

Bioprospección y diversidad química

Azucena González-Coloma, Ana Guadaño, Concepción de Inés, Omar Santana, Nuria Martín, Nagla Mohamed; Raimundo Cabrera, Cristina Giménez; Matías Reina; Carmen E. Díaz y Braulio M. Fraga

Resumen

Una de las herramientas necesarias para la conservación y el aprovechamiento sostenible de la biodiversidad botánica es el conocimiento de su valor añadido. El contenido en productos naturales bioactivos de las plantas se conoce desde la antigüedad por su valor medicinal y plaguicida. Sin embargo, aún existe un gran desconocimiento de la diversidad química del planeta, agravado por la presión humana sobre la biodiversidad y la consecuente desaparición de especies. Aquí vamos a presentar una pequeña muestra de diversidad química, su valor añadido y posibles soluciones a su aprovechamiento sostenible.

Palabras clave. Biodiversidad, endemismos canarios, diversidad química, productos activos, cultivo "in vitro"

Introducción

La región Macaronésica está formada por los archipiélagos atlánticos de Cabo Verde, Madeira, y Canarias. Este último está compuesto por siete islas principales, Lanzarote, Fuerteventura, Gran Canaria, Tenerife, Gomera, La Palma y Hierro, está situado frente a las costas norteafricanas y contienen una gran riqueza botánica, más de dos mil especies. De estas plantas, una gran parte son endémicas del Archipiélago o están presentes también en otras islas de la Macaronesia. Sin embargo, esta es una flora extremadamente vulnerable por la actividad humana, por lo que hoy día se están realizando muchos esfuerzos para su conservación.

Durante los últimos cinco siglos, en el Archipiélago Canario ha disminuido la extensión de sus bosques como consecuencia de la roturación de terrenos para la agricultura y la utilización de la madera en la construcción y como combustible. Esta explotación de las zonas forestales ha sido un proceso continuo hasta sólo relativamente pocos años, lo que ha originado problemas de erosión y disminución de los acuíferos, ya que estas zonas boscosas son el eslabón principal en la cadena del suministro de agua. No obstante, últimamente se han establecido una importante red de espacios naturales protegidos, que junto a los cuatro Parques Nacionales del archipiélago, engloban una amplia representación de las distintas comunidades vegetales presentes en las Islas. Por otra parte, los jardines botánicos cuentan con muestras de estas especies y con bancos de semillas de las especies endémicas.

Conseguir un desarrollo sostenible implica un mayor conocimiento de los recursos naturales de que se disponen. En este sentido, las plantas endémicas de Canarias son una fuente de diversidad química cuyo potencial mostraremos, en parte, en este trabajo.

Recursos fitoquímicos de endemismos canarios y sus aplicaciones

Nuestros proyectos de investigación se centran en el estudio del potencial fitoquímico que representa la biodiversidad botánica del Archipiélago Canario (Bramwell y Bramwell, 1990). Como resultado de estos trabajos se han aislado y determinado las estructuras de diversas sustancias naturales activas como diterpenos, sesquiterpenos y alcaloides, los cuales pueden ser de utilidad en el sector agroquímico, en el ámbito de la agricultura ecológica (insecticidas, repelentes y fungicidas) y en el desarrollo de nuevos fármacos. Estos compuestos se han obtenido en el estudio de especies de las familias Lauraceae, Boraginaceae, Compositae y Lamiaceae, estudiándose también sus mecanismos de acción (Díaz et al., en prensa; Fraga et al., 1999; 2001, González-Coloma et al., 1998; 1999; 2001, 2002a, b; Reina et al., 2002). Los resultados obtenidos han puesto de manifiesto el valor añadido de la biodiversidad botánica de las islas dado el amplio abanico de aplicaciones potenciales de sus recursos botánicos.

El bosque de Laurisilva (400-1200 m)

La zona forestal o monte de Laurisilva, que está presente en las islas está dominado por cuatro especies de la familia de las Lauráceas: *Laurus azorica* Seub, *Ocotea foetens* Aiton, *Apollonias barbujana* Cav y *Persea indica* L.. Estas especies son reliquias de la extinguida flora mediterránea del Terciario que ocupó el Sur de Europa y el norte de África hace unos 15-40 millones de años. Este bosque, como ya hemos dicho anteriormente, ha sufrido considerables estragos como consecuencia de la presencia humana en las islas, aunque en la actualidad está protegido. Se encuentra en todas las islas a excepción de Lanzarote y Fuerteventura, donde sólo perviven restos de su existencia.

El carácter único de esta comunidad vegetal (Bramwell, 1976) y la existencia de una interacción rata salvaje-*P. indica* con efectos de intoxicación (conocimiento popular) nos llevó a investigar los componentes activos de esta planta.

Persea indica

De acuerdo con las observaciones de campo, el extracto de ésta planta producía una intoxicación aguda en ratones de laboratorio con resultado de muerte. El estudio biodirigido de este extracto nos llevó al aislamiento de los compuestos responsables: ryanodol (1) y cinnceylanol (3) (González-Coloma et al., 1990), ryanodanos diterpénicos de estructura similar a la ryanodina (10), un insecticida natural, por lo que investigamos el potencial insecticida de ésta planta (Tabla 1), resultando en el aislamiento de las estructuras 1-9 (González-Coloma et al., 1996; Fraga et al., 1997; Fraga et al., 2001).

Ryanodina (10) es un éster del ryanodol (1), de potente acción insecticida. Su toxicidad en mamíferos se debe a su interacción con los canales de Ca^{2+} (receptor Ca^{2+} -ryanodina, ryr) en mamíferos (Pessah et al., 1985) e insectos (Lehmborg y Casida, 1994). Sin embargo, la toxicidad del ryanodol (1) y compuestos relacionados es mucho menor en mamíferos (Tabla 2), lo que sugiere una cierta selectividad de acción sobre insectos. Estudios recientes han demostrado que el ryanodol y compuestos relacionados (1-9) tienen una mayor acción insecticida que la ryanodina y derivados (10-18) (Tabla 3) (González-Coloma et al., 1999), apoyando la hipótesis anterior. Por todo ello, la *P. indica* es un recurso químico de gran valor añadido ya que es la única fuente natural conocida de ryanodolol y derivados estructurales.

Sin embargo, éstas moléculas de interés presentan estructuras complejas difíciles de sintetizar. Además, *P. indica* es una planta protegida de gran valor biológico, lo que hace necesario buscar alternativas sostenibles para la obtención de los productos activos. Entre éstas está la adaptación al cultivo de la especie de interés y/o el cultivo en medios artificiales. El cultivo "in vitro" de *P. indica* presenta un grado considerable de dificultad (Díaz et al., resultados sin publicar), por lo que la silvicultura y el cultivo aeropónico son las alternativas más prometedoras. En este sentido, el estudio cuantitativo del contenido en ryanodol (1) de dos poblaciones de *P. indica* del Parque Nacional de Garajonay (La Gomera) demostró que sus niveles están determinados genéticamente, siendo la acumulación de 1 mucho mayor en los tallos que en las hojas, donde abundan los compuestos fenólicos (Tabla 4) (González-Coloma et al., 1993). Actualmente estamos estudiando el contenido en ryanodanos de las raíces y parte aérea de *P. indica* cultivada en condiciones aeropónicas.

Zona de matorrales termófilos (200-800 m) y bosque de pinares (700-1800 m)

En estas zonas subalpinas (450-1800 m) se incluye la zona de transición entre la zona arbustiva xerofítica inferior, el monte de Laurisilva y el bosque propiamente dicho. Este bosque endémico

de Canarias de *Pinus canariensis*, es una formación abierta con especies arbustivas. En esta zona, tanto en el sotobosque como en las paredes rocosas, se encuentran diversas especies endémicas del género *Echium* (Boraginaceae), *Senecio* (Compositae) y *Salvia* (Lamiaceae) (Bramwell y Bramwell, 1990); arbustos anuales y/o perennes que nos interesaron en un principio por pertenecer a familias caracterizada por su contenido en alcaloides pirrolizidínicos, triterpenos, diterpenos, sesquiterpenos y lactonas sesquiterpénicas de interés biológico.

