

00523
55



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**"AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE LOS
CONSTITUYENTES de *Physalis chenopodiifolia*"**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO
PRESENTA

FERNANDO RODRIGO TORRES MANRIQUEZ



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

MEXICO D. F.

2003



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**TESIS CON
FALLA DE
ORIGEN**

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: TORRES MANRIQUEZ
FERNANDO RODRIGO
FECHA: 26 FEB 10 3
FIRMA: [Firma]

JURADO ASIGNADO:

- Presidente Prof. Cecilio Álvarez Toledano
- Vocal Prof. Benjamín Ruiz Loyola
- Secretario Prof. Emma Maldonado Jiménez
- 1er Suplente Prof. José Manuel Méndez Stivalet
- 2do Suplente Prof. Martha Menes Arzate

Instituto de Química, UNAM. Laboratorio 2-7. Productos Naturales.

ASESOR

[Firma]
M.C. Emma Maldonado Jiménez

SUSTENTANTE

[Firma]
Fernando Rodrigo Torres Manriquez

AGRADECIMIENTOS

A la M. en C. Emma Maldonado J. Por haberme dado la oportunidad de realizar esta tesis y por sus valiosas enseñanzas y consejos.

A mis compañeros quienes de alguna manera compartieron conmigo los buenos y malos momentos. De manera muy especial Jorge y Citlalli.

Al todo personal técnico del instituto de Química de la UNAM, por la realización de los diferentes análisis espectroscópicos los cuales fueron base importante para la realización de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico para la realización de este trabajo, como parte del proyecto 34993-N.

INDICE

Indice.....	I
Abreviaturas.....	II
Introducción.....	III
1. Antecedentes	
1.1 Solanáceas.....	1
1.2 Withaesteroides.....	3
1.3 Biogénesis de Whitanólidas.....	5
1.4 Actividad Biológica de Withaesteroides.....	7
1.5 El genero <i>Physalis</i>	12
1.5.1 Distribución, Taxonomía y usos en la medicina tradicional...12	
1.5.2 Composición química.....	16
1.5.3 <i>Physalis chenopodifolia</i> Lam.....	26
2. Objetivos.....	27
3. Resultados y discusión.....	28
4. Conclusiones.....	46
5. Parte experimental	
5.1 Material y equipo.....	47
5.2 Material vegetal.....	47
5.3 Extracción.....	47
5.4 Aislamiento y purificación.....	50
5.5 Datos físicos y espectroscópicos.....	51
6. Bibliografía.....	53
Apéndice I	
Espectrografía.....	60

ABREVIATURAS

a	señal ancha
APT	prueba de protones unidos a carbono (Attached Proton Test)
c	cuarteto
CC	cromatografía en columna
CCF	cromatografía en capa fina
COSY	Espectroscopía de Correlación Homonuclear (Correlated Spectroscopy)
d	doblete
dd	doble de doble
ddd	doble de doble de doble
DEPT	Distorsión reducida por transferencia de polarización (Distortion less Enhancement by Polarization)
EM	Espectrometría de masas
HMBC	Correlación de Enlace Heteronuclear Múltiple ($^2\text{JC-H}$, $^3\text{JC-H}$)
HMQC	Correlación Cuántica Heteronuclear Múltiple ($^1\text{JC-H}$)
Hz	Hertz
IR	Espectroscopía de Infrarrojo
J	Constante de acoplamiento
m	multiplete
m/z	relación masa carga
M ⁺	ión molecular
NOESY	Espectroscopía del Efecto Nuclear de Overhauser (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy)
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	singlete
t	triplete
td	Triplete de doblete
δ	desplazamiento químico
λ	longitud de onda

*"Extrañas son las virtudes que derramó la prodiga
mano de la naturaleza en piedras, hierbas y plantas"*

William Shakespeare.

INTRODUCCIÓN.

La medicina tradicional de cualquier pueblo tiene antigüedad histórica, utiliza plantas, animales y minerales que se encuentran en su ecosistema y es congruente con su cosmovisión, con sus tradiciones y con su ideología. Antes de la conquista, la medicina tradicional indígena de México está íntimamente ligada a la religión y es fundamentalmente herbolaria, aunque también utiliza productos minerales y animales.⁽¹⁾

Actualmente, en México, el término "Medicina tradicional" es impreciso ya que agrupa no sólo los conocimientos de los indígenas y de los españoles que se integraron durante la colonia, sino a muchos de reciente incorporación que no han pasado por el tamiz de las repetidas experiencias de ensayo y error que caracterizan a los primeros y que más bien surgen de procesos de comercialización o publicitarios, que en muchos casos inducen manejos inadecuados y peligrosos de los recursos de la medicina tradicional.

Sin embargo, es gracias a la medicina tradicional, que hoy en día se conocen miles de plantas de todo el mundo que sirven para tratar padecimientos que van desde una gripa hasta cáncer. Por razones obvias, los países que cuentan con mayor biodiversidad y con mayor número de grupos culturales son los que han contribuido en mayor medida a generar estos conocimientos y México está entre ellos.

Muchas de las plantas usadas en la medicina tradicional han sido investigadas y así se han descubierto decenas de compuestos bioactivos que las industrias farmacéuticas comercializan como fármacos en la medicina alópata. Sin embargo, estos medicamentos son inaccesibles para un alto porcentaje de la población, que ante ello vuelve la vista hacia la herbolaria para solucionar sus problemas de salud.

Por otra parte el panorama de la salud en México está sufriendo un proceso de cambio en el que se observa que disminuyen las enfermedades infecto-contagiosas (las producidas por un microorganismo y que se puede transmitir a través de un vehículo) y aumentan las neoplásicas (las que se caracterizan por un crecimiento anormal de tejido cuya masa excede al tejido normal y no esta coordinado con él) y crónico-degenerativas (las de principio no insidioso que disminuye la función del órgano o aparato a largo plazo). Dentro de las últimas se encuentra la *Diabetes mellitus*, cuya incidencia ha aumentado 30 veces en los últimos 50 años y ha llegado a convertirse en la tercera causa de muerte en el país. Es un padecimiento crónico e incurable que agrupa a una serie de alteraciones crónicas de la salud y que se caracteriza por niveles elevados de glucosa en sangre (hiperglucemia), causados por defectos en la secreción o en la acción de la insulina.⁽²⁾

La diabetes es un síndrome tan presente en la cotidianidad de la población mexicana que prácticamente todos tenemos a nuestro alrededor algún familiar, amigo o conocido que padece esta enfermedad. Es natural que esta misma población busque algunas opciones terapéuticas a la atención médica científica que, por principio, no puede ofrecer la curación, sino sólo el control de la diabetes. Es así como la herbolaria se convierte en una de las vías más socorridas y que ofrece al enfermo la esperanza de encontrar curación. En el Herbario Medicinal del IMSS se tienen registradas 179 especies de plantas con antecedentes etnobotánicos de poseer actividad hipoglucemiante.⁽³⁾ Estas plantas constituyen una esperanza de descubrir nuevos fármacos para el tratamiento de una enfermedad que amenaza en convertirse en la epidemia del siglo XXI y para la que aún no existe cura. Es por ello que, tomando como base los registros etnobotánicos de actividad hipoglucemiante de 3 especies del género *Physalis*, se decidió emprender el estudio químico y farmacológico de especies de este género para tratar de establecer si poseen los efectos que se les atribuyen, así como para aislar e identificar a los compuestos responsables de los mismos.

Una de las especies seleccionadas para el proyecto fue *Physalis chenopodifolia* Lam., especie que para su estudio fue dividida en tres partes, tallos, hojas y flores, cálices y frutos. Los resultados que presento a continuación son los obtenidos del estudio químico de tallos, hojas y flores.

**PAGINACIÓN
DISCONTINUA**

1. ANTECEDENTES

1.1 Solanáceas

La familia de las Solanáceas agrupa cerca de 85 géneros y unas 2300 especies, de las cuales 1200 se encuentran en el género *Solanum*. Es una familia muy diversa que aunque cuenta con algunos árboles y arbustos, está integrada principalmente por plantas herbáceas.⁽⁴⁾

En cuanto a su morfología, las solanáceas tienen hojas muy variables, sus inflorescencias están en cimas axilares o en combinación de cimas, aunque en algunas especies se encuentra una flor solitaria. La flor tiene cinco sépalos, generalmente persistentes en el fruto, una corola formada por cinco pétalos unidos formando un tubo, cinco estambres y un gineceo formado por un pistilo de 2 carpelos. Los frutos pueden ser de diferentes tipos como bayas o cápsulas.⁽⁴⁾

Esta familia se encuentra ampliamente distribuida en las regiones tropicales y templadas de todos los continentes, pero se puede decir que está concentrada especialmente en Australia, América Central y América del Sur.

Económicamente es una de las familias más importantes para el hombre, ya que agrupa plantas alimenticias, de ornato, medicinales y tóxicas.⁽⁵⁾

Entre las solanáceas alimenticias más conocidas se encuentran la papa (*Solanum tuberosum*), base de la alimentación de muchos pueblos en el mundo; la berenjena (*Solanum melongena*); el jitomate o tomate rojo que por mucho tiempo fue considerado venenoso, como lo indica su nombre científico "Lycopersicon" que significa durazno

de lobos (*Lycopersicon esculentum*),⁽¹⁾ diversos pimientos y chiles picantes del género *Capsicum* y el tomatillo o tomate verde de diversas especies de *Physalis*, como *Physalis peruviana* y *P. philadelphica*.⁽⁵⁾

Las solanáceas que se cultivan con fines ornamentales son principalmente especies de *Datura* (floripondios), *Nicotiana* (tabaquillos), *Petunia* (petunias), *Solanum* (gloria) y *Solandra* que producen vistosas flores. Algunas especies de los géneros *Capsicum* (chiles), *Solanum* y *Cestrum* (huele de noche) se cultivan por sus frutos coloridos o por el delicioso aroma que despiden, mientras que el uso ornamental del alquequenje (*Physalis alkekengi*), se debe a su colorido cáliz persistente.⁽⁵⁾

Entre las solanáceas que son al mismo tiempo tóxicas y medicinales se pueden citar la belladona (*Atropa belladonna*), el estramonio o toloache (*Datura stramonium*), la mandrágora (*Mandragora officinarum*) y el beleño negro (*Hyoscyamus niger*). Estas especies se han utilizado desde la más remota antigüedad como medicinales, pero su contenido de *alcaloides* del grupo del tropano las hace altamente tóxicas si no se utilizan debidamente.⁽⁵⁾

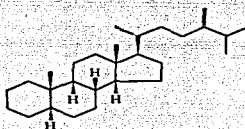
Una especie de solanácea especialmente importante es el tabaco (*Nicotiana tabacum*) que se utiliza en la fabricación de cigarros, cigarrillos, rapé y tabaco de mascar. Esta especie se encuentra entre las más populares, económicamente rentables y nocivamente utilizadas, plantas del mundo. Contiene *alcaloides* como la nicotina, que provocan adicción. Sin embargo, también es útil para la elaboración de insecticidas.⁽⁵⁾

En cuanto a su composición química, los miembros de la familia de las solanáceas contienen diversos tipos de metabolitos secundarios que son particularmente interesantes en las áreas de medicina y toxicología y también como caracteres taxonómicos.⁽⁶⁾ Entre éstos se encuentran *alcaloides* derivados de la higrina, del tropano y del grupo de la nicotina; *flavonoides*, *diterpenos*, *triterpenos* y *withaesteroides*.

Los alcaloides del tropano y los withaesteroides constituyen los dos grupos de metabolitos secundarios más frecuentemente aislados de las solanáceas. Aunque en un principio se pensó que estaban confinados a esta familia, se han ido descubriendo en otras.⁽⁶⁾ Estos metabolitos son por lo tanto, los más representativos de la familia, especialmente los withaesteroides, razón por la que abundaremos en sus características, a continuación.

1.2 Withaesteroides

Son derivados polioxigenados que se producen a partir del esqueleto del ergostano intacto o modificado. Están presentes preponderantemente en las especies de la familia Solanácea, pero su ocurrencia no se limita a esta familia, ya que también se han encontrado en las familias Labiatae⁽⁷⁾, Leguminosae⁽⁸⁾ y Taccaceae.⁽⁸⁾



Esqueleto del Ergostano

Una de las características principales de los withaesteroides es que la cadena lateral de 9 átomos de carbono del esqueleto de ergostano se encuentra formando un anillo de lactona o lactol de seis miembros, por oxidación de los carbonos 22 y 26. A partir de este arreglo se pueden generar una gran variedad de estructuras que se clasifican dentro de ocho grupos⁽⁸⁾ (Esquema 1).

I. Whitanólidas.

II. Withaphysalinas.

III. Physalinas.

IV. Nicandrenonas

(withanólidas con el anillo D aromatizado).

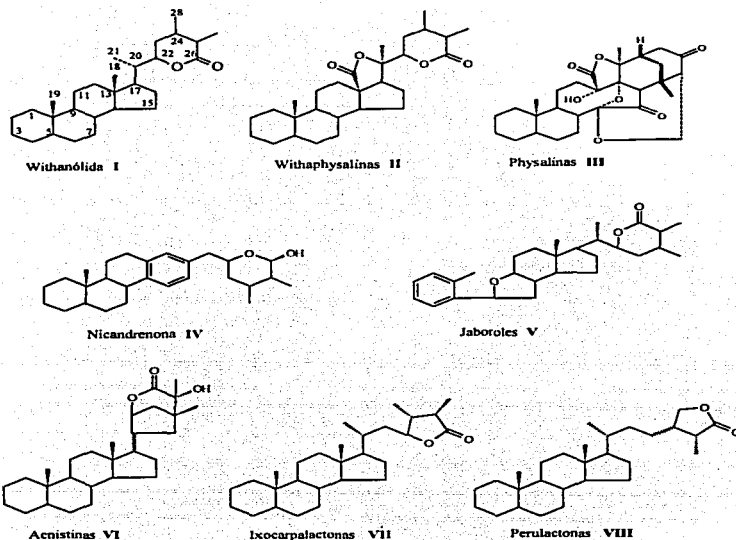
V. Jaboroles

(withanólidas con el anillo A aromatizado).

VI. Acnistinas.

VII. Ixocarpalactonas.

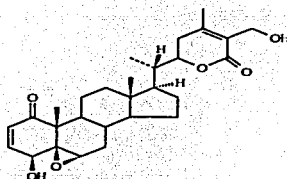
VIII. Perulactonas.



Esquema 1. Clasificación de los withaesteroides.

Dentro de esta clasificación se encuentran las withanolidas (I) que son los withaesteroides más simples. Son lactonas esteroidales de 28 carbonos, que se caracterizan porque en su cadena lateral, se oxidan apropiadamente los carbonos 22 y 26 para formar una δ -lactona. Por conveniencia la estructura base ha sido nombrada como "withanolida" (ác. 22-hidroxi ergostan-26-oico-26,22-olida).⁽⁸⁾ La mayoría de estos compuestos poseen una cetona en C-1 y doble enlace en C-2.

La primera withanólida descrita fue la withaferina A (4 β ,27-dihidroxi-5 β ,6 β -epoxi-1-oxowitha-2,24-dienólida). Fue aislada de *Withania somnifera* por Lavie y colaboradores en 1965.⁽⁹⁾



Withaferina A

Las withanólidas se clasifican en dos grandes grupos con base en la orientación de la cadena lateral en C-17 que puede ser α ó β . La mayoría de la Withanólidas aisladas hasta ahora presentan una orientación β de dicha cadena lateral.

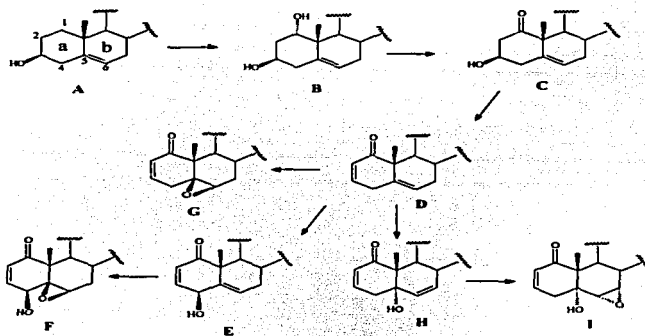
Las withanólidas son el grupo más abundante de los withaesteroides y se les considera precursores de los grupos II-VIII.⁽⁸⁾ Han sido aisladas de la mayoría de los géneros de solanáceas estudiadas y de *Ajuga parviflora*, que pertenece a la familia Labiatae.⁽⁷⁾

1.3 Biogénesis de Withanólidas

Existen dos esquemas biogénicos que explican la formación de las withanólidas.^(6, 8)

En el primero, se explica la formación de los diferentes patrones de sustitución de los anillos A y B que se han encontrado en las withanólidas. En el segundo se propone una posible ruta biogénica para la formación de la δ -lactona.

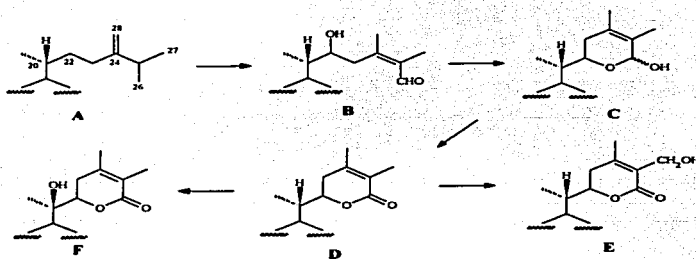
En cuanto a la funcionalización de los anillos A y B se propone que a partir de un ergostano funcionalizado como en A (esquema 2), se produzca una hidroxilación en C-1 para generar el intermediario B, el cual por una oxidación selectiva del alcohol en el carbono 1 y deshidratación del alcohol en C-3, forme la estructura D (2,5-dien-1-ona), que es básica en el grupo de las withanólidas, ya que a partir de ella se pueden generar los patrones de sustitución E-I mostrados en el esquema 2. Así la hidroxilación en C-4 de D produce la estructura E, la cual se puede epoxidar para formar la estructura F que es una de las que se presentan con mayor frecuencia. Si en D se epoxida el doble enlace en C-5 se genera G. Puede ocurrir también una α -hidroxilación de D combinada con un rearrreglo alílico para producir la estructura H, la que por una α -epoxidación puede generar compuestos con la estructura parcial I.



Esquema 2. Curso biogénico para la formación de los patrones de sustitución de los anillos A y B en withanólidas.

Concerniente a la cadena lateral, en el esquema 3 se ilustra la ruta biogénica que ha sido propuesta para la formación de la δ -lactona. En ella se postula que los

fitoesteroles de 28 átomos de carbono, como el 24-metilencolesterol son precursores de las withanólidas, ya que su cadena lateral (**A**) posee la funcionalización adecuada para formar **B** mediante hidroxilación de C-22 y oxidación de C-26. El δ -hidroxialdehído **B** debe ciclarse fácilmente para producir el lactol **C**; cuya oxidación da lugar a la δ -lactona insaturada **D**. Subsecuentes hidroxilaciones de los carbonos 27 y 20 generarán las estructuras **E** o **F**, respectivamente.⁽⁶⁾



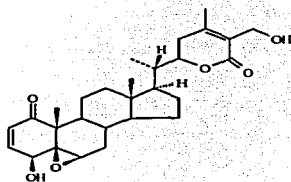
Esquema 3. Biogénesis propuesta para la funcionalización de la cadena lateral de withanólidas.

1.4 Actividad biológica de withaesteroides

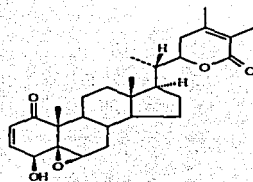
Un gran número de las especies productoras de withaesteroides están incorporadas en los sistemas de medicina tradicional en muchas regiones del mundo. Como consecuencia, la actividad biológica de un importante número de los withaesteroides aislados de estas plantas ha sido evaluada. Así, se ha descrito que dentro de este grupo de compuestos existen sustancias con propiedades antimicrobianas, fungicidas, antimaláricas, citotóxicas, antiinflamatorias, hepatoprotectoras, inmunomoduladoras, insecticidas y antialimentarias en insectos, entre otras.⁽⁸⁻¹⁰⁾ A continuación se presentan algunos ejemplos.

Antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de withaferina A fue descrita en 1956, antes de elucidar totalmente su estructura.⁽⁹⁾ Otro compuesto que presenta esta actividad es la 20-desoxiwithanólida D (27-desoxiwithaferina A).⁽⁸⁾



Withaferina A



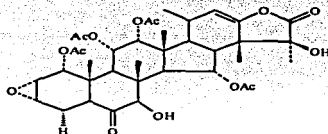
27-desoxiwithaferina A

Fungicida

Se ha descrito que la withaferina A presenta actividad fungicida contra *Aspergillus flavus*, *Epidermophyton floccosum* y *Cladosporium herbarum*.⁽⁸⁾

Antimalárica

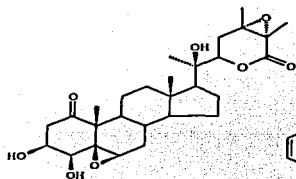
La taccalonólida A, proveniente de la planta medicinal china *Tacca plantaginea*, resultó efectiva contra el parásito de la malaria *Plasmodium berghai*.⁽⁸⁾



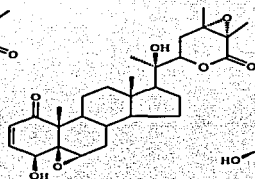
Taccalonólida A

Antiinflamatoria.

