



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES "ZARAGOZA"

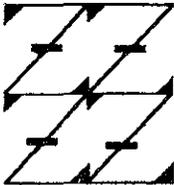
FLAVONOIDES Y FURANOCUMARINAS AISLADAS DE *Casimiroa pringlei*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO PRESENTA: SILVIA VERONICA CASTELLANOS BERNAL

DIRECTOR DE TESIS: DR. ALFREDO ORTEGA HERNANDEZ

UNAM FES ZARAGOZA



LO HUMANO EJE DE NUESTRA REFLEXIÓN

MEXICO, D. F.

1998

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

264834



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

**Este trabajo se desarrolló en el
Laboratorio de Química de Productos Naturales L 2-7
del Instituto de Química de la
Universidad Nacional Autónoma de México
bajo la asesoría de
Dr. Alfredo Ortega Hernández.**

**El presente trabajo forma parte del proyecto:
"Estudio comparativo de cuatro poblaciones de *Casimiroa*".
Financiado por el Sistema Nacional de Investigadores.**

JURADO

PRESIDENTE	Q.F.B. EVANGELINA MERCADO MARIN
VOCAL	DR. ALFREDO ORTEGA HERNANDEZ
SECRETARIO	Q. ARTURO E. CANO FLORES
SUPLENTE	Q. FRANCISCO SILVA FLORES
SUPLENTE	Q.F.B. MABEL FRAGOSO SERRANO

** No necesariamente
se ha de sacrificar la vida
como lo hicieron los mártires,
sino que se ha de ofrecer día a día,
viviendo en forma digna y honorable :*

Robert D. Hales

** Si labramos sobre mármol o latón, el tiempo lo borrará;
si edificamos templos, se desmoronarán,
pero el labrar mentes inmortales y enseñarles
principios justos, estamos grabando sobre
inteligencias que ningún tiempo destruirán y que
seguirán brillando a través de la eternidad :*

Daniel Webster

** El éxito comienza con la voluntad del hombre
piensa en grande y tus hechos crecerán,
piensa en pequeño y quedarás atrás,
piensa que puedes y podrás
todo está en el estado mental.
La batalla de la vida
no siempre la gana
el hombre más fuerte
o el más ligero, porque
tarde o temprano,
el hombre que gana
es aquel que cree
poder hacerlo :*

R. Kipling

AGRADECIMIENTOS

A tí Padre Celestial, por tu gran amor, por las maravillosas bendiciones que me has dado a lo largo de toda mi vida, por los desafíos que he tenido, por todas mis debilidades y porque siempre me has fortalecido, yo sé que nunca me has abandonado, por cada una de las experiencias que he vivido porque a través de ellas he aprendido y porque gracias a tí soy lo que soy ahora.

¡Te Amo !

A mis queridos padres Silvia y Ramón quienes a través de los años me han cuidado, amado y me han brindado su apoyo y comprensión. Gracias por todo su esfuerzo y sacrificio en especial a tí mamá porque sé que esta es la mejor herencia que podría recibir, nunca podré pagarles todo lo que me han ayudado.

¡ Los Amo !

A mis hermanos Lilia, Ramón y Mauricio por ser tan especiales conmigo, por su confianza en mí, porque no podría haber tenido mejores hermanos que ustedes, por todo su cariño y preocupación por mí y porque sé que a pesar de la distancia siempre estaremos juntos. Así también a mis sobrinos: Tania, Limhi, Benjamín y Samantha por ser parte de mi vida.

¡ Los Amo Mucho !

A mis amigas de la Universidad: Chuy, Eunice, Lupita, Adela, Lilia, Vicky e Isela, así como a mis buenos compañeros de generación por todas las experiencias vividas así como por todos los años compartidos, porque llegaron a formar una parte muy importante de mi vida .

¡ Gracias por todo !

A mis amigos de la iglesia y mis buenos compañeros de la Misión México Monterrey Norte por su valiosa amistad, su gran ejemplo, su ánimo, sus consejos y por ser como son; porque de una o de otra manera me apoyaron para continuar adelante a pesar de la adversidad. Y de una manera muy especial a mi Presidente de misión : William H. Wingo por su amor, sus sabios consejos y por su sincero interés hacia mí.

¡ Muchas Gracias !

A mi querida amiga Lucy por estar conmigo en las buenas y en las malas , porque juntas hemos aprendido y nos hemos fortalecido, por todo lo que me has ayudado y porque sé que siempre podré contar contigo.

¡ Te Quiero Mucho!

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de ser parte de ella y desarrollarme como profesional.

Al Instituto de Química por todo el conocimiento adquirido, por ser el lugar de realización de este proyecto y por todas las facilidades brindadas.

Al Sistema Nacional de Investigadores.

Al Dr. Alfredo Ortega Hernández, por la confianza mostrada en mí para realizar este trabajo, por sus consejos y su ayuda en todo momento.

A la M en C. Emma Maldonado Jiménez por compartir sus conocimientos conmigo, por todo el apoyo brindado, su orientación y en especial por su valiosa amistad.

Al personal de los laboratorios de espectroscopía de RMN e IR, así como Espectrometría de Masas por su valiosa colaboración en la realización de los espectros, los cuales representaron una parte vital del proyecto.

A todas aquellas personas que de una u otra manera me ayudaron y animaron para la realización de este trabajo, a todas ellas

¡ Muchas Gracias !

INDICE

Abreviaturas

I.	Introducción	1
II.	Fundamentación del Tema	2
	A. Generalidades de la Familia <i>Rutaceae</i>	2
	B. Generalidades del Género <i>Casimiroa</i>	5
	1. <i>Casimiroa edulis</i>	5
	2. <i>Casimiroa greggii</i>	17
	3. <i>Casimiroa pringlei</i>	18
	C. Generalidades sobre Cumarinas	20
	D. Generalidades de Flavonoides	35
III.	Planteamiento del Problema	45
IV.	Objetivos	46
V.	Hipótesis	47
VI.	Parte Experimental	48
	A. Material, equipo y reactivos	
	B. Metodología	50
VII.	Resultados	54
VIII.	Discusión de Resultados	67
IX.	Conclusiones	90
X.	Espectros	91

Espectro 1. Espectro de RMN ¹ H del 8-geraniloxipsoraleno (I)	92
Espectro 2. Espectro de RMN ¹ H del Bergapteno (II)	93
Espectro 3. Espectro de RMN ¹ H del Xanthotoxol (III)	94
Espectro 4. Espectro de RMN ¹ H del 8-[(6, 7-dihidroxi-3, 7-dimetil-2-octenil)oxi]psoraleno (IV)	95
Espectro 5. Espectro de RMN ¹³ C del 8-[(6, 7-dihidroxi-3, 7-dimetil-2-octenil)oxi]psoraleno (IV)	96
Espectro 6. Espectro de RMN ¹ H de la Felopterina (V)	97
Espectro 7. Espectro de RMN ¹³ C del 8-[(4-acetoxi-3-metil-butil)oxi]psoraleno (VI)	98
Espectro 8. Espectro de RMN ¹ H del 8-[(4-acetoxi-3-metil-butil)oxi]psoraleno (VI)	99
Espectro 9. Espectro de RMN ¹³ C de la 5, 6-dimetoxiflavona (VII)	100
Espectro 10. Espectro de RMN ¹ H de la 5, 6-dimetoxiflavona (VII)	101
Espectro 11. Espectro de RMN ¹³ C de la 5, 6, 3'-trimetoxiflavona (IX)	102
Espectro 12. Espectro de RMN ¹ H de la 5, 6, 3'-trimetoxiflavona (IX)	103
Espectro 13. Espectro de RMN ¹³ C de la 5, 6, 3', 5'-tetrametoxiflavona (X)	104

Espectro 14. Espectro de RMN ^1H de la 5, 6, 3', 5'-tetrametoxiflavona (X)	105
Espectro 15. Espectro de RMN ^{13}C de la 5, 6, 3', 4', 5'-pentametoxiflavona (XI)	106
Espectro 16. Espectro de RMN ^1H de la 5, 6, 3', 4', 5'-pentametoxiflavona (XI)	107
Espectro 17. Espectro de RMN ^{13}C de la 5, 6, 2', 3', 6'-pentametoxiflavona (XIII)	108
Espectro 18. Espectro de RMN ^1H de la 5, 6, 2', 3', 6'-pentametoxiflavona (XIII)	109
Espectro 19. Espectro de RMN ^{13}C de la 5, 3', 5'-trimetoxiflavona (VIII)	110
Espectro 20. Espectro de RMN ^1H de la 5, 3', 5'-trimetoxiflavona (VIII)	111
Espectro 21. Espectro de RMN ^{13}C de la 5, 2', 3', 4', 6'-pentametoxiflavona (XII)	112
Espectro 22. Espectro de RMN ^1H de la 5, 2', 3', 4', 6'-pentametoxiflavona (XII)	113
Espectro 23. Espectro de RMN ^{13}C de la 5, 2', 3', 5', 6'-pentametoxiflavona (XIV)	114
Espectro 24. Espectro de RMN ^1H de la 5, 2', 3', 5', 6'-pentametoxiflavona (XIV)	115
Espectro 25. Espectro de RMN ^{13}C de la 5, 2', 3', 4', 5', 6'-hexametoxiflavona (XV)	116

ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de etilo.
°C	Grados centígrados.
CCF	Cromatografía en Capa Fina.
CC	Cromatografía en Columna
CDCl ₃	Cloroformo deuterado.
COSY	Correlación espectroscópica bidimensional (Correlated Spectroscopy).
CCFP	Cromatografía en capa fina preparativa.
-CH ₃	Metilo
-CH ₂ -	Metileno
-CH-	Metino
δ	Desplazamiento químico
D ₂ O	Agua deuterada.
DEPT	Distorsión reducida por una transferencia de polarización (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer).
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado.
<i>d</i>	Doblete.
<i>dd</i>	Doble de doble.
<i>ddd</i>	Doble de doble de doble.
<i>dt</i>	Doble de triple.
EM (IE)	Espectrometría de masas por impacto electrónico.
EM (IQ)	Espectrometría de masas por ionización química.
g	Gramos.
HETCOR	Correlación heteronuclear (Heteronuclear Correlation).
Hz	Hertz.
IR	Espectroscopía de Infrarrojo.
J	Constante de acoplamiento.
LR	Larga distancia (Long Range)
LD ₅₀	Dosis letal media
MeO-	Metoxilo
MeOH	Metanol.
<i>m</i>	Multiplete.
[M] ⁺	Ión molecular.

mg	Milligramos.
ml	Millilitros.
MHz	MegaHertz.
m snm	Metros sobre el nivel del mar.
m/z	Relación Masa/carga.
pf.	Punto de Fusión
ppm	Partes por millón.
RMN ¹H	Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno.
RMN ¹³C	Espectroscopía de Resonancia Magnética de Carbono 13.
s	Singulete.
t	Triplete.
td	Triplete de doblete.
th	Triplete de heptuplete
tq	Triplete de cuarteto.
TMS	Tetrametilsilano.
U. V .	Espectroscopía Ultravioleta.
v máx	Número de onda donde se observa el máximo de absorbancia.

I. INTRODUCCION

Las plantas constituyen una fuente muy rica, en donde se sintetizan una gran variedad de compuestos, y es la flora mexicana una de las más ricas del mundo, ya que en México se cuenta con todos los climas desde el tropical hasta el frío en las altas montañas, así como todo tipo de suelos, desde los más ricos hasta los más áridos. En su territorio se han establecido diversos tipos de vegetación caracterizados por la presencia de numerosas especies de árboles y arbustos, un ejemplo de ello son las plantas de uso medicinal que han sido ampliamente utilizadas por el ser humano desde tiempos antiguos hasta la actualidad; y esto se debe a que desde siempre, el hombre ha buscado una solución a todas sus necesidades, siendo la salud, primordial para el ser humano se han buscado en la naturaleza aquellas plantas que puedan prevenir o aliviar enfermedades. Sus usos van desde la manera tradicional a base de tés, infusiones, de manera local o a través de baños de temazcal, hasta la forma industrializada para la obtención de medicamentos. Es por ello de gran importancia conocer aquellas fuentes naturales de donde aislar e identificar las sustancias activas que serán de beneficio para la humanidad.

Sin embargo, los estudios químicos de la flora mexicana son escasos, de ahí la importancia de llevar a cabo proyectos en donde se estudie el mayor número de familias, géneros y especies para así ampliar el conocimiento sobre la flora existente en nuestro país.

De las plantas del género *Casimiroa* se han aislado metabolitos secundarios como alcaloides, flavonas, cumarinas, triterpenos, ácidos grasos y esteroides; tomando en cuenta que sólo se han estudiado 2 de las 8 especies existentes en México, continuar con el estudio de este género representa una contribución importante al conocimiento del género así como a la familia de las Rutaceas

El presente trabajo tiene como fin realizar el estudio fitoquímico de *Casimiroa pringlei* para aislar, purificar e identificar sus metabolitos secundarios mayoritarios (Flavonoides y Furanocumarinas).

II. FUNDAMENTACION TEORICA

A. GENERALIDADES DE LA FAMILIA *RUTACEAE*

La familia *Rutaceae* pertenece al orden de las Rutales, algunos botánicos británicos incluyeron además de ésta, a otras familias. Diversas modificaciones se han realizado a través de los años por diferentes investigadores, siendo Melchior el que clasificó dentro del orden de las Rutales a las familias: *Burseraceae*, *Cneroraceae*, *Meliaceae*, *Rutaceae* y *Simaroubaceae* [1].

La familia *Rutaceae* en su mayor parte son árboles, arbustos y ocasionalmente subarbustos y herbáceas perennes, distribuidos en regiones tropicales y subtropicales; se caracterizan por poseer hojas alternas u opuestas, simples o compuestas, glandulares, aromáticas y a menudo siempre verdes [2].

Es una familia integrada por alrededor de 150 géneros y más de 1500 especies, algunas de ellas de relevancia económica como se puede ver en la Tabla 1, destacando el naranjo, limonero, la ruda y el zapote blanco, los cuales se localizan en México [2]. A su vez, la familia *Rutaceae* es una familia que se ha desarrollado ampliamente en Sudáfrica y Australia, donde se encuentran los géneros *Ptelea*, *Zanthoxylum* y *Amyris*; así mismo, en los Estados Unidos de Norteamérica se localizan los primeros dos géneros –Norte de Minnesota y Ontario, Canadá– mientras el tercero se restringe únicamente al estado de Florida [3].

Los miembros más comunes de la familia son especies del género *Citrus*, que producen jugos de frutas, los cuales son muy apreciados por su sabor y su alto contenido de vitamina C. El género más grande es *Zanthoxylum* (200 o más especies) y se localiza principalmente en zonas tropicales [4]. Así mismo, la familia *Rutaceae* está dividida en siete sub-familias, especialmente en cuatro familias como se puede observar en la Figura 1, en donde: Aurantioideae, Flindersioideae, Rutoideae y Toddalioidae, que también son llamadas sub-familias mayores de las que se han obtenido la mayor cantidad de cumarinas. Todas las cumarinas en la familia *Rutaceae*, han sido aisladas en una proporción aproximada de 6:1:3 entre Rutoideae, Toddalioidae y Aurantioideae, el cual no se ve alterado cuando el aislamiento total está dividido en distintos tipos (simples, lineales, dihidrofurano y piranocumarinas) [5].

La familia *Rutaceae* está ligada a las familias *Simaroubaceae*, *Meliaceae*, *Burseraceae* y *Anacardiaceae*, por la presencia en todas estas familias de triterpenos –sustancias de sabor amargo– de estructura similar [4].

Tabla 1. Especies de *Rutaceae* de relevancia económica [2].

Nombre trivial	Nombre científico
Naranja	<i>Citrus sinensis</i>
Pomelo	<i>Citrus maxima</i>
Cidra	<i>Citrus grandis</i>
Limonero	<i>Citrus medica</i>
Mandarino	<i>Citrus limonum</i>
Satsima	<i>Citrus reticulata</i>
Ruda	<i>Ruta graveolens</i>
Zapote blanco	<i>Casimiroa edulis</i>

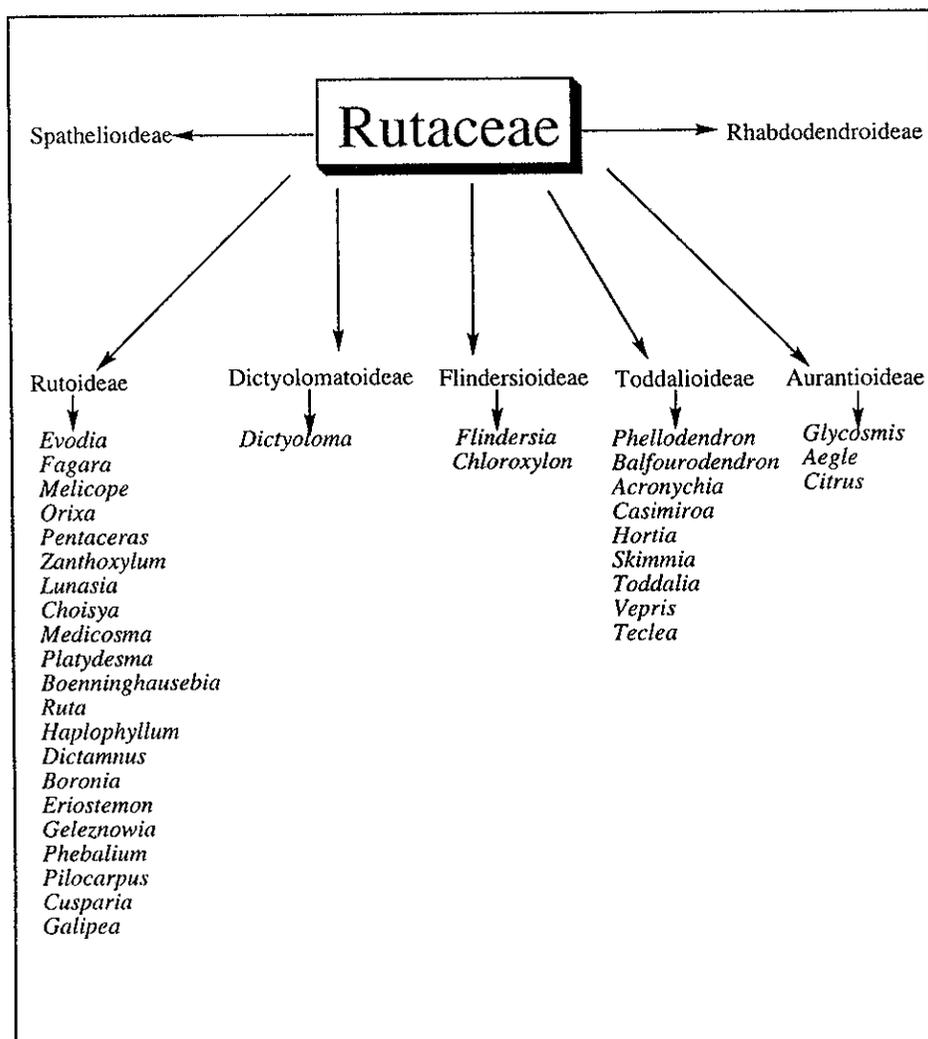


Figura 1. *Rutaceae* y familias relacionadas [6].

B. GENERALIDADES DEL GENERO *Casimiroa*

Las plantas que conforman el género *Casimiroa* se caracterizan por ser árboles o arbustos que presentan hojas persistentes, alternas, digitadas y generalmente de 3 a 5 folíolos, rara vez 1 ó 7 [7]. Son de corteza moreno-grisácea, salpicada de numerosas lentejuelas. Las flores son pequeñas de color blanco verdosas, unisexuales; el fruto es de 2 a 12 cm con las semillas que van desde una a cinco. Se desarrollan en climas cálidos y templados, hasta los 2400 m snm, en terrenos medianamente fértiles y húmedos [8].

Es un género que consta de ocho especies distribuidas en México y Centroamérica, las cuales se conocen como: *Casimiroa pringlei* –zapotillo– San Luis Potosí, *C. pubescens* –zapote de rata– Querétaro, Hidalgo y S.L.P; *C. sapota* localizada en Chiapas; *C. tetrameria* distribuida en Yucatán; *C. watsonii* –zapote cimarrón– en Jalisco, *C. emarginata*, *C. greggii* y *C. edulis* –zapote blanco– ampliamente utilizado desde tiempos antiguos y llamado por los aztecas como cochitzápotl [9].

De las especies mencionadas anteriormente, las únicas que son objeto de cultivo o semicultivo son *C. edulis* y *C. sapota*, debido a su valor económico –producción de frutos grandes y comestibles– el resto de las especies son silvestres. Cabe señalar, que *C. edulis* ha sido objeto de numerosas investigaciones como lo destaca Rizvi en 1985 [10], así mismo, se han descrito estudios químicos sobre *C. greggii*, anteriormente denominada *S. greggii*.

El género *Casimiroa* pertenece a la familia de las Rutaceae y al orden Toddalioideae. El nombre de *Casimiroa* fue dedicado a un guerrillero otomí llamado Casimiro Gómez, debido a que en la antigüedad, los botánicos solían dedicar el nombre de los géneros que iban descubriendo, a ilustres personajes y héroes de la época [11].

1. *Casimiroa edulis* La Llave & Lex

HISTORIA

"... No es muy sano mantenimiento" opinaron los españoles al conocer los frutos del cochitzápotl, de cáscara verde, pulpa blanquecina y cremosa, que contienen de 2 a 3 semillas grandes en su interior. El zapote blanco forma parte de las frutas típicas de México;

sus semillas y hojas se encuentran en los mercados herbolarios y son usados en forma de infusión como remedio para combatir la hipertensión o "facilitar el sueño". En la actualidad, se sabe que la dimetilhistamina presente en las semillas es la responsable de la hipotensión que produce este ancestral remedio. Su ingestión provoca una vasodilatación generalizada y por consiguiente la disminución de la presión arterial.

El amplio uso de esta planta como "sedante" es debido a que en dosis altas el extracto de sus semillas, produce una severa hipotensión que puede acompañarse de somnolencia y pérdida de la conciencia [11].

DESCRIPCION BOTANICA DE *Casimiroa edulis* La Llave & Lex

Es un árbol de 2 a 10 m de altura, tiene su ramaje denso, con las hojas compuestas de cinco hojuelas en forma de mano abierta de color verde brillante. Las flores son fragantes, con un color amarillo verdoso o blanquecinas. Sus frutos miden de 8 a 10 cm de ancho, son amarillentos con pulpa blanca de sabor dulce, semejando una manzana con 5 semillas [12].

INFORMACION QUIMICA

A partir de 1897, fue en el Instituto Médico Nacional de México donde numerosos investigadores dedicaron varios años de trabajo intentando dilucidar las propiedades medicinales del zapote blanco. Ramírez (1897) describió la obtención de un glucósido al que llamaron casimiroso¹, sustancia presente en los extractos obtenidos con mezclas de alcohol-agua de las semillas de *Casimiroa edulis*. Los efectos biológicos causados por este glucósido fueron: parálisis de la motilidad, lentitud de las contracciones cardíacas, pérdida del equilibrio, excrementación frecuente, aumento de la secreción intestinal y gástrica, respiración frecuente, pérdida de la sensibilidad y muerte por asfixia [11].

En la literatura química especializada se encuentran reseñados una gran cantidad de estudios químicos realizados a las diferentes partes botánicas de *C. edulis*. Como

¹ Casimiroso: Glucósido mayoritario presente en las semillas del árbol de *C. edulis* con propiedades hipnóticas y sedantes de los centros cerebrales [Niembro, 1990]

se describe en la Tabla 1, en las semillas de esta especie vegetal se han caracterizado e identificado alcaloides, cumarinas, flavonoides y esteroides; en la corteza y raíz se han detectado los alcaloides –casimiroína, eduleína, edulinina– y los flavonoides 5, 6-dimetoxiflavona y zapotina; sin embargo, en la raíz se encuentra principalmente el bergapteno y la isopimpinellina, mientras que de las hojas se ha aislado a la rutina [12].

Tabla 1. Constituyentes químicos aislados de *Casimiroa edulis* ²

Investigador	Compuesto	Parte de la planta	Referencia
Bickern (1903)	Casimiroedina (1)	Semilla	[11]
Power y Callan (1911)	Casimiroedina (1)	Fruto	[11]
	Casimiroína (2)		[13]
	β-Sitosterol (3)		
Kincl (1956)	Casimiroedina (1)	Semilla	[13]
	Casimiroína (2)		
	β-Sitosterol(3)		
	Zapotina (4)		
	Zapotinina (5)		
	Zapoterina (6)		
	Zapotidina (7)		
	Eduleína (8)		
	9-Hidroxi-4-metoxifurano (3, 2-) benzopiran-7-ona (9)		
	Casimiroína (10)		

² Se encuentran ordenados en forma cronológica, como una reseña histórica de los estudios realizados a través del tiempo

Iriarte (1956)	Casimiroína (2) Zapotina (4) 5, 6-Dimetoxiflavona (11) Eduleína (8) Edulitina (12) Edulinina (13) Bergapteno (14) Isopimpinina (15) Escopoletina (16)	Rafz	[14]
Power y Callan (1956)	Casimiroína (2) Casimiroedina(1) β -Sitosterol (3) Zapotina (4) Zapotinina (5) Zapoterina (7) Eduleína(8) Casimirólida (10)	Semilla	[11]
Djerassi (1956)	Casimiroedina (1) Casimidina (17)	Semilla	[15]
Sondheimer (1958)	Eduleína (8) Edulitina (12) Edulinina (13)	Corteza	[16]
Sondheimer (1960)	Zapotina (4) Zapotinina (5) 5, 6, 2'-Trimetoxiflavona (18)	Rafz	[17]
Dreyer (1967)	Zapotina (4)	Semilla	[18]
Garrat (1967)	Zapotina (4) Zapotinina (5) 5, 6-Dimetoxiflavona (11) 5, 6, 2'-Trimetoxiflavona (18)	Fruto y corteza	[19]

Dreyer (1968)	Casimiroína (2) Zapotina (4) Zapotrina (6) Eduleína (8) 5, 6, 2'-Trimetoxiflavona (18) Felopterina (19) Deacetilnomilina (20) 7 α -Obacunol (21) 5-Metoxi-8-geraniloxipsoraleno (22) 5, 6, 3'-Trimetoxiflavona (23) 5, 6, 3', 5'-Tetrametoxiflavona (24)	Semilla	[20]
Romero (1983)	Casimiroedina (1) Rutina (25)	Semillas y hojas	[21]
Enríquez (1984)	Felopterina (19) 5-Metoxi-8-geraniloxipsoraleno (22) 5-Geraniloxipsoraleno (26) 8-Geraniloxipsoraleno (27)	Semillas	[22]
Rizvi (1985)	Casimiroína (2) Eduleína (8) Isopimpinellina (15) Escopoletina (16) Skiammianina (28)	Hojas	[10]

FARMACOLOGIA

Una de las actividades mejor evaluadas y comprobadas de esta planta es su actividad hipotensora, la cual se ha observado con diferentes tipos de extractos preparados con varias partes de la planta y en especial con las semillas. Se comprobó esta actividad por vía intravenosa, utilizando diversas especies de animales de experimentación (gato, perro, cobayo, conejo y rata) [12].

Otras dos actividades bien estudiadas y comprobadas son su efecto estimulante sobre el útero, observado con extractos acuosos y etanólicos de la planta, demostrado en

tejido aislado de útero de gato, cobayo, conejo y adulto humano. La actividad emética del extracto etanólico fue evaluada en perros por vía oral.

El extracto etanólico de la semilla también presentó actividad relajante de los músculos esqueléticos y estimulante de los músculos lisos, procedente de varias especies animales (cobayo, conejo y gato). Por otro lado el fruto presentó actividad analgésica, depresora del sistema nervioso central e hipotérmica.

Los extractos etanólico-acuosos preparados a partir de las partes aéreas de la planta y evaluados en ratas, mostraron actividad antiinflamatoria y diurética, mientras que el extracto metanólico-etanólico de semillas, administrado por vía intravenosa, mostró actividad hipotensiva y un efecto cronotrópico negativo en ratas.

TOXICIDAD

Se observó el efecto del extracto alcohólico sobre la presión arterial en perros a una dosis de 0.2 g/kg de peso, que ocasiona analgesia, depresión del sistema nervioso central, paro respiratorio y la muerte por sobredosis [12].

La administración del extracto a perros a la dosis de 1g/kg de peso, causa vómito, enfriamiento, inactividad, parálisis y muerte por paro respiratorio. Por otra parte, la aplicación oral de zapote blanco a conejas gestantes reveló en la autopsia un abundante sangrado vaginal [12]

Tratando de determinar la LD₅₀ en ratas se encontró que a la dosis de 2 a 2.5 g/kg de peso de rata, se observaban síntomas de toxicidad tales como pérdida de la coordinación muscular, así como pérdida del equilibrio, entre otros [12].

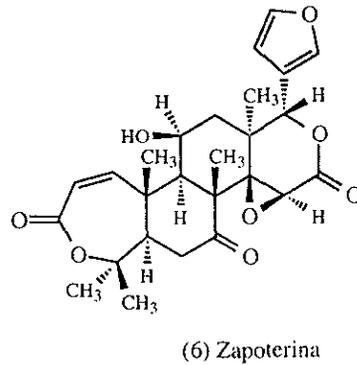
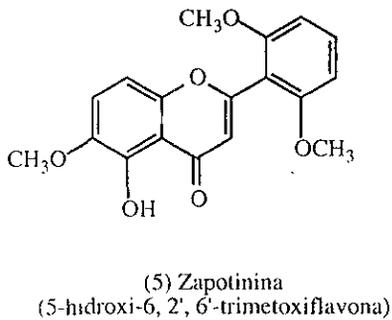
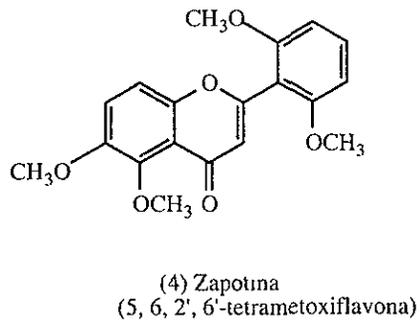
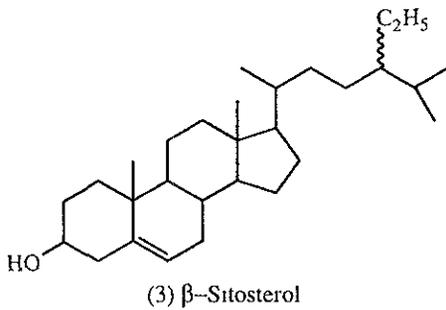
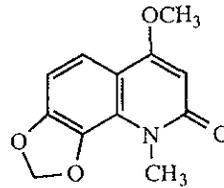
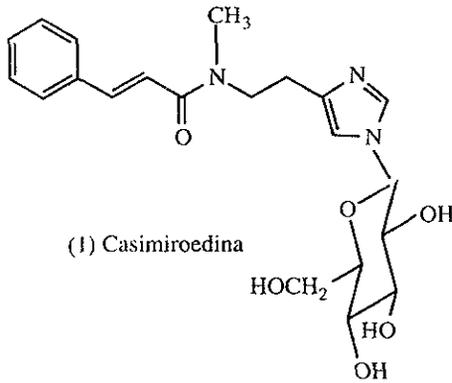
DISTRIBUCION Y PRINCIPALES PRODUCTOS DE UTILIZACION

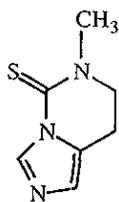
El principal producto es el fruto, el cual es muy apreciado como complemento alimenticio. La corteza, las hojas y sobre todo las semillas del zapote blanco contienen un glucósido tóxico llamado "casimirosa", que contiene propiedades hipnóticas, sedantes e hipotensoras de los centros cerebrales. Esta sustancia cuando se ingiere en pequeñas dosis

produce sueño tranquilo y reparador, por lo que se utiliza en medicina tradicional en casos de insomnio y dolores reumáticos. Sin embargo, a dosis mayores pueden traer como consecuencia resultados fatales. La madera es moderadamente fuerte y resistente, de durabilidad limitada. En ocasiones se emplea en trabajos de carpintería [23].

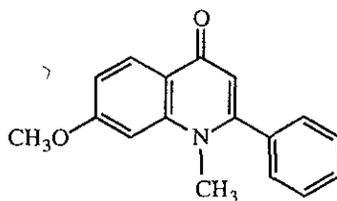
En México, el zapote blanco se encuentra distribuido en los estados de : Baja California, Chiapas, Distrito Federal, Estado de México, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Tlaxcala y Veracruz [24].

En la Tabla 2, se encuentran resumidos los principales usos del zapote blanco en la medicina tradicional; así como su localización y los nombres comunes.

