

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE VIGUIERA QUINQUERADIATA Y VIGUIERA MACULATA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE;
Q U I M I C O
P R E S E N T A
LAURA PATRICIA ALVAREZ BERBER
MEXICO, D. F. 1983



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

I.	INTRODUCCION Y GENERALIDADES	1
II.	PARTE TEORICA	12
	A.- Constituyentes de <u>Viguiera quin-</u> <u>queradiata.</u>	
	B.- Diterpenoides de <u>Viguiera macula</u> <u>ta.</u>	
III.	ESPECTROS	43
IV.	RESUMEN Y CONCLUSIONES	74
V.	PARTE EXPERIMENTAL	76
	A.- Constituyentes de <u>Viguiera quin-</u> <u>queradiata.</u>	
	B.- Diterpenoides de <u>Viguiera macula</u> <u>ta.</u>	
VI.	BIBLIOGRAFIA	96

I. INTRODUCCION Y GENERALIDADES-

INTRODUCCION

El término "producto natural" es el nombre general para cualquier substancia que proviene de organismos vivos, ya sean plantas, animales o microorganismos.

Durante el siglo pasado y hasta la fecha, se han aislado y caracterizado estructuralmente una gran cantidad de substancias, de las cuales, la mayoría son de origen vegetal y microbial.¹

Los productos naturales son el resultado de procesos metabólicos catalizados predominantemente por enzimas. Estas secuencias metabólicas interrelacionadas proveen las bases para una clasificación biosintética en la cual se han dividido los productos naturales, quizá de manera algo arbitraria, en dos grupos denominados metabolitos primarios y metabolitos secundarios.²

Los metabolitos primarios son los productos del metabolismo general y están ampliamente distribuidos en las plantas, animales y microorganismos, ejemplos de ellos son los aminoácidos, acetil-coenzima A, monosacáridos, ácido mevalónico, nucleótidos, proteínas, ácidos nucleicos, etc.

Los metabolitos secundarios son los productos de rutas metabólicas especiales, ó de la biosíntesis a partir de los metabolitos primarios; su distribución restrin---

gida, encontrándose en su mayor parte en plantas y microorganismos, ejemplos de ellos son los alcaloides, terpenos, fenoles, oligosacáridos, flavonoides, etc.

La importancia del estudio de los metabolitos secundarios es su distribución comparativamente restringida, algunas veces a especies ó subespecies. Estos productos, que son por definición metabolitos no generales, son consecuentemente una manifestación de la individualidad de la planta. Su producción puede ser en algunos casos, una consecuencia directa (más que indirecta) de su medio ambiente, los cuales pueden influenciar el crecimiento, conducta, salud y población de otros organismos vivientes.³

En el presente trabajo, se aíslan y caracterizan químicamente los metabolitos secundarios de dos especies vegetales de nuestro País. La mayoría de estas sustancias tienen un significado biológico en los procesos metabólicos y ecológicos que sólo pueden conocerse por medio de una investigación interdisciplinaria, detallada y exhaustiva de las especies individuales.

ANTECEDENTES

La familia Compositae ó Asteraceae es la más -- grande y mejor distribuída de las Fanerógamas, se le ha en contrado en abundancia en todos los continentes excepto en la Antártica. La familia es más abundante y diversificada en las regiones montañosas y desérticas ó semiáridas que -- en las tropicales.⁴

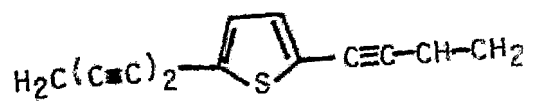
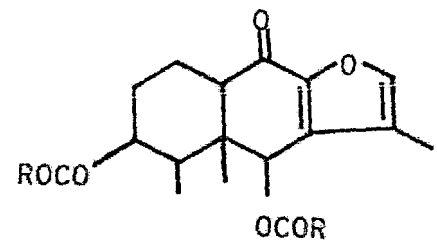
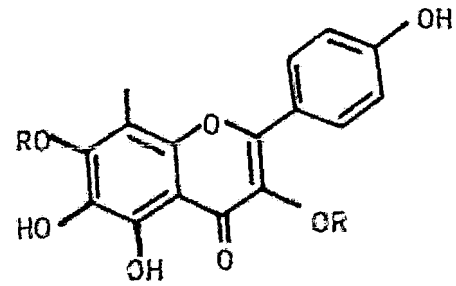
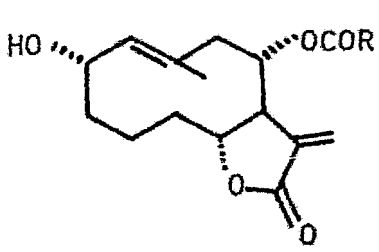
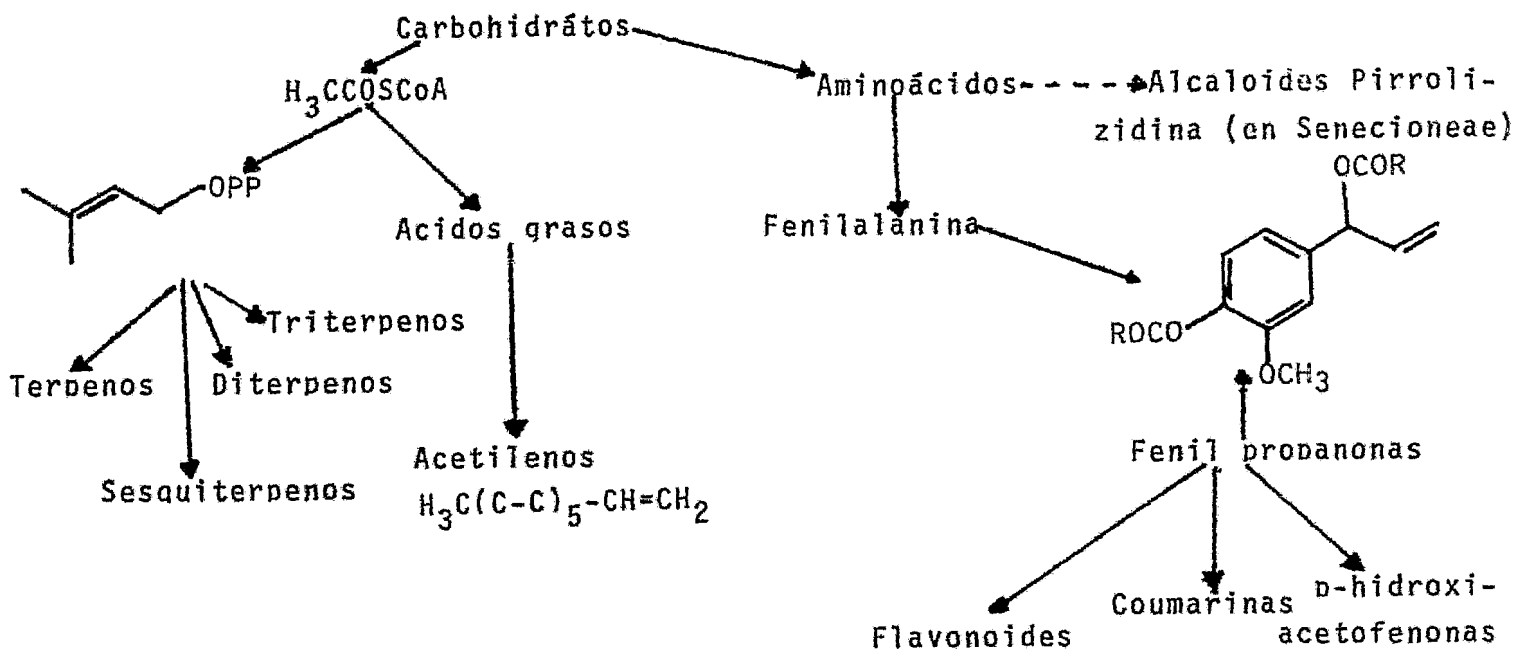
El número de especies reconocidas es de aproximadamente 2500, distribuídas en 1400 géneros (con subgéneros y secciones) y trece tribus.⁵

La tribu Heliantheae es una de las más grandes y diversificadas de ésta familia, que se le ha considerado como la más primitiva, puesto que la Viguiera cronquistii, el fósil más antiguo, pertenece a ésta tribu.⁶

Los metabolitos secundarios más comunes en Compositae son aceites esenciales de ácidos grasos, diterpenos, triterpenos, compuestos acetilénicos, flavonas y flavonoles (Fig. 1); pero probablemente las que caractericen mejor a ésta familia sean las lactonas sesquiterpénicas, -- aunque no sean exclusivas de ella.⁷

Los productos naturales de la familia Compositae tienen gran interés desde el punto de vista biológico y taxonómico porque la determinación estructural de los --

Figura I



componentes de la planta proporciona una gran ayuda a la clasificación biológica y a las posibles relaciones biosintéticas entre compuestos idénticos que son sintetizados por diversas rutas, en diferentes especies de la familia.

Las lactonas sesquiterpénicas que son las -- sustancias más características de ésta familia, se forman biogenéticamente por modificación o ciclización de ésteres de pirofosfato de trans,trans-farnesol ó cis,cis-farnesol, para dar un anillo de diez miembros que por medio de oxidaciones sucesivas produce un anillo lactónico-fusionado cis o trans.⁸

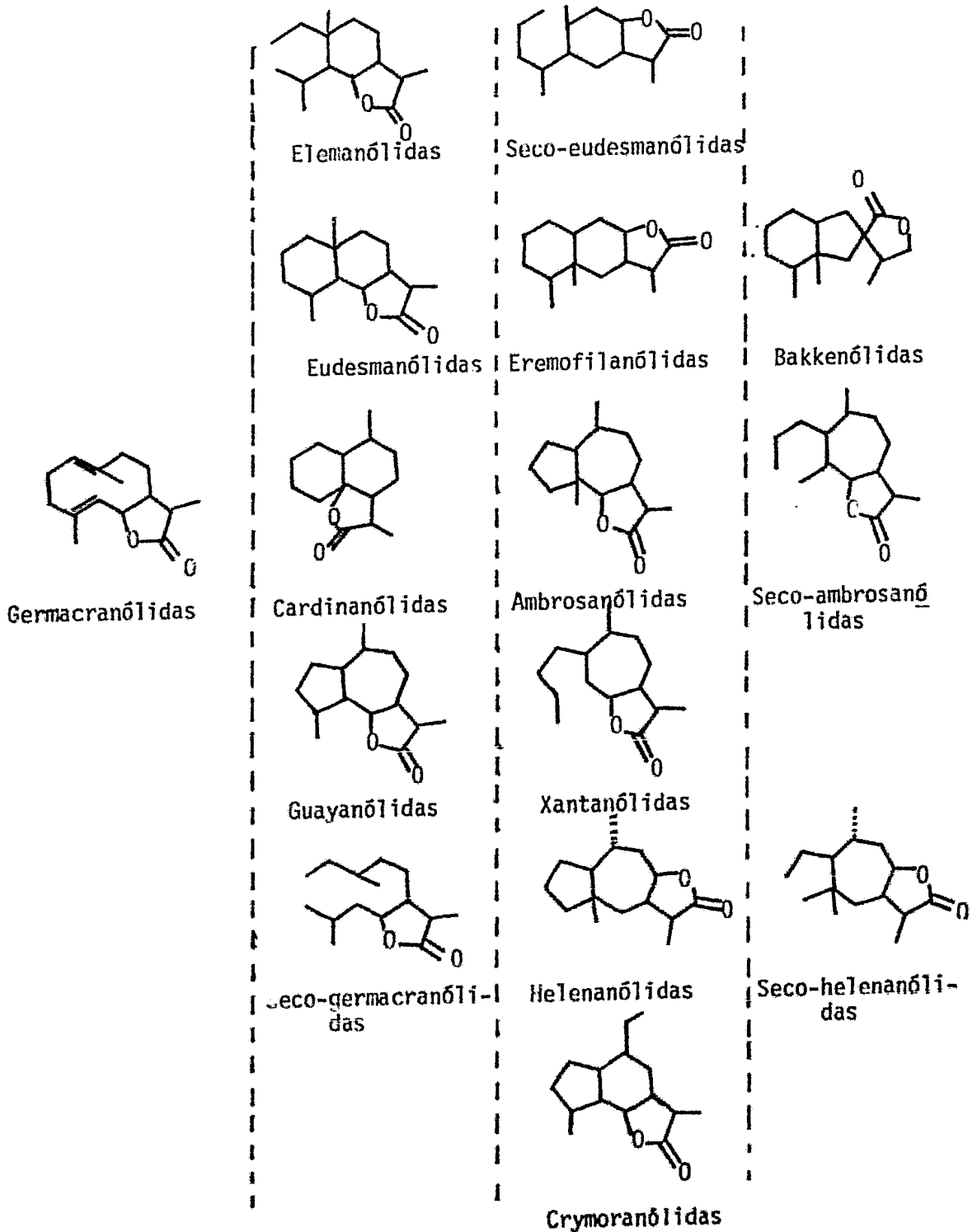
Estos compuestos se clasifican principalmente en base a sus esqueletos carboxílicos en germacranólidas, guayanólidas, eudesmanólidas, pseudoguayanólidas y xanthanólidas,⁹

El sufijo "ólida" se refiere a la función lactona basado en costunólida, que es una germacranólida relacionada con un sesquiterpeno carboxílico de 10 miembros. Las eudesmanólidas (santanólidas) son compuestos de anillo de 6/6 miembros, las guayanólidas y pseudoguayanólidas son lactonas sesquiterpénicas de anillos de 5 y 7 miembros.¹⁰

Las relaciones biogenéticas propuestas para -- estas lactonas se muestran en la figura 2.

Se ha asociado la presencia de éste tipo de --

Fig. 2



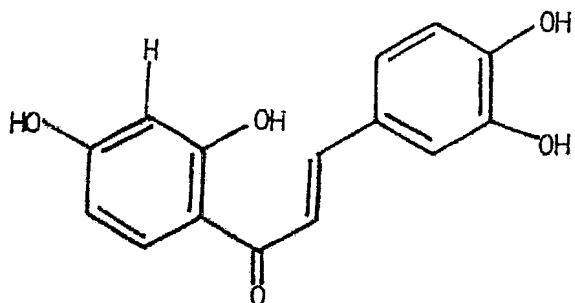
compuestos con un sabor amargo, que probablemente funcione como medida de protección de las plantas en contra de parásitos¹¹.

La actividad biológica y alta toxicidad han generado una serie de estudios relacionados con estas propiedades; como por ejemplo: actividad citotóxica, dermatítica insecticida, antimicrobial, alelopática y tóxica^{12,13,14}.

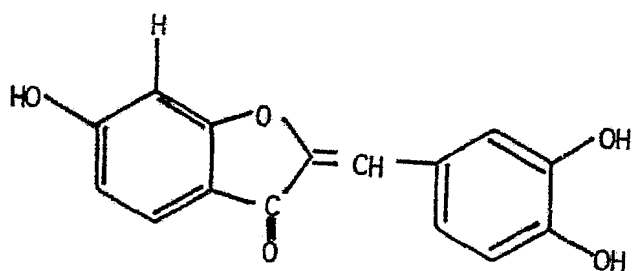
El género Viguiera perteneciente a la familia-Compositae es uno de los más grandes y diversificados de la tribu Heliantheae. La mayor variedad de especies de este género se encuentra en el área comprendida entre Durango y Oaxaca, continuando hacia Centro y Suramérica; y con menos variedad en Norteamérica.¹⁵

Del género Viguiera se han aislado compuestos aromáticos como (I,II),¹⁶ ácidos diterpénicos del tipo del kaureno, estacheno y trachilobano (III,IV, V,VI,VII)^{17,18,19} así como acetilenos (VIII)¹⁶ y lactonas sesquiterpénicas - del grupo de las germacranólidas (IX,X):^{20,21} heliangólidas (XI,XII,XIII);^{22,23} y 3(2H) furano-heliangólidas (XIV, XV, XVI).^{21,24}

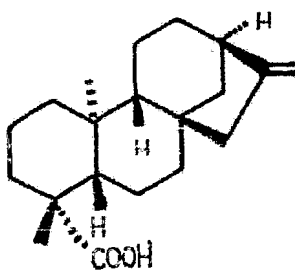
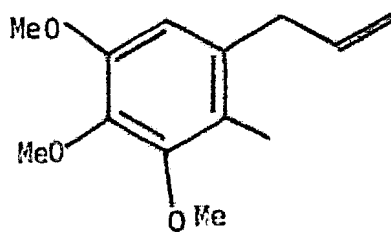
Continuando con el estudio sistemático del género Viguiera, se reportan en el presente trabajo, los --- constituyentes químicos de Viguiera quinqueradiata (dos poblaciones) y Viguiera maculata. Así como las implicaciones quimiotaxonómicas de éstos metabolitos secundarios en el género y géneros afines.

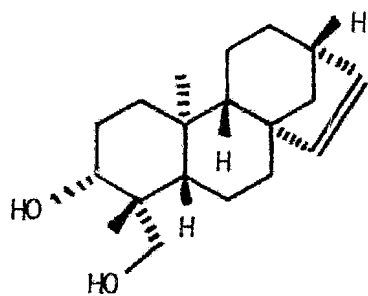


(I) Buteina

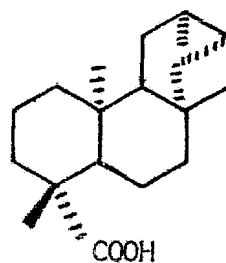


(II) Sulferitina

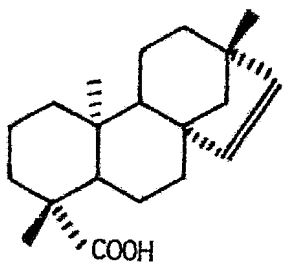
(IV) ac. ent-kaur-
16-en-19-oico(III) γ -asarosa



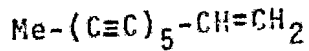
(V) stach-15-en
3 α -19-diol



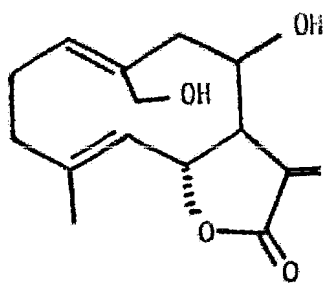
(VI) ac. trachilo-
bano.



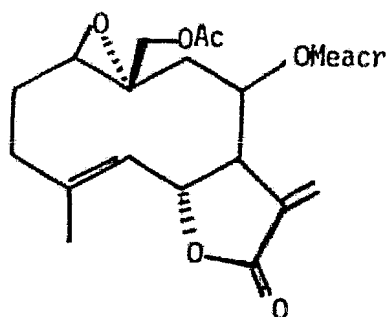
(VII) ac. stach-15-en
19-oico.



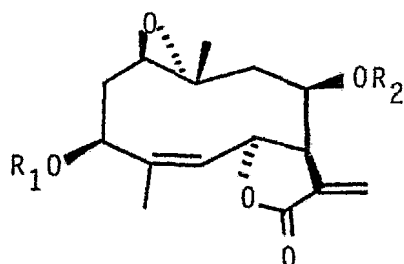
(VIII)



(IX) budlefna B



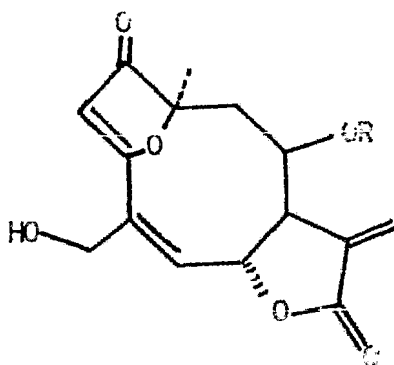
(X) esferocefalina



(XI) $R_1 = H$ Erioflorina
 $R_2 = \text{Meacr.}$

(XII) $R_1 = \text{Ac}$ Viquiestenina
 $R_2 = \text{iBu}$

(XIII) $R_1 = H$ Desacetil Viquiestenina
 $R_2 = \text{iBu}$



(XIV) $R = \text{Anq.}$ budleína A

(XV) $R = \text{iBu}$ viquiepinina

(XVI) $R = \text{Meacr.}$ 17-18-dehidro-viquiepinina.

II. PARTE TEORICA

A.- Constituyentes de Viguiera quinqueradiata.

B.- Diterpenoides de Viguiera maculata.

A. Constituyentes de Viguiera quinqueradiata.

Se analizaron dos poblaciones diferentes de Viguiera quinqueradiata encontrándose que la composición en constituyentes aislados de ambas poblaciones es muy similar.

Del extracto clorofórmico del primer espécimen se aislaron dos ácidos diterpénicos de polaridad semejante, un esteroide, se detectó la presencia de un compuesto aromático que no fué posible aislar en ésta muestra, pero sí en la segunda, vide infra, y dos lactonas sesquiterpénicas. La descripción para determinar las estructuras de éstas sustancias se discutirá a continuación.

Uno de los productos menos polares. p.f. de $187-8^{\circ}\text{C}$ muestra en su espectro de IR (espectro 1) banda para ácido carboxílico de 3490 a 2530 cm^{-1} , bandas de éster en 1700 , 1690 y 1250 cm^{-1} y dobles enlaces en 900 cm^{-1} .

El espectro de RMP (espectro 2) muestra señales típicas para un ácido diterpénico con esqueleto del kaureno²⁶; va que el protón H-15 base de éster aparece en 5.05 ppm (1H, s, ancho) y los protones vinílicos H-17 y H-17' aparecen en 5.10 ppm y 5.34 ppm (1H, s, ancho) respectivamente; el múltiplete centrado en 2.77 ppm (1H, m) se asigna al protón alílico H-13; el metilo en C-10 aparece en 0.85 ppm (3H, s). Este ácido se encuentra esterificado por un angela-

to en C-15 ésto se comprueba por las señales en 6.08 ppm (1H, c) que corresponde al protón vinílico del angelato y las señales de los metilos del éster C-24 y C-25 que aparecen en 1.83 ppm (3H, s) y 2.05 ppm (3H, m) respectivamente.

Las propiedades físicas y espectroscópicas de éste compuesto resultan idénticas con las reportadas para el ácido 15 α -angeloiloxi-ent-kaur-16-en-19-oico (XIV), aislado anteriormente de varias especies.^{27,28,29}

Con polaridad semejante al anterior se aisló un producto cristalino con p.f. de 201-2⁰C cuyo espectro de IR (espectro 3) presenta banda de ácido carboxílico en 3490 a 2530 cm⁻¹, bandas de éster en 1700,1690, 1250 cm⁻¹ y banda característica de vibración de doble enlace en 900 cm⁻¹.

Su espectro de RMP (espectro 4) presenta las mismas señales que el del ácido 15 α -angeloiloxi-ent-kaur-16-en-19-oico pero con un cuarteto adicional en 6.79 ppm que corresponde con el protón vinílico de un tiglató, por lo que se deduce que se trata de una mezcla de ácidos kaurenóicos los cuales sólo difieren en el residuo del éster, el tiglató y el angelato (XV y XIV).

La hidrólisis básica de ésta mezcla produce el ácido 15 α -hidroxí-ent-kaur-16-en-19-oico (XVI) con p.f. de 228-31⁰C y peso molecular determinado por espectrometría

de masas de 318 (espectro 5). En el espectro de IR de esta molécula (espectro 6) muestra la aparición de una banda característica de oxhidrilo en 3500 cm^{-1} y en 910 cm^{-1} banda para doble enlace.

El espectro de RMP (espectro 7) muestra señales en 5.05 ppm y 5.18 ppm (1H, s, ancho) que se asignan a los protones vinílicos H-17 y H-17' respectivamente; en 3.78 ppm (1H, s) aparece el protón H-15 base de alcohol, el multiplete centrado en 2.73 ppm se asigna al protón alílico - H-13. El metilo en C-4 aparece en 1.25 ppm, el singulete - en 0.97 ppm se asigna al metilo en C-10.

Se compararon las propiedades físicas y espectroscópicas de ésta sustancia con las reportadas para el ácido 15α -hidroxi-ent-kaur-16-en-19-oico (XVI)²⁷, las cuales fueron muy semejantes, comprobándose así la identidad del producto de hidrólisis de los ácidos mencionados, y determinando de esta manera la composición de la mezcla.

De la fracciones más polares del mismo extracto se aisló una sustancia cristalina con P.f. $218-9^{\circ}\text{C}$; $[\alpha] = -112.8^{\circ}$ (c: 0.125, CHCl_3), peso molecular determinado por espectrometría de masas de 404 y análisis elemental que corresponde a la fórmula $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_7$. Esta sustancia tiene una γ -lactona conjugada con un metileno exocíclico como se muestra en su espectro de IR (espectro 9) en 1750 y 1660 cm^{-1} y una banda en 1720 cm^{-1} característica de carbonilo de éster o cetona en anillo de seis miembros.

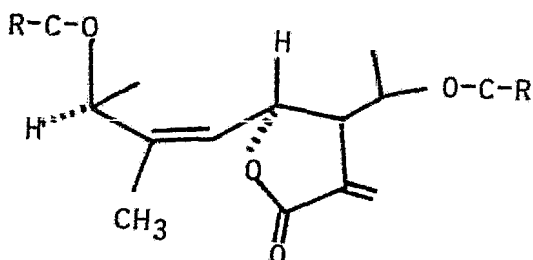
ó cetona en anillo de seis miembros.

En el espectro de masas de ésta molécula aparece un fragmento típico de éster angélico ó tíglico m/z 83 (99.5%) y m/z 55 (100%). La existencia del primero se comprobó por la señal del protón vinílico en RMP (espectro 10) el cual aparece como un multiplete centrado en 6.08 ppm que es un desplazamiento característico del protón β del éster angélico. Corresponde entonces, en IR, la señal de 1720 cm^{-1} a éste agrupamiento.

Esta sustancia debe ser una helianqólida³¹ con función oxigenada en C-3 β ya que el espectro de RMP muestra la señal del protón base de la lactona H-6 como un doble de doble, desplazado a muy bajo campo, centrado en 6.7 ppm (1H; dd, 11,2 Hz) debido a la anisotropía que ejerce sobre él el oxígeno orientado β en C-3³². H-6 se encuentra vecino a un protón vinílico (H-5) cuya señal aparece en 5.15-5.40 ppm (m) y a un protón alílico (H-7) que aparece como multiplete en 2.85 ppm, que se encuentra acoplado a su vez con los protones del metileno exocíclico H-13 y H-13' cuyas señales aparecen en 6.34 ppm (d, 2 Hz) y 5.75 ppm (d, 2 Hz) respectivamente. Esta disposición de protones se confirma al irradiar la señal en 2.85 ppm (espectro 10) donde se observa que colapsan a singulete las señales de los protones del metileno exocíclico, al mismo tiempo, se simplifica a doblete la señal del protón base de la lactona con $J_{6,7}$ de 2 Hz y

$J_{5,6}$ de 11 Hz, y se simplifica el multiplete en 5.15-5.40 ppm que por su desplazamiento debe ser la base de un éster.

La anterior discusión permite dibujar la fórmula parcial A de esta molécula.



Por otro lado, el singulete en 2.10 ppm que integra para tres protones, indica la presencia de un metilo de acetato.

Hasta ahora se han asignado seis oxígenos de los cuales dos corresponden a la γ -lactona (IR), dos al éster angélico (RMP, EM) y dos al acetato (RMP) por lo que quedan por asignar uno de ellos, éste se encuentra como un epóxido entre los átomos de carbono C-1 y C-10 ya que el grupo metilo en C-10 aparece como un singulete en 1.50 ppm que es el desplazamiento químico característico para un grupo metilo unido a un átomo de carbono con función oxigenada.

La señal ancha en 5.40-5.15 ppm corresponde al protón alílico H-3 base de éster. El singulete en 1.9 ppm se asigna al metilo vinílico en C-4.

Las propiedades físicas y espectroscópicas de ésta molécula corresponden con el acetyl derivado de la leptocarpina (XVIII) (vide infra). Estableciéndose su identidad por comparación directa y por correlación con la leptocarpina (XVII), que se describirá posteriormente.

