

49 201



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DITERPENOS TIPO LABDANO  
DE BRICKELLIA PANICULATA



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

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

CONSTANTINO VIGUERAS ALONSO

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D.F.

1990



## **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.

## CONTENIDO

	Pag.
Lista de Abreviaturas	i
INTRODUCCION.	1
GENERALIDADES.	2
PROPIEDADES BIOLÓGICAS DE LOS DITERPENOS.	17
PARTE TEORICA.	20
PARTE EXPERIMENTAL.	34
CONCLUSIONES.	52
ESPECTROS.	54
BIBLIOGRAFIA.	61

## LISTA DE ABREVIATURAS

c = Cuarteto.

d = Doblete.

s = Singulete.

t = Triplete.

m = Multiplete.

A = Acetona.

H = Hexano.

MeOH = Metanol.

D = Diclorometano.

EP = Eter de petróleo.

AcOEt = Acetato de Etilo.

I.R. = Infrarrojo.

 $M^+$  = Ión Molecular.

E.M. = Espectro de Masas.

ppm = Partes por millón.

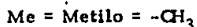
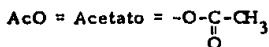
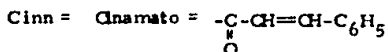
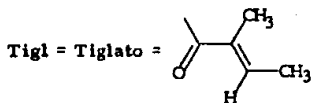
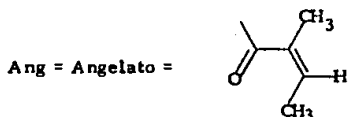
p.f. = Punto de fusión.

s.a. = Singulete ancho.

c.a. = Cuarteto ancho.

q.a. = Quintuplete ancho.

ddd = doble de doble de doble.

 $^1\text{HRMN}$  = Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno. $^{13}\text{CRMN}$  = Resonancia Magnética Nuclear de Carbono Trece. $\nu_{\text{máx}}$  = Frecuencia de onda máxima.

## INTRODUCCION

La república mexicana cuenta con una amplia variedad de recursos naturales entre los que destaca su cubierta vegetal. Es por esto que se ha encontrado en el campo de los productos naturales nuevos horizontes dentro de la investigación.

Una gran parte de la flora mexicana esta constituida por la familia de las compuestas (compositae), siendo éstas una fuente muy rica de metabolitos secundarios, los cuales permiten coadyuvar al estudio fitoquímico, taxonómico y químico de las mismas.

La química de los productos naturales ha tenido un gran desarrollo debido al empleo de la química orgánica por medio de los adelantos en los métodos de purificación por cromatografía en columna y capa fina junto con las técnicas espectroscópicas como son la espectroscopía UV, IR, HRMN, <sup>13</sup>CRMN, EM y rayos X, todo esto ha permitido aislar y asignar la estructura correcta a un gran número de compuestos de origen vegetal, para utilizarlos en su forma natural o modificada.

De las aproximadamente 100 especies de Brickellias, sólo algunas se han estudiado sistemáticamente, por lo cual el estudio y conocimiento sobre la composición de las Brickellias es incompleto.

Considerando lo anterior el presente trabajo pretende contribuir al estudio del género BRICKELLIA mediante la investigación química de una especie de este género: B. paniculata, que fue recolectada en cuatro estados diferentes de la República Mexicana.

## GENERALIDADES

La familia de las compuestas es una de las más amplias y diversificadas. Esta familia cuenta con más de 950 géneros y cerca de 20,000 especies, de amplia distribución en toda la tierra.<sup>8</sup>

El género Brickellia pertenece a la tribu Eupatorie de la subsección Coleosanthus que es la subsección en la que más estudios se han realizado y en la que se encuentra clasificada la planta Brickellia paniculata.<sup>55</sup> Este género se encuentra distribuido desde la frontera suroeste de Canada hasta el sur de America, siendo México el país que cuenta con el mayor número de especies.

Las especies estudiadas hasta diciembre de 1989 son : B. eupatoriedes,<sup>18</sup> B. annulosa,<sup>19</sup> B. squarrosa,<sup>19</sup> B. corymbosa,<sup>19</sup> B. argyrolepis,<sup>20</sup> B. laciniata,<sup>20</sup> B. cylindraceae,<sup>20</sup> B. coulteri,<sup>20</sup> B. californica,<sup>20</sup> B. diffusa,<sup>21</sup> B. veronicaefolia,<sup>19, 22, 44</sup> B. paniculata,<sup>23</sup> B. guatemaliensis,<sup>24</sup> B. choro-lepis,<sup>3, 44</sup> B. arguta,<sup>38</sup> B. baccharidea,<sup>39</sup> B. dentata,<sup>40</sup> B. pendula,<sup>41</sup> B. secundiflora,<sup>42</sup> B. fendleri,<sup>43</sup> B. monocephala,<sup>45</sup> B. vernicosa,<sup>46</sup> B. asanthus,<sup>27</sup> B. scoparia,<sup>47</sup> B. glomerata,<sup>28</sup> B. rusyi,<sup>48</sup> B. glutinosa,<sup>49</sup> y B. glandulosa.<sup>34</sup>

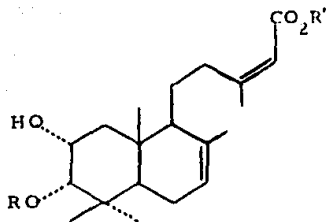
Los compuestos encontrados son diterpenos, flavonas, flavonoides y derivados del nerolidol. Estos compuestos son estructuras diversas de gran interés tanto por su comportamiento químico como por sus interesantes propiedades biológicas.

A continuación se resumen los diterpenos reportados hasta diciembre de 1989, en brickellias.

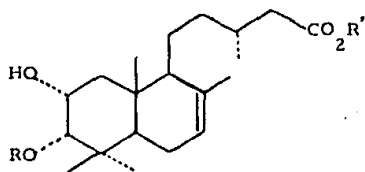
- 1.- Acido-3 $\alpha$ -angeloiloxi-2 $\alpha$ -hidroxi-13,14Z-didehidrocativico.
- 2.- Acido-3 $\alpha$ -trans-cinamoiloxi-2 $\alpha$ -hidroxi-13,14Z-didehidrocativico.
- 3.- 3 $\alpha$ -trans-cinamoiloxi-2 $\alpha$ -hidroxi-13,14Z-didehidrocativato de metilo.
- 4.- Acido-3 $\alpha$ -cis-cinamoiloxi-2 $\alpha$ -hidroxi-13,14Z-didehidrocativico.
- 5.- 3 $\alpha$ -cis-cinamoiloxi-2 $\alpha$ -hidroxi-13,14Z-didehidrocativato de metilo.
- 6.- Acido-3 $\alpha$ -angeloiloxi-2 $\alpha$ -hidroxicativico.
- 7.- 3 $\alpha$ -angeloiloxi-2 $\alpha$ -hidroxicativato de metilo.
- 8.- Acido-3 $\alpha$ -trans-cinamoiloxi-2 $\alpha$ -hidroxicativico.
- 9.- 3 $\alpha$ -trans-cinamoiloxi-2 $\alpha$ -hidroxicativato de metilo.
- 10.- Acido-3 $\alpha$ -cis-cinamoiloxi-2 $\alpha$ -hidroxicativico.
- 11.- 3 $\alpha$ -cis-cinamoiloxi-2 $\alpha$ -hidroxicativato de metilo.
- 12.- Acido-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -(angeloiloxi-2-hidroxi-2-metilbutiriloxi)-7 $\alpha$ -trans-cinamoiloxicativico.
- 13.- 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -(angeloiloxi-2-hidroxi-2-metilbutiriloxi)-7 $\alpha$ -trans-cinamoiloxicativato de metilo.
- 14.- Acido-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -(angeloiloxi-2-hidroxi-2-metilbutiriloxi)-7 $\alpha$ -cis-cinamoiloxicativico.
- 15.- 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -(angeloiloxi-2-hidroxi-2-metilbutiriloxi)-7 $\alpha$ -cis-cinamoiloxicativato de metilo.
- 16.- 15,16-epoxicleistan-12-en-11-ona.
- 17.- 15,16-epoxi-11-oxocleistan-12-en-17-al.
- 18.- 17-acetoxi-15,16-epoxicleistan-12-en-11-ona.
- 19.- 3 $\alpha$ -angeloiloxi-15,16-epoxicleistan-12-en-11-ona.
- 20.- 17-acetoxi-14 $\beta$ -hidroxi-15,16-epoxicleistan-12-en-11-ona.
- 21.- 17-acetoxi-3 $\alpha$ -angeloiloxi-15,16-epoxicleistan-12-en-11-ona.
- 22.- 2 $\beta$ ,15-dihidroxi-labdan-8(17),13-dieno.
- 23.- 11-oxo-8,9,15,16,-diepoxicleistan-12-en-17-al.
- 24.- 17-acetoxi-3,4,15,16-diepoxicleistan-12-en-11-ona.
- 25.- 14 $\beta$ ,15 $\beta$ -dihidroxi-16,17-oxidocleistan-12-en-11-ona.
- 26.- 17-acetoxi-15,16-epoxicleistan-12-en-11-ona.
- 27.- Acido-19-angeloiloxi-13,14-didehidrocativico.
- 28.- Acido-19-tigloiloxi-13,14-didehidrocativico.
- 29.- Acido-19-angeloiloxi cativico.
- 30.- Acido-19-tigloiloxi cativico.
- 31.- Acido brickellidifusico-angelato.
- 32.- Acido-2 $\alpha$ -hidroxi-17,0-dihidrobrickellidifusico(spiro cetal lactona)

- 33.- Acido-2 $\alpha$ -angeloiloxi-17,0-dihidrobrickellidifusico(spiro cetal lactona).
- 34.- Acido-2 $\alpha$ -angeloiloxi-17,0-dihidrobrickellidifusico(cetal $\alpha$ -spiro epimerico).
- 35.- Acido-2 $\alpha$ -angeloiloxi-17,0-dihidrobrickellidifusico(cetal $\beta$ -spiro epimerico).
- 36.- Acido-2 $\beta$ -angeloiloxi-13,14-didehidrocativico.
- 37.- 3 $\alpha$ -angeloiloxi-2 $\alpha$ -hidroxi-13,14-didehidrocativato de metilo.
- 38.- 3 $\alpha$ -angeloiloxi-2 $\alpha$ -hidroxi-13,14Z-didehidro-8(15)-en-cativato de metilo.
- 39.- Acido-3-ceto-cativico.
- 40.- 2 $\alpha$ -angeloiloxi-3 $\alpha$ -hidroxi-13,14Z-didehidrocativato de metilo.
- 41.- 2 $\alpha$ -angeloiloxi-3 $\alpha$ -hidroxi-13,14Z-didehidro-8(17)-en-cativato de metilo.
- 42.- Acido-2 $\alpha$ -hidroxi-3 $\alpha$ (2-hidroxi,2-metilbutiriloxi)cativico.
- 43.- Acido-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihidroxicativico.
- 44.- 3,4-secocativin-3,15-diacido.
- 45.- Acido Hardwickico.
- 46.- Acido-3 $\alpha$ -angeloiloxi-2 $\alpha$ -hidroxicativico.
- 47.- 9 $\alpha$ -angeloiloxi-10 $\beta$ -angeloiloxi-3E-agerafastin.
- 48.- 9 $\alpha$ -angeloiloxi-10 $\beta$ -angeloiloxi-7-epi-3E-agerafastin.
- 49.- 9 $\alpha$ ,10 $\beta$ -diangeloiloxi-7-epi-3Z-agerafastin.
- 50.- Acido-3 $\alpha$ -hidroxicativico.
- 51.- 3 $\alpha$ -hidroxicativato de metilo.
- 52.- Acido-3 $\alpha$ ,15-dihidroxicativico.
- 53.- Acido-3-ceto-cativico.
- 54.- 3-ceto-cativato de metilo.
- 55.- Acido-3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,15-trihidroxi-8(17)-en-cativico.
- 57.- Acido-13(S)-labda-8(17)-en-15,19-dioico(enantiomero-acido aliye rico).
- 58.- Acido lambertianico.
- 59.- Acido-12-ceto-lambertianico.
- 60.- Demetil-pinusilido.
- 61.- Demetil-pinusolidato de metilo.

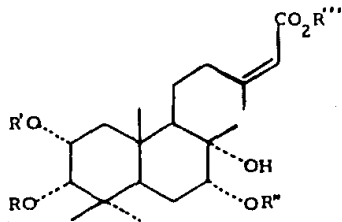


\* B. EUPATORIEDES. \* 18

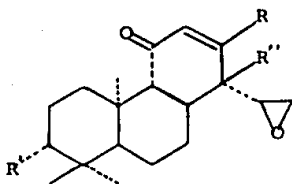
R	Ang	Trans Cinn	Trans Cinn	Cis Cinn	Cis Cinn
R'	H	H	Me	H	Me
	1	2	3	4	5



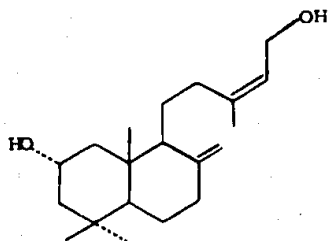
R	Ang	Ang	Trans Cinn	Trans Cinn	Cis Cinn	Cis Cinn
R'	H	Me	H	Me	H	Me
	6	7	8	9	10	11



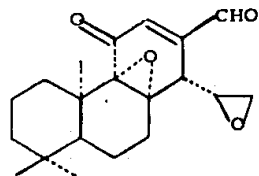
R	Ang	Ang	Ang
R'	Zhidroxi-2metilbutirato	Zhidroxi-2metilbutirato	Zhidroxi-2metilbutirato
R''	Trans Cinn	Cis Cinn	Cis Cinn
R'''	H	Me	Me
	12	13	14
			15



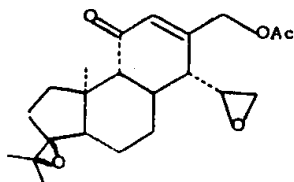
R	Me	CHO	CH <sub>2</sub> OAc	Me	CH <sub>2</sub> OAc	CH <sub>2</sub> OAc
R'	H	H	H	OAng	H	OAng
R''	H	H	H	H	OH	H
	16	17	18	19	20	21