Salvia broussonetii

Una de las especies que crece endémicamente en la zona subalpina inferior, en los terrenos más antiguos de la Isla de Tenerife, es *Salvia broussonetii* Benth. (Lamiaceae). Fitoquímicamente se caracteriza por su abundante contenido en triterpenos pentacíclicos, dos de los cuales el anagadiol y el nivadiol se obtuvieron por primera vez de esta especie (González et al., 1971, 1972). El interés de esta planta y su extrema escasez nos ha llevado a realizar el cultivo "in vitro" de raíces, transformadas por *Agrobacterium rhizogenes*, de *S. broussonetii*. De estas raíces se han aislado los diterpenos 19-23, cuyas actividades se muestran en la Tabla 5, y no se ha detectado la presencia de triterpenos (Díaz et al., en prensa). Entre los compuestos fagorepelentes se encuentra el desmetilsalvicanol (20). Este diterpeno con esqueleto de deshidroabietano reagrupado no se había obtenido del estudio de la parte aérea de esta planta, aunque si se había aislado anteriormente de la parte aérea del endemismo canario *Salvia canariensis* junto con el correspondiente alcohol salvicanol (Fraga et al., 1986; González et al., 1991). Un aspecto muy interesante de la actividad citotóxica de éstos compuestos (sobre todo 20-22) frente a células Sf9 de insecto es su acción selectiva ya que no presentaron citotoxicidad alguna frente a células CHO de mamífero (Tabla 5) (Díaz et al., en prensa).

Echium wildpretii

El género *Echium* L. (Boraginaceae) se encuentra representado por cerca de 57 especies, de las cuales 27 son endémicas de las Islas Canarias, Madeira y el archipiélago de Cabo Verde; mientras que el resto se encuentra distribuido en las floras circummediterráneas del oeste de Asia (Bhole et al., 1996). Entre ellas existe un endemismo estricto teniendo en cuenta dos aspectos fundamentales. En primer lugar, ninguna de las especies de las islas se encuentra de forma natural en las floras continentales y viceversa. En segundo lugar, todas las que habitan en las islas (excepto *E. bommetii* y *E. pitardii*) son leñosas (perennes); mientras que las que habitan en los continentes son herbáceas (perennes o anuales) (Bhole, et al., 1996). Se propone que las especies insulares actuales descienden de ancestros continentales que colonizaron las islas. La gran divergencia genética

encontrada entre las especies de las Islas Canarias, sugiere que el proceso de diversificación inicial ocurrió en este archipiélago (Bhole, *et al.*, 1996). Esto explicaría la amplia representación de este género en las canarias con un total de 24 especies distribuidas por todas las islas.

La ausencia de estudios fitoquímicos y el valor como planta melífera y ornamental nos llevaron a seleccionar el *E. wildpretii* como objeto de estudio. En la Tabla 6 se muestran los resultados de la actividad insecticida del extracto etanólico de *E. wildpretii*. El estudio de las fracciones fagorepelentes frente a *Leptinotarsa decemlineata* resultó en el aislamiento de un triterpeno pentacíclico (24), esteroides (33, 34, 35) y un alcaloide pirrolizidínico (44).

Los triterpenos pentacíclicos constituyen uno de los grupos de productos naturales más abundantes, a los que se les atribuye una amplia gama de actividades biológicas. El hecho de que se haya descrito la presencia de glutinol (24) y derivados estructurales en ceras superficiales algunas compuestas (*Senecio* y *Kalanchoe* spp.) (Siems *et al.*, 1995) junto con su actividad antialimentaria nos hace pensar que juegan un papel defensivo en las plantas.

El estudio comparativo de sus relaciones estructura-actividad (Tabla 7) puso de manifiesto que la presencia de un sustituyente - β OH (24, 25, 28, 29), y =O (26) en C-3 determina la actividad repelente de estas moléculas frente a *L. decemlineata* en ausencia de una insaturación en el anillo E (32), ya que en todos los casos ensayados, la acetilación en C-3 supuso un descenso drástico de la actividad. β -amirina (29) resultó tóxico frente a *L. decemlineata* (Tabla 7) y ninguno de estos compuestos resultó tóxico frente a *S. littoralis*.

En resumen:

el glutinol (24) de *E. wildpretii* y los triterpenos estudiados aquí son moléculas capaces de interactuar con los receptores implicados en la regulación del gusto de *L. decemlineata* con un elevado grado de especificidad estructural. Además su abundancia en la naturaleza y el hecho de no presentar toxicidad hacen de éstas moléculas modelos interesantes de aplicación en programas de desarrollo de agroquímicos naturales específicos.

El estudio de la fracción esteroideal de *E. wildpretii* resultó en el aislamiento de β -sitosterol (33), 7α -hidroxisitosterol (34) y 7α -metoxisitosterol (35). Con el objetivo de estudiar sus relaciones estructura-actividad, se preparó el acetato de 3β -hidroxi-6-oxo-estigmastano (36) a partir de una muestra comercial de 33. Los esteroides 34 y 35 inhibieron significativamente la alimentación de *L. decemlineata*, mientras que 33 y 36 resultaron inactivos (Tabla 8). Ninguno de estos

compuestos resultó tóxico para *L. decemlineata* ó *S. littoralis*.

En organismos eucariotas, los esteroides juegan un papel muy importante como componentes estructurales de las membranas y como precursores de hormonas esteroidales (Behmer and Elías, 1999; Behmer *et al.*, 1999), sin embargo, esta es la primera descripción del efecto antialimentario de 34 y 35 frente a *L. decemlineata*.

Del estudio de sus relaciones estructura-actividad deducimos que la presencia en la molécula de β -sitosterol (33) de un sustituyente oxigenado en C-7 (α -OH, 34 y/o α -OMe, 35) determina la actividad repelente de estas moléculas, con una reducción de la alimentación más significativa en el caso del grupo metoxilo.

Los insectos son incapaces de sintetizar el núcleo esteroideal por lo que dependen de una fuente exógena de esteroides que normalmente proceden de la dieta o de simbiontes. Utilizan la mayoría de los Δ^5 esteroides y algunos Δ^7 esteroides como materia prima en la síntesis de colesterol el cual, además de ser un componente esencial en las membranas de las células animales, es el precursor de la hormona de la muda (20-OH ecdisona) (Behmer and Elías, 1999; Behmer *et al.*, 1999). Esta dependencia implica que los fitosteroides sean componentes básicos de la dieta de los insectos herbívoros. Sin embargo, existen pocas referencias respecto a la presencia de esteroides antialimentarios en plantas. En este sentido, Champagne and Bernays (1991) sugieren un mecanismo post-ingestivo en el reconocimiento de los fitosteroides útiles por *Schistocerca americana*, actuando sobre los centros neuronales que regulan la alimentación.

Sin embargo, la actividad antialimentaria de los compuestos 34 y 35 (fitosteroides útiles por ser de esqueleto Δ^5) frente a *L. decemlineata* junto con la ausencia de efectos tóxicos y post-ingestivos nos hace pensar en la quimiorrección preingestiva como mecanismo de detección de éstos compuestos.

En conclusión, se han aislado dos fitosteroides activos de *E. wildpretii* cuya acción depende del sustituyente oxigenado en C-7 con elevada especificidad de acción y baja toxicidad.

Alcaloides pirrolizidínicos (PAs). En la Tabla 9 se muestra comparativamente la actividad antialimentaria de la equimidina (44), aislada de *E. wildpretii*, junto a varios PAs (37-49) sobre *L. decemlineata* (no incluye en su dieta PAs) y *S. littoralis* (incluye en su dieta plantas con PAs).