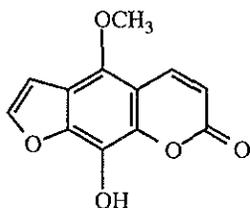




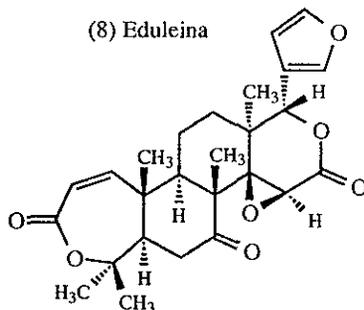
(7) Zapotidina



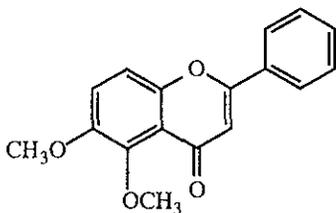
(8) Eduleina



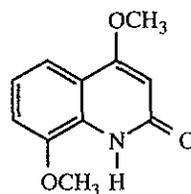
(9) 9-Hidroxi-4-metoxifurano
-(3, 2)-benzopiran-7-ona



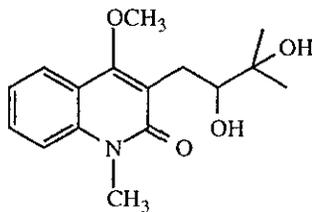
(10) Casimirólida



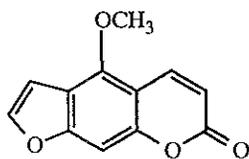
(11) 5, 6-dimetoxiflavona



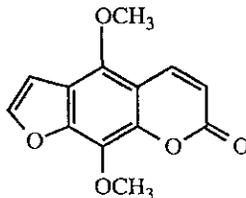
(12) Edulitina



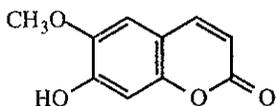
(13) Edulinina



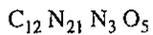
(14) Bergapteno



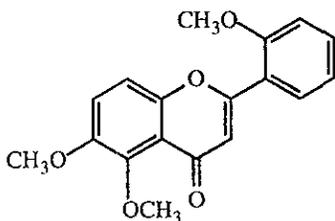
(15) Isopimpineline



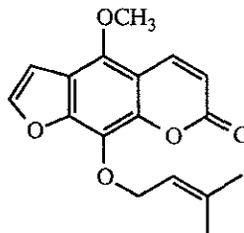
(16) Escopoletina



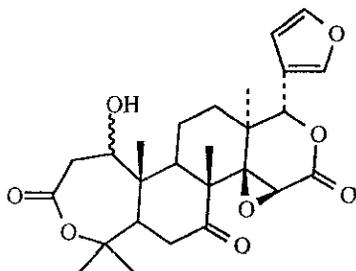
(17) Casimidina



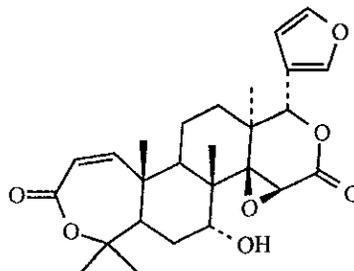
(18) 5, 6, 2'- trimetoxiflavona



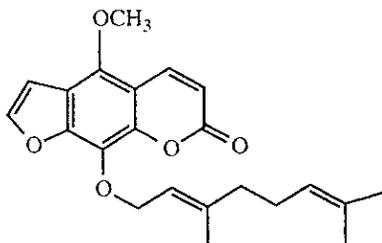
(19) Felopterina



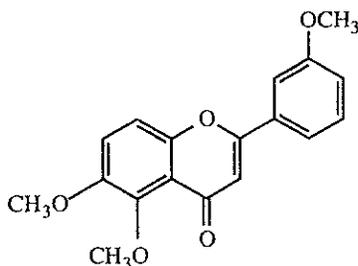
(20) Deacetilnomilina



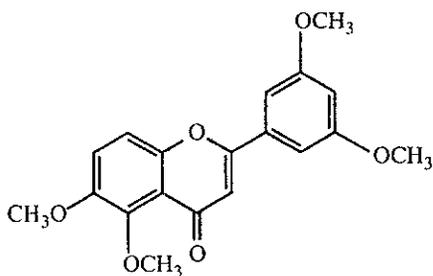
(21) 7α-Obacunol



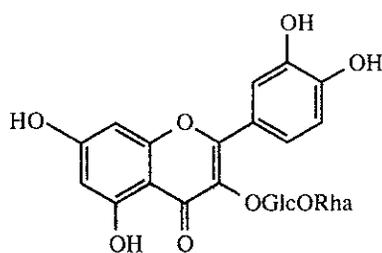
(22) 5-Metoxi-8-geraniloxipsoraleno



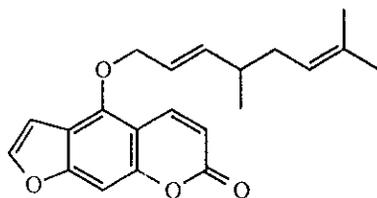
(23) 5, 6, 3'-Trimetoxiflavona



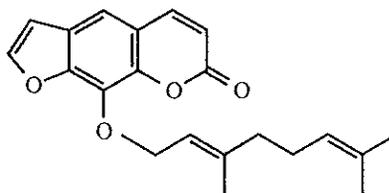
(24) 5, 6, 3', 5'-Tetrametoxiflavona



(25) Rutina



(26) 5-Geraniloxipsoraleno



(27) 8-Geraniloxipsoraleno

Tabla 2. Localización y usos de *Casimiroa edulis*. La Llave & Lex (*Rutaceae*) [25].

Nombre popular	Localidad	Padecimiento y uso	Parte utilizada	Preparación	Vía de Admón.
Iztaczapotl	Xolotla, Pahuatlán, Pue.	Anemia	Hojas	Hervido	Oral
Matasano	Huistán, Chiapas	Riñones	s/i	Infusión	Oral
Zapote	San Andrés Timilpan, Edo. de Méx.	Secreción de leche	Hojas	Cocimiento	Local (masajes)
Zapote	Novalato, Sin.	Nervios	s/i	s/i	s/i
Zapote	La Despensa, Ahome, Sin.	Presión	s/i	s/i	s/i
Zapote	Culiacán, Sin.	facilitar el sueño	s/i	s/i	s/i
Zapote blanco	Xochmilco, D F.	Insomnio	Hojas	Infusión	Oral
Zapote blanco	S. Luis Teolocholco, Tlax.	Baja la presión. Tranquilizante	Hojas	Infusión	Oral
Zapote blanco	Acajete, Pue.	Insomnio	Frutos	s/p	Oral
		Presión	Hojas	Infusión	Oral
Zapote blanco	Tepoztlán, Mor.	Baño postparto	Hojas y tallos frescos	s/p	Externa (baño de temazcal)
			Hojas frescas	Hervidas	Externa (b. t)
Zapote blanco	Edo. de Méx.	Pelo	Semillas	Machacadas	Local
		Presión	Hojas	Hervidas	Oral

s/i. Sin información

s/p Sin preparación

Infusión. Preparación obtenida al sumergir material vegetal en agua hirviendo y retirando inmediatamente ésta del fuego.

Cocimiento: Consiste en colocar el material vegetal en agua y dejar que ésta hierva de 10 a 20 min

Machacar Triturar o mole una planta medicinal con una pequeña cantidad de agua, aceites y yema de huevo u otras sustancias.

Hervir: Forma de preparación de una planta medicinal El líquido de cocción puede ser agua, leche u otra sustancia líquida

Baño de temazcal Baño de vapor que se realiza en una habitación pequeña de forma redonda o rectangular, construida con piedra o adobe; en su interior se almacena una alta concentración de vapor que permite realizar el baño [26].

2. *Casimiroa greggii*

Sereno Watson en 1890 propuso a la *Sargentia greggii*, como un nuevo género y especie de *Rutaceae*, basado en plantas colectadas por Gregg y Pringle, cerca de Monterrey, N.L., México. En esa ocasión solamente se recolectó material sin flor. Al examinar nuevamente la muestra, se observó una clara evidencia de que dos taxas estaban involucradas: Una de ellas Pringle 2416 que correspondía a *Esenbeckia runyonii*, también *Rutacea*.

La descripción de Watson cita una mezcla de caracteres florales de *E. runyonii* y caracteres frutales de *S. greggii*. En algunas localidades geográficas se encontraron estas dos taxas creciendo lado a lado y mostraban gran similitud ya que las hojas de ambas taxas tenían tres folíolos.

Cuando Watson en 1891 describió una nueva especie de *Sargentia*, *S. pringlei*, de la cual él tuvo ambas muestras (con flor y con fruto), él cuestionó ésta asignación genérica estableciendo que aunque el fruto era esencialmente como de *S. greggii*, las flores estaban totalmente diferentes, por lo que se describió como flores de *S. greggii*, las que anteriormente se atribuyeron a *Esenbeckia runyonii*.

Engler en 1896 transfirió la *S. pringlei* a *Casimiroa*, por lo que *S. greggii*, también sufrió el mismo cambio de género y es por eso que ahora se conoce como *Casimiroa greggii* [27].

INFORMACION QUIMICA DE *Casimiroa greggii*

Se han realizado pocos estudios con respecto a *C. greggii* en comparación a la *C. edulis*, de los cuales se han aislado cumarinas y flavonoides. En la Tabla 3 se resumen los trabajos más importantes con sus respectivos productos obtenidos.

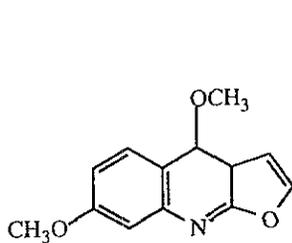
Tabla 3. Constituyentes químicos aislados de *Casimiroa greggii*.

Investigador	Compuesto	Parte de la planta	Referencia
Domínguez (1972)	β -Sitosterol (3) Cerosillina (29) 5, 6-Dimetoxiflavona (11)	Frutos y hojas	[28]
Domínguez (1975)	Cerosillina B (30)	Hojas	[29]
Meyer (1985)	Zapotina (4) 5, 6, 2'-Trimetoxiflavona (18) 5, 6, 2', 3', 4', 6'-Hexametoxiflavona (31) Seselina (32) O-Geraniostenol (33)	Raíz	[30]

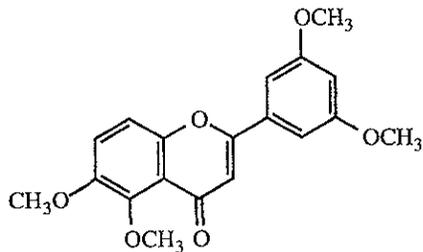
3. *Casimiroa pringlei*

La *Casimiroa pringlei* es una especie basada en la muestra que colectó Pringle en las montañas de San José, S.L.P. con el número 3220, el 11 de junio y el 22 de julio de 1890. La planta fue estudiada por Watson, quien la clasificó en el género *Sargentia*, haciendo notar que consideraba muy dudosa su colocación en ese género, más tarde, Engler llegó a la conclusión que correspondía a *Casimiroa* y no a *Sargentia* y la denominó *Casimiroa pringlei* [8].

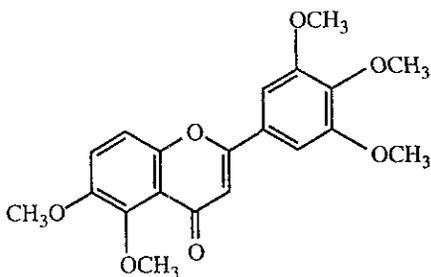
La *Casimiroa pringlei* es un arbusto de 3-5 m y sus hojas constan de 1 folíolo; y se encuentra entre aquellas especies del género que son silvestres. Hasta el momento no se encuentra reportado ningún trabajo en el que se haya estudiado esta especie; así como tampoco existe información más amplia respecto a esta.



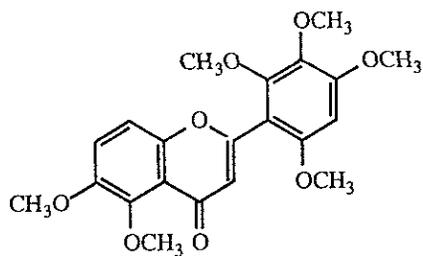
(28) Skimmianina



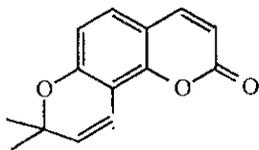
(29) Cerrosillina



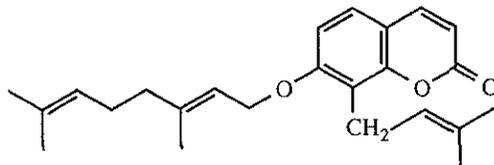
(30) Cerrosillina B



(31) 5, 6, 2', 3', 4', 6'-Hexametoxiflavona



(32) Seselina



(33) O-Geranilostenol

C. GENERALIDADES SOBRE CUMARINAS

El término cumarina es aplicado colectivamente a un grupo de compuestos que poseen como núcleo el de la 2H-1-benzopirán-2-ona. Actualmente el número total de cumarinas reportadas de fuentes naturales excede las 600. La mayor parte de las cumarinas probablemente se derivan del ácido *cis* - cinámico, pero pueden generarse también de una mezcla de ácido cinámico/acetato (4-fenilcumarinas) o totalmente del acetato (4-*n*-propilcumarinas).

Como ejemplo de las cumarinas simples que son derivadas del ácido cinámico se encuentran: la cumarina (I), umbeliferona (II) y heptiarina (ver estructuras en las Tablas 3 y 4) son conocidas porque se presentan en muchas familias de plantas. Por otro lado, las cumarinas que experimentan la elaboración de la estructura base por la adición de unidades de C-5 originados del ácido mevalónico han sido encontradas en algunas familias [33].

Las cumarinas han sido encontradas en 178 especies de *Rutaceae* pertenecientes a 50 géneros, lo que significa que únicamente el 11% de las familias y el 33% de los géneros han sido estudiados.

La familia *Rutaceae* está dividida en siete subfamilias, como se muestra en la Tabla 1, de las cuales únicamente en cuatro de ellas se encuentra el mayor número de cumarinas : Aurantioideae, Flindersioideae, Rutoideae y Toddalioideae; y en esta última se encuentra localizado el género *Casimiroa* [5].

Una amplia escala de efectos tóxicos en animales ha sido atribuida a las cumarinas incluyendo actividad antibacterial, vasodilatadora y efectos diuréticos, propiedades anticoagulantes, hepatotoxicidad y estimulación respiratoria. Las furanocumarinas son activas contra muchos hongos y por ello es posible que puedan ser empleadas por especies de *Citrus* para combatir enfermedades de plantas causadas por hongos. En bajas concentraciones, las cumarinas simples estimulan el crecimiento de las plantas [5].

Tabla 1. Clasificación de la familia *Rutaceae* y los géneros que contienen cumarinas.

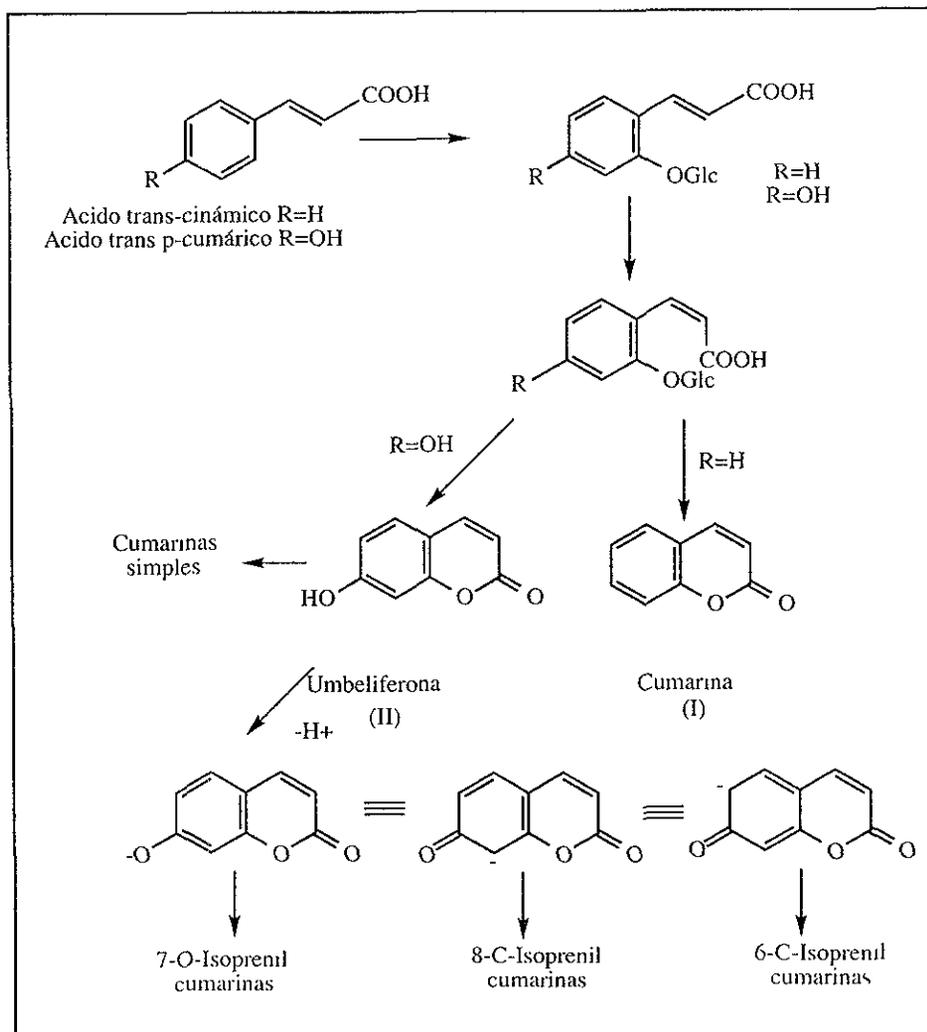
Sub-familia	Tribu	Género
Toddalioideae	Toddaleae	<i>Amyris</i>
		<i>Casimiroa</i>
		<i>Halfordia</i>
		<i>Helietta</i>
		<i>Hortia</i>
		<i>Prelea</i>
		<i>Skimmia</i>
		<i>Toddalia</i>
Aurantioideae		
Rutoideae		
Flindersioideae		
Spathelioideae		
Dictyolomatoideae		
Rhabdodendroideae		

BIOGENESIS DE LAS CUMARINAS RUTACEAS.

Casi 200 cumarinas han sido aisladas de diferentes especies de Rutaceas. Todas, con la posible excepción de las 2H-nafto-(2,3b)-piran-2-onas, parecen ser derivadas del ácido cinámico y parten de la misma ruta biogenética observada en otras familias que producen éstas sustancias.

Como se puede ver en el Esquema 1, el ácido *trans*- cinámico formado de la desaminación de fenilalanina la cual está mediada por una enzima, experimenta una oxidación *orto*, glucosidación e isomerización para el correspondiente ácido *cis*. Estos procesos pueden incluir ambas enzimas catalizadoras y además fenómenos fotoquímicos. Con la excepción de la cumarina y sus compuestos relacionados (ver Tabla 3), todas las cumarinas de la *Rutaceae* están oxigenadas en el C-7 indicando que los ácidos *trans* y *cis p*- cumáricos son los precursores usuales [33].

El mayor rasgo distintivo en la diversificación de las cumarinas simples en la *Rutaceae* y la *Umbelliferae* es la extensa incorporación de unidades prenilo. El mecanismo



Esquema 1. Orígenes de cumarinas simples

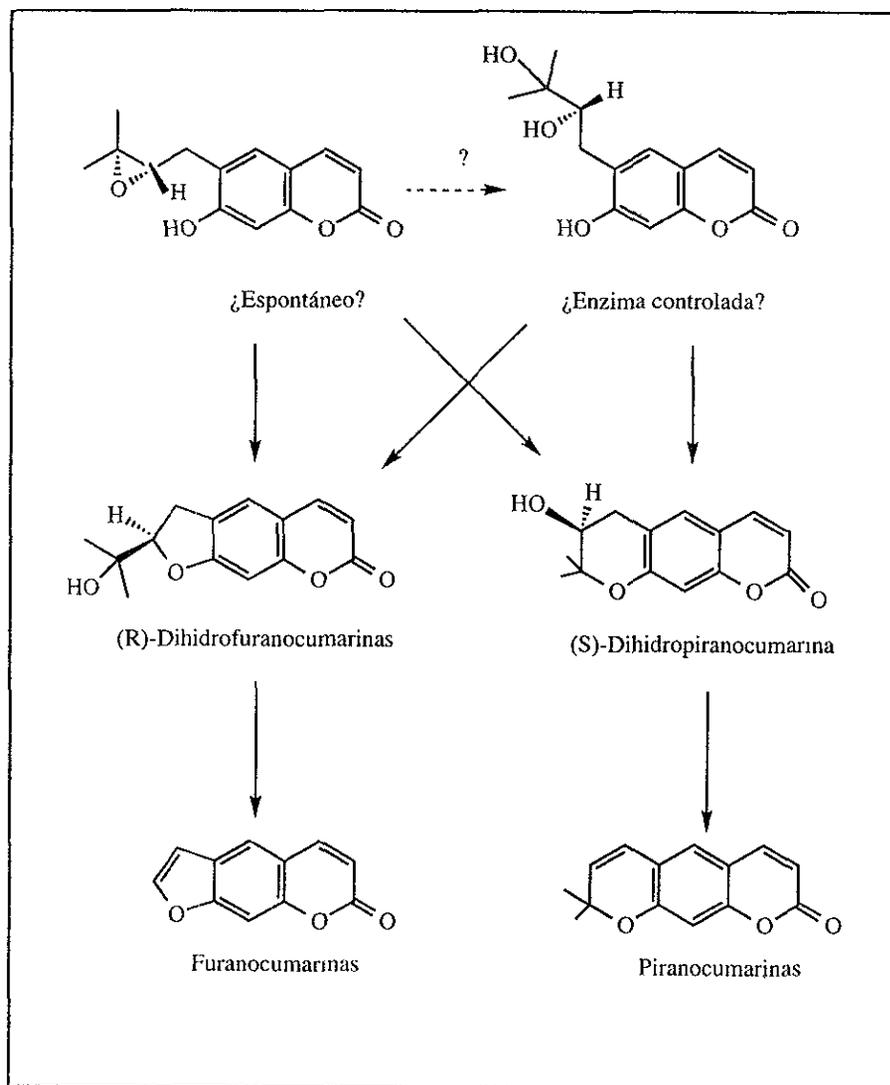
de prenilación de la umbelíferona involucra la formación de un anión estable que permitirá el ataque electrofílico de un ión prenilo (C⁺) al C-6 o al C-8 para dar cumarinas C-preniladas o bien en el ión fenóxido para dar compuestos O-prenilados.

En el caso de las furanocumarinas están involucradas la dimetilsuberona y el ostenoil como precursores de furanocumarinas lineales y angulares respectivamente. El intermediario parece ser el epóxido prenil o el diol para el tipo lineal y sus equivalentes C-8-prenilados para el tipo angular [33].

Experimentos *in vitro* muestran que la ciclización ocurre espontáneamente como se observa en el Esquema 2. En donde la epoxidación de un grupo prenilo ocurre hasta que haya un sustituyente *orto* hidroxilo libre y se plantea al epóxido como el intermediario más probable. Una segunda pregunta inconstruible concierne al mecanismo que gobierna la selección de la formación de anillos furano o pirano en las cumarinas. En este contexto, en las observaciones *in vitro* se formó el anillo furano bajo condiciones neutras o básicas y al anillo pirano bajo condiciones ácidas.

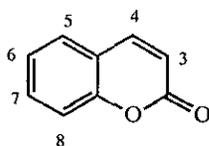
DIVERSIDAD ESTRUCTURAL DE CUMARINAS

En las Tablas 3 a 19 se enlistan algunas de las cumarinas que han sido aisladas. Se ha encontrado que alrededor de 200 especies de 60 géneros producen 300 diferentes cumarinas. Estos compuestos varían en complejidad desde simples hasta sustituidas, así como furo y piranocumarinas [1].

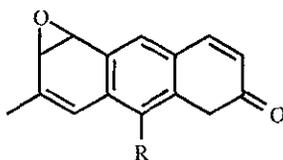


Esquema 2. Formación de furanocumarinas lineales y piranocumarinas de cumarina 6-C-isoprenil.

Tabla 3. Cumarinas simples



Nombre	Sustituyentes	Referencia
1. Cumarina	-	[33]
2. Ekersenina	4-OMe, 5-Me	[34, 35]
3. Siderina	4, 7-diOMe, 5-Me	[36]



4. -

R= H

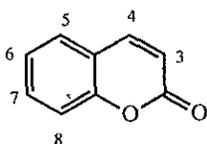
[1]

5. -

R= OMe

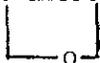
[1]

Tabla 4. Cumarinas simples 7-Oxigenadas



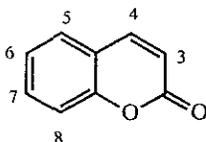
Nombre	Substituyente	Referencia
1. Umbeliferona	7-OH	[33]
2. Herniarina	7-OMe	[33]
3. Aurapteno	7-OGer (a)	[33]
4. Marmina	7-OGer (b)	[33]
5. Geiparvarina	7-OGer (c)	[33]
6. Umbelliprenina	7-OFrn	[33]
7. Skimmina	7-OGlu	[33]

Ger (a): $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$
 Ger(b): $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{OH})(\text{CH}_3)_2$
 Ger(c): $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{C}=\text{CHCOC}(\text{CH}_3)_2$

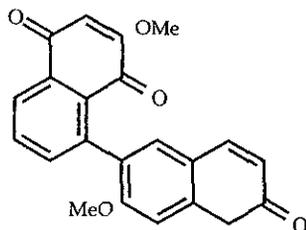


Frn: $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$
 Glu: $\beta\text{-D-glucosa}$

Tabla 5. Cumarinas simples 6-substituidas 7-Oxigenadas



Nombre	Substituyentes	Referencia
1. Crenulatina	6-CHO, 7-OMe	[33,37]
2. Tenudina	6-Bu(a), 7-OMe	[1]
3. Suberenona	6-Bu(b), 7-OMe	[33]
4. Suberosina	6-Pre(a), 7-OMe	[33, 38]
5. Suberenol	6-Pre(b), 7-OMe	[33]
6. Geijjerma	6-Pre(c), 7-OMe	[33]
7. Ulopterol	6-Pre(d), 7-OMe	[33]
8. Tamarina	6-Pre(e), 7-OMe	[39, 40]
9. Micromelina	6-Pre(f), 7-OMe	[33, 37, 41]
10. Ostrutina	6-Ger(a), 7-OH	[33]
11. Naftoherniarina		[1]


 Bu (a) $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$

 Bu (b): $\text{CH}=\text{CHCOCH}_3$

 Pre (a) $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_3)_2$

 Pre (b): $\text{CH}=\text{CHC}(\text{OH})(\text{CH}_3)_2$

 Pre (c): $\text{COCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$

 Pre (d): $\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{OMe})(\text{CH}_3)_2$

 Ger (a): $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$

 Pre (e): $\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{C}=(\text{CH}_2)\text{CH}_3$

Pre (f):

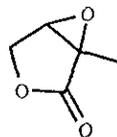
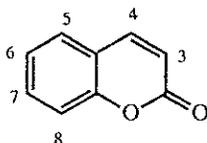


Tabla 6. Cumarinas simples 8-substituídas 7-Oxigenadas

Nombre	Substituyente	Referencia
1. Ostenol	7-OH, 8-Pre(a)	[33]
2. Osthol	7-OMe, 8-Pre(a)	[33]
3. Ramosina	7-OPre(a), 8-Pre(a)	[33]
4. Auraptenol	7-OMe, 8-Pre(e)	[33]
5. Versicolina	7-OMe, 8-Ger(a)	[1]

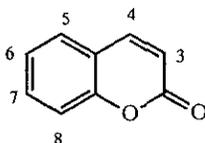
Tabla 6a. Cumarinas simples 5, 7-Dioxigenadas

Nombre	Substituyente	Referencia
1. -	5-OH, 7-OMe	[1]
2. Limetina (citropteno)	5, 7-diOMe	[33]
3. -	5-OPre(a), 7-OMe	[33]
4. -	5-OGer(a), 7-OMe	[33]

Tabla 7. Cumarinas simples 6-substituídas 5, 7-Dioxigenadas

Nombre	Substituyente	Referencia
1. Toddaculina	5, 7-diOMe, 6-Pre(a)	[33]
2. Toddalolactona	5, 7-diOMe, 6-Pre(g)	[33, 42]
3. Toddanol	5, 7-diOMe, 6-Pre(e)	[42, 43]
4. Toddanona	5, 7-diOMe, 6-Pre(h)	[42, 43]

Pre (g) $\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{OH})(\text{CH}_3)_2$
 Pre (h) $\text{CH}_2\text{COCH}(\text{CH}_3)_2$

Tabla 8. Cumarinas simples 8-substituidas 5, 7-Dioxigenadas

Nombre	Substituyente	Referencia
1. Cumurayina	5, 7-diOMe, 8-Pre(a)	[33]
2. Omfamurina	5, 7-diOMe, 8-Pre(e)	[44]
3. Mexotucina	5, 7-diOMe, 8-Pre(g)	[44]

Tabla 9. Cumarinas simples 6, 7-Dioxigenadas

Nombre	Substituyente	Referencia
1. Aesculetina	6, 7-diOH	[33]
2. Isoescopoletina	6-OH, 7-OMe	[33, 45]
3. Preniletina	6-OH, 7-OPre(a)	[1]
4. Escopoletina	6-OMe, 7-OH	[33, 41, 46]
5. Escoparon	6, 7-diOMe	[33, 47, 48]
6. -	6-OMe, 7-OPre(a)	[1]
7. Escopolina	6-OMe, 7-OGlu	[33]
8. -	6-OMe, 7-OGer(a)	[33]

Tabla 10. Cumarinas simples 8-substituidas 6, 7-Dioxigenadas

Nombre	Substituyente	Referencia
1. Cedrelopsina	6-OMe, 7-OH, 8-Pre(a)	[1]
2. Braileanina	6-OMe, 7-OPre(a), 8-Pre(a)	[1]
3. Cneorum cumarina B	6-OMe, 7-OH, 8-Pre(e)	[1]

Tabla 11. Cumarinas simples 6, 7, 8-Trioxigenadas

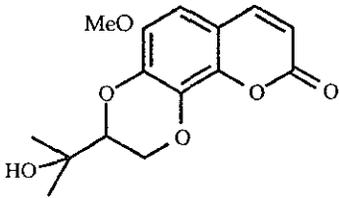
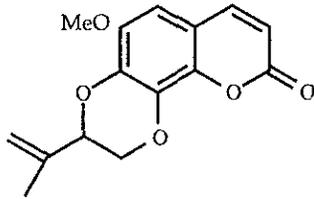
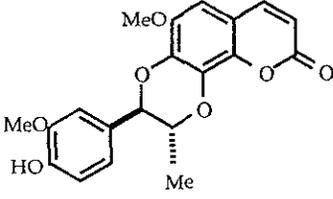
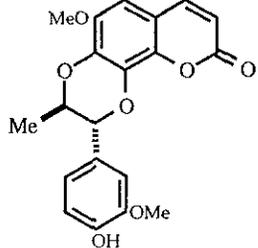
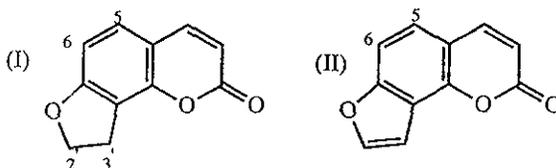
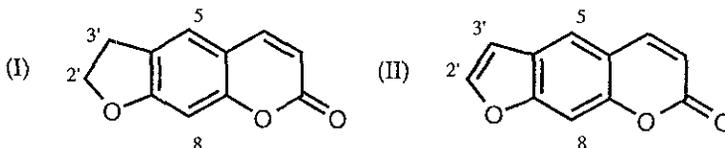
Nombre	Substituyente	Referencia
1. -	6, 7, 8-triOMe	[33]
2. Capensina	6-OMe, 7-OPre(a), 8-OH	[49]
3. Puberulina	6, 8-diOMe, 7-OPre(a)	[33]
4. Obtusifol		[33]
5. Obtusina		[1]
6. Propacina	 	[50]

Tabla 12. Furocumarinas angulares



Nombre	Substituyente	Referencia
1. Angelicina	II	[51]
2. Isobergapteno	II: 5-OMe	[33]
3. Esfondina	II. 6-OMe	[33]
4. Pimpinellina	II. 5,6-diOMe	[33]
5. Nieshutina	I: 6-OMe, 2', 3', 3'-triMe	[1]
6. Nieshutol	I: 5-OMe, 6-OH, 2', 3', 3'-triMe	[1]

Tabla 13. Furocumarinas lineales



Nombre	Substituyente	Referencia
1. (+)-Marmesina	I: 2'-Ip(a)	[33]
2. Isoangenomilina	I: 2'-Ip(b)	[1]
3. (-)-Marmesinina	I: 2'-Ip(d)	[33, 52]
4. Psoraleno	II	[33, 51]

Ip (a) C(OH)(CH₃)₂
 Ip (b). C=(CH₂)CH₃
 Ip (d). C(OGlu)(CH₃)₂

Tabla 14. Furocumarinas 8-Preniladas

Nombre	Substituyente	Referencia
1. -	I: 2'-Ip(a), 8-Pre(a)	[1]
2. Swietenocumarina A	II: 8-Pre(a)	[1]
3. Swietenocumarina E	II: 8-Pre(g)	[1]
4. Swietenocumarina H	II: 8-Pre(b)	[53]

Tabla 15. Furocumarinas 5-Oxigenadas

Nombre	Substituyente	Referencia
1. Hortinona	I: 2'-Ip(b), 5-OMe	[1]
2. -	II: 2'-Ip(a), 5-OMe	[33]
3. Bergaptol	II: 5-OH	[33]
4. Bergapteno	II: 5-OMe	[33, 54, 55, 56]
5. Isoimperatorina	II: 5-Pre(a)	[33, 57]
6 Prangol	II: 5-OPre(g)	[33]
7. Bergamotina	II: 5-OGer(a)	[33]
8. -	II: 5-OGer(b)	[33, 58]

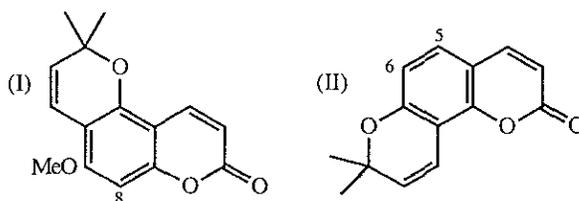
Tabla 16. Furocumarinas 8-Oxigenadas

Nombre	Substituyente	Referencia
1. Rutaretina	I: 2'-Ip(a), 8-OH	[33]
2. Eter metil rutaretina	I: 2'-Ip(a), 8-OMe	[59]
3. Isorutarina	I: 2'-Ip(d), 8-OH	[33]
4. Rutarina	I: 2'-Ip(a), 8-OGlu	[33]
5. Arnocumarina	I: 2'-Ip(b), 8-OMe	[1]
6. Xanthotoxol	II: 8-OH	[33, 38, 60]
7 Xanthotoxina	II: 8-OMe	[33]
8. Imperatorina	II: 8-OPre(a)	[33, 46, 47, 56, 62]
9. Heraclenol	II: 8-OPre(g)	[33, 46]
10 8-Geranioloxipsoraleno	II: 8-OGer(a)	[33]

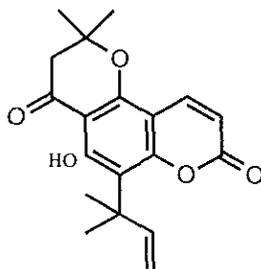
Tabla 17. Furocumarinas 5, 8-Dioxigenadas

Nombre	Substituyente	Referencia
1.	II: 5-OMe, 8-OH	[33, 38]
2. Isopimpinolina	II: 5, 8-diOMe	[33, 47, 56]
3. Felopterna	II: 5-OMe, 8-OPre(a)	[33, 47]

Tabla 18. Piranocumarinas angulares

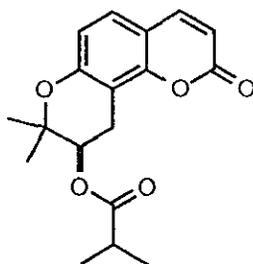


Nombre	Substituyente	Referencia
1. Aloxantoxiletina	I	[33]
2. Dipetalina	I: 8-Pre(a)	[33]
3. Clausenidina		[33]



4. Isovalerato de lomatina

[1]



5. Seselina

II

[33, 46]

6. Norbrailina

II: 6-OH

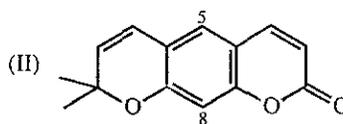
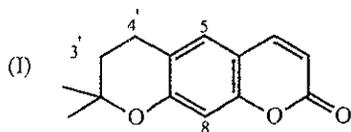
[33]

7. Brailina

II: 6-OMe

[33]

Tabla 19. Piranocumarinas lineales



Nombre	Substituyente	Referencia
1. (-)-Decursinol	I: 3'-OH	[33]
2. Xantiletina	II	[33]
3 Clausenina	I: 5-OH, 4', 4'-O	[33]
4 Xantoxiletina	II: 5-OMe	[33]
5 Arnotianina	I: 8-OMe, 3'-OH	[33]
6 Luvangetina	II: 8-OMe	[33]
7 Racemosina	II: 5, 8-diOMe	[62]

D. GENERALIDADES DE FLAVONOIDES

Se estima que alrededor del 2% de todo el carbón fotosintetizado por plantas es convertido a flavonoides o a compuestos estrechamente relacionados. Los flavonoides constituyen uno de los grupos más grandes de la naturaleza que presentan fenoles. Son virtualmente ubicuos en plantas verdes y son comúnmente encontrados en cualquier trabajo que involucre extractos de plantas. Por esta razón es muy importante que los químicos, bioquímicos y biólogos sepan cómo reconocer, aislar e identificar estos productos naturales en todas sus diferentes formas [63].

