts'ojol* en teenek (huasteco), *ros'sabl'i* en rarámuri (tarahumara) y *kamaistra* en popoloca, por mencionar algunos.<sup>4</sup>

Existen registros de su uso en documentos como el *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*, escrito en 1552 por Martín de la Cruz y traducido por Juan Badiano. En esta obra se mencionan los usos que se daba al estafiate, a manera de remedios elaborados junto con otras plantas, rocas y partes de animales. Algunos de los padecimientos para los que se recomendaba usar preparados a base de esta planta son: contra la debilidad de las manos, para refrigerar el cuerpo agobiado por demasiado calor, heridas provocadas por un rayo y piojos en la cabeza. A pesar de que el *Libellus* se caracteriza por las ilustraciones de las plantas a las que se refiere, no se encuentra alguna figura que represente al estafiate.<sup>5</sup>

Los usos del estafiate también se mencionan en la *Historia Natural de la Nueva España* escrito por Francisco Hernández como resultado de su exploración del territorio mexicano entre 1571 y 1576. En este documento se menciona a esta especie como muy parecida al ajenjo europeo y que es eficaz para quitar dolores del frío, curar cólicos y dolores de intestinos.<sup>6</sup>

Fray Bernardino de Sahagún también hace referencia al estafiate en su *Historia General de las Cosas de la Nueva España*, donde se menciona su uso contra la caspa, contra la aspereza o sequedad de las narices y postemas del pescuezo.<sup>7</sup>

El registro del conocimiento del estafiate y de sus propiedades medicinales en estos documentos es una constancia de la importancia del uso tradicional de esta planta entre la población indígena. Actualmente esta especie todavía se utiliza, aunque no en forma de elaborados remedios como en la antigüedad, sino más bien en forma de infusión para aliviar el dolor abdominal, como vermífugo y antiinflamatorio.<sup>8</sup>

Por lo anterior, puede afirmarse que el estafiate es una planta apreciada popularmente y es importante continuar con su estudio para ampliar el conocimiento referente a las variaciones de su contenido metabólico y sobre las propiedades biológicas de los productos naturales puros.

## 2. Antecedentes

### 2.1. Descripción botánica

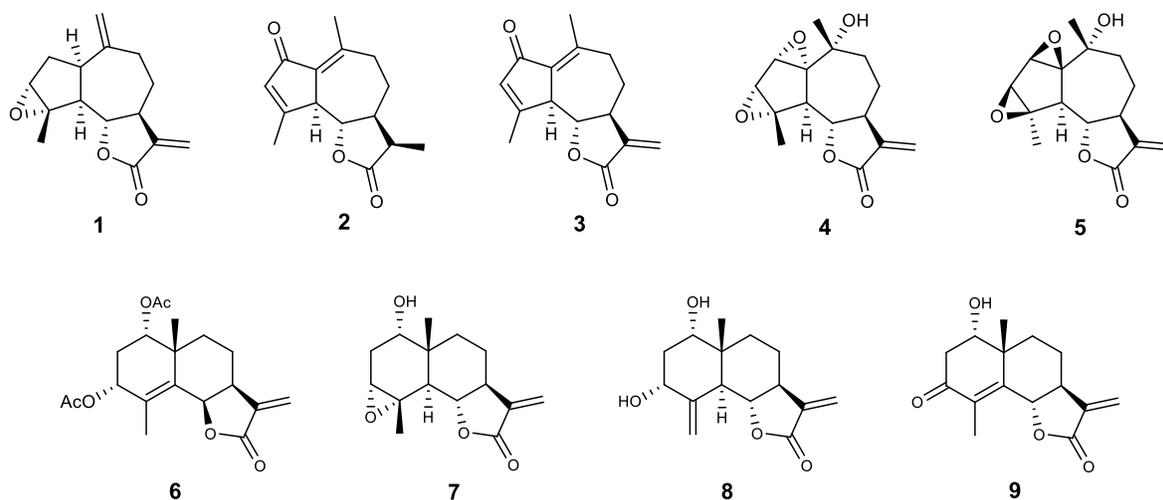
*Artemisia ludoviciana* ssp. *mexicana* (Willd. ex Spreng) D. D. Keck es una planta de hasta 1.6 m de alto, su tallo es ramificado con hojas en forma de listón, éstas son blancas y tomentosas por el envés, y verdes por el anverso. Tiene flores amarillas acomodadas en cabezuelas y desprende un olor característico. Florece de septiembre a diciembre.

Se distribuye desde el suroeste de Estados Unidos hasta Guatemala. En México, se encuentra prácticamente en todo el territorio, excepto en la península de Yucatán. Forma parte de la vegetación secundaria de bosques de encino y coníferas, así como de matorrales xerófilos, pastizales y bosques tropicales caducifolios. Es común que se cultive en pequeña escala.<sup>8,9</sup>

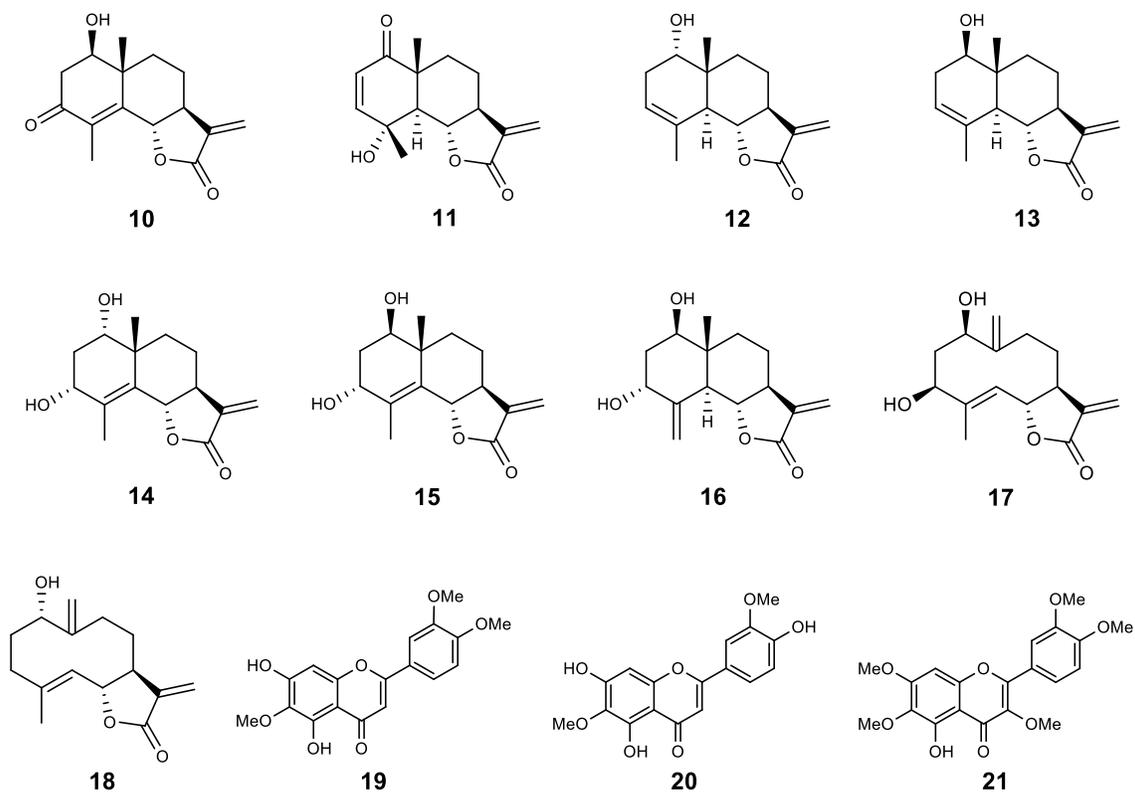
De acuerdo con la base de datos The Plant List, *A. ludoviciana* ssp. *mexicana* tiene la siguiente sinonimia: *Artemisia cuneifolia* Scheele, *Artemisia ludoviciana* var. *mexicana* (Willd. ex Spreng.) A. Gray, *Artemisia mexicana* Willd. ex Spreng., *Artemisia neomexicana* Greene ex Rydb., *Artemisia vulgaris* var. *mexicana* (Willd. ex Spreng.) Torr. & A. Gray, *Oligosporus mexicanus* (Willd. ex Spreng.) Less.<sup>10</sup>

### 2.2. Composición química

Estudios químicos previos de *A. ludoviciana* ssp. *mexicana* reportan que se han aislado las lactonas sesquiterpénicas estafiatina (1), aquilina (2), 11,13-dehidroleucodina (3), crisartemina A (4), crisartemina B (5), armexina (6), ludovicina A (7), ludovicina B (8), ludovicina C (9), armexifolina (10), arglanina (11), douglanina (12), santamarina (13), 1 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihidroxiarbusculina B (14), armefolina (15), 3 $\alpha$ -hidroxireynosina (16), ridentina (17) y artemorina (18). También se han aislado los flavonoides eupatilina (19), jaceosidina (20) y artemetina (21) (Figura 1).<sup>11-17</sup>



**Figura 1.** Lactonas sesquiterpénicas y flavonoides aislados de *A. ludoviciana* ssp. *mexicana*.



**Figura 1.** Continuación.

### 2.3. Actividad biológica

Se han llevado a cabo diversos estudios de la actividad biológica de algunos extractos y del aceite esencial obtenidos a partir de *A. ludoviciana* ssp. *mexicana*, los cuales se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Actividad biológica de extractos y aceite esencial de *Artemisia ludoviciana* ssp. *mexicana*.

Actividad evaluada	Extracto**	Referencia
Dermatitis alérgica por contacto*		18
Antimalárica ( <i>Plasmodium yoelii yoelii</i> )	Etanol 96%	19
Antiinflamatoria (inhibición del factor de transcripción NF-κB)	Etanol 96%	20
Anti- <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Hexano, Metanol	21
Anti- <i>Vibrio cholerae</i>	Etanol	22
Anti- <i>Giardia lamblia</i> , anti- <i>Entamoeba histolytica</i>	Metanol	23
Anti- <i>Helicobacter pylori</i>	Metanol, Agua	24
Efecto relajante, actividad antiespasmódica	Hexano, diclorometano, metanol	25
Efecto hipoglucemiante, anti-hiperglucémico	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -MeOH 1:1, Agua, Aceite esencial	26

\*Se usaron las hojas directamente. \*\*Todos los extractos fueron preparados con la parte aérea de la planta.

