



Universidad Nacional Autónoma
de México

Facultad de Estudios Superiores
CUAUTITLAN



2
2oj.

CONTRIBUCION AL ESTUDIO FITOQUIMICO DE
Gymnosperma glutinosum

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
Q U I M I C O
P R E S E N T A
GABRIEL ARTURO ARROYO RAZO

Director de Tesis:

M. en C. RENE MIRANDA RUVALCABA



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 está 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.

INDICE

I.- INTRODUCCION	1
II.- GENERALIDADES	6
III.- PARTE EXPERIMENTAL	23
IV.- DISCUSION	28
V.- CONCLUSIONES	34
VI.- TRANSFORMACIONES QUIMICAS	35
VII.- TABLAS DE RMN-C ¹³	36
VIII.- PATRONES DE FRAGMENTACION DE LOS PRODUCTOS	40
IX.- APENDICE A (ESPECTROS DE IR)	
X.- APENDICE B (ESPECTROS DE RMN-H ¹)	
XI.- APENDICE C (ESPECTROS DE RMN-C ¹³)	
XII.- APENDICE D (ESPECTROS DE EIMS)	
XIII.- APENDICE E (TABLAS DE RMN-H ¹ REPORTADAS POR F. BOLEHMANN)	
XIV.- REFERENCIAS	43

INTRODUCCION

INTRODUCCION

El mundo de la naturaleza es abundante en compuestos orgánicos, por lo que se puede concebir una amplia gama de estructuras químicas diferentes, lo cual hace fascinante el estudio de estas y constituye una área fructífera para la investigación científica.

Los componentes que se estudian son generalmente encontrados en plantas verdes, los cuales requieren para que la síntesis ó biosíntesis de estos compuestos orgánicos, agua, dióxido de carbono, nitrógeno (elemental y en forma de sales inorgánicas), compuestos de fósforo y un gran número de sales inorgánicas en pequeñas cantidades.

El proceso primario de la naturaleza es la fotosíntesis, en ella las plantas verdes utilizan la energía solar para la producción de compuestos orgánicos a partir de dióxido de carbono. Los productos principales de la fotosíntesis son los carbohidratos, que mediante una serie de reacciones debidas al metabolismo de las plantas llega a la formación de compuestos orgánicos de bajo peso molecular y estructuras sencillas.

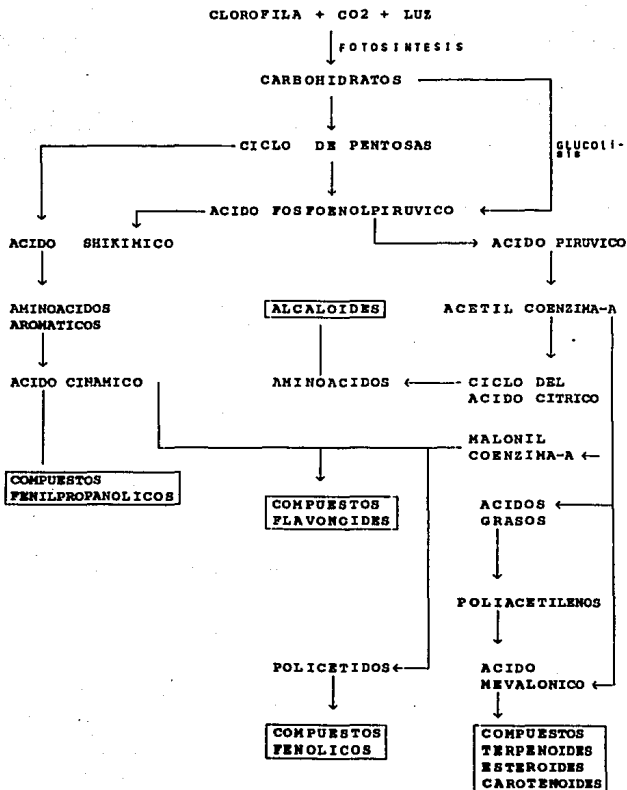
Estas sustancias están universalmente distribuidas, y forman entre si lo que se conoce comúnmente como metabolitos

primarios. Cada una de estas sustancias tiene una función específica dentro del metabolismo de las plantas, siendo tal su importancia que, si alguna de ellas faltara la planta sufriría un desequilibrio, incluso podría llegar a morir. Algunas de estas sustancias son; ácidos carboxílicos de bajo peso molecular, azúcares y aminoácidos, entre otros.

De ellos y por medio de la biosíntesis de la planta se obtienen compuestos complejos en pequeñas cantidades que son característicos en todos los vegetales y se les denomina metabolitos secundarios, (estos son objeto de estudio de los productos naturales). Estos pueden no tener funciones específicas en las plantas, (material de desecho), más algunos de ellos llegan a intervenir directamente en el metabolismo de la planta, es decir tienen una función específica (servir de protección para la misma).

En el esquema 1³ se presenta un resumen muy general de la biosíntesis de los metabolitos secundarios en el cual se ilustra cómo una planta llega a los diferentes metabolitos primarios y posteriormente a los que más nos interesan, que son los metabolitos secundarios.

BIOSINTESIS DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS

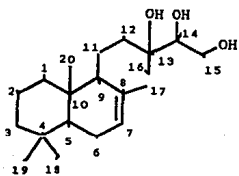
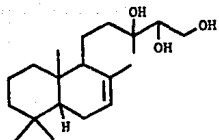


ESQUEMA 1

Como puede observarse en el ESQUEMA-1 se tiene una alta posibilidad de encontrar derivados de alguno de estos compuestos, en las plantas a estudiar, resultando así que existe una cantidad basta de metabolitos secundarios. De tal forma, al químico orgánico dedicado al estudio de los productos naturales le corresponde realizar una tarea muy amplia e interesante; si se conjunta por un lado la diversidad de géneros y en consecuencia de especies vegetales y por otro lado la gran diversidad de posibles productos naturales.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos al hacer el estudio de los extractos *n*-hexánico y de acetato de etilo de la raíz y de la parte aérea de *Gymnosperma glutinosum*. De la parte subterránea se obtuvieron varios productos, los cuales fueron identificados como triterpenos; Así mismo del extracto *n*-hexánico de la parte aérea se logró aislar un diterpeno (fig.1) con esqueleto de labdano que despierta un gran interés, ya que de éste previamente se reporta un isómero¹.

La estructura de los metabolitos aislados fue en general determinada por métodos espectroscópicos comunes (IR, EM-IE, RMN: H^1 , C^{13} , APT, DEPT, COSY, HETCOR); en el caso de los triterpenos se corroboró su estructura por comparación con otros previamente reportados. Para el diterpeno la determinación de su estructura se validó con apoyo de una serie de transformaciones químicas.



(Fig-1)

GENERALIDADES

GENERALIDADES

Los productos naturales se encuentran en la naturaleza en una cantidad incommensurable, de ahí surge la razón de que haya necesidad de clasificarlos de diferentes maneras, siendo cuatro formas las más comunes:

- A) En base a su estructura química
- B) A su actividad fisiológica
- C) En su taxonomía y
- D) Su ruta de biogénesis

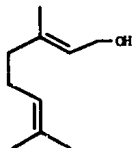
A) CLASIFICACION BASADA EN SU ESTRUCTURA QUIMICA

Esta se basa principalmente en la forma del esqueleto base que presenta una molécula determinada y puede ser:

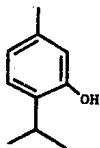
- i) Cadena alifática abierta o compuestos grasos (ácidos grasos, azúcares y aminoácidos).
- ii) Compuestos alicíclicos y/o cicloalifáticos (terpenoides, esteroides y algunos alcaloides).
- iii) Compuestos aromáticos o bencenoides (quinonas o fenoles).

iv) Compuestos heterocíclicos. (alcaloides, flavonoides, y bases de los ácidos nucleicos)⁴.

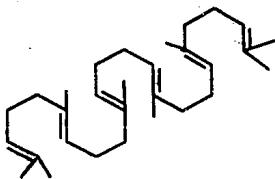
Esta es una clasificación un tanto general, ya que es obvio que los productos naturales involucran diversas clases de estructuras como: geraniol (2), farnesol (3), escualeno (4) que bien podrían entrar en la clasificación (i); y el timol (5), en la clasificación (ii).



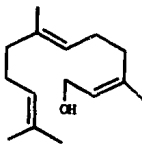
(2)



(3)



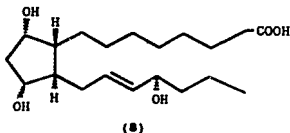
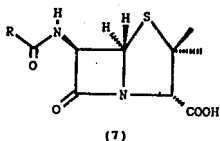
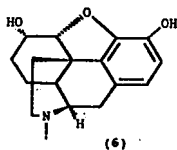
(4)



(5)

5) CLASIFICACION BASADA EN SU ACTIVIDAD FISIOLOGICA

Uno de los ejemplos más significativos de ésta clasificación es la morfina (6), (descubierta en 1806), igualmente se pueden citar a las penicilinas (7), (encontradas en 1939) y las prostaglandinas (8) (en 1963), las cuales adquirieron con una rapidez asombrosa gran relevancia. Como puede verse en un principio el interés por los productos naturales se adquirió por las propiedades curativas de algunos de ellos, los que se fueron clasificando de acuerdo a la actividad fisiológica que estos presentan sobre el cuerpo humano (Hormonas, Antibióticos, Vitaminas, Inhibidores del Sistema Nervioso Central (SNC), del Sistema Parasimpático entre otras)⁴. Siendo ésta, una clasificación obsoleta en la actualidad, ya que a la fecha se han descubierto una infinidad de compuestos, pudiendo algunos actuar de muy diversas formas dentro de los organismos. Existe además, una discordancia entre la estructura que tiene la sustancia y la actividad que presenta, esto es, algunos compuestos que tienen grupos funcionales y esqueletos análogos pueden llegar a tener actividad fisiológica muy diferente.

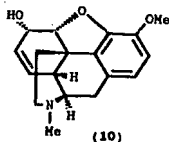
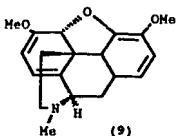


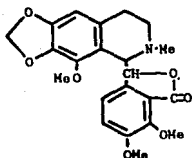
c) CLASIFICACION BASADA EN SU TAXONOMIA

Esta clasificación se basa en los estudios comparativos de la morfología o taxonomía de la planta, esta surge de la creencia de que algunos metabolitos son exclusivos de alguna especie de planta, y de que los metabolitos no están ampliamente distribuidos en todo el reino vegetal. Muchas plantas tienen como constituyentes principales a los alcaloides e isoprenoides los cuales han sido aislados de una especie de planta específica. También podemos ver que una sola especie contiene numerosos constituyentes los cuales pueden estar íntimamente relacionados, como lo es el *Opium* de *Papaver*

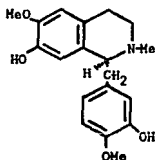
scmniferum que contiene 20 alcaloides raros, algunos de ellos son la morfina (6), thebaina (9), codeína (10) y la narcotina (11), todos son biosintetizados de la 1-bencilisoquinolina como precursor (12).⁴ Estos alcaloides tienen estructura similar y son constituyentes característicos de esta planta por lo que son designados como alcaloides del opio. Similarmente los nombres representan género y familia como lo son los alcaloides *ergot*, alcaloides *iboga* y alcaloides *minispermaceae*,

El conocimiento sobre los constituyentes de las plantas se ha expandido de una manera gigantesca en los últimos años, ya que de la misma manera se han perfeccionado las técnicas de aislamiento y microcaracterización de los compuestos. Sin embargo, el número de constituyentes de la infinidad de plantas es tan ilimitado, que éstas no están completamente analizadas, con esto, se hace más difícil la clasificación quimiotaxonomica, ya que al no conocer todos los compuestos de una planta específica no se puede clasificar dentro de una especie que se caracterice por poseer compuestos específicos con características similares.





(11)



(12)

b) CLASIFICACION BASADA EN LA BIOGENESIS

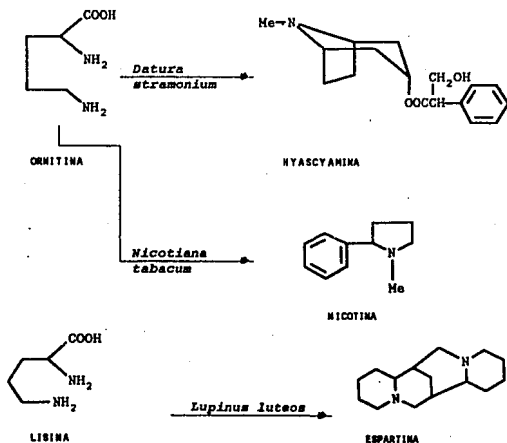
Los constituyentes de todas las plantas y animales son biosintetizados en el organismo por reacciones enzimáticas.

