

**Universidad Nacional Autónoma de México**

**FACULTAD DE QUIMICA**

**AISLAMIENTO Y ESTRUCTURA DE UN  
GLUCOSIDO DE LA *Hintonia latiflora***

**T E S I S**

**RICARDO**

**YAÑEZ**

**ORTEGA**

**QUIMICO**

**FARMACEUTICO**

**BIOLOGO**

**1 9 7 9**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

CLAS. Tesis 1979

ABO. MT. ~~363~~ 366

FECHA \_\_\_\_\_

PROG. \_\_\_\_\_



PRESIDENTE: PROF. BERTHA SOTO DE VILLATORO.

VOCAL: PROF. YOLANDA CABALLERO ARROYO.

JURADO ASIGNADO

SECRETARIO: PROF. EUGENE BRATOEFF.

ORIGINALMENTE.

1er. SUPLENTE: PROF. IGNACIO SANCHEZ F.

2do. SUPLENTE: PROF. CRISTINA DIAZ P.

ESTA TESIS SE REALIZO EN EL DEPARTAMENTO DE QUIMICA  
FARMACEUTICA Y PRODUCTOS NATURALES DE LA DIVISION DE  
ESTUDIOS SUPERIORES DE LA FACULTAD DE QUIMICA DE LA  
U.N.A.M.

SUSTENTANTE

RICARDO YAÑEZ ORTEGA.

ASESOR DEL TEMA

PROF. BERTHA SOTO DE VILLATORO



A MIS PADRES:

NICOLASA ORTEGA VARELA

ANTONIO YAÑEZ CORDOBA.

CON RESPECTO Y CARIÑO, POR  
SU ESFUERZO Y APOYO EN MI  
FORMACION.

A MIS HERMANOS:

MARCO ANTONIO

JUAN CARLOS

JOSE LUIS

ENRIQUE

A MIS MAESTROS:

BERTHA SOTO DE V.

POR SU ORIENTACION PARA LLEVAR A CABO LA PRE-  
SENTE.

DR. FEDERICO GARCIA.

Y MUY ESPECIALMENTE A TODAS AQUELLAS PERSONAS  
QUE COLABORARON, PARA LA REALIZACION DE LA  
PRESENTE.

S U M A R I O

INTRODUCCION ----- PAG. 1

PARTE TEORICA ----- PAG. 5

PARTE EXPERIMENTAL ----- PAG. 15

ESPECTROS

DISCUSION DE ESPECTROS ----- PAG. 20

CONCLUSIONES ----- PAG. 23

## INTRODUCCION

El interés en el estudio de plantas pertenecientes a las familias Simarubeaceas, Rubiaceas y Burseraceas es el de aislar principios activos que puedan ser usados como amebicidas. El presente estudio de Hintonia latiflora, L.Fam. Rubiaceae, conocida comúnmente como "Copalchi" se realizó en base a dos hechos importantes, el primero de ellos es que esta planta es usada popularmente en el tratamiento de enfermedades intestinales<sup>1</sup> y el segundo es que en esta familia existen otras especies que poseen actividad amebicida, como ejemplo citaremos la Cephaelis ipecacuanha A. Richard conocida comúnmente como ipecacuana, de cuya raíz se obtiene Emetina que posee la actividad, el derivado sintético de la Emetina, el Clorhidrato de Dihidroemetina tiene una actividad seis veces mayor<sup>2</sup>, como se observa el estudio de especies que poseen una actividad determinada, nos puede llevar a obtener medicamentos sintéticos que posean ciertas ventajas sobre el producto natural original. Es importante mencionar que los Copalchis también son utilizados en el tratamiento de diabetes, de esta actividad existe el siguiente reporte<sup>3,4,5</sup>, así como trabajos realizados en el Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina en la U.N.A.M. por el Dr. Mandoki quien reporta sobre la actividad hipoglucemiante del extracto metanólico de un Copalchi, debemos observar que en México se dá el nombre de Copalchi a varias especies de las familias Rubiaceae y Euphorbiaceae, y se tendría que verificar la especie y la familia a que pertenece la planta estudiada.

Con el fin de observar la importancia de estudiar plantas que posean actividad amebicida, se presentaran en forma breve, pero precisa datos recopilados y reportados de la incidencia de estas enfermedades en nuestro país.

En el hombre diversas amibas pueden parasitarlo pero solo la *Entamoeba histolytica* y la *Naegleria gruberi* pueden enfermarlo, ahora bien es de principal interés para nosotros la *E. histolytica* debido a que es ésta la que se presenta en México; la *E. histolytica* tiene distribución universal y afecta en promedio al 20% de la población mundial. En México se ha encontrado entre un 5 y 75% de la población, estos porcentajes varían en los diferentes medios socioeconómicos, presentándose la principal incidencia en medios de escasos recursos y mal saneados, aumentando conforme la edad avanza.

En un estudio serológico realizado en 1970 en la Ciudad de México se encontró que el 3.9% de los menores de 16 años contenían anticuerpos contra *E. histolytica* como consecuencia de enfermedad amibiana.

En 1974 se realizó una encuesta serológica en cero de 20,000 individuos (niños y adultos) localizados en 46 comunidades de la república Mexicana y se encontró que el 5.45% de los individuos presentaron anticuerpos contra *E. histolytica*<sup>6</sup>.

AMIBIASIS SERO EPIDEMIOLOGICA, 1974  
 REPUBLICA MEXICANA-ZONAS-GEO-ECONOMICAS



SERO-EPIDEMIOLOGIA DE LA AMIBIASIS EN LA REPUBLICA MEXICANA.

En 1974, revela la endemidad del padecimiento en todo el país, con mayor prevalencia en la región centro-occidental de individuos con anticuerpos amebianos.

La organización panamericana de la salud, también ha realizado un estudio acerca de la incidencia en el padecimiento amebiano y se anotan a continuación sus resultados.

CASOS NOTIFICADOS DE AMIBIASIS EN LAS TRES REGIONES DE LAS AMERICAS  
(1970 - 1972).

REGION:	NUMEROS:			TASAS <sup>+</sup>		
	1970	1971	1972	1970	1971	1972
América Nte.	3006	2886	2452	1.3	1.3	1.1
Mesoamérica	40136	54546	70840	51.2	65.5	79.0
América Sur	16327	13099	14441	32.6	43.8	36.7

+ Por 100,00 Habitantes.

FUENTE: LAS CONDICIONES DE SALUD EN LAS AMERICAS 1969 - 1972  
ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD, OMS WASHINGTON  
C.E. 1974.

COMENTARIO: A pesar de las conocidas diferencias en la notificación de los casos, los datos arriba señalados revelan que la amibiasis tiene una elevada incidencia en México y Centro América.

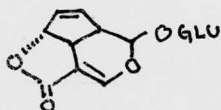
Como se observa es evidente que la amibiasis en México es un problema que necesita un mayor interés.

## PARTE TEORICA

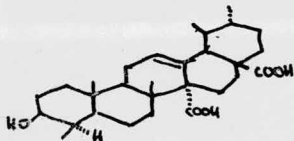
Establecido que la especie Hintonia latiflora L. es usada popularmente en el tratamiento de enfermedades intestinales (amibiasis), se inició la búsqueda de compuestos que taxonómicamente se encuentran en esta familia, con el fin de establecer los probables compuestos de la planta en estudio.

En esta familia se encuentran comúnmente<sup>7</sup>:

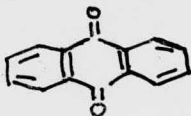
Glucósidos iridoides:



Compuestos triterpenoides:



Antraquinonas:



Alcaloides, naftalenderivados, flavonas y cumarinas. En este mismo libro se encuentra para Hintonia latiflora L. (el género Hintonia anteriormente era Coutarea) reportados los siguientes compuestos sin presentar su estructura: un Leucoantociano, Couterósido (monoglucósido), una sustancia amarga y un derivado de cumarina.

Teniendo una guía de los probables compuestos, se realizaron pruebas para la investigación de alcaloides<sup>8</sup>, siendo negativa la prueba para alcaloides<sup>13</sup>.



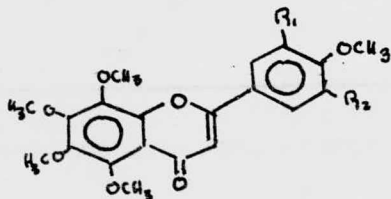
Las flavonas son en su gran mayoría pigmentos que se localizan principalmente en hojas, flores y frutos. Las flavonas pueden encontrarse unidas a un azúcar formando glicósidos, estos glicósidos se encuentran en tallos<sup>8</sup>.

Los azúcares más frecuentemente unidos a flavonas son: Glucosa, Galactosa, Xilosa, Ramnosa y Arabinosa. Existen algunos glicósidos que tienen unidos dos azúcares (como disacaridos)<sup>9</sup>. Es de hacerse notar que en estos glicósidos dependiendo del número y posición de los azúcares presentan una gran variedad de solubilidades que van desde solubles en agua hasta insolubles en ella siéndolo en disolventes orgánicos, así se ha observado que los poliglicósidos son muy solubles en agua, (en este caso, el número de azúcares unidos es el que da la polaridad alta), en tanto que compuestos como 7-glicósido de la Quercitina es poco soluble en agua y el 3-glicósido de Quercitina es soluble en ella, en este caso el cambio en la posición del azúcar proporciona el cambio en la polaridad, es por esto que la extracción de una flavona o su glucósido se puede presentar en diversos disolventes.

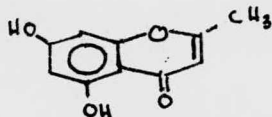
En la familia Rubiaceae se encuentran reportadas las siguientes flavonas<sup>7</sup>:

De Gardenia gummifera (Rubiaceae):

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Gardenia A	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
B	H	H
C	OH	OCH <sub>3</sub>
D	OH	H
E	OH	OH

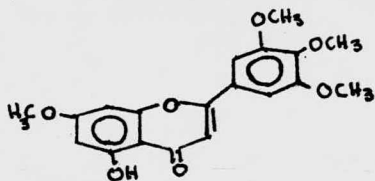


De Naudea orientali (Rubiaceae):



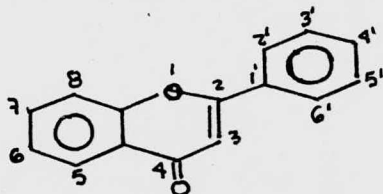
Noreugenina.

De Webera corymbosa (Rubiaceae):



Carimbosina.

En la naturaleza se encuentran un gran número de flavonas, algunas de las cuales se presentan en la siguiente tabla<sup>8</sup>.



### FLAVONOIDES Y SUS DERIVADOS

#### FLAVONAS

NOMBRE:	SUBSTITUCION:	p.f. °C
Baicaleina	5,6,7 - (OH) <sub>3</sub>	265
Oroxilina-A	5,7 - (OH) <sub>2</sub> - 6-OCH <sub>3</sub>	232
Apigenina	5,7,4' - (OH) <sub>3</sub>	347
Acacetina	5,7 - (OH) <sub>2</sub> - 4'-OCH <sub>3</sub>	260
Genkwanina	5,4' - (OH) <sub>2</sub> - 7-OCH <sub>3</sub>	286
	5 -OH-7,4' - (OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	173
Galangina	3,5,7 - (OH) <sub>3</sub>	221

