

# Estudio fitoquímico y de actividad alelopática del extracto de n-hexano del follaje de *Lantana trifolia* L.

Iraida Spengler Salabarría, Alexander B. Valerino Díaz,\* Telce González Morera,\*\* Daylín Gamiotea Turro\*\*\* y Trina H. García Pérez.

Centro de Estudios de Productos Naturales, Facultad de Química, Universidad de la Habana, Cuba. Calzada de Zapata y Calle G s/n, Plaza de la Revolución, Código Postal 10400, Ciudad de La Habana. Correo electrónico: iraida@fq.uh.cu \*Instituto de Investigaciones del Tabaco, Calle de Tumbadero, kilómetro 8½, San Antonio de los Baños, La Habana. \*\*Instituto de Investigaciones del Arroz, Autopista Novia del Mediodía, kilómetro 16½, Bauta, La Habana. \*\*\*Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humbolt" Calle 2 esquina a 1, Código Postal 19029, Santiago de las Vegas, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 2 de mayo de 2008. Aceptado: 6 de enero de 2009.

Palabras clave: *Lantana trifolia* L., *Verbenaceae*, alelopatía, Fitoquímica,  $\beta$ -sitosterol, 7,11,15-trimetil-3-metilen-hexadecan-1,2-diol.  
Key words: *Lantana trifolia* L., *Verbenaceae*, allelopathy, Phytochemistry,  $\beta$ -sitosterol, 7,11,15-trimethyl-3-methylen-hexadecan-1,2-diol.

**RESUMEN.** En los últimos años, el estudio fitoquímico de las plantas guiados por bioensayos reviste gran importancia, puesto que los metabolitos aislados de ellas pueden ser fuentes de herbicidas naturales. Las malas hierbas causan considerables pérdidas en los sistemas de producción de cultivos en todo el mundo y estas pérdidas son aún mayores en los países menos desarrollados. El objetivo de este trabajo fue estudiar la actividad alelopática del follaje de *Lantana trifolia* L., perteneciente a la familia *Verbenaceae*; así como, aislar y caracterizar posibles agentes alelopáticos obtenidos del follaje a partir del extracto de n-hexano. Para ello, se estudió la actividad alelopática *in vitro* de este extracto al 1 % en condiciones de laboratorio y se evaluó el índice de vigor de las plántulas y de reducción del crecimiento de raíz y coléoptilo en plántulas de pepino y trigo. En el estudio fitoquímico del extracto de n-hexano se detectó la presencia de triterpenos-esteroides y mediante diferentes técnicas cromatográficas (cromatografía de columna de exclusión, gel de sílice y cromatografía de capa delgada preparativa) se aislaron dos metabolitos puros los cuales fueron caracterizados mediante sus propiedades físicas y datos espectroscópicos (IR, Masas, RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ ). Se observó que el extracto de n-hexano inhibe el crecimiento de las plántulas en estudio y que se obtiene una reducción del crecimiento de la raíz y el coléoptilo para ambas plántulas y de este se aislaron el fitosterol  $\Delta^5$ -estigmastan- $\beta$ -3-ol ( $\beta$ -sitosterol) y el diterpeno lineal 7,11,15-trimetil-3-metilen-hexadecan-1,2-diol, el cual se describe por primera vez en este género.

**ABSTRACT.** Recently the phytochemical study of the plants guided by bioassays is very important, because the isolated metabolites of that can be used as natural herbicide sources. Weeds cause several losses on the crop production systems in the world and these losses are bigger in less developed countries. The subject of the research was the allelopathic study from leaves of *Lantana trifolia* L., belonging *Verbenaceae* family. Besides, to isolate and to characterize possible allelopathic agents from n-hexane extract from leaves. Allelopathic activity of this extract at 1 % was studied on laboratory conditions *in vitro*, vigour sign and growth reduction of root and coleoptile on cucumber and wheat plants were tested. On phytochemical study of n-hexane extract, triterpenes and steroids were detected and by chromatographic techniques (exclusion column chromatography, silice gel and preparative thin chromatography) two compounds were isolated. By physical properties and spectroscopy data (IR, Mass Spectroscopy, NMR  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ ) they were described. The n-hexane extract inhibits plants growth on study, showing root and coleoptile's growth reduction on both plants and from this extract were identified the phytosterol  $\Delta^5$ -estigmastan- $\beta$ -3-ol ( $\beta$ -sitosterol) and the lineal diterpene 7,11,15-trimethyl-3-methylen-hexadecan-1,2-diol, this one is described for the first time in the genus *Lantana*.

