

Investigación

Iridoides adicionales de la planta medicinal *Astianthus viminalis* y su actividad hipoglucemiante y antihiperoglucemiante

Mariana Meckes,¹ María Luisa Garduño-Ramírez,² Silvia Marquina² y Laura Álvarez^{2,*}

¹ Unidad de Investigación Médica en Farmacología de Productos Naturales, Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI

² Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca 62210, Morelos, México. *Tel/Fax: (777) 329-7997; E-mail: lalvarez@intermor.net.mx

Recibido el 7 de noviembre del 2001; aceptado el 19 de diciembre del 2001

Dedicado al Dr. Fernando Walls Armijo

Resumen. *Astianthus viminalis* es una de las especies medicinales del Estado de Morelos, se le conoce como Azúchil y es utilizado principalmente para el tratamiento de la diabetes mellitus. El estudio químico de las ramas y hojas dio lugar a la obtención de tres iridoides adicionales a los obtenidos en un estudio anterior: estansiosido (6), plantarrenalósido (7) y campenosido (8). El extracto metanólico así como dos de sus fracciones mayoritarias fueron evaluados como agentes hipoglucemiantes y antihiperoglucemiantes en ratas normales y en ratas tratadas con estreptozotocina (SZ). En las ratas normales, ninguno de los productos mostró actividad hipoglucemiante. En las ratas tratadas con SZ, las dos fracciones (AVUR y AVIR) mostraron actividad antihiperoglucemiante 5 h después de la administración a una dosis de 0.15 y 0.4 g / kg, respectivamente. Estos resultados podrían explicar el uso medicinal atribuido a esta planta.

Palabras clave: Iridoides, *Astianthus*, azúchil, hipoglucemia, antihiperoglucemia.

Abstract. *Astianthus viminalis* is one of the medicinal species from Morelos State, it is known as Azúchil and it is mainly used for the treatment of diabetes. The chemical study of the leaves and branches afforded, in addition to the obtained in a previous study, three iridoids: stansioside (6), plantarrenaloside (7) and campenoside (8). Hypoglycaemic and antihyperglycaemic activities of the methanolic extract and two of their main fractions were studied in normal and streptozotocin (SZ)-diabetic rats. In normal rats, none of the extracts tested exhibited hypoglycaemic activity. In SZ-diabetic rats, both fractions (AVUR and AVIR) exhibited antihyperglycaemic activity 5 h after administration at the doses of 0.15 and 0.4 g / kg respectively. These results could explain the medicinal use attributed to this plant.

Keywords: Iridoids, *Astianthus*, azúchil, hypoglycaemia, antihyperglycaemia.

Introducción

Astianthus viminalis es un árbol pequeño que crece en las orillas de los ríos, es conocido popularmente en Morelos como Azúchil [1, 2], y es una de las especies medicinales del Estado de Morelos que es utilizada para el control de la diabetes mellitus [3], en donde la decocción de las hojas de este árbol es utilizada como “agua de tiempo” para tratar la sintomatología característica de los pacientes diabéticos.

En un estudio químico efectuado con anterioridad, se aislaron la mezcla isomérica de los ácidos ursólico (1) y oleanólico (2), los ácidos cinámico (3) y *p*-metoxicinámico (4) y el iridoide 5-hidroxycampenosido (5), como constituyentes mayoritarios de las hojas y ramas de este espécimen [4]; sin embargo, no hay antecedentes experimentales sobre la actividad hipoglucemiante que se le atribuye a este vegetal.

Como parte de un estudio dirigido al estudio de plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de la diabetes mellitus, el objetivo de este trabajo fue la valoración experimental de las propiedades hipoglucemiantes atribuidas a esta planta, para lo cual se realizó la determinación de los efectos del extracto metanólico y de dos de las fracciones mayoritarias de este extracto. Para ello se uti-

lizaron diferentes modelos en el animal vivo. Las observaciones sobre los efectos de los productos vegetales se realizaron en animales normoglucémicos, con hiperglucemia leve y transitoria inducida por medio de cargas simples de dextrosa, así como en animales tratados con estreptozotocina, agente diabetogénico que produce un estado de hiperglucemia como consecuencia de la destrucción de las células beta de los islotes de Langerhans.