La RMN ^{13}C (espectro 11) de éste nuevo producto natural (XVIII) está acorde con la estructura propuesta; ya que se observan doce carbonos sp^3 , seis carbonos sp^2 y dos carbonilos. Tales asignaciones se muestran en la tabla I; éstas fueron establecidas por comparación directa con las de otras heliangólidas reportadas.³⁰

El componente mayoritario del cromatograma tiene p.f. de 98-9°C, muestra en su espectro de IR (espectro 12) bandas características de γ -lactona en 1770 cm^{-1} , carbonilo de éster insaturado en 1715 cm^{-1} , carbonilo de cetona conjugada en 1709 cm^{-1} , oxhidrilo en 3460 cm^{-1} y dobles ligaduras en 1650 cm^{-1} .

En el espectro de RMP (espectro 14) de ésta molécula se observan las señales características de los protones del metileno exocíclico H-13 y H-13' conjugados con la lactona en 6.35 ppm (1H, d, 4 Hz) y 5.67 ppm (1H, d, 4Hz) superpuesto con ésta última señal aparece el singulete asignado al protón vinílico en C-2. La señal en 6.18 ppm (dt, 1,5 y 6 Hz) se asigna al protón vinílico H-5 que se encuen-

tra acoplado ($J=6$ Hz) con el protón base de la lactona H-6 en 5.31 ppm (m) que a su vez se encuentra acoplado con el protón alílico H-7 cuya señal aparece como un multiplete centrado en 3.75 ppm. El multiplete centrado en 5.25 ppm se asigna al protón H-8 base de éster, las señales doble de doble centradas en 2.57 ppm (1H, 6 y 16 Hz) y 2.27 ppm (1H, 4 y 16 Hz) corresponden a los protones H-9 y H-9' respectivamente.

Las señales en 6.08 ppm (m), 1.93 ppm (m), 1.8 ppm (m), que integran para 1, 3 y 3 protones respectivamente indican que se trata de un residuo de ácido angélico. El metilo en C-10 aparece en 1.5 ppm (1H, s) y la señal en 4.39 ppm (2H, dt) se asigna a los protones alílicos con función oxigenada H-15.

Las propiedades físicas y espectroscópicas de ésta molécula son idénticas a las correspondientes de la Bupleina A (XIX) aislada anteriormente de otras especies de este género³². La identidad de ésta sustancia se comprobó por comparación directa con una muestra auténtica.

La acetilación en condiciones normales ($\text{Ac}_2\text{O}/\text{Py}$) produce el acetyl derivado transpuesto (XX) como se ha descrito anteriormente³³. Para evitar ésta transposición se realizó la esterificación in situ con isocianato de tricloro acetilo (ITA) obteniéndose el carbamato correspondiente y corriendo el espectro de RMP a diferentes interva-

Los de tiempo (espectro 14) no observándose alteración del éster normal, en cuanto al desplazamiento de los protones, en estas condiciones esencialmente neutras.

La RMN ^{13}C (espectro 15) del acetyl derivado--transpuesto (XX) es congruente con la estructura propuesta ya que se observan diez carbonos sp^3 , ocho carbonos sp^2 y cuatro carbonilos; las señales fueron asignadas por comparación con las de otras heliangólidas reportadas³⁰. Es notable el desplazamiento a campo bajo (182.89 ppm) del C-3, ya que es un carbono base de un enol en anillo de cinco --miembros, y β a un grupo carbonilo. Las asignaciones se --presentan en la Tabla I.

En el espectro de RMN ^{13}C (espectro 16) del --éster normal, obtenido in situ con ITA (XXI), se observan diez carbonos sp^3 , ocho carbonos sp^2 y cuatro carbonilos.- Las asignaciones se reportan en la Tabla I.

De la segunda población analizada de esta especie, se aislaron los ácidos diterpénicos (ac. 15α -angeloi|oxi-ent-kaur-16-en-19-oico y ac. 15α -tigloiloxi-ent-kaur--16-en-19-oico), el estigmasterol y la budleína A; que se--habían encontrado en la población anteriormente estudiada- Identificandose estas substancias por comparación directa por los métodos usuales.

De las fracciones menos polares y como producto minoritario se aisló un sólido amorfo ligeramente rosa, detectado en la primera población (vide supra), con p.f. de 155-6°C y peso molecular determinado por espectrometría de masas (espectro 17) de 332. En su espectro de UV se observan máximos de absorción en 204 (ϵ : 6112), 228 (ϵ : 22895) y 278 (ϵ : 39935) nm. (MeOH) que son característicos de compuestos aromáticos. (espectro 13).

El espectro de IR (espectro 18) presenta bandas de oxhidrilo en 3500 cm^{-1} y bandas en 1616, 1585, 1490 y 1450 cm^{-1} que corresponden a la vibración de doble ligadura aromática.

Para conocer la fórmula molecular de esta substancia, se procedió a calcular el número de protones por medio del espectro de RMP (espectro 19) donde se observan dos hidrógenos intercambiables con D_2O en 5.67 y 4.05 ppm correspondientes al protón del fenol y al protón del alcohol respectivamente (IR en 3568 y 3525 cm^{-1}). En la región de 3.9 a 3.7 ppm se observan tres sinquletes que integran para 9 protones que se asignan a tres grupos metoxilo, por lo que en la molécula deben estar presentes 5 oxígenos por lo menos. A campo bajo, entre 6 y 7 ppm se observan señales que integran para 2 protones, lo que hace un total de 20 hidrógenos. La asignación de las señales se discutirá posteriormente.

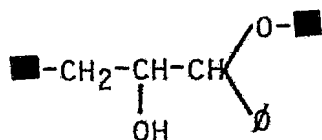
Restando del ión molecular (332) las 136 unidades de masa asignadas hasta ahora ($C_3H_{20}O_5$), quedan por asignar 196 unidades que sólo pueden corresponder a 15 carbonos, y por diferencia, a un oxígeno adicional. De esta manera, la fórmula molecular de ésta substancia corresponde a $C_{18}H_{20}O_6$.

Esta fórmula molecular indica que la molécula tiene nueve insaturaciones, ocho de ellas corresponden a los dos anillos aromáticos (UV, RMP), y la insaturación adicional que falta por asignar puede deberse a un ciclo adicional ya que no se observan grupos carbonílicos (IR), ni protones sobre doble enlace (RMP).

Por otro lado, en el espectro de RMP (espectro 19) se observan señales en 4.62 ppm (1H, d, 8 Hz) que corresponde al desplazamiento típico para un hidrógeno bencílico unido a un carbono con función oxigenada.

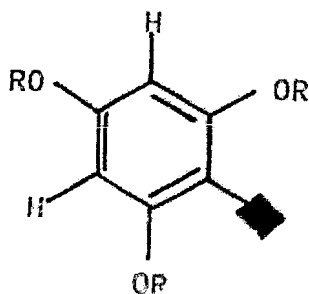
La señal base de alcohol que aparece en 4.05 ppm (1H, ddd, 10,8,6, Hz) indica que está interaccionando por lo menos con tres protones, por otra parte, las señales que aparecen en 3.01 ppm (1H, dd, 16,6 Hz) y 2.53 ppm (1H, dd, 16,10 Hz) que corresponden alas de un metileno, se encuentran acopladas con el protón base de alcohol con J de 6 y 10 Hz respectivamente, ya que al irradiar la señal del protón base de alcohol (espectro 19) colapsan a doblete las señales de éstos protones con J_{gem} de 16 Hz, por otro lado, la señal que aparece a 4.62 ppm (1H, d, 8 Hz) se simplifica

a singulete. Esta disposición de protones corresponde a un sistema ABMX, y por lo tanto, la discusión anterior -- permite dibujar la estructura parcial A para esta molécula.



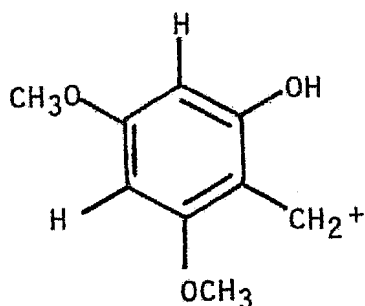
SISTEMA ABMX

En la región de los protones aromáticos, se observa un sistema AB en donde A tiene un desplazamiento de 6.06 ppm (1H, d, 3 Hz) y de 6.11 ppm (1H, d, 3 Hz) -- que corresponden a protones en posición meta.³⁴ Esto hace suponer que se trata de un fenilo tetrasustituído con tres sustituyentes oxigenados en las posiciones 1, 3 y 5 del anillo, como se muestra en la fórmula parcial B.



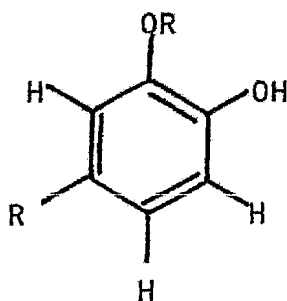
FÓRMULA PARCIAL B

Este tipo de substitución se confirma con el fragmento m/z 167 (100%) que indica la presencia de un ión $C_9H_{11}O_3$ que por comparación con datos reportados para fragmentaciones de éste tipo de moléculas³⁵, concuerda con la estructura del fragmento mostrado en la figura:



Por lo cual se confirma la presencia de dos grupos metoxilo como substituyentes en el anillo aromático.

Las señales que aparecen en 6.87 ppm (1H, m) y en 6.93 ppm (2H, m) indican un patrón de substitución en el segundo anillo aromático como el mostrado en la fórmula parcial C.³⁶



FORMULA PARCIAL C

En el espectro de RMP (espectro 19) aparecen tres señales para metoxilo en 3.73 ppm (s), 3.78 ppm (s), y 3.87 ppm (s); de los cuales se han asignado los dos primeros en los carbonos 3 y 5 de la fórmula parcial B respectivamente, por lo solamente queda por asignar uno de ellos.

Por otro lado, en 5.62 ppm (1H, s) aparece una señal indicativa de un protón fenólico orto a una función oxigenada, por lo que el oxhidrilo y el metoxilo por asignar deben estar en los carbonos 3' y 4' del fenilo respectivamente, por comparación con patrones de sustitución bencénica reportadas en la literatura³⁴, el metoxilo debe estar en C-3' y el hidroxilo en el C-4' de la fórmula parcial C.

La estructura (XXII) es la única manera de combinar los fragmentos discutidos anteriormente, que corresponde al nuevo producto natural 5,7,3'-trimetoxi-4'-hidroxi-flavan-3-ol, y las asignaciones en su espectro de RMP (espectro 19) quedan de la siguiente manera: las señales que aparecen en 6.06 y 6.11 ppm (1H, s) se asignan a los protones H-6 y H-8 respectivamente. El protón fenólico aparece en 5.60 ppm (1H, s), las señales en 6.93 ppm (2H, m) y 6.87 ppm (1H, s) se asignan a los protones H-2', H-5' y H-6' del anillo C. El protón H-2 aparece en 4.62 ppm (d, 8 Hz), el protón H-3 base de alcohol aparece en 4.05 ppm (1H, ddd, 8, 10, 6 Hz); los protones H-4_a y H-4_b en 2.53 ppm (dd, 16, 10 Hz) y

3.01 ppm (dd, 16,6 Hz) respectivamente, forman la parte AB del sistema ABMX.

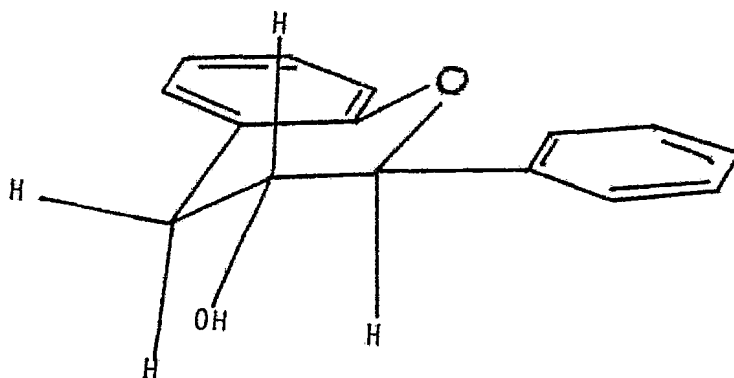
La J grande de 8 Hz entre los protones H-3 y H-2 indica que están en una disposición quasi anti-periplanar por lo que el fenilo y el hidroxilo tienen una estereoquímica trans. (fig. 3)

Por lo tanto, la estructura de ésta molécula queda representada por la fórmula XXII ó su imagen especular.

De las fracciones más polares del cromatograma del mismo extracto, se aisló una substancia cristalina con p.f. de 213-5°C y peso molecular determinado por espectrometría de masas de 362. Su espectro de IR (espectro 20) muestra bandas para γ -lactona en 1764 cm^{-1} , de éster en 1722 cm^{-1} y dobles enlaces en 1648 cm^{-1} .

El espectro de RMP (espectro 21) de ésta molécula muestra las señales típicas para una lactona sesquiterpénica del grupo de las heliangólidas con función oxigenada en C-3, ya que el protón base de la lactona (H-6) se encuentra desplazado a campo bajo en 6.59 ppm (dd, 6,2 Hz) debido a la anisotropía que ejerce sobre él el oxígeno en C-3 (vide supra). H-6 se encuentra vecino a un protón vinílico (H-5) cuya señal aparece como un doble de doble en 5.32 ppm y a un protón alílico (H-7) que aparece en 2.9 ppm (m) que se encuentra acoplado a su vez con los protones vinílicos

Fig. 3 Disposición quasi anti-periplanar de
la trans- 5,7,3'-trimetoxi-4'-hidroxi-flavan
3- ol (XXII).



del metileno exocíclico del anillo de la lactona H-13 y --- H-13', cuyas señales aparecen en 6.32 ppm (d, 2 Hz) y 5.75- ppm (d, 2 Hz) respectivamente.

El protón H-8 base de éster aparece de 5.12- a 5.25 ppm (m). Las señales en 6.08 ppm (m) y 1.85 ppm (m)- que integran para 1 y 6 protones respectivamente indican -- que se trata de un residuo de éster anquéllico, lo cual se -- confirma por el fragmento m/z 83.1 (100%).

La señal doble de doble en 4.44 ppm se asig- na al protón alílico H-3 base de alcohol, el singulete en - 2.10 ppm se asigna al metilo del acetato. Los singuletes en 1.90 ppm y 1.50 ppm corresponden a los metilos en C-4 y C-10 respectivamente.

Las propiedades físicas y espectroscópicas-- de ésta molécula corresponden con las reportadas para la -- leptocarpina (XVII) aislada anteriormente de Leptocarpa ri vularis.³⁷ La identidad de ésta substancia se comprobó por -- comparación directa de IR paralelo con una muestra auténti- ca

La acetilación de ésta molécula con Ac₂O/Py- produce una substancia en cuyo espectro de RMP (espectro 28) se observa que el protón base de alcohol (H-3) que en lep-- tocarpina aparecía en 4.44 ppm (dd), en el acetyl derivado, se encuentra desplazado a campo bajo de 5.10 a 5.40 ppm (m) y el protón base de la lactona, que en leptocarpina aparece

en 6.59 ppm (dd), en el acetyl derivado se desplaza a 6.12 ppm (dd) quedando las demás señales inalteradas.

Las propiedades físicas y espectroscópicas del acetyl derivado se compararon con las del producto natural obtenido de la primera población analizada de éste - especímen encontrándose que son idénticas, por lo que se comprobó así la estructura de la nueva lactona sesquiterpénica, como el acetyl derivado de la leptocarpina (XVIII) - IR en paralelo (espectro 24).

La Rmn ^{13}C (espectro 25) de leptocarpina -- (XVII) es congruente con la estructura propuesta ya que se observan doce carbonos sp^3 , seis carbonos sp^2 , dos carbonilos. Las asignaciones de éstas señales se muestran en la Tabla I.

Estas señales se asignan por comparación directa con las de otras heliangólidas reportadas.³⁸

Por otra parte, de las fracciones menos polares se aisló el estigmasterol como constituyente de V. --- quinqueradiata. Su identidad fue establecida por los métodos usuales,⁴³ y con la obtención de los derivados correspondientes (ver parte experimental).

B. Diterpenoides de Viguiera maculata Blake.

Del extracto clorofórmico de la parte aérea-- de esta especie, se aislaron dos ácidos diterpénicos y -- una lactona diterpénica cuyas determinaciones estructurales se describen a continuación.

De las fracciones menos polares del cromato-- grama del extracto clorofórmico se aisló un compuesto --- cristalino con P.f. de 178-80°C y peso molecular determinado por espectrometría de masas de 302. Su espectro de -- IR (espectro 26) presenta una banda correspondiente al -- ácido carboxílico en 3500-2700 cm^{-1} . La absorción en 1725 cm^{-1} representa al grupo carbonilo de ácido, la banda en 1655 cm^{-1} indica la vibración de doble ligadura.

En el espectro de RMP (espectro 27) de esta -- molécula se observa una señal ancha en 4.77 ppm que se -- asigna a los dos protones vinílicos H-17 y H-17'; el multiplete centrado en 2.63 ppm se asigna al protón alílico- H-13, el singulete en 1.27 ppm corresponde al metilo en -- C-4 y el metilo en C-10 aparece en 0.98 ppm.

Las propiedades físicas y espectroscópicas -- de esta molécula coinciden con las del ácido ent-kaur-16-en-19-oico (XXIII), aislado previamente de otros especíme-- nes. 39,40

La identidad de esta substancia se comprobó - al obtener el éster metílico correspondiente, coincidiendo las constantes físicas y espectroscópicas de éste último con las reportadas. La comparación directa con una muestra auténtica⁴⁰, comprueba éstos resultados.

El otro compuesto de polaridad intermedia, con β .f. 229-31°C y peso molecular determinado por espectrometría de masas de 318, muestra en su espectro de IR una banda ancha de 3570 a 2650 cm^{-1} que corresponde al ácido carboxílico, y una banda en 3520 cm^{-1} característica de oxhidrilo, y bandas en 1725 y 1690 cm^{-1} que corresponden a la vibración del grupo carbonilo, y absorción característica de doble ligadura en 1655 y 885 cm^{-1} .

Su espectro de RMP muestra señales en 5.18 ppm y 5.05 ppm que corresponden a los protones vinílicos H-17 y H-17'. En 4.73 ppm (\underline{s}) aparece la señal del protón base de alcohol H-15, el protón H-13 aparece como un multiplete centrado en 2.73 ppm, el metilo en C-4 aparece en 1.25 ppm y el metilo en C-10 en 0.97 ppm.

Las propiedades físicas y espectroscópicas de ésta molécula corresponden con las del ácido 15 α -hidroxient-kaur-16-en-19-oico (XVI) obtenido anteriormente como el producto de hidrólisis de los ácidos 15 α -angeloiloxient-kaur-16-en-19-oico (XIV) y ác. 15 α -tioloiloxient-kau

16-en-19-oico (XV) aislados de V. quinquerediata. La identidad de esta molécula se comprobó inequívocamente por comparación directa con el ya obtenido, (IR paralelo, espectro 30).

El tercer compuesto aislado de V. maculata presenta P.f. 163-5°C y peso molecular determinado por espectrometría de masas de 314 (espectro 32).

Esta sustancia presenta en su espectro de UV un máximo de absorción a 233 nm (ϵ : 6083) característica de enona conjugada. El espectro de IR (espectro 31) de esta molécula muestra una banda en 1755 cm^{-1} que representa el carbonilo de una cetona α,β -insaturada, y bandas de doble ligadura en 1690 cm^{-1} y 880 cm^{-1} .

Para conocer la fórmula molecular de esta sustancia se analizó su espectro de RMP (espectro 22) observándose que las áreas bajo las curvas de las señales. integran, a campo bajo (5.20-5.90 ppm), para dos protones, y a campo alto (1-3 ppm), para 24 protones, dando un total de 26 hidrógenos. Las asignaciones de estos protones se discutirán más adelante.

En el espectro de RMN ^{13}C (espectro 23), se observan cuatro átomos de carbono sp^2 y diez y seis átomos -

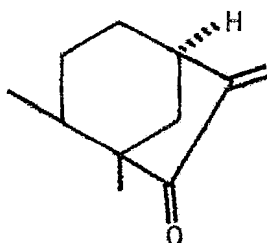
de carbono sp^3 dando un total de 20 carbonos. Por lo tanto, tenemos una fórmula $C_{20}H_{26}$ que por diferencia con el peso molecular (314), quedan 48 unidades de masa que corresponden a tres oxígenos, dos de la lactona (IR y RMN ^{13}C) y uno de carbonilo de cetona (IR y RMN ^{13}C) por lo que se obtiene una fórmula molecular de $C_{20}H_{26}O_3$; por lo tanto, la molécula presenta ocho insaturaciones de las cuales se asignan -- dos de ellos al grupo γ -lactona (IR), y los otros dos grados de insaturación pertenecen a la cetona α,β -insaturada-- (IR).

Hasta ahora se han asignado cuatro unidades de insaturación, quedando por asignar cuatro de ellas, que por analogía con los ácidos diterpénicos aislados de este espécimen debe corresponder a una lactona diterpénica pentacíclica.

Por otro lado, en el espectro de RMP (espectro-22) se observan dos señales doble de doble que integran cada una de ellas para un protón, centradas en 5.94 ppm (2Hz) y en 5.20 ppm (2 Hz) que corresponden con los protones vinílicos exocíclicos a un anillo de 5 miembros conjugado con un carbonilo (U.V). Por lo tanto, corresponden a H-17 y --- H-17' de un ent-kaureno. El multiplete centrado en 2.87 ppm se asigna al protón alílico H-13.

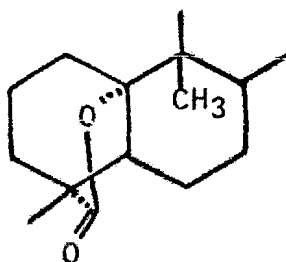
La discusión anterior nos permite escribir la-- fórmula parcial A, corroborada por las señales en RMN ^{13}C -

en 210.39 ppm (s) asignada al carbonilo de la cetona y en-
149.20 ppm (s) y 114.92 ppm (t) asignados a los carbonos -
del metileno exocíclico C-16 y C-17 respectivamente.



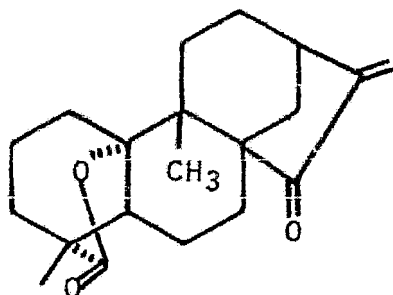
FORMULA PARCIAL A

Los dos singuletes que se observan en el--
espectro de RMP en 1.10 ppm y 1.27 ppm indican la presen--
cia de metilos cuaternarios, y la ausencia del protón base
de la lactona, indica que el cierre debe ser también angu--
lar, por lo que la molécula debe ser un ent-kaureno modifi--
cado. La señal en 1.27 ppm está de acuerdo con el metilo -
en C-4 ecuatorial, por lo que el cierre de la lactona debe
ser hacia C-10, ya que el cierre hacia C-5 ó C-9 no corres--
ponde a una lactona de 5 miembros (IR). Las únicas posicio--
nes donde el metilo que se observa en 1.10 ppm sería angu--
lar es en C-5 ó en C-9 y siendo ésta última la posición --
más probable de acuerdo a una serie de moléculas análogas,
41(a),(b),(c) y a la discusión posterior, permitiendo es--
cribir la fórmula parcial B.



FORMULA PARCIAL B

Combinando las dos fórmulas parciales deducidas anteriormente, se obtiene la fórmula parcial C; cuya estereoquímica se discute a continuación.



FORMULA PARCIAL C

Por analogía con los ácidos ent-kaurenóicos - obtenidos anteriormente, vide supra, el anillo de ciclo--pentanona del biciclo [3,2,1] debe ser β . El desplazamiento químico del metilo en C-4 (1.27 ppm) indica la disposición β -ecuatorial de éste metilo,⁴² por lo que el carbonilo de la lactona y su cierre deben ser α .

La estereoquímica del metilo en C-9 se comprueba al agregar diferentes concentraciones de reactivo de desplazamiento⁴⁴ (Fig. 4, Tabla II), en donde se observa el desplazamiento de los metilos en C-4 y C-9 por lo que ambos grupos se ven afectados por el efecto de desprotección del metal, ésto indica la cercanía entre los oxígenos de la molécula y los grupos metilo.

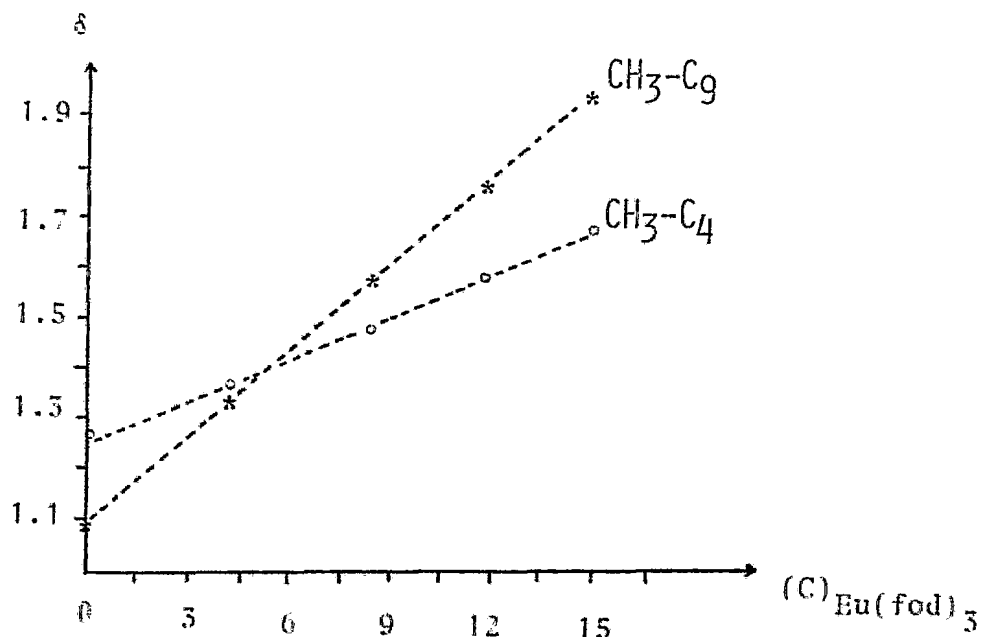
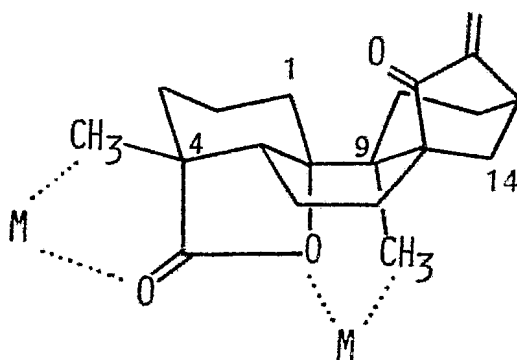


Fig. 4 Variación en el desplazamiento químico de los metilos con reactivo de desplazamiento

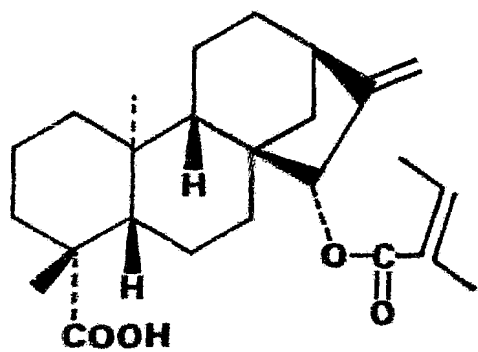
δ Me- C_9	δ Me- C_4	mg $Eu(fod)_3$
1.10	1.27	0
1.29	1.35	3.8
1.55	1.47	7.7
1.80	1.57	10.8
1.88	1.60	15.1

Tabla II.

