



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

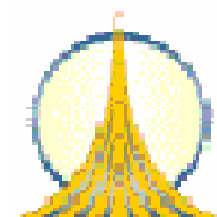
CARACTERIZACIÓN DE LOS  
PRINCIPALES METABOLITOS  
SECUNDARIOS PRESENTES EN EL  
EXTRACTO HEXÁNICO DE TALLOS Y  
HOJAS DE *PHYSALIS SOLANACEUS*.

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A :  
M I N E R V A L U N A S A N D O V A L

DIRECTORA DE TESIS: M. EN C. ANA LIDIA PÉREZ CASTORENA

ASESOR: Q.F.B. ÁNGEL TLAPANCO OCHOA



MÉXICO, DISTRITO FEDERAL.

2006



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. JOSÉ IGNACIO REGLA CONTRERAS   |
| VOCAL*     | M. en C. ANA LIDIA PÉREZ CASTORENA |
| SECRETARIO | Q.F.B. ÁNGEL TLAPANCO OCHOA        |
| SUPLENTE   | Q.F.B. EVANGELINA MERCADO MARÍN    |
| SUPLENTE   | Q. MA. GUADALUPE MIRANDA JIMENO    |

## ***DEDICATORIA***

*A mis padres*

*Por el apoyo que me han brindado para salir  
adelante en mi desarrollo tanto personal  
como profesional.*

*Son ustedes mi más grande ejemplo de tenacidad  
y responsabilidad.*

*A mis hermanos*

*A Gaby y Luis, por ser mi ejemplo a seguir  
y por su apoyo en todo momento.*

*A Sofí y Andrés, gracias por el cariño  
y ayuda brindada hoy y siempre.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*Quiero agradecer de manera muy especial a la M. en C. Ana Lidia su invaluable ayuda en la elaboración de esta tesis así como por su enseñanza y orientación para llevar a cabo la investigación.*

*Agradezco también a los maestros asignados como sinodales sus valiosos consejos y críticas constructivas durante la revisión de la presente tesis.*

*Igualmente, agradezco las facilidades otorgadas por el CONACyT a través del proyecto 34993-N.*

*Por último, les doy las gracias a todos mis profesores que contribuyeron a mi formación profesional, y a todas aquellas personas, que de una u otra manera, me han permitido terminar este trabajo.*

# ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| 1. INTRODUCCIÓN.....  | 1  |
| 2. MARCO TEÓRICO.....   | 4  |
| 2.1. IMPORTANCIA DE LOS PRODUCTOS NATURALES.....                    | 4  |
| 2.2. FAMILIA SOLANACEAE.....  | 5  |
| 2.2.1. DISTRIBUCIÓN Y CARACTERÍSTICAS.....                          | 5  |
| 2.2.2. IMPORTANCIA ECONÓMICA Y FARMACOLÓGICA.....                   | 5  |
| 2.3. GÉNERO <i>PHYSALIS</i> .....                                   | 6  |
| 2.3.1. UBICACIÓN TAXONÓMICA, DISTRIBUCIÓN Y<br>CARACTERÍSTICAS..... | 6  |
| 2.3.2. IMPORTANCIA ECONÓMICA Y FARMACOLÓGICA.....                   | 7  |
| 2.3.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA.....                                     | 7  |
| 2.3.3.1. WITHAESTEORIDES.....                                       | 8  |
| 2.3.3.1.1. ANTECEDENTES.....  | 8  |
| 2.3.3.1.2. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS.....                            | 9  |
| 2.3.3.1.3. ACTIVIDAD BIOLÓGICA.....                                 | 11 |
| 2.3.3.1.3.1. ANTITUMORAL.....                                       | 12 |
| 2.3.3.1.4. DISTRIBUCIÓN.....  | 13 |
| 2.4. <i>PHYSALIS SOLANACEUS</i> (SCHDL. AXELIUS).....               | 14 |
| 2.4.1. UBICACIÓN TAXONÓMICA, DISTRIBUCIÓN Y<br>CARACTERÍSTICAS..... | 14 |
| 2.4.2. ANTECEDENTES FITOQUÍMICOS.....                               | 15 |
| 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....                                  | 17 |
| 4. OBJETIVOS.....   | 17 |
| 5. HIPÓTESIS.....   | 17 |
| 6. MATERIAL Y MÉTODOS.....  | 18 |
| 6.1. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES GENERALES.....                   | 18 |
| 6.2. MATERIAL VEGETAL.....  | 19 |
| 6.3. METODOLOGÍA.....   | 19 |
| 6.3.1. TRATAMIENTO BÁSICO DE PHYSALINA F.....                       | 25 |
| 6.3.2. EPIPHYSALINA G (3).....                                      | 26 |
| 6.3.3. ISOPHYSALINA B (6).....                                      | 26 |
| 6.3.4. PHYSALINA D (7).....   | 26 |
| 6.3.5. TRIACILSACAROSA (8).....                                     | 27 |

|                                |    |
|--------------------------------|----|
| 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 28 |
| 7.1. EPIPHYSALINA G (3).....   | 29 |
| 7.2. TRIACILSACAROSA (8).....  | 38 |
| 8. CONCLUSIONES.....           | 45 |
| 9. PROPUESTAS .....            | 47 |
| 10. ANEXO.....                 | 49 |
| 11. REFERENCIAS.....           | 61 |

## 1. INTRODUCCIÓN

Los individuos de toda sociedad tienen derecho a recibir los servicios de salud adecuados para garantizar su bienestar físico, mental y social. Sin embargo, en los países menos desarrollados la falta de recursos hace difícil asegurar el cumplimiento de tal derecho. La carencia de medicamentos o la imposibilidad de adquirirlos debido a sus altos costos, son algunos de los factores que hacen que la gente recurra a la medicina herbolaria para aliviar los padecimientos que la aquejan<sup>1</sup>.

Entre las plantas que se utilizan en la medicina tradicional de nuestro país, se encuentran diversas especies del género *Physalis*, mismas que se recomiendan para tratar problemas del tracto respiratorio, desórdenes digestivos y para controlar la diabetes<sup>2</sup>.

En otras partes del mundo, especies de *Physalis* también son utilizadas en la medicina tradicional. Como ejemplo se puede citar a *Physalis peruviana*<sup>3</sup> que en Pakistán es usada como diurético. El jugo de sus hojas se utiliza para remediar afecciones intestinales y contra lombrices, mientras que sus hojas calientes son aplicadas como cataplasmas.

Como consecuencia de las propiedades señaladas anteriormente, surgió el interés por conocer los metabolitos presentes en las especies de *Physalis*, así como las actividades biológicas de los mismos.



Estudios químicos realizados a diversas especies del género indican que withanólidas y physalinas, compuestos pertenecientes al grupo de los withaesteroides, son las sustancias que con mayor frecuencia se aíslan de estos vegetales<sup>4</sup>.

Con respecto a la actividad biológica, algunos withaesteroides evaluados han mostrado actividad antimicrobiana y anticancerígena, entre otras<sup>5</sup>.

Por otro lado, México es considerado el centro de diversificación de *Physalis*, ya que cuenta con más de 70 especies (la mayoría endémicas a nuestro territorio), de las 90 que conforman al género<sup>6</sup>. A pesar de lo anterior, en la literatura se encuentran descritos estudios químicos de solo tres especies mexicanas<sup>7-9</sup>, éstos se llevaron a cabo en el Departamento de Productos Naturales del Instituto de Química de la UNAM, como parte de un estudio sistemático del género *Physalis*.

Una de las especies estudiadas fue *Physalis solanaceus*<sup>8</sup>. El material vegetal utilizado se recolectó después de su periodo de fructificación (noviembre 2001), y del extracto hexánico sólo se aisló una mezcla de  $\beta$ -sitosterol y estigmasterol, compuestos de amplia distribución en el reino vegetal. Estudios químicos de otras especies del género *Physalis* que se han realizado en el Instituto de Química, indican que uno de los extractos más ricos en metabolitos secundarios es el hexánico<sup>10</sup>.

Considerando lo anterior, la presente tesis contempló la realización del estudio químico del extracto hexánico de tallos y hojas de *Physalis solanaceus*. Para ello, la planta

fue recolectada en plena fructificación (agosto 2002), en mayor cantidad y en el lugar descrito en el estudio previo.

La investigación tuvo como fin establecer si la madurez de la planta influye en la cantidad y variedad estructural de los metabolitos secundarios presentes en el extracto de baja polaridad.

Como resultado del estudio químico de *P. solanaceus* se obtuvieron cuatro physalinas conocidas (4 a 7), un nuevo withaesteroide denominado epiphysalina G (3) y un nuevo glicolípido (8) cuya estructura consiste de una unidad de sacarosa esterificada con tres ácidos carboxílicos.

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el estudio previo de *P. solanaceus* el rendimiento de metabolitos secundarios del extracto hexánico fue bajo. Considerando lo anterior, las características del material vegetal utilizado y los resultados obtenidos de otras especies de *Physalis*, surge la necesidad de conocer cómo influye la madurez del material vegetal tanto en la cantidad como en las diferencias estructurales de los metabolitos presentes en el extracto hexánico de *Physalis solanaceus*.

### **3. MARCO TEÓRICO**

#### **3.1. IMPORTANCIA DE LOS PRODUCTOS NATURALES**

En los países en vías de desarrollo existe una gran dificultad para hacer llegar la medicina moderna a todos los estratos de la población, por lo que la fitoterapia, arraigada en la cultura popular, constituye una de las formas más económicas para el tratamiento de diversas enfermedades. Coincidentemente, estos países poseen una importante riqueza florística y cultural<sup>1</sup>.

México es un ejemplo de lo anterior, ya que posee una amplia biodiversidad y numerosos grupos culturales, características que explican el por qué cuenta con un amplio conocimiento en medicina tradicional. Aunado a lo anterior, el alto costo de los medicamentos, entre otras causas, ha ocasionado que la gente recurra con mayor frecuencia a la herbolaria.

El conocimiento sobre plantas medicinales se ha utilizado en el mundo académico, ya que a través de estudios fitoquímicos se han obtenido compuestos con diversas actividades terapéuticas. Estas sustancias han servido como prototipo para la síntesis de fármacos con mayor potencia y baja toxicidad. Ejemplos de lo anterior son la quinina y la salicina, usados como antimalárico y antiinflamatorio, respectivamente<sup>1</sup>.

## 3.2. FAMILIA SOLANACEAE

### 3.2.1. DISTRIBUCIÓN Y CARACTERÍSTICAS

La familia Solanaceae está conformada por alrededor de 85 géneros con más de 2300 especies, distribuidas prácticamente en todo el mundo a excepción de los polos. Son abundantes en la región tropical de Latinoamérica, donde 40 géneros son endémicos y muy pocos se encuentran en regiones templadas<sup>11</sup>.

La familia incluye hierbas erectas y trepadoras, algunos arbustos y árboles pequeños. Las plantas se caracterizan por sus hojas alternadas y la flor típica posee cinco pétalos. El fruto es portador de muchas semillas y puede ser una baya como en *Lycopersicon* y *Capsicum*, o una cápsula como en *Datura* y *Nicotiana*<sup>11</sup>.

### 3.2.2. IMPORTANCIA ECONÓMICA Y FARMACOLÓGICA

Muchas de las especies de la familia Solanaceae tienen una importancia económica preponderante a nivel mundial<sup>12</sup>, ya sea como cultivos industriales (tabaco, *Nicotiana tabacum*), cultivos ornamentales (petunia, *Petunia hybrida*) y especialmente, como cultivos hortícolas, como la papa (*Solanum tuberosum*), el tomate (*Physalis philadelphica*), el jitomate (*Lycopersicon esculentum*), la berenjena (*Solanum melongena*), el pimiento (*Capsicum annuum*), y otros de trascendencia local como el pepino de árbol (*Solanum muricatum*) y el tomatillo (*Physalis ixocarpa*)<sup>11, 13</sup>.

En cuanto a su importancia farmacológica, la familia Solanaceae incluye especies que son usadas de manera popular en varias partes del mundo. Por ejemplo, la infusión de *Physalis angulata* se utiliza para el tratamiento de malaria, asma, hepatitis, dermatitis y

reumatismo<sup>14</sup>, y las raíces secas de *Whitania somnifera* son usadas en la India para el tratamiento de enfermedades nerviosas y sexuales<sup>15</sup>.

Varias especies de la familia Solanaceae tienen una reconocida producción de alcaloides (atropina, *Atropa belladonna*; nicotina, *Nicotiana tabacum*; escopolamina, *Datura stramonium* “toloache”) por lo que algunas de sus especies son utilizadas como estimulantes, pero el abuso de ellas las hace tóxicas para los animales y el hombre<sup>16</sup>. Esto ha hecho que la familia *Solanaceae* (sombra tenebrosa) en términos generales, sea considerada como venenosa y se haya desconfiado de ella por muchos años<sup>13, 17</sup>.

### **3.3. GÉNERO *PHYSALIS***

#### **3.3.1. UBICACIÓN TAXONÓMICA, DISTRIBUCIÓN Y CARACTERÍSTICAS**

El género *Physalis* L. pertenece a la familia Solanaceae, se ubica en la subfamilia Solanoideae y en la tribu Solanae. Se distribuye desde Estados Unidos de América hasta Sudamérica y Las Antillas, con algunas especies presentes en el viejo mundo. El género comprende alrededor de 90 especies, una de ellas endémica a Europa, cinco a Estados Unidos, seis a América Central y 70 a México, por lo que éste último se considera el centro de diversificación del género<sup>6</sup>. La palabra “physalis” deriva del griego “physis” que significa bolsa o vejiga y se refiere al cáliz que encierra sus frutos<sup>4</sup>. Sus especies pueden ser anuales o perennes y se caracterizan por la presencia de flores péndulas<sup>6</sup>.

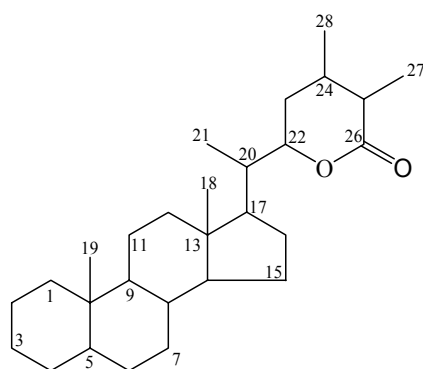
### 3.3.2. IMPORTANCIA ECONÓMICA Y FARMACOLÓGICA

Los frutos de algunas especies del género *Physalis* son comestibles, por ejemplo los de *Physalis peruviana* o tomate verde, planta originaria de México que se caracteriza por ser herbácea, y que se cultiva abundantemente en México y en muchos otros países<sup>18</sup>. Otro ejemplo son los frutos de *Physalis peruviana* o tomate agrio.

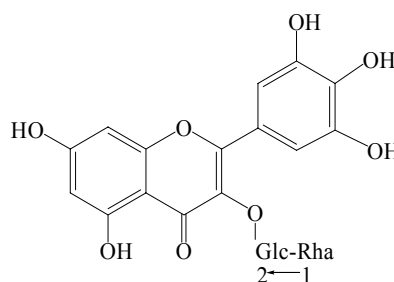
Algunas especies como *P. peruviana*, *P. chenopodifolia* y *P. laevigata* son usadas para tratar problemas respiratorios, dolor de amígdalas (Veracruz, Morelos), tosferina y tos (Michoacán). También son utilizadas para aliviar afecciones digestivas, bilis, inflamación del estómago, contra la calvicie y para el nacimiento del pelo, en el tratamiento de la presión alta, de diabetes (controla la sed del diabético) y para la vista<sup>2</sup>.

### 3.3.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA

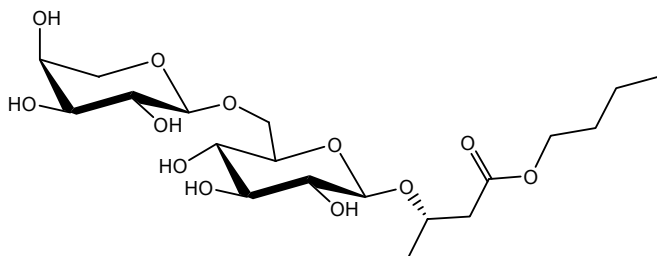
El género *Physalis* se caracteriza por la predominancia de withaesteroides<sup>4</sup> (Fig. 1); además, pueden estar presentes otros tipos de metabolitos, incluyendo flavonoides simples o glicosilados<sup>19</sup> (Fig. 2), glicósidos de hidroxiésteres<sup>20</sup> (Fig. 3) y alcaloides del grupo de la higrina<sup>21</sup> (Fig. 4).



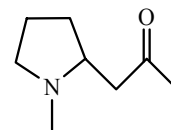
**Fig. 1.** Esqueleto de withaesteroides



**Fig. 2.** 3-O-neohesperidósido de miricetina



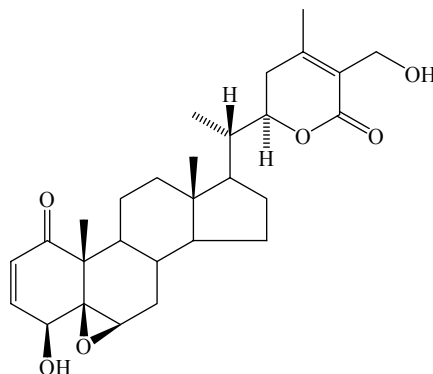
**Fig. 3.** 3-O-α-L-arabinopiranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosido de (3S)-3-hidroxi-butanoato de butilo



**Fig. 4.** Alcaloide higrina

### 3.3.3.1. WITHAESTEROIDES

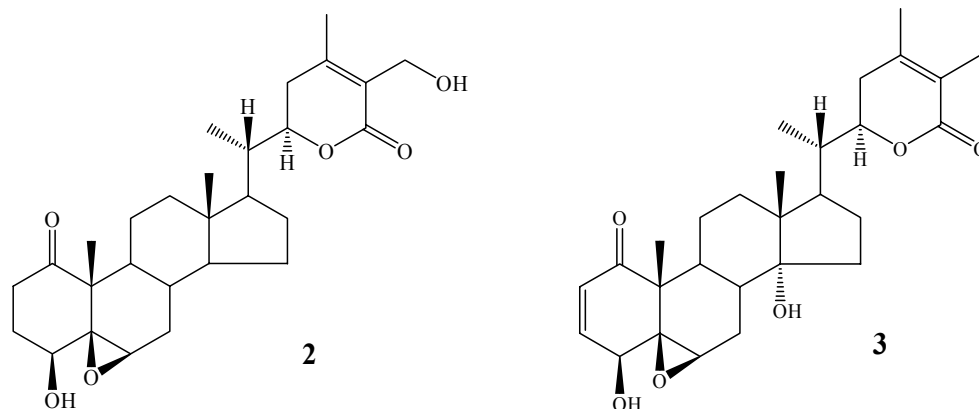
**3.3.3.1.1. Antecedentes.** La palabra withaesteroide tiene su origen en el primer compuesto de esta familia, withaferina A<sup>5</sup> (**1**), aislado de la planta medicinal hindú *Withania somnifera*.



**1**

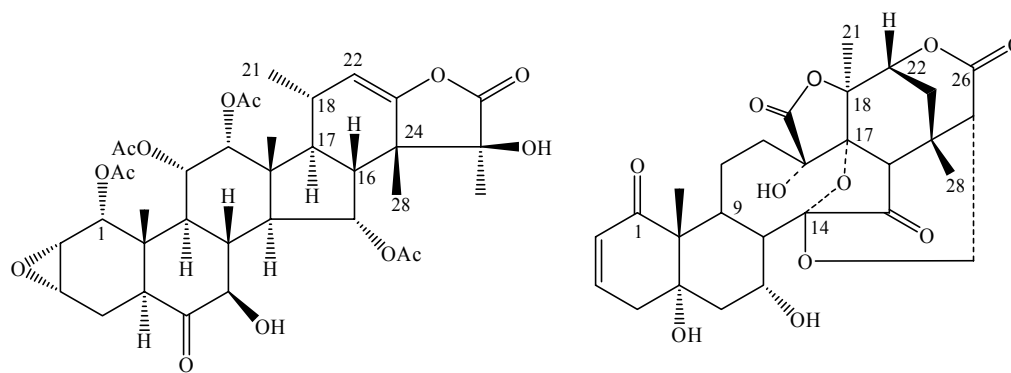
Kurup (1956) describió la actividad bacteriostática de withaferina A y Ben-Efraim y Yarden (1962) la confirmaron; además de reportar que este compuesto posee actividad antitumoral<sup>22</sup>. La novedad de su estructura y su actividad biológica indujeron a realizar una investigación química profunda de la planta, lo que dio como resultado el aislamiento de otros compuestos con estructuras similares a la de withaferina A<sup>5</sup>, por ejemplo: 2,3-dihidrowithaferina A<sup>23</sup> (**2**) y 27-desoxi-14α-hidroxiwithaferina A<sup>24</sup> (**3**).