Resultados y discusión

El fraccionamiento del extracto metanólico de las hojas y ramas de *A. viminalis* dio lugar a tres fracciones mayoritarias denominadas fracción 1, fracción 2 y fracción 3. El estudio químico de estas fracciones permitió establecer que la fracción 1 estaba constituida principalmente de estigmasterol, un esteroide ampliamente distribuido en el reino vegetal; la fracción 2 estaba constituida de la mezcla de ácidos triterpénicos: ácido ursólico (1) y ácido oleanólico (2) y de los fenilpropanoides: ácido cinámico (3) y ácido *p*-metoxicinámico (4), de la cual fue posible separar los triterpenos mediante cristalización, ya que son los constituyentes mayoritarios en la planta (0.62 %),

a esta fracción se le denominó fracción AVUR; los fenilpropanoides **3** y **4** fueron purificados mediante cromatografía en columna. La tercera fracción, denominada fracción AVIR, estuvo compuesta por una mezcla de cuatro iridoides: 5-hidroxicampenosido (**5**), el cual ya había sido obtenido en el estudio anterior [4]; la mezcla isomérica de estansiosido (**6**) y plantarrenalósido (**7**), en la cual, el estansiosido se encuentra en mayor proporción (3:1). Esta mezcla ha sido descrita en *Composidium valdivianum* [5] y *Tecoma stans* [6], y su identidad se corroboró por el análisis de sus datos físicos y espectroscópicos y por comparación con los descritos en la literatura. El cuarto iridoide presente en la fracción AVIR fue caracterizado como el campenosido (**8**), que ha sido descrito como constituyente de *Campsis chinensis* [7, 8] y fue caracterizado mediante la comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con los descritos en la literatura. Los iridoides (**6-8**) corresponden a constituyentes de mayor polaridad a los descritos anteriormente de esta planta [4].

Evaluación biológica. En el estudio agudo realizado con ratas normoglucémicas, la administración intragástrica a concentraciones mayores de 0.1 g / kg del extracto metanólico íntegro incrementó alrededor del 50 % los niveles de la glucemia sanguínea en los animales, efecto que se prolongó en forma dependiente de la dosis del producto administrado (Tabla 1). La administración intragástrica (1 g / kg) e intraperitoneal (0.1 g / kg), por separado, del extracto metanólico incrementó también los niveles de glucosa en la curva de tolerancia a la glucosa inducida con 2 g / kg de dextrosa vía subcutánea (Tabla 2).

Dada la similitud en la composición química de algunos de los iridoides de la fracción 3 con los ya descritos para *Tecoma stans* [6], así como los informes sobre los efectos hipoglucemiantes tanto de *T. stans* [9] y de varios iridoides [10, 11] como del ácido ursólico presente en la fracción 2 [12], estas fracciones fueron sometidas a evaluación biológica para determinar sus propiedades hipoglucemiantes.

Cuando la fracción AVUR se administró por dos semanas consecutivas mezclada con el alimento, a una concentración en promedio de 0.11 g / kg, no se observó alteración en el comportamiento habitual de los animales (incremento normal de peso corporal, consumo de alimento y líquido, similares a los presentados por el grupo control) y los niveles de glucosa sanguínea no se modificaron (Tabla 3).

En los animales tratados con estreptozotocina, la administración intraperitoneal de 0.15 g / kg de la fracción AVUR, produjo valores de glucemia por arriba de la basal durante 180 min, registrándose un descenso del 17 %, con respecto al valor previo a la administración de la fracción, a las 5 h. La administración vía intraperitoneal de 0.4 g / kg de la fracción AVIR, produjo descenso de los niveles de glucemia a partir de las 3 h, observándose una disminución del 41.12 % en los niveles de glucosa a las 5 h de administrada la fracción (Tabla 4).

Estos resultados permiten asumir que algunos de los iridoides presentes en la fracción AVIR, junto con el ácido ursólico ya reportado anteriormente como hipoglucemiante [12] podrían explicar el uso que tiene *A. viminalis* para dis-

minuir la hiperglucemia en los pacientes diabéticos. Estudios en curso intentan esclarecer cuál de los constituyentes de la mezcla de iridoides es el responsable de dicha actividad, así como los efectos coadyuvantes o potenciadores de la acción de los agentes hipoglucemiantes que se utilizan normalmente en la clínica (insulina, sulfonilureas y biguanidas). Este es un punto relevante en el estudio de la planta que requiere de un número mayor de observaciones.

