

45
2el.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

**AISLAMIENTO, DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA
MOLECULAR Y BIOEVALUACION PRELIMINAR DE
LOS CONSTITUYENTES QUIMICOS DE LA PLANTA
MEDICINAL *Psacalium radulifolium* (HBK.)
N. ROBINS. & BRETT. (ASTERACEAE)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
Q U I M I C A
P R E S E N T A:
ALICIA TREJO SILVA



MEXICO D. F.

1997

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

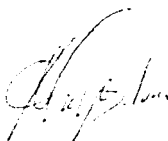
JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE
VOCAL
SECRETARIO
PRIMER SUPLENTE
SEGUNDO SUPLENTE

García Manrique Consuelo
Cervera Flores Ernestina
Delgado Lamas Eduardo Guillermo
Mendoza Arellano Silvia
Elizalde Torres Josefina

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:
Laboratorio 1 de la Unidad de Investigación en Plantas Medicinales
Instituto de Química, UNAM.

SUSTENTANTE:
Alicia Trejo Silva



ASESOR DEL TEMA:
Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas



Los resultados de esta tesis se presentaron en el 23rd International Symposium on Natural Products, celebrado el 8 y 9 de mayo de 1997 en Oaxtepec, Mor., México.

Este trabajo se realizó con apoyo financiero de la Dirección General de Asuntos de Personal Académico de la UNAM, como parte del proyecto IN208094 y bajo la supervisión del Dr. Guillermo Delgado Lamas.

Dedico mi tesis

*A ti mami, que además de darme la vida, me has dado tu apoyo,
carinho y el ejemplo más grande de superación.*

*A mi papá, que mientras estuvo a mi lado siempre me dio lo
mejor de él.*

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Guillermo Delgado por la asesoría brindada en el desarrollo de este trabajo, y por el apoyo y estímulo en la superación constante de sus alumnos.

A la M. en C. Ma. Isabel Chávez y la M. en C. Beatriz Quiroz, por la obtención de los espectros de resonancia magnética nuclear.

A la Q. Rocío Patiño, por el corrimiento de los espectros de infrarrojo.

A el I. Q. Luis Velasco y el M. en C. Javier Pérez Flores, por el registro de los espectros de masas.

Al Q. F. B. Víctor Navarro y a la Biol. Carmen Gutiérrez, por la realización de las pruebas biológicas.

Al personal de la biblioteca del Instituto de Química "Jesús Romo Armería".

A todos mis compañeros del laboratorio I.

A Carmen, Ricardo y Vero, por su valiosa ayuda.

INDICE

INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	3
ANTECEDENTES	4
DISCUSION DE RESULTADOS	17
DESARROLLO EXPERIMENTAL	40
RESUMEN Y CONCLUSIONES	54
ESPECTROS	
Espectro 1. IR (KBr, pastilla) del éter metílico del deshidrocacalol (35)	57
Espectro 2. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del éter metílico del deshidrocacalol (35)	58
Espectro 3. IR (KBr, pastilla) del cacalol (20)	59
Espectro 4. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) del cacalol (20)	60
Espectro 5. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 125 MHz) del cacalol (20)	61
Espectro 6. RMN ¹³ C DEPT (CDCl ₃ , 125 MHz) del cacalol (20)	62
Espectro 7. HMQC (CDCl ₃ , 500 MHz) del cacalol (20)	63
Espectro 8. RMN ¹ H TOCSY (CDCl ₃ , 500 MHz) del cacalol (20)	64
Espectro 9. HMBC (CDCl ₃ , 500 MHz) del cacalol (20)	65
Espectro 10. IR (CHCl ₃) de adenostina A (54)	66
Espectro 11. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de adenostina A (54)	67
Espectro 12. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 125 MHz) de adenostina A (54)	68
Espectro 13. HMQC (CDCl ₃ , 500 MHz) de adenostina A (54)	69
Espectro 14. IR (KBr, pastilla) del estigmasterol (68)	70
Espectro 15. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del estigmasterol (68)	71
Espectro 16. IR (KBr, pastilla) de la decompostina (8)	72
Espectro 17. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de la decompostina (8)	73
Espectro 18. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 125 MHz) de la decompostina (8)	74
Espectro 19. IR (KBr, pastilla) de la neoadenostilona (59)	75
Espectro 20. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de la neoadenostilona (59)	76
Espectro 21. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 125 MHz) de la neoadenostilona (59)	77
Espectro 22. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del β-sitosterol (69)	78
Espectro 23. IR (CHCl ₃) de radulifolina A (70) y 11-epi-radulifolina A (71)	79
Espectro 24. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de radulifolina A (70) y 11-epi-radulifolina A (71)	80
Espectro 25. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 500 MHz) de radulifolina A (70) y 11-epi-radulifolina A (71)	81

Espectro 26. RMN ¹³ C DEPT (CDCl ₃ , 125 MHz) de radulifolina A (70) y 11-epi-radulifolina A (71)	82
Espectro 27. EM de radulifolina A (70) y 11-epi-radulifolina A (71)	83
Espectro 28. RMN ¹ H COSY (CDCl ₃ , 500 MHz) de radulifolina A (70) y 11-epi-radulifolina A (71)	84
Espectro 29. HMQC (CDCl ₃ , 500 MHz) de radulifolina A (70) y 11-epi-radulifolina A (71)	85
Espectro 30. HMBC (CDCl ₃ , 500 MHz) de radulifolina A (70) y 11-epi-radulifolina A (71)	86
Espectro 31. IR (CHCl ₃) de radulifolina B (72)	87
Espectro 32. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de radulifolina B (72)	88
Espectro 33. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 500 MHz) de radulifolina B (72)	89
Espectro 34. RMN ¹³ C DEPT (CDCl ₃ , 125 MHz) de radulifolina B (72)	90
Espectro 35. EM de radulifolina B (72)	91
Espectro 36. COSY (CDCl ₃ , 500 MHz) de radulifolina B (72)	92
Espectro 37. HMQC (CDCl ₃ , 500 MHz) de radulifolina B (72)	93
Espectro 38. HMBC (CDCl ₃ , 500 MHz) de radulifolina B (72)	94
Espectro 39. IR (CHCl ₃) de cacalona (19) y 6-epi-cacalona (30)	95
Espectro 40. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de cacalona (19) y 6-epi-cacalona (30)	96
Espectro 41. RMN ¹ H COSY (CDCl ₃ , 500 MHz) de cacalona (19) y 6-epi-cacalona (30)	97
Espectro 42. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 125 MHz) de cacalona (19) y 6-epi-cacalona (30)	98
Espectro 43. HMQC (CDCl ₃ , 500 MHz) de cacalona (19) y 6-epi-cacalona (30)	99

BIBLIOGRAFIA

100

INTRODUCCION

El hombre, en el comienzo de su historia, recurrió a la naturaleza en busca de los recursos necesarios para su supervivencia. A través de aciertos y errores aprendió a conocer las plantas que le eran útiles y tal conocimiento, transmitido de generación en generación, fue incrementándose con la experiencia. Así, en todo el mundo, el contacto de las diferentes culturas con la diversidad biológica, propició que desde épocas remotas se hiciera uso de productos naturales en la elaboración de medicamentos, pigmentos y alimentos, entre otros, permaneciendo hasta nuestros días el uso de las plantas con fines curativos, no obstante, el enorme desarrollo científico y tecnológico alcanzado por la humanidad.

A pesar de la impresionante evolución de la química en las últimas décadas, sobre todo en el área de la síntesis orgánica y la química medicinal, no existen tratamientos eficientes para numerosas enfermedades tales como la malaria, esquistosomiasis, tripanosomiasis, lepra, infecciones virales, cáncer, etc. Por otro lado, la industria farmacéutica es una industria cara e inaccesible para los sectores pobres de la población, y la elaboración de fármacos o su adquisición se halla determinada económica, tecnológica y políticamente por los centros de producción químico-farmacéutica, por lo que el tratamiento de enfermedades a través de plantas constituye una alternativa o complemento viable.

Lo anterior, aunado a los avances logrados en biotecnología, en técnicas analíticas de extracción y caracterización, la competición a nivel mundial y la pérdida tanto de culturas indígenas como de biodiversidad, son algunos de los factores que han favorecido el renovado interés de los científicos por productos de origen natural, como fuente de prototipos para la elaboración de nuevos fármacos, agroquímicos o compuestos con alguna otra actividad biológica de importancia.¹

En México, existe un gran número de practicantes de la medicina tradicional, práctica que se ve acentuada en las comunidades rurales, siendo los problemas gastrointestinales, respiratorios y de la piel los que mayormente se tratan con este tipo de medicina. Algunos sectores de la sociedad se han referido a este hecho como un indicativo del atraso de la medicina social en el que se halla nuestro país, sin embargo, es importante reconocer que las plantas medicinales podrían representar un recurso primario de atención, si se contara con las suficientes bases científicas sobre las propiedades farmacológicas (antidiarreicas, antitúxicas, espasmolíticas, antiinflamatorias, antimicrobianas y antisépticas) que se les atribuyen.²

La información referente a la vegetación útil de nuestro territorio se encuentra relativamente fragmentada y, en algunos casos, es inexistente. Para poder ponderar el potencial que tiene nuestra flora en la búsqueda de nuevas sustancias que sean, desde el punto de vista biológico, importantes, y hacer un aprovechamiento racional de ella, se requiere ordenar, actualizar y ampliar dicha información, esto implica la elaboración, para cada especie, de un historial que incluya: un resumen o síntesis del uso que tiene la planta dentro de la medicina tradicional, aspectos etnobotánicos tales como sinónimos dados a la planta en la nomenclatura científica, ubicación y distribución geográfica, características

ecológicas de su hábitat, taxonomía y nombres populares que recibe, análisis crítico de los antecedentes históricos y bibliográficos e información química-biológica contemporánea nacional y extranjera de la especie o de plantas del mismo género, esfuerzo en el que se ven involucrados profesionistas de diversas ramas científicas (químicos, biólogos, etnobotánicos, químico-farmacobiólogos, etc.)

Se ha propuesto, como resultado de estudios etnobotánicos, que ciertas plantas empleadas en la medicina tradicional poseen el mismo nombre común y comparten ciertos usos, a pesar de pertenecer a taxa diferenciados botánicamente. El reconocimiento de estas especies vegetales ha permitido la integración de grupos que se han denominado complejos de plantas medicinales, y su estudio integral requiere el análisis de cada uno de los miembros que constituyen el complejo.

El presente trabajo es un estudio químico y biológico de *Passiflora radulifolium* (HBK.) H. Robins. & Brett, especie que está incluida en el complejo "matarique" de plantas medicinales. Este estudio pretende constituir una contribución al conocimiento referente a nuestros recursos naturales, particularmente, sobre las especies vegetales empleadas en la medicina tradicional, que coadyuve a su uso racional y conservación.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Generar conocimiento referente a los recursos naturales de nuestro país, principalmente sobre las especies vegetales empleadas en la medicina tradicional.

Objetivos específicos:

- 1) Realizar la extracción, aislamiento, determinación estructural y bioevaluación preliminar, de los constituyentes químicos de *Psacalium rudolfifolium* (HBK.) H. Robins. & Brett., especie perteneciente al grupo de plantas denominado "complejo matarique" y que no ha sido estudiada desde el punto de vista químico.
- 2) Establecer posibles correlaciones entre el uso popular del vegetal y la estructura química y propiedades biológicas de los metabolitos secundarios aislados.
- 3) Proporcionar argumentos adicionales que permitan ponderar la integración de ciertas especies vegetales en "complejos de plantas medicinales".

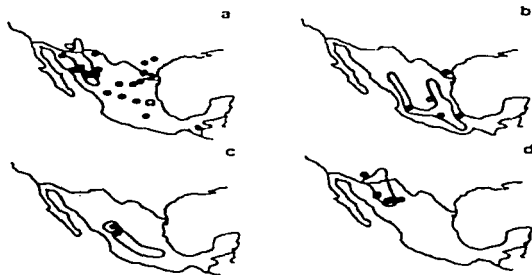
ANTECEDENTES

Ciertas especies medicinales de México se han agrupado en lo que se ha denominado complejos de plantas, como se ha mencionado sucintamente en la introducción. Este agrupamiento es debido a que comparten un nombre y exhiben características morfológicas y/o aromáticas similares, así como propiedades curativas semejantes.³

Psacalium radulifolium (HBK.) H. Robins. & Brett. es una planta medicinal, perteneciente al complejo matarique, el cual está formado también por las especies: *Psacalium decompositum* (sin. *Cacalia decomposita*), *P. sinuatum*, *P. peltatum*, *P. sp* y *Acourtia thurberi*, todas ellas de la familia Asteraceae (Compositae).⁴

Las especies de este complejo medicinal, se caracterizan por tener rizomas gruesos, sus raíces se encuentran agrupadas verticalmente formando manojos y presentan vellosidades en la base del tallo.³

Este complejo es ampliamente utilizado en el norte de la república y sur de E.U., en el tratamiento de diversas enfermedades. El té de las raíces se utiliza como remedio en casos de diabetes, artritis, dolores musculares y de espalda, disfunciones del tracto urinario y vejiga, reumatismo, gripa, ictericia y cólicos (en bebés), como tónico, diurético y antiséptico (en el lavado de heridas, en este caso también se aplica esta raíz en forma de cataplasma). El macerado se usa el tratamiento de mordeduras de víbora y las irritaciones de la piel son tratadas con un polvo preparado o la infusión de estas raíces.³



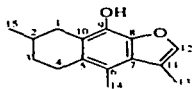
*Fig. 1. Distribución geográfica del complejo matarique: a) *Psacalium decompositum*; b) *P. peltatum*; c) *P. sinuatum*; d) *Acourtia thurberi*.

Por sus aplicaciones dentro de la medicina tradicional se plantea la hipótesis de que esta planta podría contener metabolitos que presenten propiedades antimicrobianas, antisépticas o alguna otra que correlacione con su uso popular. De ahí, el interés por su estudio.

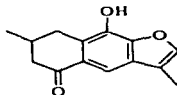
De este complejo de plantas, solamente dos especies han sido estudiadas químicamente: *Cacalia decomposita* A. Gray, de nombre común matarique (en idioma yaqui se le denomina maturi o maturin, es la especie que da nombre a este complejo de plantas)⁵ y *Acaortia thurberi*.

Debido a su importancia dentro de la medicina tradicional se han hecho estudios amplios de *P. decompositum* A. Gray desde hace ya varias décadas, los cuales se describirán brevemente a continuación.

En 1964 Romo y Joseph-Nathan⁶ publicaron el aislamiento a partir del extracto hexánico de las raíces de esta planta, de dos sustancias a las que denominaron cacalol y cacalona, y a las cuales les asignaron las estructuras 1 y 2.

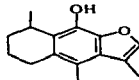


(1)



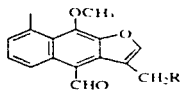
(2)

Dos años más tarde (1966) estos mismo autores⁷, basándose en una secuencia de reacciones, confirmaron que el cacalol es un derivado de la furotetralina. Sus resultados les llevaron a asignar el metilo adscrito previamente en el C-2, a la posición C-1 (3).

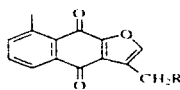


(3)

En ese mismo año Correa y Romo⁸ aislaron de la misma fuente, cuatro sustancias a las que llamaron matorina (4), matorina (5), matorina (6) y matorina (7), todas ellas derivados del furonatrieno

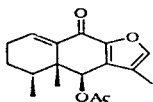


(4) R = OH
(5) R = H

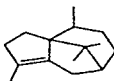


(6) R = OH
(7) R = H

En 1968 y continuando con el estudio de esta planta, fueron aislados primero, un compuesto derivado del eremofilano, al que se le dio el nombre de decompostina (8)⁹ La configuración absoluta de este compuesto fue determinada un año más tarde.¹⁰ Posteriormente, fueron aislados cinco constituyentes más¹¹, el cipereno (9), ácido *trans*-crotónico (10), guayazuleno (11) y dos productos cristalinos, uno de ellos establecido como el éter metílico del deshidrocajalol (12), y 13



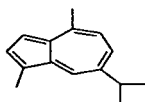
(8)



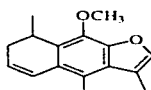
(9)



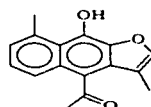
(10)



(11)

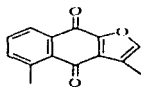


(12)



(13)

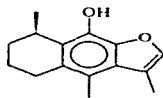
En 1969 un grupo de investigadores japoneses junto con Jesús Romo¹², en un trabajo de investigación acerca de la reacción de Diels-Alder con benzoquinonas asimétricas sustituidas y dienos, lograron la síntesis de la matorinona (7) y su isómero (14). Al hacer una comparación de sus resultados con los obtenidos por Correa y Romo³, este grupo de investigación estableció que el isómero 14 que ellos habían sintetizado y la matorinona, eran la misma sustancia. Al mismo tiempo, y de manera independiente, otros dos grupos de investigación llegaron a la misma conclusión después de realizar la síntesis de la quinona 7.^{13, 14}



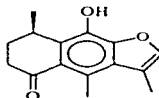
(14)

Estos resultados hicieron necesaria la revisión de las estructuras del cacalol (1), cacalona (2) y el éter metílico del deshidrocacalol (12), ya que la posición y estereoquímica del metilo dentro del anillo alifático de seis miembros en estas estructuras, resultaba incierta.^{15, 16}

Un año antes (1968) se habían propuesto las estructuras 1a y 2a para el cacalol y la cacalona, basadas en la interpretación de sus curvas de dispersión óptica rotatoria (d.o.r).¹⁷

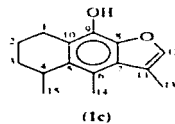
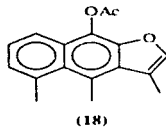
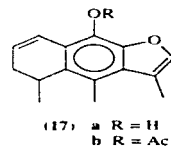
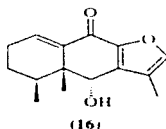
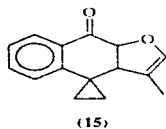


(1a)

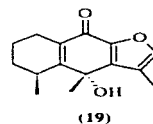
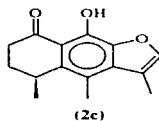
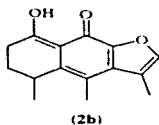


(2a)

De manera paralela, estudios espectroscópicos del derivado ciclopropílico **15**¹¹ y los resultados de la transposición de la desacetil-6-epidecompositina (**16**),¹² que genera al compuesto **17a**, el cual, después de acetilarlo (**17b**) y aromatizarlo da el producto **18**, idéntico al que se obtiene por aromatización directa del cacalol¹³, permitieron establecer definitivamente la posición del metilo en el C-4, formando un centro asimétrico en el anillo alifático y quedando de esta manera la estructura **1e** para el cacalol¹⁴, misma que fue confirmada al llevar a cabo la síntesis de este compuesto^{14, 21}.



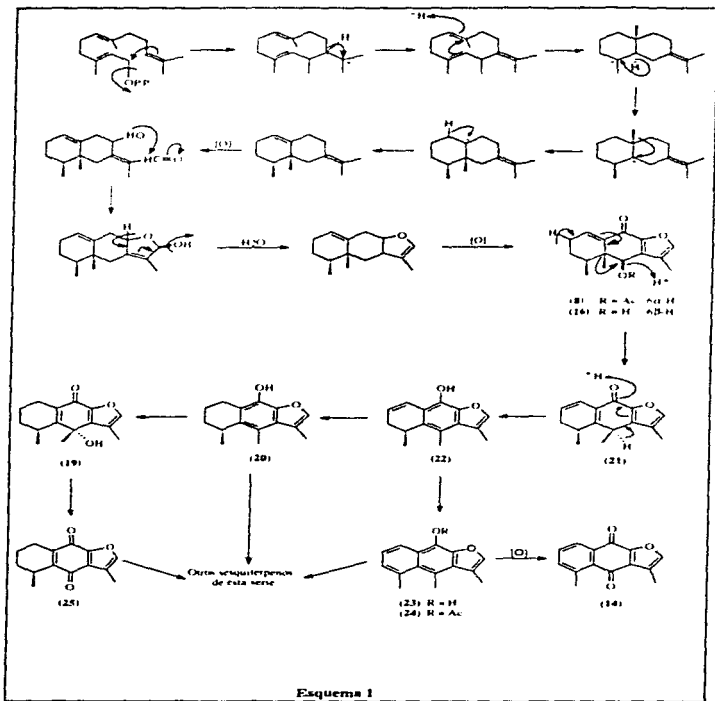
La inconsistencia de la estructura **2a** con el comportamiento químico y las propiedades espectroscópicas de la cacalona, llevó a la propuesta estructural **2b** para este compuesto, mediante un estudio de espectrometría de masas, la cual tampoco resultó ser congruente.²¹



A fin de lograr la elucidación estructural de esta sustancia, se llevó a cabo la síntesis de la cetona **2c** (tautómero de **2b**). Las propiedades físicas de **2c**, resultaron ser diferentes con las del producto natural. Esto, junto con los datos químicos y espectroscópicos de la cacalona y los estudios referentes a la estructura del cacalol, permitieron asignar a este compuesto la estructura **19**.²²⁻²³

Con la determinación estructural del cacalol, fue posible proponer una ruta biogénica que relaciona este tipo de compuestos con otros sistemas conocidos (Esquema I).^{14, 24, 25}

Esta ruta, sugiere dos cosas importantes: una configuración (4S) para el cacalol (**20**) y sesquiterpenos relacionados a éste, lo cual, quedó demostrado al aislar el ácido (S)-(+)-2-metilhexanodíico a partir de la ozonólisis del cacalol²⁴, y que éstos compuestos son derivados de sesquiterpenos del tipo del eremofilano, tales como la decompostina (**8**).

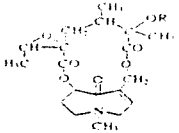
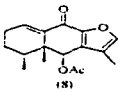
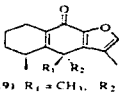
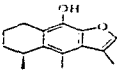


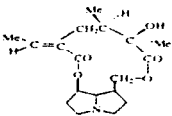
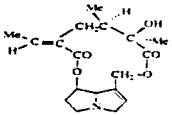
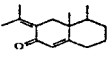
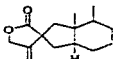
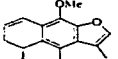
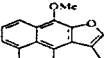
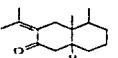
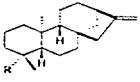
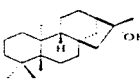
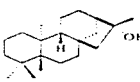
En general, poca atención ha recibido el género *Cacalia* en cuanto a estudios fitoquímicos se refiere.

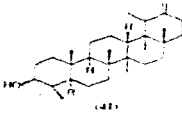
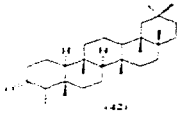
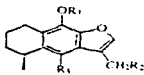
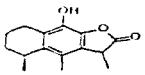
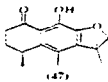
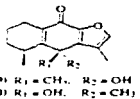
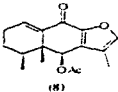
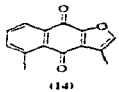
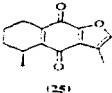
El tipo de metabolitos encontrados en especies de dicho género, han sido en su mayoría sesquiterpenos, y en menor proporción alcaloides pirrolizidínicos, entre ellos uno al que se le denominó hastacina (30) y del que se encontró posee fuerte actividad hepatotóxica.²⁶

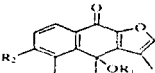
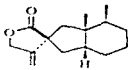
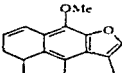
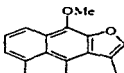
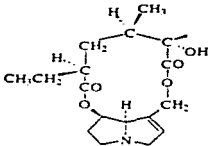
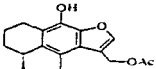
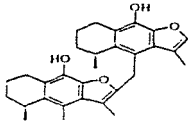
Cabe mencionar que recientemente se llevó a cabo una revisión de los géneros *Cacalia* y *Senecio* de México y Centroamérica, ya que según especialistas de la materia, la utilización de ambos conceptos era inadecuada, de acuerdo a la información taxonómica con que se cuenta actualmente. Este estudio dio como resultado el surgimiento de 19 géneros, entre los que se encuentra el género *Psacalium*, que incluye a cerca de 40 especies (dos especies representativas son: *P. decomposition* y *P. sinuatum*), y se distribuye desde Arizona hasta Guatemala, (principalmente en México). Es por ello que algunas de las especies pertenecientes en otro tiempo al género *Cacalia* son sinónimos de *Psacalium*.²⁷

A continuación se presenta una lista de las especies de *Cacalia* analizadas hasta el momento, su origen, y las sustancias aisladas a partir de estas.