El estudio comparativo de la actividad de PAs pertenecientes a varias clases químicas demostró que entre los diésteres macrocíclicos (retrosina, 37; monocrotalina, 38; senecionina, 39; integerrimina, 40, su N-óxido, 41 y spartioidina, 42), cuatro de los seis compuestos (39-42) disminuyeron de forma significativa la alimentación de *L. decemlineata*. Además, 42 resultó ser un repelente efectivo de *S. littoralis*. El diéster secopirrolizidínico otosenina (43) inhibió moderadamente la alimentación de *S. littoralis* sin afectar

el comportamiento del escarabajo. La equimidina (44) (diéster de cadena abierta) mostró una fuerte actividad antialimentaria frente a *L. decemlineata*. Sin embargo, entre los monoésteres insaturados (licopsamina, 45; europina, 46 y supinina, 47), 47 afectó al escarabajo, mientras que todos ellos tuvieron efectos moderados sobre *S. littoralis*. Entre los monoésteres saturados (3'acetiltraquelantamina, 48 y floridina, 49), 48 inhibió significativamente la alimentación de *L. decemlineata* con una potencia de acción (EC_{50}) similar a la equimidina (44) (Tabla 9).

Nuestros resultados indican que la actividad antialimentaria de los PAs estudiados depende de su estructura química y de la especie de insecto diana, siendo *S. littoralis* menos sensible en general a los efectos de estos compuestos que *L. decemlineata*, de acuerdo con sus adaptaciones tróficas.

Muchas especies de insectos han desarrollado adaptaciones para secuestrar, acumular y utilizar los PAs de las plantas contra otros insectos predadores o como señales químicas (referencias en González-Coloma et al., 2002b). En las plantas, los PAs se han propuesto como defensa (fagorepelentes y antialimentarios) contra insectos herbívoros generalistas (ver González-Coloma et al., 2002b). Sin embargo, se conoce muy poco acerca de los mecanismos moleculares que intervienen en la interacción entre estos compuestos y los posibles receptores químicos reguladores del gusto en insectos.

Estudios recientes han demostrado que PAs como equimidina, monocrotalina y senecionina son capaces de unirse a receptores muscarínicos y de serotonina lo que sugiere que podrían interferir con señales neuronales, actividad del SNC y posible actividad muscular (ver González-Coloma et al., 2002b). Por tanto, la interacción de los PAs con neuroreceptores y su influencia en las señales de trasducción (apertura y cierre de canales iónicos) podría estar implicada en sus efectos antialimentarios.

Senecio palmensis

El *Senecio palmensis* (Chr Sm.) (*Compositae*) es un arbusto endémico de las islas de Tenerife y La Palma que crece en barrancos a una altitud entre 650 y 2000 (Bramwell y Bramwell, 1990). Esta planta contiene compuestos repelentes e insecticidas de acción selectiva, muy activos frente al escarabajo de la patata (*L. decemlineata*). Estos compuestos se identificaron como sesquiterpenos con esqueletos bisabolano (60) caryophileno (61), humuladieno (62) y silfineno (50-57, 63-73) (González-Coloma et al., 1995, 1997; 2002a; Reina et al., 2002).

En las Tablas 10 y 11 se muestran las actividades fagorepentes de los sesquiterpenos 50-72 frente a dos especies de insectos masticadores y cinco de pulgones con adaptaciones tróficas distintas (desde polifagos hasta especialistas). En general, los silfinenos sustituidos en C-5 y C-11 (Tabla 10) son más activos que los sustituidos en

C-5 (Tabla 11). Entre las especies diana, *L. decemlineata* es la más sensible de los masticadores, mientras que la sensibilidad de los pulgones sigue el gradiente de sus adaptaciones tróficas. Otro dato importante es el hecho de que todas las especies respondieron a algunos de los silfinenos probados, lo que sugiere un mecanismo de reconocimiento molecular similar entre especies divergentes de insectos.

En este estudio se incluyeron dos inhibidores de receptores GABA conocidos, picrotoxina y thymol, resultando también activos (Tablas 10 y 11), lo que apoya la hipótesis de Mullin et al (1994) que propone la mediación de receptores GABA en el gusto de insectos. Es más, experimentos recientes han demostrado que los silfinenos 50 y 51 inhiben receptores GABA de neurona de mamífero con mayor efectividad que la picrotoxina (Bloomquist, 2001).

La Tabla 12 muestra las relaciones estructura-actividad establecidas para los silfinenos de *S. palmensis* frente a *L. decemlineata* y *D. noxia*, las dos especies más sensibles a éstos compuestos. De este estudio se desprende que la acetilación en C-11 es el requerimiento estructural más notable, y que esto junto con la presencia de un sustituyente isobutirato en C-5 aumenta la actividad sobre *L. decemlineata* en 10 veces, lo que sugiere una gran especificidad molecular sobre éste insecto (González-Coloma et al., 2002a; Reina et al., 2002).

La elevada potencia de la acción fagorepente de éstos compuestos, raros en la naturaleza, junto con su actividad potencial sobre receptores GABA hace que *S. palmensis* sea un recurso natural de gran valor añadido. Actualmente estamos evaluando la producción de metabolitos de interés en raíces de *S. palmensis* cultivado "in vitro" y aeropónicamente.

Conclusiones

Los recursos naturales son una fuente de riqueza cuya conservación, en muchos casos, está en conflicto con el desarrollo. Esta problemática está adquiriendo dimensiones dramáticas en algunas zonas del planeta. La conservación y la gestión sostenible de los mismos son denominadores comunes para una problemática de carácter universal. Una de las alternativas a la destrucción de los recursos es proporcionarles un valor añadido que prime la conservación y/o gestión sostenible de los mismos. Estos resultados ponen de manifiesto, con unos pocos ejemplos, el gran valor añadido que representa la biodiversidad botánica que poseen las Islas Canarias, dado el amplio abanico de aplicaciones potenciales que presentan sus recursos botánicos.

Agradecimientos: Los trabajos en los que se ha basado la redacción de esta ponencia han sido subvencionados por la Consejería de Educación, Cultura y Deportes del Gobierno de Canarias (PI91/17, 13/95, 1999/076), DGICYT (PB940020,

PB97-1226) y OTAN: Collaborative Res. Grant (CRG950822).