Parte experimental

Los puntos de fusión no están corregidos. Los espectros de IR fueron determinados en un espectrofotómetro Nicolet Magna-TM 750. Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C fueron obtenidos en un equipo Varian VXR-300, los desplazamientos químicos se encuentran en unidades de ppm relativos a las señales de TMS y CDCl_3 y las constantes de acoplamiento están expresadas en Hz. Las cromatografías en columna fueron realizadas con sílica gel 60 (70-230 mesh) de Merck; cromatografías líquidas de vacío (CLV) [13] con sílica gel 60 (0.040-0.063 mm) de Merck.

Material vegetal. Las hojas y ramas de *Astianthus viminalis* H. B. & K. Baillon (Bignoniaceae), se colectaron en el poblado Las Piedras a 15 km al sur de la ciudad de Cuautla, Morelos, el 12 de septiembre de 1998, una muestra botánica se depositó en el Herbario (HUMO) con No. de registro: LA-022, de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Las ramas y hojas (3.5 kg) de *A. viminalis* se extrajeron sucesivamente con *n*-hexano y metanol a temperatura ambiente por tres veces, obteniéndose después de concentrar a presión reducida, 79.5 g de extracto hexánico y 1,200 g de extracto metanólico. Una parte del extracto metanólico (250 g) fue aplicada a una cromatografía líquida de vacío empacada con 417 g de sílica gel en un embudo Büchner de 20 cm de diámetro y utilizando un gradiente de CHCl_3 -acetona, obteniéndose tres fracciones mayoritarias: fracción 1 (100:0, 18.0 g), fracción 2 (8:2, 17.6 g) y fracción 3 (1:1, 52.3 g). La fracción 1 estaba constituida principalmente de estigmasterol el cual fue purificado por cristalización e identificado por comparación directa. De la fracción 2 precipitó un polvo amorfo el cual se lavó con acetona para dar 3.7 g de un sólido con pf 255-260 °C, identificado como la mezcla de los ácidos ursólico (**1**) y oleanólico (**2**) por comparación directa (ir, co-ccf) con una muestra auténtica disponible en el laboratorio (fracción AVUR). Las aguas madres se metilaron con diazometano en éter, y el producto se aplicó a una columna cromatográfica empacada con 140 g de sílica gel, eluyendo con mezclas de polaridad creciente de *n*-hexano-AcOEt, obteniéndose 858 mg de la mezcla de los ésteres metílicos de los ácidos ursólico (**1a**) y oleanólico (**2a**) y 320 mg del ester metílico del ácido cinámico (**3a**), la identidad de este último compuesto fue establecida por la comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con los descritos en la literatura [14]; las fracciones de mayor polaridad contenían 62 mg de un producto

Tabla 1. Efecto de la administración a diferentes dosis del extracto metanólico sobre la glucosa de ratas normoglucémicas.

Dosis g / kg	Glucosa mg / dL (n = 4)		Δ % (to = 61.5 mg / dL)	
	2 h	4 h	2 h	4 h
0.1	93.88 \pm 11.2	62.1 \pm 10.2	53	1
0.5	114.3 \pm 12.1	81.7 \pm 27.2	86	33
1.0	88.0 \pm 6.5	90.9 \pm 21.9	43	48
2.0	118.1 \pm 34.7	98.6 \pm 5.5	92	60

cristalino de pf 168-170 °C el cual fue identificado como el éster metílico del ácido *p*-metoxicinámico (**4a**) por el análisis de sus datos espectroscópicos.

La fracción 3 (fracción AVIR) se aplicó a una CLV utilizando un gradiente de *n*-hexano-AcOEt-MeOH. Las fracciones eluidas con *n*-hexano-AcOEt-MeOH (7:3:2) mostraron la presencia de una mezcla de iridoides glicosilados, por lo que se acetiló con Ac₂O-piridina a temperatura ambiente, el producto obtenido (2.3 g), se aplicó a una columna de vidrio empacada con 80 g de sílica gel, utilizando un gradiente de CHCl₃-MeOH como eluyente. Las fracciones de menor polaridad presentaron un sólido amorfo que fue recrystalizado de *n*-hexano-AcOEt, obteniéndose 64 mg de un producto cristalino de pf 168-170 °C e identificado como el ácido *p*-metoxicinámico (**4**) por el análisis de sus datos espectroscópicos. Las fracciones de mediana polaridad mostraron en ccf una sola mancha homogénea por lo que se recrystalizó de acetona, obteniéndose 151 mg de la mezcla isomérica del estansióside (**6**) y el plantarrenalósido (**7**) [5, 6] peracetilados.

