

# BOLETIN DEL INSTITUTO DE QUIMICA

U. N. A. M.

REDACCION :

DR. ALBERTO SANDOVAL L.

Q. F. B. HUMBERTO J. FLORES

Dirección Torre de Ciencias, Piso 11, Ciudad Universitaria.  
México 20, D. F.

*Este boletín se publicó con la ayuda económica del Instituto Nacional  
de la Investigación Científica.*

---

VOL. X

DICIEMBRE DE 1958

NUM. 2

---

Bol. inst. quim. univ. nal. auton. Méx. X, pags. 33-44 (1958).

## LA ESTRUCTURA DE LA PENDULINA Y LA PENDULETINA, UN NUEVO GLUCOSIDO FLAVONOIDE AISLADO DE LA *BRICKELIA PENDULA*.\*

S. E. Flores y J. Herrán

Contribución Nº 87 del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma  
de México.

Desde hace tiempo hemos estado interesados en el estudio de plantas mexicanas a las cuales se han atribuido propiedades medicinales. Entre ellas se encuentran varias especies de plantas conocidas como "*Atanasia amarga*", que tienen un sabor amargo y que son usadas por el pueblo como remedios para "enfermedades del estómago". En un estudio preliminar llevado a cabo por F. Río de la Loza (1) se reportó que una "*Atanasia amarga*" (*Brickelia squarrosa*) contiene un glucósido blanco, que fue llamado "Brickelina".

Nosotros hemos encontrado una de estas especies (clasificada como *Brickelia pendula*\*\*\*) en Contreras, cerca de la Ciudad de México.

---

\* Traducido de Tetrahedron, 2, 308 (1958) con permiso de los editores.

\*\* Deseamos agradecer al Dr. F. Miranda del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, el que nos ayudara a buscar esta planta y a clasificarla botánicamente.

La extracción exhaustiva con alcohol de la planta seca, produjo una masa verde, que al recristalizarla de metanol, produjo a su vez, una sustancia cristalina de color amarillo que hemos llamado *Pendulina* (I) y que muestra p. f. 178-179°;  $[\alpha]^{20}_D -34^\circ$  (piridina) y tiene como fórmula empírica  $C_{24}H_{26}O_{12}$ . El espectro en el infrarrojo mostró bandas en 3200 (alcohol asociado); 1660 (carbonilo  $\alpha$ - $\beta$  no saturado); 1600 (anillo aromático), 1300-1180 [estructura compleja (bandas múltiples de intensidad media) debido a la absorción del carbonilo y los metoxilos]; 1090 (OH alcohólico) y 838, 794 y 810  $cm^{-1}$  (Anillos aromáticos polisustituídos, que corresponden a los grupos oxhidrilo, metoxilo, cetona y benceno)  $\lambda$  máx. 212, 272, 332  $m\mu$   $\epsilon$ , 38,166; 23,013; 22,040.

La cromatografía en papel de esta sustancia mostró solamente una mancha, lo cual apoya la suposición de que se trata de una sustancia pura.

Por su fórmula empírica, sus constantes físicas y los diferentes colores que produjo con reactivos específicos, hemos llegado a la conclusión de que la sustancia tiene una estructura flavonoide monosustituída con un carbohidrato.

La pendulina es difícil de hidrolizar, pero hirviéndola prolongadamente con un ácido fuerte, obtuvimos una sustancia nueva que hemos llamado *Penduletina* (II). Su fórmula empírica es  $C_{18}H_{16}O_7$ ; p. f. 216-217°. El espectro en el infrarrojo mostró bandas en 3100 (alcohol); 1660 (carbonilo); 1300-1180 (metoxilo) y 762  $cm^{-1}$ . (banda nueva).  $\lambda$  máx. 212, 271, 341  $m\mu$   $\epsilon$ , 33,376; 19,231; 22,767. La sustancia tiene tres grupos metoxilos y forma un diacetato  $C_{22}H_{20}O_8$ , que al saponificarse regenera penduletina (II). Metilando, se obtiene una sustancia pentametoxilada ( $C_{20}H_{20}O_7$ ) (III), mientras que etilando se forma un nuevo compuesto (IV) ( $C_{20}H_{20}O_7$ ), que corresponde a un flavonoide monohidroxi, mono-etoxi y trimetoxilado. La fracción de azúcar fue identificada por cromatografía en papel y por su osazona como glucosa. Del análisis antes y después de la hidrólisis, resulta que la pendulina es un flavonol o una flavona trimetoxi-dihidroxi sustituida con una molécula de glucosa.