Referencias

- Behmer S.T., Elias, D.O. (1999). The nutritional significance of sterol metabolic constraints in the generalist grasshopper *Schistocerca americana*. *J. Insect Physiol.*, 45, 339-348.
- Behmer S.T., Elias, D.O., Grebenok, J.R. (1999) Phytosterol metabolism and absorption in the generalist grasshopper, *Schistocerca americana* (Orthoptera: Acrididae). *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 42, 13-25.
- Bohle, U.R., Hilger H.H., Martis, W.F. (1996). Island colonization and evolution of the insular booby habit in *Echium* L. (Boraginaceae). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93, 11740-11745.
- Bloomquist J.R. (2001). GABA and Glutamate receptors as biochemical sites for insecticide action, pp. 17-41 in: I. Ishaaya (ed.), *Biochemical Sites of Insecticide Action and Resistance*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg.
- Bramwell D. (1976) The endemic flora of the Canary Islands. Distribution, relationships and phytogeography. Pp. 207-240 en: *Biogeography and Ecology of the Canary Islands*. G.Kunkel Publ., The Hague.
- Bramwell D. and Bramwell Z.I. (1990). Flores Silvestres de las islas Canarias. Ed. Rueda S.L., Madrid.
- Champagne, D.E., Bernays, E.A. (1991). Phytosterols unsuitability as a factor mediating food aversion learning in the grasshopper *Schistocerca americana*. *Physiol. Entomol.*, 16, 391-400.
- Díaz, C.E., Fraga, B.M., Guadaño, A., González-Coloma, A. Diterpenes from *Salvia broussoneti* "in vitro" cultured roots and their insecticidal activity. *Phytochemistry*. (in press).
- Fraga, B.M., González, A.G., Herrera, J.R., Luis, J.G. y Ravelo, A.G. (1986). Diterpenes from the roots of *Salvia canariensis*. *Phytochemistry* 25, 269-271
- Fraga B.M., González-Coloma A., Gutiérrez C. and Terrero D. (1997) Insect antifeedant isoryanodane diterpenes from *Persea Indica*. *J. Nat. Prod.* 60: 880-883.
- Fraga B.M., Terrero D., Gutiérrez C. and González-Coloma A. (2001). Minor diterpenes from *Persea indica*. Their antifeedant activity. *Phytochemistry*, 57: 761-770.
- González, A.G., Bretón, J.L. y Fraga, B.M. (1971). Anagadiol, a new triterpene from *Salvia broussonetti*. *Chem. Commun.* 567-568.
- González, A.G., Bretón, J.L. y Fraga, B.M. (1972). Nivadiol, un nuevo triterpeno de la *Salvia broussonetti*. *Anal. Quim.* 68, 709-722.
- González, A.G., Andres, L.S., Luis, J.G., Brito, I. and Rodríguez, M.L. (1991). Diterpenes from *Salvia mellifera* *Phytochemistry* 30, 4067-4070.
- González-Coloma A., Hernandez M.G., Perales A. and Fraga B.M. (1990). Chemical ecology of the Canarian Laurel Forest: Toxic diterpenes from the tree *Persea indica* (Lauraceae) *J. Chem. Ecol.* 16: 2723-2733
- González-Coloma A., Cabrera R., Castañera P., Gutiérrez C. and Fraga B.M. (1992). Insecticidal activity and diterpene content of *Persea indica*. *Phytochemistry* 31:1549-1552
- González-Coloma A., Cabrera R., Socorro-Monzón A.R. and Fraga B.M. (1993). *Persea indica* as natural source of the insecticide ryanodol. *Phytochemistry* 34: 397-401
- González-Coloma A., Escoubas P., Reina M. and Mizutani J. (1994). Antifeedant and insecticidal activity of endemic canarian Lauraceae. *Appl. Zool. Entomol.* 29: 292-296
- González-Coloma A., Cabrera R., Castañera P. and Gutiérrez C. (1995). Antifeedant and toxic effects of sesquiterpenes from *Senecio Palmensis* to Colorado potato beetle. *J. Chem. Ecol.* 21 1255-1270.
- González-Coloma A., Terrero D., Perales A., Escoubas P. and Fraga B.M. (1996). Insect antifeedant Ryanodane diterpenes from *Persea indica*. *J. Agric. Food Chem.* 44: 296-300.
- González-Coloma A., Gutiérrez C., Cabrera R. and Reina M. (1997). Silphinene derivatives. Their effects and modes of action on Colorado potato beetle. *J. Agric. Food Chem.* 45: 946-950.
- González-Coloma A., Gutiérrez C., Hübner H., Achenbach H., Terrero D. y Fraga B. M. (1999) A. Selective insect antifeedant and toxic action of ryanoid diterpenes. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4419-4424.
- González-Coloma A., Gutiérrez, C., Cabrera R., Reina, Díez C.E. y Fraga B.M. (2001). Agroquímicos Naturales de Endemismos Canarias. Un valor añadido a la Biodiversidad. En: *Interacciones Químicas entre Organismos: Aspectos Básicos y Perspectivas de Aplicación*. A. L. Anaya, R. Cruz-Ortega y F.J. Espinosa-García (Eds.). UNAM Plaza y Valdés, México. Pp. 581-605.
- González-Coloma A., F. Valencia, N. Martín, J.J. Hoffmann, L. Hutter J.A. Marco and M. Reina. (2002a). Silphinene sesquiterpenes as model insect antifeedants *J. Chem. Ecol.* 28:117-129.
- González-Coloma A., Reina M., Gutiérrez C., Fraga B.M. (2002b). Natural Insecticides: Structure Diversity, Effects and Structure-Activity Relationships. A Case Study. En: *Studies in Natural Products Chemistry. Bioactive Natural products*. Vol. 26, Atta-Ur-Rahman (Ed). Elsevier Amsterdam. Pp.849-879.
- Lehmberg E. and Casida J.E. (1994). Similarity of insect and mammalian ryanodine binding sites. *Pestic. Biochem. Physiol.* 48: 145-152.
- Mullin, C.A., Chyb, S., Eichenseer H., Hollister B., and Frazier, J.L. (1994). Neuroreceptor mechanisms in insect gustation: A pharmacological approach. *J. Insect Physiol.* 40:913-931
- Mullin C., González-Coloma A., Gutiérrez C., Reina M., Eichenseer H., Hollister B. and Chyb S. (1997). Antifeedant effects of some novel terpenoids on Chrysomelidae beetles: Comparisons with alkaloids on an alkaloid-adapted and non-adapted species. *J. Chem. Ecol.* 23: 1851-1865.
- Pessah, J.N., Waterhouse, A.L., and Casida J.E. (1985). The calcium-ryanodine receptor complex of skeletal and cardiac muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 128: 449-456.
- Reina, M., Mericli A.H., Cabrera R. and González-Coloma A. (1995). Pyrrolizidine alkaloids from *Heliotropium bovei*. *Phytochemistry*. 38: 355-358.
- Reina M., González-Coloma A., Gutiérrez C., Cabrera R., Henríquez J. and Villarroel L. (1997). Bioactive saturated pyrrolizidine alkaloids from *Heliotropium floridum*. *Phytochemistry* 46: 845-853.
- Reina M., González-Coloma A., Gutiérrez C., Cabrera R., Henríquez J. and Villarroel L. (1998). Pyrrolizidine alkaloids from *Heliotropium megalanthum*. *J. Nat. Prod.* 61:1418-1420.
- Reina, M., González-Coloma A., Gutiérrez C., Cabrera R., Rodríguez M. L., Villarroel L. and Fajardo V (2001). A Defensive chemistry of *Senecio miser* Hook. *J. Nat. Prod.* 64: 6-11
- Reina, M., Nold; M. Orihuela, J.C., Santana, O., Gonzalez-Coloma, A. (2002). C-5 substituted antifeedant silphinene sesquiterpenes from *Senecio palmensis*. *J. Nat. Prod.* 65: (en prensa).
- Santana O. (2000). Estudio fitoquímico y biológico de endemismos canarios: *Echium wildpretii* subsp. *wildpretii* Pears & Hook (Boraginaceae).

Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Madrid.
Siems, K., Gerhard, J., Arriaga-Giner F.J. (1995) .On the chemical nature of epicuticular waxes in

some succulent *Kalanchoe* and *Senecio* species. *Z. Naturforsch.* 50, 451-454.

Tabla 1. Antifeedant and growth inhibition effects of *P. indica* ethanolic extract on several insect species (González-Coloma et al., 2001).

Insect Family	Insect species	FI/SI ¹ (100µg/cm ²)	% Growth inhibition ²
Lepidoptera	<i>S. litura</i>	100	26
	<i>S. littoralis</i>	100	83
	<i>M. fortunata</i>	-	25
	<i>H. armigera</i>	-	43
Coleoptera	<i>L. decemlineata</i>	93	-
Homoptera	<i>M. persicae</i>	47	-

¹%FI/%SI= [1-(T/C)]x100, where T= consumption/settling of treated disks and C = consumption /settling of control disks.

² Larval growth inhibition observed in diet-incorporation bioassays (n=20, 0.1%w/wt)

Tabla 2. Mammalian toxicity (mouse) of the major diterpenentifeedants.

Compound	LD ₅₀ ^a (mg/Kg)
Cinnzeylanol (3)	11.988 ^b
Ryanodol (1)	17.918 ^b
cinnzeylanone (6)	>25.0
ryanodine (10)	0.1 ^b

^a Effective dose to give a 50% mortality (Probit analysis). ^b From González-Coloma et al. (1990).

Tabla 3. Average antifeedant effect (%FI) ± standard error, and effective antifeedant doses (EC₅₀) of the test compounds against *S. littoralis* sixth-instar (L6) larvae and *L. decemlineata* adults in choice assays González-Coloma et al., 1999).

