



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

ESTUDIO QUÍMICO DE *Physalis patula*

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. GERARDO PADIERNA JIMÉNEZ

TUTOR

M. EN C. EMMA MALDONADO JIMÉNEZ
INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., NOVIEMBRE DE 2016



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.



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México por permitir realizar mis estudios de postgrado en su seno. Agradezco al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo brindado (número de becario 335979) durante la realización de mis estudios de maestría.

Agradezco de forma efusiva a la Maestra en Ciencias Emma Maldonado. Agradezco que haya permitido continuar mi formación académica bajo su tutela. Doy gracias por su empeño en el desarrollo de mis habilidades, su confianza en mi superación y, por supuesto, su paciencia y su comprensión. Agradezco su orientación, sus enseñanzas y que haya compartido sus vastos conocimientos; agradezco su valiosa contribución a mi formación profesional, así como a mi crecimiento personal.

Agradezco a los profesores de la Facultad de Química de la UNAM y a los investigadores del Instituto de Química de la UNAM cuyas asignaturas tuve la fortuna de cursar durante la maestría.

Agradezco al Dr. Elihú Bautista por la recolección del material vegetal empleado en este estudio y a la Dra. Mahinda Martínez por la identificación del mismo.

Agradezco al personal técnico del Instituto de Química de la UNAM: Q. Ángeles Peña, M. en C. Elizabeth Huerta, M. en C. Héctor Ríos, Dra. Beatriz Quiroz y Dra. Isabel Chávez del laboratorio de resonancia magnética nuclear; Q.F.B. Rocío Patiño del laboratorio de espectroscopia y polarimetría; M. en C. Carmen Márquez, Q. Eréndira García y M. en C. Lucero Ríos del laboratorio de cromatografía; I.Q. Luis Velasco, Dr. Javier Pérez y Dra. Carmen García del laboratorio de espectrometría de masas.

Agradezco a los miembros del jurado: Dr. Alfonso Romo de Vivar, Dr. Guillermo Delgado, Dra. Isabel Aguilar, Dr. Martín Torres y Dr. Rogelio Pereda, por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo, así como por sus valiosas observaciones y sugerencias que contribuyeron al mejoramiento del mismo.

Y agradezco a mi familia. A mi madre. A mi padre y a mis hermanas, Pilar, Laura y Beda, por su apoyo constante y su confianza en mí. A mis sobrinos. A mis amigos Natalia Campos, Jorge Avante y Grecia Castro: les amis, c'est la famille que l'on choisit. Y a mis compañeros en el Instituto, Rosario Tavera y Rodrigo Villanueva.

Only in silence the word, only in dark the light, only in dying life:
Bright the hawk's flight on the empty sky.

— Ursula K. Le Guin. *The Creation of Éa*.



JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE	DR. ALFONSO ROMO DE VIVAR ROMO
VOCAL	DR. EDUARDO GUILLERMO DELGADO LAMAS
VOCAL	DRA. MARÍA ISABEL AGUILAR LAURENTS
VOCAL	DR. JESÚS MARTÍN TORRES VALENCIA
SECRETARIO	DR. ROGELIO GREGORIO PEREDA MIRANDA

ESTE TRABAJO FUE REALIZADO EN EL LABORATORIO 2-7 DEL DEPARTAMENTO DE PRODUCTOS NATURALES DEL INSTITUTO DE QUÍMICA UNAM, BAJO LA TUTORÍA DE LA M. EN C. EMMA MALDONADO JIMÉNEZ.

PARTE DE LOS RESULTADOS DERIVADOS DE ESTE TRABAJO SE PRESENTARON EN LA CELEBRACIÓN DEL 75 ANIVERSARIO DEL INSTITUTO DE QUÍMICA. CIUDAD UNIVERSITARIA, 6 DE ABRIL DE 2016. MODALIDAD CARTEL. "SECONDARY METABOLITES FROM THE NON-POLAR EXTRACT OF *PHYSALIS PATULA*".

SUSTENTANTE

TUTOR

Q. GERARDO PADIERNA JIMÉNEZ

M. EN C. EMMA MALDONADO JIMÉNEZ



ÍNDICE DE CONTENIDOS

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	3
1. Género <i>Physalis</i>	3
2. Química del género <i>Physalis</i>	4
3. Generalidades sobre metabolitos de <i>Physalis</i>	5
A. Flavonoides.....	5
B. Labdanos.....	8
C. Withaesteroides.....	10
4. Estudios químicos y farmacológicos de especies de <i>Physalis</i> de la sección <i>Epeteiorhiza</i>	14
A. <i>Physalis cordata</i>	14
B. <i>Physalis neomexicana</i>	14
C. <i>Physalis nicandroides</i>	15
D. <i>Physalis nicandroides</i> var. <i>attenuata</i>	16
E. <i>Physalis pruinosa</i>	18
F. <i>Physalis pubescens</i>	20
5. Especie <i>Physalis patula</i>	21
III. OBJETIVOS.....	22
IV. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	23
1. Material y equipo.....	23
2. Material vegetal.....	24
3. Extracción del material vegetal.....	25
4. Aislamiento y purificación.....	25
A. Fracción de hexano.....	25
B. Fracción de acetato de etilo.....	27
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
1. Elucidación estructural de los compuestos aislados.....	35
A. Fitoesteroides.....	35
B. Flavonoides.....	37
C. Labdanos.....	41
D. Withanólidas.....	50
E. Ésteres de sacarosa.....	56
VI. CONCLUSIONES.....	57
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	58
ANEXO - ESPECTROSCOPIA.....	65



ÍNDICE DE FIGURAS

1. Algunos fármacos de origen natural.....	1
2. Diversidad de metabolitos aislados de especies de <i>Physalis</i>	4
3. Flavano, núcleo estructural de los flavonoides.....	5
4. Formación de estilbenos y flavonoides.....	6
5. Derivados flavonoides.....	7
6. Esqueleto de los labdanos.....	8
7. Formación de las series de labdanos a partir de FPP.....	8
8. Algunos labdanos biológicamente activos.....	9
9. Esqueletos de los tipos de withaesteroides.....	10
10. Estructuras generales de los withaesteroides tipo A.....	11
11. Estructuras generales de los withaesteroides tipo B.....	12
12. Esquema simplificado de la biosíntesis de withanólidas.....	12
13. Withanólidas con actividades biológicas notables.....	13
14. Metabolitos aislados de <i>Physalis neomexicana</i>	15
15. Diterpenos aislados de <i>Physalis nicandroides</i>	16
16. Metabolitos aislados de frutos de <i>Physalis nicandroides</i> var. <i>attenuata</i>	16
17. Metabolitos aislados de partes aéreas de <i>Physalis nicandroides</i> var. <i>attenuata</i>	17
18. Withanólidas aisladas de <i>Physalis pruinosa</i> (1993).....	18
19. Metabolitos aislados de <i>Physalis pruinosa</i> (2006).....	18
20. Withanólida aisladas de <i>Physalis pruinosa</i> (2011).....	19
21. Metabolitos aislados de <i>Physalis pubescens</i>	20
22. Fotografías de partes aéreas de <i>Physalis patula</i>	24
23. Numeración de las posiciones en los flavonoides.....	36
24. Numeración de las posiciones en los labdanos.....	40
25. Numeración de las posiciones en las withanólidas.....	49



ÍNDICE DE TABLAS

1. Datos de RMN ^1H y ^{13}C de los flavonoles 4 , 5 , 7 y 9 (CDCl_3 , δ en ppm, J en Hz).....	40
2. Algunos datos de RMN (δ en ppm) de los compuestos 6 , 8 , nicandiol y 12- <i>epi</i> -nicandiol.....	43
3. Datos de RMN ^1H y ^{13}C de los labdanos 6 y 8 (CDCl_3 , δ en ppm, J en Hz).....	44
4. Datos de RMN ^1H de los patulósidos 15 , 16 y 18 (500 MHz, CDCl_3 , δ en ppm, J en Hz).....	48
5. Datos de RMN ^{13}C de los patulósidos 15 , 16 y 18 (125 MHz, CDCl_3 , δ en ppm).....	49
6. Datos de RMN ^1H de las withanólidas 10 , 11 y 12 (500 MHz, CDCl_3 , δ en ppm).....	54
7. Datos de RMN ^{13}C de las withanólidas 10 , 11 , 12 y 13 (125 MHz, CDCl_3 , δ en ppm).....	55



ÍNDICE DE ESPECTROS

1. RMN ¹ H del physalindicanol (3) (300 MHz, CDCl ₃ + DMSO-d ₆).....	66
2. RMN ¹³ C del physalindicanol (3) (75 MHz, CDCl ₃ + DMSO-d ₆).....	67
3. RMN ¹ H de la retusina (4) (500 MHz, CDCl ₃).....	68
4. RMN ¹³ C de la retusina (4) (125 MHz, CDCl ₃).....	69
5. RMN ¹ H del combretol (5) (400 MHz, CDCl ₃).....	70
6. RMN ¹³ C del combretol (5) (100 MHz, CDCl ₃).....	71
7. RMN ¹ H de la physacoztomatina (6) (300 MHz, CDCl ₃).....	72
8. RMN ¹³ C de la physacoztomatina (6) (75 MHz, CDCl ₃).....	73
9. RMN ¹ H de la ayanina (7) (300 MHz, DMSO-d ₆).....	74
10. RMN ¹³ C de la ayanina (7) (75 MHz, DMSO-d ₆).....	75
11. IR de la 12- <i>epi</i> -physacoztomatina (8) (CDCl ₃).....	76
12. RMN ¹ H de la 12- <i>epi</i> -physacoztomatina (8) (300 MHz, CDCl ₃).....	77
13. RMN ¹³ C de la 12- <i>epi</i> -physacoztomatina (8) (75 MHz, CDCl ₃).....	78
14. HSQC de la 12- <i>epi</i> -physacoztomatina (8).....	79
15. HMBC de la 12- <i>epi</i> -physacoztomatina (8).....	80
16. COSY de la 12- <i>epi</i> -physacoztomatina (8).....	81
17. RMN ¹ H de la 4',5-dihidroxi-3,3',5',7-tetrametoxiflavona (9) (300 MHz, CDCl ₃).....	82
18. RMN ¹³ C de la 4',5-dihidroxi-3,3',5',7-tetrametoxiflavona (9) (75 MHz, CDCl ₃).....	83
19. IR de la withaneomexólida D (10) (CDCl ₃).....	84
20. RMN ¹ H de la withaneomexólida D (10) (500 MHz, CDCl ₃).....	85
21. RMN ¹³ C de la withaneomexólida D (10) (125 MHz, CDCl ₃).....	86
22. HSQC de la withaneomexólida D (10).....	87
23. HMBC de la withaneomexólida D (10).....	88
24. COSY de la withaneomexólida D (10).....	89
25. NOESY de la withaneomexólida D (10).....	90
26. IR de la physapruina C (11) (CDCl ₃).....	91
27. RMN ¹ H de la physapruina C (11) (500 MHz, CDCl ₃).....	92
28. RMN ¹³ C de la physapruina C (11) (125 MHz, CDCl ₃).....	93
29. IR de la physanicandrólida A (12) (CDCl ₃).....	94
30. RMN ¹ H de la physanicandrólida A (12) (500 MHz, CDCl ₃).....	95
31. RMN ¹³ C de la physanicandrólida A (12) (125 MHz, CDCl ₃).....	96
32. RMN ¹³ C de la physanicandrólida B (13) (75 MHz, CDCl ₃).....	97
33. RMN ¹ H de la nicandrosa B (14) (300 MHz, CDCl ₃).....	98
34. IR del tetraacetilpatulósido A (15) (CDCl ₃).....	99
35. RMN ¹ H del tetraacetilpatulósido A (15) (500 MHz, CDCl ₃).....	100
36. RMN ¹³ C del tetraacetilpatulósido A (15) (125 MHz, CDCl ₃).....	101
37. HSQC del tetraacetilpatulósido A (15).....	102



38.	HMBC del tetraacetilpatulósido A (15).....	103
39.	COSY del tetraacetilpatulósido A (15).....	104
40.	NOESY del tetraacetilpatulósido A (15).....	105
41.	IR del patulósido A (16) (CDCl ₃).....	106
42.	RMN ¹ H del patulósido A (16) (500 MHz, CDCl ₃).....	107
43.	RMN ¹³ C del patulósido A (16) (125 MHz, CDCl ₃).....	108
44.	HSQC del patulósido A (16).....	109
45.	HMBC del patulósido A (16).....	110
46.	COSY del patulósido A (16).....	111
47.	NOESY del patulósido A (16).....	112
48.	IR del pentaacetilpatulósido B (18) (CDCl ₃).....	113
49.	RMN ¹ H del pentaacetilpatulósido B (18) (500 MHz, CDCl ₃).....	114
50.	RMN ¹³ C del pentaacetilpatulósido B (18) (125 MHz, CDCl ₃).....	115
51.	HSQC del pentaacetilpatulósido B (18).....	116
52.	HMBC del pentaacetilpatulósido B (18).....	117
53.	COSY del pentaacetilpatulósido B (18).....	118
54.	NOESY del pentaacetilpatulósido B (18).....	119



ABREVIATURAS

∅	Diámetro
a	Señal ancha
DART	Análisis directo en tiempo real (Direct analysis in real time)
FAB	Bombardeo con átomos rápidos (Fast atom bombardment)
c	Cuadruplete
CC	Cromatografía en columna
CCF	Cromatografía en capa fina
CI ₅₀	Concentración inhibitoria media
COSY	Espectroscopia de correlación homonuclear (Correlated spectroscopy)
CPP	Cromatografía en placa preparativa
δ	Desplazamiento químico
d	Doblete
DEPT	Aumento sin distorsión de la transferencia de polarización (Distortionless enhancement of polarization transfer)
EM	Espectrometría de masas
EMAR	Espectrometría de masas de alta resolución
h	Altura
HMBC	Correlación heteronuclear de enlaces múltiples (² J C-H, ³ J C-H) (Heteronuclear multiple bond coherence)
HSQC	Correlación heteronuclear cuántica simple (¹ J C-H) (Heteronuclear simple quantum coherence)
EI	Ionización electrónica (Electron ionization) o impacto electrónico
ESI	Ionización por electrospray (Electrospray ionization)
IR	Espectroscopia de infrarrojo
J	Constante de acoplamiento
m	Multiplete
m/z	Relación masa carga
M ⁺	Ion molecular
NOESY	Espectroscopia de efecto nuclear Overhauser (Nuclear Overhauser effect spectroscopy)
RMN	Resonancia magnética nuclear
RO	Rotación óptica
s	Singulete
sept	Septuplete
t	Triplete
TOF	Tiempo de vuelo



I. INTRODUCCIÓN

Los productos naturales son compuestos orgánicos que resultan del metabolismo secundario de diversos organismos. Su distribución en la naturaleza está restringida a un organismo específico o a cierto grupo de organismos relacionados filogenéticamente entre sí.

Anteriormente, se creía que estas sustancias resultaban inútiles para el organismo productor, que eran productos de desecho del metabolismo primario. Si bien el papel biológico de muchos de estos compuestos es todavía desconocido, se sabe que algunos de ellos realizan funciones bastante concretas. En las plantas, por ejemplo, estos compuestos intervienen en los mecanismos de defensa contra depredadores, o bien atraen insectos polinizadores y dispersores. Asimismo, algunos microorganismos excretan sustancias que afectan el desarrollo de otras especies. Los animales, a su vez, producen sustancias involucradas en la atracción para el apareamiento. Estos productos son la expresión de la adaptación de los individuos.

Los productos naturales están estrechamente relacionados con la medicina tradicional. Hasta principios del siglo XIX la investigación fitoquímica se centró en drogas medicinales. Fue entonces cuando se aislaron y purificaron diversos compuestos de origen vegetal con aplicaciones terapéuticas. Entre ellos están la morfina, un analgésico obtenido de la amapola, *Papaver somniferum*; la quinina, un antipirético y antipalúdico obtenido de la quina, *Cinchona ledgeriana*; la efedrina, un vasoconstrictor obtenido de la efedra, *Ephedra* spp.; o la vincristina, un antileucémico obtenido de *Catharanthus roseus* (sin. *Vinca rosea*).

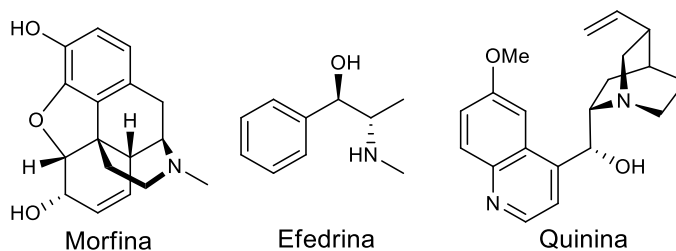


Figura 1. Algunos fármacos de origen natural.

Posteriormente, durante el siglo XX se elucidaron las estructuras de múltiples sustancias, gracias al desarrollo de las técnicas analíticas y espectroscópicas. Esto dio lugar a un incremento en el número de compuestos aislados y caracterizados, así como en el número y la naturaleza de las especies estudiadas: microorganismos, hongos, plantas y animales. Con esto se logró, además, identificar compuestos con diversas aplicaciones potenciales, como medicamentos, aditivos alimenticios y agrícolas, perfumes o materias primas industriales, entre otras.



De igual forma, el estudio de productos naturales ha contribuido al desarrollo de nuevos métodos y de nuevas estrategias de síntesis orgánica, así como al mejoramiento y la innovación de las metodologías analíticas para la separación y la purificación de productos naturales y su identificación mediante la aplicación de técnicas espectroscópicas, espectrométricas y cristalográficas.

Actualmente, la investigación en productos naturales se enfoca no sólo al descubrimiento de nuevos tipos de compuestos químicos, sino a la caracterización química de especies y, particularmente, a la identificación de compuestos con propiedades farmacológicas destacables y potencialmente aprovechables. Por ejemplo, en el período de 1981 a 2010 se aprobaron 1355 nuevos fármacos. De éstos, el 46 % están relacionados con productos naturales. Por ejemplo, entre los compuestos que exhibieron actividad anticancerígena, 62 % son productos naturales o provienen de ellos (Newman y Cragg, 2012).

Lo anterior, aunado a la permanencia hasta nuestros días de la medicina tradicional como uno de los principales recursos para el tratamiento de enfermedades en un número importante de países, confirma que la caracterización química de especies vegetales es un área de investigación de relevancia. México cuenta con una de las floras más ricas a nivel mundial, lo que se refleja en las numerosas especies que son consideradas medicinales y empleadas para dichos efectos. Así, cerca de 20 millones de personas en el país recurren a este tipo de medicina para aliviar sus padecimientos (Barbosa *et al.*, 2007). Entre las plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana son abundantes las especies del género *Physalis* (Solanaceae). En oposición, los estudios químicos y farmacológicos realizados a dicho género son todavía escasos.

En este marco se inscribe el presente trabajo, en el que se presentan los resultados del estudio de la especie *Physalis patula* Miller, como una contribución al conocimiento de la composición química de esta planta.



II. ANTECEDENTES

II. 1. Género *Physalis*

El género *Physalis* pertenece a la familia de las solanáceas y reúne entre 75 y 90 especies (Whitson, 2005). Todas ellas son nativas de América, excepto *Physalis alkekengi*, que es originaria de Japón y China. Son plantas herbáceas anuales o perennes que crecen en climas templados o cálidos, en todo tipo de suelo. Sus frutos son pequeños, de diversos colores (amarillo, naranja y morado oscuro) y se encuentran cubiertos por un cáliz. Si bien los frutos de algunas especies de *Physalis* son comestibles, sólo cuatro de ellas son cultivadas con fines alimenticios: *P. philadelphica*, *P. peruviana*, *P. grisea* y *P. alkekengi*; las dos primeras son de gran importancia económica.

México cuenta con al menos 70 especies del género *Physalis* y sus usos varían según la región. Algunas de estas especies se emplean en el tratamiento de padecimientos diversos, como desórdenes gastrointestinales (*P. aequata*, *P. ixocarpa*), trastornos respiratorios (*P. philadelphica*, *P. orizabae*), padecimientos hepáticos (*P. aequata*), piedras en la vesícula (*P. heredifolia*) o conjuntivitis (*P. nicandroides*) (Santiaguillo y Blas, 2009).

El género *Physalis* se divide en cuatro subgéneros: *Physalis*, *Physalodendron*, *Quincula* y *Rydbergis*. Este último se divide en nueve secciones conocidas como *Epeteiorhiza*, *Campanulae*, *Coztomatae*, *Lanceolatae*, *Carpenteriae*, *Angulatae*, *Stellatae*, *Rydbergae* y *Tehuacanae* (Martínez, 1999). Las plantas de la sección *Epeteiorhiza* son herbáceas anuales o perennes, con flores solitarias con forma de campana, amarillas o verdosas. Sobre los pétalos presentan cinco máculas color morado, marrón o verde. Sus frutos son bayas esféricas verdes, amarillas o marrón oscuro al madurar. Están cubiertos por un cáliz con forma de vejiga. Las semillas son de color amarillo dorado o marrón oscuro y se presentan en más de cincuenta por fruto. Las especies de esta sección son nativas del continente americano, presentes desde el sur de Canadá hasta el norte de Argentina. Algunas especies se han establecido ya en otros continentes, como *P. pubescens* en Europa y *P. cordata* en Asia (Martínez, 1998).

II. 2. Química del género *Physalis*

Los withaesteroides o withanólidas son los metabolitos característicos del género; se han aislado de 22 de las 24 especies de *Physalis* analizadas hasta ahora (Zhang y Tong, 2016; Chen *et al.*, 2011). Recientemente, se ha descrito el aislamiento de diterpenos de tipo labdano de las especies *P. coztomatl* (Pérez-Castorena *et al.*, 2006), *P. pruinosa* (Arredondo, 2006), *P. sordida* (Pérez-Castorena *et al.*, 2010) y *P. nicandroides* (Maldonado *et al.*, 2015).

De *P. minima* (Ser, 1988), *P. ixocarpa* (Matlawska *et al.*, 1994), *P. alkekengi* var. *franchetii* (Qiu *et al.*, 2008) y *P. angulata* (Agustine y Ufuoma, 2013), entre otras, se han aislado flavonoides. De seis especies de *Physalis* se han aislado ésteres de sacarosa y de *P. philadelphica* se han obtenido ceramidas (Zhang y Tong, 2016). Entre los constituyentes de plantas del género *Physalis* también se encontraron otros tipos de metabolitos como esteroides, alcaloides, fenilpropanoides, lignanos y nucleósidos, entre otros (Zhang y Tong, 2016).

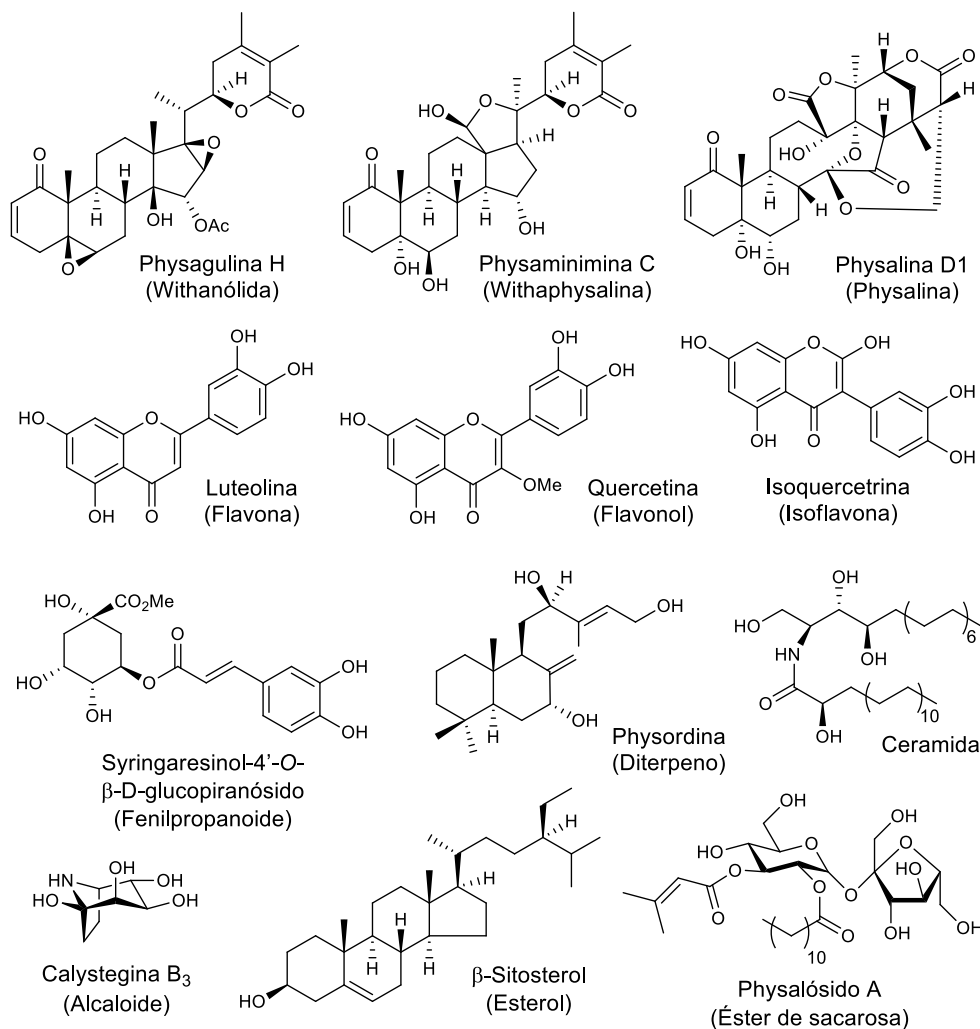


Figura 2. Diversidad de metabolitos aislados de especies de *Physalis*.

II. 3. Generalidades sobre metabolitos de *Physalis*

A. Flavonoides

Los flavonoides son compuestos polifenólicos ampliamente distribuidos en los vegetales. Su nombre deriva de la palabra latina *flavus*, que significa amarillo. En efecto, los flavonoides constituyen los pigmentos amarillos, rojos y azules de flores y frutos. Se han descubierto más de 4.000 flavonoides. Son particularmente abundantes en las asteráceas, rutáceas, fabáceas, umbelliferáceas y lamiáceas (Ayuso y Toro, 1999).

Los flavonoides y los estilbenos comparten su origen biosintético. Estos compuestos se producen a partir de una molécula de 4-hidroxicinamoil-coenzima A y de tres moléculas de malonil-coenzima A para formar un policétido que puede plegarse de dos formas (Fig. 4). La naturaleza de las reacciones subsecuentes, ya sea reacciones aldólicas o de tipo Claisen, determina el patrón de oxidación de los dos anillos aromáticos típico de ambos grupos de compuestos (Dewick, 2009).

Así, los flavonoides poseen una estructura tipo $C_6-C_3-C_6$ organizada en dos anillos aromáticos unidos por una cadena de tres carbonos. El anillo A se origina por la ruta del acetato mientras que el anillo B y la unidad C_3 se originan por la ruta del siquimato.

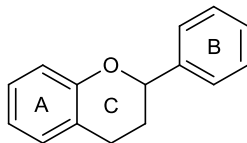


Figura 3. Flavano, núcleo estructural de los flavonoides.

Las chalconas son los precursores de una amplia variedad de compuestos flavonoides. La mayoría de ellos están conformados por un anillo heterocíclico de seis miembros que resulta del ataque nucleofílico tipo Michael del fenol sobre la cetona α,β -insaturada. Esta reacción es estereoespecífica y produce una (2S)-flavanona (Fig. 4). A su vez, las flavanonas sirven como esqueleto básico de las flavonas, los flavonoles, las antocianidinas y las catequinas (Fig. 5). Las modificaciones del patrón de oxidación de los anillos aromáticos son comunes, pueden ocurrir también metilaciones, glicosilaciones y alquilaciones.

Los flavonoides actúan en las plantas de forma natural como agentes antimicrobianos, atrayentes visuales para insectos polinizadores y como fotoprotectores, entre otras funciones. Ensayos en laboratorio han mostrado que estos compuestos poseen, además, múltiples actividades biológicas, tales como analgésica, antiviral, anticancerígena, antimutagénica, antialérgica, citotóxica, hepatoprotectora y antitrombótica. Destacan asimismo sus efectos antiinflamatorios, antioxidantes e inhibidores de la agregación plaquetaria en humanos (Santos *et al.*, 1998; Costa *et al.*, 2003; Ueda *et al.*, 2004; Nakamura *et al.*, 2003).

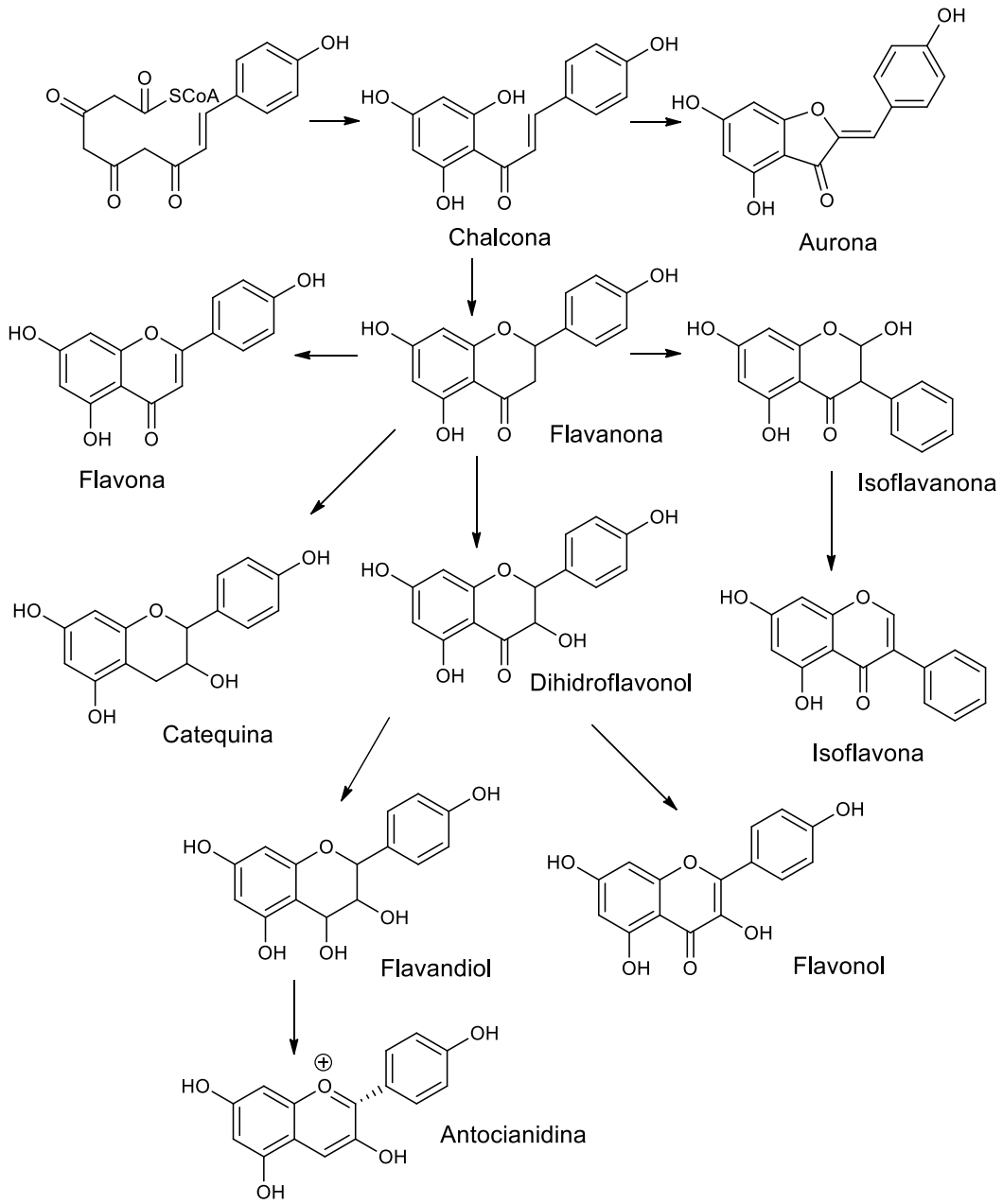


Figura 5. Derivados flavonoides.

B. Labdanos

Labdano es el nombre del esqueleto de un diterpeno bicíclico que sirve como núcleo estructural de una gran variedad de compuestos conocidos como labdanos o diterpenos labdánicos. Son llamados así pues fueron aislados originalmente del ládano (en inglés *labdanum*; en latín *ladanum*), una resina producida por las hojas de la jara (*Cistus ladanifer*), empleada en jarabes para la tos y en la elaboración de perfumes (Cocker *et al.* 1956).

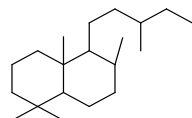


Figura 6. Esqueleto de los labdanos.

Los labdanos resultan de la adición electrofílica de una unidad de difosfato de isopentenilo (IPP) a una molécula de difosfato de farnesilo (FPP) para dar difosfato de geranilgeranilo (GGPP). Las reacciones de ciclación intramoleculares del GGPP generan las variantes estructurales de los diterpenos. Cuando el doble enlace de la cabeza de la molécula se protona, tiene lugar una secuencia de ciclaciones concertadas que resultan en la formación de los difosfatos de labdadienilo (Fig. 7).

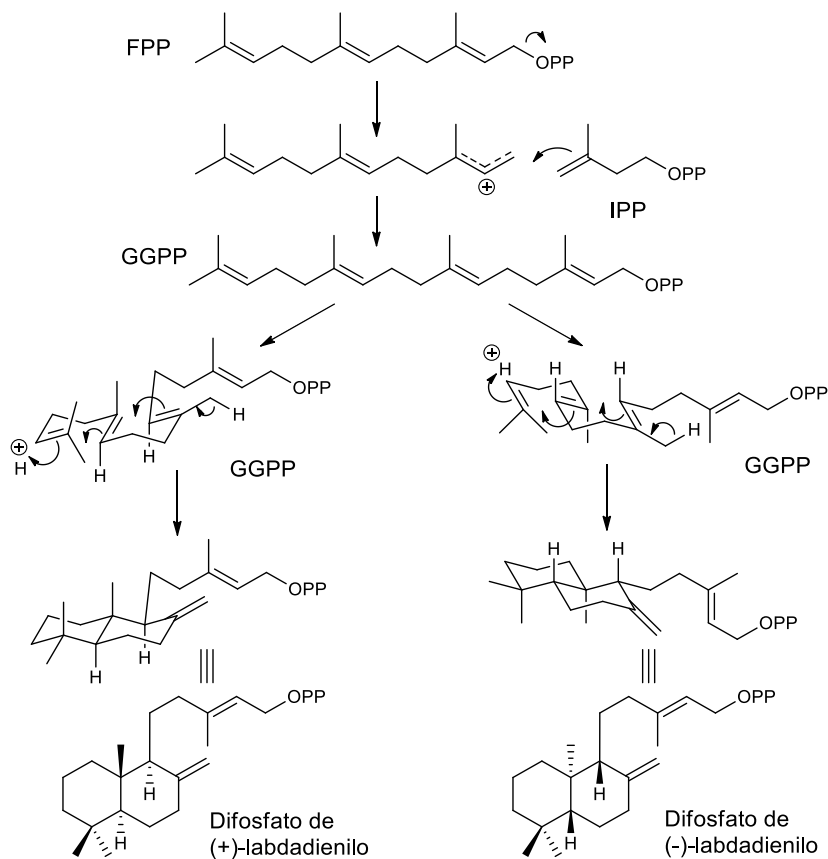


Figura 7. Formación de las series de labdanos a partir de FPP.

El plegamiento del sustrato sobre la enzima determina la estereoquímica. Como consecuencia se generan dos series de compuestos con configuraciones opuestas en los carbonos C-5, C-9 y C10. La más común es la del difosfato de (+)-labdadienilo o (+)-copalilo, en la que la fusión de los anillos A y B es idéntica a la de los esteroides. Los compuestos con esta configuración reciben el nombre de labdanos. Aquellos que presentan configuraciones opuestas reciben el nombre de *ent*-labdanos (enantioméricos) y provienen del difosfato de (-)-labdadienilo o (-)-copalilo.

Los labdanos son un grupo de compuestos que poseen diversas actividades biológicas. Por ejemplo, labdanos de *Alpinia nigra* presentan actividad antibacteriana (Ghosh *et al.*, 2013). Además, inhiben la actividad de la α -glucosidasa (Ghosh y Rangan, 2014). Diterpenos de *Salvia sharifii* (Farjam *et al.*, 2013) presentan actividad citotóxica, mientras que los obtenidos de *Andrographis paniculata* reducen la presión de perfusión coronaria en humanos (Awang *et al.*, 2012) e inhiben el crecimiento de la bacteria *Helicobacter pylori* (Shaikh *et al.*, 2016). Asimismo, labdanos obtenidos de *Leonotis leonurus* han mostrado actividad psicoactiva: inhiben receptores del SNC (Wu *et al.*, 2013). La escapaundulina C, un labdano obtenido de *Scapania undulate* inhibe la actividad de la acetilcolinesterasa, lo que podría resultar útil en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Otros labdanos aislados de esta especie presentan actividad citotóxica (Kang *et al.*, 2015). De *Leonurus macranthus* se han aislado labdanos con actividad anti-inflamatoria (Huang *et al.*, 2015) (Fig. 8). Se han descrito, además, labdanos que presentan actividad antibacteriana, antifúngica, inmunomoduladora, antiparasitaria, cardiotónica, antileishmánica y antihistamínica (Demetzos y Dimas, 2001).

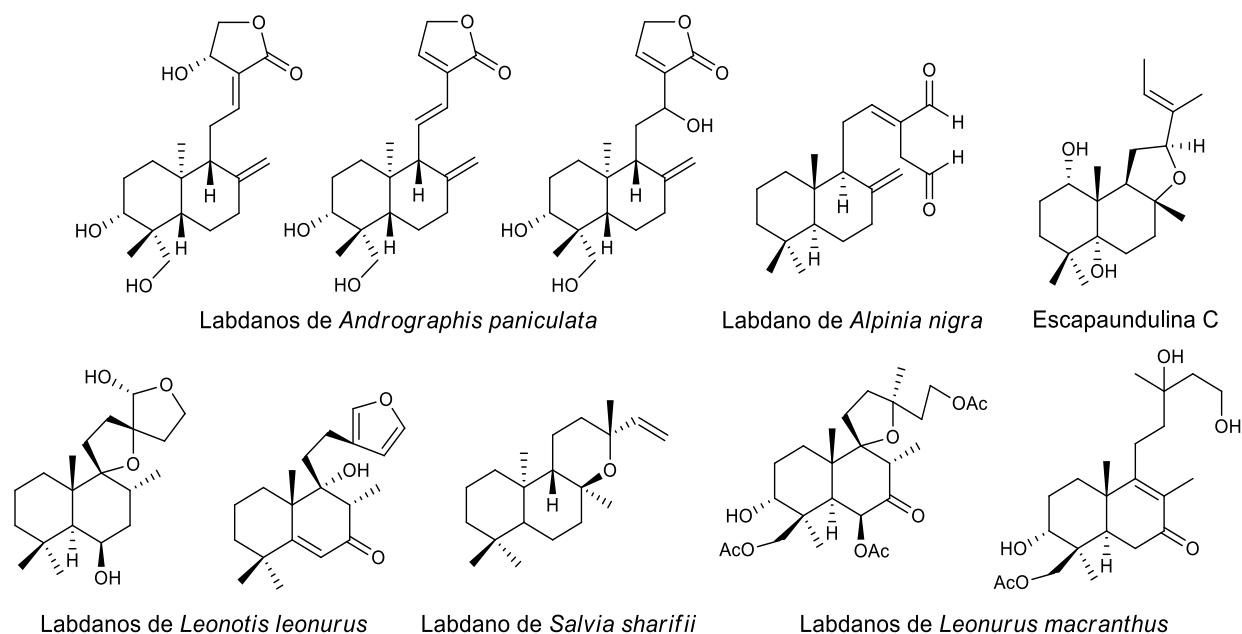


Figura 8. Algunos labdanos biológicamente activos.

C. Withaesteroides

Los withaesteroides son un grupo de compuestos característicos de las especies del género *Physalis*. Las solanáceas son la fuente principal de estos esteroides, siendo abundantes además en los géneros *Acnistus*, *Nicandra* y *Withania* (Zhang *et al.*, 2016). De este último género es que toman su nombre.

Los withaesteroides presentan un esqueleto de tipo ergostano y se caracterizan por poseer una cadena lateral de nueve carbonos que forma una lactona. Se definen dos grupos de withaesteroides: el tipo A, que comprende aquellos con una δ -lactona o un δ -lactol entre C-22 y C-26; y el tipo B, que comprende aquellos con una γ -lactona o un γ -lactol entre C-23 y C-26 (Fig. 9). La cadena lateral presenta generalmente una orientación β . Cuando la orientación es α , es común la presencia de un hidroxilo 17 β . El 90 % de los withaesteroides presenta además la función 1-oxo (Chen *et al.*, 2011).

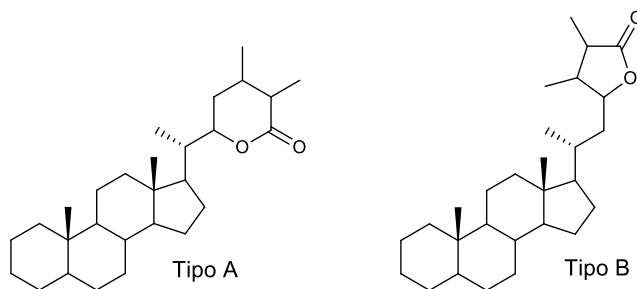


Figura 9. Esqueletos de los tipos de withaesteroides.

La mayoría de los withaesteroides aislados hasta ahora pertenecen al tipo A. Aquellos que poseen un esqueleto no modificado son conocidos como withanólidas y son los más abundantes. Los demás withaesteroides tipo A se dividen en physalinas, neophysalinas, withaphysalinas, acnistinas y epiacnistinas, withajardinas, withametelinas, withanólidas de tipo norbornano, sativólidas, δ -lactonas espiranoides, 14 α ,20 α -epoxiwithanólidas, subtriflora δ -lactonas, nicandrenonas (withanólidas con anillo D aromático) y jaboroles (withanólidas con anillo A aromático) (Fig. 10). Los withaesteroides tipo B se dividen en γ -lactonas espiranoides, ixocarpalactonas, trechonólidas, perulactonas y subtriflora γ -lactonas (Fig. 11) (Chen *et al.*, 2011).

La biosíntesis de las withanólidas involucra las rutas del mevalonato y del fosfato de desoxilulosa, que convergen en la formación de los difosfatos de dimetilalilo e isopentenilo que generarán difosfato de geranilo. A partir de los difosfatos de geranilo y de isopentenilo se genera difosfato de farnesilo (FPP). La condensación de dos moléculas de FPP cabeza a cabeza forma escualeno. Al oxidarse éste a la forma 2,3-epoxi es que pueden formarse los anillos para dar cicloartenol. Entonces tienen lugar una serie de procesos metabólicos en los que el cicloartenol se transforma en episterol y finalmente en ergostano (Dewick, 2009) (Fig. 12).

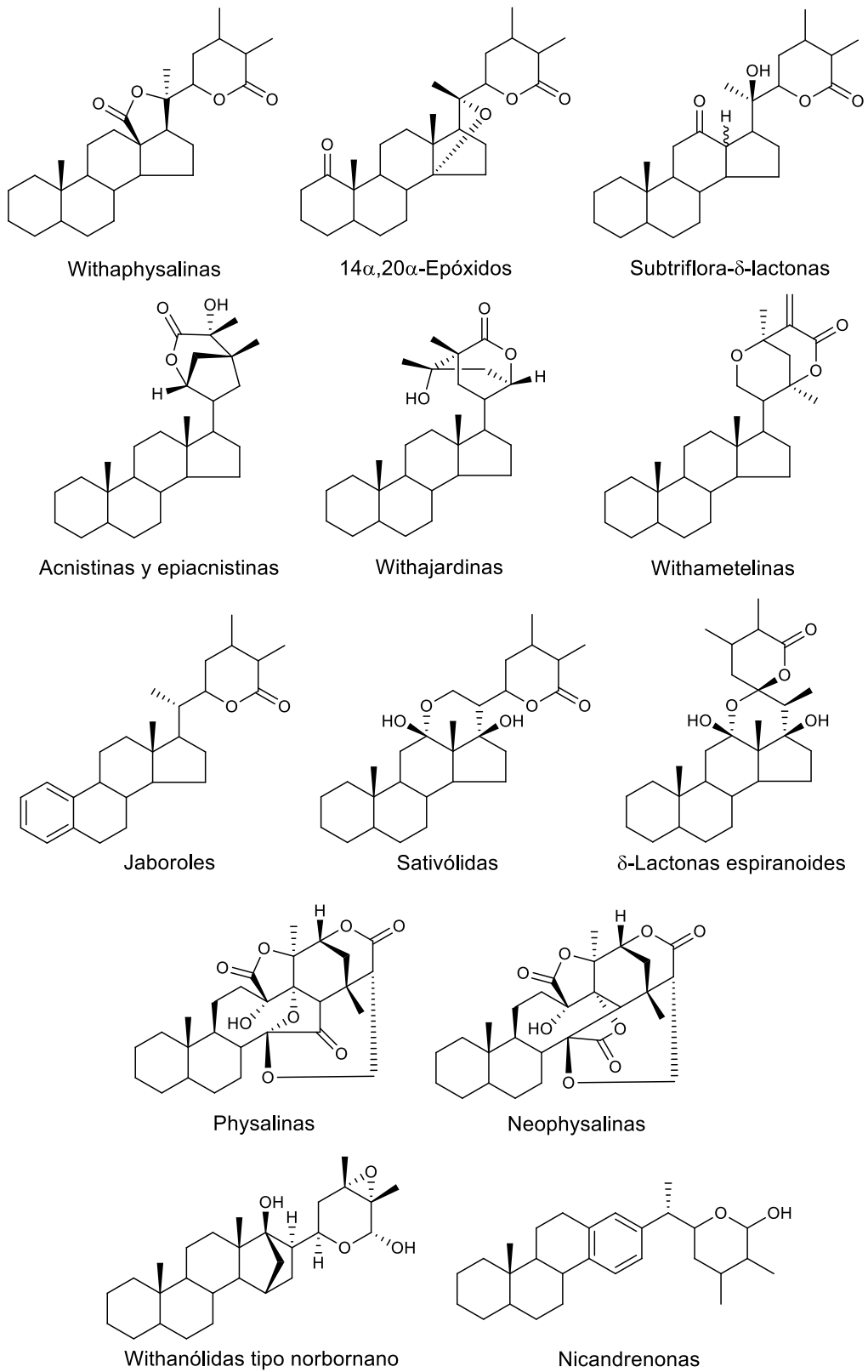


Figura 10. Estructuras generales de los withaesteroides tipo A.

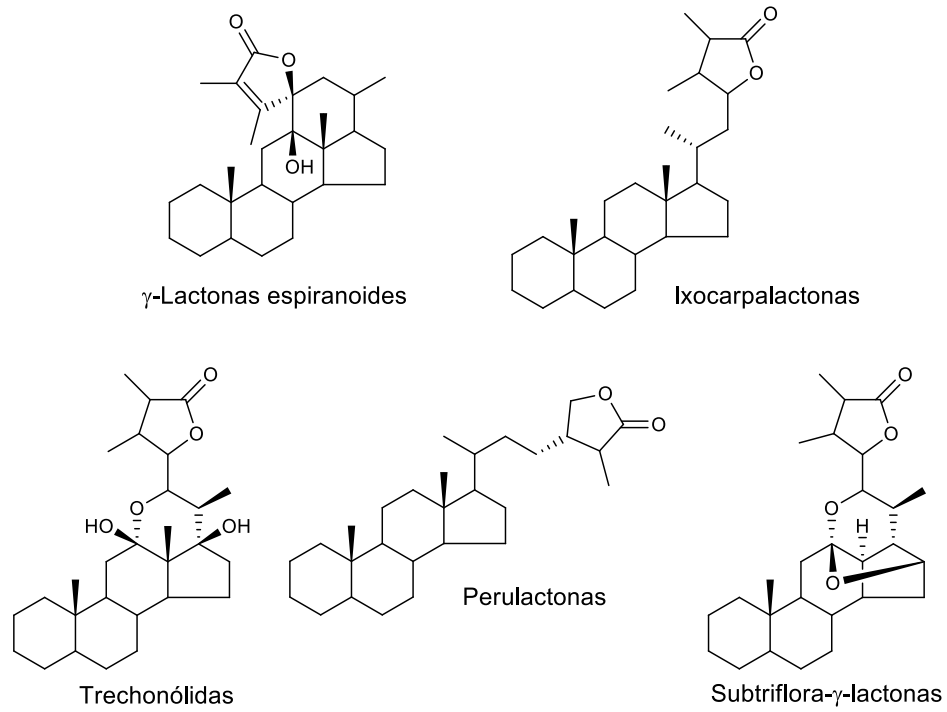


Figura 11. Estructuras generales de los withaesteroides tipo B.

