



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Estudio Químico de
Penstemon barbatus y
Penstemon campanulatus
(*Schrophulariaceae*)

Tesis

Que para obtener
el grado de **Maestro en Ciencias Químicas**,
Farmacia-Química Farmacéutica.

Presenta el
QFB. Alfonso Sebastián Lira Rocha

1992



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

RESUMEN

Se realizó el análisis químico de las partes aéreas de dos especies del género *Penstemon*, *P. barbatus* y *P. campanulatus* (*Scrophulariaceae*) colectadas en Texcoco, Edo. de México y Xihuingo, Hidalgo, respectivamente.

Del *Penstemon barbatus* se aislaron cuatro glucósidos iridoidales, del tipo aucubina: el *barbátosido*, *catapol*, *globularina* y *escutellariosido II*, los dos últimos como derivados acetilados; todos estos compuestos se habían aislado previamente de otras plantas de diversos géneros, y su identificación se realizó mediante el análisis de datos espectroscópicos.

Por otra parte, de *Penstemon campanulatus* se aislaron dos glucósidos iridoidales del tipo isovalerato: el *penstémido*, compuesto previamente aislado de *Penstemon deustus*, el cual presenta actividad antitumoral contra linfocito de leucemia P-388, además del nuevo compuesto *10-(8-hidroxi-2,6-dimetil-2(E),6(E)-octadienoil) penstémido*, cuya estructura se propone en base a sus datos espectroscópicos.

Se incluye una revisión de los compuestos presentes en el género, además de las actividades biológicas de los glucósidos iridoidales.

Abstract

The aerial parts from two species of genus *Penstemon*, *P. barbatus* and *P. campanulatus* (*Scrophulariaceae*) collected in Texcoco, Edo. de México and Xihuingo, Hidalgo, respectively, were studied.

From *Penstemon barbatus* four Iridoids glycosides aucubin-type were obtained: *barbatoside*, *catalpol*, *globularin* and *scutellarioside II*, the last two as acylated derivatives; all compounds have been isolated, previously, from others plants of different genus and their structures were established by spectroscopic analysis.

On the another hand, from *P. campanulatus* were obtained two Iridoids glycosides from isovalerate-type : *penstemide*, isolated previously from *Penstemon deustus*, which showed antitumor activity against leukemia lymphocyte P-388, and also a new compound *10-(8-hydroxy-2,6-dimethyl-2(E),6(E)-octadienoyl) penstemide*, was obtained, its structure was established by spectroscopic analysis.

A review of the chemical contents from the genus and the biological activities of the Iridoids glycosides is included.

INDICE GENERAL

	Página
1. INTRODUCCION	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1. DIVISION DE LA FAMILIA SCHROPHULARIACEAE.....	3
2.2. CLASIFICACION DE IRIDOIDES	5
2.2.1. METILCICLOPENTANO MONOTERPENOS	5
2.2.2. IRIDOIDES GLICOSIDICOS	5
2.2.3. SECOIRIDOIDES	7
2.2.4. ALCALOIDES MONOTERPENICOS	7
2.2.5. ACTIVIDAD FARMACOLOGICA DE IRIDOIDES	11
3. PARTE TEORICA	20
3.1. PENSTEMON BARBATUS	20
3.2. PENSTEMON CAMPANULATUS	29
4. PARTE EXPERIMENTAL	37
4.1. PENSTEMON BARBATUS	37
4.2. PENSTEMON CAMPANULATUS	44
5. CONCLUSIONES	50
6. ESPECTROS.....	52
7. BIBLIOGRAFIA.....	71

1. INTRODUCCION

El conocimiento y empleo adecuado de las plantas ha coadyuvado al hombre en su desarrollo, ya sea como fuente de alimentación, vestido o vivienda. A la par se han generado amplios conocimientos sobre su uso como remedios curativos o paliativos de algunos padecimientos; esto en la actualidad se le conoce como medicina tradicional o folklórica. En los últimos siglos. estos conocimientos se han sometido a estudios con un enfoque científico, sobretodo como fuente alternativa a la obtención de fármacos, ya sea empleando los metabolitos secundarios presentes o modificando su estructura con el fin de mejorar su acción farmacológica.

En el caso de México, durante la época prehispánica se desarrolló una cultura amplia en la medicina tradicional, lo cual se debe en gran parte a la riqueza de la flora nacional¹. Sin embargo, mucho de este conocimiento ha disminuido o inclusive ya no existe y se tiene referencias de éste por los códices prehispánicos que aún se conservan.

El presente trabajo versa sobre el análisis químico de dos plantas, *Penstemon barbatus*, conocido vulgarmente como *chilpantlacoatl* y *Penstemon campanulatus*, el cual tiene varios nombres vulgares: *arracimado*, *chichicuahuatl*, *chilpan*, *cuahuchichi*, *cuahuchichic*, *guachichi*, *quitano* y *zapotillo* (muchos otros *Penstemon* también se conocen como jarritos o tarritos). Cita F. Hernández² en su obra que "...las raíces (del *chilpan*, *Penstemon campanulatus*) tomadas en dosis de una dracma con alguna bebida, suelen evacuar la bilis por el conducto superior y también por el inferior a veces, y provocan la orina retenida; dicen también que reducidas a polvo y tomadas o introducidas con algún líquido astringente, contiene la sangre que fluye de la nariz. Es de naturaleza amarga y caliente, y quema un poco la garganta al comerlo. Nace en lugares templados, como son el campo tezcocano y el mexicano, en sitios

campestres o montuosos, y florece en septiembre...", lo que se puede interpretar que se usa contra la bilis, como diurético y que puede contrarrestar la hemorragia nasal³.

Ambas plantas pertenecen a la familia Scrophulariaceae. En esta familia varios géneros presentan compuestos de estructura similar, sobre todo iridoides glicosídicos (glicósidos monoterpénicos), aunque también se han encontrado flavonoides, fenilpropanoides y algunas veces alcaloides. Los iridoides le confieren a las plantas un sabor amargo, y a diferencia de otro tipo de monoterpenos, se encuentran distribuidos en semillas, raíces, corteza y hojas; esto se atribuye a su solubilidad en agua, la cual se favorece por los residuos de glucosa u otros azúcares que presentan, de ahí su facilidad de transporte por la planta. También, una función del azúcar quizá sea estabilizar el esqueleto monoterpénico, ya que el aglucón, por lo general, es inestable, y puede experimentar reordenamientos estructurales.⁴

El aislamiento y caracterización estructural de los iridoides presentes en las especies antes señaladas, son el argumento de este trabajo.

2. ANTECEDENTES

2.1. DIVISION DE FAMILIA SCHROPHULARIACEAE

El género *Penstemon* pertenece a la familia Escrofulariaceae, la cual esta comprendida en el Orden Tubiflorae (*sensu Wettstein*)⁵ o el Asteridae (*sensu Cronquist*)⁶, y consta de tres subfamilias:⁷ *pseudosolaneae*, *antirrhinoideae*, y *rhinanthoideae*, las cuales se muestran a continuación:

<u>PSEUDOSOLANEAE</u>	<u>RHINANTHOIDEAE</u>	<u>ANTIRRHINOIDEAE</u>
TRIBU VERBASCACEAE	TRIBU GERARDIAE	TRIBU HEMIMERIDEAE
TRIBU APTOSIMEAE	TRIBU RHINANTHEAE	TRIBU CALCEOLARIEAE
		TRIBU ANTIRRHINEAE
		TRIBU CHELONEAE
		TRIBU MANUELEAE
		TRIBU GRATIOLEAE
		TRIBU SELAGINEAE
		TRIBU DIGITALEAE

En México se encuentran aproximadamente 36 especies del género *Penstemon*, el cual pertenece a la tribu *chelonae* y las características morfológicas para las plantas estudiadas son las siguientes:⁸

- a) *P. barbatus* (Cav.) Roth. Hierba con base leñosa; tallos erectos de 30 cm a 1 m de alto, de color verde, ocasionalmente violáceos, glabros o puberulentos; hojas lanceoladas, o bien, las inferiores, a veces más o menos espatuladas, de 4 a 11 cm de largo, con los márgenes enteros; inflorescencia paniculada, glabra con flores amarillo-rojizas o de color rojo-escarlata; corola tubular, a veces ligeramente ensanchada, de 2 a 3.8 cm de largo, labio superior saliente, el inferior encorvado y con numerosos pelos de color blanco o amarillento, filamentos de 2.5 a 2.7 cm de largo, anteras de ± 2.5 mm de largo; capsula acuminada de 1 a 1.8 cm de largo, de color café verdoso o café oscuro ; semillas rugosas de color café, de 1.5 a 2 cm

de largo. Ampliamente distribuido en el Valle de México. Alt. 2300-2859 m. Bosques, pastizales y matorrales, pero de preferencia en lugares perturbados. Se distribuye desde el Oeste de Estados Unidos hasta Guatemala.

- b) *P. campanulatus* (Cav) Wild. Hierba con tallos erectos, muy ramificados, de 50 cm a 1 m de alto, glabros o puberulentos; hojas numerosas, sésiles, de forma lanceolada o linear, de 3 a 4 cm de largo, ápice agudo o acuminado, márgenes aserrados, glabras o ligeramente puberulentas, sobre todo en las nervaduras principales, las superiores dilatadas en la base y en ocasiones abrazando al tallo, las inferiores generalmente angostas; inflorescencia en forma de panícula terminal, sépalos lanceolados, acuminados, enteros y más o menos glandular-puberulentos, en ocasiones de teñidos de color púrpura; corola ventricosa, de color azul-violeta o morado, en ocasiones con estrias blancas, glandular-puberulenta en el exterior, labio inferior con escasos y cortos pelos de color blanco en el interior; semillas de color café oscuro o negro, de ± 2 mm de largo. Ampliamente distribuida en el Valle de México, excepto en las partes secas. Alt. 2300-3200 m. Principalmente localizada en zonas montañosas, en bosques de encino y pino, en matorrales y pastizales secundarios, a orillas del camino y en sitios perturbados. Se localiza en Sonora a Tamaulipas y hacia el sur hasta Guatemala.

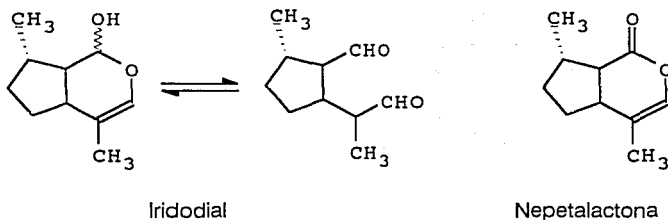
Del género *Penstemon* se han estudiado aproximadamente 13 especies en todo el mundo, de las cuales se han aislado principalmente iridoides glicosídicos, en algunos otros casos únicamente se han realizado ensayos cualitativos para determinar si hay presencia de ciertos tipos de metabolitos secundarios⁹; a continuación se describirán algunas generalidades de los iridoides.

2.2. CLASIFICACION DE IRIDOIDES

Los iridooides son monoterpenos de origen vegetal, principalmente, aunque originalmente se aislaron de hormigas (*Iridomyrmex detectus*), a las cuales deben su nombre. Se caracterizan por presentar un anillo básico de dihidropirano fusionado con un anillo de ciclopentano.¹⁰

2.2.1. METILCICLOPENTANO MONOTERPENOS

Estos presentan el anillo básico de monoterpenociclo-pentano pero carecen de residuo glicosídico.



2.2.2. IRIDOIDES GLICOSIDOSIDICOS

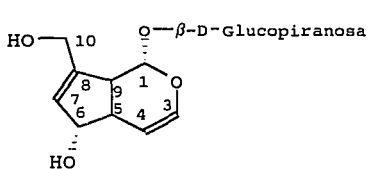
Representan al mayor grupo de los iridooides y se caracterizan por tener un residuo glicosídico, ya sea de glucosa, ramnosa, celobiosa, etc., pueden presentar un grupo éster en su estructura, se les conoce también como "pseudoindicanos", debido al color azul generado después de su hidrólisis en medio ácido y como "glucósidos de aucubina" por su relación con el miembro más común de estos que es la aucubina.

Su estructura se caracteriza por una fusión "cis" de un esqueleto de ciclopentano-[c]-pirano (iridano), parcialmente hidrogenado.

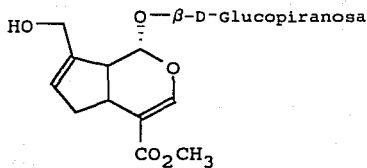
Se pueden delinear las siguientes características estructurales :

1) un sistema enol-éter que lo comprenden los C-1, C-3 y C-4, donde el C-3 no está sustituido;

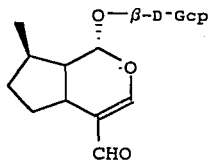
- 2) puede carecer de C-10 y/o C-11;
- 3) configuración S en C-1, el cual siempre esta unido a un oxígeno acetálico que forma parte de un residuo glicosídico o que forma parte de un éster isovalerato;
- 4) una fusión "cis" entre C-5 y C-9, la posición 5 a veces sustituida por un grupo hidroxilo y la posición 9 sin sustituir con configuración α del hidrógeno;
- 5) posible presencia de un doble enlace entre C-7 y C-8 y menos común entre C-7 y C-6 ó C-8 y C-10;
- 6) grupos éster derivados del ácido cinámico, ácido caféico, ácido p-hidroxicinámico, etc.



Aucubina

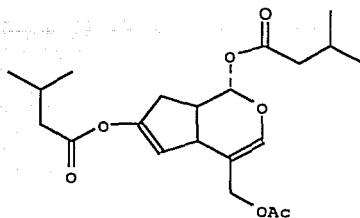


Genipósido



Boschnalósido

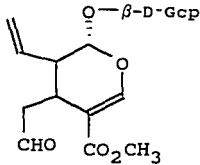
Gcp=glucopiranosas



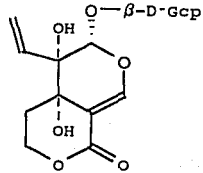
Valtrato

2.2.3. SECOIRIDOIDES

Estos compuestos presentan oxidado el anillo de ciclopentano el cual se encuentra abierto. Se han propuesto como intermediarios en la biosíntesis de alcaloides tales como cinchona, pirroloquinolínicos e indólicos.



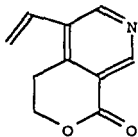
Secologanina



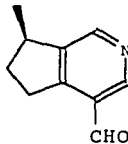
Esvertiamarina

2.2.4. ALCALOIDES MONOTERPENICOS

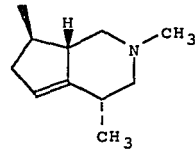
Estos se encuentran relacionados biogenéticamente a la loganina y otro tipo de iridoides glicosídicos, con una sustitución del oxígeno del anillo de dihidropirano por nitrógeno y retención del esqueleto básico bicíclico. Estos también se pueden obtener por el tratamiento de los iridoides glicosídicos con amoníaco. (Como en el caso de la gentianina, que originalmente se consideró un producto natural, pero es un artefacto, el cual se produce por el tratamiento de la esvertiamarina con $\text{NH}_4\text{OH}^{11}$).



Gentianiana



Boschniakina



Tecomanina

Existen diversas revisiones sobre elucidación estructural¹², biosíntesis¹³, distribución quimiotaxonomica^{14,15} de los iridoïdes. Con respecto a este último tema se ha observado que los iridoïdes glicosídicos se han aislado de diversas Familias, todas ellas pertenecientes al grupo de las escrofulariales, de acuerdo a Gershenzon¹⁵, en donde refiere que lo comprenden las Scrophulariaceae, Acanthaceae, Bignoniaceae, Gesneriaceae, Plantaginaceae, Buddlejaceae, sirviendo estos compuestos como marcadores para este gran grupo.

Entre las especies estudiadas del género *Penstemon* se encuentran:

TABLA I

Especie	Compuestos aislados
<i>P. deustus</i>	Penstémido ¹⁶
<i>P. eriantherus</i>	Iso-eschrophulariósido ¹⁷
<i>P. whippleanus</i>	a) Boschniakina, derivados de 4-noractinidina (alcaloide) ¹⁸ b) 10-t-cinamoilaucubina, p-cumaroilaucubina, musaenosido, piceína (O-glucosilacetofenona) ¹⁹ c) Aucubina, catalpol, globularina, bartsiósido, ácido musaenosídico ²⁰
<i>P. barbatus</i>	a) Barbatósido ²¹ b) Penstemonósido, penstemósido, catalpol, globularina, globularicisina, escutellariosido II ²²
<i>P. nemorosus</i>	Nemorósido, nemorosósido ²³
<i>P. serrulatus</i>	a) 8-epi-valerosidatum ²⁴ b) Serrulósido, serrulatósido ²⁵ c) Serrulatolósido ²⁶
<i>P. pinifolius.</i>	a) Piceína, androsina (glucósidos de acetofenona) ²⁷ b) Pinifolina ²⁸
<i>P. strictus</i>	Globularina ²⁹
<i>P. cardwellii</i>	Musaenósido, bartsiosido ²⁴

<i>P. richardsonii</i>	Penstémido, 8-epi-valerosidatum, aglucón del penstémido, serrulatósido y penstebiósid ³⁰
<i>P. confertus</i>	a) Dihidropenstémido ³¹ b) 7-hidroxiiebulósido, dihidroserrulósido, confertósido ³² c) 2'-(8-hidroxi-2.6-dimetil-2(E),6(E) octadienoil)-dihidropentenstémido ³³
<i>P. rosseus</i>	Boschnalósido, plantarenalósido, acteósido (fenilpropanoide glicosídico) ³⁴
<i>P. gentianoides</i>	Plantarenalósido, aucubina, catalpol, dihidrocornina, mussaenósido, acteósido (fenilpropanoide glicosídico), crysoerial (flavona) ³⁵
<i>P. centrathifolius</i>	Dihidrocornina, cantleyina, centratifolina, plantagenina (los últimos tres alcaloides piridínicos) ³⁶
<i>P. digitalis</i>	a) Estansiósido, orobancósido (fenilpropanoide glicosídico), 1,8-dihidroxi-3,7-dimetil-oct-2(E)-en-1-O- β -D-glucopiranósido. ³⁷ b) Martynósido (fenilpropanoide glicosídico), nemorósido, digipenstrósido. ³⁸ c) 5'-hidroxidigipenstrósido, penstriatósido. ³⁹
<i>P. nitidus</i>	Cornina, 10-hidroxicornina, hastatósido, β -dihidrohas-tatosido ⁴⁰

En esta tabla se enlistan las especies que se han analizado hasta el aislamiento de los componentes, pero existen algunos estudios en donde se detectan los compuesto por métodos cualitativos y aquí no estan incluidos. Es interesante señalar que en América no se había realizado ningún estudio del género hasta 1982, año en que el Dr. Jiménez y colaboradores del Instituto de Química de la UNAM, México, analizaron el *Penstemon rosseus*, de donde aislaron el boschnalósido, al cual se le realizó un estudio por difracción de rayos X⁴¹, confirmando la estructura propuesta inicialmente por el Dr. Murai⁴² y col. de la Universidad de Medicina de Aichi, Japón, basándose en métodos químicos y espectroscópicos. Además, como se señala en la Tabla I, se aislaron el plantarenalósido y el acteósido, este último un fenilpropanoide glicosídico. El Dr.