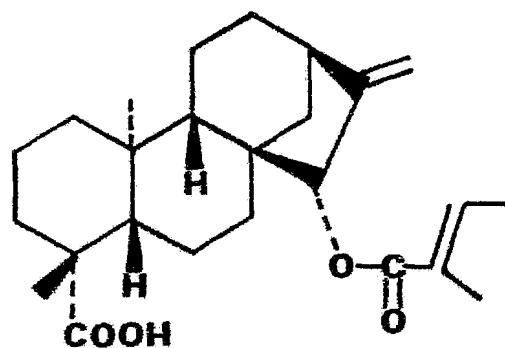
El metilo en C-9 sufre una mayor desprotección ya que el acomplejamiento del metal con el oxígeno etéreo de la lactona es más efectivo que con el oxígeno del carbonilo, por lo que éste metilo se encuentra cis a éste oxígeno, como se muestra en la fórmula siguiente:



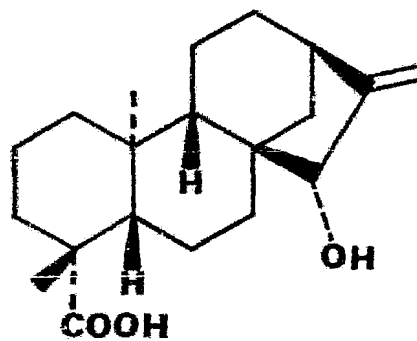
La estructura deducida para esta molécula es el 15-oxo derivado de la tetrachyrina, aislada de Tetrachyron orizabensis y Helianthus debilis.^{41(a)} Esta última sustancia había recibido anteriormente el nombre de zoapatlina, aislada de Montanoa tormentosa.^{41(b)} por lo que el nombre de tetrachyrina debe ser eliminado de la literatura y ésta nueva sustancia aislada de Viguiera maculata, corresponde a la 15-oxo-zoapatlina (XXIV).



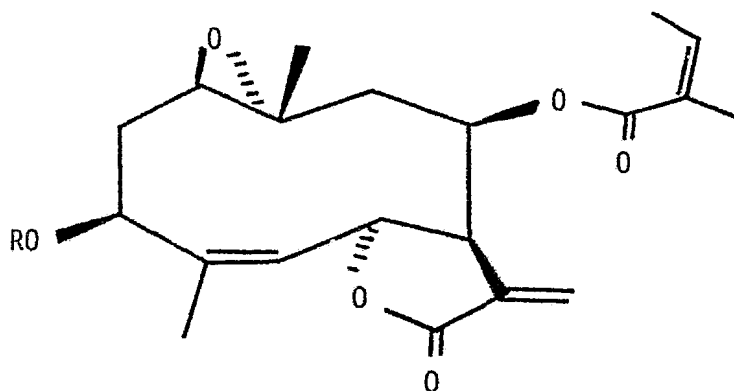
(XIV) ac. 15 α -angeloiloxi
ent-kaur-16-en-19-oico



(XV) ac. 15 α -tigloiloxi-
ent-kaur-16-en-19-oico

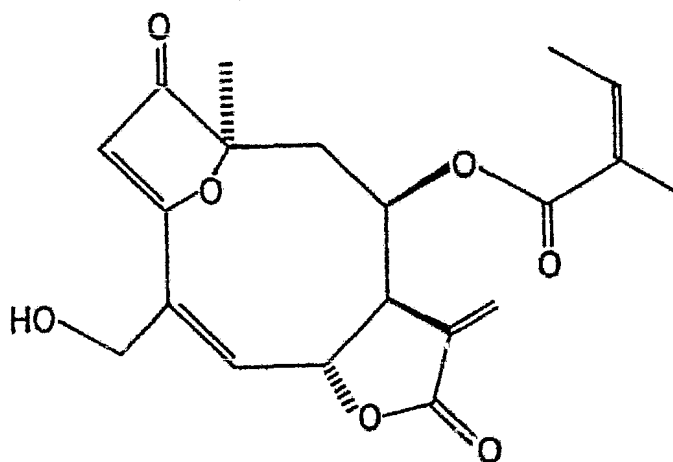


(XVI) ac. 15 α -hidroxi-
ent-kaur-16-en-19-oico

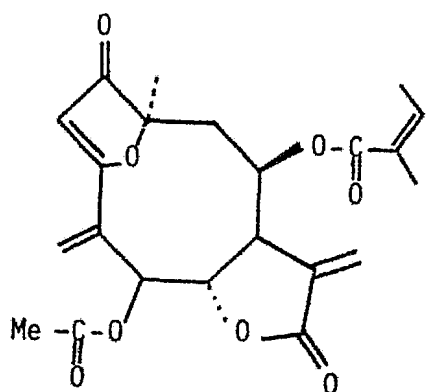


(XVII) R=H Leptocarpina

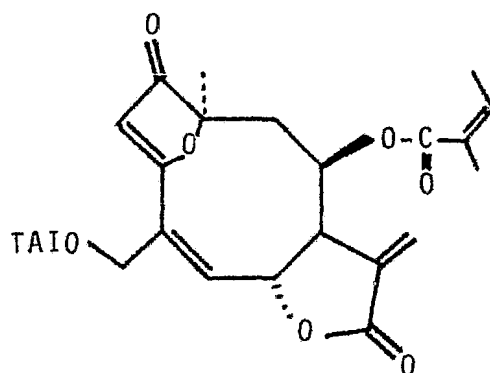
(XVIII) R=Ac Acetyl Leptocarpina



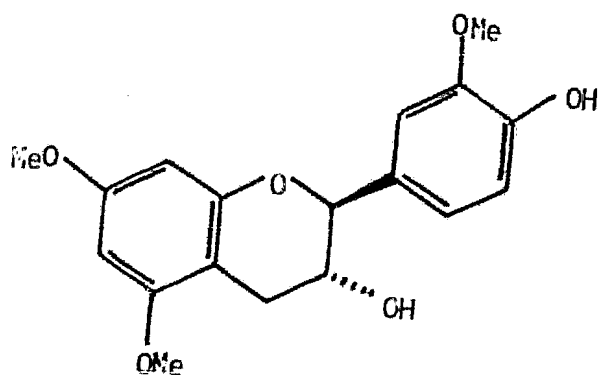
(XIX) BUDLEINA A



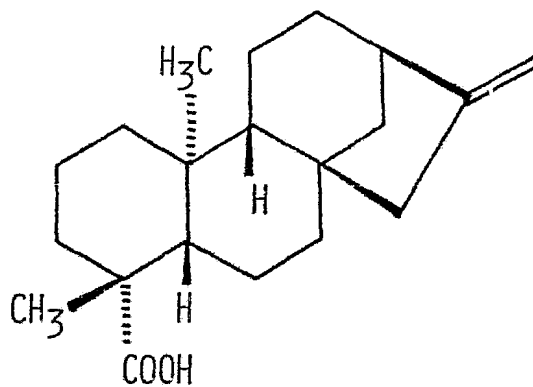
(XX) Acetil derivado trans-
puesto de Budleína A



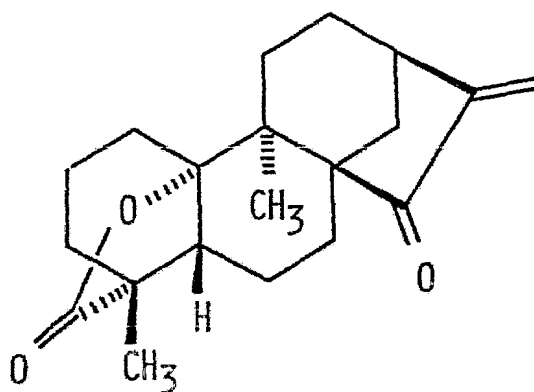
(XXI) tricloro acetil carba-
mato de la Budleína A



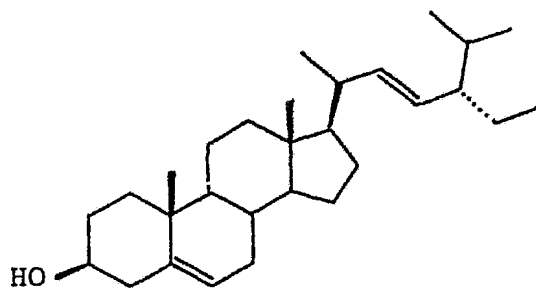
(XXII) trans- 5,7.3'- trimetoxi-4'-hi-
droxi-flavan-3-ol



(XXIII) ACIDO ENT-KAUR-16-EN-
19-OICO.



(XXIV) 15-oxo-zoapatlina



(XXVI) estigmasterol

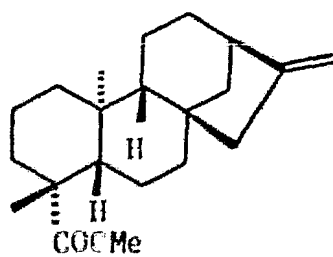
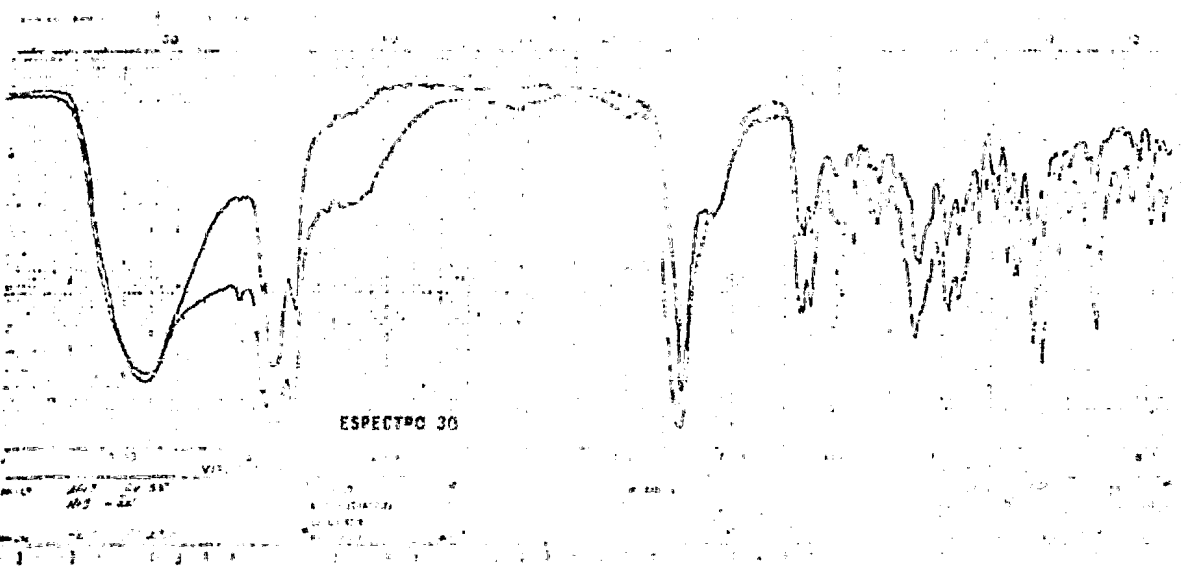
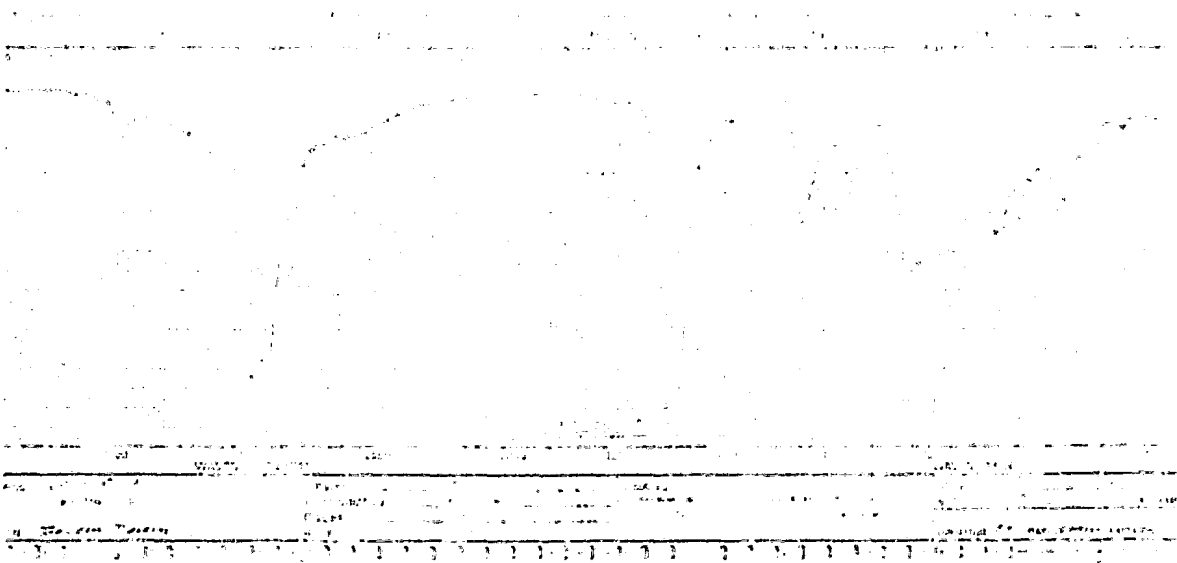
(XXV) ent-kaur-16-en-
19-oato-de metilo

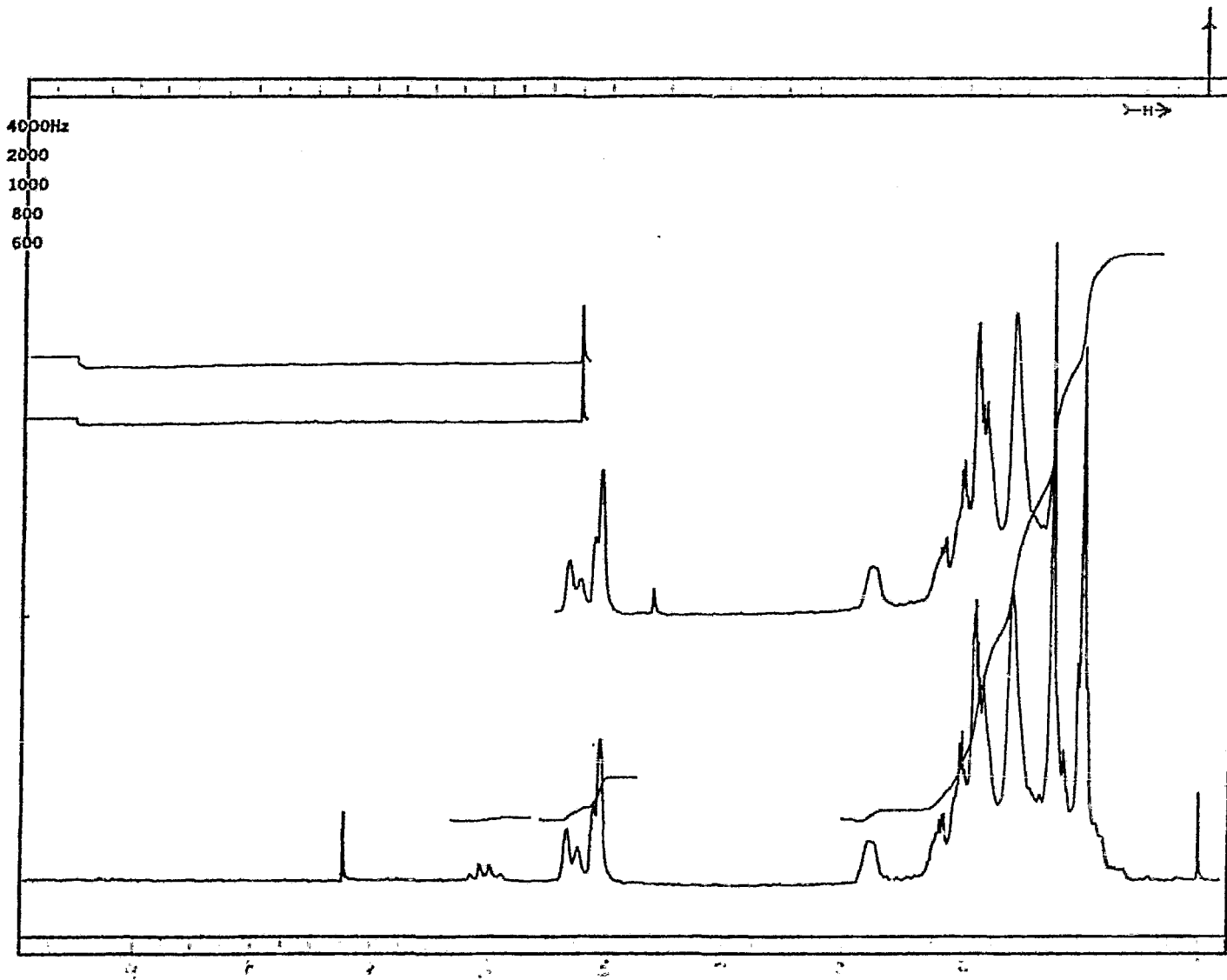
TABLA I

	(XVII)	(XVIII)	(XIX)	(XX)	(XXI)
C-1	60.74 (<u>d</u>)	60.35 (<u>d</u>)	205.19 (<u>s</u>)	204.37 (<u>s</u>)	204.90 (<u>s</u>)
C-2	32.68 (<u>t</u>)	30.62 (<u>t</u>)	104.87 (<u>d</u>)	105.31 (<u>d</u>)	105.34 (<u>d</u>)
C-3	72.45 (<u>d</u>)	73.04 (<u>d</u>)	182.75 (<u>s</u>)	182.89 (<u>s</u>)	180.71 (<u>s</u>)
C-4	141.63 (<u>s</u>)	138.26 (<u>s</u>)	138.64 (<u>s</u>)	139.50 (<u>s</u>)	138.44 (<u>s</u>)
C-5	126.67 (<u>d</u>)	126.32 (<u>d</u>)	134.24 (<u>d</u>)	78.50 (<u>s</u>)	139.12 (<u>d</u>)
C-6	74.17 (<u>d</u>)	74.55 (<u>d</u>)	74.19 (<u>d</u>)	74.52 (<u>d</u>)	74.28 (<u>d</u>)
C-7	48.68 (<u>d</u>)	48.66 (<u>d</u>)	48.56 (<u>d</u>)	43.43 (<u>d</u>)	48.12 (<u>d</u>)
C-8	75.91 (<u>d</u>)	75.67 (<u>d</u>)	75.50 (<u>d</u>)	75.05 (<u>d</u>)	75.12 (<u>d</u>)
C-9	43.84 (<u>t</u>)	43.72 (<u>t</u>)	42.14 (<u>t</u>)	42.53 (<u>t</u>)	42.16 (<u>t</u>)
C-10	58.66 (<u>s</u>)	58.30 (<u>s</u>)	87.86 (<u>s</u>)	89.32 (<u>s</u>)	88.03 (<u>s</u>)
C-11	137.66 (<u>s</u>)	137.23 (<u>s</u>)	136.17 (<u>s</u>)	135.13 (<u>s</u>)	149.59 (<u>s</u>)
C-12	169.50 (<u>s</u>)	169.15 (<u>s</u>)	168.91 (<u>s</u>)	169.47 (<u>s</u>)	168.60 (<u>s</u>)
C-13	124.54 (<u>t</u>)	124.73 (<u>t</u>)	123.75 (<u>t</u>)	122.45 (<u>t</u>)	124.01 (<u>t</u>)
C-14	20.31 (<u>c</u>)	20.23 (<u>c</u>)	21.21 (<u>c</u>)	21.84 (<u>c</u>)	21.17 (<u>c</u>)
C-15	22.94 (<u>c</u>)	22.95 (<u>c</u>)	62.41 (<u>t</u>)	128.50 (<u>t</u>)	65.35 (<u>t</u>)
C-16	166.51 (<u>s</u>)	166.09 (<u>s</u>)	165.92 (<u>s</u>)	165.84 (<u>s</u>)	165.77 (<u>s</u>)
C-17	127.67 (<u>s</u>)	126.67 (<u>s</u>)	126.54 (<u>s</u>)	126.46 (<u>s</u>)	126.41 (<u>s</u>)
C-18	139.98 (<u>d</u>)	140.86 (<u>d</u>)	141.11 (<u>d</u>)	140.94 (<u>d</u>)	141.17 (<u>d</u>)
C-19	15.66 (<u>c</u>)	15.77 (<u>c</u>)	15.74 (<u>c</u>)	15.67 (<u>c</u>)	15.70 (<u>c</u>)
C-20	19.71 (<u>c</u>)	19.35 (<u>c</u>)	19.99 (<u>c</u>)	19.99 (<u>c</u>)	19.94 (<u>c</u>)
C-21		169.15 (<u>s</u>)		167.97 (<u>s</u>)	157.90 (<u>s</u>)
C-22		21.01 (<u>c</u>)		20.84 (<u>c</u>)	129.96 (<u>s</u>)
C-23					91.75 (<u>s</u>)

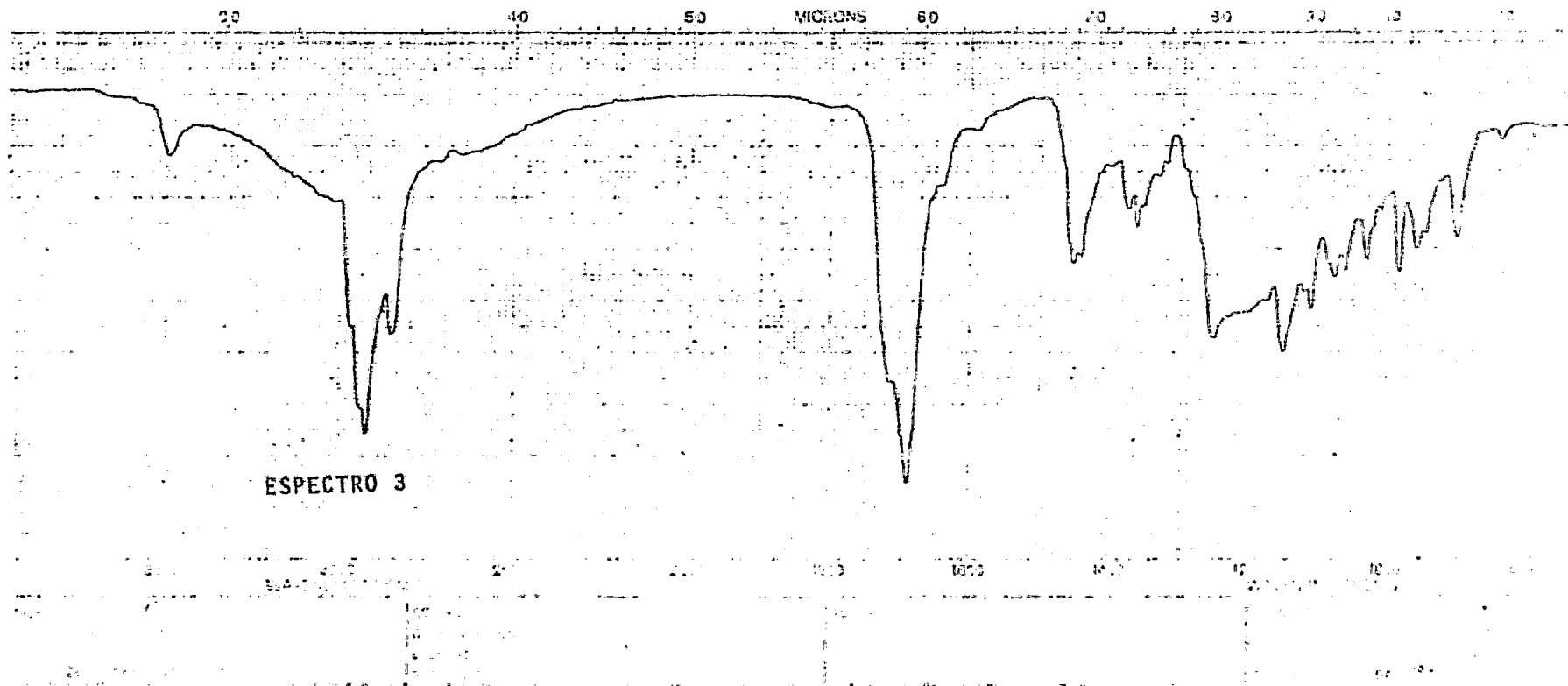
Asignaciones de ^{13}C para leptocarpina (XVII), acetil-leptocarpina (XVIII), budleína A (XIX), acetil derivado transpuesto de budleína A (XX) y éster con ITA de budleína A (XXI).

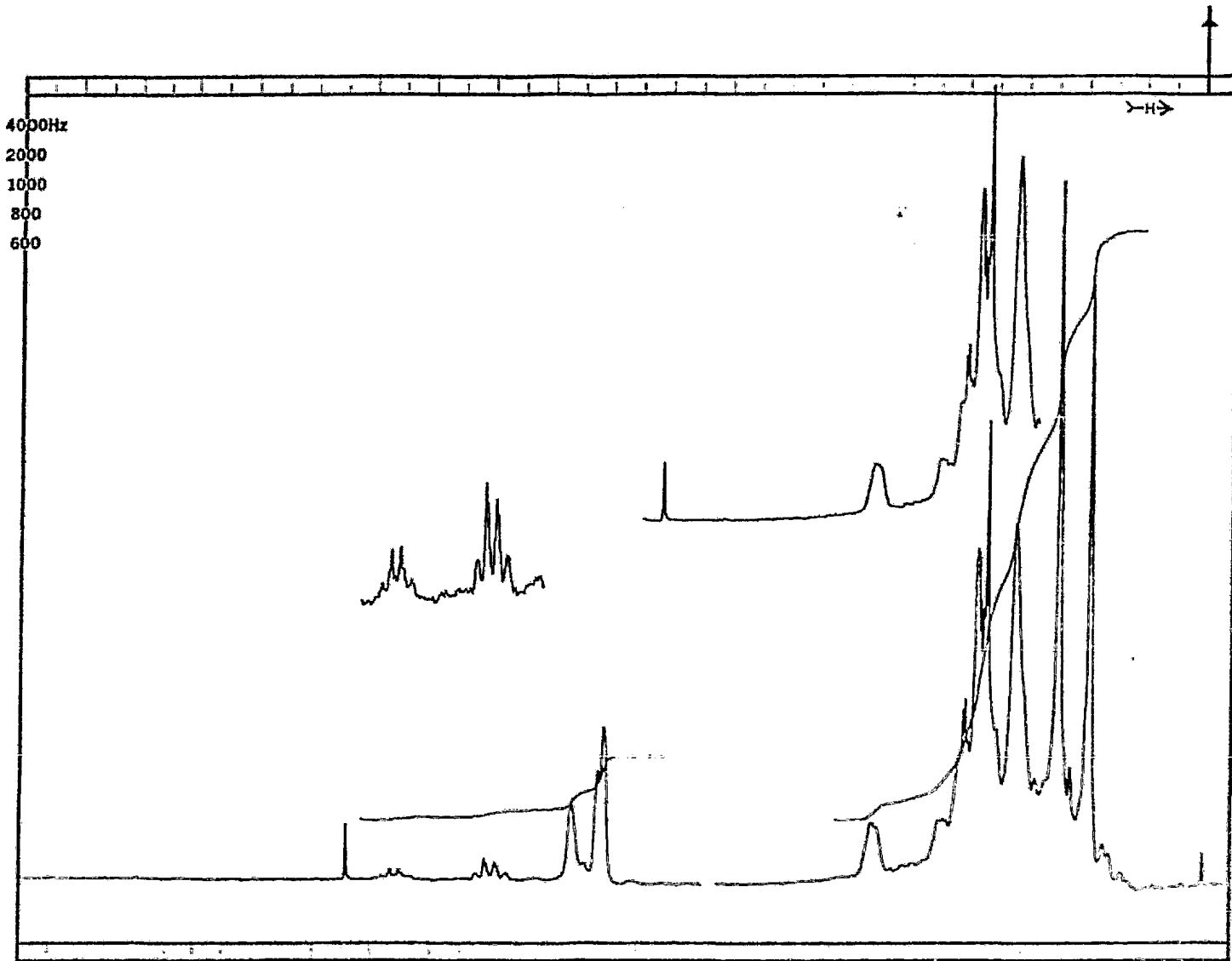
III. ESPECTROS.