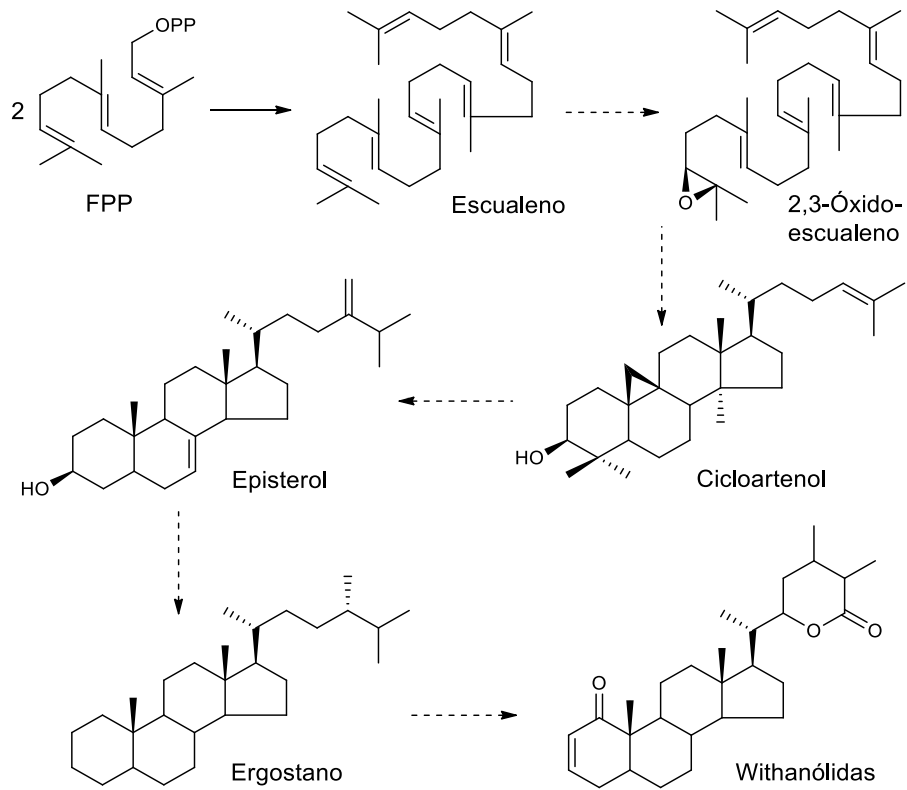


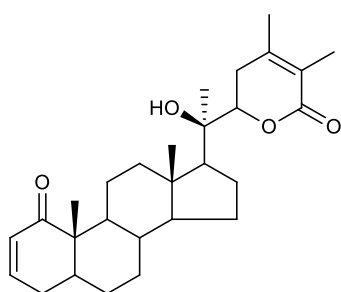
Figura 12. Esquema simplificado de la biosíntesis de withanólidas.

Los withaesteroides son uno de los grupos de compuestos con una mayor variedad de actividades biológicas descritas en la literatura. Entre ellas destacan sus efectos diuréticos (Chopra *et al.*, 1956), diasuasores de la alimentación en insectos (Mareggiani *et al.*, 2000), citotóxicos (Shohat *et al.*, 1967), abortivos (Mohana *et al.*, 1979), inmunomoduladores (Baehr *et al.*, 1982), antiinflamatorios (Syrov *et al.*, 1989), antimicrobianos (Qureshi *et al.*, 1996), quimiopreventivos frente al cáncer (Kennelly *et al.*, 1997) e inductores de la diferenciación celular (Kuroyanagi *et al.*, 1999). A continuación se presentan algunos ejemplos de estudios de actividad biológica en los que withanólidas mostraron actividades relevantes (Fig. 13).

En un estudio del extracto metanólico de raíces de *Withania somnifera* se observó que la withanólida A, entre otros, en concentración 1 μM , incrementó significativamente el crecimiento en una línea celular de neuroblastoma humano (SH-SY5Y) (Zhao *et al.*, 2002). Esto se traduce en la reconstrucción de redes neuronales, lo que podría aplicarse en el desarrollo de fármacos para prevenir, tratar y curar enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer o el Parkinson.

En un estudio publicado en 2010 se demostró que la withanólida D, aislada de *Withania somnifera*, induce la apoptosis en células mieloides (K562) y linfoides (MOLT-4) (Mondal *et al.*). Esto muestra que dicho compuesto podría emplearse como agente quimioterapéutico contra la leucemia. De igual forma, se evaluó la actividad antiproliferativa de 31 withanólidas aisladas de solanáceas contra líneas celulares de leucemia/linfoma de células T del humano adulto (ATL). La 24,25-dihidrowithanólida D resultó el inhibidor más potente, induciendo la apoptosis (Nakano *et al.*, 2013). La presencia del grupo 4 β -hidroxi, así como del epóxido 5 β ,6 β parecen ser esenciales para dicha actividad.

Como resultado del estudio de partes aéreas de *Withania coagulans* se observó que el extracto metanólico posee una actividad leishmanicida importante. Asimismo, se encontró que las withanólidas G y J aparentan ser las responsables de dicha actividad, pues mostraron valores de Cl_{50} inferiores o iguales a 5.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Kuroyanagi *et al.*, 2012).



Withanólidas

A: 5 α -OH, 6 α ,7 α -epoxi

D: 4 β -OH, 5 β ,6 β -epoxi

G: $\Delta^{5,6}$, 14 α -OH, 27-OH

J: $\Delta^{5,6}$, 14 α -OH, 17 α -OH

Figura 13. Withanólidas con actividades biológicas notables.

II. 4. Estudios químicos y farmacológicos de especies de *Physalis* de la sección *Epeteiorhiza*

El género *Physalis* se divide en cuatro subgéneros. *Rydbergis* es un subgénero que comprende nueve secciones, entre ellas *Epeteiorhiza*. Las especies agrupadas en esta sección son *P. angustiphysa*, *P. cordata*, *P. grisea*, *P. ignota*, *P. latiphysa*, *P. leptophylla*, *P. minuta*, *P. missouriensis*, *P. neomexicana*, *P. nicandroides*, *P. patula*, *P. porrecta*, *P. pruinosa* y *P. pubescens* (Martínez, 1998). A la fecha se han publicado estudios químicos y farmacológicos de seis de las especies de esta sección. Enseguida se resumen los resultados de estas investigaciones:

A. *Physalis cordata*

Se publicó la evaluación de la actividad citotóxica y citostática de extractos de diversas especies vegetales sobre líneas celulares tumorales (Taylor *et al.*, 2013). El extracto de partes aéreas de *P. cordata* mostró una actividad importante contra cuatro líneas, entre ellas PC-3 (cáncer de próstata en humanos) y MCF7 (cáncer de mama en humanos), con valores de inhibición media del crecimiento (IC₅₀) y de concentración letal (LC₅₀) inferiores a 50 µg.mL⁻¹.

B. *Physalis neomexicana*

Se publicó el estudio químico de partes aéreas de *P. neomexicana* (Cao *et al.*, 2015). Se trabajó la fracción de acetato de etilo obtenida del extracto de diclorometano-metanol. Esto condujo al aislamiento de cuatro nuevas withanólidas (withaneomexólidas A-D) y de tres ésteres de sacarosa: la ya reportada nicandrosa D y las nuevas nicandrosas E y F. Cabe aclarar que el nombre de nicandrosa E se asignó previamente a otro éster de sacarosa aislado de *P. nicandroides* var. *attenuata*. (Maldonado *et al.*, 2006). Se aisló además un labdano ya conocido, la 12-*O*-acetilphysacoztomatina (Fig. 14).

Se evaluó la citotoxicidad de las withanólidas y de los ésteres de sacarosa contra líneas celulares humanas de cáncer de mama (MDA-MB-231 y MCF-7). La withaneomexólida B resultó activa, con valores de IC₅₀ de 1.7 y 6.3 µM, respectivamente.

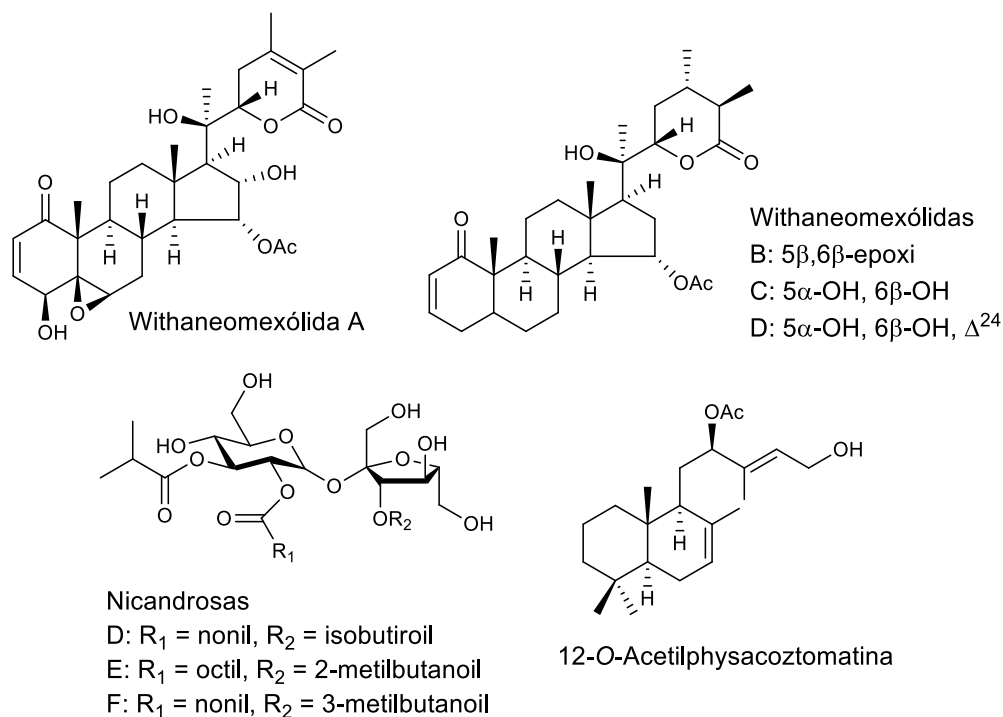


Figura 14. Metabolitos aislados de *Physalis neomexicana*.

C. *Physalis nicandroides*

Se publicó el aislamiento de las nicandrosas B y E, además de seis diterpenos de tipo labdano a partir de partes aéreas de esta especie de *Physalis* (Maldonado *et al.*, 2015). Dos de estos diterpenos, el (-)-(13*E*)-labd-13-en-8 α ,15-diol y el (+)-(Z)-labda-8(17),13-dien-15,16-diol ya eran conocidos, mientras que el physanicantriol, el physanicandiol y sus respectivos epímeros en C-14 fueron aislados por primera vez. Su configuración absoluta fue determinada mediante correlación química y difracción de rayos X del derivado dibromado del (-)-(13*E*)-labd-13-en-8 α ,15-diol (Fig. 15).

Se evaluó la actividad antiinflamatoria de los compuestos ya conocidos. Éstos demostraron inhibir en 64.32 % y 41.35 %, respectivamente, el edema inducido en oreja de ratón en dosis de 1 mol por oreja. La CI₅₀ determinada para el primer compuesto (0.67 μ mol por oreja) es el doble que la registrada para el compuesto control (indometacina, CI₅₀ 0.297 μ mol por oreja).

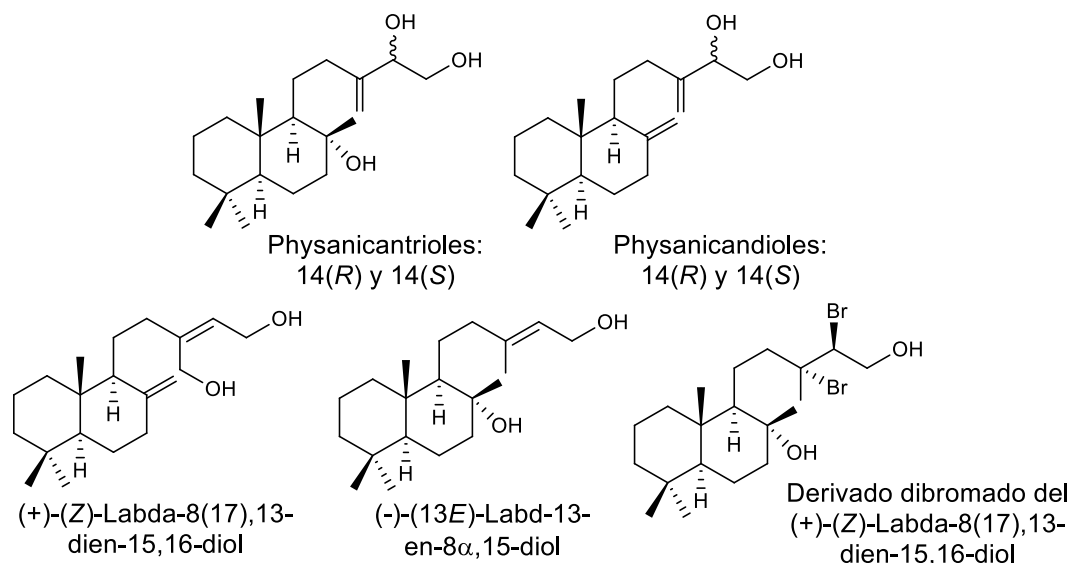


Figura 15. Diterpenos aislados de *Physalis nicandroides*.

D. *Physalis nicandroides* var. *attenuata*

Se analizaron por separado los frutos y el resto de las partes aéreas de la planta (hojas, ramas y flores). De los frutos se obtuvieron cinco ésteres de sacarosa que fueron llamados nicandrosas A-E, además de un flavonoide y una benzoilpiranosas (Maldonado *et al.*, 2006; Torres, 2006) (Fig. 16). De las partes aéreas se obtuvieron compuestos de tipo labdano así como withaesteroides, un fitoesterol y un flavonoide (Torres, 2006) (Fig. 17).

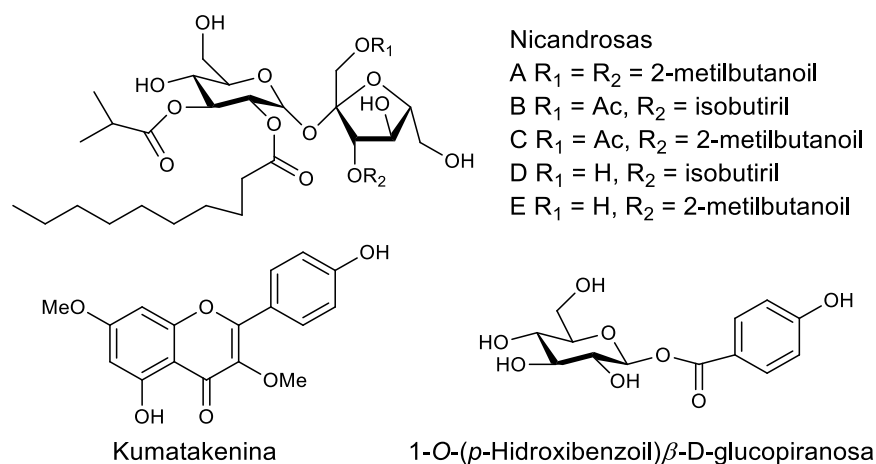


Figura 16. Metabolitos aislados de frutos de *Physalis nicandroides* var. *attenuata*.

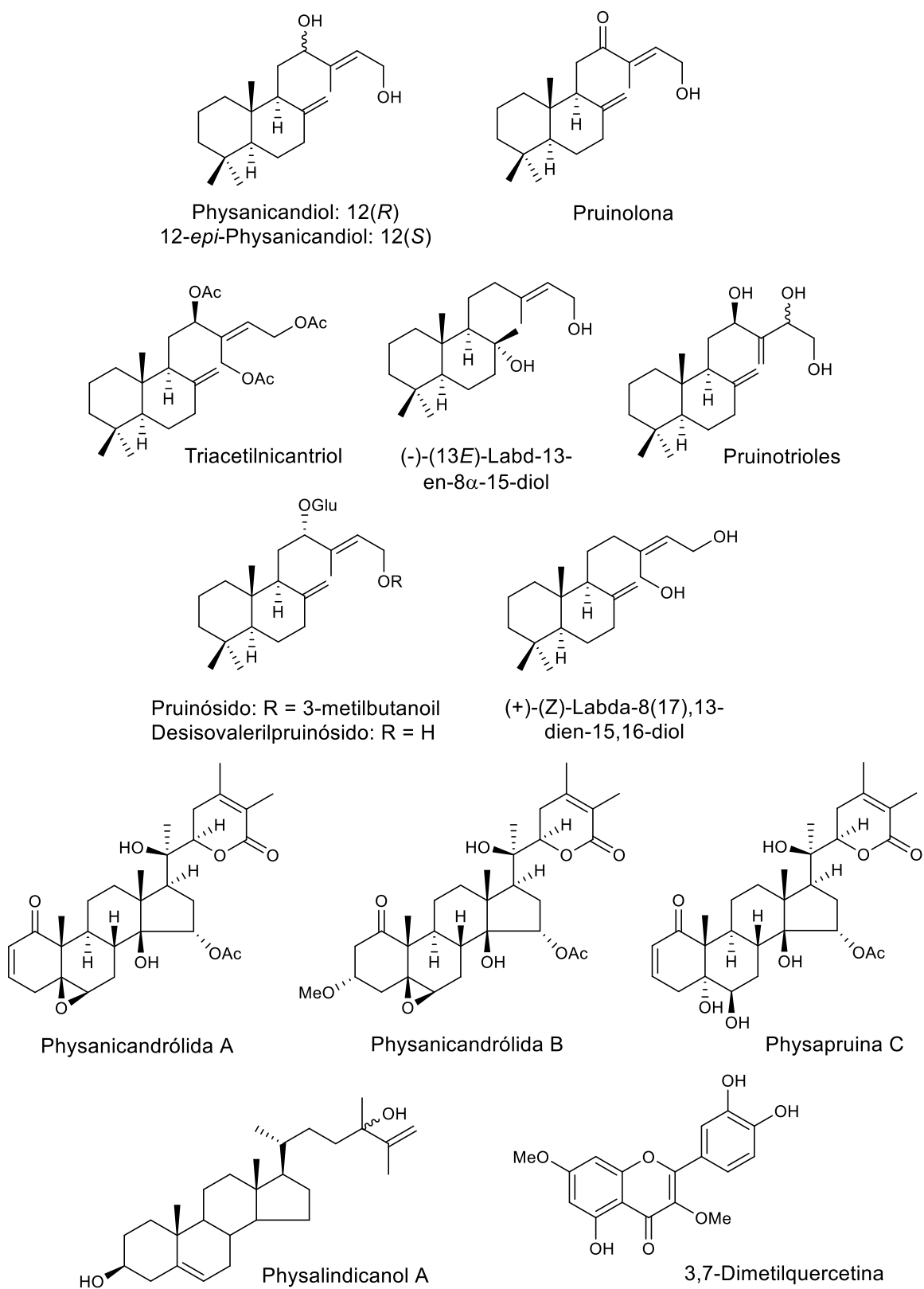


Figura 17. Metabolitos aislados de partes aéreas de *Physalis nicandroides* var. *attenuata*.

E. *Physalis pruinosa*

Del extracto metanólico de partes aéreas de *P. pruinosa* se aislaron dos nuevas withanólidas, las physapruinas A y B, junto con las ya conocidas withanólida E y 4β-hidroxiwithanólida E (Fig. 18). La physapruina B se aisló luego de acetilar y constituye un artefacto producido durante el proceso de aislamiento, en el que se empleó butanol (Shingu *et al.*, 1993).

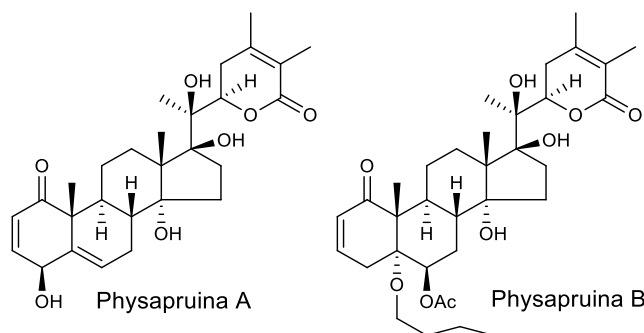


Figura 18. Withanólidas aisladas de *Physalis pruinosa* (1993).

Se evaluó el efecto bactericida de extractos orgánicos y acuosos de cálices, frutos, hojas, ramas y flores de *P. pruinosa* sobre cepas clínicas de *Staphylococcus*. Todas las partes de la planta presentaron dicha actividad, siendo los extractos de acetato de etilo obtenidos de la resina de frutos y de hojas, ramas y flores, aquellos donde ésta es más importante (Fiallega, 2004). El análisis del extracto hexánico de hojas, ramas y flores de *P. pruinosa* llevó al aislamiento de seis diterpenos de tipo labdano, así como de una withanólida, la physapruina C (Arredondo, 2006) (Fig. 19).

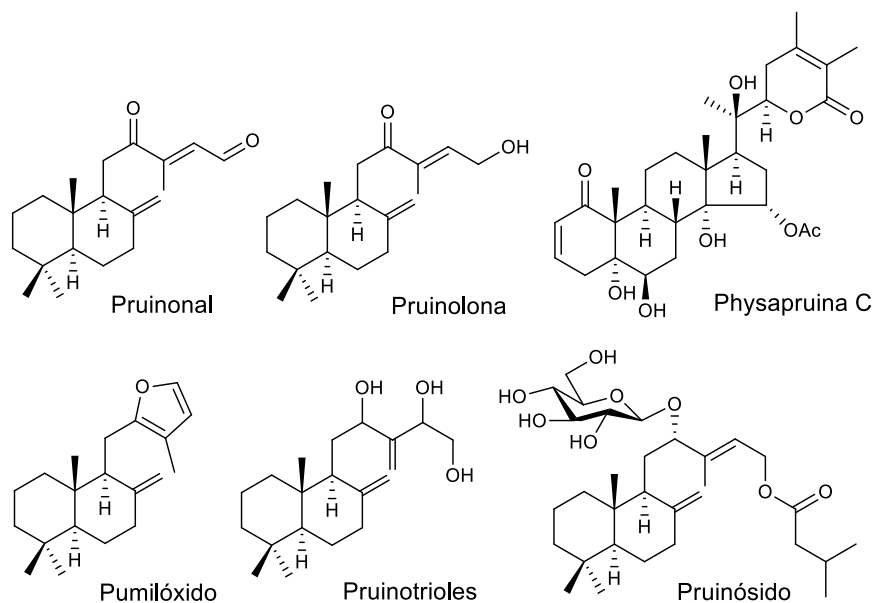


Figura 19. Metabolitos aislados de *Physalis pruinosa* (2006).

En un estudio publicado en 2011 (Nakano *et al.*), se evaluó la actividad antiproliferativa de un extracto de hojas de *P. pruinosa* contra células T infectadas por el virus HTLV-1. Éste último provoca la leucemia/linfoma de células T del humano adulto (ATL). A partir del extracto metanólico se realizó un fraccionamiento guiado por la actividad antiproliferativa. Se aislaron cinco compuestos de tipo withaesteroide (Fig. 20), siendo la 4 β -hidroxiwithanólida E (4 β HWE) la que mostró actividad citotóxica contra las líneas celulares consideradas. Este estudio mostró, además, que la presencia de la función 5 β ,6 β -epoxi es esencial para dicha actividad.

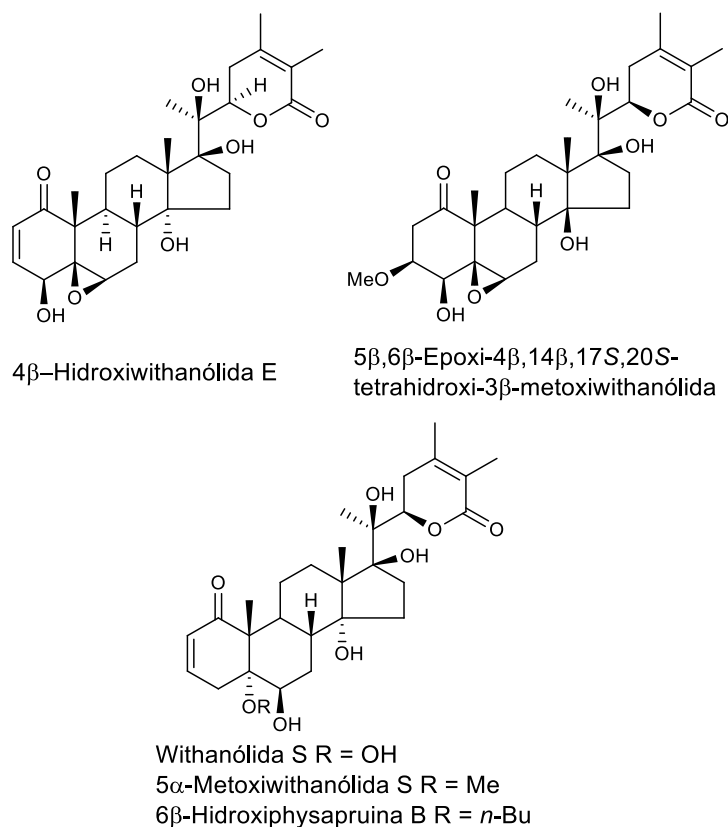


Figura 20. Withanólidas aisladas de *Physalis pruinosa* (2011).

En un estudio posterior se aisló la 4 β -HWE del extracto metanólico de cálices de *P. pruinosa* y se evaluó su actividad antiinflamatoria en células adiposas de ratones diabéticos (Takimoto *et al.*, 2014). Se observó que dicho compuesto inhibe la activación de señalización del factor nuclear NF- κ B en los adipocitos. Además, como consecuencia, se inhibe la acumulación de macrófagos en el tejido adiposo obeso, lo que mejora la tolerancia a la glucosa. La 4 β HWE se muestra como un atenuante del progreso de la diabetes y la obesidad.

F. *Physalis pubescens*

En 1985 se reportó el aislamiento de dos withaesteroides a partir de un extracto de hojas de *P. pubescens* y se les llamó physapubenólida y pubescenina (Glotter *et al.*). En un estudio posterior se aislaron tres nuevas withanólidas (physapubescinas B-D), junto con la ya conocida physapubescina A, a partir de un extracto de diclorometano de frutos de esta especie (Ji *et al.*, 2013) (Fig. 21). Se evaluó además la capacidad de dichos compuestos para inducir la actividad de la quinona reductasa en cultivos celulares derivados de hepatocarcinoma de ratón (Kennelly *et al.*, 1997). Las physapubescinas A y B presentaron una actividad importante que se atribuyó a la presencia de una cetona α,β -insaturada en el anillo A.

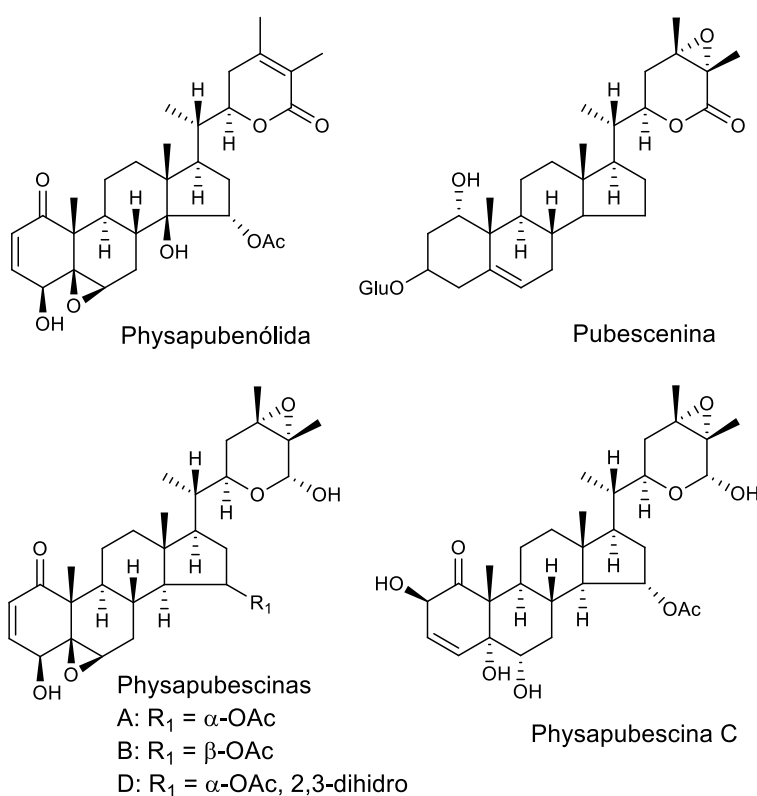


Figura 21. Metabolitos aislados de *Physalis pubescens*.

II. 5. Especie *Physalis patula*

La especie objeto de esta investigación es *Physalis patula* (Miller, 1768), una planta herbácea endémica mexicana que forma parte de la sección *Epeteiorhiza* del subgénero *Rydbergis*. Posee un tallo ramificado y sus hojas son alternas, angostas y agudamente dentadas. Llega a crecer hasta 1.5 m de altura. Sus flores son de color amarillo claro y generalmente carecen de manchas; cuando llega a presentarlas, éstas son de color naranja pálido y muy rara vez de color azul o morado. Sus frutos son bayas esféricas y carnosas, envueltas por un cáliz globoso cubierto de pelillos. Es una planta anual que florece de julio a diciembre y que emite un fuerte olor (Nee, 1986).

Los nombres *Physalis foetens* (Poiret, 1812) y *Physalis subulata* (Rydberg, 1895) han sido considerados como sinónimos de esta especie (Rzedowski y Rzedowski, 2001). Esta especie es conocida comúnmente por nombres como tomatillo, jaltomate, juscotomate, camateras, coatomate, tomatillo pegajoso, hierba del zopilote o jaltomate hediondo (Martínez, 1979; Martínez, 1998).

Se tiene registro de especímenes de *P. patula* en Chihuahua, Sinaloa, Durango, Aguascalientes, Jalisco, Guanajuato, Hidalgo, Querétaro, San Luis Potosí, Estado de México, Distrito Federal, Puebla, Tlaxcala, Guerrero, Oaxaca y Veracruz (Waterfall, 1967; Villaseñor y Espinosa, 1998).

En México, las hojas de *P. patula* se utilizan para limpias. También, se machacan con manteca y bicarbonato de sodio y se aplican para bajar la fiebre. Además, se emplean preparadas en infusiones para abrir el apetito y para tratar padecimientos renales (Santiaguillo y Blas, 2009; Heredia, 2011).



III. OBJETIVO

Este trabajo tiene como objetivo contribuir a la generación de conocimiento relativo a la química del género *Physalis*, a través del estudio de las partes aéreas de *Physalis patula* Miller. Para esto se buscó aislar el mayor número posible de metabolitos secundarios presentes en los extractos de la planta, así como determinar la estructura de los compuestos mediante la interpretación de sus datos espectroscópicos y espectrométricos.



IV. DESARROLLO EXPERIMENTAL

IV. 1. Material y equipo

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato de Fisher-Johns y no fueron corregidos. Las cromatografías en columna (CC) se realizaron con sílica gel 60 (Merck G) como fase estacionaria. Para las columnas flash se empleó sílica gel 230-400 mech (Macherey-Nagel) y para las cromatografías por exclusión de tamaño se empleó Sephadex LH-20 (25-100 μm).

Las cromatografías en capa fina (CCF) se realizaron sobre cromatofolios Macherey-Nagel Alugram SIL G/UV₂₅₄ de 0.20 mm de grosor (fase normal) y Alugram RP-18W/UV₂₅₄ de 0.15 mm de grosor (fase reversa). Las cromatografías en placa preparativa se realizaron sobre placas SIL G/UV₂₅₄ de 1.0 mm y 2.0 mm de grosor (fase normal) y SIL RP-18W/UV₂₅₄ de 1.0 mm de grosor (fase reversa). Como revelador se empleó una disolución de sulfato de cerio (IV) al 3 % en ácido sulfúrico 2 N, así como una lámpara de luz ultravioleta Spectroline CX-20 a 254 y 366 nm.

Los espectros de RMN se obtuvieron en espectrómetros Jeol Eclipse (¹H a 300 MHz; ¹³C a 75 MHz), Bruker Avance III (¹H a 300 MHz y 400 MHz; ¹³C a 75 MHz y 100 MHz) y en un Varian Inova (¹H a 500 MHz; ¹³C a 125 MHz). Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en ppm con tetrametilsilano como referencia interna. Los espectros de IR se obtuvieron en un espectrofotómetro Bruker Tensor 27. La rotación óptica se determinó en un polarímetro Perkin Elmer 343. Los espectros de UV se obtuvieron en un espectrofotómetro Shimadzu UV160U. Los espectros de dicroísmo circular se obtuvieron en un espectropolarímetro Jasco J720. Los espectros de EM-DART se obtuvieron en un equipo JEOL AccuTOF JMS-T100LC; los espectros de EM-IE y EM-FAB fueron obtenidos en equipos JEOL JMS-AX505HA y JEOL MStation JMS-700; los espectros de EMAR-ESI se obtuvieron en un equipo Agilent 6500 QTOF 6530.

IV. 2. Material vegetal

El material vegetal de *Physalis patula* Miller empleado en este trabajo proviene del municipio de Teotihuacán, Estado de México. Fue recolectado el 5 de agosto de 2013 en el cerro Malinalco e identificado por la doctora Mahinda Martínez. Una muestra se depositó en el Herbario de la Universidad Autónoma de Querétaro (M. Martínez QMEX 00002868).



Figura 22. Fotografías de las partes aéreas de *Physalis patula*.

IV. 3. Extracción del material vegetal

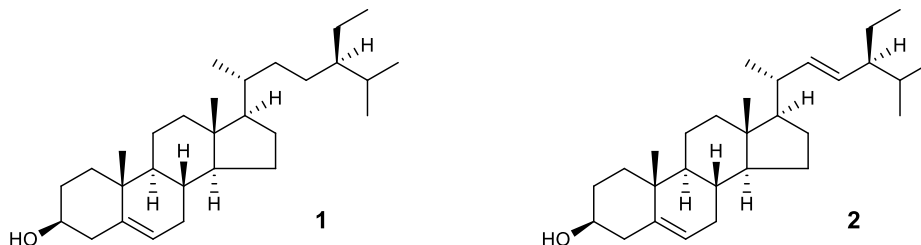
Se molieron 1.798 kg de partes aéreas de *Physalis patula* Miller en un molino de cuchillas. Se obtuvieron dos extractos por percolación: uno de acetona (112.93 g) y otro de metanol (163.25 g). Se reunieron ambos extractos con un litro de mezcla de metanol y agua 1:1 y se realizó una partición con 250 mL de hexano cuatro veces. Se concentró la fase hexánica, con lo que se obtuvieron 80.11 g de residuo. Se eliminó el metanol de la fase hidroalcohólica; la fase acuosa resultante se extrajo con acetato de etilo. Así, se obtuvieron dos fracciones: una de acetato de etilo (56.61 g) y una acuosa (84.96 g).

IV. 4. Aislamiento y purificación de compuestos

A. Fracción de hexano

La fracción de hexano se disolvió en acetona y se adsorbió en celita. Se dejó evaporar el disolvente y se colocó sobre una columna cromatográfica de sílica gel (columna A). Se eluyó con mezclas de hexano y acetato de etilo de polaridades crecientes. Se obtuvieron 192 fracciones de 500 mL cada una. El orden y la relación de disolventes fueron los siguientes: 1A-32A (100:0); 33A-49A (95:5); 50A-72A (90:10); 73A-107A (85:15); 108A-116A (80:20); 117A-132A (70:30); 133A-141A (60:40); 142A-160A (50:50); 161A-179A (40:60); 180A-191A (20:80); 192 (0:100). El progreso de la cromatografía en columna se monitoreó mediante cromatografía en capa fina de las fracciones y, con base en esto, se reunieron aquellas que mostraron un perfil similar.

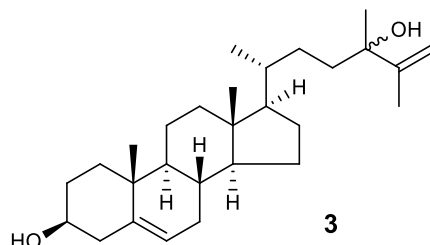
Las fracciones 35A a 54A se reunieron y con ellas se realizó una cromatografía en columna (columna B). Se eluyó con mezclas de hexano y acetato de etilo 100:1 (1B), 98:2 (2B-8B), 96:4 (9B-11B), 94:6 (12B-20B), 60:40 (21B) y acetona (22B). De las fracciones 12B-16B se obtuvieron 916.4 mg de la mezcla de β -sitosterol (**1**) y estigmasterol (**2**).



Las fracciones 17B-21B se reunieron con 55A-73A para ser sometidas a cromatografía en columna (columna C). Se eluyó con mezclas de hexano y acetato de etilo 100:0 (1C), 97:3 (2C-18C), 95:5 (19C-32C), 92.5:7.5 (33C-51C), 90:10 (52C-64C), 85:15 (65C-72C), 80:20 (73C-74C) y 0:100 (75C). Con las fracciones 36C-70C se realizó una cromatografía en columna (columna D). Se eluyó con mezclas de

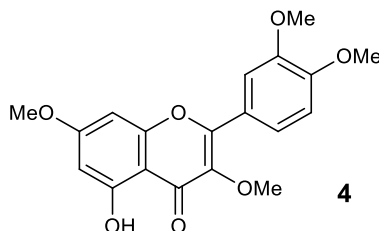
hexano y acetato de etilo 85:15 (1D-45D), 83:17 (46D-51D), 80:20 (52D-53D), 75:25 (54D-61D) y acetona (62D). De las fracciones 32D-45D se obtuvieron 8.7 mg del compuesto **3**.

Physalindicanol A (3): Cristales blancos; p.f. 193-195 °C (AcOEt-hexano), $[\alpha]_D^{20}$ -59.5° (c. 0.20, CHCl₃) [*lit.*: 198-200 °C, $[\alpha]_D^{20}$ -46.0° (c. 0.13, CHCl₃) (Sinha *et al.*, 1986)]; IR (CHCl₃): $\nu_{\text{máx}}$ 3606, 3010, 2942, 1642, 1463, 1376, 1235, 1039, 903 cm⁻¹; EM-EI, 70 eV: *m/z* (int. rel.) 414 [M]⁺ (0.11), 396 [M-H₂O]⁺ (4).



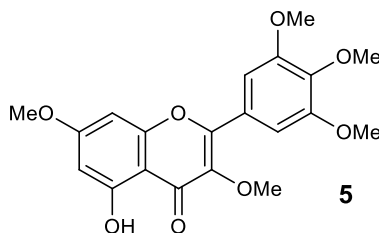
Con las aguas madres de **3** se realizó una cromatografía en columna (columna E). Se eluyó con una mezcla de cloroformo y acetona 98:2 (1E-24E) y con acetona (25E). De las fracciones 5E-8E se obtuvieron 6.8 mg del compuesto flavonoide **4**.

Retusina (4): Cristales amarillos; p.f. 156-158 °C (AcOEt-hexano), 165-166 °C (acetona-hexano) [*lit.*: 160-162 °C (AcOEt-hexano) (Arciniegas *et al.*, 2014)]; IR (CHCl₃): $\nu_{\text{máx}}$ 3538, 3004, 1654, 1600, 1515, 1500, 1460, 1441, 1199, 1163 cm⁻¹; EM-DART-TOF⁺: *m/z* 359 [M+H]⁺; RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): ver tabla 1; RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): ver tabla 1.



Con las fracciones 74A-76A se llevó a cabo una cromatografía en columna (columna F). Se eluyó con mezclas de hexano y acetato de etilo 85:15 (1F-18F), 80:20 (19F-27F), 75:25 (28F-31F) y 0:100 (32F). De las fracciones 6F-7F se obtuvieron 2.4 mg de compuesto **5**.

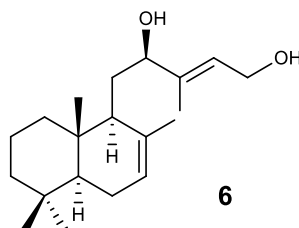
Combretol (5): Cristales amarillos; p.f. 138 °C (AcOEt-hexano) [*lit.*: 146-147 °C (Dachriyanus *et al.*, 2003)]; EM-EI, 70 eV: *m/z* (int. rel.) 388 [M]⁺ (7); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): ver tabla 1; RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): ver tabla 1.



De las fracciones 8F-13F se obtuvieron 24.8 mg de un compuesto con punto de fusión 134-136 °C. Se comparó por cromatografía en capa fina contra el compuesto **4** y presentaron el mismo factor de retención.

Con las fracciones 77A-121A se llevó a cabo una cromatografía en columna (columna G) que se eluyó con una mezcla de hexano y acetato de etilo 70:30 (1G-13G) y con acetona (14G). Con la fracción 12G se realizó una nueva cromatografía en columna (columna H), eluyendo con mezclas de benceno y acetato de etilo 85:15 (1H-44H), 80:20 (45H-60H), 75:25 (61H-63H), con acetona (64H) y metanol (65H). De las fracciones 9H-12H se aislaron 111.5 mg de **6** y de las fracciones 3H-7H se obtuvieron 1.5081 g más de este compuesto.

Physacoztomatina (6): Cristales blancos; p.f. 93-94 °C (AcOEt-hexano), $[\alpha]_D^{20} +18.1^\circ$ (c. 0.31, MeOH) [*lit.*: 98-101 °C, $[\alpha]_D^{20} +19.6^\circ$ (c. 0.24, MeOH) (Pérez-Castorena *et al.*, 2010)]; IR (CHCl₃): $\nu_{\text{máx}}$ 3611, 1711, 1667, 1455, 1385, 1365, 1235, 1044, 966 cm⁻¹; EM-DART-TOF⁺: m/z 306 [M]⁺, 289 [M-OH]⁺; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): ver tabla 3; RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): ver tabla 3.

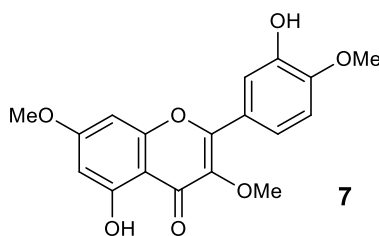


B. Fracción de acetato de etilo

La fracción de acetato de etilo se disolvió en acetona y se adsorbió en celita. Se dejó evaporar el disolvente y se colocó sobre una columna cromatográfica de sílica gel (columna J; $\varnothing = 12,5$ cm, $h = 10,5$ cm). Se eluyó con mezclas de hexano y acetato de etilo de polaridades crecientes. Se obtuvieron 120 fracciones de 500 mL cada una. El orden y la relación de disolventes fueron los siguientes: 1J-2J (100:0), 3J-10J (90:10), 11J-15J (80:20), 16J-33J (70:30), 34J-45J (60:40), 46J-57J (50:50), 58J-95J (40:60), 96J-102J (30:70), 103J-110J (20:80), 111J-116J (0:100), 117J-118J (Me_2CO) y 119J-120J (MeOH). Se reunieron aquellas fracciones que mostraron un perfil similar en cromatografía en capa fina.

De las fracciones 18J-24J se obtuvieron 80.7 mg del flavonoide **4**. Las fracciones 25J-31J se purificaron por cromatografía en columna (columna K). Se eluyó con mezclas de hexano y acetona 85:15 (1K-26K), 80:20 (27K-30K), 70:30 (31K-34K) y acetona (35K). De las fracciones 2K-5K se obtuvieron 26.3 de **4**, además de 574.6 mg de **6**. De las fracciones 15K-25K se obtuvieron 52.4 mg del compuesto flavonoide **7**.

Ayanina (7): Cristales amarillos; p.f. 177-178 °C (AcOEt-hexano) [*lit.*: 172-174 °C (Wang *et al.*, 1989)]; EM-EI, 70 eV: m/z (int. rel.) 344 $[\text{M}]^+$ (100); RMN ^1H (300 MHz, DMSO-d_6): ver tabla 1; RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6): ver tabla 1.



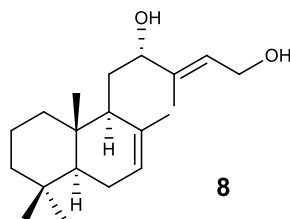
Las fracciones 26K-35K se reunieron con las fracciones 32A-46A para separar sus componentes por cromatografía en columna (columna L). Se eluyó con mezclas de hexano y acetona 87.5:12.5 (1L-12L), 85:15 (13L-16L), 80:20 (17L-18L), 75:25 (19L-38L), 70:30 (39L-44L) y acetona (45L). Con las fracciones 7L-12L se realizó una nueva columna cromatográfica (columna M) que se eluyó con una mezcla de hexano y acetato de etilo 80:20 (1M-30M) y con acetona (31M). De las fracciones 3M-6M se obtuvieron 9.8 mg de **4** y de las fracciones 11M-19M se obtuvieron 150.7 mg de **6**.

Las fracciones 20M-31M se reunieron con 13L-19L y se separaron sus componentes por cromatografía en columna (columna N). Se emplearon mezclas de hexano y acetato de etilo 80:20 (1N-51N), 70:30 (52N-54N) y acetona (55N) para eluir. De las fracciones 7N-10N se obtuvieron 13.1 mg de **7**.

Con las fracciones 23N-32N se realizó CC (columna O). Se eluyó con mezclas de hexano y acetato de etilo 70:30 (10-65O), 65:35 (66O-74O), acetona (75O) y metanol (76O). De las fracciones 32O-41O, así como de las fracciones 11N-22N se obtuvieron 620.6 mg de **6**. Los componentes de las fracciones 42O-73O se separaron por cromatografía en columna (columna P). Se eluyó con una mezcla de cloroformo y

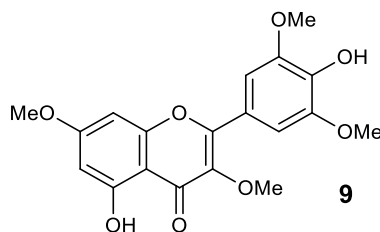
acetato de etilo 80:20 (1P-24P). De las fracciones 17P-23P se obtuvieron 81.0 mg de un compuesto terpenoide (**8**).

12-*epi*-Physacoztomatina (8): aceite incoloro; $[\alpha]_D^{20}$ -18.5° (c. 0.20, MeOH), -20.9° (c. 0.23, CHCl₃); IR (CHCl₃): $\nu_{\text{máx}}$ 3609, 2928, 2868, 2850, 1667, 1602, 1459, 1387, 995 cm⁻¹; EM-ESI: m/z (int. rel.) 288 [M-H₂O]⁺ (10), 270 [M-2H₂O]⁺ (8); RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): ver tabla 3; RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): ver tabla 3.



Con las fracciones 20L-29L se llevó a cabo una CC (columna Q). Se eluyó con una mezcla de hexano y acetato de etilo 70:30 (1Q-9Q) y con acetona (10Q). De la fracción 4Q se obtuvieron 35.6 mg del compuesto flavonoide **9**.

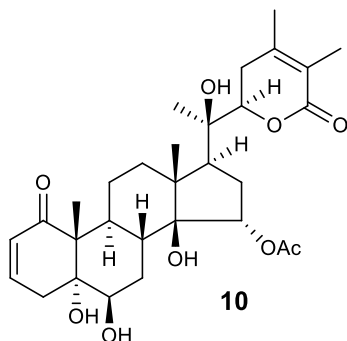
5,4'-Dihidroxi-3,7,3',5'-tetrametoxiflavona (9): Cristales amarillos; p.f. 190-191 °C (AcOEt-hexano) [*lit.*: 205 °C (benceno) (Ariyanathan *et al.*, 2010)]; EM-EI, 70 eV: m/z (int. rel.) 374 [M]⁺ (100); RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): ver tabla 1; RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): ver tabla 1.



Las fracciones 47A-55A se reunieron y sus componentes se separaron mediante CC (columna R). Se eluyó con mezclas de hexano y acetona 85:15 (1R-8R), 82.5:17.5 (9R-20R), 80:20 (21R-24R), 75:25 (25R-30R), 70:30 (31R-39R), 65:35 (40R-73R), 60:40 (74R-78R), 55:45 (79R-91R), 50:50 (92R-94R), 40:60 (95R-101R) y acetona (102R). Las fracciones 82R-90R se sometieron nuevamente a CC. De las fracciones 3S-5S se obtuvieron 48.9 mg del compuesto **10**.

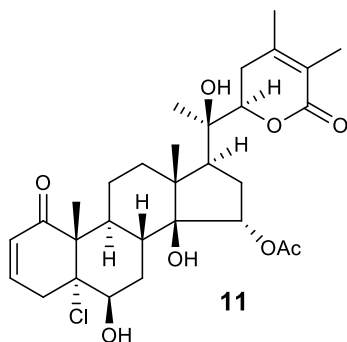
Las aguas madres de **10** se reunieron con 73R-81R y se sometieron a CC (columna T), eluyendo con una mezcla de hexano y acetato de etilo 70:30. De las fracciones 9T-13T se obtuvieron 39.5 mg del compuesto **10**. Las fracciones 6S-9S se reunieron con 91R-101R y 86J-100J. Con ellas se realizó CC (columna U). Se eluyó con mezclas de hexano y acetona 65:35 (1U-2U), 60:40 (22U-28U), 50:50 (29U-30U) y acetona con metanol (31U). De las fracciones 5U-12U se obtuvieron 352.7 mg de **10**.

Withaneomexólida D (10): Cristales blancos; p.f. 293-295 °C (AcOEt-hexano), $[\alpha]_D^{20} +69.0^\circ$ (c. 0.20, CHCl₃) [*lit.*: $[\alpha]_D^{20} -15.0^\circ$ (c. 0.01, CHCl₃) (Cao *et al.*, 2015)]; IR (CHCl₃): $\nu_{\text{máx}}$ 3602, 3583, 3434, 1721, 1705, 1687, 1381, 1120, 1019, 957 cm⁻¹; UV $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH): 224.5 nm (log ϵ 4.20); CD (c. 3.52x10⁻⁵, MeOH) nm: $\Delta\epsilon_{203} +15.69$, $\Delta\epsilon_{237} -3.31$, $\Delta\epsilon_{257} +3.30$, $\Delta\epsilon_{335} -1.66$; EMAR-FAB⁺: m/z 547.2913 [M+H]⁺ (calculado para C₃₀H₄₃O₉ [M+H]⁺, 547.2901); RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): ver tabla 7; RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): ver tabla 6.



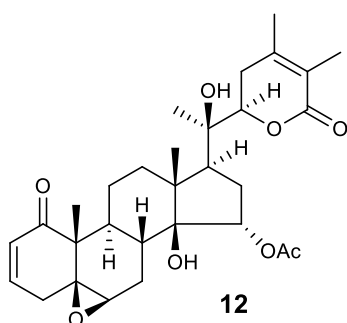
Las fracciones 56J-85J y 141A-167A se reunieron y fueron sometidas a CC (columna V). Se eluyó con una mezcla de cloroformo y metanol 98:2 (1V-52V), con acetona (53V) y metanol (54V). Con las fracciones 2V-12V se realizó una nueva columna (W), que se eluyó con mezclas de hexano y acetato de etilo 60:40 (1W-19W), 65:45 (20W-38W), con acetona (39W) y metanol (40W). Las fracciones 20W-39W se reunieron y sus componentes se separaron por CC (columna X). Se eluyó con mezclas de cloroformo y acetona 88:12 (1X-34X), 85:15 (35X-34X), 80:20 (44X-60X), 75:25 (61X-67X), acetona (68X) y metanol (69X). De las fracciones 34X-56X se obtuvieron 438.9 mg del compuesto **11**.