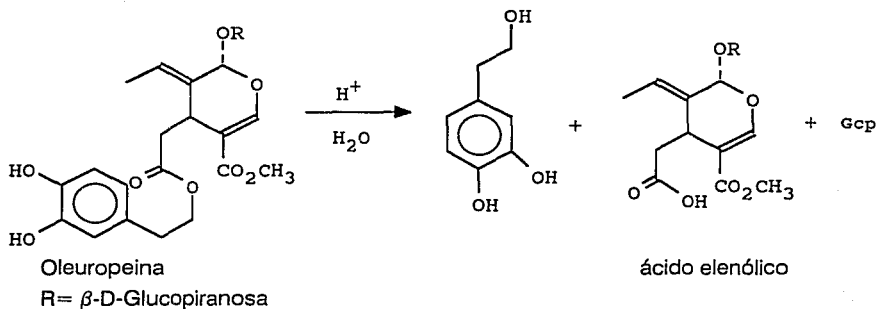
Jiménez también ha estudiado el *P. gentianoides* y el *P. centrathifolius*, en ambas se hallaron iridooides glicosídicos, pero en la última especie, se encontraron alcaloides del tipo piridínico, esta especie junto con el *P. whippleanus*, investigada por el Dr. Stermitz de la Universidad Estatal de Colorado, USA^{18,20}, son las únicas hasta el momento que han presentado este tipo de sustancias. Además de este género, el Dr. Jiménez ha estudiado otros géneros, como parte del estudio sistemático de la familia Scrophulariaceae: *Castilleja tenuiflora* y *Lamourouxia multifida*, de esta última aisló un nuevo compuesto iridooidal, el lamuróxido⁴³.

Desde principios de la década pasada los investigadores alemanes Gering y Junior¹⁷ (ver tabla) de la Universidad de Marburgo han estudiado este género, hallando iridooides del tipo isovalerato, hecho significativo, ya que en ningún otro género de la familia se han detectado este tipo de compuestos, cabe señalar que sus estudios únicamente los han realizado con plantas europeas (a excepción de *P. nitidus*, nativa del Canadá), y en el caso de las plantas americanas, muy poco estudiadas, se han aislado únicamente iridooides del tipo aucubina.

2.2.5. ACTIVIDAD FARMACOLOGICA DE IRIDOIDES

Los iridoides glicosídicos se han evaluado desde el punto de vista farmacológico en diferentes modelos. A continuación se describen algunos de los resultados de estos ensayos:

a) Efectos Hipotensivos⁴⁴. Se sabe por datos clínicos empíricos (realizados en 1950) que la oleuropeína, que se aísla de las hojas del árbol del olivo, posee propiedades hipotensivas. Al hidrolizar la oleuropeína con ácido fosfórico, se obtiene el ácido elenólico, el cual es un agente hipotensivo. Además de esta actividad se demostró que ejerce un efecto dilatador coronario, así como una acción antiarrítmica y espasmolítica.

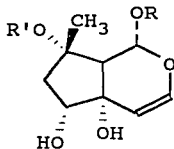


b) Efecto Analgésico y Antiinflamatorio.⁴⁴ El aglucón del iridoide harpagósido, el harpagósido (aislado de las raíces de *Harpagophytum procumbens*, una planta africana) y el extracto crudo del vegetal fueron evaluados como antiinflamatorios, analgésicos y espasmolíticos, comparándose con los efectos producidos por la fenilbutazona, los datos de este estudio se muestran en la sig. tabla:

TABLA II

INVESTIGACION FARMACOLOGICA DEL HARPAGOSIDO

ENSAYO	HARPAGOSIDO	AGLUCON	EXTRACTO ACUOSO	FENILBU-TAZONA
Edema (en rata)	--	--	--	+
Granuloma (producido por aceite de croton)	+	+	No investigado	+
Artritis (inducida por formalina)	--	+	+	+
Efecto analgésico (Prueba de oreja de conejo)	+	--	--	+
Contracción del ileón de cobayo (<i>in vitro</i>)	--	No investigado	No investigado	+



1.- Harpágido

R'=H, R= β -D-Gcp

2.- Harpagósido

R'=trans Cinamoil, R= β -D-Gcp

3.- Aglucón del Harpagósido

R'=trans Cinamoil, R= β -D-Gcp

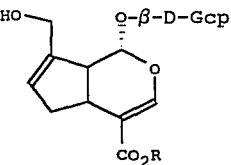
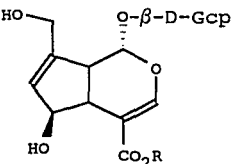
Como se muestra en la Tabla II, por ejemplo, cuando se induce artritis en la rata con formalina, tanto el aglucón del harpagósido como el extracto crudo mostraron actividad comparable a la de la fenilbutazona, no así el glicósido que no mostró ninguna actividad. De la misma manera en el granuloma inducido por aceite de croton, el harpagósido y su aglucón mostraron actividad similar a la de la fenilbutazona, sin embargo, en el efecto analgésico la actividad del harpagósido fue similar a la de la fenilbutazona.

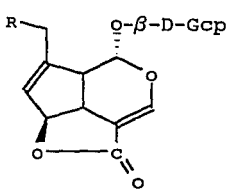
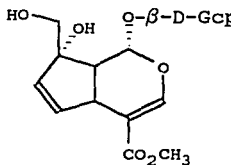
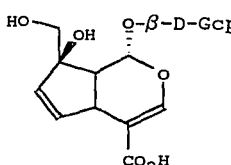
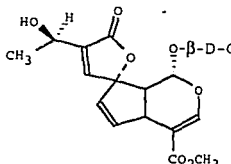
c) Efecto Purgante. Yamauchi et al.⁴⁵, han realizado ensayos sobre la actividad purgante del fruto de *Gardenia jasminoides*, conocida dentro de la medicina

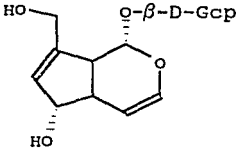
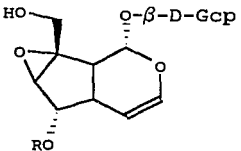
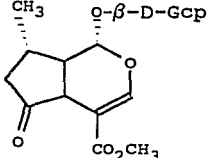
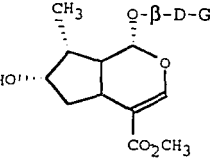
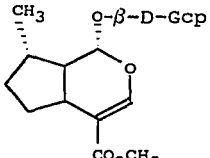
tradicional china como shan-zhi-zi, al cual se le atribuyen diversas acciones como antiinflamatoria, diurético y sedativo. Inicialmente de esta planta se aislaron nonacosano, β -sistosterol y manitol⁴⁶ y posteriormente varios glicósidos iridoidales que son genipósido, gardenósido⁴⁷, 1- β -gentiobiósido genipina⁴⁸, shanzhísido y el éster metílico del ácido desacetilasperulosídico⁴⁹. En este estudio se determinó como patrón de referencia al genipósido, comparando su efecto purgativo contra los extractos acuoso y metanólico del fruto. Se administró una única dosis oral a ratones, observándose que los extractos totales presentaban un mayor efecto que el genipósido.

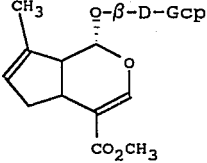
En otro estudio realizado por los mismos investigadores se compararon diferentes glicósidos iridoidales cuyos resultados se presentan en la siguiente tabla III⁵⁰:

TABLA III

Iridoide	ED 50 g/Kg	Tiempo de aparición de la diarrea Hr
 <p>Genipósido R=CH₃ Acido Genipósido R=H</p>	<p>0.30 >0.80</p>	<p>3 5</p>
 <p>Ester metílico del ácido desacetil- asperulosídico R=CH₃</p>	<p>0.53</p>	<p>>6</p>

	<p>ácido desacetilasperulosídico R=H</p>	»0.60	-
	<p>Asperulósido R=O-COCH₃</p>	0.24	>6
	<p>Paederósido R=S-COCH₃</p>	>0.30	>6
	<p>Gardenósido</p>	1.20	3
	<p>Monotropeina</p>	>0.50	>6
	<p>Plumierido</p>	0.12	1

	Aucubina	0.39	>6
	Catalpol R=H	0.34	>6
	Catalpósido R=	>0.30	>6
p-hidroxibenzoato	Verbenalina	0.11	1
	Loganina	0.54	4
	Desoxiloganina	0.80	3
			

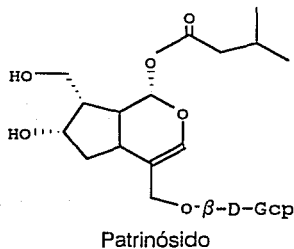
	Desoxigenipósido	>1.20	4
---	------------------	-------	---

De acuerdo a estos resultados se observa que todos los iridoideos tienen cierta actividad purgante en mayor o menor grado, diferenciándose en el tiempo de aparición de la diarrea. Además, se determinó que la presencia del grupo carboxilo libre en la posición 11 disminuye la actividad purgante. Por ejemplo el ácido geniposídico, el ácido desacetilasperulosídico y la monotropeína son purgantes más débiles comparados con el genipósido y el éster metílico del ácido desacetilasperulosídico.

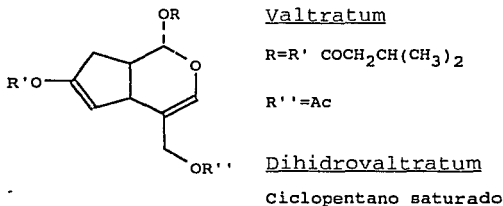
Por otra parte se determinó que el genipósido provoca la actividad purgante por vía oral y no por vía parenteral. El probable mecanismo de acción del genipósido quizá sea la estimulación de la acción propulsora a lo largo del intestino. Además, después de administrar una dosis oral de este iridoide, se detectó su aglucón en casi todos los segmentos del tracto gastro intestinal, especialmente el cecum y el colon. De acuerdo con esto se concluyó que el aglucón del genipósido es el compuesto activo al igual que en el caso de los otros iridoideos evaluados. La inyección de la genipina en el cecum redujo marcadamente el tiempo de aparición de la diarrea comparada con la inyección del genipósido.

Por otra parte, existe otro reporte⁵¹ en donde se evaluó el efecto coleterético de la genipina (que es el aglucón del genipósido) y el patrínósido (iridoide del tipo valeriana). Ambos se administraron por la vena mesentérica a ratas, bloqueando el efecto colestático inducido y aumentando

marcadamente el flujo biliar. Esto último refuerza la observación de que los aglucones son los responsables de la actividad biológica.



d) Efecto sedante.⁴⁴ Los iridoides no glicosídicos denominados "Valepotriatos" que se aíslan de plantas pertenecientes a la Familia de las Valerianas se utilizan como agentes terapéuticos. En Alemania, por ejemplo, existe un fármaco llamado "Valmane", el cual se utiliza como agente sedante débil. Entre estos Valepotriatos se encuentran los iridoides Valtratum y Dihidrovaltratum.



Otros efectos encontrados en estos compuestos son por ejemplo: la verbenalina que tiene baja toxicidad y posee actividad sobre el útero similar al ergot y es débilmente parasimpatomimético.

e) Efecto Citotóxico.⁵² La alamandina, que es una lactona con estructura iridoidal, aislada de *Allamanda cathartica*, posee actividad citotóxica, junto con este

compuesto se aislaron los iridoides alamandicina, plumiericina e isoplumiericina.

Kupchan y colaboradores determinaron la actividad in vivo de la alamandina contra leucemia P-388 en ratones e in vitro contra células derivadas del carcinoma humano de Nasopharynx (KB).

Por otra parte, investigadores japoneses⁵³ realizaron un estudio comparativo entre los glicósidos iridoidales y sus respectivos aglucones, en el cual se determinó que la estructura hemiacetálica de ciertos aglucones es fundamental para que tales compuestos exhiban propiedades antitumorales. A continuación se presentan los resultados de los ensayos realizados contra Leucemia P-388:

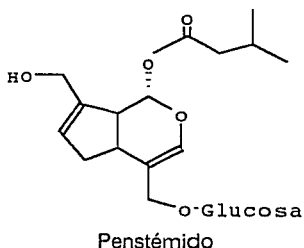
TABLA IV

Actividad antitumoral de algunos Iridoides y sus aglucones						
Compuesto	Glicósido T/C %		Aglucón T/C %			
	(mg/Kg)		(mg/Kg)			
	100	300	10	50	100	200
Aucubina	103	100	103	117	130	147
					162	33
Escandiósido (Ester metílico)	103	91	109	131	160	44
					158	53
Genipósido	96	96	96	106	117	90
Loganina	100	100	100	126	129	65
Swerósido	103	97	109	134	44	33
Gardenósido	106	103	97	122	122	122
Gentiopicrosido	108	116	110	55		

Se puede observar que ninguno de los glicósidos mostró actividad significativa, pero la mayoría de los aglucones ejercieron la actividad antitumoral (Esto también se ha observado cuando se han evaluado sus

propiedades antimicrobianas). Por otra parte, el aglucón de la aucubina y del éster metílico del escandiósido (EMS) exhibieron mayor actividad. Se determinó también el efecto de EMS sobre el carcinoma de Erlich Ascites Meth A y el sarcoma 180 y L 120 ya que este aglucón es el más estable, mostrando una actividad moderada contra leucemia L 120 y siendo muy activo contra el carcinoma de Erlich Ascites Meth A y el sarcoma 180. Es importante hacer notar que los iridoides glicosídicos no muestran actividad antimicrobiana o antitumoral por sí mismos, no así sus aglucones, los cuales se obtienen después de una hidrólisis enzimática o en medio ácido, esta última no es conveniente ya que se ha observado que la molécula puede experimentar reordenamientos estructurales^{54,55} modificándose la actividad biológica, aunque esto no está confirmado, debido a la evidencia de algunos estudios realizados en los cuales se ha mantenido la actividad biológica.

También cabe mencionar que el compuesto denominado penstémido, aislado de *Penstemon deustus*, se ha evaluado su actividad antitumoral contra linfocito de leucemia P-388.¹³



A continuación se describirá la caracterización estructural de los compuestos aislados en el presente trabajo.

3. PARTE TEORICA

Para continuar nuestro estudio de las plantas de la familia Scrophulariaceae de México, en especial del género *Penstemon*, se localizaron poblaciones de *P. barbatus* y *P. campanulatus* que, según la herbolaria, mexicana tienen algunos usos medicinales y que no han sido estudiadas en nuestro país, y es el objetivo del presente trabajo conocer la composición química de estas plantas, cabe precisar que hemos estudiado el *P. rosseus*, *P. gentianoides*, *P. centrathifolius* (ver tabla I), todas estas especies se han colectado en su habitat natural, en contraste al material objeto de los estudios realizados en Europa con el mismo género, el cual se cultiva para su estudio en jardines botánicos.

3.1. *PENSTEMON BARBATUS*

De la planta *Penstemon barbatus* se aislaron cuatro iridoideos glucosídicos, a continuación se describe su elucidación estructural:

a) Barbatósido: su espectro de RMP (espectro 1), muestra una señal doble a 1.05 (J=10 Hz), el desplazamiento y la constante de acoplamiento es típica en este tipo de compuestos para un grupo metilo en la posición ocho con orientación β ; se observa una señal simple a 3.75, que integra para tres protones y corresponde a un grupo metoxilo, que junto con la señal a 7.50 corresponde a un grupo carbometoxí conjugado con el sistema enol-éter de los iridoideos (figura 1):

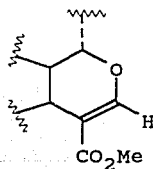


Figura 1

Se observa una señal doble de doble a 5.30 ($J=2,4$ Hz) que integra para un protón, que se asigna al protón de H-6 y otra señal múltiple a 4.65-4.85 que integran para dos protones, uno de ellos corresponde al protón anomérico de una β -D-glucosa, el otro corresponde al protón de la posición 7, ambos protones (H-6 y H-7) corresponden a las bases oxigenadas de dos grupos acetato, cuyos desplazamientos están en 2.05 y 2.10 e integran para seis protones; también se observa una señal doble a 5.55 ($J=2$ Hz) que corresponde al protón de la posición 1, por lo demás, se observan varias señales múltiples de 3 a 4 ppm que corresponden a las bases oxigenadas de los grupos hidróxilo de un azúcar. En base a estos datos se propuso la siguiente estructura (figura 2):

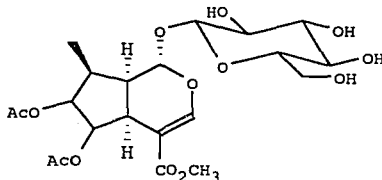


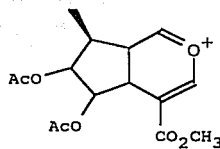
Figura 2

El derivado acetilado (anhídrido acético/piridina) del compuesto anterior, un sólido blanco con $pf= 153-155^\circ$, presentó el siguiente patrón de fragmentación en EM. Un ión $[M^++1]$ 659 m/z (11.9%) (espectro 4), que corresponde a la fórmula condensada de $C_{29}H_{38}O_{17}$, el ión 331 m/z (100%) atribuido a la glucosa totalmente acetilada (figura 3), y el ión 311 m/z (20.7%) que corresponde al fragmento del aglucón (figura 4), típico en los iridoides.⁵⁶



$m/z = 331$

(figura 3)



$m/z = 311$

(figura 4)

Esto permitió corroborar la proposición inicial para esta estructura.