Especie (material vegetal)	Origen	Compuesto
<i>Cacalia floridana</i> ²⁷ (todo el vegetal)	Florida (E.U.A.)	 (26) R = H (27) R = COCH ₃
<i>Cacalia ampullaceae</i> ²⁹ (raíces)	Pachuca, Hgo. (México)	 (18)
		 (19) R ₁ = CH ₃ , R ₂ = OH (30) R ₁ = OH, R ₂ = CH ₃
		 (20)

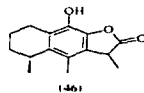
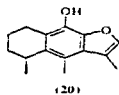
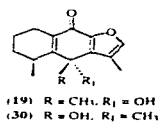
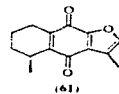
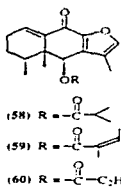
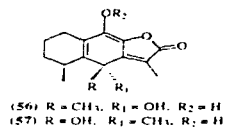
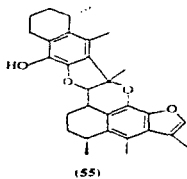
Especie (material vegetal)	Origen	Compuesto
<i>Cacalia hastata</i> ³⁰ (todo el vegetal)	URSS	 <p>(31)</p>
<i>Cacalia hastata</i> L. subsp. <i>orientalis</i> Kitamura ^{29, 31} (raíces)	Nishino (Japón)	 <p>(32)</p>  <p>(33)</p>  <p>(34)</p>  <p>(35)</p>  <p>(36)</p>  <p>(37)</p>
<i>Cacalia bulbifera</i> (Maxim) Kitam ³² (todo el vegetal)	Sendai (Japón)	 <p>(38) R = CHO</p>  <p>(39) R = COOH</p>  <p>(40)</p>

Especie (material vegetal)	Origen	Compuesto
<i>Cacalia bulbifera</i> (cont.)		<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="508 227 689 339">  <p>(41)</p> </div> <div data-bbox="706 227 887 339">  <p>(42)</p> </div> </div>
<i>Cacalia delphinifolia</i> Sieb. & Zucc. ^{13,14} (raíces)	Japón	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="525 374 668 448">  </div> <div data-bbox="727 374 870 448">  </div> </div> <p>(20) R₁ = H, R₂ = H, R₁ = CH₃ (43) R₁ = Ac, R₂ = H, R₁ = CH₃ (44) R₁ = H, R₂ = H, R₁ = CHO (45) R₁ = H, R₂ = COOCH₂Me, R₁ = CHO</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 20px;"> <div data-bbox="543 548 650 629">  <p>(47)</p> </div> <div data-bbox="700 548 838 646">  <p>(19) R₁ = CH₃, R₂ = OH (20) R₁ = OH, R₂ = CH₃</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 20px;"> <div data-bbox="525 686 642 778">  <p>(8)</p> </div> <div data-bbox="721 686 838 778">  <p>(14)</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: center; margin-top: 20px;"> <div data-bbox="621 801 732 893">  <p>(25)</p> </div> </div>

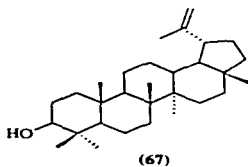
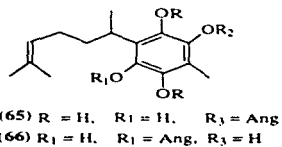
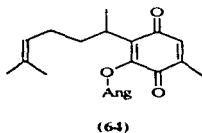
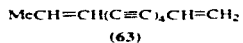
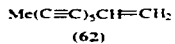
Especie (material vegetal)	Origen	Compuesto	
<i>Cacalia hastata</i> L. var. <i>tanakae</i> (Franch. & Savat) Kitam ³¹ (todo el vegetal)	Japón		
		(48) R ₂ = H. R ₂ = H	(51)
		(49) R ₁ = OH. R ₂ = H	
		(50) R ₁ = H. R ₂ = OMe	
			
(35)		(36)	
<i>Cacalia yatabei</i> Maxim ³⁶ (raíces)	Japón		
		(52)	
<i>Cacalia adenostyloides</i> ¹⁷ (raíces)	Shaooku (Japón)		
		(53)	(54)

Especie

Compuesto

Cacalia adenosyloides (cont.)

Por su parte, *Acortia thurberi* (sin. *Perezia thurberi*, Gray) pertenece a la tribu Mutisiae¹⁸ (subtribu Nassauviinae) que se encuentra distribuida en Centro América, de ella, se aislaron los polinos **62** y **63**, el lupeol (**67**) y tres sesquiterpenos derivados de la perezona **64**, **65** y **66**.



**DISCUSION DE
RESULTADOS**

De las fracciones obtenidas por cromatografías sucesivas del extracto hexánico de las raíces de *Psacalum radulifolium*, se logró el aislamiento de varias sustancias, aplicando los procedimientos que se informan en la parte experimental.

A continuación se describe la elucidación estructural de los metabolitos secundarios aislados de este extracto.

Éter metílico del deshidrocacalol (cacalohastina, 35)

De la fracción A se aisló un sólido cristalino en forma de agujas, mp 79-82 °C. Esta sustancia, muestra en el IR (KBr, espectro 1) absorciones características de insaturación aromática, presumiblemente de furano (3232 cm^{-1}) y de anillo benzenico (3056, 1636, 1610, 1566, 1475 y 1452 cm^{-1}). En 2850-2970 cm^{-1} , se observan absorciones correspondientes a metilos y metilenos.

El espectro de RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz, espectro 2, tabla 1) de este compuesto, presenta cuatro señales con integración de tres hidrógenos cada una, y que son las siguientes: un doblete en δ 1.07 ($J = 7.2$), correspondiente a un metilo unido a un metino, un doblete en δ 2.38 ($J = 1.2$) y un singlete en δ 2.52, de dos metilos enlazados a anillos aromáticos, y un singlete en δ 4.04, de un grupo metoxilo. Se observan también, dos señales en δ 5.90 (dd) y δ 6.90 (dddd) que juntas integran para dos hidrógenos, y cuyo desplazamiento indica que son vinílicos. El análisis de las constantes de acoplamiento de estas dos últimas señales, denota la presencia de un doble enlace disustituido. La señal cuádruple centrada en δ 7.24 ($J = 1.2$) es factible que corresponda al hidrógeno α de un anillo de furano, el cual, parece tener como sustituyente, en la posición β , a un metilo, puesto que la identidad de la constante de acoplamiento de este hidrógeno con la que presenta la señal del metilo centrada en δ 2.38 ($J = 1.2$ Hz) establece la interacción entre ambos grupos. Esta descripción permite proponer la fórmula parcial A (figura 2).



Figura 2. Fórmula parcial A

La ausencia de hidrógenos aromáticos adicionales sugiere que el furano está fusionado a una tetralina (que posee diez átomos de carbono), en la que el anillo benzenico se encuentra totalmente sustituido, siendo dos posibles sustituyentes un metoxilo (δ 4.04) y un metilo (δ 2.52). Considerando la biogénesis de terpenos, es plausible la propuesta estructural mostrada en la figura 3 (fórmula parcial B), sobre la cual es necesario ubicar el doble enlace disustituido y el metilo unido a metino.

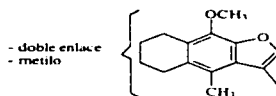
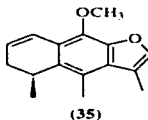


Fig. 3. Fórmula parcial B

La ubicación de ambos grupos (doble enlace disustituido y metilo unido a metino) resulta directa, ya que los argumentos biogénéticos apoyan ostensiblemente la propuesta estructural mostrada en la fórmula 35.



Esta sustancia fue aislada previamente de *Cacalia decomposita*, y fue denominada éter metílico del deshidrocacalol.¹⁴

Posteriormente, en 1973, Hayashi, Nakamura y Mitsuhashi, aislaron esta misma sustancia de *Cacalia hastata* L. subsp. *orientalis* Kitamura, y le asignaron el nombre de cacalohastina.⁴⁰ Sin embargo, debido a que el nombre de éter metílico del deshidrocacalol fue propuesto con anterioridad, es éste último el que debe prevalecer.

La comparación entre los parámetros de resonancia magnética nuclear, infrarrojo y de punto de fusión, obtenidos para esta sustancia y los informados en la literatura para el éter metílico del deshidrocacalol (cacalohastina, 35), permitió establecer la identidad de ambas.

Tabla 1. RMN ¹H. Desplazamientos químicos para el éter metílico del deshidrocacal (cacalobastina, 35) (CDCl₃; δ, ppm; J, Hz)

H	35 ^a	35 ^b	35 ^c
1	7.95, 1H, c J _A = 10 J _B = 3	6.91, 1H, dd J _{1,2} = 9.5 J _{1,3} = 3.0	6.90, 1H, dd J _{1,2} = 9.6 J _{1,3} = 3.0
2	5.86, 1H, m	5.90, 1H, ddd J _{2,3} = 2.5 J _{2,4} = 6.0	5.90, 1H, dddd J _{2,3} = 9.6 J _{2,4} = 6.3 J _{2,5} = 2.4 J _{2,6} = 0.9
3		2.5, 1H, m	2.52, 1H, m
3		2.22, 1H, ddd	2.22, 1H, ddd J _{3,4} = 17.1 J _{3,5} = 6.3 J _{3,6} = 1.5
4		3.23, 1H, tc	3.25, 1H, cddd J _{4,5} = 7.2 J _{4,6} = 7.2 J _{4,7} = 1.5 J _{4,8} = 1.5
12	7.21, 1H, c J = 1.5	7.28, 1H, c J _{12,13} = 1.0	7.29, 1H, c J _{12,13} = 1.2
13	2.30, 3H, d J = 1.5	2.47, 3H, d J _{13,14} = 1.0	2.38, 3H, d J _{13,14} = 1.2
14	2.47, 3H, s	2.51, 3H, s	2.52, 3H, s
15	1.06, 3H, d, J = 7	1.06, 3H, d J _{15,16} = 7.0	1.07, 3H, d J _{15,16} = 7.2
OCH ₃	4.04, 3H, s	4.04, 3H, s	4.04, 3H, s

Las mediciones se llevaron a cabo a diferentes frecuencias: ^a60 MHz¹¹, ^b270 MHz¹², ^c300 MHz.

11. J. Romo, L. Rodríguez-Hahn, A. Manjarrez, E. Rivera y J. Bellido. *Bol. Inst. Quím. UNAM* 20, 19-29 (1968).
 12. Bohlmann, F., Zdero, Ch. and Grenz, M. *Chem. Ber.* 110, 474-486 (1977).

Cacalol (20)

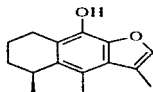
De la fracción B, se obtuvo otro compuesto cristalino, para el cual, se obtuvieron datos de IR, RMN ^1H y ^{13}C .

El espectro de infrarrojo (KBr, espectro 3), muestra una banda intensa en la región de los grupos oxhidrilo (3552 cm^{-1}), bandas en 3109 , de insaturación aromática, presumiblemente de furano, entre $2850\text{-}2970\text{ cm}^{-1}$ de metilos y metileno, y diversas absorciones en 1637 , 1600 , 1575 , 1471 , 1448 cm^{-1} de anillo bencénico

El espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , espectro 4) de este compuesto muestra un conjunto de señales similar al que se observa en el éter metílico del deshidrocacalol (35, espectro 2), es decir, un doblete en $\delta\ 1.17$ ($J = 7.0$), del metilo unido al C-4, otra señal doble en $\delta\ 2.37$ y un cuadruplete en $\delta\ 7.24$ del metilo y el hidrogeno en el anillo de furano, respectivamente, y un singulete en $\delta\ 2.52$ del metilo unido al anillo de benceno. La diferencia radica en las señales $\delta\ 4.04$, 5.90 y 6.90 del metoxido y los hidrogenos vinílicos, que no se observan en este caso, y en su lugar aparecen una señal ancha que se intercambia con un equivalente de agua deuterada en $\delta\ 8.0$, perteneciente a un grupo hidroxilo, y tres señales en $\delta\ 2.62$ (ddd), $\delta\ 2.98$ (dddd) y $\delta\ 1.80$ (m) que integran para un total de cuatro hidrogenos, correspondientes a dos metileno.

Se deduce así que esta sustancia es el cacalol (20), que es un metabolito que también ya ha sido aislado anteriormente.^{1,2}

Los datos de RMN ^1H y ^{13}C (espectros 4 y 5) obtenidos para esta sustancia y los informados en la literatura para el cacalol (20) quedan, para su comparación, resumidos en las tablas 2 y 3.



(20)

Tabla 2. RMN ¹H. Desplazamientos químicos para el eucalol (20) y adenostina A (54) (CDCl₃; δ, ppm; J, Hz)

H	20 ^a	20 ^b	20 ^c	54 ^d	54 ^e
1a 1'a		2.62, 1H, ddd J _{1a,1b} = 17 J _{1a,1c} = 2 J _{1a,2a} = 7 J _{1a,2b} = 10 J _{1a,3a} = 6	2.62, 1H, ddd J _{1a,1c} = 17.0 J _{1a,2a} = 11.5 J _{1a,2b} = 7.0	3.0-3.4, 2H, m	2.6-2.99, 2H, m
1e 1'e		2.98, 1H, ddd	2.98, 1H, dddd J _{1e,1a} = 17.0 J _{1e,2a} = 6.0 J _{1e,2b} = 3.0 J _{1e,3a,3b} = 1.0	3.0-3.4, 2H, m	2.6-2.99, 2H, m
2 2'		1.3, 2H, m	1.85, 2H, m	1.75, 4H, m	1.77, 4H, m
3 3'		1.3, 2H, m J _{3a,4} = 3.5 J _{3b,4} = 10	1.80, 2H, m	1.75, 4H, m	1.77, 4H, m
4 4'		3.23, 1H, ddd J _{4,5} = 7	3.23, 1H, edd J _{4,5} = 7.0 J _{4,6} = 4.5 J _{6,4} = 3.5	2.7-3.0, 2H, m	3.2-3.3, 2H, m
12	6.83, 1H, s	7.23, 1H, c	7.24, 1H, c J _{12,13} = 1.5	7.27, 1H, c J _{12,13} = 1.3	7.25, 1H, c J _{12,13} = 1.5
13 13'	2.22, 3H, s	2.37, 3H, d	2.37, 3H, d J _{13,14} = 1.5	2.23, 3H, d J _{13,14} = 1.3	2.28, 3H, d J _{13,14} = 1.2
14 14'	2.33, 3H, s	2.52, 3H, s	2.52, 3H, s	2.51, 3H, s 4.38, 2H, s	2.5, 3H, s 4.37, 2H, dd J _{4,13} = 16.8
15 15'	1.10, 3H, d J _{15,16} = 7.0	1.20, 3H, d	1.19, 3H, d J _{15,16} = 7.0	1.17, 3H, d J _{15,16} = 7.0 1.16, 3H, d J _{15,16} = 7.0	1.19, 3H, d J _{15,16} = 7.2 1.16, 3H, d J _{15,16} = 6.9
OH OH'	5.09 ^a		5.00		5.03 5.17

^a60 MHz; ^b270 MHz; ^c500 MHz; ^d90 MHz; ^e300 MHz.

6. Romo, J. and Natman, J. P., *Tetrahedron*, **20**, 2331-2337 (1964).

37. Kuroyanagi, M., Naito, H., Noto, T., Ueno, A. and Fukushima S. *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 4792-4797 (1985).

39. Bohlmann, F., Zdero, Ch. and Grenz, M. *Chem. Ber.*, **110**, 474-486 (1977).

Tabla 3. RMN ¹³C. Desplazamientos químicos para el cacafol (20), el éter metílico del deshidrocaecafol (35) y adenostina A (54) (δ, ppm)

C	20 ^a	20 ^b	35 ^c	54 ^d	54 ^e
1	23.3	22.89	124.6	23.0 o	22.5 o
1'				23.4	22.9
2	16.9	16.7	122.0	16.7 o	16.3 o
2'				17.2	16.7
3	30.2	30.1	30.7	30.1 o	30.2 o
3'				30.6	30.9
4	29.0	28.9	27.8	29.0 o	28.7 o
4'				29.3	29
5	120.1	120.2	121.3	120.1 o	119.4 o
5'				120.1	118.9
6	135.5	135.6	134.1	135.7 o	135.8 o
6'				138.0	135.4
7	126.1	126.1	128.6	127.2 o	127.0 o
7'				127.8	127.4
8	136.4	136.3	138.9	136.1 o	136.8 o
8'				136.6	137.4
9	142.4	142.2	145.8	140.5 o	140.4 o
9'				142.8	142.4
10	119.1	118.7	121.0	119.0 o	118.7 o
10'				118.4	118.1
11	117.1	117.3	116.9	116.9 o	117.0 o
11'				110.6	110.9
12	140.7	140.8	141.6	141.7 y	141.3 o
12'				151.1	151.1
13	11.2	11.2	11.3	11.2 o	11.1 o
13'				10.6	10.6
14	13.7	13.8	13.6	13.9 y	13.8 o
14'				25.5	25.4
15	21.4	21.3	19.3	21.6 o	21.4 o
15'				22	21.9
OCH ₃	-	-	61.0		

Las mediciones se llevaron a cabo bajo las siguientes condiciones: ^a22.5 MHz, CDCl₃; ^b125 MHz, CDCl₃; ^c75 MHz, CDCl₃; ^d22.5 MHz, (CDCl₃ + CD₃OD); ^e75 MHz, CDCl₃.

37. Kuroyanagi, M., Naito, H., Noro, T., Ueno, A. and Fukushima S. *Chem. Pharm. Bull.* 33, 4792-4797 (1985).

De la tabla 2 puede verse que los desplazamientos químicos de los hidrógenos de las posiciones C-2 y C-3 obtenidos experimentalmente difieren con un $\Delta\delta = 0.5$ respecto a los informados en la literatura por Bohlmann³⁹, el cual es un valor alto, atribuible a una lectura inexacta en el espectro, como se demostrará a continuación. Los experimentos DEPT y HMQC (espectros 6 y 7) permitieron determinar inambiguamente el desplazamiento de esos metilenos, y para establecer la identidad de cada metileno, es decir, determinar la asignación C-1, C-2 y C-3, y con ello establecer también la asignación de H-1, H-2 e H-3 se utilizaron los experimentos TOCSY y HMBIC (espectros 8 y 9). En el experimento TOCSY se puede apreciar una correlación entre el hidrógeno del metilo en C-15 y uno de los metilenos en δ 1.8, ya que este experimento permite observar interacciones entre hidrógenos vecinos, es factible que la interacción que se manifiesta sea entre los hidrógenos en C-15 y el hidrógeno en C-3. De manera análoga en el espectro HMBIC, se presenta una correlación entre el H-15 y un carbono de metileno (δ 30.2), que se esperaría fuese el más cercano (H-4 C), tres enlaces de distancia. El H-1 es el que aparece a campos más bajos debido al efecto desprotector del anillo aromático y por su cercanía con el hidroxilo, que hace que se observen una señal para el hidrógeno ecuatorial y otra para el hidrógeno axial. Así, el carbono de la posición 1 aparece en δ 22.89. En el espectro HMBIC correspondiente (espectro 9), se observa que estos hidrógenos (H-1) interaccionan con un carbono cuaternario sp^2 (δ 118.781, C-10) perteneciente al fénolo, lo cual está de acuerdo con las anteriores asignaciones. Por lo tanto, el metileno restante debe ser el metileno de la posición C-2.

En el espectro HMBIC (espectro 9) del cacalol, se observa una interacción entre el H-12 (δ 7.23) y un carbono cuaternario que aparece en δ 126.1 el cual había sido asignado al C-5¹⁷, sin embargo, estos átomos (H-12, C-5) se encuentran a cinco enlaces de distancia que hacen poco factible dicha interacción. En base a lo anterior, y tomando en cuenta el desplazamiento químico, se reasignaron los C-5 y C-7 en δ 120.1 y 126.1 respectivamente.

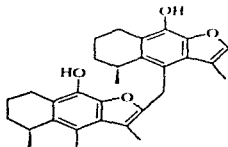
Esta discusión permite la asignación de las señales de hidrógeno y carbono para el cacalol (20), el éter metílico del deshidrocacalol (35) y Adenostina A (54), las cuales se muestran en las tablas 2 y 3.

Adenostina A (54)

Fraccionamientos sucesivos de CCPR y CCF aplicados a las aguas madres de las fracciones B, C y D llevaron al aislamiento de cinco sustancias cristalinas, como se describe en la parte experimental. La primera de ellas es un compuesto de color anaranjado, que en el infrarrojo (CHCl_3), espectro 10) mostró absorciones representativas de oxhidrilo (3403 cm^{-1}), metilos y metilenos ($2930\text{-}2868 \text{ cm}^{-1}$) e insaturación aromática de tipo olefínico ($1654, 1616, 1444, 1413, 1222, 1108 \text{ cm}^{-1}$)

La estructura de este compuesto es un dímero formado entre el C-12 y C-14 de dos moléculas de cacalol (20), tal como lo demuestran sus espectros de RMN ^1H y de ^{13}C . Dicha estructura se encontró por primera vez para una sustancia llamada adenostina A, obtenida de *Cacalia adenostylodes*.¹² Los desplazamientos químicos de adenostina A (54) se muestran en la tabla 2, y en base a estos, pudieron corroborarse las asignaciones hechas a cada una de las señales del espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , espectro 11) desentadas a continuación: un doblete en δ 1.16 (d, $J = 6.9$) y otro en δ 1.19 (d, $J = 7.2$) corresponden a los metilos de C-15 y C-15'. Los metilos de los C-13 y C-13' dan un doblete en δ 2.28 ($J = 1.2$) y un singlete en δ 2.25. El hidrógeno de C-12 que se encuentra acoplado con el metilo en δ 2.28 da una señal cuadruple en δ 7.25. Un singlete en δ 2.52 y una señal en δ 4.38 (2d, $J = 16.8$), se explican por el metilo y el metileno de los carbonos 14 y 14'. Y por último, dos señales anchas en δ 5.03 y δ 5.17 intercambiables con D_2O , corresponden a los hidroxilos.

Por otro, lado del espectro de RMN ^{13}C (espectro 12) se observan treinta señales, dichas señales se presentan por pares y sus desplazamientos confirman la estructura 54 (tabla 3). En el espectro HMQC, pueden apreciarse las diferentes correlaciones C-H de esta estructura (espectro 13) que permitieron la asignación inambigua de las señales de hidrógeno y de carbono. Las asignaciones realizadas por los autores japoneses para 54¹², deben corregirse a las mostradas en la última columna de la tabla 2.



(54)

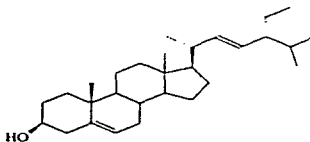
Estigmasterol (68)

La segunda sustancia aislada de las fracciones B, C y D es un compuesto cristalino en forma de agujas.

El espectro de IR (KBr, espectro 14) presenta señales en 3420 cm^{-1} , correspondiente a OH, en el intervalo de 2933 a 2874 cm^{-1} debidas a metilos y metilenos, y en 1633 , 1462 y 1386 cm^{-1} que indican insaturación de olefina.

El espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , espectro 15) de este compuesto, presenta dos señales doble de doble en $\delta\ 5.02$ ($J = 14.7, 8.1$) y en $\delta\ 5.16$ ($J = 15.0, 8.1$) con integración de un hidrógeno cada una. El desplazamiento en que aparecen estas señales indica que se trata de dos hidrógenos vinílicos, cuya multiplicidad se explica por la interacción entre ambos hidrógenos y el acoplamiento de cada uno con un hidrógeno alílico. Una señal doble en $\delta\ 5.35$ de un hidrógeno vinílico acoplado a más de dos hidrógenos, una señal múltiple en $\delta\ 3.52$ de un hidrógeno geminal a oxígeno y un conjunto de señales en la zona de metilos y metilenos (0.6 - 2.3 ppm), que integra para 45 hidrógenos, proporcionan evidencia de que esta sustancia es el estigmasterol.

La comparación directa con una muestra auténtica confirmó la identidad de esta sustancia.



(68)

Decompostina (8)

De las fracciones C y D, fué obtenido un sólido en forma de cristales cúbicos. Este compuesto presenta en el IR (KBr, espectro 16) las siguientes absorciones, en 3129 cm^{-1} , que denota la presencia de un anillo de furano, de acuerdo a los furanos que han sido descritos anteriormente, en 1742 cm^{-1} una banda de carbonilo de éster, y en 1666 cm^{-1} de un sistema carbonílico conjugado con olefina.

En el espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , espectro 17) se aprecia una señal doble en δ 1.95 que integra para tres hidrógenos, correspondiente al metilo unido al anillo de furano (C-13). La multiplicidad de esta señal, como en los casos del cacalol (20) y el éter metílico del deshidrocacalol (35), se debe a la interacción de este metilo con el hidrógeno del carbono adyacente dentro del mismo sistema aromático (C-12), que en este caso se observa en δ 7.43. El efecto electroattractor ejercido por el sistema α, β insaturado de ésta molécula, hace que la señal del hidrógeno en el C-12, aparezca a campo más bajo respecto al de la señal dada por el hidrógeno de la misma posición en el cacalol, mientras que, por el contrario, la conjugación de dicho sistema con el anillo de furano hace que el metilo de la posición C-13 se desplace a campos más altos. Las señales en δ 0.97 (doblete), δ 1.08 (singulete) y δ 2.20 (singulete) que integran cada una para tres hidrógenos, corresponden a un metilo en carbono terciario, un metilo angular y un metilo de acetilo, respectivamente. Dos señales a campo bajo, ambas con integración de un hidrógeno, aparecen como un singulete en δ 6.32 y un triplete-doblete en δ 7.01, la primera de estas señales se asignó a un hidrógeno geminal a oxígeno, y la segunda (señal) a un hidrógeno vinílico acoplado con tres hidrógenos. En el espectro de ^{13}C se aprecian quince señales y los desplazamientos y asignaciones, que no se han realizado previamente, se enlistan en la tabla 5 (espectro 18).