Physapruina C (11): Cristales blancos; p.f. 208-210 °C (AcOEt-hexano), 194-196 °C (Me₂CO-hexano), $[\alpha]_D^{20} +74.4^\circ$ (c. 0.18, CHCl₃) [*lit.*: 216-218 °C, 197-200 °C, $[\alpha]_D^{20} +67.7^\circ$ (c. 0.22, CHCl₃) (Torres, 2006)]; IR (CHCl₃): $\nu_{\text{máx}}$ 3581, 3433, 2949, 1709, 1380, 1121, 1025, 944 cm⁻¹; UV $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH): 225 nm (log ϵ 4.24); CD (c. 2.48x10⁻⁵, MeOH) nm: $\Delta\epsilon_{203} +17.07$, $\Delta\epsilon_{234} -2.36$, $\Delta\epsilon_{253} +4.77$, $\Delta\epsilon_{334} -1.88$; EMAR-ESI: m/z 587.2414 [M+Na]⁺ (calculado para C₃₀H₄₁ClO₈Na [M+Na]⁺, 587.2382); RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): ver tabla 7; RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): ver tabla 6.



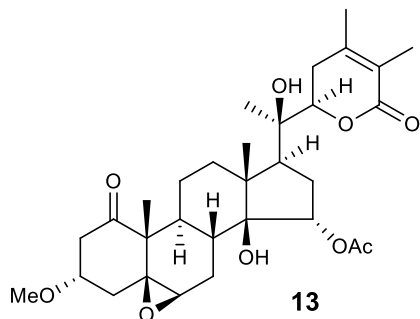
Los componentes de las fracciones 11X-22X se purificaron por CC (columna Y). Se eluyó con mezclas de hexano y acetona 90:10 (1Y-17Y), 87.5:12.5 (18Y-34Y) y acetona (35Y). Las fracciones 7R3-20Y y 3X-10X se reunieron para realizar una nueva columna (Z), que se eluyó con una mezcla de hexano y acetato de etilo 55:45 (1Z-24Z) y con acetona y metanol (25Z). De las fracciones 8Z-14Z se obtuvieron 64.6 mg de un compuesto (**12**) con punto de fusión 167-168 °C.

Physanicandrólida A (12): Cristales blancos; p.f. 167-168 °C (Me₂CO-hexano), $[\alpha]_D^{20} +53.2^\circ$ (c. 0.19, CHCl₃) [*lit.*: 159-161 °C, $[\alpha]_D^{20} +58.5^\circ$ (c. 0.13, CHCl₃) (Torres, 2006)]; IR (CHCl₃): $\nu_{\text{máx}}$ 3581, 3437, 2950, 2926, 1708, 1670, 1378, 1122, 1027, 975 cm⁻¹; UV $\lambda_{\text{máx}}$ (MeOH): 223 nm (log ϵ 4.20); CD (c. 3.18x10⁻⁵, MeOH) nm: $\Delta\epsilon_{207} +8.81$, $\Delta\epsilon_{237} -0.25$, $\Delta\epsilon_{254} +3.60$, $\Delta\epsilon_{347} +1.05$; EMAR-ESI: m/z 551.2624 [M+Na]⁺ (calculado para C₃₀H₄₀O₈Na [M+Na]⁺, 551.2619); RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): ver tabla 7; RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): ver tabla 6.



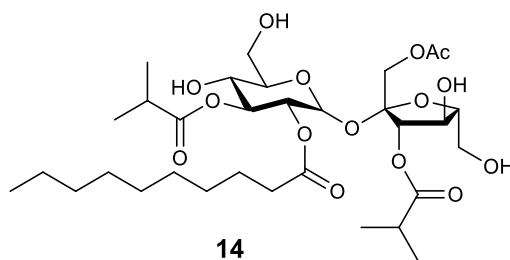
Las aguas madres del compuesto **11** así como las fracciones menos polares de las columnas V a Z se sometieron a una serie de cromatografías en columna para obtener dicho compuesto puro. Se emplearon mezclas de cloroformo y acetona de polaridades crecientes como eluyentes. Así, se obtuvieron 390.9 mg de compuesto. Además, entre la mezcla fraccionada se aislaron 3.2 mg del compuesto **13**.

Physanicandrólida B (13): aceite incoloro; IR (película) $\nu_{\text{máx}}$: 3409, 3011, 2977, 2939, 1710, 1378, 1239, 1122, 1028, 957, 756 cm⁻¹; EMAR-ESI: m/z 583.2855 [M+Na]⁺ (calculado para C₃₁H₄₄O₉Na [M+Na]⁺, 583.2849); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): ver tabla 6.



Los componentes de las fracciones 53V-54V se separaron empleando una columna de Sephadex LH-20 (columna A') eluida con metanol. Con las fracciones 1A'-4A' se llevó a cabo una nueva separación por medio de CC (B'), utilizando una mezcla de benceno y acetato de etilo 60:40 como eluyente. De las fracciones 16B'-27B' se aisló el éster de sacarosa **14**.

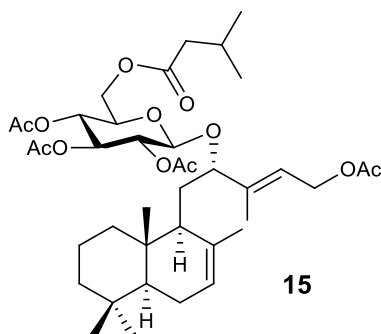
Nicandrosa B (14): aceite amarillo; EMAR-ESI: m/z 701.3750 $[M+Na]^+$ (calculado para $C_{32}H_{54}O_{15}Na$ $[M+Na]^+$, 701.3744).



Las fracciones 101J-111J y 28B'-36B' se reunieron y se fraccionaron por CC (columna C') eluida con mezclas de benceno e isopropanol 93:7 (1C'-46C'), 90:10 (47C'-59C') y acetona y metanol (60C'). Las fracciones 40C'-60C' se reunieron y se fraccionaron mediante CC (columna D') eluyendo con mezclas de benceno y acetona 75:25 (1D'-17D'), 70:30 (18D'-33D'), 65:35 (34D'-45D') y acetona (46D'). Las fracciones 20D'-33D' contenían una mezcla compleja con un componente mayoritario. Con el fin de aislar este último se llevó a cabo una reacción de acetilación.

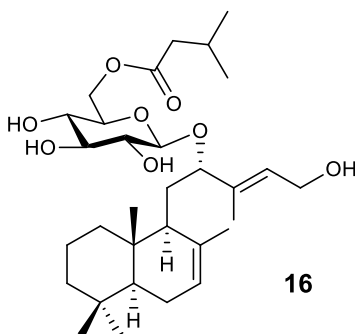
Se tomaron 39 mg de la mezcla de las fracciones 20D'-33D' y se disolvieron en 0.5 mL de piridina. Se agregaron 0.5 mL de anhídrido acético a la disolución. El curso de la reacción se siguió por cromatografía en capa fina. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación durante cerca de 20 horas. La reacción se detuvo agregando hielo. La fase acuosa se extrajo tres veces con 5 mL de acetato de etilo. La fase orgánica se lavó sucesivamente con HCl (5 %), agua, $NaHCO_3$ y agua. Se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. Se obtuvieron 57 mg de la mezcla acetilada que se sometió a CC eluida con una mezcla de hexano y acetato de etilo 80:20. De la fracción 15 se aislaron 4.3 mg del tetraacetato de un glucósido de diterpeno (**15**).

Tetraacetilpatulósido A (15): aceite incoloro; $[\alpha]_D^{20}$ -17.65° (c., $CHCl_3$); IR ($CDCl_3$): $\nu_{m\acute{a}x}$ 3682, 2963, 2928, 1755, 1738, 1458, 1442, 1370, 1165, 1047, 931 cm^{-1} ; EMAR-ESI: m/z 743.4033 $[M+Na]^+$ (calculado para $C_{39}H_{60}O_{12}Na$ $[M+Na]^+$, 743.4027); RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$): ver tabla 5. RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$): ver tabla 4.



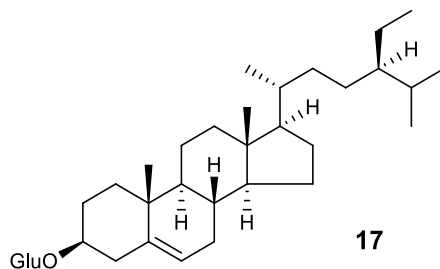
Se detectó (CFF) la presencia del compuesto **16** en las fracciones polares de la fracción de hexano (168A-190A). Éstas se sometieron a CC (columna E') que se eluyó con acetato de etilo (1E'-29E'), acetona (30E') y metanol (31E'-33E'). Las fracciones 7E'-12E' se sometieron a CC (columna F') eluida con mezclas de benceno y acetato de etilo 40:60 (1F'-12F'), 30:70 (13F'-39F'), acetona (40F') y metanol (41F'-43F'). Se reunieron las fracciones 20D'-33D', 13E'-16E' y 27F'-40F' y se sometieron a CC (columna G'). Se eluyó con una mezcla de benceno y acetato de etilo 20:80. Las fracciones 16G'-36G' se reunieron con 45D'-46D' y se sometieron a CC (columna H'). Se empleó una mezcla de benceno y metanol 90:10 como eluyente. Se tomaron 151.9 mg de la mezcla que contenía a **16** (frs. 1H'-3H') y se aplicaron sobre placas preparativas de fase reversa que se eluyeron tres veces con una mezcla de metanol y agua 65:45. Se obtuvieron 58.7 mg del compuesto **16**.

Patulósido A (16): aceite incoloro; $[\alpha]_D^{20} -50.0^\circ$ (c. 0.21, CHCl₃); IR (CDCl₃): $\nu_{\text{máx}}$ 3606, 3412, 2963, 2926, 1729, 1458, 1387, 1367, 1191, 1078, 1048, 918 cm⁻¹; EMAR-ESI: m/z 575.3524 [M+Na]⁺ (calculado para C₃₁H₅₂O₈Na [M+Na]⁺, 575.3523); RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): ver tabla 5; RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): ver tabla 4.



Las fracciones 16F'-42F', 10G'-15G' y 4H' se purificaron por CC (columna J') empleando mezclas de benceno y metanol 93:7 (1J'-20J'), 92:8 (21J'-41J') y metanol (42J'). De la fracción 24J' que contenía el compuesto **16**, se tomaron 79.3 mg y se realizó una segunda reacción de acetilación siguiendo el mismo tratamiento que la reacción anterior. Se obtuvieron 93.4 mg de derivados acetilados que se separaron por CC eluyendo con mezclas de acetato de etilo y hexano de polaridades crecientes. De las fracciones 13-26 se obtuvieron 37 mg del compuesto **16**.

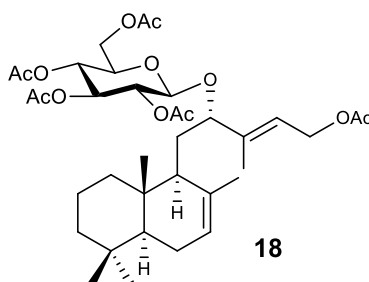
De las fracciones 7E'-30E' se obtuvieron por cristalización 189 mg de glucósido de β -sitosterol (**17**).



Las fracciones 112J-118J se reunieron y sus componentes se separaron por CC (columna K'). Se eluyó con una mezcla de hexano y acetato de etilo 20:80 a la que se agregaron porcentajes crecientes de acetona. Se obtuvieron 38 fracciones. Con las fracciones 12K'-21K' se realizó una columna (L') eluida con una mezcla de acetato de etilo y metanol 99:1. Se reunieron las fracciones 12K'-14K' con 7L'-15L' y se fraccionaron por CC (columna M') eluyendo con una mezcla de cloroformo y acetona 50:50.

En la fracción 20M' se detectó la presencia de un glucósido de diterpeno. Con el fin de aislarlo se obtuvo su derivado peracetilado (**18**). Se tomaron 42.5 mg de la mezcla y se realizó el mismo tratamiento que para la obtención de **15**. Se obtuvieron 56.1 mg de derivados que se sometieron a CC eluyendo con una mezcla de hexano y acetona 80:20. Se obtuvieron 33.2 mg de **18**.

Pentaacetilpatulósido B (18): aceite incoloro; $[\alpha]_D^{20}$ -22.78° (c. 0.18, CHCl_3); IR (CDCl_3): $\nu_{\text{máx}}$ 3693, 3606, 2928, 2869, 2852, 1754, 1602, 1457, 1369, 1242, 1041, 909 cm^{-1} ; EMAR-ESI: m/z 717.3484 $[\text{M}+\text{K}]^+$ (calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{O}_{12}\text{K}$ $[\text{M}+\text{K}]^+$, 717.3478); RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3): ver tabla 5; RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): ver tabla 4.





V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

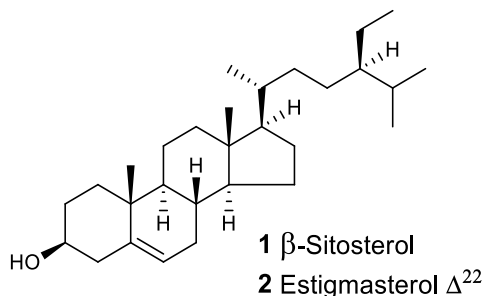
Como resultado del estudio químico de los extractos de acetona y de metanol de *Physalis patula* Miller se aislaron tres fitoesteroles, cuatro flavonoides, dos diterpenos tipo labdano, cuatro withaesteroides, un éster de sacarosa, un glucósido de fitoesterol y dos glucósidos de diterpenos. Se obtuvieron también mezclas de acilsacarosas cuyos componentes no fueron aislados.

V. 1. Elucidación estructural de los compuestos aislados

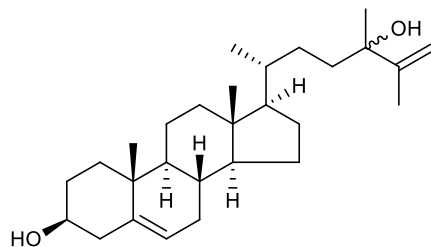
La elucidación estructural de los compuestos aislados se llevó a cabo analizando los datos obtenidos de los espectros de IR, de EM (EI, FAB, DART, ESI) y de RMN de ^1H y ^{13}C , así como de los experimentos DEPT, HSQC, HMBC, COSY y NOESY.

A. Fitoesteroles

La mezcla de los compuestos **1** y **2** se obtuvo de las fracciones poco polares del extracto de hexano. Sus estructuras se determinaron por comparación mediante CCF con una muestra de la mezcla de β -sitosterol y estigmasterol aislada previamente en nuestro laboratorio, así como por comparación de su punto de fusión y sus datos de RMN ^1H con los de la literatura (Ahmad *et al.*, 1999). La presencia de los esteroides **1** y **2** es común en plantas.

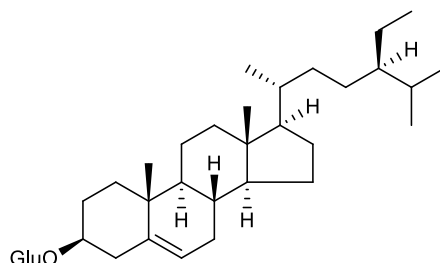


El compuesto **3** se aisló en forma de cristales blancos. Su espectro de EM-EI muestra un ion molecular $[\text{M}]^+$ de m/z 414, congruente con una fórmula molecular $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_2$. Además, se observa el ion de m/z 271 característico de los Δ^5 esteroides, resultante de la pérdida de la cadena lateral. El análisis de los espectros de RMN (espectros 1 y 2) permitió proponer la estructura **3**. Se compararon los datos espectroscópicos del compuesto **3** con los de la literatura y se encontró que este compuesto ya ha sido descrito y se conoce como physalindicanol A (Sinha *et al.*, 1986).



3 Physalindicanol A

De las fracciones polares del extracto se aisló el compuesto **17**. Su identificación se llevó a cabo mediante el análisis de sus espectros de RMN ^1H y ^{13}C y su comparación con los de una muestra auténtica de glucósido de β -sitosterol obtenida anteriormente en nuestro laboratorio. Ambos compuestos presentaron además el mismo factor de retención cuando se compararon por CCF y sus puntos de fusión resultaron semejantes (Faizi *et al.*, 2001).



17 Glucósido de β -sitosterol

B. Flavonoides

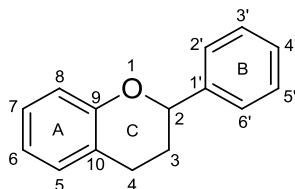


Figura 23. Numeración de las posiciones en los flavonoides.

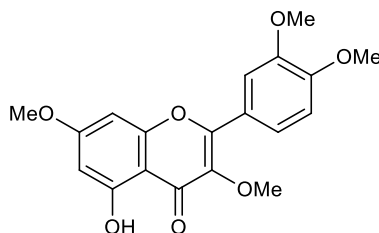
De la fracción de hexano del extracto de partes aéreas de *Physalis patula* se aislaron los flavonoles **4** y **5**, mientras que los flavonoles **7** y **9** se aislaron de la fracción de acetato de etilo.

El espectro de RMN ^1H del compuesto **4** (espectro 3) muestra dos señales de hidrógenos aromáticos en δ_{H} 6.36 y δ_{H} 6.45, con una constante de acoplamiento de 2.5 Hz. Dicha constante indica una relación meta. Estas señales son atribuibles a los protones de las posiciones 6 y 8 del anillo A de un flavonoide. La señal singulete en δ_{H} 12.64 es atribuible a un grupo hidroxilo en C-5.

Asimismo, se observa un sistema formado por la señal en δ_{H} 7.74 (dd; $J = 8.5, 2.0$ Hz) que está acoplada con las señales en δ_{H} 7.69 (d; $J = 2.0$ Hz) y δ_{H} 6.99 (d, $J = 8.5$ Hz). Esto indica un anillo B sustituido en C-3' y C-4'. Estas señales se asignaron a H-6', H-2' y H-5'. Se observan además las señales de cuatro grupos metoxilo como singuletes que integran para tres hidrógenos cada uno en δ_{H} 3.87, δ_{H} 3.88, δ_{H} 3.968 y δ_{H} 3.974.

El espectro de RMN ^{13}C (espectro 4) muestra diecinueve señales que corresponden a cuatro metilos, cinco metinos y diez carbonos no protonados, entre estos últimos el carbono de la cetona en C-4 (δ_{C} 178.7). El espectro de masa (DART-TOF $^+$) muestra un pico de m/z 359 $[\text{M}+\text{H}]^+$, que es congruente con una fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7$.

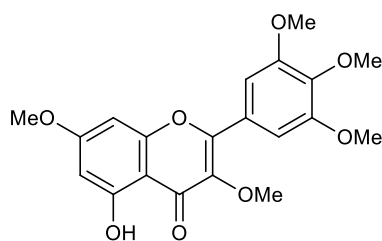
Así, se propuso la estructura 5-hidroxi-3,3',4',7-tetrametoxiflavona. Este compuesto ya ha sido descrito y es conocido como retusina (Sutthanut *et al.*, 2007). La comparación de los datos de **4** con los de la literatura confirmó lo anterior.



4 Retusina

El espectro de EM-EI del compuesto **5** muestra un ion molecular $[M]^+$ de m/z 388, congruente con una fórmula molecular $C_{20}H_{20}O_8$. En su espectro de RMN ^{13}C (espectro 6) se observan dieciséis señales, entre ellas cuatro de grupos metoxilo. Dos corresponden a los metoxilos en C-3 (δ_c 60.3) y C-7 (δ_c 55.8) y las dos restantes, δ_c 56.3 y δ_c 61.0 (la primera con el doble de intensidad), corresponden a metoxilos del anillo B. Esto sugiere una estructura flavonoide con el mismo patrón de sustitución en los anillos A y C que el compuesto **4** y un anillo B sustituido simétricamente en C-3', C-4' y C-5' por grupos metoxilo.

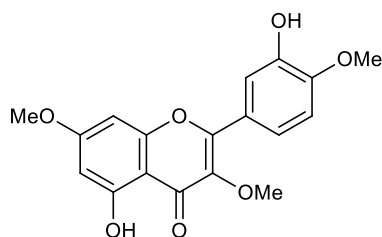
Así, se determinó que la estructura del compuesto **5** corresponde a la 5-hidroxi-3,3',4',5',7-pentametoxiflavona. Al revisar la literatura se encontró que ya ha sido descrita y se conoce como combretol (Dachriyanus *et al.*, 2003).



5 Combretol

Los datos de RMN del flavonoide **7** (espectros 9 y 10) sugieren que presenta el mismo patrón de sustitución que el compuesto **4**. El espectro de RMN ^{13}C muestra dieciocho señales: una de cetona (δ_c 178.0), quince señales de carbonos del núcleo base y tres carbonos de metoxilo (δ_c 59.7, δ_c 56.0 y δ_c 55.6). Su espectro de masas (EM-EI) muestra un ion molecular de m/z 344 $[M]^+$, congruente con una fórmula molecular $C_{18}H_{16}O_7$ y catorce unidades de masa menor que el del compuesto **4**. Esto significa que el núcleo flavonoide está sustituido por dos grupos hidroxilo y tres grupos metoxilo.

Así, se propusieron estructuras probables para **7**: 3',5-dihidroxi-3,4',7-trimetoxiflavona y 4'-5-dihidroxi-3,3',7-trimetoxiflavona. Para discernir entre ellas se realizó el experimento NOESY en el que se mostró una interacción entre un grupo metoxilo y H-5', con lo que se determinó que su estructura corresponde a la 3',5-dihidroxi-3,4',7-trimetoxiflavona. Este compuesto se conoce como ayanina (Wang *et al.*, 1989). Se compararon los datos de **7** con los de la ayanina y esto confirmó su identidad.

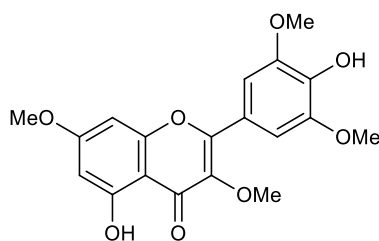


7 Ayanina

Los datos espectroscópicos del compuesto **9** sugieren una estructura semejante a la del compuesto **5**. El espectro de RMN ^{13}C (espectro 18) muestra dieciséis señales, tres de ellas (δ_{C} 56.5, δ_{C} 105.8 y δ_{C} 147.0) con el doble de intensidad, lo que sugiere diecinueve carbonos en la molécula. Esto se confirma por el ion molecular de m/z 374, observado en el espectro EM-EI, que es congruente con la fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_8$.

El espectro de RMN ^1H (espectro 17) muestra, además de las señales de H-6, H-8 y cuatro grupos metoxilo [δ_{H} 3.86 (3 H), δ_{H} 3.89 (3 H) y δ_{H} 3.98 (6 H)], una señal singlete en δ_{H} 7.42 que integra para dos hidrógenos y que sugiere un anillo B sustituido simétricamente en C-3', C-4' y C-5'.

Así, se estableció la estructura de este compuesto como 4',5-dihidroxi-3,3',5',7-tetrametoxiflavona. Al revisar la literatura se encontró que este compuesto ya ha sido descrito (Kranjc *et al.*, 2016). La comparación de los datos físicos y espectroscópicos de ambos compuestos confirmó su identidad.



9 4',5-Dihidroxi-3,3',5',7-tetrametoxiflavona

Tabla 1. Datos de RMN ^1H y ^{13}C de los flavonoles **4**, **5**, **7** y **9** (CDCl_3 , δ en ppm, J en Hz).

Posición	4^a		5^b		7^c		9^d	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	155.8	-	155.6	-	155.6	-	155.9
3	-	139.0	-	139.4	-	138.1	-	137.7
4	-	178.7	-	178.8	-	178.0	-	178.1
5	-	162.0	-	162.1	-	160.9	-	162.1
6	6.36 d (2.5)	97.8	6.37 d (2.0)	97.9	6.37 d (2.1)	97.7	6.37 d (2.1)	97.9
7	-	165.4	-	165.6	-	165.1	-	165.5
8	6.45 d (2.5)	92.2	6.46 d (2.0)	92.3	6.71 d (2.1)	92.2	6.45 d (2.1)	92.3
9	-	156.7	-	156.7	-	156.2	-	156.7
10	-	106.0	-	106.0	-	105.2	-	105.8
1'	-	122.9	-	125.5	-	122.1	-	121.4
2'	7.69 d (2.0)	111.3	7.37 s	106.0	7.57 d (2.4)	115.0	7.42 s	105.8
3'	-	148.8	-	153.1	-	146.3	-	147.0
4'	-	151.4	-	140.6	-	150.3	-	139.1
5'	6.99 d (8.5)	110.9	-	153.1	7.10 d (9.3)	111.8	-	147.0
6'	7.74 dd (8.5, 2.0)	122.2	7.37 s	106.0	7.58 dd (9.3, 2.4)	120.3	7.42 s	105.8
3-OMe	3.87 s	60.2	3.87 s	60.3	3.80 s	59.7	3.86 s	60.2
7-OMe	3.88 s	55.8	3.89 s	55.8	3.86 s	55.6	3.89 s	55.8
3'-OMe	3.968 s	56.1	3.95 s	56.3	-	-	3.98 s	56.5
4'-OMe	3.974 s	56.0	3.95 s	61.0	3.86 s	56.0	-	-
5'-OMe	-	-	3.95 s	56.3	-	-	3.98 s	56.5
5-OH	12.64 s	-	12.59 s	-	12.64 s	-	12.62 s	-
3'-OH	-	-	-	-	9.41 s	-	-	-
4'-OH	-	-	-	-	-	-	5.90 s	-

^a Los espectros se determinaron a 500 MHz (^1H) y 125 MHz (^{13}C).

^b Los espectros se determinaron a 400 MHz (^1H) y 100 MHz (^{13}C).

^c Los espectros se determinaron en DMSO-d_6 a 300 MHz (^1H) y 75 MHz (^{13}C).

^d Los espectros se determinaron a 300 MHz (^1H) y 75 MHz (^{13}C).

C. Labdanos

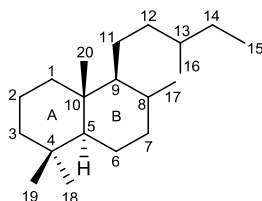


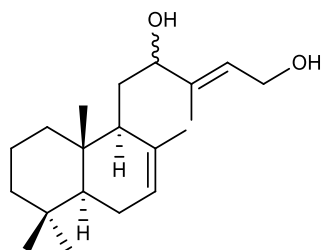
Figura 24. Numeración de las posiciones en los labdanos.

Del extracto de partes aéreas de *Physalis patula* se aislaron los labdanos **6** y **8**, así como los glucósidos de labdano **16** y **19**, este último obtenido como el derivado peracetilado **18**.

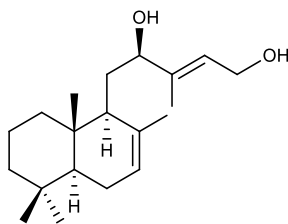
El compuesto **6** muestra un ion molecular $[M]^+$ de m/z 306, congruente con la fórmula molecular $C_{20}H_{34}O_2$. El espectro de RMN ^{13}C (espectro 8) muestra la presencia de veinte carbonos que corresponden a cinco metilos (dos de ellos vinílicos), seis metilenos (uno de ellos unido a oxígeno), cinco metinos (dos de ellos vinílicos y uno unido a oxígeno) y cuatro carbonos no protonados (dos de ellos vinílicos y dos cuaternarios). Lo anterior sugiere que **6** es un diterpeno tipo labdano con dos insaturaciones y dos grupos hidroxilo en la estructura.

En el espectro de RMN 1H (espectro 7) se observan dos señales de hidrógenos vinílicos en δ_H 5.42 (sa) y δ_H 5.66 (ta, $J = 6.6$ Hz), lo que sugiere que los dos enlaces dobles son trisustituídos. Se propuso que las insaturaciones están en C-7 y C-13 y que los metilos vinílicos están unidos a C-8 y C-13.

Los espectros de RMN 1H y ^{13}C muestran la presencia de un metileno (δ_C 59.1; δ_H 4.21 d, $J = 6.6$ Hz, 2 H) cuyo desplazamiento indica que está unido a uno de los grupos hidroxilo y que es vecino a un enlace doble, por lo que se determinó que el grupo hidroxilo se encuentra en C-15. Se observan asimismo las señales de un metino cuyos desplazamientos (δ_C 77.1; δ_H 4.12 dda, $J = 10.2, 2.1$ Hz) sugieren que se trata de un metino alílico unido al segundo grupo hidroxilo. La multiplicidad de la señal de hidrógeno (dda) sugiere que se trata de H-12. Así, se propuso la estructura siguiente para este compuesto.



Al revisar la literatura se encontró que los datos físicos y espectroscópicos de **6** son los mismos que los de la physacoztomatina (Pérez-Castorena *et al.*, 2006). La comparación por CCF con una muestra auténtica confirmó su identidad.



6 Physacoztomatina

Los espectros de RMN del compuesto **8** son muy similares a los del compuesto **6**, lo que sugiere que **8** también es un labdano. El espectro de RMN ^{13}C (espectro 13) del compuesto **8** muestra veinte señales. El experimento DEPT las diferencia en cuatro carbonos no protonados, cinco metinos, seis metilenos y cinco metilos.

En el espectro de RMN ^1H (espectro 12) se observan cinco singuletes que se atribuyeron a los grupos metilo. Las señales en δ_{H} 0.87, δ_{H} 0.85 y δ_{H} 0.76 se asignaron a H₃-19, H₃-18 y H₃-20, respectivamente. En consecuencia, el experimento HSQC (espectro 14) permitió asignar las señales que aparecen en δ_{C} 13.6, δ_{C} 21.8 y δ_{C} 33.1 a C-20, C-19 y C-18, respectivamente. De igual forma, las señales de metilos vinílicos en δ_{H} 1.69 (sa) y δ_{H} 1.75 (sa) se asignaron a H₃-16 y H₃-17. Las señales en δ_{C} 11.0 y δ_{C} 22.8 se atribuyeron a C-16 y C-17.

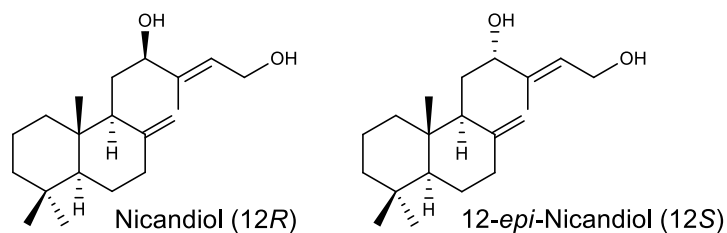
De manera análoga a lo exhibido para **6**, el espectro de RMN ^{13}C de **8** muestra cuatro señales de carbonos vinílicos. En el experimento HMBC (espectro 15) la señal de H₃-16 correlaciona con la señal del carbono metino en δ_{C} 126.9, que se asignó a C-14. El mismo experimento permitió asignar la señal de protón vinílico en δ_{H} 5.60 (tdc, $J = 6.6, 1.2, 0.6$ Hz) a H-14 y la señal de carbono no protonado en δ_{C} 139.9 a C-13. Las señales de C-13 y C-14 correlacionan con las señales de hidrógenos geminales a hidroxilo en δ_{H} 4.23 (dd, $J = 6.6, 0.6$ Hz) y δ_{H} 4.24 (dd, $J = 6.6, 0.6$ Hz), por lo que éstas se asignaron a H-15 y H-15' y la señal en δ_{C} 59.2 a C-15. La señal de C-13 correlaciona con otro hidrógeno geminal a hidroxilo en δ_{H} 4.19 (dd, $J = 8.7, 5.4$ Hz) que se asignó a H-12. En consecuencia, la señal de carbono base de oxígeno en δ_{C} 78.8 se asignó a C-12 y por correlaciones se asignaron las señales en δ_{C} 32.3 a C-11 y en δ_{H} 1.65 (td, $J = 9.0, 2.1$ Hz) y δ_{H} 1.46 (m) a H-11 y H-11'.

En el mismo experimento, la señal de H₃-17 correlaciona con la señal de metino en δ_{C} 122.8 y la señal de carbono no protonado en δ_{C} 134.8. La primera fue asignada a C-7 y la segunda a C-8. La señal de C-8 correlaciona con H-11, lo que corrobora la asignación. Las señales de H₃-17 y H₃-20 correlacionan con un metino en δ_{C} 50.4 que se asignó a C-9. La señal de H₃-20 correlaciona además con un metileno en δ_{C} 39.4 que se asignó a C-1. Esto permitió asignar las señales en δ_{H} 1.72 y δ_{H} 0.83 a H-1 y H-1'. Las señales de H-9 y H₃-20 correlacionan con un carbono no protonado en δ_{C} 36.7 que se asignó a C-10.

La señal de H₃-18 correlaciona con un metileno en δ_c 42.2 que se asignó a C-3 y con un metino en δ_c 50.0 que se asignó a C-5. Las señales de H₃-18 y H₃-19 muestran correlación con la señal de un carbono no protonado en δ_c 33.0 que fue asignada a C-4. Ésta correlaciona con la señal en δ_H 1.44, que fue asignada a H-2. En consecuencia, el metileno en δ_c 18.8 se asignó a C-2. La asignación de los hidrógenos restantes se realizó gracias al experimento HSQC.

Lo anterior permitió proponer para el compuesto **8**, una estructura bidimensional idéntica a la del compuesto **6**. En el espectro EM-IE no se observó el ion molecular, pero sí los iones de m/z 288 y 270 que corresponden a las pérdidas de una y dos moléculas de agua a partir de un compuesto con fórmula molecular C₂₀H₃₄O₂. Esto es congruente con la estructura propuesta y sugiere que **8** es un epímero de **6**.

Al comparar los datos de RMN ambos compuestos se encuentran diferencias en los desplazamientos químicos de las posiciones C-11 a C-16 y en los de H-9. Esto permite proponer que la epimería entre los compuestos **6** y **8** radica en C-12. Para confirmar esta propuesta se recurrió a datos espectroscópicos de compuestos estructuralmente semejantes a **6** y **8** que presentaran tal epimería. El nicandiol y su epímero en C-12, aislados de *P. nicandroides* var. *attenuata* (Torres, 2006), se ajustan a lo descrito. La estructura del nicandiol fue confirmada por difracción de rayos X.

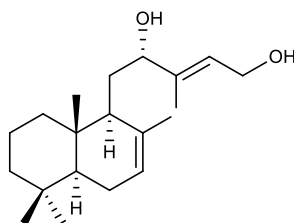


En la tabla 2 se observa que la señal de C-12 en el nicandiol aparece en δ_c 75.0 y cuando la configuración de dicho centro se invierte, la señal se desplaza hacia campo bajo (δ_c 77.2). Con **6** y **8** tiene lugar la misma situación: la señal de C-12 aparece en δ_c 77.1 para **6** (12R) y se desplaza a δ_c 78.8 para **8**. Situaciones análogas pueden encontrarse entre los desplazamientos de C-11, C-13, C-14, C-15 y C-16, donde éstos se desplazan a campo más alto o más bajo según la configuración en C-12. Una señal que puede considerarse diagnóstica de la configuración de C-12 es la de H-9, que se desplaza a campo bajo en los isómeros 12R.

Tabla 2. Algunos datos de RMN (δ en ppm) de los compuestos **6**, **8**, nicandiol y 12-*epi*-nicandiol.

Compuesto	6 (12R)	8 (12S)	Nicandiol (12R)	12- <i>epi</i> -Nicandiol (12S)
H-9	2.02	1.69	2.01	1.47
C-11	33.7	32.3	30.1	28.6
C-12	77.1	78.8	75.0	77.2
C-13	142.0	139.9	142.3	140.2
C-14	123.5	126.9	123.3	126.7
C-15	59.1	59.2	59.1	59.2
C-16	12.3	11.0	12.2	10.6

Esta correlación de datos de RMN sostiene la propuesta de **8** como epímero en C-12 de **6**. El compuesto **8** es un compuesto nuevo, por lo que se decidió nombrarlo 12-*epi*-physacoztomatina.



8 12-*epi*-Physacoztomatina

Tabla 3. Datos de RMN ^1H y ^{13}C de los labdanos **6** y **8**
(CDCl_3 , δ en ppm, J en Hz).

Posición		6^e		8^e	
		δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	CH ₂	1.85 m; 1.04 m	39.3	1.72 m; 0.83 m	39.4
2	CH ₂	1.54 m; 1.48 m	18.8	1.53 m; 1.44 m	18.8
3	CH ₂	1.41 m; 1.18 m	42.3	1.40 m; 1.15 m	42.2
4	C	-	33.0	-	33.0
5	CH	1.25 m	50.1	1.19 dd (11.7, 5.1)	50.0
6	CH ₂	2.00 m; 1.88 m	23.9	1.95 m; 1.86 m	23.9
7	CH	5.42 sa	122.9	5.43 sa	122.8
8	C	-	134.8	-	134.8
9	CH	2.02 m	50.5	1.69 m	50.4
10	C	-	36.4	-	36.7
11	CH ₂	1.54 m 1.42 m	33.7	1.65 td (9.0, 2.1); 1.46 m	32.3
12	CH	4.12 dda (10.2, 2.1)	77.1	4.19 dd (9.0; 5.4)	78.8
13	C	-	142.0	-	139.9
14	CH	5.66 ta (6.6)	123.5	5.60 tdc (6.6, 1.2, 0.6)	126.9
15	CH ₂	4.21 d (6.6); 4.20 sa	59.1	4.24 dd (6.6, 0.6); 4.23 dd (6.6, 0.6)	59.2
16	CH ₃	1.71 s	12.3	1.69 sa	11.0
17	CH ₃	1.69 s	22.5	1.75 sa	22.8
18	CH ₃	0.86 s	33.1	0.85 s	33.1
19	CH ₃	0.88 s	21.8	0.87 s	21.8
20	CH ₃	0.74 s	13.6	0.76 s	13.6

^e Los espectros se determinaron a 300 MHz (^1H) y 75 MHz (^{13}C).

El derivado peracetilado **15** se obtuvo con el fin de facilitar la elucidación estructural del compuesto natural **16**. Los espectros de RMN del compuesto **15** mostraron que se trata del glucósido de un labdano. El espectro de RMN ^{13}C de **15** (espectro 36) muestra treinta y nueve señales. El experimento DEPT permite diferenciarlas en once metilos, ocho metilenos, once metinos y nueve carbonos no protonados. Entre ellos se observan cinco carbonos correspondientes a carbonilos de éster, cuatro carbonos vinílicos y ocho carbonos base de oxígeno.

En el espectro de RMN ^{13}C se observan cuatro señales de carbonos vinílicos: dos carbonos no protonados y dos metinos. Esto junto con las señales de hidrógenos vinílicos en δ_{H} 5.40 (sa) y δ_{H} 5.50 (ta, $J = 6.5$ Hz) y las señales de metilos vinílicos en δ_{H} 1.61 y δ_{H} 1.68 permiten proponer una estructura semejante a **6** y **8** con dos enlaces dobles trisustituídos en C-7 y C-13. En consecuencia, las señales en δ_{C} 122.6 (CH) y δ_{C} 134.8 (C) se asignaron a C-7 y C-8, mientras que las señales en δ_{C} 138.4 (C) y δ_{C} 124.7 (CH) se asignaron a C-13 y C-14.

El espectro de RMN ^1H (espectro 36) muestra cinco singuletes que se atribuyeron a los grupos metilo de un diterpeno de tipo labdano. El experimento HMBC (espectro 38) muestra la correlación entre las señales de C-13 y C-14 con la señal de metilo vinílico en δ_{H} 1.61 que se asignó a H₃-16. Dichas señales correlacionan además con la señal en δ_{H} 4.65 (d, $J = 6.5$ Hz, 2 H) que se asignó a H-15 y H-15'. Esta señal correlaciona en el experimento HSQC (espectro 37) con la señal de carbono base de oxígeno en δ_{C} 60.6, por lo que se propone un sustituyente oxigenado en dicha posición. Las correlaciones en el experimento HMBC de las señales de H-15 y la de un metilo (δ_{H} 2.09 s) con un carbono de carbonilo de éster en δ_{C} 170.8 permiten proponer un grupo acetilo como sustituyente en C-15.

En el espectro de RMN ^{13}C se observa una señal de metino en δ_{C} 50.0 que correlaciona en el espectro HSQC con las señales en δ_{H} 1.15 (H-5) y δ_{H} 1.68 (H-9), lo que indica que se trata de dos señales sobrepuestas que se asignaron a C-5 y C-9, por sus correlaciones en el espectro HMBC con H-7, H-11' y H₃-20 (δ_{H} 0.73). Las correlaciones de H-5, H-11 y H₃-20 con una señal de carbono no protonado en δ_{C} 36.6 permitieron asignar ésta última a C-10.

Las señales de C-7 y C-8 muestran correlación en el experimento HMBC con la señal de un metilo en δ_{H} 1.68 que se asignó a H₃-17. Las señales de C-13 muestran correlación con la señal en δ_{H} 1.51, por lo que se asignó a H-11. En consecuencia, las señales en δ_{H} 1.55 y δ_{C} 30.3 se asignaron a H-11' y C-11. Las señales de C-9, C-11, C-14 y C-16 correlacionan con la señal de hidrógeno geminal a oxígeno en δ_{H} 4.18 (dd, $J = 9.0, 5.5$ Hz) que se asignó a H-12. Se propuso entonces que la posición C-12 se encuentra oxidada.

La señal de H₃-20 correlaciona con el carbono de un metileno en δ_{C} 39.2, por lo que se asignó esta señal a C-1. En consecuencia, las señales en δ_{H} 0.80 (td, $J = 14.0, 3.5$ Hz) y δ_{H} 1.62 (m) se asignaron a H-1 y H-1'. El experimento COSY (espectro 39) permitió entonces asignar las señales en δ_{H} 1.39 (m) y δ_{H} 1.48 (m) a H-2 y H-2'. Éstas correlacionan en el mismo espectro con las señales en δ_{H} 1.11 (td, $J = 13.5, 4.0$) y δ_{H} 1.38 (m) que se asignaron a H-3 y H-3'. Así, las señales de metileno en δ_{C} 18.8 y δ_{C} 42.2 se asignaron a C-2 y C-3, respectivamente.

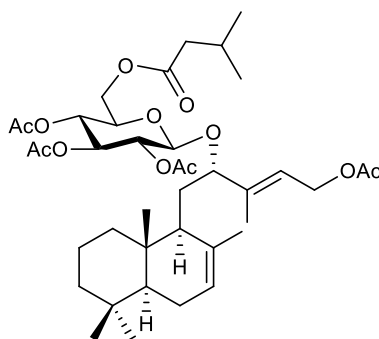
El experimento HMBC muestra la correlación entre las señales de C-3 y C-5 con dos señales singuletes en δ_H 0.84 y δ_H 0.86 que se asignaron a H₃-18 y H₃-19. Éstas a su vez correlacionan con una señal de carbono no protonado en δ_C 32.9 que fue asignada a C-4. El experimento NOESY (espectro 40) muestra interacciones entre H₃-20 y la señal en δ_H 0.87, por lo que ésta se asignó a H₃-19.

Además de la señal asignada al carbonilo de acetato en C-15 (δ_C 170.8) se observan cuatro señales de carbonilo de éster que se asignaron a los sustituyentes de una glucosa tetraacilada. El desplazamiento de C-12 indica que esta posición se encuentra oxidada, por lo que se propuso como sitio de unión con la glucosa, pues la señal de C-12 correlaciona con el protón anomérico H-1g (δ_H 4.37 d, J = 8.0 Hz). El experimento COSY permitió asignar las señales de H-2g a H₂-6g, mientras que con el experimento HSQC se localizaron las de los correspondientes carbonos (tabla 4).

El experimento HMBC reveló que existen grupos acetilo unidos a los oxígenos 2g-O, 3g-O y 4g-O, mientras que las señales de H-6g y H-6'g muestran correlación en el experimento HMBC con un carbono en δ_C 172.6 (C-1i). Dicha señal muestra correlaciones con la señal en δ_H 2.21 (d, J = 7.0 Hz, 2 H), asignada a los hidrógenos de un metileno (CH₂-2i; δ_C 43.1). La multiplicidad de H-2i sugiere un metino vecino. El experimento COSY muestra su correlación con la señal en δ_H 2.10 (heptuplete, J = 6.5 Hz) (H-3i) que en el experimento HSQC correlaciona con la señal de un carbono en δ_C 25.6. La señal de C-2i muestra correlación en el experimento HMBC con las señales de dos metilos que se observan como dobletes (J = 6.5 Hz) en δ_H 0.96 y δ_H 0.97. Éstas se asignaron a H₃-4i y H₃-5i. La señal en δ_C 22.4 se asignó entonces a C-4i y C-5i. Estas señales corresponden a un grupo isovaleroílo.

Se propone que al igual que **6** y **8**, el glucósido **15** sea un labdano. La configuración en C-12 se propone como *S*, con base en el desplazamiento de la señal de H-9 que al igual que en el compuesto **8** se observa a campo más alto (δ_H 1.68) que las de los labdanos con configuración 12*R*.

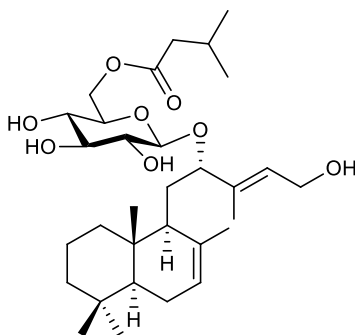
Todo lo anterior permitió proponer la estructura que se muestra a continuación para **15**. Por consiguiente, la estructura de **16** debe ser una en la que los grupos *O*-acetilo son remplazados por grupos hidroxilo.



15 Tetraacetilpatulósido A

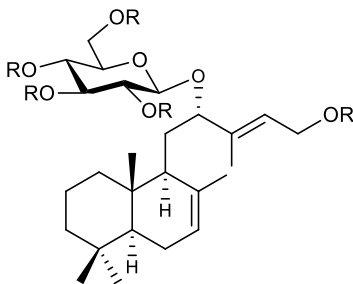
Los datos espectroscópicos del compuesto **16** corroboran la propuesta anterior, por los desplazamientos y correlaciones observados en los espectros de RMN (espectros 42 y 43). Éstos muestran que el producto natural **16** no contiene grupos acetilo, ya que no se observaron las señales características de dichos grupos. De igual forma confirman la presencia de un grupo isovaleroilo unido a C-6 de la glucosa, al observarse que las señales de H-6g y H-6'g correlacionan en el experimento HMBC con el carbono del carbonilo del éster.

Las señales de los hidrógenos H-1g, H-2g, H-3g, H-4g y H-5g se desplazan a campo alto. El resto de las señales, tanto de ^1H como de ^{13}C son prácticamente idénticas a las del derivado peracetilado **15**. Todo lo anterior permitió establecer la estructura que se muestra a continuación para **16**. Este compuesto no ha sido descrito, por lo que se decidió nombrarlo patulósido A.



16 Patulósido A

Del mismo modo, se obtuvo el derivado peracetilado **18** con el fin de facilitar la elucidación estructural del compuesto natural **19**. Los espectros de RMN del compuesto **18** (espectros 49 y 50) mostraron que se trata del glucósido de un labdano. Los datos espectroscópicos de **18** revelan una estructura semejante a la del compuesto **15**. No se observan, sin embargo, las señales correspondientes al grupo isovaleroilo, lo que permite proponer para **18** una estructura análoga a la de **15** en la que la glucosa se encuentra totalmente acilada. El producto natural **19** debe corresponder al labdano con glucosa unida en C-12. Los compuestos **18** y **19** no han sido descritos, por lo que se les llamó pentaacetilpatulósido B y patulósido B, respectivamente.



18 Pentaacetilpatulósido B, R = Ac

19 Patulósido B, R = H

Tabla 4. Datos de RMN ^1H de los patulósidos **15**, **16** y **18**
(500 MHz, CDCl_3 , δ en ppm, J en Hz).

Posición	15	16	18
1	1.62 m 0.80 td (14.0, 3.5)	1.66 m 0.83 m	1.67 m 0.79 td (15.0, 3.5)
2	1.48 m; 1.39 m	1.48 m; 1.41 m	1.53 m; 1.41 m
3	1.39 m 1.11 td (13.5, 4.0)	1.37 m 1.13 td (13.5, 3.5)	1.39 m 1.11 m
5	1.15 m	1.17 dd (12.5, 5.0)	1.16 m
6	1.97 m 1.84 ta (15.0)	1.96 m 1.84 m	1.96 m 1.84 m
7	5.40 sa	5.40 sa	5.41 sa
9	1.68 m	1.65 m	1.65 m
11	1.55 m; 1.49 m	1.61 m; 1.49 m	1.61 m; 1.54 m
12	4.18 dd (9.0, 5.5)	4.23 m	4.17 dd (12.0, 3.0)
14	5.50 ta (6.5)	5.61 ta (6.5)	5.51 ta (6.5)
15	4.65 d (6.5)	4.30 dd (12.5; 7.5) 4.11 dd (12.5; 4.0)	4.65 d (6.5)
16	1.61 s	1.66 s	1.61 s
17	1.68 s	1.72 s	1.70 s
18	0.84 s	0.85 s	0.84 s
19	0.86 s	0.87 s	0.86 s
20	0.73 s	0.74 s	0.73 s
1g	4.37 d (8.0)	4.22 d (7.5)	4.37 d (8.0)
2g	4.99 dd (9.5; 8.0)	3.32 ta (8.5)	5.00 dd (9.5; 8.0)
3g	5.17 t (9.5)	3.51 ta (9.0)	5.17 t (9.5)
4g	5.05 dd (10.0, 9.5)	3.34 t (9.0)	5.05 dd (10.0, 9.5)
5g	3.62 ddd (10.0, 5.0, 2.5)	3.45 m	3.63 ddd (10.0; 5.0; 3.0)
6g	4.23 dd (12.0, 2.5) 4.18 dd (12.0, 5.0)	4.41 d (12.0) 4.22 m	4.18 dd (12.0, 5.0) 4.14 dd (12.0, 3.0)
2i	2.21 d (7.0)	2.22 d (7.0)	-
3i	2.10 sept (6.5)	2.10 sept (7.0)	-
4i	0.97 d (6.5)	0.97 d (7.0)	-
5i	0.96 d (6.5)	0.97 d (7.0)	-
15-Ac	2.09 s	-	2.09 s
2g-Ac	2.02 s	-	2.03 s
3g-Ac	2.02 s	-	2.02 s
4g-Ac	2.00 s	-	2.00 s
6g-Ac	-	-	2.07 s

Tabla 5. Datos de RMN ^{13}C de los patulósidos **15**, **16** y **18**
(125 MHz, CDCl_3 , δ en ppm).