Las fracciones 78-159 eluidas con CHCl₃-MeOH (4:1), se aplicaron a una columna de vidrio empacada con 45 g de sílica gel, eluyendo con un gradiente de *n*-hex-AcOEt. De las fracciones 42-68 (4:1) precipitó un sólido amorfo que después de recrystalar de acetona se obtuvieron 184 mg del 5-hidroxicampenósido peracetilado (**5**), identificado por comparación directa con una muestra auténtica [4].

Las fracciones 69-120 de la cromatografía anterior se aplicaron a una columna de vidrio empacada con 62 g de sílica gel, utilizando CH₂Cl₂ como primer eluyente y aumentando la polaridad con acetona. De las fracciones eluidas con CH₂Cl₂-Me₂CO (4:1) se obtuvieron 103 mg adicionales del 5-hidroxicampenósido (**5**), lo que dio un total de 287 mg de este metabolito. Las fracciones eluidas con CH₂Cl₂-Me₂CO (7:3) dieron un sólido que después de recrystalar de acetona-CH₂Cl₂ se obtuvieron 116 mg de cristales en forma de agujas identificado como el campenósido peracetilado (**8**) [7,8].

Mezcla de estansióside (6) y plantarrenalósido (7) peracetilados. Sólido blanco: pf 228-235 °C; IR (KBr) ν_{\max} 3528, 1874, 1753, 1687, 1626 cm⁻¹; RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ 9.4 (1H, s, H-11), 7.30 (1H, s, H-3), 4.85 (1H, d, J = 8.04 Hz, H-1'), 4.99 (1H, t, J = 8.0 Hz, H-2'), 5.26 (1H, t, J = 9.3 Hz, H-3'), 5.10 (1H, t, J = 9.3 Hz, H-4'), 3.75 (1H, ddd, J = 9.8, 4.2, 2.5 Hz, H-5'), 4.31 (1H, dd, J = 12.3, 4.2 Hz, H-6a'), 4.16 (1H, dd, J = 12.3, 2.5 Hz, H-6b'), 5.47 (1H, d, J = 2.7 Hz, H-1), 1.95, 2.0, 2.03, 2.11 (3H cada uno, s, CH₃ CO), 2.4 y 2.0 (2H, m, H-

Tabla 2. Efecto del extracto metanólico sobre la curva de tolerancia a la glucosa en ratas con hiperglucemia inducida por cargas de dextrosa.

t (min)	Control	Dosis oral (1 g / kg)	Dosis i.p. (0.1 g / kg)
0	73.90		
60	131.40 \pm 16.70	138.30 \pm 15.45	118.30 \pm 21.60
90	139.77 \pm 16.70	126.05 \pm 9.30	151.40 \pm 15.30
120	134.45 \pm 5.60	162.90 \pm 30.70	148.70 \pm 5.46
180	120.90 \pm 16.60	140.30 \pm 11.50	155.50 \pm 54.50

Para cada punto n = 4; δ < 10%

9, H-5), 1.54 (2H, m, H-6, H-7), 1.45 (1H, m, H-8), 1.12 [3H, d, J = 7.5 Hz, H-10 (**6**)], 0.89 [3H, d, J = 7.5 Hz, H-10 (**7**)].

Campenósido tetraacetilado (8). Agujas: pf 138-142 °C; C₃₂H₃₆O₁₄; IR (KBr) ν_{\max} 3300, 3540, 1685, 1624 cm⁻¹; RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ 9.25 (1H, s, H-11), 7.65 (1H, d, J = 16 Hz, H- β), 6.42 (1H, d, J = 16 Hz, H- α), 7.35 y 7.60 (5H, m, aromático), 7.15 (1H, s, H-3), 5.70 (1H, d, J = 2 Hz, H-1), 5.62 (1H, d J = 7.5 Hz, H-1'), 5.28 (1H, t, J = 9 Hz, H-3') 5.12 (1H, t, J = 8.5 Hz, H-4'), 5.0 (1H, t, J = 8.5 Hz, H-2'), 4.32 (1H, dd, J = 12.3, 4.2 Hz, H-6a'), 4.13 (1H, dd, J = 12.3, 5.2 Hz, H-6b'), 3.79 (1H, ddd, J = 9.0, 4.2, 5.2 Hz, H-5'), 2.7-2.3 (3H, m, H-6 α , H-6 β H-9), 2.55 (1H, m, H-8), 2.30 (1H, m, H-5), 1.08 (3H, d, H-10).

