

10
29

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



AISLAMIENTO Y DETERMINACION ESTRUCTURAL DE LOS SESQUITERPENOS DE UNA POBLACION DE

Ambrosia confertiflora



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

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
MARIA ISABEL CHAVEZ URIBE

MEXICO D. F.

1987



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está 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.

C O N T E N I D O

INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	3
DISCUSION DE RESULTADOS	15
PARTE EXPERIMENTAL	38
ESPECTROS	
rmn'H (CDCl ₃) : psilostaquina	57
rmn'H (CDCl ₃) : psilostaquina B	58
rmn'H (CDCl ₃) : psilostaquina C	59
rmn'H (CDCl ₃) : desacetilconfertiflorina	60
rmn'H (CDCl ₃) : 1'-nor-altamisina	61
rmn'H (CDCl ₃) : anhidro-1'-nor-altamisina	62
rmn'H (CDCl ₃) : (11R)-13-OCH ₃ -11,13-dihidro-1'- nor-altamisina	63
rmn'H (CDCl ₃) : (11R)-11,13-dihidro-psilostaquina	64
rmn'H (CDCl ₃) : (11S)-11,13-dihidro-psilostaquina	65
RESUMEN Y CONCLUSIONES	66
BIBLIOGRAFIA	67

INTRODUCCION

INTRODUCCION

El análisis químico de plantas pertenecientes a la familia de las compuestas representa en México una línea de investigación que se ha cultivado desde hace aproximadamente tres décadas,¹ debido en parte a la variedad y abundancia de este grupo de plantas en nuestro país.²

La integración de los resultados obtenidos por los numerosos grupos de investigación en el mundo han permitido establecer el perfil químico de esta familia, que en términos generales, está constituido por terpenoides, flavonoides y compuestos acetilénicos.³ Sin embargo es de tomar en cuenta las variables a que esta sujeto un análisis fitoquímico, entre los cuales podemos mencionar principalmente la variada metodología experimental aplicada por diversos grupos de investigación, la sensibilidad de los instrumentos analíticos disponibles y el diferente estado de madurez de las plantas que se analizan.

A pesar de las variables mencionadas, se han realizado revisiones de los metabolitos secundarios de diferentes grupos de plantas que constituyen la familia, integrándolos a su división botánica. Esto ha permitido establecer con cierto grado de confiabilidad a los constituyentes químicos como indicadores taxonómicos, es decir, correlacionar ciertas estructuras químicas con algunos grupos de plantas.⁴

Los diversos aspectos sobre química y biología de las compuestas se encuentran reseñados en los volúmenes editados por Heywood, Har-

borne y Turner donde se describen características morfológicas, usos económicos y farmacéuticos, citología cromosomal, aspectos evolutivos y constituyentes químicos, entre otros temas, de este grupo de plantas.³



ANTECEDENTES

A N T E C E D E N T E S

El género *Ambrosia* (Compositae), se localiza principalmente en Norteamérica y es conocido por su contribución de polen alérgeno a la atmósfera.⁵

Durante varios años este género ha sido tema de estudio de varios grupos de investigación, encontrándose como constituyentes principales lactonas sesquiterpénicas, las cuales como se ha mencionado, son constituyentes característicos de las plantas de la familia de las compuestas.

Los resultados de estas investigaciones fueron recopilados en 1970 por Yoshioka, Mabry y Timmermann y en esta revisión se describen los constituyentes químicos de 42 especies de *Ambrosia*, de las cuales se aislan aproximadamente treinta lactonas sesquiterpénicas diferentes y estos resultados se integran a la distribución geográfica del género.⁵

Esto último demostró que distintas poblaciones de la misma especie contienen diferente composición química y a esta diversidad se le denomina variación infraespecífica.

De 1970 a la fecha, se han reportado los constituyentes químicos de otras poblaciones de especies previamente analizadas y los componentes de *A. elatior*.

Parte de estos resultados se muestran en la Tabla I, en la cual se enlistan las sustancias que no habían sido aisladas de las especies indicadas. Algunas de ellas representaron nuevos metabolitos secundarios y otras se aislaron originalmente de otras plantas.

Las sustancias referidas en la revisión de Mabry⁵ como constituyentes de estas especies no se enlistan.

Estos constituyentes se reseñan a continuación:

De *A. artemisiifolia* colectada en Japón se aisló el ác. ambrósico (1),⁶ y las pseudoguayanólidas 2 y 3 se caracterizaron de una población europea.⁷ La psilostaquina B (4)⁸ y C (5)⁹ también son constituyentes de esta especie. Por otro lado, se ha reportado también la composición química del aceite esencial.¹⁰

Las seco-pseudoguayanólidas psilostaquina B (4), canambina (6) y cordilina (7) se han obtenido de *A. cordifolia*.¹¹ El sesquiterpeno germacreno D (8), la cromanona (9) y las pseudoguayanólidas neoambrosina (10) y 2,3-(2H)-2,3-epoxiambrosina (11), son constituyentes, entre otras sustancias, de una población de *A. cumanensis*,¹² mientras que la altamisina (12) se obtuvo de otra población.¹² Trabajos sucesivos de *A. cumanensis* permitieron la caracterización de la paulitina (13), isopaulitina (14),^{14a,b} la lagosina (15)¹⁵ y 10 α -hidroxi-psilostaquina C (16).¹⁶ También se han aislado compuestos aromáticos,¹⁶ acetilenos,¹² esteroides y triterpenos¹⁷ de esta especie.

De *A. dumosa* se caracterizó la dumsina (cuya estructura debe corresponder a la paulitina (13) o a la isopaulitina (14), ya que los autores no establecen la orientación del epóxido).¹⁸ 4, 6, 7¹⁸ así como el flavonoide 8, 3'-dimetoxi-5, 7, 4'-trihidroxi-flavona (38)¹⁹ son constituyentes de esta especie.

Diversos triterpenoides, hidrocarburos, ácidos grasos, amino-

ácidos, ácido cítrico, fructosa así como el ácido ambrósico (1) se han obtenido del polen de *A. elatior*.²⁰

De *A. hispida* se aislaron entre otras sustancias, el ácido damscínico (17), la neambrosina (10), el éster del ácido damscínico y 2-hidroxi-ambrosina (18) y el ácido diterpénico (19).²¹

Las ambrosanólidas 10, 20 - 24²² y 25²³ se han reportado como metabolitos secundarios de *A. maritima*.

Por otro lado las eudesmanólidas ivaspirina (26) y granilina (27) son constituyentes de *A. polistachya* colectada en Brasil.²⁴

El análisis fitoquímico de diversas poblaciones argentinas de *A. tenuifolia* permitió la caracterización de 1, las ambrosanólidas 28, 29 y 30 y las seco-ambrosanólidas 4, 12 y 31.²⁵

La costunólida (32) es constituyente entre otras sustancias, de *A. camphorata*.²⁶

A. confertiflora posee una gran variedad de sustancias sesquiterpénicas como se ha reseñado previamente.⁵ El dihidrocitral,²⁷ un monoterpeno aislado de esta especie, se adiciona a la lista de constituyentes químicos de ésta.

Finalmente, existen algunas especies de las cuales no se han detectado lactonas sesquiterpénicas, entre estas se encuentra *A. grayi*, de la cual se caracterizaron los flavonoles metilados 33 - 36,²⁸ y de *A. eriocentra* se aisló 5,4'-dihidroxi-3,7-dimetoxi-flavona (37).²⁹

La revisión descrita confirma la variación infraespecífica existente en la composición química de las diferentes poblaciones de

especies de *Ambrosia*.

A. confertiflora, que es la planta en estudio de este trabajo, ha sido analizada en diversas ocasiones, obteniéndose lactonas sesquiterpénicas de primer, segundo y tercer paso biogénéticos como se ha reportado en la literatura.⁵ El análisis fitoquímico exhaustivo de una población colectada en Zacatecas, que se describe en este trabajo, permitió la caracterización de nueve sustancias diferentes, algunas de las cuales representan nuevos productos naturales. Las conclusiones derivadas de esta investigación se describen en la parte final y la determinación de la estructura molecular de las sustancias aisladas se describe en el capítulo de la discusión de los resultados.

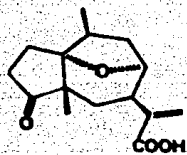
Tabla 1. Constituyentes químicos de especies de *Ambrosia* reportados después de la revisión de Mabry.⁵ No se enlistan las sustancias referidas en esta revisión como constituyentes de las especies indicadas.

Especies	Constituyentes químicos	Estructura	Referencia
<i>A. artemisiifolia</i>	ácido ambrósico	(1)	6
	8-acetoxi-3-oxo-pseudoguayan-6,12-ólido	(2)	7
	4-hidroxi-3-oxo-pseudoguayan-6,12-ólido	(3)	
	psilostaquina C	(5)	9
	psilostaquina B	(4)	8
	aceites esenciales		10
<i>A. camphorata</i>	costunólido	(32)	26
<i>A. confertiflora</i>	dehidrocitral		27
<i>A. cordifolia</i>	canambrina	(6)	11
	cordilina	(7)	
	psilostaquina B	(4)	
<i>A. cumanensis</i>	germacreno D	(8)	12
	6-acetil-2,2-dimetil-croman-4-ona	(9)	
	acetil lupeol		
	neoambrosina	(10)	

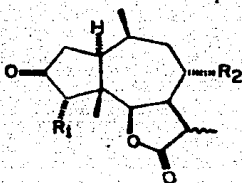
	ácido ambrósico aminoácidos ácido cítrico fructosa	(1)	
<i>A. eriocentra</i>	5,4'-dihidroxi-3,7-dimetoxi-flavona	(37)	29
<i>A. grayi nelson</i>	7-hidroxi-3,5,6,3',4'-pentametoxi-flavona	(33)	28
	5,7,4'-trihidroxi-3,6-dimetoxi-flavona	(34)	
	5,7,4'-trihidroxi-3,6,8,-trimetoxi-flavona	(35)	
	5,7-dihidroxi-3,6,8,4'-tetrametoxi-flavona	(36)	
<i>A. hispida</i>	neoambrosina	(10)	21
	ácido damsínico	(17)	
	ácido 12-oxo-ent-kaur-9(11),16-dien-19-oico	(19)	
	éster de ácido damsínico y 2-hidroxi-ambrosina	(18)	
<i>A. maritima</i>	parthenina	(20)	22
	neoambrosina	(10)	
	isodamsina	(21)	
	13-hidroxi-isodamsina	(22)	
	3-oxo-damsina	(23)	
	(11S)-11,13-dihidroxi-damsina	(24)	

	2,3 (2H),2,3-epoxi-am- brosina	(11)	
	tres compuestos acetile- nicos		
	altamisina	(12)	13
	paulitina	(13)	14a y 14b
	isopaulitina	(14)	
	lagosina	(15)	15
	10 α -hidroxi-isopsilosta- quina C	(16)	16
	4-hidroxi-3-metoxi-cina- maldehído (coniferalde- hído)		
	4-hidroxi-3,5-dimetil- benzaldehído		
	alcanos		17
	esteroles		
	triterpenos		
<i>A. dumosa</i>	psilostaquina B	(4)	18
	canambrina	(6)	
	cordilina	(7)	
	dumosina	(14)	
	8,3'-dimetoxi-5,7,4'- trimetoxi-flavona	(38)	19
<i>A. elatior</i>	constituyentes del polen:		20
	hidrocarburos, α , β ami- rin, α -amirin acetato		
	ácidos grasos		
	β -sitosterol		
	campesterol		

	himenina	(25)	23
<i>A. polistachya</i>	ivasperina	(26)	24
	granilina	(27)	
<i>A. tenuifolia</i>	peruvina	(28)	25
	ácido ambrósico	(1)	
	11,13-dihidro-psilosta- quina C	(29)	
	psilostaquina C	(5)	
	altamisina	(12)	
	ácido altamísico	(31)	
	cumanina	(30)	



(1)



(2)

R₁

H

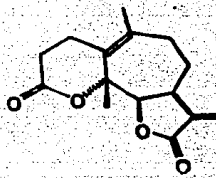
R₂

OAc

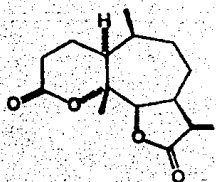
(3)

OH

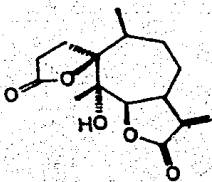
H



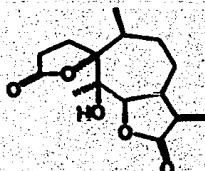
(4)



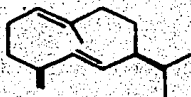
(5)



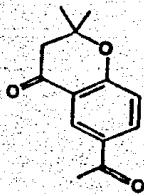
(6)



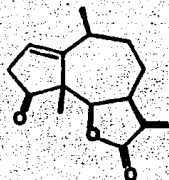
(7)



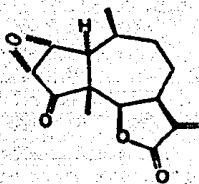
(8)



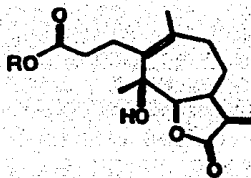
(9)



(10)

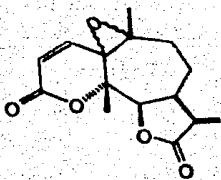


(11)



R = -CH₂CH₃ (12)

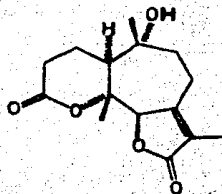
R = H (31)



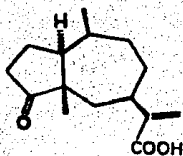
(13) (1,10) α -epoxi

(14) (1,10) β -epoxi

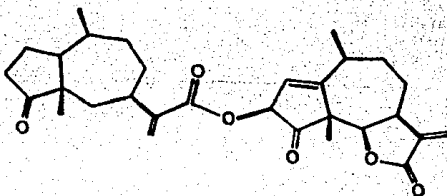
(15) 2,3-dihydro-
(1,10) α -epoxi



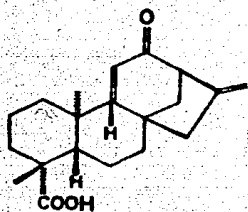
(16)