## INTRODUCCIÓN

Las malas hierbas causan considerables pérdidas en los sistemas de producción de cultivos en todo el mundo y aunque estas son significativas en países con sistemas de producción agrícola muy desarrollados, las pérdidas sufridas en los países menos desarrollados son aún mayores.<sup>1</sup> El uso de *herbicidas sintéticos* en la agricultura mundial es el método más común para el control de malezas, pero su uso intensivo y desmedido ha traído

graves problemas colaterales para el medio ambiente, la salud humana y los enemigos naturales.<sup>2</sup> Esta situación podría convertirse en una problemática aún mayor,<sup>3</sup> por lo que ha llevado a retirar algunos de estos productos del mercado internacional e incluso implementar normas en el manejo y aplicación de otros.

En este sentido, la *alelopatía* se ha consolidado cada vez más como una ciencia capaz de dar alternativas prácticas y aplicables en el control de malas hierbas,<sup>4</sup> al ofre-

cer la posibilidad de utilizar interacciones inhibitoras que se producen entre plantas para la supresión de aquellas especies que interfieren en los cultivos. Así, el empleo de productos naturales o aleloquímicos como herbicidas, disminuye la utilización indiscriminada de los productos químicos, los cuales provocan los efectos anteriormente citados.

Es conocido que entre las plantas con actividad alelopática se encuentra la *Lantana camara*,<sup>5</sup> sin embargo, acerca de la *Lantana trifolia* L. no se encontró ninguna información y solo se reporta el estudio químico de sus aceites esenciales, así como el aislamiento del flavonoide umuhengerina,<sup>6</sup> por lo que teniendo en cuenta además, que ella crece abundantemente en Cuba, en este trabajo se propuso estudiar la actividad alelopática del follaje de *Lantana trifolia* L., así como aislar y caracterizar posibles agentes alelopáticos a partir del extracto de n-hexano obtenido de aquél.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Reactivos

Los reactivos utilizados en el proceso de extracción del material vegetal fueron de calidad comercial, mientras que los empleados en el proceso de separación y purificación fueron de calidad puro para análisis (AnalaR®, BDH, Poole, Inglaterra), excepto el n-hexano que se destiló antes de ser utilizado. Para la preparación de los reveladores se utilizó ácido sulfúrico, sulfato cérico y vainillina, todos de calidad puro para análisis (AnalaR®, BDH, Poole, Inglaterra).

### Equipos

El punto de fusión se determinó en un equipo de horno con capilar abierto Stuart Scientific, Inglaterra, 0 a 360 °C. Los espectros IR fueron registrados en pastillas de KBr, empleando un equipo Perkin-Elmer FT-IR Spectrum 1000, Espectrofotómetro Matton 5020 (USA). Los espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C se registraron en un equipo Varian (INOVA-400, USA), utilizando como disolvente cloroformo deuterado. Los valores de  $\delta$  fueron referidos al tetrametilsilano como referencia interna (TMS). Los espectros de masas se determinaron por introducción directa en el equipo VG AUTOESPEC (USA), de doble enfoque y empleando la técnica de impacto electrónico a 70 eV.

La cromatografía de columna se realizó con Sephadex LH-20 y gel de sílice 60 de tamaño 0,06 a 0,2 mm (70-230) (Merck, Alemania). La cromatografía de capa delgada se realizó en placas de aluminio de gel de sílice 60 F<sub>254</sub> tipo 60 (Merck), mientras que la cromatografía preparativa se realizó sobre gel de sílice. Como reveladores se utilizaron el sulfato cérico y la vainillina.

