



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**AISLAMIENTO Y ELUCIDACIÓN ESTRUCTURAL DE METABOLITOS
SECUNDARIOS DE *Physalis glutinosa*.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA

Areli Mineros Ramírez



CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX

2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Isabel del Carmen Rivero Cruz
VOCAL: Adrián de Santiago Zárate
SECRETARIO: Emma Maldonado Jiménez
1ER. SUPLENTE: Paola Malinalli Hernández Hernández
2° SUPLENTE: Octavio Fuentes Ramírez

ESTA TESIS SE DESARROLLÓ EN EL LABORATORIO 2-7 DEL DEPARTAMENTO DE PRODUCTOS NATURALES DEL INSTITUTO DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

ASESOR DEL TEMA: _____

M. en C. Emma Maldonado Jiménez

SUSTENTANTE: _____

Areli Mineros Ramírez

ÍNDICE

Abreviaturas	iv
1. Introducción	1
2. Antecedentes	3
Medicina tradicional en México	3
Familia Solanaceae	4
Género <i>Physalis</i>	6
<i>Physalis glutinosa</i> Schltdl.	9
Metabolitos secundarios	9
Terpenos	10
Diterpenos	10
Diterpenos de <i>Physalis</i>	12
Flavonoides	13
Flavonoides de <i>Physalis</i>	16
Diabetes mellitus	17
α -glucosidasas	18
3. Objetivo y Metas	20
4. Procedimiento experimental	21
Material y equipo	21
Material vegetal	21
Aislamiento de metabolitos	22
Extracción	22
Aislamiento y purificación	22
Obtención de derivados	25
Pruebas biológicas	26
5. Resultados y discusión	28
Elucidación estructural de los metabolitos aislados	29
Pruebas biológicas	41
6. Conclusiones	44
7. Perspectivas	45
8. Bibliografía	46
ANEXO	
Espectros	51

Abreviaturas

[α]	Rotación específica
A	Absorbancia
a	Señal ancha
AcOEt	Acetato de etilo
CCV	Cromatografía en columna operada con vacío
CCF	Cromatografía en capa fina
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
cm	Centímetros
COSY	Espectroscopia de correlación homonuclear (Correlated Spectroscopy)
CPP	Cromatografía en placa preparativa
δ	Desplazamiento químico en ppm
d	Doblete
DAF	Disolución amortiguadora de fosfatos
dd	Doblete de doblete
DEPT	Aumento sin distorsión de la transferencia de polarización (Distortionless Enhancement of Polarization Transfer)
DMSO	Dimetil sulfóxido
dt	doblete de triplete
EM-DART	Espectrometría de masas por análisis directo en tiempo real (Direct analysis in real time)
EM-FAB	Espectrometría de masas por bombardeo con átomos rápidos (Fast atom bombardment)
EMAR-DART	Espectrometría de masas de alta resolución por análisis directo en tiempo real
fcr	Fuerza centrífuga relativa
frs.	Fracciones
HMBC	Correlación heteronuclear de enlaces múltiples (2J C-H, 3J C-H) (Heteronuclear Multiple Bond Coherence)
HSQC	Correlación heteronuclear cuántica simple (1J C-H) (Heteronuclear Single Quantum Coherence)
Hz	Hertz
IR	Espectroscopia de Infrarrojo
J	Constante de acoplamiento
m	Multiplete
m/z	Relación masa/carga
M^+	Ión molecular
MHz	Megahertz
NOESY	Espectroscopia de efecto nuclear Overhauser (Nuclear Overhauser effect spectroscopy)
pf	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	Singulete
t	Triplete

1. INTRODUCCIÓN

El hombre ha utilizado productos derivados de la naturaleza desde tiempos inmemoriales con la finalidad de curar enfermedades, cicatrizar heridas o aliviar dolores y otros malestares, por ello estos productos medicinales se han integrado como una parte importante a la cultura de los pueblos. La mayor parte de estos productos han sido obtenidos de plantas y los conocimientos de sus diferentes propiedades y sus formas de uso se han acumulado a través del tiempo y constituyen la parte medular de lo que se conoce actualmente como la medicina tradicional de los diferentes países, regiones o grupos étnicos del mundo. En muchos casos estos conocimientos empíricos se han tomado como base para llevar a cabo estudios químicos y farmacológicos de plantas, lo que en algunos casos ha llevado al descubrimiento de nuevos medicamentos. A pesar de lo anterior, un gran número de las especies usadas en la medicina tradicional no han sido analizadas ni química ni farmacológicamente.¹

México es un país megadiverso, en él crecen cerca de 23,314 especies vegetales,² se estima que alrededor de 4000 de ellas (aproximadamente 15% de la flora total) se utilizan con fines medicinales.³ Entre éstas se encuentran varias especies del género *Physalis* que se emplean principalmente para tratar desórdenes digestivos, infecciones de vías respiratorias, hipertensión, diabetes y dermatitis.⁴

Existen entre 75 a 90 especies de *Physalis* a nivel mundial. En México se localizan cerca de 70 especies, distribuidas por todo el país, y en su mayoría endémicas, por lo que se ha considerado a México como el centro de diversificación del género.⁵ A pesar de la riqueza de nuestro territorio en especies de este género, sólo un número reducido de ellas se ha estudiado químicamente.

Dichos estudios han demostrado que éste género constituye un área de investigación interesante que ha llevado al descubrimiento de compuestos con estructuras complejas e importantes actividades biológicas y que es deseable estudiar un mayor número de especies para conocer su composición química y

aprovechar su posible valor terapéutico.

Por otra parte, la diabetes mellitus, cuya principal característica es un nivel alto de glucosa en sangre, es uno de los problemas de salud más graves en el país. Dado que algunas especies de *Physalis* se usan para tratar este padecimiento⁶ la validación de su uso para combatir este problema de salud, también representa un área de investigación importante.

Considerando lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo realizar el estudio químico de las partes aéreas (hojas, ramas y flores) de *Physalis glutinosa* Schltdl., así como la preparación de derivados de los compuestos aislados y la evaluación de la capacidad de estos compuestos de inhibir la actividad de la enzima α -glucosidasa, encargada de transformar carbohidratos complejos en otros más simples como la glucosa y con ello elevar su concentración en sangre.

2. ANTECEDENTES

MEDICINA TRADICIONAL

Las plantas han sido usadas por milenios como una forma de preservar la salud en todo el mundo y fueron la medicina original en todas las culturas. Las plantas y los conocimientos acerca de su uso constituyen la parte más importante de lo que actualmente se conoce como medicina tradicional, que subsiste como una alternativa de salud, principalmente para personas que por su situación social no tienen acceso a la medicina alopática.⁷

La medicina tradicional es considerada un componente esencial del patrimonio tangible e intangible de las culturas del mundo, un acervo de información, recursos y prácticas para el desarrollo y el bienestar, y un factor de identidad de numerosos pueblos del planeta.⁸

Las plantas deben sus propiedades medicinales a los compuestos químicos que contienen. Estos compuestos pueden encontrarse en todo el individuo o sólo en algunas de sus estructuras. Su concentración depende de diversos factores como la edad de la especie, el clima, la época del año, el tipo de suelo, la humedad, entre otros.³

Para llevar a cabo el estudio científico de las plantas medicinales y de los metabolitos secundarios responsables de sus efectos terapéuticos se requiere de la participación de varias disciplinas. Así, para el análisis de los compuestos presentes en las plantas se utilizan, entre otros, procedimientos químicos y analíticos especializados que permiten su aislamiento y purificación, para más adelante elucidar sus estructuras por medio de técnicas espectroscópicas convencionales como resonancia magnética nuclear, infrarrojo, espectrometría de masas y cristalografía de rayos X. Los efectos terapéuticos de las plantas se determinan mediante ensayos biológicos, utilizando extractos, fracciones o bien compuestos puros, en modelos *in vitro* o *in vivo*. Estos permiten confirmar o descartar las actividades farmacológicas atribuidas a las plantas.⁹

FAMILIA SOLANACEAE

Consta de aproximadamente 96 géneros y unas 2300 especies distribuidas en todos los continentes; sin embargo, la mayor riqueza de especies se encuentra en América Central y América del Sur. Otros dos centros de diversidad son Australia y África (Figura 1). Las solanáceas pueden ocupar una gran variedad de ecosistemas, desde los desiertos hasta los bosques tropicales y frecuentemente se les encuentra también en la vegetación secundaria que coloniza áreas perturbadas. Los géneros con mayor número de especies son: *Solanum*, *Physalis*, *Cestrum* y *Lycianthes*.¹⁰



Figura 1. Mapa de distribución de las solanáceas en el mundo.

Esta familia representa el tercer taxón vegetal más importante económicamente, el más valioso en términos de cultivos vegetales y el más variable en términos de especies cultivadas de utilidad agrícola, ya que entre sus miembros existen especies que son fuente de alimento, de medicamentos o que son plantas ornamentales.¹¹ En términos de alimento, la especie más importante de esta familia en la dieta global es la papa (*Solanum tuberosum*), que ocupa el cuarto lugar entre los principales productos alimenticios en el mundo, sólo después del trigo, el arroz y el maíz.¹² El jitomate (*Solanum lycopersicum*), la berenjena (*Solanum melongena*), los pimientos (*Capsicum sp.*) y el tomate de cáscara (*Physalis philadelphica*) también son alimentos importantes.

Una de las solanáceas más conocidas a nivel mundial es *Nicotiana tabacum*, que se reconoce como el cultivo lícito de mayor rentabilidad agrícola. Se utiliza como insecticida y en la fabricación de cigarrillos y puros, cuyo consumo presenta diversos

efectos nocivos en la salud humana. A través del tiempo, el tabaco ha generado el problema del tabaquismo, que constituye uno de los principales problemas mundiales de salud pública debido a su alta tasa de morbi-mortalidad.¹³

En cuanto a plantas ornamentales por su abundante follaje y llamativa floración encontramos a la petunia (*Petunia hybrida*), la flor de mariposa (*Schizanthus spp*), la panza de burro (*Salpiglossis sinuata*), el floripondio (*Brugmansia spp.*), la copa de oro (*Solandra maxima*) y el huele de noche (*Cestrum nocturnum L.*), entre otras.^{10, 14}

Entre las especies más conocidas por su toxicidad se encuentran el toloache (*Datura stramonium L.*), la mandrágora (*Mandragora officinalis* Mill.), la belladona (*Atropa belladonna L.*) y el beleño (*Hyoscyamus niger L.*). Estas plantas producen alcaloides como atropina y escopolamina que son potentes anticolinérgicos, con una amplia variedad de usos medicinales.¹⁵

Además de alcaloides, los miembros de la familia Solanaceae contienen diversos tipos de compuestos que son particularmente interesantes en las áreas de medicina y toxicología, entre éstos se encuentran los capsaicinoides, saponinas esteroidales, withasteroides, flavonoides, lignanos y terpenos, entre otros (Figura 2).¹⁶

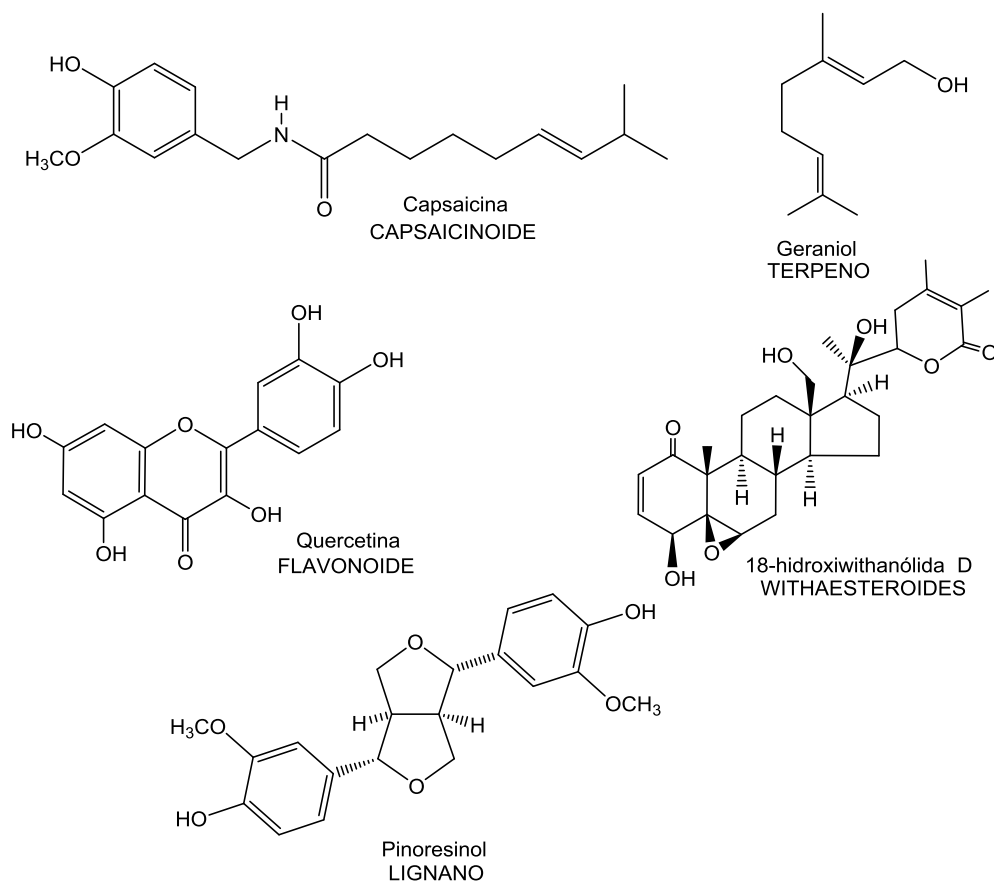


Figura 2. Ejemplos de diferentes tipos de compuestos producidos por plantas de la familia Solanaceae.

GÉNERO *Physalis*

El género *Physalis* pertenece a la familia Solanaceae; lo conforman cerca de 90 especies, 70 de las cuales crecen en México, por lo que a nuestro país se le considera el centro de diversificación del género.⁵

Las plantas de éste género pueden ser herbáceas, sufrútices o arbustivas, anuales o perennes, desde 20.0 centímetros hasta 2.0 metros de alto; pueden ser glabras o pubescentes. Las flores pueden ser pediceladas, axilares y péndulas. Su fruto es una baya succulenta, en su mayoría sésil, que mide de 0.8-1.5 centímetros de diámetro (hasta 4 centímetros en el tomate cultivado). Las semillas numerosas, reniformes, de 1.2-2.0 milímetros de diámetro, amarillas o café dorado. La

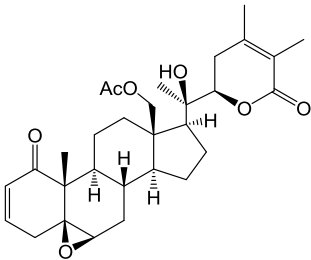
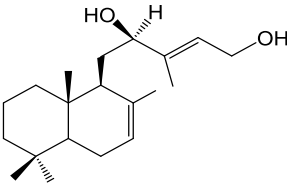
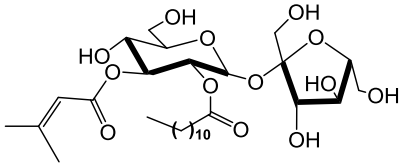
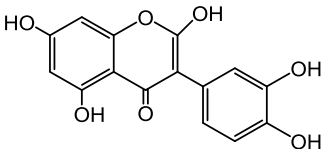
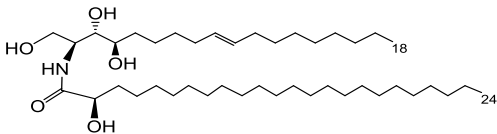
característica más llamativa del género es el cáliz semitransparente dentro del cual se desarrollan sus bayas verdes, naranjas, amarillas o con tonos púrpuras.⁵

El hábitat de *Physalis* se limita principalmente a regiones templadas y tropicales de América, con una especie nativa de Asia y algunas especies introducidas en climas cálidos en todo el mundo.¹⁷

Se sabe que alrededor de 15 especies de *Physalis* poseen frutos comestibles, sin embargo, para su aprovechamiento sólo se cultivan cuatro: *P. philadelphica* Lam. (tomate verde), *P. peruviana* L. (uchuva), *P. angulata* L. y *P. grisea* (Waterf.) M. Martínez, el resto se obtienen de poblaciones silvestres. El fruto de *P. peruviana*, la uchuva, se caracteriza por degustarse como postre, principalmente en Sudamérica y Europa, mientras que el tomate verde, producido por *P. philadelphica*, es utilizado para la preparación de salsas. Este fruto es de gran importancia económica en México, donde se cultiva en 30 de sus 32 estados y solamente en el 2013 se produjeron 588, 255 toneladas. Por otra parte, el cultivo de *P. angulata* se restringe al estado de Jalisco.^{18, 19}

Las especies del género *Physalis* se utilizan en la medicina tradicional de diferentes partes del mundo, principalmente en Asia y América. Estas plantas se utilizan en el tratamiento de infecciones gastrointestinales y de las vías respiratorias, malaria, diabetes, asma, hepatitis, dermatitis, trastornos del hígado y como regulador de la presión arterial, entre otros.²⁰ Además, han sido reconocidas como una fuente de metabolitos secundarios con diversas actividades biológicas, por lo que cada vez se presta más atención al estudio de su química y farmacología. Así, en una revisión reciente de la química del género, se encontró que en las dos últimas décadas se han obtenido alrededor de 216 compuestos de *Physalis*, entre estos compuestos destacan los withaesteroides como el grupo más numeroso (169 compuestos). También se aislaron 5 diterpenos de tipo labdano, 15 ésteres de sacarosa, 14 flavonoides y 3 ceramidas, entre otros.²¹ En el Cuadro 1 se presentan ejemplos de los diferentes tipos de metabolitos.

Cuadro 1. Metabolitos de *Physalis*

COMPUESTO	EJEMPLO	ESPECIE
Withaesteroides o Withanólidas	 Physacoztólida C	<i>P. coztomatl</i> <i>P. peruviana</i> <i>P. philadelphica</i> <i>P. angulata</i> <i>P. longifolia</i> <i>P. pubescens</i> <i>P. minima</i> <i>P. chenopodifolia</i> <i>P. cinerascens</i>
Diterpenos tipo labdano	 Physacoztomatina	<i>P. coztomatl</i> <i>P. sordida</i>
Ésteres de sacarosa	 Physalósido A	<i>P. nicandroides</i> <i>P. solanaceus</i> <i>P. sordida</i> <i>P. peruviana</i> <i>P. viscosa</i>
Flavonoides	 Isoquercetina	<i>P. longifolia</i> <i>P. angulata</i> <i>P. alkekengi</i> var. <i>franchetii</i>
Ceramidas	 (2<i>S</i>, 3<i>S</i>, 4<i>R</i>, 9<i>E</i>)-1,3,4-trihidroxi-2-[(2'<i>R</i>)-2'-hidroxitetracosanoilamino]-9-octadeceno	<i>P. philadelphica</i>

***Physalis glutinosa* Schltdl.**

Es una planta herbácea perenne, el rizoma de más de 10 cm de largo y cerca de 2 mm de diámetro, erecta a extendida, hasta de 1.5 m de alto, ramificada, densamente pubescente, fétida, los tricomas de varios largos, desde 1 a 2 mm. Tallo cilíndrico, liso y anguloso, algo torcido y dilatado en los entrenudos. Flor solitaria; botones esféricos, de 10 mm de largo, excedidos por el cáliz; el fruto, una baya de 1.2-1.5 cm de diámetro.

Se desarrolla en lugares secos y rocosos, en bosques de pino-encino, en cuevas con pasto dentro de los encinares o en laderas volcánicas. Florece y fructifica de junio a abril, probablemente durante todo el año. Se distribuye en Aguascalientes, Chihuahua, Ciudad de México, Durango, Estado de México, Guanajuato, Jalisco, San Luis Potosí y Zacatecas.⁵

METABOLITOS SECUNDARIOS

Las plantas destinan una cantidad significativa del carbono asimilado y de la energía, a la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas que no parecen tener una función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, ácidos nucleicos, carbohidratos o lípidos, por lo que se denominan metabolitos secundarios. Es importante destacar que también reciben la denominación de productos naturales y algunos de ellos tienen un importante y significativo valor medicinal y económico, derivado de su uso en la industria cosmética, alimentaria o farmacéutica.²²

Los productos del metabolismo secundario tienen funciones ecológicas que suelen ser desconocidas, sin embargo, algunos desempeñan funciones específicas para el organismo que las produce, como proporcionar color a flores y frutos. También intervienen en los mecanismos de defensa de las plantas frente a herbívoros y diferentes patógenos, actuando como pesticidas naturales.²²

Algunos ejemplos selectos de categorías de metabolitos secundarios se describen a continuación:

TERPENOS

Los terpenos constituyen el grupo más numeroso de productos naturales. Los terpenos se encuentran en hongos, bacterias, plantas, organismos marinos y en prácticamente todas las formas de vida. Derivan de una vía biosintética común en la que el difosfato de isopentenilo (IPP) y el difosfato de dimetilalilo (DMAPP), provenientes de las rutas del ácido mevalónico (MVA) y del fosfato de desoxixilulosa (DOXP), se combinan para formar difosfato de geranilo (precursor de monoterpenos, C_{10}). La adición de difosfato de geranilo a una molécula de IPP forma el pirofosfato de farnesilo (FPP) (precursor de sesquiterpenos C_{15}). Este último se adiciona a otra molécula de IPP para formar al difosfato de geranilgeranilo (GGPP) que es el precursor de los diterpenos (C_{20}). La adición de dos unidades de FPP forma al escualeno, precursor de los triterpenos (C_{30}), mientras que la de dos moléculas de GGPP origina al precursor de los tetraterpenos (C_{40}).²³

DITERPENOS

Con más de diez mil estructuras diferentes, los diterpenos representan una de las clases más grandes y diversas de los metabolitos vegetales.²⁴ Tienen 20 átomos de carbono en su estructura; pueden ser acíclicos o resultar de ciclaciones del difosfato de geranilgeranilo y de posteriores rearrreglos (Figura 3).²⁵

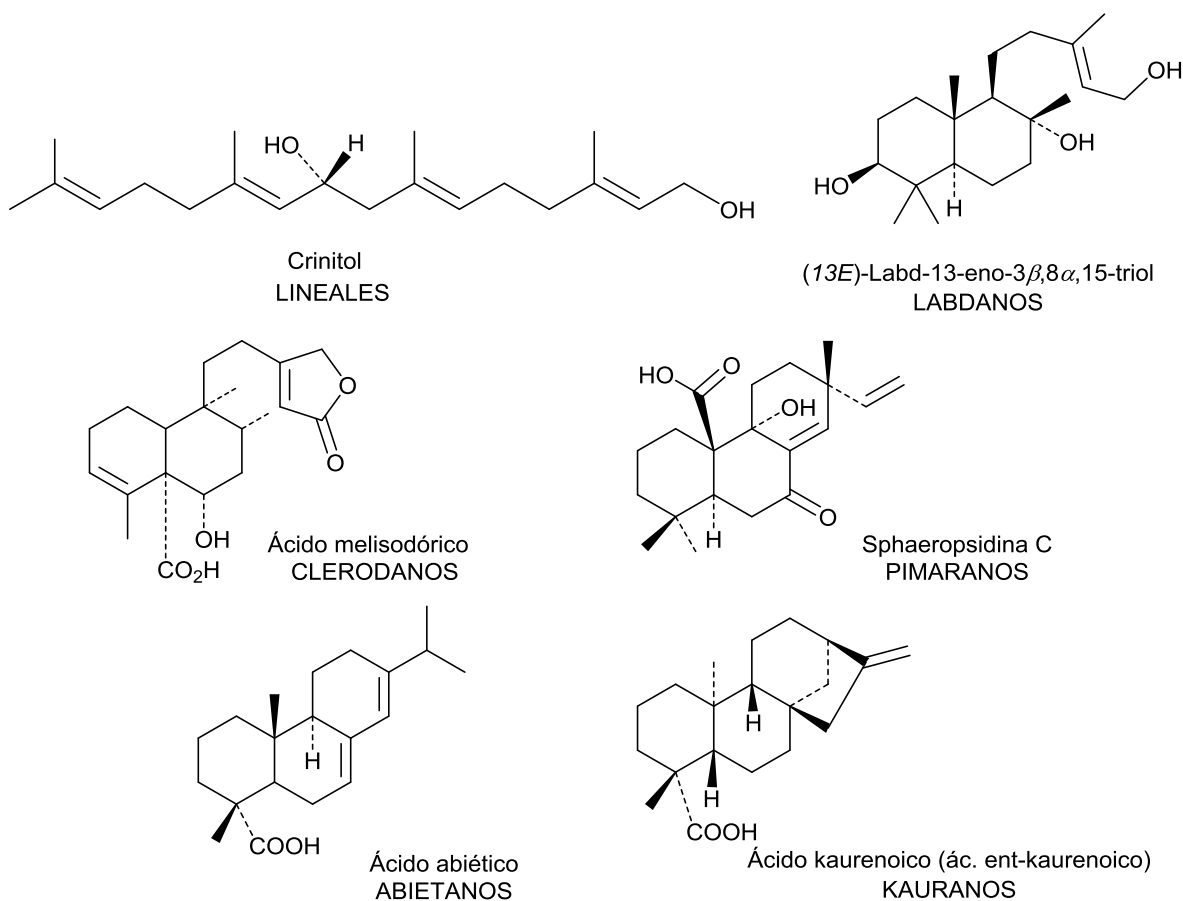


Figura 3. Ejemplos selectos de algunos tipos de diterpenos.

Los diterpenos son producidos por plantas, microorganismos, algas e invertebrados marinos y pueden tener un papel en las interacciones ecológicas entre diferentes organismos.

Algunos se emplean como medicamentos, fragancias, resinas y bioproductos industriales. Ejemplos de esto (Figura 4) son el taxol, utilizado para el tratamiento del cáncer y que deriva de la especie *Taxus brevifolia* y el esteviósido, un edulcorante natural aislado de *Stevia rebaudiana* cuyo poder edulcorante es mayor que el de la sacarosa y es utilizado en una gran variedad de alimentos y bebidas.²⁶

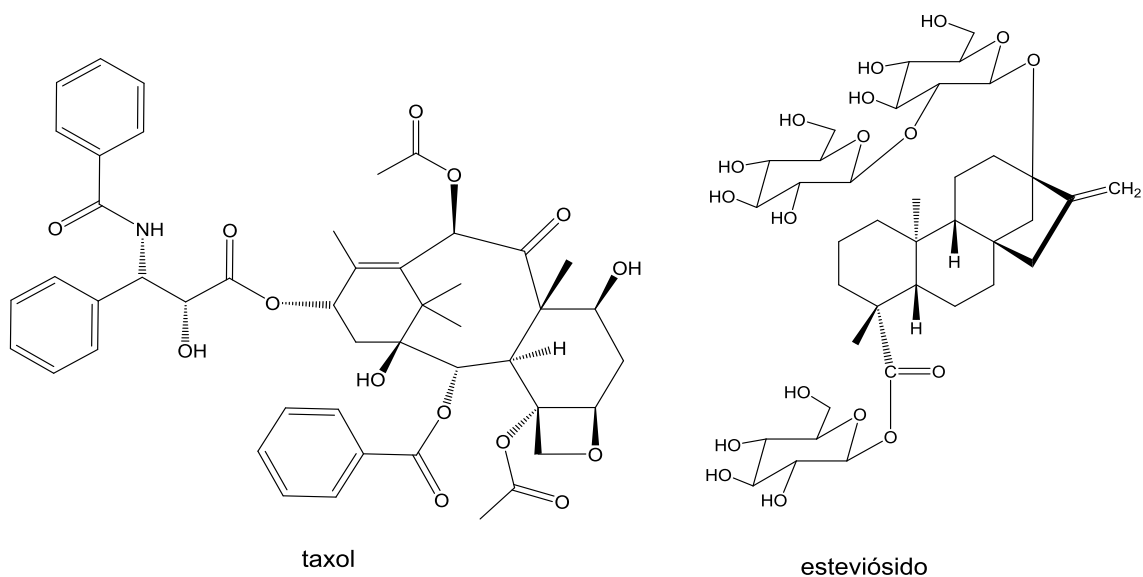


Figura 4. Estructuras de los diterpenos taxol y esteviósido.

DITERPENOS DE *Physalis*

Como resultado del estudio químico de especies mexicanas del género *Physalis*, se han aislado diterpenos de tipo labdano de *P. sordida* y *P. coztomatl*.^{27,28} De las partes aéreas de *P. coztomatl* se aislaron los compuestos physacoztomatina y labd-13(*E*)-eno-8 α ,15-diol (Figura 5), siendo éstos los primeros diterpenos aislados del género.

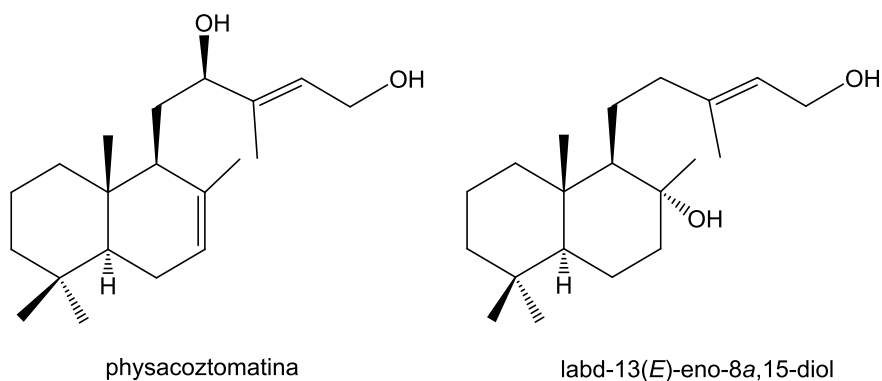


Figura 5. Estructura química de los labdanos de *P. coztomatl*.

De las partes aéreas de *Physalis sordida* fueron aislados cuatro diterpenos de tipo labdano (Figura 6): physacoztomatina, 12-O-acetilphysacoztomatina, 12,15-di-O-acetilphysacoztomatina y physordina, a los cuales además les fue evaluada su actividad antiinflamatoria en el modelo de edema inducido por TPA (13-acetato de 12-tetradecanoilforbol). La physacoztomatina y la physordina fueron los compuestos que presentaron una actividad más significativa con un 65.8 y 64.3 % de inhibición del edema.^{27, 28}

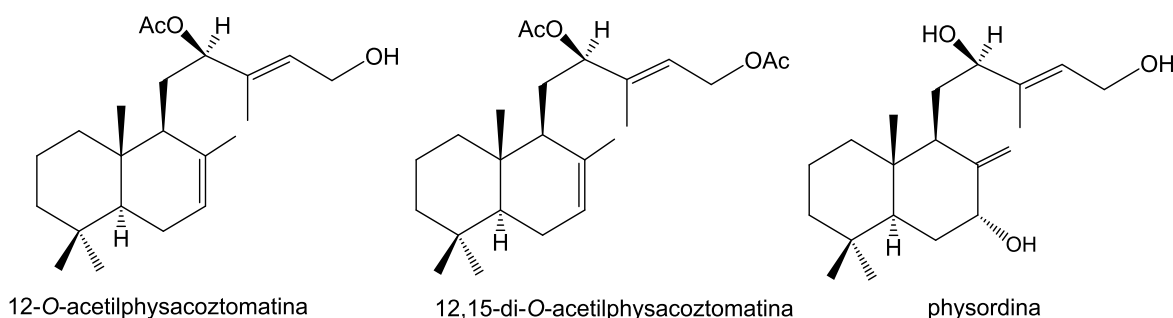


Figura 6. Estructura química de los labdanos aislados a partir de *P. sordida*.

FLAVONOIDES

Los flavonoides constituyen una clase muy diversa de metabolitos secundarios con alrededor de 5000 compuestos identificados hasta ahora y con una distribución amplia en el reino vegetal.²⁹ Son compuestos polifenólicos que presentan un esqueleto común C₆-C₃-C₆, compuesto por dos grupos fenilo (anillos A y B) unidos por una cadena de tres carbonos, la cual puede o no formar un anillo heterocíclico (anillo C) (Figura 7).²³

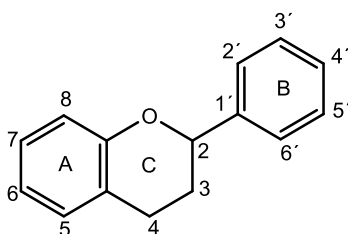


Figura 7. Estructura base de los flavonoides y su sistema de numeración.

