



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA  
Departamento de Química

*Estudio de Metabolitos Secundarios de  
Especies del Género Eupatorium  
endémicos de Santo Domingo.*



*Tesis Doctoral  
Quirico A. Castillo Perdomo  
2016*

**D. José Alberto Herrera Melián SECRETARIO DEL  
DEPARTAMENTO DE Química DE LA UNIVERSIDAD DE LAS  
PALMAS DE GRAN CANARIA,**

**CERTIFICA**

Que el Consejo de Doctores del Departamento en su sesión de fecha del 12 de noviembre de 2015 tomó el acuerdo de dar el consentimiento para su tramitación, a la tesis doctoral titulada "Estudio de metabolitos secundarios de especies del género Eupatorium endémicos de Santo Domingo", presentada por D. Quirico A. Castillo Perdomo y dirigida por los Doctores D. Jorge Triana Méndez y D. José Luis Eiroa Martín.

Y para que así conste, y a efectos de lo previsto en el Art. 6 del Reglamento para la elaboración, defensa, tribunal y evaluación de tesis doctorales de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, firmo la presente en Las Palmas de Gran Canaria, a 12 de noviembre de dos mil quince.



**PROGRAMA DE DOCTORADO: OCEANOGRAFÍA**

**Bienio: 2012-2013.**

**Título de la Tesis Doctoral: ESTUDIO DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE ESPECIES DEL GÉNERO *EUPATORIUM* ENDÉMICAS DE SANTO DOMINGO.**

Memoria presentada por D. Quirico A. Castillo Perdomo para optar al grado de Doctor en Química por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria y dirigida por el Dr. José Luis A. Eiroa Martínez, Profesor Titular de Universidad del área de Química Orgánica y por el Dr. Jorge Triana Méndez, Catedrático de Universidad del área de Química Orgánica.

Los Directores

El Doctorando

Las Palmas de Gran Canaria a 11 de Noviembre de 2015



# **ESTUDIO DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE ESPECIES DEL GÉNERO *EUPATORIUM* ENDÉMICAS DE SANTO DOMINGO**

**MEMORIA**

**Presentada para obtener el grado de  
Doctor en Ciencias Químicas por:  
Quírico A. Castillo Perdomo**

**Las Palmas de Gran Canaria 2016**



## DEDICATORIAS

*A mi esposa, Evelyn Almánzar Germosén.*

*A mis hijos Quírico Manuel y Alejandro Andrés.*

*A mi madre Doña Ana Margarita Perdomo Figuerero Vda. Castillo.*

*A la memoria de mi padre Don Quírico Castillo Pérez (1943-2003).*



## AGRADECIMIENTOS

A Dios, fuente de toda la ciencia.

A mis directores de Tesis Doctoral, Dr. Jorge Triana Méndez y Dr. José Luis Eiroa Martínez, quienes me acogieron en su grupo de investigación y me han brindado durante todos estos años un gran soporte.

A la Universidad Autónoma de Santo Domingo, institución académica donde cursé la carrera de Lic. en Química, lugar donde actualmente laboro, y que brindó las facilidades para poder capacitarme en estudios superiores en el extranjero. Especial mención tiene aquí la Mtra. Miledy Alberto, quien ha colaborado con nuestra actividad en el área de investigación.

A la Agencia Española de Cooperación internacional, que me otorgó una beca con la cual pude cursar en España los estudios doctorales.

Al programa FONDOCYT, del Ministerio de Educación Superior Ciencia y Tecnología (MESCYT) de la República Dominicana, mismo que otorgó fondos para la ejecución de proyectos de investigación que han permitido que este esfuerzo sea posible. Agradezco a todo el personal del Viceministerio de Ciencia y Tecnología sus atenciones. Vaya una distinción muy particular al Dr. Plácido Gómez Ramírez, Viceministro de Ciencia y Tecnología, eficiente y capaz funcionario público quien creyó en nuestro trabajo y lo apoya de una manera sin igual.

Al Dr. José Manuel Padrón (Universidad de La Laguna) y al Dr. Francisco Estévez Rosas (Universidad de Las Palmas de Gran Canaria) por su colaboración con las pruebas biológicas consignadas en esta Tesis.

A los miembros del Grupo de Investigación Química Orgánica I de la ULPGC y de la Unidad Asociada (IPNA-CSIC de La Laguna) por el apoyo recibido.

A todas las personas y entidades que por razones de espacio u olvido no menciono, pero quienes ayudaron a la realización de este trabajo.



## ÍNDICE

1. Introducción.....	9
2. Objetivos.....	17
3. Química del Género <i>Eupatorium</i> .....	21
4. Género <i>Eupatorium</i> L.....	29
4.1 Descripción Botánica del Género <i>Eupatorium</i> .....	31
4.2 Etnofarmacología.....	32
4.3 Consideraciones Taxonómicas del Género <i>Eupatorium</i> .....	34
4.4 Revisión Bibliográfica de Lactonas Sesquiterpénicas en el Género <i>Eupatorium</i> .....	37
5. <i>Eupatorium obtusissimum</i> P. DC.	
5.1 Parte Teórica.....	87
5.2 Parte Experimental.....	109
6. <i>Eupatorium illitum</i> Urb.	
6.1 Parte Teórica.....	123
6.2 Parte Experimental.....	135
7. <i>Eupatorium dictyoneurum</i> Urb.	
7.1 Parte Teórica.....	145
7.2 Parte Experimental.....	173
8. Estudios de actividades Biológicas.....	189
9. Técnicas e Instrumentación.....	195
10. Abreviaturas y Acrónimos.....	201
11. Conclusiones.....	207





## 1. INTRODUCCIÓN



Desde los inicios de la civilización, el hombre ha encontrado en el reino vegetal, no solamente alimento para su sustento, material con que construir sus hogares, utensilios y medios de transporte entre otros, sino también sustancias que les han permitido aliviar sus dolencias y en ocasiones curar sus enfermedades. Las plantas constituyen en realidad verdaderos laboratorios químicos en donde se sintetizan un sinnúmero de compuestos que, sin embargo, podemos agrupar en dos grandes tipos: **metabolitos primarios** y **metabolitos secundarios**. Los metabolitos primarios constituyen un conjunto de compuestos con funciones bien definidas dentro de las plantas cuyos objetivos son los más básicos de todos los organismos: proveer soporte, alimento y perpetuidad de las especies que los producen; entre ellos tenemos los carbohidratos, las proteínas y las grasas; todos estos sirven de alimento a los seres humanos y los animales. Los metabolitos secundarios, por el contrario, son sustancias a veces producidas en muy pequeñas cantidades, que aparentemente no tienen ninguna función vinculada de manera directa con el mantenimiento de la vida de la especie en cuestión, pero que se ha observado, juegan roles muy diversos, tales como servir de disuasores a animales e insectos, bien por su sabor, por su aroma o por el efecto provocado después de su ingesta, haciendo que las especies del reino animal no se sirvan de ellas como alimento; en muchos casos estas sustancias son verdaderos venenos mortales para aquellas especies que por error, o inexperiencia las consuman o bien son esparcidas por la planta en su medio ambiente circundante, evitando de esta manera la proliferación de otras especies que podrían competir con ellas por alimento y espacio vital. En ciertas ocasiones los metabolitos secundarios, por el contrario, son segregados para atraer a ciertos tipos de otros organismos, tales como insectos, los que, una vez en contacto con el órgano de la planta en donde se originan, sirven de portadores de elementos, dentro de plantas de una misma especie, que posibilitan la reproducción de las mismas. Los metabolitos secundarios, a los que también se les llama comúnmente **productos naturales**, a lo largo de milenios los ha identificado el hombre como sustancias con propiedades de diversa índole: curativas (penicilinas), aromáticas (aceites esenciales de flores), narcóticas (morfina, cocaína), estimulantes (cafeína, nicotina), etc. Muchas de las especies que poseen productos naturales con tales características son conocidas desde hace siglos por distintas culturas que las han utilizado, otras han sido descubiertas recientemente y con seguridad muchas otras están aún por descubrirse. Cuando el producto natural (generalmente puro) es usado como medicamento, entonces suele hablarse de **principio activo**.

Dos aspectos importantes a ser tomados en cuenta a la hora de iniciar un estudio fitoquímico con miras a encontrar nuevos principios activos son la **etnobotánica** y la **quimiotaxonomía**. Se ha definido la etnobotánica como el estudio de las relaciones entre el hombre y las plantas, incluyendo las aplicaciones y usos medicinales de estas últimas, para determinar su valor cultural o científico; de ahí que tradiciones ancestrales que incluyen el uso de determinadas plantas para tratar tales o cuales afecciones representan una información valiosa al momento de seleccionar una especie objeto de estudio; la quimiotaxonomía por su parte podemos definirla como el método de clasificación biológica basado en las similitudes de las estructuras químicas de los metabolitos secundarios de los organismos a ser clasificados; de esta forma podemos inferir que, por ejemplo, especies de una misma familia de plantas producirán similares metabolitos secundarios y por ende, de forma probable, principios activos con igual, o incluso, mejor acción contra determinado tipo de enfermedades; además, después de aislar e identificar los metabolitos secundarios de una cierta especie objeto de estudio, al compararlos con los de otra, se adquiere información de la pertenencia o no de ambas al mismo género, familia, etc., aportando evidencias sobre la correcta inclusión de un individuo en el grupo botánico al que se le ha asignado. En algunos casos, la información quimiotaxonomica es la única de la que se puede echar mano, ya que de ciertas especies puede no disponerse de información etnobotánica alguna.

Con ayuda de personal especializado (Lic. Teodoro Clase, botánico del Jardín Botánico Nacional “Dr. Rafael Ma. Moscoso, Santo Domingo, República Dominicana), se recolectaron tres especies endémicas dominicanas del género *Eupatorium*, familia *Asteraceae*, las cuales se citan a continuación: *Eupatorium obtusissimum*, *Eupatorium illitum* y *Eupatorium dictyoneurum*. Las especies antes nombradas se seleccionaron atendiendo, bien a su uso folklórico y popular (etnobotánica), o bien a su sola pertenencia a la familia en cuestión (quimiotaxonomía).

La tribu *Eupatorieae* (*Asteraceae*) comprende aproximadamente 2200 especies, 17 subtribus y unos 182<sup>1</sup> géneros, constituyendo de hecho la tribu más rica en cuanto a número de especies se refiere. En la revisión de la tribu llevada a cabo por King y Robinson (King y Robinson, 1987)<sup>2</sup>, la subtribu *Eupatoriinae* incluye los cuatro géneros *Eupatorium* (45 especies), *Austroeupatorium*

---

<sup>1</sup> Schmidt, G.J. Schilling, E.E. (2000). Phylogeny and Biogeography of *Eupatorium* (Asteraceae: Eupatorieae) based on nuclear ITS sequence data. *American Journal of Botany*, 87(5), 716-726.

<sup>2</sup> King, R.M. (1987). The Genera of *Eupatorieae* (Asteraceae). *Missouri Bot. Gard. (Monographs in Systematics Botany, Vol. 22)*.

(13 especies), *Stomatanthes* (15 especies) y *Hatschbiella* (2 especies). El centro de distribución de tres de estos géneros, *Austro eupatorium*, *Stomatanthes* y *Hatschbiella* es Brasil, con *Austro eupatorium* extendiéndose por el oeste hasta Bolivia y una de las especies que se extiende desde el norte de Bolivia hasta Colombia incluyendo Panamá y Venezuela, mientras que tres especies de *Stomatanthes* han sido encontradas en África. El género *Eupatorium* L., representativo de la tribu, que en un principio abarcaba unas 1200 especies, en la actualidad se encuentra dividido en diferentes géneros (King y Robinson 1997; Funk, V. et al, 2009), limitándose el género *Eupatorium* a unas 48 especie de plantas anuales o perennes concentradas en América del Norte y que se extiende desde los escarpes orientales de las Montañas Rocosas hacia el este incluyendo las Antillas. La especie tipo, *E. cannabinum* ha extendido su distribución desde la Europa oriental y norte de África hasta la India, mientras que otro núcleo de distribución de *Eupatorium* se encuentra en el este de Asia. Taiwán y las islas Filipinas. La distribución geográfica general del género se ha denominada arcto-terciaria según de King y Robinson del año 1970<sup>3</sup>. Sin embargo, a pesar del tiempo transcurrido desde la publicación de los trabajos de King y Robinson, esta segregación no ha sido completamente aceptada y sigue provocando controversias entre los investigadores.

Como resultado de esta distribución los químicos han prestado una mayor atención al género *Eupatorium*, particularmente a los especies presentes en América del Norte, que a los otros tres géneros de la subtribu y de hecho los datos químicos solo se refieren a las especies más comunes de *Austro eupatorium* como son *A. chaparense* y *A. inulaefolium*, y también para dos especies de *Stomatanthes*, *S. africanus* y *S. carumbensis*. De hecho los estudios químicos de las especies de *Austro eupatorium* estudiadas hasta ahora muestran un comportamiento químico totalmente diferente de la química de las especies de *Eupatorium* estudiadas presentando compuestos tipo labdano y norlabdano totalmente inusuales como los que se indican para el *A. inulaefolium*, y asimismo en las dos únicas especies de *Stomatanthes* que se han estudiado no se han encontrado ni lactonas sesquiterpénicas ni diterpenos de ningún tipo, *A. inulaefolium* también presenta diterpenos comunes del tipo Kaurano.

---

<sup>3</sup> King, R.M., Robinson, H. (1970). *Eupatorium* a *Compositae* genus of Arcto-Tertiary distribution. *Taxon*, 19(5), 769-774.

Las especies de *Eupatorium* de América del Norte según la propuesta de King y Robinson no incluyen dos taxones del grupo Uncasia como son el *E. lechaefolium* Greene y el *E. petaloideum* Britton de los cuales solamente este último, geográficamente muy restringido, ha sido estudiado desde un punto de vista químico. Estos dos taxones difieren claramente de otros miembros del grupo Uncasia por el hecho de no elaborar lactonas sesquiterpénicas presentando varios ácidos tipo *ent*-kaurano.

Los estudios sobre la sistemática molecular de *Eupatorieae* son escasos y ninguno de los análisis que ya se han publicado son concluyentes debido al limitado número de muestras de géneros o especies y los cladogramas presentan resultados contradictorios. A pesar de todo ello, algunos géneros son apoyados desde el punto de vista taxonómico y se pueden explicar algunas relaciones filogenéticas. Sin embargo, debido a la fragilidad de los límites taxonómicos empleados, la mayoría de los géneros propuestos son difíciles de reconocer. Por ello, son necesarios estudios complementarios que permitan establecer una mejor delimitación de los nuevos géneros establecidos, de forma que a partir de estudios basados en la estructura, citología, geografía y química de las plantas proporcione un mejor sistema para su clasificación.

El género *Eupatorium* se encuentra englobado en la tribu *Eupatorieae*, una de las trece que constituyen la familia *Asteraceae*. Algunas de las plantas de este género tienen un “agradable olor cuando se les corta el tallo y por ese motivo se dice que son plantas aromáticas”. Durante mucho tiempo algunas de las especies de este género han sido empleadas en la medicina popular para combatir enfermedades como la malaria y como agentes antibacterianos, antifúngicos y antiinflamatorios. De los extractos de diferentes especies del género *Eupatorium* se han identificado un gran número de metabolitos secundarios con actividad biológica, principalmente lactonas sesquiterpénicas, que constituyen compuestos que representan fuentes prometedoras para el desarrollo de posibles fármacos y productos de valor añadido.

Una combinación de datos morfológicos y biogeográficos permite la distribución dentro de la clasificación de *Eupatorium* según King y Robinson, de las diferentes especies reconocidas en cuatro grupos distintos. Un primer grupo denominado *Eutrochium*, el cual también es reconocido como *Eupatoriadelphus* (*Eupatorium* sect. *Verticillata*), constituido por cinco especies, *E. dubius*

(Willd. ex Poit.), *E. fistulosus* (Barratt), *E. maculatus* (L.), *E. purpureus* (L.) y *E. steelei* (E. Lamont) las cuales se distribuyen principalmente por América del Norte oriental. El segundo grupo llamado *Uncasia* comprende 14 especies, *E. álbum* L., *E. altissimum* L., *E. anomalum* Nash, *E. cuneifolium* Willd., *E. godfreyanum* Cronq., *E. hyssopifolium* L., *E. lancifolium* (Torr. & A. Gray), *E. leucolepis* (DC.), *E. mikanioides* Chapm., *E. mohrii* Greene, *E. perfoliatum* L., *E. pilosum* Walter, *E. quinqueflorum* Urb. & Eckman, *E. recurvans* Small, *E. resinsum* DC., *E. rotundifolium* L., *E. semiserratum* DC., *E. serotinum* Michx., *E. sessilifolium* L., que se distribuyen principalmente por el este de América del Norte (y las Antillas) y presenta una mayor diversidad por la llanura costera del sudeste. El grupo *Traganthes* comprende tres especies, *E. capillifolium* (Lam.) Small, *E. compositifolium* Walter, *E. leptophyllum* DC., las cuales son muy abundantes en la llanura costera del sudeste de América del Norte. El cuarto grupo estaría constituido por las especies Euroasiáticas, incluyendo la única especie europea, *E. cannabinum* y las especies asiáticas, *E. amabile* Kitam., *E. benguetense* C. Robinson, *E. camiguinense* Merr., *E. chinense* L., *E. formosanum* Hayata, *E. fortunei* Turcz., *E. lindleyanum* DC., *E. luchuense* Nakai, *E. nodiflorum* DC., *E. quaternum* DC., *E. sambucifolium* Elmer, *E. shimadai* Kitam., *E. squamosum* D. Don, *E. tashiroi* Hayata, *E. toppingianum* Elmer, *E. variabile* Makino, *E. yakushimaense* Masam. & Kitam., y recientemente se ha descrito una nueva especie asiática, concretamente de las islas Filipinas, el *E. leonardii*.



**Figura 1.** Distribución del género *Eupatorium* según King y Robinson.

Las relaciones entre los grupos y el rango taxonómico de los mismos dentro de *Eupatorium* siguen sin estar claras, e incluso algunos estudios muestran que muchas de las especies de los diferentes grupos pueden hibridar.

Las islas del Caribe constituyen uno de los llamados *diez puntos calientes* insulares de biodiversidad, los cuales se caracterizan por presentar un altos niveles de endemidad, una masiva pérdida de hábitat y una elevada vulnerabilidad y extinción. Las especies de *Asteraceae* endémicas de los territorios insulares han proporcionado ejemplos muy bien conocidos de radiación vegetal a nivel mundial, los cuales ilustran el importante papel que desempeñan los sistemas insulares en los estudios evolutivos y de conservación. Los géneros endémicos de las islas han proporcionado un excelente ejemplo de especiación a través de la radiación adaptativa. Los más conocidos se encuentran en las islas de la Macaronesia (ejemplo, *Argyranthemum*, *Gonospermum*, *Allagopappus*), archipiélago de Hawai, las islas galápagos, Isla de Santa Helena y la isla de Juan Fernández. Un estudio comparativo pone de manifiesto que las Islas del Caribe presentan un mayor número de géneros endémicos en el mayor número de tribus y poseen la única tribu de la familia endémica en islas, la tribu *Feddeae*. Estas características de diversidad exclusiva de las Islas del Caribe determinan que constituyan el área de endemismos insulares más importante para la familia *Asteraceae*.

Los puntos calientes de biodiversidad de las Islas del Caribe incluyen las islas Bahamas, Grandes Antillas, Pequeñas Antillas, y varias de las islas situadas en la costa norte de Venezuela.

## **2. OBJETIVOS**

## Objetivos

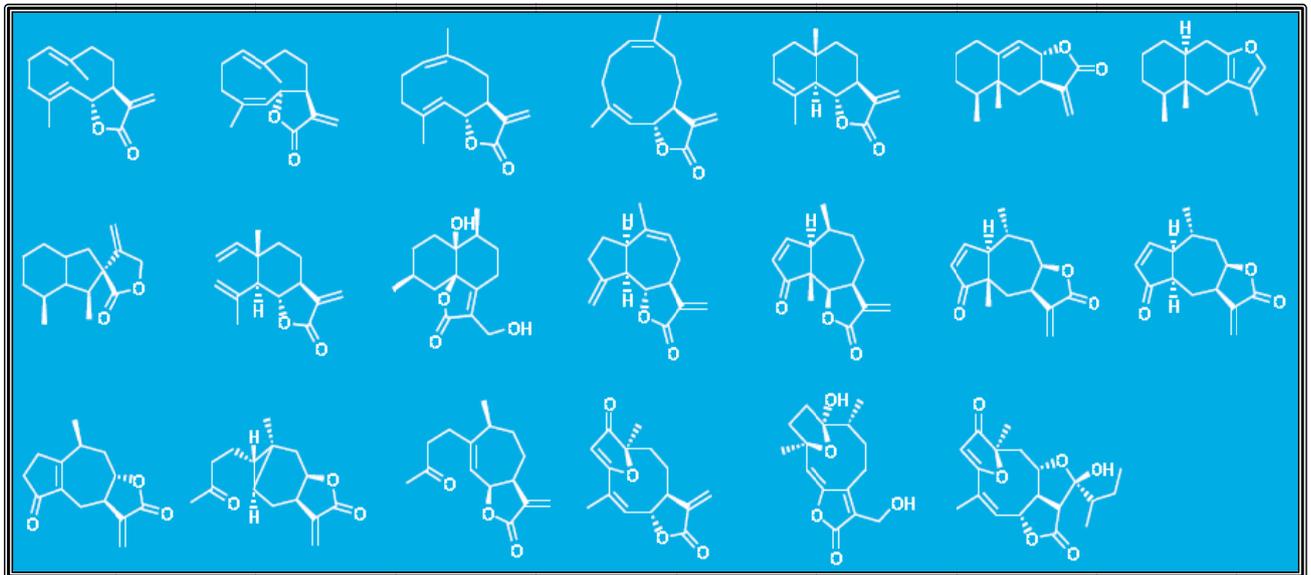
---

El Grupo de investigación de Productos Naturales Química Orgánica I ha venido desarrollando en los laboratorios del Departamento de Química de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, un programa del estudio de los componentes químicos de la flora canaria, en especial la correspondiente a la familia **Compositae (Asteraceae)**.

Los objetivos que se pretenden alcanzar en este trabajo son:

1. Realizar el estudio químico de especies endémicas de la República Dominicana pertenecientes al género *Eupatorium* (*Asteraceae*) mediante el aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios presentes en dichas especies.
2. Obtener resultados que ayuden a clarificar la posición taxonómica de dichas especies.
3. Realizar ensayos de actividad biológica con los productos obtenidos en los estudios químicos de dicho género, así como sus derivados, que pudieran ser de interés para su aplicación desde el punto de vista farmacológico.





### 3. QUÍMICA DEL GÉNERO *EUPATORIUM*



Los caracteres químicos han proporcionado valiosas pistas a la hora de clasificar diferentes taxones dentro de la familia Compositae a diferentes niveles jerárquicos. Como ejemplo tenemos las lactonas sesquiterpénicas que han sido empleadas para clarificar algunos géneros y es evidente que los datos químicos pueden ser útiles en la delimitación de grupos naturales, como un dato que puede aportar información que complementa otras informaciones. Por supuesto, esto no implica que los datos químicos deban ser considerados como datos concluyentes en todos los casos.

Las revisiones llevadas a cabo dentro de la tribu *Eupatorieae*<sup>4</sup> han centrado todo su estudio en el análisis de datos morfológicos y biogeográficos pero apenas han dedicado atención al estudio de los datos químicos de las distintas especies estudiadas. Por todo ello sería conveniente realizar un estudio químico de dichas especies con el fin de examinar el valor que dichos caracteres como marcadores taxonómicos.

Un hecho que hemos de tener en cuenta a la hora de considerar los aspectos químicos es que muchos taxonomistas no consideran la investigación fitoquímica de interés porque muchas veces los químicos solo consideran una clase de compuestos con la exclusión de otros. Por ejemplo, cuando solo se informa solamente de la presencia de las lactonas sesquiterpénicas en una determinada especie eso no implica que otros tipos de sesquiterpenos, diterpenos o flavonoides estén necesariamente ausente. Muchas veces suele ocurrir que el hecho de que no se informe de otros constituyentes puede ser una consecuencia del tipo de técnicas empleadas en la obtención de los extractos, de la parte de la planta que es objeto de estudio, de la cantidad de planta disponible, de la sensibilidad de los procedimientos analíticos empleados, o incluso de la paciencia y la habilidad del investigador.

Aunque los datos químicos pueden presentar algunos problemas, también pueden suponer algunas ventajas a efectos de la sistemática. Cuando en una especie se ha identificado un compuesto, este de alguna manera representa una característica propia del mismo. Además, a menudo es posible que dentro de un determinado tipo de compuestos químicos, estos se puedan relacionar con otros compuestos a partir del estudio de los procesos de su biosíntesis. A pesar de

---

<sup>4</sup> Herz, W. (2001). Chemistry of *Eupatoriinae*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29, 1115-1137.

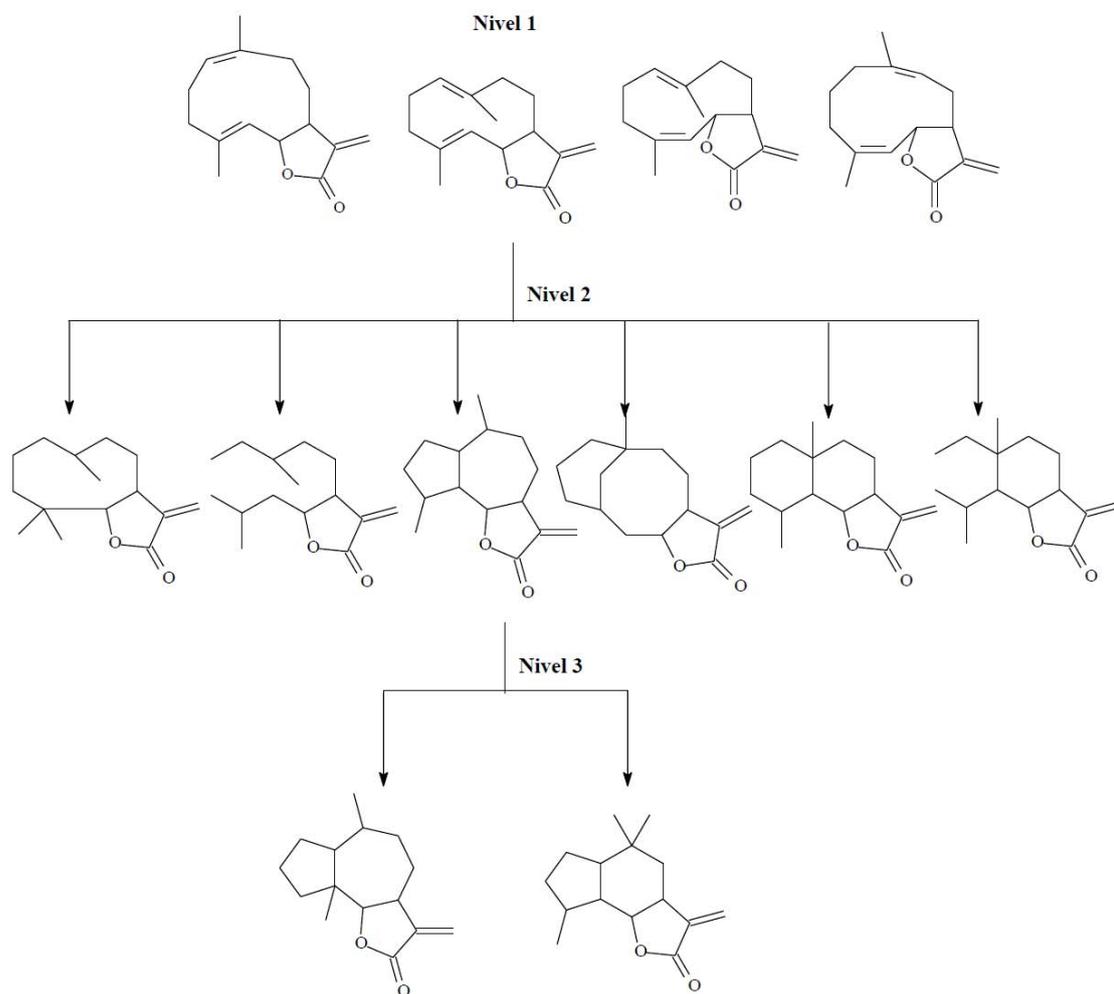
que los datos de procesos de biosíntesis en la familia Compositae son a menudo incompletos, se conocen buenas hipótesis sobre las posibles rutas de biosíntesis de productos naturales.

La mayoría de los estudios químicos realizados en Eupatorieae se han centrado en compuestos derivados de la ruta de biosíntesis de terpenoides. Estos compuestos terpenoides típicos, ya sea de forma individual o en combinaciones de unos con otros incluyen a compuestos derivados del tipo timol, sesquiterpenos y diterpenos con diferentes tipos de estructuras, así como benzofuranos y cromenos.

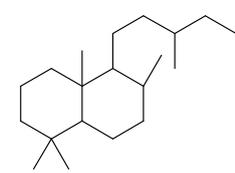
Como veremos en el estudio químico de las especies estudiadas, los Eupatorium producen una variedad extremadamente diversa y complicada de sesquiterpenos y diterpenos y es precisamente esta complejidad la que convierte a estos compuestos en posibles marcadores quimiotaconómicos. Dentro de los sesquiterpenos, las lactonas sesquiterpénicas son los compuestos que han despertado un mayor interés tanto para los químicos como para los taxonomistas.

Las lactonas sesquiterpénicas presentes en las plantas de este género presentan el agrupamiento  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -lactona, que actúa como un potente receptor para nucleófilos que pueden actuar inhibiendo las enzimas que contienen centros nucleófilos esenciales (grupos  $-\text{NH}_2$  y  $-\text{SH}$ ). Como consecuencia este tipo de compuestos presentan una actividad biológica, basada en sus propiedades alquilantes, como antibióticos, agentes citotóxicos, anticancerígenos, insecticidas, alergénicos y alelopáticos.

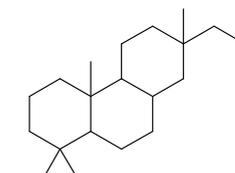
En el siguiente esquema se indican los diferentes tipos de esqueleto de lactonas sesquiterpénicas que se han encontrado de diferentes especies de la tribu según su grado de complejidad.



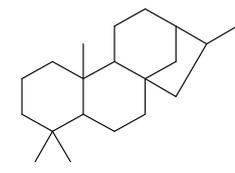
Los diterpenos aislados de Eupatorieae generalmente pertenecen a uno de los tipos de esqueletos que se indican.



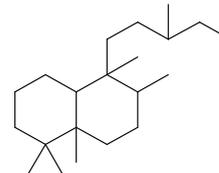
**Estructura Labdano**



**Estructura Pimarano**

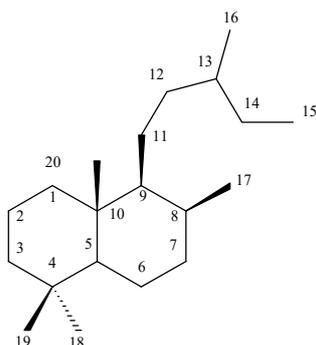


**Estructura Kaurano**

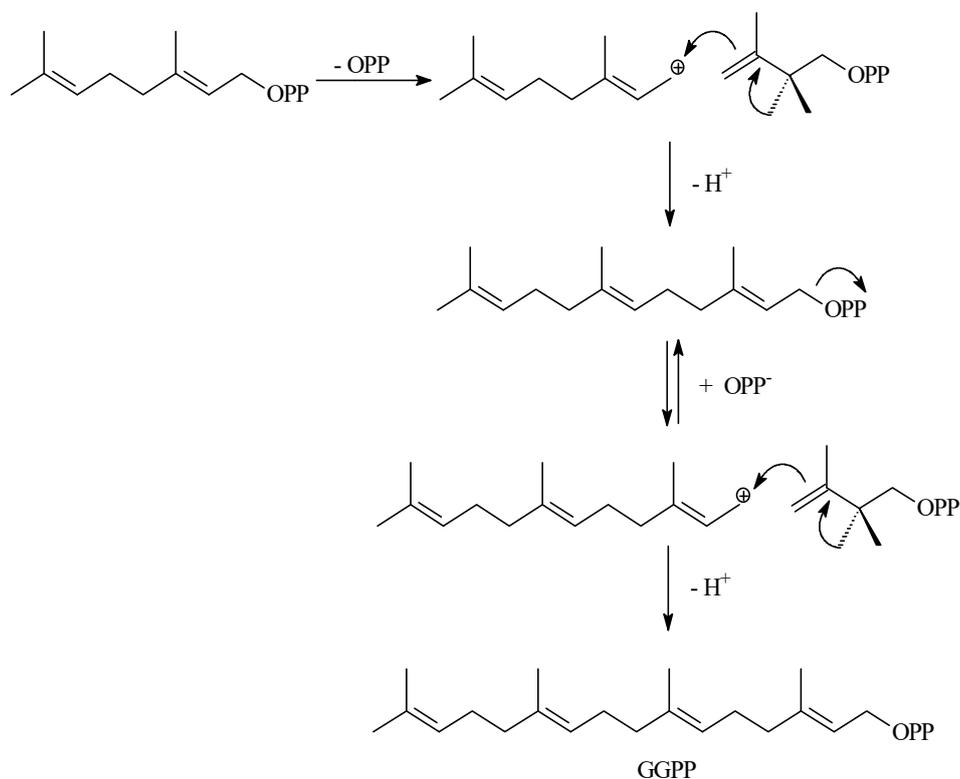


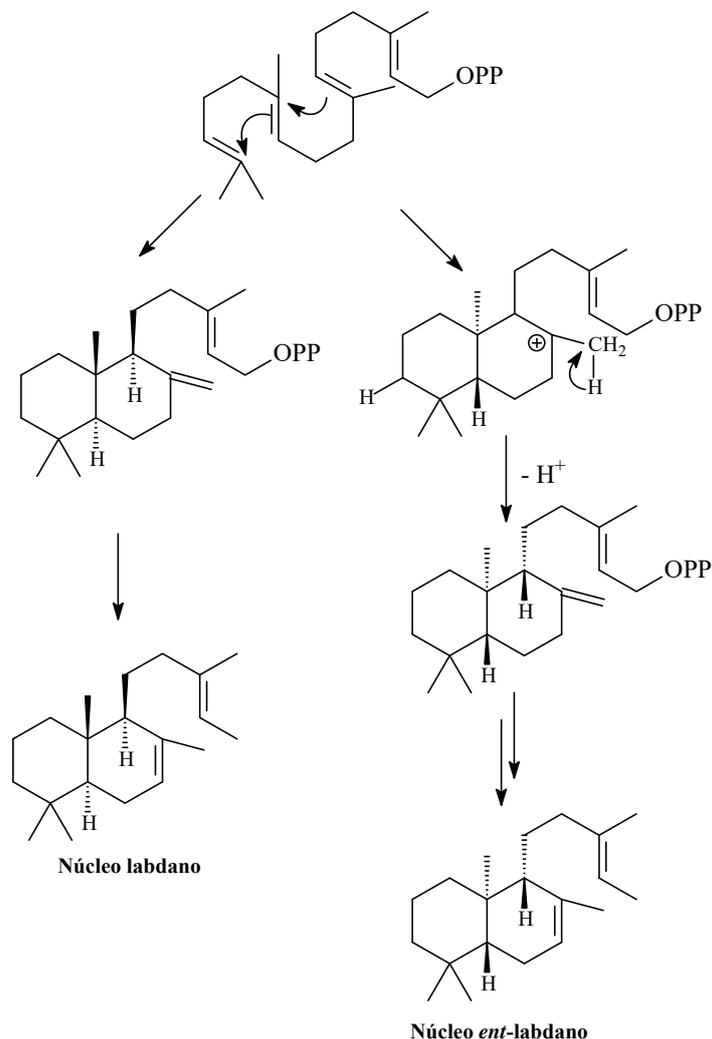
**Estructura Clerodano  
Kalovano**

Dentro del grupo de los diterpenos destacamos como grupo más significativo dentro del género el grupo de los labdanos. Se trata de compuestos bicíclicos que constituyen una fuente de productos naturales ampliamente distribuidos en la naturaleza, tanto en plantas terrestres como en organismos marinos sésiles como es el caso de las esponjas. Su estructura se basa en un esqueleto carbonado bicíclico del tipo *trans*-decalina.



El proceso de biosíntesis tiene lugar a partir del *trans, trans*-geranilgeranilpirofosfato (GGPP) iniciado por un ataque electrofílico al doble enlace más alejado del grupo pirofosfato.





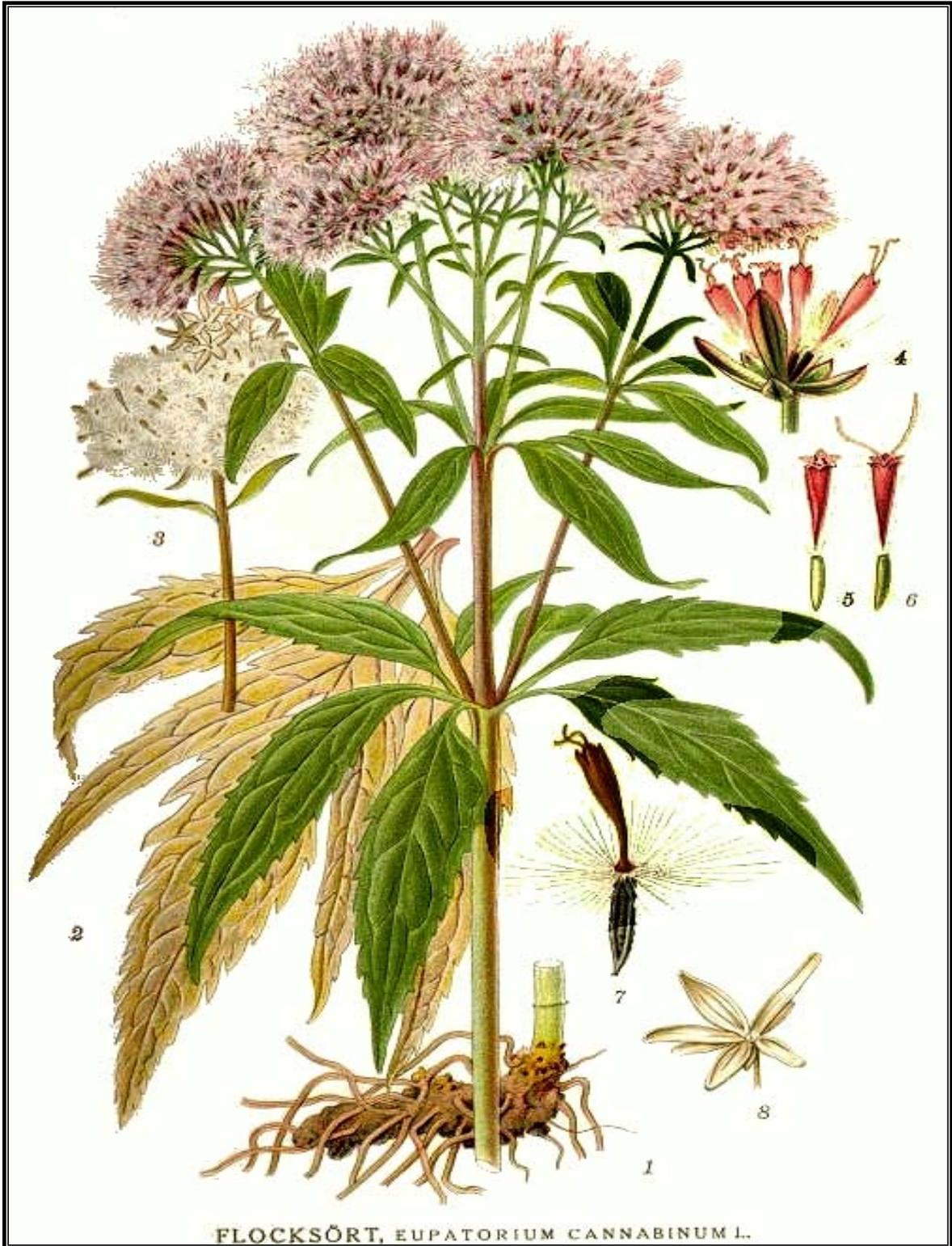
Los labdanos aislado de plantas y organismos marinos presentan una variedad de actividades biológicas como agentes antibacterianos, antivirales y antifúngicos, así como actividad citotóxica, como lo muestra el hecho de que algunos han sido empleados contra ciertos tumores humanos como la leucemia, lo cual los convierte en potenciales compuestos de interés farmacológico. Asimismo se ha demostrado su capacidad para actuar como agentes antiinflamatorios y como inhibidores de la agregación de plaquetas procesos que están implicados en afecciones como asma bronquial y alergias agudas.

Hemos de tener en cuenta que tanto para las lactonas sesquiterpénicas como para los diterpenos no solo los tipos de esqueleto son importantes desde un punto de vista taxonómico, sino también los patrones de sustitución y la estereoquímica.

Los componentes que se encuentran más frecuentemente en las especies de *Eupatorium* en sentido estricto en los núcleos de América del Norte y el este de Asia, son además de los terpenoides y triterpenoides comunes, las lactonas sesquiterpénicas del tipo germacrano, heliangólido y guayanólido, así como un elemadienólido aislado de *E. serotinum*. De hecho, todas las especies de Asia oriental estudiadas hasta ahora, incluyendo las diferentes subespecies o variedades de *E. chinense* han presentado uno o más de los tres tipos de lactonas indicados como todas las especies del grupo Uncasia con las excepciones de *E. álbum* y *E. petaloideum* que solamente elaboran diterpenos y *E. leucolepis* que no presenta ningún tipo de terpenoides. Otra excepción es el *E. pilosum* que no presenta lactonas sesquiterpénicas sino un derivado acetilado y un único tipo de lactonas (ver estructura). Un estudio químico de diferentes especies de *Eupatorium* ponen de manifiesto que dos especies de *E. chinense* así como *E. rotundifolium* se caracterizan por elaborar guayanólidos, mientras que *E. formosanum*, *F. fortunei*, *E. lancifolium*, *E. mikanioides*, *E. semiserratum* y *E. serotinum* parecen haberse especializado en la elaboración de germacranólidos, por otro lado *E. formosanum* y *E. lindleyanum* se caracterizan por la presencia de heliangólidos, mientras que el resto de las taxa producen dos o los tres tipos de compuestos.

Otro grupo de compuestos químicos aislados de las diferentes especies de *Eupatorium* lo constituyen los flavonoides. Un amplio estudio químico de este tipo de compuestos pone de manifiesto que no hay una clara diferenciación entre los mismos que permita sacar conclusiones.

Por todo ello vamos a centrar el análisis químico de las diferentes especies de *Eupatorium* que han sido estudiadas en aquellos compuestos más complejos que requieren un cierto grado de especificidad por parte de la planta y que en nuestro caso serán las lactonas sesquiterpénicas y los diterpenos.



#### 4. GÉNERO *EUPATORIUM* L.



#### 4.1 Descripción Botánica del Género *Eupatorium*.

Se trata de hierbas anuales o perennes que pueden formar arbustos o árboles pequeños y que ocasionalmente pueden trepadoras o escandentes. Hojas opuestas o con menos frecuencia alternas. Los capítulos se encuentran formando panículas corimbosas. Los capítulos son poco numerosos, homógamos, discoides, Los involucros campanulados o angostamente cilíndricos. Las filarias en 3-10 series, imbricadas a subimbricadas, raramente eximbricadas. Receptáculos planos o convexos. Flósculos poco a numerosos, perfectos. Las corolas son 5-lobuladas y con una coloración que va del blanco al rosado o lila, siendo raramente rojizas o amarillas. Los apéndices de las antenas son ovados. Las ramas del estilo bastante exertas en la antesis, con apéndices apicales abultados o agrandados. Los aquenios generalmente 4-5 angulados, los carpopodios variables. Los vilanos presentan de 20 a 60 cerdas capilares en una o raramente más series.

El género fue descrito por Carlos Linneo en 1763. El término *Eupatorium* es de origen griego y significa “*de padre noble*”. Parece ser que toma este nombre en referencia al Mitridates el Grande rey del Ponto en el siglo I A. C. de quién se cuenta que encontró un antídoto contra un veneno de la época en una planta de este género y a quién se le atribuye el primer uso en medicina,

Reino: Plantae

División: Tracheophyta

Subdivisión: Spermatophytina

Clase: Magnoliopsida

Superorden: Asteranae

Orden: Asterales

Familia; Compositae Giseke

Tribu: Eupatorieae Cass.

Subtribu: Eupatoriinae

#### 4.2 Etnofarmacología.

Muchas especies de *Eupatorium* son ricas en lactonas sesquiterpénicas que tienen el agrupamiento  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -lactona. Dichos compuestos pueden causar la desgranulación de los mastocitos y liberar histamina. Por lo tanto, los procesos tóxicos en los rumiantes que pastan especies de *Eupatorium* que contienen lactonas sesquiterpénicas pueden ser debidas a estos y a otros metabolitos secundarios presentes de dichas plantas. Los cuadros clínicos que se manifiestan dependerán de la abundancia relativa de las diferentes toxinas en las especies predominantes, en una particular región geográfica.

Diferentes plantas del género *Eupatorium*<sup>5</sup> se han utilizado en métodos tradicionales de medicina en diferentes partes del mundo. Extractos de *E. cannabinum* se han utilizado contra dolencias biliares, del bazo y el hígado y contra la diarrea, mordeduras de serpientes, úlceras, para la cicatrización de heridas, combatir la fiebre, como un diurético, antihelmíntico y como repelente contra los animales venenosos. Los extractos de hojas y raíces tienen actividad colerética, laxante y estimulante del apetito. Los extractos acuosos de *E. cannabinum* tiene actividad colerética y hepatoprotectora en ratones contra hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono. Las partes aéreas de *E. cannabinum* son empleadas como agentes inmunoestimulantes en casos de infección por gripe, como un remedio contra el estreñimiento, produciendo una disminución del nivel del colesterol y como diurético. Esta planta es empleada como ingrediente en medicinas inmunoestimulantes.

Extractos de *E. perfoliatum* han sido empleados contra fiebres, infecciones bronquiales, migraña, gusanos intestinales, resfriados, catarros, gripe, reumatismo, malaria y estreñimiento. Otras propiedades que presenta la planta son diaforéticas, laxativa, emética y catártica. Extractos de *E. cannabinum* y *E. perfoliatum* son conocidas como estimulantes de los mecanismos de defensa contra infecciones víricas. Ambas especies son empleadas en sistemas de medicina homeopática contra fiebres, enfermedades hepatobiliares y reumatismo. *E. buniifolium*, una planta medicinal encontrada en el noroeste y el centro de Argentina, es empleada como tintura por sus propiedades hepatoprotectoras y desinfectantes. El extracto etanólico de dicha planta muestra una

---

<sup>5</sup> Sharma, O.P., Dawra, R.K., Kurade, N.P., Sharma, P.D. (1998). A Review of the Toxicosis and Biological Properties of the genus *Eupatorium*. *Natural Toxins*, 6, 1-14.

buena actividad antiherpética contra virus del herpes simple. *E. rotundifolium*, *E. cuneifolium* y *E. semiserratum* han sido empleadas tradicionalmente para el tratamiento del cáncer. La especie *E. formosanum* es empleada en la medicina popular de Formosa por sus propiedades antileucémicas, antipiréticas, anti-inflamatorias y antitumorales.

Los constituyentes bioactivos de las especies de este género pertenecientes a los grupos de lactonas sesquiterpénicas, sesquiterpenos en general y flavonoides han sido investigados en diferentes plantas. Las lactonas sesquiterpénicas son conocidas por tener actividad antitumoral, citotóxica, antimicrobiana, fototóxica y fagorrepelente. Estos productos naturales son conocidos por producir envenenamiento en el ganado y dermatitis de contacto. Compuestos como el eupatólido y eupiformin que presentan actividad citotóxica y la eupiformosanol que actúa como principio antileucémico han sido aislados de *E. formosanum* recolectada en Taiwán. Un análisis de las partes aéreas de *E. lancifolium* dio como resultado la obtención de los compuestos eupacunin, eupacunolin y desacetileupacunin que presentan actividad citotóxica y antileucémica. De las diferentes especies del género se han aislado una gran variedad de lactonas sesquiterpénicas con diferentes tipos de actividad biológica lo que las convierte en una prometedora fuente de productos de interés.

En la medicina tradicional del Perú y Ecuador una decocción de las hojas y ramas del *E. glutinosum* se emplea como astringente, antirreumático y antimicrobiano, así como para la cura de úlceras de estómago, diarrea y dolor de cabeza. También el *E. salvia* se emplea en la medicina popular. De estas especies se han aislado diterpenos del tipo labdano. Asimismo del *E. macrocephalum* recolectado en el Paraguay y utilizado en la medicina popular como antiinflamatorio, sedativo y para afecciones cardíacas se han aislado diterpenos derivados del kaurano. Todo ello ha determinado un interés por el estudio de las especies de este género debido principalmente a la relevante actividad farmacológica que poseen muchos de estos compuestos.

### 4.3 Consideraciones Taxonómicas del Género *Eupatorium*.

Se define por *carácter* todo atributo, propiedad o particularidad de un organismo que es susceptible de evaluarse. Decimos que son caracteres taxonómicos cuando hacemos uso de ellos para llevar a cabo una clasificación.

Las características de morfología macroscópica que son fácilmente apreciables constituyen la base principal para la mayoría de las clasificaciones botánicas. Sin embargo, cuando el estudio comparado se realiza con mayor profundidad, para realizar una buena clasificación se recurre al examen y evaluación de las propiedades anatómicas, citológicas, fisiológicas y también químicas. Todas estas propiedades, estrictamente hablando, son características del fenotipo y en la mayoría de los casos la semejanza fenética sigue siendo fundamental para suponer la existencia de una relación. Por ello, decimos que *un buen carácter* es aquel que es relativamente estable porque revela escasa variación de una generación a otra y baja sensibilidad a los posibles cambios ambientales.

Si bien los caracteres exomorfológicos constituyen la base principal para realizar una clasificación, cada vez con más frecuencia la sistemática moderna tiende a apoyarse en los resultados obtenidos por diferentes líneas de trabajo, ya que pueden aportar más elementos de juicio y permiten establecer relaciones de parentesco sobre bases más amplias.

Una de estas posibles líneas de trabajo es la *Quimiotaxonomía* cuya función es proceder al estudio de la composición química de las plantas, partiendo del supuesto de que aquellas plantas que contienen un determinado tipo de sustancias pueden estar emparentadas entre sí.

No se puede negar que a veces los datos químicos pueden presentar algunos problemas, pero hay ejemplos en la bibliografía que ponen de manifiesto que en algunos casos han sido utilizados para resolver problemas taxonómicos a nivel genérico y que ponen de manifiesto que pueden proporcionar algunas ventajas únicas para los fines de la sistemática. Se parte del concepto de que cuando se identifica un determinado compuesto químico en una especie, este representa de alguna manera una característica inequívoca de la misma. Además, se pueden establecer relaciones entre una determinada clase de compuestos químicos a partir de la consideración de aspectos biosintéticos. A

partir de estos datos de los procesos de biosíntesis se pueden establecer relaciones más directas entre aquellas características fitoquímicas de una forma interpretable más directa que para otros tipos de datos taxonómicos, ya que sobre la base de la biosíntesis sería posible interpretar el hecho de que compuestos que a priori parecería que no están relacionados, se puede establecer vía procesos químicos la transformación de unos en otros.

El estudio químico de las diferentes especies del género *Eupatorium* estudiadas, tomando como base de partida la clasificación llevada a cabo por King y Robinson, pero considerando otras especies que en la bibliografía siguen siendo consideradas como pertenecientes a dicho género, se refleja en la siguiente tabla donde nos centramos en las lactonas sesquiterpénicas y en los diterpenos como caracteres taxonómicos.

Como se puede observar hay un gran predominio de las lactonas sesquiterpénicas y dentro de ellas son abundantes los germacranólidos y los guaianólidos, datos que si nos centramos en la clasificación llevada a cabo por King y Robinson podemos ver que, de forma general, apoyarían dicha propuesta tomando como caracteres los compuestos lactónicos con la excepción del *E. álbum*, especie en la que los metabolitos secundarios presentes son diterpenos del tipo kaurano.

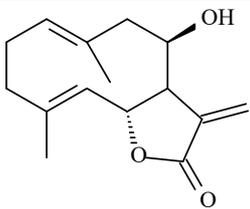
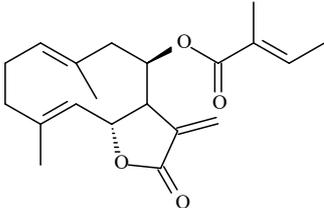
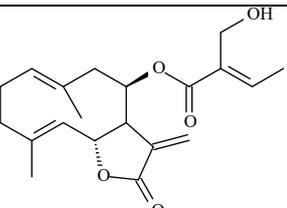
Hay dos especies, *E. capillifolium* y *E. semialatum* donde se detectan también lactonas sesquiterpénicas pero en este caso con esqueleto de tipo eudesmanólido y guayanólido.

Otro grupo estaría constituido por aquellas especies que se caracterizan por la elaboración de diterpenos con predominio de los que elaboran derivados del labdano y dos especies que presentan diterpenos derivados del kaurano. Todas estas especies a excepción del *E. álbum* están situadas geográficamente en América del Sur y estarían químicamente relacionadas con un género segregado de *Eupatorium* por King y Robinson pero que desde un punto de vista botánico está estrechamente relacionado con el mismo, nos referimos al término *Austroeupatorium* donde especies como el *A. inulaefolium* también presentan un predominio de diterpenos como metabolitos secundarios.

Especie	TIPO DE ESTRUCTURA					
	Germacrano	Guaiano	Eudesmano	Labdano	Kaurano	Otros comp.
<i>E. album</i> L.					+	
<i>E. altissimum</i> L.	+	+				
<i>E. anomalum</i>	+	+				
<i>E. capillifolium</i> (Lam.) Small		+	+			
<i>E. cuneifolium</i> Willd.	+					
<i>E. hyssopifolium</i> L.	+					
<i>E. lancifolium</i> (Torr. & A. Gray) Small	+					
<i>E. leptophyllum</i> DC.						flavonoides
<i>E. leucolepis</i> (DC.) Torr & A. Gray						flavonoides
<i>E. mikanioides</i> Chapm.	+					
<i>E. mohrii</i> Greene	+	+				
<i>E. perfoliatum</i> L.	+	+				
<i>E. petaloideum</i>						
<i>E. pilosum</i> Walt.						Ácidos $\delta$ -lactónicos
<i>E. recurvans</i> Small	+					
<i>E. rotundifolium</i> L.	+	+				
<i>E. semiserratatum</i> DC.	+					
<i>E. serotinum</i> Michx.	+	+				
<i>E. sessilifolium</i> L.	+	+				
<b>Zona Europa, Norte Africa, India</b>						
<i>E. cannabinum</i>	+	+		+		
<b>Zona Asiatica</b>						
<i>E. chinense</i> L.	+	+				
<i>E. glehnii</i> (= <i>E. chinense</i> )	+	+				
<i>E. japonicum</i> (= <i>E. chinense</i> )		+				
<i>E. sachalinense</i> (= <i>E. chinense</i> )	+					
<i>E. formosanum</i> Hoyata	+					
<i>E. fortunei</i> Turcz.	+					
<i>E. lindleyanum</i>	+	+				
<b>Otras especies</b>						
<i>E. arnottianum</i>						flavonoides
<i>E. ascherbonianum</i>						cromenos
<i>E. bunifolium</i>				+		
<i>E. betonicaeforme</i>	+					
<i>E. coelestinum</i>						benzofuranos
<i>E. glandulosum</i>						flavonoides
<i>E. glutinosum</i>				+		
<i>E. hualinense</i>	+					
<i>E. kiirunense</i>	+					
<i>E. macrocephalum</i>					+	
<i>E. maculatum</i>		+				
<i>E. semialatum</i>		+	+			
<i>E. salvia</i>				+		
<i>E. turbinatum</i>				+		
<i>E. villousm</i>				+		

#### 4.4 Revisión bibliográfica de Lactonas Sesquiterpénicas en el género *Eupatorium*.

Al ser consideradas las lactonas sesquiterpénicas como metabolitos secundarios de gran interés biológico y como posibles marcadores taxonómicos hemos llevado a cabo una revisión de este tipo de compuestos presentes en este género. Dicha revisión bibliográfica se ha llevado a cabo agrupando dichos compuestos según el tipo de esqueleto.