## PARTE EXPERIMENTAL

El material vegetal (partes aéreas en floración-fructificación de *Lantana trifolia* L.) se colectó en febrero del 2004 en la Estación de Frutales de Alquizar, dicho material vegetal se identificó por el Dr. Víctor Fuentes de esta estación.

Los metabolitos se extrajeron por decocción tres veces durante cuatro h en n-hexano con un rendimiento de 2,3 %. El fraccionamiento de este crudo se realizó en una columna cromatográfica con Sephadex LH-20 y se utilizó como eluyente una mezcla de n-hexano-CHCl<sub>3</sub>-MeOH (2 : 2 : 1). La fracción 14 se fraccionó mediante columna cromatográfica por vía húmeda de gel de sílice,

utilizando como eluyente la mezcla n-hexano-CHCl<sub>3</sub> (1 : 5), del que se obtuvieron los compuestos A y B impuros, los cuales se purificaron mediante cromatografía de capa preparativa, utilizando para este fin, la mezcla de disolventes n-hexano-CHCl<sub>3</sub> (1 : 5) y una doble corrida.

**Compuesto A:** sólido de color blanco con una temperatura de fusión: 138-140 °C.

**IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 3 383; 2 935; 2 850; 1 632 y 1 450; 1 372; 1 047,5; 1 021; 958; 800. **RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm):** 0,67 (3H, s); 0,80 (3H, d); 0,81 (3H, d); 0,83 (3H, t); 0,90 (3H, d, J = 6,5 Hz); 0,99 (3H, s); 3,51(1H, m); 5,34 (1H, d, J = 5,1 Hz). **RMN-<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, ppm):** 11,81; 11,94; 18,73; 18,98; 19,35; 19,78; 21,03; 22,99; 24,26; 25,98; 28,20; 29,07; 31,60; 31,84; 31,86; 33,88; 36,10; 36,45; 37,19; 39,71; 42,20; 42,24; 45,76; 50,06; 55,98; 56,70; 71,76; 121,68; 140,68. **EM m/z (eV):** 414 M<sup>+</sup>, 329, 273, 231.

**Compuesto B:** aceite incoloro. **IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 3 410; 2 946; 2 859; 1 613; 1 547; 1 372; 890. **RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm):** 0,84 (3H, d, J = 6,35 Hz); 0,85 (3H, d, J = 6,35 Hz); 0,86 (6H, d, J = 6,59 Hz); 3,55 (1H, dd, J = 11,23; 7,32 Hz); 3,69 (1H, dd, J = 11,23; 3,42 Hz); 4,19 (1H, dd, J<sub>1</sub> = 11,23, J<sub>2</sub> = 3,42 Hz); 4,98 y 5,13 (2H, s). **RMN-<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, ppm):** 19,73; 19,77; 22,63; 22,72; 24,52; 24,82; 25,64; 28,02; 32,77; 32,86; 33,07; 36,89; 37,36; 37,48; 37,50; 39,45; 65,75; 75,12; 110,61; 148,86. **EM m/z (eV):** M<sup>+</sup> 312; 294; 281; 263; 139; 111; 97; 83 (100 %); 70.

### Ensayo de actividad alelopática

El ensayo se realizó en condiciones de laboratorio (*in vitro*). Se montaron dos tratamientos testigos con agua destilada, n-hexano disolución al 1 % del extracto de n-hexano. Cada uno se repitió cinco veces con 50 semillas por réplica. Se aplicaron 10 mL de las disoluciones preparadas en el papel de filtro 24 h antes de montar el experimento y se dejaron en reposo por 24 h. Se colocaron las semillas en cada réplica y se aplicaron 10 mL de agua destilada para mantener la humedad. Se evaluó el crecimiento de la raíz y el coleóptilo (10 plantas por réplica) a los cinco días después de germinado. Con los datos, se calculó el índice de vigor:

$$[(\text{Largo raíz} + \text{Largo coleóptilo}) \times \text{Germinación}(\%)]$$

y el índice de reducción del crecimiento (coleóptilo y raíz). Estos valores se sometieron a las pruebas de normalidad y se realizó la prueba ANOVA con el programa estadístico Statgraphic 5.1 Plus. En los casos que existieron diferencias entre medias, se utilizó la prueba de comparación de medias de Duncan con un nivel de confiabilidad del 99 %.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Ensayos de actividad alelopática

Los resultados obtenidos en los ensayos de fitotoxicidad en placa petri del extracto de n-hexano a partir de hojas de *Lantana trifolia* L. frente a plántulas de pepino y trigo para el índice de vigor de las plántulas tratadas, mostraron diferencias significativas entre los testigos y el extracto estudiado, lo cual indicó la inhibición del crecimiento en las plántulas tratadas (Fig. 1).