Durante la realización del presente trabajo, investigadores alemanes¹⁸ aislaron este compuesto también de *P. barbatus*, asignaron la estereoquímica de los sustituyentes en el anillo de ciclopentano, denominándolo barbatósido, por lo que se compararon sus datos espectroscópicos, corroborando la estructura propuesta (figura 5):

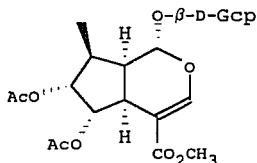
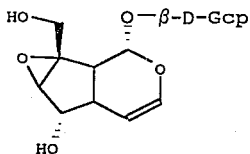


figura 5

b) Catalpol: en el espectro de IR (espectro 5) de este compuesto se observan bandas correspondientes a grupos hidroxilo ($3523-3400\text{ cm}^{-1}$), una banda de mediana intensidad (1671 cm^{-1}) característica de un sistema enol-éter, típico de Iridoide. Por otra parte su espectro de RMP (espectro 6) presenta una señal múltiple a 2.15-2.45 ppm que se asigna al protón H-5, una señal doble de doble a 2.65 ($J=12,10\text{ Hz}$) que se asigna al protón H-9, una señal simple a 3.60 que corresponde al protón de H-7, que por su desplazamiento se atribuye a un grupo epóxido en la molécula, una señal doble de doble a 4.05 ($J=8,1\text{ Hz}$) atribuido al protón H-6 unido a un átomo de oxígeno, un sistema

AB a 4.75 y 3.25 ppm correspondiente a los protones de H-10, que por su desplazamiento deben estar unidos a un átomo de oxígeno, una señal doble a 4.80 ($J=7$ Hz) que corresponde al protón anomérico de la β -D-glucosa, otra señal doble a 5.05 ($J=9$ Hz) que se asigna al protón H-1, una señal doble de doble, que integra para un hidrógeno y se asigna a H-4, el cual está acoplado al protón de H-3, este presenta una señal doble de doble a 6.37 ppm. En base a estos datos se propone la sig. estructura (figura 6):



(figura 6)

El derivado acetilado (anh. acético/piridina) de éste compuesto, un sólido blanco, mostró en IR (espectro 7) una banda ancha correspondiente a grupos éster (1750 cm^{-1}), que junto con la banda en 1370 cm^{-1} , indica la presencia de grupos acetato, además carecía de bandas correspondientes a grupos hidroxilo. Su espectro de RMP (espectro 8) indica una señal múltiple a 1.99-2.11 ppm que integra para 18 protones y corresponden a los grupos metilo de seis grupos acetato, a 3.65 ppm aprox. ($J=2$ Hz) hay una señal doble que se asigna al protón H-7 del anillo oxiránico, el cual se traslapa con la señal del protón H-5' de la glucosa, además, se observa una señal doble a 3.95 ($J=13$ Hz) que es la parte B de un sistema AB que se asigna a uno de los protones de H-10.

Con respecto a los protones de la glucosa, en 4.15 a 4.25 pp hay una señal múltiple que se asigna los protones de H-6', de 4.50 a 5.00 ppm se observa una señal que integra para 7 protones y corresponden a los protones

bases de los grupos acetato de la glucosa, al protón anómérico de la glucosa, al protón H-1, al otro protón de H-10 y al protón H-6, la señal a 5.15 ppm se asigna al protón de la posición 4 y por último la señal a 6.30 se asigna a H-3. La estructura para este compuesto es la siguiente (figura 7):

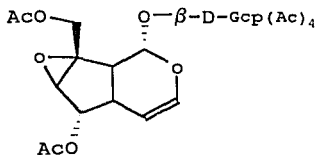


figura 7

Este compuesto se había aislado previamente por el grupo del Dr Jiménez de *P. apateticus*, al cual se le realizó un análisis por difracción de rayos X⁵⁷ (figura 8); lo que permitió corroborar la estructura propuesta inicialmente por Duff y col.⁵⁸. Este compuesto se conoce como catalpol y se aisló originalmente de *Catalpa bignonioides*⁵⁹.

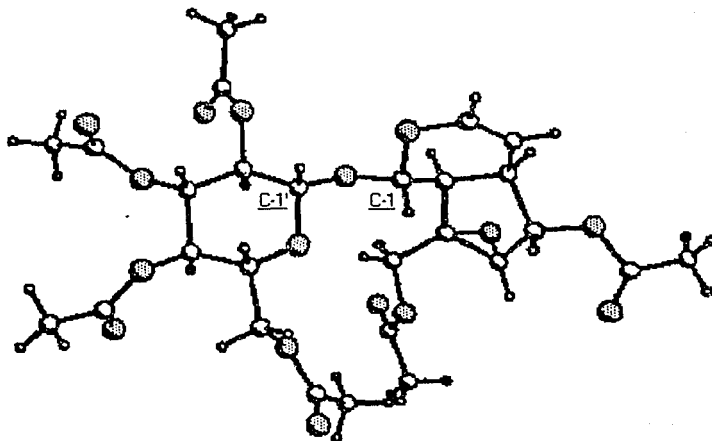


figura 8

c) Globularina: Este compuesto, un sólido blanco, $pf= 148-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, únicamente se pudo aislar como derivado acetilado (ver Parte Experimental). Su espectro de RMP ([espectro 9](#)) fue similar al del catalpol, con excepción del desplazamiento de las señales correspondientes a los protones de la posición 10 (3.95 para el catalpol, 4.40 para este compuesto), y la aparición de un sistema AB a 7.70 y 6.45 ppm que integran para dos protones vinílicos, típico de un sistema α,β -insaturado de éster, además, se observa una señal múltiple (7.30-7.60 ppm) que integra para cinco protones, que por su desplazamiento indica que se trata de un anillo aromático. Agrupando estas observaciones se propuso que un grupo cinamoilo se encontraba en la posición 10, resultando la siguiente estructura (figura 9):

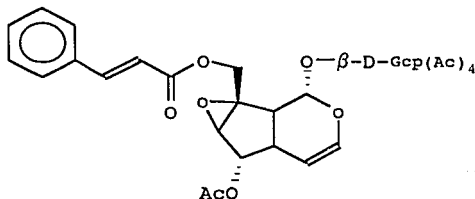
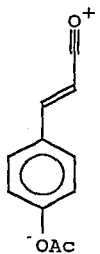


figura 9

Se encontró en la literatura que este compuesto se había aislado previamente, en forma libre, de *Globularia alypum*⁶⁰, y se le denominó globularina. La comparación de los datos espectroscópicos y constantes físicas de su derivado acetilado⁶¹, permitieron establecer su identidad.

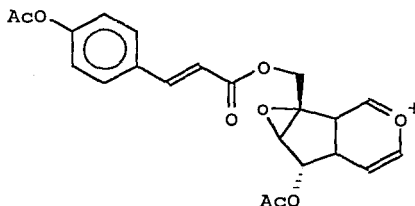
d) Escutellariósido II: Este compuesto, un sólido blanco, $pf= 150-152\text{ }^{\circ}\text{C}$, también se aisló como derivado acetilado (ver Parte Experimental). Su espectro de RMP ([espectro 10](#)) es similar al de la globularina, sin embargo, se observan algunas diferencias, una de ellas es la presencia de una señal simple a 2.30 ppm, que integra para tres protones, que corresponden a un grupo acetato

de tipo aromático, por otra parte en la zona de señales aromáticas, lo que en el caso de la Globularina se observa como una señal múltiple para los protones del anillo aromático, en el caso de este compuesto se observa como un sistema AA'BB', indicando una sustitución en la posición 4 del anillo aromático, esto, aunado a la presencia del grupo acetato de tipo aromático, indicó que el sustituyente en la posición 10, podría ser un residuo de cafeoilo. El análisis por EM permitió establecer esta proposición ya que presentó un pico a 761 m/z ($M^+ + 1$) (espectro 11) que corresponde a la fórmula condensada $C_{36}H_{40}O_{18}$ y está de acuerdo con la estructura propuesta, otro pico sobresaliente es el de 413 m/z que corresponde al aglucón del Iridoide, el pico base es de m/z=189 que corresponde a la escisión del éster caféico (figura 10), además de que se observa el pico 331 m/z que corresponde al fragmento de la glucosa peracetilada (figura 11), con lo que se comprueba que el éster caféico se encuentra en el aglucón del iridoide.



m/z=189

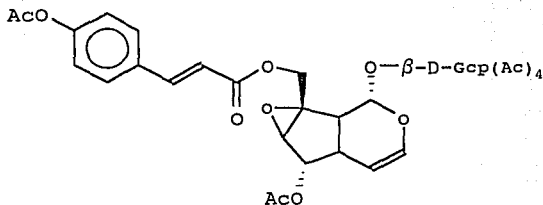
(figura 10)



m/z=413

(figura 11)

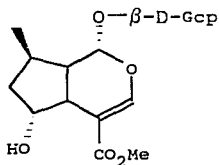
En base a estos datos se propuso la siguiente estructura (figura 12):



(figura 12)

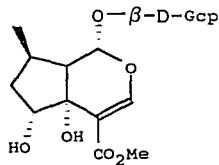
Este compuesto también ya se había aislado previamente de *Scutellaria altissima*⁶², y se le denominó escutellariósido II, concordando sus datos físicos y espectroscópicos con los encontrados en el presente trabajo.

Además de los investigadores alemanes, el Prof O. Sticher de Zurich, Suiza, también estudió la misma especie y aisló el catalpol, la globularina, la globulariscina, el escutellariósido II y dos compuestos nuevos, el penstemósido (figura 13) y el penstemonósido (figura 14), pero no encontró el barbatósido²².



Penstemonsido

(figura 13)



Penstemonósido

(figura 14)

Este tipo de estudios nos permiten en principio conocer la correspondencia de las plantas entre los continentes y así aprovechar sus componentes para incrementar los datos botánicos. Consideramos conveniente describir las estructuras de estos compuestos ante la escasa información que encontramos. Por otra parte, se estudiaron únicamente las partes aéreas de la planta, falta estudiar las raíces, que desde el punto de vista medicinal, resulta interesante.

3.2. *PENSTEMON CAMPANULATUS*

De la planta *Penstemon campanulatus* se aislaron dos irídoides glucosídicos del tipo valerato, esto es, con un residuo de isovalerato en la posición 1⁴⁴. A continuación se describe su elucidación estructural:

a) Compuesto 1: En el espectro de IR (espectro 12) de la fracción que contenía a este compuesto, como producto mayoritario, se observaron bandas de grupo hidróxilo ($3599-3280\text{ cm}^{-1}$), bandas de C-H saturado e insaturado, dos bandas intensas de grupo éster (1747 y 1711 cm^{-1}) lo que sugería la presencia de un grupo isovalerato, dicho sustituyente se había determinado en estructuras de compuestos aislados de otras especies de *Penstemon*, también se observó una banda de un sistema enol-éter (1669 cm^{-1}), lo que indicaba la naturaleza irídoideal del compuesto, además, una banda de doble ligadura carbono-carbono (1603 cm^{-1}). La presencia de los dos tipos de éster se comprobó con las señales, en RMN-¹³C (espectro 14), de grupo carbonilo de éster, uno de ellos α,β insaturado (173.06 y 169.35).

En su espectro de RMP (300 MHz) (espectro 13) presentó una señal a 0.95 ppm, la cual corresponde a dos grupos metilos de un grupo isopropilo, que junto con las señales a 2.09 (m,1H) y 2.26 (m,2H), indicaban la presencia de un grupo isovalerato. Por otra parte, el desplazamiento, poco común, a campo bajo del protón en la posición 1 (5.71, d), indicaba que el grupo isovalerato se encontraba en esta posición.

Como el análisis del espectro de IR indicaba la presencia de grupos hidroxilo, las bases oxigenadas se observaron, en RMP, como señales múltiples de 4.00-3.5 ppm, así como una señal doble correspondiente al protón anomérico de la β -D-glucopiranososa también con un desplazamiento anómalo (4.56), el desplazamiento para el protón H-3 se determinó a 6.36

ppm, como una señal simple ancha, lo que indicó que la posición 4 se encontraba sustituida y que a su vez el sustituyente debía tener un átomo electroattractor, este desplazamiento es común en iridoideas en los cuales el residuo de glucosa se encuentra unido a la posición 11; por otra parte, el desplazamiento del protón 9 (2.97) correspondía para un protón alílico, lo que hizo suponer la presencia de una doble ligadura vecina (C8-C-7 ó C8-C10), la señal ancha a 5.75, característica para un protón vinílico, se asignó al protón de la posición 7, lo que permitió establecer la doble ligadura como C7-C8, en base estos datos se propuso inicialmente el siguiente fragmento (figura 15):

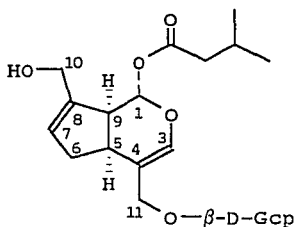


figura 15

La presencia de otras señales no características de este tipo de iridoide indicaban la existencia de otro sustituyente en la molécula. Se determinó la presencia de dos grupos metilo (1.69 y 1.88 ppm), ambos de tipo vinílico, uno más desplazado a campo bajo debido a una conjugación de la doble ligadura con un grupo carbonilo, esta suposición se apoyó en el análisis del espectro de IR (*vide supra*) (espectro 12), ya que se observan dos bandas para diferentes tipos de ésteres, uno de ellos α,β insaturado. Esto explica el desplazamiento de un protón vinílico a campo bajo (6.80 ppm), que debe estar en la doble ligadura conjugada, lo que conlleva a la siguiente estructura parcial (figura 16):

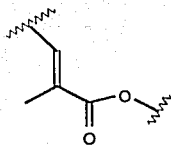


figura 16

También se observó otro protón vinílico a 5.38 ppm, entonces se tenía otro fragmento con una doble ligadura trisustituída, en la cual se encontraba el otro grupo metilo. El análisis del espectro RMN- ^{13}C (espectro 14), en donde se observan las señales correspondientes al iridoide así como para el azúcar, permitió visualizar otros diez átomos de carbono. Dos de estos corresponden a los dos grupos metilo sobre doble ligadura (16.24 y 12.69), uno al carbonilo del éster α,β insaturado (169.35), cuatro a carbonos de tipo vinílico (144.23, 128.94, 138.42 y 125.60), uno de base oxigenada (59.36) y dos más metilénicos (39.18 y 28.10), de acuerdo a estos datos se propuso la estructura parcial de este residuo (figura 17):

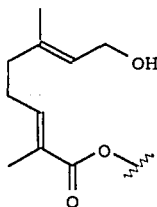
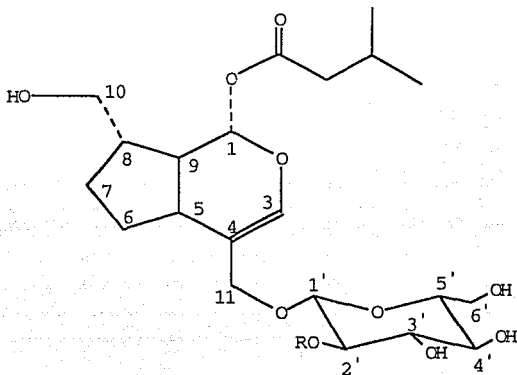


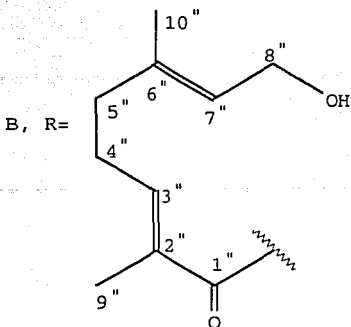
figura 17

La posición de este sustituyente se estableció en base a la comparación de los desplazamientos de los átomos de carbono del azúcar, ya que, como se señalaba anteriormente, algunos de estos no eran normales.

En la Tabla VI se enlistan los desplazamientos del dihidropenstémido (A)³², el 2'-O-(8-hidroxi-2,6-dimetil-2(E),6(E)-octadienoil)-dihidropenstémido (B)³³ (figura 18), el compuesto 1 (C) y el penstémido³³:



A, R=H



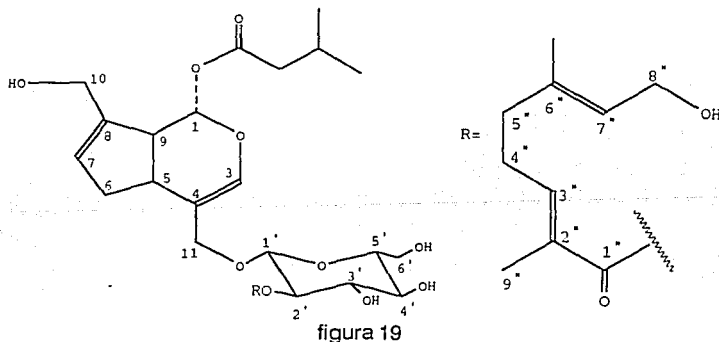
B, R=

(figura 18)

TABLA VI

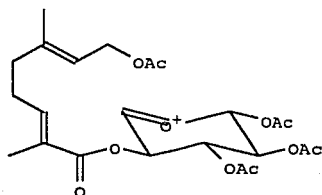
No. de C	A	B	C	Penstemido
1	93.15	93.00	93.09	93.13
3	140.64	140.53	140.65	140.61
4	115.15	114.79	115.21	116.05
5	36.90	36.72	37.83	37.76
6	30.88	30.75	37.95	37.94
7	28.14	28.20	129.00	129.35
8	43.87	43.70	143.66	143.87
9	44.95	44.86	47.17	47.02
10	66.48	66.42	61.05	61.02
11	69.65	69.81	69.97	69.78
1'	103.52	101.63	101.39	103.24
2'	75.17	76.13	76.10	74.97
3'	77.92	75.41	75.41	77.70
4'	71.77	71.81	71.90	71.55
5'	78.18	78.05	78.15	77.95
6'	62.88	62.69	62.72	62.70
1"		168.54	169.35	
2"		128.96	128.94	
3"		143.50	144.23	
4"		28.12	28.10	
5"		39.21	39.18	
6"		138.44	138.42	
7"		125.65	125.60	
8"		59.36	59.36	
9"		12.73	12.69	
10"		16.24	16.24	
-C=O	173.47	173.42	173.06	173.13
-CH ₂ -	44.21	44.19	44.20	44.00
-CH<	26.77	26.82	26.75	26.54
-CH ₃ X 2	22.63	22.67	22.69	22.61

Comparando los valores para los átomos de carbono del azúcar en **A** con los mismos carbonos en **C** (compuesto 1), se observa que hay un desplazamiento a campo alto de los carbonos 1' y 3', en 2.12 y 2.51, respectivamente, además de que hay desplazamiento a campo bajo de la señal del carbono 2' debido a la esterificación sobre este átomo de carbono, lo cual lleva a proponer que el residuo monoterpénico se encuentra en la posición 2' del azúcar como en el caso de **B**, ya que, existe una concordancia en los desplazamientos de los carbonos de la glucosa. Por otra parte los valores para los carbonos de la posición 10 de **A** y **C**, 66.48 y 61.05, respectivamente, resultan significativos ya que esta diferencia en desplazamiento se atribuye a la vecindad de una doble ligadura al carbono 10 de **C**, en base a todo lo anterior la estructura para el compuesto 1 sería la siguiente (figura 19):



También se compararon los valores de los carbonos del compuesto 1 contra los valores de los carbonos del pentstémido, resultando similares, con excepción de los desplazamientos de la glucosa, estableciéndose la estructura para el nuevo compuesto 1 como 2'-O-(8-hidroxi-2,6-dimetil-2(E),6(E)-octadienilo)-pentstémido.

