



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE ALGUNOS
METABOLITOS SECUNDARIOS DE *Viguiera*
sphaerocephala.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A
HÉCTOR MANUEL FERNÁNDEZ ROJAS



MÉXICO, D. F.



2004

EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO.

Presidente	Dr. Fernando Malanco Covarrubias.
Vocal	Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas.
Secretario	M. en C. Blanca Estela Rivero Cruz.
1er. Suplente	M. en C. Oscar Salvador Yáñez Muñoz.
2do. Suplente	M. en C. Sandra Alicia Santillán Hernández.

Esta tesis se desarrolló en el laboratorio No. 1 de la U. I. P. M del Instituto de Química, bajo la dirección del Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas.

Asesor de Tesis:

Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas



Sustentante:

Héctor Manuel Fernández Rojas.



DEDICATORIAS.

Muy especial a mis padres Olga Alicia y Guillermo por el amor, apoyo y confianza que siempre me han brindado el cual les agradezco de todo corazón y espero que la vida me de la oportunidad de demostrarles lo mucho que los quiero.

A mi hermana Fany que quiero mucho y recuerdo con mucho cariño.

A mi abuelita Alicia y a todos mis tíos que en cualquier momento de la vida me han apoyado.

A mi querida Verónica por estar a mi lado y brindarme tu amor, cariño y apoyo.

A todos mis amigos Manuel, José Luis, Moisés, Adriana, César, Israel, Omar, Alma y todos los que me faltan recordar, con los que comparto muy gratos momentos y les agradezco demasiado su amistad y los consejos que luego me dan.

A mis maestros y maestras por su dedicación y por ser parte importante de mi formación profesional y personal.

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM por contribuir a mi formación académica y personal.

Al Dr. Guillermo Delgado Lamas por su apoyo, asesoría, y confianza que me brindó para la realización de este trabajo los cuales agradezco muchísimo.

A la M. en C. María Isabel Chávez por sus asesorías que me brindó en la supervisión técnica en el presente trabajo.

Al M. en C. Edgar Abraham García Zepeda por la ayuda y asesoría que me brindó durante el desarrollo de este trabajo.

Se agradece al personal técnico administrativo y académico del Instituto de Química: a I. Q. Maricruz López López su apoyo en la maceración del material vegetal, al Ing. Luis Velasco y al M. en C. Javier Pérez Flores la obtención de los espectros de masas; a los maestros María Isabel Chávez, Héctor Ríos y María de los Ángeles Peña, la obtención de los espectros de resonancia magnética nuclear, y a la maestra Rocío Patiño, la obtención de los espectros de infrarrojo. Al Dr. Rubén Alfredo Toscano por el análisis de difracción de rayos X

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

Al honorable jurado por el tiempo dedicado a la revisión de esta tesis.

CONTENIDO.

LISTA DE TABLAS	I
LISTA DE FIGURAS	I
LISTA DE ESQUEMAS	I
LISTA DE ESPECTROS	II
LISTA DE ABREVIATURAS	III
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	2
OBJETIVOS	7
CONSIDERACIONES GENERALES	8
PARTE EXPERIMENTAL	
a) Fraccionamiento del extracto hexánico de ramas.	11
b) Fraccionamiento del extracto diclorometano-metanol (1:1) de hojas.	15
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	
a) Determinación estructural de la lactona sesquiterpénica.	
Esferocefalina	22
b) Determinación estructural de los diterpenos.	
Ácido <i>Ent</i> -kaur-16-en-19-oico	26
<i>Ent</i> -Kaur-16-en-19-ol	27
c) Determinación estructural del triterpeno.	
3- β -Hidroxi-D:A Friedooleanano (Friedelan-3- β -ol)	28
d) Determinación estructural del caroteno	
β , β -Caroteno	30
CONCLUSIONES	32
COMPILACIÓN DE LA INFORMACIÓN BIBLIOGRÁFICA DEL GÉNERO VIGUIERA	58
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Pesos obtenidos de los extractos de las partes aéreas de <i>Viguiera sphaerocephala</i> .	9
Tabla 2. Fracciones obtenidas de la CCPR del extracto hexánico de las ramas de <i>Viguiera sphaerocephala</i> .	11
Tabla 3. Sustancias obtenidas de la CCG de la subfracción B, del extracto hexánico de ramas.	13
Tabla 4. Sustancias obtenidas de la CCG de la subfracción D y E, del extracto hexánico de ramas.	14
Tabla 5. Fracciones obtenidas de la CCPR del extracto CH ₂ Cl ₂ -MeOH (1:1) de las hojas de <i>Viguiera sphaerocephala</i> .	15
Tabla 6. Sustancias obtenidas del CCPR de la subfracción B, del extracto CH ₂ Cl ₂ -MeOH (1:1) de hojas.	17
Tabla 7. Datos de RMN ¹ H y ¹³ C (300 MHz y 75 MHz, CDCl ₃) de la esfereocfalina.	24

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Biogénesis de los principales diterpenos policíclicos aislados del género <i>Viguiera</i> .	4
Figura 2. Relaciones biogenéticas de algunos grupos de lactonas sesquiterpénicas.	5
Figura 3. Vía biogenética del anillo lactónico de las lactonas sesquiterpénicas.	6
Figura 4. Análisis por CCF de los extractos orgánicos y metabolitos secundarios obtenidos por <i>Viguiera sphaerocephala</i> .	21
Figura 5. Dibujo computarizado del análisis cristalográfico de la esfereocfalina.	25

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Proceso de extracción de las partes aéreas de <i>Viguiera sphaerocephala</i> .	10
Esquema 2. Diagrama de fraccionamiento del extracto hexánico de las ramas de <i>Viguiera sphaerocephala</i> .	12
Esquema 3. Diagrama de fraccionamiento del extracto CH ₂ Cl ₂ -MeOH de las hojas de <i>Viguiera sphaerocephala</i> .	16

LISTA DE ESPECTROS

1. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del ácido <i>ent</i> -kaur-16-en-19-oico (1).	33
2. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) del ácido <i>ent</i> -kaur-16-en-19-oico (1).	34
3. EMIE 70 eV del ácido <i>ent</i> -kaur-16-en-19-oico (1).	35
4. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del friedelan-3-β-ol (2).	36
5. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) del friedelan-3-β-ol (2).	37-39
6. DEPT (CDCl ₃ , 75 MHz) del friedelan-3-β-ol (2).	40
7. FAB ⁺ del friedelan-3-β-ol (2).	41
8. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del <i>ent</i> -kaur-16-en-19-ol (3).	42
9. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del β, β-Caroteno (5).	43
10. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) de la esferocefalina (6).	44
11. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) de la esferocefalina (6).	45
12. DEPT (CDCl ₃ , 75 MHz) de la esferocefalina (6).	46
13. COSY (CDCl ₃ , 300 MHz) de la esferocefalina (6).	47
14. NOESY (CDCl ₃ , 300 MHz) de la esferocefalina (6).	48
15. HETCOR (CDCl ₃ , 300 MHz) de la esferocefalina (6).	49
16. FLOCK (CDCl ₃ , 300 MHz) de la esferocefalina (6).	50
17. FAB ⁺ de la esferocefalina (6).	51
18. Datos del análisis cristalográfico de la esferocefalina (6).	52

LISTA DE ABREVIATURAS.

RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno.
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13.
COSY	Correlation Spectroscopy ¹ H ¹ H.
DEPT	Distortionless Enhanced by Polarization Transfer.
NOESY	Two Dimensional Nuclear Overhauser Spectroscopy.
HETCOR	Heteronuclear Correlation Spectroscopy.
FLOCK	Multiple Bird Long Range Correlation Spectroscopy.
CCPR	Cromatografía en Columna a Presión Reducida.
CCG	Cromatografía en Columna por Gravedad.
CCF	Cromatografía en Capa Fina.
CCFP	Cromatografía en Capa Fina Preparativa.
IR	Espectroscopia de Infrarrojo
Pf.	Punto de fusión.
Rf	Factor de retención.
EM.	Espectroscopia de masas.
EMIE	Espectroscopia de masas de impacto electrónico.
m/z	Relación masa/carga.
Int. Rel.	Intensidad relativa.
FAB	Fast Atom Bombardment.
M ⁺	Ion molecular.
J	Constante de acoplamiento.
Hz	Hertz.
s	Singulete.
sa	Singulete ancho.
d	Doblete.
da	Doblete ancho.
dd	Doble de doble.
ddd	Doble de doble de doble.
dddd	Doble de doble de doble de doble.
dt	Doblete tripleteado.
dc	Doblete cuarteteado.
m	Multiplete.

INTRODUCCIÓN.

La diversidad biológica es un patrimonio que se ha reconocido como tal, no únicamente por el potencial de desarrollo sustentable que posee, sino por la información química y biológica que contiene, la cual es esencial para el entendimiento de los mecanismos que operan en la naturaleza. México es uno de los lugares geográficos donde existe una amplia biodiversidad, y su estudio demanda un enfoque multidisciplinario [1], que dada su magnitud, requerirá un gran esfuerzo de numeras generaciones de científicos de nuestro país.

En México existen aproximadamente 35,000 especies de plantas superiores. Esta diversidad vegetal interacciona directamente con las diferentes etnias, las cuales suman aproximadamente 60 grupos diferentes. Estas etnias a través de los años, han acumulado conocimiento particular y único referente al empleo de las plantas para diversos propósitos, y han procurado su preservación y cuidado. Toda esta información puede considerarse como punto de partida para estudios científicos, y uno de los usos principales de la flora es su aplicación empírica a la cura de enfermedades. Estos usos se registran en estudios etnobotánicos y etnomédicos, que recientemente han sido numerosos en la flora mexicana [2]. Así, el estudio de las plantas empleadas en la medicina tradicional constituye una línea de investigación que se ha ampliado en todo el mundo, y que ha proporcionado notables aportaciones a la terapéutica actual. Es importante reconocer que el estudio de la vegetación puede enfocarse desde varias perspectivas, entre las que se encuentran la aproximación taxonómica (se refiere al estudio de especies relacionadas morfológicamente), la aproximación química (la cual se dirige a la búsqueda y localización de sustancias específicas, p. ej., alcaloides, flavonoides), y la aproximación etnomédica que incluye a la teoría de la defensa de las plantas, en la cual se involucran los metabolitos secundarios, que pueden considerarse como metabolitos potencialmente útiles en la terapéutica, entre otras aproximaciones [3].

En la presente tesis, se realiza un análisis químico de la especie vegetal *Viguiera sphaerocephala*, que se encuentra distribuida en el centro de nuestro país. Considerando que el estudio sistemática de los metabolitos secundarios de la vegetación constituye una línea importante de investigación[4], el estudio de esta especie en cuanto a la búsqueda de metabolitos secundarios de potencial aplicación farmacológica.

ANTECEDENTES.

El género *Viguiera* pertenece a la familia Compositae del reino vegetal, el cual incluye cerca de 1,000 géneros y 15,000 especies. Este grupo de plantas es el de mayor diversidad y número de especies de la subtribu Helianthineae de esta familia. La primera descripción botánica de *Viguiera* fue realizada por Kunth en 1820, con una sola especie (*V. heliantheae*), y en 1918 Blake realizó una descripción morfológica amplia y detallada, donde se describen cerca de 200 especies subdivididas en 3 subgéneros localizadas en el Continente Americano [5], y a través de los años, se han descrito especies adicionales.

Las especies de *Viguiera* se localizan exclusivamente en el continente americano e islas adyacentes. En México se encuentran distribuidas principalmente en el área comprendida entre los estados de Durango y Oaxaca, además del de Morelos, continúa con menor variedad en Sudamérica, en la región montañosa de Ecuador y Bolivia y parte norte de Argentina y en las tierras altas de Brasil, Paraguay y Uruguay [6].

El estudio químico de los metabolitos secundarios del género tiene interés desde el punto de vista evolutivo y quimiotaxonómico, ya que *Viguiera* es el género más primitivo de la familia Compositae, puesto que uno de los fósiles más antiguos encontrados (*V. cronquistii*) pertenece a este género [7].

Referente a los constituyentes químicos de este grupo de plantas, cabe mencionar que los resultados obtenidos y acumulados a través de las últimas décadas indican que las lactonas sesquiterpénicas, los diterpenos policíclicos, los sesquiterpenos poco funcionalizados, ciertos flavonoides y los esteroides pueden considerarse como los constituyentes principales de las partes aéreas de este género de plantas. De las raíces se aíslan ácidos diterpénicos, saponinas derivadas del ácido oleanólico y poliacetilenos.

Se han acumulado resultados sobre la composición química de 61 especies, de las cuales se han aislado aproximadamente 241 sustancias diferentes. Entre las principales se encuentran 72 lactonas sesquiterpénicas (furanoheliangólidas, heliangólidas, germacrólidas, germacranólidas), 44 diterpenos (del tipo *ent*-kaurano, *ent*-atisano, y *ent*-beyereno, principalmente), y 43 flavonoides. Se puede concluir que el perfil químico de este grupo de plantas se encuentra bien delineado [8-73] y recientemente Arellano [58] ha actualizado la revisión publicada en 1985 [4].

Las lactonas sesquiterpénicas son constituyentes de plantas pertenecientes principalmente a la familia Compositae, aunque se han encontrado en otras familias [74].

Hasta la fecha se conocen más de 4,000 estructuras de lactonas sesquiterpénicas y la bioactividad de algunos de estos compuestos ha sido estudiada por varios autores [75],

quienes informan sobre actividad alergénica [76], antiinflamatoria [77], antitumoral [78], citotóxica [79], genotóxica [80], e hipoglucémica [81], entre otras.

Por otro lado los diterpenos policíclicos son de interés ya que poseen diversas actividades biológicas, como la actividad insecticida [82, 83], citotóxica [84], y antibacteriana [85].

Los flavonoides se han aislado de diversos y numerosos grupos vegetales, y se emplean como marcadores biológicos y taxonómicos. La actividad biológica de estas sustancias es muy amplia destacando la actividad antioxidante [86], y antiinflamatoria [87], también se ha descrito actividad antihistaminica, antitumoral, citotóxica, antibacteriana, antidiarreica, vascular, y la inhibición de enzimas de la respiración mitocondrial. Una dieta en flavonoides evita enfermedades coronarias del corazón, algunos muestran actividad analgésica, entre otras [88].

A continuación se describirán algunas generalidades sobre diterpenos policíclicos y sobre lactonas sesquiterpénicas.

DITERPENOS POLICÍCLICOS.

Los diterpenos constituyen un vasto grupo de compuestos de C_{20} originados del metabolismo del pirofosfato de 2E, 6E, 10E-geraniil geranilo (PFGG), el cual se encuentra en algunos animales, pero principalmente en las plantas. Los diterpenos policíclicos son abundantes en las familias *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Gentianaceae*, *Geraniaceae* y *Fabaceae*, se han reportado cerca de 1,200 compuestos con 100 esqueletos diferentes en la familia *Asteraceae*.

En el caso del origen biogenético de los diterpenos policíclicos, la protonación del PFGG puede iniciar una concertada secuencia de ciclización, terminando con la pérdida de un protón de un grupo metilo, y obteniendo el pirofosfato de copalilo. La estereoquímica de este producto es controlada por el plegamiento del sustrato en la superficie de la enzima, aunque un plegamiento alternativo puede inducir a pirofosfato de labdadienilo, producto enantiomérico con configuraciones opuestas que son generadas por centros quirales [98].

A partir del pirofosfato de copalilo, la pérdida del difosfato como grupo saliente, se genera un catión mediada por la formación de un tercer anillo y posteriormente por un cuarto anillo.

Después le sigue una migración tipo Wagner-Meerwein, para formar el anillo del kaurano.

La figura 1 ilustra de una mejor manera la vía biogénica de los diterpenos policíclicos, y algunas de las posibilidades de ciclización [96, 97, 98].

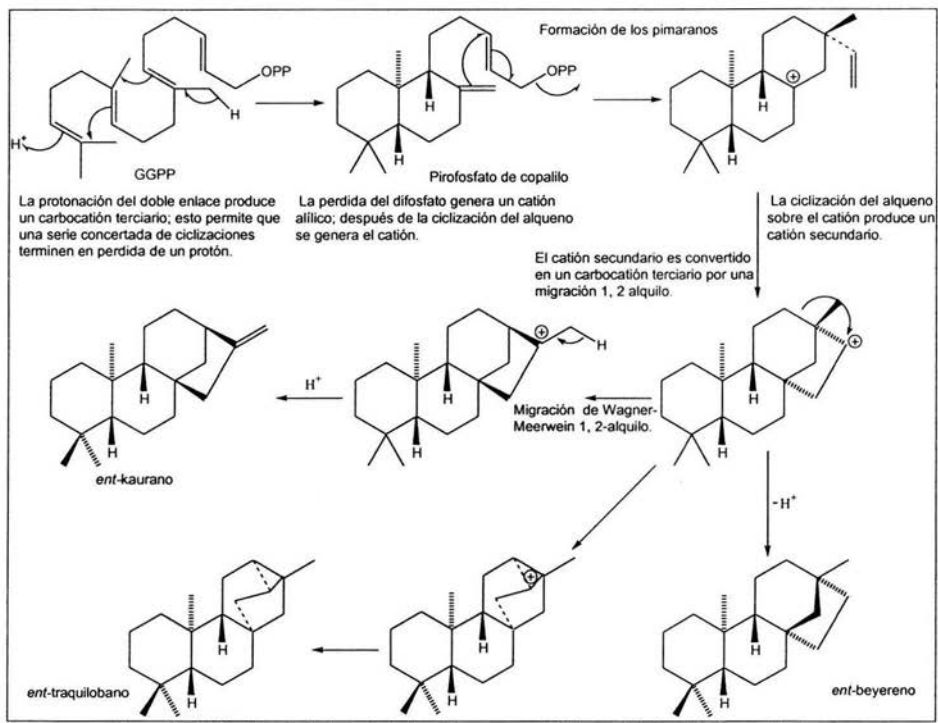


Figura No. 1. Biogénesis de los principales diterpenos policíclicos aislados del género *Viguiera*.

LACTONAS SESQUITERPÉNICAS.

Las lactonas sesquiterpénicas son un grupo de sustancias muy importantes de las cuales aproximadamente se conocen más de 4,000 estructuras. Estos compuestos aparte de que se encuentran en plantas principalmente de las familias *Asteraceae*, *Apiaceae*, *Lauraceae*, *Menispermaceae*, también se encuentran en hongos y briofitas.

El esqueleto de las lactonas sesquiterpénicas se origina a partir de un producto tipo ciclodecadieno obtenida de la ciclización del pirofosfato de 2E, 6E-farnesilo o del pirofosfato de 2E, 6Z-farnesilo.

La ciclización del pirofosfato de 2E, 6E-farnesilo produce el catión germacrilo o germacradienilo y se obtienen las germacranólidas. En la siguiente figura se esquematizan las relaciones biogénéticas de algunos grupos de lactonas sesquiterpénicas.

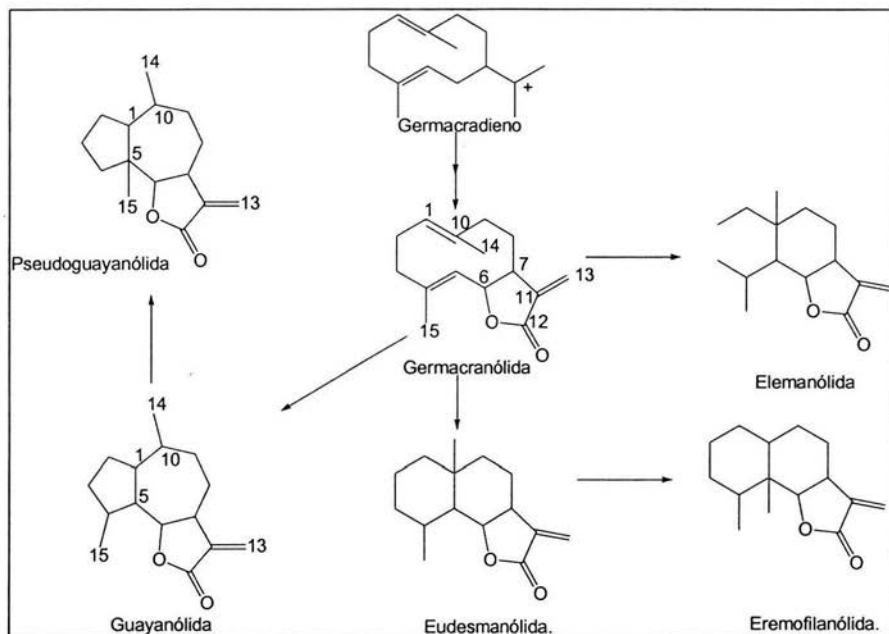


Figura No.2. Relaciones Biogénéticas de algunos grupos de lactonas sesquiterpénicas.

La configuración de los dobles enlaces, en las germacranólidas determinan cuatro grupos estructurales: germacrólidas (*trans, trans*), heliangólidas [1(10)-*trans*, 4-*cis*], melampólidas [1(10)-*cis*, 4-*trans*], y *cis, cis*-germacranólidas.

Para llevar a cabo la lactonización de los sesquiterpenos se produce un mecanismo de oxidación de un grupo metilo hasta carboxilo, la oxidación de un carbono adyacente y la deshidratación de los grupos carboxilo e hidroxilo formados [96, 97]. En la figura 3 se describe este proceso.

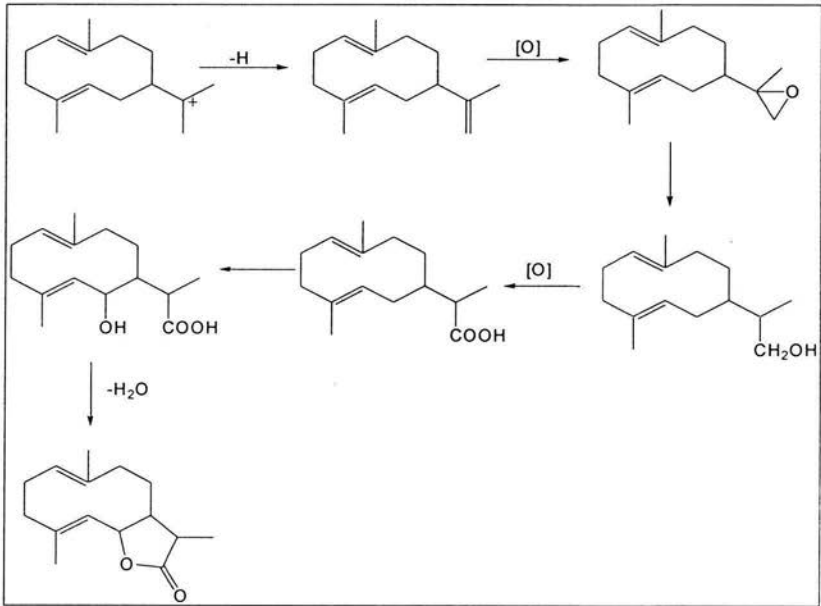


Figura No. 3. Vía biogénica del anillo lactónico de las lactonas sesquiterpénicas.

OBJETIVOS.

OBJETIVOS GENERALES.

Generar conocimiento referente a la estructura molecular de los constituyentes químicos de la flora del país, en particular se pretende llevar a cabo el estudio de *Viguiera sphaerocephala*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- a) Compilar la información química y biológica de plantas pertenecientes al género *Viguiera*.
- b) Colectar la especie vegetal *Viguiera sphaerocephala*, para la realización del estudio químico de las partes aéreas.
- c) Obtener los extractos de diferente polaridad, para realizar el aislamiento de los constituyentes químicos (metabolitos secundarios).
- d) Extraer, purificar y analizar los constituyentes químicos mediante análisis espectroscópicos, espectrométricos, quiroópticos y cristalográficos necesarios para la determinación de la estructura molecular de las sustancias aisladas.
- e) Integrar el conocimiento adquirido al acervo del conocimiento de la flora de nuestro país.

PARTE EXPERIMENTAL.

CONSIDERACIONES GENERALES

Las cromatografías en columna a presión reducida (CCPR) se realizaron con sílica gel 60 (70-230 mesh ASTM) la proporción de sílica por gramo de extracto, se comentará posteriormente, ya que fueron diferentes para cada cromatografía en columna realizada.

Las cromatografías en columna por gravedad (CCG) se realizaron con sílica gel 230-400. Las CCPR y las CCG, se realizaron adsorbiendo el material en sílica para columna en una proporción 1:1. Las cromatografías en capa fina (CCF) se realizaron en cromatoplasmas de aluminio de sílica gel 60 F₂₅₄, para realizar el seguimiento del desarrollo de las reacciones químicas realizadas y las fracciones obtenidas de las diferentes cromatografías. Las cromatografías en capa fina preparativa (CCFP) se realizaron en placas de vidrio Merck HF₂₅₄ de 2 mm de espesor. Los métodos de visualización fueron luz ultravioleta proveniente de una lámpara portátil Modelo UVGL-25, Mineralight® Lamp, Multiband UV-254/366 NM, 115 volts 60 Hz 0.16 amps., y como reactivo cromogénico se utilizó una solución de 12 g de sulfato cérico amoniacal y 22 mL de ácido sulfúrico concentrado en 350 g de hielo. Los puntos de fusión (pf) se determinaron en un fusiómetro Fisher-Johns y no están corregidos. Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en un espectrofotómetro con transformada de Fourier modelo prospect-IR marca MIDAC en solución de diclorometano (CH₂Cl₂), o bien, en pastilla de KBr. Los espectros de resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN ¹H), fueron obtenidos a 300 MHz utilizando espectrómetros analíticos Varian XR-300, utilizando como disolventes cloroformo deuterado (CDCl₃), y como referencia interna tetrametil silano (TMS). Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13 (RMN ¹³C), se determinaron en los espectrómetros Varian XR-300 a 75 MHz respectivamente. En algunos casos especiales se utilizó el experimento bidimensional COSY para el caso de RMN ¹H y el experimento DEPT para el caso de RMN ¹³C. El espectro de masas se obtuvo en un equipo Hewlett-Packard 5985-B, utilizando la técnica de impacto electrónico (IE) a 70 eV. El estudio cristalográfico se realizó en un difractor Broker Smart Apex CCD a una temperatura de 293(2) K.