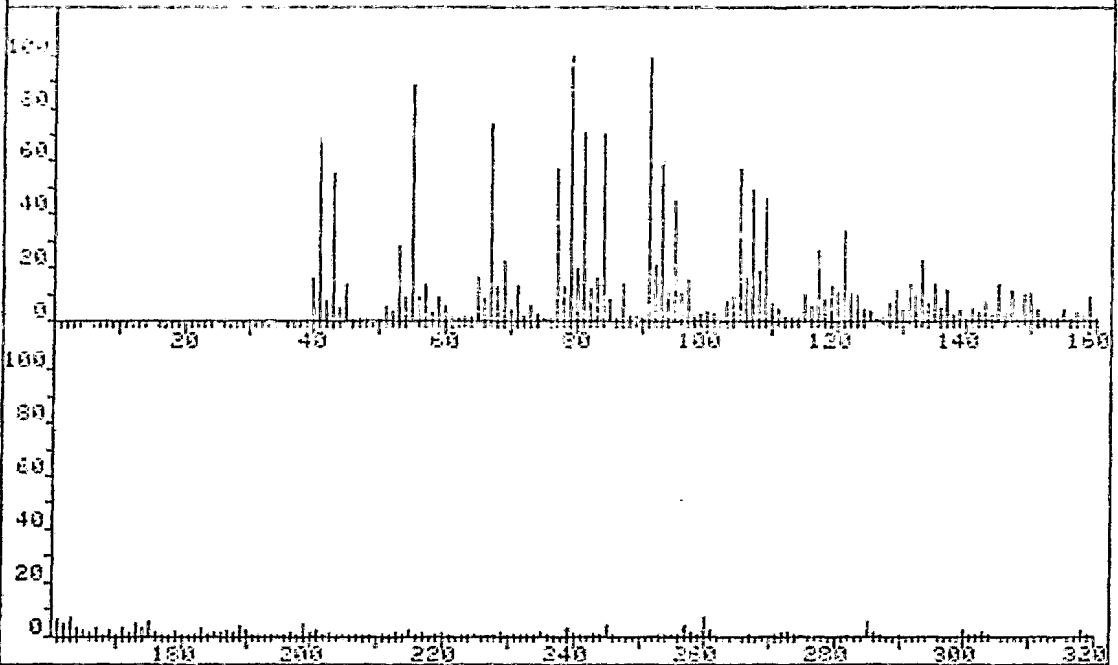
ESPECTRO 2





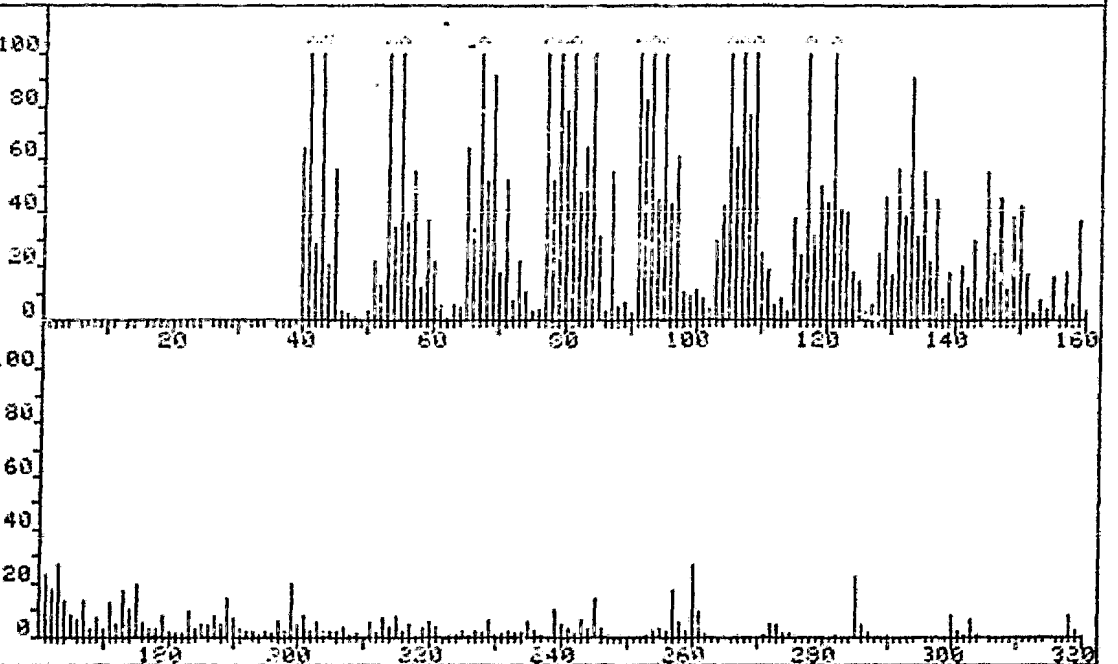
ESPECTRO 4

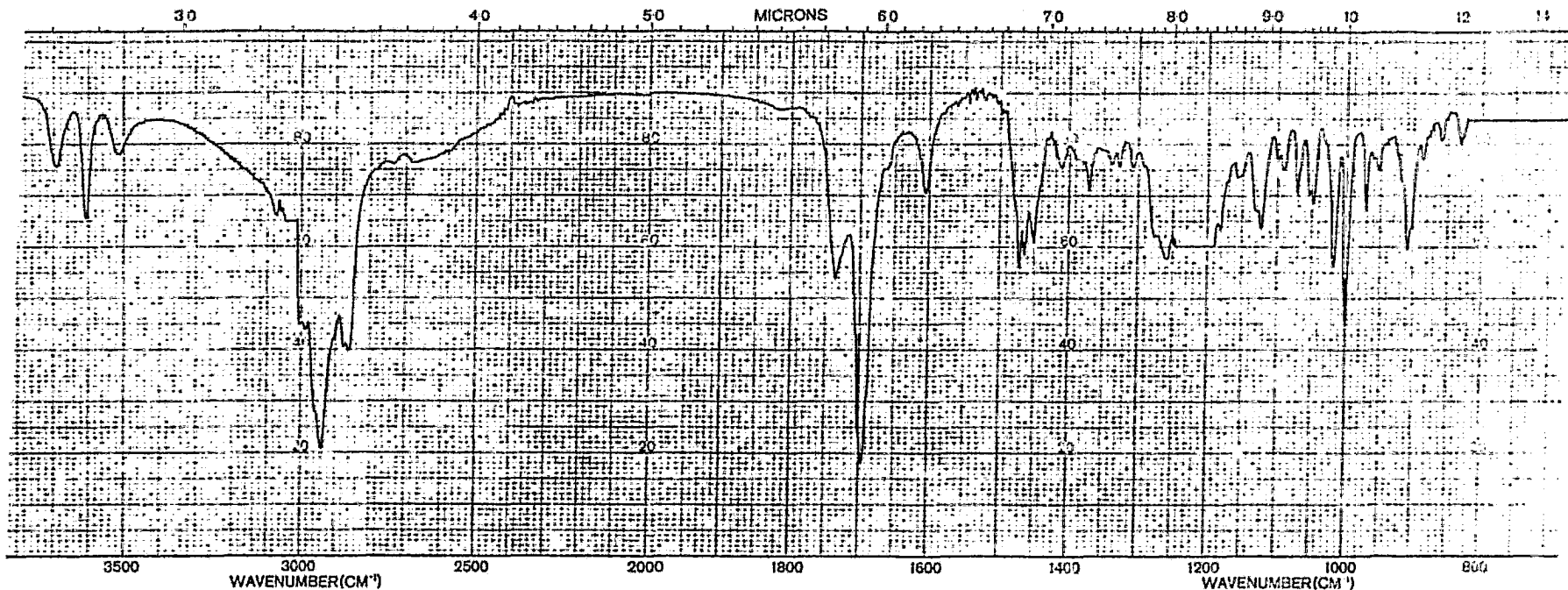
FRN 5090	SPECTRUM 59		RETENTION TIME 1.3	
LRPGST 4:	79.2, 100.0	91.2, 98.9	55.1, 88.8	67.1, 73.9
LAST 4:	303.4, 1.5	304.4, .2	318.5, 1.9	319.5, .5
				PAGE 1 Y = 1.00



ESPECTRO 5

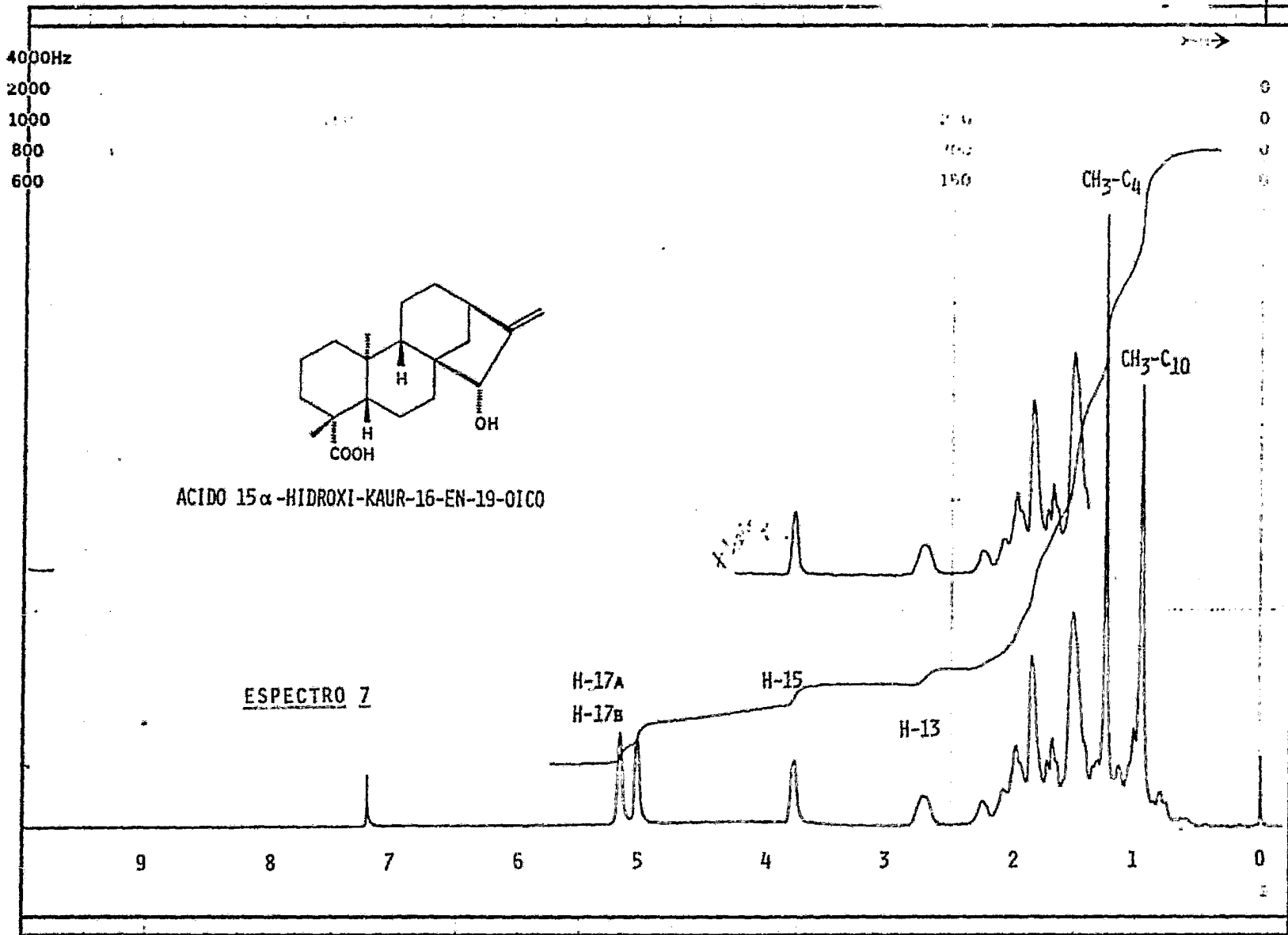
FRN 5090	SPECTRUM 59		RETENTION TIME 1.3	
LRPGST 4:	79.2, 100.0	91.2, 98.9	55.1, 88.8	67.1, 73.9
LAST 4:	303.4, 1.5	304.4, .2	318.5, 1.9	319.5, .5
				PAGE 1 Y = 4.00

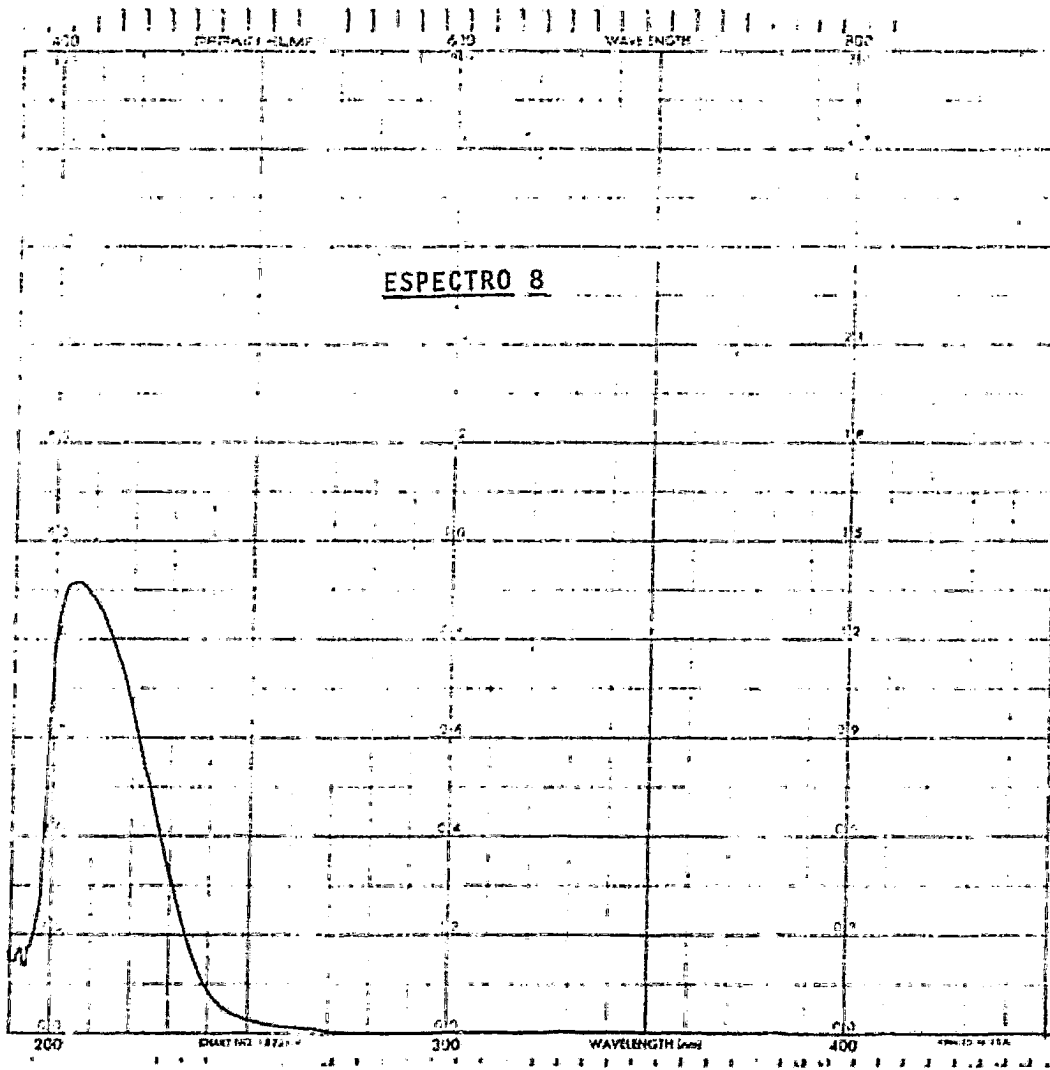




MAC-24-23	1 - 226-253°C	SOLVENT	CHCl ₃	REMARKS	SCAN TIME	10	T	1.3
CVS 20		CONCENTRATION	Saturated		SLIT	5	ORDINATE EXP	
QUANTOMA 200-2013		CELL PATH	NaCl		OPERATOR		DATE	20-12-52
		REFERENCE	CHCl ₃		TIME			

ESPECTRO 6

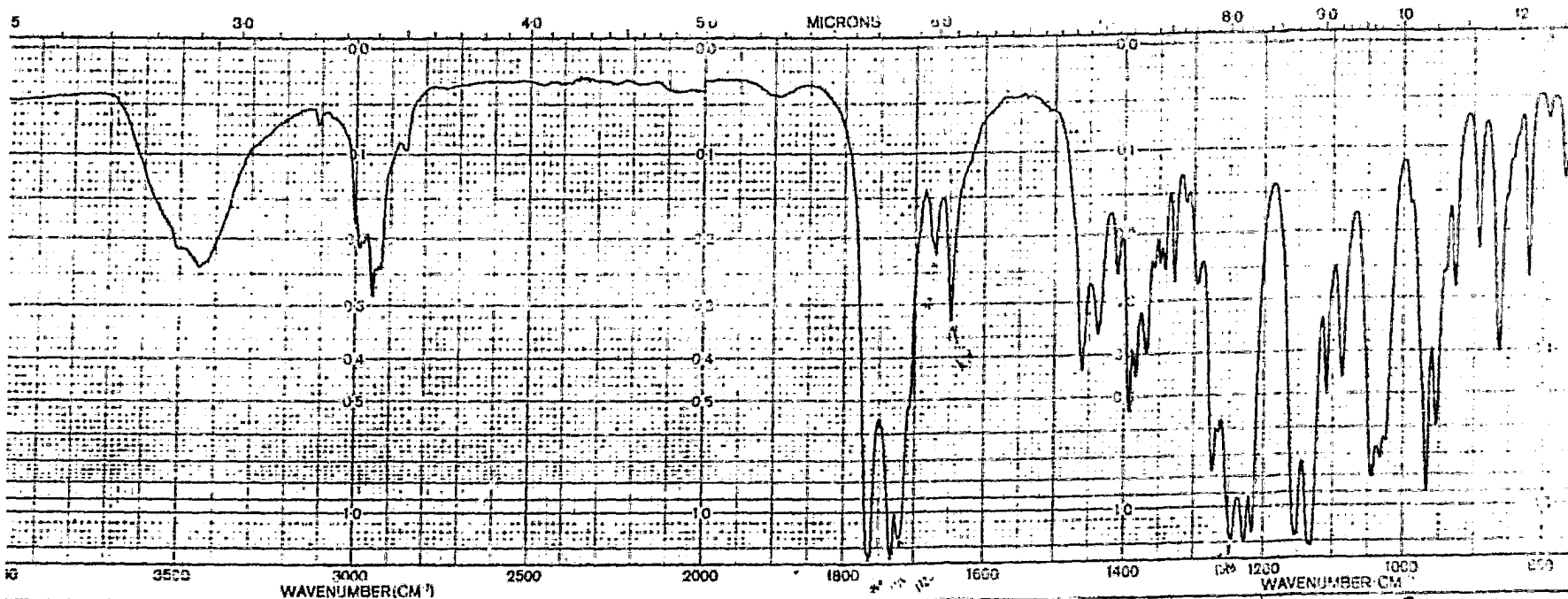




PERKIN-ELMER

INSTR. NO. *714*
 MODEL *AC 487C*
9 Decades
 CONCENTRATION *0.24 mg/ml*
 PATH LENGTH *10 cm*
 SOURCE *He II*
 ACCESSORY *—*
 REFERENCE *He II*
 REMARKS *Dia. 5.15 ml/cm*

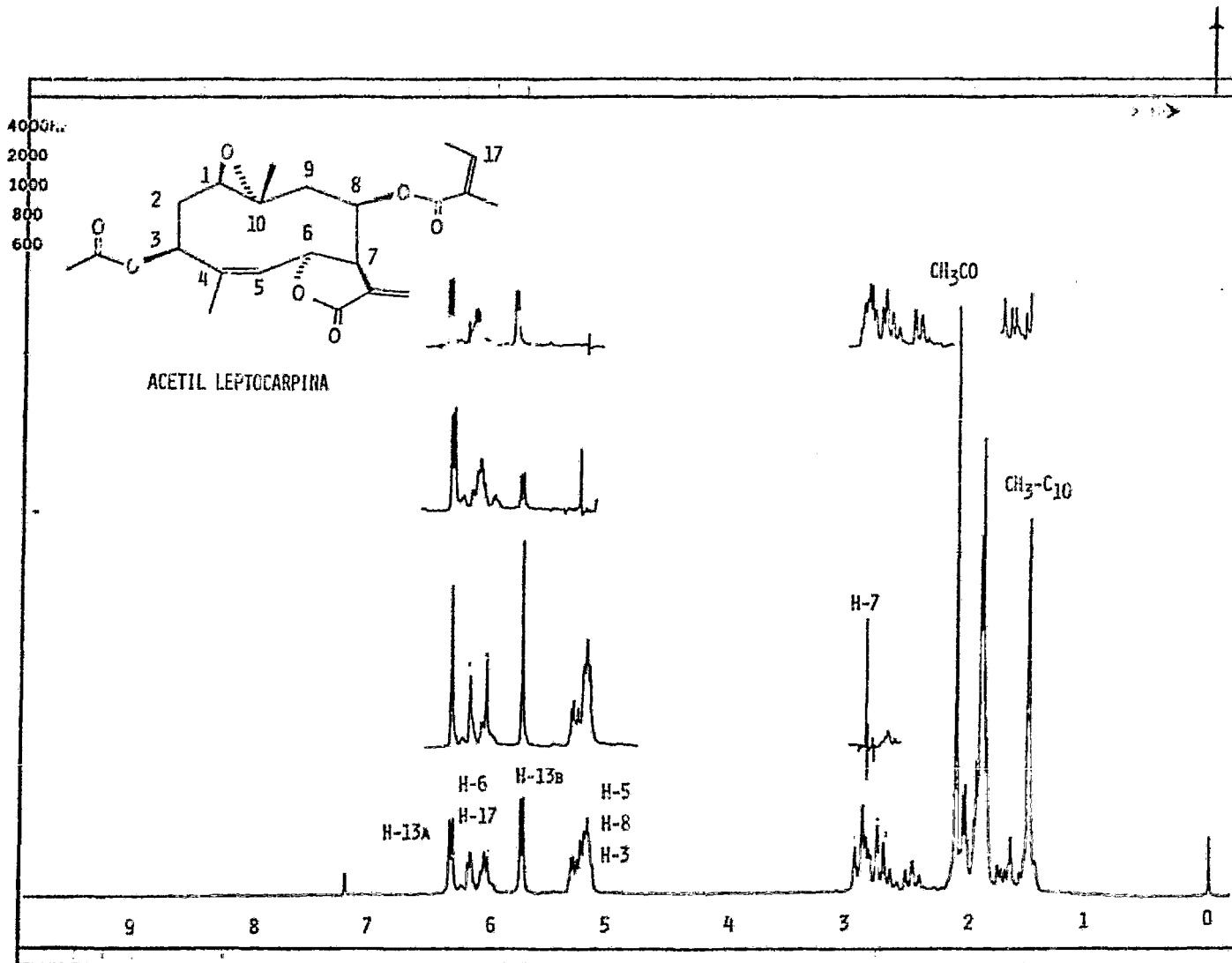
RANGE	MODE	SLIT	SCALE
RECORDED	3.2	<input checked="" type="checkbox"/>	100
PERSISTENCE			
WAVELENGTH RANGE			
SCANNED WAVELENGTH			
CHART FEED			
RESPONSE	FAST	<input checked="" type="checkbox"/>	
BANDPASS (nm)			<i>10</i>
ZERO POSITION			
DATE	<i>30 NOV 57 OPERATOR</i>		



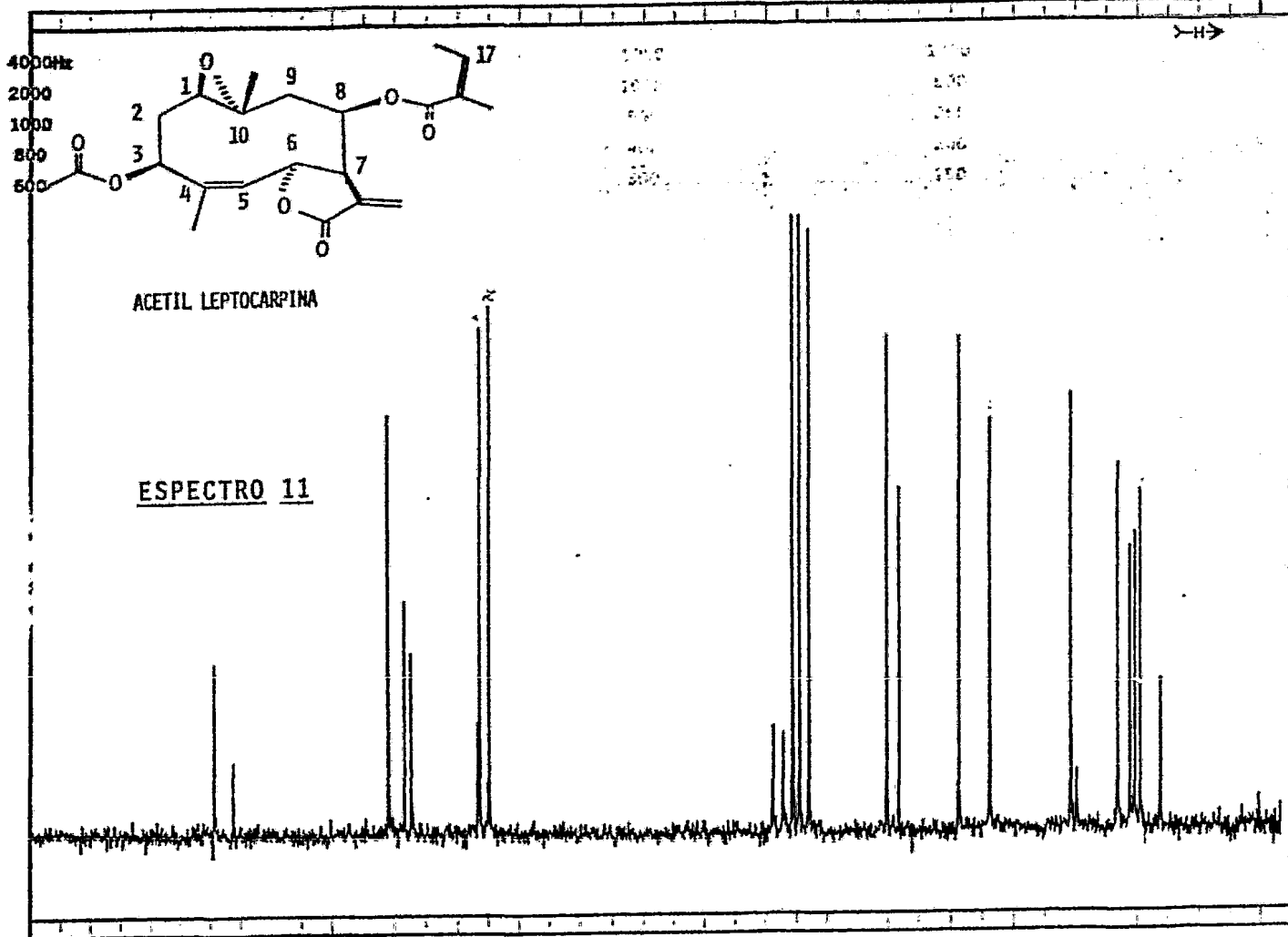
SAMPLE <i>17-18 S.P. 3</i> <i>CO. 1000</i>	SOLVENT <i>1000</i> CONCENTRATION <i>1000</i> CELL PATH <i>1000</i> REFERENCE <i>1000</i>	REMARKS	SCANNING <i>1000</i> SLIT <i>1000</i> OPERATOR <i>1000</i>
---	--	---------	--

ESPECTRO 9

51.