El extracto de n-hexano redujo el crecimiento de las plantas de manera significativa (Fig. 2). Para el caso de las plantas dicotiledóneas (pepino), se afectó más el coleóptilo mientras que en las monocotiledóneas (trigo) se afectó el crecimiento de igual manera para ambos órganos. En estos ensayos, se observó que hay mayor inhibición sobre el crecimiento de las monocotiledóneas que sobre las dicotiledóneas.

### Identificación de los compuestos aislados

El compuesto A se obtuvo como un sólido de color blanco de temperatura de fusión: 138 a 140 °C. El espectro IR de este compuesto mostró bandas en 3 383 ( $\nu_{\text{OH}}$ , banda ancha); 2 935 ( $\nu_{\text{as}}^{\text{Csp}_3\text{-H}}$ ); 2 850 ( $\nu_{\text{s}}^{\text{Csp}_3\text{-H}}$ ); 1 632 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1 450; 1 372 ( $\delta_{\text{CH}_3}$ ); 1 047,5 ( $\nu_{\text{C-O}}$ ); 1 021; 958; 800; las cuales están asociadas a las funciones químicas presentes en el núcleo esteroidal.

En el espectro RMN- $^1\text{H}$  las señales que aparecen en la región entre 0,66 y 0,99 ppm corresponden a los grupos metilo de la molécula. En ella se observan dos singletes a 0,67 y 0,99 ppm característicos de los protones de los metilos  $\text{C}_{18}$  y  $\text{C}_{19}$  respectivamente; tres dobletes en 0,80, 0,81, 0,90 y un triplete a 0,83 ppm asignables a los protones de los metilos  $\text{C}_{27}$ ,  $\text{C}_{26}$ ,  $\text{C}_{21}$  y  $\text{C}_{29}$  respectivamente del esqueleto de los fitosteroles del grupo estigmastano.

El corrimiento químico del multiplete en 3,51 ppm es característico del protón de  $\text{C}_3$  cuando está sustituido por un grupo hidroxilo. Esta señal indica que se encuentra en posición  $\alpha$  (axial) debido a los acoplamiento axial-axial con los protones  $\text{H}_{2\alpha}$  y  $\text{H}_{4\alpha}$  y axial-ecuatorial con los protones  $\text{H}_{2\beta}$  y  $\text{H}_{4\beta}$ , dado que las constantes de acoplamiento axial-axial tienen valores típicos mayores de 10 Hz, mientras que los ecuatorial-ecuatorial y ecuatorial-axial entre 4-5 Hz.

En la zona de los hidrógenos vinílicos se observó un doblete en 5,34 ppm y su constante de acoplamiento re-

sultó 5,1 Hz, característico del protón vinílico del  $\text{C}_6$  en los esteroides.

En su espectro RMN- $^{13}\text{C}$  con DEPT 135° se observaron 29 señales que indican la presencia de 29 átomos de carbono de los cuales tres son cuaternarios, 9 metinos, 11 metilenos y seis metilos.

Los corrimientos químicos de las señales a 121,0 y 140,0 ppm correspondientes a un carbono secundario y cuaternario respectivamente, y estos coinciden con los  $\Delta^5$  esteroides. Por otra parte, la señal del carbono secundario a 71,7 ppm, lo que indica que este átomo está unido directamente a un grupo hidroxilo por lo que corresponde al  $\text{C}_3$  de la molécula. En la región más blindada del espectro aparecieron seis señales (11,81; 11,94; 18,73; 18,98; 19,35; 19,78) correspondientes a carbonos metílicos.