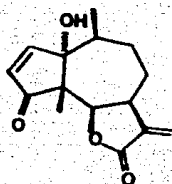
(17)



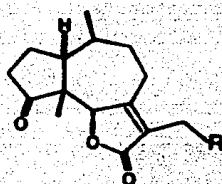
(18)



(19)

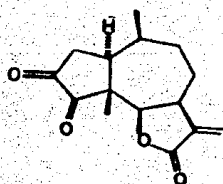


(20)

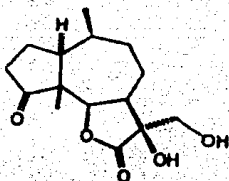


R= H (21)

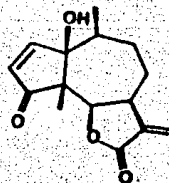
R= OH (22)



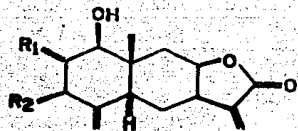
(23)



(24)



(25)



(26)

(27)

R₁

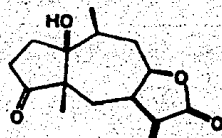
OH

H

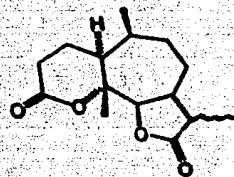
R₂

H

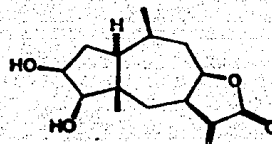
OH



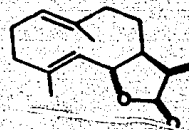
(28)



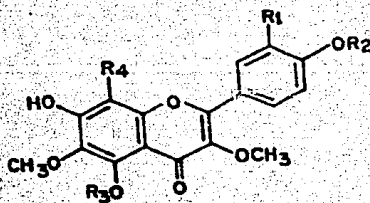
(29)



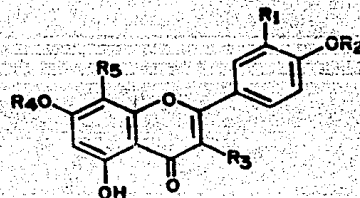
(30)



(32)



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
(33)	OCH ₃	CH ₃	CH ₃	H
(34)	H	H	H	H
(35)	H	H	H	OCH ₃
(36)	H	CH ₃	H	OCH ₃



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
(37)	H	H	OCH ₃	CH ₃	H
(38)	OCH ₃	CH ₃	H	H	OCH ₃

DISCUSION DE RESULTADOS

Cromatografías sucesivas del extracto orgánico de *Ambrosia confertiflora* permitieron el aislamiento de nueve metabolitos secundarios los cuales son: siete sesquiterpenos y dos esteroides. Dos de los sesquiterpenos representaron nuevos productos naturales.

La determinación estructural de estas sustancias se describe a continuación:

Entre las sustancias sesquiterpénicas se caracterizaron tres seco-ambrosanólidas previamente reportadas en la literatura.

La primera tiene peso molecular de 280 establecido por espectrometría de masas y fórmula molecular $C_{15}H_{20}O_5$, de acuerdo a las siguientes evidencias. En el espectro de ir presentó banda característica en 3588 cm^{-1} de hidroxilo, el cual es terciario, ya que al someter la sustancia a condiciones normales de acetilación, se recupera inalterada. También se observa una señal amplia en 1767 cm^{-1} que corresponde por lo menos, a un carbonilo de γ -lactona.

El espectro de $\text{rnm}'\text{H}$ (espectro 1), mostró el par de dobletes en $\delta 6.25$ y $\delta 5.58$ $J=3.5\text{ Hz}$ característico de los protones vinílicos del metileno exocíclico conjugado con la γ -lactona, que de acuerdo a la numeración de las lactonas sesquiterpénicas, debe corresponder a H-13 y H-13' respectivamente. Se observa también un doblete centrado en $\delta 4.94$ que por su desplazamiento químico corresponde a la base de la lactona y por su multiplicidad, se encuentra vecino sólo a un protón, el cual debe corresponder a H-7, el cual se manifiesta como un multiplete en $\delta 3.40$. El doblete que integra para tres protones centrado en $\delta 1.03$ $J=7$

Hz corresponde a un metilo secundario y el singulete en $\delta 1.21$ que integra para tres hidrógenos debe corresponder a un metilo unido a carbono cuaternario base de oxígeno. Los diez protones descritos son los únicos asignables en el espectro de resonancia magnética nuclear.

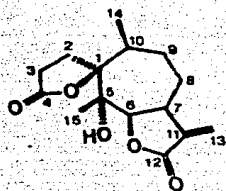
En este mismo espectro, entre $\delta 3.00$ y $\delta 1.30$ se observan señales complejas que integran para diez protones adicionales, una de las cuales debe corresponder al protón hidroxílico, por lo que en total, la molécula posee veinte hidrógenos, como se había mencionado previamente.

Las señales en la región de $\delta 3.00 - 2.50$ sugieren la presencia de hidrógenos vecinos a un grupo electro atractor, tal como el grupo carbonilo. La banda amplia en 1767 cm^{-1} sugiere que este carbonilo se encuentra formando parte de un segundo grupo γ -lactónico, ya que no hay absorciones adicionales en esta región en el ir, lo cual está de acuerdo con la fórmula molecular de la substancia, que incorpora cinco oxígenos (cuatro de las dos lactonas y uno del hidroxilo). La ausencia de protones base de este segundo agrupamiento lactónico indican un cierre a un carbono cuaternario.

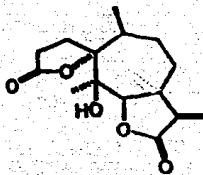
Esta discusión permite proponer la estructura de una γ -dilactona con el esqueleto de seco-ambrosanólida.

Se han reportado en la literatura tres γ -dilactonas aisladas de *Ambrosia* como productos naturales, la psilostaquina (39),³⁰ la canambрина (6)³¹ y la cordilina (7).¹¹

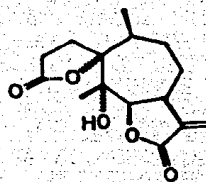
La discriminación entre las estructuras mencionadas se realizó en base a la comparación detallada de los datos físicos y espectros-



(6)



(7)



(39)

cópicos, y permite concluir que el producto natural aislado de *A. con-*
fertiflora es la psilostaquina (39).

La comparación directa con una muestra auténtica, confirma la
identidad de esta substancia.

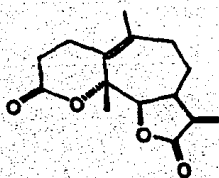
La segunda substancia de este grupo es un compuesto cristali-
no de peso molecular 262, establecido por espectrometría de masas. En
ir mostró señales en 1770 cm^{-1} de carbonilo de γ -lactona y en 1740 cm^{-1}
de otro carbonilo, presumiblemente de éster ó de δ -lactona, por lo que
la molécula posee al menos cuatro oxígenos. En 1664 cm^{-1} y 1624 cm^{-1} se
observan absorciones correspondientes a doble enlace carbono-carbono.

El espectro de rnm^1H (espectro 2) muestra las señales que ca-
racterizan a los protones del metileno exocíclico de una γ -lactona ses-
quiterpénica ($\delta 6.23, \underline{d}$, $J= 3\text{ Hz}$, H-13 y $\delta 5.51, \underline{d}$, $J= 3\text{ Hz}$, H-13').
El protón geminal al oxígeno etéreo de este agrupamiento se observa en
 $\delta 4.77$ (\underline{d} , $J= 9\text{ Hz}$, H-6) y el protón alílico H-7 aparece en $\delta 3.40$. La

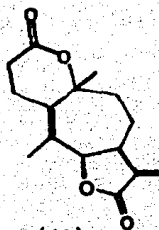
molécula posee un metilo vinílico y un metilo unido a un carbono cuaternario base de oxígeno, ya que se observan señales simples que integran para tres protones en $\delta 1.75$ y $\delta 1.52$, respectivamente.

El área bajo la curva en el espectro de $\text{rnm}'\text{H}$ integra para 18 protones, y considerando cuatro oxígenos (ir) y quince carbonos, se deduce una fórmula molecular de $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_4$, que es consistente con el ión molecular observado en em, y por lo tanto, este compuesto tiene siete insaturaciones..

La ausencia de protones vinílicos en $\text{rnm}'\text{H}$ indica un doble enlace tetrasustituído en donde se ubica el metilo vinílico centrado en $\delta 1.75$, y por lo tanto, tomando en consideración el número de insaturaciones, se establece la existencia de una δ -lactona, en cuyo carbono cuaternario etéreo se encuentra unido un metilo ($\delta 1.52$), y permite la proposición de las estructuras 4 y 40 para esta substancia.



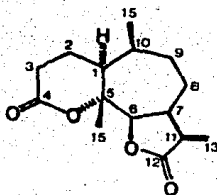
(4)



(40)

La comparación con los datos físicos y espectroscópicos reportados para la psilostaquina B (4)³² con los del producto natural en cuestión establecen la identidad de ambas sustancias.

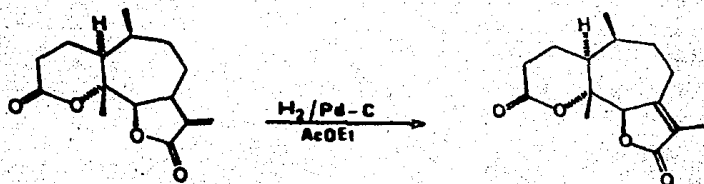
La siguiente sustancia de este grupo tiene absorciones en ir en 1769, 1729 y 1601 cm^{-1} , que corresponden a γ -lactona, δ -lactona tentativamente y doble enlace carbono-carbono, respectivamente. El espectro de $\text{rnm}'\text{H}$ (espectro 3) muestra semejanzas significativas con respecto al de la psilostaquina B (4), ya que se observan los protones H-13 y H-13' ($\delta 6.24$, d, $J=3\text{Hz}$ y $\delta 5.49$, d, $J=3\text{Hz}$), el protón H-6, base de la lactona ($\delta 4.69$, d, $J=9.5\text{Hz}$) y el protón alílico H-7 ($\delta 3.41$, m). Se observa también el metilo unido a C-5, base de oxígeno, en $\delta 1.30$, y la señal del metilo $^{14}\text{CH}_3$, que en la psilostaquina B (4) es vinílico, aparece ahora como doblete centrado en 1.02 (d, $J=7\text{Hz}$), por lo que se deduce que este compuesto es el C(1)-C(10) dihidroderivado de la psilostaquina B (4), y esta deducción es consistente con el peso molecular obtenido por espectrometría de masas ($|\text{M}|^+ 264$), por lo que se puede proponer la estructura 5 para este producto natural, que corresponde a la psilostaquina-C (5), también reportada previamente.³³



(5)

Para comprobar esta proposición, se procedió a la obtención de algunos derivados, y se optó inicialmente por la isopsilostaquina C (41), que se produce al someter a condiciones de hidrogenación catalítica a la psilostaquina C (5).

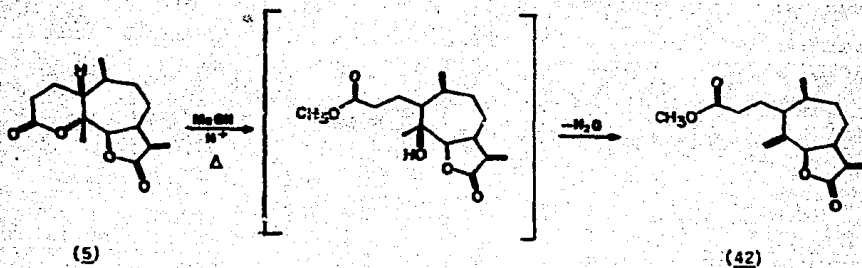
En efecto, al someter a condiciones de hidrogenación catalítica a la psilostaquina C (5), se obtiene la isopsilostaquina C (41) en cuyo espectro de $\text{rnm}'\text{H}$ ya no se observan el par de dobletes de los protones vinílicos del metileno exocíclico, sino que aparece una señal en $\delta 1.86$ del metilo α al carbonilo lactónico, de acuerdo a los datos reportados en la literatura.³³



Por otro lado, también se trató la psilostaquina C (5) en medio ácido y se obtuvo el éster metílico deshidratado (42), que se produce por la apertura de la δ -lactona y eliminación del hidroxilo intermedio en C-5 (esquema 1). La sustancia 42 muestra en su espectro de $\text{rnm}'\text{H}$ las señales características de los protones vinílicos H-13 y H-13' de la doble ligadura exocíclica, centrados en $\delta 6.25$ y $\delta 5.53$ respectivamente, dos dobletes desplazados en $\delta 5.37$ y $\delta 4.88$ correspondientes a los protones H-15 y H-15', así como una señal centrada en $\delta 3.65$ que corresponde al grupo metoxilo del éster metílico, también un doblete en $\delta 0.82$ para el metilo $^{14}\text{CH}_3$.

Estos datos son consistentes con los reportados en la literatura³³ por lo que se confirma la estructura de la psilostaquina C (5).

Esquema - 1

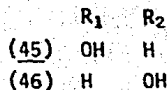
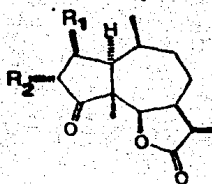
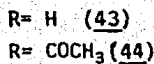
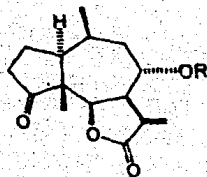


Una de las sustancias obtenidas de las fracciones más polares de la cromatografía inicial resultó corresponder a la desacetil conferitiflorina (43), de acuerdo a la descripción siguiente.

