

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
**FACULTAD DE QUIMICA**

**ESTUDIO QUIMICO DE HETEROTHECA INULOIDES**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**Q U I M I C O**  
**P R E S E N T A**

**ALICIA ROMUALDA REYES ARELLANO**

**México, D. F.**

**1980**

M-42481



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.

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA:

PRESIDENTE: Profa. Martha Albores Velasco.  
VOCAL: Profa. Yolanda Caballero Arroyo.  
SECRETARIO: Profa. Eloisa Uriarte Navarro.  
1er. SUPLENTE: Prof. Javier A. Manríquez González.  
2o. SUPLENTE: Profa. Selma Sonia Sosa Sevilla.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

Facultad de Química. Departamento de Química Orgánica y Aplicada. Sección de Química Experimental.

SUSTENTANTE: Alicia Romualda Reyes Arellano.

ASESOR DEL TEMA: Dra. Yolanda Caballero Arroyo.

La ciencia es respecto del alma  
lo que es la luz respecto de --  
los ojos y si las raíces son --  
amargas, los frutos son muy ---  
dulces.

Aristóteles

Como homenaje póstumo  
a mi madrecita.

A mi hermano, cuyo recuerdo me ha  
inspirado para alcanzar un pelda-  
ño más en el infinito camino del-  
saber.

Con eterna gratitud a mi abuelita,  
quien siempre ha sido una madre --  
para mí.

Con cariño a mi padre.

A mis tíos: Raul, Pedro y Dolores  
por su apoyo.

A mi hermana Clara.

A

Magdalena R. Sánchez.

Quintina C. González.

Georgina G. Guevara.

Virginia L. Torres.

Eugenio G. Martínez.

A toda mi familia.

A mis amigos, compañeros  
y maestros.

Patentizo mi agradecimiento a la Dra.  
Yolanda Caballero Arroyo, por el apoyo  
y dirección que me brindó en la reali-  
zación de este trabajo.



## INDICE

	Pág.
INTRODUCCION-----	1
ANTECEDENTES-----	3
Heterotheca inuloides, un medica <u>o</u> mento popular-----	4
Comparación entre Heterotheca i- nuloides y Arnica Montana-----	4
Propiedades de la familia de las Compuestas-----	8
Características de los flavonoi- des-----	12
Aislamiento de los flavonoides-----	15
Métodos para determinar las es- tructuras de los flavonoides-----	17
Actividad Farmacológica de los - Flavonoides-----	19
Otros usos de los flavonoides-----	22
PARTE EXPERIMENTAL-----	27
RESULTADOS Y DISCUSION-----	37
RESUMEN Y CONCLUSIONES-----	47
BIBLIOGRAFIA-----	49

## INTRODUCCION

## I N T R O D U C C I O N

Una de las necesidades más imperiosas -- del ser humano es la de aliviar sus enfermedades y para ello ha recurrido entre otras cosas a las plantas. Estas le han proporcionado además, alimentación, casa, vestido medios de transporte, materias primas para la industria y un medio favorito de ornamento; por lo que el estudio de una planta desde cualquier punto de vista es de extraordinario interés. El estudio químico de una planta tiene gran importancia ya que se trata de aislar e identificar el o los compuestos químicos que pudieran ser responsables de la actividad que se le confiere y en consecuencia fomentar su uso o su desuso; este estudio, además, es útil en Quimiotaxonomía.

Se decidió estudiar *Heterotheca inuloides* por ser una planta de tradición en la medicina popular la cual le atribuye notables propiedades terapéuticas. Por otra parte, esta planta pertenece botánicamente a la familia de las compuestas que se caracteriza por tener compuestos químicamente importantes como las lactonas sesquiterpénicas y los flavonoides.

Existe un motivo más para el estudio de *Heterotheca inuloides* pues según informes de laboratorios homeopáticos, se considera a ésta "inferior" a *Arnica montana*, sin que existan fundamentos científicos para ello.

Teniendo como base lo anterior, se inició el estudio de *Heterotheca inuloides*, el cual resultó sumamente difícil debido a la gran cantidad de componentes presentes y a la escasa cantidad de cada uno de ellos.

La descripción del proceso seguido para lograr el aislamiento de los componentes de esta planta así como el aislamiento y determinación de la estructura de un flavonoide, la quercetina, es el contenido del presente trabajo.

**ANTECEDENTES**

## A N T E C E D E N T E S

### HETEROTHECA INULOIDES, UN MEDICAMENTO POPULAR.

Heterotheca inuloides conocida comúnmente ( 2 ) como acahual, acahuatl, árnica del país, cahual cuauteco o cuaudeteco es una hierba silvestre mexicana - que crece en los estados de Aguascalientes, Chihuahua, - Guerrero, Hidalgo, México, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí, Tlaxcala y Veracruz. Como se ve -- (Fig. 1) está ampliamente distribuida en la República Mexicana ( 3 ), ( 4 ). Botánicamente esta planta pertenece a la familia de las compuestas.

Esta hierba florece en agosto y septiembre ( 4 ).

La medicina tradicional mexicana le ha atribuido las siguientes propiedades terapéuticas: útil - como anticancerígeno, antipalúdico, antipirético, diaforético, diurético, emetocatórtico, estornutatorio, tónico y vulnerario; efectivo en casos de bronquitis, contusiones, deficiencia visual y heridas.

Generalmente se usa la infusión de flores ( 4 g/l) aunque también llegan a usarse de hojas y de raíz.

Si se toma infusión en grandes cantidades pueden producirse envenenamientos; el contraveneno es el apio ( 5 ).

### COMPARACION ENTRE HETEROTHECA INULOIDES Y ARNICA MONTANA.

A Heterotheca inuloides se le conoce --- también como falsa árnica por comparación con Arnica mon

tana, hierba silvestre que crece en Europa y que también pertenece a la familia de las compuestas. (Figuras 2 y 3

Se ha considerado a *Heterotheca inuloides* "inferior" a *Arnica montana*, sin que se tengan suficientes bases para ello. Según informes de laboratorios-homeopáticos, *Arnica montana* se importa de Alemania para la manufactura de algunos medicamentos, siendo *Heterotheca inuloides* poco usada y solamente en la preparación de medicamentos de uso externo.

Al hacer la revisión bibliográfica se encontró que los estudios sobre *Heterotheca inuloides* son escasos y de poco contenido químico.

Luis G. Cabrera dice acerca de su composición que contiene: arnicina, resina y aceite esencial (3).

Maximino Martínez (4) transcribe una comparación de su composición con la de *Arnica montana*.

*Arnica del país.*  
(Según Reyes Bruciaga)

*Arnica montana.*  
(Según Chevalier)

- |                                         |                                 |
|-----------------------------------------|---------------------------------|
| a).-Resina.                             | a).-Resina.                     |
| b).-Materia colorante amarilla.         | b).-Materia colorante amarilla. |
| c).-Goma.                               | c).-Goma.                       |
| d).-Tanino.                             | d).-Tanino.                     |
| e).-Acido gálico.                       | e).-Acido gálico.               |
| f).-Aceite volátil en pequeña cantidad. | f).-Aceite volátil.             |
| g).-Sales minerales.                    | g).-Sales minerales.            |
| h).-Acido oxálico.                      | h).-Albúmina.                   |
| i).-Glucosa.                            | i).-Arnicina.                   |
| j).-Una grasa fija.                     |                                 |

k).-Almidón.

l).-Materia amarga.

Un análisis hecho con posterioridad al señor Reyes Bruciaga fue realizado por los profesores -- del Instituto Médico (5) quienes encontraron: resina, ma-  
teria colorante amarilla, clorofila, grasa, tanino, áci-  
do gálico, aceite volátil, glucosa, goma, materias albu-  
minoides y pécticas y sales minerales.

Se supone que la diferencia fundamental-  
entre H. inuloides y A. montana es que, ésta última tie-  
ne arnicina. La arnicina,  $C_{20}H_{30}O_4$ , es según Walz un ---  
principio cristalizado rojo amarillo, amargo, de función  
tal vez glucosídica, ligeramente soluble en los álcalis,  
insoluble en agua y poco soluble en alcohol y en éter --  
(5).

En Chemical Abstracts se encuentra un so-  
lo artículo sobre H. inuloides que data de 1976, "Struc-  
ture of sesquiterpenes from Heterotheca inuloides" (6) .  
En cambio sobre A. montana hay diversos estudios entre -  
ellos se mencionana enseguida los más recientes.

- a).-"Increasing resistance whit drugs". Aquí se menciona  
que Arnica montana hace resistentes a los organismos  
contra infecciones fatales debidas a Listeria monocy-  
togenes, es menos activa con Salmonella thyphimurium  
e inefectiva con Erysipelothrix insidiosa (7).
- b).-"Arnica montana, a still mysterious medicinal plant"  
Esta es una revisión sobre la planta mencionada.(8)
- c).-"Constituents and prep. of A. montana". Los compueste  
tos presentes en Arnica montana son: muchos aceites-  
volátiles, triterpenos, carotenoides, poliacetile---  
nos, polinos, flavonoides, otros compuestos fenólic-  
cos, alcaloides y otros (9).
- d).-"Sterols of five plants of the Compositae Family" --  
(10).

e).-"Active components of medicinal herbs" (11).

f).-"Distribution of sterols and triterpenic alcohols in plants of the Compositae Family" (12).

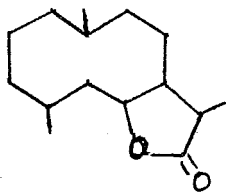


### PROPIEDADES DE LA FAMILIA DE LAS COMPUESTAS.

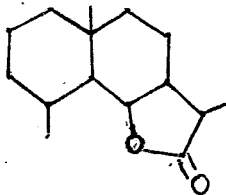
La familia de las Compuestas es cosmopolita, abundante en constituyentes químicos y muy extensa tiene 20 000 especies clasificadas en 13 tribus, es decir comprende alrededor de la décima parte de las fanerógamas conocidas. (13)

Estudios químicos revelan que la familia de las Compuestas se caracteriza por tener lactonas sesquiterpénicas como metabolitos secundarios, éstas caracterizan tribus, géneros y a veces especies. Sin embargo estos compuestos se han encontrado en otras familias (14)

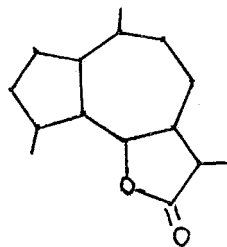
A continuación se exponen los tipos principales de lactonas sesquiterpénicas presentes en la familia de las Compuestas.



