

38
2e/



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

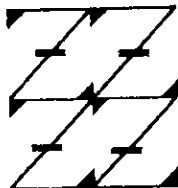
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

ESTUDIO FITOQUIMICO DE *Casimiroa* sp.,
ORIGINARIA DE SAN LUIS POTOSI.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
IMELDA MARQUEZ SANCHEZ

UNAM
FES
ZARAGOZA



LO HUMANO EJE
DE NUESTRA REFLEXIÓN

MEXICO, D. F.

NOVIEMBRE 1998.

2674100

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

AGRADECIMIENTOS



Gracias papá, gracias mamá, por haberme dado la vida y por confiar en mi. Creo que no los defraudé y aquí esta la prueba de ello, les agradezco el haberme dado la oportunidad de ser alguien en la vida y sobre todo brindarme su apoyo, por que sin el, esto no sería una realidad. No puedo decir que lo he logrado todo, pero si un poco de lo que me he propuesto, me falta mucho camino por recorrer, pero se que con ustedes, con mis hermanos (Ma. Guadalupe, Rosa María, Fernando), y con mis sobrinos (Andrea, Daniel y Manuel), a mi lado lo lograré.

Agradezco al Dr. Alfonso Romo, por ayudarme a encontrar un sitio en donde realizar mi tesis.

Agradezco de todo corazón al Dr. Alfredo Ortega, por darme la oportunidad de trabajar a su lado y transmitirme un poco de su conocimiento, que es mucho. y además me permito decirle, que siento una gran admiración y respeto por su persona.

Agradezco a la M en C. Emma Maldonado, por asesorarme durante mi estancia en el Instituto, por hacer que mis errores fueran menos y brindarme su apoyo y su amistad, que para mi vale mucho.

Agradezco al personal del laboratorio 2-7, por la ayuda brindada para con los tesisistas.

Agradezco a los Doctores Quijano y Tirso, por permitirme entrar a sus cursos, en pro de los tesisistas.

Agradezco de manera general al Instituto de Química, por brindar ayuda a los estudiantes que como yo buscamos una oportunidad de realizar una tesis.

Agradezco al Q. Arturo Cano, por aceptar ser mi asesor interno y regalarme una parte de su tiempo.

Agradezco a mis amigos de la Facultad, por exhortarme a seguir adelante.

Y te agradezco a ti (*HIVA*), por haberme brindado tu apoyo, tu paciencia, tu presencia y muchas cosas más, en los momentos en que los necesitaba, quiero decirte que nuestros caminos se encontraron y seguirán así hasta que la vida lo decida. TQM.

INDICE

	Pag.
I.- Introducción	2
II.- Fundamentación Teórica	3-31
II.1.-Las Rutaceas	7-9
II.1.1.-Limonoides y Quassinoides	9-11
II.1.2.-Flavonoides	11-16
II.1.3.-Cumarinas	16-19
II.1.4.-Alcaloides	19-23
II.1.5.-El Género <i>Casimiroa</i>	23
II.1.5.1.- <i>Casimiroa edulis</i>	24-28
a)Descripción Botánica	24
b)Antecedentes Químicos	24-28
II.1.5.2.- <i>Casimiroa greggii</i>	28-31
a)Descripción Botánica	28
b)Antecedentes Químicos	29-31
III.- Planteamiento del Problema	32
IV.- Objetivos	33
V.- Hipótesis	34
VI.- Material	35-36
VII.- Metodología	37-39
VIII.- Diagrama de Flujo	40

IX.- Resultados	41-51
IX.1.-Cumarinas	41
IX.1.1.-Espectroscopía	42-43
IX.2.-Flavonas	46
IX.2.1.-Espectroscopía	47-48
IX.3.-Sesquiterpeno	51
IX.3.1.-Espectroscopía	51
X.- Análisis de Resultados	52-68
X.1.-Cumarinas	52-59
X.2.-Flavonas	60-67
X.3.-Sesquiterpeno	68
XI.- Espectros	69-83
XII.- Conclusiones	84
XIII.- Recomendaciones	85
XIV.- Bibliografía	86-91

INDICE DE TABLAS

	Pag.
TABLA 1. Datos de Resonancia Magnética de Hidrógeno (RMN ¹ H), de las Cumarinas Aisladas de <i>Casimiroa sp.</i> (300 MHz, 200 MHz, CDCl ₃)	44
TABLA 2. Datos de Resonancia Magnética Nuclear de Carbono (RMN ¹³ C), del Compuesto V. (75 MHz, CDCl ₃).	45
TABLA 3. Datos de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN ¹ H), de las Flavonas Aisladas de <i>Casimiroa sp.</i> (300MHz, CDCl ₃).	49
TABLA 4. Datos de Resonancia Magnética Nuclear de Carbono (RMN ¹³ C), de las Flavonas Aisladas de <i>Casimiroa sp.</i> (75 MHz, CDCl ₃)	50

ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de Etilo.
<i>c</i>	Cuarteto.
CCF	Cromatografía en Capa Fina
<i>d</i>	Doblete
<i>dd</i>	Doble de Doble
δ	Desplazamiento Químico.
EM	Espectrometría de Masas.
g	Gramos.
Hz	Hertz
HETCOR	Correlación Heteronuclear a Larga Distancia
IR	Infrarrojo.
<i>J</i>	Constante de Acoplamiento.
mg	Miligramos.
<i>m/z</i>	Masa/Carga
<i>pf</i>	Punto de Fusión.
ppm	Partes por Millón.
PM	Peso Molecular
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono.
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno.
<i>s</i>	Singulete
<i>t</i>	Triplete

I.- INTRODUCCION

México es un país que contiene una gran diversidad de plantas, de las cuales desde tiempos inmemoriales, los antiguos pobladores tienen conocimiento. Estos grupos obtuvieron información sobre las propiedades medicinales de un gran número de plantas, mediante ensayo y error. Los conocimientos han sido acumulados por ciertos individuos, que los han transmitido de generación en generación, a determinados aprendices y a sus descendientes, quienes se han encargado de dejar plasmada la información acerca de la utilidad de estas plantas.¹

Dicha información ha servido año tras año para continuar con las investigaciones químicas y farmacológicas, ya que la variedad de plantas a las que se les atribuye propiedades medicinales es muy grande, y todavía hay una gran cantidad de ellas de las que se desconoce su composición y por tanto, su efecto terapéutico. Sin embargo, debido a la clasificación botánica por la que se conoce a estas plantas y por los antecedentes químicos de las ya conocidas, se puede anticipar a los resultados, sin descartar la posibilidad de encontrar productos nuevos. El proceso inverso, aunque no muy común, también es de mucha utilidad; es decir, que a partir de los productos obtenidos se clasifique a la planta.

Tal es el caso del género *Casimiroa*, del cual sólo se han trabajado dos de sus especies, siendo la más estudiada *Casimiroa edulis*, conocida desde tiempos remotos como zapote blanco, la cual contiene productos como: flavonas, cumarinas, alcaloides y N, N-dimetilhistamina. Esta última responsable de provocar sueño a quien ingiere el zapote blanco. Dicha información sirvió como base para el estudio de *Sargentia greggii*, la cual mostró una composición química similar a la *Casimiroa edulis*, por lo que se consideró oportuno cambiar el nombre de *Sargentia greggii* por el de *Casimiroa greggii*, de esta manera la información obtenida sirve para el estudio de las especies no estudiadas.

Así como el caso anterior hay otros tantos, por lo que se debe dar continuidad a este tipo de trabajos, para que se sigan descubriendo los misterios que la Naturaleza aún guarda.

II.- FUNDAMENTACION TEÓRICA

El estudio de los compuestos naturales aislados de plantas, ha progresado hasta el presente estado de desarrollo a través de varias y distintas etapas. Durante la primera fase (un poco antes del siglo XIX), cuando la química orgánica fue transformada de una ciencia empírica a una ciencia de estructuras teóricas establecidas, los químicos se abocaron al descubrimiento de nuevos compuestos, no pudiendo ser evaluados en los laboratorios. Se tuvieron serias controversias en cuanto a sus estructuras. Más tarde se complementó su estudio hasta tener solamente estructuras preliminares. Los problemas se fueron resolviendo de diversas formas, solamente y hasta esos momentos se manejaba el aislamiento, purificación y el análisis individual de los compuestos.²

Numerosos compuestos naturales, extraídos a partir de diferentes fuentes fueron conocidos al final del primer cuarto del siglo XIX. Desde entonces se han aislado diversas sustancias químicas provenientes de plantas, como las que se ilustran en el cuadro 1.²

En el presente siglo, se han preparado y desarrollado reactivos y técnicas instrumentales para la determinación estructural de compuestos químicos, tales como: Espectroscopia de Ultravioleta e Infrarrojo, Resonancia Magnética Nuclear, Espectrometría de Masas y Cristalografía de Rayos-X. Estos métodos proporcionan información en unas cuantas horas a diferencia de los métodos clásicos de degradación que duraban meses y hasta años para obtener un resultado.²

CUADRO 1: Primeros Compuestos Naturales Extraídos de Plantas.

AÑO	COMPUESTO	DESCUBRIDOR
1817	MORFINA	SERTÜRNER
1817	NARCOTINA	ROBIQUET
1818	ESTRIGNINA	PELLETIER Y CAVENTOUR
1819	BRUCINA	PELLETIER Y CAVENTOUR
1820	QUININA	PELLETIER Y CAVENTOUR
1820	CINCHONINA	PELLETIER Y CAVENTOUR
1821	CAFEINA	PELLETIER Y CAVENTOUR
1824	TAURINA	GMELIN
1827	CONINA	GLESECKE
1828	NICOTINA	POSSELT Y RIEMANN
1831	ATROPINA	HESSE
1832	CODEINA	ROBIQUET
1834	CREATINA	CHEVREUL
1837	AMIGDALINA	LIEBIG Y WÖHLER
1839	SALICINA	PIRIA
1841	BORNEOL	PELOUZE
1845	ALCANFOR	BOUCHARDAT
1846	TIROSINA	LIEBIG
1848	PAPAVERINA	MERCK
1859	COCAINA	NIEMANN

El desarrollo de la química de productos naturales ocurrió primeramente por la contribución de botánicos y químicos; esto fue derivado de la necesidad de clasificar botánicamente a las plantas. En épocas pasadas, el hombre aprendió a identificar muchas plantas, las cuales tenían una utilidad muy diversa —especies, medicinas, alimentos, drogas o símbolos religiosos—. Los primeros escritos sobre botánica datan del año 300 a.C., los cuales fueron elaborados por Teofrasto (discípulo de Aristóteles), quien describió y clasificó alrededor de 500 especies en el libro *Historia Plantarum*, tomando en consideración sus características morfológicas —forma de la corola y hojas, posición del ovario, etc.—. Sin embargo, fue Carlos de Linneo (botánico, nacido en Suecia), quien estableció un método de clasificación basado en los caracteres sexuales de las plantas, método que resultó ser muy novedoso en aquellos tiempos y que plasmó en su obra *Species Plantarum*.³

Posteriormente, Carlos Darwin realizó una nueva clasificación, que es conocida como *Sistemas Naturales*, la cual se fundamenta esencialmente en estudios comparativos de las características genéticas, morfológicas y anatómicas de las plantas; algunas de estas características

son muy generales y sirven para la separación en grandes categorías sistemáticas, tales como división, clase y orden. Otras son menos generales, pero convenientes para delimitar pequeños grupos de plantas en familia, género y especie.³⁻⁴

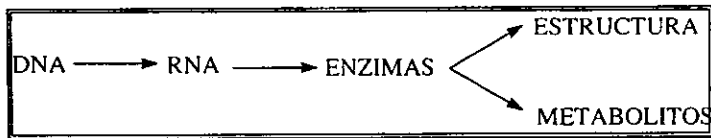
La taxonomía química, también llamada quimiotaxonomía o sistemática química, se define como una división de la ciencia que emplea los compuestos químicos distintivos, más específicamente los metabolitos secundarios (alcaloides, terpenoides, flavonoides, entre otros), de un grupo de organismos para determinar su condición en una clasificación ordenada de acuerdo a su evolución dentro de los seres vivos.¹

La contribución que hace la química a la clasificación de las plantas, se fundamenta en los constituyentes químicos de la misma, es decir, en las características moleculares; estas características tienen prioridad sobre las morfológicas, puesto que las primeras pueden ser descritas en términos de estructura y fórmula química.⁴

Una planta es una manifestación del genotipo, determinado como su nombre lo indica por los genes en los cromosomas, pero es además influenciado por el medio ambiente. La expresión combinada de éste en la planta es llamado el fenotipo.⁵

Hasta hace poco tiempo, la taxonomía se basaba exclusivamente en la estructura y en algunos caracteres macromorfológicos. En el presente, los rasgos más notables de la estructura pueden ser estudiados más a fondo, y además la información química está comenzando a incrementarse.⁵

Haciendo una consideración de acuerdo a la información genética, la secuencia es expresada de la siguiente manera:⁵



La estructura de la planta y los metabolitos representan el último nivel en la jerarquización.

El estudio del metabolismo, fundamental y vital para los seres vivos, tiene un complejo mecanismo de reacciones enzimáticas, las cuales comienzan con el dióxido de carbono y la fotosíntesis que conducen hasta llegar a diversos compuestos llamados metabolitos primarios, por ejemplo: aminoácidos, acetil coenzima A, ácido mevalónico, azúcares y nucleótidos. Al mecanismo tan complejo que se requiere para las reacciones bioquímicas vitales se le conoce como metabolismo primario.⁵

Los metabolitos primarios se distinguen de los secundarios por los siguientes criterios: estos últimos tienen una restringida distribución en plantas y algunos microorganismos, y son a menudo característicos de géneros, especies o clases individuales; son formados a partir de las rutas metabólicas especiales, los cuales son sólo importantes para el organismo que los produce; en contraste, los metabolitos primarios tienen una amplia distribución en los seres vivos y tienen una relación íntima con los procesos esenciales de la vida.^{2,5-6}

Los miembros del taxa estrechamente relacionados, se trataban químicamente para obtener compuestos particulares, comparando la cantidad de compuestos extraídos (o bien, su presencia en relación a su carencia). Cuanto más similares son los taxa, desde el punto de vista químico, tanto más cercana se supone que es su relación genética.⁴

Los principales problemas a los que se enfrenta la quimiotaxonomía contemporánea son de índole biológico, y estos son:⁴

- La localización de características químicas con un grado adecuado de variabilidad, es decir, que sólo aparezcan entre el 20-60% de los miembros del conjunto.
- La presencia o ausencia de ciertos caracteres químicos.
- La variación de los metabolitos secundarios de órgano a órgano.
- La variación intraespecífica de sus componentes.
- La edad del material vegetal.

Los cambios relativamente pequeños en la planta, que se deban a mutaciones, pueden ocasionar grandes diferencias en la formación de productos secundarios, debido a que puede ser bloqueada alguna ruta biosintética, la cual puede permanecer "latente" durante mucho tiempo. Si tales cambios interfieren con el estado inicial de una ruta biosintética, las plantas pueden presentar anomalías químicas.⁴

Todos los organismos vivos están sujetos a variaciones, y de vez en cuando hay diferencias considerables dentro de la misma especie; ciertos compuestos pueden estar presentes aunque en pequeñas cantidades, lo que ocasiona que se escapen de ser observados. Lo anterior puede deberse a factores climatológicos, condiciones de la tierra, tiempo, entre otros.⁴

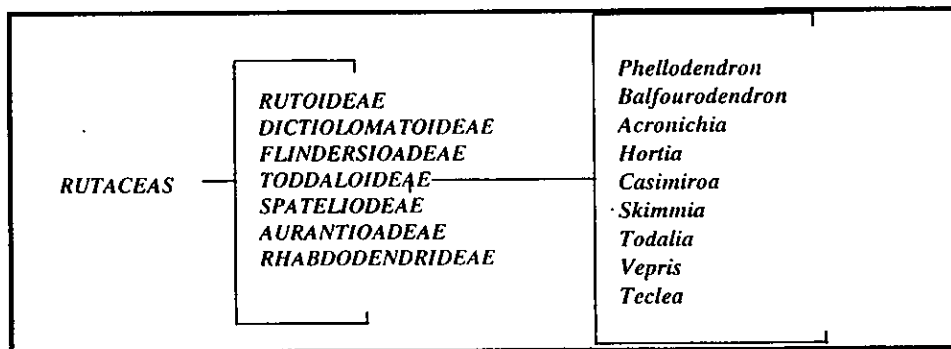
II.1.- LAS RUTACEAS

Las plantas de más amplia distribución en todo el mundo pertenecen al orden de las *Rutales*, el cual se encuentra formado por cinco familias, entre las cuales se encuentran las *Rutaceae*, *Meliaceae*, *Ptaeroxylaceae*, *Simaroubaceae* y *Cneoraceae*; siendo las rutáceas una de las familias con mayor diversidad botánica.⁷⁻⁸

Las rutáceas, es una familia en la que sus miembros pueden ser árboles, arbustos (ocasionalmente subarbustos), plantas herbáceas perennes o frutescentes, con hojas opuestas o alternas con frecuencia marcadas de puntos translúcidos, que pueden observarse a contraluz de las

hojas (mismas que pueden ser alternas, simples o compuestas, y aromáticas, siendo una característica distintiva de esta familia). Estos puntos son glándulas aceitosas, que segregan un aceite esencial, que desprende en algunos casos un olor desagradable.⁸⁻¹⁰ Sus flores son pequeñas de color blanco verdosas, hermafroditas, actinomorfas (raramente zigomorfas), pentámeras, algunas veces tetrámeras o trimeras, rara vez de un sólo sexo. Su fruto es de 2 a 12 cm, conteniendo de 1 a 5 semillas, en una cápsula que se abre en otras tantas; otras veces tiene valvas septíferas como cavidades. Su distribución es cosmopolita, localizándose principalmente en regiones tropicales y templadas, y crece especialmente en Australia, Sudáfrica y América.^{8-9,11} Esta familia se encuentra constituida por aproximadamente 150 géneros y 1600 especies (ver cuadro 2).

CUADRO 2: Subfamilias y Géneros de la Familia Rutaceae.



De los 150 géneros comprendidos en la familia Rutaceae, la mayoría pertenecen a las subfamilias *Rutoideae*, *Toddaloideae* y *Aurantioadeae*, en tanto que las *Spateliodeae*, *Dictiolomatoideae* y *Rhabdodendrīdeae* corresponden a tres pequeñas subfamilias. A su vez la subfamilia *Toddaloideae* consta de nueve géneros, de los cuales el más importante para este estudio es el género *Casimiroa*¹²

Otra característica importante de esta familia, es que en ella se encuentran las especies productoras de cítricos, tales como: limas, limones, naranjas entre otras, que producen jugos de

frutas, muy apreciados por su sabor y alto contenido en vitamina C, lo cual le confiere una gran importancia económica; además de presentar un uso extenso en el campo de la medicina.^{9,11}

El aspecto químico de la familia *Rutaceae* es uno de los más interesantes y complejos, debido a la formación de limonoides, flavonoides, furanocumarinas, alcaloides y otros metabolitos secundarios, que pueden estar presentes en los frutos, semillas, hojas, tallos y raíces.¹²

II.1.1.- LIMONOIDES Y QUASSINOIDES

Los limonoides y quassinoides son al igual que los alcaloides, derivados del ácido antranílico; los metabolitos más característicos de los *Rutales*, los limonoides y quassinoides parten de un origen común, el triterpeno tetracíclico tirucalol (S, H-20, C-20 α) (1) y rara vez de eufol (R, H-20, C-20 β).^{7,13}

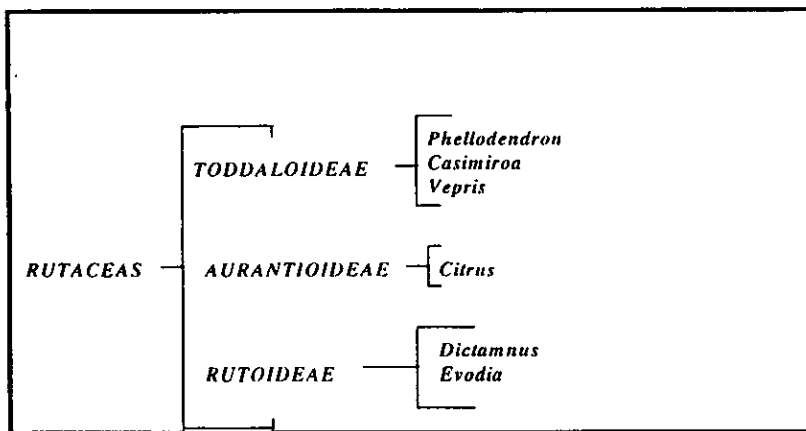
Los limonoides están relacionados en especial con las familias *Rutaceae*, *Meliaceae* y *Simaroubeceae*. Se localizan principalmente en las tres subfamilias más grandes de las rutáceas, las cuales son *Toddaloideae*, *Aurantioideae* y *Rutoideae*; así mismo, cada una se distribuye en sus diferentes géneros (ver cuadro 3), a partir de los cuales se han aislado principalmente nomilina (2), obacunona (3) y limonina (4).¹⁴

Los limonoides en este grupo de plantas han sido aislados principalmente de las semillas del género *Citrus*.¹⁵⁻¹⁶

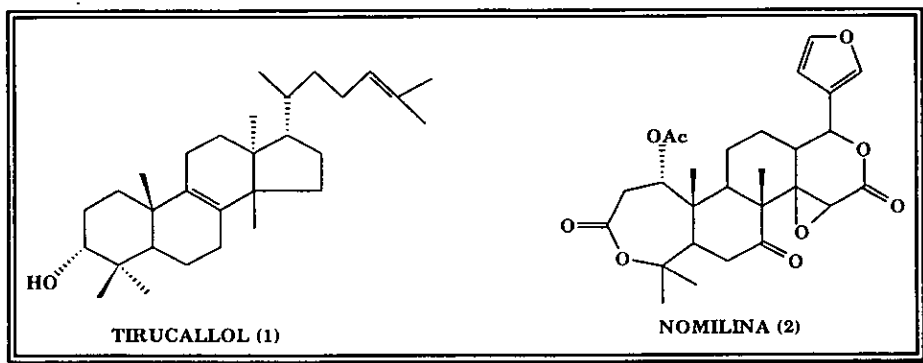
El limonoide más ampliamente distribuido es la limonina (4) que ha sido obtenido de *Choisya arizonica*, *C. mollis*, *C. ternata*, *Esenbeckia hartmanii*, entre otras.¹²

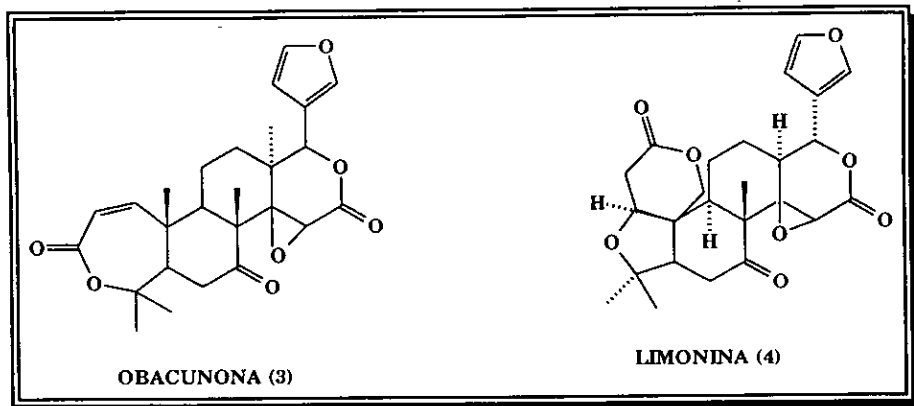
Los limonoides en este grupo de plantas han sido aislados principalmente de las semillas del género *Citrus*.¹⁵⁻¹⁶

CUADRO 3: Subfamilias Productoras de Limonoides.



