



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"ESTUDIO QUIMICO DE
Physalis cinerascens"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A :

VITA ELBA ALVARADO SOLIS



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

MEXICO, D. F.

DIRECTOR DE TESIS M. en C. EMMA MALDONADO JIMENEZ

DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



GOBIERNO FEDERAL
AVENIDA DE LA UNIFICACIÓN
MÉXICO

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: "Estudio Químico de *Physalis cinerascens*"

realizado por Vita Elba Alvarado Solís

con número de cuenta 7930008-3 , quien cubrió los créditos de la carrera de:
 Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis Propietario M. en C. Emma Maldonado Jiménez

Propietario Dra. Ma. Cristina Pérez Amador Barrón

Propietario M. en C. Ana Lidia Pérez Castorena

Suplente Q.F.B. Ana Adela Sánchez Mendoza

Suplente Dr. Ricardo Reyes Chilpa

FACULTAD DE CIENCIAS

Consejo Departamental de Biología

M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez



UNIDAD DE ENSEÑANZA
 DE BIOLOGÍA

CONTENIDO

1. INTRODUCCION.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 LA FAMILIA SOLANACEAE.....	3
2.2 EL GENERO PHYSALIS.....	5
2.2.1 PHYSALIS CINERASCENS.....	7
2.3 QUIMICA DE LA FAMILIA SOLANACEAE	8
2.4 WITHAESTEROIDES	8
2.4.1 ACTIVIDAD BIOLOGICA DE WITHAESTEROIDES	10
3. HIPOTESIS.....	12
4. OBJETIVO.....	12
5. RESULTADOS Y DISCUSION.....	13
6. CONCLUSIONES.....	28
7. PARTE EXPERIMENTAL.....	29
7.1 MATERIAL Y EQUIPO.....	29
7.2 EXTRACCION.....	30
7.3 AISLAMIENTO Y PURIFICACION DE COMPUESTOS DE LOS EXTRACTOS DE TALLOS, HOJAS Y FLORES.....	31
7.3.1 EXTRACTO HEXANICO.....	31
7.3.2 EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO.....	32
7.4 PROPIEDADES FISICAS Y ESPECTROSCOPICAS DE LOS COMPUESTOS AISLADOS.....	34
8. REFERENCIAS.....	37

1. INTRODUCCIÓN

El auge en el estudio de los productos naturales comenzó desde la mitad del pasado siglo y se mantiene hasta nuestros días. Es resultado, del interés de los químicos por descubrir compuestos novedosos, de los farmacólogos por encontrar nuevos medicamentos, de los bioquímicos por conocer como se generan las diferentes sustancias y de los botánicos por establecer relaciones entre la composición química y la clasificación de los organismos. El desarrollo de nuevas técnicas analíticas como son: cromatografía, espectrometría de masas, las espectroscopias de ultravioleta, infrarrojo, y muy especialmente, la de resonancia magnética nuclear, así como la cristalografía de rayos X, han contribuido decisivamente al permitir la identificación un gran número de compuestos en un espacio de tiempo realmente corto [1].

Como resultado de lo anterior, se cuenta con mucha información sobre los metabolitos secundarios que producen los diferentes organismos, así como de su biogénesis. Se sabe también que algunos metabolitos secundarios están restringidos a ciertos taxa y que pueden ayudar a distinguir a un grupo de plantas de otro, perfilar diferencias entre taxas indeterminados o revelar relaciones insospechadas. Es así como surge la Quimiotaxonomía, que puede ser definida como la investigación de las potencialidades de los caracteres químicos para el estudio de los problemas taxonómicos y filogenéticos, cuyos principios, elaborados por De Candolle y Greshoff, establecen que “los caracteres químicos de las plantas pueden ser de gran valor para su clasificación” [1].

Las especies de la familia Solanaceae producen una gran diversidad de metabolitos secundarios, entre ellos los withaesteroides que constituyen un grupo de sustancias que, debido a su distribución restringida, pueden resultar útiles como caracteres taxonómicos y posiblemente en un futuro ayudar a delimitar las relaciones a nivel infragenérico e infraespecífico, ya que uno de los problemas que presenta esta familia es un gran polimorfismo fenotípico debido al cual, su circunscripción está constantemente sometida a debates [2].

Con esta idea básica se ha emprendido el análisis sistemático de uno de los géneros de la familia Solanaceae, el género *Physalis*. Como parte de este estudio, en la presente tesis se muestran los resultados del estudio químico de *Physalis cinerascens* (Dunal) A. S. Hitchc.

Estos resultados son una contribución tanto al conocimiento de nuevos metabolitos secundarios como al de la composición química del género y al mismo tiempo aportan a la sistemática nuevos elementos que pueden ayudar a esclarecer e inclusive refutar relaciones entre las especies de *Physalis*.

2. ANTECEDENTES

2.1. LA FAMILIA SOLANACEAE

Las primeras referencias a esta familia se encuentran en el Códice Dioscórides (A.C. 815) y corresponden a *Solanum (Strychnos) nigrum*, *Physalis (Physallis) alkekengi* y a la Mandrágora, que sólo fue ilustrada. Estas plantas poseían ya una reputación farmacológica y en la época medieval fueron citadas nuevamente en un listado de plantas [3]. Posteriormente Tournefort (1700) tomó como carácter distintivo de la familia el fruto blando y reconoció 7 géneros. Poco después Linneo en sus obras: *Species Plantarum* (1753) y *Genera Plantarum* (1754), reconoció dos grupos de los que ahora llamamos Solanaceae. En el primer grupo incluye a *Datura*, *Hyosciamus*, *Nicotiana*, *Mandrágora*, *Atropa*, *Physalis*, *Solanum* y *Capsicum* y en el segundo a *Browallia* y *Schwenckia*. Por esa época Phillip Miller reconoce al género *Lycopersicon* en el que incluye a la papa (actualmente en el género *Solanum*) y al jitomate y los distingue del género *Solanum*. En 1789 Michel Félix Dunal, con la tutoría de Augustin Pyramus De Candolle, realizó su tesis doctoral sobre la familia Solanaceae que se publicó en 1813. Esta obra es un tratado sobre propiedades medicinales y usos de *Solanum*, en la que describe su morfología y revisa la taxonomía de las 235 especies conocidas hasta entonces e incluye ilustraciones de las mismas. Tiempo después Dunal revisa su propio trabajo basándose en materiales de Jean Baptiste de Lamark, Alexander Von Humboldt y Aimé Jaques Bonpland y publica, en 1852, el tratado más completo del siglo XIX “Solanaceae” para el *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis* de De Candolle. En el último cuarto del siglo XIX se publican dos trabajos que aún predominan entre los sistemas de clasificación de plantas vasculares: “*Genera Plantarum*” de Bentham y Hooker y “Die Naturliechen Pflanzen Familien” de

Engler y Prantl. En el primero Bentham reconoce 67 géneros de solanáceas, mientras que en el segundo Engler reconoce 76. Desde entonces a la fecha el número de géneros dentro de la familia no se ha incrementado notablemente (alrededor de 85), pero el número de especies es ya cercano a 3000 [3].

Las solanáceas son un grupo cosmopolita, se les encuentra distribuidas por todo el mundo, principalmente en regiones tropicales y templadas, pero su centro de diversidad se localiza en el oeste y sureste de América donde se albergan 60 géneros nativos, 28 de los cuales son endémicos de Sudamérica y las Galápagos [3] y los demás se distribuyen en las regiones templadas del continente y en América central. Existen muchas formas cultivadas de solanáceas, de las cuales la mayoría se han domesticado en América [3]. Esta familia es importante porque a ella pertenece un grupo de plantas que han sido y son extensamente utilizadas por diversas culturas del mundo, entre éstas se tienen plantas comestibles como la papa (*Solanum*), el jitomate (*Lycopersicon*), el tomate (*Physalis*), plantas medicinales o venenosas, tales como el tabaco (*Nicotiana tabacum*), la belladona (*Atropa belladonna*), el toloache (*Datura stramonium*), la mandrágora (*Mandragora officinarum*) y el beleño negro (*Hyoscyamus niger*). Muchas plantas de ornato (petunia, floripondio, huele de noche, gloria, etc) pertenecen también a esta familia [4]. La mayoría de los autores divide a la familia Solanaceae en dos subfamilias: Solanoideae y Cestroideae [5]; pero otros autores incluyen a los géneros *Nolana* y *Alona* como una tercera subfamilia: Nolanoideae [3]. También la delimitación genérica de las subfamilias ha estado sujeta a debates y en algunos casos la circunscripción taxonómica y ubicación exacta de los géneros en un sistema no es clara. Sin embargo existe coincidencia en agrupar al mayor número de géneros en la

Solanoideae y entre ellos a *Physalis* que es considerado un grupo monofilético [6].

2.2 EL GENERO *PHYSALIS*

Este género fue descrito por primera vez por Linneo en 1753 y a partir de entonces ha sido tratado por varios taxónomos como Nees, Don, Dunal, Rydberg, Menzel y Hendrich, entre otros. El tratamiento más reciente de *Physalis* corresponde a M. Martínez (1994) [6] y en él reorganiza las secciones e incluye algunas nuevas. En este tratamiento, el género *Physalis* es subdividido en cuatro subgéneros: *Physalodendron*, *Physalis*, *Rydbergis*, y *Quincula*, siendo el subgénero *Rydbergis* el que agrupa el mayor número de especies. Este tratamiento se resume en el cuadro 1.

El género *Physalis* se considera nativo de América y se le reconocen alrededor de 90 especies, con una de ellas endémica del Viejo Mundo, cinco de EUA, seis de Centroamérica y ocho de América del Sur. Las cerca de 70 especies restantes crecen en México y la mayoría son endémicas [5]. Por lo anterior, México es considerado el centro de diversificación del género [2].

Cuadro 1. Tratamiento taxonómico del género *Physalis* según Mahinda Martínez [6].

Género	Subgénero	Sección	Especie	
P h y s a l i s L.	<i>Physalis</i>		<i>P. alkekengi</i> L.	
	<i>Physalodendron</i>		<i>P. arborescens</i> L. <i>P. melanocystis</i> Bitter	
	<i>Quincula</i>		<i>P. lobata</i> Torrey	
	Rydbergis		<i>Epeteiorhiza</i> G. Don	<i>P. angustiphysa</i> Waterf. <i>P. cordata</i> Miller <i>P. grisea</i> (Waterf.) M. Martínez <i>P. ignota</i> Britton <i>P. latifisa</i> Waterf. <i>P. leptophylla</i> B. L. Rob.& Greenman <i>P. minuta</i> Griggs <i>P. missouriensis</i> Mackenzie & Bush <i>P. neomexicana</i> Rydb. <i>P. nicandroides</i> Schldl. <i>P. patula</i> Miller <i>P. porrecta</i> Waterf. <i>P. pruinosa</i> L. <i>P. pubescens</i> L.
			<i>Campanulae</i> M. Martínez	<i>P. glutinosa</i> Schldl. <i>P. campanula</i> Standley & Steyerf.
			<i>Coztomatae</i> M. Martínez	<i>P. aggregata</i> Waterf. <i>P. angustior</i> Waterf. <i>P. chenopodifolia</i> Lam. <i>P. coztomatl</i> Dunal <i>P. greenmannii</i> Waterf. <i>P. hintonii</i> Waterf. <i>P. longipedicellata</i> Waterf. <i>P. penellii</i> Waterf. <i>P. philippiensis</i> Fernald <i>P. pringlei</i> Greenm. <i>P. sancti-josephi</i> Dunal <i>P. subrepens</i> Waterf.
			<i>Lanceolatae</i> (Rydberg) Menzel	<i>P. caudella</i> Standley <i>P. fendleri</i> Gray <i>P. gracilis</i> Miers <i>P. hederifolia</i> Gray <i>P. heterophylla</i> Nees <i>P. ingrata</i> Standley <i>P. longifolia</i> Nutt. <i>P. muelleri</i> Waterf. <i>P. peruviana</i> L. <i>P. pumila</i> Nutt. <i>P. sordida</i> Fernald <i>P. virginiana</i> Miller <i>P. volubilis</i> Waterf.
			<i>Carpenteriae</i> (Rydberg) Menzel	<i>P. carpenteri</i> Riddell
			<i>Angulatae</i> (Rydberg) Menzel	<i>P. acutifolia</i> (Miers) Sandwith <i>P. ampla</i> Waterf. <i>P. angulata</i> L. <i>P. carnosae</i> Standley <i>P. crassifolia</i> Benth. <i>P. ixocarpa</i> Brotero <i>P. lagascae</i> Roemer & Shultes <i>P. microcarpa</i> Urban <i>P. philadelphica</i> Lam. <i>P. solanaceus</i> (Schldl.) Axelius <i>P. sulphurea</i> (Fernald) Waterf.
			<i>Viscosa</i> (Rydberg) Menzel	<i>P. angustifolia</i> Nutt. <i>P. cinerascens</i> (Dunal) A.S. Hitch. <i>P. mollis</i> Nutt. <i>P. vestita</i> Waterf. <i>P. viscosa</i> L. <i>P. walteri</i> Nutt.
			<i>Rydbergae</i> M. Martínez	<i>P. rydbergii</i> Fernald <i>P. minimaculata</i> Waterf.
			<i>Tehuacanae</i> M. Martínez	<i>P. tehuacanensis</i> Waterf.

Las especies de *Physalis* pueden ser herbáceas, sufrútices o arbustivas. La altura de las plantas varía desde 20 cm hasta 2 m, aunque la mayoría de las especies oscilan entre los 40 y 90 cm. Las flores en general son solitarias, las hojas alternas y por lo general solitarias, aunque en algunas especies se presentan geminadas (en pares, iguales en forma pero diferentes en dimensiones). El fruto es una baya carnosa que varía de color desde el amarillo verdoso hasta el anaranjado o púrpura [2]. Estos frutos son comestibles en 14 de las especies, pero sólo se cultivan 4 [7]. En México estos frutos se llaman tomates, vocablo que deriva del náhuatl “tomatl” y que es genérico para frutos globosos o bayas con muchas semillas, pulpa acuosa y a veces encerrados en un cáliz [8].

2.2.1. *PHYSALIS CINERASCENS*

Physalis cinerascens (Dunal) A. S. Hitchc, pertenece al subgénero *Rydbergis*, sección *Viscosa*. Esta especie crece en lugares secos, en laderas calizas con vegetación de pastizal, matorral, bosque tropical deciduo y en zonas perturbadas, entre los 1200-1700 msnm; fructifica todo el año. Se localiza desde el norte (parte central) de EUA hasta Yucatán. La especie se caracteriza por la pubescencia densa, con tricomas estrellados en toda la planta, lo cual le da un aspecto cenizo, característica a la que debe su nombre. Son distintivos también los largos pedicelos en el fruto, de hasta 6 cm de longitud y las hojas ovado deprimidas [2].

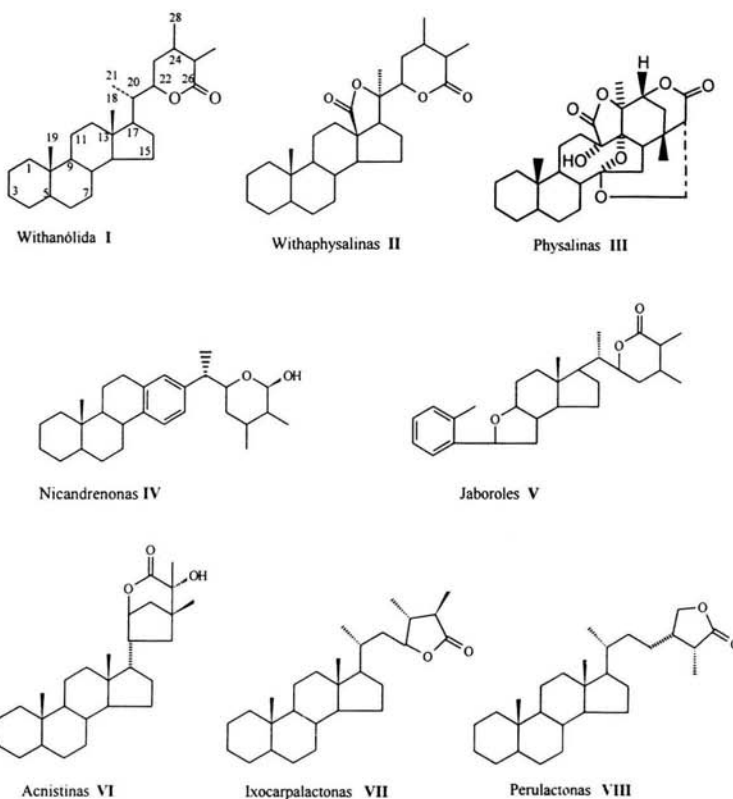
2.3 QUIMICA DE LA FAMILIA SOLANACEAE

Las solanáceas se caracterizan por poseer metabolitos secundarios que son interesantes tanto desde el punto de vista farmacológico como taxonómico. Los compuestos más comunes en estas plantas son alcaloides derivados de la higrina, del tropano y del grupo de la nicotina, flavonoides, diterpenos, triterpenos y withaesteroides [9]. Los alcaloides del tropano y los withaesteroides constituyen los dos grupos de metabolitos secundarios más frecuentemente aislados de las solanáceas [9]. Los withaesteroides se han aislado de 12 géneros de solanáceas: *Acnistus* (*Dunalia*), *Datura*, *Deprea*, *Iochroma*, *Jaborosa* (*Trechonaetes*), *Lycium*, *Nicandra*, *Physalis*, *Salpichroa*, *Tubocapsicum*, *Withania* y *Witheringia* [10], pero el mayor número de estos compuestos procede de *Physalis* y *Withania*. Es importante señalar que a pesar de que la mayoría de los withaesteroides se han aislado de solanáceas, recientemente se han aislado de otras familias como Labiatae (*Ajuga parviflora* Benth) [11], Leguminosae (*Cassia siamea* Lam) y Taccaceae (*Tacca chantrieri*) [10].

2.4 WITHAESTEROIDES

Los withaesteroides son compuestos de 28 átomos de carbono que poseen una lactona esteroideal construida sobre el esqueleto del ergostano, intacto o modificado. Estas lactonas esteroideales se caracterizan por poseer 9 átomos de carbono en su cadena lateral en C-17, misma que pueden tener una orientación α o β . Los compuestos cuya cadena lateral tiene orientación β son los más comunes. Los withaesteroides son compuestos generalmente polioxigenados, las plantas que los generan poseen sistemas enzimáticos capaces de oxidar todos los átomos de carbono dentro del núcleo esteroideal, con excepción de C-8, C-9, C-10

y C-11 [10]. La variedad de estructuras que exhiben las lactonas esteroidales, a pesar de estar construidas sobre un mismo esqueleto, se debe a que los sustituyentes oxigenados apropiados pueden conducir al rompimiento y formación de enlaces, aromatización de anillos y otros tipos de rearrreglos que originan nuevas estructuras. La variedad de estructuras de los withaesteroides hizo necesaria su clasificación en los ocho grupos que se enlistan a continuación y cuyas estructuras se muestran en el esquema 1. De éstas las más comunes son las withanólidas, que se cree son precursoras de los withaesteroides de los grupos **II-VIII**.