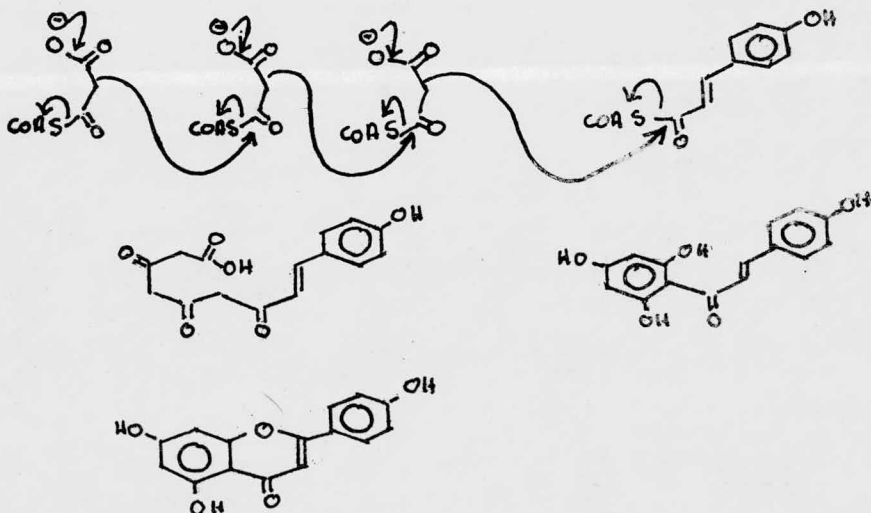
NOMBRE:	SUBSTITUCION:	p.f. °C
	5,7 - (OH) <sub>2</sub> -3-OCH <sub>3</sub>	229
Izalpinina	3,5 - (OH) <sub>2</sub> -7-OCH <sub>3</sub>	195
Naringenina	5,7,4' - (OH) <sub>3</sub>	259
Wogonina	4,7, - (OH) <sub>2</sub> -8- OCH <sub>3</sub>	201
Escutelareina	5,6,7,4' - (OH) <sub>4</sub>	300
Pectolinarigenina	5,7 - (OH) <sub>2</sub> -6,4' - (OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	217
Luteolina	5,7,3',4' - (OH) <sub>4</sub>	330
Crisoeriol	4,7,4' - (OH) <sub>3</sub> -3' -OCH <sub>3</sub>	330
Diosmetina	5,7,3' - (OH) <sub>3</sub> -4' -OCH <sub>3</sub>	255
Artocarpetina	5,2',4' - (OH) <sub>3</sub> -7-OCH <sub>3</sub>	
Kaemferol	3,5,7,4' - (OH) <sub>4</sub>	277
Kaemferido	3,5,7 - (OH) <sub>3</sub> -4' -OCH <sub>3</sub>	227
Rhaninocitrina	3,5,4' - (OH) <sub>3</sub> -7-OCH <sub>3</sub>	222
Datiscetina	3,5,7,2' - (CH) <sub>4</sub>	
Artemetina	5- (OH) -3,6,7,3',4' - (OCH <sub>3</sub> ) <sub>5</sub>	168
Melisimplina	5- (OH) -3,6,7- (OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> -3',4' -CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	236
Melisimplexina	3,5,6,7- (OCH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> -3',4' -CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	185
Metilernatina	3,5- (OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -6,7,3',4' - (CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	198
Calicopterinina	5,4- (OH) <sub>2</sub> -3,6,7,8- (OCH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	224
Oxiayanina-A	5,2',5' - (OH) <sub>3</sub> -3,7,4' - (OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	230
Pinomicricetina	3,5,7,3',4',5' - (OH) <sub>6</sub> -6-CH <sub>3</sub>	
Plareoxilol	3,5,7- (OH) <sub>2</sub> -2' -OCH <sub>2</sub>	
Fisetina	3,7,3',4' - (OH) <sub>4</sub>	350
Desmetoxikanugenina	3,7- (OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -3',4' -CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	147
Pratoletina	3,5,8,4' - (OCH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	285
Quercetina	3,5,7,3',4' - (OH) <sub>5</sub>	314
Tricina	5,7,4' - (OH) <sub>3</sub> -3',5' - (OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	292
Tangeritina	5,6,7,8,4' - (OCH <sub>3</sub> ) <sub>5</sub>	154

NOMBRE:	SUBSTITUCION:	p.f. °C
Morina	3,5,7,2',4'-(OH) <sub>5</sub>	288
Robinetina	3,7,3',4',5'-(OH) <sub>5</sub>	324
Kanugina	3,7,3'-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> -4',5'-CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	205
Herbacetina	3,5,7,8,4' (OH) <sub>5</sub>	
Penduletina	5,4'-(OH) <sub>2</sub> -3,6,7-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	217
Tambuletina	3,5,7,4'-(OH) <sub>4</sub> -8-OCH <sub>3</sub>	270
Tambulina	3,5-(OH) <sub>2</sub> -7,8,4'-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	
Flindulatina	5-OH-3,7,8,4'-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	157
Auranetina	3,6,7,8,4'-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>5</sub>	141
Melanoxetina	3,7,8,3',4'-(OH) <sub>5</sub>	
Nobiletina	5,6,7,8,3',4'-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>6</sub>	136
Acramerina	5,7,3',4',5'-(OH) <sub>5</sub> -8-OCH <sub>3</sub>	
Miricetina	3,5,7,3',4',5'-(OH) <sub>6</sub>	355
Gosipetina	3,5,7,8,3',4'-(OH) <sub>6</sub>	313
Limocitrina	3,5,7,4'-(OH) <sub>4</sub> -8,3'-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	275
Ternatina	5,4'-(OH) <sub>2</sub> -3,7,8,3'-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	210
Wharangina	5,3',4'-(OH) <sub>3</sub> -3-(OCH <sub>3</sub> )-7,8-CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	
Meliternina	3,5,7,8,-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> -3',4'-CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	186
Quercetagina	3,5,6,7,3',4'-(OH) <sub>6</sub>	324
Patuletina	3,5,7,3',4'-(OH) <sub>5</sub> -6-OCH <sub>3</sub>	264
Oxiayanina-B	5,6,3'-(OH) <sub>3</sub> -3,7,4'-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	209
Crisosplenetina	3,5,4'-(OH) <sub>3</sub> -5,7,3'-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	159
ISOFLAVONAS		
Daidzeina		
Formomonetina	7,4,-(OH) <sub>2</sub>	320
Pseudobaptigenina	7,4-(OH)-4'-OCH <sub>3</sub>	260
Maximina	7-OH-3',4'-CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	298
Genisteína	7-OCH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -3',4'-CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	
Prunetina	5,7,4'-(OH) <sub>3</sub>	292
Biochamina-A	5,4'-(OH) <sub>2</sub> -7-OCH <sub>3</sub>	240
Orobol (horsantal)	5,7-(OH) <sub>2</sub> -4'-OCH <sub>3</sub>	214
Santal	5,7,3',4'-(OH) <sub>4</sub>	270
Tectorigenina	5,3,4'-(OH) <sub>3</sub> -7-OCH <sub>3</sub>	223
Muningina	5,7,4'-(OH) <sub>3</sub> -6-OCH <sub>3</sub>	230
Tlatlancuayanina	6,4'-(OH) <sub>2</sub> -5,7-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	285°d
Irigenina	5,2'-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -6,7-CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	148

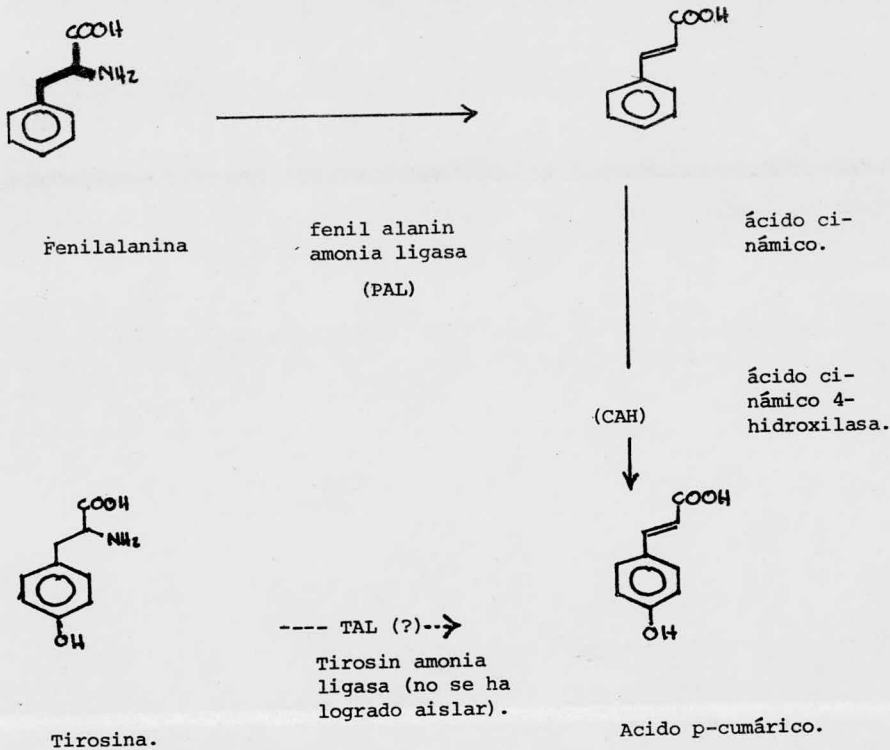
NOMBRE:	SUBSTITUCION:	p.f. °C
Máxima-substancia C	5,7,3'-(OH) <sub>2</sub> -6-4',5'-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	185
Cabreuvina	7-OCH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -2'-OCH <sub>3</sub> -4,5'-CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	144
Máxima-substancia A	7,3',4'-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	229
	6,7,3',4'-(CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	

Para racionalizar los resultados obtenidos en el presente trabajo es necesario realizar un pequeño resumen de los pasos más importantes involucrados en la biosíntesis de compuestos flavonoides<sup>9</sup>.

Los compuestos flavonoides son sintetizados en las plantas a partir de Co A tio ester del ácido malónico, y el ácido p-cumárico también como ester de la CoA. El ácido p-cumárico es obtenido a partir de fenil alanina y/o tirosina.

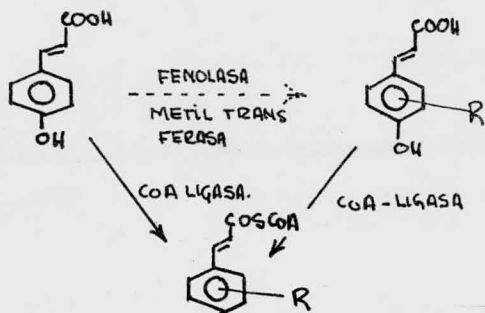


Con el objeto de que el proceso de la síntesis de ácido p-cumárico a partir de aminoácidos sea más clara, se proporciona el siguiente esquema:



Como se observa el ácido p-cumárico se obtiene a partir tanto de fenilalanina, como de tirosina. El hecho de que se emplee tirosina como producto original, hace suponer la existencia de Tirosin amonia ligasa (TAL) aunque no se ha podido aislar.

Es el ácido p-cumárico como ester de la acetil colina el que participa en la biosíntesis de compuestos flavonoides, en un paso anterior a la esterificación puede sufrir hidroxilación y/o metilación, por medio de las enzimas fenolasa y metil-transferasas.



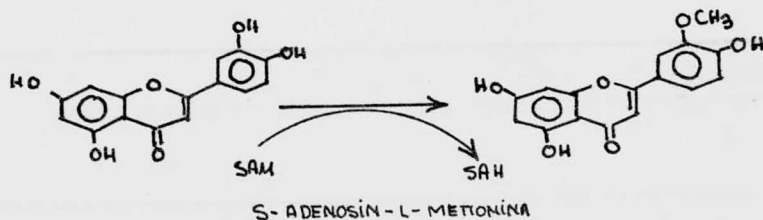
R = Hidroxilo y/o metoxi  
lo en varias posicio  
nes.

Se han realizado trabajos para el aislamiento de las diversas enzimas que toman parte en la biosíntesis de ácido p-cumárico a partir de fenilalanina y tirosina, una vez aisladas las enzimas se ha estudiado su especificidad frente al sustrato.

La enzima 3,4 dihidroxilasa, hidroxila las posiciones 3 y 4 del ácido p-cumárico, pero también hidroxila la posición 3' de compuestos flavonoides como el kempferol y noringenina.

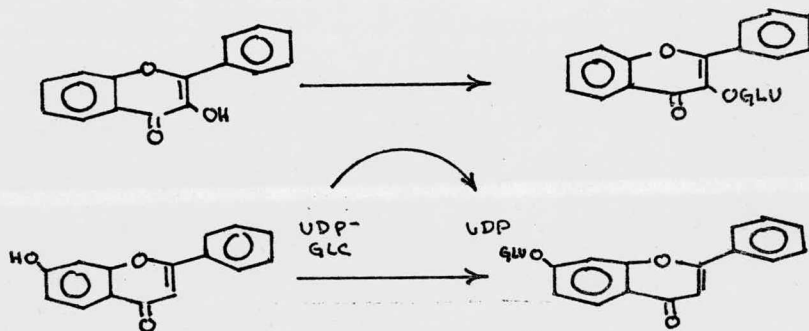
Estos hechos indican la poca especificidad de la enzima por el sustrato, pero una gran especificidad por la posición de hidroxilación.

Las O-metil-transferasas también poseen una baja especificidad de sustrato debido a que igual que la hidroxilasa actúa sobre derivados flavonoides y ácido p-cumárico, metilando este último en la posición 3; se ha encontrado enzimas que actúan específicamente en compuestos flavonoides que poseen oxidrilos en las posiciones 3' y 4' y metilan el oxidrilo de la posición meta (3').



Como se observa las enzimas fenolasa y metiltransferasa tienen poca especificidad por el sustrato, pero una gran especificidad por la posición de hidroxilación y metilación, es por esta falta de especificidad en el sustrato, la existencia de un gran número de derivados.

La glicosilación (formación del glicósido) de los compuestos flavonoides se realiza en una etapa posterior a la formación del compuesto flavonoide; la introducción del azúcar al compuesto se realiza por mediación de la glucosil transferasa; el glicósido se puede formar en la posición 3 ó 7.



#### DATOS GENERALES DE LA PLANTA

##### Hintonia latiflora:

Nombres populares: en el estado de Jalisco se le conoce como "Quina", "Campanilla"; en Sinaloa "Palo Amargo" y en el estado de Michoacán "Quina de Michoacán", "Corteza de Jojutla" y Copalchi de Jojutla".