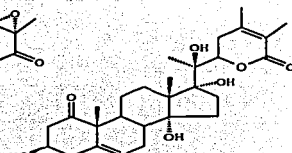
Las withanólidas physangólida, 24,25-epoxiwithanólida D y 3 β -hidroxi-2,3-dihidrowithanólida F, presentaron actividad antiinflamatoria con efectos comparables a los de la hidrocortisona.⁽⁸⁾



Physangólida



24-25-Epoxiwithanólida D

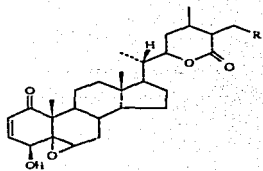
3 β -hidroxi-2,3-dihidrowithanólida F

Hepatoprotectora

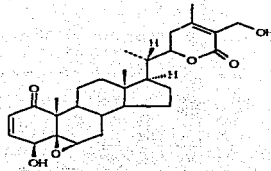
Se describió que la 3 β -hidroxi-2,3-dihidrowithanólida F (*vide supra*) posee una actividad hepatoprotectora superior a la hidrocortisona en daño a hígado inducido por CCl₄.⁽⁸⁾

Inmunomoduladora

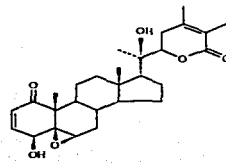
Los estudios *in vitro* e *in vivo* realizados con extractos de algunas especies del género *Physalis* (*P. angulata*, *P. pubescens* y *P. viscosa*), permitieron establecer que poseen propiedades inmunoactivadoras. Los glicósidos esteroidales sitoindósido IX y sitoindósido X, mostraron actividad adaptogénica e inmunoestimulante. Algunas otras withanólidas como withaferina A y withanólida D presentaron actividad tanto inmunodepresora como inmunoestimulante.⁽⁸⁾



Sitoinósido IX R=OGluc.
Sitoinósido X R=OGluc (6'-palmitoil)



Withaferina A

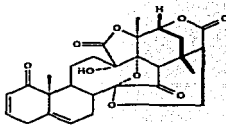


Withanolida D

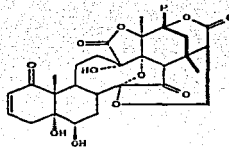
Citotóxica

Esta es la actividad que ha sido más explorada y por lo tanto son muchos los withaesteroides que han resultado activos.⁽⁸⁾ Por ejemplo la physalina B ha demostrado ser citotóxica para las células de la línea 9 KB (nasofaringe) y la physalina D para la línea B-16 (mielo-carcinoma). La physalina A fue moderadamente activa en células de tumor cérvico-uterino (HeLa), mientras que la physalina L no presentó actividad.

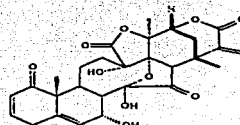
La physalina F mostró actividad antineoplásica *in vitro* en cinco líneas de células cancerígenas: Ha 22T (hepático), HeLa (cérvico-uterino), KB (nasofaringe), Colo-205 (colon) y Calu-1 (pulmón). También mostró efecto antitumoral *in vivo* contra la cepa P 388 (leucemia linfocítica).



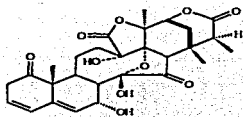
Physalina B



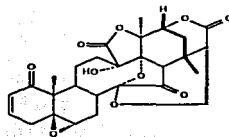
Physalina D



Physalina A



Physalina L

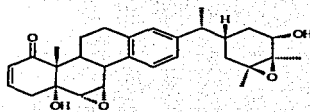


Physalina F

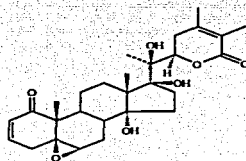
Se ha propuesto, aunque no ha sido comprobado, que los requisitos estructurales para la actividad citotóxica de estos compuestos son la enona del anillo A y el epóxido del anillo B, así como la δ -lactona α,β -no saturada de la cadena lateral.

Otras actividades

Los sitoindósidos IX y X (*vide supra*) mostraron actividad anti-estrés en ratas y ratones.⁽⁸⁾ La nicandrenona mostró propiedades insecticidas, mientras que la withanólida E posee actividad antialimentaria.⁽⁸⁾



Nicandrenona



Withanólida E

1.5 El género *Physalis*

1.5.1 Distribución, Taxonomía y Usos en Medicina Tradicional

Physalis es uno de los 85 géneros que se agrupan en la familia Solanaceae.⁽⁴⁾ A este género se le reconocen en la actualidad cerca de 90 especies que se distribuyen principalmente a lo largo del continente Americano, desde Estados Unidos hasta América del Sur y las Antillas, aunque cuenta también con algunas especies en el Viejo Mundo.⁽¹¹⁾ México es el país con mayor número de especies ya que cuenta con alrededor de 70.⁽⁹⁾ La primera descripción del género fue hecha por Linneo en 1753,⁽¹²⁾ posteriormente varios autores han abordado su taxonomía, hasta llegar al tratamiento de Martínez, quien ha reorganizado las secciones y descrito varias especies nuevas. Los diversos tratamientos del género se resumen en el cuadro 1.^(12, 13)

Cuadro 1. Tratamiento taxonómico del género *Physalis*.⁽¹²⁾

Linneo 1735	Nees 1831	Don 1837	Dunnal 1852	Rydberg 1896	Menzel 1951	Hendrych 1989	Martínez 1994
	<i>Physalis</i> arbustivos 2	<i>Physalis</i> Sección <i>Physalodesdron</i> 2	Género <i>Whitania</i>				<i>Physalis</i> Subgénero <i>Physalodesdron</i>
<i>Physalis</i> Perennes 5	<i>Physalis</i> perennes 7	<i>Physalis</i> Sección <i>Euristorhiza</i> 9 <i>P. alkekengi</i>	<i>Physalis</i> Sección <i>Euristorhiza</i> 16 <i>P. alkekengi</i>	<i>Physalis</i> Sección <i>Megista</i> 1 <i>P. alkekengi</i>		<i>Physalis</i> Subgénero <i>Physalis</i> 1 <i>P. alkekengi</i>	<i>Physalis</i> Subgénero <i>Physalis</i> 1 <i>P. alkekengi</i>
				<i>Physalis</i> Sección <i>Physalis</i> 7 grupos de especies perennes <i>Crassifolia</i> <i>Carpenteriae</i> <i>Heterophyllae</i> <i>Lanceolatae</i> <i>Stellatae</i> <i>Viscosae</i> <i>Verticillatae</i> 21	<i>Physalis</i> Sección <i>Crassifoliae</i> <i>Carpenteriae</i> <i>Heterophyllae</i> <i>Lanceolatae</i> <i>Stellatae</i> <i>Verticillatae</i> 31 <i>Angulatae</i> <i>Leceptophyllae</i> <i>Pubescentes</i> 14	<i>Physalis</i> Subgénero <i>Rydbergis</i>	<i>Physalis</i> Subgénero <i>Rydbergis</i> Sección <i>Epetiorhiza</i> <i>Campanulae</i> <i>Lanceolatae</i> <i>Cosmates</i> <i>Carpenteriae</i> <i>Stellatae</i> <i>Angulatae</i> <i>Tehuacanense</i> <i>Rydbergiae</i> 61
<i>Physalis</i> Anuales 4	<i>Physalis</i> Anuales 9	<i>Physalis</i> Sección <i>Epetiorhiza</i> 10	<i>Physalis</i> Sección <i>Epetiorhiza</i> 28	<i>Physalis</i> Sección <i>Physalis</i> 7 grupos de especies perennes <i>Angulatae</i> <i>Leptophyllae</i> <i>Pubescentes</i> <i>Philadelphicae</i> 17	Género <i>Margaranthus</i> 1		
			Género <i>Margaranthus</i> 1	Género <i>Margaranthus</i> 4			<i>Physalis</i> Sección <i>Angulatae</i>
				<i>Physalis</i> Sección <i>Microphysalis</i> 1			Género <i>Cascada</i> 2
				Género <i>Quincula</i> 1	Género <i>Quincula</i> 1		<i>Physalis</i> Subgénero <i>Quincula</i>
		<i>Physalis</i> Sección <i>Anomala</i> 2					Género <i>Deprea</i> 2

Las especies de *Physalis* pueden ser herbáceas, sufrútices y arbustivas. La talla de las plantas en las especies del género, varía desde escasos 20 cm en *P. microcarpa*, hasta 1.5 ó 2 m de alto (*P. breviloba*, *P. coztomatl*, *P. glutinosa* y *P. mcvaughii*). Sin embargo, la mayoría de las especies presentan tallas que oscilan entre los 40 y 90 cm. Las flores en la mayoría de las especies son solitarias, las hojas son alternadas, por lo general se encuentran solitarias, pero en algunas especies pueden presentarse geminadas (en pares), las cuales son iguales en forma y desiguales en dimensiones, por lo general la pequeña es 1/3–1/2 menor que la mayor. El fruto presente es una baya carnosa que varía de color, desde el verde-amarillo hasta el anaranjado o púrpura.⁽¹³⁾ Estos frutos globosos son comestibles en 14 de sus especies pero sólo 4 de ellas (*P. philadelphica*, *P. peruviana*, *P. grisea* y *P. alkekengi*) se cultivan para el aprovechamiento de sus frutos, el resto se utiliza a partir de poblaciones silvestres.⁽¹¹⁾

En México, estos frutos constituyen un componente esencial de la dieta de la población, sobre todo los obtenidos de *P. philadelphica* a los que se denomina "tomates" aunque también se les conoce como "tomates verdes", "tomates de cáscara", "tomates de fresilla" ó "tomatillos".⁽¹⁴⁾

El nombre tomate se deriva del Náhuatl "tomatl". Este vocablo es genérico para plantas con frutos globosos o bayas, con muchas semillas, pulpa acuosa y a veces encerrados en una membrana (cáliz).⁽¹⁵⁾

Además del importante uso de algunas especies de *Physalis* como fuente de alimento, en la medicina tradicional se les atribuyen propiedades medicinales a varias especies.⁽¹⁶⁾ Estas se enlistan a continuación:

- *Physalis aequata* Jacq.
Para desórdenes digestivos (dolor de estómago, empacho, estreñimiento, bilis y latido).
Para curar la disentería entre los grupos Mixe, Zapoteca y Totonaco.
Para curar tos, dolor de amígdalas, calentura y algunos padecimientos culturales como "susto" y "espanto".
- *P. philadelphica* Lam., *P. chenopodifolia* Lam., *P. laevigata* Mart. y Galeoti
Para tratar problemas del tracto respiratorio (tos, tosferina, dolor de amígdalas).
Para curar la piel afectada por el "chincual"(comezón).
Para curar dolores de cabeza.
Para disminuir la fiebre.
Para curar desórdenes digestivos (bilis, inflamación del estómago y latido).
Contra la calvicie y para el nacimiento de pelo.
Para el tratamiento de la presión alta.
Para el tratamiento de la diabetes.
Para mejorar la vista.
- *P. pubescens* L. y *P. villosa* Miller
Contra la bilis.
Para la recaída de señoras.
Para curar la tos y la calentura.
Contra el k'ujchakua (amígdalas inflamadas por ingerir bebidas frías después de haber permanecido mucho tiempo expuesto al sol).

- *P. gracilis* Miers y *P. schiococana* Dunal
 Para tratar padecimientos digestivos (vómito, diarrea, empacho o latido).
 Para aliviar el dolor de amígdalas.
 Para regular la presión.

- *P. coztomatl* Moc. y Sesse
 Para detener el pujo (diarrea con sangre causada por una probable infección amibiana u otros parásitos).
 Para curar otros padecimientos intestinales (diarrea).
 Para padecimientos dentales (pulpitis).

1.5.2 Composición Química

En el género *Physalis* se han descubierto varios tipos de metabolitos secundarios, como son: alcaloides derivados de la higrina, que se han encontrado principalmente en las raíces (figrina, higrina, tropinona, anahigrina, cuscohigrina, anaferina, Fig. 1);⁽¹⁷⁾ glicósidos de hidroxíesteres (Fig. 2);⁽¹⁸⁾ que se han aislado de los frutos; carotenoides, por ejemplo la physoxantina (Fig. 3);⁽¹⁹⁾ esteroides como los physalindicanoles A y B (Fig. 4)⁽²⁰⁾ que se proponen como precursores de las lactonas esteroidales y withaesteroides que son los metabolitos secundarios mas característicos y abundantes en el género. Se les ha aislado principalmente de las partes aéreas de la planta, pero también se encuentran en la raíz.

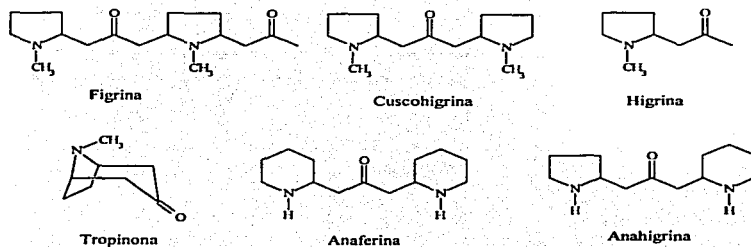


Fig. 1 Alcaloides derivados de la higrina

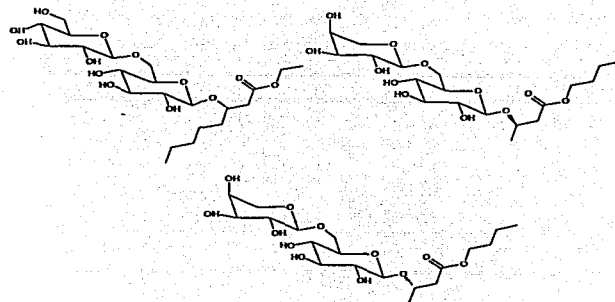


Fig 2. Glicósidos de hidroxiester

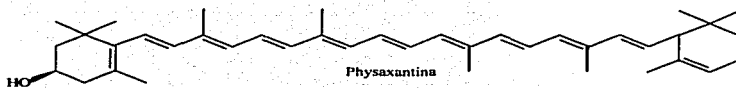


Fig.3. Carotenoides

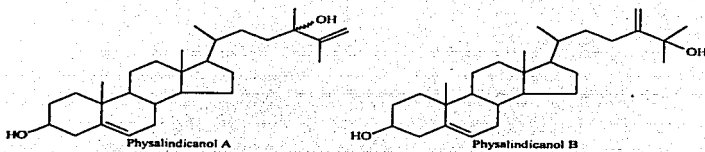
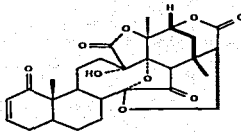


Fig.4 Physalindicanoles precursores de lactonas esteroidales

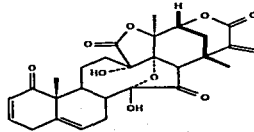
En el cuadro 2 se describen los withaesteroides del género *Physalis* que se han descrito hasta la fecha en la literatura.

Cuadro 2. Withaesteroides aislados de especies de *Physalis*.

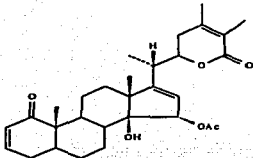
ESPECIES	WITHAESTEROIDES
<i>P. angulata</i>	Physalina B (1) ^{22,23} , D (2) ²³ , E (3) ¹⁴ , F (4) ¹⁴ , G (5) ^{23,24} , H (6) ^{23,24} , I (7) ^{23,24} , J (8) ²³ , K (9) ²³ Physagulinas A (13) ²¹ , B (14) ²¹ , C (15) ²¹ , D (19) ²¹ , E (17) ²⁷ , F (16) ²⁷ , G (18) ²⁷ Withagulatina A (22) ²⁴ Withaminimina (23) ²¹
<i>P. pruinosa</i>	Physapruina A (20) ²⁴ , B (24) ²⁴
<i>P. minima</i>	Withaphysalina A (25) ²⁶ , C (30) ²⁶ , D (26) ²¹ , E (27) ²³ Physalina A (11) ²¹ , B (1) ^{23,24} , C (12) ²⁷ , D (2) ¹¹ , L (10) ²³ , Dihidrophysalina B (32) ²⁷ Withaminimina (23) ^{24,25} Physalindicanol A (28) ²⁸ , B (29) ²⁸
<i>P. viscosa</i>	Viscosalactona A (33) ¹⁴ , B (34) ¹⁴ Withaferina A (79) ¹⁸ 4β-hidroxiwithanólida E (35) ¹⁸ Withanólida D (38) ¹⁸
<i>P. peruviana</i>	Physalactona B (39) ²¹ , C (41) ²⁴ (20R,22R)-5a, 6β, 14a,20,27-pentahidroxi-1-oxowith-24-enólida (44) ²⁴ (20S,22R)-5a, 6β-epoxi-4β,14β,15a-trihidroxi-1-oxowith-2,24-dienólida (45) ²⁴ Withaphysanólida (21) ²⁴ Viscosalactona B (34) ²⁴ Physalina A (11) ²¹ Withanólida E (36) ^{20,21} , 28-Hidroxiwithanólida E (37) ²¹ , 2,3-dihidrowithanólida E (48) ²¹ , 4β-hidroxiwithanólida E (35) ^{20,21,23} Physalolactona (40) ²¹ , 4-Desoxyphysalolactona (43) ²⁶ , 23-hidroxiophysalolactona (42) ²² Withaperuvina (49) ²⁶ , B (46) ²⁷ , C (50) ²⁷ , E (51) ²⁸ , F (52) ²⁷ , G (47) ²⁰ Perulactona A (57) ²¹ , B(58) ²²
<i>P. pubescens</i>	Physapubenólida (53) ²⁴ Pubescenina (54) ²⁴ Pubesenólida (55) ²⁶ Pubescenol (56) ²⁷ Physapubescina (59) ²¹ Physalina E (3) ²⁷
<i>P. alkekengi</i>	Physalina A (11) ^{20,21} , B (1) ²⁴ , C (12) ²² , L (31) ²¹ , M (61) ²² , N (60) ²¹ , O (62) ²² , P (63) ²⁴ , Q (65) ²⁴ , R (66) ²⁴ , S (67) ²⁴ , K (64) ²⁸
<i>P. lancifolia</i>	Physalinas B (1) ²⁴ , E (3) ²⁴ , F (4) ²⁴ , G (5) ²⁴ , H(6) ^{24,26} , I (7) ^{22,24} , J (8) ²¹
<i>P. philadelphica</i> (sin: <i>P. ixocarpa</i>)	Philadelphicalactonas A (68) ²⁴ , B (69) ²⁴ Icocarपालactona A (70) ^{66,67} B (71) ^{67,69} , 14-acetilicocarपालactona B (72) ⁶⁶ Physalina B (1) ⁶⁸ Withaphysacarpina (73) ^{66,68} , 2,3-dihidro-3-metoxiwithaphysacarpina (74) ⁶⁸ 18-Hidroxiwithanólida D (76) ⁶⁹ , 24,25-dihidrowithanólida D (84) ⁶⁸ Withanona (77) ⁶⁹ Icocarpanólida (78) ^{69,70}



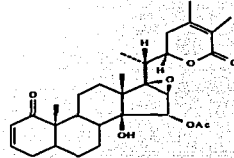
Physalina B : Δ^5 (1)
 Physalina D : 5 α -OH, 6 β -OH (2)
 Physalina E : 5 α -OH, 7 α -OH (3)
 Physalina F : 5 β , 6 β -epoxi (4)
 Physalina G : Δ^4 , 6 α -OH (5)
 Physalina H : 5 α -Cl, 6 β -OH (6)
 Physalina I : 5 α -OMe, 6 β -OH (7)
 Physalina J : 5 α , 6 α -epoxi (8)
 Physalina K : 4 α , 5 α -epoxi, 6 α -OH (9)
 Physalina L : 5 β -OH, 6 β -Oet (10)



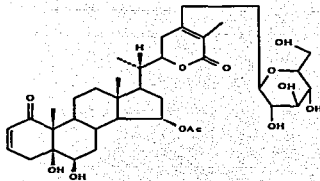
Physalina A : 7 α -OH (11)
 Physalina C (12)



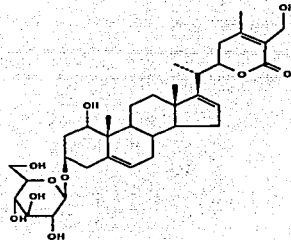
Physagulina A : 5 β , 6 β -epoxi (13)
 Physagulina B : 5 α -Cl, 6 β -OH (14)



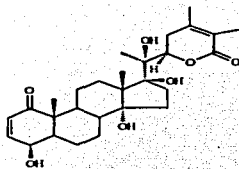
Physagulina C : 4 β -OH, 5 β , 6 β -epoxi (15)
 Physagulina F : 5 α -OH, 6 β -OH (16)