Evaluación de la actividad hipoglucemiante y antihiperoglucemiante

Animales. Para esta serie de estudios se utilizaron ratas Wistar machos, con un peso variable entre 270-300 g. Los animales se mantuvieron en condiciones controladas de temperatura, luz (12 horas luz), alimento y agua. Antes de iniciar el estudio se consideró un ayuno de 18 h y acceso libre al agua, a menos que se indique otra cosa.

Efecto de la administración a diferentes dosis del extracto metanólico sobre la glucosa de ratas normoglucémicas.

Cuatro grupos de seis ratas cada uno, recibieron diferentes concentraciones del extracto (0.1, 0.5, 1.0 y 2.0 g / kg de peso del animal). El producto vegetal, solubilizado parcialmente en agua, se administró por vía intragástrica en un volumen de 2-3 mL. La cuantificación de los niveles de glucosa se determinó a 2 y 4 horas después de administrado el producto (Tabla 1).

Efecto del extracto metanólico sobre la curva de tolerancia a la glucosa en ratas con hiperglucemia inducida por cargas de dextrosa.

La observación se realizó en tres grupos de ratas. Un grupo de 20 ratas sirvió como control, al segundo grupo (n = 16) se le administró el extracto vía intragástrica en una dosis de 1 g / kg y al tercer grupo de 16 ratas se le administró vía intraperitoneal 0.1 g / kg del producto vegetal, inmediatamente después de la administración subcutánea de 2 g / kg de dextrosa. Los niveles de glucosa se midieron a diferentes tiempos (0, 60, 90, 120 y 180 min; Tabla 2).

Tabla 3. Efecto de la fracción AVUR administrada periódicamente.

Tiempo (días)	Glucosa mg / dL (n = 6)	
	Alimento preparado	Alimento preparado + AVUR
0	55.0 ± 12.3	60.6 ± 4.5
4	52.8 ± 7.41	56.6 ± 7.0

Efecto de la fracción AVUR administrada periódicamente.

Para el estudio se utilizaron 12 ratas machos de peso promedio 194.28 ± 31.69 (162.5-258 g). Después de dos semanas de controlar el peso corporal de los animales y la cantidad de alimento diario ingerido, se cambió el alimento habitual que recibían los animales en el bioterio por un preparado cuya fórmula por cada 100 g fue: caseína (25 g), glucosa (24.5 g), almidón (24.5 g), lípidos (3.0 g), celulosa (4.0 g), minerales (7.0 g), metionina (0.3 g) y vitaminas (1.0 g), en base húmeda. Una vez establecido el control del consumo diario con el nuevo preparado durante 8 días, las ratas se mantuvieron en ayuno por 18 h y se determinaron los niveles de la glucosa en plasma. Las ratas se dividieron en dos grupos, el primero sirvió de control y se continuó alimentando con el preparado alimenticio; el segundo grupo de seis animales recibieron el producto semipurificado AVUR incluído en el alimento a una concentración de 0.11 g / kg en promedio. Al término de los cuatro días siguientes, se tomaron nuevas muestras de sangre en ayuno y se determinaron los niveles de glucosa sanguínea en ambos grupos (Tabla 3).

Efecto de las fracciones AVUR y AVIR sobre la glucemia de ratas tratadas con estreptozotocina (SZ). Un grupo de ratas se trataron con estreptozotocina. El agente diabetogénico disuelto en buffer de citratos pH 5, se administró vía intraperitoneal en una dosis de 70 mg / kg de peso del animal. Después

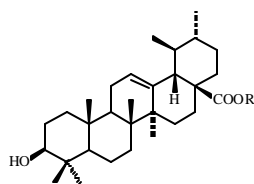
Tabla 4. Efecto de las fracciones AVUR (0.15 g / kg) y AVIR (0.4 g / kg) sobre la glucemia de ratas tratadas con estreptozotocina.