La mayor cantidad de carbono se utiliza para sintetizar glucosa en los organismos autótrofos por medio de la fotosíntesis. Con el descubrimiento de la interrelación catálisis-enzima se llegó a la conclusión de que la transformación de los metabolitos primarios (como los carbohidratos, aminoácidos, ácidos grasos) y los biopolímeros (lípidos, proteínas y ácidos nucleicos) da como producto final a los metabolitos secundarios. Así estableciendo diferentes rutas de síntesis para los distintos metabolitos

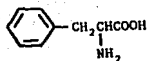
secundarios, basadas en experiencias de laboratorio y en mecanismos teóricos, se ha propuesto un esquema general de biosíntesis de metabolitos secundarios. (ESQUEMA 1)³.

Una de las rutas más importantes es la de Robinson en la cual se propone la biosíntesis de alcaloides por degradación de los aminoácidos (ESQUEMA 2)⁴.

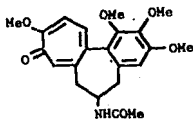
Del ESQUEMA 1 se puede ver la ruta seguida hasta llegar a los aminoácidos y apartir de estos se correlacionan a los restantes alcaloides.



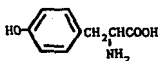
(ESQUEMA 2)



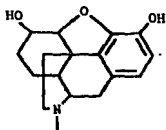
FENILALANINA



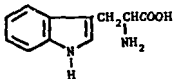
COLCHICINA



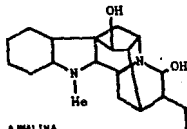
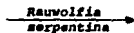
TIROFINA



MORFINA



TRIPTOFANO

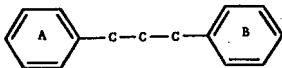


AMALINA

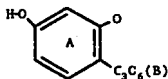
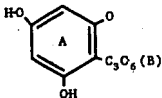
COMPUESTOS FLAVONOIDES

Los flavonoides son compuestos C₁₅ formados de dos núcleos fenólicos (anillos A y B) conectados por una unión de tres carbonos. (Fig a). En el anillo A es característico el patrón de hidroxilación, de manera análoga al floroglucinol o resorcinol (Fig b) y en el anillo B (Fig c), sustituciones hidroxiladas en: 4; 3,4; 6 3,4,5.³

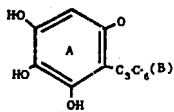
Otra hidroxilación conocida, puede ser usualmente una superposición sobre el ejemplo básico descrito.



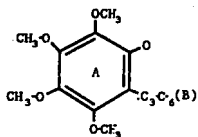
(Fig a. ESTRUCTURA FUNDAMENTAL DE LOS FLAVONOIDES)



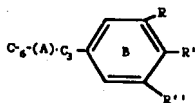
SUSTITUCION CARACTERISTICA FLOROGLUCINOL RESORSINOL



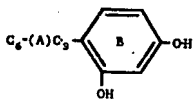
MAS HIDROXILADO



(Fig. b)

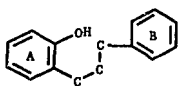


R = R'' = H, R' = OH
 R = H, R' = R'' = OH
 R = R' = R'' = OH
 (TAMBIEN R = R' = R'' = H)

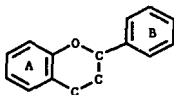


(Fig. c)

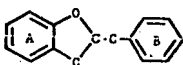
Por otro lado los tres carbonos suelen presentarse comúnmente en alguna de cuatro formas de conectividad diferentes (Fig d)³.



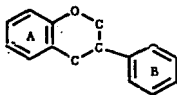
CHALCONAS Y
DIHIDROCHALCONAS



FLAVONAS, CATEQUINAS,
ANTOCIANINAS, ETC.



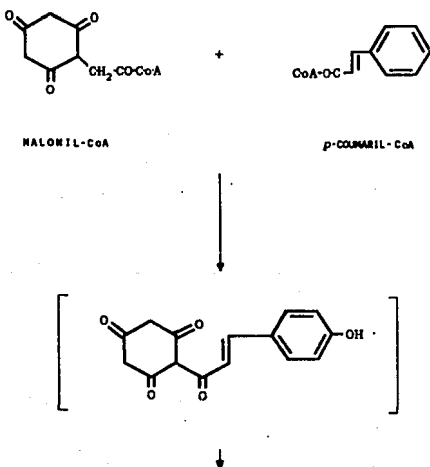
AURONAS



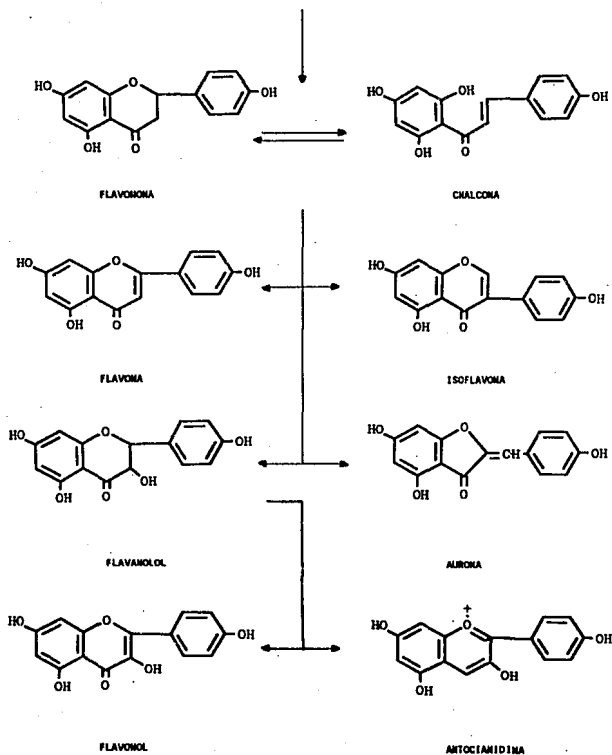
ISOFLAVONAS

(Fig. d)

La biogénesis de los flavonoides proviene en su parte final de un derivado de malonato (C6) unido a un derivado (C6-C3) de ácido sikímico fenilpropanoide, originándose de manera inicial las chalconas y después por diferentes acciones enzimáticas se van formando los diferentes tipos de flavonoides, como se muestra en el siguiente (ESQUEMA 3)⁵.



(ESQUEMA 3)



(ESQUEMA 3)

COMPUESTOS TERPENOIDES

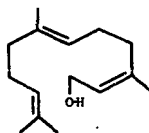
Los compuestos terpenoides están relacionados por un origen y estructura común. Estos suelen estar formados por unidades múltiples de cinco carbonos, (C_{10} , C_{15} , C_{20} , C_{30} , etc.) esta unidad en un inicio se consideró como un esqueleto de isopentilo, pero como resultado de múltiples estudios se encontró isopreno como producto final de la pirólisis de muchos de ellos. De un análisis de enlaces se tomó por definición que los terpenos son productos de la unión de 2 ó mas unidades de isopreno: Por esta razón, los compuestos terpenoides son referidos como compuestos isoprenoides (13-18)³.



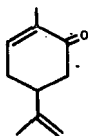
(13) ISOPRENO



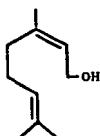
(14) MIRACENO



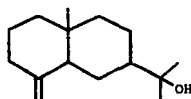
(15) FARNESOL



(16) CARYONA



(17) GERANIOL

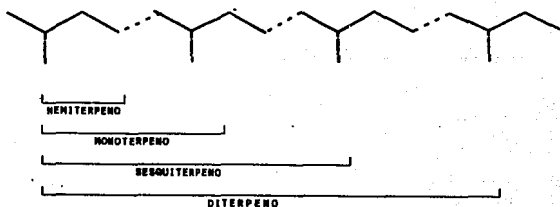


(18) ELDEENOL

Así en consecuencia los terpenos suelen ser clasificados de acuerdo al número de unidades de isopreno que los constituyen (Tabla 1 y Fig. e)³.

Tabla 1.- CLASIFICACION DE LOS TERPENOS

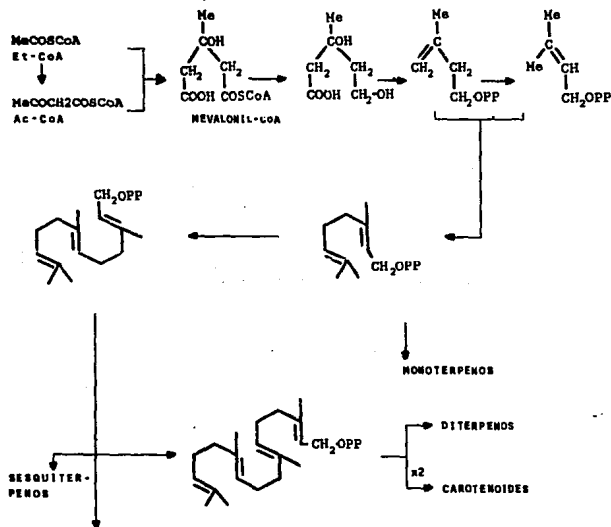
NOMBRE	UNIDAD DE ISOPRENO	No. de C.
HEMITERPENOS	1	5
MONOTERPENOS	2	10
SESQUITERPENOS	3	15
DITERPENOS	4	20
SESTERPENOS	5	25
TRITERPENOS	6	30
TETRATERPENOS	8	40
POLITERPENOS	n	n * 5

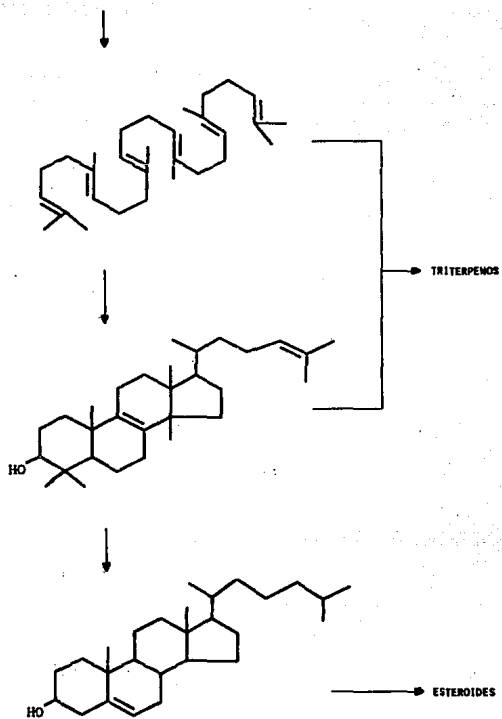


(Fig. e)

BIOSÍNTESIS DEL ISOPRENO

Una de las rutas más importantes de los productos naturales es la biosíntesis del isopreno de la cual se biosintetizan los diferentes terpenos a partir de la fase final del ácido malónico (Esquema 1) hasta llegar a los esteroides como se muestra en el (Esquema 4) ⁴.





(ESQUEMA 4)

PARTE EXPERIMENTAL

PARTE EXPERIMENTAL

La pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones se determinó por medio de cromatoplasas de gel de sílice F_{254} y eluidas con diferentes gradientes de polaridad (AcOEt / *n*-hexano). La separación de los productos se realizó por cromatografía en columna con gel de sílice tamaño de partícula de 0.2-0.5 mm. (35-70 mallas), utilizando un gradiente del sistema de *n*-hexano/AcOEt como eluyente.

Los espectros de infrarrojo se determinaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo 283 y en un Nicolet modelo Ft-5SK, utilizando la técnica de película o disolución clorofórmica. Los espectros de masas se obtuvieron en espectrómetro de masas SHIMADZU GCMS-QP2000A.

Los espectros de RMN- H^1 se determinaron en un espectrómetro FT-300, a 300 Mhz utilizando $CDCl_3$ como disolvente, los desplazamientos químicos están dados en ppm referidos al tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

Para indicar los patrones de acoplamiento se usan las siguientes abreviaturas: s = señal simple, d = señal doble, t = señal triple, q = señal cuádruple, sa = señal simple ancha, dd = señal doble doble, ddd = señal doble de doble de doble, mnc = señal múltiple compleja, s/sp = señal sobrepuesta con. Las constantes de acoplamiento (J) están dadas en Hertz.