Como se observa, la mayoría de las actividades biológicas evaluadas se llevaron a cabo tomando en cuenta el criterio etnomédico, pues se relacionan con los usos tradicionales para los que se emplea esta especie.

La dermatitis alérgica por contacto causada por *A. ludoviciana* ssp. *mexicana*, se atribuye a las lactonas sesquiterpénicas, las cuales son los metabolitos principales de la planta.

La evaluación del extracto etanólico para determinar la actividad antimalárica obedece al hecho de que en la especie *Artemisia annua* se encontró la lactona artemisinina, la cual se utiliza a nivel mundial para el tratamiento de la malaria.

Por otro lado, también se ha evaluado la actividad biológica de algunos de los metabolitos que se encuentran en *A. ludoviciana* ssp. *mexicana*. En la tabla 2 se resume esta información.

Tabla 2. Actividad biológica de metabolitos aislados de *A. ludoviciana* ssp. *mexicana*.

Actividad evaluada	Compuestos evaluados	Referencia
Actividad citotóxica	Ludovicinas A-C (7-9), ridentina (17), crisartemina A (4)	27
	Douglanina (12), santamarina (13), ludovicina A (7), armexina (6), armefolina (15), armexifolina (10), 3 $\alpha$ -hidroxireynosina (16)	28
	Douglanina (12), ludovicinas A-B (7-8)	29
	Arglanina (11), ludovicinas A-B (7-8), 3 $\alpha$ -hidroxireynosina (16)	30
Dermatitis alérgica por contacto	Ludovicinas A-C (7-9)	18
Efecto hipoglucemiante, anti-hiperglucémico	Eupatilina (19), jaceosidina (20), arglanina (11)	26
Actividad antimalárica	Aquilina (2), ludovicina A (7), santamarina (13), armefolina (15), estafiatina (1), crisartemina B (5), arglanina (11)	15
	Ridentina (17)	31
Inhibición del receptor de células T	Estafiatina (1), aquilina (2)	32

Como se observa en la tabla, la actividad biológica evaluada más frecuentemente es la citotóxica, lo cual se debe a que las lactonas sesquiterpénicas se caracterizan precisamente por inhibir el crecimiento celular. Esta propiedad se atribuye a que estos compuestos poseen en su estructura una  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -lactona, la cual reacciona mediante una adición tipo Michael con nucleófilos biológicos, como los grupos tiol presentes en los residuos de cisteína de las enzimas. Esta característica estructural tiene la desventaja de ser poco específica, por lo que inhibe tanto a células tumorales como a células sanas. Otra característica de las lactonas sesquiterpénicas es una baja solubilidad en agua, lo que dificulta las pruebas *in vivo*. Estas propiedades de interés biológico pueden ser moduladas al modificar la estructura molecular de las sustancias.<sup>33,34</sup>

De los productos naturales aislados de *A. ludoviciana* ssp. *mexicana*, destacan dos por sus actividades biológicas. Uno de ellos es la lactona sesquiterpénica 11,13-dehidroleucodina (3), de la cual se ha demostrado que tiene actividad citotóxica contra líneas celulares de leucemia humana y contra células de melanoma en un modelo animal. Otro estudio demuestra que protege la mucosa

gástrica y reduce la inflamación producida por daño gástrico inducido en un modelo animal. También tiene propiedades bactericidas e inhibe a *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania mexicana*.<sup>3</sup> El otro compuesto destacado es la eupatilina (**19**), de la cual se ha demostrado que es un agente citotóxico, antiinflamatorio, antioxidante y neuroprotector.<sup>35</sup>

### 3. Justificación

*Artemisia ludoviciana* ssp. *mexicana* es una planta que se utiliza en México desde la época prehispánica y los estudios etnomédicos recientes confirman su uso tradicional. Además, los metabolitos que biosintetiza son de distintos tipos, con estructuras variadas y actividades biológicas relevantes, por lo que es pertinente continuar con el estudio de esta especie para identificar sustancias adicionales a las ya descritas y evaluar las variaciones metabólicas.

### 4. Objetivo

Realizar el estudio químico de *Artemisia ludoviciana* ssp. *mexicana* mediante la extracción, aislamiento y caracterización estructural de los productos naturales presentes en la especie, para ampliar el conocimiento referente a sus constituyentes y ponderar sus posibles actividades biológicas.

### 5. Resultados y discusión

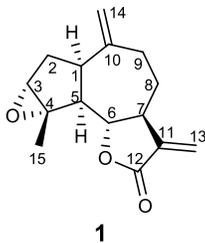
#### 5.1. Identificación y elucidación estructural de los metabolitos aislados

Del extracto acetónico de la parte aérea de *Artemisia ludoviciana* ssp. *mexicana* se aislaron los siguientes compuestos: estafiatina (**1**), ludovicina A (**7**), ludovicina B (**8**), armexifolina (**10**), eupatilina (**19**) y un dímero de guayanólida (**22**). Del extracto metanólico se obtuvo L-quebraquitol (**36**). Las sustancias fueron caracterizadas mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas, así como por sus características físicas.

De las fracciones de menor polaridad (hexano-acetato de etilo 9:1) obtenidas del fraccionamiento primario del extracto acetónico, se aisló un sólido cristalino en forma de agujas (p. f. 97-100 °C,  $R_f$  0.375 hexano-AcOEt 8:2). En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  se observaron dos señales dobles ( $J = 3.6$  Hz) en  $\delta_{\text{H}}$  6.19 y 5.47; su multiplicidad y desplazamiento sugieren que dichas señales corresponden a un metileno olefínico unido a la posición alfa de un grupo carbonilo de lactona; también se observaron dos señales dobles ( $J = 1.8$  Hz) en  $\delta_{\text{H}}$  4.94 y 4.85 que corresponden a otro metileno olefínico, una señal simple que integra para un hidrógeno en  $\delta_{\text{H}}$  3.36, lo cual sugiere que se trata de un oximetino y una señal simple que integra para tres hidrógenos en  $\delta_{\text{H}}$  1.60 correspondiente a un metilo. La integración de las señales en el espectro permitió determinar un total de 18 hidrógenos.

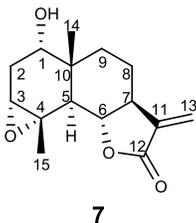
El espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  muestra 15 señales, una de ellas en  $\delta_{\text{C}}$  169.89 correspondiente a un grupo carbonilo, cuatro señales de carbonos  $\text{sp}^2$  en  $\delta_{\text{C}}$  146.22, 139.69, 120.32 y 115.41, tres señales en  $\delta_{\text{C}}$  80.67, 65.98 y 63.34 de carbonos  $\text{sp}^3$  unidos a oxígeno.

La comparación de los datos de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  con los reportados previamente<sup>11</sup> permitieron establecer que la sustancia aislada es la estafiatina (**1**).

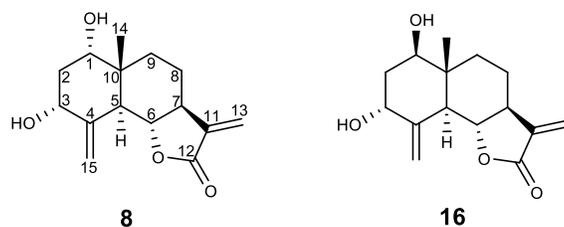


Cromatografías sucesivas de las fracciones subsecuentes permitieron la obtención de ludovicina A (**7**) (sólido cristalino, p. f. 210-212 °C,  $R_f$  0.3 hexano-AcOEt 4:6) y ludovicina B (**8**) (polvo blanco, p. f. 148-150 °C,  $R_f$  0.425 hexano-AcOEt 4:6). En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **7** se observan dos señales dobles ( $J = 3.2$  Hz) en  $\delta_{\text{H}}$  6.09 y 5.42 atribuibles al metileno unido en la posición  $\alpha$  del carbonilo, una señal doble de dobles ( $J = 11.7, 10.5$  Hz) que corresponde al oximetino en posición 6. También se observa una señal simple ancha en  $\delta_{\text{H}}$  3.22 del hidrógeno en posición 1, su desplazamiento se debe a que se trata de un hidroximetino, y una señal múltiple en  $\delta_{\text{H}}$  3.04 del hidrógeno en posición 3 que se encuentra unido a un carbono de epóxido. Las señales de los metilos en posición 14 y 15 se encuentran en  $\delta_{\text{H}}$  0.87 y 1.51; el desplazamiento de este último a campo bajo se debe a que se encuentra unido a un carbono de epóxido. La integración de las señales en el espectro da un total de 20 hidrógenos.

El espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **7** tiene 15 señales, una de ellas en  $\delta_{\text{C}}$  170.5 correspondiente a un carbonilo, dos señales de carbonos vinílicos en  $\delta_{\text{C}}$  138.77 y 117.32 de las posiciones 11 y 13, respectivamente. El resto de las señales se encuentra en la región de carbonos  $\text{sp}^3$ , entre ellas destacan las señales en  $\delta_{\text{C}}$  81.13, 73.44, 61.01 y 59.16, cuyos desplazamientos indican que los carbonos se encuentran unidos a oxígeno.

