



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

Facultad de Químico Farmacobiología

**UN NUEVO CASSADIENO AISLADO DE
*Caesalpinia platyloba***

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACOBIOLOGA

P R E S E N T A:

YUNUEN LARA HERNÁNDEZ

ASESORES:

D.C. ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES

D.Q. MARIO ARMANDO GÓMEZ HURTADO



Morelia, Michoacán, JUNIO 2013

DEDICATORIA

A mis padres Patricia y Juan quienes han dedicado su vida a darme las mejores oportunidades para ser una persona de bien, que las aguas regadas hayan sido sobre tierra fértil para probar juntos de los frutos que ésta dé. A ti mamá por ser mi guía, amiga y confidente por tu paciencia y dedicación, gracias por demostrarme que los sueños son metas alcanzables. A Gaby que más que una hermana ha demostrado ser un ángel en mi vida brindándome el aliento que en ocasiones se me escapa y las lágrimas de mis alegrías. A Eduardo por quererme y cuidarme, por formar parte de mi vida. A mis sobrinos Uri y Leo, que han llenado mi vida de luz, alegría y amor. GRACIAS familia porque en ustedes he encontrado el ejemplo para moldear mis anhelos y metas.

AGRADECIMIENTOS

A la **D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres**, por brindarme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo, por sus enseñanzas durante mi estancia en el IIQB y sobre todo gracias por ser el ser humano que es, que a pesar de sus múltiples tareas nos brinda su tiempo, apoyo y amistad.

Al **D.Q. Mario Armando Gómez Hurtado**, gracias por su dedicación a la realización de ésta tesis, por su paciencia y la manera en que logró hacer sentir tan satisfactorio éste proyecto.

A mis sinodales **D.C. Judit Araceli Aviña Verduzco**, **D.C. Yliana López Castro**, **D.Q. Gabriela Rodríguez García**, **Janett Betzabe González Campos**, y **M.Q. Juan Pablo García Merinos**, por el tiempo dedicado a la revisión de la tesis y sus correcciones hechas a la misma.

A los **M.C. Fany Elisa Álvarez Esquivel**, **Ramón Guzmán Mejía** y **Gerardo Morán López**, por todas sus enseñanzas tanto académicas como de vida, por todos esos momentos agradables que hicieron de mi estancia en el IIQB una época inolvidable.

A **Juanita** y **Rosalía**, por su apoyo y amistad, gracias por esos momentos tan gratos a su lado, son geniales.

A mis compañeros de escuela y laboratorio **Armando**, por motivarme a ser una mejor estudiante y por su amistad. **Eric**, por mostrarme siempre una actitud positiva ante todo, **Edna**, por ser un maravilloso ser humano, gracias por tu amistad y humildad, **Anayeli**, por su compañerismo y los momentos divertidos que nos hizo pasar a todos.

A **Héctor** y **Saúl**, por brindarme su amistad y motivación para finalizar éste proyecto.

A mi tío **Sergio**, por el amor, apoyo y motivación que me brinda día a día para ser una mejor persona.

A mis primas **Tania** y **Paola**, por todos esos momentos agradables que pasamos juntas.

A mi tía **Margarita Lara**, por apoyarme durante toda mi carrera profesional, en mi desarrollo académico y por el apoyo brindado en el proceso de mi titulación. Gracias por formar parte de mi vida.

A mi madrina **Lorena Vázquez**, por estar siempre a nuestro lado y estar siempre pendiente de mí.

A mi madrina **Alma Rosa**, por el apoyo que siempre brindó a mi formación académica y por su cariño.

A esas personas que aunque no sean mi familia sanguínea las aprecio como tal **Lulú, Paloma, Laura** y **Fernando** por brindarme sus enseñanzas, cariño y grata compañía, los quiero mucho.

A **Alberto Alipio**, gracias por el apoyo que me ha brindado durante ésta etapa de mi vida, por su paciencia, comprensión y cariño, por ser el ángel que cuida de mí.

A mis amigos **Ariel Ibarra, Sergio López, Guillermo Baltierra,** y **Francisco Guzmán**, quienes han estado junto a mí en los momentos más bajos y quienes me han dado ánimos para seguir formándome como una persona de provecho.

A TODOS ¡¡¡**GRACIAS!!!**

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Química de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo bajo la asesoría de la D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres y el D.Q. Mario Armando Gómez Hurtado.

Con apoyo económico de los proyectos PROMEP UMSNH-PTC-332 y CIC-UMSNH.

ÍNDICE.

SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	ii
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Terpenos	5
1.2. Diterpenos	5
2. ANTECEDENTES	9
3. OBJETIVOS	22
3.1. Objetivos generales	22
3.2. Objetivos específicos	22
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
5. CONCLUSIONES	41
6. PARTE EXPERIMENTAL	42
6.1. Procedimientos generales	42
6.2. Muestra vegetal	43
6.3. Obtención de extractos	43
6.4. Análisis químico	43
7. BIBLIOGRAFÍA	46

ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS.

δ	Desplazamiento químico.
λ	Lambda.
μ	Micras.
AcOEt	Acetato de etilo.
COSY	Correlation Spectroscopy.
HETCOR	Heteronuclear Correlation Spectroscopy.
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation.
HTS	High-Troughput Screening.
Hz	Hertz.
IR	Infrarrojo.
J	Constante de acoplamiento.
mg	Miligramos.
mL	Mililitros.
nm	Nanómetros.
p.f.	Punto de fusión.
ppm	Partes por millón.
RMN	Resonancia Magnética Nuclear.
RMN de ^{13}C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono trece.
RMN de ^1H	Resonancia Magnética Nuclear de hidrógeno.
TMS	Tetrametilsilano.
U.V.	Ultravioleta.

1. INTRODUCCIÓN

Un rasgo característico de las plantas y de otros organismos sésiles que no pueden huir en caso de peligro o que no tienen un sistema inmune para combatir a los patógenos, es su capacidad para sintetizar una extensa variedad de compuestos de bajo peso molecular llamados Metabolitos Secundarios (Wink, 2010).

Anteriormente, los metabolitos secundarios de las plantas se consideraban sustancias de “desecho” para los vegetales carentes de una función fisiológica definida; en la actualidad, se conoce que si bien los compuestos secundarios no tienen una importancia para la célula productora, sí pueden poseer importancia fisiológica para el organismo productor como un todo, puesto que le permiten al organismo adaptarse al medio ambiente con el fin de sobrevivir y reproducirse, (Taiz *et al.*, 2002). La biosíntesis de los metabolitos secundarios suele restringirse a fases específicas del desarrollo tanto del organismo como de las células especializadas, y a periodos de estrés causados, por ejemplo, por la deficiencia de nutrientes, factores ambientales, o el ataque de microorganismos o insectos, entre otros (Palacios, 2002). Éstos compuestos o metabolitos secundarios son una expresión de la individualidad de las especies puesto que se encuentran sólo en organismos específicos o grupos de organismos, no son producidos necesariamente bajo todas las condiciones y en la mayoría de los casos la función

de éstos compuestos y su beneficio para el organismo aún no son conocidos (Waksmunzka, *et al.*, 2010).

Así pues, los metabolitos secundarios son el objeto de estudio de la química de productos naturales. La asombrosa variabilidad estructural de estos compuestos ha atraído la curiosidad de los químicos y las actividades biológicas que poseen han inspirado a la industria farmacéutica para buscar estructuras principales en extractos de plantas; ésta estrategia ha demostrado bastante éxito. Hasta el advenimiento de la genética molecular, la química de productos naturales fue la principal fuente de innovación en el desarrollo de fármacos (Karlovsky, 2010). La historia de la farmacognosia es en parte definida por la amplia gama de compuestos biológicamente activos de origen natural que han sido descubiertos y caracterizados; por ejemplo el Taxol® (**Figura 1**) que es utilizado para el tratamiento de varios tipos de cánceres (Hanson, 2003).

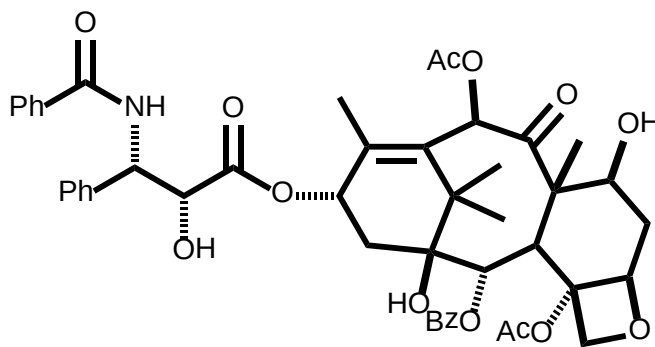
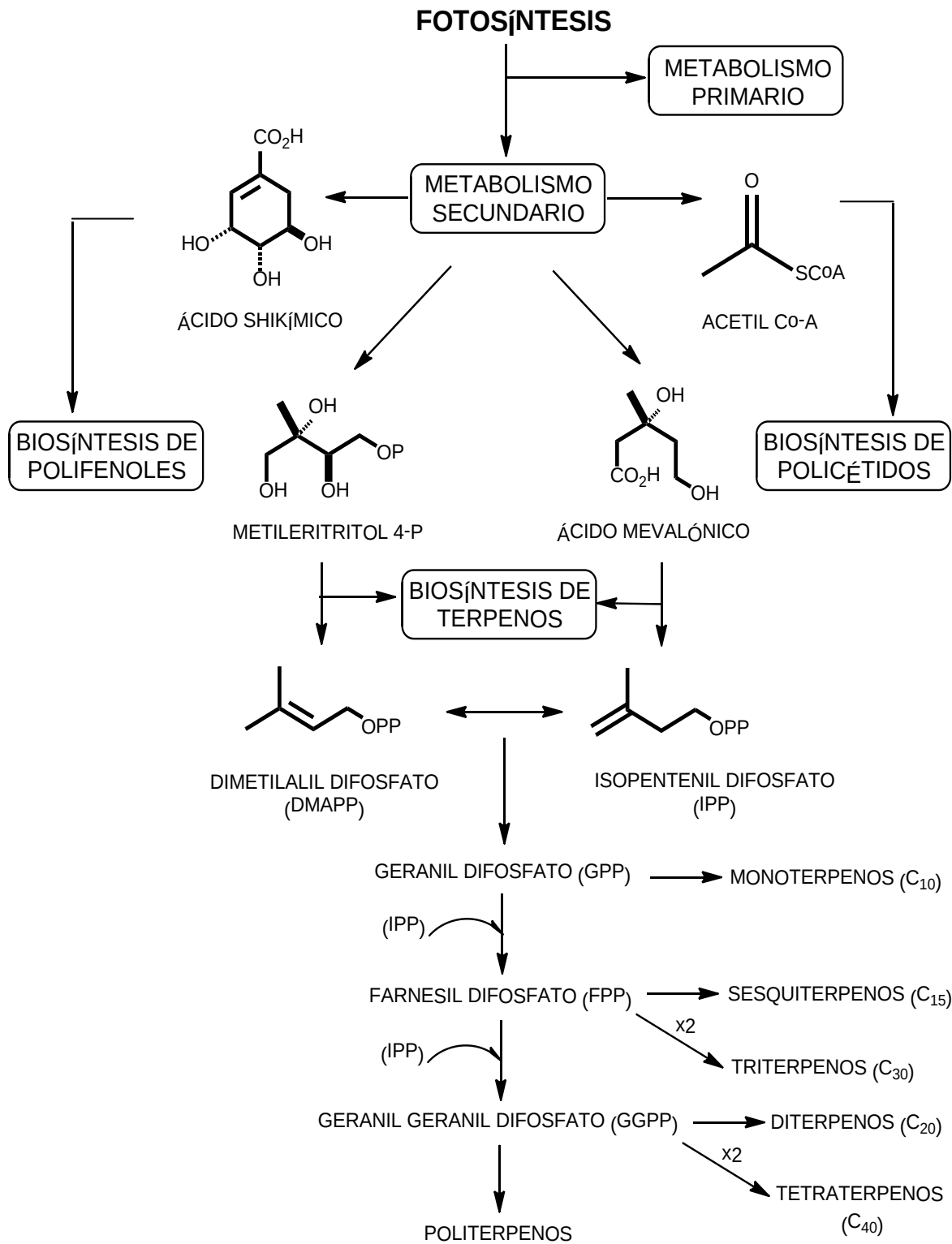


Figura 1. Taxol®

Más del 80% de las sustancias farmacológicas involucradas en programas para el descubrimiento de fármacos en “los viejos tiempos” (por ejemplo antes de la llegada del cribado farmacológico de alto rendimiento (HTS) en los años 90 y la era post-genómica en el año 2000) reportaron ser productos naturales o inspirados por estructuras de productos naturales. Durante el periodo del año 2000 al 2010 alrededor de 38 fármacos basados en estos productos fueron aprobados y puestos en marcha en el mercado. Sin embargo, gran parte del potencial químico de las plantas sigue aún sin explorarse (Brahmachari, 2011).

A pesar de la enorme variedad de metabolitos secundarios existentes, las rutas biosintéticas correspondientes son limitadas y distintas. Los bloques de construcción más importantes empleados en la biosíntesis de los metabolitos secundarios se forman a partir de tres rutas, principalmente, la del acetato-malonato, del acetato-mevalonato y del ácido shikímico (**Esquema 1**), generando fenoles, prostaglandinas, lignanos, alcaloides y estereoides. Además de los bloques de construcción mencionados, otros bloques de construcción basados en aminoácidos son frecuentemente empleados en la biosíntesis de metabolitos secundarios, entre los que destacan los péptidos, alcaloides y varios antibióticos (Dewick, 2009).