Tursunova y cols. (1981) propusieron el nombre de withaesteroide para abarcar a todos los compuestos que contienen 28 átomos de carbono en su esqueleto principal y que derivan del ergostano<sup>5</sup>.

**3.3.3.1.2. Características químicas.** Los withaesteroides presentan el esqueleto esteroidal del ergostano altamente oxigenado y por lo general, la cadena lateral de 9 carbonos contiene una lactona de 5 ó 6 miembros. Esta lactona puede estar unida a la parte carbocíclica de la molécula a través de un enlace carbono-carbono (**4**) y adicionalmente, por un puente de oxígeno (**5**)<sup>5</sup>.

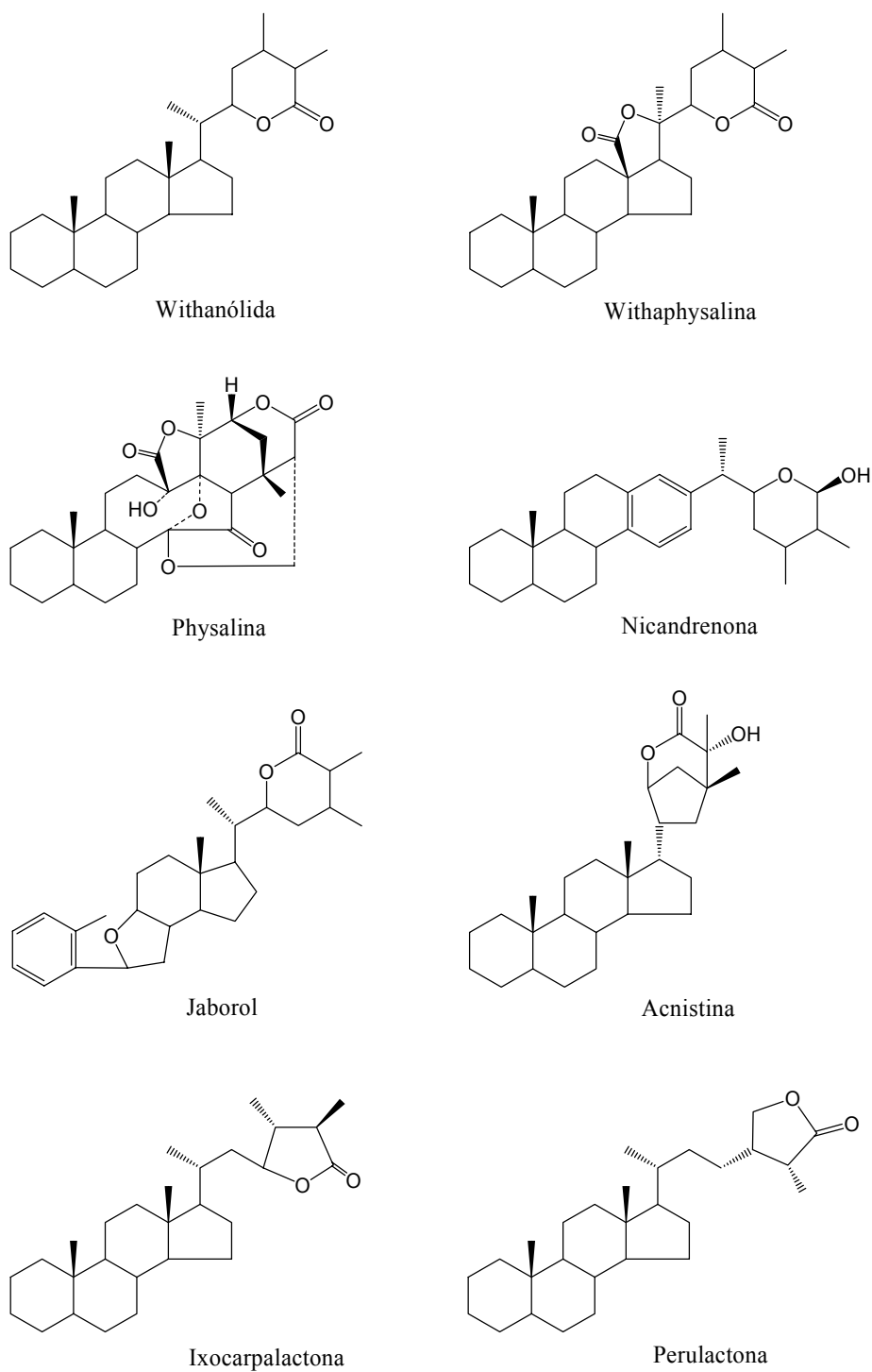


**4** Taccalonólida A

**5** Physalina E

A pesar del esqueleto carbonado en común que tienen todos los withaesteroides, la variedad que exhiben estas lactonas esteroidales hizo necesaria su clasificación en 8 grupos,

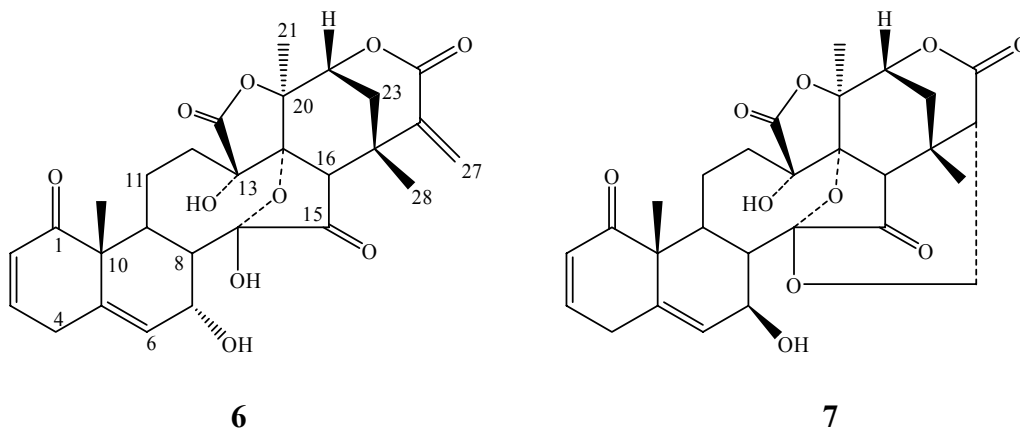
estos son: **withanólidas**, **withaphysalinas**, **physalinas**, **nicandrenonas**, **jaboroles**, **acnistinas**, **ixocarpalactonas** y **perulactonas** (Fig. 5)<sup>5</sup>.



**Fig. 5.** Estructuras representativas de los ocho grupos de withaesteroides.

Las physalinas (13,14-seco-16,24-ciclowithanólidas) son las moléculas más complejas del grupo de los withaesteroides y a diferencia de los otros subgrupos, poseen una  $\gamma$ -lactona adicional fusionada al anillo D y una cetona en C-15<sup>5</sup>.

Estas moléculas pueden ser heptacíclicas u octacíclicas; por ejemplo, physalina A<sup>25</sup> (6) y physalina H<sup>26</sup> (7), respectivamente.

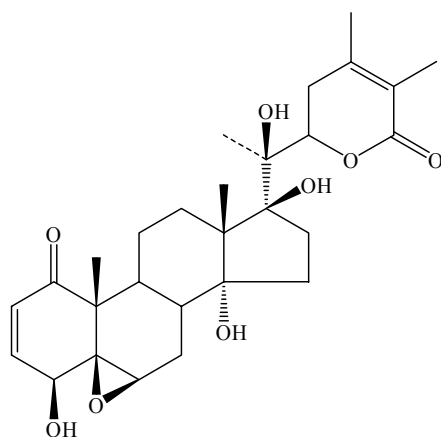


**3.3.3.1.3. Actividad biológica.** Algunos withaesteroides aislados de plantas usadas en la medicina tradicional de diferentes países han presentado diversas actividades biológicas, como por ejemplo: antimicrobiana, antiinflamatoria, inmunomoduladora, antitumoral, tripanosomicida, entre otras<sup>5</sup>.

Withaferina A (1), withanólida aislada de *Withania somnifera* y *Acnistus arborescens*, ha presentado actividad antifúngica contra *Aspergillus flavus*, *Epidermophyton floccosum* y *Cladosporium herbarum*<sup>5</sup>. También mostró actividad inhibitoria significativa contra sarcoma 180 SA en ratón y contra carcinosarcoma intramuscular 256 Walker (WM) en ratas<sup>27</sup>.

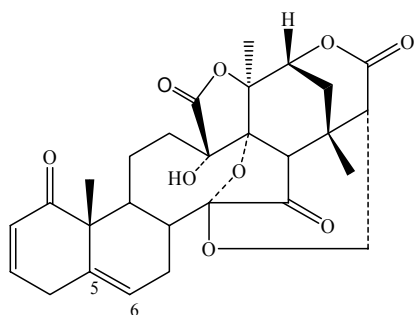
La 16,24-ciclo-ixocarpalactona taccalonólida A (4), se aisló de la planta medicinal china *Tacca plantaginea* y mostró actividad antimalárica contra el parásito *Plasmodium berghai*<sup>28</sup>.

El compuesto 4 $\beta$ -hidroxiwithanólida E (**8**) presentó actividad antineoplásica significativa sobre melanosarcoma B-16 y contra leucemia L-210<sup>29</sup>, por lo que dicho compuesto fue evaluado hasta la etapa preclínica<sup>5</sup>; esta withanólida ha sido aislada de *Physalis peruviana*<sup>29</sup>, *Physalis viscosa*<sup>30</sup> y *Physalis cinerascens*<sup>9</sup>.

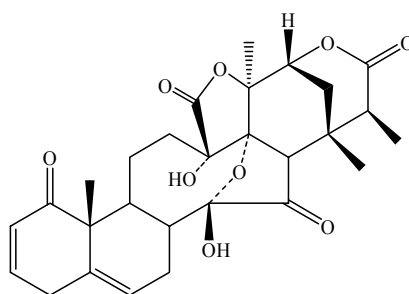


**8**

**3.3.3.1.3.1. Antitumoral.** De las raíces de *Witheringia coccoloboides* (Dammer) fueron aisladas physalina B (**9**) y 25-epi-25,27-dihidrophysalina C (**10**), ambos compuestos mostraron actividad citotóxica *in vitro* en células tumorales 9PS (leucemia linfocítica de ratón) y 9KB (carcinoma nasofaríngeo). Además, physalina B mostró actividad moderada *in vivo* contra leucemia de ratón 3PS<sup>31</sup>.



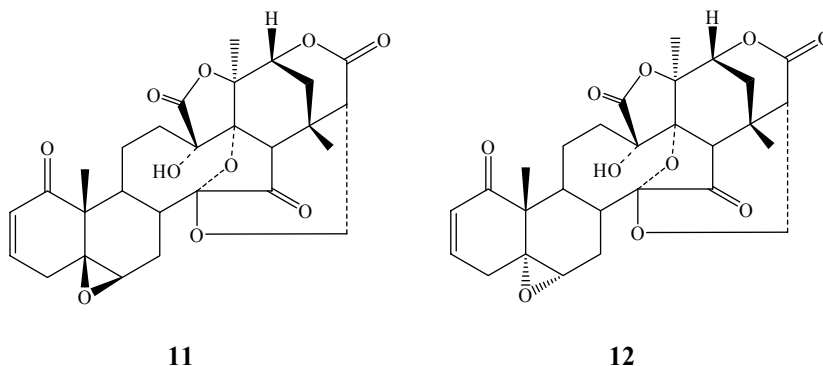
**9**



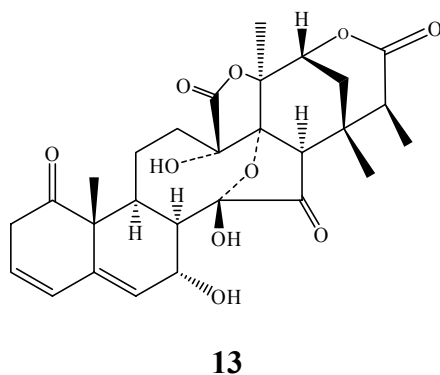
**10**

Los derivados epoxidados 5 $\beta$ , 6 $\beta$  (**11**) y 5 $\alpha$ , 6 $\alpha$  (**12**) de physalina B (physalina F y physalina J, respectivamente) aislados de *Physalis angulata*<sup>32</sup>, fueron sintetizados a partir

de physalina B (**9**). La evaluación de la actividad antitumoral mostró que physalina J (**12**), fue más tóxica para las células tumorales 9KB y menos tóxica para las células 9PS que physalina B<sup>31</sup>.



La actividad antitumoral *in vitro* de physalina A (**6**), physalina B (**9**), physalina E (**5**), physalina F (**11**) y physalina L (**13**) fue determinada usando células HeLa (cáncer cervicouterino). Estas physalinas se aislaron de *Physalis alkekengi* var. *francheti*. Physalina A exhibió citotoxicidad moderada. Physalina B y physalina F mostraron una actividad más alta que physalina A, mientras que physalina E (**5**) y physalina L (**13**) fueron inactivas<sup>33</sup>.



**3.3.3.1.4. Distribución.** Los withaesteroides no se restringen sólo a la familia Solanaceae ya que se han encontrado en las familias Labiatae, Leguminoseae y Taccaceae. Los géneros pertenecientes a la familia Solanaceae de los cuales se han aislado withaesteroides son: *Acnistus* (*Dunalia*), *Datura*, *Deprea*, *Iochroma*, *Jaborosa* (*Trechonaetes*), *Lycium*,

*Nicandra*, *Physalis*, *Salpichroa*, *Tubocapsicum*, *Withania* y *Witheringia*. Los géneros *Withania* y *Physalis* han contribuido en mayor proporción al número de withaesteroides conocidos<sup>5</sup>.

### **3.4. *PHYSALIS SOLANACEUS* (SCHLDL.) AXELIUS**

#### **3.4.1. UBICACIÓN TAXONÓMICA, DISTRIBUCIÓN Y CARACTERÍSTICAS**

Familia: Solanaceae

Subfamilia: Solanoideae

Tribu: Solanae

Género: *Physalis*

Subgénero: Rydbergis

Sección: Angulatae

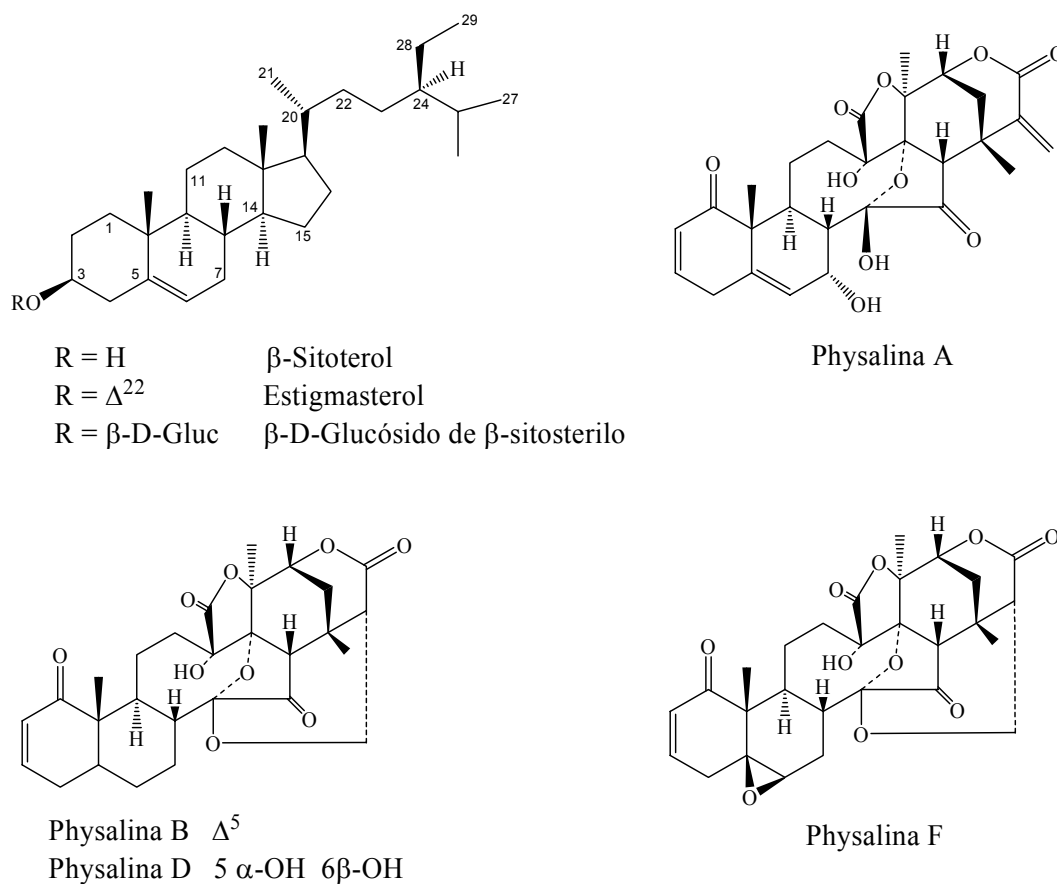
Especie: *Physalis solanaceus*<sup>34</sup>

*Physalis solanaceus* es herbácea, erecta a extendida, mide hasta 70 cm de alto, es glabra con flores solitarias de color púrpura de 1.3 a 2.5 mm de diámetro y de 3 a 4 mm de largo. Su fruto es una baya que mide aproximadamente 8 mm de diámetro. La especie crece en zonas cercanas a bosques tropicales, matorral subtropical y suelos arenosos, mayormente en zonas secas. Se desarrolla desde los 400 hasta los 2000 m sobre el nivel del mar. Florece y fructifica de junio a octubre<sup>6</sup>.

Se distribuye desde el sur de Estados Unidos hasta Centroamérica. En México se encuentra en los estados de Chihuahua, Coahuila, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, México, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro y Tamaulipas<sup>6</sup>.

### 3.4.2. ANTECEDENTES FITOQUÍMICOS

*Physalis solanaceus* fue objeto de un estudio químico previo al de la presente tesis<sup>8</sup>. En dicho estudio, el material vegetal fue recolectado después del periodo de fructificación en noviembre de 2001 (484.2 g), y del extracto hexánico (3.77 g) se obtuvo una mezcla de  $\beta$ -sitosterol y estigmasterol. Del extracto de acetato de etilo (11.9 g), se aislaron glucósido de  $\beta$ -sitosterilo y cuatro withaesteroides pertenecientes al grupo de las physalinas: physalina A, physalina B, physalina D y physalina F (Fig. 6).



**Fig. 6.** Metabolitos secundarios aislados de la parte aérea de *P. solanaceus* recolectada en noviembre de 2001.

Estudios químicos de otras especies del género *Physalis* realizados en el Instituto de Química<sup>10</sup>, indican que uno de los extractos más ricos en metabolitos secundarios es el hexánico, por lo que el presente trabajo de tesis consistió en estudiar el extracto hexánico de *Physalis solanaceus* recolectada en plena fructificación en agosto de 2002, para determinar si la madurez de la planta afecta el contenido y variedad estructural de sus metabolitos secundarios. Para ello, el material vegetal se recolectó en mayor cantidad y en el lugar descrito en el estudio anterior.



#### 4. OBJETIVOS

- Contribuir al conocimiento químico del género *Physalis*.
- Aislar e identificar los compuestos mayoritarios del extracto hexánico de *Physalis solanaceus* recolectada en plena fructificación.
- Conocer cómo influye la madurez de *Physalis solanaceus* en el contenido y en las diferencias estructurales de los metabolitos del extracto hexánico.

#### 5. HIPÓTESIS

El extracto hexánico de *Physalis solanaceus* contiene entre sus metabolitos secundarios principales withaesteroides, y su contenido varía de acuerdo con el grado de madurez del vegetal.

## **6. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **6.1. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES GENERALES**

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Fisher-Johns y en un equipo Mel-Temp II. Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro Perkin-Elmer Mod. 343. El espectro UV se obtuvo en un espectrofotómetro Shimadzu 160U. Los espectros de IR se obtuvieron en un espectrofotómetro con transformada de Fourier Bruker Mod. Tensor 27. Los espectros de RMN se determinaron a temperatura ambiente en espectrómetros Varian Unity (300 MHz  $^1\text{H}$ , 75 MHz  $^{13}\text{C}$ ), Eclipse Jeol (300 MHz  $^1\text{H}$ , 75 MHz  $^{13}\text{C}$ ) y Varian-Inova (500 MHz  $^1\text{H}$ , 125 MHz  $^{13}\text{C}$ ), utilizando como referencia interna tetrametilsilano hexadeuterado (TMS). El espectro de masas obtenido por IE se realizó en un espectrómetro JEOL JMS-AX505HA; y los espectros de masas por FAB<sup>+</sup> se registraron en un espectrómetro JEOL-JMS-SX102A.