ESPECTRO 10



FT-80A SPECTRUM NO. 1000
 OPERATOR ... DATE ...
 NUCLEUS 13C FREQUENCY 125.76
 SYNTHESIZER SETTING _____
 EXPERIMENT NAME _____
 FILE NAME 01151
 SAMPLE Acetil Leptocarpina

LOCK INTERNAL EXTERNAL
 LOCK SIGNAL _____
 SPIN RATE _____ rps. TEMP. _____ °C
 INSERT _____ mm

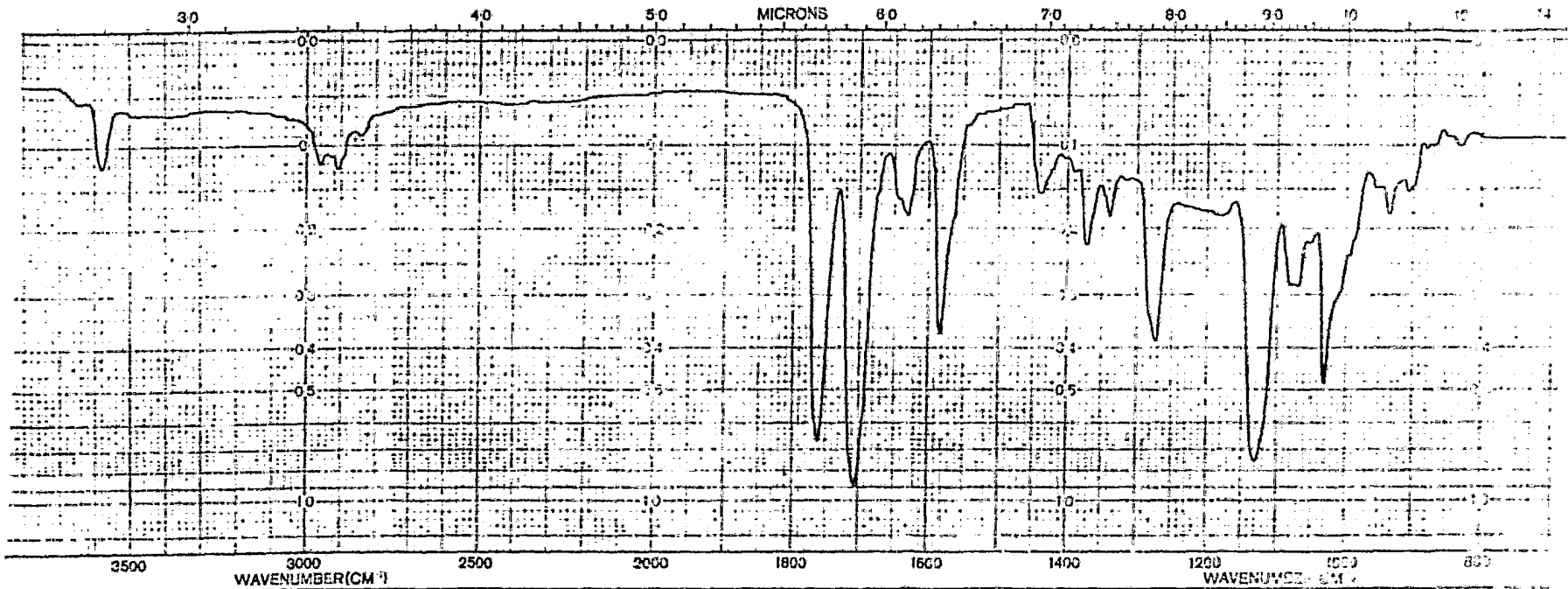
ACQUISITION
 SPECTRAL WIDTH (SW) _____ Hz
 NO. OF TRANSIENTS (NT) _____
 ACQUISITION TIME (AT) _____ sec.
 PULSE WIDTH (PW) _____ μsec.
 PULSE DELAY (PD) _____ sec.
 DATA POINTS (DP) _____

TRANSMITTER OFFSET (TO) _____
 HIGH FIELD _____ LOW FIELD _____
 RECEIVER GAIN (RG) _____

DECOUPLER MODE (DM) _____
 DECOUPLER OFFSET (DO) _____
 NOISE BANDWIDTH (NB) _____ kHz
 ACQUISITION MODE (AM) _____

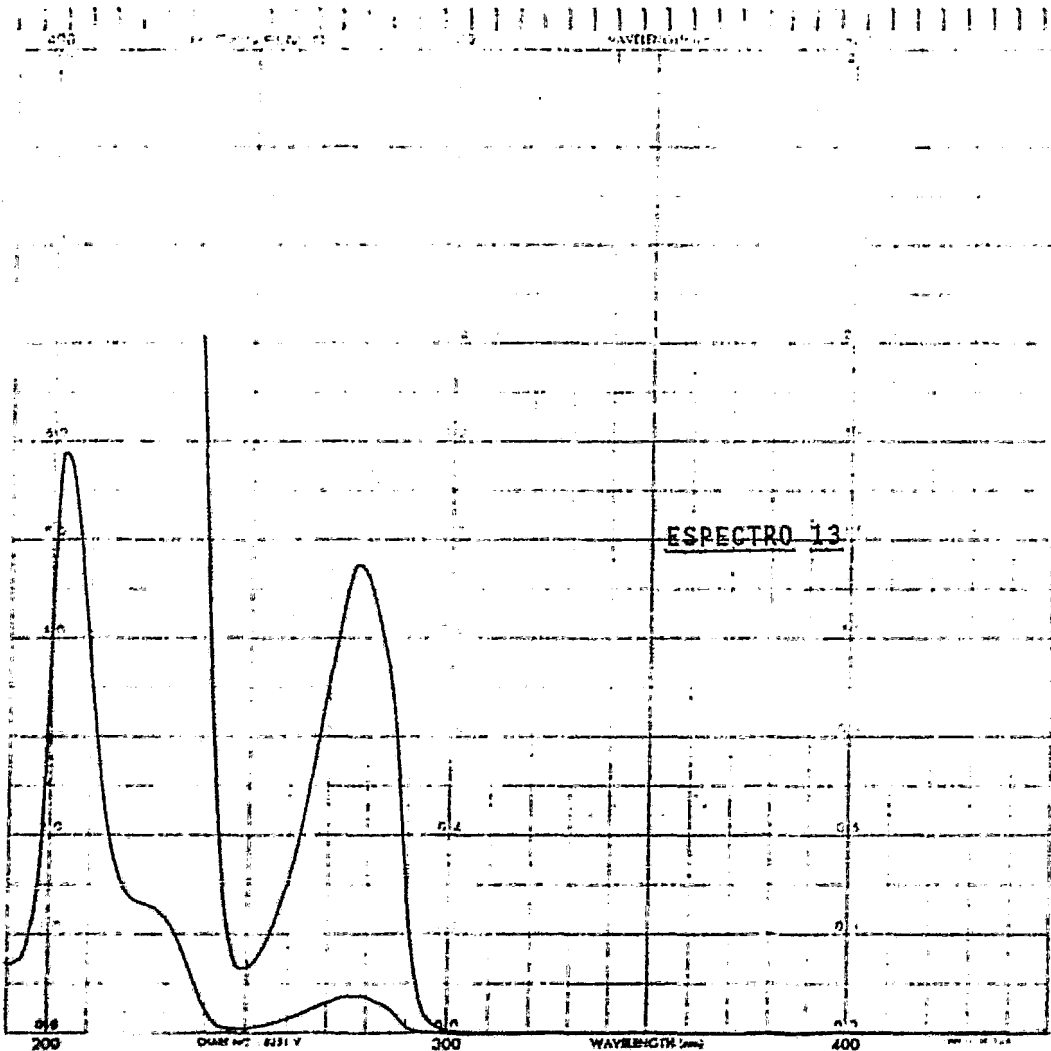
DISPLAY
 SENS. ENHANCEMENT (SE) _____ sec.
 WIDTH OF PLOT (WP) _____ Hz
 END OF PLOT (EP) _____ Hz
 WIDTH OF CHART (WC) _____ Hz
 END OF CHART (EC) _____ Hz
 VERTICAL SCALE (VS) _____
 REFERENCE LINE (RL) _____





<i>R. P. 1</i> <i>6.1588 cm⁻¹</i>	SOLVENT	<i>CHCl₃</i>	REMARKS	SCAN TIME	<i>12</i>
	CONCENTRATION	<i>5.0000</i>	<i>est. 100%</i>	SMT	<i>2</i>
	CELL PATH	<i>NaCl</i>		OPERATOR	<i>R. P.</i>
	REFERENCE	<i>CHCl₃</i>			

ESPECTRO 12

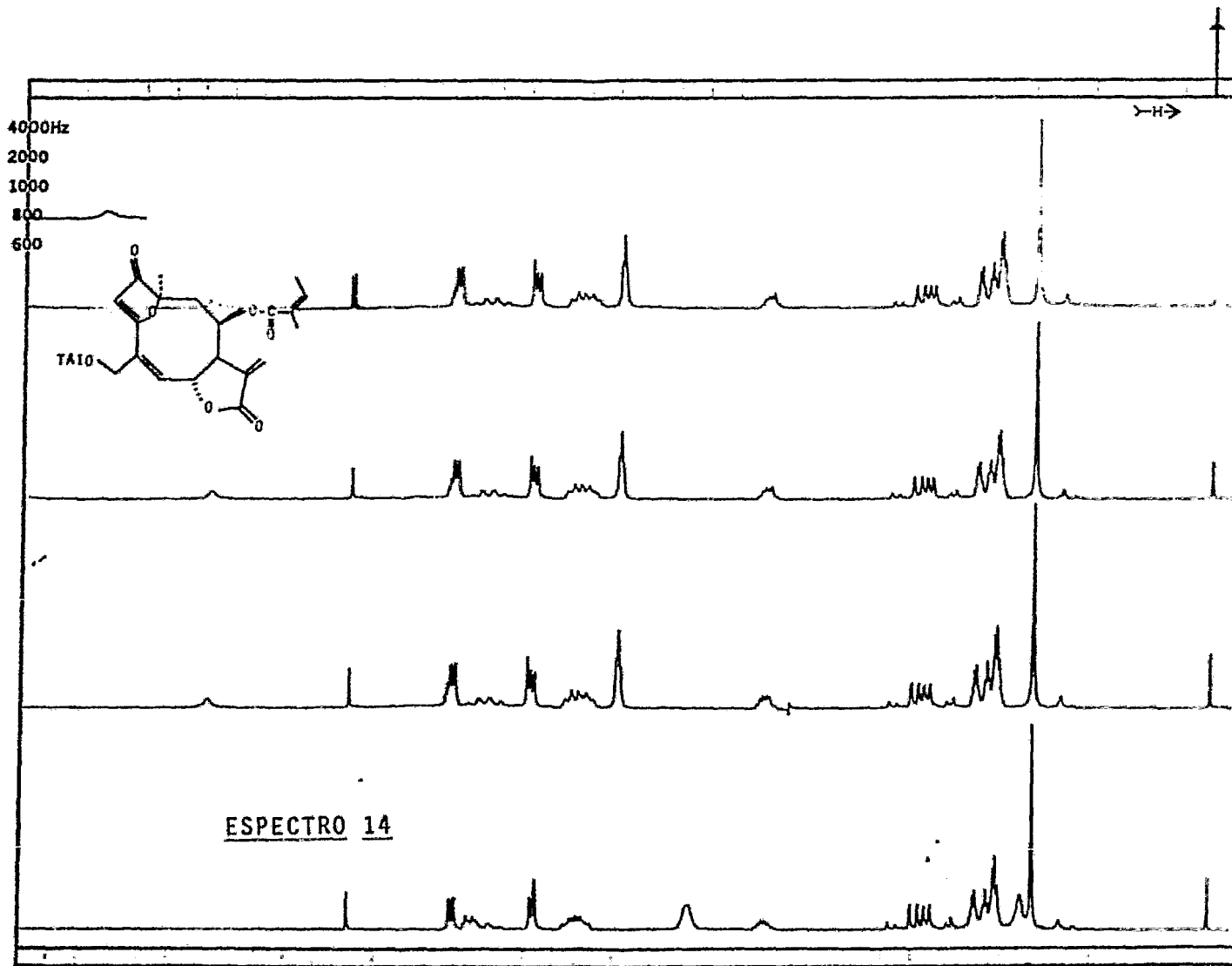


IDENTIFICATION NUMBER: 571
 DATE: 22-11-72
 OPERATOR: J. P.
 COMMENTS:

WAVELENGTH RANGE: 200 - 400
 BANDWIDTH: 10
 RESPONSE: FAST
 ZERO SUPPRESSION: ON

BANDPASS (nm): 10
 ZERO SUPPRESSION: ON

DATE 22-11-72 OPERATOR J. P.



FT-80A SPECTRUM NO. _____
 OPERATOR _____ DATE _____
 NUCLEUS _____ FREQUENCY _____
 SYNTHESIZER SETTING _____
 EXPERIMENT NAME _____
 FILE NAME _____
 SAMPLE _____

LOCK INTERNAL EXTERNAL
 LOCK SIGNAL _____
 SPIN RATE _____ rps. TEMP _____ °C
 INSERT _____ mm

ACQUISITION
 SPECTRAL WIDTH (SW) _____ Hz
 NO. OF TRANSIENTS (NT) _____
 ACQUISITION TIME (AT) _____ sec
 PULSE WIDTH (PW) _____ µsec
 PULSE DELAY (PD) _____ sec
 DATA POINTS (DP) _____

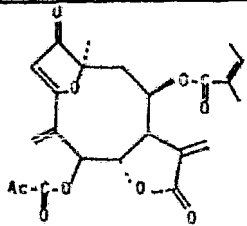
TRANSMITTER OFFSET (TO) _____
 HIGH FIELD _____ LOW FIELD _____
 RECEIVER GAIN (RG) _____

DECOUPLER MODE (DM) _____
 DECOUPLER OFFSET (DO) _____
 NOISE BANDWIDTH (NB) _____ kHz
 ACQUISITION MODE (AM) _____

DISPLAY
 SEND ENHANCEMENT (SE) _____ sec
 WIDTH OF PLOT (WP) _____ Hz
 END OF PLOT (EP) _____ Hz
 WIDTH OF CHART (WC) _____ Hz
 END OF CHART (EC) _____ Hz
 VERT. CAL. SCALE (VS) _____
 REFERENCE LINE (RL) _____



4000Hz
2000
1000
800
600



Acetato transpuesto
de Budlefna A

ESPECTRO 15

FT-80A SPECTRUM NO. 15
OPERATOR DATE
NUCLEUS FREQUENCY
SYNTHESIZER SETTING
EXPERIMENT NAME
FILE NAME
SAMPLE

LOCK INTERNAL EXTERNAL
LOCK SIGNAL
SPIN RATE rps TEMP °C
INSERT mm

ACQUISITION
SPECTRAL WIDTH (SW) Hz
NO. OF TRANSIENTS (NT)
ACQUISITION TIME (AT) sec
PULSE WIDTH (PW) usec
PULSE DELAY (PD) sec
DATA POINTS (DP)

TRANSMITTER OFFSET (TO)
HIGH FIELD LOW FIELD
RECEIVER GAIN (RG)

DECOUPLER MODE (DM)
DECOUPLER OFFSET (DO)
NOISE BANDWIDTH (NB) kHz
ACQUISITION MODE (AM)

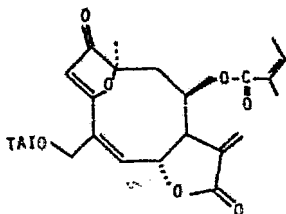
DISPLAY
SENS ENHANCEMENT (EE) sec
WIDTH OF PLOT (WP) Hz
END OF PLOT (EP) Hz
WIDTH OF CHART (WC) Hz
END OF CHART (EC) Hz
VERTICAL SCALE (VS)
REFERENCE LINE (RL)

20 40 60 80 100 120 140 160 180 200 220 240 260 280 300 320 340 360 380 400 420 440 460 480 500 520 540 560 580 600 620 640 660 680 700 720 740 760 780 800 820 840 860 880 900 920 940 960 980 1000



57

4000Hz
2000
1000
800
600



ESPECTRO 16

FT-80A SPECTRUM NO. _____
OPERATOR _____ DATE _____
NUCLEUS _____ FREQUENCY _____
SYNTHESIZER SETTING _____
EXPERIMENT NAME _____
FILE NAME _____
SAMPLE _____

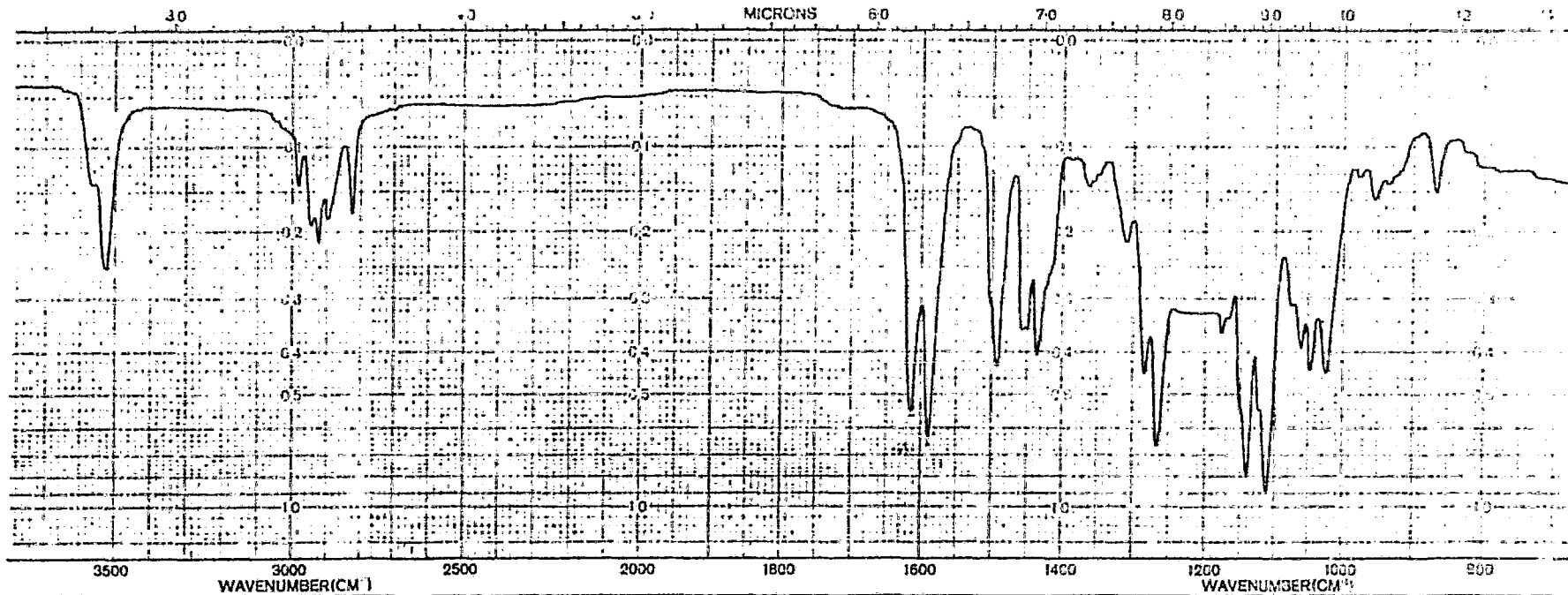
LOCK INTERNAL EXTERNAL
LOCK SIGNAL _____
SPIN RATE _____ rps. TEMP. _____ °C
INSERT _____ mm

ACQUISITION
SPECTRAL WIDTH (SW) _____ Hz
NO. OF TRANSIENTS (NT) _____
ACQUISITION TIME (AT) _____ sec
PULSE WIDTH (PW) _____ sec
PULSE DELAY (PD) _____ sec
DATA POINTS (DP) _____

TRANSMITTER OFFSET (TO) _____
HIGH FIELD _____ LOW FIELD _____
RECEIVER GAIN (RG) _____

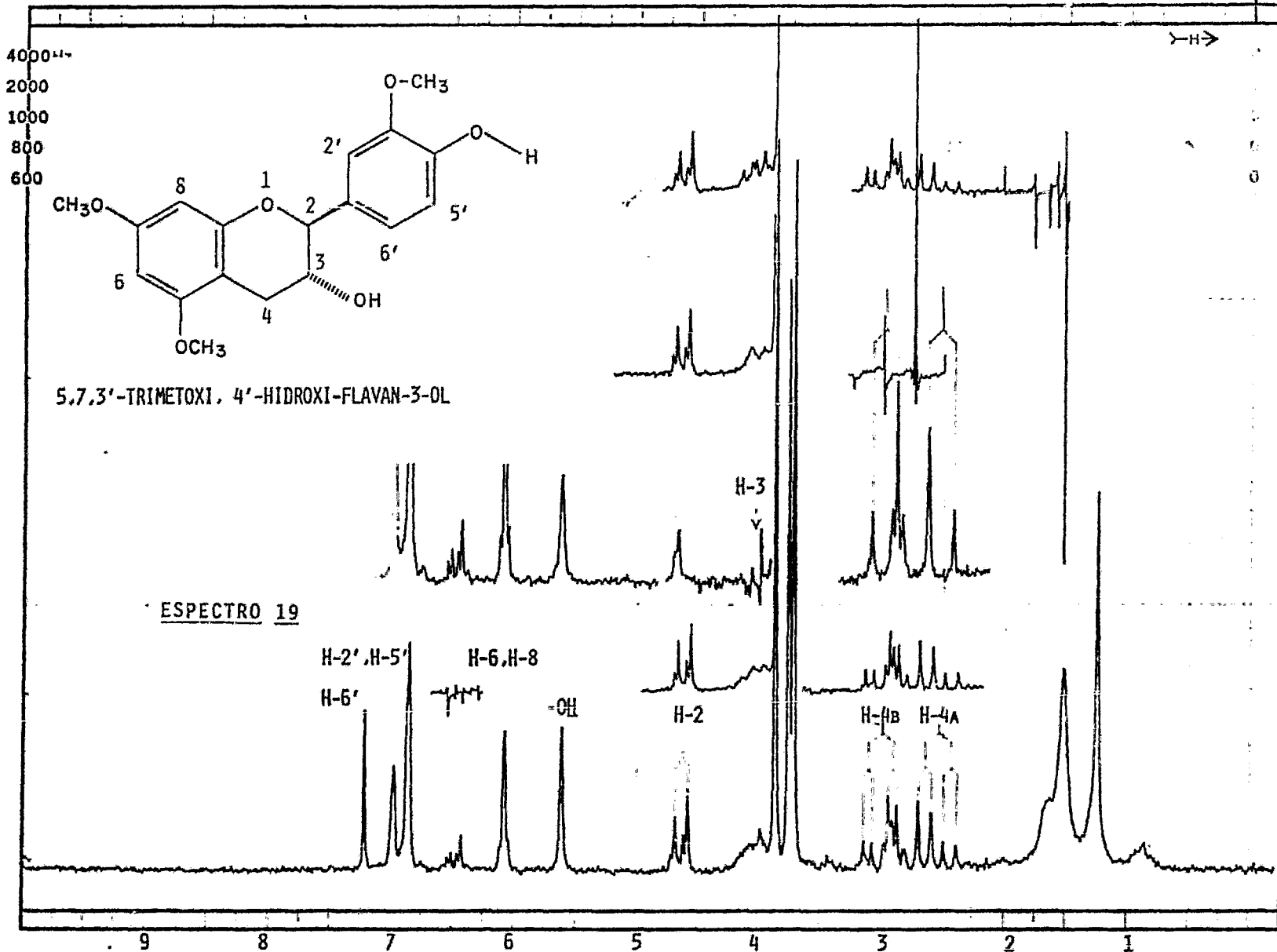
DECOUPLER MODE (DM) _____
DECOUPLER OFFSET (DO) _____
NOISE BANDWIDTH (NB) _____ kHz
ACQUISITION MODE (AM) _____

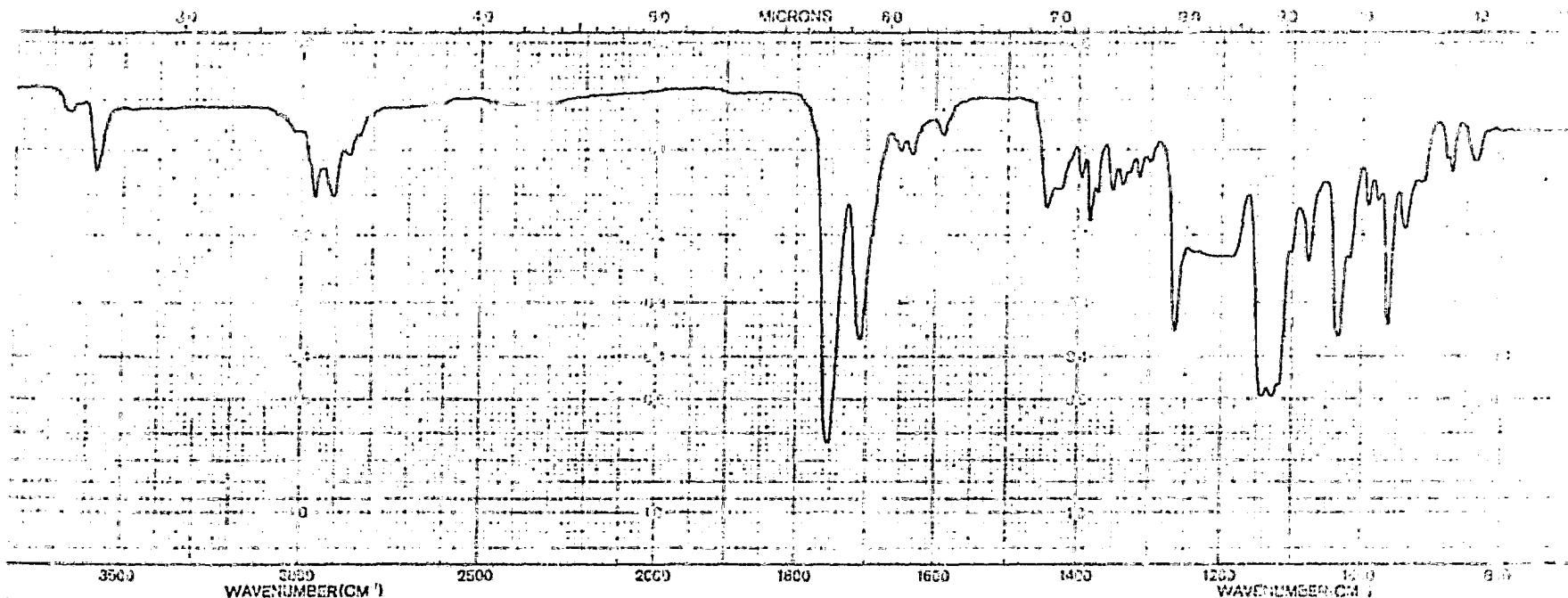
DISPLAY
SENS ENHANCEMENT (SE) _____ sec
WIDTH OF PLOT (WP) _____ Hz
END OF PLOT (EP) _____ Hz
WIDTH OF CHART (WC) _____ Hz
END OF CHART (EC) _____ Hz
VERTICAL SCALE (VS) _____ Hz
REFERENCE LINE (RL) _____



020-1-22-41 F-1550-1620 e	SOLVENT _____ <i>CHCl₃</i> _____ CONCENTRATION _____ <i>Solution</i> _____ CELL PATH _____ <i>Mel</i> _____ REFERENCE _____ <i>KBr</i> _____	REMARKS <i>Handwritten notes</i>	SCAN TIME _____ <i>1.2</i> _____ CLYT _____ <i>11</i> _____ OPERATOR _____ <i>BJ</i> DATE _____ <i>6/1/52</i> TIME _____
------------------------------	--	-------------------------------------	--