La planta *Viguiera sphaerocephala*, fue colectada en octubre del 2002 sobre la autopista México-Cuernavaca, al lado norte de la desviación Cuautla-Oaxtepec. Se trata de un árbol de aproximadamente 6-8 m de altura, con flores amarillas características del género *Viguiera*. Se colectó el material de 4 individuos, consistiendo este en ramas, tallos, flores y hojas.

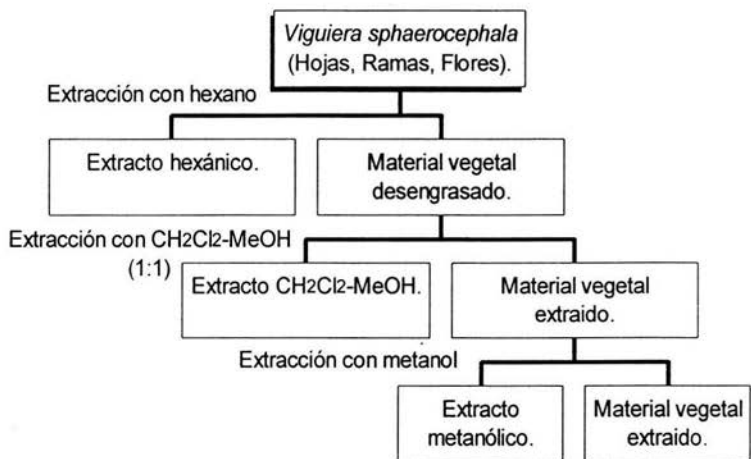
Una muestra del material vegetal fue identificada taxonómicamente por el Dr. José Luis Villaseñor y depositada en el Herbario Nacional con el registro (MEXU: 1036710), del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

El material vegetal se dejó secar a temperatura ambiente por una semana, las partes aéreas secas fueron molidas, obteniéndose 700 g en flores, 8.250 Kg en ramas, y 3.820 Kg en hojas, que posteriormente fueron extraídos mediante 3 maceraciones durante 48 h a temperatura ambiente, empleando 10.5 L de hexano en hojas, 21 L en ramas, y 6 L en flores. Posteriormente el material se sometió a 3 maceraciones durante 48 h a temperatura ambiente, empleando 20 L de una mezcla de CH_2Cl_2 – MeOH, 36 L en ramas, 7 L de la mezcla en flores. Finalmente al material se le sometió a 3 maceraciones adicionales durante 48 h a temperatura ambiente, empleando 10 L de metanol en hojas, 35 L en ramas y 6 L de este disolvente en flores. En el esquema 1, se resume el procedimiento realizado. Cabe mencionar que los disolventes fueron eliminados por destilación a presión reducida, y los disolventes recuperados se enviaron a la Unidad de Desarrollo Tecnológico del Instituto de Química para que se lleve un proceso de purificación. En la tabla 1, se indican los pesos de los extractos obtenidos.

	Hojas	Ramas	Flores
Extracto hexánico	65 g	90.3 g	21.1 g
Extracto CH_2Cl_2 – MeOH (1:1)	215.4 g	461.4 g	46.6 g
Extracto metanólico	127.7 g	135.3 g	13.7 g

Tabla No. 1. Pesos obtenidos de los extractos de las partes aéreas de *Viguiera sphaerocephala*.

Se trabajaron 2 extractos el extracto hexánico de ramas y el extracto CH_2Cl_2 – MeOH (1:1) de hojas, ambos se fraccionaron en mezclas menos complejas, mediante cromatografía en columna. Las fracciones se analizaron por cromatografía en capa fina analítica, y se reunieron de acuerdo con sus características y similitudes cromatográficas. Los diversos conjuntos de fracciones se resolvieron en sus componentes mediante sucesivas cromatografías en columna y/o en placa preparativa.



Esquema 1. Proceso de extracción de las partes aéreas de *Viguiera sphaerocephala*.

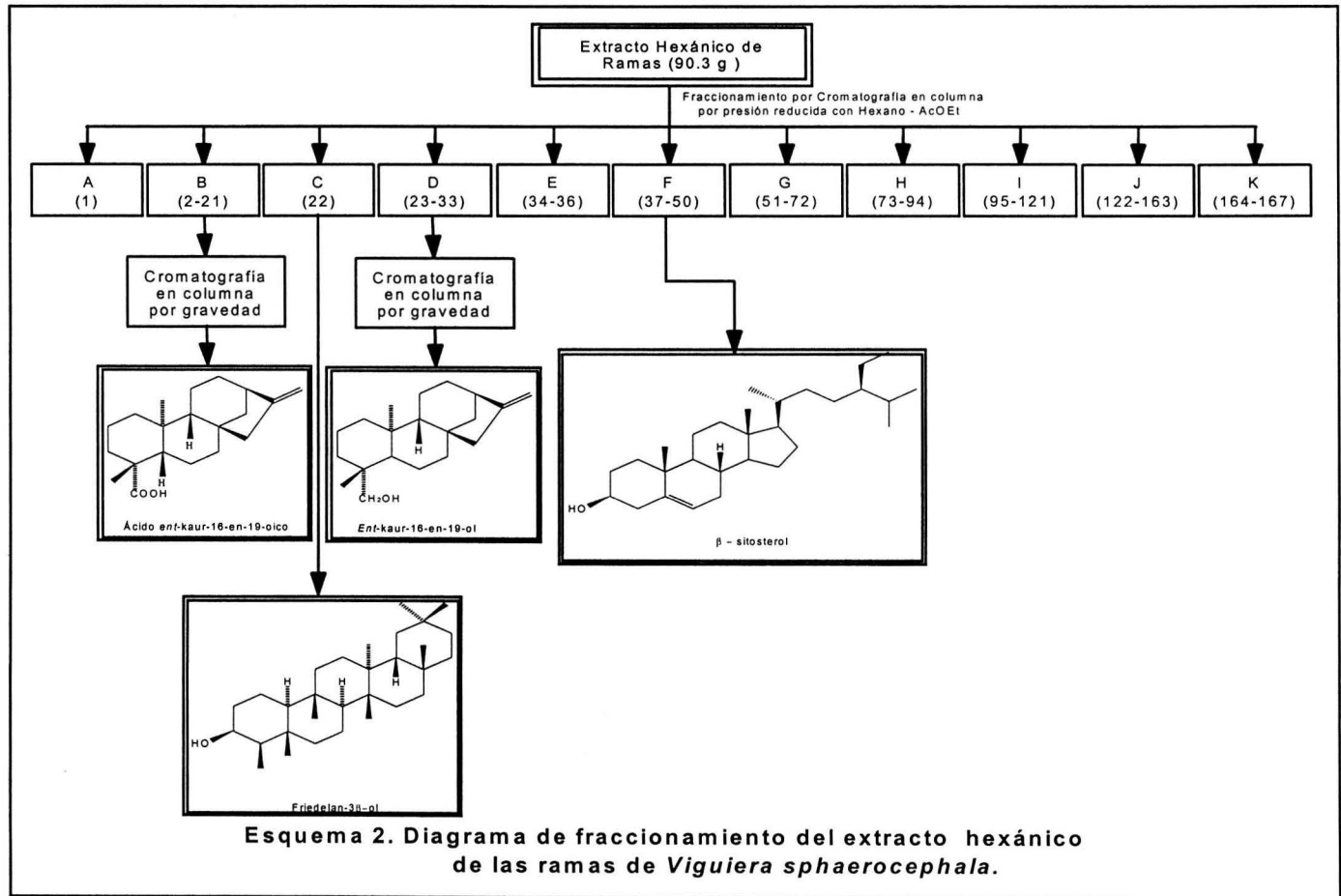
Fraccionamiento del extracto hexánico de ramas.

El extracto hexánico (215.4 g) se adsorbió en gel de sílice en relación 1:1, y se aplicó a dos columnas empacadas con gel de sílice en relación (1:5), con respecto al extracto. El extracto fue fraccionado por CCPR. La columna se eluyó primeramente con hexano y se incrementó la polaridad gradualmente con acetato de etilo, obteniéndose 167 fracciones de 500 mL. La tabla 2 presenta las fracciones reunidas según el análisis por CCF y los metabolitos secundarios aislados a partir de las mismas.

No. de eluato	Fracción	Sistema de elución (Hex: AcOEt)	Substancia identificada
1	A	(100:0)	Ceras, ácidos grasos
2-21	B	(95:5)	Ácido <i>Ent</i> -kaur-16-en-19-oico (1).
22	C	(95:5)	Friedelan-3 β -ol (2).
23-33	D	(95:5)	<i>Ent</i> -kaur-16-en-19-ol (3).
34-36	E	(95:5)	---
37-50	F	(9:1)	β - Sitosterol (4).
51-72	G	(85:15)	
73-94	H	(8:2)	
95-121	I	(75:25 y 7:3)	
122-163	J	(6:4 y 1:1)	
164-167	K	Metanol (Lavado de la columna)	

Tabla No. 2. Fracciones obtenidas de la CCPR del extracto hexánico de las ramas de *Viguiera sphaerocephala*.

En el esquema 2, se resume el fraccionamiento realizado en el extracto total hexánico de ramas.



Recromatografía de la fracción B.

El residuo de las fracciones 2-22, fue resuelto en sus componentes mediante CCG, en una columna empacada con sílica-gel, en relación aproximada en 1:10 respecto a la subfracción B, usando un gradiente de elución hexano-AcOEt, obteniéndose 269 fracciones de 25 mL. El resultado de este fraccionamiento se muestra en la siguiente tabla:

Fase móvil	Sistema de elución	Fracciones	Peso (g)	Sustancia identificada
Hexano	100%	1-29		Ceras, grasas
Hexano	100%	30-81		---
Hexano-AcOEt	99.9:0.1	82-126		Ácidos grasos
Hexano-AcOEt	99.9:0.1	127-157		---
Hexano-AcOEt	99:1	158-181.		Ácido <i>ent</i> -kaur-16-en-19-oico impuro
Hexano-AcOEt	99:1	182-249	10.78	Ácido <i>ent</i> -kaur-16-en-19-oico (1).
Hexano-AcOEt	95:5	250 - 269		---

Tabla No. 3. Sustancias obtenidas de la CCG de la subfracción B, del extracto hexánico de ramas.

De las fracciones 158-181 se obtuvieron unos cristales bien definidos de forma cúbica, incoloros, estos fueron caracterizados como ácido *ent*-kaur-16-en-19-oico (1) por comparación de sus propiedades físicas y espectroscópicas con las descritas en la literatura que se informan al final de esta sección.

En la fracción C se obtuvieron cristales blancos (agujas), del fraccionamiento total del extracto hexánico de ramas según análisis por CCF, estos fueron caracterizados como friedelan-3 β -ol (2) por sus propiedades físicas y espectroscópicas [89, 91].

Recromatografía de la fracción D y E.

Las fracciones 23-33 y 34-36, de la columna original se reunieron por su similitud cromatográfica, de acuerdo con el análisis por CCF, y el residuo obtenido fue resuelto por CCPR, en una columna empacada con sílica-gel, en relación aproximada de 1:10 respecto a la subfracciones D y E, utilizando un gradiente de elución hexano-AcOEt,

obteniéndose 83 fracciones de 75 mL. El resultado de este fraccionamiento se muestra en la siguiente tabla:

Fase móvil	Sistema de elución	Fracciones	Peso (mg)	Sustancia identificada
Hexano	100%	1-21		Ácido <i>ent</i> -kaur-16-en-19-oico impuro
Hexano	95:5	22-23	65	<i>ent</i> -kaur-16-en-19-ol (3).
Hexano-AcOEt	99.9:0.1	24-42		---
Hexano-AcOEt	99.9:0.1	45-76		---

Tabla No. 4. Sustancias obtenidas de la CCG de la subfracción D y E, del extracto hexánico de ramas.

De las fracciones 22-23 se obtuvieron cristales blancos, las cuales fueron caracterizados como *ent*-kaur-16-en-19-ol (3) por sus propiedades físicas y espectroscópicas que se informan al final de esta sección [90, 91].

En la fracción F se obtuvieron cristales blancos puros (agujas), este producto fue caracterizado como β -sitosterol (4), por comparación cromatográfica con muestras auténticas disponibles en el laboratorio.

Fraccionamiento del extracto diclorometano-metanol (1:1) de hojas.

El extracto diclorometano-metanol (215.4 g) se adsorbió en gel de sílice en relación 1:1, y se aplicó en dos columnas empacadas con gel de sílice en relación (1:6) en ambas columnas, con respecto al extracto. En una columna se montó con 130 g de extracto adsorbido y en otra columna se montó con 85.4 g. El extracto fue fraccionado por CCPR.

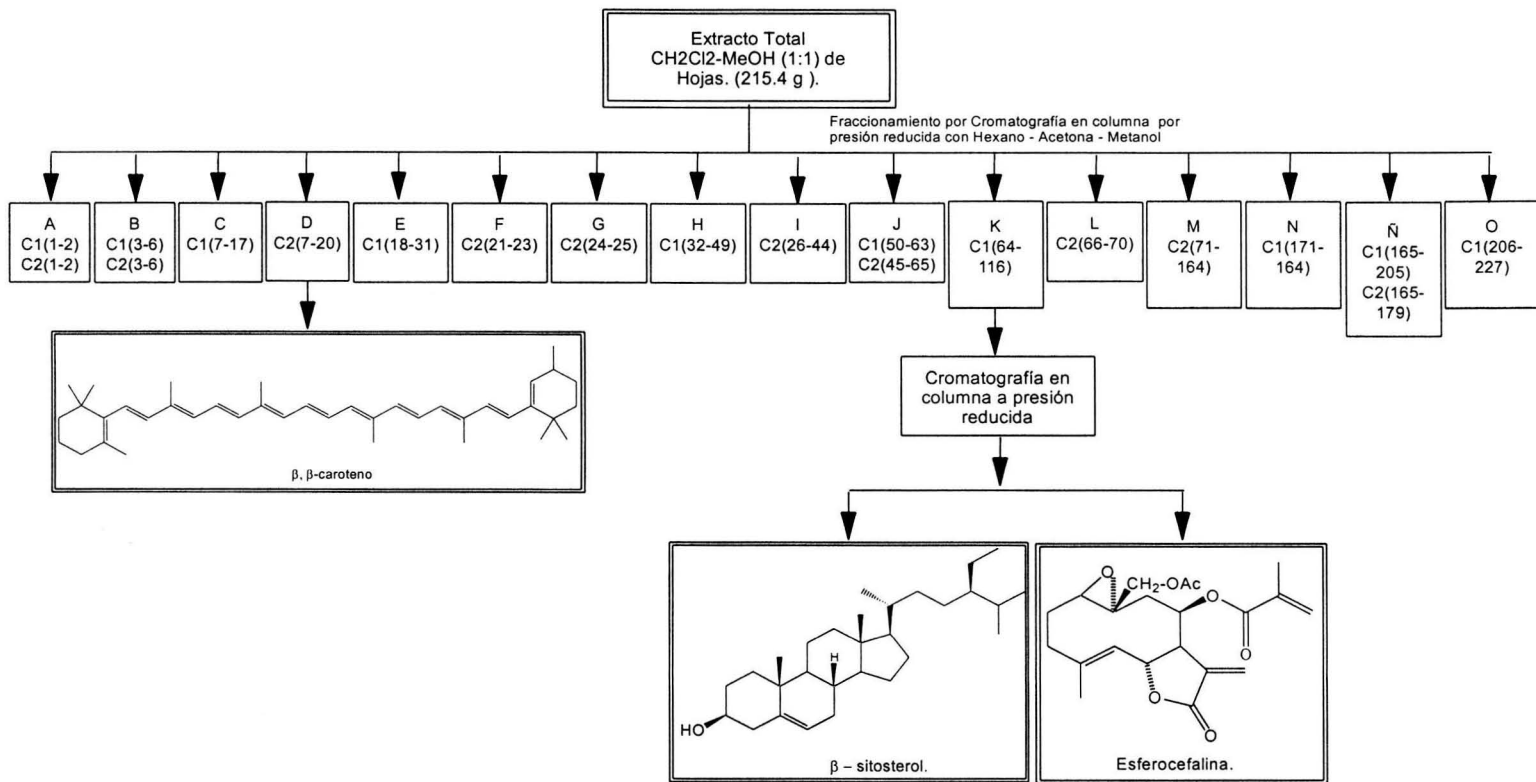
La columna se eluyó inicialmente con hexano y se incrementó la polaridad gradualmente con acetona y metanol, obteniéndose 406 fracciones de 500 y 550 mL respectivamente.

La tabla 3 presenta las fracciones reunidas según los resultados del análisis por CCF y los metabolitos secundarios aislados a partir de las mismas.

No. de eluato para la columna 1	No. de eluato para la columna 2	Fracción	Sistema de elución (Hex: Acetona:MeOH)	Substancia identificada
1-2	1-2	A	(100:0:0)	
3-6	3-6	B	(100:0:0)	
7-17		C	(100:0:0)	
	7-20	D	(100:0:0)	β , β -caroteno (5).
18-31		E	(100:0:0)	
	21-23	F	(95:5:0)	
	24-25	G	(95:5:0)	
32-49		H	(95:5:0)	
	26-44	I	(95:5:0)	
50-63	45-65	J	(9:1:0)	
64-116		K	(9:1:0, 85:15:0, 8:2:0)	β -sitosterol (4), esferocefalina (6).
	66-70	L	(85:15:0)	
	71-164	M	(85:15:0, 8:2:0, 7:3:0, 1:1:0, 0:100:0, 0:75:25, 0:1:1).	
117-164		N	(7:3:0, 1:1:0)	
165-205	165-179	Ñ	(1:1:0, 0:100:0, 0:75:25, 0:1:1, 0:0:100).	
206-227			(0:0:100).	

Tabla No. 5. Fracciones obtenidas de la CCPR del extracto CH₂Cl₂-MeOH (1:1) de las hojas de *Viguiera sphaerocephala*.

En el esquema 3, se resume el fraccionamiento realizado al extracto diclorometano-metanol (1:1) de las hojas.



Esquema 3. Diagrama de fraccionamiento del extracto CH₂Cl₂-MeOH (1:1) de las hojas de *Viguiera sphaerocephala*.

De la fracción D se obtuvieron cristales de color anaranjado oscuro, según el análisis por CCF se identificaron como β , β -Caroteno (5) por comparación cromatográfica con una muestra auténtica disponible en el laboratorio y por la comparación de las características espectroscópicas informadas en la literatura [94].

Recromatografía de la fracción K.

Se obtuvieron cristales en las aguas madres de las fracciones 90-116 de la columna 1, después de realizar una cristalización con acetona y tratamiento con carbón activado, para la eliminación de pigmentos. Se obtuvieron cristales incoloros bien definidos, y según el análisis espectroscópico, en ellos se identificó la lactona sesquiterpénica esferocefalina (6). Sus características físicas y espectroscópicas corresponden a las informadas en la literatura [18].

La recromatografía de las fracciones (64-116), fue recromatografiada por CCPR, en una columna empacada con sílica-gel, en relación aproximada en 1:20 respecto a la subfracción K, usando un gradiente de elución hexano-acetona con incremento de la polaridad, obteniéndose 123 fracciones de 250 mL. Este procedimiento permitió la purificación de cantidades adicionales de la lactona (6). El resultado de este fraccionamiento se muestra en la siguiente tabla:

Fase móvil	Sistema de elución	Fracciones	Peso (g)	Sustancia identificada
Hexano	100%	1-8		---
Hexano-Acetona	95:5	9-26		β -sitosterol (4).
Hexano-Acetona	9:1	27-61		---
Hexano-Acetona	85:15	62-86	0.874	Esferocefalina (6).
Hexano-Acetona	8:2	87-103		Esferocefalina (6).
Hexano-Acetona	7:3	104-112		---
Hexano-Acetona	1:1	113-120		---
Metanol	100%	121-123		---

Tabla No. 6. Sustancias obtenidas del CCPR de la subfracción B, del extracto CH_2Cl_2 -MeOH (1:1) de hojas.

De las fracciones 15 y 16 se obtuvieron cristales incoloros que de acuerdo al análisis de CCF, con muestras auténticas obtenidas en el laboratorio y la muestra obtenida a partir de la fracción F del extracto hexánico de ramas, se identificaron como β -sitosterol (4).

Las características físicas y espectroscópicas de las sustancias aisladas son las siguientes:

Ácido *ent*-Kaur-16-en-19-oico (Ácido Kaurenoico) (1).

10.78 g de cristales incoloros.

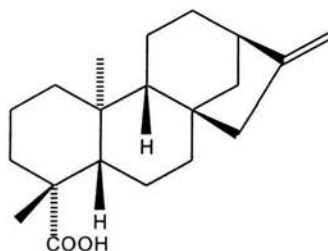
Pf = 179-183° C.

Rf = 0.30 (Hexano-AcOEt, 90:10).

EMIE m/z (Int. rel): 302 (100) M⁺; 287 (63); 213 (32); 187 (27); 147 (22); 105 (52); 91 (55); 41 (29).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ (ppm), J (Hz)): 4.8 (1 H, sa, H-17); 4.74 (1H, sa, H-17); 2.65 (1H, sa, H-13); 2.05 (1H, sa, H-15); 1.24 (3H, s, Me-18); 0.95 (3H, s, Me-20).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ (ppm), J (Hz)): 184.57 (C-19); 155.8 (C-16); 102.99 (C-17); 57.06 (C-5); 55.11 (C-9); 48.96 (C-15); 44.22 (C-8); 43.85 (C-13); 43.75 (C-4); 41.28 (C-7); 40.7 (C-1); 39.67 (C-10, C-14); 37.78 (C-3); 33.1 (C-12); 28.96 (C-18); 21.82 (C-6); 19.09 (C-2); 18.43 (C-11); 15.59 (C-20).



Ácido *ent*-kaur-16-en-19-oico

β -Hidroxi-D:A Friedo-oleanano (Friedelan-3 β -ol) (2).

46 mg de cristales blancos, agujas.

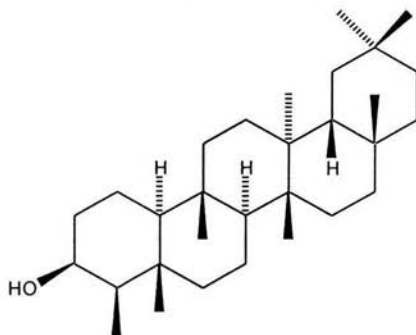
Pf = 275-279° C.

Rf = 0.42 (Hexano-AcOEt, 90:10).

EM (FAB) m/z (Int. rel): 427 (2.1) M⁺; 411 (2.9); 341 (8); 273 (4); 205 (8);

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , δ (ppm), J (Hz)): 3.75 (1 H, dd, J= 2.1, 4.2, H-3); 1.18 (3H, s, CH_3); 1.02 (3H, s, CH_3); 1.00 (6H, sa, $2\times\text{CH}_3$); 0.98 (3H, sa, CH_3); 0.96 (6H, sa, $2\times\text{CH}_3$); 0.87 (3H, s, CH_3).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm), J (Hz)): 72.77 (C-3); 61.3 (C-10); 53.17 (C-8); 49.13 (C-4); 42.78 (C-18); 41.69 (C-6); 39.65 (C-14); 39.26 (C-22); 38.35 (C-13); 37.8 (C-5); 37.07 (C-9); 35.52 (C-16); 35.32 (C-29); 35.12 (C-11); 33.8 (C-19); 32.30 (C-21); 32.07 (C-30); 31.92 (C-2); 31.78 (C-28); 30.62 (C-15); 30 (C-17); 29.24 (C-12); 28.16 (C-20); 20.11 (C-27); 18.65 (C-26); 18.23 (C-25); 17.52 (C-7); 16.38 (C-24); 15.76 (C-1); 11.61 (C-23).



Friedelan-3β-ol.

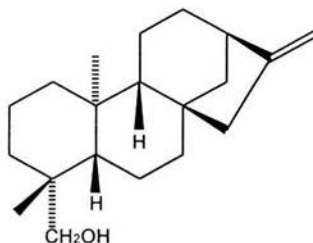
***Ent*-Kaur-16-en-19-ol (Kaurenol) (3).**

65 mg de cristales blancos, agujas.

Pf = 138-140° C.

Rf = 0.36 (Hexano-AcOEt-MeOH, 95:5:0.2).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , δ (ppm), J (Hz)): 4.79 (1 H, sa, H-17); 4.73 (1H, sa, H-17); 3.77 y 3.45 (1H, dd, J= 11,11, axial CH_2OH en C-4); 2.64 (1H, sa, H-13); 1.00 (3H, s, Me-18); 0.96 (3H, s, Me-20).



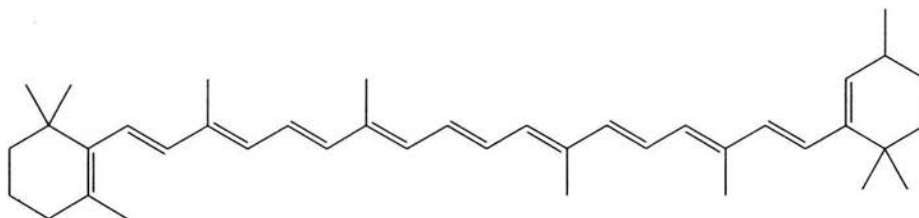
Ent-kaur-16-en-19-ol.