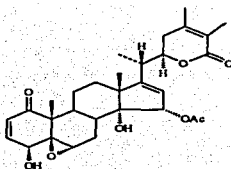
Physagulina E : Δ^{16} , 14 α -OH (17)
 Physagulina G : 14 β -OH, 16 β , 17 β -epoxi (18)



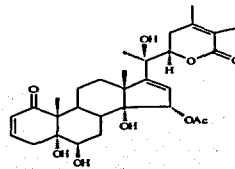
Physagulina D (19)



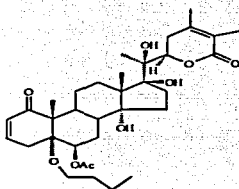
Physapruina A:Δ⁵ (20)
Withaphysanolida: 3 α -OH (21)



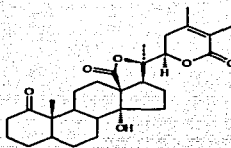
Withagulatina A (22)



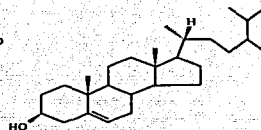
Withaminirina (23)



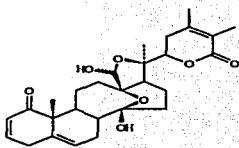
Physapruina B (24)



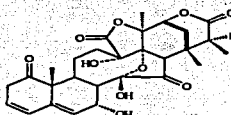
Withaphysalina A : Δ^{2,5} (25)
Withaphysalina D : Δ^{3,5} (26)
Withaphysalina E : Δ^{2,4}, 6 β -OH (27)



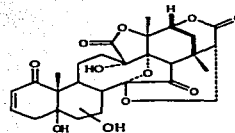
Physaindicanol A : Δ^{25,24}-OH (28)
Physaindicanol B : Δ²⁴, (28), 25-OH (29)



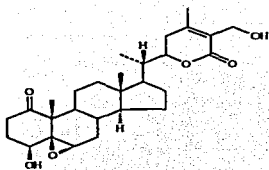
Withaphysalina C (30)



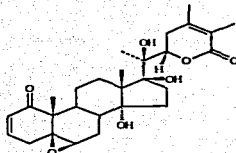
Physalina L (31)



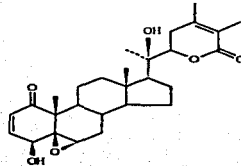
Dihydrophysalina B (32)



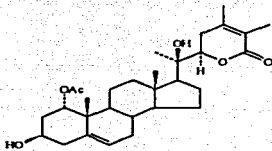
Viscosalactona A: 2 β , 3 β -epoxi (33)
Viscosalactona B: 3 β -OH (34)



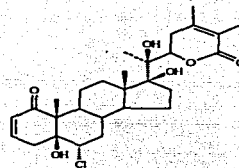
4 β -Hidroxiwithanólida E: 4 β -OH (35)
Withanólida E (36)
2 β -Hidroxiwithanólida E: 2 β -OH (37)



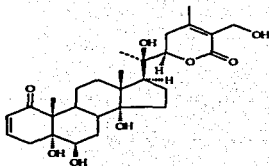
Withanólida D (38)



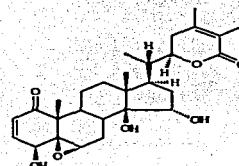
Physalactona B (39)



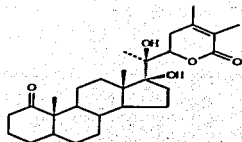
Physalactona: 4 β -OH, 14 α -OH (40)
Physalactona C: 4 β -OH, Δ 14 (41)
23-Hidroxi(physalactona): 4 β -OH, 14 α -OH, 23 α -OH (42)
4-Deoxiphysalactona: 14 α -OH (43)



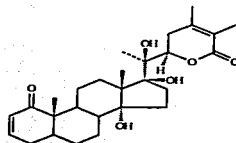
(20R,22R)-5 α ,6 β ,14 α ,20,27-pentahidroxi-1-oxowith-24-enólida (44)



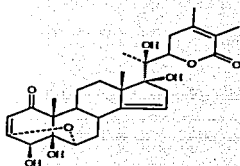
(20S,22R)-5 α ,6 β -epoxi-4 β ,14 β ,15 α -trihidroxi-1-oxowith-2,24-dienólida (45)



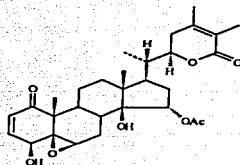
Withaperuvina B: 4 β -OH, 5 β -OH, 6 α -OH, Δ 2,14 (46)
 Withaperuvina G: 2 β , 3 β -epoxi, 5 β , 6 β -epoxi, 14 α -OH (47)
 2,3-dihidrowithanólida E: 5 β , 6 β -epoxi, 14 α -OH (48)



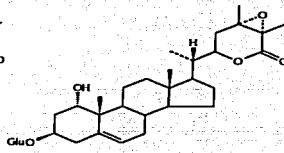
Withaperuvina: 4 β -OH, 5 β -OH, 6 α -OH (49)
 Withaperuvina C: 6 β -OH, Δ 4 (50)
 Withaperuvina E: 4-oxo, 5 β , 6 β -epoxi (51)



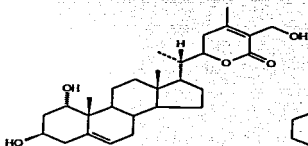
Withaperuvina F (52)



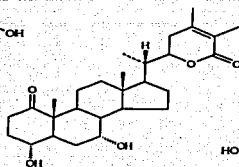
Physapubenólida (53)



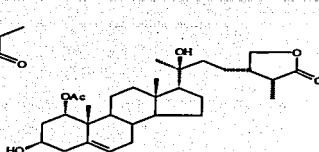
Pubescenina (54)



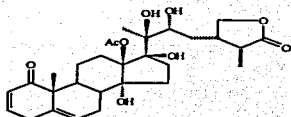
Pubesenólida (55)



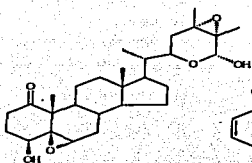
Pubescenol (56)



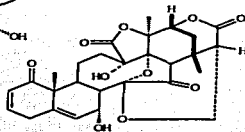
Pubescenol (57)



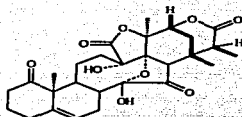
Perulactona B (58)



Physapubescina (26 R, 80%) (59)

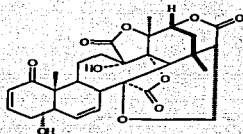


Physalina N (60)

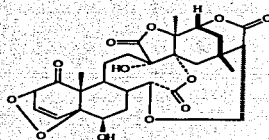


Physalina M : Δ^3 (61)

Physalina O : 7 α -OH, Δ^2 (62)

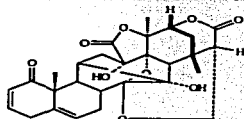


Physalina P (63)

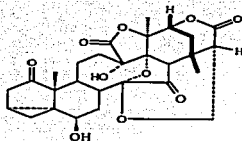


Physalina K: 2 α , 5 α -dioxi (64)

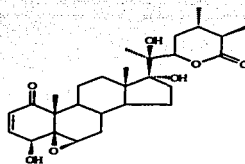
Physalina Q: 2 β , 5 β -dioxi (65)



Physalina R (66)

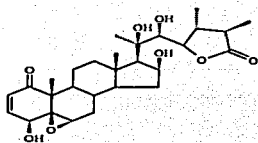


Physalina S (67)

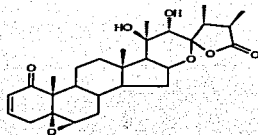


Philadelphicalactona A (68)

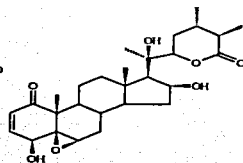
Philadelphicalactona B: 24 β -OH (69)



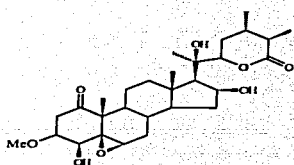
Ixocarpalactona A (70)



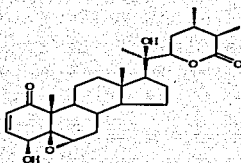
Ixocarpalactona B: 4β-OH (71)
14-acetilixocarpalactona B: 4β-OAc (72)



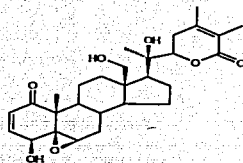
Withaphysacarpina (73)



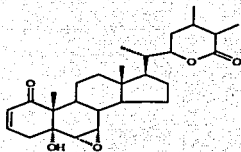
2,3-dihidro-3-metoxiwithaphysacarpina (74)



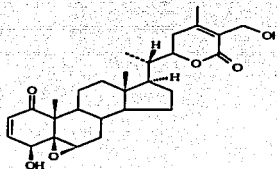
24,25-dihidrowithanolida D (75)



18-Hidroxiwithanolida D (76)



Withanona: Δ₂₄, 17α-OH (77)
Ixocarpanólida 20R-OH (78)



Withaferina (79)

De las estructuras que acompañan al cuadro I, se puede ver que las especies de *Physalis* sintetizan compuestos de 6 de los 8 tipos de withaesteroides, siendo las withanólidas las que se han aislado en un número mayor.

1.5.3 *Physalis chenopodifolia* Lam.

Esta especie pertenece a la sección Coztomatae del subgénero *Rydbergis*. Con frecuencia se le encuentra en los claros o márgenes de bosques de pino-encino, a orillas de cultivos o caminos en laderas de cerros con vegetación boscosa y en pastizales secundarios. Se desarrolla entre 2,000-3,100 m. Florece y fructifica de junio-septiembre.⁽¹³⁾

Waterfall (1967)⁽⁷¹⁾ separa *P. chenopodifolia* en 4 variedades, con base en el tamaño de las hojas y la pubescencia. Sin embargo dada la gran variabilidad que presenta este taxón a lo largo de su intervalo de distribución, se prefiere considerar a la especie en sentido amplio. Es una planta herbácea perenne, generalmente erecta, con un eje central, después ramificada, hasta 70 cm, pubescencia densa, corta, presente en toda la planta, grisácea, dándole un aspecto cenizo. Tallo anguloso, algo rígido. Hojas en el tallo alternas, en las ramas geminadas y flores solitarias con corola amarilla, maculas de color castaño rojizo. Cáliz con 10 costillas en el fruto. Fruto una baya de hasta 1.3 cm de diámetro.

Se distribuye en el centro y noreste de México⁽¹³⁾ en los estados de México: Ags., Chis., Coah., Dgo., Edo. Mex., D.F., Gro., Gto., Hgo., Jal., Mich., N.L., Pue., Qro., S.L.P., Tamps., Tlax., Zac.

2. OBJETIVOS

General:

Determinar la composición química del extracto metanólico de hojas ramas y flores de *Physalis chenopodifolia* Lam.

Particulares:

Aislar y purificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto.

Elucidar las estructuras de los compuestos aislados.

3. DISCUSIÓN Y RESULTADOS

Como resultado del estudio químico del extracto metanólico de hojas, ramas y flores de *Physalis chenopodifolia* Lam., se aislaron e identificaron 5 nuevos compuestos que se denominaron physachenólidas A, B, C, D, y E. Su elucidación estructural se describe a continuación.

La physachenólida A (**I**) es un sólido cristalino con $pf = 204-205^{\circ}\text{C}$. Se obtuvo con un rendimiento de 0.0043% respecto al peso del material vegetal seco. A este compuesto se le asignó la estructura de una withanólida (Fig. 5) con base en lo siguiente.

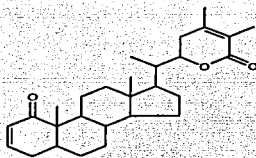


Figura 5. Estructura básica de withanólidas.

Su espectro de masas muestra que posee un peso molecular de 562 uma, que es congruente con la fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_{10}$. Su espectro de ^{13}C -RMN (espectro 1) muestra 30 señales. Dos de ellas (δ 20.9 q y 170.0 s) se atribuyen a los carbonos de un grupo acetilo presente en la molécula y los 28 restantes a 4 metilos, 8 metilenos, 6 metinos y 10 carbonos no protonados, dos de los cuales corresponden a carbonilos. El grado de protonación de los carbonos se estableció mediante la técnica de APT.

El espectro de IR de la physachenólida A (espectro 2) muestra absorciones en 3477, 1716 y 1669 cm^{-1} , atribuidas a la presencia de grupos oxhidrilo, δ -lactona α , β -no saturada y cetona α , β -no saturada, respectivamente.

En el espectro de ^1H -RMN (espectro 3) se observan 2 señales en δ 5.72 (*dd*, $J=10.2$, 2 Hz) y δ 6.56 (*ddd*, $J=10.2$, 5, 2.3 Hz) que se atribuyen por su desplazamiento a los protones α (H-2) y β (H-3) de una cetona α , β -no saturada. Se observan también dos señales que integran para un protón cada una en δ 2.02 (*dd*, $J=19.8$, 5 Hz) y δ en 3.21 (*dt*, $J=19.8$, 2.3 Hz) y que deben ser parte de un metileno, ya que ambas muestran una constante de acoplamiento geminal ($J=19.8$ Hz). Estas señales se asignan a H-4 y H-4'. La multiplicidad de estas señales así como las correlaciones observadas en el espectro COSY (espectro 4) de H-2 con H-3 y de ambas con H-4 y H-4' permiten proponer la existencia de la estructura parcial A (Fig. 6) en la physachenólida A.

En el espectro de ^{13}C -RMN (espectro 1) se observan cuatro señales que confirman lo anterior. La primera es un singulete en δ 204.2 que se atribuye al carbonilo de la cetona α , β -no saturada (C-1). Se observan dos dobletes en δ 127.6 y δ 141.4 y un triplete δ 35.1. Estas señales se asignan respectivamente a C-2, C-3 y C-4 (espectro 1), ya que en el espectro HETCOR (espectro 5) correlacionan con las señales de H-2, H-3 y H-4 y H-4', respectivamente.

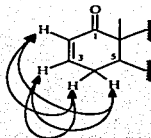


Figura 6. Estructura parcial de physachenólida A en la que se muestran algunas de las correlaciones observadas en el espectro COSY.

La physachenólida A posee, como ya se dijo, una δ -lactona α , β -no saturada (1716 cm^{-1}) (espectro 2). La presencia de esta funcionalidad se confirma en su espectro de ^1H -RMN (espectro 3) que muestra una señal doble de doble en δ 4.84 que es asignada al protón base de lactona (H-22). Esta señal correlaciona en el espectro COSY (espectro 4) con 2 señales que aparecen en δ 2.80 y δ 2.41 como dobletes anchos y que se asignan a

los protones H-23 y H-23'. Se observan además dos singuletes anchos δ 1.86 y δ 1.94 que integran para tres protones cada uno. Estos se atribuyen por su desplazamiento químico a los protones de los metilos vinílicos 27 y 28 respectivamente, en el espectro de ^{13}C -RMN (espectro 1) se observan 6 señales que confirman la presencia de la δ -lactona α , β -no saturada. La primera es un singulete en δ 166.0 que se atribuye al carbonilo de la δ -lactona α , β -no saturada (C-26), mientras que las señales de los carbonos vinílicos α (C-25) y β (C-24) aparecen en δ 120.6 y 149.8, respectivamente. Se observan las señales de dos metilos en δ 11.9 y δ 20.1. Estas señales se asignaron respectivamente a los carbonos 27 y 28, ya que en el espectro HETCOR (espectro 5) se observa que éstos correlacionan con las señales de los protones 27 y 28, respectivamente. La señal del carbono base de lactona (C-22) aparecen en 80.8 ppm y la del carbono del metileno alílico (C-23) en δ 33.4.

En el espectro de FLOCK (Fig. 7) se observan las correlaciones de las señales de los carbonos C-23 y C-25 con las de los protones de C-28 y las señales de los carbonos C-24 y C-26 con las de los protones de C-27 (espectro 6). Esto confirma la presencia de δ -lactona α , β -no saturada.

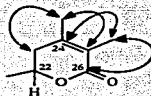


Figura 7. Estructura parcial de physachenólida A en la que se muestran algunas correlaciones C-H observadas en el espectro FLOCK.

En la figura 5 se puede ver que una característica de las withanólidas es la presencia de 5 grupos metilo. En el espectro de ^1H y ^{13}C RMN (espectros 1 y 3) de physachenólida A se observan señales para 5 grupos metilo. Como ya se mencionó dos de ellos (CH_3 -27 y CH_3 -28) se localizan en el anillo de la δ -lactona, un tercero es ajeno al núcleo esteroidal ya que corresponde al metilo de un acetato (δ_{H} 2.06 s, δ_{C} 20.9 e) y los

dos restantes son un metilo angular (δ_H 1.24 s, δ_C 14.9 c) y un metilo geminal a una función oxigenada (δ_H 1.34 s, δ_C 18.4 c). De lo anterior se deduce que el quinto metilo del núcleo esteroidal debe encontrarse oxidado.

El análisis del espectro FLOCK (espectro 6) revela que los protones del metilo angular (δ_H 1.24) correlacionan con C-1; con un carbono cuaternario cuya señal se observa en δ_C 51.4 y se asigna a C-10; con un metino cuya señal aparece en δ_C 33.1 y se atribuye a C-9 y con un carbono no protonado y base de función oxigenada (δ_C 76.5, C-5) que a su vez correlaciona con H-3 y con un protón responsable del singulete ancho en δ_H 3.56 (H-6). H-6 correlaciona con un metino en δ_C 33.6 (C-8). Lo anterior establece que el metilo angular es C-19 y que la funcionalización de los anillos A y B del esteroide es como se muestra en la figura 8.

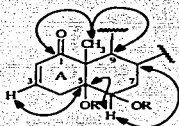


Figura 8. Estructura parcial de physachenólida A en la que se muestran algunas interacciones C-H observadas en el espectro FLOCK.

El espectro FLOCK (espectro 6) muestra también que el metilo cuya señal aparece en δ_H 1.34 es, efectivamente, geminal a una función oxigenada y corresponde a C-21. Esto se deduce de sus interacciones con C-22 y con 2 carbonos no protonados que por su desplazamiento (δ_C 77.9 y δ_C 87.5) deben ser base de función oxigenada. La señal en δ_C 77.9 se asigna a C-20 por su correlación con H-22, mientras que la de δ_C 87.5 se asigna a C-17 por la correlación que presenta con los protones de un metileno que aparecen como un sistema AB en δ_H 4.40 ($d, J= 11$ Hz) y 4.23 ($d, J= 11$ Hz) y que se atribuyen a los protones de C-18 (δ_C 64.9). Los desplazamientos químicos del CH_2 -18 son congruentes con la presencia del grupo acetilo en esta posición.

En el espectro de ^{13}C -RMN (espectro 1) se observa en δ_{C} 81.7 la señal de otro carbono terciario base de función oxigenada. Esta señal se asigna a C-14 por comparación de su desplazamiento químico con los de compuestos que como withanólida E (36)⁽²¹⁾ y physapruina A (20),⁽²⁹⁾ presentan patrones de sustitución similares en los anillos C y D, así como en la cadena lateral. Lo anterior se ilustra en la figura 9.

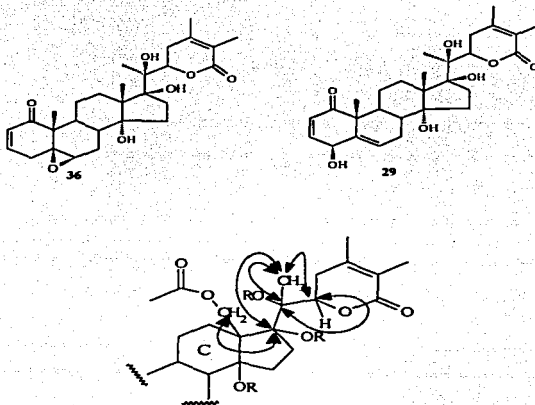


Figura 9. Estructura parcial de la physachenólida A en la que se muestran algunas interacciones C-H observadas en el espectro FLOCK

Tomando en consideración que el espectro de IR (espectro 2) muestra absorciones para grupos oxhidrilo, y que además de las señales del grupo acetato no existen señales ajenas al núcleo esteroidal en los espectros de ^1H y ^{13}C RMN (espectro 1 y 3) de physachenólida A, se propone que las funciones oxigenadas de las que se ha venido hablando, corresponden a grupos oxhidrilo que se localizan en C-5, C-6, C-14, C-17 y C-20. Con lo anterior la estructura de la physachenólida A se formula como en la figura 10.

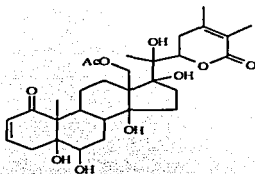


Figura 10. Estructura de physachenólida A (sin estereoquímica).

Esta estructura es congruente con el ión molecular de m/z 563 $[M+H]^+$ observado en el espectro de masas (FAB), así como con los fragmentos de m/z 545 $[M+H-H_2O]^+$; 527 $[M+H-2H_2O]^+$; 502 $[M-AcOH]^+$; 485 $[M+H-AcOH-H_2O]^+$; 467 $[485-H_2O]^+$; 449 $[467-H_2O]^+$; 431 $[449-H_2O]^+$ (espectro 7).