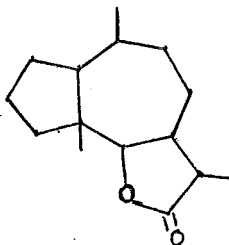
germacranólidas



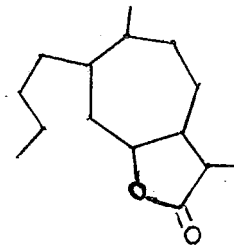
eudesmanólidas  
(santanólidas)



guaianólidas



pseudoguaianólidas



xantanólidas

Las lactonas sesquiterpénicas han despertado el interés de los investigadores, en los últimos años, por presentar las siguientes actividades (15):

- a).-Actividad citotóxica e inhibición de tumores.-Kup---chan y asociados así como Lee y colaboradores establecieron que cualquier lactona sesquiterpénica con un metileno exocíclico exhibe actividad contra células de tumores.
- b).-Causan dermatitis.
- c).-Envenenan al ganado.
- d).-Frenan la nutrición de insectos.
- e).-Tienen actividad antimicrobiana.
- f).-Inhiben la germinación de algunas plantas.

También se conocen 122 alcaloides de esta familia (16).

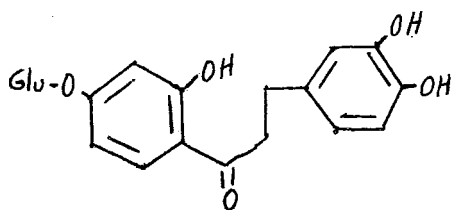
Otra de las características químicas de esta familia es la de poseer constituyentes fenólicos, - por ejemplo la artiina, un lignano, es común a 23 especies de las subtribus de la familia de las Compuestas -- aunque también se encuentran en Carduinae y Centaureinae (16).

Los flavonoides son otros compuestos que caracterizan a esta familia. Se conocen alrededor de 200 flavonoides naturales y un gran número de ellos se han encontrado en las Compuestas. Algunos de los flavonoides presentes en la familia mencionada son (17):

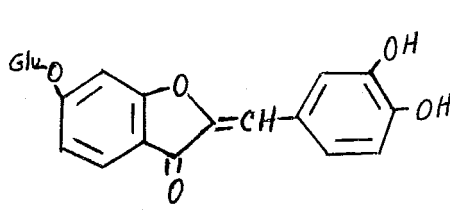
- a).-Antocianinas.-Se han identificado plenamente en 11 géneros y la antocianidina característica es la cianidina.
- b).-Auronas y Chalconas.-Un hecho característico de esta familia es la presencia regular, en pocas tribus, de chalconas y auronas. Los glicósidos de chalconas se localizan generalmente en los pétalos de las flores. Se presentan casi siempre con el glicósido de aurona

correspondiente ya que frecuentemente son productos de interconversión.

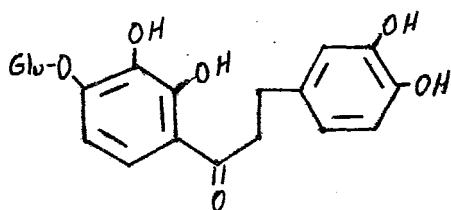
Por ejemplo en *Baeria chrysostoma* se presentan coreopsina-sulfureina y mareina-maritimeina.



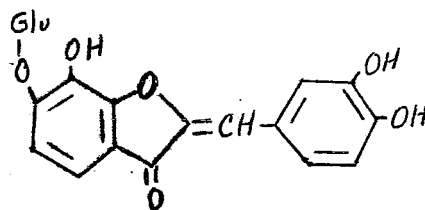
COREOPSINA



SULFUREINA



MAREINA



MARITIMEINA

Una mezcla abundante de pares de chalconas y auronas se han aislado de pétalos de varias especies de *Coreopsis*.

Otras chalconas y auronas aisladas de esta familia son: carthamina-carthamón; lanceolina-leptosina. Además de estos pares de chalconas-auronas se ha aislado también stillopsidina.

Las chalconas y auronas se encuentran principalmente en la subtribu Coreopsidinae de la tribu Heliantheae.

c).-Flavonas.-Los 7-glicósidos de apigenina y luteolina están bastante distribuidos en la familia de las Compuestas.

Otras flavonas encontradas en la familia mencionada son: acacetina, rutina, genkwanina, scute<sup>l</sup>llarina, pectolinaringenina, hispidulina y mikanina.

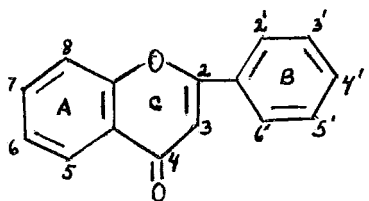
d).-Flavonoles.-De acuerdo con los estudios realizados se ha visto que el kaempferol y la quercetina son -- constituyentes igualmente frecuentes en la familia de las Compuestas. De 39 especies estudiadas se presentaron en 10 y 21 especies respectivamente.

El ácido elágico sólo se ha visto en *Tagetes patula*. Isorhamnetina se encuentra en algunas especies. Los patrones glicosídicos de los flavonoles totalmente identificados en plantas de la familia de las Compuestas son simples onas, 3 glucósidos. El 7-glucósido de la quercetina es relativamente raro. Se han encontrado alrededor de 9 flavonoles 6-hidroxilados, en hojas, flores y raíces de algunas --- plantas de esta familia.

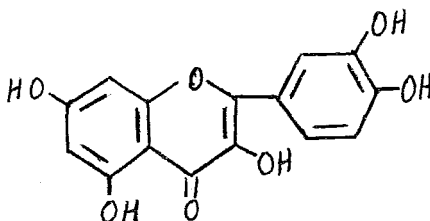
### CARACTERISTICAS DE LOS FLAVONOIDES.

Los flavonoides pueden ser considerados como compuestos con un esqueleto de carbonos  $C_6-C_3-C_6$ , - en el que cada  $C_6$  es un anillo de benceno; la variación en el estado de oxidación de la unión  $C_3$  determinará las propiedades y clases de cada uno de los compuestos (18).

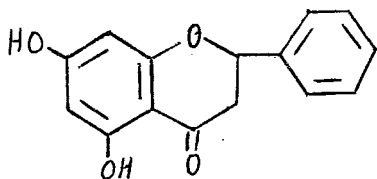
Las clases son:



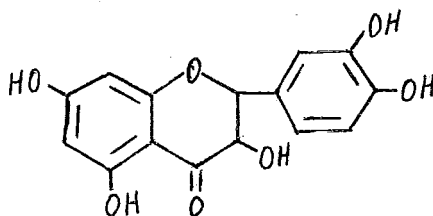
FLAVONA



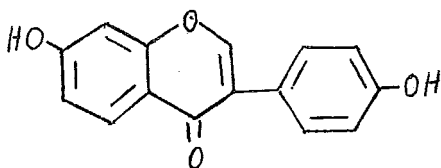
FLAVONOL



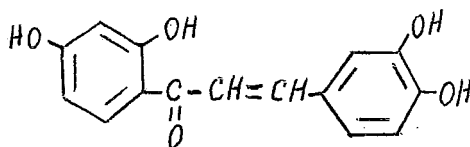
FLAVANONA



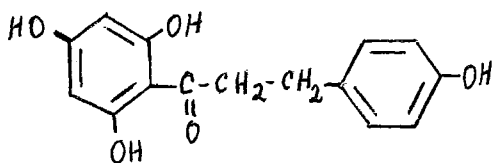
FLAVANONOL



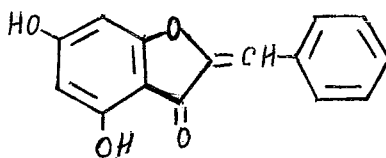
ISOFLAVONA



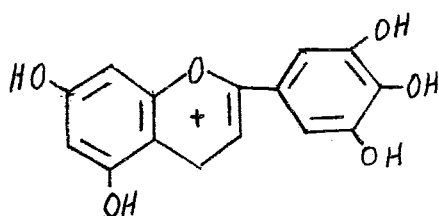
CHALCONA



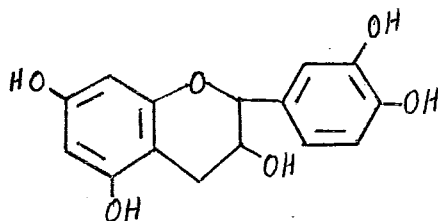
DIHIDROCHALCONA



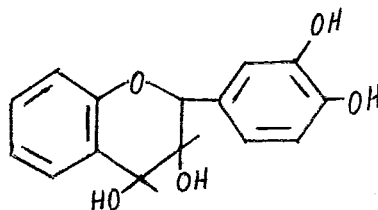
AURONA



ANTOCIANIDINA



CATEQUINA



FLAVAN-3,4-DIOL

Los flavonoides se presentan en las plantas como glicósidos; pero pueden existir en forma libre, (agliconas). En el anillo A los grupos hidroxilo se encuentran casi siempre en las posiciones 5 y 7, mientras que en el B los grupos hidroxilo o alcoholes están en las posiciones 4' o en 4' y 3'. Los glicósidos de los flavonoides - pueden llevar el azúcar en cualquier grupo hidroxilo disponible.

nible.

Generalmente se han encontrado 6 monosacáridos en flavonas y flavonoles, ellos son: glucosa, galactosa, ácido glucurónico, xilosa, rhamnosa y arabinosa.

Los glicósidos complejos de antocianinas contienen ácido p-hidroxibenzoico en combinación con los residuos de azúcar.

Las agliconas varían en el número de hidroxilos presentes y en ocasiones están metilados. Algunos flavonoides tienen un anillo de furano extra.

En general los flavonoides se presentan en todas las partes de las plantas: raíces, tallos, corteza, hojas flores y frutos; sin embargo, las flores son -- probablemente las más convenientes para la extracción de los flavonoides debido a que tienen en abundancia a estos compuestos y a que contienen pocas impurezas (19).

Por las características químicas que presentan, los flavonoides, tienen diversas solubilidades.

## AISLAMIENTO DE LOS FLAVONOIDES.

La técnica usada para aislar un determinado flavonoide depende desde luego de las características que presente. Así, los glicósidos son sumamente solubles en agua y escasamente solubles en disolventes orgánicos. La posición que ocupa el azúcar en la aglicona influye también en la solubilidad de la molécula y en su capacidad para formar lacas con los metales o precipitados por lo que se puede aprovechar este hecho para separar los flavonoides que presenten esta característica.

Entre las agliconas se tiene el siguiente margen de solubilidad: las flavonas y flavonoles son poco solubles en agua mientras que los dihidroflavonoles son más solubles. Las catequinas y leucoantocianinas son solubles en agua. Las antocianinas sólo son estables como sales y por tanto deben extraerse con disolventes ácidos, procesadas bajo condiciones ácidas y preservadas como cloruros.

Las chalconas y flavononas se interconvierten fácilmente.