El limonoide más ampliamente distribuido es la limonina (4) que ha sido obtenido de *Choisya arizonica*, *C. mollis*, *C. ternata*, *Esenbeckia hartmanii*, entre otras.¹²



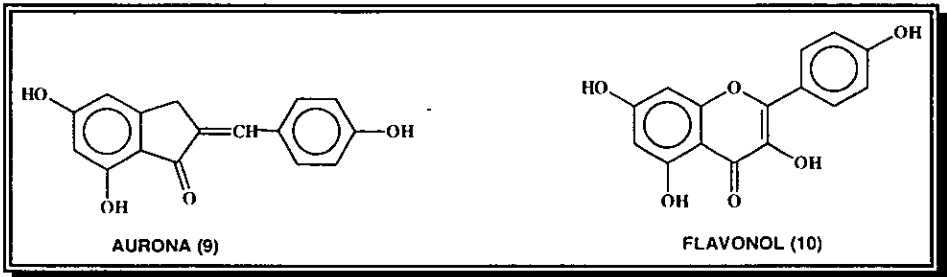
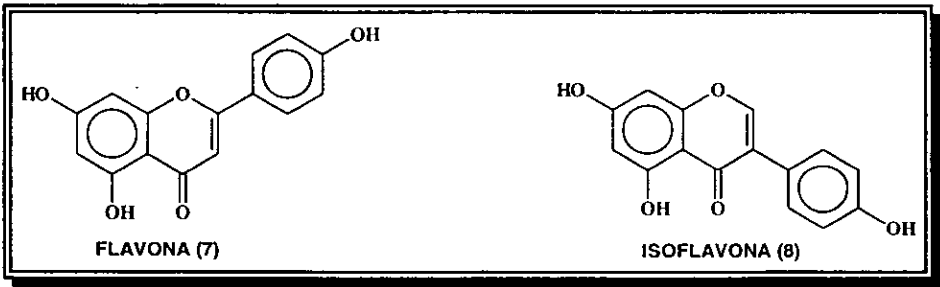
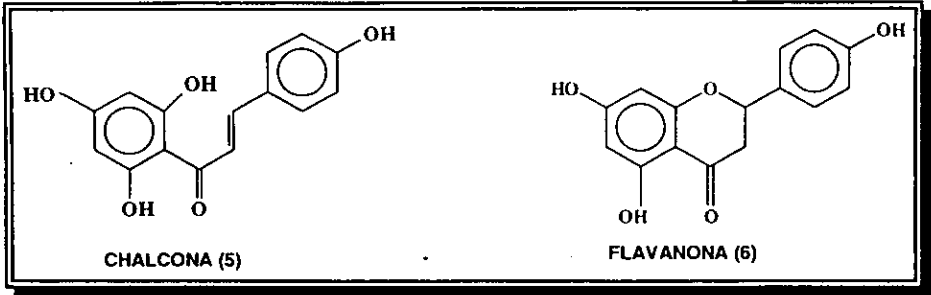


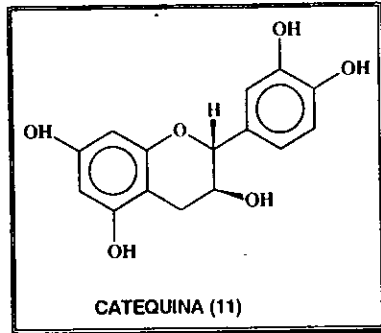
II.1.2.- FLAVONOIDES

Se estima que alrededor del 2% de todo el carbono sintetizado por las plantas es transformado en flavonoides o en compuestos relacionados. Los taninos, que son muy abundantes en las plantas, son también derivados de los flavonoides. ¹⁷

Todos los flavonoides contienen en su núcleo básico, 15 átomos de carbono repartidos en 2 anillos aromáticos y un anillo que cuenta con un heteroátomo; por conveniencia los anillos son denominados como A, B y C. ¹

Los flavonoides son pigmentos que poseen un esqueleto carbonado C₆-C₃-C₆, como se encuentra en la chalcona (5), flavanona (6), flavona (7), isoflavona (8), aurona (9), flavonol (10) y catequina (11). ¹⁷⁻¹⁸

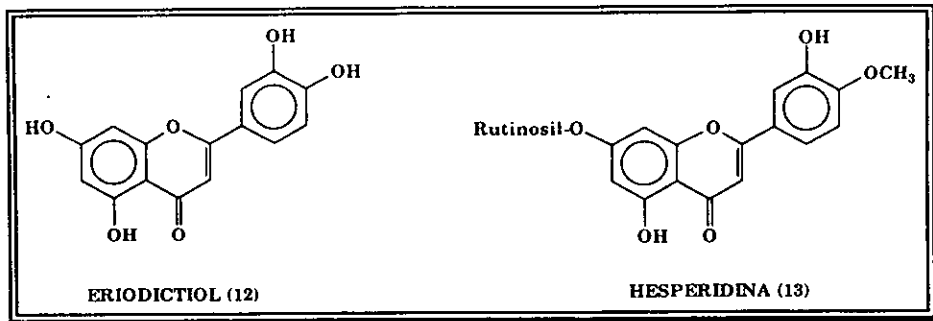




Los flavonoides son un gran grupo de metabolitos secundarios relacionados entre sí, ya que se forman por una vía biosintética común, la cual incorpora precursores tanto del acetato malonato como del ácido shikímico.^{17,19}

Los flavonoides se generan casi exclusivamente en las plantas vasculares, tanto libres o en forma de glicósidos; estos últimos contribuyen a darle color a las flores, frutos y hojas, siendo también responsables de algunos de los sabores de comidas y bebidas que se originan de plantas,¹⁹ las agliconas son más frecuentes en el tejido leñoso.¹ Asimismo desempeñan un importante papel en la atracción de pájaros e insectos para la polinización, además de otras actividades, como:¹⁷

- Acción fungicida.
- Regulación del crecimiento.
- Repelencia o atracción de insectos.
- Existen informes de efectos antiescorbúticos.
- Pueden tener poder inhibitorio en la fosforilación oxidativa.
- Algunos son antioxidantes, otros son inhibidores enzimáticos o bien pantalla frente a radiaciones nocivas.²⁰
- Se conoce que la administración de la mezcla de flavonas eriodictiol (12), y hesperidina (13), llamada citrina, conduce a un decremento en la permeabilidad y fragilidad de capilares sanguíneos.²¹



Los flavonoides generalmente se presentan como mezclas en las plantas y es muy raro encontrar un sólo tipo de flavonoide en un tejido vegetal. Las antocianinas que le dan el color a los pétalos de las flores, a menudo se encuentran acompañadas por flavonas o flavonoles.²²

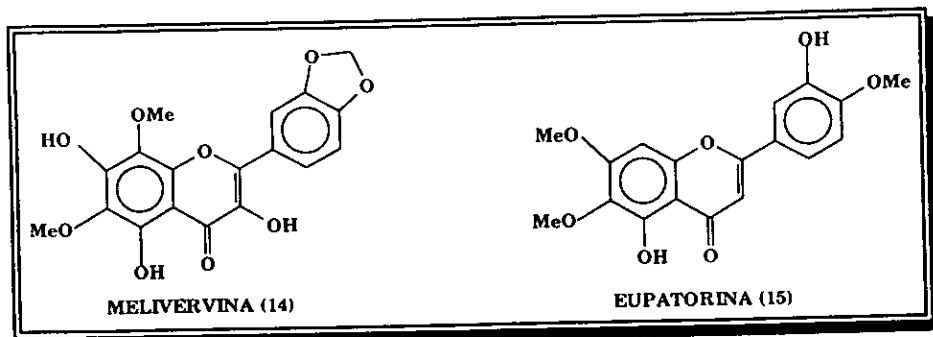
La extracción de los flavonoides se realiza generalmente con disolventes de polaridad creciente, debido a que presentan toda la gama de solubilidad, desde totalmente solubles en agua, hasta insolubles en ella; por regla general, son insolubles en éter de petróleo, lo que permite desengrasar el material antes de extraerlo. Su purificación se logra a través de las diferentes técnicas cromatográficas empleando diferentes tipos de fase estacionaria como poliamida, celulosa, sílice, entre otros.^{20,22}

Su identificación se realiza por medio de reacciones químicas, métodos espectroscópicos y espectrométricos, donde la espectroscopia de ultravioleta tiene una importancia especial (ver cuadro 4), ya que presentan espectros característicos dependiendo de la naturaleza y posición de los sustituyentes, los cuales pueden ser modificados por ionización, reacciones con ácidos de Lewis o por formación de complejos.^{20,23}

CUADRO 4: Características de los Flavonoides.²²

CLASE	DISTRIBUCION	PROPIEDADES
FLAVONOLES	GENERALMENTE INCOLOROS, PRESENTES EN LAS FLORES CIANICAS Y ACIANICAS; GRAN DISTRIBUCION EN HOJAS.	DESPUES DE UNA HIDROLISIS ACIDA, BRILLAN AMARILLO EN LUZ U.V Y EN CROMATOGRAFIA.
FLAVONAS	GENERALMENTE INCOLOROS PRESENTES EN LAS FLORES CIANICAS Y ACIANICAS, GRAN DISTRIBUCION EN HOJAS.	DESPUES DE UNA HIDROLISIS ACIDA, SE OBSERVA UN COLOR CAFE, EN LUZ U.V Y EN CROMAT.
CHALCONAS Y AURONAS	PIGMENTOS AMARILLOS DE FLORES; OCASIONALMENTE SE PRESENTA EN OTROS TEJIDOS.	DAN UN INTENSO COLOR ROJO CON AMONIACO.
FLAVANONAS	INCOLORAS, SE ENCUENTRAN EN HOJAS Y FRUTAS (ESPECIALMENTE EN Citrus).	DAN UN INTENSO COLOR ROJO EN SOLUCION ACIDA DE Mg METALICO.
ISOFLAVONAS	INCOLORAS, SE ENCUENTRAN A MENUDO EN RAICES. SON COMUNES EN LAS LEGUMINOSAS.	NO HAY UNA PRUEBA ESPECIFICA DE COLOR.

A pesar de la gran diversidad de los flavonoides, su presencia en las *Rutales* no es muy conocida; hasta este momento únicamente se han encontrado en algunos géneros de las rutáceas —*Citrus*, *Murraya*, *Merrilia*, *Melicope*, *Micromelum* y *Zanthoxylum*— los cuales producen flavonas y flavanonas polioxigenadas. La melivervina (14), fue aislada del género *Melicope*, mientras que del género *Merrilia* se ha obtenido eupatorina (15).^{7,24}

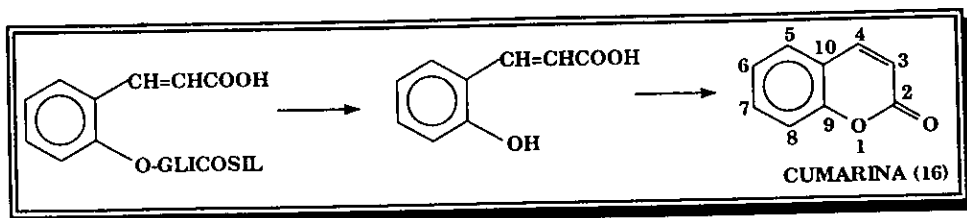


II.1.3.- CUMARINAS

El aislamiento de cumarinas fue informado por primera vez en Munich en 1820, el nombre de cumarinas se origina de la palabra "Coumarou", del árbol llamado botánicamente en algún tiempo como *Coumarouna odorata*. Coumarina es ahora el nombre trivial aceptado para los compuestos cuya estructura se representa como (16).²⁵

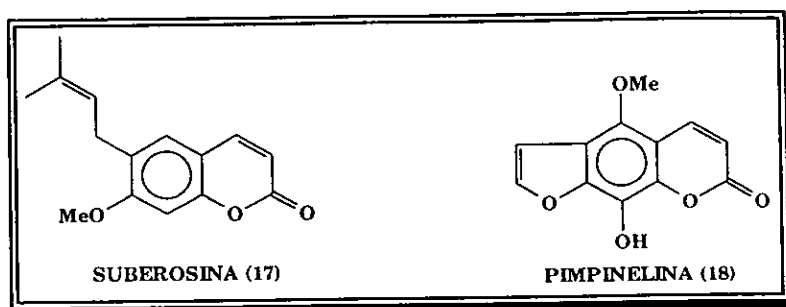
Las cumarinas son lactonas del ácido *o*-hidroxicinámico y presentan como esqueleto base a la 2H-1-benzopirán-2-ona.¹⁷

Pueden obtenerse artificialmente mediante una hidrólisis enzimática del ácido glicosil *o*-hidroxicinámico y la posterior ciclación de la lactona.¹⁷



Las cumarinas se pueden encontrar en diversas partes de las plantas y muy frecuentemente en plantas vasculares, tales como orquidáceas, y leguminosas.¹⁷

Las cumarinas son sustancias fluorescentes, comúnmente fotosensibles; existen varias cumarinas con una o varias cadenas de isopreno como la suberosina (17), o con un anillo de furano (furanocumarina) como la pimpinelina (18). Estos se forman por la alquilación de las cumarinas, con una subsecuente pérdida de tres átomos de carbono.²⁶⁻²⁷

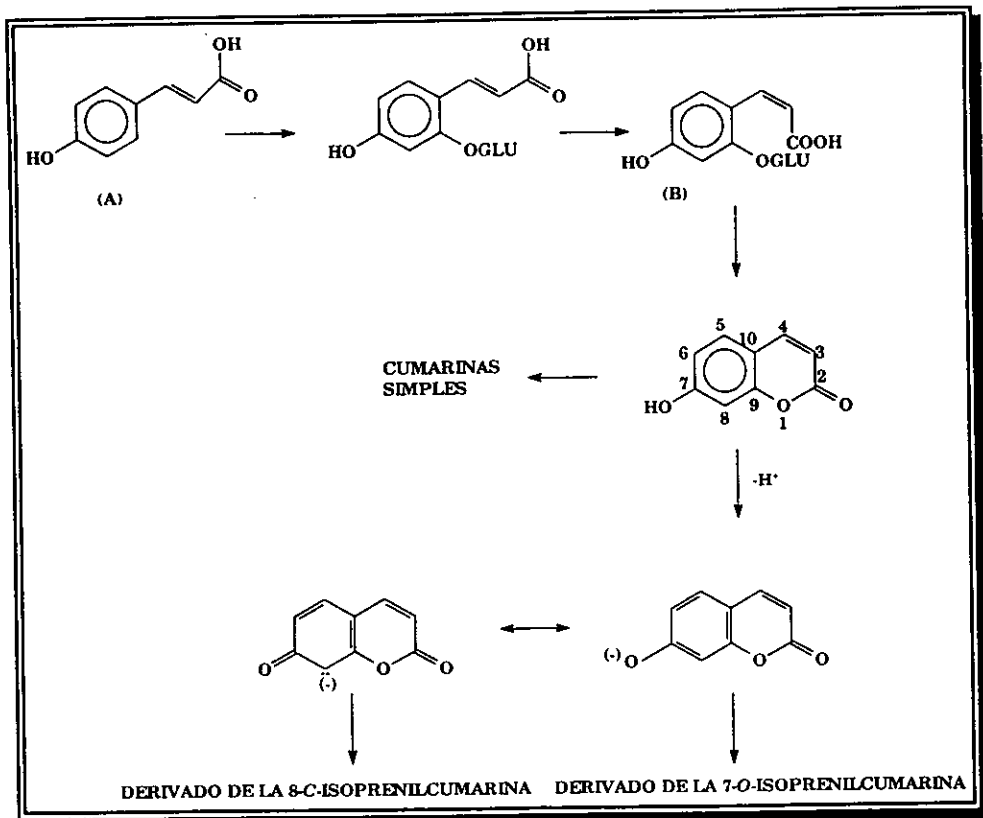


Estos compuestos son frecuentes en las plantas superiores, especialmente en las dicotiledóneas, aunque las fenilcumarinas son aisladas de un hongo. Se pueden encontrar en todas las partes de las plantas.²⁵

Una característica distintiva de las cumarinas aisladas de la familia *Rutaceae* es que presentan una función oxigenada en el carbono 7, lo que sugiere que los ácidos *trans* y *cis*-*p*-cumáricos son los precursores de las cumarinas aisladas de rutáceas, como se muestra en el Esquema 1.

El ácido *p*-cumárico (ácido-4-hidroxicinámico) (A) formado de la desaminación de la fenilalanina, sufre una oxidación en la posición -*orto* (B), seguido de una glucosilación e isomerización formando el derivado correspondiente del ácido *cis*-cinámico.^{7,24}

ESQUEMA 1¹⁷: Síntesis de las Cumarinas.



Cuando a la estructura base de la cumarina se le adiciona una unidad isoprenica, se generan cumarinas preniladas y sus derivados de furano y pirano, las cuales son sustancias características de las familias *Rutaceae* y *Umbelliferae*.²⁶⁻²⁸

Las cumarinas son compuestos, que se presentan con frecuencia en las *Rutales*, tienen varios efectos fisiológicos en plantas, animales y en el mismo hombre, como lo han demostrado diversos estudios biológicos, algunos de tales efectos se mencionan a continuación:

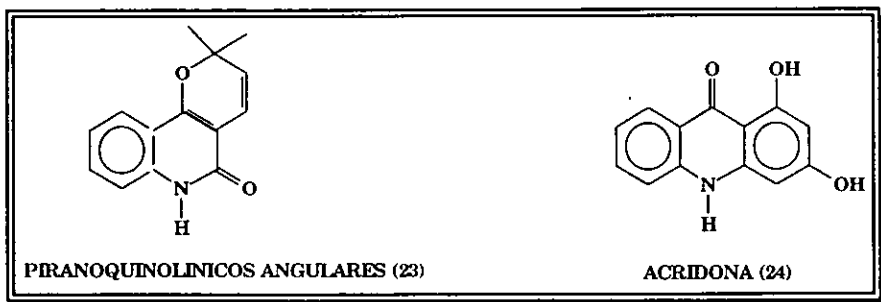
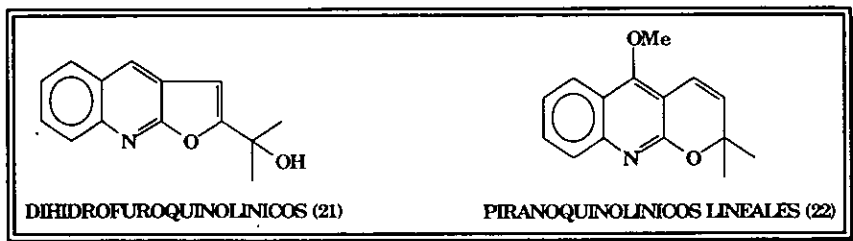
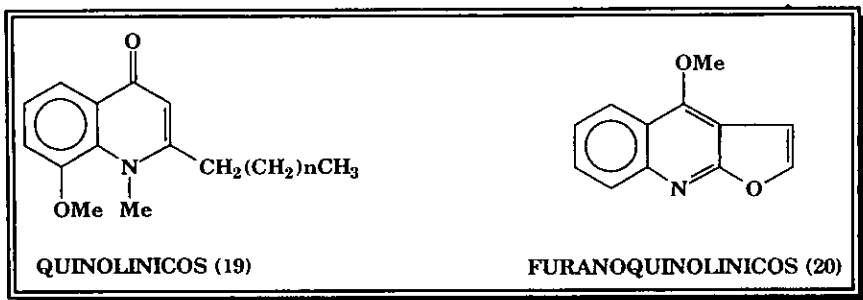
- Estimulación en la producción de etileno.

- Inhibición de la síntesis de celulosa.
- Incremento en la permeabilidad de la membrana.
- Efectos tóxicos sobre microorganismos.
- Insecticidas.
- En el caso de las furanocumarinas inhiben la germinación de las semillas.
- Su papel fisiológico se conoce parcialmente, pese a su abundancia en la naturaleza y a su diversidad estructural, pero se ha encontrado que puede tener efectos tóxicos en animales, efectos diuréticos, vasodilatadores y propiedades anticoagulantes.^{7,24}
- Se han realizado diversos estudios acerca de la actividad biológica de cumarinas aisladas de rutáceas, encontrando que pueden ser anticancerígenos.²⁸
- Los derivados del psoraleno tomados oralmente, han sido usados contra las quemaduras ocasionadas por el sol.¹⁷

II.1.4.- ALCALOIDES

Dentro de la familia *Rutaceae*, los alcaloides biosintetizados por las plantas de esta familia, se han identificado como metabolitos característicos derivados de la tirosina, del ácido antranílico, del triptófano y los del tipo quinolínicos.²⁹

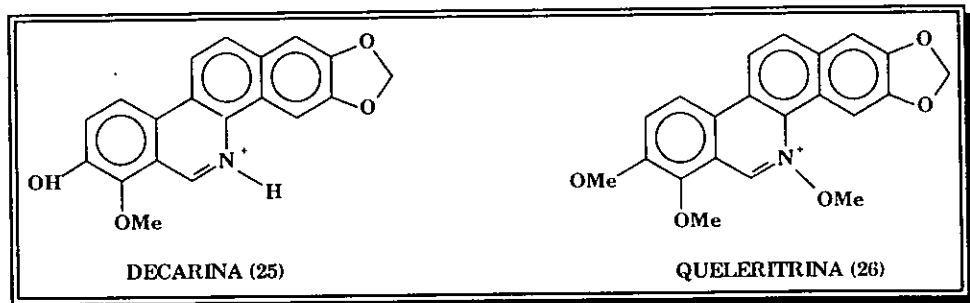
Los alcaloides derivados del ácido antranílico, forma un grupo muy grande confinado al orden de las *Rutales*, entre los que se pueden encontrar a los quinolínicos (19), furanoquinolínicos (20), dihidrofuroquinolínicos (21), piranoquinolínicos lineales (22) y angulares (23), y los derivados de la acridona (24).²⁹



Se tiene información de que algunos de estos alcaloides poseen actividad biológica significativa, por ejemplo los alcaloides furanoquinolinicos, presentan actividad mutagénica, en tanto los derivados de la acridona, tienen una actividad espasmolítica.²⁹

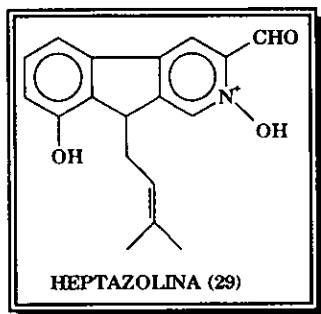
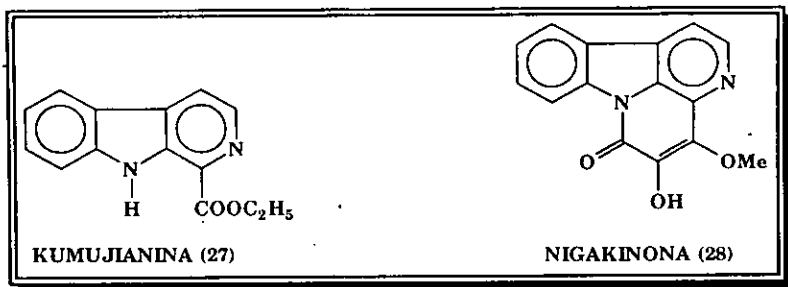
Los alcaloides derivados de la tirosina no son comunes en las *Rutales*; sin embargo, se han encontrado en cinco géneros de la familia *Rutaceae* —*Zanthoxylum*, *Toddalia*, *Phellodendron*,

Tetradnum y *Fagaropsis*— entre las más comunes destacan las benzofenantridinas, las que tienen como característica singular un gran efecto antibiótico, y una actividad anticancerígena mínima, ejemplos de estos alcaloides son la decarina (25) y la queleritina (26), los que fueron aislados de la raíz de *Zanthoxylum spinosum*.³⁰



Entre los compuestos derivados del triptofano se tiene a los alcaloides indolquinazolinicos, tipo carbolina —kumujianina (27)— y tipo cantinona —nigakinona, (28)—, los que se encuentran más comúnmente en la familia *Simaroubaceae* que en la *Rutaceae*.³¹ Cabe mencionar que la cantinona presenta actividad antibiótica, antifúngica y citotóxica.³²

Los carbazoles también son derivados del triptofano, y son comúnmente encontrados en las rutáceas, tal es el caso del género *Clausena*, *Glycomis*, *Micromelum* y *Murraya*; como ejemplo podemos citar a la heptazolina (29). Este tipo de alcaloides presentan diversas actividades biológicas como son, antibacteriana, antimicótica, antiviral, analgésica, antipirética y anticancerígena.³³



Ciertas plantas de la familia *Rutaceae* se emplean en la medicina tradicional de algunos países, tal es el caso de *Teclea nobilis*, cuya corteza se utiliza como remedio para combatir la gonorrea en Sudáfrica, o como analgésico en Etiopía; mientras que sus hojas se utilizan para curar la fiebre en Tanzania.³⁴ En Tailandia se utiliza la corteza de *Clausena harmandiana* para dolor de estómago y fiebre.³⁵

En México, las hojas secas de la ruda (*Ruta chalepensis*), se utilizan como calmante de cólicos y en dismenorrea, pero en grandes dosis puede causar irritación.

