

00570
3
25



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

AISLAMIENTO DE METABOLITOS BIOACTIVOS DE
Prunus serotina ssp. capuli.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
**MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS
(QUIMICA FARMACEUTICA)**
P R E S E N T A
Q.F.B. ADRIANA LOPEZ FERNANDEZ



MEXICO, D. F.

1999

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2750 A2.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dr. Alfonso Romo de Vivar
Primer vocal: Dra. Rachel Mata Essayag
Secretario: Dr. Mariano Martínez Vázquez
Primer suplente: Dr. Andrés Navarrete Castro
Segundo suplente: Dra. María Isabel Aguilar Laurents

Dr. José Serafín Calderón Pardo
ASESOR

Q.F.B. Adriana López Fernández
SUSTENTANTE

*ESTE TRABAJO SE DESARROLLÓ EN EL LABORATORIO 7 (UIPM)
DEL INSTITUTO DE QUÍMICA COMO PARTE DEL
PROYECTO IN210197.*

CONTENIDO

	PÁGINA
RESUMEN	I
ABSTRACT	II
LISTA DE TABLAS	III
LISTA DE CUADROS	IV
LISTA DE ESPECTROS	V
LISTA DE ABREVIATURAS	VI
I.-INTRODUCCIÓN	
1.1.- Antecedentes sobre la familia Rosaceae.	3
1.2.- Antecedentes sobre <i>Prunus serotina ssp. capuli</i> .	4
1.3.- Antiiespasmódicos.	8
1.4.- Glucósidos cianogénicos.	9
II.-JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	11
III.- PARTE EXPERIMENTAL	
3.1.- Material vegetal.	13
3.2.- Procedimientos generales.	13
3.3.- Determinación de las constantes físicas y espectroscópicas de los productos naturales y sus derivados.	14
3.4.- Procedimientos químicos (Acetilación, metilación).	15
IV.- Estudio fitoquímico de la hojas de <i>Prunus serotina ssp. Capuli</i> (<i>primera colecta</i>)	
4.1.- Preparación de los extractos a partir de las hojas.	16
4.2.- Fraccionamiento del extracto de acetona (Extracto PSHA).	16
4.2.1 Aislamiento del β -sitosterol.	17
4.2.2 Aislamiento del ácido ursólico.	18
V.- Estudio fitoquímico de las hojas de <i>Prunus serotina ssp. capuli</i> (<i>segunda colecta</i>)	
5.1.- Preparación de los extractos a partir de las hojas.	19
5.2.- Fraccionamiento de los extractos (Extracto HCA, HCB, HCC).	
5.2.1 Fraccionamiento del extracto de hexano (Extracto HCA).	19
5.2.1.1 Aislamiento del β -sitosterol.	20
5.2.2 Fraccionamiento del extracto de CH_2Cl_2 (Extracto HCB).	21
5.2.2.1 Aislamiento del β -sitosterol.	22
5.2.2.2 Aislamiento del ácido ursólico.	22
5.2.3 Fraccionamiento del extracto de metanol(Extracto HCC).	22
5.2.3.1 Aislamiento del 3-O- β -galactósido de quercetina .	23

VI.- Estudio fitoquímico de la corteza de ramas de *Prunus serotina ssp. capuli*

6.1	Preparación de los extractos a partir de la corteza.	25
6.2	Fraccionamiento del extracto de acetona (Extracto PRSA).	25
6.2.1	Aislamiento del ácido ursólico.	27
6.2.2	Aislamiento de 7-O- β -glucósido de naringenina y prunasina.	27
6.2.2.1	Acetilación de la mezcla de 7-O- β -glucósido de naringenina y prunasina.	27
6.3.	Fraccionamiento del extracto de metanol (Extracto PRSB).	28
6.3.1	Fraccionamiento del extracto PRCM.	28
6.3.1.1	Aislamiento de y caracterización de 7-O- β glucósido de naringenina a partir de la fracción primaria PRCM 30-36.	29

VII.- Estudio fitoquímico de la corteza del tronco de *Prunus serotina ssp. capuli* (primera colecta)

7.1.-	Preparación de los extractos a partir de la corteza.	31
7.2.	Fraccionamiento del extracto de CH ₂ Cl ₂ de la corteza.	31
7.2.1	Fraccionamiento de la fracción CGP-2.	33
7.2.1.1	Aislamiento y caracterización de Naringenina, aromadendrina, taxifolina y 7-O- β -glucósido de naringenina.	33

VIII.- Estudio fitoquímico de la corteza del tronco de *Prunus serotina ssp. capuli* (segunda colecta)

8.1.	Preparación de los extractos a partir de la corteza.	36
8.2.	Fraccionamiento del extracto de metanol de la corteza.	36
8.3.	Fraccionamiento de la fracción hexánica del extracto metanólico (extracto G).	37
8.3.1	Aislamiento de β -sitosterol.	37
8.3.2	Aislamiento de naringenina.	38
8.3.3	Aislamiento de 7-O- β -glucósido de naringenina y glucósido de β -sitosterol.	39
8.4	Fraccionamiento del extracto de cloruro de metileno.	39
8.4.1	Aislamiento de 7-O-metil naringenina.	40
8.4.2	Aislamiento del ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico y ácido benzoico.	41
8.4.2.1	Metilación de la mezcla del ácido-2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico y ácido benzoico.	41
8.4.3	Aislamiento de naringenina.	42

XI.- Estudio fitoquímico de la madera de <i>Prunus serotina ssp. Capuli</i>	
9.1 Preparación de los extractos a partir de la madera.	43
9.2 Fraccionamiento del extracto de metanol de la madera.	43
9.2.1 Aislamiento de aislamiento de naringenina.	44
9.2.2 Aislamiento de 7-O- β -glucósido de naringenina.	45
X.- CARACTERÍSTICAS ESPECTROSCÓPICAS DE LOS COMPUESTOS AISLADOS	50
XI.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS	64
XII.- CONCLUSIONES	72
XIV BIBLIOGRAFIA	74

RESUMEN

Prunus serotina capuli (Rosaceae), un árbol de 12 metros de altura, está ampliamente distribuido en México de Sonora hasta Chiapas y Veracruz.

La corteza de *Prunus serotina ssp. capuli* (Rosaceae), se ha utilizado en forma de infusiones en la Medicina tradicional mexicana para el tratamiento de diferentes desordenes gastrointestinales, incluyendo disentería y diarrea. Las hojas frescas del árbol también son utilizadas como antiespasmódicas.

Este trabajo describe el aislamiento y caracterización de β -sitosterol, ácido ursólico y 3-O- β -galactósido de quercetina de las hojas de *Prunus serotina ssp. capuli*, 7-O- β -glucósido de naringenina, prunasina y ácido ursólico de su corteza y naringenina, β -sitosterol 7-O- β -glucósido de naringenina de su madera.

La investigación de la corteza del tronco, llevó al aislamiento de naringenina, aromadendrina, taxifolina. Además fueron obtenidos 7-metil-naringenina, 7-O- β -glucósido de naringenina, β -sitosterol, glucósido de β -sitosterol y un nuevo benzofurano (ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobencofurano-5-oico). Las asignaciones estructurales de éste compuesto se basaron en el análisis espectroscópico y espectrométrico.

ABSTRACT

Prunus serotina capuli (Rosaceae), a tree about 12 m high, is widely distributed in Mexico from Sonora to Chiapas and Veracruz.

The bark of *Prunus serotina capuli* (Rosaceae) has been used as infusion in Mexican indigenous medicine for the treatment of several gastrointestinal disorders, including dysenteric and diarrheic ailments. The fresh leaves of the tree are used as an antispasmodic.

This paper describes the isolation and characterization of β -sitosterol, ursolic acid and quercetin-3-O- β -galactoside from the leaves of *Prunus serotina ssp. capuli*, naringenin-7-O- β -glucoside, prunasin, ursolic acid from its bark and naringenin β -sitosterol naringenin-7-O- β -glucoside from its wood.

Investigation on the dried bark led to the isolation of naringenin, aromadendrin, taxifolin. In addition, metil-naringenin, naringenin-7-O- β -glucoside, β -sitosterol, β -sitosterol glucoside and one new benzofuran (2-isopropenyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-carboxylic acid) were obtained. Structural assignments of the new compound were based on spectroscopic and spectrometric analyses.

LISTA DE TABLAS

TABLA 1	Rendimiento en porciento de los metabolitos aislados de las hojas, <i>Prunus serotina ssp. capuli</i> (primera colecta).	18
TABLA 2	Rendimiento en porciento de los metabolitos aislados de las hojas, <i>Prunus serotina ssp. capuli</i> (segunda colecta).	24
TABLA 3	Rendimiento en porciento de los metabolitos aislados de la corteza de ramas gruesas de <i>Prunus serotina ssp. capuli</i>	30
TABLA 4	Rendimiento en porciento de los metabolitos aislados de la corteza del tronco de <i>Prunus serotina ssp. capuli</i> (primera colecta).	35
TABLA 5	Rendimiento en porciento de los metabolitos aislados de la corteza del tronco de <i>Prunus serotina ssp. capuli</i> (segunda colecta).	42
TABLA 6	Rendimiento en porciento de los metabolitos aislados de la madera, <i>Prunus serotina ssp. capuli</i> .	45
TABLA 7	Resumen de los extractos que se trabajaron en esta investigación.	46
TABLA 8	Variación de los metabolitos aislados de hojas, corteza de ramas gruesas y la madera.de <i>Prunus serotina ssp. capuli</i>	47
TABLA 9	Comparación del rendimiento de los metabolitos aislados de la corteza del tronco.de <i>Prunus serotina ssp. capuli</i> de acuerdo a su época de colecta.	48
TABLA 10	Actividad biológica descrita en la literatura para los compuestos aislados.	49
TABLA 11	Datos espectroscópicos de RMN ¹³ C de la tremetona, ácido-2-isopropenil-2,3 dihidrobenzofurano-5-oico y su derivado metilado.	70
TABLA 12	Comparación de los desplazamientos químicos de RMN ¹ H de la tremetona, ácido-2-isopropenil-2,3 dihidrobenzofurano-5-oico	71

LISTA DE CUADROS

CUADRO 1	Sistemas de elución utilizados para los análisis de capa fina.	13
CUADRO 2	Resumen del fraccionamiento vía cromatografía en columna abierta del extracto PSHA de las hojas de <i>Prunus serotina ssp. capuli</i> (Primera colecta).	17
CUADRO 3	Resumen del fraccionamiento vía cromatografía en columna abierta del extracto HCA (Extracto A) de las hojas de <i>Prunus serotina ssp. Capuli</i> (Segunda colecta).	20
CUADRO 4	Resumen del fraccionamiento vía cromatografía en columna abierta del extracto HCB de las hojas de <i>Prunus serotina ssp. Capuli</i> (Segunda colecta).	21
CUADRO 5	Resumen del fraccionamiento vía cromatografía en columna abierta del extracto HCC de las hojas de <i>Prunus serotina ssp. Capuli</i> . (Segunda colecta)	23
CUADRO 6	Resumen del fraccionamiento vía cromatografía en columna abierta del extracto PRSA de la corteza de ramas de <i>Prunus serotina ssp. Capuli</i>	26
CUADRO 7	Resumen del fraccionamiento vía cromatografía en columna abierta del extracto PRCM de la corteza de ramas de <i>Prunus serotina ssp. Capuli</i>	27
CUADRO 8	Resumen del fraccionamiento vía cromatografía en columna abierta del extracto de cloruro de metileno (CGP) de la corteza del tronco de <i>Prunus serotina ssp. Capuli</i> (primera colecta).	32
CUADRO 9	Resumen del fraccionamiento vía cromatografía en columna abierta de la fracción hexánica del extracto metanólica de la corteza del tronco de <i>Prunus serotina ssp. Capuli</i> (segunda colecta).	38
CUADRO 10	Resumen del fraccionamiento vía cromatografía en columna abierta de la fracción (CC) de la corteza del tronco de <i>Prunus serotina ssp. Capuli</i> (segunda colecta).	40
CUADRO 11	Resumen del fraccionamiento vía cromatografía en columna abierta del extracto EMM de la madera de <i>Prunus serotina ssp. Capuli</i> .	44

LISTA DE ESPECTROS

ESPECTRO 1	Espectro de RMN ¹ H de 7-O-metil-Naringenina
ESPECTRO 2	Espectro de IR de Naringenina
ESPECTRO 3	Espectro de Masas de Naringenina
ESPECTRO 4	Espectro de RMN ¹ H de Naringenina
ESPECTRO 5	Espectro de RMN ¹³ C de Naringenina
ESPECTRO 6	Espectro de IR de 7-O-β-D- glucósido de Naringenina (Prunina)
ESPECTRO 7	Espectro de Masas de 7-O-β-D glucósido de Naringenina (Prunina)
ESPECTRO 8	Espectro de RMN ¹ H de 7-O-β-D glucósido de Naringenina (Prunina)
ESPECTRO 9	Espectro de RMN ¹³ C de 7-O-β-D glucósido de Naringenina (Prunina)
ESPECTRO 10	Espectro de IR del acetato de 7-O-β-D glucósido de Naringenina
ESPECTRO 11	Espectro de Masas del acetato de 7-O-β-D glucósido de Naringenina
ESPECTRO 12	Espectro de RMN ¹ H del acetato de 7-O-β-D glucósido de Naringenina
ESPECTRO 13	Espectro de RMN ¹³ C del acetato de 7-O-β-D glucósido de Naringenina
ESPECTRO 14	Espectro de IR de Aromadendrina
ESPECTRO 15	Espectro de Masas de Aromadendrina
ESPECTRO 16	Espectro de RMN ¹ H de Aromadendrina
ESPECTRO 17	Espectro de RMN ¹³ C de Aromadendrina
ESPECTRO 18	Espectro de IR de Taxifolina (Dihidroquercetina)
ESPECTRO 19	Espectro de Masas de Taxifolina (Dihidroquercetina)
ESPECTRO 20	Espectro de RMN ¹ H de Taxifolina (Dihidroquercetina)
ESPECTRO 21	Espectro de IR de 3-O-β-D galactósido de Quercetina (Hiperina)
ESPECTRO 22	Espectro de Masas de 3-O-β-D galactósido de quercetina (Hiperina)
ESPECTRO 23	Espectro de RMN ¹ H de 3-O-β-D galactósido de Quercetina (Hiperina)
ESPECTRO 24	Espectro de RMN ¹³ C de 3-O-β-D galactósido de Quercetina (Hiperina)
ESPECTRO 25	Espectro de RMN ¹ de Prunasina
ESPECTRO 26	Espectro de IR de la mezcla del ácido-2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano 5-oico y ácido benzoico

LISTA DE ESPECTROS

(Continuación)

- ESPECTRO 27 Espectro de Masas de la mezcla del ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico y ácido benzoico
- ESPECTRO 28 Espectro de RMN¹H de la mezcla del ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico y ácido benzoico
- ESPECTRO 29 Espectro de RMN¹³C la mezcla del ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico y ácido benzoico
- ESPECTRO 30 Espectro de IR del éster del ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5- oico
- ESPECTRO 31 Espectro de Masas del éster del ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico
- ESPECTRO 32 Espectro de RMN¹H del éster del ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5- oico
- ESPECTRO 33 Espectro de RMN¹³C del éster del ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5- oico
- ESPECTRO 34 Espectro de RMN¹H, RMN¹³C, (HETCOR) del éster del ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico
- ESPECTRO 35 Espectro de IR de β -sitosterol
- ESPECTRO 36 Espectro de Masas de β -sitosterol
- ESPECTRO 37 Espectro de RMN¹H de β -sitosterol
- ESPECTRO 38 Espectro de RMN¹³C de β -sitosterol
- ESPECTRO 39 Espectro de IR de glucósido de β -sitosterol
- ESPECTRO 40 Espectro de RMN¹ de glucósido de β -sitosterol
- ESPECTRO 41 Espectro de RMN¹³C de glucósido de β -sitosterol
- ESPECTRO 42 Espectro de IR del ácido ursólico
- ESPECTRO 43 Espectro de Masas del ácido ursólico)
- ESPECTRO 44 Espectro de RMN¹ del ácido ursólico

LISTA DE ABREVIATURAS

Me OH	Metanol
CDCl ₃	Cloroformo
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
Ac ₂ O	Anhídrido acético
AcOEt	Acetato de etilo
CH ₂ Cl ₂	Cloruro de metileno
DMSO	Dimetil sulfóxido
c.c.f	Cromatografía en capa fina
p.f.	Punto de fusión
IR	Infrarrojo
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de Hidrógeno
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
E.M	Espectrometría de masas
$\nu_{\text{máx}}$	Frecuencia de onda máxima
J	Constante de acoplamiento
Hz	Hertz
ppm	Partes por millón.
δ	Desplazamiento químico
d	Señal doble
dd	Señal doble de doble
s	Señal simple
m	Señal múltiple
V	Voltios
m/z	Masa/carga
M ⁺	Ión molecular
μ g	Microgramo
mg	miligramo

I INTRODUCCION

En México se ha realizado una considerable investigación en el campo de los *productos naturales dirigido hacia el aislamiento y elucidación estructural de compuestos activos*. El éxito de las estrategias para la investigación de agentes medicinales de plantas, se debe a que se toma en consideración aquellas plantas que han sido seleccionadas, de acuerdo a un criterio farmacológico y/o etnomédico (Dimiyuga, 1998).

De las plantas más utilizadas en la medicina tradicional mexicana, la mayoría están relacionadas con el tratamiento de desordenes de tipo **gastrointestinal**, seguidos por los padecimientos respiratorios y de la piel. De tal manera que los fármacos derivados de plantas forman una parte muy importante del tratamiento de padecimientos gastrointestinales. Los principales desordenes *gastrointestinales son dispepsia, espasmos del tracto gastrointestinal, úlcera péptica y duodenal, náusea, vómito, constipación y diarrea* (Lozoya, 1989).

Por otro lado existen modelos biológicos con los cuales se evalúa la actividad de los extractos de plantas contra algunos de estos desórdenes. Estos modelos involucran principalmente probar el extracto para actividad antiespasmódica o carminativa, para utilizarlos en el tratamiento de la dispepsia y cólico .

También se atribuyen propiedades antitusivas, antiinflamatorias, antimicrobianas a un gran número de plantas que crecen en México (Lara, 1996). Las plantas de las familias Labiatae, Compositae y Umbelliferae son dominantes y frecuentemente incluyen especies que han sido estudiadas química y farmacológicamente (Lozoya, 1989).

Con el estudio fitoquímico de *Prunus serotina ssp. capuli* se pretende contribuir con el estudio químico de las plantas que son utilizadas en la medicina tradicional del país, y con ello validar el uso medicinal de la especie .

1.1- ANTECEDENTES DE LA FAMILIA ROSACEAE

La familia Rosaceae está formada aproximadamente por 115 géneros y 3200 especies, sin incluir la enorme cantidad de formas cultivadas de rosales, duraznos, manzanas, cerezas, zarzamoras, almendras etc. (Barbour, 1985).

Ésta familia está ampliamente distribuida sobre la mayor parte del planeta, de los 115 géneros que la conforman, cincuenta tienen especies endémicas en el este de Asia, Norte América y Europa. De los cuales 38 se encuentran en regiones del Pacífico y la mitad están restringidos a los estados del sudeste de México (Lawrence, 1959).

Algunos botánicos dividen esta familia en tres subfamilias: *Rosaceae*, *Malaceae* y *Amygdalaceae*, la subfamilia *Rosaceae* incluye los géneros *Geum*, *Duchesnia*, *Fragaria*, *Potentilla*, *Waldsteinia*, *Cercocarpus*, *Rubus*, *Dalibarda* y *Rosa*. La subfamilia *Malaceae* incluye los géneros *Sorbus*, *Malus*, *Amalanchier*, *Pyrus*, *Crataegus* y *Cotoneaster*. La subfamilia *Amygdalaceae* comprende los géneros *Prunus*, *Padus* y *Amygdalus*.

Los géneros más grandes de la familia son: *Potentilla* (300-350 especies), *Rubus* (600-1000 especies), *Rosa* (150-200 especies), *Crataegus* (300-100 especies), *Prunus* (con 150-170 especies) (Lawrence, 1959).

La familia es considerada de importancia económica, ya que la mayor parte de los árboles frutales y de ornato pertenecen a esta, por ejemplo; cerezos, manzanos silvestres, cerezos, membrillos, nísperos, almendros, melocotoneros (Strasburger, 1988; Hugh, 1980).

1.2 ANTECEDENTES SOBRE *Prunus serotina* ssp. *capuli*

Prunus serotina Ehrn. ssp. *capuli* McVaugh

Familia: **Rosaceae**

Género: *Prunus*

Es un árbol de 12 m de altura, de corteza rojiza o café. Sus hojas son anchas en la punta, de color verde lustrosas con los bordes aserrados. Tiene las flores agrupadas en racimos alargados de color blanco. Los frutos son redondos de color rojo o negro (Argueta, 1994).

Se le conoce con los nombres comunes de capolli (Estado de México), capollin (Estado de México, Puebla), capulín (D.F., Puebla, Coahuila), cerezo (Michoacan) entre otros. La especie se distribuye en los estados de Baja California Sur, Coahuila, Colima, Chiapas, Chihuahua, Durango, Estado de México, Guerrero, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo

León, Oaxaca, Puebla, Queretaro, San Luis Potosí , Sonora, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz, Zacatecas, (Aguilar, y Zolla 1982).

Es poca la información que se tiene sobre el uso que los pueblos indígenas hacían del capulín antes de la conquista:

- Martín de la Cruz (1552) se refiere a la utilización de algunas variedades de capulín para el estreñimiento y para padecimientos de la piel (Lozoya, 1982)
- Sahagún (1575) nos indica en su obra que los frutos “ son medicinales” (Lozoya, 1982).
- Francisco Hernández (1576), describe el uso que los indígenas hacían de la corteza del árbol para el tratamiento de la disentería, y confirma que la corteza en polvo se emplea para padecimientos de los ojos, como inflamaciones y nubes (Lozoya, 1982).

A partir del siglo XIX, el conocimiento científico sobre las propiedades medicinales del capulín se modificó y adquirió un significado distinto al que se había tenido en siglos anteriores.

- El profesor Lozano y Castro (1897) realizó el estudio de la composición química de las hojas del capulín, señalando que además de diferentes

aceites, resinas y glucosa, el vegetal contenía **amigdalina** y un alcaloide de *color blanco que no logró identificar (Noriega, 1941)*.

- A principios del presente siglo, Flores (1907) en su manual terapéutico señala que la substitución del agua de laurel-cerezo por las hojas de capulín, estaba autorizada por la Farmacópea Mexicana y que el producto tenía las mismas propiedades antiespasmódicas del laurel y que la corteza presentó actividad antidiarreica (Lozoya, 1982)
- Maximino Martínez (1934), reiteró la información sobre las propiedades antidiarreicas de la corteza del capulín , y la presencia de amigdalina en la hojas, cuya propiedad las hace útiles como antiespasmódicas (**Martínez, 1989**).
- A mediados de éste siglo, Cabrera (1958) resume toda la información bibliográfica sobre la toxicidad del capulín, y señala que solamente las hojas deben de ser empleadas con fines terapéuticos ya que el destilado obtenido de ellas contiene benzaldehido y ácido cianhídrico y que la proporción varía según la época del año en que son recolectadas (**Lozoya, 1982**).
- Aguilar (1974-1978) describe el tratamiento de la conjuntivitis y cataratas con el polvo de la corteza del árbol (**Lozoya, 1982**).

- El estudio fitoquímico biodirigido de los extractos de la corteza de *Prunus serotina ssp. capuli*, utilizando como bioensayos la determinación de la toxicidad contra el crustáceo *Artemia salina*, permitió la identificación de tres compuestos de tipo flavonoide. Estos fueron caracterizados mediante métodos químicos y espectroscópicos como la naringenina, la aromadendrina y la taxifolina. La naringenina constituyó el compuesto mayoritario y mostró actividad antibacteriana y antiinflamatoria. Siendo éste el primer estudio químico de la corteza del capulín, en donde se confirmó la presencia de metabolitos secundarios de tipo flavonoide, además sirvió para validar el uso de la corteza como antiinflamatorio (López, 1996).

1.3 ANTIESPASMÓDICOS

El reino vegetal es rico en este tipo de compuestos, en realidad la mayoría de los remedios utilizados en la medicina convencional incluye al menos un antiespasmódico de origen vegetal. Los antiespasmódicos son frecuentemente llamados espasmolíticos o carminativos, son utilizados para el tratamiento del cólico e indigestión. Por otro lado aquellos que tienen un poderoso efecto inhibidor del peristaltismo son particularmente útiles para el tratamiento de la diarrea como los alcaloides del opio, morfina y codeína (Burger, 1960).

Algunos fármacos utilizados como antiespasmódicos en el tracto gastrointestinal, también son utilizados para otros padecimientos por ejemplo la papaverina se utiliza en preparaciones como antitusivo, debido a su efecto relajante sobre músculo liso. Otro ejemplo lo constituye la hioscina la cual se utiliza como anti-emético, ejerciendo su acción vía un efecto anti-colinérgico (Robbers et al., 1996).

Ejemplos selectos de antiespasmódicos derivados de fuentes naturales incluyen alcaloides como la atropina, la hioscina, y alcaloides del opio (papaverina, codeína) (Burger, 1960); aceites esenciales (pimienta, anís, ajo, manzanilla); y numerosos flavonoides como la apigenina, el kaemferol y la quercetina (Pathak, et al., 1991).

1.4 GLUCÓSIDOS CIANOGENÉTICOS.

Algunas plantas sintetizan compuestos, capaces de liberar ácido cianhídrico por hidrólisis. Esta habilidad conocida como cianogénesis, se ha observado por siglos en plantas como cerezas, duraznos almendros y otras importantes plantas. Los glucósidos cianogénéticos son conocidos por estar presentes en al menos 800 especies pertenecientes a 70-80 familias (Siegler, 1975).

Tiempo atrás se reconoció que algunas plantas de la familia Rosaceae producían ácido cianhídrico bajo ciertas condiciones y esta característica se utilizó para clasificar algunas especies de esta familia en diferentes generos. Por ejemplo el género *Amygdalaceae* es distinguible de la *Rosaceae* y *Pomaceae*, por la presencia de ácido cianhídrico (Swain, 1963) (Fig 1).

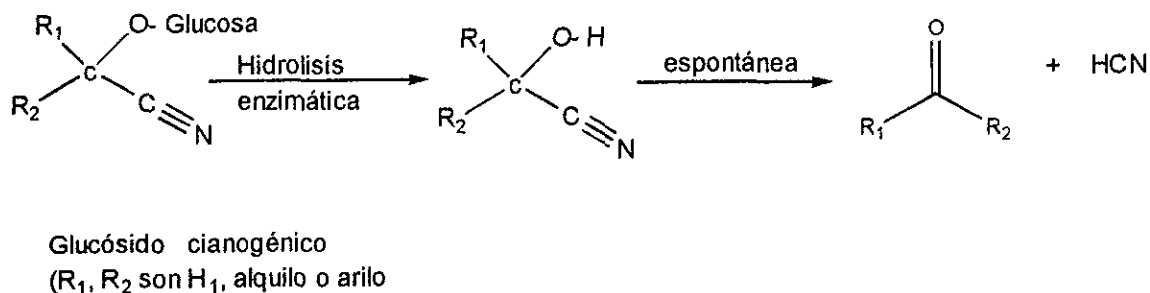
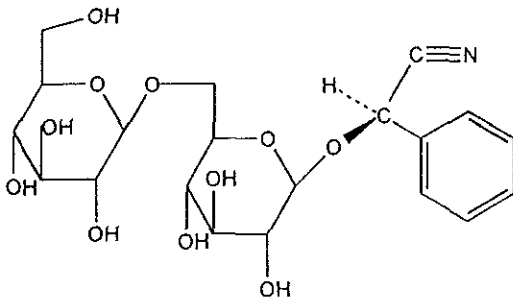
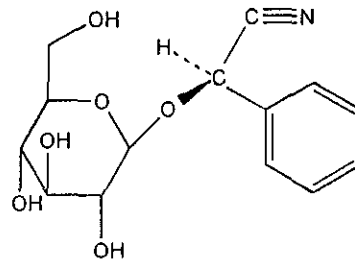


Fig. 1 Liberación enzimática de ácido cianhídrico de glucósidos cianogénicos (Harborne, 1989).

La amigdalina, el gentiobiosido de (R)-mandelonitrilo, se encuentra ampliamente distribuida en la familia Rosaceae, donde coexiste frecuentemente con el monoglucósido prunasina; esta última se encuentra en las hojas mientras la amigdalina esta en las semillas (Conn, 1991).



(R)-Amigdalina



(R)-Prunasina

Se ha demostrado que dos grupos independientes de β -glucosidasas estan involucrados en la hidrólisis de la amigdalina en la cereza negra (*Prunus serotina*).

Un grupo lo conforman dos isoformas de amigdalina hidrolasas (AH- I y AH-II) que catalizan la ruptura del enlace entre los dos azucars formando glucosa y (R)-prunasina. Un segundo grupo de enzimas (prunasina hidrolasa I, IIa y IIb) catalizan la hidrólisis del enlace β -glucosídico entre la aglicona y el azúcar remanente (Conn, 1991).

Estas dos isoenzimas muestran alta especificidad para sus sustratos y determinan claramente un mecanismo "secuencial" en la hidrólisis de la amigdalina en estas especies (Conn, 1991).

II JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Desde el punto de vista farmacológico, la utilidad medicinal de *Prunus serotina ssp. capuli* es un tema que ha suscitado controversias ya que, como otras especies del género *Prunus* (Duke, 1989), el capulín contiene glucósidos cianogénicos como la amigdalina, compuesto capaz de liberar por hidrólisis (reacción en la que participan las enzimas amigdalasa y prunasina) ácido cianhídrico, compuesto tóxico que no se encuentra libre en la planta. En tanto la amigdalina y la prunasina se encuentran libres en la corteza, hojas y semillas del capulín (Lozoya, 1982).

Por otra parte algunos autores señalan que la ingestión del capulín, ha llegado a producir la muerte de animales (ganado vacuno) e incluso de humanos (Argueta, 1994).

No obstante lo anterior, en algunas zonas se continúa practicando el uso de la corteza como antidiarreica, antipirética y antiespasmódica, además el extracto de la corteza mostró actividad contra la cepa patógena *Mycobacterium tuberculosis* (Martínez, 1989; Argueta, 1994).

La información anterior y los antecedentes descritos en la sección 1.2 de la introducción, motivó a realizar el estudio fitoquímico total de la planta *Prunus serotina ssp. capuli*, con el objeto de conocer la composición química de los

metabolitos secundarios presentes en cantidad mayoritaria en las hojas, corteza y madera de la especie y verificar si el rendimiento de estos compuestos varía según la época del año en que se recolecta el material vegetal.

2.1 Objetivos

- i. Realizar los extractos con hexano, CH_2Cl_2 o acetona y metanol del material vegetal (hojas, corteza, madera).
- ii. Realizar el fraccionamiento de los diferentes extractos, mediante cromatografía en columna.
- iii. Separar y purificar los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en las fracciones.
- iv. Identificación de los compuestos mediante métodos químicos y técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

III PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Material vegetal

El material vegetal (hojas, corteza y madera) utilizado en el presente estudio fue recolectado en el municipio de Ozumba, en las siguientes fechas: 2 de enero, 16 de Marzo, 3 de Junio, 6 de Noviembre de 1997.

3.2 Procedimientos generales

Los análisis cromatográficos en columna abierta se efectuaron siguiendo técnicas convencionales, en columnas de vidrio de diferentes capacidades, empacadas con gel de sílice. Para los análisis cromatográficos cualitativos y preparativos en capa fina se emplearon placas de aluminio con un espesor de 0.25 mm (sílica gel 60 F Merck) y placas de vidrio (20 x 20) cubiertas de gel de sílice de 2.0 mm de espesor (sílica gel F₂₅₄ Merck) respectivamente, en ambos casos se utilizaron diferentes sistemas de elución , los cuales se resumen en el cuadro 1.

Cuadro 1. Sistemas de elución utilizados para los análisis en capa fina

Sistema de eluyentes	Composición	Proporción
A	Hex-AcOEt	Diversas
B	AcOEt- MeOH	Diversas
C	CH ₂ Cl ₂ -MeOH	Diversas
D	CH ₂ Cl ₂ -Acetona	Diversas

3.3 Determinación de las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de los productos naturales y sus derivados.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher Jones y no están corregidos. Los espectros de IR se registraron en un espectrofotómetro de rejilla Perkin-Elmer, modelo 599-B ó en un aparato Nicolet FT-SX, en pastilla de KBr o disolución en CDCl_3 .

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMN^1H) y de carbono 13 (RMN^{13}C) se generaron en un aparato Varian VXR-300S, los espectros se obtuvieron en acetona, piridina, DMSO, y CDCl_3 , los desplazamientos químicos se asignaron en unidades de δ (ppm) referidos al tetrametilsilano como referencia interna (TMS). Se utilizaron secuencia de pulso estándares para el registro de los espectros de RMN bidimensional homonuclear (COSY) y heteronuclear (HETCOR).

Los espectros de masas se determinaron en un aparato Hewlett Packard 5890- mediante la introducción de la muestra directa a 70 eV, mientras que los espectros determinados por FAB (Fast atomic bombardement), se registraron en una aparato Jeol DX300.

3.4 Procedimientos químicos.

Preparación de diazometano.-En un matraz redondo de 250 ml, se colocan 100 ml de éter y se adicionan 30 ml de KOH al 40 %. La mezcla es enfriada a 5°C, con agitación constante y se adicionan 10g de nitrosometilurea finamente pulverizada en pequeñas porciones. Una vez que ha reaccionado totalmente la nitrosometilurea, se puede separar la fase éterea de color amarillo, ésta contiene aproximadamente 2.8 g de diazometano.

Para la reacción de metilación se colocan el volumen equivalente a 40 mg de diazometano para 40 mg del compuesto, la reacción se deja en un baño de hielo, durante 4 horas, transcurrido el tiempo de la reacción se prosigue a purificar el producto de la reacción.

Acetilación: Para obtener el derivado acetilado se colocan 40 mg del compuesto en un matraz bola de 100 ml con 10 gotas de piridina y 0.5 ml de anhídrido acético. La reacción se lleva a cabo en baño de agua a 60 °C durante 4 horas.

El transcurso de la reacción se monitorea por cromatografía en capa fina. Transcurrido el tiempo de la reacción se elimina el exceso de anhídrido acético y piridina al alto vacío.

IV ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LAS HOJAS DE *Prunus serotina ssp. Capuli*

4.1 Preparación de los extractos a partir de las hojas (*Primera colecta*)

Las hojas de *Prunus serotina ssp. Capuli* se recolectaron el 2 de enero de 1997, se dejaron secar a temperatura ambiente, una vez secas fueron molidas, obteniéndose 90.2 g de un polvo color verde oscuro. Las hojas molidas se extrajeron mediante un proceso de maceración exhaustivo con acetona (4 l) a temperatura ambiente. Después de la evaporación del disolvente a presión reducida se obtuvieron 5.02 g de extracto crudo (extracto PHSA)

4.2 Fraccionamiento del extracto de acetona (Extracto PHSA)

El extracto de acetona 5.02 g fue fraccionado por cromatografía en columna abierta utilizando como adsorbente 200 g de gel de sílice (malla 200-325). Para esta columna se utilizó como sistemas de eluyentes hexano y después mezclas de hexano-AcOEt de polaridad ascendente, se obtuvieron 60 fracciones de 500 ml cada una, se eliminó el disolvente por destilación a presión reducida. El desarrollo de la cromatografía se monitoreó usando cromatoplasmas de gel de sílice sobre aluminio, combinándose todas aquellas que resultaron cromatográficamente similares.

En el cuadro 2 se resumen los sistemas de elución empleados y las fracciones combinadas.

Cuadro 2. Resumen del fraccionamiento via cromatografía en columna abierta del extracto de acetona (PSHA) de las hojas de *Prunus serotina ssp. capuli*

Eluyente	Proporción	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave	Peso (mg)
hexano	100	1-5	1-8	PSHA-A	800.0 mg
hexano-AcOEt	90-10	6-10	9-13	PSHA-B	198.7 mg
hexano-AcOEt	80-10	11-20	14-22	PSHA-C	300 mg
hexano-AcOEt	70-30	21-25	23-45	PSHA-D	301.8 mg
hexano-AcOEt	60-40	26-30	46-60	PSHA-E	500.0 mg
hexano-AcOEt	50-50	31-35			
hexano-AcOEt	30-70	36-40			
hexano-AcOEt	20-80	41-45			
hexano-AcOEt	10-90	46-50			
AcOEt		50-60			

4.2.1 Aislamiento de β -sitosterol

De la fracción PSHA-A eluidas con hexano de la columna original, precipitaron de manera espontánea 100 mg de unos cristales en forma de aguja, con un punto de fusión 130-135 °C, sus datos espectroscópicos y espectrométricos, coinciden con los descritos en literatura para el β -sitosterol (Della, et al., 1990).

4.2.2 Aislamiento del ácido ursólico.

La fracción 23-45 eluídas con hex- AcOEt 7:3, se reunieron lo cuál nos proporcionó 301.3 mg de compuesto impuro (PSHA-D), esta fracción se recromatografió en una columna a, aislándose 198.7 mg de un polvo amorfo de color blanco con un punto de fusión de 270 °C. Este triterpeno se identificó mediante RMN¹H, espectrometría de masas e IR, como ácido ursólico, un triterpeno ampliamente distribuido en otras especies (Seo, et al., 1975; Moguid, et al., 1975).

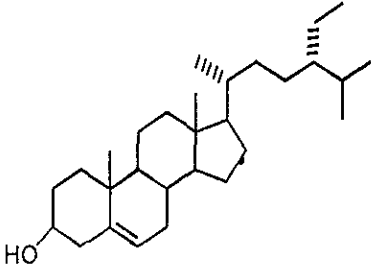
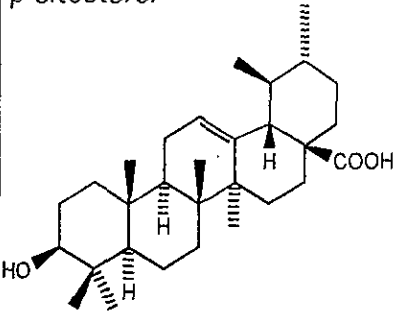
EXTRACTOS	CLAVE	PESO DEL EXTRACTO (g)	COMPUESTOS AISLADOS	PORCENTAJE %
ACETONA	PSHA	5.02	 <p>β-sitosterol</p>	1.99
			 <p>Acido ursólico</p>	3.95

TABLA I.- RENDIMIENTO EN PORCIENTO DE LOS METABOLITOS AISLADOS DE LAS HOJAS DE *Prunus serotina ssp. capuli* (Primera colecta).

V ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LAS HOJAS DE *Prunus serotina ssp. Capuli*

5.1 Preparación de los extractos a partir de las hojas. (*Segunda colecta*)

Las hojas de *Prunus serotina ssp. Capuli* se recolectaron el 16 de Marzo de 1997, se dejaron secar a temperatura ambiente, una vez secas fueron molidas, obteniéndose 401.42 g de un polvo color verde oscuro. Las hojas molidas se extrajeron mediante un proceso de maceración exhaustivo con hexano (8 litros), posteriormente con cloruro de metileno (8 l) y finalmente con metanol (8 l), todos a temperatura ambiente. Después de la evaporación del disolvente a presión reducida se obtuvieron 8.05 g de extracto de hexano (extracto HCA), 11.37 g de extracto de cloruro de metileno (extracto HCB) y 64.0 g de extracto de metanol (extracto HCC)

5.2 Fraccionamiento de los extractos (extracto HCA, HCB, HCC).

5.2.1 Fraccionamiento del extracto de hexano (extracto HCA).

El extracto de hexano 8.05g (HCA) fue fraccionado por cromatografía en columna abierta utilizando como adsorbente 400 g de gel de sílice (malla 200-325). Para esta columna se utilizó como sistemas de elución hexano y después mezclas de hexano-AcOEt , se obtuvieron 60 fracciones de 250 ml cada una, se eliminó el disolvente por destilación a presión reducida. El desarrollo de la

cromatografía se monitoreó usando cromatoplasmas de gel de sílice sobre aluminio, combinándose todas aquellas que resultaron cromatográficamente similares.

Este proceso generó un total de 4 fracciones primarias, en el cuadro 3 se resumen los sistemas de elución empleados y las fracciones combinadas.

Cuadro 3. Resumen del fraccionamiento via cromatografía en columna abierta del extracto HCA de las hojas de *Prunus serotina ssp. capuli*

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave	Peso (g)
Hexano	100	1-6	1-6	HCA-1	2.0
hexano-AcOEt	90-10	7-15	7-15	HCA-2	0.400
hexano-AcOEt	80-10	16-26	16-27	HCA-3	0.600
hexano-AcOEt	70-30	27-34	28-40	HCA-4	0.200
hexano-AcOEt	60-40	35-40			
hexano-AcOEt	50-50				

5.2.1.1 Aislamiento de β -sitosterol.

De las primeras fracciones eluidas con hexano (Fracción HCA -1) se aislaron 0.946 g de material lipofílico. De la fracción HCA-4 cristalizaron espontáneamente 60 mg de unos cristales blancos con un punto de fusión de 130-135° C, el cual se identificó como β -sitosterol en comparación con una muestra auténtica (c.c.f.).

5.2.2 Fraccionamiento del extracto de CH₂Cl₂ total (extracto HCB).

El extracto de cloruro de metileno 11.37 g fue fraccionado por cromatografía en columna abierta utilizando como adsorbente 400 g de gel de sílice (malla 200-325). Para esta columna se utilizó como sistemas de eluyentes hexano y después mezclas de hexano-AcOEt , se obtuvieron 80 fracciones de 250 ml cada una , se eliminó el disolvente por destilación a presión reducida. El desarrollo de la cromatografía se monitoreó usando cromatoplasmas de gel de sílice sobre aluminio, combinándose todas aquellas que resultaron cromatográficamente similares. Este proceso generó un total de 4 fracciones primarias en el cuadro 4, se resumen los sistemas de elución empleados y las fracciones combinadas.

Cuadro 4. Resumen del fraccionamiento via cromatografía en columna abierta del extracto HCB de las hojas de *Prunus serotina ssp. capuli*

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave
Hexano	100	1-3	1-9	HCB-1
hexano-AcOEt	80-20	4-8	12-20	HCB-2
hexano-AcOEt	70-30	9-60	21-64	HCB-3
hexano-AcOEt	60-40	61-74	65-88	HCB-4
hexano-AcOEt	50-50	75-80		
hexano-AcOEt	10-90	81-88		

5.2.2.1 Aislamiento de β sitosterol

De la fracción HCB-3, se aislaron mediante cristalización 10 mg de un compuesto blanco de punto de fusión de 130-135 °C, el cual se identificó como β -sitosterol, al compararse por cromatografía en capa fina con una muestra auténtica (Sliwowski and Caspi, 1977; Lenton et al., 1975; Rubinstein et al., 1976).

5.2.2.2 Aislamiento de ácido ursólico.

De la fracción HCB-4 precipitaron de manera espontánea 300 mg de un polvo amorfo de color blanco, este compuesto se caracterizó como ácido ursólico al compararse por c.c.f y de acuerdo a su punto de fusión con una muestra aislada previamente (Seo, et al., 1975).

5.2.3 Fraccionamiento del extracto de metanol (extracto HCC)

El extracto de metanol (HCC) 64.0 g fue fraccionado por cromatografía en columna abierta utilizando como adsorbente 500 g de gel de sílice (malla 200-325). Para esta columna se utilizó como sistemas de eluyentes AcOEt y después mezclas de CH_2Cl_2 -MeOH, se obtuvieron 50 fracciones de 250 ml cada una, se eliminó el disolvente por destilación a presión reducida. El desarrollo de la cromatografía se monitoreó usando cromatoplasmas de gel de sílice sobre aluminio, combinándose todas aquellas que resultaron cromatográficamente similares.

Este proceso generó un total de 4 fracciones primarias en el cuadro 5 se resumen los sistemas de elución empleados y las fracciones combinadas.

Cuadro 5. Resumen del fraccionamiento preliminar via cromatografía en columna del extracto HCC de las hojas de *Prunus serotina ssp. capuli*

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave	Peso (g)
CH ₂ Cl ₂ -MeOH	80-20	1-14	3-8	HCCA	2.44
CH ₂ Cl ₂ -MeOH	70-30	15-21	9-13		
CH ₂ Cl ₂ -MeOH	50-50	22-35	16-25	HCCB	7.63
CH ₂ Cl ₂ -MeOH	30-70	36-40	26-35	HCCD	0.960
CH ₂ Cl ₂ -MeOH	20-80	41-50	36-50	HCCE	1.3
MeOH	100				

5.2.3.1 Aislamiento del 3-O-β- Galactósido de Quercetina

Las fracciones 16-25, eluidas con CH₂Cl₂ - metanol 1:1 se reunieron dando un peso de 7.63 g (HCCB), se sometieron a una cromatografía a presión utilizando como eluyentes mezclas de CH₂Cl₂ -metanol, en orden creciente de polaridad. De la fracción HCCB-58 se aislaron 136 mg de un polvo amarillo con un punto de fusión de 225-230 °C, este compuesto se identificó mediante RMN¹H, ¹³ C, espectrometría de masas e IR, como el 3-O-β-galactósido de quercetina, comparando sus características espectroscópicas con lo descrito en la literatura (Shigematsu, et al.,1982; Agrawal, 1989; Yakasawa, et al., 1987).

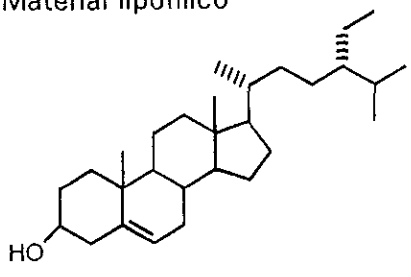
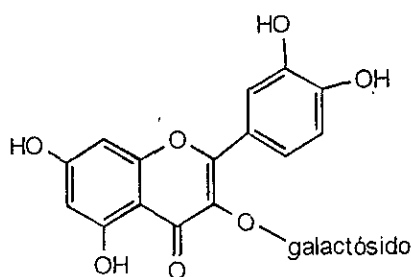
EXTRACTOS	CLAVE	PESO DEL EXTRACTO (g)	COMPUESTOS AISLADOS	PORCENTAJE %
HEXANO	HCA	8.05	Material lipofílico  β -sitosterol	11.75 0.745
CH ₂ Cl ₂	HCB	11.37	Ácido ursólico β -sitosterol	2.64 0.088
METANOL	HCC	64.0	 3-O- β -galactósido de quercetina	0.212

TABLA 2.- RENDIMIENTO EN PORCIENTO DE LOS METABOLITOS AISLADOS DE LAS HOJAS, *Prunus serotina ssp. capuli* (Segunda colecta).

VI ESTUDIO FITOQUIMICO DE LA CORTEZA DE RAMAS GRUESAS DE *Prunus serotina ssp. Capuli*

6.1 Preparación de los extractos a partir de la corteza

La corteza de las ramas gruesas de *Prunus serotina ssp. Capuli* se recolectó el 2 de enero de 1997, se dejó secar a temperatura ambiente, una vez seca fue molida, obteniéndose 518.42 g de un polvo de color café oscuro. La corteza molida se extrajo mediante un proceso de maceración exhaustivo con hexano (8 litros), posteriormente con acetona (8 l) y finalmente con metanol (8 l), a temperatura ambiente. Después de la evaporación del disolvente a presión reducida se obtuvieron 1.8 g de extracto de hexano, 20.7g de extracto de acetona (extracto PRSA) y 10.5 g de extracto de metanol (PRSB).

6.2 Fraccionamiento del extracto de acetona (PRSA)

El extracto fue sujeto a cromatografía en columna abierta sobre gel de sílice (400g), fueron utilizados como eluyentes hexano y mezclas de hexano-AcOEt en orden creciente de polaridad, se recolectaron fracciones de 500 ml, cada fracción fue analizada por cromatografía en capa fina, combinándose todas aquellas que resultaron cromatográficamente similares.

Este proceso genero un total de 7 fracciones primarias en el cuadro 6 se resumen los sistemas de elución empleados y las fracciones combinadas.

Cuadro 6. Resumen del fraccionamiento preliminar via cromatografía en columna del extracto de acetona (PRSA) de la corteza de ramas gruesas de *Prunus serotina ssp. capuli*

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave (g)
Hexano	100	1-15	1-15	PRSA-1
hexano-AcOEt	95-5	16-19	16-59	PRSA-2
hexano-AcOEt	90-10	20-40	60-87	PRSA-3
hexano-AcOEt	80-10	41-45	88-114	PRSA-3
hexano-AcOEt	70-30	46-83	115-139	PRSA-4
hexano-AcOEt	60-40	84-101	140-146	PRSA-5
hexano-AcOEt	50-50	102-108		
hexano-AcOEt	40-60	109-115		
hexano-AcOEt	30-70	116-122		
hexano-AcOEt	20-80	123-129		
hexano-AcOEt	10-90	130		
AcOEt	100	131-139		
MeOH-EtOH	1-1	140-146		

6.2.1 Aislamiento del ácido ursólico

De la fracción PRSA-3 (450 mg) se realizó una columna de rápida elución, para la cual se utilizó gel de sílice malla 70-230, la elución se efectuó con una mezcla CH_2Cl_2 -MeOH 1:1. De ésta columna se aislaron 100 mg de un polvo amorfo con un punto de fusión de 225-230 °C. Se identificó como ácido ursólico por comparación con una muestra auténtica (p.f, c.c.f.).

6.2.2 Aislamiento de glucósido de naringenina y prunasina

En la fracción PRSA-5 (4.0 g) cristalizó un compuesto de color blanco. Para separarlo fue necesario agregar acetona debido a la consistencia gomosa de la fracción, posteriormente se filtro al vacío, lavándolo con una mezcla de hex-Acetona 1:1. Se recrystalizó en una mezcla de CH_2Cl_2 -MeOH y se obtuvieron 300 mg de un sólido cristalino, con un punto de fusión de 210- 215 °C. De acuerdo a la espectroscopía se trata de una mezcla equimolar de 7-O- β -glucósido de naringenina y prunasina

6.2.2.1 Acetilación de la mezcla de 7-O- β -glucósido de naringenina y prunasina

40 mg de la mezcla de 7-O- β -glucósido de naringenina y prunasina se acetiló de acuerdo al procedimiento descrito en página 18.

El producto de la reacción se purificó en una placa preparativa de gel de sílice (20 x 20 cm) de 2.0 mm de espesor en un medio de elución de (AcOEt-MeOH 7:3), obteniéndose 15 mg de acetato 7-O- β -glucósido de naringenina.

6.3 Fraccionamiento del extracto de metanol (PRSB)

El extracto (PRSB) se fraccionó mediante un proceso de particiones metanol-agua. Que a continuación se describe, el extracto se disolvió en 500 ml de agua, se colocó en un embudo de separación de 1000 ml extrayéndose sucesivamente con acetato de etilo (6 veces x 250 ml), la fase orgánica se lavó con 250 ml de agua y seco con NaSO_4 anh., la solución final se concentró dando un peso de 3.66 g (PRCM).

6.3.1 Fraccionamiento del extracto PRCM

El extracto (PRCM) se sometió a una fraccionamiento secundario mediante una cromatografía en columna, utilizando como adsorbente gel de sílice (150g) . El proceso de elución se efectuó con hexano, y posteriormente con mezclas hexano -AcOEt en orden creciente de polaridad, se recolectaron 60 fracciones de 500 ml, cada fracción fué analizada por cromatografía en capa fina, combinándose todas aquellas que resultaron cromatográficamente similares.

En el cuadro 7, se resumen los sistemas de elución empleados y las fracciones combinadas.

Cuadro 7. Resumen del fraccionamiento via cromatografía en columna del extracto PRCM de la corteza de ramas gruesas de *Prunus serotina ssp. capuli*

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave	Peso mg
Hexano	100	1-2		PRCM	
hexano-AcOEt	80-20	3-16	8-14	PRCM-1	15.5
hexano-AcOEt	70-30	17-24	15-25	PRCM-2	251.1 mg
hexano-AcOEt	60-40	25-30	26-29	PRCM-3	
AcOEt	100	30-36	30-36	PRCM-30-36	356 mg
MeOH-EtOH	1-1	37-50			
MeOH	100	51-60			

6.3.1.1 Aislamiento y caracterización del 7-O- β glucósido de naringenina y prunasina a partir de la fracción primaria PRCM-30-36

La fracción PRCM-30-36 (356 mg) se sometió a una columna de rápida elución (10 cm de altura, 3 cm de diámetro) empacada con gel de sílice (malla 70/230), se eluyó con una mezcla de cloruro de metileno- metanol (8:2), se obtuvieron 23 fracciones, de la fracción 10 se aisló 10 mg de compuesto puro en forma de cristales de color blanco, este compuesto se identificó de acuerdo a lo descrito en la literatura como prunasina (Cardona, et al., 1992; Masakazu, et al., 1985; Syah and Ghisalberti, 1996).

De la fracción 11 se aislaron por recristalización, 15 mg un compuesto amarillo con un punto de fusión de 203- 210°C., este compuesto se identificó mediante RMN¹H, ¹³C, espectrometría de masas, e IR, así como los experimentos DEPT, COSY y HETCOR como 7-O-β- Glucósido de naringenina (Harborne, 1994).

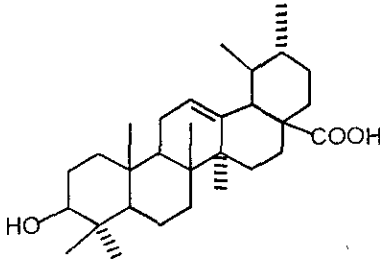
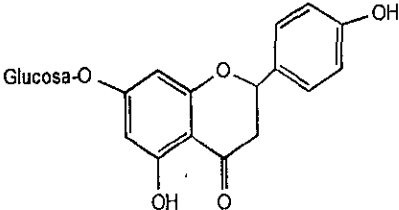
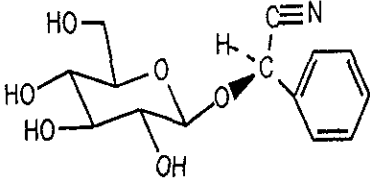
EXTRACTOS	CLAVE	PESO DEL EXTRACTO (g)	COMPUESTOS AISLADOS	PORCENTAJE %
HEXANO		1.8		
ACETONA	PRSA	20.7	 Ácido ursólico	0.483
			 7-O-β-glucósido de naringenina	1.44
			 Prunasina	1.44
METANOL	PRSB	10.5	7-O-β-glucósido de naringenina	0.196
			Prunasina	0.095

TABLA 3.- RENDIMIENTO EN PORCIENTO DE LOS METABOLITOS AISLADOS DE LA CORTEZA DE LAS RAMAS GRUESAS DE *Prunus serotina ssp. capuli*.

VII ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LA CORTEZA DEL TRONCO DE *Prunus serotina ssp.*

Capuli

7.1 Preparación de los extractos a partir de la corteza (*Primera colecta*).

La corteza del tronco de *Prunus serotina ssp. Capuli* se recolectó el 3 de junio de 1997, se dejó secar a temperatura ambiente, una vez seca fue molida, obteniéndose 451.2 g de un polvo de color café oscuro. La corteza molida se extrajo mediante un proceso de maceración exhaustivo con hexano (8 litros), posteriormente con cloruro de metileno (8 l) y finalmente con metanol (8 l), a temperatura ambiente. Después de la evaporación del disolvente a presión reducida se obtuvieron 1.8 g de extracto de hexano, 4.30 g de extracto crudo de cloruro de metileno (extracto CGP) y 23.45 g de extracto de metanol .

7.2 Fraccionamiento del extracto de cloruro de metileno (CGP) de la corteza.

El extracto de cloruro de metileno 4.30 g fue fraccionado por cromatografía en columna abierta utilizando como adsorbente 100 g de gel de sílice (malla 200-325). Para esta columna se utilizó como sistemas de eluyentes hexano y después mezclas de hexano-AcOEt de polaridad creciente, se obtuvieron 100 fracciones de 250 ml cada una, se eliminó el disolvente por destilación a presión reducida. El desarrollo de la cromatografía se monitoreó usando

cromatoplasmas de gel de sílice sobre aluminio, combinándose todas aquellas que resultaron cromatográficamente similares.

Este proceso generó un total de 6 fracciones primarias en el cuadro 8 se resumen los sistemas de elución empleados y las fracciones combinadas.

Cuadro 8. Resumen del fraccionamiento via cromatografía en columna abierta del extracto de cloruro de metileno (CGP) de la corteza del tronco de *Prunus serotina ssp. capuli*

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave	Peso g
Hexano	100	1-7	3-7	CGP-A	0.243
hexano-AcOEt	90-10	8-33	8-10	CGP-B	0.0386
hexano-AcOEt	80-10	34-48	11-14	CGP-C	0.1828
hexano-AcOEt	70-30	49-50	15-22	CGP-D	0.108
hexano-AcOEt	60-40	51-70	23-33	CGP-E	
hexano-AcOEt	50-50	71-83	34-92	CGP2	3.05
hexano-AcOEt	40-60	84-87			
hexano-AcOEt	30-70	88-98			
hexano-AcOEt	20-80	99-100			
hexano-AcOEt	10-90	lavar			
AcOEt	100	lavar			
MeOH-EtOH	90-10				

7.2.1 Fraccionamiento de la fracción CGP-2.

Las fracciones eluidas con hex-AcOEt 1:1, se reunieron dando un peso de 3.05 g (CGP-2), realizándose un segundo fraccionamiento, para lo cual se utilizó una columna de vidrio de 2 cm de diámetro, empacada con gel de sílice malla 70/230 hasta una altura de 20 cm. Se eluyó mezclas de hex- AcOEt en orden creciente de polaridad, recolectando 100 fracciones de 20 ml.

7.2.2.1 Aislamiento y caracterización de Naringenina, aromadendrina, taxifolina y 7-O- β glucósido de naringenina .

De la fracción 18-19 de la columna anterior se aislaron 348 mg de unos cristales de p.f de 240 °C, de acuerdo a sus constantes físicas y espectroscópicas se identificó como la flavanona naringenina (**Barros et al., 1982**), de las fracciones 30-32 de menor polaridad se aislaron por recristalización en una mezcla de AcOEt-MeOH 1:1, 15 mg de una un polvo ligeramente amarillo de un punto de fusión de 227 °C, el cual se identificó de acuerdo a su r.f y sus características espectroscópicas como aromadendrina (**Shen and Theander, 1985**).

De las fracciones de 35-37, se aislaron 7 mg de un compuesto de menor polaridad, de p.f de 223-224 °C. De acuerdo a sus constantes físicas y espectroscópicas se identificó como el dihidroflavonol taxifolina (Markham and Ternail, 1976; Nonaka, et al., 1987) .

De la fracción 90-94 eluidas con hex-AcOEt 3:7 se aislaron 90 mg de un compuesto cristalino de color blanco (p.f= 235°C), sus datos espectroscópicos coinciden con los descritos en la literatura para 7-O- β glucósido de naringenina (Rahman, et al., 1978)

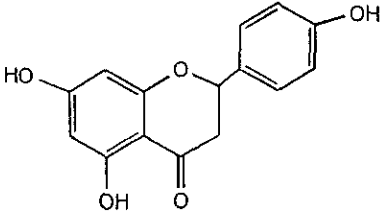
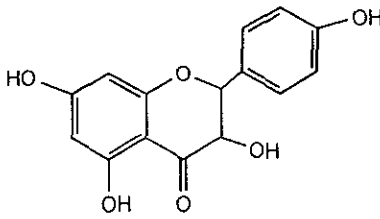
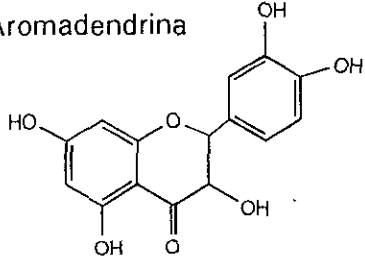
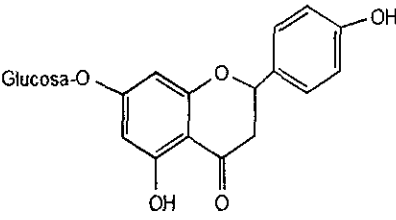
EXTRACTOS	CLAVE	PESO DEL EXTRACTO (g)	COMPUESTOS AISLADOS	PORCENTAJE %
HEXANO	—	1.8		
METANOL	—	23.45		
METANOL	PRSB	4.30	 Naringenina	8.09
			 Aromadendrina	0.348
			 Taxifolina	0.016
			 7-O- β -glucósido de naringenina	4.20
			β -sitosterol	0.182

TABLA 4.- RENDIMIENTO EN PORCIENTO DE LOS METABOLITOS AISLADOS DE LA CORTEZA DEL TRONCO DE *Prunus serotina ssp. capuli*. (Primera colecta).

VIII ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LA CORTEZA DEL TRONCO DE *Prunus serotina ssp. capuli*

8.1 Preparación de los extractos a partir de la corteza del tronco de *Prunus serotina ssp. Capuli* (Segunda colecta).

La corteza del tronco de *Prunus serotina ssp. capuli* se recolectó el 6 de Noviembre de 1997, se dejó secar a temperatura ambiente, una vez seca fue molida, obteniéndose 4.1 Kg de un polvo de color café oscuro. La corteza molida se extrajo mediante un proceso de maceración exhaustivo con hexano (8 litros), y con metanol (8 l), cada proceso se repitió tres veces, con espacio de 8 días entre cada extracción, a temperatura ambiente. Después de la evaporación del disolvente a presión reducida se obtuvieron 1.8 g de extracto de hexano, y 500 g de extracto de metanol .

8.2 Fraccionamiento del extracto de metanol de la corteza.

Aproximadamente la mitad del extracto (256.0 g), se fraccionó de manera preliminar mediante un proceso de particiones. Que a continuación se describe el extracto se disolvió en 2000 ml de agua, se colocó en un embudo de separación de 5 litros extrayéndose sucesivamente con hexano (3 litros), cloruro de metileno (4.5 litros) , n- butanol (2 litros), en cada extracción, la fase orgánica se lavó con agua y se seco con NaSO₄ anhidro, la solución final

se concentró dando un peso de 51.43 g extracto de hexano (fracción hexánica G) 23.01 g de extracto de cloruro de metileno (fracción CC) , y 100 g de extracto de n- butanol

8.3 Fraccionamiento de la fracción hexánica del extracto metanólico

El extracto de hexano 51.43 g fue fraccionado por cromatografía en columna abierta utilizando como adsorbente 300 g de gel de sílice (malla 200-325). Para esta columna se utilizó como sistemas de eluyentes hexano y después mezclas de hexano-AcOEt, AcOEt-MeOH hasta 100% de metanol, se obtuvieron 190 fracciones de 500 ml cada una, se eliminó el disolvente por destilación a presión reducida. El desarrollo de la cromatografía se monitoreó usando cromatoplasmas de gel de sílice sobre aluminio, combinándose todas aquellas que resultaron cromatográficamente similares. Este proceso generó un total de 190 fracciones primarias en el cuadro 9, se resumen los sistemas de elución empleados y las fracciones combinadas.

8.3.1 Aislamiento de β sitosterol

De la fracción G-21, la cual fue obtenida por la elución de la columna con una mezcla de hex-AcOEt 8:2, precipitaron de manera espontánea 300 mg de un compuesto blanco de punto de fusión de 115 -118 °C, se identificó como β -sitosterol al compararse por cromatografía en capa fina con una muestra auténtica.

8.3.2 Aislamiento y caracterización de Naringenina.

De la fracción G-70 la cual fué obtenida por la elución de la columna principal con hex-AcOEt (4:6) , precipitaron de manera espontánea 16 mg de un sólido de p.f. de 245-250 °C, identificándose como naringenina (Hashimoto, et al., 1992).

Cuadro 9. Resumen del fraccionamiento via cromatografía en columna abierta de la fracción hexánica del extracto metanólico de la corteza del tronco de *Prunus serotina ssp. capuli*

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave
Hexano	100	1-6	1-10	G-1
hexano-AcOEt	90-10	7-20	11-20	G-11
hexano-AcOEt	80-20	21-106	21-30	G-21
hexano-AcOEt	70-30	107-118	31-42	G-31
hexano-AcOEt	60-40	119-128	43-59	G-43
hexano-AcOEt	50-50	129-135	60-69	G-60
hexano-AcOEt	40-60	136-151	70-79	G-70
hexano-AcOEt	30-70	152-156	80-90	G-80
hexano-AcOEt	20-80	157-160	91-100	G-91
AcOEt	100	161-180	101-109	G-101
MeOH-EtOH	90-10	181-190	130-166	G- 130
			167-180	G-167

8.3.3 Aislamiento de 7-O- β glucósido de naringenina y β -O-glucósido de sitosterol.

De la fracción G-167 la cual fué obtenida por la elución de la columna principal con AcOEt (100%) , se separó mediante solubilización en MeOH, 24 mg de un polvo cristalino de p.f de 230 °C, el cuál se identificó como 7-O- β -glucósido de Naringenina (Agrawal, 1989). El residuo insoluble en metanol se lavó tres veces con acetona, se eliminó el disolvente por evaporación a temperatura ambiente, pesando el producto 233 mg, presentó un p.f de 280 °C; el cuál se identificó como glucósido de β -sitosterol de acuerdo a sus constantes físicas y espectroscópicas.

8.4 Fraccionamiento del extracto de cloruro de metileno

El extracto de cloruro de metileno 23.02 g (fracción CC) fue fraccionado por cromatografía en columna abierta utilizando como adsorbente 200 g de gel de sílice (malla 200-325). Para esta columna se utilizó como sistemas de elución hexano y después mezclas de hexano-AcOEt de polaridad creciente, se obtuvieron 150 fracciones de 500 ml cada una, se eliminó el disolvente por destilación a presión reducida. El desarrollo de la cromatografía se monitoreó usando cromatoplasmas de gel de sílice sobre aluminio, combinándose todas aquellas que resultaron cromatográficamente similares. Este proceso generó un total de 150 fracciones primarias en el cuadro 10 se resumen los sistemas de elución empleados y las fracciones combinadas.

Cuadro 10. Resumen del fraccionamiento via cromatografía en columna abierta de la fracción (CC) de la corteza del tronco de *Prunus serotina ssp. capuli*

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave	Peso g
hexano-AcOEt	80-20	1-4	2-6	CCA	0.18
hexano-AcOEt	70-30	5-46	7-13	CCB	1.405
hexano-AcOEt	60-40	47-61	14-29	CCC	3.041
hexano-AcOEt	50-50	62-71	30-39	CCD	0.893
hexano-AcOEt	40-60	72-80	40-50	CCE	0.873
hexano-AcOEt	30-70	81-94	51-72	CCF	1.19
hexano-AcOEt	20-80	95-100	73-79	CCG	0.750
AcOEt	100	101-109	81-94	CCH	1.530
AcOEt-MeOH	90-10	110-120	95-109	CCI	1.345
AcOEt-MeOH	80-20	121-130	110-120	CCJ	1.920
AcOEt-MeOH	60-40	131-140	121-139	CCK	3.000

8.4.1 Aislamiento e identificación de metil naringenina

De la fracción primaria CCB (1.405) se realizó una columna de rápida elución (empacada con gel de sílice (malla 70/230 de 1.5 cm de diámetro y 15 cm de altura) se eluyó con un volumen de 1000 ml de Hex-AcOEt 9:1, de la fracción 8 se obtuvo 7 mg de un compuesto de color blanco con un punto de fusión de 154-160 °C, sus datos espectroscópicos (RMN¹H) coinciden con los descritos en la literatura para 7-O-metil-naringenina (Mabry, 1970).

8.4.2 Aislamiento e identificación de ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico y ácido benzoico.

De la fracción primaria CCA (180.0 mg) se realizó una columna de rápida elución empacada con gel de sílice (malla 70/230) de 2.0 cm de diámetro y 10 cm de altura) se eluyó con un volumen de 100 ml de Hex-AcOEt 9:1, de la fracción 5 se aisló 90 mg de un compuesto de color blanco con un punto de fusión de 90-110 °C, el cual de acuerdo a sus características físicas, espectroscópicas, se identificó como una mezcla del ácido 2-isopropenil-2,3 - dihidrobenzofurano-5-oico y ácido benzoico.

8.4.3 Metilación de la mezcla del ácido-2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico y ácido benzoico.

Se metilaron 50 mg de la fracción anterior con el volumen equivalente a 100 mg de diazometano, la reacción se dejó durante 4 horas en un baño de hielo, la metilación se monitoreó por c.c.f , transcurrido el tiempo de la reacción el producto fue purificado por cromatografía en placa preparativa (20 x 10 cm) de 2 mm de espesor en un medio de elución (hexano -AcOEt 9:1). De la banda de menor polaridad se obtuvo 40 mg de un metabolito secundario bajo la forma de un aceite amarillo. Este producto se identificó por sus datos físicos y espectroscópicos como el éster metílico de ácido-2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico.

8.4.3 Aislamiento de Naringenina

De la fracción primaria CCC se realizó una columna de rápida elución (empacada con gel silice malla 70/230) se eluyó con un volumen de 1.5 litros de una mezcla hex-AcOEt 7:3, obteniéndose 60 fracciones de 25 ml cada una, se logró separar 500 mg de unos cristales blancos de punto de fusión de 240-245°C, dado su r.f y por sus características espectroscópicas se le identificó como 4',5,7-trihidroxi flavanona (naringenina) (Parmar, et al., 1992).

EXTRACTOS	CLAVE	PESO DEL EXTRACTO(g)	COMPUESTOS AISLADOS	PORCENTAJE %
HEXANO	_____	30.0	β -sitosterol	S/cuantificar
METANOL	G.CC	256.0	β -sitosterol	0.1171 %
			7-O-metil-naringenina	0.00273
			Acido 2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico y ácido benzoico.	0.01562
			Naringenina	0.2015
			7-O- β - Glucósido de naringenina.	0.00937
			glucósido de β -sitosterol	0.091

TABLA 5.- RENDIMIENTO EN PORCIENTO DE LOS METABOLITOS AISLADOS DE LA CORTEZA DEL TRONCO DE *Prunus serotina ssp.capuli* (Segunda colecta).

IX ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LA MADERA DE *Prunus serotina ssp. Capuli*

9.1 Preparación de los extractos a partir de la madera

La madera de *Prunus serotina ssp. Capuli* se recolectó en el Estado de México el 12 Enero de 1997, se dejó secar a temperatura ambiente, una vez seca fué molida, obteniéndose 2.1 kg de aserrín. La madera molida se extrajo mediante un proceso de maceración exhaustivo con hexano, posteriormente con metanol (8 l) a temperatura ambiente, el proceso se repitió tres veces con intervalos de 8 días. Después de la evaporación del disolvente a presión reducida se obtuvieron 30 g de extracto crudo de hexano, 60 g de extracto crudo de metanol.

9.2 Fraccionamiento del extracto de metanol de madera de *Prunus serotina ssp. Capuli* (extracto EMM).

El extracto total se fraccionó por cromatografía en columna abierta, sobre gel de sílice (200 g) . Utilizando mezclas de hexano, hexano-AcOEt en orden creciente de polaridad como eluyentes, se recolectaron fracciones de 250 ml ,cada fracción fué analizada por cromatografía en capa fina, combinándose todas aquellas que resultaron cromatográficamente similares.

Este proceso generó un total de 80 fracciones en el cuadro 11, se resumen los sistemas de elución empleados y las fracciones combinadas.

Cuadro 11. Resumen del fraccionamiento via cromatografía en columna abierta del extracto EMM, de la corteza de *Prunus serotina ssp. capuli*

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave	Peso (g)
hexano-AcOEt	30-70	1-14	1-10	EMM-1	6.14
hexano-AcOEt	20-80	16-24	11-15	EMM-2	7.80
hexano-AcOEt	10-90	25-30	16-24	EMM-3	3.43
AcOEt	100	31-43	25-80	EMM-4	
AcOEt- MeOH	90-10	44-80			

9.2.1 Aislamiento e identificación de naringenina.

De la fracción primaria EMM-1 se realizó una columna de rápida elución (empacada con gel sílice malla 70/230) se eluyó con un volumen de 1.5 litros de una mezcla hex-AcOEt 8:2, obteniéndose 60 fracciones de 25 ml cada una, se logró separar 375 mg de un polvo ligeramente amarillo de punto de fusión de 215-220°C, dado su r.f y por sus características espectroscópicas se le identificó naringenina (Shirataki , et al., 1985).

9.2.2 Aislamiento e identificación de 7-O- β - glucósido de naringenina.

De la fracción primaria EMM-2 se realizó una columna de rápida elución (empacada con gel sílice malla 70/230) se eluyó con un volumen de 1.5 litros de una mezcla hex-AcOEt 7:3, obteniéndose 60 fracciones de 25 ml cada una, se logró separar 1.50 g de un polvo ligeramente amarillo de punto de fusión de 215-220°C, por su r.f. y sus características espectroscópicas se le identificó como 7-O- β -glucósido de naringenina (Harborne, 1994; Sissi and Wagner, 1974).

EXTRACTOS	CLAVE	PESO DEL EXTRACTO(g)	COMPUESTOS AISLADOS	PORCENTAJE %
HEXANO	HEM	30.0	β -sitosterol	S/cuantificar
METANOL	EMM	60.0	Naringenina	0.625 %
			7-O- β - Glucósido de naringenina.	2.91%

TABLA 6.- RENDIMIENTO EN PORCIENTO DE LOS METABOLITOS AISLADOS DE LA MADERA DE *Prunus serotina ssp.capuli*.

MATERIAL VEGETAL (Peso g)	FECHA DE RECOLECTA	EXTRACTOS	CLAVE	PESO DEL EXTRACTO (g)
HOJAS (90.2 g)	2-ENERO-1997	ACETONA	PSHA	5.02
HOJAS (402.0 g)	16-MARZO-1997	HEXANO	HCA	8.05
		CH ₂ Cl ₂	HCB	11.37
		METANOL	HCC	64.0
CORTEZA DELGADA (518.5 g)	2-ENERO-1997	HEXANO		1.8
		ACETONA	PRSA	20.7
		METANOL	PRSB	10.5
CORTEZA SECA (451.2 g)	3-JUNIO-1997	HEXANO		1.8
		CH ₂ Cl ₂	CGP	4.30
		METANOL		23.45
CORTEZA SECA (4100 g)	6-NOVIEMBRE-1997	HEXANO METANOL	GCC	500.0
MADERA (2100 g)	3-JUNIO-1997	HEXANO	HEM	30.0
		METANOL	EMM	60.0

TABLA No. 7.-Resumen de los extractos que se trabajaron en esta investigación

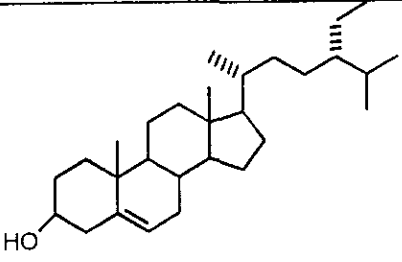
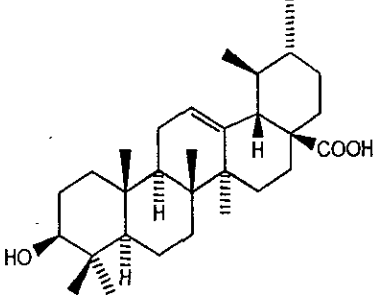
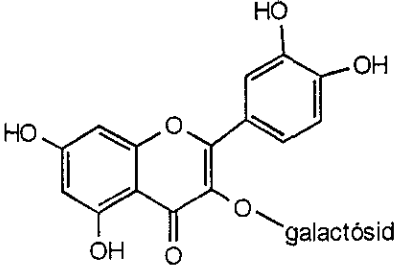
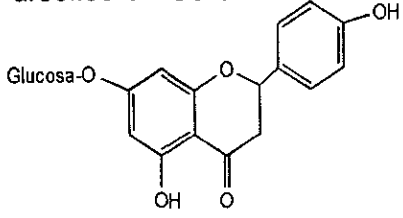
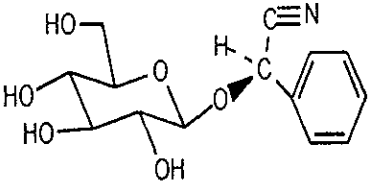
MATERIAL VEGETAL	FECHA DE RECOLECTA 2 de enero	FECHA DE RECOLECTA 16 de Marzo
HOJAS	 <p>β-sitosterol 1.99 %</p>  <p>ácido ursólico 3.95 %</p>	<p>β-sitosterol 0.74 %</p> <p>ácido ursólico 2.64 %</p>  <p>3-O-β- galactósido de quercetina 0.212 %</p>
CORTEZA DE RAMAS GRUESAS	<p>ácido ursólico 0.483 %</p>  <p>7-O-β-glucósido de naringenina 0.96 %</p>  <p>Prunasina 0.875 %</p>	
MADERA	<p>β-sitosterol sin cuantificar</p> <p>naringenina 0.625 %</p> <p>7-O-β-glucósido de naringenina 2.91 %</p>	

TABLA 8.- VARIACIÓN DE LOS METABOLITOS AISLADOS DE LA PLANTA PRUNUS SEROTINA SSP. CAPULI.