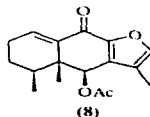


Tabla 4. RMN ¹H. Desplazamientos químicos para la decompostina (8) y la neodendenostilona (59) (CDCl₃, δ, ppm; J, Hz)

H	8 ^a	8 ^b	59 ^c	59 ^d
1	7.0, t, J = 4.0	7.01, 1H, td J _{1,2} = 4.2 J _{1,3} = 1.0	7.00, J _{1,2} = 4.5	7.02, 1H, ddd J _{1,2} = 4.5 J _{1,3} = 3.5 J _{1,4} = 1.0
2		2.25, 2H, m		2.25, 2H, m
3		1.46, 1H, dddd J _{3,4} = 14.0 J _{2,3} = 11.5 J _{2,4} = 10.0 J _{3,4} = 7.0		1.46, 1H, dddd J _{3,4} = 13.5 J _{2,3} = 11.0 J _{2,4} = 9.5 J _{3,4} = 6.5
3'		1.55, 1H, dddd J _{3,4} = 14.0 J _{3,4} = 7.0 J _{2,3} = 3.0 J _{2,4} = 2.5 J _{3,4} = 1.0		1.55, 1H, dddd J _{3,4} = 13.5 J _{3,4} = 7.0 J _{2,3} = 2.7 J _{2,4} = 2.7 J _{3,4} = 1.0
4		1.96	2.00, J _{4,5} = 6.7	1.99, 1H, m
6	6.32, 1H, s	6.32, 1H, s	6.42 J _{6,11} ≤ 1.0	6.44, 1H, s
12	7.43, 1H, c J = 1.1	7.4, 1H, c J _{12,13} = 1.0	7.39 J _{12,13} = 1.1	7.4, 1H, c J _{12,13} = 1.2
13	1.95, 3H, d J = 1.1	1.93, 3H, d J _{12,13} = 1.0	1.86 J _{12,13} = 1.1	1.88, 3H, d J _{12,13} = 1.2
14	1.08, 3H, s	1.11, 3H, s	1.13	1.16, 3H, s
15	0.97, 3H, d J = 7.0	1.0, 3H, d J _{1,15} = 6.7	0.96 J _{1,15} = 6.7	0.97, 3H, d J _{1,15} = 6.5
3''				6.3, 1H, cc J _{2,3} = 1.5 J _{3,4} = 7.5
4''				2.1, 3H, cd J _{3,4} = 7.5 J _{2,3} = 1.5
2''				1.99, 3H, cd J _{1,2} = 1.5 J _{2,3} = 1.5
H-OAc	2.2, 3H, s	2.22, 3H, s		

Las mediciones se llevaron a cabo a: ^a120 MHz, ^b500 MHz, ^c100 MHz, ^d500 MHz.

9. L. Rodríguez-Hahn, A. Guzmán and Romo, *Tetrahedron* 24, 477-483 (1968).
 10. Samek, Z., Harmatha, J., Novotný, L. and Sorm, F. *Coll. Czech. Chem. Comm.* 34, 2792-2808 (1969).

Tabla 5. RMN ¹³C. Desplazamientos químicos para la decompostina (8) y neoadenostilona (59) (CDCl₃; δ, ppm)

C	8	59
1	138.3	138.2
2	25.0	25.1
3	27.8	27.9
4	37.7	37.9
5	46.5	46.6
6	74.8	73.9
7	121.0	121.2
8	146.9	146.9
9	176.6	176.6
10	141.4	141.4
11	135.7	136.0
12	146.0	145.9
13	8.3	8.4
14	15.3	15.8
15	17.4	17.4
1' (CO)		167.1
2'		127.0
3'		141.6
4'		16.0
2''		20.5
CO-OAc	170.76	
CH ₃ -OAc	21.3	

Las mediciones de ambas sustancias se realizaron a 125 MHz.

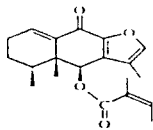
Neoadenostilona (59)

Entre las sustancias que se obtuvieron de las fracciones B, C y D, se aisló un sólido cristalino incoloro de características espectroscópicas similares a las que presenta la decompostina (8).

Esta sustancia absorbe en el IR (KBr, espectro 19) en el intervalo de 2938-2969 cm⁻¹, correspondiente a vibraciones C-H de metilos y metilenos, en 1719 cm⁻¹ de carbonilo de éster, y en 1669 de enona conjugada. En el espectro de RMN ¹H (CDCl₃, espectro 20) las señales observadas son: un doblete en δ 0.97 y un singulete en δ 1.16 que juntos integran para seis hidrógenos y que corresponden al metilo de la posición C-15 y al metilo angular unido a C-5, respectivamente. Un doblete en δ 1.88 (J = 1.2 Hz) y un cuadruplete en δ 7.40 (J = 1.2 Hz) se asignaron al metilo y al hidrógeno en el anillo de furano. Una señal (ddd) en δ 7.02 del hidrógeno vinílico en el C-1 y tres señales en δ 1.46 (dddd), δ 1.55 (ddddd) y δ 2.25 (m) de los metilenos en C-2 y C-3. Además de las anteriores, aparecen dos señales en forma de doblete-cuarteteado en δ 1.99 (J = 1.5) y

δ 2.10 ($J = 7.5, 1.5$) con integración de tres hidrógenos cada una, y una señal en δ 6.3 (cc, $J = 7.5, 1.5$) de un hidrógeno vinílico. Estas señales sugieren la presencia de un grupo angelóido como parte de la estructura de este compuesto, que sustituye al grupo acilo presente en la estructura de la decompostina, ya que a su vez no se observa la señal del metilo en δ 2.22, característica de este grupo.

Basados en lo anterior, se propuso para este compuesto, la estructura **59** que representa a la neoadenostilona, sustancia que en 1969 se aisló por primera vez de la especie *Adenostyles allariae*¹⁰, y cuyos valores de desplazamiento químico referidos en ese entonces se presentan en la tabla 4. A manera de comparación con la decompostina (**8**) se presentan en la tabla 5 (espectro 21) los desplazamientos químicos de los diferentes átomos de carbono para esta sustancia, los cuales no han sido informados previamente.



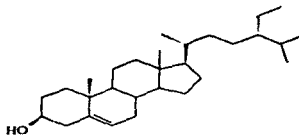
(59)

β -sitosterol (69)

El siguiente compuesto es un sólido incoloro que cristaliza en forma de agujas y se obtuvo también a partir de las fracciones **B**, **C** y **D**.

Del espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , espectro 22), una señal ancha en $\approx \delta$ 5.35 (d) correspondiente a un hidrógeno vinílico, otra señal múltiple en δ 3.55, atribuible a un hidrógeno geminal a oxígeno, y un conjunto de señales en el intervalo de 0.68-1.3 ppm que es característico a metilos y metilenos pertenecientes a un sistema policíclico de esterol, sugieren la estructura del β -sitosterol para esta sustancia.

Se confirmó la identidad de esta sustancia mediante una comparación con una muestra auténtica.



(69)

Radulifolina A (70) y 11-epi-radulifolina A (71)

De las dos sustancias restantes de las fracciones B, C y D, una de ellas es un sólido café del que se disponen datos de IR, RMN ^1H , ^{13}C y de espectrometría de masas.

El espectro de infrarrojo (CHCl_3 , espectro 23) de esta sustancia muestra una banda de absorción en 3.377 cm^{-1} , al parecer debida a hidroxilo, diversas absorciones en la zona de metilos y metilenos ($2933\text{-}2878\text{ cm}^{-1}$), una banda de carbonilo, posiblemente de éster, en 1736 cm^{-1} y bandas en 1663 , 1624 , 1595 , 1470 , 1444 cm^{-1} que podrían corresponder a insaturación de tipo aromática.

En el espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , espectro 24) se observan un total de 36 hidrógenos que dan las siguientes señales: dos dobletes en $\delta\ 1.07$ (d, $J = 7.0$) y $\delta\ 1.21$ (d, $J = 7.0$) con una integración total de seis hidrógenos, que corresponden a dos metilos unidos a metino, dos multipletes, cada uno con integración de un hidrógeno, en $\delta\ 2.80$ y $\delta\ 3.00$, señales múltiples en los intervalos de $\delta\ 1.74\text{-}1.82$, $2.40\text{-}2.60$ y 2.9 con una área bajo la curva equivalente a doce hidrógenos, dos señales simples en $\delta\ 1.66$ y 1.69 que juntas integran para seis hidrógenos y que es probable correspondan a dos metilos geminales a oxígeno. Cuatro señales doble en $\delta\ 5.26$ (2d, $J = 14\text{ Hz}$) y $\delta\ 5.54$ (2d, $J = 14\text{ Hz}$) correspondientes a cuatro hidrogenos y, seis señales anchas cada una con integración de un hidrógeno en $\delta\ 4.64$, 4.68 , 5.74 , 5.78 , 8.48 y 8.60 , la forma de estas seis últimas señales así como su desplazamiento e integración hacen suponer que corresponden a hidrógenos de hidroxilo.

El espectro de RMN ^{13}C (espectro 25) indica la presencia de treinta átomos de carbono. El desplazamiento en que se presentan las señales permite deducir que doce de estos carbonos presentan hibridación sp^2 , doce tienen hibridación sp^3 , cuatro se encuentran vecinos a un grupo electronegativo, como podría ser oxígeno, y dos son carbonos de grupo carbonilo (Tabla 6).

Para conocer el grado de hidrogenación de los diferentes átomos de carbono, se realizó el experimento de RMN ^{13}C , en la modalidad DEPT (espectro 26), en donde se aprecian cuatro metilos, dos metileno y ocho metileno, dos de éstos (metileno) podrían estar unidos a oxígeno ya que sus desplazamientos están comprendidos en el intervalo de δ 70-80. En este espectro, al igual que en los espectros de RMN ^1H y ^{13}C , las señales aparecen formando pares, lo cual permite suponer que esta sustancia es una mezcla de dos compuestos isoméricos o bien un dímero. Si consideramos la primera hipótesis, cada uno de los isómeros contiene quince átomos de carbono, quince hidrógenos unidos a ocho de estos átomos y tres hidrógenos enlazados muy probablemente a oxígeno (tres hidroxilos) con lo que es posible proponer la fórmula molecular condensada $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$, en la que dos oxígenos corresponderían al grupo éster que hemos supuesto por la banda en 1736 cm^{-1} del espectro de IR y en la que también, se sugieren siete grados de insaturación para cada uno de los isómeros. Esta fórmula se ve apoyada con el pico a m/z 278 que aparece en el espectro de masas (espectro 27). En este espectro no se observan señales abundantes arriba de m/z 280, y con ello se descarta la posibilidad de que esta sustancia sea un dímero.

El patrón de desplazamientos químicos presentado por los metileno y metino que resuenan a campo alto (10,30 ppm), así como las correlaciones homonucleares H-H (experimento RMN ^1H , COSY, espectro 28) y heteronucleares C-H (experimento HMQC, espectro 29) observadas para esta sustancia, denotan la posibilidad de que estos grupos formen parte de dos tetralinas, en las cuales, se halla insertado un metilo en el anillo alifático, en semejanza con las estructuras de los furanotetramifilanos (y furanonaftalenos) que ya fueron descritos anteriormente, y considerando la relación biogenética que deben guardar estas sustancias. Asimismo, el anillo aromático de las tetralinas debe estar completamente sustituido, puesto que no se observan en el espectro de RMN ^1H hidrógenos de este tipo.

De acuerdo con lo que se ha analizado hasta el momento es posible definir los fragmentos estructurales mostrados en la figura 4.

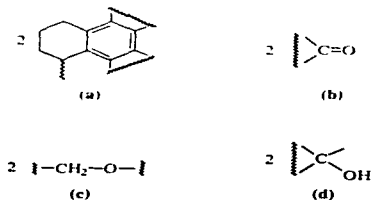


Figura 4.

La unión de total estos fragmentos involucra el análisis de los grados de insaturación que presenta cada estructura, que como ya se mencionó antes, son siete. Si consideramos sólo una de las moléculas, en el sistema de la tetralina hay cinco insaturaciones debidas al anillo bencénico fusionado con el ciclohexano. Otra insaturación la proporciona el grupo carbonilo, por lo tanto, la insaturación restante debe provenir de la formación de un ciclo. Así, y tomando en cuenta las consideraciones biogénéticas de ésta sustancia en relación con furanoeremofilanos tales como el cacalol (20), hechas para la deducción de los fragmentos (a), formulamos la hipótesis estructural mostrada en la figura 5.

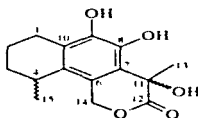
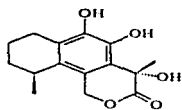


Figura 5.

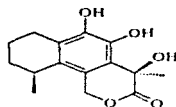
La ubicación de los diferentes grupos se confirma por la interacción a larga distancia que presentan los hidrógenos del metilo en C-13 (δ 1.6-1.7) y los hidrógenos de C-14 (δ 5.2-5.6) con el carbono de carbonilo, correlaciones heteronucleares C-H observadas en el experimento HMBC correspondiente (espectro 30).

Con la estructura anterior (figura 5) se puede explicar el fragmento m/z de 260 que se observa en el espectro de masas (espectro 27) correspondiente a la pérdida de 18 unidades de masa.

Como se ha deducido, esta sustancia es una mezcla de dos estereoisómeros, falta determinar en donde se presenta dicha estereoisomería. La estructura de la figura 5 presenta dos centros quirales que se encuentran en C-4 y C-11, que hace posible la existencia de cuatro isómeros. Sin embargo, los argumentos biogénéticos y los estudios realizados en el cacalol (20) y sustancias relacionadas a éste, en los que se demostró la orientación β del metilo en el anillo alifático, hace factible formular las estructuras 70 y 71 para estos compuestos.



(70)



(71)

En la tabla 6 están incluidos los desplazamientos químicos de los diferentes átomos de carbono de estos compuestos, en comparación con los aquellos que presentan los carbonos del cacalol (20). Las estructuras 70 y 71 representan nuevos productos naturales.

Tabla 6. RMN ¹³C. Desplazamientos químicos para el cacalol (20), radulifolina A (70), 11-epi-radulifolina A (71) y radulifolina B (72) (CDCl₃), δ, ppm; J, Hz)

C	20 ^a	20 ^b	70, 71 ^c	72 ^d
1	23.3	22.89	23.3 o	23.8
1'			22.6	
2	16.9	16.7	16.5 o	16.5
2'			16.0	
3	30.2	30.1	30.0 o	29.6
3'			29.0	
4	29.0	28.9	28.5 o	28.8
4'			27.8	
5	120.1	120.2	117.8 o	127.9
5'			117.5	
6	135.5	135.6	130.4 o	138.6
6'			129.9	
7	126.1	126.1	123.8 o	131.4
7'			123.5	
8	136.4	136.3	138.7	139.5
8'			138.7	
9	142.4	142.2	143.0 o	140.5
9'			143.1	
10	119.1 ¹⁰⁰	118.7	118.1 o	125.6
10'			117.9	
11	117.1	117.3	72.2 o	73.4
11'			72.5	
12	140.7	140.8	175.2 o	177.7
12'			175.3	
13	11.2	11.2	22.9	24.6
13'			22.9	
14	13.7	13.8	67.2 o	12.9
14'			67.7	
15	21.4	21.3	21.6 o	20.8
15'			22.2	
OCH ₃				60.2

Las mediciones se llevaron a cabo a diferentes frecuencias: ¹⁰⁰22.5 MHz; ¹⁰¹125 MHz; ¹⁰²125 MHz; ¹⁰³125 MHz.

37. Kuroyanagi, M., Naito, H., Noto, T., Ueno, A. and Fukushima S. *Chem. Pharm. Bull.* **33**, 4792-4797 (1985).

Radulifolina B (72)

La última sustancia aislada de las fracciones B, C, y D del extracto de esta planta, es un sólido amarillo y es un compuesto minoritario

En el espectro de IR (CHCl₃), espectro 31) se observan bandas de 2970-2870 cm⁻¹ correspondiente a metilos y metilenos, una banda posiblemente de γ -lactona en 1808 cm⁻¹ y bandas anchas en 1619, 1466, 1376 y 1325 cm⁻¹ de insaturación aromática

El espectro de RMN ¹H (CDCl₃), espectro 32) de esta sustancia denota que no fue aislada pura debido a señales pequeñas adicionales. No obstante, se puede establecer la estructura de la misma analizando las señales principales de este espectro (y demás datos espectroscópicos) que son: un doblete en δ 1.15 ($J = 7.5$) y tres señales simples en δ 1.78, 2.38 y 3.94, cada una de estas cuatro señales integra para tres hidrógenos. La integración y el desplazamiento de estas señales corresponden para un metilo unido a metino, un metilo geminal a oxígeno (probablemente un hidroxilo), un metilo unido a anillo aromático y un metilo de metoxilo.

En el espectro de RMN ¹³C (espectro 33) las señales de mayor intensidad son siete a campo alto (10-30 ppm), dos en el intervalo de 59-74 ppm, varias señales de 120-142 ppm y una señal de carbono de carbonilo (δ 177)

Mediante el experimento DEPT (espectro 34) se pudo establecer la presencia de cuatro metilos, tres metilenos y un metino que hacen un total de 19 hidrógenos. Se observan también, en este espectro, señales pequeñas a campo bajo correspondientes a carbonos provenientes de impurezas de la muestra, que permiten, adicionalmente, descartarlas para el análisis de la estructura de esta sustancia y con ello quedan establecidos seis carbonos cuaternarios sp² en la misma. Tenemos, así, 16 átomos de carbono, 19 hidrógenos, dos oxígenos de lactona (IR: 1808 cm⁻¹) un oxígeno de metoxilo y un hidroxilo, que hacen una fórmula molecular de C₁₆H₂₅O₄. El espectro de masas nos permite confirmar esta fórmula ya que en él aparece un pico en m/z 276 (espectro 35).

De manera análoga a la determinación estructural de la mezcla de epímeros 70 y 71, el análisis de los espectros COSY (espectro 36) y HMQC (espectro 37) de esta sustancia, hacen suponer la presencia de un esqueleto de tetralina, en este caso, se infiere nuevamente que el anillo aromático está completamente sustituido (de la ausencia de señales a campo bajo en el espectro de RMN ¹H) y entre los posibles sustituyentes están un metilo (δ 2.38) y un metoxilo (δ 3.94) como se muestra en la fórmula parcial A de la figura 6.

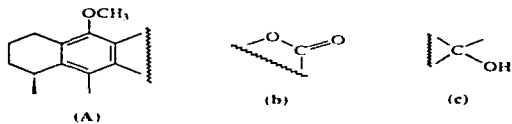
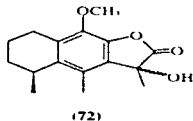


Figura 6. Fórmula parcial (A) y fragmentos estructurales (b, c)

Con el fragmento estructural A, se explican cinco de los siete grados de insaturación deducidos de la fórmula molecular $C_{16}H_{22}O_4$ (un benceno fusionado a un ciclohexano). Otro grado de insaturación se debe al carbonilo (b) y para el último, se puede deducir la presencia de un ciclo, que resulta de la unión de los fragmentos b y c en A (fig. 6). Este análisis hace posible el planteamiento de la estructura 72.



Un argumento biogénético que apoya la validez de esta hipótesis estructural es el aislamiento del cacalol (20) y el éter metílico del cacalol (35), como posibles precursores de esta sustancia. Es por ello que se presenta, en la tabla 6, una comparación entre los desplazamientos químicos de los átomos de carbono de esta sustancia y los del cacalol (20). Por otro lado, el arreglo de los sustituyentes en el anillo de lactona, se demuestra por la interacción a larga distancia que presentan los hidrógenos del metilo en δ 1.78 (C-13) y el carbonilo (C-12) en el experimento HMBC (espectro 38), cuyo análisis confirma la conectividad propuesta. 72 constituye una nueva sustancia natural.

Cacalona (19) y 6-epi-cacalona (30)

De las fracciones más polares del extracto hexánico, se aisló una sustancia sólida amorfa de color amarillo. Los datos espectroscópicos, principalmente de RMN ^1H y ^{13}C y su comparación con los informados en la literatura (tabla 7) demostraron que esta sustancia es una mezcla de dos compuestos epiméricos.

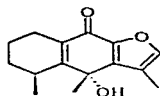
Esta mezcla de estereoisómeros mostró en el infrarrojo (CHCl_3 , espectro 39) las siguientes bandas principales: una de baja intensidad en 3100 cm^{-1} que, como ya se describió, indica insaturación aromática de furano. Otras de mayor intensidad en 3420 cm^{-1} , correspondientes a las vibraciones O-H, en el intervalo de $2946\text{-}2874\text{ cm}^{-1}$ se observan absorciones dadas por las vibraciones C-H de carbonos saturados (metilos y metilenos) y en 1656 cm^{-1} de un sistema carbonílico α, β insaturado.

En el espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , espectro 40) se observan dos metilos unidos a carbono terciario, que forman dos dobletes en $\delta 1.27$ ($J = 6.5\text{ Hz}$) y $\delta 1.30$ ($J = 7.0\text{ Hz}$), y que de acuerdo con el experimento COSY (espectro 41) correlacionan cada uno de manera directa con uno de los dos hidrógenos que aparecen en $\delta 3.13$ y $\delta 2.87$, respectivamente, como señales múltiples. Dos metilos geminales a oxígeno, indicados por las señales simples en $\delta 1.64$ y $\delta 1.69$ que integran para un total de seis hidrógenos. Seis metilenos que dan señales múltiples en $\delta 1.64$ y $\delta 2.40$ con un área bajo la curva correspondiente a doce hidrógenos. Dos sistemas aromáticos de furano teniendo como sustituyentes a un metilo y un hidrógeno acoplados entre sí, que se demuestran por las dos señales dobles en $\delta 2.23$ ($J = 1.0$) y $\delta 2.24$ ($J = 1.0$), ambas con integración de tres hidrógenos, y el cuádruplete en $\delta 7.34$ ($J = 1.0$), que integra para dos hidrógenos.

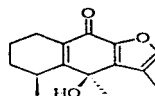
En el espectro de RMN ^{13}C (espectro 41) se presentan treinta señales dos de ellas corresponden a carbono de grupo carbonilo, dos a carbono unido a oxígeno, doce pertenecen a carbono sp^2 y el resto corresponde a carbonos con hibridación sp^3 (tabla 7).

En 1964 Jesús Romo informó del aislamiento de la cacalona (19)¹², pero fue hasta 1976 que se estableció la estructura correcta de esta sustancia, gracias a las investigaciones realizadas por los Drs. Walls y Yuste sobre la síntesis de la cacalona (19) y su epímero (30) y el estudio de estos compuestos mediante RMN ^1H y ^{13}C .¹⁴

En 1977, Omura y Nakanishi analizaron los datos espectroscópicos de una sustancia obtenida a partir de *Cacalia delphinifolia*^{14, 15} y los compararon con los de una muestra de la cacalona aislada por Romo. La concordancia en las propiedades espectroscópicas de ambas sustancias con las de los epímeros sintetizados por Walls y Yuste, les permitió a estos investigadores concluir, de manera contundente, que la cacalona, hasta entonces considerada una sola sustancia, era en realidad una mezcla de los epímeros 19 y 30 tal y como ellos la habían aislado.



(19)



(30)

Tabla 7. RMN ¹H. Desplazamientos químicos para la eucalona (19) y 6-epi-eucalona (30) (CDCl₃; δ, ppm; J, Hz)

H	19 ^a	19 ^b	30 ^c	30 ^d
1	2.40, 2H, m	2.3-2.5, 2H, m	2.40, m, 2H	2.3-2.5, 2H, m
2	ca. 1.80, 2H, m	1.75, 2H, m	ca. 1.80, m, 2H	1.75, 2H, m
3	ca. 1.80, 2H, m	1.6-1.8, 2H, m	ca. 1.80, m, 2H	1.6-1.8, 2H, m
OH	ca. 1.80, 1H, m		ca. 1.80, m, 1H	
4	3.15, 1H, m	3.13, 1H	2.90, 1H, m	2.87, 1H
12	7.29, 1H, c J=1.0	7.34, 1H, c J=1.0	7.29, 1H, c J=1.0	7.34, 1H, c J=1.0
13	2.21, 3H, d J=1.0	2.24, 3H, d J=1.0	2.21, 3H, d J=1.0	2.23, 3H, d J=1.0
14	1.66, 3H, s	1.69, 3H, s	1.63, 3H, s	1.64, 3H, s
15	1.26, 3H, d J=7.0	1.27, 3H, d J=6.5 Hz	1.29, 3H, d J=7.0	1.3, 3H, d J=7.0

Las mediciones se llevaron a diferentes frecuencias: ^a400 MHz, ^b400 MHz, ^c500 MHz, ^d500 MHz.

19. Yuste, F. and Walls, F. *Aust. J. Chem.* 29, 2333-6 (1976).

Tabla 8. RMN ¹³C. Desplazamientos químicos para la cacalona (19) y 6-epicacalona (30) (CDCl₃; δ, ppm)

C	19 ^a	19 ^b	30 ^c
1	30.3	21.6	20.7
2	16.0	16.0	15.6
3	21.6	30.2	30.2
4	28.0	27.3	28.5
5	144.3	140.2	140.4
6	72.3	70.3	70.6
7	145.3	145.2	145.2
8	161.6	161.5	161.3
9	175.0	175.0	175.0
10	130.7	130.7	130.7
11	120.2	120.2	120.3
12	140.5	144.4	144.3
13	8.8	8.9	8.8
14	27.2	25.8	27.2
15	21.4	20.7	21.2

Las mediciones se llevaron a cabo a diferentes frecuencias: ^a25.2 MHz, ^b25.2 MHz, ^c125 MHz.