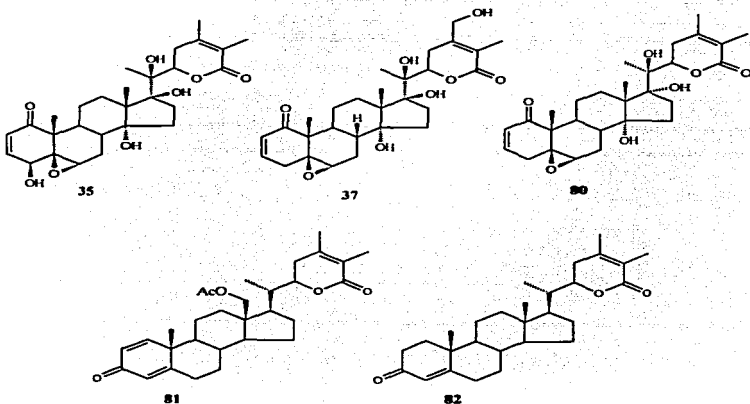
En cuanto a la estereoquímica de la physachenólida A, se ha establecido que cuando C-22 posee configuración *S*, H-22 aparece como un singulete ancho ($w/2 \approx 5$ Hz), en tanto que cuando es *R*, H-22 resuena como un doble de doble con constantes de acoplamiento axial-axial y axial-ecuatorial⁽⁷⁾. En la physachenólida A, H-22 es un doble de doble con constantes de acoplamiento 13.2 y 2.7 Hz, por lo que C-22 debe tener configuración *R*.

La estereoquímica propuesta para C-14, C-17 y C-20 se basó en la comparación de los desplazamientos químicos de los carbonos de los anillos C y D de physachenólida A con los correspondientes de compuestos modelo epiméricos en C-17 como 28-hidroxiwitanólida E (37),⁽⁴³⁾ 4β-hidroxiwitanólida E (35)⁽⁷³⁾ e isowitanólida E (80).^(73,74) Estos desplazamientos se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Datos seleccionados de ^{13}C -RMN de las whitanólidas 35, 37, 80- 82 y physachenólida A (I).

C	35 ^a	37 ^a	80 ^a	I ^b	81 ^a	82 ^a
11	22.9	22.9	21.9	22.2	22.7	21.0
12	34.3	30.0	26.5	25.7	34.6	39.6
13	54.5	54.6	50.7	56.9	45.9	42.8
14	82.3	82.2	85.3	81.7	54.7	55.6
15	30.1	32.5	33.3	32.1	24.2	24.2
16	37.7	37.7	32.7	36.2	27.0	27.3
17	87.7	87.8	90.9	87.5	52.5	52.1
20	80.0	79.2	76.2	77.9	---	---
21	19.5	20.0	24.6	18.4	---	---

^aDeterminado en CDCl_3 . ^bDeterminado en CDCl_3 - $\text{DMSO}-d_6$.



Como se puede ver, los datos de physachenólida A muestran una mayor congruencia con los de los compuestos que poseen la cadena en C-17 con orientación α . Sin embargo, se observan discrepancias en los desplazamientos químicos de C-12 y C-13, pero estos pueden atribuirse a la presencia del acetato en C-18 que protege fuertemente a C-12 y desprotege a C-13. Efectos similares se han observado en las mineabólidas 2 (81)⁽⁸⁾ y 3 (82)⁽⁸⁾ (tabla 1), en las que se puede observar que el efecto del C-18-OAc es de protección para C-12 (5 ppm) y de desprotección para C-13 (3.1 ppm).

La orientación α del alcohol en C-5 y β del alcohol en C-6 se propuso considerando que los desplazamientos de los carbonos de los anillos A y B son muy similares a los de los compuestos que presentan esas orientaciones (p.ej. withaminimina 23⁽²⁷⁾) y no a las que poseen la opuesta (p.ej. 4-desoxiphysalolactona 43⁽⁴⁶⁾). Estos desplazamientos se muestran en la tabla 2.

En apoyo a lo anterior, el hecho de que H-6 resuene como singulete ancho es congruente con su disposición α -ecuatorial.

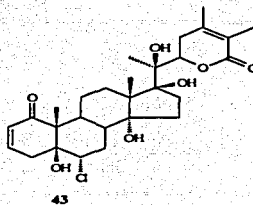
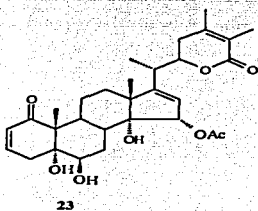


Tabla 2. Desplazamientos de ^{13}C -RMN de physachenólida A (I).

C	23 ^a	43 ^a	I ^b
1	204.1	No observado	204.2
2	128.7	127.2	127.6
3	141.3	144.4	141.4
4	36.0	34.6	35.1
5	77.2	77.8	76.5
6	74.3	66.9	73.4
7	26.5	31.9	28.6
8	35.4	39.3	33.6
9	35.4	37.8	33.1
10	52.2	55.8	51.4
19	15.1	8.7	14.9

^aDeterminado en CDCl_3 , ^bDeterminado en CDCl_3 -DMSO- d_6 .

Con base en lo anterior se propuso que la estereoquímica de physachenólida A es la que se muestra en la figura 11. Sin embargo se consideró conveniente comprobar que es correcta (sobre todo la asignada a C-20) mediante un análisis de difracción de rayos-X. El cristal que se usó para el estudio se cristalizó de CDCl_3 -DMSO- d_6 con la fortuna de que una molécula de DMSO- d_6 quedó ocluida en la red cristalina. Esto permitió establecer la estereoquímica absoluta de physachenólida A (Fig.12) que coincidió con la propuesta.

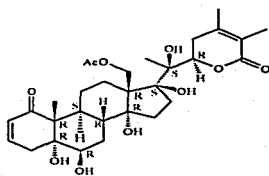


Figura. 11. Estereoquímica de la physachenólida A (I)

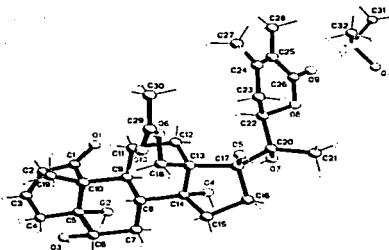


Figura.12. Vista estereoscópica de la physachenólida A (I)

Las estructuras de las physachenólidas B, C, D y E se establecieron de manera similar a la descrita para la physachenólida A, ya que solo presentan pequeñas diferencias respecto a ella.

La physachenólida B (II) presenta en su espectro de IR (espectro 8) una banda en 3419 cm^{-1} atribuida a la presencia de grupos oxhidrilo y en 1688 cm^{-1} una banda ancha que se asigna a una cetona α, β -no saturada. Esta banda presenta hombros en aproximadamente 1745 y 1710 cm^{-1} que se atribuyeron a un ester y a una δ -lactona α, β -no saturada respectivamente.

El análisis de sus espectros de ^1H y ^{13}C RMN, DEPT, COSY, HSQC y HMBC permitieron concluir que este compuesto posee una estructura muy semejante a la de physachenólida A (I) (tablas 5 y 6), de la que sólo difiere por ser el C-14-dehidro derivado, según se deduce de lo siguiente: En el espectro de ^{13}C -RMN (espectro 9) se observan seis señales para carbonos vinílicos, cuatro de ellas se atribuyeron a la presencia de los dobles enlaces conjugados de la cetona α, β -no saturada y de la δ -lactona α, β -no

saturada, los dos restantes (δ 147.9 *s* y δ 118.6 *d*) a las señales de un doble enlace trisustituido. En el espectro de $^1\text{H-RMN}$ (espectro 10) se observa la señal de un protón vinílico en 5.36 ppm como un singulete ancho. Este protón muestra interacciones a 2 y 3 ligaduras, en el espectro HMBC (espectro 11), con las señales de los carbonos C-8, C-13, C-16 y C-17. Lo anterior sitúa al doble enlace en los carbonos 14 y 15. Las interacciones (Fig. 13) de C-13 con H-18 y H-18'; C-14 con H-16, H-16' y H-18; C-15 con H-16 y H-16' confirman lo anterior.

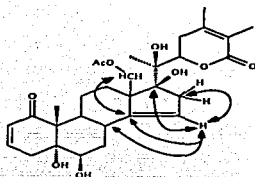


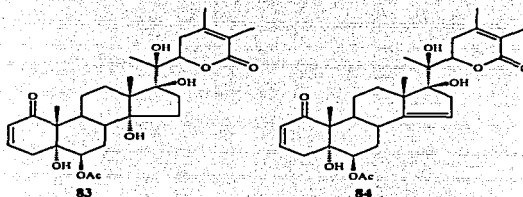
Fig. 13. Algunas interacciones observadas en el espectro HMBC de la physachenolida B

Además, la ausencia del C-14- α -OH en physachenólida B, se refleja en los desplazamientos de C-7, C-9 y C-12 que al no experimentar el efecto protector de dicho grupo, se desplazan a campo bajo. Efectos similares se observan en los compuestos acetil withanólida S (**83**)⁽⁷³⁾ y 14-deshidroacetilwithanólida E (**84**)⁽⁷³⁾. Estos desplazamientos se muestran en la tabla 3.

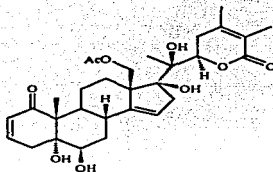
Tabla 3. Datos seleccionados de ^{13}C -RMN de las whitanólicas **83** y **84** y physachenólida A (**I**) y physachenólida B (**II**).

C	83 ^a	84 ^b	I ^b	II ^a
7	25.9	28.1	28.6	31.8
8	33.5	30.2	33.6	30.7
9	34.6	43.4	33.1	42.3
12	34.6	36.0	25.7	30.3
13	59.4	55.3	56.9	58.1
14	83.5	152.4	81.7	147.9
15	30.9	114.3	32.1	118.6
16	37.3	41.8	36.2	42.5
17	88.2	87.2	87.5	88.0

^aDeterminado en CDCl_3 ; ^bDeterminado en CDCl_3 -DMSO- d_6 .



De esta manera se establece la estructura de physachenólida B como se muestra en **II**.



Estructura de la physachenólida B (**II**)

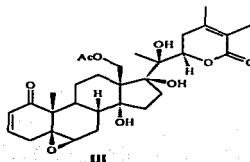
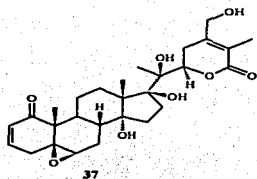
El tercer compuesto aislado, physachenólida C (III) se obtuvo en muy pequeña cantidad y durante el proceso de obtención de sus espectros de RMN se descompuso. Por lo anterior, la asignación estructural se basó principalmente en la comparación de sus datos espectroscópicos de ^1H y ^{13}C (espectros 12 y 13) con los de la physachenólida A (I) (Tabla 5 y 6). De esta comparación resulta evidente que la diferencia entre estos compuestos radica en la funcionalización de C-5 y C-6, ya que en el caso de physachenólida C, estos carbonos resuenan en δ 62.0 y 63.8, respectivamente, mientras que H-6 aparece como un singulete ancho en δ 3.17. De estos datos se deduce que la funcionalidad en C-5-C-6 en el compuesto III es un epóxido con orientación β .

Para apoyar esta hipótesis, se compararon los datos de RMN de physachenólida C con los de un compuesto muy similar, 28-hidroxiwithanólida E (37)⁽⁴³⁾ (tabla 4) y éstos resultaron prácticamente idénticos para esta porción de la molécula, con lo que se logra un cierto grado de certidumbre de que la estructura II es correcta, aunque evidentemente se requieren datos adicionales que lo confirmen.

Tabla 4. Datos seleccionados de ^1H y ^{13}C RMN de 37 y physachenólida C (III).

	III ^a δ_{H}	37 ^a δ_{H}	III ^a δ_{C}	37 ^a δ_{C}
1	—	—	202.9 s	203.0 s
2	6.02 dd	6.02 dd	129.7 s	129.8 s
3	6.82 ddd	6.82 ddd	143.0 s	143.7 s
4	2.95dt	2.95 dt	32.9 t	32.9 t
5	—	—	62.0 s	61.8 s
6	3.17 brs	3.19 d	63.8d	64.1 d
8	2.5 m	1.96 m	34.2 d	34.2 d
9	1.98 m	1.85 m	36.9 d	36.9 d
10	—	—	48.5 s	48.6 s

^aDeterminado en CDCl_3 .



La physachenólida D (IV) presenta en su espectro de masas (FAB; espectro 14) un ión molecular de m/z 579 $[M+H]^+$, congruente con la fórmula molecular $C_{30}H_{42}O_{11}$. En su espectro de IR (espectro 15) mostró absorciones en 3414, 1712 y 1668 cm^{-1} atribuidas a la presencia de grupos oxhidrilo, δ -lactona α , β -no saturada y cetona α , β -no saturada, respectivamente.

Este compuesto presentó un mayor grado de oxidación que los anteriores. Sus espectros de 1H y ^{13}C RMN (espectros 16 y 17) resultaron muy parecidos a los de physachenólida A (I), pero con la diferencia de que los de physachenólida D presentan señales para dos sistemas AB. El primer conjunto de señales (δ_H 4.41 *d* y 4.39 *d*, $J = 11.5$ Hz, δ_C 66.4 *t*) se atribuye, como en el caso de la physachenólida A, al metileno base de acetato, C-18. Lo anterior debido a que en el espectro HMQC (espectro 18) se observan correlaciones del carbonilo del acetato con H-18, H-18', de C-18 con H-12 y de H-18, H-18' con C-12 y C-17 (Fig. 14). El segundo conjunto de señales (δ_H 4.36 *d* y 4.22 *d*, $J = 14$ Hz; δ_C 61.8 *t*) se asigna por su desplazamiento a un metileno base de alcohol. Los protones de este último conjunto interactúan con los carbonos C-23, C-24 y C-25 estableciendo así que dicho metileno corresponde a C-28.

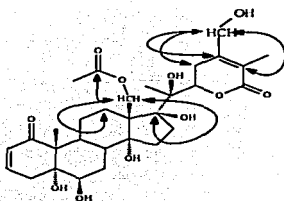
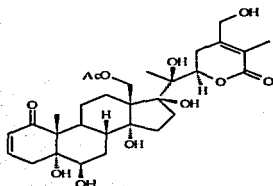


Fig. 14. Estructura de la physachenólida D en la que se muestran algunas de las interacciones observadas en el espectro HMQC.

El resto de las señales de RMN tanto de ^1H como de ^{13}C de physachenólida D, son muy semejantes a las de physachenólida A, lo mismo que las interacciones observadas en los espectros COSY, HMQC y NOESY. Por lo anterior se propone que la physachenólida D es el 28-hidroxi derivado de physachenólida A como se muestra en IV.



Physachenólida D (IV)

La physachenólida E (V) presenta en su espectro de masas (FABMS) (espectro 19) un ión molecular de m/z 529 $[\text{M}+\text{H}]^+$, que es 16 uma menor que el del physachenólida B (II) y es congruente con al fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{O}_8$. Su espectro de IR (espectro 20) mostró absorciones en 3575, 3395, 1709 y 1666 cm^{-1} atribuidos a la presencia de grupos oxhidrilo, δ -lactona α , β -no saturada y cetona α , β -no saturada, respectivamente.

El análisis de sus espectros de RMN (^1H , ^{13}C , DEPT, COSY, HETCOR y FLOCK) (espectros 21 a 26) condujo a establecer que su estructura es, como en el caso de las physachenólidas B, C y D, muy semejante a la de physachenólida A (Tabla 5 y 6). En el caso de physachenólida E, la diferencia reside en la existencia de un doble enlace entre los carbonos C-5 y C-6 que resuenan en δ 135.2 y 125.0, respectivamente. El protón vinílico H-6 aparece como un doblete ancho en δ 5.58 ($J= 5.7 \text{ Hz}$). La posición del doble enlace se estableció por las correlaciones de H-6 con H-4 y H-7 en el espectro COSY (espectro 24), así como por las observadas en el espectro FLOCK (Fig. 16) (espectro 26) entre los protones del metilo 19 con C-1, C-5 y C-10.

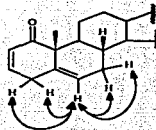


Fig. 15. Estructura parcial de la physachenólida E. Correlaciones observadas en el espectro COSY.

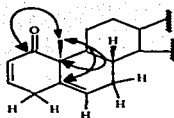
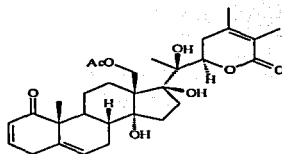


Fig. 16. Estructura parcial de la physachenólida E. Correlaciones observadas en el espectro FLOCK.



Physachenólida E (V)

Tabla 5. Datos Espectroscópicos de ^{13}C RMN de de los compuestos I-V

C	I ^a (δ , m)	II ^b (δ , m)	III ^c (δ , m)	IV ^d (δ , m)	V ^b (δ , m)
1	204.2 s	200.5 s	202.9 s	207.5 s	204.0 s
2	127.6 d	128.6 d	129.7 s	129.1 d	128.0 d
3	141.4 d	141.2 d	143.8 s	143.9 d	145.3 d
4	35.1 t	37.6 t	32.9 s	36.7 t	33.4 t
5	76.5 s	76.6 s	62.0 t	78.1 s	135.2 s
6	73.4 d	74.6 d	63.8 s	75.5 d	125.0 d
7	28.6 t	31.8 t	26.4 d	30.1 t	25.7 t
8	33.6 d	30.7 d	34.2 d	35.6 d	35.8 d
9	33.1 d	42.3 d	36.9 d	35.1 d	37.7 d
10	51.4 s	52.8 s	48.5 d	53.3 s	50.7 s
11	22.2 t	24.4 t	22.8 t	23.9 t	23.0 t
12	25.7 t	30.3 t	25.7 t	27.2 t	26.0 t
13	56.9 s	58.1 s	57.5 s	59.9 s	57.6 s
14	81.7 s	147.9 s	81.4 s	84.0 s	81.4 s
15	32.1 t	118.6 d	32.8 t	33.6 t	33.0 t
16	36.2 t	42.5 t	38.1 t	37.6 t	38.0 t
17	87.5 s	88.0 s	88.0 s	89.1 s	88.3 s
18	64.9 t	64.2 t	65.1 t	66.4 t	65.3 t
19	14.9 q	16.1 q	14.6 q	16.0 q	18.7 q
20	77.9 s	77.2 s	78.8 s	79.9 s	78.8 s
21	18.4 q	20.5 q	19.1 q	19.0 q	19.3 q
22	80.8 d	80.9 d	79.5 d	83.9 d	79.7 d
23	33.4 t	32.4 t	33.9 t	30.3 t	33.8 t
24	149.8 s	150.5 s	149.7 s	154.9 s	149.6 s
25	120.6 s	121.4 s	121.9 s	122.4 s	121.9 s
26	166.0 s	165.2 s	165.6 s	169.2 s	165.7 s
27	11.9 q	12.3 q	12.4 q	11.9 q	12.4 q
28	20.1 q	20.5 q	20.6 q	61.8 t	20.6 q
CH ₃ CO	20.9 q	21.2 q	21.4 q	21.1 q	21.3 q
COCH ₃	170.0 s	170.9 s	170.0 s	73.5 q	170.2 s