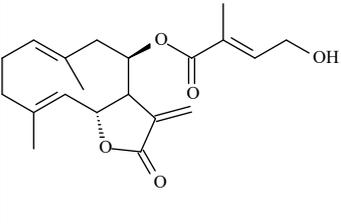
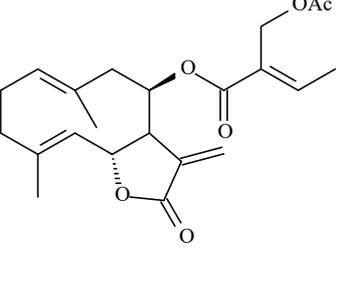
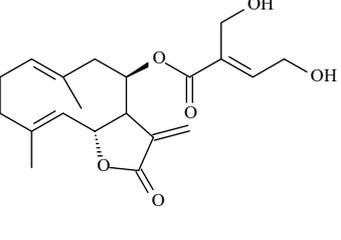
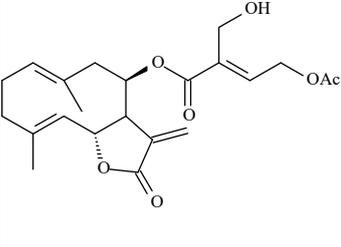
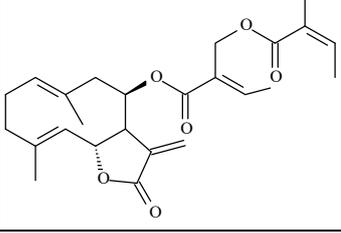
LACTONAS TIPO GERMACRANOLIDA		
COMPUESTO	ESTRUCTURA	ESPECIE
<i>Eupatolido</i>		<i>E. cannabinum</i> <sup>6</sup> <i>E. formosanum</i> <sup>7</sup> <i>E. serotinum</i> <sup>23</sup>
<i>7β-tigloiloxicostunolido</i>		<i>E. serotinum</i> <sup>8</sup>
<i>Desoxiruapatoripicrin</i>		<i>E. serotinum</i> <sup>9</sup>

<sup>6</sup>Zdero, C., Bohlmann, F. (1987). *Eupatoriopicrin 19-O-linolenato and other constituents from Eupatorium cannabinum*. *Planta Medica*, 53, 169-172.

<sup>7</sup>Lee, K.H., Huang, H.C., Huang, E.S., Furukawa, H. (1972). *Antitumor agents. Eupatolide, a new cytotoxic principle from Eupatorium formosanum*. *J. Pharm. Sci.*, 61, 629-631.

<sup>8</sup>Bohlmann, F., Zdero, C., King, R.H., Robinson, H. (1985). *Further germacranolides from Eupatorium serotinum*. *Planta Medica*, 51, 76-77.

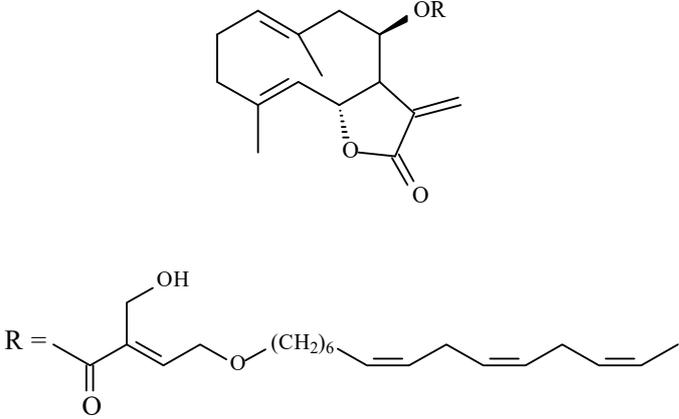
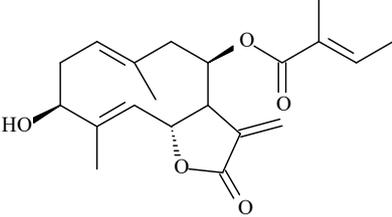
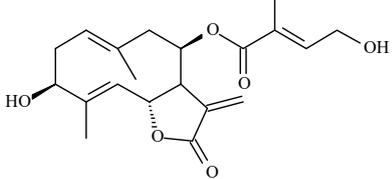
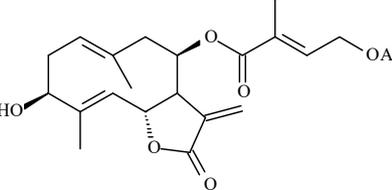
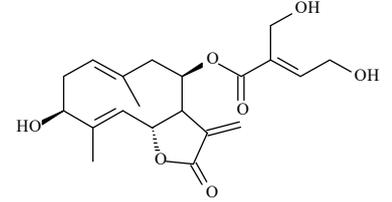
<sup>9</sup>Bohlmann, F., Baneijec, S., King, R.H., Robinson, H. (1984). *Additional germacranolides from Eupatorium serotinum*. *Phytochemistry*, 23, 2654-2661.

<p><b><i>8β-(4'-hidroxitigloiloxi) costunilido</i></b></p>		<p><b><i>E. cannabinum</i><sup>5</sup></b></p>
		<p><b><i>E. serotinum</i><sup>8</sup></b></p>
<p><b><i>Eupatoriopicrin</i></b></p>		<p><b><i>E. cannabinum</i><sup>10</sup> <i>E. chinense</i><sup>11</sup> <i>E. lindleyanum</i><sup>12</sup> <i>E. glehnii</i></b></p>
<p><b><i>8β-(4'-acetoxi-5'-hidroxitigloiloxi) costunolido</i></b></p>		<p><b><i>E. cannabinum</i><sup>5</sup></b></p>
		<p><b><i>E. cannabinum</i><sup>5</sup></b></p>

<sup>10</sup>Dolejs, L., Herout, V. (1962). *Constitution of eupatoriopicrin, a germacranolide from Eupatorium cannabinum*. Coll. Czech. Chem. Commun. 27, 2654-2661.

<sup>11</sup>Ito, K., Sakakibara, Y., Haruna, H., Lee, K.H. (1979). *Four new germacranolide from Eupatorium lindleyanum* D.C. Chem. Lett. 1469-1472.

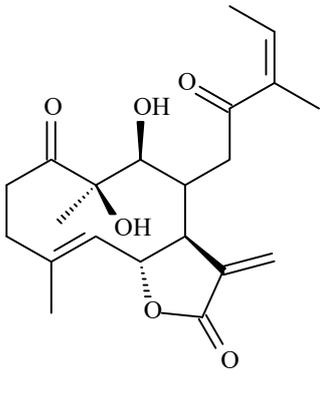
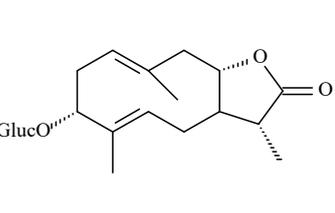
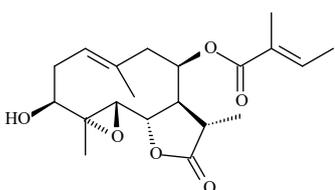
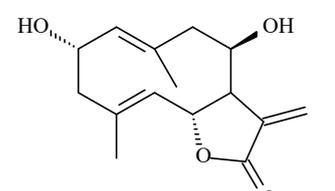
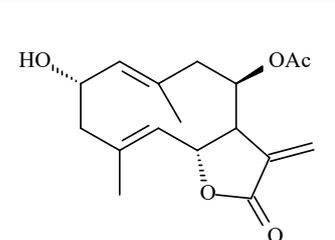
<sup>12</sup>Haruna, H. Sakakibara, Y., Ito, K. (1986). *Structure and stereochemistry of eupafortin, a new germacrane-type sesquiterpene lactone from Eupatorium fortunei*. Turcz. Chem. Pharm. Bull. 34, 5157-5160.

<p><b><i>Eupatopicrin</i></b> <b><i>19-O-</i></b> <b><i>linelenoato</i></b></p>		<p><b><i>E. cannabinum</i></b><sup>5</sup></p>
<p><b><i>3β-hidroxi-8β-</i></b> <b><i>tigloiloxi-</i></b> <b><i>costunolido</i></b></p>		<p><b><i>E. sessilifolium</i></b><sup>13</sup></p>
<p><b><i>3β-hidroxi-8β-</i></b> <b><i>tigloiloxi</i></b> <b><i>costunolido</i></b></p>		<p><b><i>E. altissimum</i></b><sup>14</sup></p>
<p><b><i>4'-O-acetato</i></b> <b><i>4E-deacetil</i></b> <b><i>chromaloenide</i></b></p>		<p><b><i>E. altissimum</i></b><sup>15</sup></p>
<p><b><i>Deacetil</i></b> <b><i>chromaloenide</i></b></p>		<p><b><i>E. altissimum</i></b><sup>14</sup> <b><i>E. cannabinum</i></b><sup>11</sup></p>

<sup>13</sup>Bohlmann, F., Dutta, L.N., Robinson, H., King, R.H. (1979). *Neue sesquiterpenlactone aus Eupatorium sessilifolium*. Phytochemistry, 23, 1189-1190.

<sup>14</sup>Jakupovic, J., Sun, H., Bohlmann, F., King, R.H. (1987). Further sesquiterpene lactones *Eupatorium altissimum*. Planta Medica, 53, 97-98.

<sup>15</sup>Boeker, R., Jakupovic, J., Bohlmann, F., King, R.H., Robinson, H. (1986). *Further heliangolides and guaianolides from Eupatorium altissimum*. Phytochemistry, 25, 1669-1672.

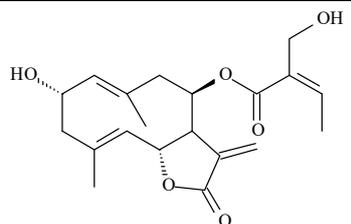
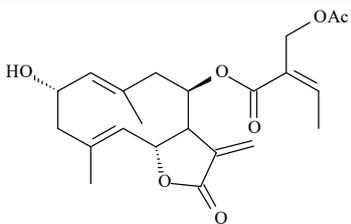
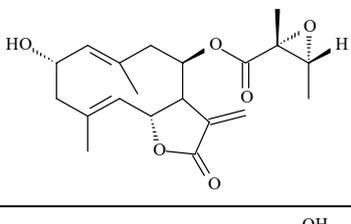
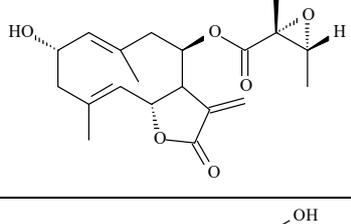
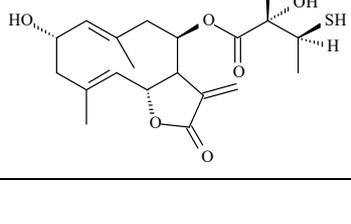
<p><b><i>4E-8β-angeloiloxi-9β-10β-dihidroxi-oxogermacra-4,11(13)-dien-12,6α-olida</i></b></p>		<p><b><i>Eupatorium betonicaeforme</i><sup>16</sup></b></p>
<p><b><i>3α-glucósido de germacradienolido</i></b></p>		<p><b><i>E. altissimum</i><sup>17</sup></b></p>
<p><b><i>Euperfolin</i></b></p>		<p><b><i>E. perfoliatum</i><sup>18</sup></b></p>
<p><b><i>2α-hidroxiopatolido</i></b></p>		<p><b><i>E. mikanioides</i><sup>19</sup></b></p>
<p><b><i>8β-acetoxi-2α-hidroxicostunolido</i></b></p>		<p><b><i>E. cannabinum</i><sup>5, 11</sup></b></p>

<sup>16</sup>Rocha, D.D., Dantas, I.N.F., Albuquerque, M.R.J.R., Montenegro, R.C., Pessoa, C., de Moares, M.O., Pessoa, O.D.L., Silveira, E.R., Costa-Lotufo, L.V. (2007). *Studies on the Cytotoxicity of Miscellaneous Compounds from Eupatorium betonicaeforme* (D.C.) BAKER (Asteraceae). *Chemistry & Biodiversity* 4, 2835-2844.

<sup>17</sup>Herz, W., Ramakrishnan, G., Murari, R. (1978). *A glycosidic germacradienolide from Eupatorium altissimum*. *Phytochemistry*, 17, 1051-1054.

<sup>18</sup>Herz, W., Kalyanaraman, P.S., Ramakrishnan, G., Blount, J.F. (1977). *Sesquiterpene lactones of Eupatorium perfoliatum*. *J. Org. Chem.* 42, 2264-2271.

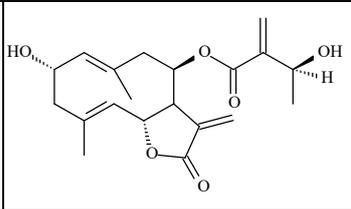
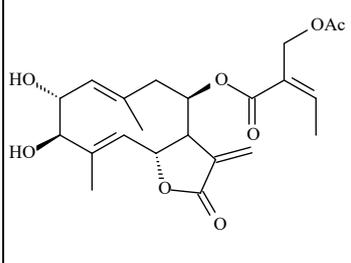
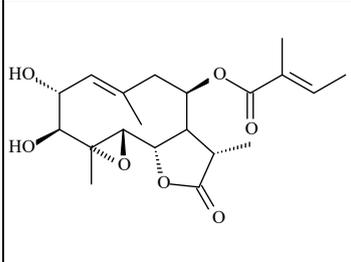
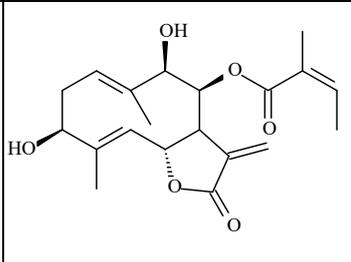
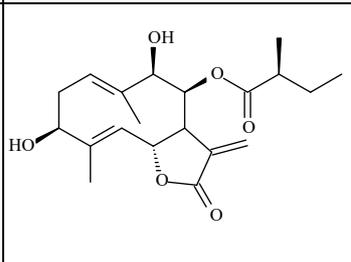
<sup>19</sup>Herz, W., Kumar, N., Blount, J.F. (1980). *A thiol-containing ester side chain in a sesquiterpene lactone from Eupatorium mikanioides. Absolute configuration of desacetyleupaserrin and its congeners*. *J. Org. Chem.* 45, 489-483.

<b><i>Desacetileupaserrin</i></b>		<i>E. lancifolium</i> <sup>20</sup> <i>E. mikanioides</i> <sup>18</sup> <i>E. chinense</i> <i>E. scabridum</i> <sup>21</sup> <i>E. semiserratun</i> <sup>19</sup>
<b><i>Eupaserrin</i></b>		<i>E. semiserratun</i> <sup>19</sup> <i>E. cuneifolium</i> <sup>22</sup> <i>E. chinense</i> <i>E. scabridum</i> <sup>21</sup>
<b><i>Mollisorin B</i></b>		<i>E. mikanioides</i> <sup>18</sup>
		<i>E. mikanioides</i> <sup>18</sup>
		<i>E. mikanioides</i> <sup>18</sup>

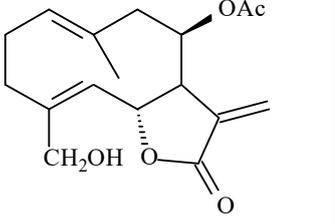
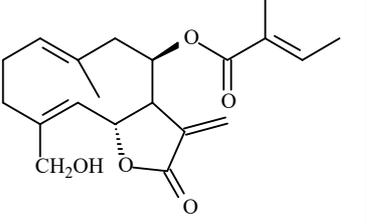
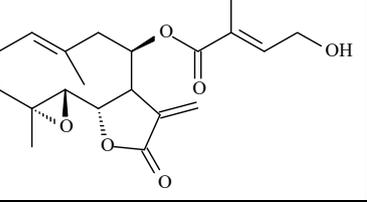
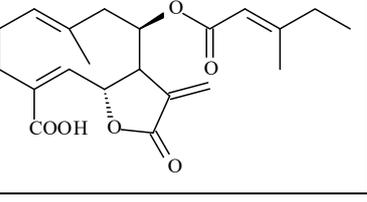
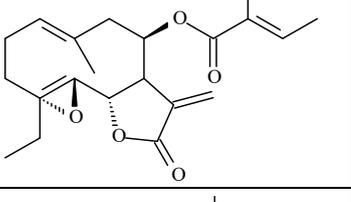
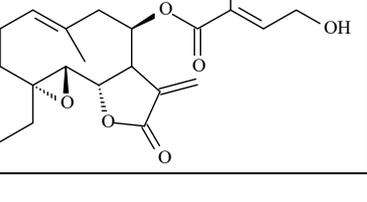
<sup>20</sup>Herz, W., Govindan, S., Kumar, N. (1981). *Sesquiterpene lactones and other constituents of Eupatorium lancifolium and E. semiserratun*. *Phytochemistry* 20, 1343-1347.

<sup>21</sup>Herz, W., Kulantaivel P. (1973). *Sesquiterpene lactones of Eupatorium scabridum*. *Phytochemistry* 21, 2475-2479

<sup>22</sup>Kupchan, S.M., Maruyama, H., Hemingway, R.J., Hemingway, J.R. Shibuya, S., Fujita, T. (1973). *Structural elucidation of novel tumor-inhibitory sesquiterpene lactones from Eupatorium cuneifolium*. *J. Org. Chem.* 38, 2189-2196.

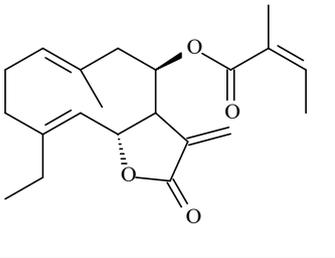
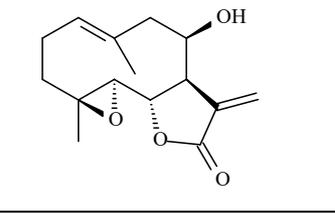
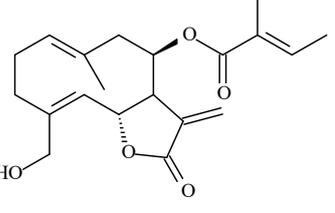
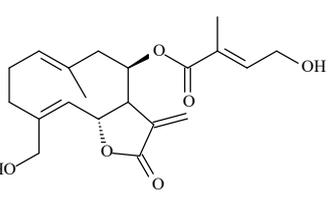
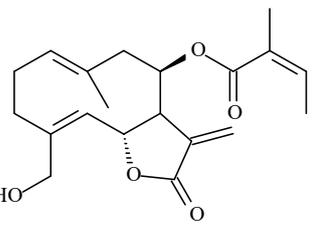
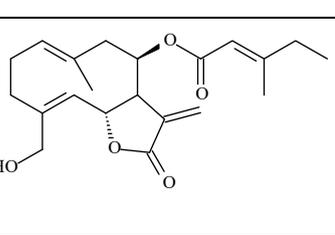
		<i>E. mikanioides</i> <sup>18</sup>
		<i>E. lancifolium</i> <sup>19</sup>
<i>Euperfolitin</i>		<i>E. perfoliatum</i> <sup>17</sup>
		<i>E. scabridum</i> <sup>20</sup>
		<i>E. rotundifolium</i> L. <i>ssp. ovatum</i> <sup>23</sup>

<sup>23</sup>Bohlmann, F., Zdero, C., Grenz, M. (1977). Weitere Inhaltsstoffe aus Vertretern der Eupatorium-Gruppe. Chemische Berichte 110, 1034-1041.

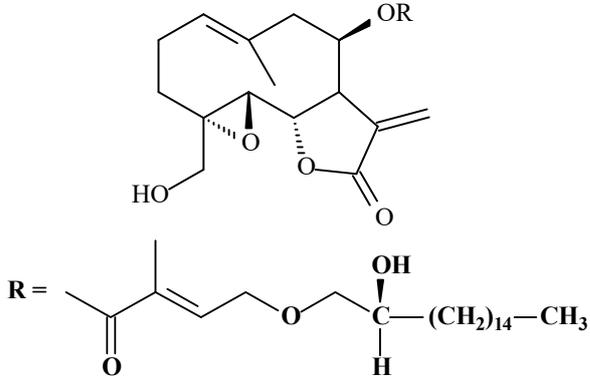
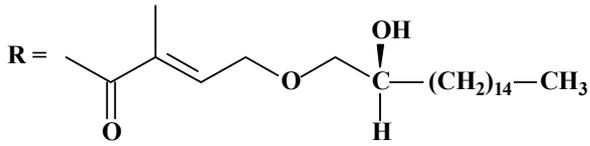
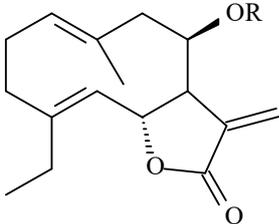
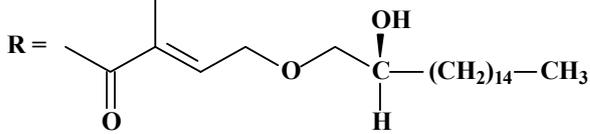
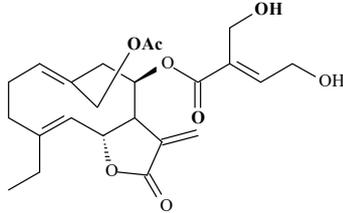
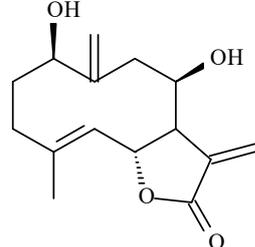
<b><i>8β-acetoxi-15-hidroxi costunolido</i></b>		<b><i>E. serotinum</i><sup>8</sup></b>
<b><i>8β-angeloiloxi-15-hidroxicostunolido</i></b>		<b><i>E. serotinum</i><sup>8</sup></b>
<b><i>Eupahyssopilin</i></b>		<b><i>E. hyssopifolium</i><sup>22</sup></b>
<b><i>Euserotin</i></b>		<b><i>E. serotinum</i><sup>24</sup></b>
		<b><i>E. serotinum</i><sup>23</sup></b>
<b><i>Eupahyssopin</i></b>		<b><i>E. hyssopifolium</i><sup>25</sup></b>

<sup>24</sup>Herz, W., de Groote, R., Murari, R., Kumar, N., Blount, J.F. (1979). *Sesquiterpene lactones of Eupatorium serotinum*. J. Org. Chem. 44, 2784-2788.

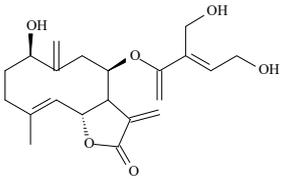
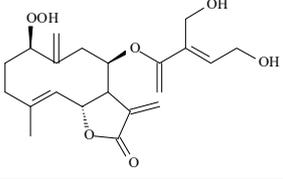
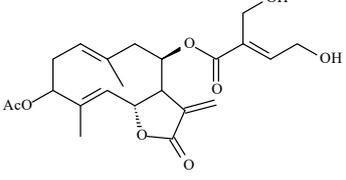
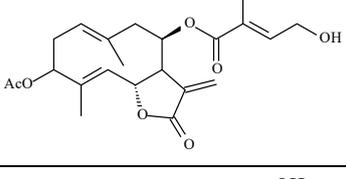
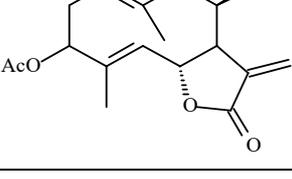
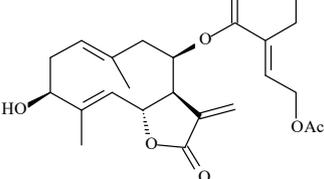
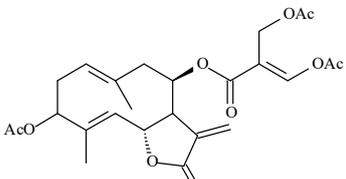
<sup>25</sup>Herz, W., Sharma, R.P. (1976) *Sesquiterpene lactones of Eupatorium hyssopifolium. A germacranolide with an unusual lipid ester chain*. J. Org. Chem. 41, 1015-1020.

		<i>E. hyssopifolium</i> <sup>22</sup>
<i>8β-hidroxi partenolido</i>		<i>E. serotinum</i> <sup>7, 8</sup>
<i>8β-angeloiloxi-15-hidroxicostunolido</i>		<i>E. serotinum</i> <sup>7</sup>
		<i>E. hyssopifolium</i> <sup>25, 26</sup>
		<i>E. serotinum</i> <sup>7</sup>
		<i>E. serotinum</i> <sup>7</sup>

<sup>26</sup>Lee, K.H., Kimura, T., Okamoto, M., Cowherd, C.M., McPhail, A.T., Oman, K.D. (1976). *The structure and stereochemistry of eupahyssopin, a new antitumor germacranolide from Eupatorium hyssopifolium*. Tetrahedron Letters, 17, 1051-1054.

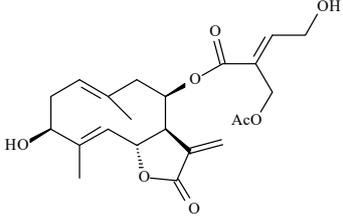
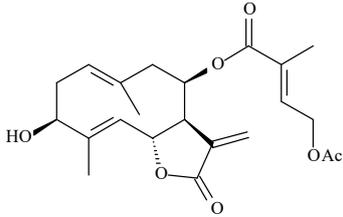
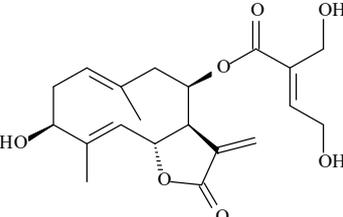
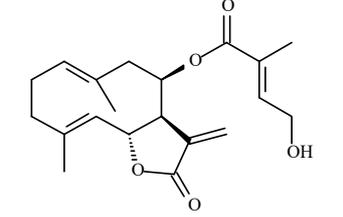
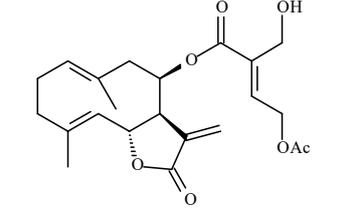
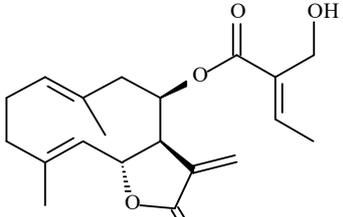
<i>Eupahyssifilin</i>	 <p>R = </p>	<i>E. hyssopifolium</i> <sup>25</sup>
	 <p>R = </p>	<i>E. hyssopifolium</i> <sup>23</sup>
<i>Eupafortunin</i>		<i>E. fortunei</i> <sup>11</sup>
<i>Sachalin</i>		<i>E. sachalinense</i> (= <i>E. glehnii</i> ) <sup>27</sup>

<sup>27</sup>Ito, K., Sakakibara, Y., Haruna, H. (1979). New sesquiterpene lactones from *Eupatorium sachalinense* (Fr. Schmidt) Makino. Chem. Lett. 1503-1506.

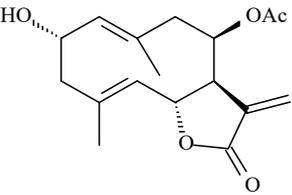
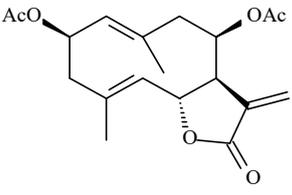
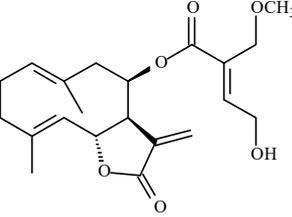
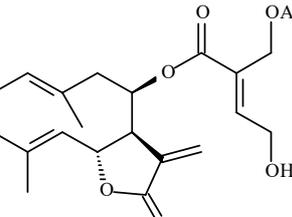
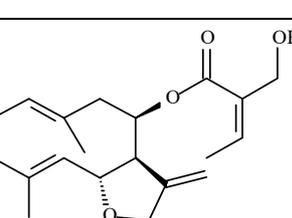
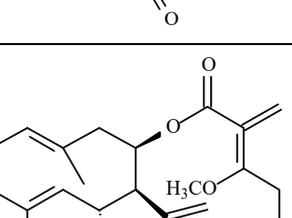
<b><i>Sachalinin</i></b>		<b><i>E. sachalinense</i> (= <i>E. glehnii</i>)<sup>26</sup></b>
<b><i>Peroxisachalinin</i></b>		<b><i>E. sachalinense</i> (= <i>E. glehnii</i>)<sup>26</sup></b>
<b><i>Hiyodorilactona A</i></b>		<b><i>E. sachalinense</i> (= <i>E. glehnii</i>)<sup>28</sup></b>
<b><i>Hiyodorilactona B</i></b>		<b><i>E. sachalinense</i> (= <i>E. glehnii</i>)<sup>27</sup> <i>E. lindleyanum</i><sup>48</sup></b>
<b><i>Hiyodorilactona C</i></b>		<b><i>E. sachalinense</i> (= <i>E. glehnii</i>)<sup>27</sup></b>
<b><i>Hiyodorilactona D</i></b>		<b><i>E. sachalinense</i> (= <i>E. glehnii</i>)<sup>27,29</sup></b>
<b><i>Hiyodorilactona F</i></b>		<b><i>E. sachalinense</i> (= <i>E. glehnii</i>)<sup>28</sup></b>

<sup>28</sup>Takahashi, T., Ito, H., Ichimura, ., Murae, T. (1978). *Hiyodori lactones A and B, new tumor inhibitory germacradienolides from Eupatorium sachalinense* Makino. Chem. Lett, 1345-1348.

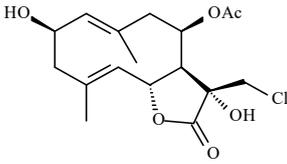
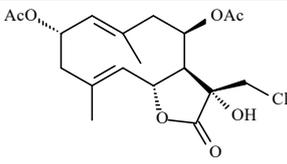
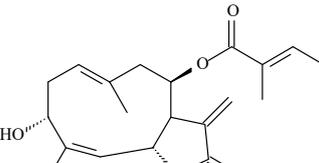
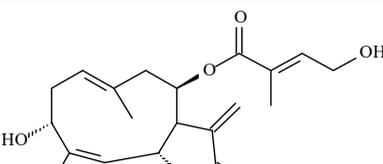
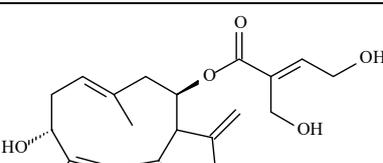
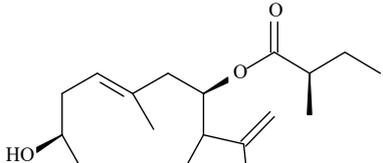
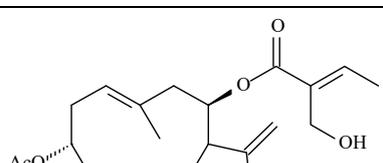
<sup>29</sup>Takahashi, T., Ichimura, ., Murae, T. (1979). *Hiyodori lactones D, E and B, new cytotoxic sesquiterpene lactones from Eupatorium sachalinense* Makino. Chem. Lett, 1345-1348.

<i>Hiyodorilactona E</i>		<i>E. sachalinense</i> (= <i>E. glehnii</i> ) <sup>28</sup>
<i>4'-O-acetato de 4E-deacetil chromolaenide</i>		<i>E. glehnii</i> <sup>30</sup>
<i>Deacetilhiyodorilactona D</i>		<i>E. glehnii</i> <sup>29</sup>
<i>5'-deoxi eupatoriopicrin</i>		<i>E. glehnii</i> <sup>27</sup>
<i>4-O'-acetato de eupatoriopicrin</i>		<i>E. glehnii</i> <sup>29</sup>
<i>4'-deoxo eupatoriopicrin</i>		<i>E. glehnii</i> <sup>29</sup>

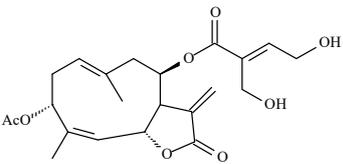
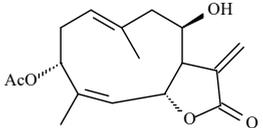
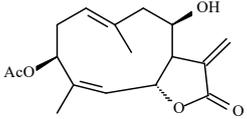
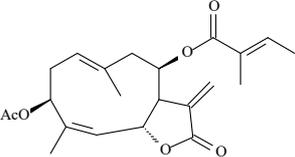
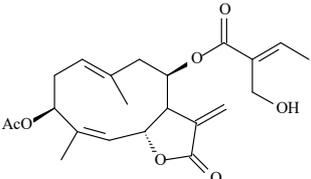
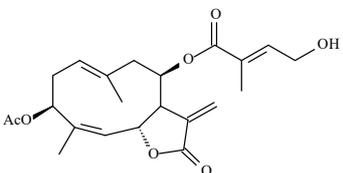
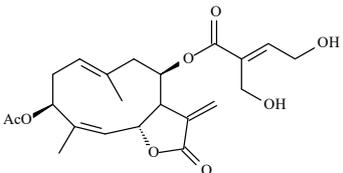
<sup>30</sup>Motoo, T., Norie, M., Naoko, H., Saito, Y., Katsuyuki, N., Masakazu, S., Masami, T., Akiko, U., Hiroshi, H. (2008). *New Sesquiterpenoids isolated from Eupatorium glehnii. Isolation of Guaiaglehmin A, structure revision of Hiyodorilactone B, and genetic comparison.* Chem. Pharm. Bull. 56(5), 677-681.

<i>2α-hidroxi epitulipinolido</i>		<i>E. glehnii</i> <sup>29</sup>
<i>2β-acetoxi epitulipinolido</i>		<i>E. glehnii</i> <sup>29,31</sup>
<i>Eupaglehnin A</i>		<i>E. glehnii</i> <sup>30</sup>
<i>Eupaglehnin B</i>		<i>E. glehnii</i> <sup>30</sup>
<i>Eupaglehnin C</i>		<i>E. glehnii</i> <sup>30</sup>
<i>Eupaglehnin D</i>		<i>E. glehnii</i> <sup>30</sup>

<sup>31</sup>Motto, T., Yoshiko, T., Hiroe, K., Katsuyuki, N., Masakazu, S. (2002). Seven germacranolides A, B, C, D, E, and F, and 2α-Acetoxyepitulipinolide from *Eupatorium glehnii*. Chem. Pharm. Bull., 50(9), 1250-1254.

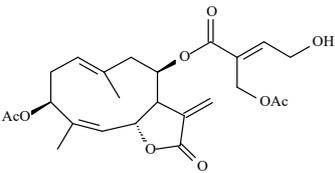
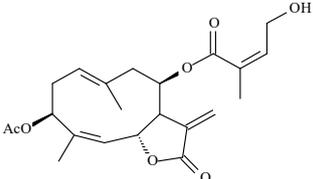
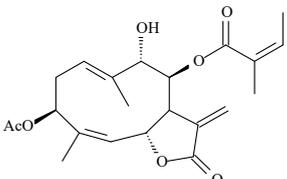
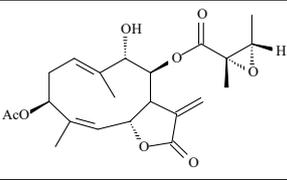
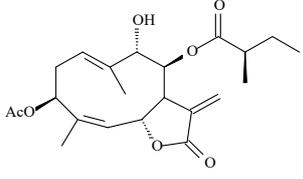
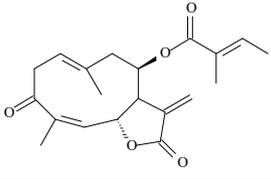
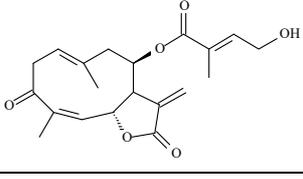
<i>Eupaglehnin E</i>		<i>E. glehnii</i> <sup>30</sup>
<i>Eupaglehnin F</i>		<i>E. glehnii</i> <sup>30</sup>
<i>8-O-tiglatoeupaformin</i>		<i>E. altissimum</i> <sup>10</sup>
<i>Deacetyl 8-O-(4'-hidroxi tiglate)eupaformin</i>		<i>E. altissimum</i> <sup>10</sup>
<i>Deacetyl-8-O-(4',5'-dihidroxi tiglate)eupaformin</i>		<i>E. altissimum</i> <sup>10</sup>
		<i>E. altissimum</i> <sup>10</sup>
		<i>E. chinense</i> <i>var. simplicifolium</i> <sup>32</sup>

<sup>32</sup>Takahashi, T., Utagawa, S., Murae, T. (1980). *The antitumor agents eupasimplicin A and B of Eupatorium chinense simplicifolium*. Koen Yoshishu-Koryo. Terupen oyobi Seiyō Kagaku ni, hansuru. Toronkai 23rd 1979, 276-278. Chemical Abstracts 93, 114734t.

<i>Eupaformosanin</i>		<i>E. formosanum</i> <sup>33</sup> <i>E. chinense</i> <sup>44</sup>
<i>Eupaformonin</i>		<i>E. formosanum</i> <sup>34</sup>
		<i>E. cannabium</i> <sup>5</sup> <i>E. chinense</i> var. <i>sachalinense</i> <sup>27, 28</sup>
		<i>E. cannabium</i> <sup>5</sup>
		<i>E. chinense</i> var. <i>simpliciforum</i> <sup>31</sup>
		<i>E. altissimum</i> <sup>10</sup> <i>E. cannabium</i> <sup>5</sup>
		<i>E. altissimum</i> <sup>10</sup> <i>E. cannabium</i> <sup>5</sup> <i>E. chinense</i> var. <i>sachalinense</i> . (= <i>E. glehnii</i> ) <sup>27, 28</sup>

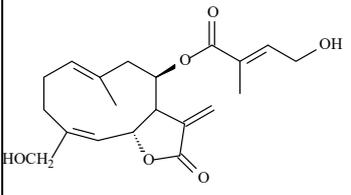
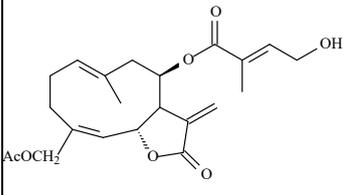
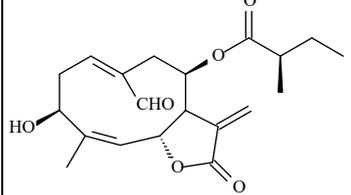
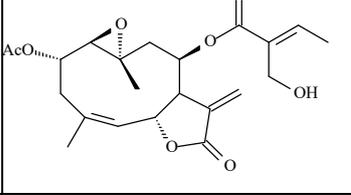
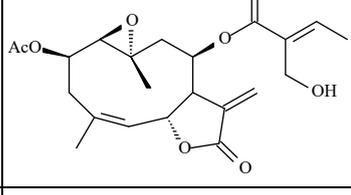
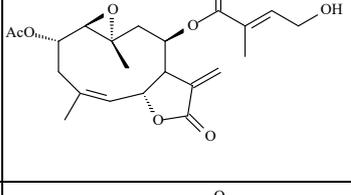
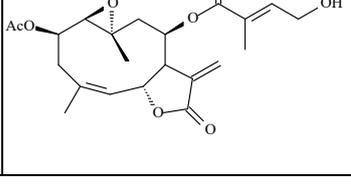
<sup>33</sup>McPhail, A.T., Onan, K.D., Lee, K.H., Ibuka, T., Huang, H.C. (1974). Structure and stereochemistry of eupaformin, a novel cytotoxic sesquiterpene lactone from *Eupatorium formosanum* Teterahedron Letters, 15, 3203-3206.

<sup>34</sup>Lee, k.H., Kimura, T., Haruna, M., McPhail, A.T., Onan, K.D., Huang, H.C. (1977). Structure and stereochemistry of eupaformosanin, a new antileukemic and antisarcoma germacranolide from *Eupatorium formosanum*. Phitochemistry 16, 1068-1070.

		<i>E. chinense</i> var. <i>Sachalinense</i> . (= <i>E. glehnii</i> ) <sup>27, 28</sup>
		<i>E. chinense</i> var. <i>Sachalinense</i> . (= <i>E. glehnii</i> ) <sup>27, 28</sup>
<i>Eupacunin</i>		<i>E. cuneifolium</i> <sup>19, 35</sup>
<i>Eupacunoxin</i>		<i>E. cuneifolium</i> <sup>19, 34</sup>
		<i>E. recurvans</i> <sup>36</sup>
<i>Desacetoxi-3-oxo-eupaformin</i>		<i>E. altissimum</i> <sup>14</sup>
<i>Desacetoxi-3-oxo-chromaloenide</i>		<i>E. altissimum</i> <sup>14</sup>

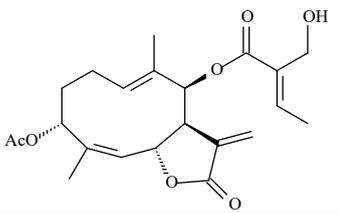
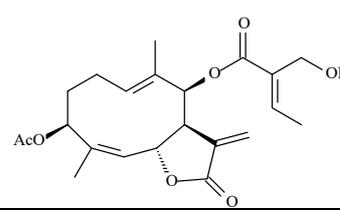
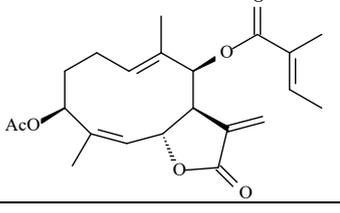
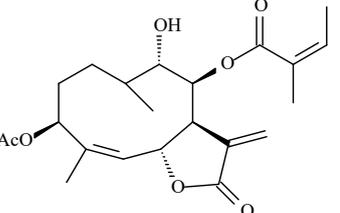
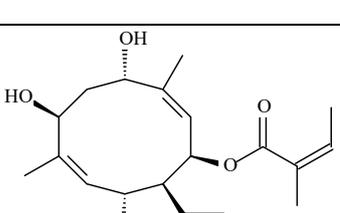
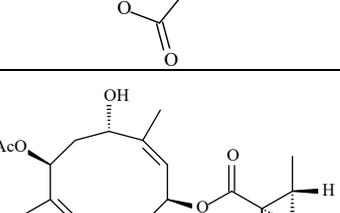
<sup>35</sup>Kupchan, S.M., Maruyama, M., Hemingway, R.J., Hemingway, J.C., Shibuya, S., Fujita, T., Cradwick, P.D., Hardy, A.D.U., Sim. G.A. (1971). *Eupacunin*, a novel antileukemic sesquiterpene lactone from *Eupatorium cuneifolium*. J. Am. Chem. Soc., 93, 4914-4916.

<sup>36</sup>Herz, W., De Groote, R., Murari, R., Blount, J.F. (1978). Sesquiterpene lactones of *Eupatorium recurvans*. J. Org. Chem., 43, 3559-3564.

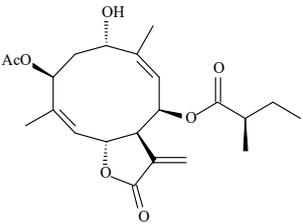
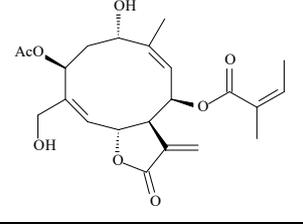
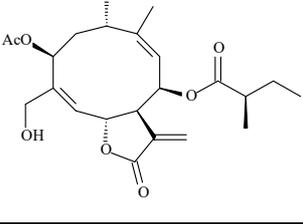
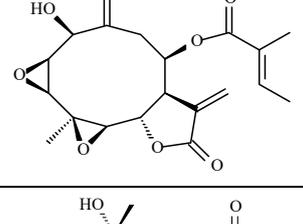
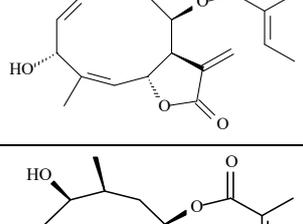
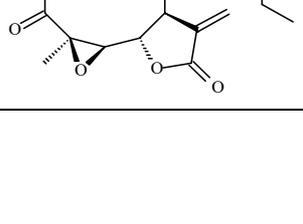
		<i>E. hyssopifolium</i> <sup>22</sup>
		<i>E. hyssopifolium</i> <sup>22</sup>
		<i>E. chinense</i> var. <i>simplicifolium</i> <sup>37</sup>
		<i>E. lindleyanum</i> <sup>38</sup>
		<i>E. lindleyanum</i> <sup>37</sup>
		<i>E. lindleyanum</i> <sup>37</sup>
		<i>E. lindleyanum</i> <sup>37</sup>

<sup>37</sup>Ito, K., Sakakibara, Y., Haruna, M. (1979). New sesquiterpene lactones from *Eupatorium chinense* var. *simplicifolium* (Makino) Kitam. Chem. Lett. 1473-1476.

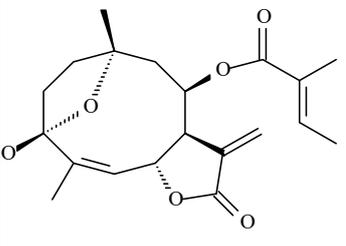
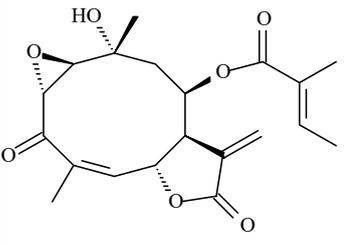
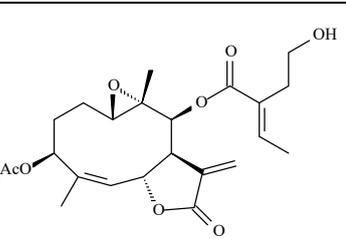
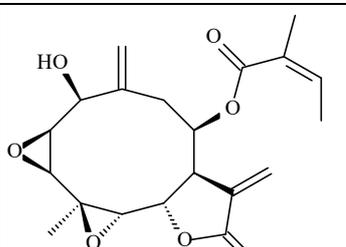
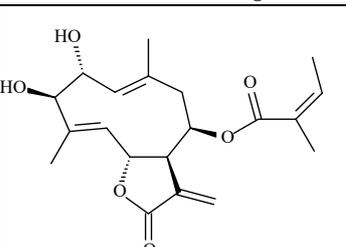
<sup>38</sup>Ito, K., Sakakibara, Y., Haruna, M., Lee, K.H. (1979). Four new germacranolides from *Eupatorium lindleyanum* DC. Chem. Lett. 1469-1472.

<i>Eupasimplicin A</i>		<i>E. glehnii</i> <sup>29</sup>
<i>Eupasimplicin B</i>		<i>E. hualienense</i> <sup>39</sup>
<i>3β-acetoxi-β-tigloiloxiheliangolide</i>		<i>E. glehnii</i> <sup>29</sup>
<i>Eupacunin</i>		<i>E. cuneifolium</i> <sup>19</sup> <i>E. lancifolium</i> <sup>20</sup>
<i>Desacetileupacunin</i>		<i>E. lancifolium</i> <sup>20</sup>
<i>Eupatocunoxin</i>		<i>E. cuneifolium</i> <sup>19</sup>

<sup>39</sup>Shen, Y.C., Jang, J.Y., Khalil, A.T., Chiang, L.C. (2005). New germacranolides from *Eupatorium hualienense*. *Chemistry & Biodiversity*, 2, 244-252.

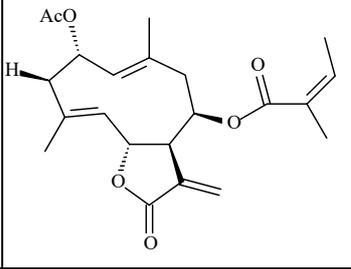
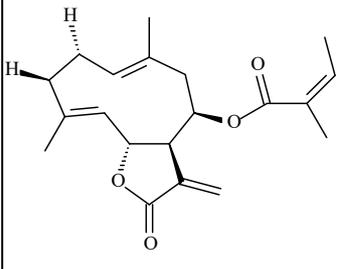
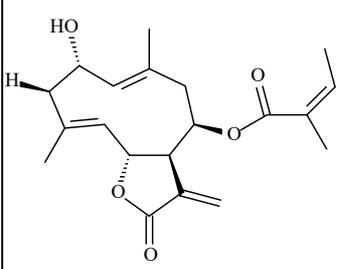
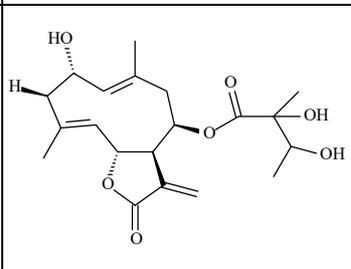
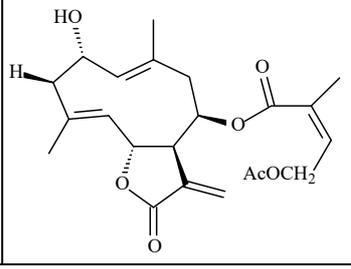
		<i>E. recurvans</i> <sup>35</sup>
<i>Eupacunolin</i>		<i>E. cuneifolium</i> <sup>19</sup> <i>E. lancifolium</i> <sup>20</sup>
<i>Eurecurvin</i>		<i>E. recurvans</i> <sup>35</sup> <i>E. anomalum</i> <sup>56</sup> <i>E. mohrii</i> <sup>56</sup>
<i>Eupakirunsin A</i>		<i>E. kiirunense</i> <sup>40</sup>
<i>Eupakirunsin B</i>		<i>E. kiirunense</i> <sup>39</sup>
<i>Eupakirunsin C</i>		<i>E. kiirunense</i> <sup>39</sup>

<sup>40</sup>Shen, Y.C., Lo, K.L., Kuo, Y.H., Khalil, A.T. (2005). Cytotoxic lactones from *Eupatorium kiirunense*, a coastal plant of Taiwan. J. Nat. Prod., 68, 745-750.

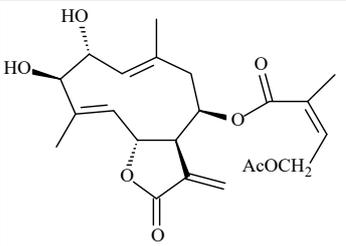
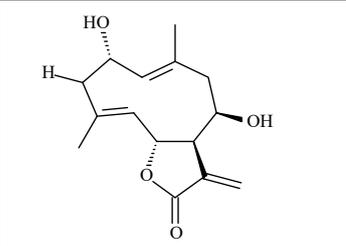
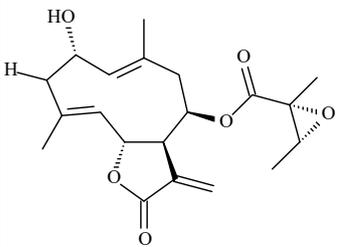
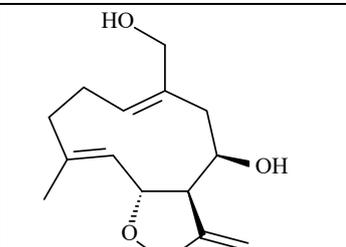
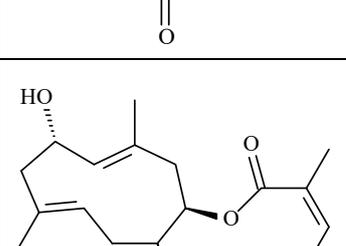
<i>Eupakirunsin D</i>		<i>E. kiirunense</i> <sup>39</sup>
<i>Eupakirunsin E</i>		<i>E. kiirunense</i> <sup>39</sup>
<i>Eupalinin A</i>		<i>E. chinense</i> <sup>41</sup>
<i>Eupatozansin A</i>		<i>E. chinense</i> var. <i>tozanense</i> <sup>42</sup>
<i>Eupatozansin B</i>		<i>E. chinense</i> var. <i>tozanense</i> <sup>41</sup>

<sup>41</sup>Itoh, T., Ito, Y., Ohguchi, K., Ohyama, M., Inuma, M., Otsuki, Y., Nozawa, Y., Akao, Y. (2008). Eupalinin A isolated from *Eupatorium chinense* L., induces autophagocytosis in human leukemia HL60 cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, 721-731.

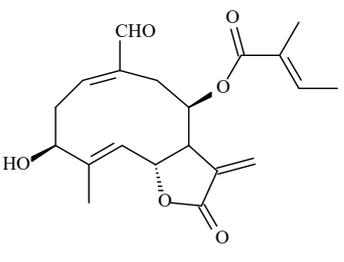
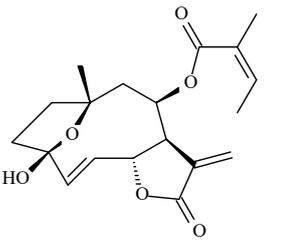
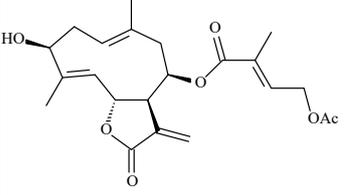
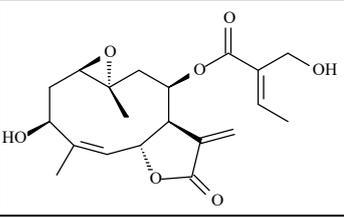
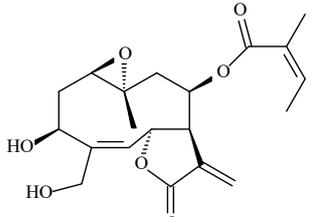
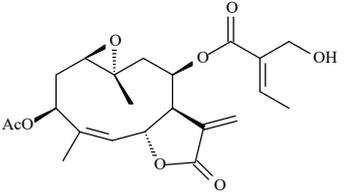
<sup>42</sup>Liaw, C.C., Kuo, Y.H., Hwang, T.L., Shen, Y.C. (2008). Eupatozansins A-C, sesquiterpene lactones from *Eupatorium chinense* var. *tozanense*. *Helvetica Chimica Acta*, 91, 2115-2121.

<i>Eupatozansin C</i>		<i>E. chinense</i> var. <i>tozanense</i> <sup>41</sup>
<i>Leptocarpin</i>		<i>E. chinense</i> var. <i>tozanense</i> <sup>41</sup>
<i>8-O-angelato de 2α-hidroxi eupatolido</i>		<i>E. chinense</i> var. <i>tozanense</i> <sup>41</sup>
<i>Eupachinolide H</i>		<i>E. chinense</i> <sup>43</sup>
<i>Eupachinolido I</i>		<i>E. chinense</i> <sup>42</sup>

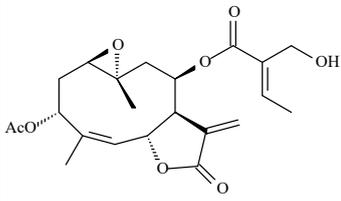
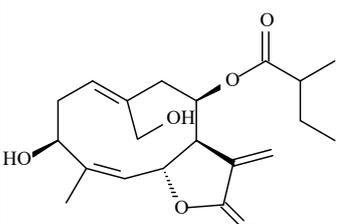
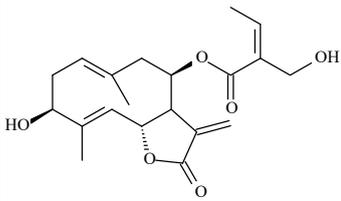
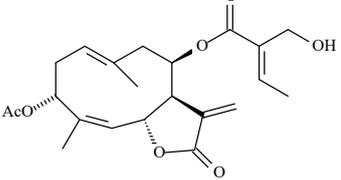
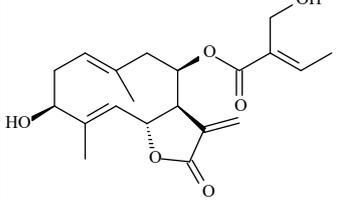
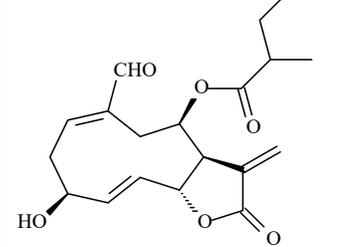
<sup>43</sup>Yang, J.R., Huo, J., Wang, Y., Lou, L.G. Yue, J.M. (2004). Cytotoxic sesquiterpenoids from *Eupatorium chinense*. J. Nat. Prod., 67, 638-643.