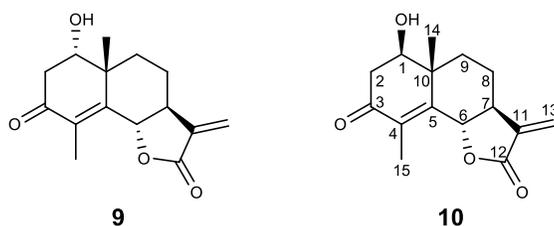


En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **8** se observan dos señales dobles ( $J = 3.2$  Hz) en  $\delta_{\text{H}}$  6.09 y 5.43 correspondientes al metileno olefínico unido a la posición  $\alpha$  del carbonilo, una señal triple ( $J = 1.2$  Hz) en  $\delta_{\text{H}}$  5.19 que integra para un hidrógeno y se asignó al protón en la posición 15a; al hidrógeno 15b le corresponde la señal dd ( $J = 1.9, 0.9$  Hz) en  $\delta_{\text{H}}$  5.08. La señal triple ( $J = 11.0$  Hz) en  $\delta_{\text{H}}$  4.03 se asignó a H6, este hidrógeno se acopla con H5 ( $\delta_{\text{H}}$  3.15, dt,  $J = 11.0, 1.8$  Hz) y H7 ( $\delta_{\text{H}}$  3.15, ddt, ( $J = 15.1, 10.7, 3.2$  Hz)). La señal triple ( $J = 3.0$  Hz) en  $\delta_{\text{H}}$  4.42 se asignó a H3, mientras que la señal en  $\delta_{\text{H}}$  3.38 (t,  $J = 3.0$  Hz) se asignó a H1. La magnitud de las constantes de acoplamiento indica que estos hidrógenos son  $\beta$ -ecuatoriales, por lo que los hidroxilos en C1 y C3 son  $\alpha$ -axiales. Es importante verificar la orientación del hidrógeno en posición 1, debido a que se ha reportado que el compuesto  $3\alpha$ -hidroxireynosina (**16**), también aislado de *A. ludoviciana* ssp. *mexicana*, es epímero de la ludovicina B.<sup>16</sup>



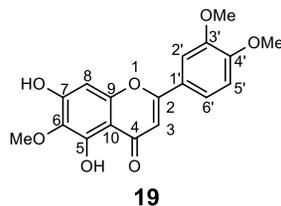
De las fracciones de polaridad intermedia provenientes del fraccionamiento primario y tras cromatografías sucesivas, se obtuvo un sólido blanco en forma de agujas (p. f. 193-196 °C,  $R_f$  0.33 hexano-AcOEt 3:7). En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  se observan dos señales dobles en  $\delta_{\text{H}}$  6.09 ( $J = 3.2$  Hz) y 5.64 ( $J = 3.0$  Hz), que corresponden a un metileno unido a la posición  $\alpha$  de una  $\gamma$ -lactona. Una señal en  $\delta_{\text{H}}$  4.96 (dc,  $J = 11.8, 1.6$  Hz) corresponde al metino en posición 6 y una señal en  $\delta_{\text{H}}$  2.91 (tc,  $J = 11.6, 3.8$  Hz) atribuible al metino en posición 7, así como una señal doble ( $J = 1.6$  Hz) en  $\delta_{\text{H}}$  1.96 que integra para tres hidrógenos y que se asignó al metilo vinílico en posición 15. También se observó una señal en  $\delta_{\text{H}}$  3.87 (dt,  $J = 13.0, 5.0$  Hz) que se asignó al hidrógeno en posición 1. Se determinó que este hidrógeno se encuentra en posición  $\alpha$ -axial debido al valor de sus constantes de acoplamiento, una  $J = 13.0$  Hz para un acoplamiento *trans* diaxial con el hidrógeno  $2\beta$  y una  $J = 5.0$  Hz correspondiente a un acoplamiento axial-ecuatorial con el hidrógeno  $2\alpha$ . Adicionalmente, en el espectro NOESY se observó la interacción entre H1 y H9 $\alpha$ .

En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  se observan 15 señales, una en  $\delta_{\text{C}}$  197.39 que corresponde a un carbonilo de cetona; y otra en  $\delta_{\text{C}}$  169.52 de un carbonilo de lactona. También se observan cuatro señales en la región de carbonos  $\text{sp}^2$  ( $\delta_{\text{C}}$  154.19, 139.71, 128.63, 119.02) que indican la presencia de dos enlaces dobles en la molécula. El resto de las señales corresponden a carbonos  $\text{sp}^3$ , dos de los cuales se encuentran unidos a oxígeno como lo indican sus desplazamientos ( $\delta_{\text{C}}$  82.71 y 74.48). Estos datos espectroscópicos coinciden con los reportados<sup>36</sup> para la armexifolina (**10**). Es necesario establecer la orientación del hidrógeno en 1 debido a que en la literatura se ha reportado<sup>12</sup> un epímero en esa posición, la ludovicina C (**9**), que también se aisló *A. ludoviciana* ssp. *mexicana*.

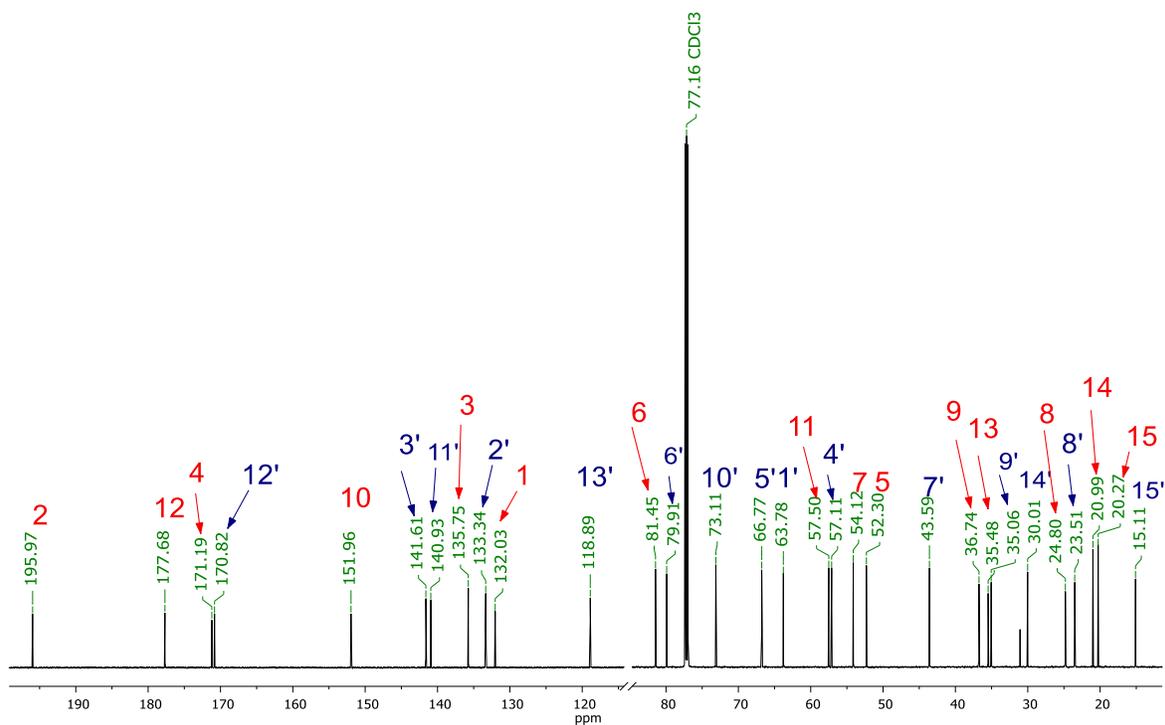


A partir de las fracciones de mayor polaridad del fraccionamiento primario y después de cromatografías sucesivas, se aisló un sólido amarillo (p. f. 233-236 °C,  $R_f$  0.48 hexano-AcOEt 4:6). En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  se observa un sistema ABX en la región de protones aromáticos: una señal en  $\delta_{\text{H}}$  7.65 (dd,  $J = 8.5, 2.1$  Hz), otra en  $\delta_{\text{H}}$  7.54 (d,  $J = 2.1$  Hz) y una en  $\delta_{\text{H}}$  7.10 (d,  $J = 8.6$  Hz). También se observan tres señales simples que integran para un hidrógeno cada una en  $\delta_{\text{H}}$  13.03, 6.94 y 6.62; y tres señales simples que integran para tres hidrógenos cada una en  $\delta_{\text{H}}$  3.87, 3.84 y 3.76. En el espectro de  $^{13}\text{C}$  se observan 18 señales, una de ellas en  $\delta_{\text{C}}$  182.22 que corresponde a un carbonilo, 14 señales en la región de carbonos  $\text{sp}^2$  aromáticos y vinílicos, además de 3 señales en  $\delta_{\text{C}}$  59.97, 55.86 y 55.74 que corresponden a carbonos unidos a oxígeno. Al comparar las

características físicas y los datos espectroscópicos reportados en la literatura<sup>37</sup>, se determinó que la sustancia aislada es la eupatilina (**19**).

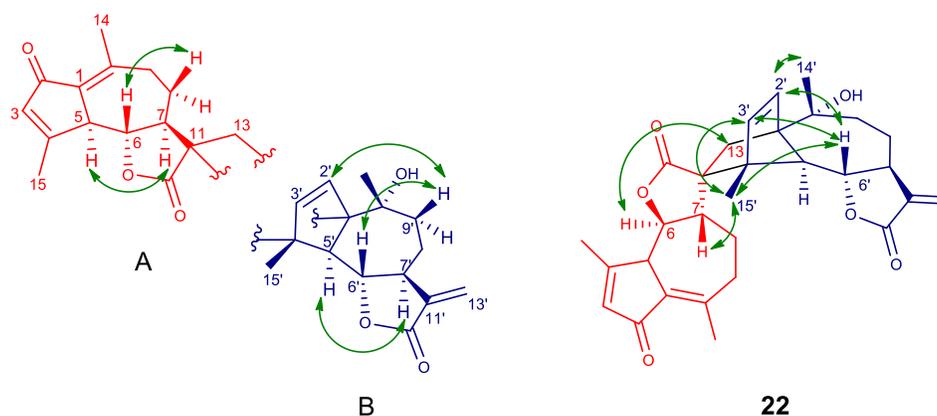


El dímero **22** se aisló mediante cromatografías sucesivas de las fracciones intermedias obtenidas del fraccionamiento primario del extracto acetónico. Este compuesto es un sólido blanco con punto de fusión de 212-214 °C y  $[\alpha]_D = -4.0^\circ$  ( $c$  0.001,  $\text{CHCl}_3$ ). El análisis del espectro de masas de alta resolución ( $[\text{M} + \text{H}]^+$ ,  $m/z$  491.24341, calculada para  $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{O}_6$ : 491.24336) y el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , permitió establecer la fórmula molecular como  $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{O}_6$ , lo cual indica 14 grados de insaturación. En el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  se observaron 30 señales (Figura 2), de las cuales cuatro corresponden a metilos, seis a metilenos, ocho a metinos y doce a carbonos cuaternarios.