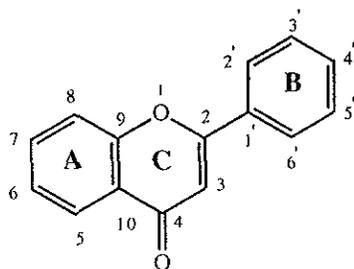
Se conocen unos 200 flavonoides naturales que se encuentran distribuidos entre las plantas, tanto libres como en forma de glicósidos, estos últimos son los que contribuyen a darle color a las flores, frutos y hojas. Las agliconas (flavonoides sin azúcares) son las que frecuentemente se encuentran en los tejidos leñosos [64]. Los flavonoides son constituyentes característicos de plantas verdes con excepción de las algas. Se encuentran en todas las partes de la planta, incluyendo hojas, raíces, néctar, polen, flores, bayas y semillas.

Los flavonoides son sintetizados por numerosos grupos de plantas y con la excepción de algunas flavonas localizadas en las alas de mariposa, probablemente por ingestión, puede decirse que no se encuentran en animales [63].

ESTRUCTURA GENERAL

En las plantas, las agliconas se presentan en una gran variedad de formas estructurales. Todas contienen quince átomos de carbono en su núcleo básico ($C_6-C_3-C_6$), que son dos anillos aromáticos comúnmente unidos por una unidad formada por tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo³ (1) [63]

³ Por convención los anillos son llamados A, B y C y los átomos de carbono individuales son referidos a través de un sistema numérico que utiliza números ordinarios para los anillos A y C y números primos para el anillo B



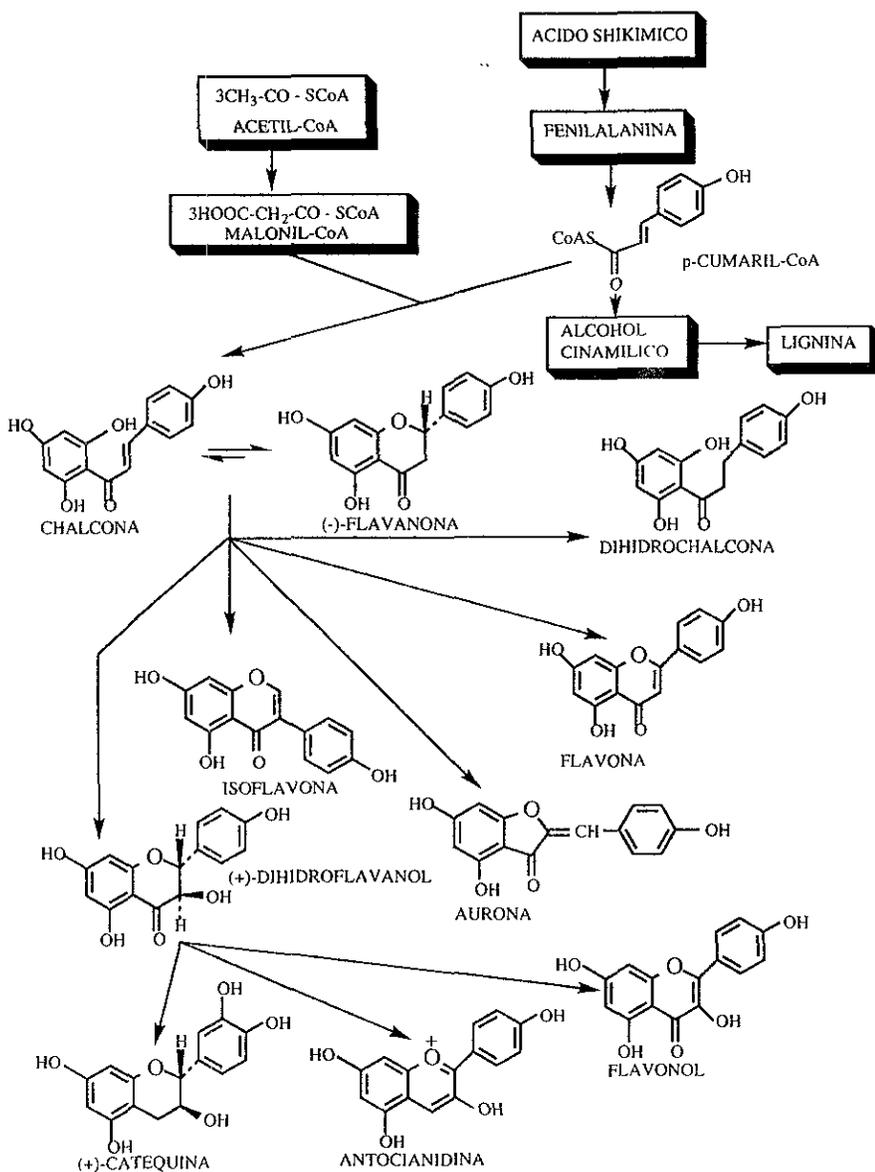
(1)

BIOSINTESIS DE FLAVONOIDES

Las variantes de los flavonoides están todas relacionadas por una ruta biosintética común que incorpora precursores de las rutas del "Acido shikímico" y "Acetato/malonato", el primer flavonoide existente es producido siguiendo las dos rutas, como se ve en el Esquema 1 en donde el flavonoide inicialmente formado en la biosíntesis está listo ahora para ser una chalcona y todas las otras formas son derivadas de ésta por una variedad de rutas. Distintas modificaciones del flavonoide pueden ocurrir en varios estadíos resultando en una hidroxilación; metilación de grupos hidroxilo o del núcleo flavonoide; isoprenilación de grupos hidroxilo o del núcleo flavonoide; metilación de grupos *orto*-hidroxilo; dimerización (para producir biflavonoides); formación de bisulfato y glucosilación de grupos hidroxilo (para producir flavonoide O-glicósidos) o de los núcleos flavonoides (para producir flavonoides C-glicósidos) [63].

FLAVONOIDES O-GLICOSIDOS

Los flavonoides se presentan comúnmente como flavonoides O-glicósidos en los que uno o más de los grupos hidroxilos flavonoides están ligados a un azúcar o azúcares por un enlace hemiacetalico. El efecto de la glicosidación es hacer al flavonoide menos reactivo y más soluble en agua, esta última propiedad permite el almacenamiento de los flavonoides en la vacuola de las células (donde son comúnmente encontrados). Aunque los grupos hidroxilo en algunas posiciones en los flavonoides pueden ser glicosidados los hidroxilos en ciertos sitios tienen mucha más alta probabilidad de serlo que otros, ejemplo de



Esquema 1. Interrelación biosintética entre los diferentes tipos de flavonoides.

ello es el 7-hidroxilo en flavonas, isoflavonas y dihidroflavonas, el 3- (y 7-) hidroxilo en flavonoles y dihidroflavonoles y el 3-(y 5-) hidroxilo en antocianidinas. La glucosa⁴ es el azúcar más comúnmente involucrado en la glicosidación [63].

FLAVONOIDES C-GLICOSIDOS

Los azúcares pueden también estar ligados a carbonos del núcleo flavonoide, en este caso, ellos están unidos directamente al núcleo del benceno por un enlace carbono-carbono, que no se hidroliza en medio ácido. Hasta la fecha, los azúcares ligados al carbono han sido encontrados sólo en las posiciones 6 y 8 en el núcleo del flavonoide⁵ [63].

SULFATOS FLAVONOIDES

Otro grupo de flavonoides solubles en agua son los sulfatos de flavonoides⁶. Dichos compuestos contienen uno o más residuos de sulfato unidos a un oxidrilo fenólico o a un azúcar.

BIFLAVONOIDES

Como su nombre lo indica, los biflavonoides son dímeros de flavonoides. Los flavonoides comúnmente involucrados son flavonas y flavanonas. Los flavonoides monómeros presentes en cada biflavonoide pueden ser del mismo tipo o diferente y las posiciones de la ligadura entre ellos varía ampliamente. Muchas propiedades físicas y químicas de biflavonoides son semejantes a las de sus componentes monoflavonoides (como los espectros de U.V-visible, pruebas de color, etc.) y como consecuencia, los biflavonoides⁷ pueden algunas veces ser difíciles de reconocer.

⁴ Aunque la galactosa, rhamnosa, xylosa y arabinosa son comunes. Otros azúcares son la allosa, manosa, fructosa, apiosa y los ácidos glucorónico y galacturónico. Los disacáridos también se encuentran en asociación con flavonoides [63].

⁵ La proporción de azúcares involucrados es aparentemente más pequeño que los O-glicósidos e incluye a la glucosa más comúnmente [63].

⁶ La presencia de estos compuestos parece estar restringido a las Angiospermas, especialmente las de hábitat acuático [63].

⁷ Los biflavonoides raramente se hallan presentes como glicósidos y existen de manera predominante en las gimnospermas [63].

FLAVONOIDES DE LA FAMILIA RUTACEAE

El género *Ruta*, (*Rutaceae*) tiene especial significado por tener al más común de todos los flavonoides, que es la rutina. La rutina (quercetina 3-rutinósido) fué primeramente aislado en condiciones cristalinas de *Ruta graveolens* en 1842 por Weiss. La rutina está considerada por algunos investigadores como benefica para los humanos y es usada en países europeos en el tratamiento de fragilidad capilar, también se ha encontrado dicho flavonoide en *Fagopyrum esculentum*, así como en los géneros: *Cnerum*, *Neochamaelea*, *Melia* y *Suriana*. [1].

Dos flavonoides distintivos que también son característicos de la *Rutaceae* y que raramente son encontrados en otra familia son: la flavona metoxilada exoticina⁸ y la flavanona glicosilada naringina.

A partir de la familia *Rutaceae* se han aislado una gran variedad de flavonoides altamente sustituidos; además de alcaloides, cumarinas y aceites esenciales. Desafortunadamente, los flavonoides han sido estudiados en pocos géneros, estos pertenecen a sólo cuatro de las siete sub-familias: *Melicope* y *Xanthoxylum* (Rutoideae), *Flindersia* (Flindersioideae), *Casimiroa* y *Phellodendron* (Toddalioideae) y *Citrus* (Aurantioideae). Los flavonoides en todos los géneros estudiados, se han caracterizado por un alto grado de metilación, por una sustitución adicional en las posiciones 6, 8 ó 2', por la presencia de grupos metilendioxi y por cadenas isoprenílicas [65].

FLAVONOIDES DEL GENERO CITRUS

Las frutas cítricas son particularmente ricas en flavonas y flavanonas. Las flavonas presentes se ubican dentro de tres clases: (a) Derivados completamente metilados, (b) Flavonoles parcialmente metilados como el limocitrol (2) e isolimocitrol (3) y (c) flavonas comunes como la apigenina, luteolina, diosmetina y crisoeriol.

Una notable faceta de estos flavonoides es la co-ocurrencia de pares de compuestos isoméricos, como el limocitrol y el isolimocitrol, en el que los sustituyentes metilo están alternados y el grupo hidroxilo se encuentra en las posiciones 3' y 4'.

⁸ La exoticina (3, 5, 6, 7, 8, 3', 4', 5'-octametoxyflavona) es la flavona más sustituida que se conoce y fue aislada de las hojas de *Murraya exotica* [1].

Así también se han aislado flavonoides metilados como la nobiletina y la tangeretina (ver Tabla 1).

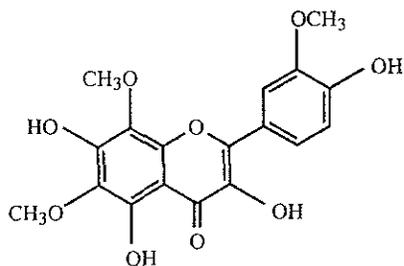
Tabla 1. Flavonas parcial y completamente metiladas que han sido caracterizadas en el género *Citrus*. [1, 66].

Flavonas completamente metiladas

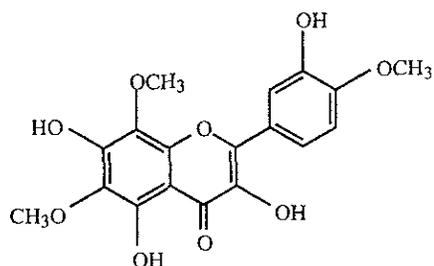
5, 7, 4'-OMe (trimetil éter de la apigenina); 5, 6, 7, 4'-OMe; 5, 7, 8, 4'-OMe; 5, 6, 7, 8, 4'-OMe (Tangeretina); 5, 6, 7, 3', 4'-OMe (Sinensetina); 5, 7, 8, 3', 4'-OMe (Isosinensetina); 3, 6, 7, 8, 4'-OMe (Auranetina); 5, 6, 7, 8, 3', 4'-OMe (Nobiletina); 3, 5, 6, 7, 3', 4'-OMe; 3, 5, 7, 8, 3',4'-OMe; 3, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-OMe, 6, 2', 6'-OMe (Zapotinina), 5, 6, 2', 6'-OMe (Zapotina), 5, 6, 3', 5'-OMe (Cerrosillina), 5, 7, 3', 4'-OMe, 5, 6, 3', 4', 5'-OMe (Cerrosillina B)

Flavonas parcialmente metiladas

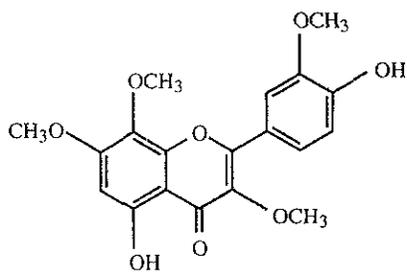
5, 7, 4'-OH-6-OMe (Hispidulina), 5, 4'-OH-7, 8-OMe; 5-OH-7, 8, 4'-OMe; 5, 7, 4'-OH-6, 8-OMe; 5, 4'-OH-6, 7, 8-OMe (Xantomicro); 5, 7, 4'-OH-6, 3'-OMe (Jaceosidina); 5-OH-6, 7, 8, 4'-OMe (Gardenina B); 5-OH-6, 7, 3', 4'-OMe, 5-OH-7, 8, 3', 4'-OMe; 5, 6, 7, 8-OH-3', 4'-OMe; 3, 5, 7, 4'-OH-8, 3'-OMe (Limocitrina); 5, 7, 4'-OH-6, 8, 3'-OMe (Sudaquitina); 5, 4'-OH-6, 7, 8, 3'-OMe; 5, 8-OH-3, 7, 3', 4'-OMe; 5-OH-6, 7, 8, 3', 4'-OMe (5-desmetilnobiletina); 4'-OH-5, 6, 7, 8, 3'-OMe; 5-OH-3, 6, 7, 8, 4'-OMe; 3, 5, 7, 4'-OH-6, 8, 3'-OMe (Limocitrol); 3, 5, 7, 3'-OH-6, 8, 4'-OMe (Isolimocitrol); 5-OH-3, 6, 7, 8, 3', 4'-OMe; 3-OH-5, 6, 7, 8, 3', 4'-OMe (Natsudaidaina)



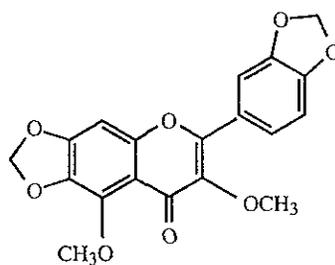
(2) Limocitrol



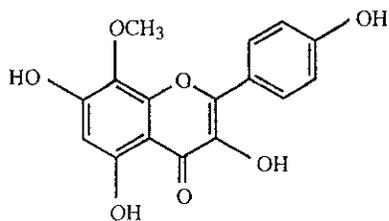
(3) Isolimocitrol



(4) Ternatina



(5) Melternatina



(6) Tambuletina

OTROS FLAVONOIDES

Los flavonoides encontrados en otras sub-familias de la *Rutaceae* y en distintas circunstancias caen dentro de tres categorías: derivados de quercetagetina, 2'-hidroxiflavonas y flavonoides sustituidos con isoprenoides

1. Derivados de Quercetagetina:

Una notable mezcla de cuatro flavonoles altamente metilados o metilendioxi, han sido encontrados por Briggs y Locker (1950) en la corteza de *Melicope simplex* y *M. ternata*. La más simple es tematina (4), la más compleja es la meliternatina (5) que es derivada de la quercetagetina.

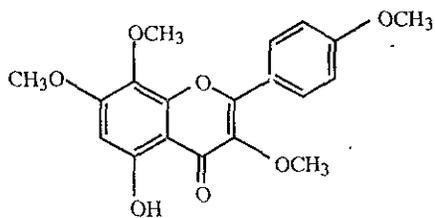
Derivados de la herbacetina son encontrados en otros miembros de la familia *Rutaceae*. La 8-metil éter, tambuletina (6), presente en la semilla de *Xanthoxylum acantopodium* y la 3, 7, 8, 4'-tetrametil éter, flindulatina (7), en las hojas de *Flindersia maculosa*. La flindulatina está posiblemente acompañada por la 7, 8, 4'-trimetil éter en esta planta.

2. Hidroxiflavonas

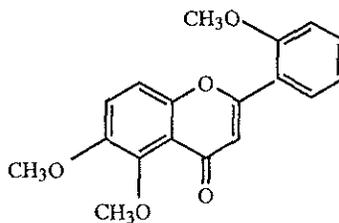
Una serie de flavonas 2'-metiladas están aparentemente presentes en la raíz de *Casimiroa edulis*, en ellas se incluyen a la 5, 6, 2'-trimetoxiflavona (8), 5, 6, 2', 6'-tetrametoxiflavona (zapotina) y 5-hidroxi-6, 7, 2'-trimetoxiflavona (zapotinina); también está presente la 5, 6-dimetoxiflavona (ver Tabla 2).

3. Flavonoides isoprenoides sustituidos

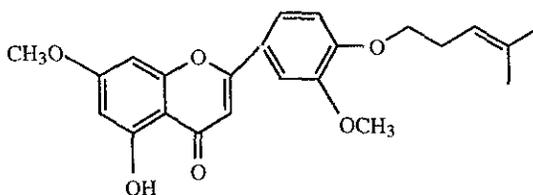
Varias sustancias de este tipo han sido descritas. Las flavanonas (9 y 10) fueron encontradas en la corteza de *Melicope sarcococca* por Geissman (1958) y posteriormente por Brune y Geissman (1965), mientras que la amurensina (11) fue aislada de *Phellodendron amurense* por Hasegawa y Shirato (1953) [65].



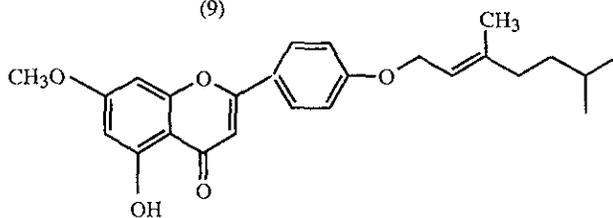
(7)



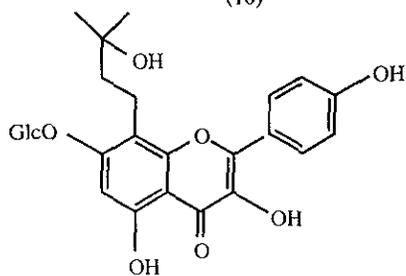
(8)



(9)



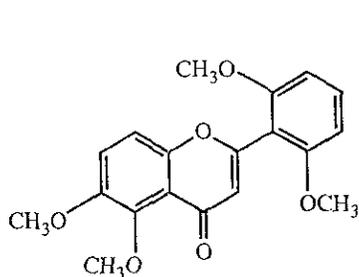
(10)



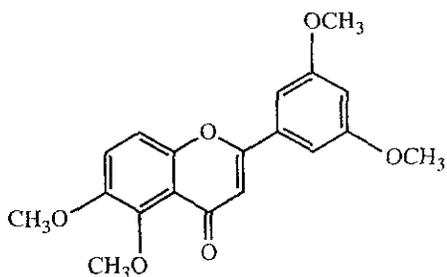
(11)

Tabla 2. 7-Deoxiflavonas de *Casimiroa* y *Sargentia*

Flavona	Fuente
5, 6-Dimetoxi	<i>C. edulis</i> (corteza)
	<i>S. greggii</i> (fruto, tallo, hojas)
5, 6, 2'-Trimetoxi	<i>C. edulis</i> (cáscara del fruto)
5, 6, 3'-Trimetoxi	<i>C. edulis</i> (semilla)
5-Hidroxi-6, 2, 6'-trimetoxi	<i>C. edulis</i> (fruto, corteza)
5, 6, 2', 6'-Tetrametoxi (zapotina)	<i>C. edulis</i> (fruto, corteza)
5, 6, 3', 5'-Tetrametoxi (cerrosillina)	<i>C. edulis</i> (semilla)
	<i>S. greggii</i> (fruto, tallo, hojas)
5, 6, 3', 4', 5'-Pentametoxi	<i>S. greggii</i> (hojas)



Zapotina



Cerrosillina

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La flora de la República Mexicana es una de las más ricas y variadas de la Tierra. En su territorio se han establecido diversos tipos de vegetación caracterizados por la presencia de numerosas especies de árboles y arbustos, los cuales constituyen un recurso natural renovable. Un ejemplo de ello son las plantas medicinales que han sido ampliamente utilizadas por el ser humano desde tiempos antiguos hasta la actualidad.

Actualmente se conoce poco acerca de los constituyentes químicos del género *Casimiroa*, ya que existen sólo algunas investigaciones relacionadas con este género. Los estudios realizados hasta el momento han sido enfocados al aislamiento, identificación y elucidación de los metabolitos secundarios que poseen las diferentes especies que conforman este género; así como a la síntesis de algunos de sus constituyentes químicos.

La especie más estudiada es la *C. edulis*, mejor conocida como zapote blanco, el cual se ha utilizado en la medicina tradicional como sedante e hipotensivo. Así mismo, se han informado trabajos en cuanto al estudio químico de *Casimiroa greggii*.

Por lo tanto, el presente trabajo va encaminado a realizar el estudio fitoquímico del extracto acetónico de *Casimiroa pringlei*, recolectada en el estado de San Luis Potosí, con el propósito de aislar, purificar e identificar sus metabolitos secundarios mayoritarios, como una aportación al estudio del género *Casimiroa*.

IV. OBJETIVOS

GENERAL

Realizar el estudio fitoquímico del extracto acetónico de las partes aéreas de *Casimiroa pringlei*, con el propósito de aislar, purificar e identificar sus metabolitos secundarios mayoritarios (flavonoides y furanocumarinas).

PARTICULARES:

- A Colectar el material vegetal de *Casimiroa pringlei* en el estado de S.L.P.
- B Obtener los extractos crudos a través de una extracción sólido-líquido empleando disolventes de diferente polaridad.
- C Aislar y purificar los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en el extracto acetónico de *Casimiroa pringlei*, empleando diferentes técnicas convencionales de separación y purificación
- D. Identificar los metabolitos secundarios aislados del extracto acetónico a través de técnicas espectrométricas y espectroscópicas, así como de sus propiedades físicas

V. HIPOTESIS

La *Casimiroa edulis* es un vegetal muy utilizado en la medicina tradicional por sus propiedades sedantes e hipotensoras, las cuales son atribuidas a los metabolitos secundarios que posee. Por lo que es posible que en la *Casimiroa pringlei* puedan existir componentes químicos semejantes a los que se han aislado con anterioridad en especies del mismo género

Entonces, empleando las técnicas convencionales de laboratorio de química orgánica se podrán aislar los diferentes metabolitos secundarios mayoritarios principalmente flavonoides y furanocumarinas del extracto acetónico de las partes aéreas de *Casimiroa pringlei* y se podrán caracterizar por las técnicas espectroscópicas y espectrométricas para su comparación con aquellos que han sido descritos previamente en la literatura, o en su caso, proponer la estructura química de los metabolitos no registrados.

VI. PARTE EXPERIMENTAL

A) MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

MATERIAL VEGETAL :

C. pringlei recolectada en S.L.P.

Molino

Soporte universal

Pinzas de tres dedos

Perillas

Pinzas de disección

Espátulas de diferentes tamaños

Tijeras

Embudos de plástico de diferentes tamaños

Papel filtro, Whatman #1

CRISTALERIA:

Columnas de vidrio de diferentes tamaños

Embudos de vidrio de diferentes tamaños

Vasos de precipitados, marca PYREX, de 50, 100, 250, 500 y 1000 ml

Matraces erlenmeyer, marca PYREX, de 10, 25, 50, 125, 500 y 1000 ml

Matraces balón, marca PYREX, de 50, 100, 250, 500 y 1000 ml

Embudo Hirsch de porcelana

Cámaras de vidrio para elución de cromatofolios y cromatoplacas

Probetas de vidrio, marca PYREX, de 10, 100 y 250 ml

Pipetas Pasteur

Matraces Kitazato, marca PYREX, de 25, 50, 125, 500 y 1000 ml

Pipetas graduadas de 10 ml

Frascos viales de diferentes tamaños

MATERIAL ESPECIAL :

Cromatofolios de diferentes tamaños, Alugram Sil G/UV 254 para TLC

Cromatoplacas de sílica gel 60 F254, para cromatografía en capa fina, 5 x 10 cm, espesor 0.25 mm, (Merck)

EQUIPO:

Rotavapor Yamato RE50

Rotavapor BÜCHI # 15531

Recirculador de agua , Fisher Scientific, modelo 9005

Parrilla de agitación, Magnestir, Curtin Matheson Scientific Inc

Parrilla de calentamiento, OSYMA, modelo RS-10

Fisher-Johns, Fisher Scientific, serie 591, 115 volts, 50-60 ciclos

Balanza analítica Mettler AG 104

Balanza semianalítica Mettler PE 3600

Lámpara de UV Spectroline, Modelo CX-20, $\lambda=365$ y 254 nm

Espectrofotómetro de Infrarrojo, FTIR Nicolet Magna 750

Espectrómetro de Masas, JEOL JMS-AX505 HA

Espectrofotómetro de RMN, VARIAN GEMINI -200 y VARIAN UNITY 300

Espectrofotómetro de Ultravioleta, CHIMADZU U160

DISOLVENTES:

Hexano, grado técnico

Acetona, grado técnico

Acetato de etilo, grado técnico

Metanol, grado reactivo, (Baker)

Cloroformo, grado analítico, (Técnica Química)

REACTIVOS:

Celite, (CELITE Co)

Sílica gel, Kieselgel 60 G, para TLC (Merck)

Sulfato cérico, (Merck)

Carbón vegetal activado, (Sigma)

Acido Sulfúrico, grado reactivo, (Baker)

B) RECOLECCION DEL MATERIAL VEGETAL:

La planta se recolectó en el estado de San Luis Potosí a 6.3 millas del entronque de la carretera central hacia Matchuala rumbo a Cerritos (Pueblo Villar). Fue clasificada en el Instituto de Biología de la UNAM. Una muestra de esta especie se encuentra en el Herbario de la UNAM bajo la clave CHIANG (1267).

C) EXTRACCION:

La preparación de los extractos se realizó a través de una extracción sólido-líquido (percolación) con acetona y metanol por separado a partir de 519.35 g de partes aéreas secas y molidas. Dichos extractos se concentraron a baja presión por medio del rotavapor, obteniéndose 39.53 g del extracto acetónico y 87.59 g del metanólico

Con base en la CCF se decidió trabajar el extracto acetónico por ser el más rico en su composición química al ser comparado con el extracto metanólico.

D) AISLAMIENTO Y PURIFICACION :

El extracto acetónico de las partes aéreas, se fraccionó por cromatografía en columna a vacío empleando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil mezclas de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente, obteniéndose fracciones de 1 litro. El monitoreo en la separación cromatográfica se siguió por CCF para una posterior purificación a través de diferentes procesos, los cuales se describen a continuación.

* Después de sucesivas cromatografías de las fracciones obtenidas con mezcla de hexano-acetato de etilo (9:1), se aislaron 4 sustancias cristalinas, las cuales fueron purificadas por cristalización. Obteniéndose de la primera 10.1 mg (0.025%) de un sólido cristalino color amarillo pálido de punto de fusión 50-53 °C⁹, sustancia que se identificó como 8-geranioloxipsoraleno (I). De la segunda sustancia se aislaron 10.6 mg (0.026%) de cristales de pf 190-194 °C, que fue identificada como Bergapteno (II). El tercer componente es una sustancia cristalina de color café claro de la que se aislaron 21 mg (0.053%) la cual presentó un pf. 239-242 °C y fue soluble en DMSO; esta sustancia se identificó como Xanthoxol (III). Finalmente, se aisló un sólido cristalino amarillo de pf. 91-95 °C que fue identificado como Felopterin (V) de la cual se obtuvieron 71 mg (0.18%)

⁹ Los puntos de fusión no fueron corregidos.

* De las fracciones obtenidas con mezcla de hexano-acetato de etilo (4:2 y 2:1) se aislaron 3 sustancias cristalinas, las cuales fueron purificadas por cristalización e identificadas por sus datos espectroscópicos y espectrométricos; así como, por comparación con lo previamente informado en la literatura. De la primera sustancia se aislaron 110.1 mg (0.28%) de cristales blancos de pf. 94-96 °C, esta sustancia fue identificada como 8-[(4-acetoxi-3-metil-butil)oxi]psoraleno (VI). La segunda sustancia fue identificada como 5, 6-dimetoxiflavona (VII) [150 mg, 0.38%] de pf. 197-200°C. La tercera sustancia aislada de estas fracciones presenta pf. de 122-125 °C, de dicha sustancia se aislaron 125.2 mg (0.31%) y fue identificada como 5, 6, 3'-trimetoxiflavona (IX).

* Se aislaron 2 sustancias a partir de las fracciones obtenidas con mezcla de hexano-acetato de etilo (2:1), las cuales fueron purificadas a través de sucesivas cromatografías y posterior cristalización. Estas sustancias se identificaron por sus datos espectroscópicos y espectrométricos, los cuales se compararon con los datos descritos en la literatura. De la primera sustancia se aislaron 9.6 mg (0.024 %) de cristales con pf 130-133 °C y correspondió a la 5, 6, 3', 5'-tetrametoxiflavona (X). De la segunda sustancia cristalina se obtuvieron 671 mg (1.7%) de pf. 143-145 °C, la cual fue identificada como 5, 6, 2', 3', 6'-pentametoxiflavona (XIII).

* A partir de las fracciones eluidas con mezcla de hexano-acetato de etilo (1:2) se aislaron 6 sustancias, las cuales fueron purificadas a través de sucesivas cromatografías y cristalización, a excepción de la primera sustancia, que corresponde a un aceite, el cual fue purificado a través de CCFP, obteniéndose 81.2 mg (0.20%). Esta sustancia se identificó como 8-[(6, 7-Dihidroxi-3, 7-dimetil-2-octenil)oxi]psoraleno (IV). La segunda sustancia aislada de estas fracciones es una sustancia cristalina con pf. 179-183 °C, de la cual se obtuvieron 143.2 mg (0.36%). Esta sustancia se identificó como 5, 3', 5'-trimetoxiflavona (VIII). De la tercera sustancia se aislaron 17.3 mg (0.043%) de cristales de pf 93-96 °C, los cuales se identificaron como 5, 6, 3', 4', 5'-pentametoxiflavona (XI). Del cuarto componente se aislaron 17.5 mg (0.04%) de cristales con pf. 185-195 °C, los cuales se identificaron como 5, 2', 3', 4', 6'-pentametoxiflavona (XII). De la quinta sustancia se aislaron 52.8 mg (0.13%) de cristales con pf. 150-153 °C, la cual fue identificada como 5, 2', 3', 5', 6'-pentametoxiflavona (XIV). La sexta sustancia aislada tuvo un pf 155-160 °C y se obtuvieron

13 mg (0.03%) de cristales los cuales se identificaron como 5, 2', 3', 4', 5', 6'-hexametoxiflavona (XV).

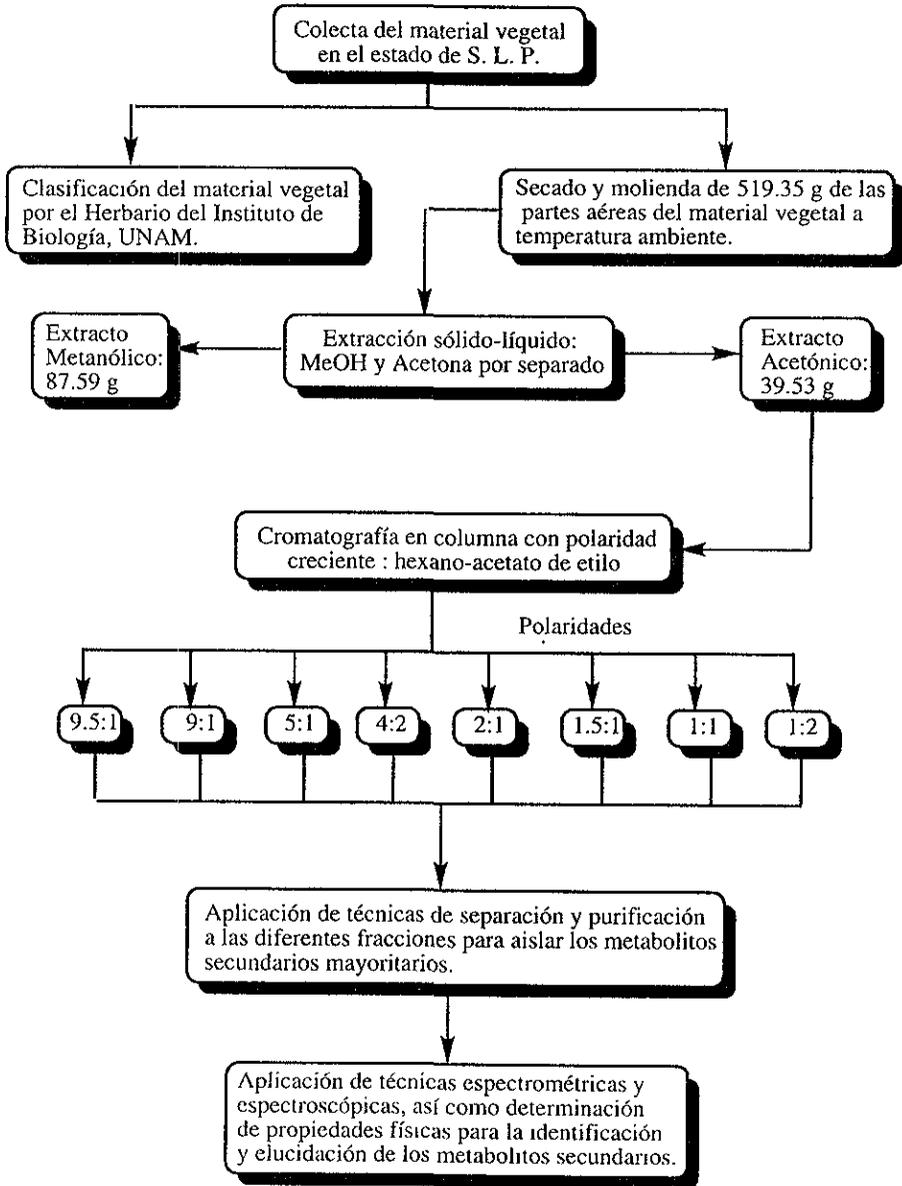


Figura 1. Diagrama de flujo seguido en el estudio fitoquímico del extracto acetónico de las partes aéreas de *Casimiroa pringlei*.