Posición		15	16	18
1	CH ₂	39.2	39.3	39.2
2	CH ₂	18.8	18.8	18.8
3	CH ₂	42.2	42.1	42.2
4	C	32.9	32.9	32.9
5	CH	50.0	49.9	50.0
6	CH ₂	23.8	23.8	23.8
7	CH	122.6	122.7	122.7
8	C	134.8	134.8	134.8
9	CH	50.0	49.9	49.9
10	C	36.6	36.6	33.1
11	CH ₂	30.3	30.5	30.3
12	CH	84.1	84.2	84.2
13	C	138.4	136.2	138.5
14	CH	124.7	129.7	124.7
15	CH ₂	60.6	58.7	60.6
16	CH ₃	10.9	11.3	10.9
17	CH ₃	22.4	22.8	22.5
18	CH ₃	33.1	33.1	33.1
19	CH ₃	21.8	21.8	21.8
20	CH ₃	13.6	13.6	13.6
1g	CH	97.2	98.9	97.3
2g	CH	71.3	73.6	71.3
3g	CH	73.0	76.2	73.0
4g	CH	68.8	70.4	68.8
5g	CH	71.7	73.7	71.6
6g	CH ₂	61.9	63.4	62.3
1i	C	172.6	173.7	-
2i	CH ₂	43.1	43.2	-
3i	CH	25.6	25.7	-
4i	CH ₃	22.4	22.4	-
5i	CH ₃	22.4	22.4	-
15-OAc		170.8, 20.9	-	170.9, 20.9
2g-OAc		169.1, 20.6	-	169.1, 20.6
3g-OAc		170.3, 20.6	-	170.3, 20.6
4g-OAc		169.4, 20.6	-	169.4, 20.6
6g-OAc		-	-	170.6, 20.7

D. Withanólidas

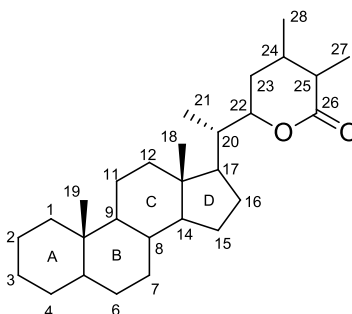


Figura 25. Numeración de las posiciones en las withanólidas.

De la fracción de acetato de etilo del extracto de partes aéreas de *Physalis patula* se aislaron las withanólidas **10-13**.

El espectro de infrarrojo del compuesto **10** (espectro 19) muestra bandas en 3583 y 3435 cm^{-1} que corresponden a grupos hidroxilo. Se observan dos bandas características de grupos carbonilo en 1686 y 1707 cm^{-1} . La primera corresponde a una cetona α,β -insaturada mientras que la segunda, que es una señal ancha, puede corresponder a un éster y/o a δ -lactona α,β -insaturada.

El espectro de RMN ^{13}C (espectro 21) presenta treinta señales, lo que es congruente con un esqueleto de withanólida sustituido con un grupo acetilo (δ_{C} 170.3, 21.6). El experimento DEPT permite diferenciar a los veintiocho carbonos restantes en cinco metilos, seis metilenos, ocho metinos y nueve carbonos no protonados. La señal en δ_{C} 204.4 corresponde a un carbono de cetona. Las señales en δ_{C} 128.8 y 141.3 corresponden a carbonos vinílicos. Lo anterior indica la presencia de una cetona α,β -insaturada, por lo que dichas señales se asignaron a C-1, C-2 y C-3 de un anillo A de withanólida.

En el espectro de RMN ^1H (espectro 20) se observan dos señales de protones vinílicos en δ_{H} 5.88 (dd, $J = 10.0, 2.5$ Hz) y δ_{H} 6.61 (ddd, $J = 10.0, 5.0, 2.5$ Hz) que corresponden a H-2 y H-3, respectivamente (experimento HSQC, espectro 22). La constante de acoplamiento de 10.0 Hz indica que se encuentran en relación *cis*. El experimento HMBC (espectro 23) muestra la correlación de C-2 y C-3 con los protones de un metileno en δ_{H} 3.37 (dt, $J = 20.0, 2.5$ Hz) y δ_{H} 2.04 (dd, $J = 20.0, 5.0$ Hz) que se asignaron a H-4 β y H-4 α .

Asimismo, se observa la correlación en el experimento HMBC de C-4 (δ_{C} 36.2) con el protón de un metino (δ_{H} 3.70 t, $J = 3.0$ Hz; δ_{C} 74.6), cuyo desplazamiento indica que es geminal a un grupo hidroxilo. Estas señales se asignaron al metino CH-6. Los protones H-3, H-4 α y H-6 muestran correlación con la señal de un carbono no protonado base de oxígeno en δ_{C} 77.2, que se asignó a C-5, lo que indica la presencia de un segundo grupo hidroxilo. La señal de C-5 correlaciona con una señal singulete en δ_{H} 1.30 (3 H) que se asignó a H₃-19. A su vez H₃-19 correlaciona con C-1, con un carbono no protonado (δ_{C} 52.3, C-10) y con un carbono de un metino (δ_{C} 35.1, C-9). Todo esto sugiere que se trata de una withanólida

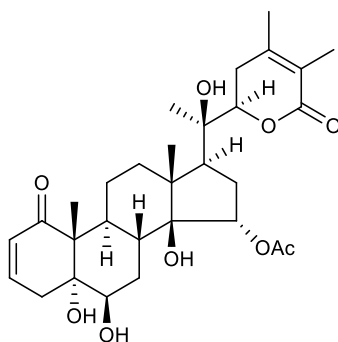
que contiene los grupos 2-en-1-ona y 5 α ,6 β -diol, presentes frecuentemente en los anillos A y B de este tipo de compuestos.

En el espectro de RMN ^{13}C se observa una señal en δ_{C} 166.2 que se asignó al carbono del carbonilo de una δ -lactona (C-26). El experimento HMBC muestra la correlación de dicha señal con dos singuletes en δ_{H} 1.88 (3H) y δ_{H} 1.96 (3H) que se asignaron a H₃-27 y H₃-28, respectivamente. El experimento HMBC permitió identificar las señales de carbonos vinílicos C-24 (δ_{C} 148.9) y C-25 (δ_{C} 122.1), así como del metileno C-23 (δ_{C} 31.6; δ_{H} 2.37, δ_{H} 2.07), por sus correlaciones con H₃-27 y H₃-28. En δ_{C} 81.4 se observa la señal del carbono base de lactona, C-22, y la de H-22 (δ_{H} 4.28 dd, $J = 13.5, 3.5$ Hz).

En el experimento HMBC se observa la correlación de la señal de C-22 con un singulete en δ_{H} 1.45 que se identificó como H₃-21. Las señales de H₃-21 y H-22 correlacionan con la señal de carbono no protonado base de oxígeno en δ_{C} 75.1 que se asignó a C-20. Todo lo anterior establece que se trata de la cadena lateral de una withanólida con una δ -lactona α,β -insaturada y un hidroxilo en C-20. Las correlaciones de los átomos C-20 a C-22 observadas en los espectros COSY (espectro 24), HSQC y HMBC permitieron asignar las señales del resto de la molécula y determinar que el grupo acetato se encuentra unido a CH-15 por los desplazamientos que presenta un metino (δ_{H} 5.09 d, $J = 7.0$ Hz; δ_{C} 80.2) y la correlación a tres enlaces entre C-1 del acetato y H-15, observada en el experimento HMBC. En la molécula existe un cuarto grupo hidroxilo, en este caso en C-14, cuya señal se observa en δ_{C} 83.6 y presenta correlaciones en el experimento HMBC con H-12, H-12', H-16, H-17 y H₃-21.

En cuanto a la configuración del compuesto **10**, las interacciones en el experimento NOESY (espectro 25) entre H₃-19 y H-4 β (δ_{H} 3.37) indican que la fusión de los anillos A y B es *trans*. Por lo tanto, la orientación del grupo hidroxilo en C-5 es α . Esto lo corrobora el signo negativo del efecto Cotton en 335 nm ($\Delta\epsilon_{335} -1.66$) (Bagchi *et al.*, 1984). Las constantes de acoplamiento de H-6 ($J = 3.0$ Hz) indican que es ecuatorial y en consecuencia posee una orientación α , por lo que el grupo hidroxilo en C-6 es β . Esto se confirma por la interacción entre H-4 α (δ_{H} 2.04) y H-6. Las orientaciones β del hidroxilo en C-14 y α del acetato en C-15 se determinaron por comparación de los desplazamientos de los átomos del anillo D con los de la physapubenólida, que se determinaron al considerar que un grupo hidroxilo 14 β desprotege a CH₃-18 (Glotter *et al.*, 1985). De igual forma, las interacciones de H-15 con H-16 β y H-7 β observadas en el experimento NOESY confirmaron la orientación α del acetato. Para establecer la configuración de C-22 se obtuvo el espectro de dicroísmo circular. El compuesto **10** presenta un efecto Cotton positivo ($\Delta\epsilon_{257} +3.30$) en 257 nm, lo que indica una configuración 22*R* (Bagchi *et al.*, 1984; Anjaneyulu *et al.*, 1998).

Así, se propone para el compuesto **10** la estructura 15 α -acetoxi-5 α ,6 β ,14 β ,20*R*-tetrahidroxi-1-oxowitha-2,24-dienólida. En el espectro EMAR-FAB⁺ se aprecia el catión correspondiente a la molécula protonada [M+H]⁺ de valor m/z 547.2901, consistente con la fórmula molecular C₃₀H₄₂O₉.



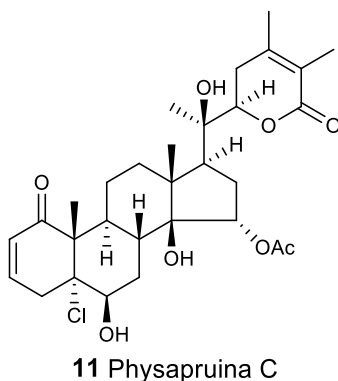
10 Withaneomexólida D

Al revisar la literatura se encontró la descripción reciente de una withanólida, la withaneomexólida D, aislada de *P. neomexicana* (Cao *et al.*, 2015). Mediante la comparación de los datos de RMN ^{13}C y ^1H de este compuesto y los de la withanólida **10** se determinó que se trata del mismo compuesto, pese a la discrepancia en su rotación óptica. Sin embargo, a la withaneomexólida D se le asignó la configuración de C-22 como *S*, siendo que, como se mencionó previamente, los datos de dicroísmo circular indican que es *R*. Así, en este trabajo se corrige la configuración en C-22 de la withaneomexólida D.

Las señales observadas en los espectros de IR y de RMN para los anillos C, D y la cadena lateral en C-17 de los compuestos **11**, **12** y **13** son semejantes a las observadas para el compuesto **10**, por lo que se propone que sus estructuras difieren sólo en los anillos A y B.

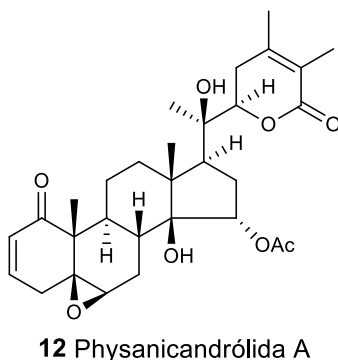
El espectro de RMN ^{13}C (espectro 28) del compuesto **11** indica la presencia de treinta carbonos, congruente con una withanólida con un grupo acetato como sustituyente. La principal diferencia respecto al compuesto **10** radica en los desplazamientos de las señales de CH_2 -4 (δ_{C} 37.3; δ_{H} 3.56 dt, $J = 20.0, 2.5$ Hz; δ_{H} 2.54 dd, $J = 20.0, 5.0$ Hz), C-5 (δ_{C} 80.8) y H-6 (δ_{H} 4.11 sa), que aparecen a campo más bajo. Estos cambios se explican con la presencia de un cloro como sustituyente en lugar del grupo hidroxilo en C-5 (Nicotra *et al.*, 2003). En efecto, el espectro EMAR-ESI muestra el aducto de sodio $[\text{M}+\text{Na}]^+$ de m/z 587.2388 congruente con la fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{41}\text{ClO}_8\text{Na}$.

Por esto, se propone la estructura 15 α -acetoxi-5 α -cloro-6 β ,14 β ,20 R -tetrahidroxi-1-oxowitha-2,24-dienólida para el compuesto **11**. Al revisar la literatura se encontró que este withaesteroide ya ha sido descrito como componente de *Physalis pruinosa* (Arredondo, 2006) y *Physalis nicandroides* var. *attenuata* (Torres, 2006). En dichos trabajos se le llamó physapruina C y se le asignó de forma incorrecta la estructura **10**. El aislamiento y la elucidación estructural de **11** permiten corregir la estructura de la physapruina C.

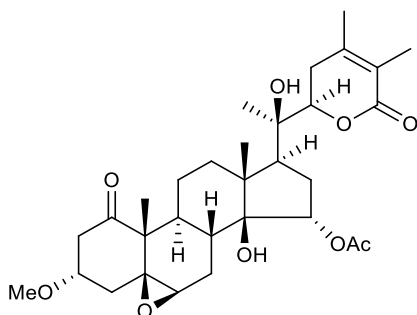


En el espectro de RMN ^{13}C (espectro 31) del compuesto **12** se observan treinta carbonos, lo que permite proponer una estructura de withanólida con un grupo acetato como sustituyente. Los datos de RMN de **12** sugieren una estructura que difiere de **10** únicamente en los desplazamientos de CH₂-4 (δ_{C} 33.0; δ_{H} 2.98 dt, $J = 19.0, 2.5$ Hz, δ_{C} 1,94 m), C-5 (δ_{C} 61.3) y CH-6 (δ_{C} 63.8; 3.21 d, $J = 2.5$ Hz). Estos valores sugieren que existe un grupo 5,6-epoxi. El signo positivo del efecto Cotton en 347 nm ($\Delta\epsilon_{347} +1.05$) indica que la fusión de los anillos A y B es *cis* (Anjaneyulu *et al.*, 1998). Por lo tanto, la orientación del epóxido es β .

Lo anterior se confirma por el aducto de sodio $[\text{M}+\text{Na}]^+$ de m/z 551.2624 (EMAR-ESI) que es congruente con una fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{O}_8\text{Na}$. Lo anterior permite proponer la estructura 15 α -acetoxi-5 β ,6 β -epoxi-14 β ,20*R*-dihidroxi-1-oxowitha-2,24-dienólida. Revisando la literatura se encontró que este compuesto fue aislado anteriormente de *Physalis nicandroides* var. *attenuata* (Torres, 2006) y es conocido como physanicandrólida A.



Los datos espectroscópicos de la withanólida **13** sugieren una estructura semejante a la de las demás withanólidas aisladas, pero la funcionalización del anillo A es diferente: carece del doble enlace entre C-2 y C-3 y presenta un grupo metoxilo en C-3. El espectro de EMAR-ESI de este compuesto mostró un aducto de sodio $[\text{M}+\text{Na}]^+$ de m/z 583.2855, congruente con la fórmula molecular $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{O}_9\text{Na}$. Este compuesto se identificó como physanicandrólida B por comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con los descritos (Torres, 2006). La physanicandrólida B fue aislada de partes aéreas de *P. nicandroides* var. *attenuata*



13 Physanicandrólida B

Tabla 6. Datos de RMN ^1H de las withanólidas **10**, **11** y **12**
(500 MHz, CDCl_3 , δ en ppm).

^1H	10	11	12
2	5.88 dd (10.0, 2.5)	5.91 dd (10.5, 2.5)	6.00 dd (10.0, 2.5)
3	6.61 ddd (10.0, 5.0, 2.5)	6.67 ddd (10.0, 5.0, 2.5)	6.86 ddd (10.0, 6.0, 2.5)
4β	3.37 dt (20.0, 2.5)	3.56 dt (20.0, 2.5)	2.98 dt (19.0, 2.5)
4α	2.04 dd (20.0, 5.0)	2.54 dd (20.0, 5.0)	1.94 m
6	3.70 t (3.0)	4.11 sa	3.21 d (2.5)
7	1.98 m 1.80 dd (13.5, 3.0)	2.09 m 2.09 m	2.50 dt (14.5, 2.5) 1.44 m
8	2.06 m	2.10 m	1.96 m
9	2.65 td (12.5, 4.0)	2.77 td (11.5, 3.5)	1.96 m
11	2.19 m	2.30 ddda (13.0, 7.0, 3.0)	1.97 m
11'	1.36 dd (13.0, 3.0)	1.36 m	1.48 m
12	2.06 m	2.07 m	1.97 m
12'	1.55 dt (13.0, 3.0)	1.53 dt (13.5, 3.0)	1.52 dt (13.5; 3.0)
15	5.09 d (7.0)	5.07 d (6.5)	4.99 d (6.5)
16	2.41 dt (15.0, 7.0)	2.42 dt (15.0, 7.5)	2.39 m
16'	1.62 dd (15.0, 9.5)	1.64 dd (15.0, 10.0)	1.60 dd (15.0; 9.5)
17	1.85 ta (9.5)	1.84 ta (9.0)	1.82 ta (9.0)
18	1.39 s	1.39 s	1.35 s
19	1.30 s	1.39 s	1.26 s
21	1.45 s	1.44 s	1.44 s
22	4.28 dd (13.5, 3.5)	4.28 dd (13.5, 3.0)	4.24 dd (13.0, 3.5)
23β	2.37 ta (15.0)	2.36 ta (15.5)	2.38 m
23α	2.07 m	2.06 m	2.05 dd (17.5, 3.5)
27	1.88 s	1.88 s	1.89 s
28	1.96 s	1.97 s	1.96 s
OAc	2.04 s	2.07 s	1.99 s

Tabla 7. Datos de RMN ^{13}C de las withanólidas **10**, **11**, **12** y **13**
(125 MHz, CDCl_3 , δ en ppm).

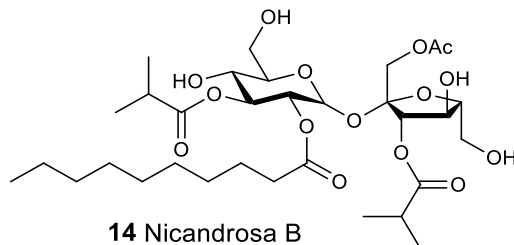
^{13}C		10	11	12	13^f
1	C	204.4	201.5	203.8	210.9
2	CH	128.8	128.5	128.8	42.7 ^g
3	CH	141.3	141.8	145.0	72.8 ^g
4	CH ₂	36.2	37.3	33.0	36.1
5	C	77.2	80.8	61.3	61.4
6	CH	74.6	74.5	63.8	62.1
7	CH ₂	28.7	28.7	26.2	26.2
8	CH	33.6	33.6	33.5	32.8
9	CH	35.1	36.1	38.8	37.1
10	C	52.3	53.1	48.6	52.1
11	CH ₂	22.1	21.9	22.7	21.2
12	CH ₂	40.5	40.2	40.1	39.6
13	C	49.0	49.0	48.3	48.4
14	C	83.6	83.2	82.8	82.9
15	CH	80.2	80.4	80.9	81.1
16	CH ₂	31.3	31.3	31.2	31.0
17	CH	54.2	54.1	54.1	54.0
18	CH ₃	19.6	19.7	19.1	19.0
19	CH ₃	14.7	15.6	14.9	13.8
20	C	75.1	75.0	75.3	75.3
21	CH ₃	21.2	21.2	21.2	21.2
22	CH	81.4	81.4	80.9	80.9
23	CH ₂	31.6	31.6	31.6	31.5
24	C	148.9	149.0	148.5	148.5
25	C	122.1	122.1	122.2	122.2
26	C	166.2	166.3	165.5	165.6
27	CH ₃	12.4	12.4	12.5	12.5
28	CH ₃	20.6	20.6	20.6	20.6
OAc		170.3, 21.6	170.1, 21.7	169.7, 21.6	169.7, 21.6
3-OMe		-	-	-	55.9

^fDeterminado a 75 MHz.

^gCH₂.

E. Ésteres de sacarosa

Physalis patula contiene mezclas complejas de ésteres de sacarosa de las que sólo se logró aislar el compuesto **14**. El espectro de EMAR-ESI de este compuesto mostró el aducto de sodio $[M+Na]^+$ de m/z 701.375, congruente con la fórmula molecular $C_{32}H_{54}O_{15}Na$. Este compuesto se identificó como nicandrosa B por comparación de sus espectros de RMN con los de una muestra auténtica obtenida de los frutos de *P. nicandroides* var. *attenuata* (Torres, 2006).



En resumen, como resultado del estudio químico realizado a los extractos de partes aéreas de *Physalis patula* Miller se obtuvieron tres esteroides, un glucósido de esteroide, cuatro flavonoides, dos diterpenos tipo labdano, dos glucósidos de diterpenos, así como los derivados peracetilados de éstos últimos, cuatro withanólidas y un éster de sacarosa.

Los esteroides aislados se identificaron como β -sitosterol/estigmasterol y physalindicanol A. Se aisló un glucósido de esteroide que se identificó como glucósido de β -sitosterol. Los flavonoides se identificaron como combretol, retusina, ayanina y 5,4'-dihidroxi-3,7,3',5'-tetrametoxiflavona. Los labdanos aislados son epímeros en C-12; uno de ellos se identificó como physacoztomatina y su epímero, la 12-*epi*-physacoztomatina, se describe por primera vez. En los glucósidos de labdano aislados la glucosa está unida a C-12. Estos glucósidos no han sido descritos y se les nombró patulósidos A y B. El patulósido B se aisló como el derivado peracetilado y también se obtuvo el derivado tetraacetilado del patulósido A. Las withanólidas se identificaron como withaneomexólida D, physapruina C, physanicandrólida A y physanicandrólida B. En este trabajo se corrigen las estructuras de la withaneomexólida D y de la physapruina C. El éster de sacarosa aislado se identificó como nicandrosa B.

Así, sólo la 12-*epi*-physacoztomatina y los glucósidos de diterpeno, patulósido A y patulósido B fueron aislados por primera vez. Los demás compuestos ya han sido descritos como componentes de otras especies del género *Physalis*.



VI. CONCLUSIONES

De los extractos de partes aéreas de *Physalis patula* se aislaron metabolitos de diversos tipos, tales como esteroides, flavonoides, labdanos, withanólidas y ésteres de sacarosa.

Todos los flavonoides aislados son de tipo flavonol y comparten el patrón de sustitución en los anillos A y C. Los labdanos de *P. patula*, como la mayoría de los aislados de especies de *Physalis*, presentan funciones oxigenadas en los carbonos C-12 y C-15. Si bien la oxidación en C-12 es poco común en este tipo de compuestos, parece ser frecuente en *Physalis*. En cuanto a las withanólidas, todas ellas tienen como característica distintiva la presencia de grupos hidroxilo en C-14 y C-20, así como un grupo acetoxi en C-15.

La composición química de *Physalis patula* resultó semejante a la de *Physalis nicandroides* var. *attenuata*, *Physalis pruinosa*, *P. neomexicana*, *P. coztomatl* y *P. sordida*. Las cinco especies poseen flavonoles, diterpenos de tipo labdano y withaesteroides. Cuatro de estas especies pertenecen a la sección *Epeteiorhiza*, mientras que *P. coztomatl* está incluida en la sección *Coztomatae* y *P. sordida* en la *Lanceolatae*.

Así, los resultados de los estudios químicos de las especies mexicanas de *Physalis* permiten esbozar algunos patrones del metabolismo secundario de este género.



VII. BIBLIOGRAFÍA

Abe F., Nagafuji S., Okawa M. y Kinjo J. (2006). Trypanocidal constituents in plants 6. Minor withanolides from the aerial parts of *Physalis angulata*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 54, 1226-1228.

Agustine A.A. y Ufuoma O. (2013). Flavonoids from the leaves of *Physalis angulata* Linn. *Planta Medica*, 79, PJ5.

Ahmad S., Malik A., Yasmin R., Ullah N., Gul W., Khan P.M., Nawaz H.R. y Afza N. (1999). Withanolides from *Physalis peruviana*. *Phytochemistry*, 50, 647-651.

Anjaneyulu A.S.R., Rao D.S. y Lequesne P.W. (1998). Withanolides, biologically active natural steroidal lactones: a review. Atta-ur-Rahman (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry. Volume 20. Structure and Chemistry (Part F) (Including Cumulative Index Volumes 1-20)*. Editorial Elsevier.

Arciniegas A., Ramírez M.T., Pérez-Castorena A.L. y Romo de Vivar A. (2014). Anti-inflammatory Constituents of *Mortonia greggii* Gray. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59, 237–243.

Ariyanathan S., Saraswathy A., Rajamanickam G.V. y Connolly J.D. (2010). Polyphenols from the roots of *Plumbago rosea*. *Indian Journal of Chemistry*, 49B, 386-389.

Arredondo Hernández Laura (2006). Metabolitos secundarios del extracto hexánico de hojas, ramas y flores de *Physalis pruinosa* (Tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico Biólogo). Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

Awang K., Abdullah N.H., Hadi A.H.A. y Fong Y.S. (2012). Cardiovascular activity of labdane diterpenes from *Andrographis paniculata* in isolated rat hearts. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, volume 2012, article ID 876458.

Ayuso M.J. y Toro M.V. (1999). Flavonoides. En Villar del Fresno (Ed.), *Farmacognosia general* (p. 209-217). Editorial Síntesis.

Baehr V. y Haensel R. (1982). Immunomodulating properties of 5,20 α (R)-dihydroxy-6 α ,7 α -epoxy-1-oxo-(5 α)-witha-2,24-dienolide and solasodine. *Planta Medica*, 44, 32-33.

Bagchi A., Neo P., Sahai M., Ray A.B., Oshima Y., Hikino H. (1984). Withaperuvin E and nicandrin B, withanolides from *Physalis peruviana* and *Nicandra physaloides*. *Phytochemistry*, 23, 853-855.

Barbosa E., Calzada F. y Campos R. (2007). In vivo anti-giardial activity of three flavonoids isolated of some medicinal plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of diarrhea. *Journal of Ethnopharmacology*, 19, 552-554.

- Baumann T.W. y Meier C.M. (1993). Chemical defence by withanolides during fruit development in *Physalis peruviana*. *Phytochemistry*, 33, 317-321.
- Bruneton J. (2001). *Farmacognosia Fitoquímica de Plantas Medicinales* (p. 305-349). 2ª ed. Editorial Acribias, España.
- Cao C.M., Wu X., Kindscher K., Xu L. y Timmermann B.N. (2015). Withanolides and sucrose esters from *Physalis neomexicana*. *Journal of Natural Products*, 78, 2488-2493.
- Cao Y-Z., Shan S-M., Zhang W., Luo J-G. y Kong L-Y. (2014). Withanolides from *Physalis minima* and their inhibitory effects on nitric oxide production. *Steroids*, 82, 38-43.
- Chen L.X., He H. y Qiu F. (2011). Natural withanolides: an overview. *Natural Products Reports*, 28, 705.
- Chopra R.N., Nayer S.L. y Chopra I.C. (1956). *Glossary of Indian Medicinal Plants* (p 192). C.S.I.R. Nueva Delhi.
- Choudhary M.I., Yousuf S., Samreen, Ahmed S. y Atta-Ur-Rahman (2007). New leishmanicidal physalins from *Physalis minima*. *Natural Product Research*, 21, 877-883.
- Cocker J.D., Halsall T.G. y Bowers A. (1956). The chemistry of gum labdanum. I. Some acidic constituents. *Journal of the Chemical Society*, 4259-62.
- Costa V.B., Coube C.S, Marinho J.C., Matheus M.E., Leitão S.G. y Fernandes P.D. (2003). Anti-inflammatory and analgesic activity of *Bouchea fluminensis*. *Fitoterapia*, 74, 364-371.
- Dachriyanus, Fahmi R., Sargent M.V., Skelton B.W. y White A.H. (2003). 5-Hydroxy-3,3',4',5',7-pentamethoxyflavone (combretol). *Acta Crystallographica E*, 60, 86-88.
- Demetzos C. y Dimas K.S. (2001). Labdane-type diterpenes. Chemistry and biological activity. *Studies in Natural Products Chemistry. Elsevier Science* 25, 235-292.
- Dewick P.M. (2009). *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach* (p. 168-173). 3rd Edition. John Wiley & Sons.
- Faizi S., Ali M., Saleem R., Irfanullah y Bibi S. (2001). Complete ¹H and ¹³C NMR assignments of stigma-5-en-3-O-β-glucoside and its acetyl derivative. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 39, 399-405.
- Farjam M.H., Rustaiyan A., Ezzatzadeh E. y Jassbid A.R. (2013). Labdane-type diterpene and two flavones from *Salvia Sharifii* Rech. f. and Esfan. and their biological activities. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 12, 395-399.
- Fiallega Gutiérrez Guadalupe Beatriz (2004). Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos de *Physalis pruinosa* (Tesis para obtener el título de Bióloga). Facultad de Ciencias, UNAM.

Ghosh S. y Rangan L. (2014). Molecular docking and inhibition kinetics of α -glucosidase activity by labdane diterpenes isolated from tora seeds (*Alpinia nigra* B.L. Burt.). *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 175, 1477–1489.

Ghosh S., Indukuri K., Bondalapati S., Saikia A.K. y Rangan L. (2013). Unveiling the mode of action of antibacterial labdane diterpenes from *Alpinia nigra* (Gaertn.) B. L. Burt. sedes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 66, 101-105.

Gibson K.A., Reese R.N., Halaweish F.T. y Ren Y. (2012). Isolation and characterization of a bactericidal withanolide from *Physalis virginiana*. *Pharmacognosy*, 8, 22-28.

Glotter E., Sahai M., Kirson I. y Gottlieb H.E. (1985). Physapubenolide and pubescenin, two new ergostane-type steroids from *Physalis pubescens* L. (Solanaceae). *Journal of the Chemical Society. Perkin Trans. I*, 2241-2245.

Gu J.Q., Li W., Kang Y.H., Su B.N., Fong H.H.S., Van Breemen R.B., Pezzuto J.M. y Kinghorn A.D. (2003). Minor withanolides from *Physalis philadelphica*: structures, quinone reductase induction activities and liquid chromatography (LC)-MS-MS investigation as artifacts. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 51, 530-539.

Heredia López Isadora (2011). Proyecto para la creación de un jardín etnobotánico en el centro ecoturístico “El campanario”, ejido Tezoncualpa, Cuauhtepac de Hinojosa, Hidalgo (Tesis para obtener el título de Biólogo). Facultad de Ciencias, UNAM.

Huang Z., Zhu Z.X., Li Y.T., Pang D.R., Zheng J., Zhang Q., Zhao Y.F., Ferreira D., Zjawiony J.K., Tu P.F. y Li J. (2015). Anti-inflammatory labdane diterpenoids from *Leonurus macranthus*. *Journal of Natural Products*, 78, 2276–2285.

Ji L., Yuan Y., Ma Z., Chen Z., Gan L., Ma X. y Huang D. (2013). Induction of quinone reductase (QR) by withanolides isolated from *Physalis pubescens* L. (Solanaceae). *Steroids*, 78, 860–865.

Kang Y.Q., Zhou J.C., Fan P.H., Wang S.Q. y Lou H.X. (2015). Scapaundulin C, a novel labdane diterpenoid isolated from Chinese liverwort *Scapania undulate*, inhibits acetylcholinesterase activity. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 13, 933-936.

Kennelly E.J., Gerhauser C., Song L.L., Graham J.G., Beecher C.W.W., Pezzuto J.M. y Kinghorn D. (1997). Induction of quinone reductase by withanolides isolated from *Physalis philadelphica* (Tomatillos). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3771-3777.

Kranjc E., Albrecht A., Vovk I., Makuc D. y Plavec J. (2016). Non-targeted chromatographic analyses of cuticular wax flavonoids from *Physalis alkekengi* L. *Journal of Chromatography A*, 1437, 95-106.

Kuboyama T., Tohda C. y Komatsu K. (2005). Neuritic regeneration and synaptic reconstruction induced by withanolide A. *British Journal of Pharmacology*, 144, 961.

- Kuroyanagi M., Murata M., Nakane T., Shiota O., Sekita S., Fuchino H. y Shinwarie Z.K. (2012). Leishmanicidal active withanolides from a Pakistani medicinal plant, *Withania coagulans*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 60, 892-897.
- Kuroyanagi M., Shibata K. y Umehara K. (1999). Cell differentiation-inducing steroids from *Withania somnifera* L. (Dun.). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 47, 1646.
- Latza S., Gansser D. y Berger R.G. (1996). Carbohydrate esters of cinnamic acid from fruits of *Physalis peruviana*, *Psidium guajava* and *Vaccinium vitisidaea*. *Phytochemistry*, 43, 481-485.
- Li Y-Z., Pan Y-M., Huang X-Y. y Wang H-S. (2008). Withanolides from *Physalis alkekengi* var. *franchetii*. *Helvetica Chimica Acta*, 91, 2284-2291.
- Lin F. y Wang J-H. (2011). Chemical constituents of physalins from dried calyx of *Physalis alkekengi* var. *franchetii*. *Xiandai Yaowu Yu Linchuang*, 26, 469-472.
- Lockley W.J.S., Rees H.H. y Goodwin T.W. (1976). Biosynthesis of steroidal withanolides in *Withania somnifera*. *Phytochemistry*, 15, 937.
- Ma L., Gan X-W., He Q-P., Bai H-Y., Arfan M., Lou F-C. y Hu L-H. (2007). Cytotoxic withaphysalins from *Physalis minima*. *Helvetica Chimica Acta*, 90, 1406-1419.
- Makino B., Kawai M., Kito K., Yamamura H. y Butsugan Y. (1995). New physalins possessing and additional carbon-carbon bond from *Physalis alkekengi* var. *franchetii*. *Tetrahedron*, 51, 12529-12538.
- Maldonado E., Pérez-Castorena A.L., Romero Y. y Martínez M. (2015). Absolute configuration of labdane diterpenoids from *Physalis nicandroides*. *Journal of Natural Products*, 78, 202-207.
- Maldonado E., Torres F.R., Martínez M. y Pérez-Castorena A.L. (2004). 18-Acetoxywithanolides from *P. chenopodifolia*. *Planta Medica*, 70, 59-64.
- Maldonado E., Torres F.R., Martínez M. y Pérez-Castorena A.L. (2006). Sucrose esters from the fruits of *Physalis nicandroides* var. *attenuata*. *Journal of Natural Products*, 69, 1511-1513.
- Mareggiani G., Picollo M.I., Zerba E., Burton G., Tettamanzi M.C., Benedetti-Doctorovich M.O.V., Veleiro A.S. (2000). Antifeedant activity of withanolides from *Salpichroa organifolia* on *Musca domestica*. *Journal of Natural Products*, 63, 1113-1116.
- Martínez M. (1979). *Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas*. 1a. ed. Fondo de cultura económica, México.
- Martínez M. (1999). *Infrageneric taxonomy of Physalis*. *Solanaceae IV* (p. 275-283). Royal Botanic Gardens, Kew.
- Martínez M. (1998). Revision of *Physalis* Section *Epeteiorhiza* (Solanaceae). *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica*, 69, 71-117.

Matlawska I., Wojcinska M., Jankiewicz L.S. y Kowalewski Z. (1994). Flavonoids of *Physalis ixocarpa*. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 51, 263-265.

Miller P. (1768). *Physalis patula*. *The Gardeners Dictionary*, 8, 12.

Mohana K., Uma R. y Purushothaman K.K. (1979). Abortifacient activity of physalin X. *Indian Journal of Experimental Biology*, 17, 690-691.

Mondal S., Mandal C., Sangwan R., Chandra S. y Mandal C. (2010). Withanolide D induces apoptosis in leukemia by targeting the activation of neutral sphingomyelinase-ceramide cascade mediated by synergistic activation of c-Jun N-terminal kinase and p38 mitogen-activated protein kinase. *Molecular Cancer*, 9, 239.

Nakamura Y., Watanabe S., Miyake N., Kohno H. y Osawa T. (2003). Dihydrochalcones: evaluation as novel radical scavenging antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3309-3312.

Nakano D., Ishitshuka K., Katsuya H., Kunami N., Nogami R., Yoshimura Y., Matsuda M., Kamikawa M., Tsuchihashi R., Okawa M., Ikeda T., Nohara T., Tamura K. y Kinjo J. (2013). Screening of promising chemotherapeutic candidates from plants against human adult T-cell leukemia/lymphoma (II): apoptosis of antiproliferative principle (24,25-dihydrowithanolide D) against ATL cell lines and structure-activity relationships with withanolides isolated from solanaceous plants. *Journal of Natural Medicines*, 67, 415-420.

Nakano D., Ishitsuka K., Hatsuse T., Tsuchihashi R., Okawa M., Okabe H., Tamura K. y Kinjo J. (2011). Screening of promising chemotherapeutic candidates against human adult T-cell leukemia/lymphoma from plants: active principles from *Physalis pruinosa* and structure-activity relationships with withanolides. *Journal of Natural Medicines*, 65, 559-567.

Nee M. (1986). *Solanaceae I. Flora de Veracruz*. Fascículo 49. Instituto de Ecología. Xalapa, Veracruz, México.

Newman D.J. y Cragg G.M. (2012). Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75, 311-335.

Nicotra V.E., Gil R.R., Vaccharini C., Oberti J.C. y Burton G. (2003). 15,21-Cyclowithanolides from *Jaborosa bergii*. *Journal of Natural Products*, 66, 1471-1475.

Pérez-Castorena A.L., García M., Martínez M. y Maldonado E. (2004). Physalins from *Physalis solanaceus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32, 1231-1234.

Pérez-Castorena A.L., Martínez M. y Maldonado E. (2010). Labdanes and sucrose esters from *Physalis sordida*. *Journal of Natural Products*, 73, 1271-1276.

Pérez-Castorena A.L., Oropeza R.F., Vázquez A.R., Martínez M. y Maldonado E. (2006). Labdanes and withanolides from *Physalis coztomatl*. *Journal of Natural Products*, 69, 1029-1033.

- Poiret J.L.M. (1812). *Physalis foetens*. *Encyclopédie Méthodique, Botanique*, 2, 837–844.
- Qiu L., Zhao F., Jiang Z.H., Chen L.X., Zhao Q., Liu H.X., Yao X.S. y Qiu F. (2008). Steroids and flavonoids from *Physalis alkekengi* var. *franchetii* and their inhibitory effects on nitric oxide production. *Journal of Natural Products*, 71, 642.
- Qureshi S., Akhter F., Jamal A., Abbas S., Atta-Ur-Rahman y Choudhary I. (1996). 8th International Symposium on Natural Products, Karachi. Cf *Abstracts*, 117.
- Row L.R., Sarma N.S., Matsuura T. y Nakashima R. (1978). New physalins from *Physalis angulata* and *P. lancifolia*. *Phytochemistry*, 17, 1641-1650.
- Rydberg P.A. (1895). *Physalis subulata*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 22, 306.
- Rzedowski G.C. y Rzedowski J. (2001). *Flora fanerogámica del Valle de México*. 2a. ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.
- Santiagoullo J.F. y Blas S. (2009). Aprovechamiento tradicional de las especies de *Physalis* en México. *Revista de Geografía Agrícola*, 43, 81-86.
- Santos A., Uyemura S., Lopes J., Bazon J., Mingatto F. y Curti C. (1998). Effect of naturally occurring flavonoids on lipid peroxidation and membrane permeability transition in mitochondria. *Free Radical Biology and Medicine*, 24, 1455-1461.
- Ser N.A. (1988). Flavonoids from *Physalis minima*. *Phytochemistry*, 27, 3708-3709.
- Shaikh R.U., Dawane A.A., Pawar R.P., Gond D.S., Meshram R.J. y Gacche R.N. (2016). Inhibition of *Helicobacter pylori* and its associate urease by labdane diterpenoids isolated from *Andrographis paniculata*. *Phytotherapy Research*, 30, 412–417.
- Shingu K., Miyagawa M., Yahara S. y Nohara T. (1993). Constituents of solanaceous plants. XXVII. Physapruins A and B, two new withanolides from *Physalis pruinosa* Bailey. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 41, 1873-1875.
- Shohat B., Gitter S., Abraham A. y Lavie D. (1967). Antitumor activity of withaferin A. *Cancer Chemotherapy Reports*, 51, 271.
- Sinha S.C., Ali A., Bagchi A., Sahai M. y Ray A.B. (1986). Physalindicanols, new biogenetic precursors of C₂₈-steroidal lactones from *Physalis minima* var. *indica*. *Planta Medica*, 53, 55-57.
- Sutthanut K., Sripanidkulchai B., Yenjai C. y Jay M. (2007). Simultaneous identification and quantitation of 11 flavonoid constituents in *Kaempferia parviflora* by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1143, 227-233.
- Syrov V.N., Khushbaktova Z.A. y Vasina O.E. (1989). *Khim. Pharm. Zh.* 23, 610. Cf *Chemical Abstracts* 111.

Takimoto T., Kanbayashi Y., Toyoda T., Adachi Y., Furuta C., Suzuki K., Miwa T. y Bannai M. (2014). 4 β -Hydroxywithanolide E isolated from *Physalis pruinosa* calyx decreases inflammatory responses by inhibiting the NF- κ B signaling in diabetic mouse adipose tissue. *International Journal of Obesity*, 38, 1432–1439.

Taylor P., Arsenak M., Abad M.J., Fernández A., Milano B., Gonto R., Ruiz M.C., Fraile S., Taylor S., Estrada O. y Michelangeli F. (2013). Screening of Venezuelan medicinal plant extracts for cytostatic and cytotoxic activity against tumor cell lines. *Phytotherapy Research*, 27, 530–539.

Torres Manríquez Fernando Rodrigo (2006). Aislamiento y caracterización de los constituyentes de *Physalis nicandroides* Schltdl. var. *attenuata* Waterf. (Comunicación idónea de resultados para obtener el grado de Maestro en Ciencias Farmacéuticas). Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

Ueda H., Yamazaki C. y Yamazaki M. (2004). A hydroxyl group of flavonoids affects oral anti-inflammatory activity and inhibition of systemic tumor necrosis factor- α production. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 68, 119-125.

Villaseñor J.L. y Espinosa F.J. (1998). *Catálogo de malezas de México*. Universidad Nacional Autónoma de México.

Wang Y., Hamburger M., Gueho J. y Hostettmann K. (1989). Antimicrobial flavonoids from *Psiadia trinervia* and their methylated and acetylated derivatives. *Phytochemistry*, 28, 2323-2327.

Waterfall U.T. (1967). *Physalis* in Mexico, Central America and the West Indies. *Rhodora*, 69, 319-329.

Whitson M. (2005). Untangling *Physalis* (Solanaceae) from the physaloids: a two-gene phylogeny of the Physalinae. *Systematic Botany*, 30, 216-230.

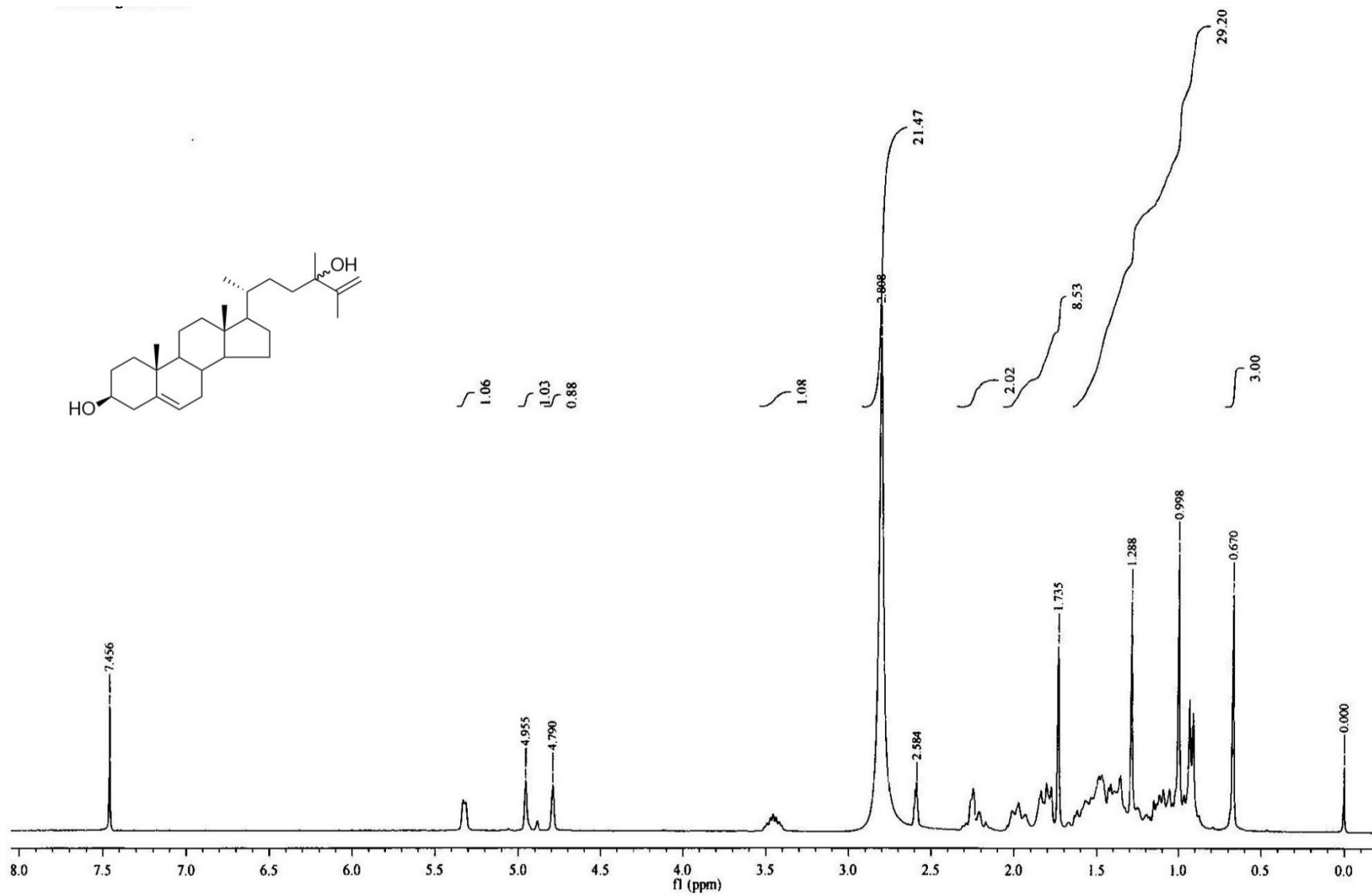
Wu H., Li J., Fronczek F.R., Ferreira D., Burandt C.L., Setola V., Roth B.L. y Zjawiony J.K. (2013). Labdane diterpenoides from *Leonotis leonurus*. *Phytochemistry*, 91, 229-235.

Zhang W.N. y Tong W.Y. (2016). Chemical constituents and biological activities of plants from the genus *Physalis*. *Chemistry and Biodiversity*, 13, 48-65.

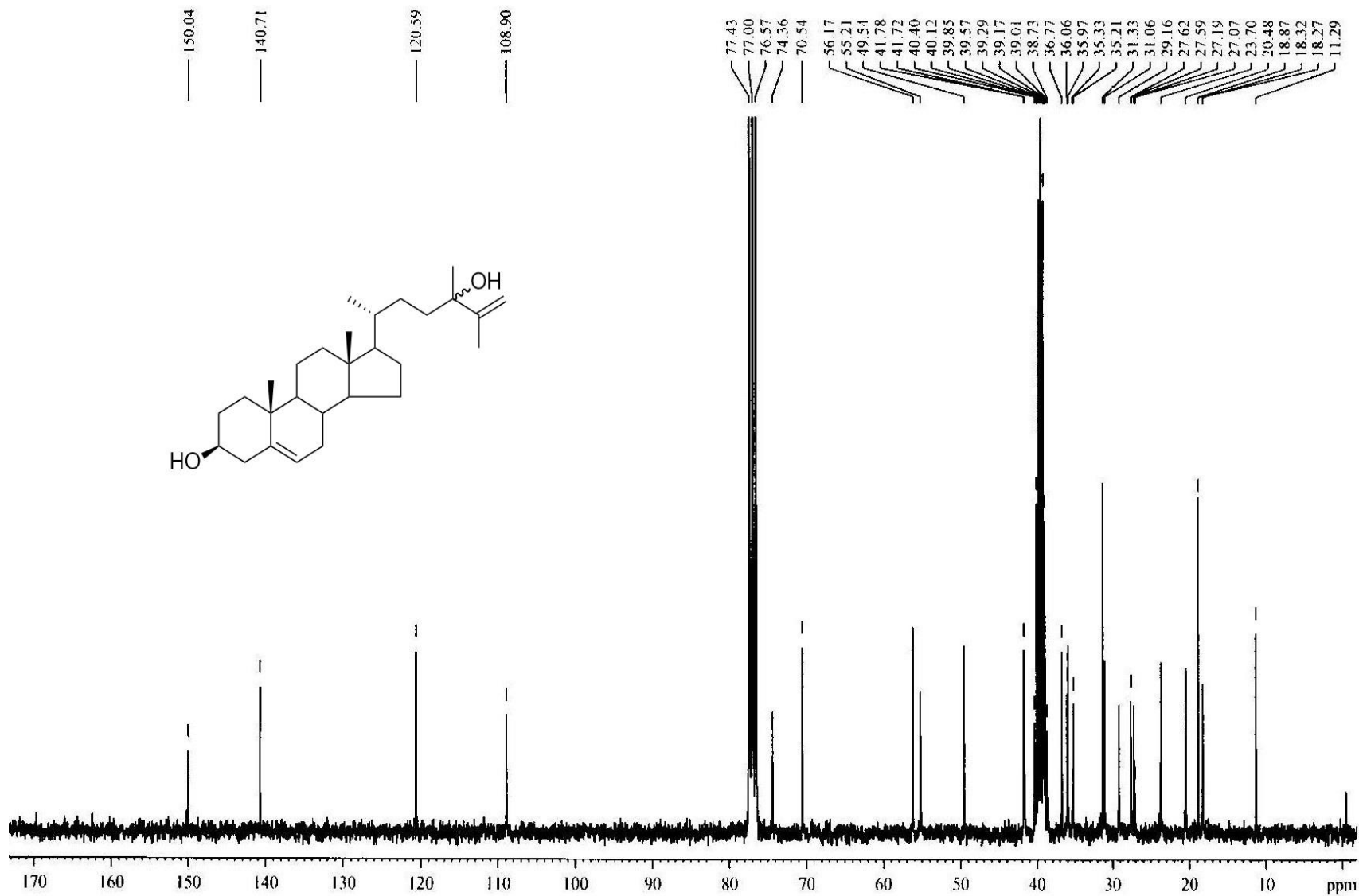
Zhao J., Nakamura N., Hattori M., Kuboyama T., Tohda C. y Komatsu K. (2002). Withanolide derivatives from the roots of *Withania somnifera* and their neurite outgrowth activities. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 50, 760-765.