**Figura 2.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) del dímero **22**.

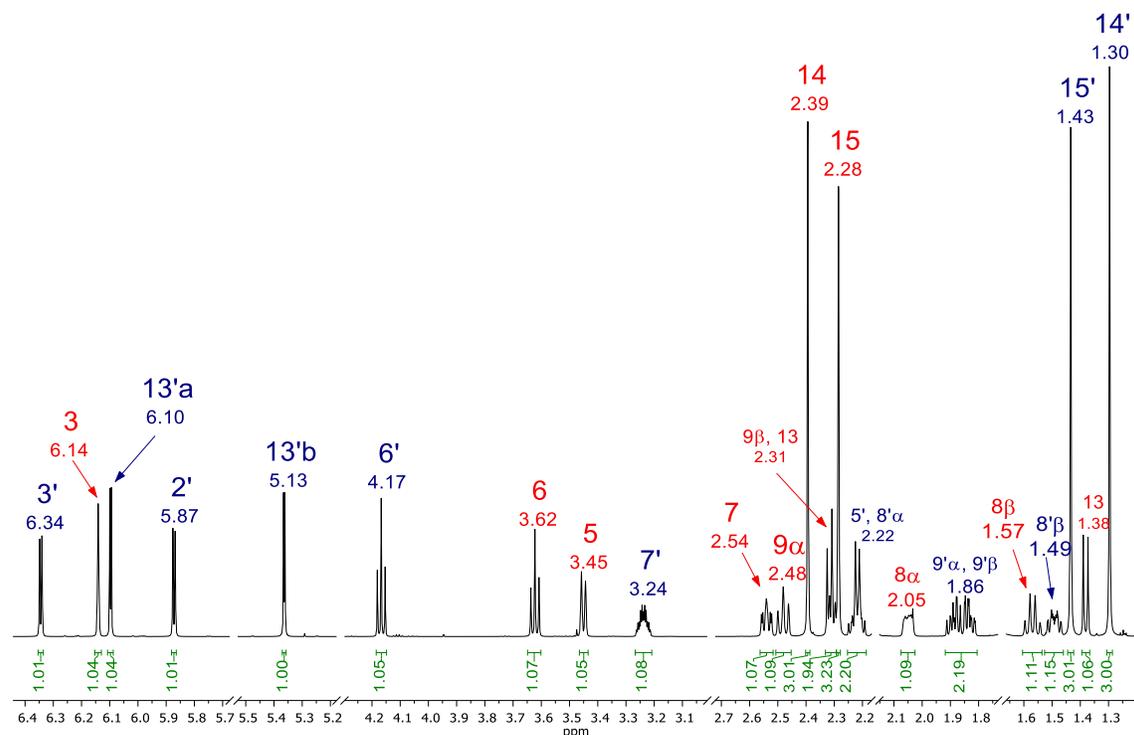
La información anterior permitió suponer que la estructura de **22** estaba constituida por la unión de dos lactonas sesquiterpénicas, cuyos fragmentos estructurales corresponden a **A** y **B** (Figura 3).



**Figura 3.** Estructuras parciales **A** y **B**, y estructura total del dímero **22**. Se indican las interacciones NOE observadas en el espectro NOESY.

La estructura parcial **A** se determinó mediante el análisis del espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 4) y de los experimentos COSY, HMBC y HSQC. Los desplazamientos químicos de H6 ( $\delta_{\text{H}}$  3.62, t,  $J = 10.0$  Hz) y C6 ( $\delta_{\text{C}}$  81.45) son asignables a un oximetino. Dicho protón correlaciona en HMBC con un carbono en  $\delta_{\text{C}}$  54.12, este último se encuentra unido a un protón en  $\delta_{\text{H}}$  2.54, que se asignó como H7. La señal en  $\delta_{\text{H}}$  3.45 (dd,  $J = 9.9, 1.4$  Hz) se asignó al hidrógeno en la posición 5, éste correlaciona con la señal en  $\delta_{\text{C}}$  20.27, la cual corresponde a la señal del metilo 15 ( $\delta_{\text{H}}$  2.28, t,  $J = 1.1$  Hz). El protón en la posición 3 ( $\delta_{\text{H}}$  6.14, c,  $J = 1.3$  Hz), unido a un carbono en  $\delta_{\text{C}}$  135.75, correlaciona con el carbono en  $\delta_{\text{C}}$  195.97 y con un carbono en  $\delta_{\text{C}}$  171.19, y se asignaron como C2 y C4, respectivamente. La señal asignada al metilo 14 ( $\delta_{\text{H}}$  2.39, d,  $J = 1.0$  Hz) correlaciona con los carbonos en  $\delta_{\text{C}}$  151.96 y 132.03, asignados como C10 y C1, respectivamente. Los protones en  $\delta_{\text{H}}$  2.31 (d,  $J = 11.7$  Hz) y  $\delta_{\text{H}}$  1.38 (d,  $J = 11.6$  Hz), asignados a la posición 13, correlacionan con un carbono carbonílico en  $\delta_{\text{C}}$  177.86, asignado como C12.

La estructura parcial **B** se determinó mediante los protones vinílicos 13'a ( $\delta_{\text{H}}$  6.10, d,  $J = 3.6$  Hz) y 13'b ( $\delta_{\text{H}}$  5.36, d,  $J = 3.3$  Hz) que correlacionan, en el experimento HMBC, con los carbonos cuaternarios en  $\delta_{\text{C}}$  170.82 y 140.93, asignados a C12' y C11', respectivamente. Además, correlacionan con el C7' ( $\delta_{\text{C}}$  43.59), que de acuerdo con el experimento HSQC se encuentra unido al protón en  $\delta_{\text{H}}$  3.24 (tdt,  $J = 10.2, 6.8, 3.4$ ). La señal en  $\delta_{\text{H}}$  4.17 (t,  $J = 9.7$  Hz) se asignó al hidrógeno de la posición 6', esta señal muestra correlación con el carbono en  $\delta_{\text{C}}$  66.77, el cual está unido al hidrógeno H5' ( $\delta_{\text{H}}$  2.22, d,  $J = 9.4$  Hz). Las señales en  $\delta_{\text{H}}$  6.34 (d,  $J = 5.6$  Hz) y  $\delta_{\text{H}}$  5.87 (d,  $J = 5.5$  Hz) se asignaron a los hidrógenos vinílicos de las posiciones 3' y 2', respectivamente. Las señales simples en  $\delta_{\text{H}}$  1.43 y  $\delta_{\text{H}}$  1.30 corresponden a los metilos 15' y 14'.



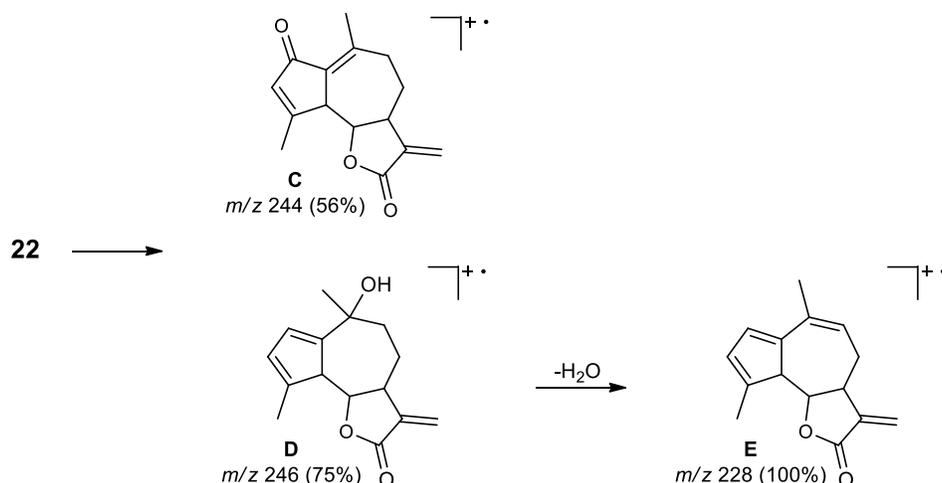
**Figura 4.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 700 MHz) del dímero **22**.

La conectividad entre los fragmentos **A** y **B** se estableció debido a que en HMBC se observó la correlación de los protones en la posición 13 con el carbono C1' y de H3' con C11. Por lo tanto, existe unión entre los carbonos C13 y C1', y C11 con C4'.

La configuración del dímero se estableció mediante el experimento NOESY. Se observaron interacciones NOE entre 15'CH<sub>3</sub> y H7, H3', H6'; también entre H3' y H6'; así como entre H2' con 14'CH<sub>3</sub> y H6'; y entre H6 con H13. Adicionalmente, se observaron interacciones NOE entre H5 y H7; también entre H6 y H8 $\beta$ , entre H5' y H7', así como entre H6' y H9' $\beta$ , las cuales proporcionan información sobre la estereoquímica relativa de **A** y **B**, respectivamente.

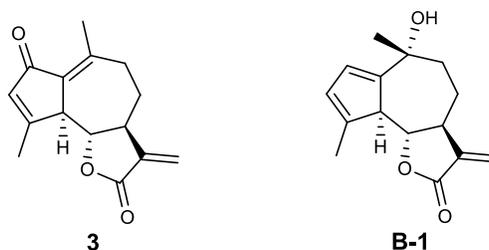
Lo anterior permite proponer a **22** como la estructura del dímero, el cual proviene de la unión de las estructuras parciales **A** y **B** mediante una reacción de Diels-Alder.

En el espectro de masas (IE) de **22**, se observaron los picos  $m/z$  246 y  $m/z$  244, que se atribuyen a los productos retro-Diels-Alder **C** y **D**, respectivamente (Figura 5).