^a75 MHz, CDCl₃+DMSO-d₆

^b75 MHz, CDCl₃

^c300 MHz, CDCl₃

^d125 MHz, CD₃OD

Tabla 6. Datos espectroscópicos de ¹H RMN de los compuestos I-V

H	I ^a (δ, m, J)	II ^b (δ, m, J)	III ^c (δ, m, J)	IV ^d (δ, m, J)	V ^e (δ, m, J)
2	5.72 <i>dd</i> 10, 2, 2	5.93 <i>dda</i> 10, 2, 5	6.02 <i>dd</i> 10, 2, 3	5.74 <i>dda</i> 10, 2	5.85 <i>ddd</i> 10, 3, 1, 2
3	6.56 <i>ddd</i> 10, 2, 5, 2, 3	6.66 <i>ddd</i> 10, 5, 2, 5	6.82 <i>ddd</i> 10, 2, 6, 5, 2, 5	6.63 <i>ddd</i> 10, 5, 2	6.76 <i>ddd</i> 10, 5, 2, 4
4	3.21 <i>dt</i> 19.8, 2, 3	3.53 <i>dt</i> 20, 2, 5	2.95 <i>dt</i> 18, 3	3.24 <i>dt</i> ^a 20, 5	3.26 <i>da</i> 21
4'	2.02 <i>dd</i> [*] 19.8, 5	2.52 <i>dd</i> 20, 5	---	2.03 <i>dd</i> 20, 5	2.82 <i>dd</i> 21, 5
6	3.56 <i>sa</i>	4.12 <i>dd</i> 3, 2	3.17 <i>s</i>	3.57 <i>t</i> 2, 5	5.58 <i>da</i> 5, 7
7	2.12 <i>m</i> [*]	2.4-2.5 <i>m</i> [*]	---	2.14 <i>dt</i> 13, 2, 5	2.4 <i>m</i> [*]
7'	1.39 <i>m</i> [*]	1.77 <i>dt</i> 13.5, 3	---	1.46 <i>ta</i> 13, 2, 5	1.9 <i>m</i> [*]
8	2.12 <i>m</i>	2.4-2.5 <i>m</i> [*]	2.5 <i>m</i> [*]	2.18 <i>m</i> [*]	2.4 <i>m</i> [*]
9	2.50 <i>m</i> [*]	1.98 <i>m</i> [*]	1.9 <i>m</i> [*]	2.58 <i>m</i> [*]	1.76 <i>m</i> [*]
11	2.28 <i>m</i> [*]	2.42 <i>m</i> [*]	---	2.30 <i>m</i> [*]	2.37 <i>da</i> 15, 6
11'	1.16 <i>dda</i> 14.6, 3, 6	1.36 <i>m</i> [*]	---	1.23 <i>dd</i> 13, 5, 3	1.38 <i>m</i> [*]
12	2.22 <i>m</i> [*]	2.21 <i>td</i> 14, 4, 5	---	2.24 <i>m</i> [*]	2.25 <i>m</i> [*]
12'	1.76 <i>m</i> [*]	1.91 <i>dt</i> [*] 14, 3, 5	---	1.93 <i>m</i> [*]	1.87 <i>m</i> [*]
15	1.4-1.7 <i>m</i> [*]	5.36 <i>sa</i>	---	1.6-1.7 <i>m</i> [*]	1.5-1.7 <i>m</i> [*]
15'	1.4-1.7 <i>m</i> [*]	---	---	1.6-1.7 <i>m</i> [*]	1.5-1.7 <i>m</i> [*]
16	2.50 <i>m</i> [*]	2.85 <i>dda</i> 15, 2, 5	---	2.60 <i>m</i> [*]	2.60 <i>m</i> [*]
16'	1.4-1.7 <i>m</i> [*]	2.4-2.5 <i>m</i> [*]	---	1.6-1.7 <i>m</i> [*]	1.5 <i>m</i> [*]
18	4.40 <i>d</i> 11	4.59 <i>d</i> 12	4.37 <i>s</i>	4.41 <i>d</i> 11, 5	4.47 <i>d</i> 11, 4
18'	4.23 <i>d</i> 11	4.37 <i>d</i> 12	4.37 <i>s</i>	4.39 <i>d</i> 11, 5	4.40 <i>d</i> 11, 4
19	1.24 <i>s</i>	1.39 <i>s</i>	1.23 <i>s</i>	1.27 <i>s</i>	1.22 <i>d</i>
21	1.34 <i>s</i>	1.31 <i>s</i>	1.41 <i>s</i>	1.38 <i>s</i>	1.42 <i>s</i>
22	4.84 <i>dd</i> 13.2, 2, 7	4.71 <i>dd</i> 13, 3, 5	4.90 <i>dd</i> 9, 3, 7, 2	4.89 <i>dd</i> 14, 3, 5	4.93 <i>dd</i> 8, 7, 7, 8
23	2.80 <i>da</i> 16, 5	2.66 <i>ta</i> 17, 5	---	3.23 <i>d</i> [*] 16, 3, 5	2.54 <i>d</i> 7, 8
23'	2.41 <i>m</i> [*]	2.37 <i>dda</i> 17, 5, 5	---	2.39 <i>dda</i> 16, 14	2.54 <i>d</i> 7, 8
27	1.86 <i>s</i>	1.88 <i>s</i>	1.90 <i>sa</i>	1.88 <i>d</i> 1, 5	1.90 <i>sa</i>
28	1.95 <i>s</i>	1.96 <i>s</i>	1.94 <i>sa</i>	4.36 <i>d</i> 14	1.94 <i>sa</i>
28'	---	---	---	4.22 <i>d</i> 14	---
OAc	2.06 <i>s</i>	2.01 <i>s</i>	2.09 <i>s</i>	---	2.10 <i>s</i>

^a300 MHz, Piridina-d₅

^b500 MHz, CDCl₃

^c300 MHz, CDCl₃

^d500 MHz, CD₃OD

^e Señales sobrepuestas

4. CONCLUSIONES.

El extracto metanólico de hojas, ramas y flores de *Physalis chenopodifolia* Lam. contiene 5 nuevos withaesteroides, todos ellos pertenecen al grupo de las whitanólidas.

El análisis químico de *Physalis chenopodifolia* Lam. revelo que posee compuestos del mismo tipo (whitanólidas) que los que se encuentran en siete de las nueve especies de *Physalis* analizadas hasta ahora. Las dos restantes contienen withaesteroides del tipo de las physalinas.

El aislamiento y determinación estructural de los withaesteroides de *Physalis chenopodifolia* (physachenólidas A-E) es una aportación al conocimiento de los recursos del país.

Physalis chenopodifolia Lam. Es la primera especie en México y la décima en el mundo que ha sido analizada químicamente. Lo anterior a pesar de que el genero contiene cerca de 90 especies, 78% de las cuales crecen en nuestro país.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Material y Equipo

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos. En las cromatografías en columna se utilizó como fase estacionaria sílica gel (Merck G). Para las cromatografías en capa fina se utilizaron cromatofolios Alumgram Sil G/UV₂₅₄ de 0.25 mm. Se utilizó como revelador sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N y/o lámpara de UV Spectroline modelo CX-20 a 254 y 366 nm. La cromatografía radial se realizó en un cromatotrón modelo 7924T. Los espectros de IR, determinaron por las técnicas de suspensión (nujol) en un espectrofotómetro FT-IR Nicolet Magna 750. Los espectros de masas se determinaron utilizando la técnica de FAB a 70 eV en un espectrómetro Jeol JMS-AX505HA. Los espectros de ¹H y ¹³C RMN se determinaron en los espectrómetros Varian XR-300 (300 MHz ¹H) (75 MHz ¹³C) y Varian Unity Plus 500 (500 MHz ¹H) (125 MHz ¹³C), los desplazamientos químicos (δ) están dados en ppm referidos al tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

5.2 Material vegetal

La planta fue recolectada el 9 de Agosto de 2000, 2 Km después de San Pedro Actopan, en la carretera Xochimilco-Oaxtepec, Milpa alta D.F.. Se depositó un espécimen de la planta en el Herbario Nacional (MEXU-1,011,082)

5.3 Extracción

Se separaron los frutos (tomates), cálices (cáscaras) y las partes aéreas (tallos, hojas y flores). Las cálices y las partes aéreas se dejaron secar a temperatura ambiente y los frutos se trabajaron en fresco.

Frutos

Los frutos enteros y frescos (2.23 Kg) se lavaron con acetato de etilo dos veces. Los lavados se concentraron en un rota vapor a presión reducida. Se obtuvieron 11.06 g de extracto.

Los frutos se molieron en una licuadora industrial con metanol, se colocaron en un buchner que contenía una capa de celita para facilitar la filtración y se continuo extrayéndolos con metanol. Al filtrado que contenía aproximadamente litro y medio de agua de los frutos, se le evaporó el metanol y el residuo se extrajo tres veces con acetato de etilo. Los extractos de acetato de etilo se reunieron y se concentraron. Se obtuvieron 4.11 g de este extracto. La fase acuosa se evaporó pasándole una corriente de aire. Se obtuvieron 32 g de extracto acuoso. Se realizó una segunda extracción de los frutos, esta vez con acetato de etilo-hexano (1:1). Se obtuvieron 15.06 g de extracto.

Cálices

Los cálices secos (184.6 gramos) se colocaron en una columna de vidrio y se extrajeron con metanol. Los extractos se concentraron a presión reducida en un rotavapor. Se obtuvieron 57.54 g de extracto.

Partes aéreas

Se partió de 1.7 Kg de partes aéreas (tallos, hojas y flores) secas y molidas, las cuales se extrajeron con acetona. El extracto se concentró presión reducida en un rotavapor. Se obtuvieron 48.8 g de extracto.

Se hizo una segunda extracción, esta vez con metanol. Después de evaporar el disolvente se obtuvieron 172.2 g de éste extracto.

Posteriormente a todos los extractos se les hizo una prueba para determinar si contenían alcaloides (prueba de Dragendorff), solamente el extracto acuoso de frutos resultó positivo en este ensayo.

Extracto metanólico de cálices

El extracto metanólico de cálices fue adsorbido en celita para luego fraccionarlo por cromatografía en columna empacada con sílica gel Merk G. La elución se inició con hexano al 100% y se fue aumentando la polaridad gradualmente con acetato de etilo hasta llegar a 100% de éste. Se recolectaron fracciones de 500 ml que se concentraron y analizaron por ccf. Se reunieron las fracciones de composición semejante.

Extracto acetónico de partes aéreas

El extracto acetónico de las partes aéreas (tallos, hojas y flores) se disolvió en acetona y fue adsorbido en celita para luego de evaporar el disolvente a temperatura ambiente y colocarlo en la parte superior de una columna empacada con sílica gel Merk G. La elución de la columna se inició con hexano 100% y se fue aumentando la polaridad gradualmente con acetato de etilo hasta llegar al 80% de éste. Finalmente, la columna se eluyó con hexano-acetato de etilo (20-80) 80%-metanol 20%. Se recolectaron fracciones de 500 ml, las que una vez concentradas se analizaron por ccf (cromatografía en capa fina) y se reunieron las fracciones de composición semejante.

Extracto metanólico de partes aéreas

El extracto metanólico de las partes aéreas (tallos, ramas y flores) fue adsorbido en celita para luego fraccionarlo por cromatografía en columna empacada con sílica-gel. (Merck G).

Como eluyente se usaron mezclas de hexano-AcOEt de polaridad creciente. La elución se inició con hexano 100% y se aumentó la polaridad gradualmente con acetato de etilo hasta llegar a 100% de éste. Posteriormente se eluyó la columna con actona y finalmente con metanol. Se recolectaron fracciones de 500 ml, las que una vez concentradas se analizaron por ccf y se reunieron aquellas de composición semejante.

5.4 Aislamiento y purificación

De las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (9:1), se aisló por cristalización (etanol) la mezcla de β -sitosterol y stigmasterol, se obtuvieron 79 mg (pf 139-140°C). La mezcla fue identificada por comparación de sus espectros de IR y ¹H-RMN con los de una muestra auténtica y con lo descrito en la literatura.^(75,76)

Las fracciones eluidas con hexano-AcOEt 2:3 contenían la physachenólida E (V), que se purificó mediante CC (silica gel Merck G, hexano-acetona-agua 18:12:1) seguida de cromatografía radial (hexano-acetona 3:2) y finalmente placa preparativa (silica gel hexano-acetona 3:2, 8x). Se obtuvieron 25 mg de physachenólida E (0.0014% rendimiento con respecto al peso de la planta seca).

Las fracciones eluidas con hexano-AcOEt 2:3 y 1:4 de la columna inicial contenían las physachenólidas C y B (III y II). Como parte de una mezcla muy compleja. La mezcla de II y III se purificó mediante decoloración con C-activado seguida de CC (silica gel Merck G, hexano-acetona 2:3), seguida de cromatografía flash (silica gel 230-400 mesh, cloroformo-acetona, 7:3) y CC (silica gel Merck, cloroformo acetona, 6:4). Finalmente los compuestos se separaron por cromatografía radial de la que physachenólida B (II) fue eluida con cloroformo-acetona 3:2 y physachenólida C (III) con metanol. Ambos compuestos se obtuvieron impuros. El compuesto II se purificó mediante cromatografía en placa preparativa (silica gel, cloroformo-acetona 7:3, 4x). Se obtuvieron 7 mg del compuesto II (0.000411% de rendimiento con respecto al peso de la planta seca). El compuesto III se purificó por cristalización (AcOEt-hexano). Se obtuvieron 5 mg de la physachenólida C (III) (0.000294% de rendimiento con respecto al peso de la planta seca).

Las fracciones de la columna inicial eluidas con AcOEt, acetona y metanol, se reunieron y se sometieron a partición (AcOEt/H₂O). La fase orgánica se fraccionó por CC de silica gel eluida con AcOEt-MeOH de polaridad creciente (columna A). Las

fracciones eluidas con AcOEt contenían physachenólida A (**I**) que se purificó mediante sucesivas cristalizaciones (MeOH).

Las aguas madres de physachenólida A y las fracciones subsecuentes, eluidas de la columna A con AcOEt, mostraron una composición similar, por cef por lo que se reunieron. El compuesto mayoritario (physachenólida D (**IV**)) presente en estas fracciones se aisló después de someterlo al siguiente proceso: cromatografía flash (AcOEt-MeOH, 98:2), CC (CH₂Cl₂-Acetona, 2:3), CC(AcOEt-MeOH). Las fracciones de esta última CC se decoloraron con C-activado y finalmente por sucesivas cristalizaciones (AcOEt-hexano). Se obtuvieron 3.7 mg (0.000217% de rendimiento con respecto al peso de la planta seca).*

5.5 Datos Físicos y espectroscópicos

Physachenólida A

Pf: 204-205 °C; $[\alpha]_D^{25} = +17.5$ (c 1.7, MeOH); **IR** λ_{\max} cm⁻¹ (nujol): 3477, 1716, 1669; **RMN** ¹H: Ver tabla 5. **RMN** ¹³C: Ver tabla 6. **EM FAB**⁺: 563[M+1]⁺(3); 545[M+1-H₂O]⁺(6); 527[M+1-2H₂O]⁺(1); 502[M-AcOH]⁺(1); 485[M+1-H₂O-AcOH]⁺(1); 467[M+1-2H₂O-AcOH]⁺(2); 449[M+1-3H₂O-AcOH]⁺(2); 431[M+1-4H₂O-AcOH]⁺(1); 169[C₉H₁₃O₃]⁺(7); 152[C₉H₁₂O₂]⁺(5); 125 [C₇H₉O₂]⁺(9).

Physachenólida B

Pf: 185-187 °C; $[\alpha]_D^{25} = +7.77$ (c 0.9, CHCl₃); **IR** λ_{\max} cm⁻¹ (nujol): 3419, 1688 (banda ancha); **RMN** ¹H: Ver tabla 5. **RMN** ¹³C: Ver tabla 6. **EM IQ**: 544[M]⁺ no observado, 527[M+1-H₂O]⁺(4); 509 [M+1-2H₂O]⁺(5); 491[M+H-3H₂O]⁺(13); 473[M+H-4H₂O]⁺(3); 467 [M+H-AcOH-H₂O]⁺(10); 449[M+H-AcOH-2H₂O]⁺(9); 431[M+H-AcOH-3H₂O]⁺(9); 169 [C₉H₁₃O₃]⁺(100); 153 [C₉H₁₃O₂]⁺(23); 125 [C₇H₉O₂]⁺(72).

* Del análisis del extracto de acetona de hojas, ramas y flores se aislaron 483.3 mg de physachenólida A (**I**) y 121.9 de physachenólida D (**IV**).

Physachenólida C

Pf: 156-157 °C; **RMN ¹H:** Ver tabla 5. **RMN ¹³C:** Ver tabla 6.

Physachenólida D

Pf: 209-210 °C; $[\alpha]_D = +62.09$ (c 1.53, MeOH); **IR λ_{max} cm^{-1}** (nujol): 3414, 1712, 1668; **RMN ¹H:** Ver tabla 5. **RMN ¹³C:** Ver tabla 6. **EM FAB⁺:** 579[M+H]⁺(1); 561[M+H₂O]⁺(4); 525[M+H-3H₂O]⁺(2); 497[M+H-3H₂O-CO]⁺(1).

Physachenólida E

Pf: 150-151 °C; $[\alpha]_D = +17.5$ (c 2.05, CHCl₃); **IR λ_{max} cm^{-1}** (nujol): 3395, 3575, 1709, 1666; **RMN ¹H:** Ver tabla 5. **RMN ¹³C:** Ver tabla 6. **EM FAB⁺:** 528[M]⁺ no observado, 511[M+1-H₂O]⁺(10); 493 [M+1-2H₂O]⁺(2); 475 [M+1-3H₂O]⁺(6); 451[M+1-AcOH-H₂O]⁺(4); 433[M+1-AcOH-2H₂O]⁺(8); 415 [M+1-AcOH-3H₂O]⁺(7); 403[M-125](8).

6. BIBLIOGRAFÍA.

1. Aguilar, C. A., Xolalpa, M. S. *Ciencia* **53**, 24-35 (2002).
2. Hernández-Avila, M., Olaiz, F. G. *Ciencia* **53**, 8-17 (2002).
3. Barba de Piña, C. B. *Ciencia* **53**, 18-23 (2002).
4. Weir, T. W., Stocking, R., Barbour, M. Botánica Científica y Tecnológica. Ed. Científica y Técnica S.A., México, 1989, pp. 649-650.
5. Ruiz-Orozco, M. Tratado elemental de Botánica. Décima ed. Ed. E.C.L.A.L.S.A., México D.F., 1977, pp. 656-663.
6. Evans, W. C. Hybridization and Secondary metabolism in the Solanaceae. In: Solanaceae, Biology and Systematics. D'Arcy, W. E. Ed. Columbia University Press, New-York, 1986, pp.176-217.
7. Khan P., M., Ahmad S., Rubnawaz H. and Malik A. *Phytochemistry* **51** 669-671 (1999).
8. Ray, B. A.; Gupta, M.; Withasteroids, a Growing Group of Naturally Occurring Steroidal Lactones. In: Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. Herz, W., Kirby, G. N., Moore, R. E., Steglich, W., Tamm, Ch. Eds. Springer-Verlag, Wien, 1994, pp. 2-106.
9. Tomassini, T. C. B., Barbi, N. S., Ribeiro, I. M., Xavier, D. C. D. *Química Nova* **23**, 47-57 (2000).
10. Kirson, I., Glotter, E. *J. Nat. Prod.* **44**, 633-647 (1981)

11. Vargas, P. O., Martínez, M., Dávila, P. A. "El género *Physalis* (Solanaceae) en el Edo. de Jalisco" *Bol. Inst. Bot. Universidad de Guadalajara* **5**, 395-401, (1998).
12. Martínez M. Infrageneric Taxonomy of the *Physalis*. In: *Solanaceae IV: Advances in biology and utilization*. Nee, M., Symon, D. E., Lester, R. N., Jessop, J. P. Eds., The Royal Botanic Gardens, Kew, 1999, pp. 275-283.
13. Vargas Ponce, O. El género *Physalis* (Solanaceae) en Nueva Galicia. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, UNAM, México D.F. 1998.
14. Montes, H. S. Tomate de cáscara (*Physalis philadelphica* Lam.). En "Avances en los recursos Filogenéticos de México." Eds. Ortega, P.R., Palomino, H. G., Castillo, G. F., González, H. V. A., Livera, M. M.. SOMEFI, Chapingo, México, 1991, pp 251-259.
15. Montes, H. S., Aguirre, R. R. Etnobotánica de Tomate (*Physalis philadelphica* Lam.) Mesa de Recursos filogenéticos. Memorias de la XXXVII reunión anual PCCMCA, Panamá, 1992 pp 71-87.
16. Coordinador Gral. Vilamar, A., A. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Instituto Nacional Indigenista. 1ed.. 1994 México D.F. Vol. III pp. 1350-1351.
17. Basey, K., Mc.Gain, B. A., Wolley, J. G. *Phytochemistry* **31**, 4173-4176 (1992).
18. Mayorga, H., Duque, C., Knapp, H., Halter, P. W. *Phytochemistry* **59**, 439-445 (2000).
19. Bodea, C., Andreinos, A. G., Borch, G., Jensen, S. L. *Phytochemistry* **17**, 2037-2038 (1978).

20. Sinha, S. C., Ali, A., Bagchi, A., Sahai, M., Ray, A. B. *Planta Medica* **53**, 55-57 (1986).
21. Shingu, K., Yahara, S., Nohara, T., Okabe, H. *Chem. Pharm. Bull.* **40**, 2088-2091 (1992).
22. Shingu, K., Marubayashi, N., Veda, I., Yahara, S., Nohara, T. *Chem Pharm. Bull.* **39**, 1591-1593 (1991).
23. Row, L. R., Reddy, K. S., Sarma, N. S., Matsuura, T., Nakashima, R. *Phytochemistry* **19**, 1175-1181 (1980).
24. Row, L. R., Sarma, N. S., Reddy, K. S., Matsuura, T., Nakashima, R. *Phytochemistry* **17**, 1641-1645 (1978).
25. Row, L. R., Sarma, N. S., Reddy, K. S., Matsuura, T., Nakashima, R. *Phytochemistry* **17**, 1647-1650 (1978).
26. Makino, B., Kawai, M., Ogura, T., Nakanishi, M., Yamamura, H., Batsugan, Y. *J. Nat. Prod.* **58**, 1668-1674 (1995).
27. Shingu, K., Yahara, S., Okabe, H., Nohara, T. *Chem. Pharm. Bull.* **40**, 2448-2451 (1992).
28. Chen, C. M., Chen, Z. T., Hsieh, C. H., Li, W. S., Wen, S. Y. *Heterocycles* **31**, 1371-1375 (1990).
29. Shingu K., Miyagawa M., Yahara S, and Nohara T. *Chem. Pharm. Bull.* **41**, 1873-1875 (1993).
30. Kirson, I., Zarestskii, V. I., Glotter, E. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.1*, 1244-1247 (1976).