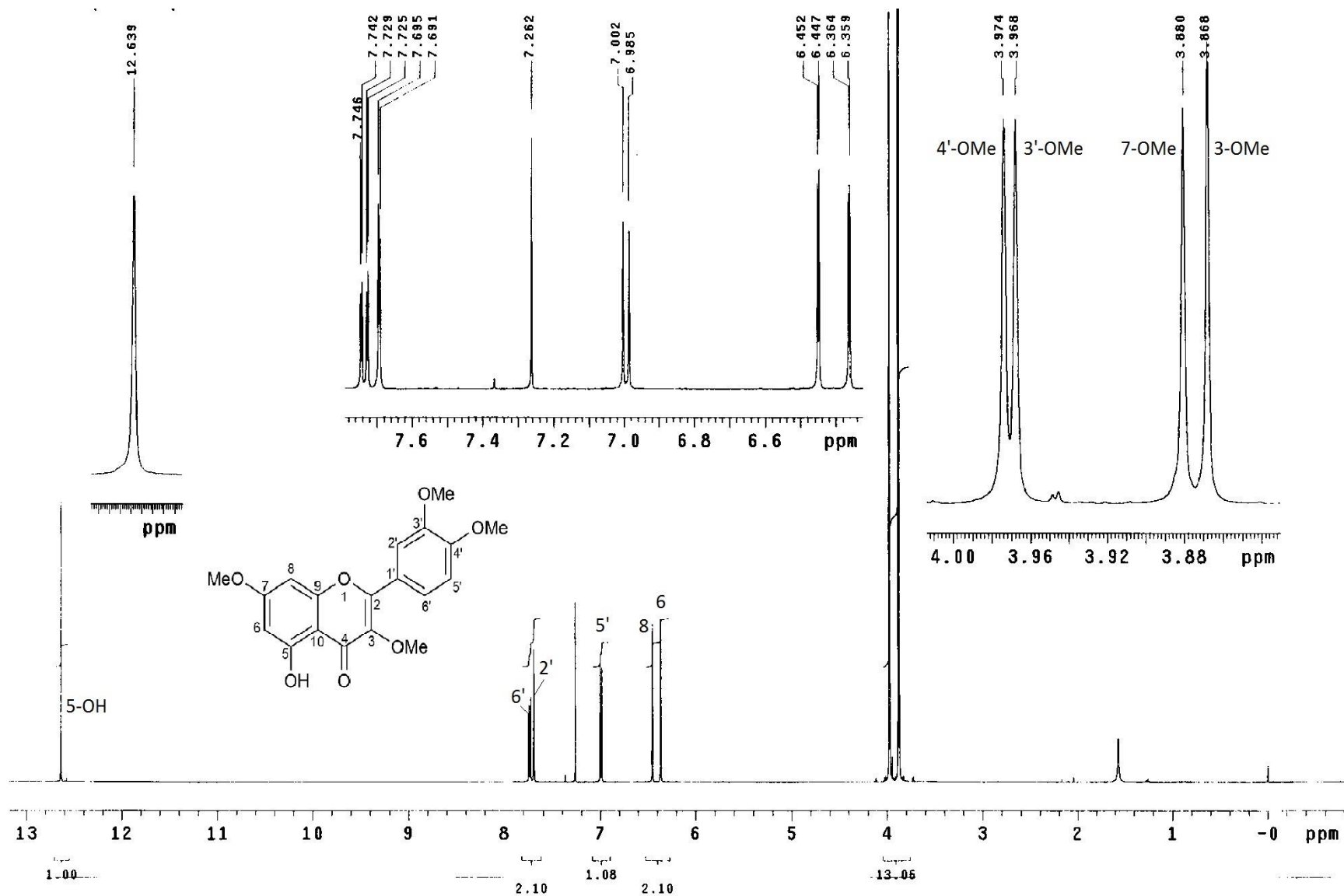
ANEXO – ESPECTROSCOPIA

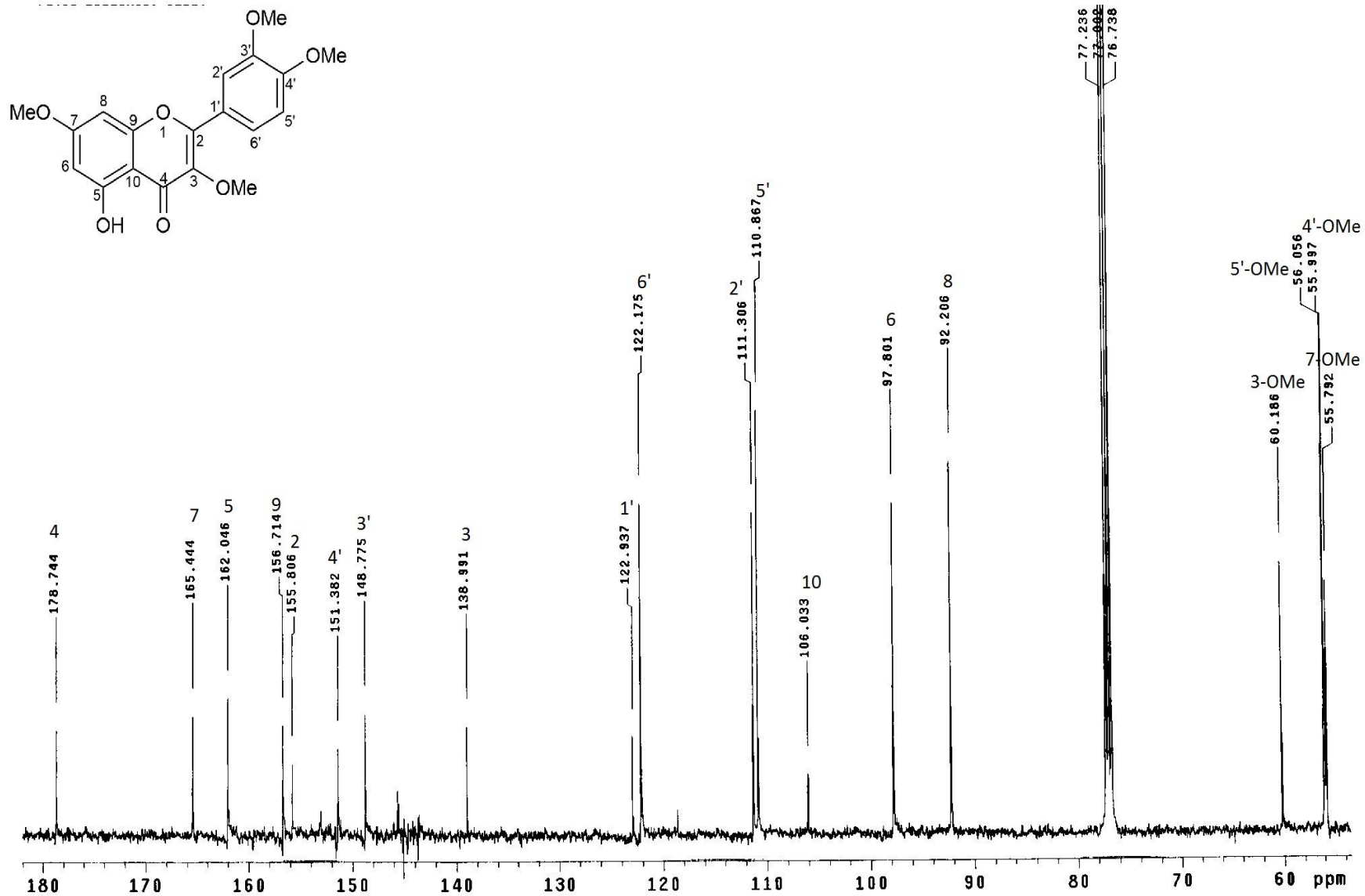


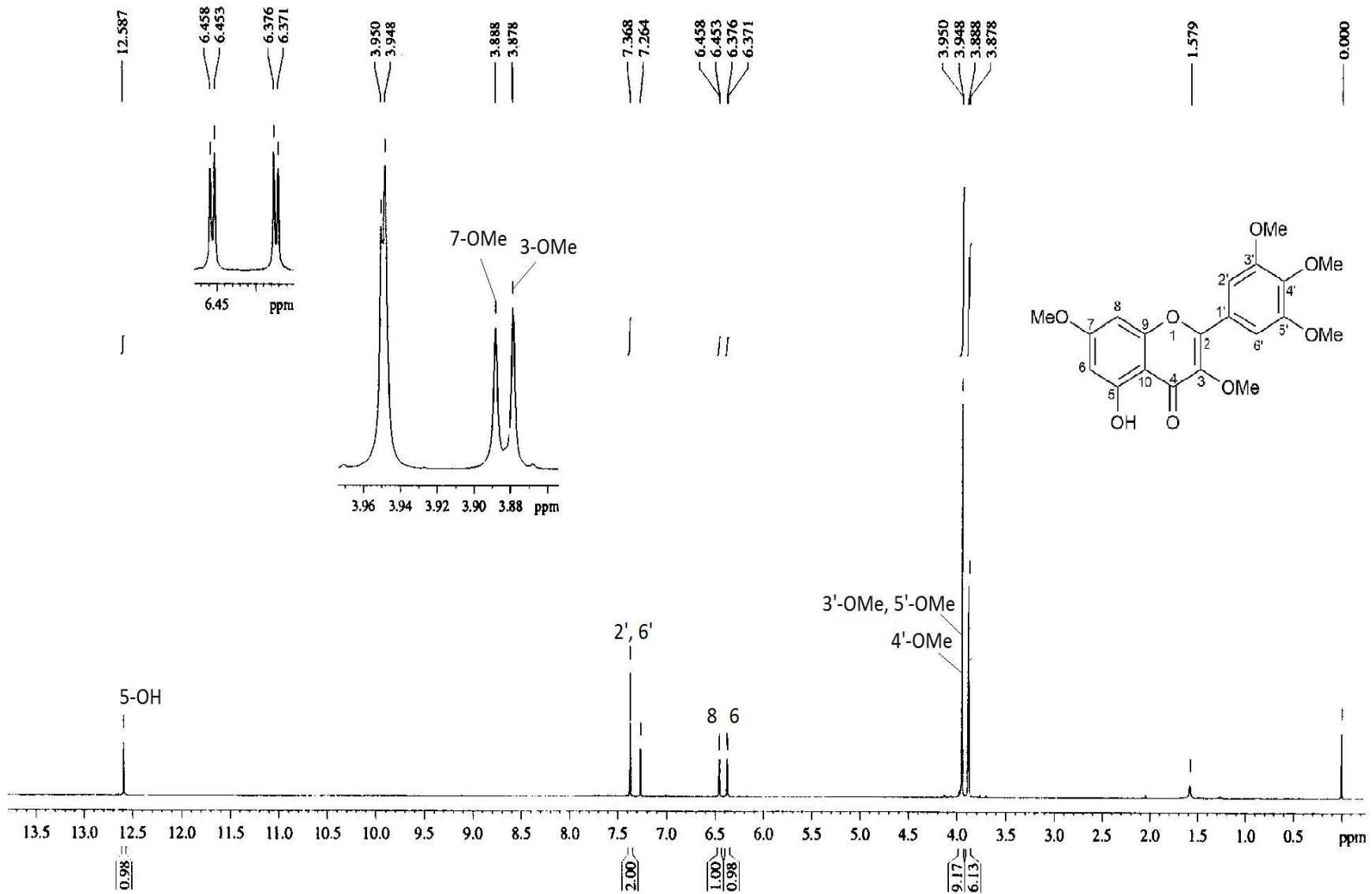
Espectro 1. RMN ¹H del physalindicanol (3) (300 MHz, CDCl₃ + DMSO-d₆).

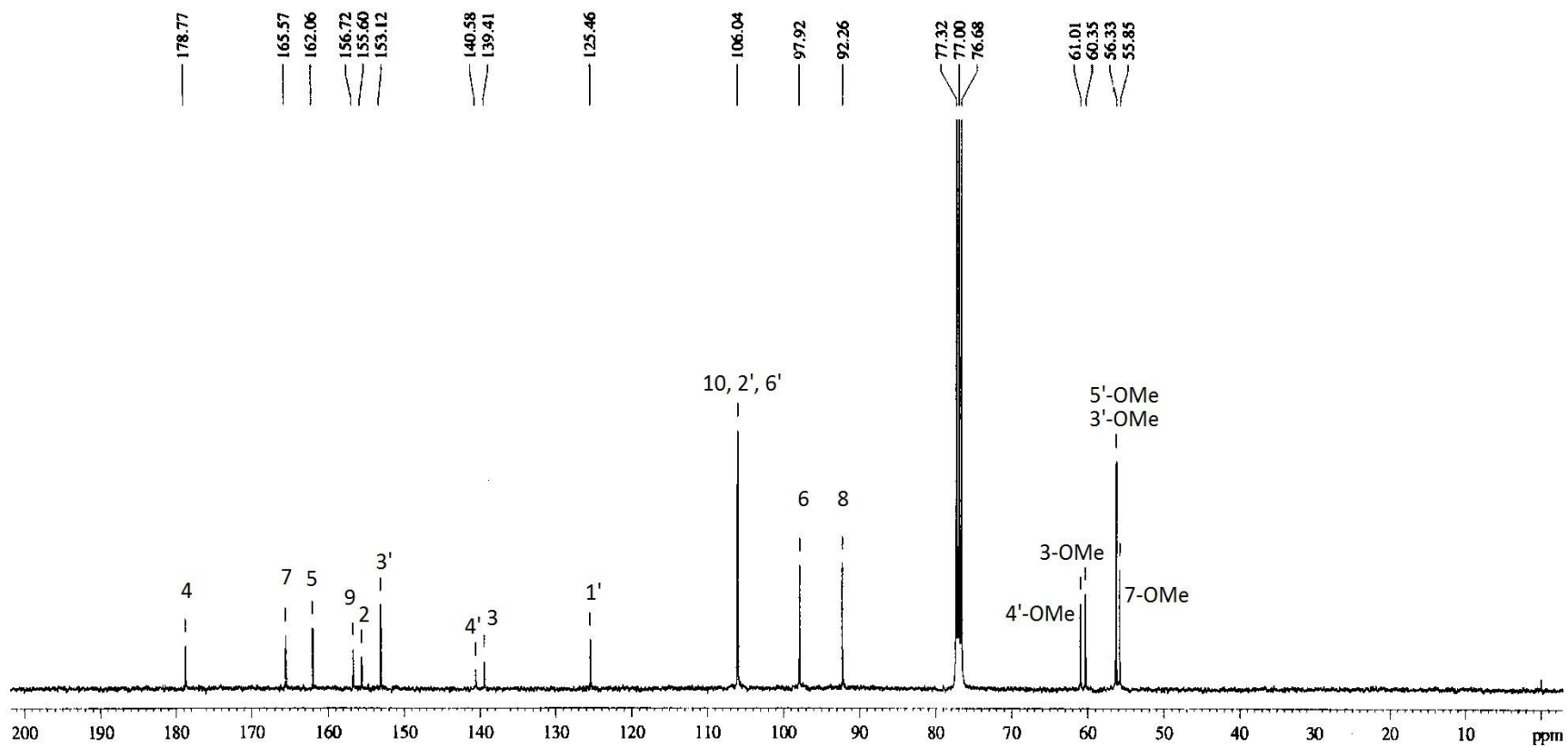
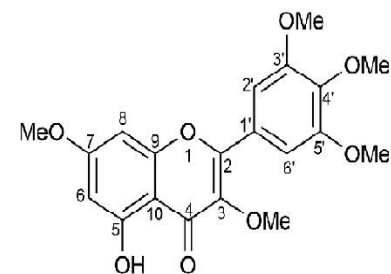


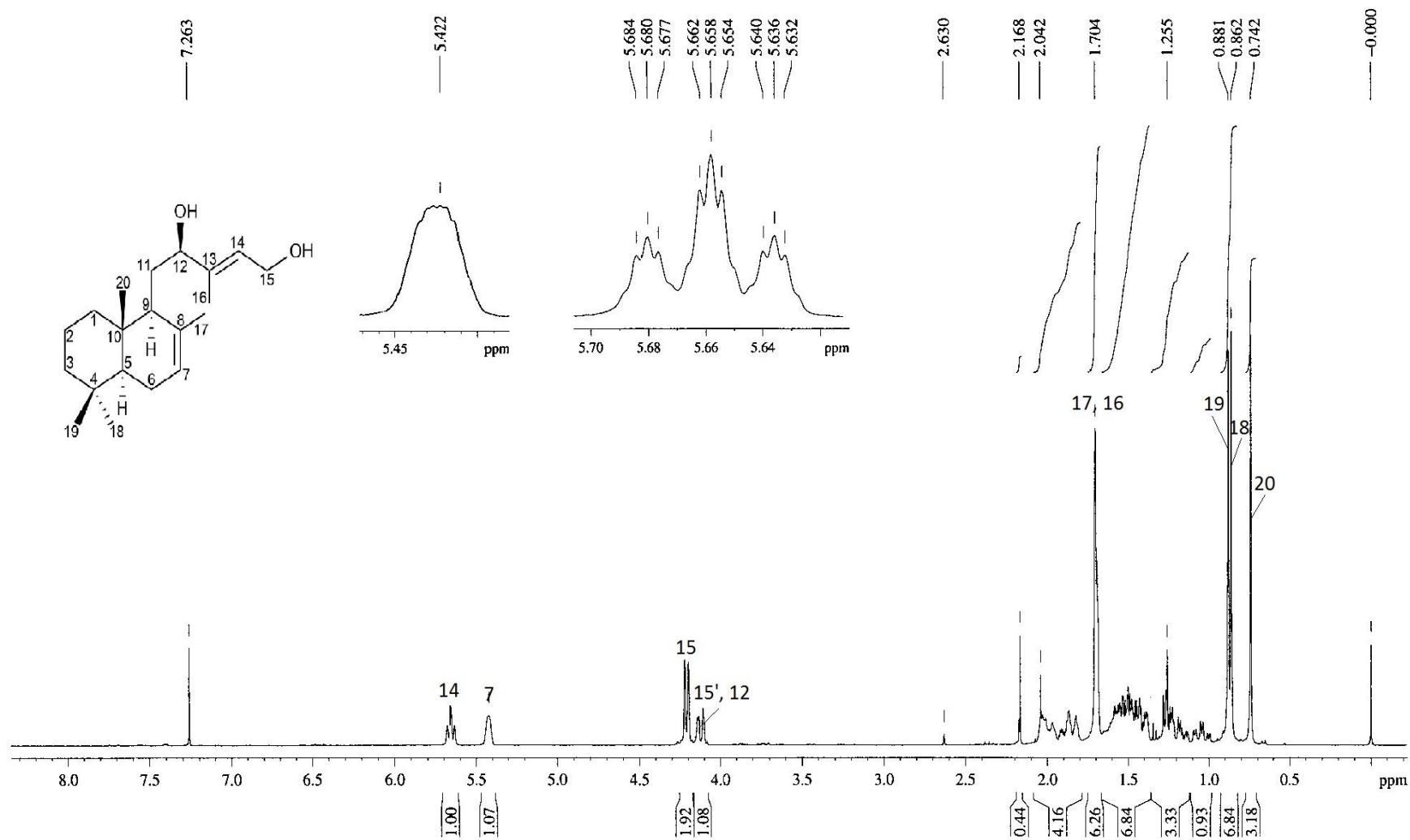
Espectro 2. RMN ^{13}C del physalindicanol (3) (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-d}_6$).

Espectro 3. RMN ^1H de la retusina (4) (500 MHz, CDCl_3).

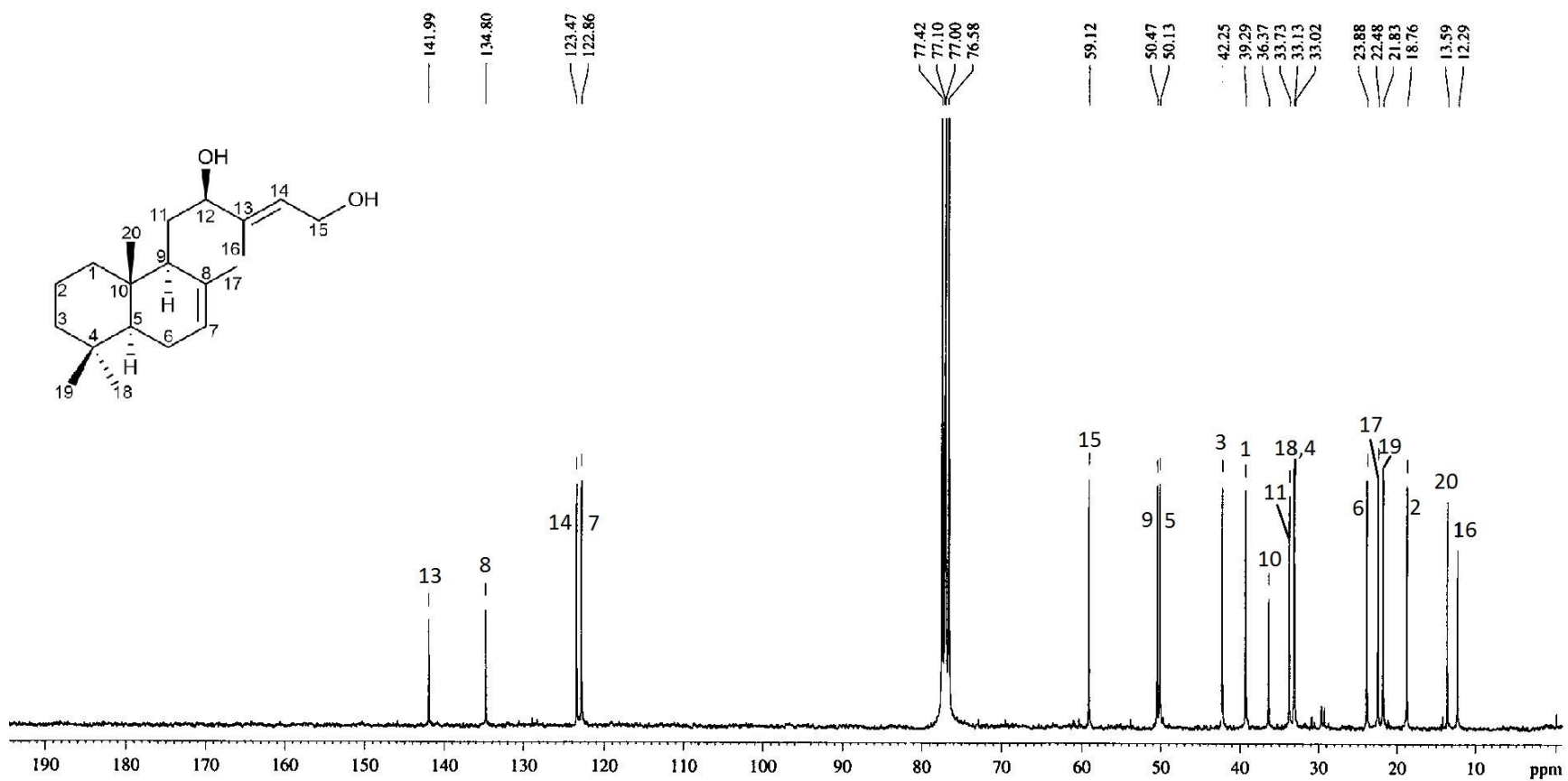
Espectro 4. RMN ¹³C de la retusina (4) (125 MHz, CDCl₃).

Espectro 5. RMN ^1H del combretol (5) (400 MHz, CDCl_3).

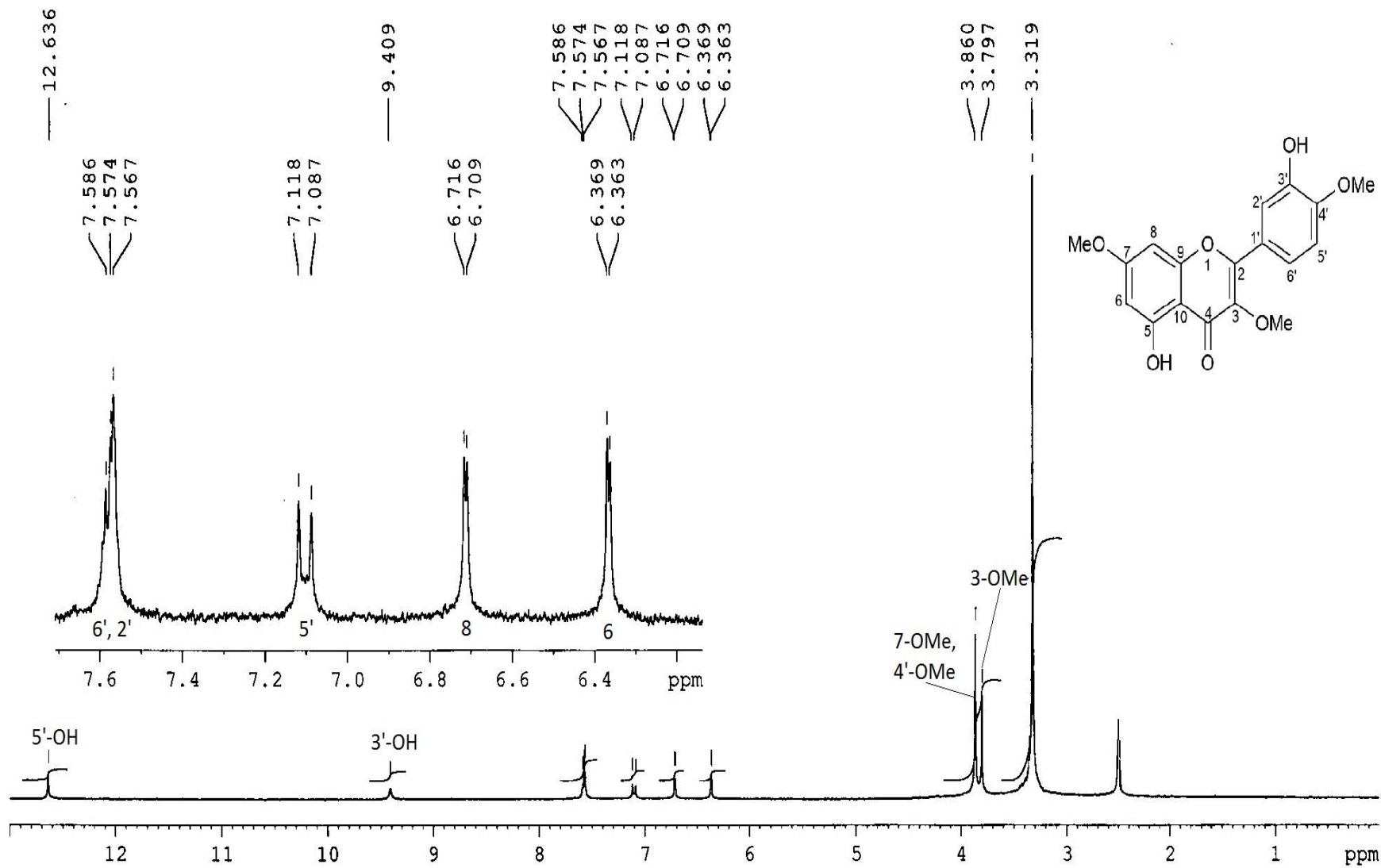
Espectro 6. RMN ¹³C del combretol (5) (100 MHz, CDCl₃).

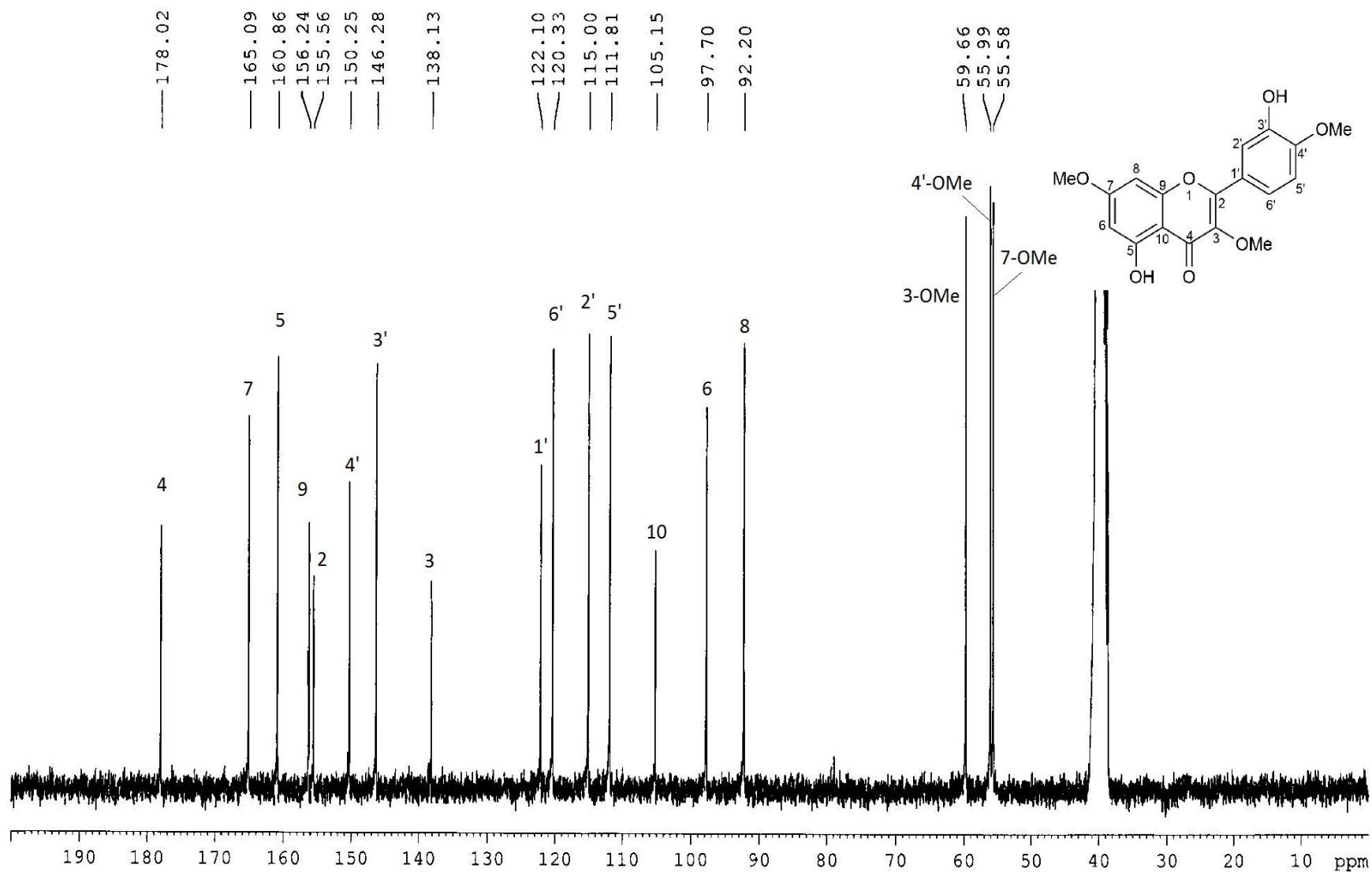


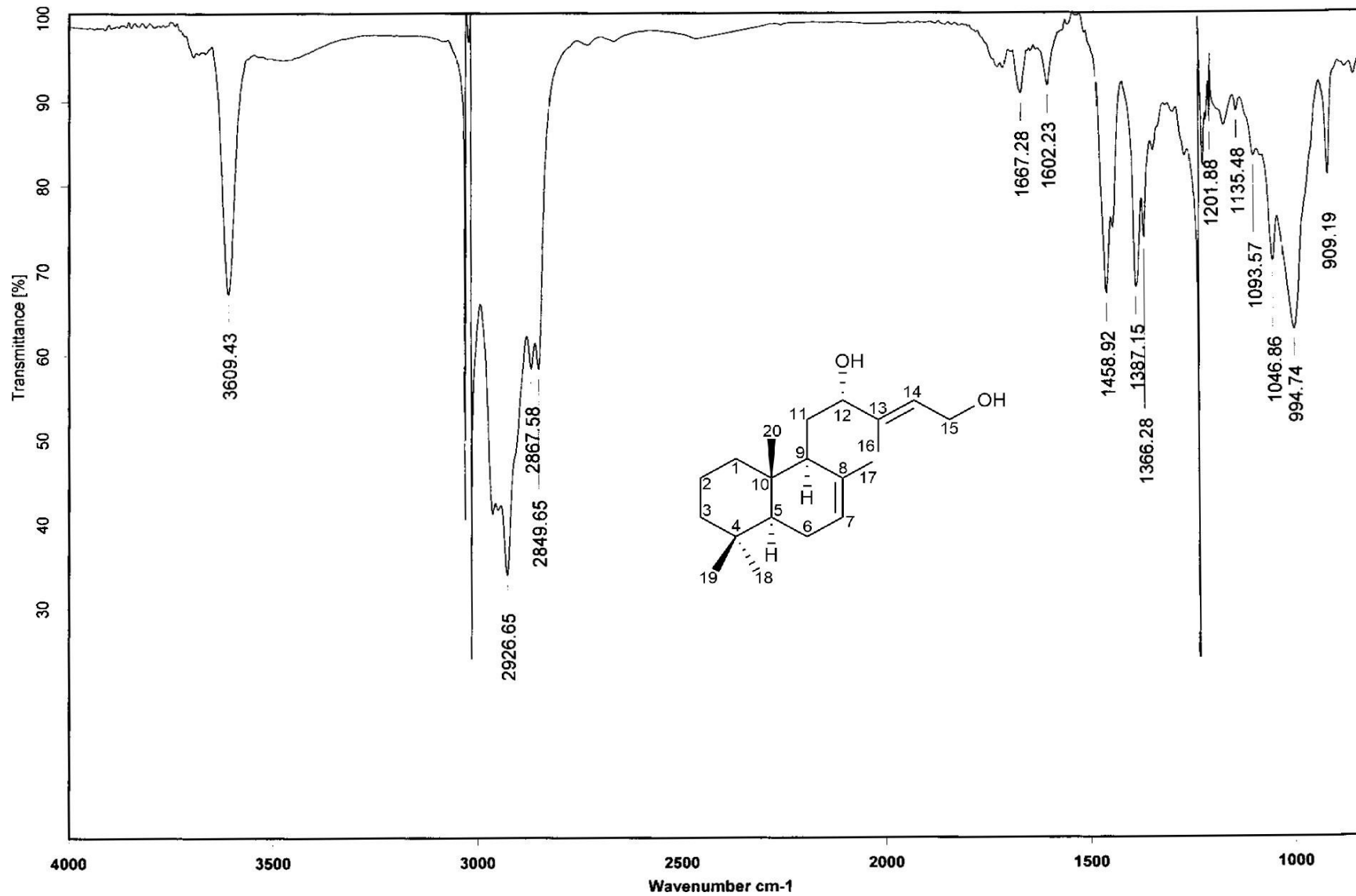
Espectro 7. RMN ¹H de la physacoctomatina (6) (300 MHz, CDCl₃).

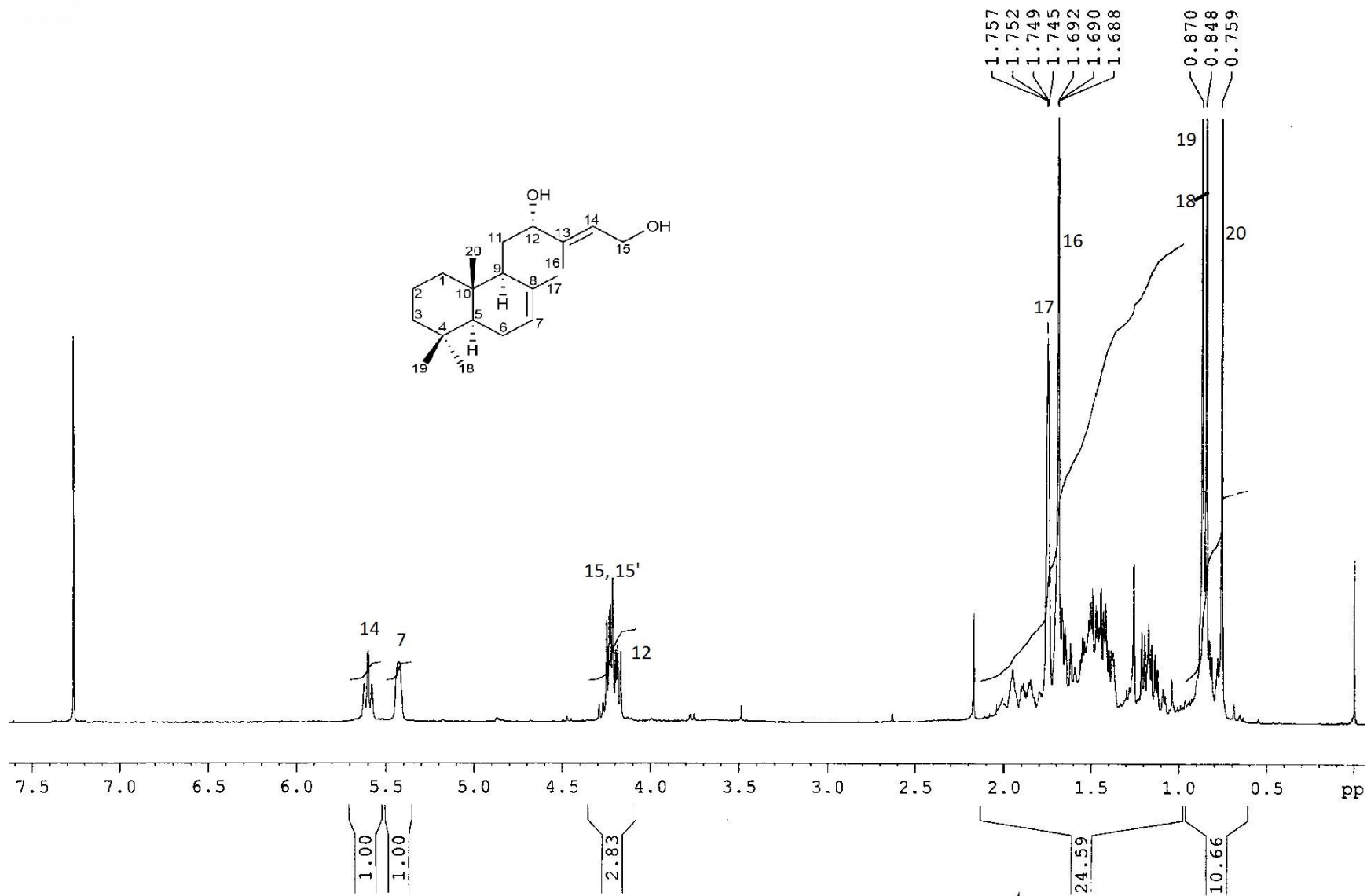


Espectro 8. RMN ¹³C de la physacoctomatina (6) (75 MHz, CDCl₃).

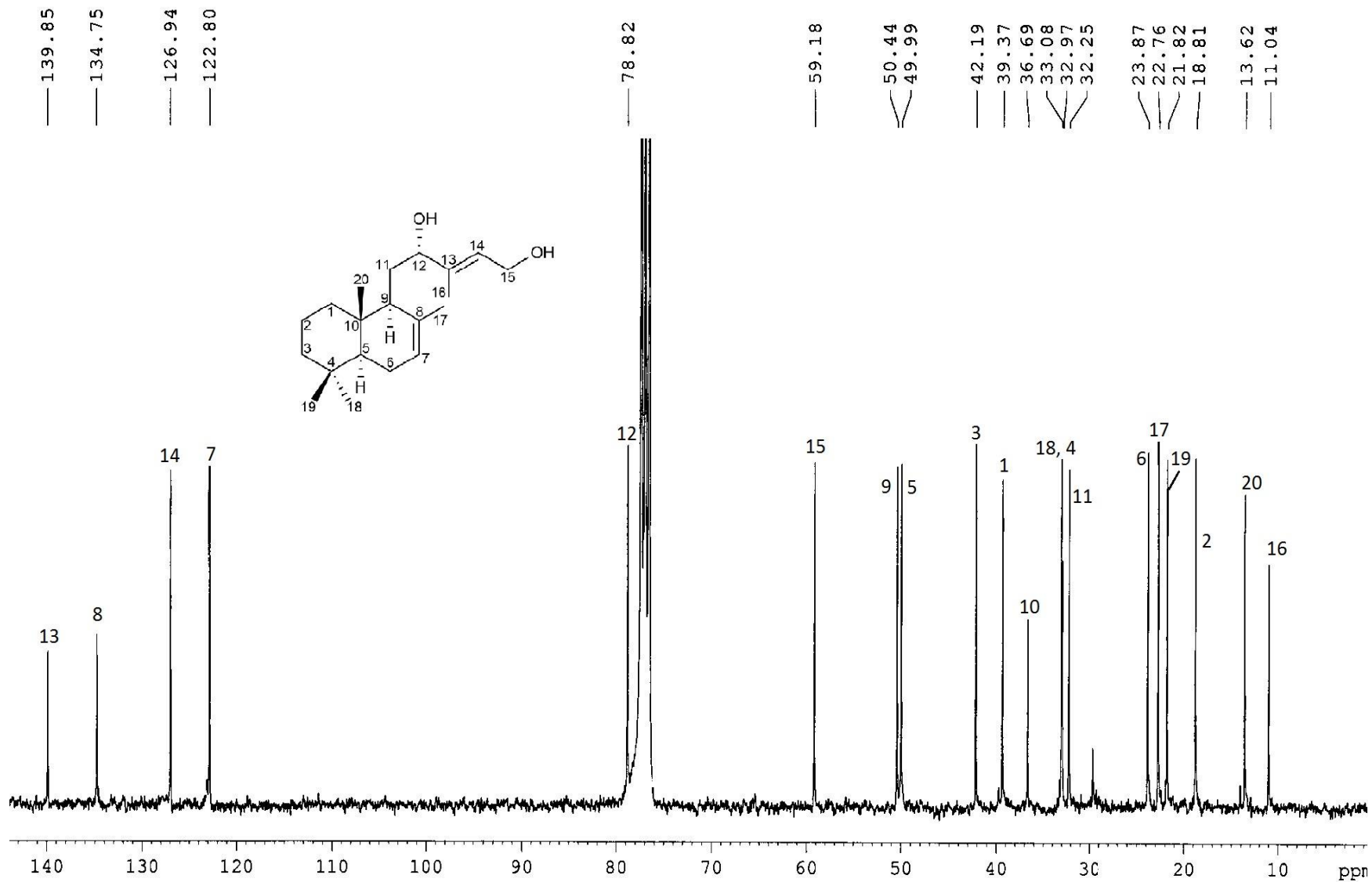
Espectro 9. RMN ^1H de la ayanina (7) (300 MHz, DMSO- d_6).

Espectro 10. RMN ^{13}C de la ayanina (7) (75 MHz, DMSO- d_6).

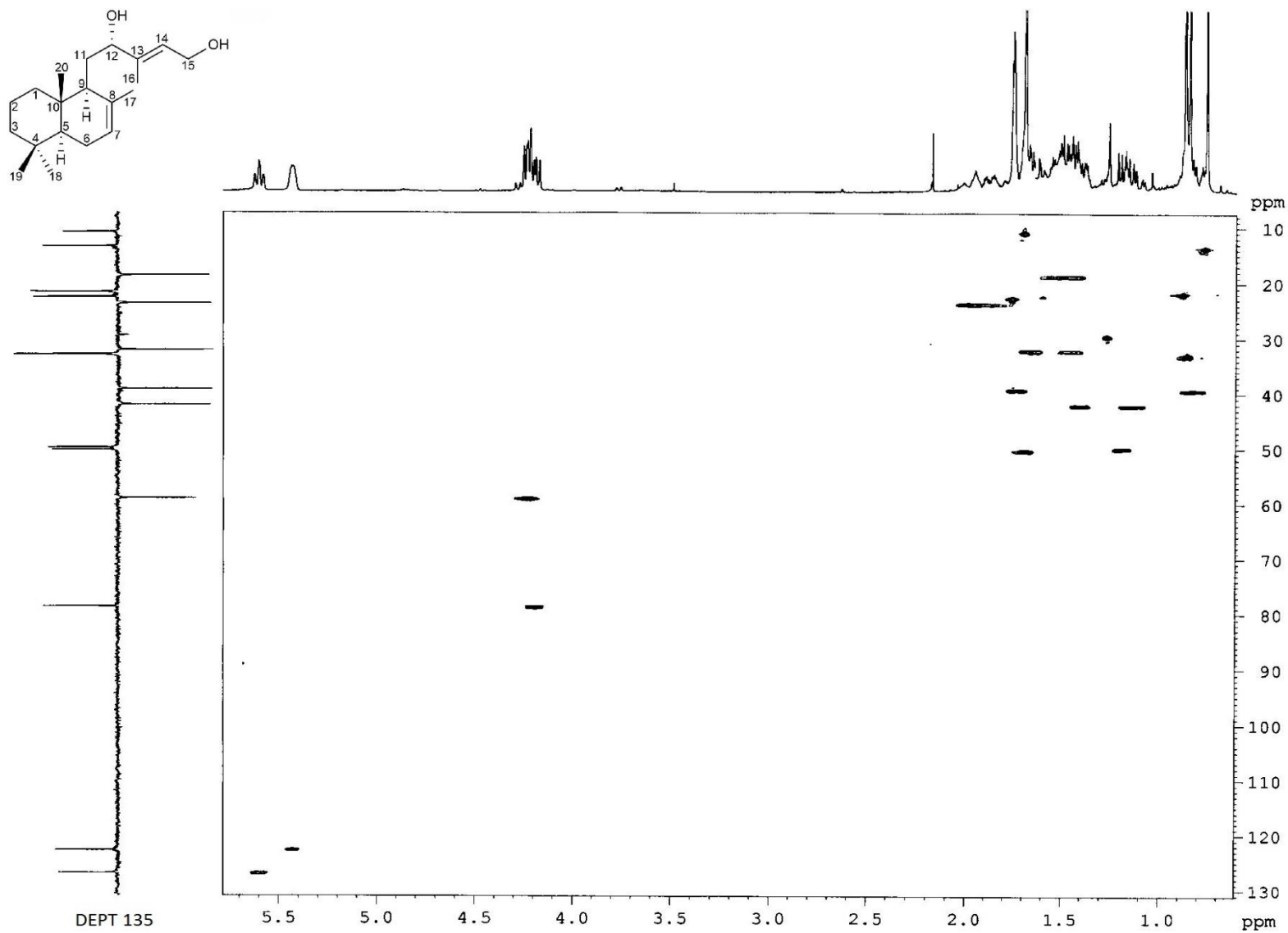
Espectro 11. IR de la 12-*epi*-physacoztomatina (8) (CDCl₃).



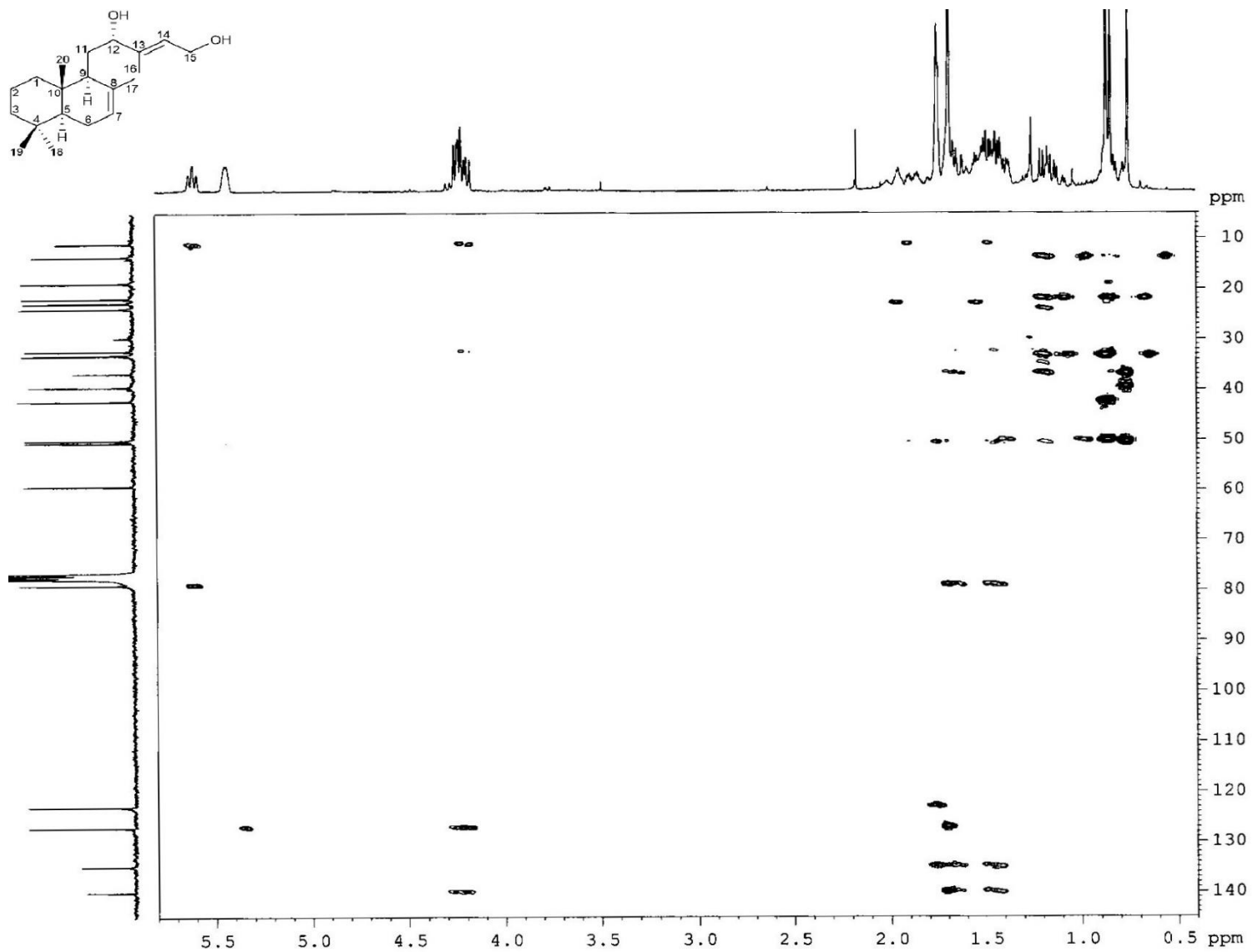
Espectro 12. RMN ^1H de la 12-*epi*-physacoztomatina (**8**) (300 MHz, CDCl_3).