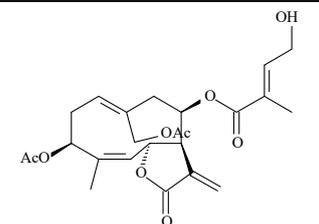
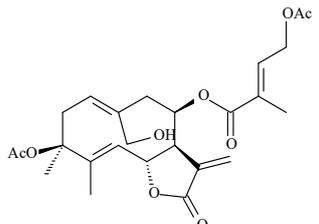
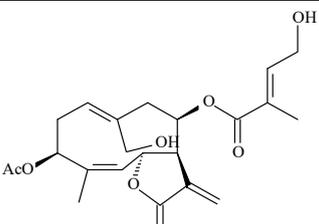
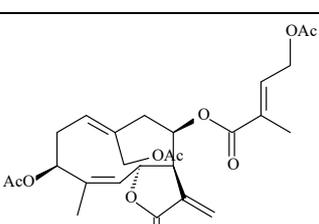
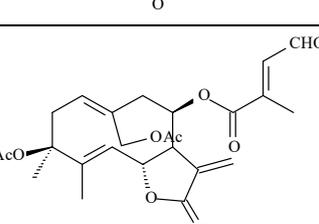
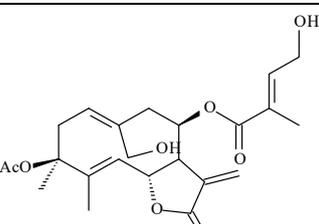
<i>Eupachinolido J</i>		<i>E. chinense</i> <sup>42</sup>
<i>2α-hidroxiopatolido</i>		<i>E. chinense</i> <sup>42</sup> <i>E. lindleyanum</i> <sup>46</sup> <i>E. scabridum</i> <sup>21</sup>
<i>Mollisorin B</i>		<i>E. chinense</i> <sup>42</sup>
<i>Budlein B</i>		<i>E. chinense</i> <sup>42</sup>
<i>Mollosorin A</i>		<i>E. chinense</i> <sup>44</sup>

<sup>44</sup>Yang, S.P., Cheng, J.G., Huo, J., Jiang, H.L., Chen, K.X., Yue, J.H- (2005). Seven new sesquiterpene lactones from *Eupatorium chinense*. Chinese Journal of Chemistry, 23, 1530-1536.

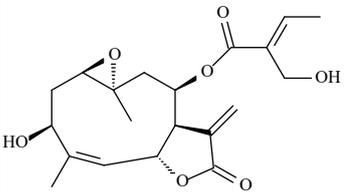
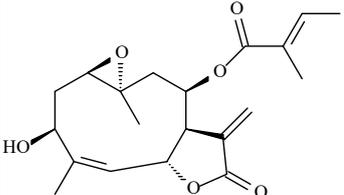
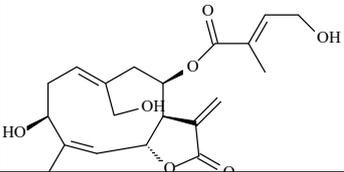
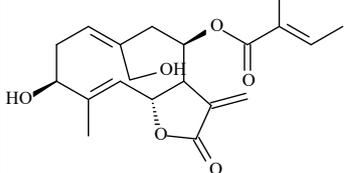
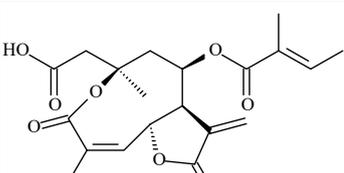
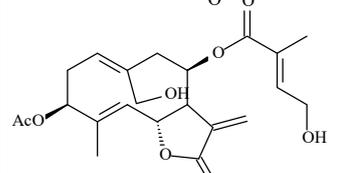
<i>Eupatochinilide I</i>		<i>E. chinense</i> <sup>43</sup>
<i>Nieveusin B</i>		<i>E. chinense</i> <sup>43</sup>
<i>8β-(4-acetoxy-tigloiloxi)-3β-hidroxi-6βH,7αH-germacra-1(10),E,4E,11(13)-trien-6,12-olida</i>		<i>E. chinense</i> <sup>43</sup>
<i>3-deacetileupalinin A</i>		<i>E. chinense</i> <sup>43</sup>
<i>15-hidroxilertocarpin</i>		<i>E. chinense</i> <sup>43</sup>
<i>Eupalinin A</i>		<i>E. chinense</i> <sup>45, 46</sup>

<sup>45</sup>Itoh, T., Oyama, M., Takimoto, N., Kato, C., Nozawa, Y., Akao, Y., Iinuma, M. (2009). Inhibitory effects of sesquiterpene lactones isolate from *Eupatorium chinense* L., on IgE-mediated degranulation in rat basophilic leukemica RBL-2H3 cells and passive cutaneous anaphylaxis reaction in mice *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17, 3189-3197.

<b><i>Eupalinin C</i></b>		<b><i>E. chinense</i><sup>44, 50</sup></b>
<b><i>3,14-dihidroxi-8-(2'-metilbutiriloxi)-heliango-1(10),4,11(13)-trien-6,12-olida</i></b>		<b><i>E. chinense</i><sup>44</sup></b>
<b><i>3β-hidroxi-8-sarraceni-oxi-germacra-1(10),4,(11(13))-trien-6,12-olida</i></b>		<b><i>E. chinense</i><sup>44</sup></b>
<b><i>3-acetoxi-8-sarraceni-oxi-helianga-1(10),4,11(13)-trien-6,12-olida</i></b>		<b><i>E. chinense</i><sup>44</sup></b>
<b><i>3β-hidroxi-8-acetoxi-sarraceni-oxi-germacra-1(10),4,(11(13))-trien-6,12-olida</i></b>		<b><i>E. chinense</i><sup>44</sup></b>
<b><i>3β-hidroxi-8-(2'-metilbutiriloxi)-14-oxomelampa-1(10),4-dien-6,12-olida</i></b>		<b><i>E. chinense</i><sup>44</sup></b>

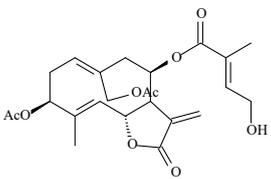
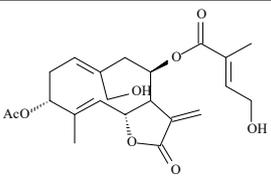
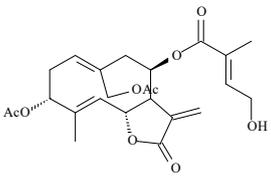
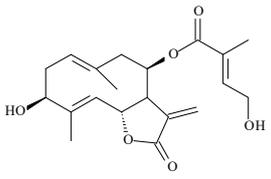
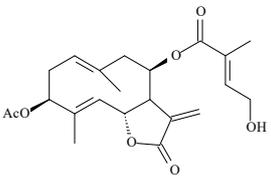
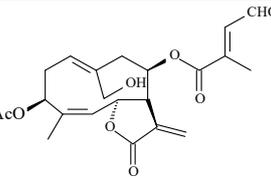
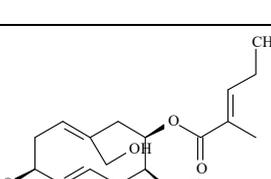
<b><i>Eupalinolido A</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>46</sup></b>
<b><i>Eupalinolido B</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>45</sup></b>
<b><i>Eupalinolido C</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>45</sup></b>
<b><i>Eupalinolido D</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>45</sup></b>
<b><i>Eupanolido E</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>45</sup></b>
<b><i>3β-acetoxi-8β-hidroxitigloiloxi)-14-hidroxicostunolido</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>45</sup></b>

<sup>46</sup>Yang, N.Y., Qian, S.H., Duan, J.A., Li, P., Tian, L.J. (2010). Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Eupatorium lindleyanum*. Journal of Asian Natural Products, 9(4), 339-345.

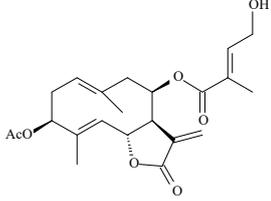
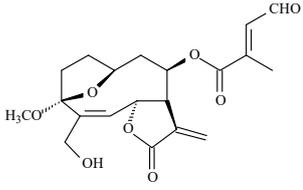
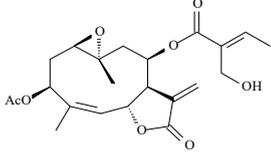
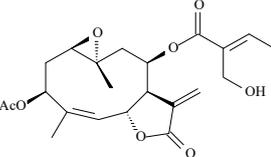
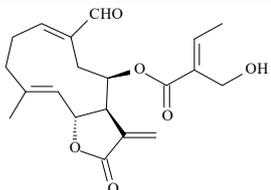
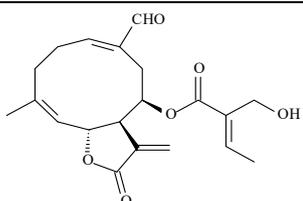
<b>3-deacetileupalinin</b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>47</sup></b>
<b>Heliangine</b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>46</sup></b>
<b>8<math>\beta</math>-(4'-hidroxitigloiloxi)-3<math>\beta</math>,14-dihidroxi-6<math>\beta</math>H,7<math>\alpha</math>H-germacra-1(10)Z,4Z,11(13)-trien-6,12-olida</b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>46</sup></b>
<b>8<math>\beta</math>-tigloiloxi-3<math>\beta</math>,14-dihidroxi-6<math>\beta</math>H,7<math>\alpha</math>H-germacra-1(10)Z,4E,11(13)-trien-6,12-olida</b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>46</sup></b>
<b>Ácido 8<math>\beta</math>-tigloiloxi-2,3-seco-6<math>\beta</math>H,7<math>\alpha</math>H-helianga-4z,11(13)-diene-3-10<math>\beta</math>-6,12-oico</b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>46</sup></b>
<b><i>Eupalinólido F</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>48</sup></b>

<sup>47</sup>Huo, J., Yang, S.P., Ding, J., Yue, J.M. (2004). Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Eupatorium lindleyanum*. J. Nat. Prod., 67, 1470-1475.

<sup>48</sup>Wu, S.Q., Xu, N.Y., Sun, Q., Hau, H.Y., Zhang, J. (2012). Six new sesquiterpenes from *Eupatorium lindleyanum*. Helvetica Chimica Acta, 95, 1637-1644.

<b><i>Eupalinolido G</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>47</sup></b>
<b><i>Eupalinolido H</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>47</sup></b>
<b><i>Eupalinolido I</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>47</sup></b>
<b><i>Eupalinolido J</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>47</sup></b>
<b><i>Eupalinolido K</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>46</sup></b>
<b><i>3β-acetoxi-8β-(4'-oxotigloiloxi)-14-hidroxiheliangolido</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>49</sup></b>
<b><i>3β-acetoxi-8β-(4'-oxotigloiloxi)-14-hidroxicostunolido</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>48</sup></b>

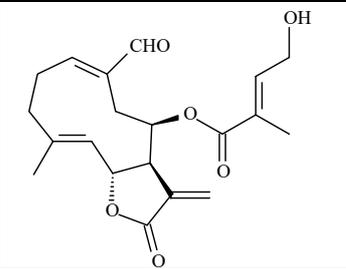
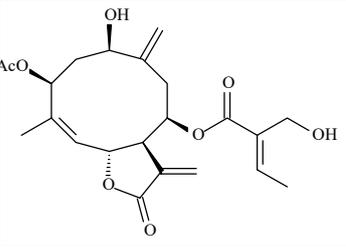
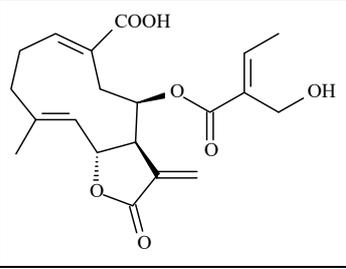
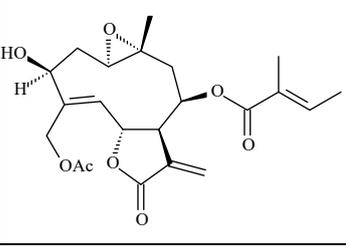
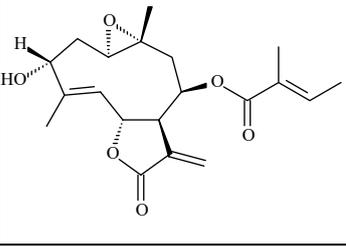
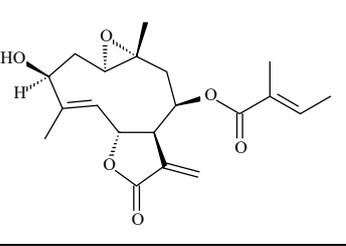
<sup>49</sup>Yang, N.Y., Duan, J.A., Shang, E.X., Tian, L.J. (2010). Analysis of sesquiterpene lactones in *Eupatorium lindleyanum* by HPLC-PDA-ESI-MS/MS. *Phytochemical Analysis*, 21, 144-14

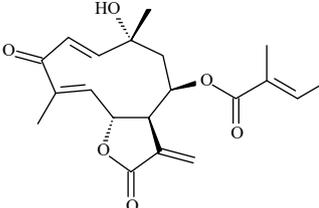
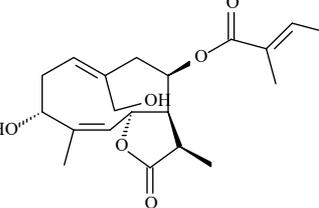
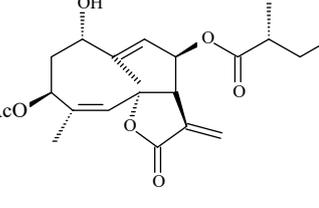
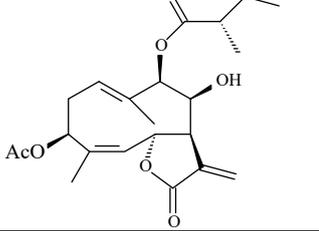
<b><i>3β-acetoxi-8β-(4'-hidroxitigloiloxi)-costunilido</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>48</sup></b>
<b><i>Eupatinilide L</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>50</sup></b>
<b><i>Eupalinin B</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>51</sup></b>
<b><i>Eupalinin D</i></b>		<b><i>E. lindleyanum</i><sup>50</sup></b>
<b><i>Eupahualin A</i></b>		<b><i>E. hualinense</i><sup>52</sup></b>
<b><i>Eupahualin B</i></b>		<b><i>E. hualinense</i><sup>51</sup></b>

<sup>50</sup>Huo, J., Yang, S.P., Ding, J, Yue, J.H., Tian, L.J. (2006). Two new sesquiterpenoids from *Eupatorium lindleyanum*. Journal of Integrative Plant Biology, 48(4), 473-477.

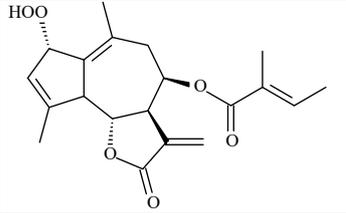
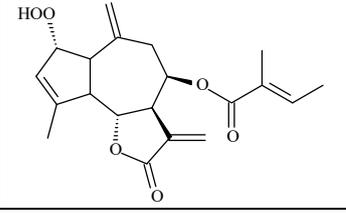
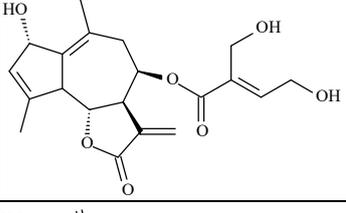
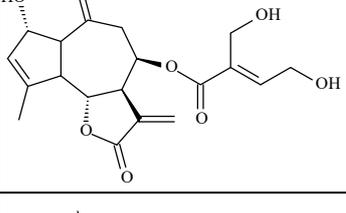
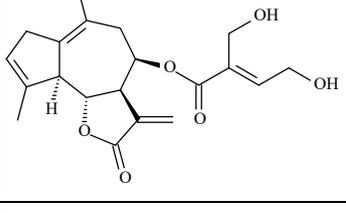
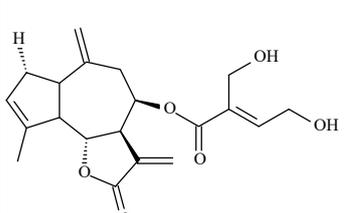
<sup>51</sup>Ito, K., Sakakibara, Y., Haruna, M., Lee, K.S. (1979). Four new germacranolides from *Eupatorium lindleyanum*. Chemistry Letters, 1469-1472.

<sup>52</sup>Shen, Y.C., Jang, J.Y., Khalil, A.T., Chiang, L.C. (2005). New germacranolides from *Eupatorium hualinense*. Chemistry & Biodiversity, 2, 244-252.

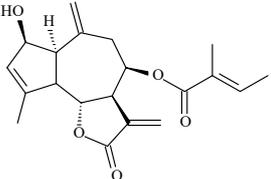
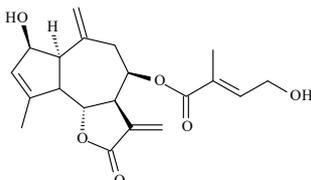
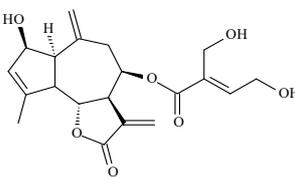
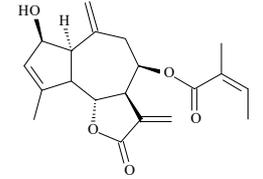
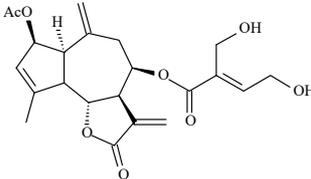
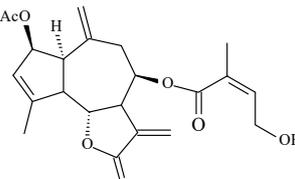
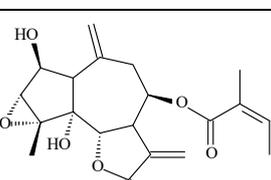
<i>Eupahualin C</i>		<i>E. hualinense</i> <sup>51</sup>
<i>Eupahualin D</i>		<i>E. hualinense</i> <sup>51</sup>
<i>Eupahualin E</i>		<i>E. hualinense</i> <sup>51</sup>
<i>15-acetoxiheliangin</i>		<i>E. kiirunense</i> <sup>39</sup>
<i>3-epi-heliangin</i>		<i>E. kiirunense</i> <sup>39</sup>
<i>Heliangin</i>		<i>E. kiirunense</i> <sup>39</sup>

<i>Eupaheliangolida A</i>		<i>E. kiirunense</i> <sup>39</sup>
<i>3<math>\alpha</math>,14</i> -dihidroxi-8 $\beta$ -tigloiloxi-6 $\beta$ H,7 $\alpha$ H,11 $\alpha$ H-germacra-1(10) <i>Z</i> ,4 <i>Z</i> -dien-6,12-olida		<i>E. perfoliatum</i> <sup>53</sup>
		<i>E. recurvans</i> <sup>35</sup>
		<i>E. recurvans</i> <sup>35</sup>

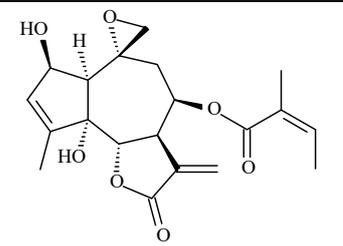
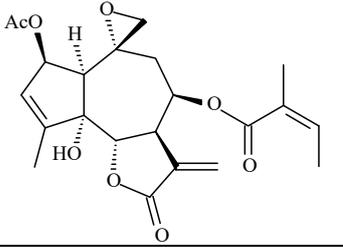
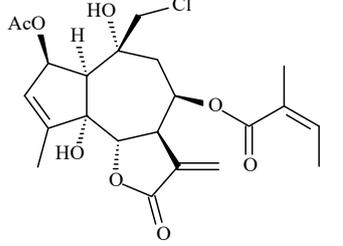
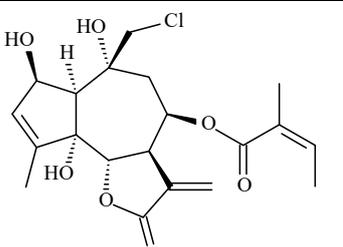
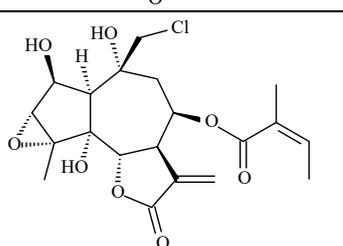
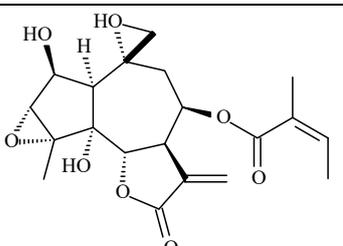
<sup>53</sup>Maas, M., Hensel, A., Batista da Costa, F., Brun, R., Kaiser, M. (2011). An unusual dimeric guaianolide with antiprozoal activity and further sesquiterpene lactones from *Eupatorium perfoliatum*. *Phytochemistry*, 72, 635-644.

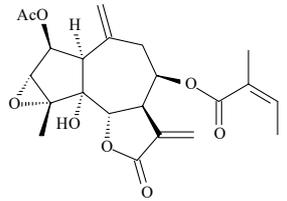
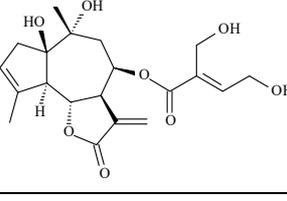
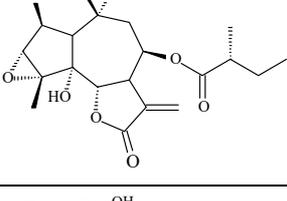
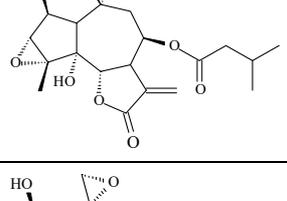
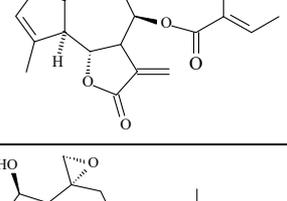
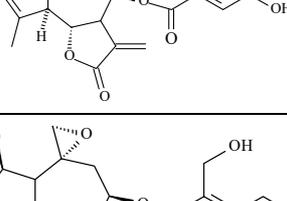
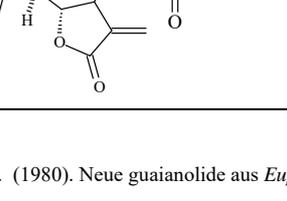
LACTONAS TIPOS GUAIANOLIDA		
<i>Peroxieupahakonin A</i>		<i>E. chinense</i> var. <i>hakonense</i> <sup>54</sup>
<i>Peroxieupahakonin B</i>		<i>E. chinense</i> var. <i>Hakonense</i> <sup>53</sup>
<i>Eupahakonin A</i>		<i>E. chinense</i> var. <i>Hakonense</i> <sup>53</sup>
<i>Eupahakonin B</i>		<i>E. chinense</i> var. <i>Hakonense</i> <sup>53</sup>
<i>Eupahakonenin A</i>		<i>E. chinense</i> var. <i>Hakonense</i> <sup>53</sup>
<i>Eupahakonenin B</i>		<i>E. chinense</i> var. <i>Hakonense</i> <sup>53</sup>

<sup>54</sup>Ito, K., Sakakibara, Y., Haruna, M. (1982). Seven guaianolides from *Eupatorium chinense*. *Phytochemistry*, 21, 715-720.

<b><i>8β-tigloiloxipreeupatindin</i></b>		<b><i>E. altissimum</i><sup>14</sup></b>
<b><i>8β-(4'-hidroxitigloiloxi) preeupatindin</i></b>		<b><i>E. altissimum</i><sup>14</sup></b>
<b><i>8β-(4',5'-dihidroxitigloiloxi) preeupatindin</i></b>		<b><i>E. altissimum</i><sup>14</sup></b>
		<b><i>E. rotundifolium</i> <i>ssp. ovatum</i><sup>22</sup></b>
<b><i>Eupahakonesin</i></b>		<b><i>E. chinense</i> var. <i>hakonense</i><sup>53</sup>  <i>E. cannabinum</i><sup>5</sup></b>
<b><i>Eupachifolin C</i></b>		<b><i>E. chinense</i> var. <i>Simplifolium</i><sup>37</sup></b>
<b><i>Eupatundin</i></b>		<b><i>E. rotundifolium</i><sup>55</sup>  <i>E. scabridum</i><sup>21</sup></b>

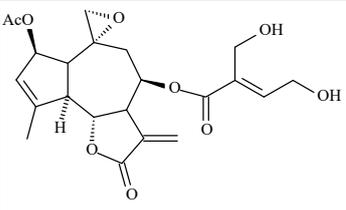
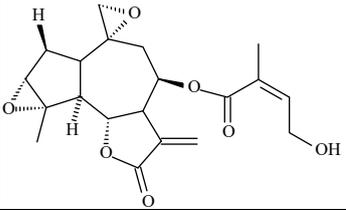
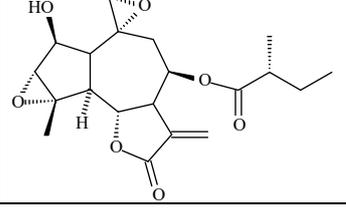
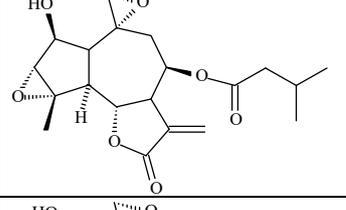
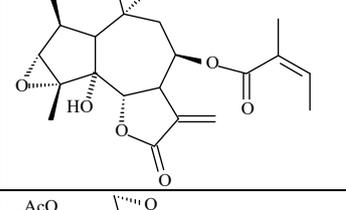
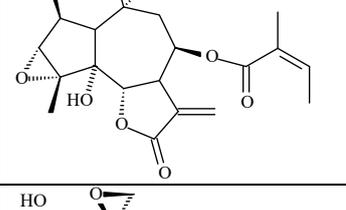
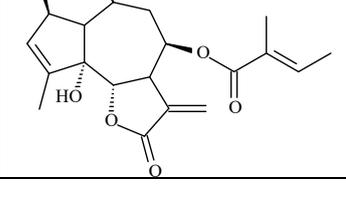
<sup>55</sup>Kupchan, S. M., Kelsey, J. E., Masao, M., Cassady, J. M., (1968). Eupachlorin acetate, a novel chloro-sesquiterpenoid lactone tumor inhibitor from *Eupatorium rotundifolium*. Tetrahedron Letters, 31, 3517-3520.

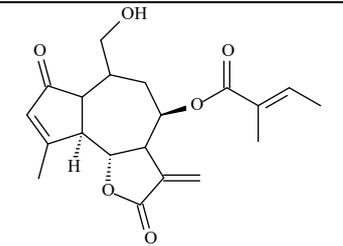
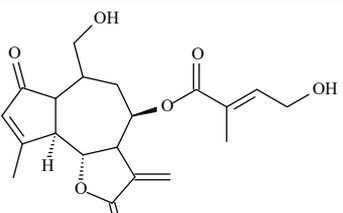
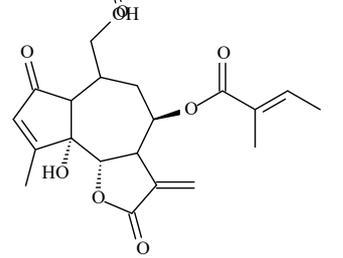
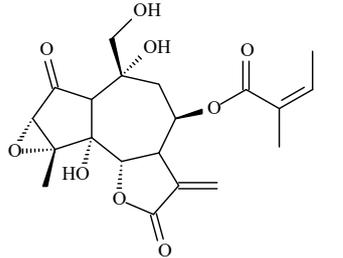
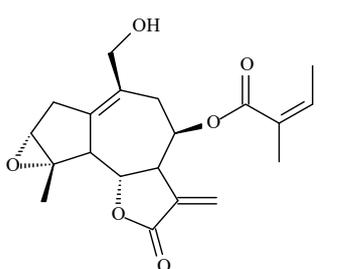
<i>Euparotin</i>		<i>E. rotundifolium</i> <sup>54</sup> <i>E. scabridum</i> <sup>21</sup>
<i>Acetato de Euparotin</i>		<i>E. rotundifolium</i> <sup>54</sup>
<i>Acetato de Eupachlorin</i>		<i>E. rotundifolium</i> <sup>54</sup>
<i>Eupachlorin</i>		<i>E. rotundifolium</i> <sup>54</sup>
<i>Eupachloroxin</i>		<i>E. rotundifolium</i> <sup>54</sup> <i>E. scabridum</i> <sup>21</sup>
<i>Eupatoroxin</i>		<i>E. rotundifolium</i> <sup>54</sup> <i>E. scabridum</i> <sup>21</sup>

		<i>E. rotundifolium</i> <i>ssp. ovatum</i> <sup>56</sup>
<b>8<math>\beta</math>-(4',5'-dihidroxitigloiloxi) cumambrin B</b>		<i>E. altissimum</i> <sup>14</sup>
		<i>E. anomalum</i> <sup>57</sup>
		<i>E. anomalum</i> <sup>56</sup>
		<i>E. altissimum</i> <sup>14</sup>
		<i>E. altissimum</i> <sup>14</sup>
<b>8-O-tiglato 5-desoxi-8-deacileupatorin</b>		<i>E. altissimum</i> <sup>14</sup>

<sup>56</sup>Bohlmann, F., Suwita, A., King, R.M., Robinson, H. (1980). Neue guaianolide aus *Eupatorium rotundifolium*. *Phytochemistry*, 19, 1233-1234.

<sup>57</sup>Herz, W., Murari, R., Govindan, S. (1979). Sesquiterpene lactones of *Eupatorium anomalum* and *Eupatorium mohrii*. *Phytochemistry*, 18, 1337-1341.

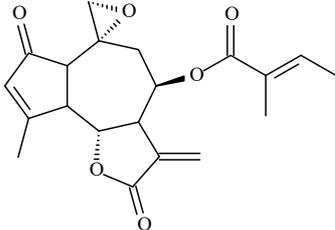
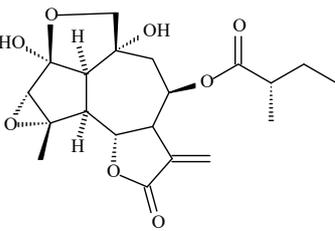
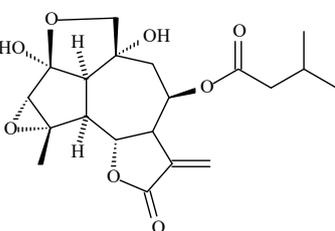
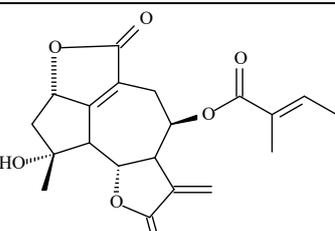
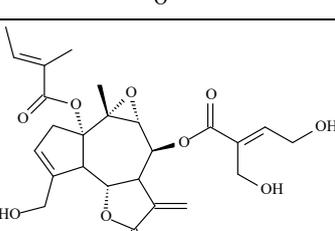
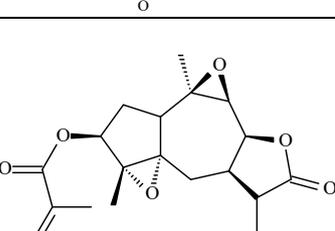
 <p>Chemical structure of <i>E. chinense</i> var. <i>simplicifolium</i>. The structure shows a complex polycyclic core with an acetoxy (AcO) group at C-1, a hydroxyl group at C-2, and a side chain at C-3 containing a double bond and a terminal hydroxyl group.</p>	<i>E. chinense</i> var. <i>simplicifolium</i> <sup>37</sup>
 <p>Chemical structure of <i>E. chinense</i> var. <i>simplicifolium</i>. The structure shows a complex polycyclic core with a hydroxyl group at C-1, a hydroxyl group at C-2, and a side chain at C-3 containing a double bond and a terminal hydroxyl group.</p>	<i>E. chinense</i> var. <i>simplicifolium</i> <sup>37</sup>
 <p>Chemical structure of <i>E. anomalum</i>. The structure shows a complex polycyclic core with a hydroxyl group at C-1, a hydroxyl group at C-2, and a side chain at C-3 containing a double bond and a terminal hydroxyl group.</p>	<i>E. anomalum</i> <sup>56</sup>
 <p>Chemical structure of <i>E. anomalum</i>. The structure shows a complex polycyclic core with a hydroxyl group at C-1, a hydroxyl group at C-2, and a side chain at C-3 containing a double bond and a terminal hydroxyl group.</p>	<i>E. anomalum</i> <sup>56</sup>
 <p>Chemical structure of <i>E. scrabidum</i>. The structure shows a complex polycyclic core with a hydroxyl group at C-1, a hydroxyl group at C-2, and a side chain at C-3 containing a double bond and a terminal hydroxyl group.</p>	<i>E. scrabidum</i> <sup>21</sup>
 <p>Chemical structure of <i>E. rotundifolium</i>. The structure shows a complex polycyclic core with an acetoxy (AcO) group at C-1, a hydroxyl group at C-2, and a side chain at C-3 containing a double bond and a terminal hydroxyl group.</p>	<i>E. rotundifolium</i> <sup>54</sup>
 <p>Chemical structure of <i>E. rotundifolium</i>. The structure shows a complex polycyclic core with a hydroxyl group at C-1, a hydroxyl group at C-2, and a side chain at C-3 containing a double bond and a terminal hydroxyl group.</p>	<i>E. rotundifolium</i> <sup>54</sup>

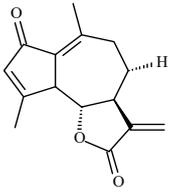
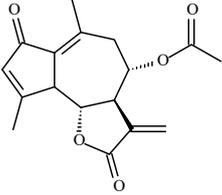
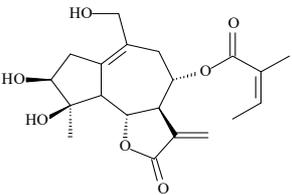
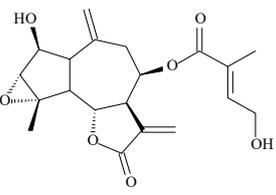
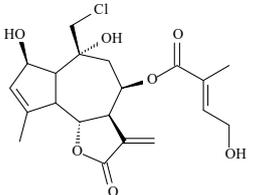
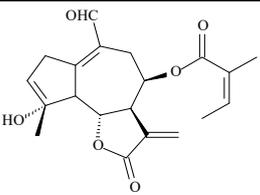
		<i>E. altissimum</i> <sup>14</sup> <i>E. sessilifolium</i> <sup>12</sup>
<i>4'-hidroxi eupasessifolid B</i>		<i>E. altissimum</i> <sup>14</sup>
<i>Eupasessifolid B</i>		<i>E. perfoliatum</i> <sup>58</sup> <i>E. sessilifolium</i> <sup>12</sup>
		<i>E. rotundifolium</i> <sup>59</sup>
<i>Euponin</i>		<i>E. japonicum</i> <sup>21</sup> <i>E. chinense</i> <sup>60</sup>

<sup>58</sup>Bohlmann, F., Zitzkowski, P., Suwita, A., Fiedler, L. (1978). Cis-Kolaveninsäure and weitere Inhaltsstoffe aus Vertretern der Tribus Eupatorieae. *Phytochemistry*, 17, 2101-2105.

<sup>59</sup>Kupchan, S.M. Kelsey, J.E., Maruyama, M., Cassady, J., M., Hemingway, J.C., P., Knox, J. C., (1969). Tumor inhibitors XLI. Structural elucidation of tumor inhibitory sesquiterpene lactones from *Eupatorium rotundifolium*. *J. Chem. Org.*, 34, 3876-3883.

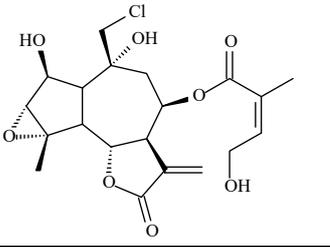
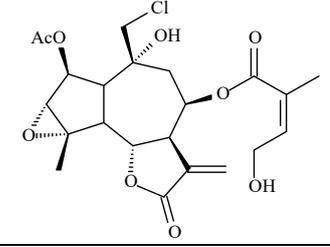
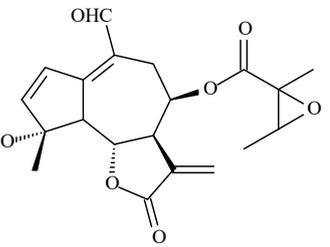
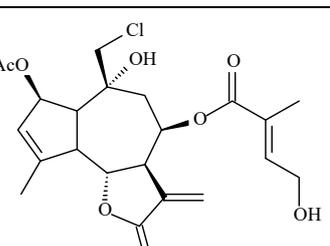
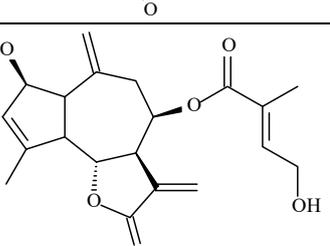
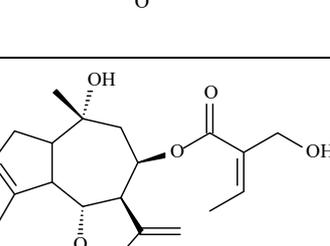
<sup>60</sup>Nakajima, S., Kawazu, K. (1978). Euponin, a new epoxy sesquiterpene lactone inhibiting insect development from *Eupatorium japonicum*. *Heterocycles*, 10, 117-121.

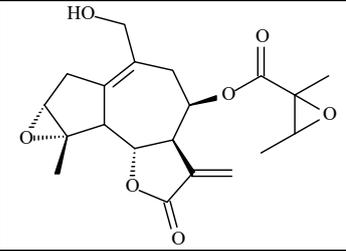
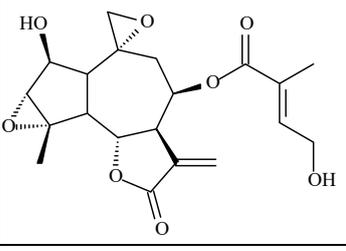
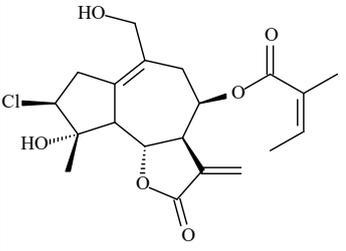
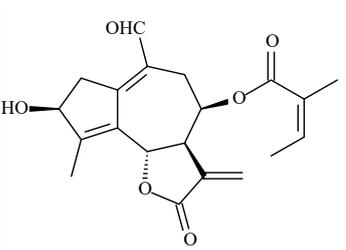
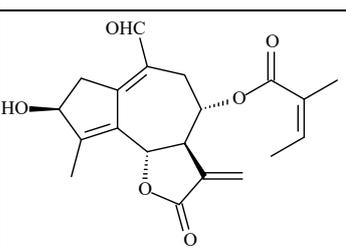
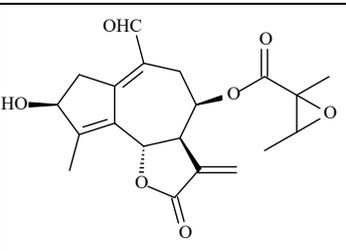
<i>Eupasessifolid A</i>		<i>E. sessilifolium</i> <sup>12</sup>
		<i>E. anomalum</i> <sup>56</sup> <i>E. mohrii</i> <sup>56</sup>
		<i>E. anomalum</i> <sup>56</sup>
<i>Eufoliatorin</i>		<i>E. perfoliatum</i> <sup>17</sup>
<i>Euperfolid</i>		<i>E. perfoliatum</i> <sup>22, 62</sup>
<i>Eufolitin</i>		<i>E. perfoliatum</i> <sup>17</sup>

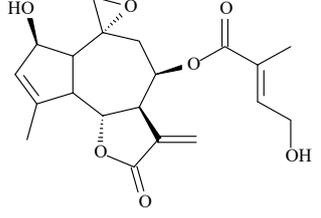
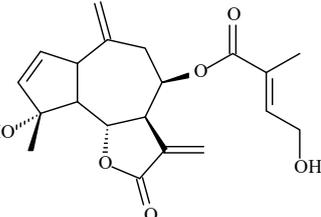
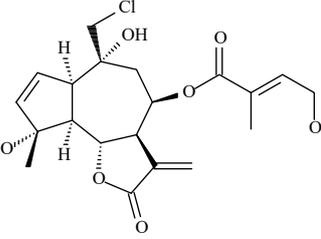
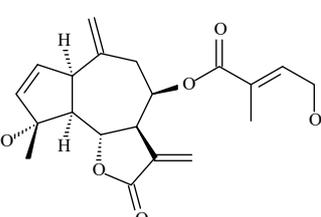
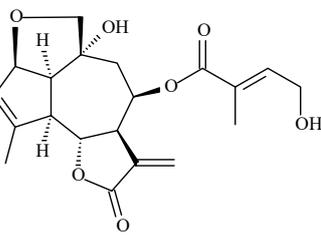
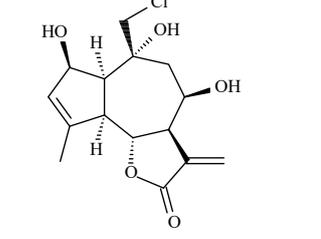
<i>Dehidroleucodin</i>		<i>E. capillifolium</i> <sup>61</sup>
<i>Dehidromatricarin A</i>		<i>E. capillifolium</i> <sup>60</sup>
<i>Eupachinilide A</i>		<i>E. chinense</i> <sup>62</sup>
<i>Eupachinilide B</i>		<i>E. chinense</i> <sup>61</sup>
<i>Eupachinilide C</i>		<i>E. chinense</i> <sup>61</sup> <i>E. lindleyanum</i>
<i>Eupachinilide D</i>		<i>E. chinense</i> <sup>61</sup>

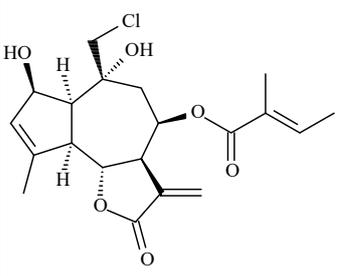
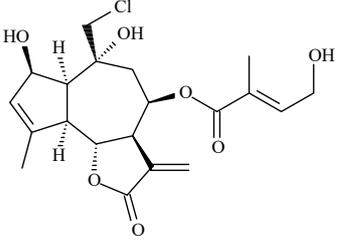
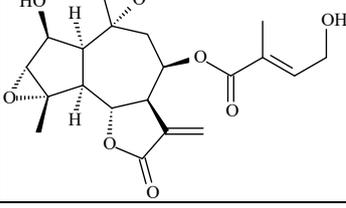
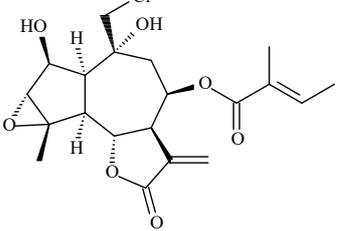
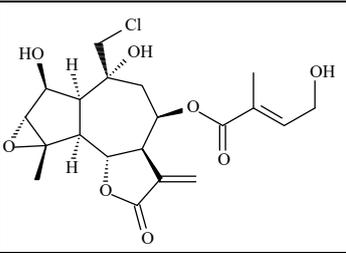
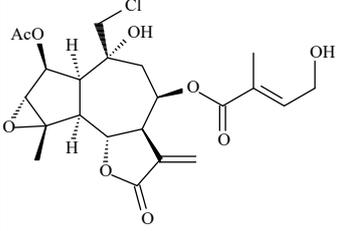
<sup>61</sup>Sadhu, S.K., Hirta, K., Li, X., Ohtsuki, T., Koyano, T., Preeprame, S., Kowithayakorn, T. Isibashi, M. (2006). Flavonoids and sesquiterpenoids from *Eupatorium capillifolium*, focused in a screening study guided by cell growth inhibitory activity (1969). Tumor inhibitors XLI. Structural elucidation of tumor inhibitory sesquiterpene lactones from *Eupatorium rotundifolium*. J. Nat. Med., 60, 325-328.

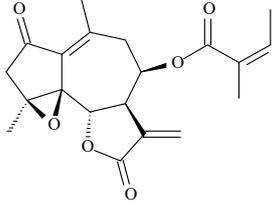
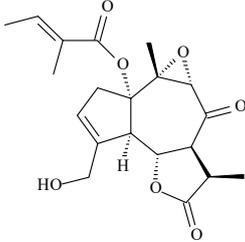
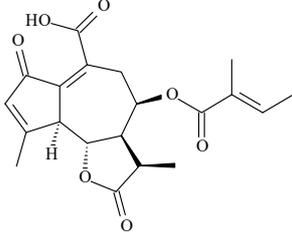
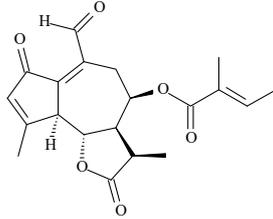
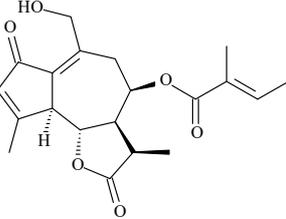
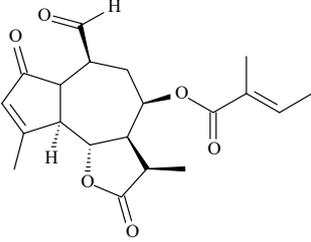
<sup>62</sup>Yang, J. R., Huo, J., Wang, Y., Lou, L.G., Yue, J.M. (2004). Cytotoxic sesquiterpenoids from *Eupatorium chinense*. J. Nat. Prod., 67, 638-643.

<i>Eupachinilide E</i>		<i>E. chinense</i> <sup>61</sup> <i>E. lindleyanum</i>
<i>Eupachinilide F</i>		<i>E. chinense</i> <sup>61</sup>
<i>Eupachinilide G</i>		<i>E. chinense</i> <sup>61</sup>
<i>Eupachifolin D</i>		<i>E. chinense</i> <sup>61</sup> <i>E. lindleyanum</i>
<i>8β-(4'-hidroxi tigloiloxi)-2β-hidroxi 1αH,5αH,6βH,7βH-guai-3,10(14),11(13) - trien-6,12-olida</i>		<i>E. chinense</i> <sup>61</sup>
<i>1,10-hidrobahia</i>		<i>E. chinense</i> <sup>61</sup>

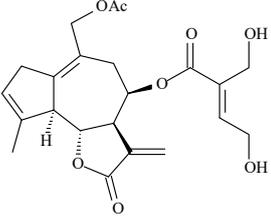
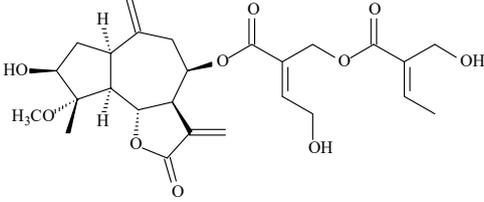
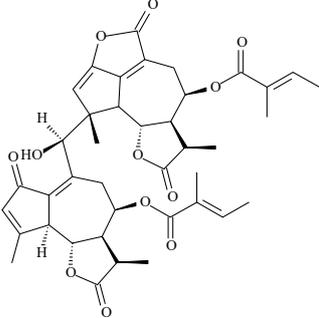
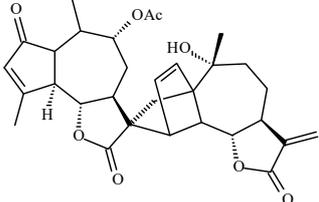
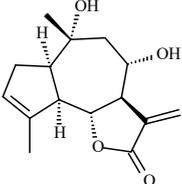
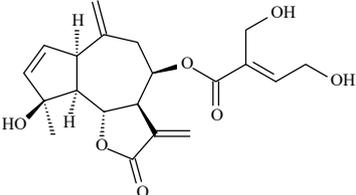
<i>Eupatochinilide II</i>		<i>E. chinense</i> <sup>43</sup>
<i>Eupatochinilide III</i>		<i>E. chinense</i> <sup>43</sup>
<i>Eupatochinilide IV</i>		<i>E. chinense</i> <sup>43</sup>
<i>Eupatochinilide V</i>		<i>E. chinense</i> <sup>43</sup>
<i>Eupatochinilide VI</i>		<i>E. chinense</i> <sup>43</sup>
<i>Eupatochinilide VII</i>		<i>E. chinense</i> <sup>43</sup>

<p><i>8β-(4'-hidroxi Tigloiloxi)-5-desoxi-8-desacetileupatorin</i></p>		<p><i>E. chinense</i><sup>43</sup></p>
<p><i>Eupanilide B</i></p>		<p><i>E. chinense</i><sup>43</sup> <i>E. lindleyanum</i></p>
<p><i>Eupalinilide A</i></p>		<p><i>E. lindleyanum</i><sup>46</sup></p>
<p><i>Eupalinilide B</i></p>		<p><i>E. lindleyanum</i><sup>46</sup></p>
<p><i>Eupalinilide C</i></p>		<p><i>E. lindleyanum</i><sup>46</sup></p>
<p><i>Eupalinilide D</i></p>		<p><i>E. lindleyanum</i><sup>46</sup></p>

<i>Eupalinilide E</i>		<i>E. lindleyanum</i> <sup>46</sup>
<i>Eupalinilide F</i>		<i>E. lindleyanum</i> <sup>46</sup>
<i>Eupalinilide G</i>		<i>E. lindleyanum</i> <sup>46</sup>
<i>Eupalinilide H</i>		<i>E. lindleyanum</i> <sup>46</sup>
<i>Eupalinilide I</i>		<i>E. lindleyanum</i> <sup>46</sup>
<i>Eupalinilide J</i>		<i>E. lindleyanum</i> <sup>46</sup>

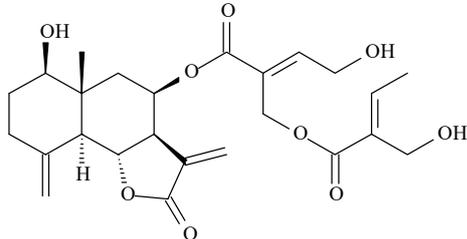
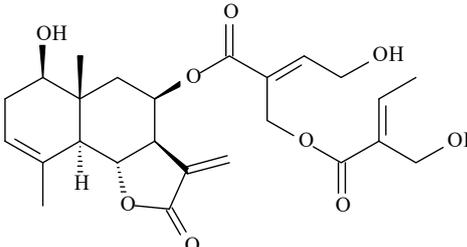
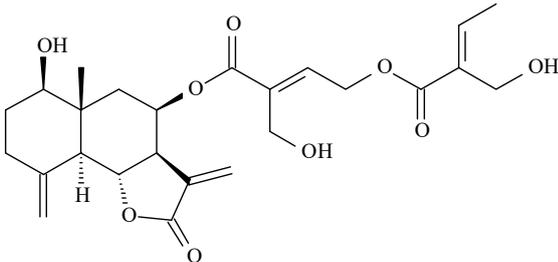
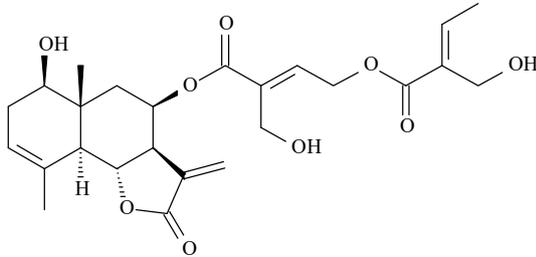
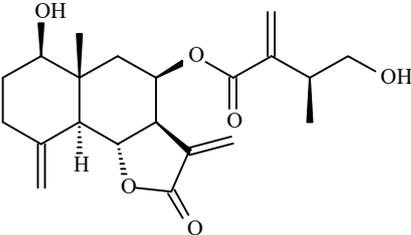
<p><b>8<math>\beta</math>-angeloiloxi-2-oxo Guai-1(10),3,11(13)-trien- 6,12-olida</b></p>		<p><b><i>E. chinense</i> var. <i>Tozanense</i><sup>41</sup></b></p>
<p><b>11,13a-dihidro euperfolid</b></p>		<p><b><i>E. perfoliatum</i><sup>63</sup></b></p>
<p><b>Ácido 2-oxo-8- Tigloiloxiguaia-1(10) ,3-diene-6,12-olida-14- carboxílico</b></p>		<p><b><i>E. perfoliatum</i><sup>52</sup></b></p>
<p><b>2,14-dioxo-8-tigloiloxiguaia- 1(10), 3-diene-6,12-olida</b></p>		<p><b><i>E. perfoliatum</i><sup>52</sup></b></p>
<p><b>14-hidroxi-2-oxo-8- tigloiloxiguaia-1(10), 3- diene-6,12-olida.</b></p>		<p><b><i>E. perfoliatum</i><sup>52</sup></b></p>
<p><b>2,14-dioxo-8-tigloiloxiguai- 3-ene-6,12-olida</b></p>		<p><b><i>E. perfoliatum</i><sup>52</sup></b></p>

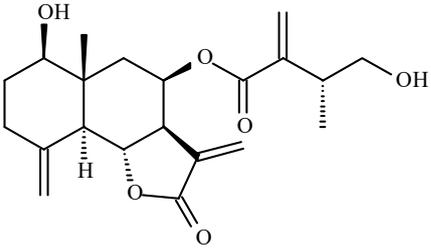
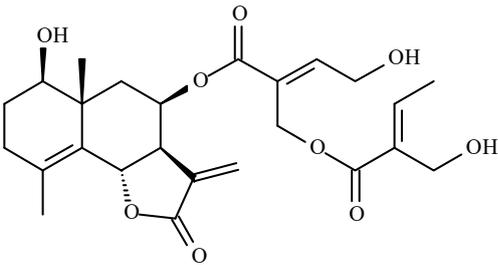
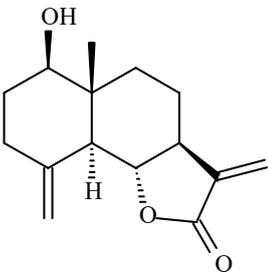
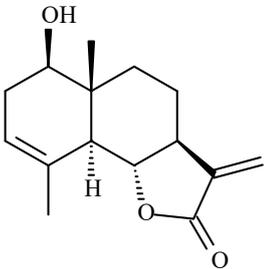
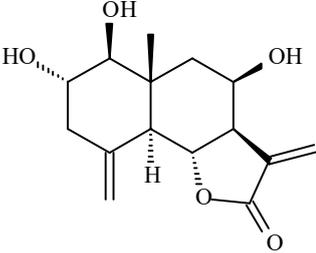
<sup>63</sup>Bohlman, F., Grenz, M. (1977). Naturally occurring terpene derivatives. Part. 82. Constituents from representatives of the *Eupatorium* groups. *Chemische Berichte*, 110, 1321-1329.

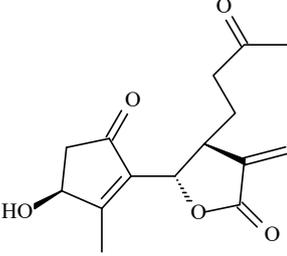
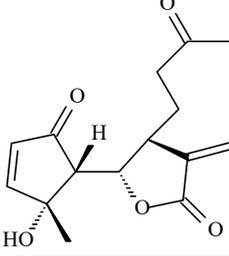
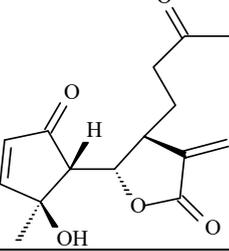
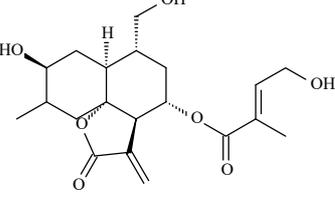
<b>Guaiaglehnnin A</b>		<b><i>E. glehnii</i><sup>30</sup></b>
<b>3<math>\beta</math>-hidroxi-8<math>\beta</math>-[4-hidroxi-5-(5-hidroxi Tigloiloxi)tigloiloxi]-4<math>\alpha</math>-metoxi-10(14),11(13)-guaiadien-6,12-olida</b>		<b><i>E. semialatum</i><sup>64</sup></b>
<b>Diguaiperfolin</b>		<b><i>E. perfoliatum</i><sup>52</sup></b>
<b>8-acetoxiarteminolido</b>		<b><i>E. capillifolium</i><sup>60</sup></b>
<b>Cumambrin B</b>		<b><i>E. maculatum</i><sup>65</sup></b>
		<b><i>E. altissimum</i><sup>14</sup></b>

<sup>64</sup>Lang, G., Passreiter, C.M., Medinilla, B.E., Castillo, J.J. (2001). Further sesquiterpene lactones from *Eupatorium semialatum*. Z. Naturforsch., 57c, 282-286.