Algunos aceites esenciales aislados de plantas de esta familia, son utilizados en cosmetología.³⁶

II.1.5.- EL GENERO CASIMIROA

El nombre de este género data de tiempos muy remotos en los que a las plantas nuevas se les asignaba el nombre de personajes ilustres y héroes de la época, así es como en honor al guerrero otomí Casimiro Gómez, se le da el nombre de *Casimiroa*.³⁷

Las plantas que conforman el género *Casimiroa* se caracterizan por ser árboles o arbustos de hojas persistentes, alternas, digitadas, generalmente con 3 ó 5 folíolos (rara vez 1 ó 7), lanceolados, subelípticos, ovales, paniculadas, flores unisexuales, sépalos 5, pétalos 5, rara vez 5 ó 6, estambres de igual número que los pétalos, ovario subgloboso a ovoide con 4 ó 5 lóculos, estigma con 5 lóbulos o entero.³⁸

Es un género que consta de 8 especies, de las cuales, se han estudiado solamente dos de ellas (ver cuadro 5)³⁸⁻³⁹

Las únicas especies que son objeto de cultivo son *C. edulis* y *C. sapota*, debido a que su fruto es grande y comestible, todas las demás son silvestres.¹¹

De las especies del género *Casimiroa*, la más estudiada ha sido *Casimiroa edulis*, conocida como zapote blanco o zapote dormilón; en lengua Azteca recibía el nombre de *cochitzapotl*, en Zapoteca *guia*, en Purepecha *urato*, por otro lado en Sinaloa *zapote blanco* y en Chimantea *Mayunjib*.⁴⁰ El zapote blanco forma parte de las frutas típicas de México, en los mercados herbolarios se encuentran semillas (huesitos) y hojas; ya que tiene gran demanda porque facilitan el sueño, debido a su acción hipotensora.³⁷

CUADRO 5: Especies del Género *Casimiroa*

GENERO	ESPECIE
<i>Casimiroa</i>	<i>pringlei</i> <i>watsonii</i> <i>edulis</i> <i>sapota</i> <i>calderonii</i> <i>pubescens</i> <i>tetrameria</i> <i>greggii</i>

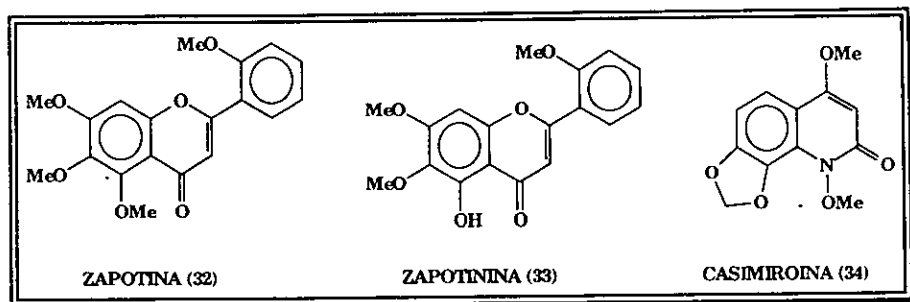
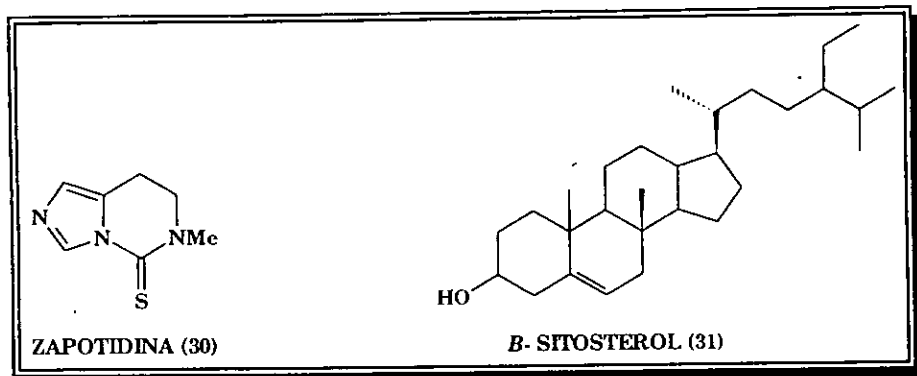
II.1.5.1.- *Casimiroa edulis* (Zapote blanco)

a) DESCRIPCION BOTANICA

Arbol de 1 a 12 m de altura, tiene un ramaje denso, con hojas compuestas de círculos y hojuelas en forma de mano abierta de un color verde brillante. Las flores son de color amarillo verdoso o blanquecinas. Sus frutos, llegan a medir de 8 a 10 cm y son comparables al tamaño de una manzana, con pulpa blanca cremosa y dulce. Contiene de 3 a 4 semillas que miden de 3 a 5 cm de largo. Florecen en enero y febrero. ⁴¹

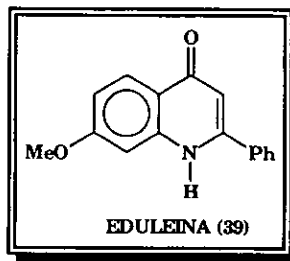
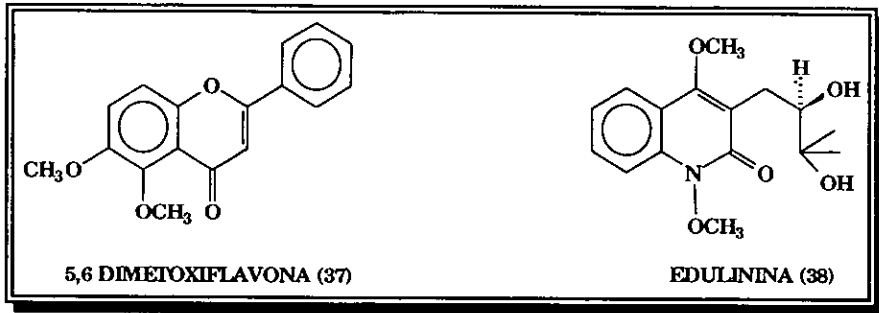
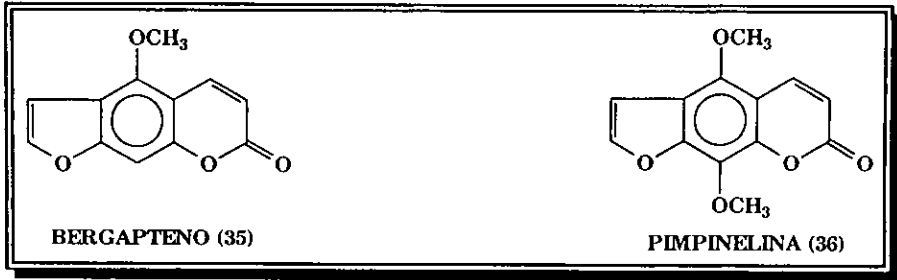
b) ANTECEDENTES QUIMICOS

En el siglo XVI, en la obra *Historia General de las Cosas en la Nueva España*, escrita por Bernardino de Sahagún, hace referencia al zapote blanco al que le adjudican la capacidad de provocar sueño. ³⁹ Desde ese entonces hasta nuestro días *Casimiroa edulis* (zapote blanco), ha sido objeto de numerosos estudios.

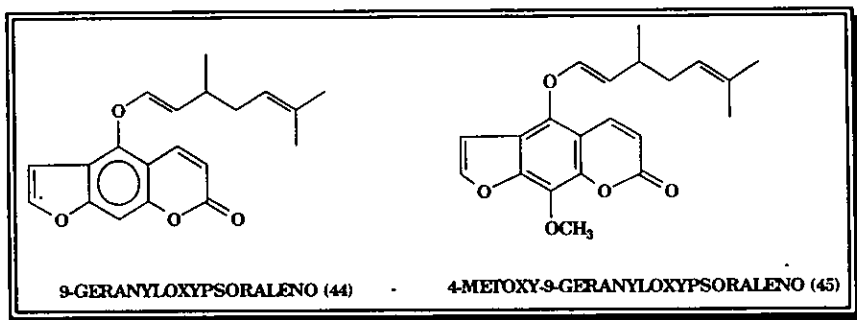
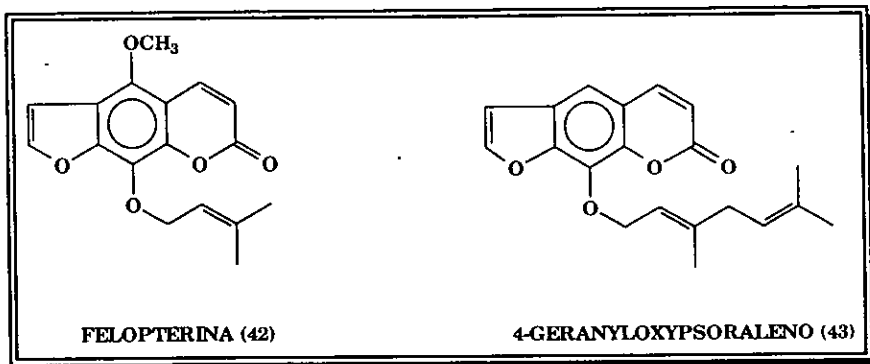
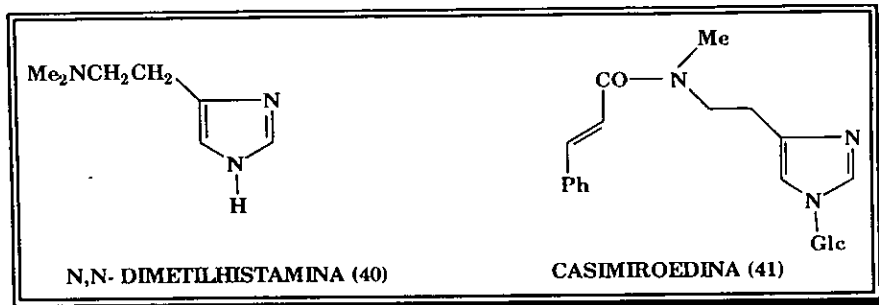


No es sino hasta 1956, cuando Kincl y colaboradores realizan uno de los mejores trabajos fitoquímicos de esta planta, reportando diversas sustancias que lograron ser aisladas de las semillas, entre las que figuran, zapotidina (30), β -sitosterol (31), obacunona (3), zapotina (32), zapotinina (33) y casimiroina (34).^{39,42-43}

En ese mismo año Iriarte informa sobre el estudio químico del tronco y corteza de la planta, donde describe el aislamiento de bergapteno (35), pimpinelina (36), 5,6-dimetoxiflavona (37), edulinina (38), eduleína (39).⁴⁴



Les siguieron otros trabajos: en 1958 Major encontró la N, N-dimetilhistamina (40), en las semillas del zapote blanco, deduciendo que podría ser la responsable de los efectos biológicos tales como la hipotensión y provocar sueño a quien lo ingiere.^{39,43} Por su parte en 1959 Sondheimer aísla Casimiroedina (41).⁴⁵



En 1981, Lozoya y colaboradores informan del aislamiento de cuatro furanocumarinas: Felopterina (42), 4-geranil oxipsoraleno (43), 9-geranil oxipsoraleno (44) y 4-metoxi-9-geranil oxipsoraleno (45), cuya presencia en la planta era desconocida. ^{39,43}

Por otro lado, en 1984 Lozoya y Enríquez realizan un estudio acerca de los derivados del imidazol presentes en la planta mediante la cromatografía de líquidos encontrando actividad antihipertensora. ⁴⁶

En 1993, Soni et al. Realizaron la elucidación estructural mediante la resonancia de carbono 13 del D-glucano encontrado en las frutas de *Casimiroa edulis*. ⁴⁷

Actualmente se sabe que la N, N-dimetilhistamina (40), compuesto que esta presente en las semillas, es el responsable de la hipotensión, provocando una vasodilatación generalizada y la consecuente disminución de la presión arterial. Actúa en forma parecida a la de otros derivados de la histamina, pero con la peculiaridad de que se absorbe por vía oral y su efecto sobre la secreción gástrica es débil. ³⁷

II.1.5.2.- *Casimiroa greggii* (Zapote amarillo)

Casimiroa greggii, antes conocida como *Sargentia greggii*, — zapote amarillo—. ⁴⁸

Sereno Watson clasificó en 1890 a la *Sargentia greggii*, dentro de un nuevo género y especie de las rutáceas, basándose en plantas colectadas por Gregg y Pringle, cerca de la ciudad de Monterrey; seis años más tarde, después de realizar diversas pruebas con base a las características físicas de la planta, se decide cambiar el nombre de *Sargentia* por *Casimiroa*. ⁴⁸

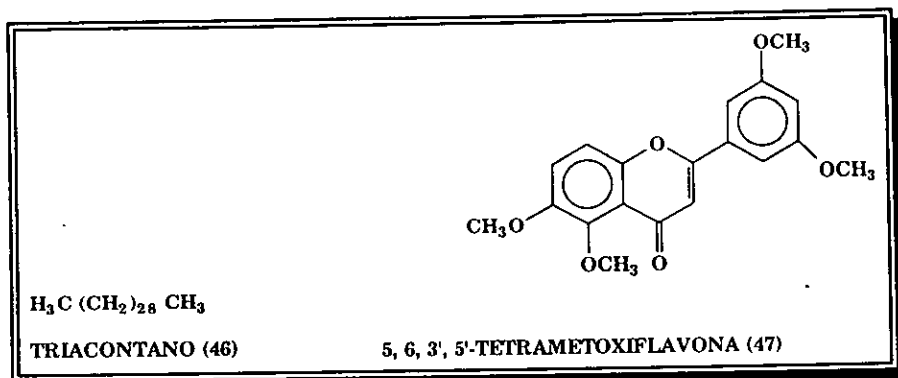
a) DESCRIPCION BOTANICA

Es una planta arbustiva de 3 a 5 m de altura, contiene hojas de un folíolo y es nativa del noroeste de México. ⁴⁸

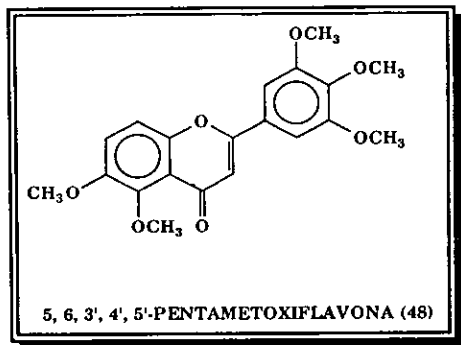
b) ANTECEDENTES QUIMICOS

A través de los diversos estudios que se han realizado en torno a esta planta se han encontrado productos tales como, flavonoides, cumarinas, alcaloides y limonoides.

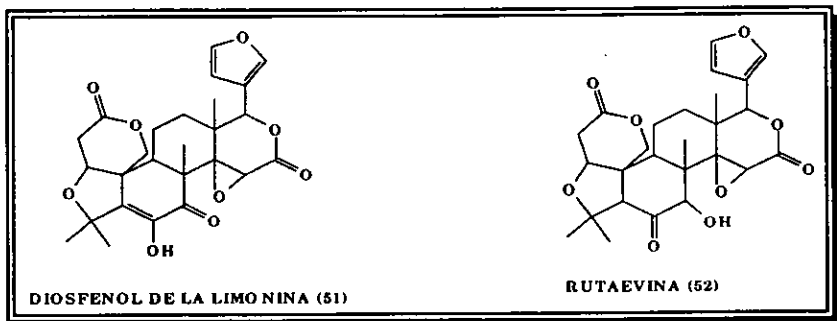
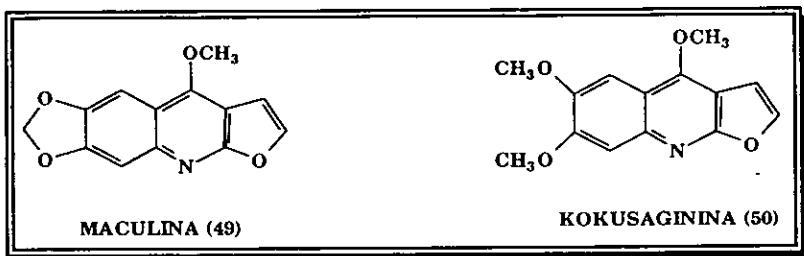
En 1972 Domínguez y colaboradores realizaron un trabajo en hojas y frutos, en los que se logró aislar diversos productos, entre los que figuran, triacontano (46), sitosterol (31), cerrosillina (5, 6, 3', 5' tetrametoxiflavona) (47) y 5, 6-dimetoxiflavona (37).⁴⁹

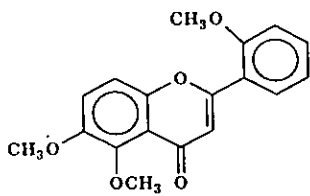


Años más tarde (1976), el Dr Domínguez, realiza otro estudio con las hojas del zapote amarillo aislando a la 5, 6, 3', 4', 5'-pentametoxiflavona (48).⁵⁰ En el mismo año, de la raíz de la planta, se logran aislar limonoides y alcaloides, maculina (49), kokusaginina (50), diosfenol de la limonina (51) y rutaevina (52).⁵¹

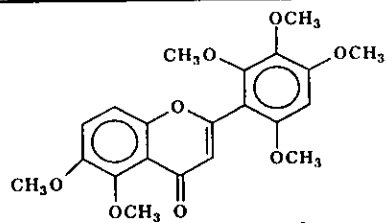


En 1985 Meyer et al. aislan Zapotina (32), 5, 6, 2'-trimetoxiflavona (53), y 5, 6, 2', 3', 4', 6'-hexametoxiflavona (54).⁵²





5, 6, 2'-TRIMETOXIFLAVONA (53)



5, 6, 2', 3', 4', 6'-HEXAMETOXIFLAVONA (54)

III.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La taxonomía vegetal se ocupa de la identificación, nomenclatura y clasificación de la plantas, lo cual implica que existen muchos grupos de plantas y cada uno de ellos posee características únicas que lo distinguen de todas las demás. Esas características se refieren a la morfología, anatomía, fisiología, citología, química y distribución geográfica.³

Los miembros de unas taxas estrechamente relacionadas, son analizados químicamente para obtener información de compuestos particulares. [comparándose la cantidad de productos extraídos o bien, su presencia en relación a su carencia]. Entre más similares son las taxa, desde el punto de vista químico, más cercanas son sus relaciones genéticas.³

En el género *Casimiroa*, se agrupan ocho especies, entre las que desatacan *Casimiroa edulis* y *Casimiroa greggii*. Se caracterizan por biosintetizar flavonas, cumarinas, limonoides y alcaloides; siendo la N, N-dimetilhistamina, una de las sustancias más importantes, por sus propiedades hipotensoras.³⁷

Por lo tanto, el presente estudio, va enfocado al aislamiento y elucidación de los metabolitos presentes en el extracto acetónico, de las hojas de una población del género *Casimiroa sp*, con la finalidad, de proporcionar la información química necesaria que aunada al estudio taxonómico, permita determinar, si la planta objeto de estudio es una nueva especie o bien un híbrido.

IV.- OBJETIVOS

Objetivo General:

- Realizar el estudio químico del extracto acetónico de las hojas de *Casimiroa sp*, para aislar, purificar e identificar los metabolitos secundarios mayoritarios.

Objetivos Especificos:

- Colectar el material vegetal (*Casimiroa sp*), en el estado de San Luis Potosí.
- Separar las hojas y dejarlas secar al aire libre.
- Preparar los extractos acetónico y metanólico (no se trabajará) de la planta, por medio de extracción sólido-líquido.
- Separar y purificar los constituyentes mayoritarios presentes en el extracto acetónico, utilizando diferentes técnicas cromatográficas y las operaciones más comunes del laboratorio de Química Orgánica.
- Caracterizar e identificar los metabolitos secundarios aislados mediante la aplicación de técnicas espectrométricas y espectroscópicas; así como por sus propiedades físicas.

V.- HIPOTESIS

Los principales propósitos del estudio químico de las plantas son, el aislamiento de los metabolitos secundarios que pueden tener dos fines:

- a) Poseer actividad terapéutica
- b) Proporcionar datos valiosos para la clasificación taxonómica de la planta.

Las especies estudiadas del género *Casimiroa* —*C. greggii* y *C. edulis*—, tienen gran diversidad en cuanto a sus metabolitos secundarios; entre los cuales sobresalen, las cumarinas, flavonas metoxiladas, triterpenos y algunos alcaloides.

Entonces empleando las técnicas convencionales en el laboratorio de Química Orgánica, se aislarán los diversos metabolitos secundarios mayoritarios presentes en el extracto acetónico de *Casimiroa sp.*, con la finalidad de poder establecer un perfil químico que pueda contribuir a la clasificación quimiotaxonómica de dicha especie.

VI.- MATERIAL

EQUIPO

Rotavapor. Yamato. RE 50

Recirculador de agua. Sargent-Welch

Parrilla de calentamiento. Osyma 17.v

Aparato para determinar punto de fusión (Fisher Johns. Hoffman. 50-60 ciclos).

Espectrómetro de Infrarrojo. Perkin Elmer Mod. 337

Espectrómetro de Resonancia Magnética. FT-80 varian y HA-300 varian

Espectrómetro de Masas. Hewlett-Packard 5985B.

Balanza Analítica. Mettler Toledo Molino.

MATERIAL

Columna de vidrio (de varios diámetros)

Matraz Erlenmeyer de 10-500ml (Pyrex)

Matraz Kitasato de 25-1000ml (Pyrex)

Matraz bola de 50-1000ml (Pyrex)

Vaso de precipitado de 50-1000ml (Pyrex)

Probeta de 10-500ml (Pyrex)

Pipeta graduada de 5ml (Pyrex)

Pipeta Pasteur

Cámara de elución

Cubreobjetos

Viales

Embudo de aspersion

Embudo Hirsh

Pinzas de tres dedos con nuez

Anillo de fierro
Soporte universal

SUSTANCIAS

Placas para TLC. Alugram sil G/uv 254, 0.25mm

Placas para TLC 5x10cm 0.25mm (Merck)

Sílice gel (Merck 60)

Celita

Carbón activado. Sigma de México

Metanol (grado técnico)

Acetona

Acetato de Etilo

Cloroformo

Hexano

Sulfato cérico

Acido sulfúrico

VII.- METODOLOGIA

Se recolectó el material vegetal (hojas y ramas delgadas), en el estado de San Luis Potosí, a 6.3 millas en entronque con la carretera Matehuala rumbo a Cerritos (Pueblo Villar), en el año de 1996. Un espécimen de referencia fue depositado en el herbario del Instituto de Biología con el voucher de registro: **Chiang (1269)**.

La preparación de extractos, se realizó a través de una extracción sólido-líquido (Percolación) con acetona y metanol por separado a partir de 611.8 g de las partes aéreas secas y molidas de *Casimiroa* sp. Dichos extractos se concentraron a baja presión por medio del rotavapor, obteniéndose 296.3 g del extracto acetónico y 85.8 g del extracto metanólico (el cual no se trabajó).

El extracto acetónico fue sometido a una diferenciación cromatográfica a vacío, por medio de una columna de 11 cm de diámetro y 50 cm de altura, utilizando como adsorbente sílice gel para capa fina. La elución de la columna se inicio con hexano, y posteriormente con mezclas de hexano-AcOEt hasta AcOEt puro. De esta columna se obtuvieron 162 fracciones. La determinación de los constituyentes de cada fracción se determinó por CCF, aquellas que mostraron una composición similar, se reunieron con la finalidad de separar y purificar sus constituyentes mayoritarios, mediante cromatografía en columna sucesivas, según se requirió.

Las fracciones eluidas con una mezcla de AcOEt-hexano (95:5), se purificaron por sucesivas cromatografías en columna y cristalización con mezcla de Hexano-AcOEt (Todos los demás productos se cristalizaron con mezclas de estos dos compuestos, excepto el producto XII), hasta obtener 809 mg de un sólido cristalino blanco, de $pf= 49-50^{\circ}C$, el cual fue identificado como el **5-geraniloxipsoraleno (I)**.⁵³

De las siguientes fracciones eluidas de la columna original, con hexano-AcOEt (95:5), se obtuvieron 93 mg de un sólido cristalino amarillo con $pf= 50-53^{\circ}C$. Este compuesto fue identificado como el **8-geraniloxipsoraleno (II)**.⁵³

Las fracciones eluidas con hexano-AcOEt (90:10), se sometieron a sucesivas cromatografías en columna, empleando sílice gel para capa fina, como fase estacionaria, y como mezcla de elución hexano-AcOEt (90:10), obteniéndose por cristalización 3 mg de un sólido cristalino blanco con $pf= 151-154^{\circ}C$, dicha sustancia fue identificada, como **Isopimpinina (III)**.⁵⁴

De las aguas madres de donde se obtuvo el compuesto III, se obtuvieron 14 mg de un sólido cristalino amarillo, con $pf= 85-90^{\circ}C$, identificado como **Imperatorina (IV)**. La cual fue identificada con base en sus propiedades físicas y espectroscópicas.⁵⁴

De las fracciones, de la columna original, obtenidas con una mezcla de hexano-AcOEt (85:15), se obtuvieron 88 mg de un sólido cristalino blanco con $pf= 91-94^{\circ}C$, cabe señalar que no existe ningún antecedente informado en la literatura sobre su aislamiento y caracterización, por lo cual se trata de una sustancia novedosa (**V**).

De las fracciones, de la columna original eluidas con hexano-AcOEt (80:20) se obtuvieron 52 mg de **Bergaptol (VI)**, sólido cristalino blanco, de $pf= 246-251^{\circ}C$. El cual fue caracterizado mediante sus datos espectroscópicos.

De las fracciones siguientes a las que contenían el Bergaptol, también eluidas en hexano-AcOEt (80:20), se obtuvieron 31 mg de la **5, 6-Dimetoxiflavona (VII)**, en forma de sólido cristalino amarillo huevo, con $pf= 189-194^{\circ}C$.

Las fracciones, de la columna original, eluidas con hexano-AcOEt (75:25), contenía **5, 6, 3'-Trimetoxiflavona (VIII)**. Este compuesto fue purificado por medio de sucesivas cromatografías en columna (sílice gel), de donde se obtuvieron 594 mg de dicho compuesto, en forma de cristales blancos de $pf= 117-120^{\circ}C$.

De las mismas fracciones del punto anterior, sometidas a cromatografía en placa preparativa se obtuvieron 33 mg de **Criptomeridiol (IX)**, sólido blanco de $pf= 128-132\text{ }^{\circ}\text{C}$, el cual ya ha sido descrito previamente en la literatura.⁵⁵⁻⁵⁶

Las fracciones eluidas de la columna original con hexano-AcOEt (70:30), fueron sometidas a sucesivas cromatografías en columna y cristalizaciones hasta obtener 15 mg de un sólido cristalino color carne con $pf= 160-164\text{ }^{\circ}\text{C}$, que fue identificado como la **5, 6, 2', 3', 5', 6'-Hexametoxiflavona (X)**, mediante RMN¹H, y EM.

De las fracciones de la columna original, obtenidas con una mezcla de hexano-AcOEt (40:60) se purificó mediante cristalizaciones sucesivas a la **5, 2', 3', 4', 5', 6'-Hexametoxiflavona (XI)**, obteniendo 977 mg, de cristales blancos con $pf= 127-132^{\circ}\text{C}$.