Esta sustancia mostró en su espectro de ir una señal en 3597 cm^{-1} que indica la presencia de hidroxilo, en 1764 cm^{-1} se encuentra la señal característica de carbonilo de γ -lactona- α,β -no saturada. En 1743 cm^{-1} se observa otra absorción para otro grupo carbonilo y una señal en 1655 cm^{-1} de doble enlace carbono-carbono. La absorción en 212 nm (ϵ 9313) en el espectro de uv confirma la existencia de un carbonilo α,β -insaturado. En mm^1H (espectro 4) muestra un par de señales desplazadas en 66.31, \underline{d} , $J=3\text{Hz}$ y 65.93, \underline{d} , $J=3\text{Hz}$, correspondientes a los protones vinílicos de la doble ligadura exocíclica de la γ -lactona sesquiterpénica. La comparación de estos datos con las sustancias descritas anteriormente per-

mite suponer que esta substancia es una lactona sesquiterpénica, ya que también aparecen el doblete característico en $\delta 4.59$ ($J=9\text{Hz}$) para el protón H-6 base de la lactona, y la señal del protón alílico H-7 en $\delta 3.27$ ($\underline{d}, \underline{d}, \underline{d}, \underline{d}, J_{6,7} = J_{7,8} = 9\text{Hz}, J_{7,13} = J_{7,13'} = 3\text{Hz}$). Esta substancia posee un protón base de oxígeno ya que se observa un multiplete en $\delta 4.18$ que presumiblemente es el protón geminal a un hidroxilo. A campo alto se observan: un doblete que corresponde al metilo $^{14}\text{CH}_3$ y un singulete para el metilo $^{15}\text{CH}_3$ lo cual indica la presencia de metilos sobre carbono terciario y cuaternario, respectivamente. El espectro de masas presentó un ion molecular en $|M|^+$ 264, y el análisis de ir permite deducir que hay cuatro oxígenos en la molécula, de los cuales dos son de la γ -lactona, uno del hidroxilo y el oxígeno restante de la ciclopentanona.

La conjunción de los datos anteriores permitieron establecer la estructura de una ambrosanólida con fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$, con un hidroxilo secundario que es evidente por la formación del acetyl derivado (44), al someter la substancia a condiciones normales de acetylación. Entre las posibilidades estructurales se encuentran la bippinata (45),³⁴ la 3-hidroxi-damsina (46)³⁵ y la desacetyl confertiflorina (43),³⁶ que han sido aisladas de especies de éste género.

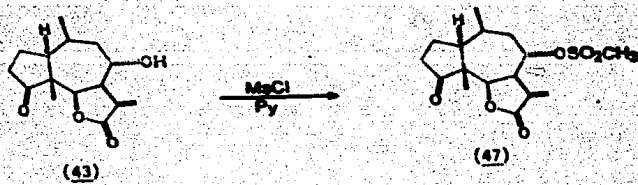


Para confirmar cual de las estructuras mencionadas es el producto natural aislado, se analiza su espectro de este último comparándolo con el acetil derivado,³⁶ y se observa que los protones H-8 y H-7 tienen diferente desplazamiento químico ($\Delta\delta_{H-8}$ 61.17 y $\Delta\delta_{H-7}$ 60.20), por el efecto del grupo acetoxi adicional el cual se manifiesta como un singlete en δ 2.08.

Por lo tanto la comparación de los datos físicos y espectroscópicos de este producto natural aislado de esta población de *A. confertiflora* con los de la desacetil confertiflorina (43) permiten concluir que se trata precisamente de esta sustancia.

Por otro lado se procedió a la obtención de otro derivado reportado en la literatura. El tratamiento con cloruro de mesilo y piridina de esta sustancia produce el mesil derivado 47 (esquema 2), el cual se confirmó por sus características físicas y espectroscópicas.³⁶

Esquema 2



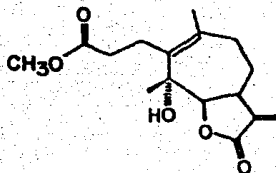
A continuación se describen las sustancias que previamente no han sido reportadas en la literatura.

La sustancia de menor polaridad tiene fórmula molecular $C_{16}H_{22}O_5$ establecida por análisis elemental y espectrometría de masas. En el espectro de uv presentó una absorción a λ_{max} 205 (ϵ 13555) que indica la presencia de un grupo cromóforo. En ir se observa absorción en 3592 cm^{-1} que corresponde a grupo hidroxilo, el cual es terciario ya que al someter esta sustancia a condiciones normales de acetilación, se recupera inalterada. También mostró bandas en 1766 cm^{-1} de carbonilo de γ -lactona, en 1728 cm^{-1} para carbonilo de éster y en 1670 cm^{-1} , 1607 cm^{-1} absorciones características de doble enlace carbono-carbono. Con los datos obtenidos en ir se explica la funcionalidad de los cinco oxígenos contenidos en la molécula.

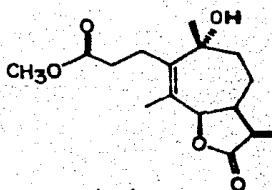
El espectro de ^{1}H NMR (espectro 5) muestra una señal en δ 1.20 que corresponde a un metilo unido a un carbono cuaternario del cual uno de los sustituyentes es oxígeno. Otra señal simple desplazada en δ 1.72 que integra para tres protones indica la existencia de un metilo vinílico, el cual debe encontrarse en un doble enlace tetrasustituido ya que no se observan protones vinílicos adicionales a los del metileno exocíclico. La presencia de un éster metílico es manifiesta por la señal en δ 3.64 para un grupo metoxilo, lo cual hace suponer que esta sustancia es una seco-pseudoguayanólida, ya que se observa el doblete característico del protón base de la γ -lactona H-6 centrado en δ 4.69 ($J=9\text{ Hz}$), al acoplarse con el protón H-7, el cual se presenta como un mul-

típlete en δ 3.31. También se observan el par de dobletes de los protones vinílicos H-13 y H-13' de la doble ligadura exocíclica de la γ -lactona centrados en δ 6.19 y δ 5.48 ($J=3.5$ Hz) respectivamente.

De acuerdo a lo antes mencionado, permite plantear que esta substancia puede tener una estructura como 48 ó 49.



(48)

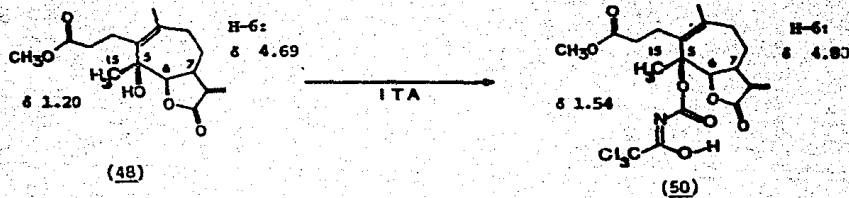


(49)

Para discernir entre las dos posibilidades, se procedió a realizar una reacción *in situ* con isocianato de tricloroacetilo (ITA) para obtener el tricloroacetil carbamato (50) correspondiente,³⁷ y eventualmente determinar la ubicación del hidroxilo terciario. Esta demostración se muestra en el esquema 3.

Esquema 3

Efecto sobre los grupos cercanos al $-OH$ ($^{15}CH_3$ y H-6) al obtener el tricloroacetilcarbamato. (50)



El desplazamiento químico inducido a campo bajo del $^{15}CH_3$ ($\Delta\delta = 0.34$) y H-6 ($\Delta\delta = 0.11$) en el carbamato (50), establece que el hidroxilo es geminal al $^{15}CH_3$ y vecinal a H-6, por lo que se ubica en C-5.

A esta sustancia se le denomina 1'-nor-altamisina (48), este nombre se hace derivar de la altamisina (12) que es un producto natural aislado previamente de *A. cumariensis*.¹³

La comprobación estructural de 1'-nor-altamisina (48), se establece por la siguiente correlación química.

El tratamiento con H_2SO_4 conc. en MeOH de la psilostaquina B (4) la cual es una sustancia también aislada de esta población de *A. confertiflora* produce la apertura de la δ -lactona y la deshidratación del hidroxilo terciario intermediario de C-5 para formar un dieno conjugado (51).³²

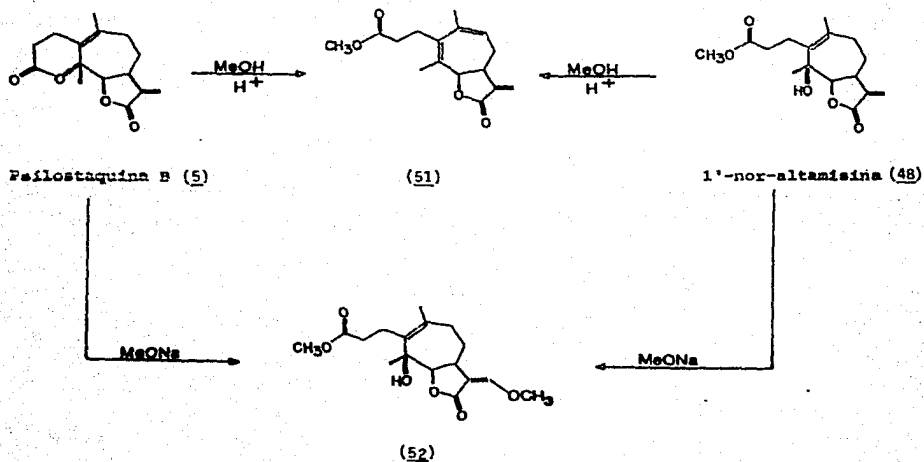
Este producto natural se obtiene también por el mismo tratamiento ácido con MeOH de la 1'-nor-altamisina (48). La estructura del dieno conjugado (51) se confirma al observar en su espectro de ${}^1\text{H-NMR}$ (espectro 6) la aparición del singulete en $\delta 1.78$ correspondiente al metilo vinílico ${}^{15}\text{CH}_3$ y en $\delta 5.85$ la señal múltiple de un protón vinílico que es vecinal a un metileno ($d, d, 1\text{H}, H-9, J_{9,8} = J_{9,8'} = 8 \text{ Hz}$). El espectro de masas presentó un ión molecular en m/z 276, el cual era el esperado para este producto de reacción.

De manera análoga, el tratamiento con metóxido de sodio de la psilostaquina B (4), produce la apertura de la δ -lactona y la adición del MeOH a la doble ligadura $\text{C}_{11}-\text{C}_{13}$, para formar el producto cristalino 52.³² El espectro de ${}^1\text{H-NMR}$ de esta substancia (espectro 7), muestra la presencia de un singulete desplazado en $\delta 3.37$ del grupo metoxilo que se adiciona al doble enlace $\text{C}_{11}-\text{C}_{13}$ de la doble ligadura exocíclica, ya que también se observa la desaparición de los protones vinílicos H-13 y H-13' presentes en la materia prima. Este producto de reacción también se obtiene mediante el tratamiento con metóxido de sodio de la 1'-nor-altamisina (48). Las transformaciones descritas se muestran en el esquema 4.

De esta manera se confirma la estructura de la 1'-nor-altamisina (48) como un nuevo producto natural, aislado de *Ambrosia confertiflora*.

Esquema 4

Correlación química entre la psilostaquina B y 1'-nor-altamisina



La segunda sustancia inédita aislada de esta población de *A. confertiflora* que en em mostró un ión molecular de ($[M]^+$ 282), es una sustancia ópticamente activa con $[\alpha]_D^{25} -70$ (MeOH). En uv no presentó absorción $\lambda > 200$ nm, lo que indica la ausencia de grupo cromóforo. En ir exhibe una banda en 3588 cm^{-1} , que corresponde a grupo hidroxilo, y una banda en 1769 cm^{-1} que pertenece a carbonilo de γ -lactona y la amplitud de esta señal hace suponer la existencia de otro grupo carbonilo. Por otro lado esta sustancia se somete a condiciones normales de acetilación y es recuperada sin alteración alguna, lo que indica que el hidroxilo es terciario. En mm'H (espectro 8) se observa un doblete en δ 4.89 que por su desplazamiento químico pertenece al protón base de una γ -lactona sesquiterpénica (H-6) que se acopla con el protón vecino H-7. Se observa también un singulete en δ 1.25 que de acuerdo a su desplazamiento químico puede corresponder a un metilo base de oxígeno unido a un carbono cuaternario y dos dobletes desplazados a alto campo, que integran para tres protones cada uno, revelan la existencia de dos metilos secundarios. La correlación de los datos anteriores hacen suponer que la estructura de esta sustancia tiene cierta similitud con la de la γ -dilactona psilostaquina (39).

En particular las diferencias entre esta sustancia novedosa y la psilostaquina (39), se manifiestan en que la primera no muestra los protones vinílicos conjugados con el carbonilo de la γ -lactona H-13 H-13', y se observa un doblete adicional a campo alto (δ 1.26 J= 7Hz), lo que permite suponer que esta sustancia es el 11,13-dihidroderivado

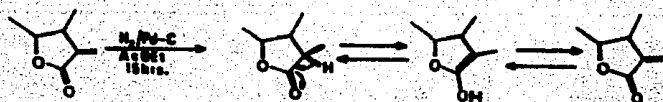
de la psilostaquina (39). Esta suposición es consistente con la fórmula molecular $C_{15}H_{22}O_5$ (establecida por análisis elemental y espectrometría de masas) y con la ausencia de absorción en uv $\lambda > 200$ nm. Por lo que para establecer la estructura completa de esta substancia, es necesario determinar la configuración en el centro quiral C-11.

En la literatura esta reportado que la reducción catalítica de la psilostaquina (39), produce isopsilostaquina (54) y un dihidroderivado (55) idéntico al obtenido por reducción con $NaBH_4$.³⁰ Sin embargo, los autores no reportan la orientación del grupo metilo ¹³CH₃.

Presumiblemente en un tiempo largo de reacción en la reducción catalítica de la psilostaquina (39), el producto cinético, el cual es el dihidroderivado con ¹³CH₃ en C₁₁-β (53), se epimeriza por medio de un equilibrio ceto-enol al producto termodinámico con ¹³CH₃ en C₁₁-α (55). Esta equilibración se muestra en el esquema 5.