β , β -Caroteno (5).

15 mg cristales anaranjados oscuros.

Rf = 0.6 (Hexano 100%).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , δ (ppm), J (Hz)): 6.13 a 6.7 (14H olefinicos, m.); 2.02 (4H, m, H-4, 4'); 1.98 (12H, s, CH_3 -19, 20, 19', 20'); 1.72 (6H, s, CH_3 -18, 18'); 1.62 (4H, m, H-3, 3'); 1.47 (4 H, m, H-2,2'); 1.03 (12H, s, CH_3 -16, 17, 16', 17').



β , β -caroteno

Esferocefalina (6).

0.874 g de cristales incoloros.

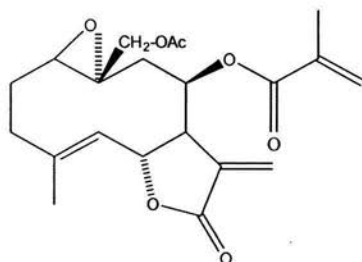
Pf = 215-219° C.

Rf = 0.4 (Hexano-Acetona, 80:20).

EMIE m/z (Int. rel): 391 (13) M^+ ; 69 (100); 43 (46); 41(67).

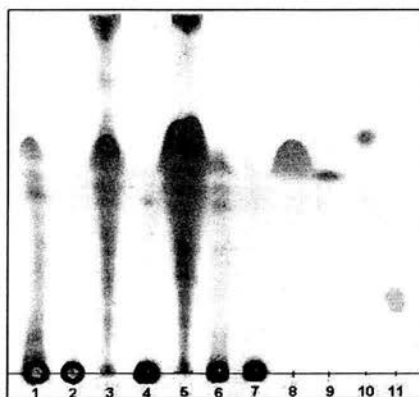
RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , experimentos COSY, δ (ppm), J (Hz)): 6.30 (1 H, d, J= 0.5, 3.5, H-13a); 6.03 (1H,dd, J= 1.0, 2.0, H-3a'); 5.76 (1H, da, J= 6.0, H-8); 5.63 (1H,dd, J= 1.5, 3, H-3b'); 5.55 (1H, d, J= 3.5, H-13b); 5.41 (1H, da, J= 9.5, H-5); 5.13 (1 H, dd, J= 9.5, 9.5, H-6); 4.1 (1H, d, J= 11.5, H-14a); 3.89 (1H, d, J= 11.5, H-14b); 3.25 (1H, dd, J= 6.5, 15.5, H-9 α); 2.96 (1H, dddd, J= 1.0, 3.5, 3.5, 9.5, H-7 α); 2.89 (1H, dd J= 2.5, 11.5, H-1); 2.47 (1 H, ddd, J= 5.0, 12.5, H-3 α); 2.3 (1H, dc, J= 2.5, 5.0, 12.5, H-3 β); 2.21 (1H, dc, J= 2.5, 5.0, 15.0, H-2 β); 1.95 (3H, s, OAc); 1.89 (6H, d, J= 1.0, H-15, H-4'); 1.5 (1H, dddd, J= 1.5, 5.0, 12.5, H-2 α); 1.2 (1H, dt J= 1.5, 2.0, 15.5, H-9 β);

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , experimentos FLOCK δ (ppm), J (Hz)): 170.53 (C-1''); 168.99 (C-12); 165.52 (C-1'); 145.09 (C-4); 135.961 (C-11); 135.161 (C-2'); 127.04 (C-3'); 124.46 (C-5); 121.01 (C-13); 74.02 (C-6); 66.97 (C-1); 66.89 (C-8); 65.93 (C-14); 59.74 (C-10); 53.47 (C-7); 36.96 (C-9); 35.72 (C-3); 24.5 (C-2); 20.47 (C-2''); 18.1 (C-4'); 17.36 (C-15).



Esferocefalina.

Adicionalmente se realizó un análisis por CCF de los extractos orgánicos obtenidos a partir de la maceración de las partes aéreas del vegetal y de los metabolitos secundarios aislados de la planta. La cromatoplaaca obtenida se muestra en la figura 1.



Elución:

Hexano- Acetona (8:2).

Figura No. 4. Análisis por CCF de los extractos orgánicos y metabolitos secundarios obtenidos por *Viguiera sphaerocephala*.

- 1) Extracto CH_2Cl_2 -MeOH (1:1) de ramas
- 2) Extracto metanólico de ramas
- 3) Extracto hexánico de hojas
- 4) Extracto metanólico de hojas
- 5) Extracto hexánico de flores
- 6) Extracto CH_2Cl_2 -MeOH (1:1) de flores
- 7) Extracto metanólico de flores
- 8) Ácido *ent*-Kaur-16-en-19-oico
- 9) *Ent*-Kaur-16-en-19-ol
- 10) Friedelan-3- β -ol
- 11) Esferocefalina

DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

El análisis químico del extracto hexánico de ramas, y del extracto diclorometano-metanol (1:1), de hojas de *Viguiera sphaerocephala*, permitió el aislamiento de seis productos naturales, los cuales pueden agruparse, de acuerdo a su estructura molecular en una lactona sesquiterpénica, dos diterpenos, un triterpeno, un caroteno, y un esteroide.

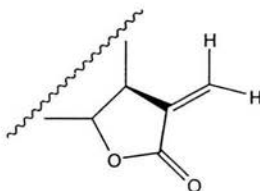
El establecimiento de la estructura molecular de cada sustancia se realizará a continuación, considerando la clasificación mencionada para cada metabolito secundario, y se llevará a cabo mediante el análisis de los datos espectroscópicos..

Determinación estructural de la lactona sesquiterpénica.

Esferocefalina (6).

De la fracción K del extracto diclorometano-metanol (1:1) de las hojas, obtenida por elución con hexano-acetona (9:1 a 8:2) de la columna principal, se aisló un sólido cristalino, previamente se realizaron cristalizaciones sucesivas de acetona y por tratamiento con carbón activado se eliminaron los pigmentos que estaban atrapados dentro de las redes cristalinas.

Los espectros de RMN ^1H y los experimentos COSY (CDCl_3 , 300 MHz) confirman la presencia de una lactona sesquiterpénica de tipo germacranólida, ya que se observa el par de dobletes característicos de los hidrógenos vinílicos conjugados con la γ -lactona (δ_{H} 6.30 y δ_{H} 5.55) correspondiente a los hidrógenos del metileno exocíclico de la lactona. El valor de la constante de acoplamiento que estos hidrógenos muestran con el protón alílico H-7 (δ_{H} 2.96, $J_{7-13} = 3.5$ Hz, $J_{7-13} = 3.5$ Hz), sugiere que la fusión de la lactona con el anillo de ciclodecano es *trans*, de acuerdo a la regla de Samek [89]. Las señales de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) en δ_{C} 135.96 (C-11), δ_{C} 168.99 (C-12), δ_{C} 121.01 (C-13), y δ_{C} 53.47 (C-7) confirman esta propuesta, por lo tanto, es posible deducir el fragmento estructural indicado.



También se observa en el espectro de RMN ^1H una señal doblete cuartetado, que corresponde a un hidrógeno vinílico (δ_{H} 5.41, $J = 1.0, 9.5\text{Hz}$), que se encuentra acoplada con el hidrógeno geminal a la γ -lactona, el cual forma parte de una olefina trisustituida, de acuerdo a los datos de RMN ^{13}C : δ_{C} 124.46 (C-5), δ_{C} 145.09 (C-4) un metilo se encuentra en la posición 15 δ_{H} 1.89, δ_{C} 17.36. La señal correspondiente al H-8 se observa en δ_{H} 5.76 (da, $J = 6\text{ Hz}$), y el carbono correspondiente resuena en δ_{C} 66.89, que por sus desplazamientos químicos, se trata de la base del éster metacrílico.

La señal doble de doble en δ_{H} 5.13 asignado al protón H-6, bajo el cierre del anillo de la lactona, en el experimento COSY, se observa un acoplamiento entre el H-5 y H-6 con una $J_{5-6} = 9.5\text{ Hz}$ y acoplamiento entre el H-6 y H-7 $J_{6-7} = 9.5\text{ Hz}$, por lo que la geometría del doble enlace es *trans*, por lo que se trata de una germacránólida.

El espectro de RMN ^1H también muestra 4 señales características de un sistema AB (δ_{A} 4.1, δ_{B} 3.89, y una $J_{\text{AB}} = 11.5\text{ Hz}$) correspondiente a los protones de metileno C-14, ambos hidrógenos del metileno acoplan entre sí, según el experimento COSY, y el carbono al cual están unido resuena en δ_{C} 65.93, lo que indica que el C-14 se encuentra como oximetileno.

En el espectro de RMN ^{13}C , se observan señales características a las bases de un epóxico (δ_{C} 66.97, δ_{C} 59.74) asignadas a C1/C-10, ya que en el experimento DEPT el C-10 se encuentra totalmente sustituido.

La estereoquímica en C-8 se estableció tomando como argumento el desplazamiento químico de H-8, que se encuentra desplazado hacia campo bajo y la constante de acoplamiento relativamente pequeña (1.0 Hz) indican que el éster se encuentra con orientación β . El desplazamiento químico del H-8 (δ_{H} 5.76) y del ^{13}C (δ_{C} 66.89) corresponden a estas observaciones.

Hacia campo alto en el espectro de RMN ^1H , se observa un singlete en δ_{H} 1.95 que integra para 3 hidrógenos y corresponde al metilo del grupo acetato; también existe un doblete en δ_{H} 1.89 que se integra para 6 hidrógenos, el cual puede ser asignado al metilo vinílico que se encuentra en la posición 4' del metacrilato y, como ya se mencionó, al metilo que se encuentra en la posición 15. En el experimento COSY se indica acoplamientos entre el metilo en 4' (δ_{H} 1.89) y los hidrógenos vinílicos en 3' en el metacrilato (δ_{H_a} 6.03 y δ_{H_b} 5.63) con $J_{3a'-4} = 1.0\text{ Hz}$ y $J_{3b'-4} = 1.0, 1.5\text{ Hz}$.

En δ_{H} 1.2 se observa un doblete tripleteado correspondiente al H-9 β , que en el experimento COSY hay un acoplamiento con H-9 α presentando una $J_{9\alpha-9\beta} = 15.5\text{ Hz}$,

característico de un sistema AMX. La diferencia entre los desplazamientos químicos de H-9 α y H-9 β (2.05 ppm) es indicativa de la protección diamagnética que ejerce el anillo del epóxido a H-9.

Otros acoplamientos encontrados es entre H-2 α con H-3 α , H-3 β (5.0, 12.5 Hz), y H-1 α (11.5, 12.5 Hz).

La siguiente tabla muestra las características en RMN ^1H y ^{13}C (300 MHz y 75 MHz respectivamente, en CDCl_3), de la esferocefalina.

Hidrógeno	Desplazamiento	Carbono	Desplazamiento
1	2.89 (<i>dd</i> , J= 2.5, 11.5 Hz).	1	66.97
2 α	1.5 (<i>dddd</i> , J= 1.5, 5.0, 12.5 Hz).	2	24.5
2 β	2.21 (<i>dc</i> , J= 2.5, 5.0, 15.0 Hz).	3	35.72
3 α	2.47 (<i>ddd</i> , J= 5.0, 12.5 Hz).	4	145.09
3 β	2.3 (<i>dc</i> , J= 2.5, 5.0, 12.5).	5	124.46
5	5.41 (<i>dc</i> , J= 1.0, 9.5 Hz).	6	74.02
6	5.13 (<i>dd</i> , J= 9.5, 9.5 Hz).	7	53.47
7	2.96 (<i>dddd</i> , J= 1.0, 3.5, 3.5, 9.5 Hz).	8	66.89
8	5.76 (<i>da</i> , J= 6.0 Hz).	9	39.96
9 α	3.25 (<i>dd</i> , J= 6.5, 15.5 Hz).	10	59.74
9 β	1.2 (<i>dt</i> , J=1.5, 2.0, 15.5 Hz).	11	135.961
13a	6.30 (<i>d</i> , J= 0.5, 3.5 Hz).	12	168.99
13b	5.55 (<i>d</i> , J= 3.5 Hz).	13	121.01
14a	4.1 (<i>d</i> , J= 11.5 Hz).	14	65.93
14b	3.89 (<i>d</i> , J= 11.5 Hz).	15	17.36
15	1.89 (<i>d</i> , J= 1.0, 2.5 Hz).	1'	165.52
3a'	6.03 (<i>dd</i> , J= 1.0, 2.0 Hz).	2'	135.161
3b'	5.63 (<i>dd</i> , J= 1.5, 3.0 Hz).	3'	127.04
4'	1.89 (<i>d</i> , J= 1.0, 2.5 Hz).	4'	18.1
OAc	1.95 (s).	1''	170.53
		2''	20.47

Tabla No. 7. Datos de RMN ^1H y ^{13}C (300 MHz y 75 MHz, CDCl_3) de la Esferocefalina.

En el espectro de masas, mediante impacto electrónico, el ion molecular se observa en m/z 390, el cual establece la fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_7$, y el pico base se encuentra en m/z 69. Le siguen en intensidad los picos m/z 43 y m/z 41, corroborando la presencia del éster metacrílico en la esferocefalina.

Finalmente se seleccionaron los cristales más adecuados para realizar un análisis por difracción de rayos X para confirmar la estructura molecular y su estereoquímica. En la figura 5 se muestra el dibujo computarizado derivado del análisis cristalográfico y en la página 52 del presente trabajo se incluyen todos los datos cristalográficos.

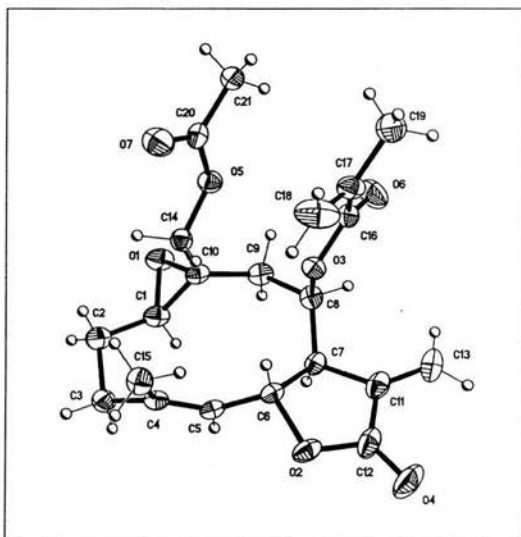
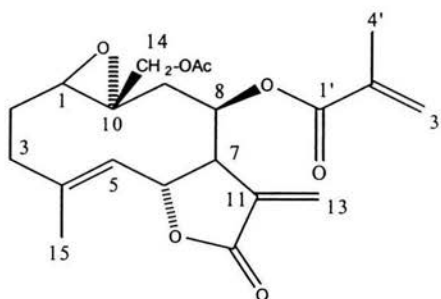


Figura No. 5. Dibujo computarizado del análisis cristalográfico de la esferocefalina.

Estas aseveraciones confirman finalmente la estructura de la esferocefalina, aislada previamente de las flores de la misma especie (*V. sphaerocephala*) [18].



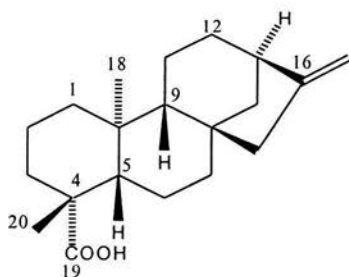
Esferocefalina.

Determinación estructural de los diterpenos.

Ácido *ent*-kaur-16-en-19-oico (1).

De la recromatografía de la fracción B de la columna principal del extracto hexánico de las ramas, se aisló un sólido cristalino bien definido con un punto de fusión de 179-183° C. El espectro de RMN ^1H a 300 MHz muestra señales en δ_{H} 0.95, y 1.24 asignable a los metilos en la posición 18 y 20 respectivamente. Además en δ_{H} 2.05 característica del metileno de la posición 15, hacia campos más bajos se observan dos señales en δ_{H} 4.80 (1H, s) y δ_{H} 4.74 (1H, s) las cuales son asignables a los hidrógenos de un enlace doble exocíclico, el cual se encuentra en la posición 17. También se observa una señal en δ_{H} 2.65 (1H, sa) que es característica del H-13 del esqueleto del kaureno. En lo que respecta al espectro de RMN ^{13}C se observan 20 señales, una de las cuales corresponde a un carbono de carbonilo en δ_{C} 184.57 y dos señales para el doble enlace en δ_{C} 155.8 y δ_{C} 102.99 asignados al C-16 y C-17.

En el espectro de masas por la técnica de impacto electrónico, se observa el ion molecular en m/z 302, el cual sugiere la fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$, lo que proporciona información suficiente para determinar la estructura del ácido *ent*-kaur-16-en-19-oico. La revisión bibliográfica [90. 92] permitió confirmar su identidad. Esta sustancia se ha aislado de numerosas especies de *Viguiera* (*cordifolia*, *stenoloba* var. *Chihuahuense*, *grammatoglossa*, *bishopii*, *procumbens*, *dentata*, *lanceolata*, *incana*, *insignis*, *maculata*, *excelsa*, *cordata*, *linearis*, *porteri*, *dentata*, *potosina*, *linearifolia*, *trichophylla*, *aspiloides*, *hypargyrea*, y ahora en *V. sphaerocephala*).

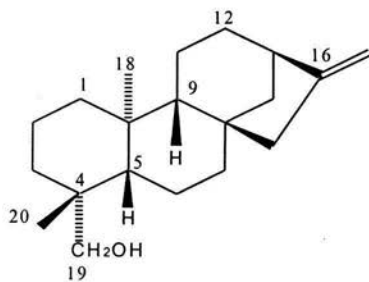


Ácido *ent*-kaur-16-en-19-oico

Ent-Kaur-16-en-19-ol (Kaurenol) (3).

De la recromatografía de las fracciones D y E de la columna principal del extracto hexánico de las ramas se obtuvieron cristales blancos con un punto de fusión de 138-140° C y que por sus características espectroscópicas se identificó como *ent*-Kaur-16-en-19-ol.

En el espectro de RMN ^1H (300 MHz), se observan señales características de los metilos con δ_{H} 0.96 (3H, s) y δ_{H} 1.00 (3H, s) que se encuentran en las posiciones 18 y 20, mientras que también se observa la señal característica del H-13 (1H, sa) del kaureno en δ_{H} 2.64. Además, en δ_{H} 3.77 y δ_{H} 3.45 (1H, dd, $J = 11, 11$ Hz), se observa un sistema AB correspondiente a los hidrógenos del metileno de la posición 19, que por su desplazamiento químico indica que está unido a oxígeno. Finalmente las señales encontradas hacia campo bajo δ_{H} 4.79 (1 H, sa) y δ_{H} 4.73 (1H, sa), corresponden a los hidrógenos del metileno vinílico exocíclico de la posición 17 de la molécula. Este compuesto ha sido previamente informado en la literatura [91, 92]. Es la primera ocasión que se aísla este compuesto en *V. sphaerocephala*.



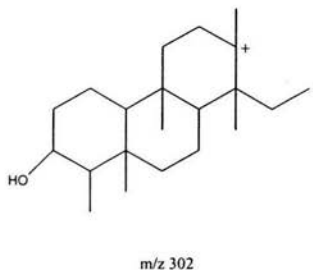
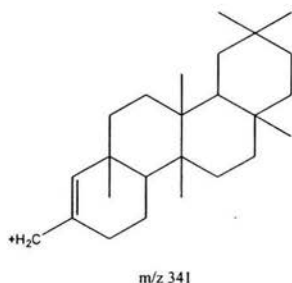
ent-kaur-16-en-19-ol.

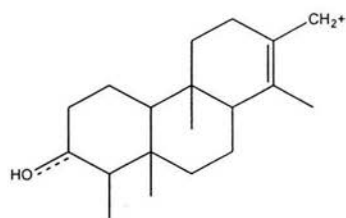
Determinación estructural del Triterpeno.

3 β -Hidroxi-D:A Friedo-oleanano (Friedelan-3 β -ol) (2).

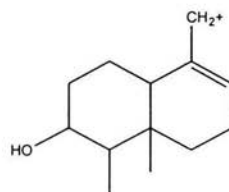
De la fracción C de la columna principal del extracto hexánico de ramas se aislaron cristales blancos con punto de fusión de 275-279° C, cuyas características que a continuación se discuten son características de un triterpeno. En RMN ^1H a 300 MHz se observa una señal doble de doble con $J = 2.1, 4.2$ Hz en la zona comprendida en δ_{H} 3.75 que corresponde al hidrógeno del metilo unido a oxígeno debido a su desplazamiento se encuentra en la posición 3 del esqueleto del friedelano, esta propuesta se confirma con RMN ^{13}C por su δ_{C} en 72.77 característico de C-3 unido a oxígeno. Las señales que se encuentran hacia campo alto son señales características de metilos con δ_{H} 1.18 (3H, s) y δ_{H} 1.02 (3H, s), además de δ_{H} 1.00 (6H, sa, $2 \times \text{CH}_3$), δ_{H} 0.98 (3H, sa, CH_3), δ_{H} 0.96 (6H, sa, $2 \times \text{CH}_3$), δ_{H} 0.87 (3H, s, CH_3), y que en total se tienen 8 metilos y los cuales se presenta el esqueleto del friedelano, esto se confirma en el experimento DEPT, en donde se observan señales correspondiente a los 8 metilos y que se encuentran en δ_{C} 11.61 (C-23), δ_{C} 16.38 (C-24), δ_{C} 18.23 (C-25), δ_{C} 18.65 (C-26), δ_{C} 20.11 (C-27), δ_{C} 31.78 (C-28), δ_{C} 35.32 (C-29), δ_{C} 32.07 (C-30).

En el espectro de masas por el método de bombardeo rápido de átomos se observan señales características de este tipo de esqueleto, el ion molecular se encuentra en m/z 427, y también se encuentran fragmentos en m/z 411 que es producto de la pérdida de un grupo metilo en el friedelan-3 β -ol. Otros fragmentos se encuentran en m/z 341, m/z 302, m/z 273, m/z 205. A continuación se indican las estructuras de las principales fragmentaciones del friedelan-3 β -ol.



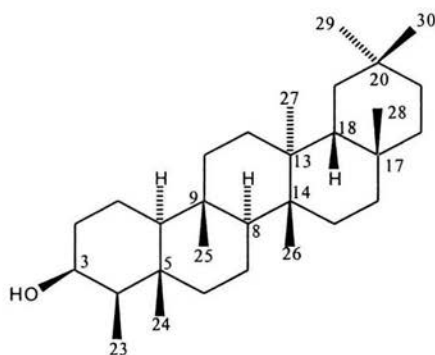


m/z 273



m/z 205

La comparación de los datos físicos y espectroscópicos del producto natural con los informados en la literatura [93, 94] permitió confirmar su identidad, como friedelan-3 β -ol (2).



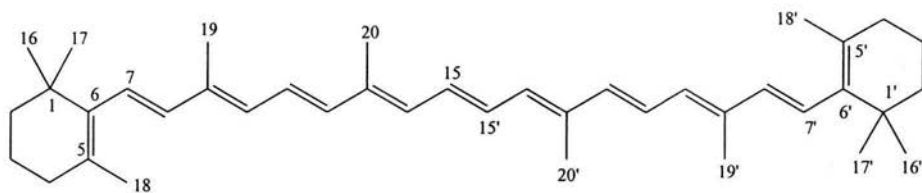
Friedelan-3 β -ol.

Determinación estructural del Caroteno.

β , β -Caroteno (5).

De la fracción D de la cromatografía de la columna principal del extracto de diclorometano-metanol de hojas, se obtuvieron cristales de color anaranjado oscuro, según análisis por CCF comparada con una muestra auténtica disponible en el laboratorio y del análisis espectroscópico de RMN ^1H a 300 MHz se determina que el compuesto aislado es el β , β -caroteno.

En el espectro de RMN ^1H a 300 MHz se observa hacia campos bajos varias señales multipletes comprendidas entre δ_{H} 6.13 a 6.7 que son características de los 14 hidrógenos olefínicos del β , β -caroteno, mientras que las señales encontradas a campo alto δ_{H} 1.98, δ_{H} 1.72 δ_{H} 1.03, corresponden a los 10 metilos presentes en el caroteno. La comparación de estos datos con los datos reportados en la literatura [95], confirma la estructura del β , β -caroteno.



β , β -caroteno

Del análisis por CCF realizado a los extractos orgánicos y a los metabolitos secundarios obtenidos de *Viguiera sphaerocephala* podemos establecer que:

- ✓ El ácido *ent*-Kaur-16-en-19-oico, y el *ent*-Kaur-16-en-19-ol pueden estar presentes en los extractos CH₂Cl₂-MeOH (1:1) de ramas, hexánico de hojas, hexánico de flores, CH₂Cl₂-MeOH (1:1) de flores.
- ✓ El friedelan-3β-ol, puede estar presente en el extracto hexánico de flores.
- ✓ No es evidente que la esferocefalina se encuentre en alguno de los extratos obtenidos de las diferentes partes de la planta. Es probable que se encuentre presente en el extracto metanólico de flores ya que un estudio previo [18] así lo indica.
- ✓ El extracto que indica una mayor cantidad de compuestos es el hexánico de flores
- ✓ En este estudio se aislaron y caracterizaron químicamente los principales metabolitos secundarios de este vegetal.

CONCLUSIONES.

Como resultado del presente estudio y como una contribución al conocimiento de los constituyentes de la flora de nuestro país se llevó a cabo el estudio químico de las partes aéreas de *Viguiera sphaerocephala*.