1.1. TERPENOS

Los terpenos o isoprenoides constituyen uno de los grupos más grandes de compuestos secundarios presentes en el reino vegetal y comprenden variadas y diferentes estructuras. En las plantas, al igual que en los mamíferos, los isoprenoides se sintetizan a partir de unidades de isopreno (**Figura 2**) que se puede considerar como el isopreno activo, compuesto “hipotético” de Ruzička. De acuerdo al número de moléculas de isopreno incorporadas, pueden ser clasificados en hemiterpenos (C_5), monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), triterpenos (C_{30}), tetraterpenos (C_{40}) y politerpenos como el caucho (Osbourn *et al.*, 2009; Azcón-Bieto *et al.*, 2000).

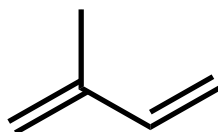


Figura 2. Unidad de isopreno.

1.2. DITERPENOS

Los diterpenos (C_{20}) son moléculas derivadas de cuatro unidades de isopreno, pero las modificaciones durante etapas posteriores a la síntesis producen una gran cantidad de estructuras diferentes. Se clasifican de acuerdo al número de anillos que presente el sistema, además, se forman compuestos tanto

acíclicos como policíclicos. Varios de los diterpenos tienen sistemas de anillos adicionales que se producen en las cadenas laterales en sustituciones de éster, o como epóxidos u otros grupos funcionales.

De acuerdo al número de sistemas de anillos presentes los diterpenos se clasifican en: acíclicos (fitano), bicíclicos (labdano y clerodano), tricíclicos (pimarano, isopimarano, abietano, cassanos y rosanos), tetracíclicos (kaurano, atisiranos, beyeranos y giberelinas), pentacíclicos (traquilobanos) y macrocíclicos (cembrano, latirano, tigliano y taxano) (**Figura 3**) (Hoffmann, 2003; ApSimon, 1992; Maurya *et al.*, 2012).

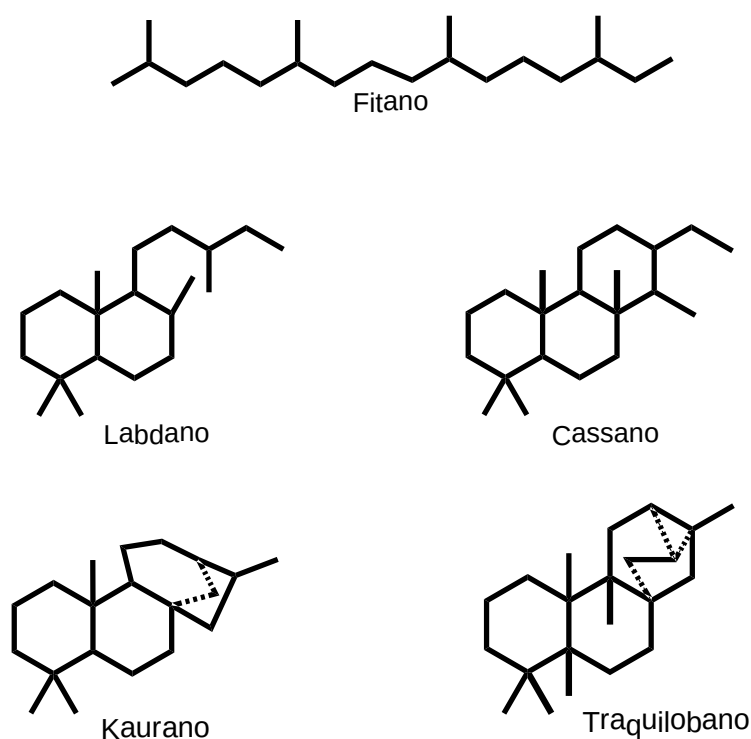


Figura 3. Ejemplos de esqueletos de diterpenos.

Los diterpencassanos constituyen un grupo de compuestos que son destacados por su actividad biológica. El esqueleto básico de un cassano (**Figura 4**) es estructuralmente caracterizado como un diterpeno tricíclico con la sustitución de un grupo etilo en la posición C-13 y un grupo metilo en la posición C-14.

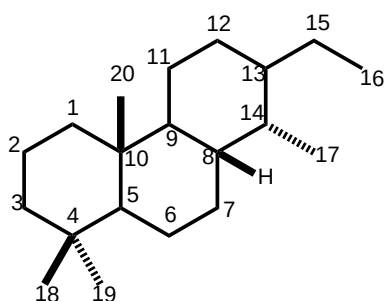


Figura 4. Esqueleto básico de un cassano.

Dentro de la literatura se ha propuesto que el esqueleto cassano se deriva del pimarano por la migración del metilo del C-13 hacia el C-14 (**Figura 5**) (Arjun *et al.*, 2003).

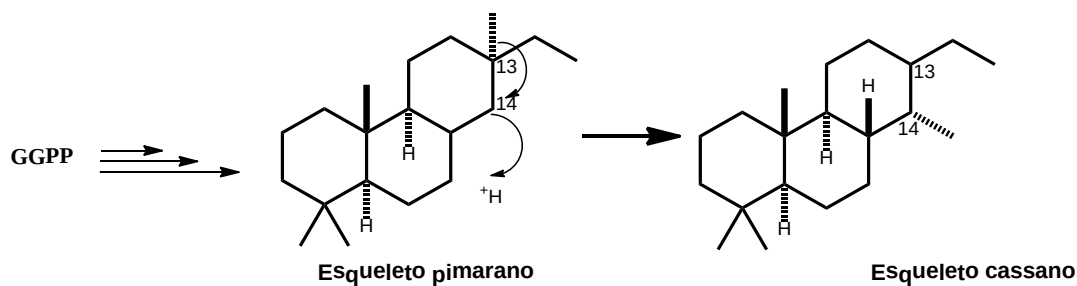


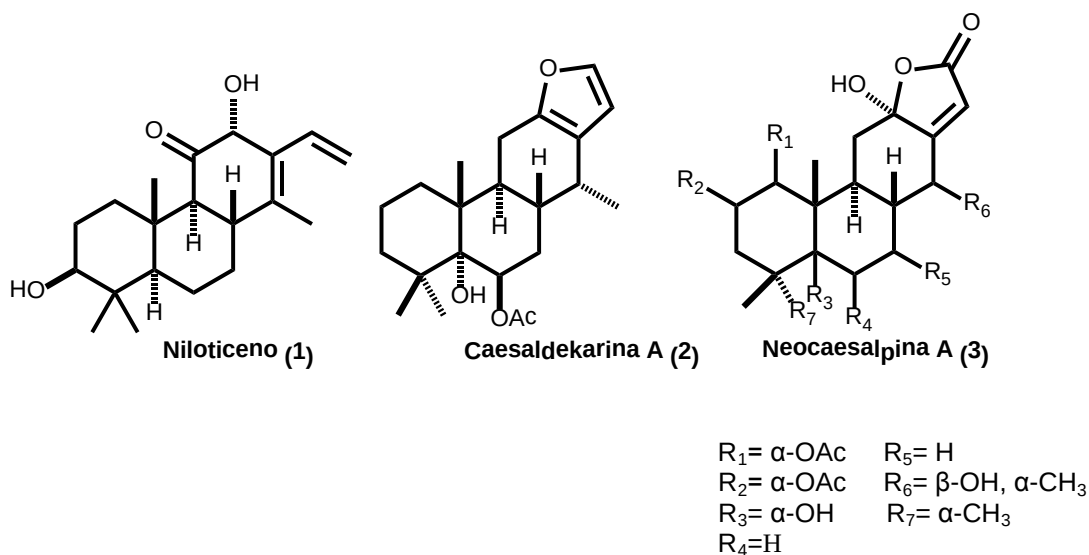
Figura 5. Migración propuesta para la formación de esqueletos cassanos a partir del pimarano.

Hasta ahora no existe una revisión exhaustiva de las estructuras y actividades biológicas de las categorías de los diterpencassanos pero la variedad de estructuras ha continuado expandiéndose con el descubrimiento de variaciones inusuales en esqueletos bien establecidos.

2. ANTECEDENTES

Existen varios tipos de diterpencassanos que de acuerdo a su funcionalización se pueden mencionar:

Diterpencassanos tricíclicos como Niloticeno (**1**) (Eldeen *et al.*, 2010), tetracíclicos con anillo de furano fusionado como Caesaldekarina A (**2**) (Kitagawa *et al.*, 1994; Kitagawa *et al.*, 1996) y tetracíclicos con butenólido fusionado como Neocaesalpina A (**3**) (Li *et al.*, 2006; Kinoshita *et al.*, 1996).



También han sido reportados los tipo norcassanos como la Norcaesalpinina MA (**4**) (Kalauni *et al.*, 2004) y norditerpen-quinona **5** (Schaller *et al.*, 2000; Schaller *et al.*, 2001) (**Figura 6**).

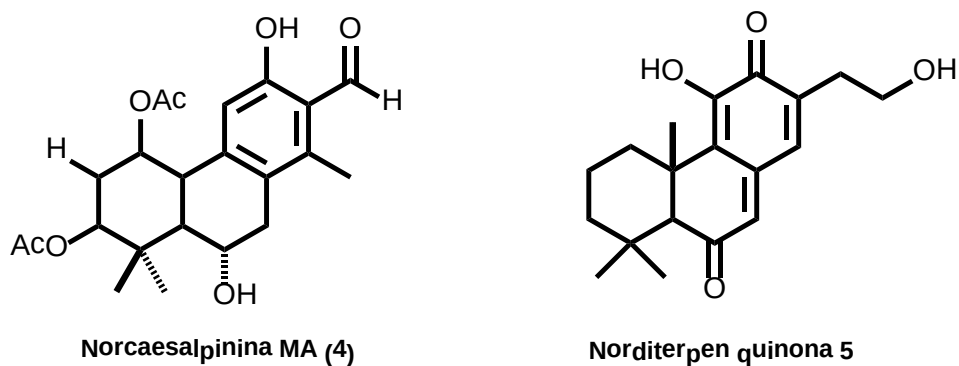


Figura 6. Ejemplos de diterpencassanos funcionalizados.

Algunas otras funciones químicas como aminas **6** (Tsutsui *et al.*, 1959; Clarke, 1971), amidas **7** (Quy *et al.*, 2007) y lactonas como el Swartziarboreols A (**8**), han sido reportadas en esqueletos de cassanos (Orphelin *et al.*, 1996) (**Figura 7**).

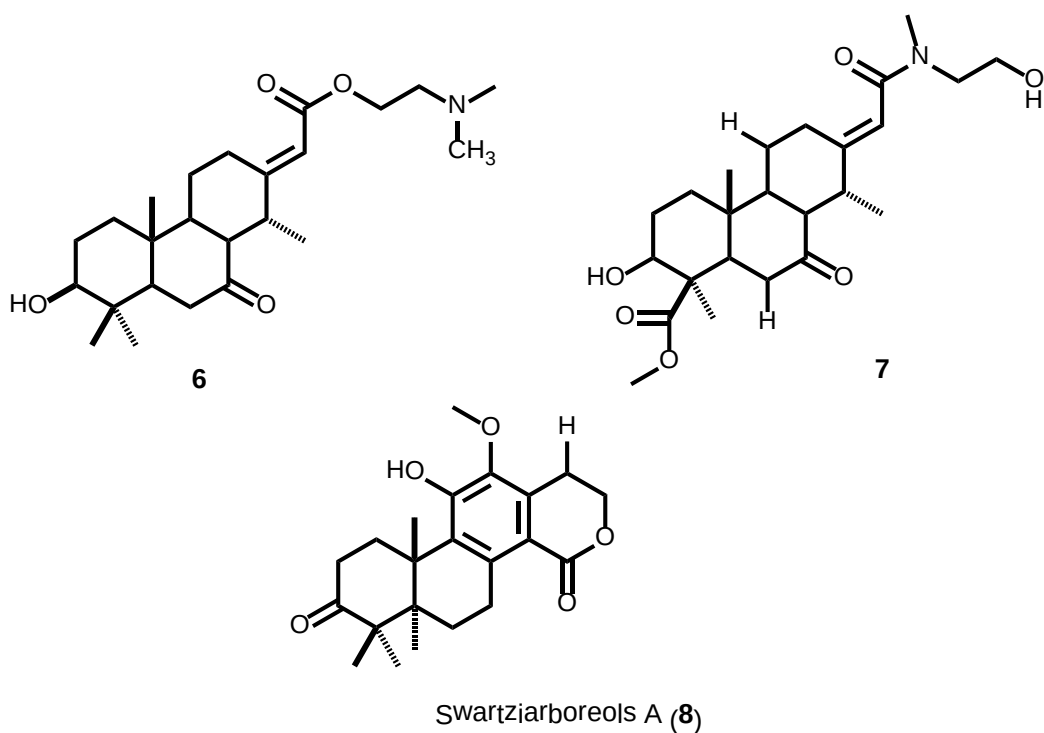


Figura 7. Ejemplos de cassanos funcionalizados con amidas, aminas y lactonas.

Los diterpenos del tipo cassadieno han exhibido una amplia gama de actividades farmacológicas como antitumorales, antipalúdicas, anti-inflamatorias, antivirales, antimicrobianas y antitripanosomales. Éstos compuestos son por lo tanto de interés en el contexto de diversidad estructural y sus actividades biológicas de amplio espectro (Maurya *et al.*, 2012). Los cassadienos están ampliamente distribuidos en la naturaleza. A continuación se muestran algunos ejemplos de cassadienos. El 6 β ,18-diacetoxicassa-13,15-dieno (**9**) (**Figura 8**) fue aislado de las hojas de *Myrospermum frutescens* el cual demostró actividad contra *Trypanosoma cruzi* (Mendoza *et al.*, 2003).