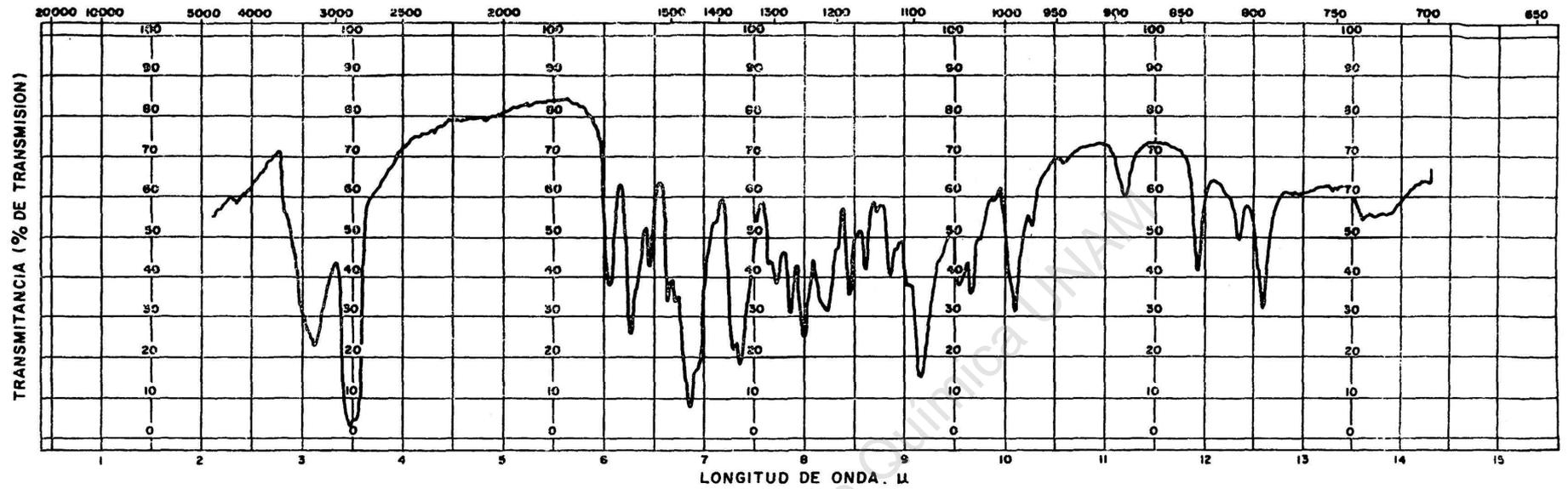


Fig. 1. Pendulina (I)