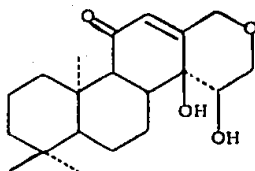
22



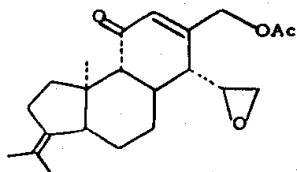
23



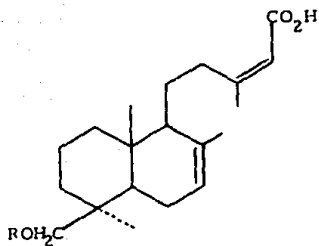
24



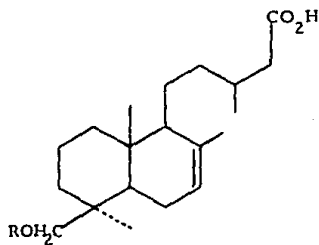
25



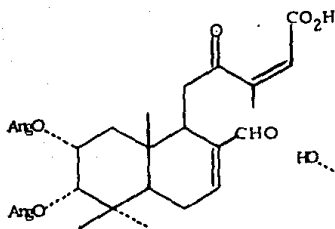
26

\*B. ARGYROLEPIS\* 20

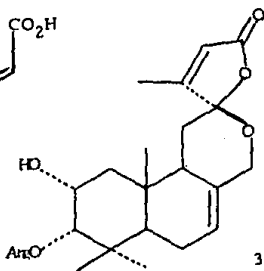
27 28  
R Arg Tigl



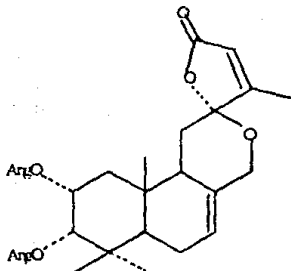
29 30  
R Arg Tigl

\*B. DIFFUSA\* 21

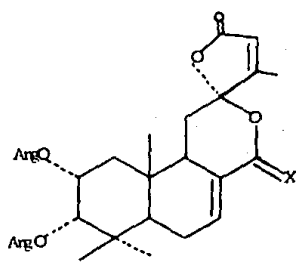
31

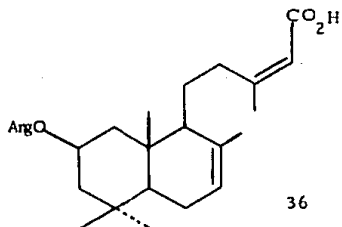
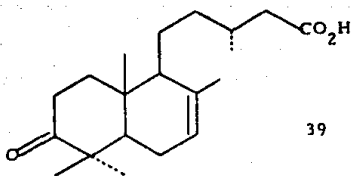
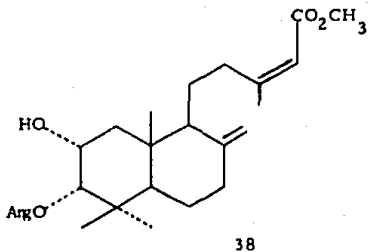
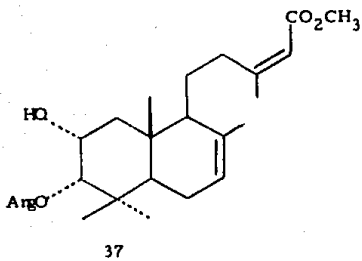


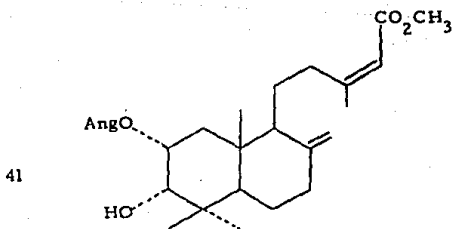
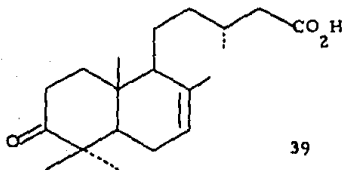
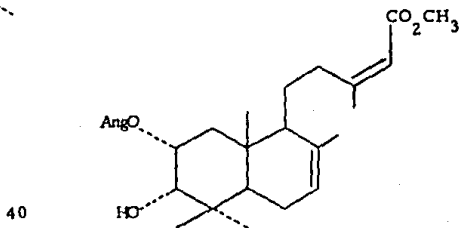
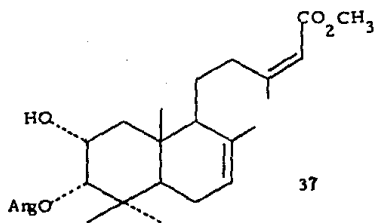
32

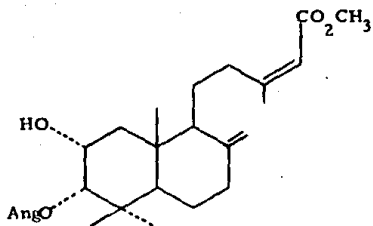


33

34 X =  $\alpha$ OH, H35 X =  $\beta$ OH, H

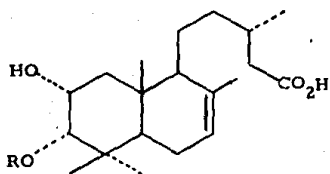
\* B. LACINIATA \* 20\* B. CORYMBOSA \* 19



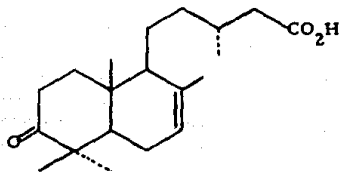


38

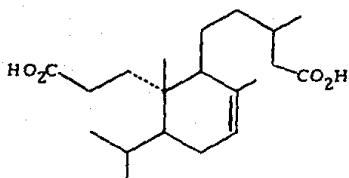
\*B. VERONICAEFOLIA\* 19, 22

42 R = -CO-C(OH)Me-CH<sub>2</sub>-Me

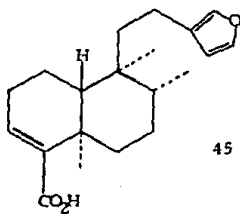
43 R = H



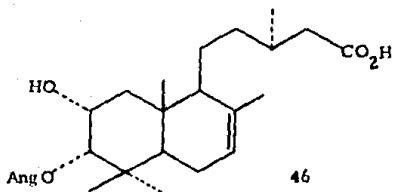
39



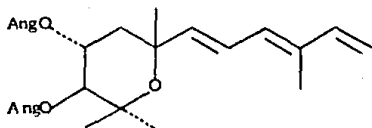
44

\*B. ANNULOSA\*<sup>19</sup>

45

\*B. PANICULATA\*<sup>23</sup>

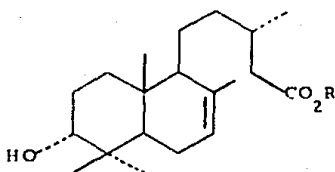
46



47 = 3E

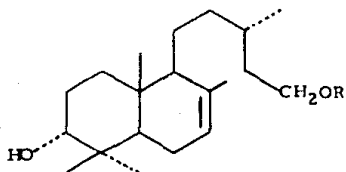
48 = 3E, 7-epi

49 = 3Z, 7-epi

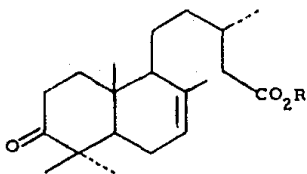


50 R = H

51 R = -Me



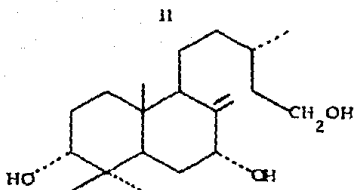
52 R = H

53 R =  $\begin{array}{c} \text{C} \\ | \\ \text{O} \end{array} \text{CH} \text{CH}_2 \text{Me}$ 

54 R = H

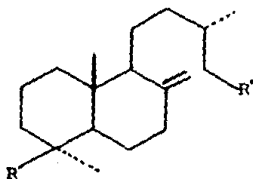
55 R = Me



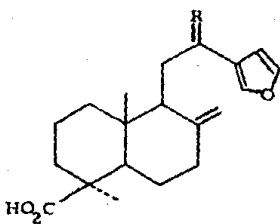


56

\* B. GLOMERATA \*<sup>28</sup>

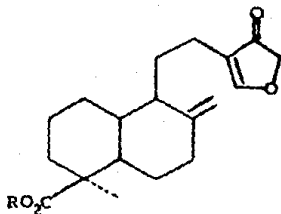


57 R=R' = COOH



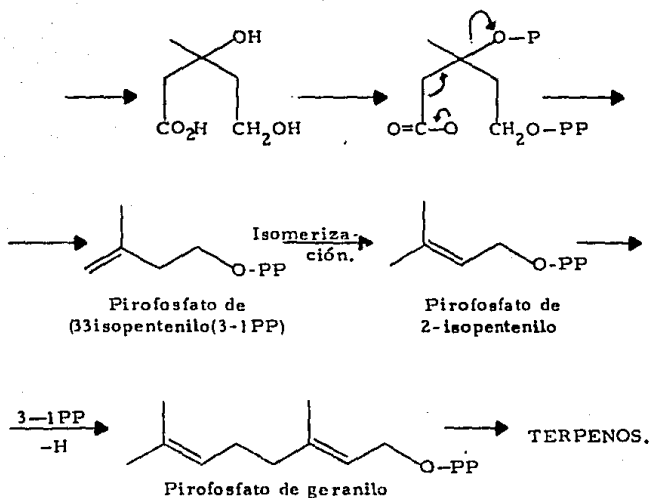
58 R = H<sub>2</sub>

59 R = O



60 R = H

61 R = Me



### TERPENOS

Los compuestos terpénicos se clasifican en relación al número de unidades terpénicas que contienen en su molécula, tomando en cuenta como unidad terpénica a la fracción resultante de la unión de 2 moléculas de isopreno (2-Metil-Butadieno), de esta forma, los subgrupos se nombran anteponiendo un prefijo que indica el número de unidades terpénicas de que consta la molécula a la palabra terpeno, pudiendo ser acíclicos ó cíclicos.

	U.Terpénicas	U.Isopreno	Atomos de Carbono
Hemiterpeno	1.0	1	5
Sesquiterpeno	1.5	3	15
Diterpeno	2.0	4	20
Sesterpeno	2.5	5	25
Tetraterpenos	4.0	8	40

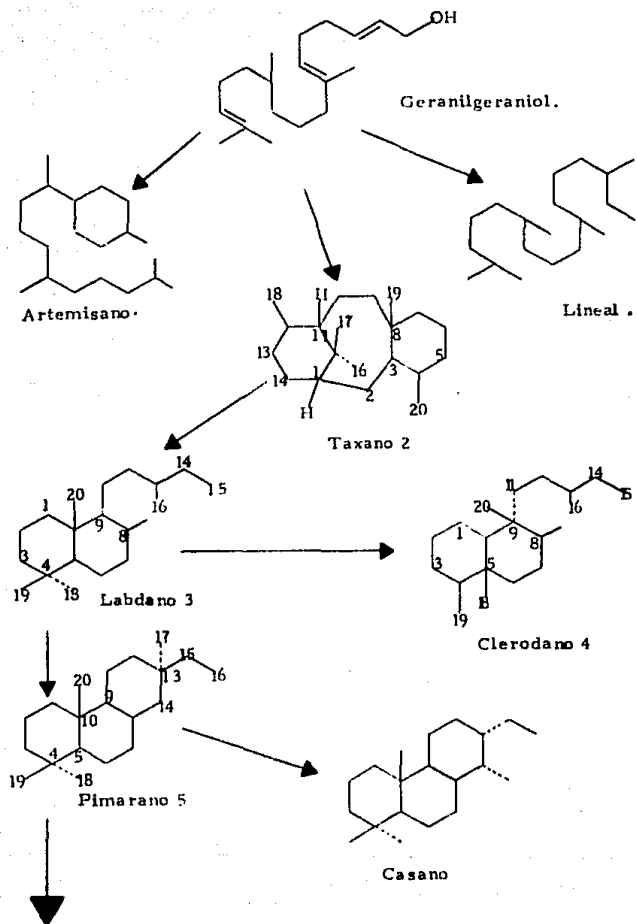
### DITERPENOS

Son compuestos naturales de 20 átomos de carbono y se encuentran distribuidos principalmente en plantas, hongos y resinas de los árboles.

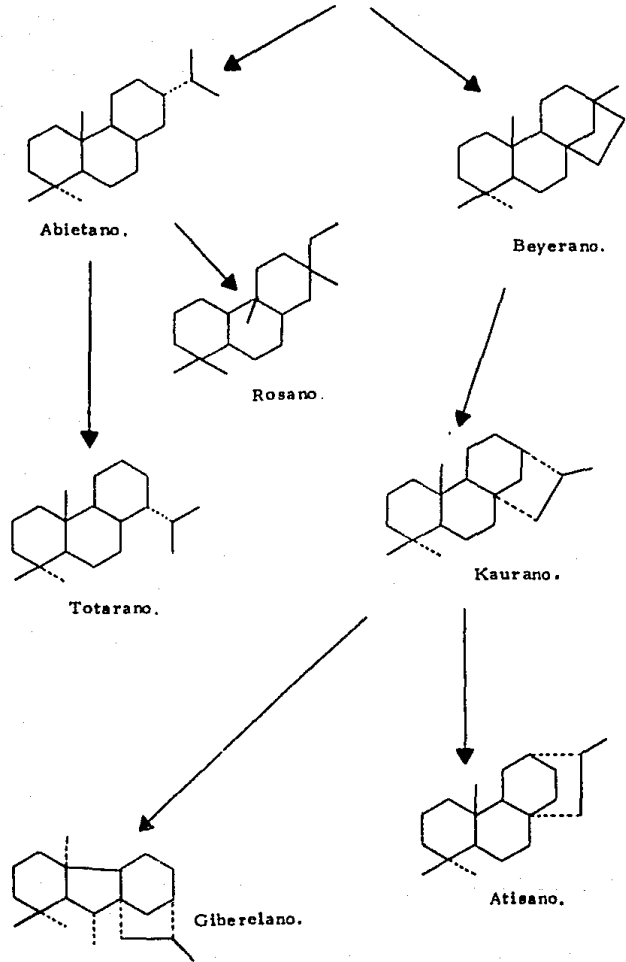
El precursor biogénico de los diterpenos es el geranil geraniol, el cual por una variedad de ciclizaciones y rearrreglos, puede dar lugar a una serie de compuestos que son clasificados de acuerdo al número de anillos y tipo de esqueleto estructural, que contenga su molécula.<sup>3</sup>

Agrupación de acuerdo a su esqueleto (Grupo Fundamental).<sup>14</sup>

- |                                |                           |
|--------------------------------|---------------------------|
| 1. - Grupo del Fitol.          |                           |
| 2. - Grupo del Artemizano      | 8. - Grupo del Toterano.  |
| 3. - Grupo del Ac Podocárpico. | 9. - Grupo del Cassano.   |
| 4. - Grupo del Labdano.        | 10. - Grupo del Beyerano. |
| 5. - Grupo del Clerodano.      | 11. - Grupo del Kaurano.  |
| 6. - Grupo del Pimarano.       | 12. - Grupo del Atisano.  |
| 7. - Grupo del Ac Abiético.    | 13. - Grupo del Taxano.   |



PIMARANO 5



## PROPIEDADES BIOLÓGICAS DE LOS DITERPENOS.

Durante dos décadas un gran número de diterpenos aislados han mostrado un amplio rango de actividad biológica, incluyendo antibióticos, hormonas vegetales y venenos.