Los flavonoides se originan en la naturaleza por biosíntesis mixta, pues provienen de dos rutas metabólicas, la ruta del ácido siquímico y la del acetato-malonato; la ruta del ácido siquímico se inicia por la condensación de los metabolitos eritrosa-4-fosfato y el fosfoenolpiruvato (FEP) que por diversas reacciones dan origen al ácido siquímico, a partir del cual se forma el ácido corísmico y éste conduce a la formación de la fenilalanina, compuesto precursor de la p-cumaril-SCoA que da origen a la porción C6-C3 del núcleo base del esqueleto. El anillo A del flavonoide se obtiene de la condensación de la p-cumaril-SCoA con tres unidades de malonil-CoA provenientes de la ruta del acetato-malonato, originando así el esqueleto de chalcona a partir del cual se generan los diferentes tipos de flavonoides (Figura 8).^{23,29}

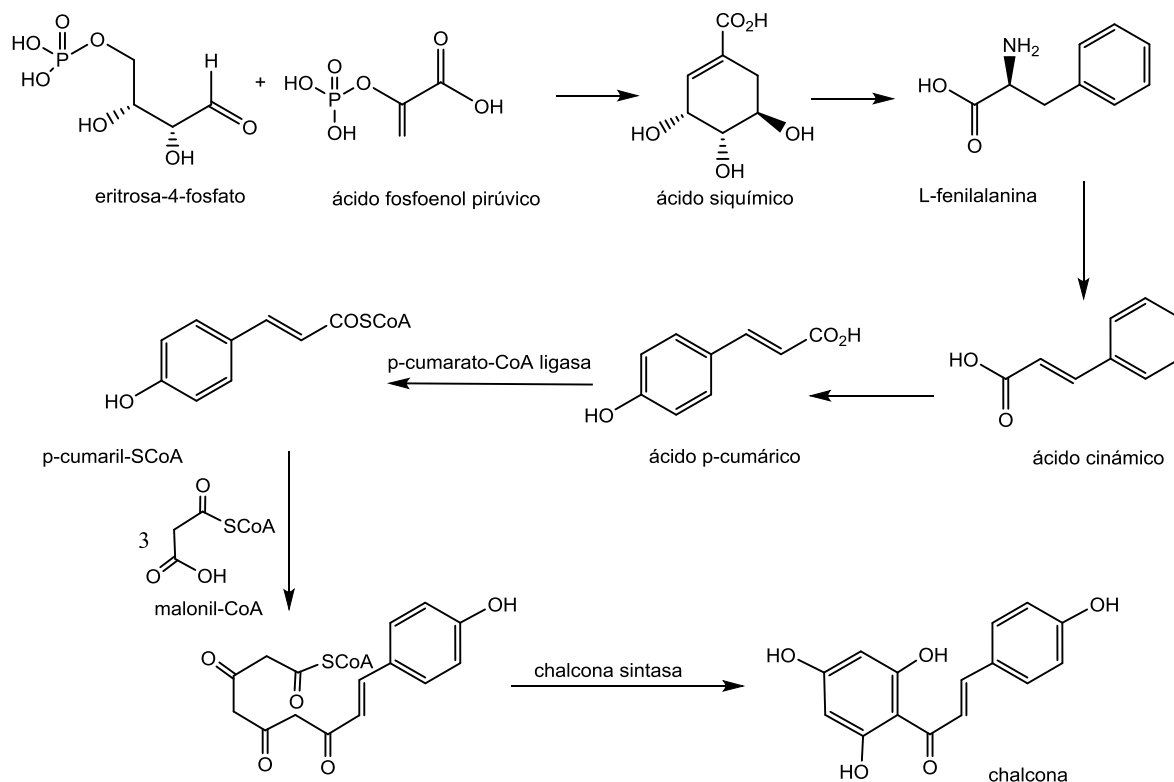


Figura 8. Biosíntesis de flavonoides.

Existen trece subclases de flavonoides que varían en el arreglo de la cadena C3. Entre éstos los principales son: flavonas, flavanonas, flavonoles, isoflavonas, catequinas, antocianinas, leucoantocianinas y chalconas (Figura 9).³⁰

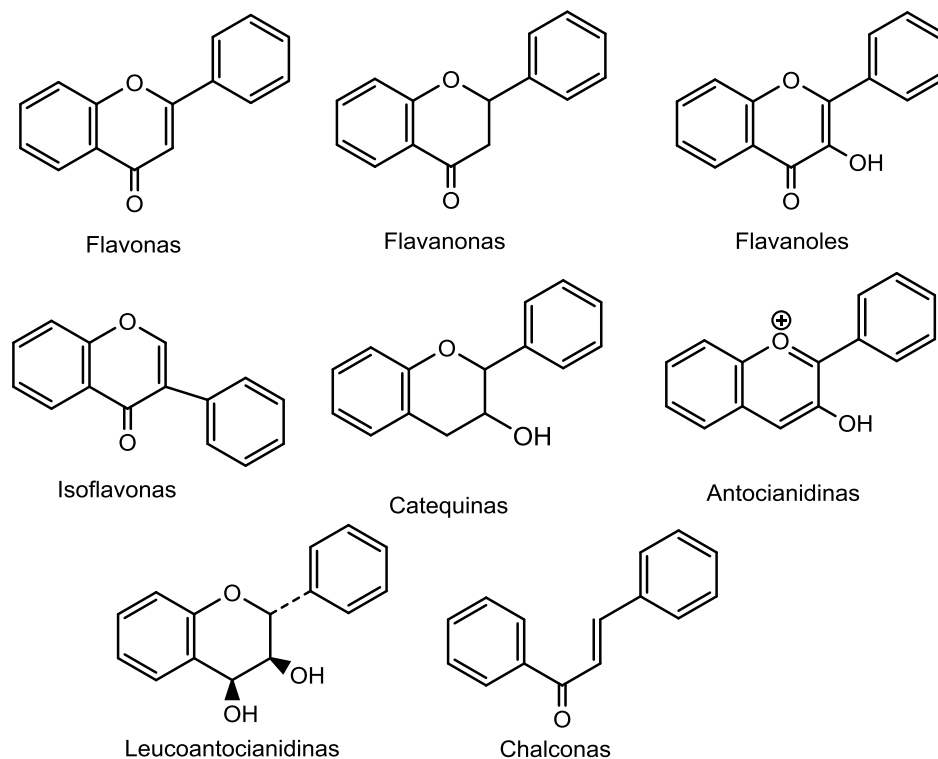


Figura 9. Principales clases de flavonoides.

Los flavonoides le confieren a las plantas rasgos fenotípicos que las hacen atractivas para la polinización como son color de flores, sabor de frutos, aroma; o bien para la resistencia y protección contra plagas, radiaciones y enfermedades.

En nuestra dieta diaria son componentes encontrados en verduras, frutas, nueces y semillas. Además, estudios de laboratorio han confirmado que poseen actividades biológicas tales como antiinflamatoria, antibacteriana, antiviral, antioxidante y antitumoral en diversas líneas celulares, entre otras.³¹

Así, estos compuestos ofrecen muchas aplicaciones potenciales ya que podrían aportar beneficios a la ecología, a la agricultura y también a la nutrición y a la salud humana.

FLAVONOIDES DE *Physalis*

Las especies del género *Physalis* sintetizan flavonoides, principalmente flavonoles y flavonas, libres o como glucósidos. Como ejemplo, durante los últimos años se aislaron los flavonoles rutina, miricetina y kaempferol de *P. peruviana*; de *P. solanaceus* y *P. orizabae* se aisló rutina y de *P. alkekengi* var. *franchetii* se aislaron glucósidos de quercetina y de luteolina (Figura 10).³²

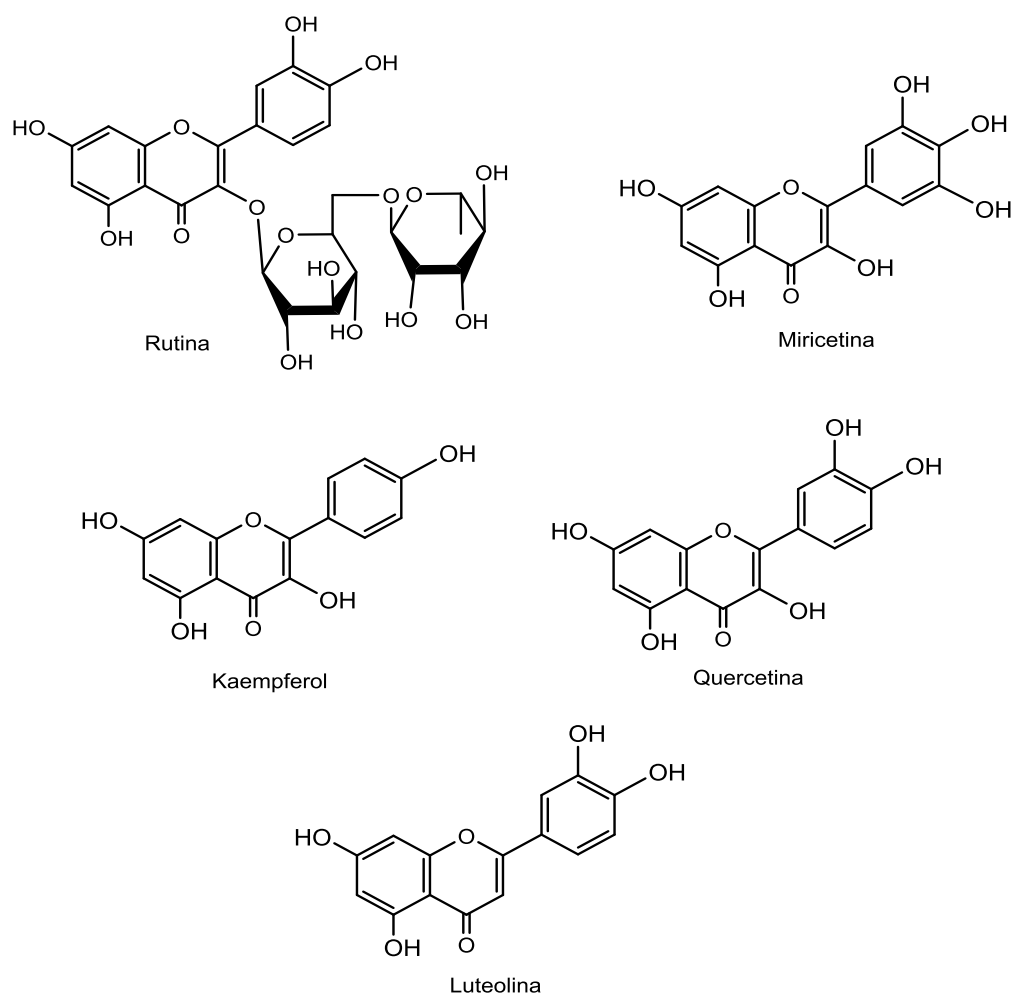


Figura 10. Ejemplos de flavonoides aislados de especies de *Physalis*.

DIABETES MELLITUS

La diabetes mellitus es un padecimiento que afecta a 415 millones de personas a nivel mundial. De acuerdo a la Federación Internacional de la diabetes, ha sido catalogada como la epidemia del siglo XXI ya que se estima que para el año 2040 el número de casos se incremente a 642 millones.³³

La diabetes mellitus comprende un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por un estado de hiperglucemia, resultante de la falta o disminución de la secreción de insulina, de una acción deficiente de la misma, o de ambas. La hiperglucemia crónica de la diabetes mellitus produce daños a largo plazo que incluyen la disfunción y la falla orgánica, especialmente en ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos. En el desarrollo de la diabetes mellitus están involucrados varios procesos patogénicos, desde la destrucción autoinmune de las células beta del páncreas con la consecuente deficiencia de insulina, hasta las alteraciones que provocan resistencia a la acción de la misma.³⁴ La insulina se encarga de regular los niveles de glucosa en sangre a través de permitir su entrada a las células e inhibir la glicogenólisis y la gluconeogénesis. También estimula la síntesis de proteínas y de lípidos. Así, las alteraciones del metabolismo de los carbohidratos, las grasas y las proteínas en la diabetes mellitus son resultado de la acción deficiente de la insulina sobre los tejidos diana en uno o más puntos en la compleja vía de la acción hormonal.^{34, 35}

El deterioro de la secreción de insulina y los defectos de la acción insulínica suelen coexistir en el mismo paciente, y no está establecido cuál de las anormalidades es la causa principal de la hiperglucemia, si es que actúan por sí solas. La hiperglucemia marcada se manifiesta por poliuria, polidipsia, pérdida de peso, a veces con polifagia y visión borrosa. La hiperglucemia crónica también puede acompañarse de alteración del crecimiento y susceptibilidad a ciertas infecciones. Las consecuencias agudas de la diabetes mellitus no controlada que ponen en peligro la vida son la hiperglucemia con cetoacidosis o el síndrome hiperosmolar no cetósico. Las complicaciones a largo plazo son la retinopatía, la nefropatía, el riesgo de neuropatía

periférica y neuropatía autonómica causante de problemas gastrointestinales, genitourinarios y cardiovasculares. Los pacientes con diabetes mellitus tienen mayor incidencia de aterosclerosis cardiovascular, arterial periférica y enfermedad cerebrovascular. También se observan hipertensión y anormalidades del metabolismo de las lipoproteínas. La mayoría de los casos de diabetes mellitus se divide en dos categorías denominadas tipo 1 y tipo 2.³⁴

La diabetes mellitus tipo 1, que se denomina también insulín dependiente o de inicio juvenil, es causada por una reacción autoinmune donde el sistema inmunitario del cuerpo ataca a las células β pancreáticas productoras de insulina. Las personas con este tipo de diabetes necesitan inyectarse insulina diariamente con el fin de controlar los niveles de glucosa en la sangre.³⁶

La diabetes mellitus tipo 2 se asocia con la utilización inapropiada de la insulina por las células y tejidos diana, lo que altera el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas. Este tipo de diabetes es el de mayor prevalencia; se calcula que alcanza entre el 85 y 95 % de la diabetes en los países desarrollados.³⁷

Como ya se mencionó, la característica de la diabetes mellitus es la hiperglucemia. La hiperglucemia posprandial o de sobremesa se considera más peligrosa que la hiperglucemia en ayuno. Es resultado de la liberación de glucosa como consecuencia de la acción de enzimas digestivas como las α -glucosidasas y α -amilasas.³⁸

α -GLUCOSIDASAS

Las α -glucosidasas están presentes en una amplia gama de seres vivos como microorganismos, hongos, plantas y animales. Una de las enzimas digestivas más importante es la α -amilasa pancreática (EC 3.2.1.1), que es la encargada de catalizar la hidrólisis de los enlaces α -1,4 glicosídicos de almidón, amilosa, glucógeno y varias maltodextrinas, además es responsable de la mayor parte de la

digestión del almidón en humanos. Una segunda enzima llamada α -glucosidasa (EC 3.2.1.20) cataliza el paso final del proceso digestivo de los carbohidratos al actuar sobre enlaces α -1,4 glicosídicos de carbohidratos y liberar unidades de glucosa.³⁹

Los inhibidores de las α -glucosidasas retrasan la liberación de glucosa y con ello reducen la hiperglicemia posprandial, por lo que tienen un papel importante en el estado pre-diabético reduciendo la progresión de la diabetes, las complicaciones vasculares crónicas y la obesidad. Es por esto que constituyen uno de los más importantes blancos de acción terapéuticos para disminuir la hiperglucemia.^{40, 41}

Existen compuestos inhibidores de la actividad de la α -glucosidasa obtenidos de forma sintética y otros que existen en forma natural en los alimentos. Los inhibidores comerciales de la α -glucosidasa, como la acarbosa y la voglibosa exhiben efectos secundarios, incluyendo trastornos hepáticos, dolor abdominal, tumores renales, lesión hepática, hepatitis aguda, llenura abdominal y diarrea.^{38, 42}

Recientemente, se ha prestado atención a los extractos naturales que presentan una actividad inhibitoria sobre la enzima α -glucosidasa. Así, se han realizado estudios con plantas hipoglucemiantes y se han aislado una gran variedad de compuestos (alcaloides, glucósidos, terpenos, flavonoides, etc.), pero el reto principal es el encontrar principios activos naturales que funcionen como fitofármacos, suplementos alimenticios o medicamentos para su uso clínico, los cuales darían beneficios directos a los pacientes. Un ejemplo del éxito de este enfoque es la metformina, un fármaco para el tratamiento de la diabetes, derivado de una guanidina aislada de la planta *Galega officinalis*.^{36, 43}

3. OBJETIVO Y METAS

OBJETIVO

Generar conocimientos relacionados con la composición química del género *Physalis* así como con la actividad biológica de sus constituyentes, a través del estudio químico de las partes aéreas de *Physalis glutinosa* Schltdl. y la evaluación de la capacidad de los compuestos obtenidos para inhibir la actividad de la enzima α -glucosidasa.

METAS

Aislar el mayor número de los metabolitos presentes en el extracto de hexano de la planta.

Elucidar las estructuras moleculares de los metabolitos aislados.

Obtener algunos derivados de los compuestos aislados de la planta.

Evaluar la capacidad de los compuestos obtenidos para inhibir la actividad enzimática de las α -glucosidasas de levadura y de intestino de rata.

4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

MATERIAL Y EQUIPO

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns. Para la purificación de los compuestos mediante cromatografía en columna operada con vacío (CCV) se utilizó como fase estacionaria sílica gel G (Mackerey Nagel). Para las cromatografías en capa fina (CCF) se usaron cromatofolios Alugram SilG/UV₂₅₄ de 0.2 mm de espesor. Para las cromatografías en placa preparativa se usaron placas SilG/UV₂₅₄ de 1.0 o 2.0 mm de espesor. Como revelador se utilizó sulfato cérico al 3% en ácido sulfúrico 2N y/o lámpara de UV Spectroline modelo CX-20 (254 y 366 nm). Las masas de los compuestos, fracciones y extractos se determinaron en una balanza analítica Mettler-Toledo AG104, con división mínima de 0.1 mg y OHAUS Adventurer Pro AV3102, división mínima 0.01 g. Los espectros de infrarrojo (IR) se obtuvieron en un equipo Bruker Tensor 27. La rotación óptica se determinó en un polarímetro Perkin Elmer 343. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) fueron determinados en los espectrómetros Bruker Avance III (¹H 400 MHz; ¹³C 100 MHz) y Varian INOVA 500 (¹H a 500 MHz; ¹³C a 125 MHz). Como referencia interna se usó tetrametilsilano (TMS); los desplazamientos químicos (δ) se reportan en ppm respecto al TMS. Para obtener los espectros de masas por la técnica de FAB⁺ se utilizó un espectrómetro JEOL MStation JMS-700; para los obtenidos por la técnica DART, el espectrómetro JEOL Accu TOF JMS-T100LC.

MATERIAL VEGETAL

Las partes aéreas de *Physalis glutinosa* Schltdl. se recolectaron en el Municipio de San Felipe, Guanajuato, en octubre de 2014. Un ejemplar se depositó en el Herbario de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ) y fue identificado por la Dra. Mahinda Martínez.

AISLAMIENTO DE METABOLITOS

EXTRACCIÓN

Las partes aéreas (hojas, flores y tallos) de *Physalis glutinosa* Schltdl. secas y molidas (m = 542.42 g), se extrajeron por el método de percolación, primero con hexano, después con acetona y finalmente con metanol hasta agotar el material vegetal. Después de eliminar el disolvente de cada extracto a presión reducida en un rotavapor, se obtuvieron los extractos de hexano (m = 65.39 g), de acetona (m = 10.28 g) y de metanol (m = 44.14 g).

AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN

El extracto de hexano (65.39 g) se disolvió en hexano-AcOEt, se adsorbió en celita y se dejó evaporar el disolvente. Una vez seco, se colocó en la parte superior de una columna que tenía como fase estacionaria silica gel G (columna A). La columna se comenzó a eluir con hexano y la polaridad se aumentó gradualmente adicionando acetato de etilo, se obtuvieron 132 fracciones de 500 mL cada una [hexano-AcOEt (v/v)]: frs. A1-A7 (100:0); frs. A8-A39, (95:5); frs. A40-A80, (90:10); frs. A81-A100, (85:15); frs. A101-A106, (80:20); frs. A107-A114, (70:30); frs. A115-A124, (60:40); frs. A125-A131, (40:60); A132 (acetona 100). Las fracciones fueron monitoreadas por CCF y se reunieron las que mostraron una composición semejante.

Las fracciones A2-A24 (m = 25.5180 g) se sometieron a CCV (columna B) eluida con mezclas de hexano-AcOEt de polaridad creciente, como se indica a continuación (relación de hexano-AcOEt v/v): frs. B1-B5 (100:1); frs. B6-B20 (97.5:2.5); frs. B21-B31 (95:5); frs. B32-B37 (90:10); frs. B38-B52 (85:15); frs. B53-B63 (80:20); frs. B64-B71 (70:30); fr. B72 (acetona). De las frs. B32-B38 se obtuvieron 83.7 mg de retusina (compuesto **4**) por cristalización de AcOEt-hexano. Las aguas madres de **4** (B32-B38) y las fracciones B30 y B31 se reunieron (m = 1.65 g) y se purificaron por medio de una CCV (columna C, 17 frs.) eluida con mezclas de CHCl₃-AcOEt (v/v): frs. C1-C4 (100:0); frs. C5-C17 (98:2). Las frs. C1-C7 (m = 662.0 mg) se sometieron

a CCV (Columna D) eluida con mezclas de hexano-CHCl₃: frs. D1-D36 (20:80); frs. D37-D49 (10:90); frs D50-D55 (0:100); y CHCl₃-acetona: frs. D56-D81 (98:2); fr. D82 (0:100). De las frs. D16-D23 cristalizaron 52.9 mg adicionales de retusina (**4**).

De las frs. C10-C17 se aislaron 28.3 mg de 12-O-acetilphysacoztomatina (compuesto **2**) (rendimiento 0.0052% respecto al peso de la planta seca).

De las fracciones A25-A39 cristalizaron 77.9 mg del compuesto **4**. Las aguas madres se combinaron con las fracciones A40-A56 (m = 14.26 g) y se sometieron a una CCV (Columna E) eluida con mezclas de hexano-acetona de polaridad creciente (v/v): frs. E1-E36 (92:8); frs. E37-E41 (90:10); frs. E42-E47 (85:15); fr. E49 (0:100). De las fracciones E7-E12 se obtuvieron 42.7 mg del compuesto **4**. Las fracciones E14-E49 (m = 8.5413 g) se sometieron a CCV eluida con mezclas de hexano-acetona 90:10 (Columna F, 27 frs.). Las fracciones F8-F12 contenían ácido physaglutínico (compuesto **3**) impuro.

Las frs. A57-A85 se cristalizaron de AcOEt/hexano para obtener 3.8199 g de 12-*epi*-physanicandiol (compuesto **1**). Las aguas madres de los compuestos **1** (frs. A57-A120) y **4** (D16-D23) y las fracciones A86-A120, B39-B49, D24-D60 y E3-E13 se reunieron (m = 12.9371 g) y se sometieron a una CCV eluída con mezclas de hexano-acetona de polaridad creciente (Columna G, 53 frs.). De las fracciones G8-G12 (hexano-acetona 80:20) se obtuvieron 4.0094 g del compuesto **1** (rendimiento total del compuesto **1**: 7.8293 g; 1.443 % respecto al peso de la planta seca). Las aguas madres del compuesto **1** y las frs. G4-G7 se sometieron a una CC de Sephadex LH-20 eluida con MeOH, (Columna H, 16 frs.). De las frs. H8-H9 se obtuvieron 4.8 mg del compuesto **4** (rendimiento total del compuesto **4**: 262.0 mg; 0.0483 % respecto al peso de la planta seca).

La fracción H4 (m = 1.6349 g) se sometió a una CCV eluida con mezclas de hexano-acetona (75:25) (Columna I, 95 frs.). La resolución de la columna se monitoreó mediante CCF y se observó que las frs. I79-I95 contenían al compuesto **3** impuro. Estas fracciones fueron sometidas a una CCV (Columna J) eluída con mezclas de hexano-acetona 80:20; se obtuvieron 16 fracciones. Las frs. J2-J4 (202.6 mg) se

sometieron a una CC usando como eluyente una mezcla de hexano-isopropanol 95:5 (Columna K, 25 frs.). Las fracciones K3-K9 ($m = 89.0$ mg) se sometieron a una cromatografía en placa preparativa eluida con una mezcla de hexano-acetona 70:30, obteniéndose 28.4 mg del compuesto **3**. De las fracciones K10-K17 se obtuvo el compuesto **3**.

Las fracciones A121-A131 se reunieron con las fracciones G13-G52 ($m = 1.8798$ g) y fueron sometidas a una CCV (Columna L, 34 frs.) eluida con una mezcla de etanol-cloroformo (99:1). Las fracciones L1-L23 ($m = 431.5$ mg) fueron sometidas a una CCV eluida con mezclas de hexano-acetona (82.5:17.5) (Columna M, 13 frs.). Se reunieron las fracciones de las columnas anteriores que contenían al compuesto **3** (frs.F8-F27, I64-I78, L24-L34 y M7-M13) para ser sometidas a CCV (Columna N; 134 frs., hexano:acetona 80:20). Las fracciones N43-N61 disueltas en AcOEt se colocaron en un embudo de separación y se extrajeron con Na_2CO_3 5% (m/v). La fase acuosa se acidificó con HCl 5% (m/v); se le agregó NaCl y se extrajo con AcOEt. La fase orgánica obtenida se lavó con H_2O , se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró, obteniendo 4.7582 g de fracción ácida. Esta fracción fue sometida a dos CCV sucesivas (Columnas O y P) para obtener el compuesto **3** semipuro ($m = 1.6331$ g).

12-Epi-physanicandiol (1): cristales incoloros, p.f. 146-147°C; $[\alpha]_D -7.8$ (c 0.19, CHCl_3); IR CHCl_3 $\nu_{\text{máx.}}$: 3609, 3081, 1666, 1642, 1387, 1369, 1084, 994, 894 cm^{-1} ; EM-DART: m/z 307 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

12-O-acetilphysacoztomatina (2): aceite incoloro.

Ácido physaglutínico (3): aceite incoloro; IR CHCl_3 $\nu_{\text{máx.}}$: 3604, 3517, 3600-2400, 1731, 1603, 1372, 1168, 1053, 1027, 965, 922 cm^{-1} ; EMAR-DART m/z 466.31595 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ (calc. para $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{O}_6\cdot\text{NH}_4^+$: 466.31686).

Retusina (4): cristales amarillo pálido, p.f. 159-160 °C; EM-DART: m/z 359 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

OBTENCIÓN DE DERIVADOS

Obtención del compuesto 5. A 100.7 mg de **1** se agregaron 0.5 mL de piridina y 0.5 mL de anhídrido acético. La solución se dejó reaccionar durante 2 horas en agitación; se agregó hielo (5 g) y se extrajo con AcOEt. La fase orgánica se lavó sucesivamente con HCl al 5%, agua, solución saturada de NaHCO₃ y agua; se secó con Na₂SO₄ anhidro. El producto de la reacción (**5**) se purificó mediante CC eluida con hexano-AcOEt 95:5. Se obtuvieron 99.8 mg de **5** (rendimiento 78.3%): aceite incoloro; $[\alpha]_D +2.3$ (c 0.22, CHCl₃); IR CHCl₃ $\nu_{\text{máx}}$: 1730, 1644, 1603, 1370, 1021, 962, 899 cm⁻¹; EMAR-DART: m/z 408.31117 (calc. para C₂₄H₃₈O₄NH₄⁺: 408.31138).

Obtención del compuesto 6. A 100.7 mg de **1** disueltos en 3 mL de CH₂Cl₂ se agregaron 261.8 mg de clorocromato de piridonio (PCC). La reacción se mantuvo 24 horas en agitación, monitoreada por CCF y cuando concluyó, se filtró y se purificó por CCV eluida con hexano-CH₂Cl₂ 80:20. Se obtuvieron 6.3 mg (rend. 6.7%) del producto **6**: aceite incoloro; $[\alpha]_D +18.2$ (c 0.22, CHCl₃) IR CHCl₃ $\nu_{\text{máx}}$: 3087, 1643, 1511, 968, 890 cm⁻¹. EM-DART: m/z 287 [M+H]⁺.

Obtención del compuesto 7. A 50.1 mg de **1** en 8 mL de CHCl₃ se agregaron 26.9 mg de MnO₂. La reacción se mantuvo en agitación, monitoreada por CCF. Cuando no se observaba avance se agregó más reactivo poco a poco (121.8 mg en 48 horas). El crudo de la reacción se filtró, se evaporó el disolvente y el residuo se purificó por CCV. Se obtuvieron 34.4 mg (rend. 69.2%) del producto **7**: aceite incoloro; $[\alpha]_D -19.1$ (c 0.22, CHCl₃) IR CHCl₃ $\nu_{\text{máx}}$: 3605, 3540, 1672, 1642, 1615, 1387, 1116, 1013, 895, 866 cm⁻¹; EMAR-DART: m/z 305.24870 (calc. para C₂₀H₃₃O₂: 305.24805).

Obtención del compuesto 8. A 116.5 mg del compuesto **3** disueltos en 10 mL de MeOH, se le agregaron aproximadamente 5 mL de solución etérea de CH₂N₂ y se dejó a temperatura ambiente hasta que dejó de desprender nitrógeno. Se evaporó el disolvente y el residuo se purificó por CCV. Se obtuvieron 109.8 mg (rend. 97.78%)

del producto **8**: aceite incoloro; $[\alpha]_D +11.1$ (c 0.18, CHCl_3) IR CHCl_3 $\nu_{\text{máx}}$: 1733, 1602, 1370, 1163, 1024, 993 cm^{-1} ; EM-FAB: m/z 463 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

PRUEBAS BIOLÓGICAS

ENSAYOS DE INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE α -GLUCOSIDASA DE LEVADURA Y DE INTESTINO DE RATA

INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA α -GLUCOSIDASA DE LEVADURA

La inhibición de la actividad enzimática se evaluó usando el método adaptado de Xiao-Ping S. *et al.*⁴⁴ Una solución del compuesto a evaluar (**1**, **5**, **6** o **7**) en dimetilsulfóxido (DMSO)/agua desionizada 1:1 se adicionó a 150 μL de disolución amortiguadora de fosfatos (DAF, 67 mM, pH=6.8) y se incubó a 37 °C por 10 minutos. Manteniendo la temperatura, se agregaron 25 μL de glutatión reducido (3 mM en DAF) y 25 μL de solución (0.2 $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$, en DAF) de α -glucosidasa tipo I de levadura para pan (No. Cat. SIGMA G5003-100UN). La solución de sustrato (25 μL , 23.2 mM *p*-nitrofenil α -D-glucopiranosido (No. Cat. SIGMA N1377-1G en DAF) fue añadida y se incubó quince minutos con agitación constante a 37 °C. La reacción se detuvo con 50 μL de carbonato de sodio (Na_2CO_3 , 1 M), y después de 5 minutos de agitación, se determinó la absorbancia de la mezcla a una $\lambda = 405 \text{ nm}$ ($\lambda_{\text{máx}}$. del *p*-nitrofenol liberado). Como control positivo se usó quercetina. El porcentaje de inhibición se determinó con la ecuación:

$$\text{Inhibición (\%)} = [\text{A}_{\text{control}} - (\text{A}_{\text{muestra}} - \text{A}_{\text{basal}}) / \text{A}_{\text{control}}] \times 100.$$

Donde $\text{A}_{\text{control}}$, $\text{A}_{\text{muestra}}$ y A_{basal} se definen como la absorbancia del 100% de la actividad de la enzima, de la muestra con enzima y de la muestra sin enzima, respectivamente. Todas las muestras fueron evaluadas por triplicado.

INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA α -GLUCOSIDASA DE INTESTINO DE RATA

La α -glucosidasa de intestino de rata se preparó siguiendo el método modificado de Jo.⁴⁰ El polvo de acetona de intestino de rata (100.0 mg) se rehidrató con 4 mL de DAF (67 mM, pH=6.8). Después de ser homogeneizada por 3 minutos a 4°C, la suspensión fue centrifugada (13,400 fcr, 4°C, 30 minutos) y el sobrenadante fue usado para el ensayo. La mezcla de reacción que contenía 150 μ L de solución amortiguadora de fosfatos (67 mM, pH=6.8), 25 μ L α -glucosidasa y 25 μ L de muestra (en DMSO-H₂O 1:1) a diferentes concentraciones fue pre-incubada a 37 °C por 10 minutos. Se añadieron 25 μ L de *p*-nitrofenil α -D-glucopiranosido (23.2 mM). Después de incubar la mezcla por 15 minutos a 37°C, la reacción se detuvo con 50 μ L de Na₂CO₃ (1 M), se agitó durante 5 minutos y se determinó la absorbancia de la mezcla a λ = 405 nm en un lector de microplacas Biotek Synergy HT. Como control positivo se usó acarbosa y como control negativo DMSO 5% (v/v). Los experimentos se realizaron por triplicado. El porcentaje de inhibición se calculó con la fórmula:

$$\text{Inhibición (\%)} = [A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}} / A_{\text{control}}] \times 100.$$

Donde A_{control} y A_{muestra} son las absorbancias del control negativo y de la muestra, respectivamente.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como resultado del estudio químico realizado al extracto de hexano de las partes aéreas (hojas, ramas y flores) de *Physalis glutinosa* Schltdl. se aislaron cuatro compuestos que fueron identificados como 12-*epi*-physanicandiol (**1**), 12-O-acetilphysacoztomatina (**2**), ácido physaglutínico (**3**) y retusina (**4**).

Adicionalmente se determinó la capacidad de los productos naturales **1** y **3**, así como la de los derivados **5-8**, para inhibir la actividad enzimática de α -glucosidasas.

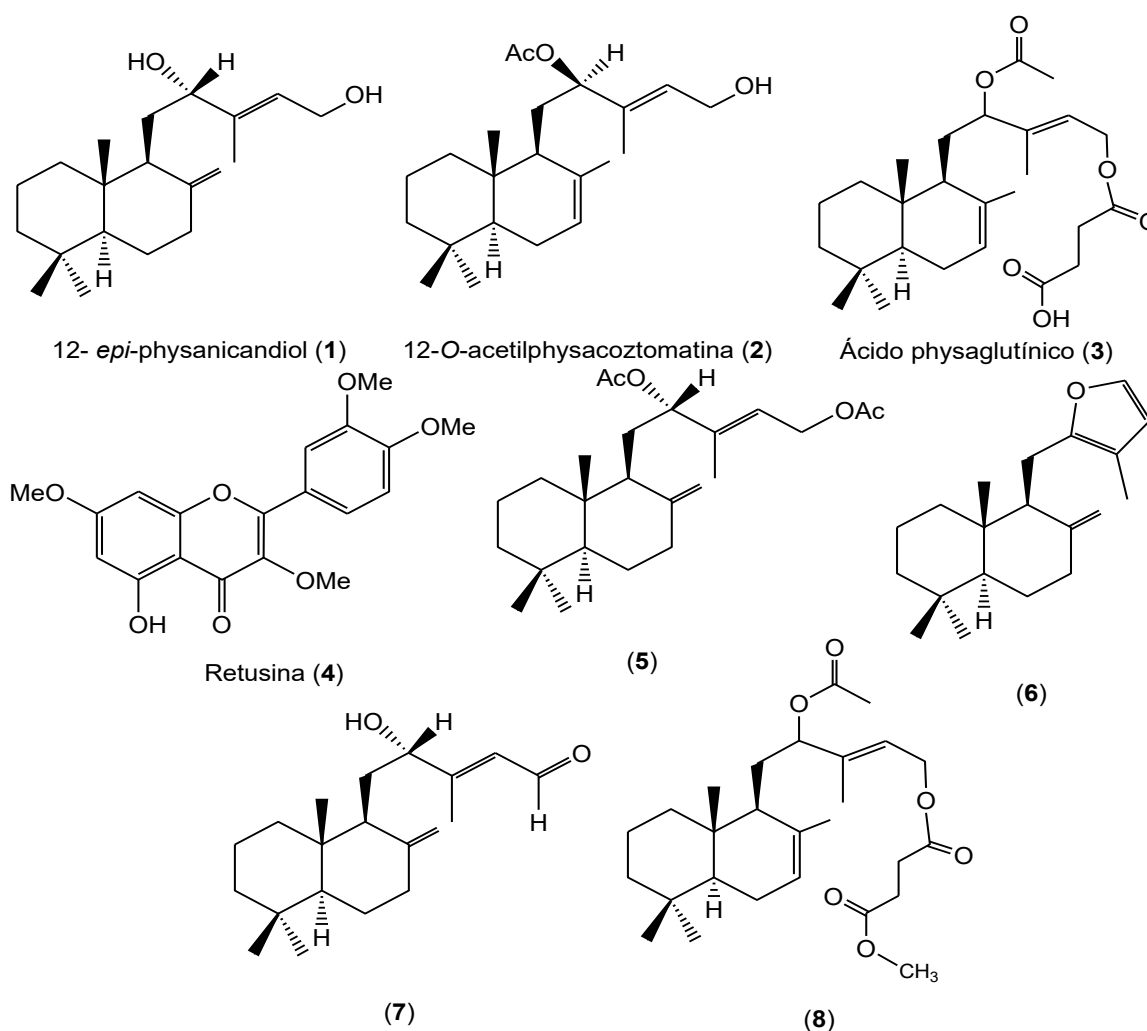


Figura 12. Estructuras de los compuestos aislados de *Physalis glutinosa* Schltdl. y de los derivados obtenidos.

ELUCIDACIÓN ESTRUCTURAL DE LOS METABOLITOS AISLADOS

La elucidación estructural de los productos naturales y de sus derivados (Figura 12) se llevó a cabo mediante el análisis de los respectivos espectros de IR, RMN y EM.

El compuesto **1** se aisló en forma de sólido blanco con un punto de fusión de 146 – 147 °C. Su rendimiento fue de 7.8293 g, 1.44 % respecto al peso del material vegetal seco.

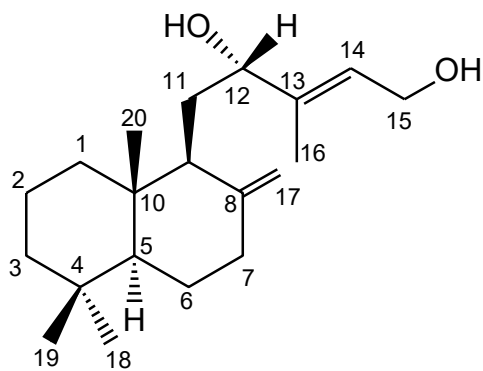
En el espectro de IR (Espectro 1) presenta bandas para grupos hidroxilo (3609 cm^{-1} y 1084 cm^{-1}) y para dobles enlaces (3081 , 1666 y 1642 cm^{-1}). Su espectro de masas (EM-DART, Espectro 2) presentó un ión molecular de m/z 307 $[M+H]^+$, que es consistente con una fórmula molecular $C_{20}H_{34}O_2$. El espectro de RMN ^{13}C (Espectro 4) muestra veinte señales (Tabla 1) que según el espectro DEPT (Espectro 5), corresponden a cuatro metilos, ocho metilenos, cuatro metinos y cuatro carbonos no protonados. Lo anterior sugiere que se trata de un diterpeno. Se propuso que se trata de un labdano con dos dobles enlaces y dos grupos hidroxilo debido a que el espectro de RMN 1H (Espectro 3) muestra señales para tres grupos metilo terciarios que se asignaron a los metilos CH_3 -18 (δ_H 0.87), CH_3 -19 (δ_H 0.80) y CH_3 -20 (δ_H 0.69) y para un metilo vinílico (δ_H 1.67, CH_3 -16). La señal de un hidrógeno vinílico que se observa en δ_H 5.52 como triplete de dobletes ($J = 7.0$, 1.0 Hz) correlaciona en el experimento COSY (Espectro 6) con las señales de los protones de un metileno unido a un grupo hidroxilo (δ_H 4.23 dd, $J = 13.0$, 7.0 Hz ; δ_H 4.18 dd, $J = 13.0$, 7.0 Hz) y con la señal de CH_3 -16. Esto indica la presencia de un doble enlace entre C-13 y C-14 y de un alcohol en C-15. En el espectro HMBC (Espectro 7) la señal de H-14 (δ_H 5.52) correlaciona con las de los carbonos C-15 (δ_C 59.2), C-16 (δ_C 10.6) y con la del carbono de un metino unido a un grupo hidroxilo en δ_C 77.2, que se asigna a C-12. A su vez H-12 (δ_H 4.13 dd, $J = 9.0$, 5.5 Hz) correlaciona con C-16, C-15, C-14 (δ_C 126.6) C-11 (δ_C 28.6) y C-9 (δ_C 53.2). Las correlaciones de C-9 con las señales de dos hidrógenos vinílicos en δ_H 4.87 (H-17) y δ_H 4.68 (H-17') indican que existe un doble enlace entre los carbonos C-8 y C-17.

TABLA 1. Datos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **1** en CDCl_3 .^a

Posición	δ_{H}	δ_{C}	Posición	δ_{H}	δ_{C}
1	1.72 m	39.0	10		39.5
1'	0.92 ddd (13.0, 13.0, 4.0)		11	1.70 m	28.6
2	1.58 dddddd (13.5, 13.5, 13.5, 3.5, 3.5)	19.4	11'	1.68 m	
2'	1.49 m		12	4.13 dd (9.0, 5.5)	77.2
3	1.39 dddd (13.0, 3.0, 3.0, 1.5)	42.1	13		140.2
3'	1.17 ddd (13.5, 13.5, 4.0)		14	5.52 td (7.0, 1.0)	126.6
4		33.6	15	4.23 dd (13.0, 7.0)	
5	1.06 dd (12.5, 3.0)	55.5	15'	4.18 dd (13.0, 7.0)	59.2
6	1.31 dddd (13.0, 13.0, 13.0, 4.0)	24.4	16	1.67 s	10.6
6'	1.72 m		17	4.87 d a (1.5)	106.7
7	2.38 ddd (12.5, 4.0, 2.5)	38.3	17'	4.68 d a (1.0)	
7'	1.93 ddd (12.5, 12.5, 5.0)		18	0.87 s	33.5
8	1.47 dd (10.0, 3.0)	149.1	19	0.80 s	21.7
9	1.06 dd (12.5, 3.0)	53.2	20	0.69 s	14.6

^a δ en ppm; (*J* en Hz); RMN ^1H : 500 MHz; RMN ^{13}C : 125 MHz.

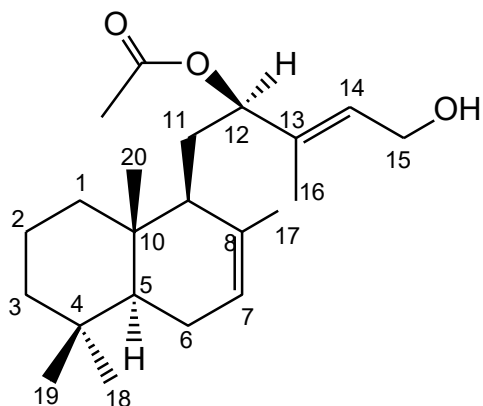
La geometría del doble enlace en C-13 se determinó como *E* por la interacción entre H-12 y H-14 que se observa en el espectro NOESY (Espectro 8). Al revisar la literatura se encontró que existen dos compuestos con la misma constitución, que fueron aislados de *Physalis nicandroides* var. *attenuata*.⁴⁵ Estos compuestos presentaron diferente configuración en C-12. Se les denominó physanicandiol (12*R*) y 12-*epi*-physanicandiol (12*S*). Se compararon los datos espectroscópicos y las constantes físicas de **1** con los con los descritos para estos compuestos. Se encontró que los del compuesto **1** concuerdan con los del 12-*epi*-physanicandiol.



12- *epi*-physanicandiol (**1**)

El compuesto **2** fue aislado como aceite incoloro. Su espectro de RMN ^{13}C (Espectro 10) muestra veintidós señales que según el espectro DEPT (Espectro 11) corresponden a seis metilos, seis metilenos, cinco metinos y cinco carbonos no protonados. Dos de estas señales corresponden a un grupo acetato (δ_{C} 170.6 y 21.3). Lo anterior sugiere que se trata de un diterpeno, el cual fue propuesto como un labdano con dos dobles enlaces y con presencia de grupos hidroxilo y acetato. Esto se confirma al observar que el espectro de RMN ^1H (Espectro 9) muestra una señal a campo bajo δ_{H} 5.28 correspondiente al protón del carbono unido al acetato (H-12) y la señal correspondiente al metilo del acetato en δ_{H} 2.08. Al igual que en el compuesto **1**, se presenta la señal de un hidrógeno vinílico en δ_{H} 5.64 como triplete ($J = 6.6$ Hz), lo que indica la presencia de un doble enlace entre C-13 y C-14; además se presenta la señal de los protones de un metileno unido a un grupo hidroxilo como un doblete en δ_{H} 4.18 ($J = 6.6$ Hz, 2H). Esta señal se asignó a H-15 y H-15'. La señal en δ_{H} 5.42 está en la zona de los hidrógenos vinílicos, esto indica la presencia de un doble enlace entre C-7 y C-8. Esto se confirma por las señales de C-7 (δ_{C} 123.0) y C-8 (δ_{C} 134.4) y de un metilo vinílico (δ_{C} 22.3, CH₃-17) en el espectro de RMN ^{13}C . Además, la señal de H-12 aparece a campo más bajo (δ_{H} 5.28, da, $J = 9.9$ Hz) que la del compuesto **1** (δ_{H} 4.13 dd, $J = 9.0, 5.5$ Hz), lo que indica que el grupo acetato se encuentra en C-12. De esta manera se propuso la estructura **2** para este compuesto. Al revisar la literatura se encontró que corresponde a la 12-O-acetilphysacoztomatina, un compuesto aislado de *P. sordida*.²⁸

La identidad de **2** se confirmó por comparación, mediante CCF con una muestra original de la 12-O-acetilphysacoztomatina, así como por comparación de sus datos de RMN con los previamente reportados en la literatura.²⁸



12-O-acetilphysacoztomatina (**2**)

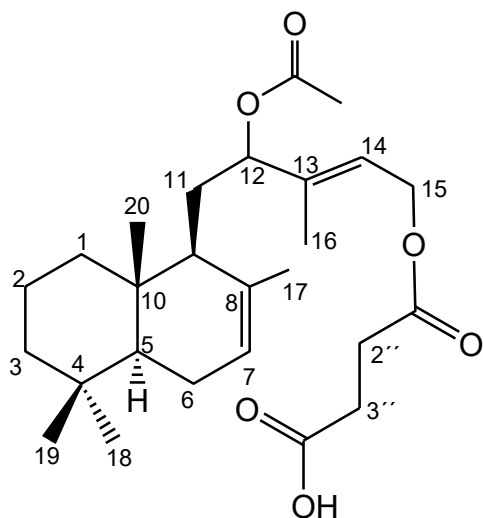
El compuesto **3** fue aislado como aceite incoloro. En el espectro de infrarrojo (Espectro 12) se presentan bandas en 1731 y 1168 cm^{-1} correspondientes a enlaces C=O y C-O de éster y una banda ancha entre 2800 y 3600 cm^{-1} que indica la presencia de un ácido carboxílico. El espectro de masas (EMAR-DART, Espectro 13) presenta un ión molecular de m/z 466.31595 $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$, correspondiente a una fórmula molecular $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{O}_6\cdot\text{NH}_4^+$. El espectro de RMN ^{13}C (Espectro 15) (Tabla 2) muestra veintiséis señales que corresponden a seis metilos, ocho metilenos, cinco metinos y siete carbonos no protonados. Dos de las señales corresponden a un grupo acetato (δ_{C} 170.8 y 21.3). El espectro de RMN ^1H (Espectro 14) (Tabla 2) es muy similar al del compuesto **2**; muestra señales para tres grupos metilo terciarios que se asignaron a los metilos CH₃-18 (δ_{H} 0.88), CH₃-19 (δ_{H} 0.86) y CH₃-20 (δ_{H} 0.74) y para dos metilos vinílicos (δ_{H} = 1.72, 6H, CH₃-16 y CH₃-17). También muestra las señales de H-7 (δ_{H} 5.41, d a, J = 3.5 Hz) y H-14 (δ_{H} 5.57, tt, J = 7.0, 1.0 Hz) que indican la presencia de dobles enlaces entre C-7 y C-8 y entre C-13 y C-14. Se observan además las señales de H-12 (δ_{H} 5.28, dd, J = 11.0, 1.5 Hz) y de H-15 (δ_{H} 4.65, dd, J = 13.0, 7.0 Hz) y H-15' (δ_{H} 4.62, dd, J = 13.0, 7.0 Hz), cuyo desplazamiento indica que ambas posiciones están esterificadas. El espectro de RMN ^1H muestra un singulete en δ_{H} 2.09 (3H) que confirma la presencia del grupo acetato. La correlación del carbonilo del acetato con H-12 en el espectro de HMBC

(Espectro 18), indica que el grupo acetato está en esta posición. El espectro de RMN ^1H muestra un multiplete que integra para cuatro hidrógenos en δ_{H} 2.65 y en el espectro de RMN ^{13}C (Espectro 15), se observan las señales de un carbonilo de éster (δ_{C} 172.0), uno de ácido carboxílico (δ_{C} 176.1) y dos señales para carbono de metileno en δ_{C} 29.0 y 28.8. Estas últimas señales correlacionan con la señal en δ_{H} 2.65 en el espectro HSQC (Espectro 17). Lo anterior indica la presencia de un derivado del ácido succínico monoesterificado. El espectro HMBC (Espectro 18) muestra una correlación entre los hidrógenos de C-15 y el carbonilo en δ_{C} 172.0, lo cual indica que el ácido succínico está unido a C-15. Así, se establece la estructura **3** para este compuesto. La configuración de C-12 no pudo ser determinada. El compuesto **3** no ha sido descrito con anterioridad, por lo que se le dio el nombre de ácido physaglutínico.

TABLA 2. Datos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **3** en CDCl_3 .^a

Posición	δ_{H}	δ_{C}	Posición	δ_{H}	δ_{C}
1	1.88 m	39.2	12	5.28 dd (11.0, 1.5)	78.4
1'	0.91 ddd (13.0, 13.0, 4.0)		13	5.57 tt (7.0, 1.0)	140.4
2	1.52 m	18.8	14	4.65 dd (13.0, 7.0)	119.8
2'	1.48 m		15	4.62 dd (13.0, 7.0)	60.9
3	1.43 m	42.3	15'	1.72 s	
3'	1.16 ddd (13.5, 13.5, 4.0)		16		12.9
4		33.0	17	1.72 s	22.3
5	1.19 dd (12.0, 5.0)	50.0	17'		
6	1.98 d a (17.0)	23.7	18	0.86 s	33.1
6'	1.86 m		19	0.88 s	21.9
7	5.41 d a (3.5)	123.0	20	0.74 s	13.5
8		134.3	OAc	2.09 s, 3H	170.8, 21.3
9	1.73 m	50.3	1''		172.0
10		36.4	2''	2.65 m, 4H	29.0
11	1.76 dd (15.0, 11.0)	31.4	3''		28.8
11'	1.41 m		4''		176.1

^a δ en ppm; (*J* en Hz); RMN ^1H : 500 MHz; RMN ^{13}C : 125 MHz.

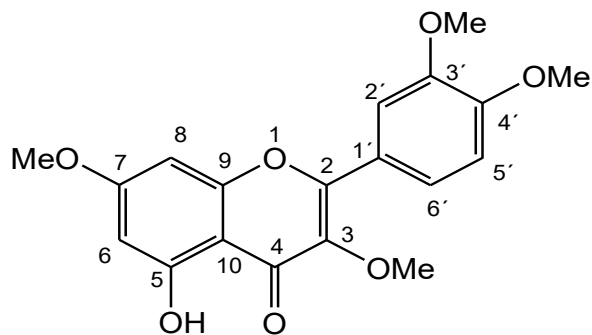


Ácido physaglutínico (**3**)

El compuesto **4** se aisló como un sólido cristalino amarillo con un punto de fusión de 159-160 °C (262.0 mg; rendimiento 0.0483 % respecto al peso del material vegetal seco). En espectrometría de masas (EM-DART) (Espectro 19) presentó un ión molecular de m/z 359 $[M + H]^+$, que es consistente con una fórmula molecular $C_{19}H_{18}O_7$.

El espectro de RMN 1H (Espectro 20) mostró que se trata de un flavonoide, ya que presentó tres señales en δ_H 7.74 (dd; $J = 8.5, 2.0$ Hz), 7.69 (d, $J = 2.0$ Hz) y 6.99 (d, $J = 8.5$ Hz), cada una integra para un hidrógeno y forman parte del mismo sistema. Esto indica que el compuesto presenta 3 hidrógenos aromáticos. Considerando el valor de las constantes de acoplamiento, las señales se asignaron, respectivamente, a los hidrógenos H-6', H-2' y H-5' del anillo B del flavonoide. En la misma zona, se observan dos dobletes en δ_H 6.36 ($J = 2.5$ Hz) y 6.45 ($J = 2.5$ Hz). El valor de estas constantes de acoplamiento indica una sustitución de tipo meta. Estas señales fueron asignadas a H-6 y H-8 del anillo A, respectivamente. A campo bajo se observa una señal singulete en δ_H 12.64 que se asigna al hidrógeno de un grupo hidroxilo quelatado unido a C-5. Además, se observan cuatro señales que integran para tres hidrógenos cada una y que se atribuyen a grupos metoxilo (δ_H 3.87, 3.88, 3.96, 3.97).

En el espectro RMN ^{13}C (Espectro 21) se observan señales para 19 carbonos, las cuales corresponden a cinco metinos, cuatro metilos y diez carbonos no protonados; entre las últimas, la de un carbonilo de cetona en δ_{C} 178.7 que corresponde a C-4. Lo anterior permitió identificar al compuesto **4** como el flavonol retusina. Esto se confirmó al comparar sus datos físicos y espectroscópicos con los descritos en la literatura.^{46, 47}



Retusina (**4**)

Datos de RMN ^1H de 4 (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} : 12.64 (s, 5-OH), 7.74 (dd; J = 8.5, 2.0 Hz, H-6'), 7.69 (d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.99 (d, J = 2.0 Hz, H-5'), 6.45 (d, J = 2.5 Hz, H-8), 6.36 (d, J = 2.5 Hz, H-6), 3.97 (s, 4'-OMe), 3.96 (s, 3'-OMe), 3.88 (s, 7-OMe), 3.87 (s, 3-OMe).

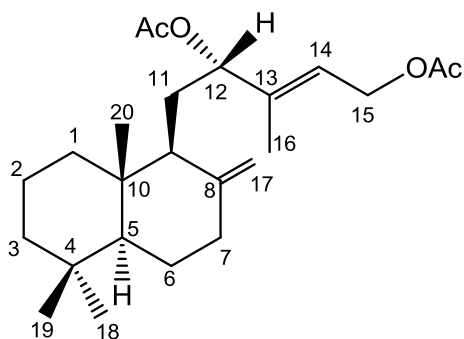
Datos de RMN ^{13}C de 4 (125 MHz, CDCl_3): δ_{C} : 178.7 (C-4), 165.4 (C-7), 162.0 (C-5), 156.7 (C-9), 155.8 (C-2), 151.4 (C-4'), 148.8 (C-3'), 139.0 (C-3), 122.9 (C-1'), 122.2 (C-6'), 111.3 (C-5'), 110.9 (C-2'), 106.1 (C-10), 97.8 (C-6), 92.2 (C-8), 60.2 (3-OMe), 56.1 (3'-OMe), 56.0 (4'-OMe), 55.8 (7-OMe).

Con la finalidad de obtener una serie de compuestos para evaluar su capacidad de inhibir la actividad de α -glucosidasas, se prepararon algunos derivados de los productos naturales **1** y **3**.

El derivado **5** se obtuvo al tratar el compuesto **1** con anhídrido acético y piridina. La presencia de los dos grupos acetato en la molécula fue confirmada al analizar los diferentes espectros, como se describe a continuación:

El espectro de IR (Espectro 22) del compuesto **5** mostró una banda en 1730 cm^{-1} correspondiente a los grupos carbonilo de éster; no se observaron las señales para grupos hidroxilo. El espectro de masas (EMAR-DART) (Espectro 23) mostró un ión molecular $[M + \text{NH}_4]^+$ de m/z 408.31117, correspondiente a una fórmula molecular $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_4$.

El espectro de RMN ^1H (Espectro 24) fue comparado con el del compuesto **1**, y se observa que las señales de H-12 y H-15 se desplazan a campo bajo (δ_{H} 5.27 H-12; δ_{H} 4.64 y 4.57 H-15 y H-15'); también se observa la presencia de dos señales simples en δ_{H} 2.03 y 2.05 correspondientes a los metilos de acetato. El espectro de RMN ^{13}C (Espectro 25) muestra señales que confirman la presencia de los grupos acetato en C-12 (δ_{C} 170.1, 21.7) y C-15 (δ_{C} 170.8, 21.3). La estructura de este derivado se propone como:



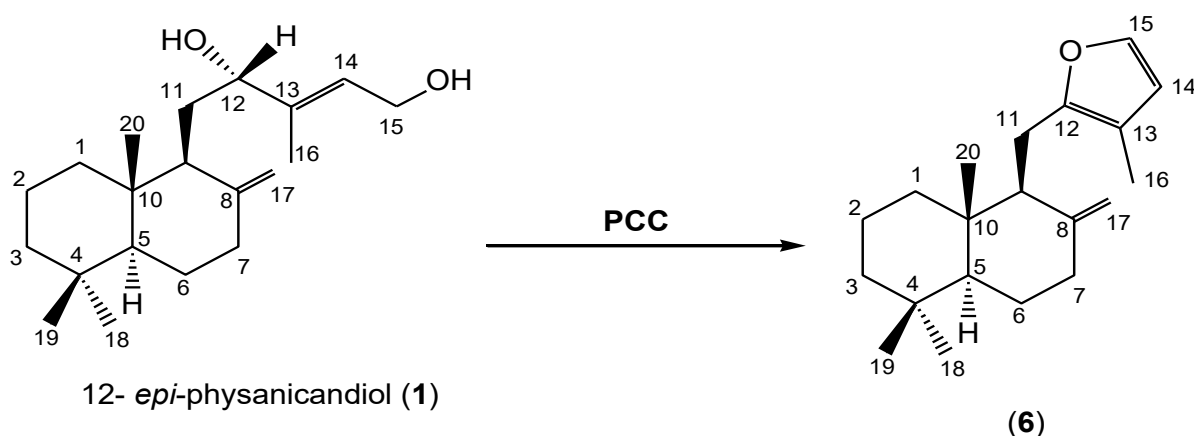
12,15-di-O-acetil-12-*epi*-physanicandiol (**5**)

Se efectuaron dos reacciones de oxidación de **1**; la primera con clorocromato de piridonio (PCC) y la segunda con dióxido de manganeso (MnO_2).

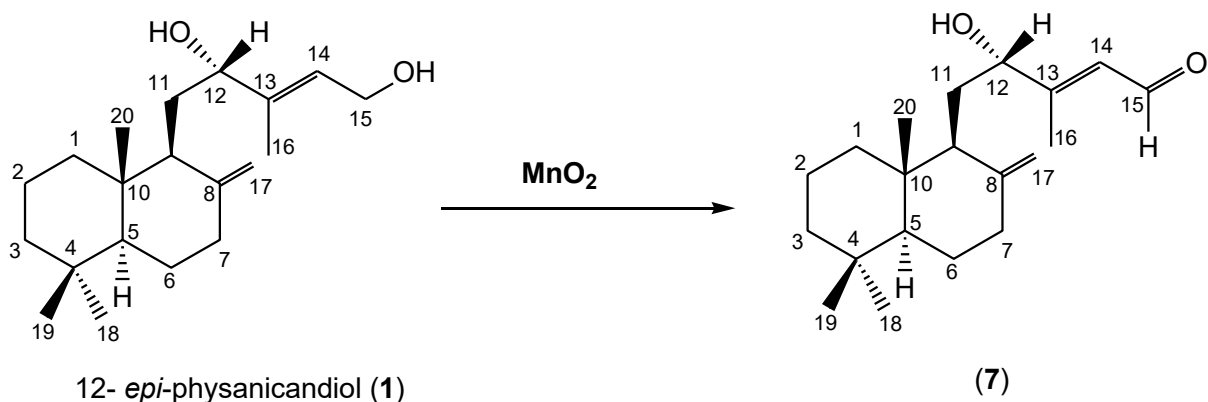
El producto mayoritario de oxidación de **1** con PCC fue el compuesto **6**, el cual tiene un anillo de furano en la cadena lateral. La presencia del furano se deduce al analizar los diferentes espectros; En el espectro de IR (Espectro 26) no se observaron las señales para grupos hidroxilo. El espectro de masas (EM-DART, Espectro 27) presentó un ión molecular de m/z 287 $[\text{M}+\text{H}]^+$. En el espectro de RMN ^1H (Espectro 28) no se presenta la señal de H-12, en cambio se observan dos señales dobles en δ_{H} 6.11 (d, $J = 2.0\text{ Hz}$) y δ_{H} 7.17 (d, $J = 2.0\text{ Hz}$), que se atribuyen

a un furano disustituído; estas señales se asignan a H-14 y H-15, respectivamente. Se observa que la señal de H-16 (δ_H 1.96) se encuentra desplazada a campo más bajo respecto a la del compuesto **1**.

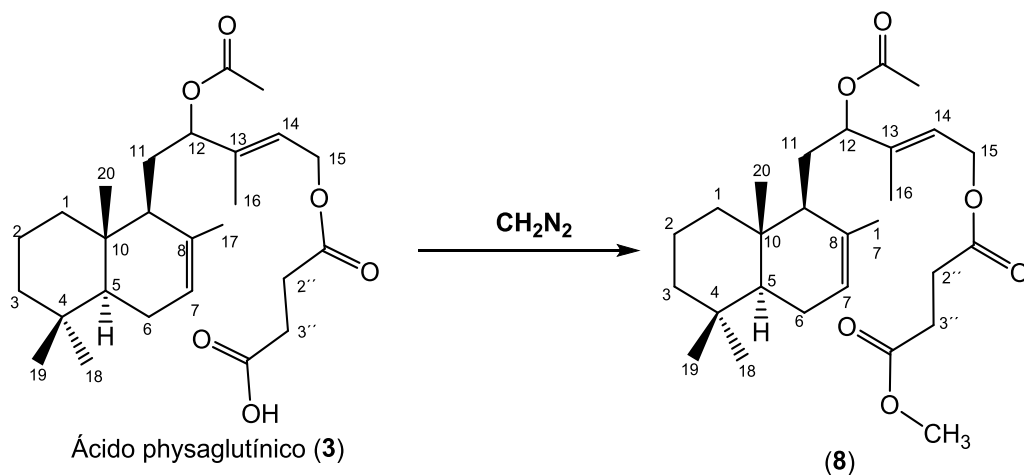
En el espectro de RMN ^{13}C (Espectro 29) se observa que las señales de los carbonos C-12 a C-15 (δ_C 151.0, 113.2, 112.8, 139.2) aparecen en la zona de los carbonos aromáticos. En la literatura ha sido descrita esta estructura como pumilóxido⁴⁸ y al comparar los datos experimentales con los previamente descritos, se llegó a la conclusión que se trata del mismo compuesto.



De la oxidación de **1** con MnO_2 se obtuvo el aldehído **7**; el espectro de masas (EMAR-DART) (Espectro 31) mostró un ion molecular de m/z 305.24870 correspondiente a una fórmula molecular $C_{20}H_{33}O_2$. La presencia del grupo aldehído fue confirmada en el espectro de RMN 1H (Espectro 32) por la señal de H-15 (δ_H 10.06; $J = 7.8$ Hz) que se presenta como un doblete por estar acoplado con H-14. La señal de H-12 aparece en δ_H 4.25. En el espectro de RMN ^{13}C (Espectro 33) se observa que las señales de algunos carbonos se desplazan hacia campo bajo, el carbono del aldehído (C-15) aparece en δ_C 191.6; el carbono β al carbonilo (C-13) en δ_C 163.2 y el metilo vinílico (C-16) aparece en δ_C 12.2. Además, en el espectro de infrarrojo (Espectro 30) se observa una banda a 1672 cm^{-1} que confirma la presencia del grupo aldehído conjugado.