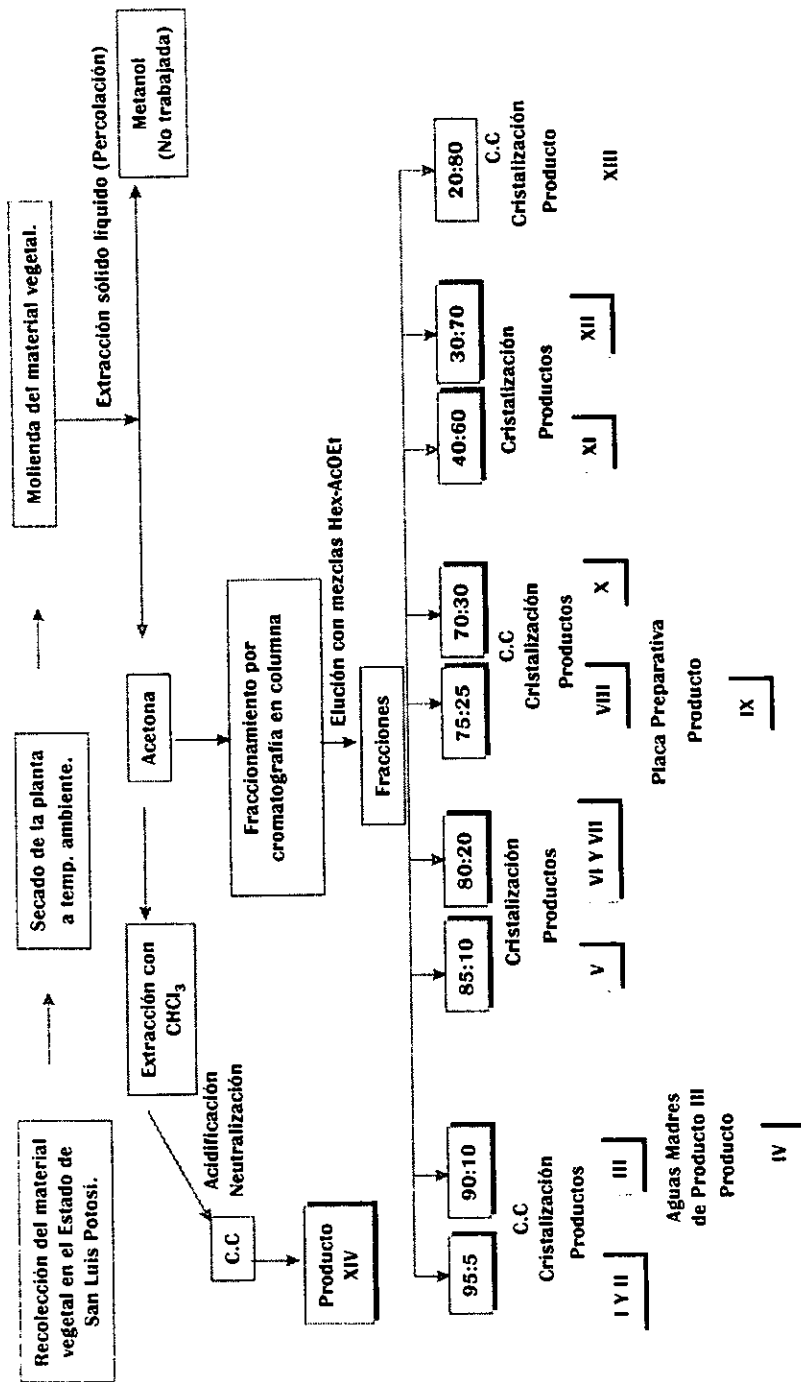
Por cristalización con acetona de las fracciones de la columna original, eluidas con hexano-AcOEt (30:70) se obtuvieron 533 mg de un sólido cristalino amarillo, de $pf= 178-182\text{ }^{\circ}\text{C}$, que fue identificado como: **5, 3', 5'-Trimetoxiflavona (XII)**.

Después de repetidas cromatografías en columna empacada con sílice gel, de las fracciones obtenidas con hexano-AcOEt (20:80), se obtuvieron 100 mg de un aceite café, identificado como: **5, 2', 3', 4',-Tretametoxiflavona (XIII)**.

Una parte de extracto acetónico, se disolvió en cloroformo y posteriormente se acidificó y neutralizó, con la finalidad de determinar la presencia de alcaloides, por medio del reactivo de Dragendorff. Por otro lado la parte soluble se decoloró y se fraccionó por cromatografía en columna, de donde se obtuvieron 6 mg de cristales amarillos con $pf= 220-224\text{ }^{\circ}\text{C}$, posterior a una comparación de sus características espectroscópicas con las descritas en la bibliografía se observó que coincidía con lo informado para la **Marmesina (XIV)**.⁵⁷

Los compuestos V, VIII, X, XI, XII y XIII, no están informados en la literatura, por lo que se consideran sustancias nuevas.

VIII.-DIAGRAMA DE FLUJO PARA EL ESTUDIO QUIMICO DE CASMIROA SP.



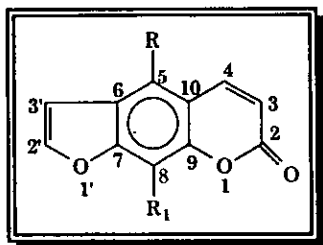
IDENTIFICACION DE LOS PRODUCTOS MEDIANTE TECNICAS ESPECTROSCOPICAS Y ESPECTROMETRICAS

IX.- RESULTADOS

En total se obtuvieron 14 compuestos, que están clasificados en tres grupos: 7 cumarinas, 6 flavonas y 1 sesquiterpeno. Para facilitar su análisis se presentarán los datos organizando los compuestos por grupos.

IX.1.- CUMARINAS

COMPUESTO	NOMBRE	FORMULA	RENDIMIENTO	pf
I	5-GERANILOXIPSORALENO	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	809 mg	49-59°C
II	8-GERANILOXIPSORALENO	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	93 mg	50-53°C
III	ISOPIMPINELINA	C ₁₃ H ₁₀ O ₅	3 mg	151-154°C
IV	IMPERATORINA	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	14 mg	85-90°C
V	CUMARINA NUEVA	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	88 mg	91-94°C
VI	BERGAPTOL	C ₁₁ H ₆ O ₄	52 mg	246-251°C
XIV	MARMESINA	C ₁₂ H ₈ O ₅	6 mg	220-224°C



SUSTITUYENTES DE LAS CUMARINAS

COMPUESTO	R	R ₁
I	GERANILO	H
II	H	GERANILO
III	OMe	OMe
IV	H	PRENILO
V	H	3''-METIL-4''-ACETOXI-BUTIL
VI	OH	H
XIV	OH	OMe

IX.1.1.-ESPECTROSCOPIA

I.- 5-geraniloxipsoraleno.

RMN¹H: Ver tabla 1 (pag.44).

IR-(CHCl₃), cm⁻¹: 1724 (C=O), 1580(C=C), 1546 (C=C, Furano), 898 (Furano).

EM=(E.I), C₂₁H₂₂O₄, PM=338g/mol: 339 [M⁺+1] (100), 323 [M⁺+1-CH₃] (1), 231 [M⁺+1-C₈H₁₁] (28), 203 [M⁺+1-C₁₀H₁₆] (85), 202 [M⁺+1-C₁₀H₁₇(geranilo)] (23).

II.- 8-geraniloxipsoraleno.

RMN¹H: Ver tabla 1 (pag.44).

IR-(CHCl₃), cm⁻¹: 1730 (C=O), 1628 (C=C), 1590 (C=C, Furano), 869 (Furano).

EM=(E.I), C₂₁H₂₂O₄, PM=338g/mol: 339 [M⁺+1] (100), 323 [M⁺+1-CH₃] (1), 231 [M⁺+1-C₈H₁₁] (28), 203 [M⁺+1-C₁₀H₁₆] (85), 202 [M⁺+1-C₁₀H₁₇(geranilo)] (23).

III.- Isopimpinina.

RMN¹H: Ver tabla 1 (pag.44).

IR-(CHCl₃), cm⁻¹: 1724 (C=O), 1595 (C=C), 1480 (C=C, Furano), 866 (Furano).

EM=(E.I), C₁₃H₁₀O₅, PM=246g/mol: 246 [M⁺] (100), 231 [M⁺-CH₃] (95), 203 [M⁺-C₂H₃O] (14), 188 [M⁺-C₃H₆O] (9), 175 [M⁺-C₃H₃O₂] (11), 160 [M⁺-C₄H₆O₂] (10).

IV.- Imperatorina.

RMN¹H: Ver tabla 1 (pag.44).

IR-(CHCl₃), cm⁻¹: 1726 (C=O), 1620 (C=C), 1588(C=C, Furano), 866 (Furano).

EM=(E.I), C₁₆H₁₄O₄, PM=270g/mol: 271 [M⁺+1] (2), 256 [M⁺+1-CH₃] (2), 202 [M⁺+1-C₅H₉] (0.5), 174 [M⁺+1-CO-isoprenilo] (19.2).

V.- Cumarina Nueva.

RMN¹H: Ver tabla 1 (pag.44).

RMN¹³C: Ver tabla 2 (pag 45).

IR-(CHCl₃), cm⁻¹: 1730 (C=O), 1628 (C=C), 1589 (C=C, Furano), 866 (Furano).

EM=(E.I), C₁₈H₁₆O₆, PM=328g/mol: 328 [M⁺] (1.6), 269 [M⁺-C₂H₃O₂] (1), 202 [M⁺-C₇H₁₀O₂] (88.3), 174 [M⁺-C₈H₁₀O₃] (17.5), 118 [M⁺-C₉H₁₀O₄] (1.6).

VI.- Bergaptol.

RMN¹H: Ver tabla 1(pag.44).

IR-(KBr, pastilla), cm⁻¹: 3298 (OH), 1698 (C=O), 1595 (C=C, Furano), 869 (Furano).

EM=(E.I), C₁₁H₈O₄, PM=202g/mol: 202 [M⁺] (100), 174 [M⁺-CO] (45), 146 [M⁺-C₂O₂] (7.5), 145 [M⁺-C₂HO₂] (6), 118 [M⁺-C₃O₃] (5).

XIV.- Marmesina.

RMN¹H: Ver tabla 1 (pag.44).

IR-(CHCl₃), cm⁻¹: 3554 (OH), 1732 (C=C), 1639 (C=C, Furano), 1601 (C=C).

EM-(E.I), C₁₂H₈O₅, PM=232g/mol: 232 [M⁺] (100), 217 [M⁺-CH₃] (86), 189 [M⁺-C₂H₃O] (31), 161 [M⁺-C₃H₃O₂] (17), 133 [M⁺-C₄H₃O₃] (8).

TABLA 1. Datos de Resonancia Magnética de Hidrógeno (RMN¹H), de las Cumarinas Aisladas de *Casimiroa* sp. (300MHz, 200MHz, CDCl₃).

PRODUCTO	I	II	III	IV	V	VI	XIV
SENALES H							
H-3	δ6.25 <i>d</i> J9.6	δ6.36 <i>d</i> J9.6	δ6.30 <i>d</i> J9.8	δ6.37 <i>d</i> J9.6	δ6.37 <i>d</i> J9.6	δ6.39 <i>d</i> J9.6	δ6.27 <i>d</i> J9.8
H-4	δ8.14 <i>d</i> J9.6	δ7.76 <i>d</i> J9.6	δ8.13 <i>d</i> J9.8	δ7.77 <i>d</i> J9.6	δ7.76 <i>d</i> J9.6	δ8.10 <i>d</i> J9.6	δ8.15 <i>d</i> J9.8
H-5		δ7.36, <i>s</i>		δ7.36, <i>s</i>	δ7.37, <i>s</i>		
H-8	δ7.13, <i>s</i>					δ7.44, <i>s</i>	
H-3'	δ6.93 <i>dd</i> J2.5	δ6.81 <i>d</i> J2.4	δ7.00 <i>d</i> J2.3	δ6.81 <i>d</i> J2.2	δ6.81 <i>d</i> J2.1	δ7.03 <i>d</i> J2.2	δ6.99 <i>d</i> J2.2
H-2'	δ7.57 <i>d</i> J2.5	δ7.69 <i>d</i> J2.4	δ7.63 <i>d</i> J2.3	δ7.69 <i>d</i> J2.2	δ7.68 <i>d</i> J2.1	δ8.06 <i>d</i> J2.2	δ7.66 <i>d</i> J2.2
H-1*	δ4.92 <i>d</i> J6.9	δ5.03 <i>d</i> J7.2		δ5.01 <i>d</i> J7.2	δ5.09 <i>dd</i> J7.2		
H-2*	δ5.52 <i>t</i> J6.9	δ5.60 <i>tc</i> J7.2 J1.2		δ5.60 <i>tc</i> J7.2 J1.4	δ5.86 <i>t</i> J7.2		
H-4*	δ2.07, <i>s</i>	δ2.01, <i>s</i>		δ1.70	δ4.65, <i>s</i>		
H-5*	δ2.07 <i>s</i>	δ2.01 <i>s</i>		δ1.74	δ1.81 <i>c</i> J1.2		
H-6*	δ5.05 <i>t</i>	δ5.0 <i>*</i>					
H-8*	δ1.58, <i>s</i>	δ1.56, <i>s</i>					
H-9*	δ1.67, <i>s</i>	δ1.64, <i>s</i>					
H-10*	δ1.67, <i>s</i>	δ1.69, <i>s</i>					
OCH ₃			δ4.17, <i>s</i>				δ4.15, <i>s</i>
OAc					δ2.04, <i>s</i>		
OH						δ10.65, <i>a</i>	δ5.9, <i>a</i>

δ=Desplazamiento químico. J=Constante de acoplamiento en Hz. * =Sobrepuesto

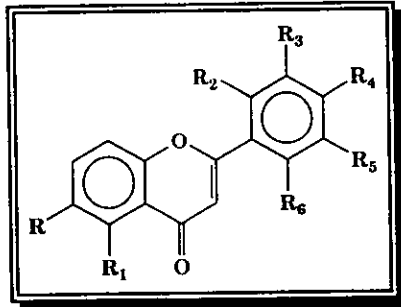
TABLA 2. Datos de Resonancia Magnética Nuclear de Carbono (RMN¹³C), del Compuesto V.
 (75MHz, CDCl₃).

CARBONO CORRESPONDIENTE	DESPLAZAMIENTO (ppm)
C-2	$\delta=160.4, s$
C-3	$\delta=114.7, d$
C-4	$\delta=144.2, d$
C-5	$\delta=113.3, d$
C-6	$\delta=125.1, s$
C-7	$\delta=148.3, S$
C-8	$\delta=131.3, s$
C-9	$\delta=143.6, s$
C-10	$\delta=116.5, s$
C-2'	$\delta=146.7, d$
C-3'	$\delta=106.7, d$
C-1''	$\delta=69.1, t$
C-2''	$\delta=125.9, d$
C-3''	$\delta=21.4, s$
C-4''	$\delta=62.7, t$
C-6''	$\delta=20.8, c$
C-7''	$\delta=136.5, c$
C-5''	$\delta=170.8, s$

*ASIGNADOS POR LOS DIAGRAMAS DE CONTORNO HETCOR Y DEPT.

IX.2.-FLAVONAS

COMPUESTO	NOMBRE	FORMULA	RENDIMIENTO	T
VII	5,6-DIMETOXIFLAVONA	$C_{17}H_{14}O_4$	31 mg	189-194°C
VIII	5,6,3' TRIMETOXIFLAVONA	$C_{18}H_{16}O_5$	594 mg	117-120°C
X	5,6,2',3',5',6' HEXAMETOXIFLAVONA	$C_{21}H_{22}O_8$	15 mg	160-164°C
XI	5,2',3',4',5',6' HEXAMETOXIFLAVONA	$C_{21}H_{22}O_8$	977 mg	127-132°C
XII	5,3',5' TRIMETOXIFLAVONA	$C_{18}H_{16}O_5$	533 mg.	178-182°C
XIII	5,2',3',4' TETRAMETOXIFLAVONA	$C_{19}H_{18}O_6$	100 mg	



SUSTITUYENTES DE LAS FLAVONAS AISLADAS DE *Casimiroa* sp.

COMPUESTO	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
VII	OMe	OMe	H	H	H	H	H
VIII	OMe	OMe	H	OMe	H	H	H
X	OMe	OMe	OMe	OMe	H	OMe	OMe
XI	H	OMe	OMe	OMe	OMe	OMe	OMe
XII	H	OMe	H	OMe	H	OMe	H
XIII	H	OMe	OMe	OMe	OMe	H	H

IX.2.1.-ESPECTROSCOPIA

VII.- 5, 6-Dimetoxiflavona.

RMN¹H: Ver tabla 3 (pag.49).

RMN¹³C: Ver tabla 4 (pag 50).

EM-(E.I), C₁₇H₁₄O₄, PM=282g/mol: 282 [M⁺] (60), 267 [M⁺-CH₃] (100), 253 [M⁺-CHO] (14), 239 [M⁺-C₂H₃O₂] (24), 102 [M⁺-C₉H₉O₄] (5).

VIII.- 5, 6, 3'-Trimetoxiflavona.

RMN¹H: Ver tabla 3 (pag.49).

RMN¹³C: Ver tabla 4 (pag 50).

EM-(E.I), C₁₈H₁₆O₅, PM=312g/mol: 312 [M⁺] (60), 297 [M⁺-CH₃] (100), 283 [M⁺-CHO] (11), 269 [M⁺-C₂H₃O₂] (10), 132 [M⁺-C₉H₉O₄] (4).

X.- 5, 6, 2', 3', 5', 6' Hexametoxiflavona.

RMN¹H: Ver tabla 3 (pag.49).

EM-(E.I), C₂₁H₂₂O₈, PM=402g/mol: 402 [M⁺] (90), 387 [M⁺-CH₃] (100), 373 [M⁺-CHO] (14), 371 [M⁺-OCH₃] (10), 222 [M⁺-C₉H₉O₄] (1.5).

XI.- 5, 2', 3', 4', 5', 6'-Hexametoxiflavona.

RMN¹H: Ver tabla 3 (pag.49).

RMN¹³C: Ver tabla 4 (pag 50).

EM-(E.I), C₂₁H₂₂O₈, PM=402g/mol: 402 [M⁺] (100), 401 [M⁺-H] (16), 387 [M⁺-CH₃] (6.6), 373 [M⁺-CHO] (9.1), 151 [M⁺-C₁₃H₁₅O₅] (5).

XII.- 5, 3', 5'-Trimetoxiflavona.

RMN¹H: Ver tabla 3 (pag.49).

RMN¹³C: Ver tabla 4 (pag 50).

EM-(E.I), C₁₈H₁₆O₅, PM=312g/mol: 312 [M⁺] (100), 311 [M⁺-H] (45), 283 [M⁺-CHO] (30), 268 [M⁺-C₂H₄O] (2.5), 266 [M⁺-C₃H₇O₂] (45), 162 [M⁺-C₈O₃O₅] (7.5), 133 [M⁺-C₉H₈O₄] (3.3).

XIII.- 5, 2', 3', 4'-Tetrametoxiflavona.

RMN¹H: Ver tabla 3 (pag.49).

RMN¹³C: Ver tabla 4 (pag 50).

EM-(E.I), C₁₉H₁₈O₆, PM=342g/mol: 342 [M⁺] (100), 297 [M⁺-CHO] (40), 177 [M⁺-C₇H₄O₂] (25), 149 [M⁺-C₈H₄O₃] (8), 121 [M⁺-C₉H₄O₄] (2).

TABLA 3. Datos de Resonancia Magnética de Hidrógeno (RMN¹H), de las Flavonas Aisladas de *Casimiroa* sp. (300MHz, CDCl₃). δ =Desplazamiento químico. J=Constante de acoplamiento en Hz.

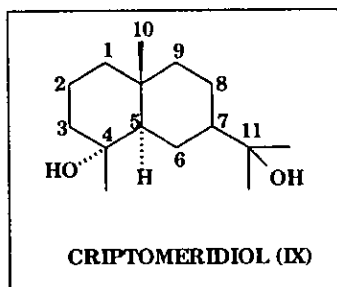
PRODUCTO	VII	VIII	X	XI	XII	XIII
SENALES H						
H-3	$\delta 6.69, s$	$\delta 6.68, s$	$\delta 6.30, s$	$\delta 6.30, s$	$\delta 6.67, s$	$\delta 6.76, s$
H-6				$\delta 6.98$ <i>d</i> $J 8.2$	$\delta 7.09$ <i>d</i> $J 8.4$	$\delta 7.48$ <i>d</i> $J 8.4$
H-7	$\delta 7.32$ <i>s</i>	$\delta 7.32$ <i>s</i>	$\delta 7.29$ <i>d</i> $J 9.2$	$\delta 7.50$ <i>t</i> $J 8.4$	$\delta 7.53$ <i>t</i> $J 8.4$	$\delta 7.51$ <i>t</i> $J 8.4$
H-8	$\delta 7.32$ <i>s</i>	$\delta 7.32$ <i>s</i>	$\delta 7.19$ <i>d</i> $J 9.2$	$\delta 6.78$ <i>d</i> $J 8.4$	$\delta 6.79$ <i>d</i> $J 8.4$	$\delta 7.04$ <i>d</i> $J 8.4$
H-2'	$\delta 7.90$ <i>m</i>	$\delta 7.41$ <i>t</i> $J 1.5$			$\delta 6.97$ <i>t</i> $J 4$	
H-3'	$\delta 7.50$ <i>m</i>					
H-4'	$\delta 7.50$ <i>m</i>	$\delta = .06$ <i>ddd</i> $J 7.7, 2.5$ y 1.5	$\delta 6.69$ <i>s</i>		$\delta 6.56$ <i>t</i> $J 4.5$	
H-5'	$\delta 7.50$ <i>m</i>	$\delta 7.42$ <i>ta</i>				$\delta 6.76$ <i>d</i> J
H-6'	$\delta 7.90$ <i>m</i>	$\delta 7.48$ <i>dt</i> $J 7.7, 1.5$			$\delta 6.97$ <i>d</i> $J 4$	$\delta 6.78$ <i>d</i> J
5-OMe	$\delta 3.98, s$	$\delta 3.98, s$	$\delta 4.00, s$	$\delta 3.96, s$	$\delta 3.97, s$	$\delta 3.97, s$
6-OMe	$\delta 3.94, s$	$\delta 3.94, s$	$\delta 3.93, s$			
2'-OMe			$\delta 3.76, s$	$\delta 3.86, s$		$\delta = 3.92, s$
3'-OMe			$\delta 3.90, s$	$\delta 3.79, s$	$\delta 3.82, s$	$\delta 3.90, s$
4'-OMe				$\delta 3.97, s$		$\delta 3.88, s$
5'-OMe			$\delta 3.90, s$	$\delta 3.79, s$		
6'-OMe	$\delta 3.94, s$		$\delta = 3.76, s$	$\delta 3.86, s$		

TABLA 4. Datos de Resonancia Magnética Nuclear de Carbono (RMN¹³C), de las Flavonas Aisladas de *Casimiroa* sp. (75 MHz, CDCl₃).

PRODUCTO	VII	VIII	XI	XII	XIII
CARBONO↓					
C-2	161.6, <i>s</i>	161.3, <i>s</i>	157.6, <i>s</i>	160.8, <i>s</i>	159.1, <i>s</i>
C-3	108.0, <i>d</i>	108.1, <i>d</i>	115.8, <i>d</i>	109.4, <i>d</i>	112.7, <i>d</i>
C-4	178.1, <i>s</i>	178.0, <i>s</i>	178.0, <i>s</i>	178.3, <i>s</i>	178.5, <i>s</i>
C-5	150.0, <i>s</i>	147.9, <i>s</i>	159.9, <i>s</i>	159.7, <i>s</i>	159.7, <i>s</i>
C-6	148.0, <i>s</i>	149.9, <i>d</i>	110.2, <i>d</i>	110.2, <i>d</i>	123.9, <i>d</i>
C-7	119.1, <i>d</i>	119.0, <i>d</i>	133.5, <i>d</i>	133.7, <i>d</i>	133.4, <i>d</i>
C-8	113.4, <i>d</i>	113.4, <i>d</i>	106.2, <i>d</i>	106.4, <i>d</i>	110.0, <i>d</i>
C-9	151.6, <i>s</i>	151.5, <i>s</i>	158.9, <i>s</i>	158.2, <i>s</i>	158.4, <i>s</i>
C-10	119.3, <i>s</i>	119.2, <i>s</i>	114.7, <i>s</i>	114.6, <i>s</i>	114.5, <i>s</i>
C-1'	131.7, <i>s</i>	132.9, <i>s</i>	116.8, <i>s</i>	133.3, <i>s</i>	118.8, <i>s</i>
C-2'	126.1, <i>d</i>	111.5, <i>d</i>	143.1, <i>s</i>	104.2, <i>s</i>	156.0, <i>d</i>
C-3'	128.0, <i>d</i>	159.9, <i>s</i>	147.7, <i>s</i>	161.1, <i>s</i>	153.0, <i>s</i>
C-4'	131.4, <i>d</i>	116.9, <i>d</i>	149.8, <i>s</i>	103.4, <i>d</i>	142.8, <i>s</i>
C-5'	128.0, <i>d</i>	130.0, <i>d</i>	147.7, <i>s</i>	161.1, <i>s</i>	107.3, <i>d</i>
C-6'	126.1, <i>d</i>	118.5, <i>d</i>	143.1, <i>s</i>	104.2, <i>d</i>	106.1, <i>d</i>
5-OMe	61.9, <i>c</i>	61.8, <i>c</i>	56.4, <i>c</i>	56.5, <i>c</i>	56.4, <i>c</i>
6-OMe	57.2, <i>c</i>	57.1, <i>c</i>			
2'-OMe			61.2, <i>c</i>		60.9, <i>c</i>
3'-OMe		55.4, <i>c</i>	61.7, <i>c</i>	55.5, <i>c</i>	56.4, <i>c</i>
4'-OMe			61.4, <i>c</i>		61.1, <i>c</i>
5'-OMe			61.7, <i>c</i>	55.5, <i>c</i>	
6'-OMe			61.2, <i>c</i>		

IX.3.1.-SESQUITERPENO

COMPUESTO	NOMBRE	FÓRMULA	RENDIMIENTO	PT
IX	CRIPTOMERIDIOL	C ₁₅ H ₂₈ O ₂	33.2mg	128-132°C



ESPECTROSCOPIA

IX.- Criptomeridiol

RMN¹H-(CDCl₃, 300mhz): 1.19 (6H,s,H-11), 1.10(3H,s,H-4), 0.85 (3H,s,H-10).