Compound	<i>S. littoralis</i>		<i>L. decemlineata</i>	
	FR(%) ¹ (10 µg/cm ²)	EC ₅₀ (95% CL) ² (nmol/cm ²)	FR(%) ¹ (10 µg/cm ²)	EC ₅₀ (95% CL) ² (nmol/cm ²)
1	87.54±10.81	0.52 (0.25,1.07)	37.08±13.57	-
2	90.84±10.81	0.63 (0.09,4.41)	78.20±18.08	0.57 (0.03,9.77)
3	96.93±10.81	3.17 (0.78,13.02)	61.27±11.05 ⁴	-
4	100.00±10.81	0.01 (3.0x10 ⁻³ , 7.0x10 ⁻³)	42.24±13.98 ⁴	-
5	85.94±10.81	5.9x10 ⁻³ (5.7x10 ⁻⁴ , 0.13)	70.49±14.05	1.87 (0.82,26.30)
6	89.11±10.81	1.46 (0.21,10.21)	80.16±13.31 ⁴	0.22 (0.01,2.88)
7	72.87±10.81	3.75 (0.35,38.37)	55.59±13.57	n.a.
8	89.03±10.81	0.44 (0.18,1.12)	74.46±13.03	0.63 (0.12,3.31)
9	85.54±10.81	8.48 (2.38,30.44)	29.83±13.57	-
10	84.89±10.81	0.93 (0.42,1.96)	54.82±9.42 ⁴	0.77 (0.25,3.71)
12	57.23±10.81	-	57.37±13.57 ⁴	n.a.
13	58.87±10.81	-	46.76±13.57	-
14	84.70±10.81	1.27 (0.33,4.91)	76.30±13.57	n.a.
15	43.10±10.81	-	28.53±13.57	-
16	n.a.	n.a.	15.78±13.57	-
17	85.72±10.81	2.72 (9.15,28.00)	30.53±17.52	-
18	33.67±12.09.	-	32.19±13.57	-
AZA	-	0.7X10 ⁻⁶ (0.3X10 ⁻⁸ , 1X10 ⁻⁴)	-	-
SILPH ³	-	-	-	0.72 (0.42,1.23)

¹%FI as in table 1 ² Effective dose (EC₅₀, dose needed to produce a 50% feeding inhibition) and 95% Confidence limits (lower, upper). ³From [32]. ⁴Knock-down-like effects at 10 µg/cm² (%FI values for 2 µg/cm²). na, not enough compound available.

Tabla 4. Contenido promedio (\pm SE) en nitrógeno, ryanodol (1) y fenoles totales de hojas de 5 individuos de *P indica*, sus tallos y valores de la proporción hoja:tallo (González-Coloma et al., 1993).

Variable	Medias \pm SE		Proporción
	Hojas	Tallos	Hojas:Tallos
Nitrogeno (%)	1.85 \pm 0.08	0.90 \pm 0.04	2.05 \pm 0.05
Ryanodol (mg/gdwt)	0.41 \pm 0.09	1.74 \pm 0.39	0.24 \pm 0.03
Fenoles (mg/gdwt)	44.63 \pm 6.43	17.03 \pm 3.30	2.62 \pm 0.83

Tabla 5. Effective Antifeedant Doses (EC₅₀ and 95% Confidence Limits), and Mortality (72 h, data corrected according to Abbot, 1925) of *S. brousoneti* Compounds on *S. littoralis* L6 Larvae, and Adult *L. decemlineata*. Cyotoxic Effects on SF9 and CHO Cells (LD₅₀ and 95% Confidence Limits) (Díaz et al., en prensa).

Compound	<i>L. decemlineata</i>		<i>S. littoralis</i>	LD ₅₀ (μ g/ml)	
	EC ₅₀ (μ g/cm ²)	% Mortality (72 h)	% Mortality (72 h)	SF9	CHO
19	>100	7	na ^a	19.97 (14.09, 28.30)	50.64 (34.94, 73.40)
20	10.2 (4.8, 22.2)	14	10	0.15 (0.07, 0.36)	>100
21	1.8 (0.5, 6.6)	29	0	0.45 (0.29, 0.69)	>100
22	>100	0	5	0.98 (0.80, 1.21)	>100
23	>100	43*	0	0.64 (0.38, 1.08)	36.03 (20.74, 62.60)

*Significantly different from the control, P<0.05, contingency table analysis.

^ana, insufficient compound available.**Tabla 6.** Actividad del extracto etanólico y alcaloidal de *E. wildpreti* frente a diferentes insectos-plaga en ensayos de dos vías (Santana, 2000).

Extracto	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	<i>Myzus persicae</i>
	%FR ^a (100 μ g/cm ²)	%FR ^a (100 μ g/cm ²)	%SI ^b (100 μ g/cm ²)
Etanólico	78.38	<50	71.72
Alcaloidal	95.7	<50	>50

^aPorcentaje de inhibición de la alimentación^bPorcentaje de inhibición del asentamiento**Tabla 7** Actividad fagorrepelente (dosis efectivas de inhibición de la alimentación, EC₅₀, 95% límites de confianza inferior y superior) del glutinol (24) y los triterpenos 25-32 sobre *L. decemlineata* en ensayos de dos vías. Efectos tóxicos sobre *L. decemlineata* (inyección abdominal, 10 μ g/insecto) y *S. littoralis* (canulación oral, 20 μ g/larva) (Santana, 2000).

Compuesto	<i>L. decemlineata</i>		<i>S. littoralis</i>	
	EC ₅₀ (μ g/cm ²)	% Mortalidad ^a	RCR ^b	RGR ^c
24 (glutinol)	0.69 (0.34, 1.41)	27	105.30	126.88
25 (taganol)	2.04 (0.47, 8.93)	14	87.44	88.98
26 (taganona)	3.18 (0.86, 11.67)	6	89.24	69.52
27 (Ac-taganol)	>100	0	n.e.	n.e.
28 (β -amirina)	0.76 (0.20, 2.83)	60*	91.9	80.7
29 (uvaol)	0.20 (0.02, 1.71)	32	100	97.83
30 (Ac- β -amirina)	>100	0	111.24	101.69
31 (Ac-uvaol)	>100	0	117.2	120.70
32 (anagadiol)	>100	0	90.57	71.65

^a72 h, Corregida según Abbot (1925)^bConsumo relativo expresado como % del control (RCR=I/(BI)xT, donde I=mg de alimento consumido, T= periodo de alimentación en días, BI=peso inicial del insecto en mg)^cCrecimiento relativo expresado como % del control (RGR= Δ B/(BI)xT, donde Δ B=variación del peso del insecto en mg)

*Indica diferencias significativas respecto al control. LSD test (p<0.05)

ne, no ensayado.

Tabla 8. Actividad antialimentaria (dosis efectivas, EC₅₀ y límites de confianza del 95% inferior y superior,) de los compuestos 33-36 frente a *L. decemlineata* en ensayos de dos vías (Santana, 2000).

Producto	EC ₅₀ (μ g/cm ²)
33	>100
34	7.63 (3.49, 16.7)
35	0.39 (0.05, 2.86)
36	>100

Tabla 9. Comparative antifeedant effects of PAs on two divergent insect species, a generalist lepidopteran (*S. littoralis*, PA adapted) and a semi-specialist coleopteran (*L. decemlineata*, not adapted to PAs) (González-Coloma et al., 2002b)

Chemical class	Compound	Source	Antifeedant effects	
			S. littoralis.	L. decemlineata.
			EC ₅₀ (µg/cm ²)	
Macrocyclic diester	37 (retrorsine)	<i>S. microphyllus</i> ¹	>50	>50
	38(monocrotaline)	Aldrich	>50	>50
	39 (senecionine)	<i>S. erraticus</i> ¹	>50	1.3 (0.2,7.9)
	40 (integerrimine)	<i>S. miser</i> ²	>100	3.4 (1.28, 9.05)
	41 (40 N-oxide)	<i>S. miser</i> ²	~50	5.3 (2.80, 9.70)
	42 (spartioidina)	<i>P. multiflorum</i> ³	0.2 (0.08, 0.81)	4.8 (1.34, 17.61)
Secopirrolizidinic diester	43 (otosenine)	<i>S. glaber</i> ¹	13.2 (5.7,30.7)	>50
Open diester	44 (echimidine)	<i>E. wildpretti</i> ⁴	>50	1.4 (0.8,2.1)
Unsaturated monoester	45 (lycopsamine)	<i>H. megalantum</i> ⁵	31.6 (27.7,35.9)	>100
	46 (europine)	<i>H. bovei</i> ⁶	~50	>50
	47 (supinine)	<i>H. sinuatum</i> ³	~35	20.5 (8.2,51.5)
Saturated monoester	48 (3 -acetyltrach.)	<i>H. floridum</i> ⁷	>50	1.8 (0.9,3.4)
	49 (floridimine)	<i>H. floridum</i> ⁷	>50	>50

¹ Reina et al., (1993)²Reina et al, (2001)³Unpublished results⁴Santana (2000)⁵ Reina et al., (1999)⁶Reina et al., (1995)⁷Reina et al., (1997)**Tabla 10.** Antifeedant effects of *S. palmensis* ethanolic extract on several insect species (González-Coloma et al., 2001).