Los estudios químicos permitieron el aislamiento del ácido-*ent*-kaur-16-en-19-oico (1), el friedelan-3 β -ol (2), el *ent*-kaur-16-en-19-ol (3), el β -sitosterol (4), el β - β -caroteno (5) y la esferocefalina (6). El ácido-*ent*-kaur-16-en-19-oico se ha aislado en numerosas especies de *Viguiera* y este caso no ha sido la excepción. El friedelan-3 β -ol, anteriormente ya se había reportado en *Viguiera decurrens* y en *V. hypargyrea*, aunque no son comunes los triterpenos en *Viguiera*. Por otro lado es la primera ocasión que se aísla el *ent*-kaur-16-en-19-ol de *Viguiera* a pesar de que los diterpenos policíclicos de tipo *ent*-kaurano son ubicuos en este grupo de plantas. La esferocefalina ya se había reportado en *Viguiera sphaerocephala* [18] y se obtiene de nuevo en este estudio.

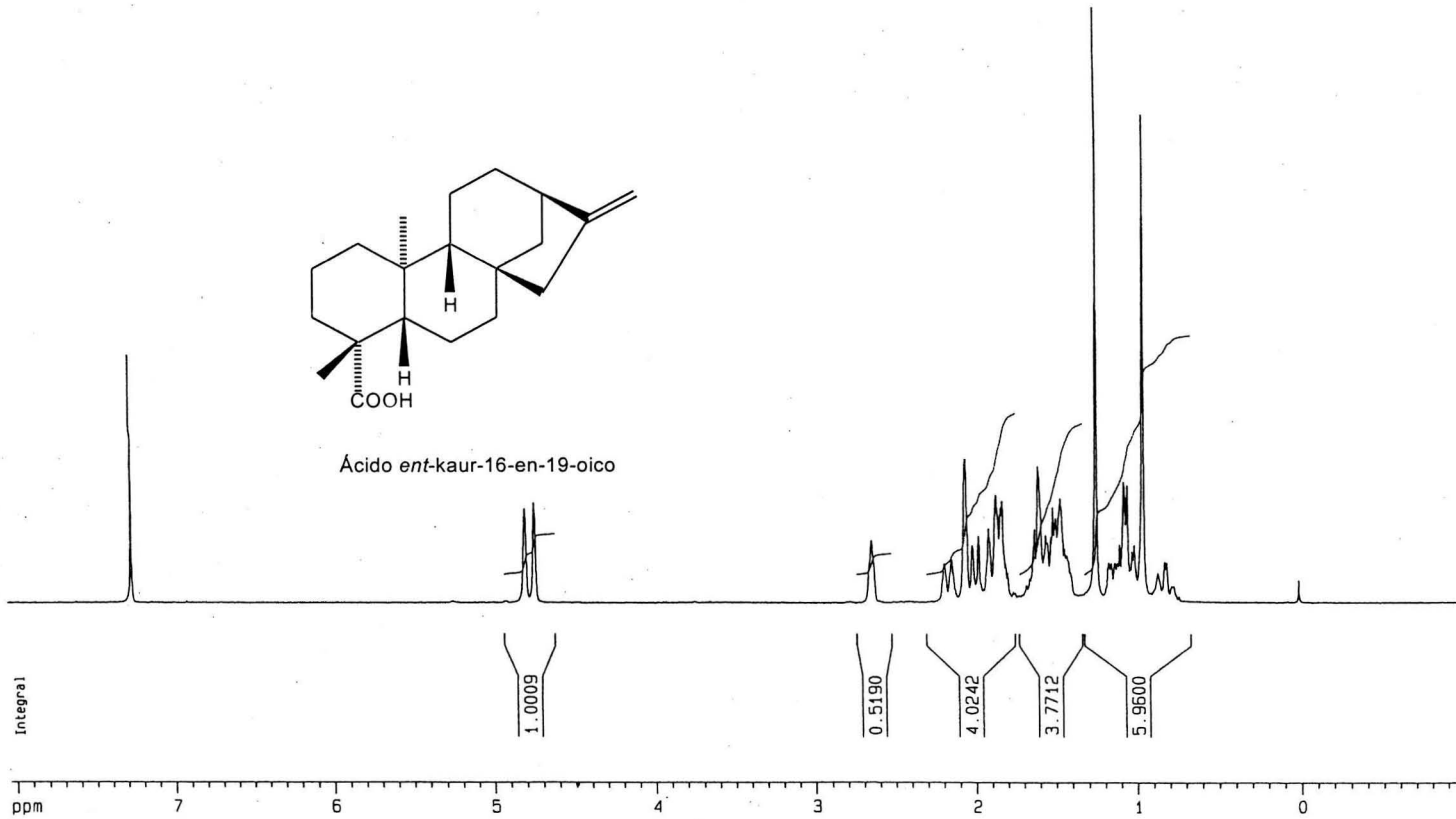
Es importante notar que en el estudio químico previo a esta especie [18] se aisló la erioflorina, que es una lactona sesquiterpénica del grupo de las germacrólidas. La variación en la composición química en plantas puede atribuirse a numerosos factores, entre los que se pueden mencionar la variación geográfica, las variaciones edáficas, el entorno ecológico, así como factores ontogénicos

El análisis de CCF a los extractos orgánicos obtenidos a partir de las partes aéreas de *Viguiera sphaerocephala*, indican que los diterpenos policíclicos son los metabolitos secundarios más abundantes en la planta.

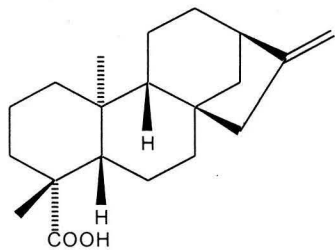
Es ahora reconocido que todas estas variables influyen en la activación de las rutas biogénicas que producen los metabolitos secundarios.

Finalmente este trabajo contribuye al conocimiento de los constituyentes químicos de la especie *Viguiera sphaerocephala*.

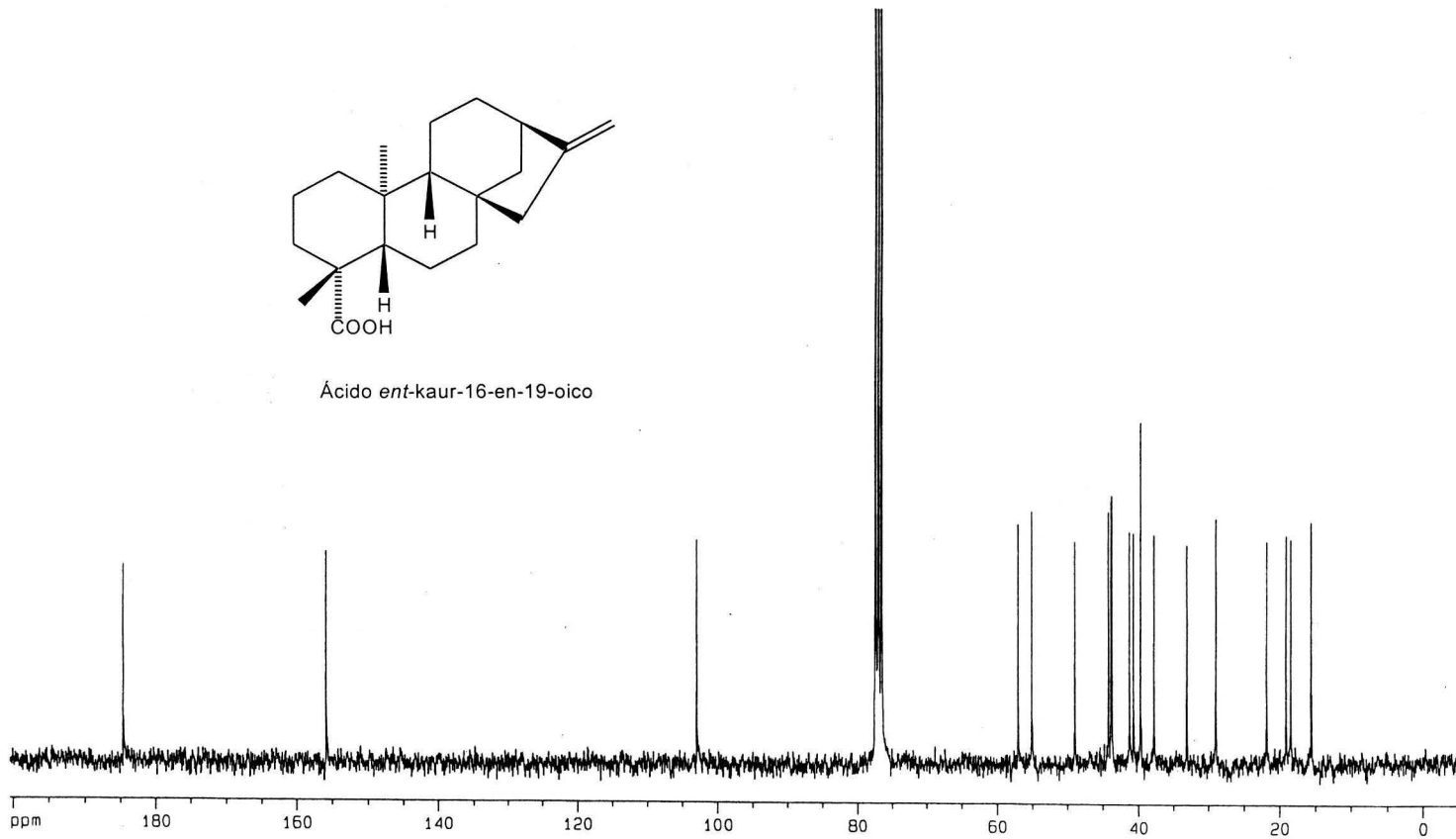
ESPECTROS.



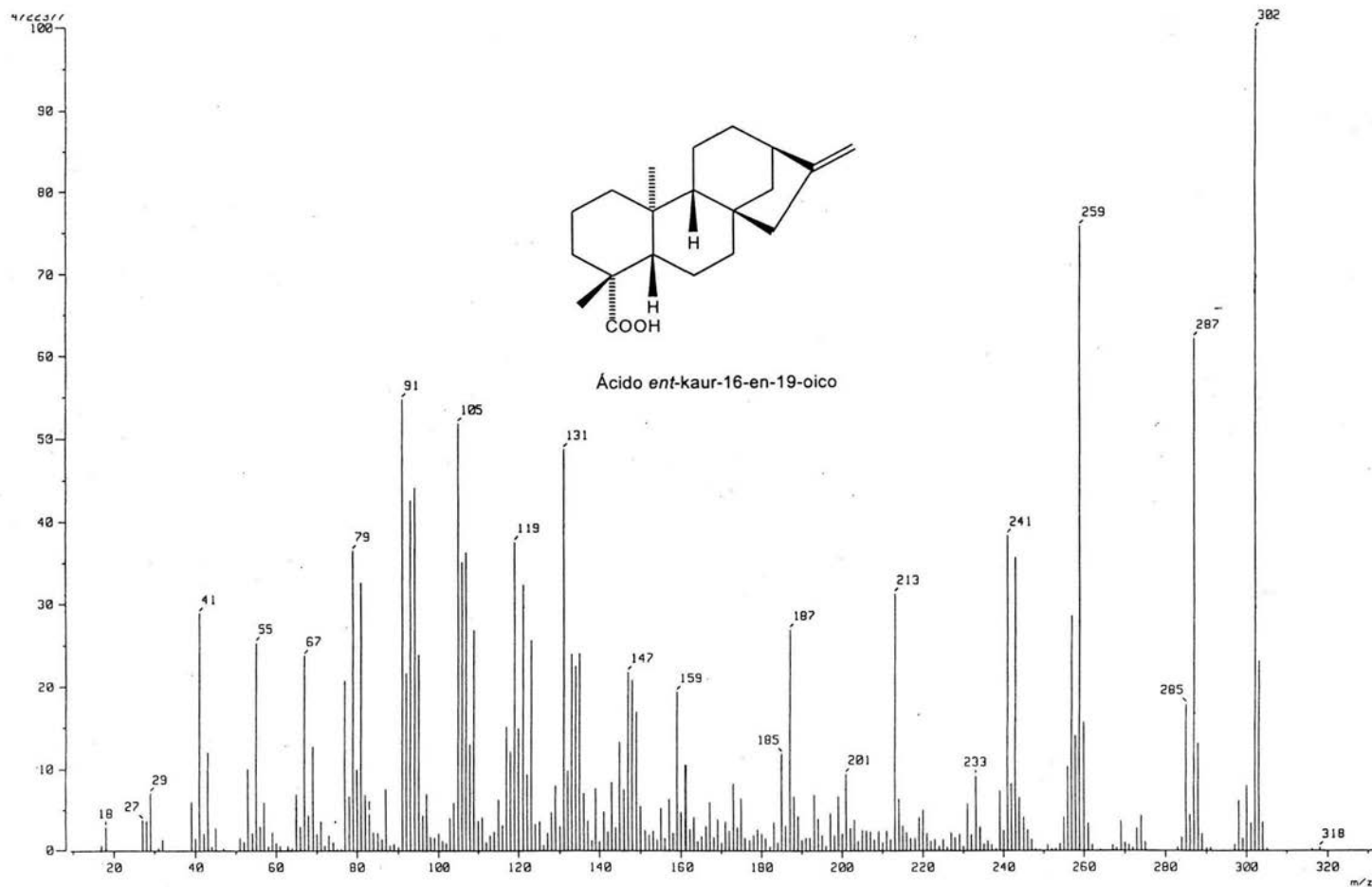
Espectro 1. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) del ácido *ent*-kaur-16-en-19-oico.



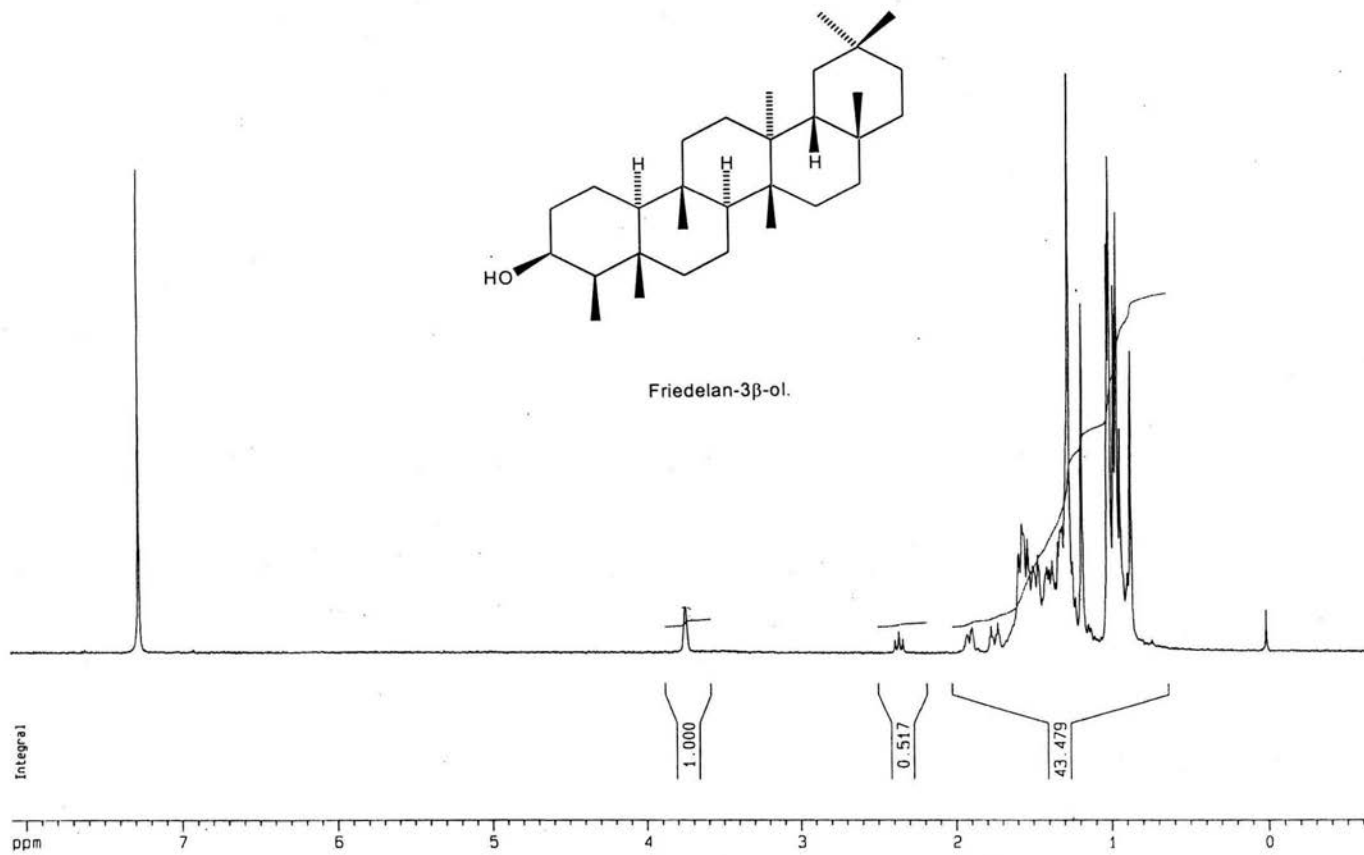
Ácido *ent*-kaur-16-en-19-oico



Espectro 2. RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) del ácido *ent*-kaur-16-en-19-oico (1).



Espectro 3. EMIE 70 eV del ácido *ent*-kaur-16-en-19-oico (1).



Espectro 4. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) del friedelan-3β-ol (2).

ppm

24.6547

22.6939

20.1116

18.8595

18.7353

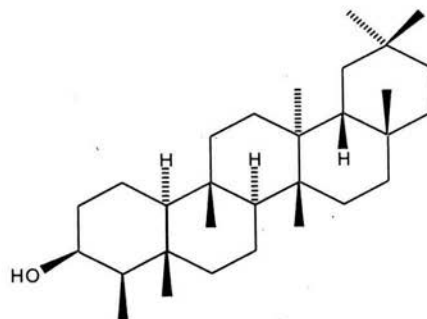
17.9275

16.7196

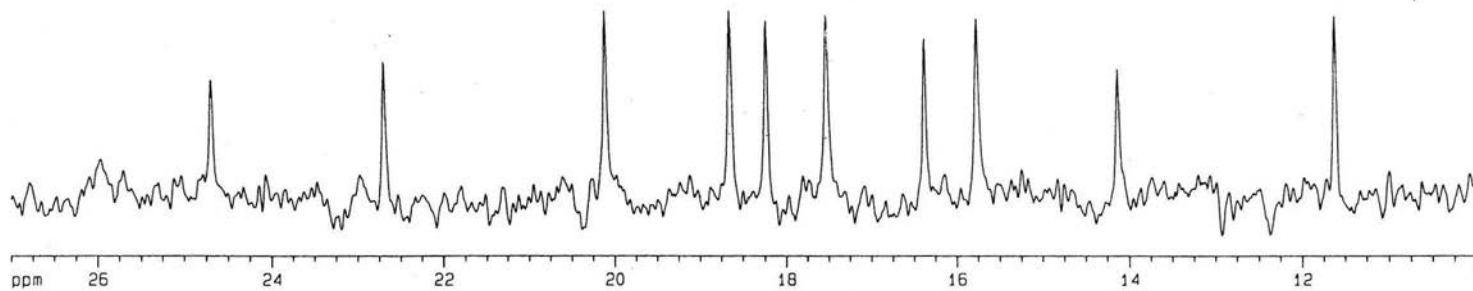
15.7665

14.1283

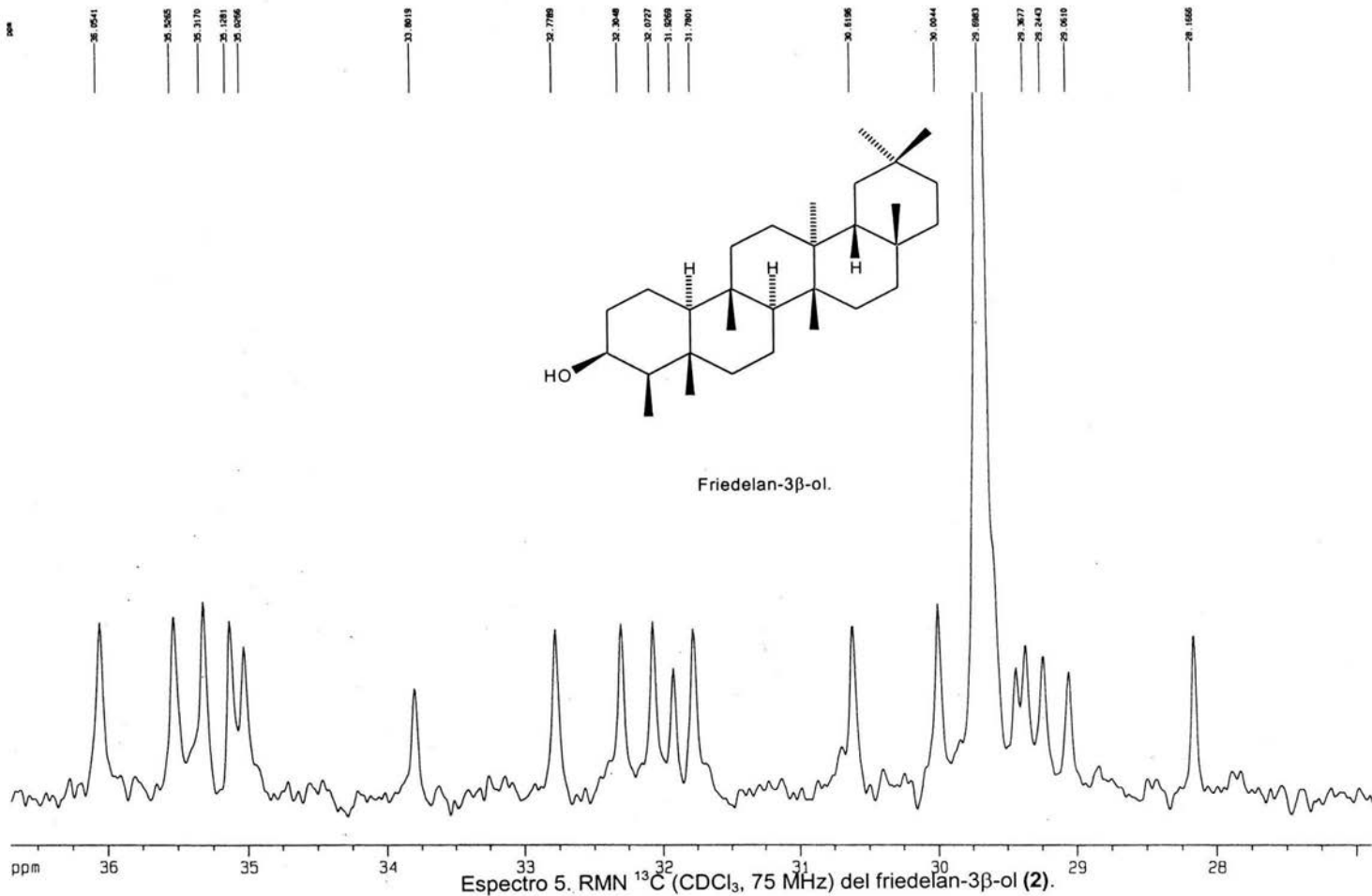
11.6188



Friedelan-3β-ol.