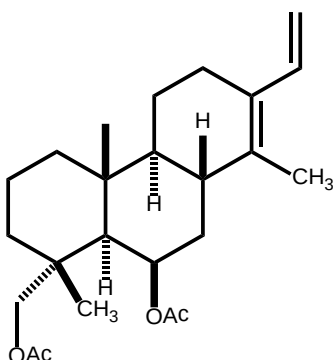


Figura 8. Cassano **9**.

Los cassadienos con anillos hemiacetálicos B de 7 miembros (**Figura 9**) fueron aislados de *Acacia schaffneri* (Manríquez *et al.*, 2011).

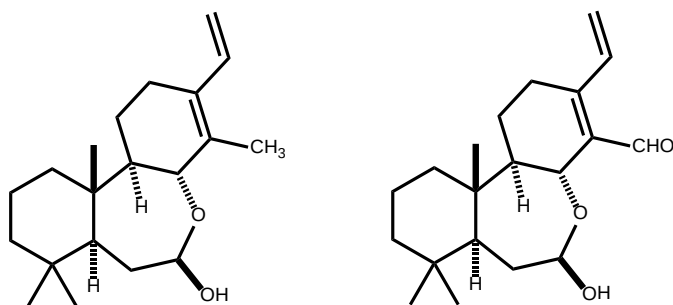


Figura 9. Cassadienos con anillos hemiacetálicos B de 7 miembros.

Un cassadieno oxidado con un grupo carboxílico en el metilo 19 (**Figura 10**) fue aislado del duramen de *Vouacapoua americana*, droga cruda Amazónica conocida como “Acapu” (Kido *et al.*, 2003).

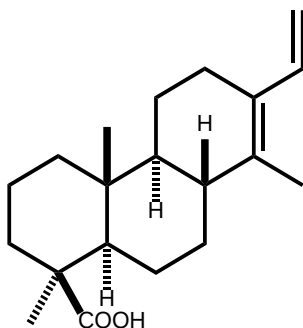


Figura 10. Cassadieno aislado del duramen de *Vouacapoua americana*.

Por otro lado de las hojas de *Caesalpinia decapetala* se obtuvo el cassadieno conocido como Caesaldecan (**10**), el cual se encuentra funcionalizado

con un alfa éster en la posición 3, un alcohol en la posición 6 β y oxidado en el metilo 18 (**Figura 11**)(Kiem *et al.*, 2005).

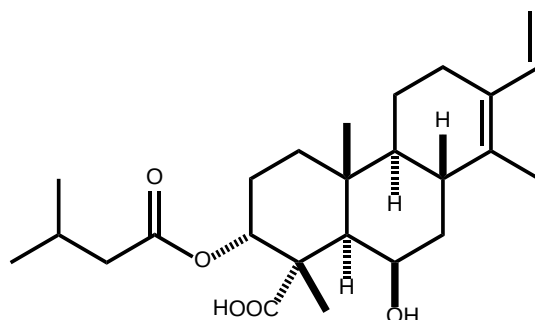


Figura 11. Caesaldecane (**10**).

Los cassadienos conocidos como lonchocassano A (**11**), lonchocassano B (**12**) y lonchocassano C (**13**) (**Figura 12**) fueron aislados de la corteza de *Lonchocarpus laxiflorus* (Igoli *et al.*, 2008).

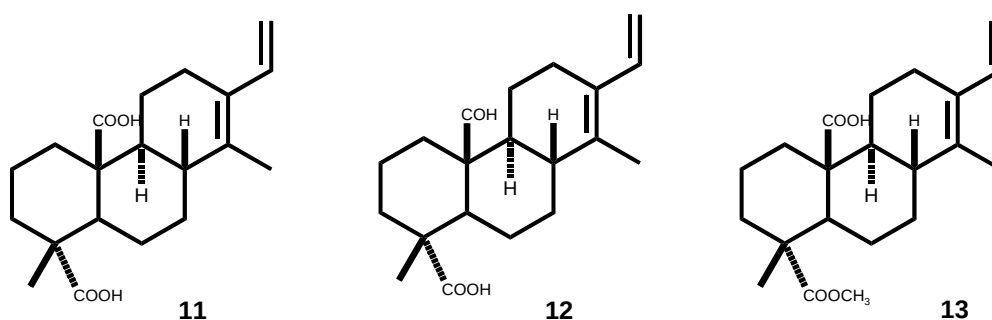


Figura 12. Cassadienos aislados de *Lonchocarpus laxiflorus*.

Kalauni *et al.*, 2005 aislaron del extracto en cloruro de metileno de las semillas de *Caesalpinia crista* el cassadieno funcionalizado con grupos hidroxilos en las posiciones 3 y 7 y que presenta además un dieno en las posiciones 12 y 15, siendo éste un alqueno trisustituido conocido como Caesalpinina ML (**14**) (**Figura 13**).

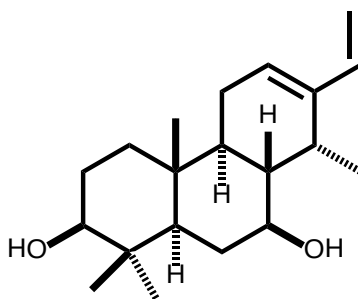


Figura 13. Caesalpinina ML (**14**).

Maurya *et al.*, en el 2012 llevaron a cabo una revisión de los géneros en los que se ha reportado la presencia de diterpencassanos y mencionaron los siguientes géneros: *Acacia jacquemontii*, *A. nilotica*, *Bobgunnia madagascariensis*, *Bowdichia nítida*, *Calliandra californica*, *Chamecrista flexuosa*, *Ch. greggii*, *Cordyla madagascariensis*, *Cylicodiscus gabunensis*, *Dipterix lacunifera*, *D. odorata*, *Lonchocarpus laxiflorus*, *Myrospermum frutescens*, *Plathymenia reticulata*, *Osteospermum muricatum*, *Swartzia arborescens*, *Vouacapoua americana*, y la planta de la familia *Poaceae* *Oryza sativa*, además un diterpencassano ha sido aislado del género de los hongos *Sarcodon scabrosus*.

Quimiotaxonómicamente los diterpencassanos han demostrado una restringida distribución en varios géneros de la familia Fabaceae, especialmente para el género *Caesalpinia* como: *Caesalpinia benthamiana*, *C. bonduc*, *C. bonducella*, *C. crista*, *C. decapetala*, *C. magnifoliolata*, *C. major*, *C. minax*, *C. pulcherrima* y *C. sappan*. Las especies dentro de éste género suelen ser árboles, arbustos, sufrútices o hierbas, perennes o anuales, también trepadoras leñosas (lianas) o herbáceas, de tallo voluble o con zarcillos y hojas bipinnadas, pinnadas, bifolioladas; flores zigomorfas, generalmente en racimos, simples, axilares o terminales; fruto comúnmente seco y dehiscente por ambas suturas, a veces indehiscente o con dehiscencia transversal y semillas con funículo elongado, a veces con arilo (Rzedowski *et al.*, 2005).

Algunas de estas especies han sido utilizadas como medicamentos naturales dentro de la medicina tradicional a lo largo de las regiones en donde éstas crecen (Kinoshita *et al.*, 2005) (**Figura 14**).

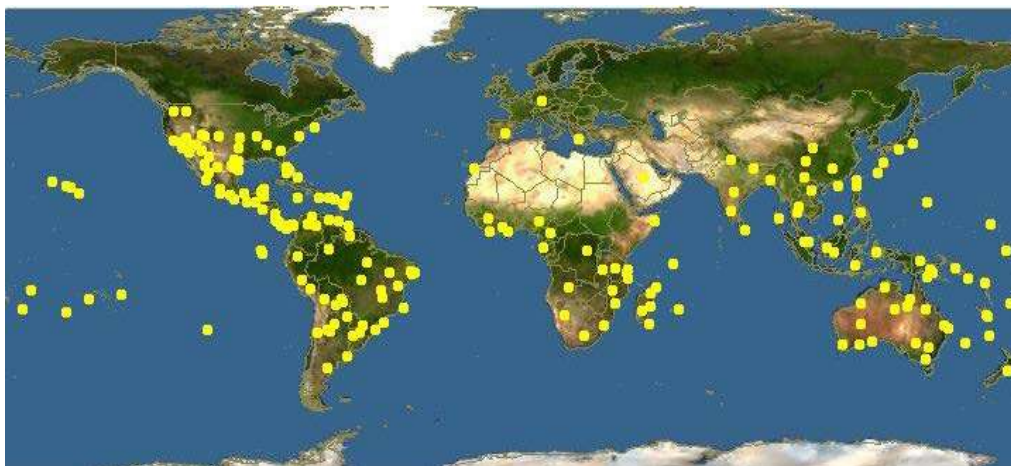


Figura 14. Mapa de la Distribución Mundial de *Caesalpinia*.

Por ejemplo el duramen (corazón de la madera) de *C. sappan* llamado sappan lignum, ha sido utilizado en la medicina tradicional como una medicina herbal para la inflamación y para mejorar la circulación de la sangre, así como por sus propiedades anti-influenza, anti-alérgica, y actividades neuroprotectoras (Cuong *et al.*, 2012). Se ha utilizado además como expectorante, emenagogo, y tiene actividades biológicas interesantes como antioxidante, inmunomodulación, antimicrobiano, anticomplementaria, efecto sedante y propiedades vasorelajantes (Yodsaoue *et al.*, 2009). Diferentes partes de *C. bonduc* son utilizadas para el tratamiento del asma, fiebre crónica, tos, dolor de cabeza y malestar estomacal además diferentes partes de la planta han mostrado una diversidad de actividades farmacológicas tales como antimicrobianas, adaptógenas, actividad contráctil en el músculo liso y músculo esquelético y antimalaria (Yadav *et al.*, 2007). El tallo de *C. pulcherrima* se utiliza como abortivo y emenagogo, mientras que las decocciones de hojas, raíces y corteza se utilizan como un febrífugo y para tratar trastornos del hígado, así como úlceras de boca y garganta (Roach *et al.*, 2003), además se ha reportado que presenta actividades citotóxicas, antituberculosas, antibacteriales y antifúngicas (Promsawan *et al.*, 2003).

Las semillas de *C. crista* son empleadas como antihelmíntico, antipirético, antiinflamatorio y como agente antipalúdico; en Indonesia la decocción de raíces ha sido utilizada como tónico, tratamiento para el reumatismo, así como para tratar el dolor de espalda; como miembro del género *Caesalpinia* es una rica fuente de diterpenfuranos de tipo cassano, de la cual se han reportado actividades

antipalúdicas, antivirales y anticancerígenas (Yang *et al.*, 2009). Las semillas de *C. minax* han sido utilizadas en la medicina tradicional china para el tratamiento de influenza, fiebre, reumatismo y disentería (Ma *et al.*, 2012). De *C. coriaria* se conocen varios usos medicinales por ejemplo, para tratar la diarrea se utiliza la decocción de tallos jóvenes, mientras que la del fruto se usa en enjuagues para infecciones de la garganta, y la de hojas se toma para el dolor de estómago; la semilla seca molida se emplea como febrífugo, las enfermedades de la piel y heridas pueden lavarse con una infusión de la corteza, hoja y tallos verdes. En la República de El Salvador, las flores aromáticas se emplean en cocimiento contra las cardialgias y las dispepsias. Las raíces que tienen un fuerte olor fétido han sido utilizadas como desinfectante contra la gangrena (Cordero *et al.*, 2003). Además se ha demostrado que los extractos de *C. coriaria* presentaron actividad antifúngica sobre agentes causantes de la pudrición de pedúnculo en el fruto de aguacate (Espinoza Madrigal, 2010).

En México se conoce una gran cantidad de especies vegetales con aplicaciones medicinales, esto ha sido plasmado en documentos de importancia mundial como el Códice Badiano o Florentino. Entre los Estados más ricos en biodiversidad se encuentra Michoacán que cuenta con una vasta riqueza vegetal, ocupa el cuarto lugar en riqueza florística y presenta 4,672 especies nativas, de las cuales el segundo lugar lo ocupa la familia Fabaceae con 1800 especies. Dentro de esta familia se encuentra el género *Caesalpinia*, subfamilia Caesalpinioideae, que contiene más de 500 especies, encontradas en su mayoría

en regiones tropicales y subtropicales de las cuales se han estudiado menos de 30 especies respecto a sus propiedades fitoquímicas y farmacológicas (Baldim Zanin *et al.*, 2012). Una de estas especies es *Caesalpinia platyloba* la cual es conocida con distintos nombres comunes como lo son Chakte Viga, Cikche, Curly Paela, Chactecol, Frijolillo, Guayabón de Playa, Kiikche, Palo Borselano, Palo Colorado y Arellano (Griffith, 1982; Shoch, 1999; González-Gómez *et al.*, 2006); y cuya clasificación taxonómica es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Subfamilia: Caesalpinioideae

Tribu: Caesalpinieae

Género: *Caesalpinia*

Especie: *platyloba*

Autor del nombre: S. Watson

Se trata de un árbol de 5 a 15 m de altura; ramitas glabras o esparcido-pubescentes; estípulas deciduas; hojas bipinadas, alternas, pinnas de 2 a 3 pares, folíolos de 5 a 8 pares por pinna, de oblongo-ovados a elípticos, ápice de redondeado a obtuso, glabros o pubescentes; inflorescencia racemosa, terminal, de 8 a 20 cm de largo; flores amarillas, de 7 a 9 mm de largo; frutos tipo legumbres aplanadas, glabros o pilosos, péndulos, en racimos densos, oblongos, pardo rojizo cuando secos; de 4 a 6 semillas (**Figura 15**).



Figura 15. Partes de *C. platyloba*.

Su distribución en México se reporta principalmente en los Estados de Chihuahua, Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Michoacán y Oaxaca (Zamora *et al.*, 2000) (**Figura 16**).