Insect species	FI ¹ choice	FI ¹ no-choice	%C ²	%T ²
<i>S. littoralis</i>	19		-	
<i>L. decemlineata</i>	85	70		-
<i>M. persicae</i>		-	61	39*

¹%FI/%SI= [1-(T/C)]x100, where T= consumption/settling of treated disks and C = consumption /settling of control disks.

Tabla 11. Effective Antifeedant Doses (EC₅₀) and 95% Confidence Limits (Lower, Upper) of the Test Compounds on *S. littoralis* L6 Larvae, Adult *L. decemlineata* and Five Species of Apterous Adult Aphids (González-Coloma et al., 2002)

Compound	EC ₅₀ (nmol/cm ²) (95% CL)						
	<i>S. littoralis</i>	<i>L. decemlineata</i>	<i>M. persicae</i>	<i>R. padi</i>	<i>S. avenae</i>	<i>M. dirhodum</i>	<i>D. noxia</i>
1	>140	0.8 (0.4,1.2)	>150	>150	>150	>150	31.4 (16.3,60.4)
2	>200	0.17 (0.04,0.6)	na	na	na	na	>120
3	~100	0.08 (0.03,0.3)	29.3 (9.7,87.9)	~100	13.7 (6.6,28.5)	35.8 (12.9,99.4)	8.0(4.8,13.3)
4	>150	21.6 (7.4,62.6)	>150	>150	>150	>150	38.8 (25.0,61.1)
5	>200	4.8 (1.5,15.3)	~100	>200	59.6 (3.6,110.4)	>200	>200
6	38.6 (12.3,121.8)	1.0 (0.4,2.5)	>150	>150	>150	>150	~100
7 \	>140	5.6 (2.3,11.5)	>150	>150	>150	na	~140
8	42.4 (17.05,106.0)	>100	na	na	na	na	>200
9	na	19.5 (12.2,31.2)	na	na	na	na	47.5 (26.7,84.5)
10	na	23.7 (11.4,49.6)	na	na	na	na	na
Picrotoxinin	>150	27.5 (9.4,80.1)	>100	>100	>100	53.1 (31.8,88.6)	16.2 (6.6,39.4)
Thymol	>300	3.6 (1.1,12.9)	30.9 (20.8, 45.9)	23.7 (15.4, 36.6)	34.9 (26.1,59.9)	32.0 (22.3,45.8)	6.4 (3.6,11.1)
Farnesol	>200	107.3 (59.9,192.6)	67.1(54.5,82.4)	7.9 (5.2,11.9)	13.1 (8.1,21.2)	3.7 (1.6,8.5)	0.2 (0.02,1.4)

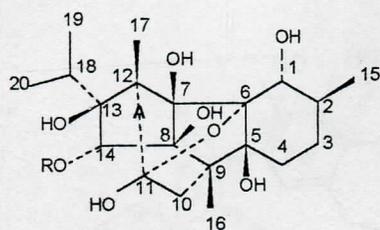
Tabla 12. Effective Antifeedant Doses (EC₅₀) and 95% Confidence Limits (Lower, Upper) of the Test Compounds on *S. littoralis* L6 Larvae, Adult *L. decemlineata* and Five Species of Apterous Adult Aphids (Reina et al., 2002).

Compound	EC ₅₀ (95% CL) (nmol/cm ²)						
	<i>S. littoralis</i>	<i>L. decemlineata</i>	<i>M. persicae</i>	<i>R. padi</i>	<i>S. avenae</i>	<i>M. dirhodum</i>	<i>D. noxia</i>
1	>200	66.5 (16.1, 274.5)	92.2 (74.5, 114.1)	110.0 (81.8, 147.5)	84.4 (38.5, 86.8)	57.8 (38.5, 86.8)	14.9 (9.9, 22.2)
2	159.1 (48.6, 523.2)	>200	>500	43.3 (23.7, 79.1)	>200	70.5 (43.7, 113.6)	38.4 (22.9, 64.3)
3	>200	28.7 (9.0, 92.0)	>200	>200	>200	>200	>180
4	>200	>150	>200	~190	31.6(25.3, 41.7)	>150	>150
5	>100	6.3 (1.0, 38.2)	>180	>400	na ^a		>100
6	>200	2.81 (1.1, 7.1)	>500	>200	>200	~180	57.4 (8.6, 85.0)
7	>200	43.9 (13.7, 141.5)	29.1 (11.4, 73.7)	39.8 (17.4, 90.5)	>100	>150	29.8 (15.2, 56.8)
8	~100	22.1 (9.4, 51.9)	>200	na ^a	na ^a	na ^a	>150
9	>100	4.82 (2.2, 10.4)	>200	>150	>200	54.7 (31.9, 93.9)	25.6 (4.9, 48.6)
10	>100	6.06 (2.09, 23.0)	>200	38.0(22.6, 64.5)	>200	>200	26.1 (12.8, 51.3)
11	>200	18.3 (5.7, 56.6)	>200	14.1 (2.6, 23.1)	23.1 (13.7, 39.3)	~256	32.0 (20.5, 49.6)
12	>100	2.4 (0.9, 6.1)	>500	>500	~181	>180	65.5 (38.4, 111.8)
13	18.7 (5.9, 58.2)	3.4 (1.4, 8.2)	>100	na ^a	na ^a	na ^a	35.8 (20.8, 61.6)

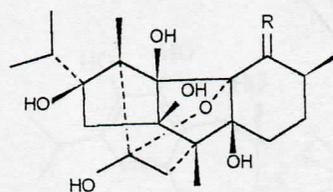
^ana, insufficient compound available

Tabla 13. Antifeedant Structure-Activity Relationships (SAR) of Silphinene Sesquiterpenes from *S. palmensis* (Reina et al., 2002).

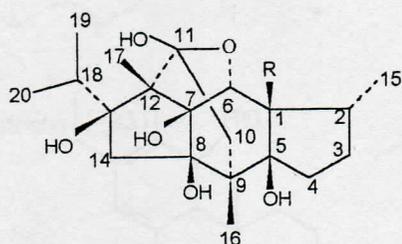
Compound	Substituents			EC ₅₀ (nmol/cm ²)	
	C-3	C-5	C-11	<i>L. decemlineata</i>	<i>D. noxia</i>
4	=O	α-ang	H	>150	>150
8	α-OH	α-ang	H	22	>150
11β-Acetoxy-5α-angeloyloxysilphinen-3-one ^a	=O	α-ang	β-Ac	0.8	31
7	=O	α-tig	H	44	30
11β-Acetoxy-5α-tigloyloxysilphinen-3-one ^a	=O	α-tig	β-Ac	0.17	>120
6	=O	α-Ac	H	2.8	57
12	=O	β-Ac	H	2.4	65
11β,5α-Diacetoxysilphinen-3-one ^a	=O	α-Ac	β-Ac	1.0	≈100
13	=O	β-isobut	H	3.4	36
11β-Acetoxy-5α-isobutyryloxysilphinen-3-one ^a	=O	α-isobut	β-Ac	0.08	8.0
9	=O	=O	H	4.8	25
Silphinen-3,5,11-trione ^a	=O	=O	=O	>100	>200
10	=O	α-OH	H	6	26
11	=O	β-OH	H	18	32
11β,5α-Dihydroxysilphinen-3-one ^a	=O	α-OH	β-OH	4.8	>200