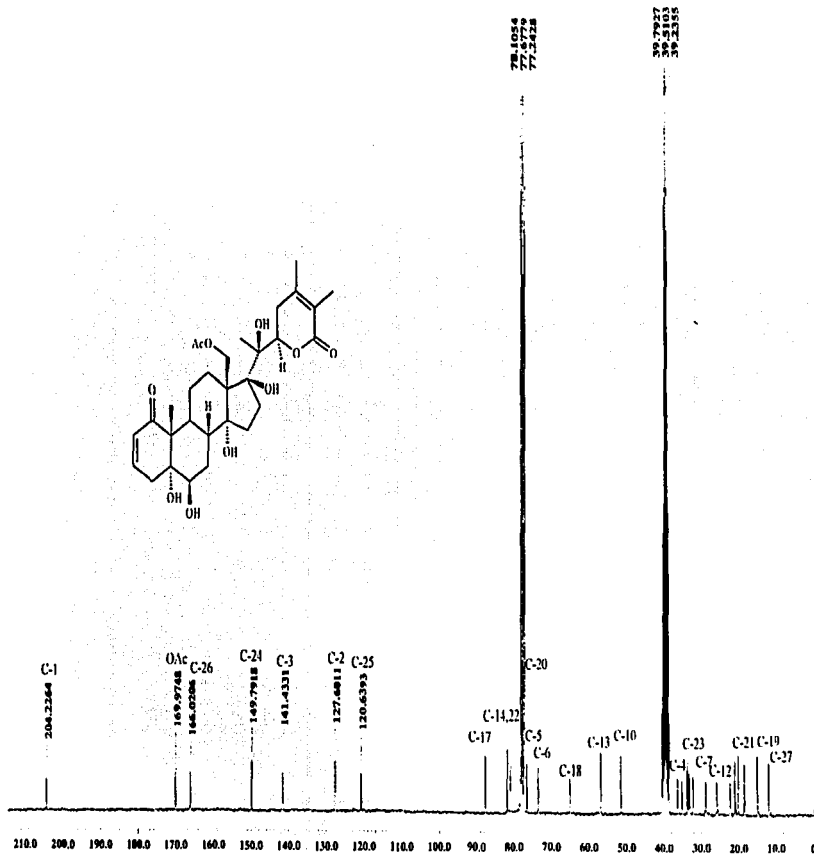
31. Sahai, M., Kirson, I. *J. Nat. Prod.* **47** (3) 527-529 (1984).
32. Sinha, S. C., Ray, A. B., Oshima, Y., Bagchi, A., Hikino, H. *Phytochemistry* **26**, 2115-2117 (1987).
33. Sinha, S. C., Ray, A. B. *J. Indian Chem. Soc.* **LXV**, 740-741 (1988).
34. Sen, G., Pathak, H. D. *Phytochemistry* **39**, 1245-1246 (1995).
35. Kawai, M., Makino, B., Yamamura, H., Batsugan, Y. *Phytochemistry* **43**, 661-663 (1996).
36. Gottlieb, H. E., Cojocar, M., Sinha S. C., Saha, M., Bagchi, A., Ali, A., Ray, A. B. *Phytochemistry* **26**, 1801-1804 (1987).
37. Alluri, R. R., Miller, R. J., Shelver, W. H., Wahba Khalil, S. K. *Lloydia* **39**, 405-408 (1976).
38. Pelletier, S. W., Gebeyehu, G., Nowaoki, J., Mody, N. V. *Heterocycles* **15**, 645-648 (1981).
39. Silva, G. L., Pacciaroni, A., Oberti, J. C., Veleiro, A. S., Burton, G. *Phytochemistry* **34**, 871-873 (1993).
40. Sakurai, K., Ishii, H., Kobayashi, S., Iwao, T. *Chem. Pharm. Bull.* **24**, 1403-1405 (1976).
41. Ray, A. B., Sahai, M., Schiff, P. L., Knapp, J. E., Slatkin, D. *J. Chem. & Ind.* **62**, (1981).
42. Eguchi, T., Fujimoto, Y., Kakinuma, K., Ikekawa, N., Sahai, M., Verma, M., Gupta, Y. K. *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 2897-2901 (1988).
43. Dinan, L. N., Sarker, S. D., Sik, V. *Phytochemistry* **44**, 509-512 (1997).

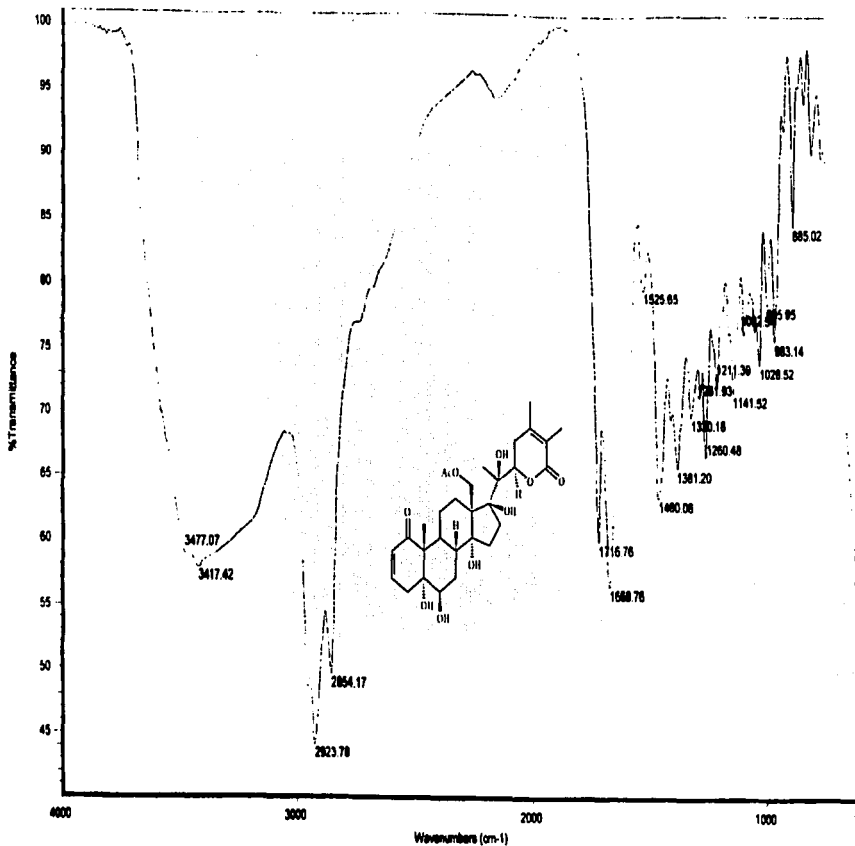
44. Ahmad, S., Malik A., Yasmin, R, Ullah, N., Gul, W., Kahn, P. M., Nawaz, H. R., Afa, N. *Phytochemistry* **50**, 647-651 (1999).
45. Ray, A. B., Das, B. C., Sahai, M. *J. Indian Chem. Soc.* **LV**, 1175-1178 (1978).
46. Frolow, F., Ray, A. B., Sahai, M., Glotter, E., Gottlieb, H. E., Kirson, I. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1029-1032 (1981).
47. Sahai, M., Neogi, P., Ray, A. B., Oshima, Y., Hikino, H. *Heterocycles* **19**, 37-40 (1982).
48. Ali, A., Sahai, M., Ray, A. B., Slatkin, D. J. *J. Nat. Prod.* **47**, 648-651 (1984).
49. Bagchi, A., Neogi, P., Sahai, M., Ray, A. B., Oshima, Y., Hikino, H. *Phytochemistry* **23**, 853-855 (1984).
50. Neogi, P., Sahai, M., Ray, A. B. *Phytochemistry* **26**, 243-247 (1987).
51. Kirson, I., Abraham, A., Sethi, P. D., Subramanian, S. S., Glotter, E. *Phytochemistry* **15**, 340-342 (1976).
52. Gottlieb, H. E., Kirson, I., Glotter, E., Ray, A. B., Sahai, M., Ali, A. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 2700-2704; (1980).
53. Sahai, M., Gottlieb, H. E., Ray, A. B., Ali, A., Glotter, E., Kirson, I. *J. Chem. Res. (S)* 346, (1982).
54. Glotter, E., Sahai, M., Kirson, I., Gottlieb, H. E. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 2241-2245 (1985).
55. Kirson, I., Gottlieb, H. E., Glotter, E. *J. Chem. Res. (S)* 125, (M) 1234 (1980).
56. Sahai, M. *J. Nat. Prod.* **48**, 474-476 (1985).

57. Row, L. R., Reddy, K. S., Dhaveji, K., Matsuura, T. *Phytochemistry* **23**, 427-430 (1984).
58. Matsuura, T., Kawai, M., Nakashima, R. and Butsugan, Y. *Tetrahedron Lett.* **14**, 1083-1086 (1969).
59. Matsuura, T., Kawai, M., Nakashima, R., Butsugan, Y. *J. Chem. Soc. C*, 664-670 (1970).
60. Kawai, M., Matsuura, T. *Tetrahedron* **26**, 1743-1745 (1970).
61. Kawai, M., Matsuura, T., Kyuno, S., Matsuki, H., Takenaka, M., Katsuoka, T., Butsugan, Y., Saito, K. *Phytochemistry* **26**, 3313-3317 (1987).
62. Kawai, M., Ogura, T., Nakanishi, M., Matsuura, T., Butsugan, Y., Mori, Y., Harada, K., Suzuki, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **61**, 2696-2698 (1988).
63. Kawai, M., Ogura, T., Makino, B., Matsumoto, A., Yamamura, H., Butsugan, Y., Hayashi, M. *Phytochemistry* **31**, 4299-4302 (1992).
64. Kawai, M., Matsumoto, A., Makino, B., Mori, H., Ogura, T., Butsugan, Y., Ogawa, K., Hayashi, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **66**, 1299-1300 (1993).
65. Makino, B., Kawai, M., Kito, K., Yamamura, H., Butsugan, Y. *Tetrahedron* **51**, 12529-12538 (1995).
66. Makino, B., Kawai, M., Iwata, Y., Yamamura, H., Butsugan, Y., Ogawa, K., Hayashi, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **68**, 219-226 (1995).
67. Kirson, I., Cohen, A., Greenberg, M., Gottlieb, H. E., Varenne, P., Abraham, A. *J. Chem. Res. (S)* 103, (M) 1178, (1979).

68. Kennelly, E. J., Gerhauser, C., Song, L. L., Graham, J. G., Beecher, C. W. W., Pezutto, J. M., Kinghorn, A.D. *J. Agric. Food Chem.* **45**, 3771-3777 (1997).
69. Su B. N., Misica R., Park, E. J., Santarsierd, B. D., Mesecar, A. D., Fong, H. S., Pezzuto, J. M. Kinghorn, D. *Tetrahedron* **58**, 3453-3466 (2002).
70. Abdullaev, N. D., Vasina, O. E., Maslennikova, V. A., Abubakirov, N. K. *Khim. Prir. Soedin* **17**, 326 (1986).
71. Waterfall, U. T., *Physalis* in México, Central America and the West Indies. *Rhodora* **69**: 82-329
72. Khan, P. M., Nawaz, H. R., Ahmad, S., Malik, A. *Helv. Chim. Acta* **82**, 1423-1426 (1999).
73. Gottlieb, H. E., Kirson, I. *Org. Magn. Reson* **16**, 20-25 (1981).
74. Kirson, I, Gottlieb, H. E. *J. Chem. Res. (S)* 338, (M) 4275 (80).
75. The Merck Index, (1996). 12a ed., Merck & Ca Inc., New Jersey.
76. Pouchert C. J., Behnke J., *The Aldrich library ¹³C and ¹H FT spectra*, Aldrich Chemical Company Inc., E.U.A. 1a Ed. 1993 Vol. 3, pp. 569

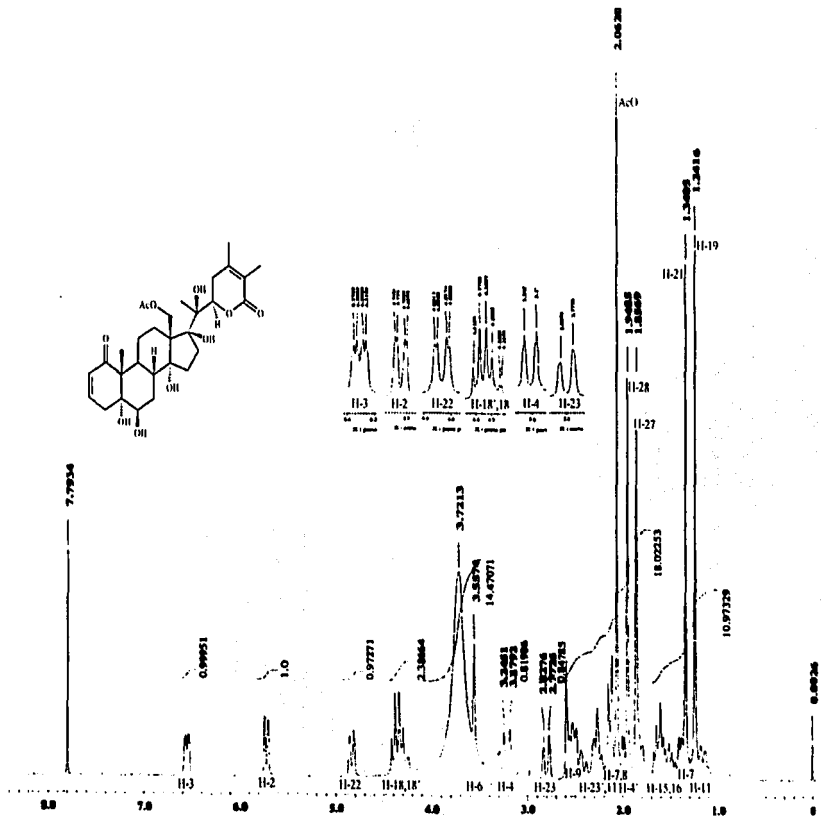
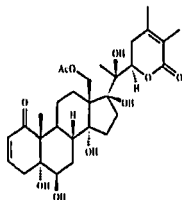
EN LA TESIS NO SE
DE LA BIBLIOTECA

ESPECTRO No.1 ^{13}C -RMN de Physachenólida A



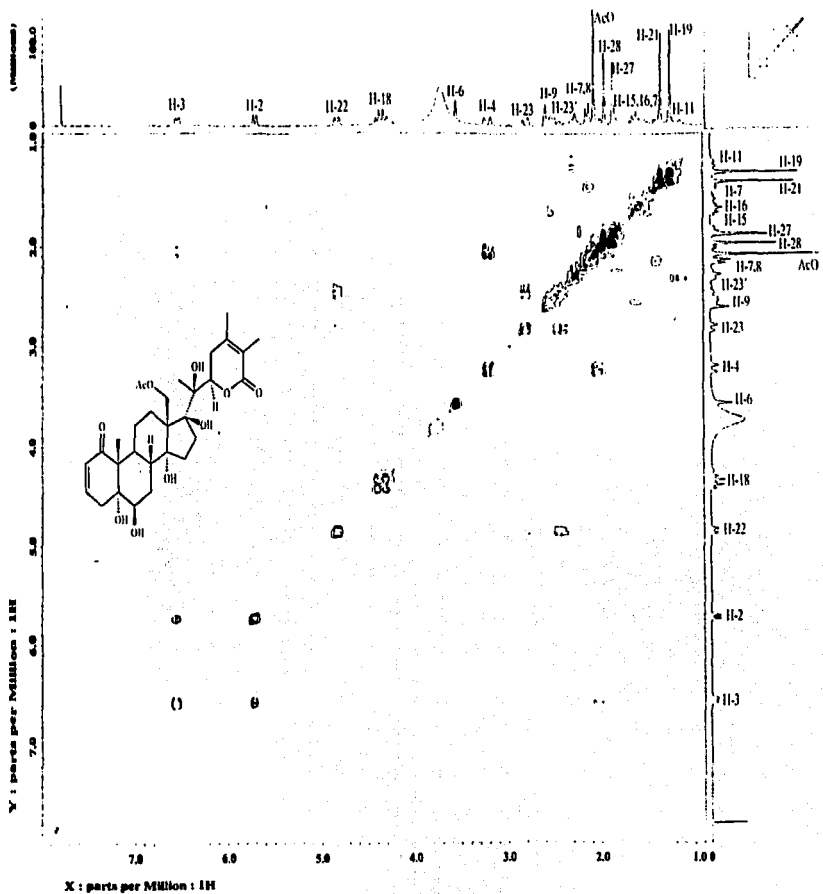
ESPECTRO No. 2 IR de Physachenólida A

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

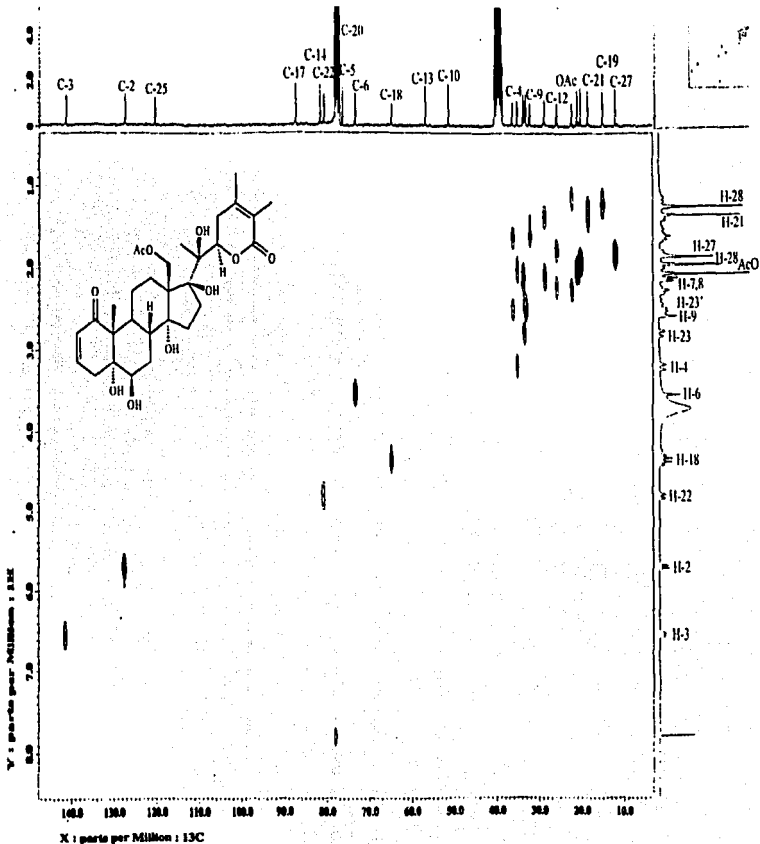


ESPECTRO No. 3. 1H-RMN de Physcénolida A

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

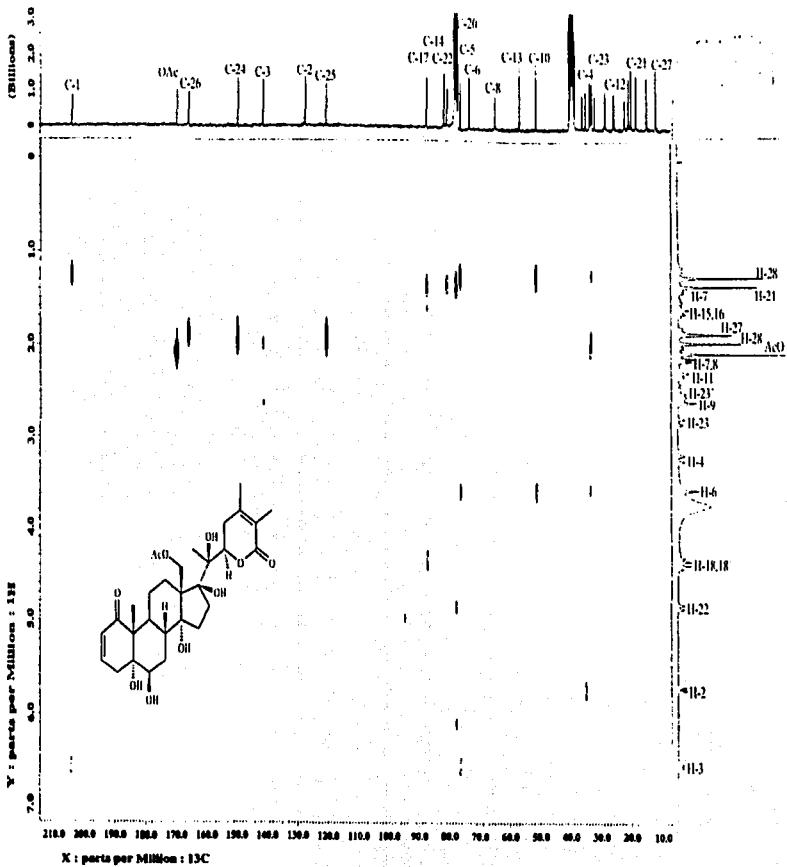


ESPECTRO No. 4 Experimento COSY de Physachenólida A



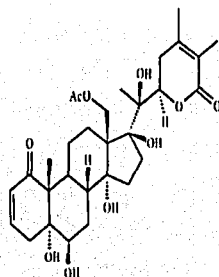
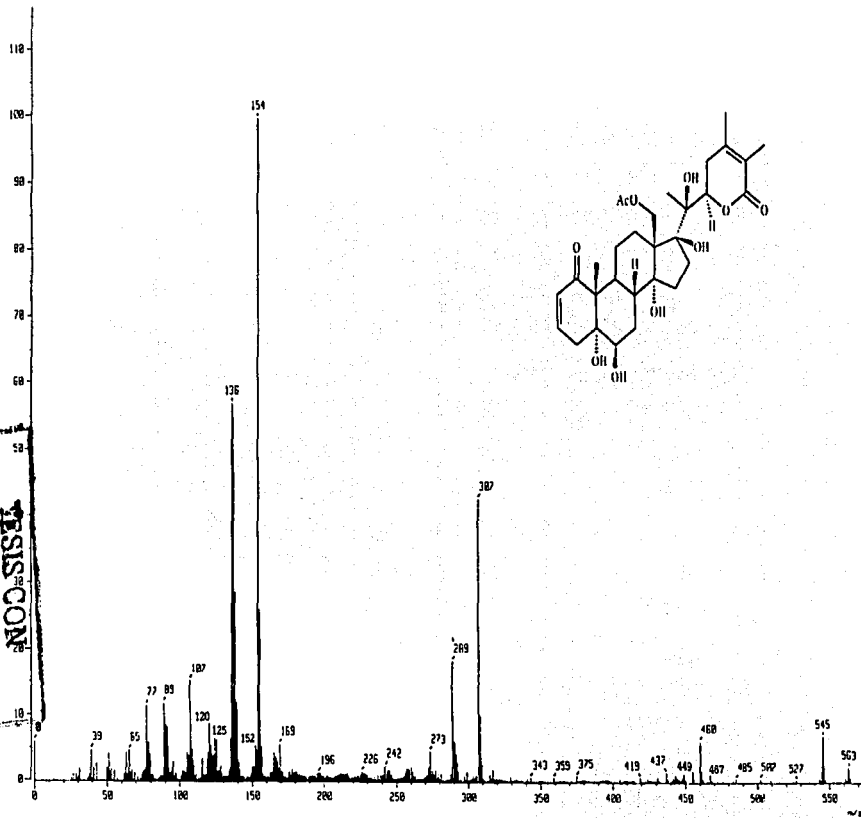
ESPECTRO No. 5 Experimento HETCOR de Physachenólida A