Figura 16. Distribución de *Caesalpinia platyloba* en México.

Caesalpinia platyloba es utilizada de manera comercial para la elaboración de cercas o como estación para soporte en cultivos intensivos de tomate, producción y venta de madera y bonos de carbono (Díaz *et al.*, 2011).

En nuestro grupo de trabajo se reportó la actividad citotóxica de *C. platyloba* y *C. coriaria* (Pamatz-Bolaños, 2010). Los extractos de *C. platyloba* y *C. coriaria* mostraron actividad antifúngica sobre *C. acutatum* y *P. viticola* agentes causantes de la pudrición de pedúnculo en el fruto de aguacate (Espinoza-Madrigal, 2010).

Por otro lado los aceites esenciales obtenidos por arrastre de vapor de *C. platyloba* y *C. coriaria* presentaron actividad antitermita, antialimentaria e

insecticida, lo que indica el uso tradicional de ésta especie como cerco vivo contra algunos depredadores de la madera (Salvador- Hernández, 2010).

La evidencia experimental de las distintas actividades biológicas encontradas, así como la escasa evidencia fitoquímica de los extractos del género *Caesalpinia* justifica la búsqueda de estructuras novedosas de interés químico, farmacológico y quimiotaxonómico.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Llevar a cabo un análisis químico de hojas de *Caesalpinia platyloba*.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener los diferentes extractos de hojas de *C. platyloba*.
- Desarrollar separaciones cromatográficas del extracto de CH₂Cl₂.
- Caracterizar los componentes aislados mediante espectroscopía de RMN.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se colectaron hojas de *C. platyloba*, se dejaron secar a la sombra, posteriormente se pusieron a macerar 645 g de hojas a temperatura ambiente en aproximadamente 2.5 L de hexano durante 3 días, la maceración se filtró y concentró en rotavapor, repitiendo el procedimiento 3 veces, obteniéndose 12.9 g de extracto hexánico, el cual mostró la presencia de ácidos grasos por RMN de hidrógeno. A continuación se realizó el mismo procedimiento cambiando el disolvente por cloruro de metileno obteniéndose 36.9 g del extracto en CH_2Cl_2 , los cuales fueron fraccionados mediante técnicas cromatográficas, utilizando una columna de 4.5 cm de diámetro y 13 cm de altura, como fase estacionaria se utilizó gel de sílice 230-400 mallas y como fase móvil se usaron mezclas hexano- CH_2Cl_2 en orden ascendente de polaridad. En la polaridad hexano- CH_2Cl_2 99:1 se obtuvieron fracciones que al ser analizadas por RMN de hidrógeno mostraron ser una mezcla de compuestos.

En el espectro de RMN- ^1H (**Figura 17**) de la mezcla de diterpenos, se logró identificar en 7.23 y 6.19 ppm las señales del anillo del furano H-15 y H-16, característico de compuestos aislados de éste género. En 5.51 ppm se localizó una señal múltiple correspondiente a un hidrógeno base de acetato, en 2.03 ppm se observó el metilo del acetilo, además entre 0.90 y 1.25 ppm se observaron señales de metilo características de compuestos terpénicos; el patrón de señales en esta mezcla de un sistema furánico, una base de éster y grupos metilo, sugirió

la presencia del 6 β -acetoxivouacapano (**15**) previamente reportado por nuestro grupo de trabajo (Álvarez-Esquivel, 2012). Continuando con el análisis del espectro de RMN de hidrógeno de la figura 17 se pudo observar un grupo de señales en 6.80, 6.25 y 5.80 ppm (marcadas con las letras **X**, **Y** y **Z**) con patrones de acoplamiento muy similares, cuyos desplazamientos químicos nos indicaron que se trataba de protones vinílicos y que a juzgar por su multiplicidad, correspondían a un doble enlace terminal en los tres casos. De igual manera se observaron señales que nos indicaron la presencia de grupos acetatos y metilos.

La mezcla anterior se sometió a recromatografía en columna, logrando aislar en las fracciones de la polaridad hexano-CH₂Cl₂ 99:1 el 6 β -acetoxivouacapano (**15**) en forma de cristales incoloros con p.f de 114-116 °C los cuales se caracterizaron mediante resonancia magnética nuclear.

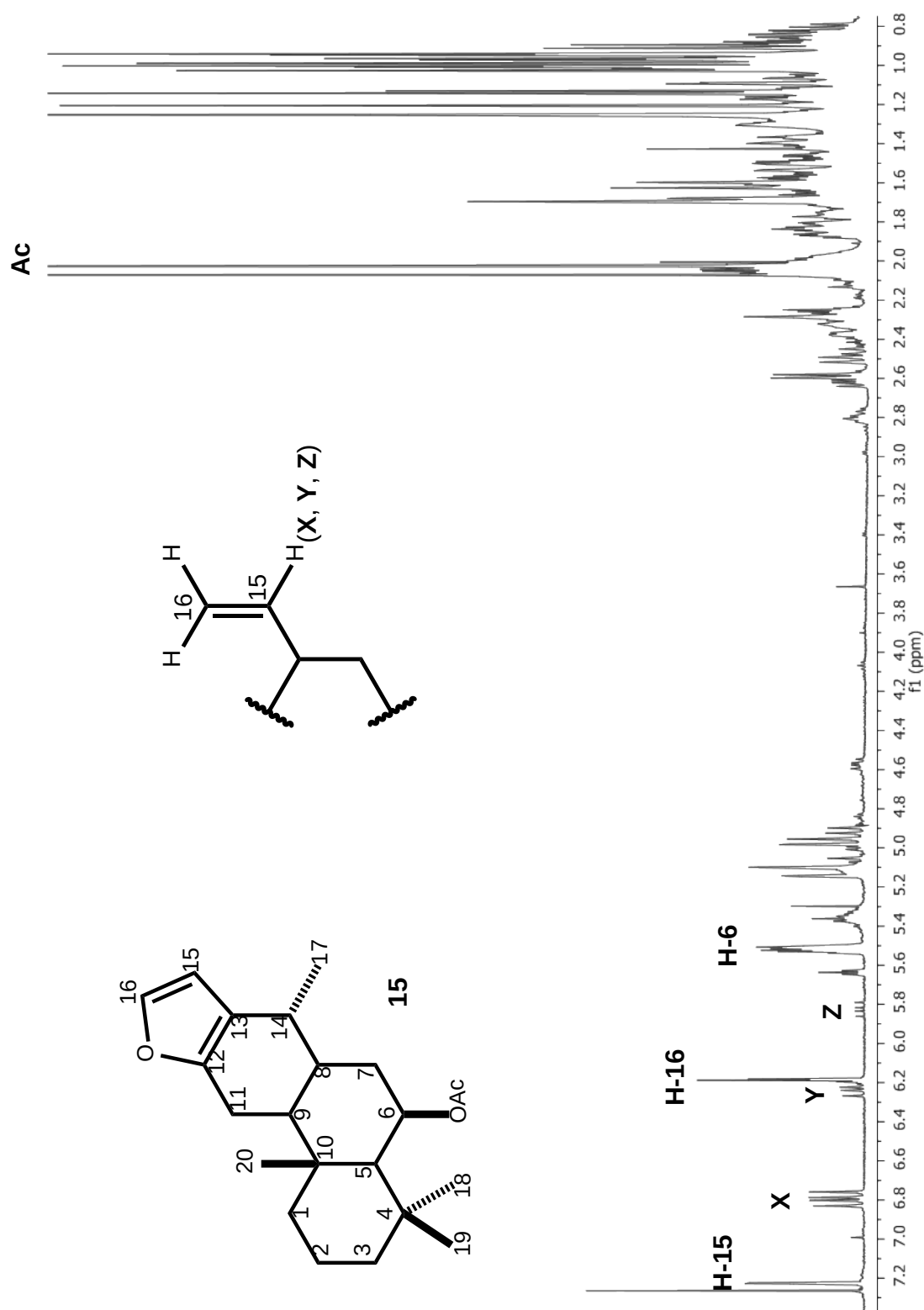


Figura 17. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz de la mezcla de diterpenos.

En el espectro de RMN de ^1H (**Figura 18**) del diterpeno **15** se observaron dos señales dobles con $J = 1.9$ Hz en 7.23 y 6.19 ppm correspondientes a los hidrógenos aromáticos del furano H-15 y H-16; en 5.51 ppm se localizó una señal simple ancha correspondiente a un hidrógeno base de éster; en 2.60 ppm se observó una señal múltiple correspondiente al H-14 traslapada con una señal doble de dobles con $J = 16.9$ y 7.1 Hz correspondiente a uno de los hidrógenos del metileno CH_2 -11; en 2.48 ppm se localizó la señal doble de dobles con $J = 16.9$ y 10.0 Hz identificada como el hidrógeno H-11'; en 2.03 ppm se logró observar una señal simple que integró para 3 hidrógenos característica de grupos metilo de acetilo, en 1.85 ppm se localizó una señal doble de triples con una $J = 14.3$ y 3.5 Hz correspondiente a uno de los hidrógenos del metileno H-7, para el hidrógeno H-7' se observó una señal múltiple en 1.53 ppm; en 1.20, 1.02 y 0.99 ppm se observaron 3 señales simples correspondientes a los metilos terciarios CH_3 -20, CH_3 -19 y CH_3 -18 respectivamente. En 0.96 ppm se logró observar una señal doble con $J = 7.0$ Hz correspondiente al metilo secundario CH_3 -17.

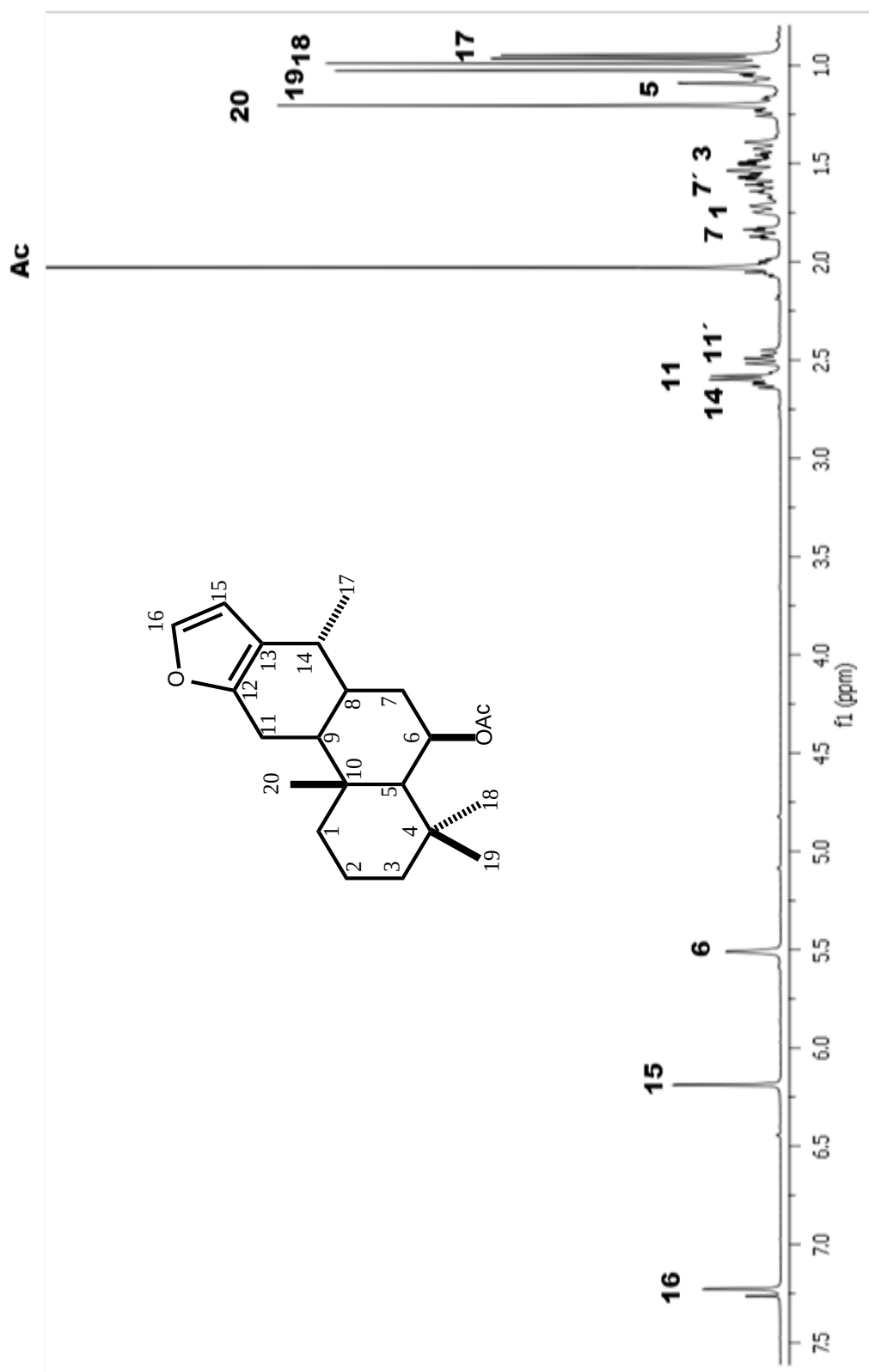


Figura 18. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del 6β-acetoxixouacapano (15).

Bajo condiciones de cromatografía en columna solo fue posible separar el 6 β -acetoxivouacapano (**15**), no así la mezcla de los compuestos que contenían los dobles enlaces terminales, por lo que se decidió ensayar la técnica de cromatografía en placa fina impregnada con nitrato de plata (Gómez-Hurtado, 2011), utilizando cromatofolios de 10 x 20 cm x 200 μ m de espesor impregnados con solución de AgNO₃ como fase estacionaria y una mezcla hexano-AcOEt 9:1 como fase móvil, obteniéndose un compuesto, cuyo análisis preliminar de RMN de hidrógeno, reveló su pureza y naturaleza.