IR-(CDCl₃), cm⁻¹: 3613, 2975, 2934, 2870.

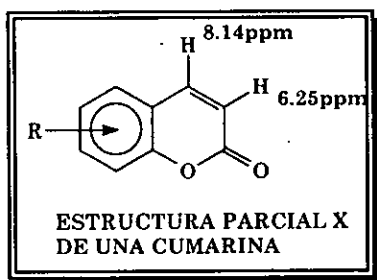
EM-(E.I), C₁₅H₂₈O₂, PM=240g/mol: 240 [M⁺] (1), 225 [M⁺-CH₃] (4.2), 207 [M⁺-CH₃-H₂O] (8.5), 189 [M⁺-CH₃-2H₂O] (14.2), 59 [M⁺-(Me)₂COH] (54).

X.- ANALISIS DE RESULTADOS

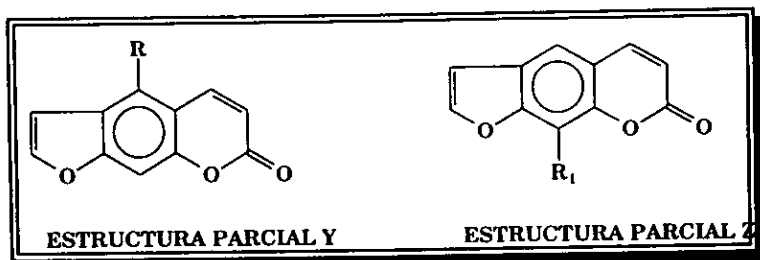
X.1.- CUMARINAS

5-GERANILOXIPSORALENO (I).

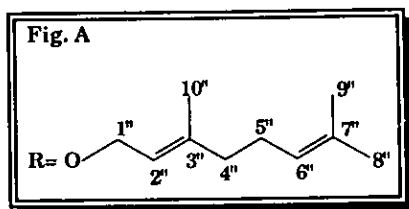
El compuesto I, se identificó como una furanocumarina, ya que en su espectro de RMN¹H (ESPECTRO 1), se observó un sistema AB formado por una señal doble centrada en δ 8.14 (1H, d, J=9.6 Hz) y otra señal en δ 6.25 (1H, d, J= 6.25 Hz) Este sistema es característico para un compuesto α , β -insaturado, como el que se encuentra en la mayoría de las cumarinas, postulándose la estructura parcial X.



En el mismo espectro de RMN¹H (Espectro 1) se observó otro sistema AB conformado por la señal doble centrada en δ 7.57 (1H, d, J=2.4Hz), la cual se encuentra acoplada con otro doblete en δ 6.94 (1H, d, J=2.4 Hz). Lo anterior permitió suponer que la cumarina en discusión posee un sistema furánico fusionado a la estructura parcial X. Por otro lado, también se observó una señal simple en δ 7.13 (1H, s) la que condujo a la propuesta de las estructuras parciales Y y Z.



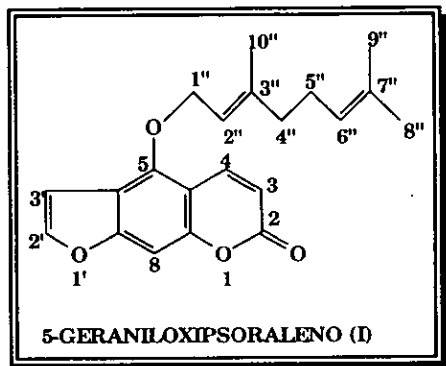
La presencia de un grupo sustituyente, en el compuesto se pone de manifiesto por las siguientes señales: en δ 5.52 y 5.05 se presentan 2 tripletes que corresponden a dos protones vinílicos 2" y 6", presentes en el sustituyente que se supone es un grupo geranilo, por su parte en δ 4.92 se observa un doblete que integra para dos protones y que pertenece a un metileno (1"), unido a un oxígeno. Por otro lado existe un doblete en δ 2.07, que integra para cuatro protones correspondientes a dos metilenos equivalentes (4",5"), mientras que en δ 1.67 y 1.58 hay dos singuletes, que integran para seis y tres protones respectivamente, los cuales pertenecen a dos metilos equivalentes (9",8") y a un metilo no equivalente (10"). Conjuntando todas las señales se deduce que efectivamente el sustituyente es un grupo geranilo, ya que cumple con todas las características espectroscópicas para el mismo (fig. A).



Con base en las señales antes descritas se propone una fórmula condensada $C_{21}H_{32}O_4$, misma que se confirma en el EM (IE), por el ion de m/z 338, la presencia del grupo geranilo es confirmada por el ion m/z 202, que corresponde al fragmento restante después de la pérdida de este grupo.

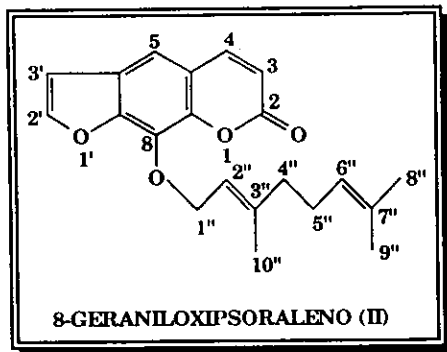
El grupo geranilo se sitió sobre el carbono 5 de la furanocumarina, ya que cuando el sustituyente se encuentra en esta posición, se lleva a cabo un efecto anisotrópico que resulta de la inducción de un campo magnético por los electrones π , sobre el doble enlace 3, 4 que los hace desplazarse a campos más bajos.⁵⁴

Por lo tanto la cumarina fue identificada como 5-Geraniloxipsoraleno (I), mediante una comparación de los datos de la espectroscopia obtenida en el laboratorio y los de la literatura indican que, este compuesto ya había sido aislado, de otras plantas entre las que figura *Casimiroa edulis*.⁵³



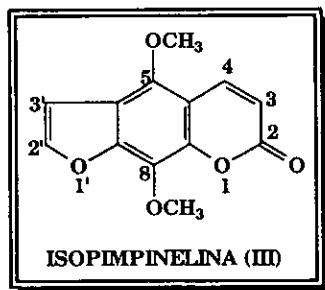
8-GERANILOXIPSORALENO (II).

El espectro de RMN¹H (Espectro 2) del compuesto II, es muy semejante al del compuesto I, incluyendo el número de señales, sólo que estas, en el espectro de RMN¹H de II, están desplazadas a campos más altos, así que la señal del protón H-4, se encuentra en δ 7.76, mientras que para el compuesto I, se encuentra en δ 8.14, pero sus constantes de acoplamiento y otras espectroscopias como, el IR y EM coinciden, por lo que se dedujo que se trata de un compuesto con la misma fórmula condensada C₂₁H₂₂O₄, que también presenta al grupo geranilo como sustituyente, sólo que éste se encuentra, en el carbono 8, es decir es isómero del compuesto I, y se identificó como el 8-Geraniloxipsoraleno, con base a la correlación de sus datos espectroscópicos con los encontrados en la literatura.⁵³



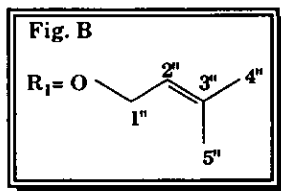
ISOPIMPINELINA (III)

El compuesto III, también es una furanocumarina, ya que presenta en el espectro de RMN¹H (Espectro 3), los dos sistemas AB, correspondientes a los protones 4, 3 y 2', 3', de la estructura base de la furanocumarina, pero en este caso no se encuentran señales en la región de aromáticos, lo que quiere decir que los carbonos 5 y 8, están sustituidos, hecho que se comprueba con la presencia de dos singuletes en δ 4.18 y δ 4.17, que integra para tres protones cada uno, indicando la presencia de dos grupos metoxilos, que ocupan las posiciones antes mencionadas. El EM (IE) de este compuesto presenta un ion molecular de m/z 246, que sugiere una fórmula molecular $C_{13}H_{10}O_5$, que se justifica con las señales encontradas en su Espectro de RMN¹H y con los datos descritos en la bibliografía para la Isopimpinelinea.⁵⁴

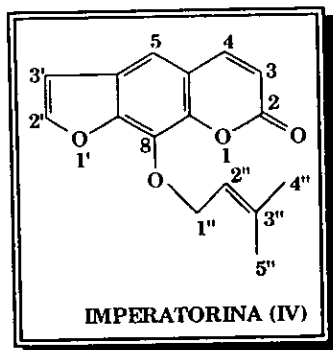


IMPERATORINA (IV).

El compuesto IV, muestra en su Espectro de IR, bandas características para las furanocumarinas en 1726, 1620 y 866 cm^{-1} , comprobándose lo anterior en el espectro de RMN¹H (Espectro 4), en donde se observan cuatro pares de dobletes, que corresponden a los hidrógenos 4, 3 y 3', 2'. En δ 7.35 se observa un singulete que integra para un protón aromático, indicando así que hay un sólo sustituyente en la molécula, el cual se identificó, mediante las siguientes señales, presentes en su espectro de RMN¹H (Espectro 4): en δ 5.6 se observa una señal que integra para un protón vinílico (2''), en δ 5.0 presenta una señal doble con $J=7.2$ Hz que pertenece a un metileno (1''), unido a un oxígeno, mientras que en δ 1.70 y δ 1.74 hay dos singuletes que integran para tres protones cada uno y que se infiere que se trata de dos metilos (4'' y 5''), conjuntando las señales se dedujo que el sustituyente se trata de un grupo isoprenilo (fig B).



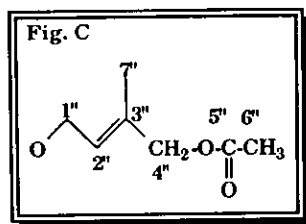
El grupo isoprenilo se ubicó en la posición 8 de la furanocumarina. Con base a lo anterior y comparado con lo descrito en la literatura, el compuesto fue identificado como, **Imperatorina**, el cual ha sido aislado con anterioridad de *Sphenosciadium capitellatum*.⁵⁴



Los compuesto V, VI y XIV, presentan al igual que los anteriores como esqueleto base a una furanocumarina, ya que sus espectros de RMN¹H, presentan señales características para este grupo de sustancias.

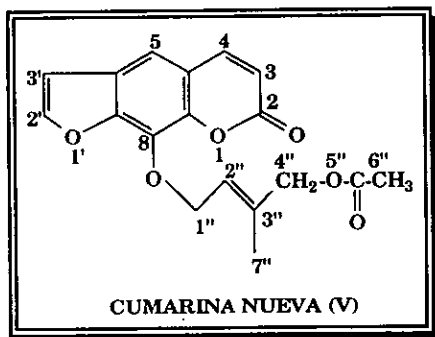
CUMARINA NUEVA (V)

El compuesto V, muestra en su espectro de masas (IE), un ion molecular de m/z 328, al que se le puede asociar una fórmula molecular $C_{18}H_{16}O_6$. Adicionalmente en su espectro de RMN¹H (Espectro 5), se observa en δ 7.38 una señal simple (1H), que por su desplazamiento químico corresponde a un hidrógeno aromático. esto sugiere que se trata de un anillo aromático pentasustituido. El sustituyente que se ubicó en la posición 8 se estructuró mediante la interpretación de las siguientes señales: en δ 5.08 aparece una señal *dd* (2H) que corresponde a un metileno base de oxígeno, en δ 4.63 se aprecia un singulete correspondiente a dos hidrógenos, que también pertenecen a un metileno pero en este caso alfa a un doble enlace y a un oxígeno, en δ 2.04 y δ 1.8 se ubican dos singuletes respectivamente que integran para tres protones cada uno y que corresponden a dos metilos, por lo que se establece que el sustituyente es el que se reporta en la (fig.C)



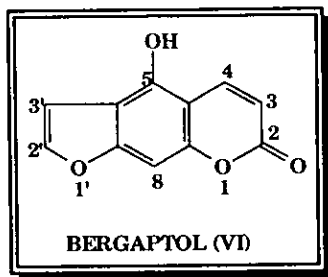
El espectro de RMN¹³C, indica la presencia de 18 carbonos de los cuales seis son metinos, dos son metilos, dos son metilenos y ocho son carbonos cuaternarios, deducción a la que se llegó con la ayuda del espectro DEPT y que coinciden con los presentes en la fórmula propuesta anteriormente.

El compuesto V, no se encontró descrito en la literatura química por lo que se establece que es una furánocumarina nueva.



BERGAPTOL (VI).

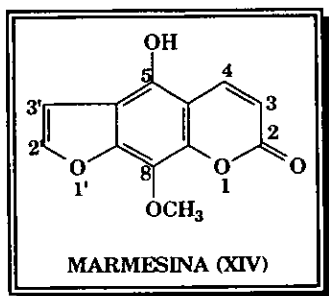
En el espectro de masas (EI) del compuesto VI, se observa un ion de m/z 202, congruente con la fórmula C₁₁H₆O₄, por su parte en el espectro de IR, se observa una banda ancha en 3298 cm⁻¹ γ (OH). El espectro de RMN¹H (Espectro 6), muestra una señal ancha en δ 10.65, característica para grupo (OH), confirmando lo apreciado en el IR; dicho sustituyente se encuentra en la posición 5 de la furanocumarina, mientras que la posición 8 esta ocupada por un hidrógeno, que aparece en δ 7.44, los datos descritos anteriormente, concuerdan con los descritos en la literatura para el **Bergaptol**.



MARMESINA (XIV).

El compuesto XIV, presenta en su espectro de RMN¹H (Espectro 7) una señal ancha en δ 5.9 que desaparece al agregar agua deuterada y por lo tanto se atribuye a un grupo OH, en δ 4.15 aparece un singlete que integra para tres protones, y que pertenece a un grupo metoxilo.

Por su parte el EM (EI), presenta un ion de m/z 232, al que se le puede asociar una fórmula $C_{12}H_8O_5$, además un ion de m/z en 217, que corresponde a un ion secundario por pérdida de un metilo. Lo anterior da lugar a dos estructuras probables, por lo que se recurrió a los datos bibliográficos, en los que mediante la comparación de los datos físicos y espectroscópicos se logró identificar al compuesto aislado como Marmesina.⁵⁷



X.2-FLAVONAS

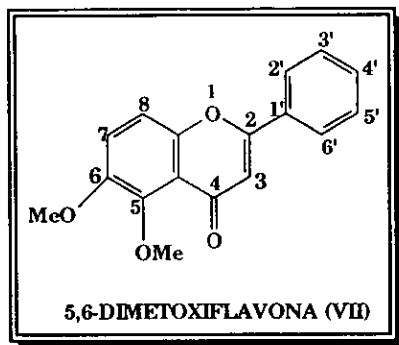
5, 6-DIMETOXIFLAVONA (VII).

El compuesto VII, se identificó como una flavona mediante su espectroscopia; el espectro de RMN¹H (Espectro 8), muestra tres señales características para una flavona no sustituida en el anillo B⁵⁸: en δ 7.50 aparece una señal que integra para tres protones correspondientes a los protones 3', 4' y 5' que se desplazan a campos más altos que los protones 2' y 6' que aparecen en δ 7.90.

En δ 6.69 del espectro de RMN¹H se encuentra una señal que integra para un protón acoplado a dos enlaces con un carbonilo, lo que permite situar al hidrógeno en la posición 3. Por su parte en δ 3.98 y δ 3.94 se observan dos singuletes que integran cada uno para tres hidrógenos, que corresponden a dos grupos metoxilos, situados en el anillo A de la flavona.

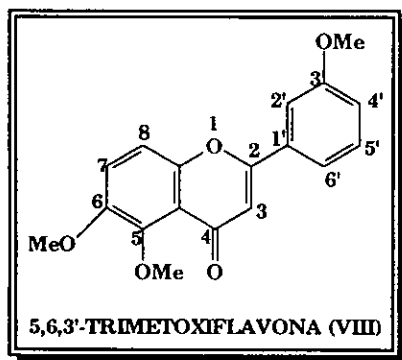
El espectro de RMN¹³C muestra diecisiete señales, que se encuentran divididas en seis metinos, dos metoxilos y nueve carbonos cuaternarios, datos observados en el espectro de C-13, aplicando la técnica DEPT; con base en todo lo anterior se propone la fórmula condensada C₁₇H₁₄O₄ que corresponde a un PM 282, el cual fue confirmado por espectrometría de masas.

Los datos espectroscópicos señalados no son concluyentes en cuanto a la posición que ocupan los metoxilos ya que estos pueden estar en las posiciones 5 y 8 ó 5 y 6, para aclarar esto se realizó el experimento LR-Hetcor en RMN¹H, para encontrar la posición correcta, sin embargo no aparecieron acoplamientos que ayudaran a dilucidar el problema, por lo que se recurrió a la literatura ⁵⁹, en donde se encontró que, cuando la posición 8 ó 6 de la flavona se encuentran sustituida, la señal generada por el carbono en RMN¹³C, se encuentra desplazada a campos más bajos, que δ 130, en este caso el carbono 8 aparece en δ 113.4, mientras que la señal para el carbono 6 se encuentra en δ 148, por lo que la estructura del compuesto se estableció como: **5,6-Dimetoxiflavona**.



5, 6, 3'-TRIMETOXIFLAVONA (VIII).

Para el compuesto VIII, el espectro de RMN¹H (Espectro 9), muestra tres señales simples a δ 3.89, 3.94 y 3.98 (3H) y que por su desplazamiento químico corresponde a tres grupos metoxilos, en δ 6.68 se observa un singulete que corresponde al H-3; por otro lado aparece una señal simple en δ 7.32 (s, 2H), perteneciente a los protones H-7 y H-8, por su parte en δ 7.06-7.48 aparece una señal compleja que integra para cuatro protones, los cuales corresponden a los protones 2', 4', 5' y 6'. La resonancia de hidrógeno indica que la molécula consta de dieciséis hidrógenos, mientras que en el espectro de RMN¹³C, se observan 18 señales que corresponden a siete metinos, tres metilos y ocho carbonos cuaternarios. En su espectro de EM, se observa un ion de m/z en 312, que corresponde a una fórmula C₁₈H₁₆O₅, y que es congruente con la información obtenida de los espectro de RMN¹H. Así mismo, se observa un ion de m/z 132, que corresponde a un fragmento de la flavona, que indica que dos de los metoxilos están en el anillo A y el restante en el anillo B. Los dos metoxilos que se encuentran en el anillo A, ocupan sin lugar a dudas las posiciones 5 y 6, debido a la coincidencia en el desplazamiento químico de las señales con aquellas que presenta el compuesto VII. Por su parte el metoxilo en el anillo B ocupa la posición 3', conclusión a la que se llegó con ayuda del LR-Hetcor, en donde la señal del H-2', se encuentra acoplada a tres ligaduras con el carbono 3', que es cuaternario y que se encuentra acoplado a su vez con los hidrógenos del metoxilo. Por lo que el compuesto fue identificado como 5, 6, 3'-Trimetoxiflavona.

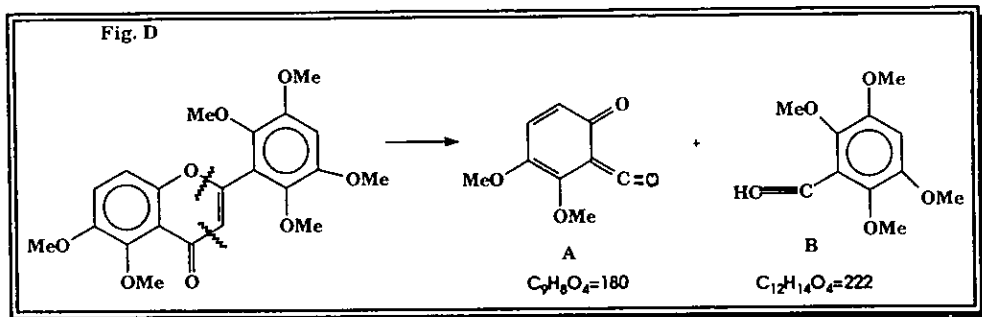


Los compuestos X, XI, XII y XIII se identificaron también como flavonas, en base a sus características espectroscópicas.

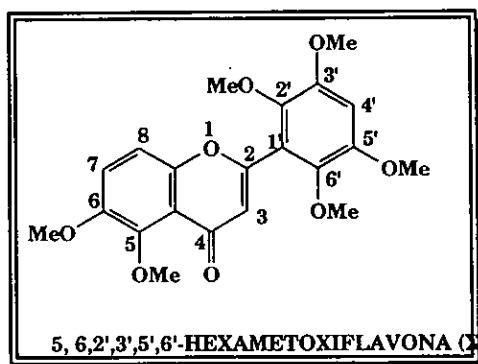
5, 6, 2', 3', 5', 6'-HEXAMETOXIFLAVONA (X).

El compuesto X, se identificó como una hexametoxiflavona, debido a que el espectro de RMN¹H (Espectro 10), presenta dos singuletes que integran para tres protones individualmente en δ 4.00 y δ 3.93, que pertenecen a dos metoxilos, mientras que en δ 3.90 y δ 3.76, se observan otros dos singuletes que integran para seis protones cada uno, indicando la presencia de cuatro metoxilos adicionales, por otro lado, en δ 6.69 y δ 6.31, hay dos singuletes que integran para un protón cada uno y que pertenecen a los hidrógenos 4' y 3 respectivamente. En δ =7.29 y δ 7.19 se observan dos dobles, con una $J=9.2$ Hz, pertenecientes a dos protones con posición relativa "orto", de los hidrógenos 7 y 8. Con base en todo lo anterior, se deduce que la molécula consta de 22 hidrógenos y 8 oxígenos, 2 de la estructura base de la flavona y 6 de los metoxilos.

En el espectro de EM (EI), se aprecia un ion de m/z 402, al cual si se le restan 150 que corresponden a la suma de hidrógenos y oxígenos, da como resultado 252, valor correspondiente a exactamente 21 carbonos, por lo que se deduce que la fórmula condensada del producto es, $C_{21}H_{22}O_8$. Basándose en la fragmentación que se ha encontrado para el esqueleto fundamental de las flavonas el ion que aparece en $222m/z$, establece que dos de los metoxilos se encuentran en el anillo A y los otros cuatro en el anillo B (fig. D).



Con base en los datos de RMN¹H y EM del producto se deduce que se trata de la 5, 6, 2', 3', 5', 6'-Hexametoxiflavona.

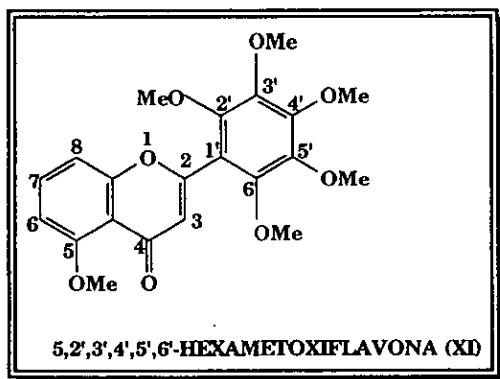


5, 2', 3', 4', 5', 6'-HEXAMETOXIFLAVONA (XI).

El compuesto XI, al igual que el compuesto X, se trata de una hexametoxiflavona, la cual presenta en su espectro de RMN¹H (Espectro 11) una señal triple en δ 7.50 que resulta de la sobreposición de dos dobletes con una misma constante de acoplamiento ($J=8.2\text{Hz}$), y que integra para un protón, el cual debe tener a dos hidrógenos vecinos en posición relativa "orto", el hidrógeno situado en la posición 7, cumple con esta condición. En δ 6.98 y δ 6.78 se observan dos dobletes acoplados con una $J=8.2\text{Hz}$, que indica que ambos tienen al mismo hidrógeno vecino (H-7) en posición

"orto", por lo que las dos señales fueron asignadas a los hidrógenos 6 y 8 respectivamente, por otra parte se puede apreciar un singulete en δ 6.30 que por su desplazamiento puede atribuirse al protón de la posición 3. En δ 3.97, 3.96, 3.86 y 3.79 se observan cuatro singuletes, de los cuales los dos primeros integran para tres protones y los dos últimos para seis, dichas señales corresponden a los seis metoxilos presentes en la molécula.