Para las cromatografías en columna con vacío se usó como fase estacionaria gel de sílice 60 GF<sub>254</sub>, 10-40  $\mu\text{m}$ , Macherey-Nagel, en una proporción de 15:1 respecto a la muestra. Para las cromatografías flash en columna<sup>35</sup> se usó una cama de 5-6 pulgadas de alto de gel de sílice 60, 230-400 mallas, Macherey-Nagel. Las cromatografías en placa preparativa se llevaron a cabo en placas de 20 x 20 cm SIL G-100 UV<sub>254</sub> (1 mm de espesor de adsorbente) y SIL G-200 UV<sub>254</sub> (2 mm de espesor de adsorbente) Macherey-Nagel. Para las cromatografías en placa preparativa de fase reversa se utilizaron placas de 20 x 10 cm RP-18 F<sub>254</sub>, MERCK, de 1 mm de espesor de adsorbente. El seguimiento de las cromatografías en columna se llevó a cabo por cromatografía en capa delgada, usando

cromatofolios Alugram SIL G/UV<sub>254</sub> de 0.25 mm de espesor de adsorbente. Los compuestos fueron visualizados con una lámpara UV Spectroline CX-20 y/o con un revelador de sulfato cérico al 3% en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N.

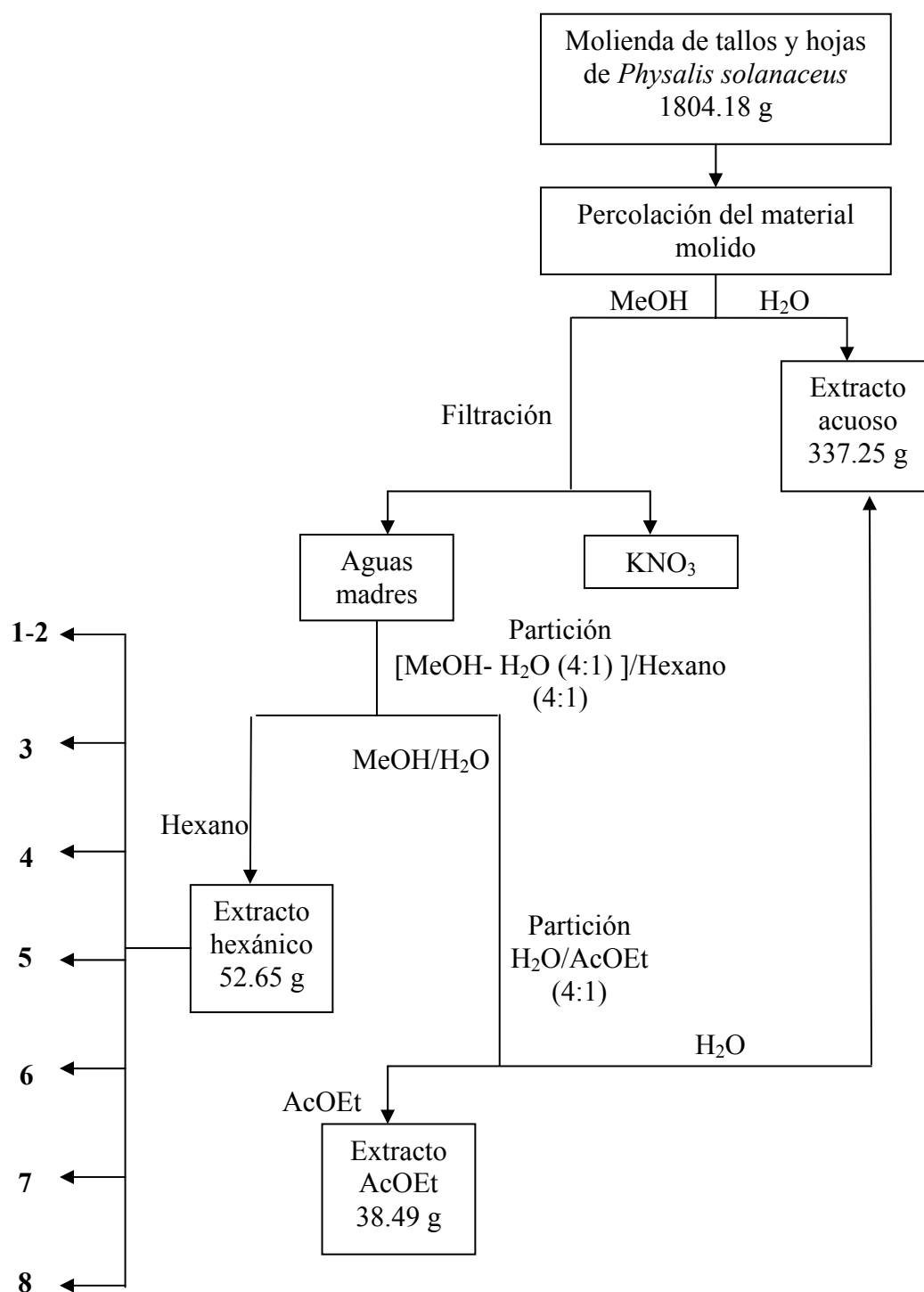
## 6.2. MATERIAL VEGETAL

*Physalis solanaceus* (Schldl.) Axelius se recolectó en plena fructificación en el Cerro del Azteca, Querétaro, el 6 de agosto de 2002. El material vegetal fue identificado por la Dra. Mahinda Martínez. Se depositó una muestra del espécimen en el Herbario de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro.

## 6.3. METODOLOGÍA

La parte aérea libre de frutos se secó a temperatura ambiente durante dos semanas, después se molió y el material (1804.2 g) fue colocado en una columna de acero inoxidable a la que se le hizo pasar metanol hasta agotar el vegetal, repitiéndose el proceso con agua. Posteriormente, en el transcurso de la eliminación del metanol se formaron sólidos que fueron filtrados e identificados como KNO<sub>3</sub><sup>36</sup> (9.29 g, pf ~331 °C). El filtrado se sometió a un proceso de partición con [metanol-agua (4:1)] /hexano (4:1), a la fase superior se le eliminó el disolvente usando un rotavapor; se obtuvieron 52.65 g de extracto hexánico. Después, se evaporó el metanol de la parte hidroalcohólica y se realizó una partición con agua-acetato de etilo (4:1). Posteriormente, al eliminar el disolvente de la fase orgánica se obtuvieron 38.49 g de extracto de acetato de etilo. La fase acuosa se agregó al extracto acuoso obtenido por percolación. A este último extracto se le eliminó el disolvente a temperatura ambiente y con una corriente de aire; se obtuvieron 337.25 g de residuo.

El método experimental general utilizado se muestra en el siguiente diagrama de flujo.



El extracto hexánico se adsorbió en celita y se fraccionó mediante una cromatografía en columna con vacío (CCV-A). La cromatografía se eluyó con hexano, acetato de etilo y metanol como se indica en la tabla 1; se obtuvieron fracciones de 500 ml.

Tabla 1. Cromatografía en columna A

| Hexano | Fase móvil (%)   |         | Fracciones obtenidas |
|--------|------------------|---------|----------------------|
|        | Acetato de etilo | Metanol |                      |
| 100    | -                | -       | 1-18                 |
| 95     | 5                | -       | 19-31                |
| 90     | 10               | -       | 32-70                |
| 80     | 20               | -       | 71-96                |
| 70     | 30               | -       | 97-116               |
| 60     | 40               | -       | 117-131              |
| 50     | 50               | -       | 132-142              |
| 30     | 70               | -       | 143-156              |
| 10     | 90               | -       | 157-163              |
| -      | 100              | -       | 164-169              |
| -      | 90               | 10      | 170-176              |
| -      | 80               | 20      | 177-179              |
| -      | -                | 100     | 180-182              |

Después de realizar un análisis por cromatografía en capa delgada de las fracciones, aquellas que presentaron composición similar se reunieron de la siguiente manera: 26A a 39A, 90A a 109A, 110A a 118A, 119A a 127A y 128A a 168A.

Las fracciones 26A-39A (3.42 g) se purificaron por cromatografía en columna (CCV-B) eluída con hexano-acetato de etilo 90:10 obteniendo de las fracciones 8 a 26 mezcla de  $\beta$ -sitosterol y estigmasterol (**1** y **2**, 574.4 mg) por recristalización en hexano-etanol, pf: 140-143 °C.

En las fracciones 90A-109A se formaron sólidos de color amarillo (1.09 g) solubles en metanol, acetona y acetato de etilo. Su análisis por cromatografía en capa delgada (CCD) eluida tres veces con hexano-acetato de etilo 60:40, mostró que se trataba de una mezcla de por lo menos tres compuestos, Rf's: 0.48, 0.32, 0.25 (Fig. 7).

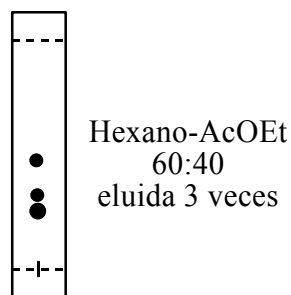


Fig. 7. CCD eluida con hexano-acetato de etilo, fracciones 90-109 de CCV-A.

Los sólidos se sometieron a una cromatografía en columna eluida con hexano-acetato de etilo 60:40. Esta columna no dio los resultados esperados, por lo que se juntaron todas las fracciones y 186.4 mg del residuo se sometieron de manera consecutiva a dos cromatografías en placa preparativa (CPP-1 y CPP-2) usando como fase móvil hexano-acetato de etilo 60:40. Se obtuvieron 3 fracciones, la más polar (42 mg) se purificó por cromatografía en columna (CCV-C) usando como fase móvil cloroformo-acetona 85:15 (fracciones de 5 ml). De las fracciones 2 a 5 se obtuvo epiphysalina G (**3**, 10 mg) que recristalizó en acetona-hexano, pf: 291-297 °C.

Mediante el procedimiento antes descrito, sólo se aisló un componente de la mezcla que constituía al sólido de las fracciones 90A-109A, por lo que se buscó otro sistema de

elución para separar los otros componentes de la mezcla. Una CCD eluída dos veces con diclorometano-acetato de etilo 95:5, mostró cuatro constituyentes del sólido, Rf's: 0.57, 0.48, 0.31, 0.14 (Fig. 8).

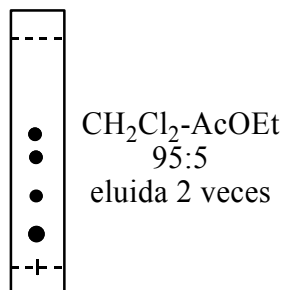


Fig. 8. CCD eluída con diclorometano-acetato de etilo, fracciones 90-109 de CCV-A.

Por lo tanto, la mezcla (803.8 mg) se purificó por cromatografía flash (CC-D) que se eluyó con diclorometano-acetato de etilo 95:5 (fracciones de 50 ml). De las fracciones 21 a 26 se obtuvieron 99.8 mg de physalina B (**4**) que recristalizó en acetona, pf: 292-295 °C, y de las fracciones 29 a 46 se obtuvieron 191.1 mg de physalina F (**5**) que recristalizó en metanol-acetona, pf: 290-295 °C.

Las aguas madres (3.35 g) de los sólidos de las fracciones 90A-109A se sometieron a una cromatografía flash (CC-E) usando como fase móvil diclorometano-acetato de etilo 95:5 (fracciones de 50 ml). Después de decolorar el residuo de las fracciones 30 a 37 con carbón activado y metanol se obtuvo physalina B (**4**, 10.7 mg). De igual forma, el residuo de las fracciones 39 a 46 se decoloró y se obtuvo physalina F (**5**, 22.8 mg). Las aguas madres de physalina B se unieron con las fracciones 19-29 de CC-E, y el residuo (300.2 mg) se purificó por cromatografía flash (CC-F) eluída con diclorometano-acetona 98:2

(fracciones de 50 ml). De las fracciones 10 a 14 se obtuvo isophysalina B (**6**, 10.3 mg) como sólido amorfo a partir de acetona-hexano.

De la CC-E, se reunieron las fracciones 47 a 65 (2.29 g) que se purificaron por cromatografía flash empleando diclorometano-acetona 97:3 como fase móvil y obteniendo fracciones de 50 ml. En la fracción 59 precipitó un sólido de color blanco (64 mg) muy poco soluble en acetona que se purificó mediante cromatografía flash (CC-G) eluída con diclorometano-acetona 80:20 (fracciones de 15 ml) y de la que se obtuvo physalina D (**7**) pura de las fracciones 9 a 26 por recristalización en acetona, pf: 298-300 °C, 30 mg.

El residuo de las fracciones 110A a 118A (3.05 g) se purificó por CCV eluída con diclorometano-acetona 75:25. Se reunieron las fracciones 2 a 5 (1.47 g) que se analizaron por CCV (CCV-H) usando como fase móvil diclorometano-acetato de etilo 97:3 (fracciones de 50 ml) y de las fracciones 6 a 42 se obtuvo physalina F (**5**, 54.7 mg).

Las fracciones 119A-127A (2.51 g) se purificaron por CCV que se eluyó con acetato de etilo-hexano 60:40. Las fracciones 8 a 31 se unieron (1.01 g) y se sometieron a otra CCV (CCV-I) empleando el sistema diclorometano-acetona 75:25 como fase móvil (fracciones de 50 ml). De esta última cromatografía se obtuvo physalina D (**7**, 31.9 mg) de la fracción 2.

Las fracciones 128A-168A (6.494 g) se purificaron por CCV eluída con diclorometano-acetona 60:40, obteniendo fracciones de 100 ml. Se reunieron las fracciones



7 a 12 (566.2 mg) y se purificaron mediante cromatografía flash (CC-J) que se eluyó con cloroformo-metanol 92:8. De ésta, se reunieron las fracciones 12 a 25 (271.4 mg) y su análisis por cromatografía en capa delgada en fase reversa mostró que una mezcla conformada por al menos tres compuestos ( $R_f$ 's: 0.48, 0.42, 0.36; Fig. 9), se encontraba en estas fracciones.

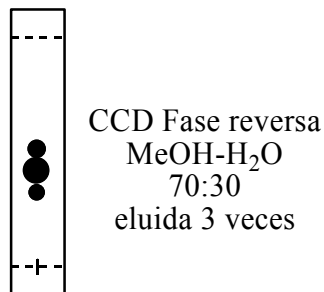


Fig. 9. CCD en fase reversa eluida con metanol-agua, fracciones 12-25 de CC-J.

Una parte del residuo (107.5 mg) se purificó por cromatografía en placa preparativa en fase reversa usando como fase móvil metanol-agua 75:25. Se obtuvieron tres fracciones y la de polaridad media correspondió a la triacilsacarosa **8** (14.8 mg).

### 6.3.1. TRATAMIENTO BÁSICO DE PHYSALINA F

El compuesto **5** (101.9 mg) se disolvió en dietilamina y metanol. La solución se adsorbió en 7 g de alúmina neutra y se dejó reaccionar 19 h a temperatura ambiente. Posteriormente, la mezcla se extrajo con metanol, y después de eliminar el disolvente, el residuo que aún contenía alúmina (125.7 mg) se purificó por cromatografía flash (CC-K) que fue eluida con cloroformo-acetona 80:20 obteniendo fracciones de 25 ml. De las fracciones 6 a 22 se obtuvo epiphysalina G (**3**, 38.7 mg).

### **6.3.2. EPIPHYSALINA G (3)**

Cristales blancos, pf: 291-297 °C.  $[\alpha]_D$ : -38.46° (c 0.13; CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>). UV  $\lambda_{\text{máx}}$ . (CH<sub>3</sub>OH): 209 nm, log  $\epsilon$ : 3.53; 308 nm, log  $\epsilon$ : 3.33. IR  $\nu_{\text{máx}}$ . (KBr) cm<sup>-1</sup>: 3430 (banda ancha) alcohol; 1761 (banda ancha con dos hombros) carbonilos de  $\gamma$ -lactona,  $\delta$ -lactona y cetona; 1655, carbonilo de cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada; 1626, dobles enlaces conjugados. RMN <sup>1</sup>H: ver Tabla 1. RMN <sup>13</sup>C: ver Tabla 2. EM-FAB<sup>+</sup> m/z: 527 [M + H]<sup>+</sup> (4%), 509 [(M + H) - H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (3%). EM AR-FAB<sup>+</sup> m/z: 527.1909; calculada para C<sub>28</sub>H<sub>31</sub>O<sub>10</sub>, 527.1917.

### **6.3.3. ISOPHYSALINA B (6)**

Sólido amorfo amarillo.  $[\alpha]_D$ : -80° (c 0.22; MeOH). IR  $\nu_{\text{máx}}$ . (KBr) cm<sup>-1</sup>: 3432 (banda ancha) alcohol; 1759 (banda ancha con dos hombros) carbonilos de  $\gamma$ -lactona,  $\delta$ -lactona y cetona  $\beta$ ,  $\gamma$ -insaturada. RMN <sup>1</sup>H: ver Tabla 1. RMN <sup>13</sup>C: ver Tabla 2. EM-IE m/z: 510 [M]<sup>+</sup> (99%), 492 [M - H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (55%), 464 [(M - H<sub>2</sub>O) - CO]<sup>+</sup> (29%), 159 [C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>O]<sup>+</sup> (42%), 155 [C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (44%), 131 [C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup> (25%).

### **6.3.4. PHYSALINA D (7)**

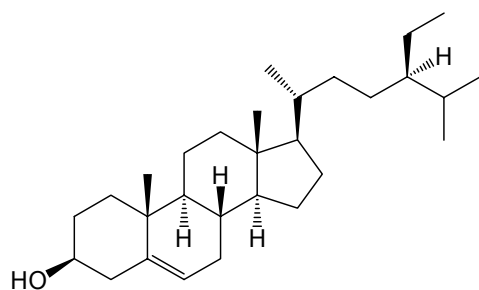
Cristales blancos, pf: 298-300 °C. IR  $\nu_{\text{máx}}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3444 (banda ancha) alcohol; 1761 (banda ancha con dos hombros) carbonilo de  $\gamma$ -lactona y  $\delta$ -lactona; 1666, carbonilo de cetona  $\alpha,\beta$  insaturada. RMN  $^1\text{H}$ : ver Tabla 1. RMN  $^{13}\text{C}$ : ver Tabla 2.

### 6.3.5. TRIACILSACAROSA (8)

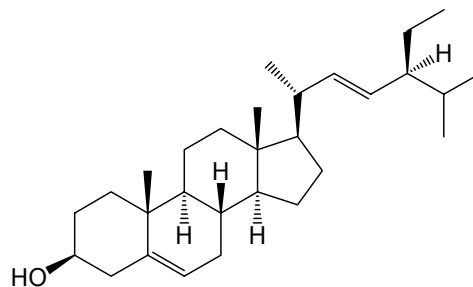
Líquido denso.  $[\alpha]_{\text{D}}$ : +13.13° (c, 0.32;  $\text{CHCl}_3$ ). IR  $\nu_{\text{máx}}$  ( $\text{CHCl}_3$ )  $\text{cm}^{-1}$ : 3417 (banda ancha) alcohol; 2924, C-H alifáticos; 1743, carbonilos de ésteres; 1056 (banda con hombros) C-O. RMN  $^1\text{H}$ : ver Tabla 3. RMN  $^{13}\text{C}$ : ver Tabla 4. EM-FAB $^+$  m/z: 701  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  (18%), 429  $[(\text{M} + \text{Na}) - \text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{O}_2 - \text{C}_4\text{H}_7\text{O}]^+$  (11%), 327  $[429 - \text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2]^+$  (6%), 233  $[\text{C}_{12}\text{H}_9\text{O}_5]^+$  (100%), 183  $[\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{O}]^+$  (53%), 127  $[183 - \text{CO} - 28]^+$  (25%), 85  $[\text{C}_5\text{H}_9\text{O}]^+$  (50%), 71  $[\text{C}_4\text{H}_7\text{O}]^+$  (57%), 57  $[85 - \text{CO}]^+$  (75%), 43  $[71 - \text{CO}]^+$  (63%). EM AR-FAB $^+$  m/z: 701.3730; calculada para  $\text{C}_{33}\text{H}_{58}\text{O}_{14}\text{Na}$ , 701.3724.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del extracto hexánico de *P. solanaceus* se aisló una mezcla de  $\beta$ -sitosterol (**1**) y estigmasterol (**2**), identificada por comparación del Rf y del espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de la mezcla con los de una muestra original.