CROMATOGRAFIA EN COLUMNA.-Una de las técnicas más útiles en el aislamiento de los flavonoides es la cromatografía en columna. Los adsorbentes comunes para la separación de estos compuestos son: sílica gel, --magnesol, celulosa, alúmina, poliamida, sephadex y resinas de intercambio iónico. Los adsorbentes de elección que se han generalizado son sílica gel, celulosa y poliamida.

Es importante hacer notar que la sílica-gel es un adsorbente útil para la separación de los flavonoides de un amplio margen de polaridades.

CROMATOGRAFIA EN PAPEL.-Este tipo de cro



matografía es adecuada para la separación de mezclas complejas de todos los tipos de flavonoides y sus glicósidos.

Las agliconas se separan satisfactoriamente usando disolventes "alcohólicos" o benceno-ácido acético-agua (125:72:3);  $\text{CHCl}_3$ -ácido acético-agua (13:6:1) fenol-agua (4:1) o Forestal.

CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.-Como en la columna, los adsorbentes para la separación de flavonoides son: sílica gel, poliamida y celulosa.

OTRAS TECNICAS.-También se han usado las siguientes técnicas: cromatografía gas-líquido, electroforesis en papel, sublimación y cromatografía líquida a alta presión.

## MÉTODOS PARA DETERMINAR LAS ESTRUCTURAS DE LOS FLAVONOIDES.

Las pruebas cualitativas para detectar la presencia de uno o más tipos de flavonoides usualmente preceden y ayudan al procedimiento de aislamiento, recíprocamente la etapa en un esquema de aislamiento (disolvente de extracción, extracción por ácido o base, precipitación como sales de plomo, separación por adsorción o por intercambio iónico) en la cual un pigmento flavonoide aparece, puede indicar el tipo al cual pertenece.

Por otra parte cuando un flavonoide ha sido aislado como una sustancia pura y es clasificado dentro de un determinado tipo hasta donde es posible, las pruebas cualitativas, las reacciones coloridas, las propiedades físicas, los espectros de I.R. y U.V. pueden usarse para determinar si el flavonoide obtenido es conocido o no.(19)

Cuando se encuentra un nuevo flavonoide se hará uso, además, de sus espectros de masas y de R.M. N., así como también de su espectro de absorción en la región U.V. bajo diferentes condiciones.

### CARACTERÍSTICAS DE LOS ESPECTROS DE LOS FLAVONOIDES.(19)

Flavonas y flavonoles generalmente presentan alta intensidad de absorción en la región 240-270 nm (banda II) y en la región 320-380 nm (banda I)

En las isoflavonas la banda II aparece en la región 245-270 nm y la banda I en 300-340 nm, mientras que en las flavanonas y dihidroflavonoles la máxima absorción para la banda II aparece en 270-295 nm.

El U.V. de las chalconas y auronas es caracterizado por la presencia de la banda I dominante y otra menor, la banda II. En las chalconas la banda II apa

recé en 220-270 nm y la I en 340-390 nm, la inflexión - siempre se presenta en 300-320 nm.

En las auronas la banda I se encuentra - en 370-430 nm y la II en 388-413.

Las antocianidinas y antocianinas tienen la banda II, poco intensa, en la región 270-280 nm y la - banda II, de absorción máxima, en 465-550nm .

Los espectros de R.M.N. son característicos de cada flavonoide y la comparación del espectro de - un flavonoide obtenido con los que se encuentran en la - literatura implica su identificación.

El espectro de masas da el valor del ion molecular que es de gran utilidad, también da el patrón - de fragmentación con lo que se puede identificar plenamente un compuesto o si éste es nuevo, aporta valiosa información sobre su estructura.

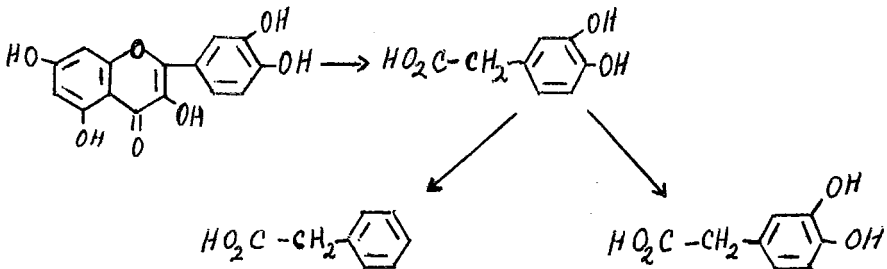
ACTIVIDAD FARMACOLOGICA DE LOS FLAVONOI-  
DES.

A.-Metabolismo.(17)

La gran mayoría de los flavonoides no -- son tóxicos para el hombre y los animales y están amplia mente distribuidos en alimentos vegetales.

Solamente se conoce la actividad de unos cuantos flavonoides y su actividad es débil (sobre la ba se de su peso) si se compara con la actividad de los al caloides.

Se ha estudiado ampliamente el metaboli smo de la rutina (uno de los flavonoides más ampliamente distribuidos) y se ha visto que en todos los casos se hi droliza a quercetina y algo se excreta como un glucuróni do conjugado, la quercetina a su vez se rompe in vivo -- con producción de CO<sub>2</sub> del anillo A y 3 ácidos fenilacéti cos del anillo B.



Las flavonas y flavanonas presentes en - frutas cítricas se rompen en forma similar pero los pro ductos principales detectados en la orina son los rela cionados con los ácidos propiónico, cinámico y benzoico- en lugar de ácidos fenilacéticos.

Las isoflavonas difieren de otros flavonoides en su metabolismo por sufrir reducción sin apertura del anillo de pirano.

### B.-Farmacología.

Las actividades farmacológicas de estos compuestos se han estudiado principalmente para rutina y otros flavonoides relacionados, para floridzina y para las isoflavonas.

La rutina y las isoflavonas hesperidina y eriodictiol son efectivas para disminuir la fragilidad de los vasos capilares sanguíneos (17). En dosis elevadas la rutina tiene actividad como antioxidante sobre la adrenalina y el ácido ascórbico, relaja los músculos lisos y se comporta como un inhibidor general de enzimas.-(17).

La foridzina es un flavonoide ampliamente estudiado y se usa entre otras cosas para estudiar el transporte de glucosa a través de las membranas celulares (17).

Varias isoflavonas tienen actividad estrogénica. La presencia de flavonoides estrogénicos en el trébol afecta la fertilidad del ganado lanar y vacuno. Algunas isoflavonas son usadas como insecticidas (17), -(19). Los flavonoides fosforilados han sido estudiados como factores de antifertilidad (19).

Las flavonas altamente hidroxiladas actúan como diuréticos (18).

La dihidroquercetina ha sido efectiva para disminuir la fragilidad capilar medida por inhibición de hemorragia pulmonar experimental inducida por baja presión. También se ha encontrado que es efectiva en reducir las enfermedades causadas por efectos del frío en-

animales (17), (19).

La quercetina y algunos de los productos de su metabolismo aumentan la resistencia de los capilares de la piel (20). Asimismo la quercetina (25-100 mg/Kg) es útil como antihistamínico (21) y se usa en forma comercial como hipocolérico y antiespasmódico (22). Se ha encontrado además que la quercetina tiene actividad antibacterial; siendo las bacterias Gram-positivas más sensibles a su efecto que las Gram-negativas (23). También se ha observado que los flavonoles son más activos que las flavonas contra Staphylococcus aureus, E coli y Bacillus typhosus (24).

#### POSIBILIDADES FARMACOLOGICAS DE LOS FLAVONOIDES.

Se han estudiado los efectos de los flavonoides sobre la hipertensión, diabetes, fiebre reumática y embarazo.

Se han usado en el tratamiento de ~~nontra~~ trombocitopénica púrpura, púrpura vascular, telangiectasia hereditaria, alergias, enfermedades por radiación, diatesis hemorrágica después de la terapia con dicumarol, dermatosis, enfermedad albuminaria, etc. Este trabajo ha involucrado el uso de la rutina o hesperidina y ha sido objeto de varias monografías y revisiones (19).

Algunos flavonoides se han estudiado como posibles anticancerígenos (1).

Las flavonas actúan posiblemente como estimulantes cardiacos (18).

Se ha observado que la quercetina evita parcialmente la inflamación hemorrágica y lesiones ulcerosas del estómago inducidas en ratas por administra---

ción de ácido acetil salicílico, vía oral (25).

Una mezcla de quercetina y kaempferol ha demostrado gran efecto hipocolesterémico en conejos con arterioesclerosis inducida experimentalmente (26). Otra mezcla conteniendo cianidina, quercetina y otros compuestos ha manifestado toxicidad para estafilococos patógenos y saprófitos cuando estos fueron expuestos a una dilución de 1:100 (27). Otra observación que se ha hecho acerca de la quercetina es que, es más efectiva que sus glicósidos para aliviar las inflamaciones, en ratones --- (28).

#### OTROS USOS DE LOS FLAVONOIDES.

Una gran variedad de flavonoides ha demostrado tener actividad como antioxidante (19), (29).

La quercetina inhibe la descomposición fotoquímica y es un antioxidante efectivo (19). Se ha estudiado, su efecto antioxidante, en cosméticos (30).