Espectro 5. RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) del friedelan-3β-ol (2).



ppm
72.7177

61.3074

51.1698

49.1298

42.7113

41.6897

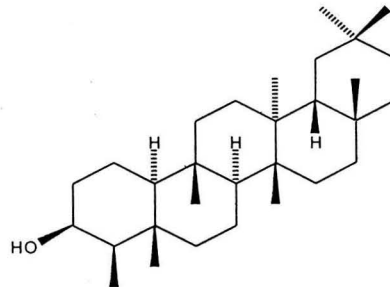
39.8528

38.4448

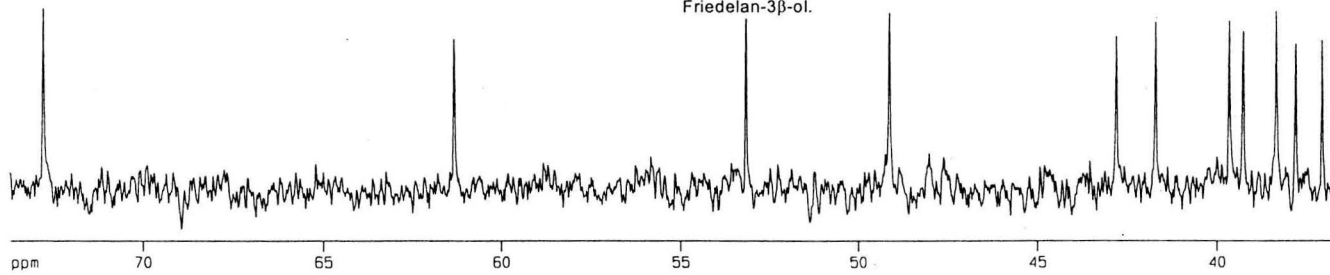
38.3448

37.8528

37.0728

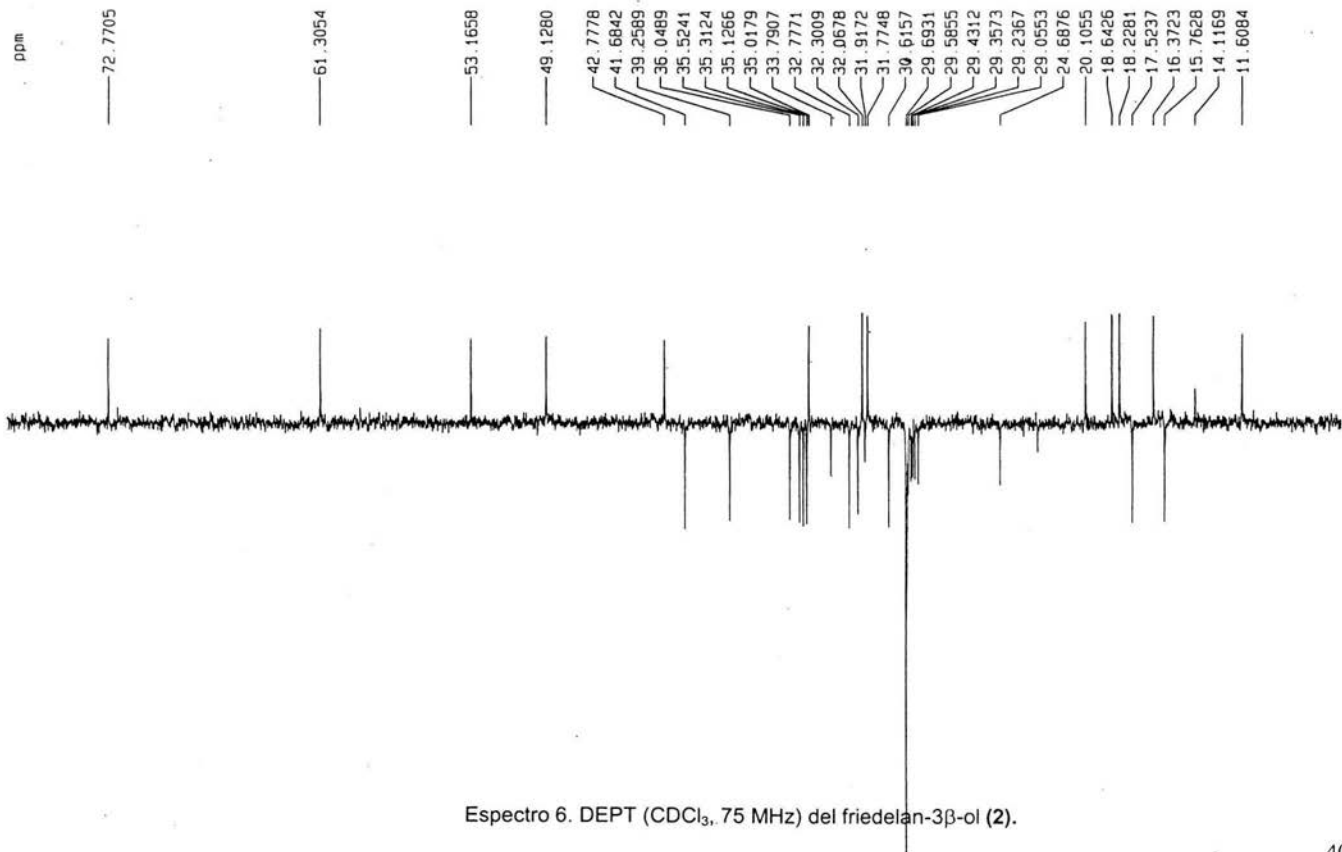


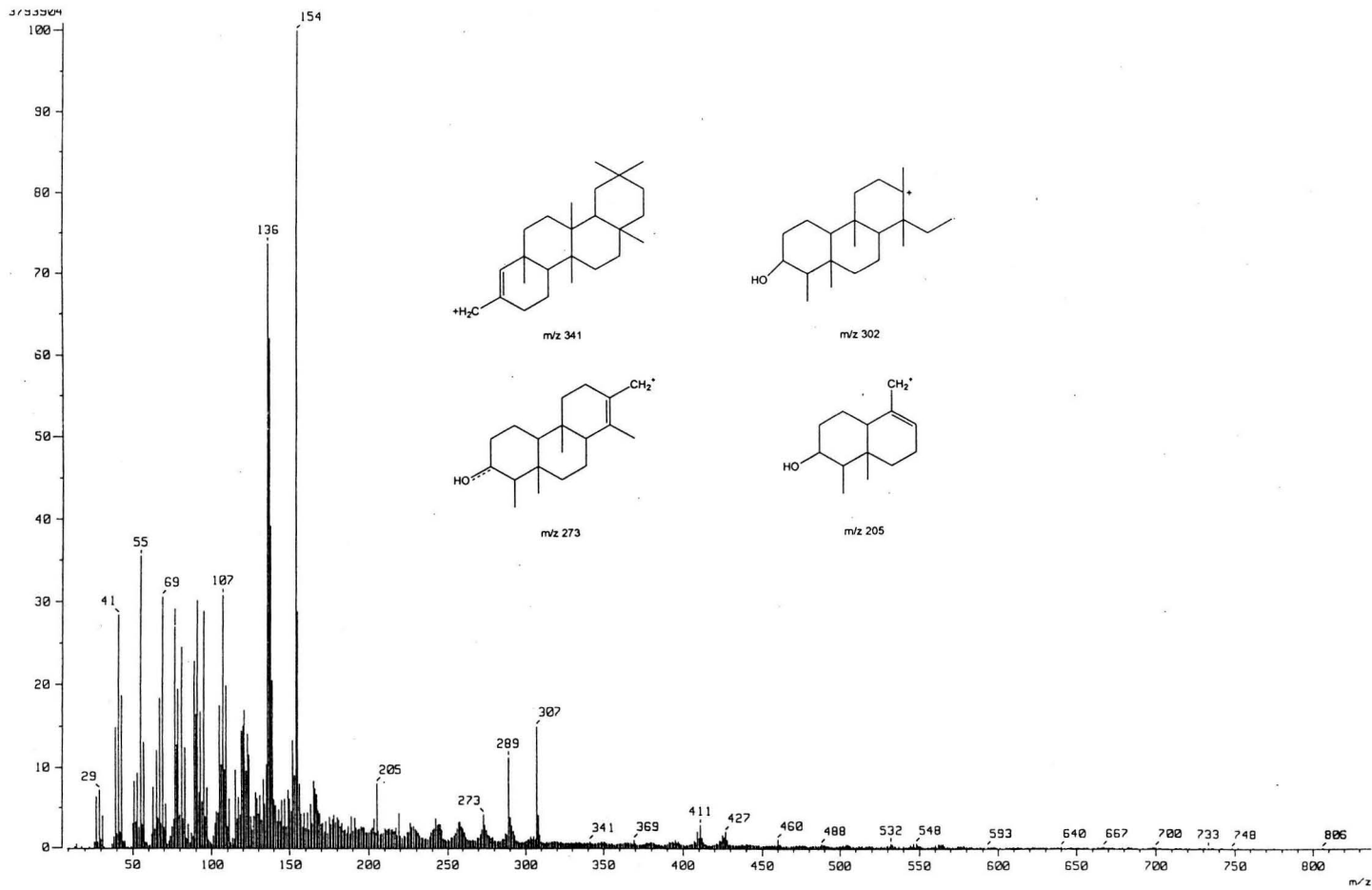
Friedelan-3 β -ol.



Espectro 5. RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) del friedelan-3 β -ol (2).

Instituto de Quimica UNAM IDr
Dr. G. Delgado/Hector Fernandez
Clave: 7
disolvente: CDCl₃
Bruker avance300 75 MHz (4)
date
06-03-03

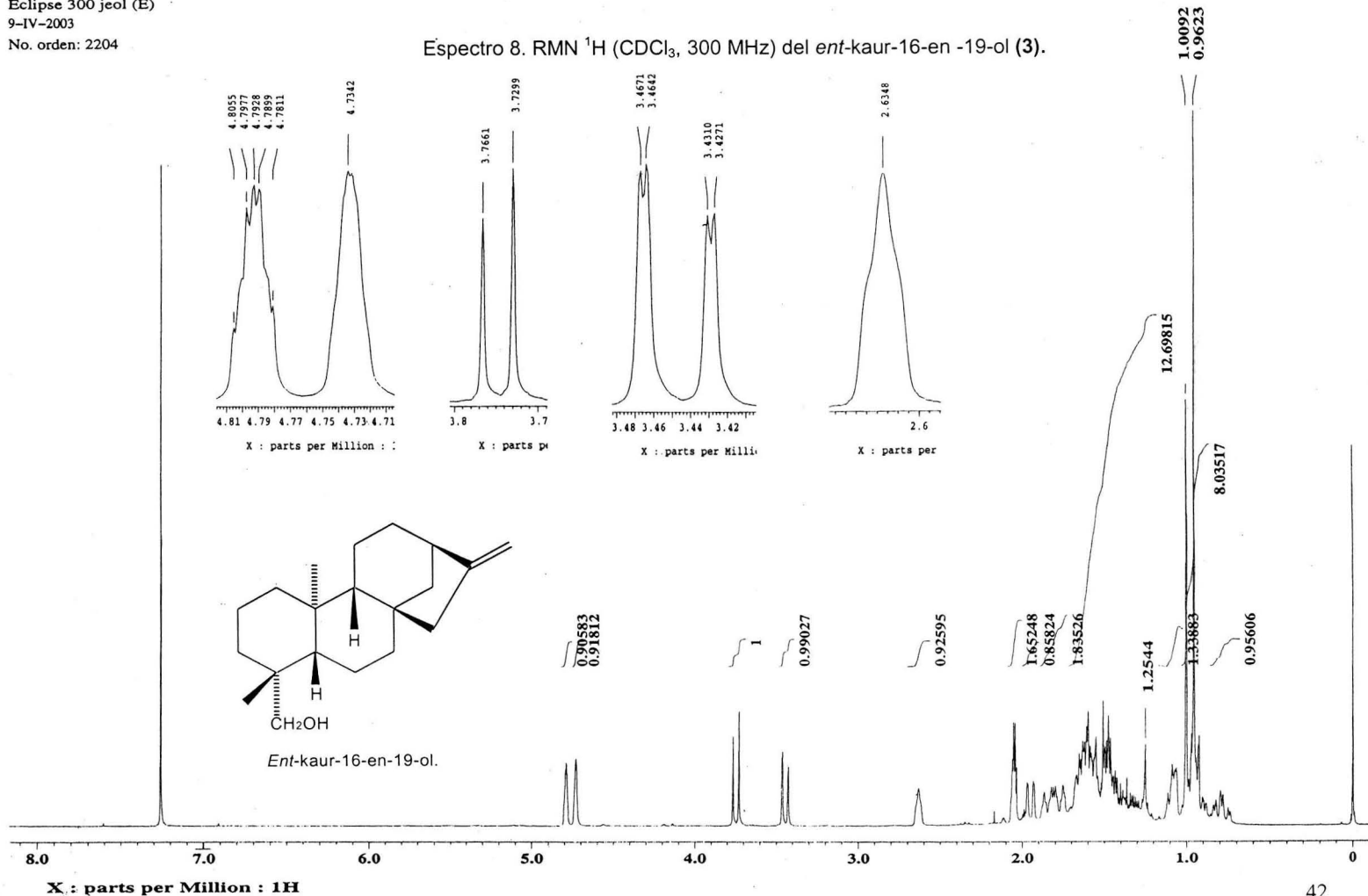




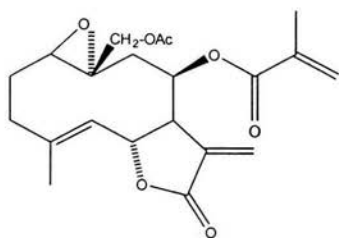
Espectro 7. FAB⁺ del friedelan-3β-ol (2).

Hidrogeno-1
Eclipse 300 jeol (E)
9-IV-2003
No. orden: 2204

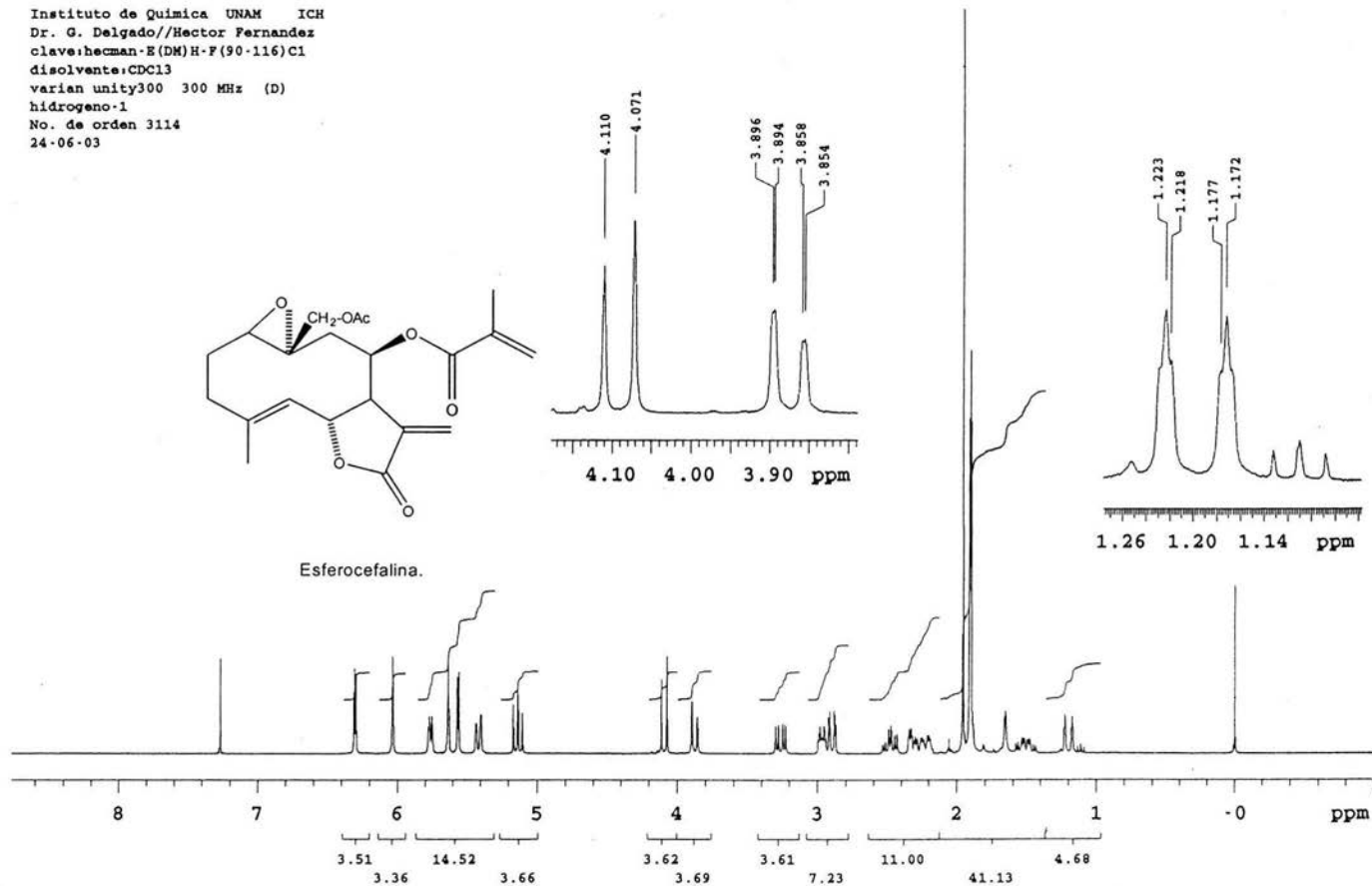
Espectro 8. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) del *ent*-kaur-16-en-19-ol (3).



Instituto de Química UNAM ICH
 Dr. G. Delgado/Hector Fernandez
 clave:hecman-E(DM)H-F(90-116)C1
 disolvente:CDCl3
 varian unity300 300 MHz (D)
 hidrogeno-1
 No. de orden 3114
 24-06-03

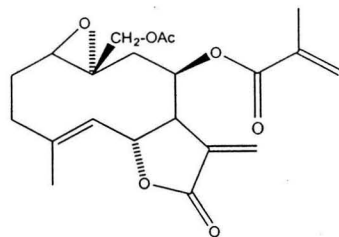


Eferocefalina.

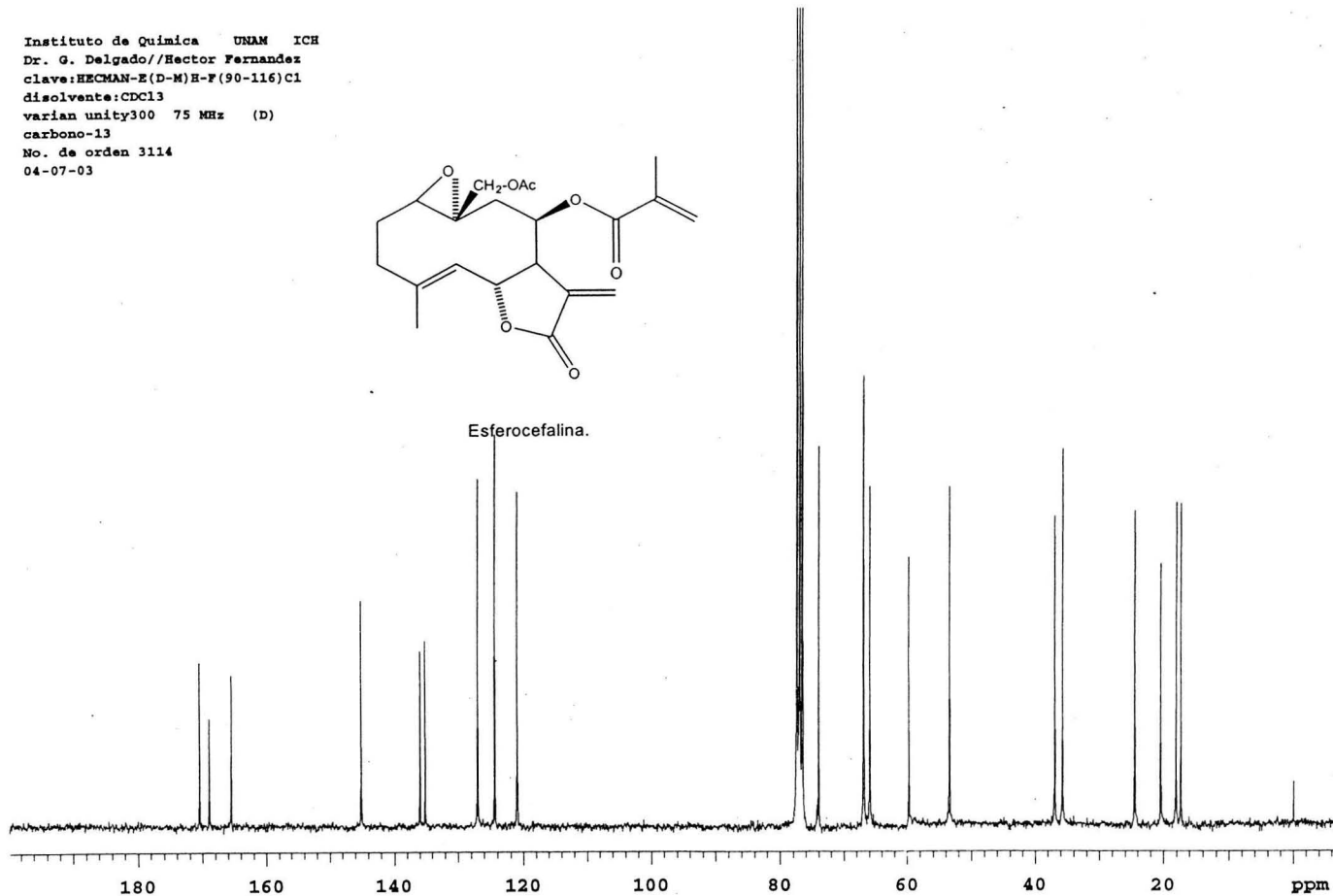


Espectro 10. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de la esferocefalina (6).

Instituto de Quimica UNAM ICH
Dr. G. Delgado/Hector Fernandez
clave:HECMAN-E(D-M)E-F(90-116)C1
disolvente:CDCl3
varian unity300 75 MHz (D)
carbono-13
No. de orden 3114
04-07-03

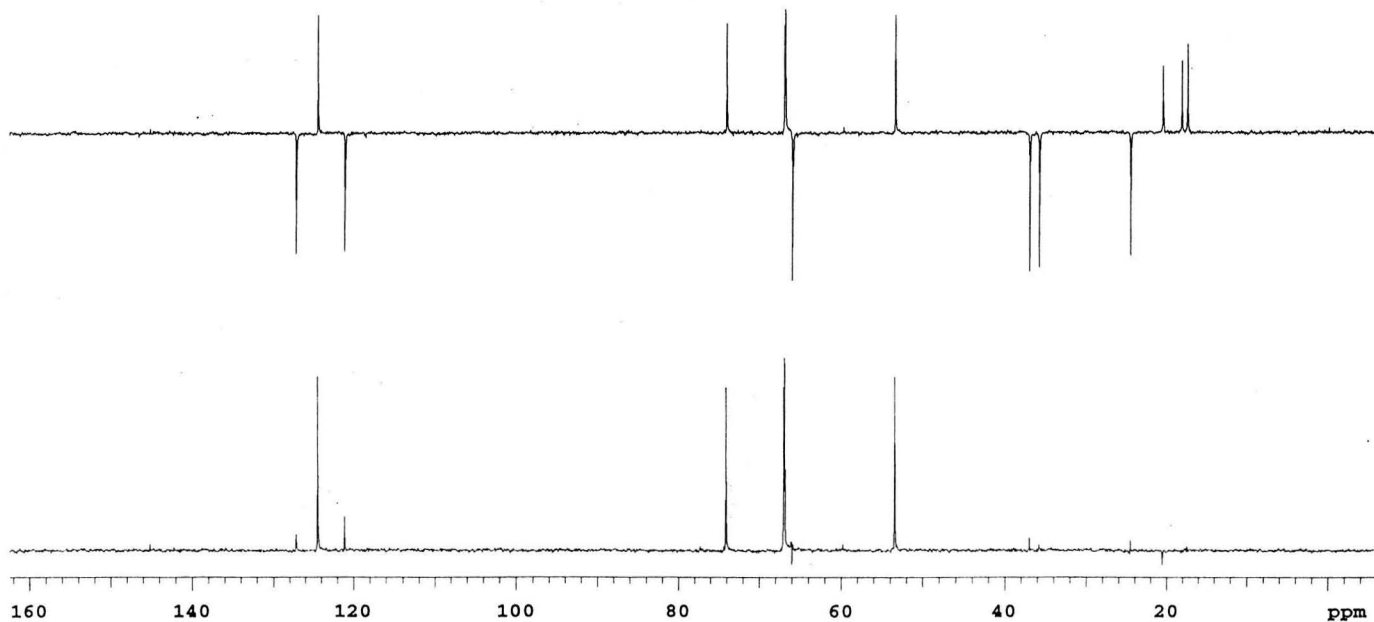


Eferocefalina.



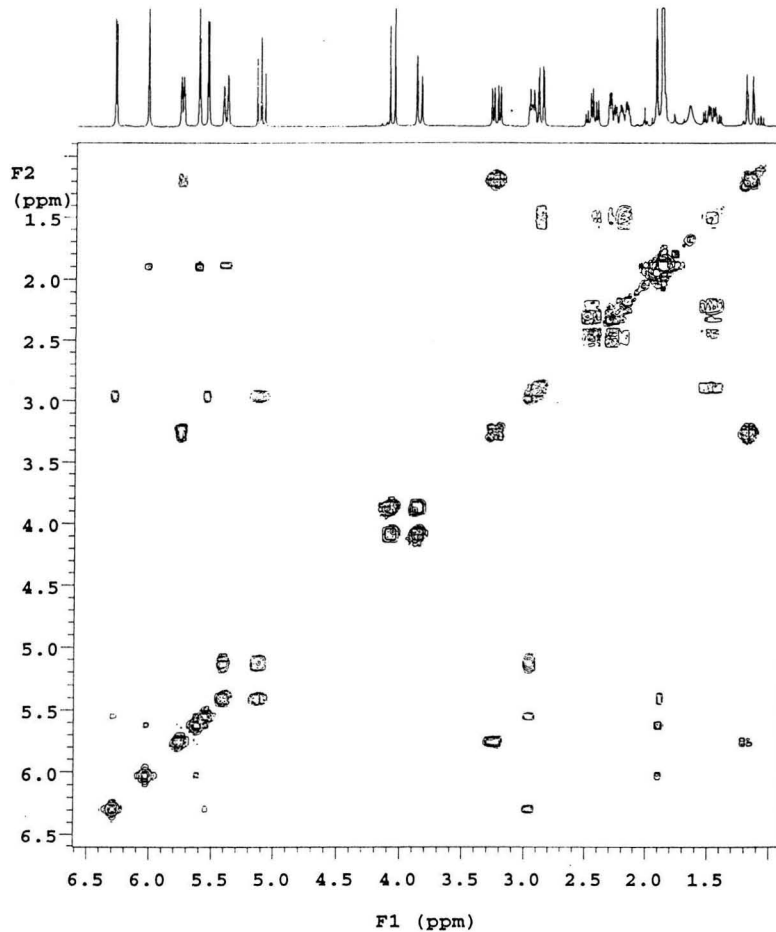
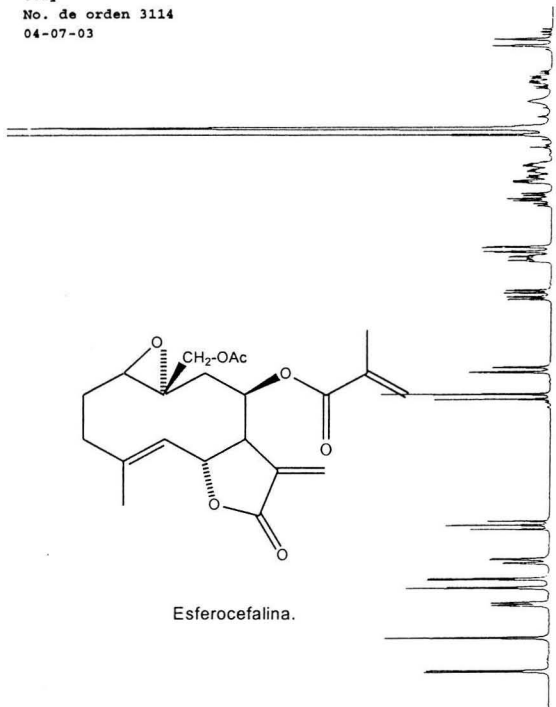
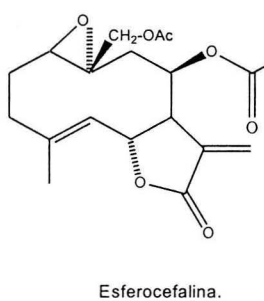
Espectro 11. RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de la esferocefalina (6).