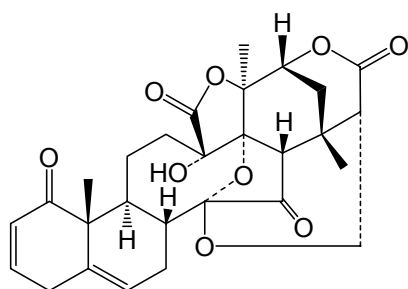


**$\beta$ -Sitosterol (1)**

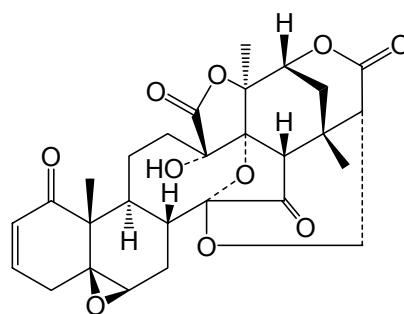


**Estigmasterol (2)**

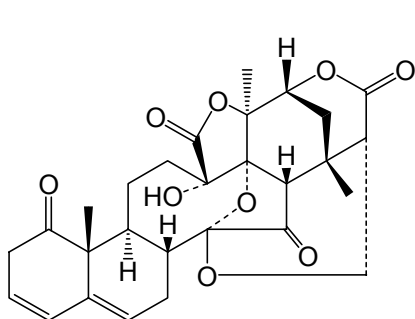
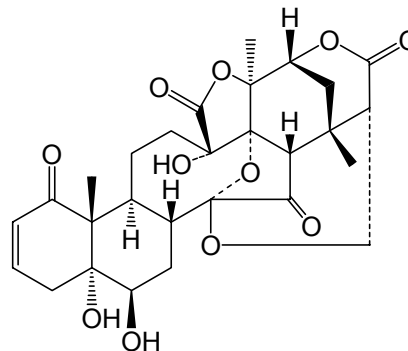
También se aislaron cinco physalinas (**3-7**), cuatro de ellas correspondieron a compuestos conocidos y fueron identificadas como physalina B<sup>37</sup> (**4**), physalina F<sup>32</sup> (**5**), isophysalina B<sup>38</sup> (**6**) y physalina D<sup>39</sup> (**7**).



**Physalina B (4)**

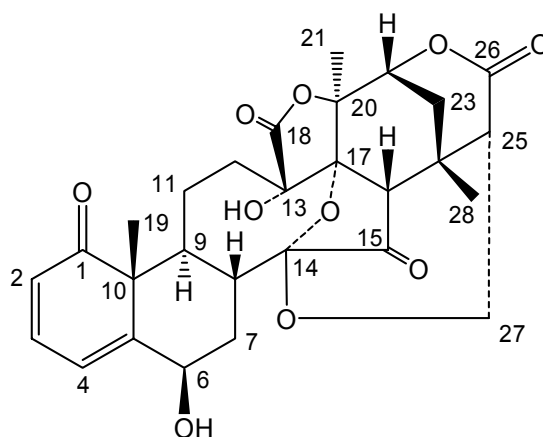


**Physalina F (5)**

**Isophysalina B (6)****Physalina D (7)**

La quinta physalina correspondió a un nuevo compuesto que fue denominado epiphysalina G (**3**). Además, se aisló una nueva triacilsacarosa (**8**) cuya estructura presenta una unidad de sacarosa esterificada con los ácidos láurico, isovalérico e isobutírico.

### 7.1. EPIPHYSALINA G (**3**)

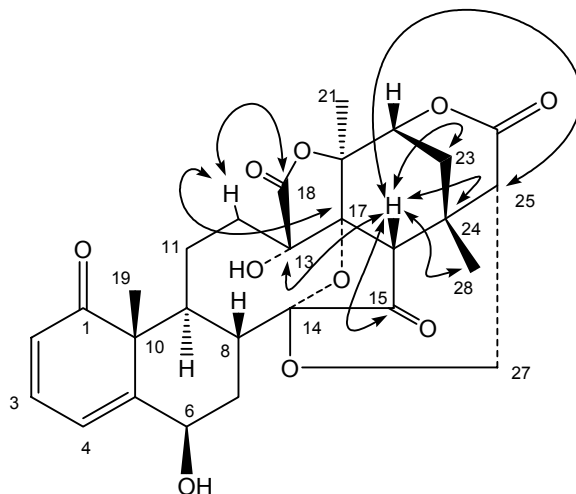
**3**

El compuesto **3** fue aislado como un sólido blanco con pf: 291-296°C. La funcionalidad presente en el anillo A originó que en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 1, tabla 1) se observaran las señales de los hidrógenos vinílicos 2, 3 y 4 desplazadas a campo bajo ( $\delta$  5.89, 6.98 y 6.16, respectivamente). Además, en el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (espectro

2, tabla 2), los desplazamientos de las señales de C-1, C-2, C-3, C-4 y C-5 ( $\delta$  207.79, 126.47, 140.54, 118.38 y 158.63, respectivamente) estuvieron acordes con la presencia de la dienona. Lo anterior se corroboró al observar en el espectro bidimensional COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (espectro 3), el acoplamiento de las señales de H-2 y H-4 con aquella de H-3; y en el espectro heteronuclear HMBC (espectro 4), las correlaciones de la señal de C-1 con las señales de H-3 y del metilo 19 ( $\delta$  1.40). En el espectro de IR (espectro 5), la banda de absorción en  $1655\text{ cm}^{-1}$  corroboró la presencia de la cetona conjugada.

El hidrógeno del alcohol secundario ( $\delta$  4.25) presentó en el espectro bidimensional COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (espectro 3) un acoplamiento con el hidrógeno 6 ( $\delta$  4.57) geminal a la función, cuyo desplazamiento químico señaló su posición alílica, y por lo tanto también la del alcohol. Lo anterior se confirmó al observar en el espectro heteronuclear HMBC, el acoplamiento a tres enlaces de la señal de C-6 ( $\delta$  72.79) con aquella de H-4 ( $\delta$  6.16).

Por otro lado, en el mismo espectro HMBC (espectro 4), la señal de H-16 ( $\delta$  2.73) correlacionó con las señales de C-13 ( $\delta$  80.21), C-15 ( $\delta$  209.93), C-23 ( $\delta$  32.94), C-24 ( $\delta$  31.85), C-25 ( $\delta$  51.05) y con aquella asignada al metilo 28 ( $\delta$  25.72), Fig. 10.

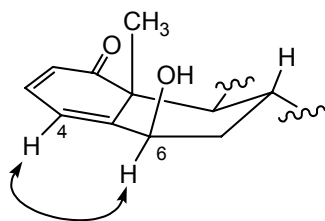


**Fig. 10.** Algunas correlaciones observadas en el espectro heteronuclear HMBC de **3**.

La participación del carbono 18 en la función  $\gamma$ -lactona, se dedujo al observar los acoplamientos  $^3J_{C,H}$  (HMBC, espectro 4) de uno de los hidrógenos de la posición 12 ( $\delta$  2.08) con C-17 ( $\delta$  81.86) y con el carbonilo de la lactona ( $\delta$  172.39).

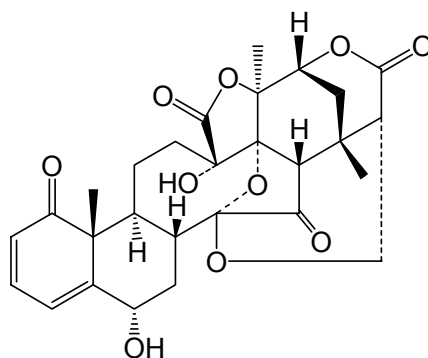
Con respecto a la  $\delta$ -lactona, la señal de su carbonilo (C-26,  $\delta$  167.28) mostró en el espectro heteronuclear mencionado anteriormente, un acoplamiento a dos enlaces con H-25 ( $\delta$  2.81) y a tres enlaces con H-22 ( $\delta$  4.53) y con uno de los hidrógenos de C-27 ( $\delta$  3.80), mientras el otro hidrógeno del carbono 27 ( $\delta$  4.44) correlacionó con el carbono cetálico C-14 ( $\delta$  107.91).

La estereoquímica del alcohol unido a C-6, se propuso  $\beta$  al observar en el espectro NOESY (espectro 6) una correlación entre las señales de H-4 ( $\delta$  6.16) y H-6 ( $\delta$  4.58). Esta correlación es posible si H-4 y H-6 se encuentran casi paralelos, por lo que H-6 debe tener una orientación  $\alpha$  (Fig. 11).



**Fig. 11.** Efecto NOE entre H-4 y H-6.

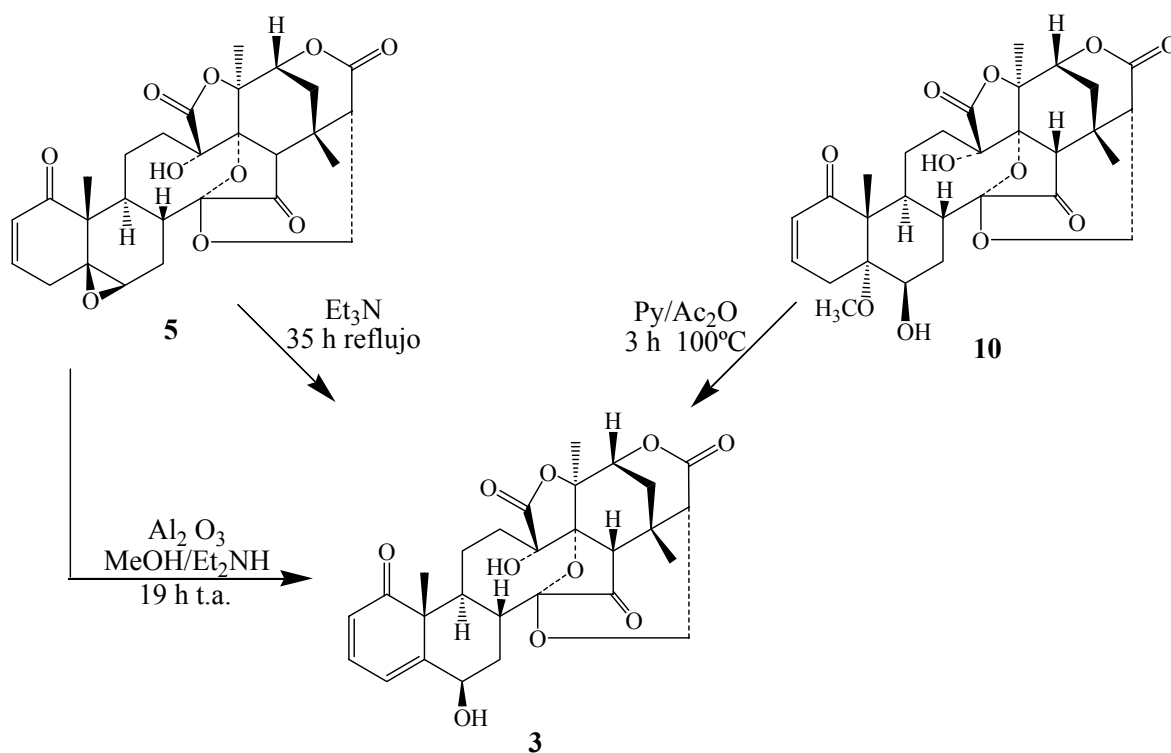
Aunque los datos de RMN  $^1\text{H}$  de epiphysalina G (**3**) y los descritos para physalina G<sup>39</sup> (**9**), compuesto con estereoquímica opuesta en C-6, son muy similares, las rotaciones específicas de ambas sustancias indican claramente que se trata de physalinas diferentes (epiphysalina G:  $[\alpha]_{\text{D}} -38.46^\circ$ ; physalina G:  $[\alpha]_{\text{D}} +17^\circ$ ).



**9**

Por otro lado, en la literatura se encuentran descritas las transformaciones químicas de physalina F<sup>37</sup> (**5**) y physalina I<sup>39</sup> (**10**) en un compuesto también denominado epiphysalina G, con características espectroscópicas muy similares a las de **3**. Con objeto de establecer si el metabolito aislado de *Physalis solanaceus* correspondía a aquel obtenido de manera semisintética, se sometió a physalina F (**5**), también aislada en el presente trabajo, a un tratamiento básico con  $\text{Et}_2\text{NH}$  en alúmina (esquema 1), obteniendo un compuesto idéntico a epiphysalina G.





**Esquema 1.** Obtenciones semisintéticas de epiphyssalina G (3) a partir de physalina F (5) y physalina I (10).

Por lo tanto, con la anterior transformación se corroboró la estructura, incluyendo la estereoquímica, del nuevo producto natural denominado epiphyssalina G (3).

**TABLA 1.** Datos de RMN <sup>1</sup>H de physalinas **3** a **7** en DMSO-d<sub>6</sub> a 300 MHz.

| H                   | <b>3</b> <sup>a</sup>                                    | <b>4</b>   | <b>5</b>   |
|---------------------|--|--|--|
| 2                   | 5.89 <i>dd</i> (9.5, 1)                                  | 5.79 <i>dd</i> (10.2, 2.1)                         | 6.0 <i>dd</i> (9.9, 2.7)                           |
| 3                   | 6.98 <i>dd</i> (9.5, 6)                                  | 6.87 <i>ddd</i> (10.2, 4.8, 2.4)                   | 6.9 <i>ddd</i> (9.9, 6.6, 2.4)                     |
| 4                   | 6.16 <i>d</i> (6)  | 3.3 <i>da</i> (22.1)<br>2.85 <i>dd</i> (21.3, 5.4) | 3.28 <i>d</i> (17.4)<br>2.79 <i>dt</i> (17.4, 2.4) |
| 6                   | 4.57 <i>dt</i> (3, 3)                                    | 5.57 <i>d</i> (5.7)                                | 3.24 <i>sa</i>                                     |
| 7                   | 2.43 <i>dt</i> (14, 3)<br>1.44 <i>ddd</i> (14, 12.5, 3)  | 1.97 <i>m</i><br>2.21 <i>m</i>                     | 2.29 <i>dd</i> (14.7, 2.7)<br>1.76 <i>m</i>        |
| 8                   | 2.70 <i>ddd</i> (12.5, 11, 3)                            | 1.94 <i>m</i>                                      | 1.83 <i>m</i>                                      |
| 9                   | 2.90 <i>dda</i> (11, 8.5)                                | 2.87 <i>m</i>                                      | 2.43 <i>da</i> (9.9)                               |
| 11                  | 2.60 <i>dda</i> (16, 12.5)<br>1.21 <i>m</i>              | 2.18 <i>m</i>                                      |  |
| 12                  | 2.08 <i>m</i><br>1.56 <i>dda</i> (16.5, 6)               | 2.16 <i>m</i><br>1.43 <i>dd</i> (12.6, 11.1)       | 1.9 <i>m</i><br>1.37 <i>dd</i> (16.2, 9.6)         |
| 16                  | 2.73 <i>s</i>  | 2.86 <i>s</i>                                      | 2.85 <i>s</i>                                      |
| 19                  | 1.40 <i>s</i>  | 1.07 <i>s</i>                                      | 0.99 <i>s</i>                                      |
| 21                  | 1.86 <i>s</i>  | 1.76 <i>s</i>                                      | 1.73 <i>s</i>                                      |
| 22                  | 4.53 <i>dd</i> (3.5, 2.5)                                | 4.55 <i>dd</i> (3.3, 2.1)                          | 4.54 <i>dd</i> (3.3, 2.1)                          |
| 23                  | 2.22 <i>dd</i> (14.5, 3.5)<br>2.10 <i>dd</i> (14, 2)     | 2.16 <i>m</i><br>1.97 <i>m</i>                     | 2.08 <i>dd</i> (14.4, 3.6)<br>1.9 <i>m</i>         |
| 25                  | 2.81 <i>da</i> (4.5)                                     |  | 2.86 <i>da</i> (3.6)                               |
| 27                  | 4.44 <i>dd</i> (13.5, 4.5)<br>3.80 <i>dd</i> (13.5, 1.5) | 4.24 <i>dd</i> (13.4, 4.3)<br>3.58 <i>d</i> (12.3) | 4.24 <i>dd</i> (13.3, 4.3)<br>3.55 <i>d</i> (12.6) |
| 28                  | 1.34 <i>s</i>  | 1.14 <i>s</i>                                      | 1.13 <i>s</i>                                      |
| C <sub>5</sub> -OH  |  |  |  |
| C <sub>6</sub> -OH  | 4.25 <i>dd</i> (2.5, 1)                                  |  |  |
| C <sub>13</sub> -OH | 5.20 <i>s</i>  | 6.27 <i>s</i>                                      | 6.40 <i>s</i>                                      |

Multiplicidad: *s* singulete; *d* doblete; *dd* doblete de doblete; *ddd* doblete de doblete de doblete; *dt* doblete de tripletes; *t* triplete; *td* triplete de doblete; *m*: multiplete; *a* señal ancha. Constantes de acoplamiento entre paréntesis en Hz. <sup>a</sup> Me<sub>2</sub>CO-d<sub>6</sub>, 500 MHz. <sup>b</sup> CDCl<sub>3</sub>

Continuación de Tabla 1

| H                   | 6 <sup>b</sup>   | 7  |
|---------------------|--|--|
| 2                   | 3.3 <i>da</i> (19.5)<br>2.80 <i>dd</i> (19.5, 4.5)       | 5.69 <i>dd</i> (10.0, 2.4)                   |
| 3                   | 5.59 <i>ddd</i> (9.3, 4.5, 3.0)                          | 6.62 <i>ddd</i> (10.1, 4.6, 2.0)             |
| 4                   | 6.05 <i>dd</i> (9.6, 2.7)                                | 3.11 <i>dd</i> (10.5, 7.3)<br>1.95 <i>sa</i> |
| 6                   | 5.67 <i>dd</i> (5.7, 2.7)                                | 3.48 <i>d</i> (3.5)                          |
| 7                   | 2.99 <i>td</i> (9.9, 9.3)                                | 1.80 <i>m</i>                                |
| 8                   | 2.27 <i>m</i>  | 2.18 <i>m</i>                                |
| 9                   |  | 3.08 <i>m</i>                                |
| 11                  | 1.59 <i>m</i>  | 1.72 <i>m</i><br>0.95 <i>m</i>               |
| 12                  | 2.27 <i>m</i><br>1.59 <i>m</i>                           | 2.12 <i>m</i><br>1.45 <i>dda</i> (15.8, 9.7) |
| 16                  | 2.20 <i>sa</i>   | 2.78 <i>s</i>                                |
| 19                  | 1.27 <i>s</i>  | 1.10 <i>s</i>                                |
| 21                  | 1.98 <i>s</i>  | 1.80 <i>s</i>                                |
| 22                  | 4.55 <i>t</i> (2.4)                                      | 4.56 <i>dd</i> (2.9, 2)                      |
| 23                  | 2.04 <i>m</i>  | 2.06 <i>m</i><br>1.94 <i>m</i>               |
| 25                  | 2.45 <i>da</i> (3.9)                                     | 2.88 <i>da</i> (3.5)                         |
| 27                  | 4.54 <i>dd</i> (13.5, 4.5)<br>3.78 <i>dd</i> (13.5, 1.5) | 4.25 <i>m</i><br>3.57 <i>da</i> (12.6)       |
| 28                  | 1.33 <i>s</i>  | 1.16 <i>s</i>                                |
| C <sub>5</sub> -OH  |  | 4.23 <i>s</i>                                |
| C <sub>6</sub> -OH  |  | 4.90 <i>s</i>                                |
| C <sub>13</sub> -OH | 4.30 <i>s</i>  | 5.76 <i>s</i>                                |

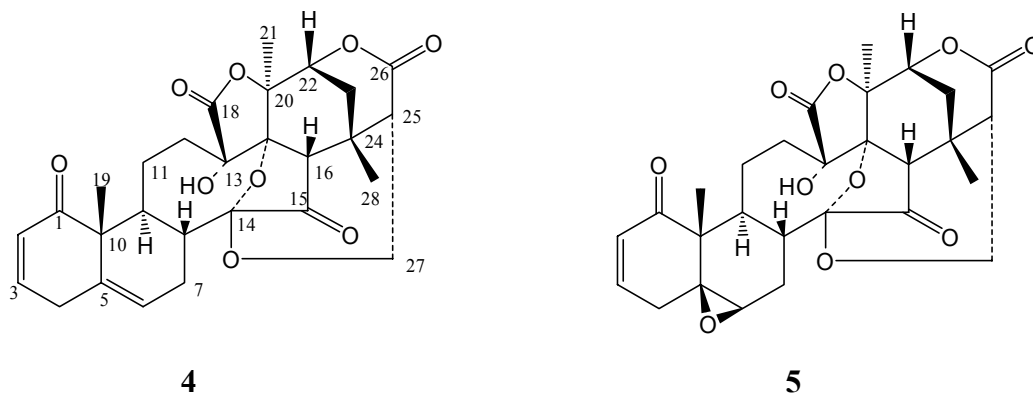
Multiplicidad: *s* singulete; *d* doblete; *dd* doblete de doblete; *ddd* doblete de doblete de doblete; *dt* doblete de tripletes; *t* triplete; *td* triplete de doblete; *m*: multiplete; *a* señal ancha. Constantes de acoplamiento entre paréntesis en Hz. <sup>a</sup> Me<sub>2</sub>CO-d<sub>6</sub>, 500 MHz. <sup>b</sup> CDCl<sub>3</sub>