La planta *Gymnosperma glutinosum* se colectó el 31 de agosto de 1990, en San Juan de Guadalupe. Durango, México. Tiene una pequeña flor amarilla y causa irritación cutánea al contacto cuando está fresca, una muestra de este espécimen fue depositado en el Herbario Nacional del Instituto de Biología

Las raíces secas, así como la parte aérea (tallos, hojas y flores) fueron finamente molidas obteniéndose 400g de la raíz y 4 Kg de la parte aérea, en primer lugar se percolaron con 2 lt de *n*-hexano, cada uno por separado, posteriormente se realizó una segunda percolación con acetato de etilo (2 lt) para obtener los componentes polares. Estos extractos, posteriormente se concentraron a presión reducida. Del extracto hexánico de la parte aérea se obtuvieron 16 g de concentrado, los cuales se eluyeron sobre dos columnas de gel de sílice, (10:90 *n*-hexano/AcOEt). obteniéndose 800 mg de un producto que posteriormente se purificó por medio de placas preparativas, (Me₂CO/*n*-hexano 2:8 eluido 3 veces) obteniéndose así 480 mg, de producto puro (1): pasta amarillo-verde; C₂₀ H₃₅ O₃; C 74.07%, H 11.11%, O 14.81%; [α] = - 0.020 (MeOH, C=1); RMN-H¹ (210 Mhz, CDCl₃/TMS), δ ppm: H-5 1.07 dd, H-7 5.40 sa, H-14 3.50 ta, 2H-15 3.79 ma, Me-16 1.17 s, Me-17 1.70 d, Me-18 0.86 s, Me-19 0.82 s; Me-20 0.75 s; RMN-C¹³ (75 Mhz, CDCl₃/TMS) Se utilizó para corroborar el tipo de carbono que tiene la estructura sugerida TABLA 2; EIMS 70 ev (ESQUEMA No 6).

OXIDACION DE 1 CON AMCPB (2).- Una disolución de 65 mg de 1, en 20 ml de CHCl_3 , a la cual se le adicionaron 35 mg de AMCPB, se sometió a agitación magnética a temperatura ambiente . El curso de la reacción (4 hrs) se siguió por ccf, (*n*-hexano/ Me_2CO 8:2; $\text{SiO}_2/\text{CeSO}_4$, eluida 6 veces); terminada la reacción se le agregaron otros 20 ml de CHCl_3 , en seguida se neutralizó el residuo de ácido (10 ml NaHCO_3 5% x 5), después se lavó (10 ml de H_2O destilada 3) hasta obtener una solución con un pH aproximado de siete, se separó la fase orgánica de la acuosa y se secó (Na_2SO_4 anh); se filtró en un embudo preparado con una cama de celita. Finalmente al filtrado se le evaporó el disolvente a temperatura ambiente, obteniéndose 60 mg de un sólido amarillo para un rendimiento del 88.85%; $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_4$; C 71.0% H 10.0% O 18.93%; IR $\lambda\text{ cm}^{-1}$ CHCl_3 (película): 3500 (OH), 1710 (C=O), 900 (C-O-C); RMN- H^1 (210 Mhz, CDCl_3/TMS), δ ppm: H-C-O 9.4 s, H-O 3.5 sa, H-7 3.0 dd/sp, 2H-12 2.1 dd, H-14 3.78 m, Me-16 1.24 s, Me-17 1.36 s, Me-18 0.86 s, Me-19 0.84 s y H-20 0.76 s; EIMS 70 ev (ESQUEMA 7).

ACETONIDOS de 1.- A una disolución de 50 mg de 1, en 5 ml de Me_2CO , se le agregó una gota de H_2SO_4 concentrado, ésta, se agitó magnéticamente en presencia de 50 mg de CuSO_4 a temperatura ambiente, el desarrollo de la reacción se siguió mediante ccf (*n*-hexano/ Me_2CO 8:2, eluida 3 veces), hasta el término de la misma, aproximadamente en una hora; posteriormente se neutralizó con una disolución de NaHCO_3 al 5% (10 ml x 3) a continuación se hizo una extracción con 20 ml de AcOEt, secando la fase orgánica con Na_2SO_4 anhidro, esta última se filtró sobre una cama de celita, y se dejó concentrar a temperatura ambiente. De la mezcla de reacción se separaron dos productos de una placa preparativa (al revelado con CeSO_4) (MeCO_2 /*n*-hexano 2:8 eluido 3 veces) obteniéndose así 20 y 30 mg de los correspondientes productos de reacción, a los cuales, les corresponde un rendimiento del 36% y 54% respectivamente, aceites de color amarillo. $\text{C}_{23}\text{H}_{40}\text{O}_3$ C 75.84% H 12.34% O 14.81%; IR $\lambda\text{ cm}^{-1}$ CHCl_3 (Película) 3500 (OH), 850 (acetónido).

3a: RMN- H^1 (210 Mhz, CDCl_3/TMS), δ ppm: H-14 3.98 s; H-15 3.87 s; H-16 1.25 s; H-17 -1.70-d; H-18 0.87 s; H-19 0.84 s; H-20 0.75 s; RMN C^{13} (75 Mhz, CDCl_3/TMS) TABLA 3; EIMS 70 ev (ESQUEMA 8).

3b: RMN- H^1 (210 Mhz, CDCl_3/TMS), δ ppm: H-14 3.98 s; 2H-15 3.80 mc y 3.70 mc; H-16 1.25 s; H-17 -1.70- d, H-18 0.87 s; H-19 0.84 s; H-20 0.78 s. RMN C^{13} (75 Mhz, CDCl_3/TMS) TABLA 4.

ACETILACION DE 1 CON ANHIDRIDO ACETICO (4).-A una disolución de 90 mg de 1 en 3 ml de Py anh. se le adicionaron 3 ml de Ac_2O , la mezcla se sometió a reflujo con agitación magnética constante. El transcurso (10 hr) de la reacción se siguió mediante ccf (*n*-hexano/ Me_2CO 8:2 aliada tres veces). Posteriormente se agregaron respectivamente 20 ml de $AcOEt$ y 10 ml, de una disolución de $NaHCO_3$ al 5%, a continuación la fase orgánica se trató con disolución de $CuSO_4$ al 10%; concluida esta etapa la fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anh., la mezcla remanente se filtró en un embudo con cama de celita, dejándose evaporar el disolvente a temperatura ambiente, para posteriormente purificarlo por medio de una placa preparativa, obteniendo con ésto un producto triacetilado: aceite de color amarillo-naranja, 85 % de rendimiento. $C_{26}H_{42}O_6$: C 69.3% H 9.3% O 21.3%; RMN- H^1 (210 Mhz, $CDCl_3/TMS$), δ ppm: H-14 5.47 dd, H-7 5.38 sa H-15 4.44 dd, H'-15 4.14 m, Me-16 1.53 s, Me-17 1.62 s, Me-18 0.86 s, Me-19 0.84 s, Me-20 0.75 s, 3 MeCO 2.08 s, 2.04 s y 2.01 s RMN C^{13} (75 Mhz, $CDCl_3/TMS$) TABLA 5.

DISCUSION

DISCUSION

De la cromatografía en gel de sílice del extracto *n*-hexánico de la parte aérea de *Gymnosperma glutinosus*, eluido con *n*-hexano/AcOEt (10-90), se obtuvo un producto que fue purificado por medio de placas preparativas, (Me₂CO/*n*-hexano 3/7 eluido 3 veces) el cual presenta las siguientes características: pasta amarilla, cuyo análisis elemental es: C₂₀ H₃₅ O₃; C 74.07%, H 11.11%, O 14.81% es congruente para un peso molecular de 324 g/mol, determinado por espectrometría de masas, ya que en su correspondiente espectro se observa un pico *m/z* 324 correspondiente al ión molecular, presentándose además una fragmentación característica al respecto (ESQUEMA 6). En su espectro de RMN-H¹ destaca la presencia de una señal simple ancha en 5.46 ppm que integra para un protón, la cual es característica para un protón vinílico que corresponde a la posición 7, a continuación podemos apreciar en el espectro dos señales, una triple ancha en 3.79 ppm que integra para dos protones y la otra múltiple ancha en 3.54 ppm que integra para un protón las cuales se asignan a las bases oxigenadas que están en las posiciones 15 y 14 respectivamente; aproximadamente en 2.21 y 1.85 ppm se observan señales anchas que intercambian con agua deuterada, por lo tanto se les asigna a los protones de los

oxhidrilos; posteriormente en 1.33 ppm se observa una señal doble que integra para tres protones característica de un metilo vinílico, la cual corresponde al metilo en 17, por último se presentan cuatro señales simples en 1.17, 0.86, 0.79, 0.68 ppm, de las cuales los últimos tres desplazamientos son características para metilos de un compuesto diterpénico con estructura de labdano, perteneciendo a las posiciones 16, 18, 19, 20 respectivamente. Con base en las propiedades físicas así como en las características espectroscópicas del compuesto y por ende por correlación con el diterpeno con estructura de labdano reportado por Bolhmann et al¹, inequívocamente se puede decir que la estructura de la entidad química aislada corresponde al diterpeno 13, 14, 15-Trihidroxilabdano-7-eno estructura que es congruente con los diversos experimentos de RMN-C¹³ presentados en la TABLA No. 2.

De lo anterior cabe resaltar dos puntos de marcada relevancia: 1) El diterpeno aislado por Bolhmann¹ se extrajo de la parte aérea del extracto hexánico de una especimen de género *Hamisonia*, éste. presenta valores de rotación específica $[\alpha]_{24}^{\lambda} = \frac{589 \quad 578 \quad 546 \quad 436 \text{ nm}}{+4.1 \quad +4.2 \quad +4.3 \quad +4.6}$ (CHCl₃; c= 0.1).

2) El metabolito aislado en el presente trabajo, se extrajo de la parte aérea del extracto hexánico de *Gymnosperma glutinosum* presentando un valor de rotación específica

negativo $[\alpha]_D^{25} = \frac{-589}{-0.022}$ (MeOH, c = 1) por lo que podemos proponer tentativamente que el compuesto aislado por nosotros es el enantiómero (ENT) correspondiente del aislado previamente por Bolhmann¹ (del cual se presentan las tablas de RMN¹-H en el APENDICE E); siendo por ende un producto natural nuevo ya que no se encuentra con rotación específica negativa reportado en la literatura

Es necesario mencionar que la estructura del producto natural, se logró establecer no sólo por su espectroscopía y por correlación con el diterpeno de Bolhmann sino también se valió ésta por el apoyo de una serie de transformaciones químicas que a continuación se discuten:

Por un lado se oxidó con AMCPB en CHCl_3 , obteniéndose una pasta amarilla, cuyo análisis elemental, así como su estructura son congruentes al resultado obtenido por espectrometría de masas. (ESQUEMA 7)

En el espectro de RMN¹-H resaltan los siguientes aspectos: en 3.0 ppm hay un señal doble de doble sobrepuesta que integra para un protón la cual pertenece al hidrógeno en 7, que antes de la transformación era vinílico manifestada como señal simple ancha siendo su desplazamiento químico de 5.4 ppm y ahora es base de un epóxido, es de notar la presencia de una señal simple en 1.36 ppm que integra para tres protones y que se le asigna a los hidrógenos del metilo en 17, el cual en el

producto natural era un metilo del tipo vinílico y que se manifestaba como una señal doble centrada en 1.7 ppm. Finalmente de particular interés es la presencia en este producto de oxidación, de una señal en 9.4 ppm que integra para un protón la cual correlacionada con una banda de absorción en 1710 cm^{-1} en su espectro de infrarrojo es indicativo que el producto de tratamiento con AMCPB, es aparte de la formación del anillo de oxirano esperado más la oxidación del alcohol primario a un aldehído (producto 2).

Cuando 1 se trató con disolución de acetona en medio ácido se formaron dos acetónidos, los que se separaron por medio de una placa preparativa, ambas entidades químicas presentan coloración amarilla oscura; su análisis elemental al igual que su peso molecular son congruentes con el fragmento m/z 364 que corresponde al ión molecular de la entidad química en cuestión. En el espectro de Infrarrojo podemos observar una banda en 3500 cm^{-1} característica para un alcohol no asociado y una banda en 850 cm^{-1} que corresponde a la banda para el acetónido desplazada hacia menor longitud de onda con respecto al reportado en la literatura, debido al efecto hipsocrómico del OH.