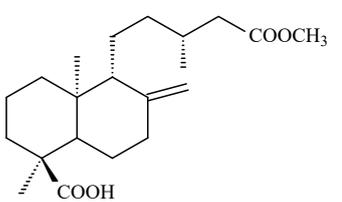
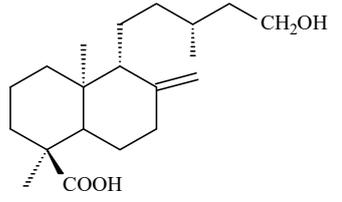
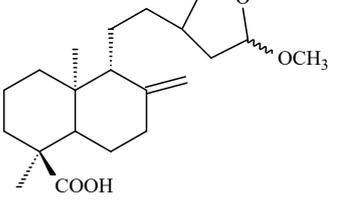
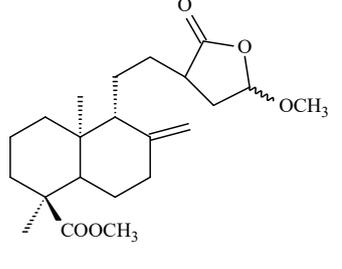
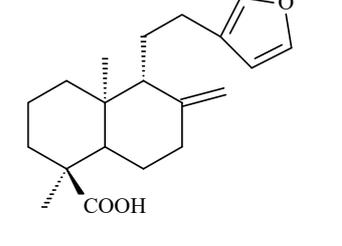
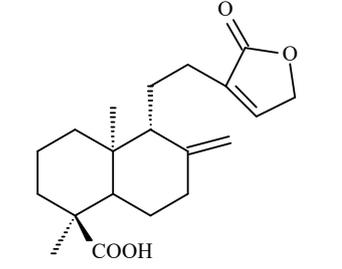
<sup>65</sup>Wiedenfeld, H., Hösch, G., Roeder, E., Dingermann, Th. (2009). Lycopsamine and cumambrin B from *Eupatorium maculatum*. Pharmazie, 64(6), 415-416.

LACTONAS TIPO EUDESMANOLIDO		
<p><i>8β-[4-hidroxi-5-(5-hidroxitigloiloxi)tigloiloxi] reynosin</i></p>		<p><i>E. semialatum</i><sup>63</sup></p>
<p><i>8β-[4-hidroxi-5-(5-hidroxitigloiloxi)tigloiloxi] magnonialido</i></p>		<p><i>E. semialatum</i><sup>63</sup></p>
<p><i>8β-[5-hidroxi-4-[5-hidroxitigloiloxi]tigloiloxi] balchanin</i></p>		<p><i>E. semialatum</i><sup>63</sup></p>
<p><i>8β-[5-hidroxi-4-(5-hidroxitigloiloxi)tigloiloxi] magnonialido</i></p>		<p><i>E. semialatum</i><sup>63</sup></p>
<p><i>8β-[4-hidroxi-5-(5-hidroxitigloiloxi)tigloiloxi] reynosin</i></p>		<p><i>E. semialatum</i><sup>63</sup></p>

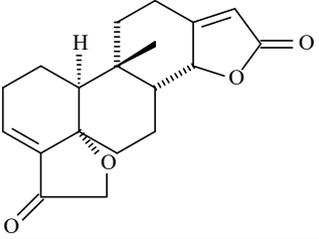
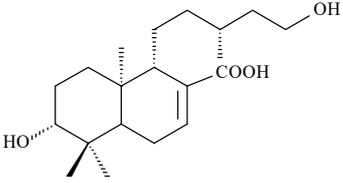
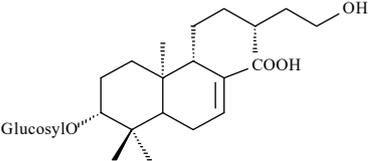
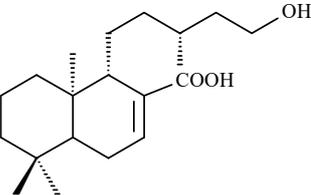
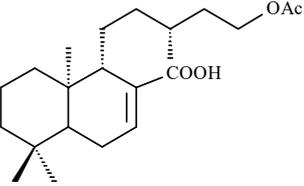
<p><i>8β-[5-hidroxi-4-(5-hidroxitigloiloxi)tigloiloxi]reynosis</i></p>		<p><i>E. semialatum</i><sup>63</sup></p>
		<p><i>E. semialatum</i><sup>63</sup></p>
<p><i>Reynosin</i></p>		<p><i>E. capillifolium</i><sup>60</sup></p>
<p><i>Santamarin</i></p>		<p><i>E. capillifolium</i><sup>60</sup></p>
<p><i>Eupalinilide K</i></p>		<p><i>E. lindleyanum</i><sup>49</sup></p>

LACTONAS TIPO SECO-GUAIANOLIDAS		
<i>Iso-seco-tanaparholide</i>		<i>E. capillifolium</i> <sup>60</sup>
<i>Seco-tanaparholido B</i>		<i>E. capillifolium</i> <sup>60</sup>
		<i>E. semialatum</i> <sup>63</sup>
OTROS SESQUITERPENOS		
<i>Eupalinilide M</i>		<i>E. lindleyanum</i> <sup>66</sup>

<sup>66</sup>Ye, G., Huang, X.Y., Li, Z.X., Fan, M.S., Huang, C.G. (2008). A new cadinane type sesquiterpene from *Eupatorium lindleyanum* (Compositae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 36, 741-744.

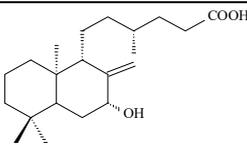
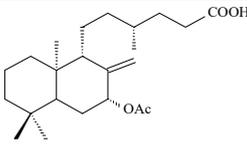
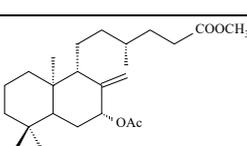
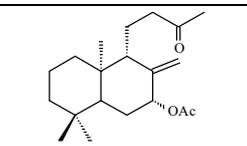
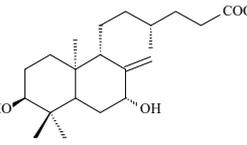
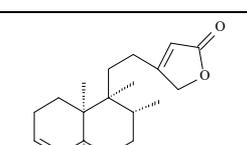
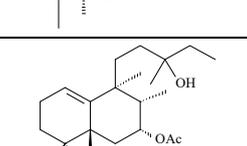
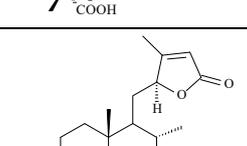
DITERPENOS TIPOS LABDANO		
<i>Metil-ent-labd-8(17)-en-18-oic acid-15-oate</i>		<i>E. buniifolium</i> <sup>67</sup>
<i>Ácido 15-hidroxi-ent-labd-8(17)-en-18-oico</i>		<i>E. buniifolium</i> <sup>66</sup>
<i>Ácido 15,16-epoxy-15-metoxi-ent-labd-8(17)-en-18-oic</i>		<i>E. buniifolium</i> <sup>66</sup>
<i>Metil éster 15,16-olida de 15-metoxi-ent-labd-8(17)-13-dien-18-oico</i>		<i>E. buniifolium</i> <sup>66</sup>
<i>Ácido polialthico (ácido 15,16-epoxi-ent-labd-8(17),13(16)-14-trien-18-oico</i>		<i>E. buniifolium</i> <sup>66</sup>
<i>Ácido nivenolido (ácido 15,16-olida-ent-labd-8(17),13-dien-18-oic)</i>		<i>E. buniifolium</i> <sup>66</sup>

<sup>67</sup>Carreras, C.K., Rossomando, R.C., Giordano, O.S. (1998). *Ent-labdanes in Eupatorium buniifolium*. *Phytochemistry*, 48(6), 1031-1034.

<b><i>Cannaclerodanolido</i></b>		<b><i>E. cannabinum</i><sup>5</sup></b>
<b><i>Ácido Dihidroxi-ent-labd-7-en-oico</i></b>		<b><i>E. glutinosum</i><sup>68</sup></b>
<b><i>3-O-β-D-glucosido del ácido dihidroxi-ent-labd-7-en-17-oico</i></b>		<b><i>E. glutinosum</i><sup>67</sup></b>
<b><i>Ácido 15-hidroxi-7-labden-17-oico</i></b>		<b><i>E. glutinosum</i><sup>69</sup></b>
<b><i>Ácido 15-acetoxi-7-labden-17-oico</i></b>		<b><i>E. glutinosum</i><sup>68</sup></b>

<sup>68</sup>El-Seedi, H.R., Sata, N., Torsell, K.B.G., Nishiyama, S. (2002). New labdanes diterpenes from *Eupatorium glutinosum*. J. Nat. Prod., 65, 728-729.

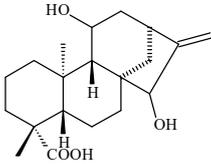
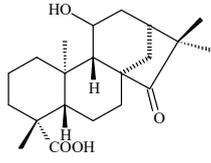
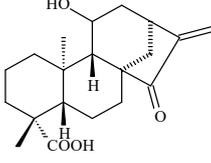
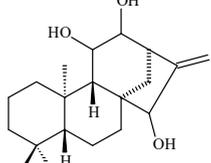
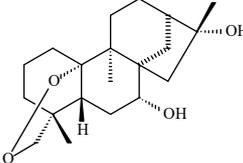
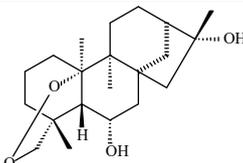
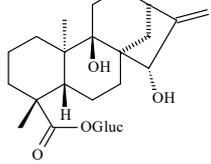
<sup>69</sup>El-Seedi, H.R., Ohara, T., Sata, N., Nishiyama, S. (2002). Antimicrobial diterpenoids from *Eupatorium glutinosum* (Asteraceae). Journal of Ethnopharmacology, 81, 293-296.

<b>Ácido sálvico</b> <b>(ácido 7<math>\alpha</math>-hidroxi-labd-8(17)-en-15-oico)</b>		<b><i>E. salvia</i><sup>70</sup></b>
<b>Acetato de ácido sálvico</b> <b>(Ácido 7<math>\alpha</math>-acetoxi-labd-8(17)-en-15-oico)</b>		<b><i>E. salvia</i><sup>69</sup></b>
<b>Metil-7<math>\alpha</math>-acetoxi-labd-8(17)-en-15-oato</b>		<b><i>E. salvia</i><sup>69</sup></b>
<b>7<math>\alpha</math>-hidroxi-14.15-dinor-13-oxo-labdene</b>		<b><i>E. salvia</i><sup>69</sup></b>
<b>Ácido 3<math>\beta</math>,7<math>\alpha</math>-Dihidroxi-labd-8(17)-en-15-oico</b>		<b><i>E. salvia</i><sup>69</sup></b>
		<b><i>E. turbinatum</i><sup>71</sup></b>
<b>Ácido friedolabdaturbínico</b>		<b><i>E. turbinatum</i><sup>70</sup></b>
<b>Evillosin</b>		<b><i>E. villosum</i><sup>72</sup></b>

<sup>70</sup>Gonzalez, A.G., Bermejo Barrera, J., Rodríguez Pérez, E., Yanes, A.C., Rauter, P., Pozo, J. (1990). Diterpenes and other constituents of *Eupatorium salvia*. *Phytochemistry*, 29(1), 321-323.

<sup>71</sup>Jakupovic, J., Ellmauerer, E., Bohlmann, F., Whitemori, A., Gage, D. (1986). Diterpenes from *Eupatorium turbinatum*. *Phytochemistry*, 25(11), 2677-2678.

<sup>72</sup>Manchand, P.S., Blount, J. F., McCabe, T., Clardy, J., (1979). Structure of evillosin, a novel labdane diterpene lactone from *Eupatorium villosum*. *J. Org. Chem.*, 44, 1322-1324.

DITERPENOS TIPO KAURANO		
<i>Ácido Ent-11<math>\alpha</math>,15<math>\alpha</math>-dihidroxikaur-16-en-19-oico</i>		<i>E. album</i> <sup>73</sup>
<i>Ácido Ent-11<math>\alpha</math>-hidroxi-15-oxokauran-19-oico.</i>		<i>E. album</i> <sup>72</sup>
<i>Ácido Ent-11<math>\alpha</math>-hidroxi-15-oxokaur-16-en-19-oico</i>		<i>E. album</i> <sup>72</sup>
<i>Ácido Ent-11<math>\alpha</math>,12<math>\alpha</math>,15<math>\alpha</math>-trihidroxikaur-16-en-19-oico</i>		<i>E. album</i> <sup>72</sup>
<i>Eupatalbin</i>		<i>E. album</i> <sup>74</sup>
<i>Eupatoralbin</i>		<i>E. album</i> <sup>73</sup>
<i>19-O-<math>\beta</math>-D-glucopyranosil-19-oato de 9,15-dihidroxikaureno</i>		<i>E. macrocephalum</i> <sup>75</sup>

<sup>73</sup>Herz, W., Sharma, R.P. (1976). New hydroxylated ent-kauranoic acids from *Eupatorium album*. J. Org. Chem., 41(6), 1021-1026.

<sup>74</sup>Herz, W., Govindan, S.V. (1979). Tetracyclic analogues of the rosane lactones from *Eupatorium album*. J. Org. Chem. 44(17), 2999-3003.

<sup>75</sup>Vega, M.R.G., de Carvalho, M.G., Vieira, I.J.C., Braz-Filho, R. (2008). Chemical constituents from the Paraguayan medicinal plant *Eupatorium macrocephalum*. J. Nat. Prod., 62, 122-12.



***5. EUPATORIUM OBTUSISSMUM P. DC.***



### 5.1 *Eupatorium obtusissimum*. Parte Teórica.

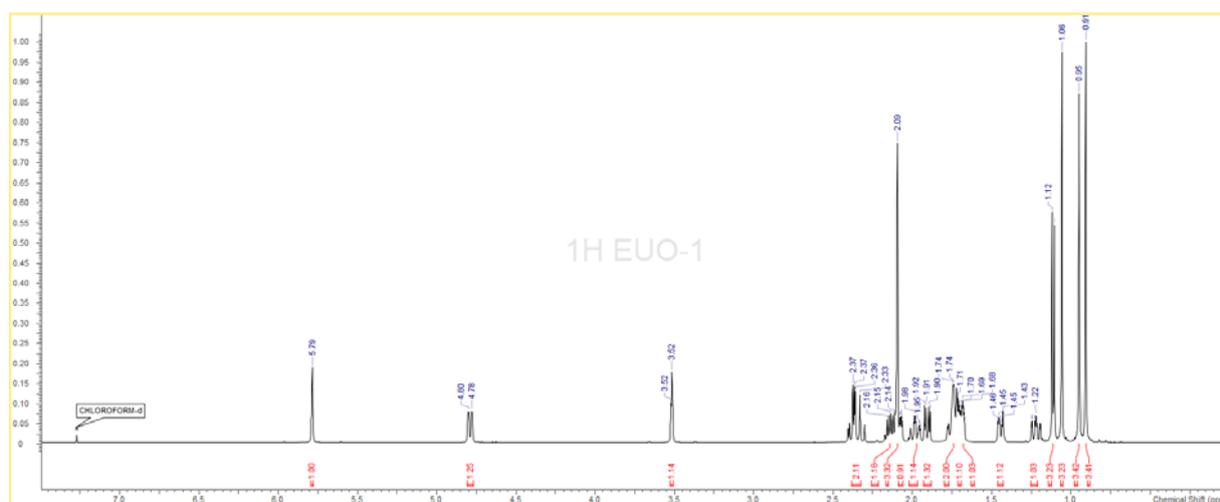
#### Descripción botánica.

*Eupatorium obtusissimum* P. DC. (Asteraceae) es una especie endémica de la isla La Española. Es un arbusto de hasta 1.5 m., con ramitas y partes jóvenes densamente corto-pelosas con pelitos curvos; hojas anchamente aovadas a suborbiculares, de 3-5 por 2-4 cm, redondeadas a obtusas en el ápice, redondeadas, truncadas a subacorazonadas en la base, 3-plinervias poco arriba de la base, el haz verde oscuro, glanduloso y con escasos pelitos, el envés pardo densamente pelosito y glanduloso, el margen-entero; inflorescencia en corimbos compuestos compactos multifloros, densamente pelositos; pedúnculos de hasta 5 mm, brácteas involucrales en 1-2 series, 1-3-nervias, glandulosas y pelositas, las exteriores de 1.5 mm, las interiores de 2.5 mm, acuminadas a obtusas; corolas de 3 mm, escasamente glandulosas, aquenios de 2 mm, pelositos en los ángulos, vilano blanco de 3 mm. Se encuentra por lo general sobre rocas costeras y en la República Dominicana se ha localizado entre las provincias de Puerto Plata y el parque nacional Los Haitises, en la costa norte de la isla.

Del residuo de diclorometano (4.4 g) proveniente del extracto etanólico de *E. obtusissimum*, se pudieron aislar, empleando los procedimientos cromatográficos descritos en la parte experimental, 7 sustancias, que, de acuerdo con sus estructuras químicas podemos clasificar como 6 diterpenos tipo labdano (**EUO 1-6**) mismos que resultaron ser compuestos no reportados en la literatura, y un monoterpeno conocido, el loliólido (**EUO-7**), los cuales se describen a continuación.

## SUSTANCIA EUO-1

Esta sustancia se aisló de la fracción 9 de la cromatografía general de donde finalmente se le obtuvo en forma de cristales incoloros. Mostró la fórmula molecular  $C_{20}H_{30}O_4$ , según el análisis de masas de alta resolución (HRESIMS) en modo de ion positivo, indicando seis grados de insaturación. Su espectro de IR reveló la presencia de un grupo hidroxilo ( $3499\text{ cm}^{-1}$ ), una lactona conjugada ( $1722\text{ cm}^{-1}$ ), y un grupo cetónico ( $1700\text{ cm}^{-1}$ ). El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 2, Tabla 1) mostró, entre otras señales, la presencia de cinco grupos metilo, de los cuales cuatro aparecen como singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  0.91 (Me-18), 0.95 (Me-19), 1.06 (Me-20), y 2.09 (Me-16), mientras que el quinto se muestra en forma de doblete a  $\delta_{\text{H}}$  1.11 (Me-17,  $J = 6.36\text{ Hz}$ ). Además se observaron un protón hidroximetínico como multiplete a  $\delta_{\text{H}}$  3.52 (H-3) y un protón de olefina trisustituída como doblete ancho a  $\delta_{\text{H}}$  4.79 (H-14,  $J = 10.76$ ).

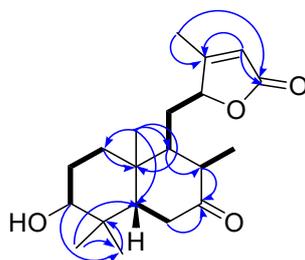


**Figura 2.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia **EUO-1**

El espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (Tabla 1) mostró 20 señales, las cuales incluían 5 grupos metilo ( $\delta_{\text{C}}$  13.3, 13.4, 14.1, 21.5, 27.6), cuatro grupos metileno ( $\delta_{\text{C}}$  24.9, 31.6, 32.2, 38.1), seis grupos metino ( $\delta_{\text{C}}$  46.1, 47.1, 53.2, 75.1, 85.4, 117.0) y cinco carbonos cuaternarios ( $\delta_{\text{C}}$  37.7, 38.3, 168.3, 172.6, 212.0).

Un análisis de los espectros COSY y HMBC permitió elucidar la estructura de **EUO-1**. En el espectro COSY se observaron las correlaciones del protón a  $\delta_{\text{H}}$  1.44 de C-1 con el protón a  $\delta_{\text{H}}$  1.97 de C-2; ambos protones de C-2 ( $\delta_{\text{H}}$  1.70, 1.97) con el protón a  $\delta_{\text{H}}$  3.52 (H-3) y el protón a  $\delta_{\text{H}}$  1.91 (H-5) con los protones a  $\delta_{\text{H}}$  2.36 (2H-6). En el espectro HMBC, ambos protones de C-1 ( $\delta_{\text{H}}$

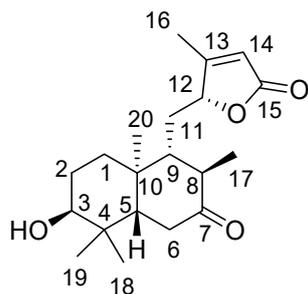
1.44, 1.74) se correlacionan con C-10; el protón a  $\delta_H$  0.91 (Me-18) se correlaciona con las señales a  $\delta_H$  3.52 (H-3) y  $\delta_C$  37.7 (C-4); los protones a  $\delta_H$  0.95 (Me-19) se correlacionan con C-5 ( $\delta_C$  46.1) y Me-18 ( $\delta_C$  21.5); ambos protones de C-6 ( $\delta_H$  2.36) se correlacionan con la señal a  $\delta_C$  212.0 (C-7). También en el HMBC se observó que el protón a  $\delta_H$  2.14 (H-8) se correlaciona con C-7; la señal a  $\delta_H$  1.68 (H-9) se correlaciona con la de H-8 ( $\delta_H$  2.14) y los protones a  $\delta_H$  1.06 (Me-20) se correlacionan con C-1, C-5, C-9 y C-10. Todas las correlaciones previamente mencionadas permitieron formar un esqueleto tipo decalina, según se ve en la Figura 3.



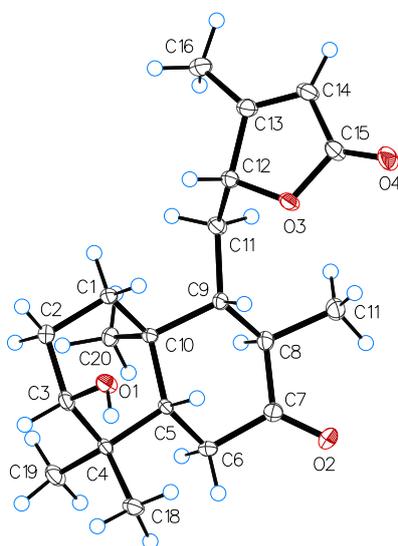
**Figura 3.** Correlaciones importantes en el COSY (—) y el HMBC (---) de EUO-1

La señal a  $\delta_H$  1.11 (C-17) fue designada como un grupo metilo exocíclico debido a la correlación observada, en el espectro COSY, con el protón a  $\delta_H$  2.14 (H-8). Las correlaciones observadas en el COSY entre H-9 ( $\delta_H$  1.68) con uno de los protones de C-11 ( $\delta_H$  2.07), la del otro protón de C-11 ( $\delta_H$  1.22) con H-12 ( $\delta_H$  4.79) y la correlación entre H-12 y H-14 ( $\delta_H$  5.79) permiten establecer la estructura de un anillo furanoico y su unión a la decalina. Estas asignaciones se ven reforzadas por las correlaciones observadas en el HMBC entre C-13/C-14 y C-14/C-15. La asignación de los protones a  $\delta_H$  2.09 como grupo metilo en C-16 es debido a las correlaciones observadas en el espectro HMBC de esos protones con C-13 y C-16 así como con las correlaciones vistas en el COSY entre H-12/H-16 y H-14/H-16.

La configuración relativa de C-18 se determinó mediante la correlación observada en el espectro NOESY de los protones a  $\delta_H$  1.06 (Me-20) con los protones a  $\delta_H$  0.91 (Me-18). Desafortunadamente ninguna otra correlación útil se observó de los espectros NOESY o ROESY.

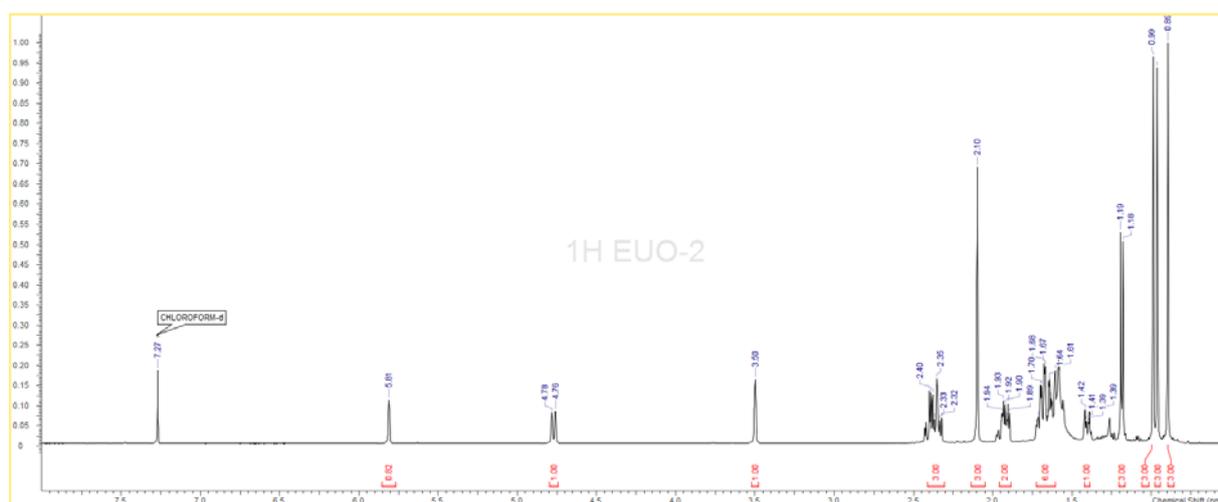
Estructura química de **EUO-1**

Sin embargo, de una mezcla de acetonitrilo-agua, se obtuvieron cristales de **EUO-1** y un análisis cristalográfico de rayos-X (radiación Cu K $\alpha$ ) confirmó la estructura de este compuesto, dio su configuración absoluta como 3*S*, 5*S*, 8*R*, 9*R*, 10*S*, 12*R*, siendo así identificado como un diterpeno tipo *ent*-labdano. Una búsqueda bibliográfica (Sci-finder) reveló que este compuesto no se encuentra reportado en la literatura, por lo que se trata de un compuesto nuevo, mismo que fue nombrado como uasdlabdano A. Un dibujo de perspectiva a partir de los datos cristalográficos para este compuesto se ofrece en la Figura 4.

**Figura 4.** Dibujo de perspectiva para **EUO-1** a partir de los datos cristalográficos

## SUSTANCIA EUO-2

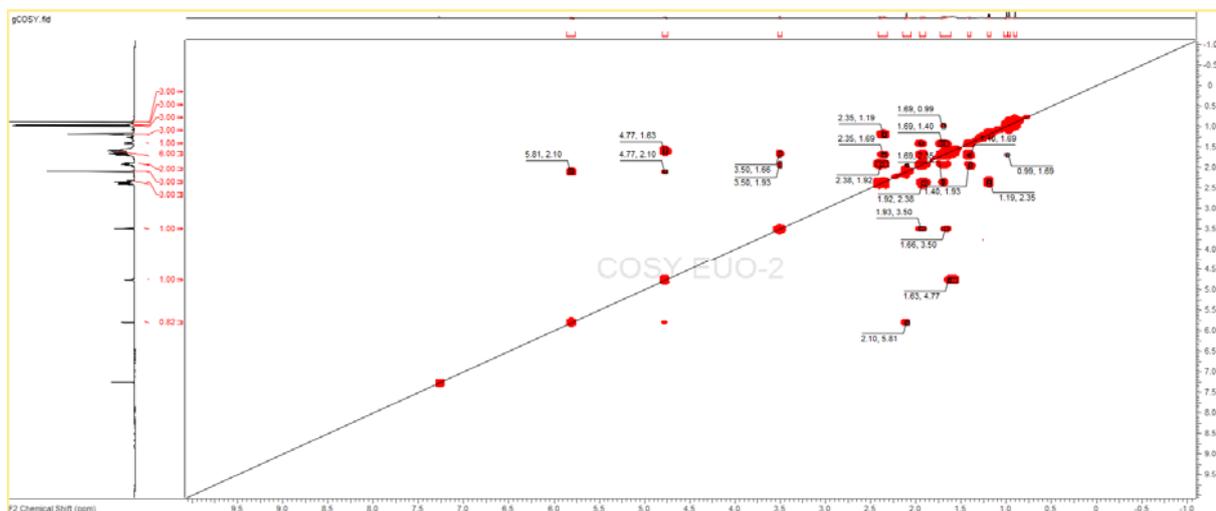
Esta sustancia se aisló de la fracción 8 de la cromatografía general de donde finalmente se le obtuvo en forma de cristales incoloros. Mostró la fórmula molecular  $C_{20}H_{30}O_4$ , según el análisis de masas de alta resolución (HRESIMS) en modo de ion positivo, indicando seis grados de insaturación. Su espectro de IR reveló la presencia de un grupo hidroxilo ( $3454\text{ cm}^{-1}$ ) y una lactona conjugada ( $1726\text{ cm}^{-1}$ ). El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 5, Tabla 2) mostró, entre otras señales, la presencia de cinco grupos metilo, de los cuales cuatro aparecen como singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  0.89 (Me-18), 0.96 (Me-19), 0.99 (Me-20), y 2.10 (Me-16), mientras que el quinto se muestra en forma de doblete a  $\delta_{\text{H}}$  1.19 (Me-17,  $J = 6.81\text{ Hz}$ ). Además se observaron un protón hidroximetínico como singulete a  $\delta_{\text{H}}$  3.50 (H-3) y un protón de olefina trisustituída como singulete a  $\delta_{\text{H}}$  5.81 (H-14).



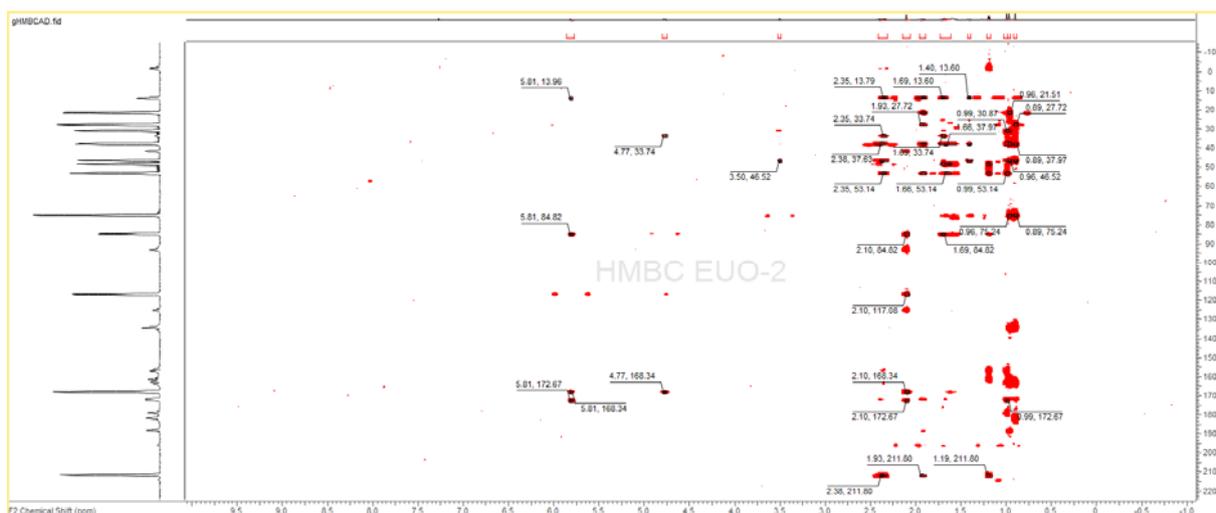
**Figura 5.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia **EUO-2**

El espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (Tabla 2) mostró 20 señales, las cuales incluían 5 grupos metilo ( $\delta_{\text{C}}$  13.6, 13.8, 14.0, 21.5, 27.7), cuatro grupos metileno ( $\delta_{\text{C}}$  25.2, 30.9, 33.7, 37.9), seis grupos metino ( $\delta_{\text{C}}$  46.5, 48.4, 53.1, 75.2, 84.8, 117.1) y cinco carbonos cuaternarios ( $\delta_{\text{C}}$  37.6, 38.0, 168.3, 172.7, 211.8).

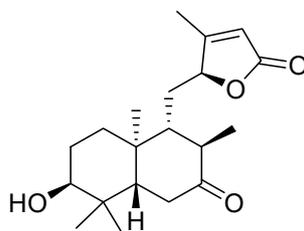
El análisis de los espectros COSY y HMBC de esta sustancia (Figuras 6 y 7) revelaron que su estructura era similar a la de **EUO-1**.



**Figura 6.** Espectro gCOSY ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia EUO-2

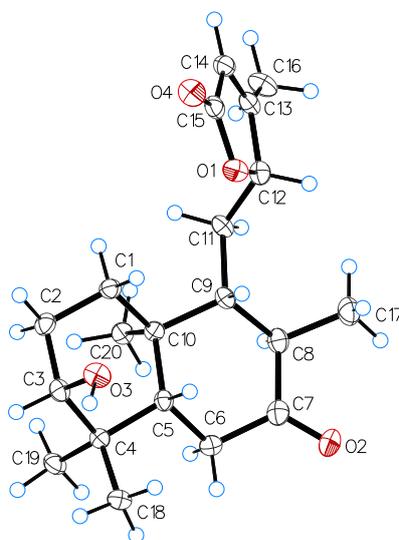


**Figura 7.** Espectro gHMBC ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia EUO-2



Estructura química de EUO-2

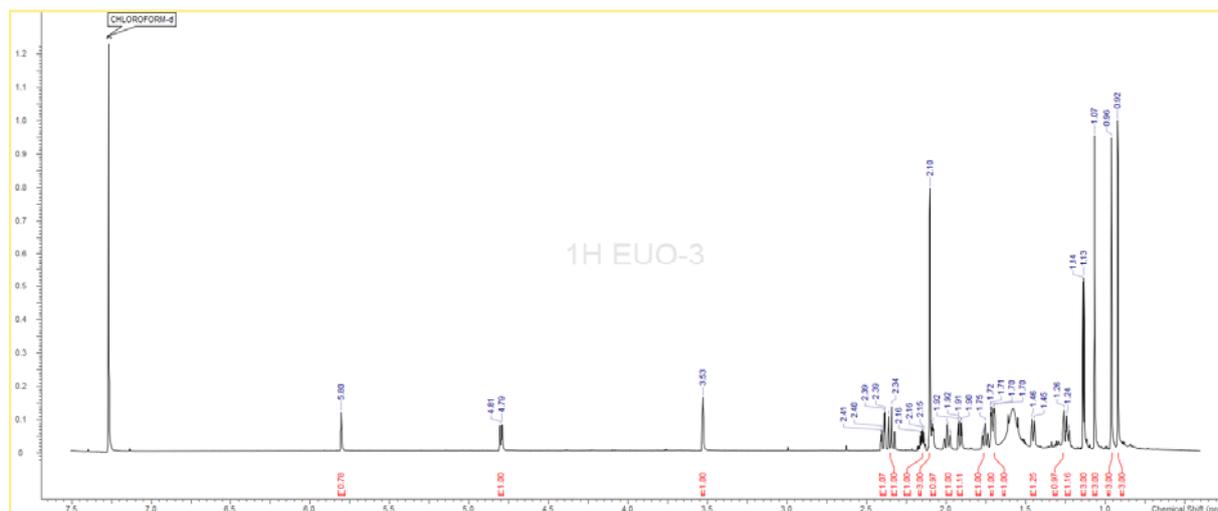
El espectro ROESY de **EUO-2** mostró picos cruzados entre H-5/Me-19 y H-3/Me-18. De una mezcla de acetonitrilo-agua, se obtuvieron cristales de **EUO-2**, y la cristalografía de rayos-X (radiación Cu K $\alpha$ ) reveló su configuración absoluta como 3*S*, 5*S*, 8*R*, 9*R*, 10*S*, 12*S* (Figura 8). Por lo que esta sustancia fue inequívocamente identificada como un diterpeno tipo *ent*-labdano. Una búsqueda bibliográfica (Sci-finder) reveló que este compuesto no se encuentra reportado en la literatura, por lo que se trata de un compuesto nuevo, mismo que fue nombrado como uasdlabdano B.



**Figura 8.** Dibujo de perspectiva para **EUO-2** a partir de los datos cristalográficos

### SUSTANCIA EUO-3

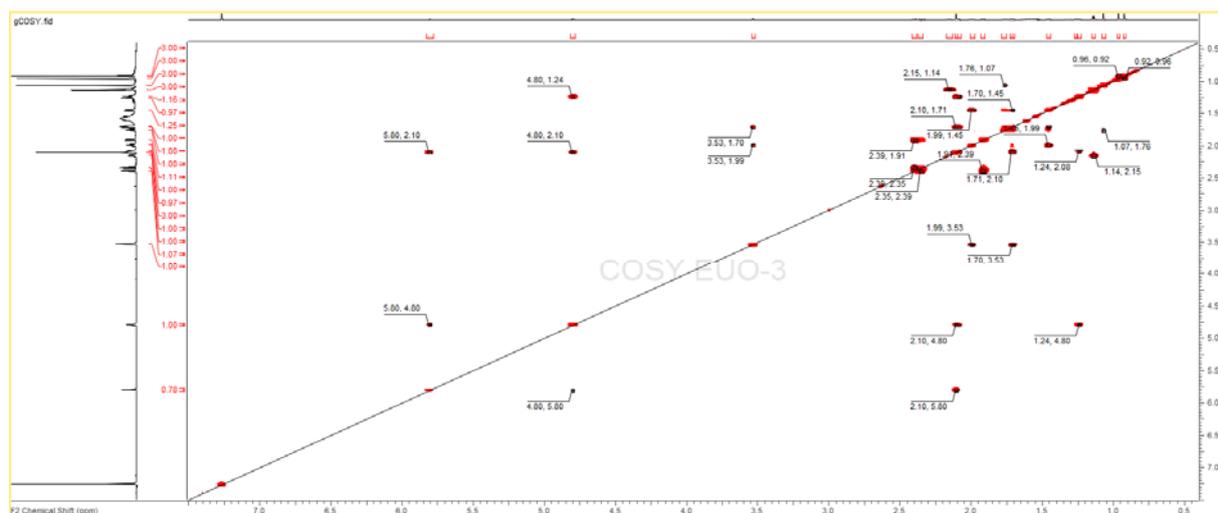
Esta sustancia se aisló de la fracción 9 de la cromatografía general de donde finalmente se le obtuvo en forma de líquido aceitoso. Mostró la fórmula molecular C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub>, según el análisis de masas de alta resolución (HRESIMS) en modo de ion positivo, indicando seis grados de insaturación. Su espectro de IR reveló la presencia de un grupo hidroxilo (3502 cm<sup>-1</sup>), una lactona (1741 cm<sup>-1</sup>) y un grupo cetónico (1707 cm<sup>-1</sup>). El espectro de <sup>1</sup>H-RMN (Figura 9, Tabla 3) mostró, entre otras señales, la presencia de cinco grupos metilo, de los cuales cuatro aparecen como singuletes a  $\delta_H$  0.96 (Me-18), 0.92 (Me-19), 1.07 (Me-20), y 2.10 (Me-16), mientras que el quinto se muestra en forma de doblete a  $\delta_H$  1.14 (Me-17,  $J = 6.59$  Hz). Además se observaron un protón hidroximetínico como singulete ancho a  $\delta_H$  3.53 (H-3) y un protón de olefina trisustituída como singulete a  $\delta_H$  5.80 (H-14).



**Figura 9.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 800 MHz) de la sustancia **EUO-3**

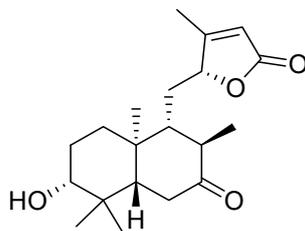
El espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (Tabla 3) mostró 20 señales, las cuales incluían 5 grupos metilo ( $\delta_{\text{C}}$  13.3, 13.5, 14.1, 21.5, 27.6), cuatro grupos metileno ( $\delta_{\text{C}}$  24.9, 31.6, 32.3, 38.1), seis grupos metino ( $\delta_{\text{C}}$  46.1, 47.2, 53.2, 75.2, 85.4, 117.1) y cinco carbonos cuaternarios ( $\delta_{\text{C}}$  37.7, 38.3, 168.1, 172.5, 211.9).

El análisis de los espectros COSY y HMBC de esta sustancia (Figuras 10 y 11) revelaron que su estructura era similar a las de **EUO-1** y **EUO-2**.

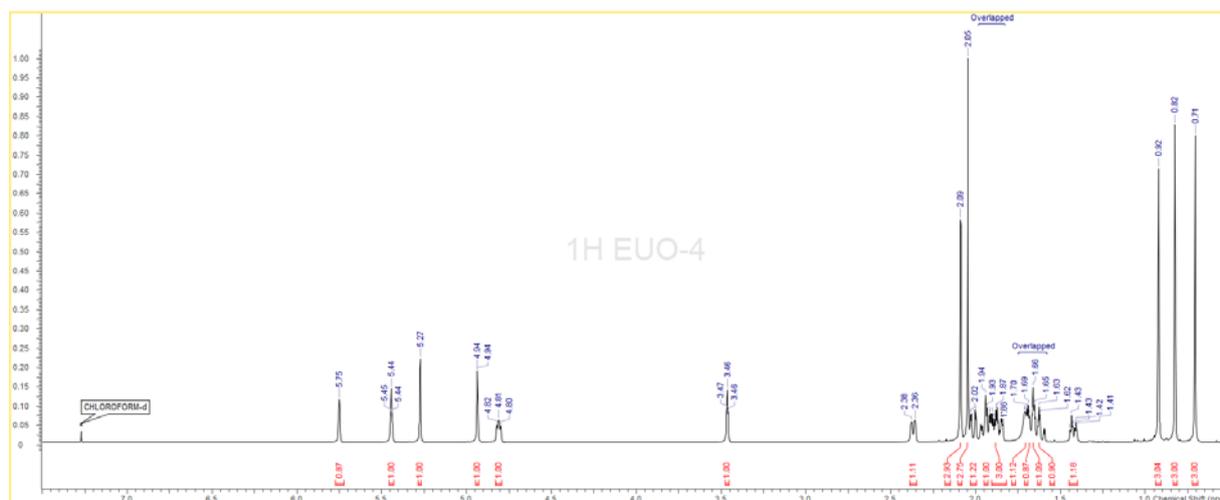


**Figura 10.** Espectro gCOSY ( $\text{CDCl}_3$ , 800 MHz) de la sustancia **EUO-3**



Estructura química de **EUO-3****SUSTANCIA EUO-4**

La sustancia **EUO-4** se aisló de la fracción 9 de la cromatografía general de donde finalmente se le consiguió en forma de líquido aceitoso. Mostró la fórmula molecular  $C_{22}H_{32}O_5$ , según el análisis de masas de alta resolución (HRESIMS) en modo de ion positivo, indicando siete grados de insaturación. Su espectro de IR reveló la presencia de grupo hidroxilo ( $3514$  y  $3476\text{ cm}^{-1}$ ) y una lactona conjugada ( $1730\text{ cm}^{-1}$ ) entre otros. El espectro de  $^1\text{H-RMN}$  (Figura 13, Tabla 4) mostró, entre otras señales, la presencia de cinco grupos metilo, los que aparecen como singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  0.71 (Me-20), 0.82 (Me-18), 0.92 (Me-19), 2.05 (COMe), y 2.09 (Me-16). También pudieron verse la presencia de un protón a  $\delta_{\text{H}}$  4.94 (H-17a) como doblete ( $J = 1.10$ ) y otro protón a  $\delta_{\text{H}}$  5.27 (H-17b) como singulete, los cuales se asignaron a un grupo metilén exocíclico. Además se observaron un protón hidroximetínico como triplete a  $\delta_{\text{H}}$  3.46 (H-3,  $J = 2.47$ ) y un protón de olefina trisustituída como singulete a  $\delta_{\text{H}}$  5.75 (H-14).

**Figura 13.** Espectro de  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia **EUO-4**

El espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (Tabla 4) mostró 22 señales; 5 grupos metilo ( $\delta_{\text{C}}$  13.2, 14.8, 21.5, 21.8, 28.2), cinco grupos metileno ( $\delta_{\text{C}}$  25.8, 27.0, 28.6, 31.5, 113.3), seis grupos metino ( $\delta_{\text{C}}$  42.1, 47.5, 75.5, 75.9, 83.6, 113.3) y seis carbonos cuaternarios ( $\delta_{\text{C}}$  37.3, 39.5, 144.3, 169.2, 170.1, 172.9).

El análisis de los espectros COSY y HMBC de esta sustancia (Figuras 14 y 15) revelaron que su estructura era similar a las de los tres compuestos anteriores (**EUO-1**, **2**, **3**), pero ahora incluyendo la presencia de un grupo acetato en C-7 y también mostrando en C-8, en lugar de un grupo metilo, un grupo metileno exocíclico, que aparece comúnmente en muchos diterpenos tipo labdano.<sup>76,77,78</sup>

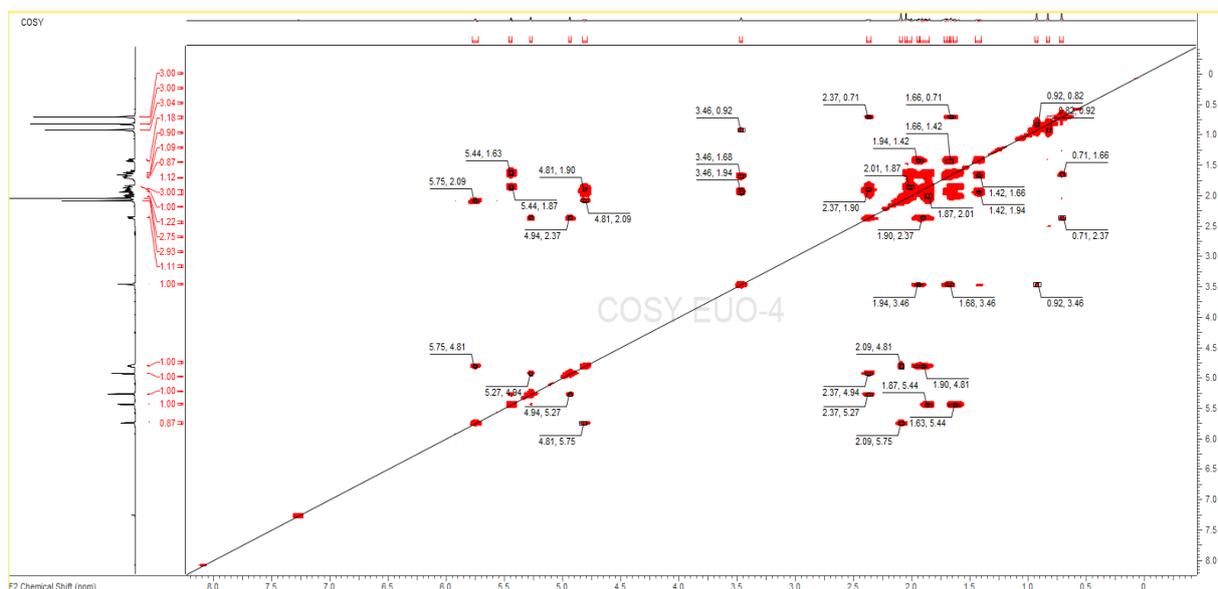


Figura 14. Espectro gCOSY ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia EUO-4

<sup>76</sup>Xiao, P.; Sun, C.; Zahid, M.; Ishrud, O.; Pan, Y. *Fitoterapia*. 2001, 72, 837-838.

<sup>77</sup>Chokchaisiri, R.; Chaneiam, N.; Svasti, S.; Fucharoen, S.; Vadolas, J.; Suksamrarn, A. *J. Nat. Prod.* 2010, 73, 724-728.

<sup>78</sup>Li, D. Z.; Tang, C.; Quinn, R. J.; Feng, Y.; Ke, C. Q.; Yao, S.; Ye, Y. *J. Nat. Prod.* 2013, 76, 1580-1585.

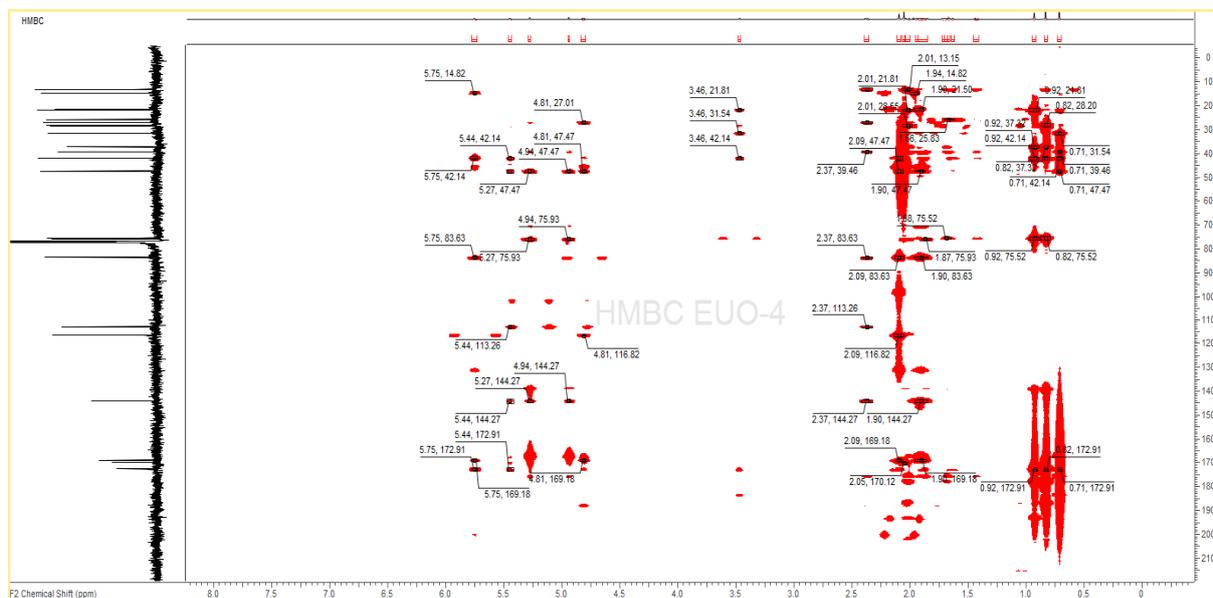


Figura 15. Espectro gHMBC ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia EUO-4

La configuración relativa de EUO-4 se estableció por medio de un experimento ROESY, donde se observaron (Figura 16) correlaciones entre Me-20/Me-18, Me-18/H-3, Me-20/H-6 $\alpha$  ( $\delta_{\text{H}}$  1.63), H-6 $\alpha$ /H-7, H-5/H-9 y H-9/H-12, de donde se dedujo que 3-OH, 7-OAc y H-12 eran cofaciales y orientados con configuración beta ( $\beta$ ), sustentando así la estructura asignada. Una búsqueda bibliográfica (Sci-finder) reveló que este compuesto no se encuentra reportado en la literatura, por lo que se trata de un compuesto nuevo, mismo que fue nombrado como uasdlabdano D.

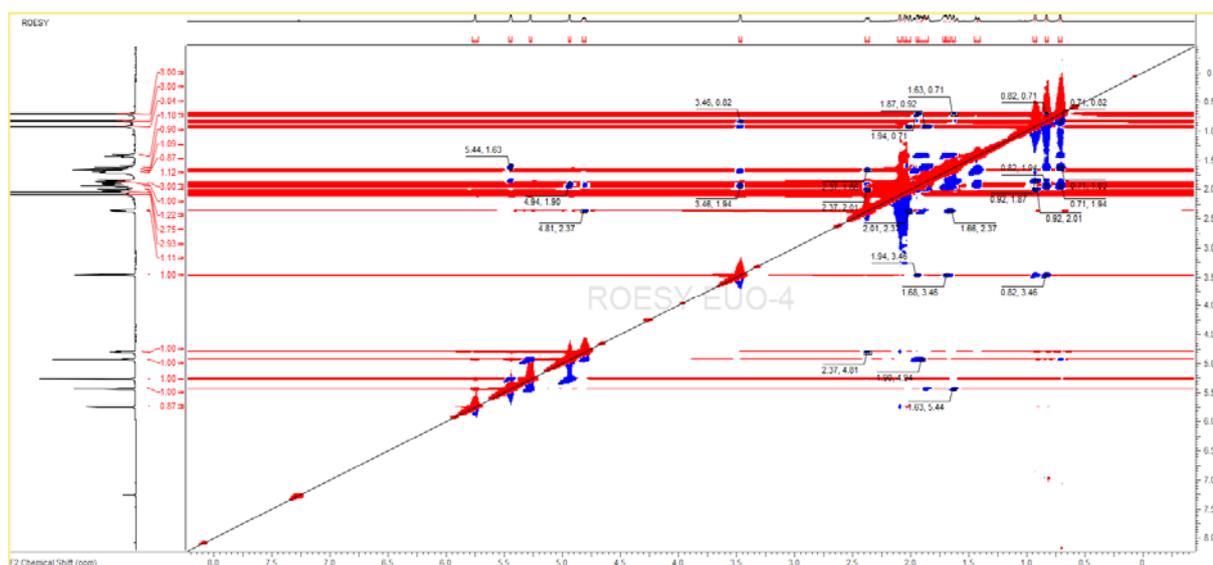


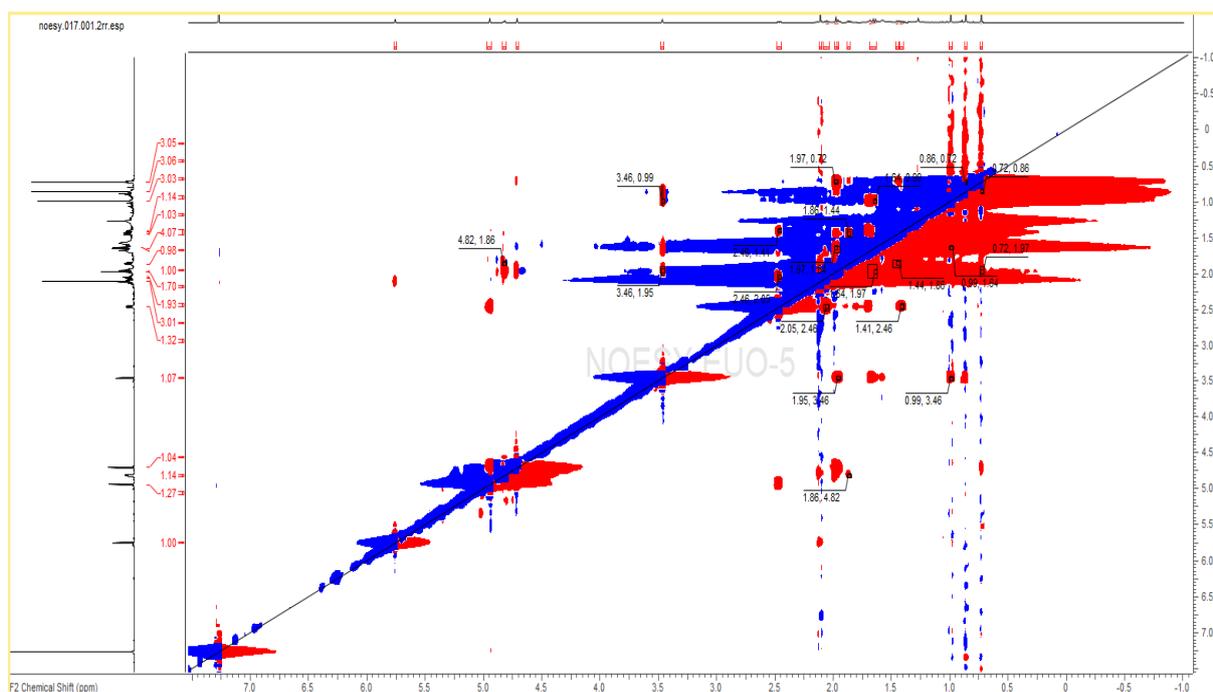
Figura 16. Espectro ROESY ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia EUO-4





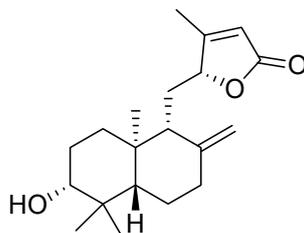
En principio, **EUO-5** fue considerado como un labdano de la serie normal y su elucidación estructural condujo a una molécula conocida, 3 $\beta$ -hidroxi-labda-8(17), 13(14)-dien-12(15)-olido, la cual fue aislada de la especie *Rauvolfia tetraphylla*.<sup>79</sup> Sin embargo, después de comparar sus datos de RMN con los encontrados para **EUO-5**, fue evidente que estábamos en presencia de dos sustancias distintas, debido a las grandes diferencias en los desplazamientos químicos de muchos de los átomos de carbono. Esta observación nos permitió concluir que **EUO-5** era en cambio un *ent*-labdano y de hecho, una molécula nueva, la cual nombramos como uasdlabdano E.