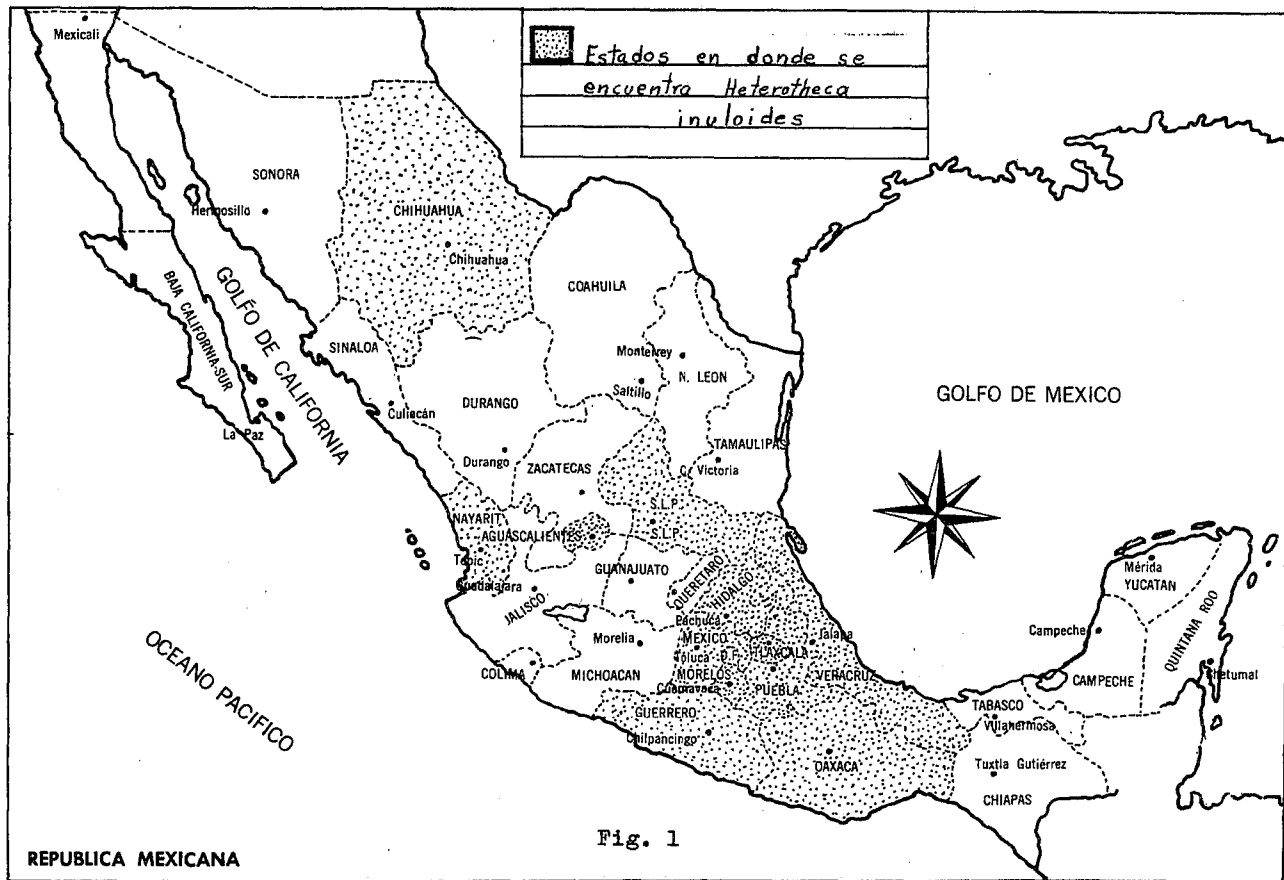
En las plantas los flavonoides contribuyen a darles color y sabor. Otra posible función en las plantas, es hacer que las flores y frutos sean más notables a los insectos polinizadores y de esta manera ayudar a la dispersión de las semillas. Se afirma también que las flavonas se comportan como auxinas en la estimulación de la germinación de semillas de trigo (17), (18).

La estabilidad coloidal y el sabor de la cerveza es mejorado, industrialmente, sin disminución de sus propiedades organolépticas, adicionando 10-100 p.p.m de quercetina (31).

Las antocianinas desempeñan un papel muy importante en la preservación del color en vinos tintos y como bactericidas (17), (19).

También se ha observado que 2 000 p.p.m. de morina, quercetina y rutina inhiben al virus X de la papa in vitro (32).



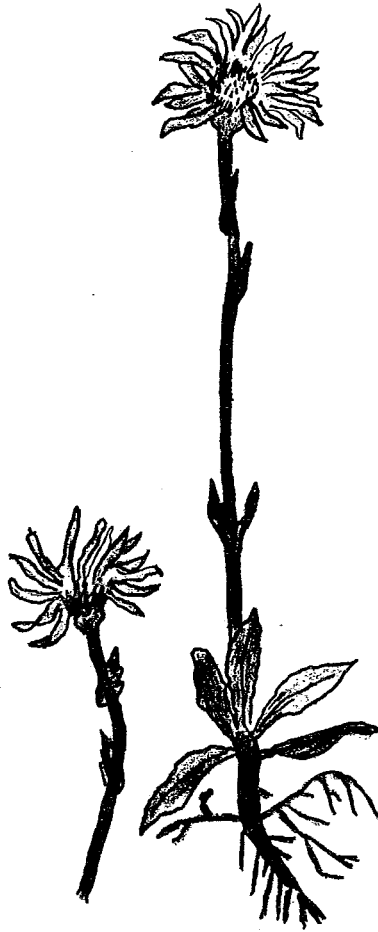


ARNICA DEL PAIS



*Heterotheca inuloides*. Cass. *Compositas*.  
Fig. 2

ARNICA



*Arnica montana*. Linn.-Compositas.  
Fig. 3

PARTE EXPERIMENTAL

## P A R T E   E X P E R I M E N T A L

La planta se dejó secar y se escogieron únicamente las flores para obtener los extractos. Las flores molidas pesaron 656 gramos que se colocaron en un matraz de bola de 5 litros.

Una vez puesto el material en el matraz se le pusieron 3 litros de hexano, se dejó así por 3 días a temperatura ambiente y después a reflujo durante una hora. El contenido del matraz se filtró primeramente en embudo de filtración rápida y después sobre en embudo Büchner. De la solución así obtenida se recuperó el disolvente por medio del rotavapor y se obtuvo el extracto hexánico. Se hizo el procedimiento 2 veces más y se juntaron los extractos hexánicos obteniéndose 30.07 gramos del extracto.

Al terminar de obtener el extracto hexánico se agregaron 3 litros de  $\text{CHCl}_3$  al material del matraz, se puso a reflujo durante una hora, se filtró en embudo de filtración rápida y después sobre celita en embudo Büchner. De la solución que se obtuvo se separaron el disolvente y el extracto también por medio del rotavapor. Se repitió el proceso 2 veces más y se reunieron los extractos clorofórmicos cuyo peso fue de 10.06 g.

Para obtener el extracto etanólico se procedió en la misma forma que para obtener los extractos anteriores, variando únicamente el disolvente que en este caso fue etanol. El peso del extracto fue de 47.78-gramos.

### ANALISIS   PRELIMINAR

Antes de iniciar un estudio detallado de cada uno de los extractos se hizo un breve análisis sobre

los extractos.

En el extracto hexánico se detectó beta-caroteno, haciendo una comparación con una muestra auténtica, por cromatografía en placa fina, utilizando como eluyente acetato de etilo.

En el extracto clorofórmico se detectaron glicósidos cardiotónicos y lactonas sesquiterpénicas mediante la prueba de Baljet que se realizó de la siguiente manera: se prepararon 2 soluciones, A y B; la A fue una solución etanólica de ácido pícrico al 1 % y la B una solución acuosa de NaOH al 10 %; las 2 soluciones se mezclaron en iguales volúmenes antes de usarse. Para hacer la prueba se pusieron 3 mg del extracto clorofórmico y 4 gotas del reactivo, enseguida se observó una coloración ligeramente anaranjada lo que indicó la presencia de lactonas sesquiterpénicas y glicósidos cardiotónicos (16).

Para llevar a cabo la prueba de Shinoda, para flavonoides, se disolvió una pequeña cantidad del extracto clorofórmico en etanol, se filtró y a la solución resultante se le agregó un trocito de magnesio y --unas gotas de ácido clorhídrico concentrado observándose de inmediato una coloración anaranjada, este color indicó que podían estar presentes: flavonas, flavononas, flavonoles, flavonoles o xantonas (16).

En el extracto etanólico se hicieron las siguientes pruebas:

La prueba de Shinoda se hizo en forma similar a la descrita para el extracto clorofórmico; pero aquí no hubo filtración.

La prueba para azúcares se hizo sobre un residuo blanco que se originó al trasvasar el extracto etanólico de un matraz a otro. Esta prueba se realizó con el reactivo de Fehling y la presencia de un precipitado-

rojizo en el tubo de ensayo donde se llevaba a cabo la prueba, indicó que había azúcares reductores en la muestra.

Para efectuar las pruebas de alcaloides se procedió de la siguiente manera: se disolvió una pequeña porción del extracto etanólico en un tubo de ensayo con ácido clorhídrico 2 N saturado con NaCl, la mezcla se filtró. El filtrado se ensayó con los reactivos de Dragendorff, Mayer y Wagner. El reactivo de Dragendorff se preparó disolviendo 8 gramos de  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  en 20 ml de ácido nítrico al 30 % y 27.2 g de KI en 50 ml de agua. Se mezclaron las 2 soluciones y se dejaron reposar durante 24 horas. Se decantó la solución y se aforó con agua a 100 ml. El reactivo de Mayer se preparó disolviendo 1.36 g de  $\text{HgCl}_2$  en 60 ml de agua y 5 g de KI en 10 ml de agua. Se juntaron las 2 soluciones y se aforaron a 1000 ml. El reactivo de Wagner se preparó disolviendo 1.27 g de I sublimado y 2 g de KI en 20 ml de agua; la solución se aforó a 100 ml con agua destilada. Un precipitado color marrón indicó la presencia de alcaloides (16).

Se disolvió una pequeña cantidad del extracto etanólico en agua caliente durante 30 minutos y luego se agitó durante 5. Se observó enseguida la formación de espuma con apariencia de panal de abeja y así se observó por más de 30 minutos, lo que se consideró prueba positiva para saponinas (16).

Para llevar a cabo la prueba para triterpenos se preparó un reactivo con anhídrido acético,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{CHCl}_3$  (10:1:25) v/v. Se disolvió una pequeña parte del extracto etanólico durante 2 minutos; la aparición de colores rojos, rosa, púrpura o azul se hubiera considerado prueba positiva (16); sin embargo no fue así

### ANALISIS DEL EXTRACTO HEXANICO.

El color que presentó este extracto fue café naranja.

Se observó que al enfriarse, el extracto, se separaba un sólido y se trató de purificar por medio de extracciones con hexano en frío. De la solución hexánica se obtuvo un polvo rojizo que por cromatografía en placa fina mostró la presencia de beta-caroteno. Al sólido se le determinó el espectro de la región visible y se confirmó la presencia de beta-caroteno.

Para poder separar los posibles componentes del extracto hexánico se montó una columna cromatográfica con sílice en hexano, se puso una muestra de 0.1968 g y se inició la elución con hexano. Todas las fracciones obtenidas de esta columna fueron de aproximadamente 50 ml. Con este disolvente se obtuvieron 12 fracciones. Por cromatografía en capa fina se observó que las fracciones 5, 6, 7, 8, 9 eran las mismas y estaban puras; al evaporarse todo el hexano quedó una especie de cera blanca, se le tomó punto de fusión y fue de 56-58 °C, también se le determinó espectro de IR y se llegó a la conclusión de que se trataba de una parafina.

Se fue aumentando la polaridad del eluyente y se obtuvieron otras 100 fracciones más las cuales eran mezclas.



ANALISIS DEL EXTRACTO CLOROFÓRMICO.

El color de este extracto era verde ---- obscuro.

Los componentes del extracto se trataron de separar por cromatografía en columna. Esta se empacó con sílice en hexano.