Para el compuesto 3a podemos observar en su espectro de RMN- ^1H que destaca la presencia de una señal múltiple en 3.98 ppm que integra para un protón y corresponde a la posición

14, en seguida observamos otra señal múltiple en 3.87 ppm que integra para dos protones y pertenece a la posición 15, como se puede ver hay un ligero desplazamiento a campo bajo debido a la tensión provocada por la ciclización de la acetoneización, otras señales importantes son las que aparecen en 1.42 y 1.38 ppm que son señales simples que integran cada una para tres protones y pertenecen a los metilos de la acetoneización, las demás señales permanecen invariables con respecto al espectro de (1).

Para el espectro de RMN-H¹ de 3b, se observa una señal múltiple compleja en 3.95 ppm que integra para un protón y corresponde a la posición 14, en seguida vemos otras señales múltiples complejas en 3.79 y 3.81 ppm que integran cada una para un protón los cuales son asignados para los hidrógenos en 15, haciendo referencia a la observación que se hizo para (3a) en relación a las señal para la posición 14, a continuación podemos ver dos señales simples en 1.42 y 1.38 ppm que integran para tres protones cada una, las cuales pertenecen a los metilos de la acetoneización, y por último observamos en 1.2 ppm una señal simple con una pequeña saliente que integra para un protón y se asigna al hidrógeno del OH en 15, las demás señales no tienen variación significativa con respecto al espectro de (1).

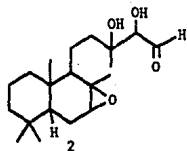
Por último cuando 1 se acetiló con anhídrido acético en piridina, se formó el derivado triacetilado respectivo ya que: Su análisis elemental $C_{25}H_{42}O_6$ concuerda con el peso molecular obtenido por espectrometría de masas M^+/z 450; así mismo en su espectro de RMN- H^1 destaca la ausencia de señales clásicas para protones de oxhidrilos, pudiendo apreciarse en su lugar 3 señales simples en 2.08, 2.04 y 2.01 ppm que integran para tres protones cada una y son asignados a los hidrógenos de los metilos de la acetilación.

CONCLUSIONES

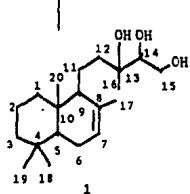
CONCLUSIONES

- 1.- Se describe, el aislamiento de un diterpeno con esqueleto de labdano de *Gymnosperma glutinosum*.
- 2.- El producto natural aislado se caracterizó por métodos espectroscópicos tradicionales y, por correlación con la espectroscopía del producto previamente aislado por F. Bolhmann y colaboradores¹, de una especie del género *Hemizonia*.
- 3.- El metabolito secundario por nosotros aislado tiene una rotación específica contraria a la reportado por Bolhmann, en consecuencia, se sugiere corresponde al producto ENT.
- 4.- En base a los resultados obtenidos resalta que el compuesto aislado es un producto natural nuevo.

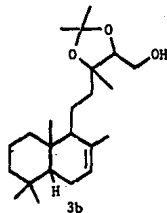
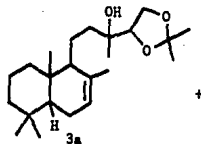
TRANSFORMACIONES QUIMICAS



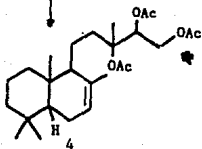
AMCPB/ CHCl_3



$\text{Me}_2\text{CO}/\text{H}^+$



$\text{Ac}_2\text{O}/\text{Py}$



- 1) 13,14,15-TRIHIDROXILABD-7-ENO
- 2) 7,8-EPOXI-13,14-DIHIDROXILABD-15-AL
- 3a) 13-HIDROXI-14,15-ACETONIDOLABD-7-ENO
- 3b) 15-HIDROXI-13,15-ACETONIDOLABD-7-ENO
- 4) 13,14,15-TRIACETIL-OXILABD-7-ENO

ESQUEMA 5.

TABLAS DE RMN-C¹³

Tabla No. 2 .- Señales de RMN C^{13} del 13, 14, 15-trihidroxiabd-7-eno (1) (75 MHz, $CDCl_3/TMS$).

Cd	(ppm)	m	DEPT		
			CH3	CH2	CH
1	39.0	t		CH2	
2	17.0	t		CH2	
3	42.0	t		CH2	
4	33.2	s			
5	50.0	d			CH
6	23.9	t		CH2	
7	122.0	d			CH
8	135.0	s			
9	55.0	d			CH
10	37.0	s			
11					
12					
13	75.0	s			
14	76.2	d			CH
15	63.0	t		CH2	
16	23.9	q	CH3		
17	33.0	q	CH3		
18	22.0	q	CH3		
19	23.0	q	CH3		
20	4.0	q	CH3		

d = ppm, m = multiplicidad en un espectro acoplado, DEPT: metilos, metilenos, y metinos respectivamente

Tabla No. 3 .- Señales de RMN C^{13} del 13-Hidroxi 14, 15-Acetonidolabd-7-eno (3a) (75 Mhz, $CDCl_3/TMS$).

<u>APT</u>			
Cd	(ppm)	m	
1	39.0	t	Par
2	19.0	t	Par
3	42.1	t	Par
4	33.0	s	Par
5	50.1	d	Non
6	24.0	d	Par
7	12.1	d	Non
8	135.0	s	Par
9	55.0	d	Non
10	37.0	s	Par
11			
12			
13	72.0	s	Par
14	81.9	d	Non
15	65.0	t	Par
16	22.1	q	Non
17	33.0	q	Non
18	21.0	q	Non
19	22.0	q	Non
20	5.0	q	Non

La señal en 109.0 ppm se asigna al carbono (s) y las señales en 25.5 y 26.2 ppm a los carbonos (q) del acetonido.

d = ppm, m = multiplicidad en un espectro acoplado,
APT: Carbono Par (CH_2 y C) Carbono Impar (CH_3 y CH)

Tabla No. 4 .- Señales de RMN C¹³ del 15-Hidroxi 13, 14-Acetonidolabdo-7-eno (3b) (75 Mhz, CCl₄/TMS).

				<u>APT</u>
Cd	(ppm)	m		
1	39.0	t		Par
2	19.0	t		Par
3	42.0	t		Par
4	33.2	s		Par
5	50.1	d		Non
6	23.9	d		Par
7	122.1	d		Non
8	135.0	s		Par
9	55.0	d		Non
10	37.0	s		Par
11				
12				
13	81.0	s		Par
14	84.9	d		Non
15	61.8	t		Par
16	22.5	q		Non
17	33.0	q		Non
18	19.8	q		Non
19	21.0	q		Non
20	5.0	q		Non

La señal en 109.0 ppm se asigna al carbono (s) y las señales en 27.0 y 28.2 ppm a los carbonos (q) del acetónido.

d = ppm, m = multiplicidad en un espectro acoplado,
APT: Carbono Par (CH₂ y C) Carbono Impar (CH₃ y CH)

Tabla No. 5 .- Señales de RMN C¹³ del 13, 14, 15-
triacetil-oxilabd-7-eno (4) (75 Mhz, CCl₄/TMS).

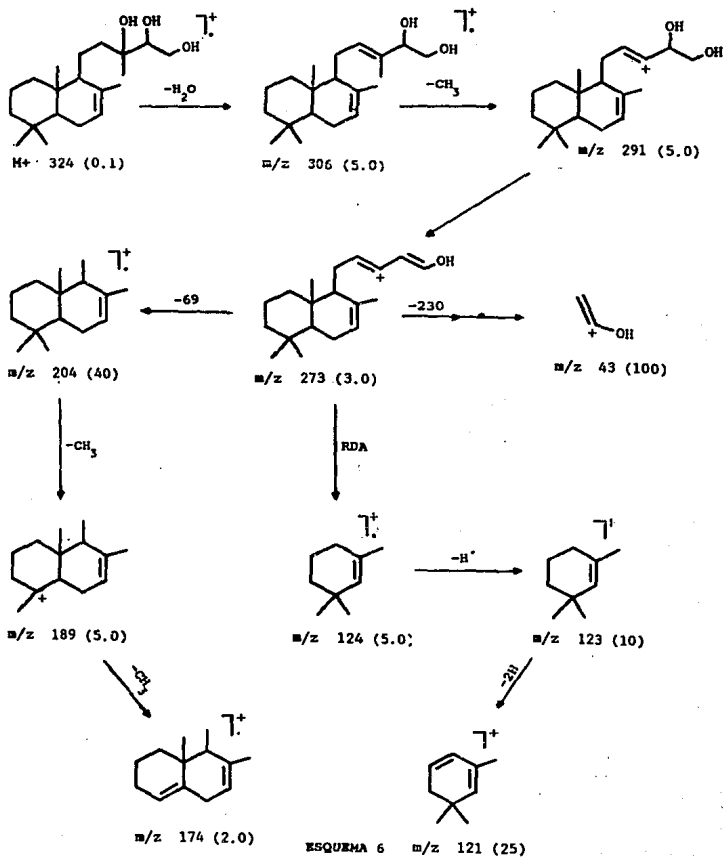
			<u>APT</u>
Cd	(ppm)	m	
1	39.0	t	Par
2	18.0	t	Par
3	42.0	t	Par
4	33.0	s	Par
5	50.0	d	Non
6	24.0	d	Par
7	122.2	d	Non
8	135.0	s	Par
9	55.0	d	Non
10	37.0	s	Par
11			
12			
13	83.9	s	Par
14	72.1	d	Non
15	63.1	t	Par
16	22.3	q	Non
17	33.0	q	Non
18	18.0	q	Non
19	21.5	q	Non
20	13.0	q	Non

La señales en 20, 20.5 y 21 ppm se asigna a los carbonos (q) y las señales en 169.8, 169.9 y 170.5 ppm se asigna a los carbonos (s) de las acetilaciones.

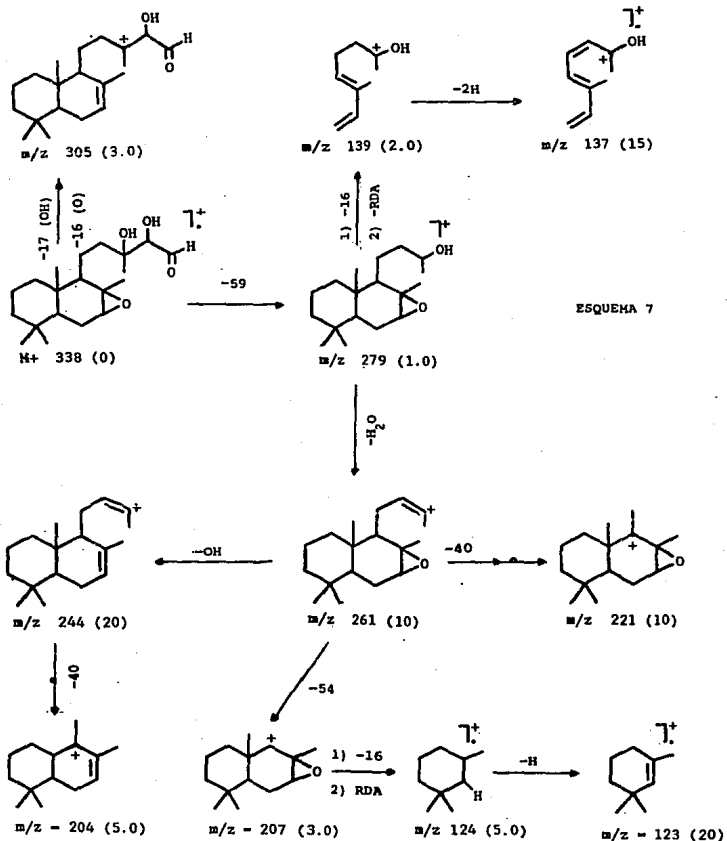
d = ppm, m = multiplicidad en un espectro acoplado,
APT: Carbono Par (CH₂ y C) Carbono Impar (CH₃ y CH)