Entre los diterpenos más conocidos con actividad biológica se encuentran las giberelinas aisladas del hongo Giberella fujikuroi que produce sustancias que causan el crecimiento excesivo de las plantas, enfermedad que se conoce como "Bakanoé". De este hongo, fué obtenido el ácido giberélico cuya estructura (I),<sup>2, 29, 30.</sup> se llegó a determinar después de un amplio trabajo experimental.

El ácido abiético por tratamiento ácido o térmico da los ácidos dehidroabiético y tetrahidroabiético. Estos ácidos además de dar una propiedad cohesiva a las fibras de madera, junto con los ácidos de las resinas fenólicas presentan una acción antibiótica suave y preservan a la madera contra la acción microbiana, el ácido podocárpico (II) y el ferruginol (III) presentan ésta actividad.<sup>2</sup>

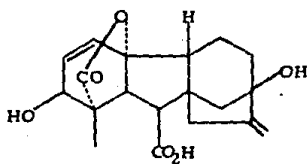
Existen sustancias diterpénicas que son inhibidores de tumores entre las que encontramos una sustancia aislada del Taxodium distichum, en algunos casos presentan toxicidad tal como el rianodino (IV), que se usa como insecticida y además presenta toxicidad definida en el hombre.<sup>29</sup>

Los diterpenos de la grayonotoxina (V), son agentes hipotensores obtenidos de las hojas de Leucothoe grayana (Ericaceae), diterpenos de este grupo también se han aislado de L. grayana y otras plantas Ericaceae.<sup>16</sup>

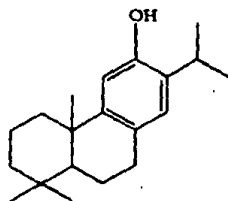
Del Pleurotus mutilos y de otros Basidiomicetos se han aislado compuestos diterpénicos que son inhibidores de antibióticos, tal es el caso del pleuromutilin (VI); otros presentan acción antibiótica como la ciatina (VII), aislado del hongo Cyathus helena.

También los hay con actividad antibacteriana dentro de los cuales tenemos al cembreno (VIII), que ha sido aislado de varios géneros de pinos.<sup>32</sup>

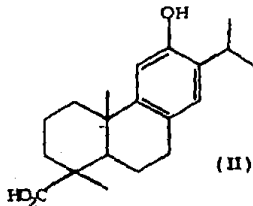
El forbol (IX), aislado del aceite de Croton tiglium,<sup>31, 33</sup> es importante por presentar actividad carcinogénica.



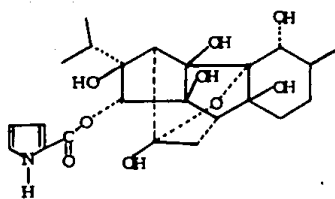
(I)



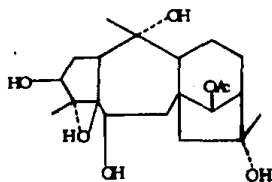
(III)



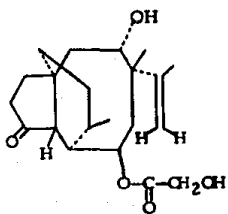
(II)



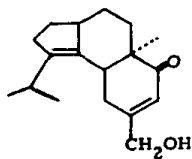
( IV )



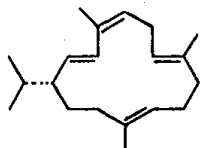
( V )



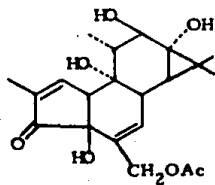
( VI )



( VII )



( VIII )



( IX )



## PARTE TEORICA

Brickellia paniculata, según B.L. Robinson<sup>55</sup>, pertenece a la sección Bulbostylis, subsección Coleosanthus. El presente trabajo describe el estudio químico de cuatro diferentes recolectas efectuadas en la República Mexicana.

El extracto de éter de petróleo de la Brickellia paniculata, recolectada cerca de Atenquique, Jalisco (noviembre de 1988), fue cromatografiado en sílica-gel. De las fracciones poco polares eluidas de la columna, después de ser metiladas con diazometano, se aislaron los ésteres metílicos I y II.

El éster metílico más polar (II), fue aislado como un aceite incoloro, su peso molecular de 318 determinado por espectrometría de masas, corresponde a una fórmula molecular de  $C_{21}H_{34}O_2$ , la cual esta de acuerdo con los 21 átomos de carbono, observados en el espectro de  $^{13}C$ -RMN. El espectro de RMN de protones mostró señales para 5 metilos; 2 vinílicos a  $\delta$  1.60 y 2.18 y 3 alifáticos, dos de los cuales son terciarios ( $\delta$  0.75 y 1.02) y uno secundario ( $\delta$  0.82), datos que estan de acuerdo para un esqueleto de clerodano y que descartan el de labdano, ya que este último si la cadena lateral poseé un doble enlace conjugado con el éster metílico, presentaría tres metilos terciarios. La estereoquímica del doble enlace 13-14 se determinó como E, en base al desplazamiento químico del metilo vinílico unido al C-13, el cual se observó en  $\delta$  2.18.

Los datos anteriores y la rotación óptica de  $(\alpha)_D = 60.98$

permitieron identificar a este compuesto, como el kolavenato de metilo previamente aislado de Hardwickia pinnata Roxb.<sup>51</sup>

El éster metílico menos polar(I), fué aislado como un aceite incoloro, su espectro de 'HRMN, fué muy similar al del kolavenato de metilo(II)(ver experimental p.35), con la diferencia de que el metilo vinílico en C-13 se observó en 1,90, lo cual nos indico que el doble enlace 13-14 tiene una estereoquímica Z. El compuesto fué identificado como el cis-kolavenato de metilo, aislado de Fleischmannia sinclairia.<sup>50</sup>

De las fracciones eluidas con éter de petróleo-acetato de etilo(1:1), se aisló el compuesto III, el más abundante en esta planta como un aceite viscoso e incoloro, el cual fué identificado como el 2 $\alpha$ -hidroxi, 3 $\alpha$ -angeliloxi-cativato de metilo, en base a su espectro de IR y <sup>1</sup>H-RMN, compuesto previamente aislado en un estudio anterior de esta misma planta<sup>23</sup>.

El aislamiento de dos diterpenos con esqueleto de clerodano, de Brickellia paniculata, es de importancia, puesto que diterpenos de este tipo solamente se han aislado de Brickellia annulosa.<sup>52</sup> Pero una revisión del género Brickellia<sup>53</sup> mostró que Brickellia annulosa no existe descrita en la literatura botánica, por lo cual Brickellia paniculata es la primera especie de este género que contiene diterpenos tipo clerodano.

La hidrólisis con hidróxido de sodio del ácido IV, durante 6 horas dió una mezcla de productos, la cual fué separada por cromatografía en columna con sílica-gel, obteniendo producto recuperado IV, V y VI.

Las fracciones menos polares de la cromatografía anterior, fueron metiladas con diazometano, aislandose el éster metílico V, como un aceite incoloro, cuyo espectro de  $^1\text{H-RMN}$  fué muy similar al del compuesto III, la estructura se dedujo del cambio que presentan las señales para H-2 y H-3 en el espectro de  $^1\text{H-RMN}$ , de los dos compuestos isómericos III y V (ver experimental), además es conocido el proceso de transesterificación que en este caso es de una naturaleza intramolecular, desplazándose el grupo angelóilo de la posición 3 en el compuesto III a la posición 2 en el compuesto V.

Las fracciones más polares dieron por cristalización el ácido VI, obteniéndose como un sólido cristalino. El mismo compuesto se obtuvo como producto principal, en la hidrólisis de IV, con un tiempo de reacción más prolongada de 5 días.

El ácido IV exhibió un p. f. de 143-145°C y una rotación óptica de  $(\alpha)_D = -11.9(\text{CHCl}_3)$ . El compuesto fue identificado por su punto de fusión y comparación con una muestra auténtica en cromatoplaaca analítica de sílica-gel.

Brickellia paniculata, recolectada en Barra de Navidad, Edo de Jalisco (marzo de 1982).

Las hojas y flores fueron molidas y extraídas con éter de petróleo, el residuo obtenido después de evaporar el disolvente se cromatografió en columna con sílica-gel, obteniendo 51 fracciones. De la fracción 44 se aisló por cromatografía en capa fina el ácido VII, como un sólido de p.f. 140-142°C.

La presencia de un grupo ácido carboxílico, en el compuesto VII, se comprobó al observar en el espectro de IR bandas en 3500-2300 y 1690  $\text{cm}^{-1}$ . En el espectro de masas se observó un ión molecular de 362 al cual se le puede asignar la fórmula molecular  $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_4$ , un pico abundante en  $m/z$  43 en el espectro de masas y una banda en 1725  $\text{cm}^{-1}$  en el espectro de infrarrojo del compuesto, nos indicó la presencia de un grupo acetato en la molécula. La presencia de sólo cuatro metilos en el espectro de  $^1\text{H RMN}$  (dos terciarios y dos vinílicos), nos indicó que uno de los metilos terciarios del esqueleto de labdano, está oxidado a un grupo acetiloximetileno. La estereoquímica  $\beta$ -axial para este grupo se dedujo del desplazamiento químico que exhibió el sistema AB del metileno en 4.11 ppm<sup>54</sup>. La estereoquímica del doble enlace 13-14 se estableció como Z, en base al desplazamiento químico del metilo vinílico unido al C-13, el cual se encontró en 1.96 ppm. Basándose en los datos anteriores, se propuso la estructura VII como la más viable para el nuevo compuesto. (Espectro 1).

La metilación con diazometano del ácido VII, dió el éster metílico VIII, como un aceite incoloro, los datos de 'HRMN (ver experimental p. 39), estuvieron de acuerdo con la estructura de la fórmula VIII. (Espectro 2).

La hidrólisis alcalina de VII, dió el alcohol-ácido IX, el cual se obtuvo como un sólido de p.f. 110 °C. Exhibió en el espectro de masas un ión molecular a  $m/z$  320, al cual le corresponde una fórmula molecular de  $C_{20}H_{32}O_3$ .

La diferencia en la fórmula molecular entre el compuesto VII y el producto de hidrólisis IX fué de  $C_2H_2O$ , confirmando la hidrólisis de un grupo acetato, esto se comprobó al observar en el espectro de 'HRMN del compuesto hidrolizado la ausencia de la señal simple en 2.08 asignada al metilo del grupo acetilo, así como el desplazamiento del sistema AB del metileno en C-19 (3,64 ppm). (Espectro 3). La estereoquímica del doble enlace de la cadena lateral fué la misma que la del compuesto VII, puesto que la señal para el metilo vinflico en C-13, se observó en 1.94 ppm.

La configuración absoluta de IX y por consiguiente la de VII se determinó al comparar la rotación óptica de IX ( $[\alpha]_D^{25} = -3.55$ ) con la del compuesto XIX ( $[\alpha]_D^{25} = +22.5$ ) de configuración absoluta conocida por lo tanto los compuestos VII, VIII y IX, pertenecen al grupo de los diterpenos del tipo ent-labdano.

El extracto de diclorometano, fué cromatografiado en

silica-gel y las fracciones 32-34 eluidas con éter de petróleo-Acetoato de etilo(65:35), fueron metiladas y purificadas por cromatografía en silica-gel aislando el compuesto X como un aceite incoloro cuyo espectro de IR mostró bandas para grupos hidroxilo, éster metílico y éster  $\alpha,\beta$ no saturado en 3000-3600, 1728 y 1695  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente. Su espectro de  $^1\text{H}$ -RMN fué casi idéntico al de III, con la diferencia que el protón vinílico del éster unido al C-3 aparecio a campo menor (6,90ppm), indicando la presencia de un tiglató; por lo tanto la estructura X, corresponde al 2 $^\circ$ -hidroxi, 3 $^\circ$ -angeloiloxitativato de metilo, el cual resultó ser un compuesto nuevo.

(Espectro 4).

Brickellia paniculata, recolectada en Matías Romero, Estado de Oaxaca.

El extracto de éter de petróleo de las hojas secas y molidas, fué fraccionado en una columna con sílica-gel, utilizando éter de petróleo y mezclas de éter de petróleo-acetato de etilo como eluyentes.

Las fracciones eluidas con éter de petróleo-acetato de etilo (65:35), de la cromatografía anterior, fueron esterificadas con diazometano. El residuo fué purificado en cromatoplas preparativas de sílica-gel, aislando los ésteres metílicos III y V.

El compuesto III, fué idéntico al aislado de la recolecta de Atenquique, Jalisco y V fué idéntico al producto obtenido por transesterificación de III. El hecho de no haber aislado el éster metílico V en el estudio anterior<sup>23</sup> nos indicó que el compuesto se formó durante el tiempo de almacenaje y que originalmente no estaba presente en la planta. Para comprobar esta hipótesis es necesario llevar a cabo un nuevo estudio de la planta recién recolectada.

Brickellia paniculata, recolectada cerca de Motozintla, Estado de Chiapas.

El extracto de éter de petróleo de las hojas de B. paniculata, fué cromatografiado en una columna con sílica-gel, eluyendo inicialmente con éter de petróleo, hasta una concentración de éter de petróleo-acetato de etilo (1:1), obteniéndose 44 fracciones.