**HABITAT:** Selva baja constituída por árboles de poca altura que pierden sus hojas en las épocas secas (selva baja caducifolia) el sureste de Chihuahua a Guerrero, Guanajuato, Oaxaca, Puebla y Guatemala.

**DESCRIPCION:** Arbusto o árbol pequeño de unos 5 m de altura o menos; hojas con pecíolos ovales u oval-oblongas de 4 a 12 cm de largo, obtusas o a acuminadas, redondeadas y agudas en la base, tomentosas o pilosas por detrás ó completamente sin pelos, flores olorosas, corola blanca en forma de embudo, de 5 a 7 cm de largo, pilosa ó sin pelos por fuera; fruto capsular oval y café de 2 cm de largo.

## PARTE EXPERIMENTAL

Nuestro estudio se realizó en el extracto metanólico de la planta debido a que es un disolvente polar y en nuestro caso cumple con la función del agua en los cocimientos o infusiones que de la planta se utilizan popularmente y las cuales, tienen los principios activos que poseen la actividad observada; establecimos de antemano que de encontrarse en el extracto metanólico la sustancia amarga y/o el glucósido, éste sería un buen argumento para suponer que estos productos podrían tener una actividad amebicida o hipogluceante.

Antes de hacer el extracto metanólico, la planta se extrae con hexano para desengrasarla y con cloroformo para quitar clorofila, esteres de ácidos grasos, sitosteroles, sustancias que en nuestro caso no interesan.

El estudio se inició con 1.163 Kg de planta seca a la cual se puso en un matraz de 5 litros y se adicionaron 2.5 l de hexano, dejando en maceración durante 24 horas y refluendo durante otras 24 horas. Terminada la operación, se filtró el hexano y el extracto se llevó a sequedad en rotavapor; el extracto cloroformico y finalmente el metanólico se hicieron de la misma forma, el extracto metanólico seco pesó 21.6 g y se cromatografió en una columna con  $\text{SiO}_2$ , eluyendo con el sistema (I) de acetato de etilo; metanol (7:3) observándose después de las primeras fracciones una sustancia que en cromatografía en placa fina aparece con una estela la cual se observa en el ultravioleta y teniendo un  $R_f = 0.6731$ .

Esta sustancia se obtuvo desde la fracción 35 hasta la 57 siendo las fracciones de 10 ml, las fracciones se reunieron y se llevaron a sequedad, obteniéndose un sólido amarillo (G 1), el cual es soluble en acetato de etilo, este sólido se cristalizó de metanol. A los cristales así obtenidos se les determina el punto de fusión en un aparato Fischer siendo de 264-266°C, obteniéndose además un espectro de infra-rojo y otro de ultravioleta, teniendo el espectro de I.R. bandas características de oxhidrilos primarios y secundarios, así como grupo carbonilo y doble enlace.

Debido a que la sustancia aislada es soluble en acetato de etilo, se decide establecer una partición entre el extracto metanólico disuelto en agua y acetato de etilo, para obtener el extracto metanólico se sigue la misma secuencia de extracciones que la anterior, pero esta vez con 1.350 Kg de planta seca, el extracto metanólico llevado a seco pesa 23.7 g, el residuo se disuelve en 100 ml de agua y se extrae con 5 porciones de 40 ml de acetato de etilo, estas porciones se secan sobre sulfato de sodio anhidro, después se filtran y se lleva a sequedad obteniéndose un sólido café que posee un rango de fusión muy amplio, por lo que se cristaliza de metanol; al adicionar el metanol en frío aparece un sólido amarillo quedando el líquido color café, se filtra el sólido y se lava dos veces con metanol, después de secar se determina nuevamente el punto de fusión el cual es de 263-265° C, el peso del sólido es de 250 mg.

Al producto obtenido (G 5) se le corren espectros de infra-rojo y de ultravioleta, los cuales tienen el mismo patrón de bandas que para (G 1).

Teniendo en cuenta que este producto fué obtenido en el extrato metanólico, indicando este hecho su alta polaridad y además el espectro de infra-rojo presenta bandas de oxhidrilos primarios y secundarios. Para obtener mayor información y confirmar la procedencia de los oxhidrilos, se decide hacer el derivado metilado del producto aislado.

TECNICA DE METILACION DEL PRODUCTO G 5; 200 mg se disuelven en 50 ml de dimetil formamida y se colocan en un matraz en baño de hielo, se agrega Hidruro de sodio y después el yoduro de metilo. El matraz de reacción se deja en estas condiciones por 24 horas, después de las cuales el matraz se coloca en baño de hielo para adicionar metanol aproximadamente 5 ml, esta adición se realiza gota a gota hasta observar que no existe reacción entre el metanol y el hidruro de sodio en exceso.

Al término de la reacción se hacen extracciones con acetato de etilo, después de llevar la mezcla de reacción a un volumen de 250 ml adicionando agua destilada, las extracciones se reali-

zan con 5 porciones de 80 ml de acetato de etilo, éstas se reúnen y se lavan con agua para extraer las sustancias acuosolubles que pudieran estar presentes.

El acetato de etilo presenta turbidez debido a la emulsificación de una pequeña cantidad de agua, por lo que se agrega sulfato de sodio anhidro hasta obtener una solución transparente, se concentra hasta aproximadamente 10 ml para tomar una muestra que se aplica a una placa cromatográfica corriéndola en medio (1:1) Benceno: acetato de etilo observándose cuatro manchas al revelar con ácido sulfúrico 5N teniendo los Rf siguientes:

$$Rf\ 1 = \frac{1.75}{4.8} = 0.3646$$

$$Rf\ 3 = \frac{2.5}{4.8} = 0.5208$$

$$Rf\ 2 = \frac{1.95}{4.8} = 0.4060$$

$$Rf\ 4 = \frac{4.8}{4.8} = 1$$

La mancha que posee Rf=1, debido a su baja polaridad, se supone que es nujol (hidrocarburos), ya que es este el disolvente donde se encuentra sumergido el hidruro de sodio, para quitarlo se adicionan 20 ml de metanol y una pequeña cantidad de agua (0.3 ml) y se establece una partición con hexano, después de la cual se separa la fase metanólica, se concentra y se aplica a una placa cromatográfica para eluirla en un sistema (1:1) benceno:acetato de etilo, apareciendo las tres manchas reportadas, siendo la más abundante la número 3 con un Rf de 0.5208, para separar éstas se hace una placa preparativa de 20x20 cm eluyendo con el mismo sistema, dejando un pequeño carril en la placa con muestra para que al revelar se puedan localizar las sustancias que interesan; una vez localizadas las manchas se raspa la sílice de la placa y se extraen individualmente con 50 ml de cloroformo y calentando para después filtrar.

La operación se realiza otras tres veces, los extractos se concentran hasta aproximadamente 15 ml y se controlan observando que aparecen ya separadas las manchas con Rf de 0.5208 y 0.4060, obteniéndose respectivamente 31 y 20.4 mg de sólido después de secarlo por 24 horas.

Antes de realizar la separación, al producto obtenido de la metilación se le corre un espectro de RMN observando que las señales de metoxilos aparecen en diferentes posiciones, lo que confirma que el producto aislado es un glucósido.

Hidrolisis del glucósido sin metilar: 50 mg de la sustancia se suspenden en 9.5 ml de agua y 0.5 ml de ácido clorhídrico concentrado, esta mezcla se refluja durante 1.5 hrs., después de las cuales se da por terminada la reacción, al enfriar el matraz aparece un sólido el cual es soluble en acetato de etilo, por lo que en un embudo de separación, se coloca la mezcla de reacción y se extrae con 3 porciones de 20 ml de acetato de etilo, y se llevan a sequedad. Una muestra del producto de hidrolisis marcado como G5H se aplica a una placa cromatográfica, observando después de revelar con  $H_2SO_4$  5N una mancha amarilla y una estela que se observa en el U.V., a este producto se le corren espectros de U.V., I.R. y R.M.N. (No. 3, 4, 8).

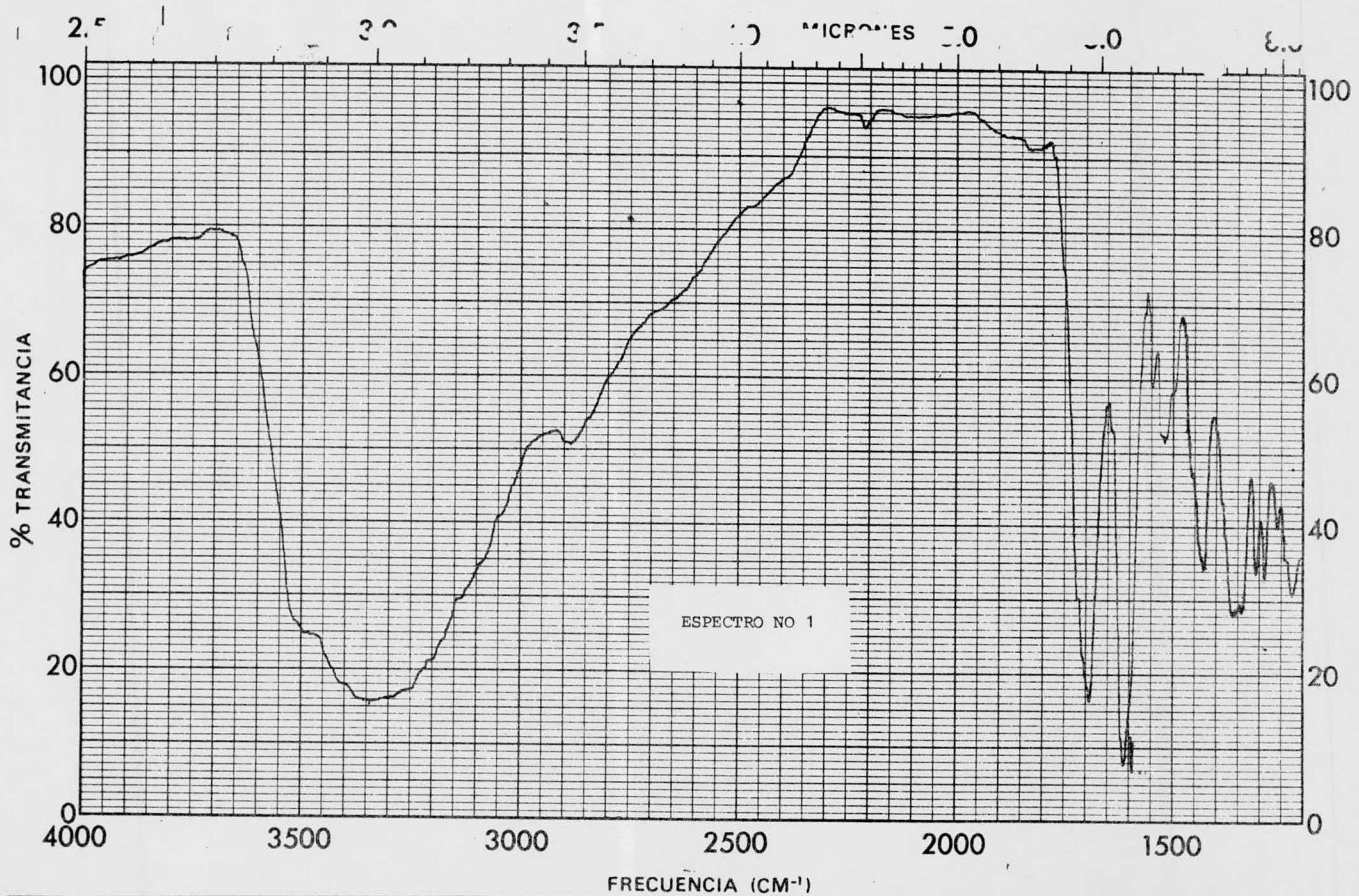
La fase acuosa separada de la hidrolisis posee (tiene) color amarillo, para quitar este color se adicionan 10 ml de  $H_2O$  y carbón activado, esta mezcla se calienta y filtra dando una solución transparente, la solución así obtenida se concentra en baño maría y presión reducida hasta aproximarse 5 ml, en esta parte se investiga la presencia de azúcares.

Se toma 0.5 ml de la solución acuosa concentrada y se adiciona a 1 ml de reactivo de Fehling, esta mezcla se calienta durante 10 min. y después de 15 min. de enfriada la solución, aparece un sólido rojo de óxido de cobre, lo que indica la presencia de reductores libres; una muestra de la solución acuosa concentrada se compara por cromatografía en placa fina con patrones de azúcares; glucosa, galactosa y fructuosa, utilizando como eluyentes una mezcla de butanol: agua: ácido acético en proporciones (4: 1: 1) la placa se revela con anisaldehído y se observa que aparece una mancha con el mismo  $R_f$  que la muestra patrón de glucosa ( $R_f = 0.3364$ ).