En el espectro de RMN de ¹H (**Figura 19**) del cassadieno **16** se observó en 6.80 ppm una señal doble de dobles $J = 17.3$ y 11.0 Hz; correspondiente al hidrógeno vinílico H-15; en 5.53 ppm se logró apreciar una señal quintuple con $J = 2.6$ Hz correspondiente al hidrógeno base de éster H-6; en 5.12 y 4.97 ppm se lograron observar dos señales dobles con $J = 17.3$ y 11.0 Hz respectivamente, correspondientes a los hidrógenos vinílicos H-16a y H-16b. En la expansión del espectro de RMN de ¹H (**Figura 20**) se localizó a 2.35 ppm una señal doble ancha con $J = 14.4$ Hz correspondiente al hidrógeno H-12a; en 2.29 ppm se observó una señal múltiple identificada como H-8; en 2.25 ppm se identificó a H-7a como una señal múltiple; a 2.07 ppm se localizó una señal simple característica de grupos metilo de acetilo; mientras que en 1.83 ppm se encontró una señal múltiple caracterizada como H-11a; en 1.78 ppm se logró observar una señal múltiple correspondiente a H-1b; a 1.70 ppm se apreció una señal simple ancha indicando

la presencia de un metilo vinílico CH₃-17; en 1.64 ppm se encontró una señal doble de múltiples con $J = 14.0$ correspondiente al hidrógeno H-2a; el hidrógeno H-2b se localizó como una señal doble de múltiples con $J = 14.0$ Hz en 1.48 ppm; finalmente en 1.14, 1.00 y 0.94 ppm se distinguieron tres señales simples correspondientes a los grupos metilo 20, 19 y 18 respectivamente.

Haciendo una comparación del espectro de RMN de ¹H del diterpeno **16** con el acetoxivouacapano **15**, se observaron diferencias en la zona de hidrógenos aromáticos; es decir, que los hidrógenos del anillo de furano desaparecieron y en su lugar se encontró un sistema de tres hidrógenos vinílicos terminales. De igual manera se observó la desaparición del metilo secundario en la posición 14 y en su lugar se observó un metilo vinílico.

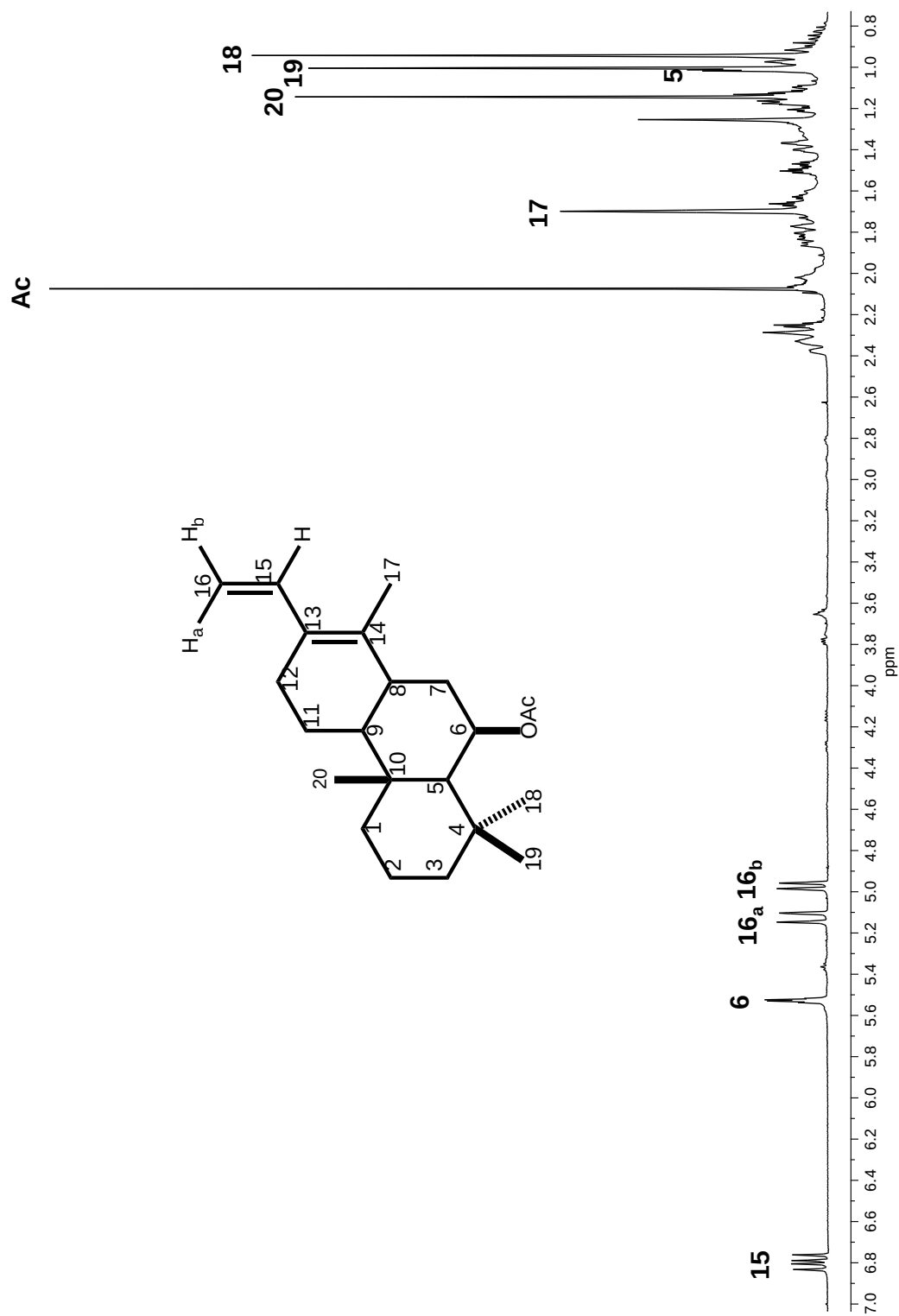


Figura 19. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del 6β-acetoxycassa-13,15-dieno (**16**).

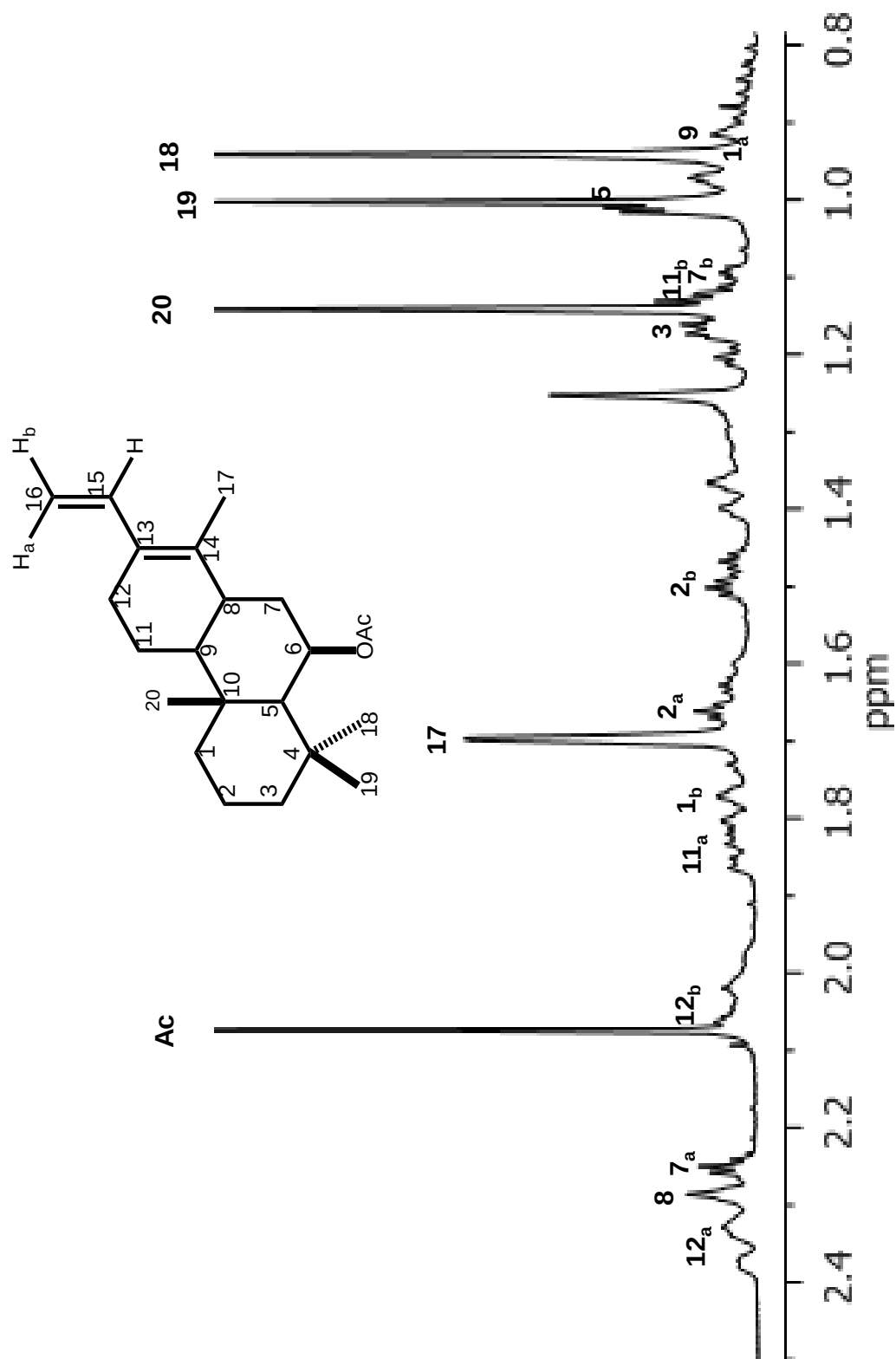


Figura 20. Expansión del espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del 6 β -acetoxycassa-13,15-dieno (**16**).

En el espectro de correlación homonuclear COSY (**Figura 20**) se pudo observar el acoplamiento de las señales dobles en 5.12 y 4.97 ppm correspondientes a los hidrógenos del metileno vinílico CH₂-16 con la señal doble de dobles en 6.80 ppm correspondiente a H-15, se logró distinguir el acoplamiento de la señal quintuple en 5.53 ppm correspondiente al hidrógeno base de éster en la posición 6 con las señales múltiples en 2.25 y 1.11 ppm correspondientes a los hidrógenos H-7a y H-7b, así como un acoplamiento con la señal múltiple en 1.00 ppm correspondiente a H-5, lo que indica que el éster se encuentra en la posición 6, al igual que en el vouacapano **15**.

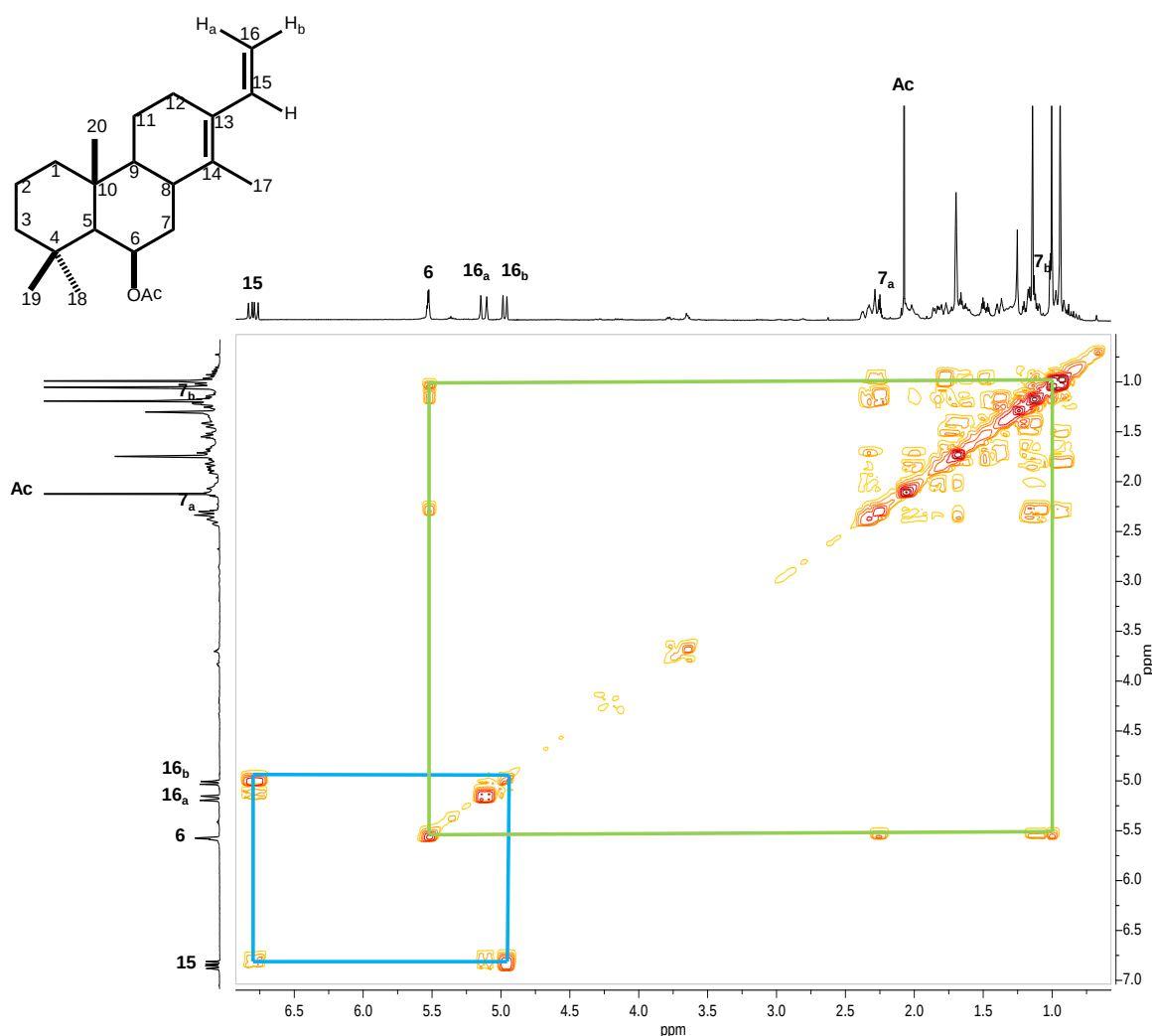


Figura 21. Espectro COSY del 6 β -acetoxicassa-13,15-dieno (**16**).