Las fracciones menos polares de la columna (19-20), fueron esterificadas con diazometano. El producto metilado se purificó en cromatoplaques de sílica-gel aislando el éster metílico XI, como un aceite incoloro. El espectro de masas mostró un ión molecular de  $m/z$  318, congruente con la fórmula  $C_{21}H_{34}O_2$ , que esta de acuerdo con las 21 señales para carbonos observadas en el espectro de  $^{13}C$ -RMN de XI, indicando la presencia de un ácido diterpénico.

Una banda en  $110\text{cm}^{-1}$  en el espectro de IR de este compuesto nos indicó que el éster metílico debe ser  $\alpha,\beta$ -no saturado. Un ión abundante a  $m/z$  205 en el espectro de masas del diterpeno establece la posición del éster metílico  $\alpha,\beta$ -no saturado en la cadena lateral y elimina la posición 17.

La presencia de un esqueleto de labdano en el compuesto XI, se confirmó al observar en su espectro de  $^1\text{H}$ RMN, 3 señales simples agudas asignadas a tres metilos terciarios. (Espectros 5-6).

La estereoquímica del doble enlace se estableció como Z en base al desplazamiento químico del metilo vinílico unido al C-13 ( $1.90\text{ppm}$ )<sup>56</sup> y también por el desplazamiento de los carbonos 16 y 12 en su espectro de  $^{13}C$ -RMN<sup>57</sup>.

Por último la configuración absoluta del diterpeno se estableció en base a su rotación óptica de  $(\alpha)_D = -18.15$ ; siendo del mismo signo que la publicada para XVI ( $(\alpha)_D = -26$ )<sup>58</sup> y de signo contrario a la de XX<sup>59</sup>.



La fracción 33 fué metilada con diazometano y purificada por cromatografía en capa delgada, aislandose el éster metílico XII, como un aceite incoloro. Su espectro de IR, presentó bandas en 1725 y 1700  $\text{cm}^{-1}$  asignadas a un éster metílico saturado y a un éster  $\alpha$ -no saturado respectivamente; su espectro de masas por impacto electrónico dió un fragmento de  $m/z$  318 que correspondió a la pérdida de un ácido de 5 átomos de carbono ( $\text{M}^+ - \text{C}_4\text{H}_7\text{COOH}$ ), el cual debe ser un tiglato puesto que el espectro de  $^1\text{HRMN}$  de XII, mostró una señal cuádruple ancha en 6.80 ppm característica de un tiglato. La posición del tiglato y su estereoquímica se dedujo de la señal para el protón base del éster en 4.50 ppm, cuya multiplicidad, constantes de acoplamiento y desplazamiento químico, esta de acuerdo con un grupo éster con estereoquímica  $\beta$ -axial en la posición tres<sup>60</sup>.

En base a los datos anteriores se concluye que la estructura para XII es: 3 $\beta$ -Angeloloxi,cativato de metilo. (Espectro 7).

La fracción 44 después de ser metilada y purificada en cromatoplacas de sílica-gel, dió los compuestos XIII y X. El éster metílico X exhibió un espectro de  $^1\text{HRMN}$  idéntico al aislado de Brickellia de Barra de Navidad. El compuesto XIII fué identificado como el éster metílico del ácido 2 $\alpha$ -hidroxicatívico aislado previamente de Brickellia glandulosa<sup>34</sup>, en base a su espectro de  $^1\text{HRMN}$ .

Las fracciones 42, 43 y 45 fueron esterificadas con diazometano y después acetiladas con anhídrido acético-piridina.

Cromatografía de la mezcla anterior dió los acetatos XIV y XV.

El compuesto XIV se identificó como el acetato del compuesto XIII, en base a su espectro de <sup>1</sup>H RMN, en el cual se observó un desplazamiento de la base del alcohol original en 3.87 ppm a 4.97 ppm en el acetato XIV, además de una señal simple aguda en 2.06 ppm que corresponde al grupo metilo del acetato.

El compuesto XV, se identificó como el acetato de X, por comparación de sus espectros de <sup>1</sup>H RMN.

De las fracciones 23-28 después de ser metiladas y purificadas por cromatografía en columna de sílica-gel, se aisló una mezcla de II y XVI, en una relación de 1:3, la cual no pudo separarse. La identificación se llevó a cabo comparando el espectro de <sup>1</sup>H RMN de la mezcla, con el espectro de <sup>1</sup>H RMN del Kolavenato de metilo II.

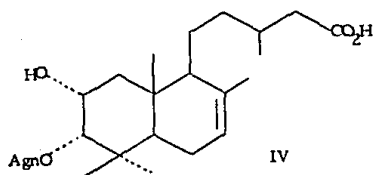
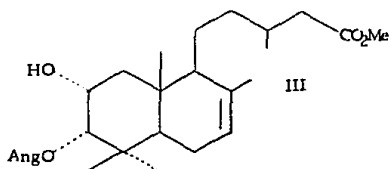
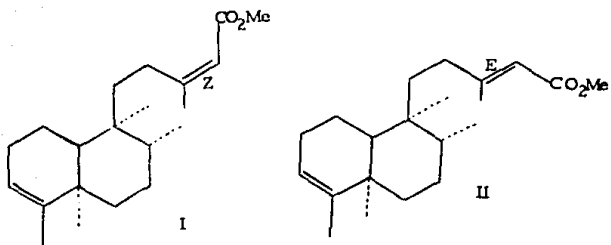
Las señales restantes correspondieron al éster metílico del ácido ent-labda 7, 13 E dien-15-oico (XVI), previamente aislado de Oxystigma oxyphyllum<sup>58</sup>.

La fracción 36, fué esterificada con diazometano y purificada por cromatografía en columna con sílica-gel. Posteriormente recromatografiada en cromatoplaca, dió el éster metílico XVII.

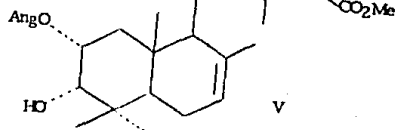
La estructura de XVII fué establecida en base a sus constantes espectroscópicas (IR, <sup>1</sup>H RMN, EM y rotación óptica), las cuales fueron idénticas al éster metílico del ácido 3-ceto, catívico (XVII), previamente aislado de Brickellia veronicaefolia<sup>19</sup>.

Las fracciones 39-41, fueron metiladas con diazometano y purificadas por cromatografía en columna con sílica-gel, posteriormente purificación de las fracciones por cromatografía en placa delgada dieron los compuestos XVIII, III y una mezcla de III y X. El compuesto XVIII, exhibió un espectro de <sup>61</sup>HRMN idéntico al aislado de Grindelia discoidea.

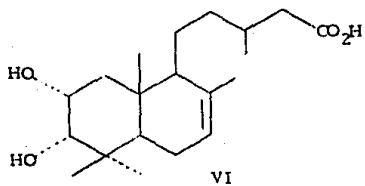
## ESTRUCTURAS DE LOS COMPUESTOS AISLADOS



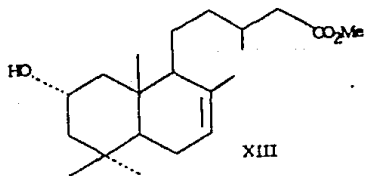
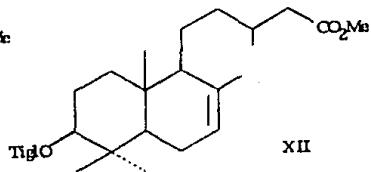
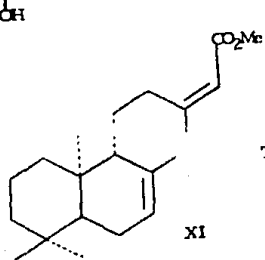
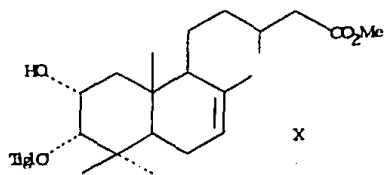
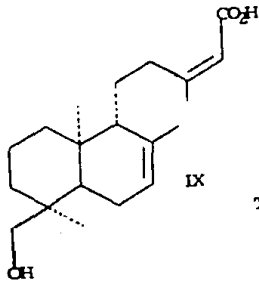
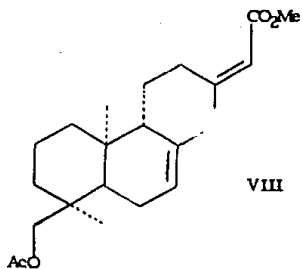
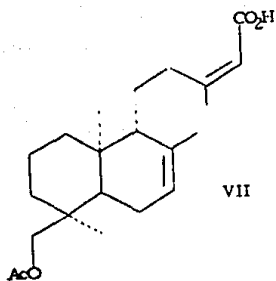
IV

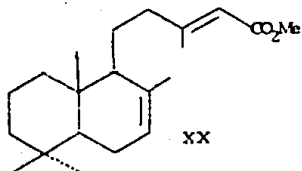
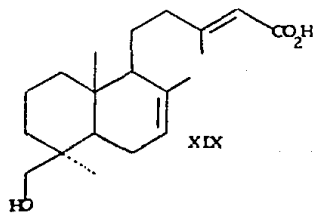
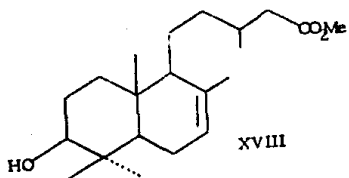
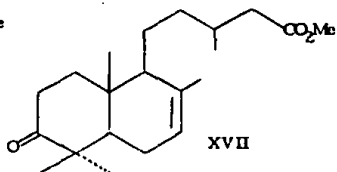
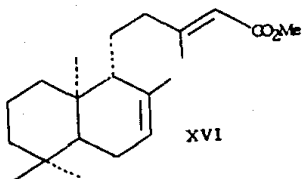
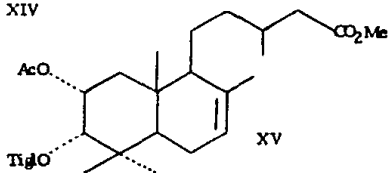
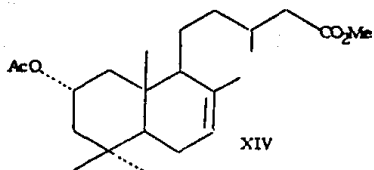


V



VI





## PARTE EXPERIMENTAL

Se realizó el estudio de Brickellia Paniculata, recolectada en 4 diferentes lugares de la República Mexicana.

Brickellia paniculata, recolectada en el Edo de Jalisco, el 8 de noviembre de 1988, en la carretera Atenquique Colima, Km 35

412g de hojas secas fueron molidas y posteriormente extraídas con éter de petróleo, dando 24.89g de extracto. Dicho extracto se cromatografió en una columna con silica-gel (230.4g), eluyendo con una mezcla de éter de petróleo-Acetato de etilo, aumentando gradualmente la concentración de acetato de etilo hasta llegar a una concentración (1:1). La cromatografía se monitoreó utilizando cromatoplasmas de silica-gel de 0.25mm.

Las fracciones 1-7 fueron eluidas con EP-AcOEt(95:5); 8-15 con EP-AcOEt(9:1) y 16-23 con EP-AcOEt(1:1). Las fracciones 11 y 12( 8mg), fueron metiladas con una solución etérea de diazometano, dando 42mg de una mezcla (I y II).

Los ésteres metílicos I, II fueron purificados en cromatoplasmas de silica-gel, 1mm de espesor(20 x 10cm), desarrollando con una mezcla de EP-D (1:3), obteniendose 11.5mg de (I) y 17.0mg de (II).

cis-kolavenato de metilo (I).  $^1\text{HRMN}$ , 80MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 0.75(3H, s, H-20), 0.86(3H, d,  $J=7\text{Hz}$ , H-17), 1.02(3H, s, H-9), 1.60(3H, d,  $J=1.5\text{Hz}$ , H-18), 1.90(3H, d,  $J=1.0\text{Hz}$ , H-16), 3.68(3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 5.17(1H, m, H-3), 5.60(1H, sa, H-14).  
 Datos corroborados en (50).

kolavenato de metilo (II).  $^1\text{HRMN}$ , 80MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 0.75(3H, s, H-20) 0.82(3H, d,  $J=7\text{Hz}$ , H-17), 1.02(3H, s, H-19), 1.60(3H, sa, H-18), 2.18(5H, d,  $J=1.0\text{Hz}$ , H-16), 3.71(3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 5.18(1H, m, H-3), 5.65(1H, sa, H-14).  
 E.M.  $m/e$  318  $\text{M}^+$  ( $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_2$ ) 41.1(100), 42(92), 55(69), 91(41), 95(66), 189(17), 205(16.8), 285(8).

$(\alpha)_D^{20} = -60.98$  (c. 4.10mg/ml,  $\text{CHCl}_3$ ).

$^{13}\text{RMN}$ , 75.5MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 18.3(C-1); 26.9(C-2); 120.4(C-3); 144.3(C-4); 38.2(C-5); 36.4(C-6); 27.5(C-7); 36.3(C-8); 38.7(C-9); 46.5(C-10); 34.6(C-11); 36.8(C-12); 161.6(C-13); 114.8(C-14); 167.1(C-15); 18.3\*(C-16); 16.0(C-17); 19.1\*(C-18); 19.9(C-19); 18.0(C-20); 50. ( $\text{OCH}_3$ ).

100 mg de la fracción 19 eluida con EP-AcOEt(1:1), fueron metilados con una solución etérea de diazometano y posteriormente el éster metílico(III), fué purificado en cromatoplasas de sílica-gel de 20x10(1.0mm)utilizando una mezcla de D-A(95:5), obteniendo (53 mg) de III.

2 $\alpha$ -hidroxi-3 $\alpha$ -angeloiloxi-cativato de metilo (III).

I.R.  $\nu_{\text{máx}}$ (película) 3550-3240(alcohol), 2958(C-H), 1716(C=O, éster) 1650(C=C, conjugada).



$^1\text{HRMN}$ , 80MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ : 0.85(3H, s, H-20), 0.90(3H, s, H-18), 0.96(3H, d, J=7 Hz, H-16), 1.05(3H, s, H-19), 1.68(3H, s, a, H-17), 3.67(3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 4.15(1H, d, d, J=12, 5, 2.5, H-2), 4.98(1H, d, J=2.5, H-3), 5.37(1H, s, a, H-7), 6.08(1H, c, Ang).

Hidrólisis alcalina del ácido 2 $\alpha$ -hidroxi-3 $\alpha$ -angeliloixi-catívico (IV).