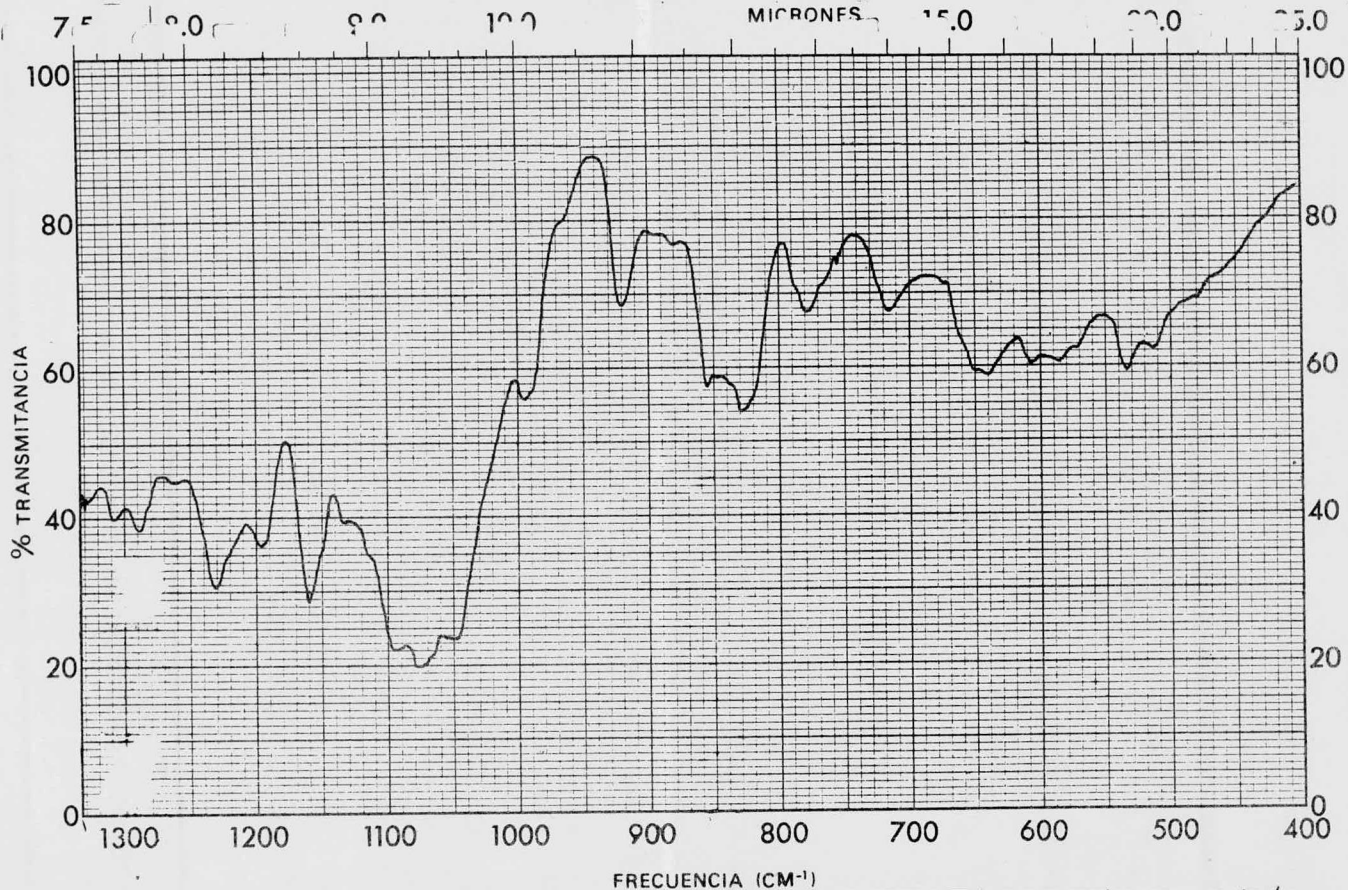
Hidrolisis del glucósido metilado: el glucósido metilado, se hidroliza para obtener el aglucón metilado. Se disuelve en 9.5 ml de metanol y se adiciona 0.5 ml de HCl concentrado y 1 ml de agua. Esta mezcla se refluja por 3 hs. al término de la reacción y

al enfriar la solución se observa la formación de cristales blancos los cuales se filtran y se disuelven posteriormente sobre el papel filtro con  $\text{CHCl}_3$ , el aglucón disuelto se concentra y controla, se observa una mancha amarilla con un  $R_f$  de 0.300 y una pequeña mancha en el punto de aplicación por lo que se purifica por placa cromatográfica, obteniéndose 8 mg del aglucón metilado puro.

El glucósido con  $R_f$  de 0.4060 se hidroliza en la misma forma, obteniéndose 6 mg de aglucón puro.



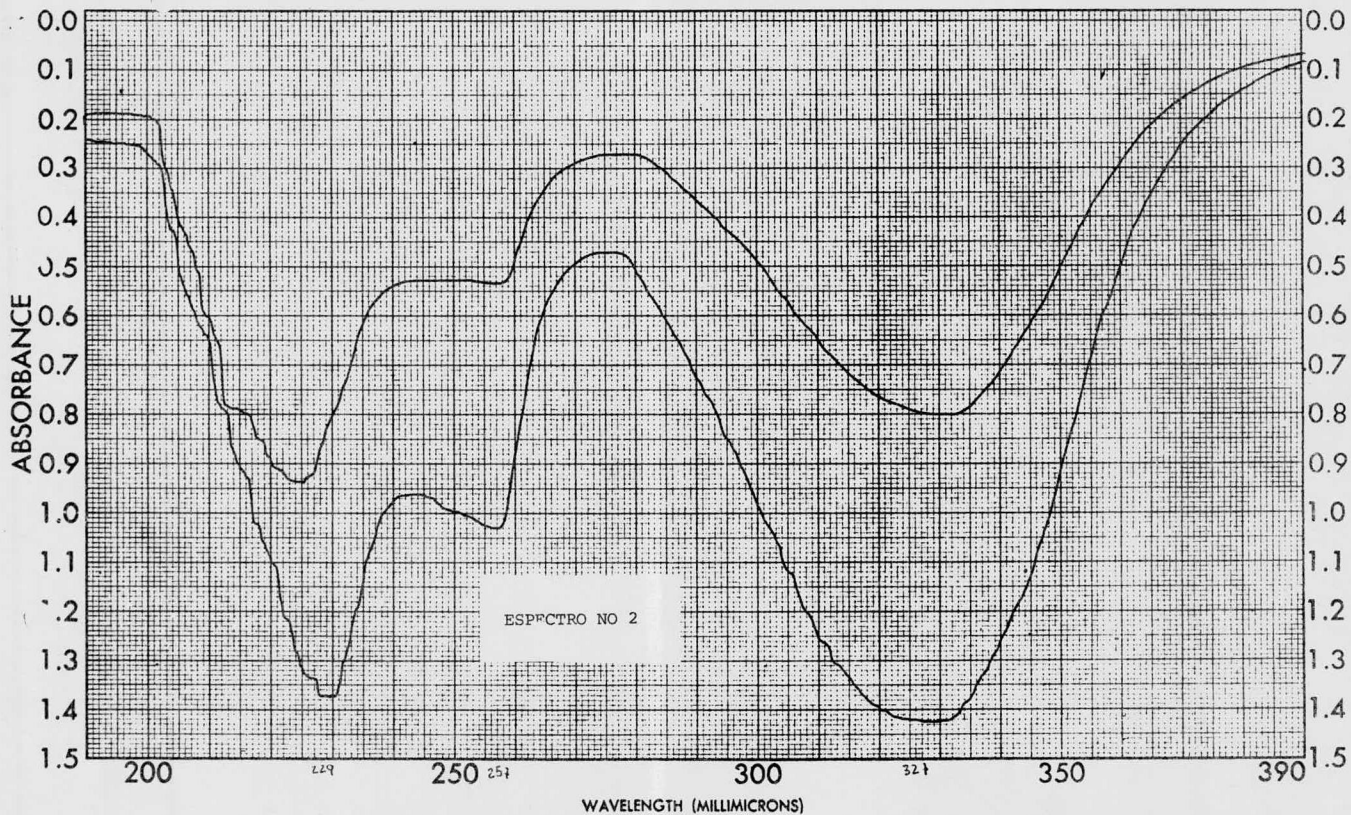
MUESTRA	<i>g-s</i>	CURVA N°	<i>26379</i>	VEL. DE BARRIDO	<i>Auto</i>	OPERADOR	<i>del</i>
ORIGEN	<i>Puerto Rico</i>	CONC.	<i>—</i>	RENDIJA	<i>11</i>	FECHA	<i>12/11/78</i>
SOLVENTE	<i>—</i>	ESPEJOR DE CELDA	<i>—</i>	COMENTARIOS	<i>pasado</i>		
		REFERENCIA	<i>alm</i>				



MUESTRA <u>g-5</u>	CURVA Nº <u>23399</u>	VEL. DE BARRIDO <u>aprox</u>	OPERADOR <u>del</u>
ORIGEN <u>Bucardo Gómez</u>	CONC. <u>—</u>	RENDIJA <u>N</u>	FECHA <u>12/11/78</u>
SOLVENTE <u>—</u>	ESPESOR DE CELDA <u>—</u>	COMENTARIOS <u>pasillo</u>	
	REFERENCIA <u>an</u>		



En la región de  $3600\text{ cm}^{-1}$  aparece una banda ancha de intensidad fuerte asignada a estiramiento de OH en asociación polimérica; en  $2880\text{ cm}^{-1}$  aparece una banda de intensidad media asignada a estiramiento de H en metilo C-H, en  $1700\text{ cm}^{-1}$  aparece una banda angosta de intensidad media asignada a estiramiento de grupo carbonilo (tal vez varios dado que la banda no aparece como una banda simple, posee varias deformaciones en su lado izquierdo). Esta banda de carbonilo es característica de una cetona insaturada cíclica de 6 miembros que está desplazada a mayor frecuencia (aproximadamente  $10\text{ cm}^{-1}$ ); en  $1625\text{ cm}^{-1}$  aparece una banda angosta de intensidad fuerte asignada a estiramiento C-C de una doble ligadura; en la región de  $1340 - 1360\text{ cm}^{-1}$  aparece una banda de intensidad media no bien definida en su terminación y que puede comprobar la presencia de metino  $\nu_{\text{C-H}}$ ; en la región de  $1430\text{ cm}^{-1}$  aparece una banda fuerte y angosta asignada a deformación de  $-\text{CH}_3$ ; en la región de  $1300 - 1000\text{ cm}^{-1}$  aparece un patrón de bandas complejas y que son debidas principalmente a vibraciones de deformación del grupo OH así como de R-O-R.



SAMPLE <u>G-S</u>	CURVE NO. <u>2703</u>	SCAN SPEED <u>rapid</u>	OPERATOR <u>del</u>
ORIGIN <u>Puerto Rico</u>	CONC. <u>-</u>	SLIT <u>25</u>	DATE <u>12/18/70</u>
SOLVENT <u>methanol</u>	CELL PATH <u>1cm</u>	REFERENCE <u>methanol</u>	REMARKS

ULTRA VIOLETA No. 2

(GLUCOSIDO).

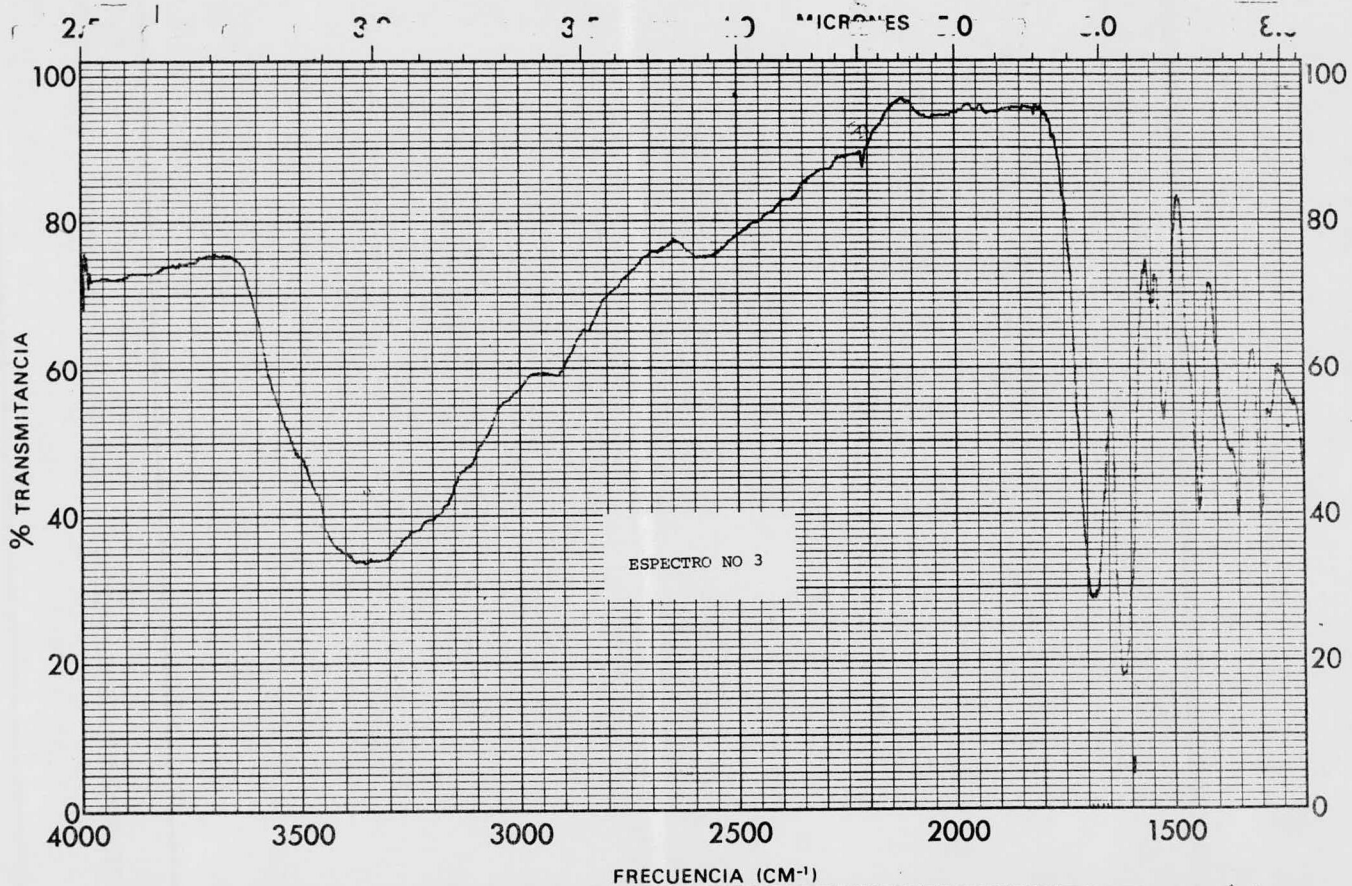
EN METANOL.