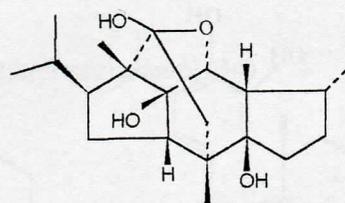
1 R = H
2 R = Ac



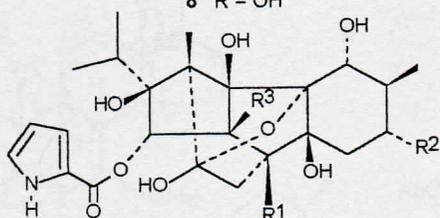
3 R = α -OH, H
4 R = α -OAc, H
5 R = β -OH, H
6 R = O



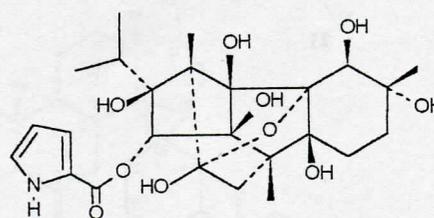
7 R = H
8 R = OH



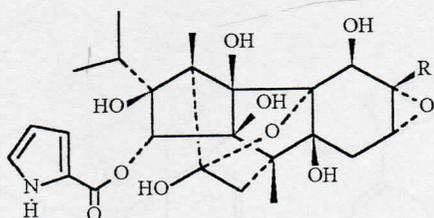
9



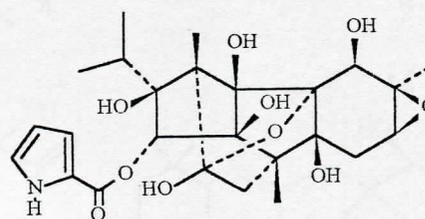
10 R1 = CH₃ R2 = H R3 = OH
11 R1 = CH₃ R2 = R3 = H
12 R1 = CH₂OH R2 = R3 = H
13 R1 = CH₂OH R2 = OH R3 = H



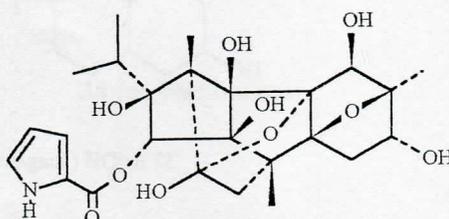
14



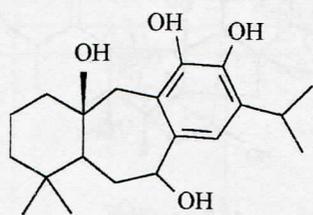
15 R = CH₃
16 R = CH₂OH



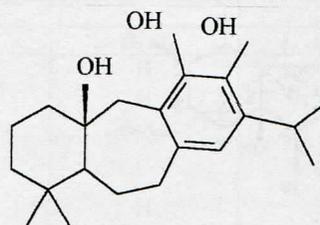
17



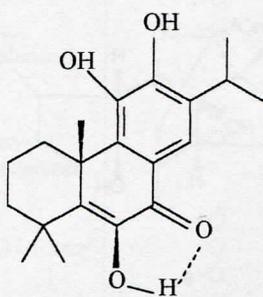
18



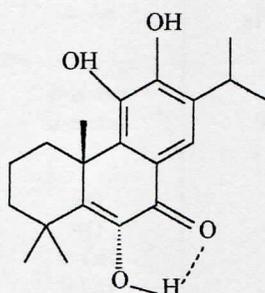
19



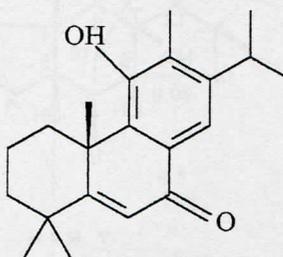
20



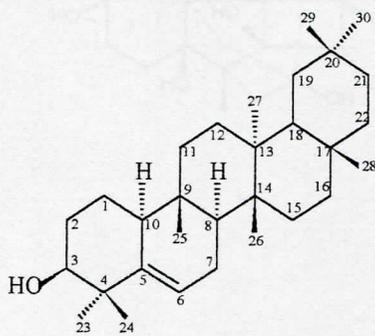
21



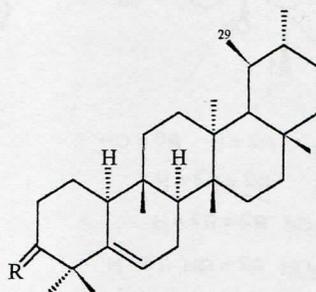
22



23



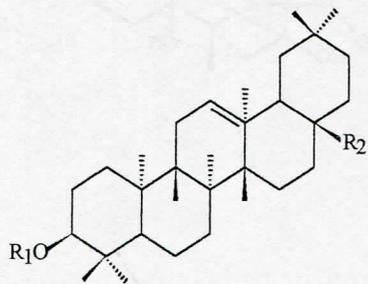
24



25 R=β-OH, H (taganol)

26 R=O (taganona)

27 R=β-OAc, H (AcO de 25)

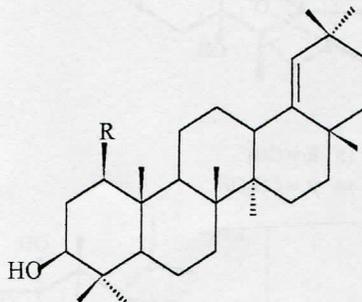


28 R₁=H, R₂=CH₂OH (β-amirina)

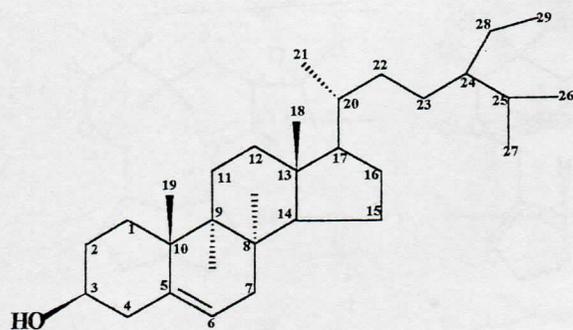
29 R₁=H, R₂=CH₃ (Uvaol)

30 R₁=OAc, R₂=CH₂OH (AcO de 28)

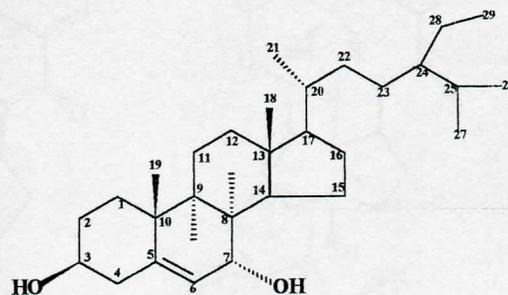
31 R₁=OAc, R₂=CH₃ (AcO de 29)



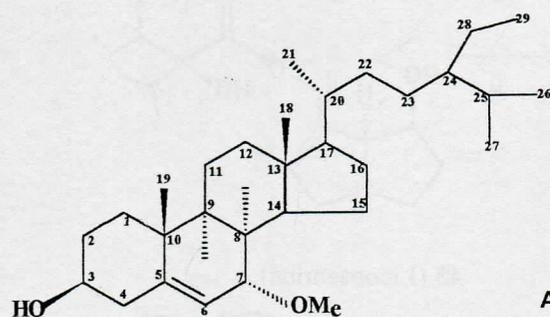
32 R=OH (anagadiol)



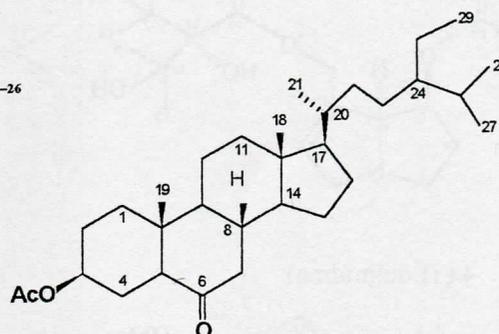
β -sitosterol (33)



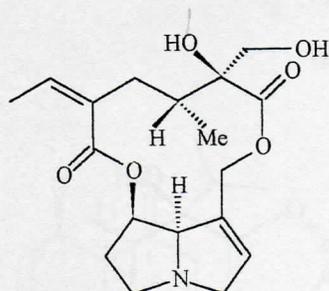
7 α -dihidroxisitosterol (34)