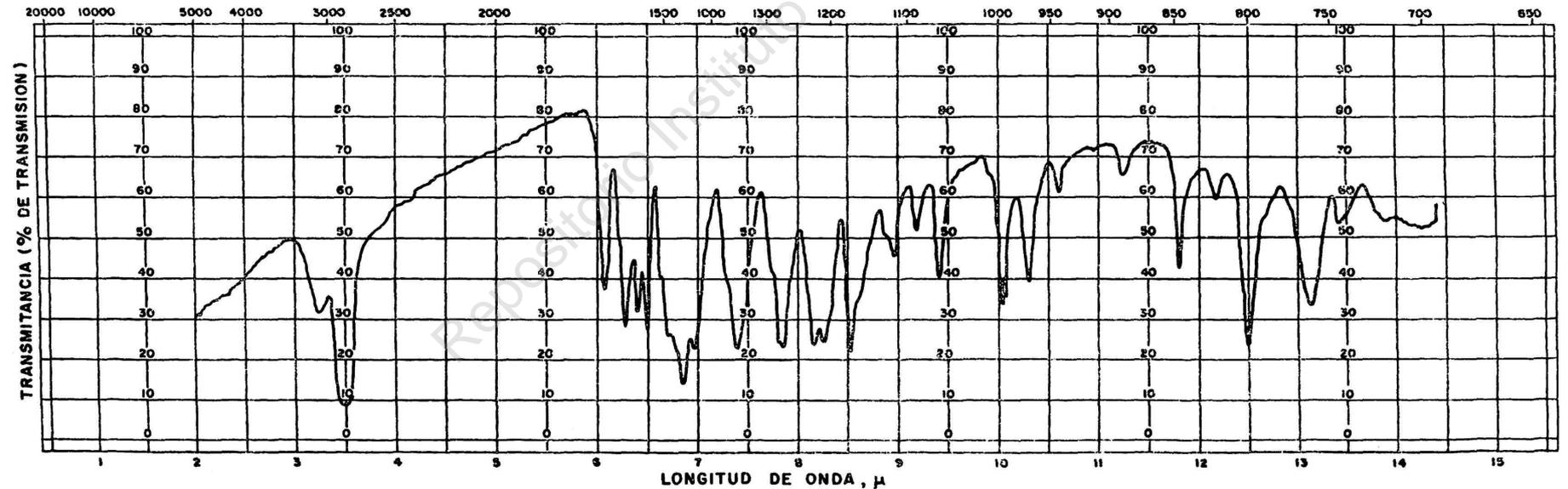


Fig. 2. Penduletina (II).

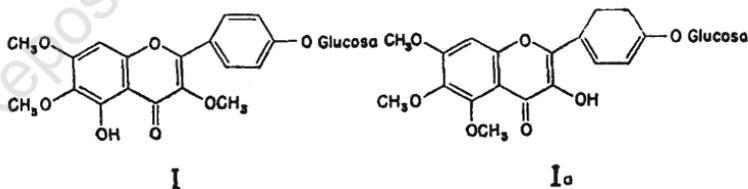
Desmetilando los compuestos II, III o IV, se obtuvo un compuesto pentahidroxilado (V)  $C_{15}H_{10}O_7$ , que por metilación regenera la flavona pentametoxilada (III), demostrando que la desmetilación no produce rearmiento (2). Para demostrar que la hidrólisis ácida de la pendulina tampoco produce rearmiento, este compuesto fue metilado, hidrolizado y remetilado, obteniéndose como esperábamos, el mismo compuesto III.

Cuando este compuesto III se fundió con hidróxido de potasio, se destruyó totalmente, pero por fisión en solución alcalina, resultó posible aislar ácido p-metoxibenzoico. La ozonólisis de III produjo exclusivamente el mismo ácido. Estos hechos demuestran que el anillo fenilo B de la pendulina, contiene solamente como sustituyente, a un oxhidrilo o metoxilo, presente en la posición 4'.

El compuesto V da una serie de reacciones de color idénticas a las reportadas por Goldsworthy y Robinson (3) para un flavonol sintético 3,4',5,6,7 pentahidroxilado, cuyo éter pentametilado, se suponía idéntico a la tangeretina aislada por Nelson (4). Recientemente, Robinson publicó una nota (5) en la cual prueba que este compuesto sintético es diferente de la tangeretina. Una muestra del éter pentametilado del compuesto sintético de Goldsworthy y Robinson\* mostró el mismo espectro en el infrarrojo que nuestro compuesto III y no se deprimió el punto de fusión de la mezcla.

De esta comparación, resulta que los cinco grupos metoxilos de la molécula, están en las posición 3,4',5,6, y 7. En la penduletina, tres de los sustituyentes están como metoxilos y dos como oxhidrilos libres.

Para determinar la posición de la ligadura glucosídica se metiló la pendulina con diazometano, obteniéndose un compuesto tetráme-



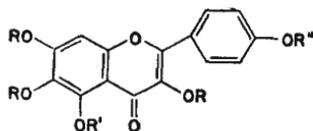
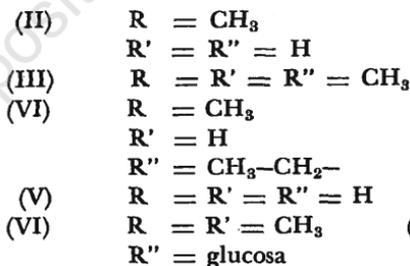
\* Agradecemos a Sir Robert Robinson el habernos facilitado este compuesto.

toxilado  $C_{25}H_{28}O_{12}$  (VI) ligeramente más soluble en agua y de un sabor amargo. La hidrólisis ácida de este compuesto, produjo un compuesto VII monohidroxi-tetrametoxilado  $C_{19}H_{18}O_7$ .