Se disolvieron 2.27g del ácido en 20ml de metanol, se le adicio naron 5ml de una solución acuosa metanólica de hidróxido de sodio (150mg). Se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 6 ho ras, se siguió la reacción por cromatografía en placa delgada, una vez transcurrido el tiempo se aciduló con HCl diluido y se extrajo con acetato de etilo 3 veces. La fase orgánica se lavó con agua y después se secó con sulfato de sodio anhidro.

El residuo(2.1g), una vez evaporado el disolvente fué purificado por cromatografía en columna con sílica-gel(60g), utilizando una mezcla de H:AcOEt, aumentando gradualmente la concentración de AcOEt hasta una concentración (1:1).

Se obtuvieron 41 fracciones de las cuales se tomaron la 14 y 15, eluidas con H:AcOEt(80:20) para ser metiladas con una solución etérea de diazometano, una vez evaporado el disolvente, el residuo se purificó en placas de sílica-gel de 20x10cm(1mm) siendo desarrolladas en una mezcla de Diclorometano:Metanol(95:5), logrando identificar el éster metílico(60mg), (V).

De las fracciones (33-41, H:AcOEt/1:1), se obtuvo un sólido crig

-talino (300 mg), que correspondió al compuesto totalmente hidrolizado (VI).

Se recuperaron 1.25g de compuesto original: (1-9, H:AcOEt/95:5); (10-13, H:AcOEt/90:10); (16-23, H:AcOEt/80:20); (24-26, H:AcOEt/5:25); (2-32, H:AcOEt/50:50).

2 $\alpha$ -angeloioloxi-3 $\alpha$ -hidroxi-cativato de metilo (V).

<sup>1</sup>HRMN, 80MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ : 0.90(3H, s, H-20); 1.03(6H, s, H-18, H-19); 0.95(3H, d, J= Hz, H-16); 1.68(3H, s, a, H-17); 3.55(1H, d, J=2.5Hz, H-3); 3.65(3H, s, OCH<sub>3</sub>); 5.30(1H, d, d, d, J=12, 5, 2.5, H-2); 5.35(1H, m, H-7); 6.08(1H, c, a, Ang).

Hidrolisis alcalina total del ácido 2 $\alpha$ -hidroxi-3 $\alpha$ -angeloioloxi-catívico.

Se disolvieron 1.2g del ácido en 30 ml de metanol, se agregaron 10 ml de una solución acuosa metanólica de hidróxido de potasio (250 mg). Se dejó reaccionar durante 5 días en un sistema de reflujo, una vez transcurrido el tiempo se neutralizó con HCl diluido. Se extrajo con acetato de etilo 3 veces, la fase orgánica se lavó con agua y se secó con sulfato de sodio anhidro.

La purificación se realizó en columna con sílica-gel eluyendo con una mezcla de D:MeOH(95:5), el producto obtenido (1.15 g), fue un sólido cristalino (VI). Siendo ésta la mejor hidrolisis efectuada.

Presentó un punto de fusión de 143-145°C, y una rotación óptica. ( $\alpha$ )<sub>D</sub><sup>20</sup> = -11.9 [c, 4.61 mg/ml, CHCl<sub>3</sub>].

Brickellia paniculata, colectada en Barra de Navidad Edo de Jalisco, en marzo de 1982.

Las hojas y flores de la planta (100g) se dejaron secar a la sombra siendo molidas y extraídas con éter de petróleo, se eliminó el disolvente por destilación, obteniendo un residuo (4.64g) verde viscoso. El extracto anterior fué fraccionado por cromatografía en columna con sílica-gel (138g), utilizando como eluyente éter de petróleo, aumentando gradualmente la polaridad con Acetato de etilo hasta una concentración de EP:AcOEt (9:1), obteniendo de esta manera 51 fracciones.

Aislamiento del ácido 19-acetoxi, ent-labda-7, 13-14 Z-dehidro, cativato VII.

La fracción 44 (63mg), eluida con EP:AcOEt (9:1), fué purificada en cromatoplaqueta de sílica-gel de 20x10cm (1mm), desarrollando con ayuda de una mezcla de Diclorometano:Acetona (99:1), logrando aislar 35mg del ácido VII, puro.

19-acetoxi, ent-labda-7, 13-14 Z-dehidro, cativato de metilo VIII.

Las fracciones 29-39 eluidas con EP:AcOEt (92:8) y EP:AcOEt (9:1), se juntaron dando un peso de 389mg, posteriormente fueron metiladas con una solución éterea de diazometano, el residuo (387mg) después de evaporar el disolvente fué purificado por cromatografía en columna de sílica-gel (12g), obteniéndose 10 fracciones.

De las fracciones 6 y 7 se obtuvieron 133mg del éster metílico VIII, puro.

ácido 19-acetoxi,ent-labda-7, 13-14 Z dehidro, catívico VII.I.R. (solución,  $\text{CHCl}_3$ )  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$   $\text{cm}^{-1}$ 

3500-2300(-OH asociado), 1725(acetato), 1690(ácido carboxílico no saturado), 1635(doble ligadura), 1370(metilos).

$^1\text{HRMN}$ , 80MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ : 0.78(3H, s, H-20), 0.97(3H, s, H-18), 1.75(3H, s, a, H-12), 1.96(3H, d, J=1.5Hz, H-16), 2.08(3H, s, Ac), 2.70(2H, t, a, J=8Hz, H-12), 4.11(2H, AB, J=11.0Hz, H-19), 5.35(1H, s, a, H-7), 5.65(1H, d, J=1.5Hz, H-14).

E M. 70ev m/z, int. rel. 43( $\text{CH}_3\text{-C}\equiv\text{O}^+$ )(98.4%), 81( $\text{C}\equiv\text{CH-C}\equiv\text{O}^+$ )(100%), 109(60%), 119(48.8%), 203(27.5%), 329( $\text{M}^+\text{-Ac}$ )(1.0%), 289( $\text{M}^+\text{-CH}_2\text{-O-CO-CH}_3$ )(1.0%), 362  $\text{M}^+$  (0.3%).

$(\alpha)_D = -32.8$ (c, 3.6mg/ml,  $\text{CHCl}_3$ ).

19-acetoxi,ent-labda-7, 13-14 Z dehidro, catívico de metilo VIII.

$^1\text{HRMN}$ , 80MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ : 0.77(3H, s, H-20), 0.95(3H, s, H-18), 1.78(3H, s, a, H-17), 1.91(3H, d, J=1.5Hz, H-16), 2.06(3H, s, Ac), 2.70(2H, t, J=8Hz, H-12), 3.68(3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 4.10(2H, AB, J=11Hz, H-19), 5.35(1H, m, H-7), 5.60(1H, s, a, H-14).

Las fracciones 40-43(70mg) eluidas con EP:AcOEt(9:1), se disolvieron en 15ml de MeOH, se le adicionaron 100mg de hidróxido de sodio disueltos en metanol-agua, dejándose durante 24 horas a temperatura ambiente. Una vez terminada la hidrólisis(cromatoplaca), la mezcla de reacción se aciduló con HCl al 10% y se extrajo con

acetato de etilo, el disolvente se evaporó al vacío y el residuo se purificó en una cromatoplaca de silica-gel, desarrollando con una mezcla de diclorometano-acetona(99:1), dando 37.0mg del compuesto IX, puro.

Acido 19-hidroxi,ent-labda-7,13-14 Z-dehidro, catívico IX.

$^1\text{HRMN}$ , 80MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ : 0.74(3H,s,H-20), 0.96(3H,s,H-18), 1.75(3H,s,a,H-17), 1.94(3H,d,J=15Hz,H-16), 2.70(2H,t,J=8Hz,H-12), 3.64(2H,AB,J=11Hz,H-19), 5.35(1H,m,H-7), 5.65(1H,s,a,H-14).

E.M. 70ev, m/z, int. rel. 43(44.4%), 55(65.5%),  $\text{M}^+$  ( $\text{C}=\text{CH}-\text{C}=\text{O}^+$ ) 100%, 109(65.5%), 289( $\text{M}^+-\text{CH}_2-\text{OH}$ )(5.4%), 320(0.2%)( $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_3$ ).

$(\alpha)_D^{25} = -37.55$ (c, 4.9mg/ml,  $\text{CHCl}_3$ ).

20g de hojas y flores secas, fueron molidas y extraídas con diclorometano para dar 0.775g de extracto, el cual se purificó en una columna con silica-gel(20g), eluyendo con éter de petróleo y mezclas de éter de petróleo:acetato de etilo, obteniendo 35 fracciones. Las fracciones 32-34 eluidas con éter de petróleo:acetato de etilo(3:2), se hicieron reaccionar con una solución etérea de diazometano, obteniendo después de evaporar el disolvente un residuo de 185mg.

El éster metílico(X), fué purificado por cromatografía en columna con silica-gel, obteniendo 25 fracciones. De la fracción 12 de la cromatografía anterior se obtuvieron 15mg del éster metílico X, puro.

2 $\alpha$ -hidroxi-3 $\alpha$ -tigloloxi-cativato de metilo (X).I.R. (solución, CHCl<sub>3</sub>)  $\int_{\text{máx}}^{\text{cm}^{-1}}$ .3000-3600(-OH asociado), 1728(éster metílico saturado), 1695(éster  $\alpha, \beta$  no saturado), 1645(dobles enlaces), 1435(metilos).

<sup>1</sup>H RMN, 80MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ : 0.85(3H, s, H-20), 0.89(3H, d, H-18), 0.96(3H, d, J=7Hz, H-16), 1.03(3H, s, H-19), 1.69(3H, s, a, H-17), 3.66(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.13(1H, d, d, d, J=12, 5, 2.5Hz, H-2), 4.93(1H, d, J=2.5Hz, H-3), 5.39(1H, s, a, H-7), 6.86(1H, c, a, tiglato).

( $\alpha$ )<sub>D</sub> = +5.87 (c, 4.6mg/ml, CHCl<sub>3</sub>).

Brickellia paniculata, colectada en Matías Romero, Oaxaca en Julio de 1980.

Se extrajeron 100g de hojas secas y molidas de Brickellia paniculata con éter de petróleo, obteniendo 8,9 g de extracto, el cual fué cromatografiado en una columna con sílica-gel(267g), eluyendo inicialmente con éter de petróleo y aumentando la polaridad con acetato de etilo hasta una concentración de (1:1), obteniendo un total de 77 fracciones.

Las fracciones 57-60 (230mg) eluidas con éter de petróleo:acetato de etilo(65:35), se metilaron con una solución etérea de diazometano; el residuo (163mg) después de evaporar el disolvente, fué purificado en cromatoplasmas de sílica-gel obteniendo 75.3mg de V y 83.9mg de III.

2 $\alpha$ -angeliloxi-3 $\alpha$ -hidroxi, cativato de metilo (V). natural

I. R. (solución, CHCl<sub>3</sub>)  $\nu_{\text{máx}}^{\text{cm}^{-1}}$

3612(hidroxilo), 1727 (éster saturado), 1700(éster $\alpha,\beta$ -no saturado), 1648 (doble enlace), 1439, 1458(gem-dimetilo), 848(doble enlace trisustituido).

<sup>1</sup>H RMN, 80MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ : 0.88(3H, s, H-20), 1.01(6H, s, H-18, H-19), 0.95(3H, d, J=7.0Hz, H-16), 1.66(3H, s, a, H-17), 3.64(3H, s, OMe), 3.55(1H, d, J=1.5Hz, H-3), 5.28(1H, d, d, d, J=12, 5, 2.5Hz, H-2), 5.38(1H, s, H-7), 6.6(1H, q, a, J=7.0Hz, Ang).

E. M. 70eV. m/z, int. rel. ; 55(51.1); 83(100%)( $\text{CH}_3\text{-CH}=\overset{\text{CH}_3}{\text{C}}\text{-C}\equiv\text{O}^+$ );  
 122(50.0%); 205(50.5%); 334( $\text{M}^+$  AngOH)(5.0%); 434(0.8%)( $\text{M}^+$ ).

$(\alpha)_D = -5.8$ (c, 4.5mg/ml,  $\text{CHCl}_3$ ).

2 $\alpha$ -hidroxi-3 $\alpha$ -angeloihoxi-cativato de metilo (III).

$(\alpha)_D = +8.0$ (c, 48.9mg/ml,  $\text{CHCl}_3$ ).

De la fracción 69 eluida con éter de petróleo acetato de etilo(1:1) (45mg), se purificó en placas de silica gel de 20x10cm(1mm), desarrollando en una mezcla de Diclorometano Metanol(95:5), obteniéndose 28mg del ácido 2 $\alpha$ -hidroxi, 3 $\alpha$ -angeloihoxi-cativico.

Acido-2 $\alpha$ -hidroxi-3 $\alpha$ -angeloihoxi-cativico (IV).

$(\alpha)_D = +12.4$ (c, 14mg/ml,  $\text{CHCl}_3$ ).



Brickellia paniculata, colectada cerca de Motozintla, Estado de Chiapas, en Diciembre de 1984.

Se extrajeron con éter de petróleo 100g de hojas secas y molidas, obteniendo después de evaporar el disolvente 9g de extracto. Se cromatografió en una columna con silica gel(230g), eluyendo inicialmente con éter de petróleo hasta una concentración de éter de petróleo-acetato de etilo(1:1), obteniendo un total de 44 fracciones.

Las fracciones 19-22 eluidas con éter de petróleo acetato de etilo(85:15), con un peso de 128mg se metilaron con una solución etérea de diazometano. El residuo de la metilación(130mg) se cromatografió en una columna con silica-gel(4.0g), eluyendo con éter de petróleo-diclorometano(1:1), obteniendo 3 fracciones.

La fracción dos(12.7mg), resultó ser el éster metílico XI puro, además la fracción tres(35.3mg) se purificó en cromatoplas de silica-gel, desarrollando con una mezcla de diclorometano-éter de petróleo, obteniendo 27,0mg de XI .

Ester metílico del ácido, ent-labda-7, 13-14Z, dien, 15-oico. (XI).

I. R. (solución,  $\text{CHCl}_3$ ),  $\nu_{\text{máx}} \text{cm}^{-1}$ ; 1710(éster  $\alpha, \beta$ -no saturado); 1650 (doble ligadura); 1160(C-O, éster).

<sup>1</sup>H RMN, 80 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ: 0.76 (3H, s, H-20), 0.87 (3H, s, H-18), 0.89 (3H, s, H-19), 1.78 (3H, s, a, H-17), 1.92 (3H, d, J=2.0 Hz, H-16), 2.70 (2H, t, J=8 Hz, H-12), 3.69 (3H, s, OMe), 5.38 (1H, s, w1/2=9 Hz, H-7), 5.62 (1H, s, a, H-14).