El compuesto absorbe en 3 regiones:

a 225  $m\mu$ ,

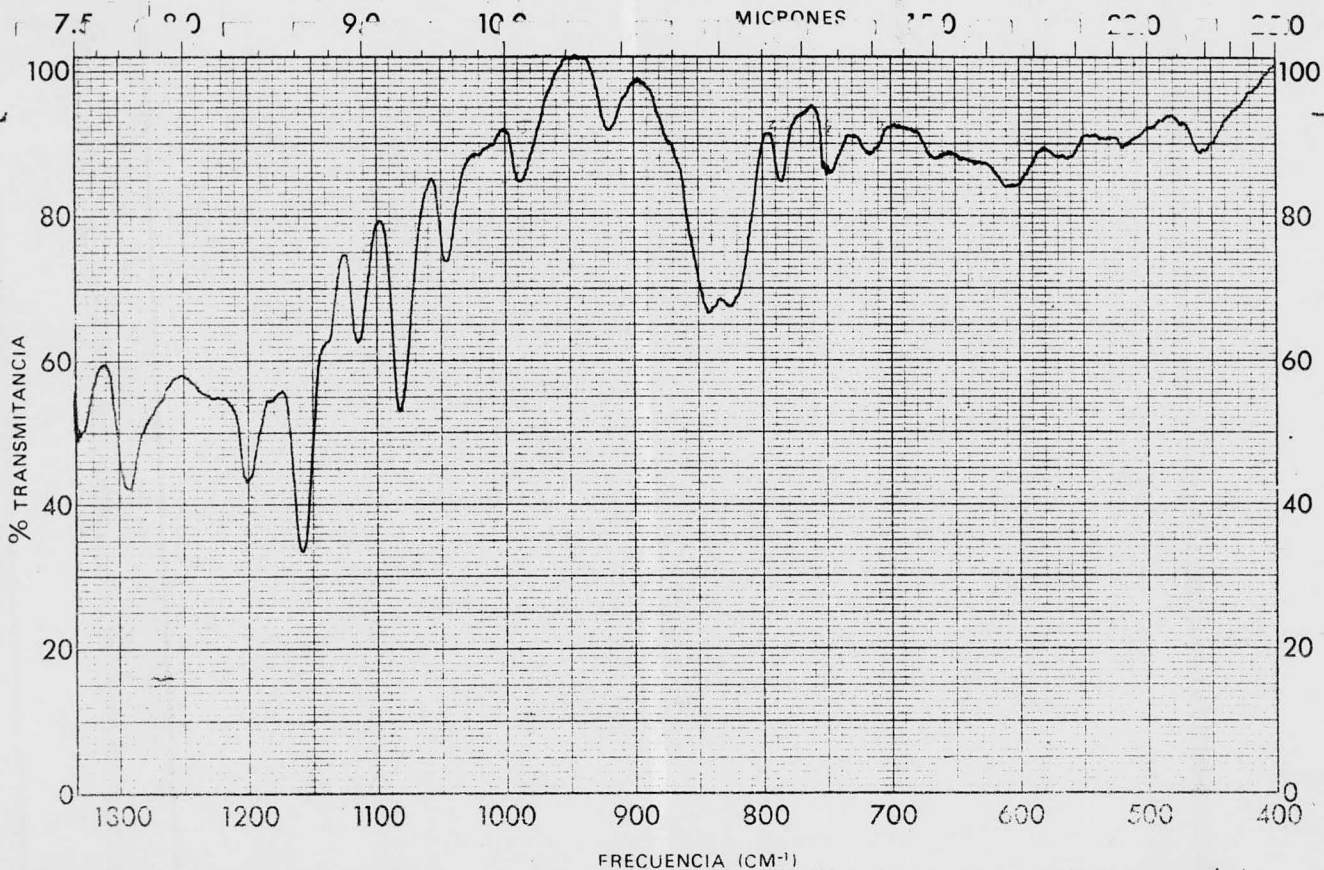
a 258  $m\mu$

y a 330  $m\mu$ .



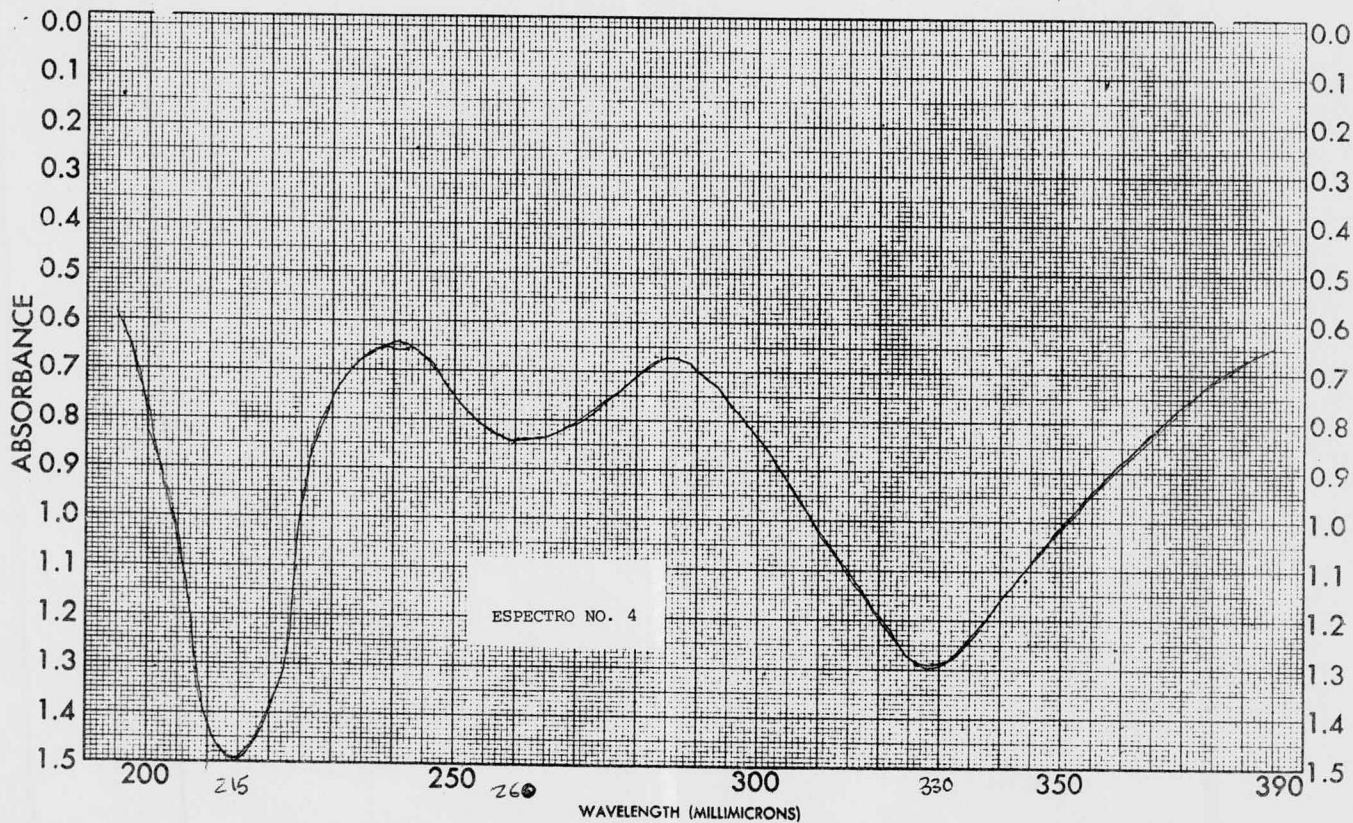
**SE**

MUESTRA	G 5HP	CURVA Nº	26631	VEL. DE BARRIDO	Auto	OPERADOR	del
ORIGEN	Puerto Rico	CONC.	—	RENDIJA	D	FECHA	19/11/58
SOLVENTE		ESPESSOR DE CELDA	—	COMENTARIOS	practico		
		REFERENCIA	cm				



MUESTRA	G 5HP	CURVA NO.	26631	VEL DE BARRIDO	rápido	OPERADOR	del
ORIGEN	Puerto Viejo	CONC.	—	RENDIA	11	FECHA	19/1/73
SOLVENTE		ESFESOR DE CELDA	—	COMENTARIOS	pequeño		
		REFERENCIA	alm				

En la región de  $3650 \text{ cm}^{-1}$  a  $3000 \text{ cm}^{-1}$  aparece una banda ancha de intensidad fuerte debida a vibración de estiramiento de OH en asociación polimérica ó carboxilo; en  $2910 \text{ cm}^{-1}$  aparece una banda unida a la anterior que es de intensidad media y que puede ser atribuida a estiramiento de H en metilo (no se puede observar si hay metilenos y metinos); en  $1690 \text{ cm}^{-1}$  aparece una banda angosta de intensidad fuerte característica de una cetona, insaturada; en  $1620 \text{ cm}^{-1}$  aparece una banda angosta y fuerte debida a estiramiento C-C de una doble ligadura; en  $1350 \text{ cm}^{-1}$  aparece una banda de intensidad media que puede corroborar la presencia de metilo ; en  $1292 \text{ cm}^{-1}$  aparece una banda debida a una doble ligadura del tipo  $\begin{matrix} R & & H \\ & \diagdown & / \\ & C & \\ & / & \diagdown \\ R & & R \end{matrix}$  la cual se corrobora con la banda que aparece ya sea, en  $825$  u  $840 \text{ cm}^{-1}$ ; en  $1200 \text{ cm}^{-1}$  aparece una banda angosta de intensidad media debida a la vibración de deformación -C-H en fenoles; la banda en  $1160 \text{ cm}^{-1}$  también es atribuída a alcoholes aromáticos (es de notarse que aunque existen grupos aromáticos como los oxidrilos, el patrón de sustitución del anillo no es claro).