El producto termodinámico (¹³CH₃ α), se considera más estable por el menor congestionamiento espacial de los sustituyentes.

Esquema 5



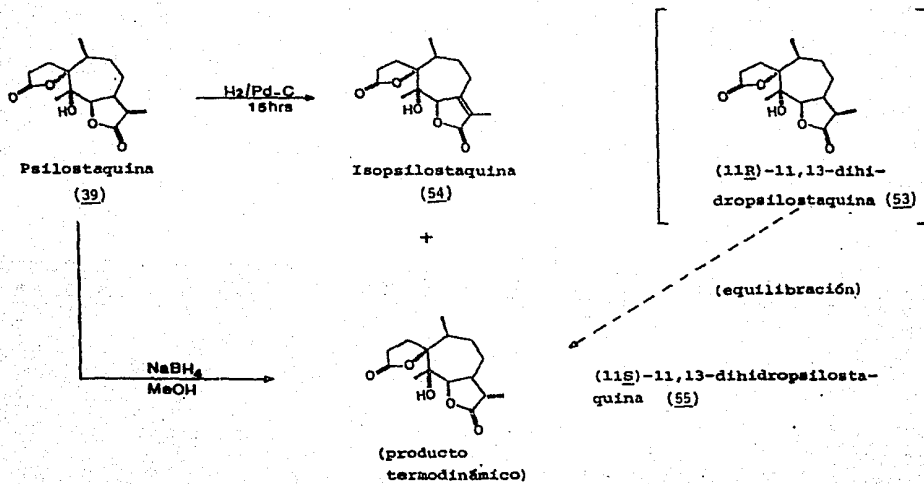
En este caso se realizó la reacción de reducción de psilostaquina (39), con NaBH_4 , y se obtuvo el producto con el $^{13}\text{CH}_3$ C_{11} - α 55. Sin embargo, este producto es diferente al producto natural aislado de esta población de *A. confertiflora*, ya que en su espectro de rnm^1H (espectro 9) presenta la señal del protón base de la γ -lactona H-6 centrado en δ 4.60 y los dobletes de los metilos secundarios $^{13}\text{CH}_3$ y $^{14}\text{CH}_3$ aparecen también a diferente desplazamiento químico. La correlación química realizada esta representada en el esquema 6.

Por otro lado se realizó la reducción catalítica de la psilostaquina (39), en un tiempo corto de reacción (1.5 hrs.) para evitar la equilibración. De esta reducción catalítica se obtiene la isopsilostaquina (54) y un producto que por evidencias físicas, espectroscópicas y comparación directa por CCF resultó ser idéntico al nuevo producto natural aislado, el cual es epimérico al dihidroderivado obtenido por reducción con NaBH_4 . Esta transformación se muestra en el esquema 7.

La estructura de este nuevo producto natural, que es el (11R)-11,13-dihidro-psilostaquina (53), se confirma por la epimerización de este al tratarlo con Na_2CO_3 y MeOH ,³⁸ y obtener el producto de equilibración que es el dihidroderivado (11S)-11,13-dihidro-psilostaquina (55), como se ilustra en el esquema 8.

Esquema 6

Reducción catalítica (H_2 , Pd/C) y química ($NaBH_4$) de la psilostaquina. (39)



La correlación química descrita confirma que (11R)-11,13-dihidro-psilostaquina (53), es constituyente de esta población de *A. confertiflora* y esta substancia no ha sido previamente reportada en la literatura.

Un 11,13-dihidroderivado de la psilostaquina (39), se ha reportado como producto natural de *A. arborescens*.³⁹ Sin embargo, debido a la pequeña cantidad aislada de los autores no determinaron la configuración del centro quiral C-11. La comparación de los datos físicos y espectroscópicos descritos para este 11,13-dihidroderivado con los de la tabla II, permitieron concluir que la substancia aislada de *A. arborescens* es (11S)-11,13-dihidro-psilostaquina (55).

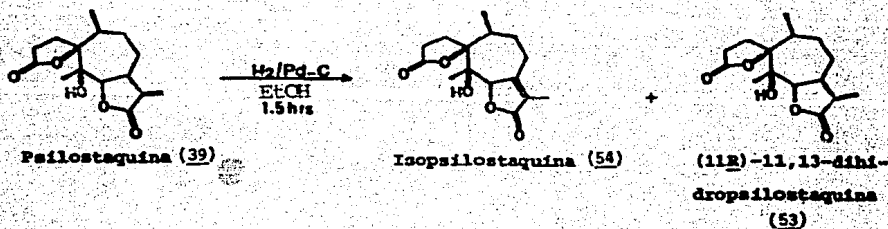
Las diferencias de los desplazamientos químicos de algunos protones de los dos epímeros, (11R)-11,13-dihidro-psilostaquina (53) y (11S)-11,13-dihidro-psilostaquina (55), se muestran en la tabla II.

Tabla II

	53	55
protones	δ	δ
H-6	4.89	4.60
¹⁵ CH ₃	1.25	1.52
¹⁴ CH ₃	1.09	0.97
¹³ CH ₃	1.26	1.18

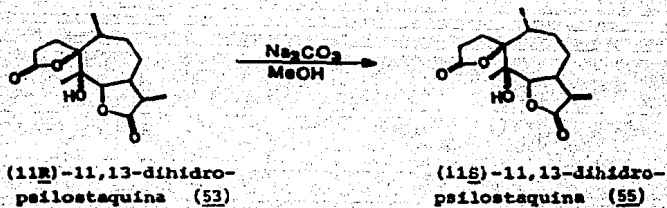
Esquema 7

Reducción catalítica de la psilostaquina (sin equilibración).

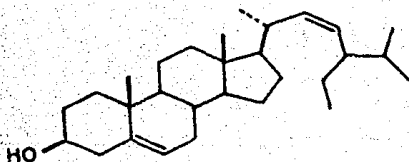


Esquema 8

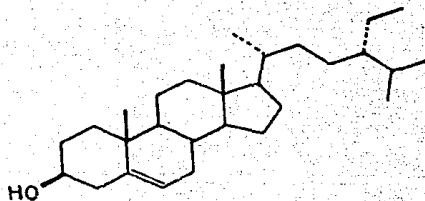
Producto natural de
Ambrosia confertiflora



Otras de las sustancias aisladas de esta población de *A. confertiflora* que han sido previamente reportadas en la literatura son el estigmasterol (56) y el β -sitosterol (57), las cuales son sustancias que tienen una amplia distribución en el reino vegetal. Sus estructuras fueron establecidas por comparación de datos físicos y espectroscópicos descritos en la parte experimental y comparación directa con muestras auténticas.



(56)



(57)

Una de las sustancias que se obtuvieron de las fracciones más polares del cromatograma, desarrollo un color característico morado-azuloso en la cromatoplaaca analítica al revelarse con sulfato cérico. Esta característica permitió su reconocimiento en CCF como el clovandiol (58). Este producto natural muestra en ir señales de hidroxilo en 3614 cm^{-1} y en mm^2H se observó un $\underline{d d}$, centrado en $\delta 3.76$ ($J = 6\text{ Hz}$), que corresponde al protón base del hidroxilo H-12, que se acopla con dos protones correspondientes al metileno C-11. La presencia de un multiplete centrado

en δ 3.31 es atribuida al protón base de hidroxilo en C-4 y los singuletes a campo alto, en δ 1.04, δ 0.95, δ 0.86 que indican la presencia de tres metilos sobre carbono cuaternario. El clovandiol (58) se ha reportado como constituyente de varias especies de plantas.⁴⁰ La comparación directa con una muestra auténtica confirmó su identidad.



(58)

PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-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 cármico al 1% en ácido sulfúrico 2N. Los espectros de ir fueron corridos en soluciones de CHCl_3 . Los espectros de masas se determinaron en un espectrómetro Hitachi Perkin-Elmer RMU 6D de doble foco. Los espectros de nm^1H se determinaron en un aparato FT-80A Varian. Los desplazamientos químicos están dados en ppm referidos al tetrametilsilano como referencia interna. Los rendimientos de las sustancias se indican como porcentajes referidos al peso de la planta seca.

La muestra botánica fué identificada por el Profesor José Luis Villaseñor, del Instituto de Biología de la U.N.A.M., a quien expresamos nuestro agradecimiento por su colaboración.

El material vegetal fue colectado el 13 de septiembre de 1984 en la carretera Zacatecas- Durango Km-12.5 al N de la ciudad de Zacatecas sobre la carretera No. 45, y una muestra botánica se encuentra depositada en el Herbario Nacional. (Instituto de Biología de la UNAM. voucher: GD-1160).

Las partes aéreas de *A. confertiflora* se dejaron secar a temperatura ambiente.

4.9 Kg de la planta seca se extrajeron por maceración tres veces consecutivas con cloroformo. Los extractos se concentraron a presión reducida. El extracto clorofórmico se desengrasó por maceración con hexano frfo (0°C) y la parte insoluble se concentró obteniéndose finalmente 60g de residuo.

El extracto clorofórmico se aplicó a una columna cromatográfica empacada con 2 Kg de sílica-gel. La elución de la columna se realizó con hexano-acetato de etilo en orden de polaridad creciente, colectándose fracciones de 1 l cada una.

En las fracciones 41-73 eluidas con hexano-acetato de etilo (9:1) cristalizó espontáneamente un sólido el cual se supuso una sustancia pura de acuerdo al análisis por CCF. Sin embargo en el espectro de masas se observaron señales asignables al ión molecular en m/z 412 y m/z 414 y el trazo en el espectro de rmn^1H indicó que se trataba de una mezcla de estigmasterol (56) y β -sitosterol (57). Estas sustancias se separaron por cristalización fraccionada de etanol caliente y las sustancias así separadas se identificaron por comparación directa con muestras auténticas.

Estigmasterol (56)

p.f. 167-168°C

ir ν_{max} (CHCl_3) cm^{-1} : 3608, 2957, 2860, 1461, 1380, 1272, 1046, 975, 938.

rnm'H (80 MHz, CDCl_3) : δ 5.32 (1H, $w_{1/2} = 9\text{Hz}$, H-5), δ 5.06 (2H, m, $w_{1/2} = 14\text{Hz}$, H-22 y H-23), δ 1.01 (s, 3H, H-19), δ 1.05-0.75 (señales correspondientes a H-21, H-27, H-29), δ 0.70 (s, 3H, H-18).

β -sitosterol (57)

p.f. 138-139°C

ir ν_{max} (CHCl_3) cm^{-1} : 3610, 3527, 2959, 2938, 2860, 1464, 1380, 1044, 1019, 960, 834, 797.

rnm'H (80 MHz, CDCl_3) : δ 5.35 (m, $C_6 = H$, $w_{1/2} = 9\text{Hz}$, 1H) δ 5.07 (m, 1H), δ 2.25 (d, 2H, $J = 7\text{Hz}$), δ 1.52 (s, 1H, -OH), δ 1.00 (s, 3H), δ 0.85 (d, 3H, $J = 2\text{Hz}$), δ 0.78 (s, 3H), δ 0.68 (s, 3H).

em m/z (IE, %) : 414 M^+ ($\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$, 67%), 400(12%), 399(20%), 396(27%), 381(18%), 329(17%), 303(20%), 273(18%), 250(20%), 213(25%), 163(19%), 161(22%), 159(30%), 147(17%), 145(20%), 133(20%), 131(17%), 121(27%), 120 (20%), 119(30%), 117(17%), 109(18%), 107(38%), 105(46%), 95(33%), 93(36%), 91(20%), 81 (26%), 79(25%), 71(18%), 69(34%), 67(50%), 57(70%), 55(80%) 43(100%).

Fracciones subsecuentes eluidas con hexano-acetato de etilo (4:1) por CCF presentaron manchas no homogéneas por lo que no fueron analizadas.

De las fracciones 112-125 eluidas con hexano-acetato de etilo (7:3) se obtienen 0.0122% de una substancia de apariencia de un polvo blanco amorfo con p.f. 93-95°C cuyas propiedades físicas y espectroscópicas corresponden a la estructura de una seco-pseudoguianólida, la 1'-nor-altamisina (48), la cual representa un nuevo producto natural.

nm	589	578	545	436	365
$[\alpha]_D^{25}$ (c=2 mg/ml, MeOH)	+34	+41	+43	+82.5	+163

uv (MeOH) λ_{max} 205 nm (ϵ : 13 555)

ir ν_{max} (CHCl₃) cm⁻¹ : 3592, 1766, 1728, 1670, 1607, 1436, 1379, 1355, 1326, 1280, 1256, 1177, 1048, 986, 942.

nmn¹H (80 MHz, CDCl₃) (espectro 5) : δ 6.19 (d, 1H, H-13, J= 3.5Hz), δ 5.48 (d, 1H, H-13', J= 3.4Hz), δ 4.69 (d, 1H, H-6, J= 9Hz) δ 3.64 (s, 3H, éster metílico), δ 3.31 (m, 1H, H-7), δ 1.72 (s, 3H, ¹⁴CH₃), δ 1.20 (s, 3H, ¹⁵CH₃).

em m/z (IE, %) : 294 M⁺ (C₁₆H₂₂O₅, 8%), 265(16%), 262(27%), 221(20%), 203(23%), 175(14%), 43(100%).

A la muestra disuelta en cloroformo deuterado, recuperada de la espectroscopia de resonancia magnética protónica, se le adicionaron

dos gotas de isocianato de tricloroacetilo, dejando equilibrar la muestra durante cinco minutos, para formar *in situ* el carbamato (50) correspondiente.³⁷ La mayor parte de las señales permanecen constantes, a excepción de ¹⁵CH₃ y H-6.

δ1.54 (s, 3H, ¹⁵CH₃)

δ4.80 (d, 1H, H-6, J= 9Hz)

Se reunieron las fracciones 126-155 eluidas con hexano-acetato de etilo (3:2) y espontáneamente precipita una substancia de aspecto cristalino que por ir y rnm'H se estableció que se trataba de una mezcla de hidrocarburos, por lo que no fueron analizadas en detalle.