**TABLA 2.** Datos de RMN  $^{13}\text{C}$  de physalinas **3** a **7** en DMSO- $\text{d}_6$  a 75 MHz.

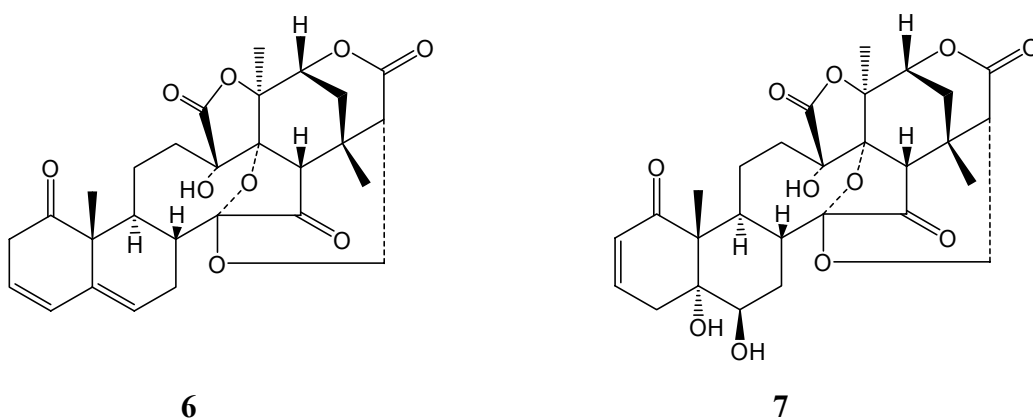
| C  | <b>3</b> <sup>a</sup> | <b>4</b>       | <b>5</b>       | <b>6</b> <sup>b</sup> | <b>7</b>       |
|----|-----------------------|----------------|----------------|-----------------------|----------------|
| 1  | 207.8 <i>s</i>        | 202.4 <i>s</i> | 201.5 <i>s</i> | 208.1 <i>s</i>        | 204.4 <i>s</i> |
| 2  | 126.5 <i>d</i>        | 126.9 <i>d</i> | 129.4 <i>d</i> | 39.5 <i>t</i>         | 127.3 <i>d</i> |
| 3  | 140.5 <i>d</i>        | 146.2 <i>d</i> | 144.1 <i>d</i> | 121.2 <i>d</i>        | 142.9 <i>d</i> |
| 4  | 118.4 <i>d</i>        | 31.4 <i>t</i>  | 31.6 <i>t</i>  | 126.5 <i>d</i>        | 35.2 <i>t</i>  |
| 5  | 158.6 <i>s</i>        | 135.5 <i>s</i> | 61.4 <i>s</i>  | 139.6 <i>s</i>        | 76.4 <i>s</i>  |
| 6  | 72.8 <i>d</i>         | 123.4 <i>d</i> | 61.6 <i>d</i>  | 128.8 <i>d</i>        | 72.6 <i>d</i>  |
| 7  | 34.1 <i>t</i>         | 24.1 <i>t</i>  | 25.2 <i>t</i>  | 24.6 <i>t</i>         | 26.6 <i>t</i>  |
| 8  | 40.1 <i>d</i>         | 40.3 <i>d</i>  | 36.9 <i>d</i>  | 39.2 <i>d</i>         | 38.3 <i>d</i>  |
| 9  | 39.1 <i>d</i>         | 33.1 <i>d</i>  | 34.8 <i>d</i>  | 32.0 <i>d</i>         | 29.92 <i>d</i> |
| 10 | 54.9 <i>s</i>         | 51.9 <i>s</i>  | 49.0 <i>s</i>  | 55.1 <i>s</i>         | 53.5 <i>s</i>  |
| 11 | 21.9 <i>t</i>         | 24.4 <i>t</i>  | 25.2 <i>t</i>  | 25.3 <i>t</i>         | 24.8 <i>t</i>  |
| 12 | 26.7 <i>t</i>         | 25.6 <i>t</i>  | 20.3 <i>t</i>  | 25.9 <i>t</i>         | 25.8 <i>t</i>  |
| 13 | 80.2 <i>s</i>         | 78.2 <i>s</i>  | 77.8 <i>s</i>  | 79.8 <i>s</i>         | 78.7 <i>s</i>  |
| 14 | 107.9 <i>s</i>        | 106.2 <i>s</i> | 105.9 <i>s</i> | 107.6 <i>s</i>        | 106.9 <i>s</i> |
| 15 | 209.9 <i>s</i>        | 209.3 <i>s</i> | 209.0 <i>s</i> | 214.0 <i>s</i>        | 209.9 <i>s</i> |
| 16 | 55.8 <i>d</i>         | 54.1 <i>d</i>  | 53.9 <i>d</i>  | 56.4 <i>d</i>         | 54.0 <i>d</i>  |
| 17 | 81.9 <i>s</i>         | 80.7 <i>s</i>  | 80.3 <i>s</i>  | 80.3 <i>s</i>         | 80.5 <i>s</i>  |
| 18 | 172.4 <i>s</i>        | 171.7 <i>s</i> | 171.8 <i>s</i> | 172.1 <i>s</i>        | 171.8 <i>s</i> |
| 19 | 19.2 <i>c</i>         | 16.7 <i>c</i>  | 11.9 <i>c</i>  | 19.3 <i>c</i>         | 13.3 <i>c</i>  |
| 20 | 81.6 <i>s</i>         | 80.3 <i>s</i>  | 80.4 <i>s</i>  | 81.1 <i>s</i>         | 80.7 <i>s</i>  |
| 21 | 22.1 <i>c</i>         | 21.7 <i>c</i>  | 21.6 <i>c</i>  | 21.4 <i>c</i>         | 21.7 <i>c</i>  |
| 22 | 77.7 <i>d</i>         | 76.3 <i>d</i>  | 76.2 <i>d</i>  | 76.9 <i>d</i>         | 76.4 <i>d</i>  |
| 23 | 32.9 <i>t</i>         | 32.2 <i>t</i>  | 31.3 <i>t</i>  | 33.0 <i>t</i>         | 31.3 <i>t</i>  |
| 24 | 31.9 <i>s</i>         | 30.5 <i>s</i>  | 30.5 <i>s</i>  | 31.2 <i>s</i>         | 30.5 <i>s</i>  |
| 25 | 51.1 <i>d</i>         | 49.4 <i>d</i>  | 49.3 <i>d</i>  | 50.9 <i>d</i>         | 49.4 <i>d</i>  |
| 26 | 167.3 <i>s</i>        | 167.2 <i>s</i> | 167.2 <i>s</i> | 166.6 <i>s</i>        | 167.4 <i>s</i> |
| 27 | 61.9 <i>t</i>         | 60.6 <i>t</i>  | 60.7 <i>t</i>  | 60.7 <i>t</i>         | 60.3 <i>t</i>  |
| 28 | 25.7 <i>c</i>         | 24.4 <i>c</i>  | 24.3 <i>c</i>  | 26.5 <i>c</i>         | 24.5 <i>c</i>  |

Multiplicidad según DEPT: *s* singulete; *d* doblete; *t* triplete; *c* cuarteto. <sup>a</sup> Me<sub>2</sub>CO- $\text{d}_6$ , 125 MHz. <sup>b</sup> CDCl<sub>3</sub>.

Con respecto a los otros withaesteroides aislados, physalina B (**4**)<sup>37</sup>, physalina F (**5**)<sup>32</sup>, isophysalina B (**6**)<sup>38</sup> y physalina D (**7**)<sup>39</sup>, éstos se identificaron mediante la comparación de sus datos espectroscópicos y físicos con los reportados en la literatura. Adicionalmente, los  $R_f$ 's de **4**, **5** y **7** se compararon con los de muestras auténticas a través de cocromatografías en capa delgada.



Para la identificación de isophysalina B (**6**), que es un isómero de **4**, los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  fueron muy importantes, ya que el doble enlace del anillo A no está conjugado a la cetona y por lo tanto, las señales de los hidrógenos y carbonos de la insaturación (H-3,  $\delta$  5.59; H-4,  $\delta$  6.05; C-3,  $\delta$  121.23; C-4,  $\delta$  126.52) se localizaron a campo alto con respecto a la señales de H-2 ( $\delta$  5.79), H-3 ( $\delta$  6.87), C-2 ( $\delta$  126.89) y C-3 ( $\delta$  146.15) de physalina B (**4**).



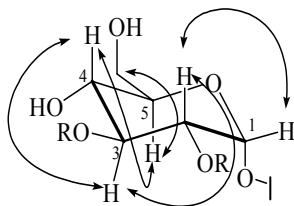
Todos los withaesteroides aislados de *P. solanaceus*, pertenecen al subgrupo de las physalinas octacíclicas y por lo tanto tienen en común:

- Dos cetonas, una en C-1 y la otra en C-15.
- Una  $\gamma$ -lactona fusionada al anillo D, en la que participan C-13, C-17, C-18 y C-20.
- Una  $\delta$ -lactona conformada por C-22, C-23, C-24, C-25 y C-26.
- Dos puentes etéreos, uno entre C-14 y C-17 y otro entre C-14 y C-27, por lo que el carbono C-14 es cetálico.
- Un alcohol terciario en C-13.

## 7.2. TRIACILSACAROSA (8)

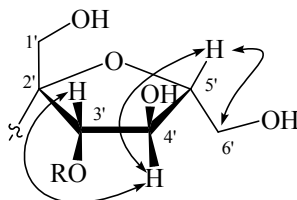
El compuesto mostró en el espectro de IR (espectro 7) bandas en 3417 y 1743  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes a la función alcohol y a los carbonilos de los ésteres, respectivamente. En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 8, tabla 3) se observó un doblete en  $\delta$  5.56 que se asignó al hidrógeno anomérico (H-1) de la unidad  $\alpha$ -D-glucopiranososa, ya que la constante de acoplamiento ( $J = 3.5$  Hz) correspondió a la interacción ecuatorial-axial de H-1 con H-2. El espectro bidimensional COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (espectro 9, Fig. 12), mostró la correlación de la señal de H-1 con aquella de H-2 ( $\delta$  4.85, *dd*,  $J = 10.5, 4$  Hz) que a su vez presentó un acoplamiento con la señal de H-3 ( $\delta$  5.25, *dd*,  $J = 10.5, 9.5$  Hz). La señal de este último hidrógeno mostró un acoplamiento adicional con la señal de H-4 ( $\delta$  3.52, *t*,  $J = 10$  Hz). Por su parte, el hidrógeno 4 correlacionó con H-5 ( $\delta$  4.05, *dda*,  $J = 9.5, 8$  Hz), la cual mostró acoplamientos con H-6a y H-6b ( $\delta$  3.96 y 3.75, respectivamente). El desplazamiento a campo bajo de los protones 2 y 3 indicó que sus alcoholes geminales se encontraban

esterificados. El espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (espectro 10, tabla 4) mostró las seis señales que confirmaron la presencia de una unidad de  $\alpha$ -D-glucopiranos, localizándose en  $\delta$  89.7 la correspondiente al carbono anomérico (C-1).



**Fig. 12.** Algunos acoplamientos observados en el espectro homonuclear COSY de **8**.

La unidad de  $\beta$ -D-fructofuranosa dio lugar en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 8, tabla 3), a un sistema AB ( $\delta$  3.58 y 3.49) que se asignó a los hidrógenos 1'a y 1'b. El hidrógeno 3' se observó como un doblete en  $\delta$  5.18 ( $J = 8.5$  Hz) que mostró en el espectro bidimensional COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (espectro 9, Fig. 13) un acoplamiento con el triplete centrado en  $\delta$  4.5 ( $J = 8.5$  Hz) asignado a H-4'. Esta señal presentó una correlación adicional con el multiplete en  $\delta$  3.93 de H-5', que también se acopló con las señales de H-6'a ( $\delta$  3.90) y H-6'b ( $\delta$  3.75). Con respecto a H-3, su desplazamiento químico a campo bajo se puede explicar si se considera que en posición geminal a dicho hidrógeno se encuentra una función éster.



**Fig. 13.** Algunos acoplamientos observados en el espectro bidimensional COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  de **8**.

En el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (espectro 10, tabla 4) se observaron las seis señales atribuibles al anillo de  $\beta$ -D-fructofuranosa, mostrando en  $\delta$  103.8 aquella del carbono anomérico (C-2').

El ácido que esterifica el alcohol de C-3 de la unidad de  $\alpha$ -D-glucopiranososa, se identificó como isovalérico. Éste mostró en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 8, tabla 3) las señales de los metilos geminales en  $\delta$  0.94 como dobletes, la del hidrógeno de la posición 3 en  $\delta$  2.06 como nonatuplete y los hidrógenos de la posición 2 en  $\delta$  2.22 y 2.18, cada una como una señal doble de doble. El espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (espectro 10, tabla 4) mostró las cinco señales del isovalerilo<sup>40</sup> y en el espectro de masas se observaron los fragmentos de  $m/z$  85 y 57, correspondientes al acilo y al grupo isobutilo, respectivamente. Con respecto a la posición del acilo, ésta se dedujo al observar en el espectro heteronuclear HMBC (espectro 11) la correlación de la señal de su carbonilo ( $\delta$  173.9) con aquella del hidrógeno 3 ( $\delta$  5.25) de la  $\alpha$ -D-glucopiranososa.

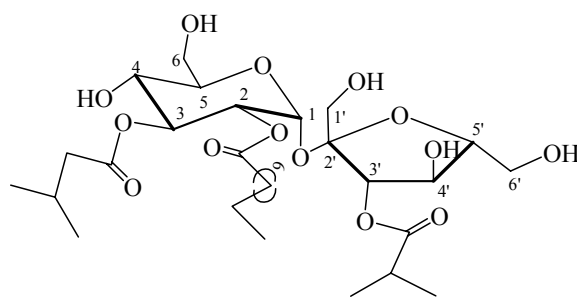
El otro grupo unido a la  $\alpha$ -D-glucopiranososa fue identificado como laurilo. Las señales de sus hidrógenos de la posición 2 se observaron como cuartetos en  $\delta$  2.26 y 2.27 ( $J = 7.5$  Hz) en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 8, tabla 3). Estas señales presentaron en el espectro bidimensional COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (espectro 9) un acoplamiento con el quintuplete centrado en  $\delta$  1.55 ( $J = 7$  Hz) que se asignó a los hidrógenos de la posición 3. Los hidrógenos de los carbonos 4 a 11 dieron lugar a un singulete ancho en  $\delta$  1.25 y el metilo terminal a un triplete en  $\delta$  0.88. En el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (espectro 10, tabla 4) se observaron las doce señales correspondientes al laurilo<sup>41</sup> y en el espectro de masas se



observaron los fragmentos de  $m/z$  183, 127 que corroboraron la presencia del grupo acilo. El espectro HMBC (espectro 11) mostró el acoplamiento del carbonilo del acilo ( $\delta$  173.1) con el hidrógeno 2 ( $\delta$  4.85) de la  $\alpha$ -D-glucopiranososa, estableciéndose así la posición del grupo laurilo.

La presencia del grupo isobutirilo y su unión a la  $\beta$ -D-fructofuranosa del glicolípido **8**, se dedujo de las características espectroscópicas de este compuesto. Así, el espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **8** (espectro 8, tabla 3), mostró dos señales dobles en  $\delta$  1.28 y  $\delta$  1.25, y un heptuplete en  $\delta$  2.74 que se asignaron a los metilos y al hidrógeno de la posición 2 del grupo acilo. Lo anterior se corroboró en el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (espectro 10, tabla 4) que presentó las cuatro señales del grupo isobutirilo<sup>42</sup>; además, el espectro heteronuclear HMBC (espectro 11) mostró un acoplamiento a tres enlaces entre la señal del carbonilo ( $\delta$  178.1) y con la señal del hidrógeno 3' ( $\delta$  5.18) de la  $\beta$ -D-fructofuranosa.

Considerando lo antes expuesto, se propuso para el nuevo glicolípido la estructura **8** que corresponde a 3-O-isovaleril-2-O-lauril- $\alpha$ -D-glucopiranosido de 3'-O-isobutiril- $\beta$ -D-fructofuranosilo.

**8**

**TABLA 3.** Datos de RMN <sup>1</sup>H de **8** en CDCl<sub>3</sub> a 500 MHz.

| H | Glucopiranososa            | Fructofuranosa                           | H    | Laurilo                                    | Isovalerilo  | Isobutirilo       |
|---|----------------------------|--|------|--|--|-------------------|
| 1 | 5.56 <i>d</i> (3.5)        | 3.58 <i>d</i> (12)<br>3.49 <i>d</i> (12) | 2    | 2.27 <i>c</i> (7.5)<br>2.26 <i>c</i> (7.5) | 2.22 <i>dd</i> (14.5, 7.5)<br>2.18 <i>dd</i> (14.5, 7) | 2.74 <i>h</i> (7) |
| 2 | 4.85 <i>dd</i> (10.5, 4)   |  | 3    | 1.55 <i>qa</i> (7)                         | 2.06 <i>n</i> (6.5)                                    | 1.28 <i>d</i> (7) |
| 3 | 5.25 <i>dd</i> (10.5, 9.5) | 5.18 <i>d</i> (8.5)                      | 4    | 1.25 <i>sa</i>                             | 0.94 <i>d</i> (6.5)                                    | 1.25 <i>d</i> (7) |
| 4 | 3.52 <i>t</i> (10)         | 4.54 <i>t</i> (8.5)                      | 5    | 1.25 <i>sa</i>                             | 0.94 <i>d</i> (7)                                      |                   |
| 5 | 4.05 <i>dda</i> (9.5, 8)   | 3.93 <i>m</i>                            | 6-11 | 1.25 <i>sa</i>                             |  |                   |
| 6 | 3.96 <i>m</i>              | 3.90 <i>m</i>                            | 12   | 0.88 <i>t</i> (7)                          |  |                   |
|   | 3.75 <i>m</i>              | 3.75 <i>m</i>                            |      |  |  |                   |

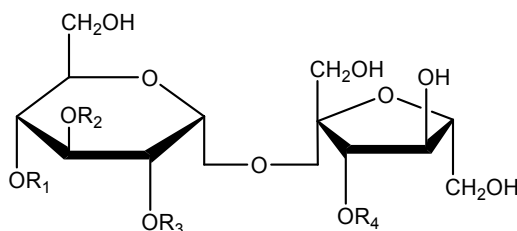
Multiplicidad: *s* singulete; *d* doblete; *dd* doble de doble; *dt* doblete de triplete; *t* triplete; *q* quintuplete; *h* heptuplete; *n* nonatuplete; *m* multiplete; *a* señal ancha. Constantes de acoplamiento entre paréntesis en Hz.

**TABLA 4.** Desplazamientos químicos de RMN <sup>13</sup>C de **8** en CDCl<sub>3</sub> a 125 MHz.

| C | Glucopiranososa | Fructofuranosa | C  | Laurilo                    | Isovalerilo    | Isobutirilo    |
|---|-----------------|----------------|----|----------------------------|----------------|----------------|
| 1 | 89.7 <i>d</i>   | 64.2 <i>t</i>  | 1  | 173.1 <i>s</i>             | 173.9 <i>s</i> | 178.1 <i>s</i> |
| 2 | 69.8 <i>d</i>   | 103.8 <i>s</i> | 2  | 33.9 <i>t</i>              | 43.3 <i>t</i>  | 33.9 <i>d</i>  |
| 3 | 72.5 <i>d</i>   | 78.9 <i>d</i>  | 3  | 24.6 <i>t</i>              | 25.7 <i>d</i>  | 19.2 <i>c</i>  |
| 4 | 70.0 <i>d</i>   | 71.0 <i>d</i>  | 4  | 29.1 <i>t</i>              | 22.3 <i>c</i>  | 18.7 <i>c</i>  |
| 5 | 73.9 <i>d</i>   | 82.1 <i>d</i>  | 5  | 29.3 <i>t</i> <sup>a</sup> | 22.3 <i>c</i>  |                |
| 6 | 62.3 <i>t</i>   | 60.0 <i>t</i>  | 6  | 29.3 <i>t</i> <sup>a</sup> |                |                |
|   |                 |                | 7  | 29.4 <i>t</i> <sup>a</sup> |                |                |
|   |                 |                | 8  | 29.7 <i>t</i> <sup>a</sup> |                |                |
|   |                 |                | 9  | 29.7 <i>t</i> <sup>a</sup> |                |                |
|   |                 |                | 10 | 31.9 <i>t</i>              |                |                |
|   |                 |                | 11 | 22.7 <i>t</i>              |                |                |
|   |                 |                | 12 | 14.1 <i>c</i>              |                |                |

Multiplicidad según DEPT: *s* singulete; *d* doblete; *t* triplete; *c* cuarteto. <sup>a</sup> Señales intercambiables.