Instituto de Química UNAM ICH
Dr. G. Delgado//Hector Fernandez
clave:HECMAN-E(D-M)H-F(90-116)C1
disolvente:CDCl3
varian unity300 75 MHz (D)
dept
No. de orden 3114
04-07-03



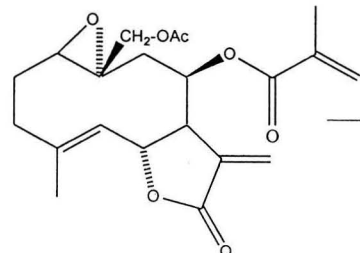
Espectro 12. DEPT (CDCl₃, 75 MHz) de la Esferocefalina (6).

Instituto de Química UNAM ICH
 Dr. G. Delgado/Hector Fernandez
 clave:HECMAN-E(D-M)H-F(90-116)C1
 disolvente:CDCl3
 varian unity300 300 MHz (D)
 cosy
 No. de orden 3114
 04-07-03

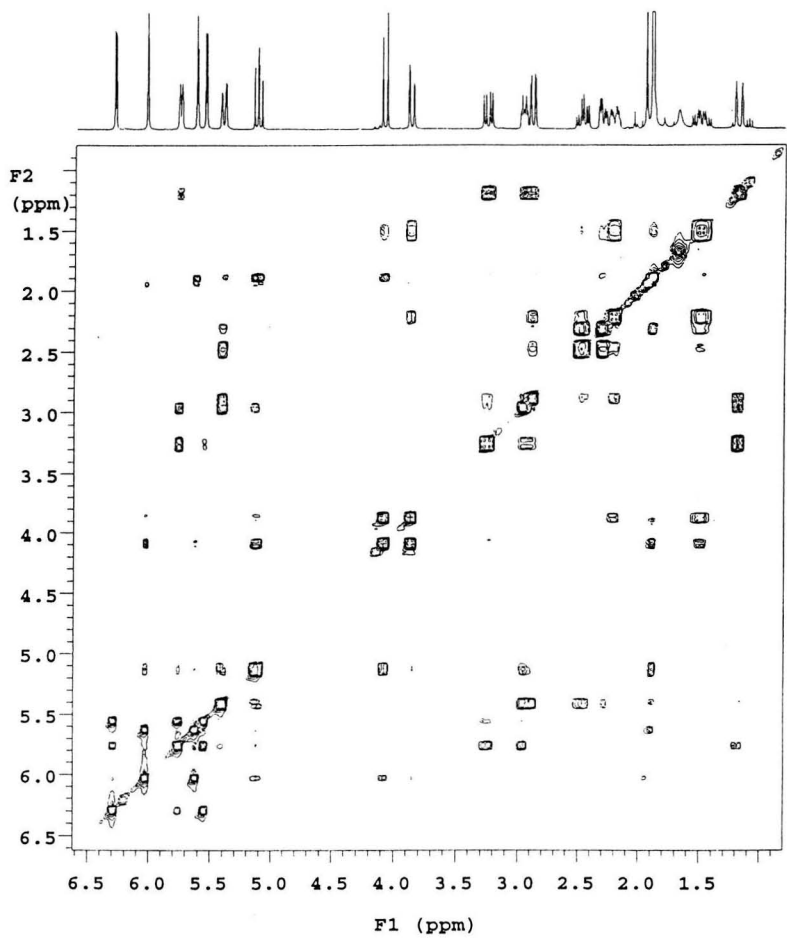
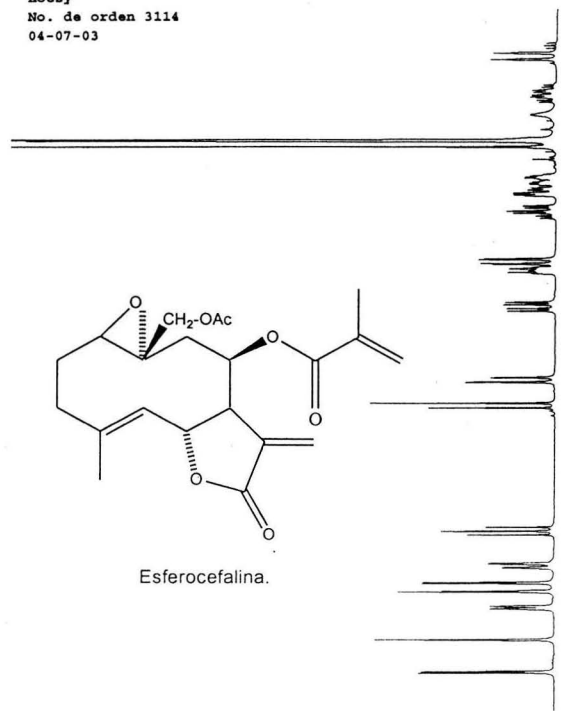


Espectro 13. COSY (CDCl₃, 300 MHz) de la esferocefalina (6).

Instituto de Química UNAM ICH
 Dr. G. Delgado//Hector Fernandez
 clave:HECMAN-E(D-M)E-F(90-116)C1
 disolvente:CDCl3
 varian unity300 300 MHz (D)
 noesy
 No. de orden 3114
 04-07-03

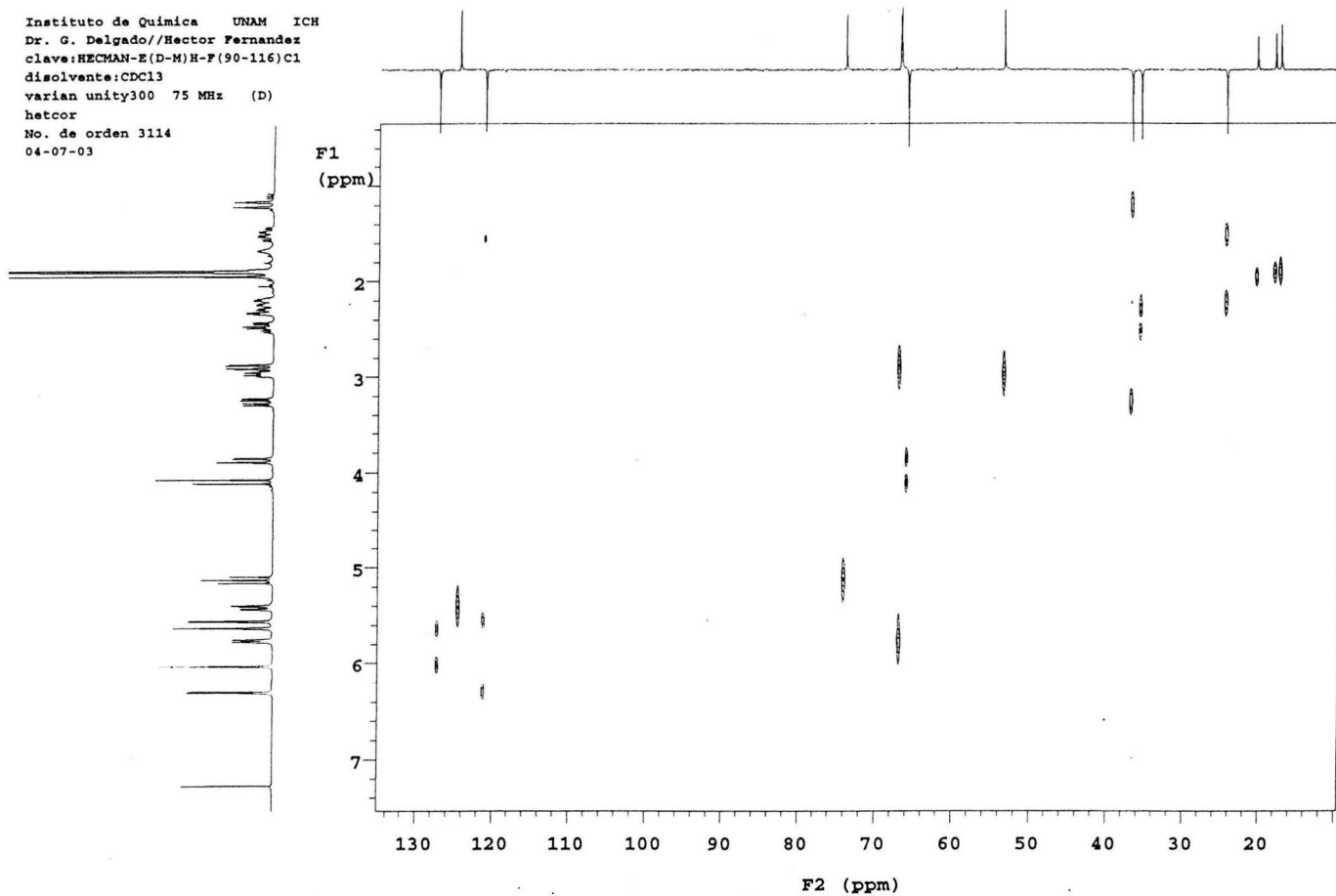


Esferocefalina.



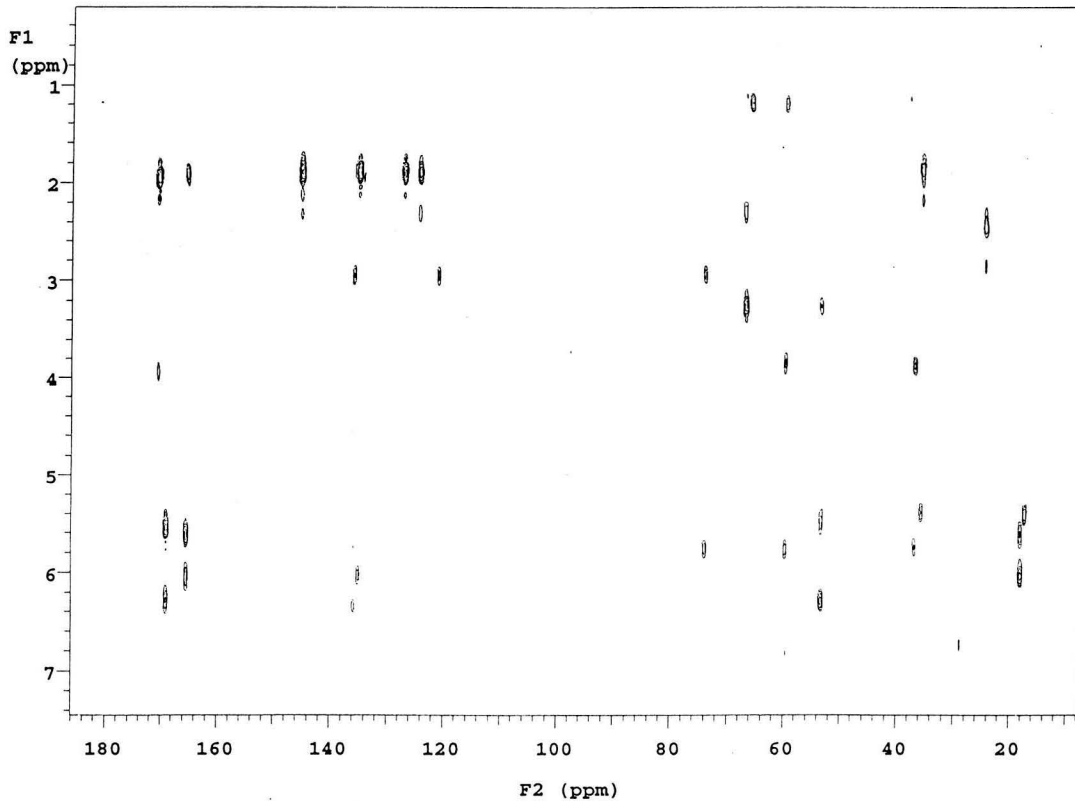
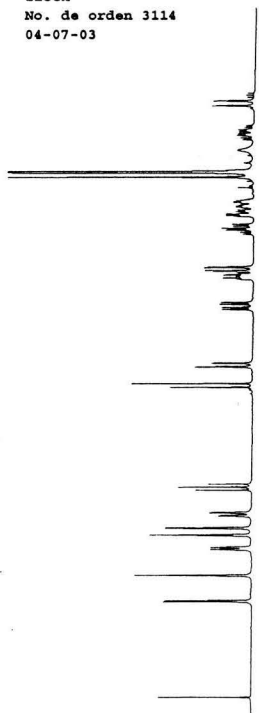
Espectro 14. NOESY (CDCl₃, 300 MHz) de la Esferocefalina (6).

Instituto de Química UNAM ICH
Dr. G. Delgado//Hector Fernandez
clave:HECMAN-E(D-M)H-F(90-116)C1
disolvente:CDCl3
varian unity300 75 MHz (D)
hetcor
No. de orden 3114
04-07-03



Espectro 15. HETCOR (CDCl₃, 300 MHz) de la esferocefalina (6).

Instituto de Quimica UNAM ICH
Dr. G. Delgado/Hector Fernandez
clave:HECMAN-E(D-M)H-F(90-116)C1
disolvente:CDCl3
varian unity300 75 MHz (D)
flock
No. de orden 3114
04-07-03



Espectro 16. FLOCK (CDCl₃, 300 MHz) de la Eserocefalina (6).

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Delgado-Guillermo-077 Date : 16-Jul-103 13:40

Sample: 160703-07 Hecman E-D-M-H-F-CIF90-116 AX505

Note : Javier Perez

Inlet : Direct

Ion Mode : FAB+

Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

RT : 0.99 min

Scan# : (2,8)

Temp : 27.1 deg.C

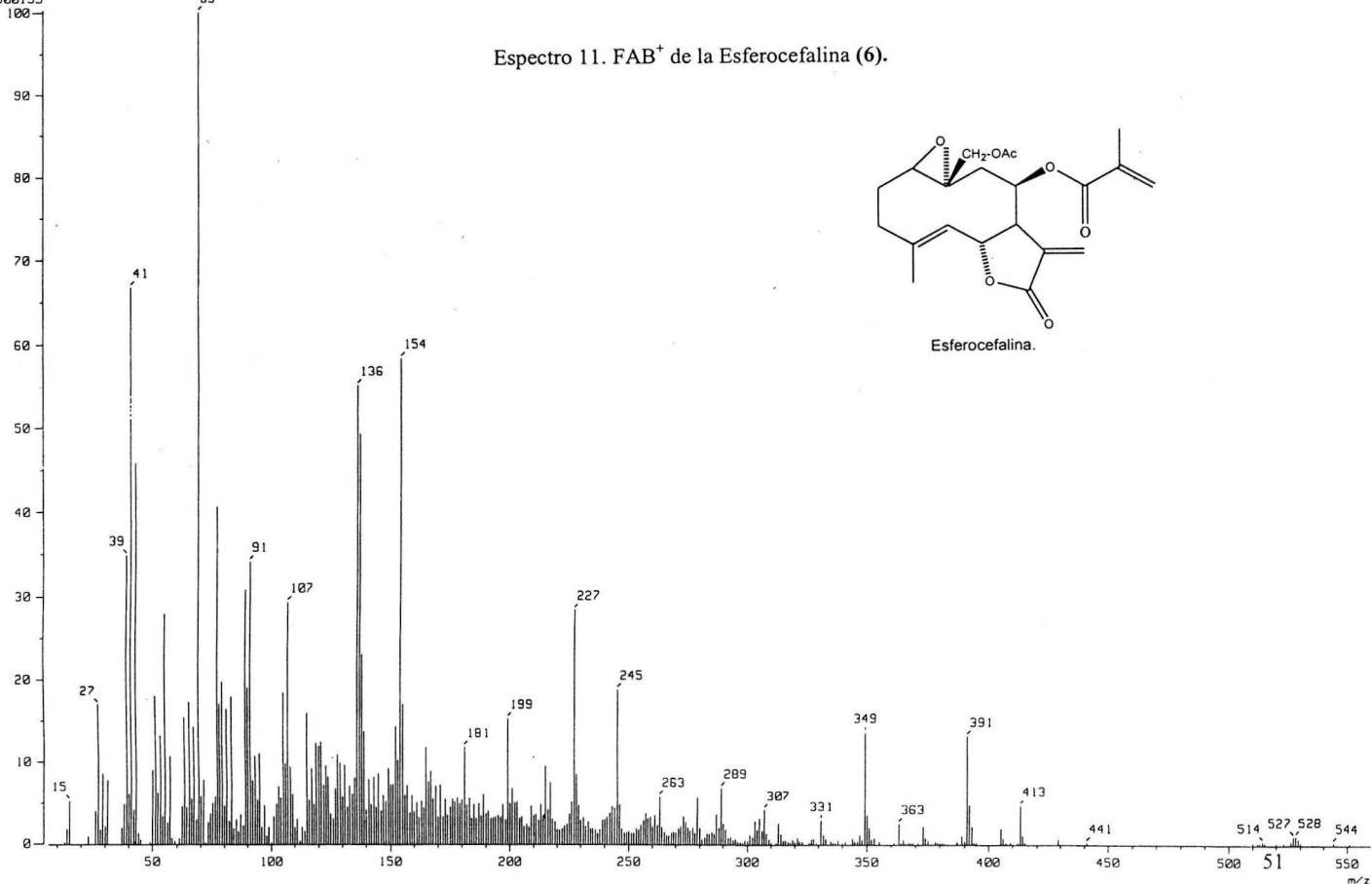
BP : m/z 69.0000

Int. : 47.56

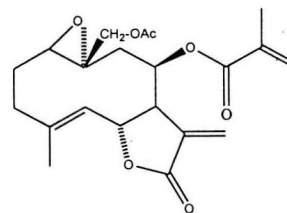
Output m/z range : 6.5791 to 559.9453

Cut Level : 0.00 %

500155



Espectro 11. FAB⁺ de la Esferocefalina (6).



Esferocefalina.

Table 1. Crystal data and structure refinement for **Esferocefalina**.

Identification code	054DLG04 (Solved by: R. A. Toscano)	
Project Title	Esferocefalina	
Empirical formula	C ₂₁ H ₂₆ O ₇	
Formula weight	390.42	
Temperature	293(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	P 2 ₁	
Unit cell dimensions	a = 7.383(1) Å	α = 90°
	b = 9.582(1) Å	β = 102.598(2)°
	c = 15.183(2) Å	γ = 90°
Volume	1048.2(2) Å ³	
Z	2	
Density (calculated)	1.237 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.093 mm ⁻¹	
F(000)	416	
Crystal size / colour / shape	0.322 x 0.238 x 0.196 mm / colorless / prism	
Theta range for data collection	1.37 to 30.59°	
Index ranges	-10 ≤ h ≤ 10, -13 ≤ k ≤ 13, -21 ≤ l ≤ 20	
Reflections collected	12869	
Independent reflections	6413 [R(int) = 0.0566]	
Completeness to theta = 30.59°	99.6 %	
Measurement device	Bruker Smart Apex CCD diffractometer	
Absorption correction	Analytical: face-indexed	
Max. and min. transmission	0.9858 and 0.9736	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	6413 / 1 / 256	
Goodness-of-fit on F ²	1.018	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0545, wR2 = 0.0936	
R indices (all data)	R1 = 0.1509, wR2 = 0.1394	
Absolute structure parameter	-0.6(14)	
Largest diff. peak and hole	0.207 and -0.150 e.Å ⁻³	

Table 2. Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for *Eserocefalina*. $U(\text{eq})$ is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor.

	x	y	z	$U(\text{eq})$
O(1)	5437(3)	8734(3)	8425(2)	79(1)
O(2)	-2182(3)	11850(2)	8302(2)	77(1)
O(3)	-517(3)	8866(2)	6867(1)	59(1)
O(4)	-4341(4)	13012(4)	7331(2)	130(1)
O(5)	2474(3)	6689(2)	7456(1)	65(1)
O(6)	-214(4)	8338(3)	5462(2)	105(1)
O(7)	1457(4)	4822(3)	8060(2)	98(1)
C(1)	4472(4)	9596(4)	8952(2)	69(1)
C(2)	4596(5)	9218(4)	9934(3)	78(1)
C(3)	3279(4)	10141(4)	10358(2)	69(1)
C(4)	1341(4)	10089(3)	9746(2)	55(1)
C(5)	889(4)	10988(3)	9070(2)	54(1)
C(6)	-646(4)	10857(3)	8263(2)	55(1)
C(7)	-48(4)	11231(3)	7381(2)	56(1)
C(8)	749(4)	10056(4)	6906(2)	62(1)
C(9)	2787(4)	9618(4)	7261(2)	63(1)
C(10)	3412(4)	8858(4)	8149(2)	58(1)
C(11)	-1802(5)	11875(4)	6825(3)	74(1)
C(12)	-2952(6)	12328(4)	7466(3)	85(1)
C(13)	-2337(6)	12083(5)	5958(3)	103(1)
C(14)	2464(4)	7497(3)	8252(2)	59(1)
C(15)	148(5)	8889(4)	9907(2)	73(1)
C(16)	-910(5)	8113(4)	6098(3)	66(1)
C(17)	-2269(5)	6987(4)	6127(3)	74(1)
C(18)	-2911(6)	6754(5)	6861(4)	120(2)
C(19)	-2805(6)	6150(5)	5309(3)	114(2)
C(20)	1902(4)	5366(4)	7423(3)	61(1)
C(21)	1933(5)	4683(4)	6556(2)	69(1)

Table 3. Bond lengths [Å] and angles [°] for **Esferocefalina**.