19. Yuste, F. and Walls, F. *Aust. J. Chem.* 29, 2333-6 (1976).

Un análisis previo realizado para la asignación de los hidrógenos de las posiciones 1, 2 y 3 en el cacalol (20), demostró que los hidrógenos de C-1 aparecían a más bajo campo respecto a los hidrógenos de C-2 y C-3 en el espectro de RMN ¹H correspondiente (espectro 4). En el caso de esta mezcla de compuestos, hay congruencia en las asignaciones de los hidrógenos de las posiciones 1, 2 y 3, con las observaciones hechas en ese análisis (tabla 7). El experimento HMQC de 19 y 30 (espectro 43), permitió nuevamente correlacionar dichos hidrógenos con los átomos de carbono respectivos. Así, es posible observar de este espectro, que el C-1 aparece en δ 21.58 y el C-3 en δ 30.25. En la tabla 8 se puede ver que las asignaciones de estos carbonos (C-1 y C-3) informadas en la literatura¹⁹, resultan incorrectas y deben corregirse a las que se muestran en la columna 3 de esta misma tabla.

Material y Equipo

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns, y no están corregidos.

Los espectros de IR se obtuvieron en instrumentos Perkin-Elmer 238-B

Los espectros de RMN ^1H se obtuvieron en un espectrómetro analítico Varian Gemini 200 y Varian XR-300, a 300 y 500 MHz, utilizando como disolvente CDCl_3 y tetrametilsilano (TMS), como referencia interna

Los espectros de RMN ^{13}C se obtuvieron en instrumentos Varian-300 a 75 y 125 MHz.

Para la elucidación estructural de algunas sustancias se recurrió a experimentos en RMN ^{13}C con desacoplamiento electrónico por transferencia de polarización (DEPT y HMQC) y (COSY) en RMN ^1H

Los espectros de Masas se obtuvieron en un espectrómetro Hewlett Packard 5985-B, utilizando la técnica de impacto electrónico de ionización de 70 eV

Técnica experimental

Pracallium radulifolium (HBK.) H. Robins. & Brett. fue colectada e identificada en San Luis Potosí por el Dr. Robert Bye (Instituto de Biología de la UNAM) y una muestra de la misma, se encuentra depositada en el Jardín Botánico de la Universidad Nacional Autónoma de México (MEXU), con la clave R. Bye 20028.

Para el estudio de esta planta se utilizaron las raíces, que es el material que se emplea en la medicina tradicional, las cuales se dejaron secar a temperatura ambiente.

974 g de material seco se trituraron y maceraron utilizando 2.5 l de disolvente en cada maceración, y realizando tres maceraciones con cada disolvente. Los disolventes empleados en orden creciente de polaridad fueron: hexano, mezcla diclorometano-etanol 3:2 y metanol, después de la eliminación del disolvente a presión reducida, se obtuvieron tres extractos de 50.4, 59.8 y 36.0 g respectivamente. El procedimiento general para la extracción de las raíces de esta planta se muestra en el diagrama 1.

La composición de los extractos obtenidos, así como la pureza de las sustancias aisladas posteriormente, fue analizada por cromatografía en capa fina (CCF). En esta técnica se utilizaron cromatofolios Alugram-Sil G/UV $_{254}$ Macherey-Nagel y como reveladores una solución de sulfato cérico amoniacal al 1% en ácido sulfúrico 2N (con posterior calentamiento de la placa a 70 °C) y una lámpara de UV Spectroline Modelo ex-20 con longitudes de onda a 254 y 365 nm

**DESARROLLO
EXPERIMENTAL**

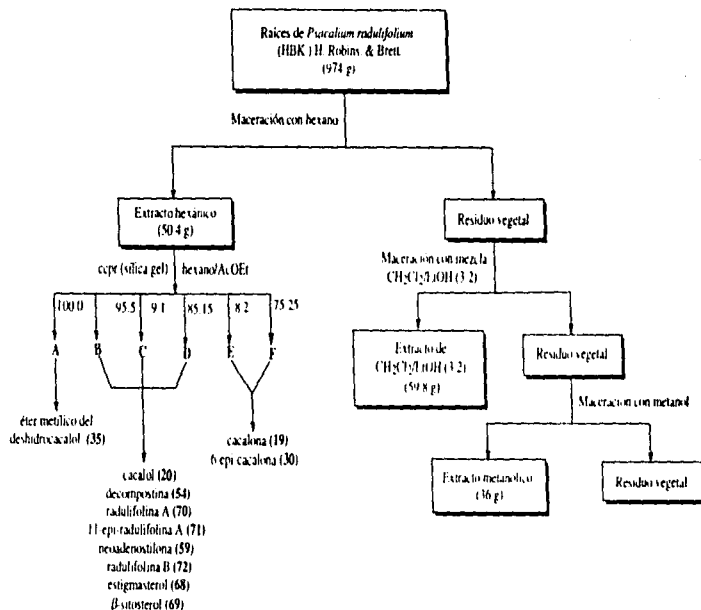


Diagrama 1. Procedimiento general para la extracción de las raíces de *Psacalium radulifolium*

El análisis por CCF comparativo entre los extractos obtenidos permitió establecer que se trabajara con el extracto hexámico, por la presencia de mayor cantidad de metabolitos secundarios.

Al extracto hexámico se le realizó una fraccionación por cromatografía en columna a presión reducida (CCPR)¹⁰, para ello, fue necesario adsorber el extracto en gel de sílice en una relación 1:1 (p/p) y aplicarlo en una columna empacada con sílice Merck 60 GF₂₄ en una relación extracto-sílice 1:10 (p/p). El desarrollo de la cromatografía se llevó a cabo utilizando inicialmente hexano como eluyente e incrementando la polaridad gradualmente con mezcla de hexano-acetato de etilo.

El número de las fracciones resultantes de la columna cromatográfica anterior, el peso de las mismas y las sustancias aisladas a partir de estas, se presentan en la tabla 9.

Tabla 9.

No. de eluato (Vol. I.L.)	Fracción	Peso (g)	% Rend. p/pi	Sistema de elución	Compuesto identificado
1-16	A	2.61	5.17	hexano	caecalohastina (35)
17-20	B	17.76	35.24	hexano/AcOEt 95:5	cacalol (20) adenostin A (54) β-sitosterol (69) estigmasterol (68)
21-26	C	5.49	10.9	hexano/AcOEt 9:1	decompositina (8) neoadenostilona (59)
27-32	D	2.00	3.97	hexano/AcOEt 85:15	radulifolina A (70) 11-epi-radulifolina A (71) radulifolina B (72)
33-37	E	1.55	3.15	hexano/AcOEt 8:2	cacalona (19) 6-epicaalona (30)
38-44	F	1.49	2.95	hexano/AcOEt 75:25	cacalona (19) 6-epicaalona (30)
45-50	G	0.75	1.44	hexano/AcOEt 7:3	

De las fracciones A, B, C y D, se aislaron tres compuestos sólidos cristalinos, purificados mediante recristalizaciones sucesivas empleando acetona/éter isopropílico, estas tres sustancias fueron identificadas como: éter metílico del deshidrocaecalol (caecalohastina, 50 mg, fracción A), cacalol (4.42 g, fracción B) y decompositina (1, 9111 g, fracciones C y D). Las características físicas y espectralógicas de estos compuestos se describen a continuación.

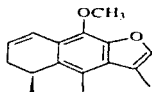
Eter metílico del deshidrocacalol (cacalohastina, 34)¹¹

Rf 0.87 (hexano/AcOEt 75:25).

Pf 79-82 °C.

IR (KBr/Pastilla, cm^{-1}): 3231, 3056, 1636, 1610, 1566, 1475, 1452.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ (ppm), J (Hz)): 7.29 (c, 1H, J₁₂₋₁₃ = 1.2), 6.90 (dd, 1H, J₁₂ = 9.6, J₁₃ = 3.0), 5.90 (dddd 1H, J₁₂ = 9.6, J₂₃ = 6.3, J₂₄ = 2.4, J₂₅ = 0.9), 4.04 (s, 3H), 3.25 (cddd 1H, J_{4,15} = 7.2, J₁₄ = 7.2, J_{3,4} = 1.5, J_{2,4} = 1.5), 2.52 (m, 1H), 2.38 (d, 3H, J_{12,13} = 1.2), 2.22 (ddd, 1H, J₁₃ = 17.1, J₂₃ = 6.3, J₁₄ = 1.5), 1.07 (d, 3H, J_{4,15} = 7.2).



(35)

Cacalol (20)⁶

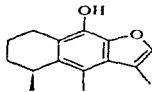
Rf 0.67 (hexano/AcOEt).

Pf 89-92 °C.

IR (KBr/Pastilla, cm^{-1}): 3552, 3109, 1637, 1600, 1575, 1471, 1448.

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃, δ (ppm), J (Hz)): 7.24 (c, 1H, J₁₂₋₁₃ = 1.5), 5.0 (s, 1H), 3.23 (cdd, 1H, J_{4,15} = 7.0, J_{15,4} = 4.5, J_{6,4} = 3.5), 2.98 (dddd, 1H, J_{16,18} = 17.0, J_{16,25} = 6.0, J_{16,17} = 1.0), 2.62 (ddd, 1H, J_{18,16} = 17.0, J_{18,25} = 11.5, J_{18,26} = 7.0), 2.52 (s, 3H), 2.37 (d, 3H, J_{12,13} = 1.5), 1.85 (m, 2H), 1.8 (m, 2H), 1.19 (d, 3H, J_{4,15} = 7.0).

RMN ¹³C (500 MHz, CDCl₃): 22.89 (C-1), 16.7 (C-2), 30.1 (C-3), 28.9 (C-4), 120.2 (C-5), 135.6 (C-6), 126.1 (C-7), 136.3 (C-8), 142.2 (C-9), 118.7 (C-10), 117.3 (C-11), 140.8 (C-12), 11.2 (C-13), 13.8 (C-14), 21.3 (C-15).



(20)

Decompostina (8)⁹

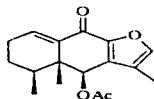
Rf 0.36 (hexano/AcOEt 75:25).

Pf = 184-185 °C.

IR (KBr/Pastilla, cm⁻¹): 3129, 3008.6, 2981, 2967, 2944, 2883, 2826, 1742, 1666, 1625, 1593, 1523, 1462, 1407, 1369.

RMN¹H (500 MHz, CDCl₃), δ (ppm), J (Hz): 7.4 (c, 1H, J_{12,13} = 1.0), 7.01 (td, 1H, J_{1,2} = 4.2, J_{1,3} = 1.0), 6.32 (s, 1H), 2.22 (s, 3H), 1.93 (d, 3H, J_{12,13} = 1.0), 1.55 (1H, dddd, J_{3,4} = 14.0, J_{3,5} = 7.0, J_{2,4} = 3.0, J_{2,5} = 2.5, J_{1,3} = 1.0), 1.46 (dddd, 1H, J_{3,4} = 14.0, J_{2,4} = 11.5, J_{2,5} = 10.0, J_{3,5} = 7.0), 1.11 (s, 3H), 1.0 (d, 3H, J_{4,5} = 6.7).

RMN¹³C (500 MHz, CDCl₃): 138.3 (C-1), 25.0 (C-2), 27.8 (C-3), 37.7 (C-4), 46.5 (C-5), 74.8 (C-6), 121.0 (C-7), 146.9 (C-8), 176.6 (C-9), 141.4 (C-10), 135.7 (C-11), 146.0 (C-12), 8.3 (C-13), 15.3 (C-14), 17.4 (C-15), 170.76 (CO (OAc)), 21.3 (CH₃ (OAc)).



(8)

De la primer columna cromatográfica realizada, se reunieron los eluatos 31-39 (2.79 g, fracciones D, E y F) y se sometieron a un fraccionamiento por cromatografía en columna de 3 cm de diámetro y empacada con 27 g de sílica gel 60 GF-254 (10:1 sílica/muestra). La elución de esta columna se realizó a presión reducida y se utilizaron mezclas de hexano/acetato de etilo 9:1 en los primeros 15 eluatos, y 8:2 hasta el eluato 22, obteniéndose el siguiente conjunto de fracciones: A2 (eluatos 1-3, 0.039 g), B2 (4-9, 0.55 g), C2 (10-16, 1.40 g), D2 (17-19, 0.51 g), E2 (20-22, 0.048 g).

Con los eluatos 10-19 (1.90 g, fracciones C2 y D2) se preparó una nueva columna cromatográfica (3 cm de diámetro, 19 g de sílica gel 60 GF-254, 10:1 sílica/muestra, presión reducida) y los datos obtenidos para ésta fueron los siguientes:

Tabla 10.

No. de eluato	Fración	Peso (mg)	% Rend. p/pl	Sistema de elución hexano/AcOEt	Compuesto identificado
1-3	A3	28	1.47	95:5	
4-7	B3	55.5	2.92	9:1	
8-9	C3	69.2	3.6	85:15	cacalona (19) y 6-epicacalona (30)
10	D3	118.5	6.2	85:15	cacalona (19) y 6-epicacalona (30)
11-14	E3	889.6	46.8	8:2	
15-19	F3	39.9	2.1	75:25	

Las fracciones **D3** y **E3** (1.01 g) se fraccionaron nuevamente por cromatografía a presión reducida en una columna de 1.2 cm. de diámetro, empacada con 10 g. de sílica gel 60 GF-254 (10:1 sílica/muestra) y con una mezcla de hexano/acetato de etilo 9:1 como eluyente; las fracciones resultantes de esta separación fueron **A4** (eluatos 1-3, 0.043 g), **B4** (4-6, 0.0963 g), **C4** (7, 0.2001 g), **D4** (8, 0.2330 g), **E4** (9-13, 0.4654 g), **F4** (14-17, 0.0151 g), **G4** (18-21, 0.0220 g) y **H4** (22-25, 0.0165 g).

La fracción **D4** (0.2330 g) fue aplicada sobre placas preparativas (20 x 20 x 0.2 cm) enjuadas dos veces con una mezcla de hexano/acetato de etilo 65:35. De estas placas, se extrajeron 168.3 mg de la mezcla de epímeros **cacalona** (19) y **6-epi-cacalona** (30)¹⁹, en forma de un polvo de color amarillo claro, (Rf = 0.46 en la placa preparativa). Las características físicas y espectroscópicas de estos compuestos son:

Cacalona (19)¹⁹

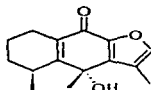
Rf 0.15 (de la mezcla de epímeros, hexano/AcOEt 75:25)

Pf 115-118 °C.

IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3402, 2935, 2873, 1770, 1655, 1614, 1573, 1460.

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃, δ (ppm), J (Hz)): 1.27 (d, 3H, J = 6.5, H-15), 1.69 (s, 3H, H-14), 1.75 (m, 2H, H-2), 2.24 (d, 3H, J = 1.0, H-13), 2.3-2.5 (m, 2H, H-1), 3.13 (1H, m, H-3), 7.34 (c, 1H, J = 1.0, H-12).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): 21.6 (C-1), 16.0 (C-2), 30.2 (C-3), 27.3 (C-4), 140.2 (C-5), 70.3 (C-6), 145.2 (C-7), 161.5 (C-8), 175.0 (C-9), 130.7 (C-10), 120.2 (C-11), 144.4 (C-12), 8.9 (C-13), 25.8 (C-14), 20.7 (C-15).



(19)

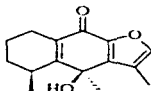
6-epi-cacalona (30)¹⁹

Rf 0.15 (de la mezcla de epímeros, hexano/AcOEt 75:25).

Pf 115-118 °C.

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃, δ (ppm), J(Hz)), 1.3 (d, 3H, J = 7.0, H-15), 1.64 (s, 3H, H-14), 1.75 (m, 2H, H-2), 2.23 (d, 3H, J = 1.0, H-13), 2.3-2.5 (m, 2H, H-1), 2.87 (m, 1H, H-4), 7.34 (c, 1H, J = 1.0, H-12).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃), 20.7 (C-1), 15.6 (C-2), 30.2 (C-3), 28.5 (C-4), 140.4 (C-5), 70.6 (C-6), 145.2 (C-7), 161.3 (C-8), 175.0 (C-9), 130.7 (C-10), 120.3 (C-11), 144.3 (C-12), 8.8 (C-13), 27.2 (C-14), 21.2 (C-15)



(30)

Después de haber aislado el éter metílico del deshidrocacalol (cacalohastina 35), el cacalol (20) y la decompostina (8) por recristalización, se reunieron las aguas madres de los eluatos 19-28 (10 g, fracciones B, C y D, Tabla 9), para su separación por cromatografía en una columna a presión reducida, empacada con 50 g de sílica gel 60 GF-254 (5:1 sílica/muestra), empleando como eluyentes: hexano en las primeras ocho eluciones, y mezcla de hexano/acetato de etilo (9:1) a partir de la elución 9 y hasta la 20. El resultado de este fraccionamiento fueron las fracciones: A5 (eluatos 1-8, 1.03 g), B5 (9-13, 7.46), C5 (14-17, 0.52 g) y D5 (18-20, 0.40 g).

Se realizó un análisis comparativo (CCF) entre las fracciones B2 y B5 (8.01 g), y éstas fueron reunidas para su fraccionamiento por cromatografía a presión reducida, en una columna empacada con 80 g de sílica gel 60 GF-254 (10:1 sílica/muestra). En esta columna se emplearon mezclas de hexano/acetato de etilo (9:1) en las fracciones: A6 (eluatos 1-5, 0.04 g), B6 (6-7, 0.0637 g) y C6 (8, 0.067 g), y hexano/acetato de etilo (8:2), en las fracciones D6 (9-13, 0.10 g) y E6 (14-22, 5.13 g).

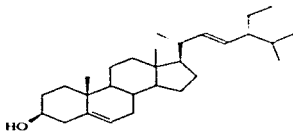
De la fracción D6 se tomaron 80 mg, se disolvieron en acetona caliente y después de dejar enfriar a temperatura ambiente, se aislaron 20 mg de estigmasterol (68).

Estigmasterol (68)

Rf 0.29 (hexano/AcOEt 75:25)

Pt 171-174 °C (agujas).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ (ppm), J (Hz)); 5.35 (d, 1H, J = 5.2, H-6); 5.16 (dd, J = 15.0, 8.1, H-22); 5.02 (dd, 1H, J = 14.7, 8.1, H-23); 2.3-0.6 (m, 45H)



(68)

La fracción E6 (5.13 g), fue sometida a fraccionamiento en una columna cromatográfica empacada con 26 g de sílica gel 60 GF-254 (5:1 sílica/muestra) a presión reducida, en este caso, se utilizaron mezclas de hexano/acetato de etilo 9:1, en las primeras 11 eluciones y hexano/acetato de etilo 1:1, en las 4 eluciones restantes, obteniéndose las fracciones: A7 (elutos 1-2, 0.0236 g), B7 (3, 1.01 g), C7 (4-5, 0.037 g), D7 (6-8, 0.20 g), E7 (9-12, 0.24 g), F7 (13, 1.23 g), y G7 (14-15, 0.49 g).

Se recromatografió la fracción F7 (1.23 g), empleando una columna de 1.2 cm. de diámetro, empacada con 12 g de sílica gel 60 GF-254 (10:1 sílica/muestra), y empleando como eluyente, mezcla de hexano/acetato de etilo 8:2, con lo que, se separaron las fracciones: A8 (eluto 1, 0.033 g), B8 (2-3, 0.73 g), C8 (4, 0.1606), D8 (5-7, 0.096 g) y E8 (8-9, 0.0153 g).

Posterior fraccionamiento realizado a la fracción B8 (0.73 g), utilizando una columna cromatográfica de las siguientes características:

Diámetro = 1.0 cm.

Sílica gel 60 GF-254 (10:1 sílica/muestra)

Eluyente: hexano/ acetato de etilo 8:2

permitió la obtención de las fracciones: A9 (elutos 1-2, 0.46 g), B9 (3, 0.35 g), C9 (0.0733 g) y D9 (5-6, 0.176 g).

147 mg de la fracción B9, fueron aplicados en una placa preparativa (20 x 20 x 0.2 cm), de la cual, después de ser eluida tres veces con mezcla de (benceno/hexano 1:1)/acetato de etilo 9:1, Rf = 0.55, en la placa preparativa, se extrajeron con acetona, 60.7 mg de adenostina A (54)¹⁷, un compuesto cuyas características físicas y espectroscópicas son las siguientes:

Adenostina A (54)

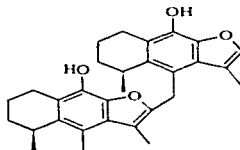
Rf 0.36 (hexano/AcOEt 75:25)

MP = 185-188 °C (sólido anaranjado).

IR (KBr/Pastilla, cm⁻¹): 3403, 2930, 2868 1654, 1616, 1444, 1413, 1222, 1108.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ(ppm), J(Hz)): 1.16 (d, 3H, J = 6.9, H-15'), 1.19 (d, 3H, J = 7.2, H-15), 1.77 (m, 8H, H-2, H-2', H-3, H-3'), 2.25 (s, 3H, H-13'), 2.28 (d, 3H, J = 1.2, H-13), 2.5 (s, 3H, H-14), 2.6-2.99 (m, 2H, H-1, H-1'), 3.2-3.3 (m, 2H, H-4, H-4'), 4.37 (2d, 2H, J = 16.8, H-14').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 22.5 (C-1), 22.9 (C-1'), 16.3 (C-2), 16.7 (C-2'), 30.2 (C-3), 30.9 (C-3'), 28.7 (C-4), 29 (C-4'), 119.4 (C-5), 118.9 (C-5'), 135.8 (C-6), 135.4 (C-6'), 127.0 (C-7), 127.4 (C-7'), 136.8 (C-8), 137.4 (C-8'), 140.4 (C-9), 142.4 (C-9'), 118.7 (C-10), 118.1 (C-10'), 117.0 (C-11), 110.9 (C-11'), 141.3 (C-12), 151.1 (C-12'), 11.1 (C-13), 10.6 (C-13'), 13.8 (C-14), 25.4 (C-14'), 21.4 (C-15), 21.9 (C-15').



(54)

La fracción E7 (240 mg), fué resuelta en sus componentes empleando cromatografía en columna [4.82 g sílica gel 60 GF-254 (=20:1 sílica/muestra), hexano/acetato de etilo 95:5, presión reducida]: A10 (1, 12.3 mg), B10 (2-4, 180.3 mg), C10 (5-6, 19.9mg).

La fracción **B10** (180.3 mg), se aplicó sobre una placa preparativa (20 x 20 x 0.2 cm), misma que, se eluyó dos veces con mezcla de (benceno/hexano 9:1)/acetato de etilo 95:5. De esta placa se aislaron, 70 mg de una mezcla de compuestos (Rf = 0.58, en la placa preparativa), y 15 mg de neoadenostilona (**59**)¹⁰ (Rf = 0.65, en la placa preparativa).

Neoadenostilona (59)

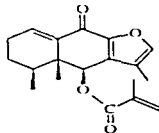
Rf 0.49 (hexano/AcOEt 75:25)

Pf 98-100 °C.

I.R. (KBr/Pastilla, cm⁻¹)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃, δ (ppm), J (Hz)), 7.4 (c, 1H, J_{12,13} = 1.2) 7.02 (ddd, 1H, J_{1,2} = 4.5, J_{1,7} = 3.5, J_{1,8} = 1.0), 6.44 (s, 1H), 6.3 (cc, 1H, J_{3,4} = 7.5, J_{2,3} = 1.5), 1.99 (m, 1H), 1.99 (cd, 3H, J_{4,5} = 1.5, J_{2,3} = 1.5), 1.88 (d, 3H, J_{12,13} = 1.2), 1.55 (ddddd, 1H, J_{1,8} = 13.5, J_{1,4} = 7.0, J_{2,3} = 2.7, J_{2,4} = 2.7, J_{1,3} = 1.0), 1.46 (dddd, 1H, J_{1,3} = 13.5, J_{2,3} = 11.0, J_{2,4} = 9.5, J_{1,4} = 6.5), 0.97 (d, 3H, J_{1,8} = 6.5).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃), 138.2 (C-1), 25.1 (C-2), 27.9 (C-3), 37.9 (C-4), 46.6 (C-5), 73.9 (C-6), 121.2 (C-7), 146.9 (C-8), 176.6 (C-9 (CO)), 141.4 (C-10), 136.0 (C-11), 145.9 (C-12), 8.4 (C-13), 15.8 (C-14), 17.4 (C-15), 167.1 (C-1' (CO)), 127.0 (C-2'), 141.6 (C-3'), 16.0 (C-4'), 20.5 (C-2'').



(59)

Para su separación, la mezcla de compuestos que se obtuvo de la placa anterior, se aplicó nuevamente en una placa preparativa de 20 x 20 x 0.1 cm, eluída dos veces empleando la misma mezcla de disolventes ((benceno/hexano 9:1)/acetato de etilo 95:5). Esta placa presentó dos bandas, que fueron raspadas por separado y extraídas con acetona cuatro veces cada una.

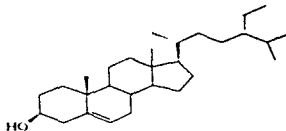
La fracción más polar (Rf 0.55), fué disuelta en hexano caliente, se dejó enfriar a temperatura ambiente y, finalmente se aislaron 38 mg de β-sitosterol.

β -Sitosterol

Rf 0.4 (hexano/AcOEt 75:25)

Pf = 130-133 °C.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ (ppm), J (Hz)); 5.35 (d, 1H), 3.55 (m, 1H) 0.68-1.3 (d, t, 47 H).