Cabe mencionar que se han aislado glicolípidos de exudados de las hojas de especies de *Datura*<sup>43</sup>, *Nicotiana*<sup>44</sup>, *Solanum*<sup>45</sup> y *Petunia*<sup>46</sup>, géneros incluidos en la familia Solanaceae. Ejemplo de ello son los compuestos 3-O-acetil- $\beta$ -D-fructofuranósido de 2,3,4-tri-O-acil- $\alpha$ -D-glucopiranosilo (**11**) y  $\beta$ -D-fructofuranósido de 2,3,4-tri-O-acil- $\alpha$ -D-glucopiranosilo (**12**), aislados de *Nicotiana glutinosa*, para los que se describe su capacidad de inhibir la germinación y crecimiento de semillas del tabaco<sup>47</sup>.



**11:** R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> = residuos de ácidos de 3 a 8 carbonos; R<sub>4</sub> = acetilo.

**12:** R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> = residuos de ácidos de 3 a 8 carbonos; R<sub>4</sub> = H.

Otro ejemplo lo representa la mezcla de glicolípidos constituida por unidades de sacarosa esterificadas en las posiciones 3', 3, 4, y 6 con derivados de los ácidos 2-metilpropanóico, 2-metilbutírico y 8-metilnonanóico y con los ácidos n-decanoico y n-dodecanoico, aislada de *Solanum berthaultii* Hawkes, especie silvestre de papa. La mezcla mostró que inhibía la alimentación de los áfidos *Myzus persical* Sulzer<sup>48</sup>.

Una comparación de los resultados obtenidos en la presente tesis sobre *P. solanaceus* recolectada en plena fructificación, con los resultados publicados del estudio químico de la planta recolectada después de su fructificación,<sup>8</sup> se encuentra en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Algunos resultados de los estudios químicos de *Physalis solanaceus*<sup>a</sup>

| MATERIAL VEGETAL RECOLECTADO              | PESO DEL MATERIAL SECO Y MOLIDO | EXTRACTO HEXÁNICO | EXTRACTO DE AcOEt | β-SITOSTEROL Y ESTIGMASTEROL (EXTRACTO HEXÁNICO) |
|---|---------------------------------|-------------------|-------------------|--|
| Después de su fructificación <sup>b</sup> | 484.2 g                         | 0.78 %            | 2.45 %            | $1.25 \times 10^{-2}$ %                          |
| En plena fructificación                   | 1804.2 g                        | 2.92 %            | 2.13 %            | $3.18 \times 10^{-2}$ %                          |

<sup>a</sup> Porcentajes relacionados con la cantidad de planta (seca y molida) utilizada en cada estudio. <sup>b</sup> Datos obtenidos de la referencia 8.

Como se puede apreciar en la tabla 5, los rendimientos del extracto hexánico y de la mezcla de β-sitosterol y estigmasterol fueron mayores en el estudio químico del material vegetal recolectado en plena fructificación. Además, del extracto hexánico de este mismo material, se obtuvieron cinco physalinas y un glicolípido, compuestos no descritos entre los metabolitos aislados de la planta recolectada después de su fructificación<sup>8</sup>, aunque cabe mencionar que del extracto de acetato de etilo se obtuvieron cuatro physalinas.

## 8. CONCLUSIONES

Considerando lo siguiente, los primeros dos objetivos planteados en la presente tesis se cumplieron satisfactoriamente:

- a) Se aislaron los compuestos mayoritarios del extracto hexánico de tallos y hojas de *Physalis solanaceus* recolectada en plena fructificación. Estos correspondieron a dos esteroides (mezcla de **1** y **2**), cinco physalinas (**3 a 7**) y a un glicolípido (**8**).
- b) Los esteroides y cuatro physalinas se identificaron como  $\beta$ -sitosterol (**1**), estigmasterol (**2**), physalina B (**4**), physalina D (**7**), physalina F (**5**) e isophysalina B (**6**).
- c) La quinta physalina, epiphysalina G (**3**), y el glicolípido 3-O-isovaleril-2-O-lauril- $\alpha$ -D-glucopiranosido de 3'-O-isobutiril- $\beta$ -D-fructofuranosilo (**8**), correspondieron a nuevos metabolitos. Sus estructuras fueron propuestas después de analizar sus características espectroscópicas, además, la estructura de la physalina se corroboró al transformar physalina F (**5**) en epiphysalina G (**3**).

Cabe señalar que en los estudios químicos descritos en la literatura de especies de *Physalis*, no se menciona la presencia de glicolípidos en los vegetales, por lo que el

compuesto **8** obtenido de *P. solanaceus*, además de corresponder a una nueva sustancia, amplía el conocimiento sobre los diferentes metabolitos que sintetiza el género.

Tomando en cuenta que las withanólidas y las physalinas son consideradas como los metabolitos característicos de *Physalis*, los compuestos **3** a **7** obtenidos en el presente estudio de *Physalis solanaceus*, concuerdan con lo establecido anteriormente.

Con respecto al tercer objetivo, la comparación de los resultados obtenidos en la presente tesis con aquellos descritos en la literatura para la misma especie, indica que de ambos extractos hexánicos se obtuvo una mezcla de  $\beta$ -sitosterol y estigmasterol. El rendimiento de estos esteroides fue mayor en el material vegetal recolectado en plena fructificación.

Del extracto hexánico del material vegetal recolectado en plena fructificación, se aislaron cinco physalinas y un glicolípido. Estos compuestos no se encuentran descritos entre aquellos obtenidos del extracto hexánico de *P. solanaceus* recolectada después de su fructificación, por lo que se puede considerar que la diversidad de metabolitos que sintetiza *P. solanaceus*, así como su cantidad, dependen del grado de madurez del vegetal.

## 9. PROPUESTAS

Uno de los objetivos de los estudios químicos de plantas a las que se les atribuyen actividades terapéuticas es obtener los compuestos responsables de dichas actividades. Una vez aislados, el siguiente paso consiste en establecer si dichos compuestos presentan las actividades biológicas referidas. Estas investigaciones pueden incluir plantas relacionadas filogenéticamente con aquellas a las que se les atribuyen actividades terapéuticas. Un ejemplo de lo anterior puede ser *P. solanaceus*, que al igual que *P. philadelphica* pertenece a la sección Angulatae. Esta última especie se utiliza en la medicina herbolaria para tratar diversos padecimientos, entre ellos, problemas respiratorios y diabetes.

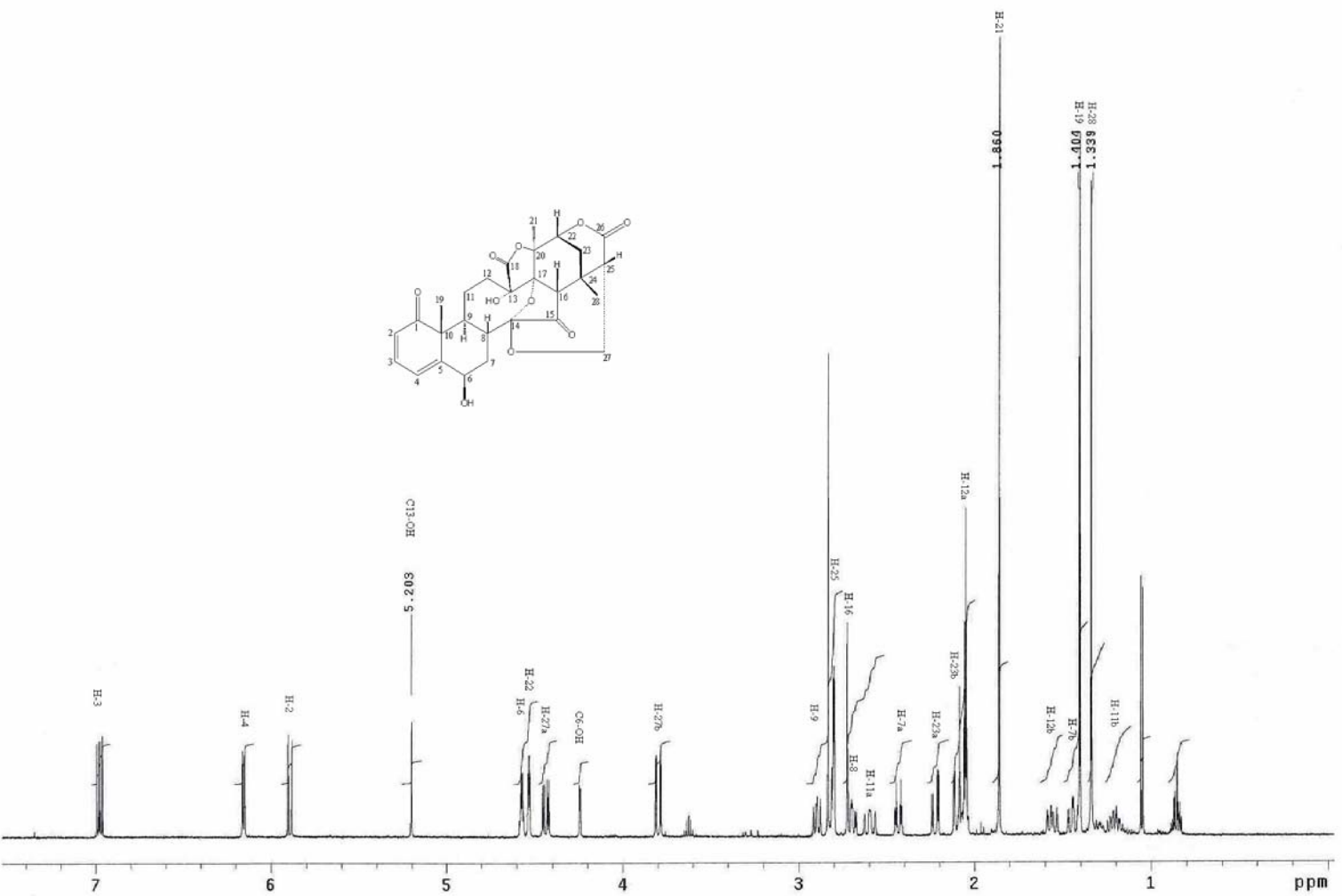
Por otro lado, estudios de actividad biológica muestran que algunas physalinas poseen actividad antitumoral y anti-inflamatoria. Así, está descrita la actividad citotóxica *in vitro* contra células tumorales 9KB (carcinoma nasofaríngeo) y 9PS (leucemia linfocítica de ratón) de physalina B<sup>31</sup> y la actividad moderada *in vitro* contra células HeLa (cáncer cervicouterino) de physalina A<sup>33</sup>. También está reportada la actividad antineoplásica contra la línea celular humana HA 22T (hematoma) de physalina F<sup>4</sup>. Además, las physalinas B, F y G han mostrado ser potentes inmunomoduladores que actúan a través de un mecanismo distinto al de la dexametasona, glucocorticoide usado para tratar enfermedades auto-inmunes e inflamatorias<sup>14</sup>. Las evidencias descritas muestran a las physalinas como potenciales y eficaces fármacos.

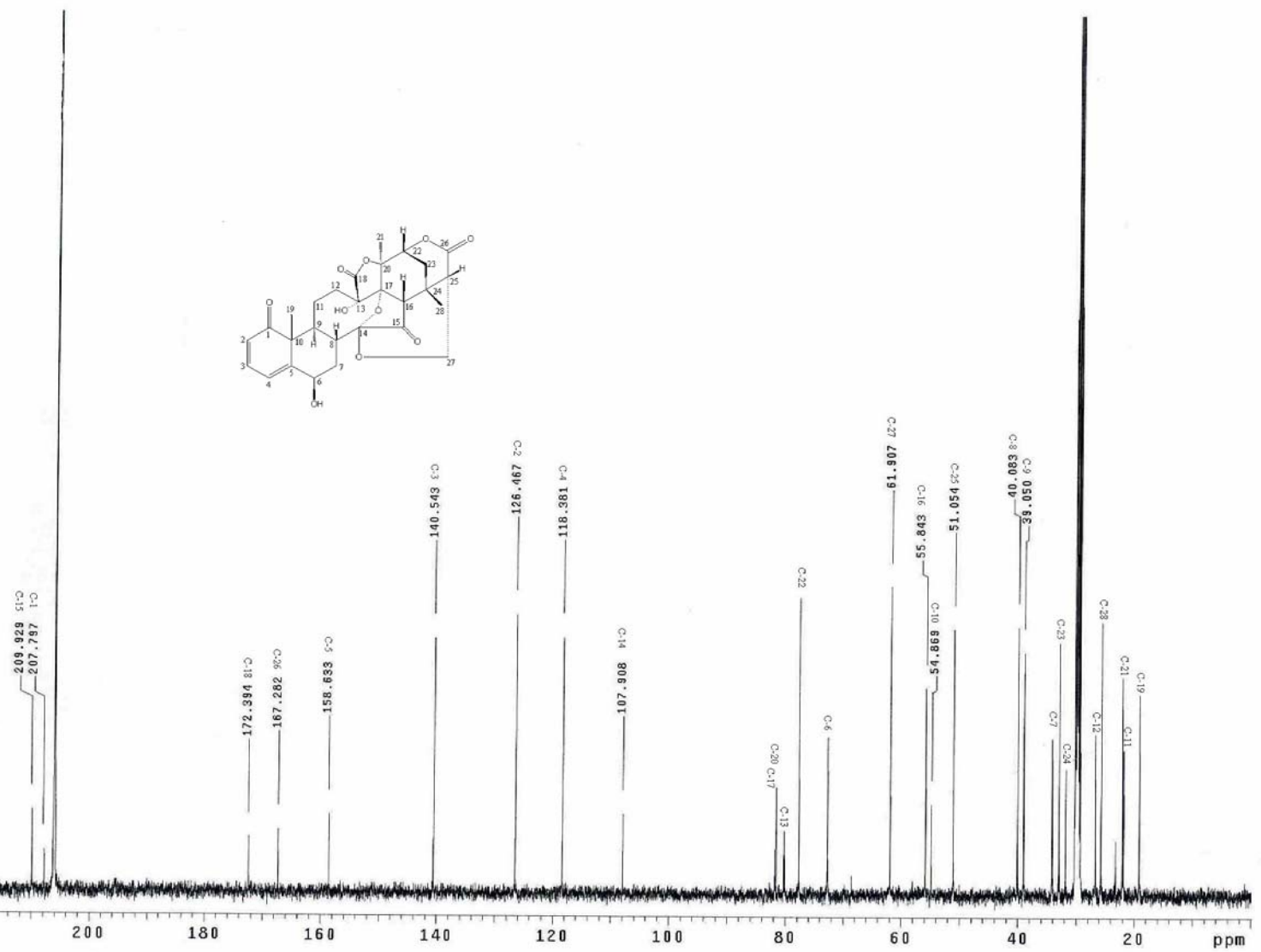
Considerando lo anterior, es recomendable que se evalúen las actividades antimicrobiana e hipoglucemiante de las physalinas aisladas en la presente investigación.

Por otro lado, considerando que algunos glicolípidos inhiben la alimentación de los áfidos *Myzus persical* Sulzer<sup>48</sup>, el compuesto **8** podría presentar el mismo efecto, por lo que se propone su evaluación.