El extracto se dividió en 2 partes. Una se trató con carbón activado para eliminar la clorofila; pero se observó que la mayor parte del extracto quedaba adsorbido y parte de la clorofila no se adsorbía. Se sometió, el carbón activado, a extracción en Soxhlet para recuperar el extracto, pasando disolventes de diferente polaridad; sin embargo no se logró recuperar totalmente el extracto y lo que se recuperó fueron mezclas.

La otra parte del extracto que no fue -- tratado con carbón activado se metió a columna cromato-- gráfica. La elución se inició con hexano y se fue aumentando la polaridad de los eluyentes. Las fracciones obtenidas se evaporaron en el rotavapor y se hicieron placas cromatográficas observándose que ninguna estaba pura. Se hicieron otros intentos de purificación que no dieron -- los resultados esperados por lo que se suspendió el estudio del extracto clorofórmico.

### ANALISIS DEL EXTRACTO ETANOLICO.

Al extracto etanólico se le dió el siguiente tratamiento.

A una parte de este extracto se le hizo una partición hexano-etanol. A la fase etanólica se le agregó ácido sulfúrico al 7 % y se puso a ebullición durante 2 horas . Al terminar este tratamiento se observó un precipitado café, un verde y un polvo amarillo. Se separaron los precipitados y la solución y ésta última se extrajo varias veces con éter etílico, se reunieron los extractos y se extrajeron con una solución acuosa de 10% de bórax, a la fase acuosa se le agregó HCl (19), para tratar de regenerar la quercetina, se observó inmediatamente un abundante precipitado amarillo por lo que se hizo una filtración en embudo Büchner y se lavó el precipitado con bastante agua destilada, se dejó secar y dió como resultado un polvo amarillo. Se hicieron placas cromatográficas tanto a este polvo como al residuo, también amarillo, resultante de la fase etérea y de esta manera se observó que no se había obtenido ningún compuesto puro. Al precipitado café se le dió el mismo tratamiento; pero tampoco se obtuvo ningún compuesto puro, por lo que se trataron de purificar estos compuestos primero por cromatografía en columna y después por medio de placa preparativa; pero los resultados fueron negativos.

Para comprobar que la quercetina estaba presente en alguna de las mezclas obtenidas, se consiguió una muestra<sup>+</sup> y se comparó por placa con distintas muestras obtenidas en el proceso de purificación. La com

+ Se agradece al Dr. Eugene Bratoeff el haber proporcionado esta muestra.

paración se hizo con el reactivo de Shinoda y por  $R_f$  --- los eluyentes empleados fueron: acetato de etilo saturado con agua (18), fenol saturado (18) y  $\text{CHCl}_3$ -acetato de etilo 3:1, también se hizo la comparación usando n-butanol-ácido acético-agua (4:1:5), (19).

Para cambiar la polaridad de los componentes de la mezcla se hizo la acetilación del precipitado verde (resultante de hidrólisis) como se expone a continuación: se colocaron 2 g del precipitado en un matraz de bola completamente seco, se adicionó un gramo de ----  $\text{CH}_3\text{COONa}$  fundido, más 10 ml de anhídrido acético, esta mezcla se puso a ebullición durante 2 horas, con agitación. Al final de este tratamiento, la mezcla se vertió en 50 ml de agua helada, se agitó vigorosamente y se dejó reposar, observándose enseguida un precipitado pastoso de color café el cual se lavó con abundante agua destilada. Este sólido se extrajo primero con benceno, después con éter etílico y por último con cloroformo. De la solución etérea, por cristalización fraccionada, se obtuvieron unos cristales blancos y por cromatografía en placa se observó que estaban puros, el punto de fusión de estos cristales fue de 198-200 °C (19); posteriormente se obtuvieron los espectros de UV, IR, RMN y E. de masas (espectros 1, 2, 3, y 4).

### ANALISIS CUALITATIVO DE AZUCARES.

Para determinar los azúcares se hizo una comparación del extracto etanólico con sacarosa, dextrosa, galactosa, fructosa, xilosa y glucosa. La comparación se efectuó por cromatografía en papel (Whatman No. 1), usando como eluyente, una mezcla de 12 ml de butanol -3 ml de ácido acético y 15 ml de agua y como revelador, una solución de 2.5 ml de fenilhidrazina más 25 ml de agua destilada más unas gotas de ácido acético. En esta forma se detectaron los azúcares: sacarosa, fructosa, xilosa y glucosa.

### ANALISIS CUANTITATIVO DE AZUCARES REDUCTORES (34).

A una parte del extracto etanólico se le agregó agua y  $\text{CHCl}_3$  y se separaron las 2 fases. La fase acuosa se diluyó con más agua, se calentó a ebullición y se filtró. En esta solución se hizo la determinación cuantitativa de azúcares mediante el siguiente procedimiento: se pesaron 6.9278 g de  $\text{CuSO}_4$ , se disolvieron en agua y se aforaron a 100 ml. Se disolvieron 34.6 g de la sal de Rochelle en agua y se aforó también a 100 ml.

En un vaso de precipitados se colocaron 30 ml de la solución de la sal de Rochelle, 30 ml de  $\text{CuSO}_4$  y se agregaron 30 ml de agua. Esta mezcla se calentó a ebullición y se adicionaron 25 ml de la muestra a cuantear. Esta solución se hirvió durante 2 minutos e inmediatamente se filtró sobre un Gooch que previamente se había puesto a peso constante. El precipitado rojo ladrillo,  $\text{Cu}_2\text{O}$ , se lavó con agua destilada y etanol, se secó a  $120^\circ\text{C}$  durante 2 horas y se pesó. El peso del precipitado fue de 77.8 mg. De las tablas de Quisumbing y Tho--

mas se obtuvo la cantidad de azúcares reductores que es-  
aproximadamente de 35.3 mg en términos de glucosa.

Es conveniente agregar que para hacer es  
ta determinación se pesaron 1.2327 g de extracto etanóli  
co y se disolvieron en agua 487.9 mg.

## RESULTADOS Y DISCUSION

## RESULTADOS Y DISCUSION.

La planta que se usó en el presente trabajo se recolectó en el estado de Tlaxcala en el mes de junio de 1978.

Con el fin de corroborar que la planta recolectada era, en efecto, *Heterotheca inuloides* se llevó al herbario de la Facultad de Ciencias (Area de Biología) para su clasificación. El informe recibido confirmó que se trataba de *Heterotheca inuloides*.

Con el propósito de iniciar la separación de los componentes de *Heterotheca inuloides* se obtuvieron los extractos hexánico, clorofórmico y etanólico.

Se hicieron pruebas preliminares a los tres extractos obteniéndose los siguientes resultados:

### EXTRACTO HEXANICO

PRUEBA	REACTIVO	RESULTADO
1.-Para beta-caroteno	cromatografía en placa fina.	( + )

Esto se comprobó posteriormente por su espectro en el visible.

### EXTRACTO CLOROFORMICO

PRUEBA	REACTIVO	RESULTADO
1.-Para glicósidos cardiotónicos y lactonas sesquiterpénicas	Baljet	( + )
2.-para flavonoides	Shinoda	( + )

### EXTRACTO ETANOLICO

PRUEBA	REACTIVO	RESULTADO
1.-Par flavonoides	Shinoda	( + )

2.-Para azúcares reductores	Fehling	( + )
3.-Para alcaloides	Dragendorff	( - )
	Mayer	( - )
	Wagner	( + )
4.-Para saponinas	Agitación vigorosa	( + )
5.-Para triterpenos	$(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}-\text{H}_2\text{SO}_4$ --	( - )
	$\text{CHCl}_3$ (10:1:25) v/v	

Con los resultados anteriores se planeó el desarrollo del trabajo tratando de aislar los compuestos cuya presencia se había detectado.

En las fracciones menos polares del extracto hexánico se aisló, por cromatografía en columna un producto de punto de fusión 56-58 °C cuyo espectro de IR indicó que se trataba de una parafina.

Del extracto clorofórmico solamente se obtuvieron mezclas que no pudieron ser purificadas.

Como ya se tenía establecido que la familia a la que pertenece esta planta se caracteriza por tener flavonoides además de lactonas sesquiterpénicas y las pruebas preliminares lo habían confirmado se inició su aislamiento. Por otra parte se sabía que la quercetina es un flavonoide ampliamente distribuido en la naturaleza (18) por lo que el método de aislamiento empleado fue el específico para quercetina (19). Primeramente se hizo una hidrólisis y después varias extracciones con disolventes de diferente polaridad, las mezclas así obtenidas se trataron de purificar por placa preparativa y cromatografía en columna; sin embargo no se logró una separación completa, estos datos coinciden con la literatura (33) en donde se encontró el comentario de lo difícil -- que es purificar la quercetina. Con el objeto de comprobar que se tenía quercetina en las mezclas se hizo una comparación de quercetina auténtica con distintas mues--



tras obtenidas en el proceso de purificación habiéndose identificado dentro de algunas mezclas. Con el fin de -- cambiar la polaridad de los componentes de estas muestras y así facilitar su manejo, se hizo la acetilación de uno de los precipitados obtenidos por hidrólisis del extracto etanólico, el sólido resultante de la acetilación se extrajo con varios disolventes, uno de ellos fue éster etílico, de esta solución se obtuvieron unos cristales blancos de punto de fusión 198-200 °C; posteriormente se obtuvieron los espectros de UV, IR, RMN y E. de masas (espectros 1, 2, 3 y 4).

Espectro de UV.-En la literatura (19), - (41) se encontró que el espectro de un flavonol totalmente acetilado es similar al del flavonol mismo, además la quercetina tiene  $\lambda_{\text{máx}}$  a 297 y 250 nm y el pentaacetato tiene  $\lambda_{\text{máx}}$  a 300 y 252 nm. El espectro obtenido presenta 2 bandas a  $\lambda_{\text{máx}}$  297 nm (banda I) y a  $\lambda_{\text{máx}}$  250 nm - (banda II) por lo que puede afirmarse que este espectro corresponde al del pentaacetato de quercetina.

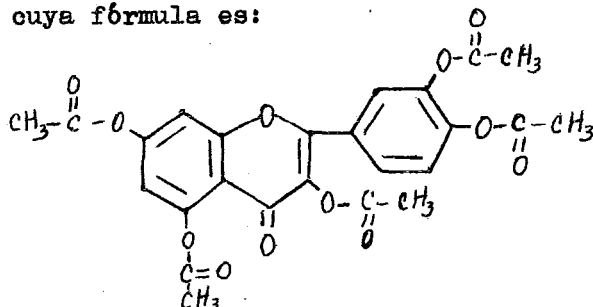
Espectro de IR.-En este espectro pueden observarse las siguientes bandas: banda en 3080 debida a C-H saturado; en 2900 asignada a C-H de CH<sub>3</sub>; banda en -- 1790 atribuida a C=O de éster; en 1660 asignada a C=O de flavona; en 1500 y 1580 debidas a los anillos aromáticos la banda en 1380 asignada a metilo; banda en 1175 debida a C-O-C; bandas en 1170 y 1010 asignadas a =C-O-C ; - en 898 atribuida a la vibración de deformación fuera del plano de C-H de la posición 2'; en 820 debida al mismo tipo de vibración de C-H de la posición 5' y 6'; banda en 840 debida a la vibración de deformación fuera del plano de C-H de las posiciones 4 y 8 y la banda en 585 confirma C=C. Todos estos valores están dados en cm<sup>-1</sup>. Este espectro se comparó con el de quercetina (espectro 2b) encontrado en la literatura. La banda en 3400 se atribuye-

a humedad de la muestra del pentaacetato.(35), (36), (37) (38).