Esquema 1. Estructuras de los ocho tipos conocidos de withaesteroides

La primera withanólida aislada fue la withaferina A, se obtuvo de *Withania somnifera*, una planta medicinal que se distribuye a lo largo de las costas del Mediterráneo, en la India y en el sur de Africa [10]. Su estructura fue elucidada por el grupo de Lavie, en 1965. El nombre del género del que se aisló ha sido utilizado para denominar a las estructuras derivadas del ergostano que poseen una δ -lactona en su cadena lateral. Después de withaferina A se han aislado más de 300 withanólidas y como ya se mencionó, en los géneros *Withania* y *Physalis* se han encontrado tanto la mayor cantidad como la mayor variedad de estos compuestos [10]. En el cuadro 2 se presentan los tipos de withaesteroides que se han aislado de las diferentes secciones del género *Physalis*. En él se puede apreciar que *Physalis* produce withaesteroides de 5 de los ocho tipos conocidos hasta ahora.

Cuadro 2. Tipos de withaesteroides aislados de las diferentes secciones de *Physalis*.

Sección	Especie	Tipo de withasteroide
<i>Angulatae</i>	<i>P. angulata</i>	physalinas, withanólidas, ixocarpalactonas
	<i>P. minima</i>	physalinas, withanólidas, withaphysalinas
	<i>P. philadelphica</i>	ixocarpalactonas, physalinas, withanólidas.
	<i>P. solanaceus</i>	physalinas
	<i>P. ixocarpa</i>	withanólidas
<i>Epeteiorhiza</i>	<i>P. pruinosa</i>	withanólidas
	<i>P. peruviana</i>	perulactonas, physalinas, withanólidas
	<i>P. pubescens</i>	physalinas, withanólidas
	<i>P. alkekengi</i>	physalinas, withanólidas
<i>Lanceolatae</i>	<i>P. lancifolia</i>	physalinas
<i>Viscosa</i>	<i>P. viscosa</i>	withanólidas, ixocarpalactonas
<i>Coztomatae</i>	<i>P. chenopodifolia</i>	withanólidas
?	<i>P. curassavica</i>	withanólidas

2.4.1 ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE WITHAESTEROIDES

Muchos de los withaesteroides que han sido ensayados biológicamente, tanto *in vitro* como *in vivo*, han demostrado poseer muy diversas actividades biológicas. Entre éstas se encuentran: antimicrobiana, antitumoral, citotóxica, antiinflamatoria, inmunomoduladora, adaptogénica, antialimentaria, antioxidante y antiestrés, entre otras [12]. El primer withaesteroide ensayado fue la withaferina A, que se evaluó como antibacteriano y resultó activo. Estudios posteriores del mismo compuesto mostraron que también posee actividad antiestrés, antiinflamatoria, antitumoral, antibiótica, anticonvulsiva y depresora del Sistema Nervioso Central [12]. En el cuadro 3 se presentan algunos ejemplos de withaesteroides biológicamente activos que fueron aislados de solanáceas. En virtud de las interesantes propiedades biológicas de los withaesteroides, su búsqueda se ha intensificado para efectos de aislar compuestos nuevos y más activos [12].

Cuadro 3. Ejemplos de withaesteroides y su actividad biológica

Compuesto	Origen	Actividad
Ixocarpalactona A ¹³ 4β,7β,20R-trihidroxi-1-oxowitha-2,5-dien-22,26-olide ¹³ 2,3-dihidroixocarpalactona B ¹³ 2,3-dihidro-3-metoxiwithaphysacarpin ¹⁴ 24,25-dihidrowithanolida D ¹⁴ withaphysacarpin ¹⁴	<i>Physalis philadelphica</i>	Quimiopreventiva
Subtrifloralactonas A, C, D, F, I, J ¹⁵	<i>Deprea subtriflora</i>	Quimiopreventiva
Withaferina A ¹⁶ Physagulina D ¹⁶ Viscosolactona B ¹⁶	<i>Withania somnifera</i>	Citotóxica
Withacnistina ¹⁷ Withaferina A ¹⁷	<i>Acnistus arborescens</i>	Citotóxica Inmunosupresora Inmunomoduladora
Withanólidas D y E ¹⁸ Withaperuvina ¹⁸ Physalinas A y B ¹⁸	<i>Physalis peruviana</i>	Antimicrobiana Antitumoral
Withanólidas A, D, E ¹² 4β-hidroxiwithanolida E ¹² 2,3-dihidrowithanolida E ¹² Nicandrenona ¹² Nicalbinas A y B ¹²	<i>Withania somnifera</i>	Antialimentaria

3. HIPOTESIS:

La planta *Physalis cineracens* Dunal, deberá contener withaesteroides, como el resto de las especies de *Physalis* analizadas hasta la fecha .

4. OBJETIVO:

Aislar e identificar los metabolitos secundarios presentes en los extractos de hexano y de acetato de etilo de hojas, ramas y flores de *Physalis cinerascens*.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

Como resultado del estudio químico realizado al extracto hexánico de tallos, hojas y flores de *Physalis cinerascens*, se aisló la mezcla de β -sitosterol-estigmasterol ésta se identificó por comparación (ccf) con una muestra auténtica, así como por comparación de sus datos físicos con los de la literatura. [19]

Del extracto de AcOEt de tallos, hojas y flores se obtuvieron 4 withanólidas, la primera de ellas y la menos polar, resultó ser un compuesto nuevo, al que se denominó cinerólida (I). Este compuesto en presencia de ácido se transformó en el derivado II, compuesto que fue denominado isocinerólida. Los otros tres compuestos aislados se identificaron como 4 β -hidroxiwithanólida E (III), 2,3-dihidro-4 β -hidroxi-3 β -metoxiwithanólida E (V) y 4 β ,28-dihidroxiwithanólida E (VI).

La estructura de la cinerólida se estableció como I mediante el análisis de sus datos espectroscópicos y se confirmó por difracción de R-X.

Su espectro de IR muestra absorciones en 3515, 3420 y 3369 cm^{-1} , las cuales se atribuyen a la presencia de grupos hidroxilo, muestra también dos bandas en 1686 y 1663 cm^{-1} que se asignan a los carbonilos de una δ -lactona α , β -no saturada y de una cetona α , β -no saturada, respectivamente. La presencia de la δ -lactona se confirma con las señales observadas en los espectros de RMN. En el espectro de RMN ^{13}C (espectro 1) se observan 3 singuletes (multiplicidad por DEPT, espectro 2) en δ 166.9, 121.6 y 151.3 que se

atribuyen al carbonilo de la lactona (C-26) y a los carbonos vinílicos C-25 y C-24, respectivamente. Las señales de los carbonos de los metilos vinílicos C-27 y C-28 aparecen en δ 12.4 y δ 20.3, mientras que la señal del carbono base de lactona (C-22) se observa en δ 79.9 y la señal del carbono del metileno alílico, C-23, en δ 33.6. En el espectro de RMN ^1H (espectro 3) el protón base de lactona, H-22, genera una señal *ddd* en δ 4.60 ($J = 12.6, 3.6$ y 3.0 Hz), en tanto que las señales de H-23 y H-23' aparecen en δ 2.57 (*dd*, $J = 18.6, 3.3$ Hz) y δ 2.41 *m*, respectivamente. Las señales de los protones de los metilos vinílicos C-27 y C-28, se presentan como singuletes anchos en δ 1.78 y δ 1.91, respectivamente.

La existencia de una cetona α, β -no saturada en el anillo A se dedujo de la presencia de un sistema integrado por 4 señales, dos de las cuales (δ 5.77, $J = 10, 3, 1$ Hz; δ 6.93, $J = 10, 5, 3$ Hz) se atribuyen por su desplazamiento químico a los protones H-2 y H-3 de la cetona α, β -no saturada. Las otras dos señales del sistema integran para un protón cada una y aparecen en δ 3.40 (*d ancho* $J = 21$ Hz) y δ 2.89 (*dd* $J = 21, 5$ Hz). Estas señales corresponden a los protones H-4 y H-4' ya que muestran una constante de acoplamiento geminal ($J = 21$ Hz) y acoplamientos con H-3 y H-2 en el espectro COSY (espectro 4). En el espectro de RMN ^{13}C se observan cuatro señales que confirman lo anterior. La primera es un singulete en δ 202.0 que corresponde al carbonilo de la cetona α, β -no saturada y se asigna a C-1. Se observan además dos dobletes en δ 128.0 y δ 147.8 y un triplete en δ 34.5 que corresponden respectivamente a C-2, C-3 y C-4, ya que en el espectro HETCOR (espectro 5) correlacionan con las señales de H-2, H-3 y H-4, H-4'.

La señal de H-4 presenta un acoplamiento adicional con la señal de un protón vinílico que aparece en δ 5.79. Lo anterior y la presencia de dos señales para carbonos vinílicos (δ 138.2 *s* y δ 128.6 *d*) permiten establecer que existe otra doble ligadura en la molécula y que ésta se localiza entre los carbonos C-5 y C-6.

Una de las características de las withanólidas es la presencia de cinco grupos metilo. En la cinerólida ya se mencionó la existencia de los dos metilos vinílicos C-27 y C-28. En el espectro de RMN ^{13}C (espectro 1) se observan las señales de otros dos. La primera de ellas (δ 18.9 *c*), correlaciona en el espectro HETCOR (espectro 5) con un singulete en δ 1.05, por lo que se atribuye a un metilo angular y se asigna a C-18. La segunda (δ 10.3 *c*) muestra una correlación en el espectro HETCOR, con un doblete en δ 1.06, lo que indica que se trata de un metilo secundario y por lo tanto se asigna a C-21. El quinto metilo de la molécula C-19, se encuentra oxidado. Esto se dedujo de la presencia de señales para un metileno base de alcohol, cuyo carbono se presenta como triplete en δ 62.8 en el espectro de RMN ^{13}C y correlaciona en el espectro HETCOR con las señales de un sistema AB en δ 3.94 (H-19) y δ 3.69 (H-19'). Estos mismos protones también aparecen formando un sistema ABX por la interacción de los protones H-19 (δ 3.95 *dd*, $J = 10.5, 4.2$ Hz;) y H-19' (δ 3.71 *dd*, $J = 10.5, 6.6$ Hz;) con el protón del grupo hidroxilo cuya señal aparece como un *dd* en δ 3.87 $J = 6.6$ y 4.2 Hz. Lo anterior parece indicar que en una población de cinerólida los protones de C-19 se acoplan con el protón del alcohol, mientras que en el resto de las moléculas no existe tal interacción. Cuando el espectro de RMN ^1H del compuesto **I** se determinó en CD_3OD , los protones H-19 y H-19' aparecen como un sistema AB (δ 3.88, *d*, $J = 11.5$ Hz, H-19; δ 3.69, *d*, $J = 11.5$ Hz, H-19'). La asignación del resto de las señales se

hizo mediante el análisis del espectro HMBC (espectro 6) en el que se pueden observar las correlaciones C-H a 2 y 3 enlaces. Las más importantes se muestran en la figura 1.

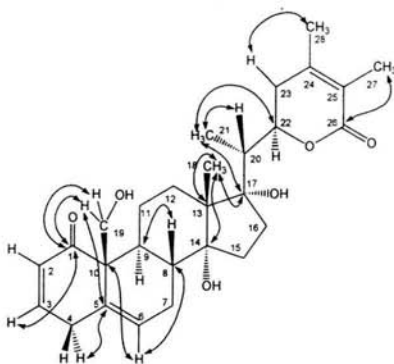


Figura 1. Principales correlaciones C-H a dos y tres enlaces observadas en el espectro HMBC de cinerólida (I)

La estereoquímica de la cinerólida se estableció mediante su análisis de difracción de rayos-X (Fig. 2).

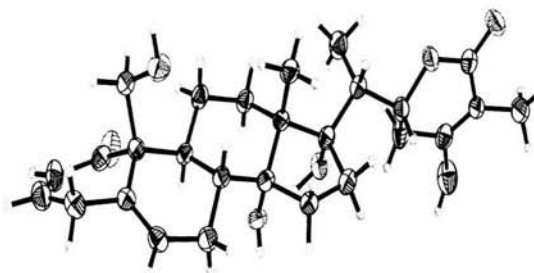
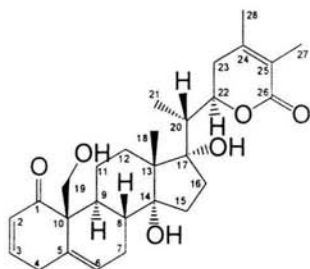


Figura 2. Vista estereoscópica de cinerólida (I)

De este modo la estructura de la cinerólida quedó establecida como se muestra en **I**.



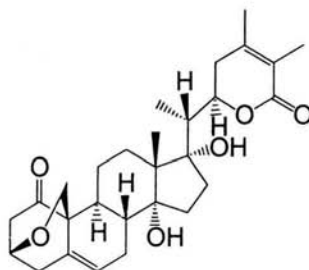
Cinerólida (**I**)

La cinerólida (**I**) es inestable en medio ácido y se transforma cuantitativamente en **II** (isocinerólida). Esta transformación ocurrió durante la determinación de sus espectros de RMN, al disolver el compuesto en CDCl_3 que contenía trazas de ácido y también cuando una pequeña cantidad del compuesto disuelto en acetona, se trató con carbón activado.

La isocinerólida (**II**) es un compuesto cristalino que presenta en su espectro de IR bandas en 3446 y 3327 cm^{-1} atribuidas a la presencia de grupos hidroxilo, la banda en 1680 cm^{-1} corresponde a una δ -lactona- α , β -no saturada, en tanto que la absorción en 1732 cm^{-1} se asigna a una cetona saturada.

La estructura de la isocinerólida se estableció de manera similar a la descrita para la cinerólida, ya que los análisis de sus espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , COSY y HETCOR, (espectros 7-10) permitieron concluir que la isocinerólida es el producto de la adición intramolecular del alcohol en C-19 de la isocinerólida al carbono β de la enona (C-3). Lo anterior se deduce de que el espectro de RMN ^{13}C (espectro 8) muestra sólo cuatro señales

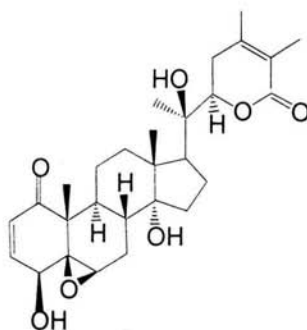
para carbonos vinílicos y éstas corresponden a los del doble enlace aislado (C-5 - C-6) y a los del doble enlace conjugado de la δ -lactona (C-24 - C-25). Se observan además 2 señales que se asignan a los carbonos base de éter, C-3 (δ 67.6) y C-19 (δ 67.3). La señal de C-2 se encuentra desplazada a campo alto, (δ 34.8 *t*) debido a que ahora corresponde a un metileno α al carbonilo de la cetona. Esta señal correlaciona en el espectro HETCOR (espectro 10) con las señales de los protones H-2 y H-2' (δ 2.85 *dd*, $J = 15$ Hz y δ 2.61 *m*). La señal del protón base de éter, H-3, (espectro 7) aparece como un singulete ancho en δ 4.33, en tanto que las señales de H-19 y H-19' se presentan como un sistema AB en δ 4.12 (*d*, $J = 9.0$ Hz) y δ 3.95 (*d*, $J = 9.0$ Hz). La señal del carbonilo de la cetona, C-1, se desplaza a campo bajo y aparece en δ 208.0 como corresponde a una cetona no conjugada.



Isocinerólida (II)

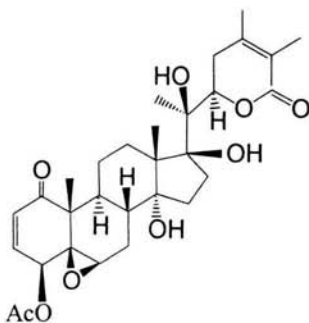
El segundo compuesto aislado, y el más abundante en el extracto, se identificó como 4 β -hidroxiwitanólida E (III). Es un compuesto ya conocido, aislado por vez primera de *P. peruviana* [20, 21] y posteriormente de varias especies de *Physalis* [13, 22]. Se identificó por análisis de sus datos espectroscópicos (espectros 11 y 12) y comparación de éstos (tablas 1 y 2) con los citados en la literatura [20]. Este compuesto, a diferencia de la

cinerólida, presenta una orientación α de la cadena lateral en C-17.



4 β -Hidroxiwithanolida E (III)

De la acetilación del compuesto **III** se obtuvo el monoacetato **IV**, conocido como 4 β -acetoxiwithanolida E. Éste se ha descrito como un aceite [20], pero en nuestro caso se obtuvo en forma cristalina. El resto de sus datos físicos y sus datos espectroscópicos (espectros 13 y 14) coinciden con los descritos en la literatura [20, 21].



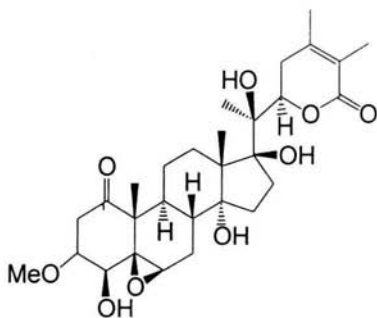
4 β -Acetoxiwithanolida E (IV)

Al segundo compuesto en abundancia aislado de esta especie, se le asignó la estructura **V**. Esta withanólida es probablemente un artefacto producido por la adición de MeOH al compuesto **III**.

La presencia de una cetona saturada y de un grupo metoxilo en C-3 se determinó como sigue: En el espectro de RMN ^{13}C (espectro 15), el desplazamiento químico de la señal que aparece en δ 209.7 es característico de una cetona no conjugada. Esta señal corresponde a C-1. La señal que aparece como un triplete en la región de campo alto (δ 40.0) es asignada a C-2, ya que su desplazamiento químico es adecuado para el carbono de un metileno α a un grupo carbonilo. En el espectro de RMN ^1H (espectro 16) las señales de los protones H-2 y H-2' aparecen cada una, como un *dd* en δ 2.87 y 2.69 respectivamente y una de sus constantes de acoplamiento es de 15 Hz; lo que indica que se trata de protones geminales. La señal que aparece en δ 77.3 se asigna al carbono base de éter, C-3. En el espectro de RMN ^{13}C la señal que aparece como un cuarteto en δ 56.8 corresponde al carbono de un grupo metoxilo y en el espectro de RMN ^1H , aparece también la señal característica de este grupo, como un singulete en δ 3.33. Por lo anterior se establece la presencia del grupo metoxilo en el C-3 de la molécula y dado que el resto de sus señales son prácticamente idénticas a las del compuesto **III**, se propone su estructura como 2,3-dihidro-4 β -hidroxi-3 β -metoxiwithanólida E (**V**).