El espectro de masas de A mostró su ión molecular a  $m/z$  414, concordante con la fórmula global  $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$ . Los iones fragmentos más importantes del espectro aparecen a  $m/z$  329 ( $\text{M}^+ - \text{C}_6\text{H}_3$ ), 273 ( $\text{M}^+ - \text{C}_{10}\text{H}_{21}$ ) y 231 ( $\text{M}^+ - 42 + \text{C}_{10}\text{H}_{21}$ ) correspondientes a fragmentaciones de la molécula en la cadena lateral de  $\text{C}_{17}$ . El ión fragmento  $m/z$  396 es característico de la pérdida de  $\text{H}_2\text{O}$  en la molécula debido a la presencia de un sustituyente hidroxilo y este por pérdida de la cadena lateral y un radical metilo da lugar a los iones  $m/z$  255 y 381, respectivamente. Al comparar la temperatura de fusión y datos espectroscópicos obtenidos con los reportados para compuestos

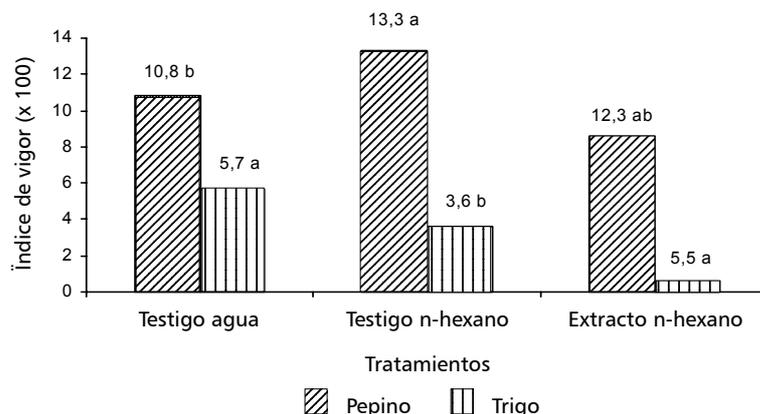


Fig. 1. Índice de vigor de plántulas de pepino y trigo tratadas con el extracto de n-hexano obtenido a partir del follaje de *Lantana trifolia* L.

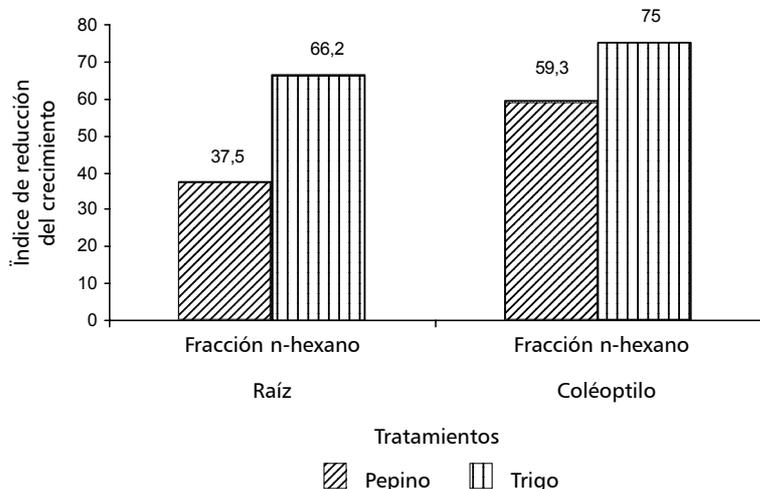
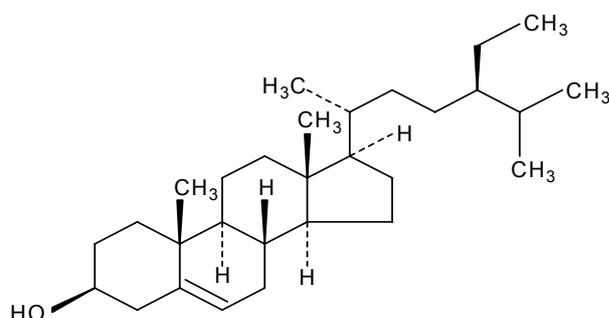


Fig. 2. Índice de reducción de crecimiento de plántulas tratadas con el extracto de n-hexano obtenido a partir del follaje de *Lantana trifolia* L.