<sup>1</sup>H RMN, 300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ: 0.75 (3H, s, H-20), 0.86 (3H, s, H-18), 0.88 (3H, s, H-19), 1.78 (3H, s, a, H-17), 1.90 (3H, d, J=2.0 Hz, H-16), 2.70 (2H, m, H-12), 3.67 (3H, s, OMe), 5.40 (1H, m, H-7), 5.65 (1H, s, H-14).

<sup>13</sup>C RMN, 75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ: 39.0 (t, C-1), 18.9 (t, C-2), 42.3 (t, C-3), 33.0 (s, C-4), 50.1 (d, C-5), 23.8 (t, C-6), 122.3 (d, C-7), 135.3 (s, C-8), 55.2 (d, C-9), 36.9 (s, C-10), 25.8 (t, C-11), 35.8 (t, C-12), 100.6 (s, C-13), 115.6 (d, C-14), 166.7 (s, C-15), 25.3 (c, C-16), 22.2 (c, C-17), 33.2 (c, C-18), 21.9 (c, C-19), 13.5 (c, C-20), 50.9 (c, OMe).

$(\alpha)_D = -18.15$  (c, 3.8 mg/ml, CHCl<sub>3</sub>).

La fracción 33 (68 mg), eluida con éter de petróleo acetato de etilo (4:1), fué metilada con una solución éterea de diazometano y el éster metílico resultante fué purificado en una cromatoplaaca de sílica-gel, desarrollandola con una mezcla de diclorometano-acetona (99:1), obteniendo 33 mg del compuesto XII.

Ester metílico del ácido-3 $\beta$ -Tigloiloxi-catívico (XII).

I. R. (solución  $\text{CHCl}_3$ ),  $\nu_{\text{máx}}^{\text{cm}^{-1}}$ : 1725 (éster metílico saturado)  
1700 (éster  $\alpha$ - $\beta$  no saturado), 1650 (doble ligadura).

$^1\text{HRMN}$ , 80MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ : 0.79 (3H, s, H-20), 0.86 (3H, s, H-19), 0.94 (3H, d, J=6.5Hz, H-16), 0.98 (3H, s, H-18), 1.67 (3H, s, a, H-17), 3.65 (3H, s, OMe), 4.50 (1H, d, d, J=10, 5Hz, H-3), 5.35 (1H, m, H-7), 6.80 (1H, c, a, Tiglato).

E.M. 70eV m/z (impacto electrónico). 41 ( $\text{C}_3\text{H}_5^+$ ) (29%), 55 ( $\text{C}_4\text{H}_7^+$ ) (100%), 83 ( $\text{C}_4\text{H}_7\text{-CO}$ ) (74%), 122 (25.5%), 303 ( $\text{M}^+\text{-C}_4\text{H}_7\text{COOH-Me}$ ) (5%)  
318 ( $\text{M}^+\text{-C}_4\text{H}_7\text{COOH}$ ) (7.7%).

E.M. 70eV m/z (ionización química). 319 ( $\text{M}^+\text{-C}_4\text{H}_7\text{COOH} + \text{H}^+$ ) (100%)  
419 ( $\text{M}^+, \text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{O}_4 + \text{H}^+$ ) (0.4%).

$(\alpha)_D = +31.9$  (c, 11mg/ml,  $\text{CHCl}_3$ ).

La fracción 44 (55mg), eluida con éter de petróleo-acetato de etilo (1:1), se metilo con diazometano y se purificó en una cromatografía de sílica-gel, desarrollada con diclorometano acetona (99:1) tres veces, separándose dos compuestos 13.6mg de XIII y 11.0mg de X.

Ester metílico del ácido-2 $\alpha$ -hidroxi, catívico (XIII).

$^1\text{HRMN}$ , 80MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ : 0.80 (3H, s, H-20), 0.94 (6H, s, H-18, H-19), 0.98 (3H, d, J=6.5Hz, H-16), 1.67 (3H, s, a, H-17), 3.66 (3H, s, OMe), 3.87 (1H, t, t, J=4, 10Hz, H-2), 5.37 (1H, m, H-7).

Las fracciones 42, 43 y 45 (240mg), eluidas con éter de petróleo-acetato de etilo (1:1), se metilaron con diazometano y después se acetilaron con anhídrido acético y piridina. El residuo después de evaporar los reactivos se purificó por cromatografía en columna con sílica-gel, eluyendo con éter de petróleo y mezclas de éter de petróleo-acetato de etilo, obteniendo 16 fracciones. Las fracciones 7 y 8 dieron 40 mg de XIV y las fracciones 9 y 10 dieron 55mg de XV.

Ester metílico del ácido-2 $\alpha$ -acetoxi-catívico (XIV).

I. R. (solución  $\text{CHCl}_3$ )  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 1740 (acetato y éster metílico), 1460 (grupo metilo), 1295 (C-O, de éster).

$^1\text{HRMN}$ , 80MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ : 0.85(3H, s, H-20), 0.93(3H, s, H-19), 0.98(3H, s, H-18), 0.95(3H, d, J=6.5Hz, H-16), 1.67(3H, s, s, H-17), 2.06(3H, s, Ac), 3.67(3H, s, OMe), 4.97(1H, t, t, J=4, 10Hz, H-2), 5.37(1H, m, H-7).

E.M. 70eV m/z, int. rel. 43( $\text{CH}_3\text{-C}\equiv\text{O}^+$ )(100%), 122(25%), 318( $\text{M}^+$ 60)(11.0%), 378( $\text{M}^+$ )(0.2%).

$(\alpha)_D = +7.20$  (c, 1.39mg/ml,  $\text{CHCl}_3$ ).

Ester metílico del ácido-2 $\alpha$ -acetoxi-3 $\alpha$ -tigloiloxi-catívico (XV).

I. R. (solución  $\text{CHCl}_3$ )  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 1740 (acetato y éster metílico), 1715 (tiglato), 1648 (doble enlace).

<sup>1</sup>HRMN, 80MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ: 0.88(3H, s, H-20), 0.92(3H, s, H-19), 0.98(3H, d, J=6.5Hz, H-16), 1.72(3H, s, a, H-17), 2.0(3H, s, Ac), 3.69(3H, s, OMe) 5.07(1H, d, J=2.5Hz, H-3), 5.25(1H, d, d, J=2.5, 5, 12Hz, H-2), 5.40(1H, m, H-7), 6.85(1H, c, a, tiglato).

E. M. 70eV m/z (ionización química). 477(M<sup>+</sup> + H<sup>+</sup>)(25%), 417(M+1 CH<sub>3</sub>COOH)(72%), 377(M<sup>+</sup> + 1-tigl OH)(14%), 333(M<sup>+</sup> +1-tigl OH-Ac)(20%), 31 (M<sup>+</sup> +1-tigl OH-AcOH)(100%).

Las fracciones 23-28(230mg), eluidas con éter de petróleo-acetato de etilo(85:15) y éter de petróleo-acetato de etilo(4:1), fueron metiladas con diazometano y posteriormente purificadas en una cromatografía de columna con silica-gel, eluyendo con éter de petróleo y mezclas de éter de petróleo-acetato de etilo. Se obtuvieron 8 fracciones, la fracción tres dió 15mg de una mezcla de los compuestos XVI y II, los cuales no pudieron separarse por cromatografía en silica-gel. La fracción 1(818mg) y la fracción 2(42mg) dieron resultados similares a la fracción tres.

La identificación se llevó a cabo comparando el espectro de RMN de la muestra (mezcla), con el espectro de HRMN de una muestra pura de Kolavenato de metilo.

Ester metílico del ácido ent-labda-7,13-14 E dien, 15-oico (XVI).

<sup>1</sup>H RMN, 80 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ: 0.76(3H, s, H-20), 0.87(3H, s, H-19), 0.89(3H, s, H-18), 1.68(3H, s, a, H-17), 2.18(3H, d, J=1.5 Hz, H-6), 5.36(1H, m, H-7), 5.65(1H, s, a, H-14).

La fracción 36(617mg), eluida con éter de petróleo-acetato de etilo(7:3), fué metilada con diazometano y purificada por cromatografía en columna con sílica-gel(18.5g), obteniéndose 25 fracciones.

La fracción 9 de la cromatografía anterior fué repurificada en cromatoplaca de sílica-gel, desarrollándose con éter de petróleo-acetato de etilo(3:1), aislandose 18mg de XVII.

Ester metílico del ácido-3-ceto, catívico (XVII).

I. R. (solución CHCl<sub>3</sub>)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 1728(éster metílico), 1702(cetona en anillo de 6 miembros).

E. M. 70eV. m/z int. rel. 41.0(85%), 43(83%), 55(100%), 107(76%), 203(32.5%), 218(60%), 249(32.5%), 334(M<sup>+</sup>)(18%).

$(\alpha)_D = -15.15(c, 8.45\text{mg/ml, CHCl}_3)$ .

Las fracciones 39, 40 y 41(910mg), fueron metiladas con diazometano y purificadas en cromatografía de sílica-gel(27.0g), eluyendo con éter de petróleo y mezclas de éter de petróleo-acetato de

etilo, obteniéndose 34 fracciones. La fracción 18 resultó ser el compuesto XVIII, la fracción 24 el compuesto III y la fracción 2 una mezcla de los compuestos III y X.

La rotación óptica del compuesto III resultó ser:

$$(\alpha)_D = +9.7(c, 2.9\text{mg/ml, CHCl}_3).$$

Ester metílico del ácido-3 $\alpha$ -hidroxi-catívico (XVIII).

<sup>1</sup>HRMN, 80MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ : 0.77 (3H, s, H-20), 0.87 (3H, s, H-19), 1.0 (3H, s, H-18), 0.96 (3H, d, J=6.5Hz, H-16), 1.65 (3H, s, a, H-17), 3.22 (1H, d, d, J=5, 10Hz, H-3), 5.37 (1H, m, H-7), 3.68 (3H, s, OCH<sub>3</sub>).

Para la cromatografía en columna se ocupó sílica-gel 60 GF<sub>250</sub>. La cromatografía en placa delgada se efectuó en placas preparativas de sílica-gel con indicador fluorescente con espesor 1mm y 0.5mm. La pureza de los productos se determinó mediante cromatoplasmas de sílica-gel con indicador fluorescente UV<sub>254</sub>, 0.25mm de espesor, utilizando como revelador, solución de sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N.

Las columnas que se ocuparon fueron de:

6 cm de diámetro x 50 cm longitud.

4 cm de diámetro x 35 cm longitud.

1.5 cm de diámetro x 25 cm longitud.

Los disolventes ocupados se destilaron previamente.

Los puntos de fusión se determinaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 283B y en un espectrofotómetro Nicolet FT-55X.

Las lecturas de rotación óptica se determinaron en un polarímetro Jasco DIP-360.

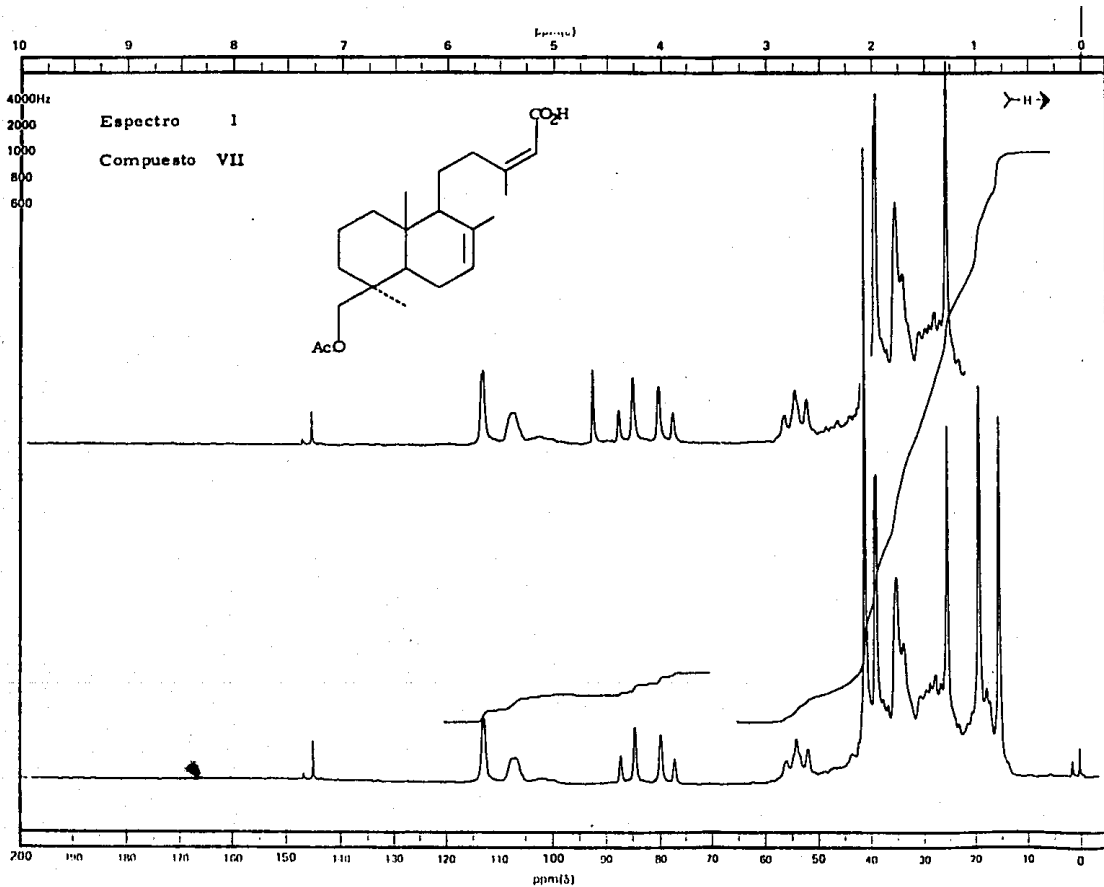
Los espectros de Masas se determinaron en un espectrómetro de Masas Hewlett-Packard modelo 5985-B. Los espectros de resonancia magnética protónica de 80MHz se determinaron en un espectrómetro analítico Varian FT-80A, en solución de CDCl<sub>3</sub>. Los espectros de resonancia magnética protónica de 300 MHz se determinaron en un espectrómetro Varian VXR-300S en solución de CDCl<sub>3</sub>.