De las fracciones 167-177 eluidas con hexano-acetato de etilo (1:1), se obtienen 0.0466% de unos cristales blancos con p.f. 215-220°C cuyos datos físicos y espectroscópicos corresponden a la estructura de la psilostaquina (39).³⁰ La separación y caracterización de los constituyentes de las aguas madres, aún continúa.

$[\alpha]_D^{24} = -125$ (CHCl₃, c=4.76)

uv (MeOH) λ_{max} 212 nm (ε: 12 600)

ir ν_{max} (CHCl₃) cm⁻¹: 3588, 1767, 1660, 1453, 1394, 1338, 1254, 1223, 1196, 1152.

rnm'H (80 MHz, CDCl₃) (espectro 1): δ6.25 (d, 1H, H-13, J= 3.5Hz), δ5.58 (d, 1H, H-13', J= 3.5Hz), δ4.94 (d, 1H, H-6, J= 9.5 Hz), δ3.40 (m, 1H, H-7), δ1.03 (d, 3H, ¹⁴CH₃, J= 7Hz), δ1.21 (s, 3H,

¹⁵CH₃).

em m/z (IE, %) : 280 M⁺ (C₁₅H₂₀O₅, 2%), 219(15%), 138 (22%), 125(42%), 123(20%), 95(27%), 67(22%), 55(55%), 53 (22%), 43(100%), 39(25%).

Continuando con la cromatografía inicial, de las fracciones 178-197 eluidas con hexano- acetato de etilo (2:3), al ser analizadas por CCF, mostraron varias manchas homogéneas de rf similar, por lo que se reúnen estas fracciones y se obtienen 24.3648 g de extracto, el cual es adsorbido en sílica-gel y posteriormente se aplica a una columna cromatográfica empacada con 650 g de sílica-gel y usando cloroformo como eluyente inicial y la polaridad se aumentó progresivamente con mezcla de cloroformo-acetona.

De las fracciones 20-43, eluidas con cloroformo-acetona (95:5) cristalizaron espontáneamente 0.0209% de una sustancia blanca cristalina con p.f. 110-115°C, que de acuerdo a sus datos físicos y espectroscópicos se identificó como psilostaquina B (4), ya previamente reportada en la literatura.³²

$[\alpha]_D^{24}$ (c=0.7, CHCl₃) : -5°

uv (MeOH) : λ_{max} 210 nm (ϵ : 10 500)

ir ν_{max} (CHCl₃) cm⁻¹ : 1770, 1740, 1664, 1580, 1451, 1430
1407, 1382, 1345, 1280, 1259, 1192.

rnm^1H (80 MHz, CDCl_3) (espectro 2) : 66.23 (d, 1H, H-13, J= 3Hz), 65.51 (d, 1H, H-13', J=3Hz), 64.77 (d, 1H, H-6, J= 9Hz), 63.40 (m, 1H, H-7), 61.75 (s, 3H, $^{14}\text{CH}_3$), 61.52 (s, 3H, $^{15}\text{CH}_3$).

em m/z (IE, %) : 262 M^+ ($\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_4$, 42%), 219(17%), 149 (18%), 123(26%), 122(22%), 109(31%), 105(24%), 95(29%), 93 (19%), 91(35%), 79(28%), 77(22%), 55(28%), 53(35%), 43(100%), 39(25%).

Las fracciones 64-87 eluidas con cloroformo-acetona (95:5) de esta recromatografía, al ser analizadas por CCF se observaron dos manchas homogéneas y constantes, o sea dos substancias, una en mayor proporción la cual cristalizó espontáneamente (0.0020%, de una substancia con p.f 224-26°C) y que por sus propiedades físicas y espectroscópicas corresponde a la estructura de (11R)-11,13-dihidro-psilostaquina (53), que representa un nuevo producto natural.

$[\alpha]_D^{25}$ (c=1 mg/ml, MeOH): -70°

uv (MeOH): no absorbe en $\lambda > 200 \text{ nm}$.

ir ν_{max} (CHCl_3) cm^{-1} : 3588, 1769, 1456, 1388, 1352, 1248, 1176, 1109, 1073, 998.

rnm^1H (80 MHz, CDCl_3) (espectro 8) : 64.89(d, 1H, H-6, J= 9Hz), 61.26 (d, 1H, H-11, J= 7Hz), 61.25 (s, 3H, $^{15}\text{CH}_3$), 61.09 (d, 1H H-10, J= 9Hz).

rnm^1H (80 MHz, C_6D_6) : 64.57 (d, 1H, H-6, J= 9Hz), 60.88 (d,

1H, H-13, J= 7Hz), δ 0.67 (s, 3H, $^{15}\text{CH}_3$), δ 0.47 (d, 1H, H-14, J= 7Hz).
en m/z (IE,%) : 282 M⁺ (C₁₅H₂₂O₅, 8%), 264 (12%), 206 (20%)
191 (18%), 181 (16%), 151 (15%), 139 (29%), 138 (45%), 125 (100%).

Fracciones subsecuentes de esta recromatografía, analizadas por CCF presentaron aspecto no muy homogéneo, por lo que se procedió a lavar la columna con acetona, obteniéndose 7.7186 g de residuo el cual es adsorbido en sílica-gel y consecutivamente se aplica a una columna cromatográfica, empezando la elución de la columna con hexano-etanol (49:1), ya que este fue el sistema de eluyentes adecuado, para lograr mejor separación de las sustancias contenidas en este residuo, de acuerdo al análisis por CCF en varios eluyentes.

De las fracciones 37-57 eluidas con hexano-acetato de etilo (49:1), cristalizaron 0.0159% de una sustancia de color blanco amorfo, que en CCF revela de color morado claro y que tiene p.f. 134-135°C, cuya determinación estructural continúa en proceso.

Continuando con esta recromatografía, a partir de la fracción 58, se eluye una sustancia pura, de acuerdo al análisis por CCF, y la cual revela color morado-azuloso. En la fracción 66 cristalizaron 6 mg de esta misma sustancia la cual se identifica por sus características espectroscópicas y comparación directa con muestra auténtica como el clovandiol (57).⁴⁰

p.f. 150-152°C.

ir ν_{max} (CHCl_3) cm^{-1} : 3614, 2953, 2866, 1464, 1365, 1068,
1037, 989, 940.

rmn'H (80 MHz, CDCl_3) : δ 3.76 (d, d, 1H, H-12, J= 6Hz), δ 3.31
(m, 1H, $w_{1/2} = 7\text{Hz}$), δ 1.04 (s, 3H, $^{13}\text{CH}_3$), δ 0.95 (s, 3H, $^{14}\text{CH}_3$), δ 0.86
(s, 3H, $^{15}\text{CH}_3$).

Prosiguiendo con la descripción de la cromatografía inicial, a partir de la fracción 198 empieza a cristalizar una substancia que al concentrar el eluato en el rotaevaporador, y su presencia es manifiesta hasta la fracción 226. Se filtran los cristales y se analizan por CCF en un sistema de eluyentes hexano-acetato de etilo (1:4) y se observó que aparentemente se trataba de un compuesto. Sin embargo, al analizar por CCF con otro sistema de disolventes (cloroformo-acetona 49:1), se comprueba que se trata de una mezcla de dos substancias, obteniéndose 14.599 g.

El espectro de rmn'H indicó que se trataba de una mezcla de lactonas sesquiterpénicas en proporción aproximada de 4:1, siendo la substancia menos polar, el producto minoritario.

1.51 g de esta mezcla se aplicaron en una columna de cromatografía empacada con 50 g de sílica-gel, eluyendo con cloroformo inicialmente y aumentando la polaridad con mezclas de cloroformo-acetona.

De las fracciones menos polares se eluyó la psilostaquina C
(5).³³

p.f. 223-225°C

$[\alpha]_D^{24}$ (c=0.6, CHCl₃) : -82

ir ν_{max} (CHCl₃) cm⁻¹ : 1769, 1729, 1601, 1457, 1393, 1333,
1270, 1115, 1062, 983.

nm¹H (80 MHz, CDCl₃) (espectro 3) : δ 6.24 (d, 1H, H-13, J= 3Hz), δ 5.49 (d, 1H, H-13', J= 3Hz), δ 4.69 (d, 1H, H-6, J= 9.5Hz), δ 3.41 (m, 1H, H-7), δ 1.30 (s, 3H, ¹⁵CH₃), δ 1.02 (d, 3H, H-10, J=7 Hz).
em m/z (IE,%) : 264 M⁺ (C₁₅H₂₀O₄, 3%), 249(7%), 246(12%), 221(5%), 218(18%), 205(6%), 204(7%), 203(4%), 191(9%), 139 (100%), 133(8%), 112(17%), 111(36%), 97(20%).

Fracciones subsecuentes de la recromatografía eluyeron la mezcla inicial, y las fracciones más polares estaban constituidas por la substancia de mayor polaridad, la cual es el producto mayoritario de esta mezcla. Cristalizaciones sucesivas proporcionaron cristales los cuales fueron identificados como desacetilconfertiflorina (43)³⁶ por sus características espectroscópicas y por los derivados que se describen posteriormente.

p. f. 205-210°C

nm	589	578	546	436	365
$[\alpha]_D^{25}$	0	+15.64	+22.27	+78.19	+308.05

uv (MeOH) : λ_{max} 212 nm (ϵ 9313)

ir ν_{max} (CHCl₃) cm⁻¹ : 3597, 1764, 1655, 1391, 1328, 1275,
1236, 1163, 1063, 1017.

mm²H (80 MHz, CDCl₃) (espectro 3) : 66.31 (d, 1H, H-13, J= 3Hz), 65.93 (d, 1H, H-13', J= 3Hz), 64.59 (d, 1H, H-6, J= 9Hz), 64.18 (d, d, d, 1H, H-8, J_{7,8} = 9Hz, J_{8,9} = 8Hz, J_{8,9} = 6Hz), 63.27 (d, d, d, d, 1H, H-7, J_{6,7} = J_{7,8} = 9Hz, J_{7,13} = J_{7,13'} = 3Hz), 61.16 (d, 1H, H-10, ¹⁴CH₃), 61.04 (s, 3H, ¹⁵CH₃).

em m/z (IE, %) : 264 M⁺ (C₁₅H₂₀O₅, 9%), 249(35%), 175(39%), 137(35%), 124(39%), 97(92%), 79(42%), 69(74%), 67(62%), 55 (74%), 41(100%), 39(30%).

ISOMERIZACION DE PSILOSTAQUINA C (5)

10 mg de Pd-C (10%) en acetato de etilo (50 ml), se prehidrogenan por 1.5 hrs., después de este tiempo se adicionaron 50 mg de psilostaquina C (5). Después de 5 min. de reacción, por CCF se confirmó que ya no había materia prima, por lo que se filtra para eliminar el catalizador se concentró al vacío y se obtuvieron 44 mg de cristales blancos con p.f. 203-205°C, que corresponden a la isopsilostaquina C (41).³³

ir ν_{max} (CHCl₃) cm⁻¹ : 1758, 1667, 1389, 1334, 1256, 1171, 1081, 1039, 985.

nmⁿH (80 MHz, CDCl₃) : δ 4.94 (sa, 1H, H-6, $w_{1/2}$ = 6Hz), δ 1.86 (sa, 3H, ¹³CH₃, $w_{1/2}$ = 5Hz), δ 1.15 (s, 3H, ¹⁵CH₃), δ 0.93 (d, 1H, H-10, J= 2Hz).

em m/z (IE,%) : 264 M⁺ (C₁₅H₂₀O₄, 18%), 246(11%), 149(18%), 139(100%), 111(88%), 55(61%), 43(95%).

DESHIDRATACION Y FORMACION DEL HIDROXINETILESTER
DE PSILOSTAQUINA C (5)

143 mg de psilostaquina C (5) se disuelven en 4 ml de MeOH. A esta solución se le adicionan 0.2 ml de H₂SO₄ conc. Esta mezcla se pone a reaccionar a temperatura ambiente por 6 hrs. El curso de la reacción se sigue por CCF y se observa que todavía hay materia prima, por lo que se procede a poner en reflujo por 50 min. Después de este tiempo se adicionaron 25 ml de H₂O, se concentró al vacío para reducir el volumen y el residuo es extraído con cloroformo seis veces, la fase orgánica se lava con H₂O, se seca con Na₂SO₄, se filtra y se concentra obteniéndose 47 mg de un compuesto aceitoso que corresponde a la substancia (42).³³

Ir ν_{max} (CHCl₃) cm⁻¹ : 1762, 1732, 1652, 1662, 1440, 1272, 1160, 1020, 950.

nmn¹H (80 MHz, CDCl₃) : δ 6.25 (d, 1H, H-13, J= 3.5Hz), δ 5.53 (d, 1H, H-13', J= 3.5Hz), δ 5.37 (d, 1H, H-15, J= 2.5Hz), δ 4.88 (d, 1H, H-15', J= 2Hz), δ 3.65 (s, 3H, éster metílico), δ 3.13 (m, 1H, H-7), δ 0.82 (d, 3H, H-10, J= 7Hz).

em m/z (IE,%) : 278 M⁺ (C₁₆H₂₂O₄, 8%), 260(9%), 204(53%), 191(58%), 155(52%), 127(83%), 123(100%), 95(84%), 91(83%), 53(82%).