El espectro NOESY de **EUO-5** (Figura 20) mostró las correlaciones entre Me-20/Me-18, Me-19/H-3, Me-20/H-11 $\alpha$  ( $\delta_H$  1.97) y H-11 $\beta$  ( $\delta_H$  1.86)/H-12, las cuales revelan que H-3 y H-12 son cofaciales y están orientadas con una configuración beta ( $\beta$ ), sustentando así la estructura que proponemos.

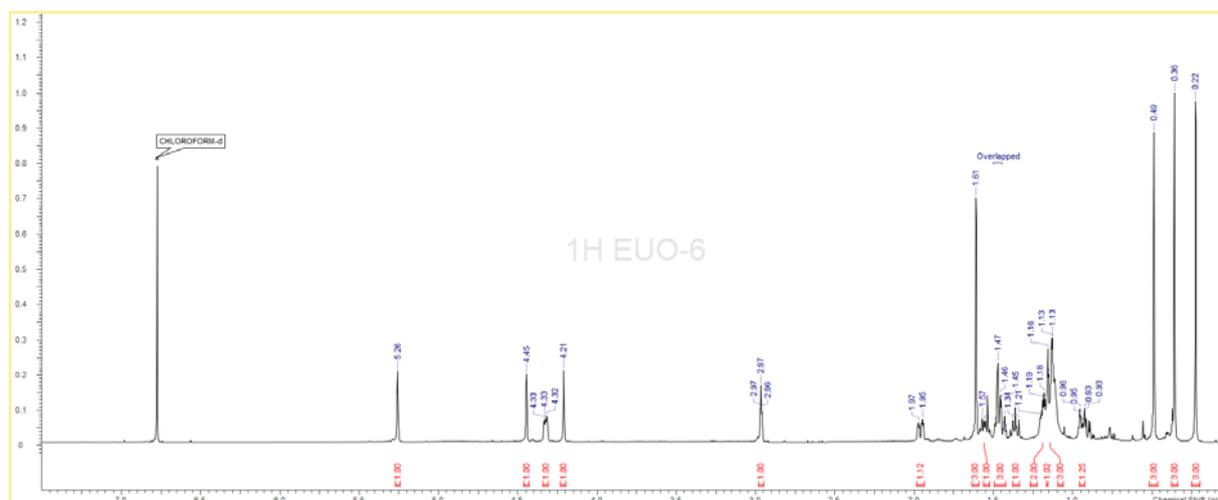


**Figura 20.** Espectro NOESY (CDCl<sub>3</sub>, 700 MHz) de la sustancia **EUO-5**

<sup>79</sup>Brahmachari, G.; Mandal, L. C.; Gorai, D.; Mondal, A.; Sarkar, S.; Majhi, S. *J. Chem. Res.* 2011, 35, 678-680.

Estructura química de **EUO-5****SUSTANCIA EUO-6**

La sustancia **EUO-6** se aisló de la fracción 7 de la cromatografía general de donde finalmente se le consiguió en forma de líquido aceitoso. Mostró la fórmula molecular  $C_{20}H_{30}O_3$ , según el análisis de masas de alta resolución (HRESIMS) en modo de ion positivo, indicando seis grados de insaturación. En su espectro de IR pudieron observarse la presencia de grupo hidroxilo ( $3469\text{ cm}^{-1}$ ), una lactona conjugada ( $1733\text{ cm}^{-1}$ ) y un grupo exometileno ( $907\text{ cm}^{-1}$ ) entre otros. El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 21, Tabla 6) mostró, entre otras señales, la presencia de cuatro grupos metilo, los que aparecen como singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  0.22 (Me-20), 0.36 (Me-18), 0.49 (Me-19), y 1.61 (Me-16). También pudieron verse la presencia como singulete de los protones a  $\delta_{\text{H}}$  4.21 (H-17a) y 4.45 (H-17b), los cuales se asignaron al grupo metilén exocíclico. Además se observaron un protón hidroximetínico como multiplete a  $\delta_{\text{H}}$  2.97 (H-3), y un protón de olefina trisustituída como multiplete a  $\delta_{\text{H}}$  5.26 (H-14).

**Figura 21.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia **EUO-6**



La configuración relativa de **EUO-6** se asignó usando un experimento ROESY (Figura 24), donde fue posible observar correlaciones entre Me-20/Me-18, Me-18/H-3, Me-20/H-11 $\alpha$  ( $\delta_H$  1.37) y H-11 $\beta$  ( $\delta_H$  1.47)/H-12, de donde puede deducirse que H-3 y H-12 están en caras opuestas de la molécula, estando H-3 orientado en alfa ( $\alpha$ ) y H-12 orientado en beta ( $\beta$ ), lo que sustenta la estructura propuesta por nosotros. Una búsqueda bibliográfica (Sci-finder) reveló que este compuesto no se encuentra reportado en la literatura, por lo que se trata de un compuesto nuevo, mismo que fue nombrado como uasdlabdano F.

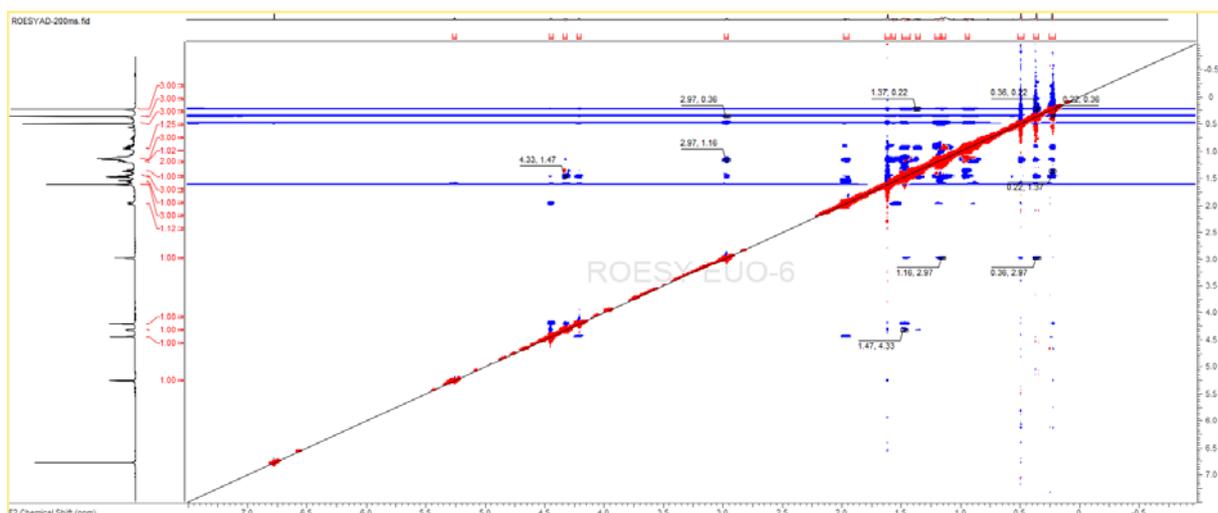
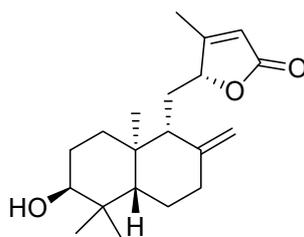


Figura 24. Espectro ROESY (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) de la sustancia **EUO-6**



Estructura química de **EUO-6**

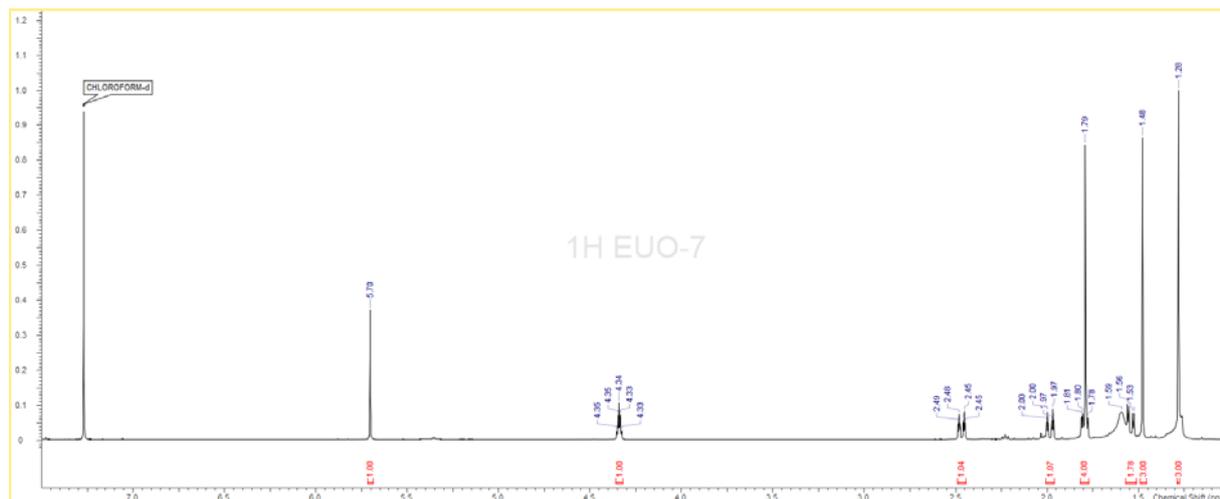
### SUSTANCIA EUO-7

La sustancia **EUO-7** se aisló de la fracción 7 de la cromatografía general de donde finalmente se le consiguió en forma de líquido aceitoso. Mostró la fórmula molecular C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>, según el análisis de masas de alta resolución (HRESIMS) en modo de ion positivo, indicando cuatro grados de insaturación. En su espectro de IR pudieron observarse la presencia de grupo hidroxilo (3439 cm<sup>-1</sup>) y una lactona conjugada (1722 cm<sup>-1</sup>) entre otros. El espectro de <sup>1</sup>H-RMN

(Figura 25, Tabla 7) mostró, entre otras señales, la presencia de tres grupos metilo, los que aparecen como singuletes a  $\delta_H$  1.28 (Me-9), 1.48 (Me-10), 1.79 (Me-11). También pudieron verse, la presencia, como doble doblete ancho, de un protón a  $\delta_H$  1.54 (H-2a,  $J = 3.4, 14.7$  Hz) y de otro protón, como doble triplete a  $\delta_H$  1.98 (H-2b,  $J = 2.5, 14.7$  Hz). Los protones asignados a C-4 se observaron, uno como multiplete a  $\delta_H$  1.79 (H-4a) y el otro como doble triplete a  $\delta_H$  2.47 (H-4b,  $J = 2.5, 14.2$  Hz). Además se observaron un protón hidroximetínico como quintuplete a  $\delta_H$  4.34 (H-3,  $J = 3.4$ ), y un protón de olefina trisustituída como singulete a  $\delta_H$  5.70 (H-7).

El espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (Tabla 7) mostró 11 señales; tres grupos metilo ( $\delta_C$  26.28, 26.79, 30.45), dos grupos metileno ( $\delta_C$  45.40, 47.10), dos grupos metino ( $\delta_C$  66.64, 112.72) y cuatro carbonos cuaternarios ( $\delta_C$  35.71, 86.44, 171.30, 182.15).

Los datos espectroscópicos de RMN antes mencionados, así como la espectrometría de masas de alta resolución (HRESIMS, modo de ion positivo) de **EUO-7** fueron comparables con valores publicados para una sustancia conocida como **loliólido**.<sup>80</sup> Estas asignaciones fueron confirmadas a su vez por los experimentos HSQC-DEPT y HMBC (Figuras 26 y 27).



**Figura 25.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia **EUO-7**

<sup>80</sup>He, Z.; Zhang, A.; Ding, L.; Lei, X.; Sun, J.; Zhang, L. *Fitoterapia*. 2010, 81, 1125-1128.

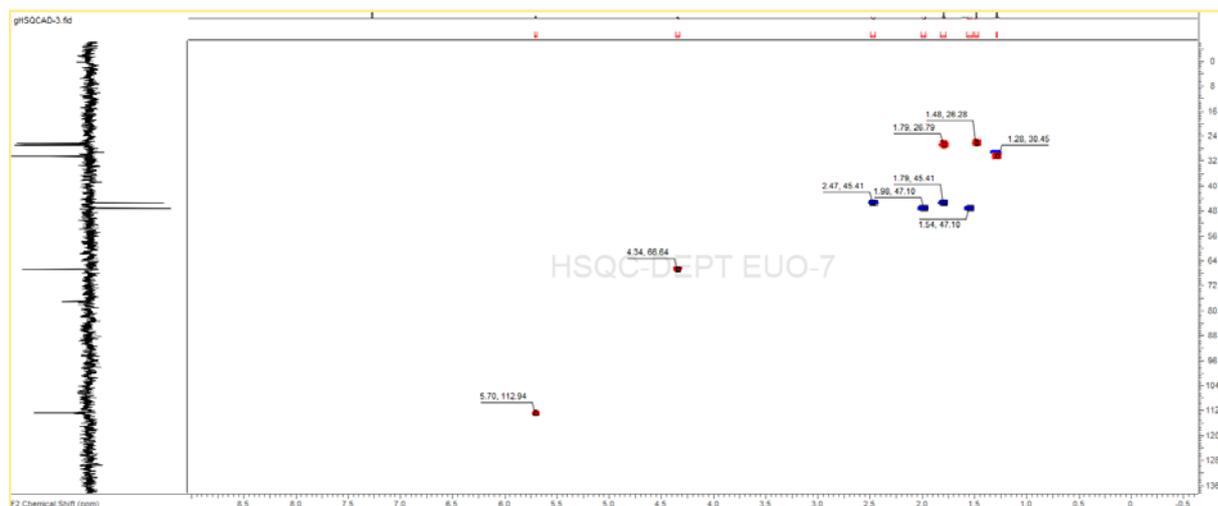


Figura 26. Espectro HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia EUO-7

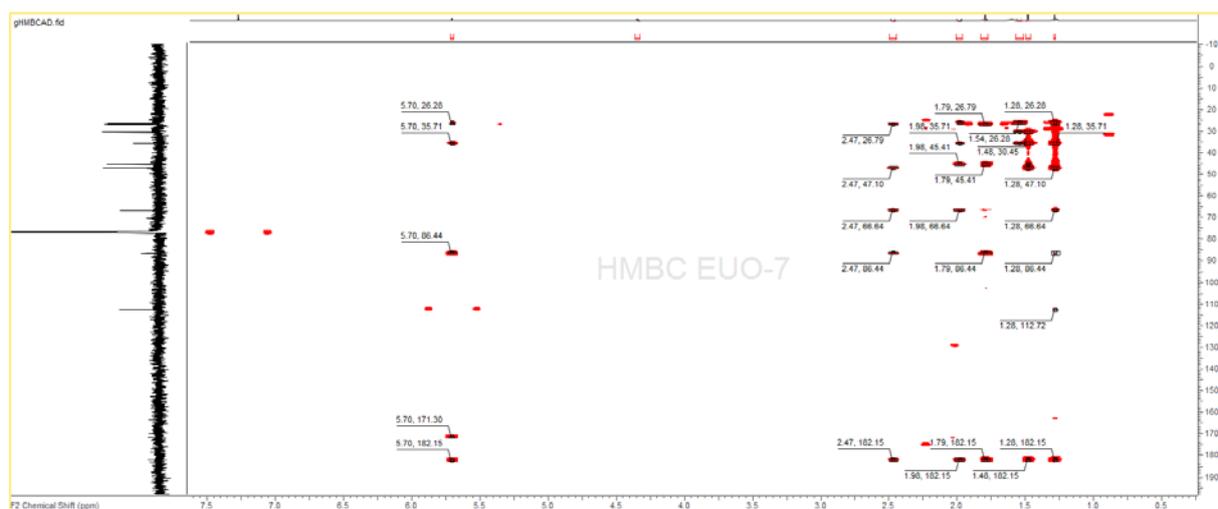
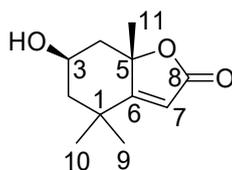


Figura 27. Espectro HMBC ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia EUO-7

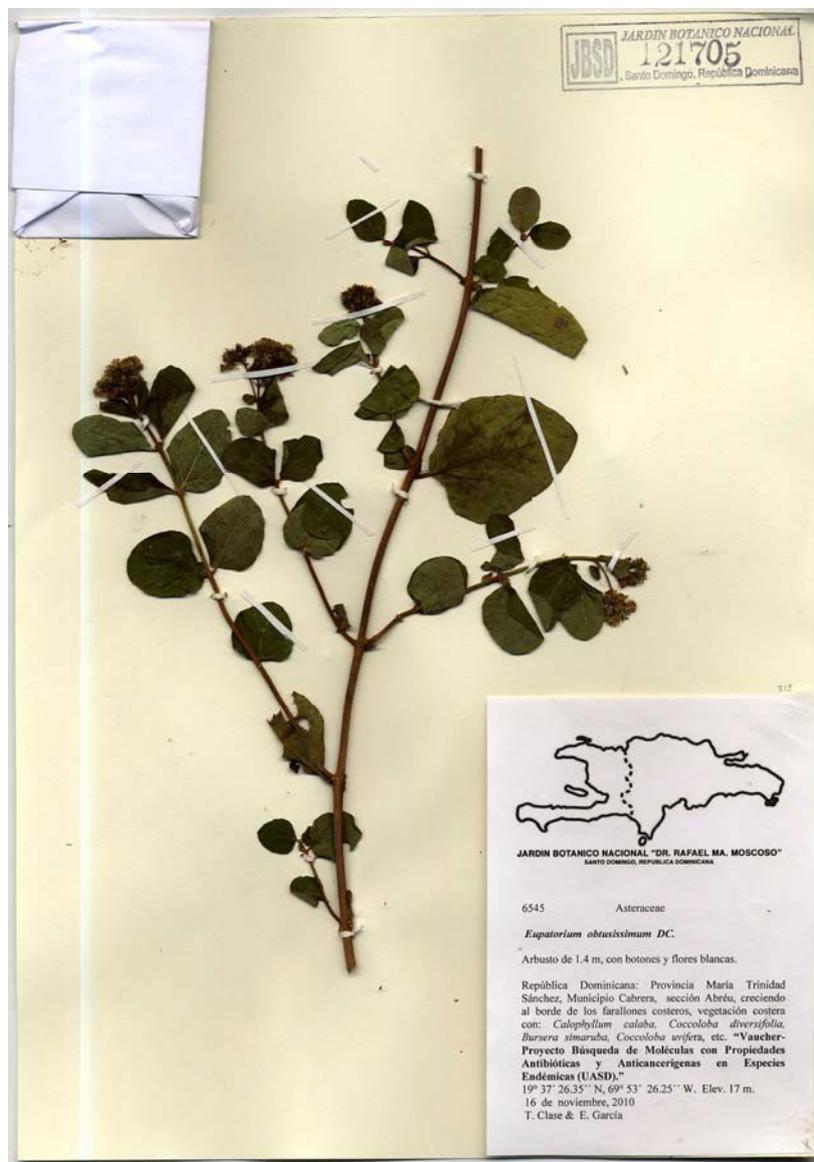


Estructura química de EUO-7

## 5.2 *Eupatorium obtusissimum*. Parte Experimental.

### Material Vegetal

Las partes aéreas de *E. obtusissimum* se colectaron en Noviembre de 2010 en Cabrera, Provincia María Trinidad Sánchez, República Dominicana. El material Vegetal fue identificado por el Lic. Teodoro Clase, botánico del Jardín Botánico Nacional “Dr. Rafael Ma. Moscoso”, Santo Domingo, República Dominicana, donde el voucher de espécimen JBSD 121705 (Figura 28) fue depositado.



**Figura 28.** Voucher de espécimen JBSD 121705. *E. obtusissimum*



## Extracción y Aislamiento

Las partes aéreas de *E. obtusissimum* se secaron al aire y a la sombra, y se trituraron hasta conseguir un polvo fino. El material pulverizado (372 g) se extrajo con EtOH 95% en un aparato Soxhlet hasta agotamiento. El extracto crudo resultante (57 g) se disolvió en EtOH 95% (500 mL) y se trató con una solución acuosa de acetato de plomo al 5% P/V (500 mL) para precipitar la clorofila. Después de 24 horas, la mezcla se filtró sobre papel, se concentró a vacío para remover la mayoría del EtOH, y se extrajo sucesivamente con hexano ( $4 \times 500$  mL) y con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 500$  mL). El residuo de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  se lavó con una solución acuosa de NaCl al 1% P/V, y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro obteniéndose 4.4 g de extracto soluble en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  el cual fue sometido a cromatografía sobre una columna de gel de sílice (0.040-0.063 mm) y eluido con mezclas de hexano-acetato de etilo con polaridad creciente consiguiéndose 10 fracciones (F1-F10). La fracción 7 (186 mg) se sometió a cromatografía sobre una columna de gel de sílice (0.015-0.040 mm) con mezclas de hexano-acetona con polaridad creciente para dar 23 subfracciones. La subfracción F7-12 (16 mg) se trató con HPLC semipreparativo (MeCN/ $\text{H}_2\text{O}$ , 19-52%, a 4 mL/min, columna Phenomenex semipreparativa,  $4\mu\text{m}$ ,  $10\text{ mm} \times 250\text{ mm}$ , RP synergi-hydro C18aq) obteniéndose las sustancias **EUO-6** (0.5 mg) y **EUO-7** (1.0 mg). Una parte de la fracción 8 (394.6 mg) se sometió a cromatografía sobre una columna de gel de sílice (0.015-0.040 mm) con mezclas de hexano-acetona de polaridad creciente consiguiéndose 52 subfracciones. La subfracción F8-4 (10.5 mg) se sometió a una cromatografía preparativa en capa fina sobre una placa de gel de sílice, empleando una mezcla de éter etílico-acetato de etilo (7:3), obteniéndose la sustancia **EUO-5** (0.5 mg). La subfracción F8-10 (13 mg) se trató con HPLC semipreparativo (MeCN/ $\text{H}_2\text{O}$ , 30-60%, a 5 mL/min, columna Phenomenex,  $4\mu\text{m}$ ,  $10\text{ mm} \times 250\text{ mm}$ , RP synergi-hydro C18aq) obteniéndose la sustancia **EUO-2** (0.4 mg). La fracción 9 (611.4 mg) se sometió a cromatografía sobre una columna de gel de sílice (0.015-0.040 mm) con mezclas de hexano-acetona de polaridad creciente consiguiéndose 66 subfracciones. Las subfracciones desde F9-10 a F9-14 se reagruparon según su perfil observado en TLC (149.9 mg) y se trataron con HPLC semipreparativo (MeCN/ $\text{H}_2\text{O}$ , 40%, a 5 mL/min, columna Phenomenex  $5\mu\text{m}$ ,  $10\text{ mm} \times 250\text{ mm}$ , Luna C18(2)) obteniéndose las sustancias **EUO-1** (22 mg) y **EUO-4** (0.5 mg). La subfracción F9-20 (7.4 mg) se sometió a HPLC semipreparativo (MeCN/ $\text{H}_2\text{O}$ , 15-55%, a 4 mL/min, columna Phenomenex  $4\mu\text{m}$ ,  $10\text{ mm} \times 250\text{ mm}$ , RP synergi-hydro C18aq) obteniéndose la sustancia **EUO-3** (0.5 mg).

El siguiente cuadro resume el trabajo cromatográfico realizado sobre el extracto de diclorometano de *E. obtusissimum*.

### ORGANIGRAMA DE FRACCIONES

FRACCIONES	ELUYENTES	SUSTANCIAS
FRACCIÓN 1	HEXANO- AcOEt 10%	
FRACCIÓN 2	HEXANO- AcOEt 20%	
FRACCIÓN 3	HEXANO- AcOEt 30%	
FRACCIÓN 4	HEXANO- AcOEt 40%	
FRACCIÓN 5	HEXANO- AcOEt 50%	
FRACCIÓN 6	HEXANO- AcOEt 60%	
FRACCIÓN 7	HEXANO- AcOEt 70%	<b>EUO-6, EUO-7</b>
FRACCIÓN 8	HEXANO- AcOEt 80%	<b>EUO-2, EUO-5</b>
FRACCIÓN 9	HEXANO- AcOEt 90%	<b>EUO-1, EUO-3, EUO-4</b>
FRACCIÓN 10	AcOEt 100%	

## Análisis Cristalográfico de rayos-X de las sustancias EUO-1 y EUO-2

Los datos de difracción de rayos-X para EUO-1 y EUO-2 se midieron en un sistema Bruker D8 Venture PHOTON 100 CMOS equipado con una fuente micro-foco INCOATEC Imus de Cu  $K\alpha$  ( $\lambda = 1.54178 \text{ \AA}$ ). La indexación se llevó a cabo usando APEX2<sup>81</sup> (método de Diferencia de Vectores). La integración de los datos y la reducción se llevaron a cabo usando SaintPlus 6.01<sup>82</sup>. La corrección de la absorción se llevó a cabo por un método multi-scan implementado in SADABS<sup>83</sup>. Los grupos espaciales fueron determinados usando XPREP implementado en APEX2. La estructura se resolvió usando SHELXS-97<sup>84</sup> (métodos directos) y fue refinada usando SHELXL-2015<sup>85</sup> (matriz completa de mínimos cuadrados en  $F^2$ ) a través del programa de interfaz OLEX2<sup>86</sup>. Todos los átomos distintos del hidrógeno fueron refinados anisotrópicamente. Los átomos de hidrógeno de los grupos -CH, -CH<sub>2</sub> y -CH<sub>3</sub> se colocaron en posiciones geoméricamente calculadas y fueron incluidos en el proceso de refinamiento usando un modelo que trabaja con los siguientes parámetros térmicos:  $U_{iso}(H) = 1.2(1.5)U_{eq}(-CH, -CH_2(-CH_3))$ . Los átomos de hidrógeno de los grupos -OH se han encontrado a partir de la diferencia de mapa de Fourier y fueron refinados libremente. Para EUO-1 los átomos de hidrógeno de la molécula de agua fueron encontrados a partir de la diferencia de mapa de Fourier y fueron refinados usando las restricciones SADI y DANG.

---

<sup>81</sup> Bruker AXS Inc. Madison, Wisconsin, USA. *APEX2* (Version 2013.6-2). 2014.

<sup>82</sup> Bruker AXS Inc. Madison, Wisconsin, USA. *SAINTE-V8.32A*. Data Reduction Software. 2013.

<sup>83</sup>Sheldrick, G. M. *SADABS*. Program for Empirical Absorption Correction. University of Göttingen: Göttingen, Germany, 1996.

<sup>84</sup>Sheldrick, G. M. *Acta Cryst.* 2008, *64*, 112-122.

<sup>85</sup>Sheldrick, G. M. *Acta Cryst.* 2015, *C71*, 3-8.

<sup>86</sup>Dolomanov, O. V.; Bourhis, L. J.; Gildea, R. J.; Howard, J. A. K.; Puschmann, H. *J. Appl. Crystallogr.* 2009, *42*, 339-341.

**Datos cristalográficos de rayos-X para EUO-1:**  $C_{20}H_{32}O_5$  (formula molecular  $C_{20}H_{30}O_4 \cdot H_2O$ ), pf 352.45, ortorrómbico, tamaño de cristal  $0.22 \times 0.13 \times 0.03 \text{ mm}^3$ , grupo espacial  $P2_12_12_1$ ,  $a = 7.2954(2) \text{ \AA}$ ,  $b = 15.3248(3) \text{ \AA}$ ,  $c = 16.6251(4) \text{ \AA}$ ,  $V = 1858.70(8) \text{ \AA}^3$ ,  $Z = 4$ ,  $T = 100.0 \text{ K}$ ,  $D_{\text{calcd}} = 1.260 \text{ g/cm}^3$ ,  $\mu = 0.719 \text{ mm}^{-1}$ ,  $F(000) = 768.0$ , reflexiones colectadas 22553 ( $7.846^\circ \leq 2\Theta \leq 137.936^\circ$ ), reflexiones independientes 3443 ( $R_{\text{int}} = 0.0773$ ,  $R_{\text{sigma}} = 0.0422$ ), índices  $R$  finales para  $I \geq 2\sigma(I)$ ,  $R_1 = 0.0375$ ,  $wR_2 = 0.0920$ , índices  $R$  finales para todos los datos  $R_1 = 0.0419$ ,  $wR_2 = 0.0951$ , la bondad-de-ajuste sobre  $F^2$  es 1.049, y el parámetro Flack 0.07(10). Los datos cristalográficos para EUO-1 se han depositado en el Cambridge Crystallographic Data Center (CCDC) con el depósito no. CCDC 1428964.

**Datos cristalográficos de rayos-X para EUO-2:**  $C_{20}H_{30}O_4$ , pf 334.44, ortorrómbico, tamaño del cristal  $0.08 \times 0.05 \times 0.04 \text{ mm}^3$ , grupo espacial  $P2_12_12_1$ ,  $a = 8.3265(2) \text{ \AA}$ ,  $b = 12.4915(4) \text{ \AA}$ ,  $c = 17.0449(5) \text{ \AA}$ ,  $V = 1772.85(9) \text{ \AA}^3$ ,  $Z = 4$ ,  $T = 99.99 \text{ K}$ ,  $D_{\text{calcd}} = 1.253 \text{ g/cm}^3$ ,  $\mu = 0.684 \text{ mm}^{-1}$ ,  $F(000) = 728.0$ , reflexiones colectadas 8468 ( $8.776^\circ \leq 2\Theta \leq 133.188^\circ$ ), reflexiones independientes 2937 ( $R_{\text{int}} = 0.0402$ ,  $R_{\text{sigma}} = 0.0422$ ), índices  $R$  finales para  $I \geq 2\sigma(I)$ ,  $R_1 = 0.0392$ ,  $wR_2 = 0.0868$ , índices  $R$  finales para todos los datos  $R_1 = 0.0493$ ,  $wR_2 = 0.0918$ , la bondad-de-ajuste sobre  $F^2$  es 1.065, y el parámetro Flack -0.02(15). Los datos cristalográficos para EUO-2 se han depositado en el Cambridge Crystallographic Data Center (CCDC) con el depósito no. CCDC 1428963.

Los datos físicos y espectroscópicos de las sustancias aisladas se exponen a continuación:

**Diterpenos:**

Datos físicos de la sustancia **EUO-1** (Uasdlabdano A).

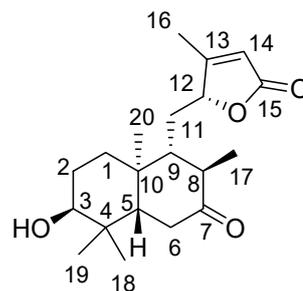
Sólido Cristalino (MeCN/H<sub>2</sub>O).

$[\alpha]_D^{20} +72.00$  (*c* 0.1, CHCl<sub>3</sub>).

UV (EtOH)  $\lambda_{\text{máx}}$ : (log  $\epsilon$ ) 210 (0.41) nm.

IR  $\nu_{\text{máx}}$ : 3499, 2992, 2944, 2925, 2877, 1722, 1700, 1644, 1182, 1067, 851 cm<sup>-1</sup>.

HRESIMS *m/z*: 357.2046 [M + Na]<sup>+</sup> (calcd para C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub>Na, 357.2042).



**Tabla 1.** Datos de RMN (CDCl<sub>3</sub>, <sup>1</sup>H 500 MHz; <sup>13</sup>C 125 MHz) para **EUO-1**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	<i>J</i> (Hz)
1	31.6	CH <sub>2</sub>	1.44 1.74	m m	- -
2	24.9	CH <sub>2</sub>	1.70 1.97	m m	- -
3	75.1	CH	3.52	m	-
4	37.7	C	-	-	-
5	46.1	CH	1.91	dd	4.7, 13.5
6	38.1	CH <sub>2</sub>	2.36	m	-
7	212.0	C	-	-	-
8	47.1	CH	2.14	m	-
9	53.2	CH	1.68	m	-
10	38.3	C	-	-	-
11	32.2	CH <sub>2</sub>	1.22 2.07	dd m	2.9, 4.9 -
12	85.4	CH	4.79	br d	10.8
13	168.3	C	-	-	-
14	117.0	CH	5.79	s	-
15	172.6	C	-	-	-
16	14.1	CH <sub>3</sub>	2.09	s	-
17	13.4	CH <sub>3</sub>	1.11	d	6.4
18	21.5	CH <sub>3</sub>	0.91	s	-
19	27.6	CH <sub>3</sub>	0.95	s	-
20	13.3	CH <sub>3</sub>	1.06	s	-

Datos físicos de la sustancia **EUO-2** (Uasdlabdano B).

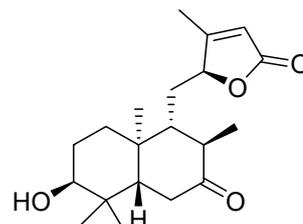
Sólido Cristalino (MeCN/H<sub>2</sub>O).

$[\alpha]_D^{24} +7.53$  (*c* 0.04, CHCl<sub>3</sub>).

UV (MeCN)  $\lambda_{\text{máx}}$ : (log  $\epsilon$ ) 207 (0.26) nm.

IR  $\nu_{\text{máx}}$ : 3454, 2925, 2858, 1726, 1514, 1461, 1298, 1249, 1160, 1048, 996, 836 cm<sup>-1</sup>.

HRESIMS *m/z*: 335.2217 [M + H]<sup>+</sup> (calcd para C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>O<sub>4</sub>, 335.2222).



**Tabla 2.** Datos de RMN (CDCl<sub>3</sub>, <sup>1</sup>H 500 MHz; <sup>13</sup>C 125 MHz) para **EUO-2**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	<i>J</i> (Hz)
1	30.9	CH <sub>2</sub>	1.40	m	-
			1.69	m	-
2	25.2	CH <sub>2</sub>	1.66	m	-
			1.93	m	-
3	75.2	CH	3.50	s	-
4	38.0	C	-	-	-
5	46.5	CH	1.92	m	-
6	37.9	CH <sub>2</sub>	2.35	m	-
7	211.8	C	-	-	-
8	48.4	CH	2.35	m	-
9	53.1	CH	1.69	m	-
10	37.6	C	-	-	-
11	33.7	CH <sub>2</sub>	1.63	m	-
12	84.8	CH	4.77	br d	10.9
13	168.3	C	-	-	-
14	117.1	CH	5.81	s	-
15	172.7	C	-	-	-
16	14.0	CH <sub>3</sub>	2.10	s	-
17	13.8	CH <sub>3</sub>	1.19	d	6.8
18	21.5	CH <sub>3</sub>	0.89	s	-
19	27.7	CH <sub>3</sub>	0.96	s	-
20	13.6	CH <sub>3</sub>	0.99	s	-

Datos físicos de la sustancia **EUO-3** (Uasdlabdano C).

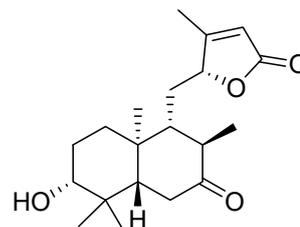
Líquido aceitoso.

$[\alpha]_D^{24} +4.02$  ( $c$  0.05,  $\text{CHCl}_3$ ).

UV (MeCN)  $\lambda_{\text{máx}}$ : ( $\log \epsilon$ ) 205 (0.55) nm.

IR  $\nu_{\text{máx}}$ : 3502, 2929, 2873, 1741, 1707, 1648, 1465, 1391, 1305, 1182, 1074, 988, 851, 758, 597  $\text{cm}^{-1}$ .

HRESIMS  $m/z$ : 317.2065  $[\text{M} - \text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$  (calcd para  $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{O}_3$ , 317.2117).



**Tabla 3.** Datos de RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $^1\text{H}$  800 MHz;  $^{13}\text{C}$  200 MHz) para **EUO-3**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	$J$ (Hz)
1	31.6	$\text{CH}_2$	1.45	m	-
			1.76	m	-
2	24.9	$\text{CH}_2$	1.70	m	-
			1.99	m	-
3	75.2	CH	3.53	br s	-
4	38.3	C	-	-	-
5	46.1	CH	1.91	dd	4.2, 13.9
6	38.1	$\text{CH}_2$	2.35	m	-
7	211.9	C	-	-	-
8	47.2	CH	2.15	m	-
9	53.2	CH	1.71	m	-
10	37.7	C	-	-	-
11	32.3	$\text{CH}_2$	1.24	m	-
			2.08		
12	85.4	CH	4.80	br d	10.8
13	168.1	C	-	-	-
14	117.1	CH	5.80	s	-
15	172.5	C	-	-	-
16	14.1	$\text{CH}_3$	2.10	s	-
17	13.3	$\text{CH}_3$	1.14	d	6.6
18	27.6	$\text{CH}_3$	0.96	s	-
19	21.5	$\text{CH}_3$	0.92	s	-
20	13.5	$\text{CH}_3$	1.07	s	-

Datos físicos de la sustancia **EUO-4** (Uasdlabdano D).

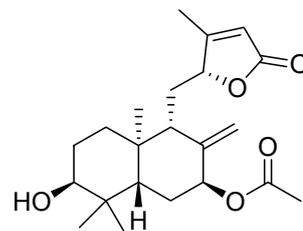
Líquido aceitoso.

$[\alpha]_D^{20} +9.04$  (*c* 0.1, CHCl<sub>3</sub>).

UV (EtOH)  $\lambda_{\text{máx}}$ : (log  $\epsilon$ ) 210 (0.46) nm.

IR  $\nu_{\text{máx}}$ : 3514, 3476, 2936, 2877, 1730, 1644, 1376, 1242, 754 cm<sup>-1</sup>.

HRESIMS *m/z*: 399.2170 [M + Na]<sup>+</sup> (calcd para C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub>Na, 399.2147).

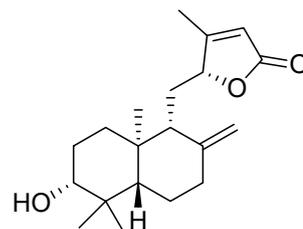


**Tabla 4.** Datos de RMN (CDCl<sub>3</sub>, <sup>1</sup>H 500 MHz; <sup>13</sup>C 125 MHz) para **EUO-4**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	<i>J</i> (Hz)
1	31.5	CH <sub>2</sub>	1.42	m	-
			1.66	m	-
2	25.8	CH <sub>2</sub>	1.68	m	-
			1.94	m	-
3	75.5	CH	3.46	t	2.5
4	37.3	C	-	-	-
5	42.1	CH	2.01	dd	2.9, 13.6
6	28.6	CH <sub>2</sub>	1.63	m	-
7	75.9	CH	5.44	t	2.7
8	144.3	C	-	-	-
9	47.5	CH	2.37	br d	9.9
10	39.5	C	-	-	-
11	27.0	CH <sub>2</sub>	1.90	m	-
12	83.6	CH	4.81	m	-
13	169.2	C	-	-	-
14	116.8	CH	5.75	s	-
15	172.9	C	-	-	-
16	14.8	CH <sub>3</sub>	2.09	s	-
17	113.3	CH <sub>2</sub>	4.94	d	1.1
			5.27	s	-
18	21.8	CH <sub>3</sub>	0.82	s	-
19	28.2	CH <sub>3</sub>	0.92	s	-
20	13.2	CH <sub>3</sub>	0.71	s	-
7-CO	170.1	C	-	-	-
7-COMe	21.5	CH <sub>3</sub>	2.05	s	-

Datos físicos de la sustancia **EUO-5** (Uasdlabdano E).

Líquido aceitoso.



IR  $\nu_{\text{máx}}$ : 3302, 2926, 1733, 1642, 1569, 1441, 1385, 1306, 1154, 1049, 985, 903, 844, 600  $\text{cm}^{-1}$ .

HRESIMS  $m/z$ : 341.2087  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  (calcd para  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{Na}$ , 341.2093).

**Tabla 5.** Datos de RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $^1\text{H}$  700 MHz;  $^{13}\text{C}$  175 MHz) para **EUO-5**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	$J$ (Hz)
1	31.7	CH <sub>2</sub>	1.44	m	-
			1.64	m	-
2	25.6	CH <sub>2</sub>	1.68	m	-
			1.95	m	-
3	75.6	CH	3.46	br s	-
4	37.6	C	-	-	-
5	48.3	CH	1.64	m	-
6	23.7	CH <sub>2</sub>	1.41	br dd	4.2, 12.9
			1.68	m	-
7	37.8	CH <sub>2</sub>	2.05	m	-
			2.46	br d	12.9
8	147.2	C	-	-	-
9	52.5	CH	1.97	s	-
10	39.5	C	-	-	-
11	27.5	CH <sub>2</sub>	1.86	m	-
			1.97	s	-
12	84.2	CH	4.82	m	-
13	169.2	C	-	-	-
14	116.3	CH	5.75	s	-
15	172.9	C	-	-	-
16	14.6	CH <sub>3</sub>	2.11	s	-
17	107.8	CH <sub>2</sub>	4.71	s	-
			4.94	s	-
18	28.3	CH <sub>3</sub>	0.99	s	-
19	22.0	CH <sub>3</sub>	0.86	s	-
20	13.8	CH <sub>3</sub>	0.72	s	-

Datos físicos de la sustancia **EUO-6** (Uasdlabdano F).

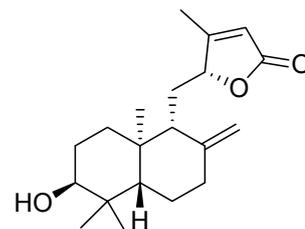
Líquido aceitoso.

$[\alpha]_D^{24} +8.04$  (*c* 0.05, CHCl<sub>3</sub>).

UV (MeCN)  $\lambda_{\text{máx}}$ : (log  $\epsilon$ ) 206 (0.42) nm.

IR  $\nu_{\text{máx}}$ : 3469, 2936, 2873, 1763, 1737, 1644, 1447, 1391, 1309, 1160, 1074, 988, 929, 907, 761, 605 cm<sup>-1</sup>.

HRESIMS *m/z*: 301.2136 [M – H<sub>2</sub>O + H]<sup>+</sup> (calcd para C<sub>20</sub>H<sub>29</sub>O<sub>2</sub>, 301.2168).



**Tabla 6.** Datos de RMN (CDCl<sub>3</sub>, <sup>1</sup>H 500 MHz; <sup>13</sup>C 125 MHz) para **EUO-6**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	<i>J</i> (Hz)
1	31.9	CH <sub>2</sub>	0.94	m	-
			1.14	m	-
2	25.8	CH <sub>2</sub>	1.16	m	-
			1.46	m	-
3	75.8	CH	2.97	m	-
4	37.8	C	-	-	-
5	48.5	CH	1.14	m	-
6	23.9	CH <sub>2</sub>	1.18	m	-
			1.18	m	-
7	38.0	CH <sub>2</sub>	1.56	m	-
			1.96	m	-
8	147.4	C	-	-	-
9	52.7	CH	1.47	m	-
10	39.7	C	-	-	-
11	27.6	CH <sub>2</sub>	1.37	m	-
			1.47	m	-
12	84.4	CH	4.33	m	-
13	169.5	C	-	-	-
14	116.5	CH	5.26	m	-
15	173.1	C	-	-	-
16	14.8	CH <sub>3</sub>	1.61	s	-
17	108.0	CH <sub>2</sub>	4.21	s	-
			4.45	s	-
18	22.2	CH <sub>3</sub>	0.36	s	-
19	28.5	CH <sub>3</sub>	0.49	s	-
20	14.0	CH <sub>3</sub>	0.22	s	-

**Monoterpeno:**

Datos físicos de la sustancia **EUO-7** (Loliólido).

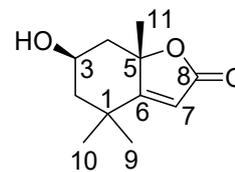
Líquido aceitoso.

$[\alpha]_D^{24}$  0.0 (*c* 0.04, CHCl<sub>3</sub>).

UV (MeCN)  $\lambda_{\text{máx}}$ : (log  $\epsilon$ ) 206 (0.69) nm.

IR  $\nu_{\text{máx}}$ : 3439, 2925, 1722, 1625, 1275, 966, 869 cm<sup>-1</sup>.

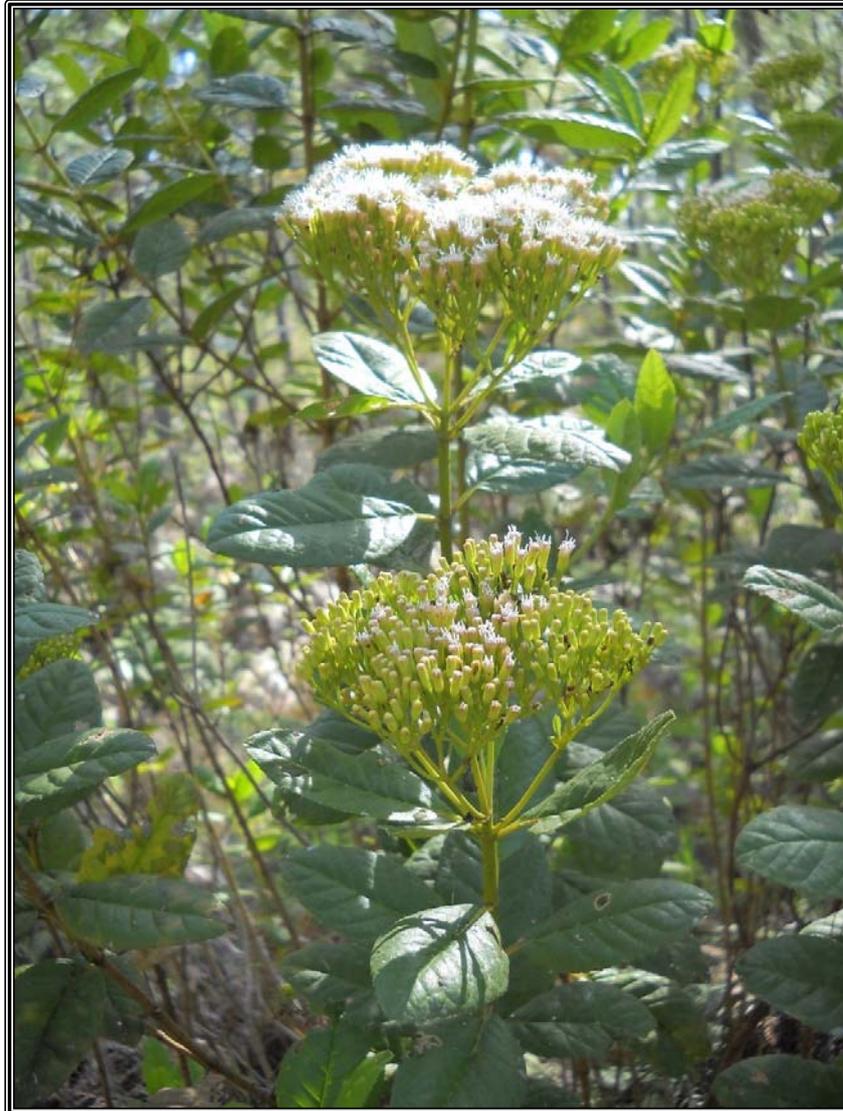
HRESIMS *m/z*: 197.1153 [M + H]<sup>+</sup> (calcd para C<sub>11</sub>H<sub>17</sub>O<sub>3</sub>, 197.1178).



**Tabla 7.** Datos de RMN (CDCl<sub>3</sub>, <sup>1</sup>H 500 MHz; <sup>13</sup>C 125 MHz) para **EUO-7**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	<i>J</i> (Hz)
1	35.7	C	-	-	-
2	47.1	CH <sub>2</sub>	1.54	br dd	3.4, 14.7
			1.98	dt	2.5, 14.7
3	66.6	CH	4.34	quin	3.42
4	45.4	CH <sub>2</sub>	1.79	m	-
			2.47	dt	2.5, 14.2
5	86.4	C	-	-	-
6	182.2	C	-	-	-
7	112.7	CH	5.70	s	-
8	171.3	C	-	-	-
9	30.5	CH <sub>3</sub>	1.28	s	-
10	26.3	CH <sub>3</sub>	1.48	s	-
11	26.8	CH <sub>3</sub>	1.79	s	-





**6. *EUPATORIUM ILLITUM* URB.**



**6.1 *Eupatorium illitum*. Parte Teórica.**

*Eupatorium illitum* Urb. (Asteraceae) es una especie endémica de la isla La Española. Es un arbusto de hasta 3 m, con ramitas resinosas, pardas; hojas aovado-elípticas a elípticas o aovado-lanceoladas, de 5-13 por 2.5-5 cm, obtusas en la base, estrechadas hacia el ápice obtuso o agudo, raras veces corto-acuminado, penninervias, los nervios laterales 8-9 pares, reticulado-anastomosados, prominulos en el haz, prominentes en el envés, el margen aserrado, glabras, glandulosas en ambas caras; inflorescencias corimbosas de 4-6 cm de diámetro; cabezuelas de 6 mm con 14-16 flósculos, brácteas involucrales subbiseriadas, lineares, de hasta 4 mm, 1-3-nervias, obtusas a subtruncadas en el ápice, fimbriado-denticuladas en el margen, glandulosas dorsalmente; corola blanca de 4 mm; aquenios de 2.5 mm, glandulosos, vilano de 3 mm. Es algo frecuente en bosques de pinos a 1,200-2600 m de altura. En la República Dominicana se le encuentra en la Cordillera Central y la Sierra de Bahoruco.

Del residuo de acetato de etilo (10.7 g) proveniente del extracto etanólico de *E. illitum*, se pudieron aislar, empleando los procedimientos cromatográficos descritos en la parte experimental, cinco sustancias (**EUI 1-5**), que, de acuerdo con sus estructuras químicas, resultaron ser cuatro flavonoides y un derivado del ácido benzoico. Todos los compuestos aislados se encuentran reportados previamente en la literatura y se describen a continuación.

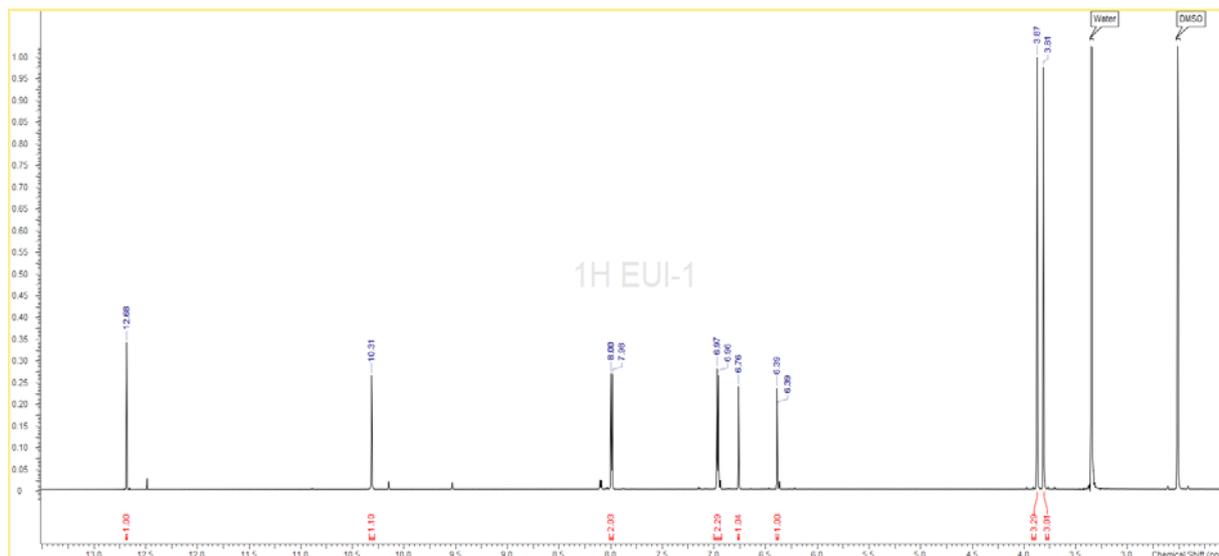
**SUSTANCIA EUI-1.**

Esta sustancia se aisló de la fracción 15 de la cromatografía general de donde finalmente se le obtuvo en forma de un sólido amarillo. Mostró la fórmula molecular  $C_{17}H_{14}O_6$ , según el análisis de masas de alta resolución (HRESIMS) en modo de ion negativo, indicando once grados de insaturación. Su espectro de IR reveló la presencia de grupos hidroxilo ( $3236\text{ cm}^{-1}$ ), grupo carbonilo conjugado ( $1656\text{ cm}^{-1}$ ), y aromaticidad ( $1600, 1583, 1497\text{ cm}^{-1}$ ). Los desplazamientos UV contribuyeron a la elucidación estructural de la molécula y se presentan a continuación.

**Tabla 8. Espectro UV de (EUI-1)**

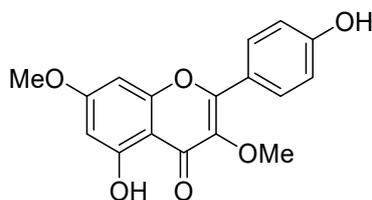
<b>Disolvente</b>	<b>Banda I (nm)</b>	<b>Banda II (nm)</b>	<b>Asignación</b>
<b>MeOH</b>	<b>352</b>	<b>302 i</b>	<b>Flavonol No 2OR en anillo B</b>
<b>MeOH/NaOMe</b>	<b>394</b>	<b>281 303 i</b>	<b>4' - OH</b>
<b>MeOH/AlCl<sub>3</sub></b>	<b>396</b>	<b>281 302 i</b>	<b>----</b>
<b>MeOH/AlCl<sub>3</sub>/HCl</b>	<b>395</b>	<b>284 302 i</b>	<b>5 - OH</b>
<b>MeOH/NaOAc</b>	<b>345</b>	<b>285 303i</b>	<b>No 7 - OH</b>
<b>MeOH/NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>	<b>345</b>	<b>305</b>	<b>-----</b>

El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 29, Tabla 12) mostró, entre otras señales, un singulete a  $\delta_{\text{H}}$  12.69, el cual se asignó a un grupo hidroxilo fenólico sobre C-5 y un singulete ancho a  $\delta_{\text{H}}$  10.31, mismo que se asignó a un grupo hidroxilo sobre C-4'; dos dobletes a  $\delta_{\text{H}}$  7.99 ( $J= 8.9\text{ Hz}$ ) y 6.97 ( $J= 8.6\text{ Hz}$ ) ambos con intensidad de dos protones, que denotan la existencia de un anillo aromático disustituído en posición *para* y que se asignaron al anillo B del flavonoide; dos dobletes a  $\delta_{\text{H}}$  6.76 ( $J= 1.6\text{ Hz}$ ) y 6.39 ( $J= 1.6\text{ Hz}$ ) que integran a un protón cada uno. Además pudo observarse la presencia de dos grupos metoxilo, los que aparecen como singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  3.87 (7-OMe), y 3.81 (3-OMe).



**Figura 29.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 700 MHz) de la sustancia **EUI-1**

El espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (Tabla 12) mostró 15 señales, las cuales, con ayuda de los experimentos DEPT 90 y 135 se clasificaron como dos grupos metoxilo ( $\delta_{\text{C}}$  56.6, 60.2), cuatro grupos metino ( $\delta_{\text{C}}$  92.8, 98.2, 116.1, 130.7) y nueve carbonos cuaternarios ( $\delta_{\text{C}}$  105.7, 120.9, 138.3, 156.4, 156.8, 160.8, 161.4, 178.5). Los datos espectroscópicos antes presentados fueron similares a los publicados para el flavonoide conocido como **kumatakenina**.<sup>87, 88</sup> Las asignaciones se confirmaron con los experimentos COSY, HSQC y HMBC.