La withanólida **V** se ha descrito como producto natural de *P. alkekengi* y se denominó physalactona [23]. Los autores de la publicación la describieron como un polvo amorfo y le

asignaron una estructura errónea. Posteriormente otros autores [24] sugirieron que se corrigiera la estructura a la de 2,3-dihidro-3-metoxi-4 β -hidroxiwithanólida E. En 1984 los primeros autores corrigieron la estructura de physalactona a la sugerida, basados en datos de RMN ^{13}C y en la obtención de physalactona a partir de 4 β -hidroxiwithanólida E (III) [25]. Los datos de RMN de ^1H y ^{13}C descritos para physalactona coinciden con los nuestros.

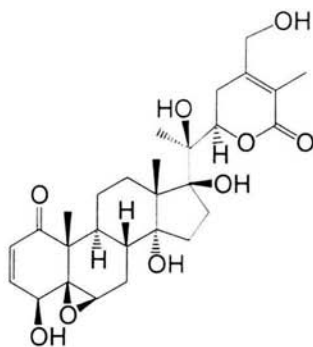


Physalactona (V)
(3 β -Metoxi-4 β -hidroxiwithanolida E)

La estructura del compuesto más polar aislado de la planta se estableció como 4 β ,28-dihidroxiwithanolida E (VI). Sus espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , COSY y HSQC (espectros 17-20) resultaron muy semejantes a los del compuesto III. La diferencia entre III y VI, reside en que en el compuesto VI existe un grupo hidroxilo en C-28. Lo anterior se dedujo de la presencia de una señal que se observa como un triplete en δ 59.9 y que fue asignada a C-28. Las señales de los protones H-28 y H-28' (Espectro 17) aparecen como la parte AB (δ 4.19 *dd*, $J = 14.5, 5$ Hz, H-28; δ 4.01 *dd*, $J = 14.5, 6.3$ Hz, H-28') de un sistema ABX, ya que interaccionan con el protón del alcohol alílico (δ 5.05 *dd*, $J = 6.3, 5$ Hz). La asignación

de las señales de RMN ^1H y ^{13}C se hizo con base tanto en los desplazamientos químicos, como en las correlaciones observadas en los espectros COSY y HSQC.

Este compuesto fue descrito previamente como constituyente de *Physalis viscosa* [25, 26] y se le asignó el nombre de visconólida.



Los datos de RMN ^1H y de ^{13}C de los compuestos I-VI se presentan en las tablas 1 y 2.

Tabla 1. Datos espectroscópicos de RMN ¹H de los compuestos I-VI (300 MHz).

H	I ^a (δ, m, J)	II ^b (δ, m, J)	III ^c (δ, m, J)	IV ^d (δ, m, J)	V ^d (δ, m, J)	VI ^e (δ, m, J)
2	5.77 <i>ddd</i> * 10, 3, 1	2.85 <i>da</i> 15 2.20 <i>m</i> *	6.18 <i>d</i> 9.9	6.24 <i>d</i> 9.9	2.87 <i>dd</i> 15, 7.2 2.69 <i>dd</i> 15, 4.5	6.10 <i>d</i> 9.9
3	6.93 <i>ddd</i> 10, 5, 2.7	4.33 <i>sa</i>	7.05 <i>dd</i> 9.9, 6.3	7.03 <i>dd</i> 9.9, 6.3	3.66 <i>ddd</i> 7.2, 4.5, 3	7.04 <i>dd</i> 9.9, 6.3
4	3.40 <i>da</i> 21	2.90 <i>dt</i> 18.6, 3.0	3.66 <i>d</i> 6.3	4.62 <i>d</i> 6.3	3.48 <i>d</i> 3	3.51 <i>dd</i> 6.0, 4.0
4'	2.89 <i>dd</i> 21, 5	2.35 <i>dd</i> 18.6, 1.8				
6	5.79*	5.79 <i>dt</i> 3.9, 1.8	3.22 <i>sa</i>	3.28 <i>sa</i>	3.30 <i>sa</i>	3.17 <i>sa</i>
7	1.96 <i>m</i> *	1.80-2.0 <i>m</i> *	1.90 <i>m</i> *	2.05 <i>m</i> *	2.10 <i>m</i> *	1.83 <i>m</i> *
7'	1.85 <i>m</i> *	1.80-2.0 <i>m</i> *	1.90 <i>m</i> *	2.05 <i>m</i> *	2.10 <i>m</i> *	1.83 <i>m</i> *
8	2.37 <i>td</i> * 11.4, 4.8	1.82 <i>m</i> *	1.84 <i>m</i> *	1.80 <i>m</i> *	1.74 <i>td</i> * 11, 4.5	1.63 <i>dd</i> * 16.0, 7.2
9	2.20 <i>m</i> *	2.61 <i>dd</i> * 12.6, 4.5	1.50 <i>m</i> *	1.60 <i>m</i> *	1.83 <i>m</i> *	1.35 <i>m</i> *
11	2.22 <i>m</i> *	1.52 <i>m</i> *	1.56 <i>m</i> *	1.60 <i>m</i> *	1.35 <i>m</i> *?	1.35 <i>m</i> *
11'	1.90 <i>m</i> *	1.12 <i>m</i> *	1.26 <i>m</i> *	1.60 <i>m</i> *	1.25-1.40 <i>m</i> *	1.35 <i>m</i> *
12	2.20 <i>m</i> *	2.20 <i>m</i> *	2.20 <i>td</i> 11.4, 6.9	2.20 <i>m</i> *	2.27 <i>tda</i> 12, 5.7	1.98 <i>m</i> *
12'	1.48 <i>da</i> 13.2	1.44 <i>m</i> *	1.26 <i>m</i> *	1.26 <i>m</i> *	1.23 <i>m</i> *	1.18 <i>m</i> *
15	1.80 <i>m</i> *	1.80 <i>m</i> *	1.70 <i>dd</i> * 12, 8.7	1.60 <i>m</i> *	21.6 <i>m</i> *	1.60 <i>m</i> *
15'	1.61 <i>ddd</i> 13.2, 11.7, 6.6	1.61 <i>ddd</i> 13.5, 11.5, 7	1.50 <i>m</i> *	1.60 <i>m</i> *	1.15-1.70 <i>m</i> *	1.35 <i>m</i> *
16	2.22 <i>m</i> *	2.16 <i>m</i> *	2.50 <i>m</i> *	2.70 <i>m</i>	2.70 <i>m</i> *	2.34 <i>m</i> *
16'	1.90 <i>m</i> *	1.9 <i>m</i> *	1.58 <i>m</i> *	1.45 <i>m</i> *	1.46 <i>m</i> *	1.18 <i>m</i> *
18	1.05 <i>s</i>	0.89 <i>s</i>	1.06 <i>s</i>	1.07 <i>s</i>	1.02 <i>s</i>	0.94 <i>s</i>
19	3.94 <i>d</i> 10.5 (3.95 <i>dd</i> 10.5, 4.2)	4.12 <i>d</i> 9	1.39 <i>s</i>	1.40 <i>s</i>	1.29 <i>s</i>	1.24 <i>s</i>
19'	3.69 <i>d</i> 10.5 (3.71 <i>dd</i> 10.5, 6.6)	3.95 <i>d</i> 9				
20	2.12 <i>m</i> *	2.20 <i>m</i> *				
21	1.06 <i>d</i> , 6.3	1.06 <i>d</i> , 6.9	1.37 <i>s</i>	1.41 <i>s</i>	1.41 <i>s</i>	1.24 <i>s</i>
22	4.60 <i>ddd</i> 12.6, 3.6, 3.0	4.65 <i>ddd</i> 9.6, 7.2, 2.7	4.80 <i>dd</i> 13.2, 3.9	4.84 <i>dd</i> 9.9, 6.6	4.85 <i>dd</i> 10, 3.5	4.59 <i>dd</i> 13.8, 2.4
23	2.57 <i>dd</i> 18.6, 3.6	2.52 <i>m</i> *	2.64 <i>dd</i> 18.6, 3.3	2.50 <i>m</i> *	2.50 <i>m</i> *	2.85 <i>da</i> 18
23'	2.41 <i>m</i> *	2.52*	2.50 <i>m</i> *	2.50 <i>m</i> *	2.50 <i>m</i> *	2.18 <i>ta</i> ~ 18
27	1.78 <i>sa</i>	1.87 <i>s</i>	1.84 <i>sa</i>	1.87 <i>s</i>	1.86 <i>sa</i>	1.72 <i>s</i>
28	1.91 <i>s</i>	1.93 <i>s</i>	1.96 <i>sa</i>	1.94 <i>s</i>	1.93 <i>sa</i>	4.19 <i>dd</i> 14.5, 5 4.01 <i>dd</i> 14.5, 6.3 28-OH 5.05 <i>dd</i> 6.3, 5; 5.53 <i>d</i> 4; 4.64; 6.59; 5.73
OH	19-OH 3.87 <i>dd</i> 6.6, 4.2; 5.20; 4.13					

* Señal sobrepuesta; *a* = señal ancha; ^aMe₂CO-*d*₆; ^bCDCl₃-DMSO-*d*₆; ^c500 MHz, CD₃OD; ^dCDCl₃; ^e500 MHz, DMSO-*d*₆. Compuesto IV: CH₃CO δ 2.04 s; Compuesto V: OMe δ 3.33 s.

Tabla 2. Datos Espectroscópicos de RMN ^{13}C de los compuestos I-VI (75 MHz)*

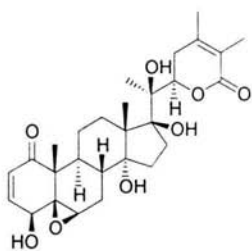
C	I ^a (δ , m)	II ^b (δ , m)	III ^c (δ , m)	IV ^d (δ , m)	V ^d (δ , m)	VI ^e (δ , m)
1	202.0 <i>s</i>	208.1 <i>s</i>	204.3 <i>s</i>	200.9 <i>s</i>	209.7 <i>s</i>	201.6
2	128.0 <i>d</i>	34.8 <i>t</i>	133.5 <i>d</i>	134.2 <i>d</i>	40.0 <i>t</i>	131.3 <i>d</i>
3	147.8 <i>d</i>	67.6 <i>d</i>	145.1 <i>d</i>	139.4 <i>d</i>	77.3 <i>d</i>	144.8 <i>d</i>
4	34.5 <i>t</i>	44.3 <i>t</i>	71.3 <i>d</i>	72.5 <i>d</i>	75.6 <i>d</i>	68.6 <i>d</i>
5	133.5 <i>s</i>	129.6 <i>s</i>	65.0 <i>s</i>	61.0 <i>s</i>	64.9 <i>s</i>	63.2 <i>s</i>
6	129.2 <i>d</i>	124.8 <i>d</i>	62.1 <i>d</i>	61.0 <i>d</i>	60.4 <i>d</i>	59.5 <i>d</i>
7	25.3 <i>t</i>	23.8 <i>t</i>	27.3 <i>t</i>	25.6 <i>t</i>	25.7 <i>t</i>	25.5 <i>t</i>
8	39.0 <i>d</i>	36.0 <i>d</i>	35.4 <i>d</i>	33.9 <i>d</i>	33.9 <i>d</i>	33.5 <i>d</i>
9	36.7 <i>d</i>	30.1 <i>d</i>	38.6 <i>d</i>	36.7 <i>d</i>	35.7 <i>d</i>	36.5 <i>d</i>
10	58.7 <i>s</i>	52.1 <i>s</i>	49.2 <i>s</i>	48.1 <i>t</i>	50.3 <i>s</i>	47.2 <i>s</i>
11	23.4 <i>t</i>	20.3 <i>t</i>	22.4 <i>t</i>	20.8 <i>t</i>	20.9 <i>t</i>	20.6 <i>t</i>
12	27.6 <i>t</i>	25.6 <i>t</i>	31.2 <i>t</i>	29.4 <i>t</i>	29.3 <i>t</i>	29.0 <i>t</i>
13	51.4 <i>s</i>	50.1 <i>s</i>	55.7 <i>s</i>	54.4 <i>s</i>	54.5 <i>s</i>	53.7 <i>s</i>
14	87.6 <i>s</i>	85.4 <i>s</i>	84.0 <i>s</i>	81.8 <i>s</i>	81.6 <i>s</i>	81.2 <i>s</i>
15	33.9 <i>t</i>	32.7 <i>t</i>	33.4 <i>t</i>	32.2 <i>t</i>	32.2 <i>t</i>	31.8 <i>t</i>
16	38.8 <i>t</i>	37.5 <i>t</i>	37.6 <i>t</i>	37.8 <i>t</i>	37.8 <i>t</i>	35.8 <i>t</i>
17	86.2 <i>s</i>	85.0 <i>s</i>	88.8 <i>s</i>	87.6 <i>s</i>	87.7 <i>s</i>	87.1 <i>s</i>
18	18.9 <i>q</i>	17.7 <i>c</i>	20.9 <i>c</i>	20.2 <i>c</i>	20.1 <i>c</i>	19.8 <i>c</i>
19	62.8 <i>t</i>	67.3 <i>t</i>	16.7 <i>c</i>	15.1 <i>c</i>	14.8 <i>c</i>	15.7 <i>c</i>
20	44.9 <i>d</i>	43.4 <i>d</i>	80.0 <i>s</i>	79.0 <i>s</i>	79.0 <i>s</i>	78.2 <i>s</i>
21	10.3 <i>c</i>	9.4 <i>c</i>	19.5 <i>c</i>	19.5 <i>c</i>	19.6 <i>c</i>	19.1 <i>c</i>
22	79.9 <i>d</i>	78.8 <i>d</i>	82.9 <i>d</i>	79.7 <i>d</i>	79.7 <i>d</i>	81.8 <i>d</i>
23	33.6 <i>t</i>	32.4 <i>t</i>	35.8 <i>t</i>	34.2 <i>t</i>	34.2 <i>t</i>	28.9 <i>t</i>
24	151.3 <i>s</i>	150.6 <i>s</i>	153.5 <i>s</i>	150.7 <i>s</i>	150.7 <i>s</i>	153.8 <i>s</i>
25	121.6 <i>s</i>	120.5 <i>s</i>	122.1 <i>s</i>	121.4 <i>s</i>	121.4 <i>s</i>	119.5 <i>s</i>
26	166.9 <i>s</i>	166.8 <i>s</i>	169.2 <i>s</i>	166.1 <i>s</i>	166.0 <i>s</i>	166.2 <i>s</i>
27	12.4 <i>c</i>	11.7 <i>c</i>	12.5 <i>c</i>	12.3 <i>c</i>	12.3 <i>c</i>	11.4 <i>c</i>
28	20.3 <i>c</i>	19.9 <i>c</i>	20.7 <i>c</i>	20.6 <i>c</i>	20.6 <i>c</i>	59.9 <i>t</i>

* Multiplicidad por DEPT; ^aMe₂CO-*d*₆; ^bCDCl₃-DMSO-*d*₆; ^c125 MHz, CD₃OD; ^dCDCl₃; ^e125 MHz, DMSO-*d*₆. Compuesto IV: CH₃CO δ 20.8 *s*, 170.1; Compuesto V: OMe δ 56.8 *c*.

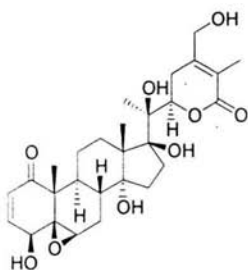
Physalis cinerascens y *P. viscosa* están incluidas, junto con *P. angustifolia*, *P. mollis*, *P. vestita* y *P. walteri*, en la sección *Viscosa* del subgénero *Rydbergis* y son las únicas especies de dicha sección, analizadas químicamente. *P. viscosa* ha sido estudiada en múltiples ocasiones [22, 24-26, 28-30]. Las poblaciones analizadas fueron recolectadas en muy diversas partes del mundo y de sus partes aéreas se han aislado hasta ahora 11 withanólidas: 4β-hidroxywithanólida E, 28-hidroxiwithaphysanólida, 28-hidroxiwithaperuvina C, visconólida, physalactona, withaphysanólida, withaferina A, viscosolactona A, viscosolactona B y physanólida, cuyas estructuras se muestran en el esquema 2. En nuestro estudio de las partes aéreas de *P. cinerascens* aislamos tres de los compuestos presentes en *P. viscosa* (ver cuadro 4), lo que apoya la pertenencia de ambas especies a la misma sección. Sin embargo, para lograr generar un perfil químico más representativo de la sección es necesario analizar químicamente cada una de las especies incluidas; sólo de esta manera será posible establecer una relación entre los caracteres morfológicos y la composición química, que apoye su circunscripción taxonómica.

Cuadro 4. Relación entre los compuestos aislados de *P. cinerascens* con los aislados de otras especies del género.

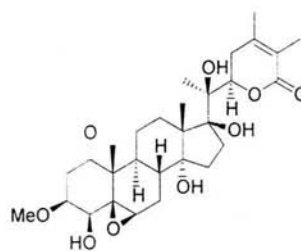
Compuesto	Origen	Sección
4β-hidroxiwithanólida E. (III)	<i>P. philadelphica</i> ⁽¹³⁾ <i>P. peruviana</i> ^{(20) (21)} <i>P. viscosa</i> ²² <i>P. cinerascens</i>	<i>Angulatae</i> <i>Lanceolatae</i> <i>Viscosa</i> . <i>Viscosa</i>
physalactona (V)	<i>P. peruviana</i> ⁽²⁷⁾ <i>P. alkekengi</i> ⁽²³⁾ <i>P. viscosa</i> ^{(10) (25) (26)} <i>P. cinerascens</i>	<i>Lanceolatae</i> <i>Physalis</i> <i>Viscosa</i> <i>Viscosa</i> .
visconólida (VI)	<i>P. viscosa</i> ^{(24) (25)} <i>P. cinerascens</i>	<i>Viscosa</i>
cinerólida (I)	<i>P. cinerascens</i>	<i>Viscosa</i>



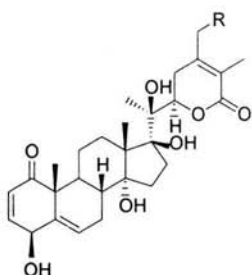
4β-hidroxiwithanólida E



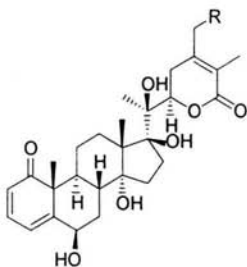
Visconólida



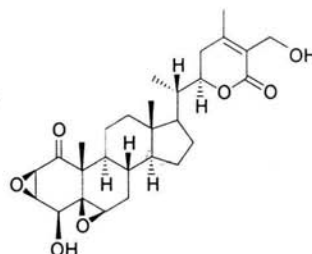
Physalactona



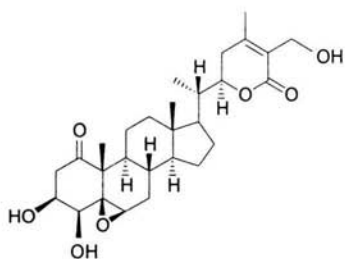
R= H Withaphysanólida
R= OH 28-hydroxywithaphysanólida



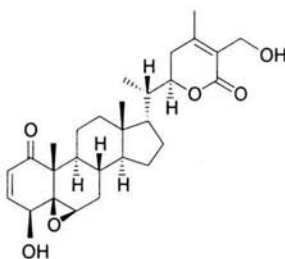
R= OH 28-hidroxiwithaferina C
R= H Withaferina C



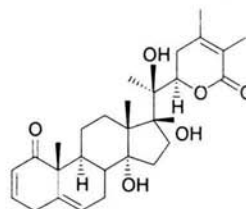
Viscosolactona A



Viscosolactona B



Withaferina A



Physanólida

Cuadro 5. Estructuras de las withanólidas aisladas de *Physalis viscosa*.