El análisis por EM (espectro 16) del derivado acetilado (anh. acético/piridina) de este compuesto apoyó la proposición estructural inicial, ya que, presentó un pico $m/z=497.2$ (100%) que corresponde al fragmento de la glucosa acetilada junto con el éster monoterpénico (figura 20):

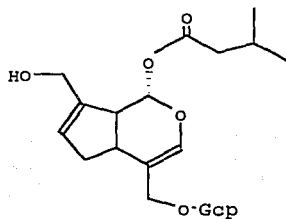


$m/z=497.5$

figura 20

b) **Compuesto 2:** Este compuesto se pudo aislar únicamente como derivado acetilado. Su espectro de IR (espectro 17) muestra una banda ancha de éster (1740 cm^{-1}), una banda simple de un sistema enol-éter (1676 cm^{-1}), así como una banda para doble ligadura carbono-carbono (1632 cm^{-1}). En su espectro de RMP (espectro 18), se observa una señal doble a 0.97 que integra para seis protones y corresponde a los metilos de grupo isovalerato, una señal múltiple de 2.03 a 1.98 que integra para 15 protones y corresponden a cinco grupos acetato, por otra parte se observa la señal del protón de la posición 1 a 5.70 como doblete, por este desplazamiento se infiere que el grupo isovalerato se encuentra en dicha posición, la señal a 6.43 ppm se asignó al protón H-3, además, se observa una señal ancha a 5.82 ppm que se asignó a H-7, todos estos desplazamientos fueron similares al del derivado acetilado del compuesto 1 (espectro 15), sin embargo, carecía de las señales que corresponden al monoterpeneo lineal, por lo que se infirió que el compuesto en cuestión sería el penstémido acetilado. La comparación con datos reportados

en la literatura apoyó esta acepción. Por lo tanto el compuesto 2 es el penstémido (figura 21), que, como se señaló anteriormente, ya se había aislado de *Penstemon deustus*¹⁶ y muestra una actividad citotóxica significativa.



Penstémido
figura 21

4. PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fischer-Jones y no están corregidos. Las cromatografías en columna se efectuaron con gel de sílice 60 Merck (70-230 mesh ASTM). La pureza de los compuestos y el desarrollo de las columnas se siguió por cromatografía en capa fina analítica de gel de sílice 60 (Merck F₂₅₄) y para su visualización se empleó luz U.V. o sulfato cérico al 1% en ác. sulfúrico 2N. Para las separaciones por cromatografía en capa fina preparativa se usaron cromatoplasmas de gel de sílice 60 (Merck F₂₅₄) de 20X20 cm y 2 mm de espesor. Las separaciones por HPLC se realizaron en un aparato Varian 8500 con detector de Índice de Refracción y una columna SiO₂ 10 8mmX50mm. Los espectros de IR se determinaron en un espectrofotómetro Nicolet FT-5SX y en un Perkin Elmer 283, ya sea en solución de CHCl₃ o en pastilla de KBr. Los espectros de RMN-¹H se determinaron en un aparato Varian FT-80A (80 MHz) y en un Varian VXR-300S (300 MHz) empleando como disolvente CDCl₃, CD₃OD y D₂O y los espectros de RMN-¹³C se determinaron en un Varian VXR-300S (75 MHz). Los desplazamientos químicos están dados en ppm (δ) referidos al tetrametilsilano TMS como referencia interna. Los espectros de masas se determinaron en un espectrofotómetro Hitachi Perkin-Elmer RMU 6D de doble foco, por ionización química.

4.1. PENSTEMON BARBATUS

a) AISLAMIENTO

La planta *Penstemon barbatus* se colectó en la Carretera Texcoco-Capulalpan, en el Edo. de México, en el mes de septiembre de 1985. su identificación y clasificación fue realizada por la Bióloga Gilda Ortíz (No. de registro 444858) del Depto. de Botánica del Instituto de Biología de la UNAM.

La planta seca (1000 g) se extrajo con hexano, acetona y metanol a temperatura ambiente y los extractos se concentraron a presión reducida.

Se fraccionó el extracto metanólico mediante una columna con carbón activado de la siguiente manera: la mitad de la cantidad de carbón activado se suspendió en agua y se adicionó a la columna, por otra parte, el extracto metanólico (67 g) se suspendió en agua y se le añadió el resto del carbón activado; esta mezcla se agitó mecánicamente hasta una óptima homogenización y se vertió a la columna previamente empacada. Se inició la elución con agua (2.5 litros aprox. fracción 1), luego se empleó una mezcla de MeOH/H₂O 2:8 (2 litros aprox. fracción 2), posteriormente se eluyó con MeOH (7 litros Fracción 3) y por último con acetato de etilo (4 litros Fracción 4)¹⁰. Las fracciones 1 y 2 se concentraron a sequedad y posteriormente se disolvieron en metanol.

Se separó la fracción 3 (10 g) en una columna de SiO₂ empleándose mezclas de EtOAc/MeOH de polaridad ascendente en las siguientes proporciones 10, 20, 30, 40 y 50%, y se obtuvieron las sig. fracciones:

Fracción	gramos
A	0.1134
B	2.1693
C	1.5493
D	0.2579

De la fracción A (62 mg) se pudo aislar por CCF preparativa (CHCl₃/MeOH/H₂O 7:3:0.3) un compuesto (16 mg) que se identificó por su espectro de RMP como el barbatósido (iridoide glucosídico).

De las últimas fracciones precipitó un sólido con acetona, su espectro de RMP, así como el espectro del correspondiente derivado acetilado indicó que se

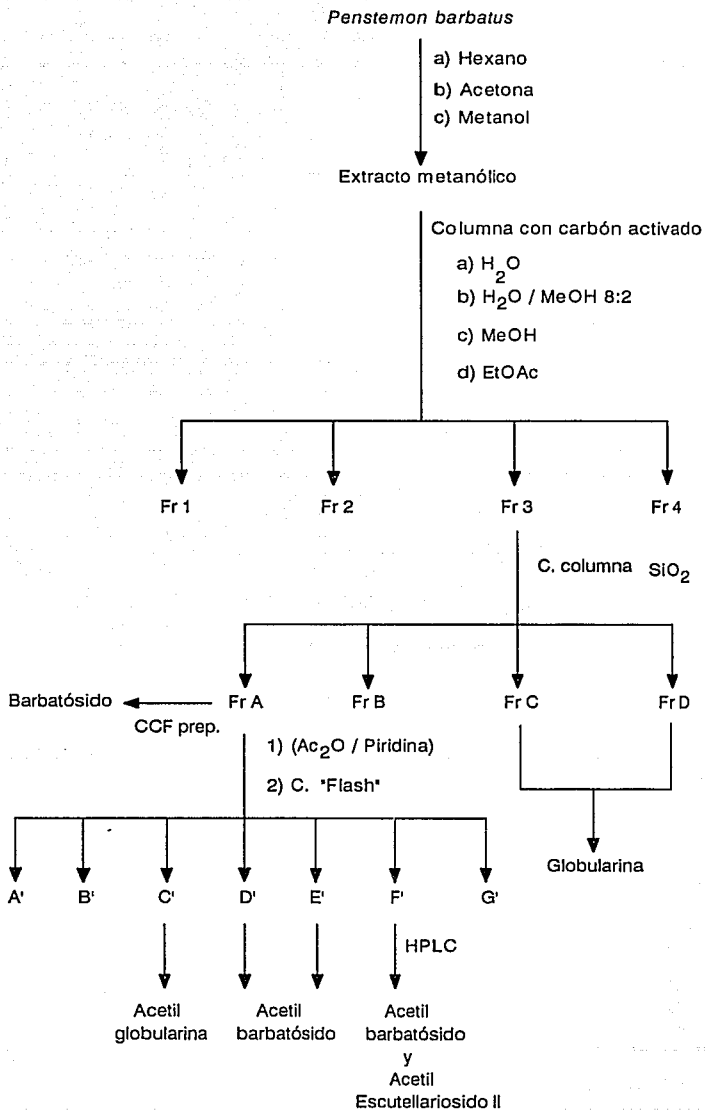
trataba del Catalpol (Iridoide glicosídico), previamente aislado por Jiménez et al⁵⁵, y confirmada su estructura por difracción de rayos X.

La fracción A (886 mg) se sometió a una reacción de acetilación (Ac₂O 3 ml/ Piridina 2 ml). Después del trabajo de reacción se obtuvieron 1.185 g, los cuales se purificaron mediante una cromatografía "Flash"⁶³ (Hexano/EtOAc 3:2), reuniéndose las fracciones que por CCF analítica eran similares en composición:

Fracción	miligramos	Fracción	miligramos
A'	31.2	E'	109.2
B'	66.8	F'	180.6
C'	213.0	G'	48.2
D'	192.5		

De las fracciones C', D' y E' se aislaron tres compuestos que cristalizaron a partir de etanol, presentando un punto de fusión de 148-150° (compuesto 1), 150-153° (compuesto 2) y 153-155° (compuesto 3), respectivamente; el espectro de RMP de los compuestos 2 y 3 indicó que eran las mismas sustancias y se identificaron como el derivado acetilado del barbatósido, el espectro de RMP del compuesto 1 permitió identificarlo como el derivado acetilado de la globularina.

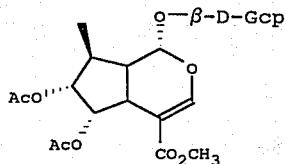
En el espectro de RMP de la fracción F' se observó que constaba de una mezcla de por los menos de dos componentes, por lo cual se sometió a una separación por HPLC (Flujo 40 ml/min, fase móvil Hexano/EtOAc 6:4, tiempo de retención 14 y 16 min), de donde se obtuvieron dos compuestos, el de menor tiempo de retención se identificó como el barbatósido acetilado y el otro compuesto se identificó como el escutellariósido II.



b) DATOS ESPECTROSCOPICOS

Barbatósido
 $^1\text{H-RMN}$ (D_2O) δ : (Espectro 1)

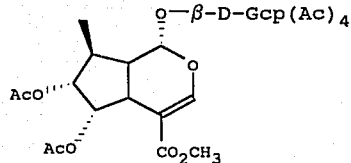
- 1.05 (d,3H) H-10 $J=10$ Hz
- 2.05 (s,3H) OAc
- 2.10 (s,3H) OAc
- 3.75 (s,3H) OMe
- 4.65-4.85 (m,2H) H-7, H-1'
- 5.30 (dd,1H) H-6 $J=4,2$ Hz
- 5.55 (d,1H) H-1 $J=2$ Hz
- 7.50 (s ancho,1H) H-3 $J<1$ Hz

**Barbatósido acetilado**
 IR (CHCl_3) ν cm^{-1} : (Espectro 2)

- 1747, 1712, 1642, 1604, 1437, 1370, 1040.

 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : (Espectro 3)

- 1.05 (d,3H) H-10
- 1.90 (s,3H) -OAc
- 2.00-2.10 (m,15H) -OAc x 5
- 2.25-2.80 (m,1H) H-8
- 2.85-3.05 (m,2H) H-9 y H-5
- 3.70 (s,3H) OMe
- 4.10-4.30 (m,2H) H-6'
- 4.75-5.60 (m,7H)
- 7.40 (s ancho,1H) H-3


 $\text{E.M. } m/z$ (%) = (Espectro 4)

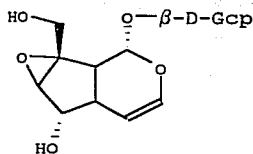
- $\text{M}^+ +1$: 659 (11.9) $\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{O}_{17}$
- 331 (100.0) $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{O}_9$
- 311 (20.7) $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{O}_7$

Catalpol

IR (KBr) ν cm^{-1} : (Espectro 5)
3523-3400, 3323, 1671, 1090

^1H -RMN (D_2O) δ : (Espectro 6)

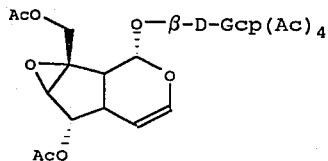
- 2.15-2.45 (m, 1H) H-5
- 2.65 (dd, 1H) H-9 J=12, 10 Hz
- 3.60 (s ancho, 1H) H-7 J<1 Hz
- 4.05 (dd, 1H) H-6 J=8, 1 Hz
- 4.25 y 3.75 (AB, 2H) H-10 J=13 Hz
- 4.80 (d, 1H) H-1' J=7 Hz
- 5.05 (d, 1H) H-1 J=9 Hz
- 5.10 (dd, 1H) H-4 (se traslapa con H-1)
- 6.37 (dd, 1H) H-3

**Catalpol acetilado**

IR (CHCl_3) ν cm^{-1} : (Espectro 7)
1750, 1650, 1370, 1040

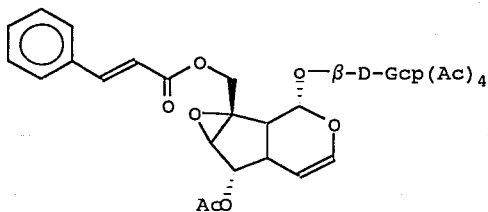
^1H -RMN (CDCl_3) δ : (Espectro 8)

- 1.99-2.11 (m, 18H) -OAc x 6
- 2.25-2.75 (m, 2H) H-5 y H-9
- 3.60-3.80 (m, 2H) H-7 y H-5'
- 3.95 (d, parte B de AB, 1H) H-10 J=13 Hz
- 4.15-4.25 (m, 2H) H-6'
- 4.50-5.00 (m, 7H)
- 5.15 (dd, 1-H) H-4
- 6.30 (dd, 1-H) H-3

**Globularina acetilada**

^1H -RMN (CDCl_3) δ : (Espectro 9)

- 1.99-2.11 (m, 15H) -OAc x 5
- 2.25-2.75 (m, 2H) H-5 y H-9
- 3.60-3.85 (m, 2H) H-7 y H-5'
- 4.20-4.30 (m, 2H) H-6'
- 4.40 (d, parte B de AB, 1H) H-1' J=12 Hz

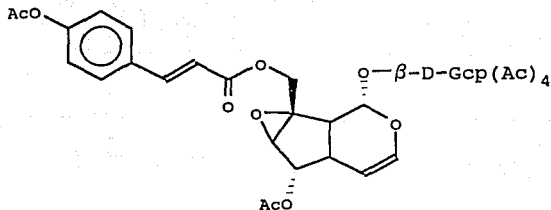


4.75-5.25 (m,8H)
 6.35 (dd,1H) H-3
 7.70 y 6.45 (AB,2H) H-2" y H-1" J=13 Hz
 7.30-7.60 (m,5H) fenilo

Escutellariosido acetilado

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : (Espectro 10)

1.99-2.20 (m,15H) -OAc x 5
 2.30 (s,3H) -OAc aromático
 2.40-2.75 (m,2H) H-5 y H-9
 3.55-3.90 (m,2H) H-7 y H-5'
 4.20-4.30 (m,2H) H-6'
 4.75-5.25 (m,8H)
 6.30 (dd,1H) H-3
 7.70 y 6.93 (AB,2H) H-2" y H-1"
 7.58 y 7.15 (AA' BB',4H) fenilo



E.M. m/z (%) = (Espectro 11)

$\text{M}^+ + 1$: 761 (11.2) $\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{O}_{18}$
 413 (13.7) $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{O}_8$
 331 (100.0) $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{O}_9$
 189 (100.0) $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{O}_3$

4.2. *PENSTEMON CAMPANULATUS*

a) AISLAMIENTO

La planta *Penstemon campanulatus* se colectó durante el mes de Septiembre de 1985 en el Cerro de Xihuingo, cercano al pueblo de Tepeapulco en el Edo. de Hidalgo. Su identificación y clasificación fue realizada por la Bióloga Gilda Ortíz (No. de registro 446716) del Depto. de Botánica del Insituto de Biología de la UNAM.

La planta seca (2500 g) se maceró con hexano (10 litros X 2), acetona (5 litros) y metanol (5 litros). La eliminación de los disolventes se realizó a presión reducida.

Se disolvieron 20.5 g de extracto acetónico en 125 ml de metanol caliente, se enfrió la solución a temperatura ambiente y se le añadieron 42 g de carbón activado, posteriormente se adicionó más metanol hasta obtener un volúmen aproximado de 1000 ml; la suspensión se filtró a través de celita, lavandose el residuo con 300 ml de metanol. Al eliminar la mayor parte del disolvente, a presión reducida, se forma un precipitado, el cual se elimina por filtración a vacío (pp 1), el residuo que se obtiene se le denomina Fracción 1 (12.0552 g), por otra parte, se adicionó más metanol a la columna aprox 1300 ml, y la fracción que se obtiene se denomina fracción 2 (3.2331 g). Finalmente se eluyó con EtOAc (1300 ml) una sola vez.

Se separó por cromatografía en columna (SiO_2) la fracción 1 (7.6 g) (*vide supra*) empleándose mezclas de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ en las siguientes proporciones:

CHCl ₃	MeOH	H ₂ O	Fracción
9	1	0.05	1-22
8	2	0.10	23-42
7	3	0.15	43-Final

Se obtienen 14 fracciones

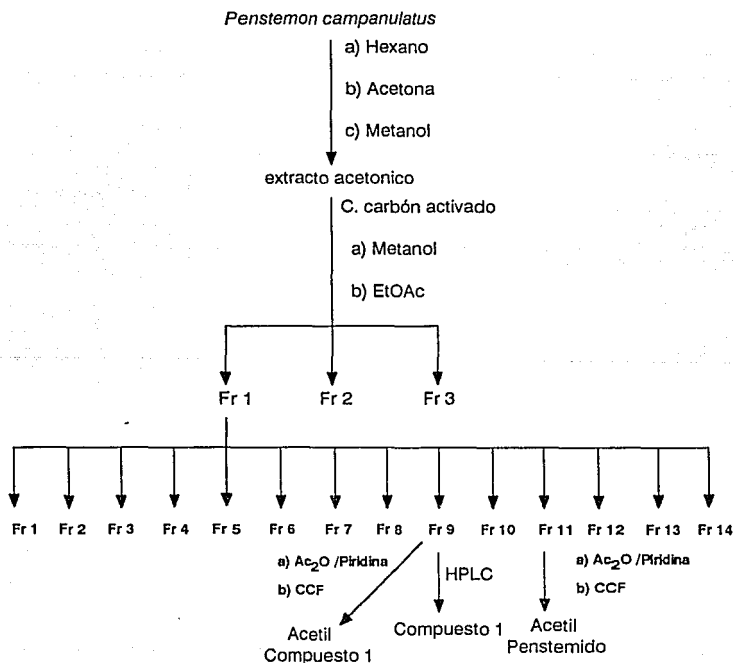
Fraccion	mg	Fraccion	mg
1	165.2	8	34.0
2	97.1	9	376.5
3	125.1	10	1449.2
4	44.8	11	1449.2
5	30.6	12	281.0
6	47.1	13	63.0
7	38.6	14	76.8

El análisis por CCF de la fracción 9 reveló que constaba de un compuesto principal, aunque no estaba del todo puro. El espectro de IR (CHCl₃) de esta fracción mostró bandas de grupo hidroxilo (3599-3280 cm⁻¹), bandas de C-H saturado e insaturado, dos bandas de grupo éster (1747 y 1711 cm⁻¹), una banda de sistema enol-éter (1669 cm⁻¹), además de una banda para doble ligadura carbono-carbono (1603 cm⁻¹). Esta información indicaba que el compuesto en cuestión podría ser un iridoide, intentos de purificación de esta fracción por métodos convencionales resultaron infructuosos, por lo que un alícuota (150 mg) se sometió a una separación por HPLC (flujo 3 ml/min, fase móvil CH₂Cl₂/MeOH/H₂O 9:1:0.01, tiempo de retención 10 min) de donde se obtiene un compuesto (compuesto 1) en mayor abundancia (28 mg).