(69)

Por otra parte, en la fracción de menor polaridad (Rf = 0.61), se obtuvieron 8 mg de radulifolina B, un compuesto con las siguientes características (físicas y espectroscópicas):

Radulifolina B (72)

Rf 0.41 (hexano/AcOEt 75:25).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃, δ (ppm), J (Hz)); 1.2-1.7 (m, 2H, H-3), δ 1.15 (d, 3H, J = 7.5, H-15), 1.78 (s, 3H, H-13), δ 1.8 (m, 2H, H-2), δ 2.38 (s, 3H), δ 2.5-2.9 (m, 2H, H-1), δ 3.1 (m, 1H, H-4), δ 3.94 (s, 3H, OCH₃).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃, δ (ppm)); 23.8 (C-1), 16.5 (C-2), 29.6 (C-3), 28.8 (C-4), 127.9 (C-5), 138.6 (C-6), 131.4 (C-7), 139.5 (C-8), 140.5 (C-9), 125.6 (C-10), 73.4 (C-11), 177.7 (C-12), 24.6 (C-13), 12.9 (C-13), 20.8 (C-15), 60.2 (OCH₃).

EM (IE, 70 eV); 276 (M⁺) (35), 272 (12), 248 (66), 233 (100), 229 (21), 203 (7), 189 (6), 176 (6), 159 (8), 157 (7), 129 (8), 115 (9), 91 (8), 84 (14), 43 (35).

La fracción C8 (160.6 mg), fué recromatografiada en una columna de 1 cm de diámetro , empacada con 3.2 g de sílica gel 60 GF-254 (=20:1 sílica/muestra) y sometida a presión reducida, dando como resultado las fracciones: **A11** (1-2, 24.3 mg), **B11** (3-4, 60.2 mg), **C11** (5, 30 mg) y **D11** (6, 25.2 mg).

La purificación de la fracción B11 (60.2 mg), fue hecha empleando una placa preparativa de 20 x 20 x 0.1 cm (CCF), eluida dos veces con mezcla de (benceno/hexano 1:1/acetato de etilo 8:2. De esta placa, fueron extraídos con acetona, 45 mg de la mezcla epimérica **70** y **71** (Rf = 0.4, en la placa preparativa) que presentó las siguientes características físicas y espectroscópicas:

Rf 0.2 (hexano/AcOEt 75:25)

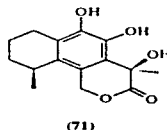
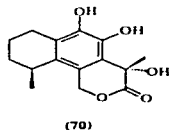
PT 116-120 °C.

IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3377, 3026, 2933, 2878, 1736, 1663, 1624, 1595, 1470, 1444, 1406.

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃, δ (ppm), J (Hz)): 8.6 (s, a, 1H), 8.48 (s, a, 8.84), 5.56 (d, 1H, J = 14.5), 5.52 (d, 1H, J = 14.5), 5.26 (d, 1H, J = 14.5), 5.25 (d, 1H, J = 14.5), 3.0 (m, 1H), 2.9 (m, 2H), 2.4-2.6 (m, 2H), 1.74-1.82 (m, 8H), 1.69 (s, 3H), 1.66 (s, 3H), 1.21 (d, 3H J = 7.0), 1.07 (s, 3H).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 23.2, 22.6 (C-1, C-1'), 16.5, 16.0 (C-2, C-2'), 30.0, 29.0 (C-3, C-3'), 28.5, 27.8 (C-4, C-4'), 117.8, 117.5 (C-5, C-5'), 130.4, 129.9 (C-6, C-6'), 123.8, 123.5 (C-7, C-7'), 138.7 (C-8, C-8'), 143.0, 143.1 (C-9, C-9'), 118.1, 117.9 (C-10, C-10'), 72.2, 72.5 (C-11, C-11'), 175.2, 175.3 (C-12, C-12'), 22.9 (C-13, C-13'), 67.2, 67.7 (C-14, C-14'), 21.6, 22.2 (C-15, C-15').

EM (IE, 70 eV): 278 (M+) (35), 260 (100), 245 (80), 227 (11), 217 (11), 187 (15), 176 (20), 161, (5) 128 (6), 115 (8), 91 (7), 77 (5), 55 (6), 43 (22), 41 (6).



Bioensayo de letalidad frente a *Artemia salina*⁴¹

Material

1. Huevecillos de *Artemia salina*
2. Sal de mar
3. Pecera pequeña
4. Jeringas; 5, 0.5, 100 y 10
5. Viales (9 por muestra)

Procedimiento

- 1.- Preparar agua de mar de acuerdo a las instrucciones de la caja (aprox. 38 g de sal de mar por litro de agua).
- 2.- Colocar el agua de mar en una pecera pequeña y adicionar huevecillos de *A. salina*, con una lámpara encima de ella y mantener la temperatura del agua a 28 °C.
- 3.- Mantener las condiciones de temperatura y luz durante dos días para permitir la maduración de los huevecillos de *Artemia salina*.
- 4.- Preparar viales para el análisis como sigue: para cada fracción, analizar inicialmente a 1000, 100 y 10 µl, preparar 3 viales a cada concentración para un total de nueve viales, pesar 20 mg de muestra y adicionar 2 ml de disolvente (10 mg/ml), de esta solución transferir 500, 50 o 5 µl a los viales correspondientes a 1000, 100 y 10 µl. Evaporar el disolvente con nitrógeno y después colocar a alto vacío aproximadamente 30 min. Los disolventes volátiles pueden evaporarse durante 12 horas.
- 5.- Después de dos días cuando la larva de *Artemia* ha emergido, adicionar 5 ml de agua salada a cada vial y agregar 10 individuos por vial (30 *Artemias* por dilución).
- 6.- 24 horas más tarde contar y registrar el número de sobrevivientes.
- 7.- Analizar los datos con el programa Finney de cómputo para determinar el valor de CL_{50} y el intervalo de confianza de 95 %.

Pruebas antimicrobianas⁴²

Técnica

Método de dilución en agar para determinar CMi.

- 1.- 10 mg de cada compuesto puro se disolvieron en 1 ml de DMSO.
- 2.- En cada una de las cajas petri estériles se mezclaron 5 ml de agar No. 1 para antibióticos Art. 5272 (previamente esterilizado y caliente) con 50, 100 ó 200 µl de la solución del compuesto puro en estudio, para alcanzar una concentración de 100, 200 ó 400 µg por ml de agar.
- 3.- Se prepararon cajas petri control. Una con agar No. 1 para antibióticos Art. 5272 (control 1) y otra con agar No. 1 para antibióticos Art. 5272 más 50, 100 ó 200 µl de DMSO (control 2).
- 4.- Una vez que el agar se solidificó, se colocaron en un punto de su superficie 2 µl de una suspensión del microorganismo de ensayo ($C = 1 \times 10^{10}$ bacterias por ml de solución salina). Se pueden colocar más de dos microorganismos de ensayo en la misma caja, dejando una distancia considerable entre cada punto de aplicación para poder observar el halo de crecimiento de cada uno.
- 5.- Las cajas petri fueron incubadas a 37 °C y se observó el crecimiento del microorganismo a las 24 horas.

Las sustancias que fueron sometidas a las pruebas biológicas anteriores, así como los resultados obtenidos en estas, se muestran en la tabla 11.

Tabla 11. Evaluación del Potencial Antimicrobiano y de Toxicidad frente a *Artemia Salina* de los Extractos de las Raíces de *Psacaliun radulifolium* (HBK.) H. Robins. & Brett. y de los Metabolitos Secundarios Aislados.

Sustancia en estudio	CMI (mg/ml)					*DL ₅₀
	<i>S. a</i>	<i>E. c</i>	<i>P. a</i>	<i>P. m</i>	<i>C. a</i>	<i>A. s</i>
Extracto hexánico	0,062	> 1	> 1	> 1	0,062	39,1
Extracto metanólico	1,0	> 1	> 1	> 1	1,0	34,2
Eter metílico del deshidrocacalol (35)	0,4	> 0,4	> 0,4	> 0,4	> 0,4	> 1000
Cacalol (20)	0,012	0,025	> 0,4	0,012	0,012	12
Decompostina (8)	> 0,4	> 0,4	> 0,4	> 0,4	> 0,4	> 1000
Cacalona (19) 6-epi-cacalona (30)	0,25	> 1	> 1	> 1	> 1	269
Neoadenostifona (59)	&	&	&	&	&	21,7
Radulifolina A (70) 11-epi-radulifolina A (71)	&	&	&	&	&	230
Radulifolina B (72)	&	&	&	&	&	52,5
Adenostina A (54)	&	&	&	&	&	230

S. a) *Staphylococcus aureus*; (*P. m*) *Proteus mirabilis*; (*E. c*) *Escherichia coli*.

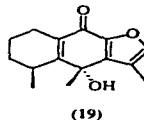
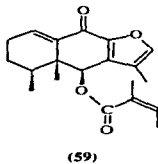
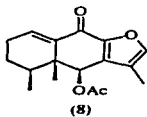
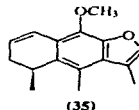
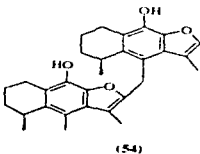
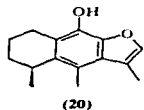
(*C. a*) *Candida albicans*

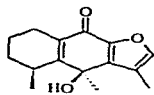
* (ppm).

&: Datos no disponibles al momento de la impresión.

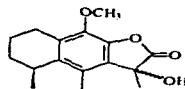
**RESUMEN Y
CONCLUSIONES**

Del extracto hexánico de las raíces de *Psacalium radulifolium* (HBK.) H. Robins. & Brett. se aislaron, mediante técnicas de cromatografía en columna y cromatografía en capa fina, los siguientes metabolitos: cacalol (20), adenostina A (54), éter metílico del deshidrocacalol (35), decompostina (8) y neoadenostilona (59), cacalona (19), 6-epi-cacalona (30), radulifolina B (72), radulifolina A (70), 11-epi-radulifolina A (71), el estigmasterol (68) y el β -sitosterol (69). Radulifolina A, 11-epi-radulifolina A y radulifolina B, son lactonas sesquiterpénicas que no han sido aisladas previamente de otras especies, por lo que constituyen productos naturales nuevos. La elucidación estructural de estas sustancias se basó en datos espectroscópicos de IR, RMN ^1H y ^{13}C , de espectrometría de masas y en constantes físicas (punto de fusión). Algunas de los metabolitos encontrados en esta especie ya han sido aisladas previamente de otras *cacalias*.

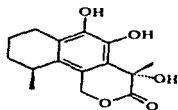




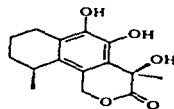
(30)



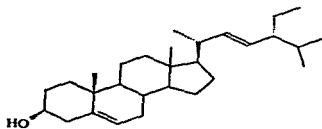
(72)



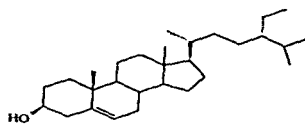
(70)



(71)



(68)



(69)

Con estos resultados podemos concluir que los metabolitos secundarios aislados del extracto hexánico de *Psacalium radulifolium* son sesquiterpenos del tipo del eremofilano, furanocremofilanos modificados y esteroides, compuestos representativos de la familia de las compuestas (Asteraceae) de la cual es perteneciente esta especie.

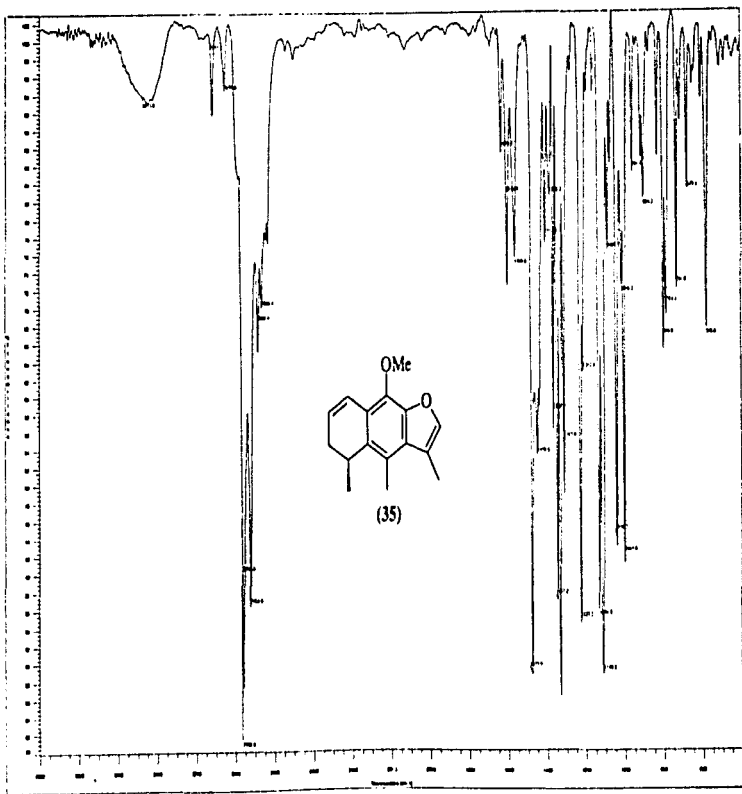
En las pruebas biológicas, el seguimiento de la actividad antimicrobiana manifestada en la evaluación del extracto hexánico, permitió identificar al cacalol como una de las sustancias responsables de dicha actividad. Otras sustancias presentan actividad marginal. En el ensayo de toxicidad frente a *Artemia salina* mostraron actividad los extractos metanólico, hexánico, el cacalol, la neoadenostilona, radulifolina B y la mezcla de epimeros radulifolina A y 11-epi-radulifolina A, siendo nuevamente el cacalol el que presentó una mayor actividad.

Los resultados obtenidos en las pruebas biológicas realizadas sugieren que existe correlación entre la bioactividad que presentan los extractos y las sustancias aisladas, con el uso popular del vegetal como antiséptico (lavado de heridas).

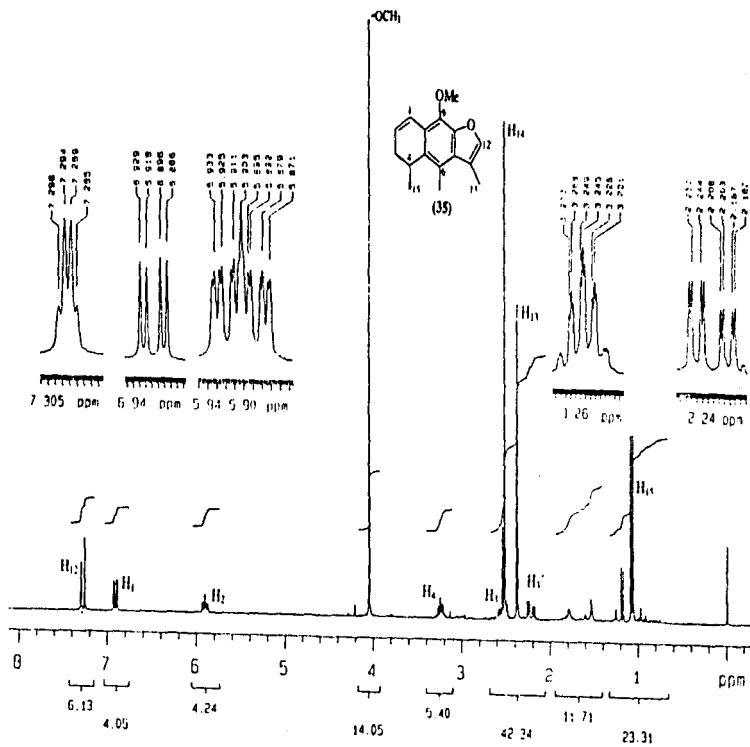
La similitud estructural de los metabolitos secundarios caracterizados de *P. radulifolium* con los de *P. decompositum* proporciona argumentos que justifican la incorporación de la primera especie al complejo de plantas medicinales denominado "matarique". Cacalol, cacalona, 6-epi-cacalona, decompositina y eter metílico del deshidrocacalol son constituyentes comunes presentes en las raíces de ambas especies.

El uso de la resonancia magnética nuclear de ^1H y de ^{13}C en una y dos dimensiones permitió determinar los desplazamientos químicos de algunas sustancias que habían sido aisladas en estudios anteriores pero que no contaban con dicha información y, en otros casos, se reasignaron las señales que así lo requerían.

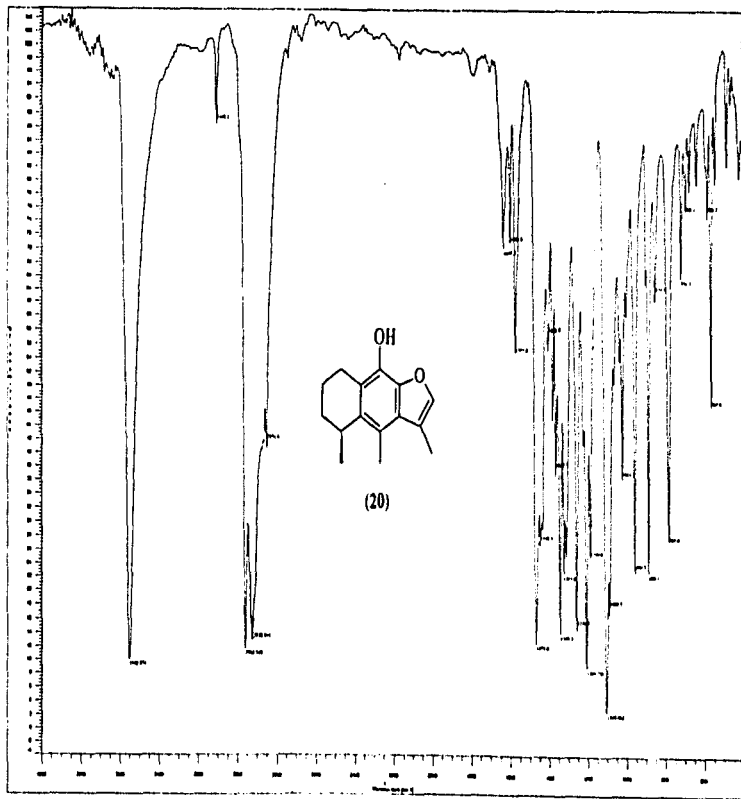
ESPECTROS



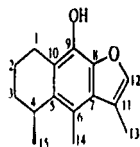
Espectro 1. IR (KBr, pastilla) del éter metílico del deshidrocalol (35)



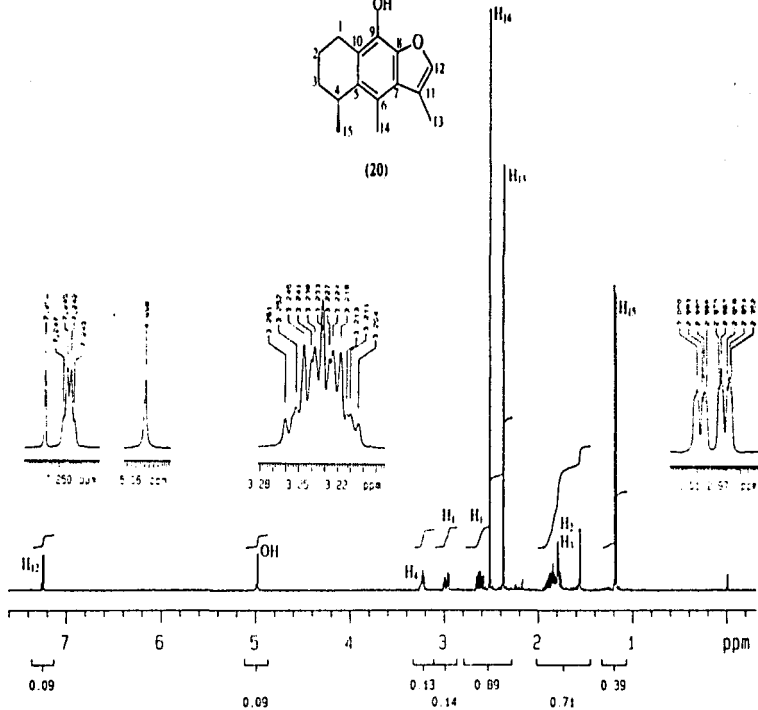
Espectro 2. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) del éter metílico del deshidrocacal (35)

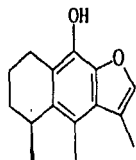


Espectro 3. IR (KBr, pastilla) del cacalol (20)

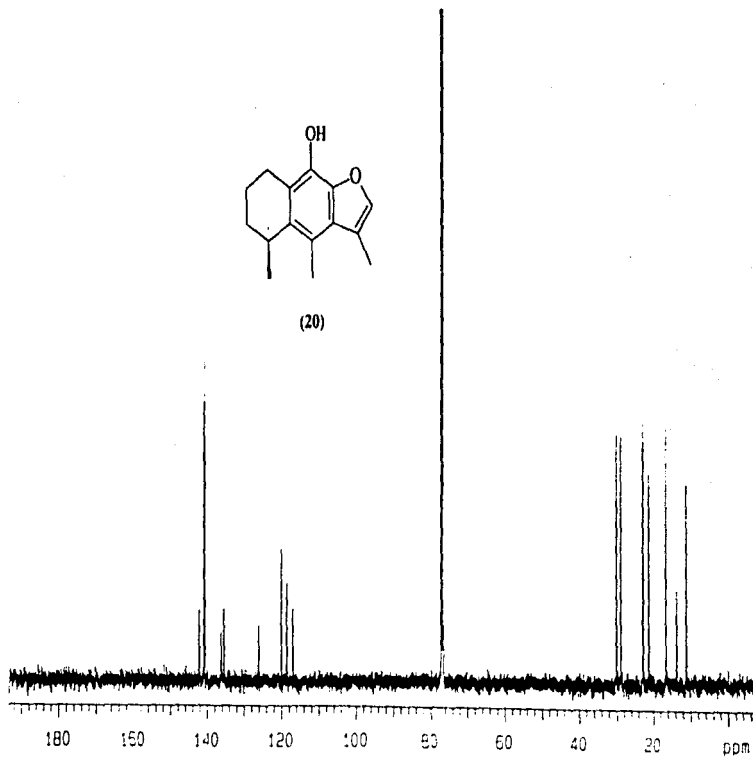


(20)

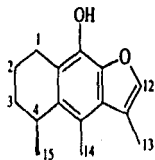




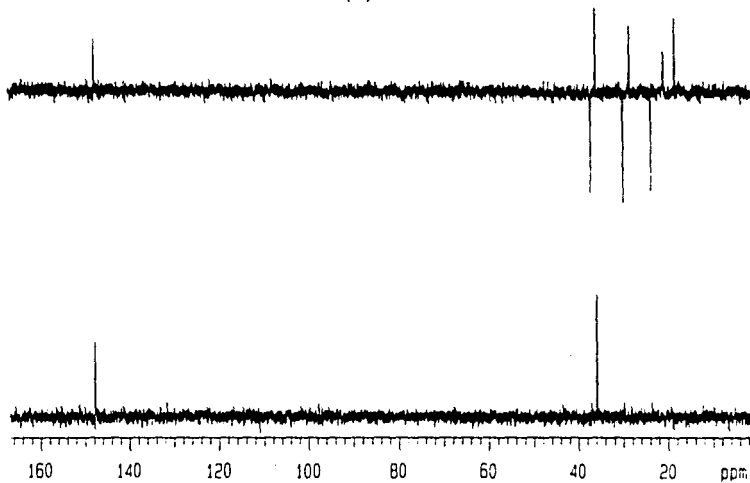
(20)



Espectro 5. RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) del cacalol (20)

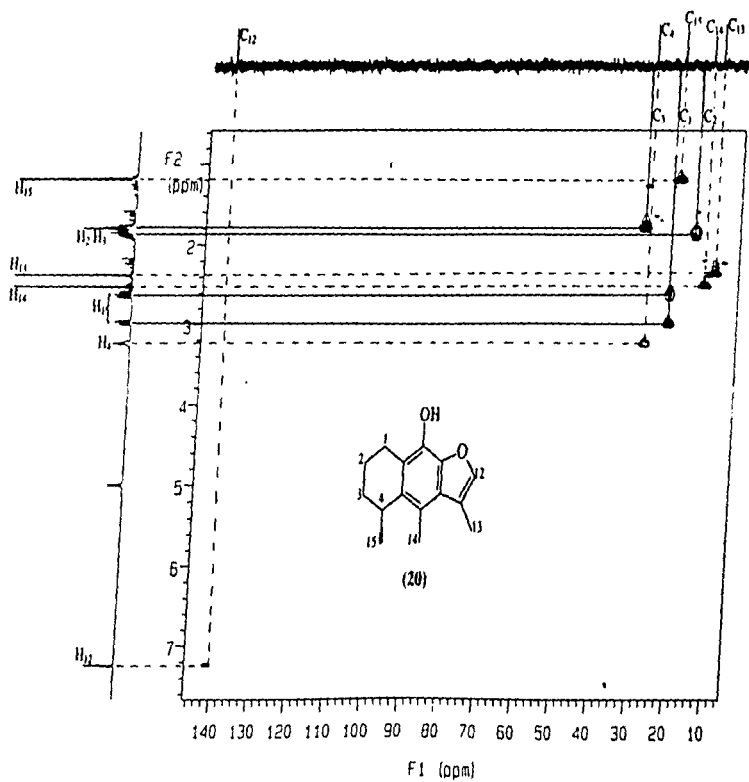


(20)