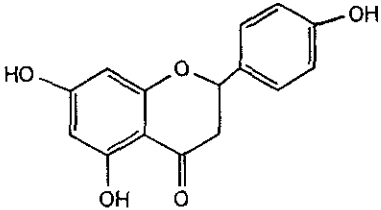
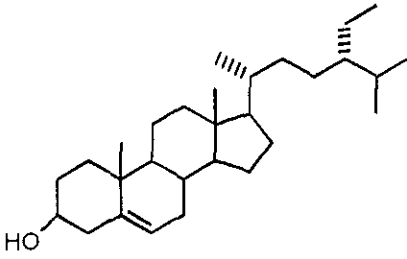
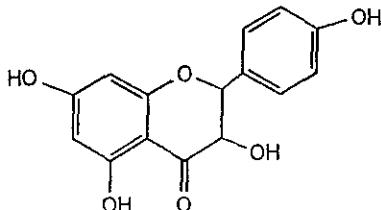
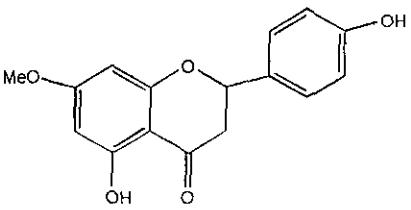
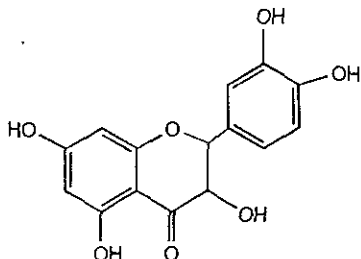
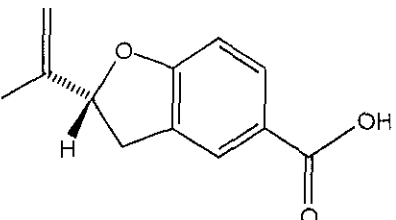
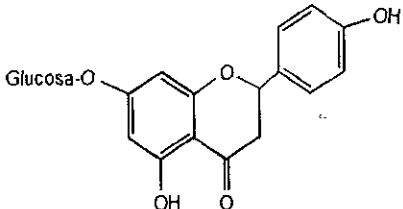
MATERIAL VEGETAL	FECHA DE RECOLECTA 3 de junio	FECHA DE RECOLECTA 6 de noviembre
CORTEZA DEL TRONCO	naringenina 8.09 % 	β-sitosterol 0.182 % 
	Aromadendrina 0.348 % 	7-O-metil naringenina 0.0027% 
	Taxifolina 0.016 % 	ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobencofurano-5-oico 0.15 
	7-O-β-glucósido de naringenina 4.2 	Naringenina 0.2015 % 7-O-β-glucósido de naringenina 0.091 % ácido benzoico Sin cuantificar
	β-sitosterol 0.182 %	

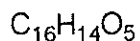
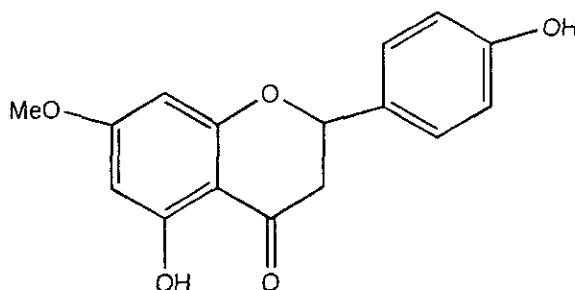
TABLA 9.- COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO DE LOS METABOLITOS AISLADOS DE LA CORTEZA DEL TRONCO DE *PRUNUS SEROTINA* SSP. CAPULI DE ACUERDO A SU ÉPOCA DE COLECTA.

COMPUESTO	ACTIVIDAD BIOLÓGICA	REFERENCIA
NARINGENINA	<ul style="list-style-type: none"> * CITOTÓXICO * ANTIFUNGICO * ANTICLASTOGÉNICO * ANTIULCEROSO 	(Mori, et al., 1988) (Malterud, et al., 1985) (Heo, et al., 1992) (Reddy, et al., 1990)
TAXIFOLINA	<ul style="list-style-type: none"> * CITOTÓXICO * ANTIFÚNGICO * INHIBIDOR DEL CRECIMIENTO LARVARIO * ANTIVIRAL * ANTIOXIDANTE 	(Mori, et al., 1988) (Malterud, et al., 1985) (Elliger, et al., 1980) (Pathak, et al., 1991)
AROMADENDRINA	<ul style="list-style-type: none"> * ANTIFÚNGICO 	(Malterud, et al., 1985)
PRUNINA	<ul style="list-style-type: none"> * ANTIFÚNGICO * EFECTO HIPOGLICÉMICO 	(Malterud, et al., 1985) (Sue, 1991)
HIPERINA	<ul style="list-style-type: none"> * ANTIINFLAMATORIO 	(Pathak, et al., 1991)
ÁCIDO URSÓLICO	<ul style="list-style-type: none"> * CITOTÓXICO 	(Lin, and Lee, 1993)
GLUCÓSIDO DE β -SITOSTEROL	<ul style="list-style-type: none"> * HIPOGLICÉMICO 	(Wagner, 1989)

TABLA 10.- ACTIVIDAD BIOLÓGICA DESCRITA EN LA LITERATURA PARA LOS COMPUESTOS AISLADOS DE PRUNUS SEROTINA SSP. CAPULI.

X. CARACTERÍSTICAS ESPECTROSCÓPICAS DE LOS COMPUESTOS AISLADOS DE *Prunus serotina ssp. capuli* (corteza, hojas madera).

7-O-metil-naringenina

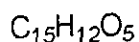
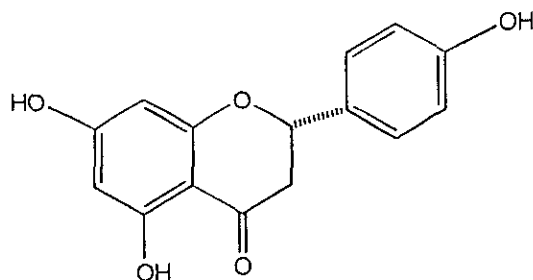


p.f. 154-160°C

RMN¹H(200MHz) (Acetona deuterada) δ(ppm) Espectro 1 :

2.75(H,dd,J=3.2,17.2Hz, H-3_{ecuatorial}), 3.19 (H, dd, J=12.8, 17.2Hz, H-3_{axial}), 3.82(3H, s, -CH₃), 5.50 (H, dd, J=3.2, 12.8 Hz, H-2_{axial}), 5.97 (2H, s,H-6 ; H-8), 6.99 (2H ; d; J=8.8, H-3',-5'), 7.49 (2H, d, J=8.8, H-2',-6'),9.62 (H, s, OH), 12.18 (H, s, OH quelatado).

3,5,7 Trihidroxiflavanona (NARINGENINA)



p.f. 248-250°C

IR ν_{\max}^{kBr} cm⁻¹ Espectro 2 :

3400(OH asociado), 2943(C-H , alifático), 1694(C=O quelatado), 1639 (CH=CH aromático), 1604 (CH=CH aromático), 1271 (C-O-C, anillo de pirano), 1163 (C-O fenol).

EMIE 70 EV M/z : (Int.rel) Espectro 3:

272 [M]⁺ (C₁₅H₁₂O₅) (100), 271 [M-1] (51), 179 [M⁺-AnilloB] (24),
153 [C₇H₅O₄]⁺ (71), 120 [C₈H₈O]⁺ (40).

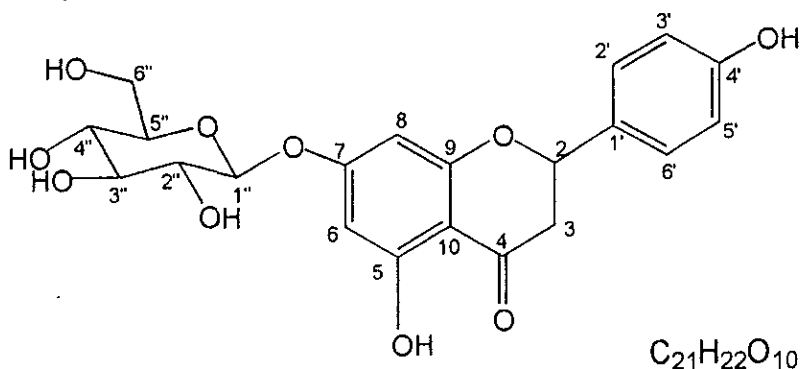
RMN¹H(200MHz) (Acetona deuterada) δ (ppm) Espectro 4:

2.3 (H, dd, J=3.1,17.1Hz, H-3_{ecuatorial}), 2.89 (H, dd, J=12.8, 17.1Hz, H-3_{axial}), 5.12 (H, dd, J=3.1, 12.8 Hz, H-2), 5.8 (2H, s, H-6; H-8), 6.70 (2H; d; J=8.6, H-3',-5'), 7.09 (2H, d, J=8.6, H-2',-6'), 11.9 (H, s, OH quelatado).

RMN ¹³C (Acetona deuterada) (50MHz) δ (ppm) Espectro 5:

78.6 (C-2), 42.7 (C-3), 195.4 (C-4), 163.8 (C-5), 96.2 (C-6), 166.6 (C-7), 95.2 (C-8), 162.8 (C-9), 102.0 (C-10), 128.7 (C-1'), 127.4 (C-2'), 115.4 (C-3'), 157.5 (C-4'), 115.4 (C-5'), 127.4 (C-6').

7-O-β-D-GLUCOSIDO DE NARINGENINA



p.f. 225°C

IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ Espectro 6:

3400 (OH asociado), 2927 (C-H, alifático), 1641 (C=O quelatado), 1619 (CH=CH aromático), 1274 (C-O-C, anillo de pirano), 1176 (C-O fenol).

FAB⁺ M/z: (Int.rel) Espectro 7:

435 [M + H]⁺(C₂₁H₂₂O₁₀) (13.8), 307 (26.8), 289 (16.2), 273 [M-glucosil + H]⁺(C₁₅H₁₂O₅) (22), 154 [C₇H₅O₄ + H]⁺ (100), 137 [C₈H₈O₂ + H]⁺ (59), 136 [C₈H₈O₂]⁺ (64), 107 [C₇H₇O]⁺ (19.0).

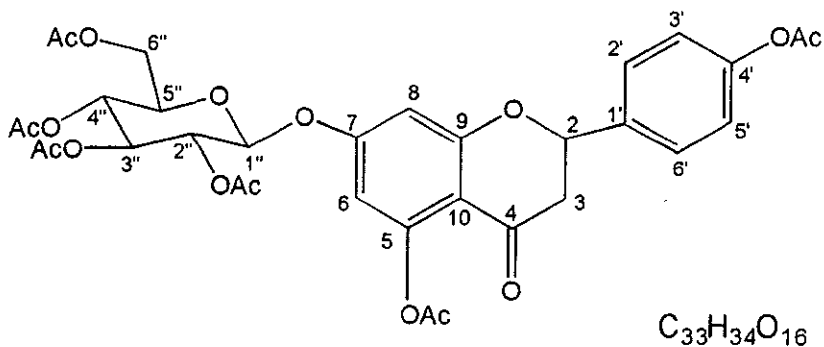
RMN¹H(300MHz) (CDCl₃-DMSO) δ(ppm) Espectro 8:

2.75(H, dd, J = 3.1, 17.4 Hz, H-3_{ecuatorial}), 3.19(H, dd, J = 12.8, 17.4 Hz, H-3_{axial}), 3.30(6H, m, glucosil), 4.92(H, d, J = 7.2 Hz, H-1'' anomérico), 5.42 (H, dd, J = 3.1, 12.8 Hz, H-2_{axial}), 6.14 (2H, s, H-6; H-8), 6.81 (2H; d; J = 8.6 Hz, H-3', H-5'), 7.29 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-2, H-6'), 9.45 (H, s, OH), 12.0 (H, s, OH quelatado).

RMN ^{13}C (CDCl_3 -DMSO δ_6) (50MHz) δ (ppm) Espectro 9:

78.6 (C-2), 42.3 (C-3), 196.5 (C-4), 163.1 (C-5), 96.6 (C-6), 165.2 (C-7),
95.4 (C-8), 162.6 (C-9), 103.3 (C-10), 128.4 (C-1'), 127.9 (C-2'), 115.2(C-
3'), 157.7 (C-4'), 115.2 (C-5'), 127.9(C-6'), 99.7 (C-1''), 72.9 (C-2''), 76.3
(C-3''), 69.5 (C-4''), 77.0 (C-5''), 60.7 (C-6'').

ACETATO DE 7-O-β-D-GLUCOSIDO DE NARINGENINA



p.f. 187-189°C

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{kBr}}$ cm⁻¹ Espectro 10: 3570, 2879, 1759, 1686, 1620, 1369, 1210, 1171, 1070, 908

FAB⁺ M/z: (Int.rel) Espectro 11: 687 [M + H]⁺ ($C_{33}H_{34}O_{16}$) (9.8), 331 (100), 315 (50.9), 169 (100), 109 (71.4), 43 (60.7)

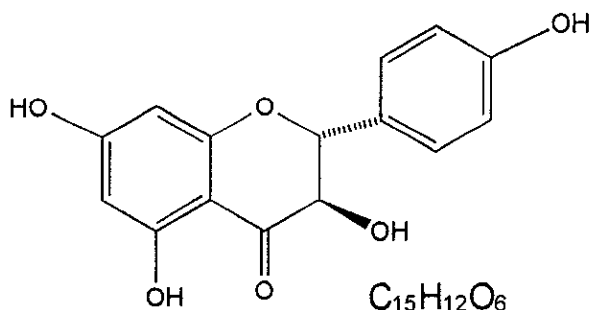
RMN¹H (300MHz) (CDCl₃) δ (ppm) Espectro 12:

1.97 (3H, s, Ac), 2.02 (3H, s, Ac), 2.03 (3H, s, Ac), 2.04 (3H, s, Ac), 2.30 (3H, s, Ac-aromático), 2.36 (3H, s, Ac-aromático), 2.73 (H, dd, J=3.0, 16.8 Hz, H-3_{ecuatorial}), 3.0 (H, dd, J=12.8, 16.8 Hz, H-3_{axial}), 3.94 (H, m, H-5''), 4.19 (2H, m, H-6''), 5.09-5.34 (3H, m, H-2'', H-3'', H-4''), 5.27 (H, d, J=6.0, H-1''), 5.44 (H, dd, J=3.0, 12.8 Hz, H-2_{axial}''), 6.36 (H, d, J=2.1 Hz, H-6), 6.56 (H, d, J=2.1 Hz, H-8), 7.14 (2H; d, J=8.4 Hz, H-2', H-6'), 7.44 (2H, d, J=8.4 Hz, H-3', H-5').

RMN¹³C (CDCl₃) (50MHz) δ (ppm) Espectro 13:

78.9 (C-2), 44.6 (C-3), 188.2 (C-4), 151.6 (C-5), 106.0 (C-6), 163.5 (C-7), 102.3 (C-8), 161.7 (C-9), 109.4 (C-10), 135.4 (C-1'), 127.2 (C-2'), 121.8 (C-3'), 150.8 (C-4'), 121.8 (C-5'), 127.2 (C-6'), 97.6 (C-1''), 70.7 (C-2''), 72.1 (C-3''), 68.0 (C-4''), 72.1 (C-5''), 61.7 (C-6''), 168.8 (2Ac), 168.9 (Ac), 169.1 (Ac), 169.7 (Ac), 170.1 (Ac).

AROMADENDRINA: 3,5,7,4'-TETRAHIDROXIFLAVANONA



p.f. 230-231°C

IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ Espectro 14:

3391(OH asociado), 2918(C-H , alifático), 1634(C=O quelatado), 1614 (CH=CH aromático), 1597 (CH=CH aromático).

EMIE 70 EV M/z : (Int.rel) Espectro 15:

288 [M]⁺ (C₁₅H₁₂O₆) (42), 259 [M-CHO] (59), 165 [M-CHO - Anillo B] (24), 153 [C₇H₅O₄]⁺ (100), 136 [C₈H₈O₂]⁺ (32), 134 [C₈H₆O₂] (39), 107 [C₇H₇O]⁺ (42).

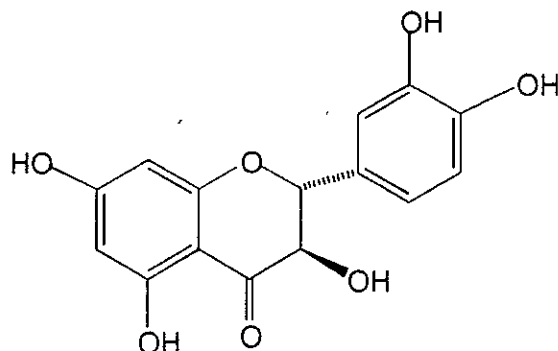
RMN¹H(200MHz) (Acetona deuterada) δ (ppm) Espectro 16:

4.39 (H, d, J=3.6 Hz, C₃-OH), 4.31 (H, dd, J=11.5 Hz, 3.6 Hz, H-3), 4.79 (H, d, J=11.5 Hz, H-2), 5.77 (H, d, J=2.1 Hz, H-6), 5.82 (H, d, J=2.1 Hz, H-8), 6.69 (2H, d, J=8.5 Hz, H-3', H-5'), 7.15 (2H, d, J=8.60 Hz, H-2', H-6'), 8.8 (H; s, C₄'-OH), 10.05 (H; s, C₇-OH), 11.34 (H, s, C₅-OH quelatado).

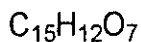
RMN¹³C (Acetona deuterada) (50MHz) δ (ppm) Espectro 17:

84.3 (C-2), 73.1 (C-3), 198.2 (C-4), 167.8 (C-5), 97.0(C-6), 165.0 (C-7), 96.0 (C-8), 164.2 (C-9), 101.5 (C-10), 129.1 (C-1'), 130.3 (C-2'), 115.9 (C-3'), 158.8 (C-4'), 115.9 (C-5'), 130.3 (C-6').

TAXIFOLINA : 3,5,7,3',4'-PENTAHIDROXIFLAVANONA



p.f. 224-225°C



IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ Espectro 18:

3429 (OH asociado), 2929 (C-H, alifático), 1639 (C=O quelatado), 1605 (CH=CH aromáticos), 1279 (C-O-C).

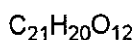
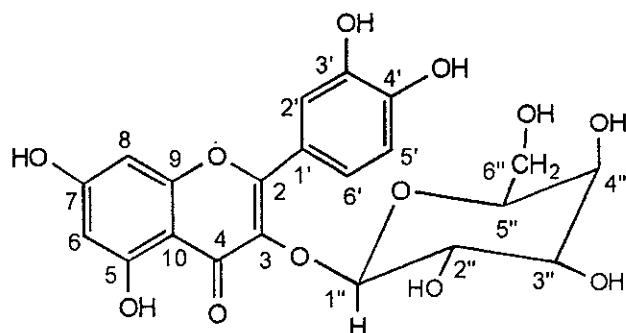
EMIE 70 EV M/z : (Int.rel) Espectro 19:

304 [M]⁺ (C₁₅H₁₂O₇) (37), 276 [M-CO]⁺ (26), 275 [M-CHO] (47), 165 [M-CHO - Anillo B] (25), 153 [C₇H₅O₄]⁺ (100), 152 [C₈H₈O₃]⁺ (35), 123 [C₇H₇O₂]⁺ (46).

RMN¹H (200MHz) (Acetona deuterada) δ (ppm) Espectro 20:

4.61 (H, dd, J=11.4, 3.0 Hz, H-3), 4.69 (H, d, J=3.0 Hz, C3-OH), 5.02 (H, d, J=11.4 Hz, H-2), 5.94 (H, d, J=2.1 Hz, H-6), 5.98 (H, d, J=2.1 Hz, H-8), 6.85 (2H, d, J=8.1 Hz, H-5'), 6.92 (H, dd, J=8.1 Hz, 2.1 Hz, H-6') 7.06 (H, d, J=2.1 Hz, H-2'), 11.71 (H, s, C₅-OH quelatado).

3-O-β-GALACTOSIDO DE QUERCETINA (HIPERINA)



p.f. 230-232 °C

IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ Espectro 21:

3430 (OH quelatado), 2900 (C-H , alifático), 1655(C=O quelatado), 1607 (CH=CH aromático), 1086(C-O).

FAB⁺ M/z : (Int.rel) Espectro 22:

465 [M + H]⁺(C₂₁H₂₀O₁₂)(6), 303 [M-galactosil + H]⁺(C₁₅H₁₀O₇) (18), 289 (13.5), 176 (10.5), 154 [C₇H₅O₄ + 1]⁺(100), 136 [C₈H₈O₂]⁺ (67), 107(18.0)

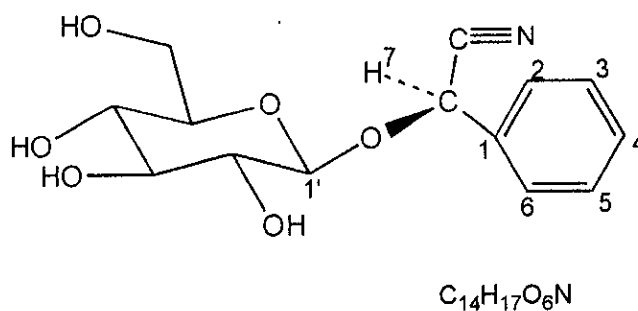
RMN¹H(200MHz) (DMSO-d₆) δ(ppm) Espectro 23:

5.40 (H, d, J=7.0 Hz, galactosil H-1''), 6.20 (H, d, J=1.9 Hz, H-6), 6.41 (H; d; J=1.9 Hz, H-8), 6.81 (H, d, J=8.4, H-5'), (H, dd, J= 8.4, 2.1 Hz, H-6'), 7.52 (H, d, J=2.1 Hz, H-2'), 12.64 (H, s, C₅-OH quelatado).

RMN ¹³C(DMSO-d₆) (50MHz) δ (ppm) Espectro 24:

177.5 (C-4), 164.1 (C-7), 161.2 (C-5), 156.3 (C-2, C-9), 148.4 (C-4'), 144.8 (C-3'), 133.5 (C-3), 122.0 (C-1'), 121.1 (C-6'), 116.0 (C-5'), 115.2 (C-2'), 103.9 (C-10), 101.8 (C-1''), 98.6 (C-6), 93.5 (C-8), 73.2 (C-3''), 71.2 (C-2''), 68.0 (C-4''), 75.8 (C-5''), 60.4 (C-6'').

Prunasina



p.f. 148-158°C

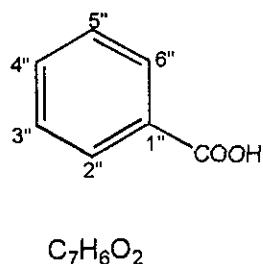
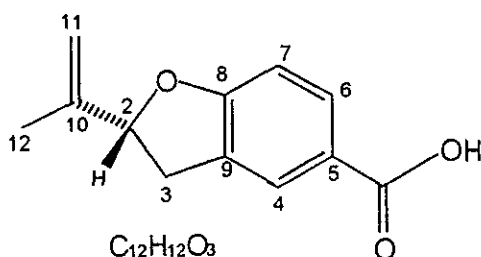
RMN¹H (200MHz) (DMSO-d₆) δ(ppm) Espectro 25:

7.50-7.60 (2H, m, H-2,H-6), 7.40-7.50 (3H, m, H-3, H-4,H-5), 5.99 (H, s, H-7), 5.2 (H, s, a, OH) 5.0 (H, s,a,OH), 4.9 (H, s, a, OH), 4.5 (H, t, J=5.5 Hz, H-6'), 4.12 (H, d, J=7.0 Hz, H-1'), 3.68 (2H, m, H-5'), 3.5-3.0 (3H, m, H-2',3',4').

RMN ¹³C(DMSO-d₆) (50MHz) δ (ppm):

133.8 (C-1), 127.4 (C-2), 129.2 (C-3), 129.9 (C-4), 129.2 (C-5), 127.6 (C-6), 66.8 (C-7), 118.9 (C-8), 101.3 (C-1'), 73.0 (C-2"), 76.2 (C-3'), 69.6 (C-4'), 77.2 (C-5') 60.6 (C-6'). Datos tomados del espectro de la mezcla.

Acido 2-isopropenil-2,3-dihidrobencofurano-5- oico y ácido benzoico



p.f. 90-110°C

IR ν_{max} ($CDCl_3$) cm^{-1} (Espectro 26): 3500-2500 (OH asociado de ácido carboxílico) 2922 (C-H , alifatico), 1689 (carbonilo de ácido) 1610 (CH=CH, aromático), 1450 (CH₃), 1290 (C-O).

EMIE 70 EV M/z (Int.rel) (Espectro 27):

204 [M]⁺ ($C_{12}H_{12}O_3$) (71.8), 189 [M-15] (77.3), 159 [M-COOH] (50.8), 122 [$C_7H_6O_2$]⁺, 105 [$C_7H_6O_2$ -OH]⁺ (100), 77 [C_7H_5]⁺ (71.0).

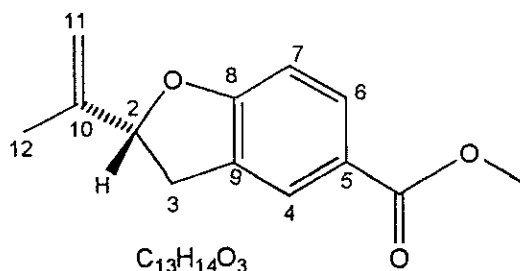
RMN¹H (300 MHz) ($CDCl_3$) δ (ppm) (Espectro 28):

1.77 (3H, s, H-12), 3.07 (dd, J=15.9, 7.9 Hz, H-3), 3.39 (H, dd, J=15.9, 9.0 Hz, H-3'), 4.94 (H, sa, H-11), 5.09 (H, sa, H-11''), 5.28 (H, dd, J=7.9, 9.0 Hz, H-2), 6.83 (H, d, J=8.4 Hz, H-7), 7.48 (2H, td, J=7.5, 1.8 Hz, H-3'', H-5''), 7.62 (1H, tt, J=7.5 Hz, 1.5, H-4''), 7.92 (H, d, J=1.8 Hz, H-4), 7.97 (H, dd, J=8.4, 1.8 Hz, H-6), 8.13 (2H, dt, J=7.5, 1.8 Hz, H-2'', H-6'').

RMN¹³C ($CDCl_3$) (75 MHz) δ (ppm) (Espectro 29):

172.4 (C=O, de ácido), 172.3 (C=O, de ácido), 164.6 (C-8), 143.3 (C-10), 133.7 (C-4''), 132.1 (C-6), 130.2 (C-2'', C-6''), 129.4 (C-1''), 128.4 (C-3'', C-5''), 127.3 (C-4), 127.25 (C-9), 121.7 (C-5), 112.6 (C-11), 109.0 (C-7), 87.0 (C-2), 33.9 (C-3), 17.0 (C-12).

Éster metílico del ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobencofurano-5-oico



IR ν_{\max} ($CDCl_3$) cm^{-1} (Espectro 30): 3529, 2967 (C-H, alifático), 1710 (éster alifático), 1612 (CH=CH aromático), 1442 (Grupos CH₃), 1291.

EMIE 70 EV M/z (Int.rel) (Espectro 31):

218 [M]⁺ ($C_{13}H_{14}O_3$) (100), 203 [M-CH₃] (81), 187 [M-OCH₃] (30), 159 [C₁₁H₁₁O]⁺ (61.1), 144 (23.8).

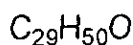
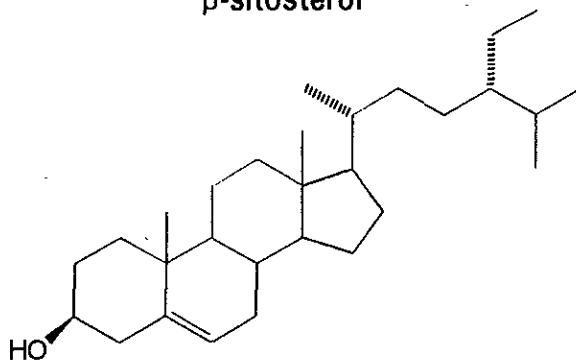
RMN¹H (300MHz) ($CDCl_3$) δ (ppm) (Espectro 32):

1.76 (3H, s, H-12), 3.06 (H, dd, J = 15.6, 8.1 Hz, H-3), 3.37 (H, dd, J = 15.6, 9.6 Hz, H-3'), 3.87 (3H, s, OMe), 4.93 (H, s.a, H-11), 5.10 (H, s.a, H-11'), 5.25 (H, dd, J = 9.6, 8.1 Hz, H-2), 6.80 (H, d, J = 8.4 Hz, H-7), 7.85 (H, d, J = 1.8 Hz, H-4), 7.87 (H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz, H-6).

RMN¹³C ($CDCl_3$) (75 MHz) δ (ppm) (Espectro 33):

166.9 (C=O, de éster), 163.8 (C-8), 122.7 (C-5), 126.6 (C-4), 127.0 (C-9), 131.2 (C-6), 143.5 (C-10), 112.4 (C-11), 108.9 (C-7), 86.8 (C-2), 51.7 (O-Me), 34.0 (C-3), 17.1 (C-12).

β -sitosterol



p.f. 140°C

IR ν_{max} ($CDCl_3$) cm^{-1} (Espectro 35): 3429 (OH), 1463 (grupos $-CH_2$), 1377 (grupos CH_3)

EMIE 70 EV M/z: (Int.rel) (Espectro 36):

414 $[M]^+$ ($C_{29}H_{50}O$) (100), 399 [M-15] (35), 396 [M-18], 381 [M-15-18] (50), 329 (35.7), 303 (39.3), 273 (20.7), 255 (25.0), 231 (18.6), 213 (27.9), 199 (10), 159 (20), 145 (25), 107 (25.7).

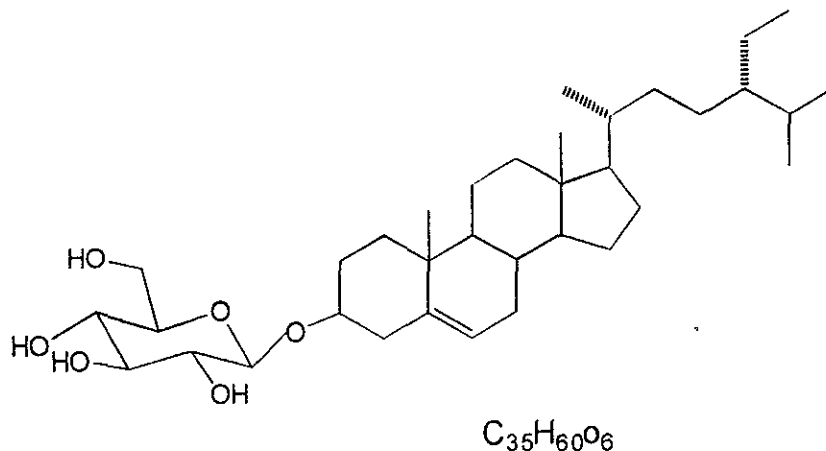
RMN¹H (300MHz) ($CDCl_3$) δ (ppm) (Espectro 37):

0.68-1.00 (señales simples de grupo metilo), 3.52 (H, m, H-3), 5.35 (H, m, H-6).

RMN ¹³C ($CDCl_3$) (75 MHz) δ (ppm) (Espectro 38):

140.8 (C-5), 121.7 (C-6), 71.80 (C-3), 56.8 (C-14), 56.2 (C-17), 50.2 (C-9), 46.0 (C-24), 42.40 (C-4, C-13), 39.9(C-12), 37.30 (C-1), 36.6(C-10), 36.2(C-20), 34.0 (C-22), 32.0 (C-8, C-7), 31.7 (C-2), 29.3 (C-25), 28.2 (C-16), 26.3 (C-23), 24.30 (C-15), 23.2 (C-28), 21.1(C-11), 19.8(C-26), 19.4(C-19), 19.1 (C-27), 18.8 (C-21), 12.0 (C-18), 11.9(C-29).

glucósido de β -sitosterol



IR ν_{max} cm^{-1} (Espectro 39):

3400(OH), 2933 (C-H alifático), 2870 (grupos metilenos),
1464 (grupos $-\text{CH}_2$), 1378 (grupos CH_3), 1075, 1025, 772.

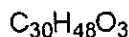
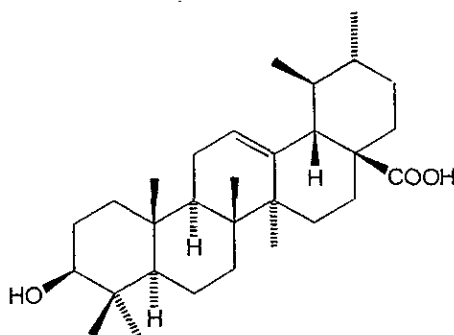
RMN¹H (300MHz) (Piridina deuterada) δ (ppm) (Espectro 40):

0.66 (3H, s, H-18), 0.87 (3H, t, $J=6.0$ Hz, H-29), 0.88(3H, d, $J=6.0$ Hz, H-27), 0.92 (3H, $J=6.0$ Hz, H-26), 0.93 (3H, s, H-19), 0.98 (3H, d, $J=6.0$ Hz, H-21), 2.47(H, dd, $J=13.0, 11.0$ Hz, H-4), 2.72 (H, d, a, $J=11.0$ Hz, H-4'), 3.75 (H, m, H-5'), 4.05 (H, t, $J=7.8$, H-2'), 4.27 (2H, m, H-3', H-4'), 4.4 (H, dd, $J=12.0, 5.0$ Hz, H-6'), 4.55 (H, dd, $J=12.0, 2.7$, Hz, H-6'), 5.05 (H, d, $J=7.8$, H-1'), 5.34 (H, d, $J=6$ Hz, H-6).

RMN ¹³C (Piridina- δ_5) (75 MHz) δ (ppm) (espectro 41):

140.94 (C-5), 121.9 (C-6), 102.6 (C-1'), 78.6 (C-3), 78.5 (C-5'), 78.1 (C-3'), 75.3 (2'), 71.7 (C-4'), 62.9 (C-6'), 56.9 (C-14), 56.3 (C-17), 50.4 (C-9), 46.1 (C-24), 40.0 (C-12, C-13), 39.4 (C-4), 37.5 (C-1), 36.40 (C-10, C-20), 34.3 (C-22), 32.1 (C-8), 30.3 (C-7), 30.0 (C-2), 29.5 (C-25), 28.6 (C-16), 26.4 (C-23), 24.5 (C-15), 23.4 (C-28), 21.3 (C-11), 20.0 (C-26), 19.4 (C-19), 19.2 (C-27), 19.0 (C-21), 12.2 (C-18), 12.0 (C-29).

Acido ursólico



p.f. 292 °C

IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ (Espectro 42):

3431 (OH asociado), 2928 (grupos CH₃), 2872, 1697 (carbonilo de ácido), 1637 (doble enlace), 1455 (grupos -CH₂), 1382, 1036, 774

EMIE 70 EV M/z: (Int.rel) (Espectro 43):

456 [M]⁺ (C₃₀H₄₈O₃) (4.3), 248 [C₁₆H₂₄O₂]⁺ (100) (PICO BASE), 219 [C₁₆H₂₄O₂-29]⁺ (7.8), 207 [C₁₄H₂₃O] (24.3), 203 [248-COOH]⁺ (35), 189 [207-H₂O]⁺ (10.7), 133 [C₁₀H₁₃] (25.7), 119 (10.0).

RMN¹H (300MHz) (DMSO-d₆) δ(ppm) (Espectro 44):

11.9 (H, COOH), 5.1 (H, m, H-12), 4.25 (H, OH), 3.0 (H, s, a, H-3α), 2.10 (H, d, J = 11.4 Hz, H-18β), 1.03 (3H, s, Me-27), 0.89 (3H, s, Me-25), 0.89 (3H, d, J = 6 Hz, Me-29), 0.80 (3H, d, J = 6 Hz, Me-30), 0.74 (3H, s, Me-26), 0.67 (6H, s, Me-23 y Me-24).

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Determinación de la estructura del ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobencofurano-5-oico.

De la fracción CCA eluida con Hex-AcOEt (8:2) del extracto de metanol se aisló por cromatografía 140 mg de un sólido cristalino (B-5) de color blanco, con un punto de fusión de. 90-110°C.

Su espectro de infrarrojo (Espectro 26) presenta una banda de absorción intensa entre 35000 y 2500 cm^{-1} característica para un hidroxilo asociado, indicando la presencia de un ácido carboxílico en la molécula, lo cual se confirma al observar una banda afilada en 1689 cm^{-1} asignada al correspondiente grupo carbonilo. El espectro de masas mostró (espectro 27) un ión molecular a m/z 204, el cual no concuerda con el espectro de RMN¹H (espectro 28) ni con el espectro de RMN¹³C (espectro 29), el cual exhibió señales para 18 carbonos aproximadamente. Estas observaciones nos indicaron que el "compuesto" era en realidad una mezcla de dos ácidos carboxílicos a pesar que la cromatografía en capa delgada mostraba una sola mancha.

Una observación más detallada del espectro de masas (espectro 27), permitió la identificación del ácido benzoico como uno de los compuestos en esta

mezcla, ya que se observan los fragmentos a m/z 105, 77 y 122, característicos del el ácido benzoico (Budzikiewicz, 1967). Esta proposición se comprobó al comparar las señales en RMN¹H del ácido benzoico (Espectro Aldrich 10,947-9 pag. 1063) con las señales en δ 7.50, 7.61 8.12 en el espectro de RMN¹H de la mezcla (espectro 28), las cuales mostraron idénticos desplazamientos químicos y además se encuentran interaccionando entre ellas como lo muestra el espectro COSY (figura 2).