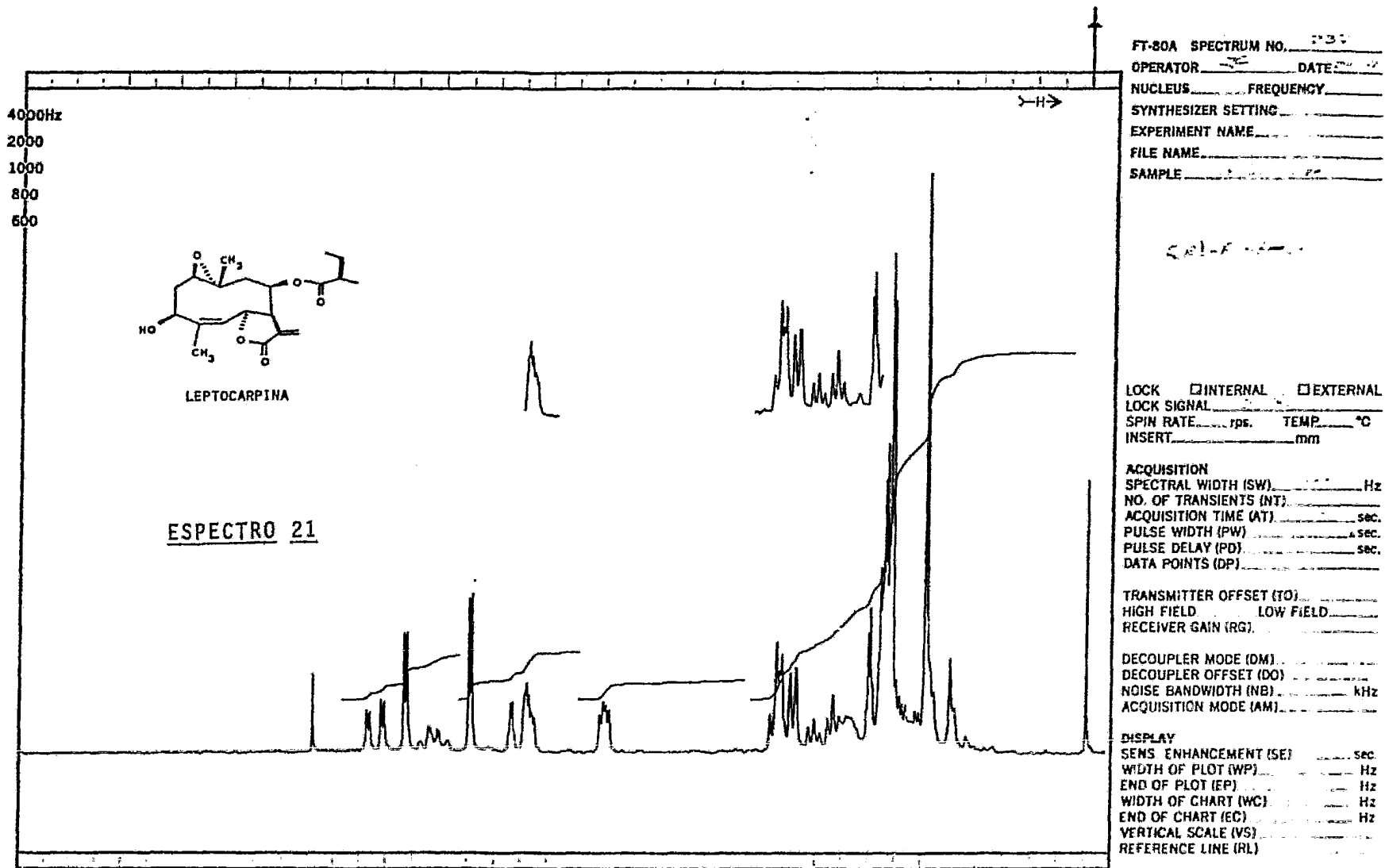
ESPECTRO 18

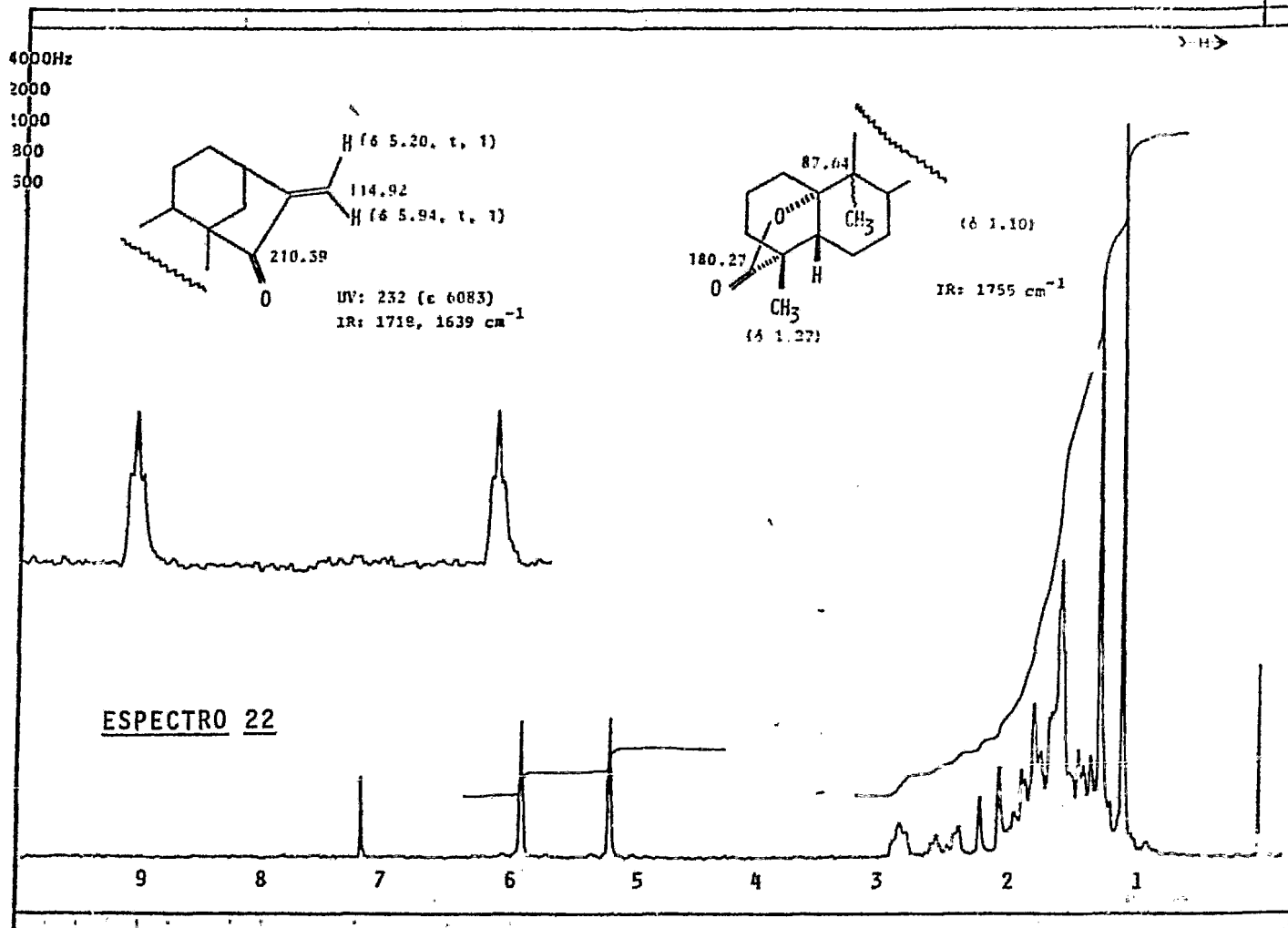




	SOLVENT	5-28	REMARKS	SCAN TIME	1
	CONCENTRATION	1.0000		WAVELENGTH	10.0000
	CELL PATH	1.00		DATE	
	REFERENCE	1.00		OPERATOR	

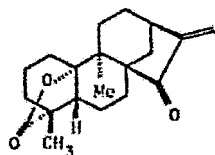
ESPECTRO 20



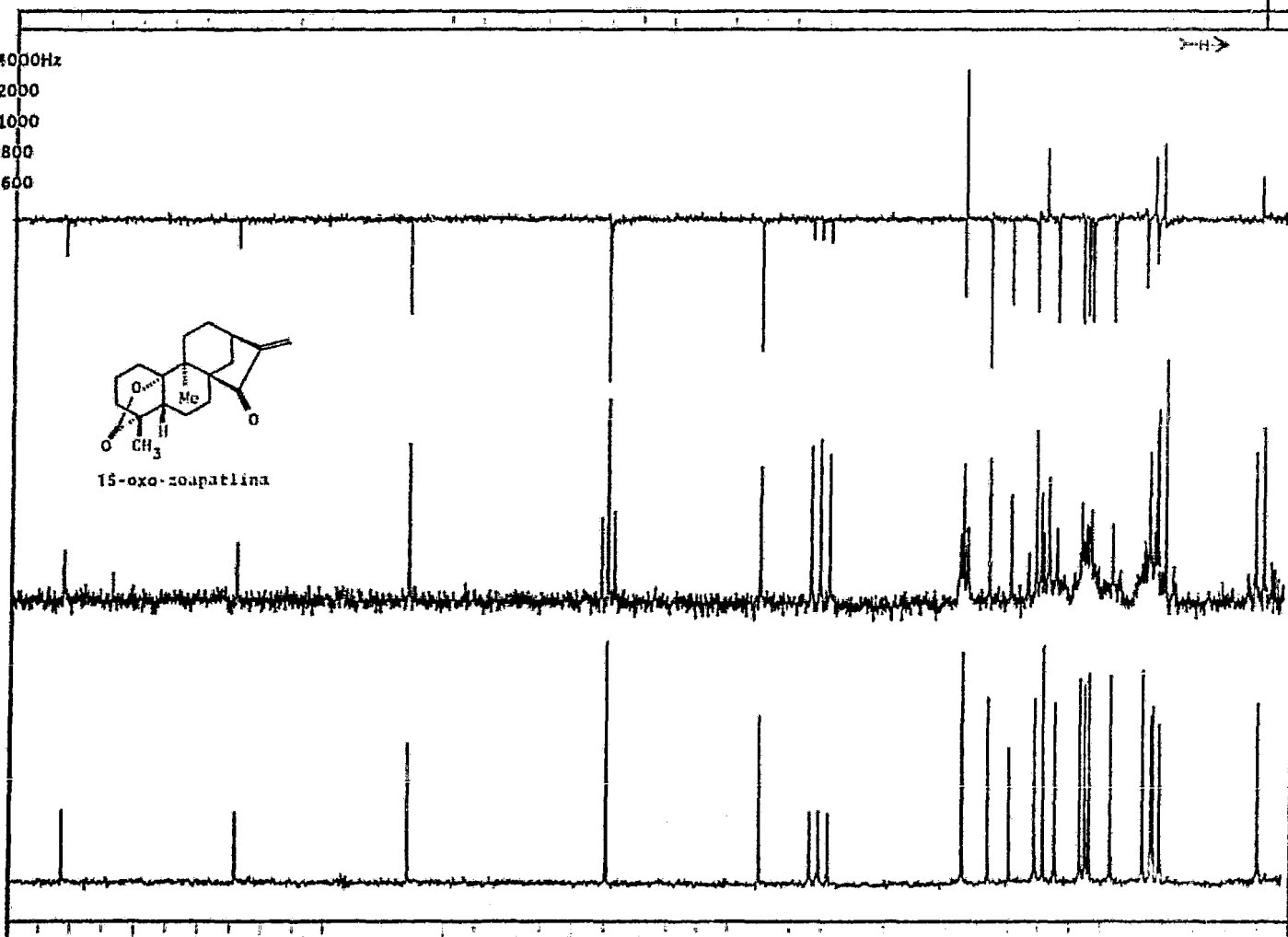


ESPECTRO 22

4000Hz
2000
1000
800
600



15-oxo-coapatlina



FT-80A SPECTRUM NO. _____
OPERATOR _____ DATE _____
NUCLEUS _____ FREQUENCY _____
SYNTHESIZER SETTING _____
EXPERIMENT NAME _____
FILE NAME _____
SAMPLE _____

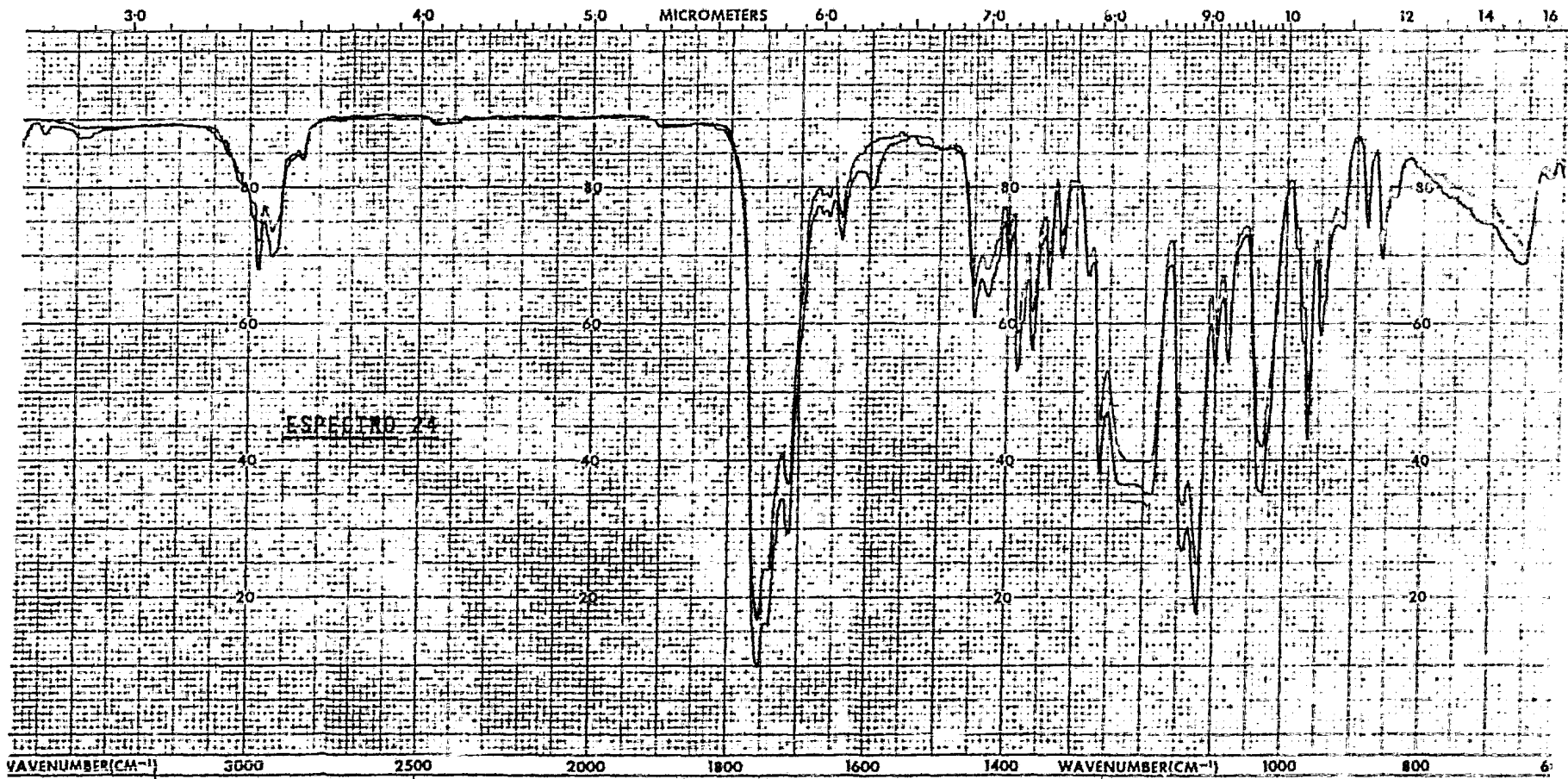
LOCK INTERNAL EXTERNAL
LOCK SIGNAL _____
SPIN RATE _____ rps TEMP _____ °C
INSERT _____ mm

ACQUISITION
SPECTRAL WIDTH (SW) _____ Hz
NO. OF TRANSIENTS (NT) _____
ACQUISITION TIME (AT) _____ sec
PULSE WIDTH (PW) _____ sec
PULSE DELAY (PD) _____ sec
DATA POINTS (DP) _____

TRANSMITTER OFFSET (TO) _____
HIGH FIELD _____ LOW FIELD _____
RECEIVER GAIN (RG) _____

DECOUPLER MODE (DM) _____
DECOUPLER OFFSET (DO) _____
NOISE BANDWIDTH (NB) _____ kHz
ACQUISITION MODE (AM) _____

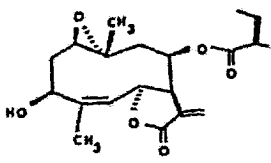
DISPLAY
SENS. ENHANCEMENT (SE) _____ sec
WIDTH OF PLOT (WP) _____ Hz
END OF PLOT (EP) _____ Hz
WIDTH OF CHART (WC) _____ Hz
END OF CHART (EC) _____ Hz
VERTICAL SCALE (VS) _____
REFERENCE LINE (RL) _____



WAVENUMBER(CM ⁻¹) 3000 2500 2000 1800 1600 1400 WAVENUMBER(CM ⁻¹) 1000 800 600	REMARKS DE A REFE... ...	SOLVENT CONCENTRATION CELL PATH REFERENCE	ABSCISSA EXPANSION SUPPRESSION TIME DRIVE	ORDINATE SCAN TIME RESPONSE SLIT PROGRAM	EXPANSION SINGLE BEAM PRE SAMPLE CHOPPER	%T ABS
--	--------------------------------	--	--	---	--	-----------

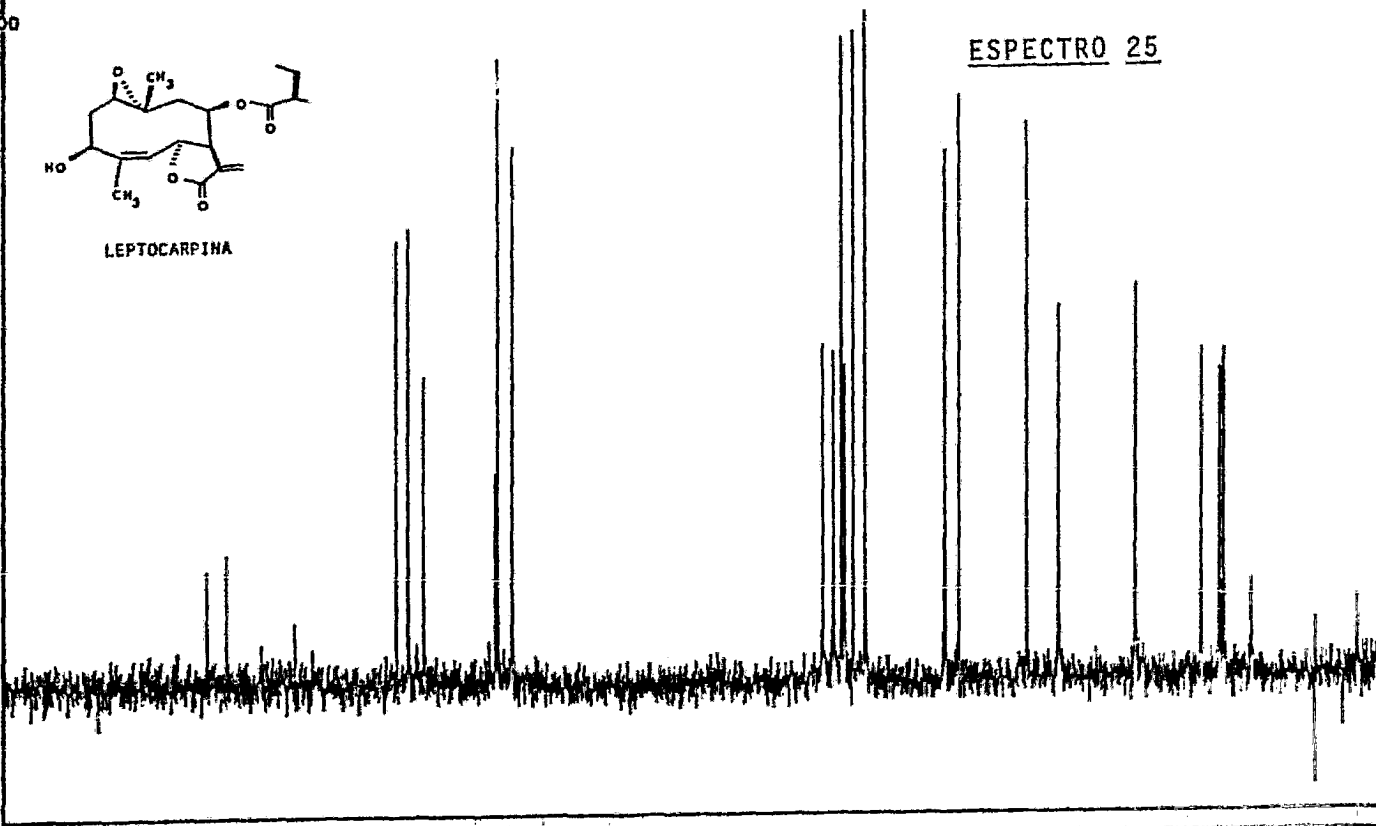
FT-80A SPECTRUM NO. 25
 OPERATOR VC DATE 2/2/72
 NUCLEUS ¹³C FREQUENCY _____
 SYNTHESIZER SETTING _____
 EXPERIMENT NAME PA
 FILE NAME LRD-P
 SAMPLE G. Delgado

4000Hz
 2000
 1000
 800
 600



LEPTOCARPIHA

ESPECTRO 25



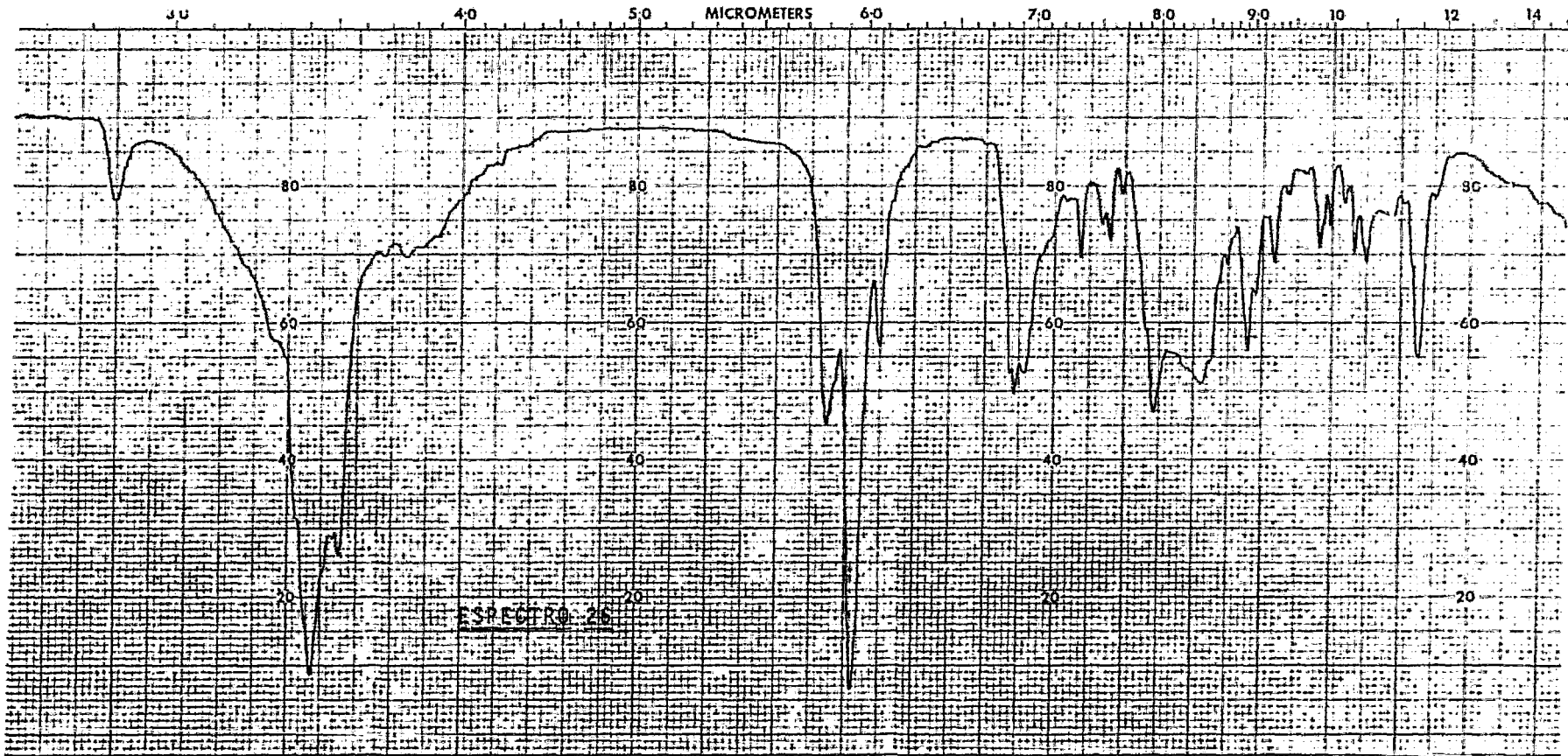
LOCK INTERNAL EXTERNAL
 LOCK SIGNAL 200
 SPIN RATE _____ IPS. TEMP. °C _____
 INSERT S _____

ACQUISITION
 SPECTRAL WIDTH (SW) _____ Hz
 NO. OF TRANSIENTS (NT) _____
 ACQUISITION TIME (AT) _____ sec
 PULSE WIDTH (PW) _____ sec
 PULSE DELAY (PD) _____ sec
 DATA POINTS (DP) _____

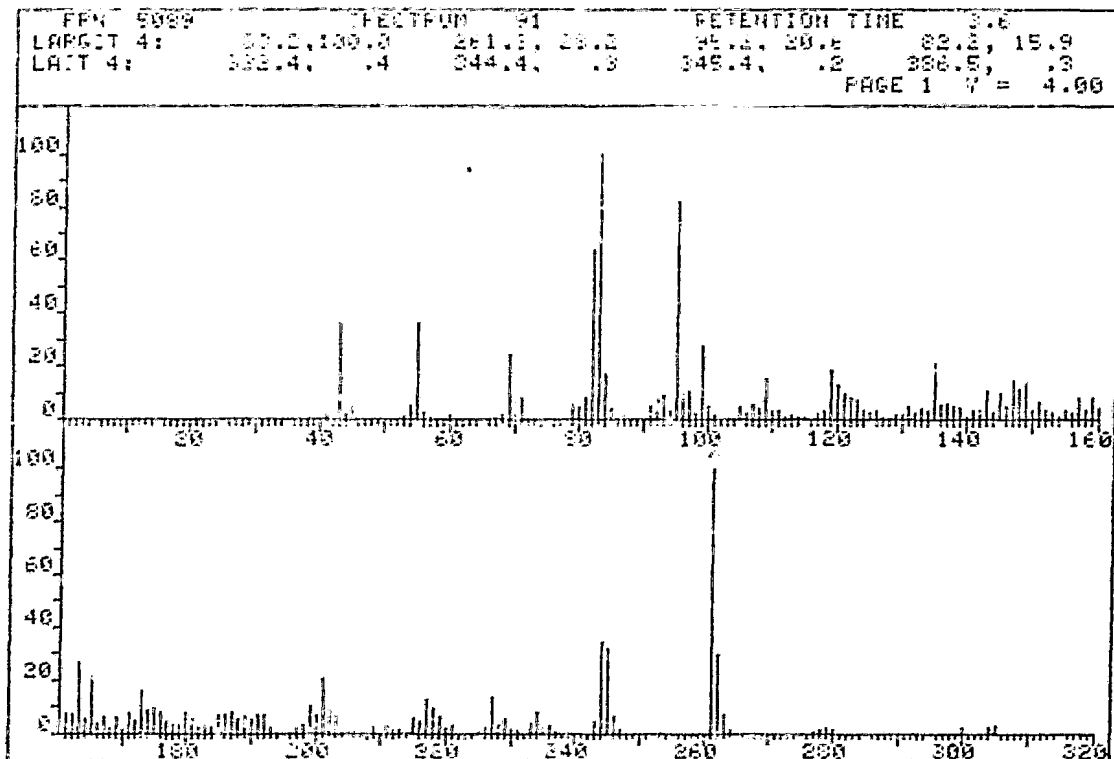
TRANSMITTER OFFSET (TO) _____
 HIGH FIELD _____ LOW FIELD _____
 RECEIVER GAIN (RG) _____