Por otra parte de los compuestos aislados de *P. cinerascens* sólo al compuesto **III** se le han realizado pruebas biológicas. Éste ha mostrado poseer actividad antialimentaria para *Spodoptera littoralis* (Boisd.) [31], así como antibacteriana contra bacterias gram-positivas [32]. Su potente actividad antineoplásica en las líneas celulares de leucemia L5178Y, L1210 y melanosarcoma B-16, todas ellas de ratón, condujeron a que fuera preclínicamente investigado por el Instituto Nacional del Cáncer (USA), desafortunadamente su actividad resultó ser menor que la necesaria para investigaciones clínicas [10].

6. CONCLUSIONES:

-Como resultado del análisis químico realizado al extracto hexánico de hojas, ramas y flores de *Physalis cinerascens*, se aisló la mezcla de β sitosterol y estigmasterol.

-Del extracto de AcOEt de hojas, ramas y flores se aisló cinerólida, una nueva 19-hidroxiwithanólida y tres compuestos previamente descritos en la literatura que se identificaron como 4 β -hidroxiwithanólida E; 2,3-dihidro-4 β -hidroxi-3 β -metoxiwithanólida E y 4 β ,28-dihidroxiwithanólida E.

-En *Physalis cinerascens* coexisten withanólidas con una orientación α y β de la cadena lateral en C-17, ya que mientras en cinerólida dicha cadena es β , en el resto de las withanólidas aisladas tienen la orientación opuesta (α).

-Se encontró que los withaesteroides de *Physalis cinerascens* son del tipo de las withanólidas y que tres de ellas fueron aislados de *P. viscosa*, otra especie de la misma sección.

- *Physalis cinerascens* y *Physalis viscosa* son las únicas especies de la sección *Viscosa* que se han analizado químicamente. Los datos aportados en esta tesis, contribuyen a la conformación del perfil químico de esta sección y en consecuencia del género.

-En los compuestos aislados, el sitio químicamente más reactivo parece ser la cetona α,β -no saturada del anillo A, que fácilmente sufre reacciones de adición conjugada. Por lo anterior, es aconsejable cuidar las condiciones de extracción y aislamiento para evitar la formación de artefactos.

7. PARTE EXPERIMENTAL

7.1 MATERIAL Y EQUIPO

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos. En las cromatografías en columna se utilizó como fase estacionaria sílica gel (Merck G). Para las cromatografías en capa fina se utilizaron cromatofolios Alugram Sil G/UV₂₅₄ de 0.25 mm. Se utilizó como revelador sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N y /ó lámpara de UV Spectroline modelo 7924T. Los espectros de IR se determinaron por las técnicas de solución (CHCl₃) o suspensión (nujol), en un espectrofotómetro FT-IR Nicolet Magna 750. Los espectros de masas se determinaron utilizando la técnica de FAB en un espectrómetro Jeol JMS-AX505HA. Los espectros de RMN se determinaron en los espectrómetros Varian XR-300 (300 MHz ¹H, 75 MHz ¹³C) y Varian Unity Plus 500 (500 MHz ¹H, 125 MHz ¹³C), los desplazamientos químicos (δ) están dados en ppm referidos al tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

Material vegetal. Las partes aéreas de *Physalis cinerascens* (Dunal) A. S. Hitchc. se recolectaron el 13 de agosto de 2001 en el pueblo de "Ojo de Agua", Mpio. de Querétaro, a orillas de la carretera Querétaro-San Luis Potosí, casi en el límite con el Estado de Guanajuato. Un ejemplar de la planta se depositó en el Herbario de la Universidad Autónoma de Querétaro (Mahinda Martínez 5934). El material vegetal se separó en tres partes: frutos, cálices y ramas-hojas-flores. Los cálices y ramas-hojas-flores se dejaron secar a temperatura ambiente.

7.2 EXTRACCION

Frutos. Los frutos enteros (85.83 g) se lavaron tres veces con AcOEt (1 l). De la solución obtenida se eliminó el disolvente por destilación a presión reducida. Se obtuvieron 1.73 g de extracto (resina de frutos).

Los frutos lavados se maceraron con MeOH durante dos semanas, se molieron en una licuadora industrial y se colocaron en una columna de vidrio a la que se le hizo pasar MeOH hasta agotar el material vegetal. La solución obtenida se concentró a presión reducida en un rotavapor. Se obtuvieron 22.36 g de extracto (metanólico de frutos).

Cálices. Los cálices secos (36.94 g) se colocaron en una columna de vidrio y se extrajeron con MeOH. La solución obtenida se concentró a presión reducida. Se obtuvieron 6.48 g de extracto (metanólico de cálices). Posteriormente estos cálices se sometieron a una extracción con agua, la cual fué posteriormente eliminada haciéndole pasar una corriente de aire. Se obtuvieron 5.30 g de extracto (acuoso de cálices).

Tallos-hojas-flores. Se partió de 906.39 g de tallos-hojas-flores secos y molidos, los cuáles fueron extraídos con MeOH hasta agotar el material vegetal. Después de evaporar el disolvente a presión reducida, se obtuvieron 175.31 g de extracto (metanólico de tallos-hojas-flores). Este extracto se disolvió en MeOH-H₂O 4:1 (1 l) y se extrajo con hexano (400 ml, 6x). Los extractos hexánicos se reunieron y se concentraron. Se obtuvieron 30.21 g de extracto (hexánico de tallos-hojas-flores). Se eliminó el metanol de la fracción de MeOH-H₂O y se agregaron 600 ml de agua. La solución acuosa resultante se extrajo con

AcOEt (300 ml, 6x) los extractos de acetato de etilo se concentraron para obtener 44.3 g de extracto (AcOEt de tallos-hojas-flores) y a la fracción acuosa resultante se le evaporó el agua mediante una corriente de aire. Se obtuvieron 97.4 g de extracto (acuoso de tallos-hojas-flores).

7.3 AISLAMIENTO Y PURIFICACION DE COMPUESTOS DE LOS EXTRACTOS DE TALLOS, HOJAS Y FLORES

7.3.1 EXTRACTO HEXANICO

El extracto hexánico de tallos-hojas-flores (30.21g) disuelto en acetona, se decoloró con carbón activado. El extracto decolorado se fraccionó por cromatografía en columna de sílica gel, eluida inicialmente con hexano y después con soluciones de hexano-AcOEt de polaridad creciente (1:0→0:1), acetona y metanol. Se colectaron fracciones de 500 ml, que se analizaron por ccf y se reunieron aquellas de composición semejante. Las fracciones eluidas con hexano-AcOEt 19:1 se purificaron por cromatografía en columna (sílica gel; hexano-AcOEt 19:1; columna A). Se colectaron fracciones de 250 ml (Frs. A1-A9 1:0; A10-A39 19:1; A40-A45 17:3; A46-A53 4:1; A54-A62 7:3; A63-A66 1:1; A67 MeOH). De las fracciones A9-A15 se aisló por cristalización (etanol) la mezcla de β sitosterol-estigmasterol de la que se obtuvieron 236.5 mg. (0.0259 % respecto al peso de la planta seca). La identificación se llevó a cabo por comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con los descritos en la literatura.

7.3.2. EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO DE TALLOS, HOJAS Y FLORES

De la recromatografía (silica gel hexano-acetona 4:1→0:1) de las fracciones A63-A67 del extracto hexánico, se reunieron las frs. eluidas con hexano-acetona 3:1→1:1 y se combinaron con el extracto de AcOEt, se adsorbieron en celita y ésta se colocó en la parte superior de una columna de silica gel (columna B). La columna se eluyó con mezclas de hexano-AcOEt de polaridad creciente (19:1→0:1), acetona y metanol. Se colectaron 90 fracciones de 500 ml (B1-B90) que fueron analizadas mediante ccf y se reunieron las que mostraron una composición semejante. Las fracciones B25-B51 eluidas con hexano-AcOEt 7:3 y 3:2 contenían cinerólida. Este compuesto se purificó por repetidas cromatografías en columna de sílica gel eluidas con CH₂Cl₂-acetona 19:1, y posterior cristalización (acetona-hexano). Se obtuvieron 12.6 mg de cinerólida (**I**). Las aguas madres de **I** se reunieron con las fracciones B52-B65 (eluidas con hexano-AcOEt 3:2 y 1:1) y se fraccionaron por CC de silica gel eluida con CH₂Cl₂-acetona (Columna C, frs. C1-C19 19:1; C20-C-27 9:1). De las fracciones C4-C22 se obtuvieron 31.3 mg más de cinerólida. Rendimiento total de **I**: 43.9 mg (0.0048% respecto al peso de la planta seca).

Las fracciones B66-B84 (eluidas con hexano-AcOEt 2:3→1:4 y acetona) se reunieron y se fraccionaron por CC de silica gel eluida con mezclas de hexano-acetona de polaridad creciente, (columna D). Se colectaron fracciones de 250 ml (frs.D1-D6 4:1; D7-D56 3:1; D57-D69 7:3; D70-D74 13:7; D75-D81 3:2; D82-D87 1:1; D88-D104 2:3; D105 3:7; D106 1:9; D107-D109 0:1). De las fracciones D41-D79 se aislaron por cristalización (MeOH-AcOEt-hexano) 878.1mg de 4β-hidroxiwithanólida E (**III**). Las aguas madres de

III, las fracciones D80-D106 y las fracciones B85-B90 (eluidas con hexano-AcOEt 0:1 acetona y metanol) se reunieron para ser fraccionadas por CC (silica gel, hexano-acetona 7:3→0:1 y acetona-metanol 9:1→0:1; columna E). Se colectaron 107 fracciones de 500 ml (frs. E1-E44 7:3; E45-E70 3:2; E71-E74 1:1; E75-E78 3:7; E79-E82 1:4; E83-E96 0:1; acetona-metanol: E97-E100 9:1; E101-E106 4:1; E107 0:1). Las fracciones E7-E50 contenían la mezcla de **III** y **V**. Estos compuestos se aislaron después del siguiente proceso: cromatografía en columna de silica gel eluida con hexano-isopropanol 4:1, seguida de sucesivas cromatografías en columna (silica gel; CHCl₃-MeOH 97:3) y cristalización (AcOEt-hexano). Se obtuvieron 1.0876 g más del compuesto **III** y 111.3 mg del compuesto **V**. Rendimiento total de **III**: 1.9657 g (0.217% respecto al peso de la planta seca). Rendimiento total de **V**: 111.3 mg (0.0123% respecto al peso de la planta seca).

De la CC (silica gel, CHCl₃-MeOH 24:1→0:1; columna F) de las fracciones E51-E64, se obtuvieron las fracciones: F1-F80 24:1; F81-F97 23:2; F98-F100 9:1; F101 17:3; 102 0:1. De las fracciones F26-F33 se obtuvieron por cristalización de metanol 23.1 mg de **VI** (0.0025% respecto al peso de la planta seca).

7.4 PROPIEDADES FÍSICAS Y ESPECTROSCÓPICAS DE LOS COMPUESTOS AISLADOS

Cinerólida (I). Cristales incoloros; pf 238-242°C; $[\alpha]_D + 87^\circ$ (c, 0.085, MeOH); IR ν_{\max} (nujol) cm^{-1} : 3515, 3420, 3369 (alcohol), 1686 (δ -lactona- α,β -no saturada), 1663 (cetona α,β -no saturada); EM FAB m/z: 493 $[M+Na]^+$ ($C_{28}H_{38}O_6$); RMN: 1H Ver tabla 1; RMN: ^{13}C Ver tabla 2.

4 β -Hidroxiwithanólida E (III). Cristales incoloros; pf 213-216°C; $[\alpha]_D + 116.8^\circ$ (c, 0.214, MeOH); IR $\nu_{\max}(\text{CHCl}_3)$ cm^{-1} : 3607, 3531, 3400 (alcohol), 1712 (δ -lactona- α,β -no saturada), 1680 (hombro, cetona α,β -no saturada), 1645 (hombro doble enlace); EM FAB m/z: 525 $[M+Na]^+$ ($C_{28}H_{38}O_8$); UV λ_{\max} (MeOH) nm: 217 (ϵ 15514); 1H RMN: Ver tabla 1; RMN: ^{13}C Ver tabla 2.

2,3-Dihidro-4 β -hidroxi-3 β -metoxiwithanólida E (V). Cristales incoloros; pf 175-178°C; $[\alpha]_D + 2.2^\circ$ (c, 0.224, MeOH); IR ν_{\max} (CHCl_3) cm^{-1} : 3633, 3578, 3389 (alcohol), 1707 (ancha, δ -lactona- α,β -no saturada, cetona saturada), 1653 (hombro, doble enlace); UV λ_{\max} (MeOH) nm: 224 (ϵ 7747); EM FAB m/z: 557 $[M+Na]^+$ ($C_{29}H_{42}O_9$); RMN 1H : Ver tabla 1; RMN ^{13}C : Ver tabla 2.

4β, 28-dihidroxiwithanólida E (VI). Cristales incoloros; pf 190-192°C; $[\alpha]_D + 103^\circ$ (c. 0.165, (MeOH)); IR ν_{\max} (nujol) cm^{-1} : 3357 (banda ancha, alcoholes), 1676 (banda ancha, δ-lactona-α,β-no saturada, cetona-α,β-no saturada); UV: λ_{\max} (MeOH) nm: 217 (ϵ 13782); EM FAB m/z: 541[M+Na]⁺ (C₂₈H₃₈O₉); RMN ¹H: Ver tabla 1; RMN ¹³C: Ver tabla 2.

Obtención de Isocinerólida (II). El compuesto **I** se disolvió en CDCl₃ (que contenía trazas de DCl) para obtener sus espectros de RMN. Al cabo de cinco minutos se observó la transformación de **I** en **II** en una relación aproximada de 2:1. Después de 2 h la proporción de **I-II** era 1:3 y a las 6 h la transformación fue total. El mismo resultado se obtuvo al tratar con carbón activado una solución de las aguas madres de **I** disueltas en acetona.

Isocinerólida (II). Cristales incoloros; pf 282-286°C; $[\alpha]_D + 74^\circ$ (c. 0.07, CHCl₃); IR ν_{\max} (nujol) cm^{-1} : 3446, 3327 (alcohol), 1732, 1708 (cetona), 1680 (δ-lactona-α,β-no saturada); UV λ_{\max} (MeOH) nm: 228 (ϵ 10020); EM FAB m/z: 493 [M+Na]⁺ (C₂₈H₃₈O₆); ¹H RMN: Ver tabla 1; ¹³C RMN: Ver tabla 2.

Acetilación de 4β-hidroxiwithanólida E (III). A una solución de **III** (50 mg) en piridina (0.5 ml) se le agregaron 0.5 ml de Ac₂O. La solución se dejó reaccionar a temperatura ambiente por 1h, al cabo de la cual se agregó hielo y se extrajo con AcOEt. La fase orgánica se lavó con HCl al 5%, luego con solución saturada de NaHCO₃ y después con H₂O. Se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El compuesto **IV** cristalizó de AcOEt-

éter isopropílico. Se obtuvieron 50.4 mg.

4β-Acetoxywithanólida E (IV). Cristales incoloros; pf 179-182 °C; $[\alpha]_D + 133.82^\circ$ (c. 0.204, CHCl₃); IR; $\nu_{\text{máx}}$ (CHCl₃) cm⁻¹: 3634, 3574, 3384 (alcohol), 1743 (éster saturado), 1706 (δ-lactona-α,β-no saturada), 1690 (hombro, cetona α,β-no saturada); UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (CHCl₃): 243 (ε 5150); EM FAB m/z: 567 [M+Na]⁺ (C₃₀H₄₀O₉); RMN ¹H: Ver tabla 1; RMN ¹³C: Ver tabla 2.

8. REFERENCIAS

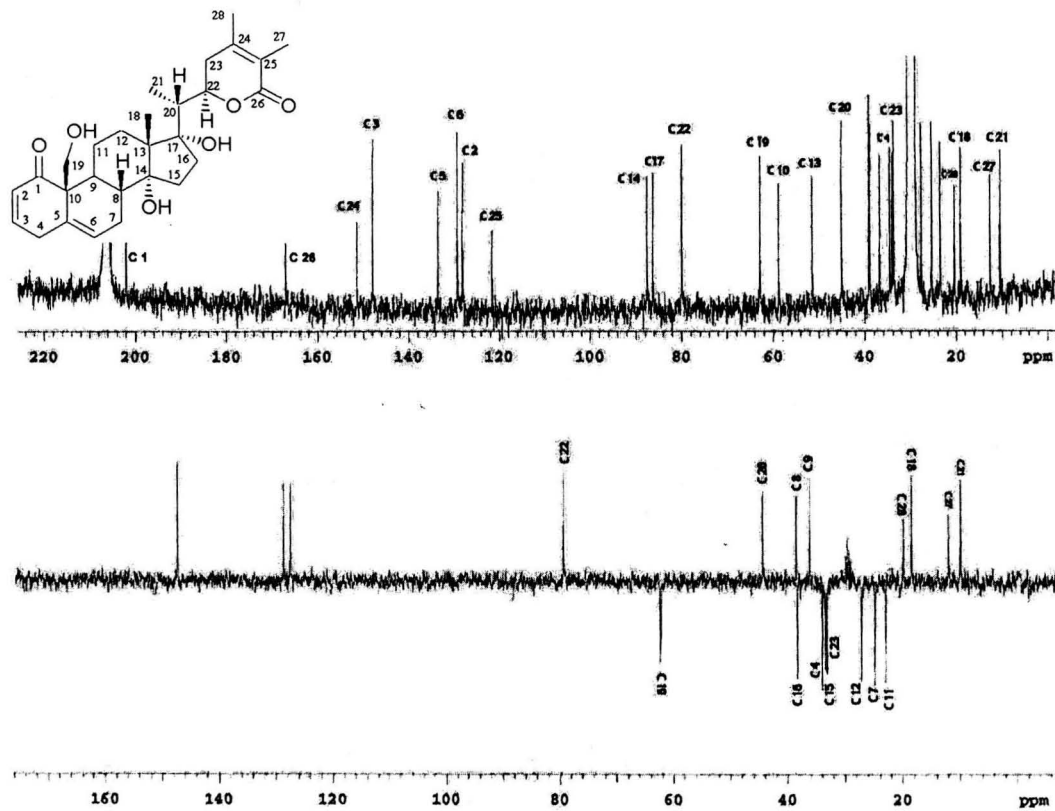
- 1.- Swain, T. **1963**. Chemical Plant Taxonomy. Academic Press Inc. pp. vii-viii.
- 2.- Vargas, P. O. **1998**. El Género *Physalis* (Solanaceae) en Nueva Galicia. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, UNAM, México, D. F.
- 3.- D'Arcy, W. G. **1979**. The Classification of the Solanaceae. In: Hawkes, J. G. Lester, R. N., Skelding, A. D. (eds.). The Biology and Taxonomy of the Solanaceae. London Academic Press, pp. 3-47.
- 4.- Ruiz-Orozco, M. **1977**. Tratado Elemental de Botánica, Décima ed. Ed. E.C.L.A.L.S.A., México, D. F. pp. 656-663.
- 5.- Hunzinker, T. **1979**. South American Solanaceae: A Synoptic Survey In: Hawkes, J. G. Lester, R. N., Skelding, A. D. (eds.). The Biology and Taxonomy of the Solanaceae. London Academic Press, pp. 49-82.
- 6.- Martínez, M. **1999**. Infrageneric Taxonomy of *Physalis* In: Solanaceae IV: Advances In Biology and Utilization. Nee, M., Symon, D. E., Lester R. N., Jessop, J. P. (eds.). The Royal Botanic Gardens, Kews, pp. 275-283.
- 7.- Vargas, P. O., Martínez, M., Dávila, P. A. **1998**. El Género *Physalis* (Solanaceae) en el Edo. de Jalisco. *Bol. Inst. Universidad de Guadalajara*. **5**, 395-401.
- 8.- Montes, H. S., Aguirre, R. R. **1992**. Etnobotánica del Tomate (*Physalis philadelphica Lam.*) Mesa de Recursos Filogenéticos. Memorias de la XXXVII reunión anual PCCMCA, Panamá, pp. 71-87.
- 9.- Evans, W. C. **1986**. Hibridización and Secondary Metabolism in the Solanaceae. In: Solanaceae, Biology and Systematics. D'Arcy, W. E. (ed.). Columbia University Press, New York, pp. 179-217.