VII. RESULTADOS

Del estudio fitoquímico del extracto acetónico realizado a *Casimiroa pringlei*, se aislaron, caracterizaron e identificaron las sustancias que presentan como esqueleto base el de una cumarina y el de una flavona, algunos datos se enlistan en las Tablas 1 y 2.

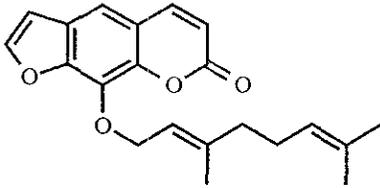
Tabla 1. Cumarinas aisladas del extracto acetónico de *Casimiroa pringlei*.

Cumarina	Fórmula Molecular	Peso Molecular (g/mol)	Rendimiento (mg, %)	Punto de Fusión (°C)
8-geraniloxipsoraleno (I)	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	338	10.1, 0.025	50-53
Bergapteno (II)	C ₁₂ H ₈ O ₄	216	10.6, 0.026	190-194
Xanthotoxol (III)	C ₁₁ H ₆ O ₄	202	21, 0.053	239-242
8-[(6, 7-Dihidroxi--3, 7-dimetil-2-octenil)oxi]psoraleno (IV)	C ₂₁ H ₂₃ O ₆	371	81.2, 0.20	.*
Felopterin (V)	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	300	71.0, 0.18	91-95
8-[(4-acetoxi-3-metil-butil)oxi]psoraleno (VI)	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	328	110.1, 0.28	94-96

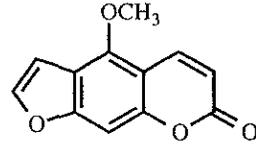
*Es un aceite

Tabla 2. Flavonas aisladas del extracto acetónico de *Casimiroa pringlei*.

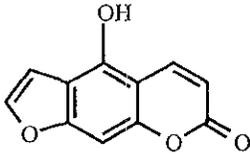
Flavona	Fórmula Molecular	Peso Molecular (g/mol)	Rendimiento (mg, %)	Punto de Fusión (°C)
5, 6-dimetoxiflavona (VII)	C ₁₇ H ₁₄ O ₄	282	150, 0.38	197-200
5, 3', 5'-trimetoxiflavona (VIII)	C ₁₈ H ₁₆ O ₅	312	143.2, 0.36	179-183
5, 6, 3'-trimetoxiflavona (IX)	C ₁₈ H ₁₆ O ₅	312	125.2, 0.31	122-125
5, 6, 3', 5'-tetrametoxiflavona (X)	C ₁₉ H ₁₈ O ₆	342	9.6, 0.024	130-133
5, 6, 3', 4', 5'-pentametoxiflavona (XI)	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	372	17.3, 0.043	93-96
5, 2', 3', 4', 6'-pentametoxiflavona (XII)	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	372	17.5, 0.04	185-195
5, 6, 2', 3', 6'-pentametoxiflavona (XIII)	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	372	671, 1.7	143-145
5, 2', 3', 5', 6'-pentametoxiflavona (XIV)	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	372	52.8, 0.13	150-153
5, 2', 3', 4', 5', 6'-hexametoxiflavona (XV)	C ₂₁ H ₂₂ O ₈	402	13.0, 0.03	155-160



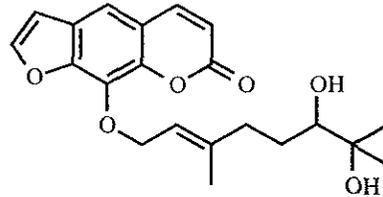
8-geraniloxipsoraleno (I)



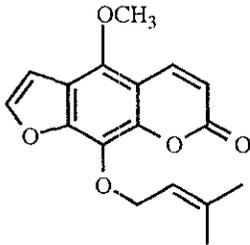
Bergapteno (II)



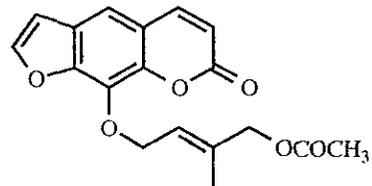
Xanthotoxol (III)



8-[(6,7-Dihidroxi-3,7-dimetil-2-octenil)oxi] psoraleno (IV)

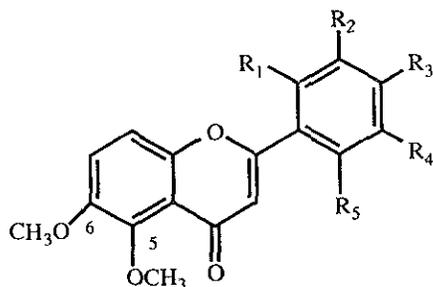


Felopterin (V)

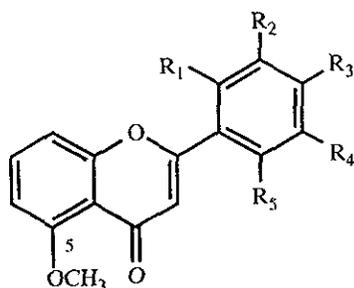


8-[(4-acetoxi-3-metil-butil)oxi] psoraleno (VI)

Figura 2. Furanocumarinas aisladas del extracto acetónico de *Casimiroa pringlei*.



- VII. R₁=R₂=R₃=R₄=R₅=H : 5, 6 -dimetoxiflavona
 IX. R₂=OCH₃, R₁=R₃=R₄=R₅=H : 5, 6, 3'-trimetoxiflavona
 X. R₂=R₄=OCH₃, R₁=R₃=R₅=H : 5, 6, 3', 5'-tetrametoxiflavona
 XI. R₂=R₃=R₄=OCH₃, R₁=R₅=H : 5, 6, 3', 4', 5'-pentametoxiflavona
 XIII R₁=R₂=R₅=OCH₃, R₃=R₄=H: 5, 6, 2', 3', 6'-pentametoxiflavona



- VIII R₂=R₄=OCH₃, R₁=R₃=R₅=H : 5, 3', 5'-trimetoxiflavona
 XII. R₁=R₂=R₃=R₅=OCH₃, R₄=H : 5, 2', 3', 4', 6'-pentametoxiflavona
 XIV. R₁=R₂=R₄=R₅=OCH₃, R₃=H : 5, 2', 3', 5', 6'-pentametoxiflavona
 XV. R₁=R₂=R₃=R₄=R₅=OCH₃ : 5, 2', 3', 4', 5', 6'-hexametoxiflavona

Figura 3. Flavonas aisladas del extracto acetónico de *Casimiroa pringlei*

**Propiedades espectroscópicas y espectrométricas de las furanocumarinas
aisladas de *Casimiroa pringlei*.**

♦ **8-geraniloxipsoraleno :**

EM (CI) m/z (%) : 338 (100), 271 (3), 231 (30), 202 (85), 173 (2), 137 (15), 115 (2).

IR $\nu_{\text{máx}}$ CHCl₃ (cm⁻¹) : 2970, 2918, 2856, 1728, 1624, 1095.

RMN ¹H : Tabla 3.

♦ **Bergapteno :**

RMN ¹H : Tabla 3.

♦ **Xanthotoxol :**

EM (IE) m/z (%) : 202(100), 174 (67), 146 (12), 118 (8), 89(2), 69 (13),, 43 (12).

RMN ¹H : Tabla 3.

♦ **8-[(6, 7-Dihidroxi-3, 7-dimetil-2-octenil)oxi]psoraleno.**

EM (IE) m/z (%) 386 (1), 232 (7), 202 (100), 174 (24), 153 (55), 135 (7), 111 (8), 89 (7),
71 (23), 59 (12).

RMN ¹H : Tabla 3.

♦ **Felopterina :**

EM (IE) m/z (%) : 300 (1), 232 (100), 217 (67), 189 (8), 161 (5), 143 (2), 133 (2), 69 (7),
57 (3), 41 (9).

RMN ¹H : Tabla 3.

♦ **8-[(4-acetoxi-3-metil-butil)oxi]psoraleno :**

EM (IE) m/z (%) : 328 (2), 202 (85), 127 (100), 1174 (25), 149 (10), 97 (6), 57 (30), 43
(78), 41 (12).

RMN ¹H : Tabla 3.

Propiedades espectroscópicas y espectrométricas de las flavonas aisladas de *Casimiroa pringlei*.

♦ **5, 6-dimetoxiflavona :**

EM (IE) m/z (%) : 282 (60), 267 (100), 239 (23), 165 (7), 150 (4), 102 (6).

IR $\nu_{\text{máx}}$ CHCl₃ (cm⁻¹) : 2941, 2839, 1637, 1573, 1479, 1452, 1284.

RMN ¹³C : Tabla 4.

RMN ¹H : Tabla 5.

♦ **5, 3', 5'-trimetoxiflavona :**

EM (IE) m/z (%) : 312 (100), 283 (31), 266 (45), 162 (8), 133 (4), 121 (4), 107 (4).

IR $\nu_{\text{máx}}$ CHCl₃ (cm⁻¹) : 3000, 2941, 2843, 1643, 1606, 1475, 1437, 1265.

RMN ¹³C : Tabla 4.

RMN ¹H : Tabla 5.

♦ **5, 6, 3'-trimetoxiflavona :**

EM (IE) m/z (%) : 312 (60), 297 (100), 181 (2), 165 (4), 137 (10), 132 (5), 102 (3).

IR $\nu_{\text{máx}}$ CHCl₃ (cm⁻¹) : 3030, 2964, 2941, 2839, 1637, 1606, 1575, 1479, 1435, 1284.

RMN ¹³C : Tabla 4.

RMN ¹H : Tabla 5.

♦ **5, 6, 3', 5'-tetrametoxiflavona :**

EM (IE) m/z (%) : 342 (81), 327 (100), 165 (5), 137 (10), 133 (3), 109 (4), 107 (2).

RMN ¹³C : Tabla 4.

RMN ¹H : Tabla 5.

♦ **5, 6, 3', 4', 5'-pentametoxiflavona :**

EM (IE) m/z (%) : 372 (75), 357 (100), 177 (4), 165 (5), 149 (4), 137 (10), 119 (4), 109 (3).

IR $\nu_{\text{máx}}$ CHCl₃ (cm⁻¹) : 3030, 2968, 2941, 2841, 1637, 1606, 1583, 1479, 1463, 1423, 1286

RMN ¹³C : Tabla 4.

RMN ¹H : Tabla 5.

♦ **5, 2', 3', 4', 6'-pentametoxiflavona :**

EM (IE) m/z (%) : 372 (100), 207 (7), 164 (5), 149 (4), 128 (3), 121 (3), 107 (3).

RMN ¹³C : Tabla 4.

RMN ¹H : Tabla 5.

♦ **5, 6, 2', 3', 6'-pentametoxiflavona :**

EM (IE) m/z (%) : 372 (77), 357 (100), 327 (25), 299 (7), 283 (3), 192 (3), 177 (7), 165 (10), 137 (8), 135 (4).

RMN ¹³C Tabla 4.

RMN ¹H , Tabla 5

♦ **5, 2', 3', 5', 6'-pentametoxiflavona :**

EM (IE) m/z (%) : 372 (100), 208 (6), 179 (5), 171 (7), 149 (4), 107 (2).

RMN ¹³C : Tabla 4.

RMN ¹H : Tabla 5.

♦ **5, 2', 3', 4', 5', 6'-hexametoxiflavona :**

EM (IE) m/z (%) : 402 (100), 209 (2), 201 (5), 172 (5), 151 (5), 143 (2), 107 (2).

RMN ¹³C : Tabla 4.

RMN ¹H : Tabla 5

Tabla 3. Datos de RMN ^1H (300 MHz) para las furanocumarinas con sustitución en C-8 aisladas de *Casimiroa pringlei*.

C	I ^a	IV	V ^a	VI
3	6.34 <i>d</i> 9.6	6.33 <i>d</i> 9.6	6.28 <i>d</i> 9.8	6.36 <i>d</i> 9.7
4	7.74 <i>d</i> 9.6	7.74 <i>d</i> 9.6	8.12 <i>d</i> 9.8	7.76; <i>d</i> 9.6
5	7.33 <i>s</i>	7.34 <i>s</i>	-	7.36 <i>s</i>
2'	7.66 <i>d</i> 2.2	7.66 <i>d</i> ; 2.1	7.62 <i>d</i> 2.3	7.69 <i>d</i> 2.1
3'	6.79 <i>d</i> 2.2	6.78 <i>d</i> 2.1	6.99 <i>d</i> 2.3	6.81 <i>d</i> 2.1
1''	5.01 <i>d</i> 7.24	5.0 <i>dd</i> 6.6, 2.1	4.85 <i>d</i> 7.3	5.08 <i>dd</i> 7.2, 1.0
2''	5.57 <i>t</i> 6.6	5.63 <i>tq</i> 6.6, 1.5	5.60 <i>th</i> 7.3, 1.2	5.86 <i>t</i> * 7.0
4''	1.98 <i>d</i> 3.2	a) 2.22 <i>ddd</i> 9.0, 5.1, 3.3 b) 2.10 <i>dt</i> 13.8, 8.1	1.70 <i>d</i> 1.1	4.65 <i>s</i>
5''	1.98 <i>d</i> 3.2	a) 1.38 <i>m</i> b) 1.56 <i>m</i>	1.74 <i>d</i> 1.0	1.81 <i>dt</i> 2.4, 1.2
6''	*	3.24 <i>dd</i> , 10.5 1.5	-	-
8''	1.54 <i>s</i>	1.14 <i>s</i>	-	-
9''	1.61 <i>s</i>	1.10 <i>s</i>	-	-
10''	1.67 <i>s</i>	1.67 <i>d</i> 1.5		
5-OMe	-	-	4.18 <i>s</i>	-

C	I*	IV	V*	VI
6''-OH	-	2.4 ♣	-	-
7''-OH	-	*	-	-
OAc	-	-	-	2.04 s

Disolvente CDCl₃, TMS como referencia

(δ ppm, multiplicidad; J Hz)

♣ Determinado en 200 MHz

• Triplete complejo

* Señal superpuesta no se distingue

♣ Señal ancha

Tabla 3.1. Datos de RMN ¹H (300 MHz) para furanocumarinas con sustitución en C-5 aisladas de *Casimiroa pringlei*.

C	II	III*
3	6.28 d 9.9	6.33 d 9.3
4	8.16 d 9.9	7.80 d 9.6
5	-	7.38 s
8	7.15 s	-
2'	7.60 d 2.4	7.69 d 2.1
3'	7.02 d 2.4	6.80 d 2.4
5-OMe	4.27 s	-
8-OH	-	3.85 ♣

(δ ppm, multiplicidad; J Hz).

♣ Señal ancha centrada

♣ Determinado en DMSO-d₆

Tabla 4. Datos de RMN ^{13}C (75 MHz) para las flavonas 5, 6-dimetoxiladas en el anillo A aisladas de *Casimiroa pringlei*.

Carbono	VII	IX	X	XI	XIII
C-2	161.6 <i>s</i>	161.3 <i>s</i>	161.3 <i>s</i>	161.4 <i>s</i>	158.4 <i>s</i>
C-3	108.2 <i>d</i>	108.1 <i>d</i>	108.3 <i>d</i>	107.7 <i>d</i>	114.8 <i>d</i>
C-4	178.1 <i>s</i>	178.0 <i>s</i>	178.1 <i>s</i>	177.9 <i>s</i>	177.9 <i>s</i>
C-5	150.0 <i>s</i>	147.9 <i>s</i>	151.4 <i>s</i>	150.0 <i>s</i>	148.0 <i>s</i>
C-6	148.0 <i>s</i>	150.0 <i>s</i>	147.9 <i>s</i>	147.9 <i>s</i>	149.7 <i>s</i>
C-7	119.3 <i>d</i>	119.0 <i>d</i>	119.1 <i>d</i>	118.9 <i>d</i>	119.0 <i>d</i>
C-8	113.4 <i>d</i>	113.4 <i>d</i>	113.4 <i>d</i>	113.3 <i>d</i>	113.6 <i>d</i>
C-9	151.6 <i>s</i>	151.5 <i>s</i>	150.0 <i>s</i>	151.4 <i>s</i>	152.4 <i>s</i>
C-10	119.1 <i>s</i>	*	*	*	119.3 <i>s</i>
C-1'	131.7 <i>s</i>	133.0 <i>s</i>	133.5 <i>s</i>	126.8 <i>s</i>	117.6 <i>s</i>
C-2'	126.1 <i>d</i>	111.5 <i>d</i>	104.3 <i>d</i>	103.6 <i>d</i>	148.4 <i>s</i> *
C-3'	129.0 <i>d</i>	160.0 <i>s</i>	161.1 <i>s</i>	153.5 <i>s</i>	147.0 <i>s</i>
C-4'	131.4 <i>d</i>	116.9 <i>d</i>	103.3 <i>d</i>	140.9 <i>s</i>	115.2 <i>d</i>
C-5'	129.0 <i>d</i>	130.0 <i>d</i>	161.1 <i>s</i>	153.5 <i>s</i>	106.2 <i>d</i>
C-6'	126.1; <i>d</i>	118.5 <i>d</i>	104.3 <i>d</i>	103.6 <i>d</i>	151.7 <i>s</i> *
OMe	61.9 <i>c</i>	61.8 <i>c</i>	61.8 <i>c</i>	61.8 <i>c</i>	61.8 <i>c</i>
	57.2 <i>c</i>	57.1 <i>c</i>	57.1 <i>c</i>	60.9 <i>c</i>	61.4 <i>c</i>
		55.4 <i>c</i>	55.5 <i>c</i>	57.1 <i>c</i>	57.2 <i>c</i>
			55.5 <i>c</i>	56.3 <i>c</i>	56.5 <i>c</i>
			56.3 <i>c</i>	56.2 <i>c</i>	

Disolvente utilizado : CDCl_3 , señal de referencia (77.0 ppm).

(δ ppm; multiplicidad).

* No se distingue la señal en el espectro.

♣ Pueden estar invertidas.

Tabla 4.1. Datos de RMN ^{13}C (75 MHz) para las flavonas 5-metoxiladas en el anillo A aisladas de *Casimiroa pringlei*.

Carbono	VIII	XIJ	XIV	XV
C-2	160.8 <i>s</i>	157.9 <i>s</i>	159.9 <i>s</i>	157.6 <i>s</i>
C-3	109.4 <i>d</i>	116.3 <i>d</i>	115.6 <i>d</i>	115.8 <i>d</i>
C-4	178.3 <i>s</i>	178.3 <i>s</i>	177.9 <i>d</i>	178.0 <i>s</i>
C-5	159.7 <i>s</i>	159.9 <i>s</i>	159.8 <i>s</i>	159.9 <i>s</i>
C-6	110.2 <i>d</i>	110.3 <i>d</i>	110.2 <i>d</i>	110.2 <i>d</i>
C-7	133.7 <i>d</i>	133.3 <i>d</i>	133.5 <i>d</i>	133.5 <i>d</i>
C-8	106.4 <i>d</i>	106.1 <i>d</i>	106.2 <i>d</i>	106.2 <i>d</i>
C-9	158.2 <i>s</i>	159.1 <i>s</i>	158.9 <i>s</i>	158.9 <i>s</i>
C-10	114.6 <i>s</i>	109.5 <i>s</i>	114.7 <i>s</i>	114.7 <i>s</i>
C-1'	133.3 <i>s</i>	114.8; <i>s</i>	122.6 <i>s</i>	116.8 <i>s</i>
C-2'	104.2 <i>d</i>	154.1 <i>s</i>	140.1 <i>s</i>	143.1 <i>s</i>
C-3'	161.1 <i>s</i>	136.3 <i>s</i>	149.1 <i>s</i>	147.7 <i>s</i>
C-4'	103.4 <i>d</i>	155.8 <i>s</i>	101.6 <i>d</i>	149.8 <i>s</i>
C-5'	161.1 <i>s</i>	92.4 <i>d</i>	149.1 <i>s</i>	147.7 <i>s</i>
C-6'	104.2 <i>d</i>	152.9 <i>s</i>	140.1 <i>s</i>	143.1 <i>s</i>
OMe	56.5 <i>c</i>	61.6 <i>c</i>	56.4 <i>c</i>	56.4 <i>c</i>
	55.5 <i>c</i>	61.0 <i>c</i>	61.6 <i>c</i>	61.7 <i>c</i>
	55.5 <i>c</i>	56.5 <i>c</i>	61.6 <i>c</i>	61.7 <i>c</i>
		56.2 <i>c</i>	56.6 <i>c</i>	61.4 <i>c</i>
		56.2 <i>c</i>	56.6 <i>c</i>	61.2 <i>c</i>
			61.2 <i>c</i>	

Disolvente utilizado: CDCl_3 ; señal de referencia (77.0 ppm).(δ ppm, multiplicidad).

Tabla 5. Datos de RMN ¹H (300 MHz) de las flavonas 5, 6-dimetoxiladas en el anillo A aisladas de *Casimiroa pringlei*.

Hidrógeno	VII	IX	X	XI	XIII
H-3	6.68 s	6.67 s	6.66 s	6.60 s	6.24 s
H-6	-	-	-	-	-
H-7	7.36 s	7.32 s	7.32 s	7.29 s	7.23 d 9.0
H-8	7.36 s	7.32 s	7.32 s	7.29 s	7.15 d 9.0
H-2'	7.90 m	7.40 dd 2.5, 1.5	7.02 d 2.3	7.08 s	-
H-3'	7.51 m	-	-	-	-
H-4'	7.51 m	7.09 ddd 7.7, 2.5, 1.5	6.61 t 2.3	-	6.95 d 9.0
H-5'	7.51 m	7.4 t * 7.7	-	-	6.62 d 9.0
H-6'	7.90 m	7.48 dt 7.7, 1.5	7.02 d 2.3	7.08 s	-
OMe	3.98 s 3.94 s	3.98 s 3.94 s 3.8 s	3.98 s 3.94 s 3.87 s 3.87 s	3.95 s 3.92 s 3.92 s 3.90 s 3.89 s	3.94 s 3.87 s 3.81 s 3.80 s 3.70 s

Disolvente. CDCl₃ señal en 7.26 ppm

(δ ppm, multiplicidad, J=Hz).

* Señal triple ancha

Tabla 5.1 : Datos de RMN ^1H (300 MHz) de las flavonas 5-metoxiladas en el anillo A aisladas de *Casimiroa pringlei*.

Hidrógeno	VIII	XII	XIV	XV
H-3	6.72 <i>s</i>	6.32 <i>s</i>	6.36 <i>s</i>	6.34 <i>s</i>
H-6	6.83 <i>d</i> 8.3	6.80 <i>d</i> 8.3	6.82 <i>d</i> 8.3	6.82 <i>d</i> 8.4
H-7	7.58 <i>t</i> 8.3	7.51 <i>t</i> 8.3	7.53 <i>t</i> 8.3	7.54 <i>t</i> 8.4
H-8	7.13 <i>d</i> 8.3	7.01 <i>d</i> 8.3	7.01 <i>dd</i> 8.3, 1.0	7.02 <i>d</i> 8.4
H-2'	7.02 <i>d</i> 2.1	-	-	-
H-3'	-	-	-	-
H-4'	6.06 <i>t</i> 2.1	-	6.7 <i>s</i>	-
H-5'	-	6.32 <i>s</i>	-	-
H-6'	7.02 <i>d</i> 2.1	-	-	-
OMe	4.01 <i>s</i> 3.87 <i>s</i> 3.87 <i>s</i>	3.99 <i>s</i> 3.93 <i>s</i> 3.89 <i>s</i> 3.83 <i>s</i> 3.78 <i>s</i>	4.04 <i>s</i> 3.90 <i>s</i> 3.90 <i>s</i> 3.76 <i>s</i> 3.76 <i>s</i>	4.01 <i>s</i> 4.00 <i>s</i> 3.90 <i>s</i> 3.90 <i>s</i> 3.83 <i>s</i> 3.83 <i>s</i>

(δ ppm; multiplicidad; J=Hz).

VIII. DISCUSION DE RESULTADOS

De las fracciones eluidas con una mezcla de hexano-acetato de etilo (9:1) se aisló (10.1 mg, 0.025%) un compuesto cristalino de color amarillo pálido de punto de fusión 50-53° C. En su espectro de IR se observa que en 1728 cm^{-1} se encuentra una banda fuerte afilada que indica la presencia de un carbonilo de una δ -lactona α, β -no saturada; en 1624 cm^{-1} se encuentra una banda débil que corresponde a la frecuencia (C-C) del anillo del furano. En 2970, 2918 y 2856 cm^{-1} son bandas que corresponden a un grupo bencenoide. Los datos anteriores sugieren como esqueleto base a una furanocumarina (Fig. 1). En 1587 cm^{-1} se encuentra una banda afilada que indica que existe una sustitución en el C-8 de la furanocumarina y finalmente en 1149 cm^{-1} se localiza la banda característica de un grupo éter [67]

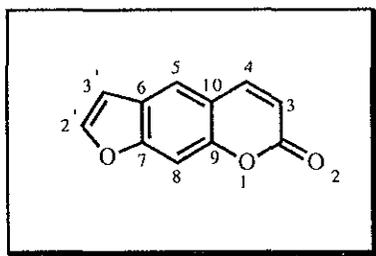


Figura 1. Esqueleto de una furanocumarina.

En su espectro de EM (IQ) presenta un ión molecular de m/z 338 (100%), que puede asociarse a una fórmula molecular $C_{21}H_{22}O_4$.

En su espectro de RMN 1H (Espectro 1) con un δ 7.74 (1H, *d*, $J=9.6$ Hz) y δ 6.34 (1H, *d*, $J=9.6$ Hz) se observa un par de dobletes que indican la presencia de una cumarina no sustituida en el anillo de la lactona y que corresponden a los protones H-4 y H-3 respectivamente, asignándose la más desplazada al H-4 por el efecto de resonancia que procede del carbonilo. En δ 7.34 (1H, *s*) se localiza una señal simple que corresponde al H-5. En δ 7.66 (1H, *d*, $J=2.2$) y δ 6.79 (1H, *d*, $J=2.2$) se localizan un par de dobletes, que indican la presencia de un anillo furano disustituido, los cuales fueron asignados a los hidrógenos 2' y 3' respectivamente. Las señales del espectro a menor frecuencia indican la presencia de un grupo geranilo (Fig 2) por lo que en δ 5.01 (2H, *d*, $J=7.2$), se observa un

doblete correspondiente a un protón que se encuentra unido a una base de éter, el cual fue asignado para los protones del C-1", el cual se acopla con H-2" que se localiza en δ 5.58 (1H, t, $J=6.6$).

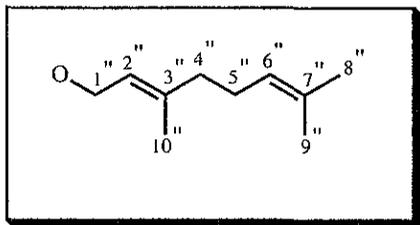
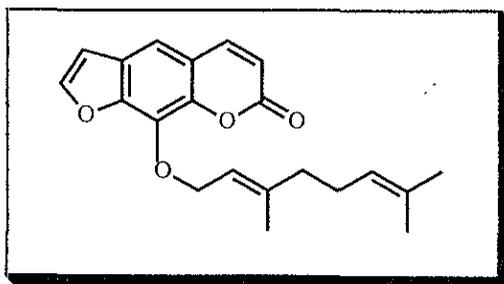


Figura 2. Grupo Geranilo.

En δ 1.98 (4H, d, $J=3.2$) se localiza una señal doble que corresponde a los protones alílicos de un grupo geranilo, que fueron asignados a los hidrógenos H-4" y 5". Así mismo, con un desplazamiento de 1.67 (3H, s), 1.61 (3H, s) y 1.54 (3H, s) ppm se localizan tres señales simples que corresponden a los tres metilos del grupo geranilo.

La señal correspondiente al H-6" del geranilo no se observa en el espectro, y debido a que se trata de un protón vinílico, es posible que se encuentre sobrepuesta con la del H-2", de acuerdo al desplazamiento de los protones vinílicos; así como al valor de la integral en dicho desplazamiento la cual indica que están 3 protones presentes (~5).

De la discusión anterior aunado a lo descrito en la literatura [22, 68-70] se pudo confirmar que se trata del *8-geraniloxipsoraleno* (I).

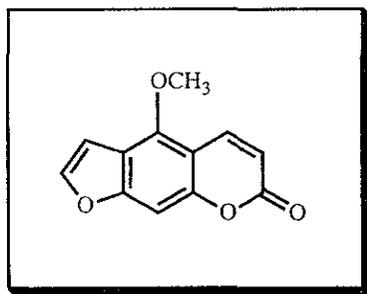


8-geraniloxipsoraleno (I).

De las fracciones eluidas con una mezcla de hexano-AcOEt (9:1), se aislaron 10.6 mg (0.026%) de un compuesto cristalino con punto de fusión de 190-194 °C.

En su espectro de RMN ^1H (Espectro 2), se observa un sistema AB formado por las señales en δ 8.16 (1H, *d*, $J=9.9$) y δ 6.28 (1H, *d*, $J=9.9$) que corresponden a los hidrógenos de las posiciones 4 y 3 respectivamente del anillo de la lactona; el desplazamiento del H-4 a campo bajo, se debe a la deficiencia electrónica que presenta dicho átomo de C generado por la presencia del grupo carbonilo. En δ 7.15 (1H, *s*) se localiza una señal simple, que corresponde al H-8 de la cumarina. De la misma manera, se encuentra otro par de dobletes en δ 7.60 (1H, *d*, $J=2.4$) y δ 7.02 (1H, *d*, $J=2.4$), que indican la presencia de un anillo furano disustituído, dichas señales corresponden a los hidrógenos 2' y 3' respectivamente. Por otro lado, en δ 4.27 se observa una señal simple (3H, *s*) que corresponde al grupo metoxilo, ubicado en la posición C-5 de la cumarina.

Estos datos fueron comparados con los informados en la literatura química [68, 71-72] y corresponden al **Bergapteno (II)**.



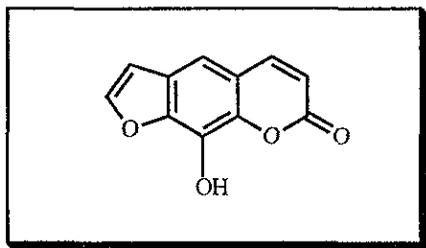
Bergapteno (II).

De las fracciones eluidas con una mezcla de hexano-AcOEt (9:1) y tras realizar cromatografías sucesivas, se obtuvieron 21 mg (0.053%) de un sólido cristalino de color café claro con punto de fusión de 239-242 °C.

En su espectro de EM (IE), presenta un ión molecular de m/z 202 (100%) que corresponde a una fórmula molecular de $\text{C}_{11}\text{H}_6\text{O}_4$.

En su espectro de RMN ^1H (Espectro 3) se observan los dos sistemas AB, que corresponden a los protones H-4 (δ 7.8, *d*, $J=9.6$) y H-3 (δ 6.33, *d*, $J=9.6$) del anillo lactónico de la cumarina y a los protones del anillo furánico disustituído, en δ 7.69 (1H, *d*, $J=2.1$) y δ 6.80 (1H, *d*, $J=2.4$) correspondientes a los hidrógenos 2' y 3'. En 7.22 ppm (1H, *s*) se localiza una señal simple que corresponde al H-5. Por otro lado, se observa una señal ancha centrada en δ 3.85 que desaparece al agregar D_2O , lo que corresponde a un grupo hidroxilo ubicado en el C-8 de la furanocumarina.

Con base es su análisis espectroscópico se pudo concluir que la sustancia aislada del extracto de *C. pringlei* corresponde al *Xanthotoxol* (III), sustancia química previamente descrita en la literatura [71].



Xanthotoxol (III).

De las fracciones eluidas con una mezcla de hexano-AcOEt (9:1) y tras sucesivas cromatografías en columna y en placa preparativa, se lograron aislar 81.2 mg (0.2%) de un aceite de color amarillo.

En su espectro de EM (IE), presenta un ión molecular de m/z 371(4%) para dar una fórmula molecular de $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{O}_6$.

En su espectro de RMN ^1H (Espectro 4), se localizan dos pares de dobletes que corresponden a una furanocumarina; las señales de los protones vinílicos de la δ -lactona en δ 7.74 (1H, *d*, $J=9.6$) y δ 6.33 (1H, *d*, $J=9.6$), mientras que los hidrógenos del anillo del furano δ 7.66 (1H, *d*, $J=2.1$) y δ 6.78 (1H, *d*, $J=2.1$). En 7.34 ppm (1H, *s*) se localiza una señal simple que fue asignada al H-5.

A campo alto se observa un grupo de señales que corresponden al sustituyente en C-8, estableciéndose que dicho sustituyente es derivado del grupo geranilo, ya que en el espectro de RMN ^{13}C (Espectro 5) se observaron 10 señales adicionales a las correspondientes al núcleo de la furanocumarina. Estas señales se asignaron por su desplazamiento químico y multiplicidad observadas en RMN ^{13}C (DEPT), a los carbonos de 3 metilos, uno vinílico y 2 sobre un carbono base de función oxigenada; 3 metilenos, uno de ellos base de oxígeno, 2 metinos, uno vinílico y el otro base de función oxigenada y dos carbonos no protonados, uno vinílico y el otro unido a un oxígeno. Lo anterior es congruente con las señales observadas en el espectro de RMN ^1H en el que se observa un *dd* en δ 5.0 (2H, $J=6.6, 2.1$) asignado a los protones de un metileno alílico base de éter (H-1"). Esta señal se acopla con la de un protón vinílico que aparece en δ 5.63 (1H, *tq*, 6.6, 1.5) que corresponde al H-2". En δ 1.67, 1.14 y 1.10 se observan tres señales asignadas a 3 grupos metilo, el primero vinílico (H-10") y los otros dos geminales a un carbono base de oxígeno (H-8" y H-9"). En δ 3.24 (1H, *dd*, $J=1.5, 10.5$) se muestra una señal doble de doble sobre carbono unido a oxígeno (H-6"); este protón muestra acoplamiento en el espectro COSY con las señales de H-5" y este a su vez con los de otro metileno (H-4"). Lo anterior y la presencia de: señal en el IR (3591 cm^{-1}) indica la presencia de un grupo oxhidrilo, una señal ancha en δ 2.4 en el espectro de RMN ^1H y los fragmentos de m/z 202 (100%), 354 (1%) $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ y 336 (1%) $[\text{M}-2\text{H}_2\text{O}]$ permitieron establecer que la estructura de este sustituyente es la mostrada en la figura 3 y por lo tanto la cumarina aislada es la: 8-[(6, 7-Dihidroxi-3, 7-dimetil-2-octenil)oxi]psoraleno.(IV) [58, 73].

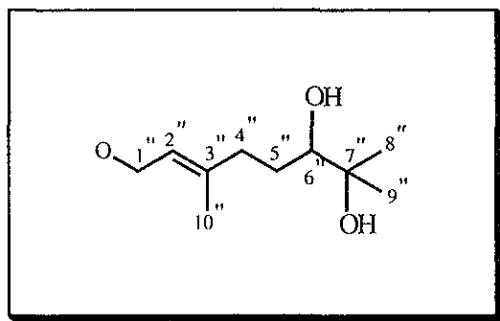


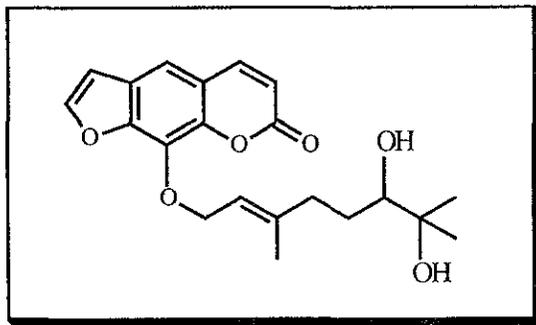
Figura 3. Sustituyente derivado del geranilo.