**TESIS CON
 FALTA DE ORIGEN**



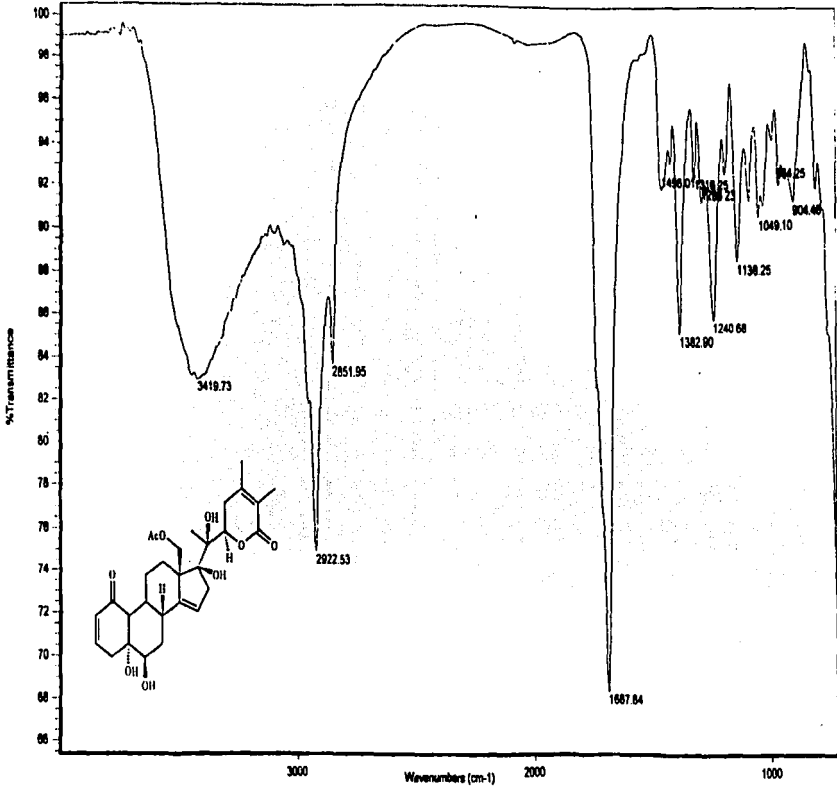
ESPECTRO No. 6 Experimento FLOCK de Physachenólida A

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN



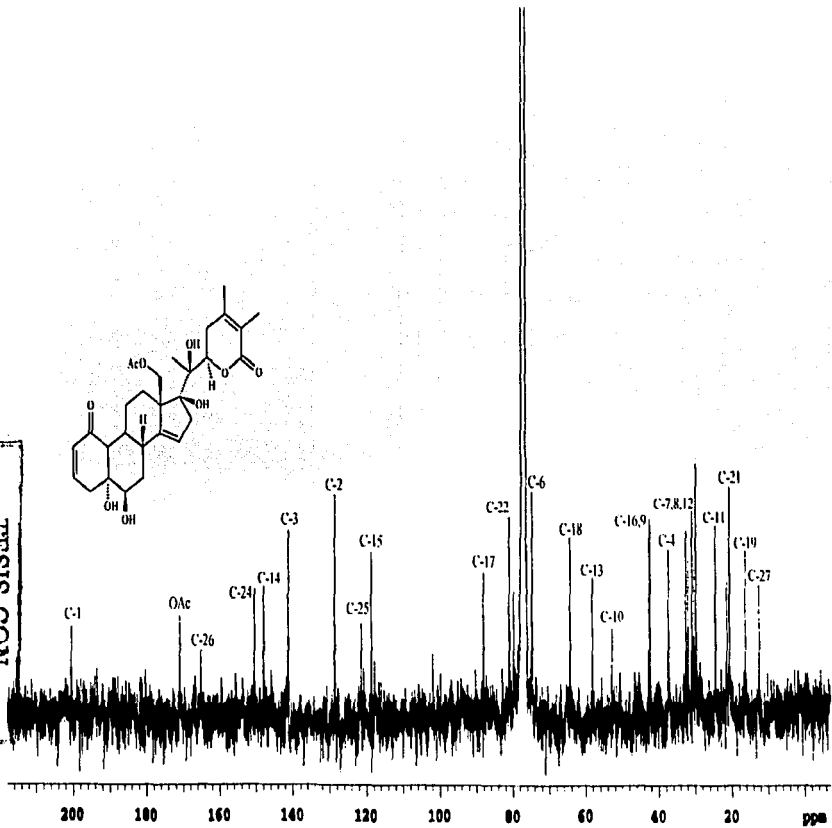
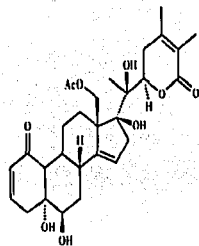
ESPECTRO No. 7 FAB de Physachenólida A

TESIS CON
FALTA DE ORGÁNICO



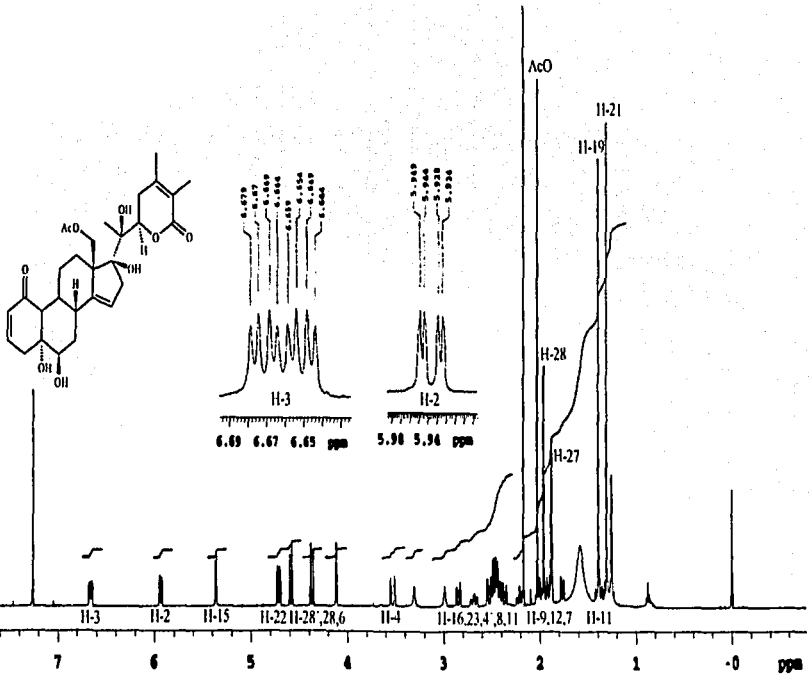
ESPECTRO No.8 IR de Physachenólida B

FESIS CON
FALLA DE ORIGEN



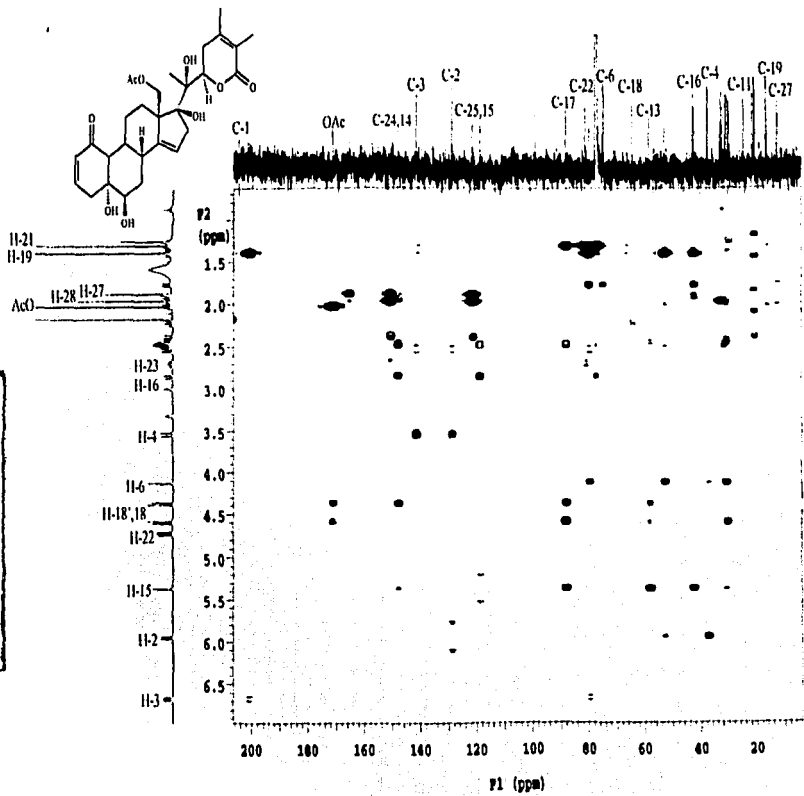
ESPECTRO No. 9 ^{13}C -RMN de Physachenólida B

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

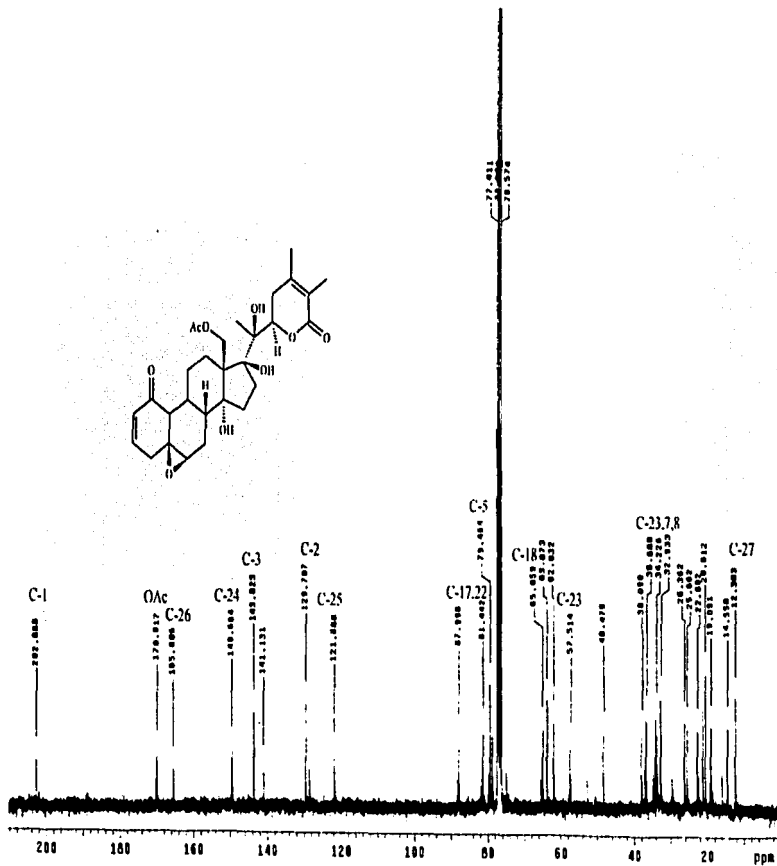
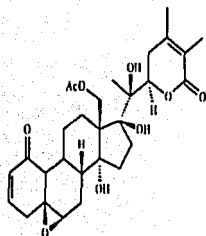


ESPECTRO No.10 ¹H-RMN de Physachenólida B

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

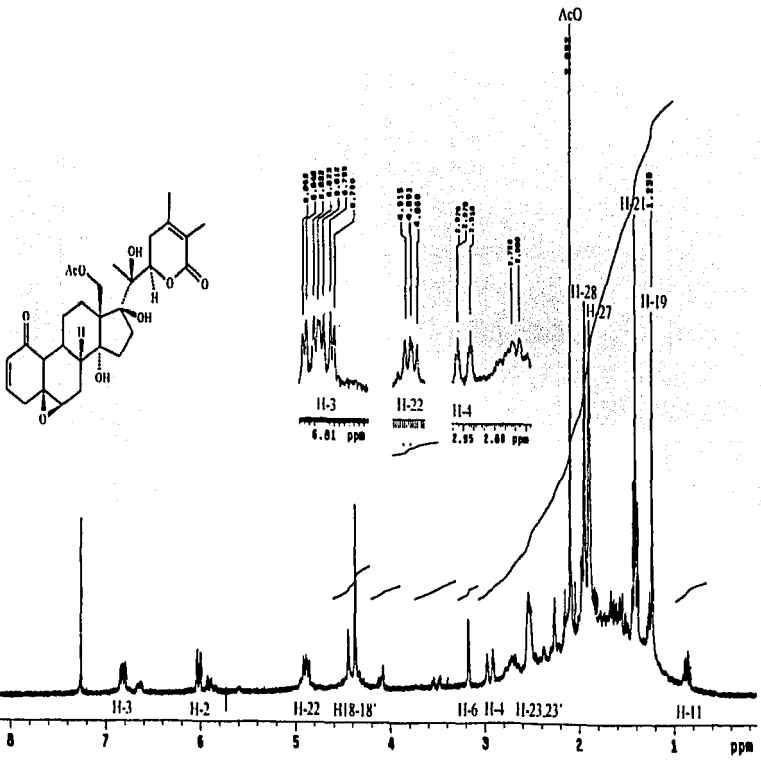
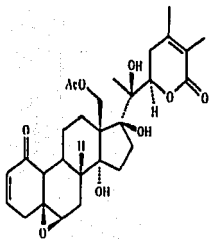


ESPECTRO No.11 Experimento HMBC de Physachenólida B

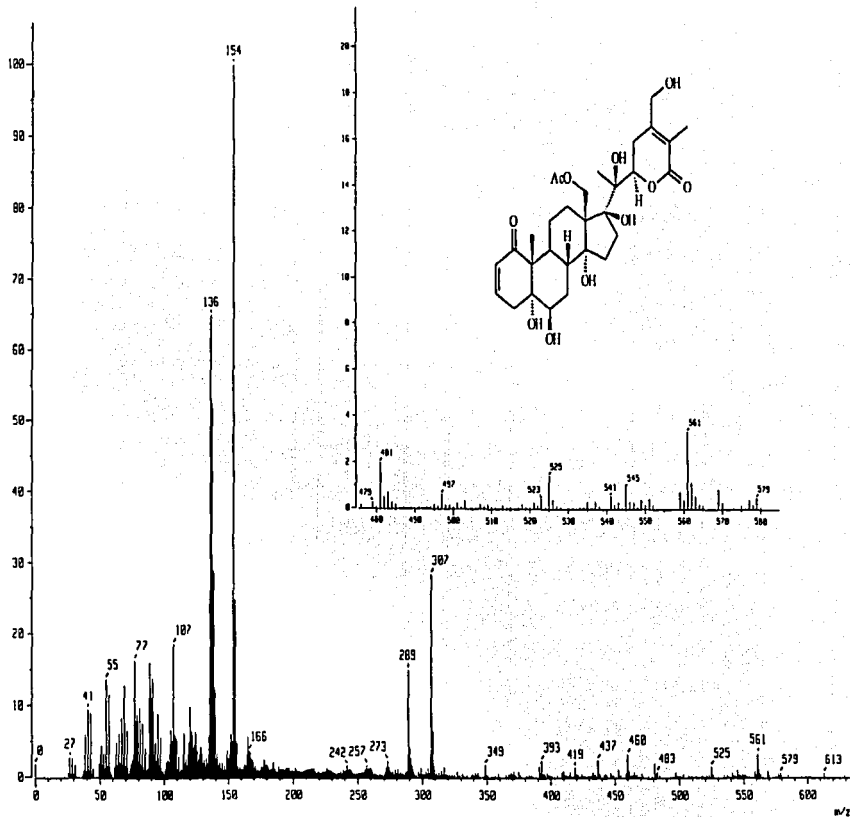


ESPECTRO No. 12 ^{13}C -RMN de Physachenólida C

TESIS CON
REALIA DE ORIGEN

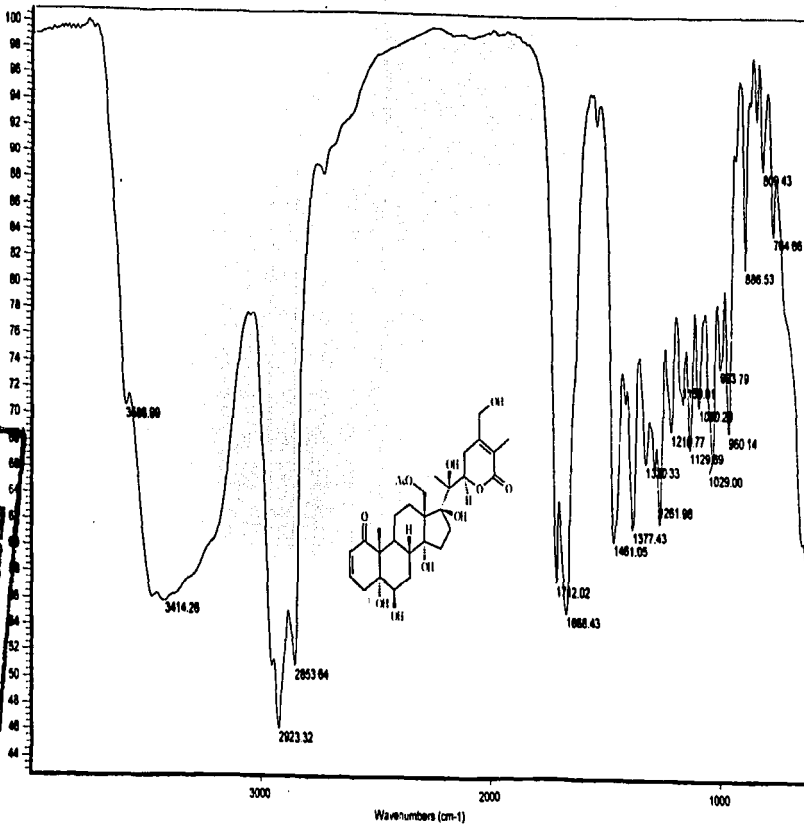


ESPECTRO No. 13 ¹H-RMN de Physachenólida C



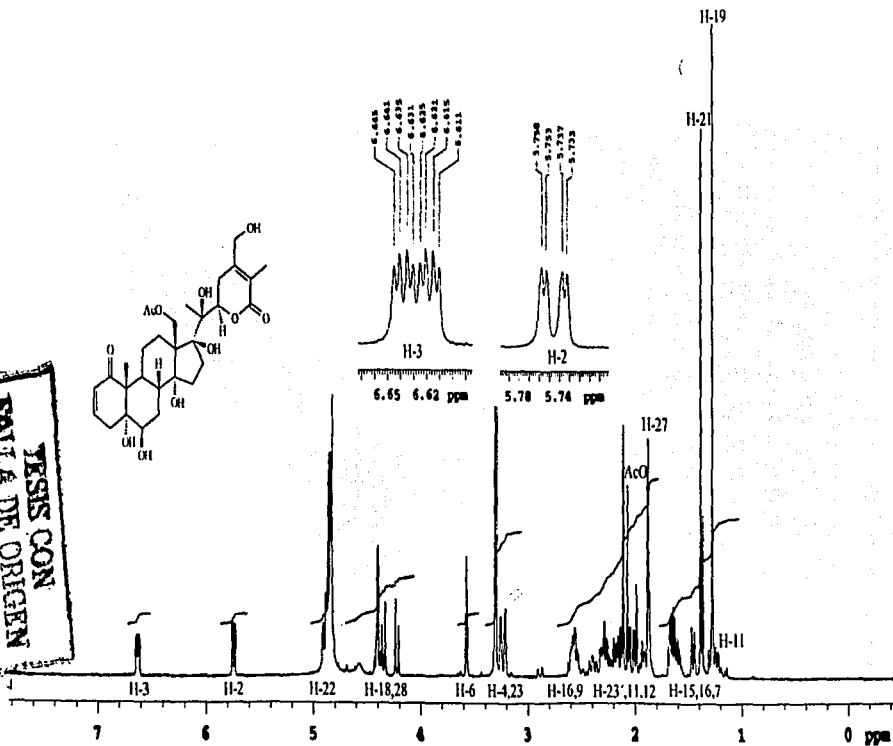
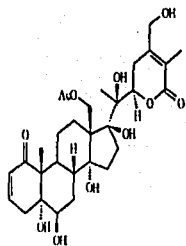
ESPECTRO No. 14 EM FAB de physachenólida D