PATRONES DE FRAGMENTACION DE LOS PRODUCTOS

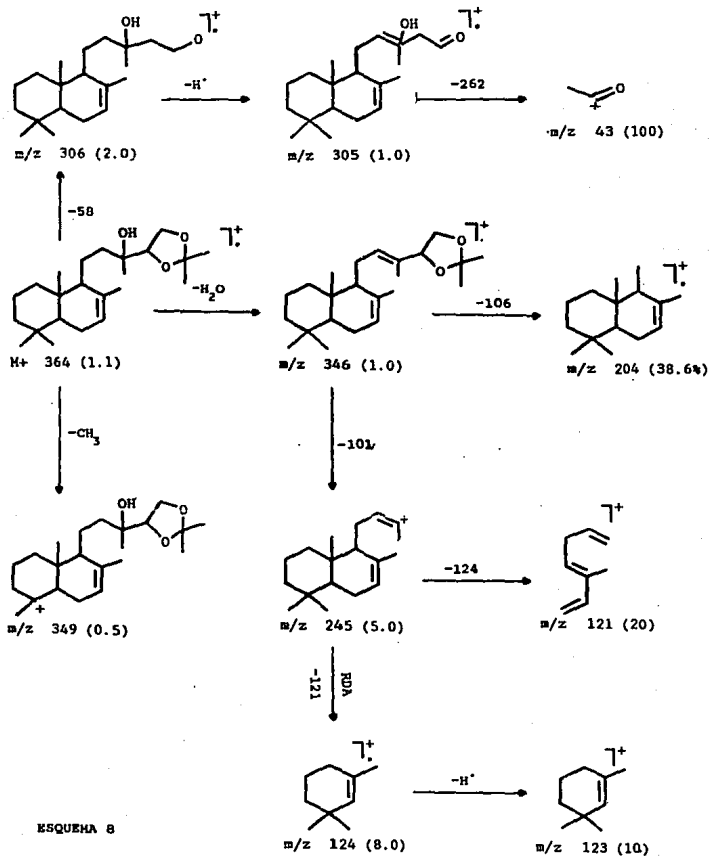
FRAGMENTACION DEL 13,14,15-TRIHIDROKILABD-7-ENO (1)



FRAGMENTACION DEL 7,8-EPOXI-13,14-DIHIIDROXILABD-15-AL (2)

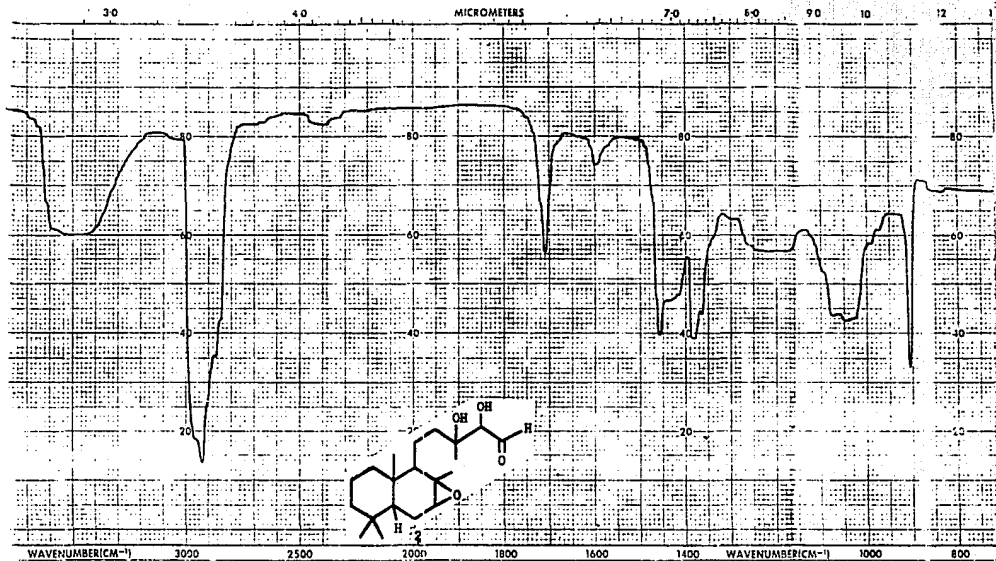


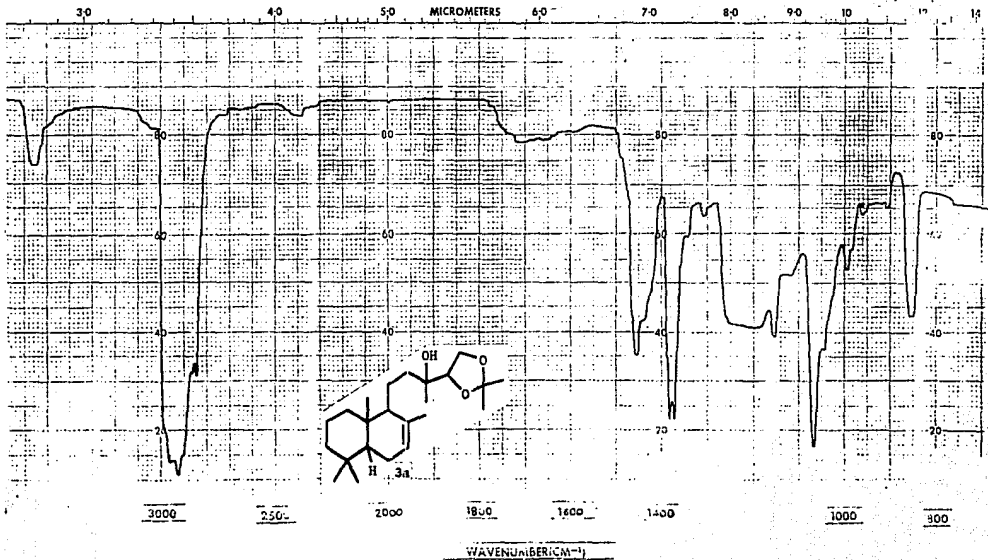
FRAGMENTACION DEL 13-HIDROXI-14,15-ACETONIDOLABD-7-ENO (3m)



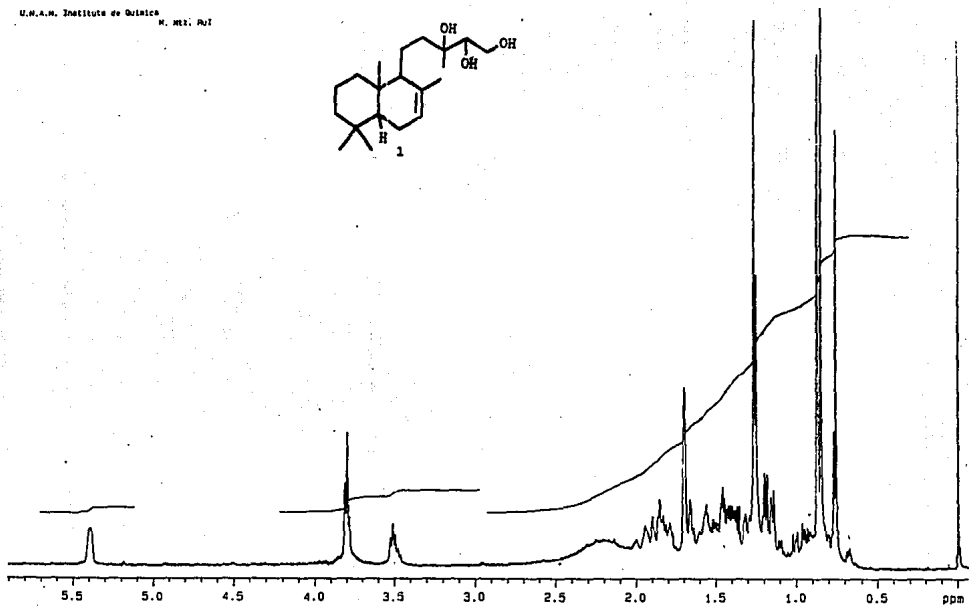
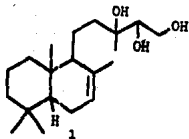
ESQUEMA 8

APENDICE A (ESPECTROS DE IR)

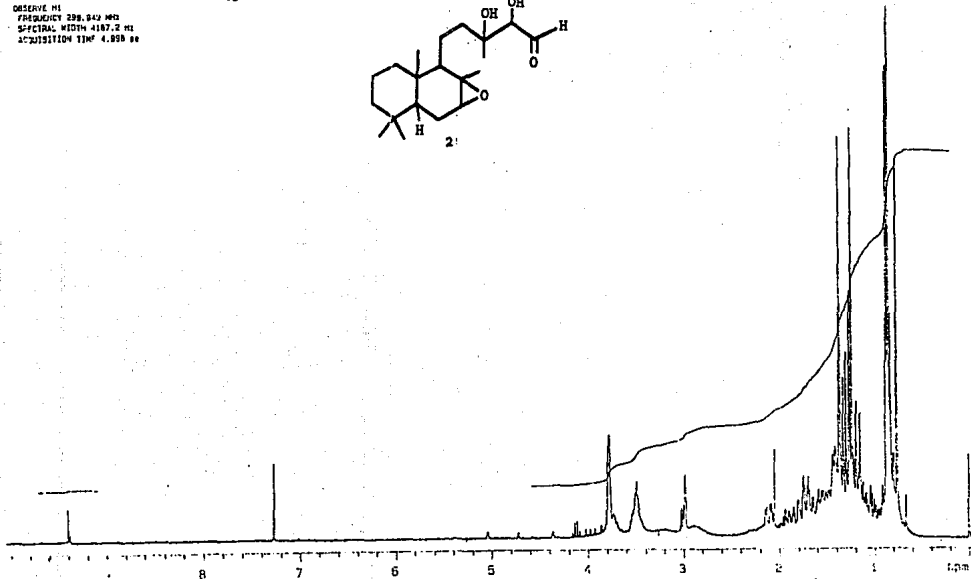
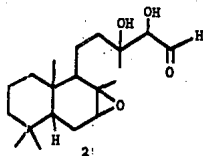




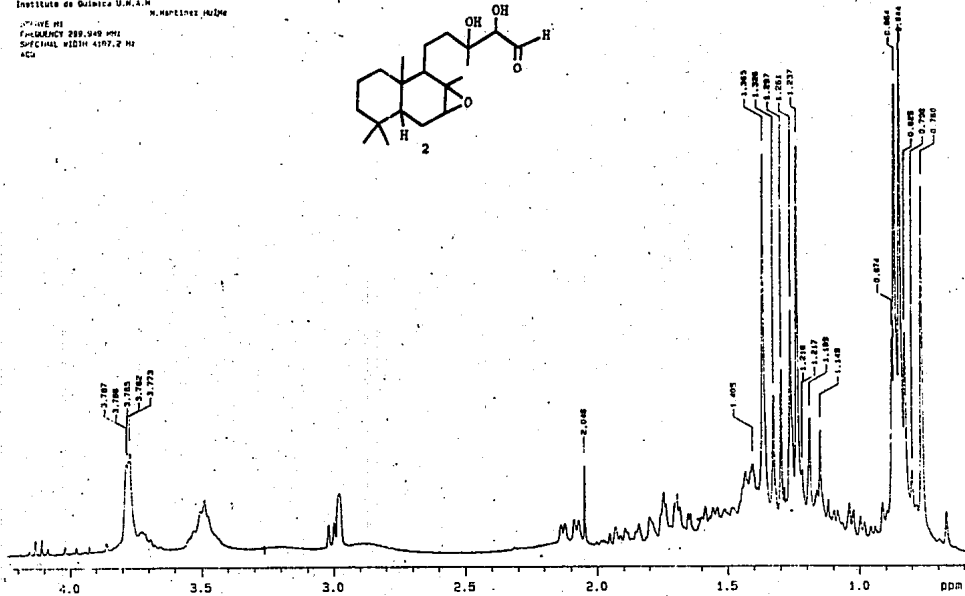
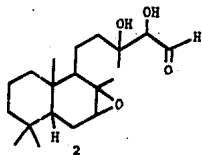
APENDICE B (ESPECTROS DE RMN- ^1H)



Instituto de Química U.N.A.M.
M. Martínez Pulido
OBSERVE H1
FREQUENCY 299.949 MHz
SPECTRAL WIDTH 4167.2 Hz
ACQUISITION TIME 4.858 sec