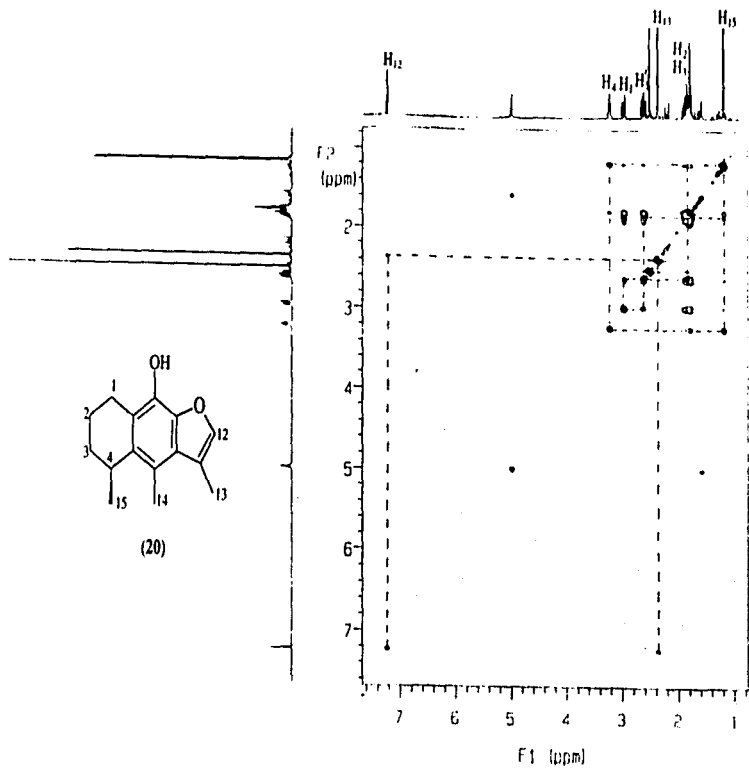
2

Espectro 6. RMN ^{13}C DEPT (CDCl_3 , 125 MHz) del cactal (20)



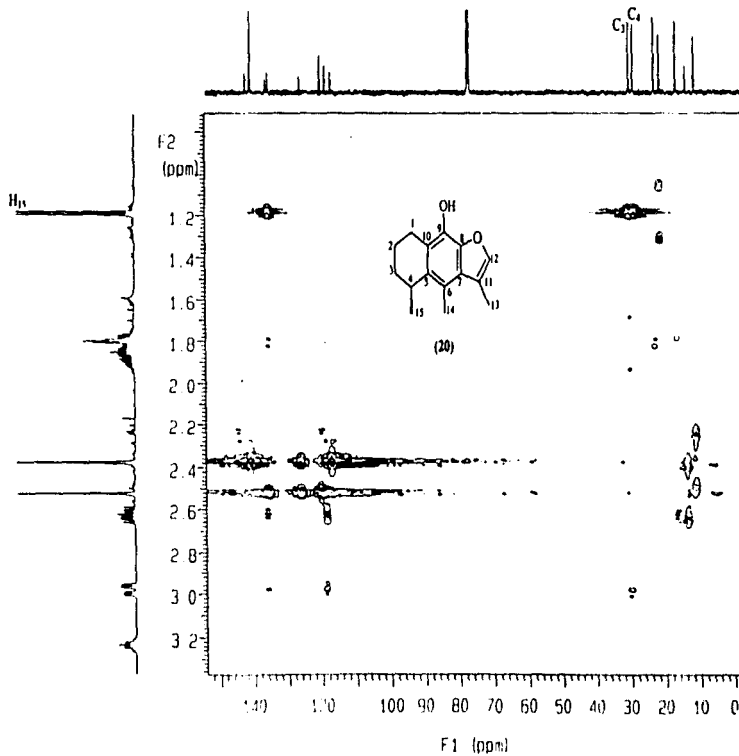
2

Espectro 7. HMQC (CDCl_3 , 500 MHz) del cacatol (20)

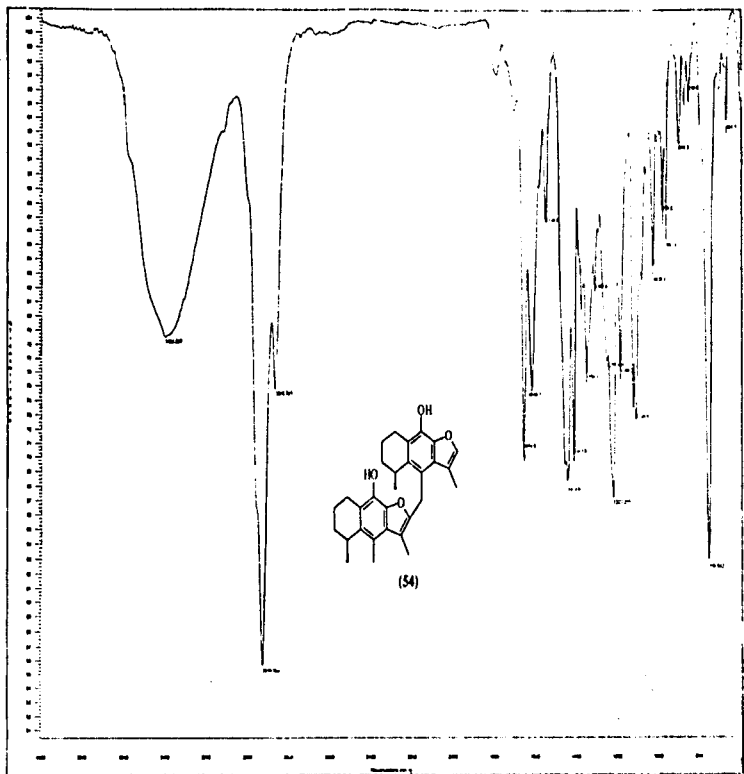


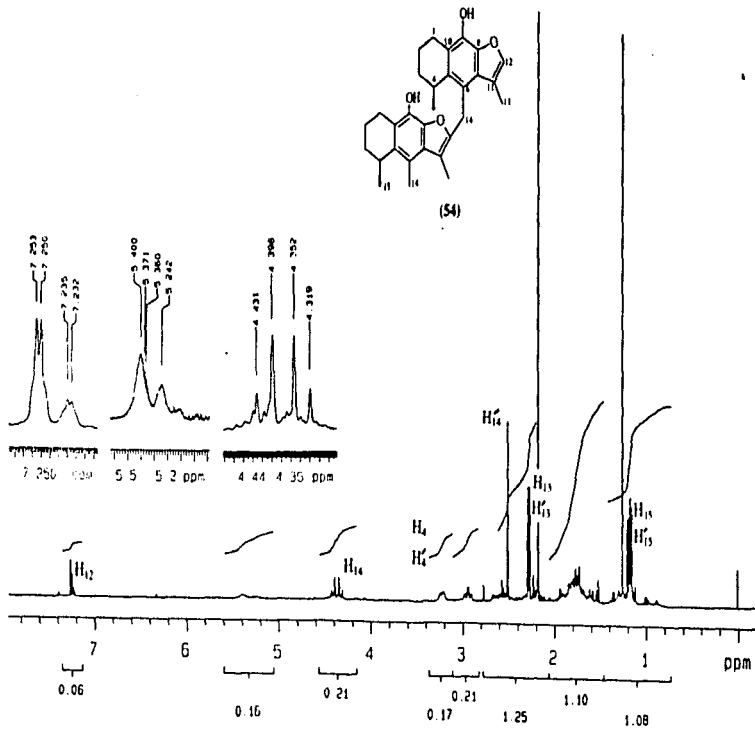
2

Espectro 8. RMN ¹H TOCSY (CDCl₃), 500 MHz del cacalol (20)

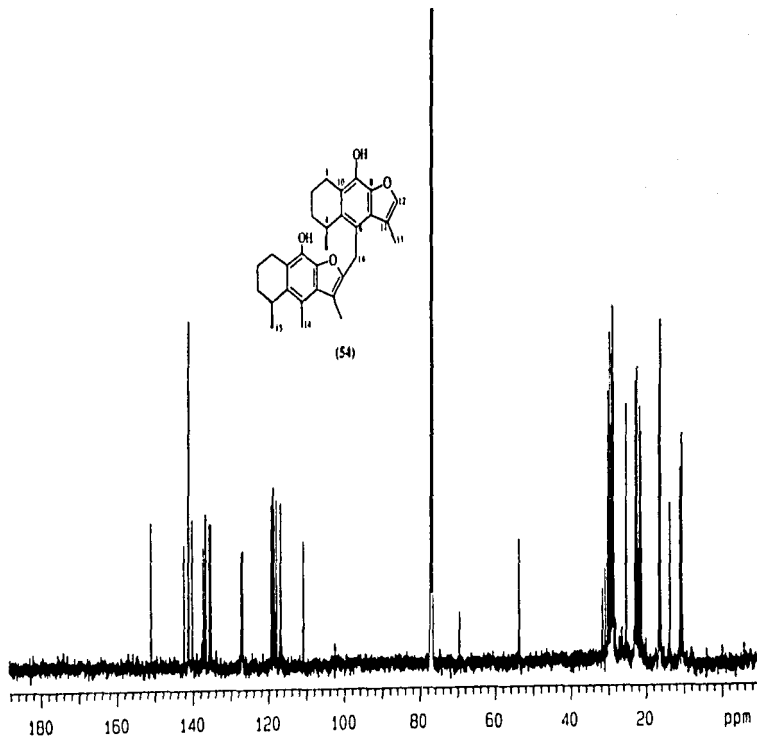


Espectro 9. HMBC (CDCl_3 , 500 MHz) del cacalol (20)

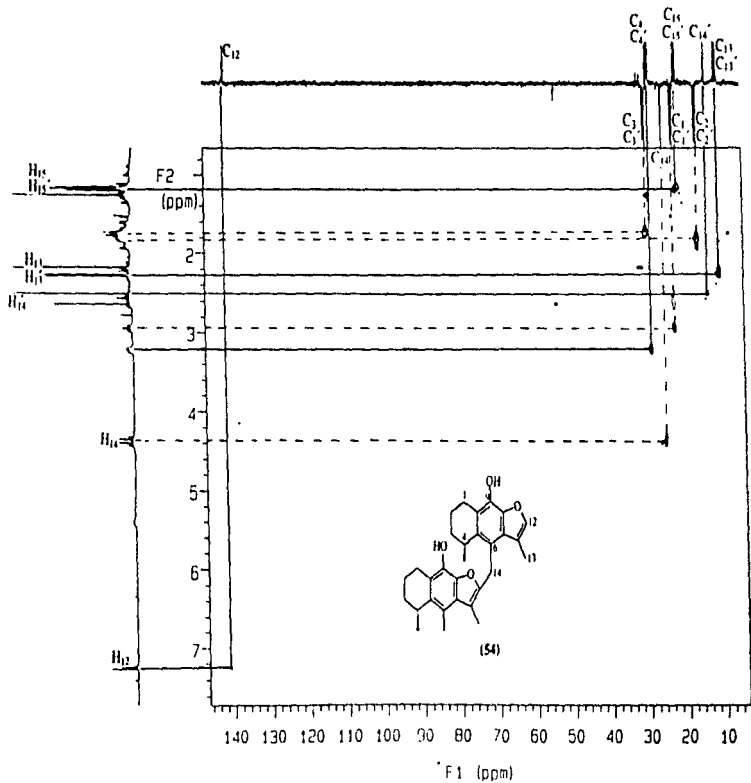




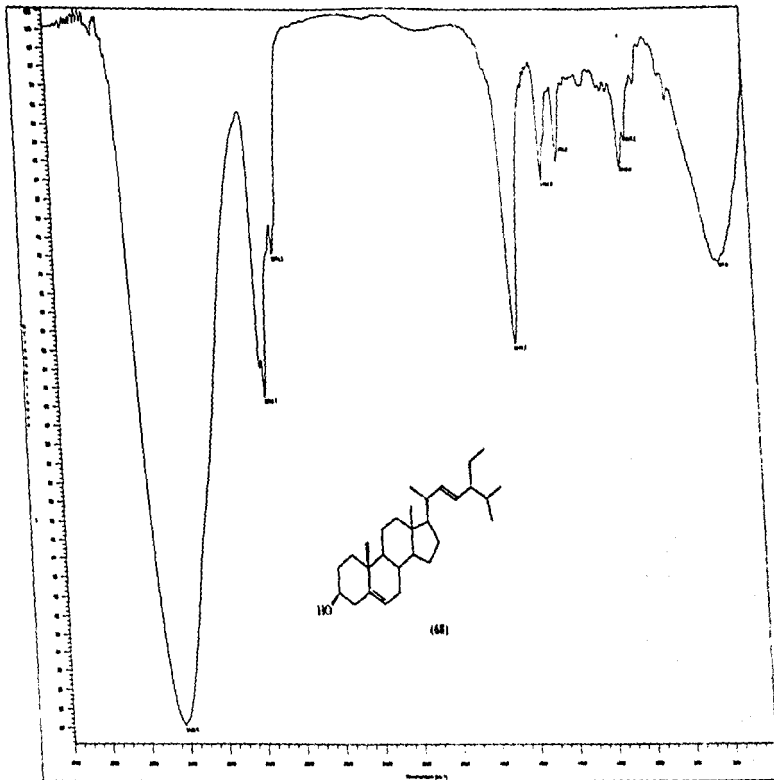
Espectro 11. RMN^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de adenostina A (54)



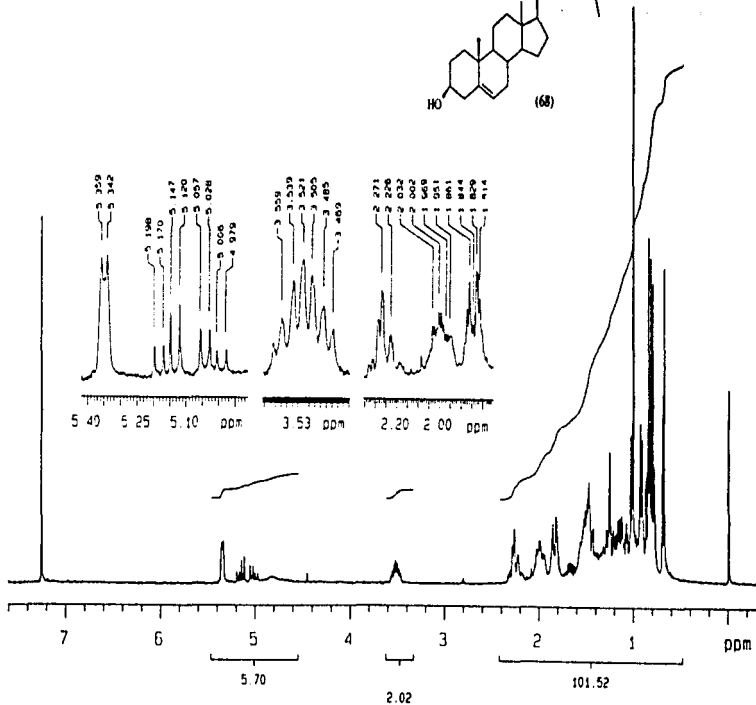
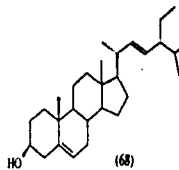
Espectro 12. RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) de adenosina A (54)



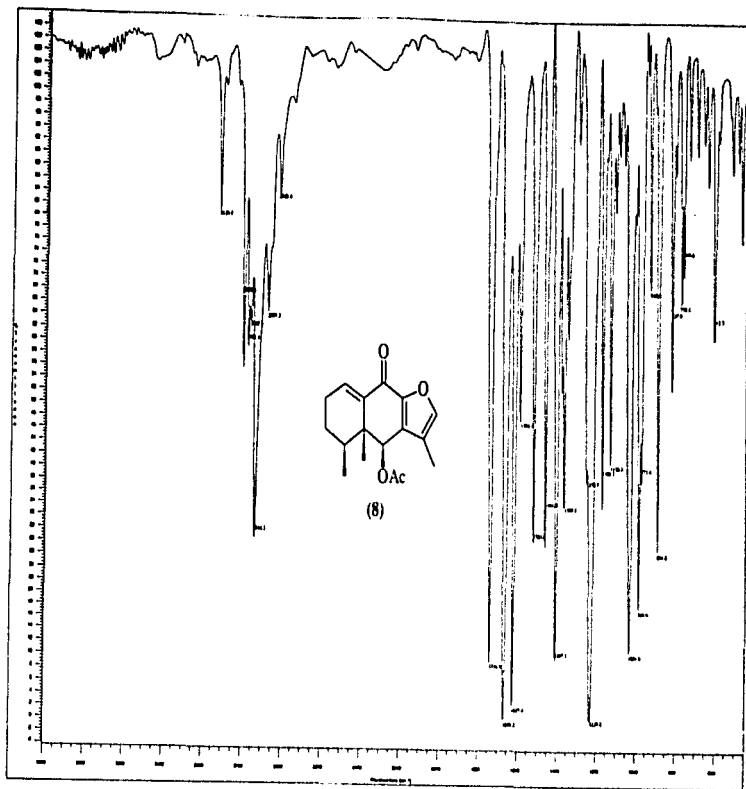
Espectro 13. HMPC (CDCl_3 , 500 MHz) de adenostina A (54)



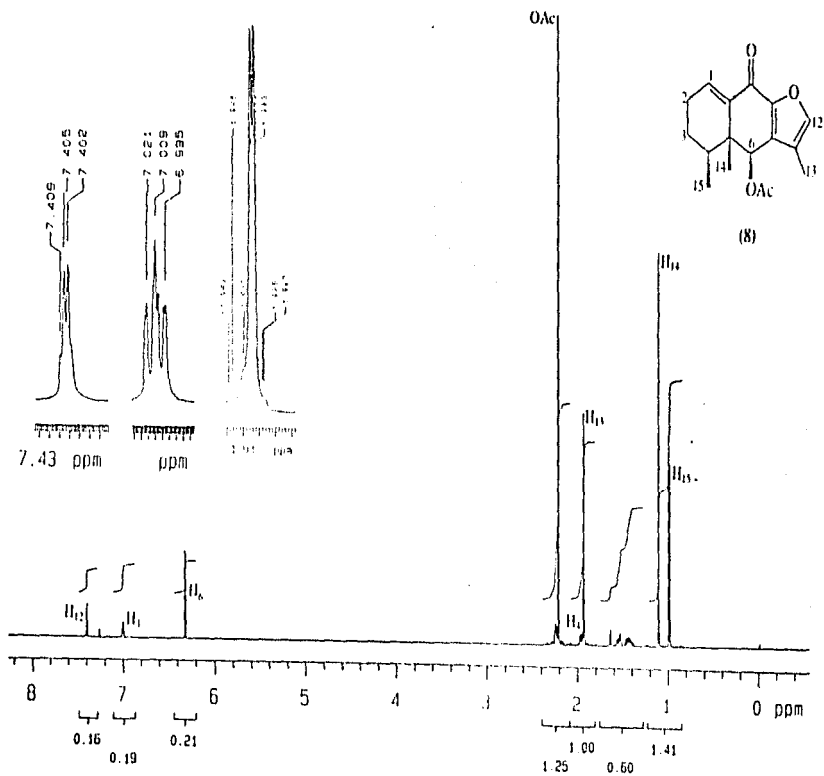
Espectro 14. IR (KBr, pastilla) del estigmasterol (68)



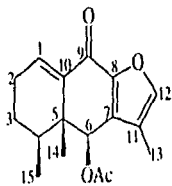
Espectro 15. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) del estigmasterol (68)



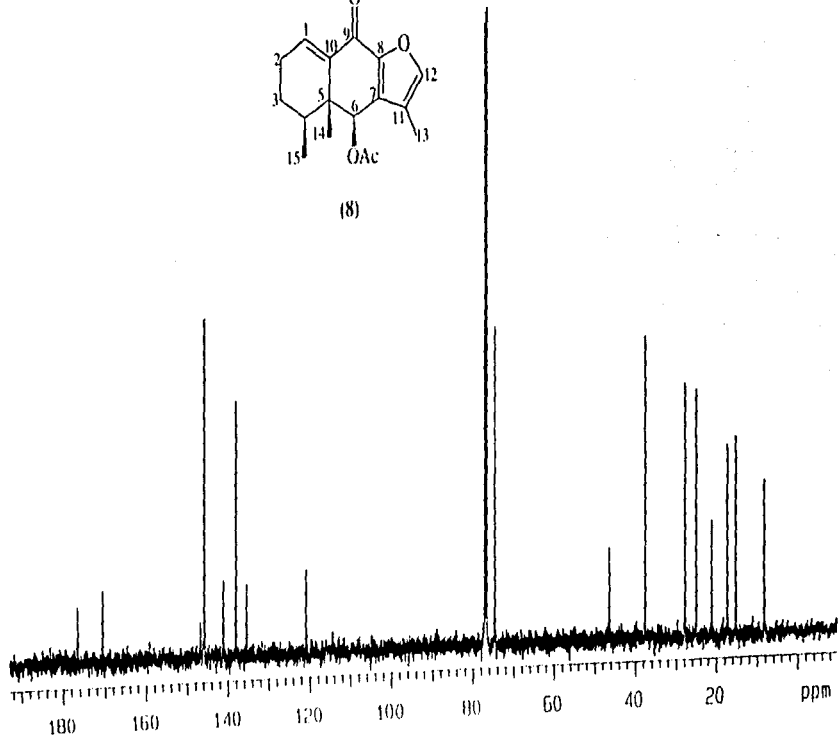
Espectro 16. IR (KBr, pastilla) de la decompositina (8)



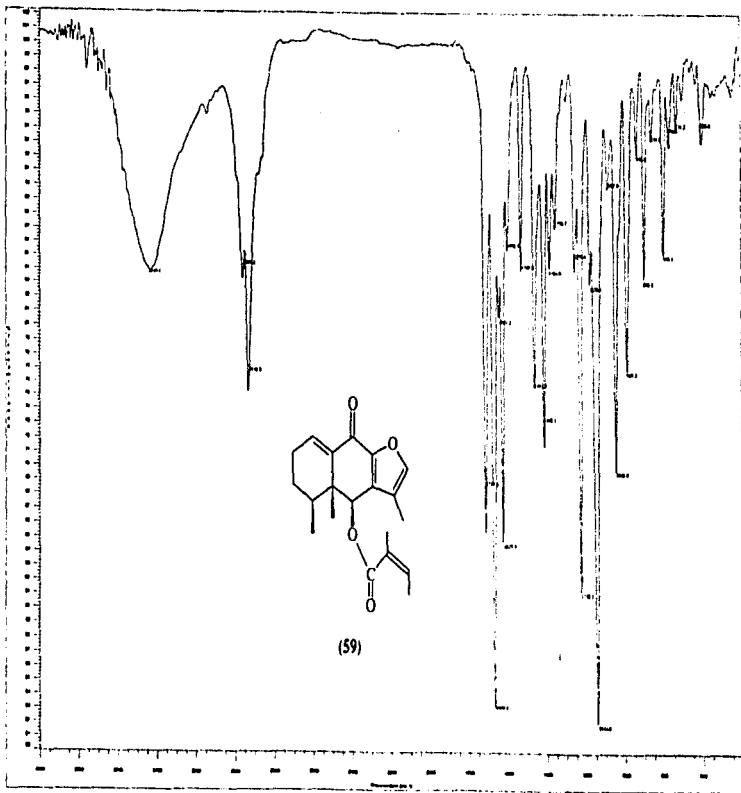
Espectro 17. RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) de la decompostina (8)

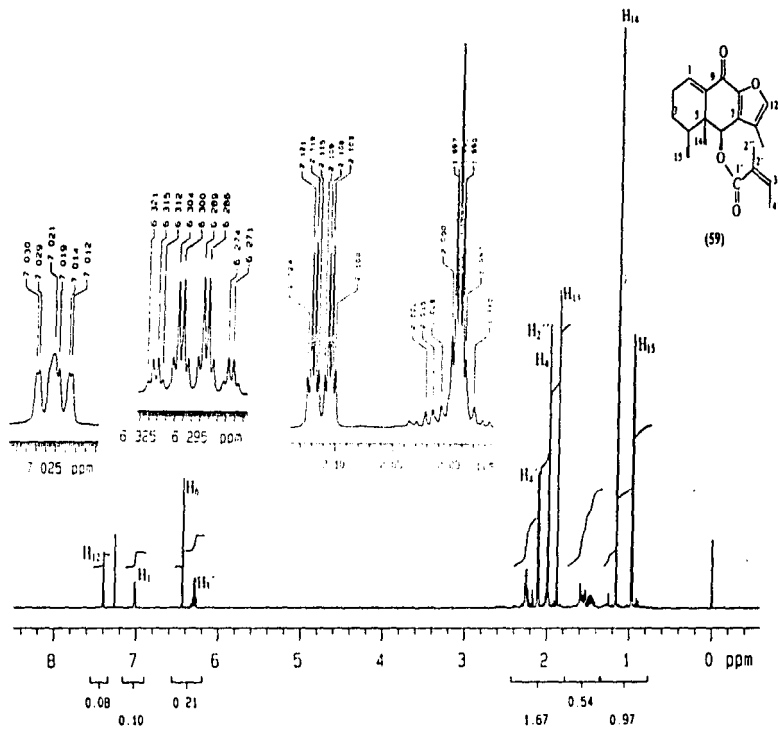


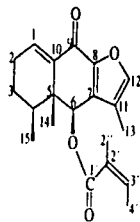
(8)