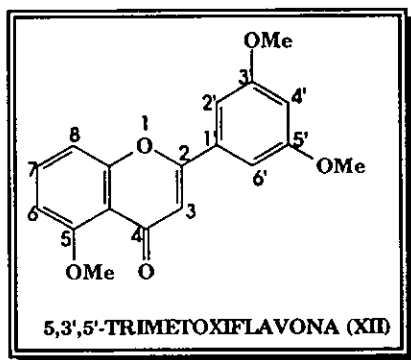
El espectro DEPT del compuesto XI, muestra la presencia de cuatro metinos y cuatro metoxilos, así como de nueve carbonos cuaternarios de los cuales dos, pertenecen a carbonos equivalentes. Por su parte el EM (IE) indica un ion de m/z 402, que permite proponer la fórmula condensada $C_{21}H_{22}O_8$; el ion de m/z 151 indica que cinco de los metoxilos se encuentran en el anillo B de la flavona; de esta manera todos los carbonos del anillo B están sustituidos, hecho que se confirma por la equivalencia de los metoxilos 2' y 6', así como la de los metoxilos 3' y 5', mencionada con anterioridad. El metoxilo restante se ubica en la posición 5 del anillo A, deducción a la que se llega con ayuda del LR-Hetcor, en donde la señal a 159.88ppm, correspondiente a un carbono cuaternario se acopla a tres ligaduras con la señal asignada para el hidrógeno 7, se observa un segundo acoplamiento con los de los hidrógenos pertenecientes al metoxilo, que se ubican en $\delta=3.96$ ppm (en RMN1H), el único átomo de carbono que cumple con ambos acoplamientos es el carbono 5, por lo que la molécula se identifica como, 5,2',3',4',5',6'-Hexametoxiflavona.



5, 3', 5'-TRIMETOXIFLAVONA (XII).

El espectro de EM de la flavona XII presenta un ion molecular de m/z 312, el cual corresponde a una fórmula $C_{18}H_{16}O_5$. Por otro lado, en el espectro de RMN¹H (Espectro 12) se observa una señal doble en δ 6.97 ($J=2.4\text{Hz}$), que por su constante de acoplamiento se puede asignar a los H-2' y 6', los cuales se acoplan con el H-4', el cual aparece como una señal triple en δ 6.56 ($J=2.4\text{ Hz, 1H}$), dicha multiplicidad se origina porque el anillo B se encuentra trisustituido en las posiciones 1', 3' y 5'.

Los singuletes en δ 3.97 y 3.82, que integran para tres y seis hidrógenos respectivamente, corresponden a tres metoxilos presentes en la molécula. Las señales presentes en δ 7.53, 7.09 y 6.79 coinciden con las señales de los protones con una disposición como la señalada en la estructura XI, se deduce que uno de los metoxilos está ocupando la posición 5 de la flavona y los otros dos se ubican en el anillo B en las posiciones 3' y 5', hecho que se confirma por la presencia del ion m/z en 162 del espectro de EM, así mismo en el experimento LR-Hetcor, se puede observar que el hidrógeno 7 se encuentra acoplado a 3 ligaduras con el carbono 5 y el carbono 9, siendo los dos últimos cuaternarios, por esta razón se deduce que uno de los metoxilos se encuentra en la posición 5, por su parte los hidrógenos de los dos metoxilos restantes están acoplados a 3 ligaduras con los carbonos 3' y 5' que también son cuaternarios y por lo tanto es, en esas posiciones, en las que se ubican dichos metoxilos. Por todo lo anterior la estructura del producto (XII) corresponde a 5, 3', 5'-Trimetoxiflavona.

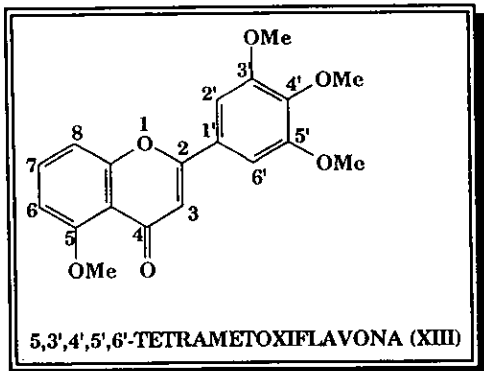


5, 3', 4', 5'-TETRAMETOXIFLAVONA.

El compuesto XIII, se identificó como una tetrametoxiflavona, ya que su espectro de masas presenta un ion molecular de m/z 326. En el espectro de RMN¹H (Espectro 13) se observan dos señales dobles en δ 6.78 y 6.76 que integran para un protón cada una, forman un sistema AB con una $J=8.4$ Hz, el valor de la constante de acoplamiento y su desplazamiento químico son características de los hidrógenos 5' y 6', en δ 6.84 se observa un singulete que integra para un protón en posición alfa a un carbonilo, siendo por ello atribuido a H-3, por otra parte, los metoxilos se identificaron por las señales en $\delta=3.97$, 3.88 y 3.92ppm, los cuales son singuletes que integran para tres protones cada uno. Las señales en δ 7.04, 7.51 y 7.48, son similares a las presentes en los compuestos XI y XII, por lo que se asume que en el compuesto XIII uno de los metoxilos esta en la posición 5 del anillo A y los restantes en el anillo B. El espectro de RMN¹³C, muestra la presencia de 19 carbonos en la molécula, de los cuales seis son metinos, cuatro pertenecen a metoxilos y nueve son cuaternarios, conclusión a la que se llega con ayuda del experimento DEPT. En el espectro de EM aparece un ion de m/z en 342, que es congruente con la fórmula C₁₉H₁₈O₆, también se observa un ion de m/z 192, que resulta de la ruptura característica de la molécula de flavona que indica que en el anillo A se encuentra uno de los metoxilos, los otros tres metoxilos por lo tanto se situaron en el anillo B.

Las posiciones se confirmaron con ayuda del experimento LR-HETCOR, en donde se observa un acoplamiento a tres ligaduras entre el hidrógeno 7 y el carbono 5, adicionalmente se observa que este carbono interacciona con los protones del metoxilo. Hecho que demuestra la presencia de éstos sobre el carbono 5. Y por lo tanto el producto se identificó como la 5, 3', 4', 5'-Tetrametoxiflavona.

Las posiciones de los metoxilos restantes no pudieron establecerse con el experimento, pero con anterioridad se habían, identificado a los protones 5' y 6', por lo que entonces las posiciones ocupadas por los metoxilos son los carbonos, 2', 3', y 4', identificándose de esta manera al compuesto como: 5,2',3',4'-Tetrametoxioflavona

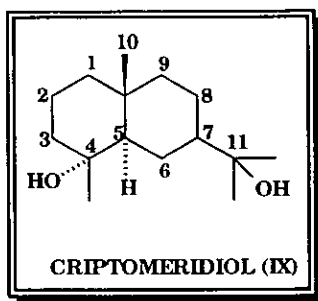


X.3.- SESQUITERPENO

CRIPTOMERIDIOL (IX)

El compuesto IX, es un sesquiterpeneo tal como lo indican sus características espectroscópicas. En el espectro de RMN¹H (Espectro 14) se observan tres singuletes en δ 1.19, 1.10 y 0.85, los cuales integran para seis, tres y tres protones respectivamente, lo cual indica que hay 4 metilos en la molécula, por otro lado el espectro de RMN¹³C, presenta quince señales, de las cuales seis son para metilenos, dos para metinos, cuatro para metilos y tres para carbonos cuaternarios, deducción a la que se llegó en base a la información obtenida mediante la técnica DEPT, y debido a la posición de las señales tanto en el espectro de RMN¹H como en el espectro de RMN¹³C, se descarta la posibilidad de un anillo parcialmente sustituido.

El IR presenta una señal en 3500 cm⁻¹ característica para los grupos OH. En el EM el ion molecular de m/z 240 corresponde a una fórmula C₁₅H₂₈O₂, en 225m/z hay otra señal que indica la pérdida de un metilo, en 189m/z hay otra señal que indica la pérdida de un metilo y dos moléculas de agua, y por último la señal en 59m/z se le atribuye al ion [(Me)₂COH]⁺. Todo lo anterior se comparó con los datos bibliográficos del sesquiterpeneo **Criptomeridiol**.⁵⁵⁻⁵⁶ encontrándose que coinciden en todas sus características.

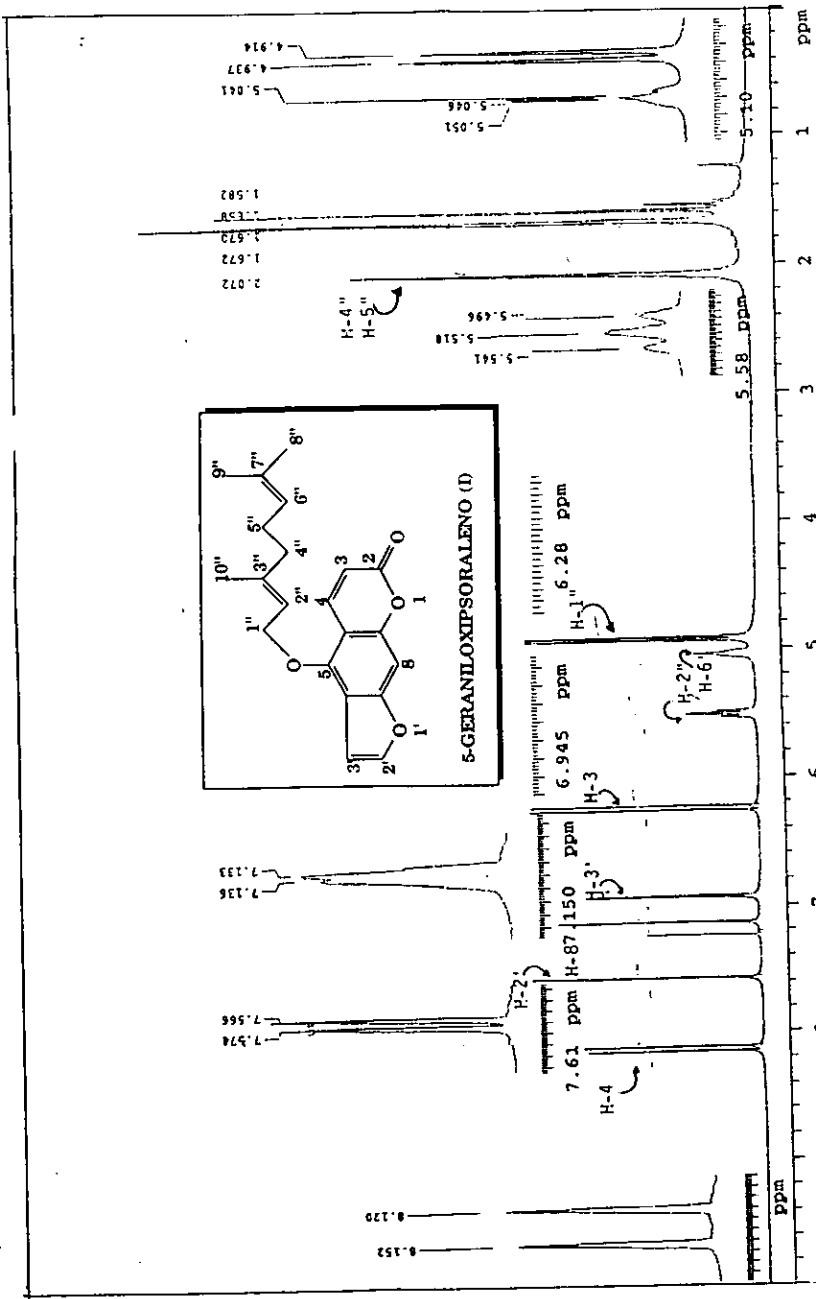


INDICE DE CUADROS

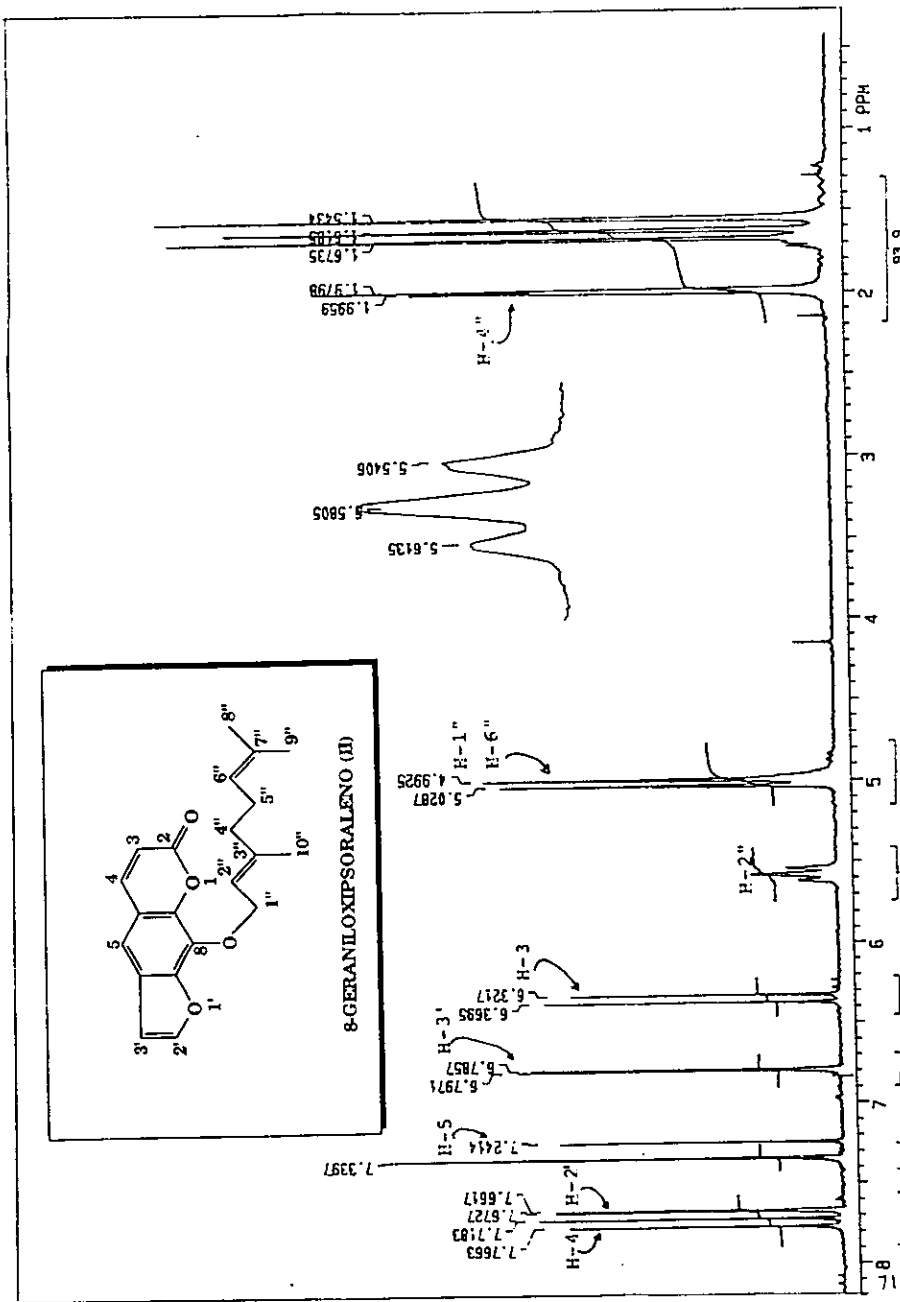
Pag.	
4	Cuadro 1: Primeros Compuestos Naturales Extraídos de Plantas.
8	Cuadro 2: Subfamilias y Géneros de la Familia Rutaceae.
10	Cuadro 3: Subfamilias Productoras de Limonoides.
15	Cuadro 4: Características de los Flavonoides.
24	Cuadro 5: Especies del Género <i>Casimiroa</i> .

XI.- ESPECTROS

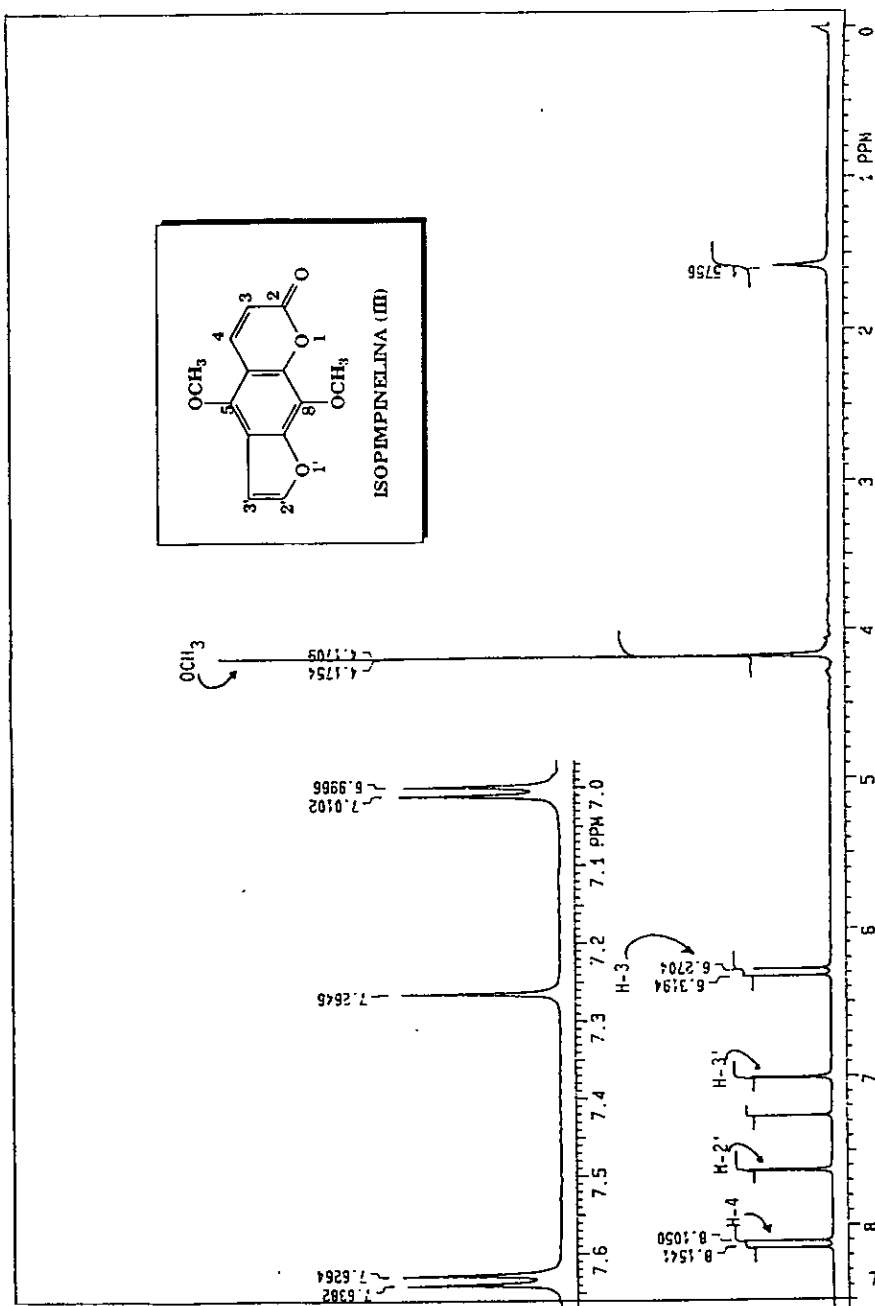
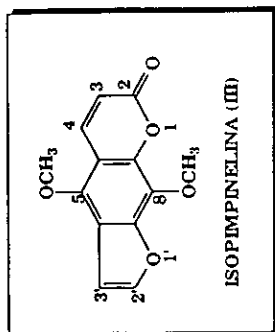
- Espectro 1. RMN¹H (300MHz) de 5-Geranioloxipsoraleno (I).
- Espectro 2. RMN¹H (300MHz) de 8-Geranioloxipsoraleno (II).
- Espectro 3. RMN¹H (300MHz) de Isopimpinina (III).
- Espectro 4. RMN¹H (200MHz) de Imperatorina (IV).
- Espectro 5. RMN¹H (300MHz) de Cumarina Nueva (V).
- Espectro 6. RMN¹H (200MHz) de Bergaptol (VI).
- Espectro 7. RMN¹H (200MHz) de Marmesina (XIV).
- Espectro 8. RMN¹H (300MHz) de 5, 6-Dimetoxiflavona (VII).
- Espectro 9. RMN¹H (300MHz) de 5, 6, 3'-Trimetoxiflavona (VIII).
- Espectro 10. RMN¹H (200MHz) de 5, 6, 2', 3', 5', 6'-Hexametoxiflavona (X).
- Espectro 11. RMN¹H (300MHz) de 5, 2', 3', 4', 5', 6', -Hexametoxiflavona (XI).
- Espectro 12. RMN¹H (300MHz) de 5, 3', 5'-Trimetoxiflavona (XII).
- Espectro 13. RMN¹H (300MHz) de 5, 2', 3', 4'-Tetrametoxiflavona (XIII).
- Espectro 14. RMN¹H (300MHz) de Criptomeridiol (IX).



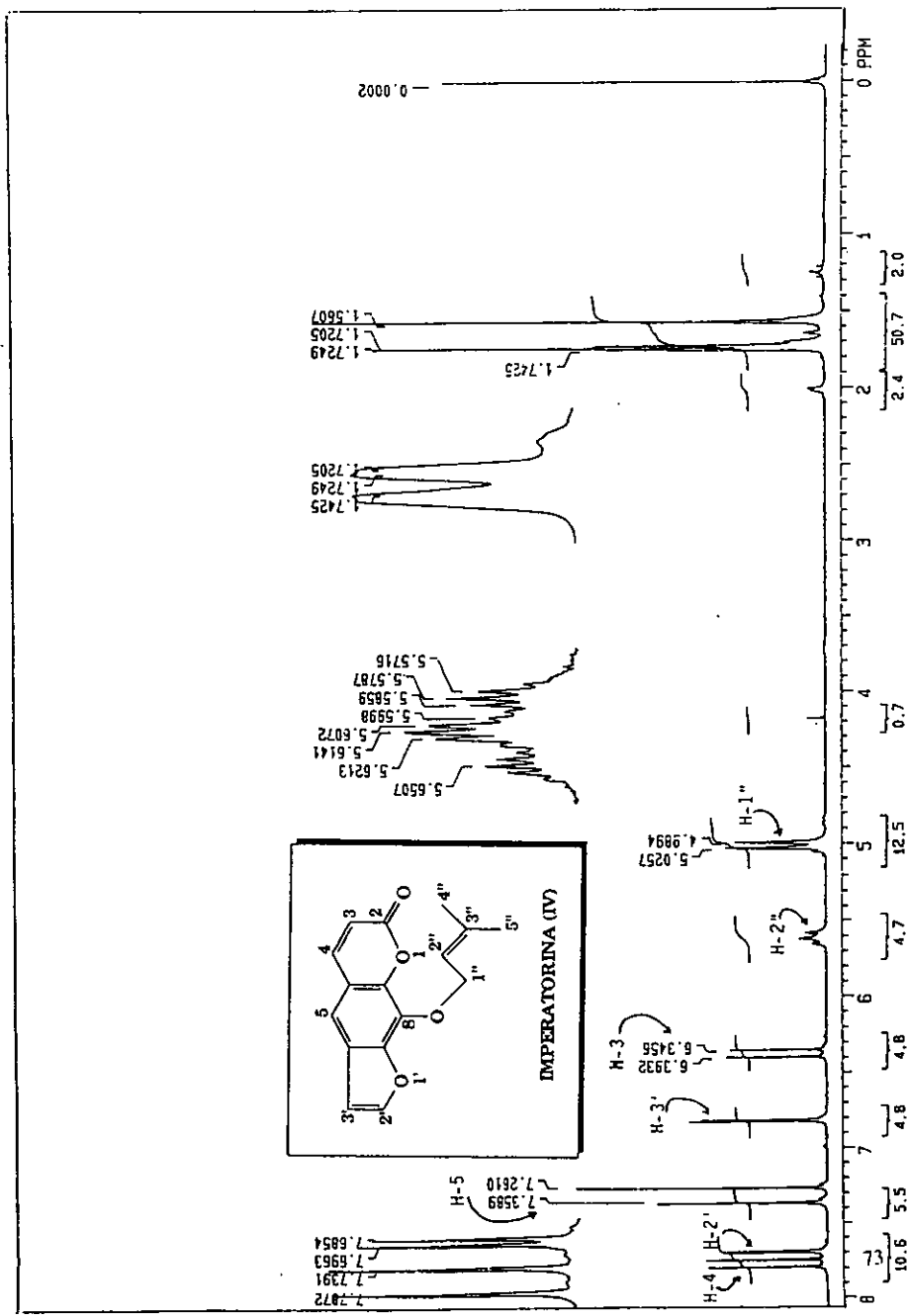
ESPECTRO 1. ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE HIDROGENO DEL 5-GERANILOXIPSORALENO (I) (RMN¹H, CDCl₃, 300MHz).