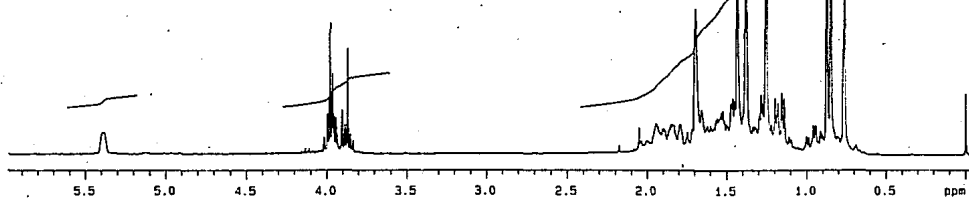
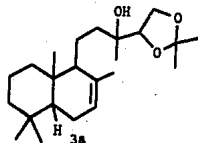
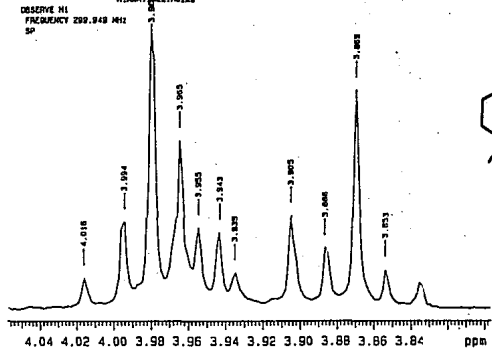
Instituto de Química U.N.A.M.
M. MARTINEZ HUÍDE
70°-45E MS
FREQÜENCY 200.940 MHz
SPECTRAL WIDTH 4107.2 Hz
ACQ



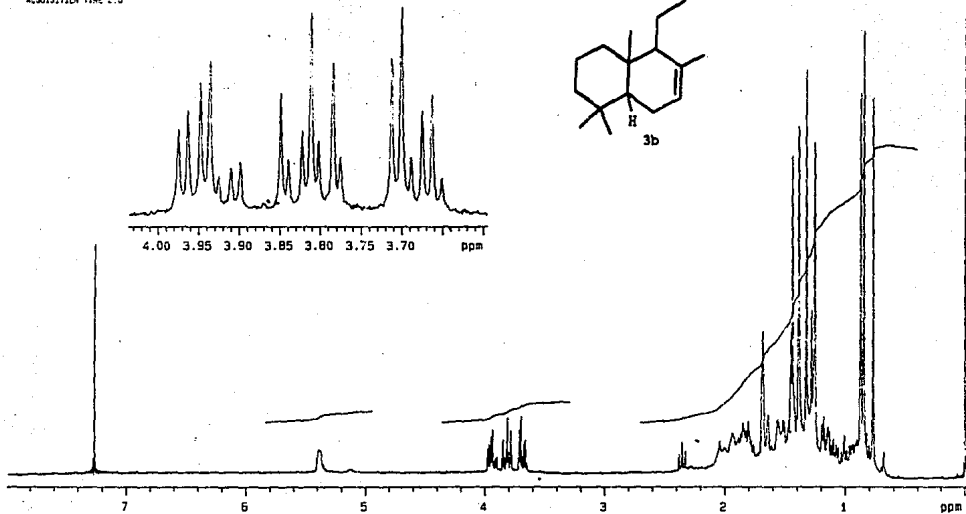
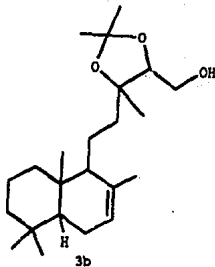
I. DE QUIMICA U.N.A.M

M. MARTINEZ-RUIZ

DESERVE M1
FREQUENCY 200.948 MHz
5P



INSTITUTO DE QUÍMICA U.S.G.A.M.
RIJAC
COSYME H1
FREQUENCY 230 J-1 MHz
SPECTRAL WIDTH 404.3 Hz
ACQUISITION TIME 2.0

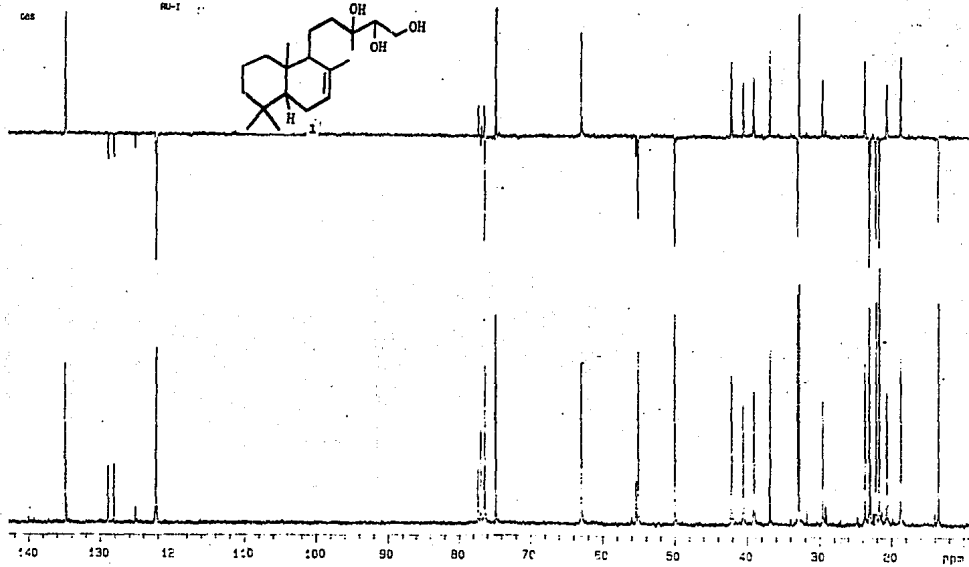
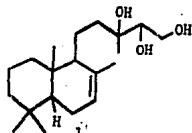


APENDICE C (ESPECTROS DE RMN-C¹³)

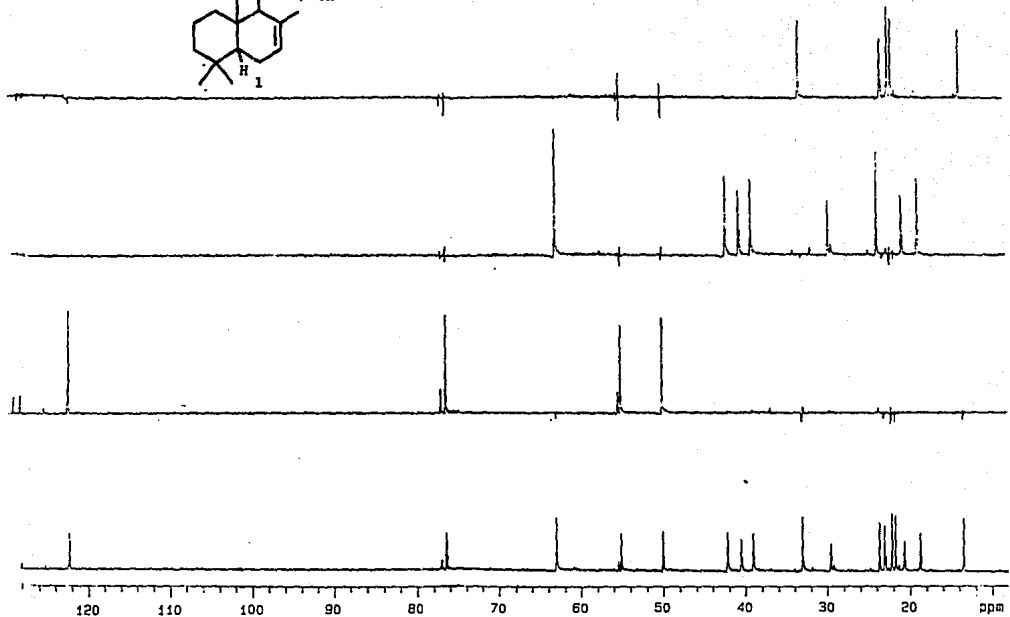
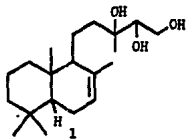
U.N.A.A. Instituto de Químico

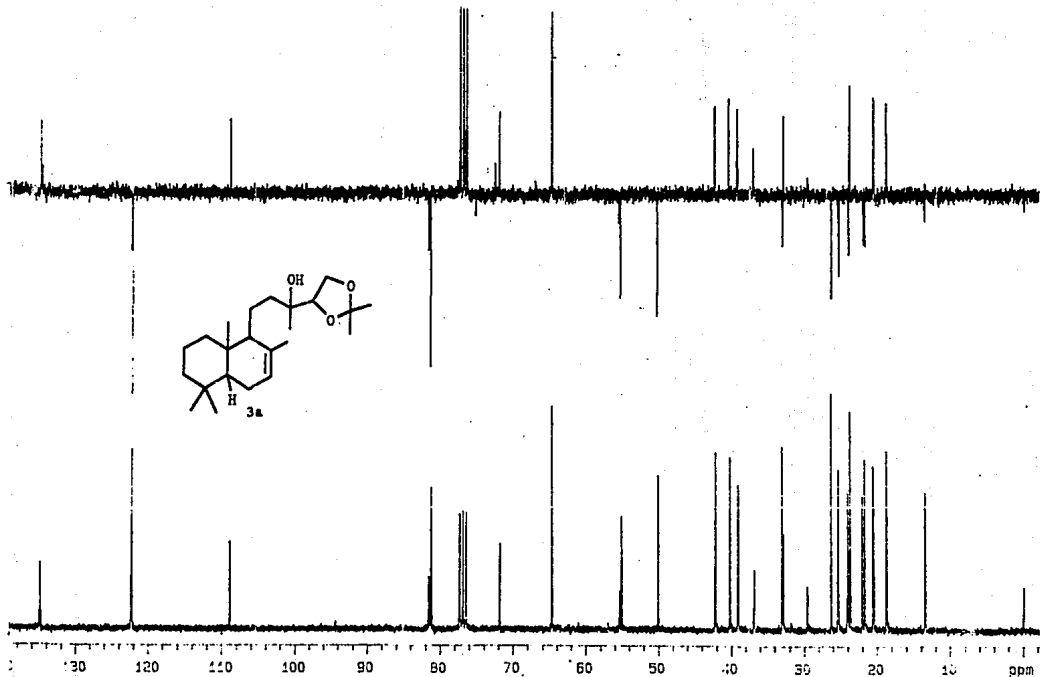
008

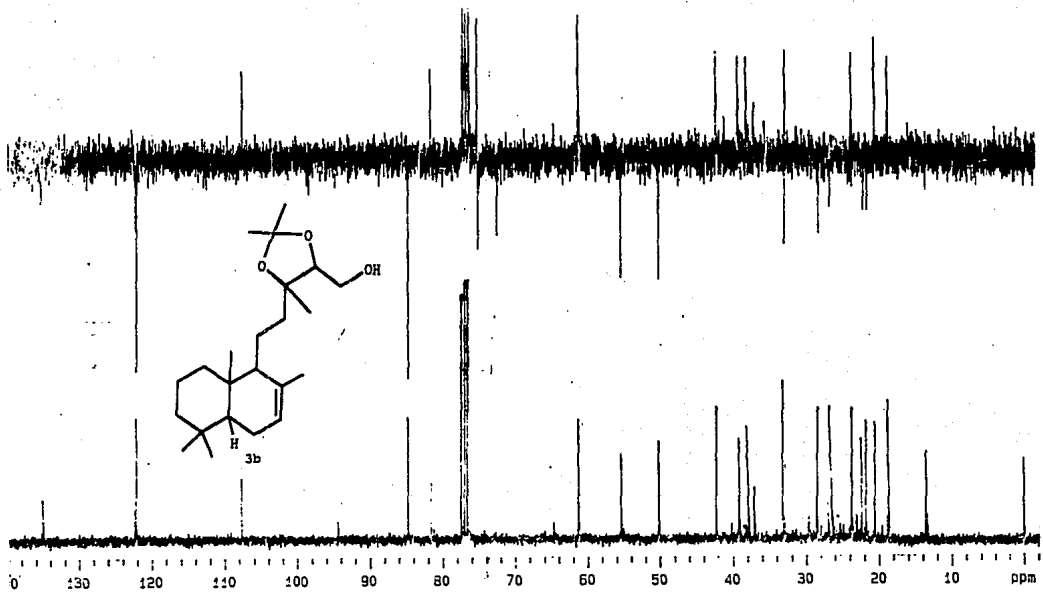
RU-I

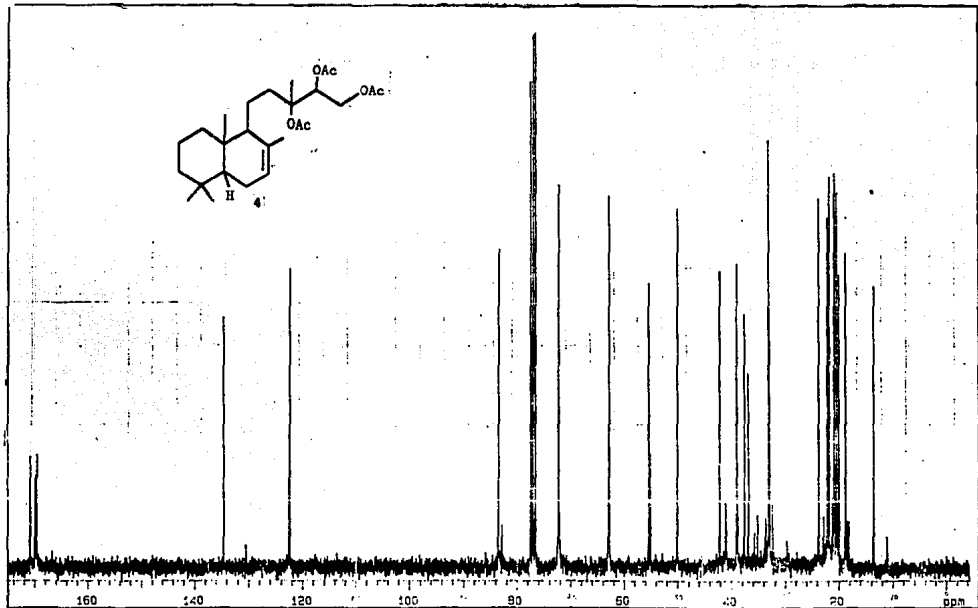
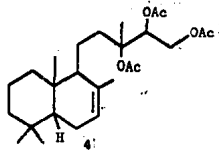