Esta furanocumarina no está descrita en la literatura, debido a que el único que se encuentra descrito tiene el sustituyente en la posición al C-5 [58, 73], por lo que a continuación se presentan los datos espectroscópicos de RMN ^{13}C en la tabla 6.

Tabla 6. Datos de RMN ^{13}C para la 8-[(6, 7-dihidroxi-3, 7-dimetil-2-octenil)oxi]psoraleno (75 MHz).

C	δ (ppm), multiplicidad
2	160.7 <i>s</i>
3	114.7 <i>d</i>
4	144.5 <i>d</i>
5	113.4 <i>d</i>
6	125.9 <i>s</i>
7	148.7 <i>s</i>
8	131.6 <i>s</i>
9	143.9 <i>s</i>
10	116.5 <i>s</i>
2'	146.7 <i>d</i>
3'	106.8 <i>d</i>
1''	70.1 <i>t</i>
2''	120.1 <i>d</i>
3''	142.8 <i>s</i>
4''	36.4 <i>t</i>
5''	29.2 <i>t</i>
6''	77.7 <i>d</i>
7''	73.0 <i>s</i>
8''	23.1 <i>c</i>
9''	26.3 <i>c</i>
10''	16.4 <i>c</i>

Disolvente utilizado CDCl_3 ; señal de referencia en 77.0 ppm.



8-[(6, 7-dihidroxi-3, 7-dimetil-2-octenil)oxi]psoraleno (IV).

De las fracciones eluidas con una mezcla de hexano-AcOEt (9:1), se aisló un sólido cristalino (71 mg, 0.18%) de color amarillo claro con punto de fusión de 91-95 °C.

En su espectro de EM (IE) presenta un ión molecular de m/z 300 (1%) que corresponde a una fórmula molecular de $C_{17}H_{16}O_5$.

En su espectro de RMN 1H (Espectro 6) se localizan en 8.12 ppm (1H, *d*, $J=9.8$) y 6.28 ppm (1H, *d*, $J=9.8$) un par de dobletes que corresponden a un sistema AB de la lactona para una cumarina no sustituida, dichas señales son indicativas de los hidrógenos 4 y 3 respectivamente. Así mismo, se observa otro par de dobletes en 7.62 ppm (1H, *d*, $J=2.3$) y 6.99 (1H, *d*, $J=2.3$) que conforman un nuevo sistema AB, que corresponden a los protones 2' y 3' de un anillo furano disustituido.

En 4.18 ppm, se localiza una señal simple (3H, *s*) que corresponde a un grupo metoxilo, el cual se encuentra en la posición C-5 de la furanocumarina.

Las demás señales del espectro, corresponden a un grupo prenilo (Fig. 4) y estas fueron dos señales dobles (δ 1.74, 3H, *d*, $J=1.0$ y δ 1.70, 3H, *d*, $J=1.1$) asignados a dos grupos metilo, los cuales tienen acoplamiento alílico con un protón vinílico responsable de la señal triple en 5.60 ppm (1H, *th*, $J=7.3$, 1.2) y que a su vez está acoplado con un metileno en 4.85 ppm (2H, *d*, $J=7.3$).

Los datos obtenidos fueron comparados con los informados previamente en la literatura [22, 68, 70, 72], los cuales permitieron concluir que la sustancia en discusión era la

Felopterina (V), con la única diferencia que la señal en 5.60 ppm se describen como un triplete en vez de un triplete de heptuplete.

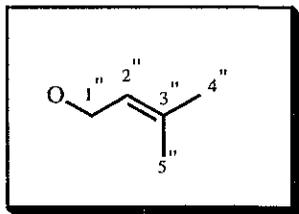
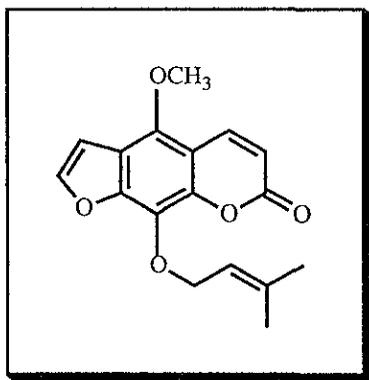


Figura 4. Cadena de prenilo

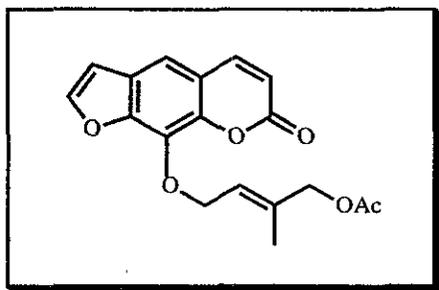


Felopterina (V).

De las fracciones eluidas con una mezcla de hexano-AcOEt (4:2 y 2:1), se aisló (110.1 mg, 0.28%) un sólido cristalino blanco con punto de fusión de 94-96 °C.

En su espectro de EM (IE) presenta un ión molecular de m/z 328 (2%), que corresponde a una fórmula molecular de $C_{18}H_{16}O_6$.

En su espectro de RMN ^{13}C (Espectro 7) con desacoplamiento total, se observan 18 señales, su multiplicidad se determinó con base en RMN ^{13}C (experimento DEPT) que indica que la molécula posee 2 metilos, 2 metilenos y 6 metinos; las 8 señales restantes, corresponden a carbonos totalmente sustituidos.



8-[(4-acetoxi-3-metil-butil)oxi]psoraleno (VI).

Tabla 7. Datos de RMN ^{13}C (75 MHz) para la nueva furanocumarina.

Carbono	δ (ppm); multiplicidad
2	160.4 <i>s</i>
3	114.7 <i>d</i>
4	144.2 <i>d</i>
5	113.3 <i>d</i>
6	125.9 <i>s</i>
7	148.3 <i>s</i>
8	131.3 <i>s</i>
9	143.6 <i>s</i>
10	116.5 <i>s</i>
2'	146.7 <i>d</i>
3'	106.7 <i>d</i>
1''	69.1 <i>t</i>
2''	125.1 <i>d</i>
3''	136.5 <i>s</i>
4''	62.7 <i>t</i>
5''	21.4 <i>c</i>
6''	170.8 <i>s</i>
7''	20.8 <i>c</i>

El espectro fue determinado en CDCl_3 ; señal del disolvente (77.0 ppm), utilizando como referencia TMS.

De las fracciones eluidas con una mezcla de hexano-AcOEt (4:1), se aislaron 150 mg (0.3%) de un sólido cristalino de punto de fusión de 197-200 °C.

En su espectro de IR se observan las bandas correspondientes a grupos CH₃ alifáticos pertenecientes a grupos metoxilos: 2941, 2839 cm⁻¹, así como las bandas del esqueleto indicando la presencia de un compuesto aromático: 1573, 1479 y 1452 cm⁻¹. Así mismo en 1637 cm⁻¹ se localiza una banda que indica la presencia de un carbonilo de una γ -pirona; también se localiza una banda en 1284 cm⁻¹ que corresponde a un grupo éter; dichas señales corresponden al esqueleto de una flavona (Fig.6) [64, 74].

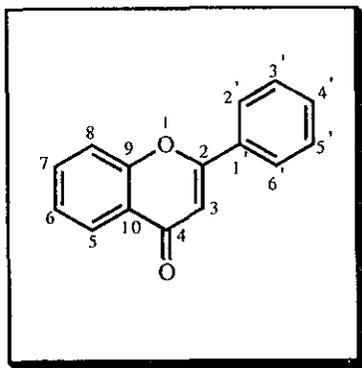


Figura 6. Esqueleto de una Flavona

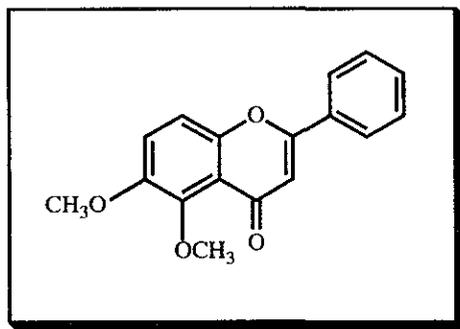
En su espectro de EM (IE) presenta un ión molecular de m/z 282 (60%) para una fórmula molecular de C₁₇H₁₄O₄. En el espectro también se observa la presencia de un fragmento de m/z 267 (100%), que corresponde a la pérdida de un CH₃, el cual es un rasgo característico de las flavonas que están sustituidas por un metoxilo en la posición 6 del anillo A [75].

En su espectro de RMN ¹³C de desacoplamiento total de hidrógeno (Espectro 9) se observan 15 señales, de las cuales 2 corresponden a carbonos equivalentes esto hace un total de 17 carbonos presentes en la molécula. De acuerdo a la multiplicidad de las señales y con ayuda del experimento DEPT, se identifica la existencia de 2 grupos metilo, 8 metinos y 7 carbonos totalmente sustituidos.

En su espectro de RMN ^1H (Espectro 10) se muestran dos señales simples en 3.98 (3H, *s*) y 3.94 ppm (3H, *s*) que de acuerdo a su desplazamiento corresponden a dos metoxilos los cuales fueron situados en la posición 5 y 6 del anillo A.

En 6.68 ppm (1H, *s*) se localiza una señal simple que fue asignada al H-3, de acuerdo a lo descrito en la literatura [75]. En 7.36 ppm (2H, *s*) se ubica una señal simple que es asignada para los hidrógenos H-7 y H-8 del anillo A. A menor campo (δ 7.51, 3H, *m*) se encuentra una señal que debido a su multiplicidad compleja y de acuerdo a su integral que involucra la presencia de 3 protones, se asignó para los hidrógenos 2', 4' y 6' del anillo B. En 7.90 ppm (2H, *m*) se muestra también una señal múltiple cuya integral corresponde a dos protones y que fue asignada para los hidrógenos 3' y 5' del anillo B.

De acuerdo con la discusión anterior y por comparación con las propiedades físicas y datos espectroscópicos informados en la literatura, se concluye que el compuesto aislado es: **5, 6-dimetoxiflavona (VII)** [14, 28].



5, 6-dimetoxiflavona (VII).

De las fracciones eluidas con una polaridad (4:1 y 2:1) de una mezcla de hexano-AcOEt se aislaron 125.2 mg (0.31%) de un sólido cristalino de punto de fusión de 122-125 °C.

En su espectro de IR se observan las bandas características del esqueleto de una flavona en 3030, 2964, 2941, 2839 son bandas que indican la presencia de CH_3 alifáticos, en 1637 cm^{-1} se localiza una banda correspondiente al carbonilo de una pirona; se

observan bandas del esqueleto de un compuesto aromático en 1606, 1575, 1479, 1435 cm^{-1} y finalmente una banda perteneciente a un grupo éter en 1284 cm^{-1} que son similares a las descritas para el compuesto anterior.

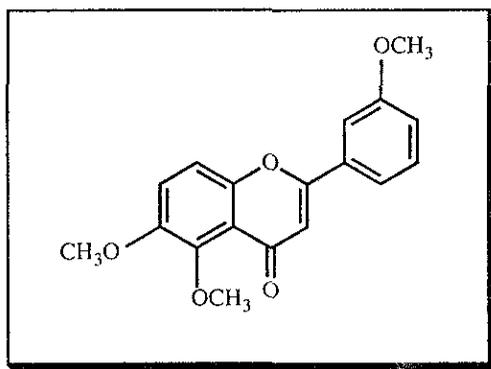
En su espectro de EM (IE) presenta un ión molecular de m/z 312 (62%) que corresponde a una fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_5$. También se presenta un fragmento de m/z 297 (100%), que indica la pérdida de un CH_3 , lo que es un indicio de una flavona sustituida por un metoxilo en posición 6 del anillo A.

En su espectro de RMN ^{13}C con desacoplamiento total de hidrógeno (Espectro 11), se observa la presencia de 17 señales, las cuales, con ayuda del experimento DEPT se encontró que correspondían a 3 metilos, 7 metinos y 7 carbonos completamente sustituidos. De acuerdo con la fórmula molecular propuesta posiblemente alguna señal esté sobrepuesta o en equivalencia con otra.

En su espectro de RMN ^1H (Espectro 12) se muestran tres señales simples en 3.98 (3H, *s*), 3.94 (3H, *s*) y 3.89 (3H, *s*) que de acuerdo a su desplazamiento químico corresponden a tres grupos metoxilo no equivalentes presentes en la flavona, uno de los cuales está ubicado en la posición 6 por el fragmento encontrado en el espectro de EM. En 6.67 ppm (1H, *s*), se localiza una señal simple que corresponde por su desplazamiento a H-3. En 7.32 (2H, *s*) se observa la señal simple correspondiente a dos hidrógenos equivalentes que de acuerdo con la literatura [75] pertenece a los hidrógenos 7 y 8 del anillo A. En 7.09 (1H, *ddd*, $J= 7.7, 2.5, 1.5$) se muestra una señal doble de doble de doble que presenta acoplamiento con otro protón el cual está ubicado en 7.48 ppm (1H, *dt*, 7.7, 1.5) que a su vez tiene acoplamiento con otro protón localizado en 7.41 ppm (1H, *t ancho*; 7.7), por lo que estas señales corresponden a los protones 4', 6' y 5'; respectivamente, la señal de H-2' aparece como una señal doble de doble en 7.40 ppm (1H, *dd*, 2.5, 1.5) así en las posiciones 5, 6 y 3' se ubican los metoxilos de la molécula.

De acuerdo al análisis realizado, así como a lo informado en la bibliografía [20], se concluye que el compuesto aislado es: 5, 6, 3'-trimetoxiflavona (IX).

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**



5, 6, 3'-trimetoxiflavona (IX).

De las fracciones obtenidas con una mezcla de hexano-AcOEt (2/1), se aislaron 9.6 mg (0.024%) de un sólido cristalino amarillo claro con punto de fusión 130-133 °C.

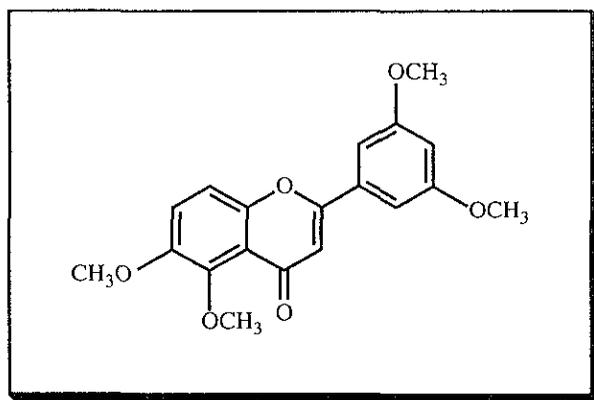
En su espectro de EM (IE) presenta un ión molecular de m/z 342 (82%) que corresponde a una fórmula molecular $C_{19}H_{18}O_6$, además de un fragmento de m/z 327 (100%) que representa la pérdida de 15 una (CH_3), sugiere que se trata de una flavona metoxilada en el C-6.

En su espectro de RMN ^{13}C de desacoplamiento total de hidrógeno (Espectro 13) se observan 15 señales, 3 de ellas corresponden a pares de carbonos equivalentes, por lo que, hacen un total de 18 carbonos. Sin embargo, en la fórmula molecular indica que son 19 carbonos por lo que alguna señal se encuentra superpuesta. De acuerdo a la multiplicidad y con la ayuda de los experimentos DEPT, COSY y HETCOR se determinó que existen en la molécula 4 metilos, 6 metinos y 9 carbonos cuaternarios.

En su espectro de RMN 1H (Espectro 14) se observan 3 señales simples en 3.98 (3H, *s*), 3.94 (3H, *s*) y 3.87 (6H, *s*) que corresponden a los cuatro metoxilos de la molécula, dos de ellos equivalentes. En δ 6.61 (1H, *t*, $J=2.3$) se localiza una señal triple que por su constante de acoplamiento sugiere la interacción de 2 hidrógenos ubicados en posición *meta*, lo que hace suponer que dos de los grupos metoxilos en el anillo B están en posición *orto* al H-4'. En 7.02 ppm (2H, *d*, $J=2.3$) se muestra una señal doble que debido al acoplamiento que presenta, fue asignada a los hidrógenos 2' y 6' del anillo B, ya que ambos

son equivalentes entre sí y están acoplados a su vez con el H-4' con una constante de acoplamiento *meta*. En δ 6.66 (1H, *s*) se observa una señal simple, que de acuerdo a su desplazamiento químico corresponde al H-3. La señal simple ubicada en δ 7.32 (2H, *s*) corresponde a los hidrógenos 7 y 8 del anillo A.

Los datos anteriores fueron comparados con los descritos en la literatura confirmándose que el compuesto aislado es la : 5, 6, 3', 5'-tetrametoxiflavona (X) conocida como *Cerrosillina* [20, 28].



5, 6, 3', 5'-tetrametoxiflavona (X).

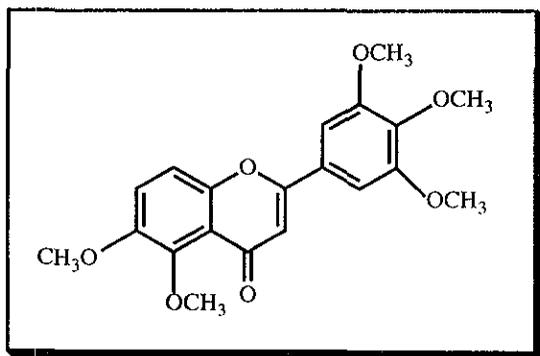
De las fracciones eluidas con una mezcla de hexano-AcOEt (1:2) y tras sucesivas cromatografías utilizando mezclas de hexano-acetona (2:1 y 4:1) se aislaron 17.3 mg (0.043%) de un sólido cristalino de punto de fusión 93-96 °C.

En su espectro de IR se observan las bandas características a grupos CH₃ alifáticos en 3030, 2968, 2941, 2841cm⁻¹, en 1606, 1583, 1479, 1463, 1423 cm⁻¹; se localizan las bandas del esqueleto de un compuesto aromático así como la presencia del carbonilo de una prona en 1637 cm⁻¹ y finalmente en 1286 cm⁻¹ la banda del grupo éter, las cuales forman parte del esqueleto de una flavona (Fig 12) [74, 75].

En su espectro EM (IE) presenta un ión molecular de m/z 372 (75%), para una fórmula molecular $C_{20}H_{20}O_7$, y un fragmento muy intenso de m/z 357 (100%), que indica que esta flavona posee un grupo metoxilo en C-6.

En su espectro de RMN ^{13}C (Espectro 15) se muestran 16 señales de las cuales, tres de ellas presentan equivalencia, por lo que hacen un total de 19 carbonos que de acuerdo a su multiplicidad (DEPT) corresponden a 5 metilos, 5 metinos y los 10 restantes son carbonos completamente sustituidos; sin embargo, de acuerdo a la fórmula molecular existen 20 carbonos, esto sugiere que una señal de un carbón cuaternario se encuentra sobrepuesta.

En su espectro de RMN 1H (Espectro 16) se observan las señales correspondientes a los cinco grupos metoxilos presentes en la molécula con un desplazamiento de 3.95 (3H, *s*), 3.92 (6H, *s*), 3.90 (3H, *s*) y 3.89 (3H, *s*). En δ 6.60 (1H, *s*) se localiza una señal simple que debido a su desplazamiento corresponde al H-3 de la flavona. En 7.08 ppm (2H, *s*) se localiza una señal simple que corresponde a dos hidrógenos equivalentes; así mismo en 7.29 ppm (2H, *s*) se muestra otra señal simple que indica la presencia de otros dos hidrógenos con desplazamientos químicos similares. Con base en lo anterior, se sugiere que 2 hidrógenos se encuentran en el anillo A y los otros dos en el anillo B [76]. La señal simple localizada en 7.08 ppm fue asignada para los protones H-2' y H-6', mientras que para el otro singulete ubicado en 7.29 ppm se asignaron los protones H-7 y H-8. Dichos datos fueron comparados con los informados en la literatura [29] y mostraron que el compuesto aislado es la 5, 6, 3', 4', 5'-pentametoxiflavona (XI), conocida como *Cerrosillina B*.



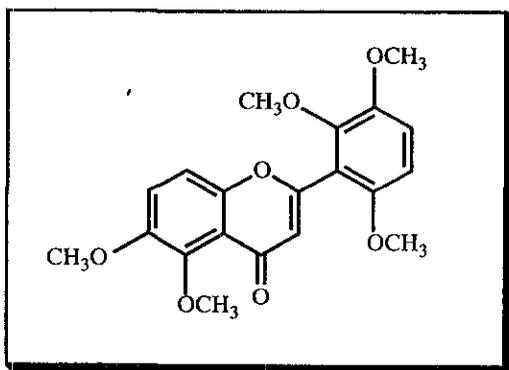
5, 6, 3', 4', 5'-pentametoxiflavona (XI).

De las fracciones que fueron eluidas con hexano-acetato de etilo (2:1), después de sucesivas cromatografías y posterior cristalización, se obtuvieron 671 mg (1.71%) de un compuesto sólido cristalino de color blanco de pf. 143-145 °C.

En su espectro de EM (IE) presenta un ión molecular de m/z 372 (77%) para una fórmula molecular de $C_{20}H_{20}O_7$ y un fragmento intenso de m/z 357 (100%) que corresponde a la pérdida de 15 uma $[M^+-CH_3]$, este último indica la presencia de un metoxilo en la posición C-6 de una flavona.

En su espectro de RMN ^{13}C con desacoplamiento total de hidrógeno (Espectro 17) se observan 19 señales de las cuales mediante la técnica de DEPT y de acuerdo a su multiplicidad se estableció la presencia de 5 metilos, 5 metinos y 9 carbonos totalmente sustituidos.

En su espectro de RMN 1H (Espectro 18) se observan 5 señales a campo alto que corresponden a los 5 metoxilos con desplazamientos en δ 3.94, 3.87, 3.81, 3.80 y 3.70 (3H, s). En δ 6.24 (1H, s) se localiza una señal simple que corresponde al H-3 de la flavona. A campo más bajo se localizan dos sistemas AB, en δ 7.23 (2H *d* $J=9.0$) y 7.15 (2H *d* $J=9.0$) que por su desplazamiento y de acuerdo a lo encontrado en la literatura [75], corresponden a los protones H-7 y H-8 del anillo A. El segundo sistema AB está integrado por las señales localizadas en δ 6.95 (2H *d* $J=9.0$) y 6.62 ppm (2H *d* $J=9.0$) que corresponden a los protones H-4' y H-5' del anillo B, las cuales presentan un acoplamiento *orto*. Con base en el espectro COSY, se determinó que los H-4' y 5', así como los H-7 y 8 presentan acoplamientos entre sí; y por medio de los experimentos HETCOR y LR correlacionaron los hidrógenos con los átomos de carbono presentes en dicha estructura, además de la comparación con los datos descritos en la literatura [77]. Lo anterior permitió concluir que el compuesto aislado de *C. pringlei* es la 5, 6, 2', 3', 6'-pentametoxiflavona (XIII).



5, 6, 2', 3', 6'-pentametoxiflavona (XIII).

De las fracciones eluidas con una mezcla de hexano-AcOEt (1:2) y después de cromatografías sucesivas utilizando mezclas de hexano-acetona (2:1), se aisló un sólido cristalino con punto de fusión 179-183 °C, del que se obtuvieron 143.2 mg (0.36%).

En su espectro de IR se observan en 3000, 2843, 2941 cm^{-1} que corresponden a los CH_3 alifáticos, en 1606, 1475, 1437 cm^{-1} se localizan las bandas que corresponden a un grupo aromático, en 1643 cm^{-1} se localiza una banda que indica la presencia de un carbonilo de una pirona y en 1265 cm^{-1} se encuentra la banda para el grupo éter; todas ellas pertenecientes al esqueleto de una flavona.

En su espectro de EM (IE) se observa la presencia de un ión molecular de m/z 312 (100%) que corresponde a una fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_5$.

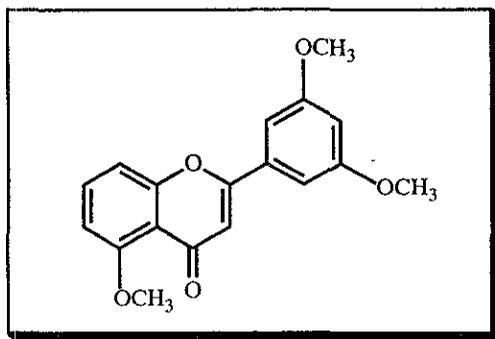
En su espectro de RMN ^{13}C de desacoplamiento total de hidrógeno (Espectro 19) se observan 15 señales, -3 de ellas presentan desplazamientos químicos similares- lo que hace un total de 18 carbonos presentes en la molécula. Así mismo, la multiplicidad mostrada en su espectro RMN ^{13}C (DEPT) indica que la molécula está formada por 3 metilos, 7 metinos y 8 carbonos cuaternarios.

En su espectro de RMN ^1H (Espectro 20), se observa que es una flavona trisustituída, y que dichos sustituyentes corresponden a tres grupos metoxilo, por las señales simples que aparecen en δ 4.01 (3H, s) y 3.87 ppm (6H, s).

En el anillo A, uno de los metoxilos se encuentra localizado en la posición 5, ya que existen señales que muestran a los protones 6, 7 y 8. En δ 7.58 ppm se localiza una señal triple (1H, *t*, $J=8.3$) la cual tiene dos acoplamientos *orto*, por lo que deben existir dos protones vecinos a éste en el mismo anillo aromático, dicha señal se asignó al H-7. En la misma región se observan dos señales que presentan un acoplamiento *orto*, estos se asignaron a H-8 (δ 7.13, *d*, $J=8.3$) y H-6 (δ 6.83, *d*, $J=8.3$), siendo H-8 el que se encuentra a campo más bajo [75].

De acuerdo con lo anterior, los otros dos grupos metoxilo se localizan en el anillo B. En el espectro de RMN ^1H se observa una señal doble, que integra para dos hidrógenos, esta se localiza en δ 7.02 (2H, *d*, $J=2.1$) y fue asignada a los protones 2' y 6' del anillo B. En δ 6.06 (*t*, $J=2.1$) se localiza una señal triple, la cual presenta dos acoplamientos *meta*, esta señal en el espectro COSY muestra interacción con la señal doble en 7.02 ppm y que fue asignada a H-4'. Con esto último se establece la presencia de un anillo B disustituído en las posiciones 3' y 5', finalmente en 6.72 ppm (1H, *s*) aparece la señal correspondiente a H-3.

De acuerdo al análisis realizado, se encontró que el compuesto aislado corresponde a la: 5, 3', 5'-trimetoxiflavona (VIII).



5, 3', 5'-trimetoxiflavona (VIII).

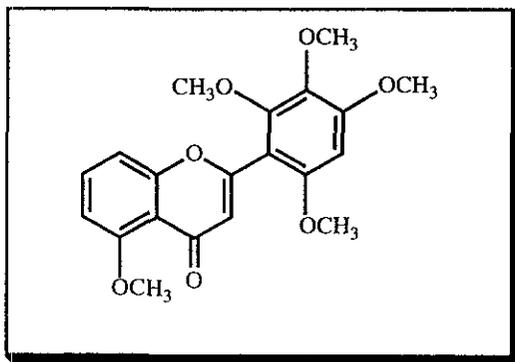
De las fracciones eluidas con una mezcla de hexano-AcOEt (1:2) y después de una serie de cromatografías utilizando mezclas de hexano-acetona (4:1), hexano-AcOEt (1:1), se aislaron 17.5 mg (0.04%) de un sólido de color blanco de punto de fusión 185-195 °C.

En su espectro EM (IE) se presenta un ión molecular de m/z 372 (100%) para una fórmula molecular de $C_{20}H_{20}O_7$.

En su espectro de RMN ^{13}C con desacoplamiento total de hidrógeno (Espectro 21), se observan 19 señales que de acuerdo a su multiplicidad determinada con la técnica de DEPT; se encontró que corresponden a 5 metilos, 5 metinos y las 9 restantes a carbonos cuaternarios.

En su espectro de RMN 1H (Espectro 22), se presentan cinco señales simples asignadas a cinco metoxilos no equivalentes entre sí, con desplazamientos de δ 3.99 (3H, *s*), 3.93 (3H, *s*), 3.89 (3H, *s*), 3.83 (3H, *s*) y 3.78 (3H, *s*). En δ 6.32 (2H, *s*) se localiza un singlete que integra para dos protones que por su desplazamiento fue asignado a los protones H-3 y H-5'. En δ 7.51 se muestra una señal triple (1H, *t*, $J=8.3$), la cual indica un acoplamiento *orto* con dos protones, por lo que esta señal fue asignada al H-7 del anillo A. En 7.01 ppm (1H, *d*, $J=8.3$) y 6.80 (1H, *d*, $J=8.3$), se localizan dos dobletes que por su acoplamiento *orto*, se encuentran interaccionando con la señal triple anterior; estas señales fueron asignadas para los hidrógenos 8 y 6 respectivamente, la señal a campo bajo fue asignada a H-8 con base en lo descrito en la literatura [75].

De acuerdo al análisis anterior, se concluye que la flavona aislada es la 5, 2', 3', 4', 6'-pentametoxiflavona (XII).



5, 2', 3', 4', 6'-pentametoxiflavona (XII).

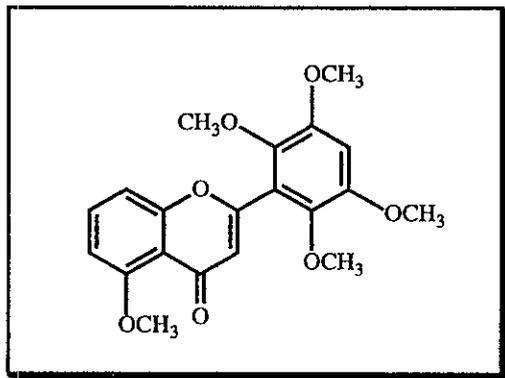
De las fracciones eluidas con una mezcla de hexano-AcOEt (1:2), así como con mezclas de hexano-acetona (4:1 y 2:1) en diferentes cromatografías en columna, se aislaron 52.8 mg (0.13%) de un sólido cristalino blanco de punto de fusión 150-153 °C.

En su espectro de EM (IE) se presenta un ión molecular de m/z 372 (100%) para una fórmula molecular de $C_{20}H_{20}O_7$.

En su espectro de RMN ^{13}C de desacoplamiento total de hidrógeno (Espectro 23), se muestran 16 señales, 4 de las cuales presentan equivalencia, por lo que hacen un total de 20 carbonos en la molécula. De acuerdo a su espectro de RMN ^{13}C (DEPT), se establece que existen 5 metilos, 5 metinos y 10 carbonos completamente sustituidos, correspondiendo dichas señales al esqueleto de una flavona metoxilada.

En su espectro de RMN 1H (Espectro 24), se localizan tres señales simples que de acuerdo a su integral y desplazamiento: δ 4.04 (3H, *s*), 3.90 (6H, *s*) y 3.76 ppm (6H, *s*) corresponden a cinco metoxilos, de los cuales dos pares son equivalentes. En 6.36 ppm (1H, *s*) se localiza una señal simple que fue asignada a H-3, con base en lo informado en la literatura [75]. En 7.53 ppm (1H, *t*, $J=8.3$) se muestra una señal triple que presenta acoplamiento *orto* con dos protones vecinos, por lo que dicha señal fue asignada al H-7 del anillo A. En 7.01 ppm (1H, *dd*, $J=8.3, 1.0$) se observa una señal doble de doble que se encuentra acoplada con dos protones vecinos, uno de ellos en posición *orto* y el segundo en *meta*, por lo que esta señal se asignó al H-8 del anillo A. En δ 6.82 (1H, *d*, $J=8.3$) se muestra una señal doble con acoplamiento *orto*, con H-7, siendo por lo tanto asignada dicha señal a H-6. En δ 6.70 (1H, *s*), se encuentra una señal simple que corresponde al H-4', ya que las dos señales equivalentes de los metoxilos indican que se encuentran en las posiciones 2', 6' y 3', 5'; finalmente se asignó la señal simple en δ 4.0 al grupo metoxilo del C-5.

De acuerdo con la discusión anterior, se concluyó que se trata de la 5, 2', 3', 5', 6'-pentametoxiflavona (XIV).



5, 2', 3', 5', 6'-pentametoxiflavona (XIV).

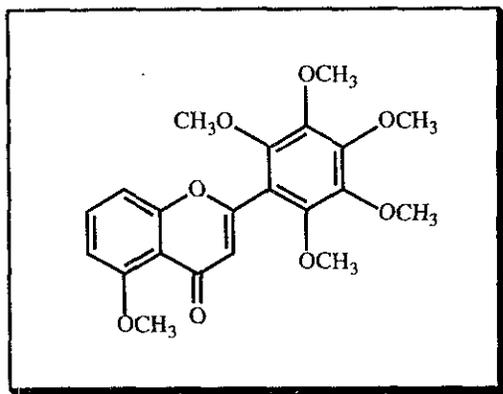
De las fracciones que fueron eluidas con una mezcla de hexano-AcOEt (1:2) y tras sucesivas cromatografías, utilizando mezclas de cloroformo-metanol (9.5:1), así como de hexano-acetona (2:1), se aislaron 13 mg (0.03%) de un sólido cristalino blanco con punto de fusión 155-160 °C.

En su espectro de EM (IE), se presenta un ión molecular de m/z 402 (100%) para una fórmula molecular de $C_{21}H_{22}O_8$.

En su espectro de RMN ^{13}C de desacoplamiento total de hidrógeno (Espectro 25), se observan 17 señales; de las cuales 4 corresponden a carbonos equivalentes, por lo que la molécula posee en total 21 carbonos. Así mismo la multiplicidad encontrada con ayuda de la técnica de DEPT, indica que el compuesto aislado posee 6 metilos, 4 metinos y 11 carbonos cuaternarios.

En su espectro de RMN 1H (Espectro 26), se muestran cuatro señales simples en δ 4.01 (3H, *s*), δ 4.00 (3H, *s*), δ 3.90 (6H, *s*) y δ 3.83 (6H, *s*) que corresponden a los 6 metoxilos presentes en la molécula. En 6.34 ppm (1H, *s*) se localiza una señal simple que se asignó al H-3. En δ 7.02 (1H, *d*, $J=8.4$) y 6.82 ppm (1H, *d*, $J=8.4$), se muestran dos señales dobles que presentan un acoplamiento *orto*, por lo que fueron asignados a los hidrógenos 8 y 6 respectivamente. En δ 7.54 (1H, *t*, $J=8.4$) se observa una señal triple con acoplamiento *orto* que corresponde al H-7. De acuerdo a lo analizado, uno de los grupos metoxilos se localiza en la posición C-5 y los restantes se encuentran en el anillo B.

Después del análisis realizado, se concluye que el compuesto aislado es la 5, 2', 3', 4', 5', 6'-hexametoxiflavona (XV).