Se observó además la correlación de la señal múltiple en 2.29 ppm correspondiente a H-8 con la señal múltiple en 1.11 ppm correspondiente a H-7b; la señal en 2.35 ppm mostró el acoplamiento de la señal doble ancha correspondiente a H-12a con la señal múltiple en 1.12 ppm correspondiente a H-11b; se logró distinguir el acoplamiento de la señal doble de múltiples en 1.64 ppm correspondiente a H-2a con la señal doble de múltiples en 1.48 ppm

correspondiente a H-2b y con la señal múltiple en 0.93 ppm correspondiente a H-1a. También se logró observar el acoplamiento alílico de la señal simple ancha en 1.70 ppm correspondiente a H-17 con la señal doble ancha en 2.35 ppm correspondiente a H-12a y el acoplamiento con la señal múltiple en 2.04 ppm correspondiente a H-12b (Figura 22).

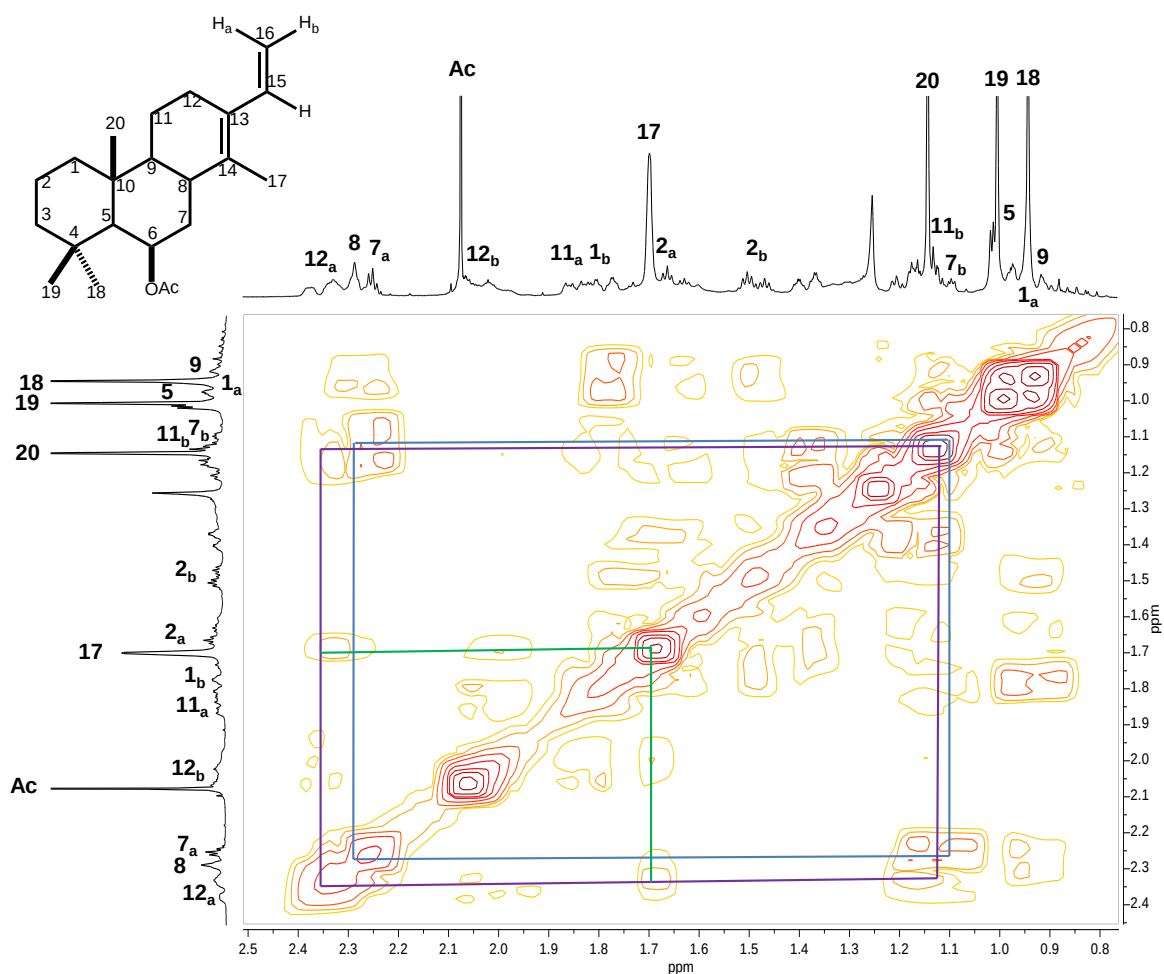


Figura 22. Expansión del espectro COSY del 6β-acetoxicassa-13,15-dieno (16).

En el espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 23**) se observaron 22 señales lo cual indica la presencia de un diterpeno funcionalizado; en 170.5 ppm se observó una señal correspondiente al carbonilo del acetato; en 135.8 y 129.3 ppm se apreciaron dos señales correspondientes a los carbonos cuaternarios C-14 y C-13 respectivamente; a 110.9 ppm se ubicó la señal del carbono vinílico C-16; en 70.2 ppm se localizó la señal correspondiente al carbono base del acetato, el cual coincide con el desplazamiento reportado para el 6 β -acetoxivouacapano (**15**); a 56.1 ppm se pudo observar la señal del carbono C-5 característica de esqueletos de diterpenos; en 54.2 ppm se observó la señal correspondiente al carbono del metino CH-9; a 44.2 y 40.8 ppm se observaron 2 señales para los metilenos CH₂-1 y CH₂-3 respectivamente; en 37.5 y 33.8 ppm se visualizaron las señales correspondientes a los carbonos cuaternarios C-10 y C-4 los cuales coinciden con los valores reportados en la literatura para diterpenos del tipo cassano; en 36.8 ppm se encontró la señal correspondiente al metino CH-8; en 36.7, 26.4, 21.2 y 19.0 ppm se definieron las señales correspondientes a los metilenos CH₂-7, CH₂-12, CH₂-11 y CH₂-2 respectivamente; las señales encontradas en 33.2, 23.2, 16.3 y 16.0 ppm corresponden a los metilos CH₃-18, CH₃-19, CH₃-20 y CH₃-17 de la molécula respectivamente; también se observó la señal característica del metilo de acetilo a 21.9 ppm.

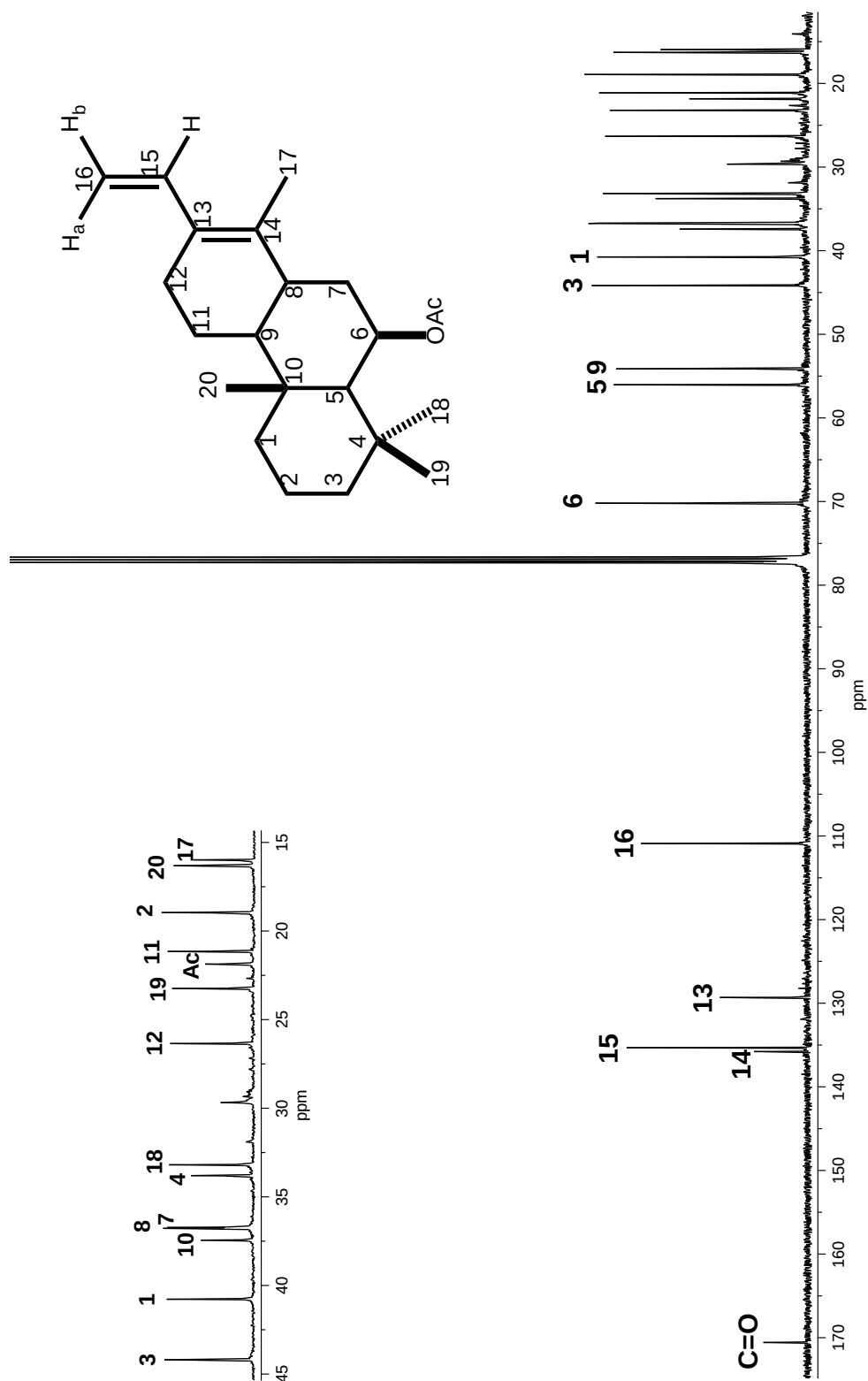


Figura 23. Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz del 6β-acetoxycassa-13,15-dieno (**16**).

La expansión del espectro HETCOR (**Figura 24**) nos permitió corroborar la ubicación del hidrógeno H-15 la cual correlaciona con la señal establecida para C-15 en 135.3 ppm; de la misma manera, se estableció la correlación entre las señales de los hidrógenos H-16a y H-16b con la señal asignada para C-6 en 70.2 ppm; además fue posible corroborar la ubicación de la señal de los hidrógenos H-12a y H-12b ya que se logró observar la correlación que tienen con la señal asignada para el C-12 en 26.4 ppm; la asignación correcta de los carbonos C-8 y C-7 se estableció mediante el experimento DEPT, el cual nos indicó que C-8 siendo un metino se encuentra a 36.8 ppm, mientras que C-7 siendo un metileno se localiza a 36.7 ppm; se apreció además la correlación de la señal simple en 2.07 ppm en la escala de hidrógeno característica del metilo de acetato con la señal en 21.9 ppm en la escala de carbonos.