O(1)-C(1)	1.442(4)	C(4)-C(5)	1.326(4)
O(1)-C(10)	1.467(3)	C(4)-C(15)	1.500(4)
O(2)-C(12)	1.353(4)	C(5)-C(6)	1.482(4)
O(2)-C(6)	1.491(4)	C(6)-C(7)	1.541(4)
O(3)-C(16)	1.348(4)	C(7)-C(8)	1.523(4)
O(3)-C(8)	1.468(4)	C(7)-C(11)	1.515(5)
O(4)-C(12)	1.197(4)	C(8)-C(9)	1.542(4)
O(5)-C(20)	1.334(4)	C(9)-C(10)	1.513(4)
O(5)-C(14)	1.435(4)	C(10)-C(14)	1.504(4)
O(6)-C(16)	1.207(4)	C(11)-C(13)	1.305(5)
O(7)-C(20)	1.206(4)	C(11)-C(12)	1.490(5)
C(1)-C(10)	1.478(4)	C(16)-C(17)	1.481(5)
C(1)-C(2)	1.517(5)	C(17)-C(18)	1.321(5)
C(2)-C(3)	1.554(5)	C(17)-C(19)	1.459(5)
C(3)-C(4)	1.528(4)	C(20)-C(21)	1.474(4)
C(1)-O(1)-C(10)	61.06(18)	C(11)-C(7)-C(6)	101.9(3)
C(12)-O(2)-C(6)	110.3(3)	O(3)-C(8)-C(7)	106.6(2)
C(16)-O(3)-C(8)	117.7(3)	O(3)-C(8)-C(9)	111.5(3)
C(20)-O(5)-C(14)	119.0(3)	C(7)-C(8)-C(9)	118.9(3)
O(1)-C(1)-C(10)	60.30(19)	C(10)-C(9)-C(8)	121.9(2)
O(1)-C(1)-C(2)	118.5(3)	C(1)-C(10)-O(1)	58.64(18)
C(10)-C(1)-C(2)	127.1(3)	C(1)-C(10)-C(9)	120.5(3)
C(1)-C(2)-C(3)	111.2(3)	O(1)-C(10)-C(9)	112.8(2)
C(4)-C(3)-C(2)	108.5(2)	C(1)-C(10)-C(14)	120.3(3)
C(5)-C(4)-C(15)	124.5(3)	O(1)-C(10)-C(14)	111.6(3)
C(5)-C(4)-C(3)	119.6(3)	C(9)-C(10)-C(14)	116.8(3)
C(15)-C(4)-C(3)	115.6(3)	C(13)-C(11)-C(12)	121.6(4)
C(4)-C(5)-C(6)	127.1(3)	C(13)-C(11)-C(7)	131.2(4)
C(5)-C(6)-O(2)	111.3(2)	C(12)-C(11)-C(7)	107.1(3)
C(5)-C(6)-C(7)	112.7(2)	O(4)-C(12)-O(2)	121.1(5)
O(2)-C(6)-C(7)	104.5(2)	O(4)-C(12)-C(11)	129.6(4)
C(8)-C(7)-C(11)	114.1(3)	O(2)-C(12)-C(11)	109.4(3)
C(8)-C(7)-C(6)	117.0(3)	O(5)-C(14)-C(10)	107.0(2)

O(6)-C(16)-O(3)	123.2(4)	C(19)-C(17)-C(16)	115.7(4)
O(6)-C(16)-C(17)	124.3(4)	O(7)-C(20)-O(5)	121.3(3)
O(3)-C(16)-C(17)	112.5(3)	O(7)-C(20)-C(21)	125.8(3)
C(18)-C(17)-C(19)	123.0(4)	O(5)-C(20)-C(21)	112.9(3)
C(18)-C(17)-C(16)	121.3(4)		

Table 4. Anisotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for **Esferocefalina**. The anisotropic displacement factor exponent takes the form: $-2\pi^2 [h^2 a^{*2} U_{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U_{12}]$

	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{23}	U_{13}	U_{12}
O(1)	42(1)	94(2)	104(2)	-27(2)	19(1)	5(1)
O(2)	53(1)	68(2)	110(2)	-9(2)	19(1)	15(1)
O(3)	61(1)	60(1)	56(1)	-3(1)	15(1)	-9(1)
O(4)	77(2)	122(3)	177(3)	5(2)	-3(2)	47(2)
O(5)	71(1)	56(2)	69(2)	-5(1)	18(1)	-7(1)
O(6)	141(2)	117(2)	60(2)	-7(2)	31(2)	-17(2)
O(7)	140(2)	73(2)	87(2)	0(2)	36(2)	-25(2)
C(1)	41(2)	77(3)	89(3)	-17(2)	14(2)	0(2)
C(2)	51(2)	82(3)	91(3)	-23(2)	-6(2)	5(2)
C(3)	69(2)	67(2)	68(2)	-12(2)	5(2)	-3(2)
C(4)	54(2)	51(2)	63(2)	-7(2)	22(2)	0(2)
C(5)	49(2)	40(2)	76(2)	-7(2)	21(2)	1(2)
C(6)	47(2)	45(2)	71(2)	-5(2)	11(2)	2(2)
C(7)	55(2)	47(2)	67(2)	12(2)	13(2)	-3(2)
C(8)	64(2)	62(2)	62(2)	8(2)	18(2)	-10(2)
C(9)	54(2)	63(2)	82(3)	-1(2)	33(2)	-11(2)
C(10)	38(2)	61(2)	78(2)	-8(2)	18(2)	2(2)
C(11)	69(2)	51(2)	96(3)	16(2)	2(2)	-6(2)
C(12)	61(3)	71(3)	107(4)	11(2)	-15(3)	5(2)
C(13)	90(3)	114(4)	93(3)	32(3)	-8(3)	13(3)
C(14)	53(2)	63(2)	58(2)	-3(2)	8(2)	-2(2)
C(15)	71(2)	81(3)	73(2)	10(2)	26(2)	-4(2)
C(16)	61(2)	72(3)	60(2)	-5(2)	1(2)	11(2)
C(17)	49(2)	81(3)	91(3)	-29(2)	11(2)	8(2)
C(18)	92(3)	104(4)	176(5)	-57(4)	57(3)	-46(3)
C(19)	84(3)	109(4)	127(4)	-34(3)	-22(3)	16(3)
C(20)	54(2)	60(3)	65(2)	12(2)	6(2)	-2(2)
C(21)	70(2)	63(2)	68(2)	-5(2)	5(2)	1(2)

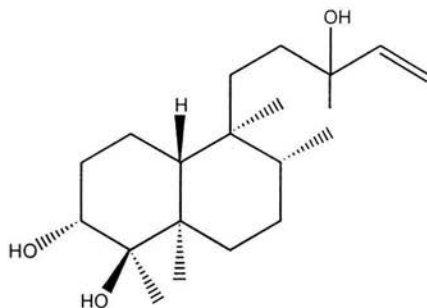
Table 5. Hydrogen coordinates ($\times 10^4$) and isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^{-3}$) for Esferocefalina.

	x	y	z	U(eq)
H(1)	4610	10598	8854	80
H(2A)	5863	9340	10269	80
H(2B)	4266	8244	9975	80
H(3A)	3240	9797	10954	80
H(3B)	3728	11095	10416	80
H(5)	1614	11789	9106	80
H(6)	-1126	9900	8223	80
H(7)	892	11967	7519	80
H(8)	650	10363	6281	80
H(9A)	3128	9037	6800	80
H(9B)	3530	10460	7298	80
H(13A)	-3462	12524	5726	80
H(13B)	-1594	11790	5571	80
H(14A)	3121	7006	8785	80
H(14B)	1199	7662	8310	80
H(15A)	-915	8823	9415	80
H(15B)	-255	9037	10459	80
H(15C)	850	8039	9949	80
H(18A)	-3744	6029	6871	80
H(18B)	-2531	7315	7368	80
H(19A)	-3840	5568	5352	80
H(19B)	-1779	5576	5241	80
H(19C)	-3148	6756	4796	80
H(21A)	790	4189	6345	80
H(21B)	2952	4040	6639	80
H(21C)	2076	5377	6120	80

**COMPILACIÓN BIBLIOGRÁFICA DE
LOS METABOLITOS SECUNDARIOS
AISLADOS DEL GÉNERO VIGUIERA.**

En 1985 se publicó una compilación de la información de los productos naturales aislados de las especies pertenecientes a *Viguiera* [4]. Más recientemente, se llevó a cabo una revisión más actualizada de los constituyentes químicos de este grupo de plantas [58]. A continuación se realiza una compilación que incluye los trabajos más recientes y que actualiza la anterior. Se indica la parte actualizada del vegetal, el lugar de colecta, en algunas ocasiones el resultado obtenido de los estudios biológicos realizados.

V. tucumanensis. Partes analizadas: aéreas. Lugar de colecta: Argentina, en abril de 1995.

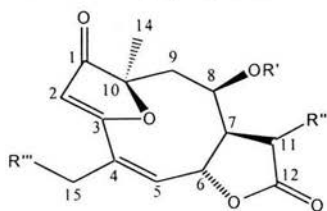


Clerod-14-en-3 α , 4 β , 13 ϵ -triol

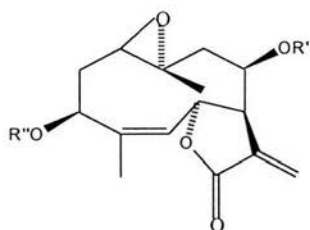
Estudios de fitotoxicidad, inhiben la germinación y crecimiento de *Sorghum halapense* y *Chenopodium album*, también inhiben lentamente la *Ipomoea purpurea*. La *Avena sativa* muestra una fuerte inhibición. No afectó la germinación en *Brassica napus*.

Vaccarini C. E.; Palacios S. M.; Meragelman K. M.; Sosa V. E. *Phytochemistry* **1999**, *50*, 227-230.

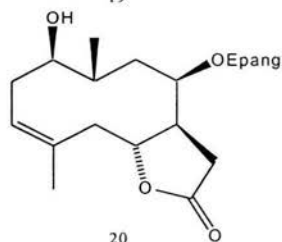
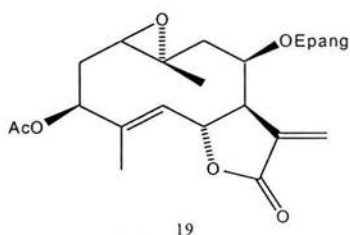
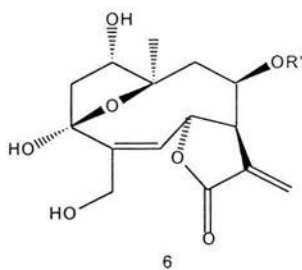
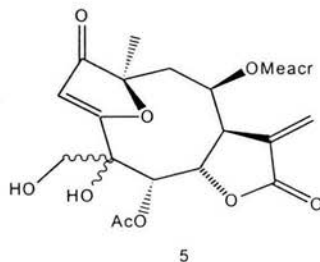
V. eriphora y *V. puruana*. Partes analizada: aéreas. Lugar de colecta: *V. eriphora*, se colectó cerca de Huajuapán, Oaxaca, México, en septiembre de 1985. *V. puruana*, se colectó cerca de Jungapeo, Michoacán, México, en noviembre de 1986.



	R'	R''	R'''
1	Meacr	=CH ₂	OH
2	Meacr	α-CH ₂ -O-Me	OH
3	Ang	=CH ₂	OH
4	Meacr	=CH ₂	H



	R'	R''
7	Meacr	H
8	Meacr	Ac
9	Ang	H
10	Ang	Ac
11	Ang	Etil
12	Tig	H
13	Epang	H
14	Epang	Ac
15	Epang	iBut
16	Epang	Mebut
17	Epang	iVal
18	Sar	Ac



Compuestos aislados de *V. eriphora* (1-9) y de *V. puruana* (7, 9-20).

(2) 1-ceto-3, 10-epoxi-11 α -metoximetil-8 β -O-metacriloil-15-hidroxi-2, 4 germacradieno, 6 α ,12-olida.

(5) 1-ceto-3, 10-epoxi-8 β -O-metacriloil-4, 15-dihidroxi-5-acetoxi-2, 11 germacradieno, 6 α ,12-olida.

(6) 1 α , 3 α , 15-Trihidroxi-3,10-epoxi- 8 β -O-metacriloil-4, 11-germacradieno, 6 α , 12-olida.

(11) 3 β -Etoxi-leptocarpina.

(16) 3 β -(2-Metilbutanoiloxi)-8 β -epoxiangeloiloxi-leptocarpina.

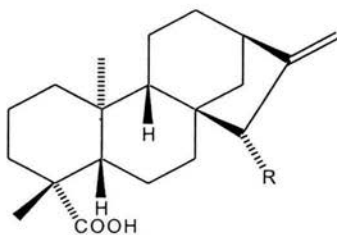
(18) 3 β -O-Acetil-8 β -sarracinoiloxi-leptocarpina.

(19) 3 β -O-Acetil-8 β -epoxiangeloiloxi-tihifolina.

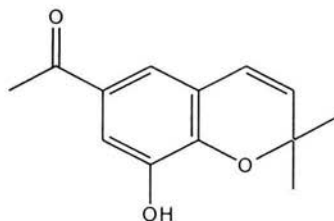
La estructura (5) obtenida previamente por Delgado G., et al. debe ser revisada.

Spring, O.; Zipper R.; Klaiber I.; Reeb S.; Vogler B. *Phytochemistry* 2000, 55, 255-261.

V. decurrens. Partes analizada: raíces. Lugar de colecta: abril de 1991 en Chihuahua, México.



R
1. H
2. OAng



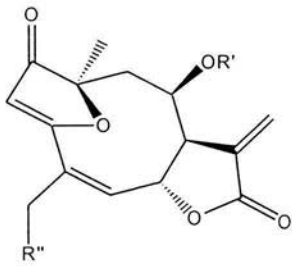
3
8-Hidroxi-6-acetil-2,2-dimetil-cromeno.

La mezcla de 6, 7, 8 muestran actividad citotóxica contra líneas celulares P388, sin embargo, los compuestos puros no muestran toxicidad.

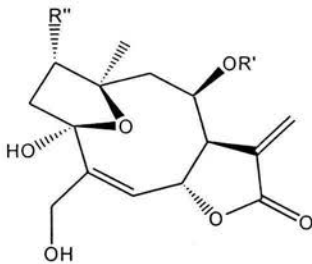
Los compuestos 1, 3, 4, 7, 10 se evaluaron por su actividad insecticida a diferentes concentraciones contra larvas (*Epilachna varivestis*), del escarabajo de frijol mexicano (Coleoptera: Coccinellidae), una importante peste en México. Los resultados indicaron que 1, 3 y 4 no son tóxicos, mientras que las saponinas 7 y 10 mostraron toxicidad.

Marquina, S.; Maldonado, N.; Garduño-Ramírez, M. L.; Navarro V.; Bye R.; Delgado G.; Alvarez L. *Phytochemistry* 2000, 56, 93-97.

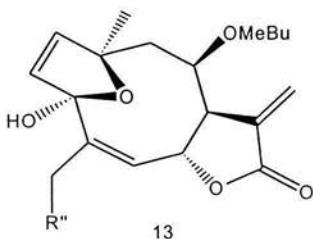
V. quinquereimis, *V. robusta*. Parte analizada: glándulas tricomaes. Lugar de colecta: Brasil en abril de 1998.



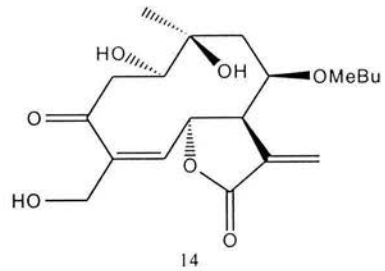
- | R' | R'' |
|----------|-----|
| 1. Ang | OH |
| 2. Tigl | OH |
| 3. Meacr | OH |
| 4. MeBu | OH |
| 5. iBu | OH |
| 6. Ang | H |
| 7. Tigl | H |



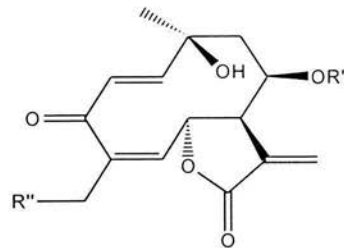
- | R' | R'' |
|----------|-----|
| 8. Ang | OH |
| 9. MeBu | OH |
| 10. Ang | H |
| 11. MeBu | H |
| 12. MeBu | OMe |



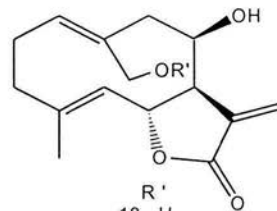
13



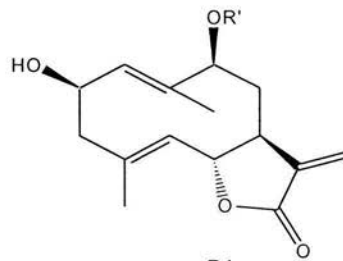
14



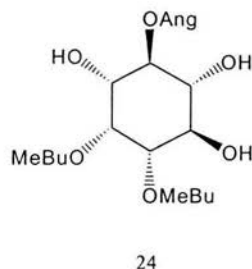
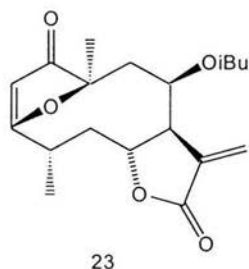
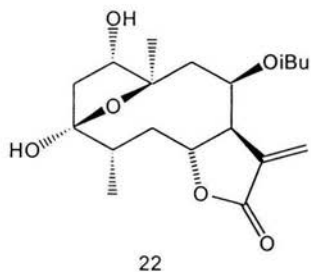
- | R'' | R'' |
|----------|-----|
| 15. MeBu | OH |
| 16. Ang | OH |
| 17. MeBu | H |



- | | |
|--------|----|
| 18. H | OH |
| 19. Ac | H |



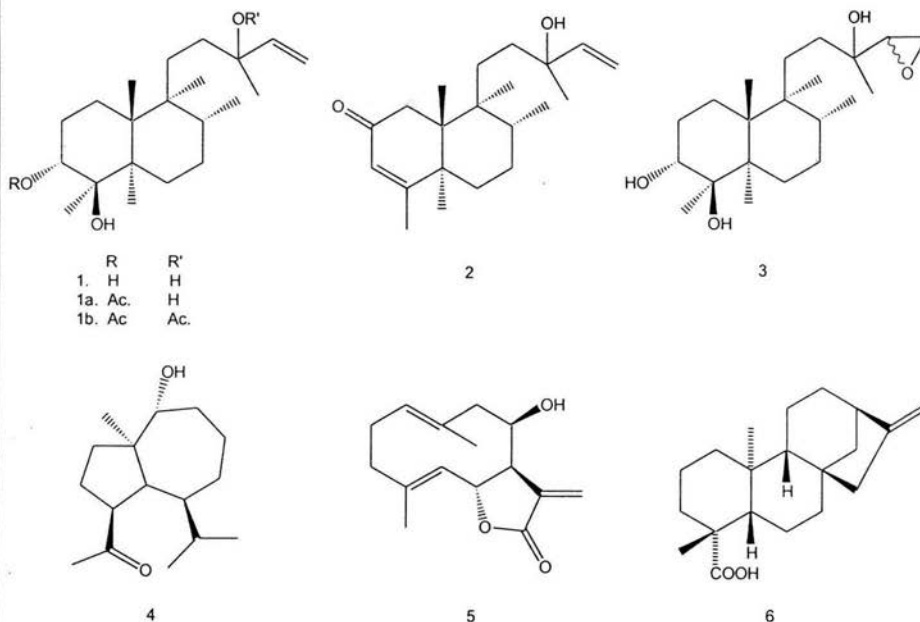
- | |
|----------|
| R' |
| 20. Ang |
| 21. MeBu |



- (1) Budleina A.
- (2) Tiglato de budleina A.
- (3) Metacrilato de budleina A.
- (4) Metilbutirato de budleina A.
- (5) Isobutirato de budleina A.
- (6) Angelato de atripliciolida.
- (7) Tiglato de atripliciolida.
- (8) Niveusina A.
- (9) Metilbutirato de niveusina A.
- (10) Niveusina B.
- (11) Metilbutirato de niveusina B.
- (12) 1-metoxi-8 β -metilbutirato de niveusina B.
- (13) 3 α , 15-dihidroxi-3, 10-epoxi-8 β -O-metilbutanoil-1, 4, 11 (13)-germacatrien-6 α , 12-olida.
- (14) 1 α , 10 β , 15-trihidroxi-3-oxo-8 β -O-metilbutanoil-4, 11 (13)-germacradien-6 α , 12-olida.
- (15) 15-OH-3-dihidro-8 β -metilbutirato-desoxitifrucina.
- (16) 15-OH-3-dihidrodesoxitifrucina.
- (17) C-8 β -metilbutirato de tagitinina.
- (18) 8 β , 14-dihidroxi-costunolida.
- (19) Ovatifolina.
- (20) 2 β -OH-9 β -angelato de germacatrienolida.
- (21) 2 β -OH-9 β -metilbutirato de germacatrienolida.
- (22) Viguilenina.
- (23) 8 β -metilbutirato de zexbrevanolida.
- (24) 6-Angelato-2, 3-dimetilbutirato-mioinositol.

Da Costa F. B.; Schorr K.; Arakawa N. S.; Schilling E. E.; Spring O. *J. Braz. Chem. Soc.* **2001**, *12*, 403-407.

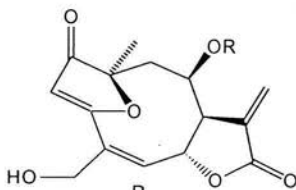
V. tucumanensis. Parte analizada: flores y frutas. Lugar de colecta: Córdoba Argentina



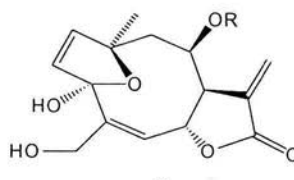
- (1) clerod-14-en-3 α , 4 β , 13 ξ -triol.
 (1a) clerod-14-en-3 α -acetil-4 β , 13 ξ -triol.
 (1b) clerod-14-en-3 α , 13 ξ -diacetil-4 β -ol.
 (2) Roseostachenona.
 (3) clerod-14-epoxi-3 α , 4 β , 13 ξ -triol.
 (4) Oplopanona.
 (5) Eupatolida.
 (6) Ácido kaurenico

Vaccarini C. E.; Palacios S. M.; Meragelman K. M.; Sosa V. E. *Nat. Prod. Lett.* 2002;16(5), 323-327.

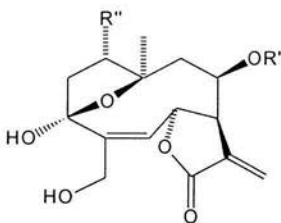
V. quinqueremis. Parte analizada: glándulas tricomaes de apéndice de anteras. Lugar de colecta: cerca de Diamantina, Estado de Minas, Gerais, Brasil en abril de 1998.



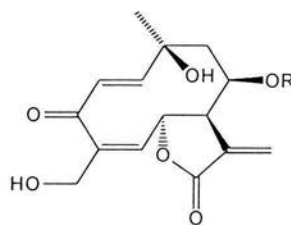
R
1. MeBu.
2. Ang.



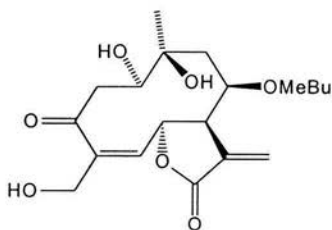
R
10. MeBu.
11. Ang.



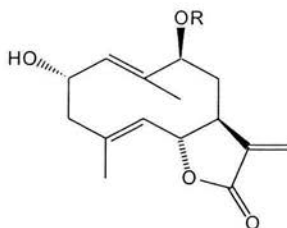
R'	R''
3. MeBu	OH
4. Ang	OH
5. MeBu	H
6. Ang	H
7. MeBu	OMe
8. Ang	OMe



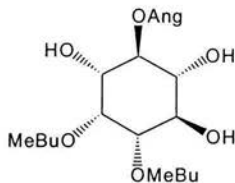
R
12. MeBu.
13. Ang.



9



R
14. MeBu.
15. Ang.



16

(7) 1 α Metoxi-3 α , 15-dihidroxi-3, 10-epoxi-8 β -O-metilbutanol-4, 11 (13)-germacradien, 6 α , 12-olida.

(8) 1 α Metoxi-3 α , 15-dihidroxi-3, 10-epoxi-8 β -O-angeloil-4, 11 (13)-germacradien, 6 α , 12-olida.

(9) 1 α , 10 β , 15-Trihidroxi-3, 10-epoxi-8 β -O-metilbutanoil-4, 11 (13)-germacradien, 6 α , 12-olida.

(10) 3 α , 15, Dihidroxi-3, 10-epoxi-8 β -O-metilbutanoil-1, 4, 11 (13)-germacradien, 6 α , 12-olida.

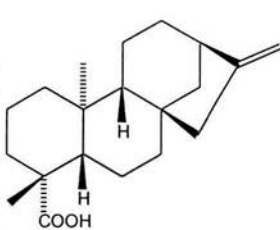
(14) 2 α , Hidroxi-9 β -O-metilbutanoil-1(10), 4, 11 (13)-germacradien, 6 α , 12-olida.

(15) 2 α , Hidroxi-9 β -O-angeloil-1(10), 4, 11 (13)-germacradien, 6 α , 12-olida.

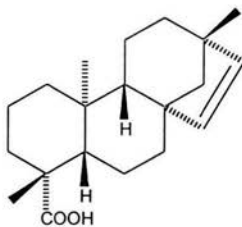
(16) 6-Angeloil.2,3-dimetilbutanoil-mioinositol.

Spring O.; Zipper R.; Reeb S.; Vogler B.; Da Costa F. B. *Phytochemistry*. **2002**, *57*, 267-272.

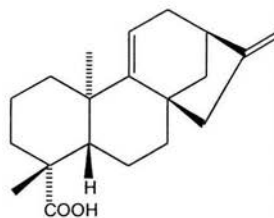
V. hypargyrea. Parte analizada: raíces. Lugar de colecta: Durango, México en septiembre de 1997.



Ácido-ent-kaur-16-en-19-oico



Ácido-ent-beyer-15-en-19-oico

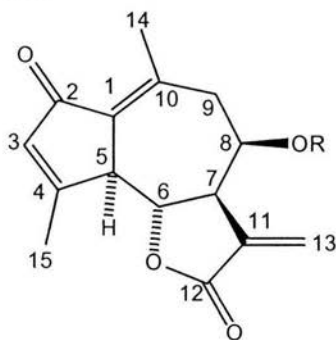


Ácido-ent-kaur-9(11), 16-dien-19-oico

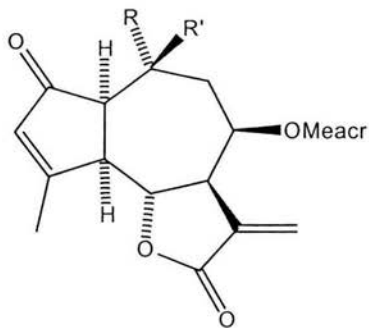
Estudios de actividad antidiarreica, antiespasmódica y antimicrobiana.

Zamilpa A.; Tortoriello J.; Navarro V.; Delgado G.; Álvarez L. *Planta Medica*. **2002**, *68*, 281-283.

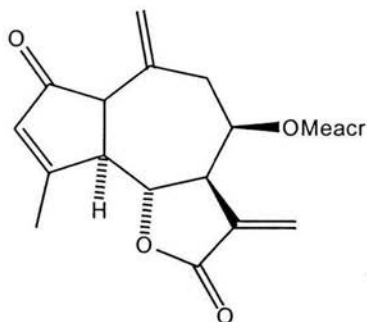
V. gardneri. Parte analizada: glándulas tricomaes de hojas. Lugar de colecta: Brasil en 1998.



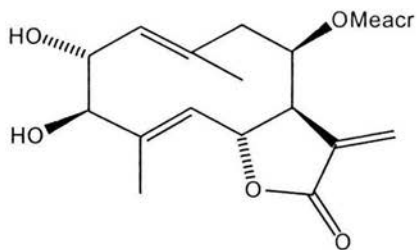
R
1. Meacr
2. Tigl



R R'
3. Me OH
4. OH Me



5



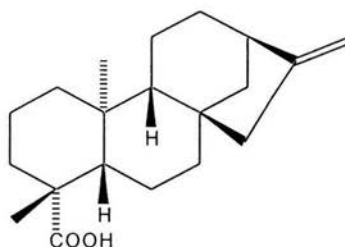
6

Se estudió su actividad anti inflamatoria usando el factor NF- κ B como molécula blanco.