5, 2', 3', 4', 5', 6'-hexametoxiflavona (XV).

Nota: En este caso, el orden en que se presentan las flavonas sustituidas VII, IX, X, XIII, VIII, XI, XII, XIV y XV es de acuerdo a una secuencia de polaridad creciente. De lo cual se observó que las flavonas menos sustituidas fueron menos polares y que al aumentar la sustitución, aumentó la polaridad de estas.

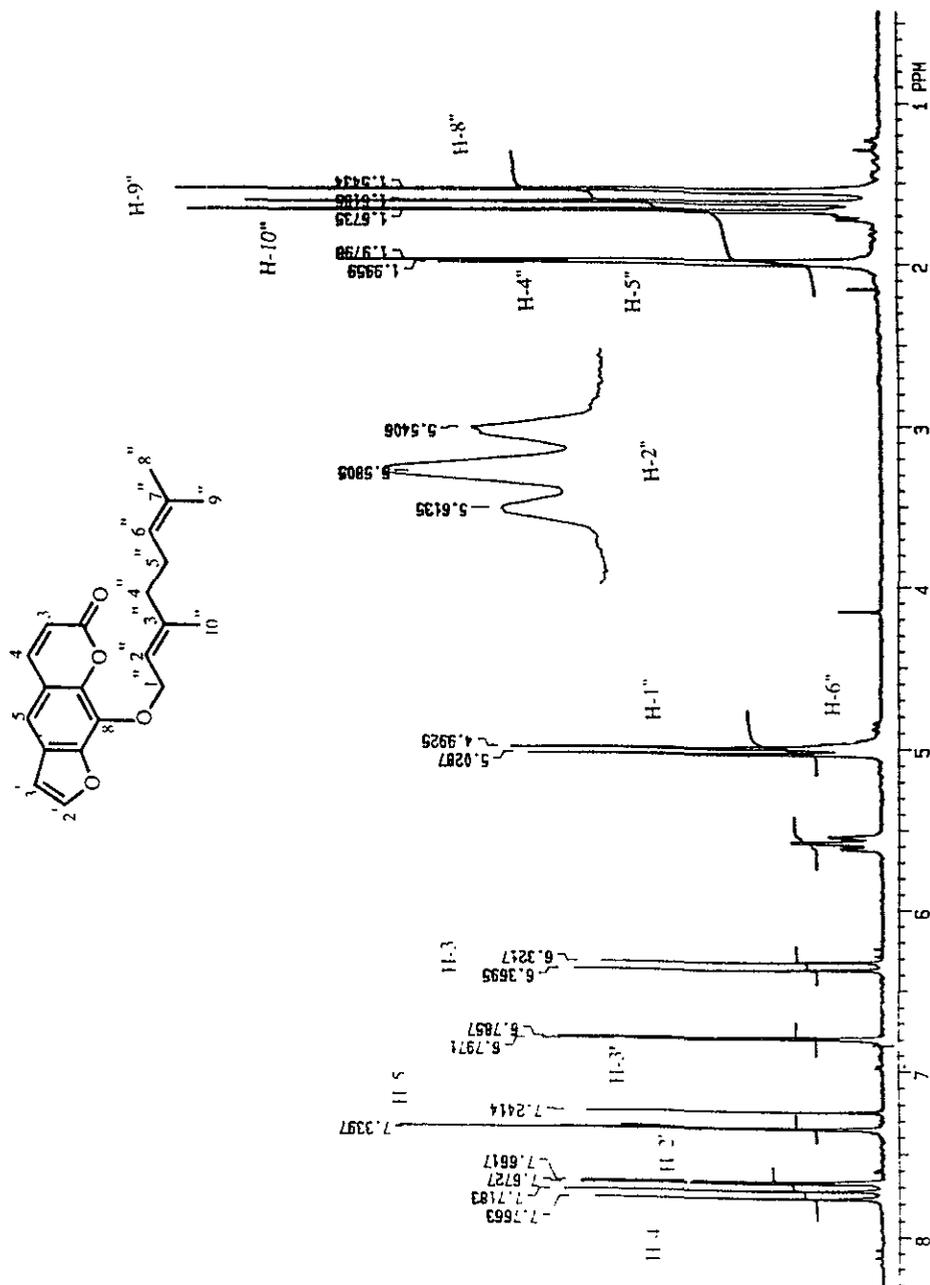
IX. CONCLUSIONES

A partir del extracto acetónico de las partes aéreas de *Casimiroa pringlei* se aislaron e identificaron 15 metabolitos secundarios de los cuales 9 de ellos ya están descritos en la literatura: el 8-geraniloxipsoraleno (I), el bergapteno (II), el xanthotoxol (III), la felopterina (V), la 5, 6-dimetoxiflavona (VII), 5, 6, 3'-trimetoxiflavona (IX), la 5, 6, 3', 5'-tetrametoxiflavona -Cerrosillina- (X), la 5, 6, 3', 4', 5'-pentametoxiflavona -Cerrosillina B- (XI) y la 5, 2', 3', 4', 5', 6'-hexametoxiflavona (XV).

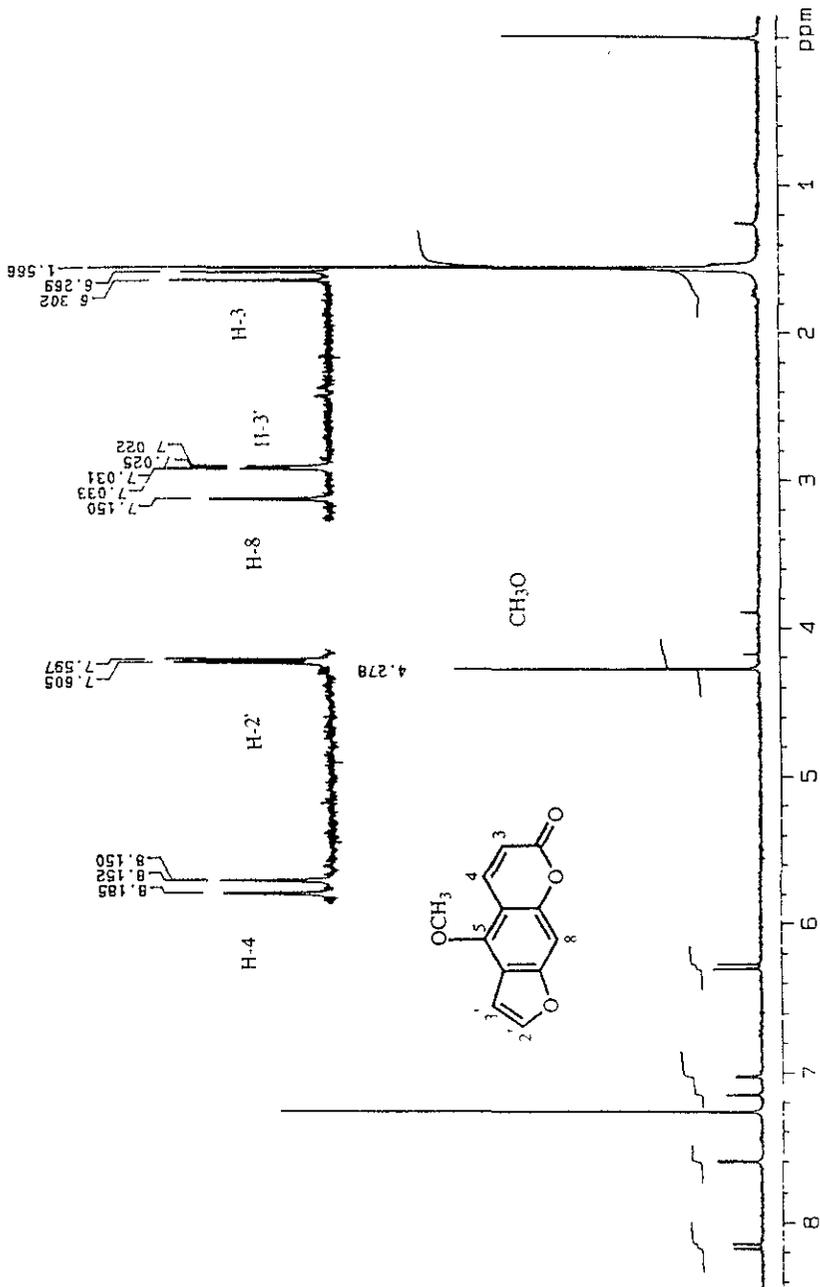
Se aislaron 2 nuevas furanocumarinas: la 8-[(6, 7-dihidroxi-3, 7-dimetil-2-octenil)oxi]psoraleno (IV) y la 8-[(4-acetoxi-3-metil-butil)oxi]psoraleno (VI), de las cuales se presentan sus datos de RMN ^1H y ^{13}C como una aportación al estudio de esta especie de *Casimiroa*.

Así mismo, se aislaron 4 flavonas que no habían sido descritas en la literatura con anterioridad: la 5, 3', 5'-trimetoxiflavona (VIII), la 5, 6, 2', 3', 6'-pentametoxiflavona (XIII), la 5, 2', 3', 4', 6'-pentametoxiflavona (XII) y la 5, 2', 3', 5', 6'-pentametoxiflavona (XIV); y en el presente trabajo se dan sus datos espectroscópicos de RMN ^1H y ^{13}C como un complemento a los estudios realizados en la obtención de flavonoides.

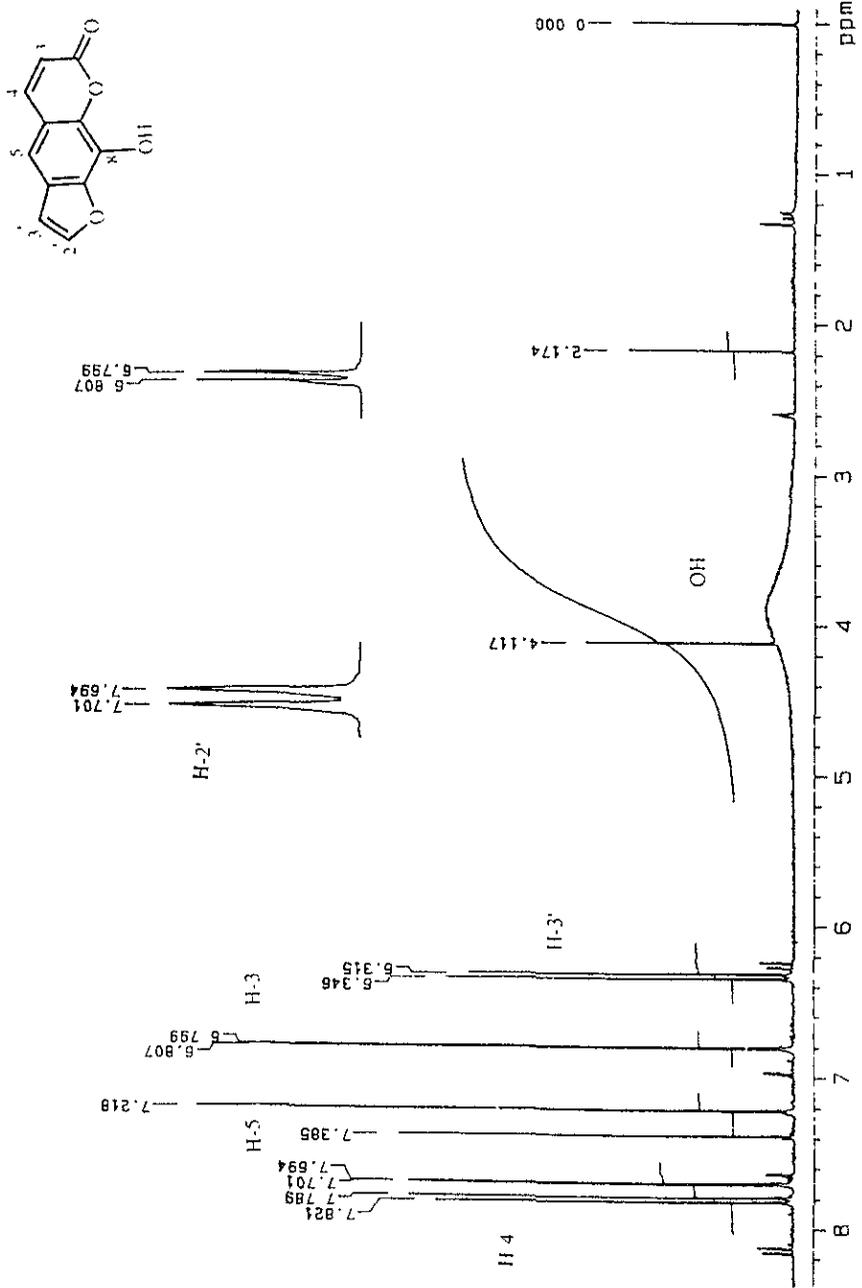
X. ESPECTROS



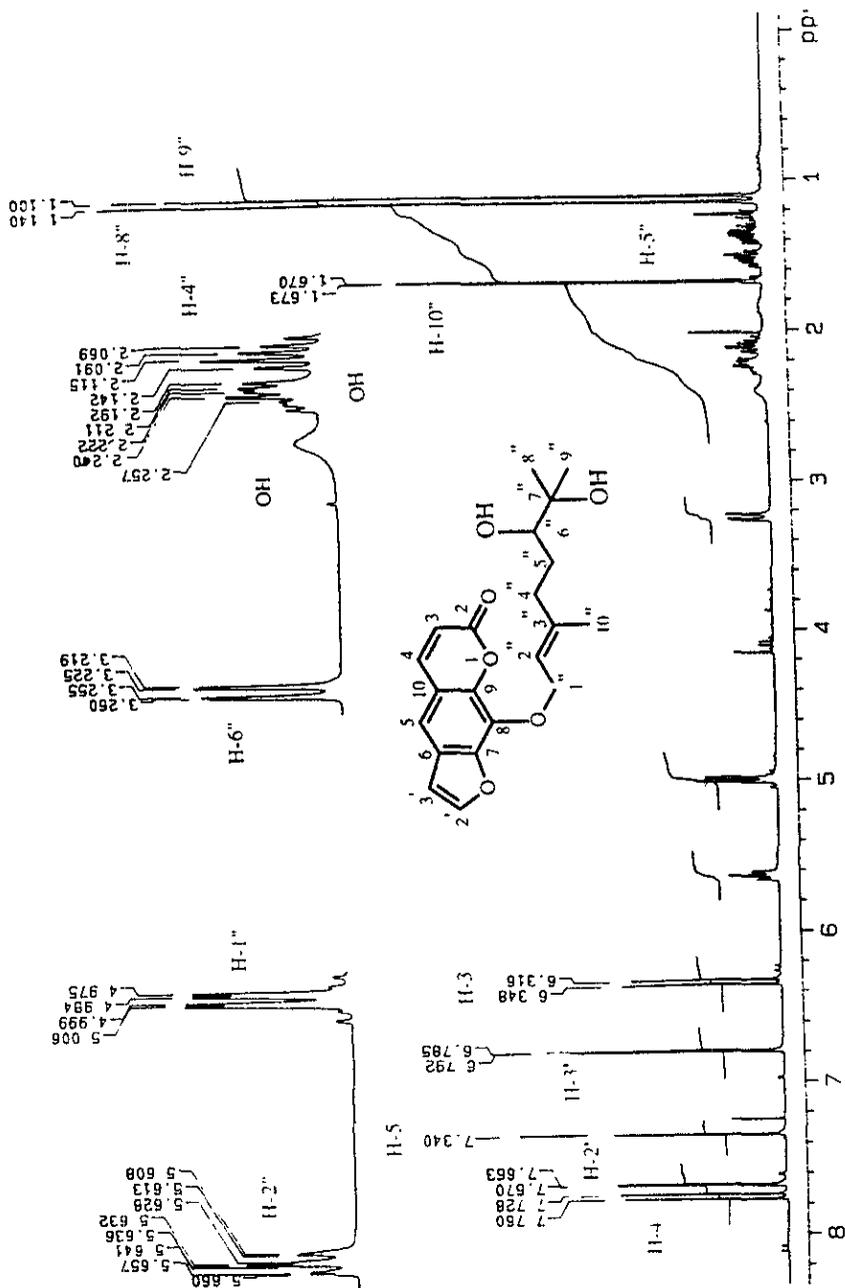
Espectro 1 Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS) del 8-geranioloxipsoraleno (I).



Espectro 2. Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) del Bergapteno (fl)



Espectro 3. Espectro de RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆, TMS) del Xanthoxol (III).



Espectro 4. Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) del 8-[(6, 7-dihidroxi-3, 7-dimetil-2-octenil)oxi]psoraleno (IV).

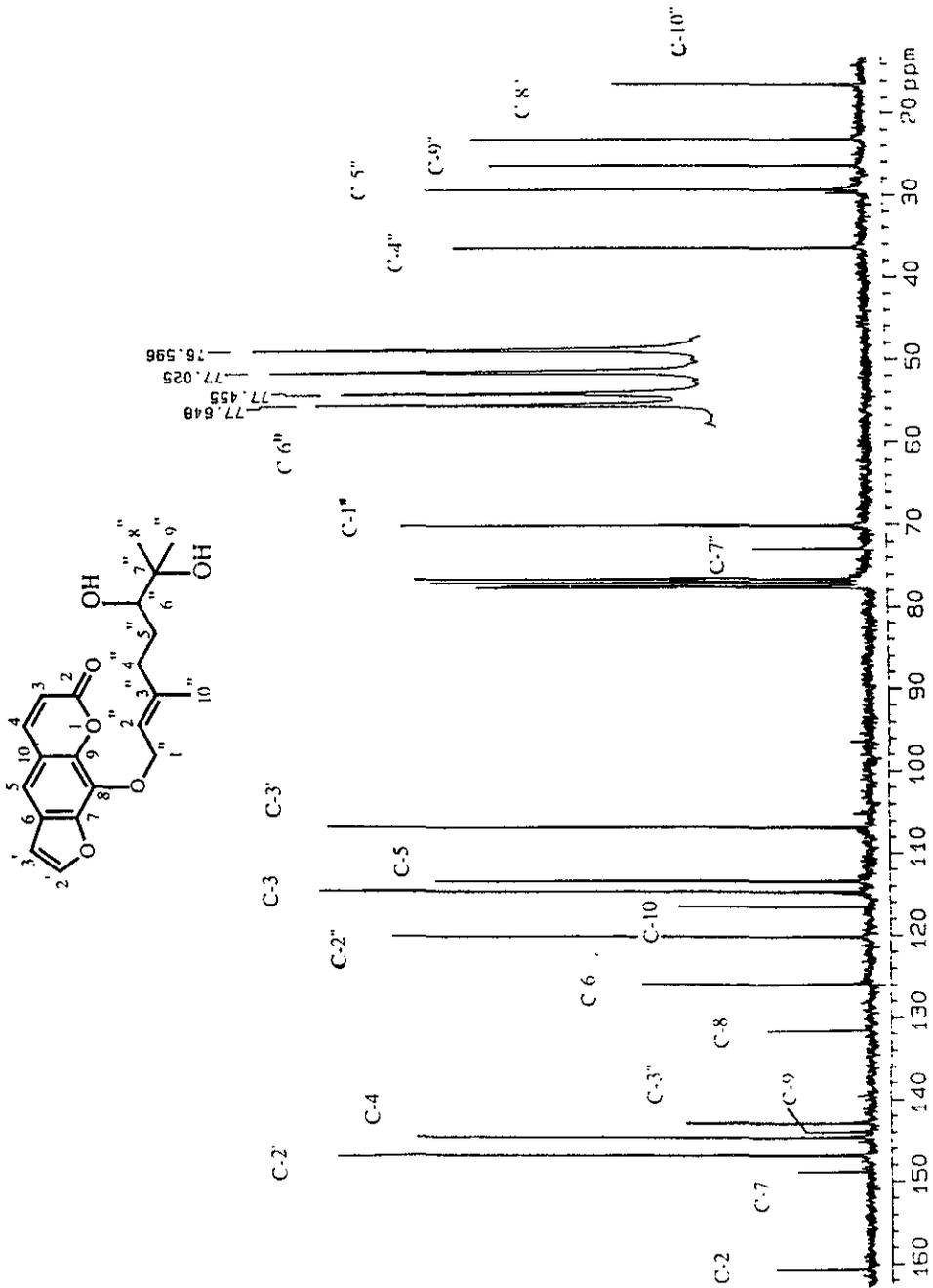
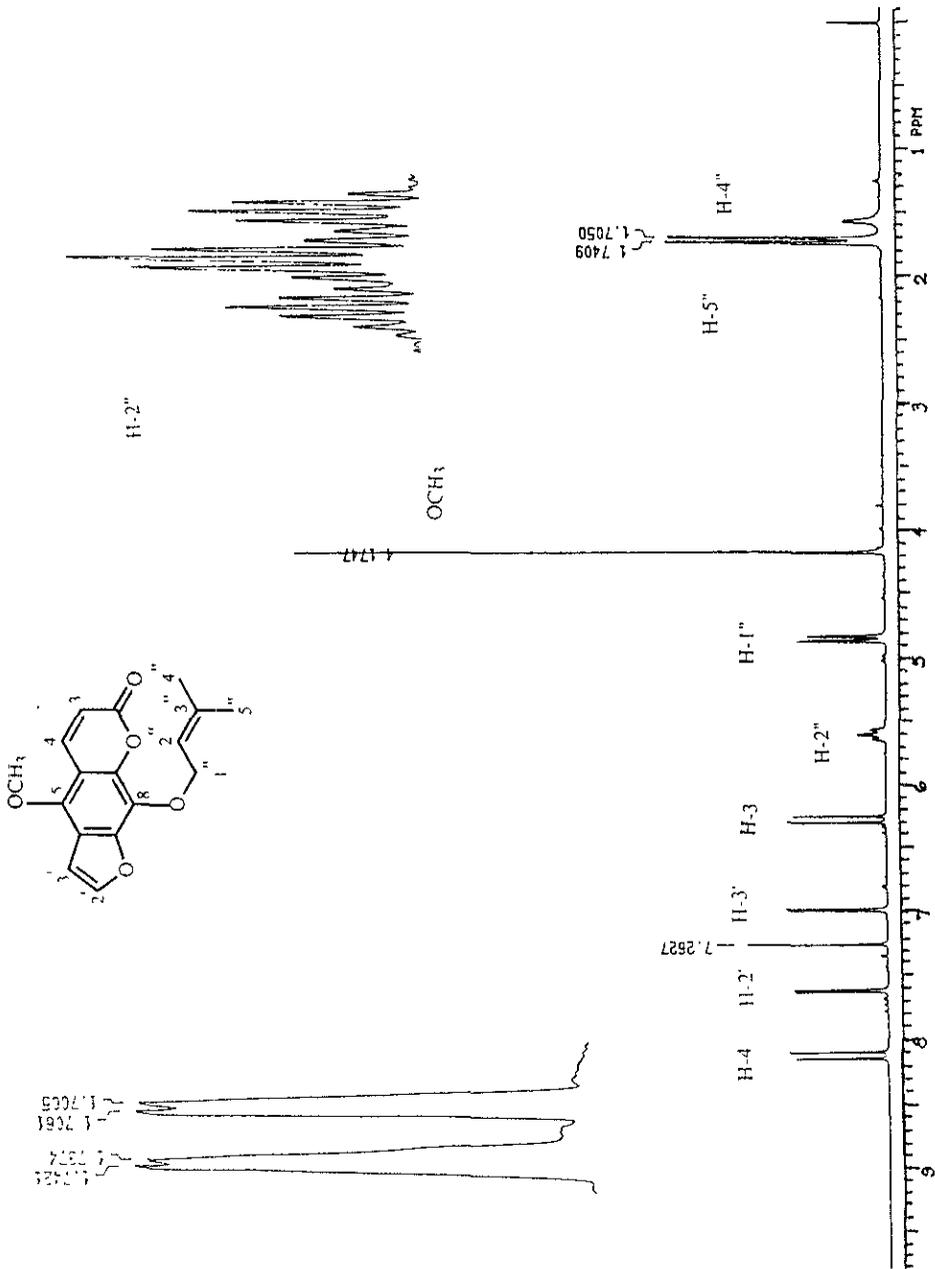
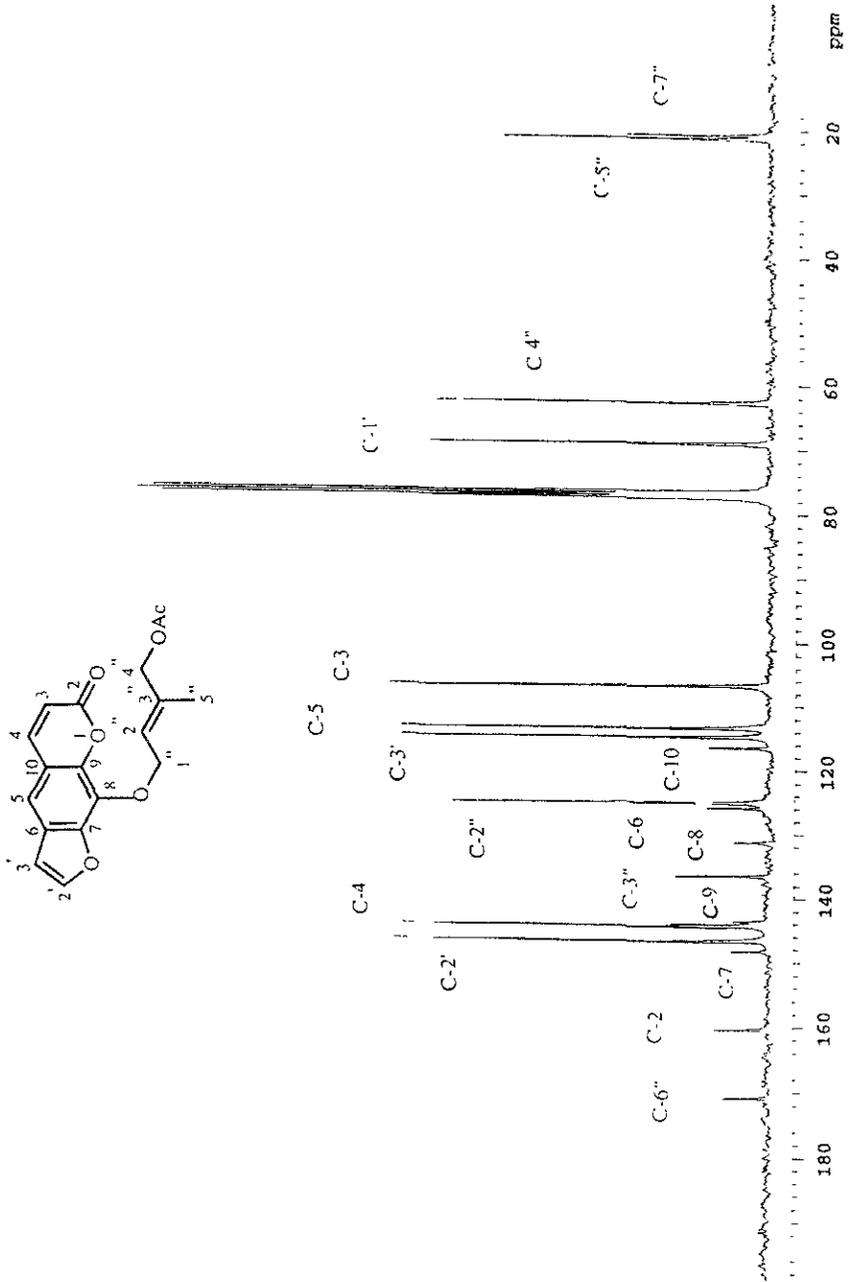


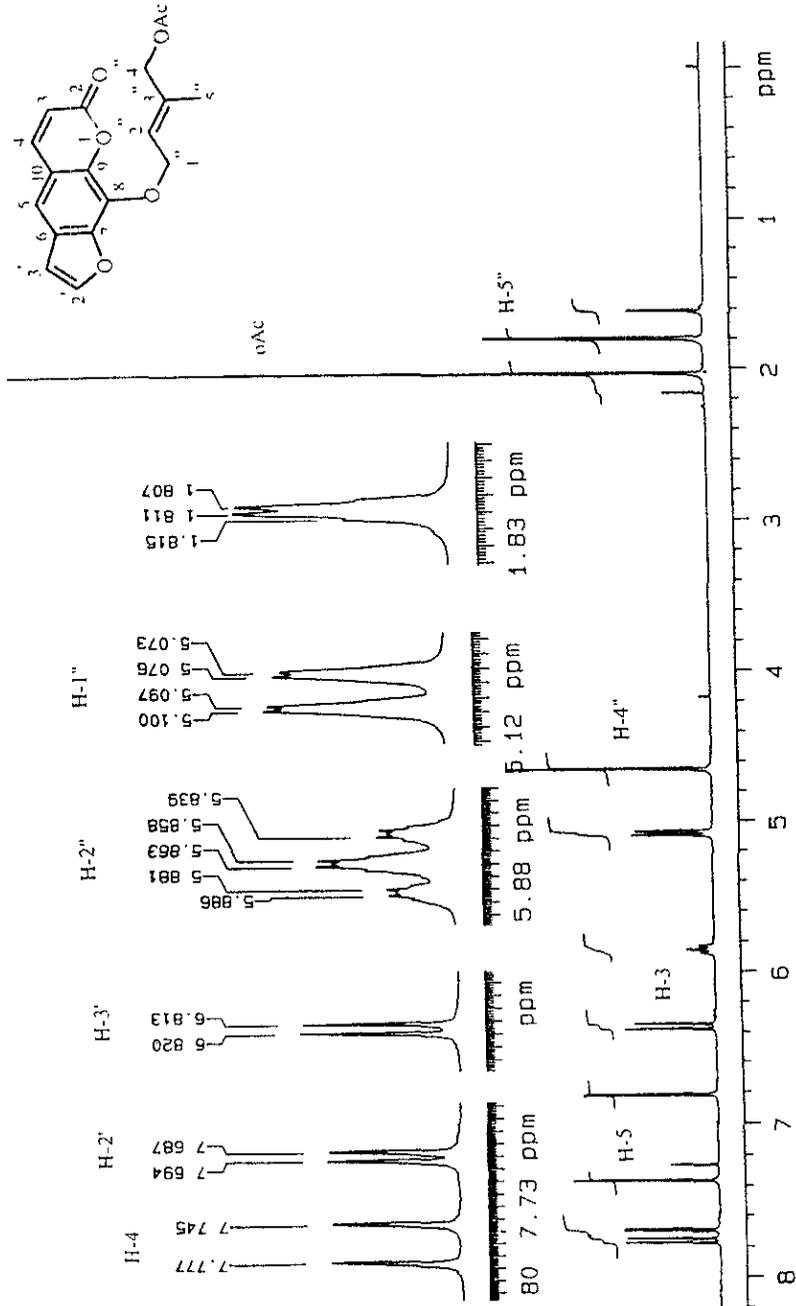
Fig. 1. ¹³C NMR spectrum of the flavonoid compound. The chemical structure is shown above the spectrum. The assignments of the carbons are indicated by primes (') and double primes ('').



Espectro 6 Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS) de la Felopterina (V).