SAMPLE <u>S5 HIDROLIZADO</u>	CURVE NO. _____	SCAN SPEED _____	OPERATOR _____
ORIGIN _____	CONC. _____	SLIT _____	DATE _____
SOLVENT <u>METANOL</u>	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

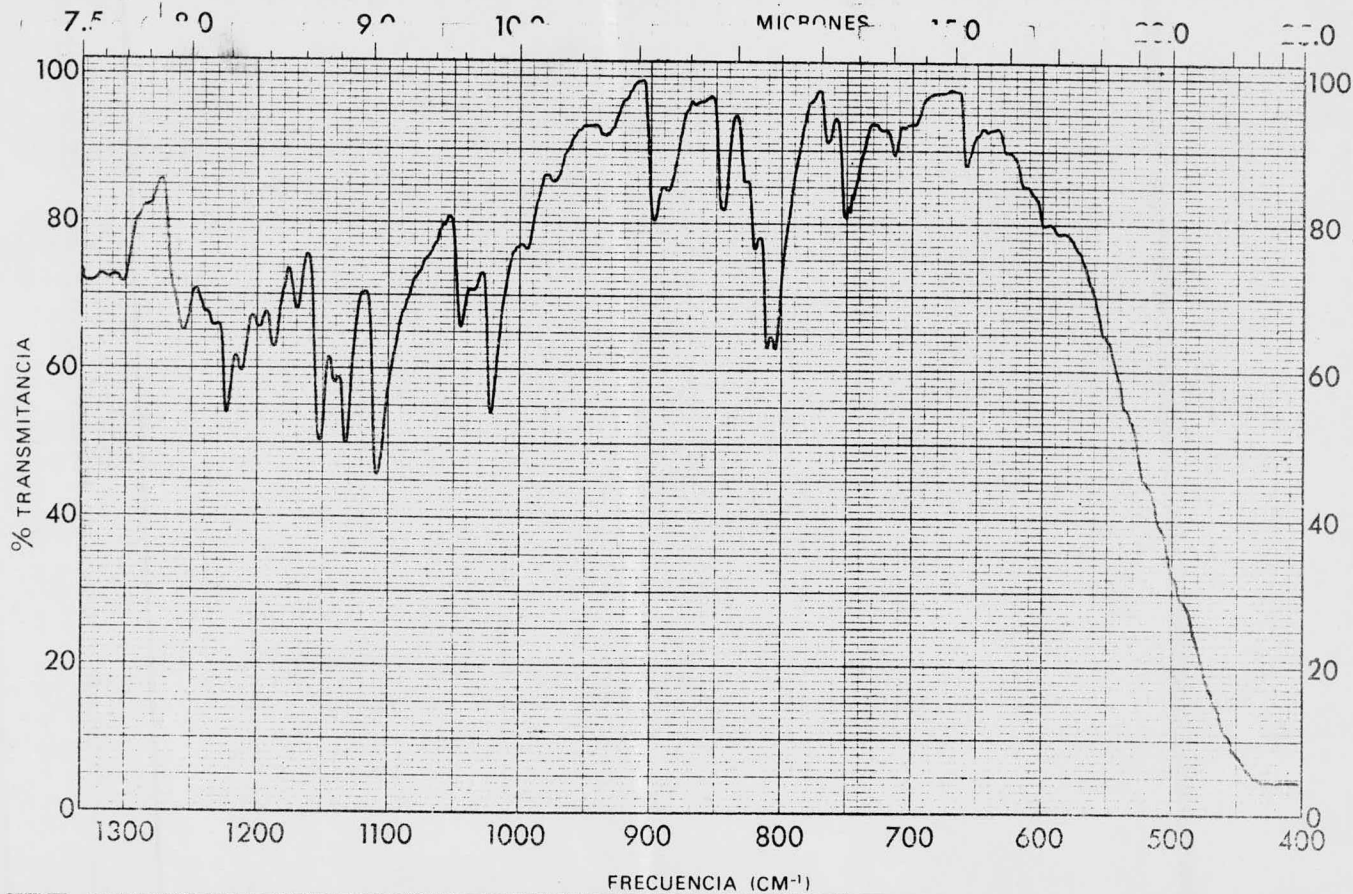


ULTRA VIOLETA No. 4 (AGLUCON) EN METANOL.

El compuesto absorbe en 3 regiones:

215 m $\mu$ , 260 m $\mu$  y 330 m $\mu$ .



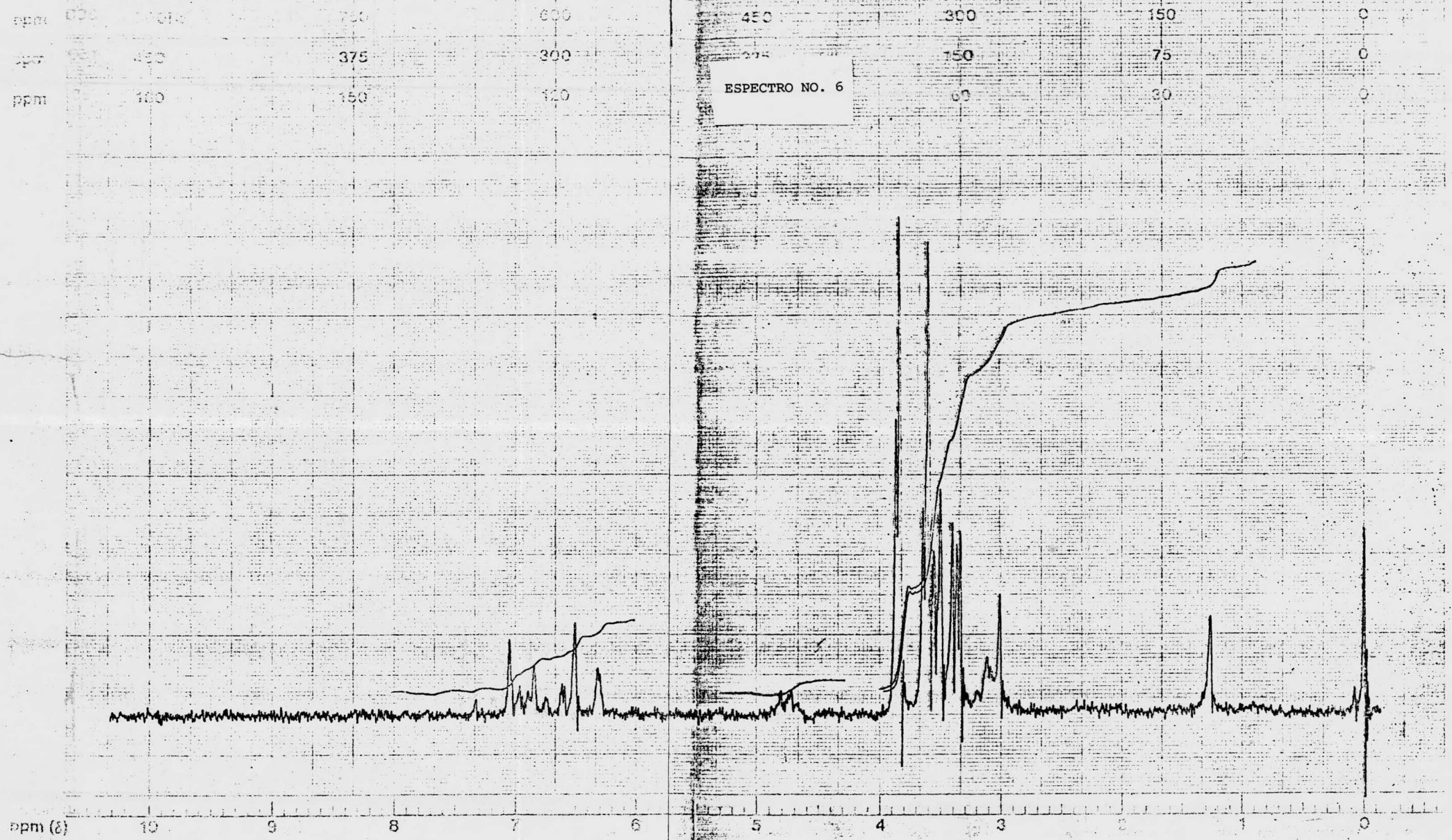


MUESTRA	<i>Aclucion Me</i>	CURVA N°	<i>2686<sup>v</sup></i>	VEL. DE BARRIDO	<i>rap</i>	OPERADOR	<i>Ch</i>
ORIGEN	<i>Ricardo Yáñez</i>	CONC.	<i>—</i>	PENDIJA	<i>N</i>	FECH.	<i>21/21/70</i>
SOLVENTE		ESPESOR DE CELDA	<i>—</i>	COMENTARIOS	<i>Peluculo</i>		
		REFERENCIA	<i>air</i>				

En  $2900\text{ cm}^{-1}$  aparece una banda angosta de intensidad fuerte asignada a vibración de estiramiento -C-H de metilo; en  $2833\text{ cm}^{-1}$  aparece un sobretono debido a la absorción de metoxilos aromáticos en  $1400\text{ cm}^{-1}$ ; en  $1710\text{ cm}^{-1}$  aparece una banda angosta de intensidad fuerte debida a vibración de estiramiento de carbonilo; en  $1600\text{ cm}^{-1}$  aparece una banda angosta y de intensidad fuerte debida a la vibración C-C de doble ligadura; las bandas en la región de  $1300 - 1180\text{ cm}^{-1}$  son debidas a vibración de ésteres aromáticos.

GLUCOSIDO METILADO

ESPECTRO NO. 6



CK POS. \_\_\_\_\_ ppm SPECTRUM AMPL. 3000 SWEEP TIME 5 min NUCLEUS  $^1\text{H}$  SAMPLE: R. G. OPERATOR Plejadina  
 CK POWER \_\_\_\_\_ mW FILTER 0.05 sec SWEEP WIDTH 9.0 ppm ZERO REF. TMS DATE 16 oct-73  
 COUPLING POS. \_\_\_\_\_ ppm COUPLING POWER \_\_\_\_\_ mW RF POWER 0.05 mW END OF SWEEP 0 ppm SAMPLE TEMP. Ta °C SOLVENT: CDCl<sub>3</sub> SPECTRUM NO. 102

ESPECTRO DE R.M.N. No. 6 (GLUCOSIDO METILADO).

En la región de 3.3 a 3.9 ppm aparecen una serie de singuletes atribuidos a metoxilos ( $10 -\text{OCH}_3$ ). En la región de 4.6 a 4.9 ppm aparecen una serie de señales debidas a protones del azúcar metilado; centrado en 6.32 ppm se observan 3 señales sobrepuestas debidas a protones vinílicos; en la región de 6.5 a 7.1 ppm aparece un protón de bandas atribuídas a protones aromáticos.

Aparece en  $\delta$  3.5 (s, 3H) debido a los protones de  $-\text{OCH}_3$ ; en  $\delta$  3.9 (s, 6H) debido a  $-\text{OCH}_3$ ; en  $\delta$  3.97 (s, 3H) también atribuidos a  $-\text{OCH}_3$ ; en  $\delta$  6.07 (s, 1H) asignado a protón vinílico; centrado en  $\delta$  6.33 aparece (m, 1H) debido a protón aromático; centrado en  $\delta$  6.6 aparece (m, 1H) debido a protón aromático y en  $\delta$  6.93 aparece (s, 2H) debido a la presencia de 2 protones aromáticos equivalentes.



START OF SWEEP

AGLUCON SIN METILAR

> 117

10ppm  
5ppm  
2ppm

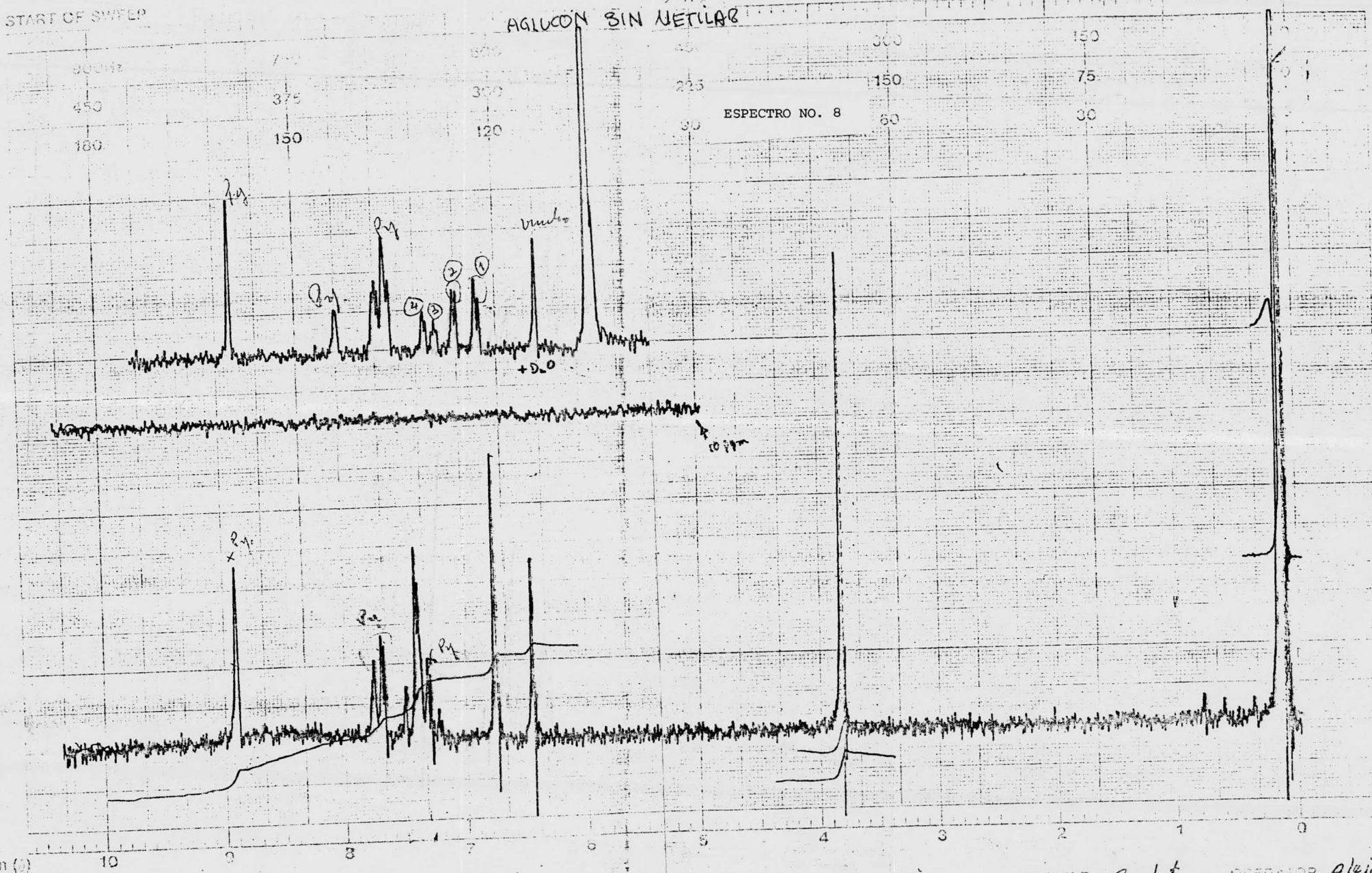
300 Hz  
450  
180

750  
375  
150

800  
300  
120

ESPECTRO NO. 8

300  
150  
60  
150  
75  
30



LOCK POS. \_\_\_\_\_ ppm      SPECTRUM AMPL. 4600      SWEEP TIME 5 min      NUCLEUS  $H^1$       SAMPLE: *B. dato*      OPERATOR *Alejandra*