Por otra parte, se tomó una alícuota (114 mg) de la fracción 9 y se le realizó una reacción de acetilación (anhídrido acético 1.5 ml /piridina 1 ml), después del trabajo de reacción se obtuvieron 87.9 mg, los cuales se purificaron

por CCF (Hexano/EtOAc 55:45 X 2). De esta forma se aisló el compuesto en mayor proporción, el cual se identificó posteriormente como el derivado acetilado del compuesto 1.

La fracción 11 de la columna A (281 mg) se sometió a una reacción de acetilación (Ac_2O 1.5 ml/Piridina 1 ml). De ésta reacción se obtuvieron 371 mg como producto de reacción, el cual se purificó por CCF preparativa (Hexano/EtOAc 6:4, 187 mg). Se aisló el compuesto de mayor abundancia (Compuesto 2, 34.5 mg). Este se identificó como el derivado acetilado del penstémido.



b) DATOS ESPECTROSCOPICOS

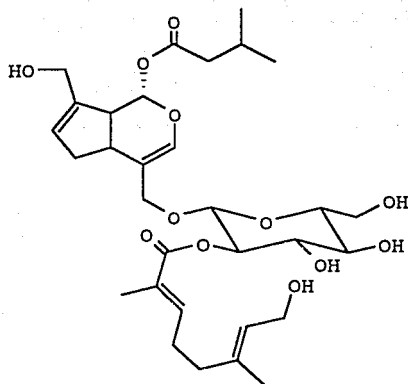
Compuesto 1IR (CHCl₃) ν cm⁻¹: (Espectro 12)

3590-327,3025,3007,2962,1747,1711,1669,1603,1073,10511.

H¹-RMN (CD₃OD, 300 MHz)

(Espectro 13)

δ	
0.95	(d, CH ₃ X 2)
1.71	(s ancho, CH ₃) H-10"
1.88	(s ancho, CH ₃) H-9"
2.09	(-CH-, 1H)
2.15	(m, 1H) H-5"
2.25	(m, 2H) -CH ₂ -, H-6
2.33	(t, 1H) H-4"
2.78	(t, 1H) H-6
2.97	(q, 1H) H-9
4.10-4.13	(m, 4H) H-8" y H-10
4.23	(d, 1H, AB) H-11
4.56	(d, 1H) H-1'
4.70	(dd, 1H) H-2'
5.38	(qd, 1H) H-7"
5.71	(d, 1H) H-1
5.75	(s. ancho, 1H) H-7
6.36	(s. ancho, 1H) H-3
6.80	(qd, 1H) H-3"



^{13}C -RMN (CD_3OD , 75 MHz):
(Espectro 14)

δ	Carbono	δ	Carbono
173.06	(C=O)	71.99	(C-4')
169.35	(C-1'')	69.97	(C-11)
144.23	(C-3'')	62.72	(C-6')
143.66	(C-8)	61.05	(C-10)
140.65	(C-3)	59.36	(C-8'')
138.42	(C-6'')	47.17	(C-9)
129.00	(C-7)	44.20	(-CH ₂ -)
128.94	(C-2'')	39.18	(C-5'')
125.60	(C-7'')	37.95	(C-6)
115.21	(C-4)	37.83	(C-5)
101.39	(C-1')	28.10	(C-4'')
93.09	(C-1)	26.75	(>CH-)
78.15	(C-5')	22.69	(CH ₃ X 2)
76.10	(C-2')	16.24	(C-10'')
75.41	(C-3')	12.69	(C-9'')

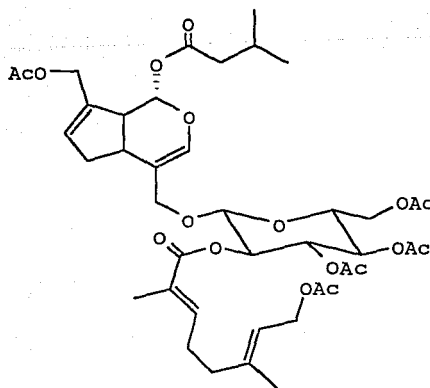
Compuesto 1 acetilado

^1H -RMN (CDCl_3) δ : (Espectro 15)

- 0.95 (d, CH₃ X 2)
- 1.70 (s ancho, 3H) H-10''
- 1.78 (s ancho, 3H) H-9''
- 1.93 (s, -OAc)
- 2.09-2.00 (m, -OAc X 4)
- 3.88-3.55 (m, 1H) H-5'
- 5.72 (d, 1H) H-1 J=5 Hz
- 5.78 (s. ancho, 1H) H-7
- 6.34 (s. ancho, 1H) H-3
- 6.65 (q, 1H) H-3''

E.M. m/z (%) = (Espectro 16)

- [M⁺ + 1-60]: 761.8 (1.4)
- 659.1 (8.4)
- 497.2 (100)



209.2 (25)

Compuesto 2 acetiladoIR (CHCl₃) ν cm⁻¹:(Espectro 17)

3024,2927,1740,1676,1632,1463,1374,1239.

¹H-RMN (CDCl₃) δ :(Espectro 18)0.97 (d, CH₃ X 2) J=7 Hz

1.98-2.03 (m, OAc X 5)

3.05-2.65 (m,2H) H-5 y H-9

4.15-4.09 (m,2H) H-6'

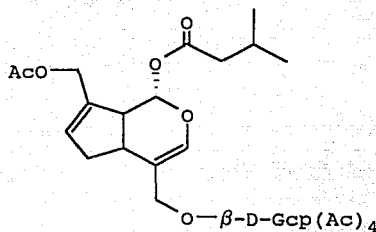
4.60-4.45 (m,4H) H-10, H-11 y H-1'

5.40-4.95 (m,3H) bases oxigenadas
de -OAc

5.70 (d,1H) H-1 J=8 Hz

5.82 (s ancho,1H) H-7

6.34 (s ancho,1H) H-3



5. RESUMEN Y CONCLUSIONES

Como parte del estudio sistemático de la familia Scrophulariaceae en México, se analizaron químicamente dos especies del género *Penstemon*.

De *P. barbatus* se aislaron cuatro glicósidos iridoidales del tipo de la aucubina (barbatósido, catalpol, globularina y escutellariosido II), algunos de estos compuestos poseen actividad laxante, lo que justificaría el uso de esta planta dentro de la medicina tradicional. Por otra parte resulta interesante el hecho de que en estudios previos de la misma especie, realizados por un investigador alemán y uno suizo, se hallaron algunas diferencias en composición química, y en una comunicación personal con ambos investigadores, señalan que permanece abierta la interrogante del motivo de estas diferencias. Es necesario indicar que el material vegetal en estas investigaciones lo obtuvieron de plantas cultivadas en jardines botánicos, y para el presente estudio se colectó en su habitat natural, de manera especulativa, esto podría explicar las diferencias en composición; en el siguiente cuadro se muestran los resultados comparativos para esta especie:

Alemania	Suiza	México
Barbatósido	Catalpol	Barbatósido
Globularina	Globularina	Catalpol
Picrósido I	Globulariscina	Globularina
	Escutellariosido II	Escutellariosido II
	Penstemónsido	
	Penstemósido	

Por otra parte de *P. campanulatus* se aislaron dos glicósidos iridoidales del tipo valerato, uno de ellos se identificó como el penstémido (aislado originalmente de *P. deustus*) y el otro es el nuevo compuesto 2'-O-(8-hidroxi-2,6-dimetil-2(E),6(E)-octadienoil)-penstemido. El presente estudio es el segundo

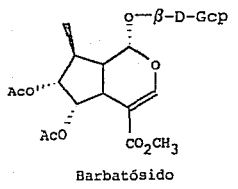
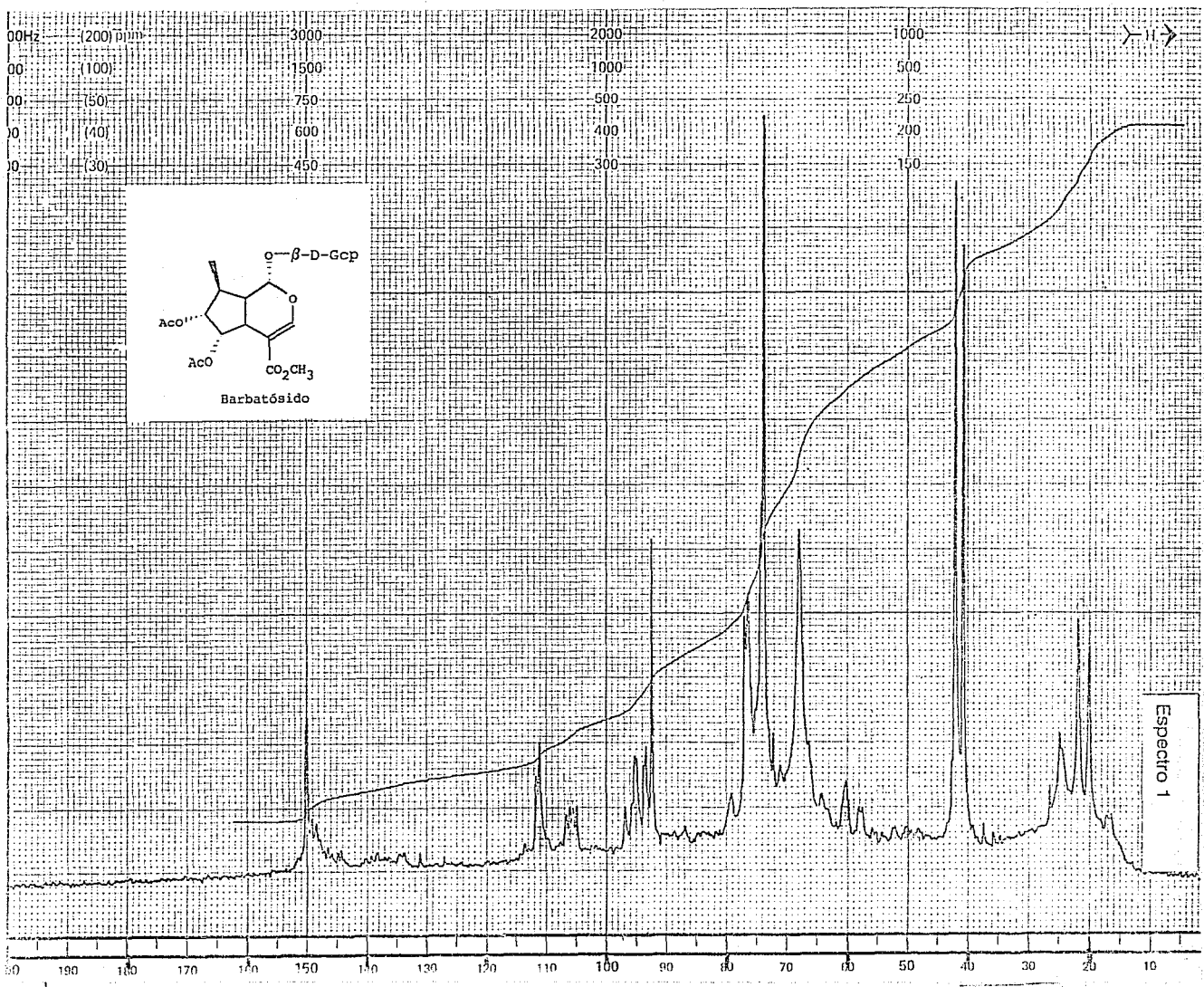
reporte de esta especie con este tipo de compuestos en plantas del continente americano.

Se debe continuar con el estudio de ambas especies debido a que únicamente se analizaron las partes aéreas de la planta, quedando las raíces por estudiar, además no hay ningún estudio biológico que demuestre sus posibles propiedades curativas.

De acuerdo a una comunicación personal del Dr. Junior, investigador alemán, existen algunas divergencias en cuanto a la clasificación de algunas especies del género, sobre todo las de la parte norte del Continente Americano, por lo cual se requiere continuar su estudio, con el fin de obtener datos químicos que ayuden a su clasificación.

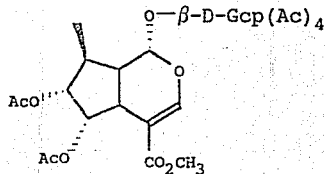
De la revisión de las actividades biológicas de los glucósidos iridoidales se puede inferir que, en la mayoría de los ensayos, son los aglucones los responsables de los efectos observados, por otra parte, cabe destacar que la actividad purgante es una de sus mayores aplicaciones en la medicina tradicional del este de Asia, lugares en donde se utilizan con este fin las plantas que los contienen, aunque hasta el momento no hay ningún estudio en humanos que confirmen dicha actividad.