El compuesto **3** fue sometido a una reacción de metilación con diazometano (CH_2N_2), de la cual resultó el compuesto **8**, el cual fue aislado como aceite incoloro. En el espectro de masas (EM-FAB, Espectro 34) se observa un ión de m/z 463 $[\text{M} + \text{H}]^+$, que es consistente con la fórmula molecular $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_6$. Los espectros de RMN presentan señales semejantes a las del compuesto **3**; la diferencia entre los dos compuestos es la presencia de un metilo de metoxilo en el compuesto **8**. En el espectro de RMN ^1H (Espectro 35) este grupo se presenta como un singlete que integra para tres hidrógenos en δ_{H} 3.69 y en el espectro de RMN ^{13}C (Espectro 36) presenta una señal en δ_{C} 51.8. Las señales de H-2'' y H-3'' del succinato de metilo se presentan como un singlete en δ_{H} 2.63.



Para fines comparativos, los datos de RMN ^1H y ^{13}C de todos los labdanos obtenidos en este estudio se presentan en las Tablas 3 y 4.

TABLA 3. Datos de RMN ^1H de los compuestos **1-3** y **5-8** en CDCl_3 (500 MHz).^a

^1H	1 ^a	2 ^b	3 ^a	5 ^b	6 ^a	7 ^b	8 ^a
1	1.72 m		1.88 m	1.71 m	1.77 d a (12.5)	1.72 m	1.88 m
1'	0.92 ddd (13.0, 13.0, 4.0)		0.91 ddd (13.0, 13.0, 4.0)	0.92 ddd (12.6, 12.6, 4.2)	1.16 ddd (12.5, 12.5, 4.0)	0.94 ddd (12.3, 12.3, 4.5)	0.90 ddd (13.0, 13.0, 4.0)
2	1.58 dddddd (13.5, 13.5, 13.5, 3.5, 3.5)		1.52 m	1.55 m	1.59 dddddd (14.0, 14.0, 14.0, 3.5, 3.5)	1.58 m	1.52 m
2'	1.49 m		1.48 m	1.49 m	1.50 d quint (14.0, 3.5)	1.55 m	1.48 m
3	1.39 dddd (13.0, 3.0, 3.0, 1.5)		1.43 m	1.39 m	1.41 dddd (13.0, 3.5, 3.5, 1.5)	1.40 da (12.9)	1.41 m
3'	1.17 ddd (13.5, 13.5, 4.0)		1.16 ddd (13.5, 13.5, 4.0)	1.16 ddd (13.2, 13.2, 4.2)	1.21 ddd (13.0, 13.0, 3.5)	1.17 ddd (12.9, 12.9, 4.2)	1.16 ddd (13.5, 13.5, 4.0)
5	1.06 dd (12.5, 3.0)	1.19 dd (12.5, 5.1)	1.19 dd (12.0, 5.0)	1.03 dd (12.6, 2.7)	1.20 dd (13.0, 3.0)	1.07 dd (12.6, 3.0)	1.19 dd (12.5, 5.0)
6	1.31 dddd (13.0, 13.0, 13.0, 4.0)		1.98 d a (17.0)	1.30 dddd (12.9, 12.9, 12.9, 4.2)	1.33 dddd (13.0, 13.0, 13.0, 4.5)	1.31 dddd (12.9, 12.9, 12.9, 4.2)	1.97 da (17.5)
6'	1.72 m		1.86 m	1.71 m	1.73 m	1.75 m	1.86 m
7	2.38 ddd (12.5, 4.0, 2.5)	5.42 s a	5.41 d a (3.5)	2.37 ddd (12.9, 4.2, 2.4)	2.34 ddd (13, 4.5, 2.5)	2.39 ddd (12.6, 4.2, 2.4)	5.41 d a (3.5)
7'	1.93 ddd (12.5, 12.5, 5.0)		-	1.86 ddd (12.9, 12.9, 4.8)	2.02 ddd (13.0, 13.0, 5.0)	1.94 tda (12.6, 5.1)	-
9	1.47 dd (10.0, 3.0)		1.73 m	1.44 d a (7.5)	2.30 d a (10.0)	1.52 m	1.70 m
11	1.70 m		1.76 dd (15.0, 11.0)	1.73 m	2.73 (15.0, 3.5)	1.80 m	1.76 dd (15.0, 11.0)
11'	1.68 m		1.41 m	1.73 m	2.62 dd (15.0, 10.0)	1.80 m	1.42 dd (15.0, 2.0)
12	4.13 dd (9.0, 5.5)	5.28 d a (9.9)	5.28 dd (11.0, 1.5)	5.27 dd (8.7, 6.9)	-	4.25 dd (7.8, 6.0)	5.30 dd (11.0, 1.5)
14	5.52 td (7.0, 1.0)	5.64 t (6.6)	5.57 tt (7.0, 1.0)	5.49 tdc (6.9, 1.5, 0.6)	6.11 d (2.0)	5.92 ddc (7.8, 2.7, 1.5)	5.57 tt (6.5, 1.0)
15	4.23 dd (13.0, 7.0)	4.18 d (6.6)	4.65 dd (13.0, 7.0)	4.64 ddd (12.9, 6.9, 0.6)	7.17 d (2.0)	10.06 d (7.8)	4.63 d (6.5)
15'	4.18 dd (13.0, 7.0)	4.18 d (6.6)	4.62 dd (13.0, 7.0)	4.57 ddd (12.9, 6.9, 0.6)			4.63 d (6.5)
16	1.67 s	1.69 s	1.72 s	1.68 dt (1.2, 0.6)	1.96 s	2.16 d (1.5)	1.71 s
17	4.87 d a (1.5)	1.73 s	1.72 s	4.88 d a (1.5)	4.76 dd (3.0, 1.0)	4.90 dd (2.7, 1.2)	1.72 s
17'	4.68 d a (1.0)	-	-	4.79 d a (0.9)	4.57 d a (1.0)	4.68 d (1.2)	-
18	0.87 s	0.88 s	0.86 s	0.86 s	0.89 s	0.87 s	0.86 s
19	0.80 s	0.86 s	0.88 s	0.79 s	0.83 s	0.80 s	0.88 s
20	0.69 s	0.74 s	0.74 s	0.68 s	0.76 s	0.69 s	0.74 s
OAc		2.08 s 3H	2.09 s, 3H	2.05 s, 2.03 s 3H			2.08 s, 3H
2'' 3''			2.65 m, 4H				2.63 s, 4H
OMe							3.69 s

^a δ en ppm; (J en Hz); ^b Obtenido a 300 MHz.

TABLA 4. Datos de RMN ^{13}C de los compuestos **1-3** y **5-8** en CDCl_3 (125^a o 75^b MHz).

^{13}C	1^a	2^b	3^a	5^b	6^a	7^b	8^a
1	39.0	39.3	39.2	38.2	39.0	39.0	39.2
2	19.4	18.8	18.8	19.3	19.4	19.3	18.8
3	42.1	42.3	42.3	42.0	42.1	41.9	42.3
4	33.6	33.0	33.0	33.5	33.6	33.6	33.0
5	55.5	50.0	50.0	52.5	55.4	55.5	50.0
6	24.4	23.8	23.7	24.3	24.3	24.3	23.7
7	38.3	123.0	123.0	38.9	38.1	38.2	123.0
8	149.1	134.4	134.3	147.5	148.7	149.3	134.3
9	53.2	50.3	50.3	55.6	54.4	53.4	50.3
10	39.5	36.4	36.4	39.3	39.6	39.7	36.4
11	28.6	31.6	31.4	26.2	21.5	29.1	31.5
12	77.2	78.6	78.4	78.7	151.0	76.7	78.2
13	140.2	137.8	140.4	138.1	113.2	163.2	140.2
14	126.6	125.1	119.8	123.5	112.8	127.0	119.9
15	59.2	59.0	60.9	60.6	139.2	191.6	60.9
16	10.6	12.7	12.9	11.4	10.1	12.2	12.9
17	106.7	22.3	22.3	107.3	106.8	106.9	22.3
18	33.5	33.1	33.1	33.5	33.6	33.5	33.1
19	21.7	21.9	21.9	21.0	21.8	21.6	21.9
20	14.6	13.5	13.5	14.6	14.2	14.5	13.5
OAc		170.6, 21.3	170.8, 21.3	170.8, 21.3 170.1, 21.7			170.5, 21.2
O-Succ							
1''			172.0				172.2
2'', 3''			29.0, 28.8				29.0, 28.9
4''			176.1				172.7
O-CH₃							51.8

PRUEBAS BIOLÓGICAS

La diabetes tipo 2 es la forma más común de diabetes caracterizada por la resistencia a la insulina y un incremento anormal de azúcar en sangre inmediatamente después de consumir alimentos (hiperglicemia posprandial) y es uno de los desórdenes de salud asociado con la incidencia y la progresión de enfermedades como la retinopatía diabética, pérdida de la visión, nefropatías y enfermedades cardiovasculares.

Uno de los enfoques terapéuticos más importantes para disminuir la hiperglicemia posprandial es retardar la absorción de la glucosa a través de la inhibición de las enzimas que hidrolizan carbohidratos como las α -glucosidasas y α -amilasas. Existen compuestos de origen vegetal capaces de inhibir la actividad de estas enzimas, que podrían representar una terapia efectiva para el control de la hiperglicemia posprandial con efectos secundarios mínimos.^{43, 38}

En este trabajo se evaluó la capacidad de los compuestos **1**, **4-8** para inhibir la actividad de las α -glucosidasas. En las Tablas 5 y 6 se muestran los resultados.

TABLA 5: Evaluación de capacidad de los compuestos **1** y **5-7** para inhibir la actividad de la enzima α -glucosidasa de levadura.

Muestra	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia ($\lambda=405\text{nm}$)	Inhibición (%)
α-glucosidasa		1.871	
1	1	1.704	8.9
	10	1.787	4.5
	100	1.728	7.6
5	1	1.743	6.9
	10	1.788	4.4
	100	0.803	57.1
6	1	1.634	12.7
	10	0.691	63.1
	100	0.022	98.8
7	1	1.598	14.61
	10	1.157	38.2
	100	0.003	99.8
Quercetina	1	1.846	1.3
	10	1.378	26.4
	100	0.238	87.3

TABLA 6: Evaluación de capacidad de los compuestos **1** y **4-8** para inhibir la actividad de la enzima α -glucosidasa de intestino de rata.

Muestra	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia ($\lambda=405\text{nm}$)	Inhibición (%)
1^a	1	0.882	7.9
	10	0.864	9.7
	100	0.836	12.7
4^a	1	0.907	5.3
	10	0.887	7.3
	100	1.318	-37.6
5^a	1	0.899	6.1
	10	0.857	10.5
	100	0.878	8.2
6^b	1	0.928	1.6
	10	0.904	4.1
	100	0.884	6.3
7^c	1	0.893	-3.2
	10	0.904	-4.5
	100	0.896	-3.5
8^a	1	0.869	9.3
	10	0.857	10.4
	100	0.876	8.5
Acarbosa^c	1	0.637	26.4
	10	0.507	41.4
	100	0.385	55.6

a) Determinadas con un valor de A = 0.957 para α -glucosidasa 100%, b) Determinadas con un valor de A = 0.943 para α -glucosidasa 100% c) Determinadas con un valor de A = 0.866 para α -glucosidasa 100%

El porcentaje de inhibición se determinó con la relación

$$\text{Inhibición (\%)} = [A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}} / A_{\text{control}}] \times 100.$$

Donde A_{control} y A_{muestra} son las densidades ópticas del control negativo y de la muestra respectivamente.

Al realizar el estudio para determinar la inhibición de la actividad de la α -glucosidasa de levadura, se observó que los compuestos **5**, **6** y **7** exhibieron capacidad para inhibir la actividad de la enzima. Los compuestos **6** y **7**, en concentraciones de 100 $\mu\text{g/mL}$, mostraron porcentajes de actividad inhibitoria de 98.8 y 99.8, respectivamente. Estos valores fueron mayores que el de la quercetina (control positivo), que a la misma concentración presentó un porcentaje de inhibición de

87.3. El compuesto **5** aunque fue activo, mostró un porcentaje de inhibición menor (57.1 %) que el del control. En la prueba con α -glucosidasa de intestino de rata ninguno de los compuestos evaluados presentó porcentajes de inhibición superiores al 13%. La capacidad de inhibir la actividad de la enzima no es significativa.

La mayor actividad inhibitoria de los derivados **6** y **7** respecto a la del compuesto **1**, podría explicarse por la presencia del furano en **6** y del aldehído conjugado en **7**, en lugar del diol de **1**. Esto se podrá confirmar evaluando la actividad de un mayor número de derivados que contengan otros grupos funcionales.

6. CONCLUSIONES

El presente trabajo contribuye al conocimiento del metabolismo secundario de *Physalis glutinosa* Schltdl. y por ende del género *Physalis*, ya que permitió determinar que esta especie sintetiza principalmente diterpenos de tipo labdano, de los que se aislaron tres. El más abundante se identificó como 12-*epi*-physanicandiol (**1**), el menos abundante como 12-*O*-acetilphysacoztomatina (**2**) y el tercero como un monoéster del ácido succínico, al que se denominó ácido physaglutínico (**3**), el cual es un nuevo producto natural. Se aisló también el flavonoide retusina (**4**). Los compuestos **1**, **2** y **4** ya habían sido aislados de otras especies del género *Physalis*.

Los resultados del estudio químico realizado al extracto de hexano de las partes aéreas de *Physalis glutinosa* Schltdl. muestran que el perfil químico de esta especie concuerda con los de algunas especies del género *Physalis*, cuyos principales metabolitos son labdanos.

Se prepararon tres derivados del 12-*epi*-physanicandiol (**5-7**) y uno del ácido physaglutínico (**8**) en los que se modificó la cadena lateral. En los ensayos biológicos de los productos naturales **1** y **4**, así como de los derivados **5-8**, en los que se evaluó su capacidad para inhibir la actividad de dos α -glucosidasas, solamente los derivados **6** y **7** mostraron una actividad significativa cuando el ensayo se realizó con la enzima de levadura. Lo anterior indica que la funcionalización de la cadena lateral es importante para la actividad inhibitoria.

7. PERSPECTIVAS

Tomando en consideración que el 12-*epi*-physanicandiol existe en una alta concentración (1.44 %) en *Physalis glutinosa* Schltdl., sería importante explorar si este compuesto o un derivado que se pueda obtener con un rendimiento alto, presentan una actividad biológica relevante para enfrentar alguno de los principales problemas de salud que enfrenta actualmente la humanidad.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Newman, D J.; 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.
2. Villaseñor, J. L. (2016) Checklist of the native vascular plants of México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 3: 1-344.
3. Ocegueda, S.; Moreno, E.; Koleff, P. (2005). Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. CONABIO. *Biodiversitas* 62: 12-15.
4. Zavala, D.; Mauricio, Q.; Pelayo, A; Posso, M.; Rojas, J.; Wolach, V. (2006) Citotoxic effect of *Physalis peruviana* (capuli) in colon cancer and chronic myeloid leukemia. *Anales de la Facultad de Medicina* 67: 283–289.
5. Vargas Ponce, O.; Martínez y Díaz, M.; Dávila Aranda, P. (2003) La familia Solanaceae en Jalisco. El género *Physalis*. Colección Flora de Jalisco. *Universidad de Guadalajara*. Jalisco, Méx.
6. Puente, L, A.; Pinto-Muñoz, C, A.; Castro, E, S.; Cortés, M. (2010). *Physalis peruviana* L., the multiple properties of a highly functional fruit: A review. *Food Research International* 44: 1733-1740.
7. Mendoza Patiño, N.; De León Rodríguez, J. A.; Figueroa-Hernández, J, L. (2005). Herbolaria. *Revista de la Facultad de Medicina* 48(006): 248-249.
8. Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. UNAM, (2009). Disponible en web: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/index.php>. [Consultado 2016].
9. Villarreal, M. L.; Cardoso Taqueta, A.; Ortiz, A.; Sharma, A. (2014). Biotecnología para producir medicinas de plantas mexicanas. *Revista Digital Universitaria* 15 (8): 12-15.
10. Sierra-Muñoz, J. C.; Siqueiros-Delgado, M. E.; Flores-Ancira, E.; Moreno-Rico, O.; Arredondo-Figueroa, J. L. (2015) Riqueza y distribución de la familia Solanaceae en el estado de Aguascalientes, México. *Botanical Sciences* 93 (1): 97-117.

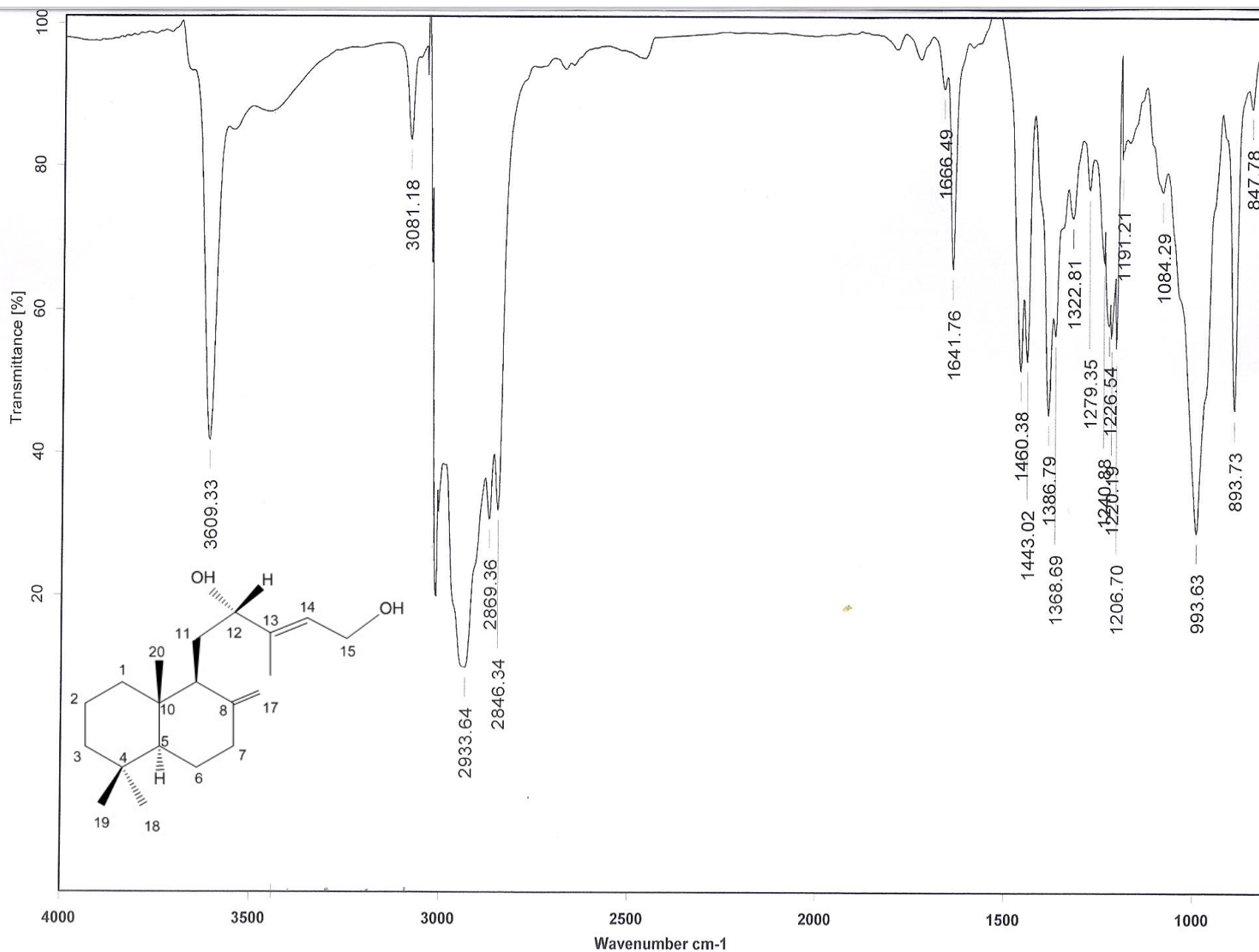
11. Mueller, L. A.; Solow, T. H.; Taylor, N.; Skwarecki, B.; Buels, R.; Binns, J.; Tanksley, S. D. (2005). The SOL Genomics Network. A Comparative Resource for Solanaceae Biology and Beyond. *Plant Physiology* 138 (3), 1310–1317.
12. Vreugdenhil, D.; Bradshaw, J.; Gebhardt, C.; Govers, F.; Mackerron, D.; Taylor, M. A.; Ross, H. A. (2011). Potato biology and biotechnology: advances and perspectives. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. v-vi.
13. Rubio Monteverde, H.; Belsasso, G.; Vélez Barajas, A. coord. (2001). *Programa de Acción: Adicciones, Tabaquismo*. 1a. Ed. Secretaría de Salud, México, D.F., pp.17-21.
14. Knapp, S.; Bohs, L.; Nee, M.; Spooner, D. (2004) Solanaceae. A model for linking genomics with biodiversity. *Comparative and Functional Genomics* 5(3): 285-291.
15. Yadav, R.; Rathi, M.; Pendekar, A.; Rewachandani, Y.; (2016) A detailed review on Solanaceae family. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research* 3 (1): 369-378.
16. Eich, E. (2008). Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary metabolites. Germany, Springer, pp. 11-16.
17. Whitson, M.; Manos, P. S. (2005). Untangling *Physalis* (Solanaceae) from the Physaloids: A two-gene phylogeny of the Physalinae. *Systematic Botany* 30 (1): 216-230.
18. Medina Medrano, J. R.; Almaraz Abarca, N.; Reyes Martínez, A.; Barriada Bernal, G.; Delgado Alvarado, E. A.; Rivera Rodríguez, D. M.; Cobaleda Velasco, M. (2012). El género *Physalis* en Durango: revisión de la distribución y usos. *Revista Digital Instituto Politécnico Nacional* 4 (1): 26-31.
19. Santiaguillo Hernández, J.F.; Vargas Ponce, O.; Grimaldo Juárez, O.; Magaña Lira, N.; Caro Velarde, F. de J.; Peña Lomelí, A.; Sánchez Martínez, J. (2012). Diagnóstico del Tomate de cáscara. *SNICS, SAGARPA, SINAREFI*. Guadalajara, Jalisco. México.
20. Santiaguillo, J. F.; Blas, S. (2009) Aprovechamiento tradicional de las especies de *Physalis* en México. *Revista de Geografía Agrícola* 43: 81-86.

21. Zhang, W. N.; Tong, W. Y. (2016). Chemical constituents and biological activities of plants from genus *Physalis*. *Chemistry & Biodiversity* 13(1): 48-65.
22. Ávalos García, A.; Pérez Urria, E. (2011) Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal*. 2(3): 119-145.
23. Dewick, P. M.; (2009). *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, 3rd. Ed. John Wiley & Sons, United Kingdom, pp. 188, 223.
24. Zerbe, P.; Hamberger, B.; Yuen, M.; Chiang A.; Sandhu, H.; Madilao, L.; Nguyen, A.; Hamberger, B.; Spanner, B. S; Bohlmann, J.; (2013). Gene discovery of modular diterpene metabolism in nonmodel systems. *Plant Physiology* 162: 1073-1091.
25. Hanson, J.R. (1999). Diterpenoids. *Natural Products Reports*, 16, 209-219.
26. Boonkaewwan, C., A, M., Toskulkao, C., Rao, M. C. (2008). Specific Immunomodulatory and Secretory Activities of Stevioside and Steviol in Intestinal Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(10): 3777-3784.
27. Pérez Castorena, A, L; Oropeza, R; Vázquez, A; Martínez, M; Maldonado E.; (2006). Labdanes and Withanolides from *Physalis coztomatl*. *Journal of Natural Products* 69(7): 1029-1033.
28. Pérez Castorena, A, L; Martínez, M; Maldonado E.; (2010) Labdanes and Sucrose Esters from *Physalis sordida*. *Journal of Natural Products* 73(7): 1271-1276.
29. Martens, S.; Mithöfer, A. (2005). Flavones and flavone synthases. *Phytochemistry* 66(20): 2399-2407.
30. Pérez Trueba, G. (2003). Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas* 22(1): 48-57.
31. Drago Serrano, M. E. (2007). Recombinant flavonoids of pharmaceutical relevance. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 38 (4): 42-47.
32. Medina Medrano, J. R; Aviña Martínez, G. N.; García Pereyra, J. (2014). Revisión de flavonoides identificados en el género *Physalis* (Solanaceae), su capacidad antioxidante e importancia como marcadores químicos. *Naturaleza y Desarrollo* 12: 16-27.

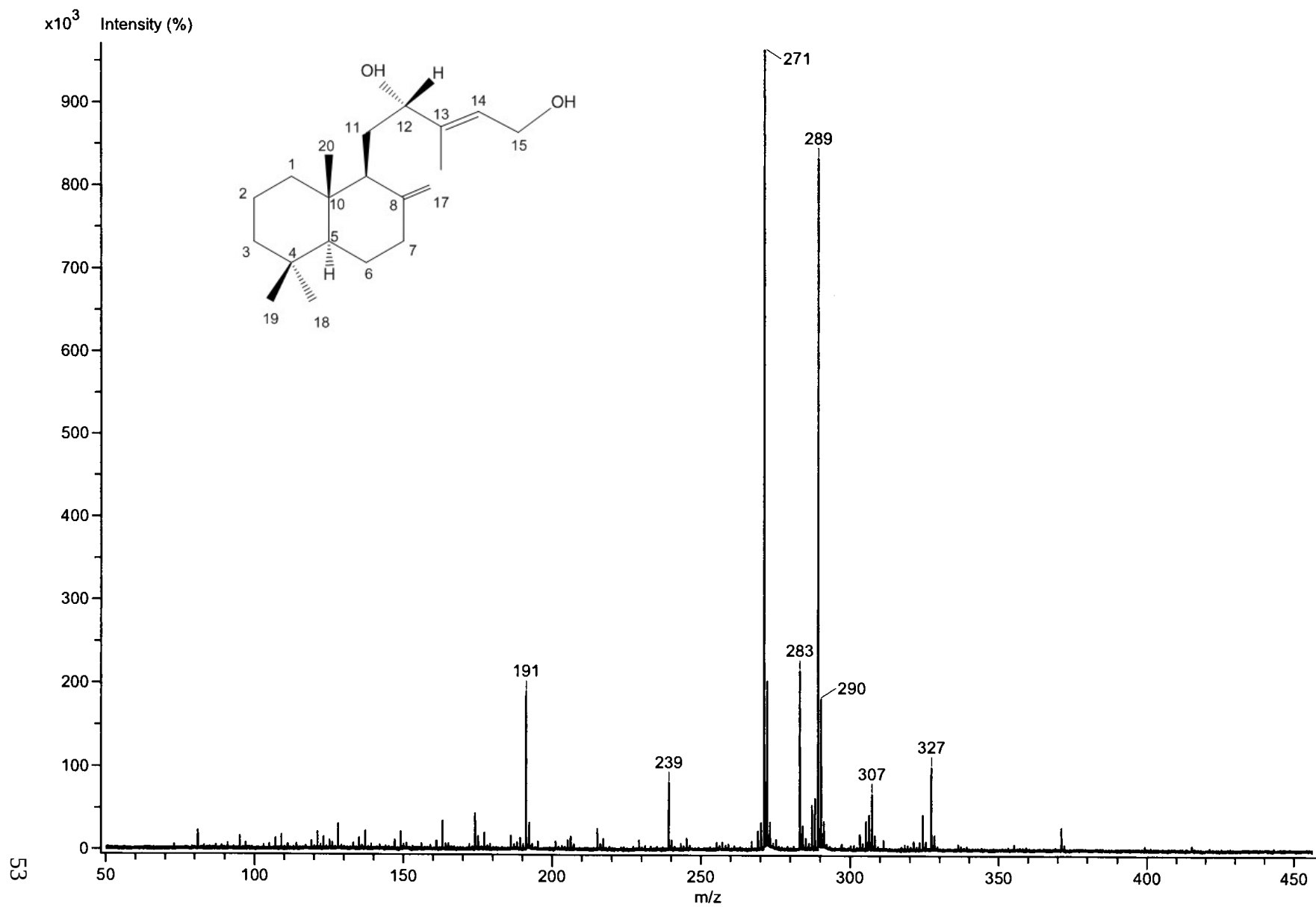
33. Atlas de la diabetes de la FID. International Diabetes Federation, Séptima edición. 2015. Disponible en web: <http://www.idf.org/diabetesatlas>. [Consultado 2016].
34. American Diabetes Association. (2006). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 29(1), S43.
35. Piero, M.N.; Nzaro, G. M.; Njagi, J.M. (2014). Diabetes mellitus- a devastating metabolic disorder. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*; 4 (40): 1-7.
36. Ortiz-Martínez, D.M., Cordero-Pérez, P., Leos-Rivas, C. (2016). Actividad antidiabética. *Investigación en plantas de importancia médica*. Barcelona, España, Omnia Science. pp. 215-268.
37. American Diabetes Association. (2003). Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 26(1), s5-s20.
38. Kwon, Y.-I., Vatter, D.A. and Shetty, K. (2005). Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension. *Asian Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 15: 107-118.
39. Etcheberria, U., de la Garza, A. L., Campión, J., Martínez, J. A., & Milagro, F. I. (2012). Antidiabetic effects of natural plant extracts via inhibition of carbohydrate hydrolysis enzymes with emphasis on pancreatic alpha amylase. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 16(3), 269-297.
40. Jo, S.-H.; Ka, E.-H.; Lee, H.-S.; Apostolidis, E; Jang, H.-D.; Kwon, Y.-I. (2009) Comparison of Antioxidant Potential and Rat intestinal α -Glucosidases inhibitory Activities of Quercetin, Rutin, and Isoquercetin *International Journal of Applied Research in Natural Products* 2: 52-60.
41. Zhang J; Zhao, S; Yin, P; Yan L; Han, J; Shi L. (2014). α -Glucosidase Inhibitory Activity of Polyphenols from the Burs of *Castanea mollissima* Blume. *Molecules* 19: 8373-8386
42. Hernández Yero, A; Torres Herrera, O; Carrasco Martínez, B; Nasiff Hadad, A; Castelo Elías-Calles, L; Pérez Pérez, L; Fernández Valdés, F. (2011) Pharmacological treatment of prediabetes *Revista Cubana de Endocrinología* 22: 36-45.

43. Andrade-Cetto, A; Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 99: 325-348.
44. Xiao-Ping, Y.; Chun-Qing, S.; Ping, Y.; Ren-Gang, M. (2010). α -Amylase Inhibitory Activity of Common Constituents from Traditional Chinese Medicine Used for Diabetes Mellitus. *Chinese Journal of Natural Medicines* 8: 349-352.
45. Torres Manríquez, F. (2006). Aislamiento y caracterización de los constituyentes de *Physalis nicandroides* Schltdl. var. *attenuata* Waterf". Tesis de maestría, UAM-Xochimilco. México.
46. Sutthanut K.; Sripanidkulchai, B.; Yenjai, C.; Jay, M. (2007) Simultaneous identification and quantification of 11 flavonoid constituents in *Kaempferia parviflora* by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1143, 227-233.
47. Malan E.; Roux D. G. (1979). Flavonoids from *Distemonanthus benthamianus* Baillon. Methoxylated Flavones and Inter-Relationships of Benthamianin, a [2]benzopyrano-[4, 3-b] [1]benzopyran. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*: 2696-2703.
48. Vila, R.; Mundina, M.; Tomi, F.; Furlán, R.; Zacchino, S.; Casanova, J.; Cañigual, S. (2002). Composition and antifungal activity of the essential oil of *Solidago chilensis*. *Planta Medica* 68(2): 164-167.