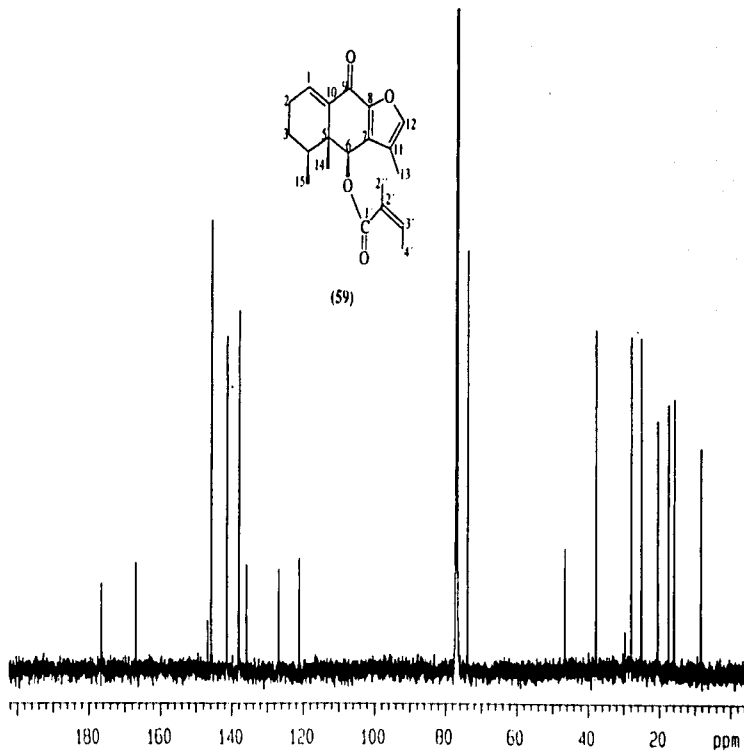
Espectro 18. RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) de la decomposina (8)



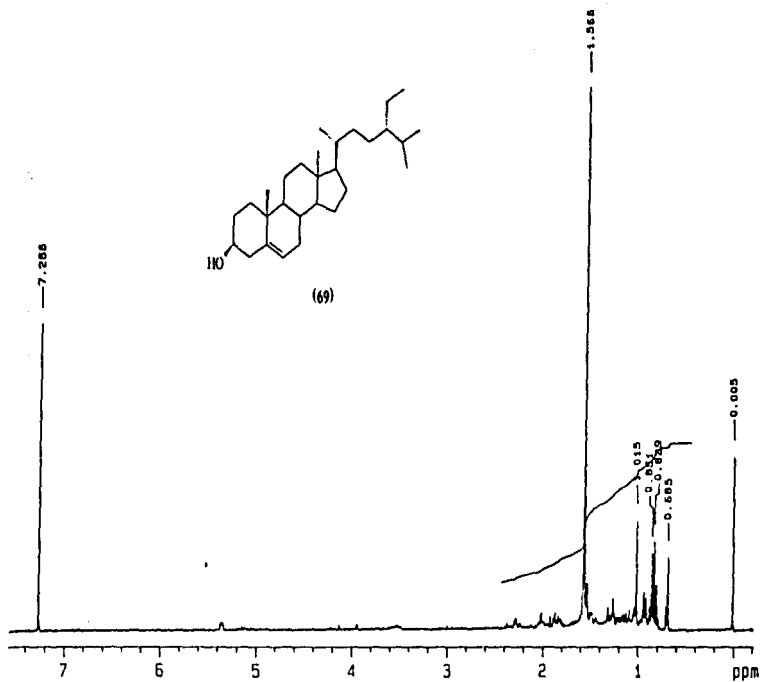




(59)

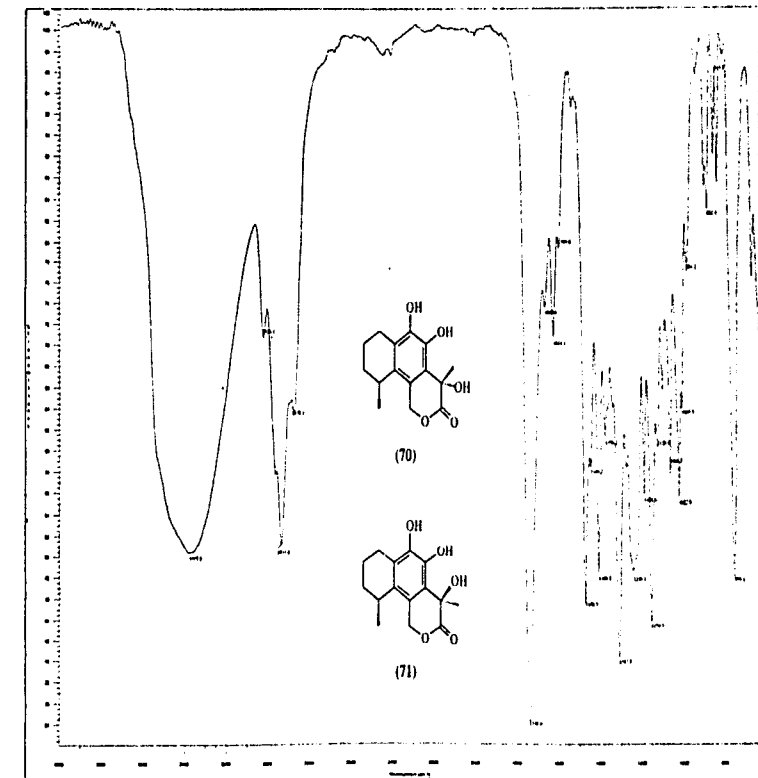


Espectro 21. RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de la neoadenosilona (59)

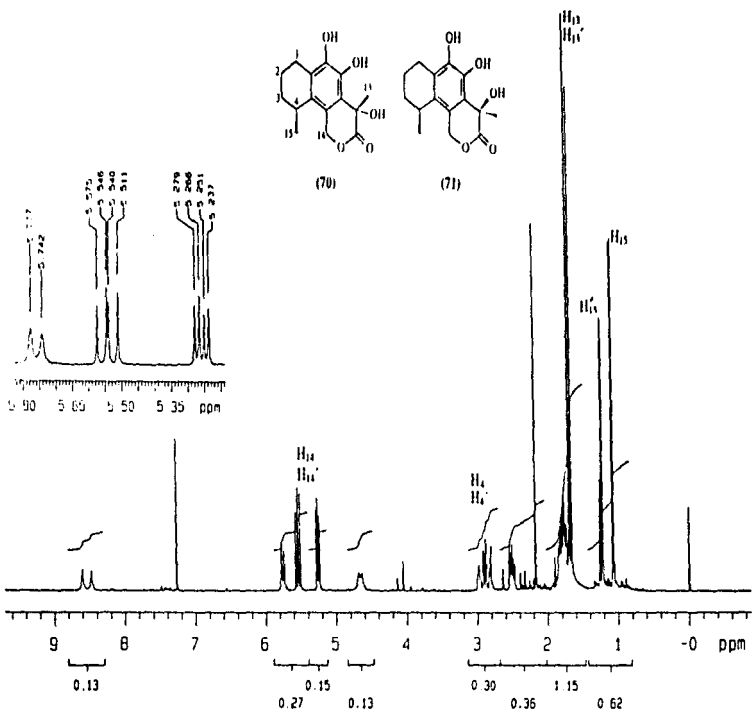


Espectro 22. RMN ^1H (CDCl₃, 300 MHz) del β -sitosterol (69)

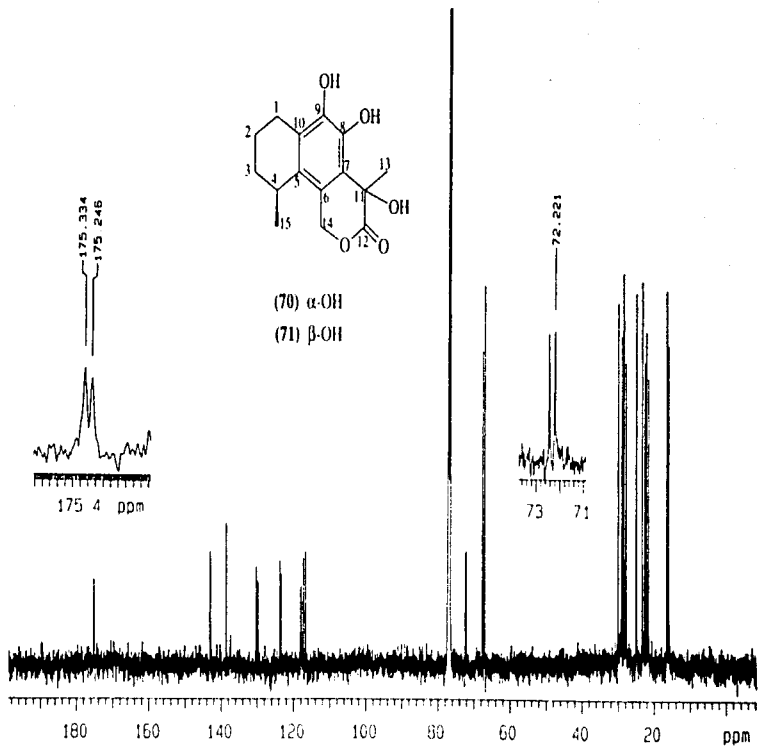
ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA



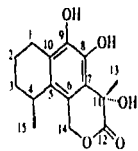
Espectro 23. IR (CHCl₃) de radulofolins A (70) y 11-epi-radulofolins A (71)



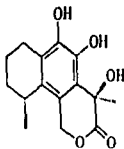
Espectro 24. RMN ^1H (CDCl₃, 500 MHz) de radulfoloina A (70) y 11-epi-radulfoloina A (71)



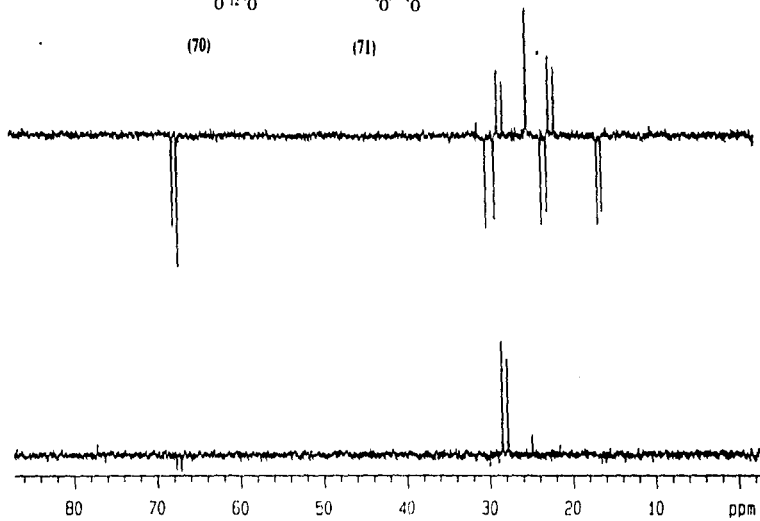
Espectro 25 RMN ^{13}C (CDCl_3 , 500 MHz) de radulofolins A (70) y 11-epi-radulofolins A (71)

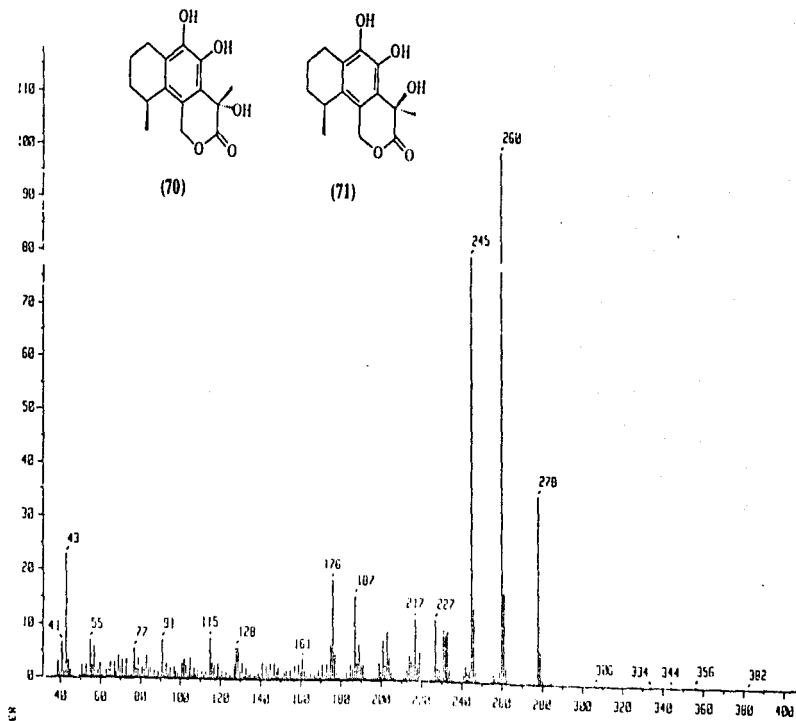


(70)

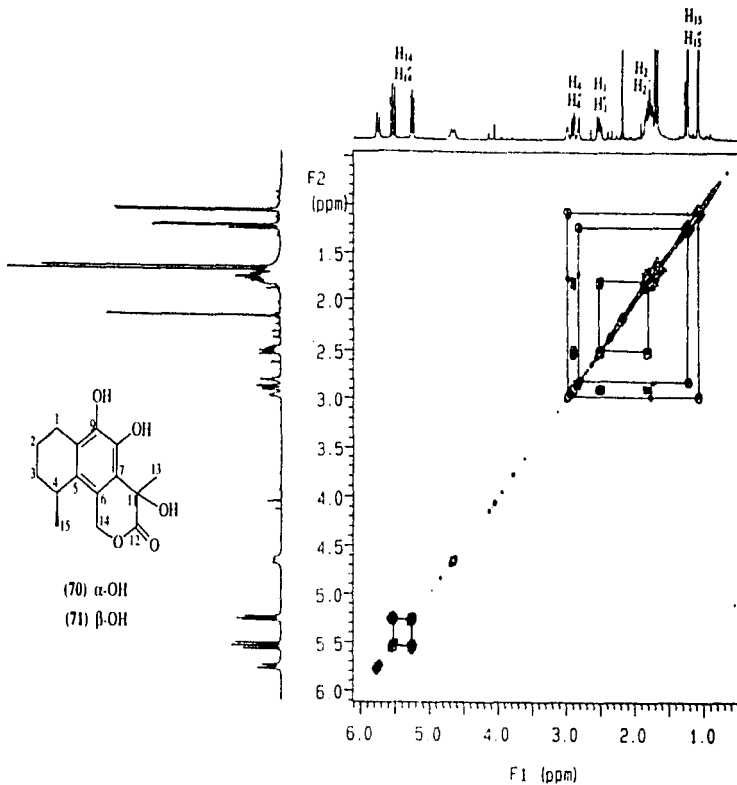


(71)

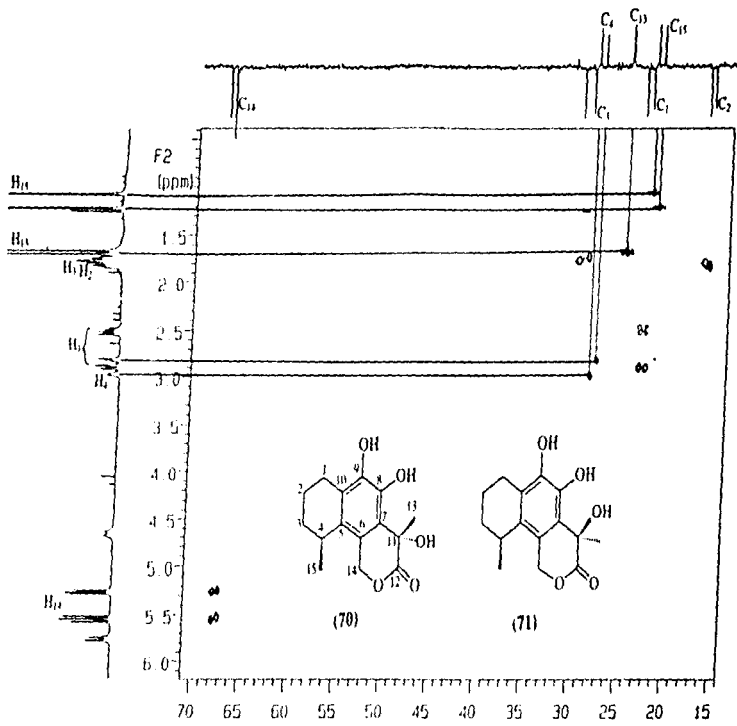
Espectro 26. RMN ^{13}C DEPT (CDCl_3 , 125 MHz) de radulifolina A (70) y 11-epi-radulifolina A (71)



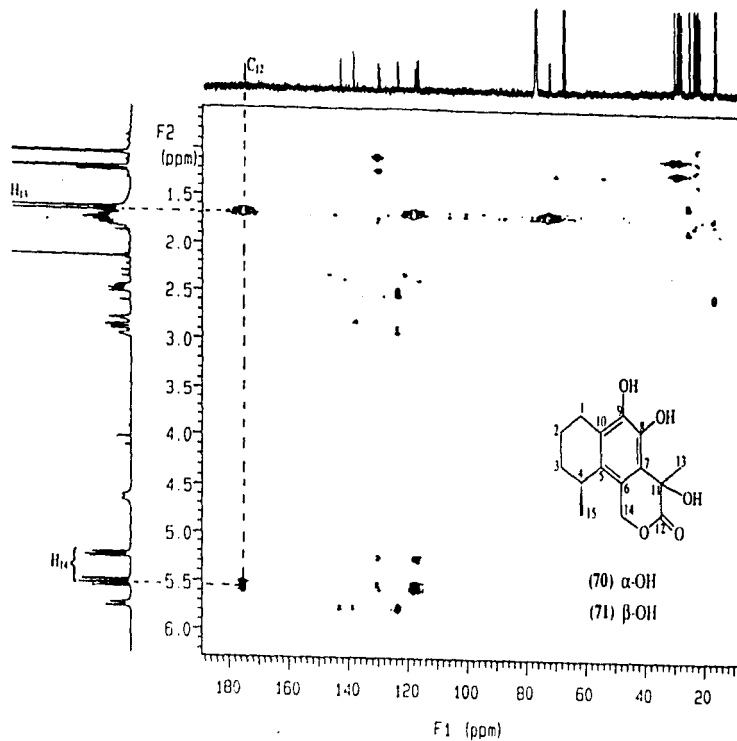
Espectro 27. EM de radufolina A (70) y 11-epi-radufolina A (71)



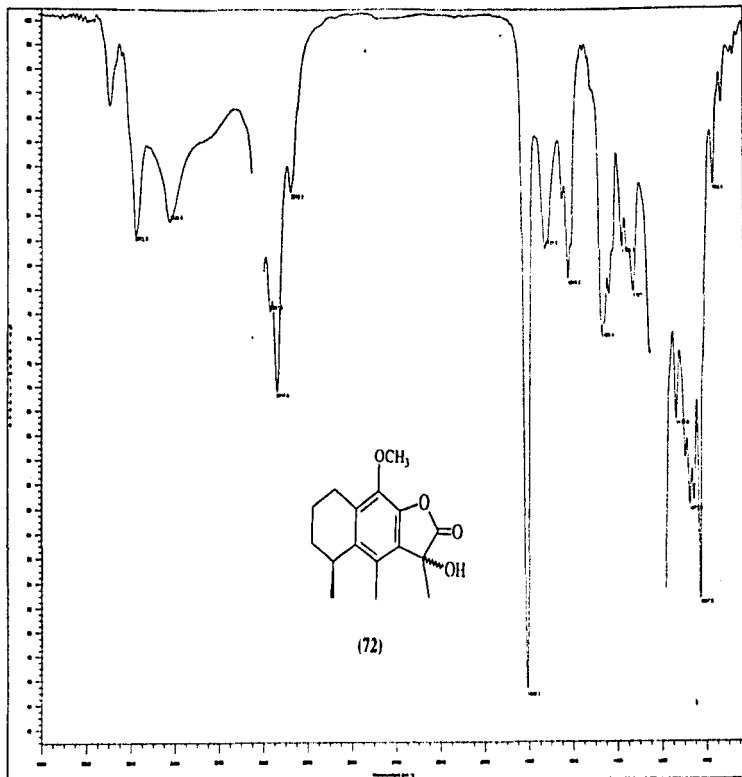
Espectro 28. RMN ¹H COSY (CDCl₃, 500 MHz) de radulfolina A (70) y 11-epi-radulfolina A (71)



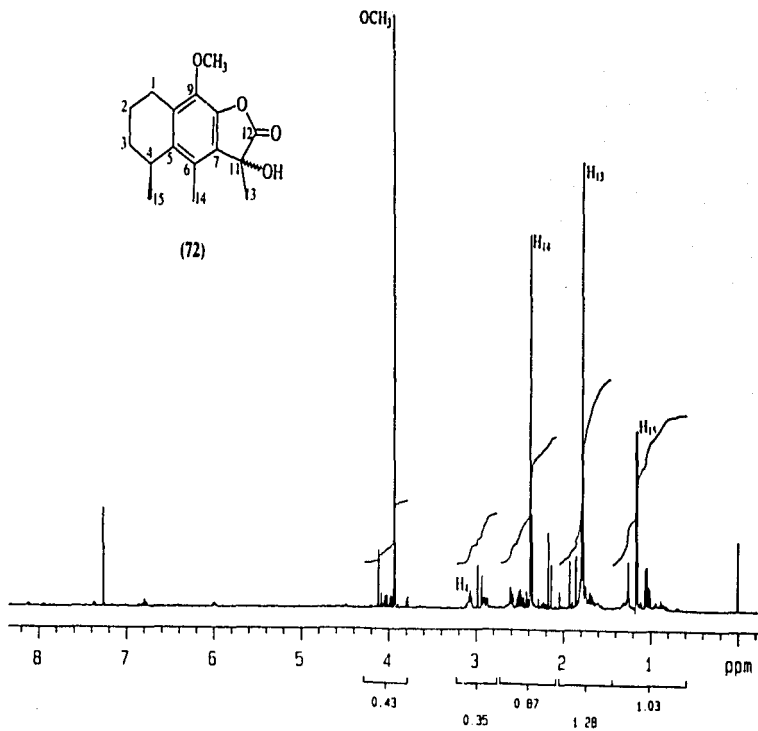
Espectro 29. HMQC (CDCl_3 , 500 MHz) de radulfolina A (70) y 11-*epi*-radulfolina A (71)



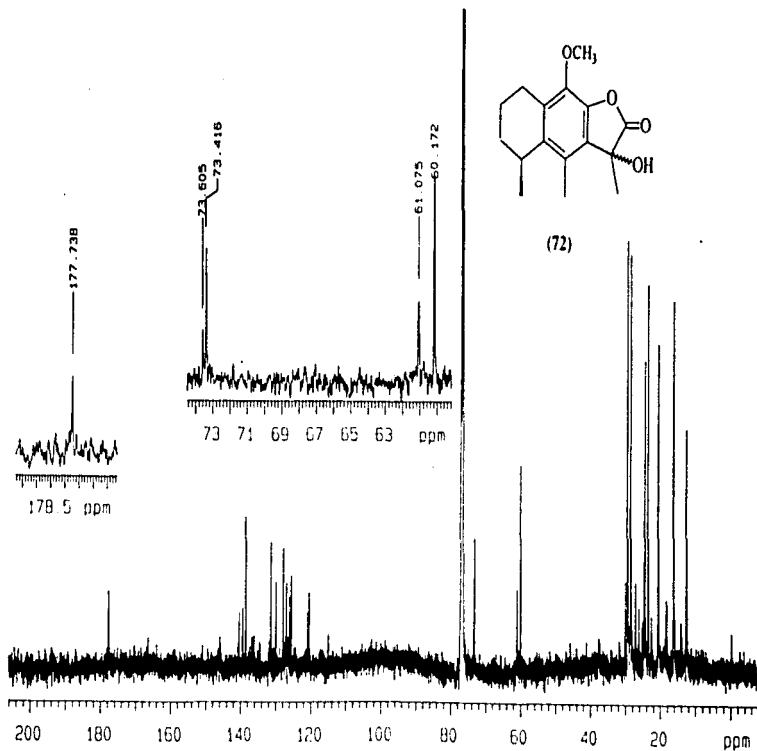
Espectro 3D HMBSC (CDCl_3 , 500 MHz) de radulifolins A (70) y 11-epi-radulifolins A (71)



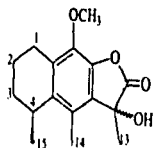
Espectro 31. IR (CHCl₃) de radulfolina B (72)



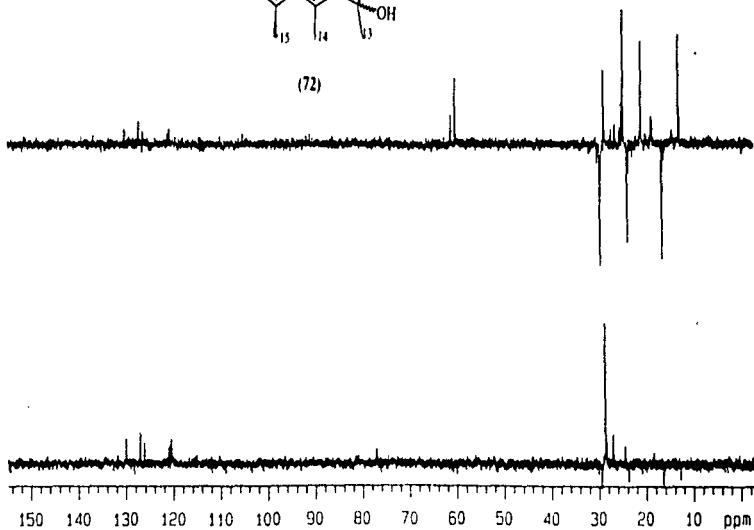
Espectro 32 RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) de radulifolina B (72)