LOCK POWER \_\_\_\_\_ mG      FILTER 0.05      SWEEP WIDTH 10 ppm      ZERO REF. TMS      DATE 17-3-79

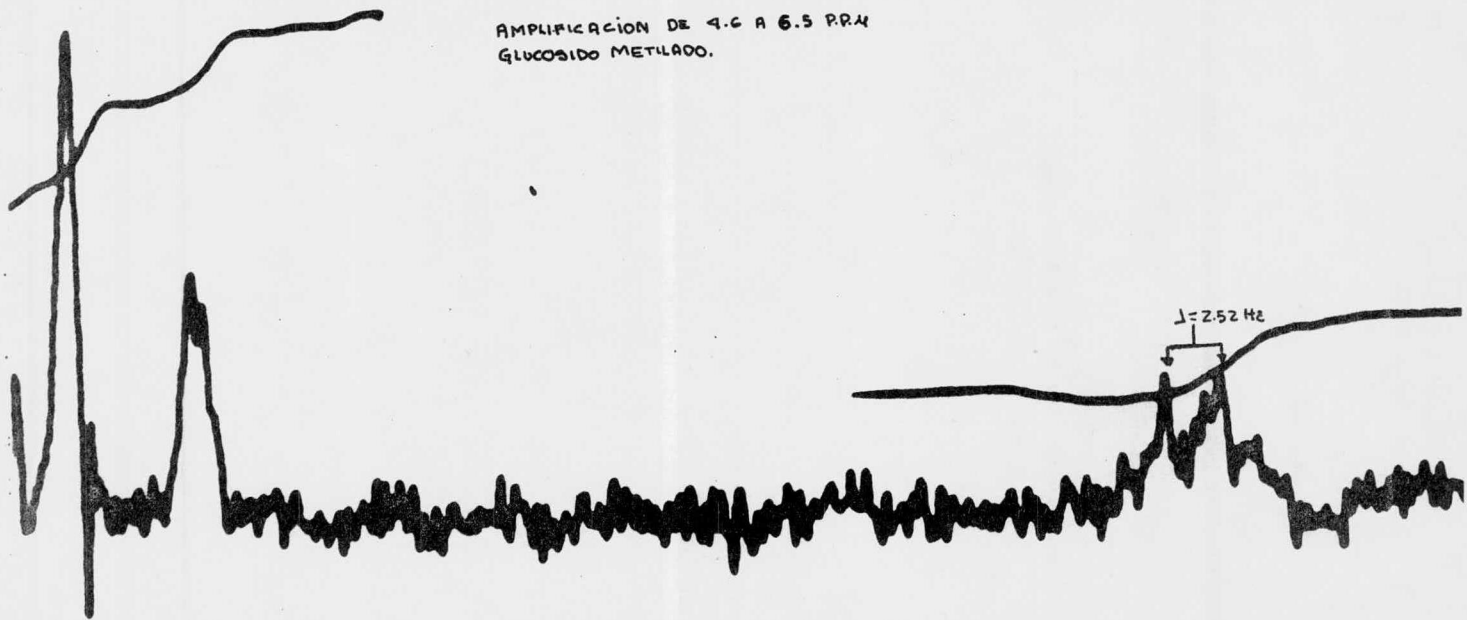
DECOUPLE POS. \_\_\_\_\_ ppm      DECOUPLE POWER 0.05      END OF SWEEP      SAMPLE TEMP. TR °C      SOLVENT:  $C_6D_6N$       SPECTRUM NO. 800

FM 90 MHz 100 MHz SPECTROMETER

El espectro muestra las siguientes señales:

en  $\delta$  3.85 (s, 3H) atribuido a Metoxilo; en  $\delta$  6.33 (s, 1H) debido a un protón vinílico; en  $\delta$  6.7 (d,  $J=1\text{cps}$ , 1H), en  $\delta$  7.0 (d,  $J=1\text{cps}$ , 1H) y  $\delta$  7.27 (d,  $j=1\text{cps}$ , 1H) y en  $\delta$  7.17 (t, 1H). Estas 4 señales ( $\delta$  6.7,  $\delta$  7,  $\delta$  7.27 y  $\delta$  7.17) son debidas a protones aromáticos.

AMPLIFICACION DE 4.6 A 6.5 P.P.M  
GLUCOSIDO METILADO.





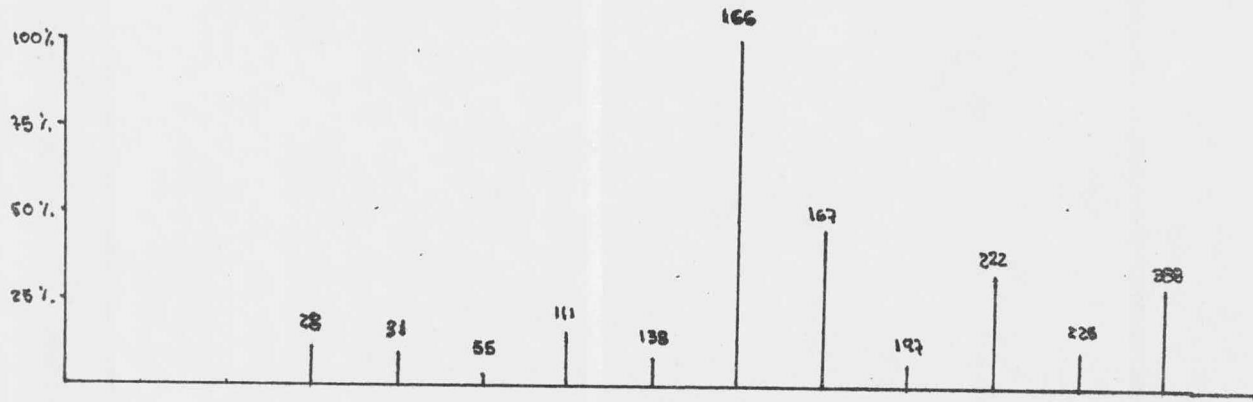
ESPECTRO DE MASAS

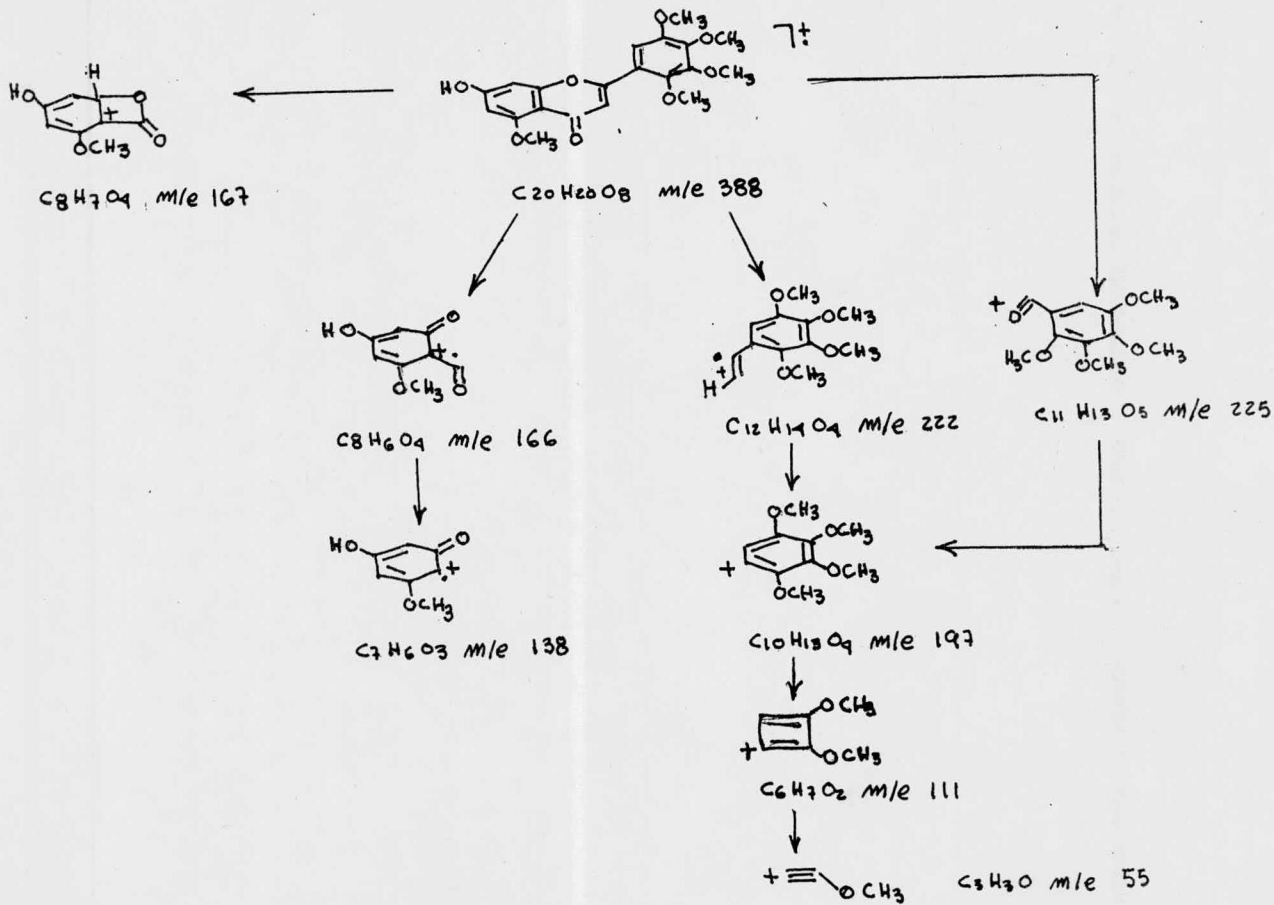
(AGLUCON METILADO) No. 9

Se observa que el aglucón metilado tiene un  $M^+$  de 388, que indica su peso molecular, observándose además las siguientes relaciones m/e y su porcentaje relativo:

388 (32.23%), 225 (13.06%), 222 (32.23%), 197 (10.16%),  
167 (49.76%), 166 (100%), 138 (10.16%), 111(16.42%), --  
55 (3.18%), 31 (11.70%), 28 (12.07%).

ESPECTRO NO. 9





ESPECTRO DE MASAS. (GLUCOSIDO METILADO) No. 10.

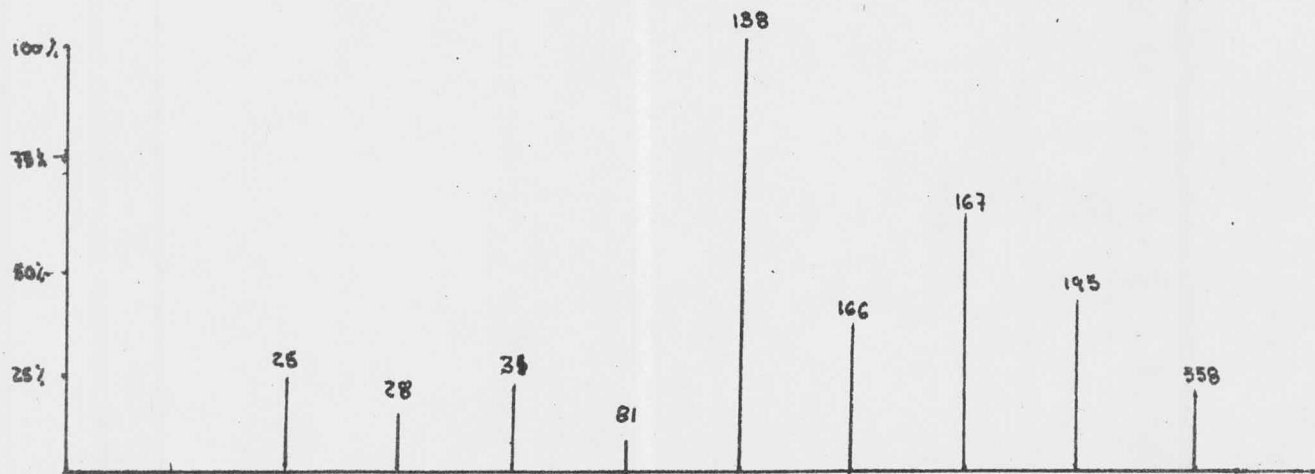
En este espectro se observan 3 diferentes relaciones m/e las cuales son: 622, 606, 592, correspondiendo la relación m/e de 606 al glucósido del aglucón del espectro de masas No. 1; observándose las relaciones m/e 267, 225, 197, 167, 125, 95 y 97, 88, 32 y 28.