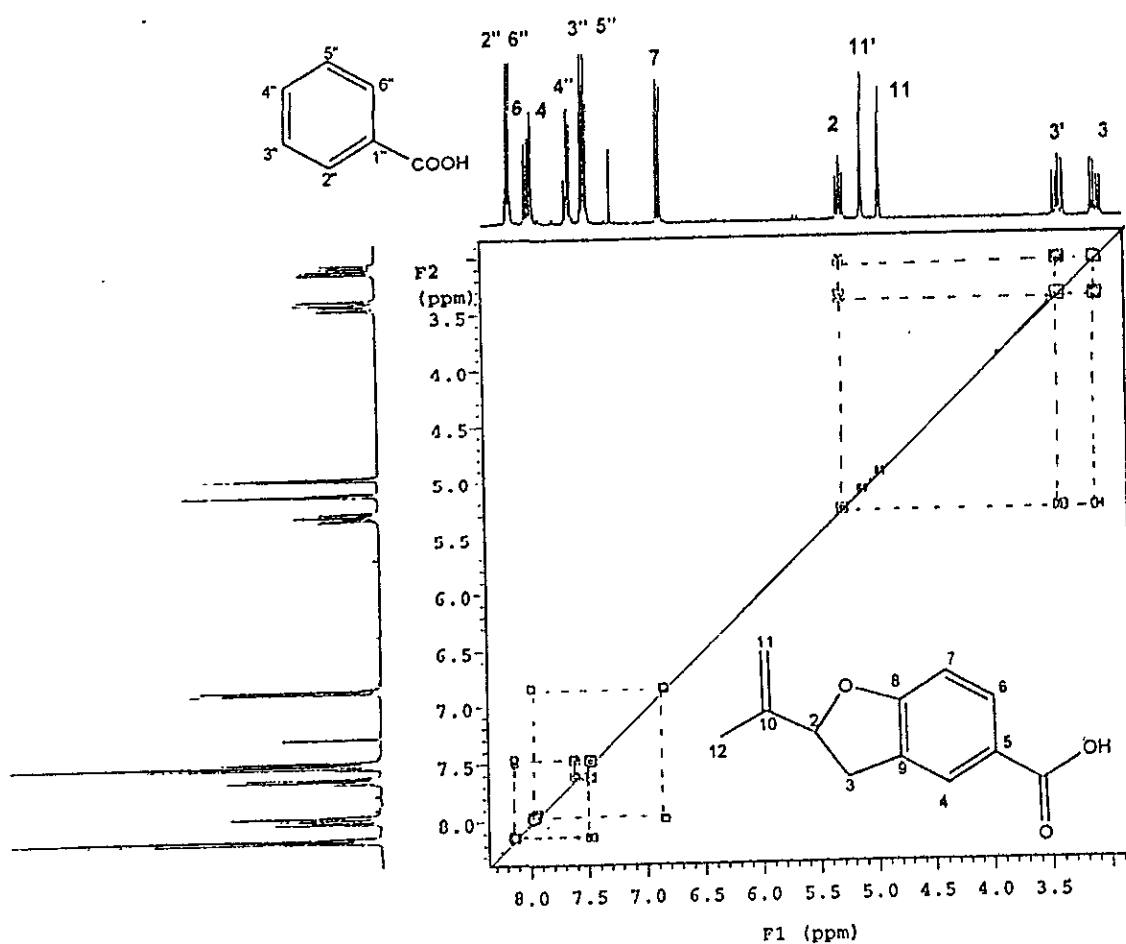
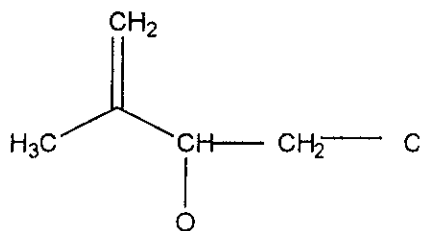


Figura 2 Espectro COSY de la mezcla del ácido 2-isopropenil-2,3-hidrobenzofurano-5-oico y ácido benzoico.

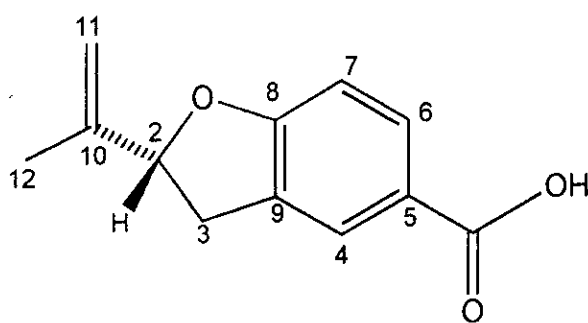
Eliminando las señales correspondientes al ácido benzoico del espectro de RMN¹H de la mezcla (espectro 28) nos queda en la región de protones aromáticos dos grupos de señales que por su desplazamiento y multiplicidad podemos inferir la presencia de un sistema ABX, donde el protón A se presenta como una señal doble de doble en δ 7.92 ($J = 1.8, 7.85$ Hz), el protón B como una señal doble de doble en δ 7.97 ($J = 8.4, 1.8$ Hz) y el protón X como una señal doble en δ 6.84 ($J = 8.4$ Hz), indicándonos un anillo aromático trisustituido, el espectro COSY (Figura 2) nos muestra que las tres señales anteriores se encuentran acopladas.

Por otra parte se observa a campo mas alto otro sistema ABX, donde el sistema AB exhibe dos señales doble de doble en δ 3.07 ($J = 15.0$ y 7.9 Hz) y δ 3.39 ($J = 15.0, 9.0$ Hz). Ambas señales presentan correlación en el espectro COSY con una señal doble de doble en δ 5.28 ($J = 7.9, 9.0$ Hz) que se puede atribuir a un metino base de oxígeno. La última señal también muestra una correlación con las señales de un metileno exocíclico en δ 4.94 y 5.09 en el espectro COSY (Fig. 2). Este espectro exhibe también la correlación del metileno exocíclico con la señal simple ancha en δ 1.77 característica para un metilo vinílico. Estas observaciones nos permiten proponer el siguiente agrupamiento en la molécula del ácido.



Este agrupamiento y la presencia de un anillo aromático trisustituido y el perfil del espectro de RMN ^1H muy parecido al de la tremetona (Zalkow, et al., 1975), nos permitió proponer un núcleo de dihidrobenzofurano con un isopropilideno unido al carbono 2.

La comparación del espectro de RMN ^{13}C y RMN ^1H (espectro 29 y espectro 28) sin considerar las señales para el ácido benzoico con el espectro del reportado para la tremetona, permitió establecer la estructura para este compuesto como el correspondiente ácido de la tremetona (Tabla 11). Asimismo se observó la ausencia del grupo metilo de la metilcetona y la presencia de una señal en δ 172.3 ppm en RMN ^{13}C asignada para un grupo carbonilo de ácido carboxílico . (Silverstein, et al., 1991).



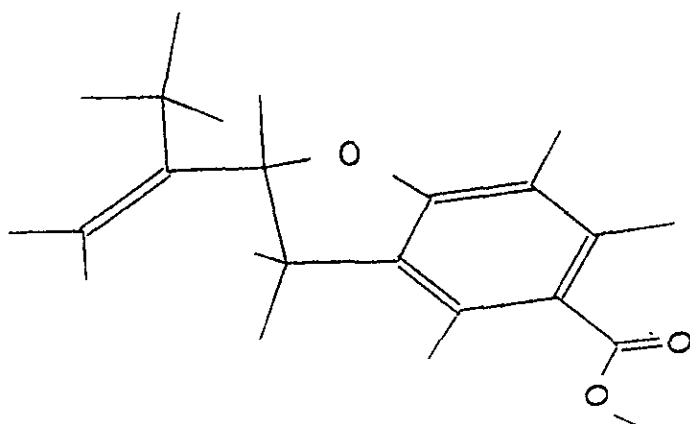
Ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico.

De acuerdo a las evidencias, que mostraron la presencia de dos compuestos se decidió metilar la fracción B-5 con diazometano para lograr separar los compuestos. De la banda de menor polaridad se obtuvo 40 mg de un aceite amarillo.

El espectro de masas (espectro 31) obtenido por la técnica de impacto electrónico, exhibió un ion molecular en una relación de masa carga (m/z) de 218 uma, el cual corresponde a la fórmula molecular $C_{13}H_{14}O_3$, así como fragmentos a 203 [M-CH₃] y en 187 [M-OCH₃], sugiriendo la metilación del grupo ácido, esto se comprobó al observar en el espectro de IR (espectro 31) una absorción intensa afilada en 1711 cm⁻¹, característica del grupo éster, además que el espectro de IR no mostró la señal ancha en 3500-2500 cm⁻¹ asignada al grupo hidroxilo del ácido carboxílico.

La asignación de los átomos de carbono en el espectro de RMN¹³C (espectro 33), se llevo a cabo mediante el experimento HETCOR (espectro 34), el cual permitió asignar sin ambigüedad los átomos de carbono en las posiciones 4 y 6. Este producto se identificó como el éster metílico del ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico.

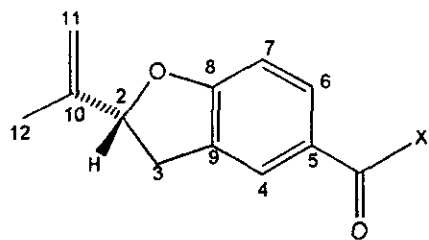
La orientación α del grupo isopropilideno, se determinó por medio de la comparación de las constantes de acoplamiento experimentales de los hidrógenos en las posiciones 2 y 3 ($J = 9.6, 8.1$ Hz) con las constantes de acoplamiento teóricas ($J = 9.0, 6.0$ Hz), las cuales se determinaron de acuerdo a los ángulos dihedro de la molécula más estable.



$$\text{Angulo H-2/H-3}_\beta = 29.7^\circ(-)$$

$$\text{H-2/H-3}_\alpha = 156.0^\circ(-)$$

Estructura calculada por programa Hyper Chen / minimizada por mecánica molecular (Metodo MM+) ,
Algoritmo Polak-Ribiere (Conjugate gradient)



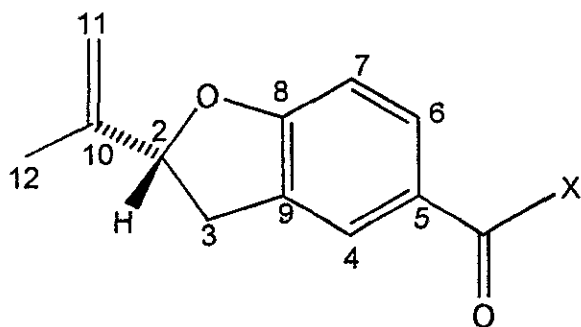
X= Me Tremetona

X= OH ácido- 2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico

X= OMe

No. carbono	tremetona	Ácido -2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico	Éster del Ácido -2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico
2	86.5	87.0	86.8
3	33.9	33.90	34.0
4	130.3*	127.3	126.6
5	126.9	121.7	122.7
6	124.8*	132.1	131.2
7	108.3	109.0	108.9
8	163.3	164.6	163.8
9	129.9	127.3	127.0
10	142.6	143.3	143.5
11	111.9	112.6	112.4
12	17.0	17.0	17.1
C=O	195.3	172.3	166.9
Me	26.1	—	51.7

Tabla 11.- Datos espectroscópicos de RMN¹³ C de la tremetona, Ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico y su derivado esterificado.* Asignaciones que pueden ser inversas (Zalkow et al 1979)



X= Me Tremetona

X= OH ácido-2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico

X= OMe

No. HIDRÓGENO	tremetona	ácido--isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico	éster del ácido--isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico
2	5.27 (t, 9.0 Hz)	5.28 (H, dd, J = 7.9, 9.0)	5.25 (H, dd, J = 9.6, 8.1)
3	α (3.08, m)	3.07 (H, dd, J = 15.9, 7.9 Hz)	3.06 (H, dd, J = 15.6, 8.1 Hz)
	β (3.36, m)	3.39 (H, dd, J = 15.9, 9.0 Hz)	3.37 (H, dd, J = 15.6, 9.6 Hz)
4	7.84 m	7.92 (H, d, J = 1.8 Hz)	7.85 (H, d, J = 1.8 Hz)
6	7.84 (m)	7.97 (H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz)	7.87 (H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz)
7	6.81 (d, 9.0 Hz)	6.83 (H, d, J = 8.4 Hz)	6.80 (H, d, J = 8.4 Hz)
11	5.09 (s, a)	4.94 (H, s, a)	4.93 (H, s, a)
	5.18 (s, a)	5.10 (H, s, a)	5.09 (H, s, a)
12	1.73 (3H, s)	1.77 (3H, s)	1.76 (3H, s)
Me	2.53 (s)	—	—
OMe	—	—	3.87 (3H, s)

Tabla 12.- Datos espectroscópicos de RMN¹H de la tremetona, Acido 2-Isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico y su derivado esterificado.*

CONCLUSIONES

Se realizó el aislamiento y elucidación estructural de los metabolitos secundarios de *Prunus serotina ssp. capuli*, planta utilizada en la medicina tradicional mexicana como antidiarreica y antiespasmódica.

Este trabajo es el primer estudio fitoquímico de *Prunus serotina ssp. capuli* en donde se describe de manera general la constitución química de hojas, corteza y madera.

Existe diferencia en la composición química de la especie, ya que se aisló β -sitosterol, ácido ursólico y 3-O- β -galactósido de quercetina de las hojas de *Prunus serotina ssp. capuli*, 7-O- β -glucósido de naringenina, prunasina y ácido ursólico de su corteza y naringenina, β -sitosterol 7-O- β -glucósido de naringenina de su madera, en la misma época de colecta.

Del estudio químico de la corteza del tronco se aislaron 10 compuestos, 5 flavonoides: 7-O-metil naringenina, naringenina, aromadendrina, taxifolina y 7-O- β -D-glucósido de naringenina, además ácido benzoico, β -sitosterol, glucósido de β -sitosterol y un compuesto no descrito en la literatura: ácido 2-isopropenil-2,3-dihidrobencofurano-5-oico, el análisis químico, espectroscópico y espectrométrico, permitió establecer la estructura sin ambigüedad de este compuesto.

Es importante destacar que los flavonoides son los metabolitos mayoritarios de la planta y su rendimiento varia conforme a la época de colecta del material vegetal. Es importante la presencia de este tipo de metabolitos, ya que se ha descrito que presentan un amplio espectro de actividad biológica como antiespasmódicos, antibacterianos etc., de esta forma se comprueba la posible utilidad medicinal de la planta *Prunus serotina ssp. capuli*.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrawal, P. K. (1989). **Carbon-¹³ NMR of flavonoids**, Elsevier, pp 283-364
- Argueta V. A., Cano, A. L., (1994). **Atlas de las plantas de la Medicina Tradicional Mexicana**, Instituto Nacional Indigenista, Vol I, México, pp 319-320
- Aguilar, C. A. y Zolla, C. (1982). **Plantas tóxicas de México**, Instituto Mexicano del Seguro Social, Primera Edición México, pp.173-174
- Barbour M., Rost L. T., Thorton M. R. (1985). **Botánica. Introducción a la biología vegetal**. Ed. Limusa, pp. 388
- Barros, A. D., De alveranga, A., Gottlieb, R. and Gottlieb, E. (1982). Naringenin coumaroylglucosides from *Mabea Caudata*, **Phytochemistry**, , Vol. 21, pp 2107-2109.
- Burger A. (1960). **Medicinal Chemistry**, Interscience publishers, Inc. New York, pp. 465-379.
- Cardona, L., Fernández I.; Pedro, R. and Vidal, R. (1992). Polyoxygenated terpenes and cyanogenic glucosides from *Centaurea aspera* var. *subinermis* ., **Phytochemistry**, Vol. 31, No. 10, pp. 3507-3509.
- Conn, E. (1991). The metabolism of a natural Product: Lessons Learned from cyanogenic glycosides, **Planta Médica**, , Vol 57, pp. 208-211
- Della, G. M., Monaco, P. and Previtera, L. (1990). Stigmasterols from *Typha Latifolia*, **J. Nat. Prod.**, Vol. 53, pp. 1430
- Dimayuga, R., Altamirano, L. and Maki, A. (1998). Screening of medicinal plants from Baja California Sur (México) by their effects on smooth muscle contractility, **Pharmaceutical Biology**, Vol 36, Nio.2, pp. 121-130
- Doddrell, D. M., Khong, P. W. and Lewis, K. G. (1974). The stereochemical dependence of ¹³C chemical shifts in olean-12-enes and urs-12-enes as an aid to structural assignment., **Tetrahedron Letters**, , Vol 27, pp 2381-2384.
- Duke, J. A. (1989). **Handbook of medicinal herbs**, CRC Press, inc seventh printing, pp. 396-397

- El-Garby, Y. M. (1975). Triterpenoids from the leaves of Egyptian *Callistemon lanceolatus*, *Aust. J. Chem.*, Vol. 28, pp. 221-224
- Elliger, C. A., Chon, B. C. and Waiss, A. C. (1980). Flavonoids as larval growth inhibitors, *Naturwissenschaften*, , Vol 67, pp. 358-359.
- Harborne, J. B. et al. (1994). **The flavonoids: Advances in research since 1986**, Eds Harborne, Chapman and Hall, London, pp.
- Harborne, J. B. and Turner, B. L. (1984). **Plant chemosystematics**, Academic Press, pp. 90-97.
- Hashimoto, K., Katsuhara, T., Niitsu, K., Ikeya, Y. (1992). Two glycosides from roots of *Asiasarum sieboldi*, *Phytochemistry*, Vol. 31, pp. 2477-2480
- Heo, H.Y., Yu, K. S., kim, K. H. and Kim, H. P. (1992) Anticlastogenic effect of flavonoids against mutagen- induced micronuclei in mice , *Mutation Research*, 284, pp. 243-249.
- Hernández, F. (1959). **Obras completas Tomo II** (Historia Natural de la Nueva España Vol II), Universidad Nacional Autónoma de México, México , pp. 300-303, 445
- Hugh, J. (1980). *Los arboles*, Editorial Blume, Barcelona, pp. 190-191,200-203
- Lara, O. F., Marquez, A. C. (1996). **Plantas medicinales de México**, UNAM.
- Lawrence, G. (1959). **Taxonomy of Vascular plants**, The Macmillan Company, New York, pp. 542-545
- Lenton, J. R. and Godwin, T. W. (1975). Sitosterol Biosynthesis in *Hordeum vulgare*, *Phytochemistry*, Vol. 14, pp. 1523-1528
- Lin Y. L. and Lee H.(1993), *Zhonghua Yaoxue Zazhi*,Vol 45, pp. 61
- López, A. (1996) TESIS, "Flavonoides con actividad biológica aislados de *Prunus serotina ssp. capuli*", UNAM.
- Lozoya, X. (1982). **Plantas Medicinales de México**, IMSS, México, pp. 80-91.
- Lozoya, X. (1989). **Economic and Medicinal Plant Research**, Vol. 6; Academic Press, USA
- Mabry, T. J., Markham, K. R. and Thomas, M. B. (1970). **The systematic identification of flavonoids**, Springer- Verlag New York , Inc., pp. 330

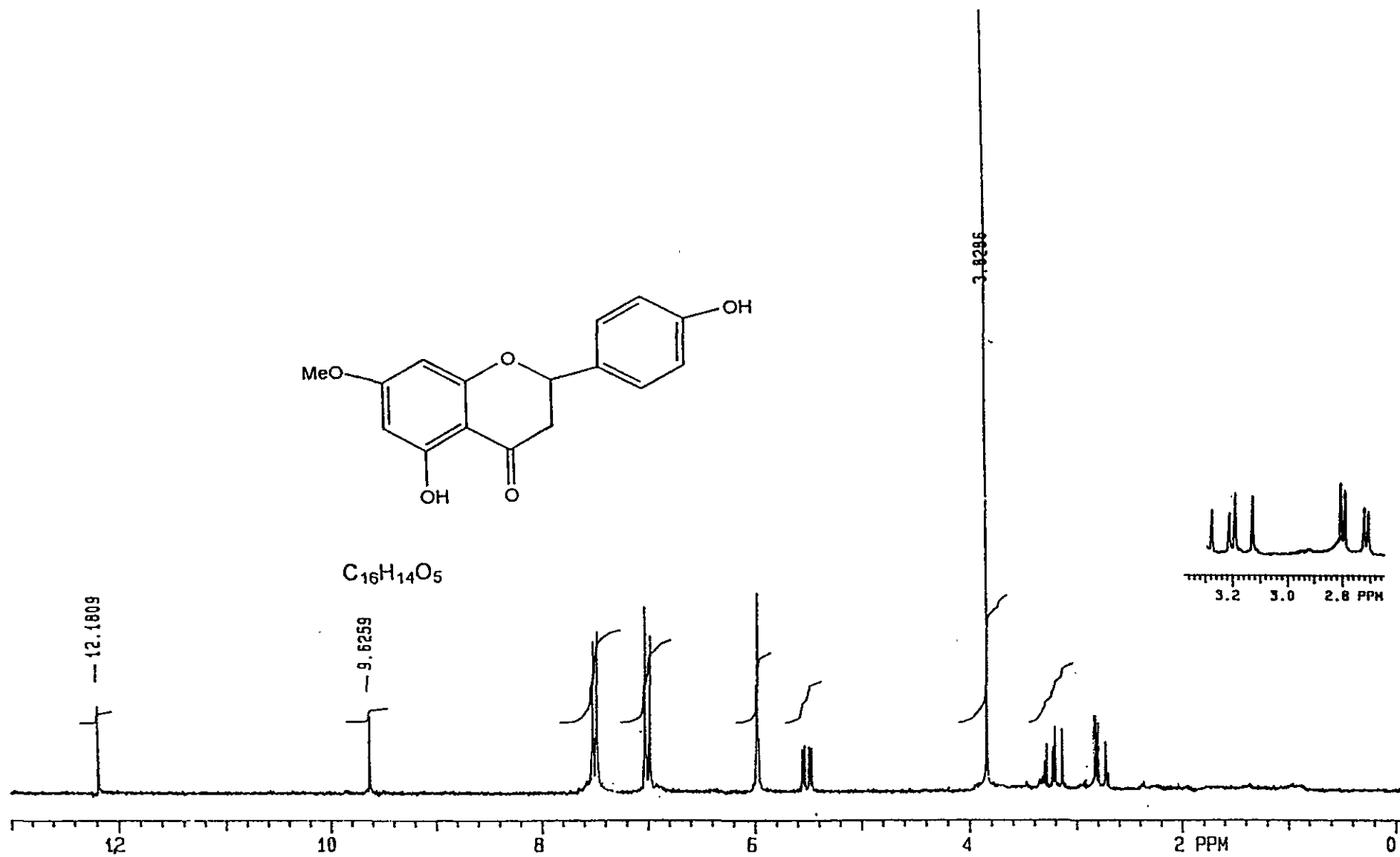
- Malterud, K. E., Bremnes, E., Faegri, A., Moe, T. (1985). Flavonoids from the wood of *Salix caprea* as inhibitors of wood destroying fungi, **J. Nat. Prod.**, 1985, Vol. 57, No. 4, pp. 559-563
- Markham, K.R. (1976). ¹³C NMR of flavonoids- II, Flavonoids other than flavone and flavonol aglycones, **Tetrahedron**, Vol 32, pp. 2607-2612
- Masakazu, A., Tetsuya, K., Kawasaki, T. (1985). Cyanogenic glycosides in leaves of *Perilla frutescens* var. *Acuta*, **Phytochemistry**, Vol. 24, pp 2438-2439.
- Martínez M., (1989). **Las plantas medicinales de México**, Ediciones Botas, Sexta Edición, México, pp. 64
- Moguid, O. A., El-Garby, Y. M., and Mokhtar, A. (1975). Chemical examination of local plants, XIII, Elucidation of the structure of a new glucoside from the leaves of *Egyptian Hibiscus sabdariffa*, **Aust. J. Chem.**, Vol. 28, pp. 217-220
- Mori, A., Nishino, C., Enoki, N. and Tawata, S. (1988). Cytotoxicity of flavonoids against HeLa cells, **Phytochemistry**, Vol. 27, pp 1017-1020
- Mukherjee, K.S., Bhattacharya, M.K. and Ghosh, P.K. (1982). A triterpene acid constituent of *Salvia Lanata*, **Phytochemistry**, Vol. 21, pp. 2416-2417.
- Nonaka, G., Goto, Y., Kinjo, J., Nohara, T. and Nishioka, I. (1987). Tannins and related compounds. LII. Studies on the constituents of the leaves of *Thujopsis dolabrata* SIEB. Et ZUCC., **Chem. Pharm. Bull**, 35 (3), pp. 1105-108
- Noriega, J. M. (1941). " **Compendio de la historia de las drogas**, Editorial Porrúa Hermanos y Cia., Segunda edición, México.
- Parmar V. S., Vardhan, A., Nagarajan, G. R. and Jain, R. (1992). Dihydroflanonols from *Prunus domestica*, **Phytochemistry**, Vol. 31, pp. 2185.2186
- Pathak, D., Singla, A. K. (1991). Flavonoids as medicinal agents-Recent advances, **Fitoterapia**, Vol. LXII, No. 5, pp. 371-388.
- Proksch, P., Rodríguez, E. (1983). Chromenes and benzofurans of the Asteraceae, their chemistry and biological significance., **Phytochemistry**, 1983, Vol. 22, pp. 2335-2348.
- Reddy, G. B., Udupa, A. L., Srinivasa, A., Srinivasan, K. K. (1990). Comparison of the anti-inflammatory activity of certain methoxyflavonoids, **Fitoterapia**, Vol. LXI, No. 5, pp. 460-461.

- Robbers, J.E., Speedie, M. and Tyler, E. V. (1996). **Pharmacognosy and pharmacobiotechnology**, Williams & Wilkins, pp. 151-152
- Rubinstein, J., Goad, J. L., Clague, A. D. and Lawrence, J.(1976). The 220 MHz spectra of phytosterols, **Phytochemistry**, Vol. 15, pp. 195-200
- Seo, S., Tomita, Y. and Tori, K., (1975). Biosynthesis of Ursene-type Triterpenes from Sodium [1,2-¹³C] Acetate in tissue cultures of *Isodon japonicus* Hara and Re-assignments of ¹³C N.M.R signals in Urs-12- enes., **J.C.S. Chem. Comm.**, pp. 954-955.
- Seigler, D.S. (1975). Isolation and characterization of naturally occurring cyanogenic compounds, **Phytochemistry**, Vol. 14, pp. 9-29
- Shen, Z. and Theander, Olof. (1985). Flavonoid Glycosides from needles of *Pinus massoniana*, **Phytochemistry**, Vol. 24, pp. 155-158.
- Shigematsu, N., Kouno, I. and Kawano, N. (1982). Quercetin 3-(6"-caffeoyl)galactoside) from *Hydrocotyle sibthorpioides*, **Phytochemistry**, Vol. 21, pp. 2156-2158.
- Shirataki, Y., Yokoe, I., Endo, M. and Komatsu, M. (1985). Determination of C-6 or C-8 substituted flavanone using ¹³C.¹H long range coupling and the revised structures of some flavanones, **Chem. Pharm. Bull**, 33 (1), pp. 444-447
- Sliwowski, J. K. and Caspi, E. (1977). Biosynthesis of phytosterol in the Pea. Mode of incorporation of carbon-2-hydrogen atoms of mevalonic acid into sitosterol, **J. am. Chem. Society**, Vol. 99, pp. 4479-4484.
- Silverstein, et al. (1991). **Spectrometric identification of organic compounds**, fifth edition, John Wiley & Sons, Inc.
- Sissi, H., Wagner, H. (1974). Prunin-O-6"-gallat, aus *Acacia farnesiana*, **Phytochemistry**, Vol. 13, pp 2843-2844.
- Strasburger, (1988). **Tratado de botánica**, Ediciones Omega, México, pp. 480-483
- Sue Ch. J. (1991). Antihyperlipidemic effect of flavonoids from *Prunus davidiana*, **J. Nat. Prod.**, Vol. 54, pp 218-224
- Sue, Ch. J., Yokosawa, T. and Oura, H. (1991). Improvement of Hyperglycemia and Hyperlipemia in Streptozocin- Diabetic Rats by a methanolic extract of *Prunus davidiana* stems and its main component, Prunin, **Planta Médica**, Vol. 57, pp 208-211

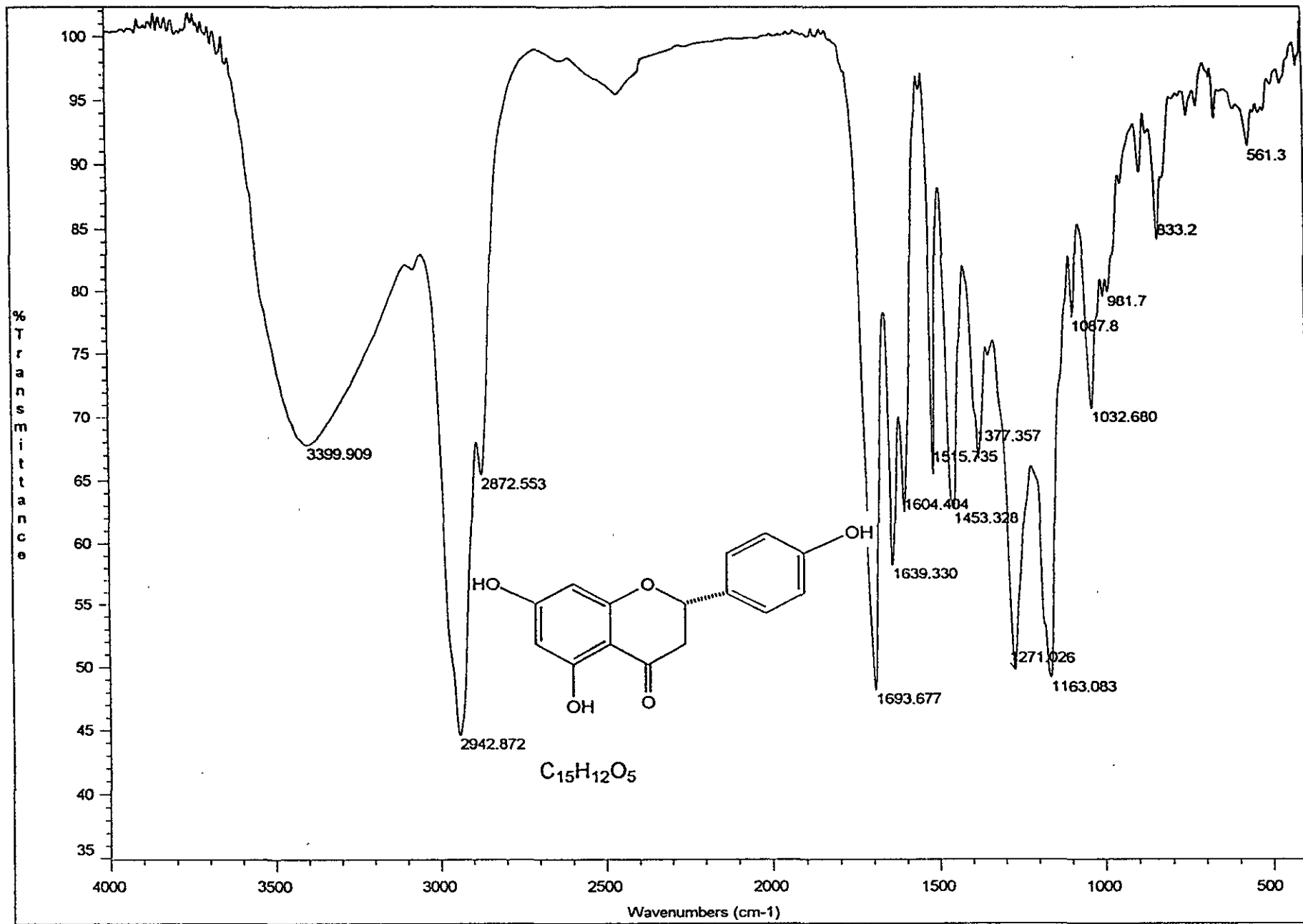
- Swain, T. (1963). **Chemical Plant Taxonomy**, Academic Press, USA .
- Syah, M. Y., Ghisalberti, L.E. (1996). Biologically active cyanogenetic, iridoid and lignan glycosides from *Eremophyla maculata*. **Fitoterapia**, Vol. *LXVII*, No. 5, pp 447-451.
- Wagner, H., Hiroshi H. and Norman, R. (1989). **Economic and Medicinal Plant Research** Vol. 4; Academic Press, USA, pp 158
- Yakasawa, K., and Takido, M. (1987). A flavonol glycoside from *Lysimachia mauritiana*, **Phytochemistry**, Vol 26, pp. 1224-1226.
- Zalkow, L.H, Gelbaum, K:T, Harris, R.N. (1979) The benzofurans of *Isocoma- Wrightii* structure and stereochemistry, **J. Nat. Prod.**, Vol. 42, pp. 203-219

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

ESPECTROS

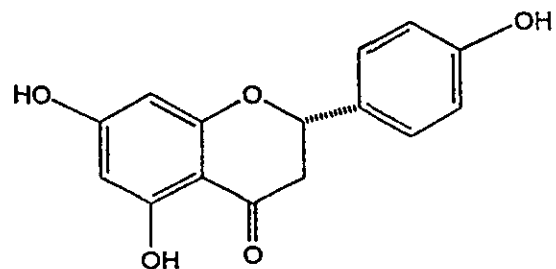


ESPECTRO 1. Espectro de RMN ^1H de 4',5-Dihidroxy-7-metoxiflavanona

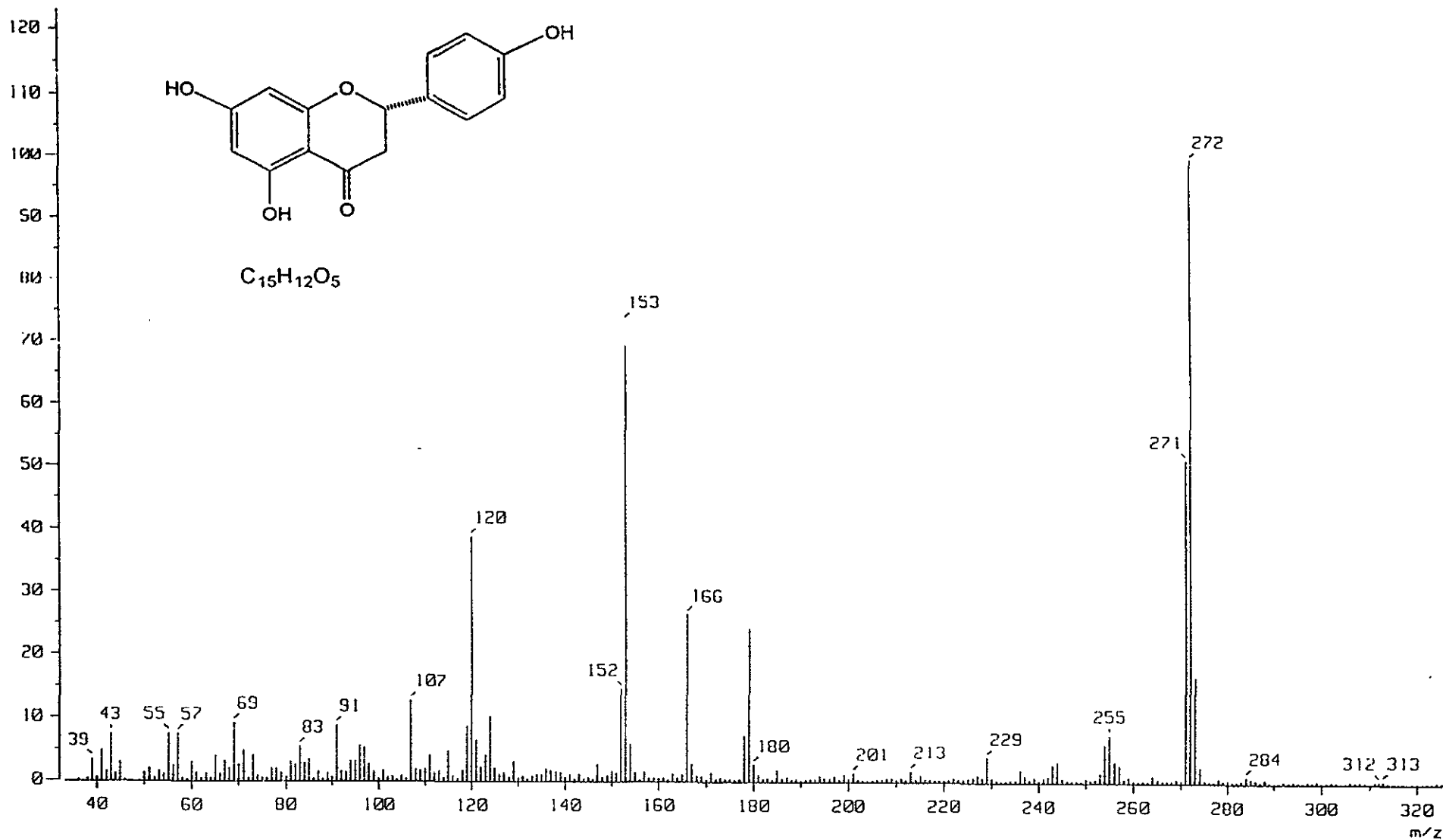


ESPECTRO 2 Espectro de IR de Naringenina

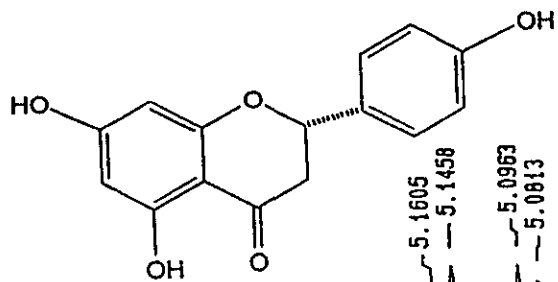
5193069



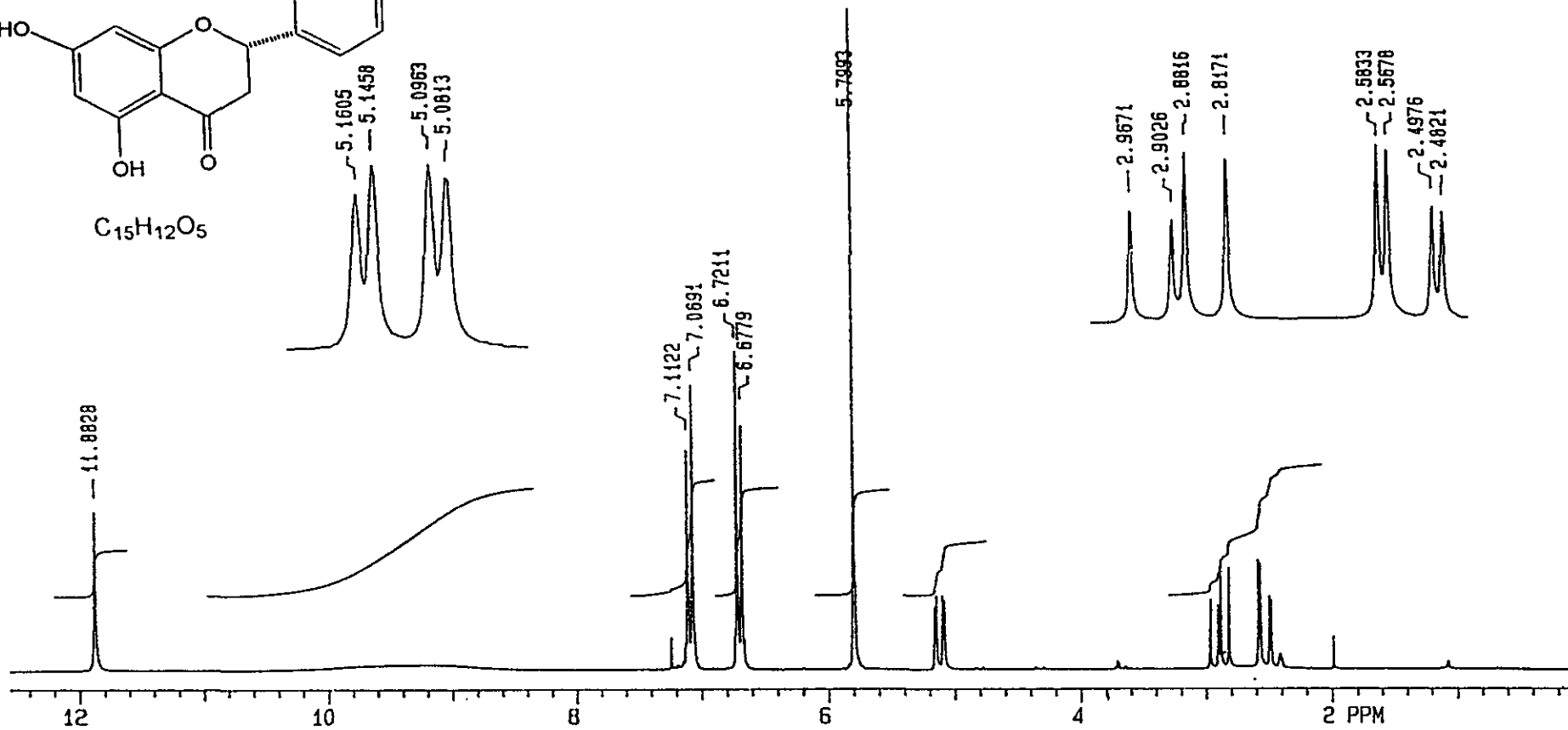
$C_{15}H_{12}O_5$



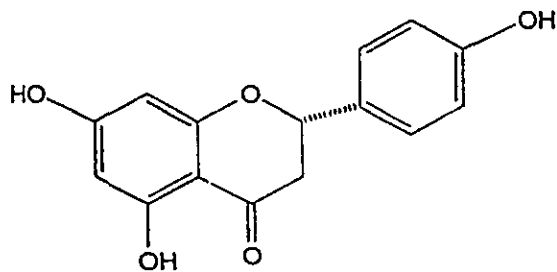
ESPECTRO 3 Espectro de Masas de Naringenina