DECOUPLER MODE (DM) _____
 DECOUPLER OFFSET (DO) _____
 NOISE BANDWIDTH (NB) _____ Hz
 ACQUISITION MODE (AM) _____

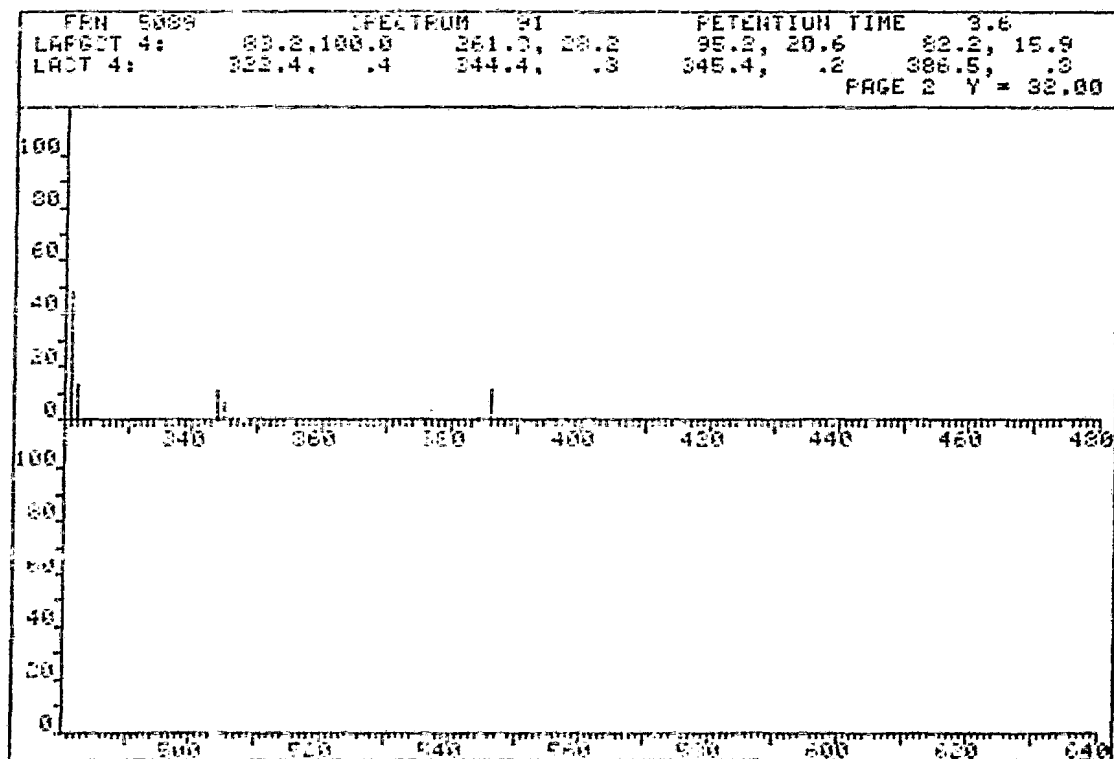
DISPLAY
 SEND ENHANCEMENT (SE) _____
 WIDTH OF PLOT (WP) _____ Hz
 END OF PLOT (EP) _____ Hz
 WIDTH OF CHART (WC) _____ Hz
 END OF CHART (EC) _____ Hz
 VERTICAL SCALE (VS) _____
 REFERENCE LINE (RL) _____

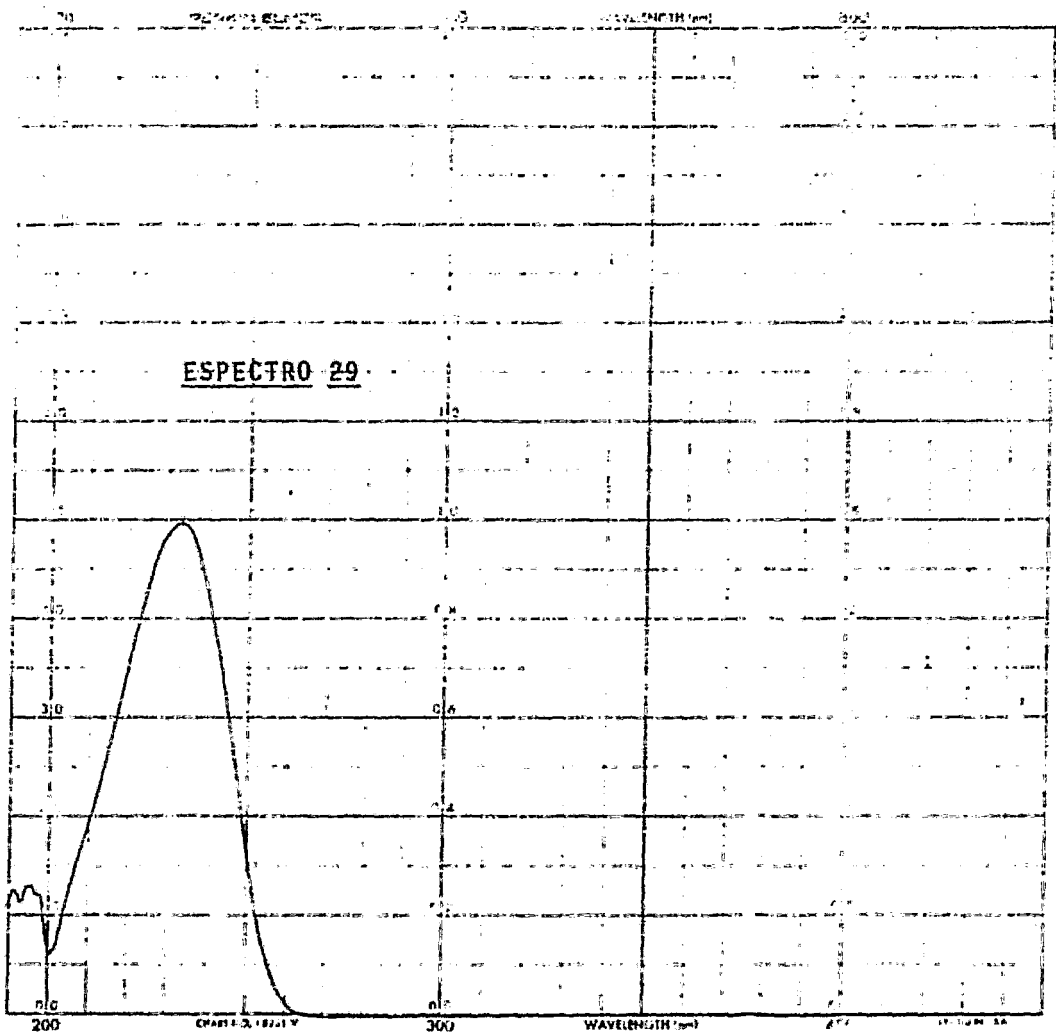


112 10/10/53 S. Deen		REMARKS A.V. 27.11.53 10/10/53	SOLVENT <u>None</u> CONCENTRATION <u>None</u> CELL PATH <u>None</u> REFERENCE <u>None</u>	REP. SCAN _____ HIGH LIMIT _____ LOW LIMIT _____	ABSCISSA EXPANSION _____ SUPPRESSION _____ TIME DRIVE _____	SCAN TIME <u>12</u> RESPONSE _____ SLIT PROGRAM <u>2</u>	ORDINATE EXPANSION _____ SINGLE BEAM _____ PRE SAMPLE CHOPPER _____
----------------------------	--	-----------------------------------	--	--	--	--	--



ESPECTRO 28





PERKIN-ELMER

INSTRUMENT NO. 637

MODEL P-3-200-30

DATE OF RUN 28/01/64

THICKNESS 1.0 mm

SOLVENT MCS

WAVELENGTH —

REFERENCE MCS

PERCENTAGE 20% solution in solvent

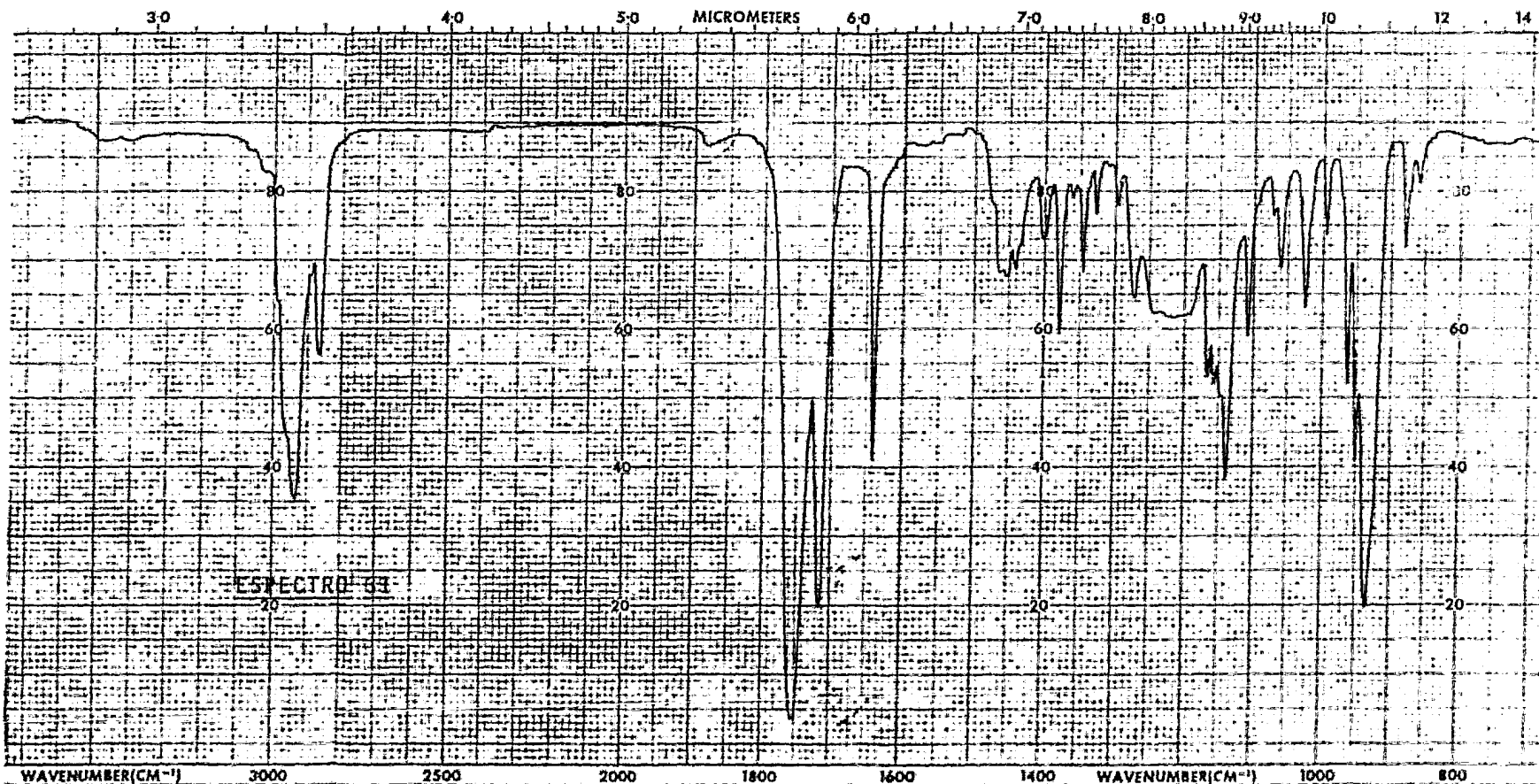
SCAN SPEED 10

CHART SPEED 10

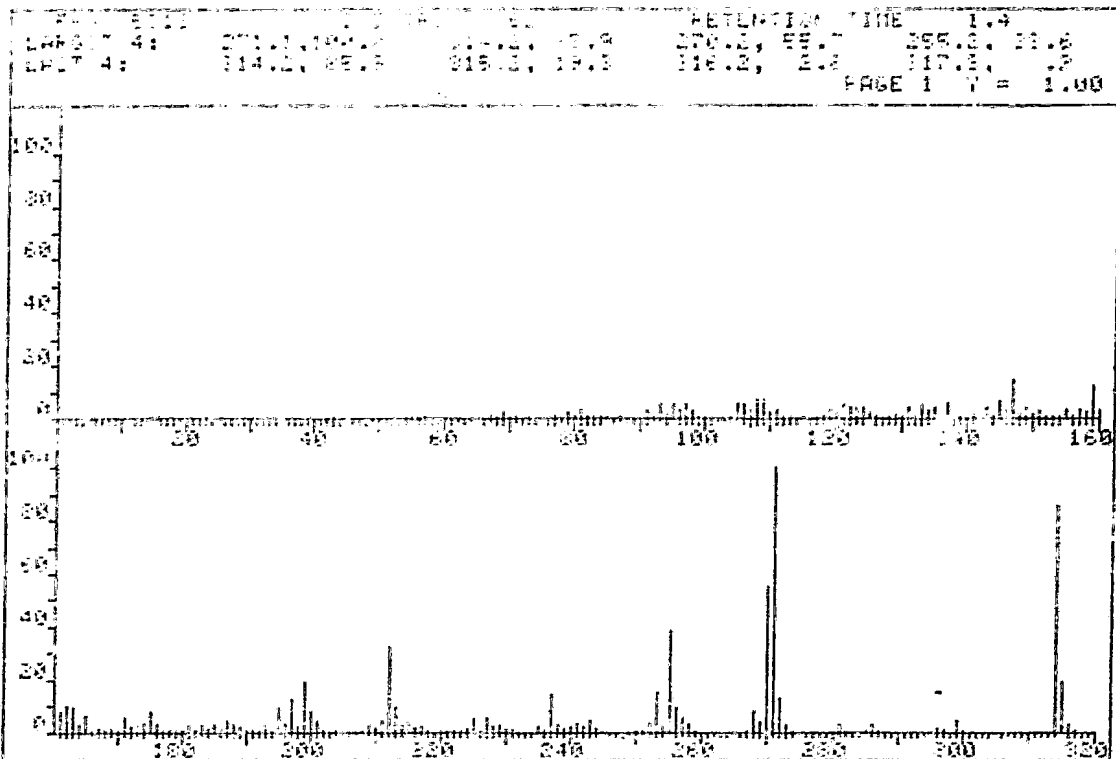
RESOLUTION FAST

BANDPASS (nm) 10

DATE 28/01/64 OPERATOR K V

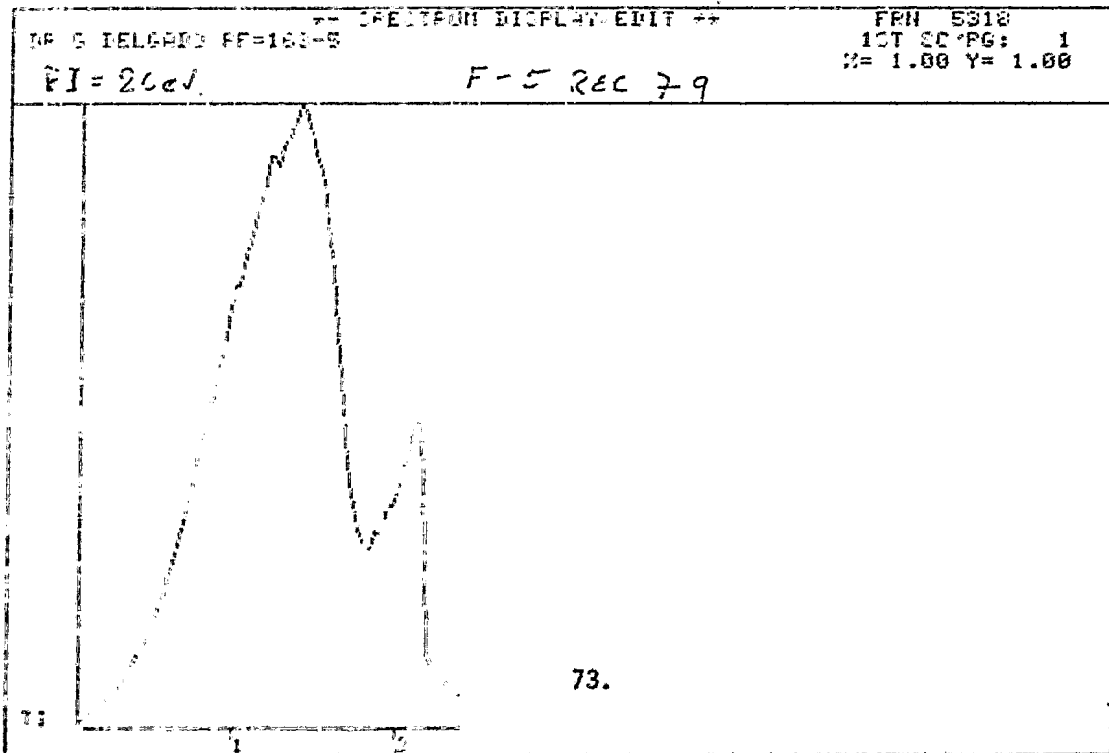


WAVENUMBER(CM ⁻¹)		MICROMETERS		WAVENUMBER(CM ⁻¹)		ORDINATE	
3000	2500	5.0	4.0	1000	800	100	0
REMARKS		SOLVENT		ABSCISSA		EXPANSION	
ESPECTRO 33		CONCENTRATION		EXPANSION		SCAN TIME	
V. MACHADO		CONTR. PATH		SUPPRESSION		RESPONSE	
		REFERENCE		TIME DRIVE		SPLIT PROGRAM	
				HIGH LIMIT		SINGLE BEAM	
				LOW LIMIT		PRE SAMPLE CHOPPER	



ESPECTRO 32

15-050-20000-DA-



IV. RESUMEN Y CONCLUSIONES.

IV. RESUMEN Y CONCLUSIONES.

Se analizaron químicamente dos especies de Viguiera: V. quinquerradiata y V. maculata Blake.

De V. quinquerradiata se analizaron dos poblaciones: De la primera población, se aisló el estigmasterol (XXVI), el ác. 15 α -angeloiloxi-ent-kaur-16-en-19-oico (XIV), el ác. 15 α -tigloiloxi-ent-kaur-16-en-19-oico (XV), un nuevo compuesto aromático, el 5,7,3'-trimetoxi-4'-hidroxi-flavan-3-ol (XXII) y la budlefina A (XIX).

De la segunda población se aisló el estigmasterol (XXVI), los ácidos diterpénicos 15 α -angeloiloxi-ent-kaur-16-en-19-oico (XIV) y 15 α -tigloiloxi-ent-kaur-16-en-19-oico (XV), se detectó la presencia del 5.7.3'-trimetoxi-4'-hidroxi-flavan-3-ol (XXII), la budlefina A (XIX) y la nueva molécula acetyl leptocarpina (XVIII).

De éstos resultados se deduce que ambas poblaciones tienen, en general, la misma composición y que las ligeras variaciones encontradas pueden deberse a diferentes ambientes ecológicos de ambas poblaciones.

De V. maculata, se aislaron los ácidos diterpénicos 15 α -hidroxi-ent-kaur-16-en-19-oico (XVI), y ác. ent-kaur-16-en-19-oico (XXIII), y una nueva lactona diterpénica a la que se asignó el nombre de 15-oxo-zoapatlina (XXIV).

Integrando los resultados obtenidos de los ---
constituyentes de las especies analizadas, se observa una-
concordancia con las relaciones filogenéticas del género.-
Las lactonas sesquiterpénicas aisladas de Viguiera quinque
radiata son típicas de éste género^{32(b)} mientras que los -
constituyentes diterpénicos aislados de ésta especie y de
Viguiera maculata son análogos a los aislados en otras es-
pecies y a los constituyentes de algunas especies de Heli-
anthus^{41(a)}, que es cercano filogenéticamente a Viguiera.

Estos resultados ayudan a delinear el perfil -
quimiotaxonómico de éste género, cuyas especies son de las
más distribuidas, variadas y abundantes de nuestro País, -
contribuyendo a la investigación de los recursos naturales
renovables disponibles. La aplicación práctica de las molé-
culas aisladas requiere una investigación interdisciplina-
ria que está aún por realizarse.

V. PARTE EXPERIMENTAL.

A.- Constituyentes de Viguiera quinquerradiata.

B.- Diterpenoides de Viguiera maculata.

Los especímenes analizados fueron clasificados por el Dr. Arthur Cronquist, profesor emérito del Jardín Botánico de Nueva York, E.U., durante su estancia en el Herbario Nacional de México, Instituto de Biología, UNAM, en octubre de 1980. Los especímenes se encuentran depositados en el Herbario Nacional, como se describe en la parte experimental.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fischer-Jones y no están corregidos. Las cromatografías en columna se efectuaron en sílica-gel 60 Merck (70-230 mesh ASTM). La pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones se siguió por cromatoplaque de sílica-gel Merck F-254, usando como revelador sulfato cérico al 1% en ác. sulfúrico 2N. Los espectros de IR fueron corridos en soluciones de CHCl_3 ó en pastilla de KBr. Los espectros de masas se determinaron en un espectrómetro Hewlett Packard 5985-B. Los espectros de RMN ^1H se determinaron en aparatos HA-100 y FT-80A Varian. Los desplazamientos químicos están dados en ppm referidos al tetrametilsilano como referencia interna. Los espectros de RMN ^{13}C se efectuaron en el espectrómetro FT-80A (20.1 MHz) tomando la misma referencia. Los análisis elementales fueron efectuados por el Dr. Franz Pascher, en Bonn, República Federal de Alemania.

A. Constituyentes de Viguiera quinqueradiata.

La V. quinqueradiata se trabajó en dos lotes-recolectados en lugares diferentes:

El lote colectado el 11 de Octubre de 1980 en la carretera N^o 90 a 5 Km al E de Tototlán Jalisco. Depósito en el Herbario Nacional, Instituto de Biología UNAM. Voucher: MEXU-ARV 0022, N^o de Registro 282551, se trabajó de la siguiente manera:

1740 gr. de planta seca se extrajeron tres veces consecutivas con cloroformo a reflujo y a temperatura ambiente, los extractos se reunieron y concentraron a presión reducida, el peso del extracto clorofórmico así obtenido fue de 140.5 gr.

El extracto clorofórmico se comparó por cromatografía en placa analítica en capa fina (CHCl_3 - Me_2CO 7:3) con las siguientes referencias en orden creciente de polaridad: Viguistenina R_1 (Rf: 0.5517) (XII), Desacetil viguistenina R_2 (Rf: 0.4827) (XIII), Budleína A R_3 (Rf: -- 0.3218) (XIX) y Budleína B R_4 (Rf: 0.2298) (X). Se usaron como reveladores, sulfato cérico, vainillina, y p-dimetil amino-benzaldehído.

La placa revelada con sulfato cérico, muestra que todas las referencias usadas revelan casi del mismo color (café-gris), a excepción de R_3 que revela con un co

lor amarillo. El extracto presenta mancha con el mismo Rf que R_1 , una mancha con el mismo Rf que R_3 y el mismo color, y otra mancha con Rf mayor que R_1 .

En la placa revelada con vainillina, sólo se observan las referencias R_4 y R_2 , el extracto presenta -- las manchas con Rf igual a R_1 (gris).

La placa revelada con p-dimetil-aminobenzaldehído tiene las siguientes características: R_1 revela con un color café-gris, R_2 revela con un color azul-morado, R_3 revela con un color amarillo y R_4 revela con un color café. El extracto revela una mancha con Rf igual a R_3 y el mismo color, la mancha con Rf igual a R_1 no se aprecia -- claramente por el color amarillo de la substancia; tam-- bién aparece la mancha con Rf mayor que R_1 color gris.

El extracto clorofórmico se dividió en dos -- porciones: la primera de ellas, con peso de 60 gr., se -- analizó por cromatografía en columna de vidrio empacada -- con 1860 gr. de sílice. La columna se eluyó inicialmente -- con una mezcla de disolventes de Hexano-Acetato de etilo- (7:3), aumentando gradualmente la polaridad hasta llegar -- a 100% de acetato de etilo.

Algunas de las fracciones eluidas con Hex-AcO Et (7:3) presentaron una mancha constante en CCF (Rf: --- 0.5235, $\text{CHCl}_3/\text{Me}_2\text{CO}$, 8:2), por lo que se reunieron, obteniéndose 2.591 gr. de residuo, éste se recromatografió en

una columna empacada con 130 gr. de sílice usando como mezcla eluyente, benceno-acetato de etilo (9:1).

De las fracciones menos polares de ésta cromatografía, cristalizaron de $\text{CHCl}_3/\text{iPro}_2\text{O}/\text{Me}_2\text{CO}$, 72.2 mg - de una sustancia cristalina en forma de agujas con P.f. - $218-9^\circ\text{C}$, cuyas propiedades físicas y espectroscópicas corresponden a la acetyl leptocarpina (XVIII). La muestra analíticas se obtuvo por recristalizaciones sucesivas de $\text{CHCl}_3/\text{iPro}_2\text{O}/\text{Me}_2\text{CO}$, P.f. $219-20^\circ\text{C}$.

* U.V. (MeOH) (espectro 8) λ_{max} 205 nm. (ϵ : 12514)

* I.R. (CHCl_3) (espectro 9) 1764, 1733, 1722, -- 1670, 1648 cm^{-1} .

* RMN ^1H -80 MHz (CDCl_3) (espectro 10) 2.83 ppm - (H-1, 1H, dd), 5.1-5.4 ppm (H-3, H-5, H-8, 3H, m), 6.12 -- ppm (H-6, 1H, dd, 2,11 Hz), 2.85 ppm (H-7, 1H, m), 6.34 -- ppm (H-13, 1H, d, 2 Hz), 5.72 ppm (H-13', 1H, d, 2 Hz), -- 1.49 ppm (14 CH_3 -, 3H, s), 1.88 ppm (15 CH_3 -, 3H, s), 6.08 - ppm (H-18, 1H, cc), 1.90 ppm (19 CH_3 , 3H, dt), 1.80 ppm (-- 20 CH_3 -, 3H, d), 2.10 ppm (CH_3 del acetato, 3H, s).

* RMN ^{13}C (CDCl_3) (espectro 11, tabla I).

* EM (espectro 28) m/z 404 (1%); M^+ -18, m/z 386 (1%); m/z 83 (M^+ $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}$, 100%); m/z 261 (28.2%); m/z 95.2 (20.6%).

* Análisis elemental calculado para $C_{22}H_{28}O_7$: - 65.33% C, 27.69% O, 6.98% H. Encontrado: 65.23% C, 27.6% O, 6.95% H.

* $[\alpha]_D^{25} = -112.8$ (MeOH, c.0.125).

Se comparó directamente con el producto de -- acetilación de leptocarpina (vide infra)

Algunas de las fracciones eluidas con Hex-AcO Et (50:50) presentaron una mancha constante en CCF (Rf: - 0.4409, $CHCl_3$ -MeOH, 98:2) por lo que se reunieron, obteniéndose 5.895 gr. de residuo, el cual se recromatografió en una columna empacada con 200 gr. de sílice, usando como eluyente una mezcla de disolventes de Hex-AcO-Et (8:2) De las fracciones más polares de ésta recromatografía --- cristalizaron 989.9 mg de Budleína A, P.f. 88-9°C. (XIX), que se comparó con una muestra auténtica obteniéndose resultados inequívocos de su identidad.

* I.R. ($CHCl_3$) (espectro 12) 3460, 1770, 1715.- 1650 cm^{-1} .