**Fig. 3.** Estructura de la molécula  $\Delta^5$ -estigmastan- $\beta$ -3-ol ( $\beta$ -sitosterol).

del tipo estigmastano con estas características se encontró coincidencia con  $\Delta^5$ -estigmastan- $\beta$ -3-ol (Fig. 3) conocido por  $\beta$ -sitosterol.<sup>7</sup>

El compuesto B se obtuvo como un aceite incoloro. El espectro IR mostró las señales siguientes: 3 410 ( $\nu_{OH}$ ), 2 946 ( $\nu_{as}^{C_{sp^3}-H}$ ), 2 859 ( $\nu_s^{C_{sp^3}-H}$ ), 1 613, 1 547 ( $\nu_{C=C}$ ), 1 372 ( $\delta_{-CH_3}$ ), 990, 890 ( $\delta_{C-H(C=CH_2)}$ ). En la región 0,80 – 0,86 ppm del espectro RMN-<sup>1</sup>H, se observaron cuatro dobletes que correspondieron a los protones de los grupos  $CH_3$ -CH de la molécula, los cuales son: 0,86 (6H, d, J = 6,59 Hz, Me-C<sub>16</sub> y Me-C<sub>20</sub>) y 0,85 (3H, d, J = 6,35 Hz, Me-C<sub>18</sub>); 0,84 (3H, d, J = 6,35 Hz, Me-C<sub>19</sub>). Además, se observó un doblete de doblete en la región de 3,71 – 3,68 ppm y otro en 3,55 – 3,50 ppm característicos de los protones A y B del grupo  $-CH_2OH$ . En la región más desblindada aparecieron dos singletes en  $\delta$  5,12 y 4,96 ppm asignables a los protones de un metileno terminal ( $CH_2=C(CH_2)-CH$ ). En 4,19 ppm se observó un doblete de doblete correspondiente a un protón de un carbono unido a un sustituyente hidroxilo, pero que debido a su corrimiento químico debe estar  $\alpha$  al carbono insaturado y al grupo  $-CH_2OH$ , por lo que en la molécula aparece el grupo  $CH_2=C(CH_2)-CH(OH)-CH_2OH$  y 4  $CH_3$ , dos de ellos con igual entorno químico.

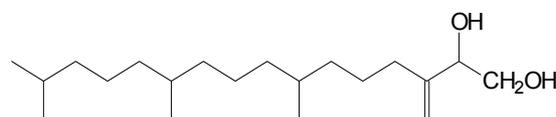
En el espectro RMN-<sup>13</sup>C y APT se observaron 20 señales que indicaron la presencia de 20 átomos de carbono de los cuales uno es cuaternario, cuatro metilos, 11 metilenos y cuatro metinos.

El análisis de los espectros confirmó que se trataba de un metileno terminal ( $CH_2=C(CH_2)-CH$ ) debido a las

señales que aparecen en 148,86 y 110,61 ppm, un grupo  $-CH_2OH$  y un grupo  $-CH(OH)$  mediante las señales a 75,12 y 65,75 ppm respectivamente y que todos ellos conforman el grupo  $CH_2=C(CH_2)-CH(OH)-CH_2OH$ . Las restantes señales fueron asignadas por comparación con el Phytol (Tabla 1).<sup>8</sup>

El espectro de masas confirmó esta estructura al presentar las características siguientes:<sup>9</sup> picos que se diferencian en 14 unidades de masa y que van decreciendo en intensidad a medida que aumenta la cadena, pérdida del radical  $CH_2OH$ ; pérdida de agua, lo cual corrobora la presencia de sustituyente hidroxilo; fragmentación de la molécula principalmente, a partir de ruptura de enlace C-C, en la que al menos uno de ellos sea terciario o secundario (estabilidad del ión carbono), así como la pérdida de grupos metilo en la molécula.