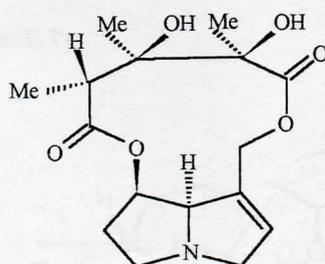
7 α -metoxisitosterol (35)



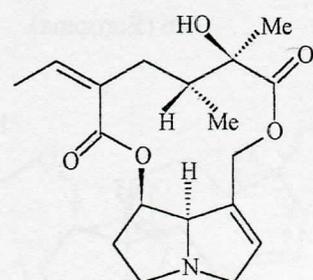
Acetato de 3 β -hidroxi, 6-oxo estigmastano (36)



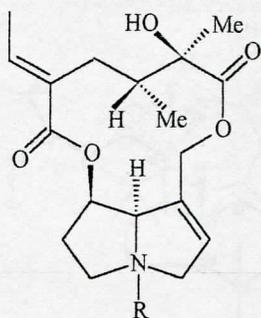
37 (Retrorsina)



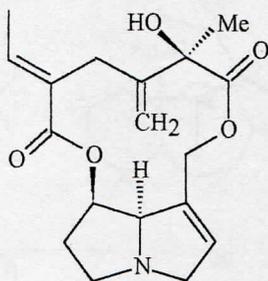
38 (monocrotalina)



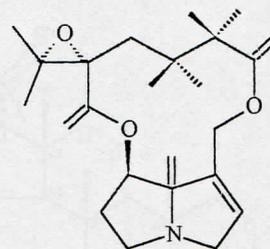
39 (Senecionina)



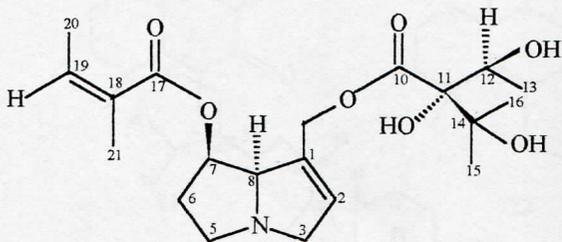
40 (Integerrimina)
R=O **41 (N-óxido de 40)**



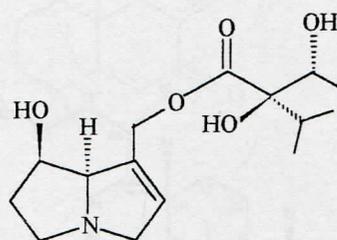
42 (Spartoidina)



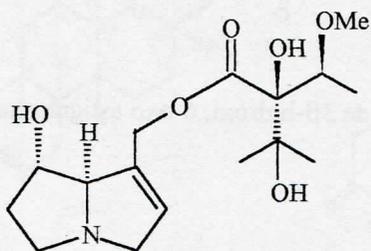
43 (Otosemina)



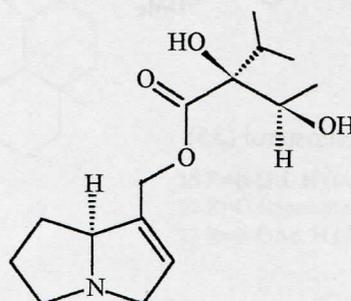
44 (Equimidina)



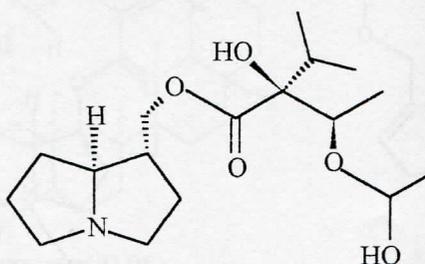
45 (Licopsamina)



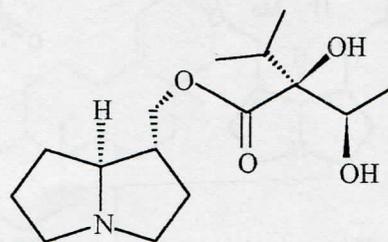
46 (Europina)



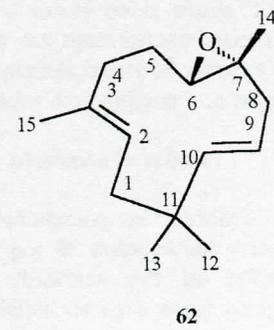
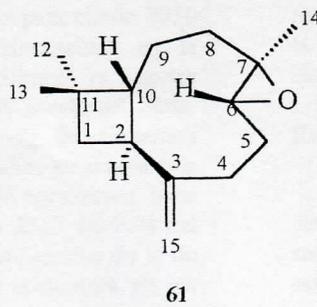
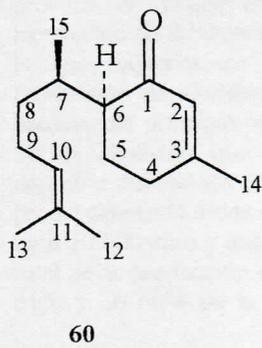
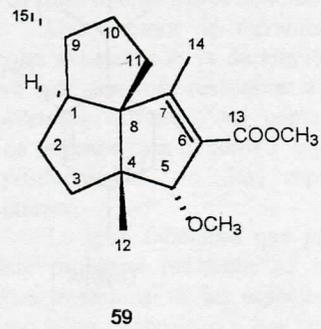
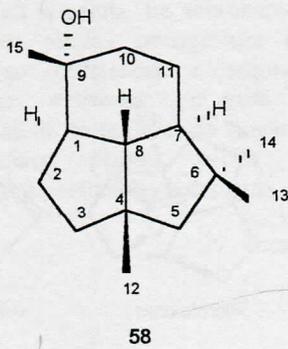
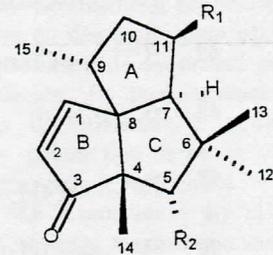
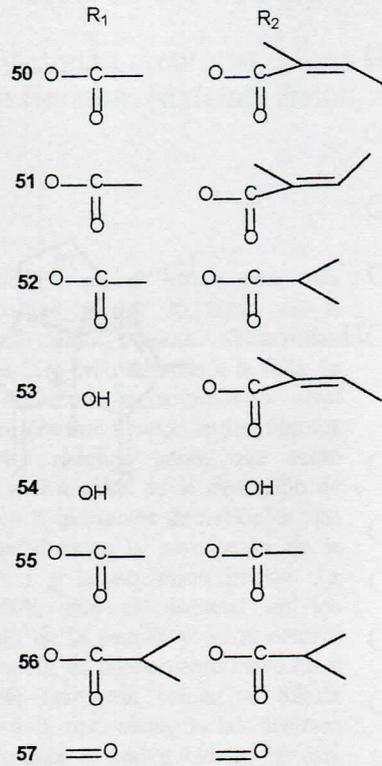
47 (Supinina)



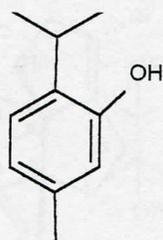
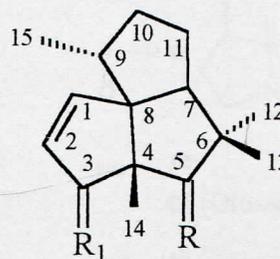
48 (3'acetiltraquelantamina)



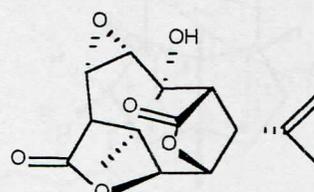
49 (Floridimina)



- 63 R=Oang; R₁=O
- 64 R=Osen; R₁=O
- 65 R=OAc, R₁=O
- 66 R=Otig; R₁=O
- 67 R=Oang; R₁=OH
- 68 R= R₁= O
- 69 R=OH; R₁=O
- 70 R= —OH, R₁=O
- 71 R= —OAc; R₁=O
- 72 R= —Oisobut; R₁=O
- 73 R=Oisobut; R₁=O



Thymol



Picrotoxinin