- (1) 2-Ona-8 β -metacriloloxi -guaia-1(10), 3, 11 (13)-trien-6 α , 12-olida.
- (2) 2-Ona-8 β -tigloiloxi -guaia-1(10), 3, 11 (13)-trien-6 α , 12-olida.
- (3) 2-Ona-8 β -metacriloloxi -10 β -hidroxi-guaia-3, 11 (13)-dien-6 α , 12-olida.
- (4) 2-Ona-8 β -metacriloloxi -10 α -hidroxi-guaia-3, 11 (13)-dien-6 α , 12-olida.
- (5) 2-Ona-8 β -metacriloloxi -guaia-3, 10 (14), 11 (13)-trien-6 α , 12-olida.
- (6) 2 α , 3 β -Dihidroxi-8 β -metacriloloxi-germacra-1(10), 4, 11(13)-trien-6 α , 12 olida.

Schorr K.; García-Piñeres A. J.; Siedle B.; Merfort I.; Da Costa F. B. *Phytochemistry* 2002, 60, 733-740.

V. robusta. Parte analizada: raíces. Lugar de colecta: Brasil.

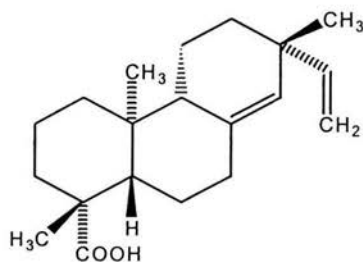


Ácido-ent-kaur-16-en-19-oico

Estudios de actividad inhibitoria en la contracción de músculo liso vascular inducida con fenilefrina en ratas.

Tirapelli C. R.; Ambrosio S. R.; Da Costa F. B.; De Oliveira A. M. *Fitoterapia*, 2002, 73, 56-62.

V. arenaria. Parte analizada: raíces. Lugar de colecta: Brasil en 1999.

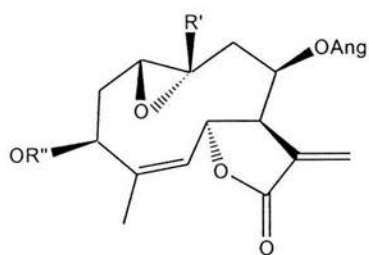


Ácido-ent-pimara-8(14), 15-dien-19-oico

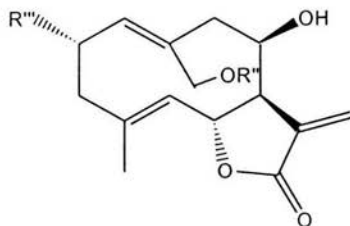
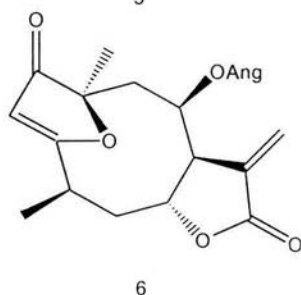
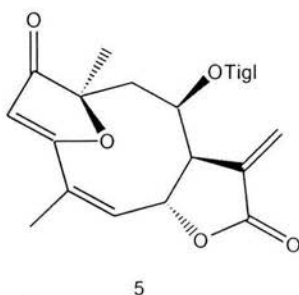
Estudios de actividad inhibitoria en la contracción de la arteria carótida inducida con fenilefrina o cloruro de potasio en ratas.

Ambrosio S. R.; Tirapelli C. R.; Bonaventura D.; Da Costa F. B.; De Oliveira A. M. *Fitoterapia*, 2002, 73, 484-489.

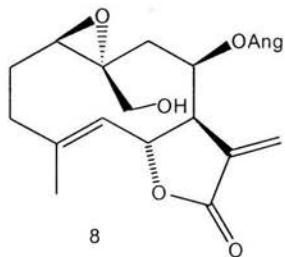
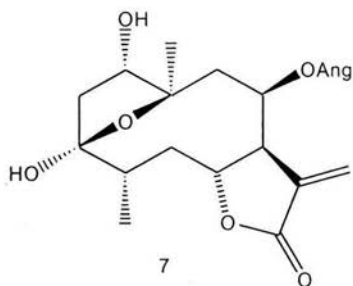
V. radula. Parte analizada: flores y glándulas tricomas de apéndice de anteras. Lugar de colecta: Brasil en abril de 1998.



R'	R''
1. CH ₃	H
2. CH ₂ OH	H
3. CH ₂ OAc	H
4. CH ₃	Ac



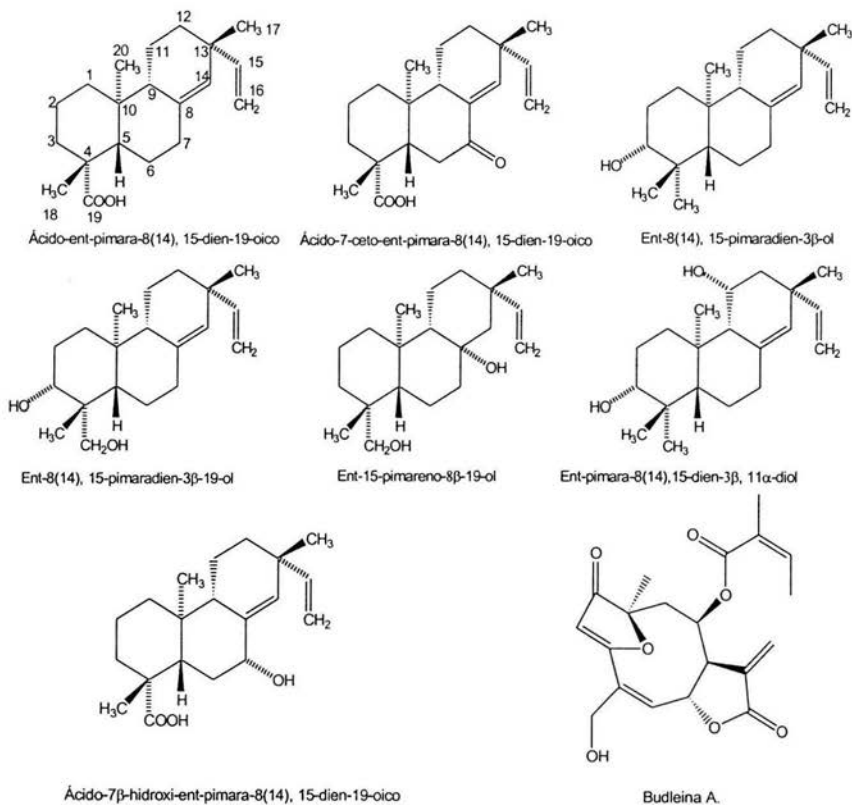
R'	R''	R'''
9. H	OH	H
10. Ang	OH	OH
11. 4'OH-Tigl	OAc	H
12. 2' S 3' S-Epang	OAc	H
13. 2' R 3' R-Epang	OAc	H



(7) 8 β -Angeloiloxi-viguienina.
 (11) 8 β -(4'-Hidroxi) tigilnoiloxi-ovatifolina.
 (12, 13) 8 β -Epoxiangeloiloxi-ovatifolina.

Spring, O.; Zipper R.; Conrad J.; Vogler B.; Klaiber I.; B. Da Costa F. B. *Phytochemistry* 2003, 62, 1185-1189.

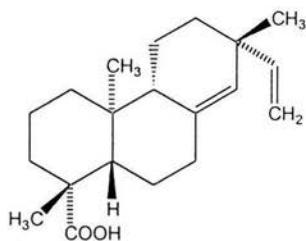
V. arenaria. Parte analizada: flores y raíces tuberosas. Lugar de colecta: Brasil en marzo de 1997 para las flores y marzo de 1999 para las raíces.



De las raíces tuberosas se obtuvieron los pimaranos, mientras que en las flores se obtuvo la Budleina A..

Ambrosio S. R.; Schorr K.; Da Costa F. B. *Biochem. Syst. Ecol.* 2004, 32(2), 221-224.

V. arenaria. Parte analizada: raíces tuberosas. Lugar de colecta: Brasil en febrero de 1999.

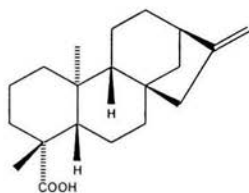


Ácido-ent-pimara-8(14), 15-dien-19-oico

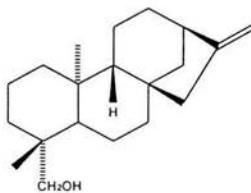
Estudio de los efectos producidos de este diterpeno en la aorta torácica en rata causado por la inhibición de concentración dependiente de fenilefrina, inducida por la contracción en el endotelio intacto o en el endotelio desnudo de los anillos aórticos. Los efectos del ácido-ent-pimara-8(14), 15-dien-19-oico son en parte dependientes en la liberación de óxido nítrico en músculo liso vascular a través de la activación de guanilil ciclasa que es dependiente del mecanismo y esta relacionado en la liberación de metabolitos derivados de la vía metabólica del ácido araquidónico. Finalmente estos resultados demostraron que el diterpeno tiene acción relajante y no esta relacionada con la apertura de los canales de potasio.

Tirapelli C. R.; Ambrosio S. R.; da Costa F. B.; de Oliveira, A M. *Pharmacology* 2004, 70(1), 31-38.

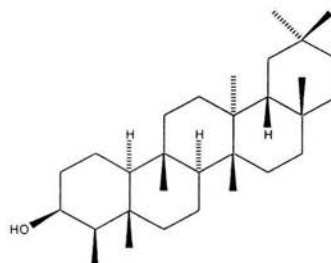
V. sphaerocephala. Parte analizada: hojas y ramas. Lugar de colecta: Morelos México, en octubre del 2003.



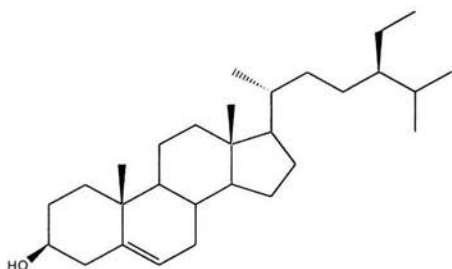
Ácido ent-kaur-16-en-19-oico
(1).



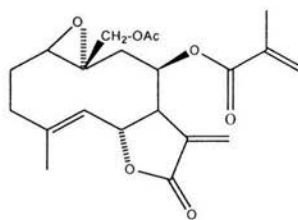
Ent-kaur-16-en-19-ol
(2).



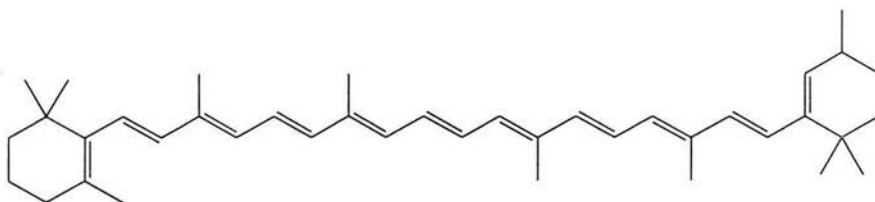
Friedelan-3-β-ol
(3).



β -sitosterol
(4).



Esferocefalina
(5).



β , β -caroteno (6).

Fernández H. Tesis de Licenciatura, UNAM. 2004 (Presente trabajo).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Bye, R.; Linares, E.; Estrada, E. Biological Diversity of Medicinal Plants in México. *Recent Advances in Phytochemistry* **1995**, *29*, 65-82. Plenum Press. New York and London.
2. (a) Lozoya, X. Fármacos de Origen Vegetal de Ayer y Hoy. *Investigación y Ciencia*. **1997**, *245*, 4-10. (b) Díaz J. L. Usos de las Plantas Medicinales de México. Monografías Científicas II. IMEPLAM. México, A. C. 1977, 329p.
3. Espinosa-García, F. J.; Delgado, G. *Rev. Latinoamer. Quím.* **1998**, *26*, 13-29.
4. Romo de Vivar, A.; Delgado, G. *Bol. Soc. Chil. Quím.* **1985**, *30*, 79-100.
5. Blake, S. F. A revision of the genus *Viguiera*, *Contrib. Gray Herb. Harv Univ.* **1918**, *54*,1.
6. Blake, S. F., A Revision of the genus *Viguiera*. *Contrib. Gray Herb. Harv Univ.* **1918**, *54*,11.
7. Stuessy, T. F. The Biology and Chemistry of the Compositae (Heywood, V. H., Harborne, J. B. and Turner, B. L., eds.) V. 2. *Academic Press* **1973**, 1151p.
8. Shimokoriyama, M.; Geissman, T. A. *J. Org. Chem.* **1960**, *25*, 1956-1959.
9. Cuevas, L. A.; García-Jiménez, F.; Romo de Vivar, A. *Rev. Latinoam. Quím.* **1972**, *3*, 22-27
10. Delgado, G.; Romo de Vivar, A. *Chemistry Lett.* **1984**, 1237-1240.
11. Guerrero, C.; Ortega, A.; Díaz, E.; Romo de Vivar, A. *Rev. Latinoamer. Quím.* **1973**, *4*, 118-126.
12. Romo de Vivar, A.; Delgado, G.; Guerrero, C.; Reséndiz, J.; Ortega, A. *Rev. Latinoamer. Quím.* **1978**, *9*, 171- 176.
13. Romo de Vivar, A.; Guerrero, C.; Díaz, E.; Bratoeff, E.; Jiménez, L. *Phytochemistry* **1976**, *15*, 525-527.
14. Guerrero, C.; Santana, M.; Romo, J. *Rev. Latinoam. Quím.* **1976**, *7*, 41-42.
15. Bohlmann, F.; Zdero, Ch. Mahanta, P. *Phytochemistry* **1977**, *16*, 1073-1075.
16. Harborne, J. B.; Smith, D. M. *Biochem. Syst. Ecol.* **1978**, *6*, 287-291.
17. Roche, P.; Rosas, N.; Taboada, J. *Rev. Latinoam. Quím.* **1979**, *10*, 145-149
18. Ortega, A.; Lara, R.; Martínez, R.; Díaz, E. *Phytochemistry* **1980**, *19*, 1545-1546.
19. Romo de Vivar, A.; Bratoeff, E. A.; Ontiveros, E.; Lankin, D. C.; Bhacca, N. S. *Phytochemistry* **1980**, *19*, 1795-1797.
20. Bohlmann, F.; Jakupovic, J.; Ahmed, M.; Grenz, M.; Suding, H.; Robinson, H.; King, R. M. *Phytochemistry* **1981**, *20*, 113-116.
21. Delgado, G.; Romo de Vivar, A.; Herz, W. *Phytochemistry* **1982**, *21*, 1305-1308.
22. Delgado, G.; Romo de Vivar, A.; Ortega, A.; Cárdenas, J.; Schlemper, E. *Phytochemistry* **1983**, *22*, 1227- 1230.
23. Delgado, G.; Romo de Vivar, A.; Cárdenas, J.; Pereda-Miranda, R.; Huerta, E. *Phytochemistry* **1984**, *23*, 2285-2288.
24. Delgado, G.; Alvarez, L.; Romo de Vivar, A. *Phytochemistry* **1984**, *23*, 675-678
25. Bohlmann, F.; Gorke, T.; Jakupovic, J.; King, R. M.; Robinson, H. *Phytochemistry* **1984**, *23*, 1183-1184.
26. Gershenzon, J.; Yong-Long, L.; Mabry, T. J.; Korpt, J. D.; Bernal, I. *Phytochemistry* **1984**, *23*, 1281-1287.
27. Delgado, G.; Alvarez, L.; Romo de Vivar, A. *Phytochemistry* **1984**, *23*, 2674-2675.
28. Delgado, G.; Cárdenas, H.; Peláez, G.; Romo de Vivar, A. *J. Nat. Prod.* **1984**, *47*, 1042-1045.
29. Bohlmann, F.; Zdero, Ch.; Schmeda-Hirschmann, G.; Jakupovic, J.; Castro, V.; King, R.; Robinson, H. *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 495-502.

30. Liu, Y. L.; Gershenzon, J.; Mabry, T. J. *Phytochemistry* **1984**, *23*, 1967-1970.
31. Delgado, G.; Alvarez, L.; Romo de Vivar, A. *Phytochemistry* **1985**, *24*, 2736-2738.
32. Alvarez, L.; Mata, R.; Delgado, G.; Romo de Vivar, A. *Phytochemistry* **1985**, *24*, 2973-2976.
33. Schmeda-Hirschmann, G.; Zdero, Ch.; Baruah, R. N.; Bohlmann, F. *Phytochemistry* **1985**, *24*, 2019-2022.
34. Gao, F.; Mabry, T. J. *Phytochemistry* **1985**, *24*, 3061-3063.
35. Herz, W.; Kulanthaivel, P. *J. Nat. Prod.* **1985**, *48*, 676-677.
36. Gao, F.; Miski, M.; Gage, D. G.; Mabry, T. J. *J. Nat. Prod.* **1985**, *48*, 316-318.
37. Gao, F.; Miski, M.; Gage, D. A.; Norris, J. A.; Mabry, T. J. *J. Nat. Prod.* **1985**, *48*, 489-490.
38. Gao, F.; Mabry, T. J. *Phytochemistry* **1986**, *25*, 137-140.
39. Guerreiro, E. *Phytochemistry* **1986**, *25*, 748-750.
40. Delgado, G.; Alvarez, L.; Mata, R.; Pereda, R.; Romo de Vivar, A. *J. Nat. Prod.* **1986**, *49*, 1165.
41. Gao, G.; Mabry, T. J.; Bohlmann, F.; Jakupovic, J. *Phytochemistry* **1986**, *25*, 1489-1491.
42. Guerrero, C.; Nava, A. L.; Quevedo, F.; Toscano, R. A.; Soriano-García, M. *Rev. Latinoam. Quim.* **1986**, *16*, 126-128.
43. Gao, F.; Wang, H.; Mabry, T. J. *Phytochemistry* **1987**, *26*, 779-781.
44. Domínguez, X. A.; Ellmauer, E.; Sánchez, H.; Franco, R.; Verde, J. *Rev. Latinoam. Quim.* **1988**, *19*, 144.
45. Lüttmann-Skibinski, H.; Willuhn, G. *Planta Medica* **1988**, 578.
46. Gao, F.; Wang, H.; Mabry, T. J.; Abboud, K. A.; Simonsen, S. H. *Phytochemistry* **1989**, *28*, 2409-2414.
47. Tamayo-Castillo, G.; Jakupovic, J.; Bohlmann, F.; Castro, V. *Phytochemistry* **1989**, *28*, 2737-2740.
48. Tamayo-Castillo, G.; Jakupovic, J.; Bohlmann, F.; King, R. - M.; Boldt, P. E. *Rev. Latinoam. Quim.* **1990**, *21*, 67-69.
49. Spring, O.; Vargas, D.; Fischer, N. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 1861-1876.
50. De la Fuente, J. R.; Del Valle, I.; Sosa, V. E. *An. Asoc. Quim. Arg.* **1994**, *82*, 61-64.
51. Da Costa, F. B.; Albuquerque, S.; Vichnewski, W. *Planta Medica* **1996**, *62*, 557-559.
52. Maragelman, K. M.; Anza Espinar, L.; Sosa, V. E.; Uriburu, M. L.; de la Fuente, R. L. *Phytochemistry* **1996**, *41*, 499-502.
53. Da Costa, F. B.; Vichnewski, W.; Herz, W. *Biochem. Syst. Ecol.* **1996**, *24*, 585-587.
54. Guillet, G.; Charet, D.; Arnason, J. T. *Phytochemistry* **1997**, *45*, 695-699.
55. Da Costa, F. B.; Ito, I. Y.; André, R. F. G.; Vichnewski, W. *Fitoterapia* **1998**, *69*, 86-87.
56. Marquina, S.; Maldonado, N.; Garduño-Ramírez, M. L.; Villarreal, M. L.; Navarro, V.; Alvarez, L.; Bye, R.; Delgado, G. *Phytochemistry* **2001**, *56*, 93-97.
57. Zamilpa, A. Tesis de Maestría, UAEMor. **1999**.
58. Arellano, R. Tesis de Maestría, UAEMor. **2000**.
59. Schilling, E. E.; Panero, J.L.; Bruce, A. B. *Biochem. Syst. Ecol.* **1988**, *16*, 413-416.
60. Schilling, E. E.; Panero, J. L., *Biochem. Syst. Ecol.* **1988**, *16*, 417-418.
61. Schilling, E. E. *Biochem. Syst. Ecol.* **1989**, *17*, 535-538.
62. Wollenweber, E.; Dorr, M.; Roitman, F.; Schilling, E. Z. *Naturforsch* **1995**, *50*, 588-590.
63. Vaccarini C. E.; Palacios S. M.; Meragelman K. M.; Sosa V. E. *Phytochemistry* **1999**, *50*, 227-230.
64. Spring, O.; Zipper R.; Klaiber I.; Reeb S.; Vogler B. *Phytochemistry* **2000**, *55*, 255-261.
65. Spring O.; Zipper R.; Reeb S.; Vogler B.; Da Costa F. B. *Phytochemistry* **2002**, *57*, 267-272.

66. Da Costa F. B.; Schorr K.; Arakawa N. S.; Schilling E. E.; Spring O. *J. Braz. Chem. Soc.* **2001**, *12*, 403-407.
67. Vaccarini C. E.; Palacios S. M.; Meragelman K. M.; Sosa V. E. *Nat. Prod. Lett.* **2002**, *16*(5), 323-327.
68. Schorr K.; García-Piñeres A. J.; Siedle B.; Merfort I.; Da Costa F. B. *Phytochemistry* **2002**, *60*, 733-740.
69. Tirapelli C. R.; Ambrosio S. R.; Da Costa F. B.; De Oliveira A. M. *Fitoterapia*, **2002**, *73*, 56-62.
70. Ambrosio S. R.; Tirapelli C. R.; Bonaventura D.; Da Costa F. B. De Oliveira A. M. *Fitoterapia*, **2002**, *73*, 484-489.
71. Spring, O.; Zipper R.; Conrad J.; Vogler B.; Klaiber I.; B. Da Costa F. B. *Phytochemistry* **2003**, *62*, 1185-1189.
72. Ambrosio, S. R.; Schorr, .; Da Costa, F. B. *Biochem Syst. Ecol.* **2004**, *32*(2), 221-224.
73. Tirapelli C. R.; Ambrosio S. R.; da Costa F. B.; de Oliveira, A M. *Pharmacology* **2004**, *70*(1), 31-38.
74. Picman, A. K. *Biochem. Syst. Ecol.* **1986**, *14*, 255-281.
75. Marles R.; Pazos-Sanov, L.; Compadre, C. *Recent Advances in Phytochemistry* **1995**, *29*, 333-351. Plenum Press. New York and London.
76. Rodríguez, E.; Tower G. H. N.; Mitchell, J.C. *Phytochemistry* **1976**, *15*, 1573-1580.
77. Hwang, D. C.; Fischer, N. H.; Jang, B .C.; Tak, H.; Kim, J. K.; Lee, W. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1996**, *226*, 810-818.
78. Kupchan, M. S.; Eakin, M. A; Thomas, A.M. *J. Med. Chem.* **1971**, *14*,1147-1152.
79. Woerdenbag, H.J.; Merfort, J.; Thomas, J. *Planta Medica* **1994**, *60*, 434-437.
80. Lee, K. H.; Hall, I. H.; Mar, E. C.; Starnes, C. O. *Science* **1977**, *196*, 533-536.
81. Borges del C. J.; Manresa F. T; Rodríguez F. L.; Vázquez B. P. *J. Nat. Prod.* **1982**, *45*, 763- 765.
82. Belles, X.; Camps, F.; Coll, J.; Piulachs, M. D. *J. Chem. Ecol.* **1985**, *11*, 1439-1445.
83. Katon, M.; Takahashi, M.; Shibayama, H.; Munakata, K. *Agr. Biol. Chem.* **1972**, *36*, 2579-2582.
84. Abo, K.A. *Fitoterapia* **1987**, *6*, 413-416.
85. Oguntimein, B. O. *Fitoterapia* **1987**, *6*, 411-413.
86. Joyeux, M.; Lobstein, A.; Anton, R.; Mortier, F. *Planta Medica* **1995**, *61*, 126-129.
87. Ferrándiz M. L.; Alcaraz, M. J. *Agents and Actions* **1991**, *32*, 283-288.
88. Jeffrey B. Harborne J. B.; Williams C. A.; *Phytochemistry* **2000**, *55*, 481-504
89. Samek, Z.; Harmatha, J. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **1978**, *43*, 2779-2799.
90. do Nascimento A. M.; de Oliveira D. C.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2001**, *12*, No. 4, 552-555.
91. Piozzi, F.; Passannanti S.; Paternostro, M. P. *Phytochemistry* **1971**, *10*, 1164-1166.
92. Vieiraa H. S.; Takahashia J. A.; de Oliveirab A. B.; Chiaric E.; Boaventura M. A.; *J. Braz. Chem. Soc.*, **2002**, *13*, No. 2, 151-157.
93. Queiroga C. L.; Faria S. G.; Correa D. P.; Possenti A.; de Carvalho J. E.; *Journal of Ethnopharmacology* **2000**, *72*, 465-468.
94. Budzikiewicz H., Wilson J. M, Djerassi C.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, *85*, 3688-3699.
95. Bjørnland T.; Synnøve L. J.; Throndsen J.; *Phytochemistry* **1989**, *28*, 3347-3353.
96. Bruneton J. *Pharmacognosy*. Editions Tec.& Doc. **1999**, 1119 p.
97. Manitto P. *Biosynthesis of Natural Products*. Ed. John Wiley & Sons. **1981**, 548 p.
98. Dewick P. M. *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach*. Ed. John Wiley & Sons. **1997**, 466 p.