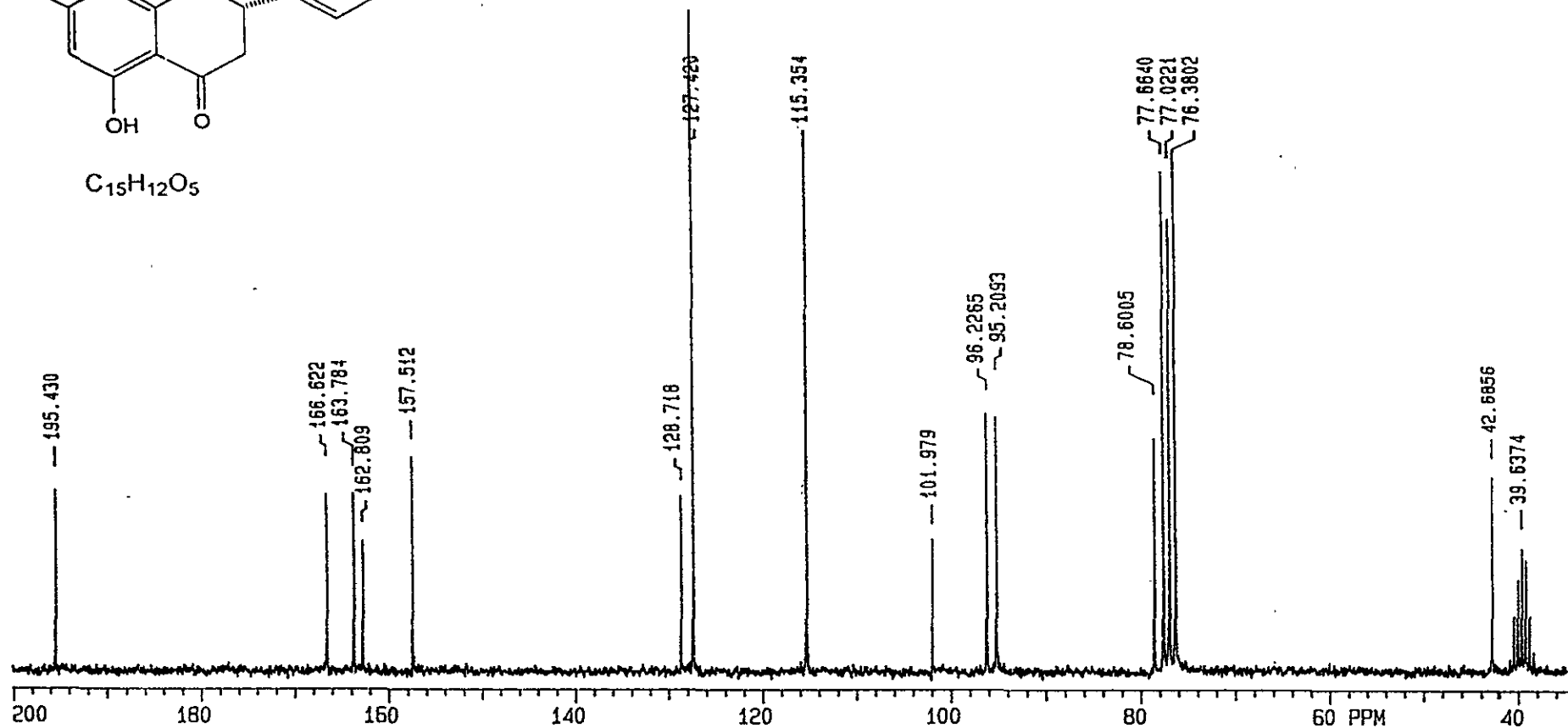
$C_{15}H_{12}O_5$



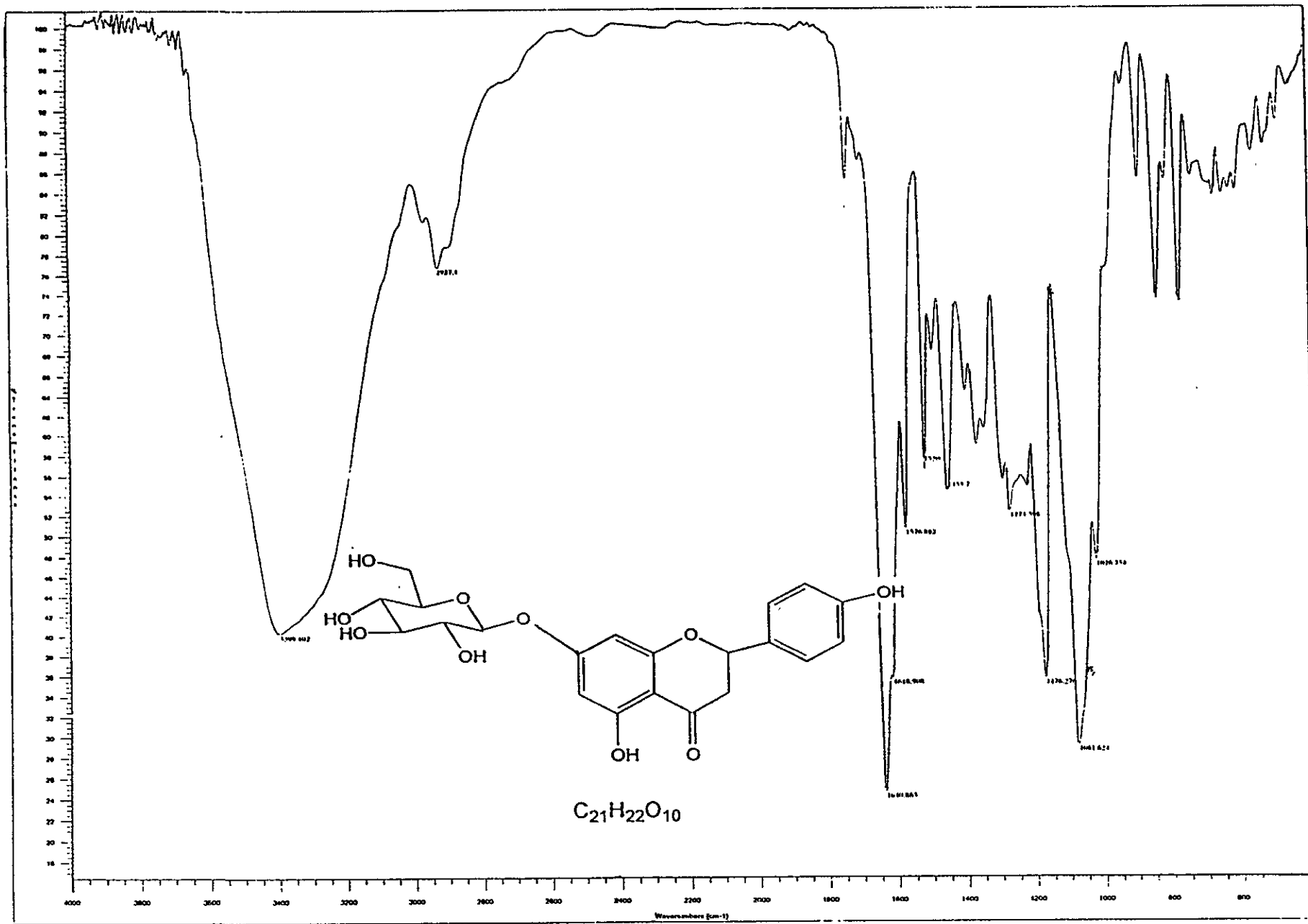
ESPECTRO 4 Espectro de RMN 1H de Naringenina



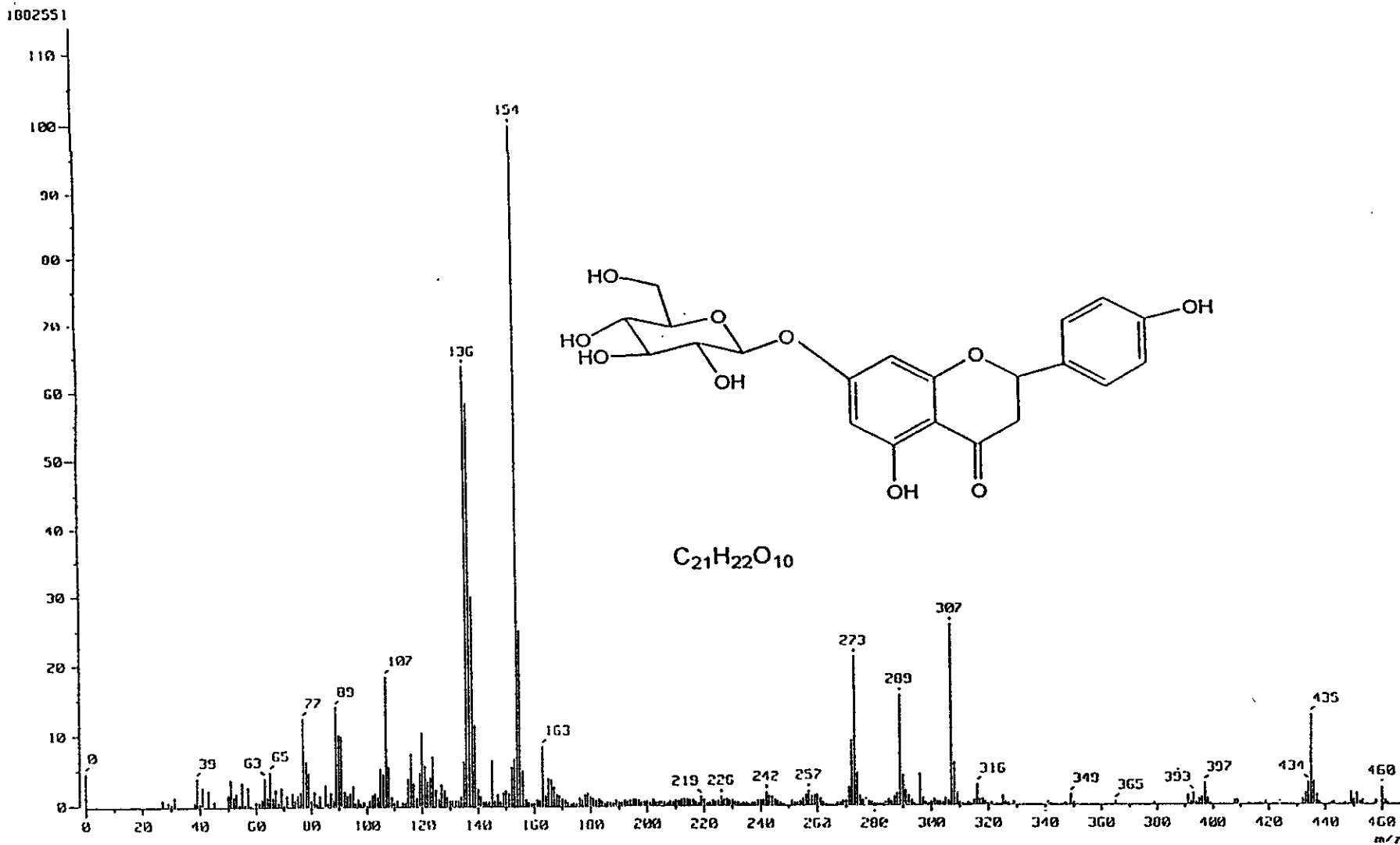
$C_{15}H_{12}O_5$



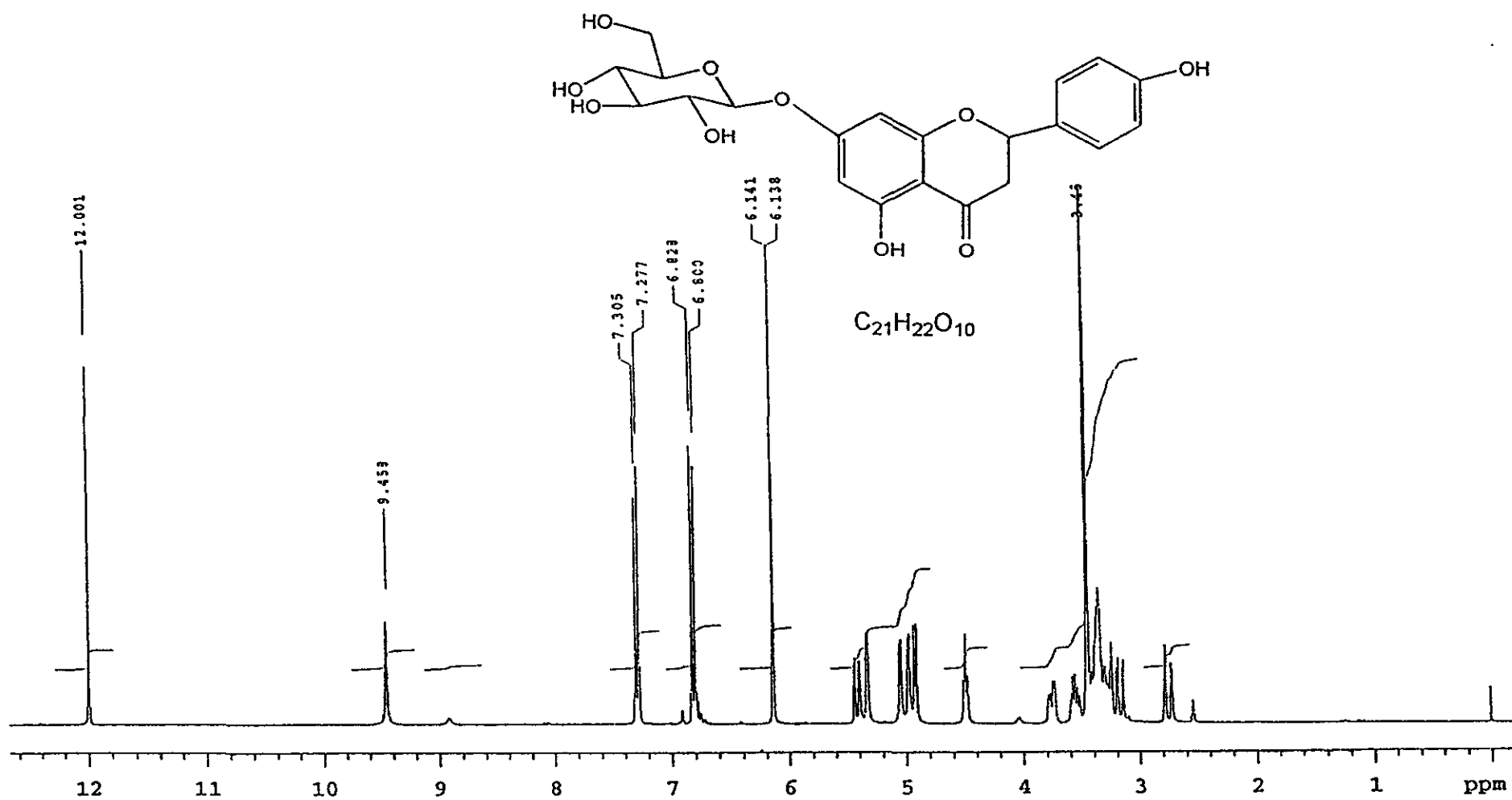
ESPECTRO 5 Espectro de RMN ^{13}C de Naringenina



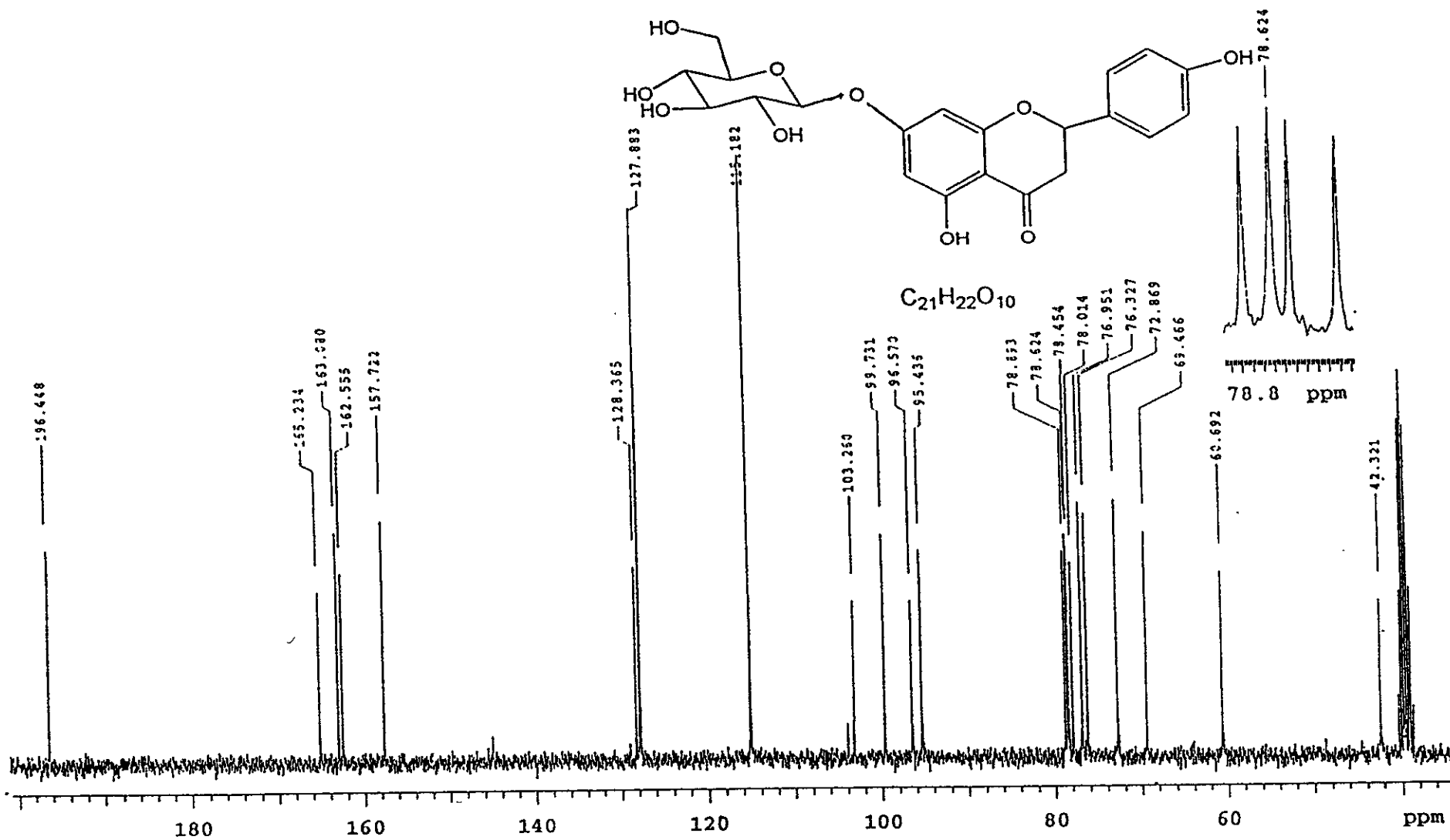
ESPECTRO 6 Espectro de IR de 7-O-β-D-glucósido de naringenina (Prunina)



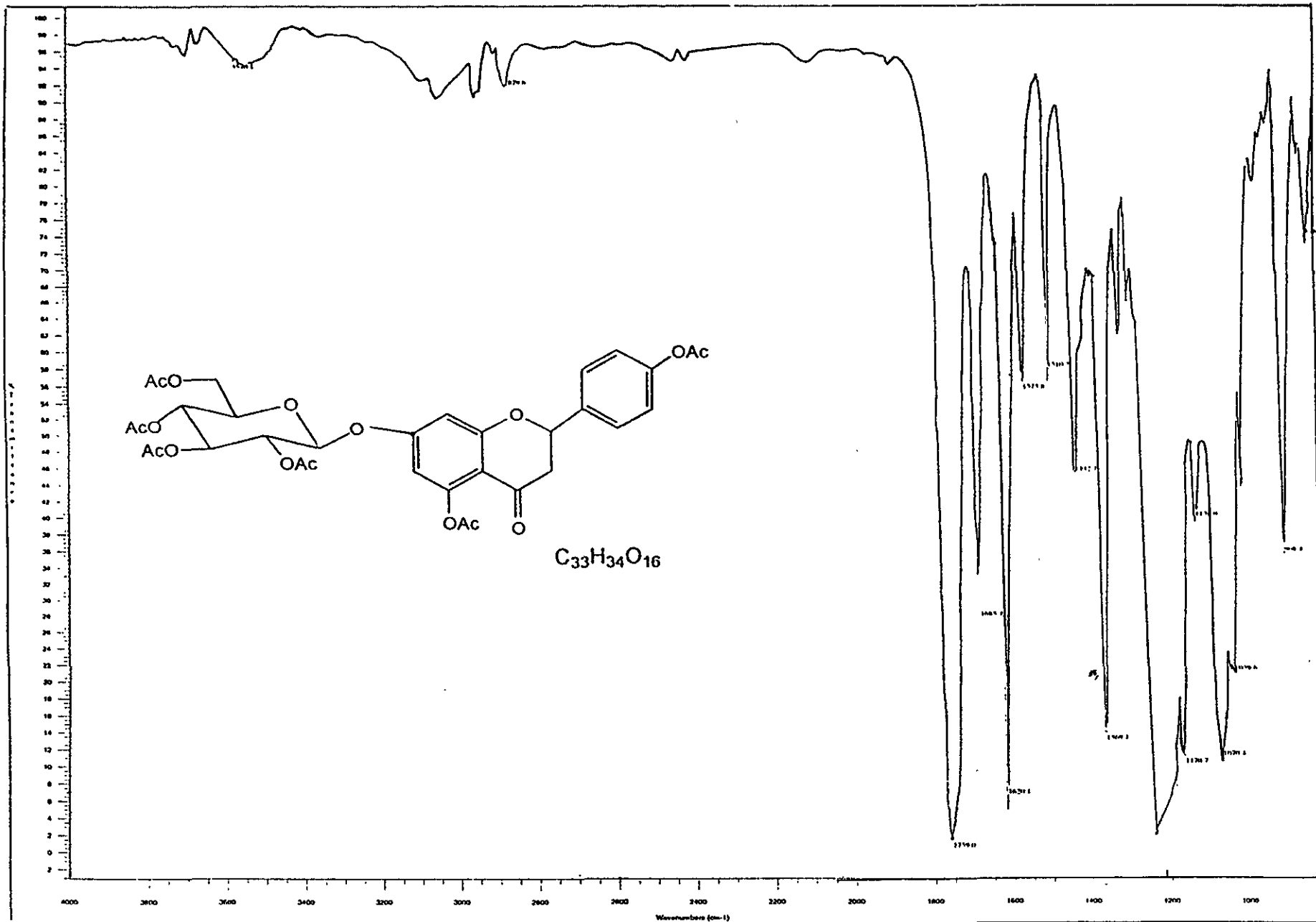
ESPECTRO 7 Espectro de Masas de 7-O- β -D- glucósido de Naringenina (Prunina)



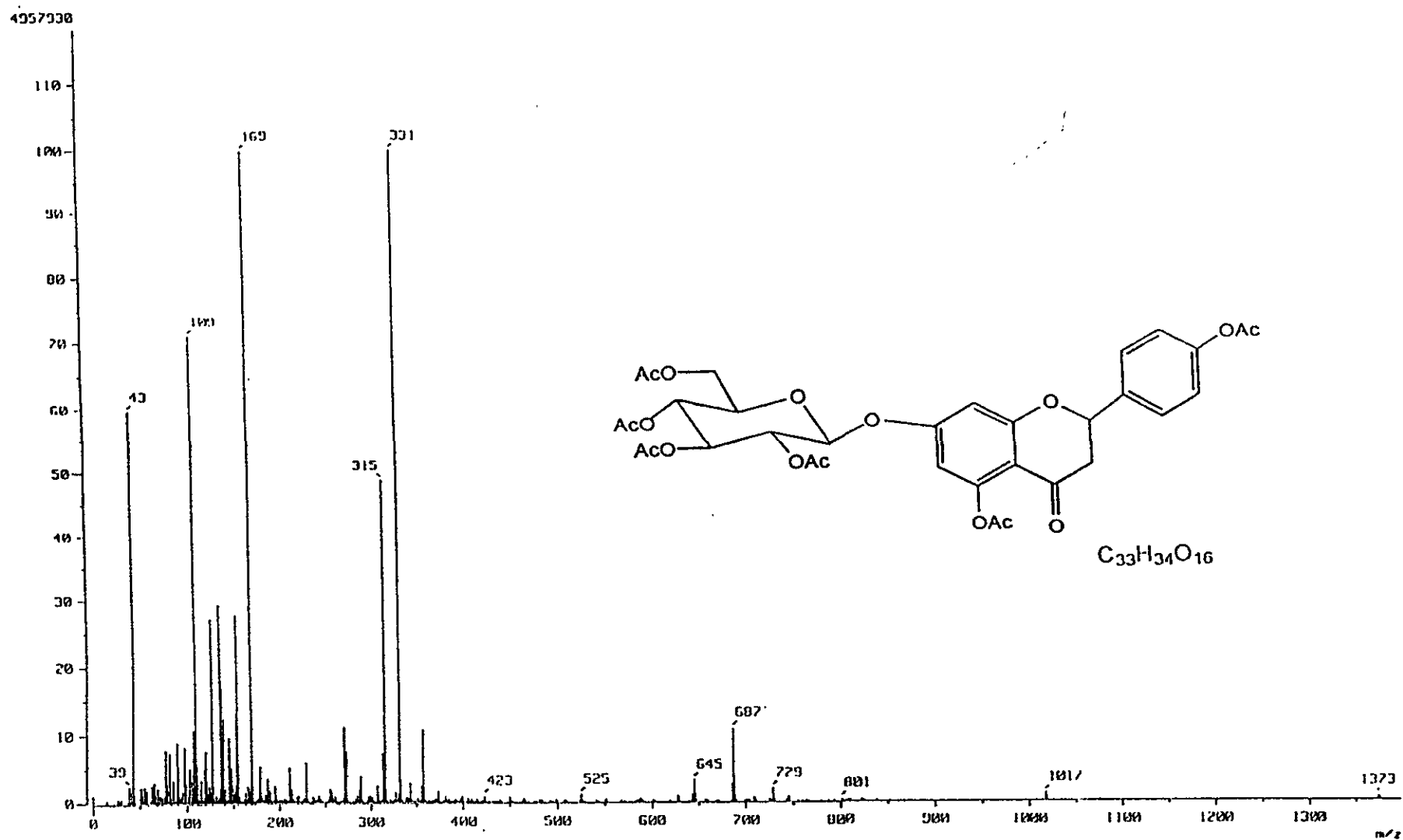
ESPECTRO 8 Espectro de RMN ¹H de 7-O-β-D- glucósido de Naringenina (Prunina)



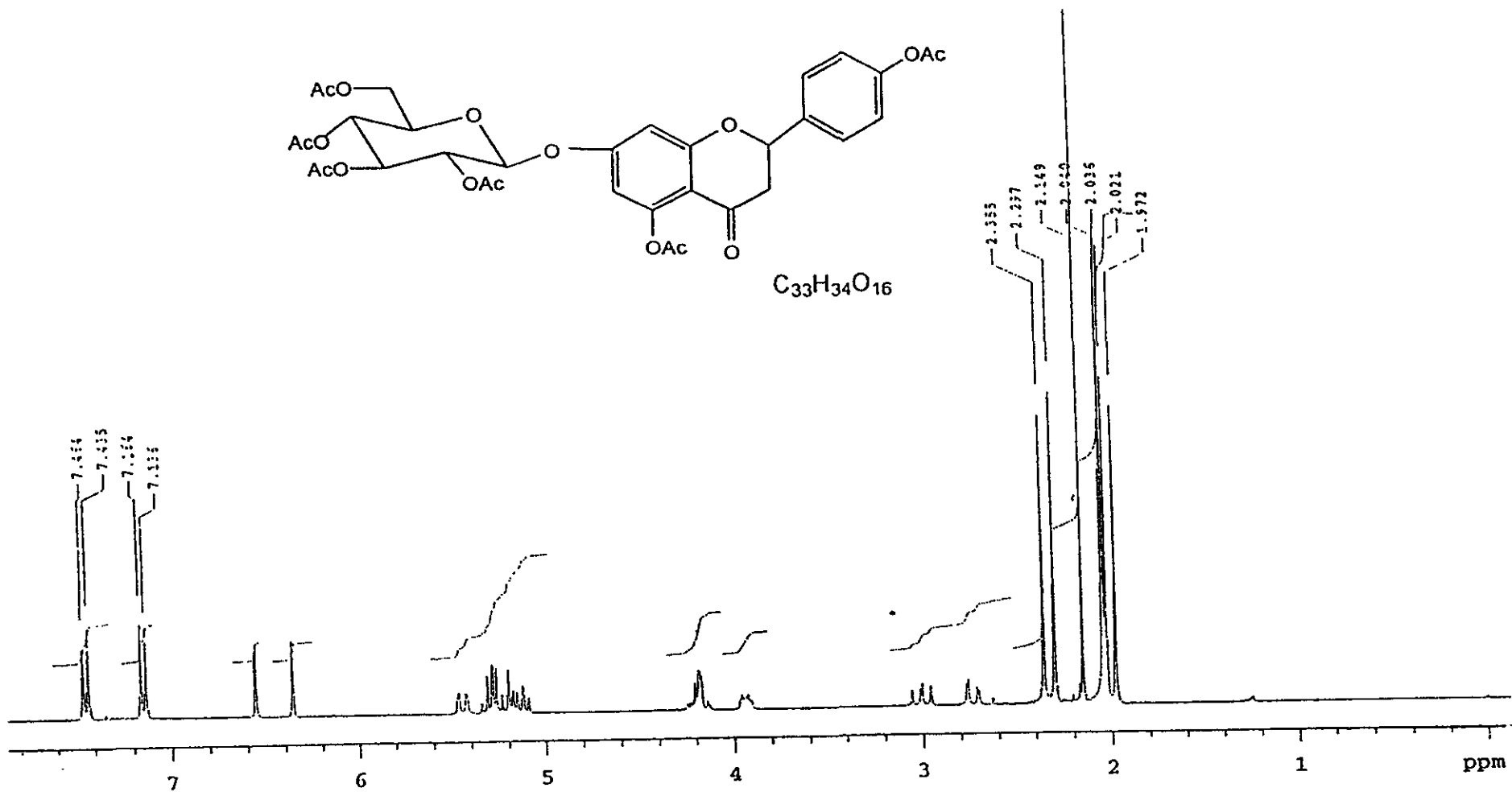
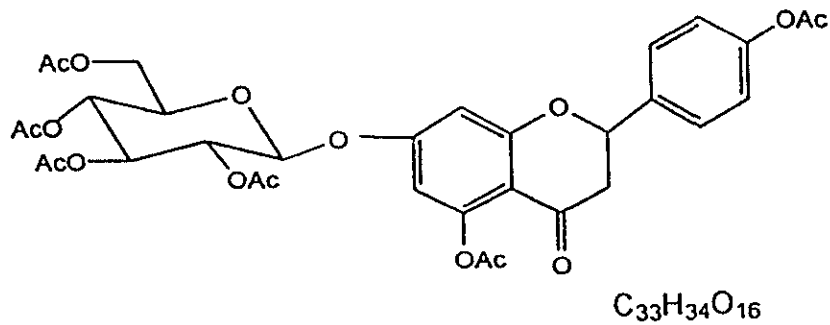
ESPECTRO 9 Espectro de RMN ^{13}C de 7-O- β -D- glucósido de Naringenina (Prunina)



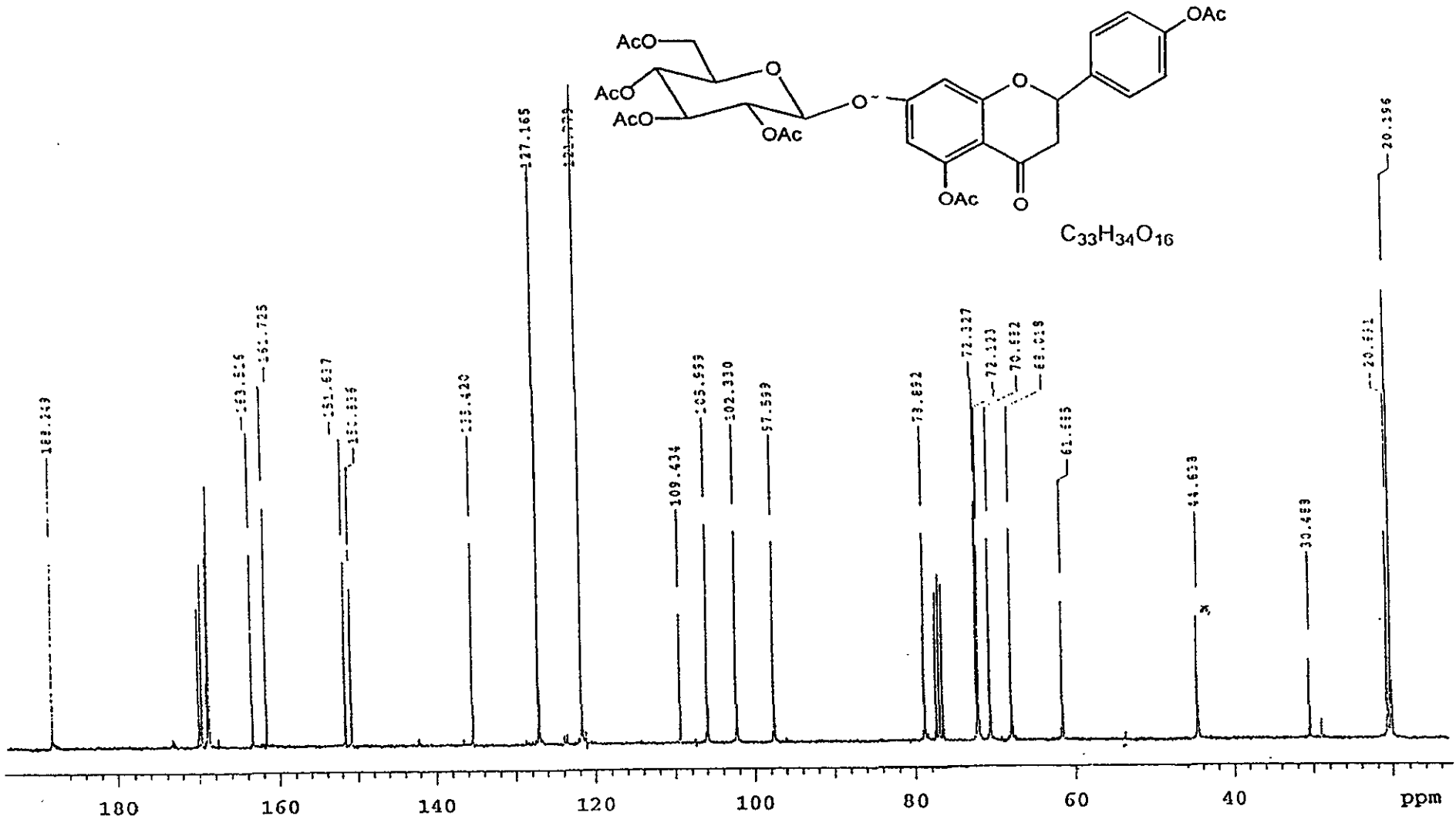
ESPECTRO 10 Espectro de IR del acetato de 7-O-β-D- glucósido de Naringenina