**Figura 5.** Productos retro-Diels-Alder **C** y **D** provenientes de la fragmentación del dímero **22**.

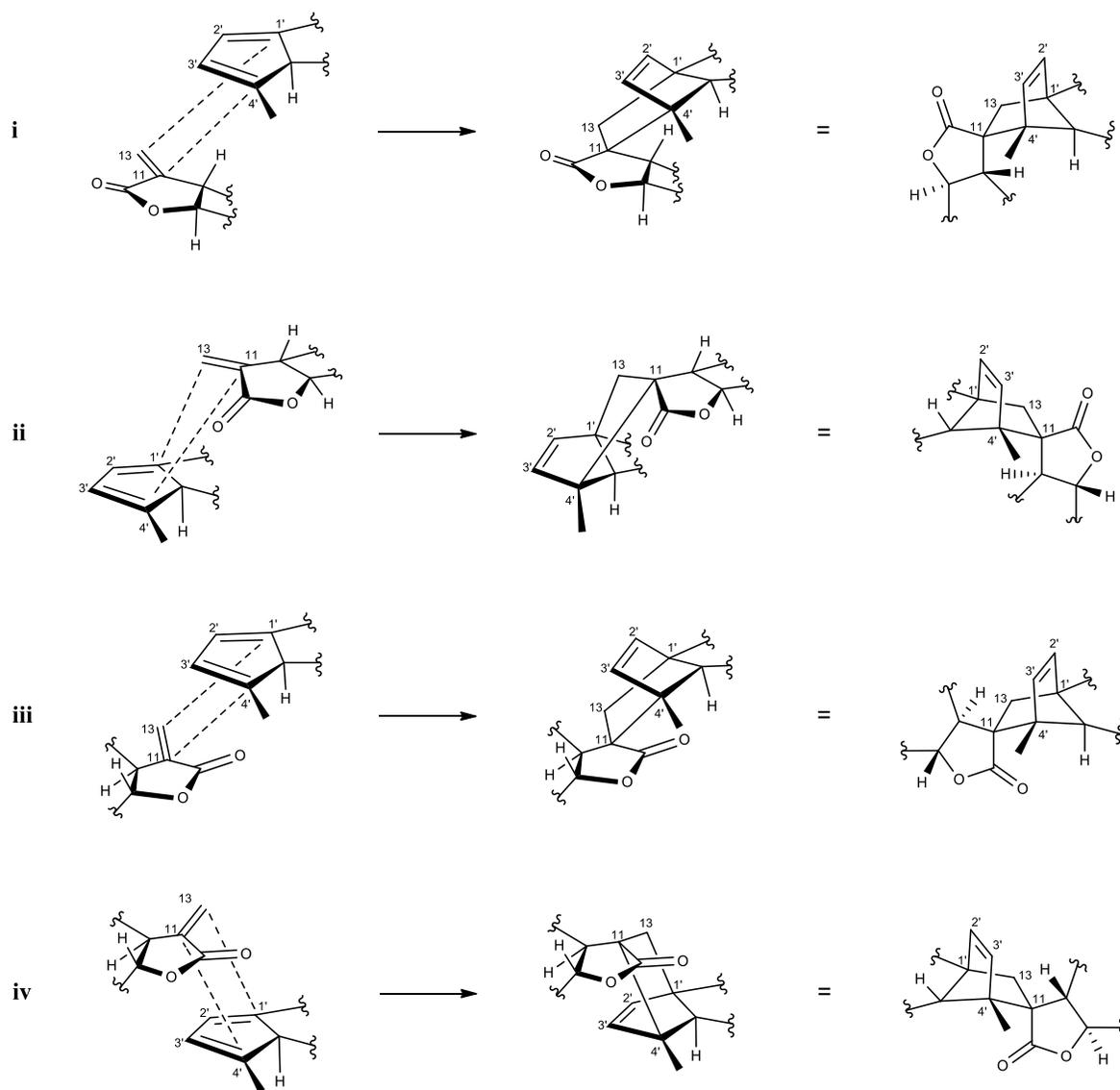
Los datos obtenidos respaldan la estructura propuesta para el dímero **22** y su posible origen como producto de una reacción Diels-Alder, donde el dienófilo corresponde a lactona sesquiterpénica 11, 13-dehidroleucodina (**3**), la cual se aisló previamente de *A. ludoviciana* ssp. *mexicana*.<sup>15</sup> El dieno **B-1** se denomina como dehidromatricarina B<sup>38</sup> y se ha propuesto como un precursor de otros dímeros aislados del género *Artemisia* (Figura 6).<sup>39-42</sup> Sin embargo, **B-1** no se ha aislado como un producto natural ni se ha logrado su síntesis, probablemente debido a que es inestable.<sup>43</sup>



**Figura 6.** Estructuras de la 11,13- dehidroleucodina y dehidromatricarina B.

La reacción de cicloadición entre **3** y **B-1** puede dar lugar a la formación de dos regio-isómeros, uno de ellos resultado de la unión entre las posiciones C11-C1' y C13-C4'; y el otro como resultado de la unión entre los carbonos C11-C4' y C13-C1'. Como se discutió anteriormente, los datos del experimento HMBC permiten corroborar que el dímero **22** se encuentra unido entre C11-C4' y C13-C1'.

Una vez establecido el regio-isómero, es importante establecer el isómero configuracional. Existen cuatro posibilidades derivadas del estado de transición mediante el cual se lleva a cabo la cicloadición (Figura 7): los productos *endo*, donde la orientación del dienófilo sea  $\alpha$  y la del dieno sea  $\beta$  (**i**), o bien con el dienófilo en  $\beta$  y el dieno en  $\alpha$  (**ii**); y los productos *exo*, con el dienófilo con orientación  $\alpha$  y el dieno  $\beta$  (**iii**), o el dienófilo  $\beta$  y el dieno  $\alpha$  (**iv**).



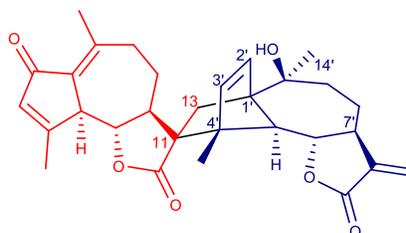
**Figura 7.** Cuatro posibles estereoisómeros derivados del estado de transición *endo* (i y ii) y *exo* (iii y iv) de la reacción de cicloadición para formar **22**.

De acuerdo con los datos del experimento NOESY, es posible proponer que el dímero **22** se formó mediante un estado de transición *endo*, con el dienófilo con orientación  $\alpha$  y el dieno con orientación  $\beta$ , como se observa en i.

Se ha reportado el aislamiento del dímero **22-A** (Figura 8) a partir de *Artemisia anomala*.<sup>44</sup> De acuerdo con los datos de espectrometría de masas ( $[M + H]^+$ ,  $m/z$  491.2402, calculada para  $C_{30}H_{35}O_6$ : 491.24281) y de RMN  $^{13}C$ , este compuesto y el dímero **22** tienen la misma fórmula molecular, sin embargo, el análisis de los datos de RMN  $^1H$  muestran diferencias en los desplazamientos de los hidrógenos H2' ( $\delta_H$  5.87 para **22** y  $\delta_H$  6.26 para **22-A**), H3' ( $\delta_H$  6.34 para **22** y  $\delta_H$  5.83 para **22-A**), H7' ( $\delta_H$  3.24 para **22** y  $\delta_H$  2.72 para **22-A**), H13 ( $\delta_H$  2.31, 1.38 para **22** y  $\delta_H$  2.55, 2.04 para **22-A**) y  $14'CH_3$  ( $\delta_H$  1.30 para **22** y  $\delta_H$  1.48 para **22-A**), este último se encuentra en posición  $\beta$  en **22**, pero en **22-A** se encuentra en posición  $\alpha$ .

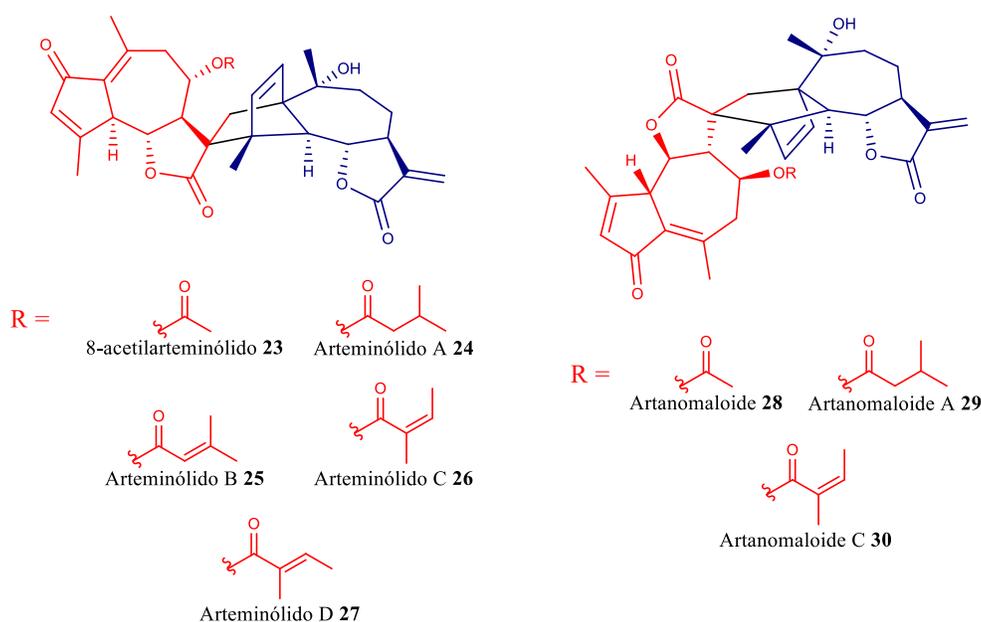
Es posible que el dímero **22-A** sea resultado de una cicloadición con estado de transición *exo*, con el dienófilo en posición  $\alpha$  y el dieno en posición  $\beta$  (Figura 7, **iii**).

La diferencia observada en la rotación óptica de **22-A** ( $[\alpha]_D = +30.5^\circ$ ,  $c$  0.18,  $\text{CHCl}_3$ ) y **22** ( $[\alpha]_D = -4.0^\circ$ ,  $c$  0.001,  $\text{CHCl}_3$ ), permite confirmar la relación estereoisomérica entre ambas sustancias.