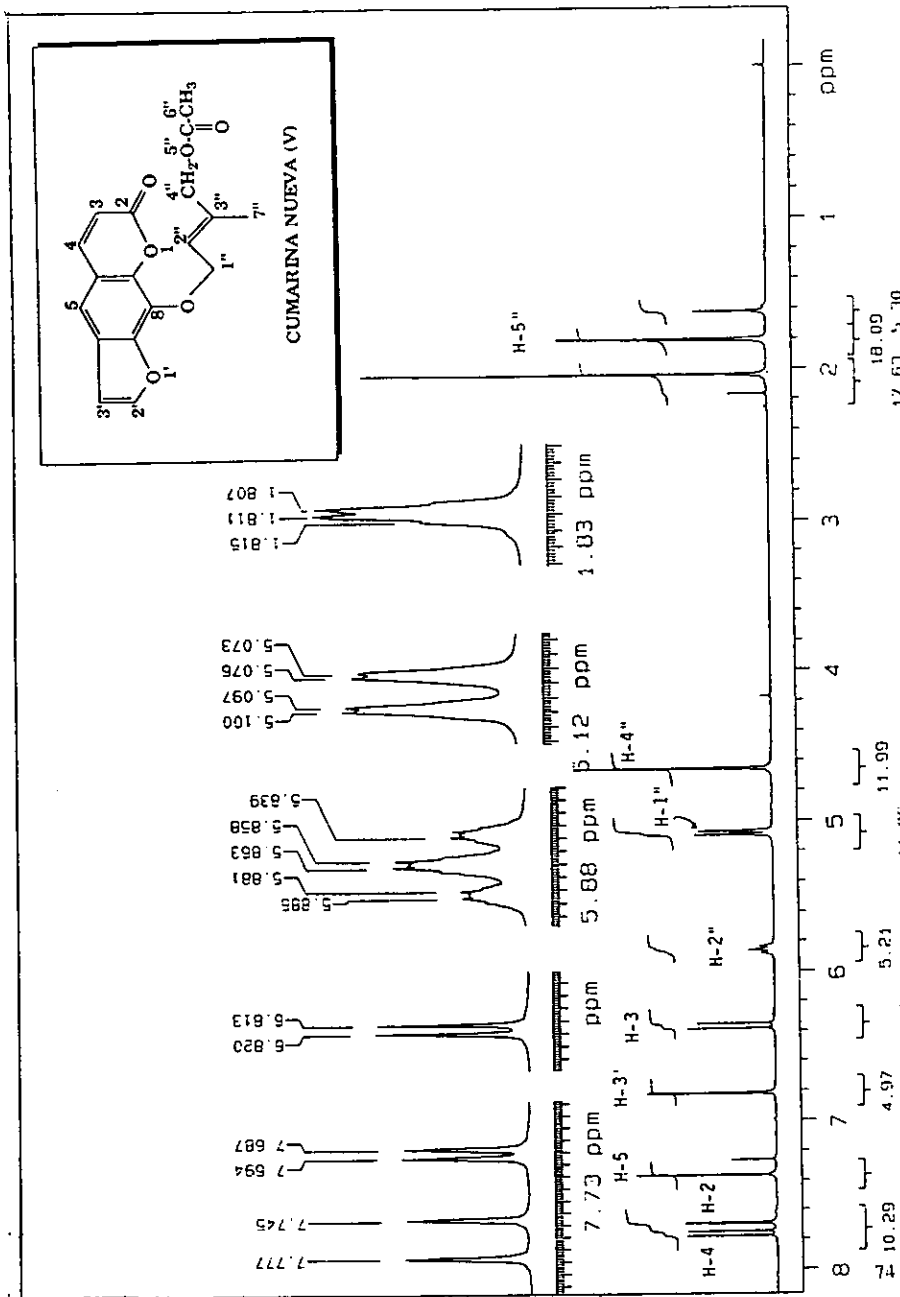
ESPECTRO 2. ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE HIDROGENO DEL 8-GERANIOLIXPORALEÑO (II) (RMN¹H, CDCl₃, 300MHz).



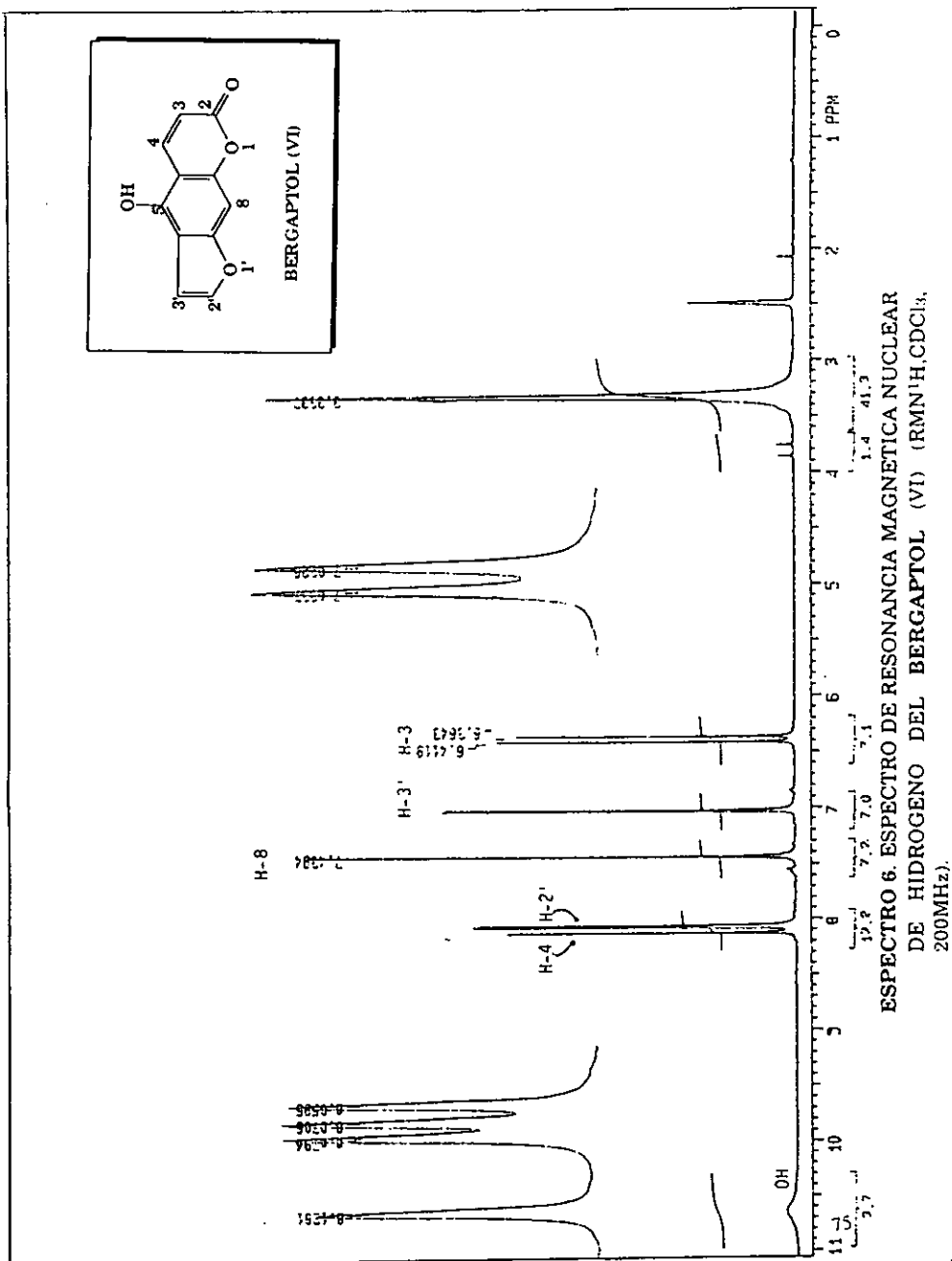
ESPECTRO 3. ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE HIDROGENO DE LA ISOPIMPINELINA (III) (RMN¹H, CDCl₃, 300MHz).

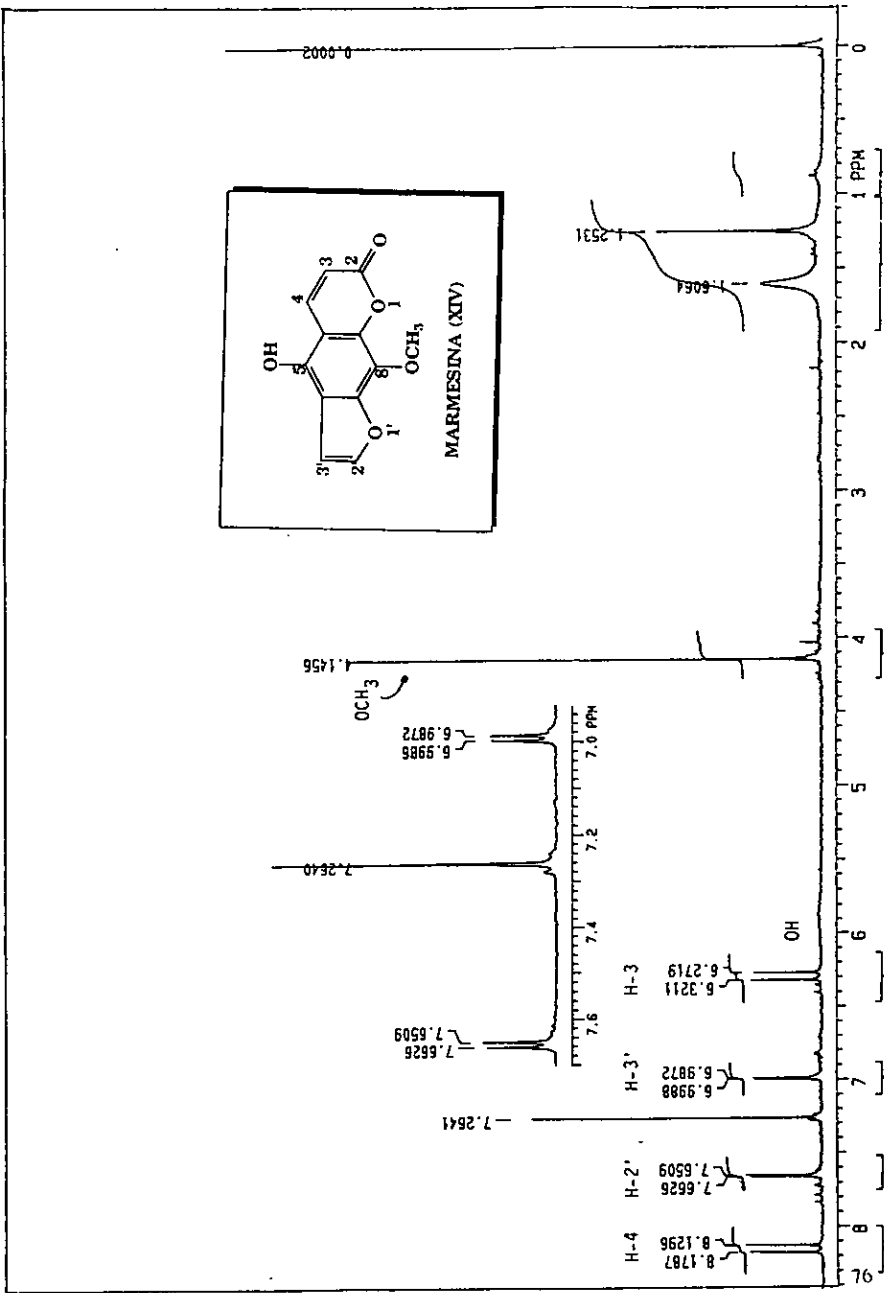
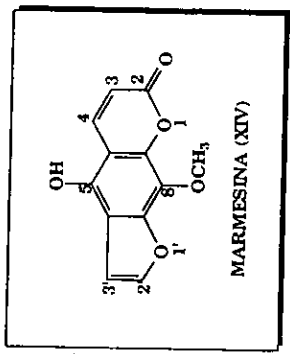


ESPECTRO 4. ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE HIDROGENO DE LA IMPERATORINA (IV) (RMN¹H, CDCl₃, 200MHz).

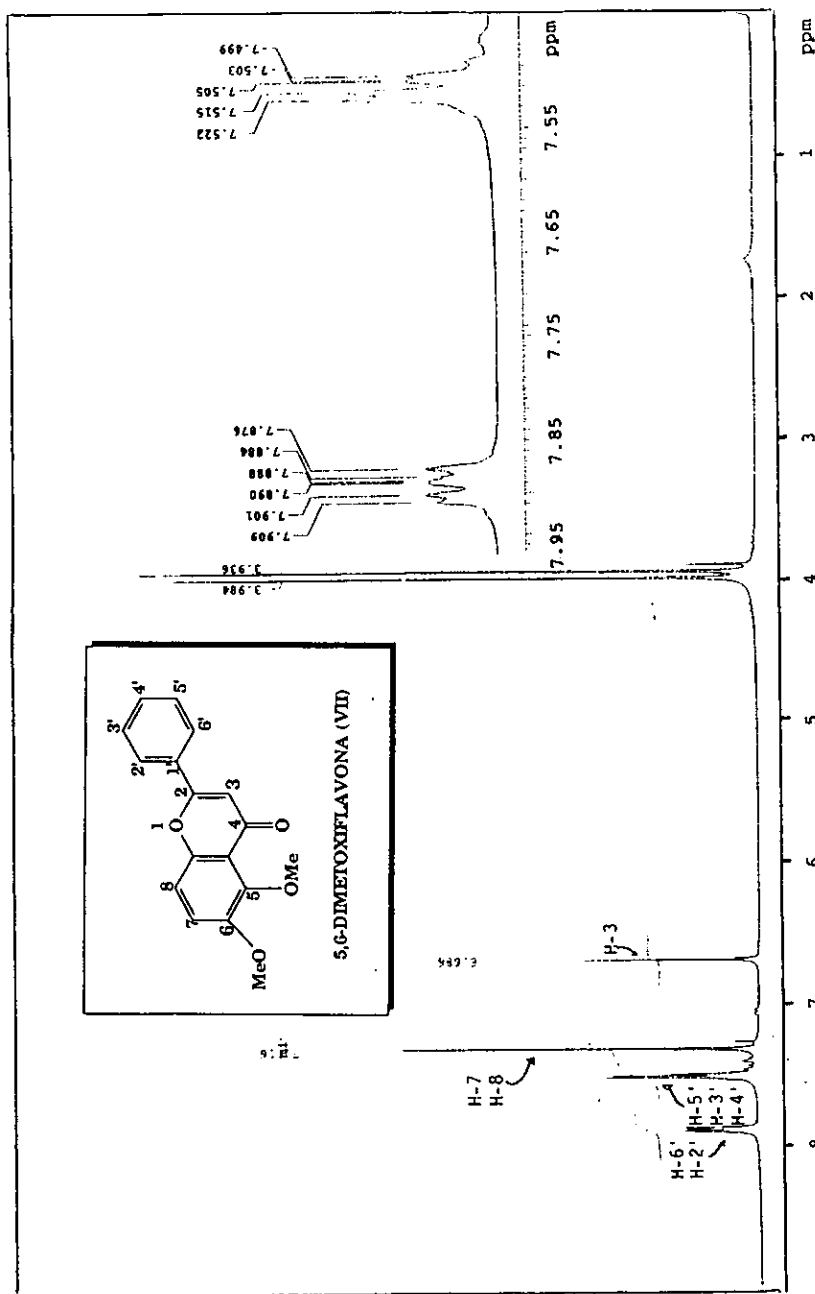


ESPECTRO 5. ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE HIDROGENO DE LA CUMARINA NUEVA (V) (RMN¹H, CDCl₃, 300MHz).

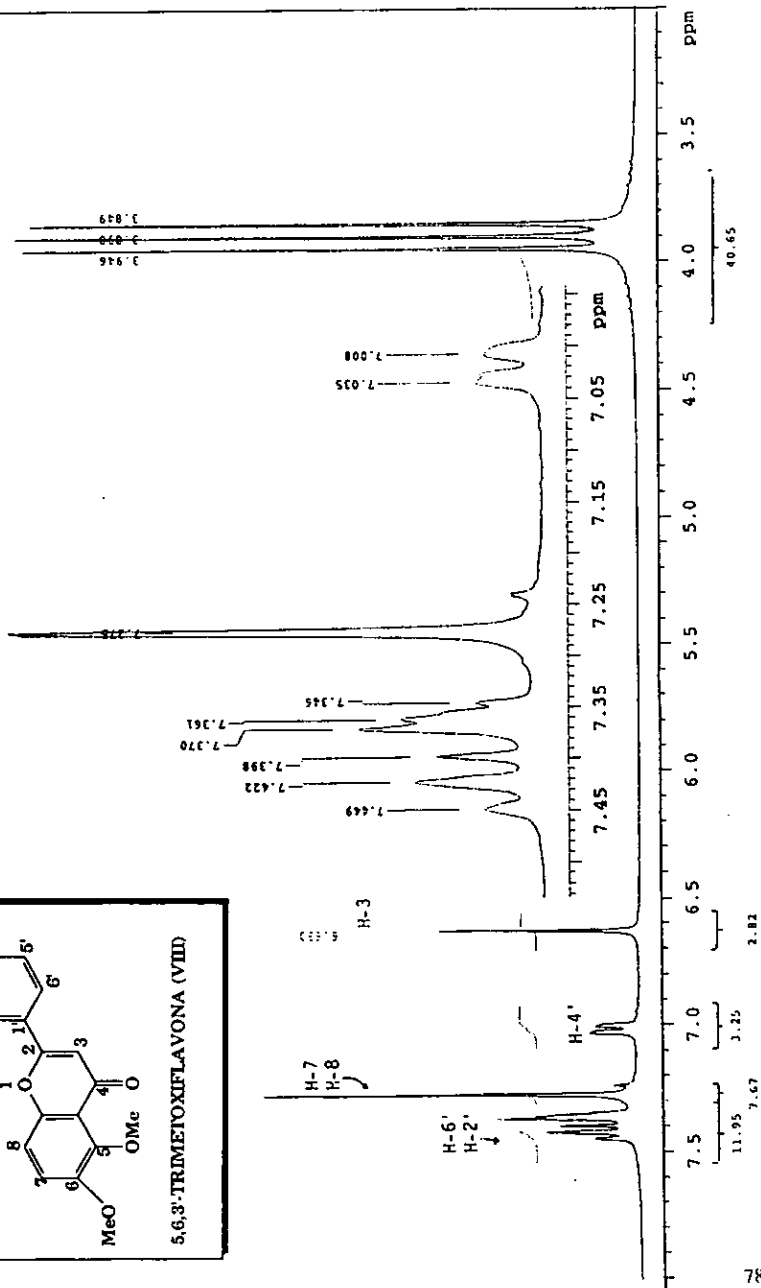
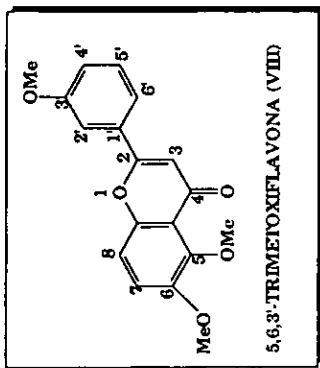




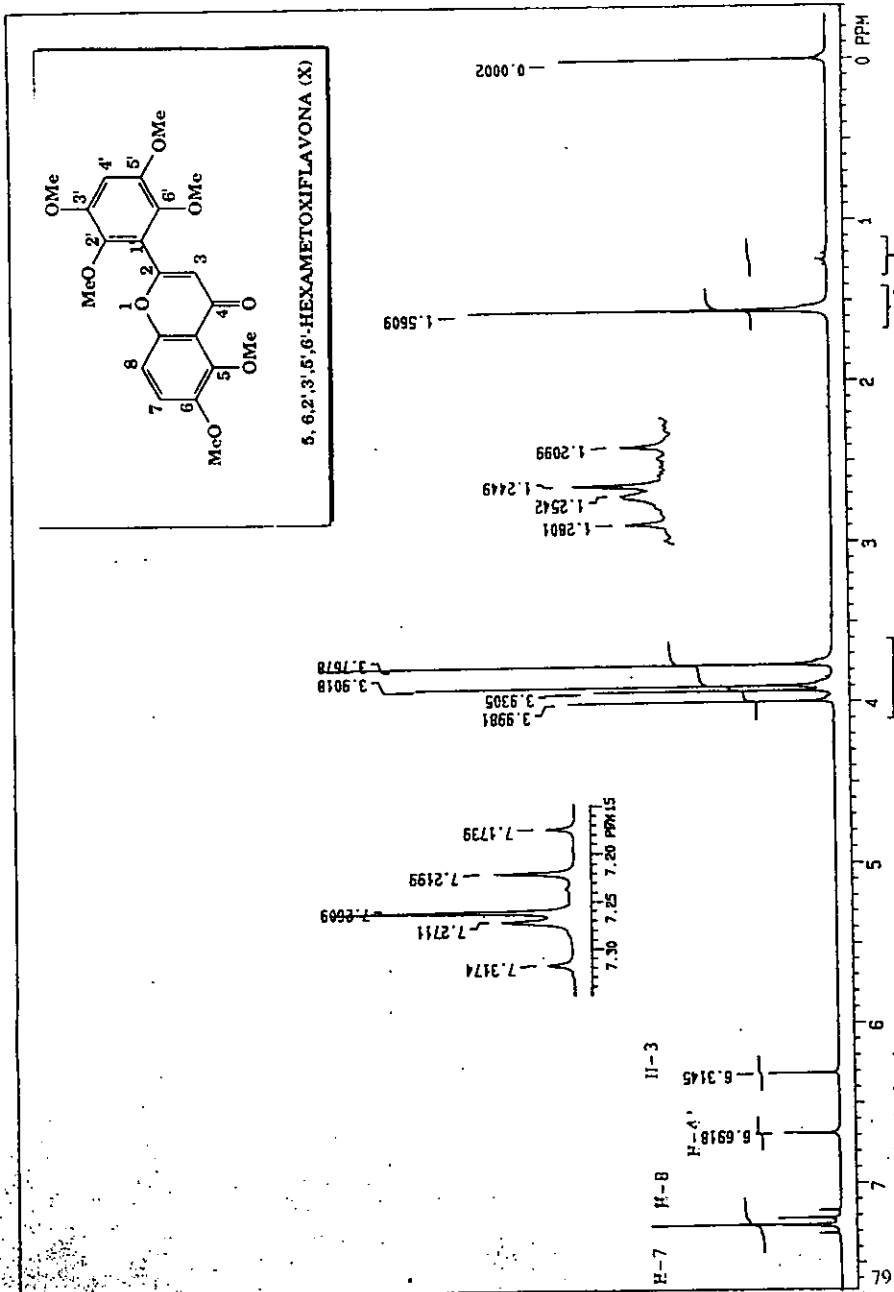
ESPECTRO 7. ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE HIDROGENO DE LA MARMESINA (XIV) (RMN¹H, CDCl₃, 200MHz).



ESPECTRO 8. ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE HIDROGENO DE LA 5,6-DIMETOXIFLAVONA (VII) (RMN¹H, CDCl₃, 300MHz).

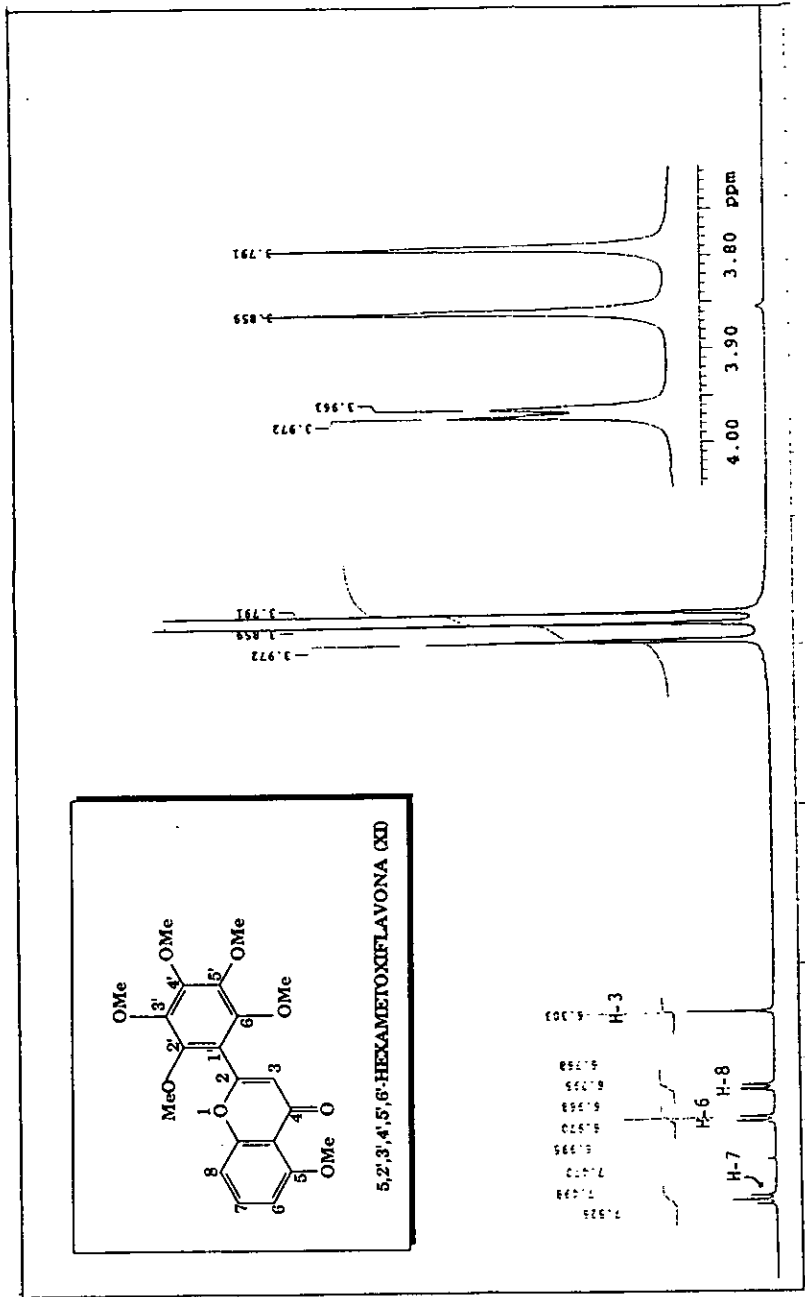


ESPECTRO 9. ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE HIDROGENO DE LA 5,6,3'-TRIMETOXIFLAVONA (VIII) (RMN¹H, CDCl₃, 300MHz).