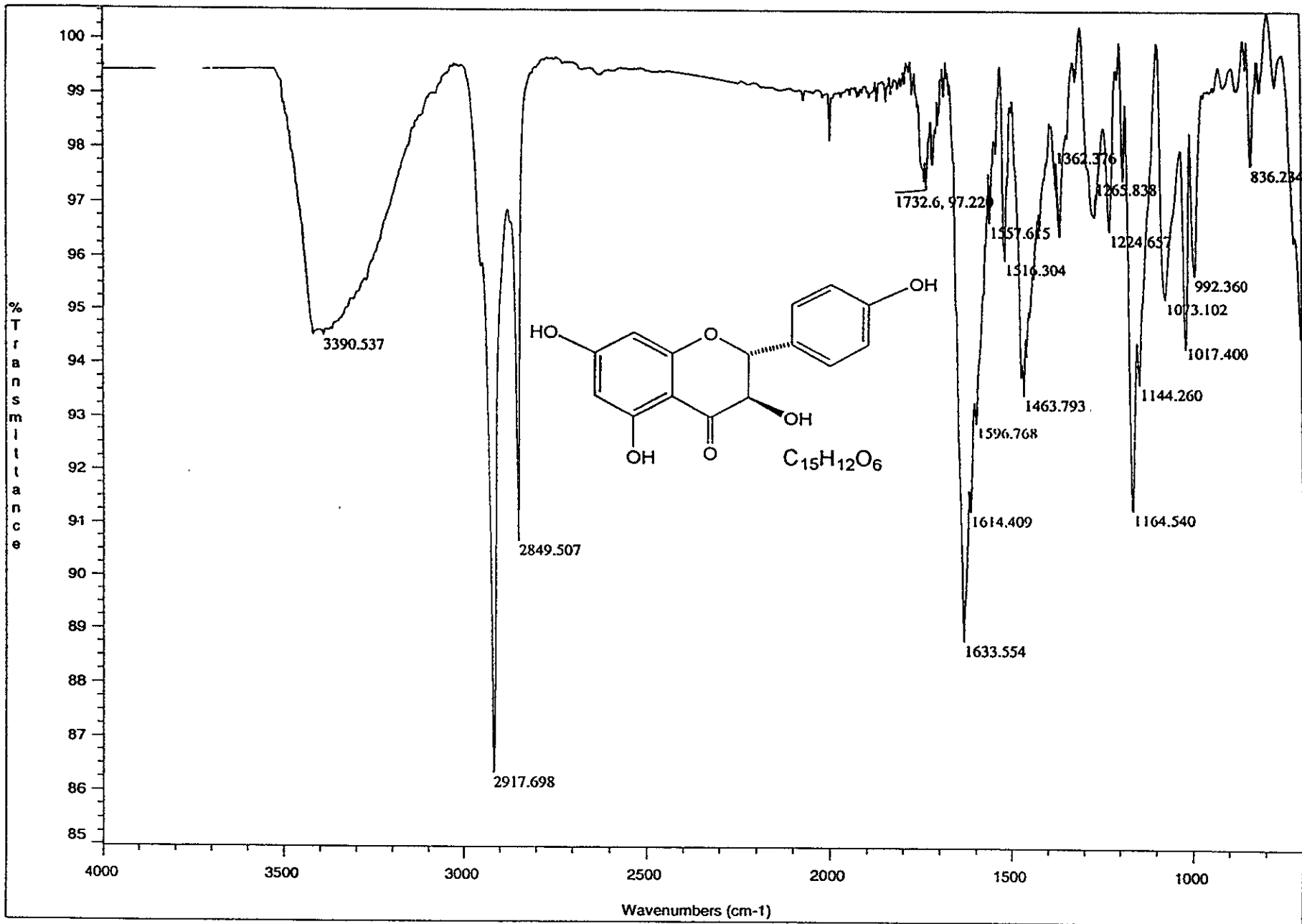
ESPECTRO 11 Espectro de Masas del acetato de 7-O-β-D glucósido de Naringenina



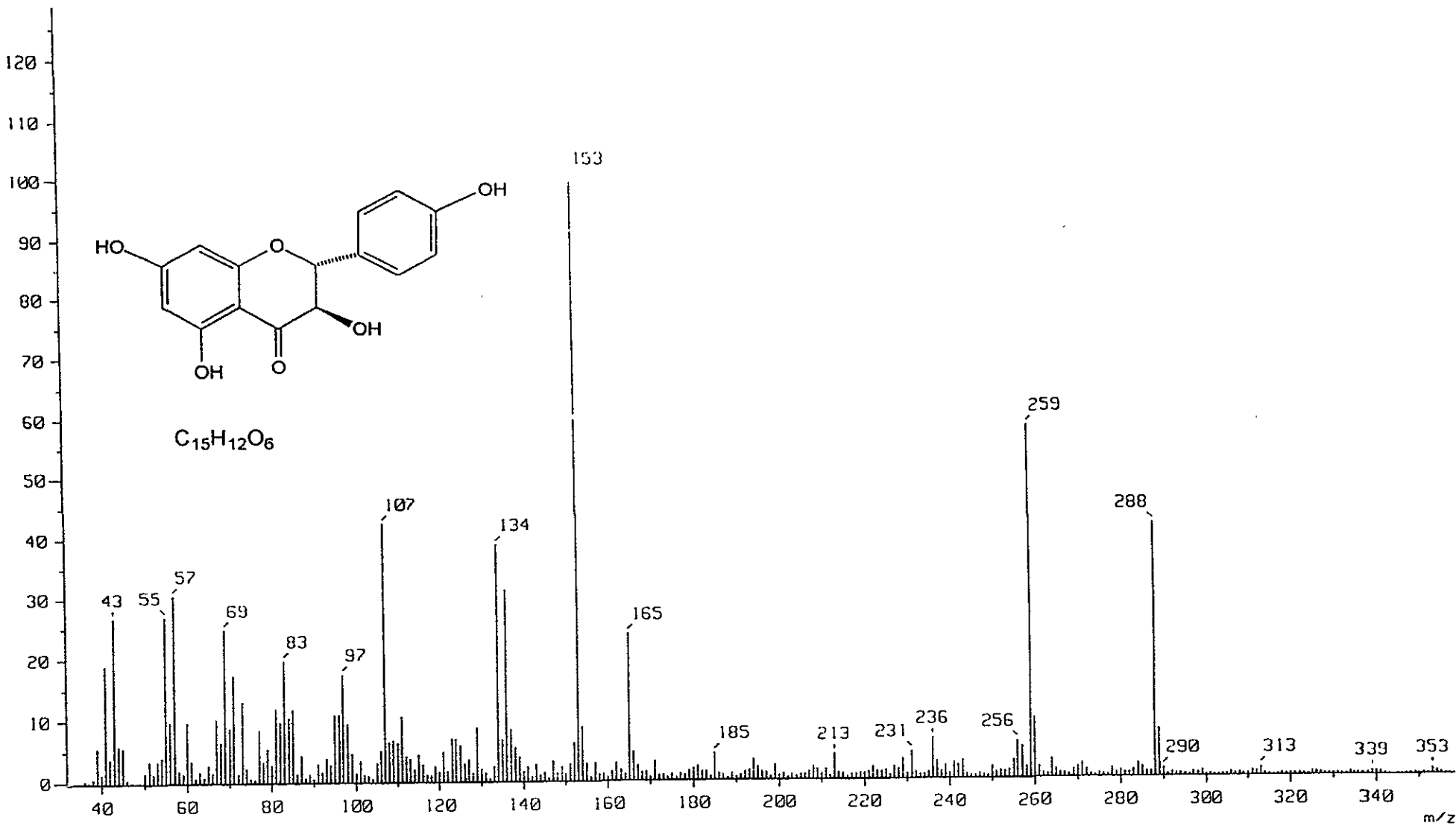
ESPECTRO 12 Espectro de RMN 1H del acetato de 7-O- β -D glucósido de Naringenina



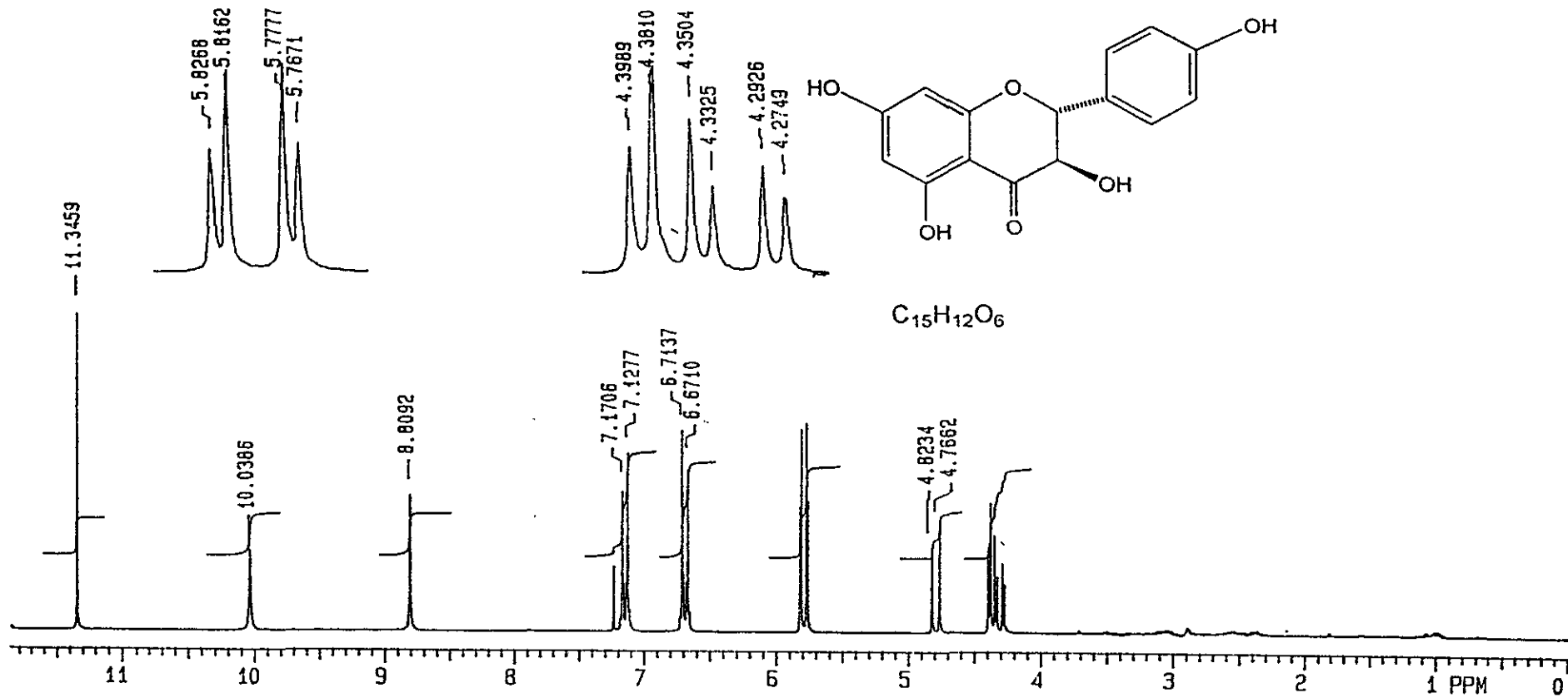
ESPECTRO 13 Espectro de RMN ^{13}C del acetato de 7-O- β -D glucósido de Naringenina



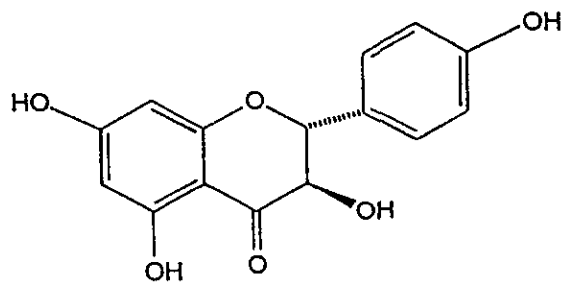
ESPECTRO 14 Espectro de IR de Aromadendrina



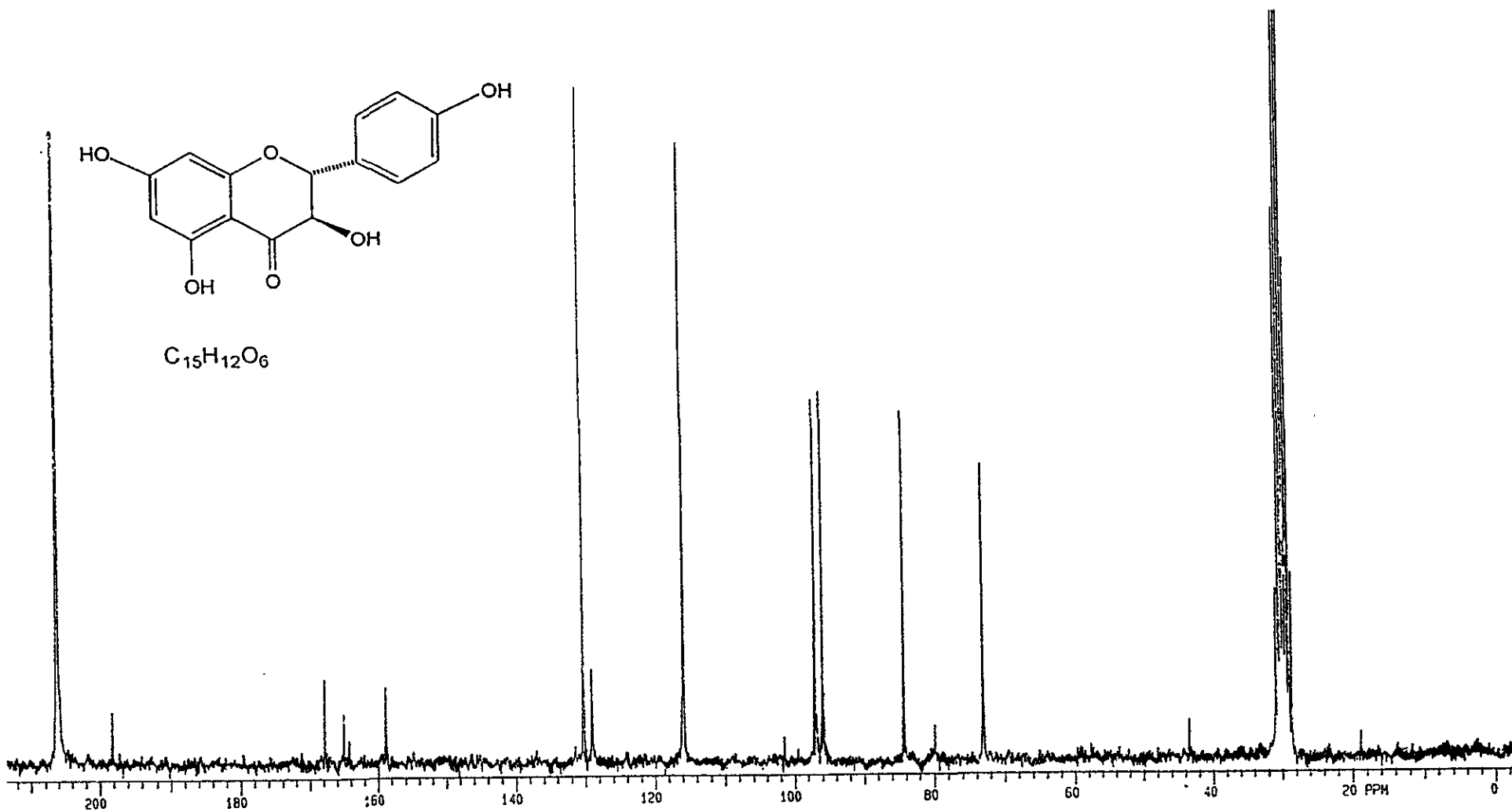
ESPECTRO 15 Espectro de Masas de Aromadendrina



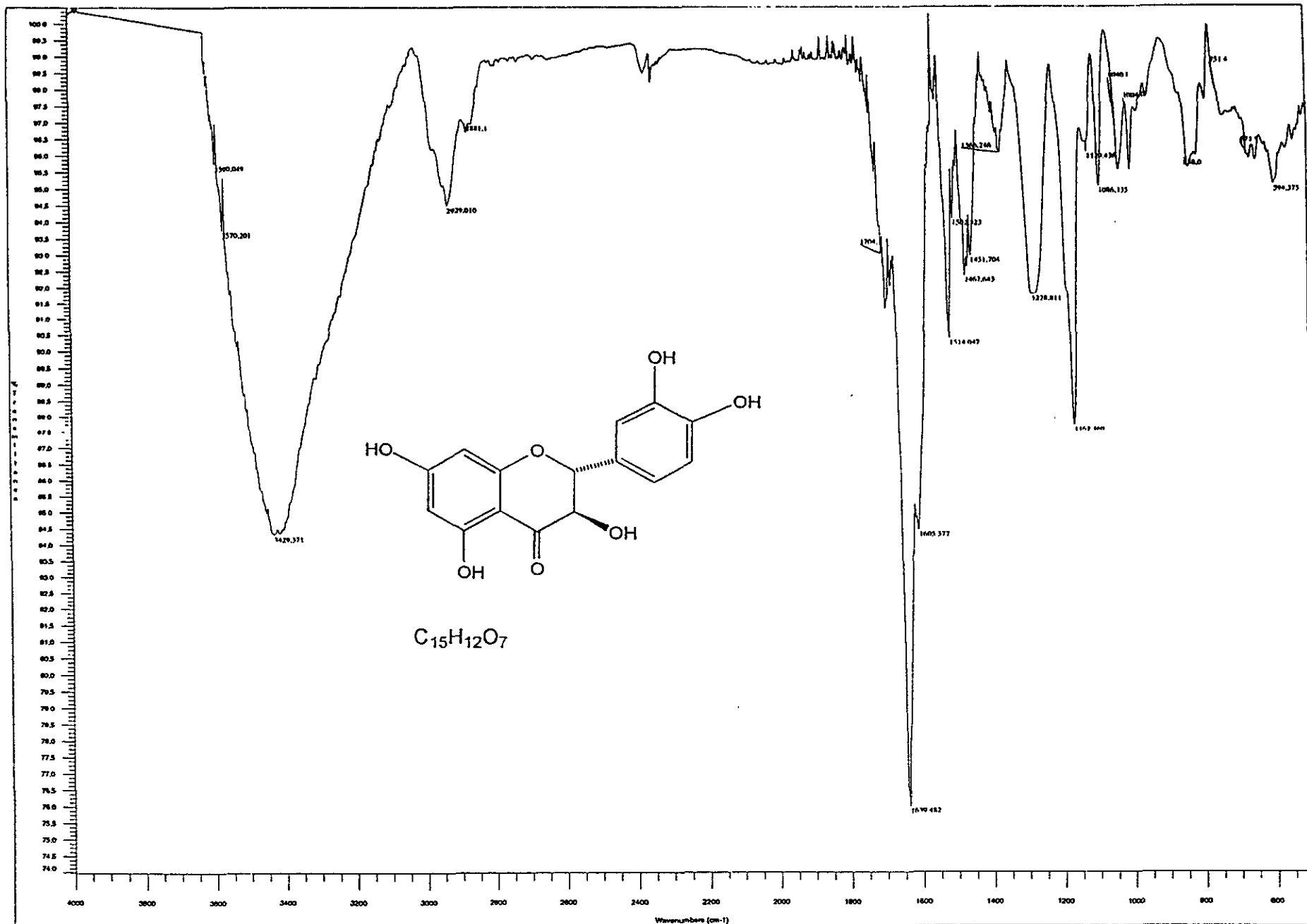
ESPECTRO 16 Espectro de RMN ^1H de Aromadendrina



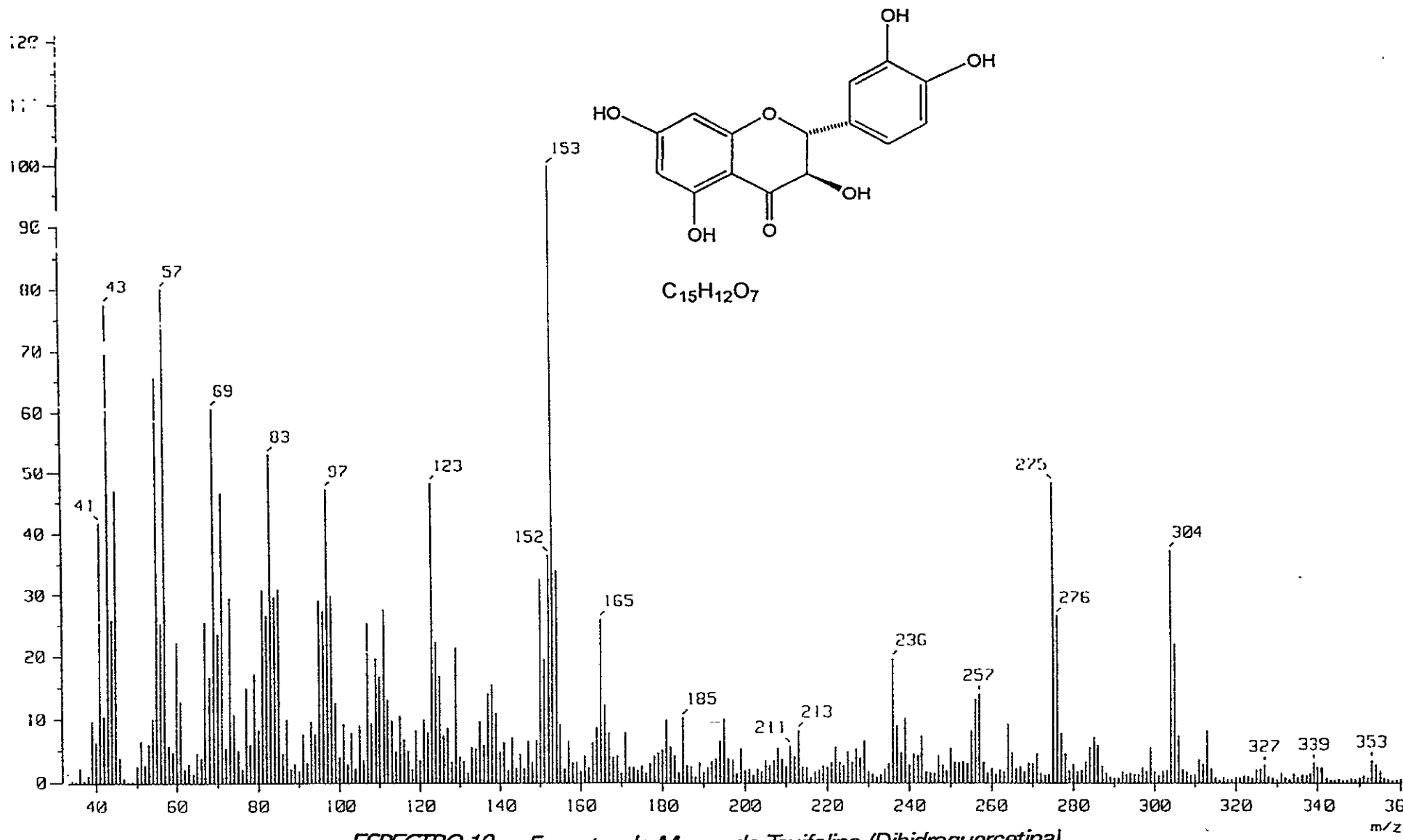
$C_{15}H_{12}O_6$



ESPECTRO 17 Espectro de RMN ^{13}C de Aromadendrina

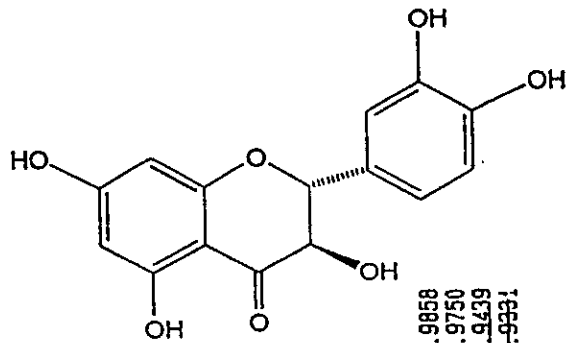


ESPECTRO 18 Espectro de IR de Taxifolina (Dihidroquercetina)

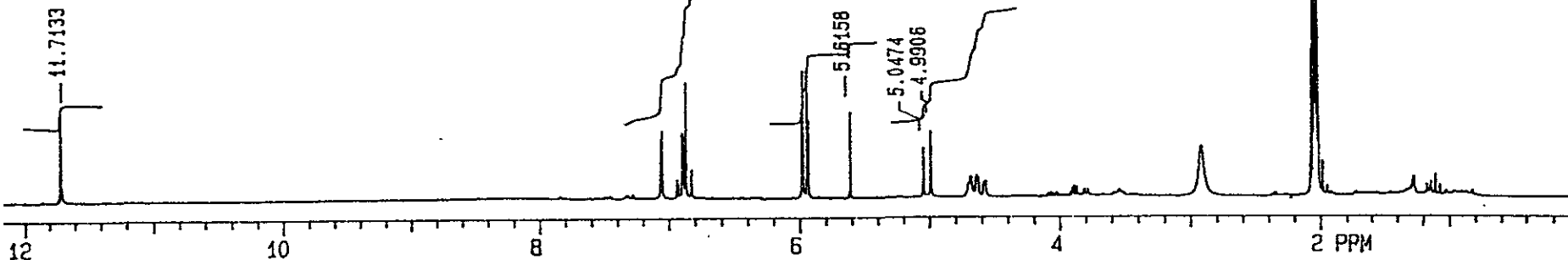
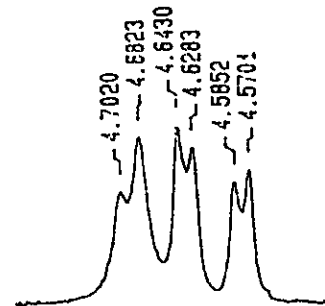
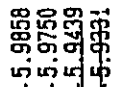
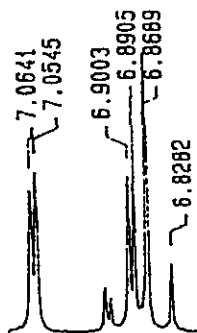


ESPECTRO 19 Espectro de Masas de Taxifolina (Dihidroquercetina)

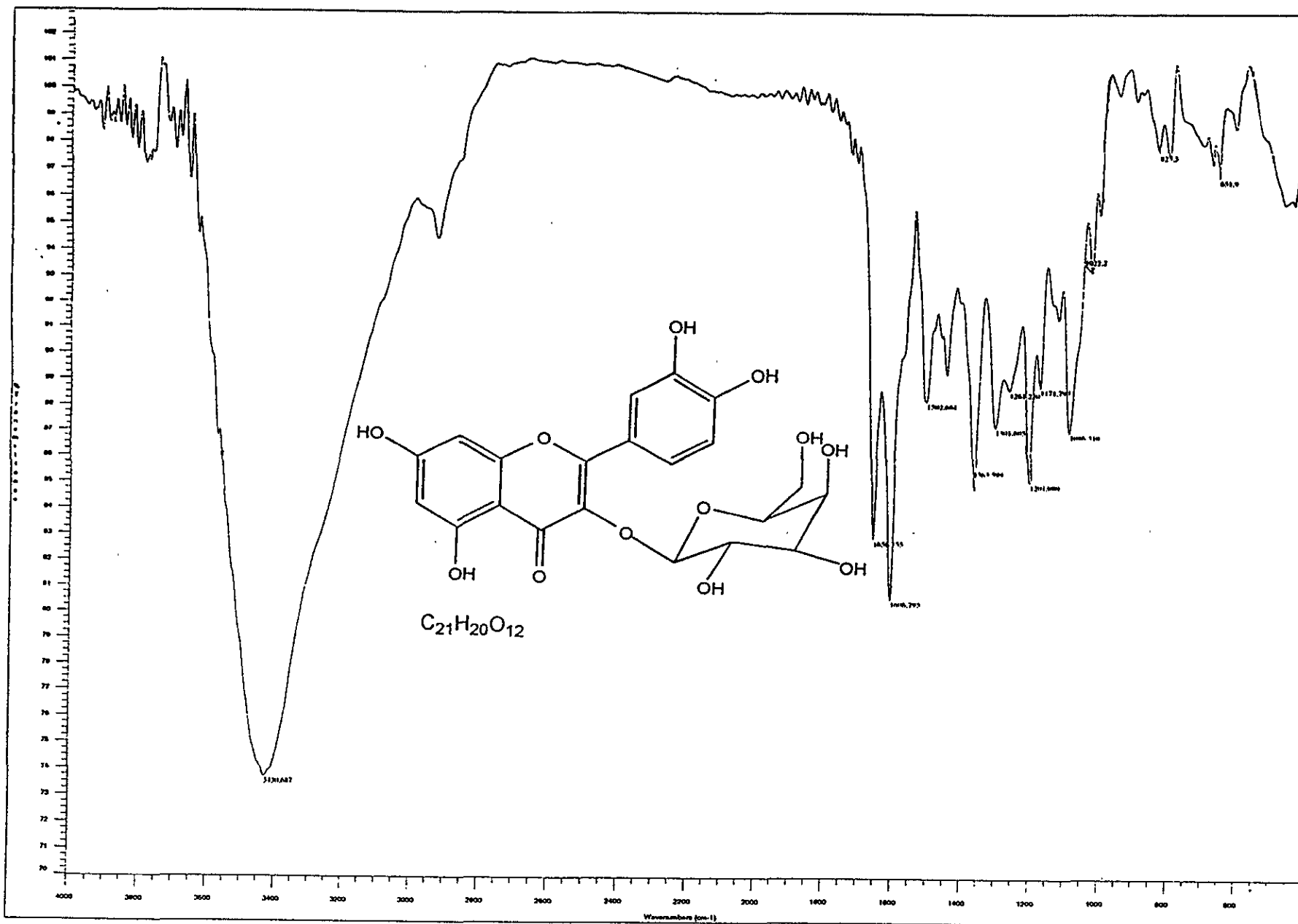
m/z



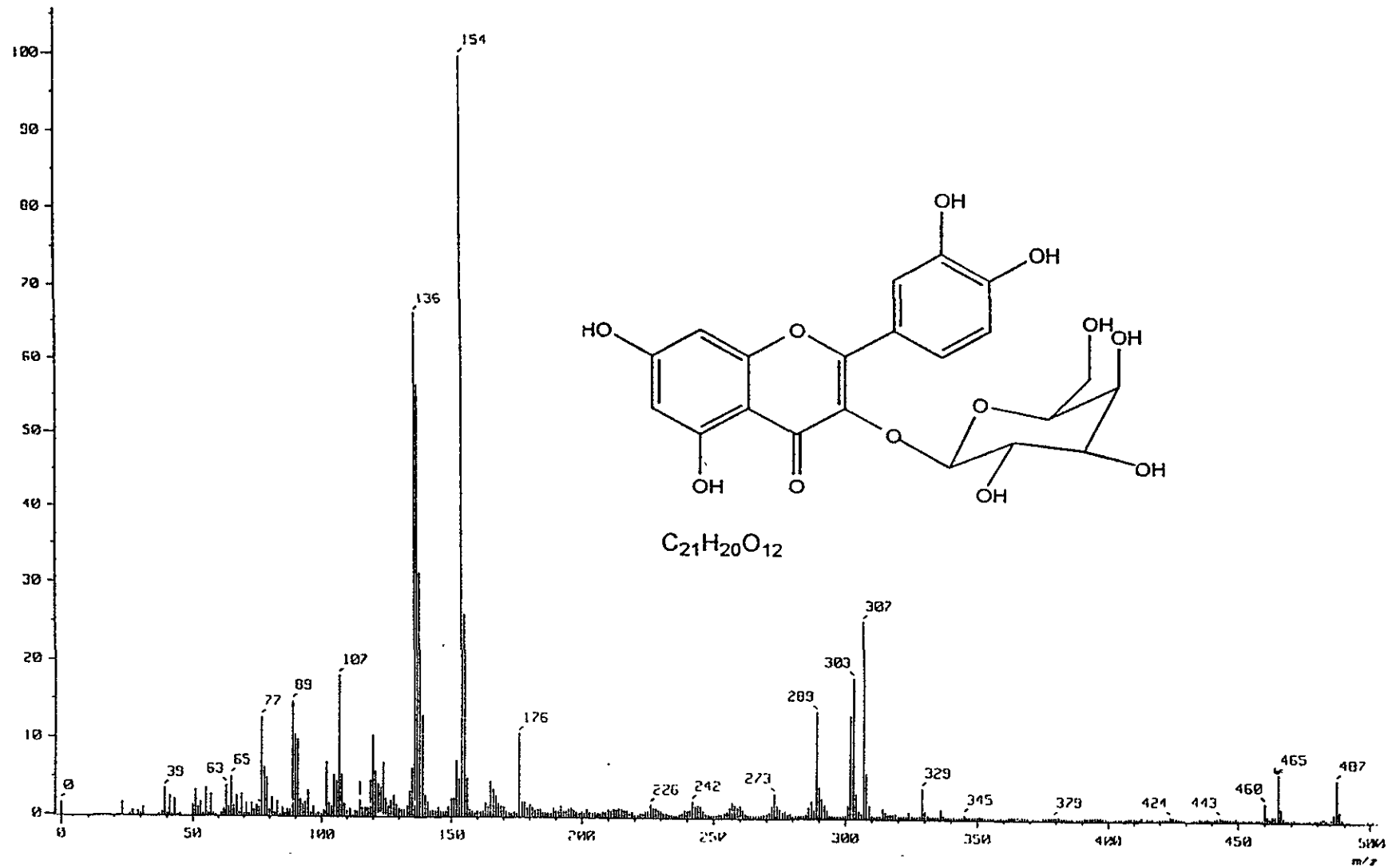
$C_{15}H_{12}O_7$



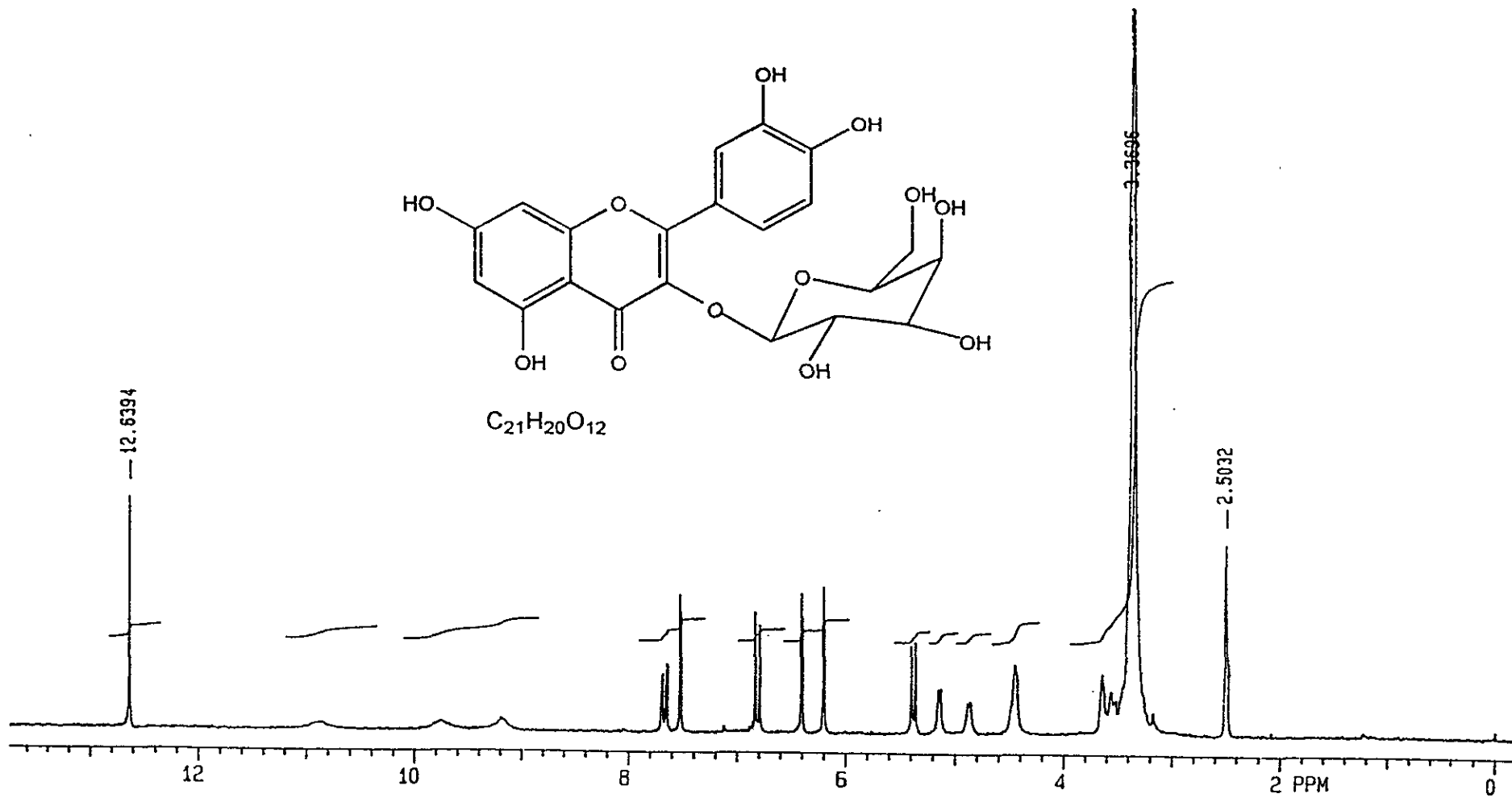
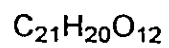
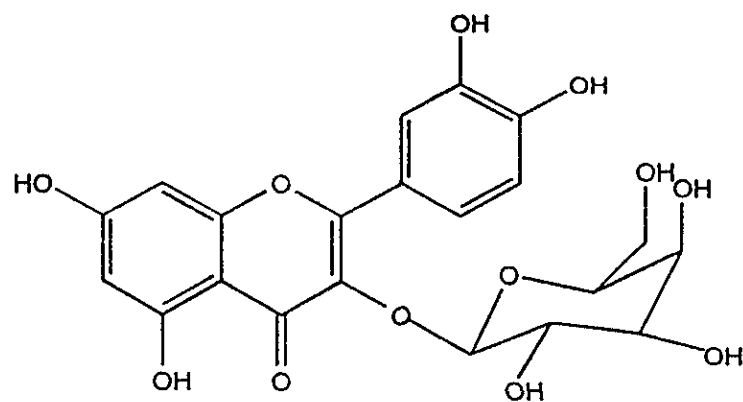
ESPECTRO 20 Espectro de RMN 1H de Taxifolina (Dihidroquercetina)



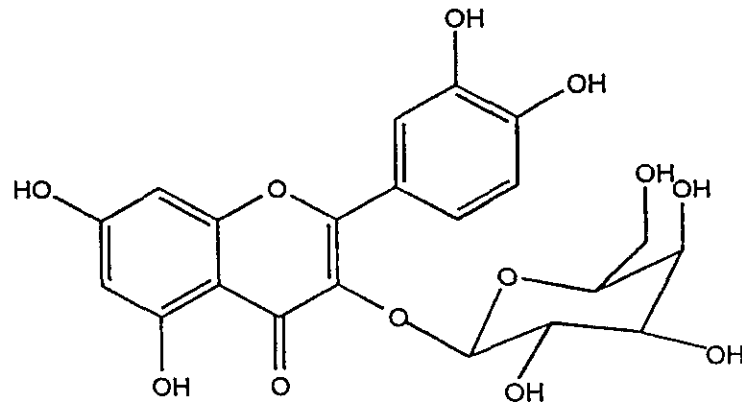
ESPECTRO 21 Espectro de IR de 3-O-β-D galactósido de Quercetina (Hiperina)