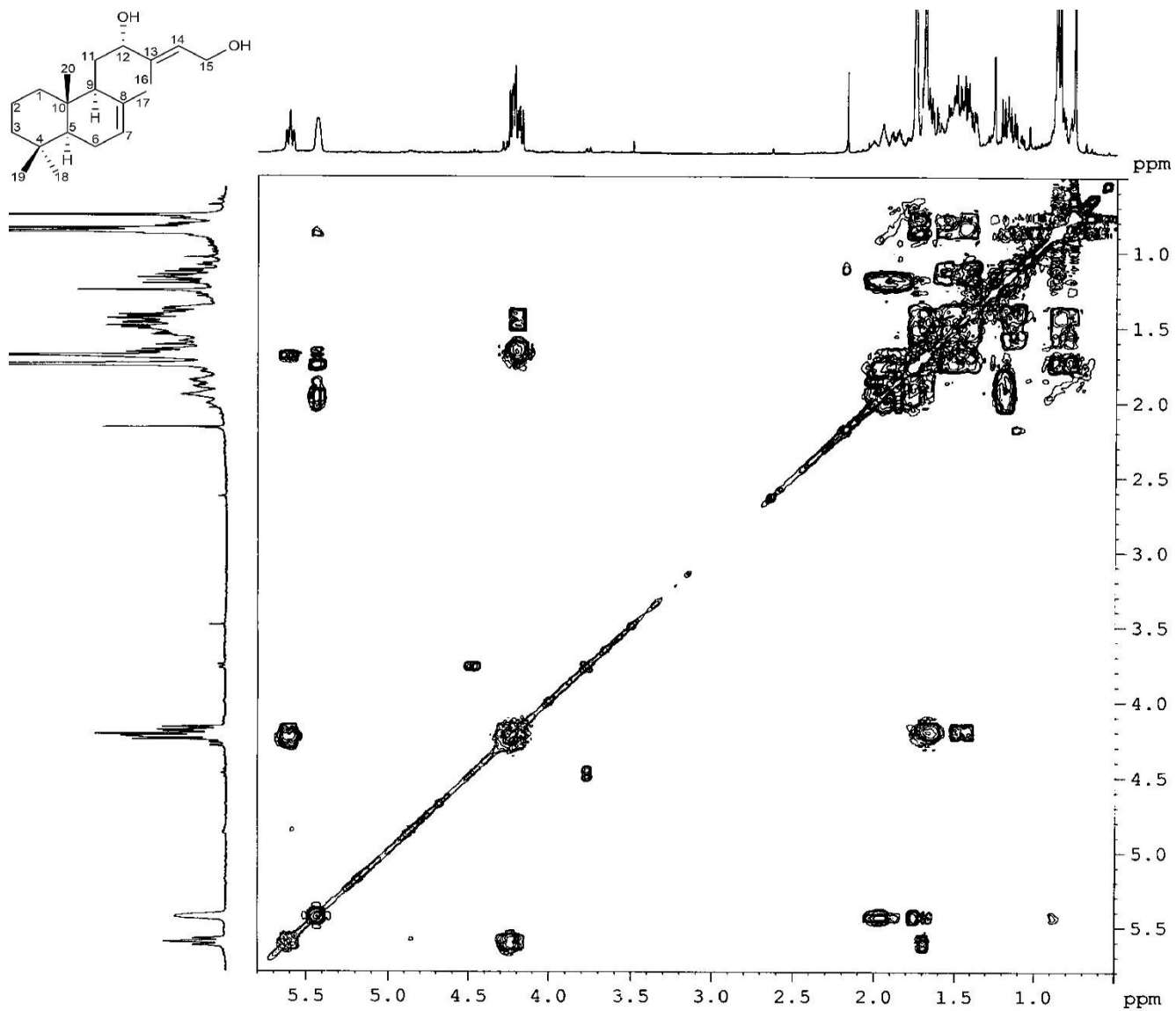
Espectro 13. RMN ^{13}C de la 12-*epi*-physacoztomatina (8) (75 MHz, CDCl_3).



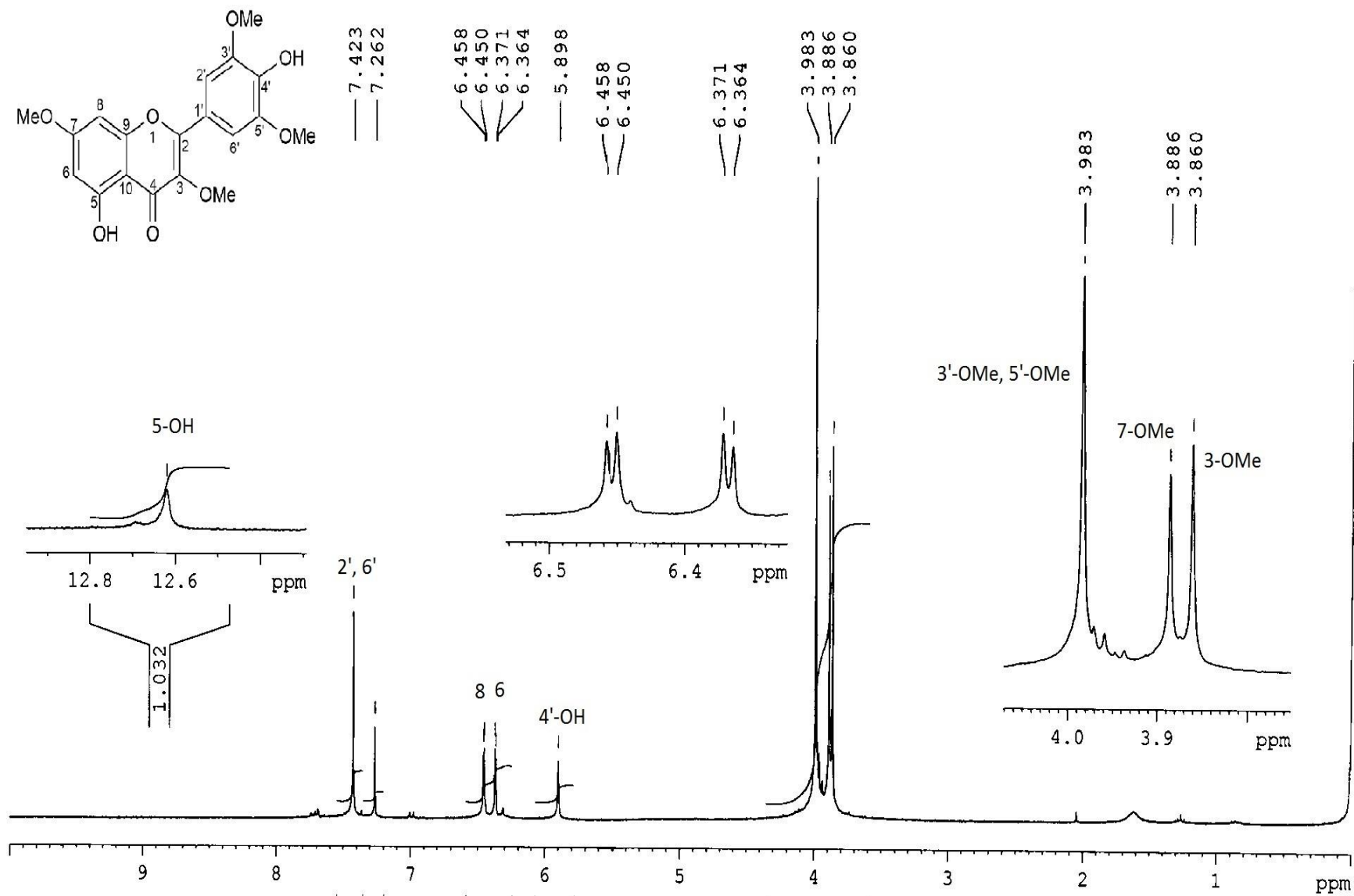
Espectro 14. HSQC de la 12-*epi*-physacoztomatina (8).



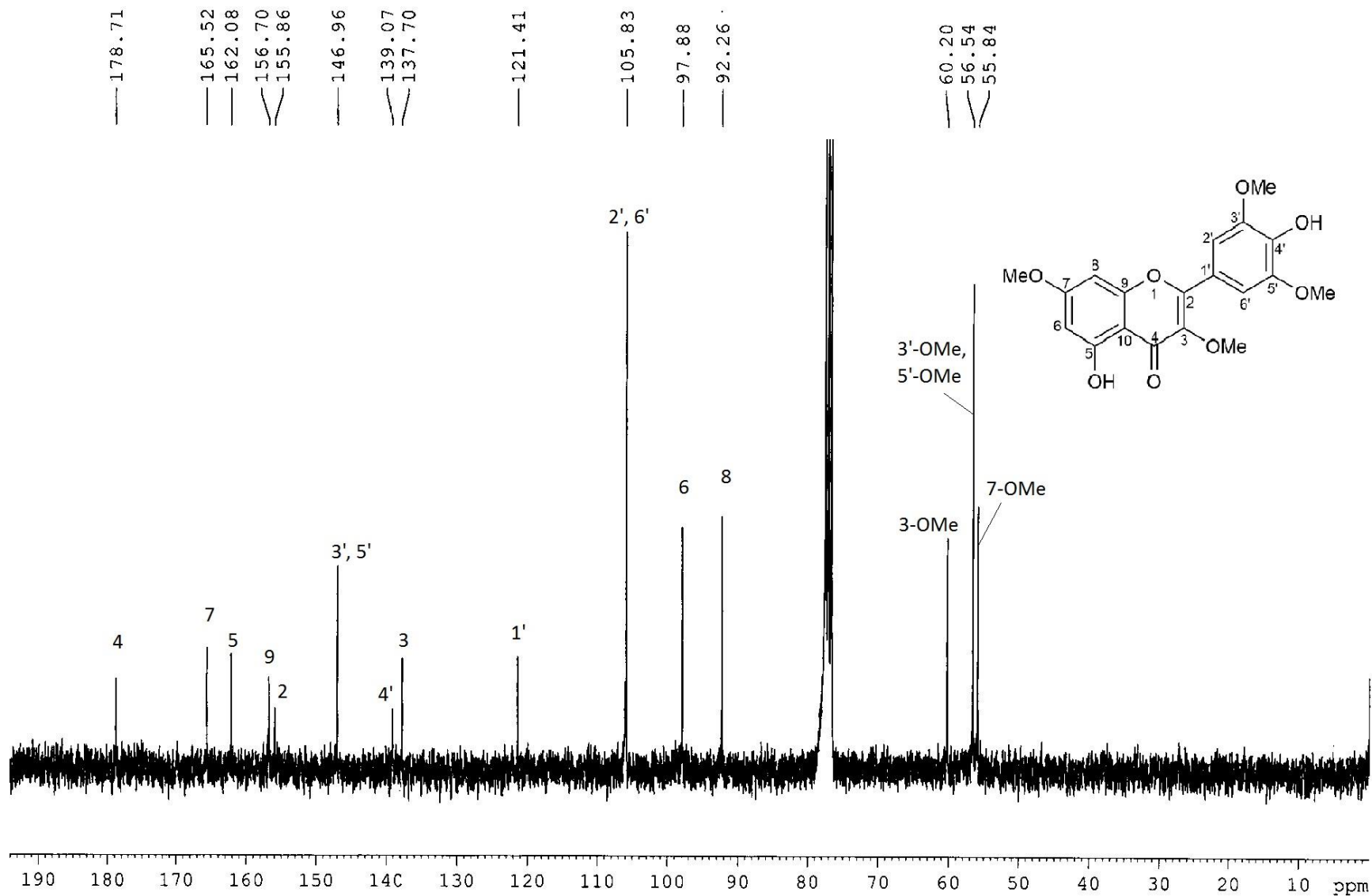
Espectro 15. HMBC de la 12-*epi*-physacoztomatina (8).



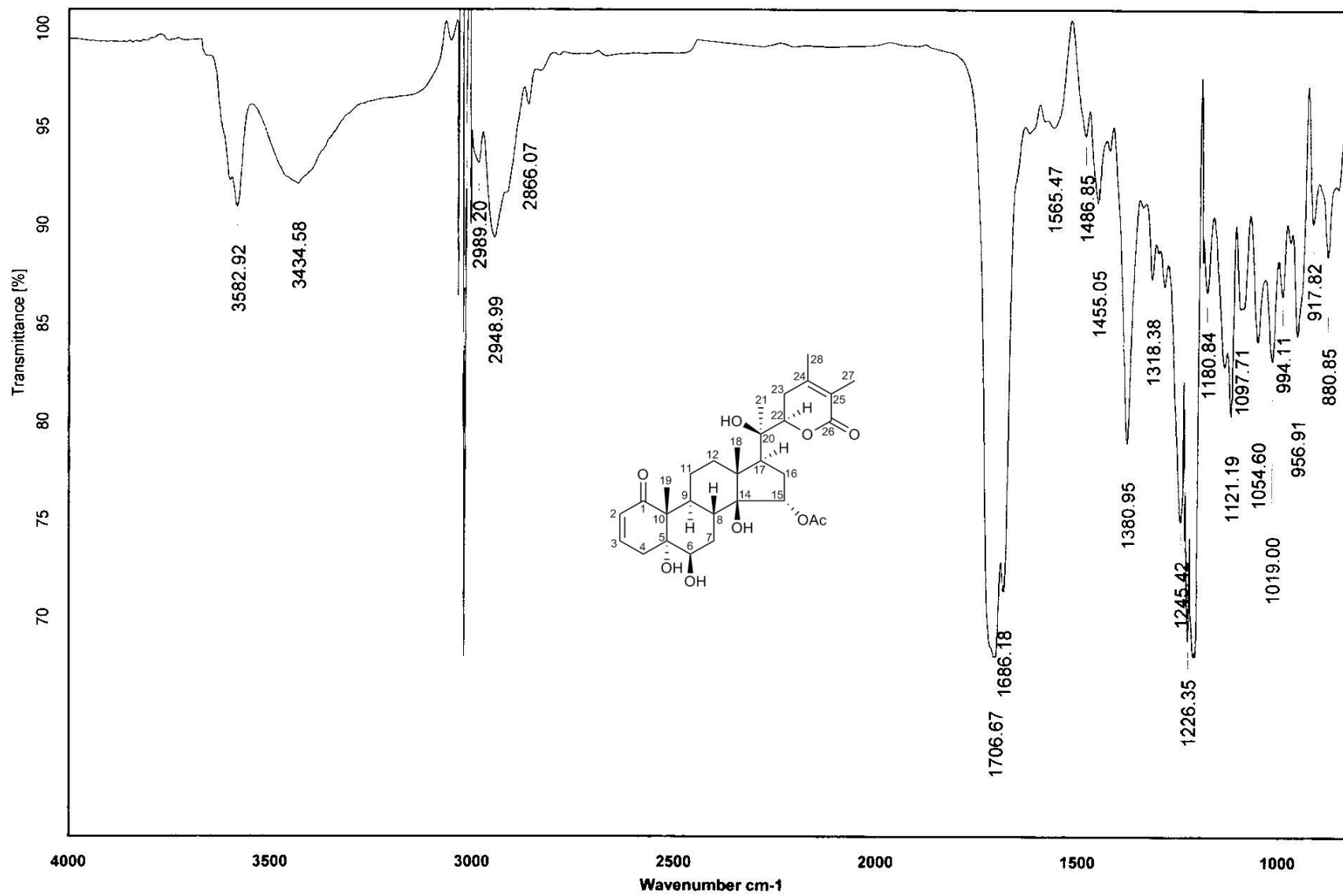
Espectro 16. COSY de la 12-*epi*-physacoztomatina (**8**).

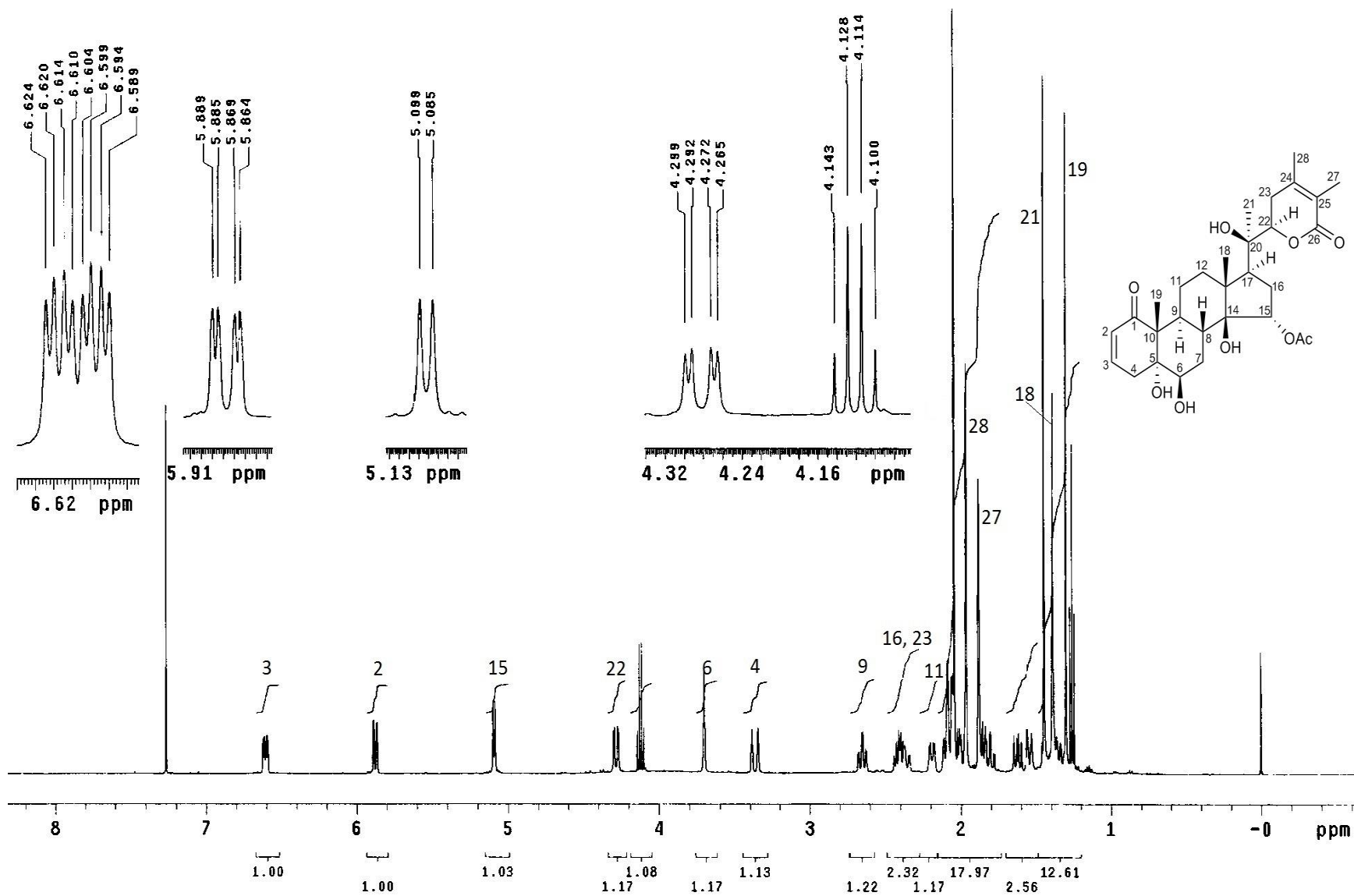


Espectro 17. RMN ^1H de la 4',5-dihidroxi-3,3',5',7-tetrametoxiflavona (9) (300 MHz, CDCl_3).

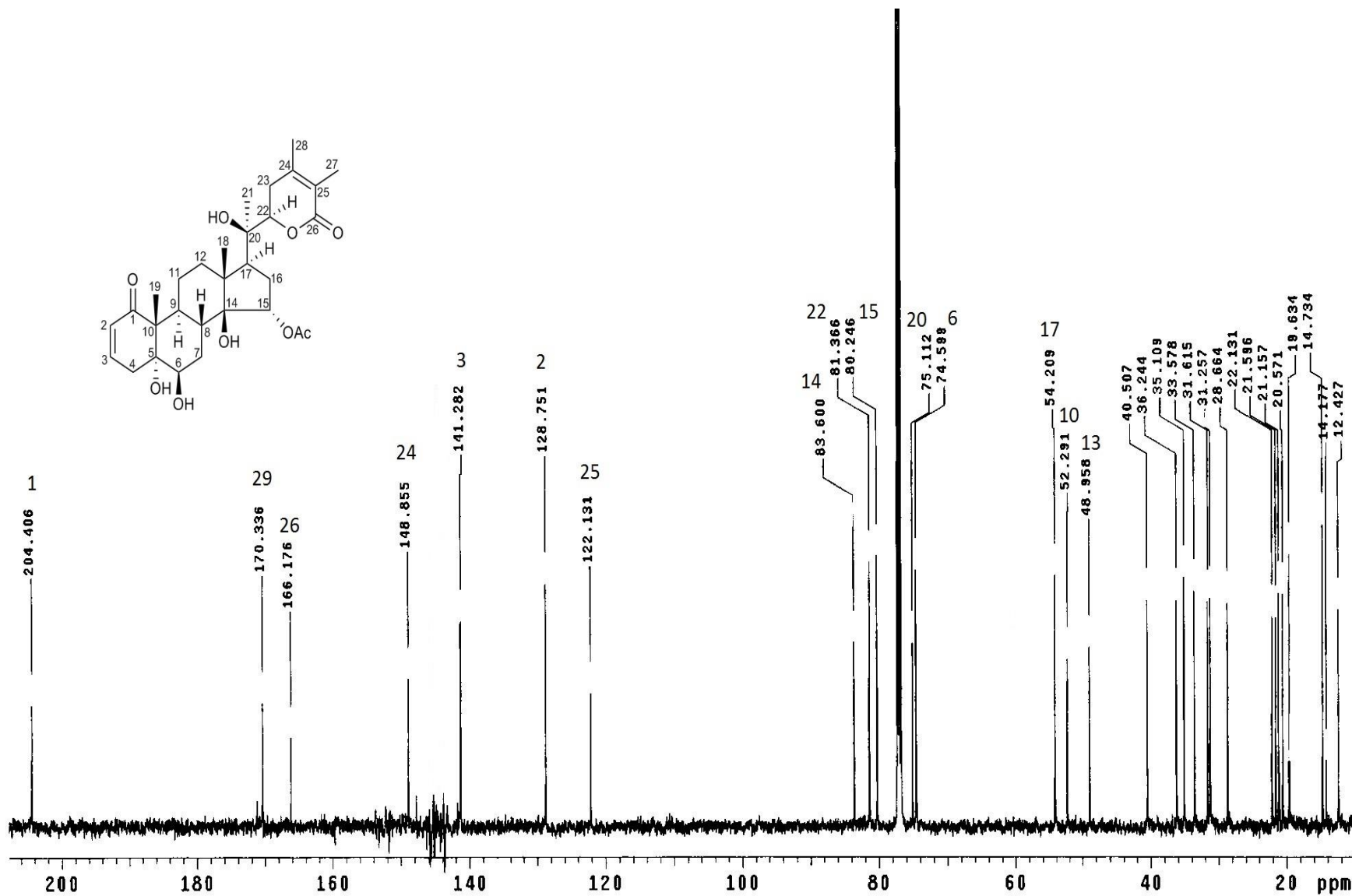


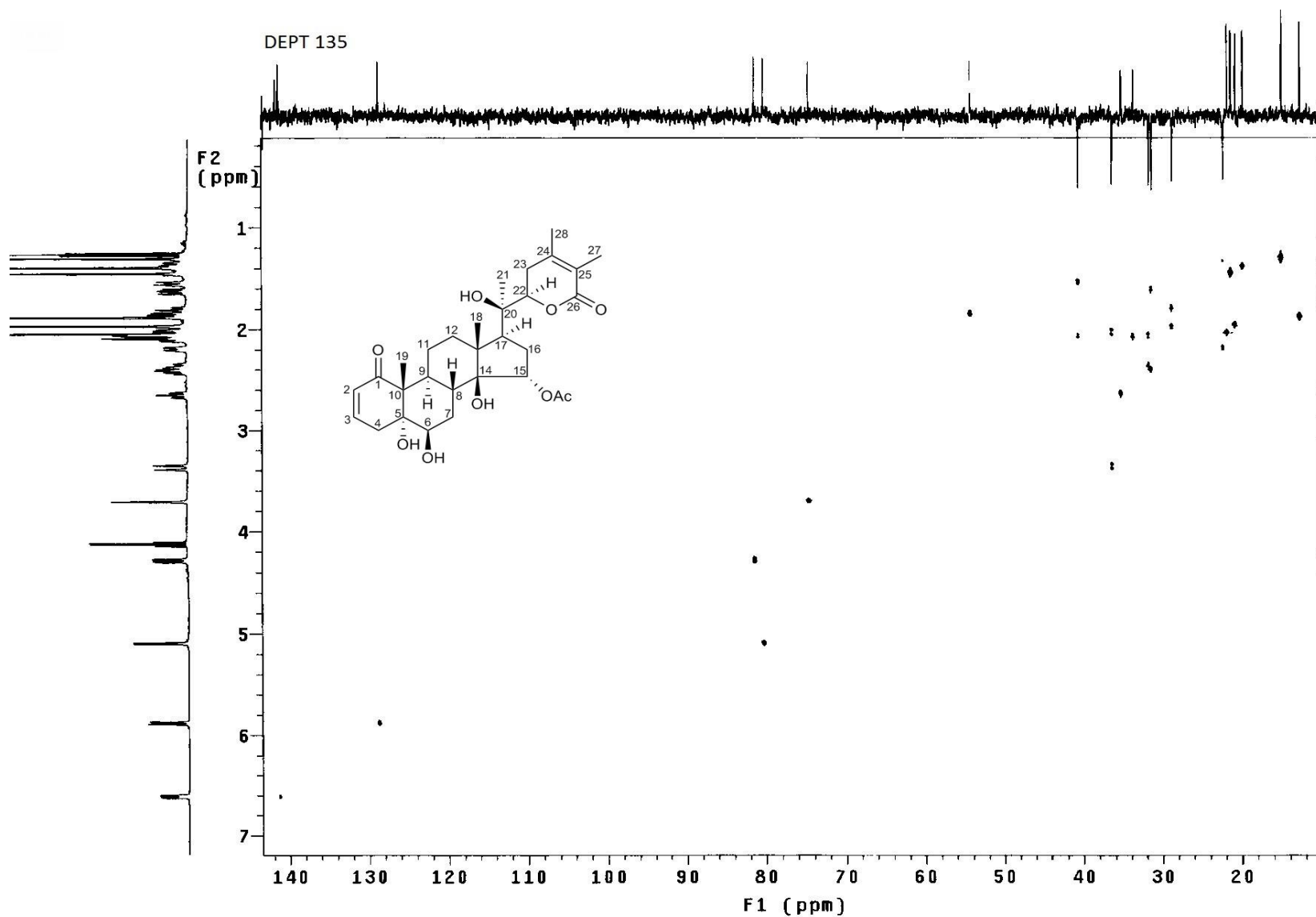
Espectro 18. RMN ^{13}C de la 4',5-dihidroxi-3,3',5',7-tetrametoxiflavona (9) (75 MHz, CDCl_3).

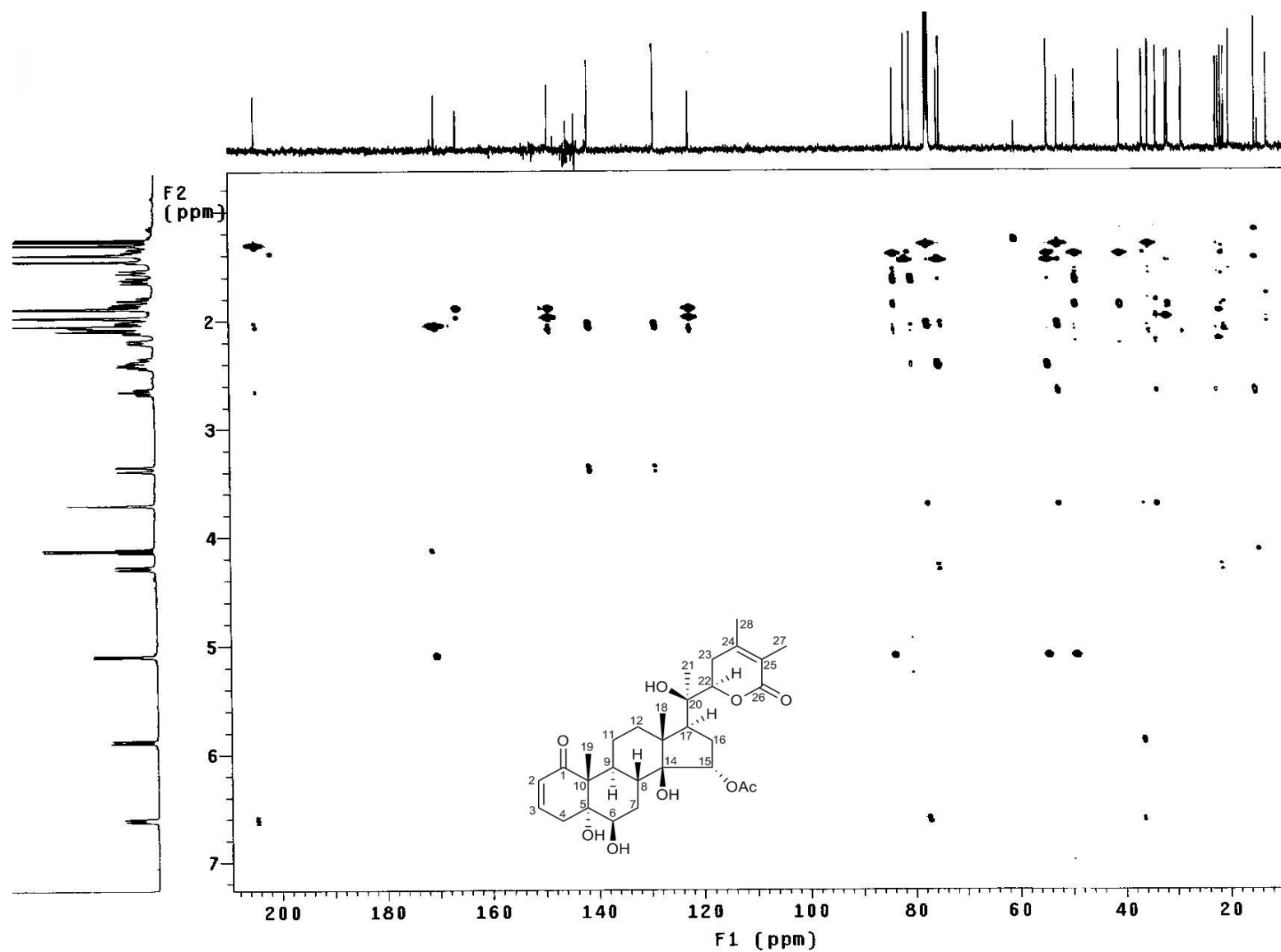
Espectro 19. IR de la withaneomexólida D (10) (CDCl₃).



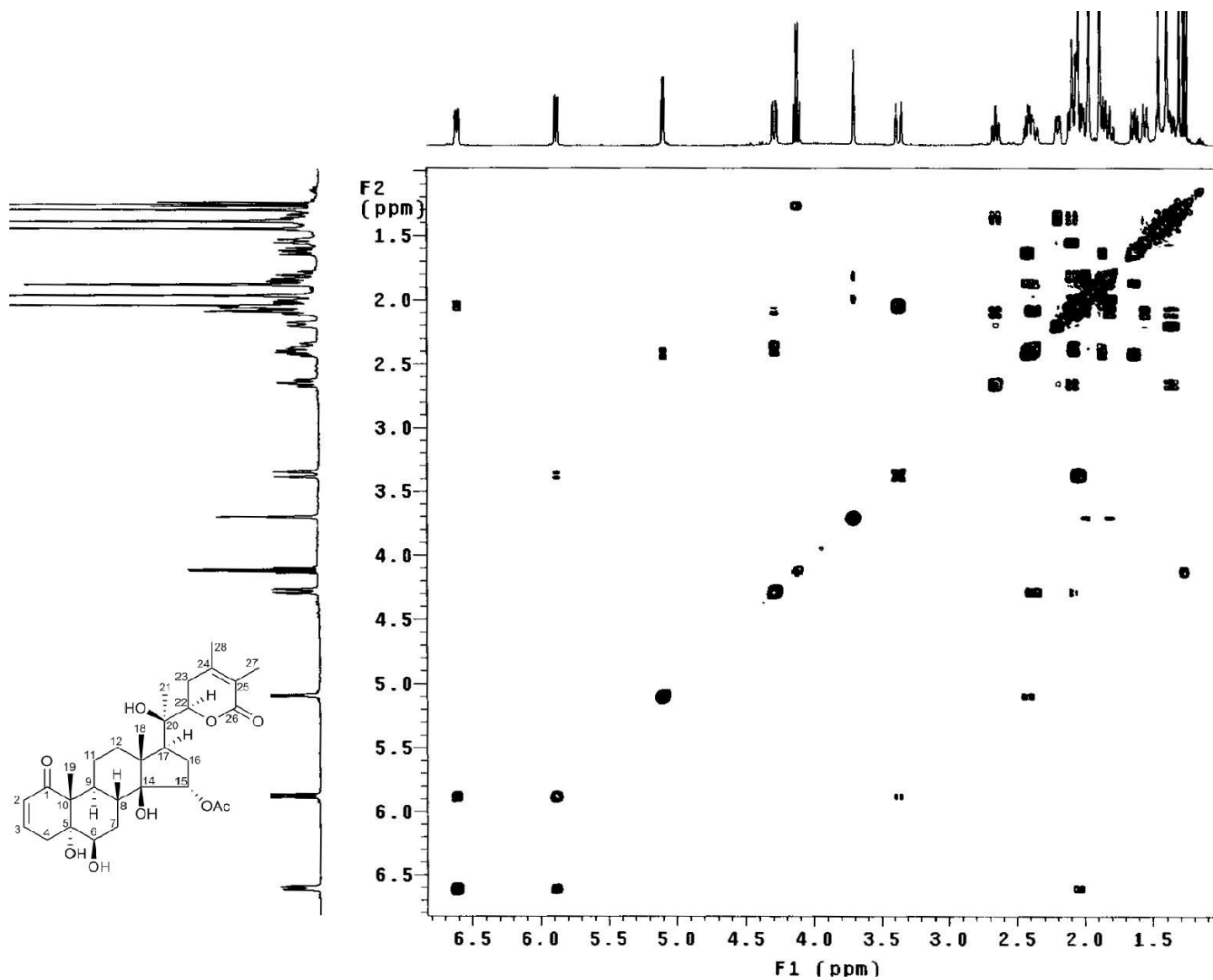
Espectro 20. RMN ^1H de la withaneomexólida D (**10**) (500 MHz, CDCl_3).

Espectro 21. RMN ¹³C de la withanemexólida D (10) (125 MHz, CDCl₃).

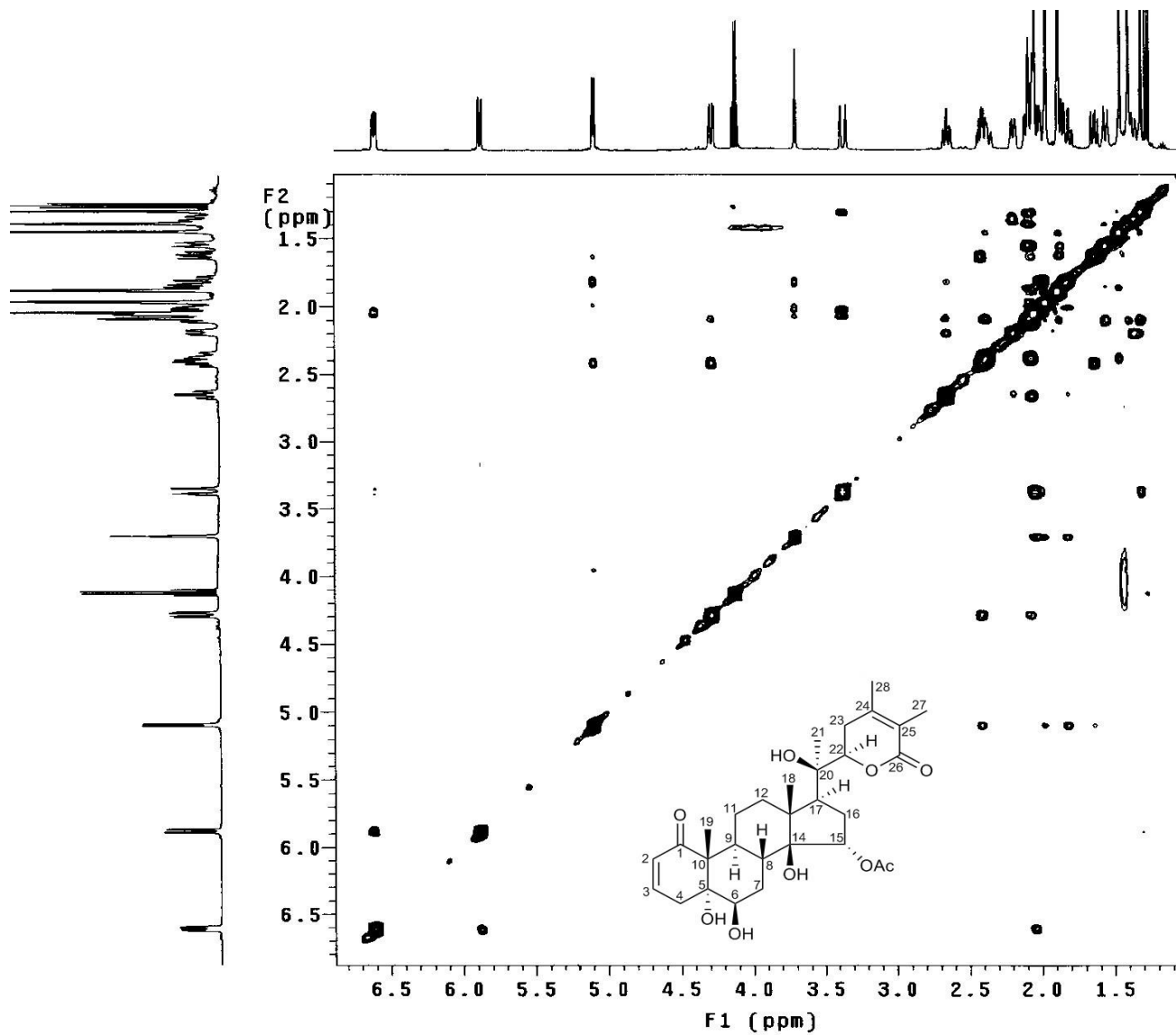




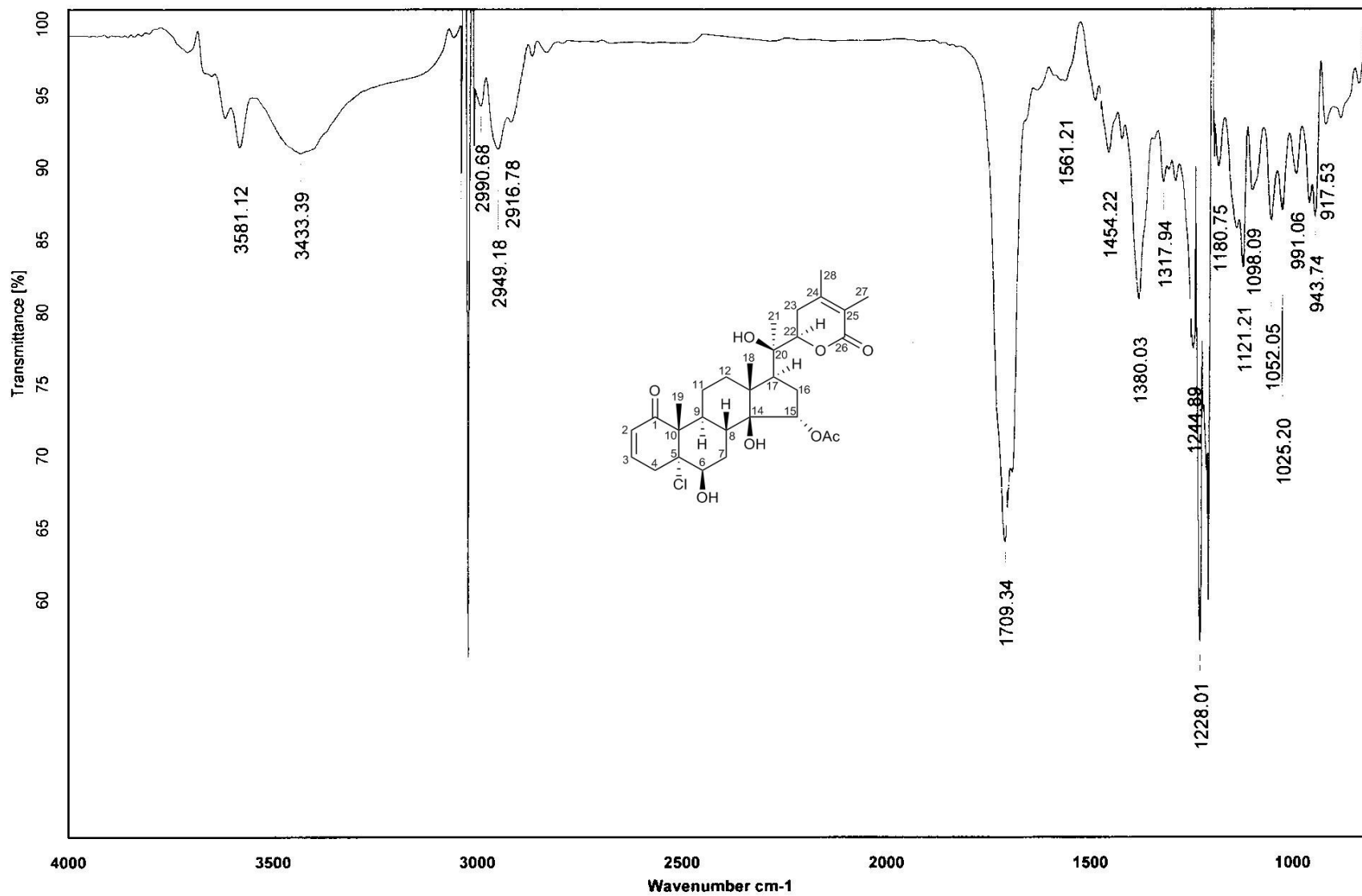
Espectro 23. HMBC de la withaneomexólida D (10).

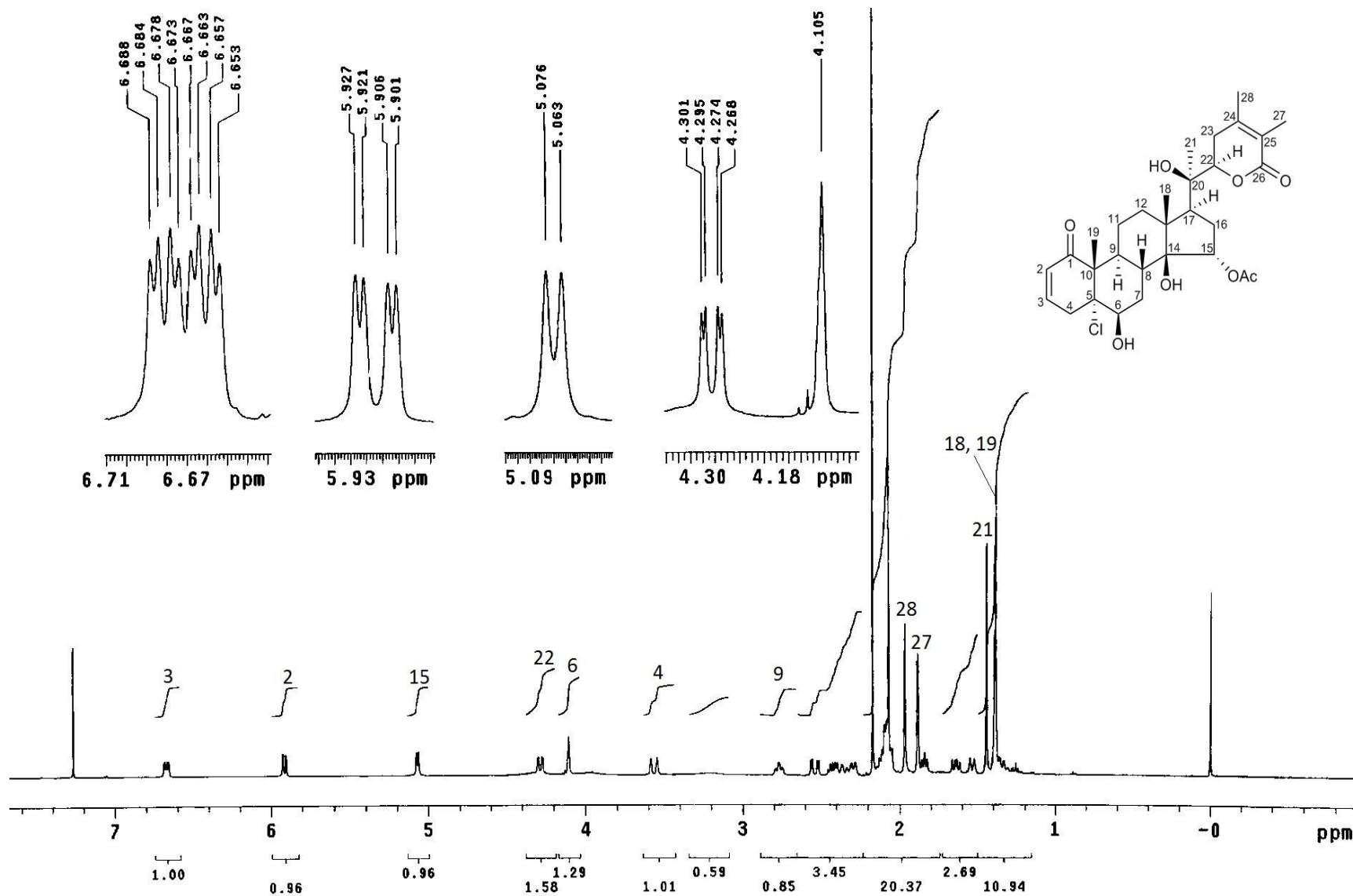


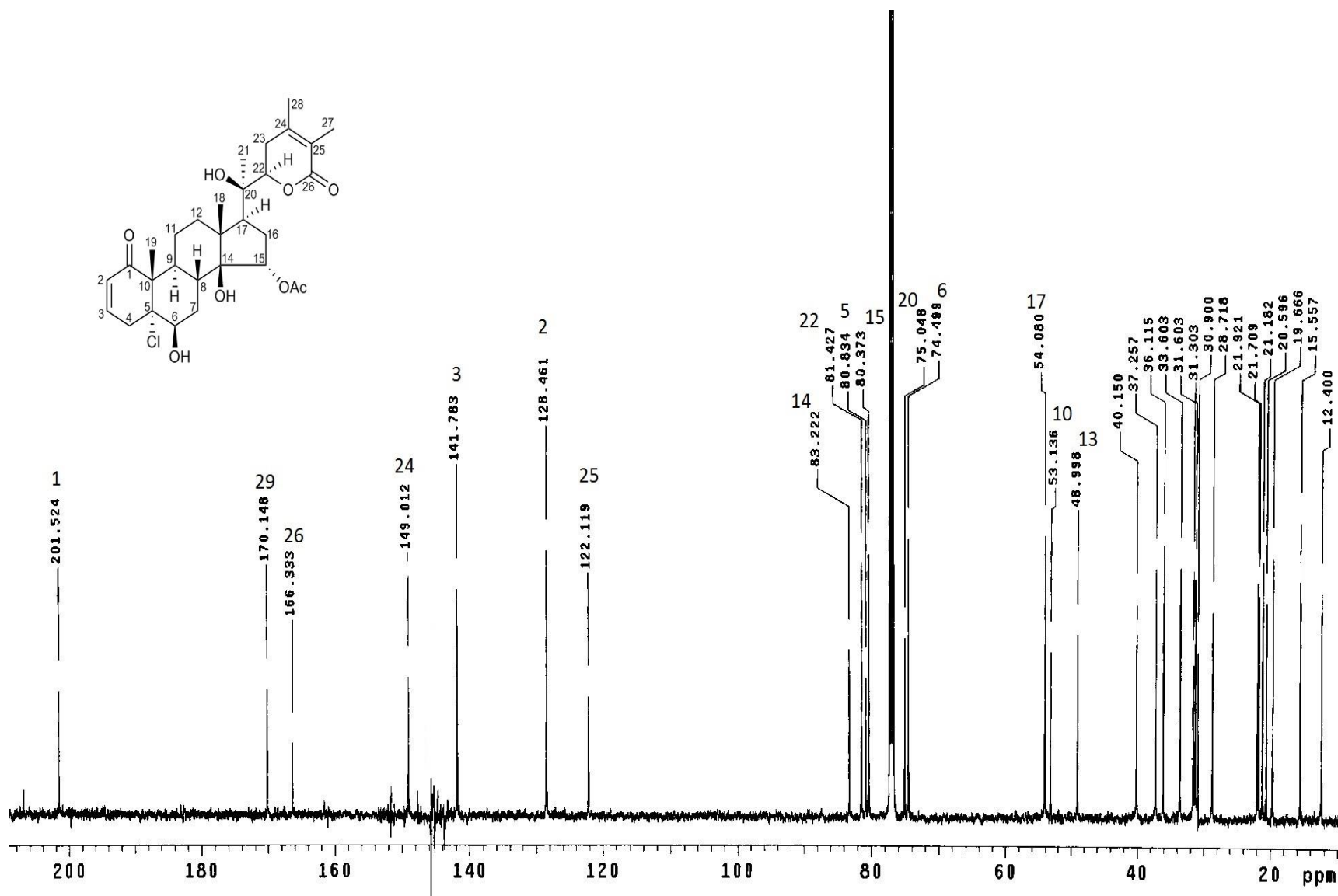
Espectro 24. COSY de la withaneomexólida D (10).