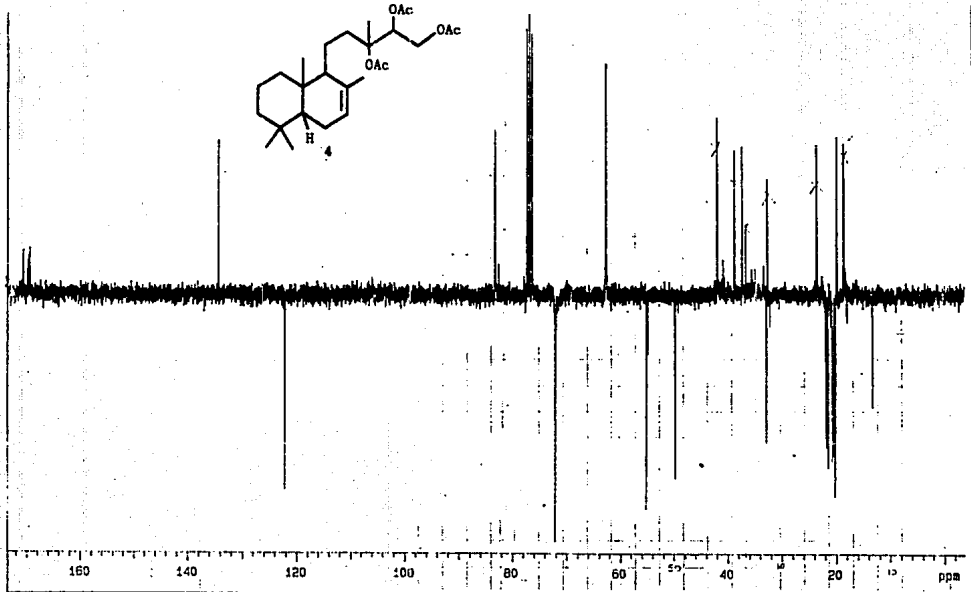
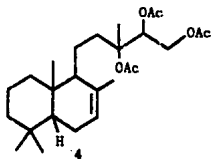
de Quince
RU-2



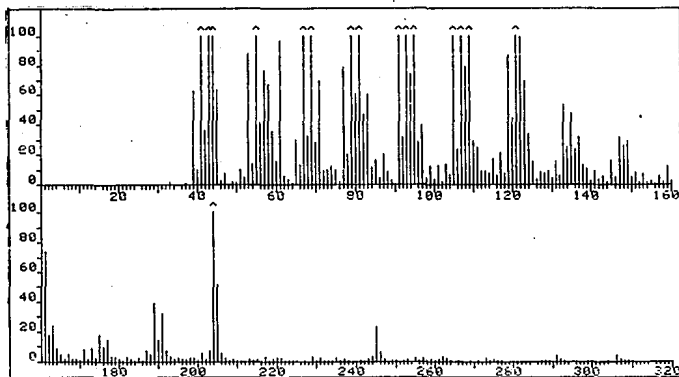
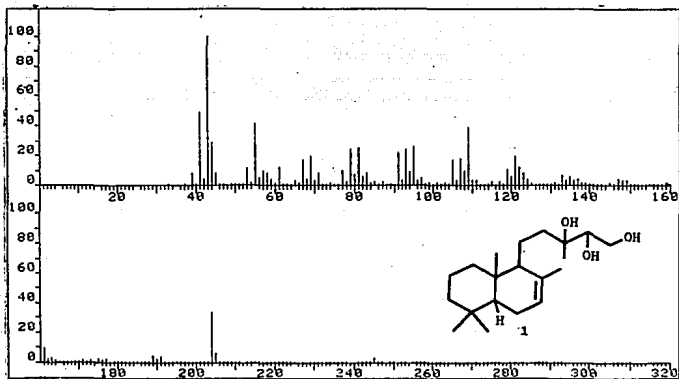


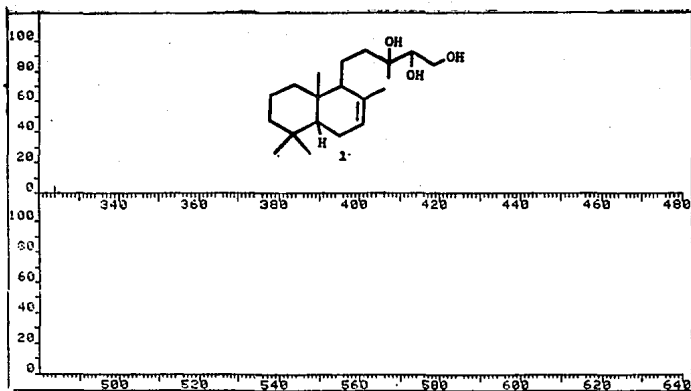
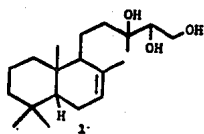


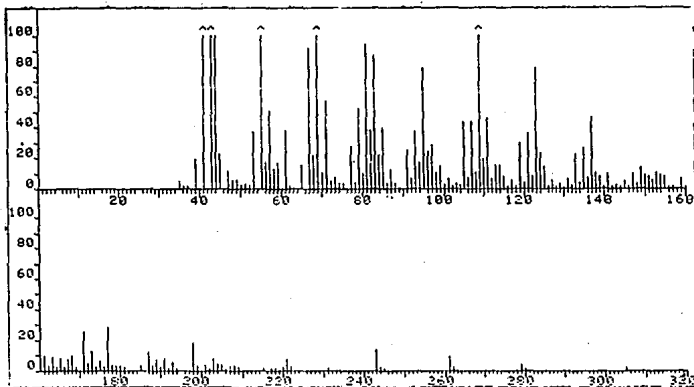
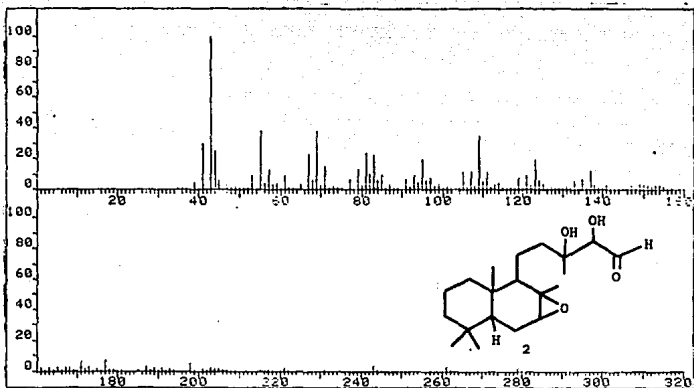


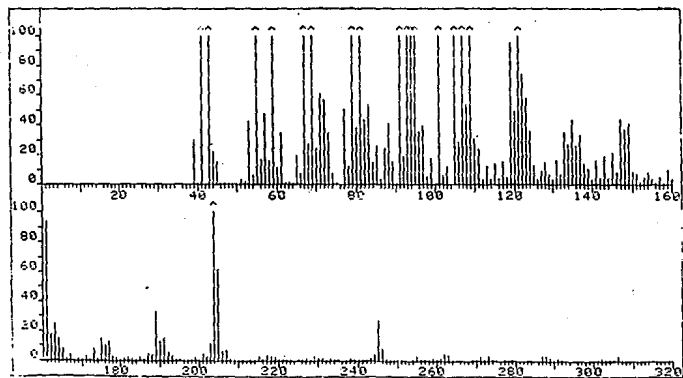
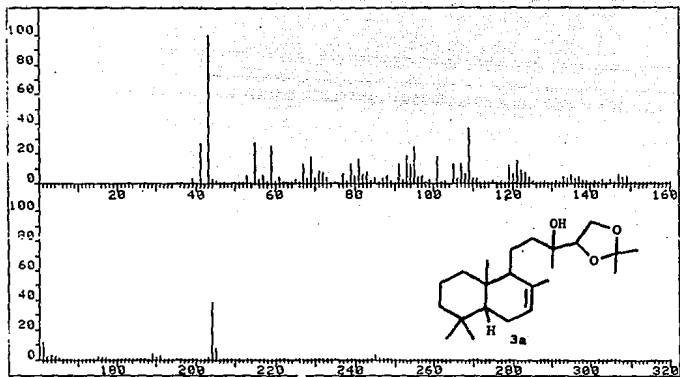


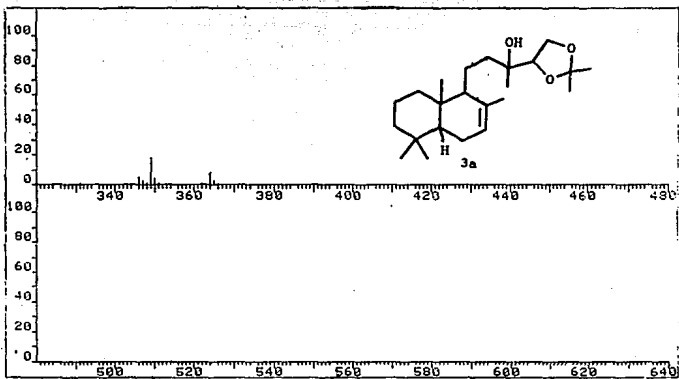
APENDICE D (ESPECTROS DE EIMS)











APENDICE E (TABLAS DE RMN-H¹ REPORTADAS POR F. BOLHMANN et al)

Table 2. ¹H NMR spectral data of compounds 2-8 (CDCl₃, 400 MHz, TMS as int. standard)