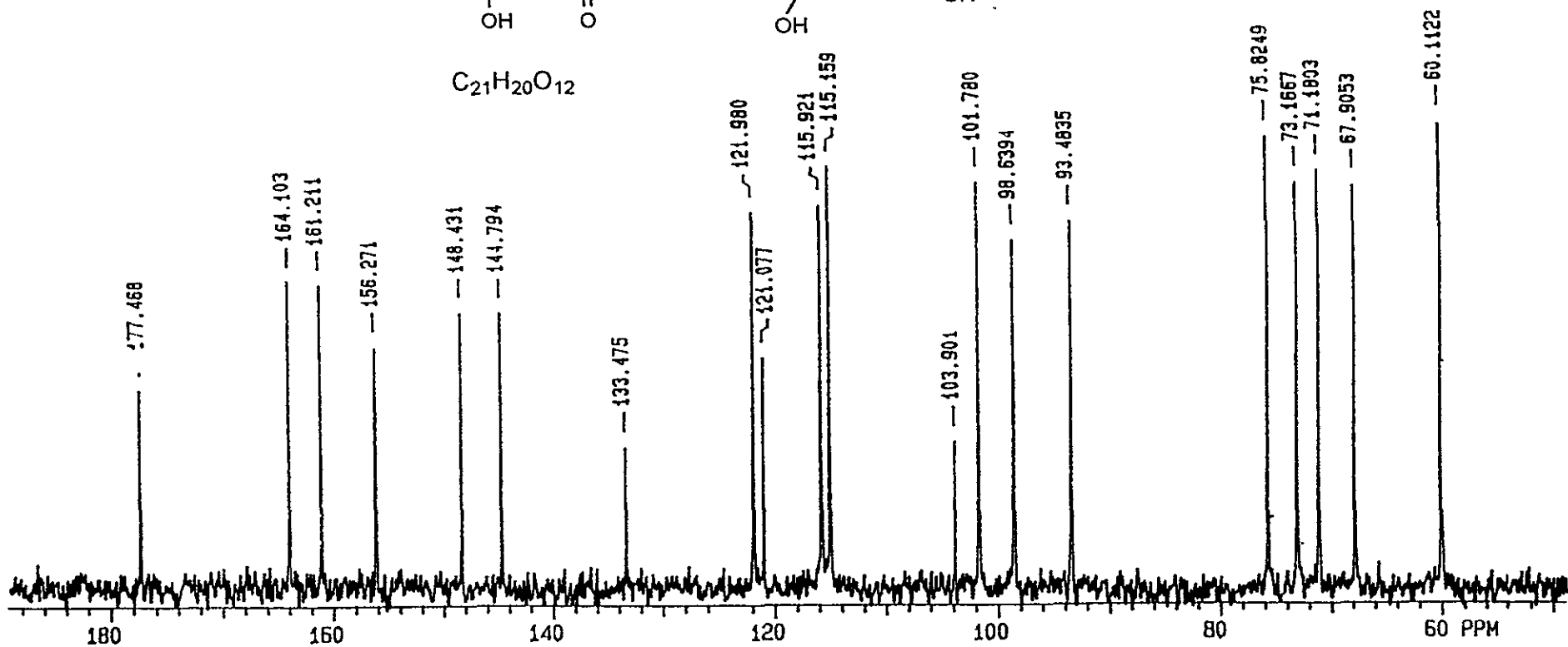
ESPECTRO 22 Espectro de Masas de 3-O-β-D galactósido de quercetina (Hiperina)



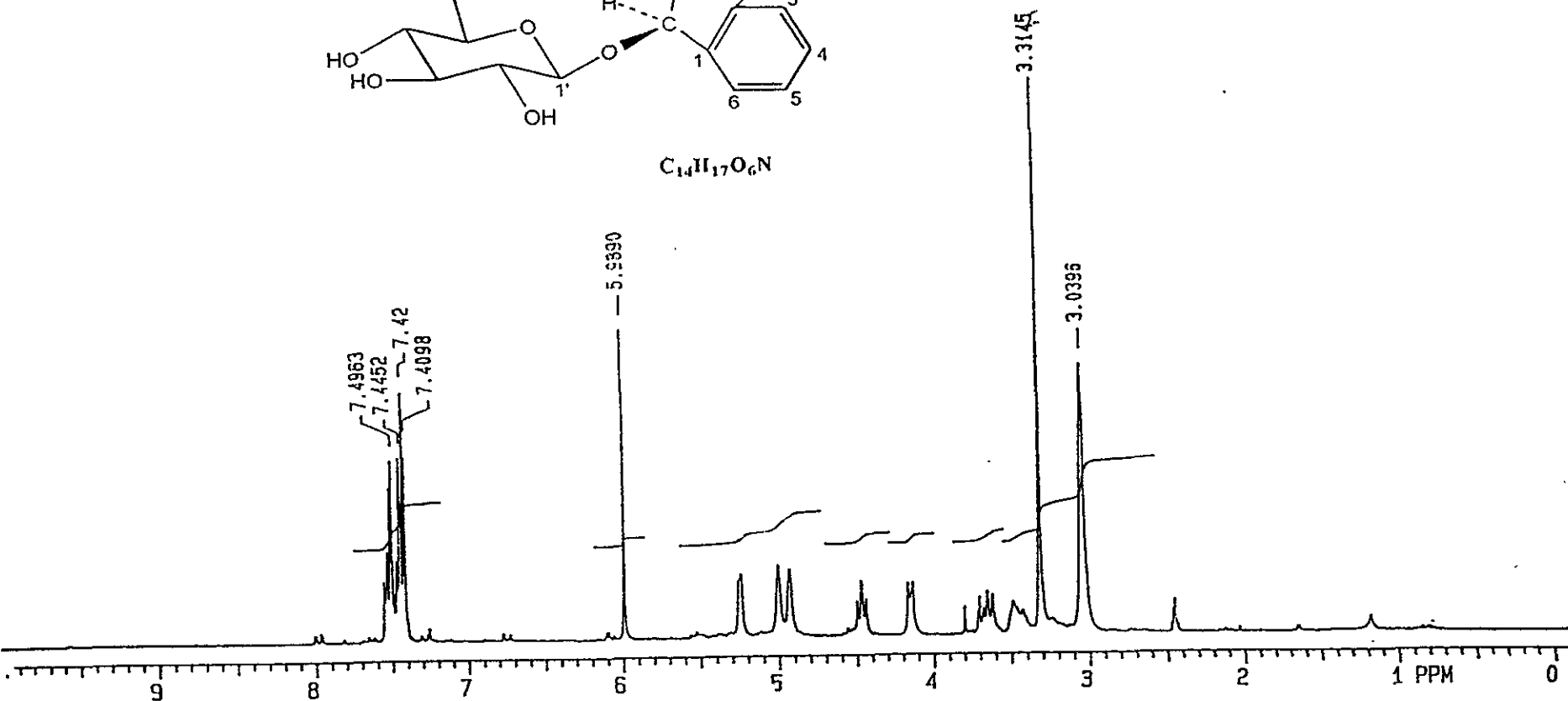
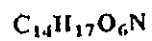
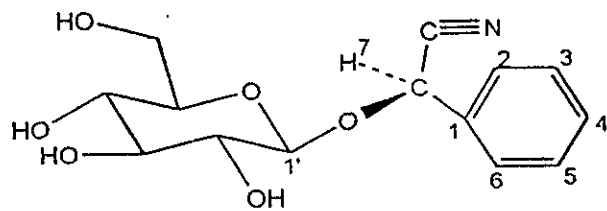
ESPECTRO 23 *Espectro de RMN ¹H de 3-O-β-D galactósido de Quercetina (Hiperina)*



$C_{21}H_{20}O_{12}$

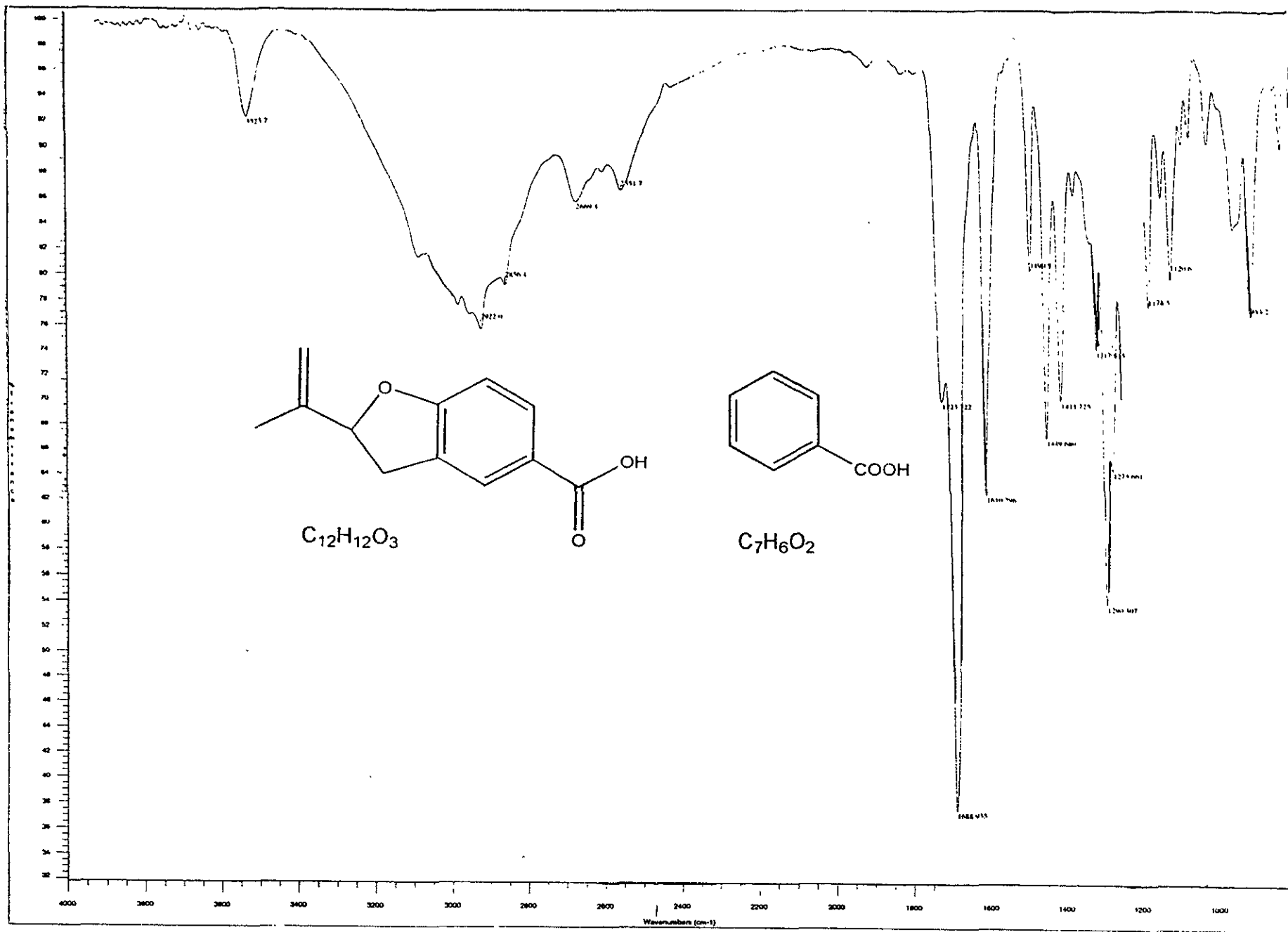


ESPECTRO 24 Espectro de RMN ^{13}C de 3-O- β -D galactósido de Quercetina (Hiperina)

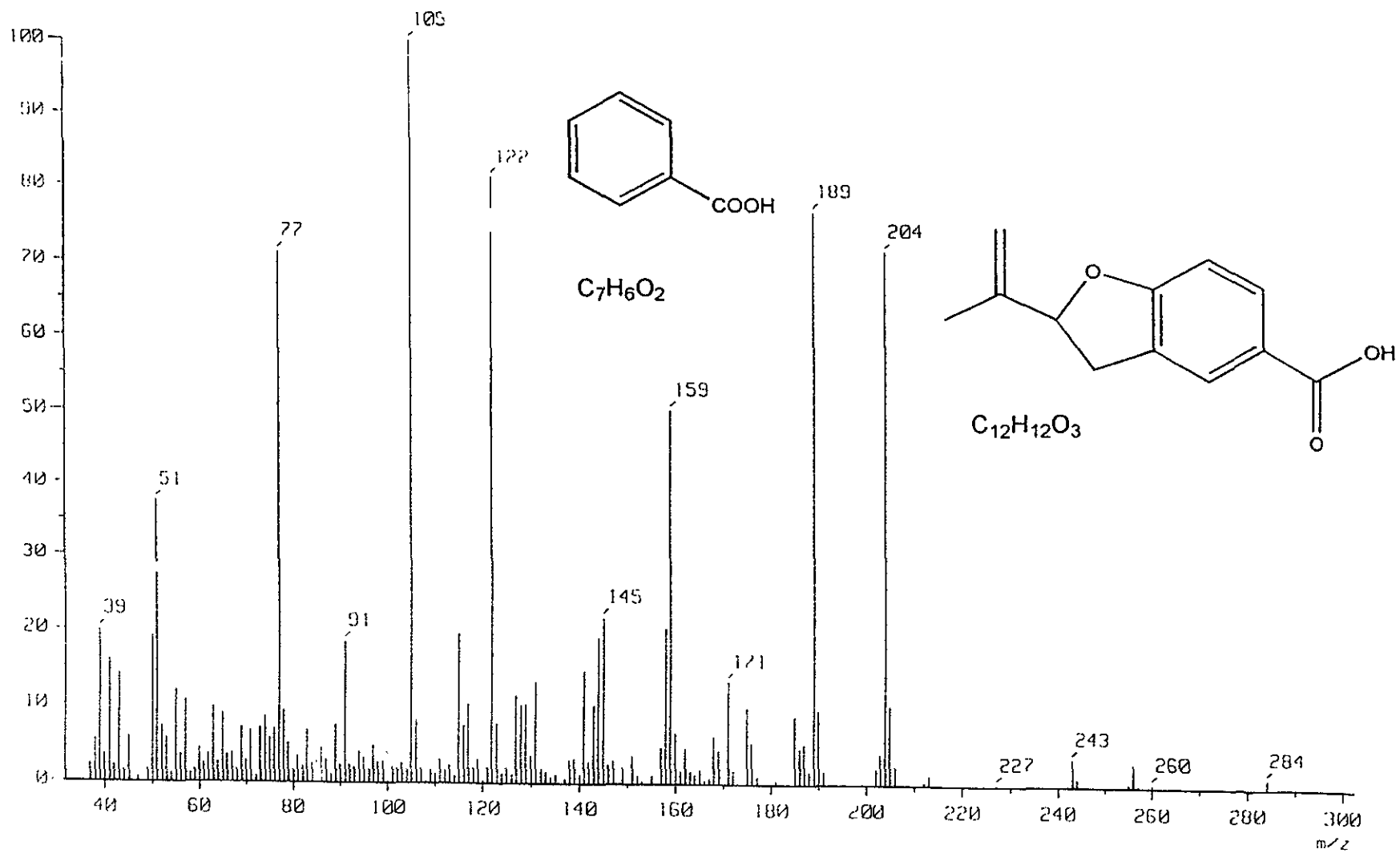


ESPECTRO 25

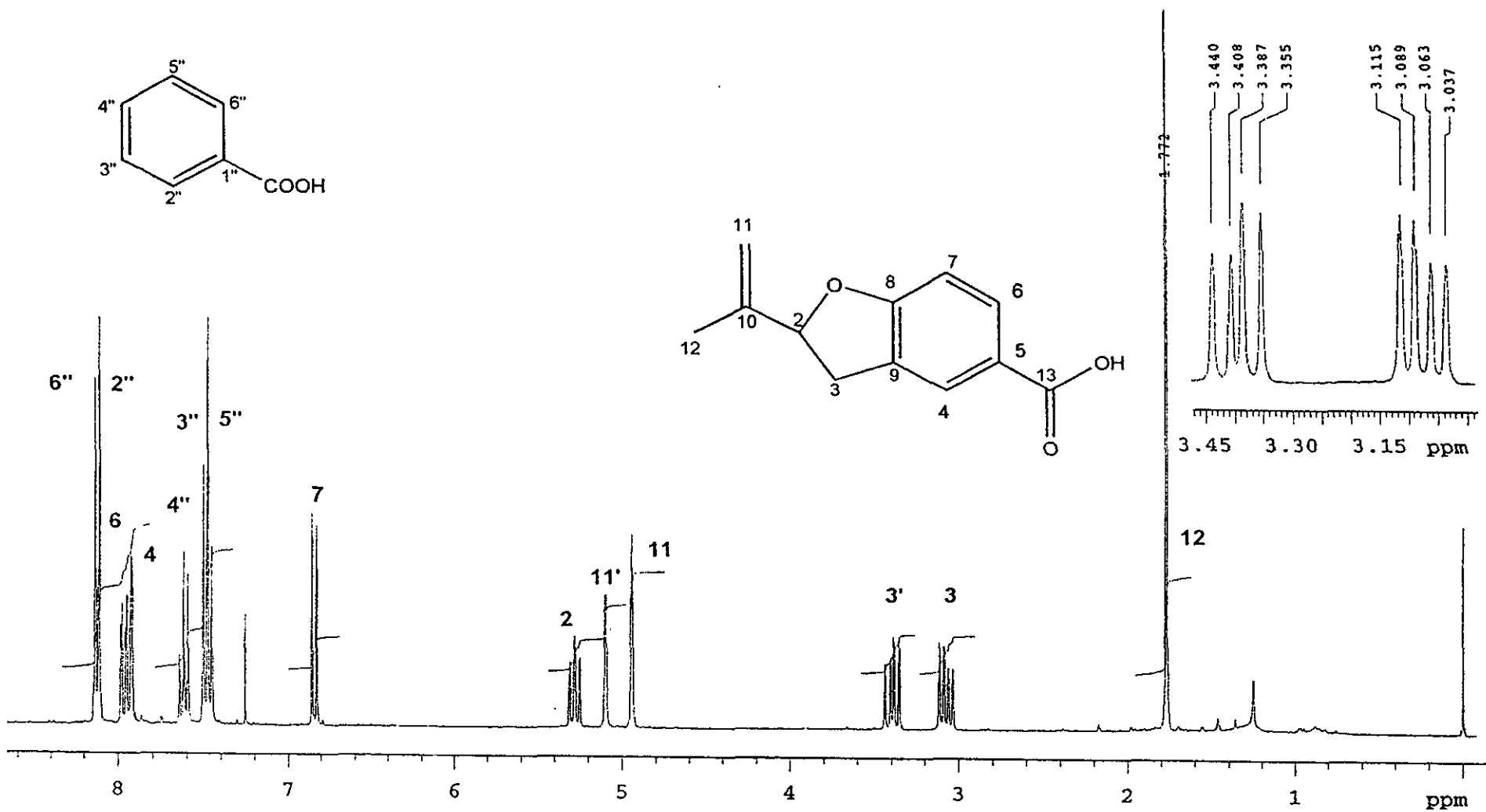
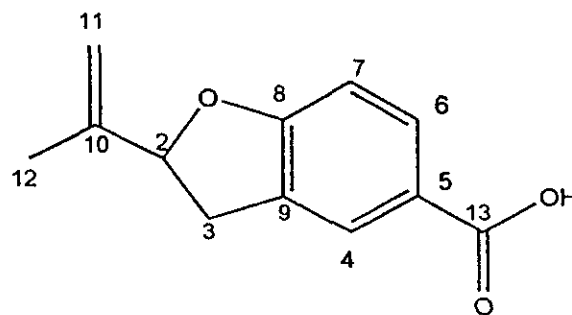
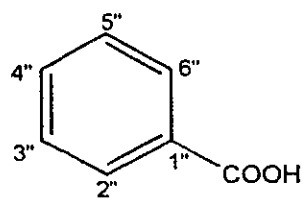
Espectro de RMN 1H de Prunasina (R)-2-(β -D-Glucopiranosiloxi)-fenilacetoniitrilo



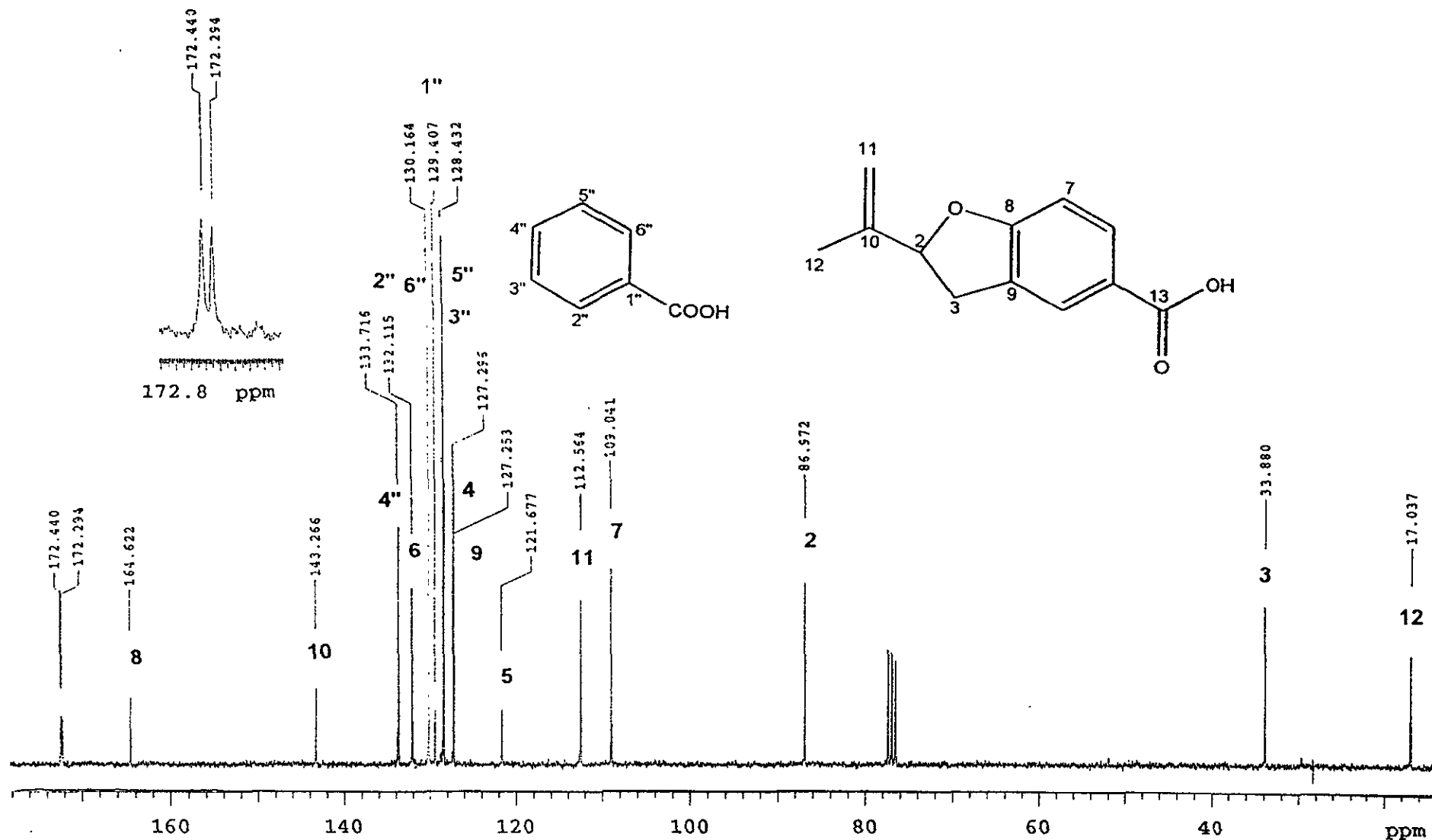
ESPECTRO 26 Espectro de IR de la mezcla del ácido-2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico y ácido benzoico



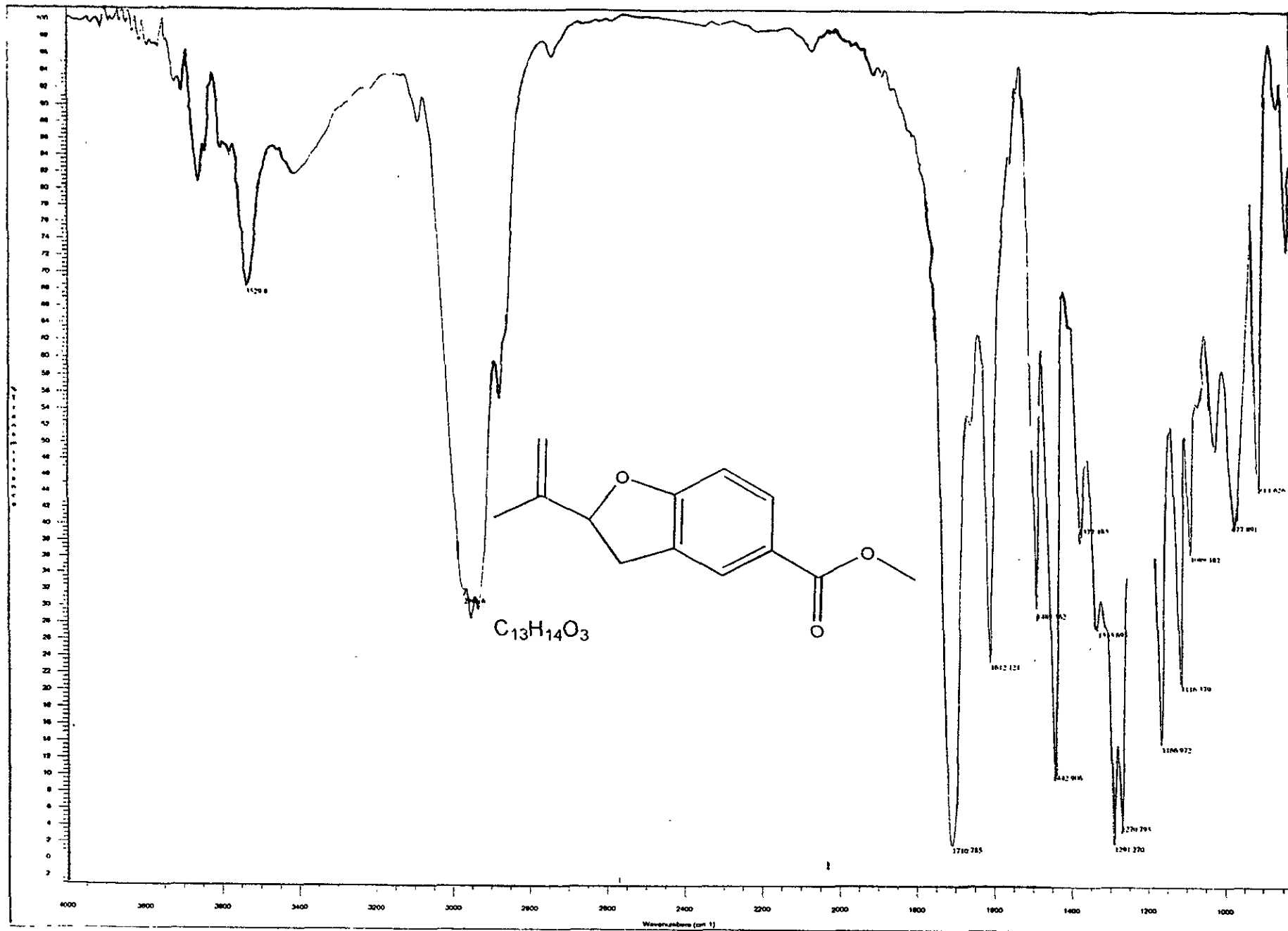
ESPECTRO 27 *Espectro de Masas de la mezcla del ácido-2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico y ácido benzoico*



ESPECTRO 28 *Espectro de RMN¹H de la mezcla del ácido-2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico y ácido benzoico*



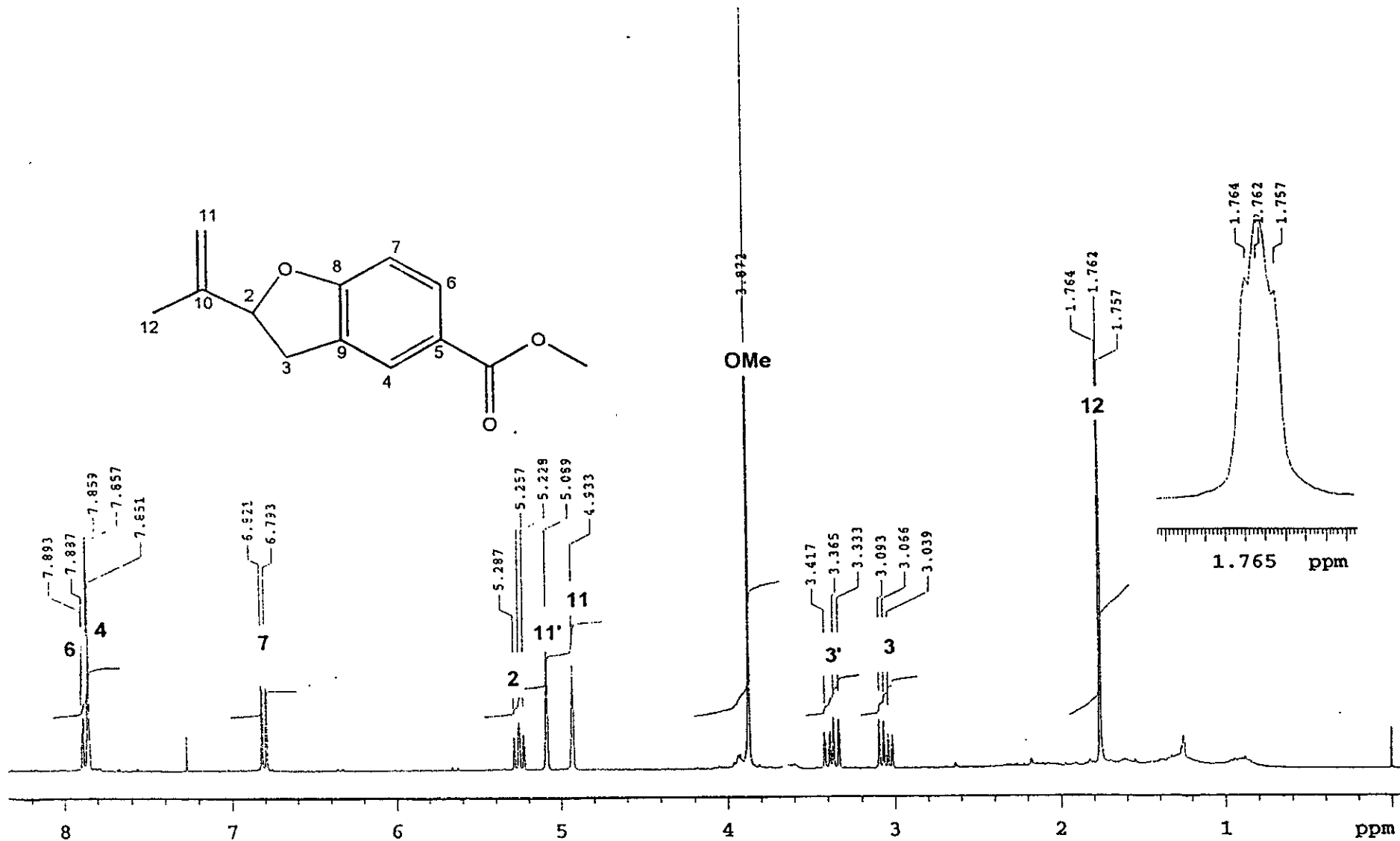
ESPECTRO 29 Espectro de RMN¹³C la mezcla del ácido-2-isopropenil-2,3-dihidrobencofurano-5-oico y ácido benzoico



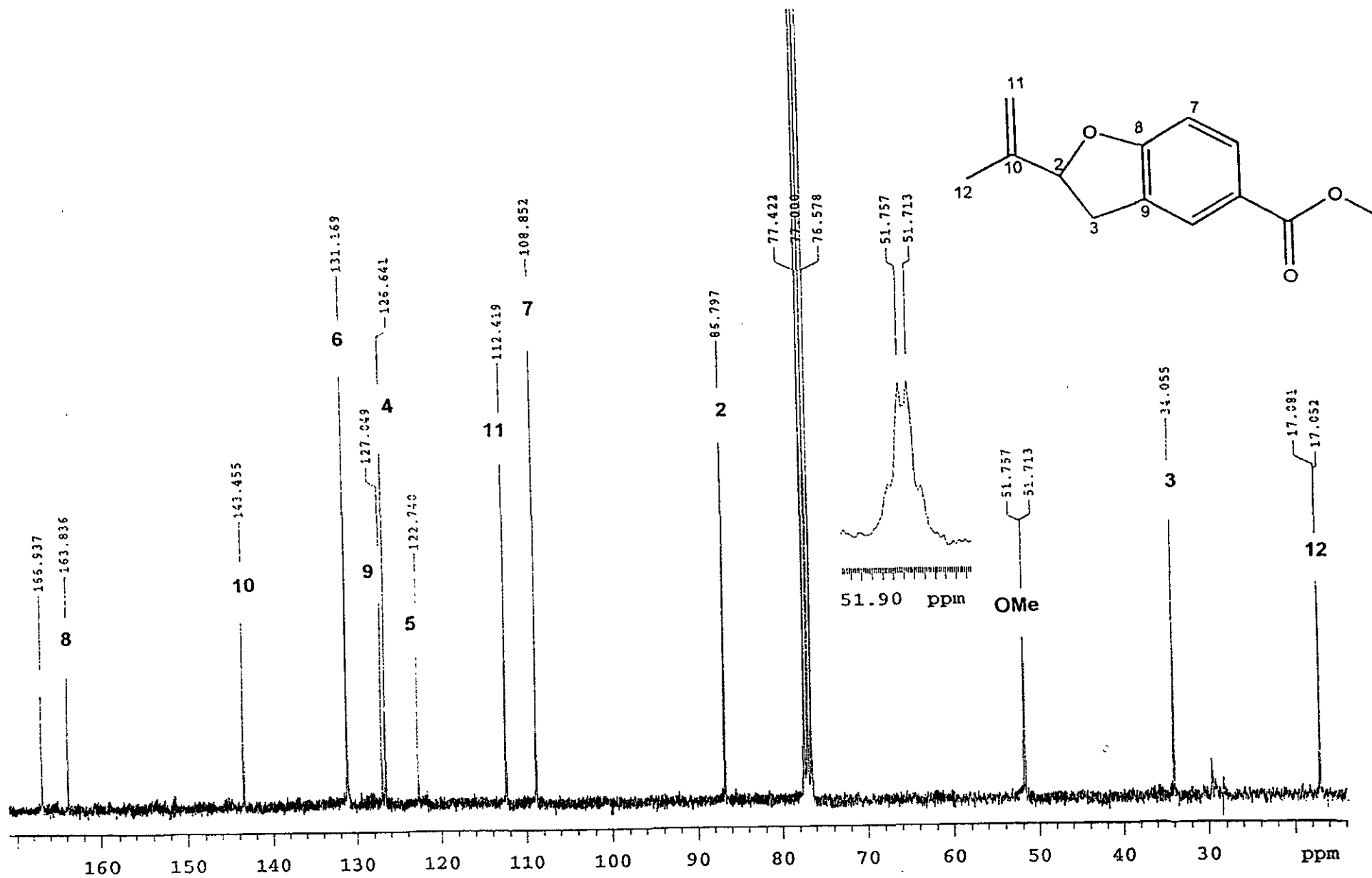
ESPECTRO 30 Espectro de IR del éster del ácido-2-isopropenil-2,3-dihidrobencofurano-5-oico



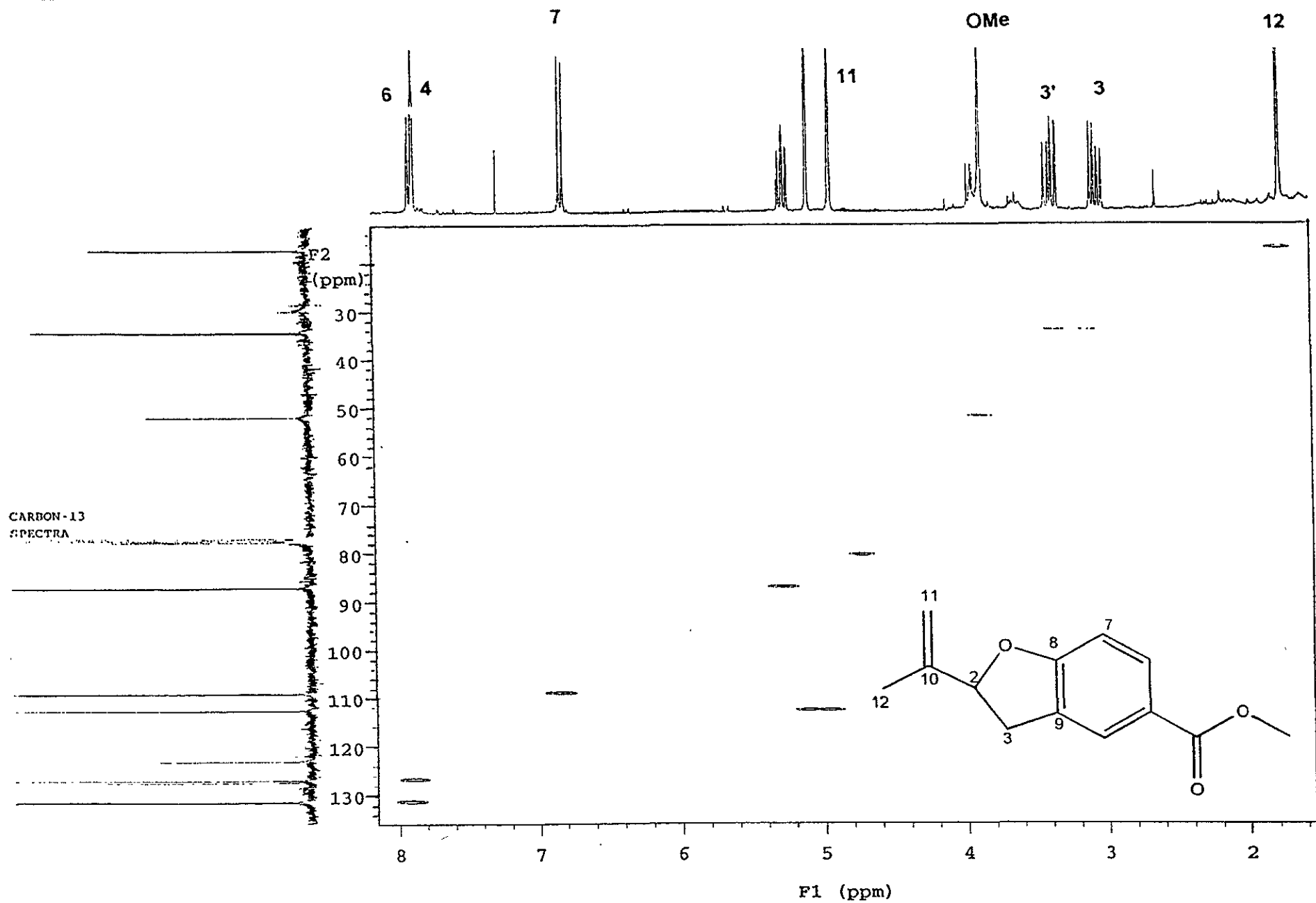
ESPECTRO 31 *Espectro de Masas del éster del ácido-2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico*