6. ESPECTROS

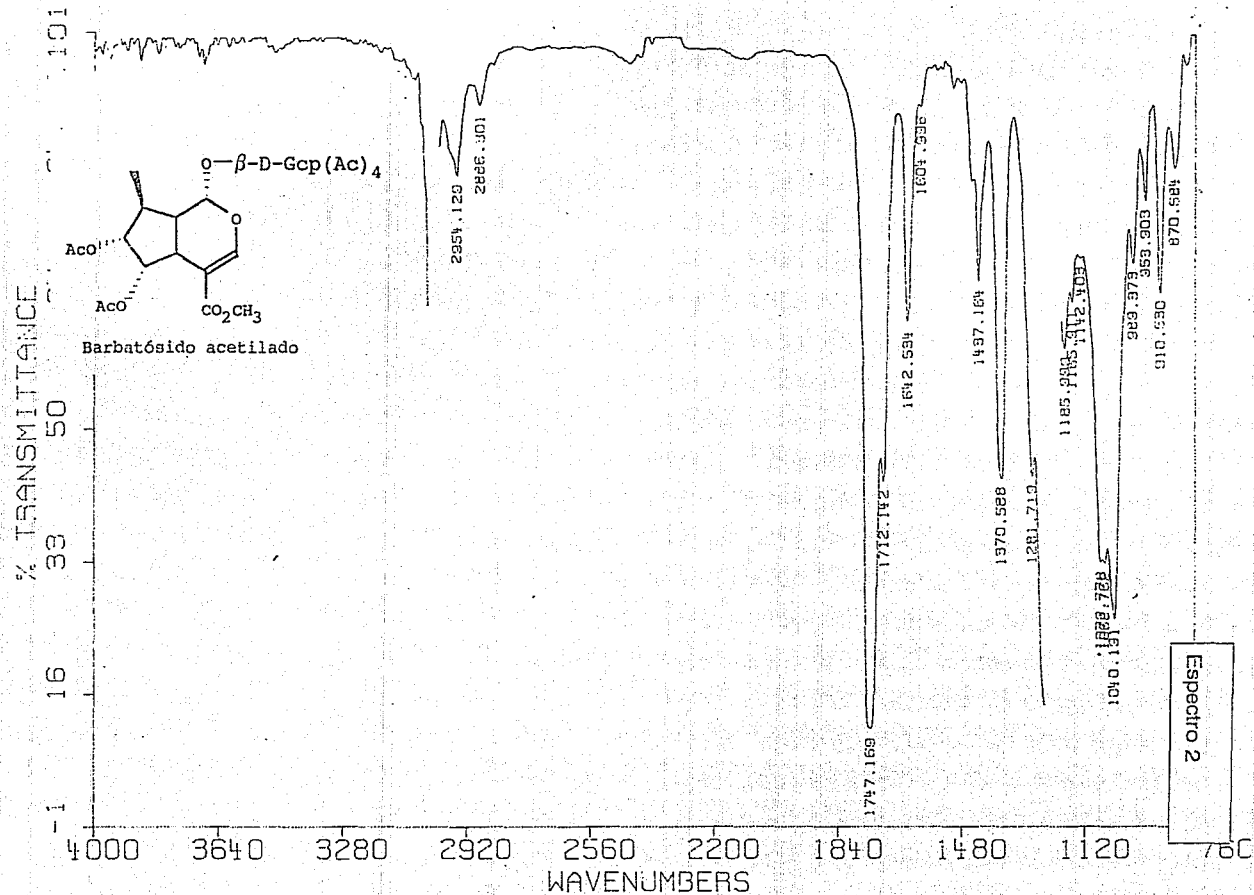


Espectro 1

7422



Barbatósido acetilado



Especetro 2

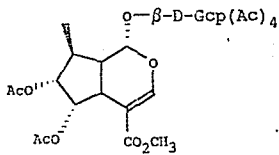
000Hz
00 100
00 50
00 40
00 30

0000
1500
700

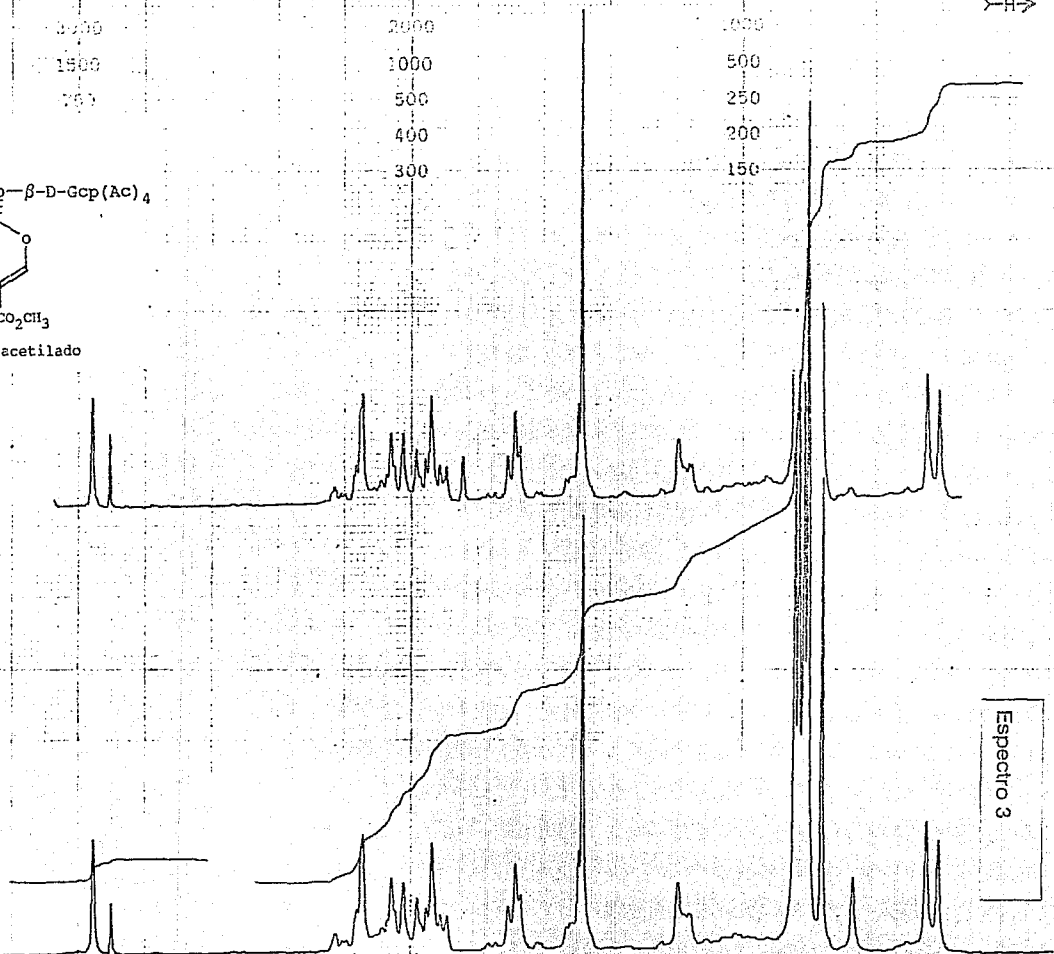
2000
1000
500
400
300

1000
500
250
200
150

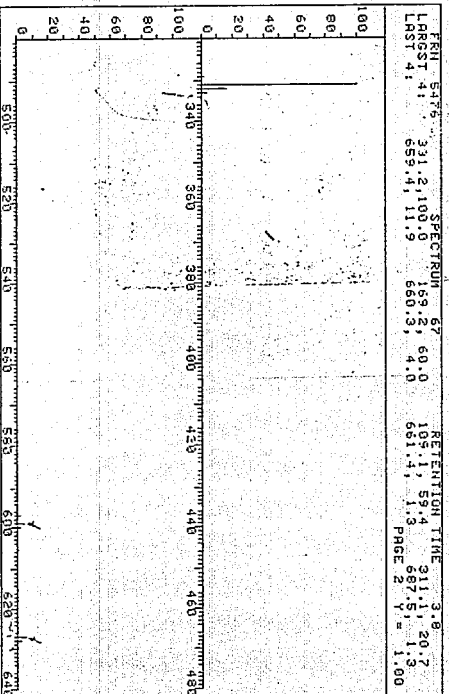
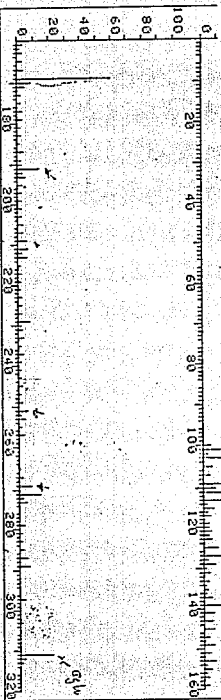
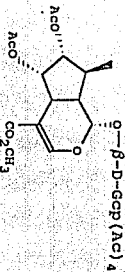
↑



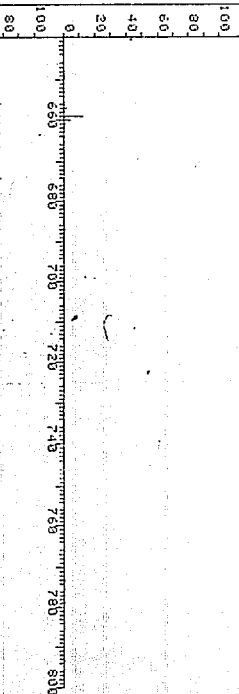
Barbatósido acetilado



Espectro 3

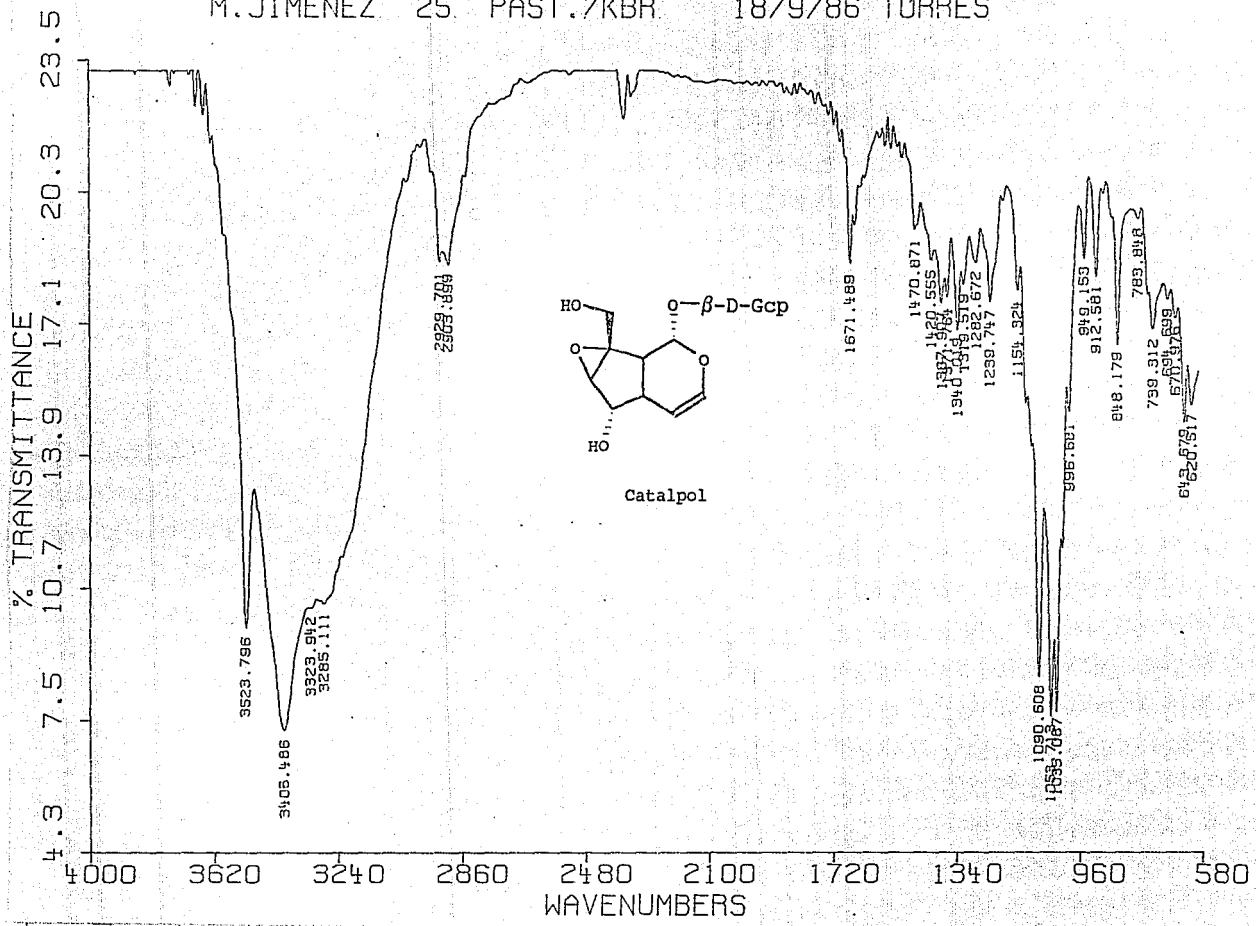


FN1 5475 SPECTRUM 67 RETENTION TIME 3.8
 LARGST 4: 331.2, 109.0 159.2, 60.0 105.1, 59.4 311.1, 20.7
 LAST 4: 659.4, 11.9 660.3, 4.0 661.4, 1.3 667.5, 1.3
 PAGE 3 Y = 1.00

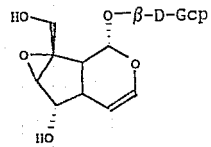
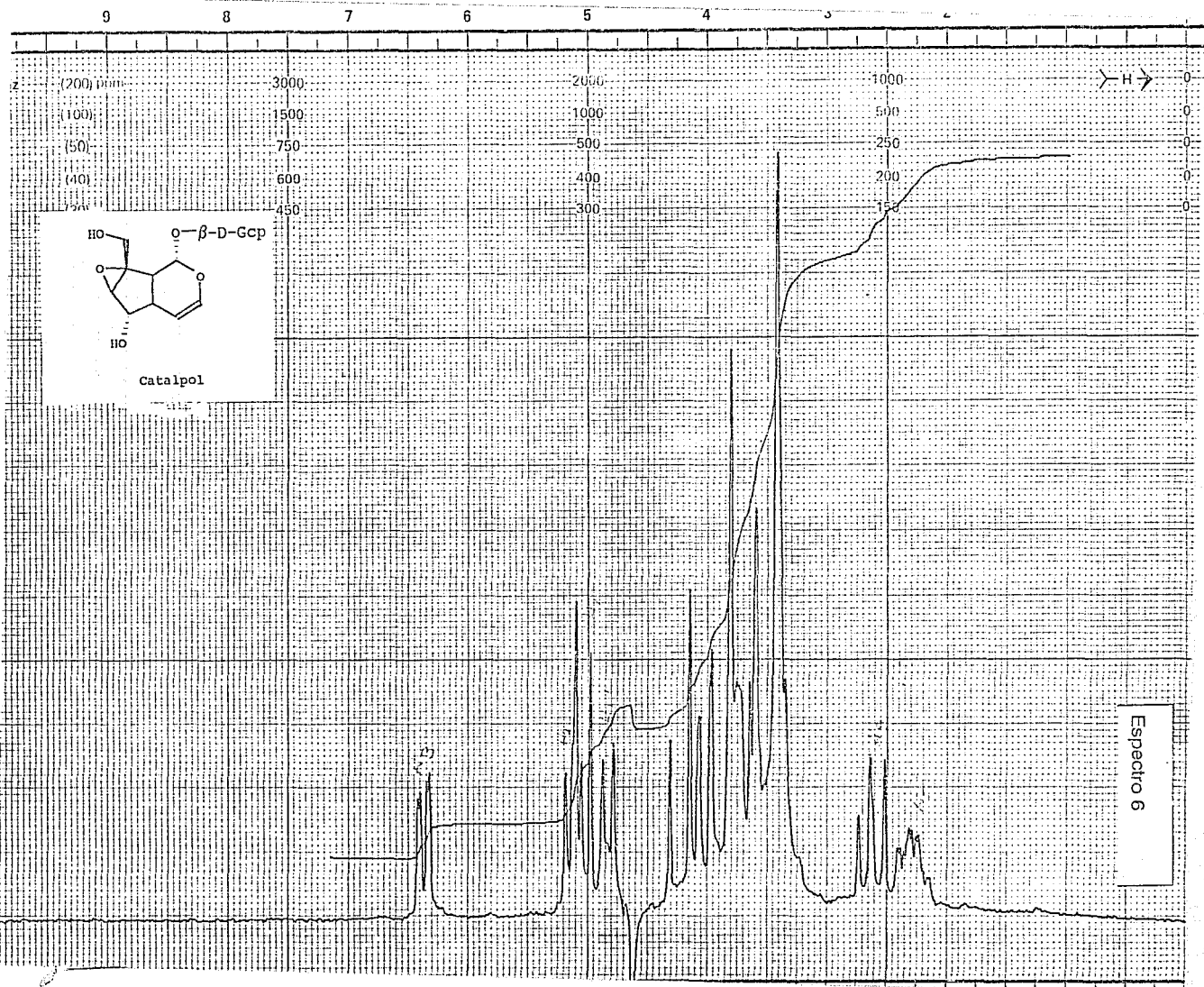


248 840

M. JIMENEZ. 25. PAST./KBR. 18/9/86 TORRES

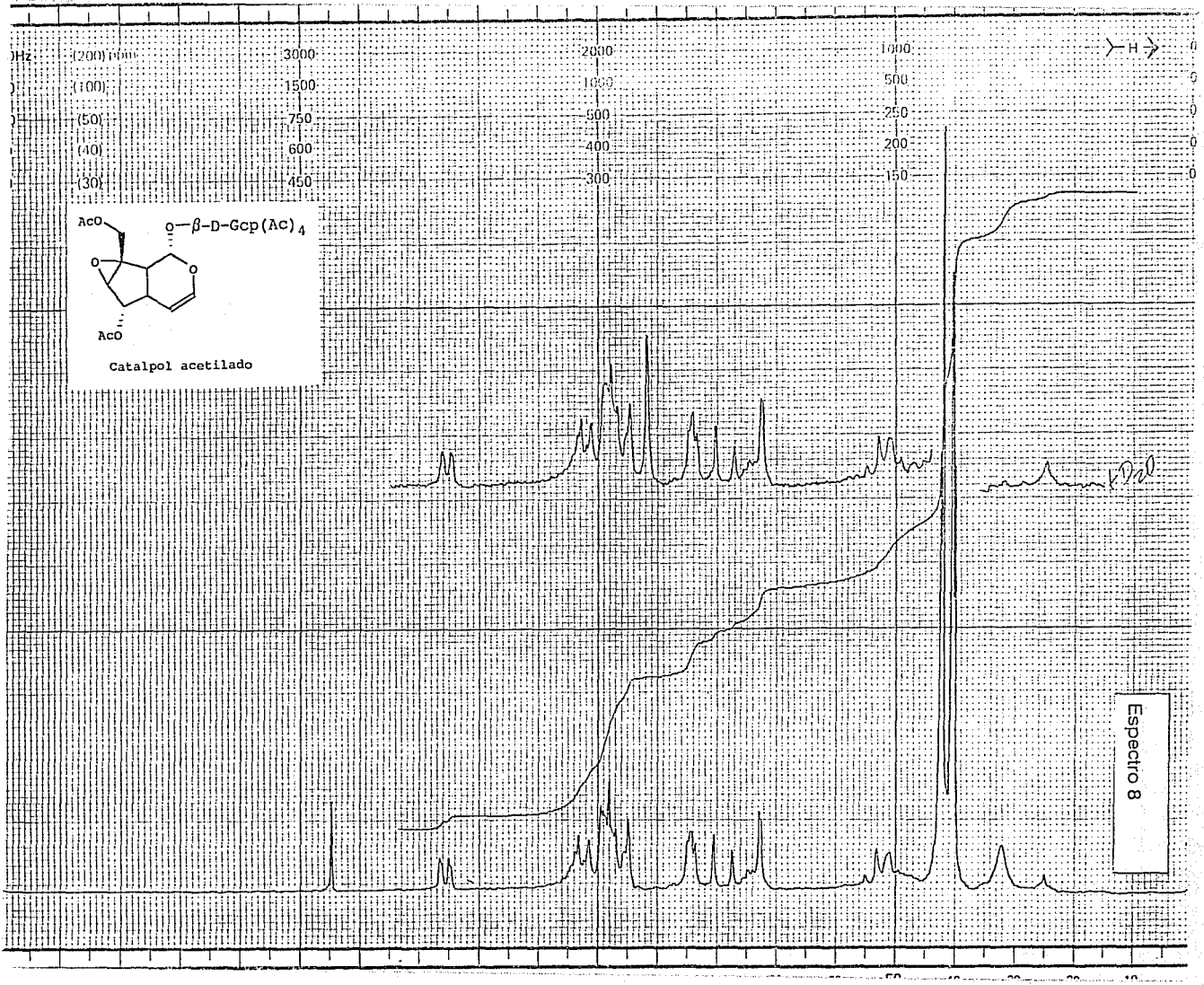


Espectro 5

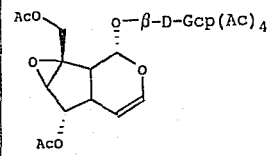


Catalpol

Espetro 6



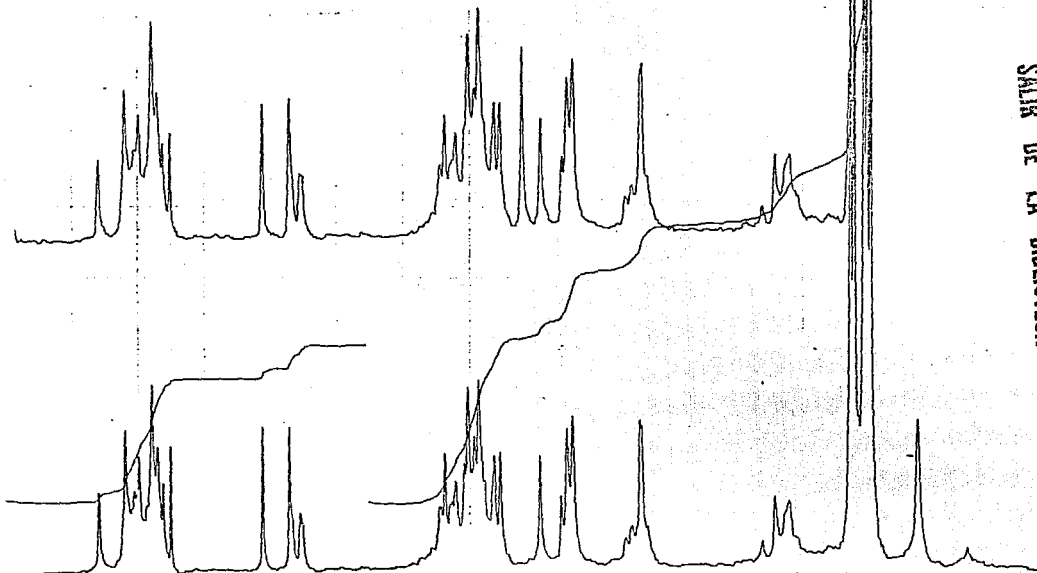
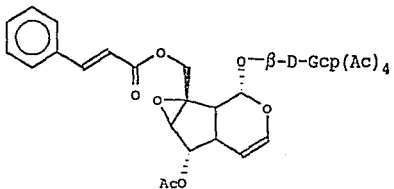
→ H →