**Espectro de RMN.**--En este espectro se observa un doblete en 6.90 ppm debido a H-6 y otro a 7.31 - que corresponde a H-8; el doblete en 7.32 ppm se asigna a H-5'; la señal en 7.70 ppm es debida a H-2'y se traslapa con el doblete en 7.71 ppm debido a H-6'. Las señales en 2.30 y 2.40 ppm se asignan a H de acetilos (38), (39).

**Espectro de masas.**--Este espectro da el ion molecular  $m^+$  512 que corresponde al peso molecular del pentaacetato de quercetina.

Por lo expuesto anteriormente se puede afirmar que el compuesto obtenido es el pentaacetato de quercetina cuya fórmula es:



Es evidente que la quercetina y/o sus glicósidos son constituyentes de Heterotheca inuloides.

De las pruebas preliminares del extracto etanólico se sabía la presencia de azúcares reductores. -- Además, sabiendo que la quercetina se puede presentar libre y/o como glicósido, se consideró el análisis cualitativo y cuantitativo de interés. Se identificaron por cromatografía en papel los azúcares: fructosa, xilosa, sacarosa y glucosa. El análisis cuantitativo de azúcares reductores se hizo utilizando el método de Allihn's (34). y se obtuvieron 77.8 mg de  $Cu_2O$  que corresponden aproximadamente a 35.3 mg de glucosa.

DATE 14-III-79  
ANALYST \_\_\_\_\_

SCAN SPEED 100 nm/min  
PERIOD 5 min

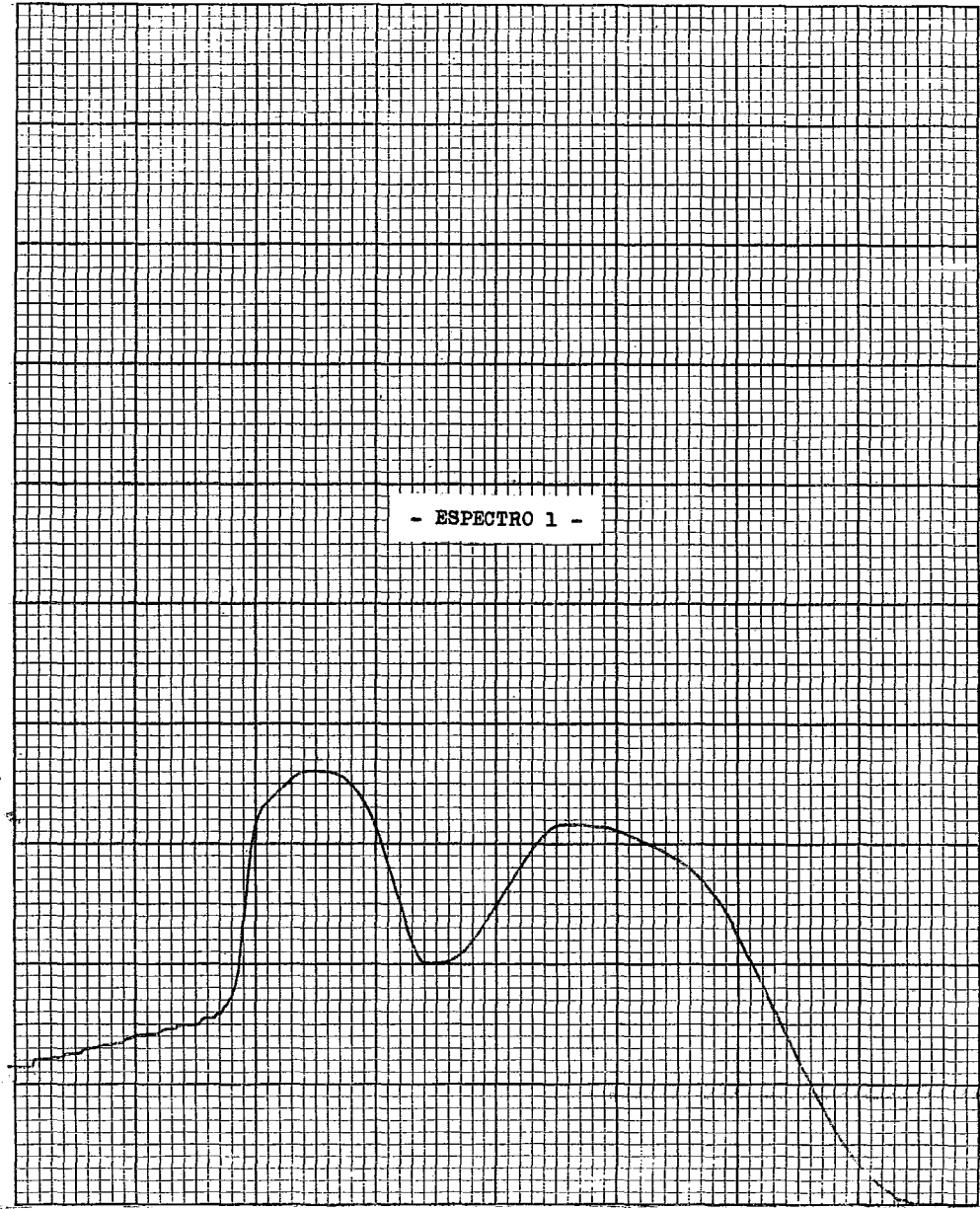
REF CHCl<sub>3</sub>  
SCALE 200 - 200

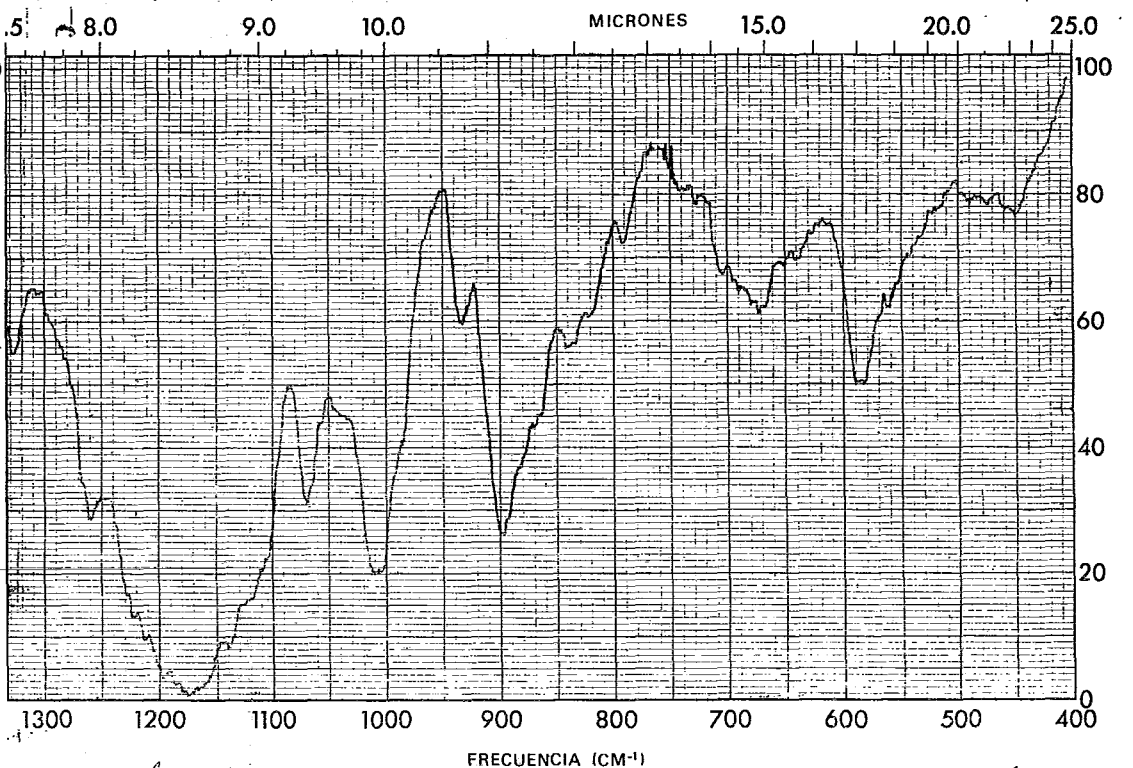
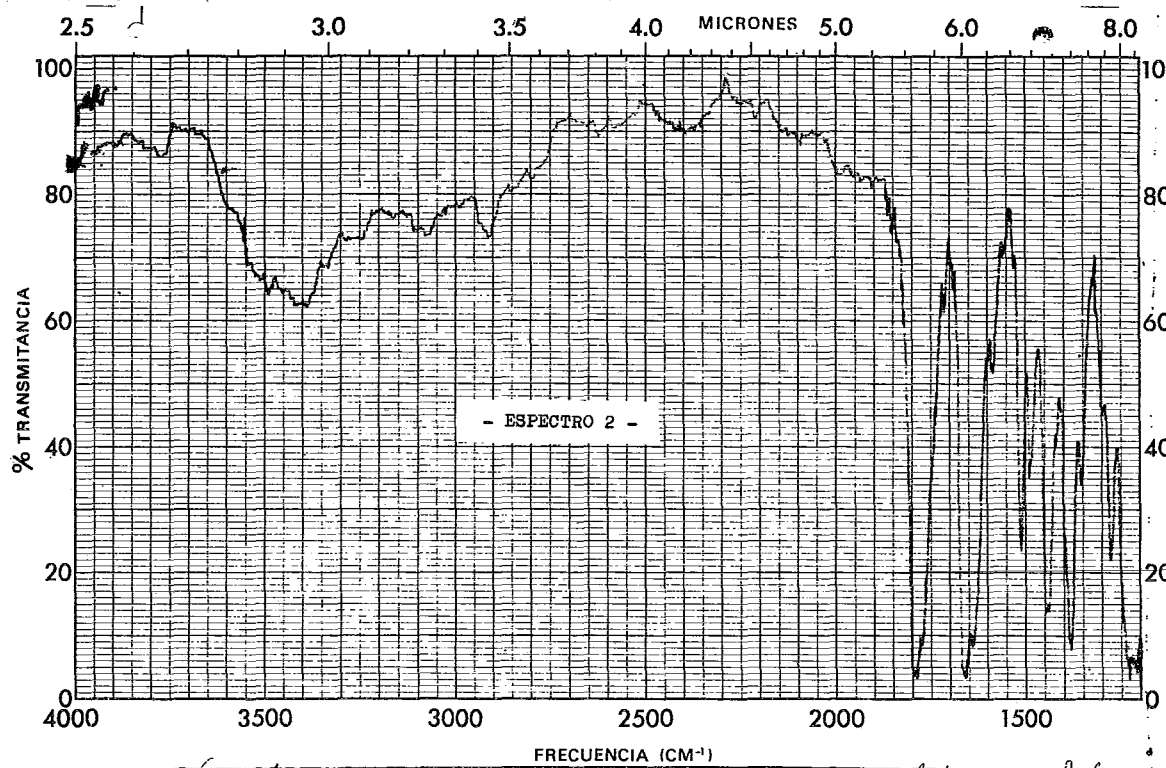
SAMPLE 5