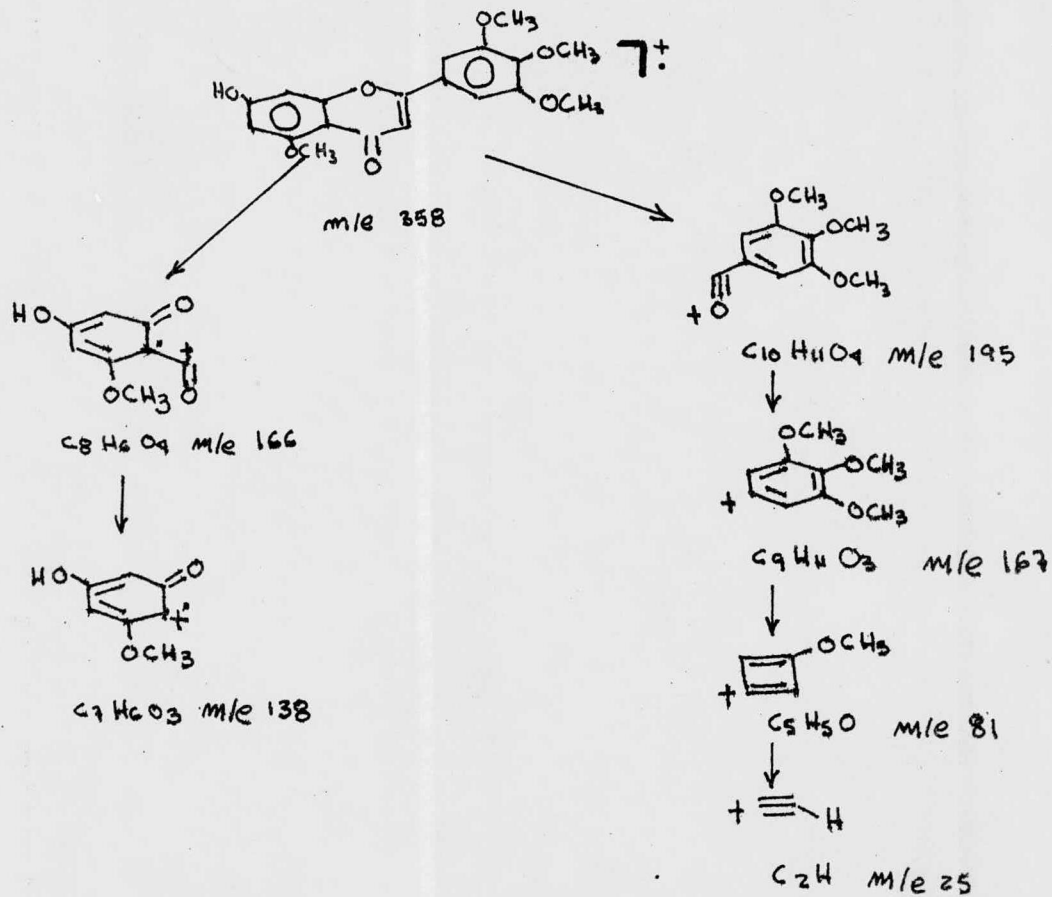
ESPECTRO DE MASAS (AGLUCON METILADO). No. 11

Aparece un ión molecular a 358, observándose además las siguientes fracciones:

358 (23.12%), 195 (48.%), 167 (62.47%), 166 (37.10%), -  
138 (100%), 81 (10.23%), 31 (24.03%), 28 (13.76%), - --  
25 (24.03%).

ESPECTRO NO. 11





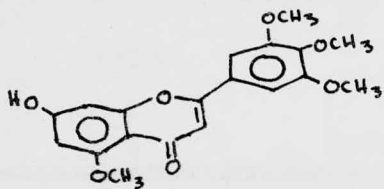
## DISCUSION DE ESPECTOS

En el espectro de I.R. del producto aislado, se observa que la banda de vibración de carbonilo posee hombros debidos a la presencia de otros grupos carbonilos, éste fué el primer indicio de que lo obtenido en realidad se encontraba como una mezcla, lo cual se puede comprobar en el espectro de R.M.N. del producto metilado, dado que el número de metóxilos (10) que se encuentran entre 3.2 y 3.9 p.p.m. son demasiado para un solo glucósido; también se observó en la señal centrada en 6.3 p.p.m. que corresponde a protones vinílicos, la presencia de tres diferentes señales que varían en intensidad indicando diferente proporción; con este espectro al igual que en el de I.R. no se puede llegar a una conclusión definitiva con respecto al diferente número de glucósidos presentes en la muestra; esta duda quedó parcialmente resuelta con el espectro de masas del producto metilado en donde se observan 3 relaciones m/e: 622, 606 y 576, indicando que existen 3 diferentes glucósidos, o bien, que las fracciones en 606 y 576 se deben al glucósido con P.M. de 622 que ha perdido un OH para dar la fracción de 606 y además un  $-OCH_3$  para dar la fracción en 576.

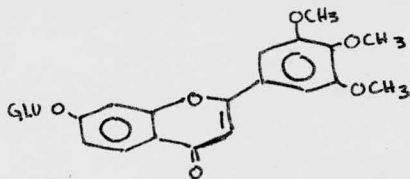
Esta alternativa queda resuelta al observar los espectros de R.M.N. y masas del aglucón metilado que se obtuvo puro, y del aglucón sin metilar también en estado puro.

El espectro de R.M.N. del aglucón metilado (NO. 7). Muestra claramente la presencia de cuatro metoxilos aromáticos; uno en 3.5 p.p.m., dos en 3.9 p.p.m. y otro en 3.97 p.p.m. apareciendo con intensidades relativas de aproximadamente 1:2:1 respectivamente, los diferentes desplazamientos químicos indican que el metoxilo en 3.97 p.p.m. está más cercano a un grupo electronegativo; los dos metoxilos en 3.9 p.p.m. son equivalentes y el metoxilo que aparece en 3.5 p.p.m. es el más desplazado a campo mayor; con las señales del protón vinílico en 6.07 p.p.m. y los protones aromáticos en 6.33 p.p.m. para un protón, 6.66 p.p.m. para dos protones y en 6.93 p.p.m. para un protón; así como de el hecho de que se obtenga un peso molecular de 358 nos indica que la probable estructura del aglucón y glucósido sean:





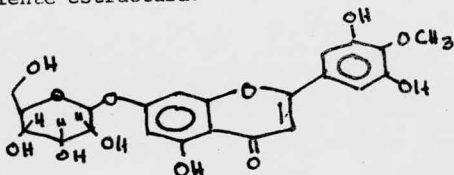
P.M. 358 Estructura I



P.M. 576 Estructura II

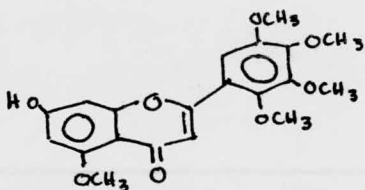
Basándose en el hecho de que los máximos de absorción del glucósido sin metilar y metilado no varíen apreciablemente y de que en el espectro de R.M.N. del aglucón metilado aparece una sola señal de  $\text{OCH}_3$  aromático

Para la estructura del glucósido sin metilar propone mos la siguiente estructura:

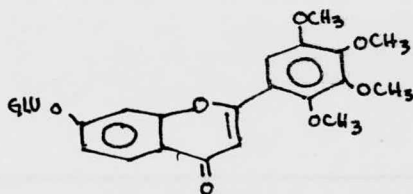


Estructura III.

En el espectro de masas del aglucón metilado (No.9). se observa un ión molecular de 388 y otro de 358, esta última fracción se puede deber a una mezcla con la estructura I, ó puede deberse a una pérdida de  $-\text{OCH}_3$  de 388 para dar la fracción en 358; la estructura del otro aglucón aislado probablemente es:

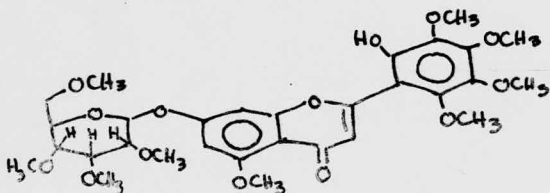


P.M. 388 Estructura IV.



P.M. 606 Estructura V.

El tercer glucósido no fué obtenido de la mezcla, pero la presencia de un ión molecular de 622 en el espectro de masas del glucósido metilado, así como la presencia de 3 diferentes protones vinílicos nos hizo llegar a la conclusión de una tercera flavona con la probable estructura No. VI de glucósido metilado:



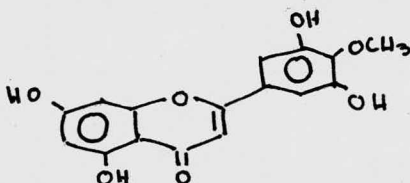
P.M. 622 Estructura VI.

Proponiendo que el oxidrilo está en la posición 2' del esqueleto flavonoide, ya que ahí se encuentra impedido estéricamente para la metilación y eso explica que no se encuentre como éter alílico.

Se puede concluir que de los 3 glucósidos obtenidos en la mezcla, solo uno de ellos fué definitivamente determinado en su estructura y su fórmula desarrollado se muestra en la estructura III. Las otras 2 estructuras son propuestas en base a los espectros del Glucósido metilado y el Aglucón metilado (No. 9).

## CONCLUSIONES

- 1) Se obtuvo una mezcla de tres glucósidos de tipo flavonoide y de acuerdo a lo establecido en el capítulo de discusión de espectros.
- 2) Los glucósidos tienen como aglucón una flavona; estos aglucones poseen diferente grado de oxidación y oximetilación.
- 3) Se propone la siguiente estructura para la flavona que se considera el aglucón del glucósido aislado en forma pura.



Estructura VII

- 4) La flavona con la estructura VII no se encuentra reportada en la literatura<sup>11</sup>, y por lo tanto puede ser una nueva aportación en el estudio de estos compuestos de origen natural.
- 5) Se concluye que se hizo el aislamiento y establecimiento de estructura de un glucósido de flavona que tiene el isomero  $\alpha$  de la glucosa como azúcar. (Ver amplificación del Espectro)

BIBLIOGRAFIA:

1. Martinez, Maximino  
Las plantas Medicinales de México  
Ed. Botas, México, 1939  
Págs. 84-86.
2. Goodman, Louis S., Gildman Alfred.  
The Pharmacological Basis of Therapeutics  
4a. Ed., Ed. Mc Millan, USA 1970  
págs. 1128-1132.
3. Ritzmann  
Hippkrates 21, 161 (1950)
4. Winter  
Hippokrates 22, 249 (1951)
5. Schmid  
Bericht uber die Behandlung mit dem peroralen Antidiabetikum  
Sucontral. Sonderdruck der Fa. Werner Sippel, Konstanz, 1951.
6. Kumate, J., Gutiérrez G.  
Manual de Infectología  
4a. Ed., Ed. Medicas del Hospital Infantil de México, 1976.  
págs. 23-32.
7. Hegnauer, R.  
Chemotaxonomie der Pflanzen  
Birkhauser Verlag Basel und Stuttgart, 1973  
págs. 130-174.
8. Domínguez, Xorge A.  
Métodos de Investigación Fitoquímica  
1a. Ed., Ed. Limusa S.A., México, 1973  
págs. 81-90, 41

9. Harborne J.B., Mabry T.J.  
The Flavonoids  
Vol. I y II, Academic Press, USA, 1975
10. Dyer, John R.  
Aplicaciones de Espectroscopía de Absorción en compuestos  
Orgánicos  
1a. Ed., Ed. Printice Hall Internacional, 1973  
págs. 32-38
11. Chemical Abstracts  
Revisión Flavonoides Años 1973-1978.
12. Wilard, H.H., Meritt L., Deam J.  
7a. Ed., Ed. C.E.C.S.A., México,  
Págs. 209-241.
13. Tesis, Facultad de Química, U.N.A.M.  
Francisco Diaz Cedillo  
Estudios comparativo de los copalchis y sustancias  
aisladas de uno de ellos  
1979.

**TESIS**



Tesis por computadora

Medicina 25 Local 2

Tel. 550-87-98

Delante de la Facultad de Medicina

Ciudad Universitaria