Catalpol acetilado

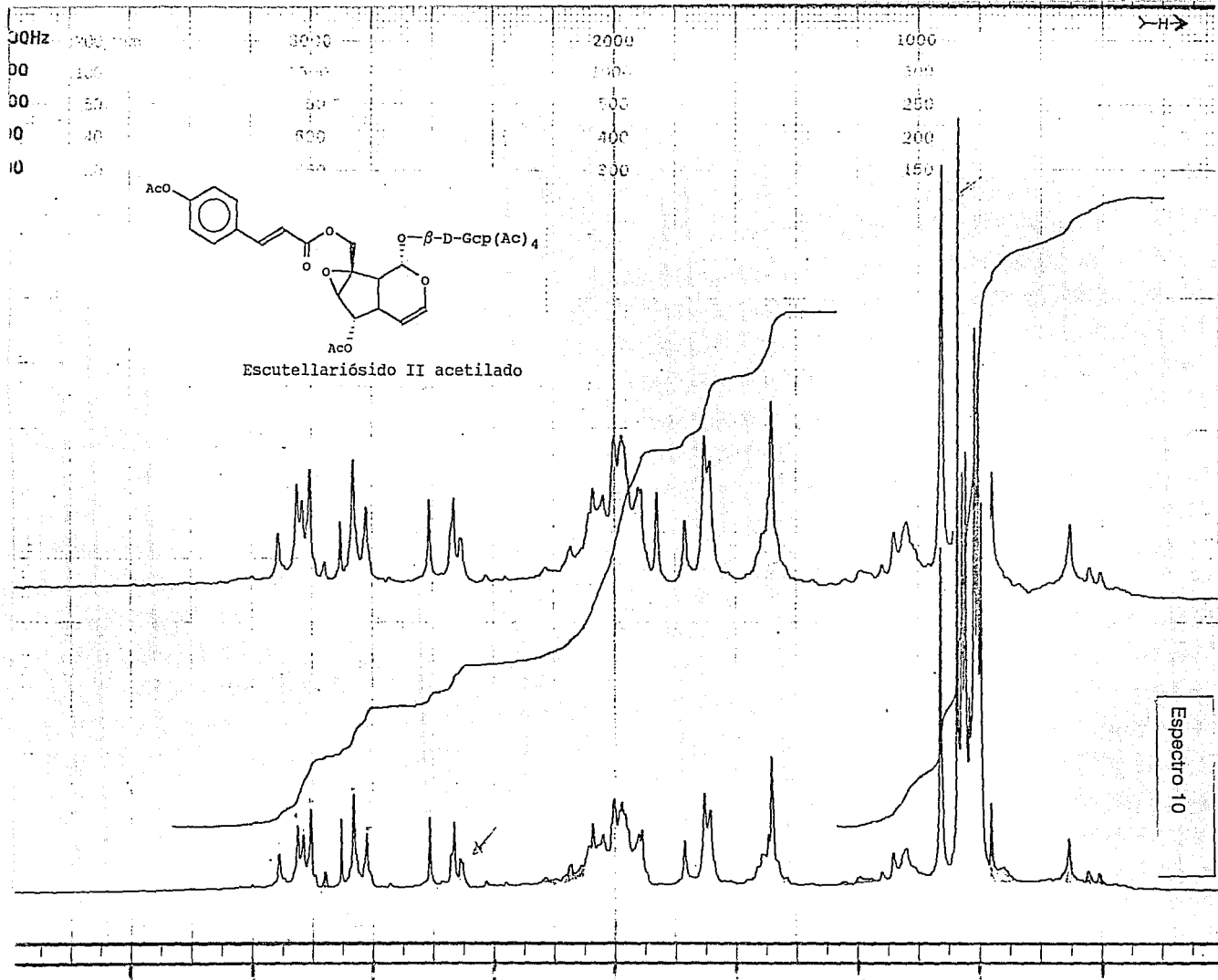
Espectro 8

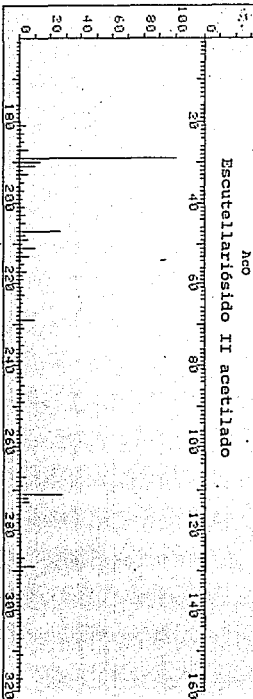
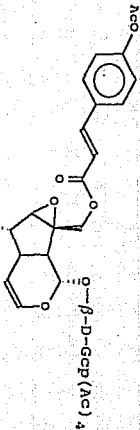
30Hz	30	3000	2000	1000
30	10	1500	1000	500
30	10	750	500	250
0	40	500	400	200
0	100	---	300	100



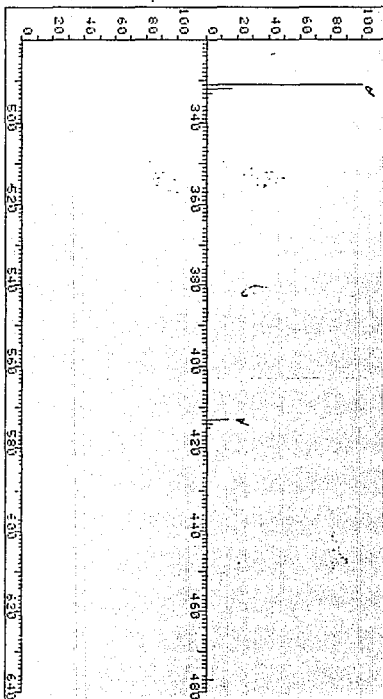
ESTA LEYENDA DEBE
 SALIR DE LA BIBLIOTECA

Espectro 9





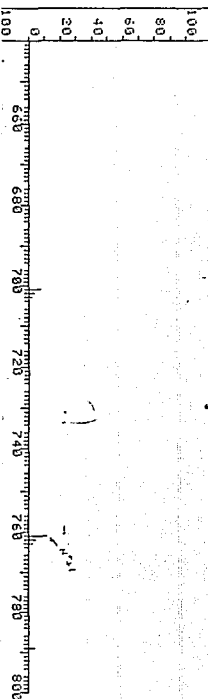
FRI 5053 SPECTRUM 70 RETENTION TIME 4.0
 LRCT 4: 331.1,100.0 189.1,100.0 271.2,27.2 207.1,25.5
 LST 4: 762.3, 1.1 763.4, .2 769.4, 1.0 801.3, .5
 PAGE 2 Y = 1.00

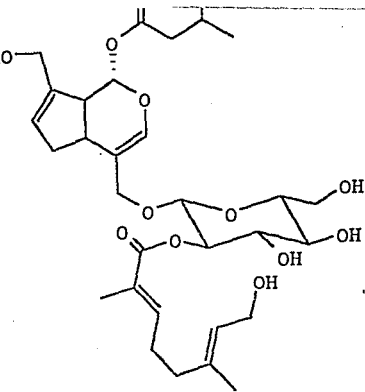


Escutellarisido 2

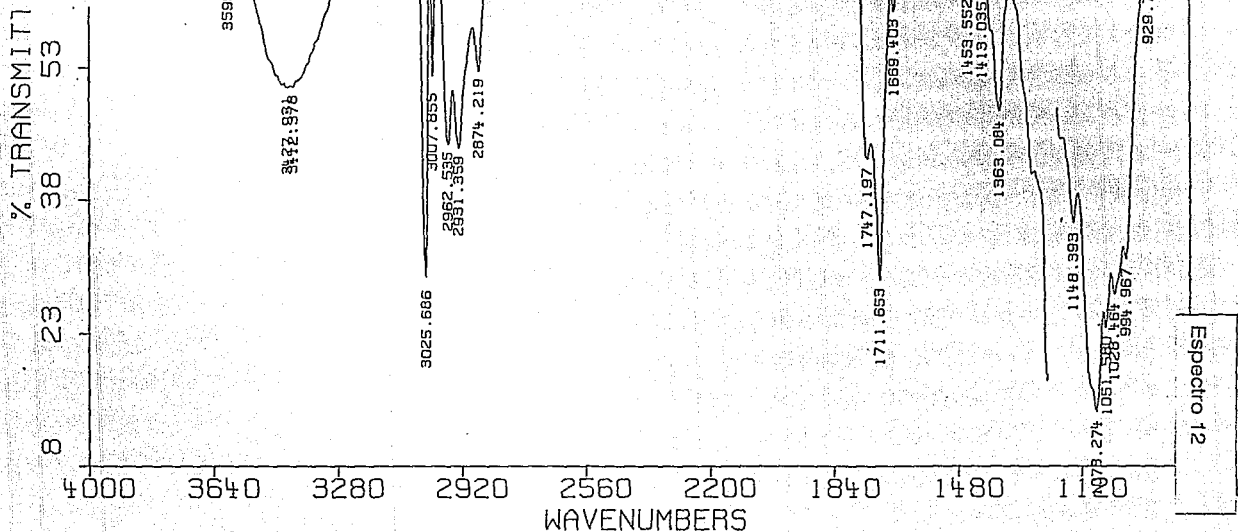
7387
 de 180-
 1,000
 um2
 Acetf (2)(20) (2) fm = 750

FRI 5053 SPECTRUM 70 ATTENTION TIME 4.0
 LRCT 4: 331.1,100.0 189.1,100.0 271.2,27.2 207.1,25.5
 LST 4: 762.3, 1.1 763.4, .2 769.4, 1.0 801.3, .5
 PAGE 3 Y = 4.00

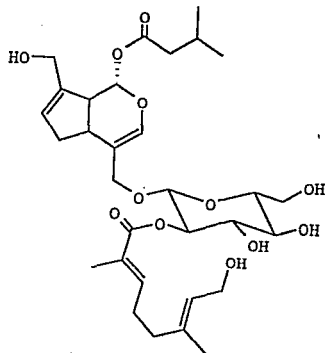




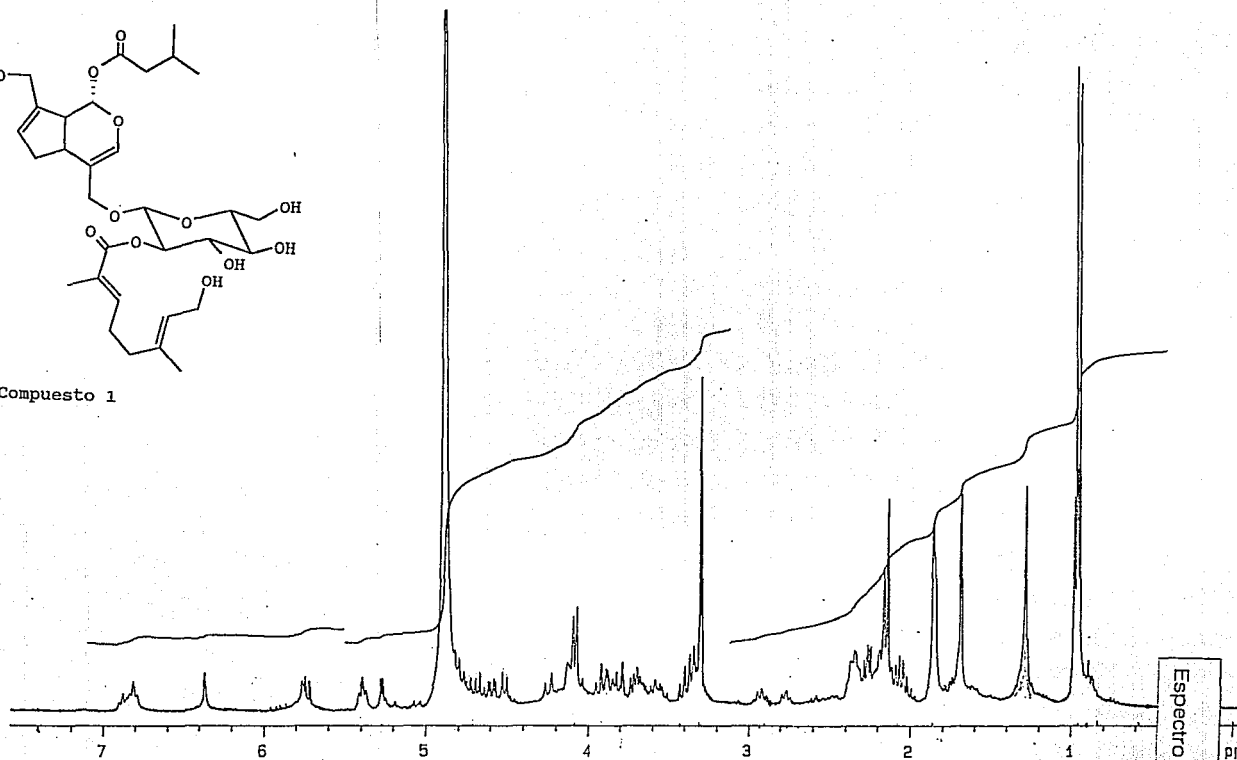
Compuesto 1



Espectro 12



Compuesto 1

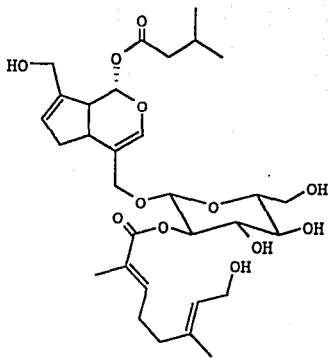


Espectro 13

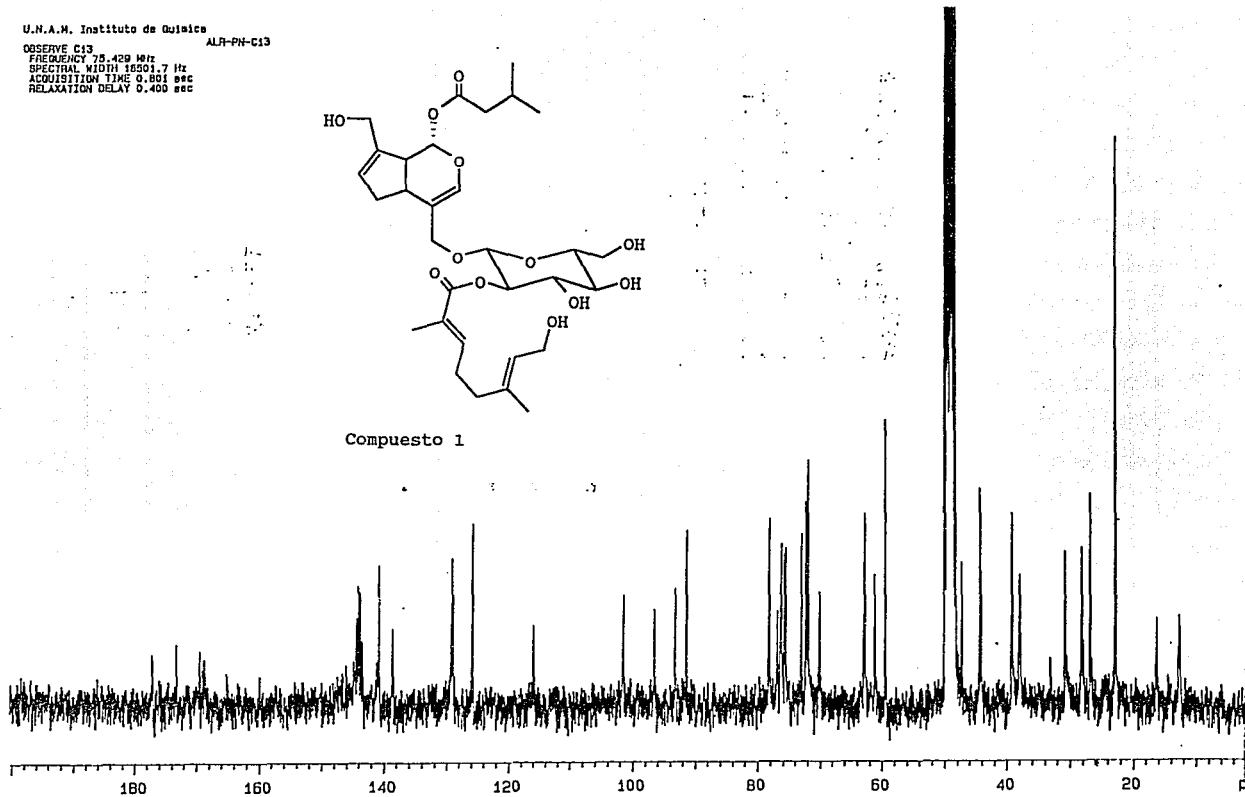
U.N.A.M. Instituto de Químico

ALR-PN-C13

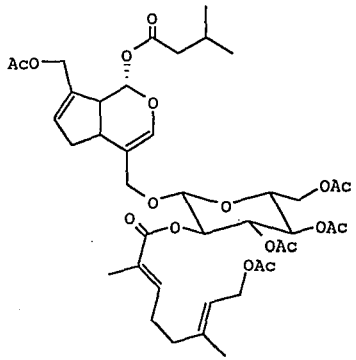
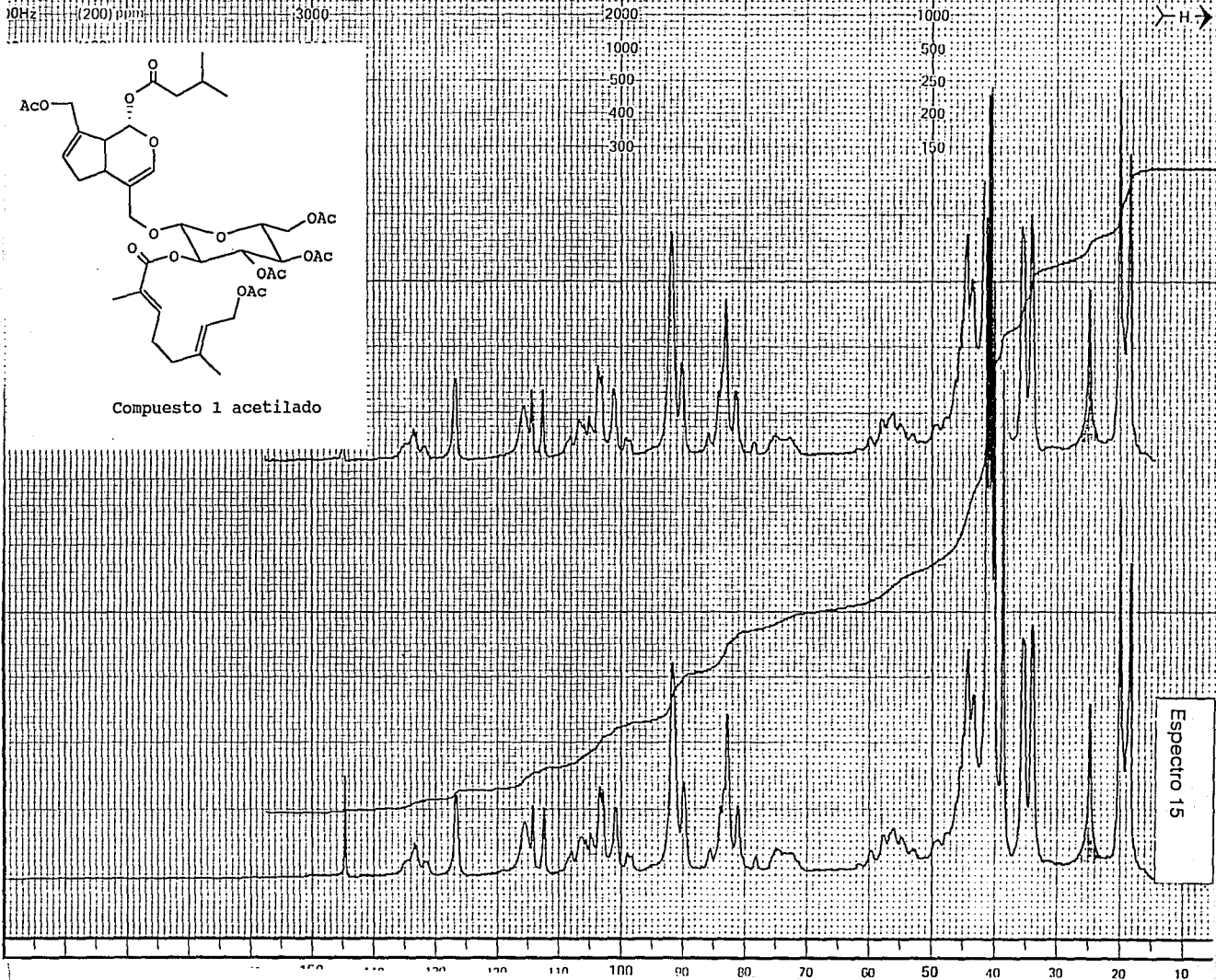
OBSERVE C13
FREQUENCY 75.429 MHz
SPECTRAL WIDTH 16501.7 Hz
ACQUISITION TIME 0.881 sec
RELAXATION DELAY 0.400 sec