- 10.- Ray, A. B., Gupta, M. **1994**. Withaesteroids, a Growing Group of Naturally Occurring Steroidal Lactones. In: Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. Herz, W., Kirby, G. N., Moore, R. E., Steglich, W., Tamm, Ch. (eds.). Springer-Verlag, Wien, pp. 1-106.
- 11.- Muhammad, Pir., Ahmad, S., Hafiz, Rubnamazb., Malik, Abdul. **1999**. The First Report of a Withanolide from the Family Labiatae. *Phytochemistry*. **51**, 669-671.
- 12.- Budhiraja, R. D., Krishan, P., Sudhir, S. **2000**. Biological Activity of Withaesteroides. *Journal of Scientific & Industrial Research*. **59**, 904-911.
- 13.- Gu, J. Q., Li, M., Kang, Y. H., Sui, B. N., Fong, H. H. S., Van Breemen, R. B., Pezzuto, J. M., Kinghorn, A. D. **2003**. Minor Withanolides from *Physalis philadelphica*: Structures, Quinone Reductase Induction Activities, and Liquid Chromatography (LC)-Ms-Ms Investigation as Artifacts. *Chem. Pharm. Bull.* **51**, 530-539.
- 14.- Su, B. N., Park, E. J., Nikolic, D., Bernard, D., Santarsiero, B. D., Mesecar, A. D., Vigo, J. S., Graham, J. G., Cabieses, F., Van Breemen, R. B., Fong, H. H. S., Farnsworth, N. R., Pezzuto, J. M. and Kinghorn, D. **2002**. Isolation and Characterization of Bioactive principles of the Leaves and Stems of *Physalis philadelphica*. *Tetrahedron* **58**, 3453-3466.
- 15.- Su, B. N., Park, E. J., Nikolic, D., Santarsiero, B. D., Mesecar, A. D., Vigo, J. S., Graham, J. G., Cabieses, F., Van Breemen, R. B., Fong, H. H. S., Farnsworth N. R., Pezzuto, J. M., Kinghorn, A. D. **2003**. Activity-Guided Isolation of Novel Norwithanolides from *Deprea subtriflora* with Potential Cancer Chemopreventive Activity. *J.Org.Chem.* **68**, 2350-2361.
- 16.- Jayaprakasam, B., Zhang, Y., Seeram, N. P., Narr, M. G. **2003**. Growth Inhibition of Human Tumor Cell Lines by Withanolides from *Withania somnifera* Leaves. *Life Sciences*.

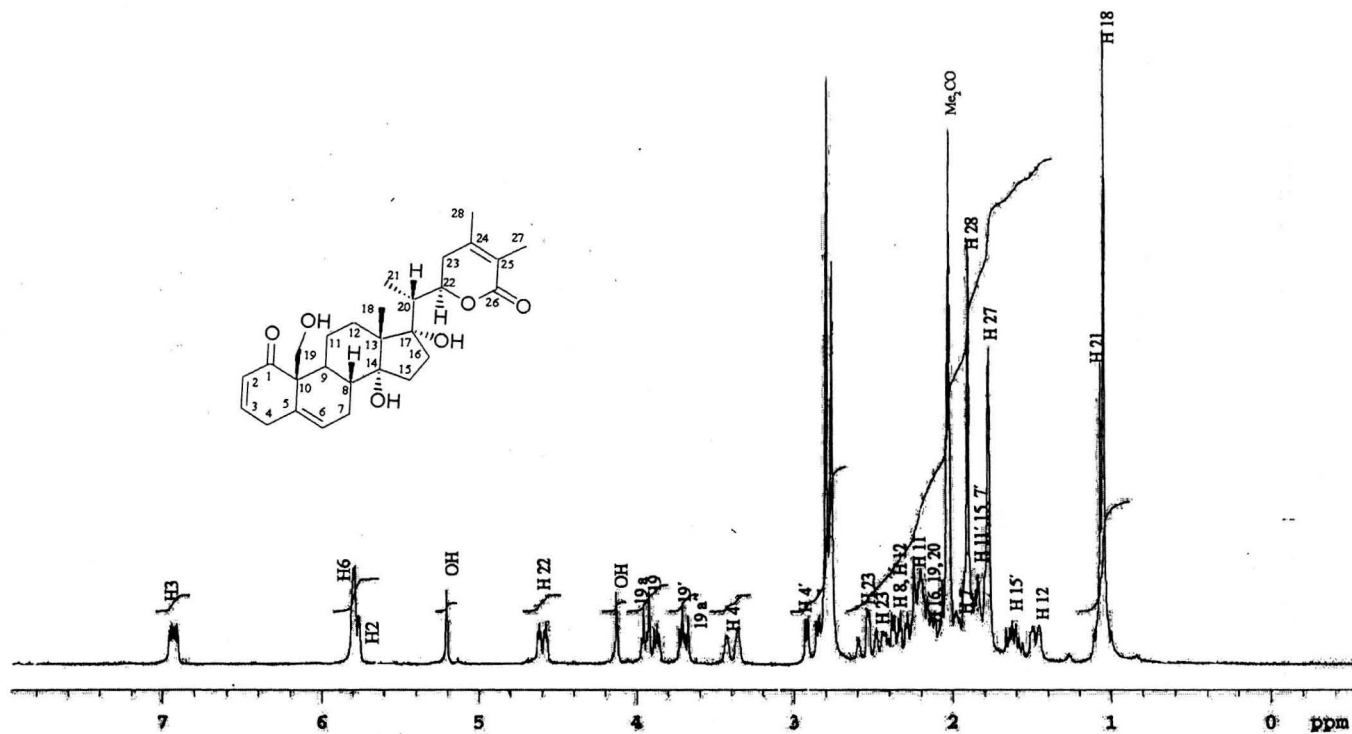
74, 125-132.

- 17.- Morris, K., Wayne, K. Ch., Bollinger., P., Doscotch R. M., Roger, D., Smith, M. R., Renauld, J. A. S., Schnoes, H. K., Burlingame, A. L., Smith, D. H. **1969**. Tumor Inhibitors. XXXIX. Active Principles of *Acnistus arborescens*. Isolation and Structural and Spectral Studies of Withaferina A and Withacnistin. *J. Org. Chem.* **34**, 3858-3866.
- 18.- Zaki, A. Y., El-Alfy; T.S.M., El Gohary, H. M. A. **1987**. Study of Withanolides, Physalins, Antitumor and Antimicrobial Activity of *Physalis peruviana* L. *Egyptian Journal of Pharmaceutical Sciences.* **28**, 235-245.
- 19.- The Merck Index, **1996**. 12a ed., Merck & Ca Inc., New Jersey.
- 20.- Sakurai, K., Ishi, H., Kobayashi, S., Iwao, T. **1976**. Isolation of 4 β -Hydroxywithanolide E. A New Withanolide from *Physalis peruviana* L. *Chem. Pharm. Bull.* **24**, 1403-1405.
- 21.- Kirson, I., Abraham, A., Sethi, P. D., Subramanian, S. S., Glotter, E. **1976**. 4 β -hydroxywithanolide E. A New Natural Steroid with a 17 α -Oriented Side Chain. *Phytochemistry* **15**, 340-342.
- 22.- Silva, G. L., Pacciaroni, A., Oberti, J. C., Veleiro, A. S., Burton, G. **1973** A Pregnane Structurally Related to withanolides from *Physalis viscosa*. *Phytochemistry.* **34**, 871-873.
- 23.- Maslennikova, V.A., Tursunova, RN., and Abubakirov, N.K. **1977**. Physalactone. *Chem. Nat. Comp.* **13**, 443-446.
- 24.- Kirson, I., and Glotter E. **1981**. Recent Developements in Naturally Occurring Ergostane Type Steroids. A Review. *J. Nat. Prod.* **44**, 633-647
- 25.- Abdullaev, N. D., Maslennikova, V. A., Tursunova, R. N., Abubakirov, N. K., and Yagudaev, M. R. **1984**. IV. 28-Hydroxywithaphysanolide. ¹³CNMR spectrum of 14-

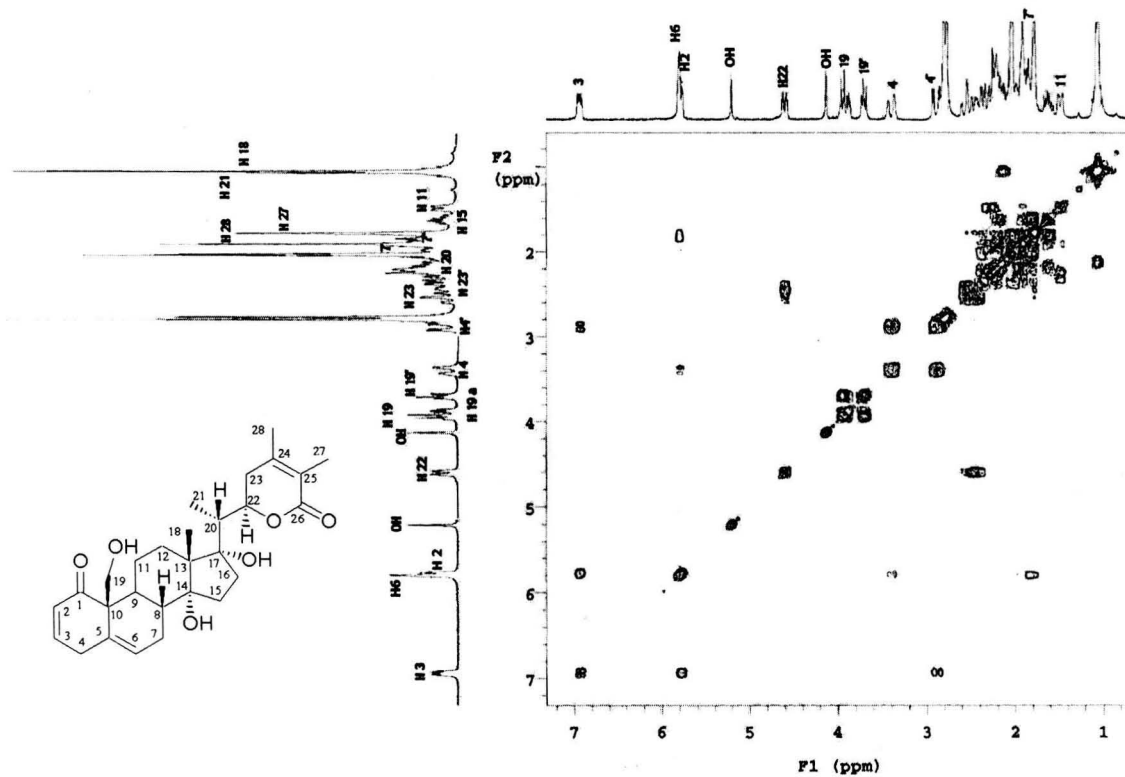
- α -hydroxywithasteroids. *Chem. Nat. Comp.* **20**, 182-191.
- 26.- Abdullaev, N. D., Vasina, O. E., Maslenikova, V. A., Abubakirov, N. K. **1985**. A Study of the ^1H and ^{13}C NMR Spectra of the Withaesteroids. Visconolide and 28-Hydroxywithaperuvin C. *Chem. Nat. Comp.* **21**, 616-622.
- 27.- Neogi, P., Sahai, M., Ray, B. A. **1987**. Withaperuvins F And G, Two Withanolides of *Physalis peruviana* Roots. *Phytochemistry*, **26**, 1, 243-247.
- 28.- Tursunova, R.N., Maslennikova, V.A., Abubakirov, N.K. **1981**. *Physalis* Vitaesteroids. III. Physanolide and 4 β -Hydroxyvitanolide E. *Khim. Prir. Soed.* **2**, 187-192.
- 29.- Maslennikova, V. A., Tursunova, R.N., Seitanidi, K. L., Abubakirov, N. K. **1980**. *Physalis* Withanolides II. Withaphysanolide. *Chem. Nat. Comp.* **16**, 167-169.
- 30.- Pelletier, S. W., Gebeyehu, G., Nowacki, J., Mody, V. N. **1981**. Viscosolactone A and Viscosolactone B, Two New Steroidal Lactones From *Physalis viscosa*. *Heterocycles.* **15**, 1, 317-320.
- 31.- Ascher, K. R. S., Nemny, N. E., Eliyahu, M., Kirson, I., A. A., Glotter, E. **1980**. Insect Antifeedant Properties of Withanolides and Related Steroids from Solanaceae. *Experientia*, **36**, 8, 998-999.
- 32.- Sethi, P.D., Ravindran, P., K. B. Sharma., Subramanian, S. S. **1974**. Antibacterial Activity of Some C 28 Steroidal Lactones. *Indian Journal of Pharmacy.* **36**, 5, 122-123.



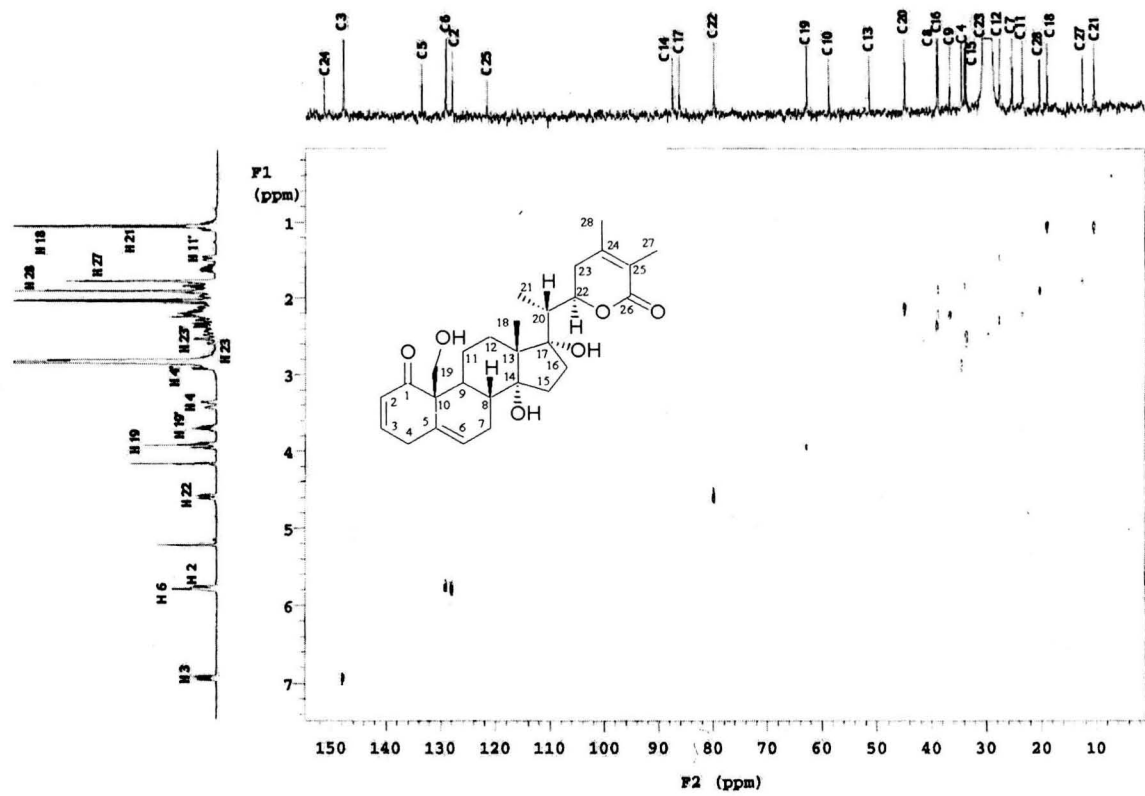
Espectro 1. Espectro de RMN ^{13}C ($\text{Me}_2\text{CO}-d_6$, 300 MHz) de cinerólida (I).
 Espectro 2. Espectro DEPT de cinerólida (I).