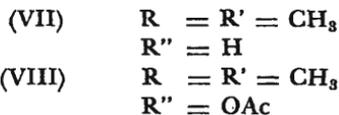
La acetilación de VII produjo el compuesto VIII, que por ozonólisis produjo ácido *p*-acetoxi benzoico, lo cual prueba que en la pendulina (I) la glucosa está ligada al oxhidrilo en la posición 4'.

Por lo tanto, sólo hay dos estructuras posibles para la pendulina: debe de ser la 4',5-dihidroxi-3,6,7-trimetoxiflavona-4'-glucósido (I) o la 3,4'-dihidroxi-5,6,7-trimetoxi-flavona 4'-glucósido (Ia). Se podría elegir I apoyándose en los siguientes hechos: a) La etilación de la penduletina (II) con sulfato de etilo y álcali introduce solamente un grupo etilo formando el derivado 4'-etilo (IV). Es bien conocido que la etilación de un grupo oxhidrilo en 3, se efectúa fácilmente en estas condiciones [Cf. la etilación de la quercetina y morina (6)]. Por otra parte, la subsistencia en las mismas condiciones de un grupo oxhidrilo en 5 está bien documentada (6). b) El tratamiento del etiléter en 4' (IV) con anhídrido acético y acetato de sodio en frío, no produjo acetilación del grupo oxhidrilo libre restante. El grupo oxhidrilo en 3, tomando la quercetina como ejemplo, se acetila fácilmente en estas condiciones, mientras que el oxhidrilo en 5 no resulta afectado (7). c) Finalmente, la presencia del sistema 5-hidroxi flavona está de acuerdo con el hecho de que la prueba de color con ácido bórico descrita por Wilson sea positiva, mientras que una 3-hidroxi flavona sin el grupo 5-oxhidrilo, como la fisetina, da una prueba negativa (8).

Llegamos a la conclusión de que la pendulina y la penduletina están representadas correctamente por I y II, respectivamente.



II



## PARTE EXPERIMENTAL\*

*Aislamiento de la pendulina.* La planta, secada al sol (2.8 Kg.), se molió finamente en un molino Mikro-pulverizer y se extrajo con tres porciones de 10 l. de alcohol hirviendo. Se concentraron al vacío los extractos combinados hasta un volumen de 3 l., obteniéndose una masa verde muy viscosa que se lavó cinco veces con 2 l. de hexano caliente. Quedó como residuo un polvo amarillo que se disolvió en alcohol, decoloró con Norite y recristalizó varias veces, primero de alcohol y después de acetona-hexano. Se obtuvieron 30 g. del glucósido pendulina (I), con p. f. 178-179°;  $[\alpha]_D^{25} -34^\circ$  (piridina),  $\lambda$  máx. 212, 272, 332  $m\mu$ ,  $\epsilon$  38, 166; 23,013; 22,040.

<i>Andl. Calc.</i> para $C_{24}H_{26}O_{12}$ :	C, 56.91; H, 5.17; O, 37.91
Encontrado:	C, 57.13; H, 5.28; O, 37.72
Calc. para 3 metoxilos	18.4
Encontrado:	17.97.

Para probar la pureza del glucósido, se hizo una cromatografía en papel filtro Whatman N° 1 usando alcohol n-butílico-ácido acético-agua, 40/10/50 a 23°, durante 8 h. El papel ya seco, se observó bajo luz ultravioleta y natural. Mostró solamente una mancha con un Rf 0.76 (9).\*\*

*Hidrólisis del glucósido I.* Después de tratar de hidrolizar I con ácido clorhídrico al 5%, se recuperó el glucósido inalterado. Se hidrolizó entonces disolviendo 0.5 g. del glucósido en 300 ml. de alcohol acuoso (70%) conteniendo 15% de HCl. Se hirvió la mezcla durante 6 h., se diluyó con 1 l. de agua y se extrajo cuatro veces con 200 ml. de acetato de etilo. Los extractos combinados se secaron con sulfato de sodio y evaporaron hasta sequedad. El residuo se cristalizó de al-

\* Los microanálisis fueron hechos por el Dr. Franz Pascher, Bonn, Alemania. Las observaciones en el ultravioleta fueron medidas en solución de etanol, en un instrumento Beckman DK2. Las determinaciones del espectro en el infrarrojo, fueron hechas en nujol en un espectrofotómetro Perkin-Elmer de doble haz, modelo 21C. Los puntos de fusión no están corregidos y fueron determinados en un bloque Kofler.