**Figura 8.** Estructura del dímero **22-A**, aislado de *A. anomala*.<sup>44</sup>

Se han aislado otros dímeros similares al dímero **22**, en donde la parte izquierda es igual a **B-1**, pero la parte derecha tienen diferentes sustituyentes en la posición 8. Estos compuestos se conocen como arteminólidos (**23-27**) y artanomaloideos (**28-30**) (Figura 9). Se propone que se forman mediante una reacción Diels-Alder con estado de transición *exo*; en el caso de los arteminólidos, la orientación del dienófilo es  $\alpha$  y la del dieno es  $\beta$  (Figura 7, **iii**), mientras que para los artanomaloideos la orientación del dienófilo es  $\beta$  y la del dieno es  $\alpha$  (Figura 7, **iv**).<sup>39-42</sup>



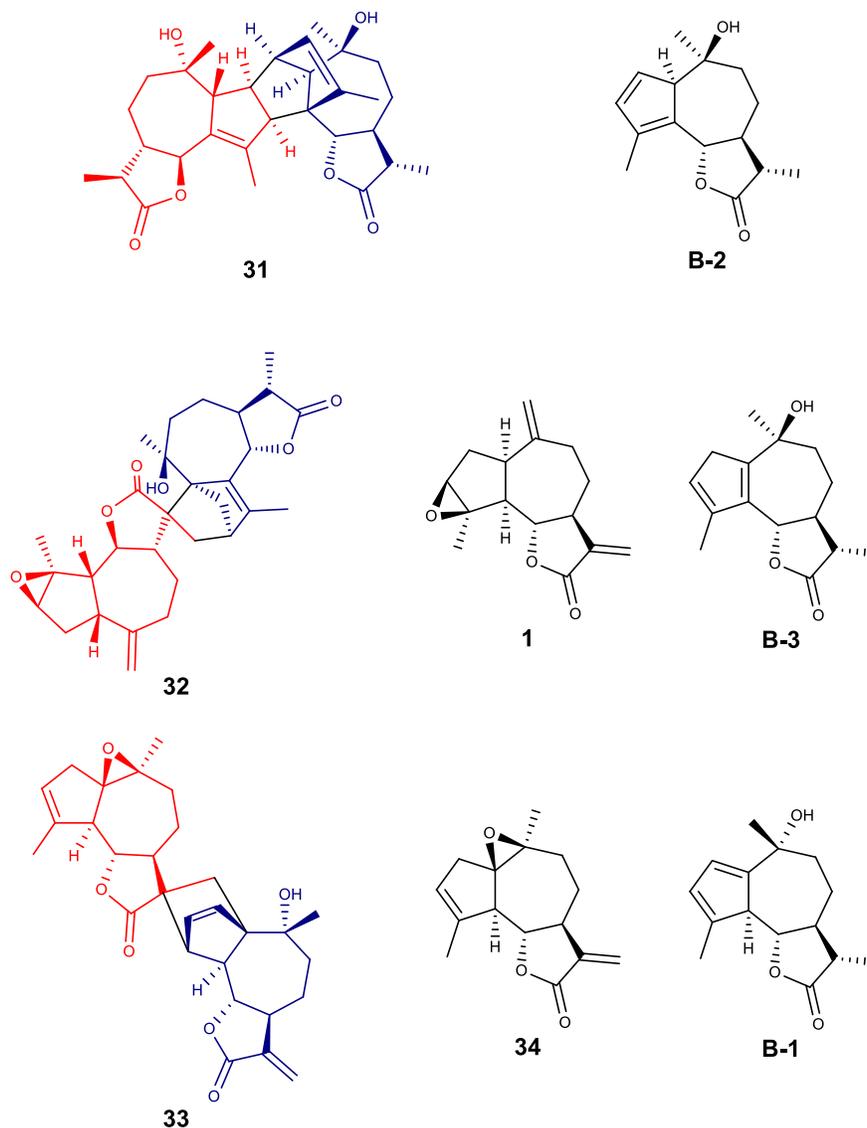
**Figura 9.** Estructuras de algunos dímeros análogos a **22**.<sup>39-42</sup>

Dentro del género *Artemisia*, se han aislado otros dímeros de guayanólidas (Figura 10). Destaca la (+)-absintina (**31**) aislada de *Artemisia absinthium* por Herout y colaboradores.<sup>3</sup> En este compuesto y en sus análogos,<sup>45</sup> tanto el dienófilo como el dieno tienen la misma estructura (**B-2**), sin embargo, dicho monómero no ha logrado aislarse como un producto natural. En 2005, Zhang y colaboradores reportaron la síntesis total de la (+)-absintina.<sup>46</sup>

La artesieversina (**32**) es un dímero aislado de *Artemisia sieversiana*. Para este compuesto se propone como dienófilo la estafiatina (**1**) y como dieno se propone a **B-3**, el cual tampoco se ha aislado como un producto natural.<sup>47</sup>

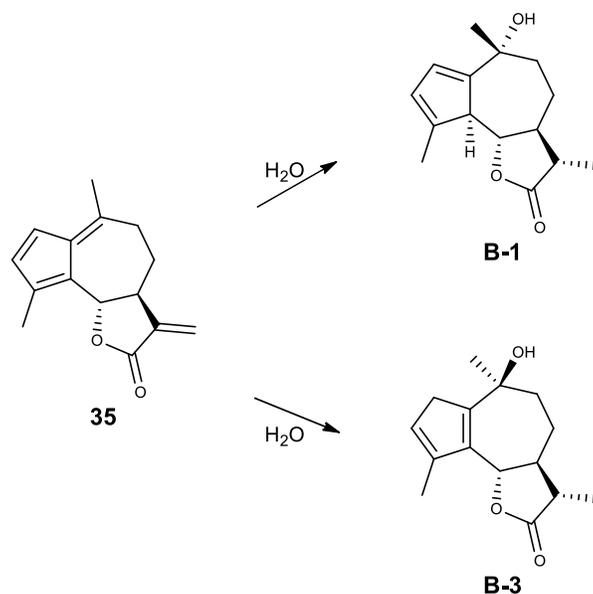
De *Artemisia myriantha*, se aisló la artemiriantólida D (**33**), cuyos precursores son la arglabina (**34**) y la dehidromatricarina B (**B-1**), que es el mismo dieno que se propone para la formación del dímero **22**.<sup>48</sup>

Los dímeros mencionados tienen en común que los dienos propuestos como sus precursores, no han sido aislados como productos naturales, posiblemente debido a que son compuestos reactivos y sólo se encuentran formando parte de dímeros.



**Figura 10.** Estructuras de dímeros y sus monómeros, aislados del género *Artemisia*.

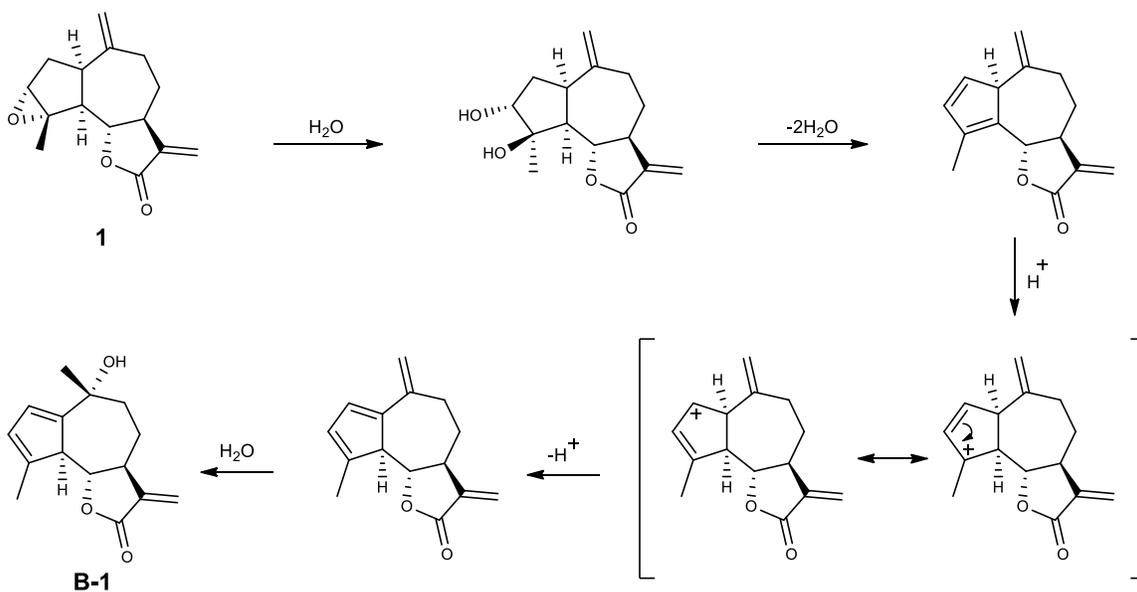
Wong y Brown proponen que **B-1** y **B-3** se forman mediante la adición de agua a la lactona sesquiterpénica fulvenoguyanólida (**35**), la cual también se aisló de *A. myriantha* (Figura 11). El dieno **B-3** es el monómero propuesto para la formación de otros dímeros aislados de la misma especie.<sup>48</sup>



**Figura 11.** Estructura de la fulvenoguayanólida, posible precursora de **B-1** y **B-3**.

Ahora bien, el compuesto **35** sólo se ha reportado en *A. miryantha*, por lo que es poco probable que sea el único precursor del dieno **B-1**.

Para el caso del dímero aislado en este trabajo, es posible proponer a la estafiatina (**1**) como precursora del dieno **B-1**, pues esta lactona se encuentra en la especie *A. ludoviciana* spp. *mexicana* (Figura 12).



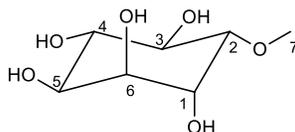
**Figura 12.** Mecanismo propuesto para la formación del dieno **B-1** a partir de la estafiatina.

La adición de agua a **1** provoca la apertura del éxido y la formación de un diol, que al deshidratarse forma el 2,4-pentadieno. Al adicionar un protón en la posición 5, se genera un intermediario con una carga positiva en 4. Por efecto de resonancia, esta carga migra a la posición 2

y la pérdida del protón en 1 conduce a la formación del 1,3-pentadieno. La posterior adición de agua al enlace doble en la posición 10, conduce a la formación de **B-1**.

La descripción anterior permite concluir que el dímero **22** es una sustancia novedosa, su hallazgo hace pertinente continuar con la exploración del contenido metabólico de *A. ludoviciana* ssp. *mexicana*, pues es posible que contenga otros dímeros análogos a **22**.

Por último, a partir de las fracciones de mayor polaridad provenientes del fraccionamiento primario del extracto metanólico, se aisló un sólido blanco (p. f. 189-191 °C,  $R_f$  0.6 hexano-AcOEt-MeOH 1:1:4). En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  se observan dos señales triples en  $\delta_H$  4.28 ( $J = 3.6$  Hz, 1H) y  $\delta_H$  4.07 ( $J = 3.6$  Hz, 1H); una señal en  $\delta_H$  3.75 (dd,  $J = 9.5, 3.2$  Hz, 1H), una señal múltiple que integra para dos hidrógenos en  $\delta_H$  3.62, una señal simple en  $\delta_H$  3.46 que corresponde a un metilo y una señal en  $\delta_H$  3.41 (dd,  $J = 9.5, 3.1$  Hz, 1H). En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  se observan siete señales en  $\delta_C$  80.11, 72.79, 71.88, 71.32, 70.31, 67.09 y 56.84. Mediante el experimento DEPT135 se determinó que seis de estas señales corresponden a metinos y una a metilo. Comparando estos datos con los reportados en la literatura,<sup>49</sup> se determinó que el compuesto obtenido es L-quebraquitol (**36**).