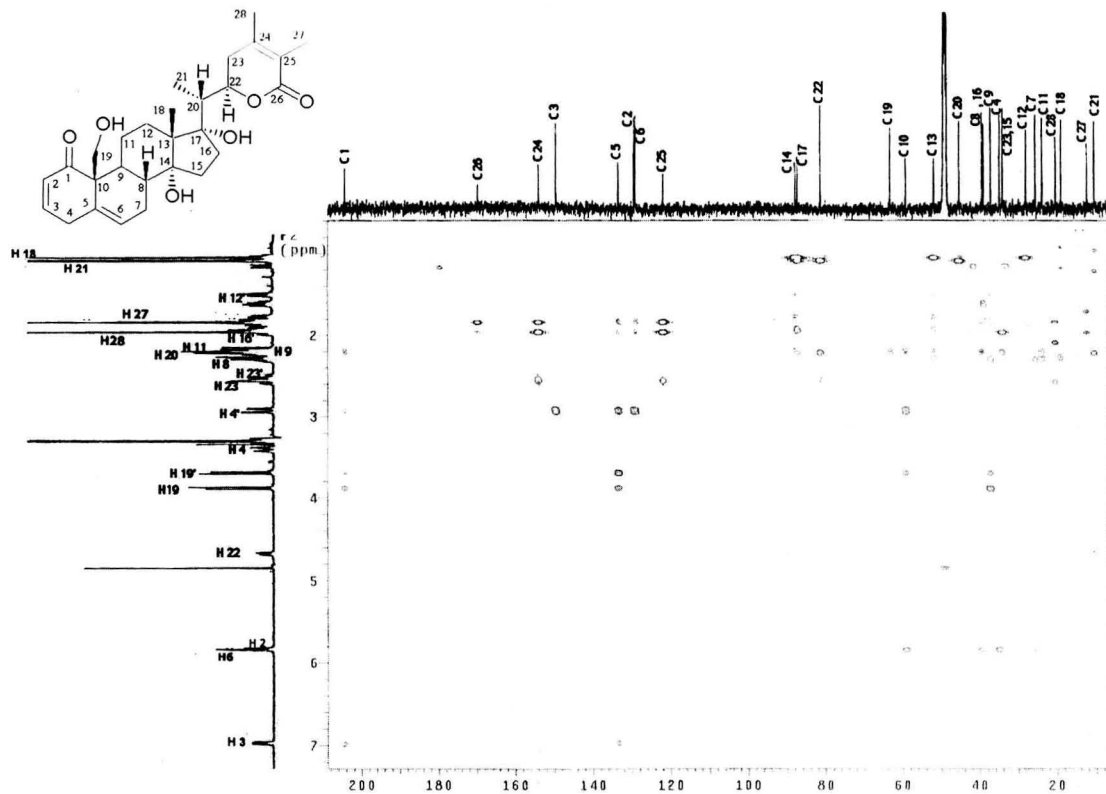
Espectro 3. Espectro de RMN ^1H ($\text{Me}_2\text{CO}-d_6$, 300 MHz) de cinerólida (I).



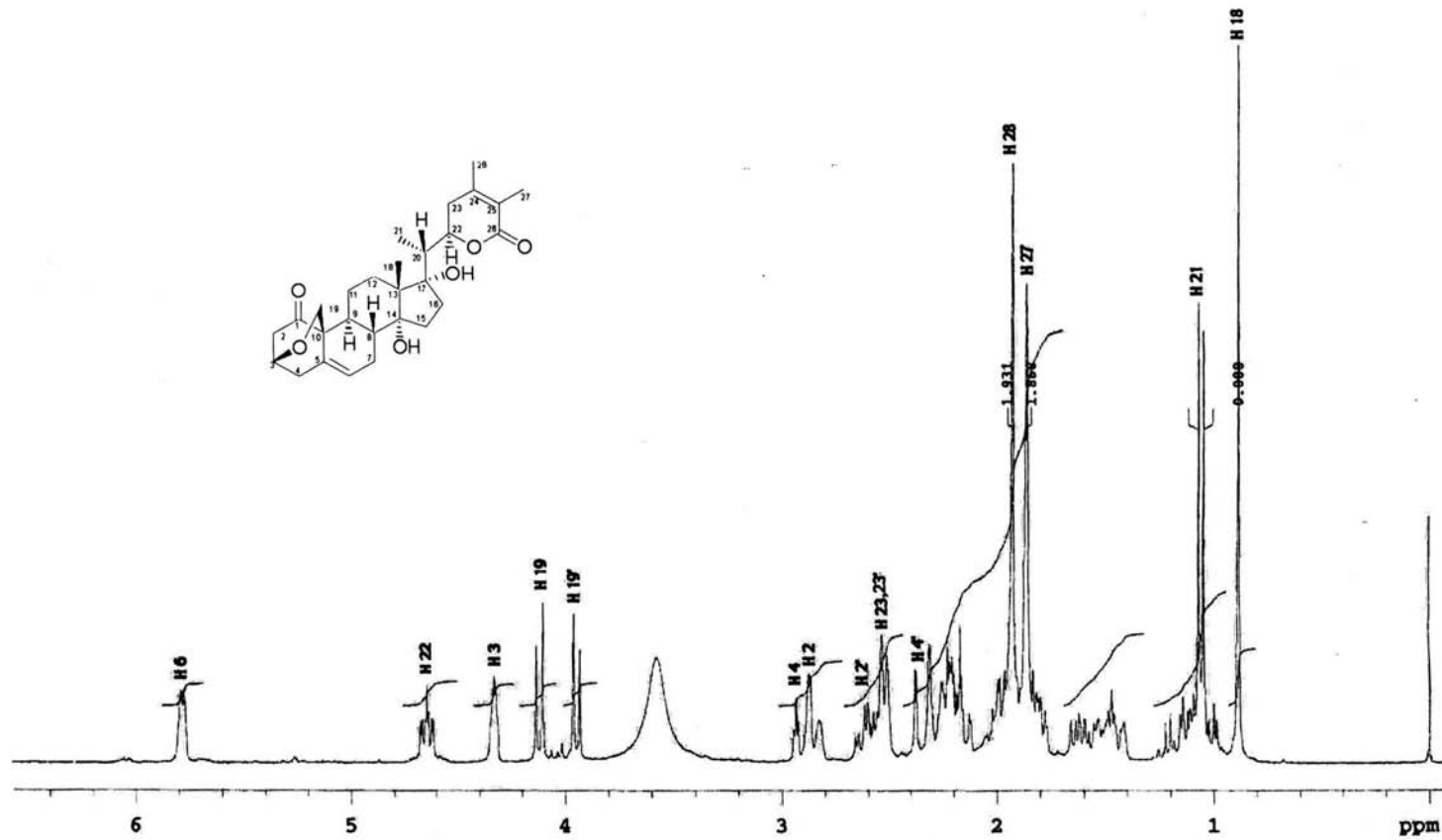
Espectro 4. Espectro COSY ($\text{Me}_2\text{CO-d}_6$) de cinerólida (I).



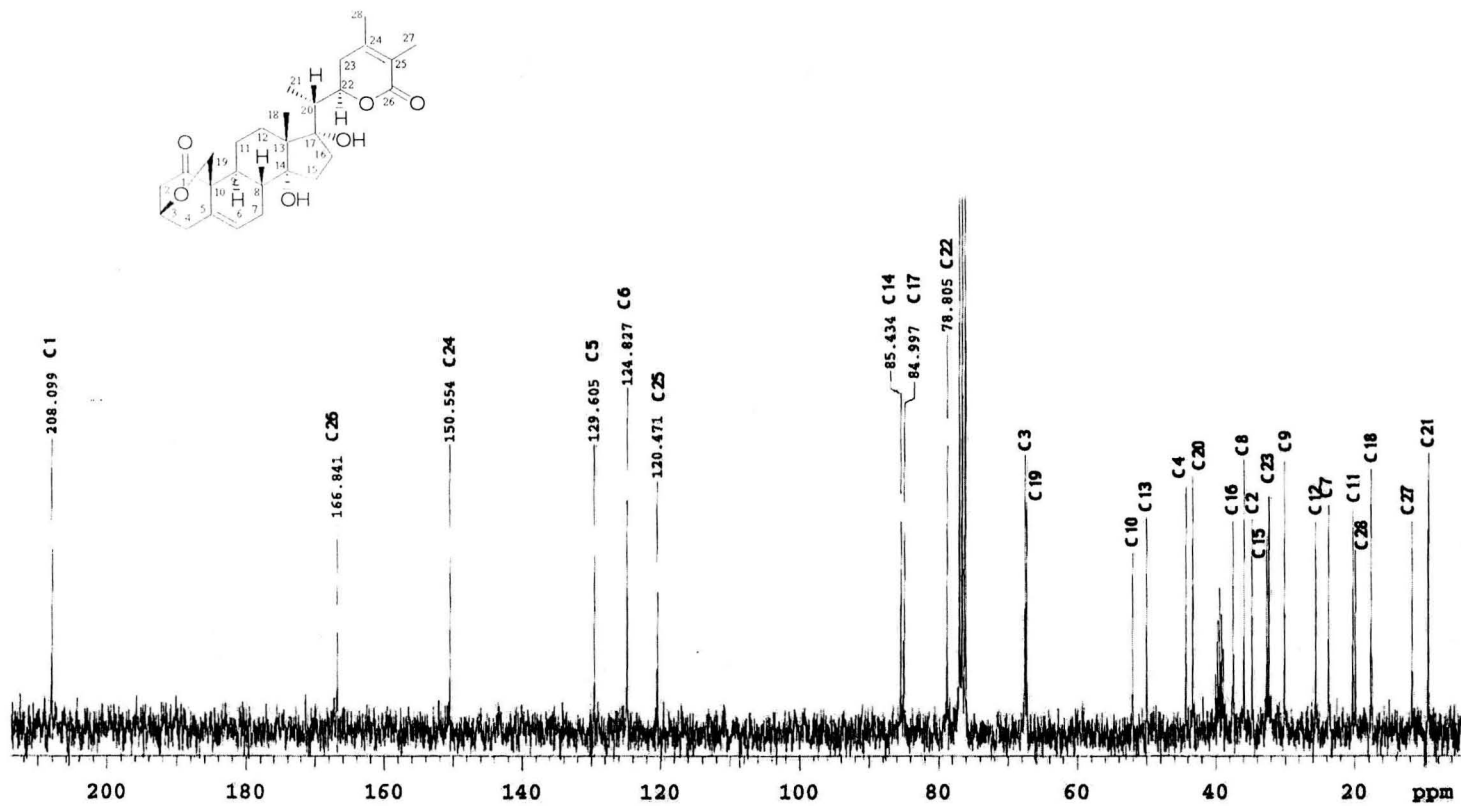
Espectro 5. Espectro HETCOR ($\text{Me}_2\text{CO}-d_6$) de cinerólida (I).



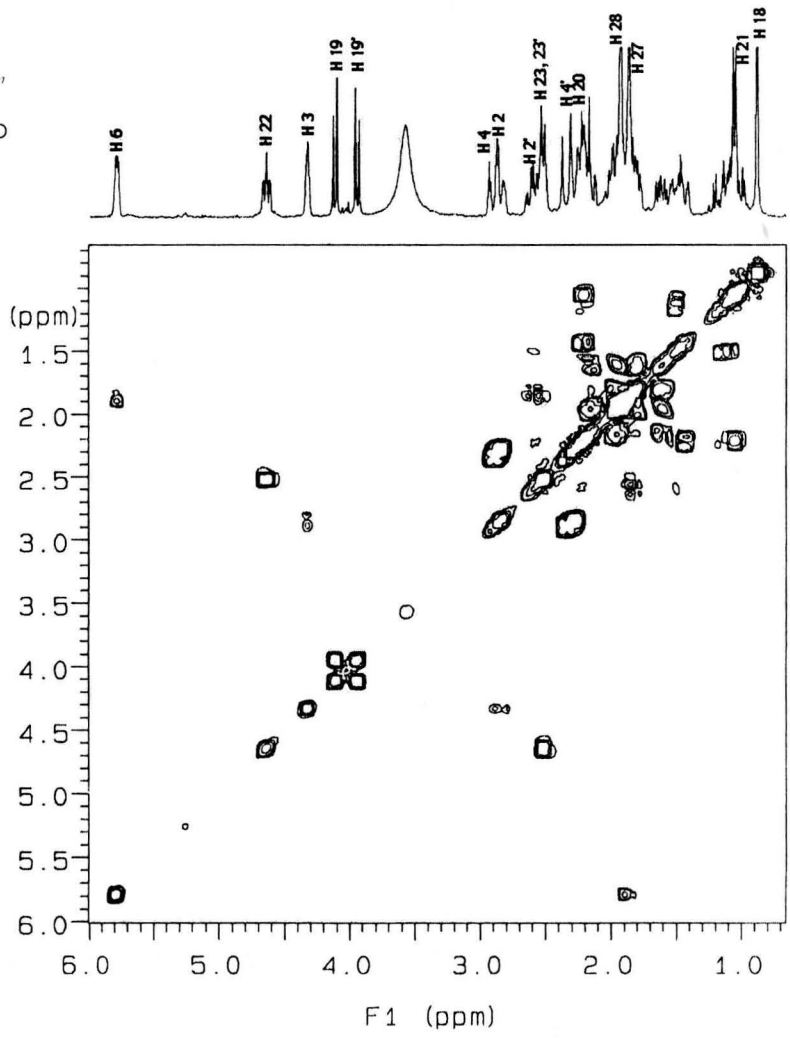
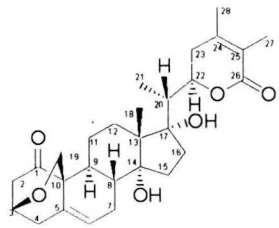
Espectro 6. Espectro HMBC (CD₃OD) de cinerólida (I).



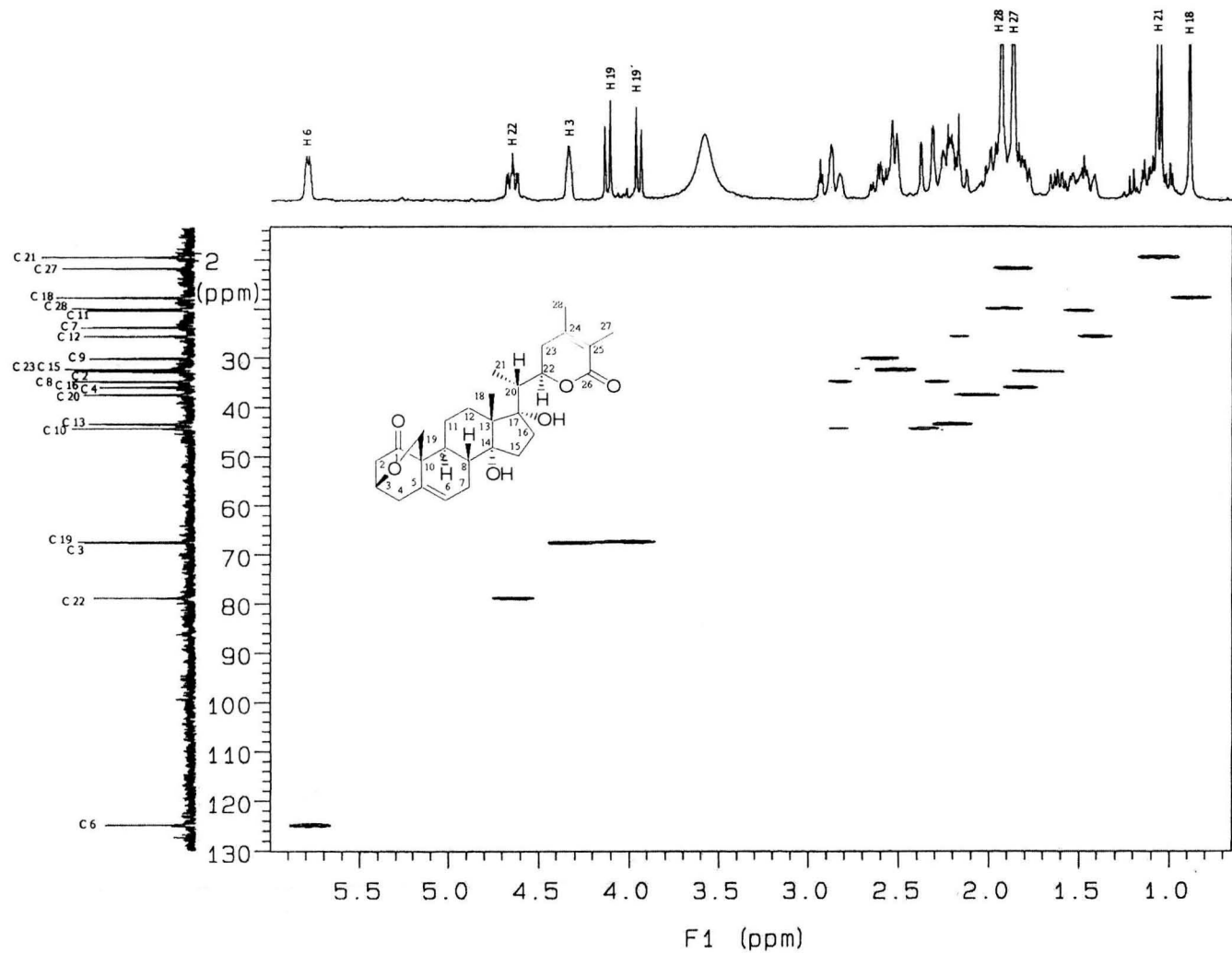
Espectro 7. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃-DMSO-d₆, 300 MHz) de isocinerólida (II).



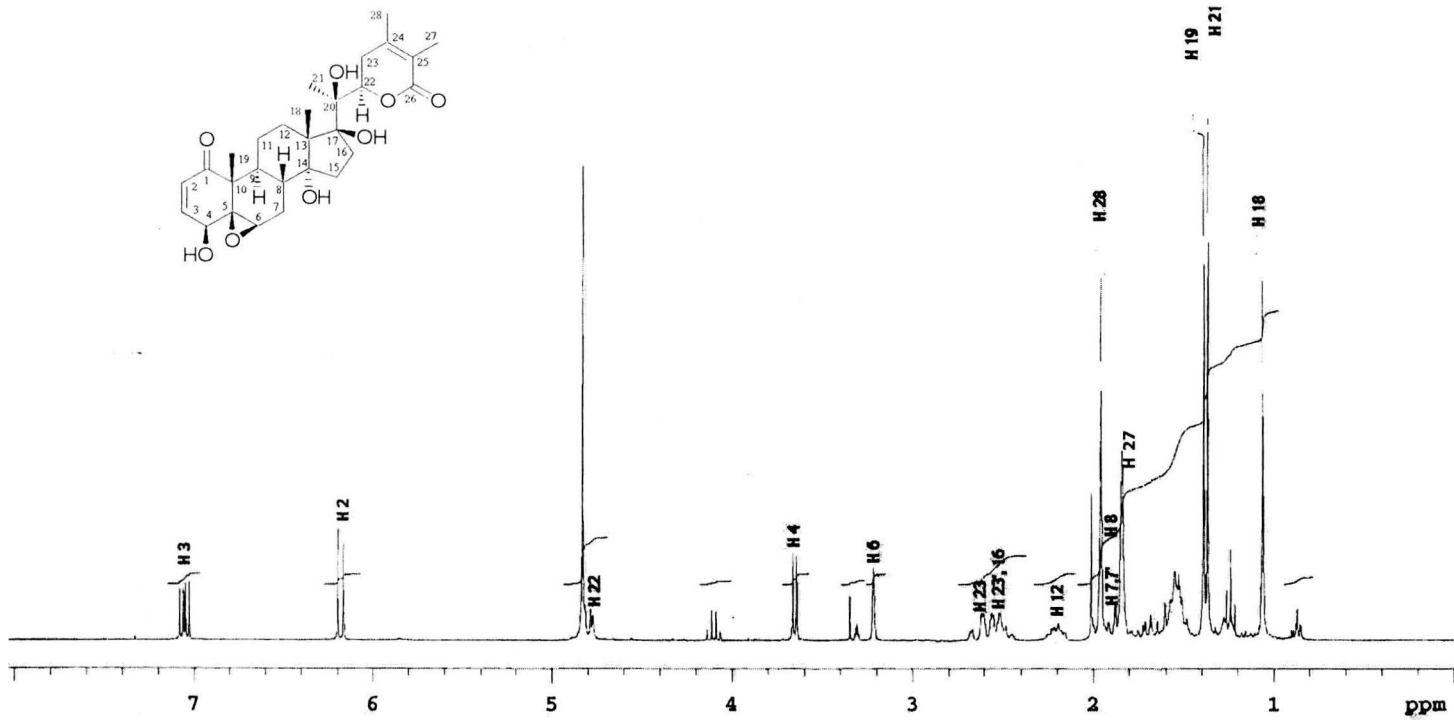
Espectro 8. Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃-DMSO-d₆, 75 MHz) de isocinerólida (II).