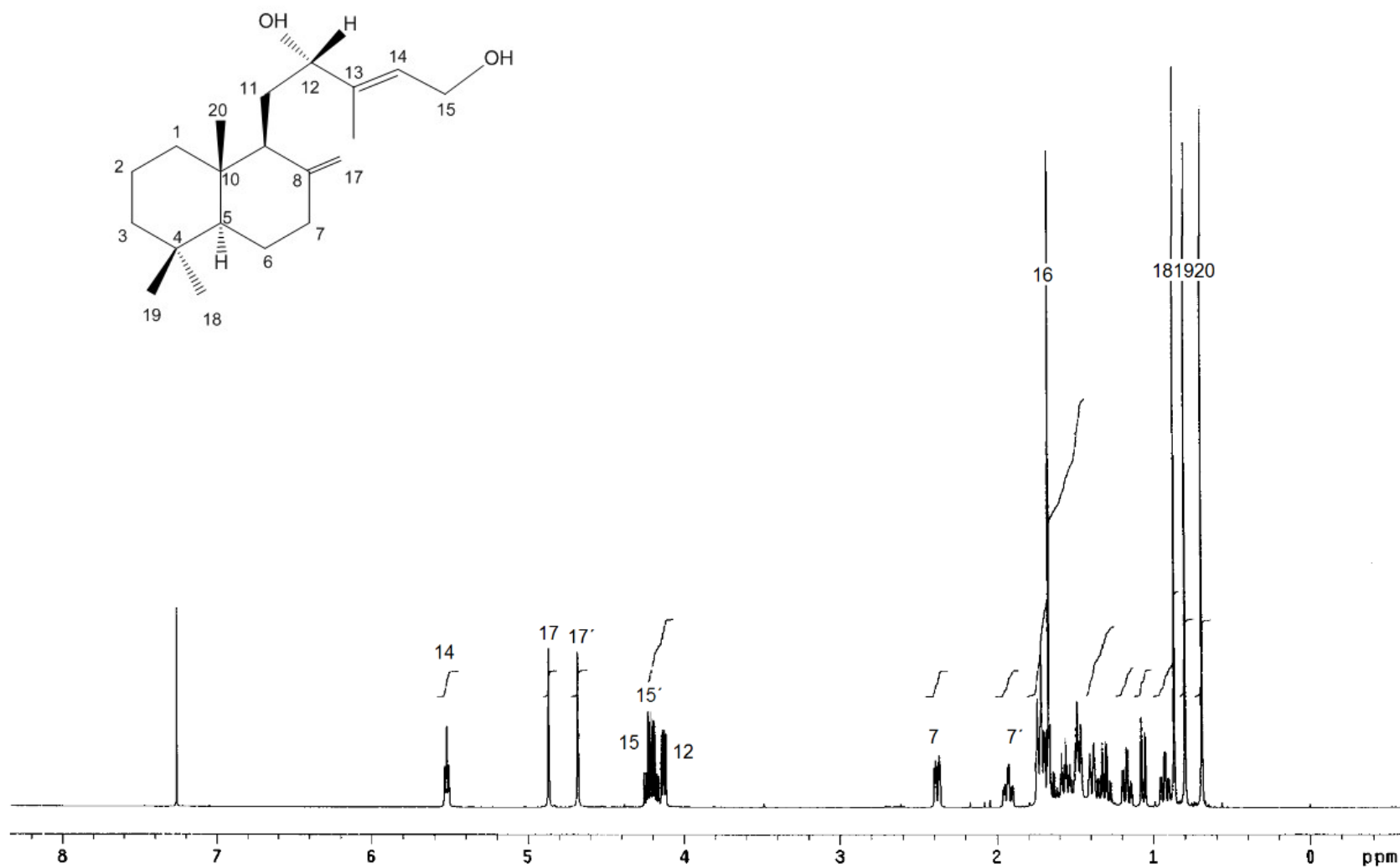
ANEXO ESPECTROS



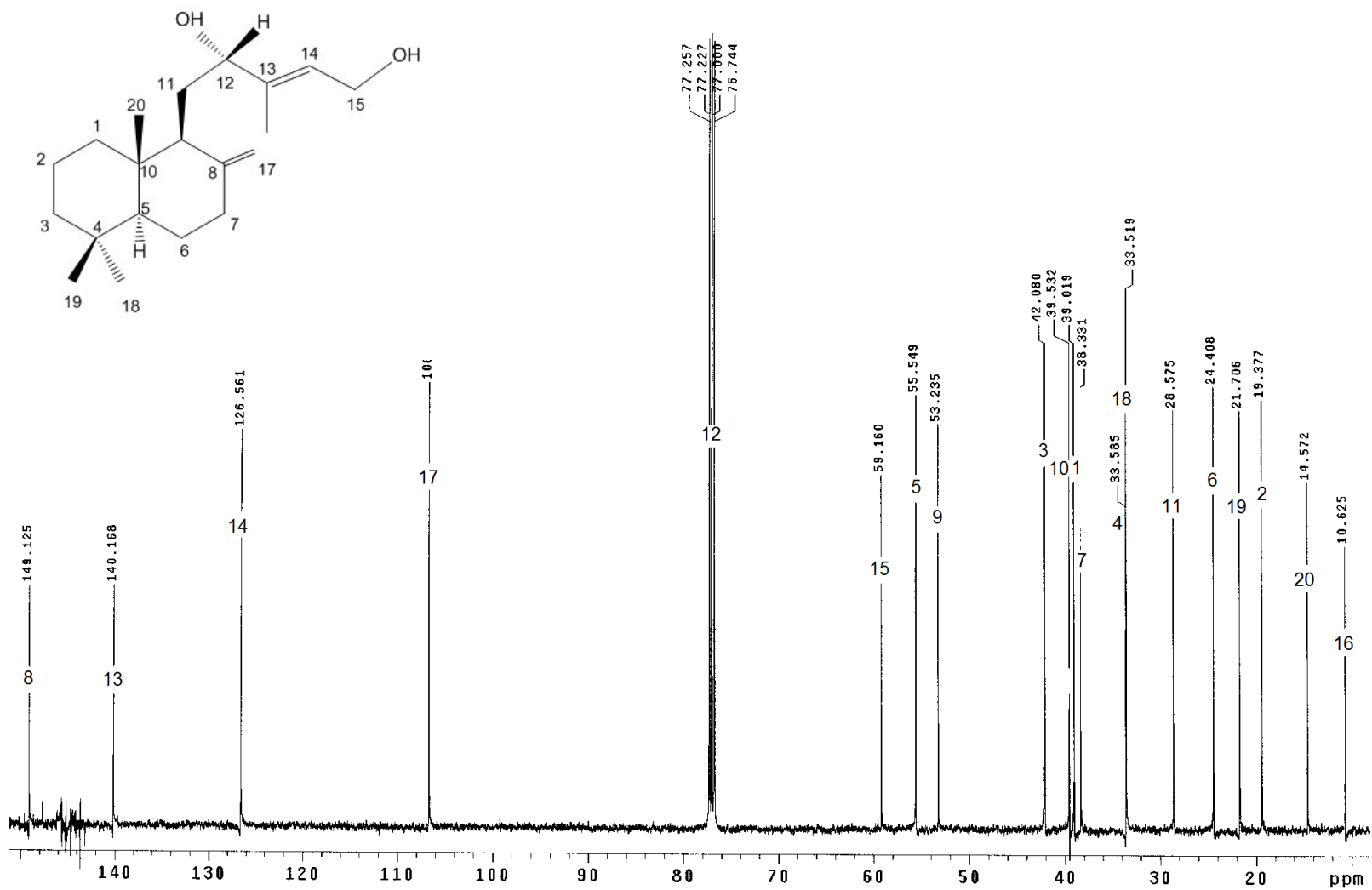
ESPECTRO 1. IR del 12-*epi*-physanicandiol (**1**); (CHCl_3).



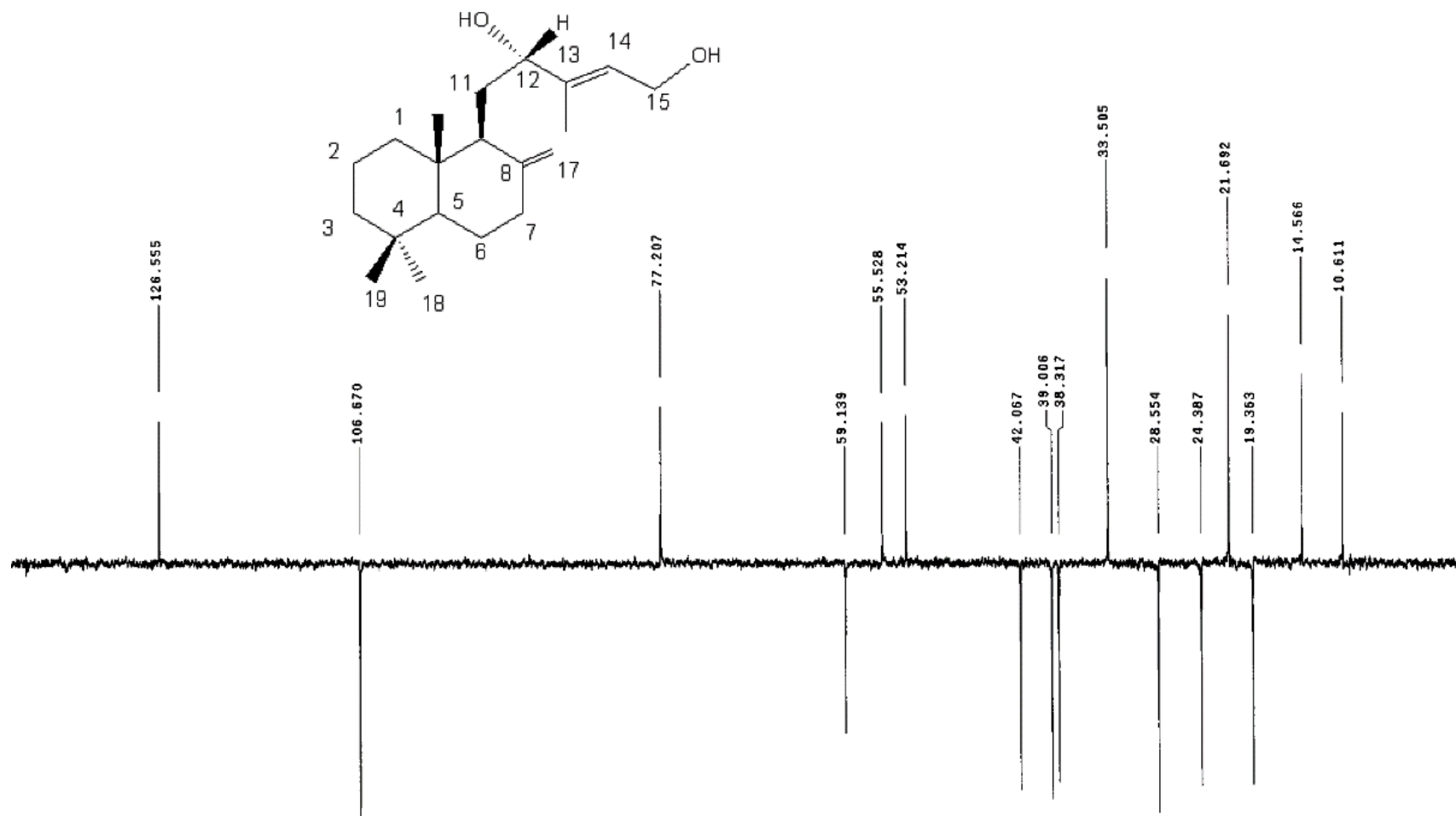
ESPECTRO 2. EM-DART del 12-*epi*-physanicandiol (**1**).



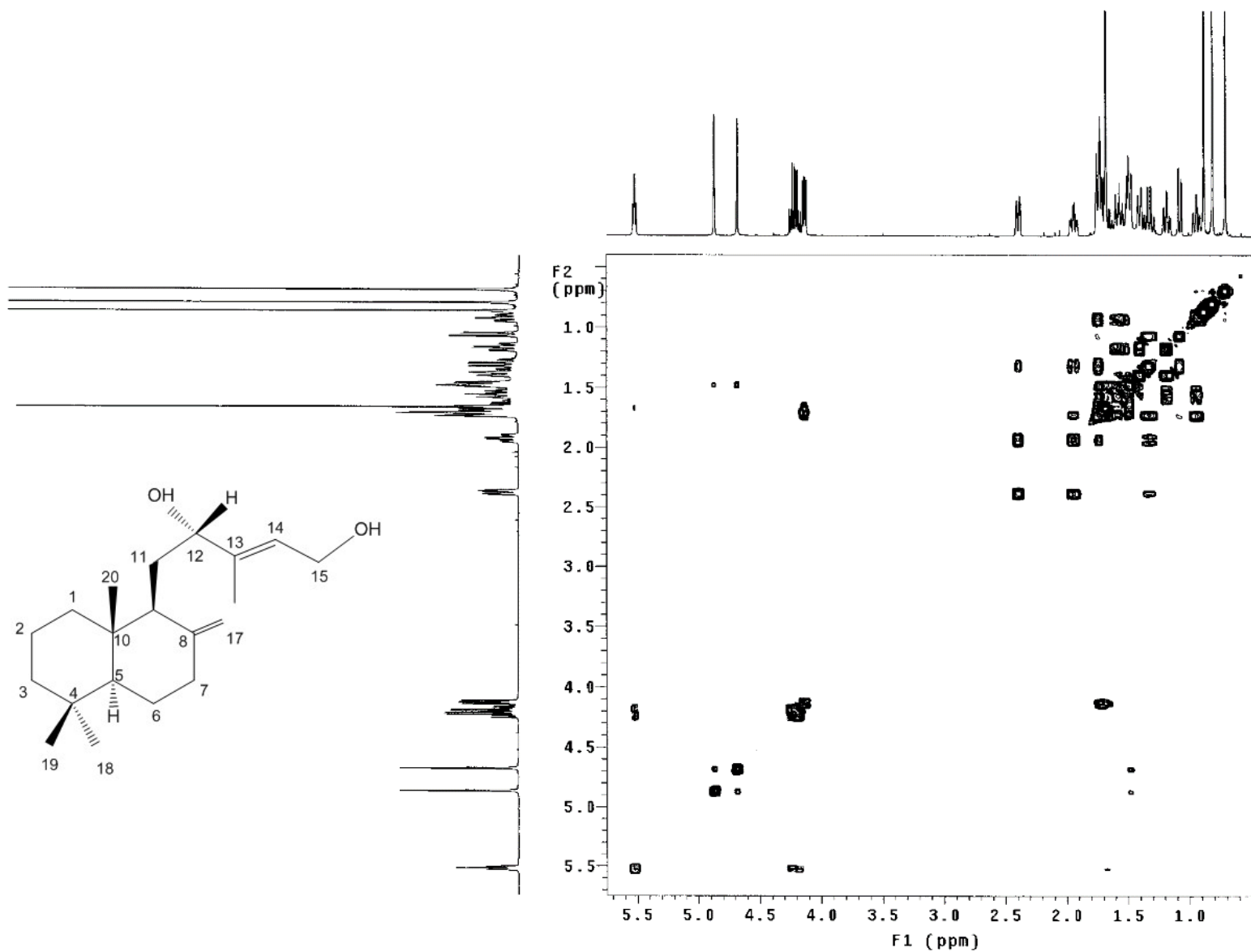
ESPECTRO 3. RMN-¹H del 12-*epi*-physanicandiol (**1**);. (500 MHz, CDCl₃).



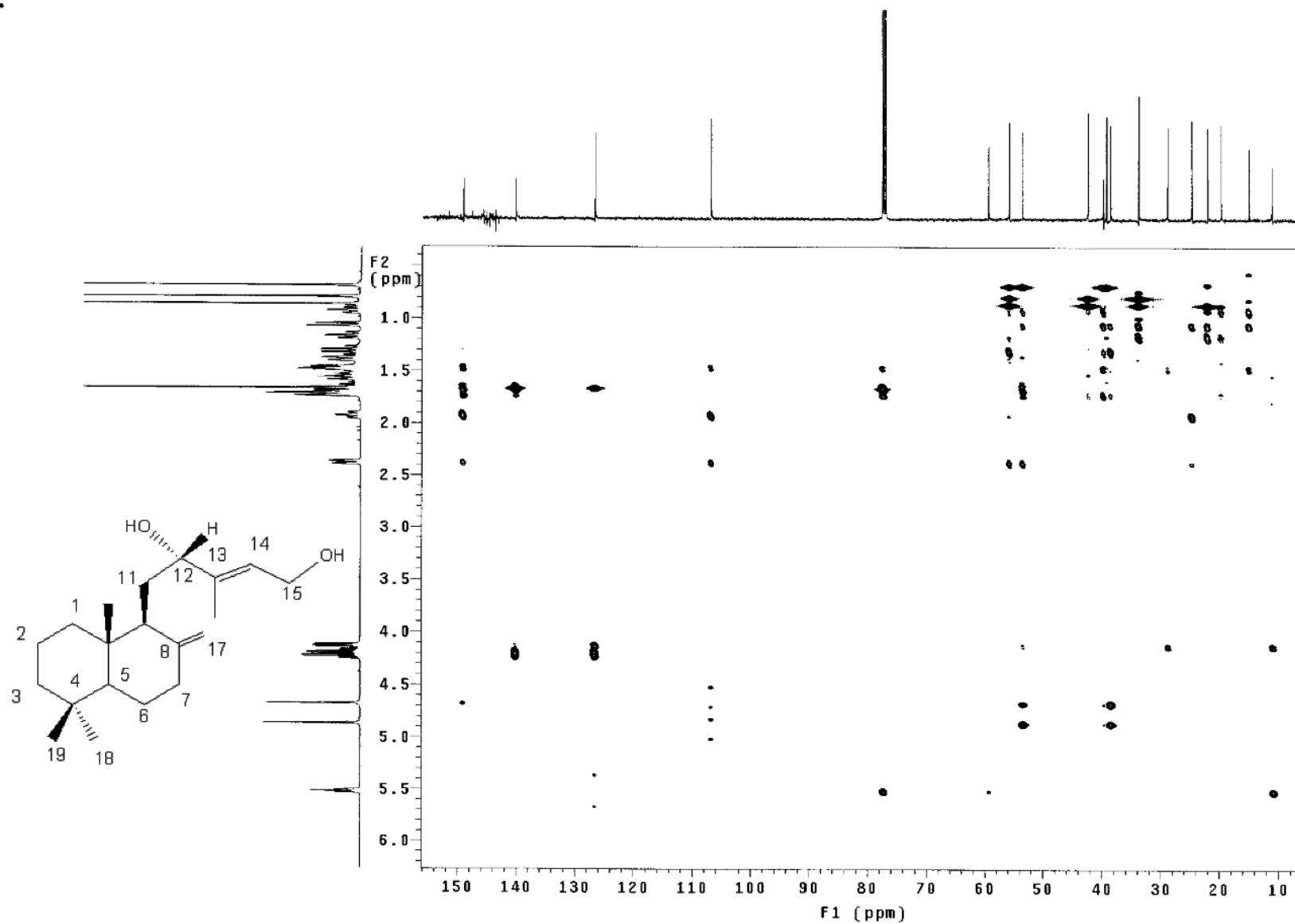
ESPECTRO 4. RMN-¹³C del 12-*epi*-physanicandiol (1);. (125 MHz, CDCl₃).



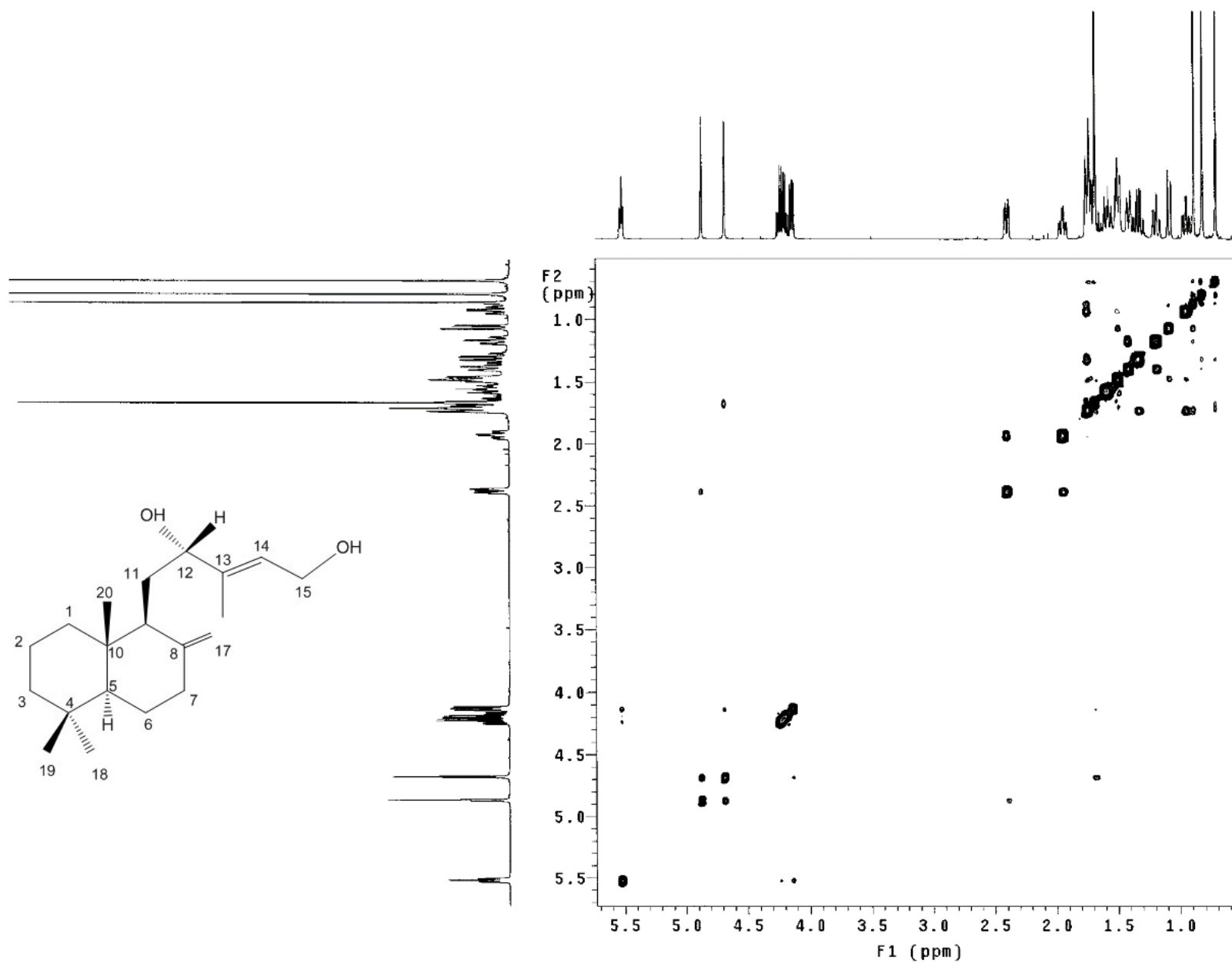
ESPECTRO 5. DEPT del 12-*epi*-physanicandiol (**1**); (CDCl₃).



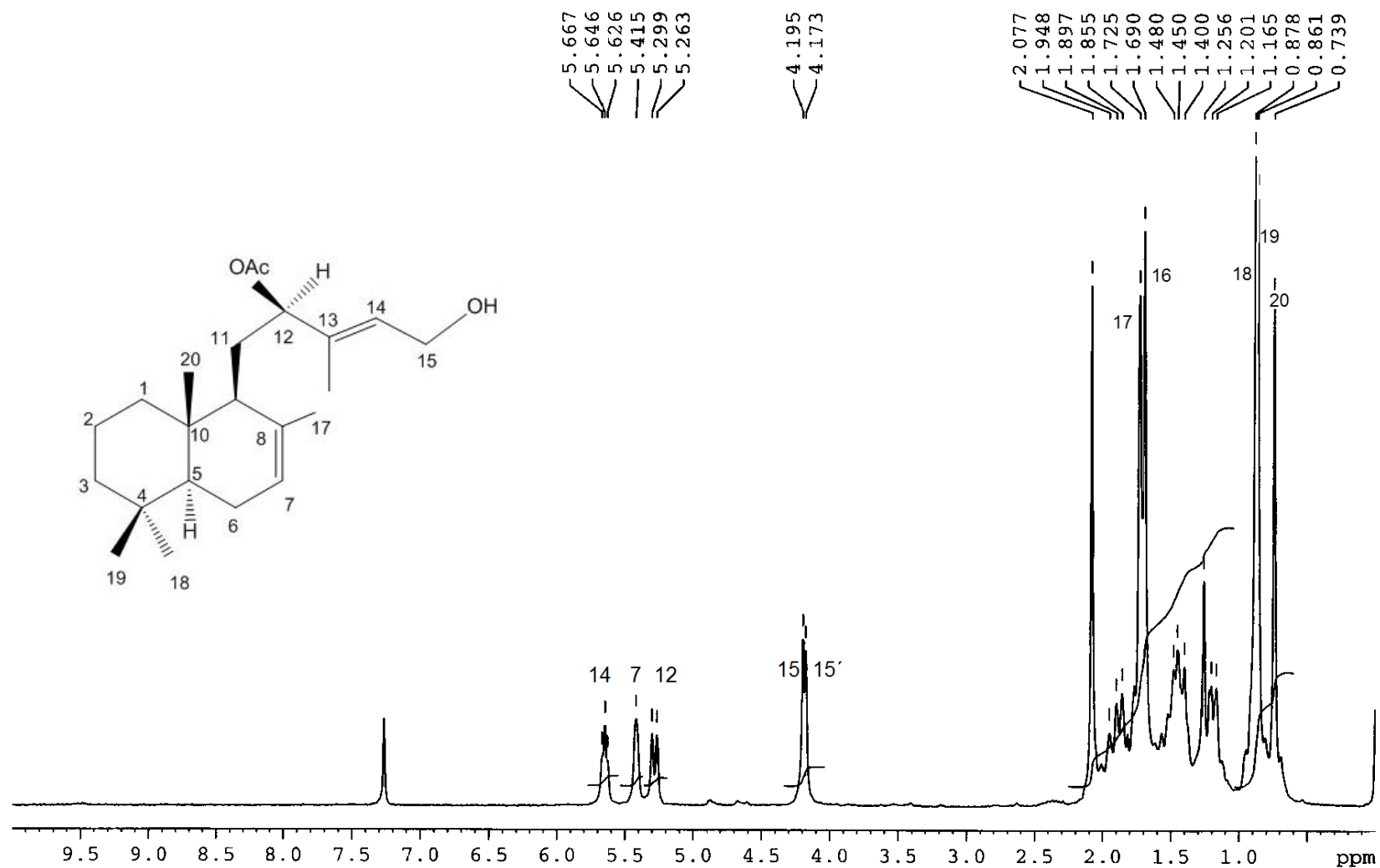
ESPECTRO 6. COSY del 12-*epi*-physanicandiol (1);. (CDCl₃).



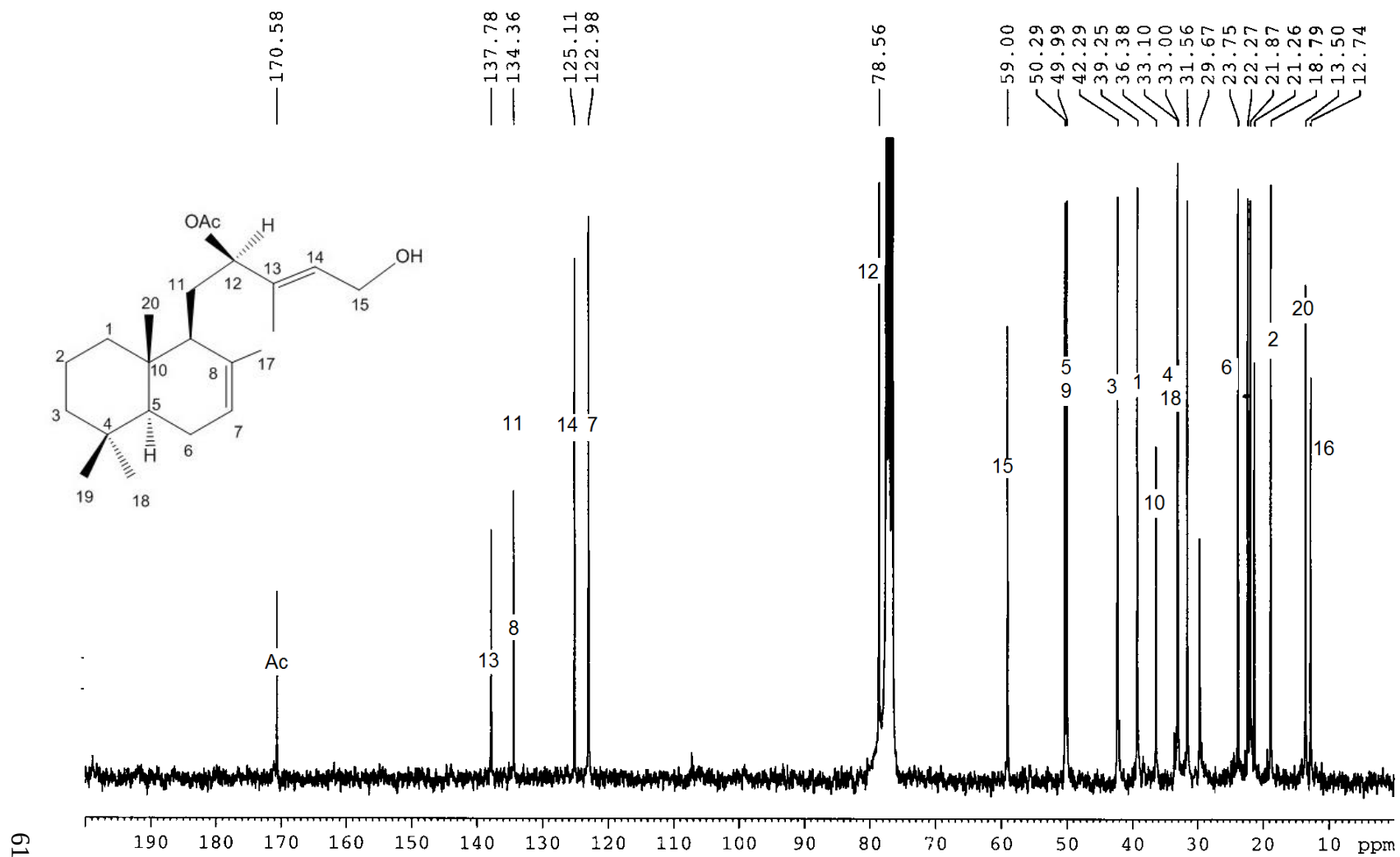
ESPECTRO 7. HMBC del 12-*epi*-physanicandiol (**1**);. (CDCl_3).



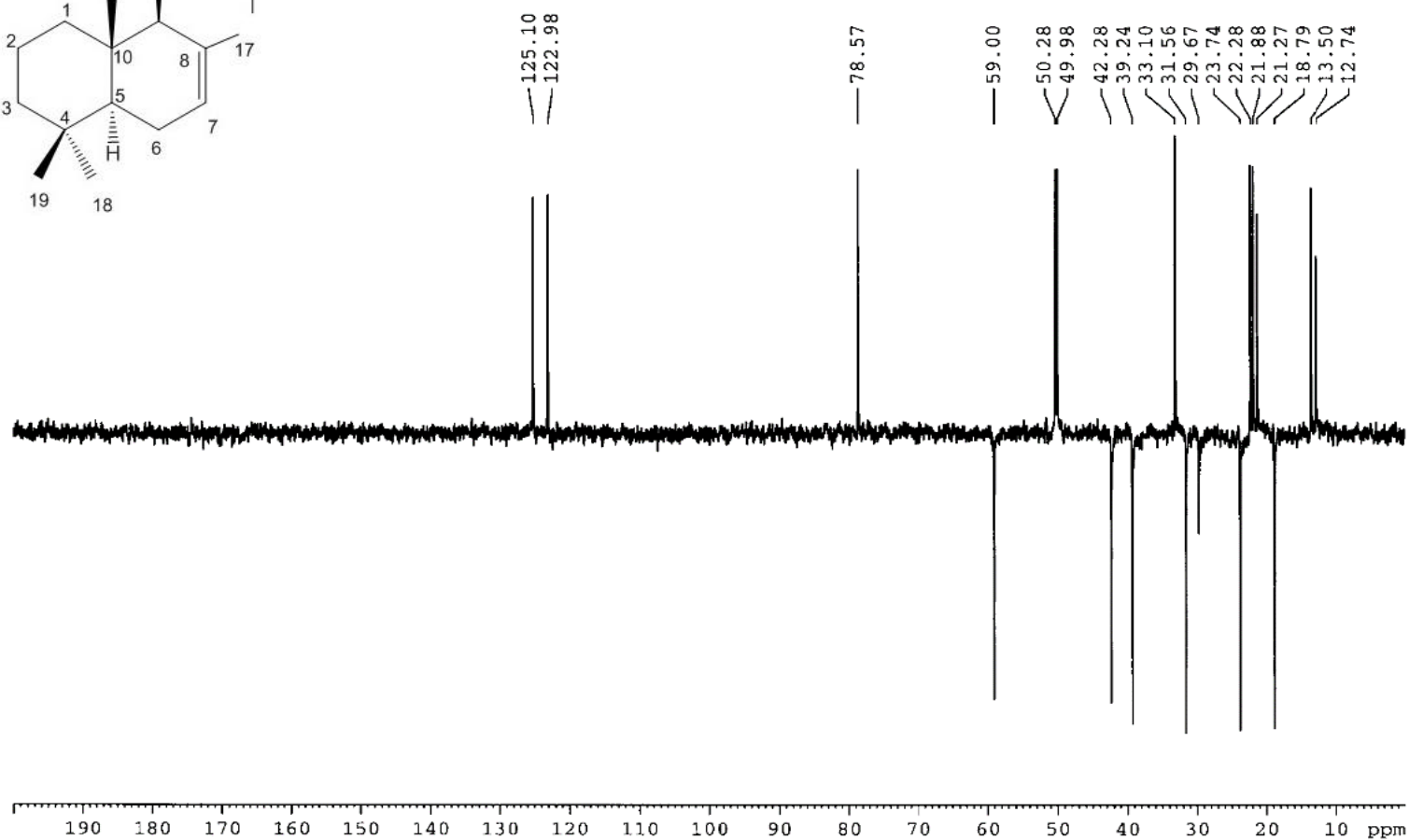
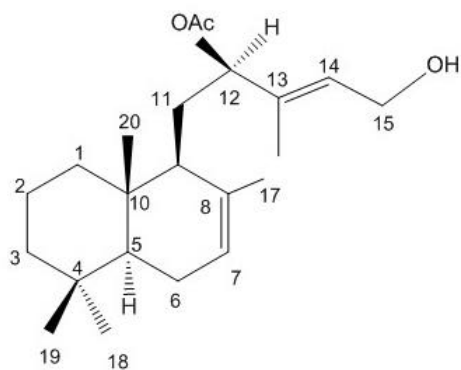
ESPECTRO 8. NOESY del 12-*epi*-physanicandiol (**1**);. (CDCl₃).