Teniendo en cuenta las propiedades físicas y el estudio espectroscópico del compuesto B, se llegó a la conclusión de que se trataba del diterpeno lineal **7,11,15-trimetil-3-metilen-hexadecan-1,2-diol** (Fig. 4). Este compuesto fue aislado por primera vez del *Senecio*



**Fig. 4.** Estructura de la molécula del 7,11,15-trimetil-3-metilen-hexadecan-1,2-diol.

*gallicus*<sup>10</sup> y este trabajo constituye el primer reporte de este compuesto tanto en la especie como en el género *Lantana*.

## CONCLUSIONES

Se aislaron y caracterizaron mediante estudios espectroscópicos y de comparación con la literatura el  $\Delta^5$ -estigmastan-3- $\beta$ -ol ( $\beta$ -sitosterol) y el diterpeno lineal 7,11,15-trimetil-3-metilen-hexadecan-1,2-diol del extracto de n-hexano, este último descrito por primera vez en el género *Lantana*. Además, se determinó la actividad alelopática del follaje de *Lantana trifolia* L. y se observó inhibición del cre-

**Tabla 1.** Desplazamientos químicos de RMN-<sup>13</sup>C ( $CDCl_3$ ) del compuesto B.

Posición	$\delta$ (ppm)	Asignación	Posición	$\delta$ (ppm)	Asignación
1	65,75	$CH_2$	11	32,86	CH
2	75,12	CH	12	37,36	$CH_2$
3	148,86	C (cuaternario)	13	24,82	$CH_2$
4	33,07	$CH_2$	14	39,45	$CH_2$
5	25,64	$CH_2$	15	28,02	CH
6	36,89	$CH_2$	16	22,63	$CH_3$
7	32,77	CH	17	110,61	$CH_3$
8	37,50	$CH_2$	18	19,77	$CH_3$
9	24,52	$CH_2$	19	19,73	$CH_3$
10	37,48	$CH_2$	20	22,72	$CH_3$

cimiento para el extracto de n-hexano frente a plántulas de pepino y trigo y reducción del crecimiento de la raíz y el coléoptilo frente a las plántulas antes mencionadas.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Haigh T. Weed Competition and Control, <http://www.uws.edu.au/vip/haight/vegintroduction.htm>. Consultado: 25 de marzo de 2006.
2. Ortiz Y. Búsqueda de agroquímicos naturales a partir de plantas cubanas. Tesis en opción del título de doctor en Ciencias Químicas, Universidad de Cádiz, julio, 2006.
3. Valerino A., Spengler I. y Morera T. Estudio fitoquímico y de actividad alelopática del follaje de *Lantana trifolia* L. XVII Congreso Iberoamericano de Ciencias de las Malezas, Varadero, Cuba, 8 al 11 de noviembre de 2005.
4. Lacret R. Estudio comparativo de la actividad alelopática de plantas forestales. Aislamiento y caracterización de metabolitos de la especie *Tectona grandis*, Tesis en opción del título de maestro en Ciencias Químicas, Universidad de la Habana, diciembre, 2004.
5. Romeu C., González T.A. y Martin A. *Lantana camara* L. Algunas características y propiedades. **Fitosanidad**, **5**, 29-33, 2001.
6. Claeys M., Pieters L., Corthout J., Vanden Berghe D.A. and Vlietink A.J. Umuhengerin, A New Antimicrobially Active Flavonoid from *Lantana trifolia*. **J. Nat. Prod.**, **51**, 5, 966-968, 1988.
7. Della Greca M., Monaco P. and Previtera L. Stigmasterols from *Typha latifolia* **J. Nat. Prod.**, **53**, 1430-1435, 1990.
8. Yueh-Hsiung K., Jir-Mehng L. and Yih-Fwu C. Cytotoxic Components from the Leaves of *Schefflera taiwaniana*. **J. Chinese Chem. Soc.**, **49**, 427-431, 2002.
9. Budzikiewicz H., Djerassi C. and Dudley H. Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry, Vol. II, Chapter 25, Long Chain Compounds. Second Edition, Holden-Day Inc., San Francisco, London, Amsterdam, 165-166, 1964.
10. Urones J. Acetophenones and terpenoids from *Senecio Gallicus*, Tesis en opción del título de doctor en Ciencias Químicas, Universidad de Salamanca, España, 1986.