# 209

- ESPECTRO 1 -

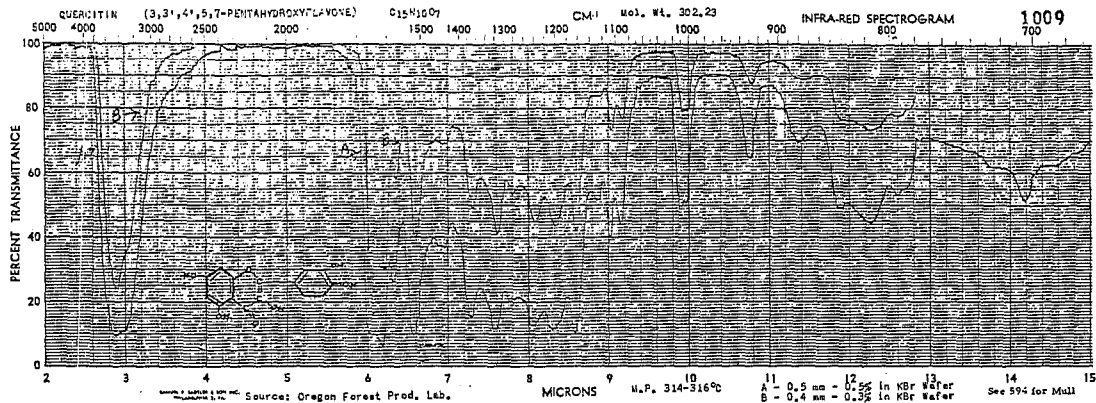
UV 200 220 240 260 280 300 320 340 360  
WAVELENGTH IN nm



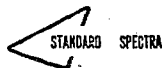


<b>CSF</b>	MUESTRA <i>Glucosa</i>	CURVA N° <i>28190</i>	VEL. DE BARRIDO <i>1000</i>	OPERADOR <i>Seber</i>
	ORIGEN <i>Fatanda C.</i>	CONC. <i>-</i>	RENDIJA <i>1</i>	FECHA <i>16/11/79</i>
	SOLVENTE <i>KBr</i>	ESPESOR DE CELDA <i>-</i>	COMENTARIOS <i>pasilla</i>	
		REFERENCIA <i>110</i>		

MUESTRA <i>Glucosa</i>	CURVA N° <i>28690</i>	VEL. DE BARRIDO <i>1000</i>	OPERADOR <i>Seber</i>
ORIGEN <i>Fatanda C.</i>	CONC. <i>-</i>	RENDIJA <i>1</i>	FECHA <i>16/11/79</i>
SOLVENTE <i>KBr</i>	ESPESOR DE CELDA <i>-</i>	COMENTARIOS <i>pasilla</i>	
	REFERENCIA <i>110</i>		



SADTLER



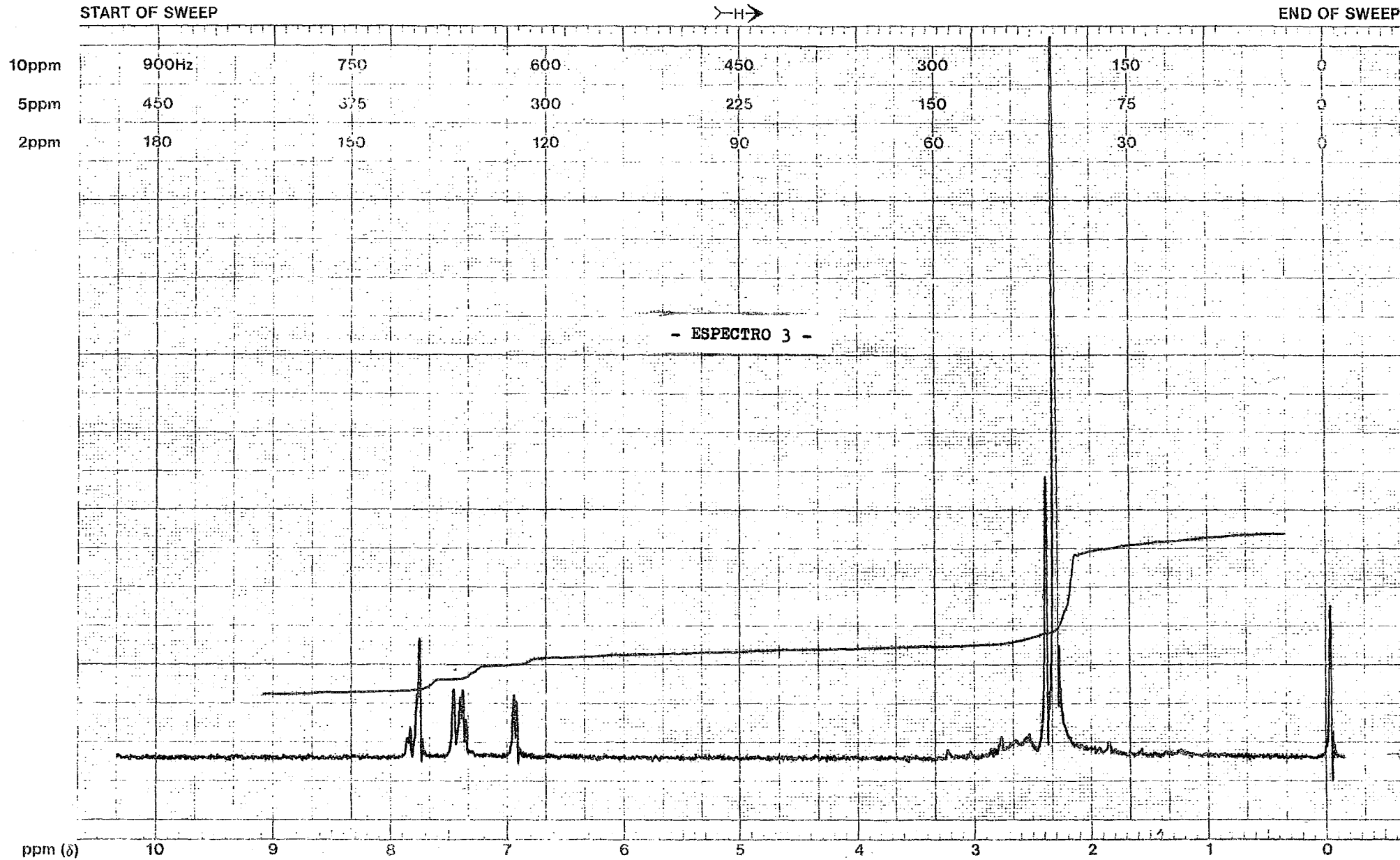
MIDGET EDITION

- ESPECTRO 2b -



varian instrument division

paio alto, california



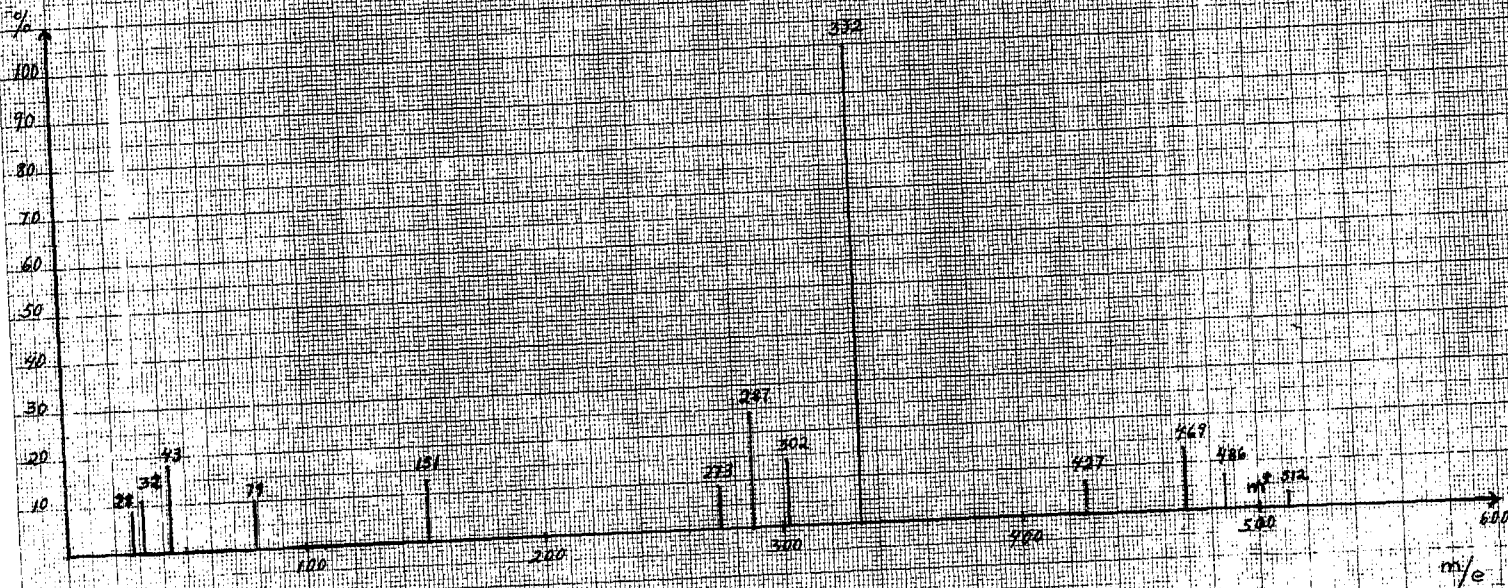
EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

LOCK POS. \_\_\_\_\_ ppm    SPECTRUM AMPL. 900    SWEEP TIME 5 min    NUCLEUS H    SAMPLE: Yala C.    OPERATOR Linzi

LOCK POWER \_\_\_\_\_ mG    FILTER 0.1 sec    SWEEP WIDTH 10 ppm    ZERO REF. TMS    acetato de su    DATE 26-11-79

DECOUPLE POS \_\_\_\_\_ ppm    RF POWER 0.5 mG    END OF SWEEP - ppm    SAMPLE TEMP. \_\_\_\_\_ °C    flamasi    SOLVENT: CDCl3    SPECTRUM NO. \_\_\_\_\_

- ESPECTRO 4 -



RESUMEN Y CONCLUSIONES



## RESUMEN Y CONCLUSIONES

Del extracto hexánico de *Heterotheca inuloides* se aisló una parafina y se identificó beta-caroteno.