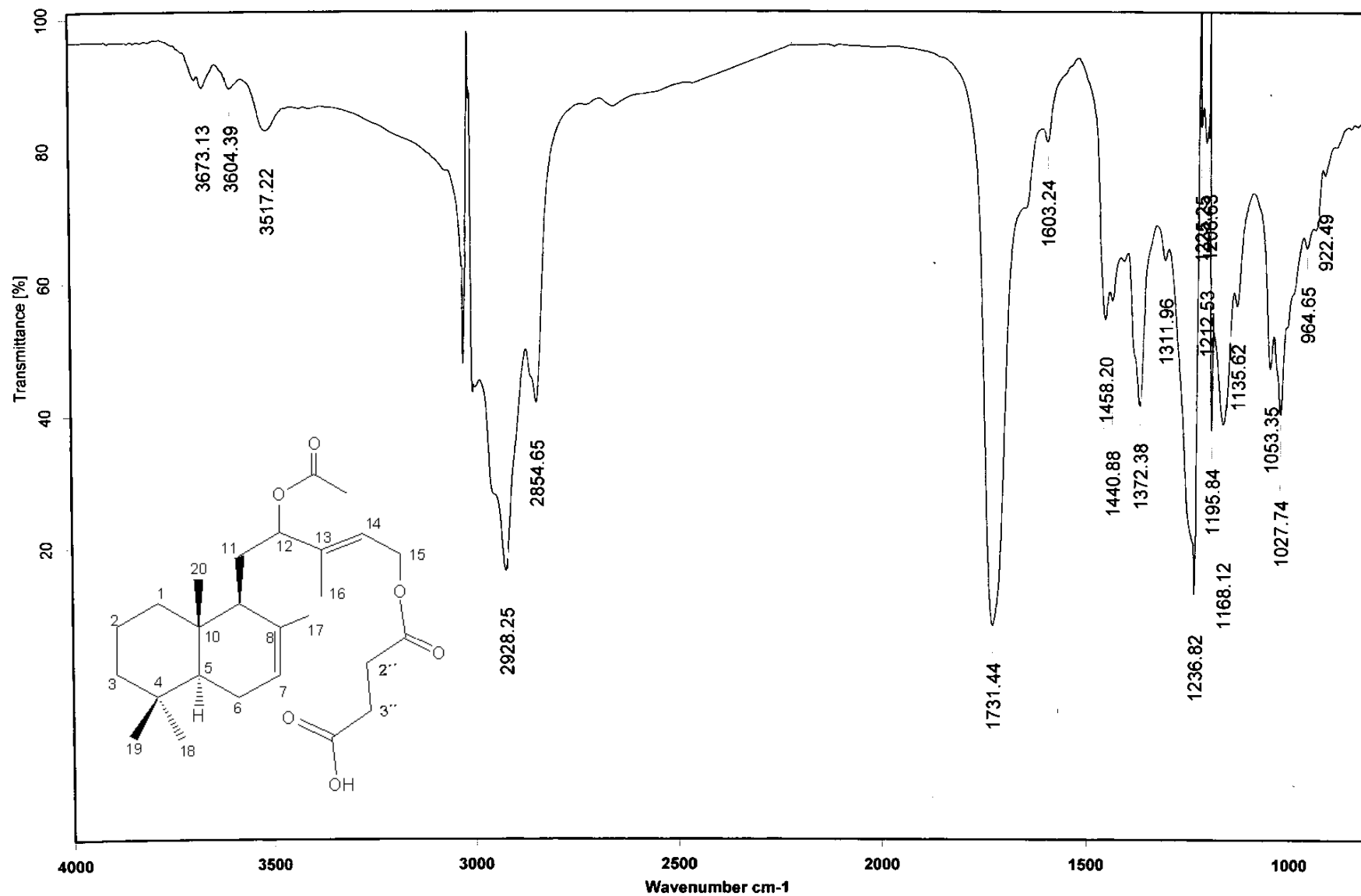
ESPECTRO 9. RMN- ^1H de la 12-O-acetilphysacoztomatina (2); (300 MHz, CDCl_3).



ESPECTRO 10. RMN- ^{13}C de la 12-O -acetilphysacoztmatina (**2**); (75 MHz, CDCl_3).



ESPECTRO 11. DEPT de la 12-O-acetilphysacoztmatina (2); (CDCl₃).

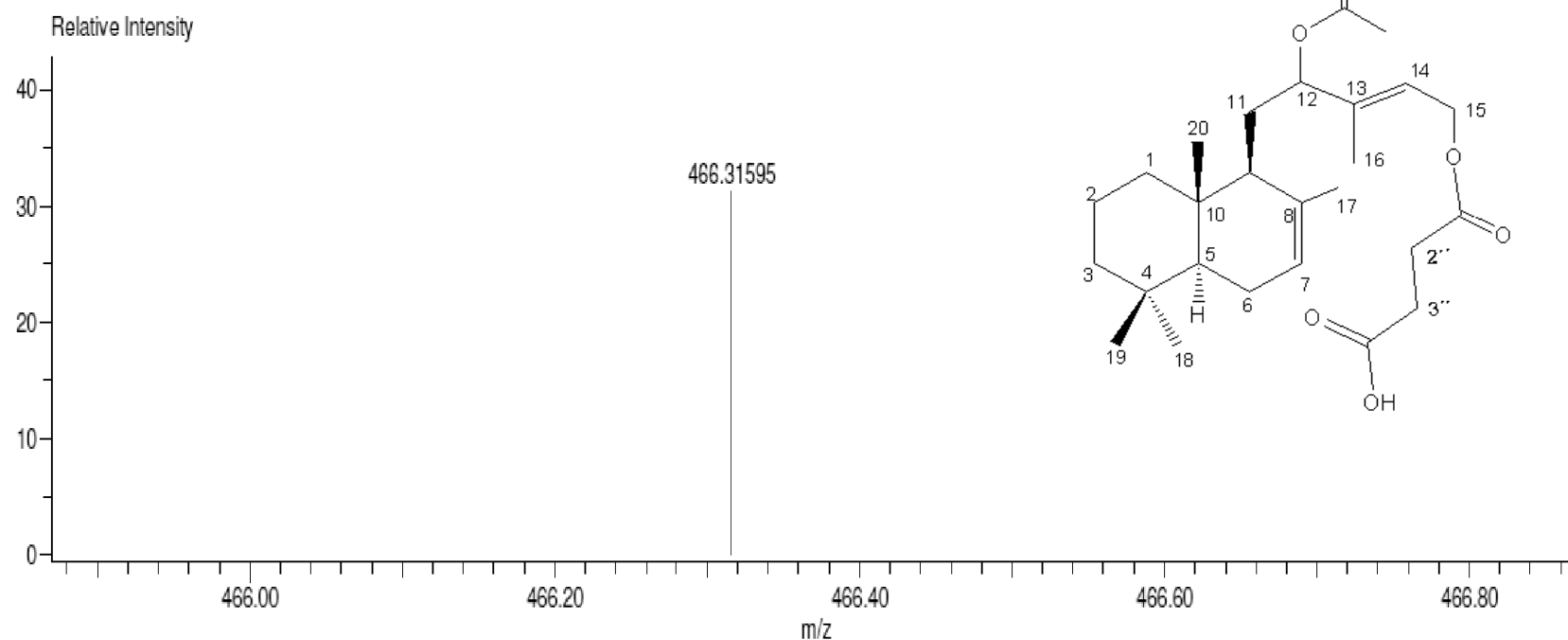


ESPECTRO 12. IR del ácido physaglutínico (3); (CHCl_3).

Charge number:1
 Element:¹²C:0 .. 56, ¹H:0 .. 120, ¹⁴N:0 .. 3, ¹⁶O:0 .. 6

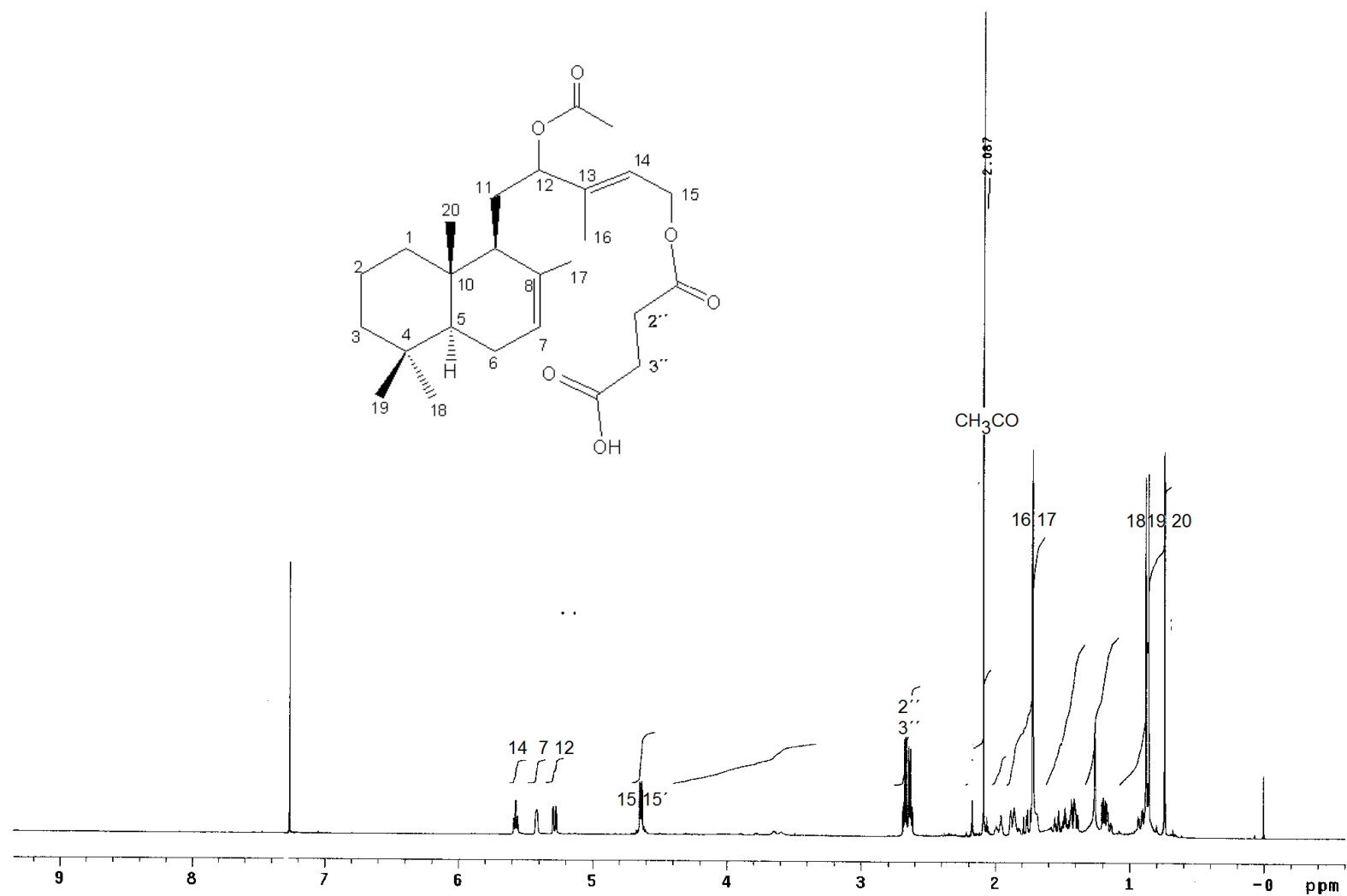
Tolerance:2.00(mmu)

Unsaturation Number:0.0 .. 30.0 (Fraction:Both)

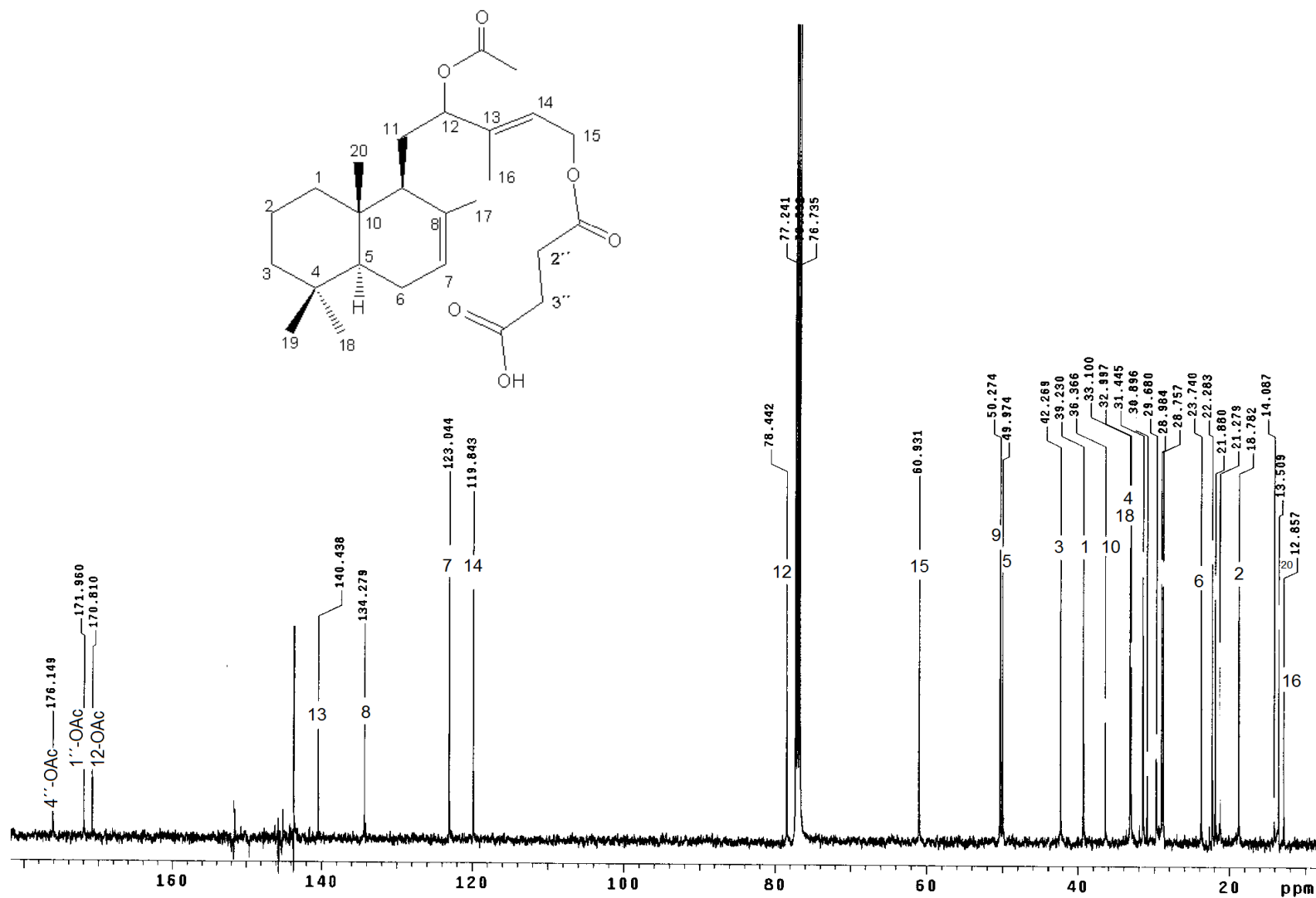


Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
466.31595	3214.55	466.31686	-0.92	-1.96	¹² C ₂₆ ¹ H ₄₄ ¹⁴ N ₁ ¹⁶ O ₆	5.5

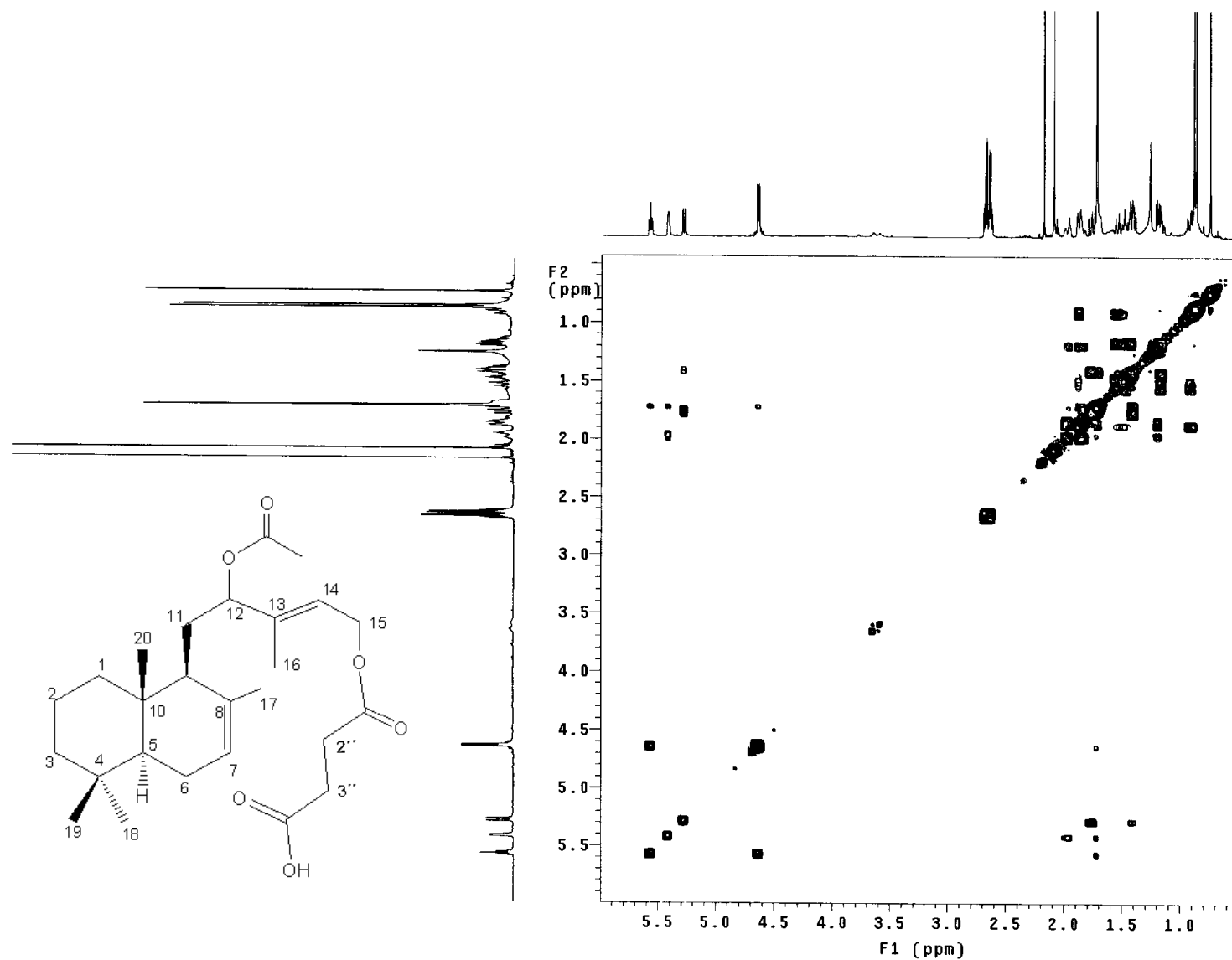
ESPECTRO 13. EMAR-DART del ácido physaglutínico (**3**).



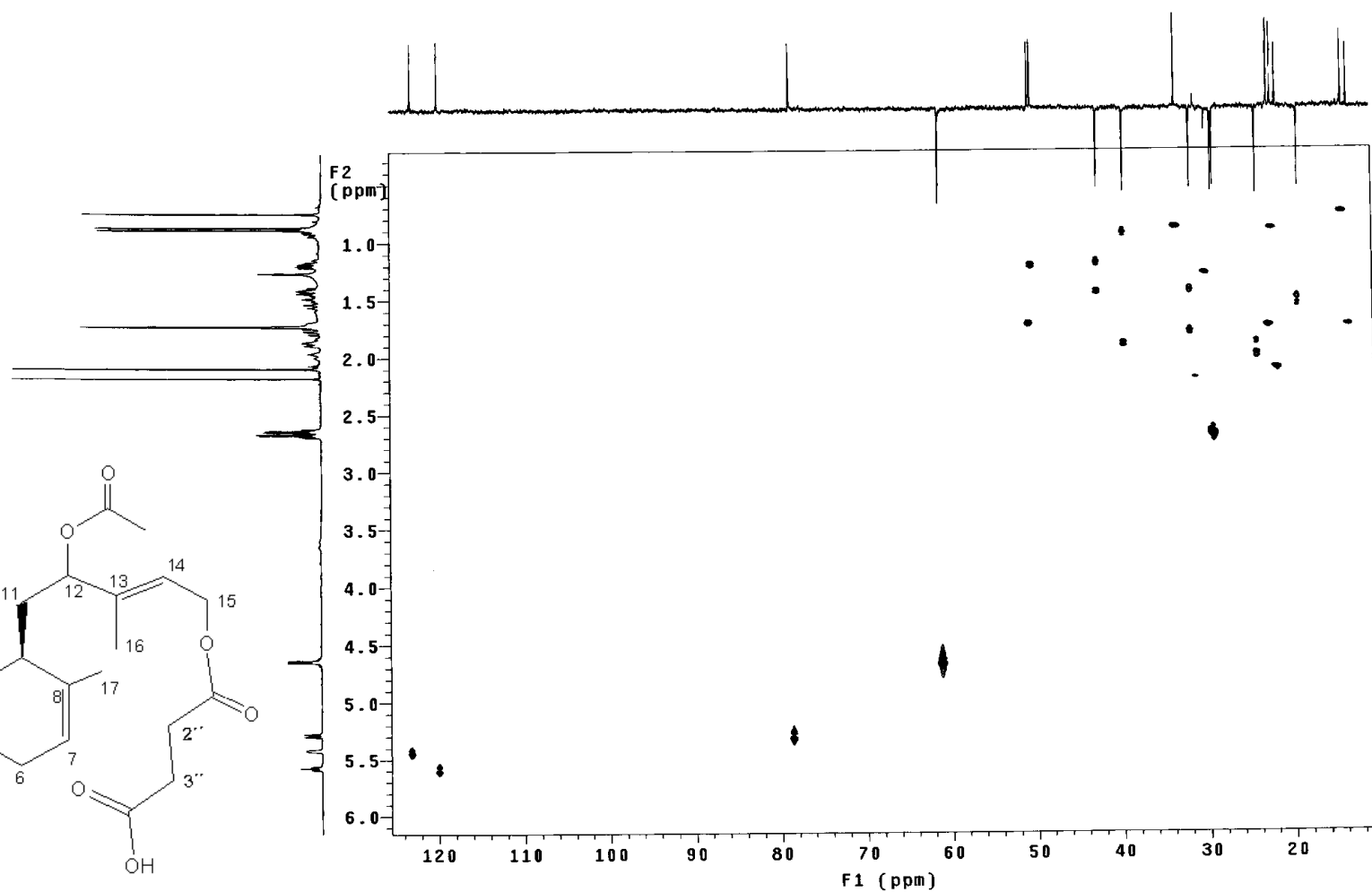
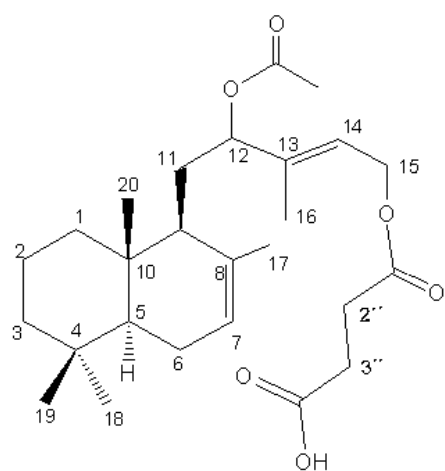
ESPECTRO 14. RMN- ^1H del ácido physaglutínico (**3**); (500 MHz, CDCl_3).



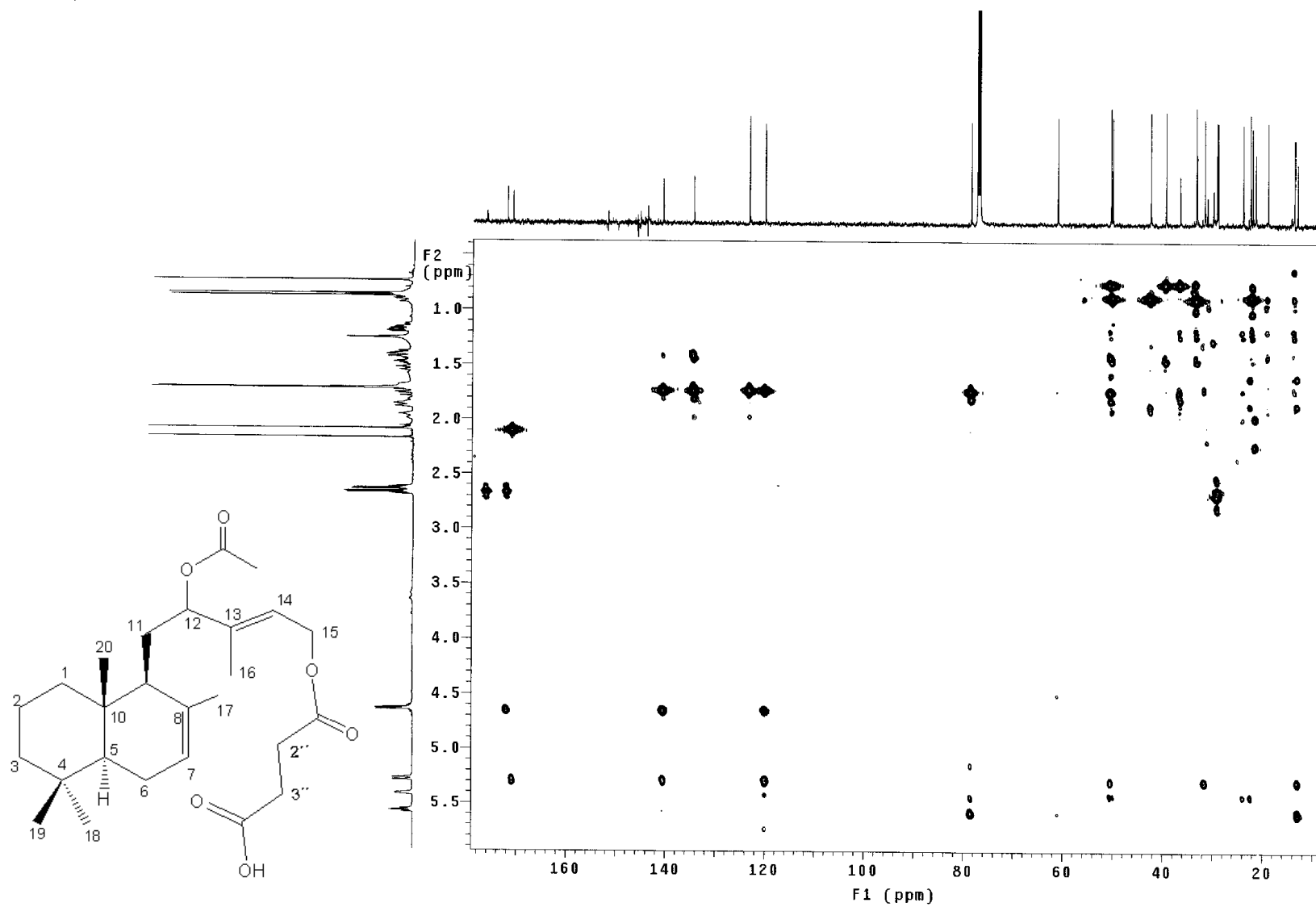
ESPECTRO 15. RMN-¹³C del ácido physaglutínico (3); (125 MHz, CDCl₃).



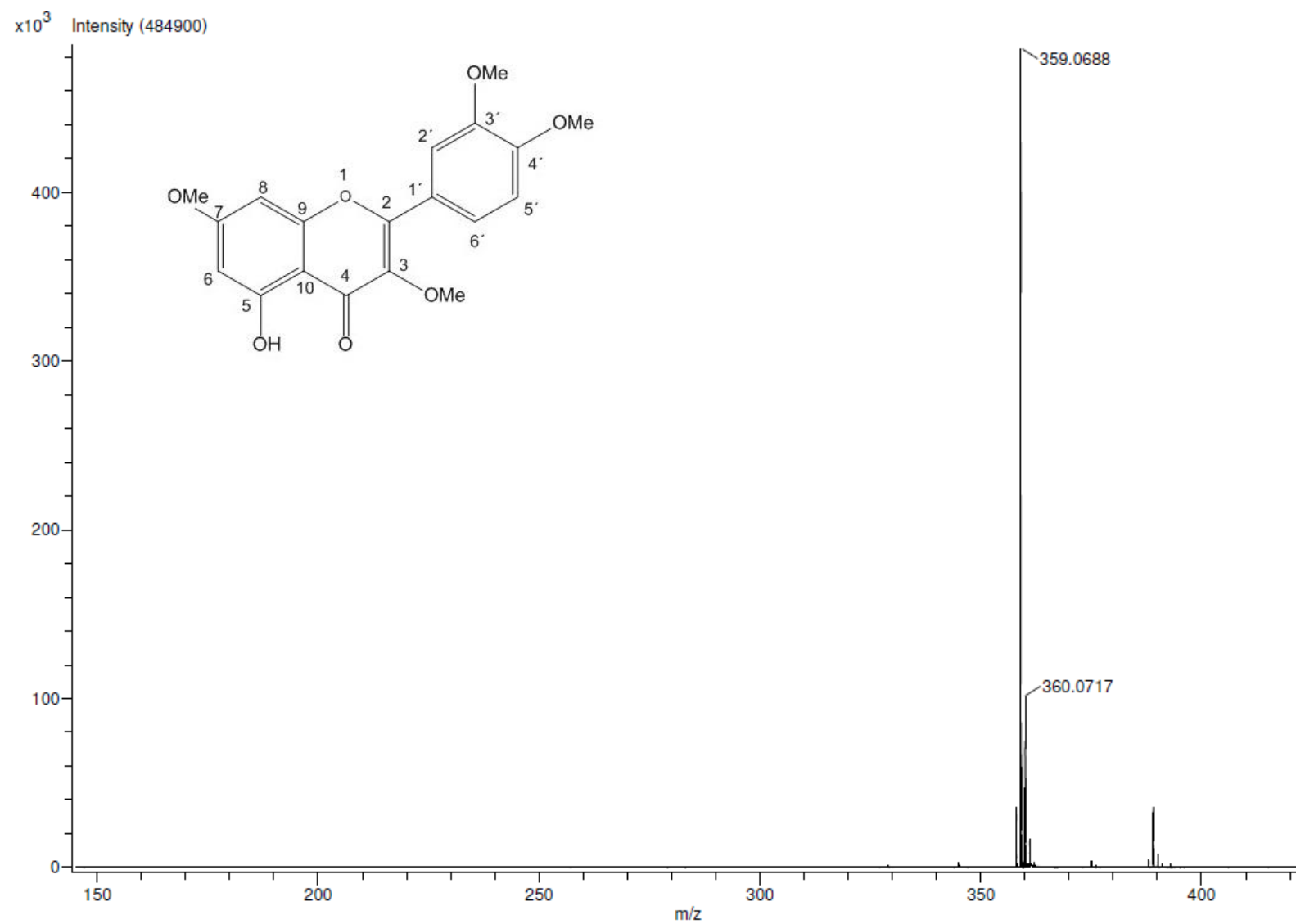
ESPECTRO 16. COSY del ácido physaglutínico (3); (CDCl₃).