**Kumatakenina**

<sup>87</sup>Zhang, X.; Li, B.; Zhou, M.; Yuan, X.; Zhang, G. *Chin. J. Appl. Environ. Biol.* 2006, 12, 338-341.

<sup>88</sup>Villaflores, O. B.; Macabeo, A. P. G.; Gehle, D.; Krohn, K.; Franzblau, S. G.; Aguinaldo, A. M. *Phcog. Mag.* 2010, 6, 339-344.

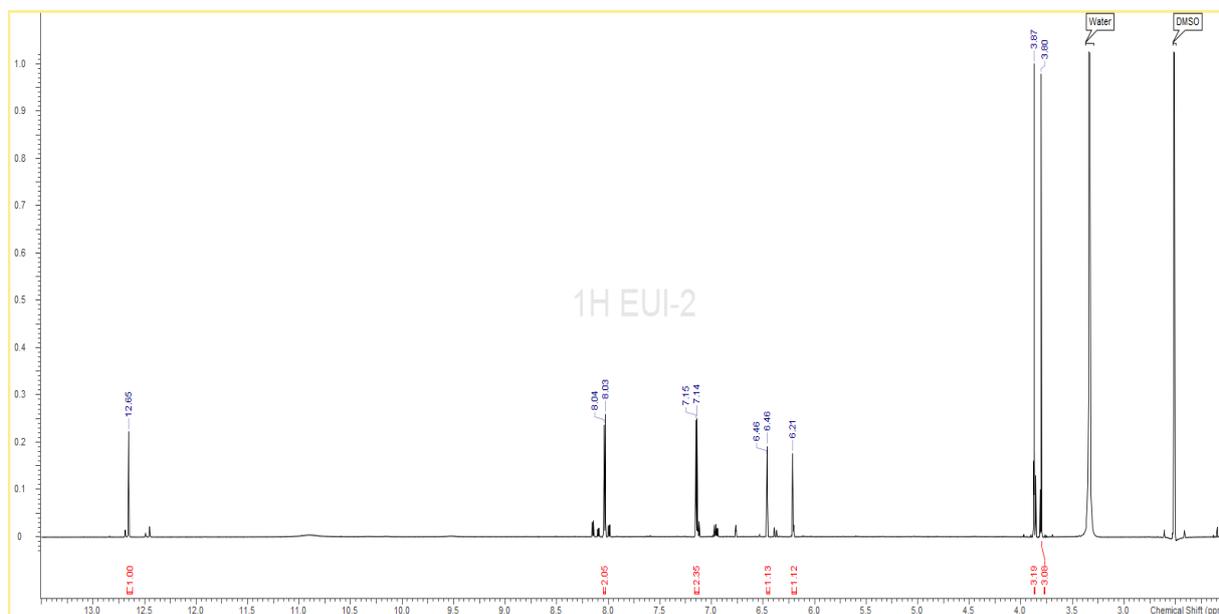
**SUSTANCIA EUI-2.**

Esta sustancia también se aisló de la fracción 15 de la cromatografía general como un sólido de color amarillo, e igual que la anterior, presentó la fórmula molecular  $C_{17}H_{14}O_6$ , según el análisis de masas de alta resolución (HRESIMS) en modo de ion negativo, indicando once grados de insaturación. Su espectro de IR reveló la presencia de grupos hidroxilo ( $3130\text{ cm}^{-1}$ ), carbonilo conjugado ( $1650\text{ cm}^{-1}$ ), y bandas correspondientes a anillos aromáticos ( $1604, 1498\text{ cm}^{-1}$ ). Los desplazamientos UV contribuyeron a la elucidación estructural de la molécula y se presentan a continuación.

**Tabla 9. Espectro UV de (EUI-2)**

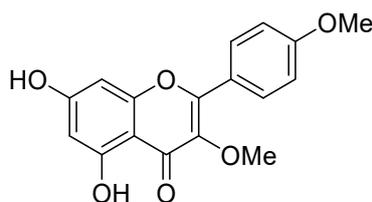
<b>Disolvente</b>	<b>Banda I (nm)</b>	<b>Banda II (nm)</b>	<b>Asignación</b>
<b>MeOH</b>	<b>350</b>	<b>284 292 i</b>	<b>Flavonol No 2 OR en anillo B</b>
<b>MeOH/NaOMe</b>	<b>400</b>	<b>287 302 i</b>	<b>4' - OH</b>
<b>MeOH/AlCl<sub>3</sub></b>	<b>402</b>	<b>289 302i</b>	<b>5 - OH</b>
<b>MeOH/AlCl<sub>3</sub>/HCl</b>	<b>401</b>	<b>289 303 i</b>	<b>No OH en orto</b>
<b>MeOH/NaOAc</b>	<b>367</b>	<b>290 302 i</b>	<b>7 - OH</b>
<b>MeOH/NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>	<b>350</b>	<b>294</b>	<b>----</b>

El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 30, Tabla 13) mostró un singulete a  $\delta_{\text{H}}$  12.65, el cual se asignó a un grupo hidroxilo fenólico sobre C-5; dos dobletes a  $\delta_{\text{H}}$  8.03 ( $J= 8.8\text{ Hz}$ ) y 7.14 ( $J= 9.1\text{ Hz}$ ) ambos con intensidad de dos protones, los que sugieren la presencia de un anillo aromático disustituído en posición *para*, asignados al anillo B del flavonoide; dos dobletes a  $\delta_{\text{H}}$  6.46 ( $J= 1.7\text{ Hz}$ ) y 6.21 ( $J= 1.9\text{ Hz}$ ) que integran a un protón cada uno y además pudieron observarse la presencia de dos grupos metoxilo, los que aparecen como singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  3.87 (4'-OMe), y 3.80 (3-OMe).



**Figura 30.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 700 MHz) de la sustancia **EUI-2**

El espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (Tabla 13) mostró 15 señales, las cuales, con ayuda de los experimentos DEPT 90 y 135 se clasificaron como dos grupos metoxilo ( $\delta_{\text{C}}$  55.5, 59.8), cuatro grupos metino ( $\delta_{\text{C}}$  93.9, 98.7, 114.3, 130.0) y nueve carbonos cuaternarios ( $\delta_{\text{C}}$  104.2, 122.2, 138.0, 155.2, 156.5, 161.3, 161.4, 178.0). Los datos espectroscópicos antes presentados fueron similares a los publicados para el flavonoide conocido como **ermanina**.<sup>89, 90</sup> Las asignaciones se confirmaron con los experimentos COSY, HSQC y HMBC.



**Ermanina**

<sup>89</sup>Calvert, D. J.; Cambie, R. C.; Davis, B. R. *Org. Magn. Reson.* 1979, 12, 583-586.

<sup>90</sup>Kim, B. G.; Kim, H.; Kim, J. H.; Lim, Y.; Ahn, J. H. *Bull. Korean Chem. Soc.* 2006, 27, 357-358.

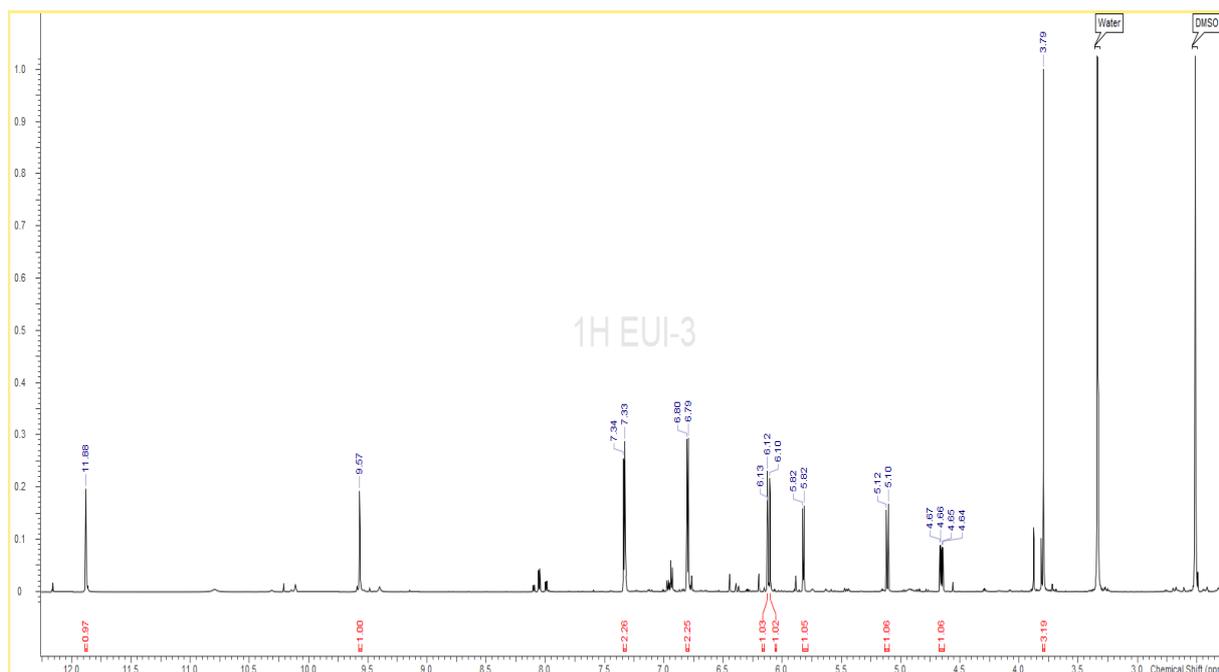
**SUSTANCIA EUI-3.**

Esta sustancia se aisló de la fracción 16 de la cromatografía general como un sólido de color amarillo. Presentó la fórmula molecular  $C_{16}H_{14}O_6$ , según el análisis de masas de alta resolución (HRESIMS) en modo de ion negativo, indicando diez grados de insaturación. Su espectro de IR reveló la presencia de grupos hidroxilo ( $3144\text{ cm}^{-1}$ ), carbonilo ( $1716\text{ cm}^{-1}$ ), y bandas correspondientes a anillos aromáticos ( $1616, 1573, 1443\text{ cm}^{-1}$ ). Los desplazamientos UV contribuyeron a la elucidación estructural de la molécula y se presentan a continuación.

**Tabla 10. Espectro UV de (EUI-3)**

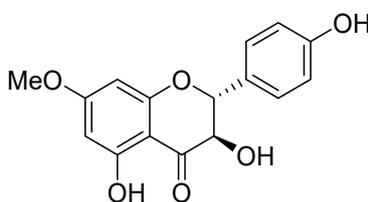
<b>Disolvente</b>	<b>Banda II (nm)</b>	<b>Asignación</b>
<b>MeOH</b>	<b>292 325 i</b>	<b>dihidroflavonol No 2 OR en anillo B</b>
<b>MeOH/NaOMe</b>	<b>395 281 306 i</b>	<b>4' - OH</b>
<b>MeOH/<math>AlCl_3</math></b>	<b>278 306 i</b>	<b>5 - OH</b>
<b>MeOH/<math>AlCl_3</math>/HCl</b>	<b>279 306 i</b>	<b>No OH en orto</b>
<b>MeOH/NaOAc</b>	<b>291 305 i</b>	<b>No 7 - OH</b>
<b>MeOH/NaOAc/<math>H_3BO_3</math></b>	<b>279 303 i</b>	<b>-----</b>

En el espectro de  $^1H$ -RMN (Figura 31, Tabla 14) pueden verse dos singuletes a  $\delta_H$  11.88 y 9.57, que se asignaron a grupos hidroxilo fenólicos sobre C-5 y C-4' respectivamente; dos dobletes a  $\delta_H$  7.33 ( $J= 8.2\text{ Hz}$ ) y 6.80 ( $J= 8.5\text{ Hz}$ ) ambos con intensidad de dos protones, los que sugieren la presencia de un anillo aromático disustituído en posición *para*, y que asignamos al anillo B del flavonoide; cuatro dobletes a  $\delta_H$  6.12 ( $J= 2.1\text{ Hz}$ ), 6.10 ( $J= 1.9\text{ Hz}$ ), 5.82 ( $J= 6.4\text{ Hz}$ ) y 5.11 ( $J= 11.3\text{ Hz}$ ) todos los que integran a un protón cada uno. Además se observaron un doble doblete a  $\delta_H$  4.66 ( $J= 6.3, 11.5\text{ Hz}$ ) y un grupo metoxilo como singulete a  $\delta_H$  3.79 (7-OMe).



**Figura 31.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 700 MHz) de la sustancia **EUI-3**

El espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (Tabla 14) mostró 15 señales, las que, empleando los experimentos DEPT 90 y 135 fueron clasificadas como un grupo metoxilo ( $\delta_{\text{C}}$  56.4), seis grupos metino ( $\delta_{\text{C}}$  72.0, 83.5, 94.3, 95.4, 115.4, 130.0) y siete carbonos cuaternarios ( $\delta_{\text{C}}$  101.8, 127.9, 158.2, 163.0, 163.4, 168.0, 199.0). Los datos espectroscópicos antes presentados fueron similares a los publicados para el flavonoide conocido como **7-metoxi-aromadendrán**.<sup>91</sup> Las asignaciones se confirmaron con los experimentos COSY, HSQC y HMBC.



**7-metoxi-aromadendrán**

<sup>91</sup>Chiappini, I.; Fardella, G.; Menghini, A.; Rossi, C. *Planta Med.* 1982, 44, 159-161.

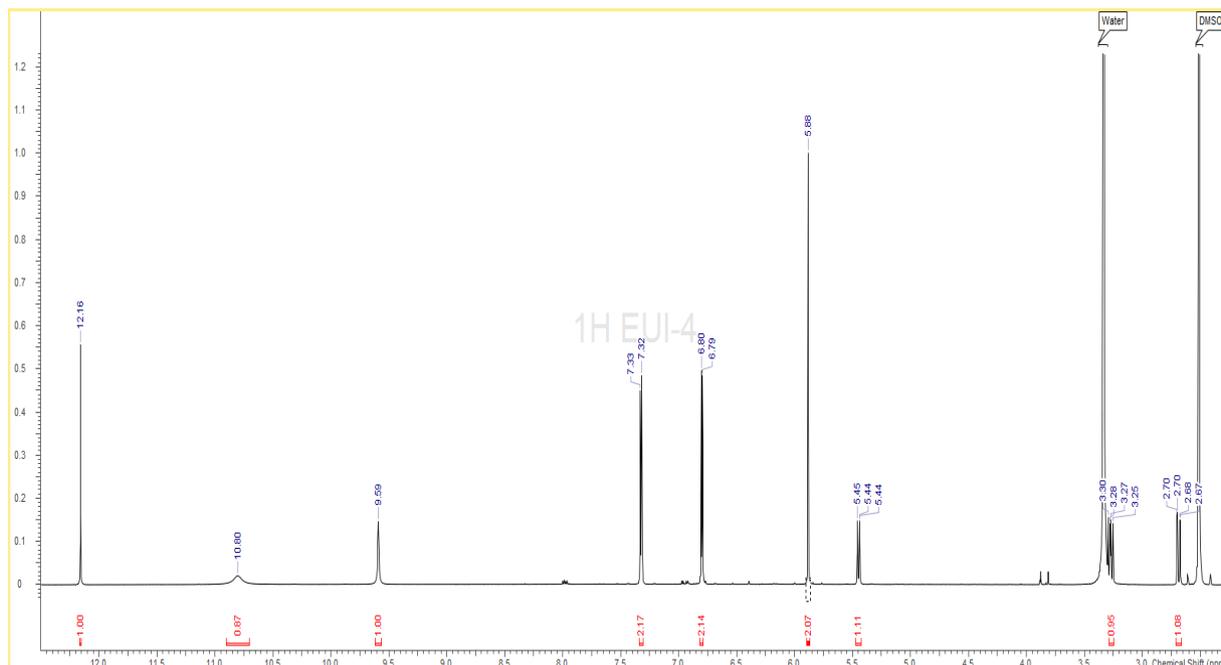
**SUSTANCIA EUI-4.**

Esta sustancia también se aisló de la fracción 16 de la cromatografía general como un sólido de color amarillo. Presentó la fórmula molecular  $C_{15}H_{12}O_5$ , según el análisis de masas de alta resolución (HRESIMS) en modo de ion negativo, indicando diez grados de insaturación. Su espectro de IR reveló la presencia de grupos hidroxilo ( $3115\text{ cm}^{-1}$ ), carbonilo ( $1627\text{ cm}^{-1}$ ), y bandas correspondientes a anillos aromáticos ( $1600, 1586, 1496\text{ cm}^{-1}$ ). Los desplazamientos UV contribuyeron a la elucidación estructural de la molécula y se presentan a continuación.

**Tabla 11. Espectro UV de (EUI-4)**

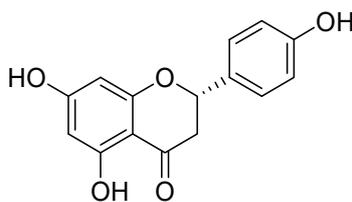
<b>Disolvente</b>	<b>Banda II (nm)</b>	<b>Asignación</b>
<b>MeOH</b>	<b>288.5 350.0 i</b>	<b>Flavanona</b>
<b>MeOH/NaOMe</b>	<b>332.0 245.5 i</b>	<b>5 - OH 7 - OH</b>
<b>MeOH/AlCl<sub>3</sub></b>	<b>309.5 371.0 i</b>	---
<b>MeOH/AlCl<sub>3</sub>/HCl</b>	<b>309.5 369.5 i</b>	<b>5 - OH</b>
<b>MeOH/NaOAc</b>	<b>325.0</b>	---
<b>MeOH/NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>	<b>289.0</b>	---

En el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 32, Tabla 15) pueden verse un singulete a  $\delta_{\text{H}}$  12.16 el cual se asignó a un grupo hidroxilo en C-5, dos singuletes anchos a  $\delta_{\text{H}}$  10.80 y 9.59, que se asignaron a grupos hidroxilo fenólicos sobre C-7 y C-4' respectivamente; dos dobletes a  $\delta_{\text{H}}$  7.32 ( $J= 8.5\text{ Hz}$ ) y 6.80 ( $J= 8.3\text{ Hz}$ ) ambos con intensidad de dos protones, los que sugieren la presencia de un anillo aromático disustituído en posición *para*, y que asignamos al anillo B del flavonoide; un singulete a  $\delta_{\text{H}}$  5.88 que integró a dos protones y cuya asignación correspondió a C-6 y C-8. Además se observaron tres dobles dobletes a  $\delta_{\text{H}}$  5.45 ( $J= 2.8, 12.8\text{ Hz}$ ), 3.28 ( $J= 12.9, 17.0\text{ Hz}$ ), y 2.69 ( $J= 2.9, 17.1\text{ Hz}$ ) todos los que integran a un protón cada uno.



**Figura 32.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 700 MHz) de la sustancia **EUI-4**

El espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (Tabla 15) mostró 13 señales, las que, empleando los experimentos DEPT 90 y 135 fueron clasificadas como un grupo metileno ( $\delta_{\text{C}}$  42.4), cinco grupos metino ( $\delta_{\text{C}}$  78.9, 96.3, 95.5, 115.6, 128.8) y siete carbonos cuaternarios ( $\delta_{\text{C}}$  102.2, 129.3, 158.2, 163.4, 163.9, 196.8). Los datos espectroscópicos antes presentados fueron similares a los publicados para el flavonoide conocido como **naringenina**.<sup>92, 93</sup> Las asignaciones se confirmaron con los experimentos COSY, HSQC y HMBC.



**Naringenina**

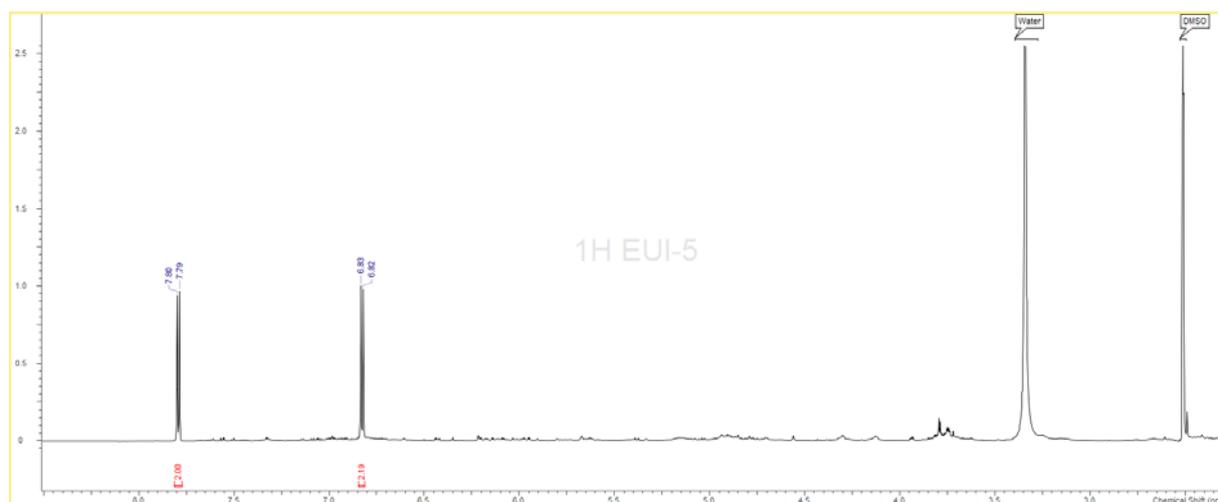
<sup>92</sup>Ibrahim, A. R. S.; Galal, A. M.; Ahmed, M.S.; Mossa, G. S. *Chem. Pharm. Bull.* 2003, 51, 203-206.

<sup>93</sup>Kim, D. H.; Kim, B. G.; Lee, Y.; Ryu, J. Y.; Lim, Y.; Hur, H. G.; Ahn, J. H. *Journal of Biotechnology* 2005, 119, 155-162.

**SUSTANCIA EUI-5.**

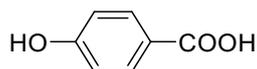
Esta sustancia se aisló de la fracción 21 de la cromatografía general como un sólido de color blanco. Presentó la fórmula molecular  $C_7H_6O_3$ , según el análisis de masas de alta resolución (HRESIMS) en modo de ion negativo, indicando cinco grados de insaturación. Su espectro de IR reveló la presencia de grupos hidroxilo ( $3400\text{ cm}^{-1}$ ) y carbonilo ( $1654\text{ cm}^{-1}$ ).

En el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 33, Tabla 16) pueden verse dos dobletes a  $\delta_{\text{H}}$  7.79 ( $J = 8.5\text{ Hz}$ ) y 6.82 ( $J = 8.7\text{ Hz}$ ) ambos con intensidad de dos protones, los que sugieren la presencia de un anillo aromático disustituído en posición *para*.



**Figura 33.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 700 MHz) de la sustancia **EUI-5**

El espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (Tabla 16) mostró 5 señales, las que, empleando los experimentos DEPT 90 y 135 fueron clasificadas como dos grupos metino ( $\delta_{\text{C}}$  115.6, 132.0) y tres carbonos cuaternarios ( $\delta_{\text{C}}$  121.8, 162.0, 167.6). Los datos espectroscópicos antes presentados fueron similares a los publicados para el ácido **4-hidroxibenzoico**.<sup>94</sup> Las asignaciones se confirmaron con los experimentos COSY, HSQC y HMBC.



**Ácido 4-hidroxibenzoico**

<sup>94</sup> Cho, J. Y.; Moon, J. H.; Seong, D. Y.; Park, K. H. Biosci. Biotechnol. Biochem. 1998, 62, 2273-2276.

## 6.2 *Eupatorium illitum*. Parte Experimental.

### Material vegetal

Las partes aéreas de *E. illitum* fueron colectadas en Junio del 2010 en la Sierra de Bahoruco, Provincia Pedernales, República Dominicana. El material Vegetal fue identificado por el Lic. Teodoro Clase, botánico del Jardín Botánico Nacional “Dr. Rafael Ma. Moscoso”, Santo Domingo, República Dominicana, donde el voucher de espécimen JBSD 121457 (Figura 34) fue depositado.



Figura 34. Voucher de espécimen JBSD 121457. *E. illitum*



### Extracción y Aislamiento

Las partes aéreas de *E. illitum* se secaron al aire y a la sombra, y se trituraron hasta conseguir un polvo fino. El material pulverizado (617 g) se extrajo con EtOH 95% en un aparato Soxhlet hasta agotamiento. El extracto crudo resultante (90.9 g) se disolvió en EtOH 95% (1.2 L) y se trató con una solución acuosa de acetato de plomo al 5% P/V (1.0 L) para precipitar la clorofila. Después de 24 horas, la mezcla se filtró sobre papel, se concentró a vacío para remover la mayoría del EtOH, y se extrajo sucesivamente con hexano (6 × 750 mL) y con AcOEt (6 × 1.0 L). El residuo de AcOEt (10.7 g) se lavó con agua destilada (2 × 1.0 L), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, y fue sometido a cromatografía sobre una columna de gel de sílice (0.040-0.063 mm), eluyendo con mezclas de hexano-acetona con polaridad creciente consiguiéndose 22 fracciones (F1-F22).

De la fracción 15 se obtuvo el compuesto **EUI-1** (190.6 mg) como un precipitado amarillo; la parte sobrenadante de F15 se cromatografió sobre gel de sílice (0.015-0.040 mm) con un sistema en gradiente de hexano-AcOEt (3:1 a AcOEt puro) resultando 19 subfracciones. La subfracción F15-13 dio el compuesto **EUI-2** (9.2 mg) después de una cromatografía preparativa en capa fina (gel de sílice) usando una mezcla de hexano-AcOEt (7:3).

La fracción 16 se cromatografió sobre una columna de gel de sílice (0.015-0.040 mm) con un sistema en gradiente de hexano-AcOEt (7:3 a AcOEt puro), resultando 16 subfracciones. La subfracción F16-15 se cromatografió sobre gel de sílice (0.015-0.040 mm) empleando un sistema en gradiente de hexano-AcOEt (7:3 a AcOEt puro) resultando 21 subfracciones. Cromatografía preparativa en capa fina (gel de sílice) de la subfracción F16-15-15 usando una mezcla de hexano-AcOEt (6.5:3.5, doble recorrido) dio los compuestos **EUI-3** (5.8 mg) y **EUI-4** (5.6 mg).

La fracción 21 se cromatografió sobre un soporte de gel de sílice (0.015-0.040 mm) con un sistema en gradiente de hexano-acetona (6.5:3.5 hasta acetona pura) dando el compuesto **EUI-5** (13.9 mg).

El siguiente cuadro resume el trabajo cromatográfico realizado sobre el extracto de acetato de etilo de *E. illitum*.

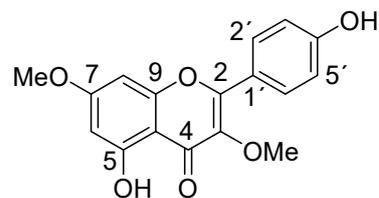
### ORGANIGRAMA DE FRACCIONES

FRACCIONES	ELUYENTES	SUSTANCIAS
FRACCIONES 1,2	HEXANO 100%	
FRACCIONES 3,4	HEXANO- AcOEt 10%	
FRACCIONES 5,6	HEXANO- AcOEt 20%	
FRACCIONES 7,8	HEXANO- AcOEt 30%	
FRACCIONES 9,10	HEXANO- AcOEt 40%	
FRACCIONES 11,12	HEXANO- AcOEt 50%	
FRACCIONES 13, 14	HEXANO- AcOEt 60%	
FRACCIONES 15, 16	HEXANO- AcOEt 70%	<b>EUI-1, 2, 3, 4</b>
FRACCIONES 17, 18	HEXANO- AcOEt 80%	
FRACCIONES 19, 20	AcOEt 100%	
FRACCIONES 21, 22	ACETONA 100%	<b>EUI-5</b> (Fracción 21)

**FLAVONOIDES:**

Datos físicos de la sustancia **EUI-1** (Kumatakenina).

Sólido Amarillo.



IR  $\nu_{\text{máx}}$  3236, 2948, 2362, 2337, 1656, 1600, 1583, 1497  $\text{cm}^{-1}$ .

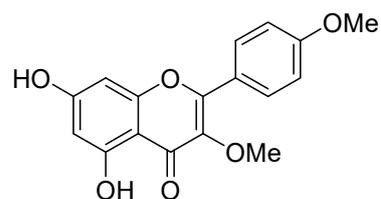
HRESIMS  $m/z$ : 313.0663  $[\text{M} - \text{H}]^-$  (calcd para  $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{O}_6$ , 313.0712).

**Tabla 12.** Datos de RMN (DMSO- $d_6$ ,  $^1\text{H}$ , 700 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 175 MHz) para **EUI-1**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	$J$ (Hz)
2	156.4	C	-	-	-
3	138.3	C	-	-	-
4	178.5	C	-	-	-
5	161.4	C	-	-	-
6	98.2	CH	6.39	d	1.6
7	165.6	C	-	-	-
8	92.8	CH	6.76	d	1.6
9	156.8	C	-	-	-
10	105.7	C	-	-	-
1'	120.9	C	-	-	-
2', 6'	130.7	CH	7.99	d	8.9
3', 5'	116.1	CH	6.97	d	8.6
4'	160.8	C	-	-	-
3-OMe	60.2	CH <sub>3</sub>	3.81	s	-
7-OMe	56.6	CH <sub>3</sub>	3.87	s	-
5-OH	-	-	12.69	s	-
4'-OH	-	-	10.31	br s	-

Datos físicos de la sustancia **EUI-2** (Ermanina).

Sólido Amarillo.



IR  $\nu_{\text{máx}}$  3130, 2936, 2840, 2361, 2050, 1650, 1604, 1498  $\text{cm}^{-1}$ .

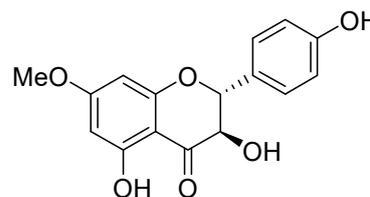
HRESIMS  $m/z$ : 313.0706  $[\text{M} - \text{H}]^-$  (calcd para  $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{O}_6$ , 313.0712).

**Tabla 13.** Datos de RMN (DMSO- $d_6$ ,  $^1\text{H}$ , 700 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 175 MHz) para **EUI-2**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	$J$ (Hz)
2	155.2	C	-	-	-
3	138.0	C	-	-	-
4	178.0	C	-	-	-
5	161.3	C	-	-	-
6	98.7	CH	6.21	d	1.9
7	164.4	C	-	-	-
8	93.9	CH	6.46	d	1.7
9	156.5	C	-	-	-
10	104.2	C	-	-	-
1'	122.2	C	-	-	-
2', 6'	130.0	CH	8.03	d	8.8
3', 5'	114.3	CH	7.14	d	9.1
4'	161.4	C	-	-	-
3-OMe	59.8	$\text{CH}_3$	3.80	s	-
4'-OMe	55.5	$\text{CH}_3$	3.87	s	-
5-OH	-	-	12.65	s	-

Datos físicos de la sustancia **EUI-3** (7-Metoxi-aromadendrín).

Sólido Amarillo.



IR  $\nu_{\text{máx}}$  3144, 2939, 2258, 1716, 1636, 1616, 1595, 1573, 1501, 1443  $\text{cm}^{-1}$ .

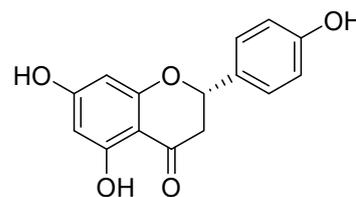
HRESIMS  $m/z$ : 301.0717  $[\text{M} - \text{H}]^-$  (calcd para  $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{O}_6$ , 301.0712).

**Tabla 14.** Datos de RMN (DMSO- $d_6$ ,  $^1\text{H}$ , 700 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 175 MHz) para **EUI-3**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	$J$ (Hz)
2	83.5	CH	5.11	d	11.3
3	72.0	CH	4.66	dd	6.3, 11.5
4	199.0	C	-	-	-
5	163.4	C	-	-	-
6	95.4	CH	6.12	d	2.1
7	168.0	C	-	-	-
8	94.3	CH	6.10	d	1.9
9	163.0	C	-	-	-
10	101.8	C	-	-	-
1'	127.9	C	-	-	-
2', 6'	130.0	CH	7.33	d	8.2
3', 5'	115.4	CH	6.80	d	8.5
4'	158.2	C	-	-	-
7-OMe	56.4	$\text{CH}_3$	3.79	s	-
3-OH	-	-	5.82	d	6.4
5-OH	-	-	11.88	s	-
4'-OH	-	-	9.57	s	-

Datos físicos de la sustancia **EUI-4** (Naringenina).

Sólido Amarillo.



IR  $\nu_{\text{máx}}$  3115, 3055, 2919, 2831, 2700, 2349, 2286, 2051, 1898, 1627, 1600, 1586, 1519, 1496  $\text{cm}^{-1}$ .

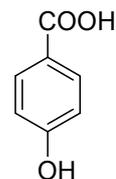
HRESIMS  $m/z$ : 271.0603  $[\text{M} - \text{H}]^-$  (calcd para  $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_5$ , 271.0606).

**Tabla 15.** Datos de RMN (DMSO- $d_6$ ,  $^1\text{H}$ , 700 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 175 MHz) para **EUI-4**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	$J$ (Hz)
2	78.9	CH	5.45	dd	2.8, 12.8
3	42.4	CH <sub>2</sub>	2.69 (cis)	dd	2.9, 17.1
			3.28 (trans)	dd	12.9, 17.0
4	196.8	C	-	-	-
5	163.9	C	-	-	-
6	96.3	CH	5.88	s	-
7	167.2	C	-	-	-
8	95.5	CH	5.88	s	-
9	163.4	C	-	-	-
10	102.2	C	-	-	-
1'	129.3	C	-	-	-
2', 6'	128.8	CH	7.32	d	8.5
3', 5'	115.6	CH	6.80	d	8.3
4'	158.2	C	-	-	-
5-OH	-	-	12.16	s	-
7-OH	-	-	10.80	br s	-
4'-OH	-	-	9.59	br s	-

Datos físicos de la sustancia **EUI-5** (Ácido 4-hidroxibenzoico).

Sólido blanco.



IR  $\nu_{\text{máx}}$  3400, 2255, 2128, 1654, 1049, 1023, 999, 824, 762, 625, 614  $\text{cm}^{-1}$ .

HRESIMS  $m/z$ : 137.0242  $[\text{M} - \text{H}]^-$  (calcd para  $\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_3$ , 137.0239).

**Tabla 16.** Datos de RMN (DMSO- $\text{d}_6$ ,  $^1\text{H}$ , 700 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 175 MHz) para **EUI-5**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	$J$ (Hz)
1	121.8	C	-	-	-
2, 6	132.0	CH	7.79	d	8.5
3, 5	115.6	CH	6.82	d	8.7
4	162.0	C	-	-	-
COOH	167.6	C	-	-	-





***7. EUPATORIUM DICTYONEURUM URB.***



### **7.1 *Eupatorium dictyoneurum*. Parte Teórica.**

*Eupatorium dictyoneurum* Urb. (Asteraceae) es una especie endémica de la isla La Española. Es un arbusto de hasta 2 m, las ramitas resinosas, glabras; hojas oblongo-lanceoladas a lanceolines de 5-11 por 1.5-3.5 cm, penninervias, densamente reticuladas, los nervios laterales 9-12 de cada lado, el margen denticulado a dentado o subentero, obtusas a redondeadas en la base, estrechadas hacia el ápice y largo-acuminadas, glabras, glandulosas en el envés; inflorescencia de 3-5 cm, las cabezuelas de 6.5-7 mm, brácteas involucrales en una serie, lineares, 5-6, obtusas a redondeadas en el ápice, de 3-4 mm, denticeladas en el ápice, glabras o pelositas y glandulosas, 3-5-nervias; corola blancuzca de 4-5 mm, aquenios de 2.5 mm, 5-acostillados, pelositos; vilano de 3 mm. Se encuentra en bosques de montañas, entre los 400 y 1,600 metros de altura. En la República Dominicana es frecuente en la Cordillera Central, Sierra de Neiba y Sierra del Baboruco.

Tal y como se describe en la parte experimental, la extracción de esta planta se realizó con etanol hasta agotamiento y posterior tratamiento del extracto, del que obtuvimos un material de aspecto siruposo que por posterior cromatografía en columna empleando mezclas de polaridad creciente, dio como resultado la siguiente relación de sustancias cuyo estudio pasamos a describir, en función de sus relaciones estructurales.

**FLAVONOIDES: EUD 1-7.**

**DITERPENOS: EUD 8-10.**

**FLAVONOIDES.****Sustancia EUD-1.**

De la fracción 27-38 de la cromatografía general se obtuvo un sólido cristalino de con un punto de fusión de 240-245°C, y que en cromatografía de capa fina y tras revelado con óleum presenta una coloración amarilla.

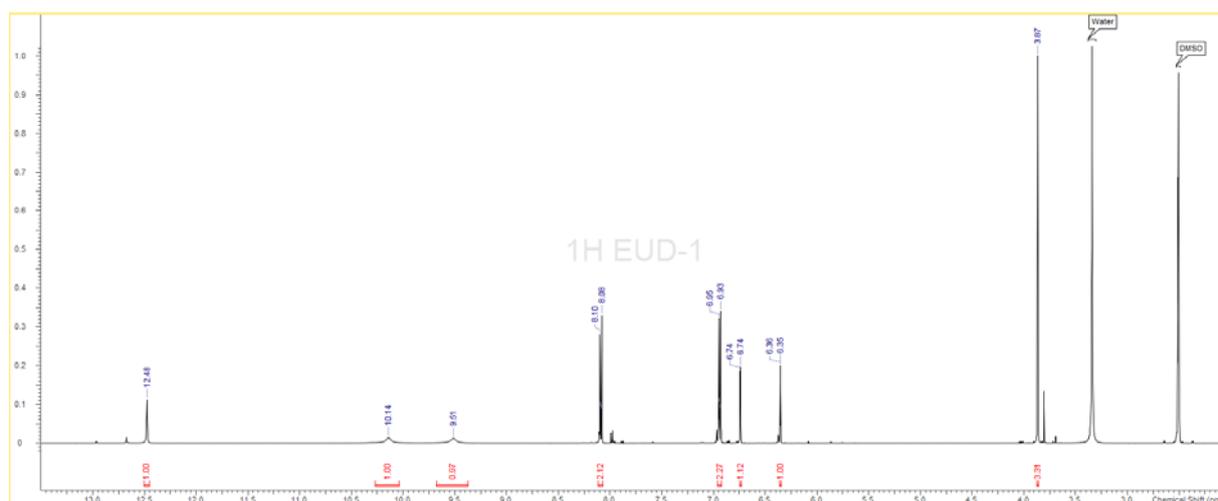
Su espectro de masas presenta el ion molecular a  $m/z$  340 que se corresponde con una fórmula empírica  $C_{16}H_{12}O_6$ . Su espectro UV presenta dos bandas de absorción características a 350.5 nm (banda I) y 268.5 (banda II), que mediante la prueba realizada adicionando NaOH donde se observaba que el color amarillo se intensificaba puso de manifiesto la naturaleza flavonoide del compuesto y en particular un flavonol. La adición de reactivos de desplazamiento (ver tabla adjunta) nos permitió asignar la posición de los grupos hidroxilo en la molécula.

**Tabla 17. Espectro UV de (EUD-1)**

<b>Disolvente</b>	<b>Banda I (nm)</b>	<b>Banda II (nm)</b>	<b>Asignación</b>
<b>MeOH</b>	<b>358.0</b>	<b>260.0</b>	<b>Flavonol No 2 OR en anillo B</b>
<b>MeOH/NaOMe</b>	<b>417.0</b>	<b>263.0</b>	<b>3 - OH</b>
<b>MeOH/AlCl<sub>3</sub></b>	<b>421.0; 353.0</b>	<b>262.0</b>	<b>3 - OH 5 - OH</b>
<b>MeOH/AlCl<sub>3</sub>/HCl</b>	<b>421.0; 353.0</b>	<b>267.0</b>	<b>3 - OH 5 - OH</b>
<b>MeOH/NaOAc</b>	<b>361.0</b>	<b>263.0</b>	<b>No 7 - OH</b>
<b>MeOH/NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>	<b>361.0</b>	<b>265.0</b>	<b>---</b>

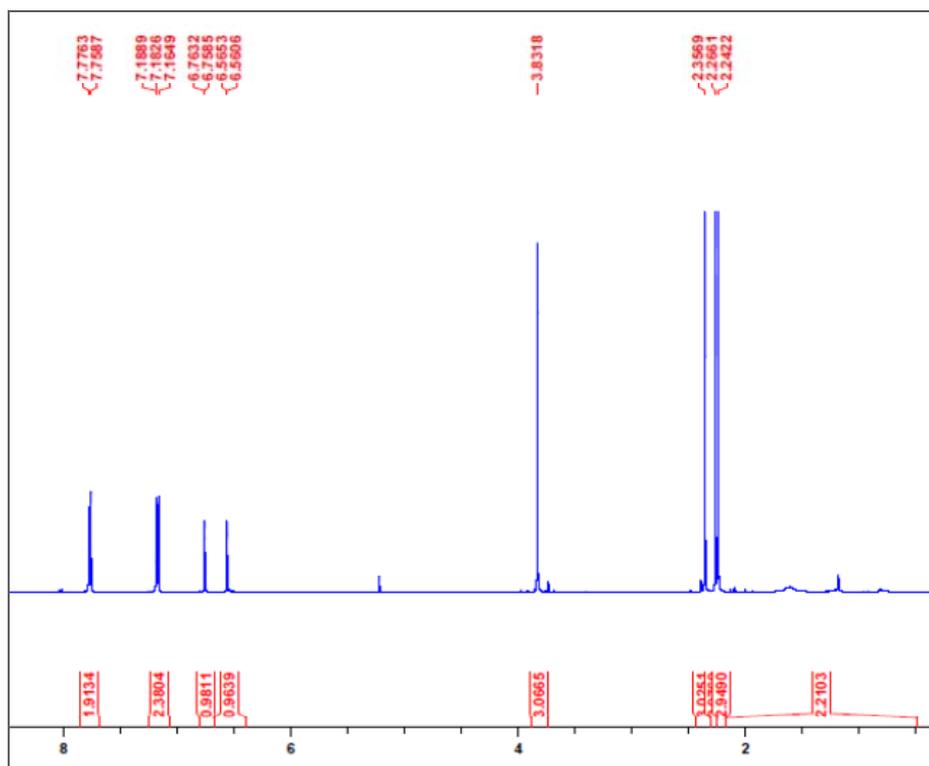
En el espectro de  $^1\text{H-RMN}$  (Figura 35, Tabla 22) presentar las siguientes señales: un singulete ancho a  $\delta_{\text{H}}$  12.48 el cual asignamos a un grupo hidroxilo fenólico en posición C-5; dos dobletes a  $\delta_{\text{H}}$  8.09 ( $J = 7.2$  Hz) y 6.94 ( $J = 7.2$  Hz) de intensidad dos protones cada uno, característicos de un anillo aromático sustituido en posición *para*; dos dobletes a  $\delta_{\text{H}}$  6.74 ( $J = 1.76$  Hz) y 6.35 ( $J =$

1.76 Hz) característicos de dos protones aromáticos en posición *meta*, así como un singulete a  $\delta_H$  3.86 que integra a tres protones, que correspondería a un grupo metoxilo. La asignación del grupo OH en posición 3 se confirma por los desplazamientos observados en el UV así como a partir del espectro HMBC. El resto de las señales se confirmaron con la realización de los correspondientes experimentos de  $^{13}\text{C}$ -RMN, COSY, HMBC y HSQC.



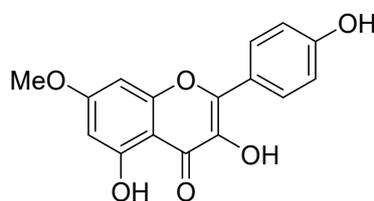
**Figura 35.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de la sustancia **EUD-1**

Se llevó a cabo la acetilación de dicha sustancia observándose en cromatografía TLC un desplazamiento de la señal con respecto al alcohol y en su espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 36, Tabla 23) se observó un desplazamiento de las señales de los protones H'-3, H'-5, H-6 y H-8 y la aparición de las señales de tres singuletes a  $\delta_H$  2.36, 2.27 y 2.24 respectivamente con intensidad para tres protones, los cuales corresponderían a los metilos de grupos acetoxi.



**Figura 36.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de la sustancia **Ac. EUD-1**

De los datos anteriores se deduce que dicha sustancia se corresponde con el **4', 3, 5-trihidroxi-7-metoxiflavonol**. Consultada la bibliografía podemos comprobar que sus datos coinciden con los de la sustancia descrita como **Rhamnocitrin**<sup>95</sup>.



**Rhamnocitrin**

<sup>95</sup> Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, B.M. (1970). The Systematic Identifications of Flavonoids. Ed. Springer-Verlag.

**Sustancia EUD-2.**

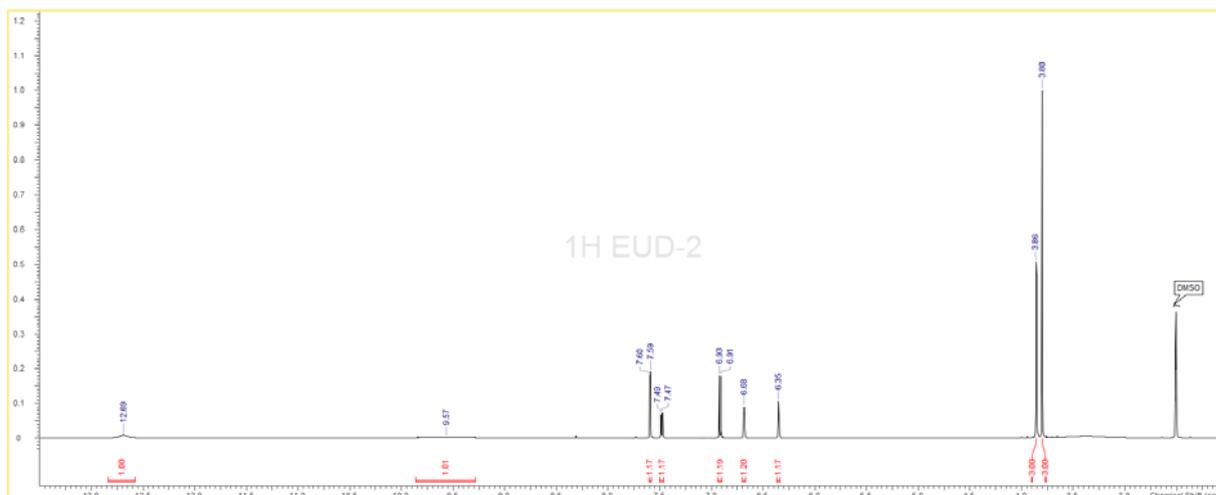
Este compuesto fue aislado como un sólido cristalino de color amarillo que presentaba un punto de fusión de 247-249°C a partir de las fracciones 60-61 de la cromatografía general, observándose en su espectro de masas la presencia del ion molecular a  $m/z$  330 que se corresponde con una fórmula empírica  $C_{17}H_{14}O_7$ .

El análisis de su espectro UV nos sugiere la presencia de un compuesto del tipo flavonol cuyos desplazamientos característicos cuando se adicionan los reactivos específicos se indican en la Tabla 18.

**Tabla 18. Espectro UV de (EUD-2)**

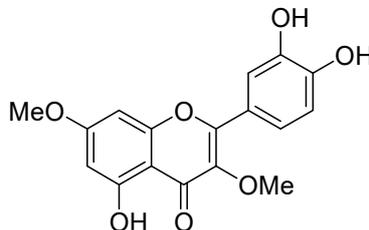
<b>Disolvente</b>	<b>Banda I (nm)</b>	<b>Banda II (nm)</b>	<b>Asignación</b>
<b>MeOH</b>	<b>357.0</b>	<b>270.0</b>	<b>Flavonol</b>
<b>MeOH/NaOMe</b>	<b>407.0</b>	<b>270.0</b>	<b>4' - OH</b>
<b>MeOH/AlCl<sub>3</sub></b>	<b>440.0</b>	<b>270.0</b>	<b>4' - OH</b> <b>5 - OH</b>
<b>MeOH/AlCl<sub>3</sub>/HCl</b>	<b>362.0</b>	<b>270.0</b>	<b>4' - OH</b>
<b>MeOH/NaOAc</b>	<b>361.0</b>	<b>270.0</b>	<b>No 7 - OH</b>
<b>MeOH/NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>	<b>361.0</b>	<b>270.0</b>	<b>----</b>

En el espectro de  $^1H$ -RMN (Figura 37, Tabla 24) se observan las siguientes señales; un singulete ancho a  $\delta_H$  12.69 que integra un protón y que asignamos al grupo  $C_5$ -OH; un doblete a  $\delta_H$  7.59 (1 H,  $J = 2.2$  Hz) que asignamos al protón H-2'; un doble doblete a  $\delta_H$  7.48 (1H,  $J = 2.1; 8.5$  Hz) y un doble a  $\delta_H$  6.92 (1H,  $J = 8.5$  Hz) correspondientes a los protones aromáticos H-6' y H-5' respectivamente. Los restantes protones aromáticos se observan como dos singuletes a  $\delta_H$  6.68 y 6.35 que asignamos a H-8 y H-6 respectivamente. Las señales correspondientes a los dos grupos metoxi se observan a  $\delta_H$  3.86 para el grupo  $C_7$ -OCH<sub>3</sub> y a  $\delta_H$  3.80 para el grupo  $C_3$ -OCH<sub>3</sub>. La posición del grupo metoxi en el C-3 se confirma por el valor de 59.60 observado en el  $^{13}C$ -RMN.



**Figura 37.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de la sustancia **EUD-2**

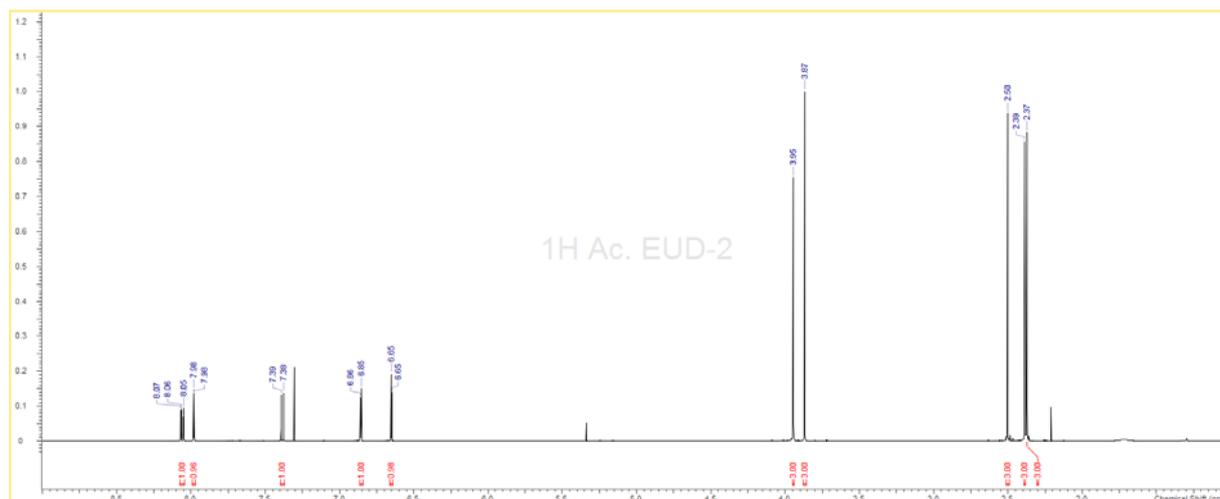
Realizados los correspondientes experimentos de  $^{13}\text{C}$ -RMN, COSY, HMBC y HSQC, se propone para dicho compuesto la estructura correspondiente al **3',4',5-trihidroxi-3,7-dimetoxiflavona**. Consultada la bibliografía sus datos espectroscópicos se corresponden con la sustancia descrita como **3,7-dimetiléter de Quercetina**<sup>96</sup>.



### 3,7-dimetiléter de Quercetina

Se procedió a confirmar dicha estructura mediante la preparación del correspondiente derivado acetilado, cuyo  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 38, Tabla 25) nos muestra un desplazamiento de las señales de los protones aromáticos H-2' como un doblete a  $\delta_{\text{H}}$  8.06 (1 H,  $J = 2.2; 8.7$  Hz); H-6' doblete a  $\delta_{\text{H}}$  7.98 (1H,  $J = 2.2$  Hz); H-5' doblete a  $\delta_{\text{H}}$  7.38 (1H,  $J = 8.7$  Hz) y H-6 y H-8 como dobletes a  $\delta_{\text{H}}$  6.65 y 6.85 (1H,  $J = 2.4$  Hz) respectivamente, así como a aparición de las señales de tres grupos metilo correspondientes a los grupos OH acetilados como singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  2.50, 2.39 y 2.37 respectivamente.

<sup>96</sup> Gryer, R.J., Eckert, M.R., Lever, A., Veitch, N.C., Kite, G.C., Paton, A.J. (2010). *Distribution of exudate flavonoids in the genus Plectranthus*. *Biochemical Systematics and Ecology*. Vol. 38, pp. 335-341



**Figura 38.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de la sustancia **Ac. EUD-2**

### Sustancia EUD-3.

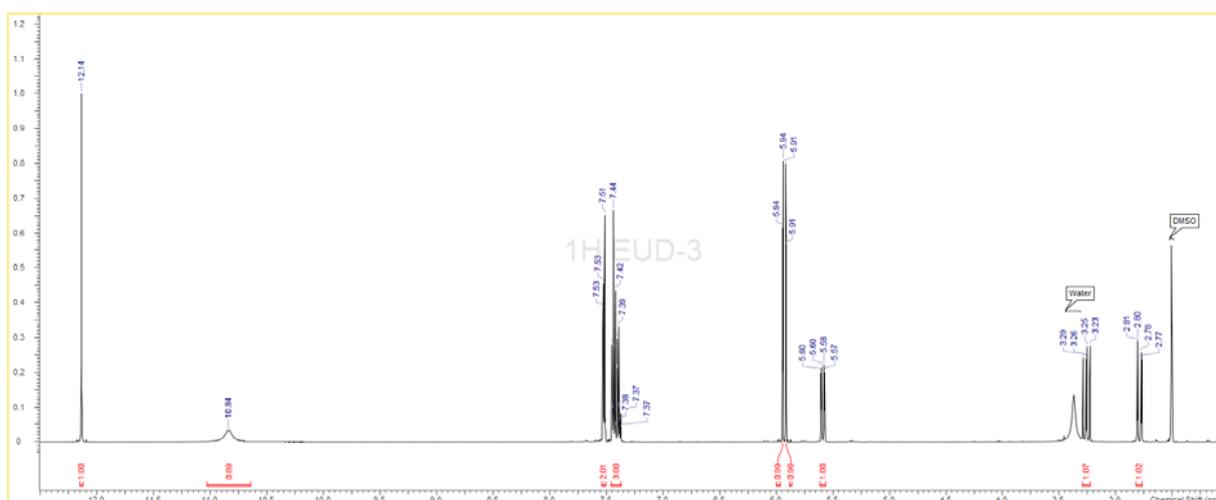
Se aisló como un compuesto cristalino de color blanquecino a partir de las fracciones 37-59 de la columna general. Presento un punto de fusión de 192-194°C y en su espectro de masas se observa un ion molecular a  $m/z$  256 que se corresponde con una fórmula empírica  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$ .

El análisis de su espectro UV nos sugiere la presencia de un compuesto del tipo flavonol cuyos desplazamientos característicos cuando se adicionan los reactivos específicos se indican en la Tabla 19.