Del extracto etanólico se aisló por medio de una hidrólisis seguida de acetilación y extracción con disolventes el pentaacetato de quercetina el cual se identificó plenamente por su punto de fusión y los datos de sus espectros de UV, IR, RMN y espectro de masas. Se infiere de inmediato que la quercetina es un constituyente de *Heterotheca inuloides*. Esto confirma el hecho de que la familia de las Compuestas se caracteriza por tener como constituyentes a los flavonoides.

El estudio de *Heterotheca inuloides* fue extraordinariamente difícil ya que después de hacer columnas cromatográficas sucesivas, ensayar cristalizaciones y extracciones con disolventes no se obtuvo ningún compuesto puro del extracto cloroformico, más aún, el aislamiento de la quercetina no fue posible sino de manera indirecta y después de probar el aislamiento por cromatografía en columna, cromatografía en placa preparativa, extracción con disolventes y cristalizaciones.

Finalmente, del presente estudio se deduce que *Heterotheca inuloides* posee las propiedades terapéuticas que la quercetina le confiere.

BIBLIOGRAFIA

## B I B L I O G R A F I A

- 1.-FARNSWORTH, R. N. "Biological and Phytochemical Screening of Plants". Journal of Pharmaceutical Sciences. 55 (3), 229-241 (1966).
- 2.-DIAZ, J. L. y Co. Indice y Sinonimia de las Plantas Medicinales de México. Ed. Libros de México, S. A. México. 1976.
- 3.-CABRERA, L. G.  
Plantas curativas de México.  
Ed. Cicerón.  
México.  
1958
- 4.-MARTINEZ, AM.  
Plantas medicinales de México.  
Editorial Botas.  
México.  
1952
- 5.-SOCIEDAD FARMACEUTICA DE MEXICO.  
Farmacopea Mexicana.  
Sexta edición.  
Editorial Botas.  
México.  
1975
- 6.-BOHLMANN, F. "Naturally occurring terpene derivatives - 63. The constituents of Heterotheca inuloides". Chem.-Ber. 106 (6), 2021-5, (1976). c.f. C. A. 85 (1976) --- 94511x.
- 7.-BUSCHMANN, H. "Increasing resistance with drugs". Fortschr Veterinaermed. 20, 98-103 (1974). c.f. C.A. 81 - (1974) 130910e.
- 8.-DUQUENOIS, P. "Arnica montana, a still mysterious medicinal plant". Pharm. Weekbl. 106, 12, 190-7 (1971). c. f. C. A. 74 (1971) 136330t.
- 9.-LABADIE, R. P. "Constituents and prep. of A. montana". Pharm. Weekbl. 103, 25, 769-81 (1968). c.f. C.A. 69, - (1968) 33500r.

- 10.-KASPRZYK, AND PYREK, J. "Sterols of five plants of the Compositae Family". Riiz. Chem. 41, (2), 201-8 (1967) - c.f. C.A. 67 (1967) 784s.
- 11.-GREBER, W. "Active components of medicinal herbs". Kosmetik Parfum Drogen Runshan. 13 (1/2) 6-8, 1966. c.f. C.A. 65 (1966) 15151f.
- 12.-KASPRZYK, Z. AND KOSIEROWSKA, T. "Distribution of sterols and triterpenic alcohols in plant of the Compositae. Bull. Academic Pol. Sci., Ser., Sci. Biol. 14, (9) 645-9, (1966). c.f. C.A. 66, 1967, 62 617c.
- 13.-SWAIN, T. (Ed.)  
Chemical Plant Taxonomy.  
Academic Press.  
London.  
1963
- 14.-ROMO DE VIVAR, A. "Sesquiterpenes lactones in Compositae". Biogenesis and taxonomic implications". Revista Latinoamericana de Química. 8, 63-74, (1977).
- 15.-RODRIGUEZ, E. "Sesquiterpenes lactones: Chemotaxonomy, Biological Activity and Isolation". Revista Latinoamericana de Química. 8, 56-62, (1977).
- 16.-DOMINGUEZ, X. A.  
Métodos de Investigación Fitoquímica.  
Editorial Limusa.  
México.  
1973
- 17.-HARBORNE, J. B.  
Comparative Biochemistry of the Flavonoids.  
Academic Press.  
London.  
1967
- 18.-IKAN, R.  
Naturals Products. A Laboratory Guide.  
Academic Press.  
London.  
1969

- 19.-GEISSMAN, T. A. ( Ed. )  
The Chemistry of Flavonoids Compounds.  
The Macmillan Company.  
New York.  
1962
- 20.-POPOVA, L., N. and TIKOŠSKAYA, K. M. "Comparative biological activity of quercetin and some products of its metabolism" Byull. Eksp. Biol. Med. 71 (4), 47-9, (1971). c. f. C.A. 75 (1971) 18380 g.
- 21.-MAROZZI, F. J.; Kocialski, A., B. and MALONE, M., H. "Antihistaminic effects of thymoquinone, thymohydroquinone and quercetin" Arzneim.-Forsch. 20(10), 1574-7, (1970). c.f. C.A. 74 (1971) 40859 w.
- 22.-LAFON, L. "Hypocholeretic and antispasmodic quercetin composition with long-lasting activity". Belg. 745,578 06 Feb 1970. Fr.Appl. 14 Mar 1969. c.f. C.A. 75 (1971) 9873t.
- 23.-ZAYED, M., N.; SABER, M., S., M.; ABD-el-MALEK, Y. and MONIB, M. "Antibacterial substances in dry residues of certain higher Egyptian plants". Zentralbl. Bakteriol., Parasitenk., Infektionskr. Hyg., Abt. 2. 126 (6), 615-29 (1971). C.f. C.A. 76 (1972) 108655a.
- 24.-RAMASWAMY, A., S., JAYARAMAN, S.; SIRSI, M. and RAO, K., H. "Antibacterial action of some naturally occurring citrus-bioflavonoids". Indian J. Exp. Biol. 10 (1), 72-3 (1972). c.f. C. A. 77 (1972) 43732x.
- 25.-OBOLENTSEVA, G., V.; KHADZHAI, Ya. I. ; VIDYUKOVA, A. I.; LARYONOVSKAYA, Yu. B. "Effect of some natural substances on the ulcerative lesion of rat stomach caused by acetylsalicylic acid". Byull. Eksp. Biol. Med. 77(3), 39-41, (-1974). c.f. C. A. 81 (1974) 11452ly.
- 26.-LISEVITSKAYA, L. I.; SHINKARENKO, A. L.; BANDYUKOVA, V. A.; MAKAROV, V. A. "Flavanol substances during experimental atherosclerosis". Aktual. Vop. Farm. 1968 (Pub. 1970) 176-7. c.f. C. A. 76 (1972) 108079r.

- 27.-PUTINTSEVA, L. F.; NEFEDORA, M. G.; IMAMOV, A. Kh. "Antimicrobial action of anthocyanin pigments on staphylococci". Nauki, Biol. 91-4 (1971). Edited by Popov, V. A.; Kazan Gos. Univ.; Kazan, USSR. c.f. C.A. 78 - (1973) 576c.
- 28.-GERASHCHENKO, G. I.; BANDYUKOVA, V.A.; KOMPANTSEV, V. A.; ROSHCHIN, Yu. V.; KARPOVA, V. V. "Biological action of quercetin and its glycosides". Biol. Nauki 4 15 (6), 35-9 (1972). c.f. C.A. 77 (1972) 135023v.
- 29.-POLYAKOV, V. V.; CHUMBALOV, T. K. "Antioxidants properties of flavonoids". Khim. Tekhnol. (Alma-Ata) 12 53-5 (1971). c.f. C. A. 78 (1973) 122826e.
- 30.-MARCINKIEWICZ, S. "Autooxidation and antioxidants in cosmetics". *Twuszcz, Srodki Piorace, Kosmet.* 16 --- (5), 3-14 (1972). c.f. C.A. 47634k.
- 31.-DADIC, M.; VAN GHELUWE, J.E. A.; VALYI, Z. "Additives for improving the stability of malt beverages". *Can.* 923, 364, 27 Mar 1973, *Appl.* 110,541,16 Apr 1971. c. f. C. A. 40936x.
- 32.-VERMA, V. S. "Effect of flavonoids on the infectivity of potato virus X". *Zentralbl. Bakteriolog., Parasitenk., Infektionskr. Hyg., Abt. 2.* 128 (5-6), 467-72, (1973) c.f. C.A. 80 (1974) 66963z.
- 33.-GRIFFITH, J.; Jr., M.D. ; KREWSON, CH. F. Ph. D.; -- NAGHSKI, J. Ph. D.  
Rutin and Related Flavonoids.  
Mack Publishing Company. Easton, Pennsylvania.  
Philadelphia, Pa.  
1954
- 34.-BROWNE, C. A.; ph D. AND ZERBAN, Ph. D.  
Physical and Chemical Methods of Sugar Analysis  
3a. Edition  
John Wiley & Sons, Inc.  
New York  
1955

35.-DYER, J. R.

Aplicaciones de Espectroscopía de Absorción de Compuestos Orgánicos.

Editorial Prentice/Hall Internacional.

Madrid.

1972

36.-SILVERSTEIN, R. M. AND BASSLER, G. C.; MORRIL, T.C.

Spectrometric identification of Organic Compounds.

Third Edition.

John Wiley and Sons.

New York

1974

37.-BRIGGS, L. H. AND COLEBROOK, L. D. "Infra-red spectra

of flavanones and flavones. Carbonyl and hydroxyl

stretching and CH out-of-plane bending absorption".

Spectrochimica Acta. 18, 939-57, (1962).

38.-HARBORNE, J. B.; MABRY, T. J. AND MABRY, H (EDITED -

BY).

The Flavonoids. Part I

Academic Press.

New York

1975

39.-GROUILLER, M. A. ET PACHECO, H. "Etude des spectres-

RMN de quelques O-glucosyl-flavonols, de leurs agly-

cones et de trois mono- et di- O-glucosyl flavanones

synthétiques". Bull. Soc. Chim. France. 6, 1938-43 ,

(1967).