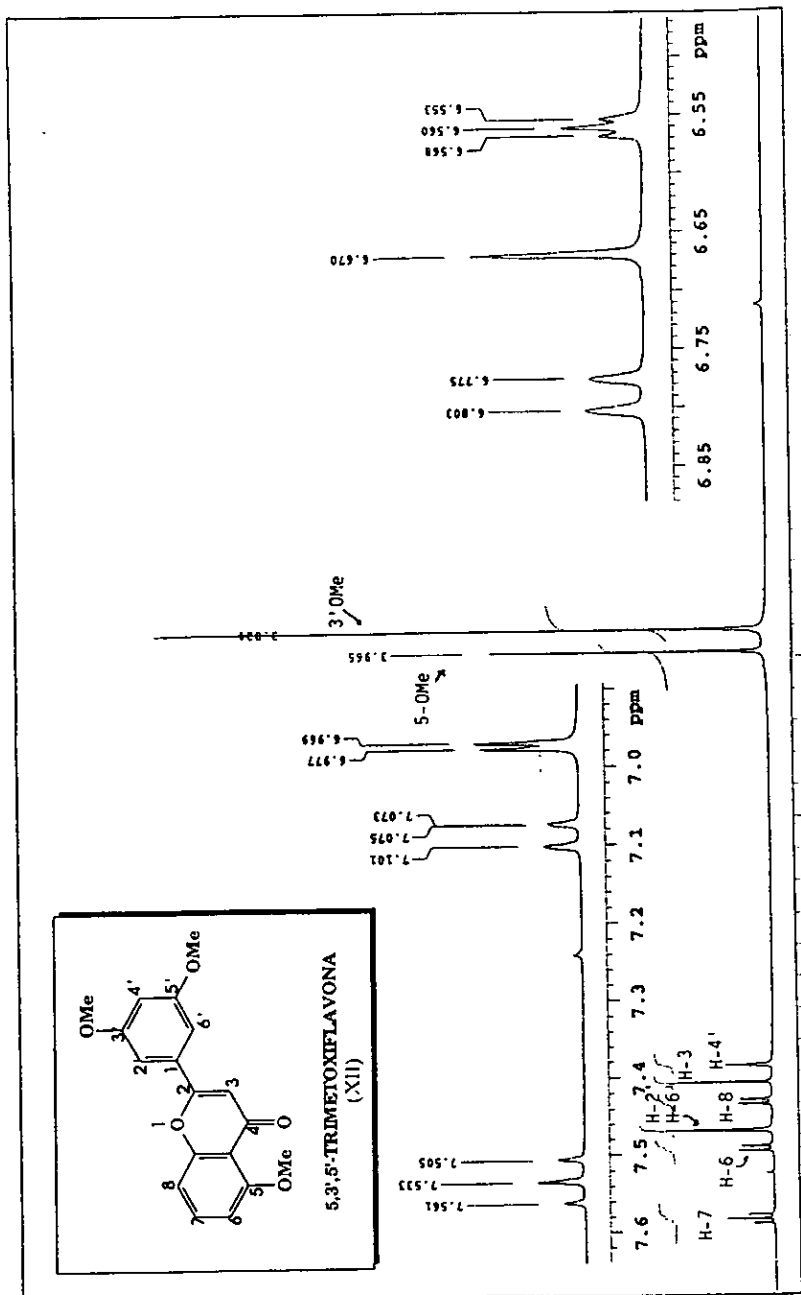
ESPECTRO 10. ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE HIDROGENO DE LA 5,6,2',3',5',6'-HEXAMETOXIFLAVONA (X) (RMN¹H, CDCl₃, 200MHz).

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA



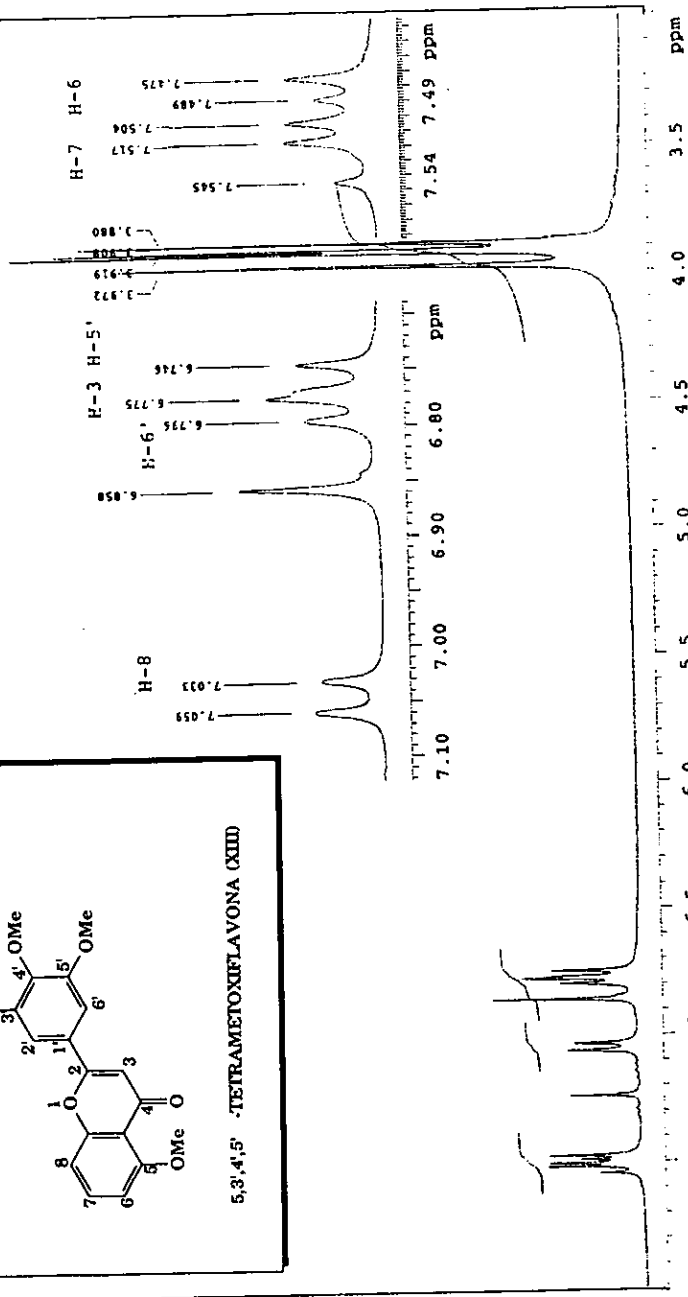
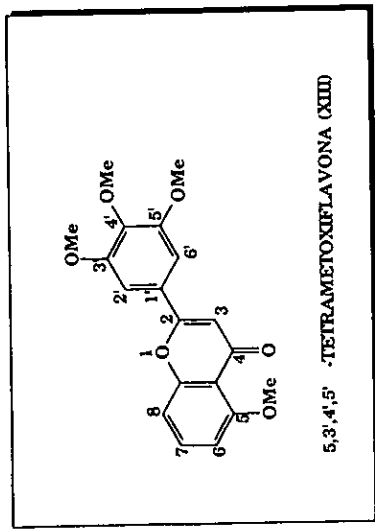
80

ESPECTRO 11. ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE HIDROGENO DE LA 5,2',3',4',5',6'-HEXAMETOXIFLAVONA (XI) (RMN¹H, CDCl₃, 300MHz).

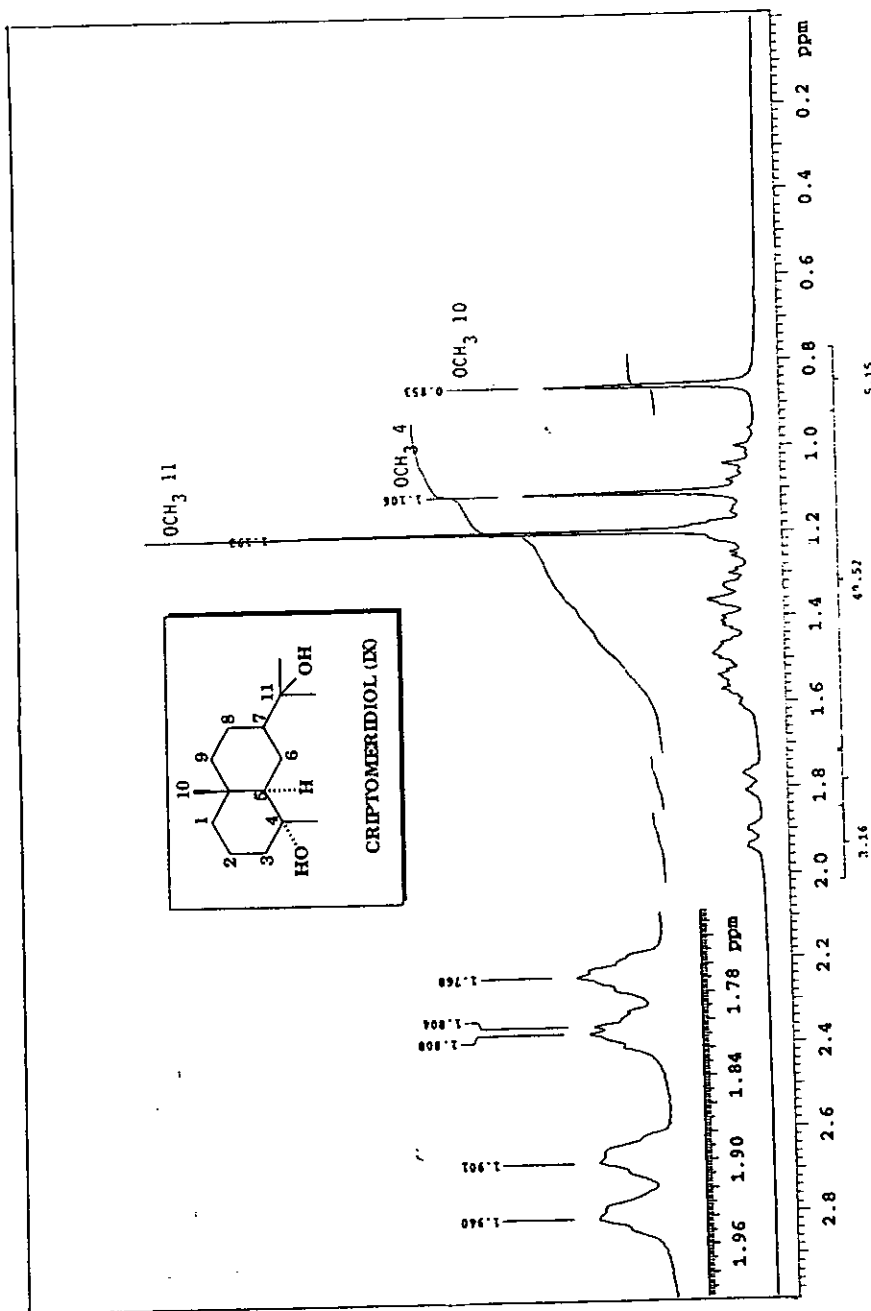


ESPECTRO 12. ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE HIDROGENO DE LA 5,3',5'-TRIMETOXIFLAVONA (XII) (RMN¹H, CDC₃, 300MHz).

22 3.20 7.03 3.99 13.99 24.52 1.61 4.19 3.77



ESPECTRO 13. ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE HIDROGENO DE LA 5,3',4',6'-TETRAMETOXIFLAVONA (XIII) (RMN¹H,CDCl₃, 300MHz).



ESPECTRO 14. ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA
 NUCLEAR DE HIDROGENO DEL CRIPTOMERIDIOL (IX)
 (RMN¹H, CDCl₃, 300MHz).

XII.- CONCLUSIONES

- Se llevó a cabo el análisis fitoquímico de la planta *Casimiroa sp.*, de ella se lograron aislar 7 cumarinas, 6 flavonas y un sesquiterpeno.
- La identificación de los compuestos nuevos se llevo a cabo exclusivamente por métodos espectroscópicos. Los compuestos aislados con anterioridad, se identificaron por comparación bibliográfica y experimental.
- Seis de los compuestos aislados, (una cumarina y cinco flavonas) se consideran nuevos, ya que no fueron informados en la bibliografía. Los productos restantes ya habían sido aislados con anterioridad y en su mayoría encontrados en *Casimiroa edulis* y *Casimiroa greggii*.
- El presente trabajo es una muestra más, de que el estudio fitoquímico, tiene mucho camino por recorrer, ya que las plantas también evolucionan y eso conlleva a una variación en su contenido químico, lo que permite la obtención de compuestos nuevos, que podrian tener una utilidad a nivel terapéutico, hecho que se podrá conocer después de una investigación sobre su actividad biológica.

XIII.- RECOMENDACIONES

El estudio de las plantas, es una práctica que se ha llevado a cabo por decenas de años, aún en el momento actual, tiene gran auge debido a las importantes aportaciones que se han dado en varias ramas de la medicina.

Por lo tanto, es de suma importancia seguir con este tipo de estudios, para obtener más información acerca de las plantas, de las que aún se desconoce su composición, y así poder obtener metabolitos secundarios no conocidos, realizarles ensayos biológicos y observar, si tienen algún efecto terapéutico o de otro tipo.

Tal es el caso de este trabajo en el que se obtuvieron 5 compuestos nuevos de los cuales uno es cumarina y las restantes flavonas. Este estudio, se puede continuar realizando ensayos biológicos para dichos compuestos y obtener datos acerca de sus posibles aportaciones a la ciencia, como por ejemplo anticancerígenos, protectores contra los rayos U.V., hipotensores entre otros, que ya han sido encontrados para este tipo de sustancias.

El género manejado en esta ocasión (*Casimiroa*), consta de 8 especies de las cuales hasta el momento, se han trabajado sólo dos, por lo que sería interesante trabajar las especies faltantes, para conocer su composición química.

XIV.- BIBLIOGRAFIA

- 1.-Dominguez, X.; **Métodos de Investigación Fitoquímica**. México: Limusa, 67 (1973).
- 2.-Geisman, T. A.; **Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism**. USA.: Freeman, 1-3 (1969).
- 3.-Rost, L. T., Thornton, M. R., y Weir, T. E.; **Botánica**. México: Limusa, 231-243 (1988).
- 4.-Swain, T.; **Chemical Plant Taxonomy**. 2a. ed., England: Academic Press Inc., 89-91 (1965).
- 5.-Rosendel, J. S., Juhl, N., and Dahlgren, R.; Use of Chemistry Plant Clasification. *Rev. Latinoamer. Quím.*, 66-89 (1989).
- 6.-Herbert, B. R.; **The Biosynthesis of Secondary Metabolites**. 2a. ed., New York: Chapman and Hall, 1-2 (1989).
- 7.-Waterman, P.G.; **Phytochemical Potential of Tropical Plants**. New York: Plenum Press, 203-233 (1993).
- 8.-Escalante, S. E.; **Botánica**. México: Universidad de Yucatán., 245 (1941).
- 9.-Heywood, V.H.; **Las Plantas con Flores**. Barcelona: Reverté, 198-200 (1985).
- 10.-Cronquist, A.; **An Integrated System of Clasification of Flowering Plants**. New York: Columbia University, 815-817 (1981).
- 11.-Martínez, M.; **Las Casimiroas de México y Centroamérica**. Instituto de Biología, pp: 22, (I), 38-42 (1951).

- 12.-Dreyer, L. D., Pickering, V. M and Cohan, P.; Distribution of Limonoids in the Rutaceae. *Phytochemistry*, (11), 705-713 (1972).
- 13.-Champagne, D. E., Koul, O., Isman, M. B., Swedder, G and Towers, N.; Biological Activity of Limonoids from the *Rutales*. *Phytochemistry*, (31), 377-394 (1992).
- 14.-Dreyer, L. D.; Chemotaxonomy of the *Rutaceae* VII Alkaloids in *Euodia Zanthoxyloides*. *J. Org. Chem*, (35), 2420-2422 (1970).
- 15.-Hulme, A. C.; **The Biochemistry of Fruits and their Products**, Vol. I, Academic Press, 334-341 (1970).
- 16.-Vitagliano, J. C., and Comin, J.; Studies on Argentin Plants XXIX. Limonoids from *Esenbeckia febrifuga* and *Hellietta longifoliata*, *Anal. Asoc. Quim. Argentina*, (58), 273 (1970).
- 17.-Robinson, T.; **The Organic Constituents of Higher Plants**. 4a. ed., USA.:Cards Press, 191-193 (1980).
- 18.-Markham, K. R.; **Techniques of Flavonoid Identification**. England: Academic Press Inc, 1-5 (1982).
- 19.-Jmann.; **Secondary Metabolism**. 2a.ed., United States: Oxford Science Publications, 174-181, 275-285 (1987).
- 20.-Liu, Y. L., Neuman, P., Timmermann, B. and Mabry, T.; Techniques for Flavonoid Analysis. *Phytochemistry Method Frontiers* (ed. Dominguez, X. A).*Rev. Latinoamer. Quim*, 90 (1990).
- 21.-Charnichary, C. A.; Estudio Químico de *Esenbeckia huertana*. *Tesis* Ingeniero Químico. facultad de Química, UNAM, 10 (1991).

- 22.-Harborne, J. B.; **Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis**. 2a. ed., United States: Chapman and Hall, 50-61 (1984).
- 23.-Harborne, J. B., and Baxter, H.; **Phytochemical Dictionary: A Handbook of Biactive Compounds from Plants**. United States: Taylor and Francis, 351, 367 (1993).
- 24.-Bruneton, J.; **Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia**. España: Acribia, 141-148, 160-164 (1991).
- 25.-Murray, D. H., Méndez, J., and Brown, S. A.; **The natural Coumarins Occurrence, Chemistry and Biochemistry**. New York: John Wiley and Sons LTD, 1-12 1982.
- 26.-Zobel, A. M.; **Ultraviolet Influences Quantities and Quality of Coumarins Extruded as cell Protection**. **Reunión Anual de la Soc. Fitoquímica de América del Norte**. Cd. México. (1994).
- 27.-Elgamal, M. H. A., Elena, N. H., and Elkhisy, E. A. M.; ¹³C RMN Chemical Shifts and Carbón-Protón Coupling Constants of Some Furocoumarins and Furochromones. **Phytochemistry**, (18), 139-143 (1979).
- 28.-Gunatilaka, L. A., Kingston, G. L., Wijeratne, K. M., and Ratnayake, B. B. M.; **Biological Activity of some Coumarins from Sri Lankan Rutaceae**. **J. Nat. Prod.**, (57), 518-520 (1994).
- 29.-Rendle, A. D.; **The Classification of Flowering Plants**. Vol. II. Great Britain: Crambridge, 285-289, 815-817 (1956).
- 30.-Mink, K., Gray, Y. A. and Waterman, G. P.; **Benzophenanthridine Alkaloids from the Stem Bark of a Zanthoxylum species**. **Phytochemistry**, (26), 3251-3254 (1987).

- 31.-Dominguez, A. X.; Importancia de la Quimiotaxonomía en la Investigación Fitoquímica. *Medicina Tradicional*, (2), 37-43 (1980).
- 32.-Ohmoto, T., and Koike, K.; Canthin-6-one Alkaloids in: *The Alkaloids*, (36), New York: Academic Press, 135-170 (1989).
- 33.-Battacharyya, P., and Chakraborty, D. P.; Carbazole Alkaloids in *Fortschr. Chem Orgn Naturstoffe*, (52), New York 159-209.
- 34.-Yenesew, A., and Dargra ,E.; Alkaloids of *Teclea nobilis*. *Phytochemistry*, (27), pp: 651 (1988).
- 35.-Chaichaipyth, C., Pommanguera, S., Thanyaruthi, D., and Anderson, J. E.; Two new Bioactive Carbazole Alkaloids from the Root bark of *Clausena harmandiani*. *J. Nat. Prod.*, (51), pp: 1285 (1988).
- 36.-Wagner, H.; Pharmaceutical and Economic Use of the *Labiatae* an *Rutaceae* Families. *Rev. Latinoamer. Quim.*, (8), 16 (1977).
- 37.-Lozoya, X.; *Flora Medicinal de México*. Vol. II. México: IMSS, 130-147 (1982).
- 38.-Rzedowski, J., y Graciela, C.; *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Vol.1. México: Continental, 374-375 (1979).
- 39.-Chiang, F., y González, M. F.; Nueva Especie de *Casimiroa* (*Rutaceae*) de la Zona Arida Oaxaqueño-Poblana. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. Número 41, (Nov. 1981).
- 40.-Martinez, M.; *Las Plantas Medicinales de México*. 3a. ed., México: Botas, 92-95. (1944).
- 41.-*Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana*. Vol. III. Instituto Nacional Indigenista (INI). México, 1413-1414 (1994)

- 42.-Kincl, F. A., Romo, J., Rosenkranz, G., and Sondheimer, F.; The Constituents of *Casimiroa edulis* Llave et Lex. *J. Chem. Soc.*, 4162-4169 (1956).
- 43.-Chapman and Hall. *Dictionary of Natural Products* On CD Room. Instituto de Química UNAM. (1995).
- 44.-Iriarte, J., Kincl, F. A., Rosenkranz, G., and Sondheimer, F.; The Constituents of *Casimiroa edulis* Llave et Lex VII. *J. Chem. Soc.*, 4170-4174 (1956).
- 45.-Sondheimer, F., and Meisels, A.; Constituents of *Casimiroa edulis* Llave et Lex- VI. *Tetrahedro*, (9), 139-144 (1960).
- 46.-Lozoya, X., and Enríquez, R. G.; High Performance Liquid Chromatographic Study of *Casimiroa edulis*. Determination of Imidazole Derivates and Rutin in Aqueous and Organic Extracts. *J. Chromatogr.*, (281), 245-51 (1983).
- 47.-Soni, P. L.; Structural Characterization of a Glucan from the Fruits of *Casimiroa edulis*. *Indian J. Chem.*, 31B(11), 793-95 (1992).
- 48.-Chiang, F.; *Casimiroa greggi*, Formely in *Sargentia* (Rutaceae). *TAXON*, (38), 116-119 (1989).
- 49.-Dominguez, X. A., Rodriguez, V., Diego, V. A., and Rojas, M. P.; Extractives of *Sargentia greggi*. *Phytochemistry*, (2), 2648-2649 (1972).
- 50.-Dominguez, X. A., y Villegas, D.; Estructura de la Cerrosillina B (5,6,3',4',5'-Pentametoxiflavona) Aislada de las Hojas del Chapote Amarillo (*Sargentia greggi*). *Rev. Latinoamer. Quim.*, (7), 45-46 (1976).

- 51.-Dominguez, X. A., Butruille, D., Rudy, A., y.Garcia, G. S.; Alcaloides y Limonoides de la Raíz de *Sargentia greggi* (Rutaceae). *Rev. Latinoamer. Quím.*, (8), 47-48 (1976).
- 52.-Meyer, B. N., Wall, M. E., Wani, M. C., and Taylos, H. L.; Plant Antitumor Agents, 21. Flavones, Coumarins, and Alkaloid from *Sargentia greggi*. *J. Nat. Prod.*, (48), 952-956 (1985).
- 53.-Enriquez, R. G., Romero, M. L., and Escobar, L. Y; High Performance Liquid Chromatography Study of *Casimiroa edulis*. Determination of Furocoumarins. *J. Chromatogr.* (287), 209-14 (1984).
- 54.-Kuo-Hsiung, L., and Soine, T. O; Spectral Studies on Some linear Furanocoumarins. *J. Pharm. Sci.*, 58, (6), 681-83, (1969).
- 55.-Irwin, M. A., and Geissman, T. A.; Sesquiterpene Alcohols from *Artemisia pygmaea*. *Phytochemistry*, (12), 849-852 (1973).
- 56.- Huffman, J. W., and Mole, M. L.; A Stereoselective Numannelation Synthesis of Eudalene Sesquiterpenes, *Tetrahedro*, (6), 501-3) (1971).
- 57.-Cisowski, w.; Furanocoumarin from the Fruits of *Ammi visnaga* Lamarck. *Polish Journal of Chemistry*, (60), 91-2 (1986).
- 58.-Kaouadji, M., and Ravel, P.; Novel Methylated Flavonols whit Unsubstituted Bring from *Platanus acerifolia* Buds. *J. Nat. Prod.*, 51 (2), 353-6) (1988).
- 59.-Machida, K., and Osawa, K.; On the Flavonoid Constituents from the Peels of *Citrus hassaku* Hort. ex. Tanaka. *Chem. Pharm. Bull.* 37(4), 1092-4 (1989).