**Tabla 19.** Espectro UV de (EUD-3)

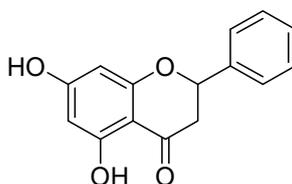
Disolvente	Banda II (nm)	Asignación
MeOH	295 324 i	Flavanona
MeOH/NaOMe	295 302 i	No 4'-OH
MeOH/ $\text{AlCl}_3$	297 373 i	5-OH
MeOH/ $\text{AlCl}_3/\text{HCl}$	311 372 i	----
MeOH/NaOAc	312 282	7-OH
MeOH/NaOAc/ $\text{H}_3\text{BO}_3$	296 322 i	----

Su espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 39, tabla 26) presenta las señales características de una flavanona donde observamos la ausencia de grupos metoxi, y dichas señales aparecen a  $\delta_{\text{H}}$  12.14 ppm como un singlete ancho que integra un protón y que asignamos a grupo OH sobre el C-5; un multiplete centrado a  $\delta_{\text{H}}$  7.52 ppm que integra a dos protones y que corresponderían a los protones aromático H-2' y H-6'; otro multiplete centrado a  $\delta_{\text{H}}$  7.41 ppm que integra tres protones y que se asignan a los protones aromáticos H-3', H-4' y H-5'.



**Figura 39.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de la sustancia **EUD-3**

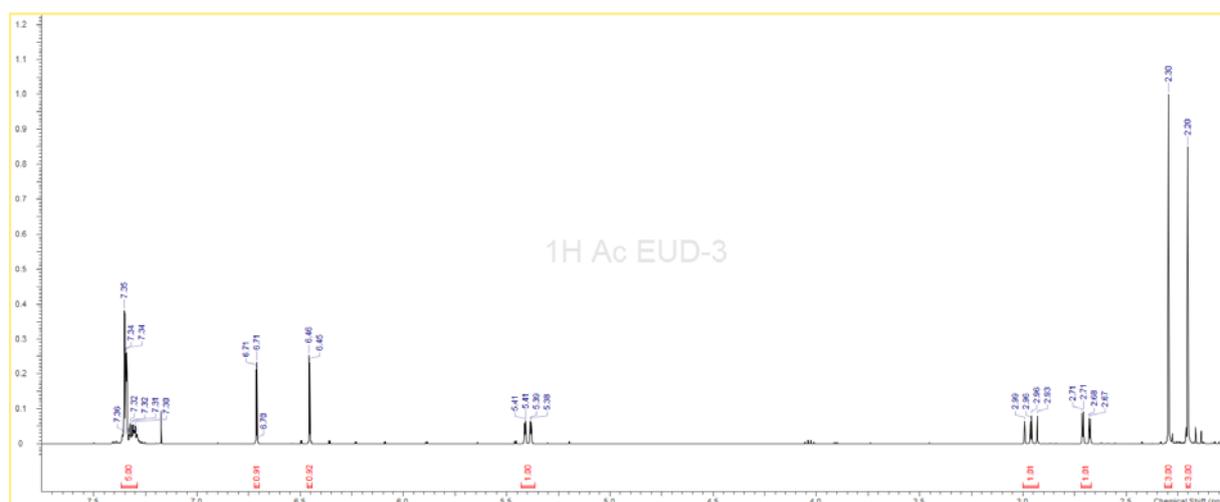
Con los datos obtenidos a partir de los experimentos de  $^{13}\text{C}$ -RMN, COSY, HMBC y HSQC se propone para la sustancia EUD-3 la estructura de la **5,7-dihidroxi flavanona**, que se encuentra descrita en la bibliografía como **Pinocembrina**<sup>97</sup> con la cual coinciden los datos tanto físicos como espectroscópicos.



**Pinocembrina**

<sup>97</sup> Mohamed, I. A., Hoda M.F., Maged, S.A., Gilles, G., Abdallah, A.O. (2010). *Terpenes and flavonoids from an Egyptian collection of Cleome droserifolia*. Natural Product Research. Vol. 24, No. 7, pp. 687-696.

Obtenido su derivado acetilado, su espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 40, Tabla 27) presenta unos multipletes centrados a  $\delta_{\text{H}}$  7.31 y 7.35 ppm que integran a cinco protones que corresponden a los protones aromáticos 2',3',4',5' y 6'; dos dobletes a  $\delta_{\text{H}}$  6.45 ( $J = 2.3$  Hz) y 6.71 ( $J = 2.3$  Hz) ppm respectivamente que corresponden a los protones H-8 y H-6: dos dobles dobletes a  $\delta_{\text{H}}$  2.69 ( $J = 3.0$  y 17.0 Hz) y 2.96 ( $J = 13.5$  y 17 Hz) que integran un protón cada uno y que corresponden a los protones del  $\text{C}_3$  y otro doble doblete a  $\delta_{\text{H}}$  5.42 ( $J = 2.7$  y 13.5 Hz) que asignamos al protón H-2. Finalmente los dos acetatos se observan como singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  2.20 y 2.29 ppm respectivamente.



**Figura 40.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de la sustancia **Ac. EUD-3**

#### Sustancia EUD-4.

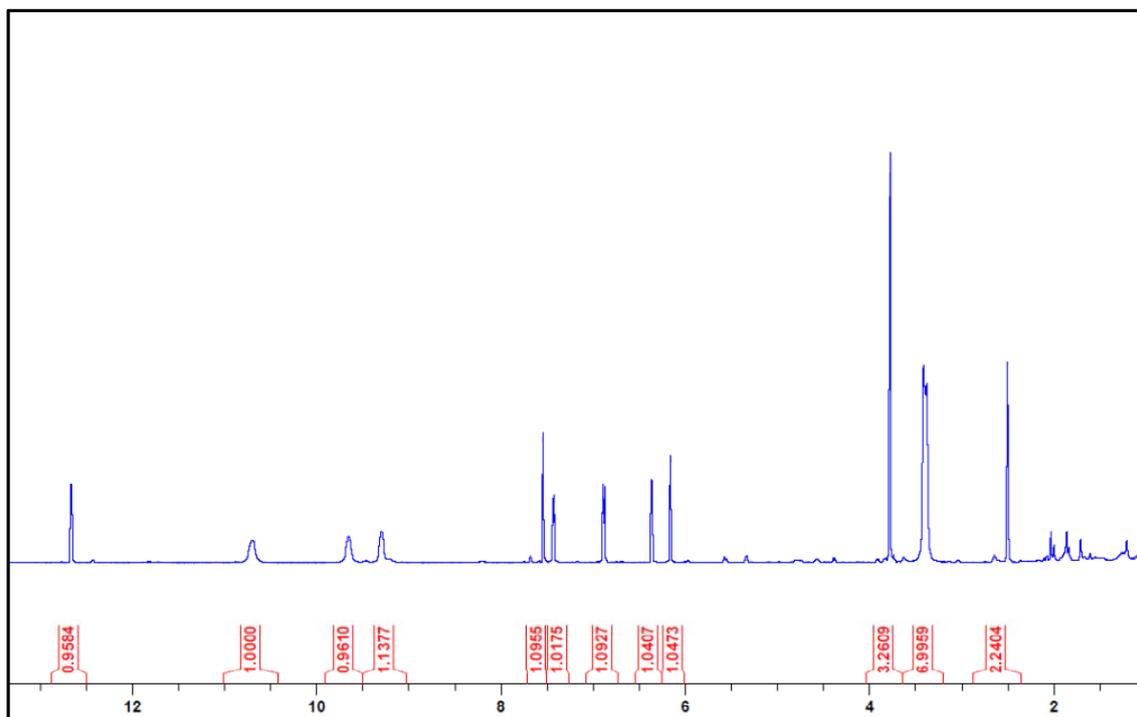
Este compuesto se obtuvo por cristalización como un sólido de color amarillo que fundía a 272-274°C a partir de las fracciones 76-81 de la cromatografía general. Su espectro de masas presenta el ion molecular a  $m/z$  316 que se corresponde con la fórmula empírica  $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$ .

El espectro UV del compuesto nos pone de manifiesto que se trata de un flavonol cuyos desplazamientos al adicionar los reactivos específicos se reflejan en la Tabla 20.

Tabla 20. Espectro UV de (EUD-4)

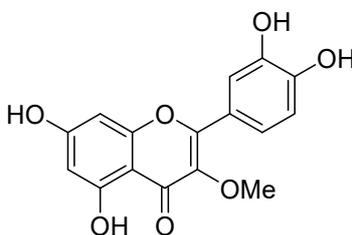
Disolvente	Banda I (nm)	Banda II (nm)	Asignación
MeOH	359.0	266.0	Flavonol
MeOH/NaOMe	410.0; 330.0 i	271.0	4'-OH 7-OH
MeOH/AlCl <sub>3</sub>	438.0; 330.0 i	273.0	3'-OH, 4'-OH 5-OH
MeOH/AlCl <sub>3</sub> /HCl	401.0	267.0	5-OH
MeOH/NaOAc	389.0	272.0	7-OH
MeOH/NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	381.0	263.0	Sistema 3'-4' hidroxílico No hidroxilo orto anillo A

En su espectro de <sup>1</sup>H-RMN (Figura 41, Tabla 28) se observan las siguientes señales: un singulete ancho a  $\delta_H$  12.66 ppm que asignamos a un grupo hidroxilo sobre el carbono 5 (C<sub>5</sub>-OH); un singulete ancho a  $\delta_H$  7.54 ppm que asignamos al protón aromático H-2'; un doble doblete a  $\delta_H$  7.43 ( $J = 2.2, 8.5$  Hz) y un doblete a  $\delta_H$  6.88 ( $J = 8.5$  Hz) ppm que corresponden a los protones aromáticos H-5' y H-6' respectivamente; las restantes señales son dos singuletes a  $\delta_H$  6.16 y 6.36 ppm respectivamente que asignamos a los protones H-6 y H-8 y un singulete ancho a  $\delta_H$  3.78 que integra a tres protones y que asignamos a un grupo metoxilo sobre el carbono 3 (C<sub>3</sub>-OCH<sub>3</sub>), señal que confirmamos con el espectro de <sup>13</sup>C-RMN (Tabla 28) donde se observa una señal a  $\delta_C$  59.50 ppm característica.



**Figura 41.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de la sustancia **EUD-4**

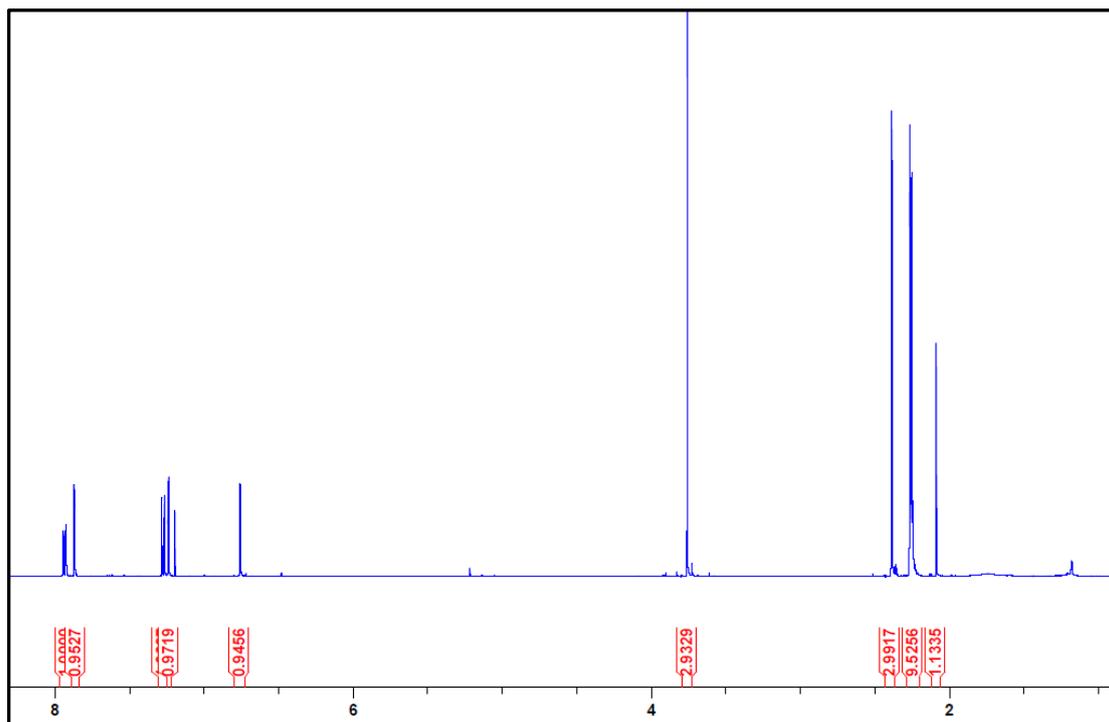
Una vez realizados los diferentes experimentos de  $^{13}\text{C}$ -RMN, COSY, HMBC y HSQC se propone para la sustancia **EUD-4** la estructura de la **3',4',5,7-tetrahidroxi-3-metoxiflavona** que se encuentra descrita en la bibliografía como **3-metiléter de Quercetina**<sup>98</sup> con la cual coinciden los datos tanto físicos como espectroscópicos así como por cromatografía TLC con una muestra de dicha sustancia.



**3-metiléter de Quercetina**

<sup>98</sup> Bittner, M., Watson, W.H. (1982). Rev. Latinoamericana Quim, 13, 24.

Su derivado acetilado nos permite confirmar la presencia de los cuatro grupos hidroxilos al obtenerse el tetraacetato correspondiente como se observa en el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 42, Tabla 29) que presenta las señales de cuatro grupos acetoxi a  $\delta_{\text{H}}$  2.25, 2.26, 2.27 y 2.39 respectivamente.



**Figura 42.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de la sustancia **Ac. EUD-4**

**Sustancia EUD-5.**

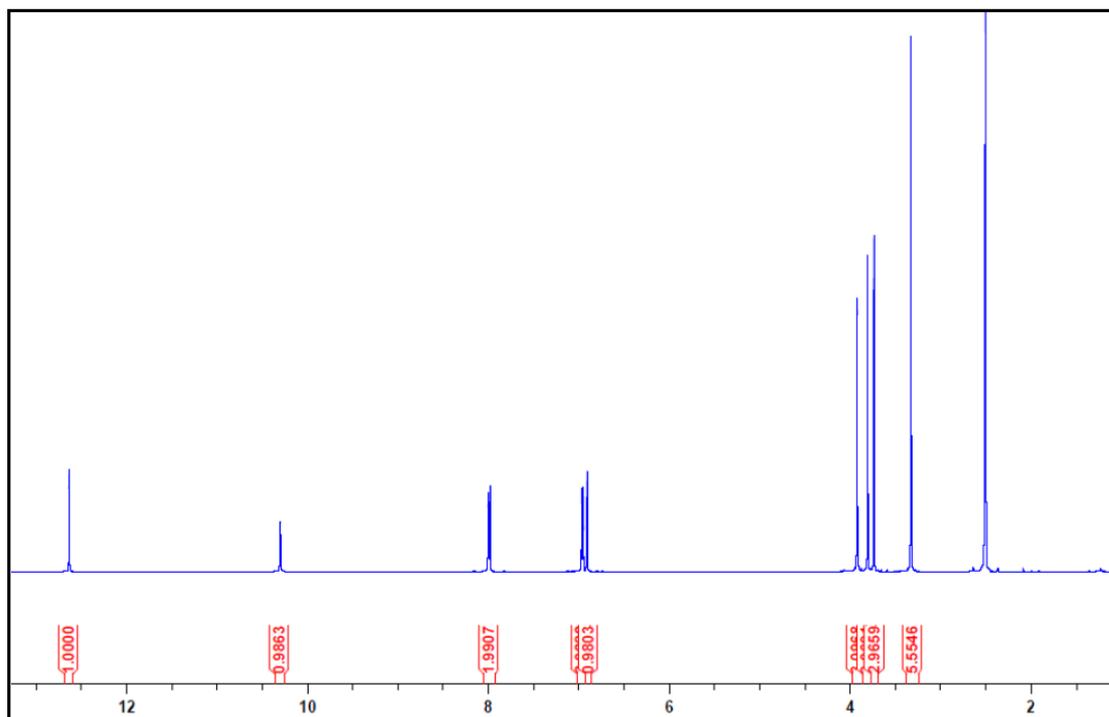
Esta sustancia se aisló como un sólido cristalino de color amarillo que presento un punto de fusión 215-217°C, a partir de las fracciones 60-77 de la cromatografía general, observándose en su espectro de masas la presencia del ion molecular que corresponde a una fórmula empírica de  $C_{18}H_{16}O_7$ .

En su espectro UV se pueden observar las bandas características que nos confirman su naturaleza flavonoide, y en la Tabla 21 se muestran los desplazamientos después de la adicción de los reactivos específicos.

**Tabla 21. Espectro UV de (EUD-5)**

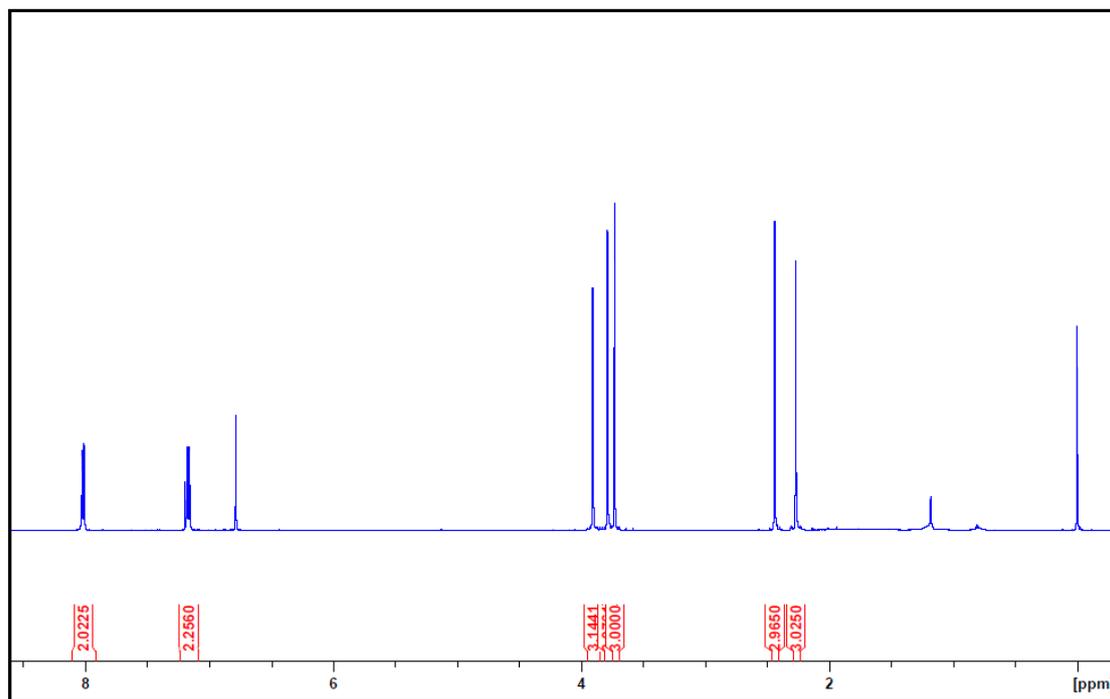
Disolvente	Banda I (nm)	Banda II (nm)	Asignación
MeOH	342.5	270 330 i	Flavonol No 2 OR en anillo B
MeOH/NaOMe	400 329.5 i	273	4' - OH
MeOH/AlCl <sub>3</sub>	387 331 i	275 301 i	5 - OH
MeOH/AlCl <sub>3</sub> /HCl	385 330 i	275 301 i	4' - OH
MeOH/NaOAc	342	271	No 7 - OH
MeOH/NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	343	269	----

Su espectro de <sup>1</sup>H-RMN (Figura 43, Tabla 30) presenta los protones aromáticos del anillo B como dos dobletes a  $\delta_H$  7.99 ( $J = 8.9$  Hz) y 6.96 ( $J = 8.9$  Hz) ppm respectivamente, los cuales integran a dos protones cada uno y que nos indican que se trata de un anillo para disustituído. Un singulete a  $\delta_H$  6.91 ppm se asigna al protón aromático H-8. En la zona de los metoxilos se observan tres singules a  $\delta_H$  3.92, 3.80 y 3.74 ppm respectivamente. Se confirma que uno de los grupos metoxilo se sitúa sobre el carbono C-3 por el valor de  $\delta_C$  59.5 ppm que se observa en el espectro de <sup>13</sup>C RMN. La señal a  $\delta_H$  12.63 corresponde a un grupo -OH sobre el carbono C-5.



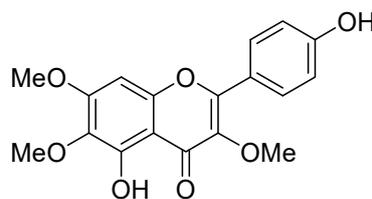
**Figura 43.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de la sustancia **EUD-5**

Una vez obtenido su derivado acetilado nos confirma la presencia de los dos grupos hidroxilo al formarse el derivado diacetilado como podemos comprobar en su espectro de  $^1\text{H}$ -RMN donde se observan dos singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  2.43 y 2.27 ppm correspondientes a los grupos metilo de los acetatos. El resto de las señales (Figura 44, Tabla 31) se corresponden con los protones aromáticos H-8, singulete a  $\delta_{\text{H}}$  6.79 ppm, H-2' y H-6', doblete a  $\delta_{\text{H}}$  8.02 ( $J = 8.4$  Hz) y H-3' y H-5', doblete a  $\delta_{\text{H}}$  7.17 ( $J = 8.4$  Hz) ppm. Los tres singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  3.90, 3.78 y 3.73 corresponden a los grupos metoxilo.



**Figura 44.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de la sustancia **Ac. EUD-5**

La estructura del compuesto se confirma con la realización de los experimentos de  $^{13}\text{C}$ -RMN, HMBC, HSQC y COSY, proponiéndose para este compuesto la estructura de la **3, 6, 7-trimetoxi-4',5-dihidroxi-4'-oxiflavona**, la cual aparece descrita en la bibliografía como **Penduletina**<sup>99</sup>.



**Penduletina**

<sup>99</sup> Wang, Y., Hamburger, M., Gueho, J., Hostettmann, K. (1989). *Antimicrobial flavonoids from Psidium trinervia and their methylated and acetylated derivatives*. *Phytochemistry*, Vol. 28, No. 9, pp. 2323-2327.

### SUSTANCIA EUD-6

Esta sustancia fue aislada de la fracción 57-61 de la cromatografía general. Sus datos espectroscópicos y físicos coinciden con los estudiados anteriormente para el **EUI-3** obtenido en el *E. illitium* (pag. 123).

### SUSTANCIA EUD-7

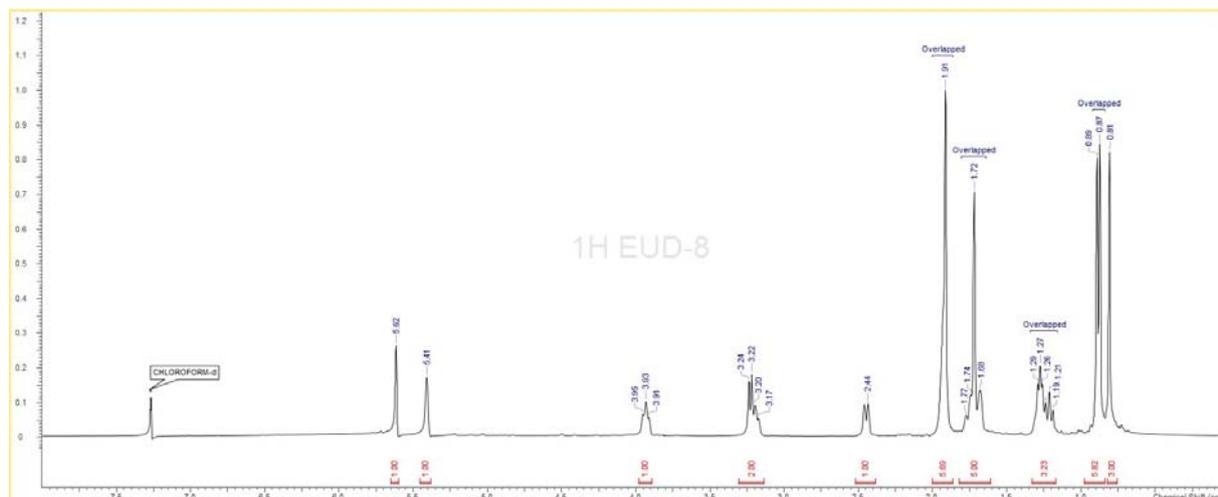
Esta sustancia se aisló a partir de la fracción 60-77 de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos fueron totalmente coincidentes con los de la sustancia **EUI-5** descrita anteriormente en el estudio de la especie *E. illitium* (pág. 125).

### SUSTANCIA EUD-8

Esta sustancia se aisló de la fracción 85-88 de la cromatografía general. Mostró la fórmula molecular  $C_{20}H_{32}O_4$  según el análisis de masas de alta resolución en modo de ion positivo, indicando cinco grados de insaturación. Su espectro de IR reveló la presencia de grupos hidroxilo ( $3401\text{ cm}^{-1}$ ) y presencia de grupo carbonilo ( $1682\text{ cm}^{-1}$ ).

El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 45, Tabla 32) mostró, entre otras señales, la presencia de cinco grupos metilo, de los cuales dos aparecen como singuletes anchos a  $\delta_{\text{H}}$  0.81 (Me-20), y 1.91 (Me-16); otros dos aparecen como parte de un doblete ancho a  $\delta_{\text{H}}$  0.87 (Me-18) y 0.89 (Me-19), mientras que el quinto se muestra formando parte de un multiplete a  $\delta_{\text{H}}$  1.72 (Me-17). Pudieron observarse también dos protones de olefinas trisustituidas a  $\delta_{\text{H}}$  5.41 (H-7) y 5.62 (H-14) y además, a  $\delta_{\text{H}}$  2.45, uno de los protones metilénicos de C-1 como doblete ancho ( $J = 12.3\text{ Hz}$ ).

El espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (Tabla 32) mostró 20 señales, las cuales incluyen 5 grupos metilo ( $\delta_{\text{C}}$  14.3, 16.4, 21.6, 26.1, 27.7), cuatro grupos metileno ( $\delta_{\text{C}}$  23.4, 27.2, 37.8, 45.3), seis grupos metino ( $\delta_{\text{C}}$  49.6, 55.5, 67.7, 82.7, 116.4, 122.2) y cinco carbonos cuaternarios ( $\delta_{\text{C}}$  38.2, 39.2, 134.5, 162.2, 170.0).



**Figura 45.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia **EUD-8**

El análisis de los espectros COSY y HMBC permitió elucidar la estructura de **EUD-8**.

En el espectro COSY se observaron las correlaciones de ambos protones de C-1 con H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  3.93); H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  3.93) con H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  3.23); los protones de C-6 ( $\delta_{\text{H}}$  1.92) con H-7 ( $\delta_{\text{H}}$  5.41) y los protones de C-11 ( $\delta_{\text{H}}$  1.27) con el protón a  $\delta_{\text{H}}$  3.19 de C-12.

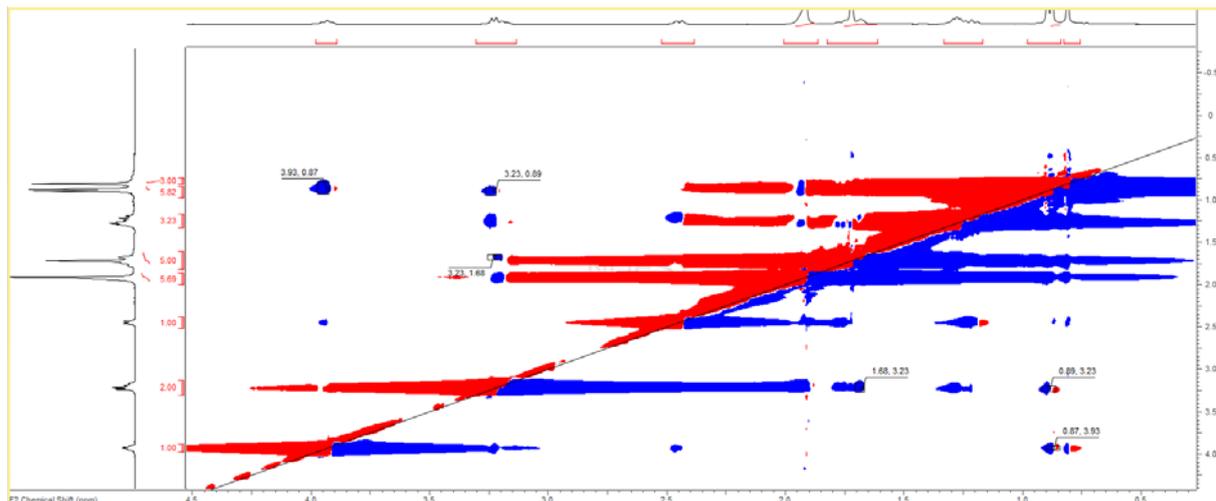
En el espectro HMBC se observaron las siguientes correlaciones importantes que permitieron construir el sistema decalínico: H-3 se correlaciona con C-4, Me-18 y Me-19; H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  1.68) se correlaciona con C-4; H-7 ( $\delta_{\text{H}}$  5.41) se correlaciona con H-5; Me-20 ( $\delta_{\text{H}}$  0.81) se correlaciona con C-1, C-5, C-9 y C-10.

Las correlaciones observadas en el HMBC entre los protones de Me-17 ( $\delta_{\text{H}}$  1.72) con H-7 y C-8, permiten establecer el enlace entre C-8 y C-17. La cadena exocíclica del diterpeno queda establecida mediante las correlaciones observadas de H-14 ( $\delta_{\text{H}}$  5.62) con C-13, C-15 y Me-16 ( $\delta_{\text{H}}$  1.91).

Se asignó para C-15 el grupo ácido carboxílico de acuerdo con los resultados observados en el espectro de masas de alta resolución.

Se propone la configuración *ent* para éste y todos los labdanos aislados de la presente especie, *Eupatorium dictyoneurum*, ya que según nuestra búsqueda bibliográfica (referencias 61-70) y nuestros resultados para los labdanos aislados de *Eupatorium obtusissimum*, todos los labdanos aislados de especies del género *Eupatorium* pertenecen a la serie *ent*.

La configuración relativa de **EUD-8** se estableció empleando un experimento NOESY (Figura 46).



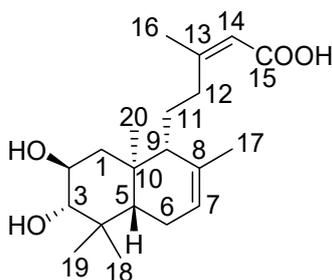
**Figura 46.** Espectro NOESY para la sustancia **EUD-8**

En el espectro NOESY de la sustancia **EUD-8** se observaron, entre otros, los acoplamientos entre H-5 ( $\delta_H$  1.68)/H-3 ( $\delta_H$  3.23), lo que indica que ambos protones son cofaciales teniendo la configuración beta, lo que supone la configuración alfa para el grupo  $-OH$  de C-3; H-3/Me-19 ( $\delta_H$  0.89), de donde se deduce que Me-19 tiene la configuración beta, quedando entonces Me-18 con la configuración alfa y finalmente se observó el acoplamiento espacial entre Me-18 ( $\delta_H$  0.87) y H-2 ( $\delta_H$  3.93) que sugiere que ambos son cofaciales y de configuración alfa, lo que supone una configuración beta para el  $-OH$  en C-2.

Se asignó la configuración Z al doble enlace en C-13 comparando los desplazamientos químicos encontrados para Me-16 ( $\delta_H$  1.91,  $\delta_C$  26.1) con los de un compuesto similar encontrado en la especie *Baccharis paniculata*.<sup>100</sup>

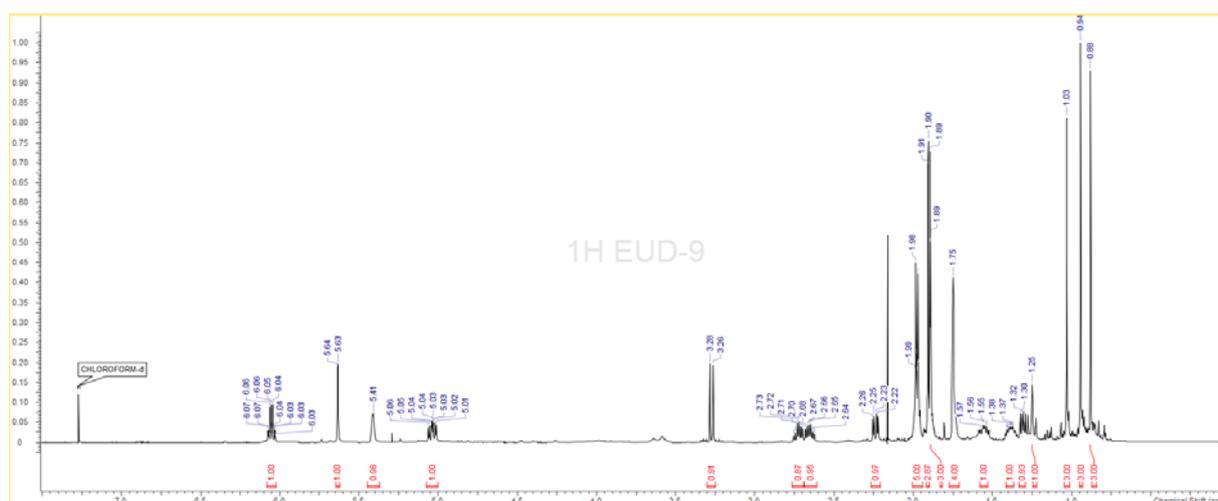
Una búsqueda bibliográfica (Sci-finder) reveló que este compuesto no se encuentra reportado en la literatura, por lo que se trata de un compuesto nuevo.

<sup>100</sup> Labbé, C., Faini, F., Castillo, M. (1990). Diterpenoids from Chilean *Baccharis* species. *Phytochemistry*, 29, 324-325.

Estructura Química de **EUD-8****SUSTANCIA EUD-9**

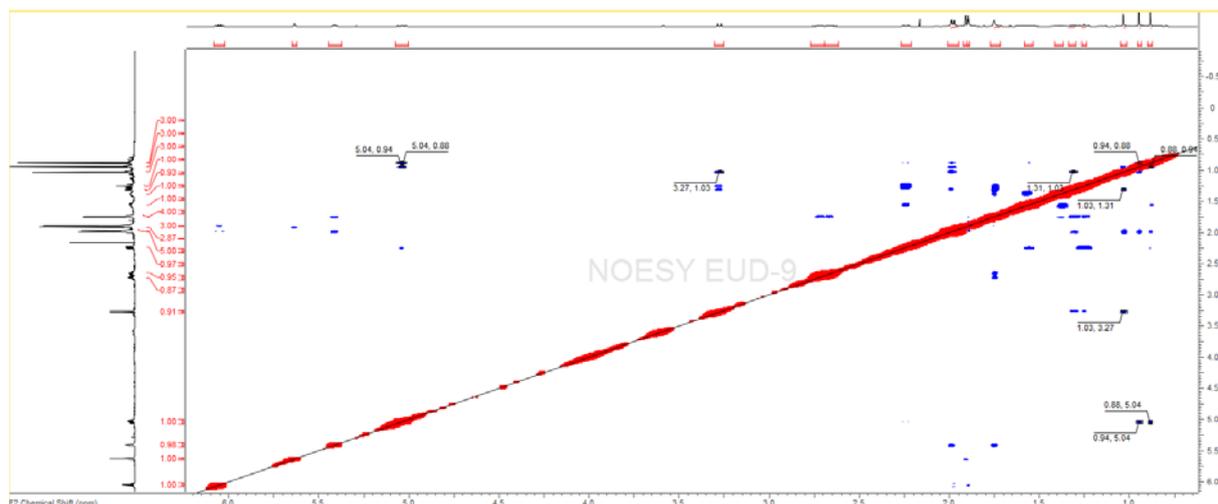
Esta sustancia se aisló de la fracción 27-34 de la cromatografía general. Mostró la fórmula molecular  $C_{25}H_{38}O_5$  según el análisis de masas de alta resolución en modo de ion positivo, indicando siete grados de insaturación. Su espectro de IR reveló la presencia de grupos hidroxilo ( $3443\text{ cm}^{-1}$ ), grupo carbonilo ( $1713\text{ cm}^{-1}$ ) y grupo éster ( $1240\text{ cm}^{-1}$ ).

El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 47, Tabla 33) mostró, entre otras señales, la presencia de siete grupos metilo, de los cuales cuatro aparecen como singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  0.88 (Me-20), 0.94 (Me-18), 1.03 (Me-19) y 1.75 (Me-17); uno aparece como doblete a  $\delta_{\text{H}}$  1.91 (Me-16,  $J = 1.3\text{ Hz}$ ) y los otros dos aparecen como multipletes a  $\delta_{\text{H}}$  1.89 (Me-5') y 1.98 (Me-4'). Pudieron observarse también tres protones de olefinas trisustituidas a  $\delta_{\text{H}}$  5.41 (H-7) y 5.63 (H-14) como singuletes, y a  $\delta_{\text{H}}$  6.05 (H-3') como multiplete; además, a  $\delta_{\text{H}}$  2.24, uno de los protones metilénicos de C-1 como doblete doblete ( $J = 4.4, 12.6\text{ Hz}$ ).

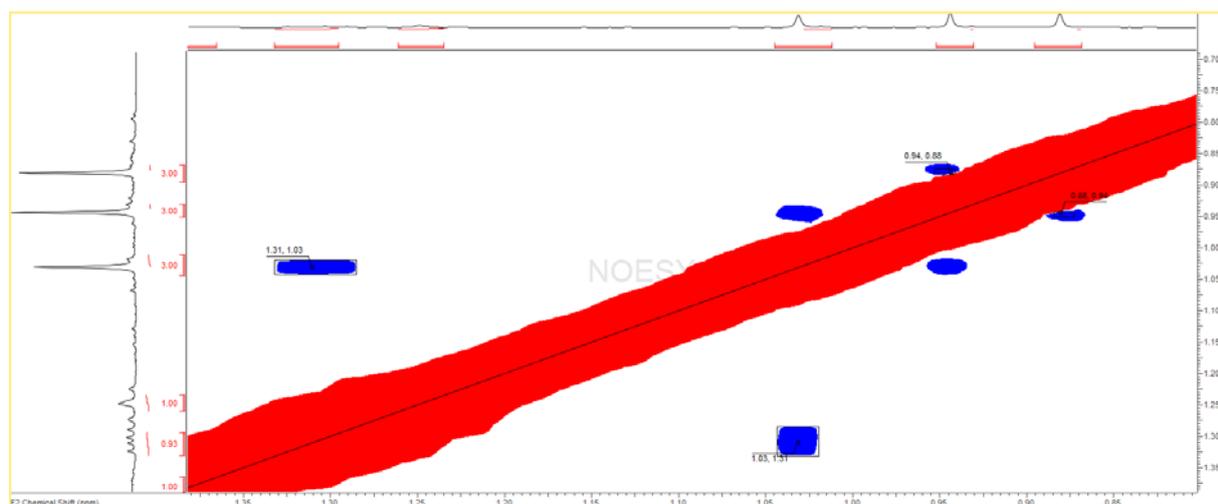
**Figura 47.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia **EUD-9**



La configuración relativa de **EUD-9** se estableció empleando un experimento NOESY (Figuras 50 y 51).



**Figura 50.** Espectro NOESY ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia **EUD-9**

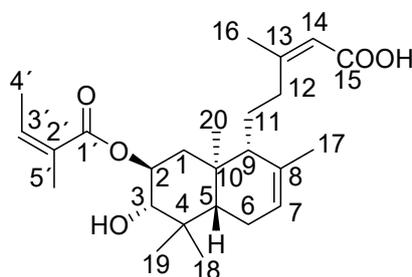


**Figura 51.** Expansión del espectro NOESY ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia **EUD-9**

En el espectro NOESY de la sustancia **EUD-9** se observó el acoplamiento de Me-20 ( $\delta_{\text{H}}$  0.88) con Me-18 ( $\delta_{\text{H}}$  0.94). Considerando que, como se había asumido anteriormente, estos labdanos pertenecen a la serie *ent*, Me-18 entonces tiene una configuración alfa, lo que implica que Me-19 ( $\delta_{\text{H}}$  1.03) posee configuración beta. Este supuesto se refuerza con el acoplamiento observado entre Me-19 y H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  1.31), éste último que se encuentra en beta por formar parte del sistema decalínico *trans* típico de los labdanos. La configuración de H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  5.04) se asignó como alfa,

debido al acoplamiento observado entre este protón y Me-20, lo que implica que el grupo angelato en C-2 tiene configuración beta; esta asignación queda reforzada por el acoplamiento observado de H-2 con Me-18. La configuración de H-3 ( $\delta_H$  3.27) se asignó como beta, debido al acoplamiento observado entre este protón y Me-19, lo que implica que el grupo -OH presente en C-3 tiene entonces configuración alfa.

Una búsqueda bibliográfica (Sci-finder) reveló que este compuesto no se encuentra reportado en la literatura, por lo que se trata de un compuesto nuevo.

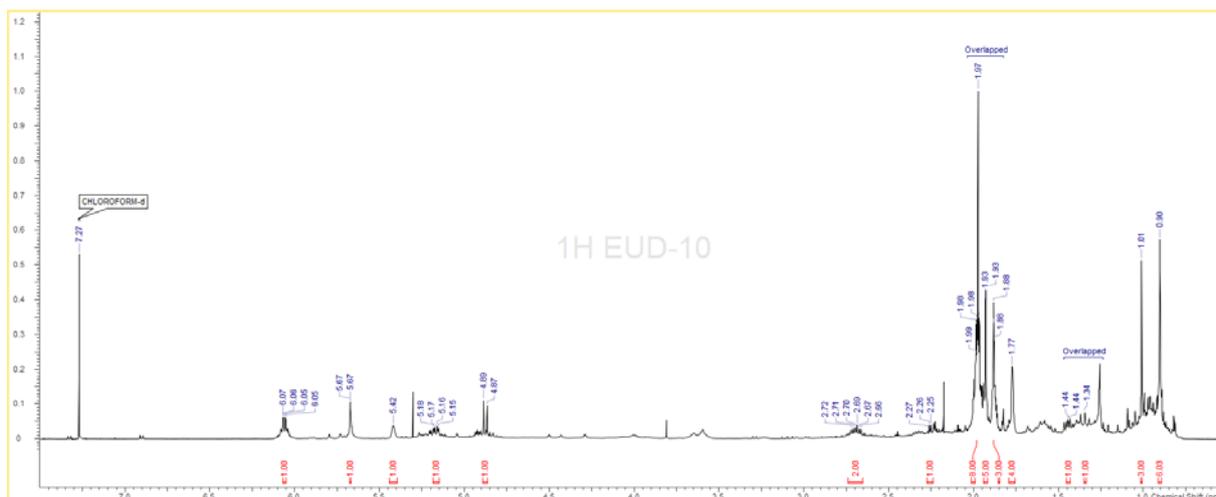


Estructura Química de **EUD-9**

### SUSTANCIA EUD-10

Esta sustancia se aisló de la fracción 27-34 de la cromatografía general. Mostró la fórmula molecular  $C_{27}H_{40}O_6$  según el análisis de masas de alta resolución en modo de ion positivo, indicando ocho grados de insaturación. Su espectro de IR reveló la presencia de grupos hidroxilo ( $3460\text{ cm}^{-1}$ ), grupo carbonilo ( $1714\text{ cm}^{-1}$ ) y grupo éster ( $1243\text{ cm}^{-1}$ ).

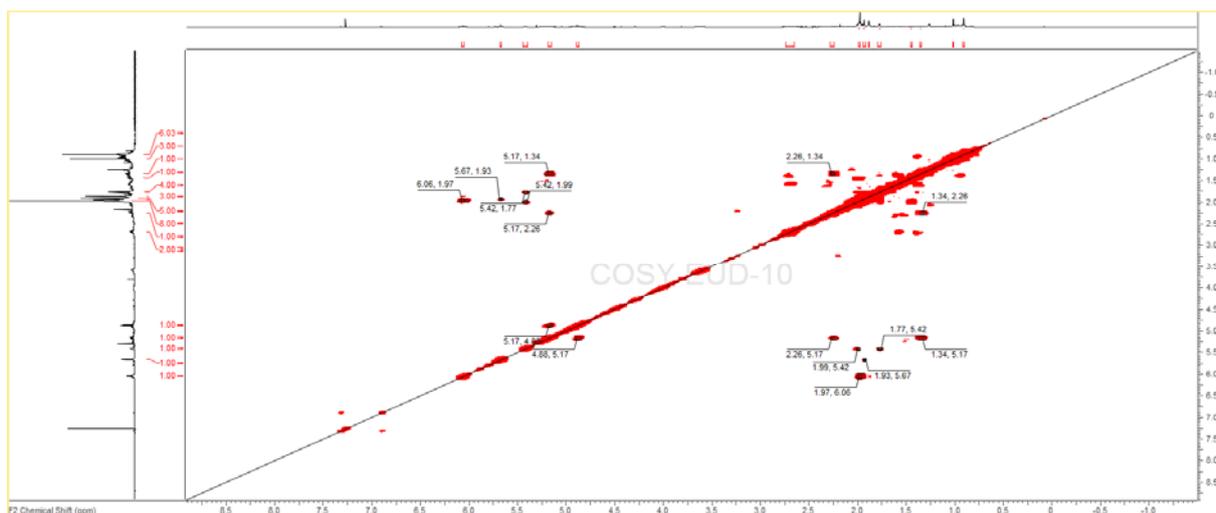
El espectro de  $^1\text{H-RMN}$  (Figura 52, Tabla 34) mostró, entre otras señales, la presencia de ocho grupos metilo, de los cuales seis aparecen como singuletes o singuletes anchos a  $\delta_H$  0.90 (Me-18 y Me-20), 1.01 (Me-19), 1.77 (Me-17), y 1.97 (Me-4' y Me-2'') y los dos restantes aparecen como multipletes a  $\delta_H$  1.88 (Me-5') y 1.93 (Me-16). Pudieron observarse también tres protones de olefinas trisustituidas a  $\delta_H$  5.42 (H-7), como singulete ancho,  $\delta_H$  5.67 (H-14), como singulete y  $\delta_H$  6.06 (H-3'), como multiplete.



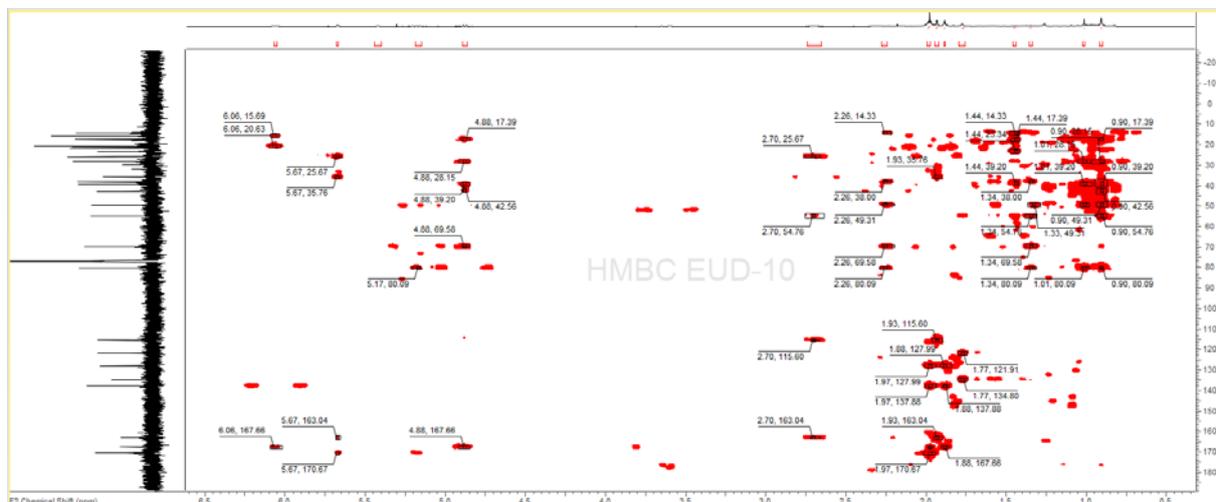
**Figura 52.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia **EUD-10**

El espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (Tabla 34) mostró 27 señales, las cuales incluyen ocho grupos metilo ( $\delta_{\text{C}}$  14.3, 15.7, 17.4, 20.6, 21.1, 21.8, 25.7, 28.2), cuatro grupos metileno ( $\delta_{\text{C}}$  23.3, 25.6, 35.8, 42.6), siete grupos metino ( $\delta_{\text{C}}$  49.3, 54.8, 69.6, 80.1, 115.6, 121.9, 137.9) y ocho carbonos cuaternarios ( $\delta_{\text{C}}$  38.0, 39.2, 128.0, 134.8, 163.0, 167.7, ( $2 \times$ ) 170.7).

El análisis de los espectros  $^1\text{H}$ , COSY y HMBC de esta sustancia (Figuras 53 y 54) revelaron que su estructura era similar a la de **EUD-9**, pero con la presencia de un grupo acetato en C-3.

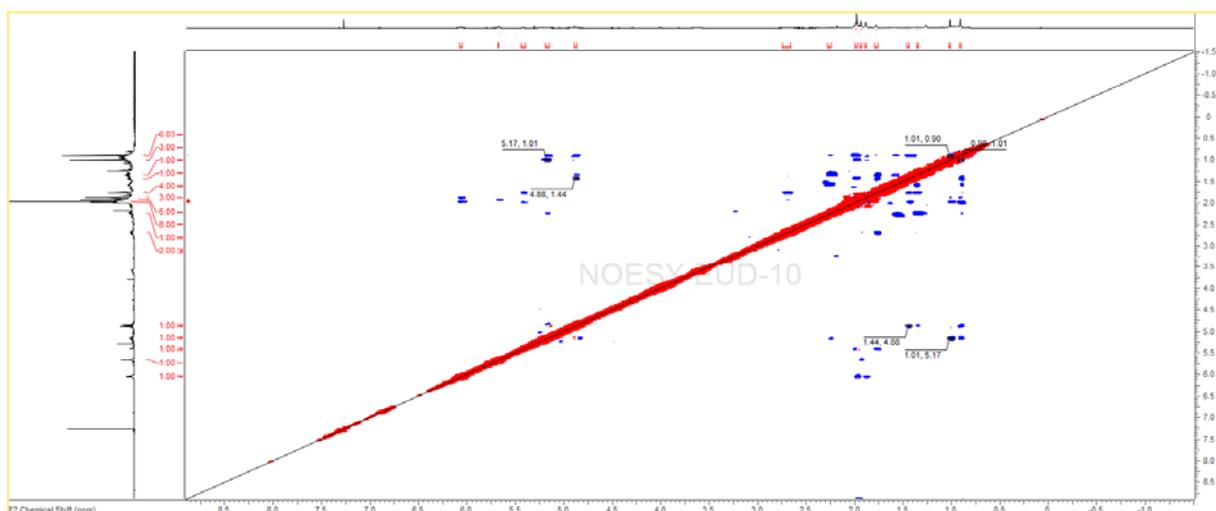


**Figura 53.** Espectro COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia **EUD-10**



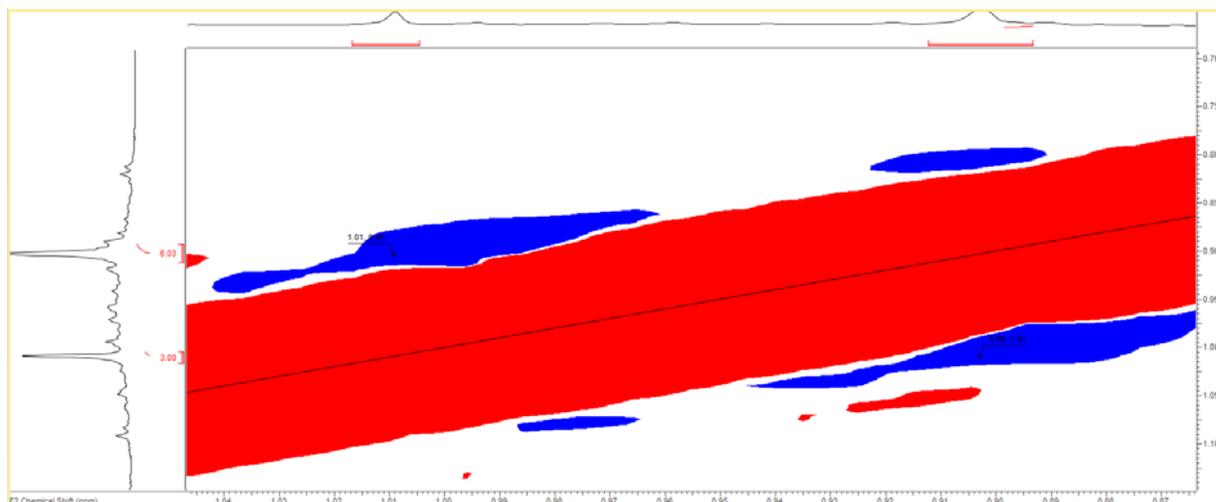
**Figura 54.** Espectro HMBC ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia **EUD-10**

La configuración relativa de la sustancia **EUD-10** se estableció mediante un experimento NOESY (Figuras 55 y 56).



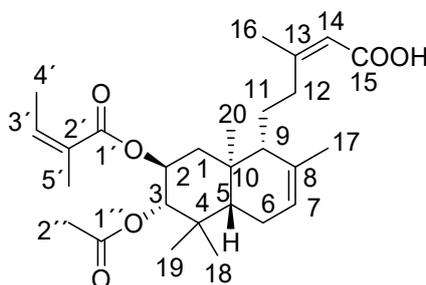
**Figura 55.** Espectro NOESY ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia **EUD-10**

En el espectro NOESY de la sustancia **EUD-10** se observó el acoplamiento de Me-20 ( $\delta_{\text{H}}$  0.90) con Me-18 ( $\delta_{\text{H}}$  1.01). Considerando que, como se había asumido anteriormente, estos labdanos pertenecen a la serie *ent*, Me-18 entonces tiene una configuración alfa, lo que implica que Me-19 ( $\delta_{\text{H}}$  0.90) posee configuración beta.



**Figura 56.** Expansión del espectro NOESY ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de la sustancia **EUD-10**

Aunque Me-19 y Me-20 tienen ambos el mismo desplazamiento químico en el espectro  $^1\text{H}$ -RMN ( $\delta_{\text{H}}$  0.90), el acoplamiento observado en la figura 56 no es causa de ambigüedad debido a que Me-18 y Me-19 nunca son cofaciales en los diterpenos tipo labdano; luego el observado es inequívocamente el acoplamiento entre Me-20 y Me-18. La configuración de H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  5.17) resultó ser alfa, lo que se dedujo de la correlación observada en el espectro NOESY (Figura 55) entre H-2 y Me-18, lo que implica que el grupo angelato en C-2 se encuentra con configuración beta al igual que en **EUD-9**. Se estableció como alfa la configuración del grupo acetato en C-3, debido a la correlación observada en el NOESY (Figura 55) entre H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  4.88) y H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  1.44) lo que indica que ambos protones son cofaciales y se encuentran con disposición espacial relativa beta, pues H-5 se asume con esta orientación para los *ent*-labdanos.



Estructura Química de **EUD-10**



## 7.2 *Eupatorium dictyoneurum*. Parte Experimental.

### Material Vegetal

Las partes aéreas de *E. dictyoneurum* se colectaron en Agosto de 2010 en la Cordillera Central, Provincia La Vega, Municipio Constanza, Valle Nuevo, República Dominicana. El material Vegetal fue identificado por el Lic. Teodoro Clase, botánico del Jardín Botánico Nacional “Dr. Rafael Ma. Moscoso”, Santo Domingo, República Dominicana, donde el voucher de espécimen JBSD 121460 (Figura 46) fue depositado.