Espectro ^{13}C RMN (CDCl_3 , 500 MHz) de radolifolina B (72)

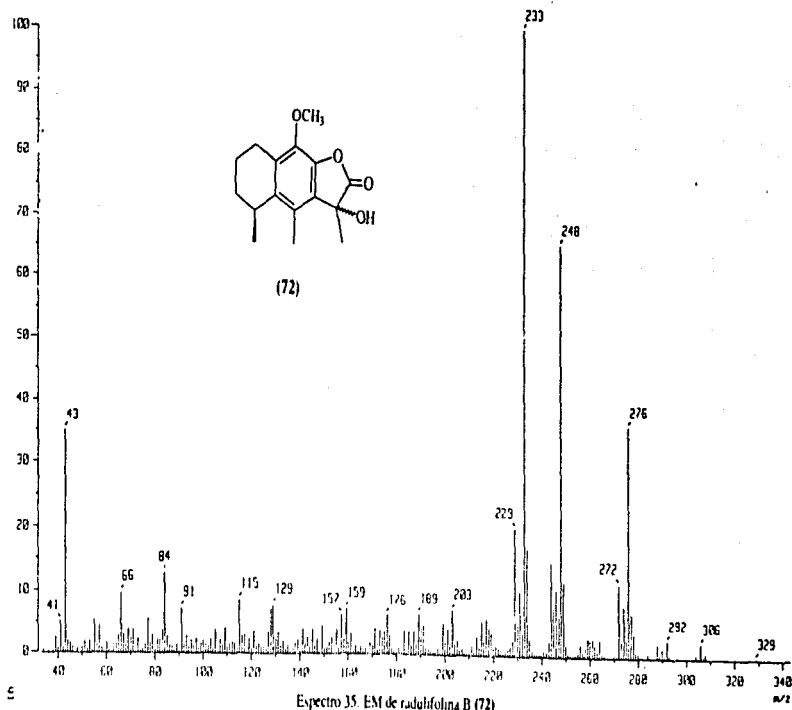


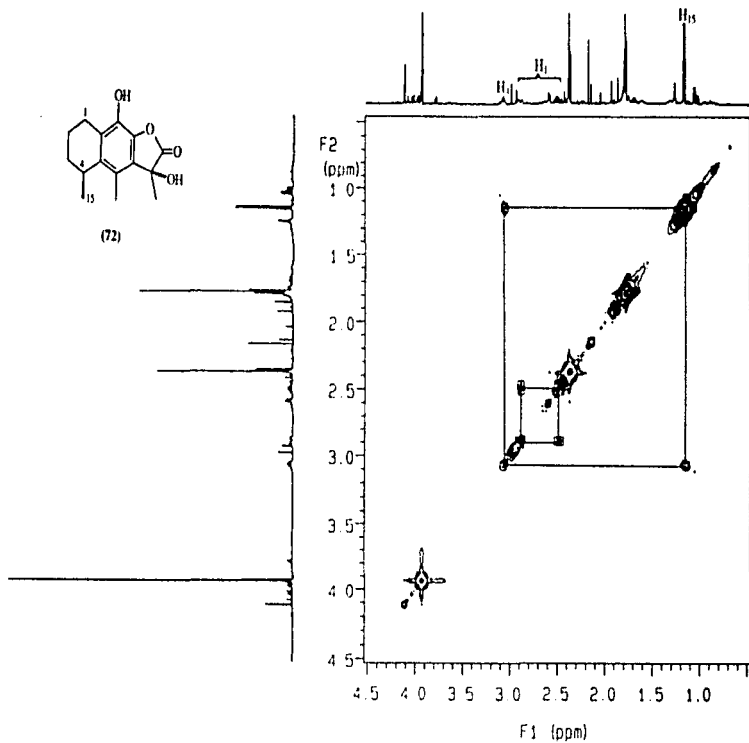
(72)



8

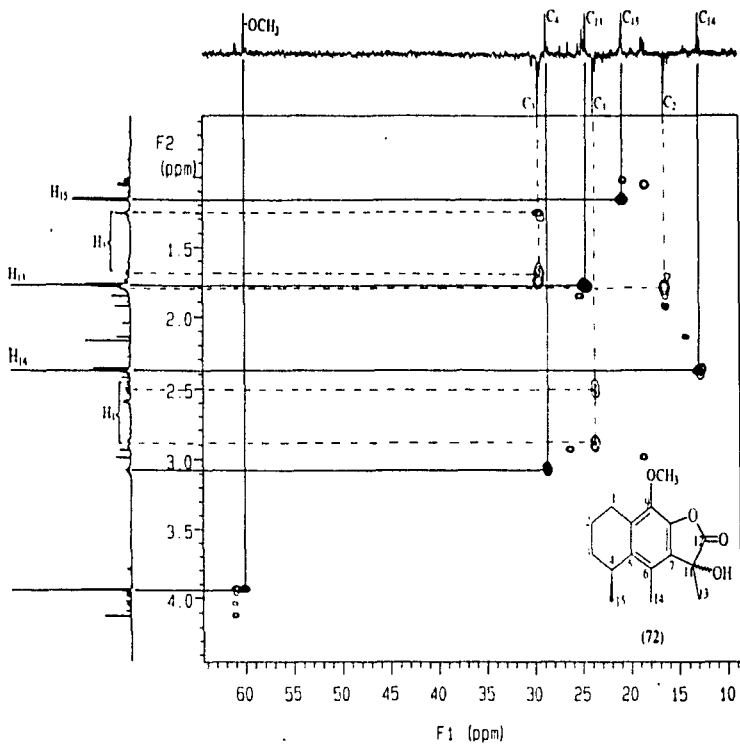
Espectro 34. RMN ^{13}C DEPT (CDCl₃, 125 MHz) de radulifolina B (72)



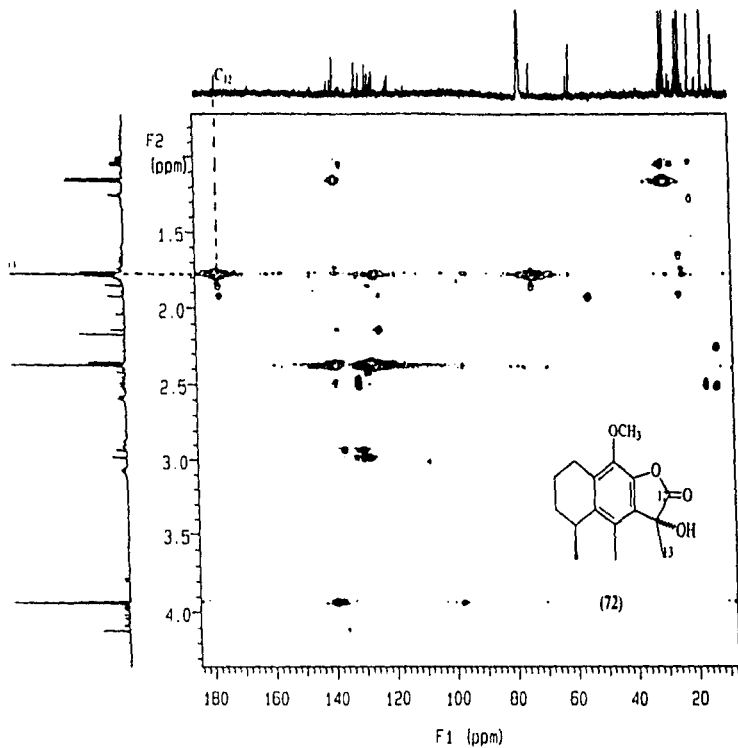


8

Espectro 3b. RMN ^1H COSY (CDCl_3 , 500 MHz) de radulfolina B (72)

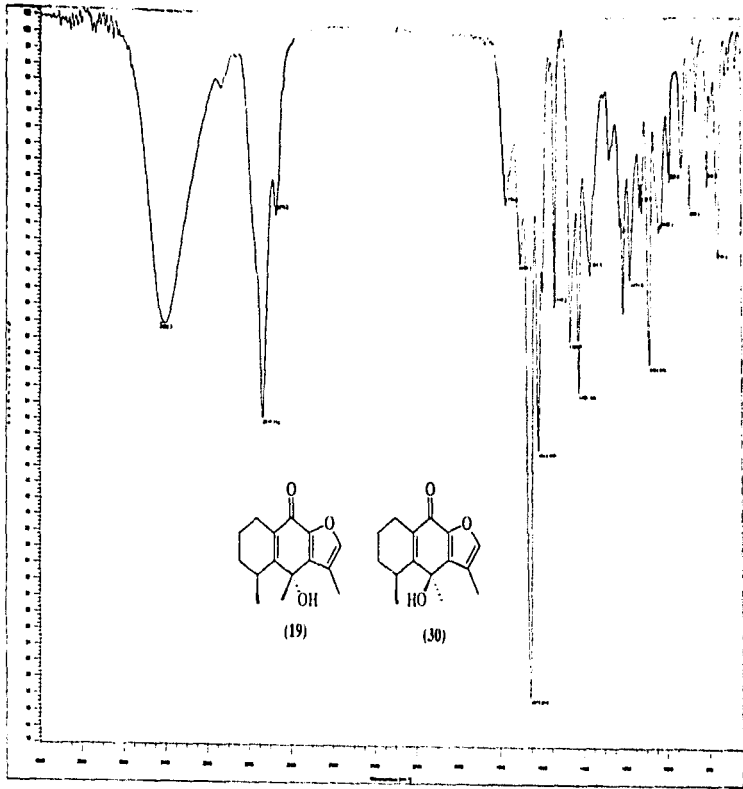


Espectro 37. HMQC (CDCl_3 , 500 MHz) de radulifolina B (72)

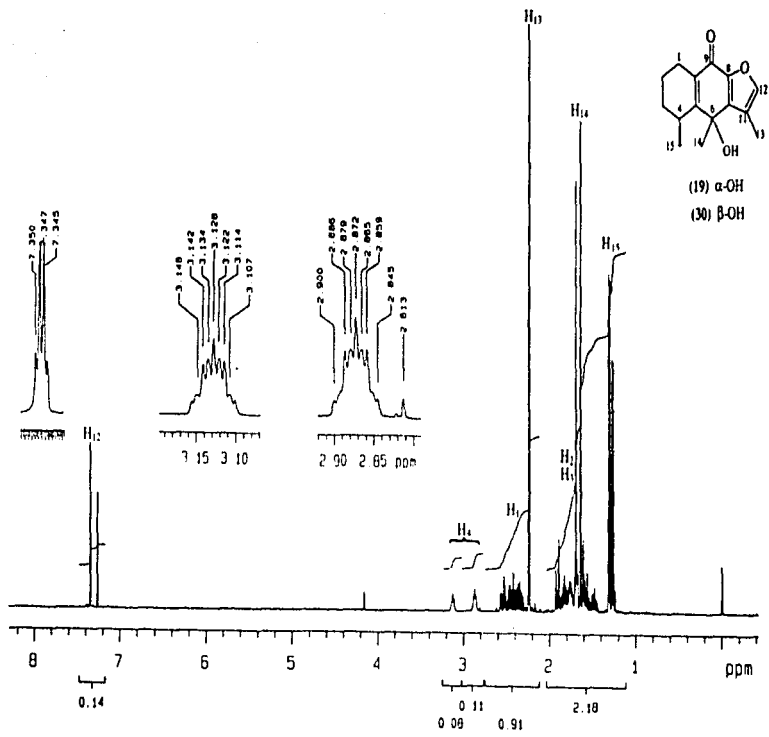


E

Espectro 38. HMBIC (CDCl_3 , 500 MHz) de radulfolina B (72)

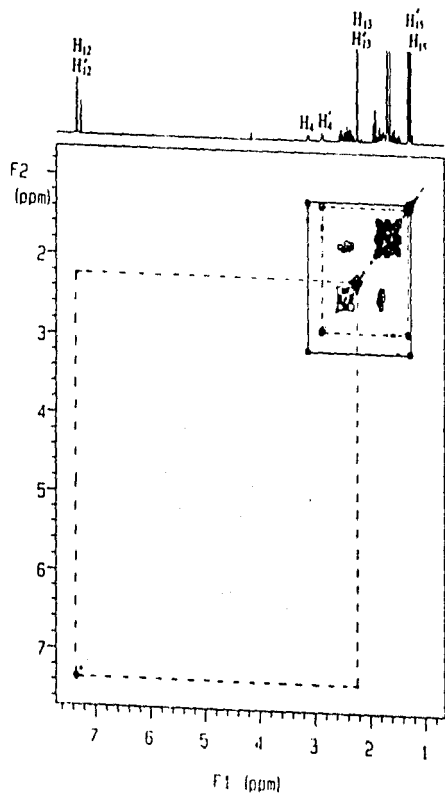
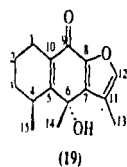
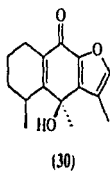


Espectro 39. IR (CHCl₃) de cacalona (19) y 6-epi-cacalona (30)

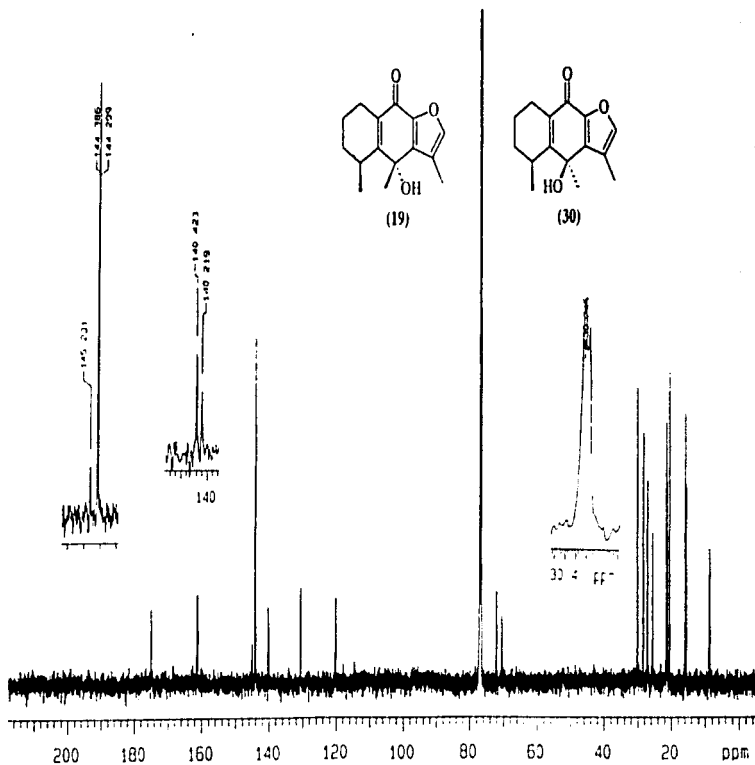


8

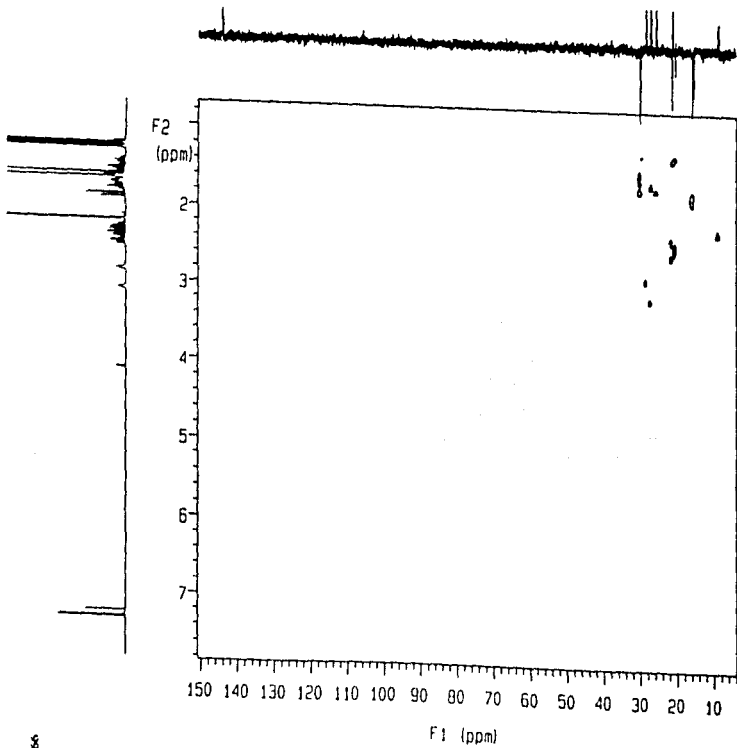
Espectro 40. RMN^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de calacalona (19) y 6-epi-calacalona (30)



Espectro 41. RMN²H COSY (CDCl₃), 500 MHz) de cacalona (19) y 6-epi-cacalona (30)



Espectro 42. RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) de calacalona (19) y 6-epi-calacalona (30)



Espectro 43. HMQC (CDCl_3 , 500 MHz) de cacalona (19) y 6-epi-cacalona (30)

BIBLIOGRAFIA

- 1.- McChesney, J. D. Developing plant-derived products. *Chemtech* 40-44 (1993).
- 2.- Lozoya, X. An overview of the system of traditional medicine currently practised in Mexico. In: Economic and medicinal plant research, vol. 4, plants and traditional plants. Wagner, H. and Farnsworth, N. R., Ed., Academic Press, San Diego (1990).
- 3.- Linares, E. and Bye, R. A study of four medicinal plant complexes of Mexico and adjacent United States. *J. of Ethnopharmacol.* 19, 153-183 (1987).
- 4.- Bye, R. y Delgado, G. Búsqueda etnobotánica y evaluación farmacológica preliminar de constituyentes bioactivos presentes en plantas selectas utilizadas en la medicina tradicional Proyecto DGAPA IN208094. UNAM.
- 5.- Martínez, M. Las Plantas Medicinales de México. Ediciones Botas, Méx. (1939).
- 6.- Romo, J. and Joseph-Nathan, P. The constituents of *Caculea decomposita* A. Gray. Structures of cacalol and cacalome. *Tetrahedron* 20, 2331-2337 (1964).
- 7.- Joseph-Nathan, P., Morales J. J. y Romo, J. Contribution to the Chemistry of cacalol. *Tetrahedron* 22, 301-307 (1966).
- 8.-Correa, J. and Romo, L. The constituents of *Cacalia decomposita* A. Gray. Structures of matorin, matorinin, matorone and matorinone. *Tetrahedron* 22, 685-691 (1966).
- 9.- Rodríguez-Hahn, L., Guzmán, A. and Romo, J. The constituents of *Cacalia decomposita* A. Gray IV. Structure of decompostin. *Tetrahedron* 24, 477-483 (1968).
- 10.- Samek, Z., Harmatha, J., Novotny, L. and Sorm, F. Absolute configuration of adenostylone, neoadenostylone and isoadenostylone from *Adenostyles alluinar* (Gouan) Kern. and of decompostin from *Cacalia decomposita* A. Gray. *Coll. Czech Chem. Comm.* 34, 2792-2808 (1969).
- 11.- Romo, J., Rodríguez-Hahn, L., Manjarrez, A., Rivera, E. y Bellido, B. Nuevos constituyentes aislados de la *Cacalia decomposita* A. Gray. V. Algunos derivados del cacalol. *Bol. Inst. Quím. UNAM* 20, 19-29 (1968).
- 12.- Kakisawa, H., Inouye, Y. and Romo, J. Diels-Alder reaction of 3-methylbenzofuran-4,7-quinone II. A revised structure of matorinona. *Tetrahedron Lett* 24, 1929-1932 (1969).
- 13.- Brown, P. M. and Thomson, R. H. Naturally occurring quinones. Part XVI. Structure of matorinone and related compounds. *J. Chem. Soc. (C)*, 1184-1186 (1969).
- 14.- Ruiz, R. M., Correa, J. et Maldonado, L. A. Synthèse de la diméthyl-3,8-naphto (2,3,b) furanoquinona-4,9 (1). Structure de la matorinone et des composés connexes. *Bull. Soc. Chim. Fr.* 10, 3612-3614 (1969).
- 15.- Romo, J. Correlación de los derivados naftalémicos de la *Cacalia decomposita* con los furanoeremofilanos VII. *Bol. Inst. Quím. (UNAM)* 21, 92-96 (1969).
- 16.- Joseph-Nathan, P. y González, Ma. P. Análisis conformacional de algunos sesquiterpenos por resonancia magnética nuclear doble. *Rev. Soc. Quím. Méx.* XVIII (2), 57A.
- 17.- Joseph-Nathan, P. and González, Ma. P. Optical rotatory dispersion studies of 2H-naphto-(1,8-bc) and naphto-(2,3-b)-furan derivatives. *Can. J. Chem.* 47, 2465-71, (1969).

- 18.- Inouye, Y., Uchida, Y. and Kakisawa, H. Synthesis of cacalol. *Chemistry Lett.* 1317-8 (1975).
- 19.- Yuste, F. and Walls, F. Synthesis of (±)-Cacalol. *Aust J. Chem.* 29, 2333-6 (1976).
- 20.- Inouye, Y., Uchida, Y. and Kakisawa, H. Synthetic proof for the structure of matrinone and cacalol. *Bull. Chem. Soc. Jap.* 50, 961-966, (1977).
- 21.- Joseph-Nathan, P., González, Ma. P. and Romo, J. Further advances in the chemistry and spectrometry of cacalone. *Rev. Lat. Je Quim.* 2, 5-8 (1971).
- 22.- Casares, A. and Maldonado L. A. The structure of cacalone. *Tetrahedron Lett.* 29, 2485-8 (1976).
- 23.- Yuste, F., Díaz, E. and Walls, F. The structure of cacalone. *J. Org. Chem.* 41, 4103-6 (1976).
- 24.- Terabe, M., Tada, M. and Takahashi, T. Absolute stereochemistry of cacalol. *Bull. Chem. Soc. Jap.* 51, 661-2, (1978).
- 25.- Mannito, P. Biosynthesis of Natural Products. Ellis Horwood Ltd., England (1981).
- 26.- Hasashi, K., Natongawa, A. and Mitsuhashi, H. Interriginine from *Cacalia hastata* L. subsp. *orientalis* Kitamura. *Chem. Pharm. Bull.* 20, 201-202, (1972).
- 27.- Barkley, T. M., Clark, B. I. and Funston, A. M. The segregate genera of *Senecio sensu lato* and *Cacalia sensu lato* (Asteraceae: Senecioneae) in Mexico and Central America into Compositae: Systematics proceeding of the international Compositae Conference, Kew. The Royal Botanic Gardens Kew. vol. 1, 613-620 (1994).
- 28.- Cava, M. P., and Rao, K. V. The alkaloids of *Cacalia floridana*. *J. Org. Chem.* 33, 3570 (1968).
- 29.- Joseph-Nathan, P., Negrete, Ma. C. and González, Ma. P. Studies in *Cacalia* species. *Phytochemistry* 9, 1623-1628 (1970).
- 30.- Kononov, R. A. and Menshikov, G. P. *Chem. Abstr.* 40, 3760 (1946).
- 31.- Hasashi, K., Nakamura, H. and Mitsuhashi, H. Sesquiterpenes from *Cacalia hastata*. *Phytochemistry* 12, 2931-2933 (1973).
- 32.- Nasr, A. El-Emary, Kusano, G. and Takemoto T. Kaurenoids from *Cacalia bulbifera*. *Phytochemistry* 14, 1660-1661 (1975).
- 33.- Naya, K., Miyoshi, Y., Mori, H., Takai, K. and Nakanishi, M. The sesquiterpenes of *Cacalia* species. *Chemistry Lett.* 73-76 (1976).
- 34.- Naya, K., Takai, K., Nakanishi, M. and Omura, K. The sesquiterpenes of *Cacalia* species. II. The structure of cacalal and the interconversions of the constituents. *Chemistry Lett.* 1179-1182 (1977).
- 35.- Omura, K., Nakanishi, M., Takai, K. and Naya, K. The sesquiterpenes of *Cacalia* species: 8-oxocacalol and the stereochemistry of cacalone epimers. *Chemistry Lett.* 1257-1260 (1978).
- 36.- Hikichi, M. and Furuya, T. Yatamamine, a new pyrrolizidine alkaloid from *Cacalia yatabei*. *Tetrahedron Lett.* 8, 767-770 (1978).
- 37.- Kuroyanagi, M., Naito, H., Noro, T., Ueno, A. and Fukushima S. Furanoeremophilane-type sesquiterpenes from *Cacalia adenostyloides*. *Chem. Pharm. Bull.* 33, 4792-4797 (1985).

- 38.- Bohlmann, F., Zdero, Ch., King, R. M. und Robinson H. Neue perezon-
derivative aus *Acourtia thurberi*. *Phytochemistry* 18, 1894 (1979).
- 39.- Bohlmann, F., Zdero, Ch. and Grenz, M. Weitere Inhaltsstoffe aus
sudafrikanischen *Senecio*-Arten. *Chem. Ber.* 110, 474-486 (1977).
- 40.- Coll, C. and Burden, E. *J. Nat. Prod.* 49, 934 (1986).
- 41.- McLaughlin, J. L. Crown gall tumors on potato disc and brine shrimp
lethality: two simple bioassay for higher plant screening and fractionation in *Methods in
Plant Biochemistry*, K. Hostettmann (ed.) 6, 1 Academic Press.
- 42.- Clark, A. M., El-Feralely, F. S. and Lu, W. S. Antimicrobial activity of
phenolic constituents of *Magnolia grandiflora*. *L. J. Pharm. Sci.* 70, 951 (1985).