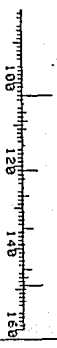
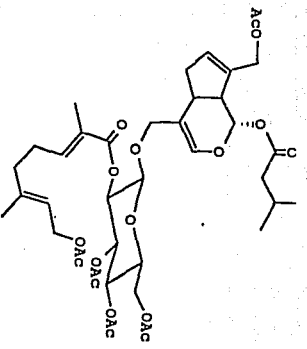
Compuesto 1



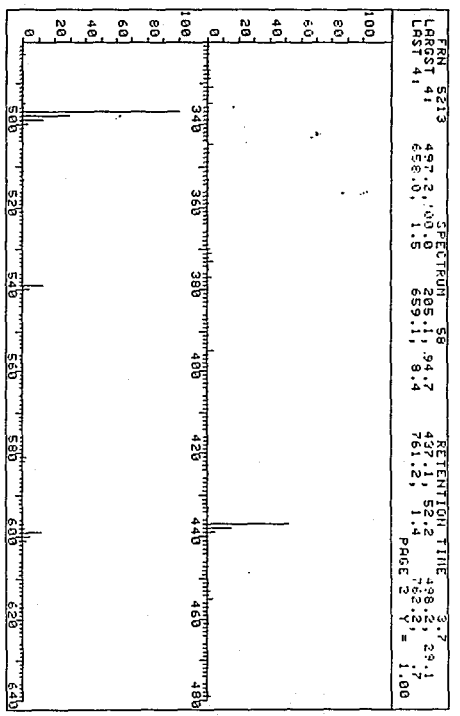
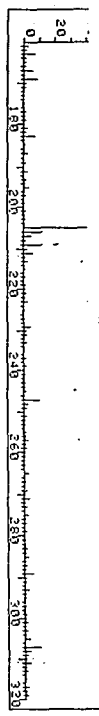
Espectro 14



Compuesto 1 acetilado



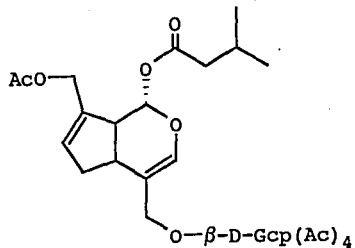
Compuesto 1 acetylado



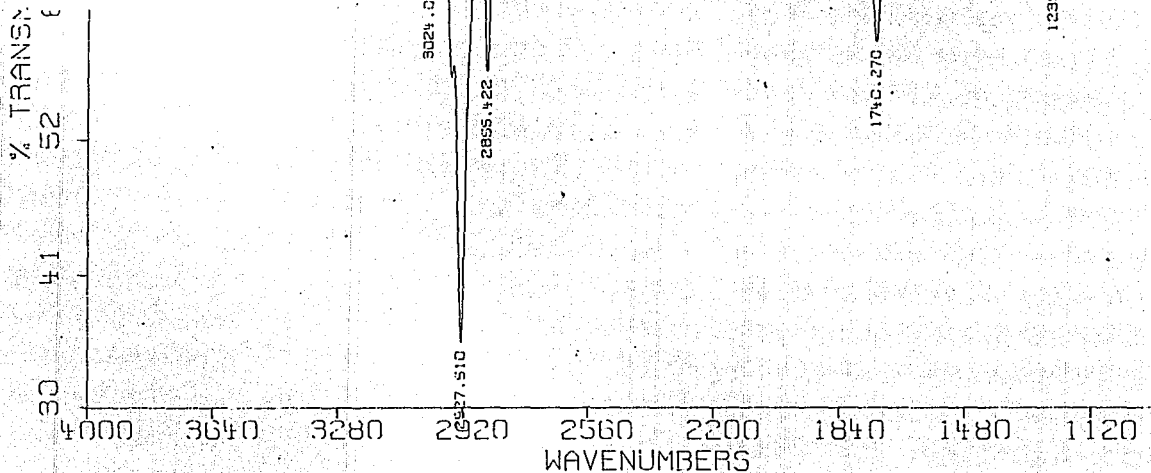
FRN	5213	SPECTRUM	S8	RETENTION TIME
LRST	41	487.2	100.0	437.1
LRST	41	658.0	1.5	761.2
				52.2
				762.2
				71.4
				1.00
				3.7
				29.1
				1.00

JA. M. J. E. ALA. - 12 - 13 ⁴ Acetilado

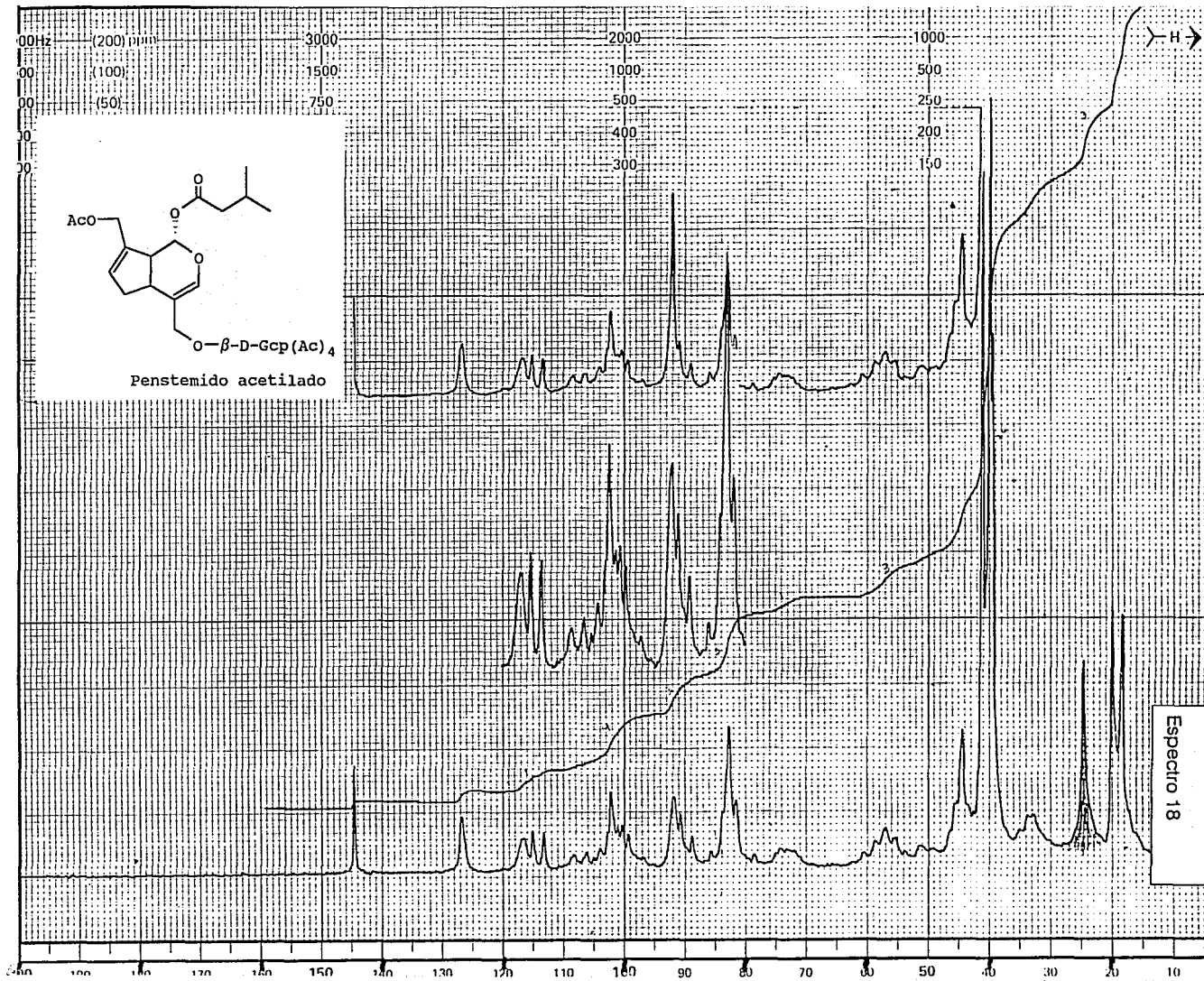
79



Penstemido acetilado



Especetro 17



7. BIBLIOGRAFIA

-
- ¹ Rzedowski, J.,
La vegetación de México.
Ed. LIMUSA. México (1978)
- ² Hernandez F.
"Historia de las Plantas de Medicinales de la Nueva España"
Publicación del Instituto de Biología, UNAM
Vol II, pag 276
México 1946
- ³ Índice y sinonimia de las plantas medicinales de México
Monografías Científicas Vol. I
IMEPLAN A.C.
Uso de las plantas medicinales de México
Monografías Científicas Vol. II
IMEPLAN A.C.
Editor José Luis Díaz
México, 1976.
- ⁴ Banthorpe, D.V. and Charlwood, B.V.
The Terpenoids, "Encyclopedia of Plant Physiology New Series". Vol 8, Secondary Plant
Products.
Editores Bell, E. A. and Charlwood, B.V.
Edit Springer-Verlag 1980, Pag. 197
- ⁵ Wettstein, R.
"Handbuch der systematischen Botanyk"
4 Ed.
Deuticke, Leipzig, 1935
- ⁶ Cronquist, A.
"An integrated system of classification of flowering plants"
Columbia Univ. Press, New York
- ⁷ Mendez Larios, Isidro
"Las Scrophulariaceae de Oaxaca, sus géneros y lista de especies"
TESIS, UNAM
1990.
- ⁸ Rodríguez Jiménez, Concepción
"Flora Fanerógamica del Valle de México II".
ENCB e Instituto de Ecología.
México
pag. 340-343.
- ⁹ Smolensky, S. J., Sillinis, H. and Farnsworth, N. R.
a) *J. Nat. Prod* (Lloydia) 1975,37,53.
b) *J. Nat. Prod* (Lloydia) 1975,38,430.
- ¹⁰ Nicolletti, M.
Rev. Latinoamer. Quim. Suppl., 1,1989,131
- ¹¹ Floss, H.G., Mothes, U. and Rettig, A.
Z. Naturforsch., 1964,19b,1106.

-
- ¹²Rimpler, H.
Planta Medica,1978,33,313.
- ¹³Inouye H.
Planta Medica,1978,33,193.
- ¹⁴Hegnauer, R. y Koolman, P.
Planta Medica,1978,33,1.
- ¹⁵Gershenson, J. and Mabry, T.M.
Nord. J. Bot.,1983,3,5.
- ¹⁶Jensen S.R., Nielsen B.J., Mikkelsen C.B., Hoffmann J.J., Jolad S.D. and Cole J.R.
Tetrahedron lett., 1979,35,3261.
- ¹⁷Junior P.
Planta Medica,1981,43,34.
- ¹⁸McCoy J. and Stermitz F.R.
J. Nat. Prod.,1983,46,902.
- ¹⁹Junior P.
Planta Medica,1984,50,444.
- ²⁰RobyMark R. and Stermitz F.R.
J. Nat. Prod.,1986,49,367.
- ²¹Junior P.
Planta Medica,1982,45,127.
- ²²Chaudhuri R.K., Saloma O. and Sticher O.
Tetrahedron lett,1981,22,4061.
- ²³Junior P.
Planta Medica,1983,47,67.
- ²⁴Junior P.
Planta Medica,1983,47,161.
- ²⁵Junior P.
Planta Medica,1984,50,417.
- ²⁶Junior P.
Planta Medica,1984,50,438.
- ²⁷Junior P.
Planta Medica,1981,42,104.
- ²⁸Junior P.
Planta Medica,1989,55,81.
- ²⁹Junior P.
Planta Medica,1984,50,459.
- ³⁰Gering B., Junior P. and Wichtl M.
Phytochemistry,1987,26,753.
- ³¹Gering B., Junior P. and Wichtl M.
Planta Medica,1986,52,356.

-
- ³²Gering B., Junior P. and Wichtl M.
Phytochemistry,1987,26,3011.
- ³³Gering-Ward B.
Planta Medica,1989,55,79.
- ³⁴a) Lira Rocha A., Jiménez Estrada M.
Informe de Servicio Social,
Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco, 1983.
b) Lira-Rocha A., Jiménez M.E. and Díaz R.
J. Nat. Prod.,1987,50,331.
- ³⁵García Gallegos Maúríno
*Estudio fitoquímico de *Penstemon gentianoides**
Tesis, UNAM, 1991.
- ³⁶Vázquez López Carmina
*Estudio fitoquímico de *Penstemon centrathifolius**
Tesis, Univ. Aut. de Tlaxcala, 1989.
- ³⁷Gering-Ward B. and Junior P.
Planta Medica,1989,55,75.
- ³⁸Gering-Ward B. and Junior P.
Planta Medica,1989,55,474.
- ³⁹Teborg D., Steigel A. and Junior P.
Planta Medica,1991,57,1991.
- ⁴⁰Teborg D. and Junior P.
Planta Medica,1991,57,185.
- ⁴¹Soriano-García M., Toscano R.A., Jiménez M. and Lira-Rocha A.
Acta Crystallograp.,1986,C42,1025.
- ⁴²Murai F. and Tagawa M.
Chem. Pharm. Bull.,1980,28,1730.
- ⁴³Jiménez E. M., Ordaz J and Lira-Rocha A.
Spectro Int. J.,1988,6,167.
- ⁴⁴Sticher O.
Plant Mono- Di- and Sesquiterpeneoids with Pharmacological or Therapeutical Activity in
*New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutic
Activity*
H. Wagner and P. Wolff Edit.
Springer-Verlag, Berlin, 1977, pag. 137.
- ⁴⁵Yamauchi K., Sakuragi R., Kuwano S. and Inouye H.
Planta Medica,1974,25,221.
- ⁴⁶Chin Y.
Acta Pharma. Sin.,1964,11,342. (C.A. 61:8130c).
- ⁴⁷Inouye H., Saito S., Taguchi H and Endo T.
Tetrahedron Lett.,1969,2347.

-
- ⁴⁸Endo T. and Taguchi H.
Chem. Pharm. Bull.,**1970**,*18*,1066.
- ⁴⁹Inouye H., Saito S. and Shingu T.
Tetrahedron Lett.,**1970**,3581.
- ⁵⁰Inouye H., Takeda Y., Uobe K., Yamauchi K., Yabuuchi N. and Kuwano S.
Planta Medica,**1974**,*25*,287.
- ⁵¹Miroguchi Y., Sakagami Y., Miyajima K., Yamamoto S. and Takeda S.
Nippon Shokakikyo Gakkai Zasshi,**1985**,*82*,2942.(C.A. **104**:180001).
- ⁵²Kupchan S.M., Dessertine A.L., Blaylock B.T., Bryan R.F.
J. Org. Chem.,**1974**,*39*,2477.
- ⁵³Isiguro K., Yamaki M., Takagi S., Ikeda Y., Kawakami K., Ito K., Nose T.
Chem. Pharm. Bull.,**1986**,*34*,2375.
- ⁵⁴Bianco A., Guiso M., Iavarone C., Passacantalli P. and Trogolo
Tetrahedron,**1984**,*40*,1191.
- ⁵⁵Bianco A. and Passacantalli P.
Gazz. Chim. Ital.,**1980**,*13*,108.
- ⁵⁶Weinges K., Kloss P. and Henkels W. D.
Liebigs Ann. Chem.,**1972**,*759*,173.
- ⁵⁷Jiménez E. M., González G. M., Lira-Rocha A., Toscano R.A. and Soriano-García M.
Acta Crystallogra.,**1989**,*C45*,1054.
- ⁵⁸Duff R. B., Bacon J. S. D., Mundie C. M., Farmer V. C., Russell J. D. and Forrester A. R.
Biochem. J., **1965**,*96*,1.
- ⁵⁹Claassen E.
Am. Chem. J.,**1888**,*10*,328.
- ⁶⁰Bernard P., Lallemand M. and Bainsard G.,
Plant. Med. et Phytothér.,**1974**,*8*,180.
- ⁶¹Chaudhuri R. and Sticher O.
Helv. Chim. Acta,**1981**,*64*,3.
- ⁶²Weinges K., Künstler K. and Schilling G.
Liebigs Ann. Chem.,**1975**,*2190*.
- ⁶³Clark Still, W., Kahn Michael and Mitra Abhjit
J. Org. Chem.,**1978**,*43*,2923.