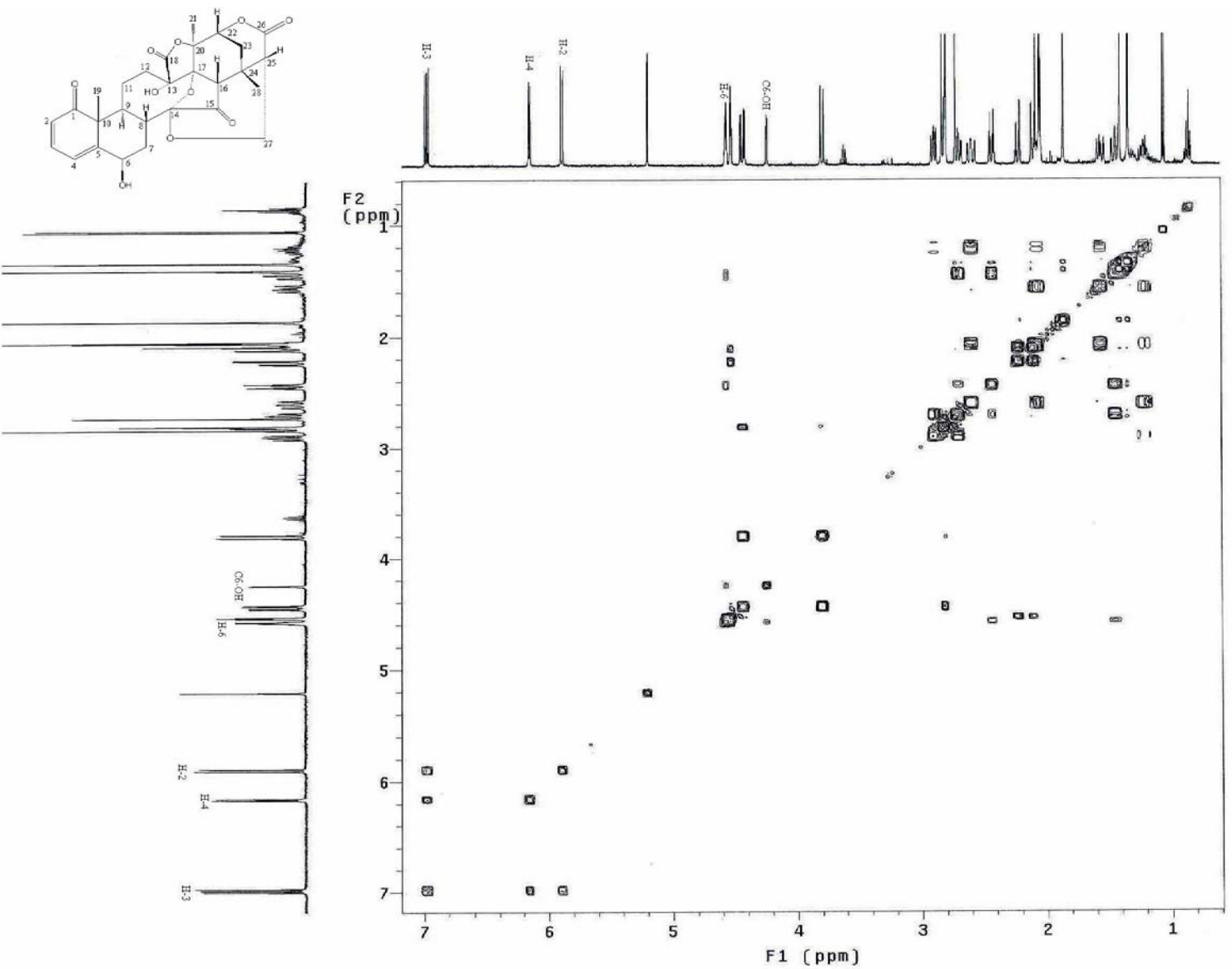


## **10. ANEXO**

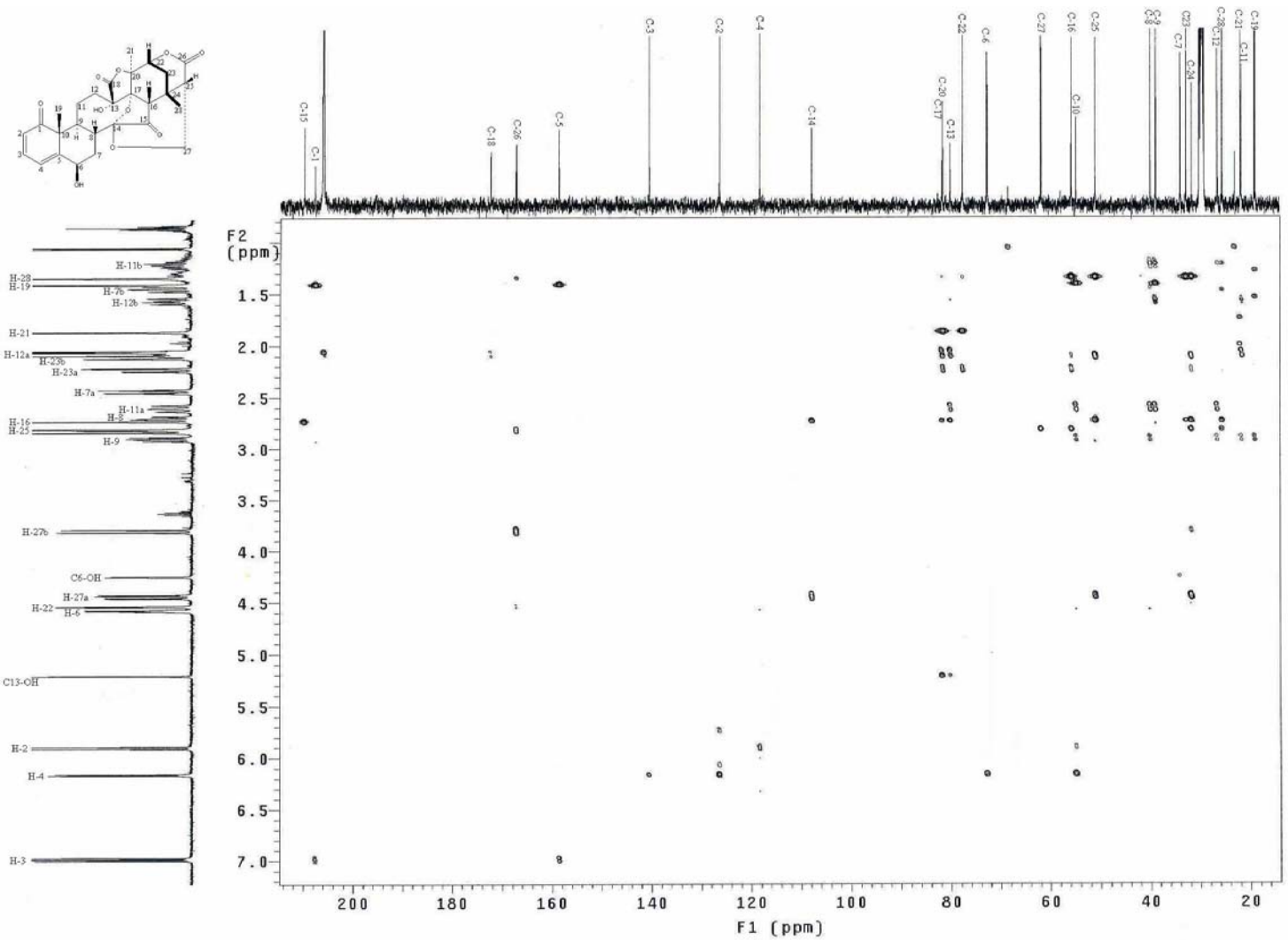




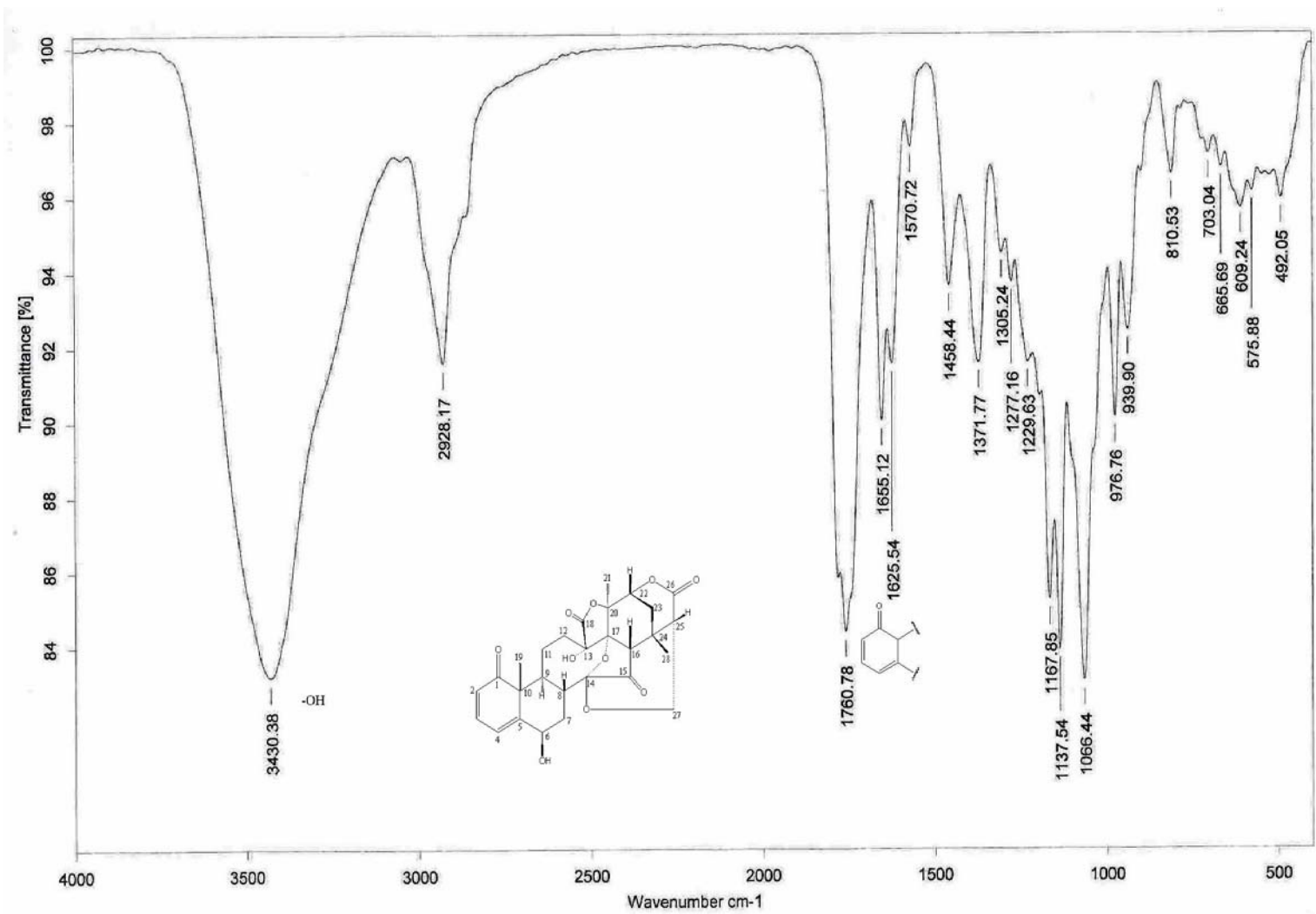
Espectro 2. RMN<sup>13</sup>C de epiphysalina G (**3**) a 125 MHz en Me<sub>2</sub>CO-d<sub>6</sub>.



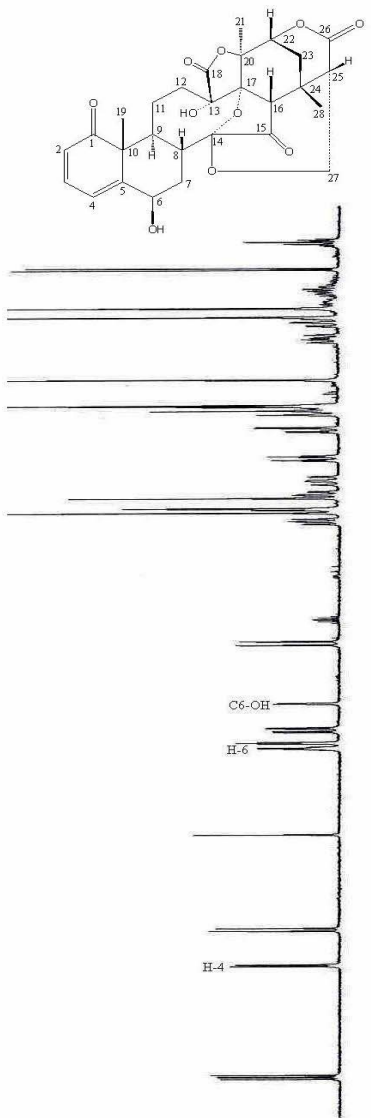
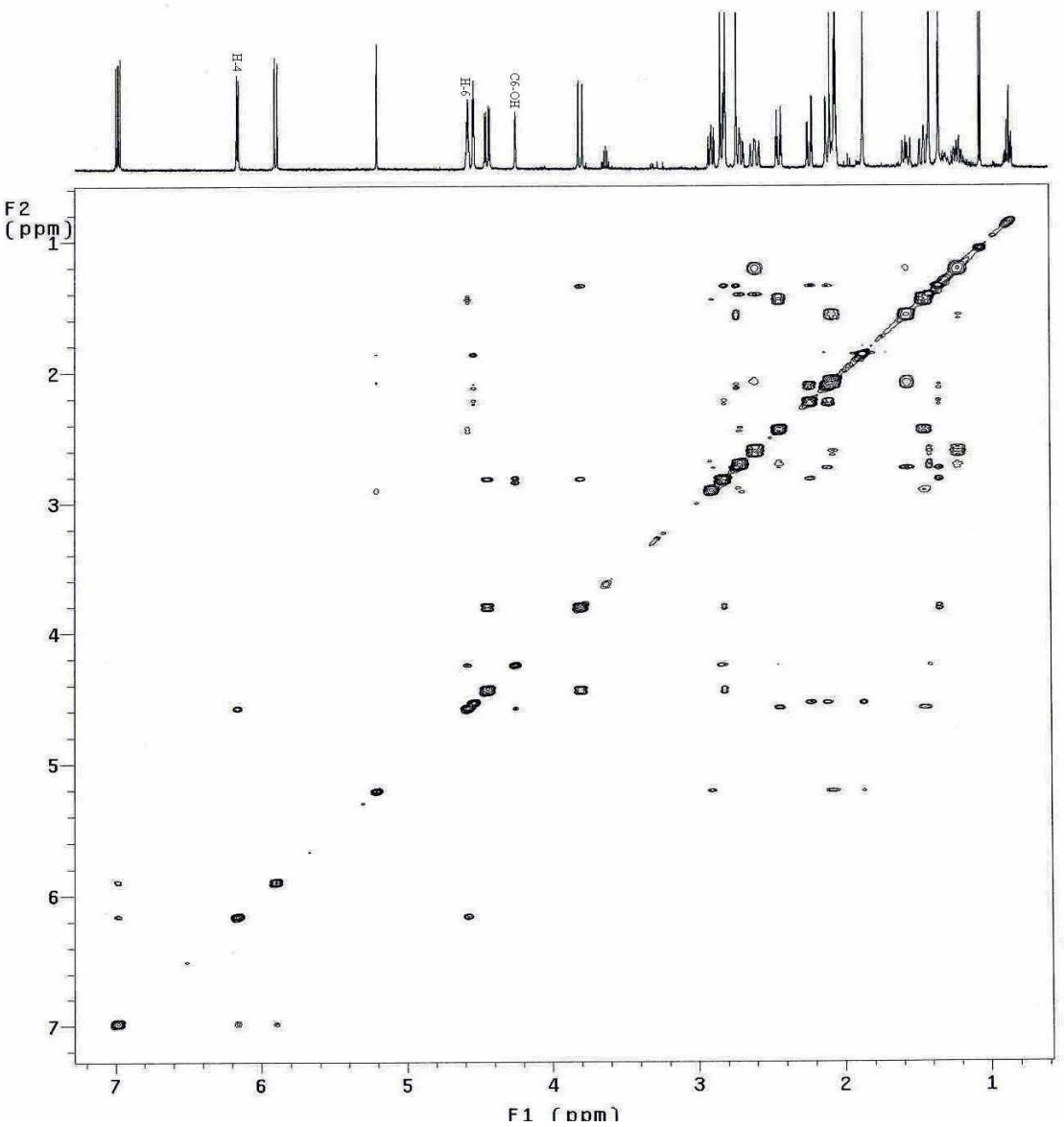
Espectro 3. COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H de epiphysalina G (3) a 500 MHz en Me<sub>2</sub>CO-d<sub>6</sub>.



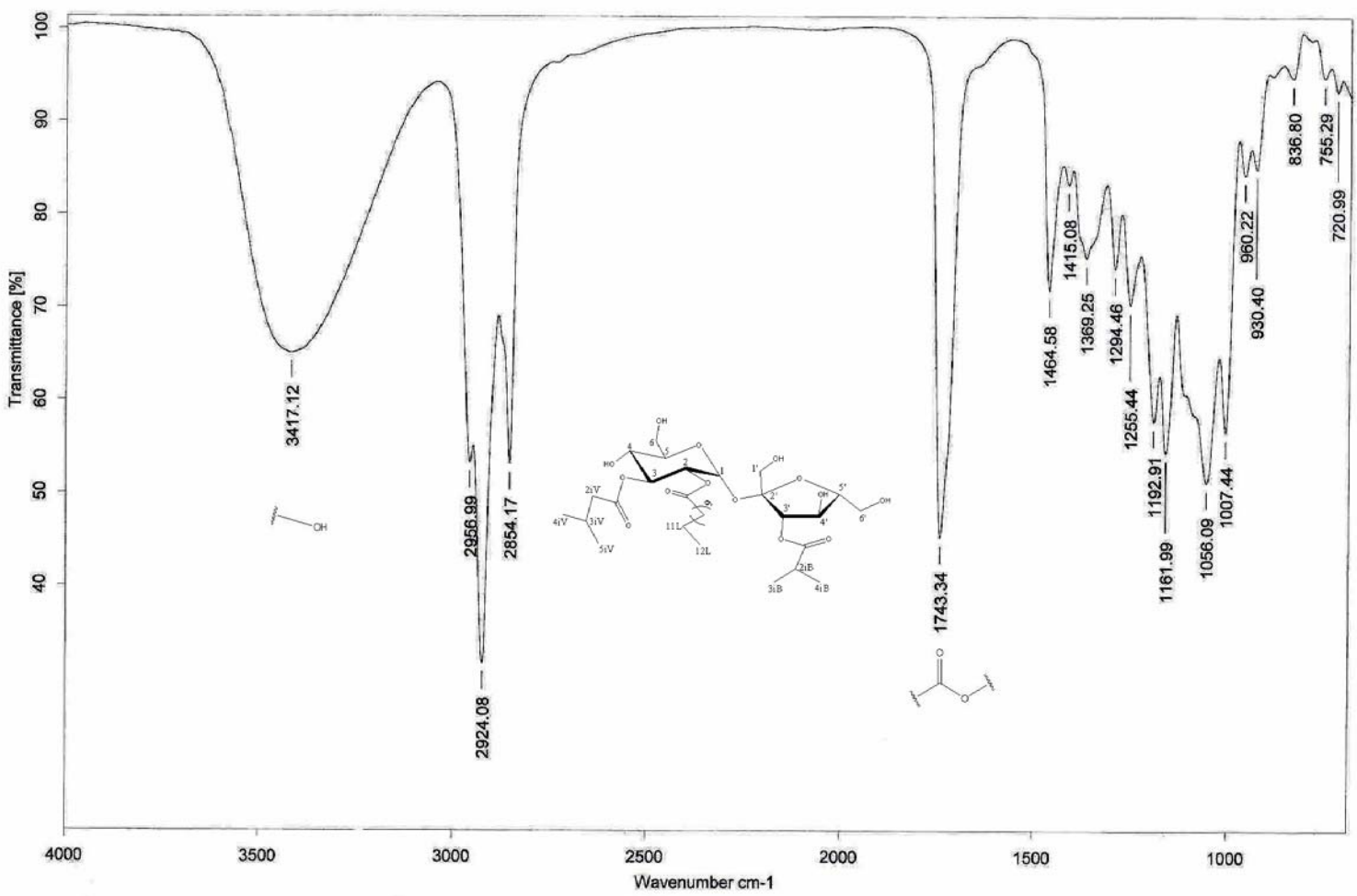
Espectro 4. HMBC de epiphyosalina G (3) a 500 MHz en  $\text{Me}_2\text{CO}-d_6$ .



Espectro 5. IR de epiphyssalina G (3) en KBr.

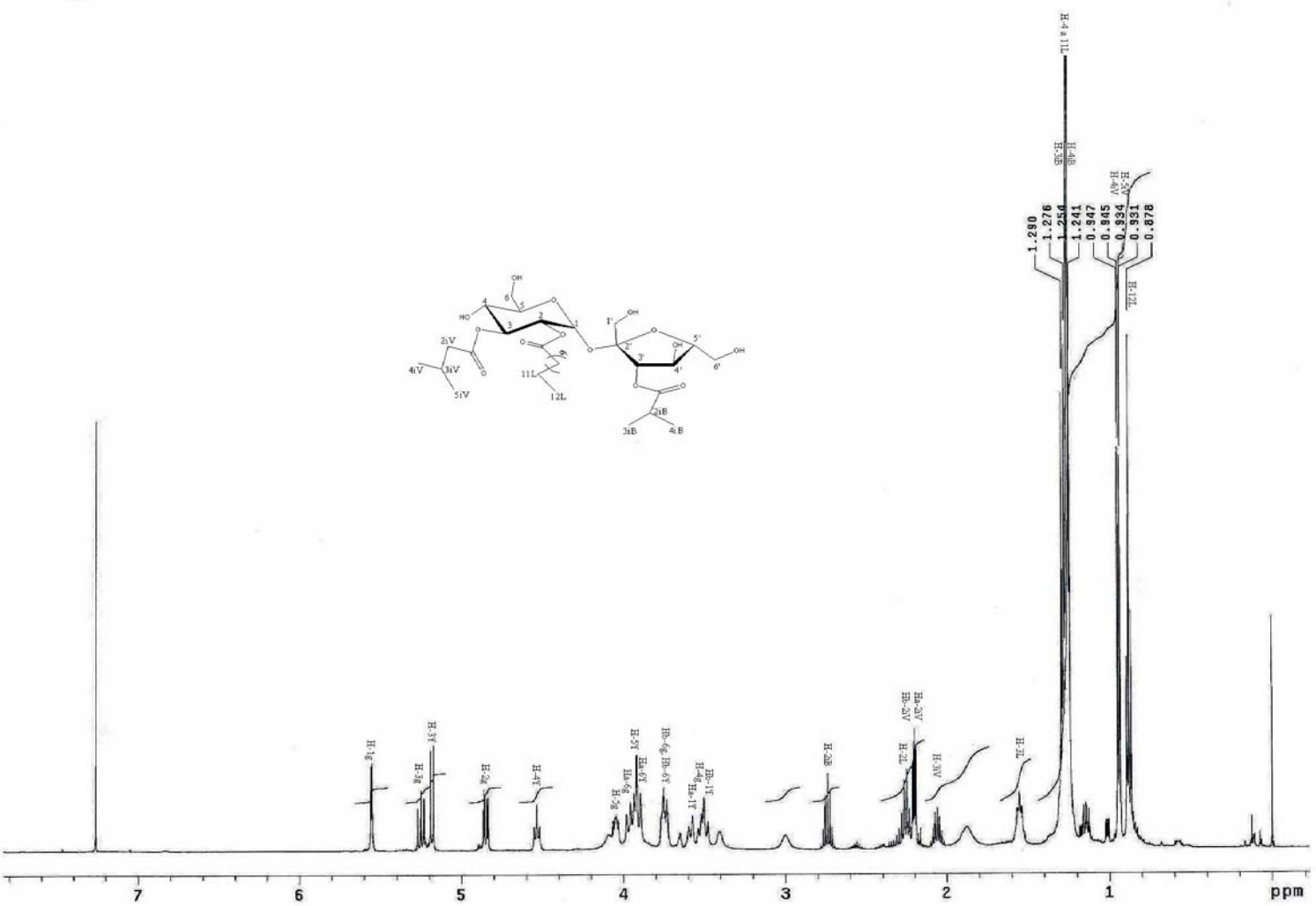


Espectro 6. NOESY de epiphysalina G (**3**) a 500 MHz en Me<sub>2</sub>CO-d<sub>6</sub>.