	1							
	(CDCl ₃)	(C ₆ D ₆)						
H-5	1.08 <i>dd</i>	1.04 <i>dd</i>	1.07 <i>dd</i>	1.08 <i>dd</i>	1.08 <i>dd</i>	1.08 <i>dd</i>	1.13 <i>dd</i>	1.07 <i>dd</i>
H-6α		1.69 <i>br d</i>						
H-6β		1.34 <i>dddd</i>						
H-7α	1.96 <i>ddd</i>	2.02 <i>ddd</i>	1.96 <i>ddd</i>	1.96 <i>ddd</i>	1.96 <i>ddd</i>	1.96 <i>ddd</i>	1.82 <i>br d</i>	1.95 <i>ddd</i>
H-7β	2.37 <i>ddd</i>	2.45 <i>ddd</i>	2.38 <i>ddd</i>	2.37 <i>ddd</i>	2.37 <i>ddd</i>	2.38 <i>ddd</i>	2.49 <i>ddd</i>	2.38 <i>ddd</i>
H-9		1.73 <i>m</i>						1.77 <i>m</i>
H-13		1.58 <i>m</i>	—					
H-14	3.66 <i>m</i>	3.49 <i>m</i>		3.63 <i>ddd</i>	3.68 <i>brd</i>	4.74 <i>ddd</i>	5.13 <i>dd</i>	2.97 <i>dd</i>
H-15}	3.46 <i>m</i> }	3.34 <i>m</i> }	3.75 <i>m</i> }	4.19 <i>dd</i>	4.27 <i>dd</i>	3.74 <i>dd</i>	4.53 <i>dd</i>	3.80 <i>dd</i>
H-15'				4.00 <i>dd</i>	4.02 <i>dd</i>	3.67 <i>dd</i>	4.15 <i>dd</i>	3.60 <i>dd</i>
H-16	0.89 <i>d</i>	0.88 <i>d</i>	1.17 <i>s</i>	0.94 <i>d</i>	1.16 <i>s</i>	0.93 <i>d</i>	1.29 <i>s</i>	1.30 <i>s</i>
H-17	4.80 <i>br s</i>	5.03 <i>br s</i>	4.82 <i>br s</i>	4.81 <i>br s</i>	4.81 <i>br s</i>	4.80 <i>br s</i>	4.80 <i>br s</i>	4.83 <i>br s</i>
H-17'	4.49 <i>br s</i>	4.76 <i>br s</i>	4.53 <i>br s</i>	4.49 <i>br s</i>	4.51 <i>br s</i>	4.50 <i>br s</i>	4.48 <i>br s</i>	4.50 <i>br s</i>
H-18	0.86 <i>s</i>	0.92 <i>s</i>	0.86 <i>s</i>	0.86 <i>s</i>	0.86 <i>s</i>	0.86 <i>s</i>	0.92 <i>s</i>	0.86 <i>s</i>
H-19	0.79 <i>s</i>	0.87 <i>s</i>	0.79 <i>s</i>	0.79 <i>s</i>	0.79 <i>s</i>	0.79 <i>s</i>	0.85 <i>s</i>	0.79 <i>s</i>
H-20	0.66 <i>s</i>	0.81 <i>s</i>	0.68 <i>s</i>	0.66 <i>s</i>	0.68 <i>s</i>	0.66 <i>s</i>	0.74 <i>s</i>	0.67 <i>s</i>
OAc	—	—	—	2.10 <i>s</i>	2.10 <i>s</i>	2.10 <i>s</i>	2.18 <i>s</i>	—

J (Hz): 5,6α = 2.3; 5,6β = 12.5; 6α,6β = 13; 6α,7α = 2.5; 6α,7β = 12.5; 6β,7α = 12.5; 6β,7β = 4.5; 7α,7β = 12.5; 13,14 = 6.5; 13,16 = 6.5; 14,15 = 2.7; 14,15' = 8; 15,15' = 11 (compound 8: 14,15 = 4; 14,15' = 6.8; 15,15' = 12).

*OCOEt: 2.37 *q*, 1.18 *t* (*J* = 7.5).

Bohlmann, F., Jakupovic, J., Aumed, M., Wallmeyer, M., Robinson, H. and King, R.M. *Phytochemistry*, 20, (1981), 2383.

Table 1. ¹H NMR spectral data of compounds 12-14 and 16-19 (400 MHz, CDCl₃, TMS as int. standard)

1	3a		3b				
H-14	3.54(<i>br</i>)	3.54(<i>br</i>)	3.52(<i>br</i>)	—	3.96 <i>m</i>	3.95	4.10 <i>d</i>
H-15	3.77(<i>br</i>)	3.78(<i>br</i>)	3.76(<i>br</i>)	—	3.81 <i>m</i>	3.77 <i>dd</i>	9.71 <i>d</i>
H-16	1.18 <i>s</i>	1.21 <i>s</i>	1.17 <i>s</i>	2.13 <i>s</i>	1.08 <i>s</i>	3.64 <i>dd</i>	1.15 <i>s</i>
H-17	1.68(<i>br</i>)	1.57 <i>s</i>	4.83(<i>br</i>)	1.34 <i>s</i>	4.83(<i>br</i>)	1.08 <i>s</i>	4.83(<i>br</i>)
H-18	0.86 <i>s</i>	0.87 <i>s</i>	4.52(<i>br</i>)	0.86 <i>s</i>	4.54(<i>br</i>)	4.53(<i>br</i>)	4.56(<i>br</i>)
H-19	0.84 <i>s</i>	0.82 <i>s</i>	0.67 <i>s</i>	0.81 <i>s</i>	0.87 <i>s</i>	0.87 <i>s</i>	0.86 <i>s</i>
H-20	0.75 <i>s</i>	0.94 <i>s</i>	0.67 <i>s</i>	0.92 <i>s</i>	0.81 <i>s</i>	0.80 <i>s</i>	0.79 <i>s</i>
					0.70 <i>s</i>	0.69 <i>s</i>	0.68 <i>s</i>

*H-8 5.38 (*br*).

¹H-12 2.48 (3H, *dd*, *J* = 9.8 Hz); H-11 2.29 (*dt*, *J* = 14.8 Hz); H-12' 2.15 (*dt*, *J* = 14.9 Hz); H-7 1.93 (*dd*, *J* = 17 Hz); H-7' 3.00 (*ddd*, *J* = 17, 11.5 Hz).

‡Acetonide 1.45s, 1.36s.

†Acetonide 1.43s, 1.37s.

§Acetonide 1.54s, 1.47s.

J (Hz): Compounds 12-14: 14, 15 = 4; compound 17: 14, 15 = 8; 14, 15 = 4; 15, 15' = 12; compound 19: 14, 15 = 2.

Bohlmann, F., Jakupovic, J., Robinson, H. and King, R.M. *Phytochemistry*, 21, (1982), 1103.

REFERENCIAS

REFERENCIAS:

- 1.- Bohlmann, F., Jakupovic, J., Aumed, M., Wallmeyer, M., Robinson, H. and King, R.M. *Phytochemistry*, 20, (1981), 2383.
- 2.- Bohlmann, F., Jakupovic, J., Robinson, H. and King, R.M. *Phytochemistry*, 21, (1982), 1103.
- 3.- GEISSMAN, T. A., CROUT D. H. G.; *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism*; Freeman, Cooper and Company; San Francisco Cal.(1969).
- 4.- NAKANISHI, K., Goto T., Ito S., Natori S., Nozoe S. *Natural Products Chemistry*; Academic Press Inc. New York (1974).
- 5.- DOMINGUEZ S., X. A., *Phytochemistry Methods Frontiers*; Revista Latinoamericana de Química; Monterrey México (1990); 94.
- 6.- Fang, N., Leidig, M., Mabry, T.J. and Iinuma, M. *Phytochemistry*, 24, (1985), 3029.
- 7.- Fang, N., Mabry, T.J. and Le-Van, N. *Phytochemistry*, 25, (1986), 235.
- 8.- Lenherr, A., Fang, N. and Mabry, T.J. *J. Nat. Prod.*, 49, (1986), 185.
- 9.- Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B. *The Systematic Identification of Flavonoids*. (1970), Springer, New York. rk.
- 10.- Roberts, M.F., Timmermann, B.N., Mabry, T.J., Brown, R. and Matlin, S.A. *Phytochemistry*, 23; (1984), 163.
- 11.- Iinuma, M., Roberts, M.F., Matlin, S.A., Stacey, V.E., Timmermann, B.N., Mabry, T.J. and Brown, R. *Phytochemistry*, 24, (1985), 1367. 67.
- 12.- Bouyillant, M.L., Jean, F.B. and Chopin, J. *Phytochemistry*, 14, (1975), 2267.
- 13.- Stuessy, T.F., *The Biology and Chemistry of de compositae* (Heywood, V.H., Harborne, J.B. and Turner, B.L., eds.). (1977), Academic Press, London.
- 14.- Bohlmann, F. and Grenz, M. *Chem.Ber.*, 103, (1970), 90; Sjelénas, L. and Geissman, T. *Phytochemistry*, 8, (1969), 1293. 93.

- 15.- Bohlmann, F. and Grenz, M. *Chem.Ber.*, 110, (1977), 295.
Bohlmann, F. and Edero, C. *Phytochemistry*, 18, (1979), 336.
- 16.- Bevan, C.W.L., Ekong, D.E.V. and Okogun, J.I. *J. Chem. Soc. C.*, (1968), 1067.
- 17.- Bohlmann, F., Jakupovic, J., Robinson, H. and King, R.M. *Phytochemistry*, 19, (1980), 2769.
- 18.- Cambie, R.C., Granz, P.K., Huntrakul, C. and Weston, C.J. *Aust. J. Chem.*, 22, (1969), 1691.
- 19.- Tanaka, A., Tanaka, R., Uda, H. and Yoshikoshi, A. *J.Chem. Soc. Perkin 1 Trans.*, (1972), 1721.
- 20.- Bohlmann, F., Burkhardt, T. and Edero, C. *Naturally Occurring Acetylenes*, (1973), Academic Press, London.
- 21.- A. Hartzell, (Boyce Thompson Inst. Yorkers, N.Y.). *Contribs. Boyce Thompson Inst.* 15. 21-34 (1947), cf. C.A. 35, 7101, 38, 6429. 29.
- 23.- Scheiddegger, V., Schaffner, K. and Jeger, O. *Helv. Chim. Acta.*, 45, (1962), 400.
- 24.- Li, R.I., Fang, N. and Mabry, T.J. *Phytochemistry*, 27, (1988), 1556.
- 25.- Li, R.I., Fang, N. and Mabry, T.J. *Phytochemistry*, 26, (1987), 2831.
- 26.- Dong, X.P., Che, C.T. and Farnworth, N.R. *J. Nat. Prod.*, 50, (1987), 337.
- 27.- Hradetsky, D., Wollenweber, E. and Roitman, J.N. *S.Naturforsch*, 42, (1987), 73.
- 28.- de Luengo, D.H. and Mabry, T.J. *J. Nat. Prod.*, 49, (1986), 183.
- 29.- Hoenneisen, M. and Silva, M. *Rev. Latinoamer. Quim.*, 17, (1986), 19.
- 30.- Fang, N., Yu, S. Mabry, T.J. *J. Nat. Prod.*, 49, (1986), 739.
- 31.- Roitman, J.N. and Jamer, L..F. *Phytochemistry*, 24, (1985), 835.

- 32.- Bittner, M., Sialva, M., Vargas J. and Bohlmann, F. *Phytochemistry*, 22, (1983), 1523.
- 33.- Bittner, M., Sialva, M., Vargas J. and Watson, W.H. *Bol. Soc. Chil. Quim.*, 24, (1982), 291.
- 34.- Bohlmann, F., Grenz, M., Dhar, A.K. and Goodman, M. *Phytochemistry*, 20, (1981), 105.
- 35.- Jakupovic, J., Baruah, R.N., Edero, C., Eid, F., Pathak, V.P., Chau-Thi, T.V., Bohlmann, F. King, R.M. and Robinson, H. *Phytochemistry*, 25, (1986), 1873. 73.
- 36.- Jakupovic, J., Baruah, R.N., Bohlmann, F. King, R.M. and Robinson, H. *Phytochemistry*, 24, (1982), 1027.
- 37.- Bohlmann, F., Edero, C., King, R.M. and Robinson, H. *Phytochemistry*, 23, (1986), 2007.
- 38.- Bohlmann, F., Edero, C., King, R.M. and Robinson, H. *Phytochemistry*, 18, (1979), 1533.
- 39.- Goa, F., Shoulders, B.A., Hirose, Y. and Mabry, T.J. *Phytochemistry*, 26, (1987), 77.
- 40.- Goa, F., Leiding, M., and Mabry, T.J. *Phytochemistry*, 25, (1986), 1371.
- 41.- Goa, F., Leiding, M., and Mabry, T.J. *Phytochemistry*, 24, (1985), 1541.
- 42.- Cruse, W.B.T., James, M.N.G., Al-Shamma, A.A., Beat, J.K. and Doakotch, R.W. *Chem. Commun.*, (1971), 1278,
- 43.- Goa, F., and Mabry, T.J. *Phytochemistry*, 26, (1987), 209.
- 44.- Bohlmann, F., Edero, C. and Huneck, S. *Phytochemistry*, 24, (1985), 1027.
- 45.- Bohlmann, F., and Mahanta, P.K. *Phytochemistry*, 18, (1979), 1067.
- 46.- Anthosen, T. *Tetrahedron*, 26, (1970), 3091.
- 47.- Bohlmann, F., Knauf, W., Grenz, M. and Lane, M.A. *Phytochemistry*, 18, (1979), 2040.
- 48.- Bohlmann, F. and Edero, C. King, R.M. and Robinson, H. *Phytochemistry*, 23, (1984), 1979.