ACETILACION DE DESACETILCONFERTIFLORINA (43)

A 101 mg de desacetilconfertiflorina (43) se le agregan 1 ml de anhídrido acético y 0.5 ml de piridina, y se deja reaccionar con agitación a temperatura ambiente durante 24 hrs. la reacción se siguió por CCF, hasta que desapareció totalmente la materia prima. Después se agregaron aproximadamente 5g de hielo y la mezcla de reacción es extraída con cloroformo. La fase orgánica se lava con solución saturada de NaHCO_3 , después con H_2O y se seca con Na_2SO_4 . Se concentra al vacío se filtra y se obtienen 55 mg de confertiflorina (44),³⁶ con p.f. 140-142°C.

ir ν_{max} (CHCl_3) cm^{-1} : 1768, 1738, 1655, 1365, 1317, 1272, 1191, 1160, 1054, 1018.

rmn'H (80 MHz, CDCl_3) : δ 6.29 (d, 1H, H-13, J= 3Hz), δ 5.61 (d, 1H, H-13', J= 3Hz), δ 5.35 (d, d, d, 1H, J_{7,8} = 9Hz, J_{8,9} = 7.5Hz, J_{8,9} = 6Hz), δ 3.47 (d, d, d, d, 1H, H-7, J_{6,7} = J_{7,8} = 9Hz, J_{7,13} = J_{7,13} = 3Hz), δ 1.18 (d, 1H, $^{14}\text{CH}_3$, J= 7Hz), δ 2.08 (s, 3H, acetoxi), δ 1.09 (s, 3H, $^{15}\text{CH}_3$).

FORMACION DEL MESILATO DE DESACETILCONFERTIFLORINA (43)

150 mg de desacetilconfertiflorina (43), se disuelven en 1.5 ml de piridina y la solución es enfriada en baño de hielo. Se adicionaron 0.25 ml de cloruro de mesilo y se deja reaccionar a 0-5°C por 2 hrs.

Después de este tiempo, se observa un precipitado el cual se filtra y se lava con MeOH frío obteniéndose 191 mg de cristales incoloros en forma de agujas que son el mesilato de desacetilconfertiflorina (47).³⁶

p.f. 219-220°

ir ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 1760, 1729, 1339, 1280, 1250, 1169, 920, 870.

em m/z (IE,%) : 344 M^+ ($\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_6\text{S}$, 5%), 327(4%), 246(6%), 231(82%), 188(35%), 91(35%), 79(100%), 55(64%), 41(50%).

REACCION DE 1'-NOR-ALTAMISINA (48) CON H_2SO_4 CONC. V MeOH

116 mg de 1'-nor-altamisina (48), se deja reaccionar por 1 hr en 2.5 ml de MeOH y 0.15 ml de H_2SO_4 conc. se controla la reacción por CCF, eluyendo con hexano-acetato de etilo (4:1). Después se adicionaron 25 mg de hielo a la solución de la reacción, el producto se extrae con cloroformo seis veces, se lava con solución saturada de NaHCO_3 , después con H_2O , se seca con Na_2SO_4 , se filtra. Se concentra al vacío para eliminar el disolvente, y se obtienen 75 mg de residuo el cual se purifica por cromatoplaça preparativa, eluyendo con hexano-acetato de etilo (4:1), y se obtienen 45 mg de el dieno conjugado (51), como aceite amarillo.³²

ir ν_{\max} (CHCl_3) cm^{-1} : 1761, 1660, 1437, 1331, 1313, 1265, 1153, 1117, 1002, 944.

τ mm'H (80 MHz, CDCl_3) (espectro 6) : δ 6.19 (d, 1H, H-13, $J= 3.35\text{Hz}$), δ 5.52 (d, 1H, H-13', $J= 3.5\text{ Hz}$), δ 4.86 (d, 1H, H-6, $J= 9\text{Hz}$), δ 5.85 (d, d, 1H, H-9, $J_{9,8} = J_{9,8'} = 8\text{Hz}$), δ 3.65 (s, 3H, éster metílico), δ 2.36 (m, 1H, H-7), δ 1.86 (s, 3H, $^{14}\text{CH}_3$), δ 1.78 (s, 3H, $^{15}\text{CH}_3$).

em m/z (IE,%) : 276 M^+ ($\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_4$, 40%), 258(24%), 226(17%), 203(23%), 202(30%), 189(77%), 187(32%), 173(25%), 161(32%), 157(39%), 145(30%), 143(45%), 137(46%), 115(40%), 107(51%), 105(52%), 91(100%), 77(57%).

TRATAMIENTO DE PSILOSTAQUINA B (4) CON H_2SO_4 CONC. Y MeOH

232 mg de psilostaquina B (4), disueltos en 5 ml de metanol, se le adicionaron 0.3 ml de H_2SO_4 conc. y se dejó reaccionar 1.5 hr. La reacción se siguió por CCF, hasta que desapareció totalmente la materia prima. Se agregaron 25 ml de H_2O , después se concentró al vacío para reducir el volumen y el producto es extraído con cloroformo seis veces. La fase clorofórmica se lava con solución saturada de NaHCO_3 , después se lava con H_2O y se seca con Na_2SO_4 . Se concentra al vacío y se obtienen 198 mg de un aceite el cual es idéntico por comparación directa con el dieno conjugado (51)³², que fué obtenido por tratamiento ácido de la 1'-nor-altamisina (48), descrito arriba.

TRATAMIENTO DE 1'-NOR-ALTAMISINA (48) CON MeONa

100 mg de 1'-nor-altamisina (48) se disuelven en 1 ml de metanol. A esta solución se agregan 0.25 ml de MeONa (preparada con 25 ml de MeOH y 220 mg de Na^o) y se deja reaccionar por 1.5 hrs. La solución es neutralizada con HCl diluido (5%) y la mezcla de reacción se extrae con cloroformo. La fase orgánica se lava con solución saturada de NaHCO₃, después con H₂O, se seca con Na₂SO₄, se concentra y se obtienen 76 mg de producto cristalino (52),³² que también es obtenido por el tratamiento con MeONa de la psilostaquina B (4).

p.f. 83-84°C

tr ν_{max} (CHCl₃) cm⁻¹ : 3591, 1772, 1729, 1602, 1436, 1347, 1295, 1168, 1101, 997.

τ_{max} H (80 MHz, CDCl₃) (espectro 7) : δ4.63 (d, 1H, H-6, J=9Hz), δ3.67 (s, 3H, éster metílico), δ3.37 (s, 3H, -OCH₃), δ1.74 (s, 3H, ¹⁴CH₃), δ1.34 (s, 3H, ¹⁵CH₃)

REDUCCION CATALITICA DE PSILOSTAQUINA (39)

Una solución de 100 mg de psilostaquina (39) en 20 ml de EtOH se someten a hidrogenación a temperatura ambiente por 1.5 hrs. con 10 mg de Pd-C (10%) previamente hidrogenado. La reacción se siguió por CCF. Consumida la materia prima, se filtra el catalizador, se concentra y se

obtienen 93.8 mg de dos compuestos que son separados por cromatografía preparativa eluida con cloroformo-acetona (7:3). El producto de menor polaridad corresponde a la isopsilostaquina (54)³⁰ y el producto de mayor polaridad corresponde por sus características espectroscópicas y comparación directa con el producto natural a (11R)-11,13-dihidro-psilostaquina (53).

REDUCCION CON NaBH₄ DE PSILOSTAQUINA (39)

A una solución de 80 mg de NaBH₄ en 5 ml de metanol absoluto le fué adicionada una solución de 140 mg de psilostaquina (39) en 15 ml de MeOH, y se dejan reaccionar con agitación durante 1.5 hrs. La reacción se siguió por CCF, hasta que desapareció totalmente la materia prima. Se agregaron 5 ml de H₂O, después se neutralizó con HCl al 5% y se concentró al vacío para reducir el volumen. La mezcla de reacción se extrae con acetato de etilo, y la fase orgánica se lava con H₂O, se seca con Na₂SO₄, se concentra al vacío. Obteniéndose 100 mg de (11S)-11,13-dihidro-psilostaquina (55)³⁰, que son cristales transparentes con p.f. 225-227°C.

ir ν_{max} (CHCl₃) cm⁻¹ : 3589, 1452, 1381, 1347, 1323, 1250, 1175, 1044, 979, 906.

nmn¹H (80 MHz, CDCl₃) (espectro 9) : δ 4.60 (d, 1H, H-6, J= 8 Hz), δ 1.52 (s, 3H, ¹⁵CH₃), δ 1.18 (d, 1H, H-13 J= 7Hz), δ 0.97 (d,

1H, H-14, J= 7Hz).

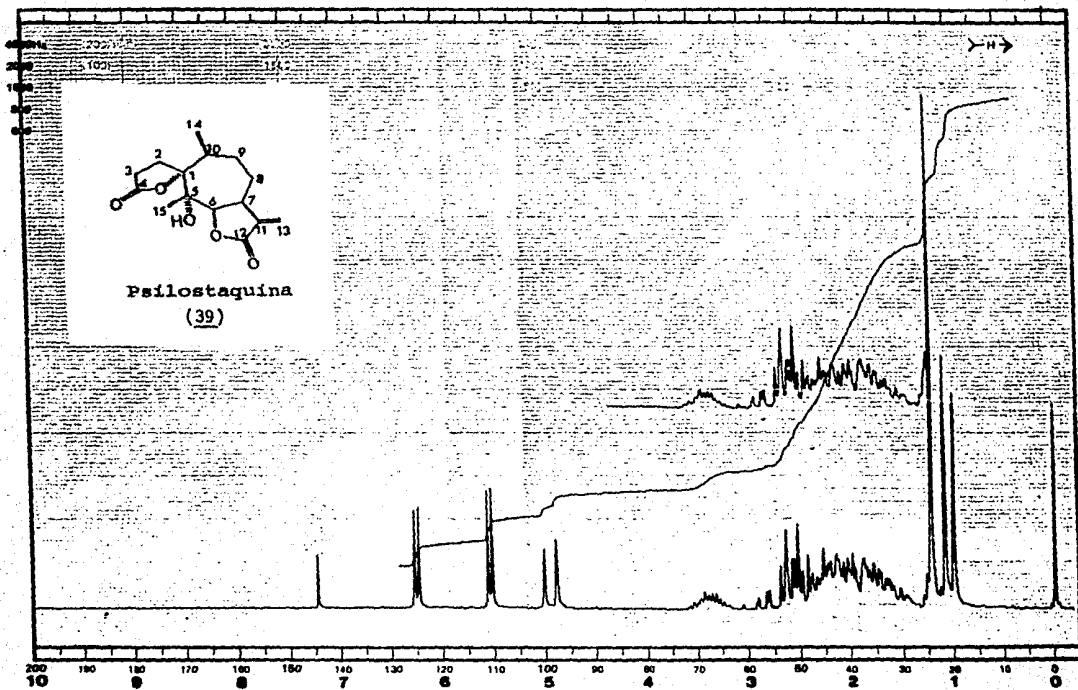
em m/z (IE,%) : 282 M⁺ (C₁₅H₂₀O₅, 5%), 207(7%), 208(8%),
138(39%), 125(42%), 97(18%), 69(17%), 56(20%), 55(57%), 43
(100%), 41(38%).

EPIMERIZACION DE (11R)-11,13-DIHI-DRO-PSILOSTAQUINA (53)

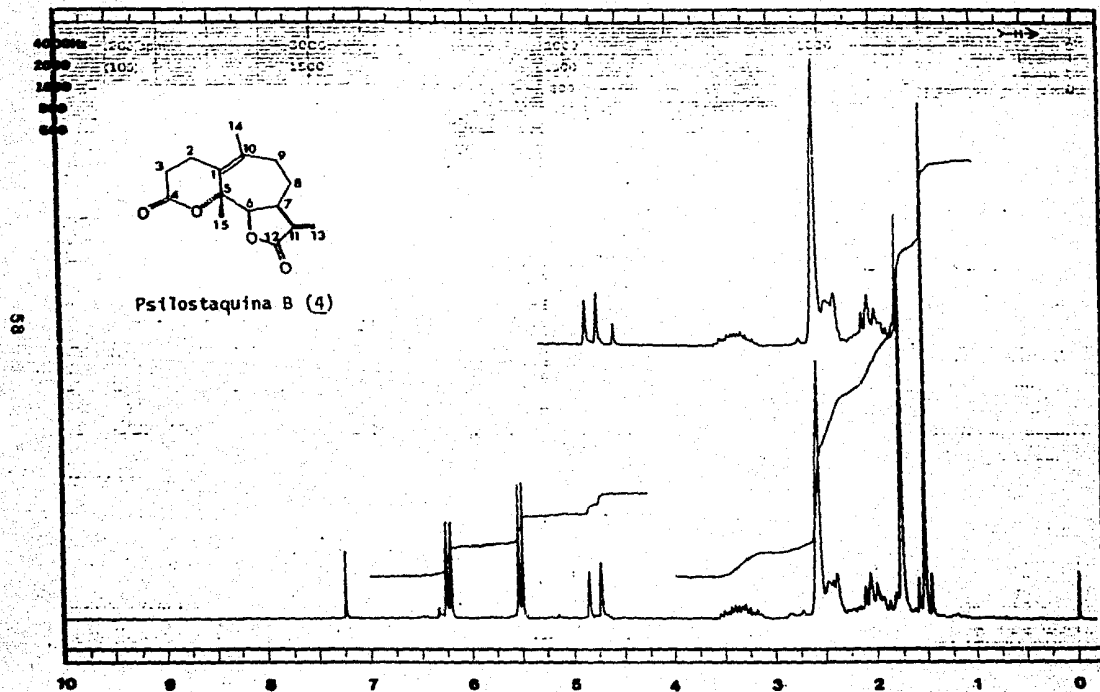
50 mg de (11R)-11,13-dihidro-psilostaquina (53), se disuelven en 5 ml de metanol-H₂O (3:1) a esta solución se adicionaron 70 mg de K₂CO₃, esta mezcla de reacción se calienta en baño de vapor por 80 min. Después el producto de reacción se recristaliza de éter isopropílico obteniéndose 35 mg de compuesto puro, el (11S)-11,13-dihidro-psilostaquina (55) con p.f. 225-227°C, el cual también es obtenido por reducción con NaBH₄ de psilostaquina (39).