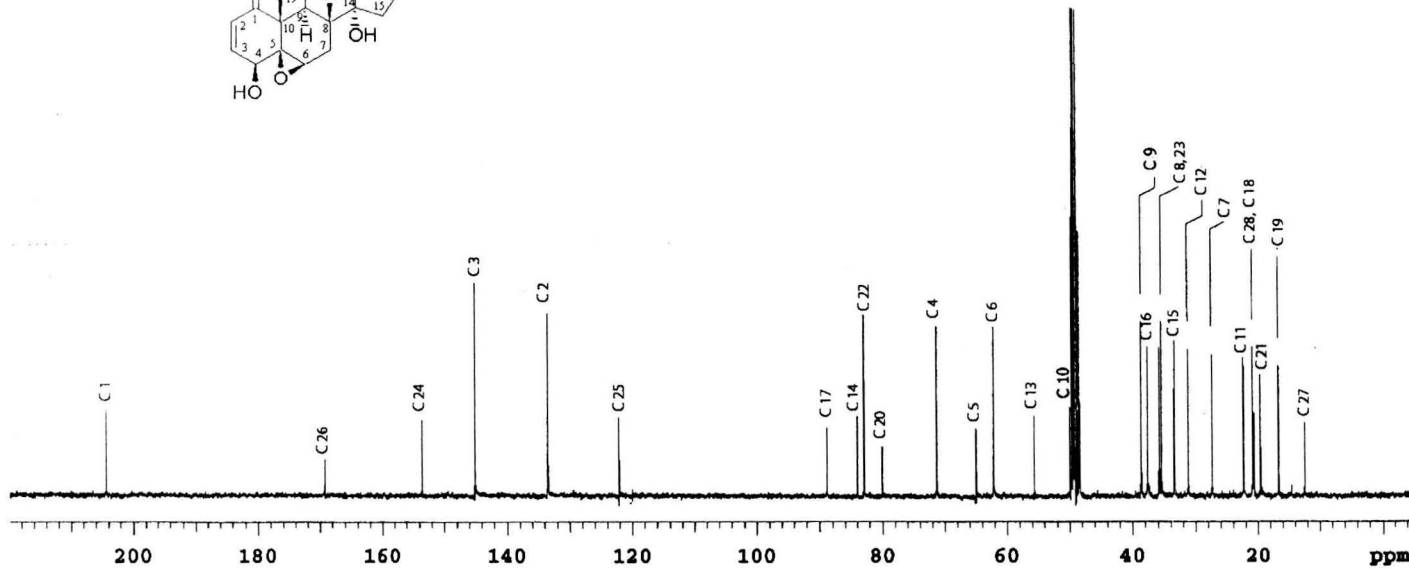
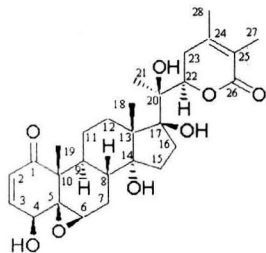
Espectro 9. Espectro COSY (CDCl₃-DMSO-d₆) de isocinerólida (II).



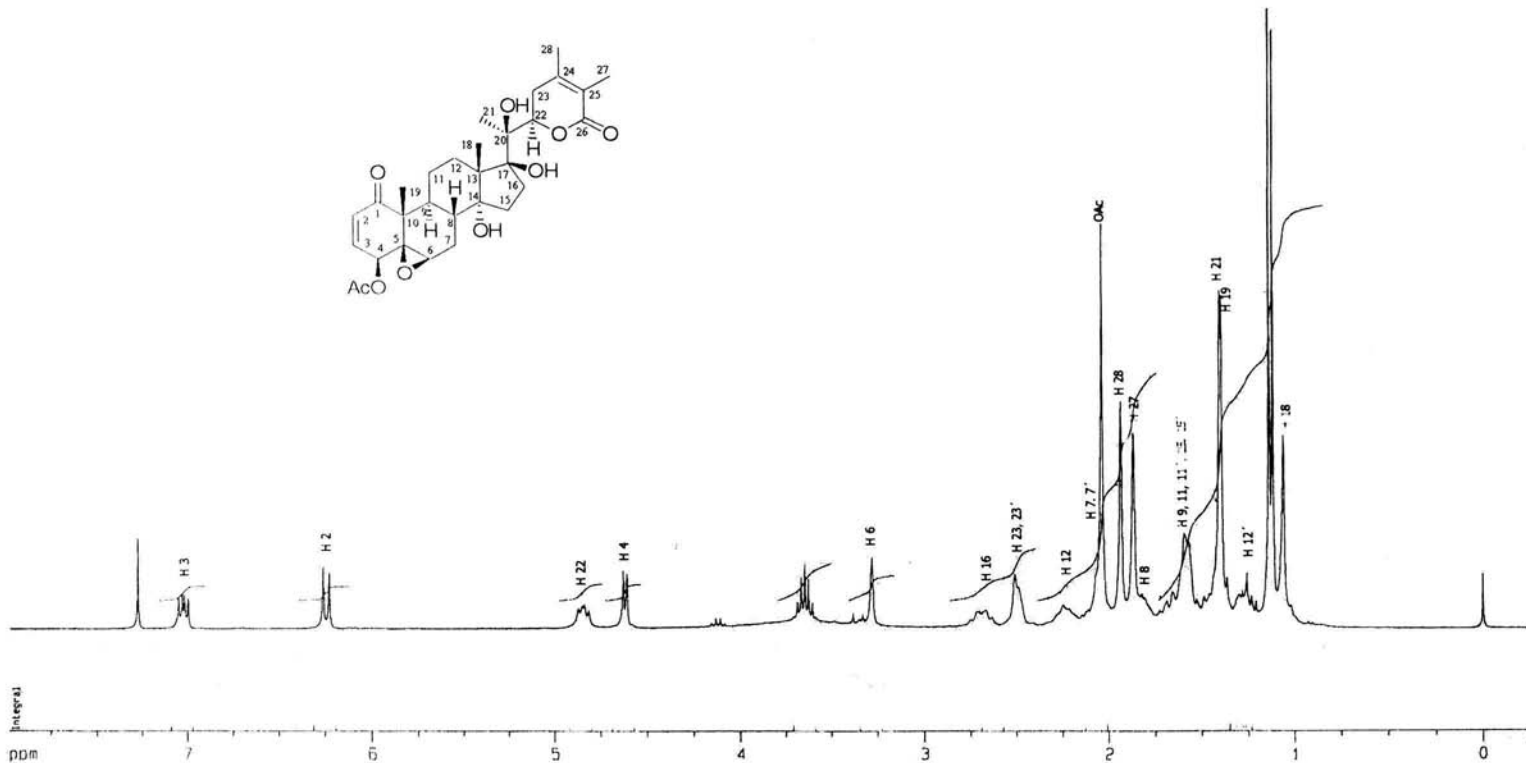
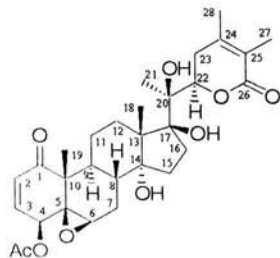
Espectro 10. Espectro HETCOR (CDCl₃-DMSO-d₆) de isocinerólida (II).



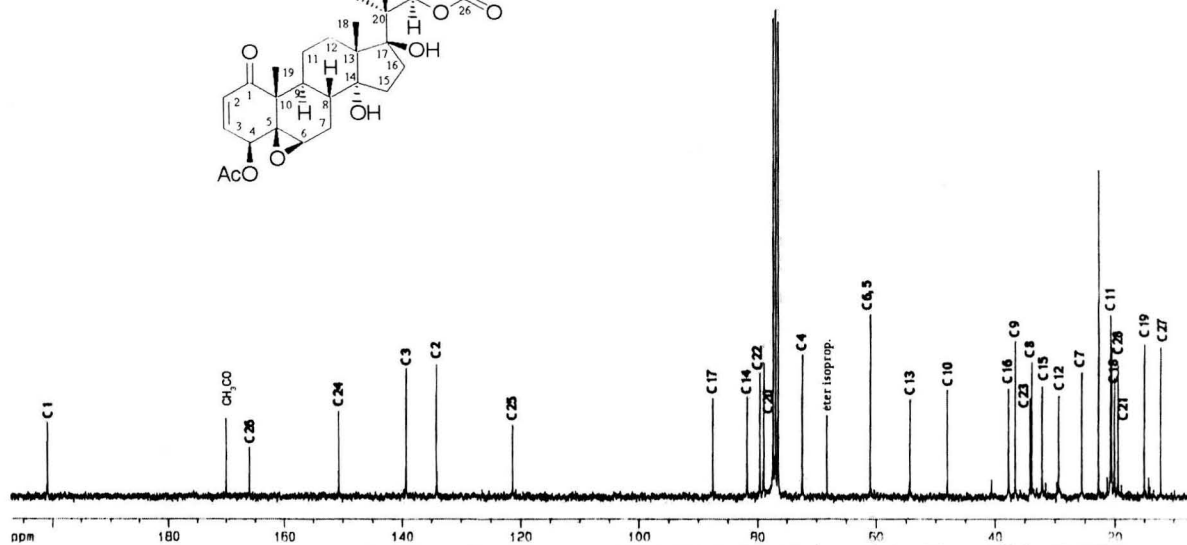
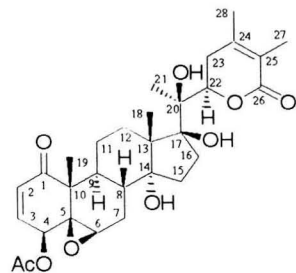
Espectro 11. Espectro de RMN ¹H (CD₃OD, 500 MHz) de 4β-hidroxiwithanolida E (III).



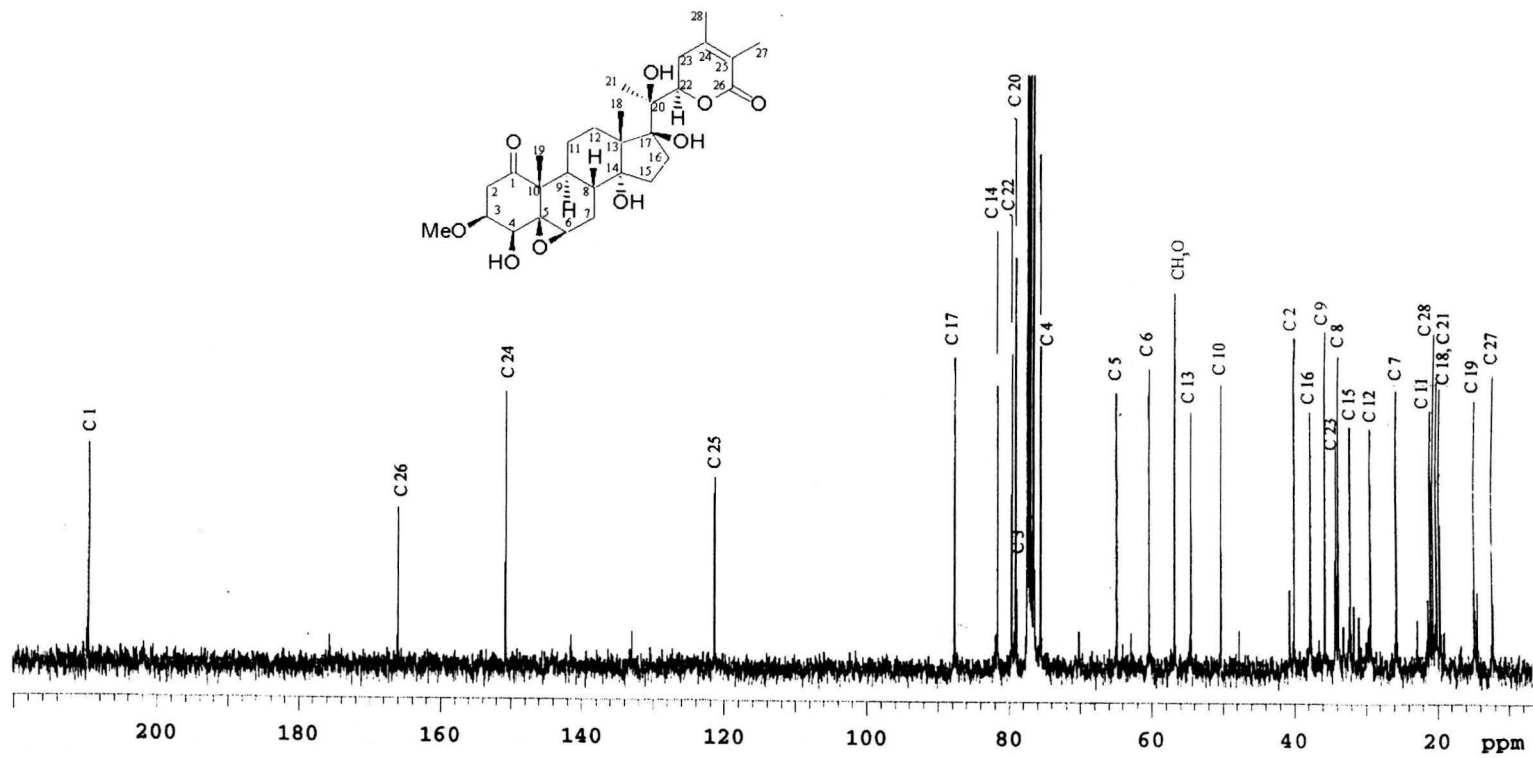
Espectro 12 Espectro de RMN ^{13}C (CD_3OD , 125 MHz) de 4 β -hidroxiwithanolida E (III).



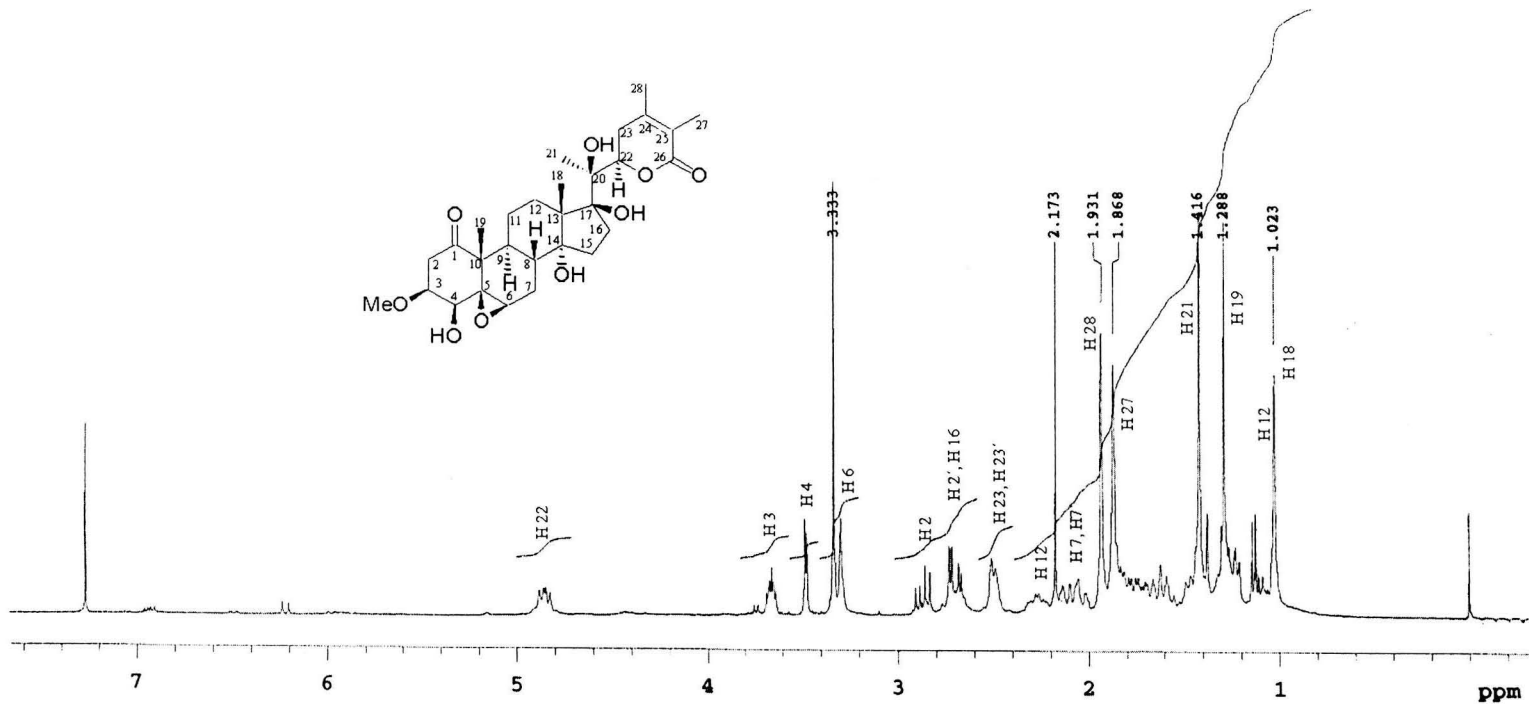
Espectro 13. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 75 MHz) de 4 β -acetoxiwithanolida E (IV).