Espectro 7 Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , TMS) del 8-[(4-acetoxi-3-metil-butil)oxi]psoraleno (VI)



Espectro 8 Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) del 8-[(4-acetoxi-3-metil-butil)oxi]psoraleno (VI)

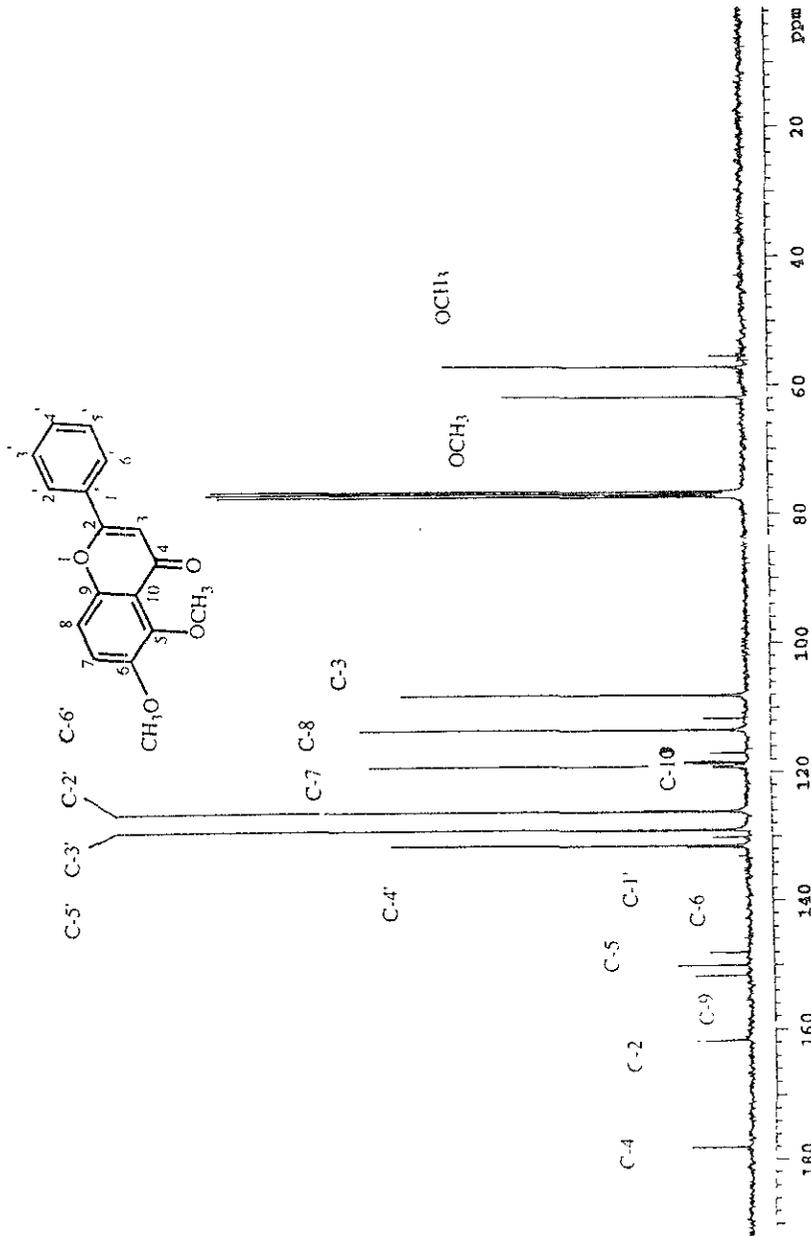
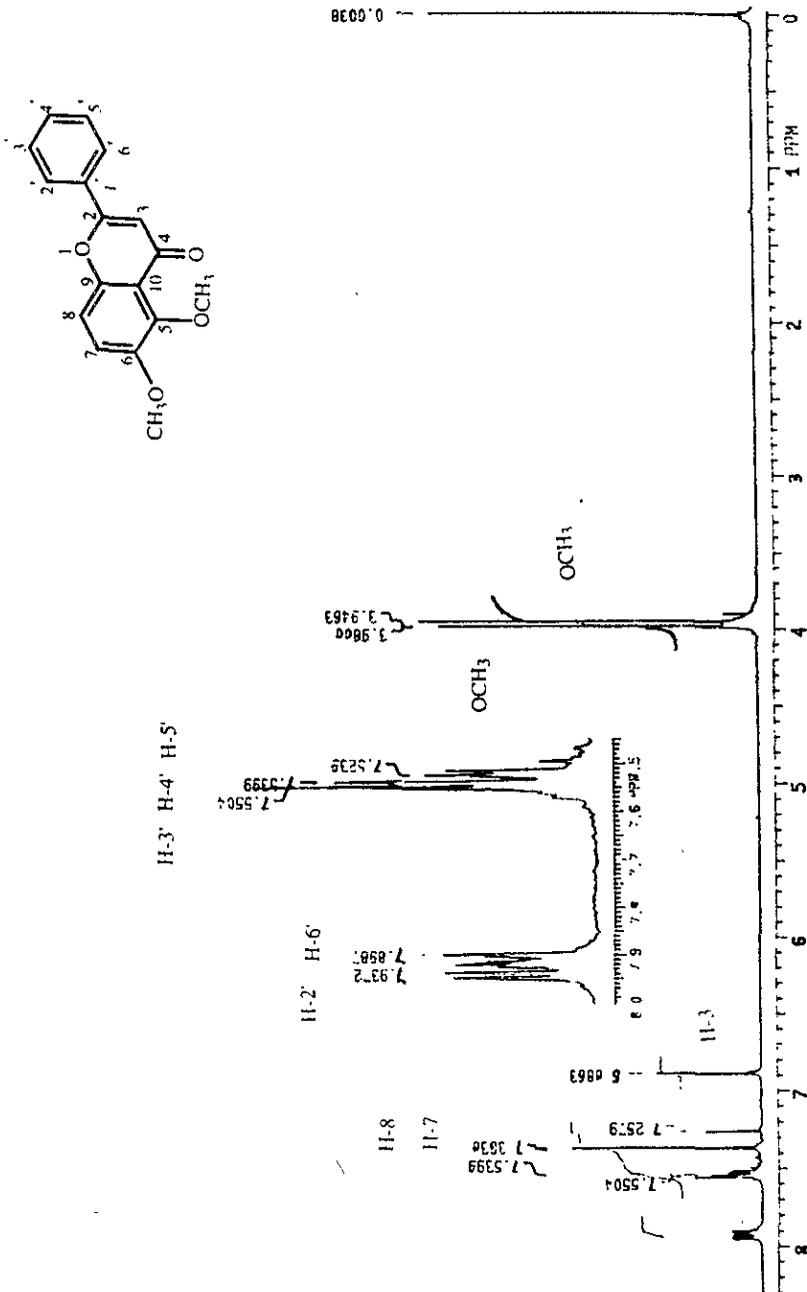
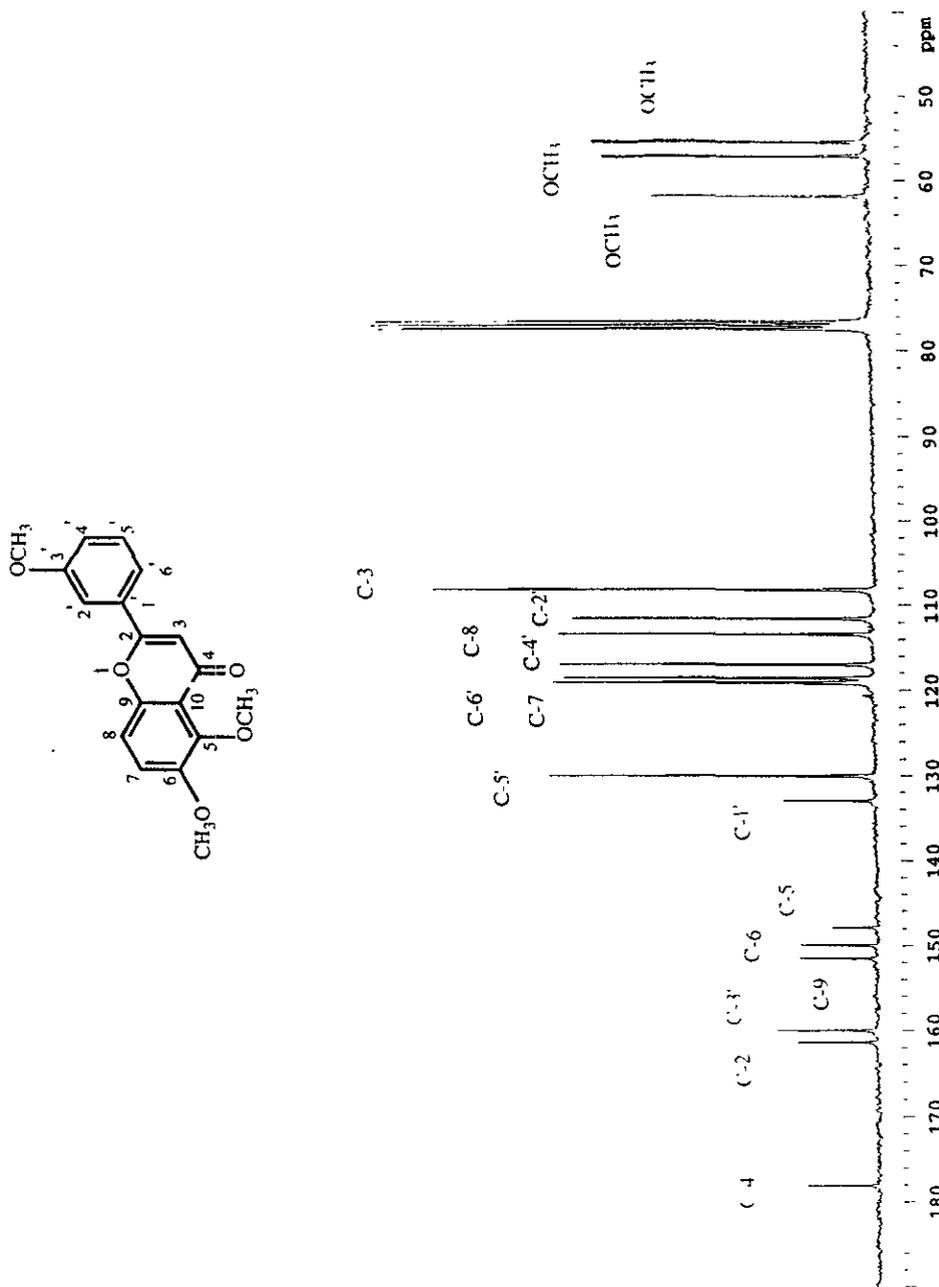


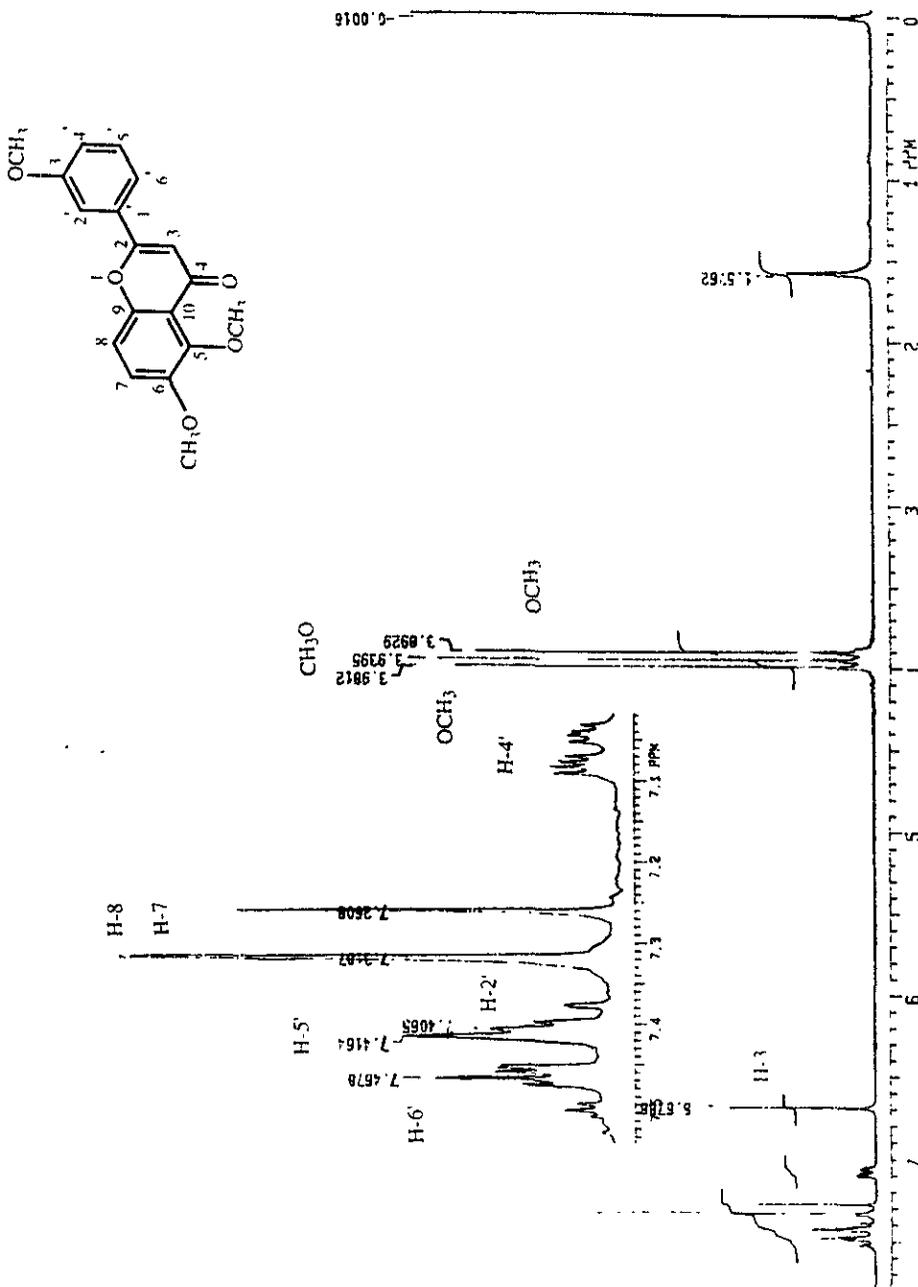
Figura 9 Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, TMS) de la 5,6-dimetoxiflavona (VII)



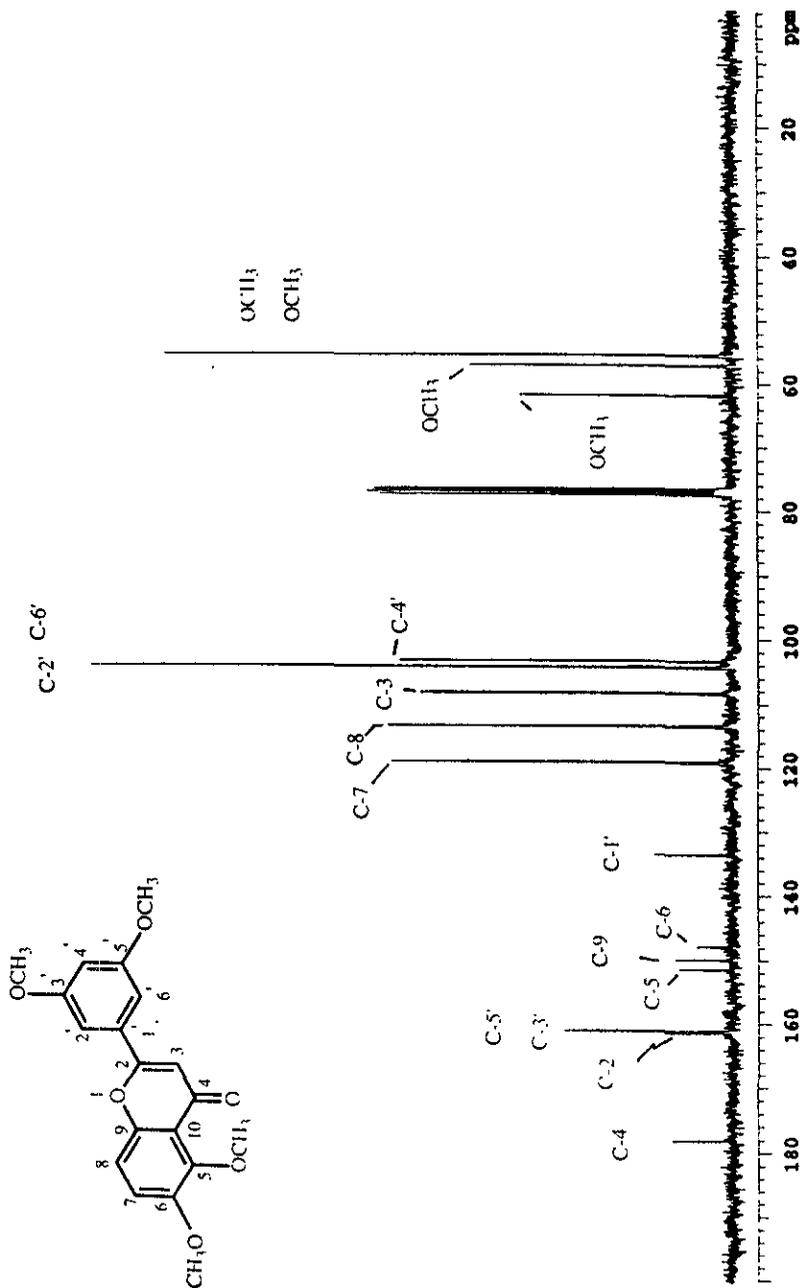
Espectro 10 Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) de la 5, 6-dimetoxiflavona (VII).



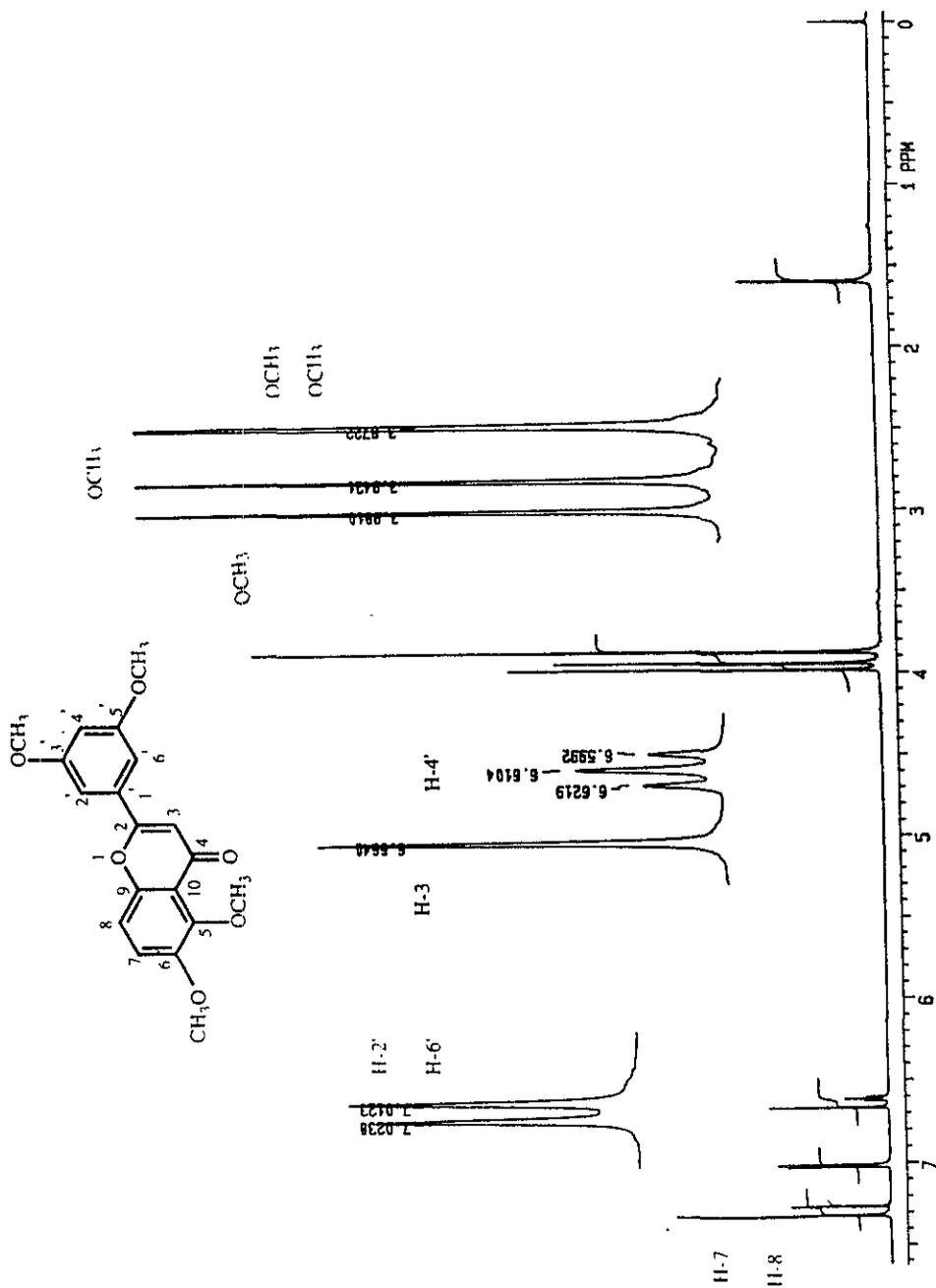
Espectro 11 Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, TMS) de la 5,6,3'-trimetoxiflavona (IX).



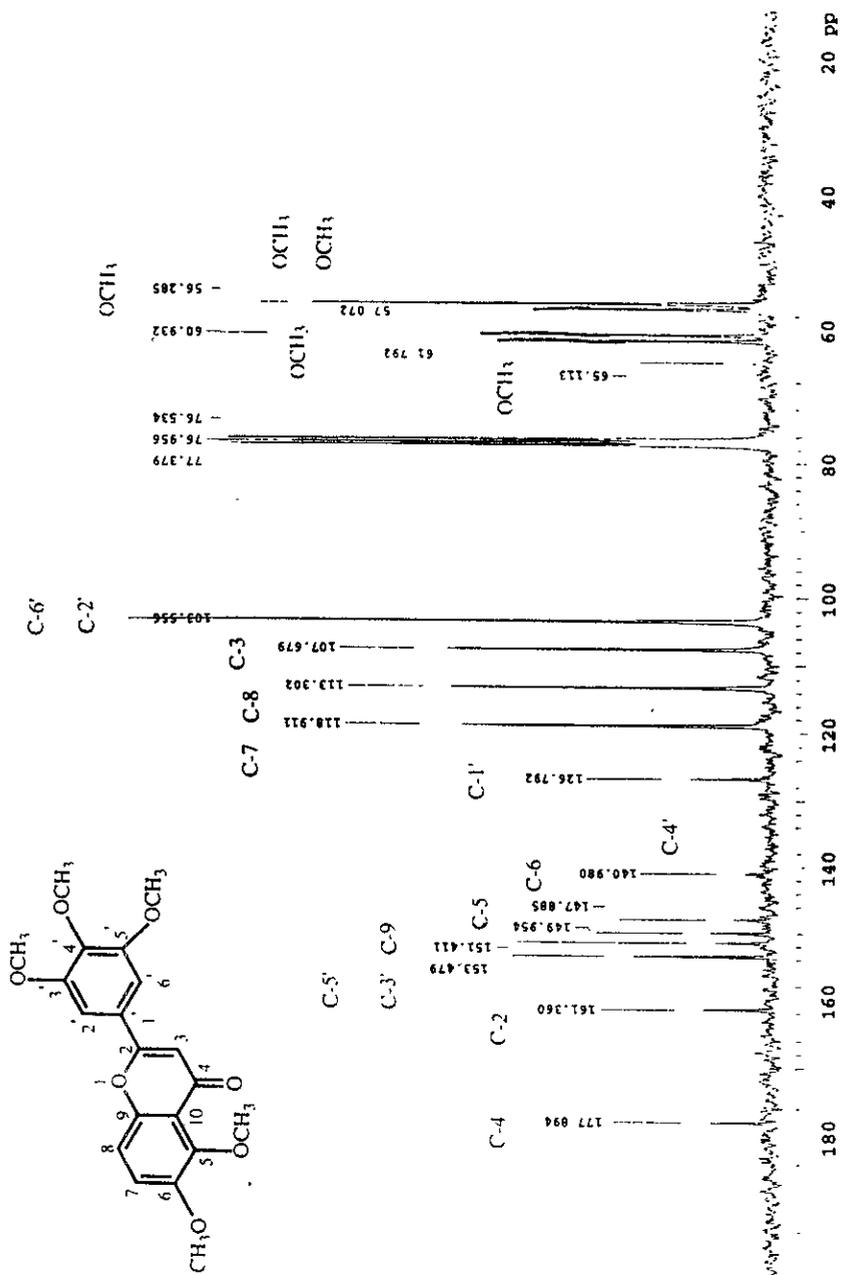
Espectro 12. Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) de la 5, 6, 3'-trimetoxiflavona (IX).



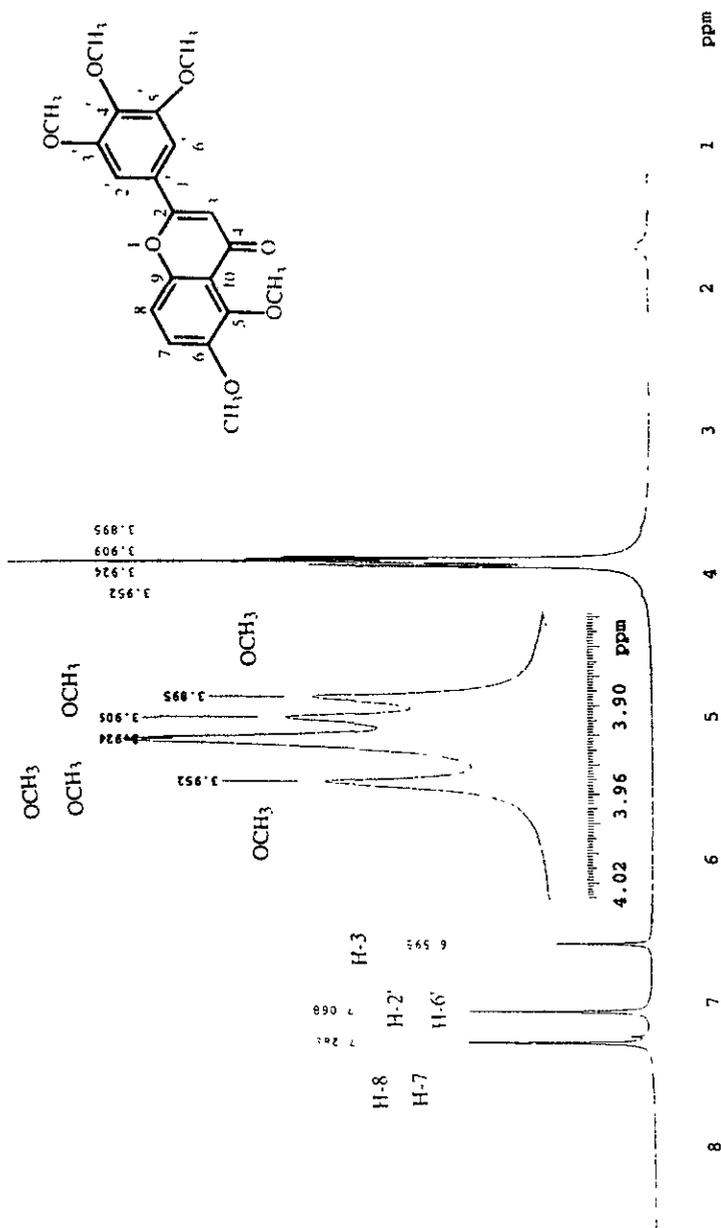
Espectro 13. Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, TMS) de la 5,6,3',5'-tetrametoxiflavona (X)



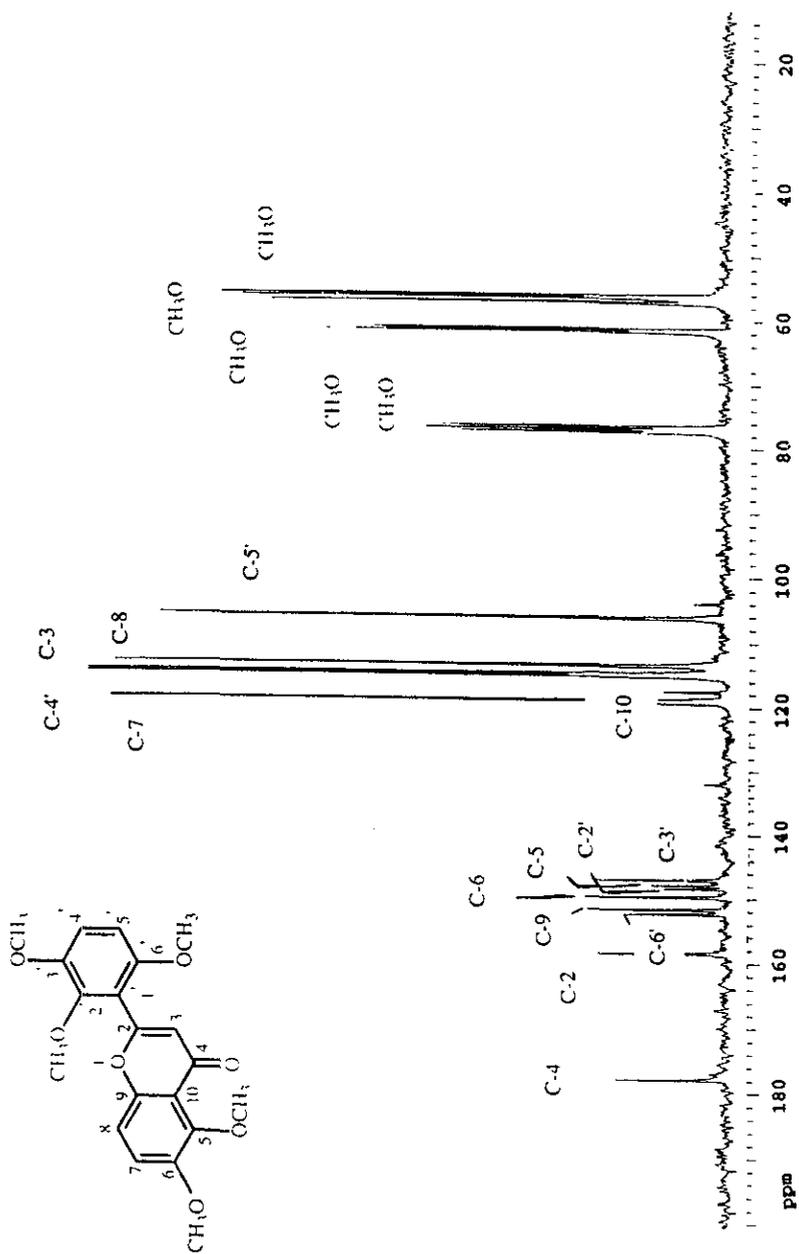
Espectro 14. Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) de la 5, 6, 3', 5'-tetrametoxiflavona (X).



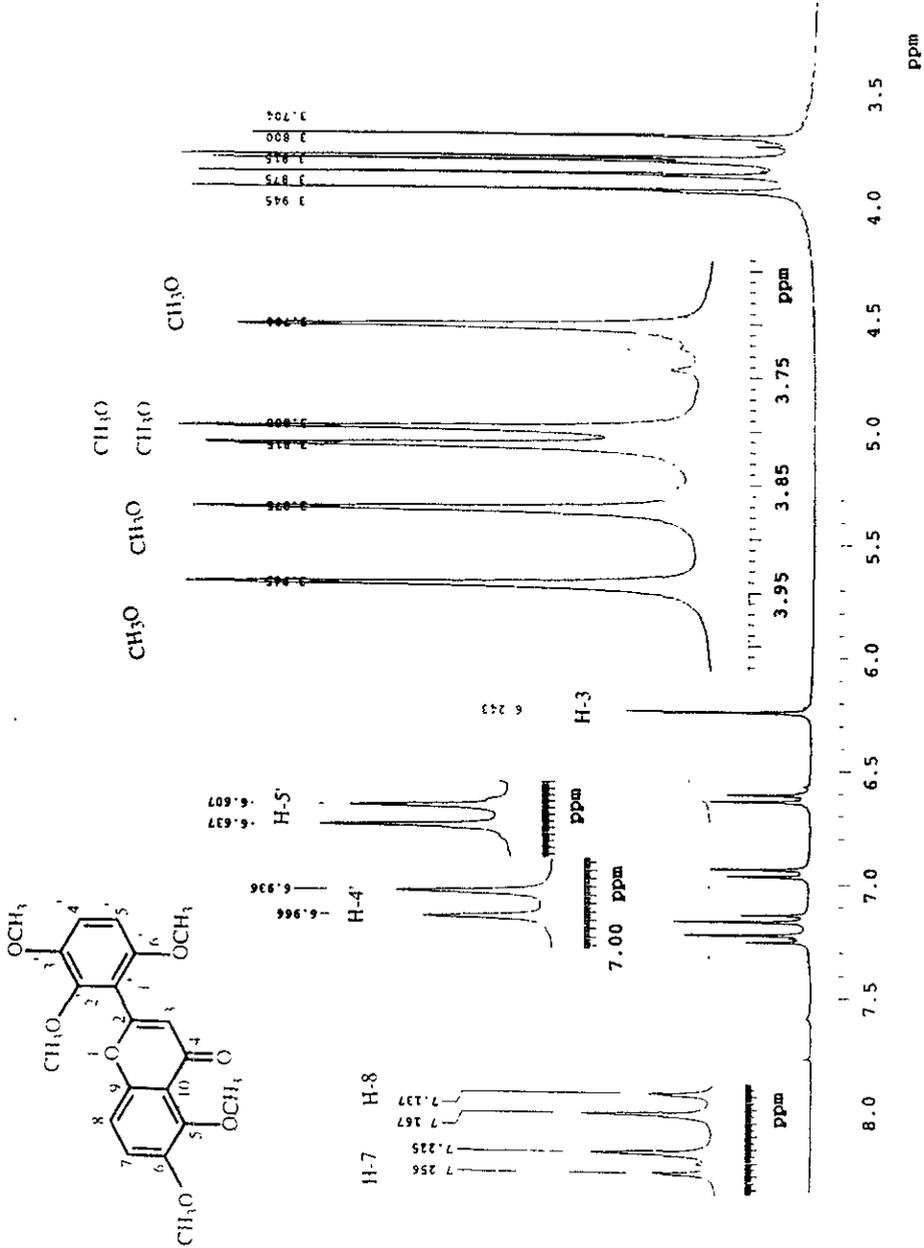
Espectro 15 Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , TMS) de la 5, 6, 3', 4', 5'-pentametoxyflavona (XI).



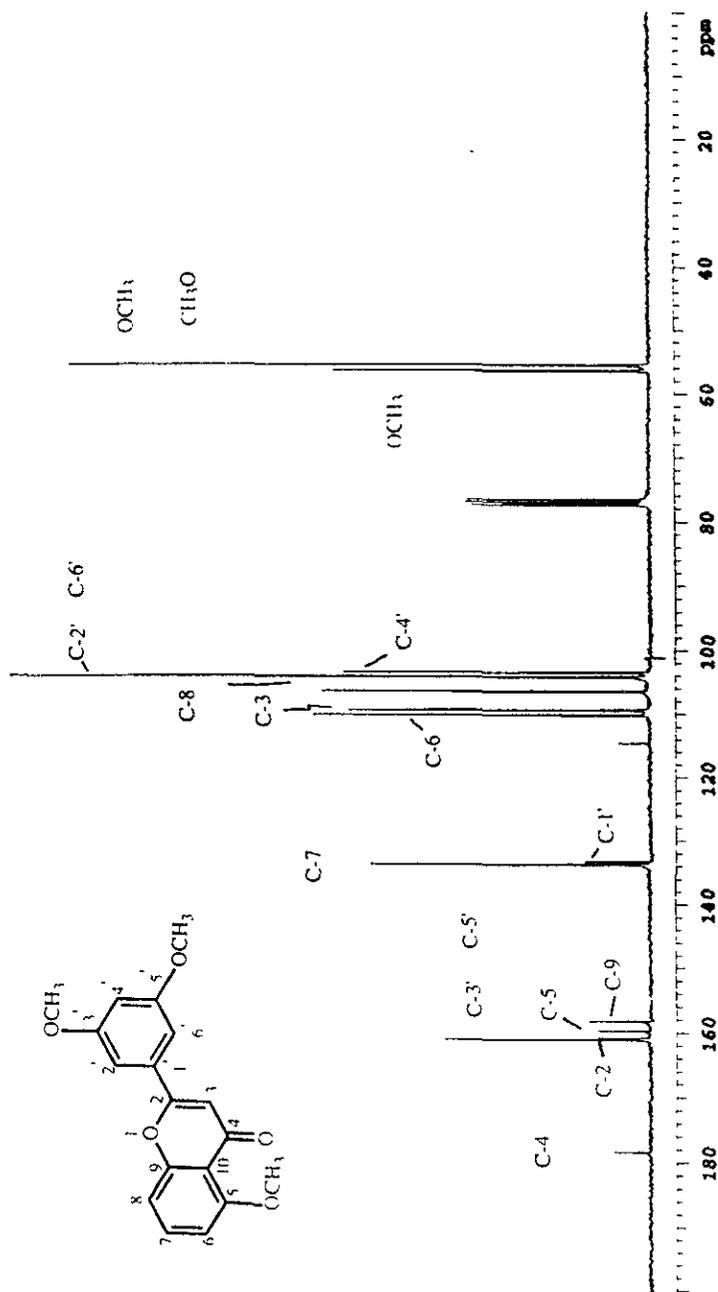
Espectro 16. Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) de la 5, 6, 3', 4', 5'-pentametoxti flavona (XI).