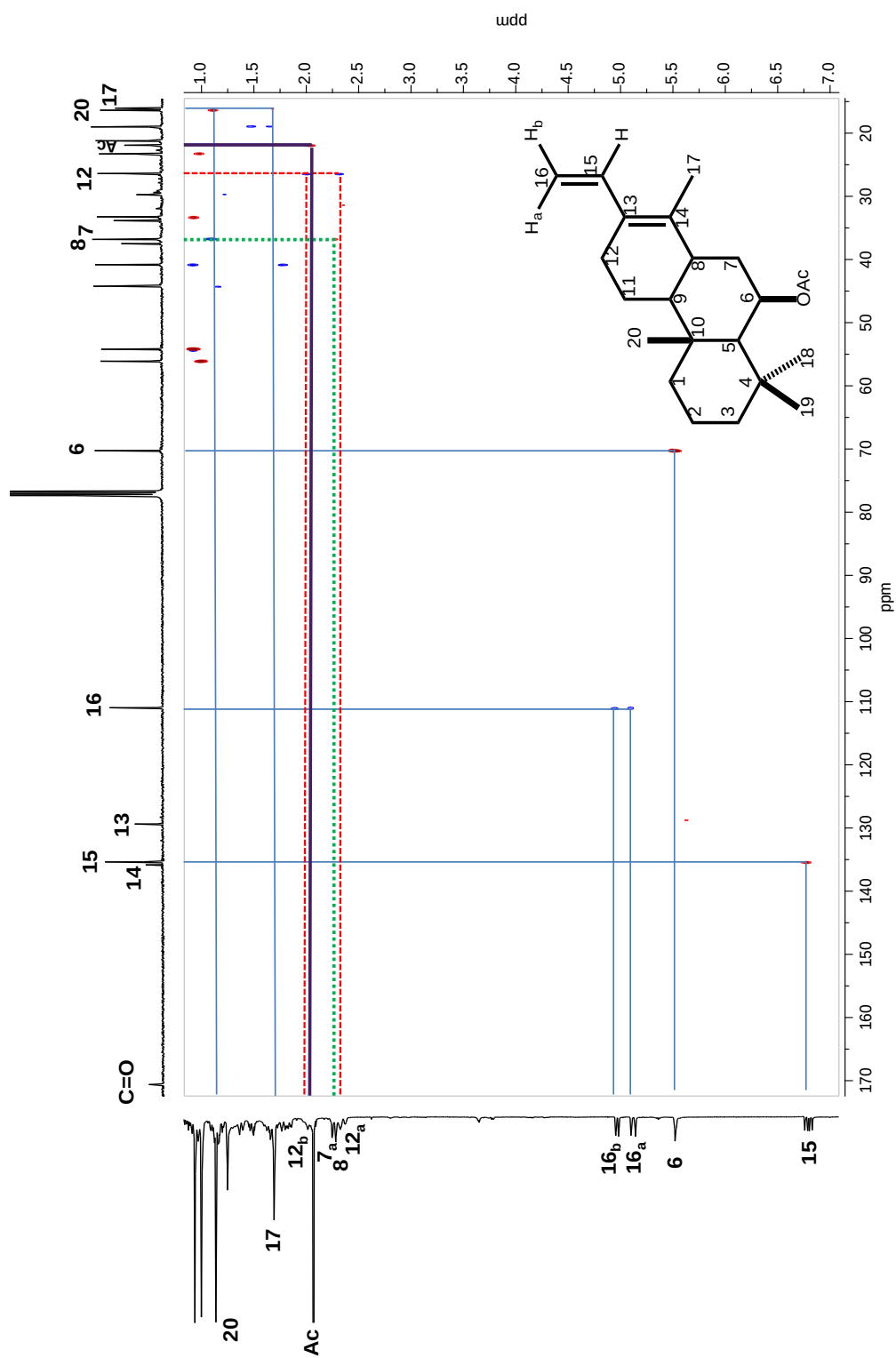


Figura 24. Espectro HETCOR del 6 β -acetoxicassa-13,15-dieno (**16**).

La asignación de los espectros de hidrógeno y carbono-13 se corroboraron con el experimento Heteronuclear HMBC, el cual fue de gran utilidad para la confirmación de la posición de los metilos presentes en la molécula; En la **figura 25** se muestra la correlación que se observó de la señal del metilo de acetilo en la escala de hidrógeno en 2.07 ppm con la señal en 170.5 ppm correspondiente al carbonilo del éster C=O; la señal del metilo CH₃-17 en 1.70 ppm correlacionó con las señales en 36.7, 129.3, 135.8 y 135.3 ppm correspondientes a C-7, C-13, C-14 y C-15 respectivamente; en la escala de hidrógeno la señal del metilo CH₃-20 en 1.14 ppm mostró la correlación con las señales en 37.5, 40.8, 54.2 y 56.1 ppm correspondientes a C-10, C-1, C-9 y C-5 respectivamente; de igual manera se logró apreciar la correlación de la señal en escala de hidrógeno en 1.00 ppm correspondiente al metilo CH₃-19 con 8 señales ubicadas entre 16.3 y 56.1 ppm las cuales corresponden a los carbonos C-20, C-19, C-18, C-4, C-7, C-10, C-3 y C-5; en la escala de hidrógeno la señal del metilo CH₃-18 ubicada en 0.94 ppm mostró correlación con 5 señales en 23.21, 33.2, 33.8, 44.2 y 56.1 ppm correspondientes a C-19, C-18, C-4, C-3 y C-5 respectivamente.

Por otro lado, el análisis por espectroscopía de ultravioleta confirmó la presencia del dieno encontrándose una $\lambda_{\text{máx}}$ experimental de 237 nm, éste dato concuerda con una $\lambda_{\text{máx}}$ calculada mediante las reglas de Woodward-Fieser cuyo valor es de 232 nm (Kalsi, 2004). El espectro de IR reveló las bandas de estiramiento del sistema dieno conjugado en 1631 cm⁻¹, así como la banda del grupo carbonilo en 1724 cm⁻¹.

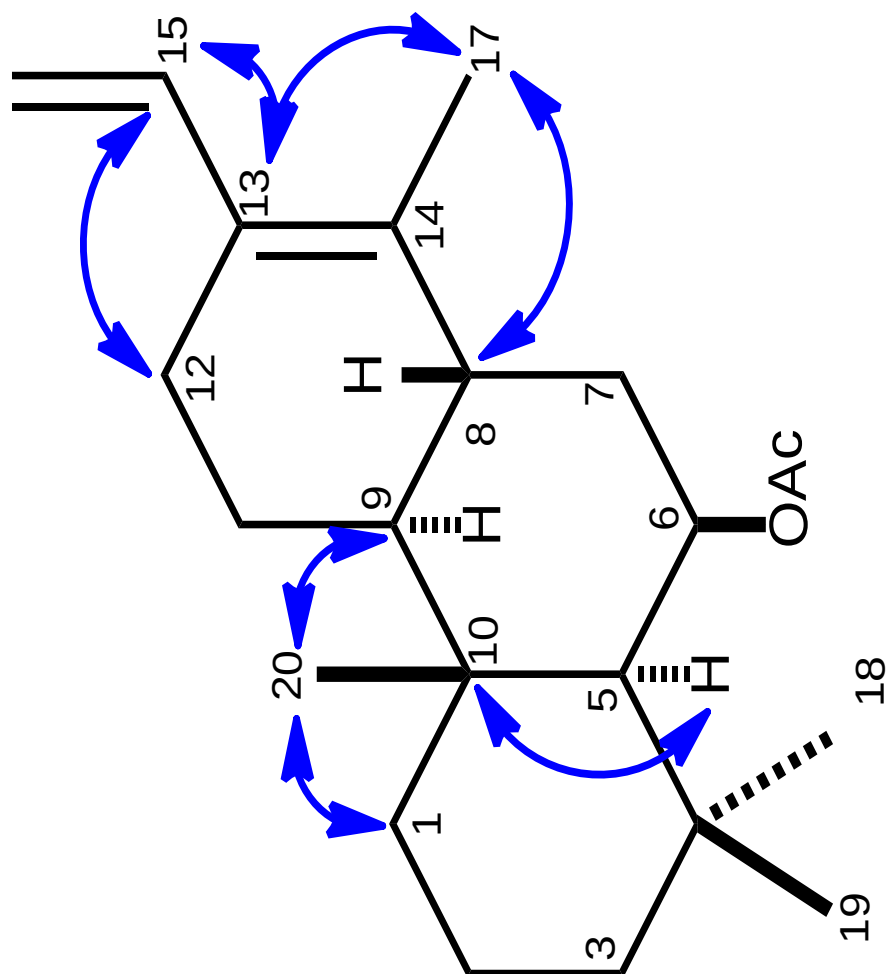
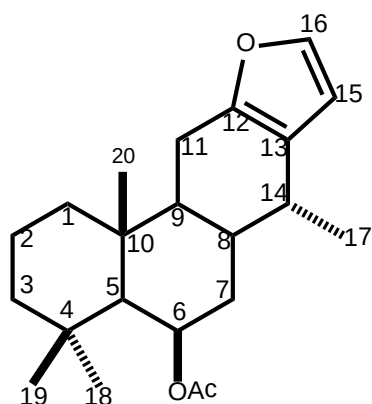


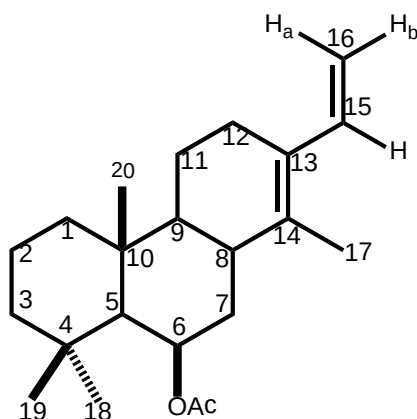
Figura 25. Ejemplos de correlaciones observadas en el espectro de HMBC del 6 β -acetoxicassa-13,15-dieno (**16**).

5. CONCLUSIONES

Mediante el análisis químico realizado de las hojas de *Caesalpinia platyloba*, se lograron aislar y caracterizar del extracto de CH₂Cl₂; el 6 β -acetoxivouacapano (**15**), previamente reportado por nuestro grupo de trabajo y un nuevo cassadieno, el 6 β -acetoxicassa-13,15-dieno (**16**).



15



16

De igual manera, este estudio aporta conocimientos fitoquímicos que enriquecen la quimiotaxonomía del género *Caesalpinia*; esto abre la posibilidad de continuar con estudios químicos detallados que pudiesen contribuir al conocimiento de más moléculas novedosas que pudieran estar biogenéticamente relacionadas.

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1. PROCEDIMIENTOS GENERALES

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H a 400 MHz y de ^{13}C a 100 MHz, así como los diagramas bi-dimensionales de correlación $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ (HETCOR) y $^1\text{H}/^1\text{H}$ (COSY) se midieron en un espectrómetro Varian Mercury Plus-400; el experimento HMBC se midió en un aparato VARIAN Mercury 300; en todas las determinaciones se utilizó como disolvente cloroformo deuterado (CDCl_3) y como referencia se utilizó tetrametilsilano (TMS). Los espectros fueron procesados mediante el programa MestRe Nova.

Para las separaciones cromatográficas se utilizó gel de sílice Aldrich 230-400 mallas.

Los espectro de IR se midieron usando un espectrofotómetro marca Buck 500, las muestras se disolvieron en cloroformo y se colocaron en celdas con ventanas de cloruro de sodio.

La rotación óptica se midió 589 nm, utilizando un polarímetro Perkin Elmer modelo 341 y empleando soluciones clorofórmicas filtradas.

Las mediciones de UV se llevaron a cabo usando un espectrofotómetro marca Perkin Elmer Lambda 12, empleando celdas de cuarzo de 1 cm de longitud y etanol como disolvente.

Los espectros de masa de baja resolución se midieron en un equipo Varian Saturn 2000 mediante impacto electrónico en los laboratorios de espectrometría de masa de la Universidad de California, Riverside.

6.2. MUESTRA VEGETAL

Caesalpinia platyloba fue colectada el 27 de Septiembre del 2009 en Los Charcos, Municipio de Apatzingán. La planta fue identificada taxonómicamente por el M. C. Xavier Madrigal, de la Facultad de Biología de la UMSNH con número de Voucher 20401.

6.3. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS

Para la obtención de los extractos las hojas se dejaron secar a la sombra, posteriormente se pusieron a macerar 645 g de hojas a temperatura ambiente con cantidad suficiente de hexano durante 3 días, la maceración se filtró y concentró en rotavapor, repitiendo el procedimiento 3 veces, se obtuvieron 12.9 g (2% de rendimiento) de extracto. El mismo procedimiento se repitió para la obtención del extracto en CH_2Cl_2 obteniéndose 36.9 g (5.7% de rendimiento) de extracto.

6.4. ANÁLISIS QUÍMICO

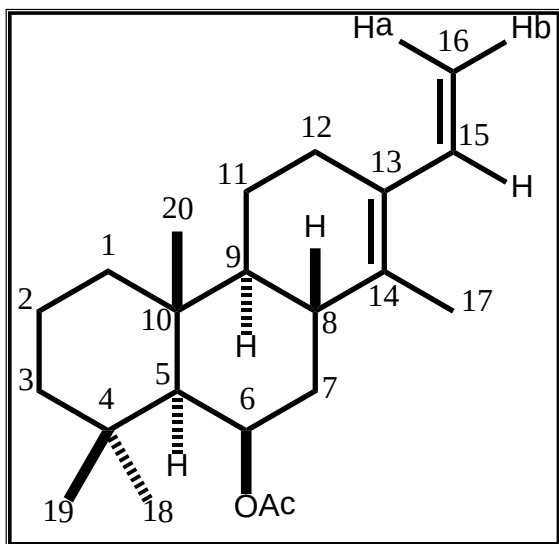
Con el extracto en CH_2Cl_2 se realizó una columna cromatográfica de 4.5 cm de diámetro y 13 cm de altura, el extracto se disolvió en CH_2Cl_2 para posteriormente impregnarse con sílice y llevarse a sequedad, como fase estacionaria se utilizó gel de sílice 230-400 mallas y como fase móvil se usaron

mezclas hexano-CH₂Cl₂ en orden ascendente de polaridad, colectando fracciones de 100 mL. En las fracciones 35-39 eluídas a 99:1 hexano-CH₂Cl₂ se obtuvieron 99.8 mg (0.27% de rendimiento) de una mezcla de diterpenos.

La purificación se realizó mediante cromatografía en placa fina, utilizando cromatofolios de 10 x 20 cm x 200 µm de espesor impregnado con una solución de AgNO₃ como fase estacionaria y 50 mL de una mezcla hexano-AcOEt 9:1 como fase móvil. Al momento de revelar, se observaron 3 bandas presentes las cuales se rasparon y extrajeron cada una con 3 mL de la polaridad hexano-AcOEt 4:1; el mismo procedimiento se repitió 6 veces (hasta agotar la muestra) obteniendo 21 mg (21% de rendimiento) de un compuesto puro.

La solución de AgNO₃ se preparó al momento de utilizarse, disolviendo 1.7 g de AgNO₃ en 12 mL de CH₃CN, conservando la solución en frasco ámbar cerrado.