Tiempo (min)	Glucosa mg / dL (n = 4)	
	Fracción AVUR	Fracción AVIR
0	252.0 ± 26.8	214.5 ± 23.3
30	286.0 ± 16.9	192.0 ± 1.4
60	320.5 ± 14.9	229.5 ± 44.6
90	325.0 ± 2.8	240.0 ± 1.4
120	317.0 ±	234.0 ± 25.5
180	282.0 ±	171.0 ± 5.7
300	208.5 ± 26.2	126.0 ± 26.9

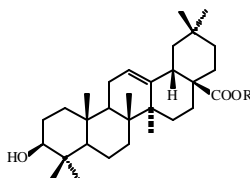
de 10 días se hicieron las observaciones administrando el producto vegetal vía intraperitoneal en ratas que presentaban niveles de glucemia mayores a 150 mg / dL. Un grupo de cuatro ratas recibieron 0.15 g / kg de la fracción AVUR disuelta en aceite vegetal y otro grupo de 4 ratas recibió 0.4 g / kg de la fracción AVIR disuelta en agua. Se midieron los niveles de glucosa a los 30, 60, 90, 120, 180 y 300 min después de administrados los productos (Tabla 4).

Determinación de los niveles de glucosa plasmática. Los animales se anestesiaron con pentobarbital sódico administrado vía intraperitoneal en una dosis de 0.2 mg / kg de peso del animal. Las muestras de sangre se tomaron de la vena porta, separando el plasma por centrifugación (3600 rpm). Los niveles de la glucosa plasmática se determinaron por reacción enzimática de hexoquinasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en un analizador biromático VP Abbott y están dados en mg / dL.

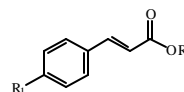
Análisis estadístico. Todos los resultados se expresaron como el promedio ± desviación estándar ($\bar{x} \pm ds$) y se aplicó la prueba t' student para definir la diferencia significativa entre los



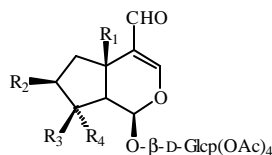
1 R = H
1a R = CH₃



2 R = H
2a R = CH₃



3 R₁ = R₂ = H
3a R₁ = H, R₂ = CH₃
4 R₁ = OCH₃, R₂ = H
4a R₁ = OCH₃, R₂ = CH₃



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
5	OH	OCinam	CH ₃	H
6	OH	H	H	CH ₃
7	OH	H	CH ₃	H
8	H	H	CH ₃	H

grupos con $p < 0.05$. En algunos casos, los resultados se expresaron como % respecto al valor de la glucemia basal.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Jaime Tortoriello García (Centro de Investigación Biomédica del Sur, IMSS, Xochitepec, Morelos) por las facilidades otorgadas para la utilización del analizador bicromático VP Abbott y el bioterio. A CONACyT por el apoyo otorgado mediante el proyecto 3419P-N9607.

Referencias

1. Gentry, A. H. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **1973**, 60, 781-786.
2. Gentry, A. H. Bignoniaceae en: Flora de Veracruz. *Missouri Botanical Garden* **1982**, 24, 71-73.
3. Monroy-Ortiz, C.; Castillo, P. *Plantas Medicinales Utilizadas en el Estado de Morelos*. Centro de Investigaciones Biológicas, UAEMor. **2000**, 272.
4. Alvarez, L.; Núñez, M.; Pérez, M. C.; Villarreal, M. L.; Delgado, G. *Planta Medica* **1994**, 60, 98.
5. Bianco, A.; Passacantilli, P.; Santini, S.; Nicoletti, M.; Garbarino, J. A.; Gambaro, V. *Phytochemistry* **1987**, 26, 1839-1840.
6. Bianco, A.; Massa, M.; Oguakwa, J. U.; Passacantilli, P. *Phytochemistry* **1981**, 20, 1871-1872.
7. Imakura, Y.; Kobayashi, S.; Kida, K.; Kido, M. *Phytochemistry* **1984**, 23, 2263-2269.
8. Imakura, Y.; Kobayashi, S.; Yamahara, Y.; Kihara, M.; Tagawa, M.; Murai, F. *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, 33, 2220-2227.
9. Hammouda, Y.; Amer, M. S. J. *Pharm. Sci.* **1966**, 55, 1452-1454.
10. Ghisalberti, E. L. *Phytomedicine* **1998**, 5, 147-163.
11. Miura, T.; Nishiyama, Y.; Ichimaru, M.; Moriyasu, M.; Kato, A. *Biol. Pharm. Bull.* **1996**, 19, 160-161.
12. Pérez, R. M.; Zavala, M. A.; Pérez, S.; Pérez, C. *Phytomedicine* **1998**, 5, 55-75.
13. Coll, C.; Bowden, E. J. *Nat. Prod.* **1986**, 49, 934-936.
14. Windholtz, M.; Budavari, S.; Stoumstos, L. Y.; Fertig, M. N. *The Merck Index*. Ninth edition, **1976**, 279.