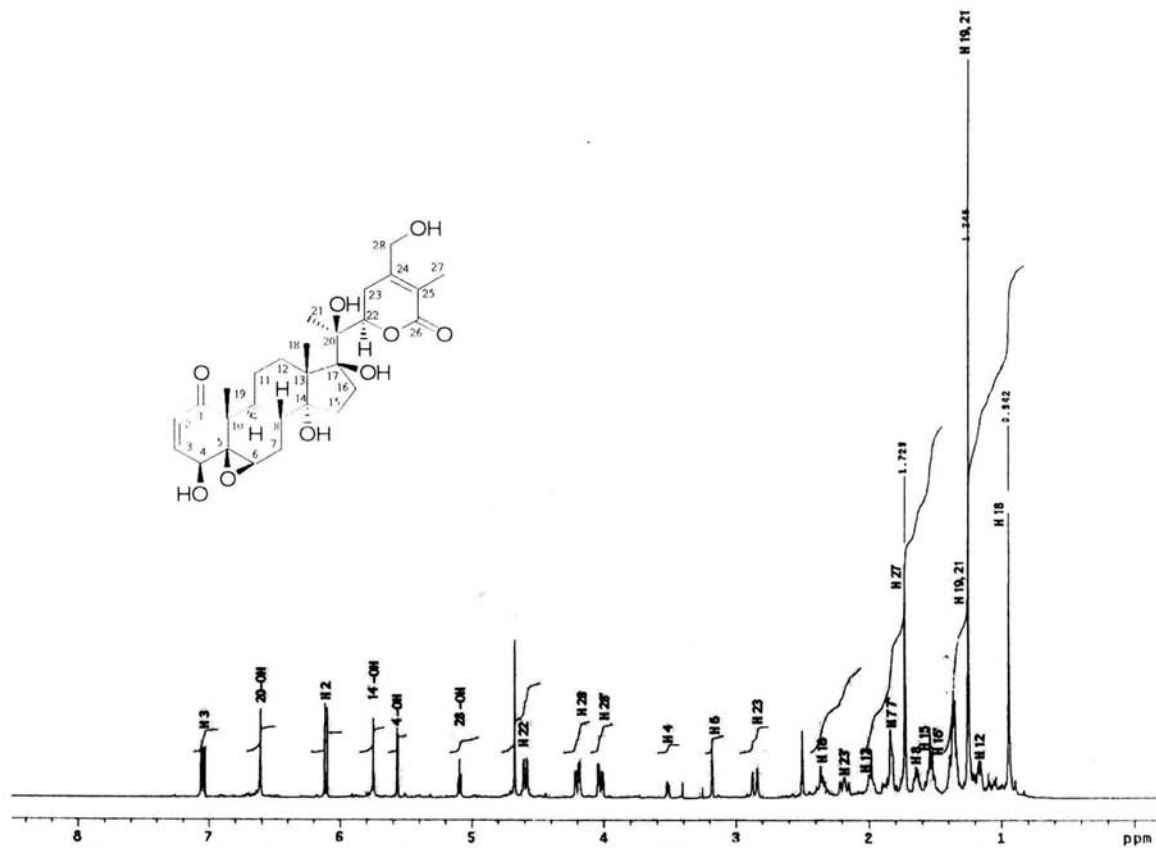
Espectro 14. Espectro de RMN¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de 4β-acetoxiwithanolida E (IV).



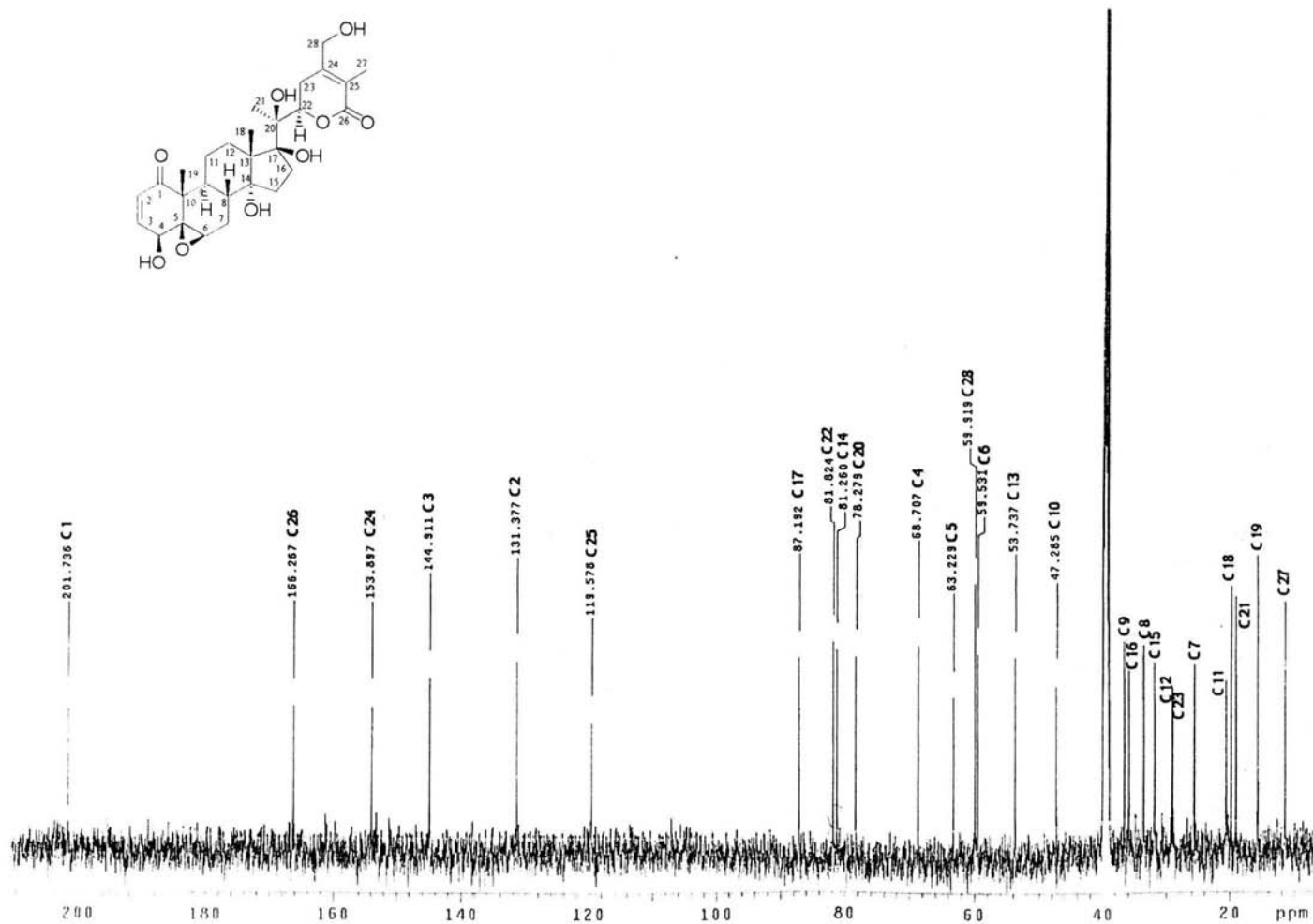
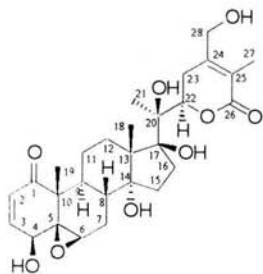
Espectro 15. Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 300 MHz) de physalactona (V).



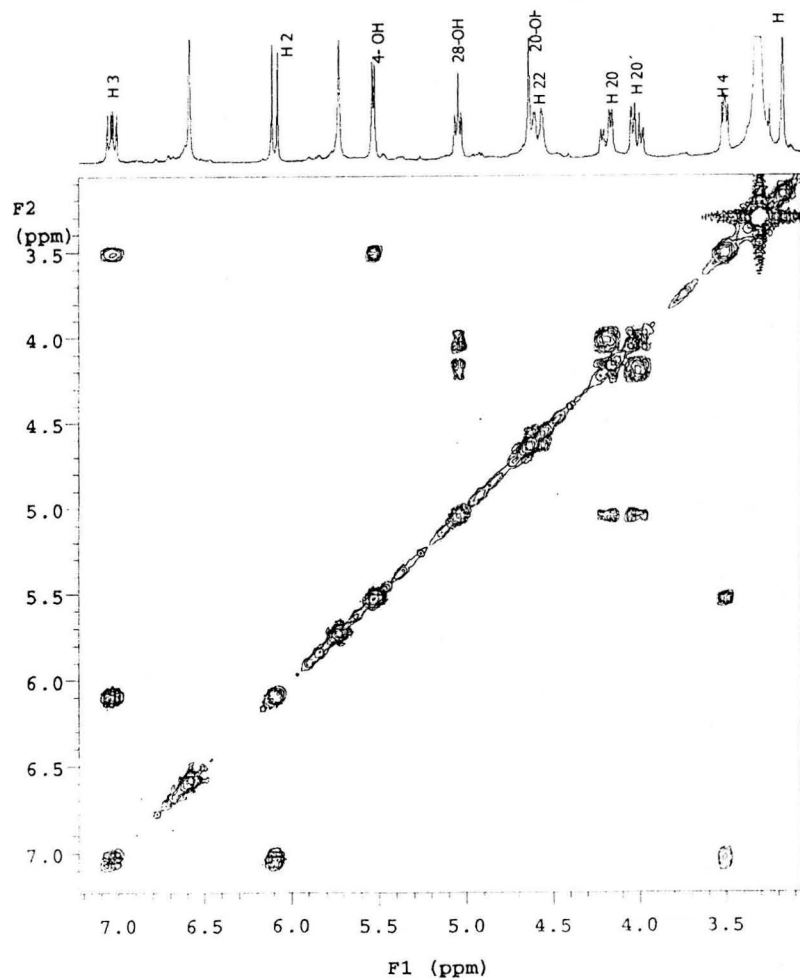
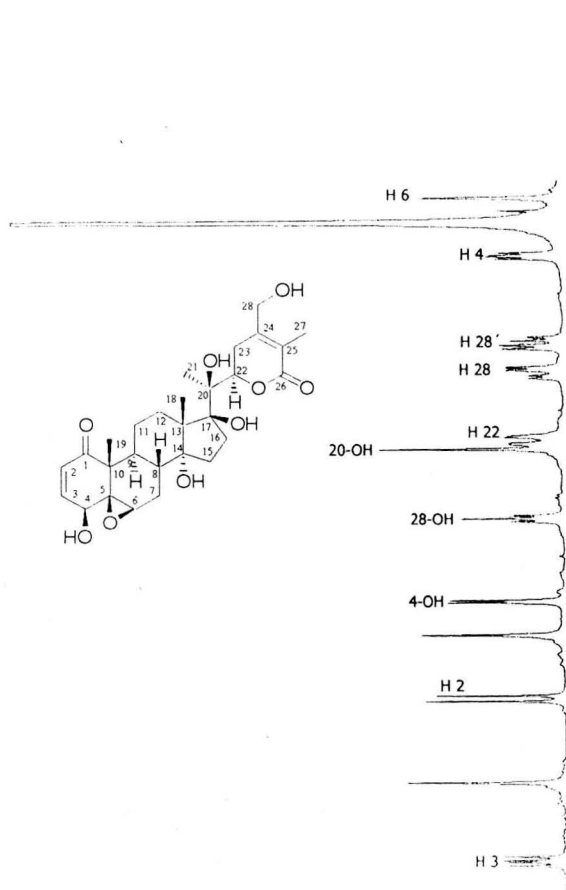
Espectro 16. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de physalactona (V).



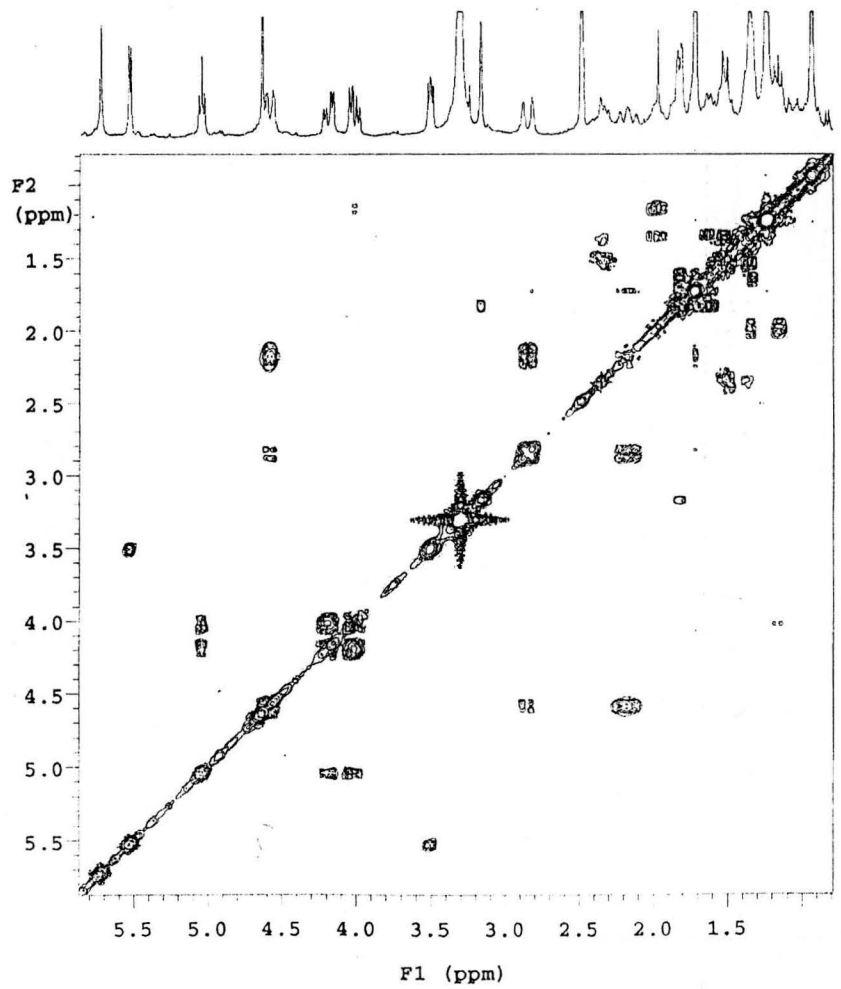
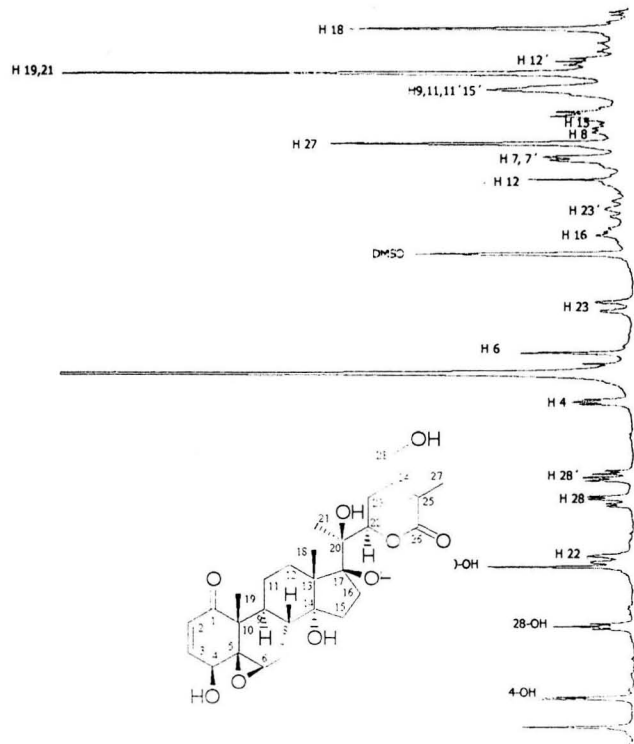
Espectro 17. Espectro de RMN ^1H (DMSO-d_6 , 500 MHz) de visconólida (VI).



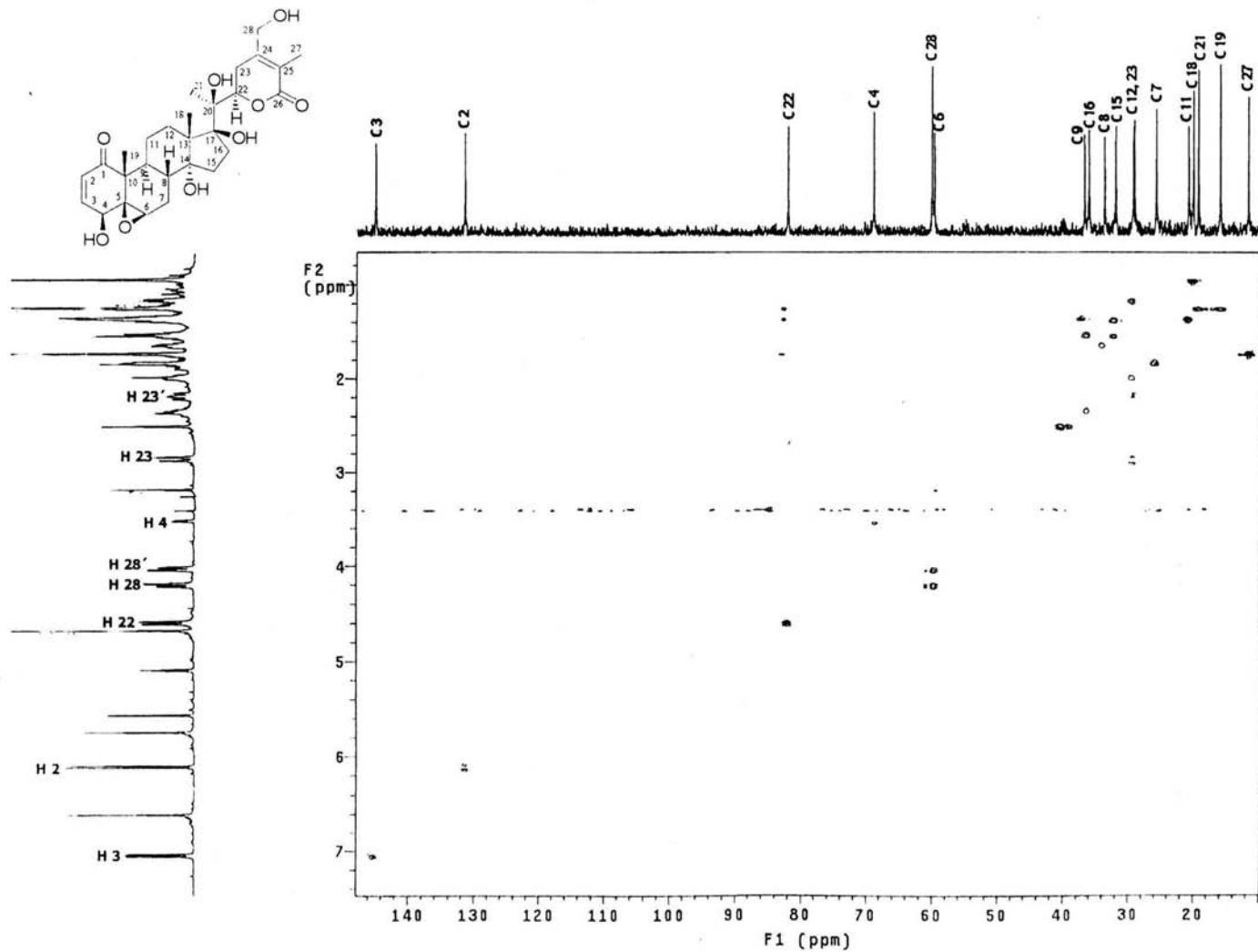
Espectro 18. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) de visconólida (VI).



Espectro 19. Espectro COSY (DMSO- d_6) de visconólida (VI).



Espectro 19. Espectro COSY (DMSO-d₆ de visconólida (VI).



Espectro 20. Espectro HSQC (DMSO- d_6) de visconólida (VI).