ESPECTROS

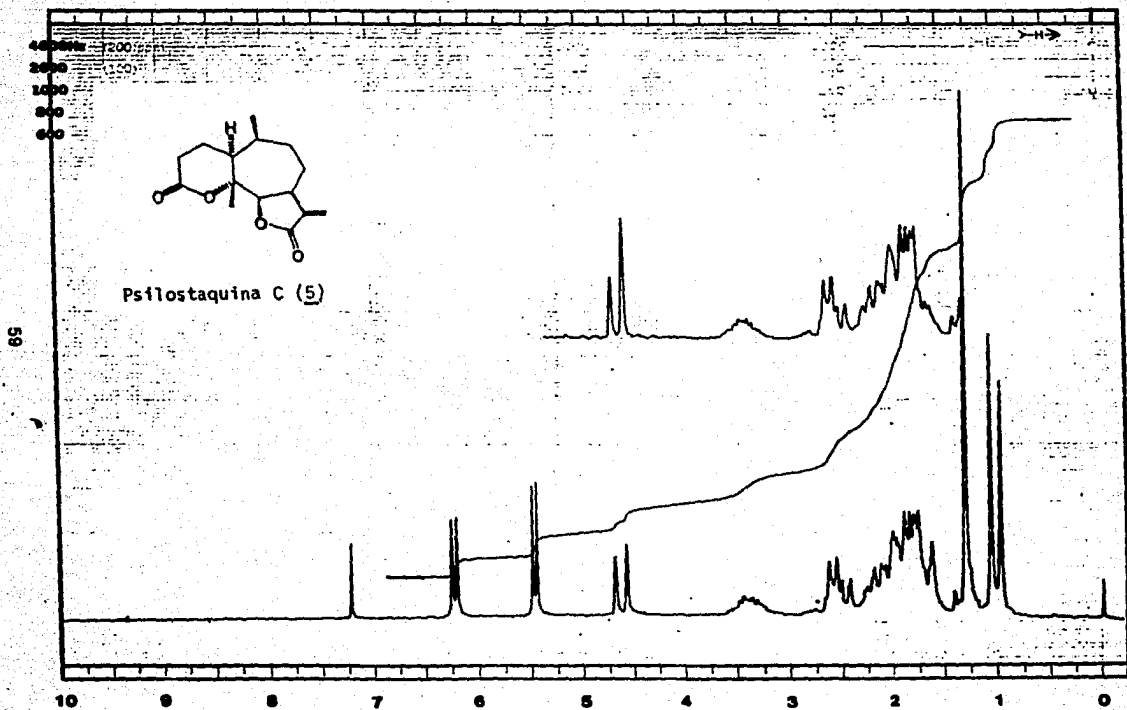
espectro 1



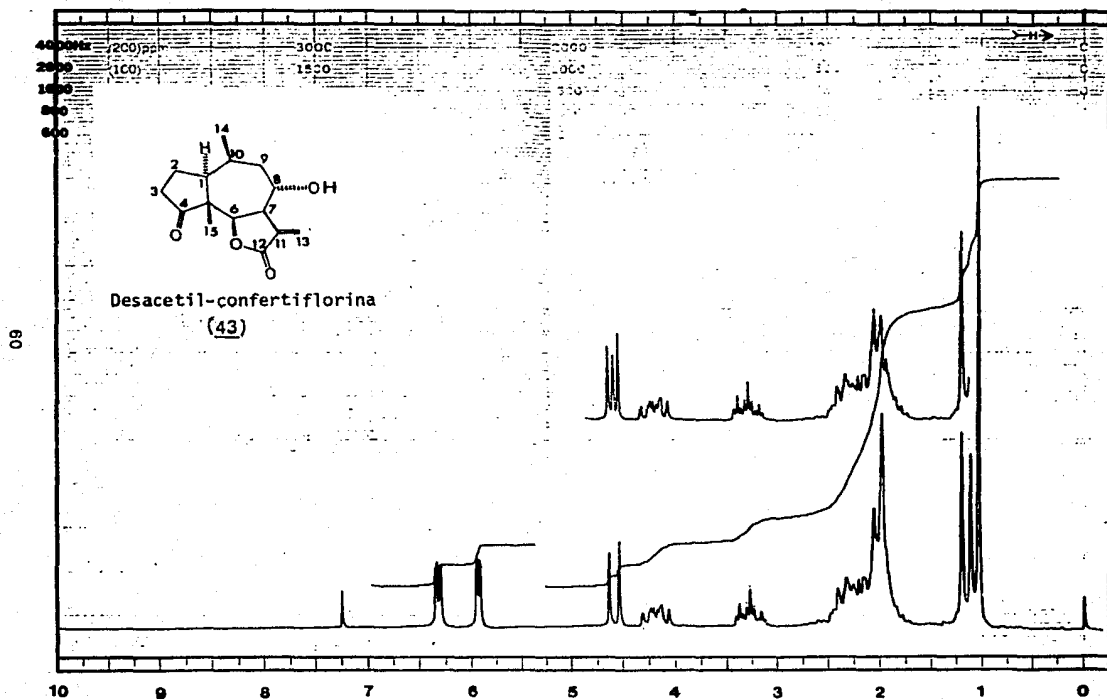
espectro 2



espectro 3

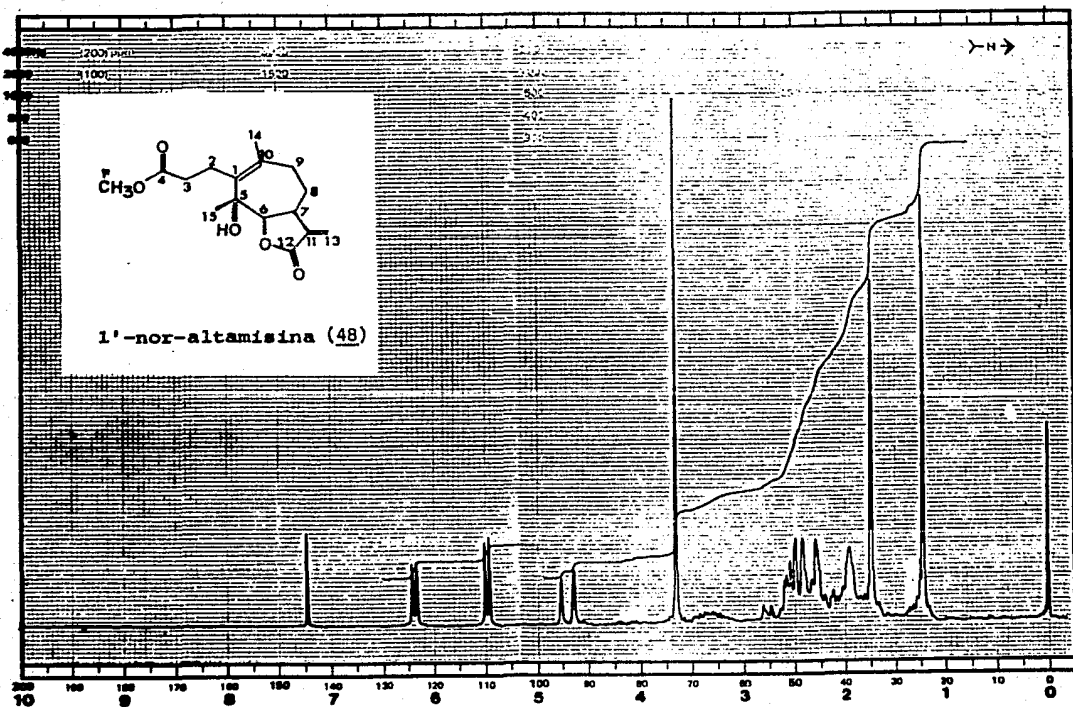


espectro 4

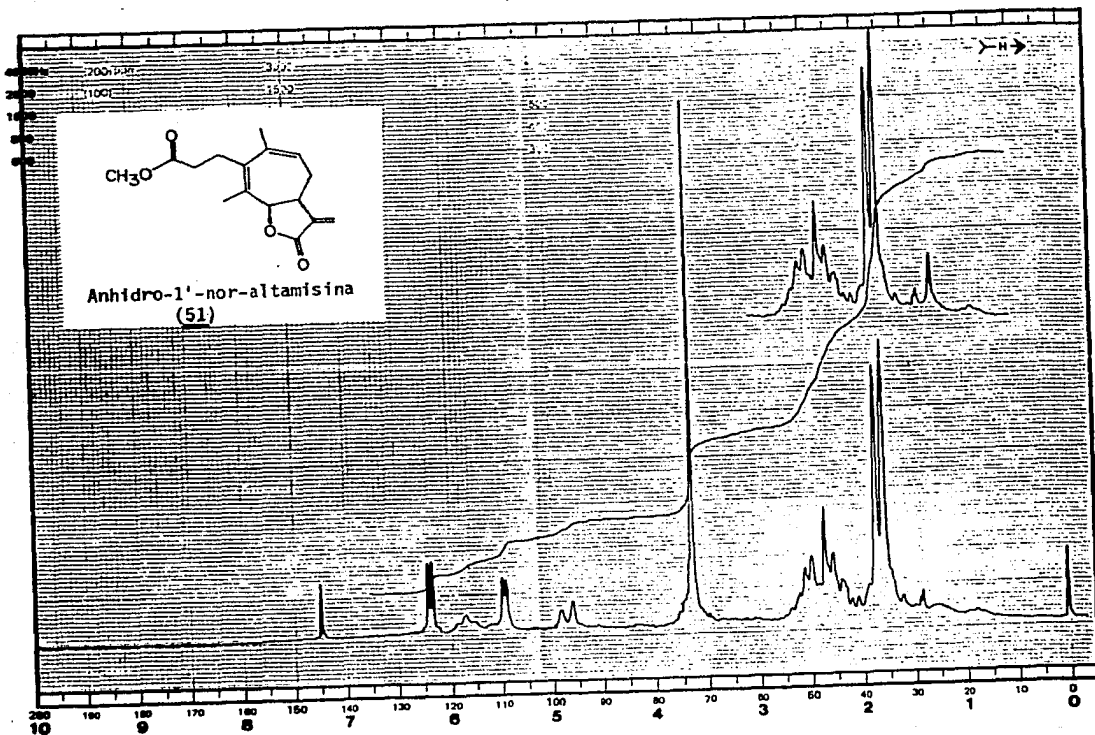


espectro 5

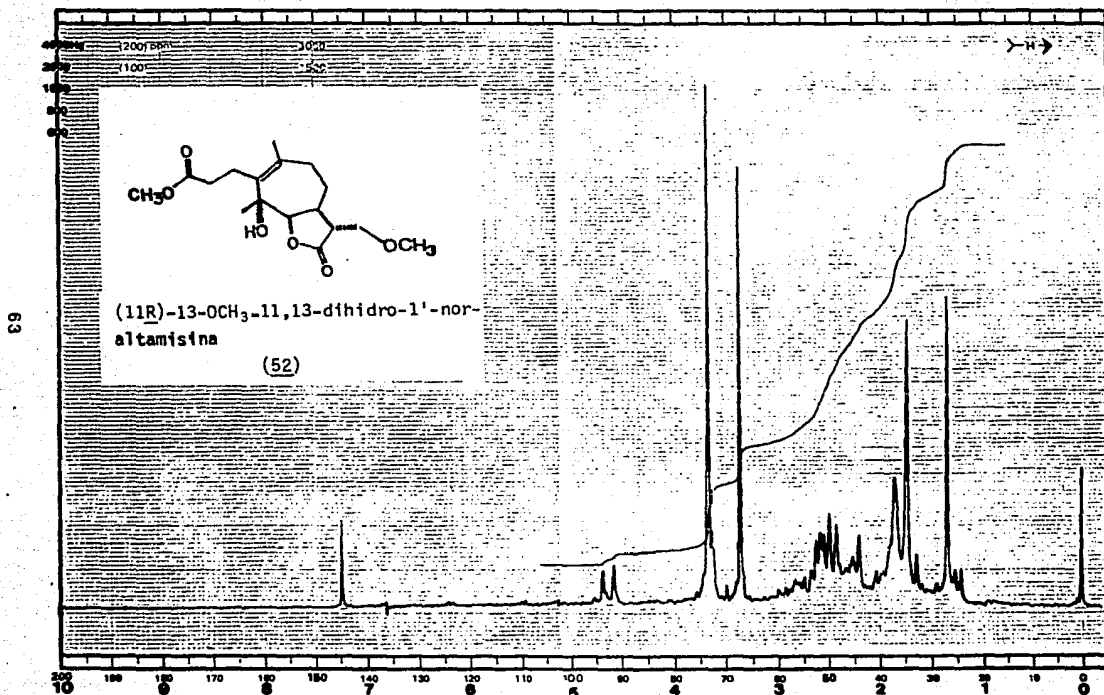
61



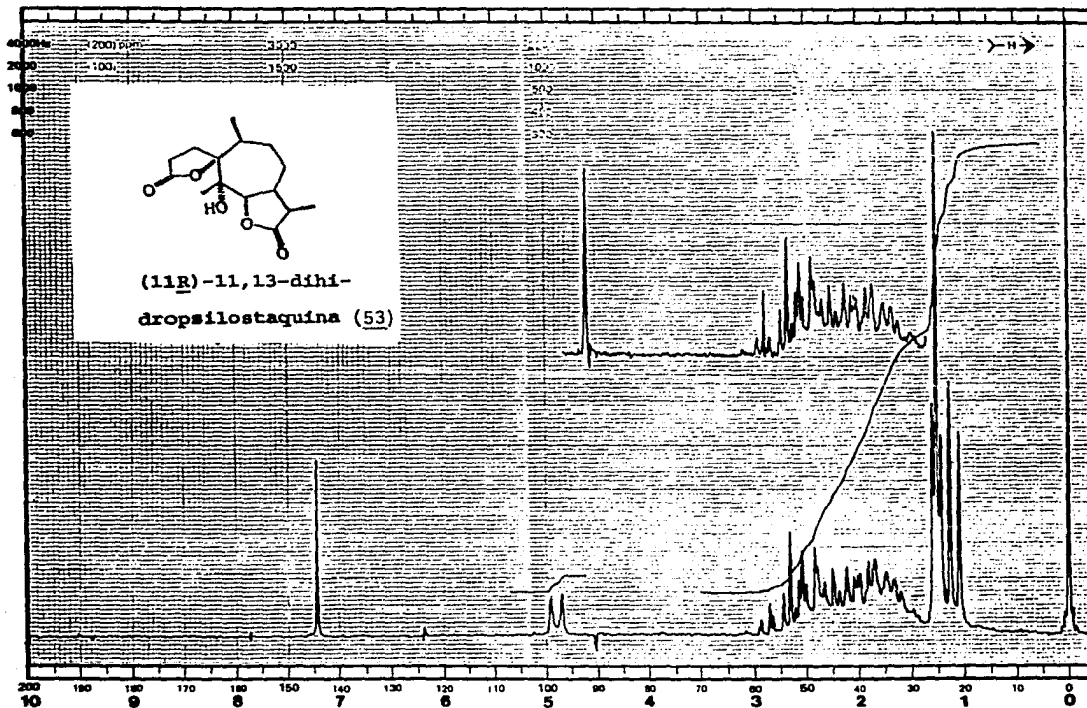
espectro 6



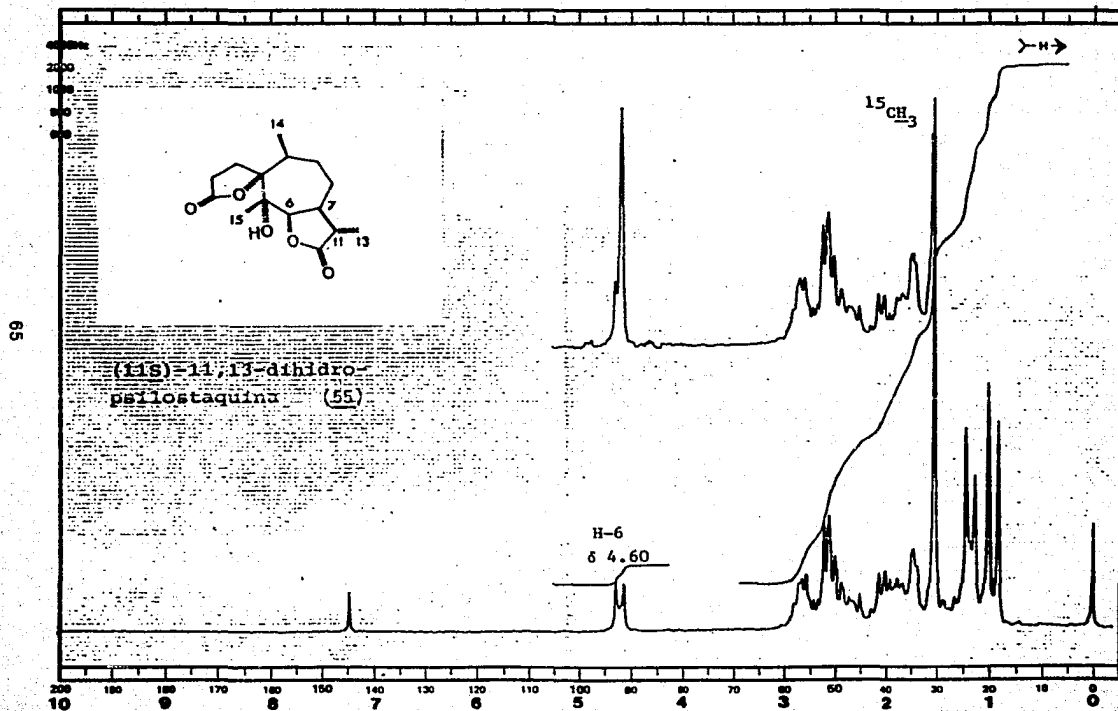
espectro 7



espectro 8



espectro 9



RESUMEN Y CONCLUSIONES

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se realizó el análisis fitoquímico de una población de *Ambrosia confertiflora*, el cual permitió el aislamiento y determinación estructural de nueve metabolitos secundarios. Estigmasterol (56), β -sitosterol (57), 1'-nor-altamisina (48), psilostaquina (39), (11R)-11,13-dihidro-psilostaquina (53), psilostaquina B (4), clovandiol (58), psilostaquina C (5) y desacetilconfertiflorina (43), entre los cuales, 1'-nor-altamisina (48) y (11R)-11,13-dihidro-psilostaquina (53), representan nuevos productos naturales.

Las correlaciones químicas realizadas permitieron establecer la estereoquímica en C-11 de un dihidroderivado de la psilostaquina (39) aislado de *A. arborescens*,³⁹ correspondiendo esta a la configuración 11S.

Los resultados obtenidos confirman la diferente composición química de diferentes poblaciones de especies de *Ambrosia*.

BIBLIOGRAFIA

B I B L I O G R A F I A

1. Romo de Vivar, A., La Química de Productos Naturales en México: Lactonas Sesquiterpénicas, *Ciencia* 32, 163 (1981).
2. Rzedowski, J., La Vegetación de México. Ed. Limusa, México (1978).
3. Heywood, V. H., Harborne, J. B. and Turner, B. L. eds. The Biology and Chemistry of the Compositae. Vols. 1 and 2. Academic Press. London 1977.
4. En particular, las lactonas sesquiterpénicas son los metabolitos secundarios que han sido utilizados más ampliamente como indicadores taxonómicos:
Seaman, F. C., Sesquiterpene Lactones as Taxonomic Characters in the Asteraceae, *Bot. Rev.* 48, 121 (1982).
5. Yoshioka, H., Mabry, T. J. and Timmerman, B. N., Sesquiterpene Lactones. Chemistry, NMR and Plant Distribution. University of Tokyo Press 1973.
6. Inayama, S., Ohkura, T., Kawamata, T. and Yanogito, M. Ambrosic Acid, a New Irritant Principle from *Ambrosia artemisiifolia*, *Chem. Pharm. Bull.* 22, 1435 (1974).
7. Stefanovic, M., Jockic, A., Behbud, A. Jeremic, D. New sesquiterpentic lactones from *Ambrosia artemisiifolia* L., 8-acetoxy-3-oxopseudoguaian-6,12,-olide and 4-hydroxy-3-oxo-pseudoguaian-6,12-olide. *Bull. Acad. Serbe Sci. Arts, Cl. Sci. Math. Nat., Sci. Nat.* 54, 43 (1976).
8. Raszeja, W. and Gill, S. Isolation and identification of psilostachyin B from *Ambrosia artemisiifolia*. *Plant. Med.* 32, 319 (1977).

9. Stefanovic, M., Jockic, A. and Behbud, A. Psilostachyin and pilostachyin C from Yugoslav *Artemisia vulgaris* and *Ambrosia artemisiifolia*. *Glas. Hem. Drus.*, Beograd, 31, 463 (1972).
10. Chubinidze, V. V., Beradze, L. V. and Buchoridze, L. D. Chemical composition of the essential oil of *Ambrosia artemisiifolia*. *Khim. Prii. Soedin.* 529 (1984).
11. Herz, W., Raulais, D. and Anderson, G. D. Sesquiterpene lactones of *Ambrosia cordifolia*. *Phytochemistry* 12, 1415 (1973).
12. Bohlmann, F., Zdero, C. and Lonitz, M. Neve Guajen-Derivative aus *Parthenium hysterophorus* and ein weiteres pseudoguaianolid aus *Ambrosia cumanensis*. *Phytochemistry* 16, 575 (1977).
13. Borges, J., Manresa, M. T., Martín, J. L., Pascual, C. and Vázquez, P. Altamisin a new sesquiterpene lactone from *Ambrosia cumanensis* H. B. K. *Tetrahedron Lett.* 1513 (1978).
14. a) Borges del Castillo, J., Manresa, Ferrero, M. T., Martín Ramón, J. L. and Vázquez Bueno, P. Two new psilostachyins from *Ambrosia cumanensis* H. B. K. *An. Quím. Ser. C.* 76, 277 (1980).
 b) Borges del Castillo, J., Manresa-Ferrero, M. T., Martín-Ramón, J. L., Pascual, C. and Vázquez, P. Paulitin and isopaulitin, Two new sesquiterpenic lactones from *Ambrosia cumanensis* H.B.K. *Bol. Soc. Quím. Perú.* 45, 53 (1979).
15. Rodríguez, L. F. and Vázquez, P., Sesquiterpene lactones from *Ambrosia cumanensis* H. B. K. *An. Quím. Ser. C.* 77, 52 (1981).