\*\* Agradecemos al Dr. Barbarín Arreguín, de este Instituto, que haya llevado a cabo este experimento.

cohol-agua y después de acetona-agua, produciendo 0.3 g. de una sustancia de color amarillo pálido, que hemos llamado penduletina (II) p. f. 216-217°;  $\lambda$  máx. 212, 271, 341 m $\mu$ ;  $\epsilon$  33,376; 19,231, 22,767.

<i>Andl.</i> Calc. para C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub> :	C, 62.79; H, 4.68; O, 32.53
Encontrado:	C, 62.98; H, 4.76; O, 32.53.
Calc. para 3 metoxilos	27.03
Encontrado:	26.05.

*Identificación del carbohidrato.* La fracción acuosa de la hidrólisis ácida se concentró al vacío hasta un volumen de 500 ml. Después de neutralizar, el líquido dio reacciones positivas con los reactivos de Fehling y Tollens.

Se hizo al mismo tiempo un cromatograma en papel con una pequeña fracción del extracto acuoso y una solución de glucosa auténtica, usando la técnica de Horrocks y Manning (11). Las dos manchas obtenidas en esta forma fueron idénticas.

La observación microscópica de la osazona (12) y su p. f. mostraron que se trata de glucosazona, lo cual fué confirmado por una cromatografía simultánea de este producto y una muestra auténtica de glucosazona, siguiendo una técnica similar a la reportada por Burton, Zaffaroni y Keutman (13) y usada por Muñoz\* (14).

*Reacciones de color de la penduletina (II).* Tratando la solución alcohólica de penduletina con amalgama de sodio se obtuvo una coloración carmesí. Tratando la solución original con ácido clorhídrico y magnesio se obtuvo un color rosado (15). Disolviendo penduletina pura en ácido sulfúrico concentrado, la solución dio un color amarillo intenso. Estas reacciones coinciden con las descritas para los flavonoles (16).

*Acetilación de la penduletina (II).* Se disolvieron 0.5 g. de penduletina en 60 ml. de anhídrido acético, se agregaron dos gotas de ácido perclórico y se dejó la solución a temperatura ambiente durante 40 min. En seguida se diluyó con 500 ml. de agua y se dejó per-

---

\* En la separación de las osazonas, Muñoz usó papel filtro Whatman N° 1 lavado previamente con agua y etanol. Como fase móvil usó cloroformo saturado con formamida y como estacionaria, formamida-metanol 1:1.

manecer en esa forma durante 6 h. Se extrajo la solución con porciones de  $3 \times 50$  ml. de acetato de etilo. Se lavó la capa orgánica con solución acuosa fría de hidróxido de sodio al 3%, después con agua destilada hasta neutralizarla y se evaporó hasta sequedad. El residuo cristalizó de acetona-hexano, produciendo 0.4 g. de producto acetilado, p. f. 157-158°.

<i>Andl.</i> Calc. para $C_{22}H_{20}O_9$ :	C, 61.68; H, 4.71; O, 33.61
Encontrado:	C, 62.00; H, 4.88; O, 33.27.
Calc. para 2 acetilos	20.00
Encontrado:	21.96.

*Saponificación del diacetato de penduletina.* Se saponificó 0.1 g. de diacetato hirviéndolo durante una hora con hidróxido de sodio alcohólico. Se procesó la solución en la forma usual. El producto (0.07 g.) mostró p. f. 216-217° y el p. f. de la mezcla con II no dio depresión. Los espectros en el infrarrojo también fueron idénticos.

*Metilación de la penduletina II.* Se metilaron con diazometano 0.5 g. de penduletina usando la técnica acostumbrada. Se obtuvieron 0.35 g. de un producto III de color blanco, que después de cristalizar de metanol y posteriormente de acetona-hexano mostró p. f. 152-153°.