**36**

El L-quebraquitol (1L-2-O-metil-*chiro*-inositol) es un derivado del L-*chiro*-inositol, en donde el hidroxilo de la posición 2 está sustituido por un grupo metoxilo. Este compuesto se encuentra en distintas especies de plantas, entre ellas *Aspidosperma quebracho-blanco*,<sup>50</sup> *Allophylus edulis*<sup>51</sup> y *Artemisia iwayomogi*.<sup>52</sup>

Se han llevado a cabo diversos estudios de la actividad biológica de **36**, en los que se ha evaluado su potencial uso como sustituyente de la glucosa en pacientes con diabetes,<sup>53</sup> así como su actividad hipoglucémica,<sup>54</sup> antioxidante<sup>52</sup> y gastroprotectora.<sup>55</sup>

Cabe mencionar que es la primera vez que se reporta al L-quebraquitol como constituyente de *A. ludoviciana* ssp. *mexicana*.

## 5.2. Evaluación de la inhibición de la enzima $\alpha$ -glucosidasa

Existen reportes del uso tradicional del estafiate para el tratamiento de la diabetes,<sup>56,57</sup> y se han llevado a cabo estudios del efecto anti-hiperglucémico de extractos de la planta, así como de algunos de sus metabolitos.<sup>26,58</sup> Tomando en cuenta estos informes, se evaluó la actividad de los metabolitos **1**, **7**, **8**, **10**, **22** y **36** sobre la actividad enzimática de la  $\alpha$ -glucosidasa de levadura y de rata (tabla 3), de acuerdo con protocolos estandarizados,<sup>59</sup> para determinar de manera preliminar su potencial como sustancias anti-hiperglucémicas.

En esta prueba se utiliza como sustrato  $\alpha$ -D-glucopiranosido de 4-nitrofenilo que, al ser hidrolizado por la enzima, libera  $\alpha$ -D-glucosa y 4-nitrofenol. Este último compuesto es colorido, por lo que es posible determinar su concentración mediante espectrofotometría. Dicha concentración es inversamente proporcional a la inhibición de la enzima.

Tabla 3. Efecto de los metabolitos aislados de *A. ludoviciana* ssp. *mexicana* sobre la actividad de la enzima  $\alpha$ -glucosidasa de levadura y de rata.

Sustancia	Concentración ( $\mu$ M)	$\alpha$ -glucosidasa de levadura		$\alpha$ -glucosidasa de rata	
		D. O. 405 nm	Inhibición (%)	D. O. 405 nm	Inhibición (%)
$\alpha$ -Glucosidasa 100%	-	2.005	-	0.993	-
	1	1.970	1.73	0.988	0.44
<b>1</b>	10	1.837	8.38	1.016	SA
	100	1.997	0.38	1.014	SA
	1	1.990	0.76	1.008	SA
<b>7</b>	10	1.916	4.44	0.993	SA
	100	1.881	6.18	1.014	SA
	1	2.021	SA	1.013	SA
<b>8</b>	10	2.041	SA	1.00	SA
	100	1.995	0.50	0.986	0.64
	1	1.982	1.16	1.038	SA
<b>10</b>	10	2.060	SA	0.972	2.05
	100	2.024	SA	0.997	SA
	1	1.999	0.30	1.011	SA
<b>22</b>	10	1.896	5.44	1.009	SA
	100	1.621	19.15	0.982	1.11
	1	1.761	3.56	1.001	SA
<b>36*</b>	10	1.847	SA	0.992	0.10
	100	1.901	SA	0.996	SA
	1	1.953	2.61	-	-
Quercetina	10	1.226	38.85	-	-
	100	0.303	84.87	-	-
	1	-	-	0.746	24.88
Acarbosa	10	-	-	0.597	39.86
	100	-	-	0.497	49.93

Vehículo: DMSO 50% (25  $\mu$ L), glicerol 50%, con GSH.

10 min. de inhibición, 15 min. de reacción.

SA = Sin actividad.

\*Para esta muestra, el control glucosidasa 100% de levadura tiene un valor de D. O. (405 nm) = 1.826

De acuerdo con los datos de la tabla 3, ninguno de los compuestos probados tiene actividad inhibitoria comparable a las referencias, por lo que su posible potencial como agentes anti-hiperglucémicos es limitado. Cabe mencionar que la eupatilina (**19**) no se incluyó en este ensayo, ya que su actividad inhibitoria sobre la enzima  $\alpha$ -glucosidasa ya se encuentra informada en la literatura.<sup>60</sup>

## 6. Parte experimental

*Artemisia ludoviciana* ssp. *mexicana* fue colectada en la carretera federal México-Cuernavaca (carretera 95), a 8 km al norte de Tres Marías, Estado de Morelos. El registro de una muestra de la planta en el Herbario Nacional (Instituto de Biología, UNAM) se encuentra en proceso.

El material vegetal se dejó secar a la sombra a temperatura ambiente y después se cortó en trozos pequeños. Posteriormente, se obtuvieron los extractos acetónico y metanólico mediante maceración. Para esto se colocaron 5.37 kg de la parte aérea de la planta en garrafones de vidrio, se adicionó acetona hasta cubrir el material (20 L aproximadamente) y se dejó reposar durante 12 h.

Posteriormente, se recuperó el disolvente y se concentró en el rotavapor. Se hicieron tres extracciones usando acetona y se obtuvieron 284.4 g de extracto. Se siguió el mismo procedimiento utilizando metanol y se obtuvieron 272.0 g de extracto.

El fraccionamiento primario del extracto acetónico se llevó a cabo adsorbiéndolo en gel de sílice malla 70-230 (relación 1:1 con respecto al peso del extracto), se aplicó en una columna de vidrio de 10 cm de diámetro usando como soporte gel de sílice 70-230 (900 g) y como eluyente se usó hexano, luego mezclas hexano-AcOEt de polaridad creciente, después acetona y finalmente metanol. Se colectaron 300 fracciones de 1 L, las cuales se reunieron de acuerdo con su perfil en cromatografía en capa fina (CCF), clasificándolas de A-U. Los fraccionamientos secundarios se hicieron usando columnas de vidrio de distintos diámetros, usando gel de sílice malla 240-400 y como eluyentes, distintas mezclas de disolventes, principalmente hexano-AcOEt.

El extracto metanólico se fraccionó siguiendo un procedimiento similar, se adsorbió en gel de sílice malla 240-400 (relación 1:1 respecto al peso del extracto), se aplicó en una columna de vidrio de 10 cm de diámetro empacada con gel de sílice malla 240-400 (900 g) y se eluyó con diclorometano, luego mezclas diclorometano-metanol de polaridad creciente y finalmente con metanol. Se colectaron 157 fracciones de 500 mL, las cuales se reunieron de acuerdo con su perfil en CCF, clasificándolas de A-W. Para dar seguimiento a las cromatografías en columna, se usaron cromatofolios de gel de sílice 60 F<sub>254</sub> soportadas en aluminio (marca Merck), las cuales se observaron bajo luz UV ( $\lambda = 254$  y 365 nm) y se revelaron con solución de sulfato cérico de amonio o vainillina, y posterior calentamiento.

Los puntos de fusión se determinaron con un aparato Fisher-Johns (marca Cole-Parmer) y no están corregidos. Los espectros de RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de una y dos dimensiones se adquirieron en los equipos Bruker Avance III 400 MHz, Bruker Ascend 500 MHz y Bruker Ascend 700 MHz. La rotación óptica se determinó con un Polarímetro Perkin-Elmer 343 y la espectrometría de masas se realizó en un espectrómetro de masas Jeol SX 102 A.

Las evaluaciones referentes a la inhibición de la actividad de la enzima  $\alpha$ -glucosidasa fueron realizadas de acuerdo con los procedimientos informados en la literatura.<sup>59</sup>

## 7. Conclusiones

De la especie *Artemisia ludoviciana* ssp. *mexicana* se obtuvieron dos extractos, acetónico y metanólico. Del primer extracto se lograron aislar y caracterizar las lactonas sesquiterpénicas estafiatina (**1**), ludovicina A (**7**), ludovicina B (**8**), armexifolina (**10**), la flavona eupatilina (**19**) y un dímero de guayánolida (**22**), derivado de la reacción de Diels Alder de dos lactonas sesquiterpénicas. Este compuesto se reporta por primera vez como producto natural. Del extracto metanólico se aisló L-quebraquitól (**36**), el cual se reporta por primera vez en esta especie.

La evaluación de los metabolitos **1**, **7**, **8**, **10**, **22** y **36** como inhibidores de la actividad de la enzima  $\alpha$ -glucosidasa de levadura y de intestino de rata demostraron la ausencia de actividad en comparación con las referencias empleadas. El hallazgo de una nueva sustancia en la especie *A. ludoviciana* ssp. *mexicana* contribuye a ampliar el conocimiento de su contenido metabólico y motiva a continuar con el estudio de esta especie vegetal.