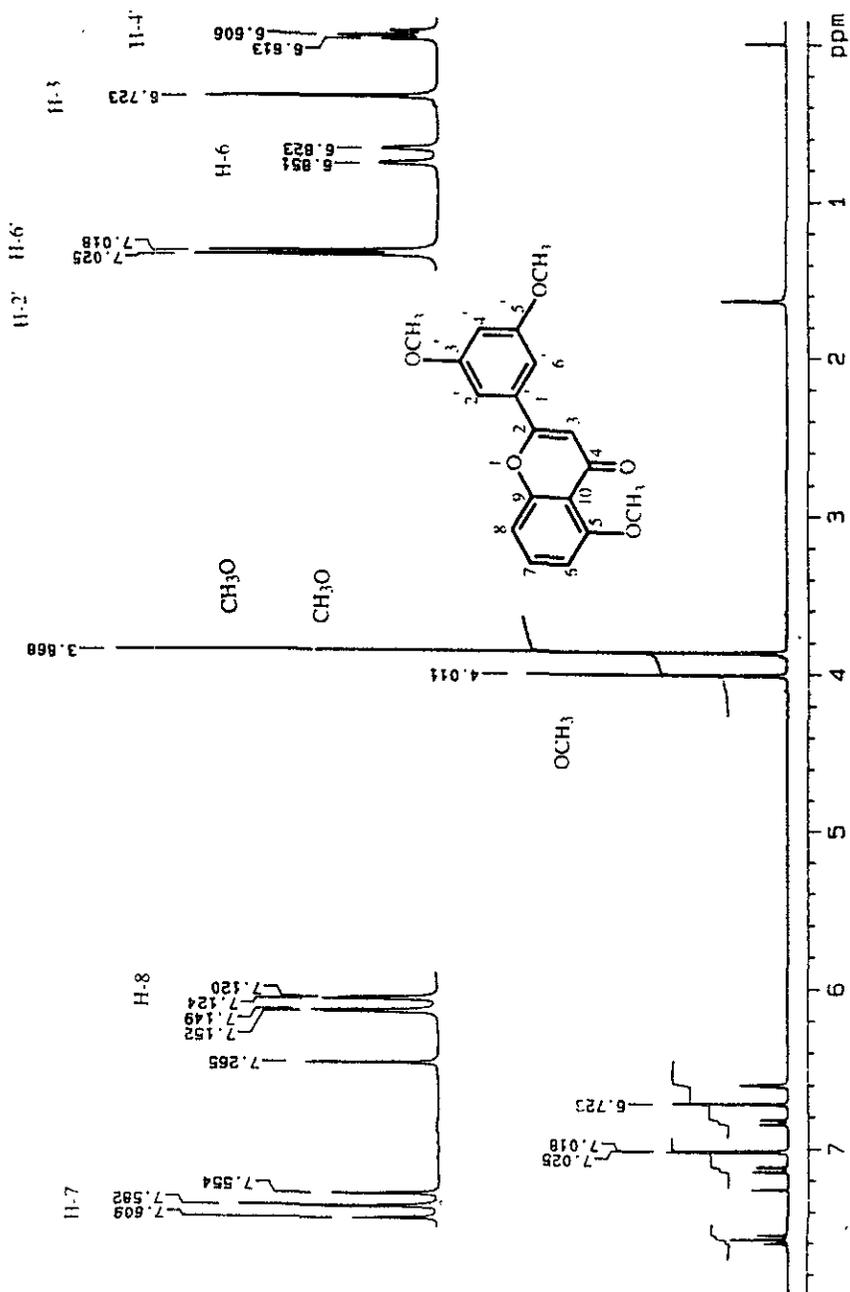
Espectro 17 Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, TMS) de la 5, 6, 2', 3', 6'-penta-O-metilflavona (XIII).



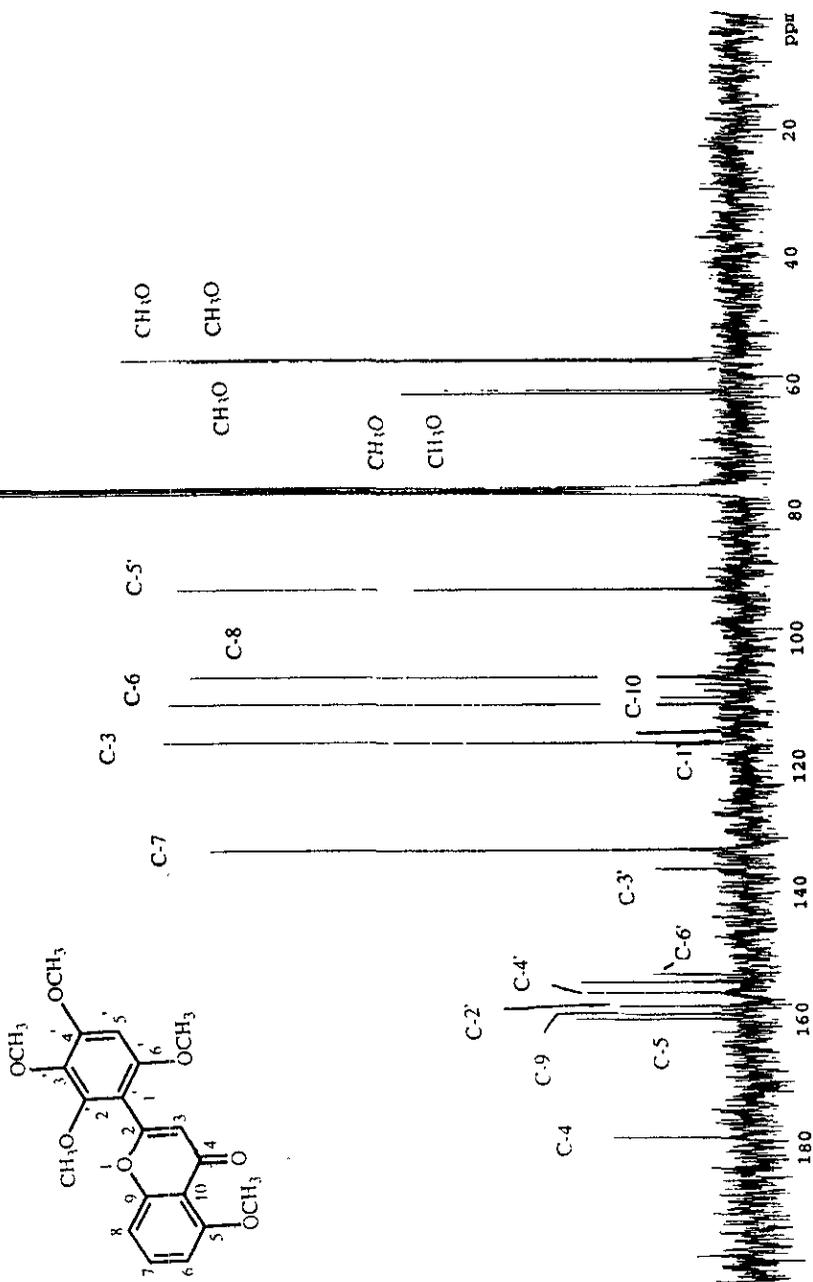
Espectro 18 Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) de la 5, 6, 2', 3', 6'-pentametoxilavona (XIII)



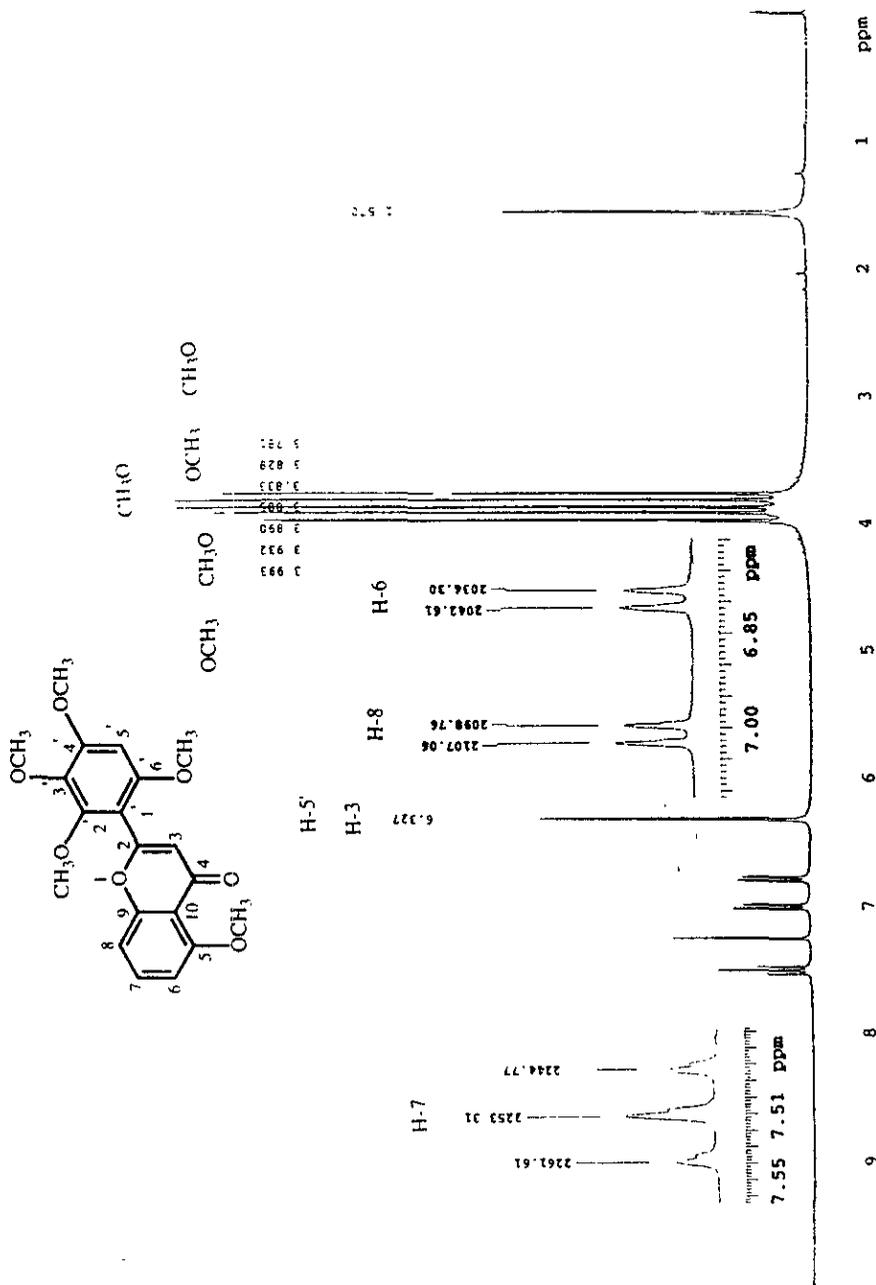
Espectro 19. Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , TMS) de la 5,3',5'-trimetoxiflavona (VIII).



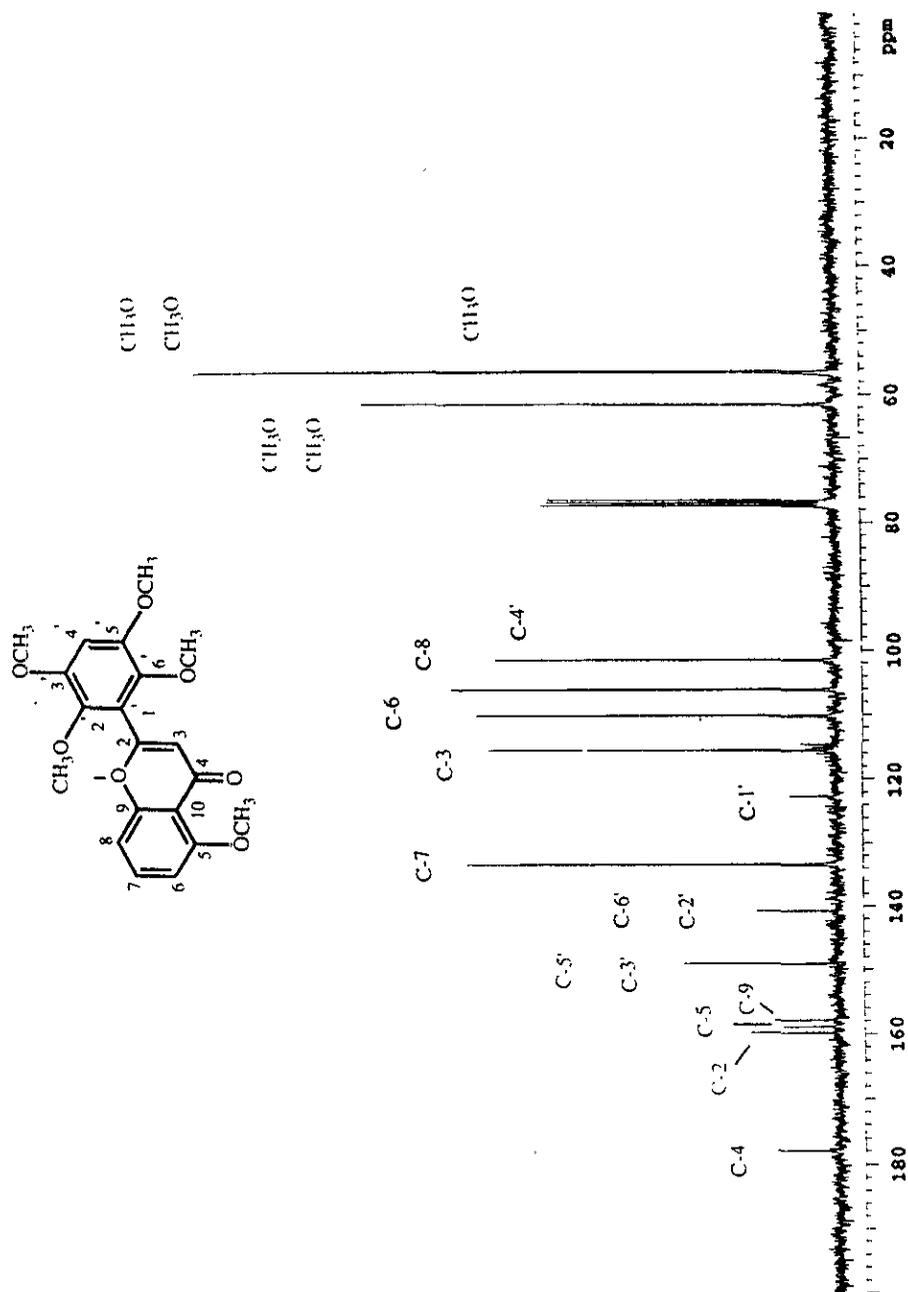
Espectro 20 Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) de la 5, 3', 5'-trimetoxiflavona (VIII).



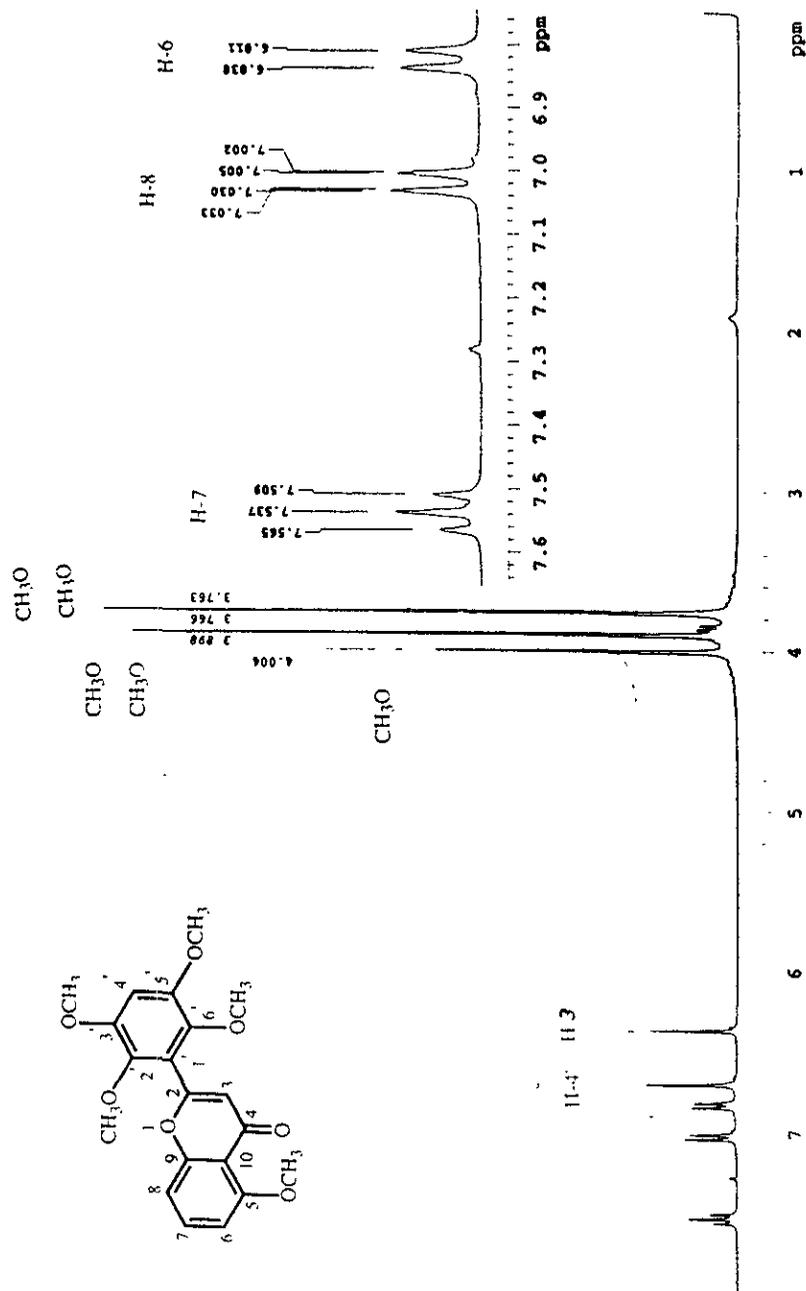
Espectro 21. Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, TMS) de la 5, 2', 3', 4', 6'-pentametoxyflavona (XII).



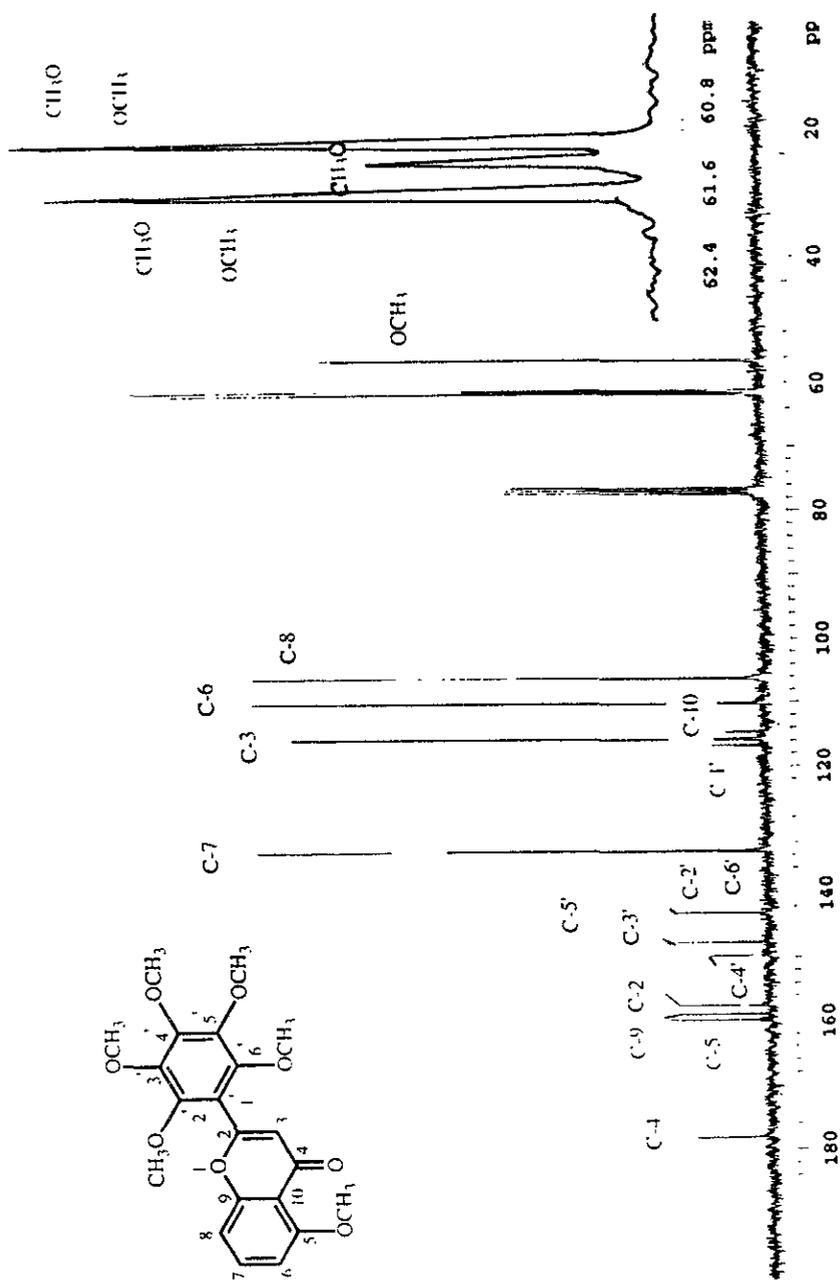
Espectro 22. Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) de la 5, 2', 3', 4', 6'-pentametoxiflavona (XII).



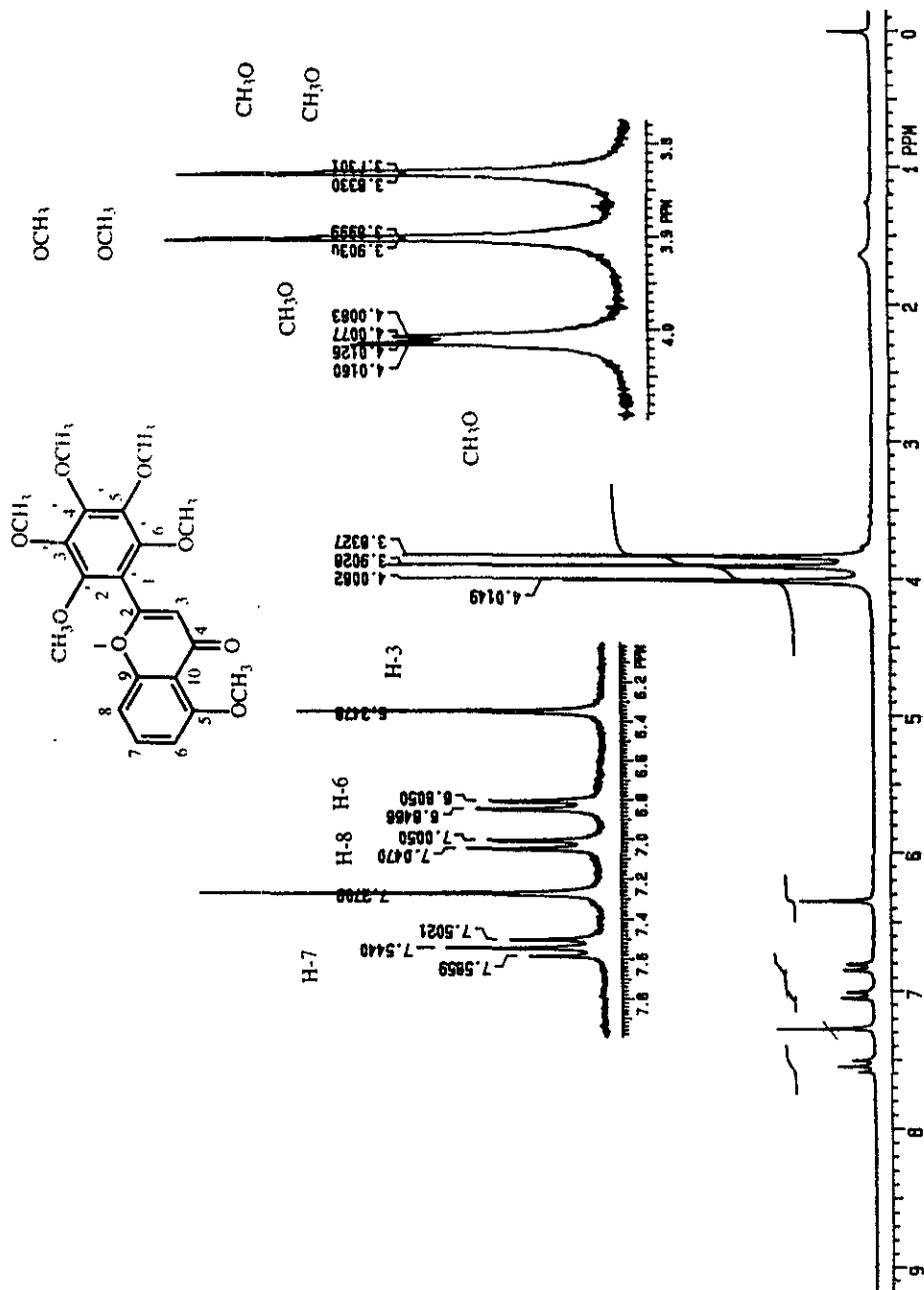
Espectro 23. Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, TMS) de la 5, 2', 3', 5', 6'-pentametoxyflavona (XIV).



Espectro 24. Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) de la 5, 2', 3', 5', 6'-pentametoxiflavona (XIV).



Espectro 25 Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, TMS) de la 5, 2', 3', 4', 5', 6'-hexametoxiflavona (XV).



Espectro 26. Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) de la 5, 2', 3', 4', 5', 6'-hexametoxiflavona (XV).

XI. BIBLIOGRAFIA

1. Waterman, P., **Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales**, Academic Press, London, 1-266, (1983).
2. Cano, G., **Taxonomía de Plantas Superiores, Trillas, México, 271-273**, (1994).
3. Lawrence., **Taxonomy of Vascular Plants**, Macmillan Publishing, New York, 556-558, (1951).
4. Cronquist, A., **An Integrated System of Classification of Flowering Plants**, Columbia University Press, New York, 815-817, (1981).
5. Murray, R., **The Natural Coumarins**, John Wiley & Sons LTD, New York, 1-12, 102-105, 291-294, (1982).
6. Swain, T., **Chemical Plant Taxonomy**, 2a. ed, Academic Press Inc, London, 445, (1965).
7. Rzedowski, J., **Flora Fanerogámica del Valle de México**, Vol. 1, Ed. Continental, México, 374-375, (1979).
8. Martínez, M., **Las Casimiroas de México y Centroamérica**, An. Inst. Biol. 22(1),38-42, (1951).
9. Martínez, M., **Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas**, FCE, México, (1979).
10. Rizvi, S. H., **Alkaloids and Coumarins of *Casimiroa edulis***, *J. Nat. Prod.*, 48 (1), 146, (1985).
11. Lozoya, X., **Flora Medicinal de México**, 1a. parte: Plantas Indígenas, IMSS, México, 130-147, (1982).

12. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana III, Instituto Nacional Indigenista, INI, México, 1413-1414, (1994).
13. Kincl, F. A., The Constituents of *Casimiroa edulis* Lave et Lex, *Journal Chemical Society*, 4163-4171, (1956).
14. Iriarte, J., The Constituents of *Casimiroa edulis* Llave et Lex. Part II, *Journal Chemical Society*, 4170-4171, (1956).
15. Djerassi, C., Alkaloids Studies XV. Casimiroedine., *J. Org. Chem*, **21**, 1510-1511, (1956).
16. Sondheimer, F., The Constituents of *Casimiroa edulis* Llave et Lex. Identification of Edulein with 7-metoxo-1-methyl-2-phenyl-4-quinolone, *J. Org. Chem.*, **23**, 762-763, (1958).
17. Sondheimer, F., Constituents of *Casimiroa edulis* Llave et Lex-VI, *Tetrahedron*, **9**, 139-144, (1960).
18. Dreyer, D. L., The Structure of Zapotin, *Tetrahedron*, **23**, 4607-4612, (1967).
19. Garrat, P.J., Constituents of *Casimiroa edulis* LLAVE ET LEX- VIII, *Tetrahedron*, **23**, 2413-2416, (1967).
20. Dreyer, D. L., Citrus Bitter Principles IX. Extractives of *Casimiroa edulis* Llave et Lex. The Structure of Zapoterin. *J. Organic Chemistry*, **33** (9), 3577-3582, (1968).
21. Romero, M. L., High-Performance Liquid Chromatographic Study of *Casimiroa edulis* , *J. Chrom*, **281**, 245-251, (1983).
22. Enríquez, R.G., High-Performance Liquid Chromatografic Study of *Casimiroa edulis* , *J. Chrom*, **287**, 209-214, (1984).
23. Niembro, R., A., *Arboles y Arbustos Utiles de México*, Limusa Noriega, México, 54, 192, (1990).

24. Aguilar, A., **Plantas Medicinales del Herbario del Instituto Mexicano del Seguro Social**, IMSS, México, 56, (1996).
25. **Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social**, IMSS, México, 180-181, (1994).
26. Zolla, C., **Diccionario Enciclopédico de la Medicina Tradicional**, INI, México, 794-795, (1994).
27. Chiang, F., *Casimiroa greggii*, formerly in *Sargentia*. (*Rutaceae*), *Taxon*, **38**, 116-119 (1989).
28. Domínguez, X. A., Extractives from *Sargentia greggii*, *Phytochemistry*, **2**, 2649-2651, (1972).
29. Domínguez, X. A., Estructura de la Cerrosillina B (5, 6, 3', 4', 5'-pentametoxiflavona) aislada de las hojas del chapote amarillo (*Sargentia greggii*), *Rev Latinoamer Quím*, **7**, 45-46, (1976).
30. Meyer, B. N., Plant Antitumor Agents, 21. Flavones, Coumarins, and an Alkaloid from *Sargentia greggii*, *J. Nat. Prod.*, **48** (6), 952-956, (1985).
31. Harborne, J. B., **Phytochemical Dictionary**, Taylor & Francis, London, 312, 735, 738, (1993).
32. Southon, I. W., **Dictionary of Alkaloids**, Chapman and Hall, New York, 387, (1989).
33. Gray, A. Review. Coumarins in the *Rutaceae*, *Phytochemistry*, **17**, 845-864, (1978).
34. Okogun, J. I., Spectral studies on coumarins and the determination of the constitution of ckersenin by total synthesis, *Tetrahedron*, **34**, 1221-1224, (1978).
35. Petrushenko, N. A., Derivatives of α - and γ -pyrones of *Ruta macrophylla*, *Chem Abs*, **94**, 117796w, (1981).

36. Nagasampagi, B. A., Siderin from *Cedrela toona*, *Phytochemistry*, **14**, 1673, (1975).
37. Bowen, I. H., Alkaloids, Coumarins and Flavonoids of *Micromelum zeylanicum*, *Phytochemistry*, **21** (2), 433-437, (1982).
38. Rakash, D., Coumarins from *Clausena indica*, *Phytochemistry*, **17**, 1194-1195, (1978).
39. Burke, B. A. Coumarins from *Amyris balsamifera*, *Phytochemistry*, **18**, 1073-1075, (1979).
40. González, A. G., Two new coumarins from *Ruta pinnata*, *Phytochemistry*, **16**, 2033-2035, (1977).
41. Cassady, J. M., An Investigation of the Antitumor Activity of *Micromelum integerimum* (*Rutaceae*), *J. Nat. Prod*, **42**, 274-278, (1979).
42. Sharma, P. N., Chemical Constituents of *Toddalia asiatica*, *Chem. Abs*, **96**, 65684c, (1982).
43. Sharma, P. N., Toddanol and Toddanone, two coumarins from *Toddalia asiatica*, *Phytochemistry*, **20**, 335-336, (1981).
44. Wu, T. S., Flavonols and Coumarins from the fruit of *Murraya omphalocarpa*, *Phytochemistry*, **19**, 2227-2228, (1980).
45. Fisher, J. F., High-Performance Liquid Chromatographic. Determination of some Coumarins and Psoralens found in citrus peel oils, *Chem. Abs*, **91**, 181258n, (1979).
46. Badawi, M. M., Potencial anticancer agents. XVIII. Constituents of *Amyris pinnata*, *J. Nat. Prod.*, **44**, 331-334, (1981).

47. Dreyer, D. L., Chemotaxonomy of the *Rutaceae*. III. Isolation of Halfordinol Derivatives from *Aeglopsis chevalieri* Swing, *J. Org. Chem*, **33** (9), 3658-3660, (1968).
48. Junior, P., Eranthin und Eranthin- β -D-Glucosid: Zwei Neue Chromone Aus *Eranthis hiemalis*, *Phytochemistry*, **18**, 2053-2054, (1979).
49. Campbell, W. E., A New Coumarin from *Phyllosma capensis*, *Phytochemistry*, **18**, 688-689, (1979).
50. Zoghbi, I. H., Alkaloids, Coumarins and Flavonoids of *Micromelum zeylanicum*, *Phytochemistry*, **21** (2), 433-437, (1982).
51. Kulkarni, G. H., Constituents of the heartwood *Atalantia monophylla*, *Indian J. Chem*, **19B** (5), 424-425, (1980).
52. Sharma, B. R., Constituents of leaves and fruits of *Aegle marmelos*, *Indian J. Chem*, **19B**, 162, (1980).
53. Rao, A. V. R., Phenolics from the bark of *Chloroxylon swietenia* D. C.: Part II. Isolation of Swietenocoumarins G, H & I, *Indian J. Org. Chem*, **19B**, 1046-1048, (1980).
54. Snyder, J., The Structure of Castanaguyone a biscoumarin plant product, *Tetrahedron lett*, **22** (50), 5015-5018, (1981).
55. Chatterjee, A., Chemical Investigation of *Cedrela toona*, *Phytochemistry*, **10**, 2533-2535, (1971).
56. Dreyer, D. L., Alkaloids, Limonoids and Furocoumarins from three Mexican *Esenbeckia* species, *Phytochemistry*, **19**, 941-944, (1980).
57. Govindachari, T. R., Coumarins of *Clausena dentata* (Willd) R. and S. *Tetrahedron*, **24**, 753-757, (1968).

58. Tatum, J. H., Coumarins and Psoralens in Grapefruit peel oil, *Phytochemistry*, **18**, 500-502, (1979).
59. Ishii, H., Studies on The Chemical Constituents of Rutaceous plants. XLI, *Tetrahedron*, **37**, 285-290, (1981).
60. Sharma, B. R., Marmeline, an Alkaloid and other components of unripe fruits of *Aegle marmelos*, *Phytochemistry*, **20** (1), 2606-2607, (1981).
61. Joshi, B. S., Chemical Constituents of *Atalantia racemosa* Wt. and Arn. Structure and synthesis of Racemosin, a novel pyranocoumarin, *Chem. Abs.*, **89**, 215258p, (1978).
62. Ganguly, S. N., Coumarin from *Murraya paniculata*, *Chem. Abs.*, **90**, 19071d, (1979).
63. Markham, K. R., **Techniques of Flavonoid Identification**, Academic Press, London, 1-35, 72-83, (1982).
64. Domínguez, X., **Métodos de Investigación Fitoquímica**, Ed. Limusa, México, 81-87, 111-116, (1973).
65. Harborne, J. B., **Comparative Biochemistry of the Flavonoids**, Academic Press, Great Britain, 174-180, (1967).
66. Harborne, J. B., **The Flavonoids**, Chapman and Hall, Great Britain, 259-324, 635-645, (1994).
67. Murray, Robert., **The Natural Coumarins**, John Wiley & Sons LTD, Great Britain, 34-46, (1982).
68. Stanley, W. and Vannier S., Chemical Composition of Lemon oil. I. Isolation of a Series of Substituted Coumarins, *J Am Chem Soc*, **79**, 3488, (1957).
69. Sharma, Y. N., Coumarin Constituents of *Heraclaeum Candicans* -III, *Tetrahedron*, **22**, 3221-3225, (1966).

70. Stanley, W. L., Psoralens and substituted Coumarins from expressed oil of lime, *Phytochemistry*, **6**, 585-596, (1967).
71. Elgamal, M. H., ^{13}C NMR Chemical shifts and carbon-proton coupling constants of some furocoumarins and furochromones, *Phytochemistry*, **18**, 139-143, (1979).
72. Bergendorff, O., Furanocoumarins with affinity to brain benzodiazepine receptors *in vitro*, *Phytochemistry*, **44**, (6), 1121-1124, (1997).
73. Dreyer, D. L., Coumarins of *Citrus macroptera*, *Phytochemistry*, **12**, 3011-3013, (1973).
74. Yamaguchi, K., **Spectral data of Natural Products Vol. I**, Elsevier Publishing Company, England, 89-90, (1970).
75. Markham and Thomas., **The Systematic Identification of Flavonoids**, Springer-Verlag, Germany, 254-267, (1970).
76. Machida, K., *Chem Pharm Bull*, **37** (4), 1092-1094, (1989).
77. Agrawal, P.K., **Carbon-13 NMR of Flavonoids**, Elsevier, New York, 123-150, (1989).