<i>Andl.</i> Calc. para $C_{20}H_{20}O_7$ :	C, 64.51; H, 5.41; O, 30.08
Encontrado:	C, 64.80; H, 5.22; O, 30.07.
Calc. para 5 metoxilos	41.60%
Encontrado	40.88%

*Monoetilación de la penduletina (II).* Se disolvieron 0.5 g. de penduletina en 100 ml. de etanol y se agregaron 20 ml. de una solución al 20% de hidróxido de sodio en etanol acuoso al 70%. Después se agregaron lentamente 10 ml. de sulfato de etilo y se hirvió la mezcla durante 30 minutos, al final de los cuales se agregaron 20 ml. adicionales de sulfato de etilo. Se hirvió la solución otras 5 horas conservando su alcalinidad constantemente. Después de enfriar, se diluyó con 300 ml. de agua y se extrajo con acetato de etilo. La evaporación del disolvente y la cristalización del residuo de etanol-agua

y acetona-hexano, produjo 0.31 g. del compuesto IV con p. f. 166-167°;  $\lambda$  máx. 212, 272, 336  $\mu$ ,  $\epsilon$ , 39,690; 22.138; 24,711.

<i>Anal.</i> Calc. para $C_{20}H_{20}O_7$ :	C, 64.51; H, 5.41; O, 30.08
Encontrado:	C, 64.79; H, 5.44; O, 29.99.
Calc. para 4 metoxilos (un etoxilo como metoxilo):	33.33
Encontrado:	32.22
Cal. indirectamente para 3 metoxilos:	25.00
1 etoxilo	12.10
Encontrado:	24.14
	11.73

La acetilación de IV se hizo en la misma forma que en el caso de la penduletina (II) y el acetato mostró p. f. 149-150°.

*Desmetilación de la penduletina (II).* Desmetilando en la forma usual con ácido yodhídrico al 47% y anhídrido acético, se obtuvo un producto que contiene todavía un metoxilo, p. f. 286-289° (d).

<i>Anal.</i> Calc. para $C_{16}H_{12}O_7$ :	C, 60.76; H, 3.82
Encontrado:	C, 60.94; H, 4.01.
Calc. para un metoxilo:	9.80
Encontrado:	9.07.

Bajo condiciones más enérgicas, la desmetilación conduce al flavonol pentahidroxilado. A una solución de 0.4 g. de penduletina (II) en 10 ml. de anhídrido propiónico, se agregaron 0.3 g. de fenol y 18 ml. de ácido yodhídrico al 55% acabado de destilar. Se hirvió la mezcla durante 2 h. y después se diluyó con 100 ml. de agua. Se extrajo con éter y acetato de etilo. Se lavaron tres veces las fracciones orgánicas mezcladas con una solución acuosa de tiosulfato de sodio para eliminar el yodo liberado durante la reacción. Después de secar y evaporar el disolvente, y recrystalizar dos veces el residuo de acetona-hexano, se obtuvieron 0.15 g. del compuesto V. El p. f. no es definido, la sustancia comienza a descomponerse a 290° y se carboniza entre 314 y 320°.

<i>Anal.</i> Calc. para $C_{15}H_{10}O_7$ :	C, 59.61; H, 3.34; O, 37.06
Encontrado:	C, 59.01; H, 3.59; O, 37.20.

Acetilando este compuesto V se obtuvo el pentaacetato, p. f. 234-235°.

Metilando con diazometano siguiendo la técnica usual, el compuesto V regenera el compuesto III, lo cual prueba que no hay arreglo durante la desmetilación.

*Fisión alcalina.* Se disolvió medio gramo del compuesto III en 50 ml. de etanol y se agregaron 50 ml. de hidróxido de potasio al 20% en agua-alcohol. Se hirvió la mezcla durante 20 h. y después se concentró, se diluyó con agua y se saturó con bióxido de carbono. Extrayendo con éter no se obtuvo fracción fenólica. La solución acuosa fue acidulada con ácido clorhídrico y extraída con éter. Las fracciones etéreas fueron evaporadas al vacío y el residuo fue recristalizado de acetona-agua, obteniéndose 0.05 g. de un ácido con p. f. 183-184°. El p. f. de la mezcla con una muestra auténtica de ácido *p*-metoxibenzoico no mostró depresión y los espectros en el infrarrojo fueron idénticos. Una fisión similar con el compuesto IV produjo un ácido que mostró p. f. 194-195°. El p. f. no mostró depresión al mezclar con una muestra auténtica de ácido *p*-etoxibenzoico y los espectros en el infrarrojo fueron idénticos.