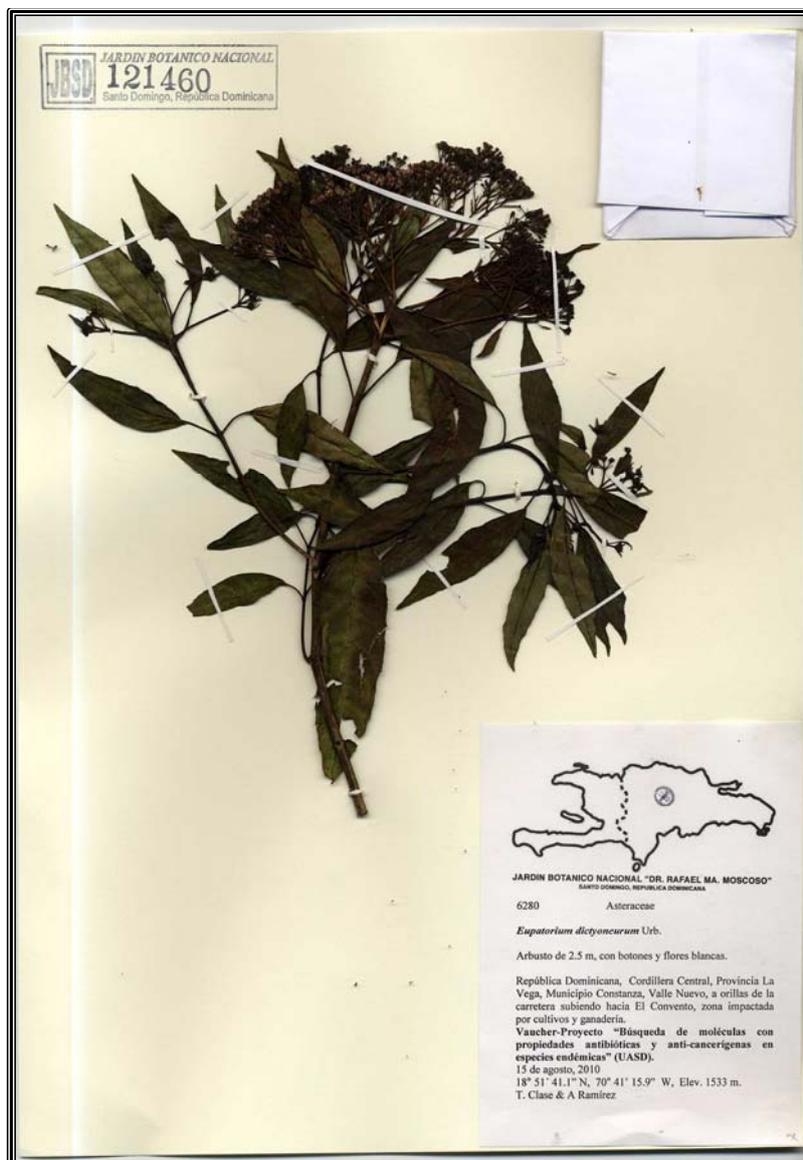


Figura 46. Voucher de espécimen JBSD 121460. *E. dictyoneurum*



### Extracción y Aislamiento

Seguido el proceso que se describe en las Técnicas Generales, tras el proceso de secado y trituración, se realizó la extracción con etanol en Soxhlet hasta agotamiento. De 4,567 Kg de planta seca de *Eupatorium dictyoneurum* se concentró por eliminación del disolvente a presión reducida, obteniendo 419.75 g de extracto seco.

Se utilizaron como eluyentes de la columna diferentes mezclas de Hex-AcOEt, incrementándose la concentración de acetato de etilo conforme avanzaba la cromatografía, tal y como se recoge en el organigrama de la fracciones de la tabla.

#### ORGANIGRAMA DE FRACCIONES

FRACCIONES	ELUYENTES	SUSTANCIAS
FRACCIÓN I: 1-5	HEXANO 100 %	
FRACCIÓN II:6-18	HEXANO - ACETATO DE ETILO 10 %	
FRACCIÓN III:19-36	HEXANO – ACETATO DE ETILO 20 %	<b>EUD-9, EUD-10</b>
FRACCIÓN IV:37-59	HEXANO – ACETATO DE ETILO 30 %	<b>EUD-1, 2, 3, 6</b>
FRACCIÓN V:60-76	HEXANO – ACETATO DE ETILO 40 %	<b>EUD-2, 5, 7</b>
FRACCIÓN VI:77-90	HEXANO – ACETATO DE ETILO 50 %	<b>EUD-4, EUD-7</b>
FRACCIÓN VII:91-101	HEXANO – ACETATO DE ETILO 60 %	
FRACCIÓN VIII:101-105	HEXANO - ACETATO DE ETILO 80 %	
FRACCION IX:105...	ACETATO DE ETILO 100 %	

Los datos físicos y espectroscópicos de todas estas sustancias, así como las reacciones de formación de derivados y los datos de éstos, los exponemos a continuación.

**FLAVONOIDES:**

Datos físicos de la sustancia **EUD-1** (Rhamnocitrina).

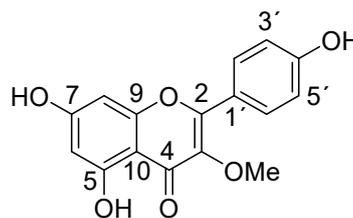
Sólido cristalino.

Punto de fusión: 240-245°C

UV (MeOH)  $\lambda_{\text{máx}}$ : 358.0 y 260.0 nm.

IR (KBr)  $\nu_{\text{máx}}$ : 3501, 3073, 2987, 1667, 1608, 1585, 1502, 1414, 1353, 1213, 935  $\text{cm}^{-1}$ .

HRESIMS  $m/z$ : 301.0712  $[\text{M} + \text{H}]^+$  (calcd para  $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{O}_6$  301.0712)



**Tabla 22.** Datos de RMN (DMSO- $d_6$ ,  $^1\text{H}$ , 300 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 75 MHz) para **EUD-1**

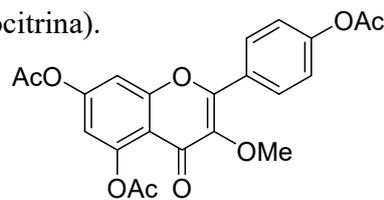
Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	$J$ (Hz)
2	147.2	C	-	-	-
3	135.9	C	-	-	-
4	176.0	C	-	-	-
5	156.1	C	-	-	-
6	97.4	CH	6.35	d	1.8
7	164.9	C	-	-	-
8	92.0	CH	6.74	d	1.8
9	160.3	C	-	-	-
10	104.0	C	-	-	-
1'	121.5	C	-	-	-
2', 6'	129.8	CH	8.09	d	7.2
3', 5'	115.5	CH	6.94	d	7.2
4'	159.3	C	-	-	-
3-OMe	56.0	$\text{CH}_3$	3.86	s	-
-OH	-	-	12.48	s	-

Datos físicos de la sustancia **Ac. EUD-1** (Triacetato de Rhamnocitrina).

Sólido cristalino.

Punto de fusión: 225-228°C

EM m/z: 330 [M<sup>+</sup>] (100.00).



**Tabla 23.** Datos de RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, <sup>1</sup>H, 300 MHz; <sup>13</sup>C, 75 MHz) para **Ac. EUD-1**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	<i>J</i> (Hz)
2	154.1	C	-	-	-
3	133.7	C	-	-	-
4	170.1	C	-	-	-
5	150.8	C	-	-	-
6	108.7	CH	6.56	d	1.9
7	163.8	C	-	-	-
8	111.1	CH	6.76	d	1.9
9	168.0	C	-	-	-
10	108.7	C	-	-	-
1'	127.3	C	-	-	-
2', 6'	129.8	CH	7.77	d	7.0
3', 5'	122.0	CH	7.17	d	7.0
4'	154.1	C	-	-	-
3-OMe	56.1	CH <sub>3</sub>	3.83	s	-
3-CO	168.9	C	-	-	-
3-COMe	20.6	CH <sub>3</sub>	2.27	s	-
5-CO	168.0	C	-	-	-
5-COMe	21.1	CH <sub>3</sub>	2.36	s	-
4'-CO	169.6	C	-	-	-
4'-COMe	21.2	CH <sub>3</sub>	2.24	s	-

Datos físicos de la sustancia **EUD-2** (3,7 dimetiléter de Quercetina).

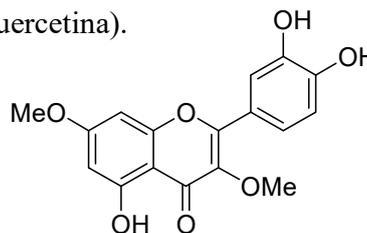
Sólido cristalino.

Punto de fusión: 158-160°C

UV (MeOH)  $\lambda_{\text{máx}}$ : 357.0 y 270.0 nm.

IR (KBr)  $\nu_{\text{máx}}$ : 3498, 3066, 2978. 1665, 1604, 1535, 1498, 1405, 1343, 1202, 942  $\text{cm}^{-1}$ .

HRESIMS  $m/z$ : 331.0816  $[\text{M} + \text{H}]^+$  (calcd para  $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{O}_7$  331.0818)



**Tabla 24.** Datos de RMN (DMSO- $d_6$ ,  $^1\text{H}$ , 300 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 75 MHz) para **EUD-2**

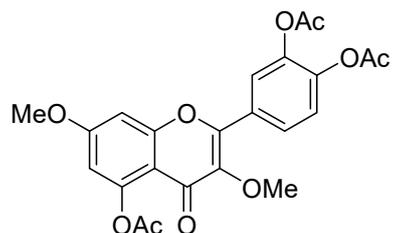
Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	$J$ (Hz)
2	155.9	C	-	-	-
3	137.8	C	-	-	-
4	178.0	C	-	-	-
5	160.9	C	-	-	-
6	97.6	CH	6.35	s	-
7	165.0	C	-	-	-
8	92.1	CH	6.68	s	-
9	156.2	C	-	-	-
10	105.1	C	-	-	-
1'	120.6	C	-	-	-
2'	115.7	CH	7.59	d	2.2
3'	145.2	C	-	-	-
4'	148.9	C	-	-	-
5'	115.5	CH	6.92	d	8.5
6'	120.6	CH	7.48	d	8.5
3-OMe	59.6	CH <sub>3</sub>	3.80	s	-
7-OMe	56.0	CH <sub>3</sub>	3.86	s	-
-OH	-	-	12.48	s	-

Datos físicos de la sustancia **Ac. EUD-2**

(Triacetato del 3,7 dimetiléter de Quercetina).

Sólido cristalino.

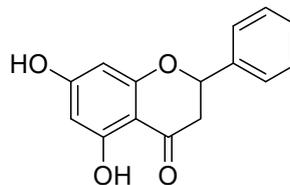
Punto de fusión: 170-172°C



**Tabla 25.** Datos de RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, <sup>1</sup>H, 300 MHz; <sup>13</sup>C, 75 MHz) para **Ac. EUD-2**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	<i>J</i> (Hz)
2	152.2	C	-	-	-
3	143.8	C	-	-	-
4	173.2	C	-	-	-
5	150.6	C	-	-	-
6	98.6	CH	6.65	d	2.4
7	157.8	C	-	-	-
8	111.4	CH	6.85	d	2.4
9	163.6	C	-	-	-
10	108.4	C	-	-	-
1'	126.7	C	-	-	-
2'	123.6	CH	8.06	dd	2.2; 8.7
3'	141.8	C	-	-	-
4'	142.2	C	-	-	-
5'	123.7	CH	7.38	d	8.7
6'	129.2	CH	7.98	d	2.2
3-OMe	60.3	CH <sub>3</sub>	3.87	s	-
7-OMe	56.1	CH <sub>3</sub>	3.95	s	-
5-CO	169.7	C	-	-	-
5-COMe	21.2	CH <sub>3</sub>	2.37	s	-
3'-CO	168.1	C	-	-	-
3'-COMe	20.7	CH <sub>3</sub>	2.50	s	-
4'-CO	167.9	C	-	-	-
4'-COMe	20.7	CH <sub>3</sub>	2.39	s	-

Datos físicos de la sustancia **EUD-3** (Pinocembrina).



Punto de fusión: 192-194°C

UV (MeOH)  $\lambda_{\text{máx}}$ : 295.0 nm

HRESIMS: 256.0825 [ $M^+$ ] (calcd para  $C_{15}H_{12}O_4$  256.0736)

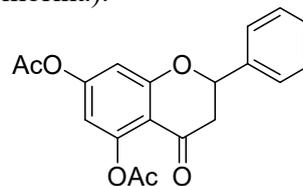
**Tabla 26.** Datos de RMN ( $CDCl_3$ ,  $^1H$ , 500 MHz;  $^{13}C$ , 125 MHz) para **EUD-3**

Posición	$\delta^{13}C$ (ppm)	DEPT	$\delta^1H$ (ppm)	Multiplicidad	<i>J</i> (Hz)
2	78.3	CH	5.59	dd	3.1; 13.0
3	42.1	CH <sub>2</sub>	2.79	dd	3.2; 17.0
			3.26	dd	13.0; 17.1
4	195.9	C	-	-	-
5	166.7	C	-	-	-
6	95.9	CH	5.94	d	2.2
7	162.7	C	-	-	-
8	95.0	CH	5.91	d	2.2
9	163.5	C	-	-	-
10	101.8	C	-	-	-
1'	138.7	C	-	-	-
2', 6'	126.6	CH	7.52	m	-
3', 4', 5'	128.5	CH	7.41	m	-
5-OH	-	-	12.14	s	-

Datos físicos de la sustancia **Ac. EUD-3** (Diacetato de Pinocembrina).

Sólido cristalino.

Punto de fusión: 108-110°C



**Tabla 27.** Datos de RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $^1\text{H}$ , 500 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz) para **Ac. EUD-3**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	<i>J</i> (Hz)
2	79.6	CH	5.40	dd	2.7; 13.5
3a	45.1	CH <sub>2</sub> -a	2.69	dd	3.0; 17.0
3b	45.1	CH <sub>2</sub> -b	3.96	dd	13.5; 17.0
4	189.2	C	-	-	-
5	151.3	C	-	-	-
6	110.6	CH	6.71	d	2.3
7	155.7	C	-	-	-
8	109.2	CH	6.45	d	2.3
9	163.3	C	-	-	-
10	111.8	C	-	-	-
1'	138.1	C	-	-	-
2', 6'	127.2	CH	7.35	m	-
3', 4', 5'	128.9	CH	7.31	m	-
5-CO	168.0	C	-	-	-
5-COMe	21.1	CH <sub>3</sub>	2.20	br s	-
7-CO	168.3	C	-	-	-
7-COMe	21.2	CH <sub>3</sub>	2.29	br s	-

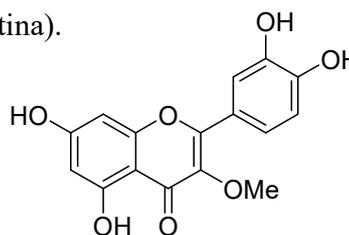
Datos físicos de la sustancia **EUD-4** (3 metiléter de Quercetina).

Sólido cristalino.

Punto de fusión: 272-274°C

UV (MeOH)  $\lambda_{\text{máx}}$ : 359.5 y 266.0 nm.

HRESIMS m/z: 339.0488 [M + Na]<sup>+</sup> (calcd para C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>Na, 339.0481).



**Tabla 28.** Datos de RMN (CDCl<sub>3</sub>, <sup>1</sup>H, 500 MHz; <sup>13</sup>C, 125 MHz) para **EUD-4**

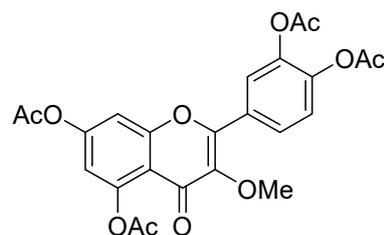
Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	<i>J</i> (Hz)
2	155.5	C	-	-	-
3	137.6	C	-	-	-
4	177.8	C	-	-	-
5	156.3	C	-	-	-
6	98.5	CH	6.16	br s	-
7	164.0	C	-	-	-
8	93.4	CH	6.36	br s	-
9	161.3	C	-	-	-
10	104.7	C	-	-	-
1'	120.5	C	-	-	-
2'	115.3	CH	7.54	br s	-
3'	145.1	C	-	-	-
4'	148.6	C	-	-	-
5'	115.6	CH	7.44	dd	2.2; 8.5
6'	120.8	CH	6.88	d	8.5
3-OMe	59.5	CH <sub>3</sub>	3.78	br s	-
5-OH	-	-	12.66	s	-

Datos físicos de la sustancia **Ac. EUD-4**

(Tetraacetato de 3-metiléter de Quercetina).

Sólido cristalino.

Punto de fusión: 157-160°C

HRESIMS  $m/z$ : 507.0903  $[M + Na]^+$  (calcd para  $C_{24}H_{20}O_{11}Na$ , 507.0903).**Tabla 29.** Datos de RMN ( $CDCl_3$ ,  $^1H$ , 500 MHz;  $^{13}C$ , 125 MHz) para **Ac. EUD-4**

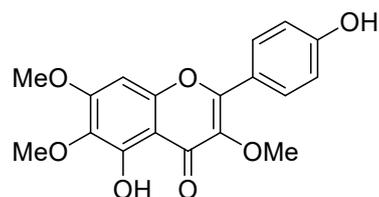
Posición	$\delta^{13}C$ (ppm)	DEPT	$\delta^1H$ (ppm)	Multiplicidad	$J$ (Hz)
2	150.8	C	-	-	-
3	142.0	C	-	-	-
4	173.2	C	-	-	-
5	144.1	C	-	-	-
6	113.4	CH	6.76	d	1.76
7	156.5	C	-	-	-
8	123.7	CH	7.19	br s	-
9	154.0	C	-	-	-
10	108.9	C	-	-	-
1'	123.7	C	-	-	-
2'	126.8	CH	7.87	d	1.72
3'	142.2	C	-	-	-
4'	142.2	C	-	-	-
5'	123.8	CH	7.25	dd	1.76;7.0
6'	128.8	CH	7.94	dd	1,72;7.0
3-OMe	60.3	CH <sub>3</sub>	3.76	br s	-
5-CO	168.9	C	-	-	-
5-COMe	21.1	CH <sub>3</sub>	2.39	br s	-
7-CO	168.0	C	-	-	-
7-COMe	21.2	CH <sub>3</sub>	2.27	br s	-
3'-CO	168.1	C	-	-	-
3'-COMe	20.7	CH <sub>3</sub>	2.26	br s	-
4'-CO	168.0	C	-	-	-
4'-COMe	20.7	CH <sub>3</sub>	2.25	br s	-

Datos físicos de la sustancia **EUD-5** (Penduletina).

Sólido cristalino.

Punto de fusión: 215-217°C.

UV (MeOH)  $\lambda_{\text{máx}}$ : 369.0 y 264.0 nm.



HRESIMS  $m/z$ : 367.0826  $[M + Na]^+$  (calcd para  $C_{18}H_{16}O_7Na$ , 367.0794).

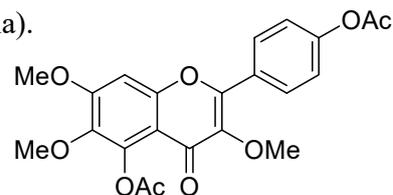
**Tabla 30.** Datos de RMN (DMSO- $d_6$ ,  $^1H$ , 500 MHz;  $^{13}C$ , 125 MHz) para **EUD-5**

Posición	$\delta^{13}C$ (ppm)	DEPT	$\delta^1H$ (ppm)	Multiplicidad	$J$ (Hz)
2	151.7	C	-	-	-
3	137.6	C	-	-	-
4	178.2	C	-	-	-
5	151.6	C	-	-	-
6	131.6	C	-	-	-
7	158.6	C	-	-	-
8	91.4	CH	6.91	br s	-
9	155.9	C	-	-	-
10	105.6	C	-	-	-
1'	120.5	C	-	-	-
2', 6'	130.2	CH	7.99	d	8.9
3', 5'	115.6	CH	6.96	d	8.9
4'	160.2	C	-	-	-
3-OMe	59.6	CH <sub>3</sub>	3.92	br s	-
6-OMe	60.0	CH <sub>3</sub>	3.80	br s	-
7-OMe	56.5	CH <sub>3</sub>	3.74	br s	-
5-OH	-	-	12.63	s	-

Datos físicos de la sustancia **Ac. EUD-5** (Diacetato de Penduletina).

Sólido cristalino.

Punto de fusión: 177-179°C.



IR (KBr)  $\nu_{\text{máx}}$ : 3055, 2956, 1651, 1594, 1548, 1463, 1357, 1285, 1229, 1178, 1065, 974  $\text{cm}^{-1}$ .

HRESIMS  $m/z$ : 451.1008  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  (calcd para  $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_9\text{Na}$ , 451.1005).

**Tabla 31.** Datos de RMN (DMSO- $d_6$ ,  $^1\text{H}$ , 500 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz) para **Ac. EUD-5**

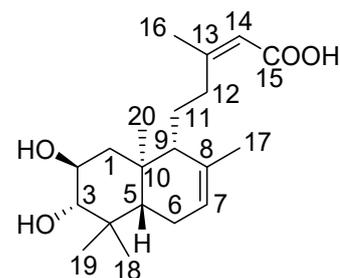
Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	$J$ (Hz)
2	151.2	C	-	-	-
3	140.8	C	-	-	-
4	172.2	C	-	-	-
5	140.3	C	-	-	-
6	138.4	C	-	-	-
7	152.2	C	-	-	-
8	96.9	CH	6.79	br s	-
9	156.8	C	-	-	-
10	110.6	C	-	-	-
1'	127.2	C	-	-	-
2', 6'	128.6	CH	8.02	d	8.4
3', 5'	120.9	CH	7.17	d	8.4
4'	152.1	C	-	-	-
3-OMe	59.2	CH <sub>3</sub>	3.90	br s	-
6-OMe	55.4	CH <sub>3</sub>	3.78	br s	-
7-OMe	60.6	CH <sub>3</sub>	3.73	br s	-
5-CO	168.0	C	-	-	-
5-COMe	20.0	CH <sub>3</sub>	2.43	s	-
4'-CO	168.5	C	-	-	-
4'-COMe	20.2	CH <sub>3</sub>	2.27	s	-

**DITERPENOS:**

Datos físicos de la sustancia **EUD-8**.

Sólido blanco.

Punto de fusión: 77-80°C.



IR  $\nu_{\text{máx}}$ : 3401, 2969, 2938, 2917, 1682, 1647, 1448, 1259, 1243, 1190, 1166, 1052  $\text{cm}^{-1}$ .

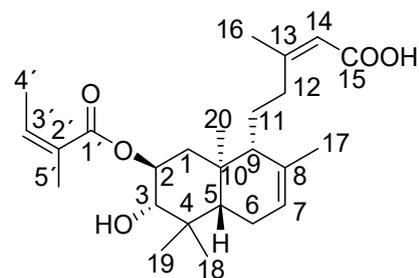
HRESIMS  $m/z$ : 359.2175  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  (calcd para  $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{Na}$ , 359.2198).

**Tabla 2.** Datos de RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) para **EUD 8**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	$J$ (Hz)
1	45.3	$\text{CH}_2$	1.21 2.45	m br d	- 12.3
2	67.7	CH	3.93	br t	10.3
3	82.7	CH	3.23	m	-
4	39.2	C	-	-	-
5	55.5	CH	1.68	m	-
6	23.4	$\text{CH}_2$	1.91	br s	-
7	122.2	CH	5.41	br s	-
8	134.5	C	-	-	-
9	49.6	CH	1.27	m	-
10	38.2	C	-	-	-
11	27.2	$\text{CH}_2$	1.27 1.75	m m	- -
12	37.8	$\text{CH}_2$	1.91 3.19	br s m	- -
13	162.2	C	-	-	-
14	116.4	CH	5.62	br s	-
15	170.0	C	-	-	-
16	26.1	$\text{CH}_3$	1.91	br s	-
17	21.6	$\text{CH}_3$	1.72	m	-
18	16.4	$\text{CH}_3$	0.87	br d	9.8
19	27.7	$\text{CH}_3$	0.89	br d	9.8
20	14.3	$\text{CH}_3$	0.81	br s	-

Datos físicos de la sustancia **EUD-9**.

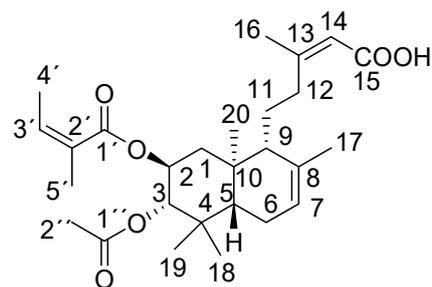
Aceite amarillo.

IR  $\nu_{\text{máx}}$ : 3443, 2972, 1713, 1695, 1644, 1454, 1384, 1240, 1167, 1046  $\text{cm}^{-1}$ .HRESIMS  $m/z$ : 441.2606  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  (calcd para  $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_5\text{Na}$ , 441.2617).**Tabla 33.** Datos de RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $^1\text{H}$ , 500 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz) para **EUD-9**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	$J$ (Hz)
			1.25	br s	-
1	42.5	$\text{CH}_2$	2.24	dd	4.4, 12.6
2	72.4	CH	5.04	m	-
3	81.0	CH	3.27	d	10.2
4	39.7	C	-	-	-
5	49.4	CH	1.31	m	-
			1.97	m	-
6	23.4	$\text{CH}_2$	1.99	m	-
7	122.2	CH	5.41	br s	-
8	134.7	C	-	-	-
9	54.8	CH	1.74	s	-
10	38.2	C	-	-	-
			1.39	m	-
11	25.6	$\text{CH}_2$	1.55	m	-
			2.65	m	-
12	35.6	$\text{CH}_2$	2.72	m	-
13	163.0	C	-	-	-
14	115.7	CH	5.63	s	-
15	171.1	C	-	-	-
16	25.5	$\text{CH}_3$	1.91	d	1.3
17	21.9	$\text{CH}_3$	1.75	s	-
18	16.2	$\text{CH}_3$	0.94	s	-
19	28.3	$\text{CH}_3$	1.03	s	-
20	14.3	$\text{CH}_3$	0.88	s	-
21	168.9	C	-	-	-
22	128.1	C	-	-	-
23	138.1	CH	6.05	m	-
24	15.8	$\text{CH}_3$	1.98	m	-
25	20.6	$\text{CH}_3$	1.89	m	-

Datos físicos de la sustancia **EUD-10**.

Aceite amarillo.

IR  $\nu_{\text{máx}}$ : 3460, 2971, 1730, 1714, 1644, 1454, 1372, 1243, 1157, 1086, 1042  $\text{cm}^{-1}$ .HRESIMS  $m/z$ : 461.2905  $[\text{M} + \text{H}]^+$  (calcd para  $\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{O}_6$ , 461.2903).**Tabla 34.** Datos de RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $^1\text{H}$ , 500 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz) para **EUD-10**

Posición	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicidad	$J$ (Hz)
			1.34	s	-
1	42.6	$\text{CH}_2$	2.26	m	-
2	69.6	CH	5.17	m	-
3	80.1	CH	4.88	m	-
4	39.2	C	-	-	-
5	49.3	CH	1.44	m	-
6	23.3	$\text{CH}_2$	1.99	m	-
7	121.9	CH	5.42	br s	-
8	134.8	C	-	-	-
9	54.8	CH	1.77	br s	-
10	38.0	C	-	-	-
11	25.6	$\text{CH}_2$	1.93	m	-
12	35.8	$\text{CH}_2$	2.70	m	-
13	163.0	C	-	-	-
14	115.6	CH	5.67	s	-
15	170.7	C	-	-	-
16	25.7	$\text{CH}_3$	1.93	m	-
17	21.8	$\text{CH}_3$	1.77	br s	-
18	17.4	$\text{CH}_3$	1.01	s	-
19	28.2	$\text{CH}_3$	0.90	s	-
20	14.3	$\text{CH}_3$	0.90	s	-
21	167.7	C	-	-	-
22	128.0	C	-	-	-
23	137.9	CH	6.06	m	-
24	15.7	$\text{CH}_3$	1.97	s	-
25	20.6	$\text{CH}_3$	1.88	m	-
26	170.7	C	-	-	-
27	21.1	$\text{CH}_3$	1.97	s	-



## **8. ESTUDIOS DE ACTIVIDADES BIOLÓGICAS**



### **Actividad antiproliferativa**

Se estudió en un panel de líneas celulares humanas procedentes de tumores sólidos de origen diverso compuesto por: HBL-100 y T-47D (mama); HeLa (cervix); A549 y SW1573 (pulmón).

#### *Cultivos celulares*

Las células se mantuvieron en medio de cultivo RPMI 1640 suplementado con 5% de suero fetal bovino y 2 mM de glutamina. Las células se incubaron a 37 °C, 5% de CO<sub>2</sub> y 95% de humedad relativa.

#### *Ensayos de actividad antiproliferativa*

Se aplicó el protocolo del Instituto Nacional del Cáncer (NCI) de los EEUU<sup>101</sup> con las modificaciones introducidas por BioLab (Instituto Universitario de Bio-Organica “Antonio González”, Universidad de La Laguna).<sup>102</sup> Las células se cultivan en monocapa en placas de 96 pocillos. Los productos a ensayar se disuelven en DMSO a 400 veces la concentración máxima de ensayo, que es 250 µg.mL<sup>-1</sup>. A las 24 h de la siembra las células son expuestas a diluciones decimales seriadas del producto en el rango 0.0025–250 µg.mL<sup>-1</sup> durante un periodo de tiempo de 48 h. Las células control son expuestas a una concentración de DMSO equivalente (0.25% v/v, control negativo). Cada compuesto se ensaya por triplicado.

Tras el tiempo de exposición de 48 h las células de cada pocillo se precipitan con 25 µL de ácido tricloroacético frío al 50% (p/v) y se fijan durante 60 min a 4 °C. Una vez transcurrido este tiempo los pocillos se lavan con agua y se secan. Entonces se realiza el ensayo colorimétrico de la sulforrodamina B (SRB). La células fijadas se tiñen durante 15 min con 25 µL de una disolución de SRB al 0.4% (p/v) en ácido acético al 1% (v/v). El exceso de colorante se elimina con 3-4 lavados con una disolución de ácido acético al 1% (v/v). Los pocillos se secan y el colorante se disuelve con 150 µL de una disolución de Tris base 10 mM en agua milliQ.

---

<sup>101</sup>Monks, A., Scudiero, D., Skehan, P., Shoemaker, R., Paull, K., Vistica, D., Hose, C., Longley, J., Cronise, P., Vaigro-Nolff, A., Gray-Goodrich, M., Campbell, H., Mayo, J., y Boyd, M. (1991). *J. Natl. Cancer Inst.*, 83, 757-766.

<sup>102</sup>Miranda, P.O., Padrón, J.M., Padrón, J.I., Villar, J., y Martín, V.S. (2006). *ChemMedChem*, 1, 323-329.

La densidad óptica (DO) de cada pocillo se mide a 492 nm con un lector de microplacas (PowerWave XS, BioTek). A los valores de DO se les corrige el efecto del ruido de fondo que se cuantifica en los pocillos que solo contienen medio de cultivo. Para cada concentración de producto se calcula el porcentaje de crecimiento (PC) según las fórmulas del NCI. Para los cálculos se utilizan los valores de DO de los pocillos que contienen células no tratadas (control, C), células al inicio del tratamiento ( $T_0$ ) y células al final del tratamiento (T). Si  $T > T_0$  el cálculo es  $PC = 100 \times [(T-T_0)/(C-T_0)]$ . Si  $T \leq T_0$  el cálculo es  $PC = 100 \times [(T-T_0)/(T_0)]$ . La actividad biológica se define en términos de  $GI_{50}$  (concentración inhibitoria del 50%), que representa la concentración a la cual PC es +50. Con estos cálculos un valor de PC = 0 corresponde a la cantidad de células presentes al comienzo de la exposición a los productos, y un valor negativo de PC implica muerte celular neta. Para todos estos cálculos se utilizan hojas de cálculo y programas informáticos.

#### Actividad antiproliferativa (resultados para *E. illitum*)

Los ensayos con células tumorales tienen como objetivo identificar la actividad antiproliferativa de las fracciones o moléculas a ensayar.

Los compuestos puros **EUI-1**, **2**, **4** y **5** fueron evaluados para determinar su actividad antiproliferativa sobre las líneas de células tumorales humanas **HBL-100** y **T-47D**, mama; **HeLa**, cérvix; **A549** y **SW1573**, pulmón. Los efectos de los compuestos puros antes citados sobre las líneas enumeradas arriba, expresados como el valor  $GI_{50}$  se presentan en la Tabla 35.

**Tabla 35.** Valores de  $GI_{50}$  ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) para compuestos seleccionados aislados de *Eupatorium illitum* sobre líneas celulares cancerígenas humanas.

Compuesto	A549	HBL-100	SW1573	HeLa	T-47D
<b>EUI-1</b>	163	12	5	10	250
<b>EUI-2</b>	16	11	7	8	58
<b>EUI-4</b>	40	22	10	7	49
<b>EUI-5</b>	12	10	8	7	13

Este estudio de actividad antiproliferativa en líneas celulares de tumores sólidos humanos mostró que los compuestos ensayados son capaces de inhibir el crecimiento celular en la mayoría de las líneas evaluadas.

### **Actividad anproliferativa (resultados para *E. dictyoneurum*)**

Los estudios sobre el crecimiento y viabilidad de cultivos de células leucémicas humanas HL-60 se llevaron a cabo empleando el ensayo por colorimetría MTT.

En primer lugar se inicia el cultivo celular en RPMI 1640 con 10% (v/v) de suero bovino fetal inactivado por calor, penicilina (100 unidades ml<sup>-1</sup>) y estreptomycin (10 µg/ml) en una atmósfera húmeda con un 5% de CO<sub>2</sub> y 37 °C en fase exponencial que se siembra con disoluciones de los productos aislados en diferentes concentraciones, durante un día. Los compuestos se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO) y las disoluciones stock se almacenaron a - 20°C. Las posteriores diluciones de las muestras de las sustancias aisladas de la plantas se llevaron a cabo en medio de cultivo justo antes de su uso. En todos los experimentos, la concentración final de DMSO no excedió el 0,3% (v/v), concentración que no es tóxica para las células. El número de células fue contado por un hematocitómetro, detectando una viabilidad superior al 95%.

Durante el crecimiento exponencial se ensayan varias concentraciones de los productos naturales entre 0,3-0,5 µM en un volumen de 100 µl durante 24 horas. La supervivencia celular fue detectada basándose en la habilidad de metabolizar bromuro-3-(4,5-dimetiltiazol-2-tiazolil)-2,5-difeniltetrazolo(MTT) en la formación de cristales.

A continuación se mide la viabilidad celular empleando la densidad óptica a 570 nm y determinar la supervivencia celular como fracción de células vivas. Los resultados se expresan en términos de IC<sub>50</sub> o concentración inhibidora del 50%

Se llevaron a cabo ensayos antiproliferativos de los compuestos **EUD-1, EUD-2 y EUD-3** con células leucémicas humanas **HL-60** y los resultados obtenidos fueron:

**EUD-1 IC<sub>50</sub> = 8,7 µM y su acetato IC<sub>50</sub> > 100 µM.**

**EUD-2 IC<sub>50</sub> = 3 µM y su acetato IC<sub>50</sub> = 5,3 µM.**

**EUD-3 IC<sub>50</sub> > 100 µM**

De los compuestos ensayados solo presentan una actividad antiproliferativa capaz de inhibir el crecimiento celular, el **EUD-1** y **EUD-2**. Además observamos que sus derivados acetilados no producen un aumento de la citotoxicidad.



## 9. TÉCNICAS E INSTRUMENTACIÓN



**Recolección del material vegetal de partida.**

En la primera fase del trabajo, se procedió a la localización de las distintas especies. Se recogieron las muestras en su hábitat característico en la República Dominicana. Se recogió la parte aérea de la planta para asegurarnos de la obtención de todos los metabolitos sintetizados por el vegetal. Se recolectó cantidad suficiente, de forma que pudiéramos manejar extractos en cantidad suficiente para así aislar los productos más interesantes.

**Extracción.**

El material vegetal recolectado de cada especie fue depositado en ambientes secos, oscuros y con humedad ambiental baja, para conseguir la máxima deshidratación después de un período de varias semanas para luego ser triturado hasta conseguir un polvo fino, al que posteriormente se sometió a un proceso de extracción sólido-líquido en un aparato Soxhlet. Los metabolitos se extrajeron mediante un proceso de reflujo del disolvente en caliente sobre los cartuchos de papel donde se encontraba el material vegetal. Como disolvente extractor se empleó etanol 95%, con el objetivo de arrastrar la mayor cantidad posible de compuestos. El extracto etanólico fue sometido a concentración a presión reducida. Se obtuvo una pasta de color verde oscuro, que fue pesada y al que se sometió a un proceso de separación e identificación de los metabolitos de interés.

**Cromatografía del extracto crudo. (Empleada para *E. dictyoneurum*)**

El extracto etanólico crudo se sometió a una cromatografía en columna inicial en lo que se realizó un percolado del mismo. Se realizó en una columna de vidrio de 1,5 m de largo y 8 cm de diámetro, rellena de gel de sílice 0.063-0.2 mm (Merck, Darmstadt, Alemania) como material adsorbente. A través de esta columna, y por gravedad, se pasaron una serie de disolventes de polaridad progresivamente creciente, inicialmente con n-hexano y terminando con metanol, pasando mezclas sucesivas de n-hexano y acetato de etilo. Las fracciones obtenidas se analizaron en cromatografía en capa fina (placas de gel de sílice 60 F<sub>254</sub>) posteriormente siendo reunidas según su semejanza. Las distintas fracciones fueron sometidas a nuevos procesos de cromatografía, hasta conseguir la separación de los productos de partida. En este proceso se emplearon columnas cromatográficas de vidrio por gravedad o de presión, según la cantidad del

material de partida. Finalmente se obtuvieron productos por recristalización, empleando cromatografía en capa gruesa, cuando no cristalizaba o por su difícil separación.

#### **Cromatografía de Fracciones de Interés.**

En las columnas cromatográficas se emplearon distintos tipos de gel de sílice (0.063-0.20, 0.040-0.063, y 0.015-0.040 mm). La preparación de las columnas se realizó mezclando la gel con n-hexano, para a continuación compactarla pasando la fase móvil. Posteriormente se realizó una cabeza de columna, disolviendo con acetona la fracción de interés de la planta y añadiendo gel de sílice suficiente. Finalmente se eliminó el disolvente a presión reducida, hasta obtener un residuo seco, que constituye la cabeza de la columna.

#### **Cromatografía en Capa Fina.**

Se emplearon placas cromatográficas con soporte de aluminio con fase estacionaria de gel de sílice de la casa Merck (Darmstadt, Alemania) 60F<sub>254</sub> 0.2 mm. Inicialmente se expuso la placa a la radiación de una lámpara ultravioleta con frecuencias de 254 y 356 nm para evidenciar la presencia de metabolitos UV activos. Para el revelado se procedió a la inmersión de la placa en una disolución de “oleum” (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O-Ac<sub>2</sub>O en proporción 1:4:20) y su posterior introducción en horno a 125°C durante varios minutos.

#### **Cromatografía Preparativa.**

Se utilizaron placas de gel de sílice 60F<sub>254</sub> (0.2 y 1.0 mm, Merck, Darmstadt, Alemania) siendo eluidas con distintos disolventes según el caso.

#### **Acetilación.**

En la obtención de derivados acetilados, se trató la sustancia disuelta en piridina con anhídrido acético, dejándola en reposo durante 24 horas, vertiendo la mezcla resultante sobre agua helada, para posteriormente realizar su extracción con un disolvente orgánico adecuado. A continuación se somete la fase orgánica resultante a lavados sucesivos con solución acuosa de ácido clorhídrico al 5 %, solución de bicarbonato sódico al 5 % y agua. Finalmente se seca la fase orgánica sobre sulfato sódico anhidro, filtración y eliminación del disolvente orgánico a presión reducida.

**Disolventes.**

Los distintos disolventes empleados para cromatografía fueron: n-hexano, acetato de etilo y acetona, los que fueron secados (sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro) y luego destilados.

**Material Vegetal.**

Las especies estudiadas fueron recolectas en las fechas y lugares indicados, siendo clasificadas por el Lic. Teodoro Clase del Jardín Botánico Nacional “Dr. Rafael Ma. Moscoso” de Santo Domingo, República Dominicana, donde se depositaron vouchers de espécimen de las mismas.

**Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear.**

Los espectros de RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C se obtuvieron a partir de espectrómetros Bruker (AMX 300, 400 y 500 MHz, Avance III 700 MHz) y Agilent Direct Drive (500 y 800 MHz) empleando para las disoluciones de las sustancias cloroformo deuterado, o dimetil sulfóxido deuterado, con tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los valores de desplazamiento químico ( $\delta$ ) se expresan en ppm y las constantes de acoplamiento ( $J$ ) se expresan en Hz. Los experimentos bidimensionales (COSY, HSQC, HMBC, ROESY, NOESY) se realizaron empleando programas suministrados por las casas Bruker y Agilent.

**Espectrometría de Masas.**

La espectrometría de masas de alta resolución se realizó por técnicas de ionización de electrospray (HRESIMS) y Tiempo de vuelo (TOF), así como con técnica de impacto electrónico con distintos equipos, entre ellos Agilent LC-MS QTOF 6540, Fisons VG Micromass modelo VG Autospec y Bruker Maxis 4G Q-TOF.

**Espectroscopía Infrarroja.**

Los espectros de infrarrojo fueron realizados en varios espectrofotómetros: Agilent Cary 630 FTIR, microscopio Hyperion 3000 FTIR, Bruker IFS 55 y Perkin-Elmer mod. FTIR-8400S. Los valores de  $\nu_{\text{máx.}}$  se expresan en  $\text{cm}^{-1}$ .

**Espectroscopía Ultravioleta.**

Los espectros de ultravioleta se realizaron en dos espectrofotómetros: Agilent Cary 60 UV-Vis y Shimadzu UV-240, empleando distintos disolventes. Los valores de  $\lambda_{\text{máx.}}$  se expresan en nm.

**Análisis de Rayos-X.**

Los datos de difracción de rayos-X se midieron en un sistema Bruker D8 Venture PHOTON 100 CMOS equipado con una fuente micro-foco INCOATEC Imus de Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 1.54178 \text{ \AA}$ ).

**Puntos de Fusión.**

Los puntos de fusión no están corregidos y se determinaron en dos equipos: MEL-TEMP II (Laboratory Devices, USA) y Gallenkamp. Los valores obtenidos se expresan en grados centígrados.

**Rotación Óptica.**

La actividad óptica se determinó en un polarímetro Autopol IV (Rudolph Research Analytical) empleando la línea D del sodio a temperaturas entre 20-24°C y en disolución de cloroformo seco en celdas de 1 dm. La concentración se expresa en g/100 ml de disolución.

**Cromatografía Líquida de Alta resolución semipreparativa.**

Esta cromatografía se realizó en un equipo Shimadzu 10AT equipado con un detector SPD-10Av usando las columnas Phenomenex (5 $\mu\text{m}$ , 10 mm  $\times$  250 mm) Luna C18(2) y Phenomenex (4 $\mu\text{m}$ , 10 mm  $\times$  250 mm) RP synerg-hydro (C18aq), empleando mezclas de agua y acetonitrilo a varias velocidades de flujo.

## **10. ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS**



Ac.	Acetato
AcOEt	Acetato de Etilo
br	(broad) ancho
°C	Grados centígrados
calcd	Calculado
cm	Centímetros
COSY	(COrelated Spectroscopy) Experimento bidimensional de RMN que establece la correlación escalar protón-protón
<sup>13</sup> C-RMN	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
d	Doblete
DEPT	(Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) Experimento monodimensional de RMN para determinar la presencia de carbonos primarios, secundarios y terciarios
dd	Doble doblete
dt	Doble triplete
EtOH	Etanol
FTIR	Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier
g	gramos
GI <sub>50</sub>	Concentración que causa el 50% de inhibición de crecimiento celular
h	horas
Hex-	Hexano
HMBC	(Heteronuclear Multiple-Bond Correlation) Experimento bidimensional de RMN de acoplamiento C-H a larga distancia
<sup>1</sup> H-RMN	Resonancia Magnética Nuclear de protón

HRESIMS	( <b>H</b> igh <b>R</b> esolution <b>E</b> lectro <b>S</b> pray <b>I</b> onization <b>M</b> ass <b>S</b> pectrometry) Espectrometría de Masas de alta resolución con ionización por electrospray
HSQC	( <b>H</b> eteronuclear <b>S</b> ingle <b>Q</b> uantum <b>C</b> orrelation) Experimento bidimensional de RMN de acoplamiento C-H a corta distancia
Hz	Hercio (Hertz)
IR	Espectroscopía Infrarroja
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
Kg	Kilogramos
L	Litros
m	Multiplete
Me	Metilo
MeOH	Metanol
MHz	<b>M</b> ega <b>H</b> ertz
min	Minutos
mL	Mililitros
mg	Miligramos
mm	Milímetros
mM	Milimolar
m/z	Relación masa-carga
nm	Nanómetros
NOESY	( <b>N</b> uclear <b>O</b> verhauser <b>E</b> ffect <b>S</b> pectroscop <b>Y</b> ) Experimento bidimensional de RMN para detectar los acoplamiento espaciales entre los protones
ppm	<b>P</b> artes <b>P</b> or <b>M</b> illón
P/V	Relación <b>P</b> eso- <b>V</b> olumen

quin	Quintuplete
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
ROESY	(Rotating Frame Overhauser Effect Spectroscopy) Experimento bidimensional de RMN para detectar los acoplamientos espaciales entre los protones
RPMI 1640	(Roswell Park Memorial Institute) Medio para cultivos celulares
s	Singulete
t	Triplete
TLC	(Thin Layer Chromatography) Cromatografía en placa fina
TOF	(Time Of Flight) Técnica de espectrometría de masas de alta resolución
UV	Espectroscopía Ultra Violeta
$[\alpha]$	Rotación específica
$\delta$	Desplazamiento químico en partes por millón
$\lambda_{\text{máx}}$	Longitud de onda máxima
$\mu\text{g}$	Microgramos
$\mu\text{m}$	Micrometro
$\nu_{\text{máx}}$	Frecuencia máxima

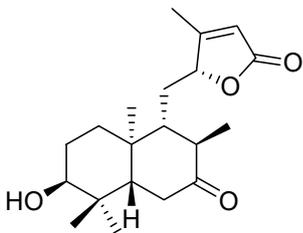
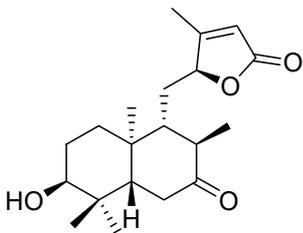
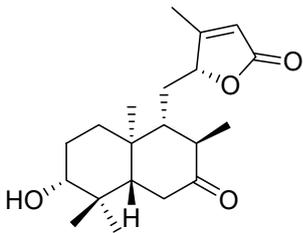


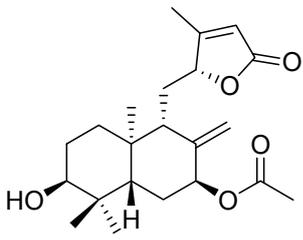
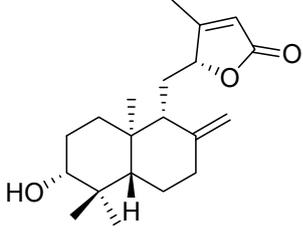
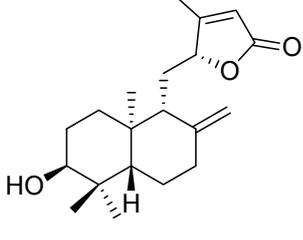
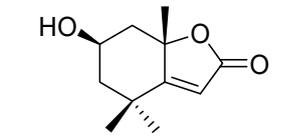
## **11. CONCLUSIONES**



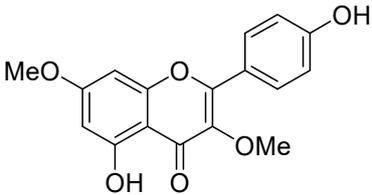
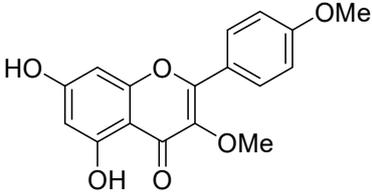
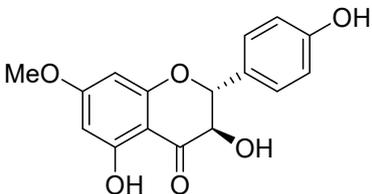
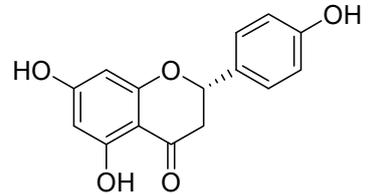
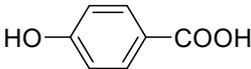
1. Se realizó una revisión bibliográfica de las lactonas sesquiterpénicas, y diterpenos tipo labdano y kaurano aislados de las especies del género *Eupatorium*. De dicho estudio se concluye que los datos químicos apoyarían la clasificación llevada a cabo por King y Robinson tomando como caracteres quimiotaxonómico las lactonas sesquiterpénica.

2. Se realizó un estudio fitoquímico de la especie *E. obtusissimum*, habiéndose aislado e identificado siete sustancias (EUO 1-7) de las cuales seis (EUO 1-6) son nuevas en la literatura química y que se presentan a continuación:

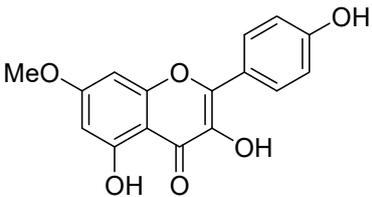
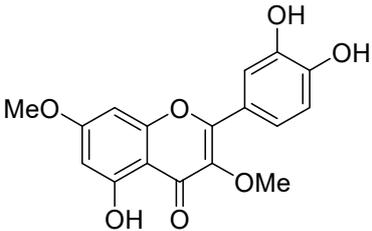
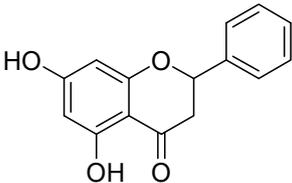
SUSTANCIA	NOMBRE IUPAC	NOMBRE COMÚN
 <p><b>EUO-1</b></p>	(5R)-5-[[1R,2R,4aS,6S,8aS)-6-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametil-3-oxodecahidronaftalen-1-il]metil]-4-metilfuran-2(5H)-ona	Uasdlabdano A
 <p><b>EUO-2</b></p>	(5S)-5-[[1R,2R,4aS,6S,8aS)-6-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametil-3-oxodecahidronaftalen-1-il]metil]-4-metilfuran-2(5H)-ona	Uasdlabdano B
 <p><b>EUO-3</b></p>	(5R)-5-[[1R,2R,4aS,6R,8aS)-6-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametil-3-oxodecahidronaftalen-1-il]metil]-4-metilfuran-2(5H)-ona	Uasdlabdano C

 <p><b>EUO-4</b></p>	<p>Acetato de (2<i>S</i>,4<i>S</i>,4<i>aR</i>,7<i>S</i>,8<i>aS</i>)-7-hidroxi-4<i>a</i>,8,8-trimetil-3-metilideno-4-{(2<i>R</i>)-3-metil-5-oxo-2,5-dihidrofuran-2-il]metil}decahidronaftalen-2-ilo</p>	<p><b>Uasdlabdano D</b></p>
 <p><b>EUO-5</b></p>	<p>(5<i>R</i>)-5-{(1<i>R</i>,4<i>aS</i>,6<i>R</i>,8<i>aS</i>)-6-hidroxi-5,5,8a-trimetil-2-metilidenodecahidronaftalen-1-il]metil}-4-metilfuran-2(5<i>H</i>)-ona</p>	<p><b>Uasdlabdano E</b></p>
 <p><b>EUO-6</b></p>	<p>(5<i>R</i>)-5-{(1<i>R</i>,4<i>aS</i>,6<i>S</i>,8<i>aS</i>)-6-hidroxi-5,5,8a-trimetil-2-metilidenodecahidronaftalen-1-il]metil}-4-metilfuran-2(5<i>H</i>)-ona</p>	<p><b>Uasdlabdano F</b></p>
 <p><b>EUO-7</b></p>	<p>(6<i>R</i>,7<i>aS</i>)-6-hidroxi-4,4,7<i>a</i>-trimetil-5,6,7,7<i>a</i>-tetrahidro-1-benzofuran-2(4<i>H</i>)-ona</p>	<p><b>Loliólido</b></p>

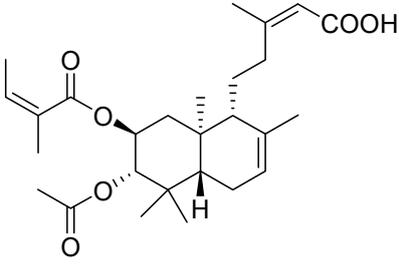
3. Se realizó un estudio fitoquímico de la especie *E. illitum*, habiéndose aislado e identificado cinco sustancias (EUI 1-5), todas conocidas y que se presentan a continuación:

SUSTANCIA	NOMBRE IUPAC	NOMBRE COMÚN
 <p><b>EUI-1</b></p>	<b>5-hidroxi-2-(4-hidroxifenil)- 3,7-dimetoxi-4H-1- benzopiran-4-ona</b>	<b>Kumatakenina</b>
 <p><b>EUI-2</b></p>	<b>5,7-dihidroxi-3-metoxi-2-(4- metoxifenil)-4H-1- benzopiran-4-ona</b>	<b>Ermanina</b>
 <p><b>EUI-3</b></p>	<b>(2R,3R)-3,5-dihidroxi-2-(4- hidroxifenil)-7-metoxi-2,3- dihidro-4H-1-benzopiran-4- ona</b>	<b>7-Metoxiaromadendrin</b>
 <p><b>EUI-4</b></p>	<b>(2S)-5,7-dihidroxi-2-(4- hidroxifenil)-2,3-dihidro- 4H-1-benzopiran-4-ona</b>	<b>Naringenina</b>
 <p><b>EUI-5</b></p>	<b>Ácido 4-hidroxibenzoico</b>	<b>Ácido o-hidroxibenzoico</b>

4. Se realizó un estudio fitoquímico de la especie *E. dictyoneurum*, habiéndose aislado e identificado diez sustancias (**EUD 1-10**) de las cuales cinco son conocidas y tres son nuevas (**EUD-8, 9, 10**) en la literatura química y que se presentan a continuación:

SUSTANCIA	NOMBRE IUPAC	NOMBRE(S) COMÚN(ES)
 <p><b>EUD-1</b></p>	<p><b>3,5-dihidroxi-2-(4-hidroxifenil)-7-metoxi-4H-1-benzopiran-4-ona</b></p>	<p><b>Rhamnocitrin</b> <b>(4', 3, 5-trihidroxi-7-metoxiflavonol)</b></p>
 <p><b>EUD-2</b></p>	<p><b>2-(3,4-dihidroxifenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-1-benzopiran-4-ona</b></p>	<p><b>3,7-dimetiléter de Quercetina</b> <b>3', 4', 5-trihidroxi-3,7-dimetoxiflavona</b></p>
 <p><b>EUD-3</b></p>	<p><b>2-fenil-5,7-dihidroxi-2,3-dihidro-4H-1-benzopiran-4-ona</b></p>	<p><b>Pinocembrina</b> <b>5,7-dihidroxi-flavanona</b></p>



 <p style="text-align: center;"><b>EUD-10</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>Ácido</b> <span style="float: right;"><b>(2Z)-5-</b></span></p> <p><b>[(1R,4aS,6S,7S,8aS)-6-(acetiloxi)-2,5,5,8a-tetrametil-7-{{(2Z)-2-metilbut-2-enoil}oxi}-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahidronaftalen-1-il]-3-metilpent-2-enoico</b></p>	<p><b>Dictyolabdano C</b></p>
--	---	-------------------------------

5. El estudio químico de las especies de *Eupatorium* presentadas en esta tesis doctoral pone de manifiesto que los metabolitos secundarios presentes son compuestos de tipo flavonoide y diterpenos con esqueleto de labdano, los cual nos permite establecer que, de acuerdo con la clasificación de King y Robinson, estas especies al no presentar lactonas sesquiterpénicas no pertenecerían el género *Eupatorium sensu stricto* y estarían más relacionadas con los especies de *Eupatorium* de la zona sudamericana y más concretamente con el género *Austroeupatorium*.

6.- Se llevó a cabo un estudio de actividad biológica de los compuestos tipo flavonoide de las especies de *E. illitium* y *E. dictyoneurum* algunos de los cuales presentan actividad antiproliferativa.