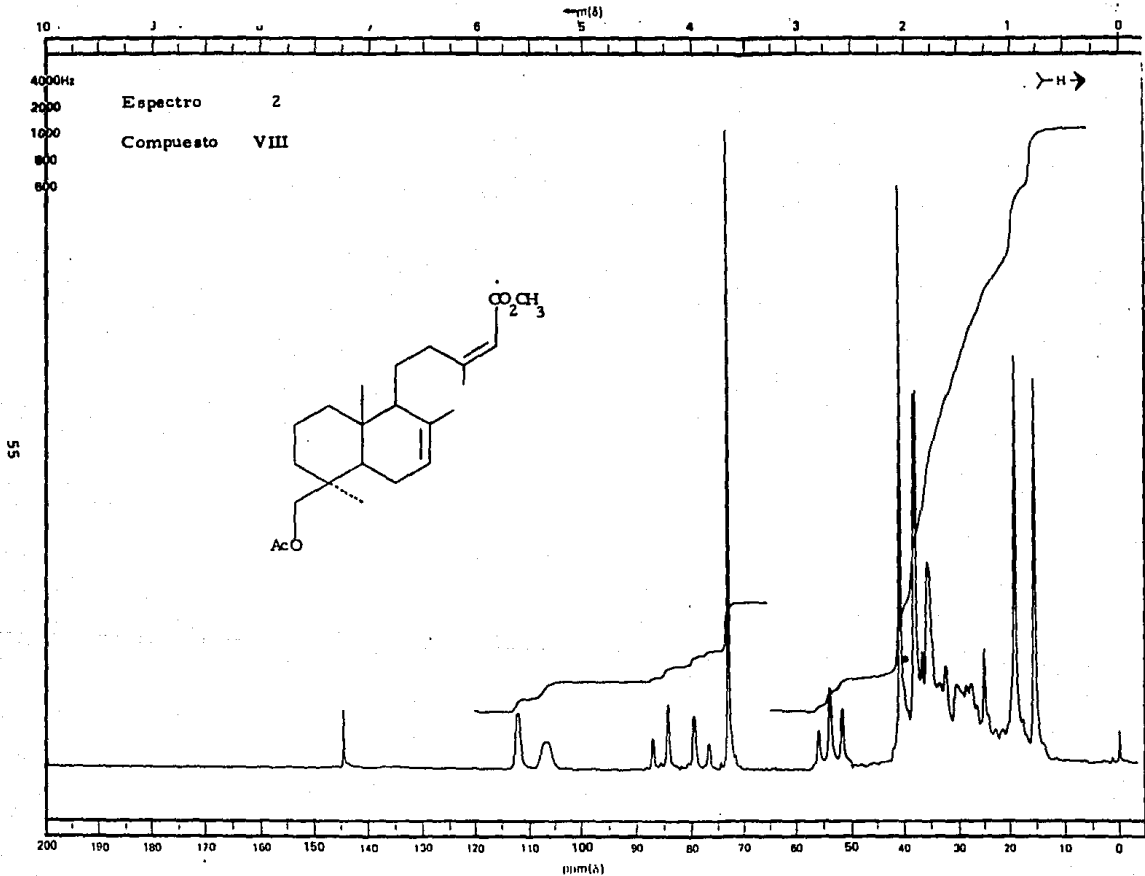


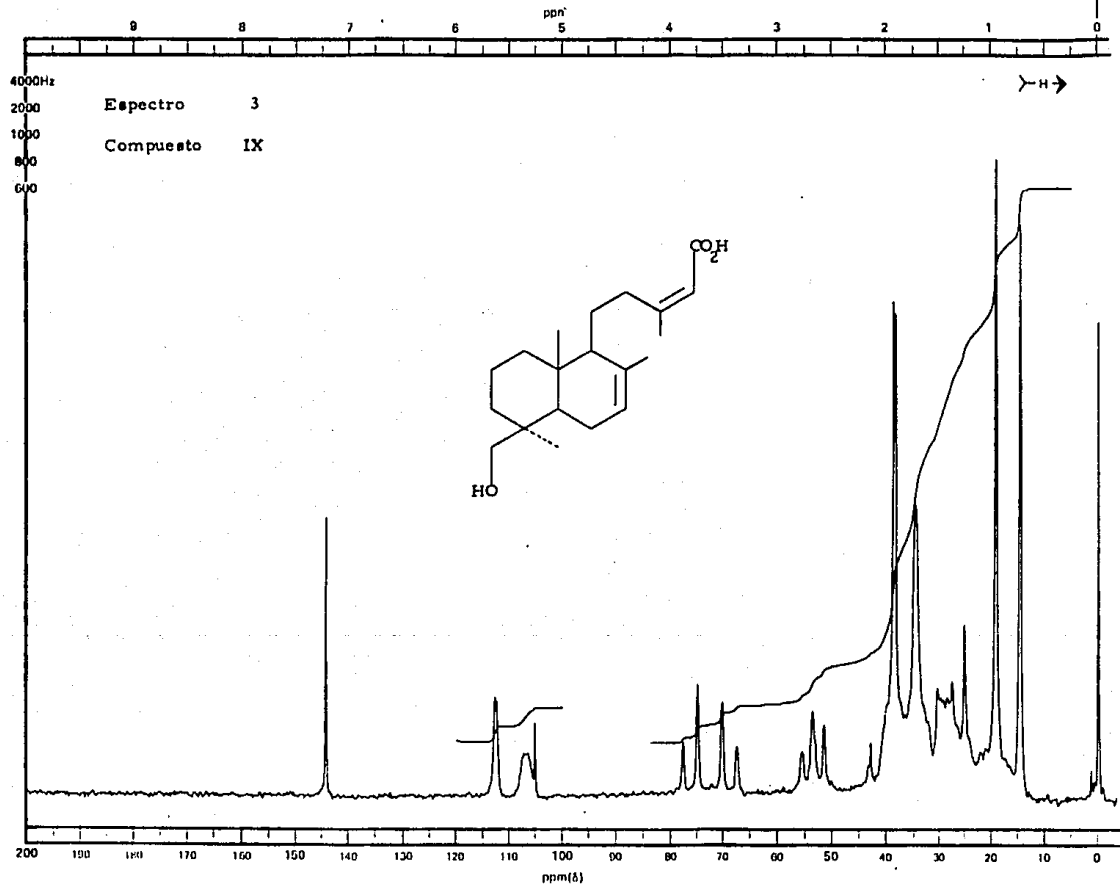
## CONCLUSIONES

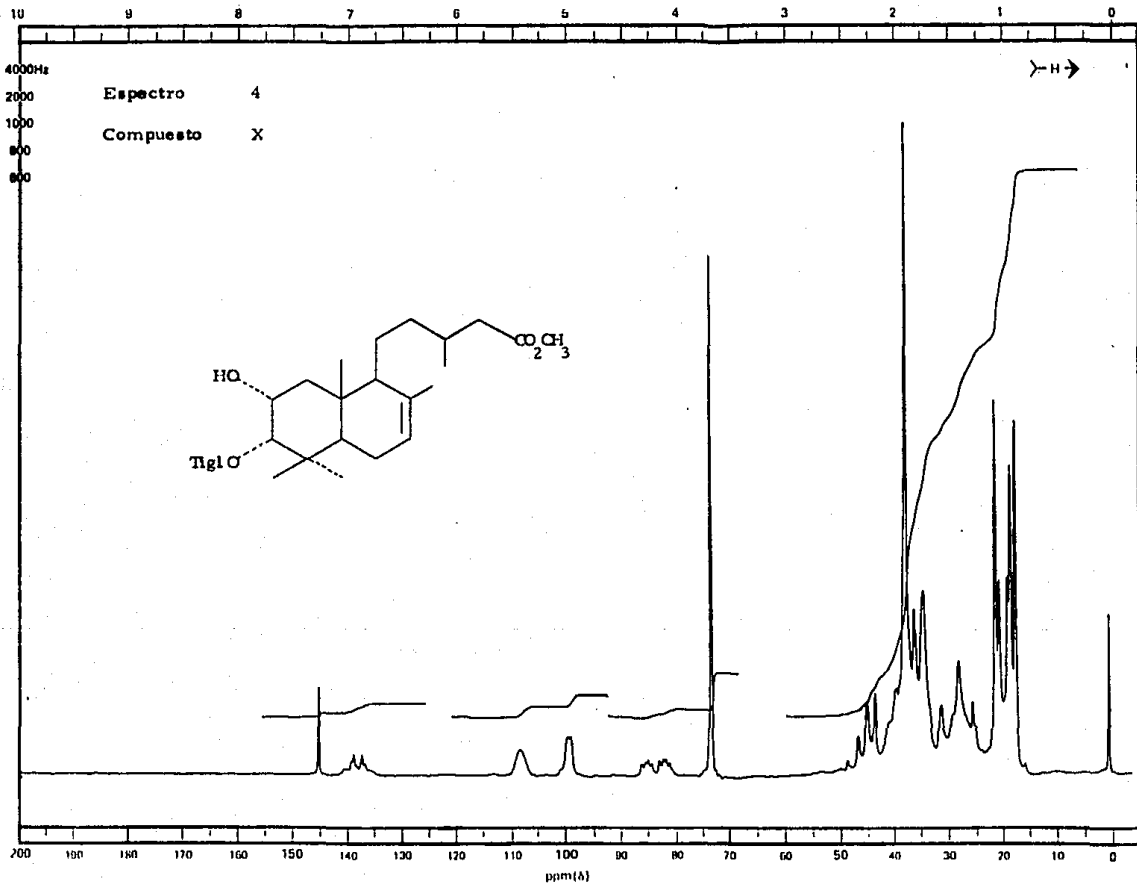
- 1.- Se estudiaron cuatro poblaciones diferentes de Brickellia Paniculata, recolectadas en la república mexicana.
- 2.- Se aislaron y caracterizaron 12 diterpenos, de los cuales 4 no han sido reportados en la literatura.
- 3.- Se aislaron e identificaron 2 diterpenos tipo clerodano, de estructura conocida, que no se habían aislado del género Brickellia.
- 4.- En todas las poblaciones estudiadas de B. Paniculata, se encontró que el compuesto mayoritario resultó poseer una 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ dioxigenación.

**ESPECTROS**

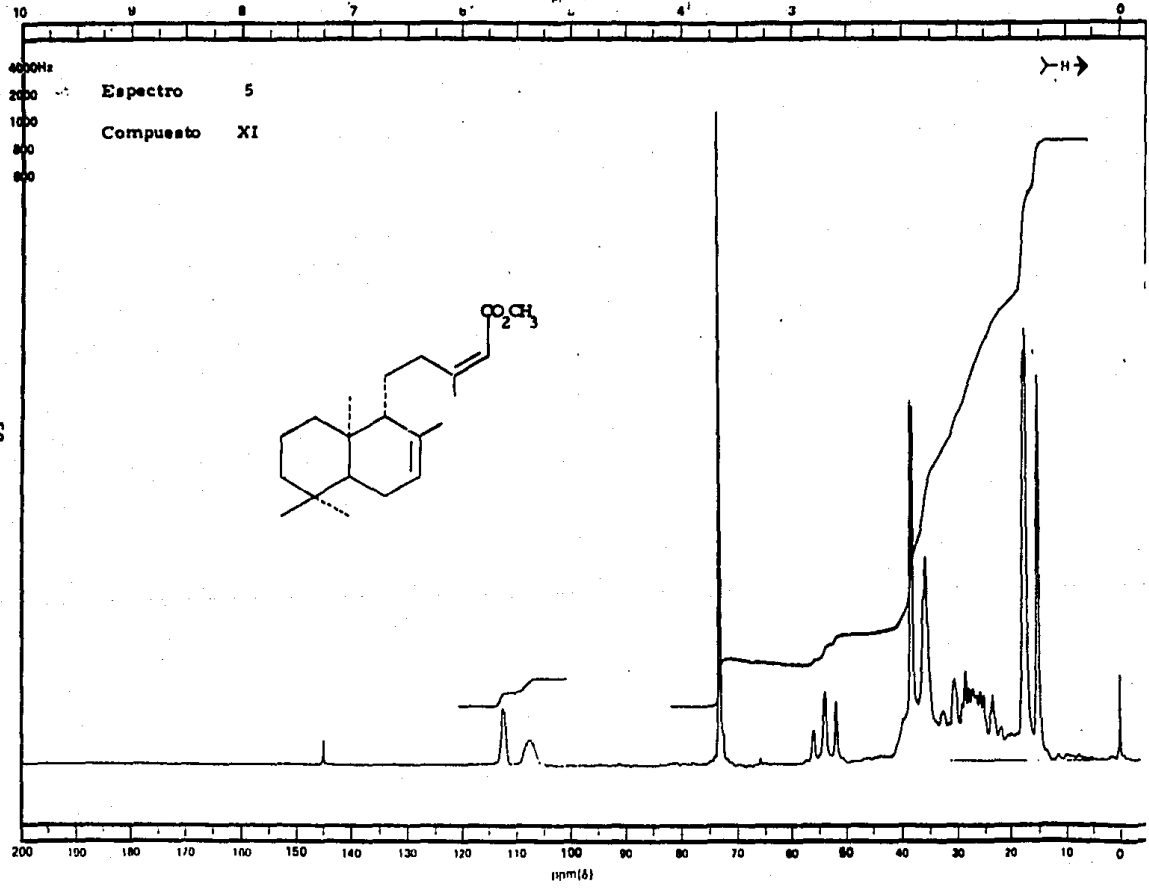




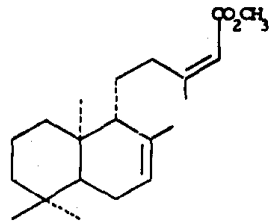




ppm(δ)