## 8. Referencias

- <sup>1</sup>Ivanescu, B.; Miron, A.; Corciova, A. *J. Anal. Methods Chem.* **2015**, 1-21.
- <sup>2</sup>Padilla-Gonzalez, G. F.; Antunes dos Santos, F.; Batista Da Costa, F. *Crit. Rev. Plant Sci.* **2016**, 35 (1), 18-37.
- <sup>3</sup>*Sesquiterpene lactones. Advances in their Chemistry and Biological Aspects*; Sülsen, V. P., Martino, V. S., Eds.; Springer, 2018.
- <sup>4</sup>Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Estafiate&id=7823> (acceso 26 de octubre, 2018).
- <sup>5</sup>De la Cruz, M. *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*; 1° ed.; Instituto Mexicano del Seguro Social, Asociación Farmacéutica Mexicana AC: México, 2017.
- <sup>6</sup>Hernández, F. *Obras Completas de Francisco Hernández* [En línea]; UNAM: México, 2015; Tomo III. [http://www.franciscohernandez.unam.mx/tomos/03\\_TOMO/tomo003\\_11/tomo003\\_011\\_025.html](http://www.franciscohernandez.unam.mx/tomos/03_TOMO/tomo003_11/tomo003_011_025.html) (acceso 26 de octubre, 2018).
- <sup>7</sup>De Sahagún, B. *Historia General de las Cosas de la Nueva España II* [En línea]; Linkgua: Barcelona, 2011. <http://www.digitaliapublishing.com/visorswf/14928> (acceso 26 de octubre, 2018).
- <sup>8</sup>Heinrich, M.; Robles, M.; West, J. E.; Ortiz de Montellano, B. R.; Rodriguez, E. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1998**, 38, 539-565.
- <sup>9</sup>Calderón, G.; Rzedowski, J. Familia Compositae. Tribu Anthemidae. En *Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes*; Fascículo 60; Instituto de Ecología, A. C.: México, 1997; pp. 9-12.
- <sup>10</sup>The Plant List. <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/gcc-67684> (acceso 30 de septiembre, 2018).
- <sup>11</sup>Sánchez-Viesca, F.; Romo, J. *Tetrahedron* **1963**, 19, 1285-1291.
- <sup>12</sup>Lee, K. H.; Geissman, T. A. *Phytochemistry* **1970**, 9, 403-408.
- <sup>13</sup>Romo, J.; Romo de Vivar, A.; Treviño, R.; Joseph-Nathan, P.; Díaz, E. *Phytochemistry* **1970**, 9, 1615-1621.
- <sup>14</sup>Romo, J.; Tello, H. *Rev. Latinoam. Quím.* **1972**, 3, 122-126.
- <sup>15</sup>Ruiz-Cancino, A. Análisis fitoquímico de *Artemisia ludoviciana*: en busca de sustancias con propiedades antimaláricas. Tesis de maestría, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México, 1990.
- <sup>16</sup>Ruiz-Cancino, A.; Cano, A.; Delgado, G. *Phytochemistry* **1993**, 33 (5), 1113-1115.
- <sup>17</sup>Balderas-López, J. L. Fitoquímica comparativa de *Artemisia ludoviciana* ssp. *mexicana* y evaluaciones biológicas preliminares. Tesis de maestría, UNAM, México, 2006.
- <sup>18</sup>Mitchell, J. C.; Geissman, T. A.; Dupuis, G.; Towers, G. H. N. *J. Invest. Derm.* **1971**, 56 (2), 98-101.

- <sup>19</sup>Malagón, F.; Vázquez, G.; Delgado, G.; Ruiz, A. *Parassitologia* **1997**, *39*, 3-7.
- <sup>20</sup>Bork, P. M.; Schmitz, L.; Kuhnt, M.; Escher, C.; Heinrich, M. *FEBS Lett.* **1997**, *402*, 85-90.
- <sup>21</sup>Jimenez-Arellanes, A.; Meckes, M.; Ramirez, R.; Torres, J.; Luna-Herrera, J. *Phytother. Res.* **2003**, *17*, 903-908.
- <sup>22</sup>García, S.; Alarcón, G.; Rodríguez, C.; Heredia, N. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2006**, *22*, 669-674.
- <sup>23</sup>Calzada, F.; Yépez-Mulia, L.; Aguilar, A. *J. Ethnopharmacol.* **2006**, *108*, 367-370.
- <sup>24</sup>Castillo-Juárez, I.; González, V.; Jaime-Aguilar, H.; Martínez, G.; Linares, E.; Bye, R.; Romero, I. *J. Ethnopharmacol.* **2009**, *122*, 402-405.
- <sup>25</sup>Estrada-Soto, S.; Sánchez-Recillas, A.; Navarrete-Vázquez, G.; Castillo-España, P.; Villalobos-Molina, R.; Ibarra-Barajas, M. *J. Ethnopharmacol.* **2012**, *139*, 513-518.
- <sup>26</sup>Anaya-Eugenio, G. D.; Rivero-Cruz, I.; Rivera-Chávez, J.; Mata, R. *J. Ethnopharmacol.* **2014**, *155*, 416-425.
- <sup>27</sup>Lee, K. H.; Huang, E. S.; Piantadosi, C.; Pagano, J. S.; Geissman, T. A. *Cancer Res.* **1971**, *31*, 1649-1654.
- <sup>28</sup>Gören, N.; Woerdenbag, H. J.; Bozok-Johansson, C. *Planta Med.* **1996**, *62*, 419-422.
- <sup>29</sup>Roselli, S.; Bruno, M.; Raimondo, F. M.; Spadaro, V.; Varol, M.; Koparal, A. T.; Maggio, A. *Molecules* **2012**, *17*, 8186-8195.
- <sup>30</sup>Cano-Flores, A.; Delgado, G. *Chem. Biodiversity* **2017**, *14* (10), 2970-3018.
- <sup>31</sup>Ortet, R.; Prado, S.; Mouray, E.; Thomas, O. P. *Phytochemistry* **2008**, *69*, 2961-2965.
- <sup>32</sup>Schepetkin, I. A.; Kirpotina, L. N.; Mitchell, P. T.; Kishkentaeva, A. S.; Shaimerdenova, Z. R.; Atazhanova, G. A.; Adekenov, S. M.; Quinn, M. *Phytochemistry* **2018**, *146*, 36-46.
- <sup>33</sup>Ghantous, A.; Gali-Muhtasib, H.; Vuorela, H.; Saliba, N. A.; Darwiche, N. *Drug Discovery Today* **2010**, *15* (15-16), 668-678.
- <sup>34</sup>Gach, K.; Janecka, A. *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **2014**, *14*, 688-694.
- <sup>35</sup>Nageen, B.; Sarfraz, I.; Rasul, A.; Hussain, G.; Rukhsar, F.; Irshad, S.; Riaz, A.; Selamoglu, Z.; Ali, M. *J. Asian Nat. Prod. Res.* [En línea] DOI: 10.1080/10286020.2018.1492565. Publicado en línea: 4 de julio, 2018. <http://www.tandfonline.com/loi/ganp20> (acceso 7 de septiembre, 2018).
- <sup>36</sup>Mata, R.; Delgado, G.; Romo de Vivar, A. *Phytochemistry*, **1984**, *23* (8), 1665-1668.
- <sup>37</sup>Suleimenov, E. M.; Smagulova, F. M.; Morozova, O. V.; Raldugin, V. A.; Bagryanskaya, I. Y.; Gatilov, Y. V.; Yamovoi, V. I.; Adekenov, S. M. *Chem. Nat. Compd.* **2005**, *41* (6), 689-691.
- <sup>38</sup>Nack-Do, S.; Byung-Mok, K. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **2002**, *45* (4), 223-227.
- <sup>39</sup>Jakupovic, J.; Chen, Z. L.; Bohlmann, F. *Phytochemistry*, **1987**, *26* (10), 2777-2779.
- <sup>40</sup>Lee, S. H.; Kim, M. J.; Bok, S. H.; Lee, H.; Kwon, B. M.; *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 7111-7113.

- <sup>41</sup>Lee, S. H.; Kang, H. M.; Song, H. C.; Lee, H.; Lee, U. C.; Son, K. H.; Kim, S. H.; Kwon, B. M. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 4711-4715.
- <sup>42</sup>Lee, S. H.; Kim, H. K.; Seo, J. M.; Kang, H. M.; Kim, J. H.; Son, K. H.; Lee, H.; Kwon, B. M.; Shin, J.; Seo, Y. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 7670-7675.
- <sup>43</sup>Sohn, J. H. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2009**, *30* (11), 2517-2518; **2012**, *33* (1), 289-292.
- <sup>44</sup>Tu, P.; Wen, J.; Jiang, Y.; Zhou, S. Guainolide type sesquiterpene lactones dimers, their preparation and application. Patente China CN 101585841, febrero 8, 2012.
- <sup>45</sup>Turak, A.; Shi, S. P.; Jiang, Y.; Tu, P. *Phytochemistry* **2014**, *105*, 109-114.
- <sup>46</sup>Zhang, W.; Luo, S.; Fang, F.; Chen, Q.; Hu, H.; Jia, X.; Zhai, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 18-19.
- <sup>47</sup>Bohlmann, F.; Ang, W.; Trinks, C.; Jakupovic, J.; Huneck, S. *Phytochemistry* **1985**, *24* (5), 1009-1015.
- <sup>48</sup>Wong, H. F.; Brown, G. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 481-486.
- <sup>49</sup>Abraham, R. J.; Byrne, J. J.; Griffiths, L.; Koniotou, R. *Magn. Reson. Chem.* **2005**, *43*, 611-624.
- <sup>50</sup>Thomas, M. P.; Mills, S. J.; Potter, B. V. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 1614-1660.
- <sup>51</sup>Díaz, M.; González, A.; Castro-Gamboa, I.; González, D.; Rossini, C. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 2699-2700.
- <sup>52</sup>Kim, A. R.; Zou, Y. N.; Park, T. H.; Shim, K. H.; Kim, M. S.; Kim, N. D.; Kim, J. D.; Bae, S. J.; Choi, J. S.; Chung, H. Y. *Phytother. Res.* **2004**, *18*, 1-7.
- <sup>53</sup>McCane, R. A.; Lawrence, R. D.; *Biochem. J.* **1933**, *123*, 23-29.
- <sup>54</sup>Musalmah, M.; Elkhairee, M. R.; Lau, C. M.; Wan, N. W. Z. *Malaysian J. Biochem. Mol. Biol.* **2001**, *6*, 7-11.
- <sup>55</sup>De Olinda, T. M.; Lemos, T. L. G.; Machado, L. L.; Rao, V. S.; Santos, F. A. *Phytomedicine* **2008**, *25*, 327-333.
- <sup>56</sup>Andrade-Cetto, A.; Heinrich, M. *J. Ethnopharmacol.* **2005**, *99*, 325-348.
- <sup>57</sup>Romero-Cerecero, O.; Reyes-Morales, H.; Aguilar-Santamaría, L.; Huerta-Reyes, M.; Tortoriello-García, J. *BLACPMA* **2009**, *8* (5), 380-388.
- <sup>58</sup>Alarcón-Aguilar, F. J.; Roman-Ramos, R.; Pérez-Gutiérrez, S.; Aguilar-Contreras, A.; Contreras-Weber, C. C.; Flores-Saenz, J. L. *J. Ethnopharmacol.* **1998**, *61*, 101-110.
- <sup>59</sup>Ye, X. P.; Song, C. Q.; Yuan, P.; Mao, R. G. *Chinese Journal of Natural Medicines* **2010**, *8* (5), 0349-0352.
- <sup>60</sup>Gao, H. Y.; Wu, D.; Lu, C.; Xu, X. M.; Huang, J.; Sun, B. H.; Wu, L. J. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2010**, *12* (2), 144-149.