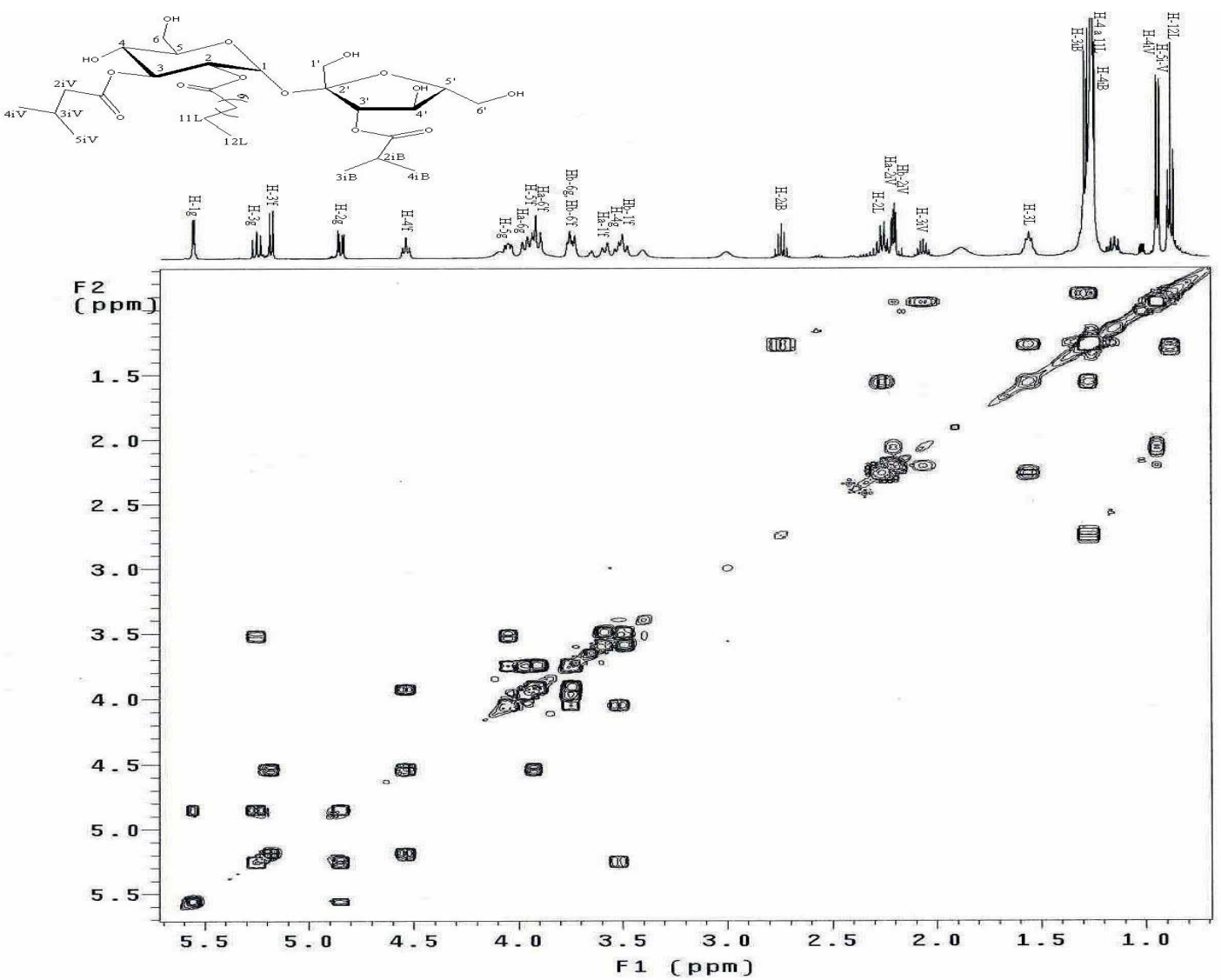


Espectro 7. IR de glicolipido (8) en CDCl<sub>3</sub>.

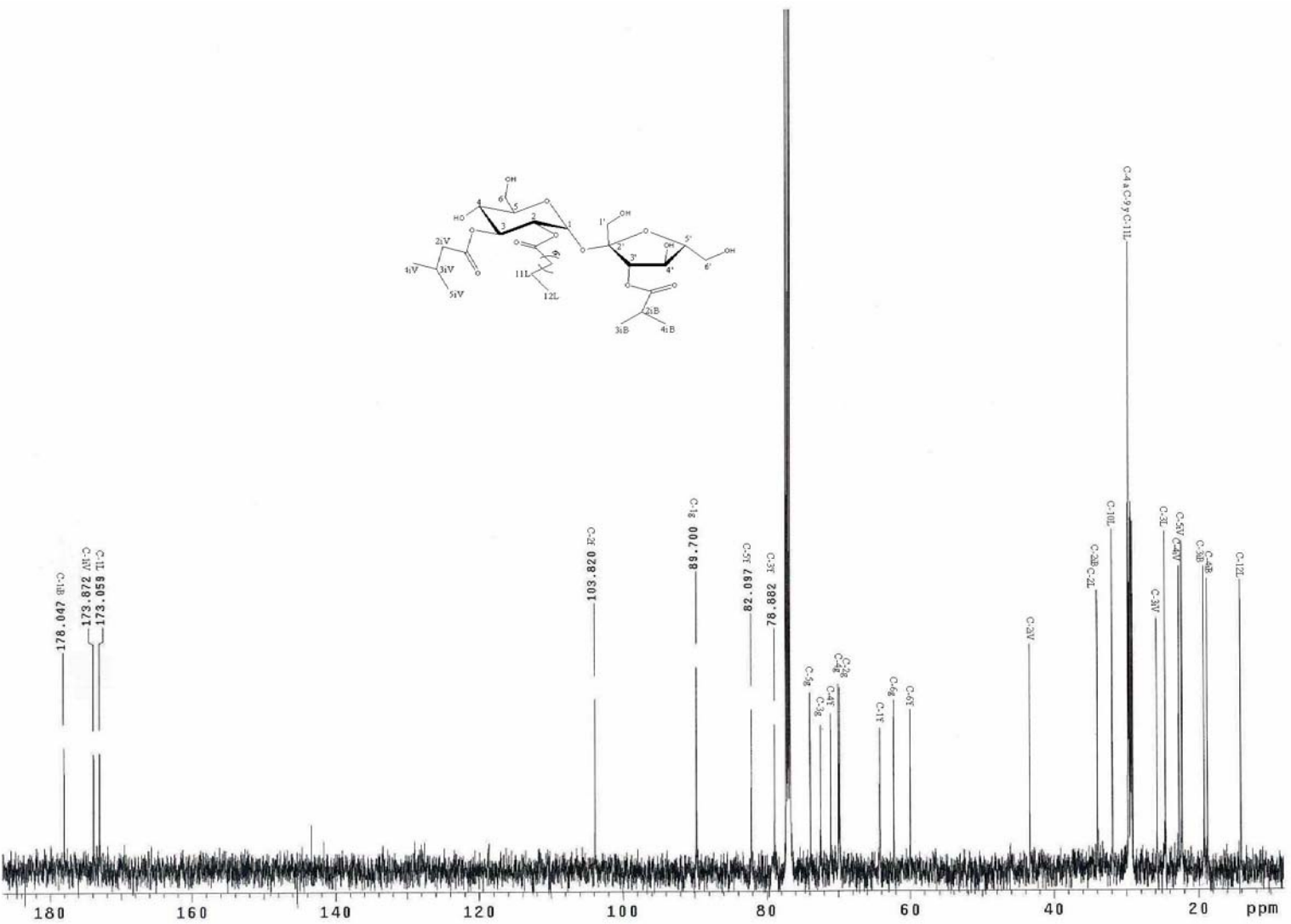




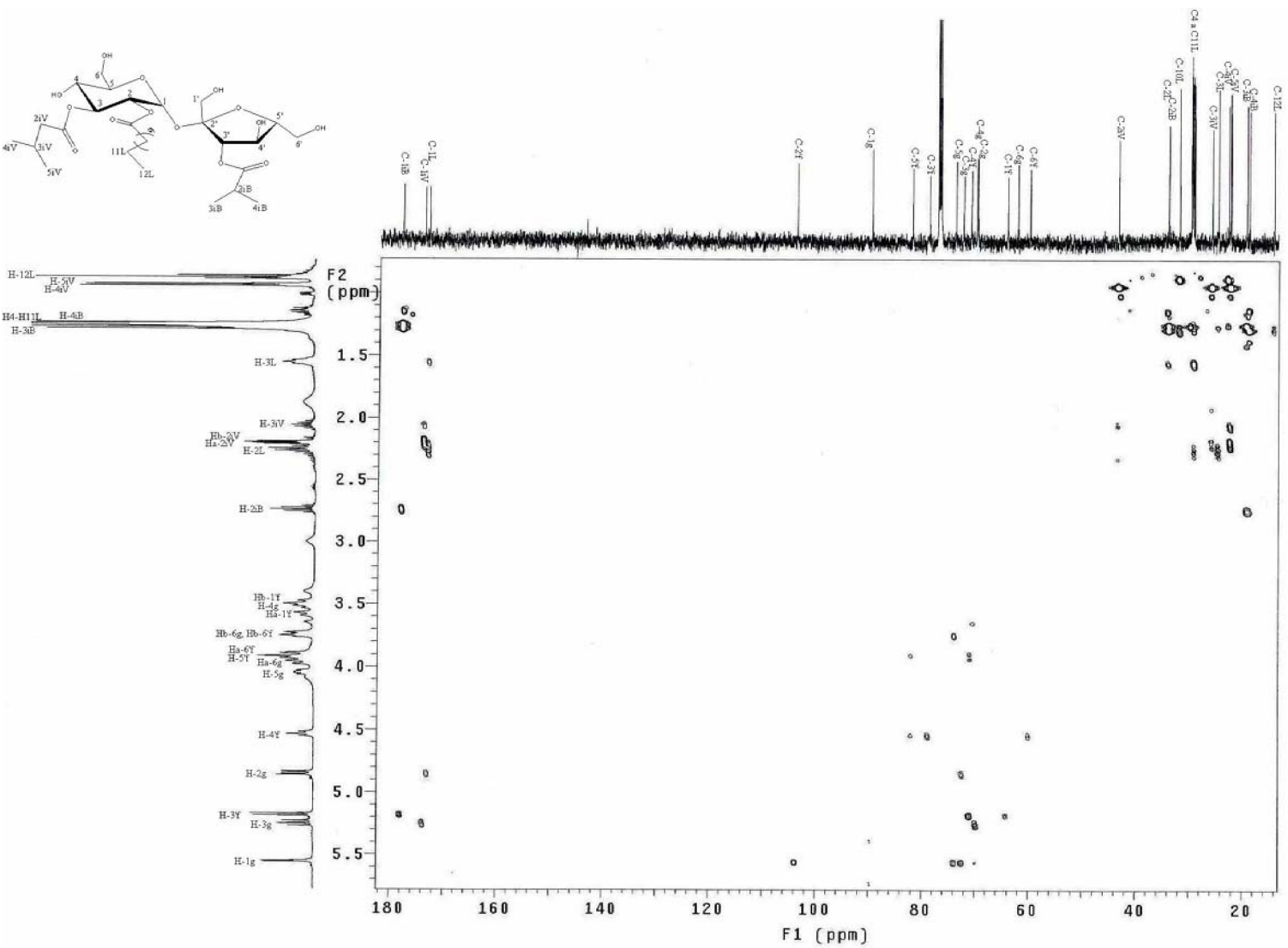
Espectro 8. RMN<sup>1</sup>H de **8** a 500 MHz en CDCl<sub>3</sub>.



Espectro 9. COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  de **8** a 500 MHz en  $\text{CDCl}_3$ .



Espectro 10. RMN<sup>13</sup>C de **8** a 125 MHz en CDCl<sub>3</sub>.



Espectro 11. HMBC de **8** a 500 MHz en CDCl<sub>3</sub>.

## 11. REFERENCIAS

1. Lara F. Plantas medicinales de México, composición, usos y actividad biológica. México: UNAM. Dirección general de publicaciones, **1996**: 5-8.
2. Argueta A. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Tomo III. México: Instituto Nacional Indigenista, **1994**: 1350-1351.
3. Ahmad S, Malik A, Yasmin R y cols. Withanolides from *Physalis peruviana*. *Phytochemistry* **1999**; 50: 647-651.
4. Tomassini T, Barbi N, Ribeiro I, Xavier D. Gênero *Physalis*-uma revisão sobre vitaesteróides. *Química Nova* **2000**; 23: 47-57.
5. Ray A, Gupta M. Withaesteroids, a growing group of naturally occurring steroidal lactones. En: Herz W, Kirby G, Moore R, Steglich W, Tamm C. *Progress in the chemistry of organic natural products*. Nueva York: Springer-Verlag/Wien **1994**: 63:1-106.
6. Vargas O. M. en C. (Biología vegetal). El género *Physalis* (Solanaceae) en Nueva Galicia. UNAM, Facultad de Ciencias. México, D. F. **1998**: 3, 7, 151.
7. Maldonado E, Torres F, Martínez M, Pérez-Castorena A. 18-acetoxywithanolides from *Physalis chenopodifolia*. *Planta Med.* **2004**; 70: 59-64.
8. Pérez-Castorena A, García M, Martínez M, Maldonado E. Physalins from *Physalis solanaceus*. *Biochem. System. Ecol.* **2004**; 32: 1231-1234.
9. Maldonado E, Alvarado V, Torres F, Martínez M y Pérez-Castorena A. Androstane and withanolides from *Physalis cinerascens*. *Planta Med.* **2005**; 71: 548-553.
10. Resultados en proceso de publicación.

11. Weier T, Stocking C. Botany, an introduction to plant biology. 5a. ed. USA: John Wiley & Sons, **1974**: 602-605.
12. D'Arcy WG. Solanaceae biology and systematics. Nueva York: Columbia University Press, **1986**: xi.
13. [http://www.puc.cl/sw\\_educ/hortalizas/html/solanaceae.html](http://www.puc.cl/sw_educ/hortalizas/html/solanaceae.html)
14. Soares M, Bellintani M, Ribeiro I, Tomassini T y Ribeiro R. Inhibition of macrophage activation and lipopolysaccharide-induced death by seco-steroids purified from *Physalis angulata* L. *Eur. J. Pharm.* **2003**; 459: 107-112.
15. Sadhana G y Ashwani K. Ashwagandha and its uses in aryuvedic medicine. *International Journal Mendel* **2004**; 21: 95-96.
16. Duke J. CRC Handbook of medicinal herbs. 2a. ed. Florida, USA: CRC Press, 2002: 69-70, 734-735, 426-427.
17. <http://www.agrarias.uach.cl/webpapa/botanica.html>
18. Ruiz-Oronoz M. Tratado elemental de botánica. 14a. ed. México, D. F.: ECLALSA, **1977**: 656-663.
19. Ismail N, Alam M. A novel cytotoxic flavonoid glycoside from *Physalis angulata*. *Fitoterapia* **2001**; 72: 676-679.
20. Mayorga H, Duque C, Knapp H, Winterhalter P. Hydroxyester disaccharides from fruits of cape gooseberry (*Physalis peruviana*). *Phytochemistry* **2002**; 59: 439-445.
21. Basey K, McGaw B, Woolley J. Phygrine, an alkaloid from *Physalis* species. *Phytochemistry* **1992**; 31: 4173-4176.
22. Abraham A, Kirson I, Glotter E y Lavie D. A chemotaxonomic study of *Withania somnifera* (L) Dun. *Phytochemistry* **1968**; 7: 957-962.

- 
23. Lavie D, Glotter E y Shvo J. Constituents of *Withania somnifera* Dun. III. The side chain of withaferin A. *J. Org. Chem.* **1965**; 30: 1774-1778.
24. Glotter E, Waitman R y Lavie D. Constituents of *Withania somnifera* Dun. Part VIII. A new steroidal lactone, 27-deoxy-14-hydroxy-withaferin A. *J. Chem. Soc.* **1966**; C(II): 1765-1767.
25. Matsuura T, Kawai M, Nakashima R, Butsugan Y. Bitter principles of *Physalis alkekengi* var. *francheti*. Structure of physalin A. *Tetrahedron Letters* **1969**; 1083-1086.
26. Row L, Sarma N, Matsuura T, Nakashima R. Physalins E and H, new physalins from *Physalis angulata* and *Physalis lancifolia*. *Phytochemistry* **1978**; 17: 1641-1646.
27. Kupchan S, Anderson W, Bollinger P y cols. Tumor inhibitors: XXXIX. Active principles of *Acnistus arborescens*. Isolation and structural and spectral studies of withaferin A and withacnistin. *J. Org. Chem.* **1969**; 34: 3858-3866.
28. Chen Z, Wang B y Chen M. Steroidal bitter principles from *Tacca plantaginea*. Structures of taccalonolide A and B. *Tetrahedron Letters* **1987**; 28: 1673-1676.
29. Sakurai K, Ishii H, Kobayashi S e Iwao T. Isolation of 4 $\beta$ -hydroxywithanolide E, a new withanolide from *Physalis peruviana* L. *Chem. Pharm. Bull.* **1976**; 24: 1403-1405.
30. Pelletier S, Gebeyehu G, Nowacki J y Mody N. Viscosalactone A and viscosalactone B, two new steroidal lactones from *Physalis viscosa*. *Heterocycles* **1981**; 15: 317-320.
31. Antoun M, Abramson D, Tyson R y col. Potential antitumor agents XVII. Physalin B and 25, 26-epidihydrophysalin C from *Witheringia coccoloboides*. *J. Nat. Prod.* **1981**; 44: 579-585.
32. Row L, Sarma N, Reddy K, Matsuura T y Nakashima R.. The structure of physalins F and J from *Physalis angulata* and *P. lancifolia*. *Phytochemistry* **1978**; 17: 1647-1650.

33. Kawai M, Matsuura T, Kyuno S y cols. A new physalin from *Physalis alkekengi*: structure of physalin L. *Phytochemistry* **1987**; 26: 3313-3317.
34. Martínez, M. Infrageneric taxonomy of *Physalis*. En: Nee M, Symon D, Lester R, Jessop J. *Solanaceae IV*. Nueva York: Royal Botanic Gardens, Kew **1999**: 275-283.
35. Clark W, Kahn M y Mitra A. Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution. *J. Org. Chem.* **1978**; 43: 2923-2925.
36. Nyquist R y Kagel O. The handbook of infrared and Raman spectra of inorganic compounds and organic salts (a 4-volume set). San Diego USA: Academic Press Inc, **1997**: vol. 4 (Infrared spectra of inorganic compounds 3800-45cm<sup>-1</sup>): 126-127.
37. Makino B, Kawai M, Iwata Y y cols. Physalins possessing an endoperoxy structure from *Physalis alkekengi* var. *francheti*. Structural revision of physalin K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1995**; 68: 219-226.
38. Sunayama R, Kuroyanagi M, Umehara K y Ueno A. Physalin and neophysalins from *Physalis alkekengi* var. *francheti* and their differentiation inducing activity. *Phytochemistry* **1993**; 34: 529-533.
39. Row L, Reddy K, Sarma N, Matsuura T y Nakashima R. New physalins from *Physalis angulata* and *Physalis lancifolia*. Structure and reactions of physalins D, I, G and K. *Phytochemistry* **1980**; 19: 1175-1181.
40. The Sadtler Standar Spectra. Sadtler Standard Carbon-13 NMR Spectra. USA: Sadtler Research Laboratories, Inc., **1977**: vol. 8: 1532 C.
41. The Sadtler Standar Spectra. Sadtler Standard Carbon-13 NMR Spectra. USA: Sadtler Research Laboratories, Inc., **1976**: vol. 2: 262 C.
42. The Sadtler Standar Spectra. Sadtler Standard Carbon-13 NMR Spectra. USA: Sadtler Research Laboratories, Inc., **1977**: vol. 9: 1644 C.



- 
43. King R y Calhoun L. 2,3-Di-O-and 1, 2, 3-tri-O-acylated glucose esters from the glandular trichomes of *Datura metel*. *Phytochemistry* **1988**; 27: 3761-3763.
  44. Matsuzaki T, Shinozaki Y, Hagimori M, Tobita T, Shigematsu H y Koiwai A. Novel glycerolipids and glycolipids from the surface lipids of *Nicotiana benthamiana*. *Biosci. Biotech. Biochem.* **1992**; 56: 1565-1569.
  45. King R, Singh R y Calhoun L. Elucidation of structures for a unique class of 2, 3, 4, 3'-tetra-O-acylated sucrose esters from the type B glandular trichomes of *Solanum neocardenasii* Hawkes & Hjerting (PI498129). *Carbohydr. Res.* **1988**; 173: 235-241.
  46. Ohya I, Shinozaki Y, Tobita T, Takahashi H y Matsuzaki T. Sucrose esters from the surface lipids of *Petunia hybrida*. *Phytochemistry* **1996**; 41: 787-789.
  47. Matsuzaki T, Koseki K y Koiwai A. Germination and growth inhibition of surface lipids from *Nicotiana* species and identification of sucrose esters. *Agric. Biol. Chem.* **1988**; 52: 1889-1897.
  48. Neal J, Tingey W y Steffens J. Sucrose esters of carboxylic acids in glandular trichomes of *Solanum berthaultii* Deter settling and probing by green peach aphid. *J. Chem. Ecol.* **1990**; 16: 487-497.