16. Borges del Castillo, J., Bradley-Delso, A., Manresa-Ferrero, M. T., Vázquez-Bueno, P. and Rodríguez-Luis, F. A sesquiterpenoid lactone from *Ambrosia cumanensis*. *Phytochemistry* 22, 782 (1983).

17. Alonso-López, M., Arriaga-Giner, F. J., Borges del Castillo, J. and Vázquez-Bueno, P. Salvadorian Compositae. Part 8. N-alkanes and triterpenoids from some Salvadorian Compositae. *Fitoterapia* 56, 123(1985).
18. Seaman, F. C. and Mabry, T. J. Dumosin, a new secoambrosanolide from *Ambrosia dumosa* (Gray) Payne (Compositae). *Rev. Latinoamer. Quím.* 10, 85 (1979).
19. Seaman, F., Rodríguez, E., Carman, N. J. and Mabry, T. J. A new flavonoid from *Ambrosia dumosa*. *Phytochemistry* 11, 2626 (1972).
20. Ohmoto, T., Nikaïdo, T. and Ikuse, M. Constituents of pollen II. Constituents of pollen grains of *Ambrosia elatior*. *Yakagaku Zasshi* 94, 362 (1974).
21. Herz, W., Gage, D. and Kumar, N. Damsinic acid and Ambrosanolides from vegetative *Ambrosia hispida*. *Phytochemistry* 20, 1601 (1981).
22. Abdel Solam, N., Mahmoud, Z. F., Ziesche, J. and Jakupovic, J. Sesquiterpenic lactones from *Ambrosia maritima* (Damsisa). *Phytochemistry* 23, 2851 (1984).
23. Picman, A. K., Arnason, J. T. and Lambert, J. D. H. Hymenin, another sesquiterpene lactone in *Ambrosia maritima*. *J. Nat. Prod.* 49, 556 (1986).
24. Vichniewski, W., Kazumi, Shuuhama, I., Rosanske, R. C. and Herz, W. Granilin and Ivasperin from *Ambrosia polystachya*. ^{13}C -NMR spectra of hydroxylated isoalantones. *Phytochemistry* 15, 1531 (1976).
25. Oberti, J. C., Silva, G. L., Sosa, V. E., Kulanthaivel, P. and Herz, W. Ambrosanolides and secoambrosanolides from *Ambrosia tenuifolia*. *Phytochemistry* 25, 1355 (1986).
26. Seaman, F. C. and Mabry, T. J. Sesquiterpene lactones of diploid

- and tetraploid *Ambrosia comphorata*. *Biochem. Syst. Ecol.* 7, 3 (1979).
27. Kumamoto, J., Scora, R. W. and Payne, W. W. Ambrosial, a dehydrochloral isolated from the leaf oil of *Ambrosia confertiflora* (ragweed). *J. Agric. Food Chem.* 23, 123 (1975).
 28. Herz, W., Anderson, G. D., Maurer, G., Maurer, I., Flores, G. und Farkas, L. Isolierung, shuktur und synthese der flavone von *Ambrosia grayi nelson*. *Tetrahedron* 31, 1577 (1975).
 29. Herz, W., Fitzhenry, B. and Anderson, G. D. 5,4'-dihydroxy-3,7-dimethoxyflavone from *Ambrosia eriocentra*. *Phytochemistry* 12, 1181 (1973).
 30. Mabry, T. J., Miller, H. E., Kagan, H. B. and Renold, W. The structure of psilostachyin, a new sesquiterpene dilactone from *Ambrosia psilostachya*. *Tetrahedron* 22, 1139 (1966).
 31. Romo, J. and Rodriguez-Hahn. Canambrin, a new sesquiterpene dilactone from *Ambrosia canescens*. *Phytochemistry* 9, 1611 (1970).
 32. Mabry, T. J., Kagan, H. B. and Miller, H. E. Psilostachyin B, a new sesquiterpene dilactone from *Ambrosia psilostachya* DC. *Tetrahedron* 22, 1943 (1966).
 33. Kagan, H. B., Miller, H. E., Renold, W., Lakshmikantham, M. V., Tether, L. R., Herz, W. and Mabry, T. J. The structure of psilostachyin C, a new sesquiterpene dilactone from *Ambrosia psilostachya*. *J. Org. Che.* 31, 1629 (1966).
 34. Rodriguez, E., Yoshioka, H. and Mabry, T. J. The sesquiterpene lactone chemistry of the genus *Parthenium* (Compositae). *Phytochemistry* 10, 1145 (1971).
 35. Miller, H. E. and T. J. Mabry. 3-hydroxydamsin, a new pseudoguaianolide from *Ambrosia psilostachya* (Compositae). *J. Org. Chem.* 32,

2929 (1967).

36. Fischer, N. H. and Mabry, T. J. New pseudoguaianolides from *Ambrosia confertiflora* DC (Compositae). *Tetrahedron* 23, 2529 (1967).
37. Samek, Z. and Budesinsky, M. *in situ* Reactions with trichloroacetyl isocyanate and their application to structural assignment of hydroxy compounds by $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy. A General Comment. *Collect. Czech. Chem. Commun.* 44, 558 (1979).
38. Riech, H. and Mabry, T. J. The isolation and structure of tetra-neureine A, a new pseudoguaianolide from *Parthenium alpinum* var. *tetraneuris* (Compositae). *Tetrahedron* 25, 805 (1969).
39. Herz, W., Anderson, G., Gibaja, S. and Raulais, D. Sesquiterpene lactones of some *Ambrosia* species. *Phytochemistry* 8, 877 (1969).
40. Delgado, G., Cárdenas, H., Peláez, G. Pereda-Miranda, R. and Romo-de Vivar, A. Terpenoids from *Viguiera excelsa* and *Viguiera oaxacana*. *J. Nat. Prod.* 47, 1042 (1984).