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN



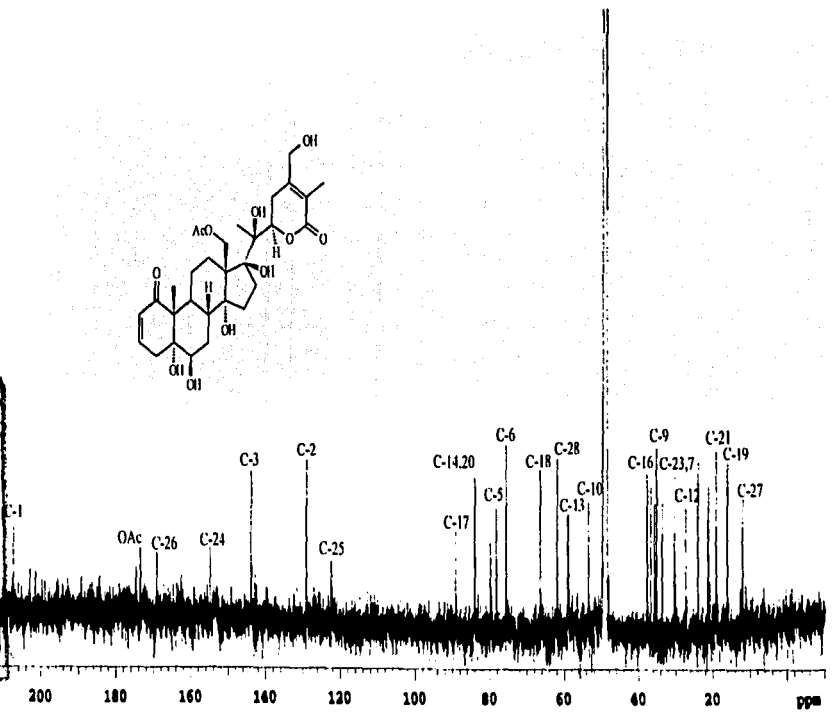
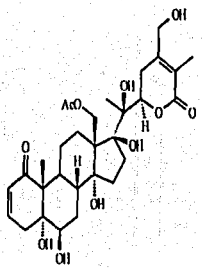
ESPECTRO No. 15 IR de Physachenólida D

TESIS CON
BATA DE ORIGEN



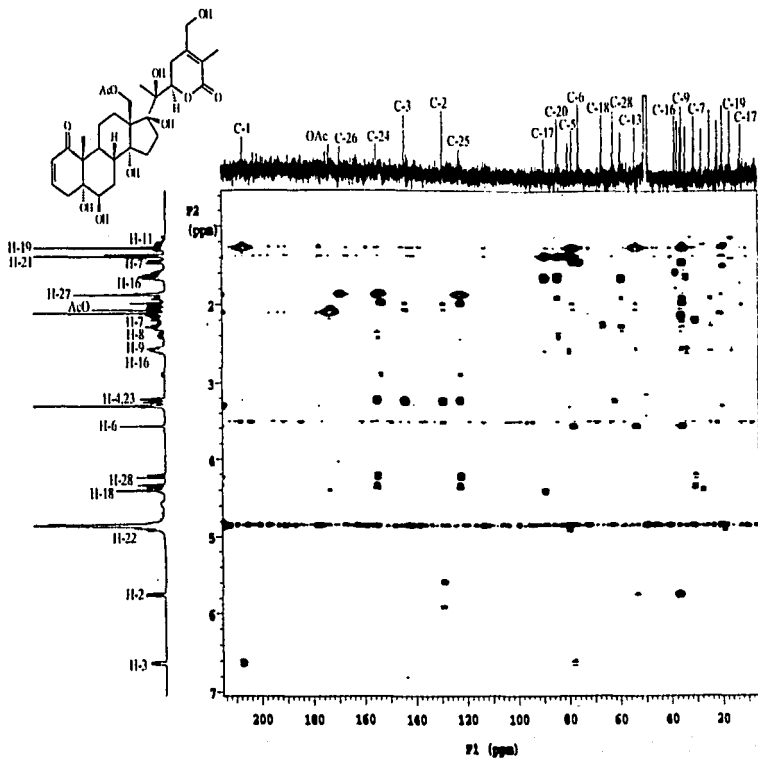
ESPECTRO No. 16 ^1H -RMN de Physachenólida D

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



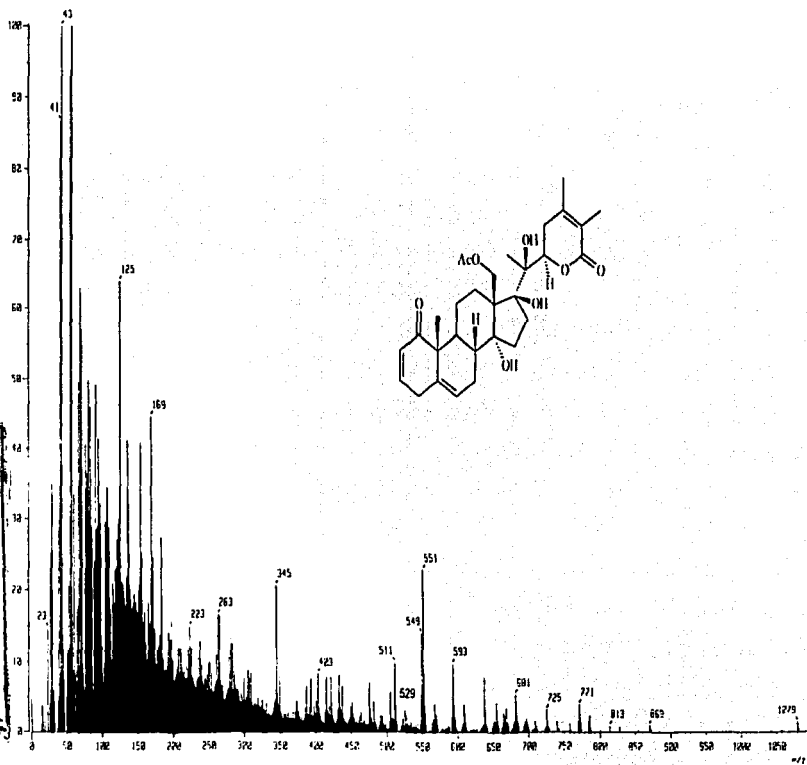
ESPECTRO No. 17 ¹³C-RMN de Physachenólida D

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN



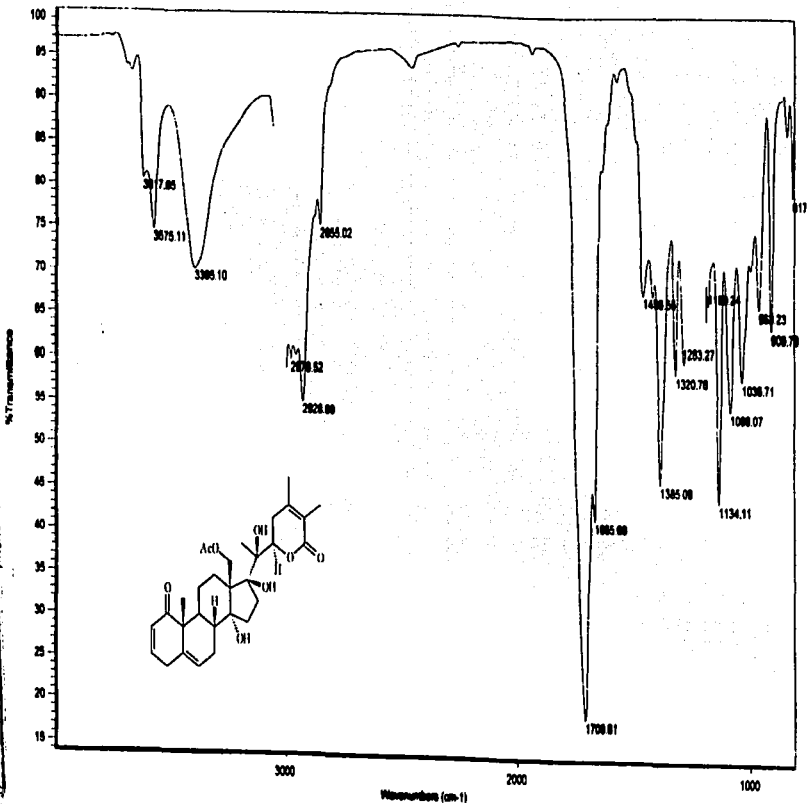
ESPECTRO No. 18 Experimento HMQC de Physachenólida D

TESIS CON
PÁGINA DE ORIGEN



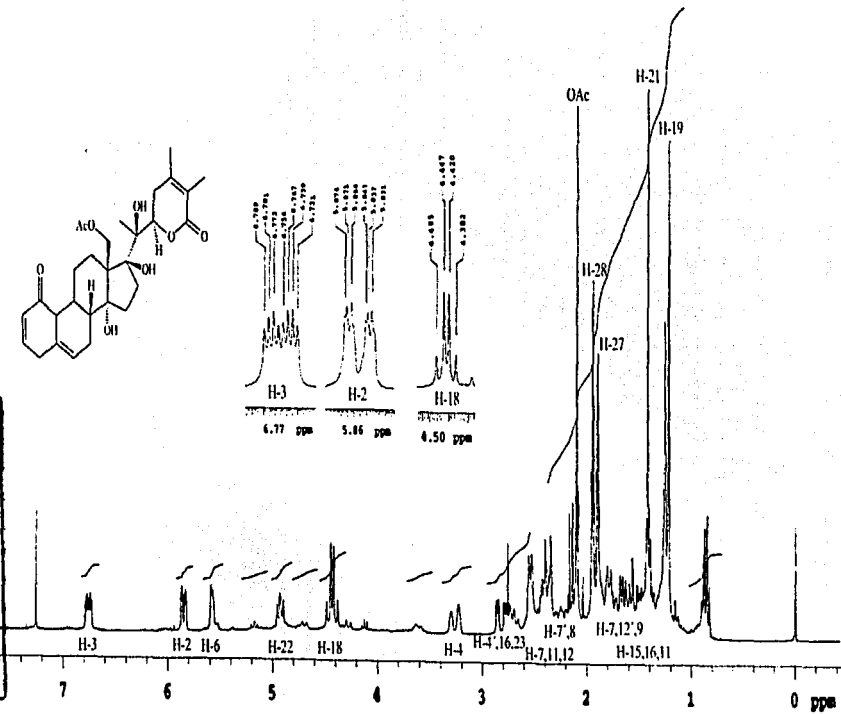
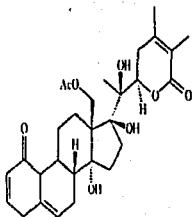
ESPECTRO No.19 EM FAB de Physachenólida E

TESIS CON
FALDA DE ORIGEN



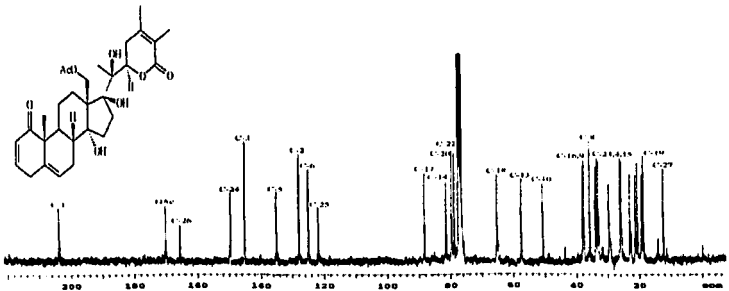
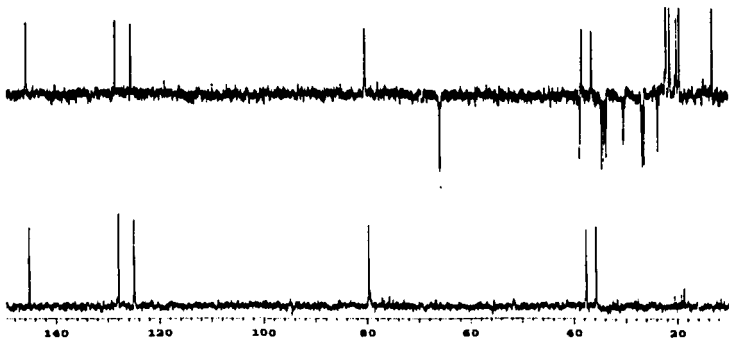
ESPECTRO No. 20 IR de Physachenólida E

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN



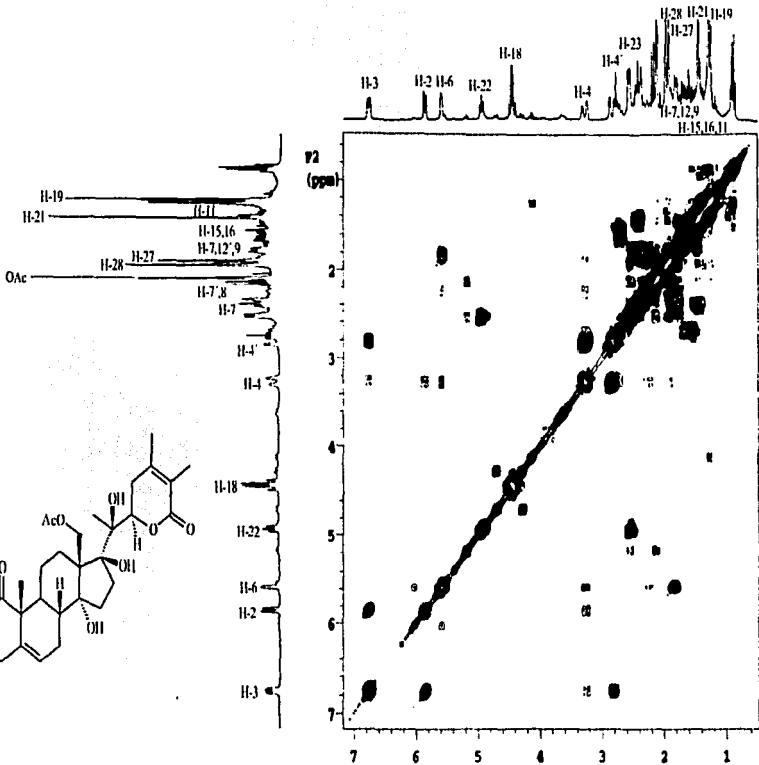
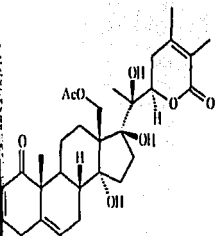
ESPECTRO No.21 ¹H-RMN de Physachenólida E

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

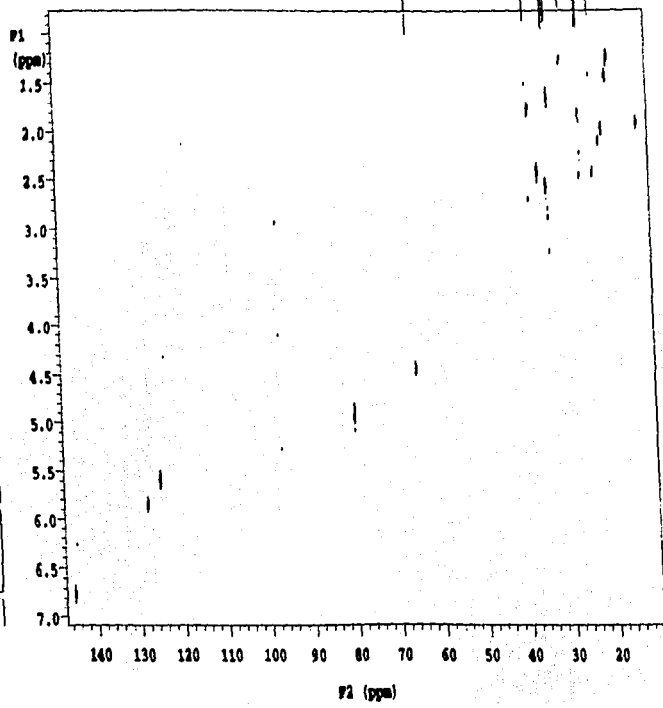
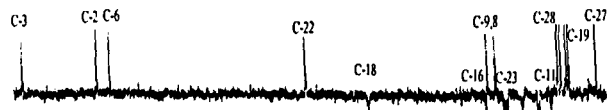
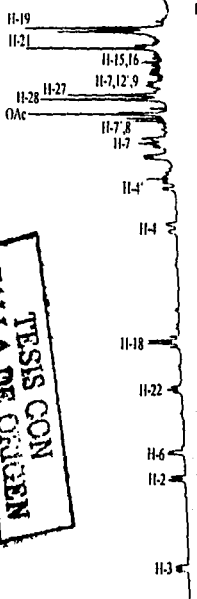
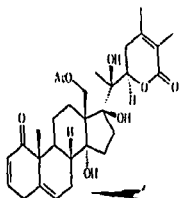


ESPECTROS No. 22 y 23 Experimentos DEPT y ^{13}C -RMN de Physachenólida E

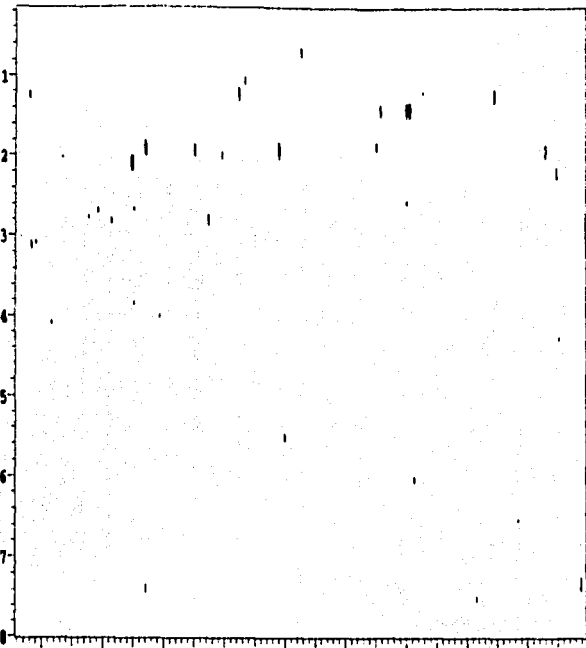
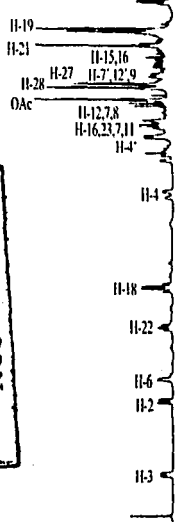
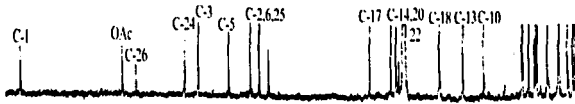
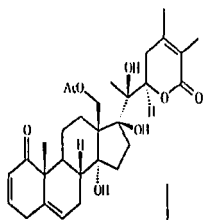
FRASE CON
PALA DE ORIGEN



ESPECTRO No.24 Experimento COSY de Physachenólida E



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



200 180 160 140 120 100 80 60 40

δ₂ (ppm)

ESPECTRO No. 26 Experimento FLOCK de Physachenólida I:

TESIS CON
 FALTA DE ONDAS