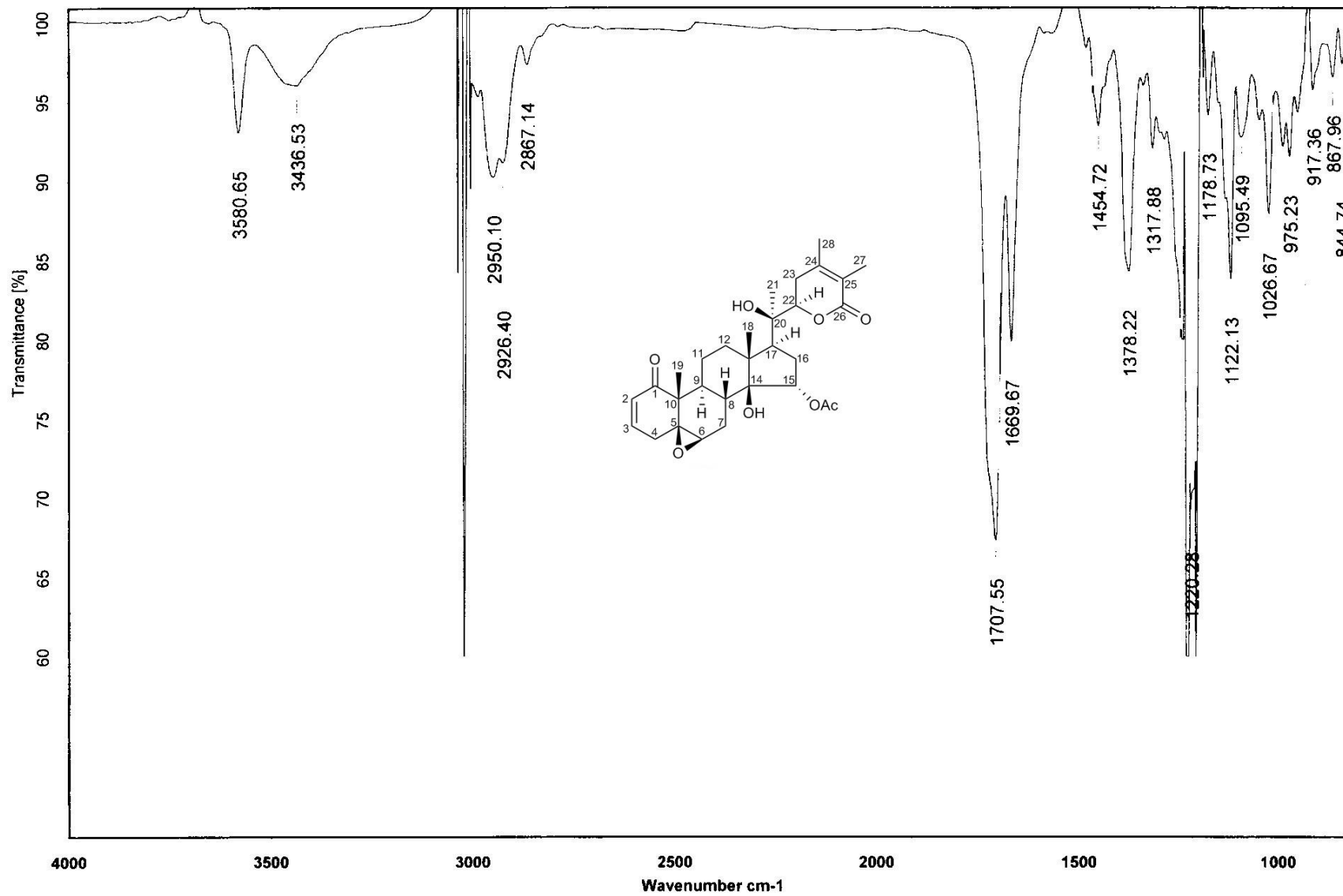


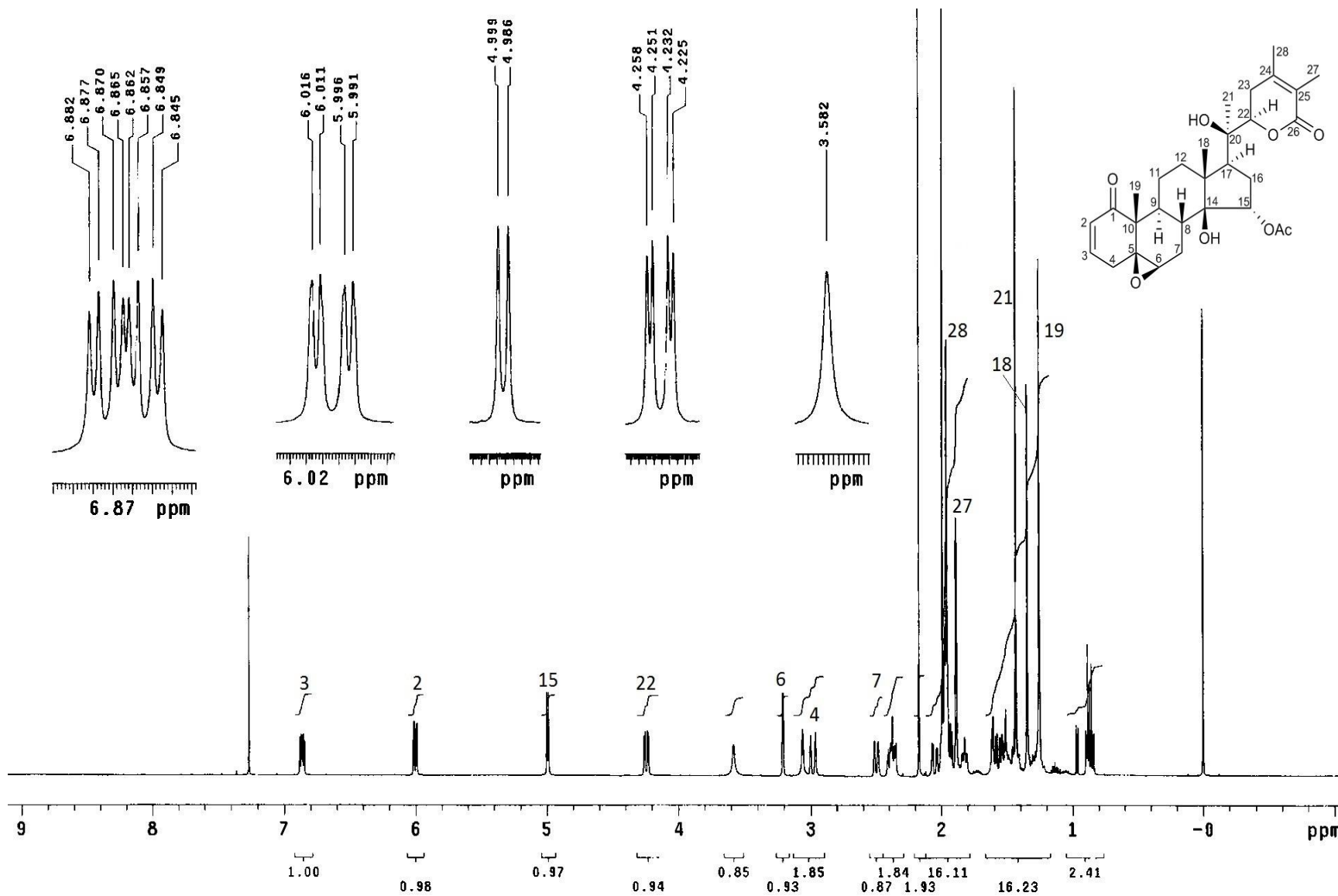
Espectro 25. NOESY de la withaneomexólida D (10).

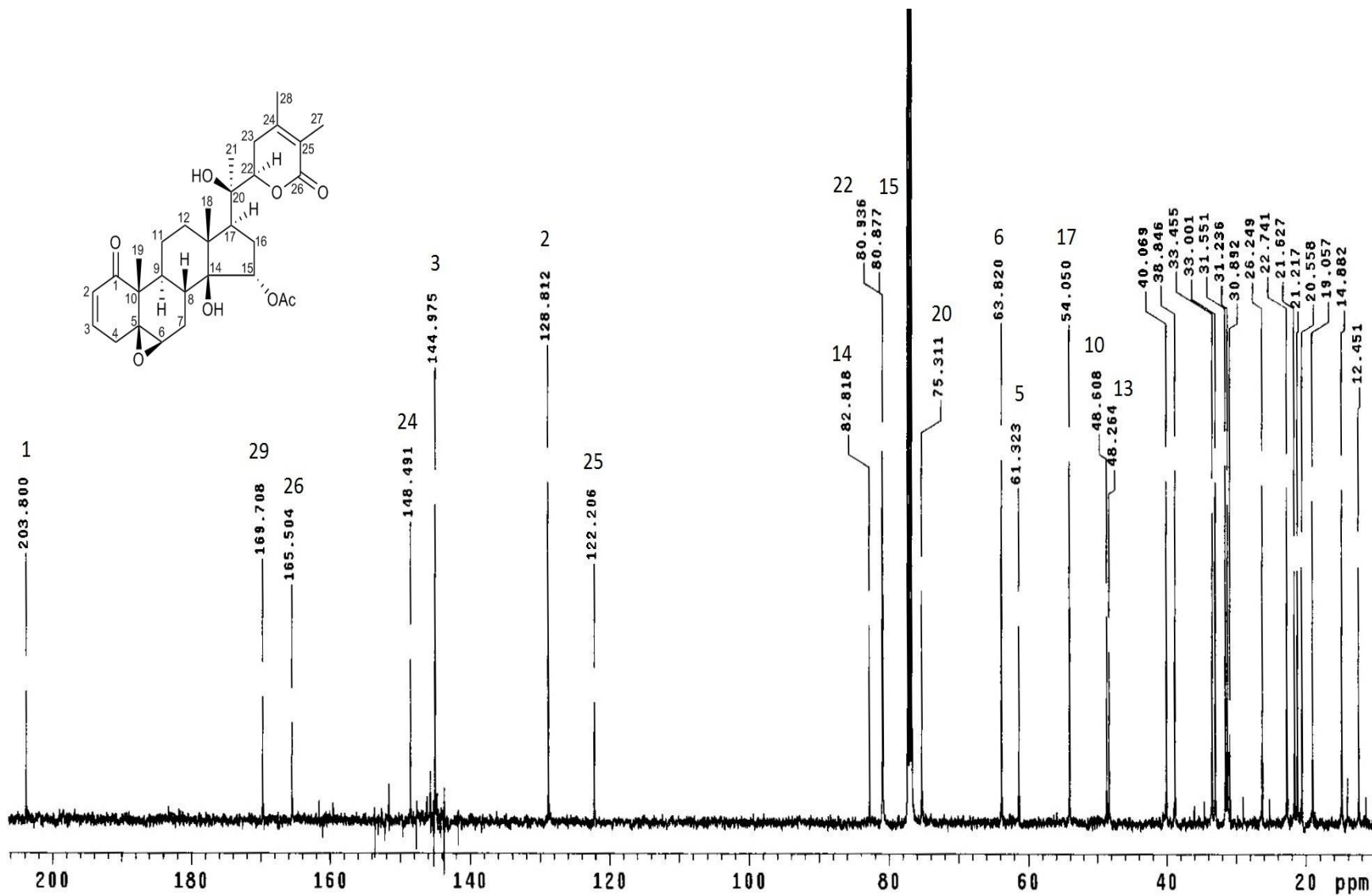
Espectro 26. IR de la physapruina C (11) (CDCl₃).

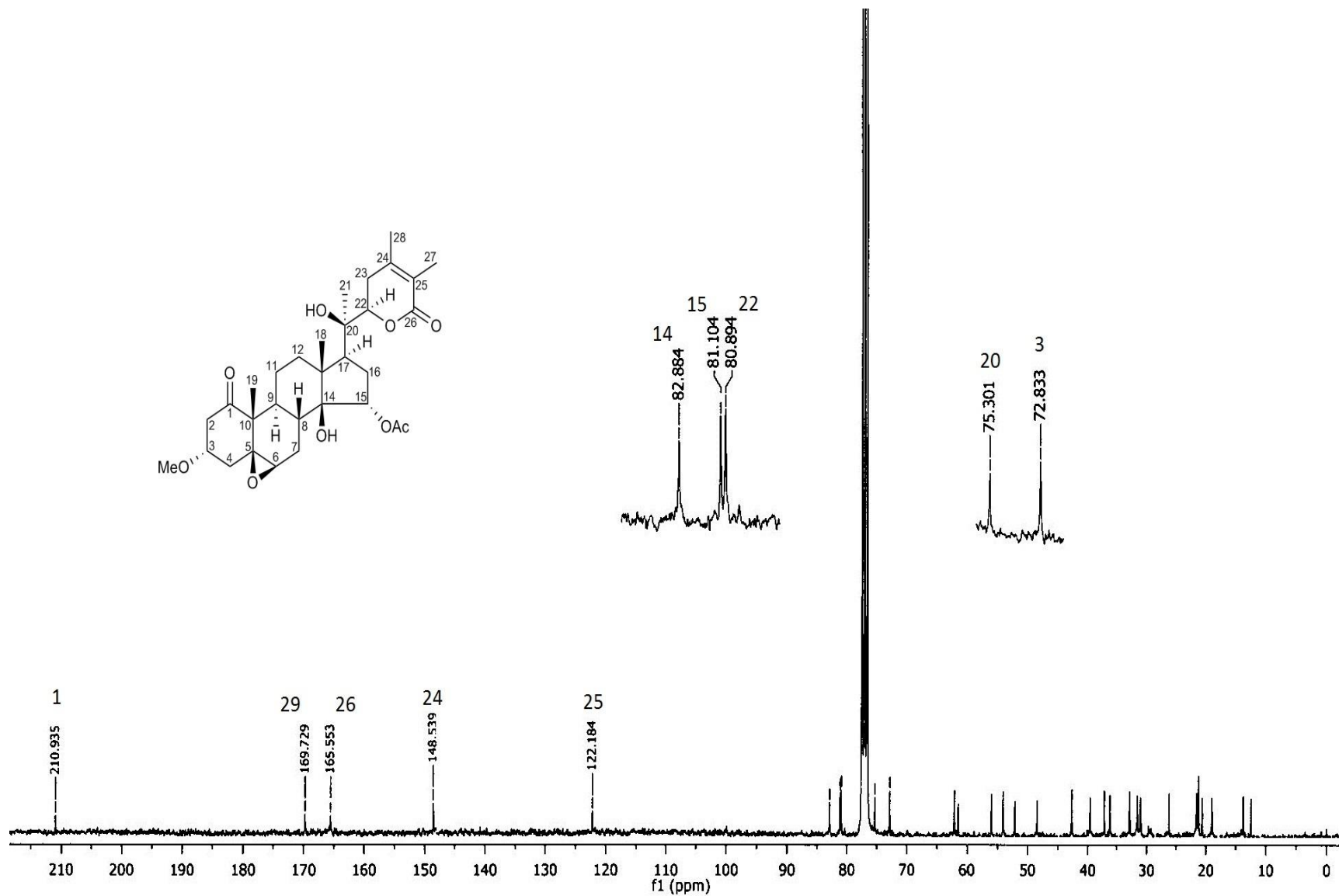
Espectro 27. RMN ^1H de la physapruina C (11) (500 MHz, CDCl_3).

Espectro 28. RMN ¹³C de la physapruina C (11) (125 MHz, CDCl₃).

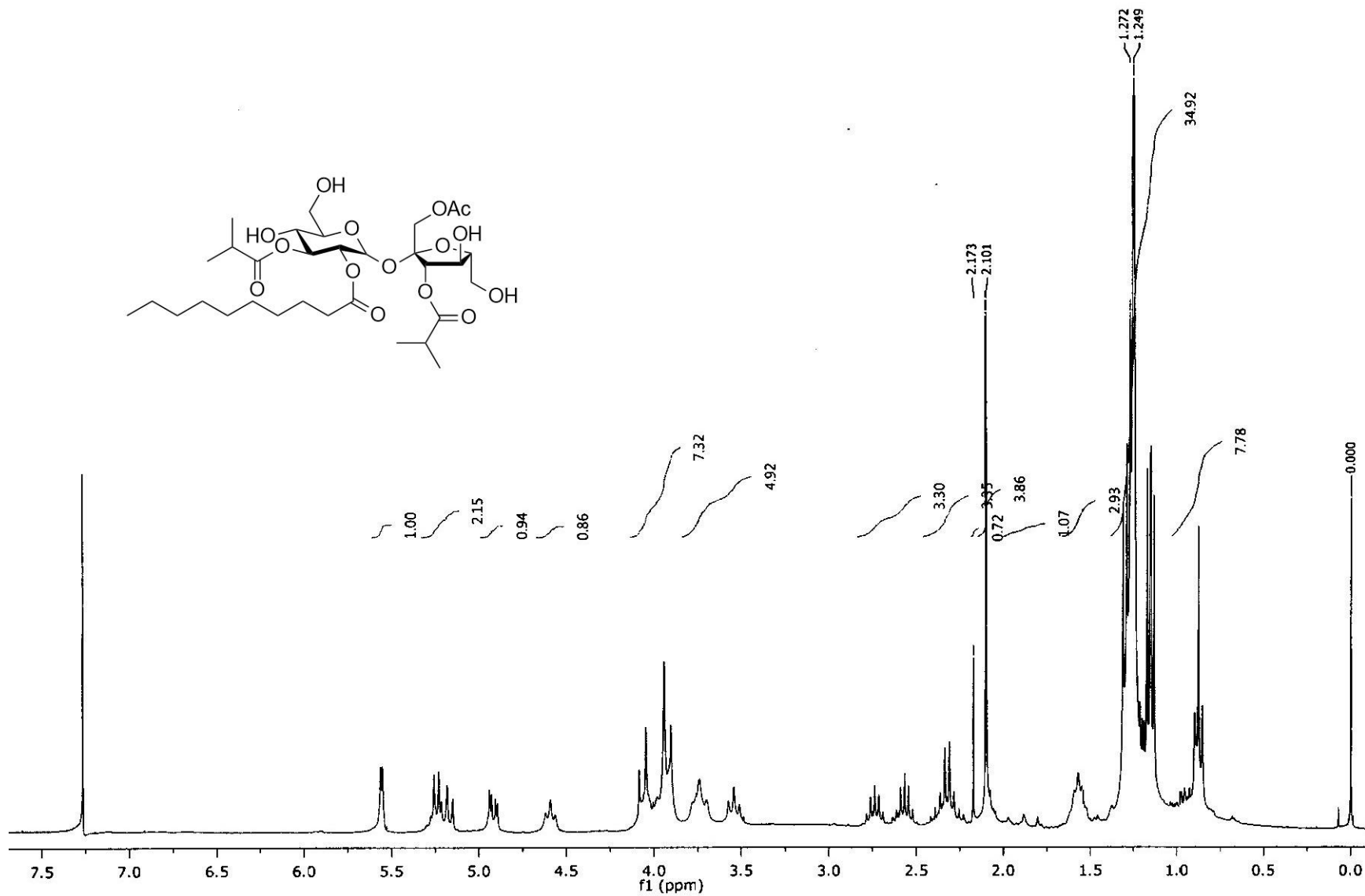
Espectro 29. IR de la physanicandrolida A (12) (CDCl_3).

Espectro 30. RMN ^1H de la physanicandrolida A (12) (500 MHz, CDCl_3).

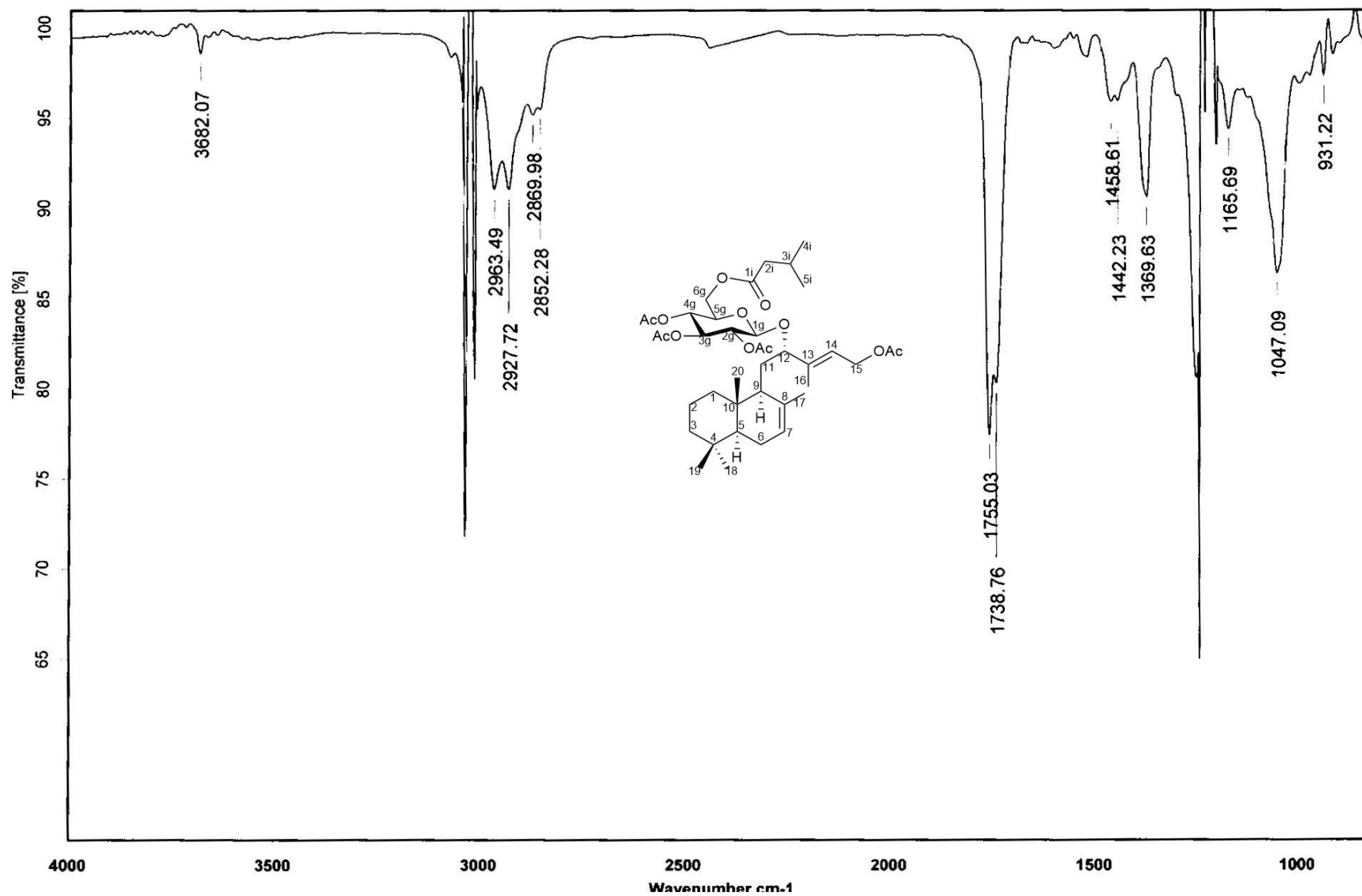
Espectro 31. RMN ¹³C de la physanicandrolida A (12) (125 MHz, CDCl₃).



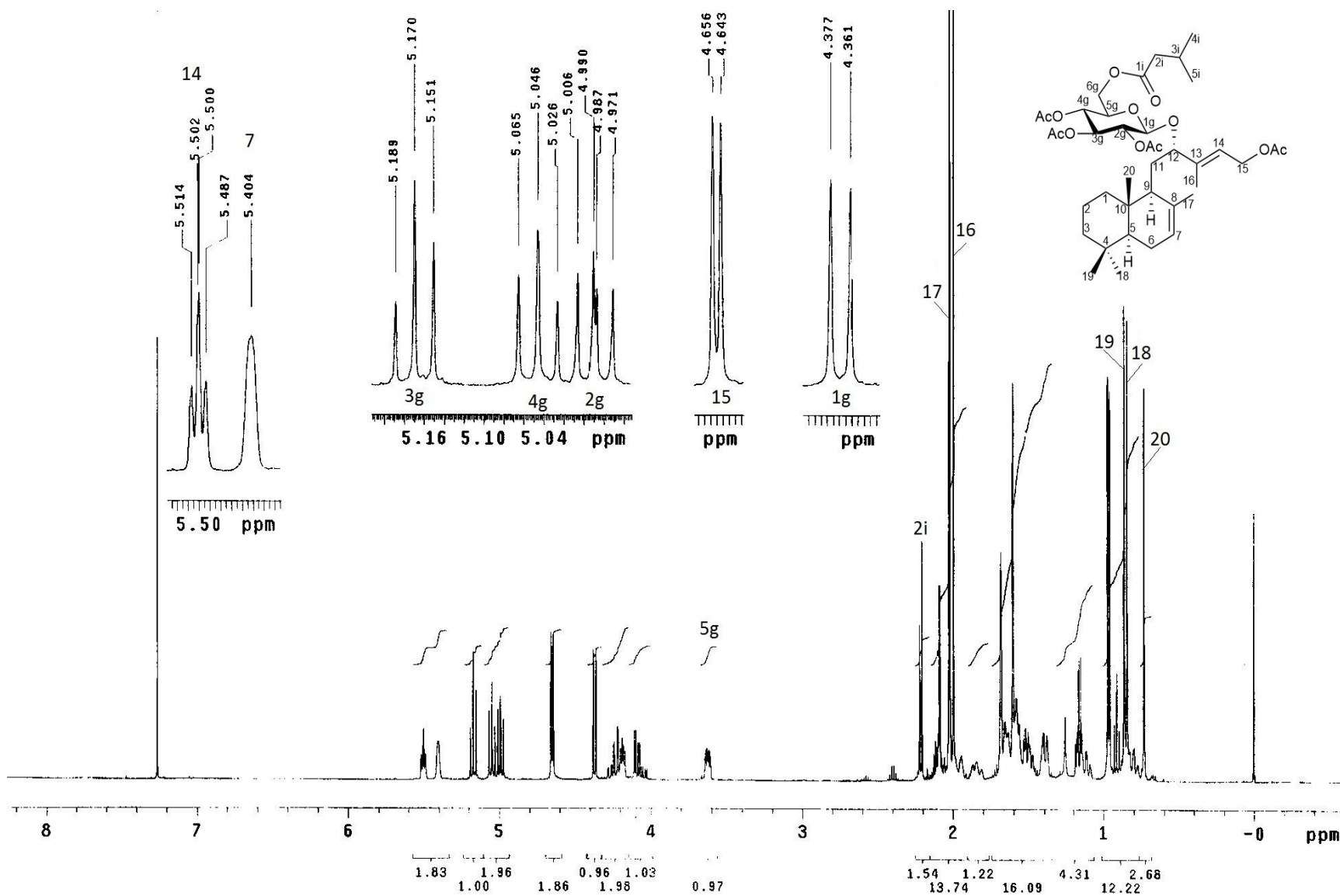
Espectro 32. RMN ¹³C de la physanicandrolida B (13) (75 MHz, CDCl₃).



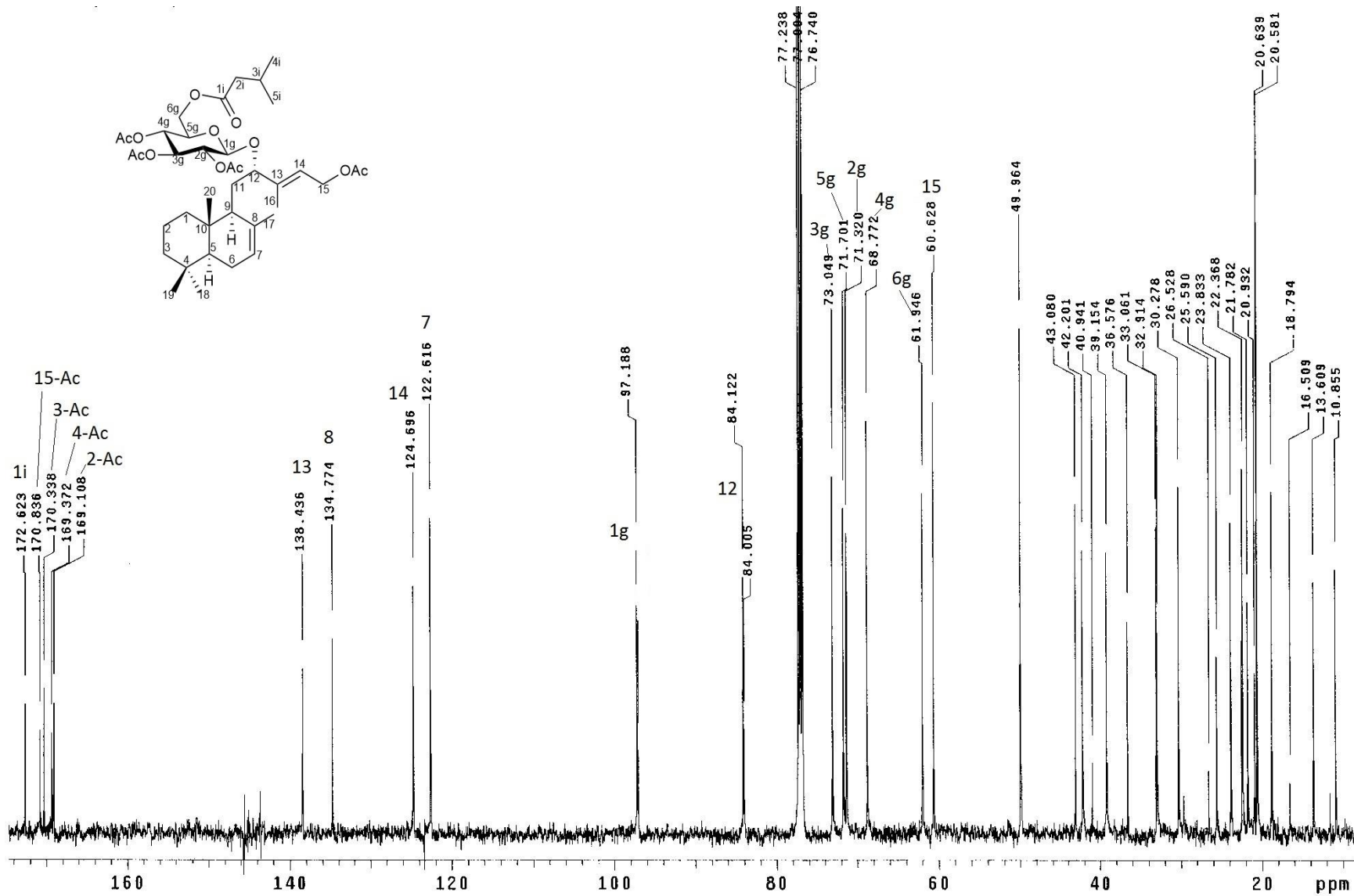
Espectro 33. RMN ¹H de la nicandrosa B (14) (300 MHz, CDCl₃).



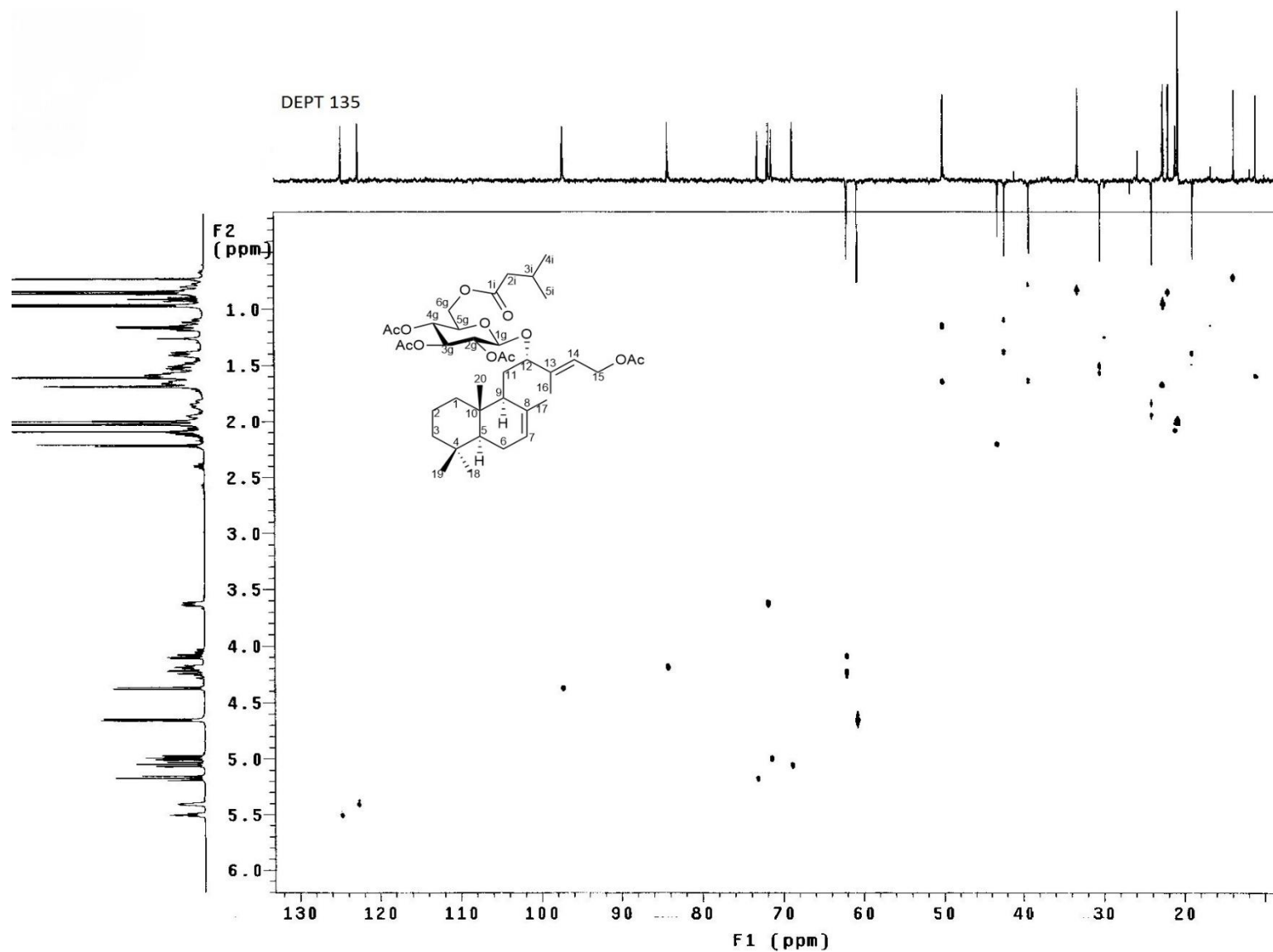
Espectro 34. IR del tetraacetilpatulósido A (15) (CDCl₃).

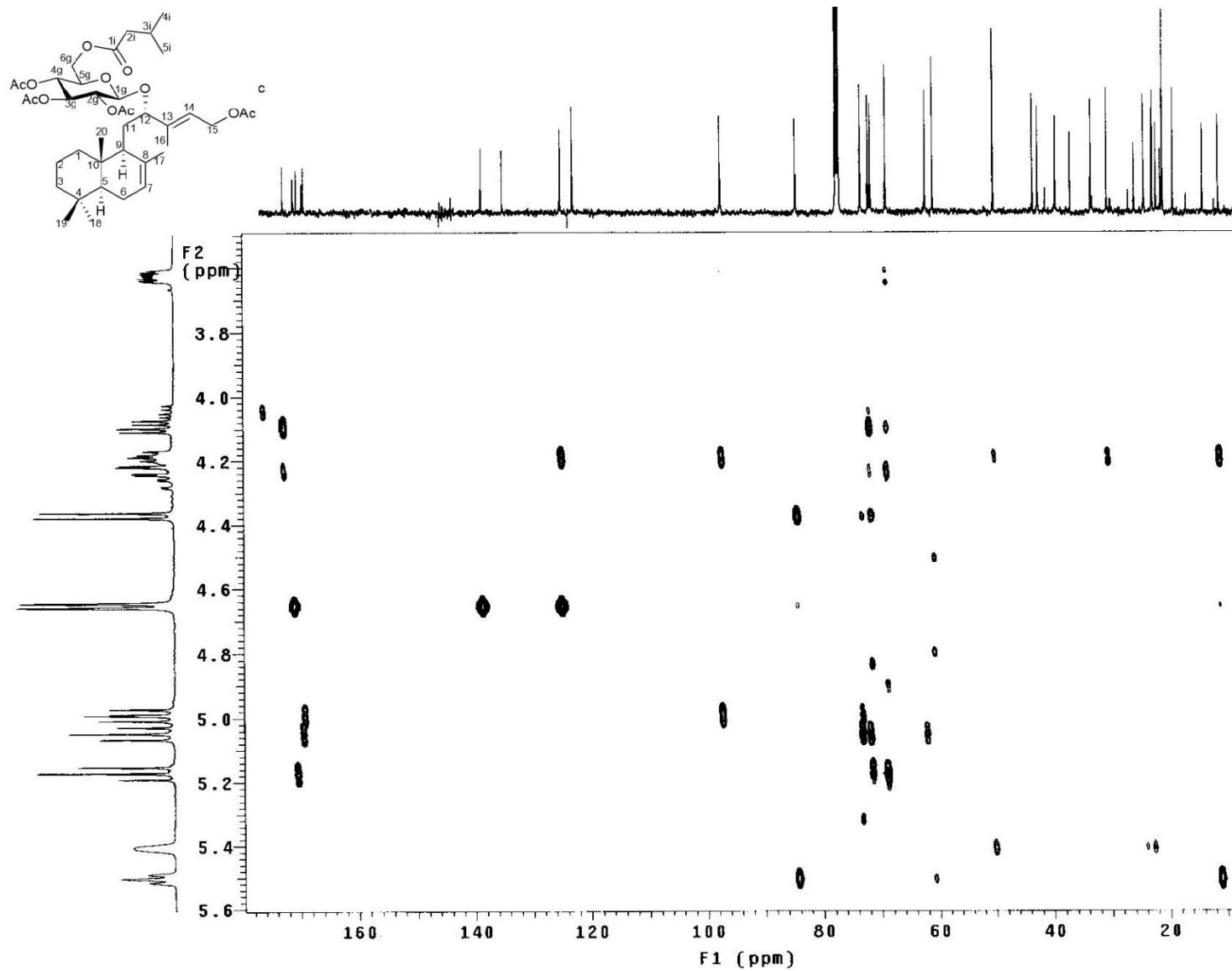


Espectro 35. RMN ^1H del tetracetilpatulósido A (15) (500 MHz, CDCl_3).

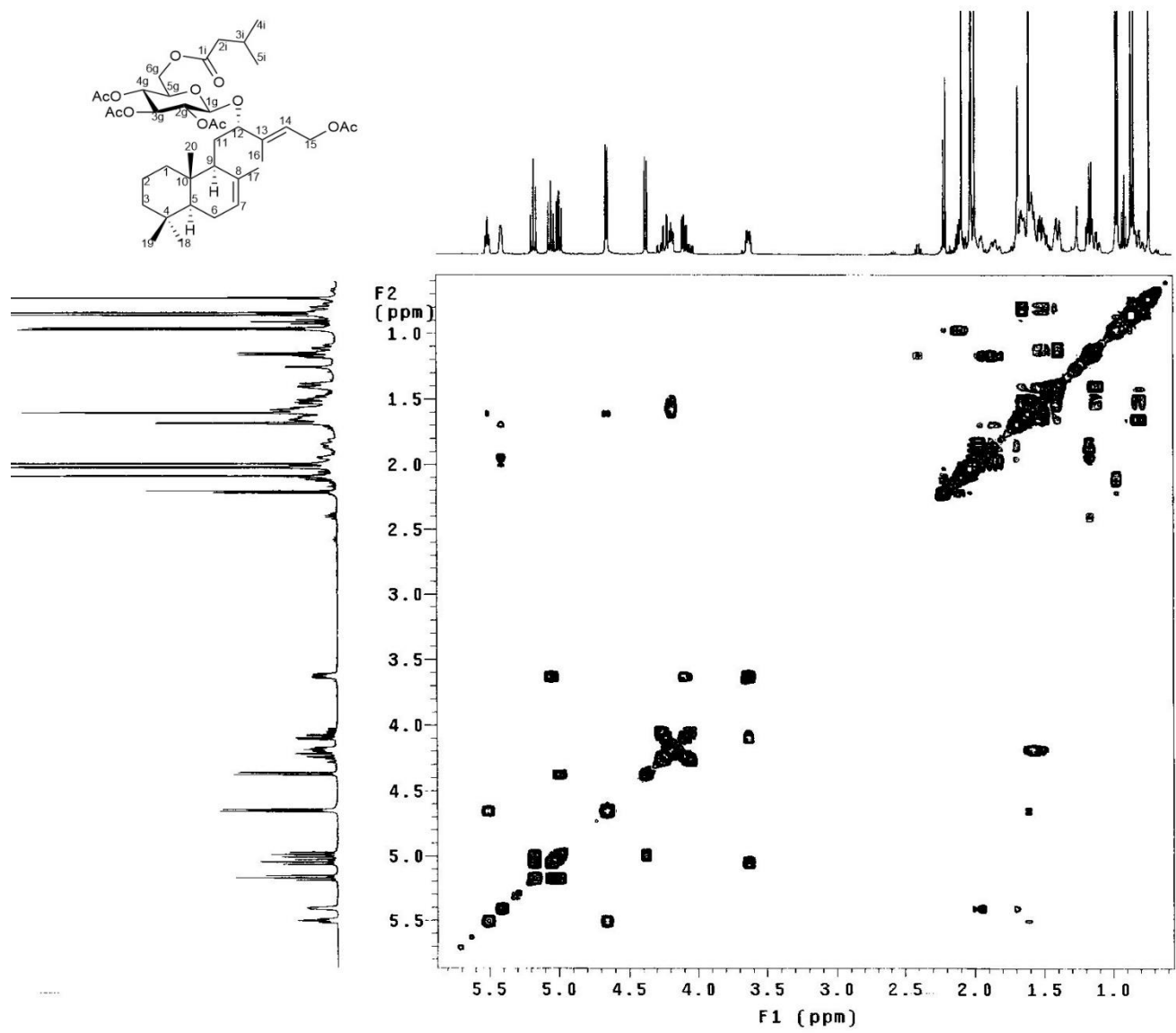


Espectro 36. RMN ¹³C del tetraacetilpatulosido A (15) (125 MHz, CDCl₃).

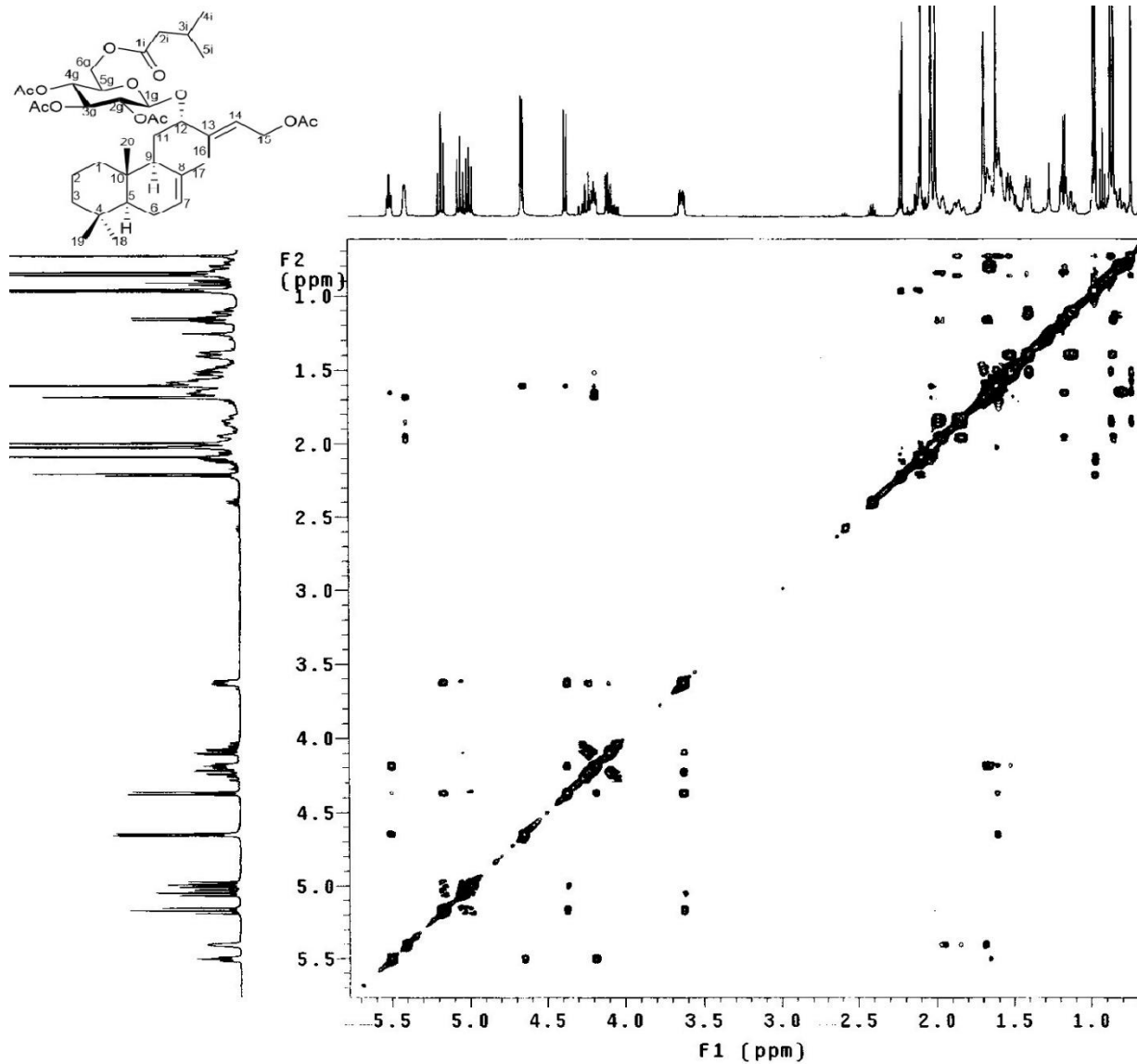




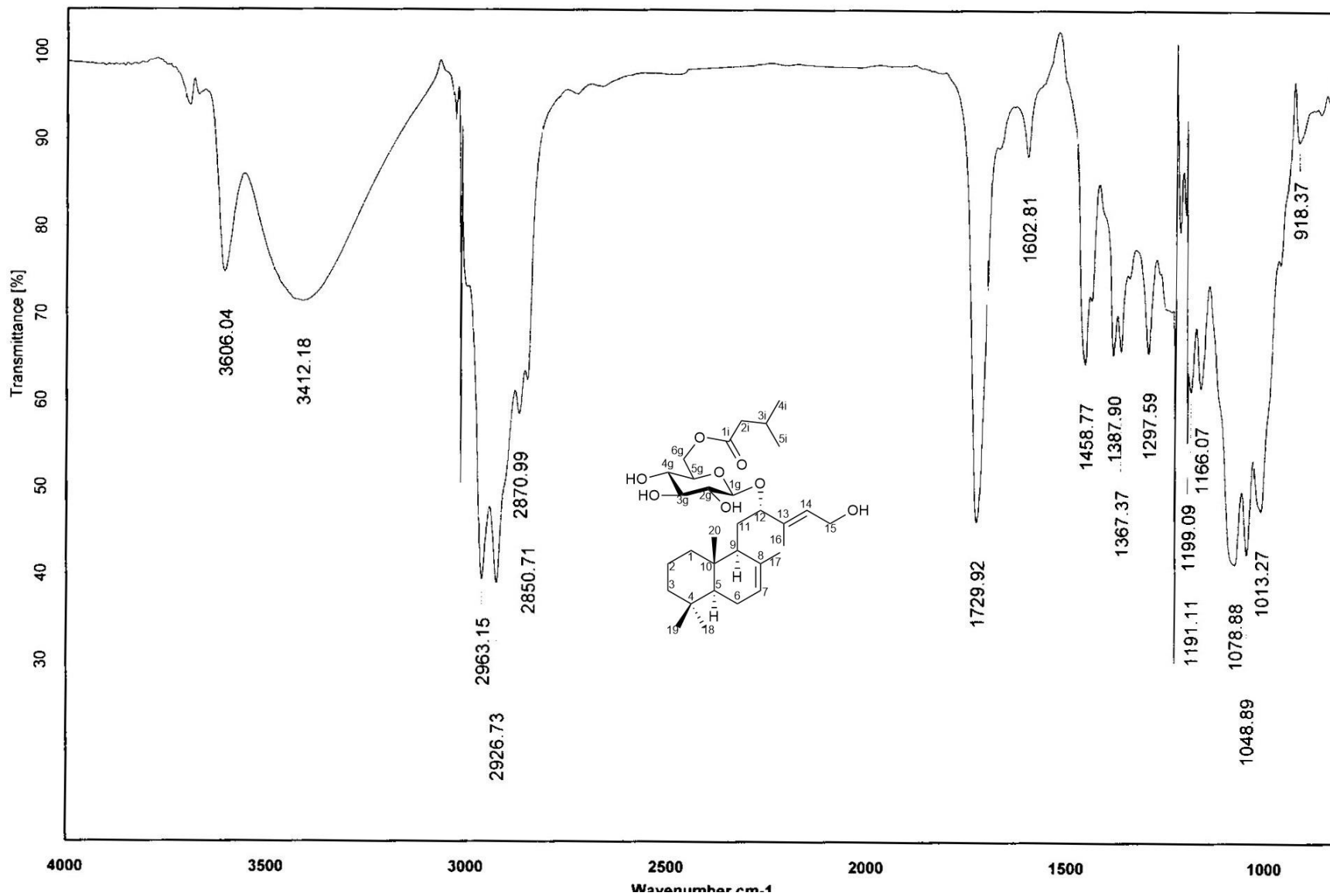
Espectro 38. HMBC del tetraacetilpatulósido A (15).