Espectro 5  
Compuesto XI

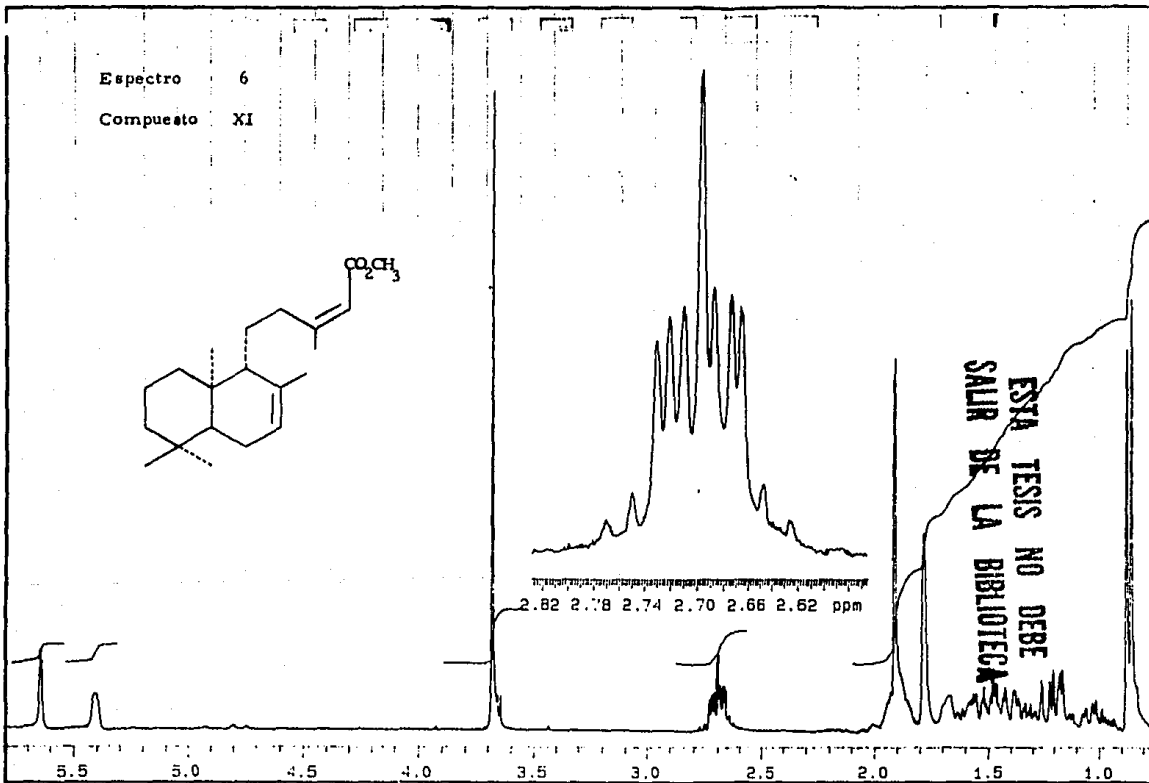
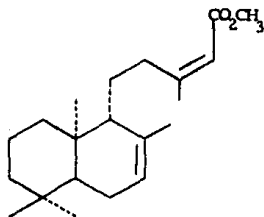


58

T-H →

ppm(δ)

Espectro 6  
 Compuesto XI



2.82 2.78 2.74 2.70 2.66 2.62 ppm

ESTA TESIS NO DEBE  
 SALIR DE LA BIBLIOTECA

Nombre	HI	Freq	200.00	Mod	
Spec. Width	4000.00	CPH	800.00	Power	-302.00
Acq. Time	3.74	Dir.	0	Max. Amp. Mod.	0.00
Phase Width	10.00	Tr. (ppm)	10.00	Freq	200.00
				Power Mod.	0

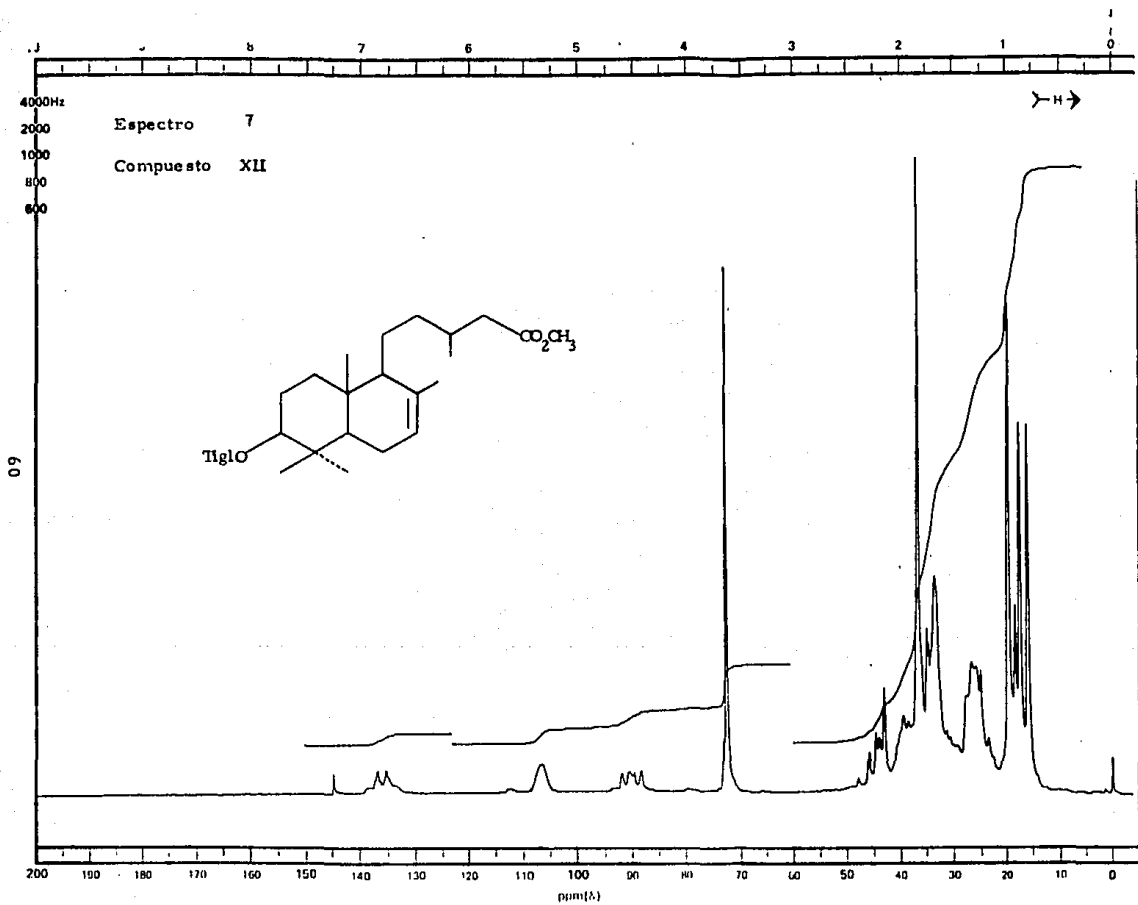
Nombre	HI	CPH	800.00	Mod	
Spec. Width	4000.00	CPH	800.00	Power	-302.00
Acq. Time	3.74	Dir.	0	Max. Amp. Mod.	0.00
Phase Width	10.00	Tr. (ppm)	10.00	Freq	200.00
				Power Mod.	0

IN	1	HI	100	100	100	100	100
not used							
not used							
not used							
1720.00							
Reference							

Pulse Sequence	168P11
Tube CD	4891
Temp	30.00
Scale	100.00
CD	100.00

07-01-10-2200





## BIBLIOGRAFIA

1. Devon, T. K y Scott, A. I  
Terpenes in Handbook of natural occurring compounds  
Vol II  
Academic Press.  
London (1972).
- 2 Newman, A. A.  
Chemistry of the Terpenes and Terpenoids  
Academic Press.  
London (1972).
3. -Pinder, A. R.  
The chemistry of the terpenes  
Ed. Wiley.  
New York (1960).
4. -Simonsen, J. L.  
The Terpenes.  
At the University Press.  
Cambridge (1952).
5. -Mayo, de P.  
The chemistry of natural products.  
Interscience Publisher, Inc.  
New York (1959).
6. -Romo de Vivar, A.  
Productos Naturales de la Flora Mexicana.  
Ed. Limusa  
México, D. F. (1985).
7. -Domínguez, Xorge A.  
Métodos de Investigación Fitoquímica.  
Ed. Limusa.  
México, D. F. (1979).

8. - Sánchez Sánchez Oscar.  
La Flora del Valle de México.  
Ed. Herrero (1976).
9. - Martínez, M.  
Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos en Plantas Mexicanas.  
Ed. Botas.  
México (1937).
10. - Rzedowski, J.  
La Vegetación de México.  
Ed. Limusa.  
México (1983).
11. - Funk, V. A.  
Memoirs of the New York Botanical Garden.  
Ed. The New York Botanical Garden Vol 36 (1953).
12. - Ruzicka, L.  
The isoprene Rule and the Biogenesis of Terpenic Compounds.  
Experientia Vol 9 (1953).
13. - Wagner, H. and Wolff, P.  
New Natural Product and Plants Drugs with Pharmacological  
Biological or Therapeutical Activity.  
Springer Verlag Berlin Heidelberg.  
New York (1977).
14. - Koji Nakarishi.  
Natural Products Chemistry  
Ed Kodarisha Scientific L. T. D. (1974).
15. - Cocker, J. D., Habali, T. G.  
The Chemistry of grup Labdane.  
J. Chem. Soc., 4262-71 (1956).

16. - Barltrop Rogers.  
Experiments on the Synthesis of Diterpenes.  
J.Chem.Soc. 2566-2572 (1958).
11. - Barltrop Dhy.  
Synthesis of Diterpenes. Part II An Intermediate for the  
Synthesis of Diterpenoid Acids.  
J.Chem.Soc. 671-678 (1959).
18. - Bohlmann F., Bapuji M., Jakupovic J., King Robert.  
Phytochemistry 21 181-186 (1982).
19. - Bohlmann F., Zdero C.  
Chem.Ber. 109 1436-1445 (1976).
20. - Bohlmann F., Suvita A.  
Phytochemistry 17 763-5 (1978).
21. - Bohlmann F.  
Phytochemistry 21 691-4 (1982).
22. - Calderón J.S., Quijano L.  
Phytochemistry 22 1783-85 (1983).
23. - Gómez F., Quijano L., Calderón J.S., Rios T.  
Phytochemistry 22 1292-93 (1983).
24. - Bohlmann F., Zdero C.  
Tetrahedron Letters 58 5109-10 (1969).
25. - Baruah R.N., Zdero C., Bohlmann F.  
Phytochemistry 24 2641-44 (1985).
26. - Ahmed, Ahmed A.  
Phytochemistry 25 1385-88 (1986).
27. - Yu, Sanggog.  
J.Nat.Prod. 49 553-4 (1986).

28. - Calderón J. S., Quifano L.  
Phytochemistry 26 2639-41 (1981).
29. - Kato T., Kabuto Ch., Sasaki N., Tsunagawa M.  
Tetrahedron Letters 39 3861-64 (1973).
30. - Sitton D., West, Charles A.  
Phytochemistry 14 1921-25 (1975).
31. - Ellestead G., Kunstmann M. P., Mirando P., Morton G. O.  
J. Am. Chem. Soc. 94 6206 (1972).
32. - William G. D., William, E. T. and Resnick, P. R.  
J. Am. Chem. Soc. 84 2015 (1962).
33. - Morris S., Karim A., March Carol.  
J. Am. Chem. Soc. 90 5923 (1968).
34. - Moran P. F. M.  
Determinación de las estructuras químicas de nuevos diterpenos aislados del género brickellia.  
Tesis (licenciatura).  
U. V. (1984).
35. - Hernández C. A. S.  
Aislamiento y determinación de la estructura de un nuevo diterpeno ácido glandulosico.  
Tesis (licenciatura).  
U. A. P. (1978).
36. - Escamilla S. E. M.  
Metabolitos secundarios aislados de las estevias seleriana, lucida var. lucida y lucida var. Bipontini.  
Tesis (maestría).  
U. A. M. (1987).
37. - Margaret F. Roberts., Barbara N.  
Phytochemistry 23 163-5 (1984).
38. - Karl-Heinz A. Rosler, Goodwin R. S.  
J. Nat. Prod. 47 316-9 (1984).

39. - Barbara N., Timmermann, Shitley A.  
Phytochemistry 20 1762 (1981).
40. - Ayhan Utubelen, B.N. Timmermann., Mabry T.J.  
Phytochemistry 19 905-8 (1980).
41. - Flores S. E. and Herrán J.  
Tetrahedron 2 308-15 (1958).
42. - Rodríguez J., Tello H., Quijano L., Calderón J.S., Gómez F.  
Romo J., Ríos T.  
Rev. Latinoamer. Quím. 15 41 (1974).
43. - Bulinska-Radomska, Zofia.  
J. Nat. Prod. 48 144 (1985).
44. - Iinuma, Munekazu.  
Phytochemistry 24 1367-68 (1985).
45. - Norris, John A.  
J. Nat. Prod. 48 668 (1985).
46. - Baruah R.N., Zdero C. Bohlmann F.  
Phytochemistry 24 2641-44 (1985).
47. - Li, Rongshi.  
J. Nat. Prod. 49 732-3 (1986).
48. - Wollenweber, E., Mann, K., Yatskievych, G.  
Bull. Liaison-Groupe Polyphenols 13 621-3 (1986).
49. - Robert S. Goodwin, Karl-Heinz A. Rosler.  
J. Nat. Prod. 47 711-4 (1984).
50. - Bohlmann F., Zitzkowski P., Suwita A. and Fieldler L.  
Phytochemistry 17 210-2105 (1978).
51. - Renu Misra., Pandey R.C and Sukh Dev.  
Tetrahedron 35 979-984 (1979).

52. Bohlmann F. and Zdero C.  
Chem. Ber. 109 1436-1445 (1976).
53. King R.M. and Robinson.  
The genera of the Eupatorieae (Asteraceae).  
Mon. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 22 488-490 (1987).
54. Dentali S.J., Hoffmann J.J., Jolad S.D. and Timmermann B.N.  
Phytochemistry 26 3025-3028 (1987).
55. Robinson B.L.  
A Monograph of the Genus Brickellia.  
Memoirs of the Gray Herbarium of Harvard University.  
Ed. Harvard U.
56. Bory S., Fetizon M., Laszlo P.  
Bull. Soc. Chem. Fr. 2310 (1963).
57. Garbarino J.A., Chamy M.C., Piovano M. and Gambaro V.  
Phytochemistry 27 1795 (1988).
58. Bevan C.W.L., Ekong D.E.U. and Okogun J.I.  
J. Chem. Soc. (c) 1067 (1968).
59. Suzuki H., Noma M. and Kawashima N.  
Phytochemistry 22 1294 (1983).
60. Purushothaman, K.K., Sarada, A., Saraswathy, A. and Connolly, J.D.  
Phytochemistry 22 1042 (1983).
61. Timmerman, B.N., Hoffmann, J.J. and Jolad, S.D.  
Phytochemistry 25 723 (1986).