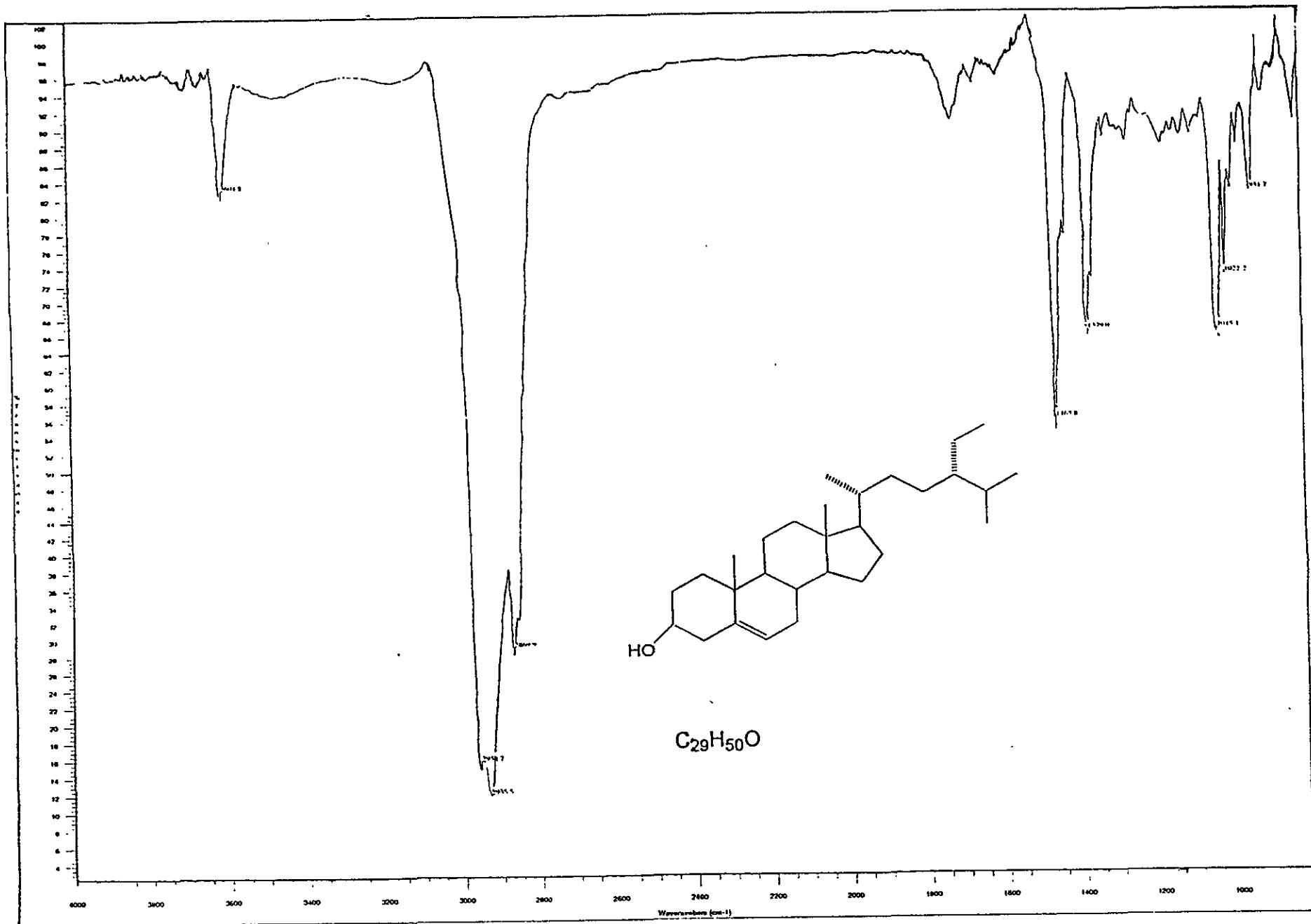
ESPECTRO 32 Espectro de RMN¹H del éster del ácido-2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico



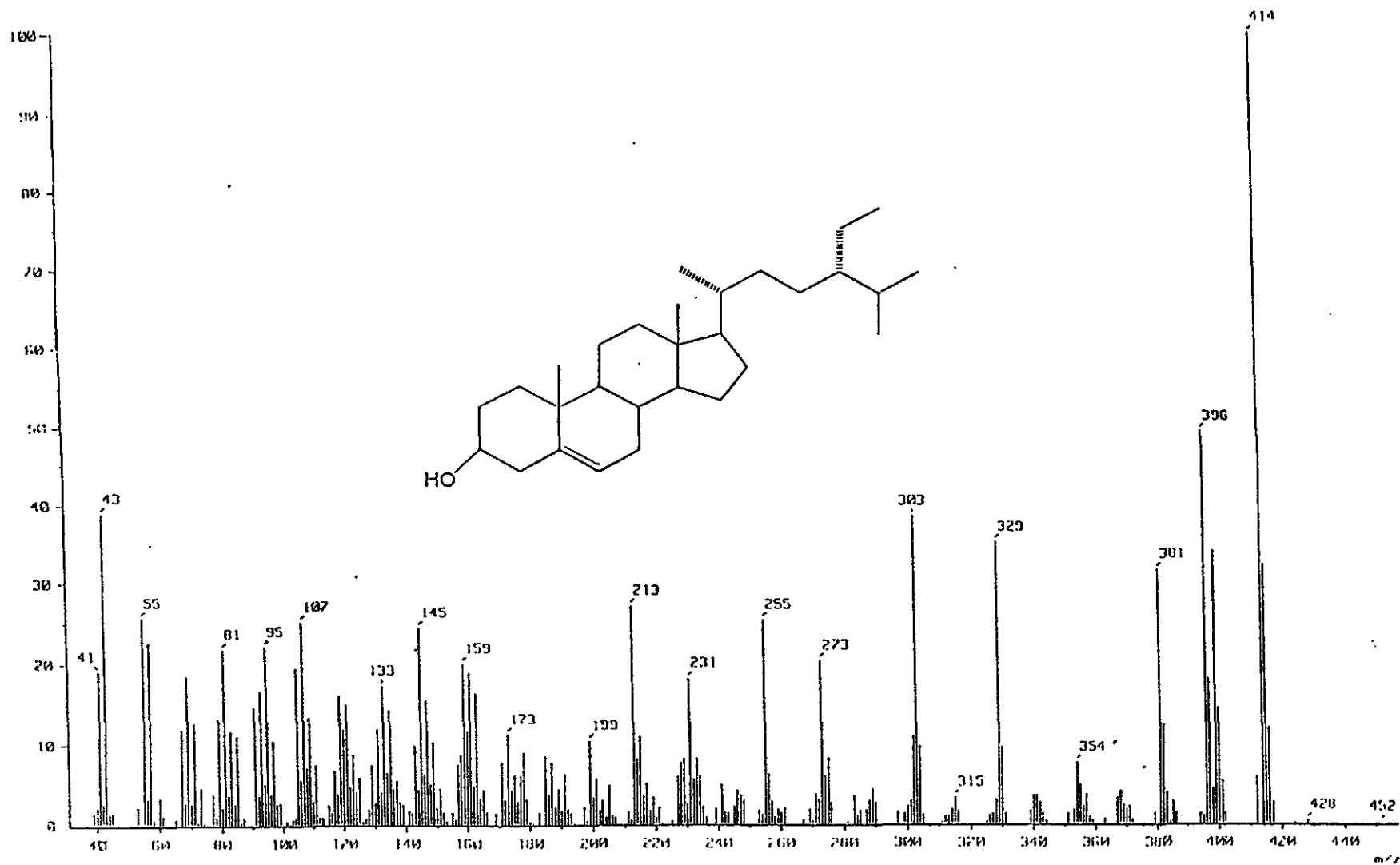
ESPECTRO 33 *Espectro de RMN¹³C del éster del ácido-2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico*



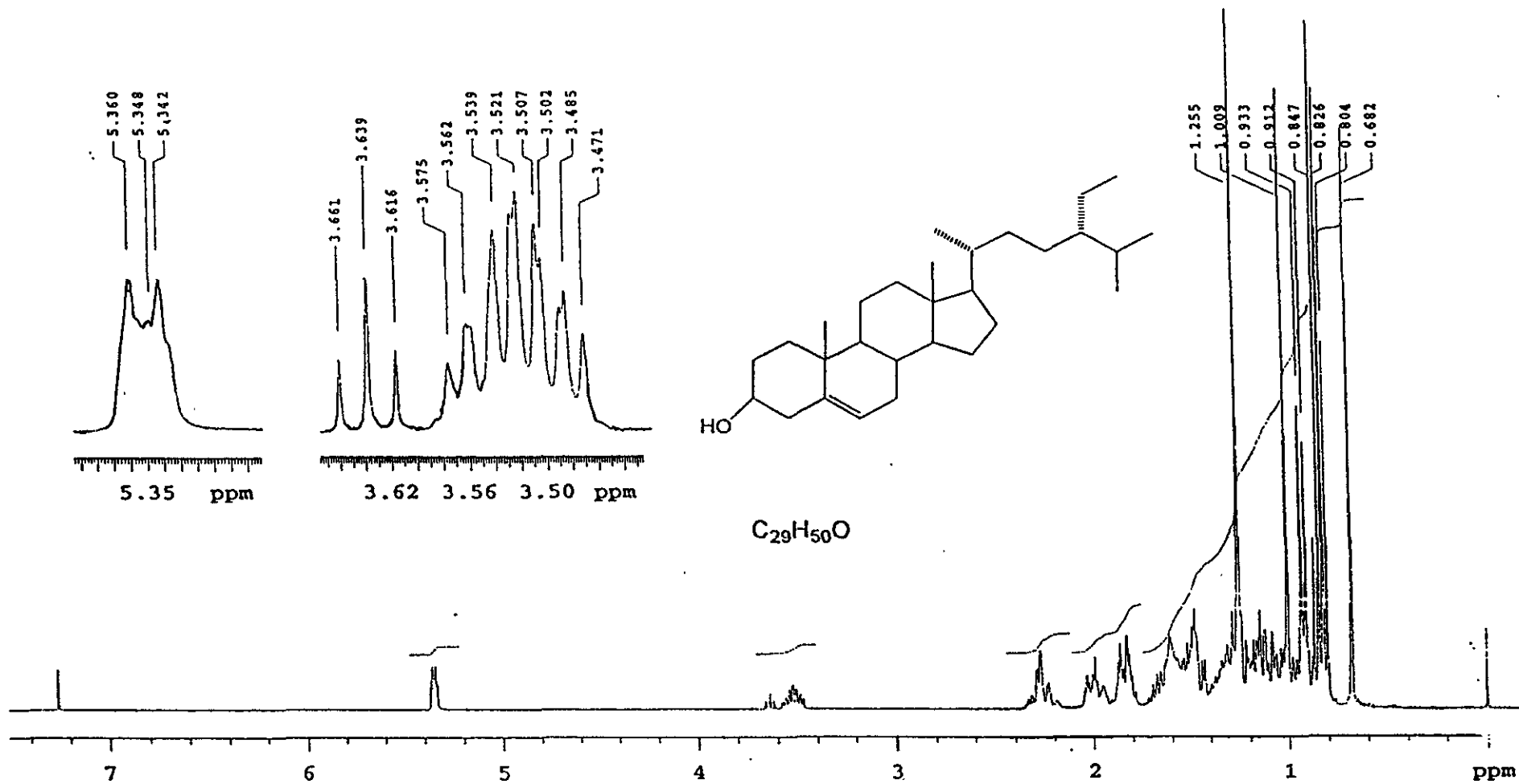
ESPECTRO 34 Espectro de RMN^1H , RMN^{13}C , (HETCOR) del éster de ácido-2-isopropenil-2,3-dihidrobenzofurano-5-oico



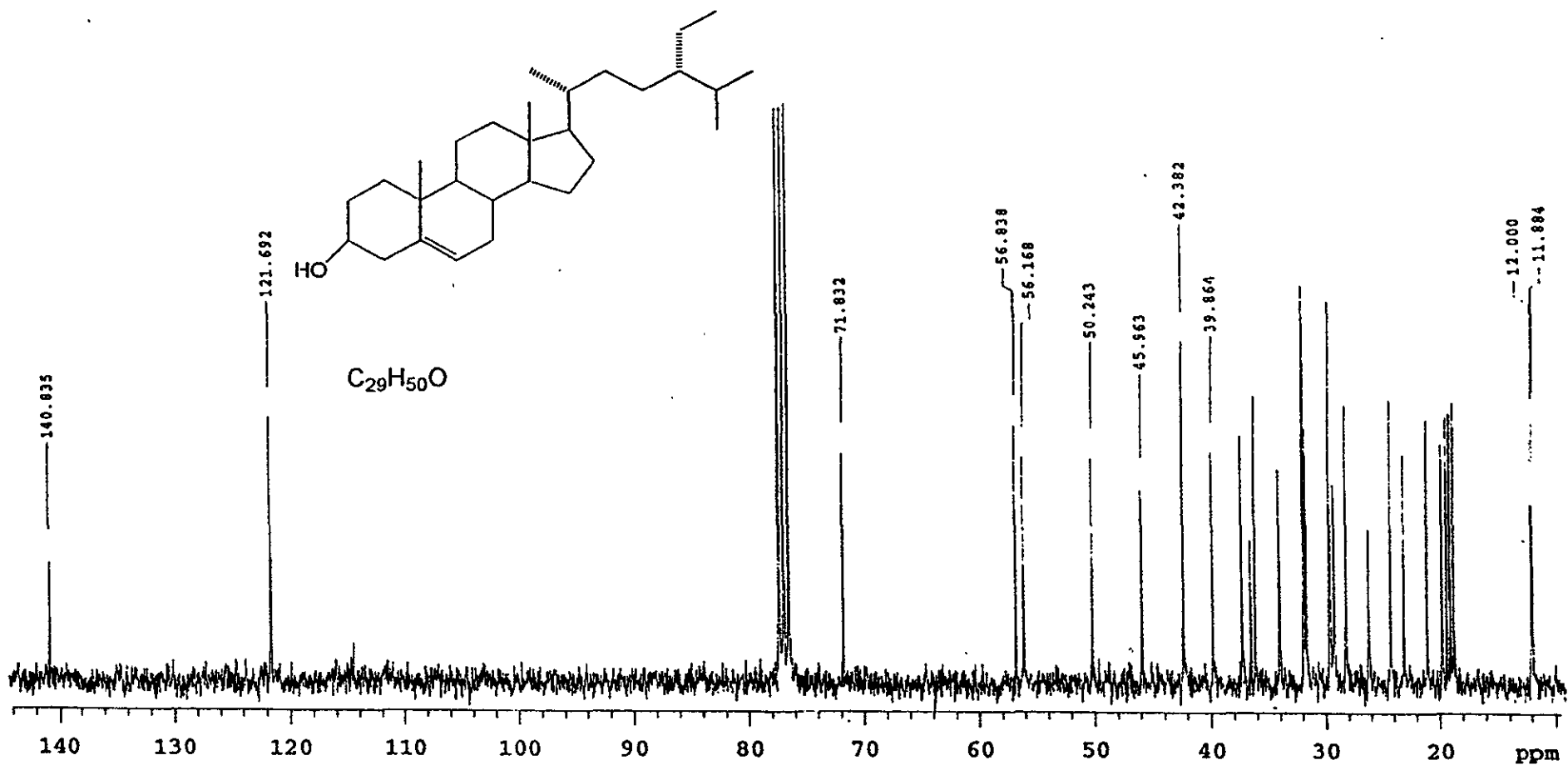
ESPECTRO 35 Espectro de IR de β -Sitosterol



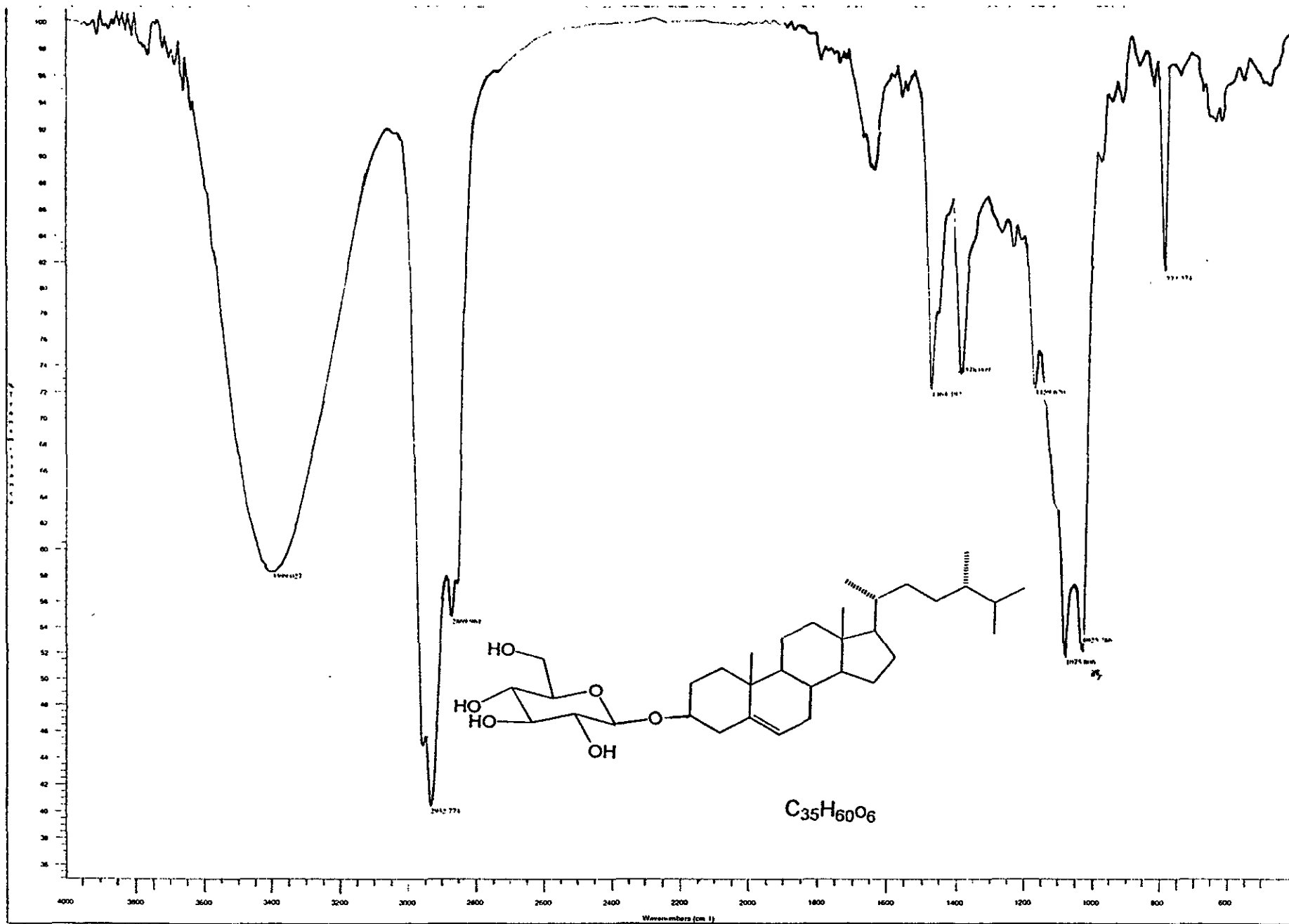
ESPECTRO 36 Espectro de Masas de β -sitosterol



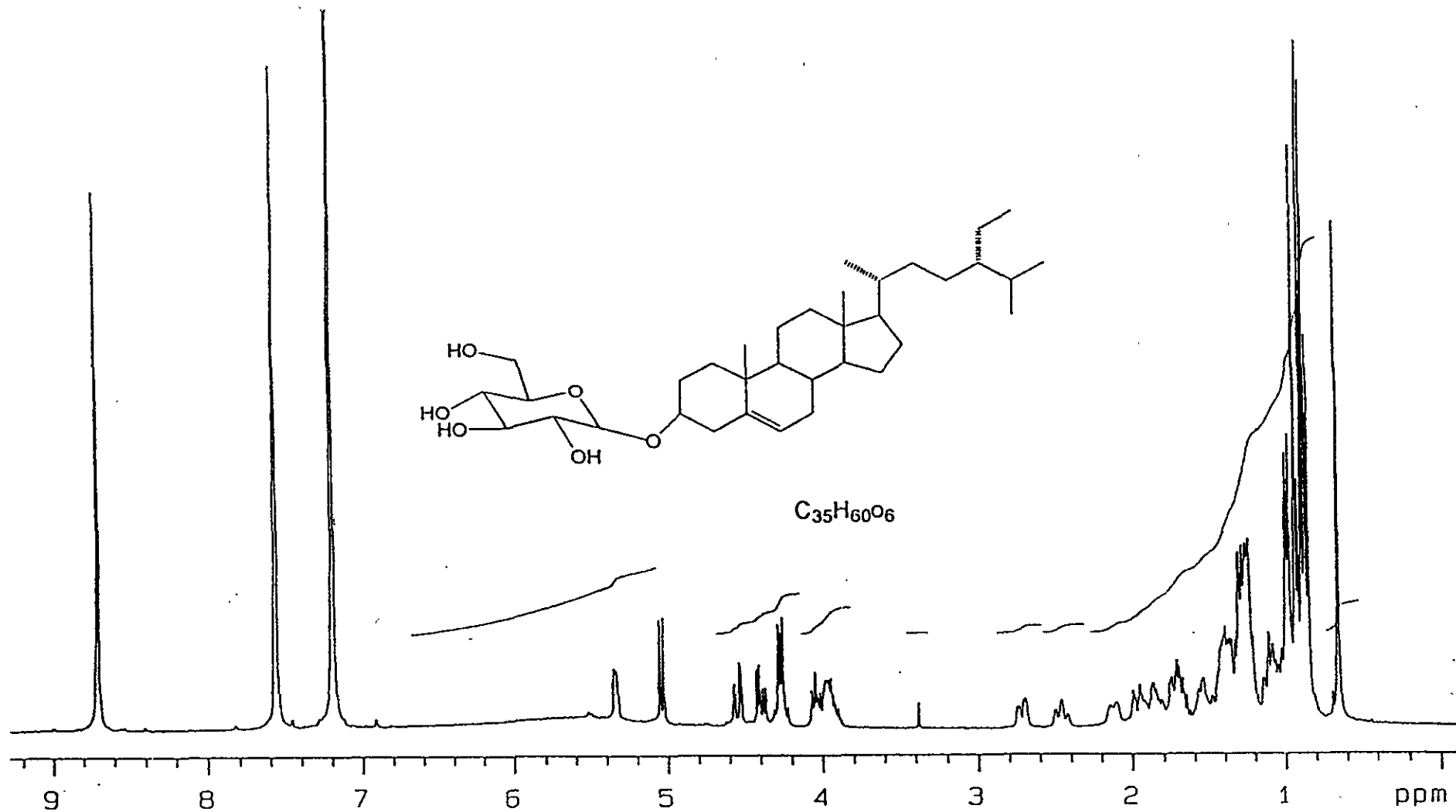
ESPECTRO 37 Espectro de RMN ¹H de β-sitosterol



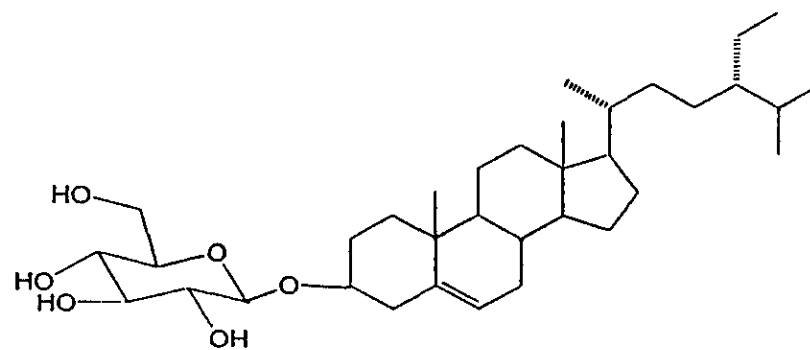
ESPECTRO 38 Espectro de RMN ^{13}C de β -sitosterol



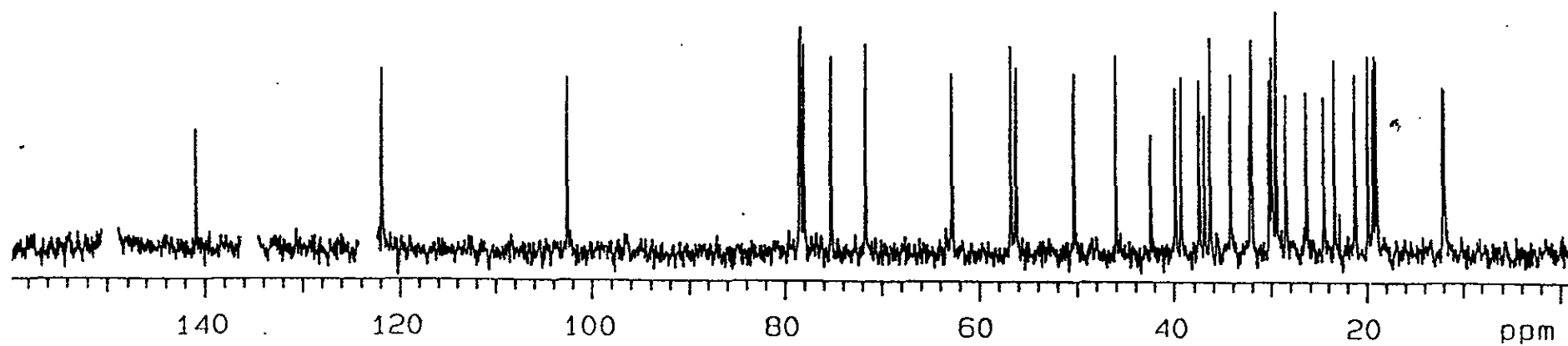
ESPECTRO 39 Espectro de IR de β -O-Glucósido de sitosterol



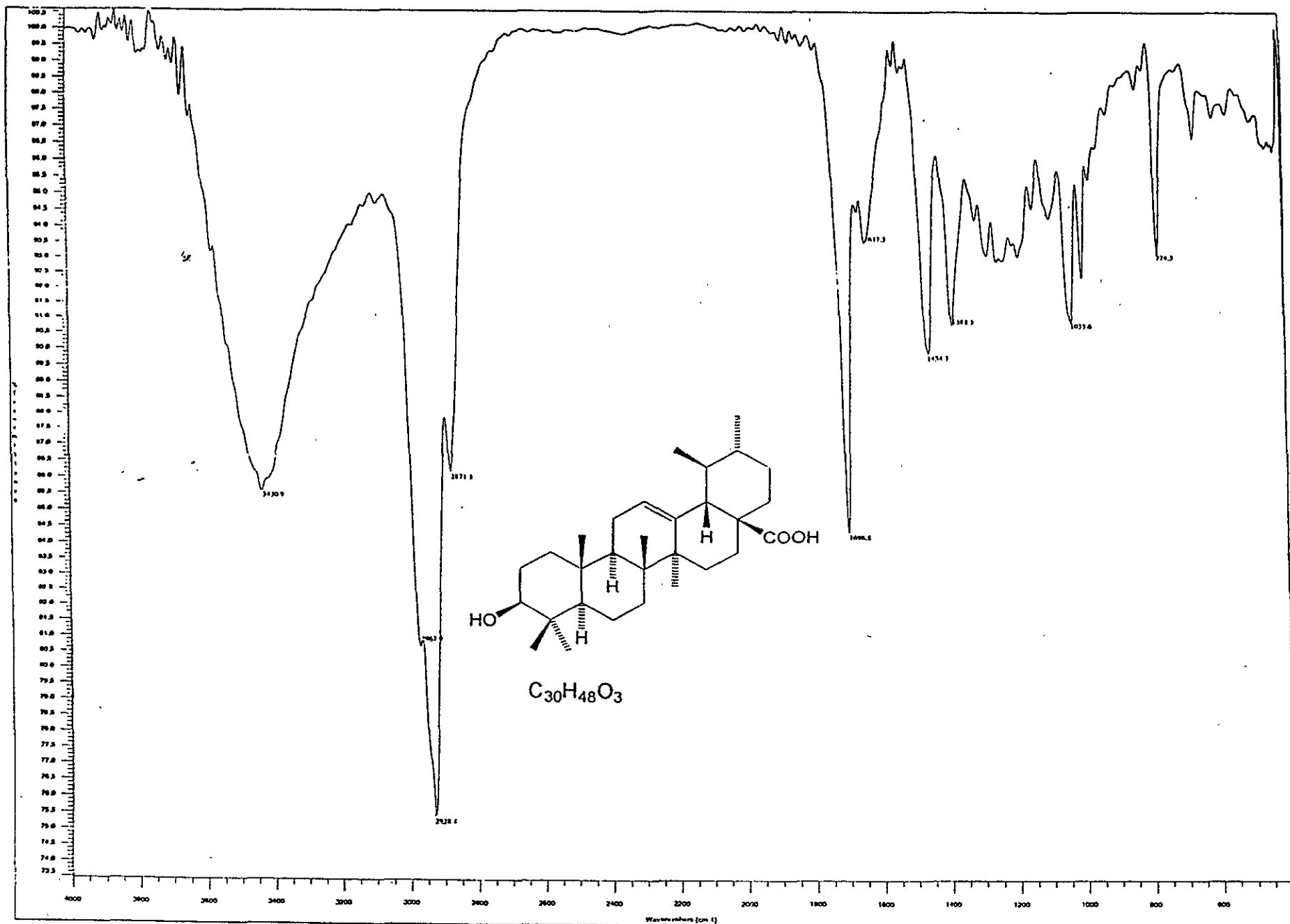
ESPECTRO 40 Espectro de RMN ^1H de $\beta\text{-O-Glucósido de sitosterol}$



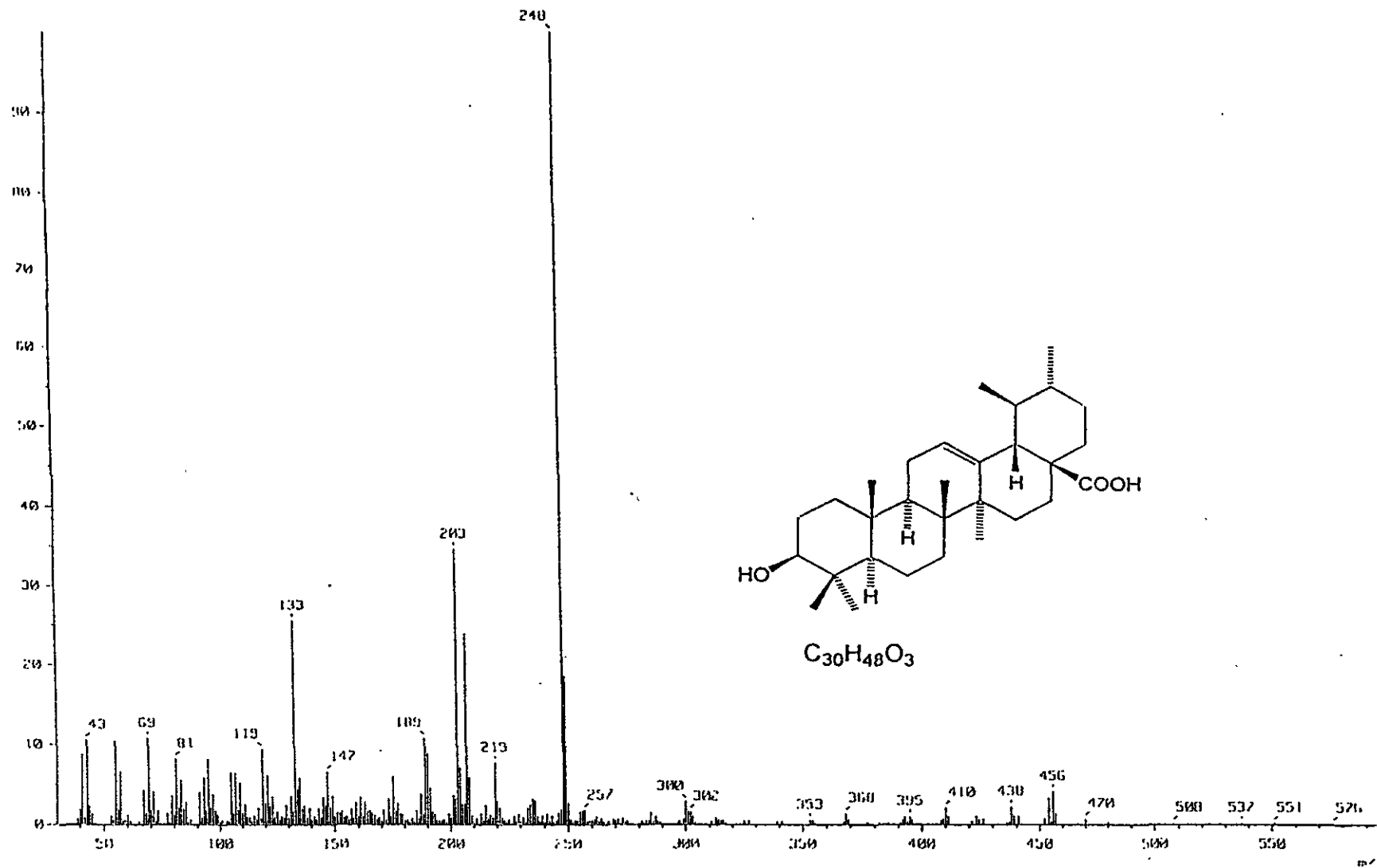
$C_{35}H_{60}O_6$



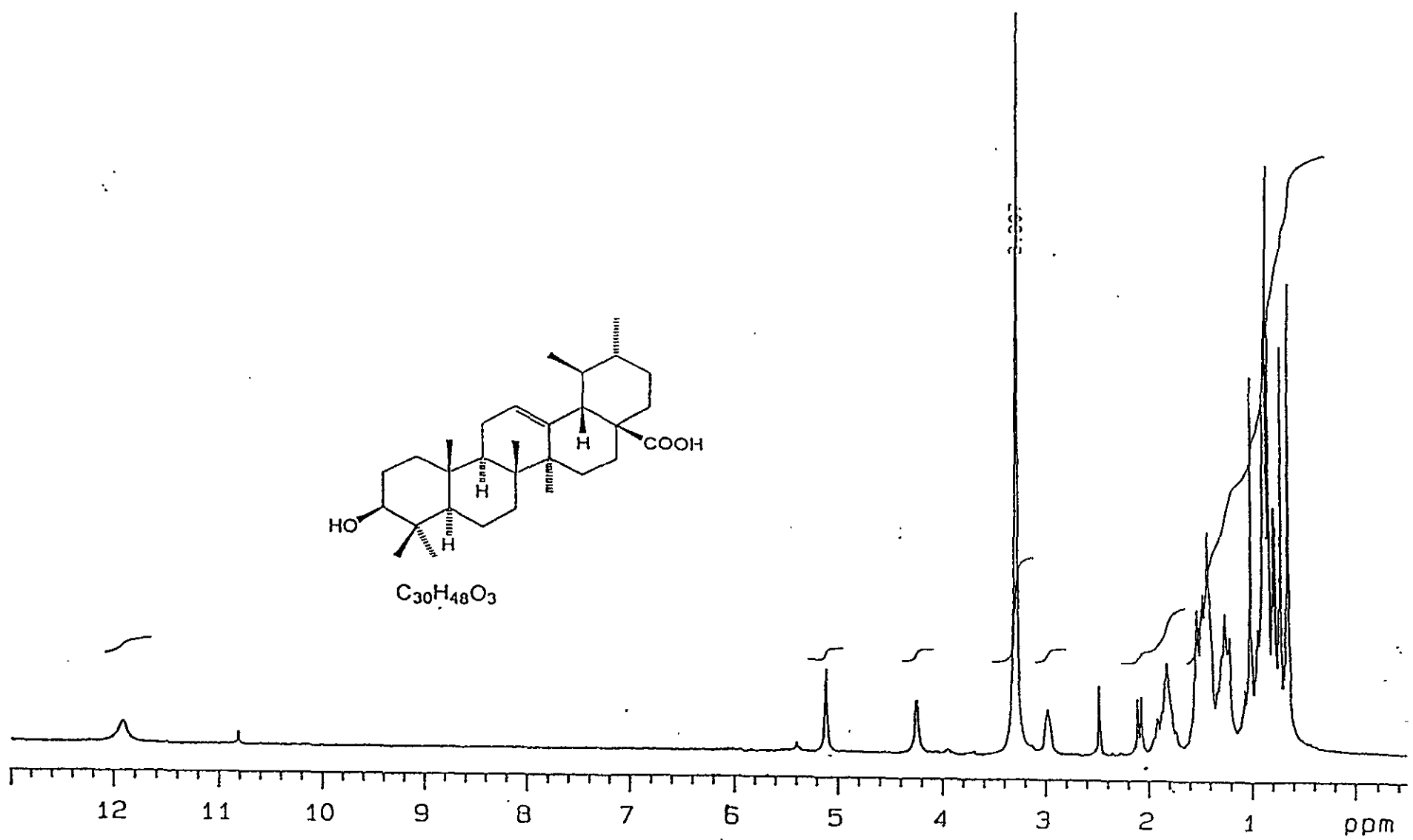
ESPECTRO 41 *Espectro de RMN ^{13}C de β -O-Glucósido de sitosterol*



ESPECTRO 42 Espectro de IR del ácido ursólico



ESPECTRO 43 *Espectro de Masas del ácido ursólico*



ESPECTRO 44 Espectro de RMN¹H del ácido ursólico