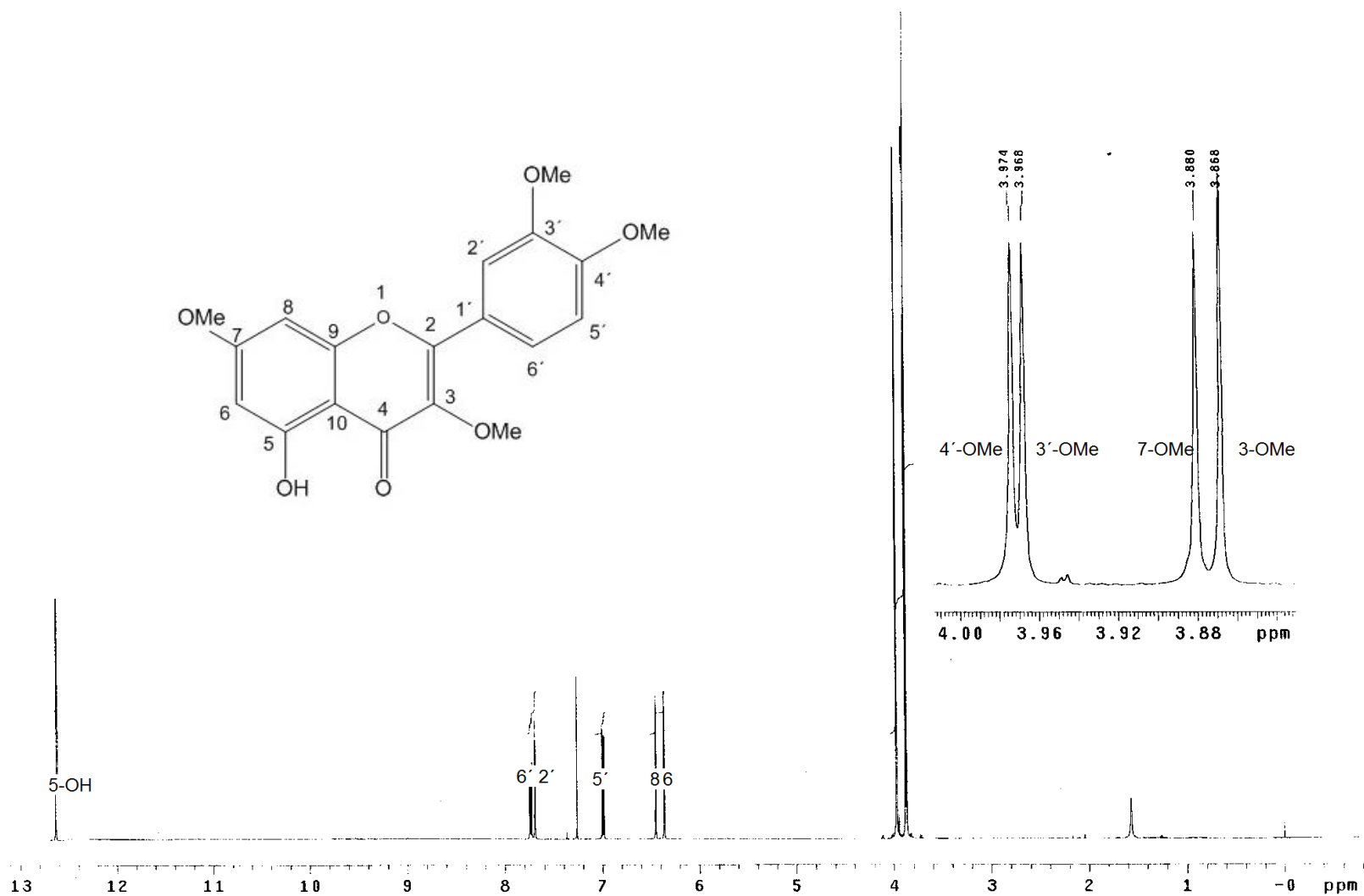
ESPECTRO 17. HSQC del ácido physaglutínico (**3**); (CDCl_3).



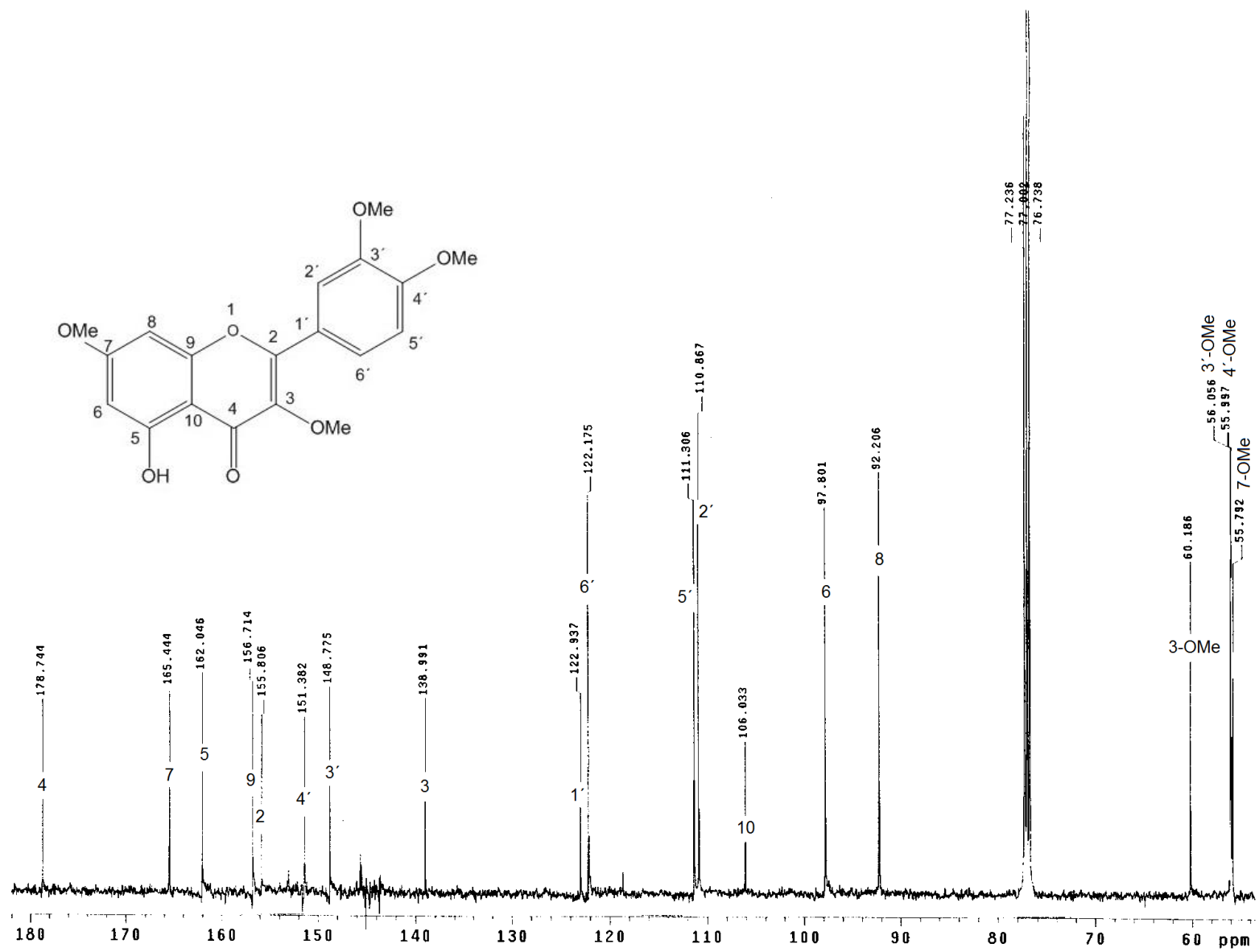
ESPECTRO 18. HMBC del ácido physaglutínico (**3**); (CDCl₃).



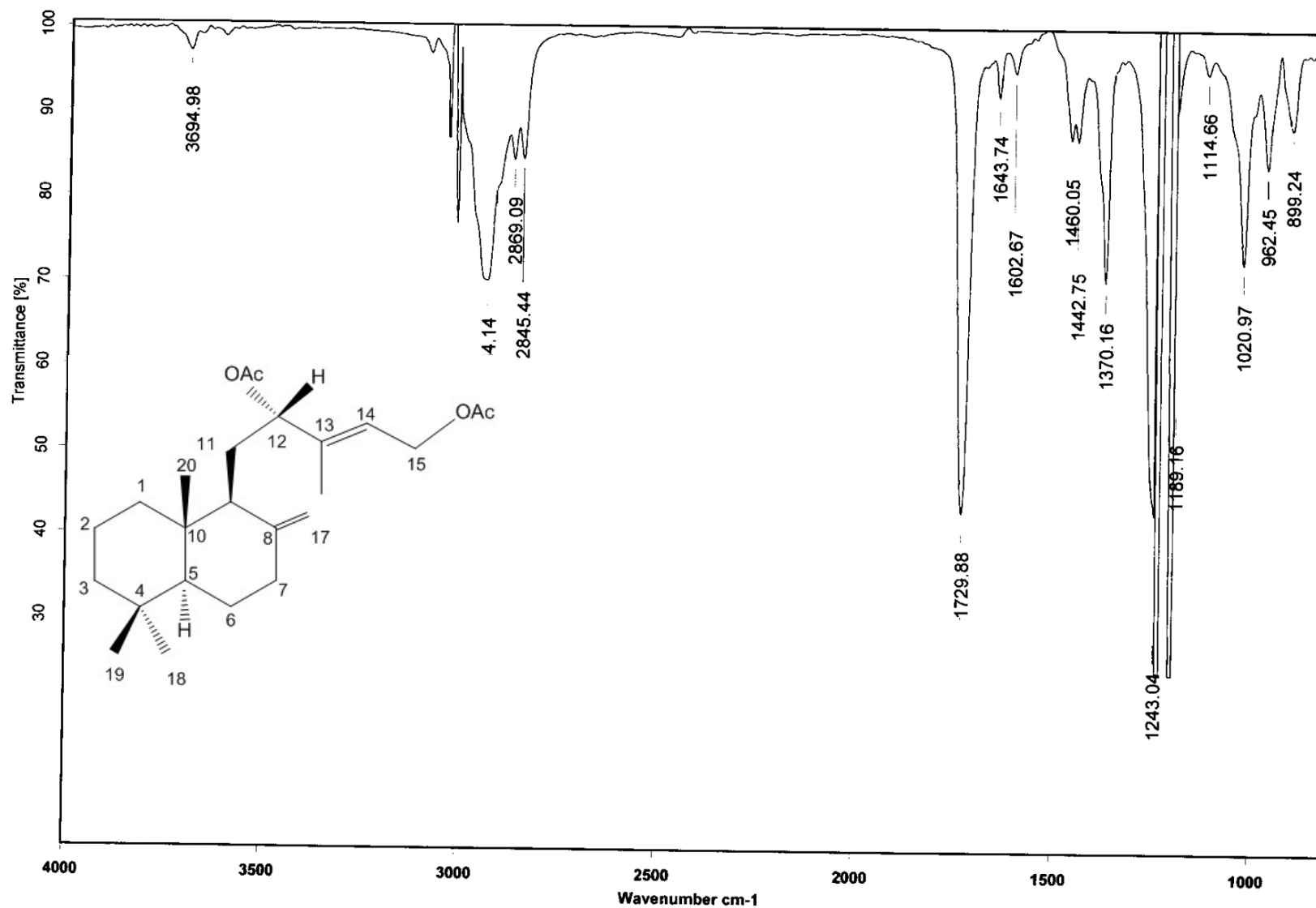
ESPECTRO 19. EM-DART de la retusina (**4**).



ESPECTRO 20. RMN- ^1H de la retusina (**4**); (500 MHz, CDCl_3).



ESPECTRO 21. RMN-¹³C de la retusina (4); (125 MHz, CDCl₃).



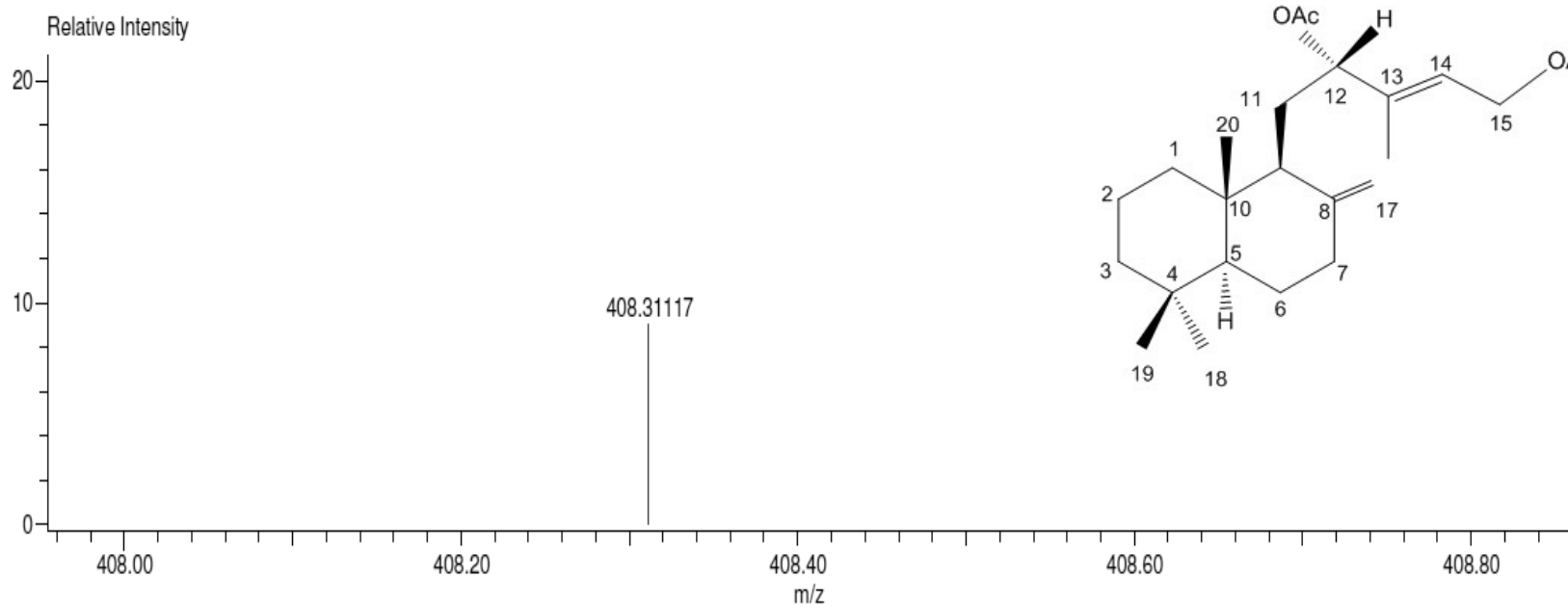
ESPECTRO 22. IR del compuesto 5; (CHCl_3).

Charge number:1

Tolerance:3.00(mmu)

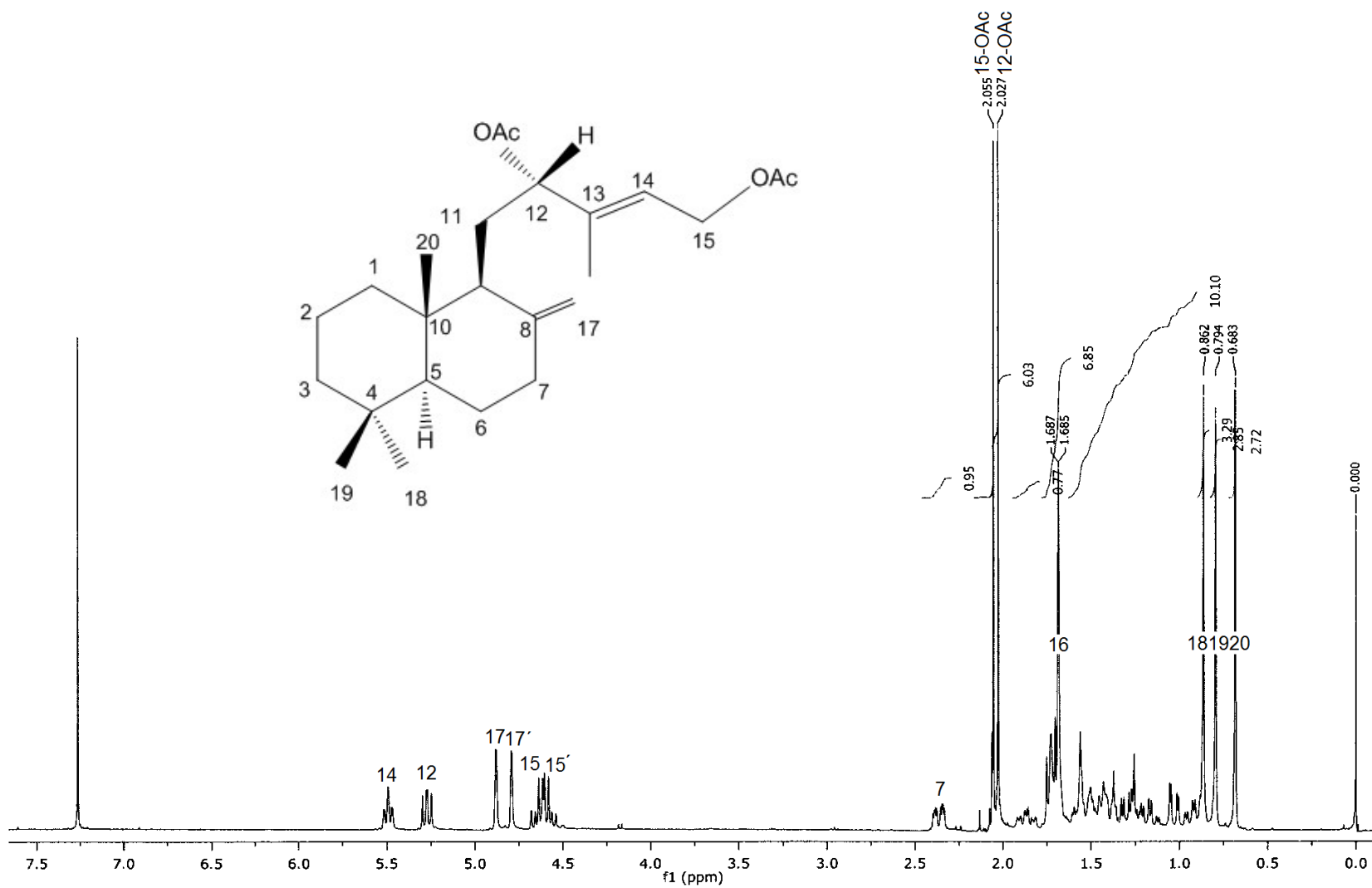
Unsaturation Number:0.0 .. 20.0 (Fraction:Both)

Element:¹²C:0 .. 50, ¹H:0 .. 100, ¹⁴N:0 .. 1, ¹⁶O:0 .. 4

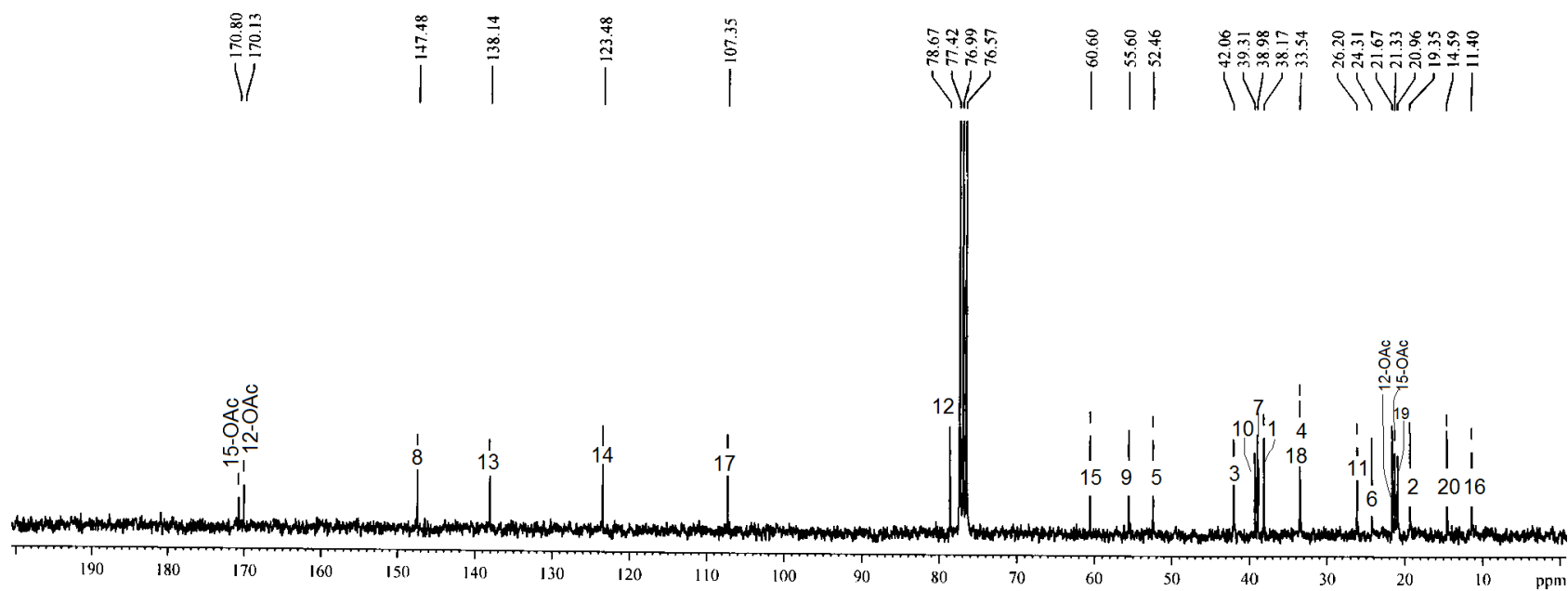
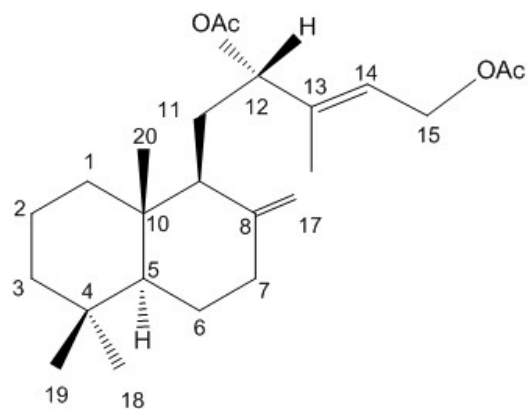


Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
408.31117	176134.39	408.31138	-0.22	-0.53	¹² C ₂₄ ¹ H ₄₂ ¹⁴ N ₁ ¹⁶ O ₄	4.5

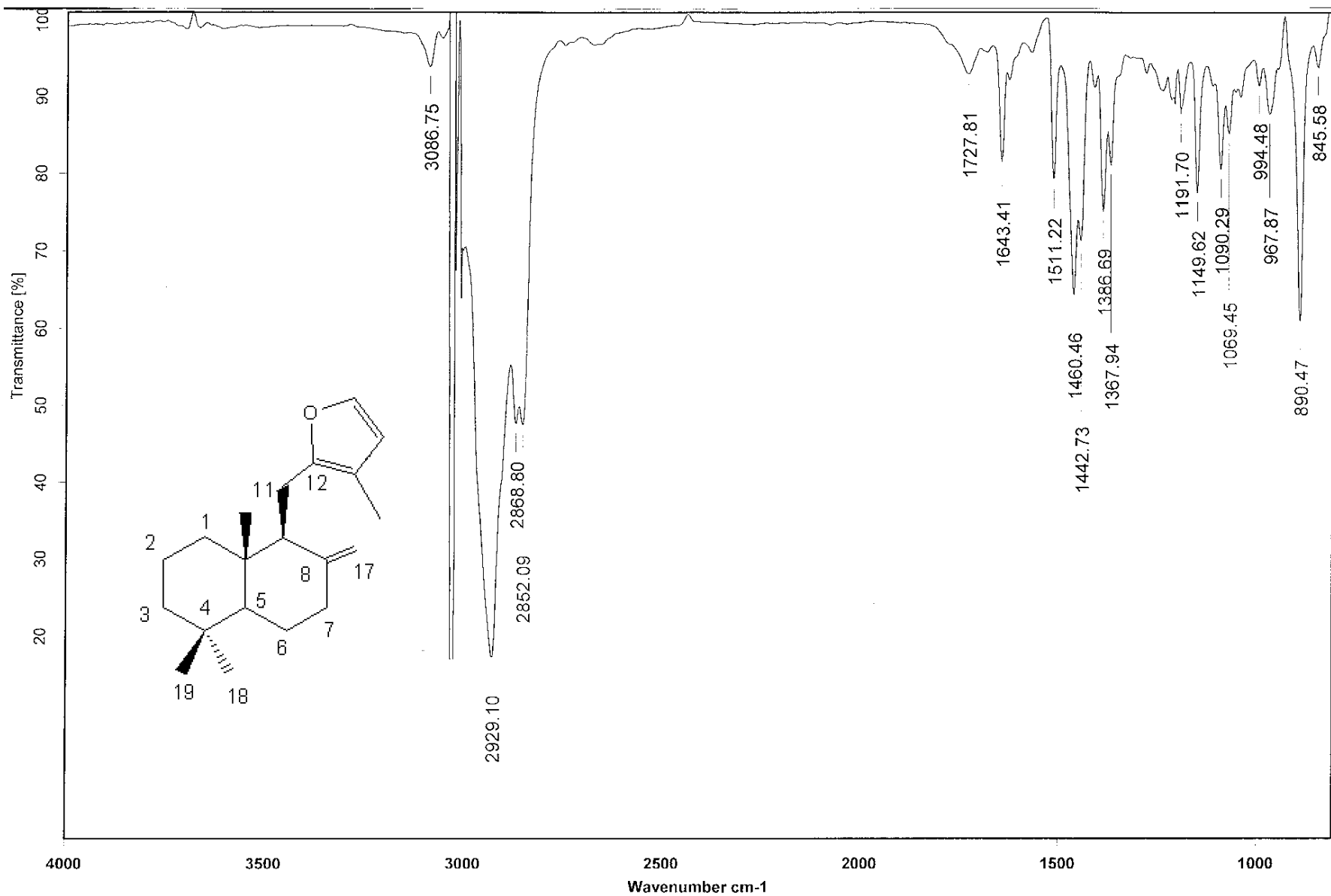
ESPECTRO 23. EMAR-DART del compuesto **5**.



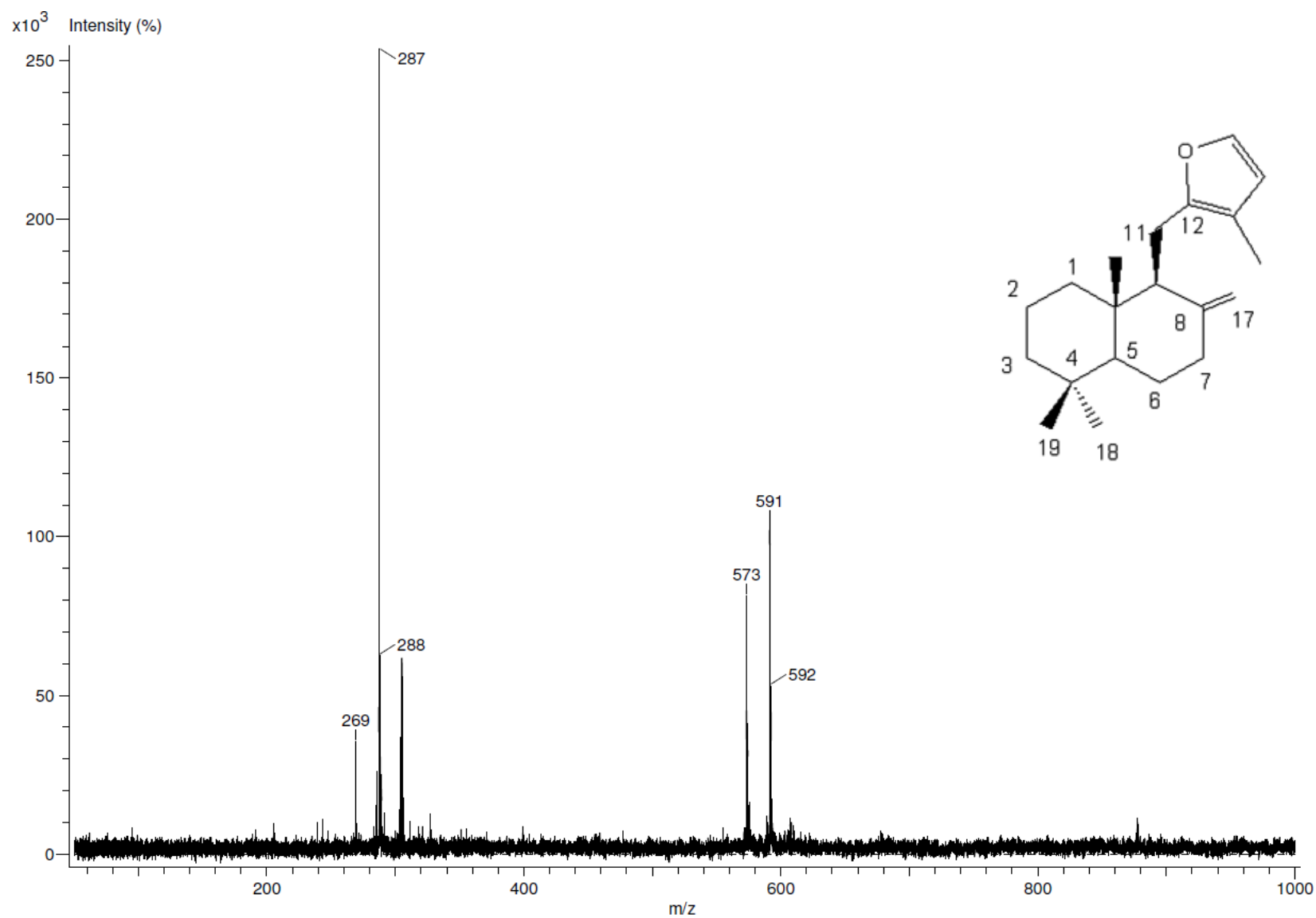
ESPECTRO 24. RMN- ^1H del compuesto **5**; (300 MHz, CDCl_3).