*Ozonólisis de la penduletina (II).* Una solución de 0.1 g. del acetato de penduletina (II), disuelto en 40 ml. de acetato de etilo anhidro, se ozonizó durante 7 min. en un ozonizador Welsbach T23, con un flujo de 0.02 de oxígeno, una presión de 8 libras y 90 voltios. El ozónido se descompuso por hidrogenación catalítica, usando paladio en carbón al 5%. Se absorbieron 150 ml. de hidrógeno. El catalizador se filtró y el residuo, después de eliminar el disolvente, se cristalizó de acetona-benceno y sublimó al alto vacío (0.01 mm. y 125°). Se obtuvieron 0.02 g. de un ácido que mostró p. f. 188-190°. El p. f. de la mezcla con ácido *p*-acetoxibenzoico no mostró depresión y los espectros en el infrarrojo fueron idénticos.

Este método produce mucho mejores rendimientos que la fisión alcalina y puede usarse ventajosamente en casos similares.

*Reacciones de coloración del flavonol pentahidroxiado (V).* Con ácido clorhídrico y magnesio se obtuvo un color rosado; con acetato de plomo en solución alcohólica se formó un precipitado anaranjado que después se convirtió a un color café; con cloruro férrico se obtuvo un verde aceituna oscuro. Estas reacciones fueron exactamente igua-

les a las reportadas por Robinson (3) para el 3,4',5,6,7 pentahidroxi flavonol.

La posición de los 5 oxhidrilos quedó probada por comparación de la dimetoxi penduletina (III) con la 3,4',5,6,7 pentametoxi flavona que bondadosamente nos suministró Sir Robert Robinson. El p. f. de la mezcla no mostró depresión y los espectros en el infrarrojo fueron idénticos.

*Metilación de la pendulina (I).* Es difícil metilar el glucósido con diazometano en condiciones normales. Para metilarlo, se agregó una solución etérea de diazometano, obtenida de 18 g. de nitrosometil urea, a un gramo de pendulina disuelto en metanol y se dejó la solución durante 24 horas. Después de este período se agregó una solución de diazometano acabada de hacer y obtenida de 10 g. de nitrosometil urea y después de 24 horas se repitió este tratamiento. Después del tercer período de 24 horas, la solución se evaporó al vacío sin aplicar calor. El residuo seco se disolvió en acetona anhidra y se cromatografió en "Magnesol" (150 g.). La columna se eluyó primero con acetona, después con acetato de etilo saturado con agua y finalmente con etanol acuoso al 50% (17). El producto deseado fue obtenido de este último disolvente después de evaporar hasta sequedad en atmósfera de nitrógeno y cristalizar de alcohol-agua y acetona-agua, efectuando todas las evaporaciones en atmósfera de nitrógeno. Se obtuvo un compuesto (VI) (0.6 g.) soluble en agua, de un sabor amargo y que mostró un p. f. 227-228° (d)  $\lambda$  máx. 212, 267, 326 m $\mu$ ,  $\epsilon$  39,651; 27,627; 29,695.

<i>Anál.</i> Calc. para C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> O <sub>12</sub> :	C, 57.69; H, 5.42; O, 36.89
Encontrado:	C, 57.58; H, 5.63; O, 36.94.
Calc. para 4 metoxilos	23.85
Encontrado:	23.82.

*Hidrólisis de la metoxi pendulina (VI).* Se hirvió durante 3.5 horas una solución de 0.8 g. del compuesto VI en 50 ml. de una solución etanólica acuosa al 10% de ácido clorhídrico. Se diluyó con 100 ml. de agua y se extrajo tres veces con 40 ml. de acetato de etilo. Después de las operaciones usuales, el producto cristalizó de etanol.

agua, obteniéndose 0.4 g. del compuesto VII, p. f. 253-254°,  $\lambda$  máx. 212, 260, 330  $\mu$ ,  $\epsilon$  38,871; 19,630; 26,641.