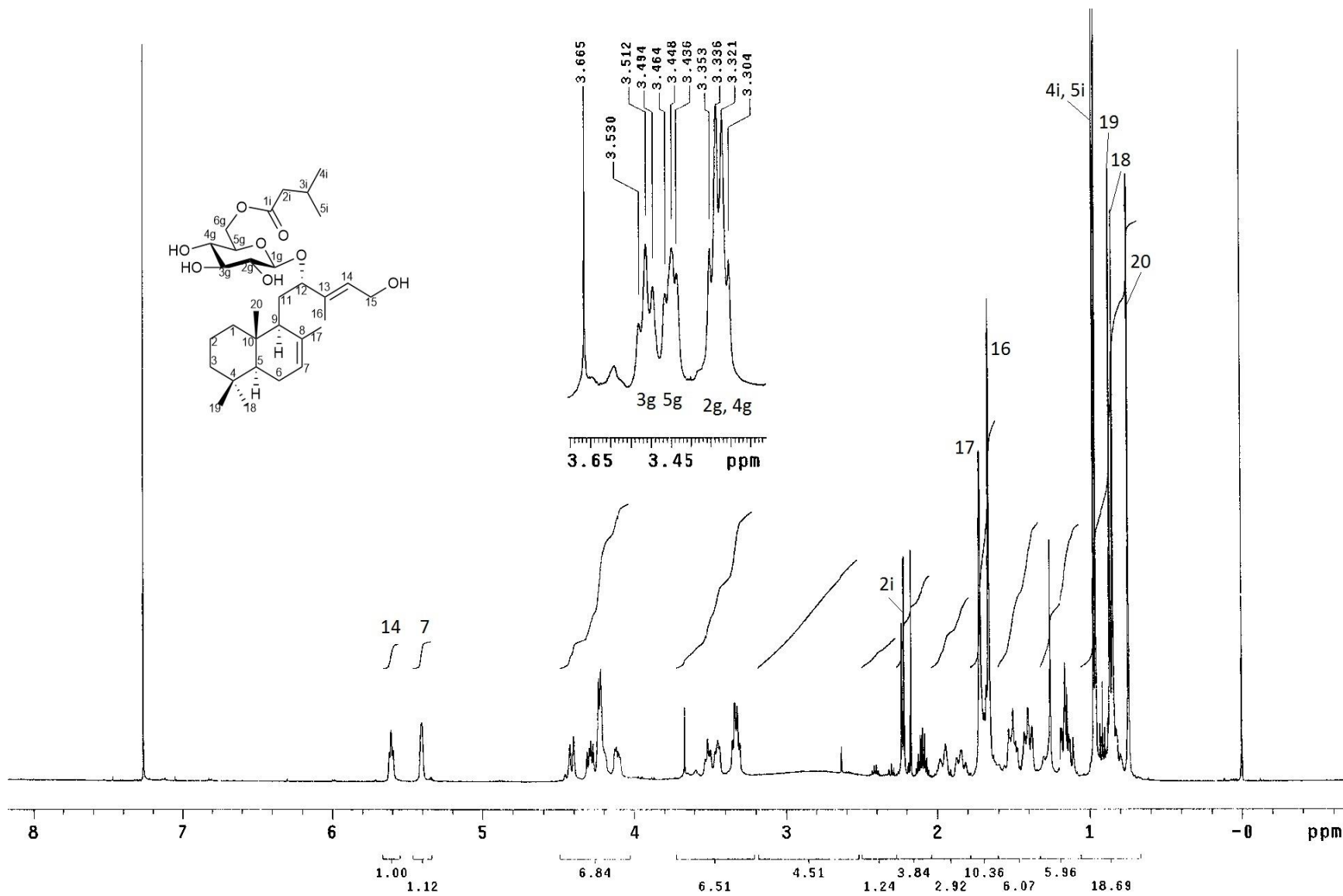
Espectro 39. COSY del tetraacetilpatulósido A (15).

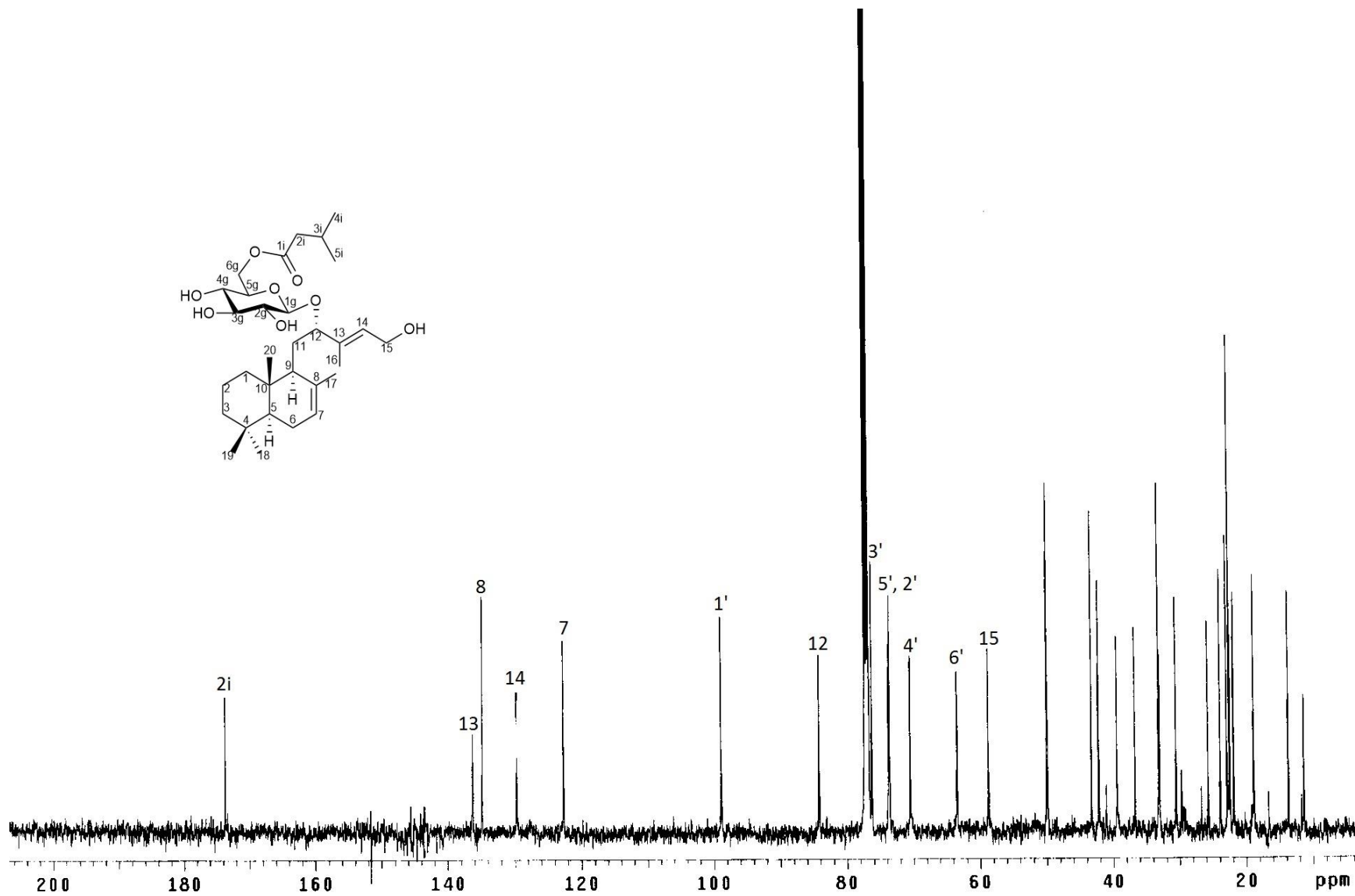


Espectro 40. NOESY del tetraacetilpatulósido A (15).

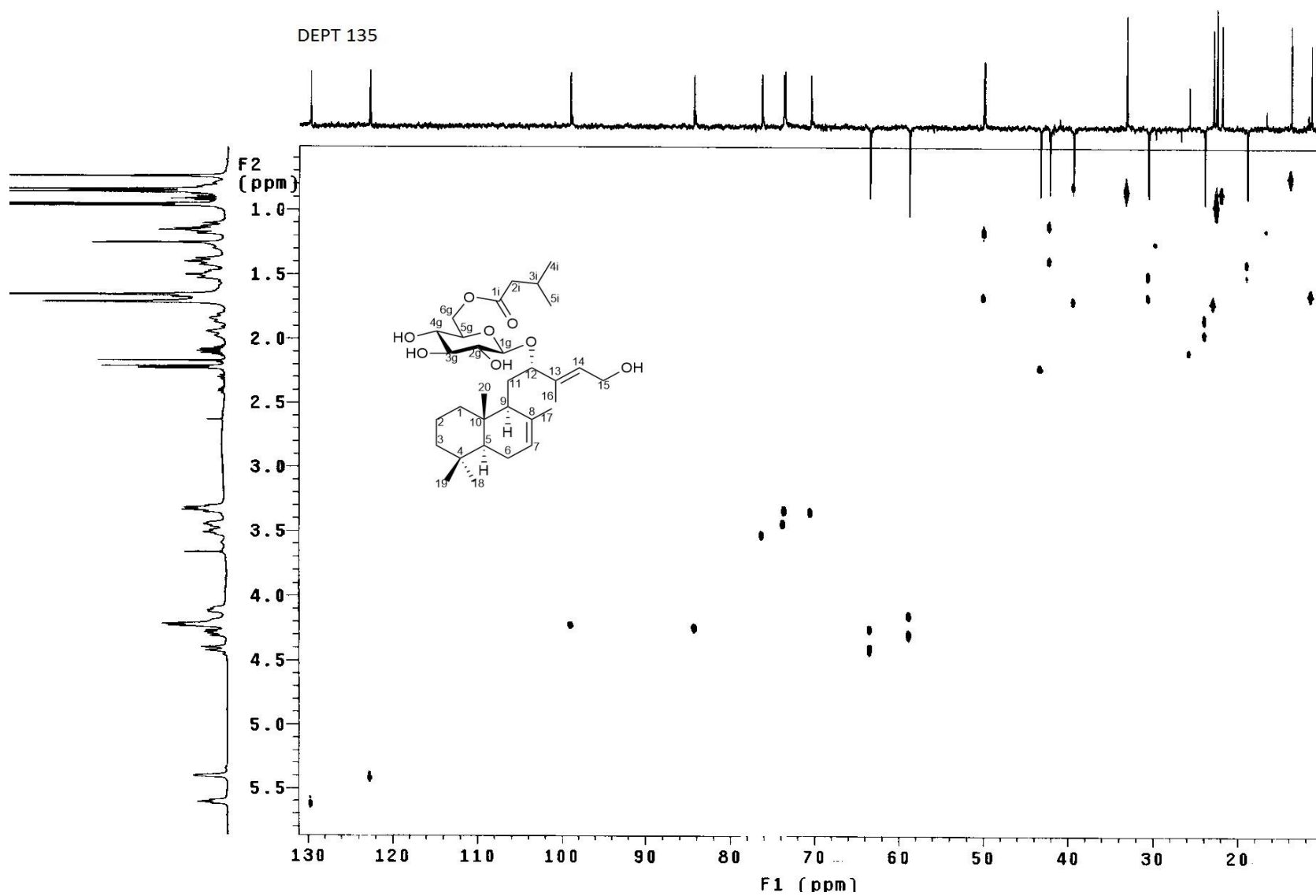


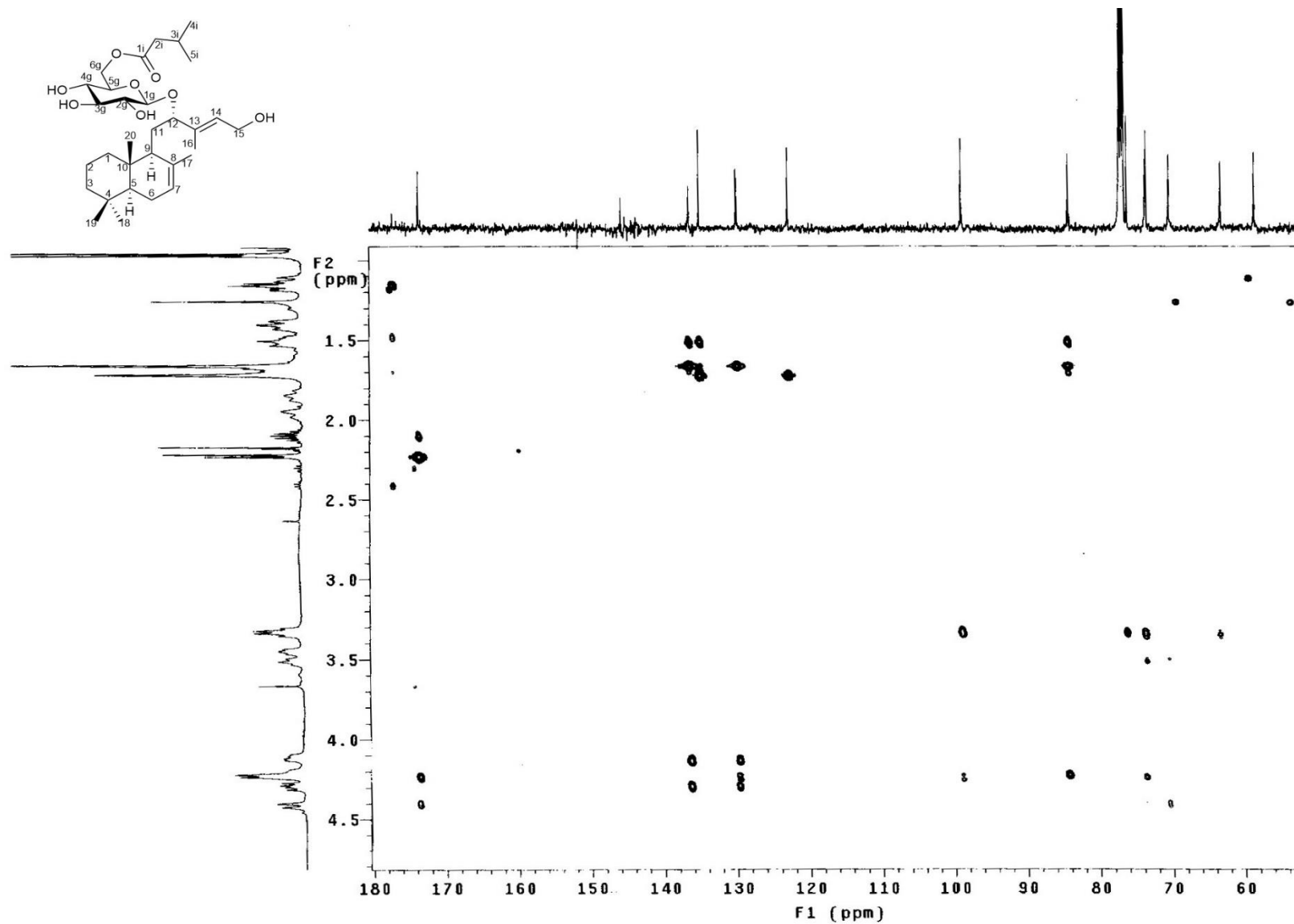
Espectro 41. IR del patulosido A (16) (CDCl₃).

Espectro 42. RMN ^1H del patulosido A (16) (500 MHz, CDCl_3).

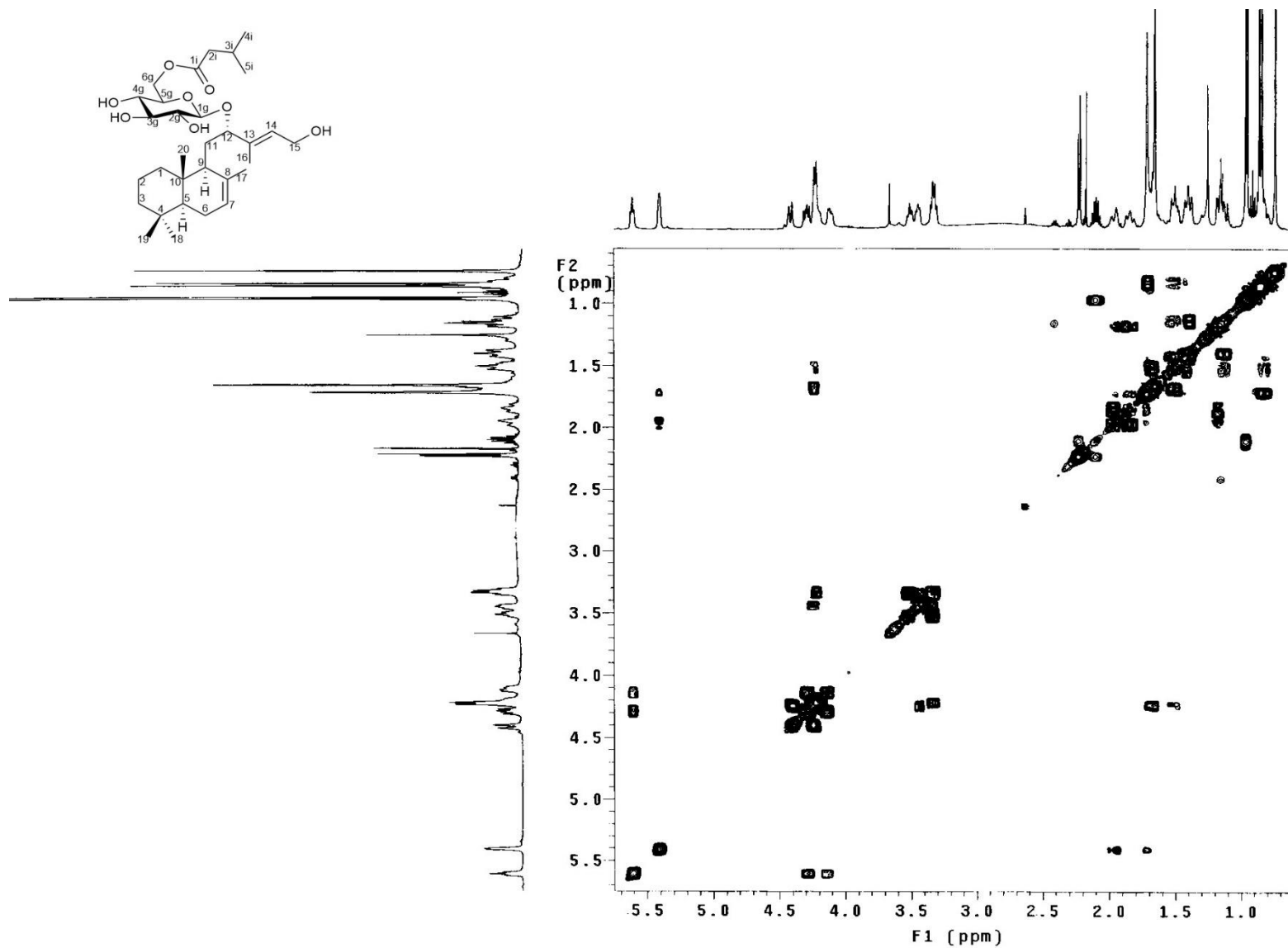


Espectro 43. RMN ¹³C del patulósido A (16) (125 MHz, CDCl₃).

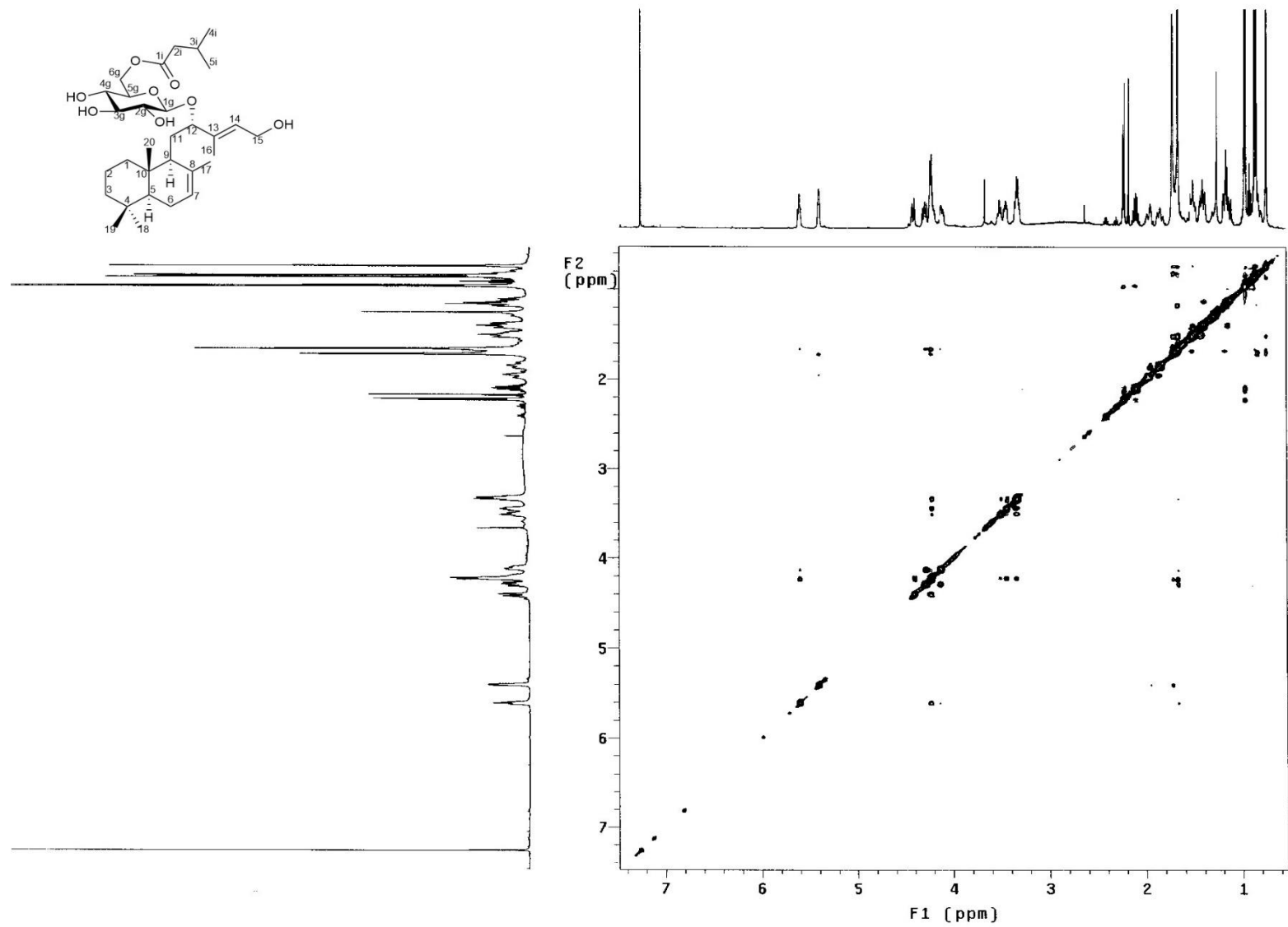




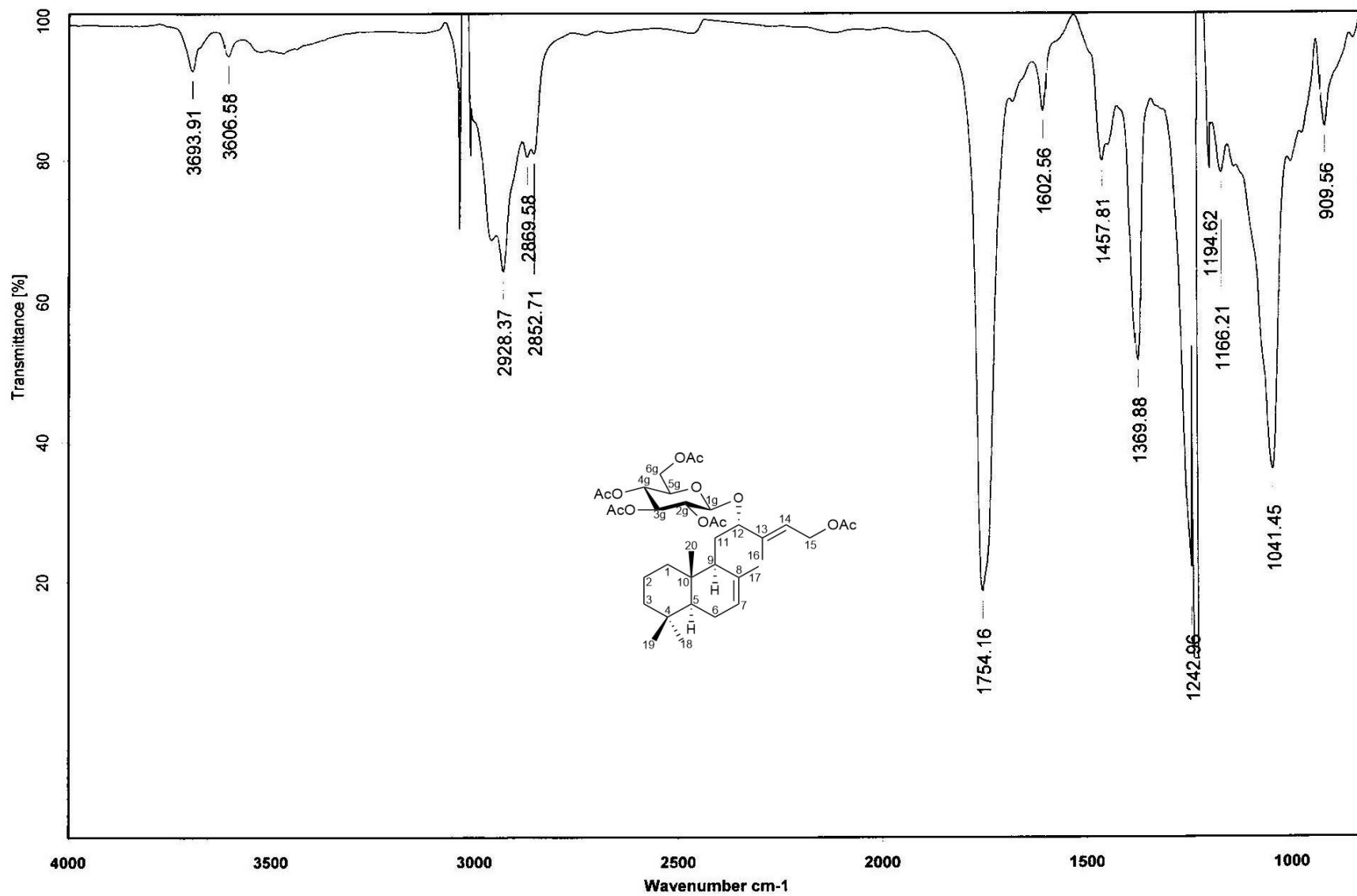
Espectro 45. HMBC del patulósido A (16).

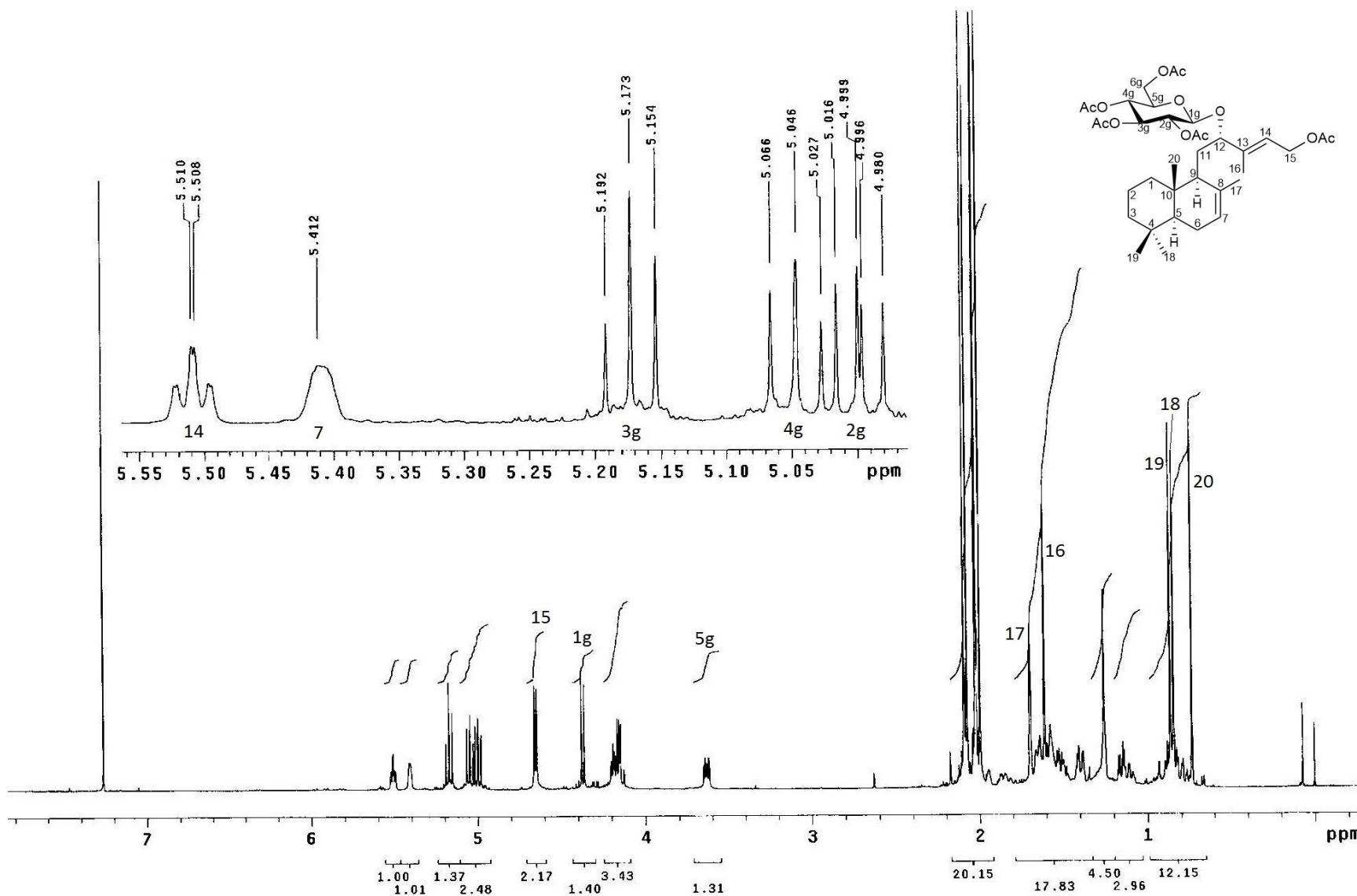


Espectro 46. COSY del patulósido A (16).

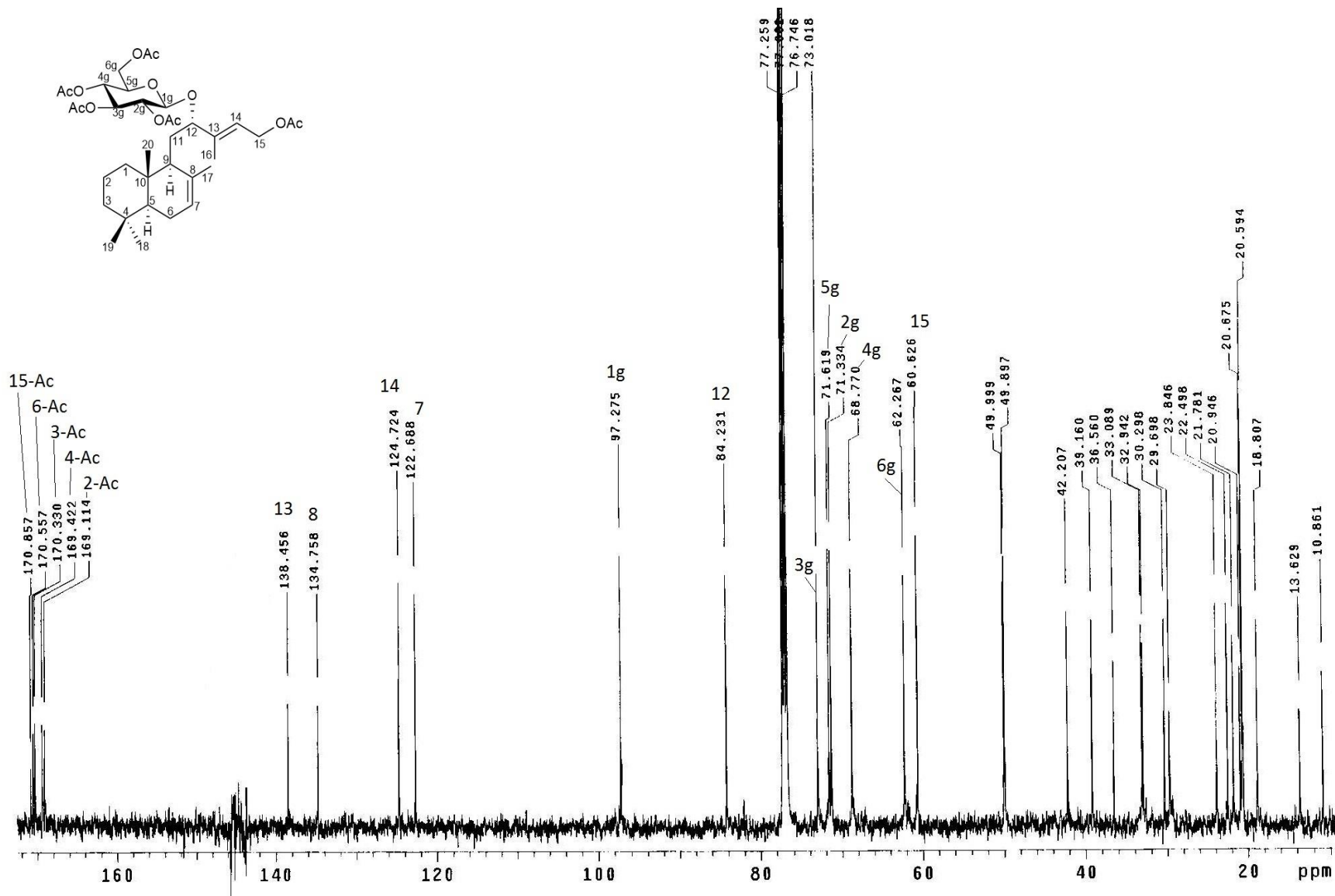


Espectro 47. NOESY del patulósido A (16).

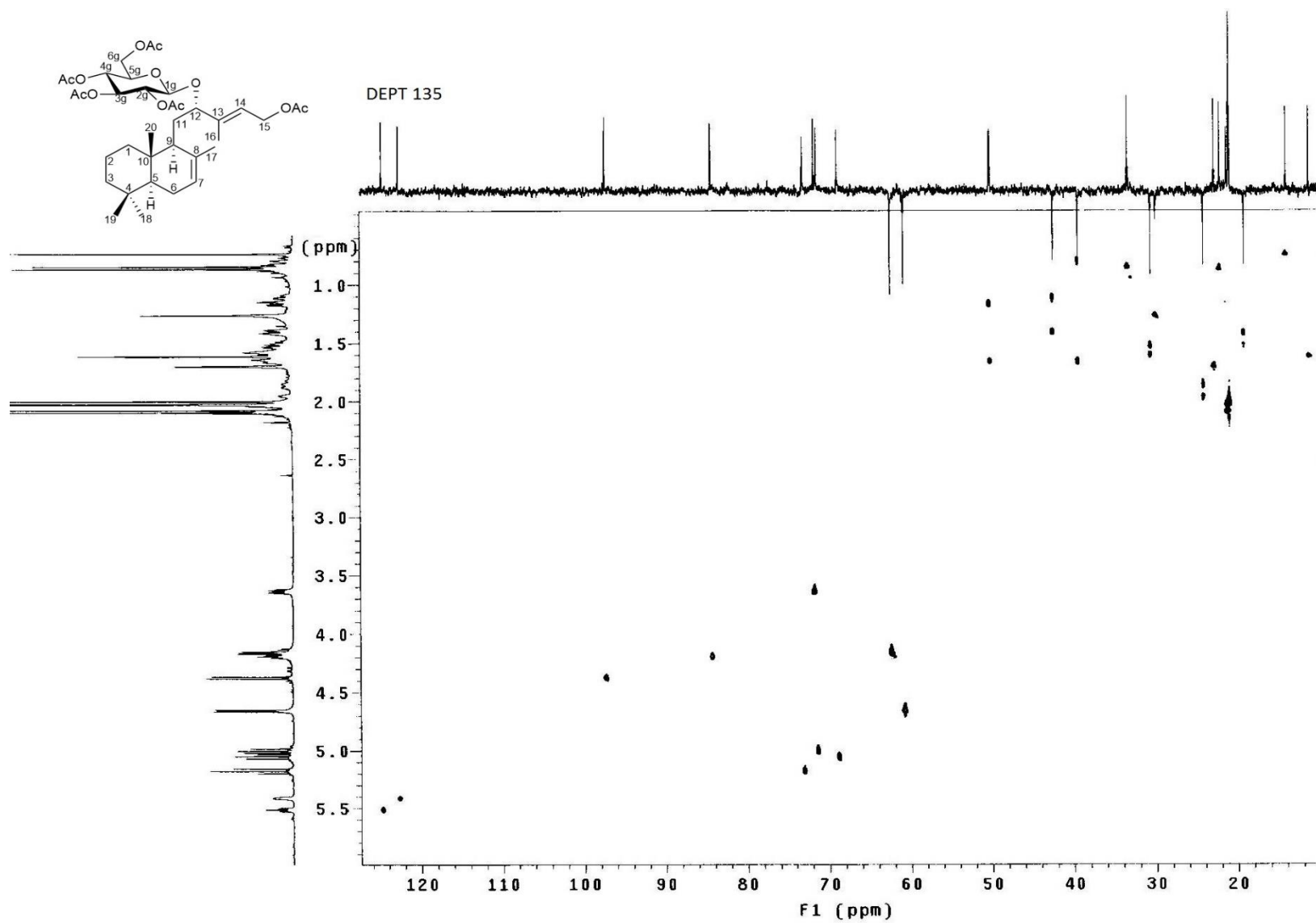
Espectro 48. IR del pentaacetilpatulósido B (18) (CDCl₃).



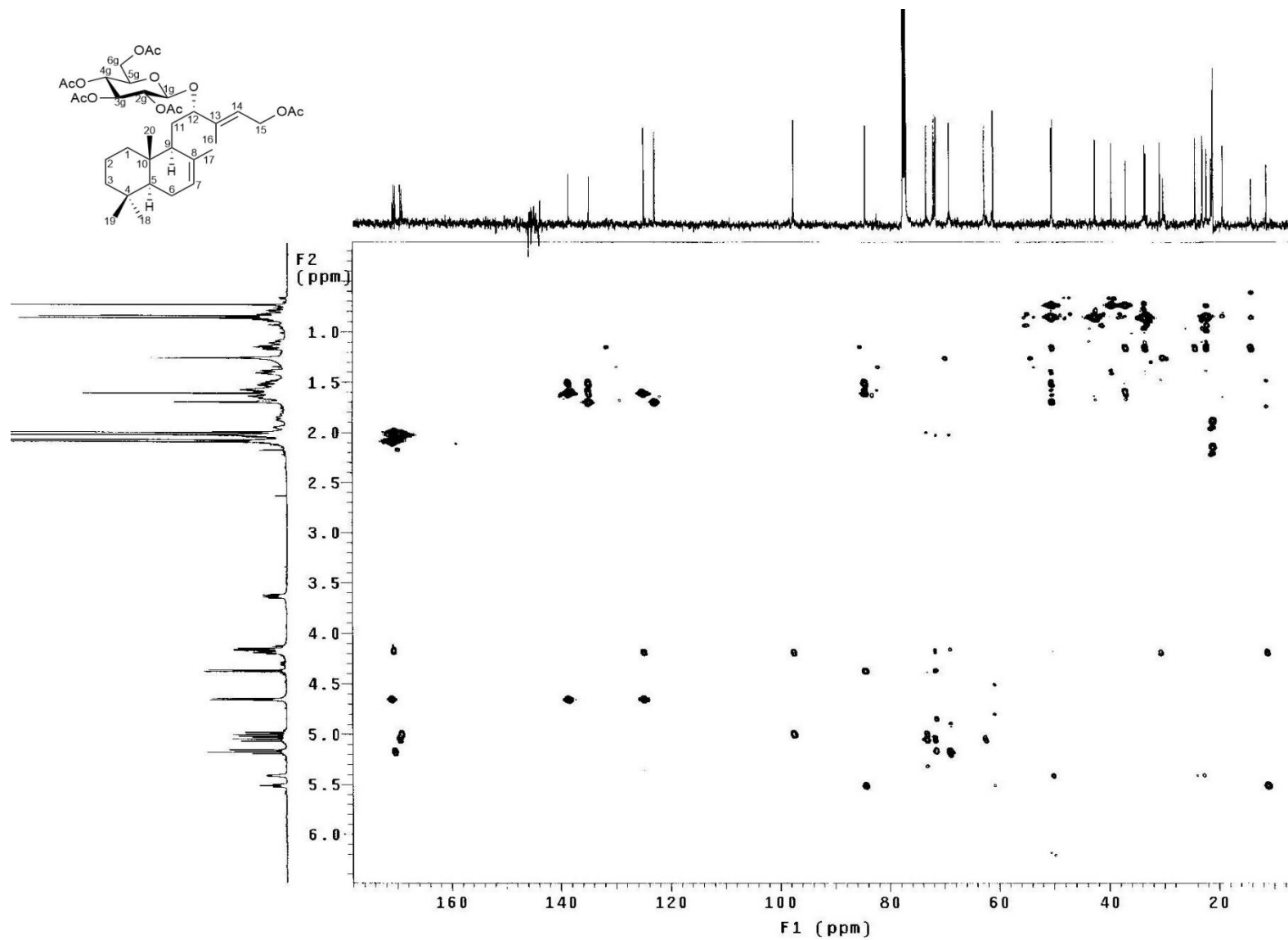
Espectro 49. RMN ^1H del pentaacetilpatulósido B (**18**) (500 MHz, CDCl_3).



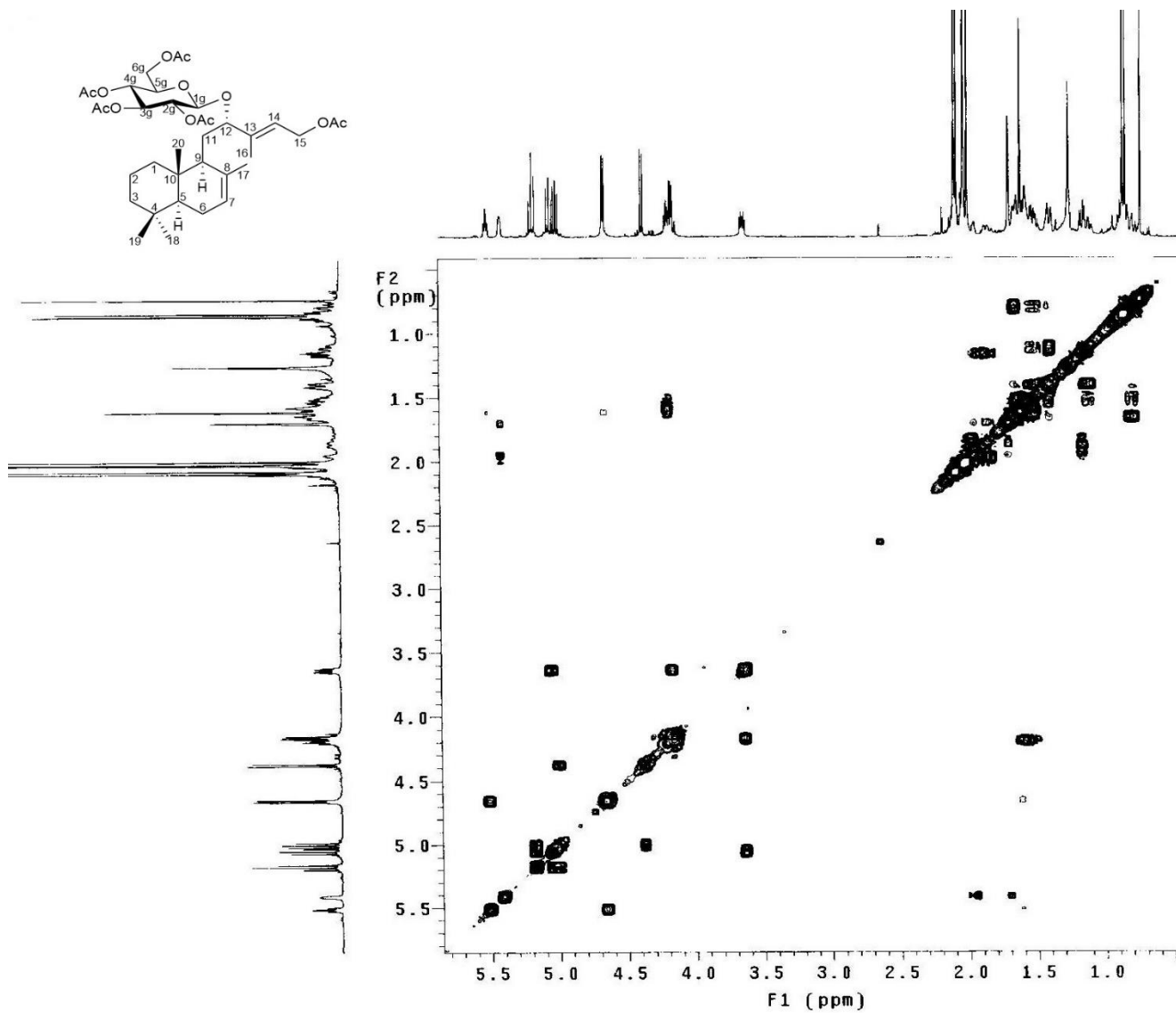
Espectro 50. RMN ¹³C del pentaacetilpatulósido B (18) (125 MHz, CDCl₃).



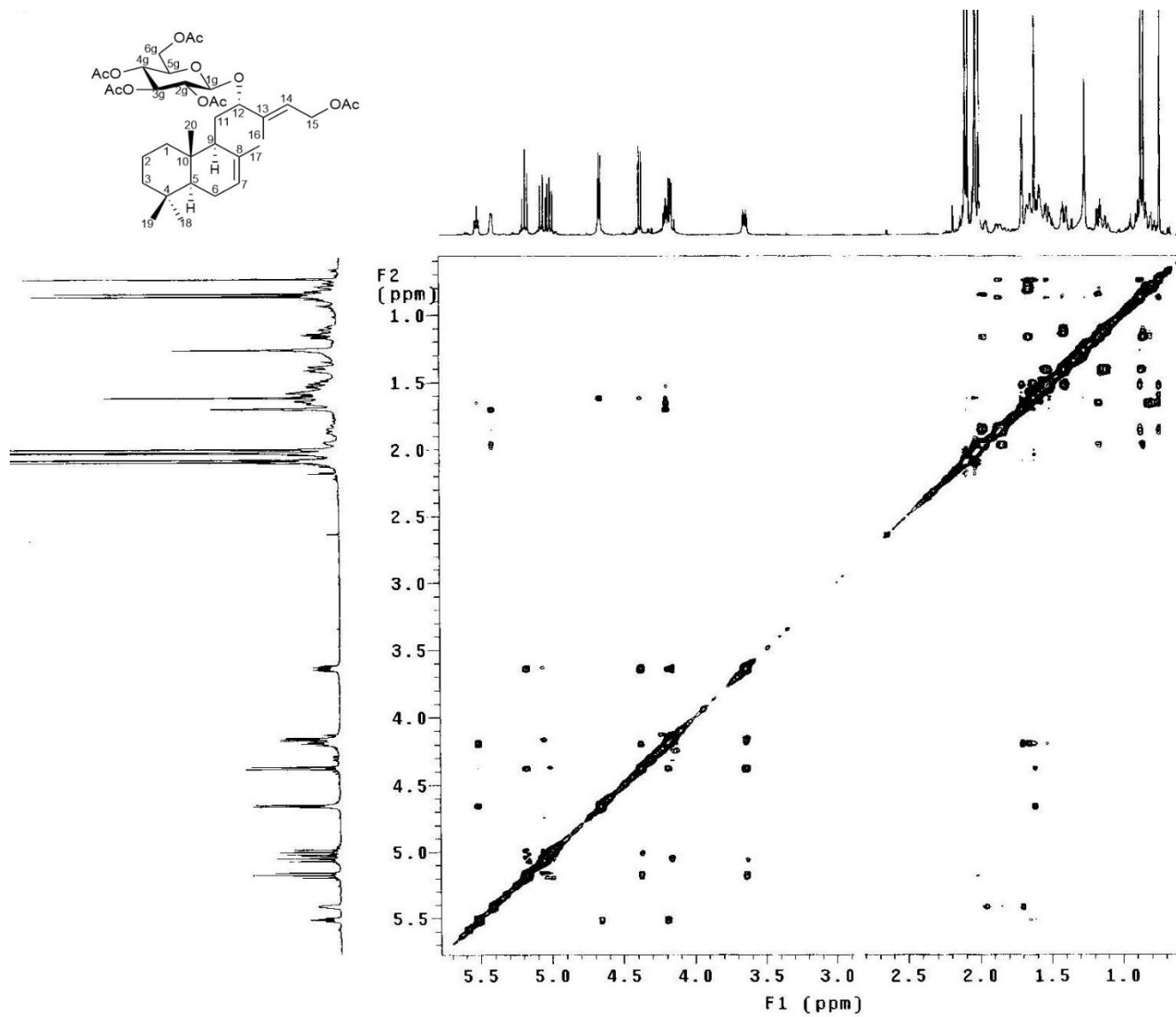
Espectro 51. HSQC del pentaacetilpatulósido B (18).



Espectro 52. HMBC del pentaacetilpatulósido B (**18**).



Espectro 53. COSY del pentaacetilpatulósido B (18).



Espectro 54. NOESY del pentaacetilpatulósido B (18).