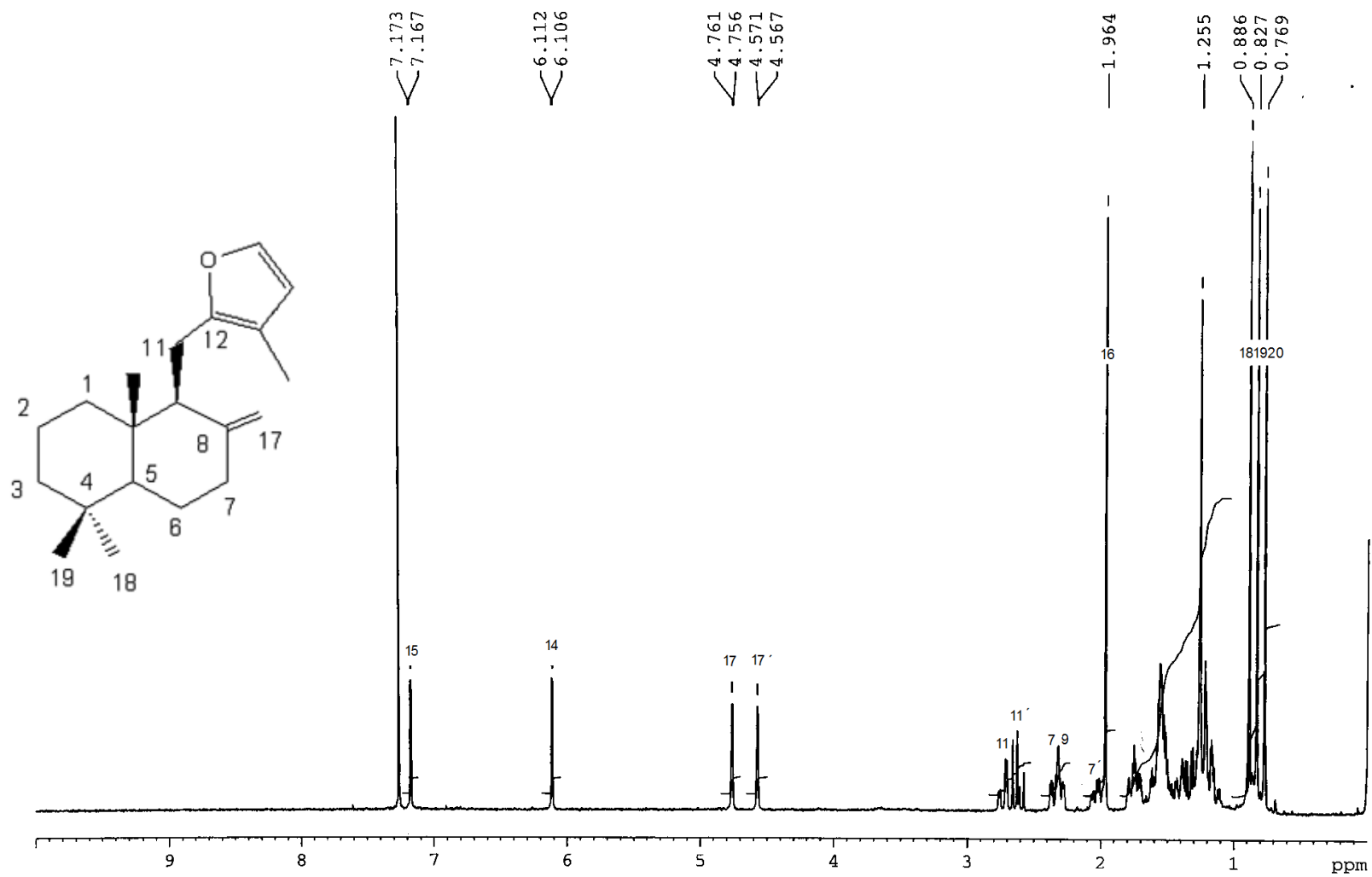
ESPECTRO 25: RMN-¹³C del compuesto **5**; (75 MHz, CDCl₃).



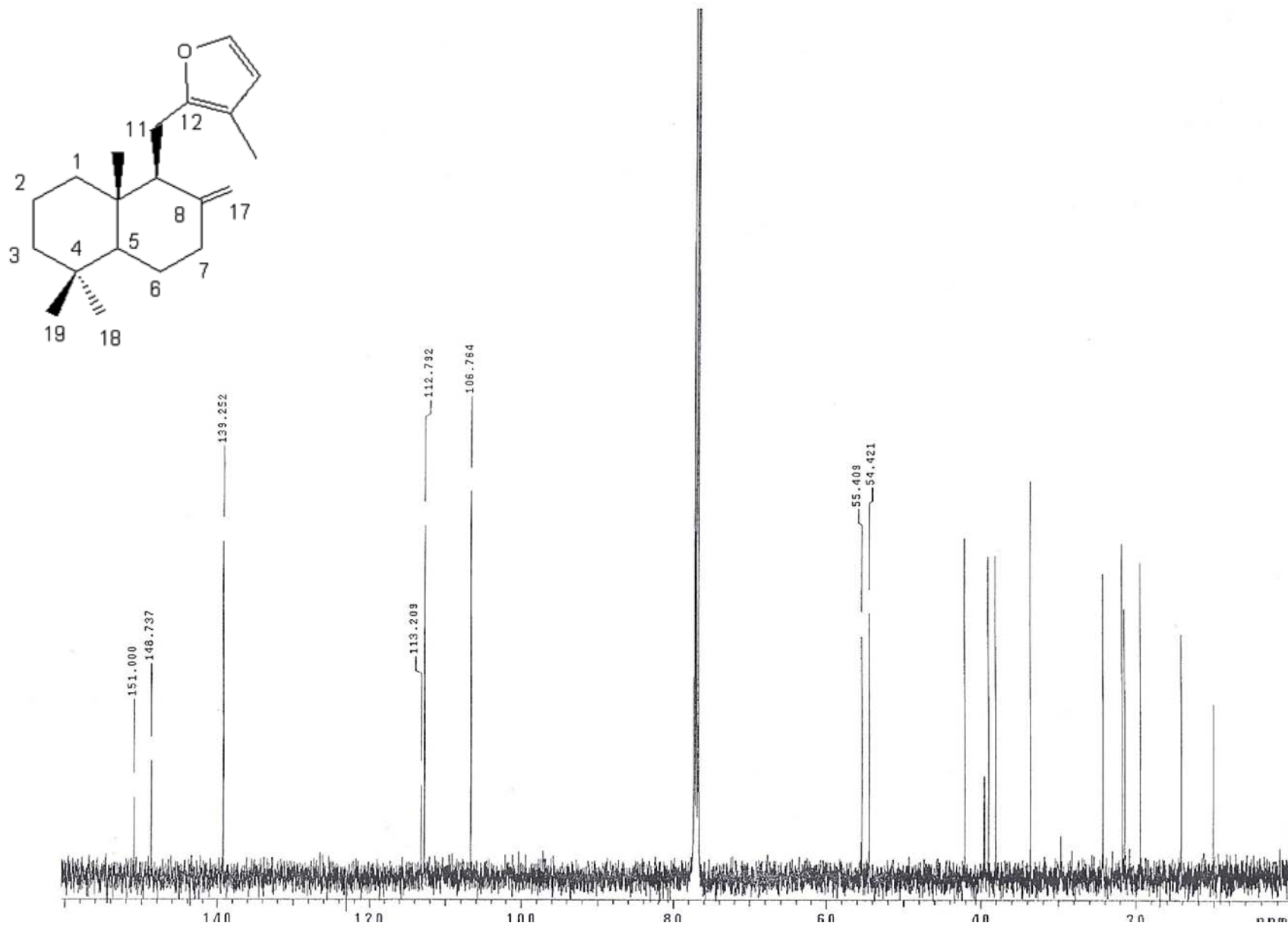
ESPECTRO 26. IR del compuesto **6**; (CHCl_3).



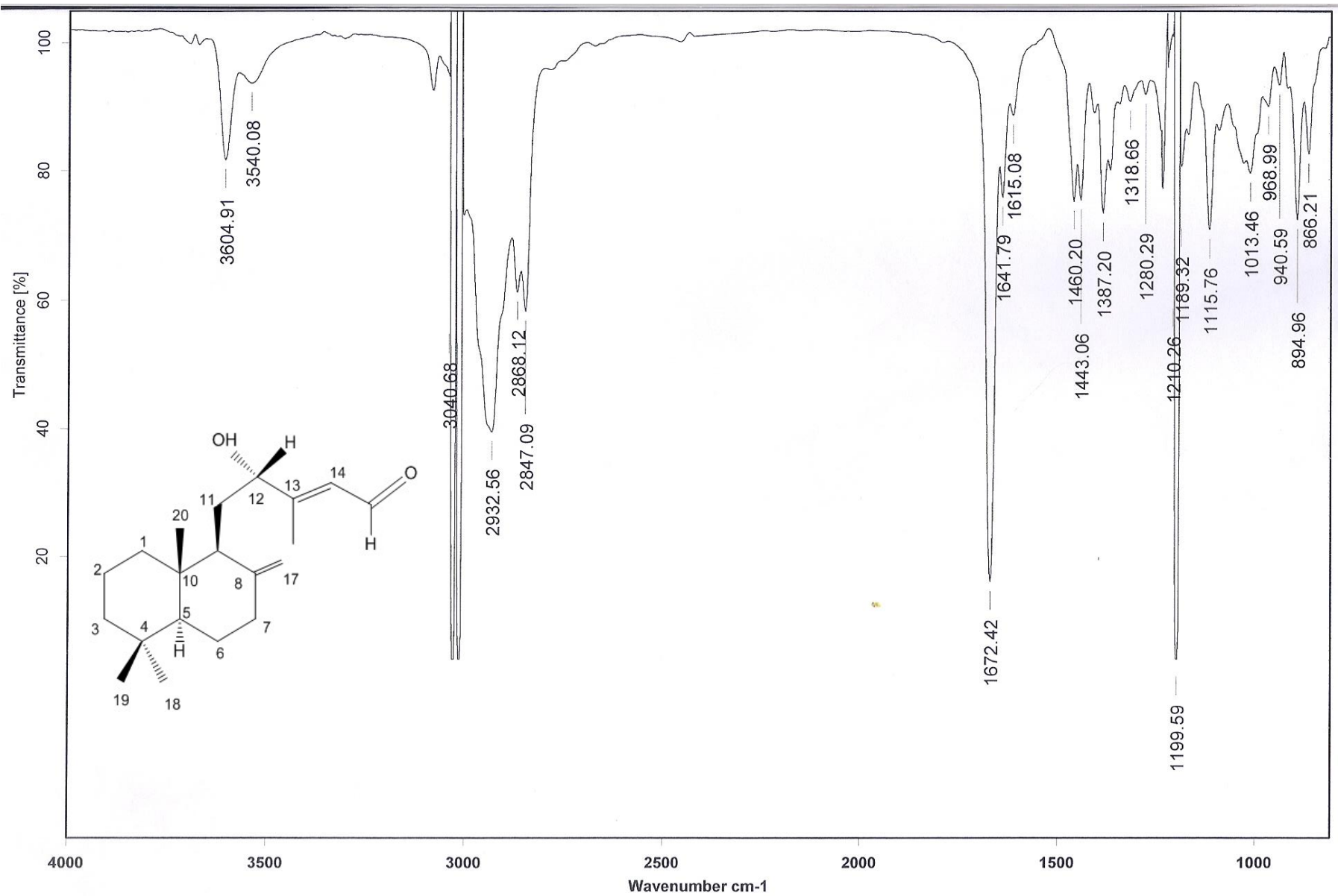
ESPECTRO 27. EM-DART del compuesto 6.



ESPECTRO 28. RMN- ^1H del compuesto **6**; (300 MHz, CDCl_3).



ESPECTRO 29. RMN- ^{13}C del compuesto **6**; (75 MHz, CDCl_3).

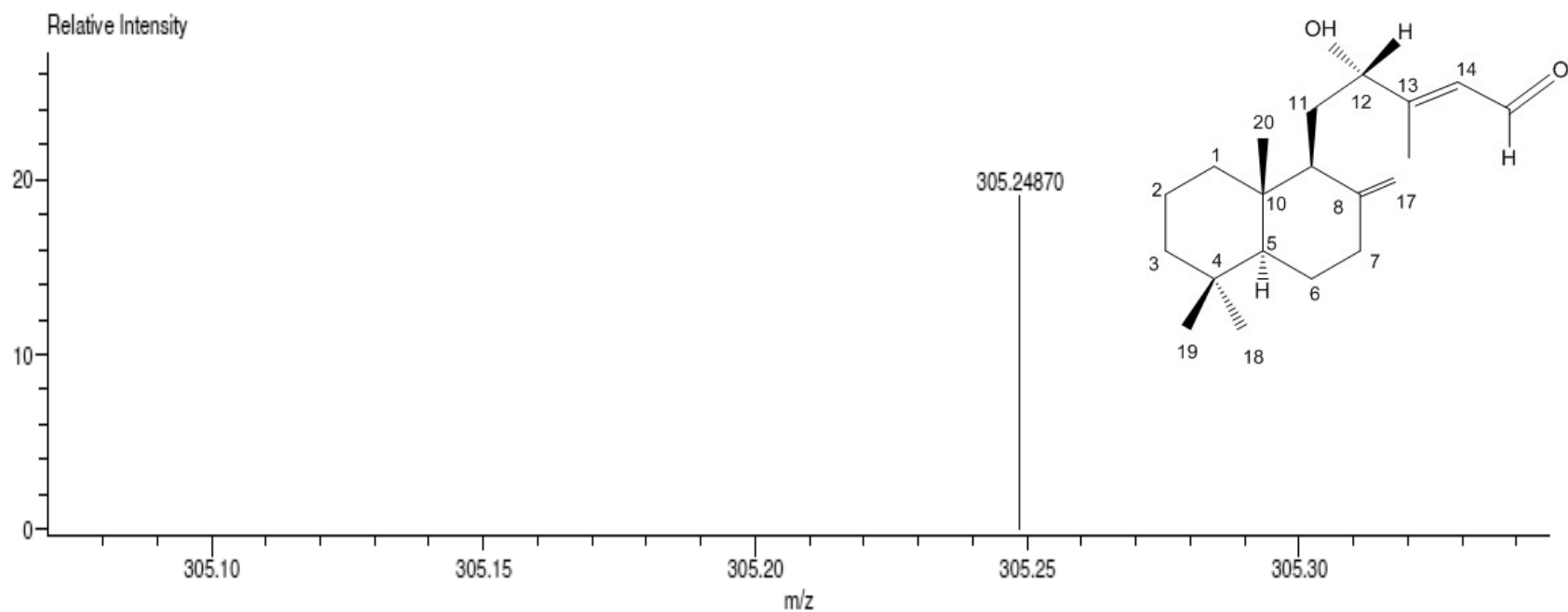


ESPECTRO 30. IR del compuesto 7; (CHCl_3).

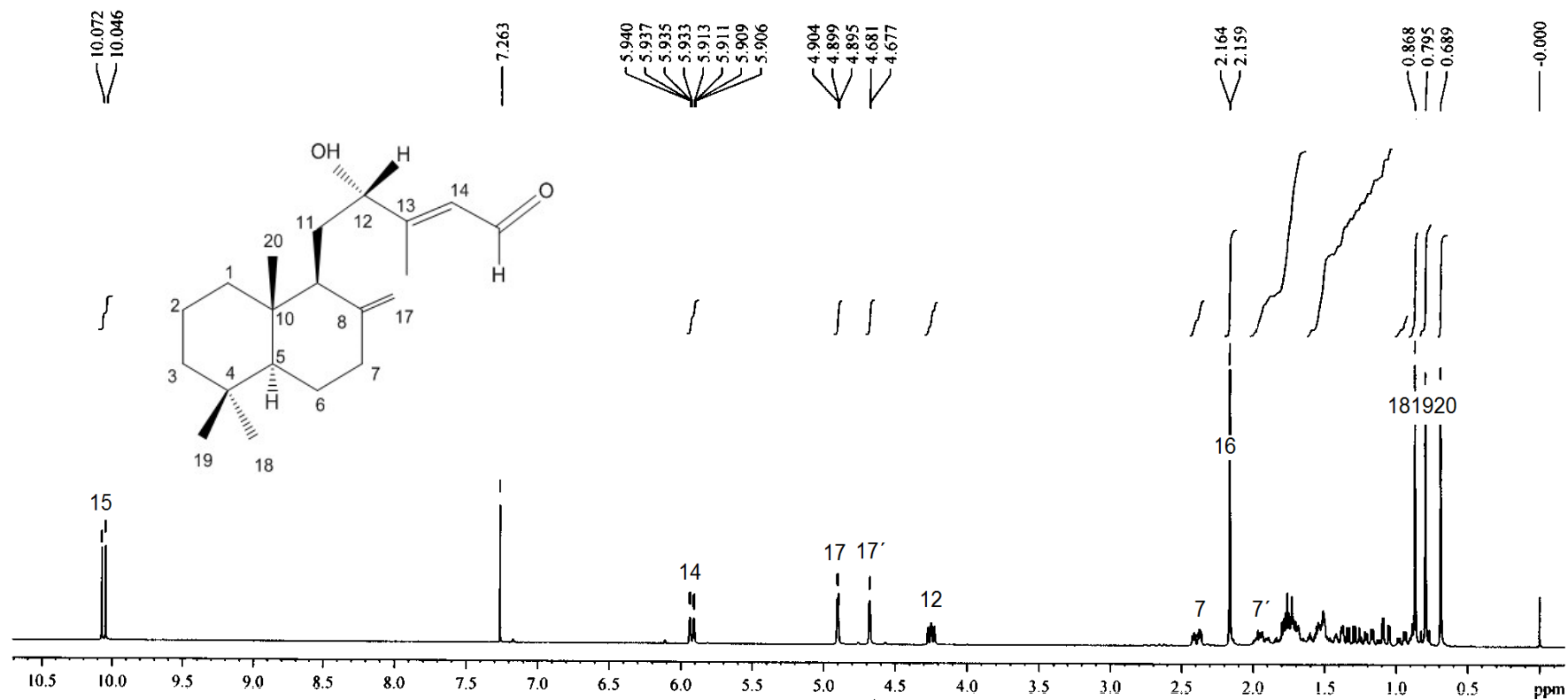
Charge number:1
 Element:¹²C:0 .. 50, ¹H:0 .. 100, ¹⁶O:0 .. 4

Tolerance:3.00(mmu)

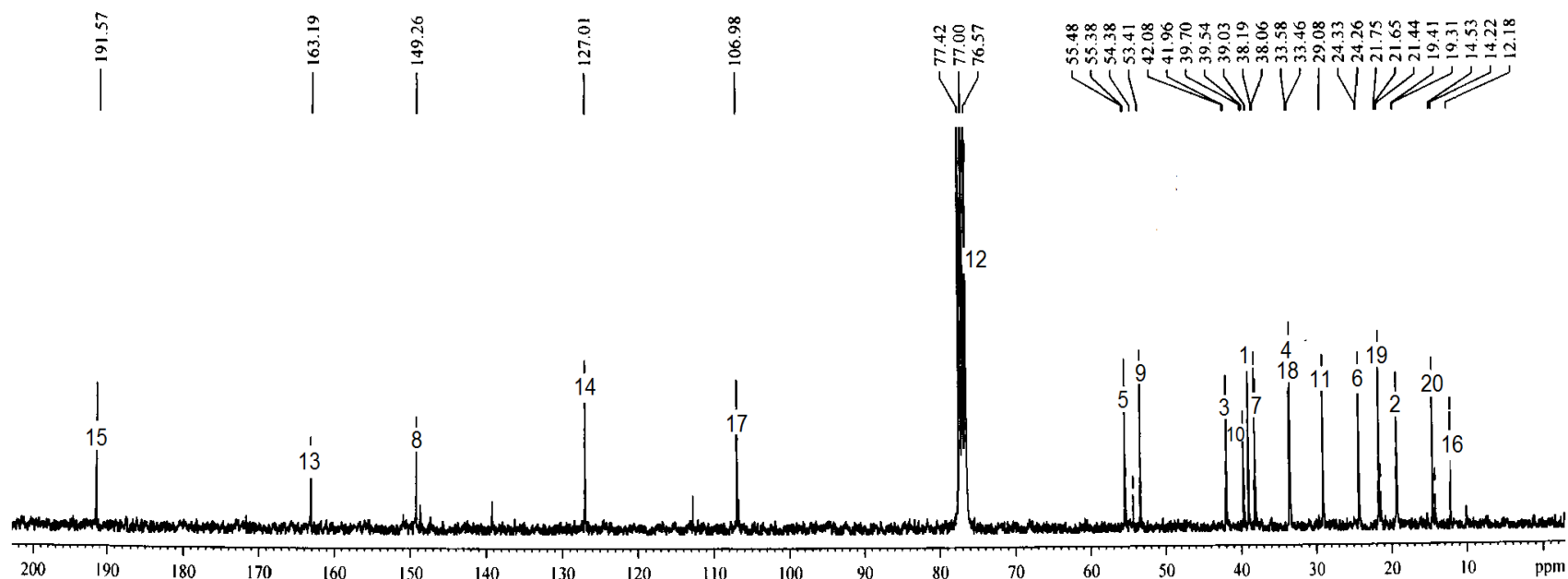
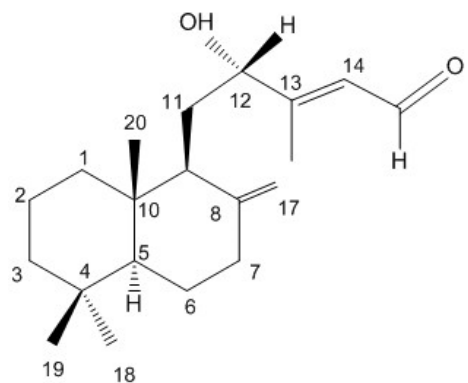
Unsaturation Number:0.0 .. 30.0 (Fraction:Both)



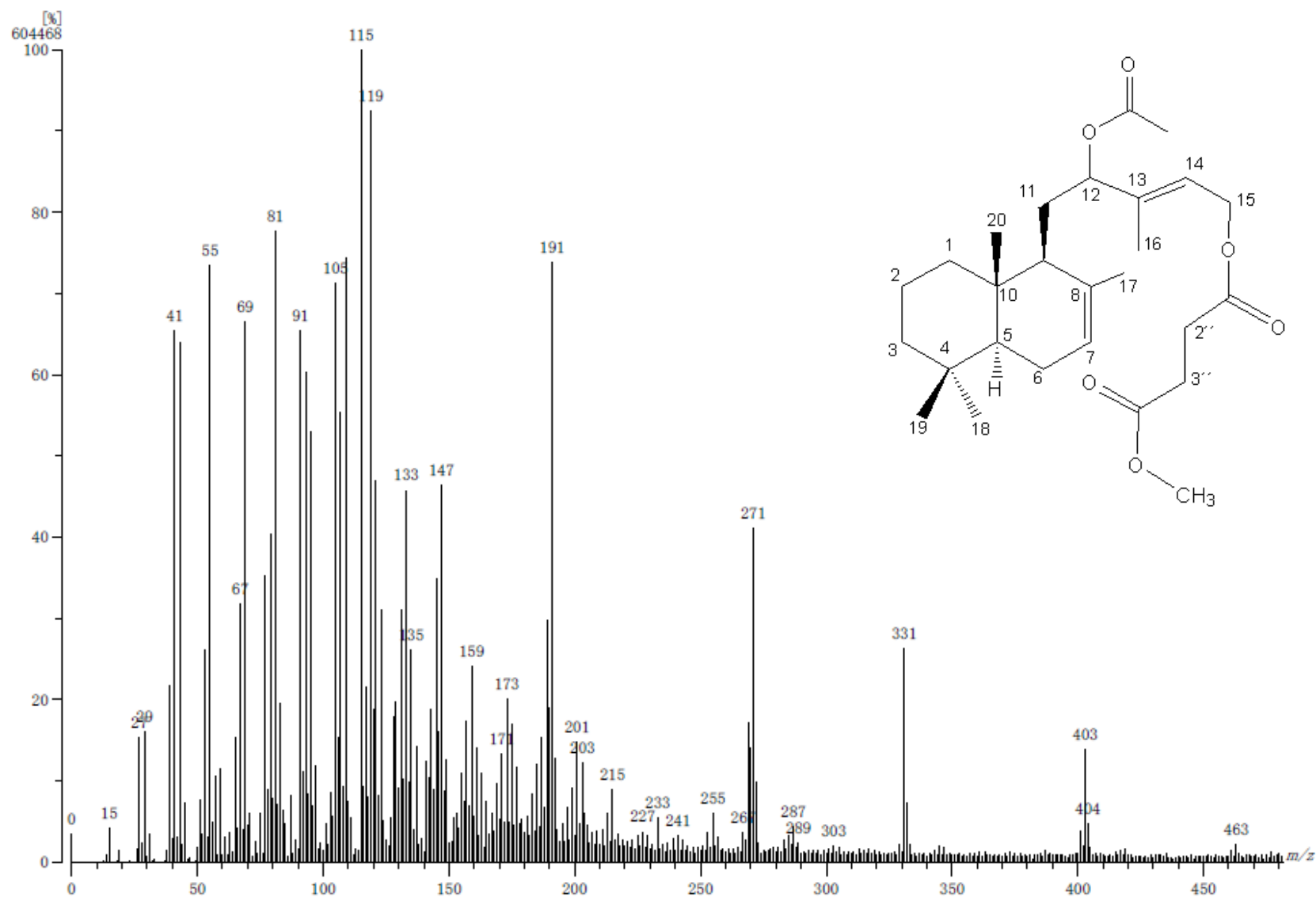
Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
305.24870	1836.34	305.24805	0.64	2.11	¹² C ₂₀ ¹ H ₃₃ ¹⁶ O ₂	4.5



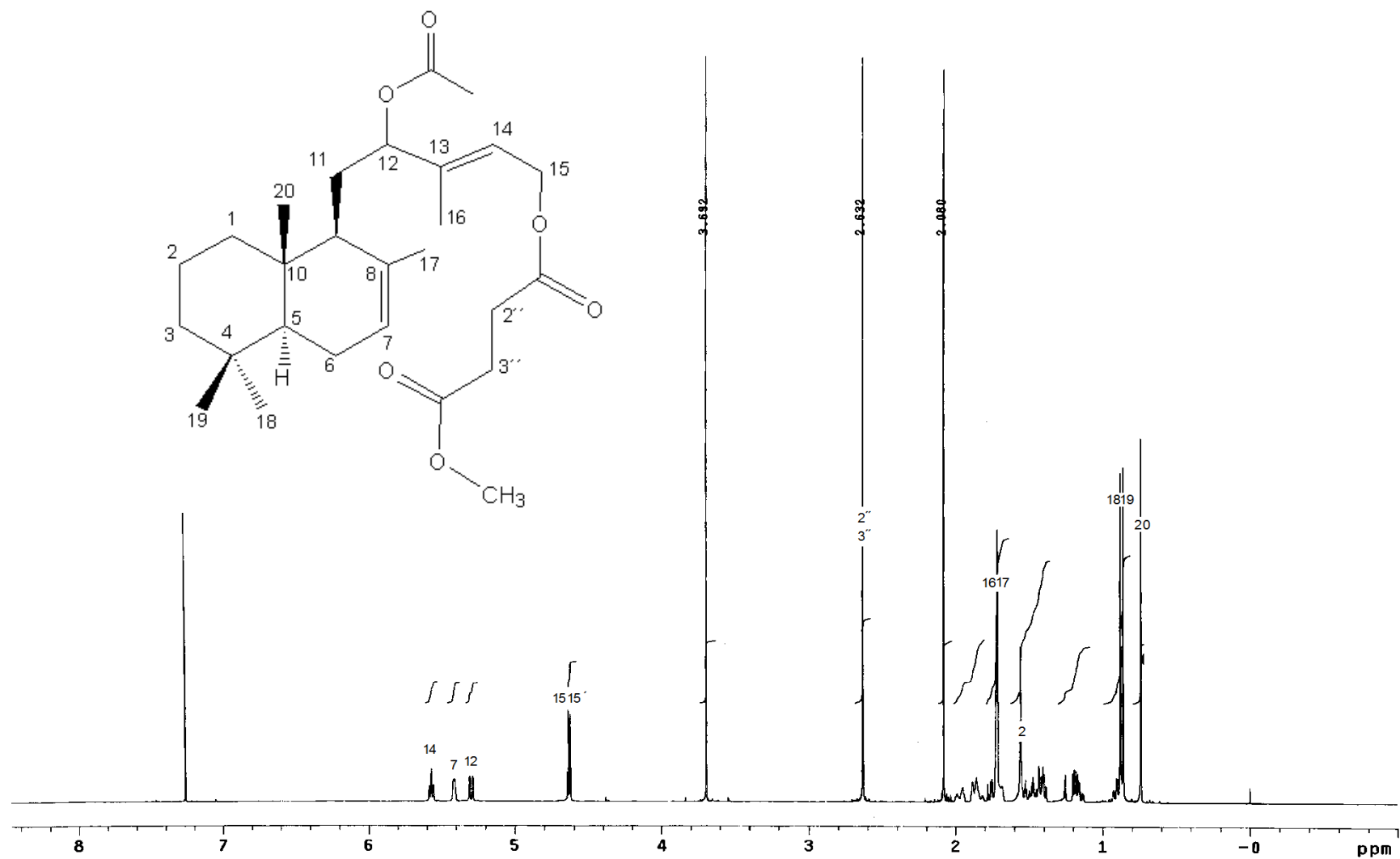
ESPECTRO 32. RMN- ^1H del compuesto 7; (300 MHz, CDCl_3).



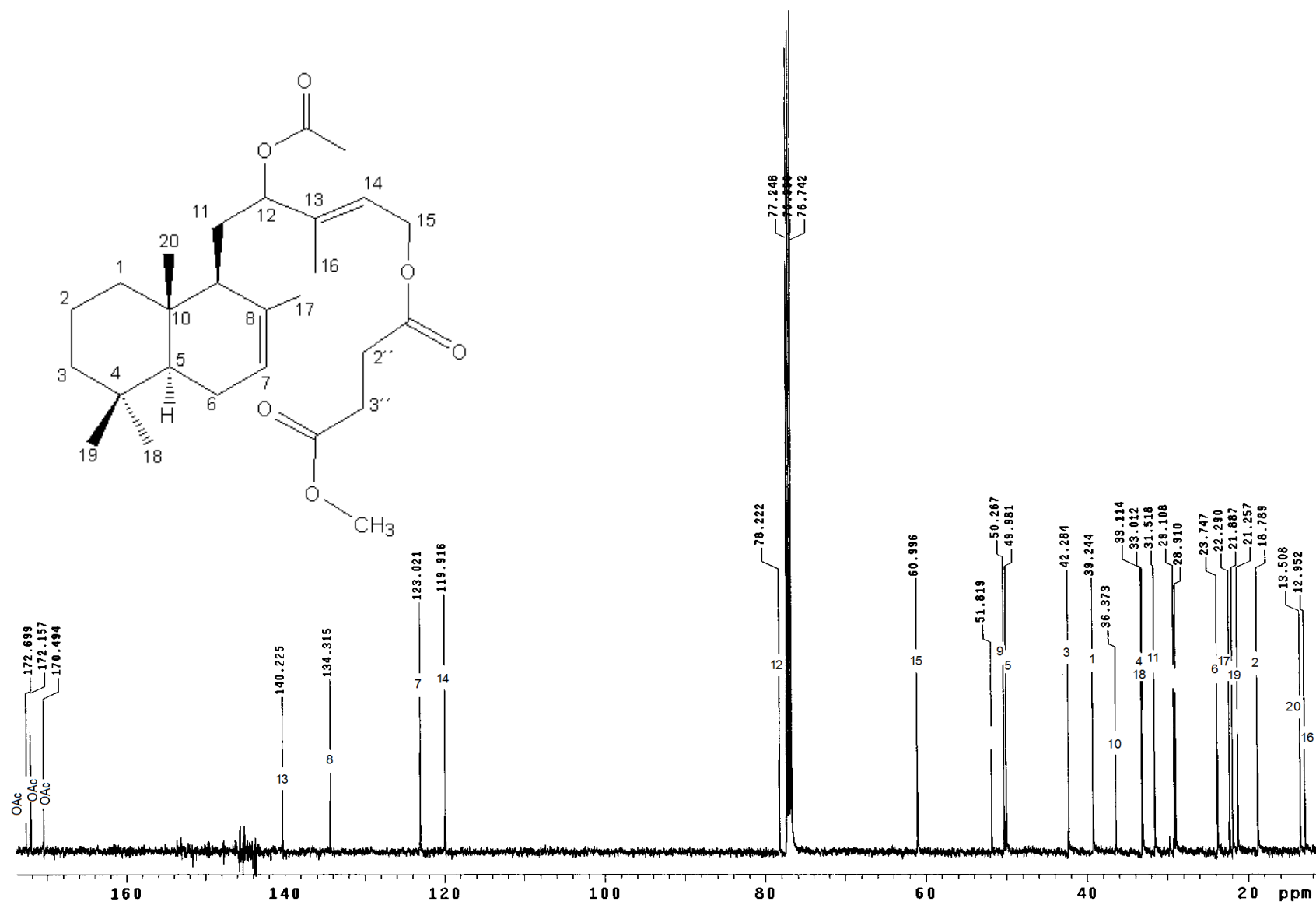
ESPECTRO 33. RMN- ^{13}C del compuesto **7**; (75 MHz, CDCl_3).



ESPECTRO 34. EM-FAB del compuesto **8**.



ESPECTRO 35. RMN- ^1H del compuesto **8**; (500 MHz, CDCl_3).



ESPECTRO 36. RMN- ^{13}C del compuesto 8; (125 Hz, CDCl_3).