* RMN 1H -80 MHz ($CDCl_3$) (espectro 14 5.67 ppm (H-2, 1H, s), 6.18 ppm (H-5, 1H, dt, 1.5.6 Hz), 5.31 ppm (H-6, 1H, m), 3.75 ppm (H-7, 1H, m), 5.25 ppm (H-8, 1H, m) 2.27 ppm (H-9, 1H, dd, 4,16 Hz), 2.57 ppm (H-9', 1H, dd, - 6,16 Hz), 5.67 ppm (H-13, 1H, d, 4 Hz), 6.35 ppm (H-13', -

1H, d, 4 Hz), 1.5 ppm (14CH_3^- , 3H, s), 4.39 ppm (H-15, 2H dt), 6.08 ppm (H-18, 1H, cc), 1.93 ppm (19CH_3^- , 3H, m), - 1.80 ppm (20CH_3^- , 3H, m).

Obtención de la acetil budleína A (XXI) in situ

A una solución de budleína A (XIX) (35 mg) en CDCl_3 , en el tubo de resonancia, se le agregaron ca. 0.07 ml de isocianato de tricloroacetilo (ITA). Se dejó equilibrar 5 minutos y se corrió el espectro a diferentes intervalos de tiempo, con el objeto de observar si la molécula se descomponía al cabo de 18 horas. El espectro de RMP -- así obtenido, sólo difiere con el de la molécula original en el desplazamiento a campo bajo de los protones H-15.

* RMN ^1H -80 MHz (CDCl_3) (espectro 14) 4.97 ppm- (H-15, H-15', 2H, dt), 1.50 ppm (CH_3 del acetato, 3H, s).

* RMN ^{13}C (CDCl_3) (espectro 16, tabla I).

Obtención del acetato transpuesto de budleína A (XX).

229.1 mg de budleína A (XIX) en 2 ml de anhídrido acético, 1 ml de piridina, y 15 gotas de trietil -- amina, se dejaron reaccionar a temperatura ambiente si--- quiéndose el curso de la reacción por CCF. Después de 18- horas de reacción, desaparece la materia prima, se detiene la reacción con 5 ml de hielo. se extaio repetidas ve-

ces con solución al 10% de HCl y después con solución saturada de bicarbonato de sodio, y por último, con agua -- destilada. Se secó con sulfato de sodio anhidro, cristali^zando el acetato transpuesto de budleína A (XXI) de Me_2CO i Pro_2O , P.f. 155-6°C, 149.3 mg (56.9%).

* RMN ^{13}C (CDCl_3) (espectro 15, tabla I).

La segunda parte del extracto clorofórmico, -- 50 gr. se analizó por cromatografía en columna empacada - con 1600 gr. de sílice. usando como eluyente una mezcla - de Hex-AcO-Et (7:3), aumentando gradualmente la polaridad

Algunas de las fracciones eluidas con Hex-AcO Et (7:3) presentaron dos manchas constantes en CCF (Rf: - 0.5125, $\text{CHCl}_3/\text{Me}_2\text{CO}$, 95:5), por lo que se reunieron, obteⁿniéndose 1.4 gr. de residuo, el cual se recromatografió - en una columna empacada con 60 gr. de sílice usando como- eluyente una mezcla de disolventes de Hex-AcO-Et (9:1). De las fracciones menos polares cristalizaron 10 mg de la mezcla de ácidos diterpénicos 15α -angeloiloxi-ent-kaur-16-en-19-oico (XIV) y 15α -tigloiloxi-ent-kaur-16-en-19-oico- (XV), P.f. 179-80°C. Encontrándose en mayor proporción el primero.

* I.R. (CHCl_3) (espectro 3) 3490, 2530. 1700. - 1690. 1250. 900 cm^{-1} .

* RMN ^1H -80 MHz (CDCl_3) (espectro 4) 2.77 ppm-- (H-13, 1H, m), 5.05 ppm (H-15, 1H, s, ancho), 5.10 ppm (H-17, 1H, s, ancho); 5.34 ppm (H-17', 1H, s, ancho); 1.22 -- ppm (18CH_3 -, 3H, s); 2.05 ppm (24CH_3 -, 3H, m); 1.83 ppm -- (25CH_3 -, 3H, s).

De las fracciones más polares de las fracciones eluidas con Hex-AcO-Et (7:3) cristalizaron 53.8 mg de estigmasterol (XXVI) con P.f. 154-7°C.

Algunas de las fracciones eluidas con AcO-Et--Hex (7:3), presentaron una mancha constante en CCF por lo que se reunieron obteniéndose 517 mg de residuo, el cual se purificó por cromatoplaque preparativa de sílice utilizando como mezcla eluyente CHCl_3 - Me_2CO (8:2), que después de extraer con CHCl_3 se obtuvieron 16.5 mg de budleína A - P.f. 89-90°C ($\text{Me}_2\text{CO}/i\text{Pro}_2\text{O}$) que se comparó con la obtenida anteriormente, vide supra.

la segunda colección de Viguiera quinqueradita colectada el 11 de Octubre de 1980 en la carretera # 90 a 8 Km al W de Zapotlanejo, se trabajó de la siguiente manera:

1200 gr. de planta seca se extrajeron tres veces consecutivas con cloroformo a reflujo, durante una hora a temperatura ambiente, los extractos se reunieron y --

concentraron a presión reducida, el peso del extracto clorofórmico se analizó por cromatografía en columna empacada con 2500 gr. de sílice. La columna se eluyó inicialmente con una mezcla de disolventes de Hex-AcO-Et (7:3), aumentando gradualmente la polaridad hasta 100% de AcO-Et.

Algunas de las fracciones eluidas con Hex-AcO-Et (7:3) mostraron en CCF una mancha constante por lo que se reunieron obteniéndose 42.7 gr. de residuo, que se decoloró con carbón activado, obteniéndose después de eliminar el disolvente, 40.6 gr. de residuo, el cual se recromatografió en una columna empacada con 1200 gr. de sílice, eluyendo inicialmente con una mezcla de disolventes de Hex-AcO-Et (85:15).

De ésta recromatografía algunas de las fracciones eluidas con Hex-AcO-Et (85:15), presentaron una mancha constante en CCF (R_f : 0.5125, CHCl_3 - Me_2CO , 95:5), por lo que se reunieron, obteniéndose 4.14 gr. de residuo que se recromatografió en una columna empacada con 160 gr. de sílice, usando como eluyente, una mezcla de disolventes de Hex-AcO-Et (95:5).

De las fracciones menos polares cristalizaron 476.5 mg de una sustancia cristalina con P.f. 179-80°C (Hexano), cuyas propiedades físicas y espectroscópicas corresponden a una mezcla de ácidos diterpénicos 15α -angeloiloxi-ent-kaur-16-en-19-oico y 15α -tigloiloxi-ent-kaur-16-

en-19-oico obtenidos en la primera población de esta especie.

Por cristalización fraccionada se separó el ácido 15 α -angeloiloxi-ent-kaur-16-en-19-oico con P.f. 187-188°C, quedando en las aguas madres la mezcla de los ácidos.

* I.R. (CHCl₃) (espectro 1); 3490, 1700, 1690, 1250, 900 cm⁻¹.

* RMN ¹H-80 MHz (CDCl₃) (espectro 2) 2.77 ppm (H-13, 1H, m); 5.05 ppm (H-15, 1H, s, ancho); 5.10 ppm (H-17, 1H, s, ancho); 5.34 ppm (H-17', 1H, s, ancho); -0.85 ppm (CH₃-C₁₀, 3H, s); 6.08 ppm (H-23, 1H, m); 1.22 ppm (18CH₃-, 3H, s); 2.05 ppm (24CH₃-, 3H, m); 1.83 ppm (25CH₃-, 3H, s).

Obtención del ácido 15 α -hidroxi-ent-kaur-16-en-19-oico.

79.2 mg de la mezcla de ácidos diterpénicos - con 9.5 ml de solución de KOH al 5% en metanol, reaccionan a reflujo siguiendose la reacción con CCF. Después de 24 hrs. desaparece la materia prima y, procediendo de la manera usual, se obtienen 36.9 mg de producto -- P.f. 229-31°C (Me₂CO/iPro₂O). (XVI).

* I.R. (CHCl₃) (espectro 6) 3500, 1250, 900 - cm⁻¹.

* RMN ^1H -80 MHz (CDCl_3) (espectro 7); 2.73 ppm (H-13, 1H, m); 3.78 ppm (H-15, 1H, s); 5.05 ppm (H-17, -1H, s, ancho); 5.18 ppm (H-17', 1H, s, ancho); 1.25 ppm (18CH_3^- , 3H, s); 0.97 ppm (20CH_3^- , 3H, s).

* EM: m/z 318 ($\text{M}^+ \text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_3$, 7.9%); m/z 300 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$, 15.0%); m/z 285 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O} - \text{CH}_3$, 20%), m/z 260 ($\text{M}^+ - \text{C}_3\text{H}_6\text{O}$, 32%); m/z 121 (50%); m/z 93 (58%); m/z 91 (100%) m/z 81 (73%); m/z 79 (92.7%); m/z 55 (71.5%).

De las fracciones más polares de la cromatografía anterior cristalizaron 45.3 mg de estigmasterol (---XXVI) P.f. 166-7°C ya aislado en la población anterior.

Obtención del acetil estigmasterol.

38.7 mg de estigmasterol (XXVI) en 1 ml de piridina y 2 ml de anhídrido acético, se dejaron reaccionar con agitación durante dos horas. la reacción se siguió por CCF ($\text{CHCl}_3/\text{Me}_2\text{CO}$ 98:2). Se detiene la reacción con 5 ml de hielo, y procediendo de la manera usual, se obtienen 26.9 mg del acetil estigmasterol con P.f. 136-137°C.

Algunas de las fracciones eluidas con Hex-AcO-Et (50:50), mostraron una mancha constante en CCF (Rf: 0.3823, $\text{CHCl}_3/\text{Me}_2\text{CO}$, 8:2) por lo que se reunieron, obteniéndose 1.794 gr. de residuo, el cual se recromatografió en una columna empacada con 50 gr. de sílice, usando como eluyente una mezcla de disolventes de $\text{CHCl}_3\text{-Me}_2\text{CO}$ (95:5).

De esta recromatografía, las fracciones eluidas con $\text{CHCl}_3\text{-Me}_2\text{CO}$ (95:5), cristalizaron 28.6 mg de una sustancia cristalina con P.f. de $213\text{-}5^\circ\text{C}$, cuyas propiedades físicas y espectroscópicas corresponden a la leptocardina.

* I.R. (CHCl_3) (espectro 20) 3568, 1764, 1722, 1648, 900 cm^{-1} .

* RMN ^1H -80 MHz (CDCl_3) (espectro 21): 4.44 ppm (H-3, 1H, dd, 6, 3 Hz); 5.32 ppm (H-5, 1H, dd, 10 Hz); 6.59 ppm (H-6, 1H, dd, 2, 6 Hz); 2.90 ppm (H-7, 1H, m); 5.23 ppm (H-8, 1H, m); 6.32 ppm (H-13, 1H, d, 2 Hz); 5.75 ppm (H-13', 1H, d, 2 Hz); 1.48 ppm (14CH_3 -, 3H, s); 1.80 ppm (15CH_3 -, 3H, s); 6.08 ppm (H-18, 1H, cc); 1.90 ppm (19CH_3 -, 3H, m); 1.97 ppm (20CH_3 -, 3H, m)

* RMN ^{13}C (CDCl_3) (espectro 25, tabla I).

Acetilación de la leptocarpina.

125 mg de leptocarpina (XVII) en 1 ml de piridina y 3 ml de anhídrido acético, se dejaron reaccionar a temperatura ambiente, siguiéndose la reacción por CCF. Al cabo de 20 horas se detiene la reacción con 5 ml de hielo, y procediendo de la manera usual, se obtienen 98.3 mg de acetyl leptocarpina (XVIII) con P.f. de $219-20^\circ\text{C}$ idéntica en todos los aspectos (IR paralelo, RMP, EM, -- P.f.) a la obtenida en la población anterior vide supra.

Algunas de las fracciones más polares de la -- cromatografía inicial, presentaron una mancha roja en -- CCF (Rf: 0.3529, $\text{CHCl}_3/\text{Me}_2\text{CO}$, 8:2) por lo que se reunieron, obteniéndose 1.162 gr. de residuo, que se recromatografió en una columna empacada con 50 gr. de sílice, utilizando como eluyente cloroformo, de esta recromatografía, las fracciones que mostraron la mancha roja en CCF se reunieron obteniéndose 175.6 mg de residuo, el cual se purificó por placa preparativa de sílice, utilizando como mezcla eluyente $\text{CHCl}_3/\text{Me}_2\text{CO}$ (8:2), obteniéndose 18.1 mg de un polvo amarillo con P.f. de $155-6^\circ\text{C}$ que por recristalizaciones sucesivas de $\text{MeOH-iPro}_2\text{O}$ se obtuvieron 9.7 mg de una sustancia cristalina con P.f. de $158-9^\circ\text{C}$, cuyas propiedades físicas y espectroscópicas correspon--

den con el trans-5,7,3'-trimetoxi-4-hidroxi-flavan-3-ol (XXII).

* U.V. (MeOH) (espectro 13) λ_{\max} 204 (ϵ : 6112) 228 (ϵ : 22895), 278 (ϵ : 39935) nm.

* I.R. (CHCl_3) (espectro 18) 3500, 1616, 1585, 1490, 1450 cm^{-1} .

* RMN ^1H -80 MHz (CDCl_3) (espectro 19) 4.62 -- ppm (H-2, 1H, d, 8 Hz); 4.05 ppm (H-3, 1H, ddd, 10,8,6, Hz); 2.53 ppm (H-4, 1H, dd, 16,10 Hz); 3.01 ppm (H-4',- 1H, dd, 16, 6 Hz); 6.09 ppm (H-6, 1H, d, 3 Hz); 6.11 -- ppm (H-8, 1H, d, 3 Hz); 6.87 ppm (H-2', 1H, m); 6.93 -- ppm (H-5', H-6', 2H, m); 3.73 ppm (CH_3 -O en C_7 , 3H, s); 3.78 ppm (CH_3 -O en C_5 , 3H, s); 3.87 ppm (CH_3 -O en C_3 , 3H, s); 5.62 ppm (OH en C_4 , 1H, s).

* EM: (espectro 17) m/z 332 (M^+ , $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_6$, - 18%); m/z 301 (M^+ , CH_3O , 8.9 %); m/z 167.3 (M^+ , $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{O}_3$ 100%); m/z 137.2 (M^+ , $\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_2$, 50.5%).

Algunas de las fracciones eluidas con AcO-Et Hex (7:3), presentaron en CCF una mancha constante por lo que se reunieron estas, obteniendose 5.6 gr. de residuo, el cual se recromatografió en una columna de vi---drio empacada con 150 gr. de sílice usando como mezcla-

eluyente $\text{CHCl}_3\text{-Me}_2\text{CO}$ (9:1), aumentando gradualmente la polaridad. De las fracciones eluidas con $\text{CHCl}_3\text{-Me}_2\text{CO}$ -- (8:2) cristalizaron 1.1489 gr. de budleína A con P.f. de 89-90°C, la cual se identificó inequívocamente por comparación directa con una muestra auténtica de la sustancia, obtenida de la población anterior.

B. Diterpenoides de Viguiera maculata Blake

La V. maculata se colectó en la carretera 190- a 125 Km SSE de Izúcar de Matamoros, Puebla, en Octubre de 1981. Depósito en el Herbario Nacional. Instituto de Biología UNAM. Voucher MEXU-AOH 0021 N° de Registro 282569.

960 gr. de planta seca se extrajeron tres veces consecutivas con cloroformo a reflujo durante 1 hr. a temperatura ambiente, los extractos se reunieron y concentraron a presión reducida obteniéndose 34.69 gr. de extracto clorofórmico.

El extracto clorofórmico se analizó por cromatografía en columna de vidrio, empacada con 1200 gr. de sílice, eluyendo inicialmente con una mezcla de disolventes de Hexano-Acetato de etilo (7:3) y aumentando gradualmente la polaridad, concluyendo la cromatografía cuando se utilizó acetato de etilo como eluyente.

Algunas de las fracciones eluidas con Hex-AcO-Et (7:3) mostraron una mancha constante, por lo que se reunieron, obteniéndose 16.528 gr. de residuo, el cual se decoloró, primero con tonsil, y después con carbón activado obteniéndose 13.7 gr. de residuo, que se recromatografió en una columna empacada con 500 gr. de sílice eluyéndose con una mezcla de disolventes de Hexano-AcO-Et (8:2).

Se reunieron las fracciones menos polares obteniéndose 1.9 gr. de residuo, el cual se analizó en una columna de cromatografía empacada con 60 gr. de sílice, usando como mezcla eluyente Hexano-Acetato de etilo (9:1). De ésta recromatografía se obtuvieron 347.3 mg de la lactona-diterpénica 15-oxo-zoapatlina (XXIV) con P.f. 163-5°C (i-Pro₂O).

* U.V. (MeOH) (espectro 29) λ_{\max} 232 nm (ϵ :6083)

* I.R. (CHCl₃) (espectro 31) 1755, 1715, 1690, - 880 cm⁻¹.

* RMN ¹H-80 MHz (CDCl₃) (espectro 22) 2.87 ppm (H-13, 1H, m), 5.94 ppm (H-17, 1H, dd), 5.20 ppm (H-17', 1H, dd), 1.10 ppm (Me-C₉, 3H, s), 1.27 ppm (Me-C₄, 3H, s).

* RMN ¹³C (CDCl₃) (espectro 23) 39.15 ppm (C-1, t), 18.26 ppm (C-2, t), 30.19 ppm (C-3, t), 43.64 ppm (C-4 s), 52.00 ppm (C-5, d), 20.12 ppm (C-6, t), 31.08 ppm (C-7 t), 52.09 ppm (C-8, s), 47.51 ppm (C-9, s), 87.64 ppm (C-10, s), 25.71 ppm (C-11, t), 29.64 ppm (C-12, t), 37.62 ppm (C-13, d), 35.50 ppm (C-14, t), 210.39 ppm (C-15, t), 149.20 ppm (C-16, s), 114.92 ppm (C-17, t), 17.06 ppm (C-18, c), 180.27 ppm (C-19, s), 18.59 ppm (C-20, c).

* EM: (espectro 32) m/z 314 (M⁺, C₂₀H₂₆O₃), m/z 271.1 (M⁺, C₁₈H₂₃O₂, 100%), 270.2 (M⁺, C₁₈H₂₂O₂, 55.7%), m/z 255.2 (M⁺, C₁₇H₁₉O₂, 38.6%).

Algunas de las fracciones eluidas con Hex-AcO-Et (8:2), presentaron una mancha constante en CCF (Rf: --- 0.5714, $\text{CHCl}_3/\text{Me}_2\text{CO}$ 8:2) por lo que se reunieron obteniéndose 6.171 gr. de residuo, mismo que se recromatografió en una columna de vidrio empacada con 190 gr de sílice, con Hex-AcO-Et (9:1) como mezcla eluyente. De las fracciones eluidas con Hex-AcO-Et (8:2) se obtuvo una substancia cristalina 1.6287 gr. (Hexano) con P.f. 178-80°C cuyas propiedades físicas y espectroscópicas corresponden con las del ácido ent-kaur-16-en-19-oico (XXIII).

* IR CHCl_3 (espectro 26) 3490,1725,1655,1690 cm^{-1}

* RMP-80 MHz (CDCl_3) (espectro 27) 2.63 ppm (H-13, 1H, m); 4.77 ppm (H-17 y H-17', 2H, ancho) 1.27 ppm (Me-C₄, 3H, s); 0.98 ppm (Me-C₁₀, 3H, s).

Metilación del ácido ent-kaur-16-en-19-oico.

A una solución de 63.7 mg de ácido ent-kaur-16-en-19-oico (XXIII) en 20 ml de éter etílico se goteó solución etérea de diazometano hasta que dejó de desprenderse nitrógeno y el color amarillo presisitió. Después de 5 min de reposo se adicionaron gotas de ácido acético diluído -- hasta decoloración de la mezcla.

La mezcla se lavó primero con solución satura-

da de carbonato de sodio, y después con agua destilada --- tres veces consecutivas, separando la fase acuosa de la -- de la orgánica y concentrando ésta; se secó con sulfato de sodio anhidro obteniéndose 20.6 mg (MeOH) del éster metí-- lico del ácido, P.f. 83-5°C. (XXV).

De las fracciones eluidas con Hex-AcO-Et (6:4) de la cromatografía inicial cristalizaron 17.4 mg del áci-- do 15 α -hidroxi-ent-kaur-16-en-19-oico (XVI) idéntico en -- todos los aspectos al obtenido al hidrolizar los ácidos -- 15 α -angeloiloxi-ent-kaur-16-en-19-oico (XIV) y 15 α -tigloil-- oxi-ent-kaur-16-en-19-oico (XV) aislados previamente de -- V. quinquerediata.

VI. BIBLIOGRAFIA.

VI. BIBLIOGRAFIA

1. Thomas, R. Comprehensive Organic Chemistry. (Sir. Barton, D. and Ollis, W.D. eds.) Vol. 4, p. 870 (1979).
2. Quayle, J.R., Fuller, R.C. J. Amer. Chem. Soc. 76, - 3610 (1954).
3. (a) Herz, W., Recent Advances in Phytochemistry (Mabry, T.J., Alston, R. and Runeckles, V.C. eds.). p. 16- Appleton-Century-Crofts. New York. (1968).
 (b) Heywood, V.H., Harborne, J.B. and Turner, B.L. The Biology and Chemistry of the Compositae. (Heywood, V. H., Harborne, J.B. and Turner, B.L. eds.) Vol. 1 p. 11 Academic Press. London. (1977).
4. Heywood, V.H., Harborne, J.B. and Turner, B.L. The Biology and Chemistry of the Compositae. (Heywood, V.H., Harborne, J.B. and Turner, B.L. eds.) Vol. 1, p. 6 - Academic Press. London. (1977).
5. Turner, V.L. The Biology and Chemistry of the Compositae. (Heywood, V.H., Harborne, J.B. and Turner, B.L. - eds.) Vol. 1, p. 27. Academic Press, London. (1977).
6. Turner, V.L., The Biology and Chemistry of the Compositae. (Heywood, V.H., Harborne, J.B. and Turner, B.L. eds.) Vol. 1, p. 27. Academic Press. London. (1977).
7. Hegnauer, R. The Biology and Chemistry of the Compositae. (Heywood, V.H., Harborne, J.B. and Turner, B.L. - eds.) Vol. 1, p. 289. Academic Press. London. (1977)
7. Fisher, N.H., Olivier, E.J. and Fischer, H.D. The Biogenesis and Chemistry of Sesquiterpene Lactones. En: - Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. (Herz, W., Grisebach, H. and Kirby, G.W. eds.) ---

Vol. 38. p. 223. Springer-Verlag. Wien. (1979).

9. Rodriguez, F. Rev. Latinoamer. Quim. 8, 56-62 (1977).
10. Romo de Vivar, A. and Romo, J. Ciencia. 21, 31 (1961).
11. Burnett, W.C. Biochem. System. and Ecology. 2, 25 -- (1974).
12. Kupchan, S.H. J. Org. Chem. 41, 3481 (1976).
13. (a) Herout, V. Chemotaxonomy of the family Compositae (Asteraceae). En: Pharmacognosy and Phytochemistry. - (Wagner, M. and Horhambier, L. eds.). Wien: Springer. (1971).
- (b) Herout, V. and Sorm, F. Chemotaxonomy of Sesquiterpenoids of the Compositae. En: Perspectives in Phytochemistry. (Harborne, J.B. and Swain eds.). London -- and New York. Academic Press. (1977).
14. Rodriguez, E. Rev. Latinoamer. Quim. 8, 56 (1977).
15. Delgado Lamas, E. Guillermo; Tesis de Maestría, Facultad de Química. U.N.A.M. (1981).
16. Shimokoriyama, H. and Geissman, T.A. J. Org. Chem. 25, 1956 (1960).
17. Bohlman, F., Jakupovic, J., Ahmed, M. Phytochemistry, - 20, 113-6 (1981).
18. Delgado, G., Romo de Vivar, A., Ortega, A. y Cárdenas, J. Phytochemistry (1983) en Prensa.
19. Cuevas, L.A., García Jiménez, F., Romo de Vivar, A. Rev. Latinoamer. Quim. 3, 22-7 (1972).
20. Ortega, A., Lara, R., Martínez, R. Phytochemistry. 19, - 1545-6 (1980).
21. Romo de Vivar, A., Guerrero, C., Díaz, E. Phytochemistry 15, 527 (1976).

22. Guerrero, C., Ortega, A., Díaz, E., Romo de Vivar, A. --
Rev. Latinoamer. Quim. 4, 118-26 (1973).
23. Delgado, G., Romo de Vivar, A. and Herz, W. Phytoche---
mistry. 21, 1305-8 (1982).
24. Romo de Vivar, A., Delgado, G., Guerrero, C., Reséndiz-
J. and Ortega, A. Rev. Latinoamer. Quim. 9, 171 ---
(1978).
25. Picman, A. Visualization Reagents for Sesquiterpene--
Lactones and Polyacetyles on thin-layer chromato--
gramas. Journal of Chromatography. 189, p. 187-98 --
(1981).
26. Esahak Ali, P.P., Ghosh, D. and Pakrashi, C. J. Indian
Chem. Soc. 51, 409-18 (1974).
27. Bohlmann, F. und LeVan, N. Phytochemistry. 16, 579-81-
(1977).
28. Schteingart, C. and Pomilio, B.A. Phytochemistry. 20, -
2589-90 (1981).
29. Tomassini, C.B. and Oliveira, M.A. Phytochemistry 18, -
663-4 (1979).
30. (a) Wehrli, W.F. and Nishida, T. Progress in the Che--
mistry of Organic Natural Products (Zechmeister, L.--
Herz, W., Grisebach, H. and Kirby, N.G. eds.) Vol. 36 -
p. 50-52 Wien. Springer-Verlag. New York (1979).
(b) Baruah, C.N., Sharma, P.R., Madhusudanan, P.K. and-
Thyagarajan, G. J. Org. Chem. 44, 1831-5 (1979).
31. (a) Herz, W. and Wahlberg, I.J. Org. Chem. 38, 2485 --
(1973).
(b) Baruah, N.C., Sharma, R.P., Madhusudanan, K.P., Thy-
agarajan, G., Herz, W. and Murari, R. J. Org. Chem. 44,
1831 (1979).

32. (a) Romo de Vivar, A., Guerrero, C., Díaz, E., Bratoeff, E.A. and Jiménez, L. Phytochemistry **15**, 525 (1976).
(b) Delgado, G., Romo de Vivar, A. and Herz, W. Phytochemistry **21**, 1305 (1982).
33. (a) Herz, E. and Kumar, N. Phytochemistry **20**, 99-104 -- (1981).
(b) Romo de Vivar, A., Delgado, G., Guerrero, C., Resendiz, J. y Ortega, A. Rev. Latinoamer. Quím. **9**, 171-4 -- (1978).
34. Mabry, T.J., Markham, R.K. and Thomas, M.B. The Systematic Identification of Flavonoids. p. 275-343. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg. New York (1970).
35. Mabry, T.J. and Markham, R.K. Mass Spectrometry of Flavonoids. En: The Flavonoids (Harborne, B.J., Mabry, T.J. and Mabry, H. eds.) Cap. 3, p. 78-126. Chapman and Hall. London. (1975).
36. Silverstein, M.R., Bassler, C. and Morrill, C.T. Spectrometric Identification of Organic Compounds. John & Sons. Inc. New York, N. Y., U.S.A. (1974).
37. Martínez, J.R., Ayamante, S.I., Núñez-Alarcón, J.A. Phytochemistry **18**, 1527-8 (1979).
38. Ibid., Ref. 30
39. Cannon, J.R., Chow, P.W., Jefferies, P.R. Aust. J. Chem. **19**, 861-7 (1966).
40. González, G.A., Fraga, M.B., Hernández, G.M. and Hanson-R.J. Phytochemistry **20**, 846-7 (1981).
41. (a) Ohno, N., Mabry, J.M., Zabel, V. and Watson, H.W. Phytochemistry **18**, 1687-9 (1979).
(b) Caballero, Y. y Walls, F. Bol. Inst. Quím. U.N.A.M. **20**, 79-102 (1970).