6 β -acetoxicassa-13,15-dieno (16)



Aceite incoloro; $[\alpha]^{25}_{\text{D}} = -108$ (c 7.8, CHCl_3); UV (etanol) $\lambda_{\text{máx.}}$ ($\log \epsilon$) nm: 232 (4.25), 244 (4.28); IR (CHCl_3) $\nu_{\text{máx.}}$ cm^{-1} : 1724 (C=O), 1631 (C=C), 1027 (C-O); EMIE m/z (int. rel.) 270 $[\text{M} - \text{AcOH}]^+$ (100), 256 (68), (201 (20), 186 (37), 173 (18), 160 (28), 146 (15), 134 (17), 119 (16), 91 (22), RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3)

δ ppm 6.80 (dd, $J_{15-16a} = 17.3$, $J_{15-16} = 11.0$ Hz, 1H, H-15), 5.53 (q, $J_{6-5-7a-7b} = 2.6$ Hz, 1H, H-6), 5.12 (d, $J_{16a-15} = 17.3$ Hz, 1H, H-16a), 4.97 (d, $J_{16b-15} = 11.0$ Hz, 1H, H-16b), 2.35 (da, $J_{12a-12b} = 14.4$ Hz, 1H, H-12a), 2.29 (m, 1H, H-8), 2.25 (m, 1H, H-7a) 2.07 (s, 3H, OAc), 2.04 (m, 1H, H-12b), 1.83 (m, 1H, H-11a), 1.78 (m, 1H, H-1b), 1.70 (sa, 3H, H-17), 1.64 (dm, $J_{2a-2b} = 14.0$ Hz, 1H, H-2a), 1.48 (dm, $J_{2b-2a} = 14.0$ Hz, 1H, H-2b), 1.16 (m, 2H, H-3), 1.14 (s, 3H, H-20), 1.12 (m, 1H, H-9), 1.12 (m, 1H, H-11b), 1.11 (m, 1H, H-7b), 1.00 (m, 1H, H-5), 1.00 (s, 3H, H-19), 0.94 (s, 3H, H-18), 0.93 (m, 1H, H-1a), 0.92 (m, 1H, H-9). RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 170.5 (C=O, OAc), 135.8 (C, C-14), 135.3 (CH, C-15), 129.3 (C, C-13), 110.9 (CH_2 , C-16), 70.2 (CH, C-6), 56.1 (CH, C-5), 54.2 (CH, C-9), 44.2 (CH_2 , C-3), 40.8 (CH_2 , C-1), 37.5 (C, C-10), 36.8 (CH, C-8), 36.7 (CH_2 , C-7), 33.8 (C, C-4), 33.2 (CH_3 , C-18), 26.4 (CH_2 , C-12), 23.2 (CH_3 , C-19), 21.9 (CH_3 , OAc), 21.2 (CH_2 , C-11), 19.0 (CH_2 , C-2), 16.3 (CH_3 , C-20), 16.0 (CH_3 , C-17).

7. BIBLIOGRAFÍA

Álvarez-Esquivel F. E. “Estereoquímica y Configuración Absoluta de Diterpenos del Género *Caesalpinia*”. Tesis de Maestría en Ciencias Químicas, presentada en el Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, UMSNH, **2012**.

ApSimon J. “The Total Synthesis of Natural Products”. Vol. 8. Ed. Wiley, United States, **1992**.

Arjun H., Banskota F., Attamimi T., Usia T., Linn Z., Tezuka Y. Tetrahedron Letters. **2003**. 44: 6879–6882.

Azcón-Bieto J., Talón M. “Fundamentos de Fisiología Vegetal”. 2ª Edición. Ed. McGraw-Hill, Barcelona, **2000**.

Balhim Zanin J. L., de Carvalho B., Salles Martineli P., Dos Santos M. H., Lago J. H., Sartorelli P., Viegas Jr. C., Soares M. G. Molecules. **2012**. 17: 7887-7902.

Brahmachari G. “Bioactive Natural Products. Opportunities and Challenges in Medicinal Chemistry”. 1a Edición. Ed. World Scientific, Singapore, **2011**.

Clarke R. L. Phytochemistry. **1971**. 10: 851–856.

Cordero J., Boshier D., Barrance A. “Árboles de Centroamérica: Un Manual Para Extensionistas”. Edit. Instituto Forestal de Oxford (OFI), **2003**.

Cuong T. D., Hung T. M., Kim J. C., Kim E. H., Woo M. H., Choi J. S., Lee J. H., Min B. S. “Phenolic Compounds from *Caesalpinia sappan* Heartwood and Their Anti-inflammatory Activity”. J. Nat. Prod. **2012**. A-G.

Dewick P. M. “Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach”. 3ª Edición. Ed. Wiley, United Kingdom, **2009**.

Díaz N., González H., Martínez M. "Factibilidad Técnica y Económica de la Plantación Extensiva de Palo Colorado (*Caesalpinia platyloba*), Para el Mercado de Bonos de Carbono Mediante Modelos de Predicción en el Norte de Sinaloa". Instituto Politécnico Nacional CIIDIR-UNIDAD SINALOA. **2011**.

Eldeen I. M, Van Heerden F. R, Van Staden J. J. Ethnopharmacol. **2010**. 128: 555–60.

Espinoza-Madrigal, R. M. "Escrutinio de Efecto Antifúngico de *Caesalpinia coriaria* (jacq) Will y *C. platyloba* S. Watson sobre Patógenos que Causan Pudrición de Pedúnculo en el Fruto de Aguacate". Tesis de Maestría en Ciencias en Biología Experimental, presentada en el Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, UMSNH, **2010**.

Gómez-Hurtado M. A. "Estudio Químico y Biológico de *Chromolaena pulchella*". Tesis de Doctorado, presentada en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca de Soto Hgo., **2011**.

González-Gómez J. C., Madrigal-Sánchez X., Ayala-Burgos A., Juárez-Caratachea A. y Gutiérrez-Vázquez E. "Especies arbóreas de uso múltiple para la ganadería en la Región de Tierra Caliente del Estado de Michoacán, México". **2006**. 18.

Griffith J. S. "Notes on the Manufacture and Use of "Carretas" in Northern Sinaloa, Mexico". **1982**. 47: 279-283.

Guo-Xu M., Jing-Quan Y., Li C., Jun-Shan Y., Xu-Dong. "The New Cassane-Type Diterpenes from *Caesalpinia minax*". Chem. Pharm. Bull. **2012**. 60(6):759–763.

Hanson J. R. "Natural Products: the Secondary Metabolites". Ed. The Royal Society of Chemistry, United Kingdom, **2003**.

Hoffmann D., Fnimh, AHG. "Medical Herbalism the Science and Practice of Herbal Medicine". Ed. Healing Art Press, Vermont, **2003**.

Igoli J. O., Onyiriuka S. O., Letzel M. C., Nwaji M. N., Gray A. I. Nat. Prod. Commun. **2008**. 3: 5–10.

Kalauni S. K., Awale S., Tezuka Y., Banskota A. H., Linn T. Z., Kadota S. J. Nat. Prod. **2004**. 67: 1859–63.

Kalauni S. K., Awale S., Tezuka Y., Banskota A. H., Linn T. Z., Kadota S. Chem. Pharm. Bull. **2005**. 53: 214–218.

Kalsi P. S. "Spectroscopy of Organic Compounds". 6^a Edición. Ed. New Age Interational, Nueva Delhi, India. **2004**.

Karlovsy P. "Secondary Metabolites in Soil Ecology". Ed. Springer, Germany, **2010**.

Kido T., Taniguchi M., Baba K. Chem. Pharm. Bull. **2003**. 51: 207–208.

Kiem P. V., Minh C. V., Huong H. T., Lee J. J., Ho Kim Y. Chem. Pharm. Bull. **2005**. 53: 428–430.

Kinoshita T., Haga Y., Narimatsu S., Shimada M., Goda Y. "The Isolation and Structure Elucidation of New Cassane Diterpene-Acids from *Caesalpinia crista* L. (Fabaceae), and Review on the Nomenclature of some *Caesalpinia* Species". Chem. Pharm. Bull. **2005**. 53(6): 717—720.

Kinoshita T., Kaneko M., Noguchii H., Kitagawa I. Heterocycles. **1996**. 43: 409–14.

Kitagawa A., Simanjuntak P., Watano T., Shibuya H., Fujii S., Yamagata Y. Chem. Pharm. Bull. **1994**. 42: 1798–802.

Kitagawa, Simanjuntak P., Mahmud T., Kobayashi M., Fujii S., Uji T. Chem. Pharm. Bull. **1996**. 44: 1157–6.

Li Dong-Mei, Ma Lei, Liu Guang-Ming, Hu Li-Hong. Chem. Biodivers. **2006**. 3: 1260–5.

Ma G. X., Yuan J. Q., Cao L., Yang J. S., Xu X. D. "The New Cassane-Type Diterpenes from *Caesalpinia minax*". Chem. Pharm. Bull. **2012**. 60(6): 759–763.

Manríquez-Torres J. J., Torres-Valencia J. M., Gómez-Hurtado M. A., Motilva V., García-Mauriño S., Ávila J., Talero E., Cerda-García-Rojas C. M., Joseph-Nathan P. "Absolute Configuration of 7,8-seco-7,8-Oxacassane Diterpenoids from *Acacia schaffneri*". J. Nat. Prod. **2011**. 74: 1946-1951.

Maurya R., Ravi M., Singh S., Yadav P. P. "A review on cassane and norcassane diterpenes and their pharmacological studies". Fitoterapia. **2012**. 83: 272-280.

Mendoza D. T., Gonzalez L. U. D., Barria E. O., Capson T. L., Rios L. C. J. Nat Prod. **2003**. 66: 928–932.

Orphelin B., Brum-Bousquet M., Tillequin F., Koch M., Moretti C. Heterocycles. **1996**. 43: 173–183.

Osbourn A. E., Lanzotti V. "Plant-derived Natural Products: Synthesis, Function, and Application". 7^a Edición. Ed. Springer, United Kingdom, **2009**.

Palacios E. E. "Economía y Plantas Medicinales". Universidad Mayor de San Marcos, **2002**, CSI, Boletín 52: 28-31.

Pamatz-Bolaños, T. "Actividad Citotóxica de *Caesalpinia coriaria* (Jacq) Will y *C. platyloba* S. Watson". Tesis de Maestría en Ciencias en Biología Experimental, presentada en el Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, UMSNH, **2010**.

Promsawan N., Kittakoop P., Boonphong S., Nongkunsarn P. "Antitubercular Cassane Furanoditerpenoids from the Roots of *Caesalpinia pulcherrima*". Letter. Plant. Med. **2003**. 69: 776-777.

Quy J., Wangy Y. H., Li J.B., Yu S. S., Li Y., Liu Y.B. Rapid Commun Mass Spectrom. **2007**. 21: 2109–2119.

Roach J. S., McLean S., Reynolds W. F., Tinto W. F. "Cassane Diterpenoids of *Caesalpinia pulcherrima*". J. Nat. Prod. **2003**. 66: 1378-1381.

Rzedowski, J., Rzedowski, G. C. Flora fanerogámica del Valle de México. 2ª Edición. Instituto de Ecología, A.C. y CONABIO, Pátzcuaro (Michoacán), **2005**.

Salvador-Hernández, J. L. "Estudio Químico de Aceites Esenciales de dos Especies de *Caesalpinia*". Tesis de Maestría en Ciencias en Tecnología de la Madera, presentada en la Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera de la UMSNH, **2010**.

Schaller F., Rahalison L., Islam N., Potterat O. I., Hostettmann K., Stoeckli - Evans H. Helv. Chim. Acta. **2000**. 83: 407–413.

Schaller F., Wolfender J. L., Hostettmann K., Mavi S. Helv. Chim. Acta. **2001**. 84: 222–229.

Shoch D. T. "An ecological and economic evaluation of railroad tie harvest in the ejido Xpichil". Masters Project submitted in partial fulfillment of the requirements for Master of Forestry degree Nicholas School of the Environment Duke University **1999**.

Taiz L., Zeiger E. "Plant Physiology". Vol. 1. Ed. Sinauer Associates, Boston, **2002**.

Tsutsui M., Tsutsup E.A. Chem. Rev. **1959**. 59: 1031–1075.

USDA, ARS, National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network - (GRIN). URL: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?8304>

Waksmundzka, H. M., Sherma, J. "High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis". Vol. 102. Ed. Taylor and Francis Group, United States **2010**.

Wink M. "Biochemistry, Physiology and Ecological Functions of Secondary Metabolites". 2^a Edición. Annual plant reviews. **2010**. 40.

Yadav P. P., Arora A., Bid H. K., Konwar R. R., Kanojiya S. "New cassane butenolide hemiketal diterpenes from the marine creeper *Caesalpinia bonduc* and their antiproliferative activity". Tetrahedron Letters. **2007**. 48: 7194–7198.

Yang Z. Y., Yina Y. H., Hu L. H. "Five New Cassane-Type Diterpenes from *Caesalpinia crista*". Helv. Chim. Acta. **2009**. 99: 121-126.

Yodsaoue O., Cheenpracha S., Karalai C., Ponglimanont C., Chantrapromma S., Fun H., Kanjana-Opas A. "Phanginin A–K, diterpenoids from the seeds of *Caesalpinia sappan* Linn". Phytochemistry. **2009**. 69: 1242–1249.

Zamora, N., Jiménez, Q., Poveda, L. J. "Árboles de Costa Rica Vol II". Centro Científico Tropical, Conservación Internacional & Instituto Nacional de Biodiversidad. Ed. INBio. **2000**. <http://darnis.inbio.ac.cr/FMPro?-DB=ubipub.fp3&-lay=WebAll&-Format=/ubi/detail.html&-Op=bw&id=6414&-Find>