*Anál.* Calc. para  $C_{19}H_{18}O_7$ : C, 63.68; H, 5.06; O, 31.25  
Encontrado: C, 64.06; H, 4.84; O, 31.21.  
Calc. para 4 metoxilos: 34.63  
Encontrado: 34.64.

*Metilación de VII.* Siguiendo la técnica usual, se metilaron con diazometano 0.8 g. del compuesto VII obteniéndose 0.12 g. de un compuesto que resultó ser igual al compuesto III, como se comprobó por p. f. de la mezcla y comparación de los espectros en el infrarrojo.

Acetilando 0.15 g. de VII en la forma anterior, se obtuvo un monoacetato VIII (0.08 g.) p. f. 151-153° (d).

*Ozonólisis del acetato VIII.* Se disolvieron 0.075 g. del monoacetato VIII en acetato de etilo anhidro y se ozonizó durante 3 minutos como en el caso anterior. El ozónido fue hidrogenado con 0.1 g. de paladio en carbón al 5%. Absorbió 100 ml. de hidrógeno. Se filtró el catalizador y se evaporó el disolvente. El residuo fue cristalizado de acetona-benceno y sublimado al alto vacío (0.01 mm. y 125°). Se obtuvieron 0.013 g. de un producto que fundió a 188-190°. El p. f. no mostró depresión al mezclar la sustancia con una muestra auténtica de ácido *p*-acetoxi benzoico. Los espectros en el infrarrojo de las dos muestras fueron idénticos. Por lo tanto llegamos a la conclusión de que la molécula de glucosa está ligada a la posición 4' de la penduletina (II).

## RESUMEN

Se ha determinado que la estructura de una nueva flavona llamada penduletina (II), aislada de la *Brickelia pendula* en forma de su glucósido (pendulina I), es la 4',5-dihidroxi-3,6,7-trimetoxi flavona. En la pendulina, una molécula de glucosa está unida a la posición 4'.

## BIBLIOGRAFIA

1. F. Río de la Loza. *Materia Médica Mexicana*, parte I, 269 (1894).
2. S. K. Mukerjee y T. R. Seshadri. *Chem. and Ind.*, 271 (1955).
3. L. J. Goldsworthy y R. Robinson, *J. Chem. Soc.*, 46, 1937.

4. E. K. Nelson, *J. Am. Chem. Soc.*, 56, 1392 (1934).
5. L. J. Goldsworthy y R. Robinson, *Chem. and Ind.*, 47 (1957).
6. A. G. Perkin, S. Phipps *J. Chem. Soc.*, 85, 56 (1904); J. Herzig, *Monatsh.* 5, 72 (1884); 9, 537 (1888); A. S. Gomm, M. Nierenstein. *J. Am. Chem. Soc.*, 53, 4408 (1931); A. G. Perkin, *J. Chem. Soc.*, 103, 209 (1913).
7. O. Kubota y A. G. Perkin. *J. Chem. Soc.*, 127, 1889 (1925).
8. C. W. Wilson, *J. Am. Chem. Soc.*, 61, 2303 (1939).
9. T. B. Gage, C. D. Douglas y S. H. Wender, *Analytical Chemistry*, 23, 1582 (1951).
11. R. H. Horrocks y G. B. Manning, *Lancet*, 256, 1042 (1949).
12. W. Z. Hassid y R. M. McCready, *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* 14, 683 (1942).
13. R. B. Burton, A. Zaffaroni y E. H. Keutmann, *J. Biol. Chem.*, 153, 763 (1951).
14. E. Muñoz. Tesis "Separación, identificación y determinación cuantitativa de algunas osazonas por cromatografía en papel", Instituto Politécnico Nacional, 1955. México.
15. W. K. Watburton, *Quart. Rev. (London)* VII, 70 (1954).
16. T. A. Geissman, "Moderne Methoden der Pflanzenanalyse", K. Paech y M. V. Tracey Vol. III, 470 (1955).
17. C. H. Ice y S. H. Wender, *Anal. Chem.*, 24, 1616 (1952).